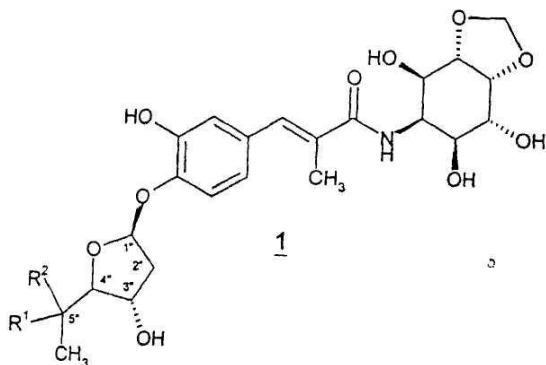


Даний винахід стосується нових похідних 2"-деоксигіроміцину А, що є корисними як антибактеріальні та антипротозойні агенти для ссавців, у тому числі людини, а також для риб та птахів. Даний винахід також стосується фармацевтичних композицій, що містять нові сполуки, та методів лікування бактеріальних та протозоальних інфекцій у ссавців, риб та птахів шляхом призначення нових сполук ссавцям, рибам та птахам, які потребують такого лікування.

Сполуки даного винаходу можуть бути одержані з гіроміцину А. Гіроміцин А являє собою натуральний продукт, одержаний шляхом ферментації, вперше виділений з *Streptomyces hygroscopicus* в 1953. Як антибіотик, гіроміцин А має активність проти людських патогенів і, як повідомлялось, має потенційну *in vitro* активність проти *Serpulina*, (*Treponema*) *hyodysenteriae*, який викликає дизентерію у свиней. Деякі джерела інформації стосуються напівсинтетичних модифікацій гіроміцину А, включаючи наступні: перетворення 5" кетону гіроміцину А в 2,4-динітрофенілгідразон згадується в K.Isono та ін. в *J. Antibiotics* 1957, 10, 21. та R.L. Mann і D.O. Woolf, *J. AmerChem. Soc.* 1957, 79, 120. K.Isono та ін., там же, також згадують про тіосемікарбазон 5"; відновлення кетону 5" гіроміцину А до 5" алкоголю описують R.L. Mann та D.O. Woolf, там же, а також S.J. Hecker та ін. в *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1992, 2, 533 та S.J. Hecker та ін. в *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1993, 3, 295; аналоги фуранози згадуються B.H. Jaynes та ін. в *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1993, 3, 1531, та B.H. Jaynes та ін. в *J. Antibiot.* 1992, 45, 1705; аналоги з ароматичними кільцями згадуються S.J. Hecker та ін. в *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1993, 3, 289, та C.B. Cooper та ін. в *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1997, 7, 1747; енамідні аналоги описані S.J. Hecker та ін. в *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1992, 2, 533; аміноциклітольні аналоги згадуються S.J. Hecker та ін. в *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1992, 2, 1015, та S.J. Hecker та ін. в *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1992, 2, 1043. Похідні гіроміцину згідно з даним винаходом мають активність як проти грамм-негативних, так і грамм-позитивних бактерій та найпростіших.

Американська заявка на тимчасовий патент № 60/084058 від 4 травня 1998, що мала назву "Похідні гіроміцину А" (Номер справи патентного повіреного PC 10057), з прізвищами винахідників K.E.Brightly, R. G. Linde II, M.R.Jefson, E.L.McCormick та S.S.Guhan також стосується аналогів гіроміцину А і включена тут як посилання.

Даний винахід стосується сполук формули:



та їх фармацевтично прийнятних солей, проліків та сольватів, в яких:

R^1 являє собою H and R^2 являє собою $-NR^3R^4$, $-NR^4C(O)R^3$, $-OC(O)NR^4R^4$ або $-OR^3$, або R^1 та R^2 , взяті разом, утворюють $=O$, $=N-OR^3$, $=CR^4R^3$, $=CR^4C(O)R^3$, $=CR^4C(O)OR^3$, або $=CR^4C(O)NR^3R^4$;

кожний R^3 незалежно вибрано з H, C_1 - C_{10} алкілу, C_2 - C_{10} алкенілу, $-(CH_2)_t(C_3$ - C_{10} -циклоалкілу), $-(CH_2)_t(C_6$ - C_{10} -арилу), and $-(CH_2)_t(4$ -10-членного гетероциклу), в яких t являє собою ціле число від 0 до 5, при чому згадана алкільна група необов'язково містить 1 або 2 гетерозалишки, вибрані з O, $-S(O)_j$ - де j являє собою ціле число від 0 до 2, та $-N(R^7)$ -, за умови, що два атоми O, або атом O та атом S не приєднані безпосередньо один до іншого; згадані циклоалкільні, арильні та гетероциклічні R^3 групи необов'язково приконденсовані до бензольного кільця, C_5 - C_8 насиченої циклічної групи або 4-10-членної гетероциклічної групи; $-(CH_2)_t$ залишки згаданих вище R^3 груп необов'язково містять вуглець-вуглецевий подвійний або потрійний зв'язок, де t являє собою ціле число від 2 до 5; та вищезгадані R^3 групи, за винятком H, але включно з будь-якими необов'язково приконденсованими кільцями, згаданими вище, є необов'язково заміщеними від 1 до 5 R^5 групами;

кожний R^4 незалежно являє собою H або C_1 - C_{10} алкіл;

кожний R^5 незалежно вибраний з C_1 - C_{10} алкілу, C_3 - C_{10} циклоалкілу, гало, ціано, нітро, трифторметилу, дифторметокси, трифторметокси, азида, $-OR^6$, $-C(O)R^6$, $-C(O)OR^6$, $-NR^7C(O)OR^9$, $-OC(O)R^6$, $-NR^7SO_2R^9$, $-SO_2NR^6R^7$, $-NR^7C(O)R^6$, $-C(O)NR^6R^7$, $-NR^6R^7$, $-S(O)_j(CH_2)_m(C_6$ - C_{10} арилу), $-S(O)_j(C_1$ - C_6 алкілу), в яких j являє собою ціле число від 0 до 2, $-(CH_2)_m(C_6$ - C_{10} арилу), $-O(CH_2)_m(C_6$ - C_{10} арилу), $-NR^7CH_2)_m(C_6$ - C_{10} арилу), та $-(CH_2)_m(4$ -10-членного гетероциклу), в яких m являє собою ціле число від 0 до 4; згадана алкільна група необов'язково містить 1 або 2 гетерозалишки, вибрані з O, $-S(O)_j$ - де j являє собою ціле число від 0 до 2, та $-N(R^7)$ -, за умови, що два атоми O, два атоми S, або атом O та атом S не приєднані безпосередньо один до іншого; згадані циклоалкільні, арильні та гетероциклічні R^5 групи є необов'язково приконденсованими до C_6 - C_{10} арильної групи, C_5 - C_6 насиченої циклічної групи, або 4-10-членної гетероциклічної групи; і згадані алкільні, циклоалкільні, арильні та гетероциклічні R^5 групи необов'язково заміщені від 1 до 5 замісниками, незалежно вибраними з гало, ціано, нітро, дифторметокси, трифторметилу, трифторметокси, азида, $-NR^7SO_2R^9$, $-SO_2NR^6R^7$, $-C(O)R^6$, $-C(O)OR^6$, $-OC(O)R^6$, $-NR^7C(O)OR^9$, $-NR^7C(O)R^6$, $-C(O)NR^6R^7$, $-NR^6R^7$, $-OR^6$, C_1 - C_{10} алкілу, $-(CH_2)_m(C_6$ - C_{10} арилу) та $-(CH_2)_m(4$ -10 членного гетероциклу), в яких m являє собою ціле число від 0 до 4;

кожний R^6 незалежно вибраний з H, C_1 - C_{10} алкілу, C_3 - C_{10} циклоалкілу, $-(CH_2)_m(C_6$ - C_{10} арилу), та $-(CH_2)_m(4$ -10 -членного гетероциклу), в яких m являє собою ціле число від 0 до 4; згадана алкільна група необов'язково

має 1 або 2 гетерозалишки, вибрані з O, -S(O)_i - де i являє собою ціле число від 0 до 2, та -N(R⁷)-, за умови, що два атоми O, два атоми S, або атом O та атом S не приєднані безпосередньо один до іншого; згадані циклоалкільні, арильні та гетероциклічні R⁶ групи є необов'язково приконденсованими до C₆-C₁₀ арильної групи, C₅-C₈ насиченої циклічної групи або 4-10 -членної гетероциклічної групи; і вищезгадані R⁶ замісники, за винятком H, є необов'язково заміщеними від 1 до 5 замісниками, незалежно вибраними з гало, ціано, нітро, дифторметокси, трифторметилу, трифторметокси, азида, -C(O)R⁷, -C(O)OR⁷, -OC(O)R⁷, -NR⁷C(O)R⁸, -C(O)NR⁷R⁸, -NR⁷R⁸, гідрокси, C₁-C₆ алкілу та C₁-C₆ алкокси;

кожний R⁷ та R⁸ є незалежно вибраним з H або C₁-C₆ алкілу; and, R⁹ вибрано з замісників, вказаних при визначенні R⁶, за винятком H.

Переважаючі сполуки формули 1 включають такі, в яких R¹ та R², взяті разом, утворюють =N-OR³. а R³ являє собою C₁-C₄ алкіл, C₂-C₄ алкеніл, -(CH₂)_i(C₆-C₁₀ арил) або -(CH₂)_i(4-10 -членний гетероцикл), в якому i являє собою ціле число від 0 до 3, гетероциклічна група необов'язково приконденсована до бензольного кільця, арильна група є необов'язково сконденсованою з 5 або 6 членною гетероциклічною групою, і раніше згадані R³ групи, у тому числі згадані необов'язково приконденсовані залишки, є необов'язково заміщеними від 1 до 5 замісниками, незалежно вибраними з нітро, гало, C₁-C₃ алкокси, C₁-C₄ алкілу, трифторметилу, ацетамідо, трет-бутоксикарбоніламіно, трет-бутоксикарбоніламінометилу, трет-бутоксикарбонілу, -NR⁶R⁷, фенілу, циклогексилу, карбокси, амінометилу, дифторометокси, трифторометокси, ціано, піперидинілу, морфоліно, фенокси and фенілтіо.

Інші переважні сполуки формули 1 включають такі, в яких R¹ та R², взяті разом, утворюють =N-OR³, а R³ являє собою -(CH₂)_i(C₆-C₁₀ -арил) або -(CH₂)_i(4-10 членний гетероцикл), в якому i являє собою ціле число від 0 до 3, гетероциклічна група є необов'язково приконденсована до бензольного кільця, арильна група є необов'язково сконденсованою з 5 або 6 членною гетероциклічною групою, і раніше згадані R³ групи, у тому числі згадані необов'язково приконденсовані залишки, є необов'язково заміщеними від 1 до 5 замісниками, незалежно вибраними з нітро, гало, C₁-C₃ алкокси, C₁-C₄ алкілу, дифторометокси, трифторметилу, ацетамідо, трет-бутоксикарбонілу, трет-бутоксикарбоніламіно, -NR⁶R⁷, фенілу, циклогексилу, карбокси, трет-бутоксикарбоніламінометилу, амінометилу, трифторометокси, ціано, піперидинілу, морфоліно, фенокси та фенілтіо.

Інші переважні сполуки формули 1 включають такі, в яких R¹ являє собою H, R² являє собою NR³R⁴, R⁴ являє собою H або метил і R³ являє собою -(CH₂)_i(C₆-C₁₀ арил) або -(CH₂)_i(4-10 членний гетероцикл), в якому i являє собою ціле число від 0 до 2, і R³ група є необов'язково заміщеною від 1 до 5 замісниками, незалежно вибраними з гало, C₁-C₃ алкокси, C₁-C₄ алкілу та трифторметилу.

Інші переважні сполуки формули 1 включають такі, в яких R¹ являє собою H, R² являє собою -NR⁴C(O)R³, R⁴ являє собою H і R³ являє собою C₃-C₆ циклоалкіл, -(CH₂)_i(C₆-C₁₀ арил) або -(CH₂)_i(4-10 членний гетероцикл), в якому i являє собою ціле число від 0 до 2, арильна група необов'язково сконденсована з 5 або 6 -членною гетероциклічною групою, гетероциклічна група є необов'язково сконденсованою з бензольним кільцем, і раніше згадані R³ групи, у тому числі згадані необов'язково приконденсовані залишки, є необов'язково заміщеними від 1 до 5 замісниками, незалежно вибраними з гало, C₁-C₃ алкокси, C₁-C₄ алкілу та трифторметилу.

Інші переважні сполуки формули 1 включають такі, в яких R¹ та R², взяті разом, утворюють =CR⁴C(O)OR³ або =CR⁴C(O)NR³R⁴, R⁴ являє собою H і R³ являє собою H, C₁-C₆ алкіл, C₃-C₅ циклоалкіл, -(CH₂)_i(4-10 членний гетероцикл), або -(CH₂)_i(C₆-C₁₀ арил), в якому i являє собою ціле число від 0 до 2, арильна група необов'язково сконденсована з 5 або 6-членною гетероциклічною групою, гетероциклічна група є необов'язково сконденсованою з бензольним кільцем, і раніше згадані R³ групи, за винятком H, але включно з будь-якими необов'язково приконденсованими кільцями, є необов'язково заміщеними від 1 до 5 замісниками незалежно вибрані з гало, C₁-C₃ алкокси, C₁-C₄ алкілу, -NR₆F₇ та трифторметилу.

