

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 045519

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.11.30

(21) Номер заявки
202193266

(22) Дата подачи заявки
2020.05.29

(51) Int. Cl. C07H 15/222 (2006.01)
A61K 31/7028 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)

(54) АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ АМИНОГЛИКОЗИДОВ

(31) 201910463155.1; 202010299506.2

(32) 2019.05.30; 2020.04.16

(33) CN

(43) 2022.03.30

(86) PCT/CN2020/093436

(87) WO 2020/239096 2020.12.03

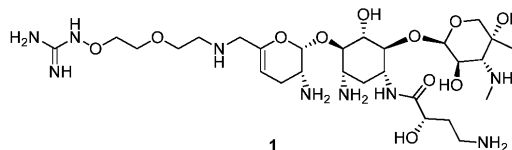
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЧЖУОХЭ ФАРМАСЬЮТИКАЛ ГРУП
КО., ЛТД (CN)

(72) Изобретатель:
Тан Дундун, Хуан Чжиган, Ли Чэн,
Дин Чарльз З., Чэнь Шухуэй (CN)

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(56) ELJAALY, K. et al. "Plazomicin: a novel aminoglycoside for the treatment of resistant gram negative bacterial infections." *Drugs*, Vol. 79, 06 February 2019 (2019-02-06), pp. 243-269
WO-A1-2017206947
WO-A1-2010147836
WO-A2-2010132777
CN-A-107987111

(57) Настоящее изобретение относится к антибактериальным производным аминогликозидов следующей формулы:



фармацевтическим композициям, содержащим такие соединения, и их применению для получения лекарственных средств для лечения заболеваний, связанных с бактериальными инфекциями.

B1

045519

045519

B1

Настоящая заявка испрашивает приоритет на основании следующих заявок:

Заявка номер CN 201910463155.1, поданная 30 мая 2019 года; и Заявка номер CN 202010299506.2, поданная 16 апреля 2020 года.

Область техники

Настоящее изобретение относится к области медицины, в частности к новому классу производных аминокликозидов, их фармацевтически приемлемым солям или изомерам, их фармацевтически приемлемым композициям и их применению при получении лекарственного средства для лечения заболеваний, связанных с бактериальной инфекцией.

Уровень техники

Особый интерес в изобретении современных лекарственных средств представляет разработка новых низкомолекулярных перорально биодоступных лекарственных средств, которые действуют путем связывания с рНК. рНК, которая служит посредником между ДНК и белками, считалась абсолютно гибкой молекулой без значительной структурной сложности. Недавние исследования выявили удивительную сложность структуры рНК. рНК имеет структурную сложность, соперничающую с белками, а не с простыми мотивами, такими как ДНК. Секвенирование генома выявляет как последовательности белков, так и мрНК, которые их кодируют. Поскольку белки синтезируются с использованием матрицы рНК, такие белки могут быть ингибированы путем предотвращения их продукции в первую очередь путем вмешательства в трансляцию мрНК. Поскольку как белки, так и рНК являются потенциальными сайтами нацеливания лекарственных средств, количество мишеней, выявленных в результате усилий по секвенированию генома, фактически удваивается. Указанные наблюдения открывают для фармацевтической промышленности новый мир возможностей по нацеливанию на рНК небольших молекул.

Современные исследования в области биохимии и молекулярной биологии показали, что связывание субъединицы 30S бактериальной рибосомы с трНК является одной из ключевых стадий синтеза белка. К настоящему времени были успешно описаны кристаллические структуры рибосомной субъединицы 30S по меньшей мере двух бактерий (*Thermus thermophilus* и *Escherichia coli*). Из кристаллических структур можно четко идентифицировать три сайта, которые связываются с трНК: аминокислотный сайт А, пептидный сайт Р и сайт Е (выхода). Аминокликозидные лекарственные средства специфически связываются с сайтом А участка декодирования 16S ррНК субъединицы 30S бактериальной рибосомы, вызывая ошибку трансляции мрНК, в результате чего происходит вмешательство в синтез белка для уничтожения патогенных бактерий. Аминокликозидные лекарственные средства являются высокоэффективными антибиотиками широкого спектра действия и являются наиболее часто используемыми противомикробными лекарственными средствами. Большинство аминокликозидных лекарственных средств обладают ожидаемыми фармакокинетическими свойствами и обладают синергическим эффектом с другими противомикробными лекарственными средствами, что делает их превосходными вариантами для лечения опасных для жизни инфекций. В последние несколько десятилетий многие разновидности этого типа антибиотиков приобрели популярность в клинической практике.

