

(12)

PATENTSCHRIFT

(21) Anmeldenummer: 3552/85

(51) Int.Cl.⁵ : **A61K 31/71**
//C07H 17/08

(22) Anmeldetag: 8. 9.1983

(42) Beginn der Patentdauer: 15.12.1989

(45) Ausgabetag: 25. 6.1990

(62) Ausscheidung aus Anmeldung Nr.: 3206/83

(30) Priorität:

13. 9.1982 US 417247 beansprucht.

(73) Patentinhaber:

ELI LILLY AND COMPANY
46285 INDIANAPOLIS (US).

(54) VERFAHREN ZUR BEHANDLUNG ODER UNTERDRÜCKUNG MIKROBIELLER INFESTIONEN IN EINEM WARMBLÜTIGEN TIER

(57) Diese Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Behandlung oder Unterdrückung mikrobieller Infektionen in einem warmblütigen Tier, bei dem diesem Tier Macrolidentibiotika und insbesondere C-20-modifizierte Derivate von Tylosin, Desmycosin, Macrocin, Lactenocin, 2'''-O-Demethylmacrocin (DOMM), 2'''-O-Demethylacetanocin (DOML), Dihydrotylosin (Relomycin), Dihydrodesmycosin, Dihydromacrocin, Dihydrolactenocin, Dihydro-DOMM, Dihydro-DOML und 4'-Deoxydesmycosin, bzw. pharmazeutisch annehmbare Salze davon, verabreicht werden.

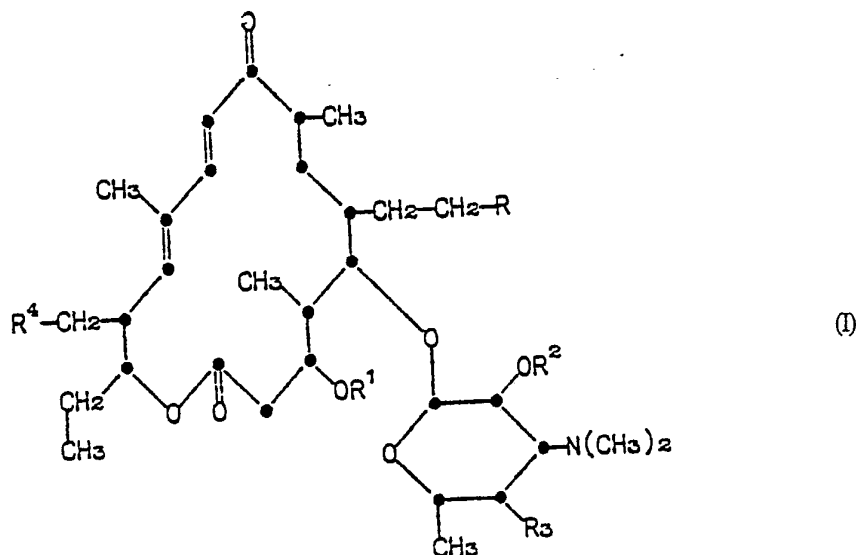
Diese Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Behandlung oder Unterdrückung mikrobieller Infektionen in einem warmblütigen Tier, bei dem diesem Tier Macrolidantibiotika und zwar C-2O-modifizierte Derivate von Tylosin, Desmycosin, Macrocine, Lactenocin, 2"-O-Demethylmacrocine (DOMM), 2"-O-Demethylacetanocin (DOML), Dihydrotylosin (Relomycin), Dihydrodesmycosin, Dihydromacrocine, Dihydrolactenocin, Dihydro-

DOMM, Dihydro-DOML und 4'-Deoxydesmycosin verabreicht werden.
Es besteht ein fortlaufender Bedarf an verbesserten Antibiotika. Außer für Antibiotika, die zur Behandlung von Humanerkrankungen nützlich sind, werden auch verbesserte Antibiotika auf dem Veterinärgebiet benötigt. Erhöhte Stärke, ausgedehntes Spektrum bakterieller Hemmung, erhöhte in vivo-Wirksamkeit und verbesserte pharmazeutische Eigenschaften (wie höhere orale Absorption, höhere Blut- oder Gewebekonzentrationen, längere Körperhalbwertszeit und vorteilhaftere Ausscheidungsgeschwindigkeit oder vorteilhafterer Ausscheidungsweg und vorteilhaftere Stoffwechselgeschwindigkeit oder Art des Stoffwechsels) sind einige der Ziele für verbesserte Antibiotika.

Tylosin ist ein wohl bekanntes therapeutisches Mittel auf dem Veterinärgebiet. (Siehe z. B. Tetrahedron Letters 1970, 2339, und US-PS Nr. 3,178,341.) Tylosin und tylosinähnliche Macrolide sind bei Versuchen zur Gewinnung von Derivaten mit verbesserten Eigenschaften modifiziert worden. Es ist eine große Zahl von Derivaten hergestellt worden, doch ist das gewünschte Ausmaß an Verbesserung der Aktivität bisher nicht erreicht worden.

Es wurde nun entdeckt, daß die reduktive Aminierung der C-2O-Aldehydgruppe des Tylosins und der vorerwähnten tylosinähnlichen Macrolide unter Verwendung bestimmter cyclischer Amine als Aminierungsmittel zu Derivaten mit signifikant erhöhter Aktivität führt.

Im spezielleren werden beim Verfahren der Erfindung Macrolidderivate mit der Formel



und pharmazeutisch annehmbare Salze davon verabreicht, worin

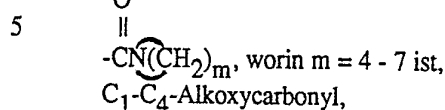
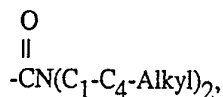
R ein monocyclischer, gesättigter oder ungesättigter Ring, der ein Stickstoffatom als einziges Heteroatom enthält, wobei der Ring durch das Stickstoffatom gebunden und 5 bis 16 Ringatome enthält, oder ein bicyclischer oder tricyclischer, gesättigter oder ungesättigter Ring ist, der ein Stickstoffatom als einziges Heteroatom enthält, wobei der Ring über das Stickstoffatom gebunden ist und 8 bis 20 Ringatome enthält, und wobei der monocyclische, bicyclische oder tricyclische Ring gegebenenfalls an einem oder mehreren Kohlenstoffatomen durch

C_1-C_4 -Alkyl,

Hydroxyl,

Di-(C_1-C_4 -alkyl)amino,

$-N(CH_2)_m$, worin $m = 4 - 7$ ist,



Phenyl,

10 Phenyl, das durch 1, 2 oder 3 aus Nitro, Halogen, $\text{C}_1-\text{C}_4-\text{Alkyl}$, $\text{C}_1-\text{C}_4-\text{Alkoxy}$, Hydroxy, Amino und Mono- oder Di- $(\text{C}_1-\text{C}_4-\text{alkyl})$ amino ausgewählte Gruppen substituiert ist,

Benzyl,

$\text{C}_2-\text{C}_4-\text{Alkenyl}$,

$\text{C}_2-\text{C}_4-\text{Alkynyl}$,

$\text{C}_1-\text{C}_4-\text{Alkoxy}$,

15 $\text{C}_1-\text{C}_4-\text{Alkanoyloxy}$,

Halogen,

Halogen- $(\text{C}_1-\text{C}_4-\text{alkyl})$ -,

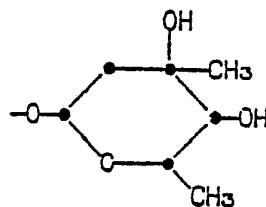
Cyano,

Ethylendioxy substituiert ist,

20 R^1 Wasserstoff oder eine Hydroxylschutzgruppe darstellt;

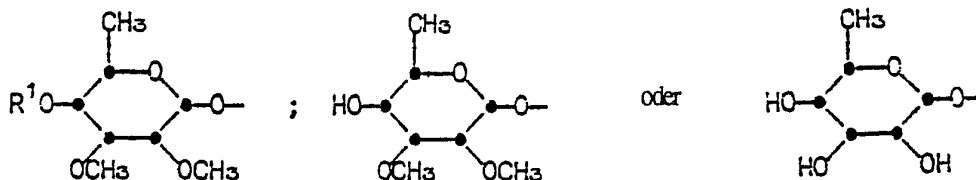
R^2 Wasserstoff, gegebenenfalls substituiertes $\text{C}_1-\text{C}_5-\text{Alkanoyl}$, gegebenenfalls substituiertes Phenylacetyl, gegebenenfalls substituiertes Phenylpropionyl oder gegebenenfalls substituiertes Benzoyloxy symbolisiert;

25 R^3 für Wasserstoff, Jod, Hydroxy, gegebenenfalls substituiertes $\text{C}_1-\text{C}_5-\text{Alkanoyloxy}$, gegebenenfalls substituiertes Benzoyloxy, gegebenenfalls substituiertes Phenylacetoxy, gegebenenfalls substituiertes Phenoxyacetoxy oder



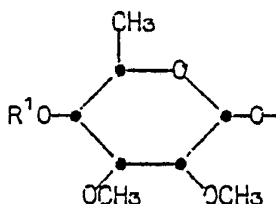
(Mycarosyloxy) steht;

40 R^4



(Mycimisyloxy)

55 bedeutet, worin R^1 wie oben definiert ist; oder ein Säureadditionssalz davon; mit der Maßgabe, daß, falls R^3 Wasserstoff oder Jod darstellt,

R⁴

ist.

Falls R ein ungesättigter Ring ist, sind repräsentative Gruppen 1,2,5,6-Tetrahydropyridin-1-yl, 1,2,3,4-Tetrahydrochinolin-1-yl, 1,2,3,4-Tetrahydroisochinolin-2-yl, Indol-1-yl, Isoindol-2-yl, Indolin-1-yl, Isoindolin-2-yl, 2,3,4,5-Tetrahydro-1H-1-benzazepin-1-yl, 2,3,4,5-Tetrahydro-1H-2-benzazepin-2-yl, 2,3,4,5-Tetrahydro-1H-3-benzazepin-3-yl, Pyrrol-1-yl, 1H-Azepin-1-yl, Carbazol-9-yl, Acridin-10-yl und Acridin-9-on-10-yl.

Falls R ein gesättigter, bicyclischer oder tricyclischer Ring ist, umfassen repräsentative Gruppen Decahydrochinolin-1-yl, Decahydroisochinolin-2-yl, Decahydrocyclohepta[b]-pyrrol-1-yl, Decahydrocyclohepta[c]pyrrol-2-yl, Decahydrocyclopent[c]azepin-2-yl, Decahydrocyclopent[d]azepin-3-yl, eine Azabicycloheptanylgruppe, wie 3-Azabicyclo[3.2.0]-heptan-3-yl, eine Azabicyclooctanylgruppe, wie 6-Azabicyclo[3.2.1]-octan-6-yl, eine Azabicyclononanylgruppe, wie 3-Azabicyclo[3.2.2]nonan-3-yl, eine Azabicyclodecanylgruppe, wie 4-Azabicyclo[5.3.0]decan-4-yl, eine Azatricyclotetradecanylgruppe, wie 2-Azatricyclo[6.2.2.2^{3,6}]tetradecan-2-yl, 1-Azaspiro[4.5]decan-1-yl, und Dodecahydrocarbazol-9-yl.

Falls R ein substituierter Ring ist, umfassen repräsentative Gruppen 1,3,3-Trimethyl-6-azabicyclo[3.2.1]-octan-6-yl, 4-Piperidinopiperidin-1-yl, 3,3,5-Trimethylhexahydroazepin-1-yl, 4-Hydroxypiperidin-1-yl, 3-(N,N-Diethylcarbamoyl)piperidin-1-yl und dergleichen.

In Resten, die eine "C₁-C₄-Alkylgruppe" enthalten, kann die Alkylgruppe gerade, verzweigt oder cyclisch sein.

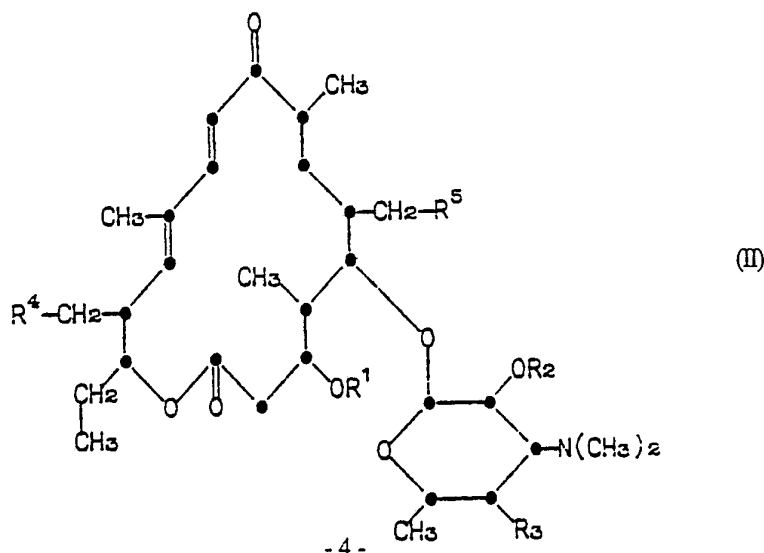
Der Ausdruck "C₁-C₅-Alkanoyl", wie er im Rahmen der Erfindung verwendet wird, bezieht sich auf einen Acylrest, der sich von einer 1 bis 5 Kohlenstoffatome enthaltenden Carbonsäure ableitet. Falls gegebenenfalls substituiert, kann die Alkylgruppe ein bis drei Halogensubstituenten tragen. Halogensubstituenten werden aus der aus Cl, Br und F bestehenden Gruppe gewählt. Acetyl, Chloracetyl, Trichloracetyl, Trifluoracetyl, Propionyl, n-Butyryl, Isobutyryl, n-Valeryl und Isovaleryl sind Beispiele für solche Gruppen. Der Ausdruck "C₁-C₅-Alkanoyloxy" bezieht sich auf den entsprechenden Acyloxyrest.