Інші переважні сполуки формули 1 включають такі, в яких R¹ являє собою H, R² являє собою -OR³ і R³ являє собою C₁-C₄ алкіл, -(CH₂)_i(4-10 членний гетероцикл), або -(CH₂)_i(C₆-C₁₀ арил), в якому i являє собою ціле число від 1 до 2, арильна група необов'язково сконденсована з 5 або 6-членною гетероциклічною групою, гетероциклічна група є необов'язково сконденсованою з бензольним кільцем, і раніше згадані R³ групи, у тому числі необов'язково приконденсовані залишки, є необов'язково заміщеними від 1 до 5 замісниками незалежно вибрані з гало, C₁-C₃ алкокси, C₁-C₄ алкілу, циклогексилу, ціано, трифторметилу, бензилокси та трифторметилу.

Інші переважні сполуки формули 1 включають такі, в яких R¹ являє собою H, R² являє собою -OC(O)NR³R⁴, R⁴ являє собою H, і R³ являє собою -(CH₂)_i(C₆-C₁₀ арил), в якому i являє собою ціле число від 0 до 2, і R³ група є необов'язково заміщеною від 1 до 5 замісниками, незалежно вибраними з гало, C₁-C₃ алкокси, C₁-C₄ алкілу та трифторметилу.

Конкретні переважні сполуки формули 1 включають такі, які вибрані з групи, яка складається з:

5-Деокси-5-[[3-[4-[(2,6-дідеокси-β-D-еритро-гексофураноз-5-уло-1-іл)окси]-3-гідроксифеніл]-2-метил-1-оксо-2-(Е)-пропеніл]аміно]-1,2-D-метилен-О-метилен-D-нео-інозитол, (Z)-О-[(3-фторофеніл)метил]оксим;

5-Деокси-5-[[3-[4-[(2,6-дідеокси-β-D-еритро-гексофураноз-5-уло-1-іл)окси]-3-гідроксифеніл]-2-метил-1-оксо-2-(Е)-пропеніл]аміно]-1,2-О-метилен-D-нео-інозитол, (Е)-О-[(3-фторофеніл)метил]оксим;

5-Деокси-5-[[3-[4-[(2,6-дідеокси-β-D-еритро-гексофураноз-5-уло-1-іл)окси]-3-гідроксифеніл]-2-метил-1-оксо-2-(Е)-пропеніл]аміно]-1,2-О-метилен-D-нео-інозитол, (Е)-О-[(бензофуран-2-іл)метил]оксим;

5-Деокси-5-[[3-[4-[(2,6-дідеокси-β-D-еритро-гексофураноз-5-уло-1-іл)окси]-3-гідроксифеніл]-2-метил-1-оксо-2-(Е)-пропеніл]аміно]-1,2-О-метилен-D-нео-інозитол, (Z)-О-[(бензофуран-2-іл)метил]оксим;

5-Деокси-5-[[3-[4-[(2,6-дідеокси-β-D-еритро-гексофураноз-5-уло-1-іл)окси]-3-гідроксифеніл]-2-метил-1-оксо-2-(Е)-пропеніл]аміно]-1,2-О-метилен-D-нео-інозитол, (Z)-О-фенілметилоксим;

5-Деокси-5-[[3-[4-[(2,6-дідеокси-β-D-еритро-гексофураноз-5-уло-1-іл)окси]-3-гідроксифеніл]-2-метил-1-оксо-2-(Е)-пропеніл]аміно]-1,2-О-метилен-D-нео-інозитол, (Е)-О-фенілметилоксим;

- [illegible]

5-Деоокси-5-[[3-[4-[(2,6-дідеокси-β-D-еритро-гексофураноз-5-үлос-1-іл)окси]-3-гідроксифеніл]-2-метил-1-

[illegible]

5-Деоокси-5-[[3-[4-[(2,6-дідеокси-β-D-еритро-гексофураноз-5-уло-1-іл)окси]-3-гідроксифеніл]-2-метил-1

оксо-2-(Е)-пропеніл]аміно]-1,2-О-метилен-D-нео-інозитол, (Е)-О-[(2,3-дифторо-6-метоксифеніл)метил]оксим;

2-(Е)-пропеніл]аміно]-1,2-О-метилен-D-нео-інозитол, (Z)-О-[(5-хлоро-тіофен-2-іл)метил]оксим;

5-Деокси-5-[[3-[4-[(2,6-дідеокси-β-D-еритро-гексофураноз-5-уло-1-іл)окси]-3-гідроксифеніл]-2-метил-1-оксо-2-(Е)-пропеніл]аміно]-1,2-О-метилен-D-нео-інозитол, (Е)-О-[(3-хлоро-2,6-дифторофеніл)метил]оксим;

5-Деокси-5-[[3-[4-[(2,6-дідеокси-β-D-еритро-гексофураноз-5-уло-1-іл)окси]-3-гідроксифеніл]-2-метил-1-оксо-2-(Е)-пропеніл]аміно]-1,2-О-метилен-D-нео-інозитол, (Z)-О-[(3-хлоро-2,6-дифторофеніл)метил]оксим;

5-Деокси-5-[[3-[4-[(2,6-дідеокси-β-D-еритро-гексофураноз-5-уло-1-іл)окси]-3-гідроксифеніл]-2-метил-1-оксо-2-(Е)-пропеніл]аміно]-1,2-О-метилен-D-нео-інозитол, (Е)-О-[(2,4-дифторофеніл)метил]оксим;

5-Деокси-5-[[3-[4-[(2,6-дідеокси-β-D-еритро-гексофураноз-5-уло-1-іл)окси]-3-гідроксифеніл]-2-метил-1-оксо-2-(Е)-пропеніл]аміно]-1, 2-О-метилен-D-нео-інозитол, (Z)-О-[(2,4-дифторофеніл)метил]оксим;

та фармацевтично прийнятні солі, проліки та сольвати згаданих сполук.

Даний винахід також стосується фармацевтичних композицій для лікування розладів, вибраних з бактеріальної інфекції, протозойної інфекції та розладів, що супроводжують бактеріальні або протозойні інфекції, у ссавців, риб або птахів, які містять фармацевтично ефективну кількість сполуки формули 1 або її фармацевтично прийнятної солі та фармацевтично прийнятний носій.

Даний винахід також стосується способу лікування розладів, вибраних з бактеріальних інфекцій, протозойних інфекцій та розладів, що супроводжують бактеріальні та протозойні інфекції у ссавців, риб, птахів, котрий полягає у призначенні згаданому ссавцеві, рибі або птахові терапевтично ефективної кількості сполуки формули 1 або її фармацевтично прийнятної солі.

Термін "лікування", що використовується тут якщо не вказано інакше, означає реверсію, пом'якшування, інгібування прогресування або попередження розладу або стану, до якого цей термін відноситься, або одного або більше симптомів таких розладів або станів. Термін "лікування", що використано тут, стосується процесу лікування, такого "лікування" як зазначено безпосередньо вище.

Терміни або вирази, "бактеріальна(і) інфекція(і)", "протозойна(і) інфекція(і)" та "розлади, що супроводжують бактеріальні та протозойні інфекції", що використовуються тут, якщо не вказано інакше, включають наступні пневмонію середній отит, синусит, бронхіт, тонзиліт та мастоїдит, що відносяться до інфекцій, що викликаються *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *E. casseliflavus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* or *Peptostreptococcus* spp., фарингіт, ревматична лихоманка та гломерулонефрит, що відносяться до інфекцій, які викликаються *Streptococcus pyogenes*, стрептококи груп C і G, *Corynebacterium diphtheriae*, or *Actinobacillus haemolyticus*, респираторні інфекції, що відносяться до інфекцій, які викликаються *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Streptococcus pneumoniae* *Haemophilus influenzae*, or *Chlamydia pneumoniae*, інфекції крові та тканин, що включають ендокардит та остеомиєліт, що викликаються *S. aureus*, *S. haemolyticus*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*, у тому числі резистентні штами до відомих антибактеріальних агентів, які включають, але не обмежуються ними, бета-лактами, ванкомицін, аміноглікозиди, хінолони хлорамфенікол, тетрацикліни та макроліди, неускладнені інфекції шкіри та м'яких тканин, абсцеси та післяпологова лихоманка, пов'язані з інфекцією, що викликається *Staphylococcus aureus*, coagulase-negative staphylococci (тобто, *S. epidermidis*, *S. hemolyticus*, і т. Д.), *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, стрептококові групи C-F (minute-colony streptococci), viridans streptococci, *Corynebacterium minutissimum*, *Clostridium* spp., or *Bartonella henselae*; гострі неускладнені інфекції сечовивідних шляхів, що пов'язані з інфекціями, які викликаються *Staphylococcus aureus*, coagulase-negative staphylococcal species або *Enterococcus* spp., уретрити та цервіцити, захворювання, що передаються статевим шляхом що пов'язані з інфекціями, які передаються *Chlamydia trachomatis*, *Haemophilus ducreyi*, *Treponema pallidum*, *Ureaplasma urealyticum* or *Neisseria gonorrhoeae*, інтоксикація при захворюваннях що викликаються *S. aureus* (алиментарний токсикоз та синдром токсичного шоку), або стрептококові групи A, B та C виразки, що пов'язані з інфекціями, які викликаються *Helicobacter pylori*, генералізовані фебрильні синдроми що пов'язані з інфекціями, які викликаються *Borrelia recurrentis*, хвороба Лаймана що пов'язані з інфекціями, які викликається *Borrelia burgdorferi*, кон'юнктивіти, кератити та дакриоцистити що пов'язані з інфекціями, які викликаються *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *H. influenzae*, або *Listeria* spp., дисемінований пташиний туберкульоз (disseminated *Mycobacterium avium* комплекс (MAC)), захворювання, що пов'язані з інфекціями які викликаються *Mycobacterium avium*, or *Mycobacterium intracellulare*, інфекції що викликаються *Mycobacterium tuberculosis*, *M. leprae*, *M. paratuberculosis*, *M. kansasii*, or *M. chelonae*, гастроентерит, що викликається *Campylobacter jejuni*; інтестинальні протозойні інфекції, що викликаються *Cryptosporidium* spp.; одонтогенні інфекції, що викликаються viridans streptococci; персистентний кашель, що супроводжує інфекцію, яка викликається *Bordetella pertussis*; газова гангрена, що викликається *Clostridium perfringens* або *Bacteroides* spp.; та атеросклероз або кардіоваскулярні захворювання, що пов'язані з інфікуванням *Helicobacter pylori* або *Chlamydia pneumoniae*. Бактеріальні інфекції та протозойні інфекції та розлади, що пов'язані з такими інфекціями, котрі можуть підлягати лікуванню або профілактиці у тварин включно: бичача респираторна хвороба, що викликається *P. haemolytica*, *P. multocida*, *Mycoplasma bovis*, або *Bordetella* spp.; хвороби кишечника у корів, що викликаються інфікуванням простішими (i.e., coccidia, *Cryptosporidia*, etc.); мастити у корів, що виникають внаслідок інфікування *S. aureus*. *Strep. uberis*, *Streptococcus agalactiae*. *Streptococcus dysgalactiae*, *Corynebacterium* або *Enterococcus* spp.; респираторні інфекції у свиней, що виникають внаслідок інфікування *A. pleuro.*, *P. multocida*, або *Mycoplasma* spp.; кишкові хвороби у свиней, що виникають внаслідок інфікування *Lawsonia intracellularis*. *Salmonella*, або *Serpulina hyodysenteriae*; гнійне ураження ступнів, що виникає внаслідок інфікування *Fusobacterium* spp.; нарости волоссяного покриву, що виникають внаслідок інфікування *Fusobacterium necrophorum* або *Bacteroides nodosus*; рожеве око у корів, що виникає внаслідок інфікування *Moraxella bovis*; передчасні пологи у корів, котрі виникають внаслідок інфікування простішими (тобто neosporium); інфекції шкіри та м'яких тканин у собак та котів, що виникають внаслідок інфікування *S. epidermidis*, *S. intermedius*, coagulase neg. *Staphylococcus* або *P. multocida*; та інфекції зубів або ротової порожнини у собак та котів, що виникають внаслідок інфікування *Alcaligenes* spp., *Bacteroides* spp., *Clostridium* spp., *Enterobacter* spp., *Eubacterium*, *Peptostreptococcus*,

Porphyromonas, або Prevotella. Інші бактеріальні інфекції та протозойні інфекції та розлади, що пов'язані з такими інфекціями, котрі підлягають лікуванню або профілактиці згідно способу представленого винаходу згадуються в J. P. Sanford та ін., "The Sanford Guide To Antimicrobial Therapy," 26th Edition, (Antimicrobial Therapy, Inc., 1996).

Термін "гало", що використовується тут, якщо не вказано інакше включає хлор, фтор, або йод. Переважними галоїдами є фтор, хлор та бром

Термін "алкіл", що використовується тут, якщо не вказано інакше, включає насичені одновалентні вуглеводневі радикали що мають прямі або розгалужені залишки. Згадана алкільна група може містити один або два подвійних або потрійних зв'язків. Це означає, що для одержання в згаданій алкільній групі вуглець-вуглецевого подвійного або потрійного зв'язку потрібно принаймні два атоми вуглецю в цій алкільній групі.

Термін "арил", що використовується тут, якщо не вказано інакше, означає органічний радикал, одержаний з ароматичного вуглеводню, такого як феніл або нафтил, шляхом видалення одного атому водню.

