



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) **SU** (11) **1375135** **A3**

(51) 4 C 07 D 313/00, 309/36, 315/00

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К ПАТЕНТУ

(21) 3641764/23-04

(22) 08.09.83

(31) 417247

(32) 13.09.82

(33) US

(46) 15.02.88. Бюл. № 6

(71) Эли Лилли энд Компани (US)

(72) Мануэль Дебоно и Герберт Эндрю
Кирст (US)

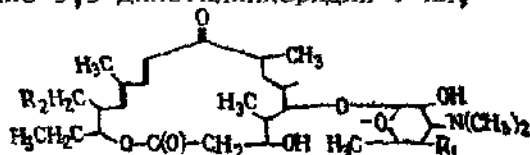
(53) 547.368.07(088.8)

(56) Патент США № 3178341,
кл. 424 - 120, опублик. 1965.

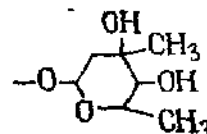
Патент США № 3326750,
кл. 424 - 120, опублик. 1967.

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ МАКРОЛИДНЫХ
СОЕДИНЕНИЙ

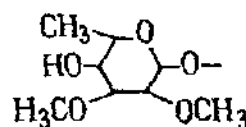
(57) Изобретение касается замещенных
лактонов, в частности получения сое-
динений общей формулы $A-CH_2CH_2R$, где
R - октагидроазоцин-1-ил; 4-фенилпи-
перидин-1-ил; гексагидроазепин-1-ил;
1-азаспиро(4,5)дец-1-ил; 1,2,3,4-тет-
рагидрохинолин-1-ил; 1,2,3,4-тетра-
гидроизохинолин-2-ил; 1,2,3,4-тетра-
гидропиридин-1-ил; пирролидин-1-ил;
азациклотридец-1-ил; 3-азабицикло-
(2,3,2)нон-3-ил; 1,3,3-триметил-6-
азабицикло[3,2,1]окт-6-ил; цис- и
транс-3,5-диметилпиперидин-1-ил;



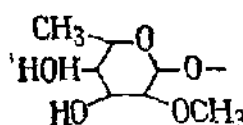
R_1 - H, OH или микроилоксигруппа
формулы



R_2 - группа формулы



или

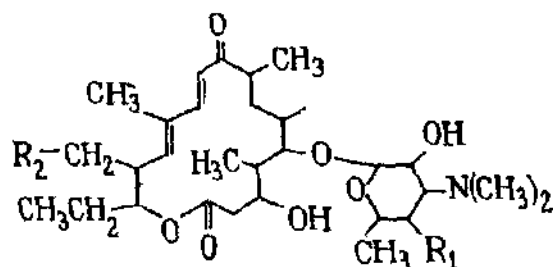
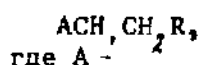


которые обладают антимикробной ак-
тивностью. Цель изобретения - созда-
ние более активных веществ указанно-
го класса. Их синтез ведут восстано-
влением альдегида $ACH_2CH=O$ боргидри-
дом или цианборгидридом натрия в при-
сутствии амина RH (в которых A и R
указаны выше) в среде C_{1-4} - алкано-
ла при комнатной температуре. Новые
макролидные вещества в сравнении с
десмикозином имеют токсичность в 2
раза выше (200 и 94,5 мг/кг), но это
компенсируется лучшей антимикробной
активностью в отношении *Staphylococcus*
pyogenes и *Pasteurella* у цыплят: эф-
фективная доза до 6,3 мг/кг (орально)
против 84,1 мг/кг для десмикозина.
3 табл.