Die Ausdrücke "gegebenenfalls substituiertes Benzoyl, Phenylacetyl oder Phenylpropionyl" und "gegebenenfalls substituiertes Benzoyloxy, Phenylacetoxy oder Phenoxyacetoxy" bedeuten, daß der Phenylabschnitt des Restes gegebenenfalls durch 1 bis 5 Halogen- oder Methylgruppen oder durch 1 bis 2 Methoxyl-, Nitro- oder Hydroxylgruppen substituiert ist.

Der Ausdruck "Hydroxyl-Schutzgruppe" bezieht sich auf einen Substituenten, der unter den Reaktionsbedingungen nicht entfernt wird, der jedoch nach Beendigung der Reaktion unter Freisetzung der ursprünglichen Hydroxylgruppe leicht entfernt werden kann. Hydroxyl-Schutzgruppen sind auf dem Fachgebiet wohl bekannt (siehe z. B. T.W. Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", Wiley-Interscience, 1981, S. 10 - 86). Eine besonders geeignete Hydroxyl-Schutzgruppe ist die Tetrahydropyranylgruppe.

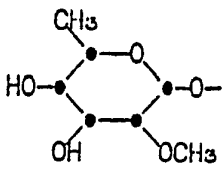
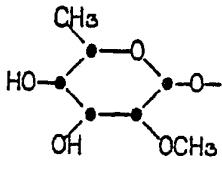
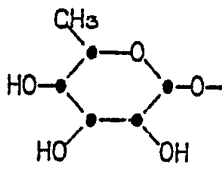
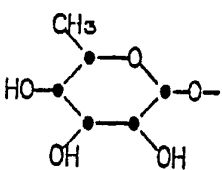
Herstellung von Macroliden der Formel (I)

Macrolide der Formel (I) können aus entsprechenden Macroliden der Formel



hergestellt werden, worin R^1 , R^2 , R^3 und R^4 die oben in Formel (I) angegebene Bedeutung haben und R^5 -CHO oder $-CH_2L$ ist. L bedeutet eine austretende Gruppe, die befähigt ist, durch ein Amin der Formel HR, worin R wie in Formel (I) definiert ist, verdrängt zu werden.

Somit können Macrolide der Formel (I) durch reduktive Aminierung von Aldehyden der Formel (II), worin R^5 -CHO ist, hergestellt werden. Aldehydausgangsmaterialien umfassen die folgenden bekannten Macrolide der Formel (II):

		R^1	R^2	R^3	R^4
10	Tylosin	H	H	Mycarosyloxy	Mycinosyloxy
	Desmycosin	H	H	OH	Mycinosyloxy
	4'-Deoxydesmycosin	H	H	H	Mycinosyloxy
15					
20	Macrocin	H	H	Mycarosyloxy	
25	Lactenocin	H	H	OH	
30					
35	2'''-O-Demethylmacrocin (DOMM)	H	H	Mycarosyloxy	
40					
45	2'''-O-Demethylactenocin (DOML)	H	H	OH	
50					

Tylosin und seine Herstellung durch Fermentation von *Streptomyces fradiae* NRRL 2702 oder 2703 ist in der US-PS 3,178.341 beschrieben. Desmycosin und die Herstellung von Desmycosin durch milde saure Hydrolyse des Tylosins sind ebenfalls in der US-PS 3,178.341 beschrieben.

4'-Deoxydesmycosin und ein Verfahren zur Herstellung desselben aus Desmycosin sind von A. Tanaka und Mitarbeitern in J. Antibiotics 34, 1381-84 (1981) beschrieben worden.

Macrocin und seine Herstellung durch Fermentation des *Streptomyces fradiae* NRRL 2702 oder 2703 sind in der US-PS 3,326.759 beschrieben. Lactenocin und die Herstellung des Lactenocins durch milde saure Hydrolyse des Macrocin sind ebenfalls in der US-PS 3,326.759 beschrieben.

DOMM und seine Herstellung durch Fermentation von *Streptomyces fradiae* ATCC 31669 sind in der veröffentlichten europäischen Patentanmeldung 45157 beschrieben. DOML und die Herstellung von DOML durch

milde saure Hydrolyse von DOMM sind gleichfalls in der veröffentlichten europäischen Patentanmeldung 45157 beschrieben.

Aldehydausgangsmaterialien der Formel (II), welche 2'- oder 4'-Monoester oder 2',4'-Diester der oben beschriebenen bekannten Macrolide sind, d. h. Macrolide der Formel (II), worin R^2 von Wasserstoff verschieden ist oder R^3 von Hydroxyl verschieden ist, oder beides, werden durch bekannte Acylierungsverfahren hergestellt. Typische Acylierungsmittel umfassen aktivierte Carbonsäurederivate, wie Anhydride, Säurehalogenide (üblicherweise in Kombination mit einer Base oder einem anderen Säurefänger) und aktive Ester. Geeignete organische Lösungsmittel für diese Reaktion umfassen Pyridin und Triethylamin. Die Acylierung kann auch unter Verwendung eines Gemisches einer organischen Säure und eines Dehydratisierungsmittels, wie N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid, erzielt werden. Sobald das Acylderivat gebildet ist, kann es abgetrennt und durch bekannte Methoden gereinigt werden.

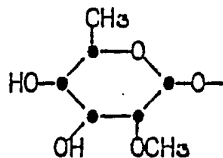
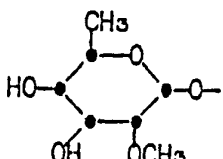
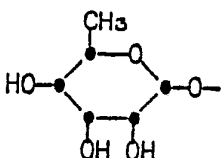
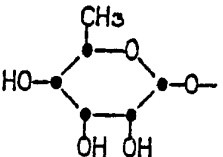
Aldehydausgangsmaterialien der Formel (II), die 2'-Monoesterderivate sind, können durch selektive Veresterung von Verbindungen der Formel (II), worin R^2 Wasserstoff ist und R^3 für Hydroxyl steht, unter Verwendung der in den US-PS 4,321.361 und 4,321.362 beschriebenen Methode hergestellt werden. 2'-Hydroxylgruppen unterliegen leichter der Veresterung als 4'-Hydroxylgruppen. Demgemäß können die 2'-Monoesterderivate selektiv durch beispielsweise Behandlung des Macrolidausgangsmaterials mit einer stöchiometrischen Menge (oder einem geringen Überschuß) eines Acylierungsmittels, wie einem Acylanhydrid, bei etwa Zimmertemperatur während etwa 1 bis etwa 24 Stunden, bis die Veresterung im wesentlichen vollständig ist, hergestellt werden. Der 2'-Monoester kann aus dem Reaktionsgemisch durch Standardverfahrensweisen, wie Extraktion, Chromatographie und Kristallisation, isoliert werden.

Aldehydausgangsmaterialien, die 2',4'-Diesterderivate sind, werden aus Macroliden der Formel (II), worin R^2 Wasserstoff ist und R^3 für Hydroxyl steht, unter Anwendung der Verfahrensweise hergestellt, die in der veröffentlichten europäischen Patentschrift 82.003 beschrieben ist. Somit werden symmetrische 2',4'-Diesterderivate durch Behandlung des bekannten Macrolids der Formel (II), worin R^2 Wasserstoff ist und R^3 Hydroxyl ist, mit einer stöchiometrischen Menge (oder einem geringen Überschuß) eines Acylierungsmittels, wie einem Acylanhydrid, in einem neutralen Lösungsmittel, wie Aceton, bei etwa Zimmertemperatur während 1 bis etwa 24 Stunden, bis die Veresterung der 2'- und 4'-Hydroxylgruppen vollständig ist, hergestellt. Unsymmetrische 2',4'-Diesterderivate, d. h. Verbindungen der Formel (II), worin OR^2 und R^3 verschieden sind, können durch Acylierung der entsprechenden 2'-Monoester hergestellt werden.

Die Aldehydausgangsmaterialien der Formel (II) werden in die Amine der Formel (I) durch Reduktion in Gegenwart eines Amins der Formel HR, worin R wie in Formel (I) definiert ist, umgewandelt. Das bevorzugte Reduktionsmittel ist ein Cyanoborhydrid der Formel MBH_3CN , worin M ein Metall der Gruppe 1A oder Ammonium ist. Natriumcyanoborhydrid ist das Reduktionsmittel der Wahl. Die Reaktion wird vorzugsweise unter Verwendung eines Überschusses des Amins der Formel HR, typischerweise von 2 bis 3 Äquivalenten, ausgeführt. Das Lösungsmittel für die Reaktion wird normalerweise ein inertes, polares Lösungsmittel, wie ein C_1 - C_4 -Alkanol, vorzugsweise Methanol, sein. Die Reaktionstemperatur kann 0 bis 60 °C, vorzugsweise 20 bis 40 °C, betragen. Neutrale Bedingungen (pH 6 bis 8) werden bevorzugt. Dehydratisierungsmittel, wie 4A-Molekularsieb oder wasserfreies Natrium- oder Magnesiumsulfat, können vorteilhafterweise bei der Reaktion verwendet werden.

Amine der Formel (I) können auch durch Umsetzung eines Amins der Formel HR, worin R wie in Formel (I) definiert ist, mit einem Macrolid der Formel (II), worin R^5 - CH_2L ist und eine austretende Gruppe bedeutet, die befähigt ist, vom Amin verdrängt zu werden, hergestellt werden. Geeignete austretende Gruppen umfassen z. B. Trifluormethansulfonyl (Triflat) und Jod.

Ausgangsmaterialien der Formel (II), worin R^5 - CH_2L ist, werden zweckmäßigerweise aus den folgenden bekannten Macroliden der Formel (II), worin R^5 - CH_2OH ist, hergestellt:

	R^1	R^2	R^3	R^4
5 Dihydrotylosin (Relomycin) Dihydrodesmycosin	H H	H H	Mycarosyloxy OH	Mycinosyloxy Mycinosyloxy
10 Dihydromacrocin	H	H	Mycarosyloxy	
15 Dihydrolactenocin	H	H	OH	
20 Dihydro-DOMM	H	H	Mycarosyloxy	
25 Dihydro-DOML	H	H	OH	

Diese Macrolide werden durch Reduktion der Aldehydgruppe des Tylosins, Desmycosins, Macrocin, Lactenocins, DOMM bzw. DOML hergestellt.

Die C-2O-Hydroxylgruppe der vorstehenden Macrolide wird dann nach an sich bekannten Methoden in die gewünschte austretende Gruppe L umgewandelt. Beispielsweise kann die C-2O-Hydroxylgruppe durch Umsetzung des Macrolids mit einem aktivierten Derivat von Trifluormethansulfonsäure, wie Trifluormethansulfonsäureanhydrid oder Trifluormethansulfonylchlorid, in Gegenwart einer Base in einem nicht-reaktiven organischen Lösungsmittel in die Triflat-Gruppe umgewandelt werden. Gewünschtenfalls kann die Triflat-Gruppe in die Jodgruppe umgewandelt werden, z. B. durch Umsetzung des nicht-isolierten Sulfonsäureesterzwischenproduktes mit einer Quelle für Jodion, wie Tetra-n-butylammoniumjodid, oder Natriumjodid. Im Falle von Dihydrodesmycosin, Dihydrolactenocin und Dihydro-DOML kann das 2O-Jodderivat direkt durch Zugabe von in einem geeigneten Lösungsmittel, wie Dimethylformamid, gelöstem Jod zu einer Lösung des 2O-Dihydromacrolidderivats und von Triphenylphosphin unter Stickstoff gebildet werden.

Die austretende Gruppe in C-2O kann dann durch Umsetzung mit dem Amin HR in einem geeigneten, nicht-reaktionsfähigen, organischen Lösungsmittel, wie Acetonitril, unter Bildung der Verbindungen der Formel (I), verdrängt werden.

Falls ein Produkt der Formel (I) ein solches ist, in welchem R^3 Mycarosyloxy ist, kann das entsprechende Macrolid der Formel (I), worin R^3 Hydroxyl bedeutet, durch saure Hydrolyse des anfänglich vorliegenden Produktes hergestellt werden. Im spezielleren kann der Mycarosezucker bei einem pH von weniger als 4, vorzugsweise im Bereich von 0,5 bis 2,0, bei einer Temperatur im Bereich von 0 bis 60 °C, zweckmäßigerweise bei etwa Zimmertemperatur, hydrolytisch abgespalten werden. Die Hydrolyse kann unter Verwendung einer

starken, wässrigen Mineralsäure, wie Chlorwasserstoff- oder Schwefelsäure, oder einer starken organischen Säure, wie p-Toluolsulfonsäure, bewirkt werden.

Wie oben erwähnt, ist ein Verfahren zur Herstellung von 4'-Deoxydesmycosin in J. of Antibiotics 34, 1381-84 (1981) beschrieben. Das Verfahren umfaßt

- (1) die Behandlung des Desmycosins mit saurem Ethanol gemäß einer Verfahrensweise, die in Antibiot. & Chemoth. 11, 320 - 27 (1961) beschrieben ist, um das entsprechende Diethylacetal zu erhalten;
- (2) die Acylierung des Diethylacetals mit Essigsäureanhydrid in Acetonitril in Abwesenheit externer Base, nach einer Verfahrensweise, die in J. Org. Chem. 44, 2050-52 (1979) beschrieben ist, um das 2',4'-Di-O-acetylderivat zu erhalten;
- (3) die Umsetzung des 2',4'-Di-O-acetylderivats mit 2,3-Dihydrofuran in Dichlormethan in Gegenwart von Pyridinium-p-toluolsulfonat, in der in J. Org. Chem. 42, 3772-74 (1974) beschriebenen Weise, zur Gewinnung des 3,4"-Bis(O-tetrahydrofuranyl)derivats;
- (4) die Entfernung der 2'- und 4'-O-Acetylgruppen durch Auflösung des Produktes der Stufe (3) in Methanol (50 °C, über Nacht);
- (5) die Umsetzung des Produktes der Stufe (4) mit 1,5 Moläquivalenten Benzolsulfonylchlorid in Pyridin bei -40 °C während 4 Stunden, um das 4'-O-Benzolsulfonylderivat zu erhalten;
- (6) die sofortige Umsetzung des 4'-O-Benzolsulfonylderivats mit 1,5 Äquivalenten Natriumjodid in Methyläthylketon bei 180 °C während 15 Minuten zur Gewinnung des 4'-Jodderivats;
- (7) die reduktive Entjodierung des 4'-Jodderivats unter Verwendung von Tri(n-butyl)stannan in Benzol in Gegenwart von 2,2'-Azobis-isobutyronitril bei 80 °C während 2 Stunden; und
- (8) die Entblockierung der Diethylacetal- und Tetrahydrofuranylgruppen durch Hydrolyse des Produktes der Stufe (7) in 0,1M wässrigem Chlorwasserstoffsäure-Acetonitril (2,5 : 1 Vol./Vol.) während 30 Minuten bei 25 °C, um 4'-Deoxydesmycosin zu erhalten.