Термін "4-10-членний гетероцикл", що використовується тут, якщо не вказано інакше, включає ароматичні та неароматичні гетероциклічні групи, що містять один або більше гетероатомів, вибраних з O, S та N, де кожна гетероциклічна група має 4-10 атомів у кільці. Неароматичні гетероциклічні групи включають групи, що мають тільки 4 атоми у їхній кільцевій системі, в той час як ароматичні гетероциклічні групи повинні мати принаймні 5 атомів у кільці. Гетероциклічні групи включають системи з приконденсованим бензольним кільцем та кільцеві системи, заміщені одним або більше оксо-залишками. Прикладом 4-членної гетероциклічної групи є азетидиніл (похідне азетидину). Прикладом 5-членної гетероциклічної групи є тiazоліл та прикладом 10-членної гетероциклічної групи є хінолініл. Прикладами неароматичних гетероциклічних груп є піролідиніл, тетрагідрофураніл, тетрагідротієніл, тетрагідропіраніл, тетрагідротіопіраніл, піперидино, морфоліно, тіоморфоліно, тіоксаніл, піперазиніл, азетидиніл, оксетаніл, тіетаніл, гомопіперидиніл, оксепаніл, тіепаніл, оксазепаніл, діазепаніл, тiazепаніл, 1,2,3,6-тетрагідропіридиніл, 2-пірролініл, 3-пірролініл, індолініл, 2Н-піраніл, 4Н-піраніл, диоксаніл, 1,3-диоксоланіл, піразолініл, дитіаніл, дитіоланіл, дигідропіраніл, дигідротієніл, дигідрофураніл, піразолідиніл, імідазолініл, імідазолідиніл, 3-азабіцикло[3.1.0]гексаніл, 3-азабіцикло[4.1.0]гептаніл, 3Н-індоліл та хінолізиніл. Прикладами ароматичних гетероциклічних груп є піридиніл, імідазоліл, піримідиніл, піразоліл, тiazоліл, піразиніл, тетразоліл, фурил, тієніл, ізоксазоліл, тiazоліл, оксазоліл, ізотiazоліл, піроліл, хінолініл, ізохінолініл, індоліл, бензімідазоліл, бензофураніл, циннолініл, індазоліл, індолізиніл, фталазиніл, піридазиніл, тiazиніл, ізоіндоліл, птеридиніл, пуриніл, оксадіазоліл, тіадіазоліл, фуразаніл, бензофуразаніл, бензотіофеніл, бензотiazоліл, бензоксазоліл, хіназолініл, хіноксалініл, нафтиридиніл та фуropіридиніл. Попередні групи, похідні від сполук, вказаних вище, можуть бути С-зв'язані або N-зв'язані, де це можливо. Наприклад, групою, одержаною з піролу, може бути пірол-1-іл (N-зв'язаний) або пірол-3-іл (С-зв'язаний).

Вираз "фармацевтично прийнятна(і) сіль(і)", що використовується тут, якщо не вказано інакше, означає солі кислотних або основних груп, які можуть бути представлені у сполуках даного винаходу. Сполуки даного винаходу, що є основними за природою, здатні утворювати значну кількість солей з різними неорганічними або органічними кислотами. Кислотами, що можуть бути використані для одержання фармацевтично прийнятних солей приєднання таких основних сполук є такі, що утворюють нетоксичні солі приєднання кислот, тобто солі, що містять фармакологічно прийнятні аніони, такі як гідрохлоридні, гідробромідні, гідродидні, нітратні, сульфатні, бісульфатні, фосфатні, кислі фосфатні, ізонікотинатні, лактатні, саліцилатні, цитратні, кислі цитратні, тартратні, пантотенатні, бітартратні, аскорбатні, сукцинатні, малеатні, гентизинатні, фумаратні, глюконатні, глюкуронатні, сахаратні, форматні, бензоатні, глутаматні, метансульфонатні, етансульфонатні, бензолсульфонатні, п-толуолсульфонатні та памоатні, тобто [1,1'-метилєн-біс-(2-гідрокси-3-нафтоатні)] солі. Сполуки даного винаходу, що містять основні залишки, такі як аміногрупи, можуть утворювати фармацевтично прийнятні солі з різними амінокислотами, крім кислот, згаданих вище.

Ті сполуки даного винаходу, що є кислотними за своєю природою, здатні утворювати основні солі з різними фармакологічно прийнятними катіонами. Приклади таких солей включають солі лужних або лужно-земельних металів, і зокрема, кальцієві, магнієві, натрієві та калієві солі сполук даного винаходу.

Сполуки даного винаходу мають асиметричні центри і, таким чином, існують в різних енантімерних та діастереомерних формах. Цей винахід стосується використання всіх оптичних ізомерів та стереоізомерів сполук даного винаходу, їх сумішей та всіх фармацевтичних композицій та способів лікування, що можуть використовувати або містити їх. У цьому аспекті винахід включає як Е, так і Z конфігурації -OR³ груп, зв'язаних з азотом, де R¹ та R², беруться разом, як оксим-група формули =N-OR³ Сполуки формули 1 можуть також існувати як таутомери. Цей винахід стосується використання таких таутомерів та їх сумішей.

Предмет винаходу також включає ізопоп-мічені сполуки та їх фармацевтично прийнятні солі, що є ідентичними сполукам формули 1, але при цьому один або більше атомів заміщені атомом, що має атомну масу або масове число, яке відрізняється від атомної маси або масового числа, які зазвичай зустрічаються в природі. Приклади ізопопів, що можуть бути введені у сполуки винаходу, включають ізопопи водню, вуглецю, азоту, кисню, фосфору, фтору та хлору, такі як ²H, ³H, ¹³C, ¹⁴C, ¹⁵N, ¹⁸O, ¹⁷O, ³⁵S, ¹⁸F та ³⁶Cl, відповідно. Сполуки даного винаходу, їх проліки та фармацевтично прийнятні солі згаданих сполук або проліків, котрі містять вищевказані ізопопи та/або інші ізопопи інших атомів, входять в межі даного винаходу. Певні ізопоп-мічені сполуки даного винаходу, наприклад, сполуки, в які введено радіоактивні ізопопи, такі як ³H та ¹⁴C, є корисними в тестах на вміст в тканинах ліків та/або субстрату. Трітійєві, тобто ³H, та вуглецеві-14, тобто ¹⁴C, ізопопи є особливо переважними, завдяки легкості їх одержання та визначення. Надалі, заміщення важкими ізопопами, такими як дейтерій, тобто ²H, може надавати певні терапевтичні переваги завдяки більшій метаболічній стабільності, наприклад, підвищення періоду напівжиття in vivo або зменшення необхідних доз і таким чином, може бути переважним в деяких випадках. Мічені ізопопами сполуки формули 1 цього винаходу та їх проліки можуть загалом бути виготовлені шляхом проведення процесу, розкритого у схемах та/або в прикладах та приготуваннях наведених нижче шляхом заміни реагентів, не мічених ізопопами, реагентами, міченими легко доступними ізопопами.

Цей винахід також стосується фармацевтичних композицій та методів лікування бактеріальних інфекцій шляхом призначення проліків сполук формули 1. Сполуки формули 1, що мають вільні аміно, амідно, гідрокси або карбоксильні групи, можуть бути перетворені у проліки. Проліки включають сполуки, у яких амінокислотний залишок або поліпептидний ланцюжок з двох або більше (наприклад, двох, трьох або чотирьох) залишків амінокислот є ковалентно зв'язаними через амідний або естерний зв'язок з вільною аміно, гідрокси або карбоксильною групою сполук формули 1. Амінокислотні залишки включають, але не обмежуються ними, 20 амінокислот, що зустрічаються у природі, які зазвичай позначаються трьома буквами, та також включають 4-гідроксипролін, гідроксилізін, демозин, ізодемозин, 3-метилгістидин, норвалін, бета-аланін, гамма-амінобутирову кислоту, цитрулін, гомоцистеїн, гомосерин, орнітин, метіонінсульфон.

В об'єм даного винаходу входять також додаткові типи проліків. Наприклад, вільні карбоксильні групи можуть одержані як амідні або алкілові ефіри. Амідні та ефірні залишки можуть об'єднувати групи, що включають, але не обмежуються ними, ефірні, аміні та карбоксильні групи. Вільні гідроксигрупи можуть бути одержані з використанням груп, що включають, але не обмежуються ними, гемісукцинати, фосфатні ефіри, диметиламіноацетати та фосфорилоксиметилкарбоніли, як описано в D. Fleisher, R. Bong, B.H. Stewart, *Advanced Drug Delivery Reviews* (1996) 19, 115. Карбаматні проліки гідрокси та аміногруп також включають, як карбонатні проліки, так і сульфат-ефіри гідроксигруп. Одержання гідрокси-груп, таких як в (алкокси)метиловому та (ацилокси)етиловому ефірах, де ацильна група може бути алкілефірною, необов'язково заміщеною групами, що включають, але не обмежуються ними, ефірну, амінну та карбоксильну групу, або де ацильна група є ефіром амінокислоти, як вказано вище, також включено в об'єм винаходу. Проліки цього типу описані в R.P. Robinson та ін., *J. Medicinal Chemistry* (1996) 39,10.

Селективне введення бокових ланцюгів проліків може бути проведено по гідроксигрупам ядра молекули гігromіцину А. Наприклад, повне силілювання шести гідроксигруп гігromіцину А може бути проведено, наприклад, з третбутилдиметилсиліл хлоридом. Дія карбонату калію на похідне гексасилілу в метанолі при кімнатній температурі селективно видаляє фенолсилільну групу, що в подальшому дає змогу селективної модифікації по цьому положенню.

Одержання сполук даного винаходу ілюструється наступною схемою.

Схема 1

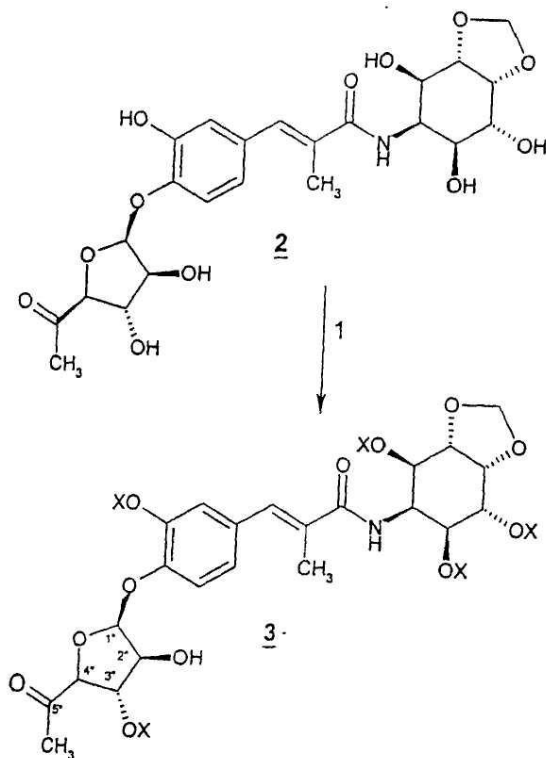


Схема 1 (продовження)

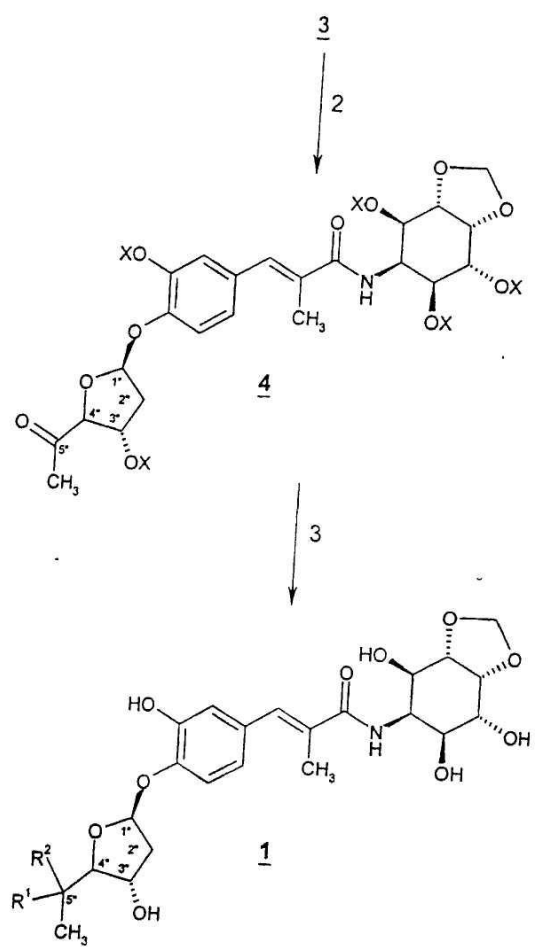
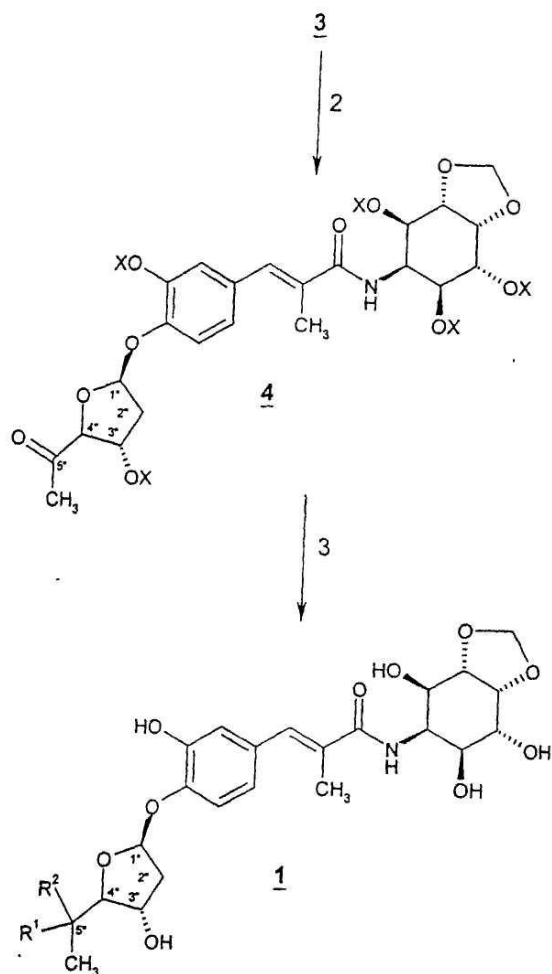