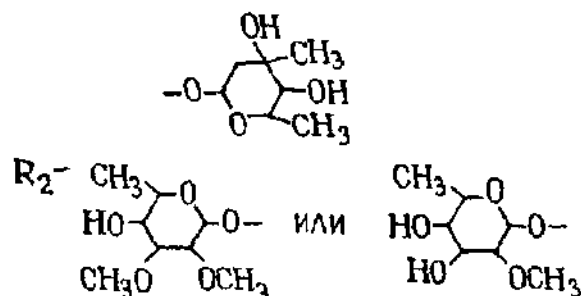
(19) **SU** (11) **1375135** **A3**

Р. 1375135

Изобретение относится к способу получения макролидных соединений общей формулы



R_2 - октагидроазоцин-1-ил, 4-фенилпиперидин-1-ил, гексагидроазепин-1-ил, 1-азаспиро(4,5)дец-1-ил, 1,2,3,4-тетрагидрохинолин-1-ил, 1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-2-ил, 1,2,3,6-тетрагидропиридин-1-ил, пирролидин-1-ил, азабицикло(3,2,2)-нон-3-ил, 1,3,3-триметил-6-азабицикло(3,2,1)окт-6-ил, цис- и транс-3,5-диметилпиперидин-1-ил, R_1 - водород, гидроксил или микарозилоксн



обладающих антимикробной активностью.

Целью изобретения является разработка способа получения новых макролидных соединений с повышенной антимикробной активностью.

Пример 1. 20-ДН-ДО-20-(Гексагидроазепин-1-ил)десмикозин 20-ДН-ДО-20 - здесь и далее обозначает 20 - дигидро-20-дезоксн; десмикозин- $\text{АСН}_2\text{СНО}$, где R_1 - микарозилоксн R_2 - b.

Десмикозин (10 г, 13 ммоль), растворенный в безводном метаноле 100 мл быстро добавляют к раствору цианборгидрида натрия (3,3 г, 52 ммоль) и гексаметиленмина (6,5 г, 7,5 мл, 65 ммоль) в безводном метаноле (50 мл) в атмосфере азота. Реакционную смесь перемешивают в атмосфере азота при комнатной температуре в течение приблизительно 3 ч, а затем выпаривают

при пониженном давлении. Полученный остаток растворяют в метиленхлориде ровно с таким количеством этилацетата, чтобы растворить остаток и этот раствор экстрагируют насыщенным раствором бикарбоната натрия. Органический слой отделяют, сушат над сульфатом натрия, выпаривают при пониженном давлении и получают светло-желтую пену. Эту пену очищают методом хроматографии на силикагеле, элюируют сначала метиленхлоридом (1 л), затем ступенчато 500-мл порциями смеси метиленхлорид/метанол в соотношениях: 98:2; 96:4; 94:6; 92:8 и 9:1 и в завершение, смесями метиленхлорид (метанол) гидроксид аммония в соотношениях: 90:10:0,5 (500 мл) и 75:25:0,5 М (2 л). Фракции, содержащие требуемый продукт, идентифицируют методом ТСХ, соединяют и выпаривают до суха. Получают 6,035 г (7,07 ммоль) 20-ДН-ДО-20 (гексагидроазепин-1-ил) десмикозина в виде белой пены. Другие фракции, которые содержат нечистый продукт соединяют, повторно растворяют в метиленхлориде, снова экстрагируют насыщенным раствором бикарбоната натрия и очищают, как ранее с применением силикагельной колонки с насадкой метиленхлорид/метанол (9:1) и элюированием метиленхлорид/метанол/гидроксид аммония в следующих соотношениях: 90:10:0,5 (500 мл) и 80:20:0,5 (1 л). Получают дополнительно 1,372 г (1,61 ммоль) продукта. Общий выход 20-ДН-ДО-20 - (гексагидроазепин-1-ил) десмикозина 7,407 г (8,68 ммоль, 67%).

Пример 2. 20-ДН-ДО-4-(4-Фенилпиперидин-1-ил) десмикозин.

Десмикозин (1,5 г, 2 ммоль) растворяют в абсолютном метаноле (60 мл) и обрабатывают 4-фенилпиперидином (640 мг, 4 ммоль) в присутствии молярного сита Linde 4A. Через 30 мин добавляют NaBH_2CN (500 мл, 8 ммоль) и смесь перемешивают в течение 2,5 ч при комнатной температуре. Смесь выливают в насыщенный раствор бикарбоната натрия (200 мл) и экстрагируют метиленхлоридом (3x200 мл). Соединенные экстракты сушат над сульфатом натрия, фильтруют и выпаривают при пониженном давлении. Остаток (3,6 г) очищают методом экспрессхроматографии на силикагеле, элюируя градиентом от 1 л метиленхлорида до 1 л ме-

танола/метиленхлорид (5:95), затем 1 л метанол/метиленхлорид (5:95). Фракции, содержащие требуемый продукт, идентифицируют при помощи ТСХ, соединяют и выпаривают досуха, получают 680 мг 20-ДН-ДО-20-4-фенилпиперидин-1-ил десмикозина.