Das so hergestellte 4'-Deoxydesmycosin kann dann an der C-20-Stelle und gegebenenfalls an der 2'-Stelle wie oben beschrieben modifiziert werden.

Alternativ kann ein C-2O-modifiziertes Derivat von 4'-Deoxydesmycosin durch Entoxygenierung eines C-2O-modifizierten Derivats des Desmycosins, z. B. durch Behandlung des C-2O-modifizierten Derivats nach den Stufen 2 bis 6 oder 2 bis 8 des Verfahrens gemäß J. Antibiotics 34, 1381-84 (1981), wie oben beschrieben, hergestellt werden.

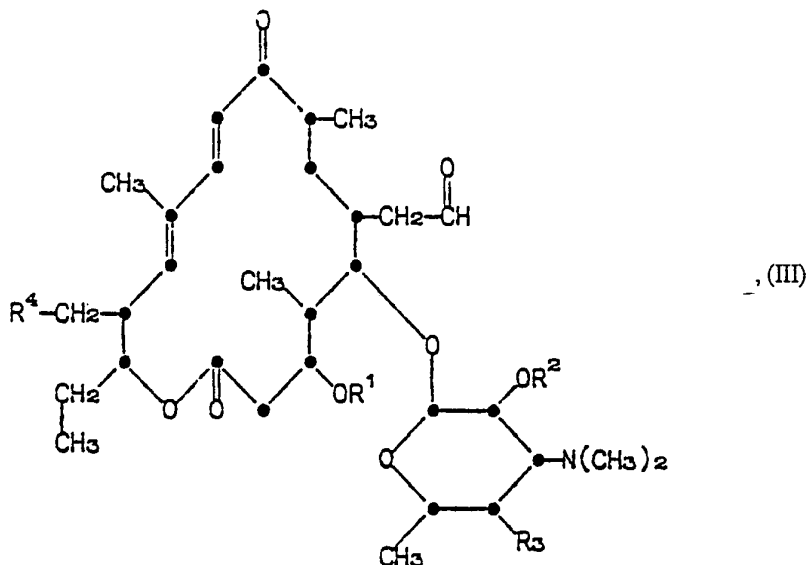
Die Verfahrensweisen, die zur Herstellung der 2'- und 4'-Ester der Ausgangsmacrolide der Formel (II) angewendet werden, wurden oben beschrieben. Macrolide der Formel (I) können unter Verwendung identischer Verfahrensweisen zur Gewinnung der 2'- und 4'-Monoester und 2',4'-Diester der Formel (I) acyliert werden.

Die erfindungsgemäß verabreichbaren C-2O-modifizierten Derivate bilden Salze, insbesondere Säureadditionssalze. Diese Säureadditionssalze sind auch als Antibiotika nützlich. Außerdem haben die Salze eine verbesserte Löslichkeit in Wasser.

Repräsentative geeignete Salze umfassen solche Salze, die durch Standardreaktionen mit sowohl organischen als auch anorganischen Säuren, wie z. B. Schwefelsäure, Salzsäure, Phosphorsäure, Essigsäure, Bernsteinsäure, Citronensäure, Milchsäure, Maleinsäure, Fumarsäure, Palmitinsäure, Cholsäure, Embonsäure, Mucinsäure, D-Glutaminsäure, d-Camphersäure, Glutarsäure, Glykolsäure, Phthalsäure, Weinsäure, Ameisensäure, Laurinsäure, Stearinsäure, Salicylsäure, Methansulfonsäure, Benzolsulfonsäure, Sorbinsäure, Picrinsäure, Benzoessäure, Zimtsäure u. dgl. Säuren, gebildet werden.

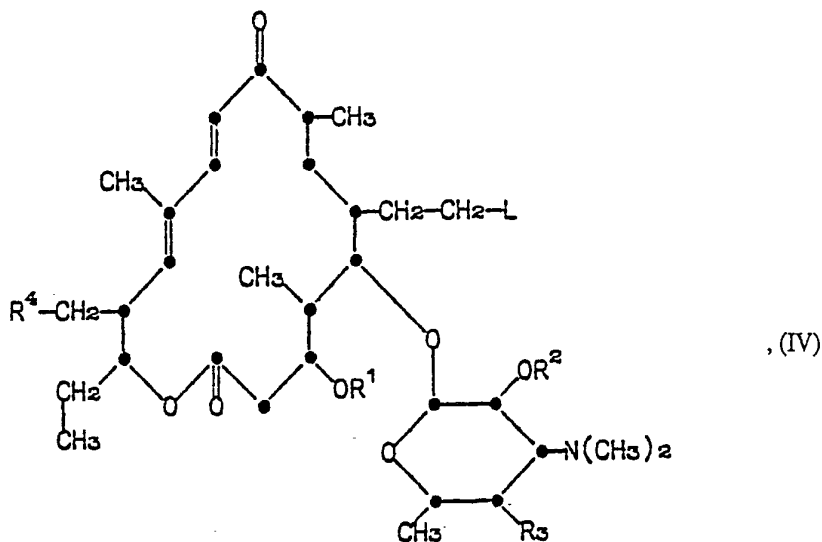
Die beim Verfahren der vorliegenden Erfindung zu verabreichenden Macrolide der Formel (I) und die pharmazeutisch annehmbaren Salze davon sind durch:

(a) die Reduktion eines Aldehyds der Formel



worin R^1 , R^2 , R^3 und R^4 wie in Formel (I) definiert sind, in Gegenwart eines Amins der Formel HR, worin R wie in Formel (I) definiert ist, oder

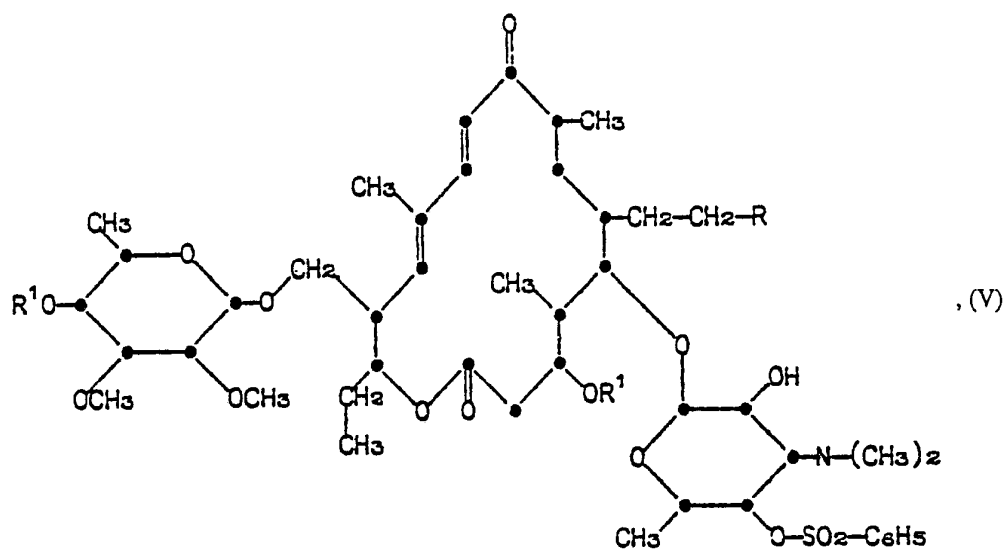
(b) die Umsetzung eines Amins der Formel HR, worin R wie in Formel (I) definiert ist, mit einem Macrolid der Formel



worin L eine austretende Gruppe ist, die zur Verdrängung durch das Amin HR befähigt ist, in einem nicht-reaktionsfähigen organischen Lösungsmittel, oder

(c) die Abspaltung des Mycarosezuckers aus einem Macrolid der Formel (I), worin R^3 Mycarosyloxy ist, durch saure Hydrolyse unter Bildung eines Macrolids der Formel (I), worin R^3 Hydroxy ist, oder

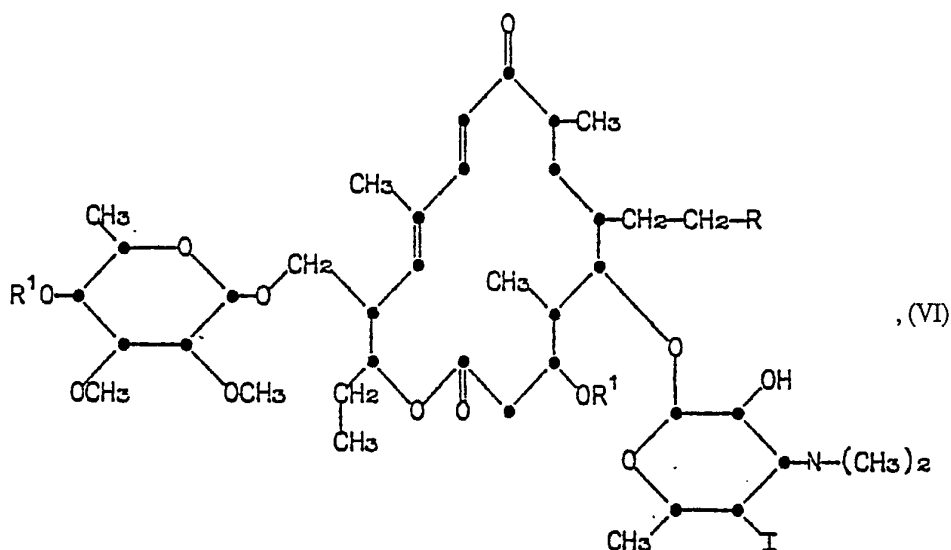
(d) die Umwandlung eines Sulfonsäureesters der Formel



worin R und R^1 wie in Formel (I) definiert sind, zum entsprechenden 4'-Jodid durch Umsetzung des

Sulfonsäureestern mit einer Quelle für Jodidion in einem inerten organischen Lösungsmittel, und, falls R^1 eine von Wasserstoff verschiedene Bedeutung hat, gegebenenfalls Hydrolyse unter Bildung des entsprechenden Macrolids, worin R^1 Wasserstoff ist, oder

(e) die reduktive Entjodierung des Macrolids der Formel



worin R wie in Formel (I) definiert ist und jedes R^1 eine Hydroxylschutzgruppe ist, unter Bildung eines Macrolids der Formel (I), worin R^3 H ist, und gegebenenfalls Entfernung der Hydroxylschutzgruppen unter Schaffung eines Macrolids der Formel (I), worin R^1 und R^3 Wasserstoff sind, und

(f) erforderlichenfalls Veresterung oder Salzbildung oder beides an einem Produkt der Reaktion (a), (b), (c), (d) oder (e) erhältlich.

Veranschaulichende C-2O-modifizierte Derivate umfassen die Verbindungen, die in den Tabellen I bis VIII angegeben sind.

Tabelle I

Veranschaulichende C-2O-modifizierte Derivate von Tylosin^a

Verbindung Nr.	R
T1	Pyrrolidin-1-yl
T2	Piperidin-1-yl
T3	4-Hydroxypiperidin-1-yl
T4	4-Phenylpiperidin-1-yl
T5	Hexahydroazepin-1-yl
T6	Octahydroazocin-1-yl
T7	Octahydro-1H-azonin-1-yl
T8	Decahydroazecin-1-yl
T9	Azacycloundecan-1-yl
T10	Azacyclotridecan-1-yl
T11	1,2,3,4-Tetrahydrochinolin-1-yl
T12	1,2,3,4-Tetrahydroisochinolin-2-yl
T13	3-Azabicyclo[3.2.2]nonan-3-yl

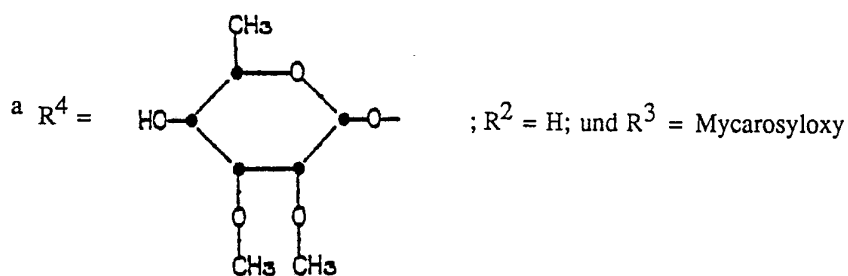
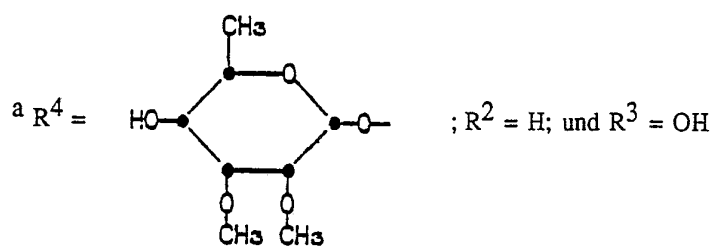


Tabelle II

Veranschaulichende C-2O-modifizierte Derivate des Desmycosins^a

Verbindung Nr.	R	R ³
D1	Pyrrolidin-1-yl	OH
D1a	"	H
D2	Piperidin-1-yl	OH
D2a	"	H
D3	4-Hydroxypiperidin-1-yl	OH
D3a	"	H
D4	4-Phenylpiperidin-1-yl	OH
D4a	"	H
D5	Hexahydroazepin-1-yl	OH
D5a	"	H
D6	Octahydroazocin-1-yl	OH
D6a	"	H
D7	Octahydro-1H-azonin-1-yl	OH
D7a	"	H
D8	Decahydroazecin-1-yl	OH
D8a	"	H
D9	Azacycloundecan-1-yl	OH
D9a	"	H
D10	Azacyclotridecan-1-yl	OH
D10a	"	H