Схема 2



Сполуки даного винаходу легко одержати з огляду на схему, наведену вище, вихідною сполукою формули 2 є гігromіцин А, який може бути одержаний згідно з методиками, відомими фахівцю в даній галузі, такими як ферментація *Streptomyces hygroscopicus* NRRL 2388. Метилкетон на фуранозному цукрі молекули гігromіцину А може існувати в S конфігурації (гігromіцин А) або R конфігурації (епі-гігromіцин) на фуранозному цукрі. Коли опубліковані протоколи використовувались як модель для ферментації та вилучення гігromіцину А (патент US. 3,100,176, Antibiotic Chemotherapy (1953)3:1268-1278, 1279-1282), гігromіциновий продукт являв собою суміш у приблизному співвідношенні 3:1 гігromіцину А (4''-(S) епімер) з бета-орієнтованим метилкетонем на фуранозному цукрі, як намальовано, та епі-гігromіцин. З літератури відомо (Journal of Antibiotics 33(7), 695-704, 1980), що чистий гігromіцин А в лужному середовищі буде перетворюватися в епі-гігromіцин. Ретельним контролем рН нижче 6.9 на протязі ферментації та витримкою рН, температури та розчинника на протязі процесу очищення кінцевий вилучений продукт міг бути покращений принаймні до співвідношення 14:1 гігromіцин А епі-гігromіцин. Використовуючи цей матеріал, можуть бути одержані суттєво чисті ізомери, похідні від 4''-(S) гігromіцину, як шаблони для подальшої синтетичної модифікації.

Гігromіцин А, збагачений на 4''-(S) епімер одержують ферментацією *Streptomyces hygroscopicus* NRRL2388, або їх мутантів, в середовищі, в якому рН підтримується нижче, ніж 6.9, переважно від 6.2 до 6.7, на протязі усього процесу. Середовище містить здатні до засвоєння джерела вуглецю, азоту та мікроелементів, відомі фахівцю в даній галузі. Ферментація проходить при температурі близько 25-35°C, переважно при 29°C. Процес ферментації контролюють хроматографією, наприклад, рідинною хроматографією високого тиску. Інкубацію продовжують доти, доки вихід сполуки не досягне максимуму, зазвичай протягом періоду близько від 3 до 10 днів, зазвичай від 4 до 6 днів.

Утворення епі-гігromіцину зводять до мінімуму в процесі очищення шляхом використання водного буферу (швидше, ніж незабуференої води) та контролювання рН активних потоків близько 6.0. Утворення епі-гігromіцину також зводять до мінімуму мінімазацією часу, протягом якого одержаний матеріал піддається впливу високих температур. Таким чином, коли необхідно зменшити концентрацію розчинника, переважно розбавляти активні потоки водним буфером та використовувати роторний випаровувач при підвищених температурах. Також, як засіб, що дозволяє уникнути підвищених температур, може бути використана колонка, наповнена смолою, для концентрування активного розчину перед стадією кінцевого очищення для того, щоб зменшити об'єм розчину, що потребує кип'ятіння. Кінцевою стадією очищення в процесі є концентрування активних фракцій до твердих речовин з використанням вакууму та температури бані близько 35-50°C. Період, протягом якого розчин піддається впливу підвищених температур, може бути зменшений шляхом кип'ятіння по стадіям.

Сполуки формули 1 можуть бути одержані зі сполук формули 4. В цьому процесі сполуку формули 3 (в якій X є захисною групою, як описано нижче) одержують захистом всіх з гідроксигруп гідроміцину А, за винятком гідрокси на 2" вуглецю (C-2"), як їх силільні ефіри, використовуючи придатний реагент, такий як триетилсилілхлорид (TESCl), триметилсилілхлорид (TMSCl) або трет-бутилдиметилсилілхлорид (TBDMSCl). В переважному способі використовують 10екв. TBDMSCl та імідазолу в N,N-диметилформаміді (DMF) при температурі 25-40 °C протягом 12-36 годин. Потім одержують сполуку формули 4 видаленням гідрокси-групи з використанням способу, описаного Barton та ін. J.Chem.Soc, Perkin Trans. 11975, 1574. Переважним способом у цьому випадку є спосіб Genu-Dellas та ін., Carbohydrate Res. 1991, 216, 249.

Сполуки формули 1, в якій R¹ та R², взяті разом, утворюють оксим формули =NOR³, де R³ має значення, вказані вище, можуть бути одержані обробкою сполуки формули 4 гідроксиламіном формули R³ONH₂, використовуючи вільну основу або сіль гідроксиламіну, переважно вільну основу гідроксиламіну. Реакцію проводять в інертному розчиннику, такому як метанол з додаванням основи, такої як K₂CO₃, якщо використовується сіль гідроксиламіну, наприклад HCl сіль, при температурі в межах близько від 0°C до 65°C, переважно від 0°C до 25°C. Захисні групи потім видаляють за допомогою кислоти, такої як оцтова кислота, фтороводнева, фтороводнево-піридиновий комплекс або джерело фтору, таке як тетрабутиламонійфторид (TBAF). Гідроксиламін формули R³ONH₂ може бути одержаний з використанням одного або більше способів, описаних в Bioconjugate Chemistry (1990), 2, 96; Journal of Pharmaceutical Science (1969) 58, 138; та Chem. Pharm. Bull. (1967) 15, 345.

Сполуки формули 1, в якій R¹ та R², взяті разом, утворюють кетон формули =O, можуть бути одержані обробкою сполуки формули 4 кислотою, такою як оцтова кислота, фтороводнева, фтороводнево-піридиновий комплекс або джерело фтору, таке як тетрабутиламонійфторид (TBAF), переважно фтороводнево-піридиновий комплекс.

Сполуки формули 1, в якій R¹ являє собою H і R² являє собою -NR³R⁴, де R³ та R⁴ є такими, як вказано вище, можуть бути синтезовані відновним амінуванням по C-5" кетонів до сполуки формули 4. Сполучення R⁴NH₂, та сполуки формули 4 в інертному розчиннику та обробка відновним агентом, таким як NaBH₄, NaBH(OAc)₂ (Ac є ацетил) або NaCNBH₃, забезпечує одержання продукту з R³ = H. Щоб перетворити R³ в групу, іншу ніж H, повинно бути проведено друге відновне амінування з придатним альдегідом (або кетоном) формули R³C(O)H. Може бути використана реакція Eschweiler-Clark для введення метильної групи як R³ замісника. Для забезпечення амідної групи, такої, в якій R¹ являє собою H і R² являє собою -NR⁴C(O)R³, амін формули -NHR⁴ може бути введений, як описано вище, і потім може бути введений ацильний залишок формули -C(O)R³ обробкою проміжної сполуки активованою формою карбонової кислоти, такою як R³COC(=O)OC(O)R³, або використанням зв'язуючого амід агенту, такого як (2-етокси-1-етоксикарбоніл-1,2-дигідрохінолін (EEDQ), 1,1'-карбоніл-діімідазол (CDI), або карбодіімід, такий як 1,3-дициклогексилкарбодіімід (DCC). Для всіх вище згаданих процесів захисні групи видаляються кислотою, такою як оцтова кислота, фтороводнева, фтороводнево-піридиновий комплекс або джерело фтору, таке як TBAF на кінцевій стадії.

Сполуки формули 1, в якій R¹ являє собою H і R² являє собою -NR⁴C(O)R³, де R⁴ являє собою H і R³ має значення, вказані вище, можуть бути одержані шляхом використання первинного аміну, одержаного на стадії відновного амінування сполуки формули 4 амонієвим еквівалентом, наприклад, використовуючи ацетат амонію та ціаноборогідрид натрію або триацетоксиборогідрид натрію. Альтернативно такий первинний амін може бути отриманий через відповідний азид: 1) C-5" кетон сполуки формули 4 відновлюють, наприклад, борогідридом натрію; 2) одержаний спирт перетворюють в месилат, наприклад, шляхом взаємодії метансульфонілхлориду та триетиламіну; 3) месилат заміщують азидом, наприклад, використовуючи азид натрію в DMF; та 4) азид відновлюють до первинного аміну, використовуючи, наприклад, трифенілфосфін з наступним водним гідролізом.

Реакція первинного аміну з активованою формою R³C(O)OH, наприклад, R³C(O)Cl або R³C(O)OC(O)R³, приводить до утворення відповідного амід. Альтернативно, амід-сполучаючі агенти можуть бути використані з R³C(O)OH, такі як 1-(3-диметиламінопропіл)-3-етил-карбодіімід (EDC), діетилфосфорилціанід (DEPC), DCC, CDI або EEDQ. В кінці будь-які захисні групи видаляються з використанням кислоти, такої як оцтова кислота, фтороводнева, фтороводнево-піридиновий комплекс або фторид-іону, такого як TBAF.

Для введення R⁴ групи, іншої ніж H, амід, згаданий вище, може бути алкілований після захищення будь-яких вільних гідроксильних груп, наприклад, силілетери. Алкілювання може бути проведено з основою та алкілюючим агентом, таким як гідрид натрію, та придатним бромідом формули R⁴-Br. Зняття захисту з гідроксильних потім проводять з кислотою, такою як оцтова кислота, фтороводнева, фтороводнево-піридиновий комплекс, або фторид-іон, такий як TBAF.

Альтернативно, відновне амінування може бути проведено на сполуці формули 4 або її захищеному варіанті за допомогою R⁴NH₂, за участю триацетоксиборогідриду натрію або ціаноборогідриду натрію. Одержаний вторинний амін може бути ацильований, як описувалося вище, за допомогою активованої форми R³C(O)OH або підданий реакції з R³C(O)OH, використовуючи амід-зв'язуючий реагент. Зняття захисту з гідроксильних груп проводять потім як описано вище.

З посиланням на Схему 2 сполуки формули 1, в якій R¹ являє собою H і R² є -OR³, де R³ являє собою алкільну групу або заміщену алкільну групу, можуть бути одержані алкілюванням відповідного спирту сполуки формули 5 (де X являє собою захисну групу, як описано вище), в якій R¹ являє собою гідроксил і R² являє собою водень. В цьому процесі C-5"кетонний залишок сполуки формули 4 відновлюють, використовуючи придатний відновний агент, такий як борогідрид натрію. Одержаний C-5" спирт потім може бути алкілований за допомогою R³-Z, де Z являє собою відхідну групу, таку як Cl, Br, J або метансульфонат, в присутності основи, такої як гідрид натрію або трет-бутоксид калію. Захисні групи потім видаляють кислотою, такою як оцтова кислота, фтороводнева, фтороводнево-піридиновий комплекс або джерело фтору, таке як TBAF.

Сполуки формули 1, в якій R¹ являє собою H і R² являє собою -OR³, де R³ являє собою ароматичний або гетероциклічний залишок, можуть бути одержані реакцією Mitsunobu C-5" спирт, одержаний як описано вище, піддають реакції Mitsunobu з R³OH за участю трифенілфосфіну та діетилазодикарбоксилату. З одержаного

етеру знімають захист, як описано вище.

Альтернативно, коли R^1 - являє собою H та R^2 являє собою $-OR^3$, де R^3 являє собою ароматичний або гетероциклічний залишок, C-5" спирт, одержаний зі сполуки формули може бути перетворений у відхідну групу, наприклад, бромідне або месилатне похідне. Відхідна група може потім бути заміщена R^3OH , використовуючи основу, таку як натрійгідрид, трет-бутоксид калію або карбонат калію.

Сполуки формули 1, де R^1 являє собою H і R^2 являє собою $-OC(O)NR^3R^4$ можуть бути одержані взаємодією C-5" спирту, одержаного зі сполуки формули 5, як описано вище, з ізоціанатом R^3NCO в толуолі при температурах від $40^\circ C$ до $110^\circ C$, переважно $50-80^\circ C$. Може бути корисним додавання диметиламінопіридину та триетиламіну до реакційної суміші. Продукт цієї реакції, в якому R^4 являє собою H, може бути алкілований з одержанням R^4 , що дорівнює C_1-C_{10} алкілу, шляхом використання основи, такої як гідрид натрію, та алкілюючого агенту, такого як бромід формули R^4-Br . Зняття захисту з гідроксильних груп може бути потім проведено з використанням фторид-іону, такого як TBAF.