Пример 3. 20-ДН-ДО-20- (Гексагидроазепин-1-ил)-4-дезоксидесмикозин.

Раствор 4-дезоксидесмикозина (565 мг, 0,75 ммоль) в метаноле (15 мл) в атмосфере аргона перемешивают с активированным молекулярным ситом Linde 3А 2,2 г в течение 30 мин, затем добавляют гексаметиленмин (0,25 мл, 2,25 ммоль). Через 1 ч к реакционной смеси добавляют: цианборгидрид натрия (141 мг, 2,25 ммоль). Через 45 мин реакционную смесь выливают в насыщенный раствор бикарбоната натрия и экстрагируют этилацетатом. Соединенные органические экстракты встряхивают с насыщенным раствором хлорида натрия, сушат над сульфатом натрия, фильтруют, выпаривают и получают 600 мл сырого продукта. Этот продукт очищают методом препаративной тонкослойной хроматографии на силикагеле, элюируют смесью дихлорметан (метанол) концентрированный гидроксид аммония (90:15::2) и получают 150 мл (выход 24%) 20-ДН-ДО-20 - (гексагидроазепин-1-ил)-4, -дезоксидесмикозина.

Пример 4. 20-ДН-ДО-20 - (Октагидроазепин-1-ил) десмикозин.

Десмикозин (4,0 г, 5,2 ммоль) растворяют в абсолютном метаноле (30 мл) и обрабатывают гелтаметиленмином (1,2 г, 1,3 мл, 10,4 ммоль) в присутствии молекулярного сита 3А. После окончания реакции смесь перемешивают в течение 1 ч при комнатной температуре, затем быстро пипеткой приливают раствор боргидрида натрия (60 мг, 1,6 ммоль) в абсолютном метаноле (10 мл). Реакционную смесь перемешивают в течение 1,5 ч при комнатной температуре, затем добавляют еще 30 мг боргидрида натрия (одну порцию в виде твердого вещества). Реакционную смесь перемешивают еще в течение 75 мин и затем фильтруют. Фильтрат выпаривают при пониженном давлении. Остаток растворяют в этилацетате (150 мл) и этот раствор экстрагируют водой (150 мл) и насыщен-

ным раствором бикарбоната натрия (100 мл). Потом этилацетатный раствор экстрагируют 0,5 М буферным раствором (150 мл) NaH_2PO_4 с pH 6,5. Буферный экстракт выпаривают в вакууме для удаления оставшегося этилацетата и затем быстро перемешивают при медленном добавлении 5 н. едкого натра, получают густой белый осадок. Белое твердое вещество удаляют фильтрованием, сушат и получают 3,55 г 20-ДН-ДО-20 - (октагидроазепин-1-ил) десмикозина.

Пример 5. 20-ДН-ДО-20 - (1-Азаспиро)4,5-(декан-1-ил) десмикозин.

Десмикозин (5,0 г, 6,5 ммоль) растворяют в абсолютном метаноле (50 мл) и обрабатывают 1-азаспиро(4,5)деканом 31,36 г, 9,8 ммоль в присутствии молекулярного сита 3А. Через 15 мин добавляют NaBH_3CN (620 мл, 9,8 ммоль) и смесь перемешивают в течение 17 ч при комнатной температуре. Реакционную смесь фильтруют и фильтрат выпаривают при пониженном давлении. Остаток растворяют в этилацетате (300 мл) и экстрагируют водой (300 мл и 100 мл). Затем продукт экстрагируют из этилацетатного раствора с буфером 0,5 М NaH_2PO_4 с pH 6,5 (300 и 100 мл). Фосфатные буферные экстракты соединяют и выпаривают в вакууме для удаления оставшегося этилацетата. Затем фосфатный буферный раствор быстро перемешивают при медленном добавлении 5 н. едкого натра и получают густой белый осадок. Белое твердое вещество отделяют фильтрованием, промывают водой, сушат и получают 20-ДН-ДО-20 - (1-азаспиро)4,5-(декан-1-ил) десмикозин (3,52 г).