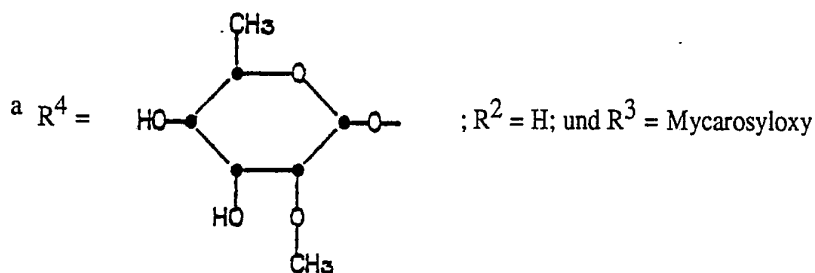
5

Tabelle II (Fortsetzung)

	Verbindung Nr.	R	R ³
10	D11	1,2,3,4-Tetrahydrochinolin-1-yl	OH
	D11a	"	H
	D12	1,2,3,4-Tetrahydroisochinolin-2-yl	OH
	D12a	"	H
15	D13	4-Piperidinopiperidin-1-yl	OH
	D13a	"	H
	D14	3-Azabicyclo[3.2.2]nonan-3-yl	OH
	D14a	"	H
20	D15	3-(N,N-Diethylcarbamoyl)piperidin-1-yl	OH
	D15a	"	H
	D16	4-(N,N-Dimethylamino)hexahydroazepin-1-yl	OH
	D16a	"	H
25	D17	2-Azabicyclo[2.2.2]octan-2-yl	OH
	D17a	"	H
	D18	Decahydrocyclopent[d]azepin-3-yl	OH
	D18a	"	H
30	D19	1-Azaspiro[4.5]decan-1-yl	OH
	D19a	"	H
	D20	Decahydrochinolin-1-yl	OH
	D20a	"	H
35	D21	1,3,3-Trimethyl-6-azabicyclo[3.2.1]octan-6-yl	OH
	D21a	"	H
	D22	1,2,3,6-Tetrahydropyridin-1-yl	OH
	D22a	"	H
40	D23	3,3,5-Trimethylhexahydroazepin-1-yl (Isomer 1)	OH
	D23a	"	H
	D24	" (Isomer 2)	OH
	D24a	"	H
45	D25	Dodecahydrocarbazol-9-yl	OH
	D25a	"	H
	D26	4-Phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin-1-yl	OH
	D26a	"	H
50	D27	4-Benzyl-piperidin-1-yl	OH
	D27a	"	H
	D28	4-(Ethylendioxy)-piperidin-1-yl	OH
	D28a	"	H
55	D29	Decahydroisochinolin-2-yl	OH
	D29a	"	H
	D30	7-Azabicyclo[2.2.1]heptan-7-yl	OH
	D30a	"	H
60	D31	Pyrrol-1-yl	OH
	D31a	"	H
	D32	Carbazol-9-yl	OH
	D32a	"	H

Tabelle IIIVeranschaulichende C-2O-modifizierte Derivate von Macrocin^a

Verbindung Nr.	R
M1	Pyrrolidin-1-yl
M2	4-Phenylpiperidin-1-yl
M3	Hexahydroazepin-1-yl
M4	Octahydroazocin-1-yl
M5	Octahydro-1H-azonin-1-yl
M6	Azacyclotridecan-1-yl
M7	1,2,3,4-Tetrahydroisochinolin-2-yl
M8	3-Azabicyclo[3.2.2]nonan-3-yl

Tabelle IVVeranschaulichende C-2O-modifizierte Derivate von Lactenocin^a

Verbindung Nr.	R
L1	Pyrrolidin-1-yl
L2	Piperidin-1-yl
L3	4-Phenylpiperidin-1-yl
L4	Hexahydroazepin-1-yl
L5	Octahydroazocin-1-yl
L6	Octahydro-1H-azonin-1-yl
L7	Azacyclotridecan-1-yl
L8	1,2,3,4-Tetrahydroisochinolin-2-yl
L9	3-Azabicyclo[3.2.2]nonan-3-yl
L10	1,3,3-Trimethyl-6-azabicyclo[3.2.1]-octan-6-yl

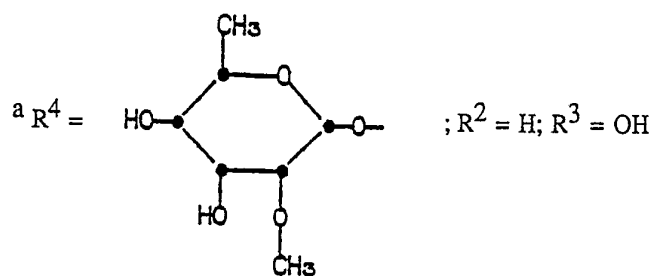


Tabelle V

Veranschaulichende C-2O-modifizierte Derivate von DOMM^a

Verbindung Nr.	R
C1	Pyrrolidin-1-yl
C2	4-Phenylpiperidin-1-yl
C3	Hexahydroazepin-1-yl
C4	Octahydroazocin-1-yl
C5	Azacyclotridecan-1-yl

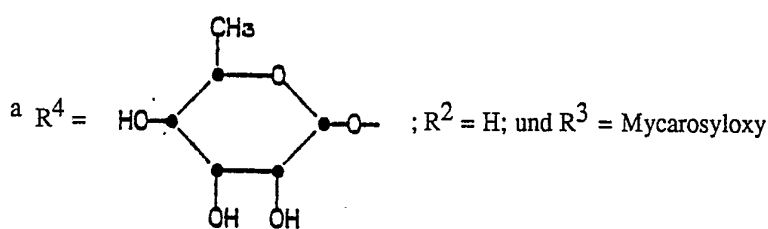


Tabelle VI

Veranschaulichende C-2O-modifizierte Derivate von DOML^a

Verbindung Nr.	R
N1	Pyrrolidin-1-yl
N2	4-Phenylpiperidin-1-yl
N3	Hexahydroazepin-1-yl
N4	Octahydroazocin-1-yl
N5	Octahydro-1H-azonin-1-yl
N6	Azacyclotridecan-1-yl
N7	1,2,3,4-Tetrahydrochinolin-1-yl

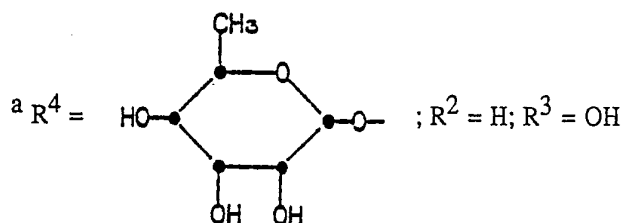
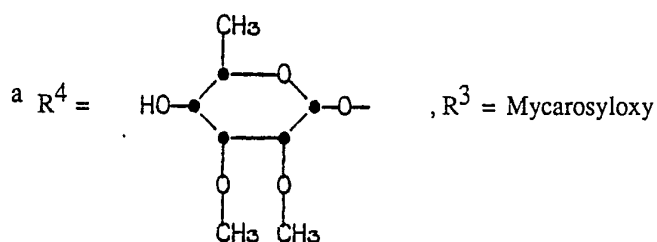


Tabelle VII

Veranschaulichende C-2O-modifizierte Esterderivate von Tylosin^a

Verbindung Nr.	R	R^2 (2') ^b
E1	Hexahydroazepin-1-yl	Propionyl
E2	Octahydroazocin-1-yl	Propionyl
E3	Piperidin-1-yl	Acetyl

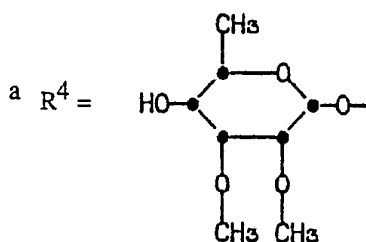


^b Die Positionsummer der veresterten Hydroxylgruppe in Klammer angegeben.

Tabelle VIII

Veranschaulichende C-2O-modifizierte Esterderivate von Desmycosin^a

Verbindung Nr.	R	R^2 (2') ^b	R^3 (4') ^b
E4	Hexahydroazepin-1-yl	Propionyl	H
E5	Hexahydroazepin-1-yl	Propionyl	Propionyl
E6	Octahydroazocin-1-yl	Acetyl	H
E7	Octahydroazocin-1-yl	Acetyl	Acetyl
E8	Piperidin-1-yl	Propionyl	H



Die Derivate der Formel (I) hemmen das Wachstum von pathogenen Bakterien, insbesondere grampositiven Bakterien, Mycoplasma-Spezies, und gramnegativen Bakterien, wie Pasteurella-Spezies. Die Derivate sind insbesondere gegen Pasteurella-Spezies, wie *P. multocida* und *P. hemolytica*, nützlich und gegen Mycoplasma-Spezies, wie *M. gallisepticum* und *M. hyopneumoniae* (den Erreger der Mycoplasmapneumonie beim Schwein).

Die minimalen Hemmkonzentrationen (MIC), bei welchen veranschaulichende Verbindungen bestimmte Bakterien hemmen, sind in den Tabellen IX und X angegeben. Die MIC's in Tabelle IX wurden durch Standard-Agarverdünnungstests bestimmt. Die MIC's in Tabelle X wurden unter Anwendung üblicher Brühe-Verdünnungsmikrotitertests erhalten.

(Es folgen die Tabellen IX und X)

Tabelle IX
Antibiotische Aktivität der C-2O-modifizierten Derivate^a

Testorganismus	Testverbindung ^b									
	D1	D4	D5	D5a	D6	D10	D14	M3	L5	
<u>Staphylococcus aureus</u> X1.1	2	0,5	0,5	0,5	0,5	0,25	0,25	4	1	
" " V41 ^c	2	0,5	0,5	0,5	0,5	0,25	0,25	8	1	
" " X400 ^d	2	0,5	1	1	0,5	0,25	0,5	32	2	
" " S13E	2	0,5	0,25	0,5	0,5	0,25	0,25	8	1	
<u>Staphylococcus epidermidis</u> EPI1	2	0,5	0,5	0,5	0,5	0,25	0,5	8	1	
" " EPI2	1	0,25	0,12	0,25	0,25	0,12	0,12	2	0,5	
<u>Streptococcus pyogenes</u> C203	1	0,25	0,5	0,25	0,5	NT ^h	NT	4	0,5	
" <u>pneumoniae</u> Park I	0,5	0,25	0,5	0,25	0,5	0,25	0,5	2	0,5	
" Group D X66	32	1	8	2	4	4	4	-	16	
" " 9960	16	2	8	2	8	4	4	-	16	
<u>Haemophilus influenzae</u> C.L. ^e	16	8	16	8	16	4	4	128	32	
" " 76 ^f	16	8	128	8	16	8	8	128	16	
<u>Escherichia coli</u> N10	- ^g	64	128	64	64	32	32	-	-	
" " EC14	-	64	4	128	128	64	32	-	-	
" " TEM	128	32	8	8	16	8	16	-	16	

Tabelle IX (Fortsetzung)
Antibiotische Aktivität der C-2O-modifizierten Derivate^a

Testorganismus	Testverbindung ^b										
	M4	L4	T6	T13	D2	D3	D7	D11	D12		
15 <i>Staphylococcus aureus</i> X1.1	4	2	4	4	0,5	8	8	0,5	0,5		
" " V41 ^c	4	2	4	4	0,5	8	8	0,5	0,5		
" " X400 ^d	8	2	8	8	1	16	16	0,5	0,5		
" " S13E	4	2	4	4	0,5	8	8	0,5	0,5		
<i>Staphylococcus epidermidis</i> EPI1	4	2	4	4	1	8	8	0,5	0,5		
" " EPI2	2	1	2	2	0,5	4	4	0,25	0,25		
<i>Streptococcus pyogenes</i> C203	2	1	2	4	0,25	1	1	0,06	0,5		
" <i>pneumoniae</i> Park I	32	8	8	16	0,25	8	8	0,5	2	1	
" Group D X66	-	32	-	128	16	128	128	4	4	4	
" " 9960	-	16	-	-	16	32	32	8	8	8	
25 <i>Haemophilus influenzae</i> C.L. ^e	128	16	64	128	16	64	64	16	64	16	
" " 76 ^f	128	16	-	128	16	64	64	16	8	8	
<i>Escherichia coli</i> N10	-	-	-	-	-	-	-	64	-	-	
" " EC14	-	-	-	-	-	-	-	64	-	128	
" " TEM	-	-	-	-	16	-	-	16	-	64	

Tabelle IX (Fortsetzung)
Antibiotische Aktivität der C-2O-modifizierten Derivate^a

Testorganismus	Testverbindung ^b										
	D13	D15	D19	D20	D21	D22	D23	D24	D25		
<i>Staphylococcus aureus</i> X1.1	0,5	2	1	0,5	1	1	0,5	0,5	0,5		
" " V41 ^c	1	2	1	0,5	1	0,5	0,5	0,5	0,5		
" " X400 ^d	1	4	1	0,5	1	1	1	1	1		
" " S13E	1	2	1	0,5	1	0,5	0,5	0,5	0,5		
<i>Staphylococcus epidermidis</i> EPI1	1	2	1	0,5	1	0,5	0,5	0,5	0,5		
" " EPI2	0,25	1	0,25	0,25	0,5	0,25	0,5	0,25	0,25		
<i>Streptococcus pyogenes</i> C203	2	0,5	0,5	0,25	0,5	0,25	0,5	0,25	0,25		
" <i>pneumoniae</i> Park I	2	1	0,25	0,12	0,5	1	0,5	1	0,5		
" Group D X66	2	32	16	8	4	8	4	4	4		
" 9960	2	32	16	8	8	8	8	8	4		
<i>Haemophilus influenzae</i> C.L. ^e	16	32	16	16	32	16	16	32	16		
" " 76 ^f	8	32	16	16	16	8	8	8	8		
<i>Escherichia coli</i> N10	-	-	128	128	64	-	64	64	128		
" EC14	-	-	128	128	64	-	64	64	128		
" TEM	-	64	32	32	32	64	32	32	32		