Сполуки формули 1, в якій R^1 та R^2 , взяті разом, утворюють $=CR^4C(O)R^3$, $=CR^4C(O)OR^3$, або $=CR^4C(O)NR^3R^4$, де R^3 та R^4 є такими, як вказано вище, можуть бути одержані через відповідні α,β -ненасичені естерні проміжні сполуки, одержані шляхом Wittig або Horner-Emmons Wittig олефінізації C-5" кетону сполуки формули 4. Наприклад, (карбетоксиметил)трифенілфосфоран або (карбетоксиетил)трифенілфосфоран може взаємодіяти зі сполукою формули 4 з утворенням ненасиченого етилового естеру. Гідролізом такого естеру, наприклад з гідроксидом натрію, одержують відповідну карбонову кислоту (сполука формули 5, в якій R^1 and R^2 , взяті разом, утворюють $=CHC(O)OH$). В цей момент гідроксильні групи, які були вивільнені на попередній стадії, можуть бути захищені, наприклад, як їх TES або TBDMS естери. Для одержання естерів, описаних вище, такі карбонові кислоти можуть бути естерифіковані з R^3OH , наприклад шляхом дії DCC та 4-диметиламінопіридину (DMAP), або CDI та каталітичної основи, такої як натрійетоксид. Зняття захисту з гідроксильних груп потім проводять кислотою такою як оцтова кислота, фтороводнева, фтороводнево-піридиновий комплекс, або фторид-іон, такий як TBAF.

Сполуки формули 1 в якій R^1 та R^2 взяті разом, утворюють $=CR^4C(O)NR^3R^4$ можуть утворюватися шляхом обробки вищезгаданого похідного карбонової кислоти (сполуки формули 5, в якій R^1 та R^2 взяті разом, утворюють $=CHC(O)OH$) з аміном формули R^3NH_2 з використанням амідного зв'язуючого агенту, такого як DCC, CDI, EEDQ, DEPC або EDC. На захищене похідне R^4 може бути введено через алкілювання, наприклад, з основою, такою як гідрид натрію або трет-бутоксид калію та алкілюючим агентом, таким як R^4-X , де X являє собою Br, Cl або метансульфонат. Наступне зняття захисту з гідроксильних груп проводять як описано вище.

Кетон формули 1 (R^1 та R^2 , взяті разом, утворюють $=CR^4C(O)R^3$) можуть бути одержані або безпосередньо реакцією Wittig або Horner-Emmons сполуки формули 4 з, наприклад, відповідним $R^3C(O)CHR^4-PPh_3$ (Ph є феніл) або $R^3C(O)CHR^4-P=O(OEt)_2$ (Et є етил) реагентом. Альтернативно, сполука формули 5, в якій R^1 and R^2 , взяті разом, утворюють $=CHC(O)OH$, може бути перетворена в Weinreb амід, наприклад, шляхом обробки з CDI та N,O-диметилгідроксиламіном. Такий амід потім може бути уведений в реакцію з R^3-M , де M являє собою іон металу, такого як Li або MgBr, з утворенням кетону. Альдегід (кетонна структура, в якій R^3 являє собою H) може бути одержаний реакцією Weinreb амиду з джерелом гідриду, таким як діізобутилалюмінійгідрид (DIBAL) або $LiAlH_4$. Сполуки формули 1, в якій R^1 та R^2 , взяті разом, утворюють $=CR^4R^3$, де R^3 та R^4 є такими, як вказано вище, можуть бути одержані реакцією Wittig або Horner-Emmons з одержанням $R^4-CH(PPh_3)-R^3$ або $R^4-CH(P=O(OEt)_2)-R^3$ зі сполукою формули 4. Захисні групи потім можуть бути видалені як описано раніше.

Альтернативно, або кетон або альдегід формули 5, в якій R^1 та R^2 , взяті разом, утворюють $=CR^4C(O)R^3$ та $=CR^4C(O)H$, відповідно, можуть бути використані як проміжні сполуки. Такі сполуки можуть бути одержані реакцією Wittig або Horner-Emmons з оксигенованою сіллю трифенілфосфонію або фосфораном, таким як $Ph_3P-C(R^3)OMe$ (Me є метил). Одержаний енольний етер може бути гідролізований слабою кислотою, такою як оцтова кислота або розбавлена HCl, з одержанням альдегіду або кетону. Альдегід або кетон потім можуть бути введені в реакцію з органометалічним похідним R^4-M , де M є, наприклад, Li або MgBr, з одержанням відповідного спирту, який може дегідрований під дією метансульфонілхлориду з одержанням відповідного олефіну. Зняття захисту, як описано вище, забезпечує потім одержання сполуки формули 1, в якій R^1 та R^2 , взяті разом, утворюють $=CR^4R^3$.

Сполука формули 1, в якій R^1 та R^2 , взяті разом, утворюють $=CR^4R^3$ та R^4 являє собою арил або гетероарил і R^3 не є воднем, може бути одержана з використанням процесу, каталізованого паладієм. Перетворення сполуки формули 5, в якій R^3 являє собою $-CH(COR^3)$ в активований енольний етер, наприклад, енольний трифлат, забезпечує одержання проміжної сполуки, яка може сполучатися в каталізованому паладієм процесі Suzuki або Stille-типу з арильними або гетероарильними борними кислотами $R^4B(OH)_2$ або арильних сполук олова, наприклад, R^4SnMe_3 або R^4SnBu_3 (Bu є бутіл) з одержанням ненасичених арильних похідних. Наступне зняття захисту забезпечує одержання кінцевої сполуки.

Сполуки даного винаходу мають асиметричні атоми вуглецю. Такі діастереомерні суміші можуть бути розділені на їх індивідуальні діастереомери на основі їх фізико-хімічних відмінностей методами, відомими фахівцю в даній галузі, наприклад, хроматографією або фракційною кристалізацією. Всі такі ізомери, включаючи діастереомерні суміші, розглядаються як частина винаходу.

Сполуки даного винаходу, що є основними за природою, здатні утворювати велику кількість солей з неорганічними та органічними кислотами. Хоча такі солі повинні бути фармацевтично прийнятні для призначення тваринам, на практиці часто бажано спочатку виділити сполуку даного винаходу із реакційної суміші як фармацевтично неприйнятну сіль і потім просто перетворити останню у вільну основу обробкою лужним реагентом з наступним перетворенням вільної основи у фармацевтично прийнятну сіль приєднання кислоти. Солі приєднання кислоти основних сполук даного винаходу легко одержуються обробкою основної сполуки суттєво еквівалентною кількістю вибраної мінеральної або органічної кислоти у водному середовищі або в придатному органічному розчиннику, такому як метанол або етанол. При обережному випаровуванні розчинника легко одержується бажана тверда сіль. Бажана кисла сіль також може бути осаджена з розчину вільної основи в органічному розчиннику додаванням до розчину придатної мінеральної або органічної

кислоти.

Такі сполуки даного винаходу, що є кислими за природою, здатні утворювати основні солі з різними фармакологічно прийнятними катіонами. Приклади таких солей включають солі лужних та лужно-земельних металів і особливо натрієві і калієві солі. Ці солі одержують загальноновживаними методами. Хімічними основами, що використовуються як реагенти для одержання фармацевтично прийнятних солей даного винаходу, є такі, які утворюють нетоксичні основні солі з кислими сполуками даного винаходу. Такі нетоксичні основні солі включають солі, одержані з такими фармакологічно прийнятними катіонами як натрій, калій, кальцій та магній і т.ін. Ці солі можуть бути легко отримані обробкою відповідних кислих сполук водним розчином, що містить необхідний алкоксид лужного металу або гідроксиду металу з наступним випарюванням одержаного розчину до сухого стану, переважно при зменшеному тиску. Альтернативно, вони можуть бути також одержані змішуванням слабколужних розчинів кислих сполук та необхідного алкоксиду лужного металу або гідроксиду металу разом з наступним випарюванням одержаного розчину до сухого стану таким же чином, як і раніше. В будь-якому випадку застосовується переважно стехіометрична кількість реагентів для того, щоб провести реакцію до кінця і отримати максимальний вихід бажаного кінцевого продукту.

Антибактеріальна активність сполук даного винаходу проти бактеріальних патогенів ілюструється здатністю сполук інгібувати розвиток певних штамів патогенів.

Випробування

Випробування, описані нижче, використовують загальноновживану методологію та критерії інтерпретації і призначені для забезпечення напрямку хімічних модифікацій, що можуть привести до сполук з антибактеріальною активністю проти чутливих та резистентних до ліків мікроорганізмів, включаючи, але не обмежуючись ними, бета-лактами, макроліди та ванкомицін-резистентні. У випробуванні список бактеріальних штамів включає велику кількість патогенних видів, у тому числі представників резистентних до антибіотиків бактерій. Використання цього списку дає можливість встановити взаємозв'язок між хімічною структурою та активністю, який повинен бути визначений по відношенню до сили та спектру дії. Випробування виконується у мікротитрованих тарілках та інтерпретується згідно Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests - Sixth Edition; Approved Standard, опублікованому The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) guidelines; мінімальна інгібуєча концентрація (MIC) використовується для порівняння штамів. Сполуки спочатку розчиняли у диметилсульфоксиді (DMSO), як основному розчиннику.

Активність сполук представленого винаходу може бути визначена згідно з реплікаторною методикою Steers, яка є стандартом *in vitro* бактеріального методу тестування, описаного Steers та ін., Antibiotics and Chemotherapy 1959, 9, 307.

Активність сполук представленого винаходу *in vivo* може бути визначена загальноприйнятими захисними дослідженнями на тваринах, добре відомими фахівцю в даній галузі, що зазвичай виконуються на гризунах.

Згідно з однією *in vivo* моделлю, сполуки оцінюють на моделях мишей за їх ефективністю по відношенню до гострої бактеріальної інфекції. Приклад однієї такої *in vivo* системи передбачає наступне. Мишей (CF1 миші обох статей; 18-20г) розподіляли по клітках та давали можливість акліматизуватися протягом 1-2 днів перед тим, як їх вводили в дослідження. Гостру інфекцію викликали інтраперитонеальною інюкуляцією бактерій (*Staphylococcus aureus* штам 01A1095), суспендованих у 5% стерильному свинячому шлунковому муцині. Матеріал для щеплення готували шляхом вирощування культури протягом ночі при температурі 37°C на кров'яному агарі, збираючи одержану на поверхні культуру разом із стерильним інфузійним бульйоном з тканин серця та мозку та доводячи цю суспензію до каламутності таким чином, щоб при розведенні 1:10 в 5% стерильному свинячому шлунковому муцині викликала 100% летальність.

Миші (10 у групі) оброблялись підшкірно, через 0.5 години та 4 години після інфікування. Відповідні необроблені (інфіковані, але не ліковані) та позитивні (ванкомицін або міноциклін і т.п.) контрольні групи включалися в кожне дослідження. Відсоток виживших тварин фіксували після 4-денного обсерваційного періоду; PD₅₀ (мг/кг/доза, розраховані для захисту 50% інфікованих тварин) визначали пробіт-способом.

Сполуки даного винаходу та їх фармацевтично прийнятні солі (надалі "активні сполуки") можуть бути призначені орально, парентерально, місцево або ректально при лікуванні бактеріальних і протозойних інфекцій. Загалом, ці сполуки найбільш бажано призначати інтервали доз від 0.2мг/кг маси тіла на добу (мг/кг/день) до близько 200мг/кг/день в разовій або розподілених дозах (тобто від 1 до 4 доз на день), хоча варіації будуть обов'язково траплятися в залежності від видів, маси та стану суб'єктів, що лікувалися та особливо від вибраного шляху призначення. Однак, найбільш бажано застосовувати рівень доз, що лежить в межах від приблизно 3мг/кг/день до приблизно 60мг/кг/день. Однак, варіації можуть траплятися в залежності від видів ссавців, риб або птахів, яких лікують, та їхньої індивідуальної відповіді на згаданий медикамент, а також від типу вибраного фармацевтичного складу та періоду часу і інтервалу, протягом якого таке призначення виконано. В деяких випадках рівні доз, нижчі нижньої межі вищезгаданого інтервалу, може бути більш ніж адекватними, в той час як в інших випадках можуть використовуватись ще більші дози без випадків шкідливих побічних ефектів, завдяки тому, що такі високі дози спочатку розділяють на декілька малих доз для призначення на протязі всього дня.

Активні сполуки можуть бути призначені самостійно або в комбінації з фармацевтично прийнятними носіями або розчинниками шляхами, вказаними раніше і таке призначення може бути проведено однією або багаточисельними дозами. Більш конкретно, активні сполуки можуть бути призначені у великій кількості різних лікарських форм, тобто вони можуть бути комбіновані з різними фармацевтично прийнятними інертними носіями у формі таблеток, капсул, лозенгів, трочек, твердих цукерок, порошків, аерозолів, кремів, бальзамів, свічок, желе, гелів, паст, лосьйонів, мазі, водних суспензій, ін'єкційних розчинів, еліксирів, сиропів та ін. Такі носії включають тверді розбавники або наповнювачі, стерильне водне середовище та різні нетоксичні органічні розчинники і т.д. Крім того, оральні фармацевтичні композиції можуть бути прийнятно підсоложені та/або ароматизовані. Загалом, активні сполуки представлені в таких лікарських формах при рівнях концентрацій в межах від приблизно від 5,0% до близько 70% по масі.