Пример 6. 20-ДН-ДО-20-(1,2,3,4-Тетрагидрохиолин-1-ил) десмикозин.

Десмикозин (11,6 г, 15 ммоль) растворяют в сухом метаноле (100 мл) и добавляют 1,2,3,4-тетрагидрохиолин (3,8 мл, 30 ммоль). Смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 30 мин, а затем добавляют цианборгидрид натрия (1,25 г, 20 ммоль). Смесь перемешивают в течение ночи, после чего выпаривают при пониженном давлении. Остаток распределяют между этилацетатом и водой (по 100 мл каждого). Органический слой экстрагируют последовательно водным фосфатным буфером с pH 6,5 (100 мл) и водным фос-

фатным буфером с pH 4,5 (100 мл). Этилацетатный слой сушат над сульфатом натрия, фильтруют и выпаривают, остаток (4,6 г) отделяют методом хроматографии на силикагеле. Колонку элюируют при линейном градиенте дихлорметана (4 л) и 5% метанола плюс 0,5% концентрированного гидроксида аммония в дихлорметане (4 л). Фракции, содержащие требуемый продукт, идентифицируют методом ТСХ, собирают, выпаривают досуха и получают 3,4 г указанного в заглавии соединения.

Пример 7. 20-ДН-ДО-20 - (1, 2,3,4 - Тетрагидроизохинолин-2-ил) десмикозин.

Десмикозин (11,6 г, 15 ммоль) растворяют в сухом метаноле (100 мл) и добавляют 1,2,3,4 - тетрагидроизохинолин (3,8 мл, 30 ммоль). После перемешивания смеси в течение 30 мин при комнатной температуре добавляют цианоборгидрид натрия (1,25 г, 20 ммоль). Смесь перемешивают в течение ночи, а затем выпаривают при пониженном давлении. Остаток распределяют между этилацетатом и водой (по 150 мл каждого). Потом органический слой экстрагируют последовательно фосфатным буфером с pH 6,5 (100 мл) и фосфатным буфером с pH 4,5 (100 мл). Экстракт фосфатного буфера с pH 4,5 выпаривают при пониженном давлении для удаления этилацетата, после чего pH доводят до 10 путем добавления 5 н.

гидроксида натрия. Выпавший осадок собирают, сушат на воздухе и получают 5,6 г указанного в заглавии соединения.

Пример 8. 20-ДН-ДО-20 - (1, 2,3,6 - Тетрагидропиридин-1-ил) десмикозин.

Десмикозин (11,6 г, 15 ммоль) растворяют в безводном метаноле (100 мл) и добавляют 1,2,3,6 - тетрагидропиридин (2,8 мл, 30 ммоль). После перемешивания в смеси в течение 30 мин при комнатной температуре добавляют цианоборгидрид натрия (1,25 г, 20 ммоль). Смесь перемешивают в течение ночи, затем выпаривают при пониженном давлении. Остаток растворяют в этилацетате (150 мл). Этот раствор экстрагируют водой (150 мл), потом водным фосфатным буфером с pH 6,5 (2x100 мл). Буферные растворы выпаривают отдельно при пониженном давлении для удаления этилацетата, затем доводят pH до 10 путем добавления 5 н. гидроксида натрия. Образовавшиеся осадки собирают фильтрованием, сушат на воздухе и получают 5,4 г (первый экстракт) и 3,2 г (второй экстракт) указанного в заглавии соединения.

Другие соединения получены аналогичным образом. Значения заместителей R - R₂ и физико-химические свойства полученных соединений представлены в табл.1.