Tabelle IX (Fortsetzung)
Antibiotische Aktivität der C-2O-modifizierten Derivate^a

Testorganismus	Testverbindung ^b		
	D26	D27	D28
<u>Staphylococcus aureus</u> X1.1	0,5	1	2
" " V41 ^c	0,5	1	2
" " X400 ^d	0,5	1	4
" " S13E	0,5	1	2
<u>Staphylococcus epidermidis</u> EP11	0,5	1	2
" " EP12	0,25	0,25	1
<u>Streptococcus pyogenes</u> C203	0,25	0,25	0,5
" <u>pneumoniae</u> Park I	0,25	0,5	2
" Group D X66	1	2	8
" " 9960	2	4	8
<u>Haemophilus influenzae</u> C.L. ^e	32	32	32
" " 76 ^f	8	16	32
<u>Escherichia coli</u> N10	128	128	-
" " EC14	128	128	-
" " TEM	32	32	64

Tabelle IX (Fortsetzung)

Testorganismus	Testverbindung ^b									
	D1	D4	D5	D5a	D6	D10	D14	M3	L5	
Klebsiella X26	16	32	- ^g	8	16	16	8	-	16	

a MIC in µg/ml

b Verbindungsnummern aus Tabellen I - IV

c Penicillin-resistenter Stamm

d Methicillin-resistenter Stamm

e Ampicillin-empfindlicher Stamm

f Ampicillin-resistenter Stamm

g Bei 128 µg/ml, dem höchsten getesteten Wert, nicht aktiv

h nicht getestet

5

10

Tabelle IX (Fortsetzung)

<u>Testorganismus</u>	<u>Testverbindung^b</u>									
	M4	L4	T6	T13	D2	D3	D7	D11	D12	
<u>Klebsiella</u> X26	-	16	-	-	16	64	-	-	32	

15

20

25

Tabelle IX (Fortsetzung)

<u>Testorganismus</u>	<u>Testverbindung^b</u>											
	D13	D15	D19	D20	D21	D22	D23	D24	D25	D26	D27	D28
<u>Klebsiella</u> X26	16	32	32	16	64	64	128	128	128	64	64	64

30

35

Tabelle X
Antibiotische Aktivität der C-2O-modifizierten Derivate^a

Testorganismus	Testverbindung ^b											
	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D10	D11	D12		
<u>Staphylococcus aureus</u>	0,78	0,78	12,5	0,39	1,56	0,78	1,56	0,39	1,56	1,56		
<u>Streptococcus</u> sp. 80	6,25	6,25	12,5	0,09	3,12	0,78	3,12	0,78	3,12	3,12		
<u>Pasteurella multocida</u> 17E ^c	6,25	25	50	6,25	3,12	3,12	6,25	1,56	12,5	6,25		
" " 60A ^d	6,25	6,25	50	6,25	3,12	6,25	6,25	3,12	50	12,5		
<u>Pasteurella hemolytica</u> 22C	6,25	3,12	50	6,25	1,56	1,56	3,12	1,56	25	3,12		
<u>Mycoplasma gallisepticum</u>	12,5	3,12	25	0,39	1,56	1,56	0,39	0,097	≤0,048	≤0,048		
" <u>synoviae</u>	0,39	0,78	6,25	<0,05	0,39	0,78	0,39	≤0,048	0,78	0,39		
" <u>hyorhinis</u>	50	>50	50	50	50	50	25	12,5	6,25	12,5		
" <u>hypopneumoniae</u>	12,5	12,5	6,25	0,78	1,56	1,56	1,56	0,78	1,56	3,12		

Tabelle X (Fortsetzung)
Antibiotische Aktivität der C-2O-modifizierten Derivate^a

	Testorganismus	Testverbindung ^b												L5
		D13	D14	D15	D19	D20	D21	D22	D23	D24	D25	D25	D25	
15	<i>Staphylococcus aureus</i>	3,12	0,78	6,25	0,78	0,78	0,78	1,56	3,12	3,12	3,12	3,12	3,12	1,56
	<i>Streptococcus</i> sp. 80	6,25	1,56	12,5	3,12	3,12	1,56	3,12	1,56	3,12	3,12	3,12	3,12	0,78
	<i>Pasteurella multocida</i> 17E ^c	12,5	3,12	12,5	3,12	3,12	3,12	12,5	6,25	12,5	12,5	12,5	12,5	6,25
	" " 60A ^d	12,5	3,12	12,5	3,12	3,12	3,12	12,5	12,5	6,25	12,5	12,5	12,5	12,5
	<i>Pasteurella hemolytica</i> 22C	12,5	1,56	25	3,12	3,12	3,12	3,12	3,12	6,25	3,12	3,12	3,12	12,5
20	<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	6,25	1,56	3,12	1,56	0,78	1,56	0,78	0,097	0,39	0,39	0,39	0,39	6,25
	" <i>synoviae</i>	1,56	0,39	1,56	0,39	0,195	0,39	0,78	0,097	0,097	0,097	0,097	0,097	3,12
	" <i>hyorhinis</i>	50	50	>50	>50	50	-	25	6,25	25	12,5	12,5	12,5	50
	" <i>hyopneumoniae</i>	3,12	0,78	3,12	3,12	0,78	0,195	1,56	0,78	0,78	0,39	0,39	0,39	NT ^e

^a MIC in µg/ml

^b Verbindungsnummern aus den Tabellen II und IV

^c Rinderisolat

^d Vogelisolat

^e nicht getestet

Tabelle X (Fortsetzung)
Antibiotische Aktivität der C-2O-modifizierten Derivate^a

Testorganismus	Testverbindung ^b									
	D26	D27	D28	D5a	L4	T6	T13	M3	M4	
<u>Staphylococcus aureus</u>	3,12	3,12	3,12	0,39	6,25	12,5	6,25	12,5	12,5	
<u>Streptococcus</u> sp. 80	0,78	0,78	3,12	0,78	6,25	50	50	50	12,5	
<u>Pasteurella multocida</u> 17E ^c	6,25	6,25	6,25	6,25	12,5	>50	>50	>50	>50	
" " 60A ^d	12,5	12,5	25	3,12	12,5	>50	>50	>50	>50	
<u>Pasteurella hemolytica</u> 22C	12,5	12,5	25	3,12	25	50	50	50	>50	
<u>Mycoplasma gallisepticum</u>	≤0,048	≤0,048	0,097	0,78	12,5	3,12	1,56	6,25	3,12	
" <u>synoviae</u>	0,78	≤0,048	0,195	0,195	1,56	0,78	1,56	25	6,25	
" <u>hyorhinis</u>	25	25	25	3,12	50	>50	>50	>50	>50	
" <u>hyopneumoniae</u>	0,78	0,39	1,56	0,195	1,56	12,5	25	12,5	6,25	

^a MIC in µg/ml

^b Verbindungsnummern aus den Tabellen I - IV

^c Rinderisolat

^d Vogelisolat

^e nicht getestet

Die C-2O-modifizierten Derivate der Formel (I) zeigen in vivo antimikrobielle Aktivität gegen experimentell induzierte Infektionen in Laboratoriumstieren. Wenn zwei Dosen der Testverbindung an Mäuse verabreicht wurden, die experimentell mit *S. pyogenes* C203 infiziert waren, wurde die beobachtete Aktivität als ein ED₅₀-Wert [wirksame Dosis in mg/kg, um 50 % der Testtiere zu schützen: siehe Warren Wick und Mitarbeiter, J. Bacteriol. 81, 233-235 (1961)] gemessen. ED₅₀-Werte, die für veranschaulichende Verbindungen beobachtet wurden, sind in Tabelle XI angegeben.

Tabelle XI

ED₅₀-Werte der C-2O-modifizierten Derivate gegen *Streptococcus pyogenes* C203 in Mäusen^a

Testverbindung ^b		subkutan	oral
15	D1	1,2	>50
	D2	0,9	50
	D4	6,0	19
	D5	1,3	50
	D5a	1,5	34
20	D6	0,7	14
	D7	1,6	12
	D10	>10	68
	D11	7,5	19
	D12	2,0	<6,3
25	D14	1,0	50
	D19	2,9	46
	D20	1,7	34
	D21	1,0	10
	D22	0,8	40
30	L5	1,8	100
	M3	>10	>100
	T6	>10	44
	T13	>10	30

^a mg/kg x 2; Dosen 1 und 4 Stunden nach Infektion verabreicht

^b Verbindungsnummern aus den Tabellen I - IV.

Viele der C-2O-modifizierten Derivate der Formel (I) haben auch in vivo antibakterielle Aktivität gegen Infektionen gezeigt, die durch gramnegative Bakterien hervorgerufen wurden. Die Tabellen XII und XIII fassen die Ergebnisse der Tests zusammen, in welchen veranschaulichende Verbindungen gegen eine Pasteurella-Infektion in einen Tag alten Küken ausgewertet wurden. Die Verbindungen wurden parenteral oder oral nach Infektion der Küken mit *Pasteurella multocida* (0,1 ml einer 10⁻⁴-Verdünnung einer 24 Stunden Tryptosebrühekultur einer *P. multocida* aus Vogelisolat, subkutan gegeben, verabreicht. In diesen Tests, soweit nichts anderes angegeben ist, starben alle nicht mit Medikation versehenen, infizierten Küken innerhalb 24 Stunden nach der Pasteurella-Infektion. In den Tests, die in Tabelle XII zusammengefaßt sind, wurden die Verbindungen durch subkutane Injektion einer Dosis von 30 mg/kg, 1 und 4 Stunden nach Infektion der Küken mit *P. multocida*, verabreicht. In den in Tabelle XIII zusammengefaßten Tests wurden die Verbindungen in mit der Medikation versehenem Trinkwasser (bei einer Konzentration von 2 g/Gallone bzw. 3,79 l) verabreicht, das von der 4. bis zur 20. Stunde vor der Infektion der Küken mit *P. multocida* und während der 3-tägigen Testperiode verfügbar war.

Tabelle XIIAktivität der C-2O-modifizierten Derivate, subkutan an nicht Pasteurella multocida-infizierte Küken verabreicht^a

	Testverbindung ^b	Anzahl der Todesfälle/Anzahl der behandelten Tiere
5		
10	D1	0/10
	D2	0/10
	D4	9/10
	D5	0/10
	D6	0/10
	D7	3/10
15	D10	10/10
	D11	10/10
	D12	9/10
	D14	2/10
	D19	0/10
20	D21	7/10
	D22	0/10
	D23	8/10
	D24	2/10
	D25	0/10
25	D26	10/10
	D27	8/10
	D28	0/10
	L5	0/10

^a subkutan verabreicht; 30 mg/kg x 2^b Verbindungsnummern aus Tabellen II und IVTabelle XIIIAktivität der C-2O-modifizierten Derivate, oral an Pasteurella multocida-infizierte Küken verabreicht^a

	Testverbindung ^b	Anzahl der Todesfälle/Anzahl der behandelten Tiere
40		
	D1	9/10
	D2	5/10
	D4	6/10
	D5	2/10
45	D6	1/10
	D7	2/10
	D11	8/10
	D12	8/10
	D14	0/10
50	D19	3/10
	D20	0/10
	D21	3/10
	D22	5/10
	D23	4/10
55	D25	7/10
	D28	7/10

^a Verabreicht im verfügbaren Trinkwasser bei einer Konzentration von 2 g/Gallone bzw. 3,79 l^b Verbindungsnummern aus Tabelle II

Nach einer besonderen Ausführungsform der Erfindung erfolgt die Bekämpfung von Infektionen, die durch Bakterien- und Mycoplasmaspezies verursacht werden. Bei der Ausführung des Verfahrens dieser Erfindung wird eine wirksame Menge einer Verbindung der Formel (I), oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes davon, parenteral oder oral an ein infiziertes oder empfängliches warmblütiges Tier verabreicht. Die Verbindungen können auch durch Insufflation, d. h. durch Einblasen der Verbindung, in der Form eines arzneimittelversetzten Staubes, in einen geschlossenen Bereich oder Raum, worin die Tiere oder Hühner gehalten werden, verabreicht werden. Die Tiere oder Hühner atmen den arzneimittelversetzten Staub, der in der Luft vorhanden ist, ein; der mit Arzneimittel versetzte Staub wird auch über die Augen in den Körper aufgenommen (ein Verfahren, das mit intraokularer Injektion bezeichnet wird).

Die Dosis, welche zur Bekämpfung der Infektion wirksam ist, wird mit der Schwere der Infektion, dem Alter, Gewicht, und Zustand des Tieres variieren. Die Gesamtdosis, die für einen Schutz bei parenteraler Verabreichung erforderlich ist, wird im allgemeinen jedoch im Bereich von 0,1 bis 100 mg/kg und vorzugsweise im Bereich von 0,5 bis 50 mg/kg liegen. Die für orale Verabreichung erforderliche Dosis wird im allgemeinen im Bereich von 1 bis etwa 300 mg/kg und vorzugsweise im Bereich von 1 bis 100 mg/kg liegen. Geeignete Dosierungsverordnungen können zusammengestellt werden.

Oft ist es am praktischsten, die Verbindungen durch Einverleibung in den Futtermittelvorrat oder das Trinkwasser zu verabreichen. Verschiedene Futter, einschließlich übliche Trockenfutter, flüssige Futter und pelletierte Futter, können verwendet werden.

Zusammensetzungen, welche für die Bekämpfung der Infektionen nützlich sind, die durch Bakterien und Mycoplasmaspezies verursacht werden, enthalten eine Verbindung der Formel (I), oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon, zusammen mit einem geeigneten Vehikel. Zusammensetzungen können für parenterale oder orale Verabreichung durch auf dem Gebiete der Pharmazie anerkannte Methoden formuliert werden.