Для орального призначення таблетки, що містять різні екціпієнти, такі як мікрокристалічна целюлоза,

цитрат натрію, карбонат кальцію, дикальцій-фосфат та гліцин, можуть бути використані з різними дезінтеграторами такими як крохмаль (переважно кукурудзяний, картопляний або тапіоковий), альгінова кислота та певні комплексні силікати, разом зі зв'язуючими грануляції, такими як полівінілпірролідон, сахароза, желатин та гуміарабік. Додатково, змащувальні агенти такі як магній стеарат, натрію лаурилсульфат та тальк є дуже часто корисними для цілей таблетування. Тверді композиції подібного типу можуть також бути використані як наповнювачі у желатинових капсулах; переважні матеріали в зв'язку з цим включають лактозу або молочний сахар, а також і високомолекулярні поліетиленгліколи. Якщо для орального призначення бажані водні суспензії та/або еліксири, активна сполука може комбінуватися з різними підсолоджувачами або ароматизаторами, забарвлюючими речовинами або барвниками та, якщо бажано, емульгуючими та/або суспендуючими агентами, а також разом з такими розбавниками, як вода, етанол, пропіленгліколь, гліцерин та різними комбінаціями їх.

Для парентерального призначення можуть використовуватись розчини активної сполуки або в кунжутному або арахісовому маслі або у водному етанолі або в пропіленгліколі. Використання похідних циклодекстрину, таких як β -циклодекстрину сульфобутиловий етер, натрієва сіль. (див. патент US 5,134,127) можуть також бути корисним. Водні розчини повинні бути прийнятно забуферені, якщо необхідно, а рідкий розчинник спочатку роблять ізотонічним. Ці водні розчини є прийнятними для цілей внутрішньовенного введення. Масляні розчини є прийнятними для внутрішньосуглобових, внутрішньом'язових та підшкірних ін'єкцій. Виготовлення всіх цих розчинів в стерильних умовах легко виконується шляхом стандартної фармацевтичної техніки, добре відомої фахівцю в даній галузі.

Крім того, також можливо місцеве призначення активних сполук представленого винаходу і це може реалізовано у вигляді кремів, желе, гелів, паст, пластирів, мазей і т.ін. згідно зі стандартами фармацевтичної практики.

Для призначення тваринам, іншим ніж люди, таким як велика рогата худоба або домашні тварини, активні сполуки можуть призначені з їжею або орально, як лікарські форми для тварин.

Активні сполуки можуть бути також призначені у вигляді ліпосомних вивільняючих систем, таких як маленькі одношарові везикули, великі одношарові везикули та багатошарові везикули. Ліпосоми можуть бути утворені з різних фосфоліпідів, таких як холестерол, стеариламін або фосфатиділхолін.

Активні сполуки можуть бути зв'язані з розчинними полімерами, такими як цільові носії ліків. Такі полімери можуть включати полівінілпірролідон, пірановий співполімер, полігідроксипропілметакриламід феніл, полігідроксиетиласпартамід-фенол або поліетиленоксид-полілізін, заміщений пальмітоїльними залишками. Більш того, активні сполуки можуть бути зв'язані з класом полімерів, що біорозкладаються, які є корисними для досягнення контрольованого вивільнення ліків, наприклад, полімолочна кислота, полігліколева, співполімери полімолочної та полігліколевої кислоти, поліепсілонкапролактон, полігідроксибутирова кислота, поліортоестери, поліацеталі, полідигідропірани, поліціаноакрилати та поперечно-зшиті або амфіпатичні блок-співполімери гідрогелів.

Представлений винахід надалі описується та ілюструється у приготуваннях та прикладах, описаних нижче. У приготуваннях та прикладах під "rt" розуміють кімнатну або температуру навколишнього середовища в межах близько 20-25°C.

Приготування 1

П'ять (5)мл замороженої сери (зберігалась при -800 °C в 20% гліцерин/80% середовищі інокуляції) культури *Streptomyces hygroscopicus* NRRL 2368 використовували для інокуляції 1л гігromіцинового інокулятного середовища (Corn Products Corp целюлоза 13г/л, Hubinger крохмаль 7г/л, Roquette кукурудзяні розмочені тверді частинки 3г/л, Sheffield Brand Products NZ Амін YTT 7г/л, Baker $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,002г/л, KH_2PO_4 0,7г/л, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.3г/л, сульфат амонію 0,7г/л, Dow Chemical P2000 протиспінювач 1крап/колба, Colfax соєве масло 2крап/колба, pH до 7.0 перед автоклавом) в 2,8л Fembach колбі. Культуру вирощували протягом 3 днів при 29°C при перемішуванні зі швидкістю 200об/хвил на шейкері з 2-дюймовим ексцентриситетом. Вирощена культура була використана для інокуляції 8л стерильного гігromіцинового ферментаційного середовища (Albaglos карбонат кальцію 1г/л, Sheffield Brand Products NZ амін YTT 5г/л, Hubinger's крохмаль 20г/л Archer Daniels Midland нутрісоєве борошно 10г/л, Dow Chemical P2000 протиспінювач 1мл/л, Baker $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,002г/л, Colfax соєве масло 2мл/л, целюлоза 10г/л, NaCl 5г/л, pH до 7.0 перед автоклавом) у 14-літровому вібраційному ферменторі (New Brunswick Microferm, New Brunswick, New Jersey), оснащеному двома 4,75-дюймовими Rushton лопатями, на відстані 3,75 дюймів один від одного. Бульйон інкубували при 29°C зі швидкістю аерції 8л/хвил, та з перемішуванням зі швидкістю 800об/хв. Щоб звести до мінімуму утворення епігігromіцину, pH підтримували між 6.5 та 6.9 протягом 126 годин, потім від 6.2 до 6.6 за допомогою H_2SO_4 (15%) до кінця циклу. Ферментація була зібрана після 143 годин загальної інкубації. У цей час співвідношення гігromіцину А до епігігromіцину становило 31:1.

Шість літрів бульйону вищевказаної ферментації центрифугували при 8000об/хв приблизно 15 хвилин. Після центрифугування гранули відкидали і надосадову рідину (при pH 6.4, проаналізовану за допомогою HPLC до вмісту приблизно 4.12 gms активності гігromіцину А) були завантажували у колонку, заповнену 500 gms XAD-16 смоли (Rohm та Haas (Philadelphia, Pennsylvania)). Смоли попередньо приводили у рівновагу двома об'ємами 25мМ розчину динатрійфосфату, pH 6,0 ("буфер"). Після завантаження колонку промивали 2-кратним об'ємом буферу та 2-кратним об'ємом суміші 80/20 буфер/метанол та елюювали 5 кратними об'ємами 50/50 буфер/метанол. Фракції аналізували за допомогою HPLC і фракції, що містили велику ефективну концентрацію (2.730г гігromіцину А), об'єднували.

Частину цього XAD-16 елюату (приблизно 800мг гігromіцину А) розбавляли 10% метанолом шляхом додавання 1,8 літрів буферу та завантажували у 100мл CG-161 колонку (TosoHaas (Montgomeryville, Pennsylvania)), яка збалансовували 4-кратними об'ємами суміші 90/10 буфер/метанол. Продукт елюювали 6-кратними об'ємами 50/50 суміші буфер/метанол. Фракції аналізували за допомогою HPLC і активні фракції об'єднували. Об'єднану фракцію випарювали до сухого стану, і проаналізовані тверді залишки мали приблизно 65% чистоту за вагою. Малу частину цих твердих речовин переносили для випробування.

Близько 500мг твердих речовин змішували з 500мл води та 500мл етилацетату та перемішували 20хв. Два прошарки відокремлювали та частину водного прошарку висушували до твердої речовини, аналіз якої показав приблизно 52% чистоту за вагою. Обидві тверді фракції (#34945-280-1 та 281-1) аналізували за допомогою NMR та TLC і було визначено, що вони містять ефективну концентрацію гігromіцину А. Крім того, NMR показав співвідношення гігromіцин А/епі-гігromіцин приблизно 15:1.

Приготування 2

П'ять (5)мл замороженої серії (зберігалась при -800 °C в 20% гліцерин/80% середовищі інокуляції) культури *Streptomyces hygroscopicus* NRRL 2368 використовували для інокуляції 1л гігromіцинового інокулятного середовища (CPC International inc. церело́за 13г/л, Hubinger крохмаль 7г/л, Roquette кукурудзяні розмочені тверді частинки 3г/л, NZ Амін УТТ 7г/л, Baker $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,002г/л, KH_2PO_4 0,7г/л, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.3г/л, сульфат амонію 0,7г/л, Dow Chemical P2000 протиспінювач 1 краплі/колба, Colfax соєве масло 2краплі/колба, рН до 7.0 перед автоклавом) в 2,8л Fembach колбі. Культуру вирощували протягом від 2 до 3 днів при 29°C при перемішуванні зі швидкістю 200об/хвил на шейкері з 2-дюймовим ексцентриситетом. Два ферментера з нержавіючої сталі об'ємом п'ятсот галлонів були завантажували 380-400 галлонами гігromіцинового ферментаційного середовища (Mineral Technologies карбонат кальцію 1г/л, Sheffield Brand Products NZ амін УТТ 5г/л, Hubinger's крохмаль 20г/л, Archer Daniels Midland Co., соєве борошно 10г/л, Dow Chemical P2000 протиспінювач 1мл/л, Baker $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,002г/л, Colfax соєве масло 2г/л, CPC International Inc. церело́за 10г/л, Cargill Inc. NaCl 5г/л). Середовище стерелізували під тиском пару 20 psig протягом 60 хвилин у ферментерах. Після цього середовище охолоджували, використовуючи охолоджуючу спіраль у ферментерах, рН доводили до 6,5-6,7. Умови ферментатора були встановлені так, що швидкість потоку повітря становила 20 стандартних кубічних футів на хвилину при температурі 28°C, вхідний тиск становив 5 psig, та рН підтримуви між 6.5 – 6.7 за допомогою 25% гідроксиду натрію та 98% сірчаної кислоти. Швидкість перемішування у двох ферментерах варіювалась таким чином, щоб підтримувати рівень розчиненого кисню більший, ніж 20% рівня насичення, як визначено у бульйоні безпосередньо перед інокуляцією. При встановленні контрольних умов ферментатора, інокулят з п'яти Fembach колб був об'єднаний в стерильних умовах у 8л аспіраторному бутілі. Цей інокулят був використаний для інокуляції в одному п'ятисотгалонному ферментері, як описано вище. Ця процедура була повторена використовуючи 4л інокуляту таким чином, що в один ферментор завантажували 4л інокуляту та ще в один ферментор завантажували 5л інокуляту. Кожний ферментор працював приблизно 114 годин, за цей час ферментація закінчувалася. Номінальний рН бульйону доводили до 6.3, використовуючи 98% сірчану кислоту та переносили з ферментатора для регенерації.

Два ферментери, що згадувалися вище (рН= 6.3 що мають співвідношення гігromіцину А до епі-гігromіцину приблизно 51:1) були профільтровані через керамічну фільтраційну систему. Фільтрат (1450 gmsA 506гал) був завантажений у 70-галонну XAD-16 колонку, заповнену смолою. Ця колонка була збалансована попередньо 4-кратними об'ємами розчину тринатрійфосфатного буферу при рН 6.0 ("буфер"). Після завантаження колонку промивали 2-кратними об'ємами буферу та 2-кратними об'ємами 80/20 буфер/метанольної суміші. Активну речовину потім елюювали з колонки 10 об'ємами (приблизно 50 галлонів кожний) розчину 50/50 буфер/метанол. Активні фракції (приблизно 1240 gmsA) об'єднували та розбавляли до кінцевої концентрації 10% метанолу шляхом додавання 1200 галлонів буферу. Використання розведення (скоріше ніж роторного випаровування) для зменшення концентрації метанолу дозволяло використовувати нижчі температури для того, щоб мінімізувати кількість епі-гігromіцину, яка має тенденцію до збільшення при високих температурах. Половину цього розчину завантажували у 40л CG-161 колонку (попередньо збалансовану 4-кратним об'ємом розчину 90/10 буфер/метанол). Після завантаження колонку промивали 4-кратними об'ємами суміші 80/20 буфер/метанол та елюювали 5.5-кратними об'ємами суміші 50/50 буфер/метанол. Після регенерації та повторного балансування колонки другу половину активної речовини завантажували в колонку та елюювали, як описано вище. Об'єднані фракції з обох процесів (120л, приблизно 1051 gmsA) розбавляли до 10% метанолу шляхом додавання буферу. Вони були перезавантажені у регеновану та повторно збалансовану колонку зі смолою CG-161. Зразу ж активну речовину було абсорбовано на колонці та елюювано 4-кратними об'ємами метанолу. Ця міра слугувала як для зменшення солей, так і підвищення концентрації зразка перед кінцевим випаровуванням. З'єднані фракції з кінцевої CG-161 колонки піддавали випаровуванню до досягнення сухого стану з одержанням в цілому приблизно 1kgA гігromіцину А. Співвідношення гігromіцину А до епі-гігromіцину у кінцевому твердих речовинах становило близько 14.5:1.

Експериментальні процедури для прикладів

Виготовлення сполуки формули 3:

Розчин гігromіцину А (1екв.) у диметилформаміді (DMF, 0,1М) обробляли імідазолом (10екв.) та трет-бутилформамідом (10екв.) при температурі 35°C протягом 14-16 годин. Реакційну суміш виливали у воду і екстрагували етилацетатом EtOAc). Об'єднані екстракти висушували над сульфатом магнію та концентрували.

Продукт був отриманий після хроматографії (5-15% етилацетат/гексан).

Виготовлення сполуки формули 5:

Розчин сполуки формули 3 (1екв.) у дихлоретані був обробляти фенілтіонохлороформіатом (3екв.), піридином (5екв.) та диметиламінопіридином (0,05екв.) при кімнатній температурі протягом 2-3 днів. Наприкінці цього часу реакційну суміш розбавляли метиленхлоридом, промивали 0,5 N HCL, насиченим розчином бікарбонату натрію, і потім висолювали. Органічні речовини висушували над сульфатом магнію та концентрували. Цільовий 2-тіокарбонат одержували хроматографією (5-10% EtOAc/гексан).