Т а б л и ц а 1

| Соединения | Заместители | | | Масс-спектр (исходный ион) | УФ-спектр | | Титруемые группы | |
|------------|-----------------------------------|----------------|----------------|-------------------------------|-----------------------|------------|------------------|-----|
| | R | R ₁ | R ₂ | | λ_{max} нм | ϵ | I | II |
| 1 | Октагидроазоцин-1-ил | Микарозил-окси | a | 1013 | 282 | 22000 | - | - |
| 2 | 3-Азадицикло(3,2,2)нон-3-ил | То же | То же | 1025 | 282 | 21500 | - | - |
| 3 | Пирролидин-1-ил | Гидроксил | a | 827 | - | - | 7,9 | 9,5 |
| 4 | 4-Фенилпиперидин-1-ил | То же | То же | 917 | 283 | 21800 | - | - |
| 5 | Гексагидроазепин-1-ил | То же | То же | 855 | 282 | 21500 | 7,9 | 9,6 |
| 6 | То же | Водород | То же | 839 | "- | "- | - | - |
| 7 | Октагидроазоцин-1-ил | Гидроксил | То же | 869 | "- | 21750 | 7,9 | 9,4 |
| 8 | Азадициклотридец-1-ил | То же | То же | 939 | "- | 19500 | 8,0 | 9,5 |
| 9 | 1,2,3,4-Тетрагидрохинолин-1-ил | То же | То же | 888 | 271 | 26700 | - | - |
| 10 | 1,2,3,4-Тетрагидроизохинолин-2-ил | То же | То же | "- | 283 | 20600 | - | - |
| 11 | 3-Азадицикло(3,2,2)нон-3-ил | То же | То же | 881 | 282 | 20500 | 7,9 | 9,2 |
| 12 | 1-Азоспиро(4,5)дец-1-ил | То же | То же | 894 | "- | 21500 | "- | 9,8 |

7

1375135

8

Продолжение табл. 1

| Соединения | Заместители | | | Масс-спектр (исходный ион) | УФ-спектр | | Титруемые группы | |
|------------|--|----------------|----------------|-------------------------------|------------------------------|------------|------------------|-----|
| | R | R ₁ | R ₂ | | λ_{max} нм | ϵ | I | II |
| 13 | Декагидрохинолин-1-ил | То же | То же | 895 | — | — | — | 9,4 |
| 14 | 1,3,3-Триметил-6-азадицикло(3,2,1)окт-6-ил | То же | То же | 908 | — | 21000 | 8,0 | 9,7 |
| 15 | 1,2,3,6-Тетрагидропирдин-1-ил | Гидроксил | a | 839 | 282 | 21000 | — | — |
| 16 | 3,3,5-Триметилгексагидроазепин-1-ил | То же | То же | 896 | — | 21130 | 7,7 | 9,0 |
| 17 | Цис-3,5-диметилпиперидин-1-ил | То же | То же | 869 | — | 20000 | — | — |
| 18 | Транс-3,5-диметилпиперидин-1-ил | То же | То же | 869 | — | — | — | — |
| 19 | Октагидроазепин-1-ил | То же | b | 855 | 282 | 21500 | 7,8 | 9,3 |

Испытания антимикробной активности. Антимикробную активность исследовали *in vivo* по отношению к экспериментально вызванным инфекциям у подопытных животных. Значения ЭД₅₀ (доза в мг/кг, обеспечивающая защиту 50% животных) для мышей, зараженных *Styptococcus Pyogenes* C203 приведены в табл. 2. Для сравнения даны данные для известного препарата - деамикозина.

Т а б л и ц а 2

| Соединение | Доза, мг/кг | | ЭД ₅₀ |
|-----------------|-------------|---------|------------------|
| | Подкожно | Орально | |
| 1 | 10 | | 44 |
| 2 | 10 | | 30 |
| 3 | 1,2 | | 50 |
| 4 | 6,0 | | 19 |
| 5 | 1,3 | | 50 |
| 6 | 1,5 | | 34 |
| 7 | 0,7 | | 14 |
| 8 | 10 | | 68 |
| 9 | 7,5 | | 19 |
| 10 | 2,0 | | 6,3 |
| 11 | 1,0 | | 50 |
| 12 | 2,9 | | 46 |
| 13 | 1,7 | | 34 |
| 14 | 1,0 | | 10 |
| 15 | 0,8 | | 40 |
| 17 | 0,625 | | 7,98 |
| 18 | 0,88 | | 10,93 |
| Десми- козин | 1,03 | | 84,1 |

Проверку антимикробной активности по отношению к отрицательным бактериям провели *in vivo* по отношению к

инфекции *Pasteurella* у цыплят, зараженных подкожным введением 0,1 мл 10⁻⁴ - разбавленной трипоз-бульонной культуры бактерии. В этом случае без введения препарата количество смертей составило 100% (10 смертей на 10 обработанных цыплят) в течение 24 ч. В опытах препараты вводили подкожно в дозе 30 мг/кг через 1 и 4 ч после заражения, либо в виде водного раствора (2 г/галлон) за 4-20 ч до разражения и в течение 3 дней после. Результаты испытаний приведены в табл. 3.