Die Methoden zur Formulierung von Arzneimitteln in Tierfutter sind wohl bekannt. Eine bevorzugte Methode besteht darin, ein konzentriertes Arzneimittelvorgemisch herzustellen, welches wieder zur Herstellung arzneimittelversetzter Futter verwendet wird. Typische Vorgemische können 1 bis 200 g des Arzneimittels je 453,6 g des Vorgemisches enthalten. Vorgemische können entweder flüssige oder feste Zubereitungen sein.

Die Endformulierung der Futter für Tiere oder Hühner wird von der Menge des zu verabreichenden Arzneimittels abhängen. Die üblichen Methoden der Formulierung, des Mischens und des Pelletierens von Futter können angewendet werden, um Futter herzustellen, welche eine Verbindung der Formel (I), oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon, enthalten.

Wirksame injizierbare Zusammensetzungen, welche diese Verbindungen enthalten, können entweder in Suspensions- oder in Lösungsform vorliegen. Bei der Zubereitung geeigneter Formulierungen wird zu berücksichtigen sein, daß im allgemeinen die Wasserlöslichkeit der Säureadditionssalze größer ist als jene der freien Basen. Analog sind die Basen in verdünnten Säuren oder sauren Lösungen löslicher als in neutralen oder basischen Lösungen.

In der Form einer Lösung ist die Verbindung in einem physiologisch annehmbaren Vehikel aufgelöst. Solche Vehikel umfassen ein geeignetes Lösungsmittel, erforderlichenfalls Schutzstoffe, wie Benzylalkohol, und Puffer. Brauchbare Lösungsmittel umfassen z. B. Wasser und wässrige Alkohole, Glykole und Carbonatester, wie Diethylcarbonat. Solche wässrige Lösungen enthalten im allgemeinen nicht mehr als 50 Vol-% des organischen Lösungsmittels.

Injizierbare Suspensionszusammensetzungen erfordern ein flüssiges Suspendermedium, mit oder ohne Adjuvanzen, als Vehikel. Das Suspendermedium können z. B. wässriges Polyvinylpyrrolidon, inerte Öle, wie pflanzliche Öle oder hoch gereinigte Mineralöle, oder wässrige Carboxymethylcellulose sein.

Geeignete physiologisch annehmbare Adjuvanzen sind erforderlich, um die Verbindung in der eine Suspension darstellenden Zusammensetzung suspendiert zu halten. Die Adjuvanzen können unter Verdickungsmitteln, wie Carboxymethylcellulose, Polyvinylpyrrolidon, Gelatine und den Alginaten, ausgewählt werden. Viele oberflächenaktive Mittel sind auch als Suspendermittel nützlich. Lecithin, Alkylphenolpolyethylenoxidaddukte, Naphthalinsulfonate, Alkylbenzolsulfonate und die Polyoxyethylensorbitanester sind brauchbare Suspendermittel.

Viele Substanzen, welche den hydrophilen Charakter, die Dichte und Oberflächenspannung des flüssigen Suspendermediums beeinflussen, können bei der Herstellung injizierbarer Suspensionen in Einzelfällen unterstützend wirken. Beispielsweise können Silikonantischäummittel, Sorbit und Zucker nützliche Suspendermittel sein.

Die folgenden "Zubereitungen" und "Vorschriften" erläutern die Herstellung der Macrolide der Formel (I) und ihrer Vorprodukte.

Zur näheren Veranschaulichung dieser Erfindung werden die folgenden Beispiele gegeben. In den folgenden Abschnitten wird die Abkürzung "20-DH-DO" für den Ausdruck "20-Dihydro-20-deoxy" verwendet.

Zubereitung 1

20-Dihydrotylosin (Relomycin)

Eine Lösung von Tylosinbase (30,0 g, 32,8 mMol) in 2-Propanol (300 ml) und Wasser (200 ml) wurde mit Natriumborhydrid (315 mg, 8,2 mMol) portionenweise innerhalb eines Zeitraumes von 5 Minuten behandelt.

30 Minuten nachdem die Zugabe beendet war, wurde der pH der Reaktionslösung durch Zugabe von 1N Schwefelsäurelösung auf 7,0 eingestellt. Die neutralisierte Lösung wurde unter Vakuum eingedampft, um das 2-Propanol zu entfernen; die verbleibende wässrige Lösung wurde mit einer gesättigten Natriumbicarbonatlösung (500 ml) behandelt. Das Gemisch wurde mit Dichlormethan (3 x 300 ml) extrahiert, und die vereinigten Extrakte wurden mit gesättigter Natriumchloridlösung (200 ml) extrahiert und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Filtration wurde eingedampft, wobei ein Glas erhalten wurde, das in n-Hexan zerbrochen, auf einem Filter gesammelt und an der Luft getrocknet wurde, wobei 28,5 g (95 %) 2O-Dihydrotylosin erhalten wurden.

Zubereitung 2

2O-Dihydrodesmycosin

Desmycosin (10 g, 13 mMol), gelöst in Isopropanol:Wasser (1:1, 175 ml), wurde bei Zimmertemperatur gerührt, während NaBH₄ (125 mg, 3,3 mMol) zugesetzt wurde. Nach einer halben Stunde wurde der pH der Reaktionsmischung mit 1N H₂SO₄ auf 7,0 eingestellt. Der Alkohol wurde unter vermindertem Druck entfernt. Zu der wässrigen Lösung wurde gesättigte NaHCO₃-Lösung zugesetzt und das Produkt wurde in CH₂Cl₂ extrahiert. Die organische Schicht wurde getrocknet (Na₂SO₄), und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, wobei 9,65 g 2O-Dihydrodesmycosin (12,5 mMol, 96 % Ausbeute) als weißer Schaum erhalten wurden.

Zubereitung 3

2O-DH-DO-2O-Joddesmycosin (Methode 1)

2O-Dihydrodesmycosin (2,0 g, 2,6 mMol) und Tetra-n-butylammoniumjodid (1,5 g, 3,9 mMol) wurden in CH₂Cl₂ (30 ml) unter Zusatz von s-Kollidin (0,6 ml, 4,5 mMol) gelöst. Diese Lösung wurde unter einer Stickstoffatmosphäre auf -78 °C gekühlt und tropfenweise mittels einer Spritze mit Trifluormethansulfonsäureanhydrid (0,6 ml, 3,9 mMol) behandelt. Das Reaktionsgemisch wurde 5 Minuten bei -78 °C gerührt und dann auf Zimmertemperatur erwärmen gelassen (etwa 30 Minuten). Es wurde gesättigte NaHCO₃-Lösung zugesetzt, und das Produkt wurde mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die organische Schicht wurde getrocknet (Na₂SO₄) und eingedampft, wobei ein rotes Öl erhalten wurde, das durch Silicagel-Flashchromatographie gereinigt wurde, wobei anfänglich mit CH₂Cl₂ (400 ml) und dann stufenweise mit CH₂Cl₂ : CH₃OH-Lösungen wie folgt eluiert wurde: 98 : 2 (250 ml); 96 : 4 (500 ml); 95 : 5 (250 ml); 94 : 6 (750 ml) und 92 : 8 (250 ml). Fraktionen, die das gewünschte Produkt enthielten, wurde mittels Dünnschichtchromatographie identifiziert, vereinigt und zur Trockne eingedampft, wobei 2O-DH-DO-2O-Joddesmycosin (595 mg, 0,67 mMol, 26 % Ausbeute) als ein weißer Schaum erhalten wurde.

Zubereitung 4

2O-DH-DO-2O-Joddesmycosin (Methode 2)

2O-Dihydrodesmycosin (5,0 g, 6,5 mMol) und Triphenylphosphin (2,54 g, 9,70 mMol) wurden in Dimethylformamid (DMF) (10 ml) gelöst. Dieses Gemisch wurde bei Zimmertemperatur unter N₂ gerührt, während Jod (2,46 g, 9,70 mMol) in DMF (5 ml) tropfenweise zugesetzt wurde. Das Reaktionsgemisch wurde 2 Stunden gerührt und dann in kalte, gesättigte NaHCO₃-Lösung gegossen. Das Produkt wurde mit CHCl₃ (zwei Anteile) extrahiert und die vereinigten CHCl₃-Extrakte wurden mit 0,1M Natriumthiosulfat geschüttelt, um nicht umgesetztes Jod zu entfernen. Die organische Schicht wurde getrocknet (Na₂SO₄) und unter vermindertem Druck eingedampft, wobei ein hellgelbes Öl erhalten wurde, das durch Silicagel-Flashchromatographie gereinigt wurde. Die Säule wurde anfänglich mit CH₂Cl₂ (500 ml) und dann mit 250 ml Anteilen von CH₂Cl₂ : CH₃OH-Gemischen wie folgt eluiert: 98 : 2; 96 : 4; 95 : 5; 94 : 6; 92 : 8; 88 : 12 und 86 : 14. Fraktionen, die das gewünschte Produkt enthielten, wurde wie in Zubereitung 3 angegeben identifiziert und vereinigt, wobei 1,78 g (2,0 mMol, 31 % Ausbeute) 2O-DH-DO-2O-Joddesmycosin als ein weißer Schaum erhalten wurden.

Vorschrift 1: 2O-DH-DO-2O-(Octahydroazocin-1-yl)desmycosin

2O-DH-DO-2O-Joddesmycosin (575 mg, 0,65 mMol) wurde in Acetonitril (10 ml) gelöst und Heptamethylenimin (0,37 g, 0,41 ml, 3,3 mMol) wurde zu dieser Lösung zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 1,5 Stunden unter Rückfluß erhitzt und gerührt. Dann wurden flüchtige Anteile im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in CH₂Cl₂ gelöst und mit gesättigter NaHCO₃-Lösung extrahiert. Die organische Schicht wurde getrocknet (Na₂SO₄) und dann unter vermindertem Druck eingedampft, wobei ein hellbrauner Schaum erhalten wurde. Dieser Schaum wurde durch Silicagel-Flashchromatographie gereinigt, wobei mit je 250 ml der folgenden CH₂Cl₂ : CH₃OH-Gemische eluiert wurde: 98 : 2; 96 : 4; 94 : 6; 9 : 1; 88 : 12; 82 : 18; 65 : 35; 1 : 1, 1 : 3 und schließlich mit 300 ml CH₃OH. Fraktionen, die das gewünschte Produkt enthielten, wurden mittels Dünnschichtchromatographie identifiziert, vereinigt und zur Trockne eingedampft, wobei 397 mg

(0,46 mMol, 71 % Ausbeute) 2O-DH-DO-2O-(Octahydroazocin-1-yl)desmycosin als weißer Schaum erhalten wurden.

Vorschrift 2: 2O-DH-DO-2O-(Hexahydroazepin-1-yl)desmycosin

- 5 Desmycosin (10 g, 13 mMol), gelöst in wasserfreiem Methanol (100 ml), wurde rasch zu einer Lösung von NaBH_3CN (3,3 g, 52 mMol) und Hexamethylenimin (6,5 g, 7,5 ml, 65 mMol) in wasserfreiem Methanol (50 ml) unter Stickstoff gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde unter N_2 bei Zimmertemperatur etwa 3 Stunden lang gerührt und dann unter vermindertem Druck eingedampft. Der entstehende Rückstand wurde in CH_2Cl_2 mit eben ausreichendem Ethylacetat gelöst, um das Auflösen des Rückstandes zu unterstützen, und diese Lösung wurde mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung extrahiert. Die organische Schicht wurde abgetrennt, getrocknet (10 Na_2SO_4) und unter vermindertem Druck eingedampft, wobei ein hellgelber Schaum erhalten wurde. Dieser Schaum wurde durch Silicagel-Flashchromatographie gereinigt, anfänglich mit CH_2Cl_2 (1 l) eluiert und dann stufenweise mit 500 ml-Anteilen von CH_2Cl_2 : CH_3OH -Gemischen wie folgt: 98 : 2; 96 : 4; 94 : 6; 92 : 8 und 15 : 1 und schließlich mit CH_2Cl_2 : CH_3OH : NH_4OH -Gemischen wie folgt: 90 : 10 : 0,5 (500 ml) und 75 : 25 : 0,5 (2 l). Fraktionen, welche das gewünschte Produkt enthielten, wurden mittels Dünnschichtchromatographie identifiziert, vereinigt und zur Trockne eingedampft, wobei 6,035 g (7,07 mMol) 2O-DH-DO-2O-(Hexahydroazepin-1-yl)desmycosin als weißer Schaum erhalten wurden. Andere Fraktionen, welche unreines Produkt enthielten, wurden vereinigt, in CH_2Cl_2 wieder aufgelöst und erneut mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung extrahiert und wie oben angegeben gereinigt, wobei eine Silicagel-Säule verwendet wurde, die 20 mit CH_2Cl_2 : CH_3OH (9 : 1) gepackt war und mit CH_2Cl_2 : CH_3OH : NH_4OH wie folgt eluiert wurde: 90 : 10 : 0,5 (500 ml) und 80 : 20 : 0,5 (1 l), wobei weitere 1,372 g (1,61 mMol) an Produkt erhalten wurden. Die Gesamtausbeute an 2O-DH-DO-2O-(Hexahydroazepin-1-yl)desmycosin betrug 7,407 g (8,68 mMol, 67 %).

Vorschrift 3: 2O-DH-DO-2O-(4-Phenylpiperidin-1-yl)desmycosin

- 25 Desmycosin (1,5 g, 2 mMol) wurde in absolutem Methanol (60 ml) gelöst und mit 4-Phenylpiperidin (640 mg, 4 mMol) in Gegenwart von Linde-4A-Molekularsieben behandelt. Nach 0,5 Stunden wurde NaBH_3CN (500 mg, 8 mMol) zugesetzt, und das Gemisch wurde bei Zimmertemperatur 2,5 Stunden gerührt. Das Gemisch wurde in gesättigte NaHCO_3 -Lösung (200 ml) gegossen und mit CH_2Cl_2 (3 x 200 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden getrocknet (Na_2SO_4), filtriert und unter vermindertem Druck 30 eingedampft. Der Rückstand (3,6 g) wurde durch Flashchromatographie an Silicagel gereinigt, wobei mit einem Gradienten von 1 l CH_2Cl_2 bis 1 l MeOH : CH_2Cl_2 (5 : 95) und dann mit 1 l MeOH : CH_2Cl_2 (5 : 95) eluiert wurde. Fraktionen, welche das gewünschte Produkt enthielten, wurden mittels Dünnschichtchromatographie lokalisiert, vereinigt und zur Trockne eingedampft, wobei 680 mg 2O-DH-DO-2O-(4-Phenylpiperidin-1-yl)desmycosin erhalten wurden.