Розчин вищезгаданого 2-тіонокарбонату (1екв.) у толуолі (0,1М) обробляли α , α' -азобіс(ізобутиронітрилом) (1екв.) та три-н-бутилгідридолом олова (3екв.) при 90°C протягом 2 годин. Реакційну суміш концентрували та хроматографували (5-10% EtOAc/гексан) з одержанням цільової 2-деоксисполуки формули 5.

Виготовлення ефірів оксиму

Приклади 1-30

Розчин сполуки формули 4 (1екв.) у метанолі (0,1М) обробляли прийнятним гідроксиламіном при 60°C від 30хв. до 1 години. Реакційну суміш концентрували та після хроматографії одержували цільові оксими

(зазвичай 5-15% етилацетат/(толуол або гексан).

Видалення силільних груп закінчували шляхом обробки вищезгаданого оксиму фторидом тетрабутиламону (10екв.) у тетрагідрофурані при кімнатній температурі протягом 12-24 год. Концентровану реакційну суміш пропускали через йонообмінну смолу (Dowex 400 35г смоли на 1г вихідного матеріалу) та потім отримували цільовий оксим як суміш Е та Z ізомерів після хроматографії (зазвичай 5-15% метанол/хлороформ).

Альтернативно, видалення силільних груп було проведено шляхом додавання в розчин тетрагідрофурану, піридину, фтористоводнево-піридинового комплексу (65мл, 16,5мл, 8,25мл, відповідно) при кімнатній температурі розчину вищевказаного оксиму (6ммоль) у тетрагідрофурані (98мл). Реакція проходила протягом 24-96 годин та була закінчена шляхом додавання твердого гідрокарбонату натрію. Цільовий оксим був отриманий як переважно Е ізомер після хроматографії (5-15% метанол/хлороформ).

У випадку прикладу 10 у сполуки формули 4 були зняті захисні групи вищезгаданим фтористоводнево-піридиновим способом.

Виготовлення гідроксиламінового реагенту для синтезу оксимового ефіру

Приклади 1-30

Більшість реагентів гідроксиламіну, що застосовувались, були або комерційно доступними (зазвичай у вигляді солі), або одержані з відповідних спиртів або галоїдангідридів способами, вказаними нижче:

1) Одержання фталімід-захисних гідроксиламінів:

Зі спиртів:

Реакцію Mitsunobu з діетилазодикарбоксилатом та трифенілфосфіном використовували для сполучення N-гідроксифталіміду та спиртовими вихідними матеріалами згідно зі способом Grohowski та J.Jurczak, Synthesis (1976) 682.

З бромідів або хлоридів:

Взаємодію N-гідроксифталіміду (1екв.) з вихідним галоїдангідридом (1.2-2екв) проводили у розчині диметилсульфоксиду (DMSO), використовуючи карбонат (0,6-2 еквіваленти) як основу. Реакція проводили при кімнатній температурі при перемішуванні протягом ночі. Виливали реакційну суміш у холодну воду з одержанням осаду, який фільтрували, отримуючи фталімід-захисний гідроксиламін. В багатьох випадках з цієї речовини безпосередньо знімали захисні групи; також може бути використана хроматографія на силікагелі, застосовуючи етилацетат-гексанову суміш для очищення фталімід-захисного гідроксиламіну.

2) Видалення фталімідної захисної групи гідроксиламіну для отримання гідроксиламіну

Зняття фталімідної захисної групи з гідроксиламіну проводили шляхом реакції з гідразингідратом (1-2екв.) у розчині етанолу при температурі в межах від кімнатної до кипіння в межах часу від 30хв. до протягом ночі. Реакційну суміш фільтрували і фільтрат концентрували. Неочищений продукт або подавали на наступну стадію у тому вигляді, як отримано, або додатково очищений. Змішування неочищеного продукту з хлороформом, видалення твердих речовин фільтрацією та видалення розчинника з фільтрату видаляє додаткову кількість фталгідразиду. Альтернативно, неочищений продукт розчиняли в 1N соляній кислоті та промивали ефіром або етилацетатом. Органічний прошарок робили основним за допомогою насиченого розчину карбонату калію та екстрагували ефіром або етилацетатом. Висушуванням одержаних органічних прошарків та видаленням розчинника отримували гідроксиламіновий продукт.

3) Одержання 4-феніл-хлорметилтіазолу

4-Фенілтіазол-2-карбальдегід отримували способом, аналогічним K.Inami та T.Shiba, Bull. Chem. Soc. Jpn, 1985, 58, 352. Альдегід відновлювали до відповідного спирту, використовуючи борогідрид натрію в етанолі. Відповідний хлорметилтіазол отримували обробкою спирту тіонілхлоридом (4екв.) у метилхлориді при кімнатній температурі протягом 2-5 годин.

4) Одержання α -заміщеного бензилового спирту 1-(3-Хлор-2,6-дифторфеніл)етанол та інші похідні фенілетанолу (приклади 11, 14, 15, 17, 18) одержували обробкою відповідного фенілкарбоксальдегіду метилмагнійбромідом (1екв) у THF при кімнатній температурі. Потім вони були перетворені у відповідні бензилброміди обробкою 48% HBr протягом 1-4 годин.

1-(3-Хлор-2,6-дифторфеніл)карбоксальдегід одержували з 3-хлор-2,6-дифторбензолу з дизопропіламідом літію та N,N-диметилформамідом в метанолі за способом, подібним до способу A.S. Cantrell, та ін., J. Medicinal Chemistry 1996, 21, 4261.

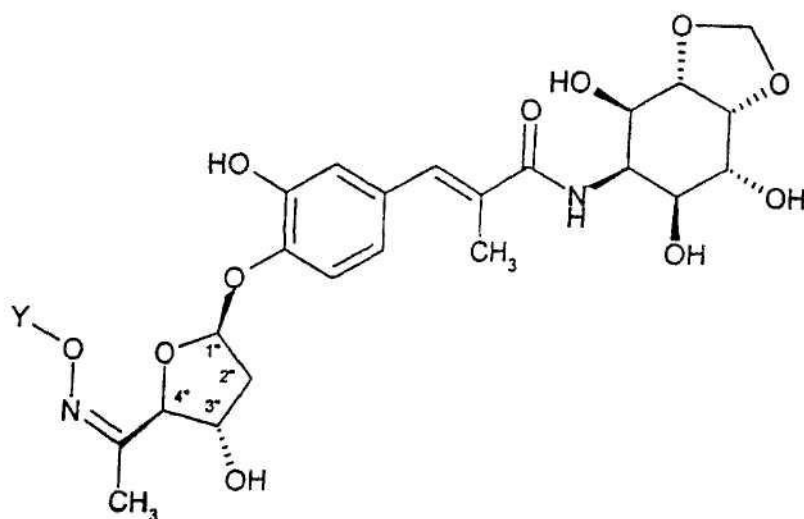
2,4-Дифторпропюфенон (приклад 16) відновлювали до відповідного спирту, використовуючи борогідрид натрію у етанолі.

5) Виготовлення О-арилгідроксиламіну

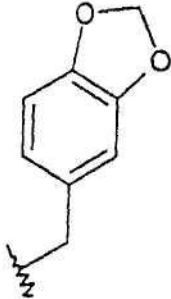
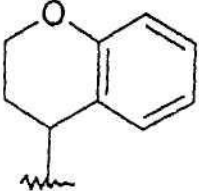
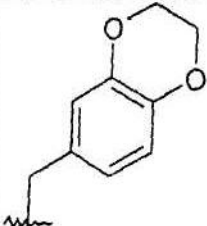
Заміщені феноли перетворювали у відповідні О-арилгідроксиламіни, використовуючи мезитиленсульфонілгідроксиламін, як описано Y.Endo, K. Shudo та T.Okamoto, Synthesis 1980, 461.

Специфічні сполуки, одержані згідно з вищевказаним процесом, представлені в таблиці нижче. У таблиці "Прикл." означає приклад, "стерео" означає стереохімію оксиму, "мол.ваг." означає молекулярну вагу та під "мас. спектр" розуміють маспектрометрію.

Таблиця



Прикл.	Y	Стерео	Мол.ваг	Мас-спек.	¹ H ЯМР піки (CD ₃ OD)
1	4-(хлорфеніл)метил	Е	635	635.1	δ = 7.34-7.24 (м, 5H), 7.00 (д, J=8.3 Гц, 1H), 6.91 (с, 1H), 6.83 (д, J = 8.2 Гц, 1H), 5.06 (с, 2H), 2.57-2.52 (м, 1H), 2.29-2.11 (м, 1H), 2.11 (д, J=1.3 Гц, 3H), 1.80 (с, 3H).
2	фенілметил	Е та Z	600.63	601.1	δ = 7.36-7.24 (м, 6H), 7.09 (д, J = 2.3 Гц, 1H), 6.91 (д, J = 3 Гц, 1H), 6.83 (д, J = 8.5 Гц, 1H), 5.84-5.83 (м, 1H), 5.07 (с, 2H), 2.56-2.52 (м, 1H), 2.29-2.24 (м, 1H), 2.11(с, 3H), 1.78 (с, 3H).

Прикл	Y	Стерео	Мол ваг	Мас-спек	¹ H ЯМР піки(CD ₃ OD)
3		Е та Z	644 64	645 2	δ= 7 24 (шс, 1H), 7.09 (д, J = 8.3 Гц, 1H), 6 90 (шс, 1H), 6.86-6.73 (м, 4H), 5 91 (с, 2H), 5.90-5.82 (м, 1H), 4 96 (с, 2H), 2 6-2 5 (м, 1H), 2.3-2.2 (м, 1H), 2 11 (с, 1H), 1.77 (с, 1H).
4	3-(фторфеніл)-метил	Е	618 62	619 2	δ= 7 29-6 78 (6м 8H), 5.81-5 80 (м, 1H), 5 06 (с, 2H), 2 55-2 49 (м, 1H), 2 32-1 92 (м, 1H), 2 09 (д, J = 1.4 Гц, 3H), 1 78 (с, 3H)
5		Е та Z	642 67	643 2	δ=7 28-7 11 (м, 4H), 6.91-6.75 (м, 4H), 5 87 (шс, J = 3.9 Гц, 1H), 5.14-5 08 (м, 1H), 2 63-2 58 (м, 1H), 2 36-2 25 (м, 3H), 2.11 (д, J= 1 2 Гц, 3H), 2 80-2 00 (м, 2H)
6	5-бензофураніл-метил	Е та Z	640 65	641 2	δ= 7 52-7 39 (2м, 2H), 7 25-7 14 (м 3H), 7 06 (д, J = 8,3 Гц, 1H), 6.8 (с, 1H), 6 80-7 73 (м, 2H), 5.81-5.80 (м, 1H), 5 14 (с, 2H), 2 55-2.50 (м, 1H), 2 64-2 18 (м, 1H), 2 09 (с, 3H), 1 77 (с, 3H)
7	(3-фтор-4-метокси-феніл)метил	Е та Z	648 65	649 2	δ=7 24 (шс 1H) 7 08-6 98 (м, 4H), 6 91 (д, J=2 0 Гц 1H), 6 84-6 82 (м, 1H), 5 84-5 82 (м 1H), 4 99 (с, 2H), 2 57-2 51 (м, 1H), 2 29-2.24 (м, 1H), 2 11 (д, J=1 5 Гц, 3H), 1.78 (с, 3H).
8		Е та Z	658 67	659 2	δ=7 24 (шс, 1H), 7 09 (д, J=8.5 Гц, 1H), 6 90 (д, J=1 8 Гц, 1H), 6 84-6 73 (м, 4H), 5 84-5 83 (м, 1H), 4 94 (с, 2H), 2 57-2 53 (м, 1H) 2 29-2.15 (м, 1H), 2 11 (с, 3H), 1 76 (с, 3H)

Прикл	Ү	Стеро	Мол ваг	Масспек	¹ H ЯМР піки(CD ₃ OD)
9	(2,4-диметокси феніл)метил	E	660 7	661 2	δ=7 22 (шс, 1H) 7 07-7.16 (м, 2H), 6 88 (д, J = 2 3 Гц, 1H), 6 81 (дд, J = 8 3 та 2 1 Гц, 1H), 6 41-5 47 (м, 2H) 5 82 (дд, J = 5.2 та 1.6 Гц, 1H), 2 50-2 60 (м, 1H), 2.21- 2 28 (м, 1H), 2.09 (д, J=1.3 Гц, 3H), 1 73 (с, 3H)
10	2"-деокси-гігроміцин А	E	495 49	496 2	δ=7 22(шс, 1H), 7 16 (д, J=8 5Гц, 1H), 6.89 (д, J=2 1 Гц, 1H), 6.84 (dd, J=8 3 and 2 1Гц, 1 H), 5.89 (dd, J= 5 2 and 2 3 Гц, 1H), 2 44-2 50 (м, 1H), 2.22-2 28 (м, 1H), 2 11 (с, 3H), 2 09(д J=1 5Гц, 3H)
11	(3-фторфеніл)етил		632 65	633 2	δ = 7 24-7 31 (м, 2H), 6.81- 7 11 (м, 6H), 5.80-5.83 (м, 1H) 5 19-5 26 (м, 2H), 2 46- 2 53 (м, 1H), 2 20-2.62 (м, 1H), 2 12 (с, 3H), 1 83 (с, 3H), 1 46-1 49 (м, 3H)
13	(4-фенілтазил)метил	E	683	684 2	δ = 7 85-7 89 (м, 2H), 7.74 (с, 1H), 7 41 -7 37 (м, 2H), 7.28- 7 32 (м, 1 H), 7 23 (шс, 1H), 7 10 (д, J = 8 3 Гц, 1H), 6.90 (д, 1 9 Гц, 1H), 6.82 (дд, J = 8 5 та 1 9 Гц, 1H), 5.39 (м, 2H), 5 03 (с, 2H), 2 55-2.60 (м, 1H), 2 23-2.29 (м, 1H), 2 10 (с, 3H), 1 86
14	(2,4-дифторфеніл)етил	E	650 64	651 0	δ= 7 27-7 38 (м, 1H) 7 22 (шс 1H) 7 07 (дд, J = 12 2 та 8 5 Гц, 1H), 6 79-6 88 (м, 4H), 5 81-5 77 (м, 1H), 5.27- 5 46 (м, 1H), 2 43-2 50 (м, 1H), 2 16-2 23 (м, 1H), 2 09 (с, 3H), 1 80 (2с, 3H), 1 45- 1 47 (м, 3H)
15	(3,4-дифторфеніл)етил	E	650 64	651 1	δ=7 24 (шс, 1H), 7 06-7 19 (м, 4H), 6 90 (д, J = 1 9Гц, 1H)