Т а б л и ц а 3

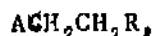
| Соединение | Количество смертей / количество обработанных цыплят | |
|-----------------|---|------------------|
| | Подкожное введение препарата | Введение орально |
| 3 | 0/10 | 9/10 |
| 4 | 9/10 | 6/10 |
| 5 | 0/10 | 2/10 |
| 7 | 0/10 | 2/10 |
| 11 | 2/10 | 0/10 |
| 12 | 0/10 | 3/10 |
| 13 | - | 0/10 |
| 14 | 7/10 | 3/10 |
| 15 | 0/110 | 5/10 |
| 16 | 8/10 | 2,5/10 |
| 18 | - | 5/10 |
| Десми- козин | | |

Токсичность соединений 1 - 19 находится на сравнимом уровне или несколько более высоком, чем у известных препаратов того же действия. Так ЛД₅₀ для десмикозина 200 мг/кг (перорально для мышей) у соединения 17 - 94,5 мг/кг. Как видно из данных табл. 2 и 3, эффективность соединений 1-19 в оптимальных условиях значительно выше, чем у известного пре-

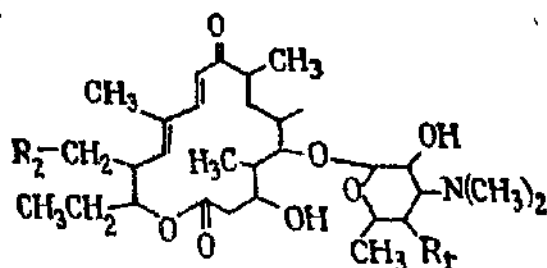
парата (соединения 15, 17 и 18 в табл.2 при подкожном введении, все соединения в табл.2 при оральном введении, соединения 5, 7, 11, 12, 13, 14, 16 в табл.3). Таким образом, предлагаемые соединения обеспечивают повышение антимикробной активности.

Ф о р м у л а и з о б р е т е н и я 10

Способ получения макролидных соединений общей формулы

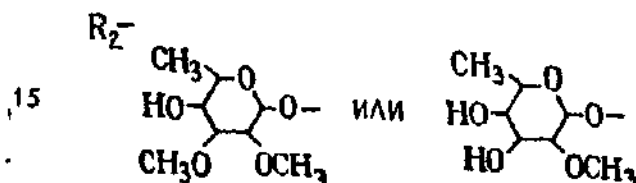
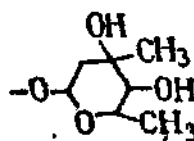


где А -



R - октагидроазоцин-1-ил, 4-фенилпиперидин-1-ил, гексагидроазепин-1-ил, 1-азаспиро(4,5)дец-1-ил, 1,2,3,4-тетрагидрохинолин-1-ил, 1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-2-ил, 1,2,3,6-тетрагидропиридин-1-ил, пирролидин-1-ил, азациклотридецин-1-ил, 3-азабицикло(3,2,2)-нон-3-ил, 1,3,3-триме-

тил-6-азабицикло(3,2,1)окт-6-ил, цис- и транс-3,5-диметилпиперидин-1-ил, R₁ - водород, гидроксил или микарозилокси



отличающийся тем, что осуществляют восстановление альдегида формулы



где А имеет указанные значения, боргидридом натрия или цианборгидридом натрия в присутствии амина общей формулы



где R имеет указанные значения, в среде C₁-C₄ - алканоида при комнатной температуре.

Составитель О. Смирнова

Редактор Ю. Середа Техред Л.Сердюкова Корректор А. Тяско

Заказ 623/58

Тираж 370

Подписное

ВНИИПИ Государственного комитета СССР

по делам изобретений и открытий

113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д.4/5

Производственно-полиграфическое предприятие, г. Ужгород, ул. Проектная, 4