Vorschrift 4: 2O-DH-DO-2O-(Hexahydroazepin-1-yl)-4'-deoxydesmycosin

- Eine Lösung von 4'-Deoxydesmycosin (565 mg, 0,75 mMol) in Methanol (15 ml) wurde unter Argon mit aktivierten Linde-3A-Molekularsieben (2,2 g) 30 Minuten lang gerührt, bevor Hexamethylenimin (0,25 ml, 2,25 mMol) zugesetzt wurde. Eine Stunde später wurde dem Reaktionsgemisch Natriumcyanoborhydrid (141 mg, 2,25 mMol) zugesetzt. Nach weiteren 45 Minuten wurde das Reaktionsgemisch in eine gesättigte Natriumbicarbonatlösung gegossen und mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden mit gesättigter Natriumchloridlösung geschüttelt, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingedampft, wobei 600 mg Rohprodukt erhalten wurden. Dieses Produkt wurde durch präparative Dünnschichtchromatographie an Silicagel gereinigt, wobei mit Dichlormethan/Methanol/konz. Ammoniumhydroxid (90 : 15 : 2) eluiert wurde 45 und 150 mg (24 % Ausbeute) 2O-DH-DO-2O-(Hexahydroazepin-1-yl)-4'-deoxydesmycosin erhalten wurden.

Vorschriften 5 - 6:

- 2O-DE-DO-2O-(Octahydroazocin-1-yl)desmycosin wurde nach der Verfahrensweise der Vorschrift 2 hergestellt.
2O-DH-DO-2O-(Hexahydroazepin-1-yl)desmycosin wurde nach der Verfahrensweise der Vorschrift 1 50 hergestellt.

Vorschrift 7: 2O-DH-DO-2O-(Octahydroazocin-1-yl)-desmycosin (Methode 3)

- Desmycosin (4,0 g, 5,2 mMol) wurde in absolutem Methanol (30 ml) gelöst und mit Heptamethylenimin (1,2 g, 1,3 ml, 10,4 mMol) in Gegenwart von 3A-Molekularsieben behandelt. Nachdem das Reaktionsgemisch 1 Stunde lang bei Zimmertemperatur gerührt worden war, wurde rasch eine Lösung von NaBH_4 (60 mg, 1,6 mMol) in absolutem Methanol (10 ml) mittels Pipette zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei Zimmertemperatur 1,5 Stunden gerührt und dann wurden weitere 30 mg NaBH_4 (eine Portion als Feststoff) 55

zugesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde weitere 75 Minuten gerührt und dann filtriert. Das Filtrat wurde unter vermindertem Druck eingedampft. Der Rückstand wurde in Ethylacetat (150 ml) gelöst, und diese Lösung wurde mit Wasser (150 ml) und gesättigter NaHCO_3 -Lösung (100 ml) extrahiert. Die Ethylacetatlösung wurde dann mit 0,5M NaH_2PO_4 -Puffer vom pH 6,5 (150 ml) extrahiert. Der Pufferextrakt wurde unter Vakuum eingedampft, um restliches Ethylacetat zu entfernen, und dann rasch gerührt, während 5N NaOH langsam zugegeben wurde, wobei eine dicke, weiße Fällung entstand. Der weiße Feststoff wurde durch Filtration entfernt, mit einer kleinen Menge Wasser gewaschen und getrocknet, wobei 3,55 g 2O-DH-DO-2O-(Octahydroazocin-1-yl)desmycosin erhalten wurden.

Vorschrift 8: 2O-DH-DO-2O-[1-Azaspiro[4.5]decan-1-yl]desmycosin

Desmycosin (5,0 g, 6,5 mMol) wurde in absolutem Methanol (50 ml) gelöst und mit 1-Azaspiro[4.5]decan (1,36 g, 9,8 mMol) in Gegenwart von 3A-Molekularsieben behandelt. Nach 15 Minuten wurde NaBH_3CN (620 mg, 9,8 mMol) zugesetzt, und das Gemisch wurde 17 Stunden bei Zimmertemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde filtriert, und das Filtrat wurde unter vermindertem Druck eingedampft. Der Rückstand wurde in Ethylacetat (300 ml) gelöst und mit Wasser (300 ml und 100 ml) extrahiert. Das Produkt wurde dann aus der Ethylacetatlösung mit 0,5M NaH_2PO_4 -Puffer vom pH 6,5 (300 ml und 100 ml) extrahiert. Die Phosphatpufferextrakte wurden vereinigt und unter Vakuum eingedampft, um restliches Ethylacetat zu entfernen. Die Phosphatpufferlösung wurde dann rasch gerührt, während 5N NaOH langsam unter Bildung einer dicken, weißen Fällung zugesetzt wurde. Der weiße Feststoff wurde durch Filtration entfernt, mit Wasser gewaschen und getrocknet, wobei 2O-DH-DO-2O-[1-Azaspiro[4.5]-decan-1-yl]desmycosin (3,52 g) erhalten wurde.

Vorschrift 9: 2O-DH-DO-2O-(1,2,3,4-Tetrahydrochinolin-1-yl)desmycosin

Desmycosin (11,6 g, 15 mMol) wurde in trockenem Methanol (100 ml) gelöst und mit 1,2,3,4-Tetrahydrochinolin (3,8 ml, 30 mMol) versetzt. Nachdem das Gemisch 30 Minuten bei Zimmertemperatur gerührt worden war, wurde Natriumcyanoborhydrid (1,25 g, 20 mMol) zugegeben. Die Mischung wurde über Nacht gerührt und dann unter vermindertem Druck eingedampft. Der Rückstand wurde zwischen Ethylacetat und Wasser (je 100 ml) verteilt. Die organische Schicht wurde dann aufeinanderfolgend mit wässrigem Phosphatpuffer vom pH 6,5 (100 ml) und wässrigem Phosphatpuffer vom pH 4,5 (100 ml) extrahiert. Die Ethylacetatschicht wurde getrocknet (Natriumsulfat), filtriert und eingedampft, und der Rückstand (4,6 g) wurde durch Chromatographie an Silicagel (Waters Prep 500) gereinigt. Die Säule wurde mit einem linearen Gradienten von Dichlormethan (4 l) und 5 % Methanol plus 0,5 % konz. Ammoniumhydroxid in Dichlormethan (4 l) eluiert. Fraktionen, welche das gewünschte Produkt enthielten, wurden durch Dünnschichtchromatographieanalyse identifiziert, gesammelt und zur Trockne eingedampft, wobei 3,4 g der in der Überschrift angegebenen Verbindung erhalten wurden.

Vorschrift 10: 2O-DH-DO-2O-(1,2,3,4-Tetrahydroisochinolin-2-yl)desmycosin

Desmycosin (11,6 g, 15 mMol) wurde in trockenem Methanol (100 ml) gelöst und mit 1,2,3,4-Tetrahydroisochinolin (3,8 ml, 30 mMol) versetzt. Nachdem die Mischung 30 Minuten bei Zimmertemperatur gerührt worden war, wurde Natriumcyanoborhydrid (1,25 g, 20 mMol) zugesetzt. Das Gemisch wurde über Nacht gerührt und dann unter vermindertem Druck eingedampft. Der Rückstand wurde zwischen Ethylacetat und Wasser (je 150 ml) verteilt. Die organische Schicht wurde dann aufeinanderfolgend mit Phosphatpuffer vom pH 6,5 (100 ml) und Phosphatpuffer vom pH 4,5 (100 ml) extrahiert. Nach Eindampfen des Pufferextraktes vom pH 4,5 unter vermindertem Druck, um Ethylacetat zu entfernen, wurde der pH mit 5N Natriumhydroxid auf 10 eingestellt. Die gebildete Fällung wurde abgetrennt und an der Luft getrocknet, wobei 5,6 g der in der Überschrift angegebenen Verbindung erhalten wurden.

Vorschrift 11: 2O-DH-DO-2O-(1,2,3,6-Tetrahydropyridin-1-yl)desmycosin

Desmycosin (11,6 g, 15 mMol) wurde in trockenem Methanol (100 ml) gelöst und mit 1,2,3,6-Tetrahydropyridin (2,8 ml, 30 mMol) versetzt. Nachdem die Mischung 30 Minuten bei Zimmertemperatur gerührt worden war, wurde Natriumcyanoborhydrid (1,25 g, 20 mMol) zugegeben. Das Gemisch wurde über Nacht gerührt und dann unter vermindertem Druck eingedampft. Der Rückstand wurde in Ethylacetat (150 ml) gelöst. Diese Lösung wurde mit Wasser (150 ml) und dann mit wässriger Phosphatpufferlösung vom pH 6,5 (2 x 100 ml) extrahiert. Die Pufferlösungen wurden gesondert unter vermindertem Druck eingedampft, um Ethylacetat zu entfernen, und dann mit 5N Natriumhydroxid auf pH 10 eingestellt. Die sich bildenden Fällungen wurden durch Filtration abgetrennt und an der Luft getrocknet, wobei 5,4 g (erster Extrakt) und 3,2 g (zweiter Extrakt) der in der Überschrift angegebenen Verbindung erhalten wurden.

Vorschriften 12 - 15:

2O-DH-DO-2O-(3,3,5-Trimethylhexahydroazepin-1-yl)desmycosin wurde nach der Verfahrensweise der Vorschrift 8 hergestellt und dann in einzelne Isomeren 1 und 2 durch Silicagel-Flashchromatographie getrennt.

2O-DH-DO-2O-(Dodecahydrocarbazol-9-yl)desmycosin (Verbindung D25) war ein Gemisch von zwei Isomeren. Die Mischung wurde durch Silicagel-Flashchromatographie in zwei Fraktionen getrennt, von denen jede an einem der Isomeren reich war.

Jede der isomerangereicherten Fraktionen hatte ein Aktivitätsverhalten ähnlich jenem des Gemisches.

Vorschriften 16 - 17:

2O-DH-DO-2O-(Octahydroazocin-1-yl)desmycosin-dihydrochlorid- und -tartratsalze wurden aus 2O-DH-DO-2O-(Octahydroazocin-1-yl)desmycosin unter Anwendung von Standardverfahrensweisen hergestellt.

Die Tabellen XIV - XVI fassen bestimmte physikalische Daten beispielsweise Verbindungen zusammen:

Tabelle XIV
Physikalische Kenndaten der C-2O-modifizierten Derivate des Desmicosins

	2O-Substituent	Verbindung ^a Nr.	FDMS Stammion (m ⁺ +1)	Lambda max (Epsilon) ^b UV	Titrierbare Gruppen ^c	Dünnschicht- chromatographie ^d R _f
15	Pyrolidin-1-yl 4-Phenylpiperidin-1-yl Hexahydroazepin-1-yl " "	D1 D4 D5 D5a D6	827 917 855 839 869	283 (21.800) 282 (21.500) 282 (21.500) 282 (21.750)	7,9, 9,5 7,9, 9,6	0,30
20	Octahydroazocin-1-yl Azocyclotridecan-1-yl 4-Piperidinopiperidin-1-yl 3-Azabicyclo[3.2.2]nonan-3-yl Piperidin-1-yl	D10 D13 D14 D2	939 924 881 841	282 (19.500) 282 (18.600) 282 (20.500) 282 (24.500)	7,9, 9,4 8,0, 9,5 6,0, 9,2 7,9, 9,2	
25	4-Hydroxypiperidin-1-yl Octahydro-1H-azonin-1-yl 1,2,3,4-Tetrahydrochinolin-1-yl	D3 D7	857 883	282 (20.750) 282 (20.000)	7,8, 9,1 7,1, 8,7	
	1-yl 1,2,3,4-Tetrahydroisochinolin-2-yl 3-(N,N-Diethylcarbamoyl)- piperidin-1-yl 1-Azaspiro[4.5]decan-1-yl	D11 D12 D15 D19	888 888 940 894	271 (26.700) 281 sh (24.500) 283 (20.600) 282 (20.500) 282 (21.500)	7,9, 9,0 7,4, 8,6 7,9, 9,8	

5

Tabelle XIV (Fortsetzung)
Physikalische Kenndaten der C-2O-modifizierten Derivate des Desmycosins

2O-Substituent	Verbindung ^a Nr.	FDMS Stammion (m ⁺ + 1)	UV Lambda max (Epsilon) ^b	Titrierbare Gruppen ^c	Dünnschicht- chromatographie ^d R _f
Decahydrochinolin-1-yl	D20	895	282 (21.500)	7,9, 9,4	
1,3,3-Trimethyl-6-azabicyclo- [3.2.1]octan-1-yl	D21	908	282 (21.000)	8,0, 9,7	
1,2,3,6-Tetrahydropyridin-1-yl	D22	839	282 (21.000)		
3,3,5-Trimethylhexahydro- azepin-1-yl, Isomer 1	D23	896	282 (21.130)	7,7, 9,0	
3,3,5-Trimethylhexahydro- azepin-1-yl, Isomer 2	D24	897	283 (21.390)	7,9, 9,4	
Dodecahydrocarbazol-9-yl	D25	935	282 (22.500)	7,9, 9,4	
Octahydroazocin-1-yl	D6 ^e			5,4, 7,3, 9,2	
" "	D6 ^f	869,151	282 (19.500)		

^a Verbindungsnummern aus Tabelle II

^b Lauf in Methanol oder Ethanol

^c Lauf in 66 %igem wässrigem DMF

^d Silicagel 60 Platten; CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH (90:10:0,5)-Lösungsmittel

^e Dihydrochloridsalz

^f Tartratsalz

30

35

Tabelle XV
Physikalische Kennmerkmale der C-2O-modifizierten Derivate des Macrocin

2O-Substituent	Verbindung ^a Nr.	FDMS Stammion (m ⁺ +1)	UV Lambda max (Epsilon) ^b	Titrierbare Gruppen ^c	Dünnschicht- chromatographied R _f
Hexahydroazepin-1-yl	M3	985		6,91, 9,40	0,26
Octahydroazocin-1-yl	M4	999	282 (24.000)	6,90, 9,25	

^a Verbindungsnummern aus Tabelle III

^b Lauf in Methanol

^c Lauf in 66 %igem wässrigem DMF

^d Silicagel 60 Platten: CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH (90:10:0,5)-Lösungsmittel

Tabelle XVI
Physikalische Kennmerkmale der C-2O-modifizierten Derivate des Lactenocins

2O-Substituent	Verbindung ^a Nr.	FDMS Stammion (m ⁺ +1)	UV Lambda max (Epsilon)	Titrierbare Gruppen ^d
Hexahydroazepin-1-yl	L4	841	282 (21.500) ^b	8,0, 9,70
Octahydroazocin-1-yl	L5	855	282 (21.500) ^c	7,8, 9,3

a Verbindungsnummern aus Tabelle IV
b Lauf in Ethanol
c Lauf in Methanol
d Lauf in 66 %igem wässrigem DMF

Tabelle XVII
Physikalische Kennmerkmale der C-2O-modifizierten Derivate des Tylosins

2O-Substituent	Verbindung Nr.	FDMS Stammion (m ⁺ +1)	UV Lambda max (Epsilon)
Octahydroazocin-1-yl	T6	1013	282 (22.000)
3-Azabicyclo[3.2.2]nonan-3-yl	T13	1025	282 (21.500)

Beispiel 1: Injizierbare Formulierungen

A) Eine Base der Formel 1 wird zu Propylenglykol gegeben. Wasser und Benzylalkohol werden zugesetzt, so daß die Lösung 50 Vol-% Propylenglykol, 4 Vol-% Benzylalkohol und 200 mg/ml einer Base der Formel 1 enthält.