Прикл	Y	Стерео	Мол ваг	Масспек	1 H NMR піки(CD ₃ OD)
					6 81-6 84 (м, 1H), 5 79-5 83 (м, 1H), 5 18-5 22 (м, 2H) 2 45-2 53 (м, 1 H), 2 18-2 26 (м, 1H), 2 12 (с, 3H) 1 82 (2с, 3H), 1.45-1 48 (м, 3H)
16	1-(2,4-дифторфеніл)пропіл	E	664 66	665 0	δ = 7 25-7 29 (м, 1H), 7.22 (шс 1H), 7.06 (дд, J= 14.8 та 8 3 Гц, 1 H), 6.78-6 88 (м, 4H), 5 76-5 80 (м, 1H), 5 24-5 30 (м, 1H), 2.42-2 49 (м, 1H), 2 16-2 23 (м, 1H) 2 10 (д, J=1 2 Гц, 3H), 1 81 (2с, 3H), 1 70-1 92 (м, 2H), 0 85-0.91 (м, 3H)
17	(3,5-дифторфеніл)етил	E	650 64	651 1	δ = 7 22 (шс, 1H), 7.04-7 07 (м, 1H), 6.74-6.88 (м, 5H) 5 76-5 81 (м, 1H), 5 17-5 21 (м, 2H), 2.44-2 53 (м 1H), 2 16-2 24 (м, 1H), 2 08 (д, J = 1,4 Гц, 3H) 1 82 (2с, 3H), 1 43-1 45 (м, 3H)
18	(3-хлор-2,6-дифторфеніл)етил	E	685 08	684 9, 687 0	δ =7 31-7 39 (м, 1H), 7 24 (шс 1 H), 7 02-7 06 (м, 1H), 6 79-6 94 (м, 4H), 5 74-5 79 (м, 1H), 5.58-5 66 (м, 1H), 2 40-2.49 (м, 1H) 2 18-2 24 (м, 1H), 2 11 (с, 3H), 1 79 (с, 3H), 1 59 (д, J = 6 8 Гц, 3H).
19	(3 4-дифторфеніл)метил	E	636 6	635 0	δ = 7 08-7 24 (м, 5H), 6 90 (д, J = 2 0 Гц, 1H), 5 83-5 85 (м, 1H), 5 04 (шс, 1H), 2 51-2 56 (м, 1H), 2 22-2 29 (м, 1H), 2.11 (д, J= 1 4 Гц, 3H), 1 80 (с, 3H)
20	(3,5 дифторфеніл)метил	E	636 6	636 9	δ =7 23 (шс, 1H), 7 09 (д, J = 8 3 Гц, 1H), 6 90-6 94 (м, 3H) 6 78-6 84 (м, 2H), 5 83 (дд, J = 5 2 та 1 8 Гц, 1H), 2 52-2 57 (м, 1H), 5 07 (с, 2H), 2 24-2 29 (м, 1H), 2 11 (д, J=1 3 Гц, 3H), 1 82 (с, 3H)

Прикл	У	Сtereo	Мол ваг	Мас-спек	¹ H ЯМР піки (CD ₃ OD)
21	(2,4-дифторфеніл)метил	Е	636 6	636 9	δ = 7 37-7 43 (м, 1H), 7 22 (шс, 1H), 7 07 (д, J = 8 3 Гц, 1H), 6 86-6 91 (м, 3H), 6 81 (дд, J = 8 7 та 2 3 Гц, 1H), 5 81-5 83 (м, 1H), 5 08 (шс, 2H), 2 40-2 54 (м, 1H), 2 20-2 27 (м, 1H), 2 09 (д, J=1 4 Гц, 3H), 1 75 (с, 3H)
22	(3-хлор-2 6-дифторфеніл)метил	Е	671 05	670 9 673 0	δ = 7 38-7 44 (м, 1H), 7 21 (с 1H), 7 03 (д, J = 8 3 Гц, 1H), 6 92-6 97 (м, 1H), 6 87 (д, J= 2 1 Гц, 1H), 6 78 (дд, J= 8 5 та 1 8 Гц, 1H), 5 80 (дд, J = 5 3 та 1 8 Гц, 1H), 5 13 (м, 2H), 2 48-2 53 (м, 1H), 2 19-2 26 (м, 1H), (д, J=1 5 Гц, 3H), 1 70 (с, 3H)
23	3-хлорфеніл		621 04	620 9, 622 2	δ = 7 14-7 24 (м, 4H), 7 01 -7 08 (м, 1H), 6 92-6 97 (м, 1H), 6 90 (д, J = 1 9 Гц, 1H), 6 84 (дд, J= 8 3 та 1 7 Гц, 1H), 5 92 (д, J = 4 5 Гц, 1H), 2 62-2 68 (м, 1H), 2 28-2 35 (м, 1H), 2 11 (д, J = 1 1 Гц, 3H), 1 97 (с, 3H)
24	3-фторфеніл		604 59	605 0	δ = 7 13-7 26 (м, 3H), 6 83-6 95 (м 4H), 6 67-6 71 (м, 1H), 5 92 (д, J = 5 0 Гц, 1H), 2 63-2 68 (м, 1H), 2 30-2 35 (м, 1H), 2 11 (с, 3H), 1 96 (с, 3H)
25	3,5-хлорфеніл		655 49	654 9, 657 0 659 0	δ = 7 11-7 21 (м, 4H), 6 99-7 01 (м, 1H), 6 81-6 89 (м, 1H), 5 89-5 91 (м, 1H), 2 61-2 66 (м, 1H), 2 27-2 34 (м 1H), 2 09 (д, J = 1 4 Гц, 3H), 1 95 (с, 3H)
26	(3,5-дихлорфеніл)метил		669 51	668 9, 670 8, 672 0	δ = 7 24-7 32 (м, 4H), 7 08 (д, J = 8 3 Гц, 1H), 6 90 (д, J = 1 7 Гц, 1H), 6 83 (д, J=8 5 Гц, 1H), 5 83 (д, J = 5 2 Гц, 1H),

Прикл	Y	Стеро	Мол ваг	Масспек	¹ HЯМР піки (CD ₃ OD)
					2 51-2 56 (м, 1H), 5 05 (с 2H), 2 22-2 29 (м, 1H) 2 11 (с, 3H), 1 82 (с 3H)
27	(3-хлор-4-фторфеніл)метил	E	653 06	652 9, 655 1	δ = 7 41 (дд, J = 7 3 та 5 2 Гц, 1 H), 7 24-7 26 (м, 1 H), 7 22 (д, J= 1 3 Гц, 1H), 7 14 (дд, J = 8 5 and 7 1 Гц, 1H), 7 06 (д, J = 8 3 Гц, 1H), 6 88 (д, 1 9 Гц, 1H), 6 79-6 82 (м, 1H), 5 80 (м, 1H) 5 02 (с, 2H), 2 48-2 5 (м, 1H), 2 24-2 25 (м, 1H), 2 09 (д,
28	(3 4-дихлорфеніл)метил	E	669 51	668 9, 670 9 672 1	δ=7 44 (д, J=1 8Гц, 1H), 7 41 (д, J=8 3 Гц, 1H), 7 20-7 23 (м, 2H), 7 06 (д, J=1 7Гц, 1H), 6 88 (д,J= 2 1 Гц, 1H), 6 80 (dd J = 8 7 та 1 8 Гц, 1H) 5 81 (дд, J = 5 2 та 1 7 Гц, 1H) 5 03 (с, 2H), 2 48-2 54 (м 1H), 2 20-2 27 (м, 1H), 2 09 (д, J = 1 5Гц, 1H), 1 78(с,3H)
29	(3-хлор-5-фторфеніл)метил	E	653 06	653 0, 655 0	δ=7 21 (шс, 1H), 7 15 (шс, 1H), 7 04-7 08 (м, 2H), 7 00 (шд, 1H) 6 88 (д, J = 1 8 Гц, 1H), 6 81 (дд J = 8 6 та 1 8 Гц, 1H) 5 81 (дд, J = 5 2 та 1 8 Гц, 1H) 5 05 (с 2H), 2 49-2 55 (м, 1H), 2 09-2 27 (м, 1H), 2 09 (д, J = 1 4 Гц, 3H), 1 80 (с, 3H)
30	(4-хлор-5-фторфеніл)метил	E	653 06	653 0, 654 9	δ = 7 36 (дд, J = 8 1 та 7 6 Гц, 1 H), 7 22 (шс, 1H), 7 16 (dd J = 10,0 та 2,0 Гц, 1H) 7 08 (шд, 1H), 7 05 (д, J=10 5 Гц, 1H), 6 88 (д, J = 1 8 Гц, 1 H) 6 80 (дд, J = 8 6 та 1 9 Гц, 1H), 5 81 (дд, 1,7 та 5 2 Гц 1 H) 5 03 (с 2H), 2 20-2 27 (м, 1H)

Процедури синтезу, описані нижче, можуть бути корисними для одержання сполук даного винаходу.

Виготовлення різних вихідних спиртових речовин, використаних у синтезі гідроксиламінів

Вихідні спиртові речовини можуть бути отримані відновленням більш окислених комерційно доступних сполук. 4-Циклогексилбензойна кислота може бути відновлена літій-алюмінійгідридом (2,3екв.) у тетрагідрофурані для отримання відповідного алкоголю. 3-(4-хлорфеніл)пропіонова кислота може бути

відновлена до відповідного спирту, використовуючи диборан (1,1екв.) у тетрагідрофурані при 0°C до кімнатної температури протягом 5 годин. 3-Трифторметоксибензальдегід, 3-ціанобензальдегід, бензофуран-2-карбоксальдегід, 1,4-бензодіоксан-6-карбоксальдегід та 3-фтор-4-метоксибензальдегід можуть бути відновлені до похідних спирту з використанням борогідриду у тетрагідрофурані.

Магнію сульфат (4екв.) у метиленхлориді може бути оброблений концентрованою сірчаною кислотою (1екв.) з наступною обробкою 4-хлорметилбензойною кислотою (1екв.) та трет-бутанолом (5,1екв.). Перемішування протягом ночі при кімнатній температурі приводить до отримання трет-бутилового естеру.

4-Аміно-3,5-дихлорбензойна кислота може бути N-ацетильована обробкою ацетилхлоридом (1,2екв.) у диметилформаміді при 90°C протягом 4-х годин. Холодну реакційну суміш може вилити у холодну воду, охолодити та профільтрувати з одержанням похідних ацетаміду. Відновлення карбонової кислоти було проведено літій-алюмінійгідридом (2екв.) у тетрагідрофурані при 0°C протягом 2-х годин з одержанням N-(2,6-дихлор-4-гідроксиметил-феніл)ацетаміду.

Аміногрупи 3-амінобензилового спирту та 4-амінометилбензилового спирту можуть бути захищені похідними N-трет-ВОС похідними шляхом обробки ди-трет-бутилдикарбонатом (1,1екв.) у тетрагідрофурані при кип'ятінні до тих пір, поки не витратиться вихідна аміносполука.

Реакція етилу 4-фторбензоату з піперидином (3екв.) у ацетонітрилі може бути проведена при кип'ятінні протягом 4-х днів. Розведення охолодженої реакційної суміші деякою кількістю води забезпечує одержання осаду, котрий може бути відфільтрований з одержанням етил-4(піперидин-1-іл)бензоату. Відновлення естеру літій-алюмінійгідридом (2екв.) у тетрагідрофурані приводить до отримання відповідного спирту.

5-Гідроксиметилбензофуран може бути одержаний згідно з методикою K. Hiroya, K. Hashimura та K. Ogasawara, *Heterocycles* (1994) 38, 2463.

2-Фенілпіримідин-5-карбоксальдегід може бути виготовлений згідно з методикою J.T. Guton, J.E. Gall, S.W. Riesinger та ін., *J. Heterocyclic Chemistry* (1991) 28, 1281. Альдегід може бути відновлений до відповідного спирту шляхом використання борогідриду натрію у метанолі.

Інші способи, якими можуть бути одержані різні сполуки даного винаходу, описані у заявці на тимчасовий патент США під назвою "Похідні Гігроміцину А" (номер справи патентного повіреного PC 10057), згаданий вище.