5 B) Es wird eine Lösung wie in Abschnitt A beschrieben hergestellt, mit der Abänderung, daß die Lösung 50 mg/ml einer Base der Formel 1 enthält.

C) Es wird eine Lösung wie in Abschnitt A beschrieben hergestellt, mit der Abänderung, daß die Lösung 350 mg/ml einer Base der Formel 1 enthält.

10 D) Es wird eine Lösung wie in Abschnitt A beschrieben hergestellt, mit der Abänderung, daß die Lösung 500 mg/ml eines Tartrats der Formel 1 enthält.

E) Es wird eine Suspension hergestellt, indem eine fein gemahlene Verbindung der Formel 1 zu Carboxymethylcellulose unter innigem Vermischen so zugegeben wird, daß die Suspension 200 mg der Base der Formel 1 je ml der Suspension enthält.

15 Beispiel 2: Kükennahrung zur Bekämpfung von Mycoplasma

Eine ausgeglichene, energiereiche Ration, die zur Fütterung von Küken für eine rasche Gewichtszunahme abgestellt ist, wird nach den folgenden Angaben hergestellt:

20	Bestandteil	%	Pfund	kg
	Gemahlener gelber Mais	50	1000	453,6
	Sojabohnenmehl, Lösungsmittel extrahiert enthüllt, fein gemahlen, 50 % Protein	31,09	621,8	282,0
25	Tierfett (Rindertalg)	6,5	130	59,0
	Getrocknetes Fischmehl, mit löslichen Anteilen (60 % Protein)	5,0	100	45,4
	Lösliche Rückstände aus der Branntweindestillation aus Mais	4,0	80	36,3
30	Dicalciumphosphat, Futterqualität	1,8	36	16,3
	Calciumcarbonat	0,8	16	7,2
	Vitaminvorgemisch (welches repräsentiert Vitamine A, D, E, K und B ₁₂ , Cholin, Niacin, Panto-			
35	thensäure, Riboflavin, Biotin, mit Glucose als Füllmittel)	0,5	10	4,5
	Vorgemisch von Spuren-Mineralstoffen (repräsentierend MnSO ₄ , ZnO, KI, FeSO ₄ , CaCO ₃)	0,2	4	1,8
40	2-Amino-4-hydroxybuttersäure (Hydroxyanalog des Methionins)	0,1	2	0,9
	Verbindung der Formel (I)	0,01	0,2	0,09

45 Diese Substanzen werden unter Anwendung von Standardfuttermischmethoden gemischt. Küken, die mit einem solchen Futter, mit Wasser ad libitum, gefüttert werden, sind gegen Mycoplasmainfektionen geschützt.

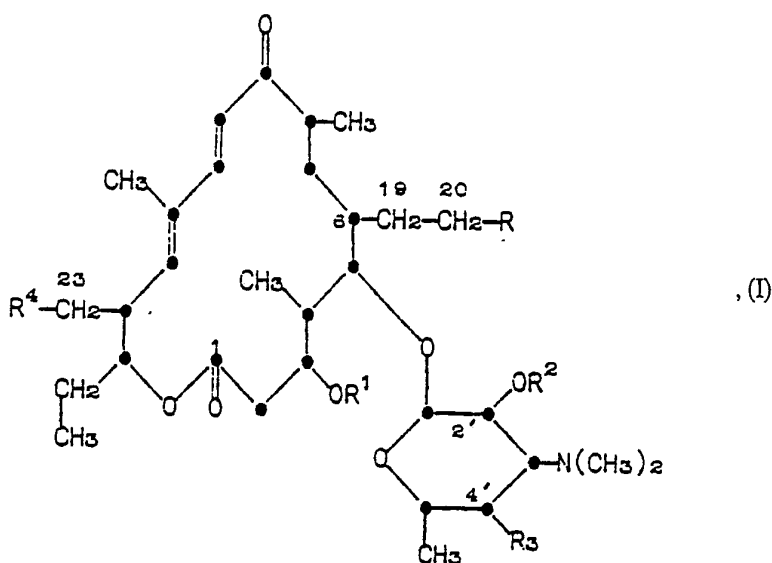
50

55

60

PATENTANSPRÜCHE

1. Verfahren zur Behandlung oder Unterdrückung mikrobieller Infektion in einem warmblütigen Tier, dadurch gekennzeichnet, daß man diesem Tier eine chemotherapeutisch wirksame Menge eines Macrolids der Formel (I)



worin

R ein monocyclischer, gesättigter oder ungesättigter Ring, der ein Stickstoffatom als einziges Heteroatom enthält, wobei der Ring durch das Stickstoffatom gebunden und 5 bis 16 Ringatome enthält, oder ein bicyclischer oder tricyclischer, gesättigter oder ungesättigter Ring ist, der ein Stickstoffatom als einziges Heteroatom enthält, wobei der Ring über das Stickstoffatom gebunden ist und 8 bis 20 Ringatome enthält, und wobei der monocyclische, bicyclische oder tricyclische Ring gegebenenfalls an einem oder mehreren Kohlenstoffatomen durch

C₁-C₄-Alkyl,

Hydroxyl,

Di-(C₁-C₄-alkyl) amino,

-N(CH₂)_m, worin m = 4 - 7 ist,

O

||

-CN(C₁-C₄-Alkyl)₂,

O

||

-CN(CH₂)_m, worin m = 4 - 7 ist,

C₁-C₄-Alkoxycarbonyl,

Phenyl,

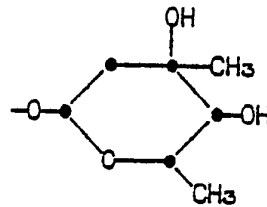
Phenyl, das durch 1, 2 oder 3 aus Nitro, Halogen, C₁-C₄-Alkyl, C₁-C₄-Alkoxy, Hydroxy, Amino und Mono- oder Di-(C₁-C₄-alkyl)amino ausgewählte Gruppen substituiert ist,

Benzyl,
C₂-C₄-Alkenyl,
C₂-C₄-Alkynyl,
C₁-C₄-Alkoxy,
5 C₁-C₄-Alkanoyloxy,
Halogen,
Halogen-(C₁-C₄-alkyl)-,
Cyano,
Ethylenedioxy substituiert ist,

10 R¹ Wasserstoff oder eine Hydroxylschutzgruppe darstellt;

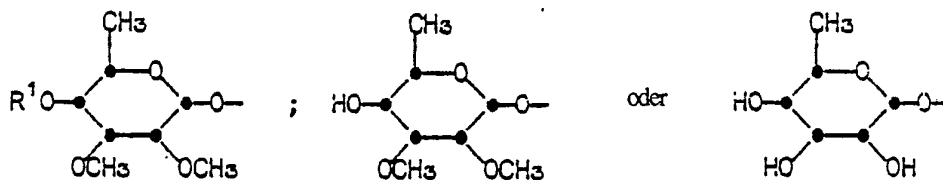
R² Wasserstoff, gegebenenfalls substituiertes C₁-C₅-Alkanoyl,
gegebenenfalls substituiertes Phenylacetyl, gegebenenfalls substituiertes Phenylpropionyl oder gegebenenfalls
substituiertes Benzoyloxy symbolisiert;

15 R³ für Wasserstoff, Jod, Hydroxy, gegebenenfalls substituiertes C₁-C₅-Alkanoyloxy, gegebenenfalls
substituiertes Benzoyloxy, gegebenenfalls substituiertes Phenylacetoxy, gegebenenfalls substituiertes
Phenoxyacetoxy oder

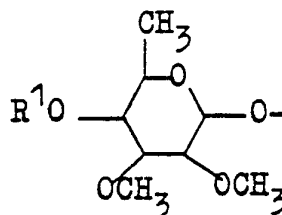


(Mycarosyloxy) steht;

R⁴



45 bedeutet, worin R¹ wie oben definiert ist; oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes davon; mit der
Maßgabe, daß, falls R³ Wasserstoff oder Jod darstellt, R⁴



ist, verabreicht.

2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß man als Macrolid der Formel (I) ein solches, worin R
 - 5 (i) einen gesättigten monocyclischen Ring der Formel $-N(CH_2)_n$, worin n eine ganze Zahl von 4 bis 15 ist, welcher Ring gegebenenfalls an einem oder mehreren der Kohlenstoffatome durch C_1-C_3 -Alkyl, Hydroxy, $-N(R^6)_2$, worin R^6 Methyl, Ethyl, n-Propyl, Isopropyl ist oder die R^6 -Gruppen zusammen mit dem
 - 10 Stickstoffatom einen Pyrrolidinyl-, Piperidinyl-, Hexahydroazepinyl- oder Octahydroazocinylrest bilden, $\begin{matrix} O \\ || \end{matrix}$ $-C-N(R^6)_2$, worin R^6 wie oben definiert ist, Carbomethoxy,
 - 15 Carboethoxy oder Phenyl substituiert ist, oder (ii) eine bicyclische oder tricyclische sekundäre Aminogruppe, ausgewählt aus 1,2,3,4-Tetrahydrochinolin-1-yl, Decahydrochinolin-1-yl, 1,2,3,4-Tetrahydroisochinolin-2-yl,
 - 20 Decahydroisochinolin-2-yl, Indolin-1-yl, Isoindolin-2-yl, Decahydrocyclohepta[b]pyrrol-1-yl, Decahydrocyclohepta[c]pyrrol-2-yl,
 - 25 Decahydrocyclopent[c]azepin-2-yl, Decahydrocyclopent[d]azepin-3-yl, 2,3,4,5-Tetrahydro-1H-2-benzazepin-2-yl, 2,3,4,5-Tetrahydro-1H-3-benzazepin-3-yl, Azabicycloheptanyl,
 - 30 Azabicyclooctanyl, Azabicyclononanyl, Azabicyclodecanyl oder Azatricyclodecanyl, bedeutet, und R^1 , R^2 , R^3 und R^4 wie im Anspruch 1 definiert sind, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon,
 - 35 verabreicht.
3. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß man als Macrolid der Formel (I) ein solches, worin
- 40 R eine aus Octahydroazocin-1-yl, Hexahydroazepin-1-yl, 4-Phenylpiperidin-1-yl, Pyrrolidin-1-yl, Azocyclotridecan-1-yl, 4-Hydroxypiperidin-1-yl, 3-Azabicyclo[3.2.2]nonan-3-yl, Piperidin-1-yl, 3-(N,N-Diethylcarbamoyl)-piperidin-1-yl, (4-Piperidino)piperidin-1-yl, Octahydro-1H-azocin-1-yl, Decahydrochinolin-1-yl, 1,2,3,4-Tetrahydrochinolin-1-yl, 1,2,3,4-Tetrahydroisochinolin-2-yl, 1,3,3-Trimethyl-6-azabicyclo[3.2.1]octan-6-yl, 1-Azaspiro[4.5]decan-1-yl, 1,2,3,6-Tetrahydro-pyridin-1-yl, Dodecahydrocarbazol-9-yl, 3,3,5-Trimethylhexahydroazepin-1-yl, Decahydroazecin-1-yl, Azacyclotridecan-1-yl, Azacycloundecan-1-yl,
- 45 4-Methylpiperidin-1-yl, 4-Phenyl-piperidin-1-yl, Decahydrocyclopent[c]azepin-1-yl, 7-Azabicyclo[2.2.1]heptan-1-yl ausgewählte Gruppe ist, und R^1 , R^2 , R^3 und R^4 die oben angegebene Bedeutung haben, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon, verabreicht.
4. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß man als Macrolid der Formel (I) ein solches, worin R, R^1 und R^2 die im Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben, R^3 Hydroxy ist und R^4 Mycinosyloxy bedeutet, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon, verabreicht.
5. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß man als Macrolid der Formel (I) ein solches, worin R ein gesättigter monocyclischer Ring der in Anspruch 1 angegebenen Bedeutung ist und R^1 , R^2 , R^3 und
- 55 R^4 die im Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon, verabreicht.
6. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß man 2O-DH-2O-DO-[3-Azabicyclo[3.2.2]nonan-3-yl)-desmycosin, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon, verabreicht.