История аминокликозидных лекарственных средств началась с открытия стрептомицина в 1944 году. Позднее был успешно выпущен ряд знаковых соединений (канамицин, гентамицин, тобрамицин), и установлен статус аминокликозидных лекарственных средств при лечении грамотрицательных бактериальных инфекций. В период с 1970-х по 1990-е годы один за другим появились полусинтетические аминокликозидные антибиотики дибекацин, амикацин, нетилмицин, изепамицин и этимицин, что указывает на то, что аминокликозидные антибиотики, которые эффективны против бактерий, резистентных к ранним антибиотикам, и имеют низкий уровень нежелательных реакций, могут быть успешно получены полусинтетическими путями, но разработка аминокликозидных антибиотиков замедлилась. Между тем, специалистами были проведены обширные фундаментальные и клинические исследования аминокликозидных лекарственных средств, в частности их бактерицидного механизма и механизма лекарственной резистентности, которые не только дают специалистам более глубокое понимание этого типа антибиотиков, но и обеспечивают теоретическую основу для нашего клинического рационального использования лекарственных средств, уменьшения количества резистентных к лекарствам бактерий и разработки новых аминокликозидных лекарственных средств против резистентных к лекарствам бактерий с применением результатов указанных исследований.

Аминокликозидные лекарственные средства представляют собой гликозиды, образованные путем соединения аминокислот и аминокликолических спиртов через кислородные мостики. Существуют стрептомицин, продуцируемый *Streptomyces*, природные аминокликозидные лекарственные средства, такие как гентамицин, продуцируемый *Micromonospora*, и полусинтетические аминокликозидные лекарственные средства, такие как этимицин и амикацин, все из которых являются антибактериальными лекарственными средствами широкого спектра действия. Аминокликозидные лекарственные средства главным образом применяют при системных инфекциях, вызванных чувствительными аэробными грамотрицательными бактериями. Хотя в последние годы в клинической практике широко использовались различные цефалоспорины и хинолоны, аминокликозидные лекарственные средства по-прежнему применяют для лечения серьезных инфекций, вызванных аэробными грамотрицательными бактериями, поскольку они имеют более длительный постантибиотический эффект (ПАЭ) в отношении распространенных гра-

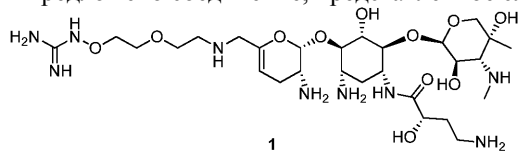
мотрицательных бактерий, таких как *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella Pneumoniae* и *Escherichia coli*.

При длительном и крупномасштабном использовании аминогликозидных лекарственных средств в клинической практике у этого класса лекарственных средств неизбежно возникают серьезные проблемы лекарственной резистентности. В то же время распространенные побочные эффекты аминогликозидных лекарственных средств, такие как ототоксичность и нефротоксичность, также ограничивают применение аминогликозидных лекарственных средств. В последние годы появились некоторые лекарственные молекулы, которые могут решить проблему резистентности к традиционным антибиотикам, такие как недавно разработанный компанией Achaogen плазомицин (WO 2009067692), для которого завершилась третья фаза клинических исследований.

Настоящее изобретение направлено на решение проблем тяжелой лекарственной резистентности из-за инактивирующих ферментов и наличия ототоксичности и нефротоксичности для традиционных антибиотиков, таких как этимицин, амикацин, гентамицин и тому подобные. Класс новых аминогликозидных лекарственных средств с более широким антибактериальным спектром и лучшей активностью получают более простым синтетическим способом по сравнению с соединениями, известными из уровня техники.

Краткое описание изобретения

В настоящем изобретении предложено соединение, представленное следующей формулой:



или его фармацевтически приемлемая соль.

В настоящем изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая в качестве активного ингредиента терапевтически эффективное количество указанного выше соединения или его фармацевтически приемлемой соли и фармацевтически приемлемый носитель.

В настоящем изобретении также предложено применение указанного выше соединения или его фармацевтически приемлемой соли и указанной выше фармацевтической композиции для получения лекарственного средства для лечения заболеваний, связанных с бактериальной инфекцией; и в некоторых вариантах реализации указанная выше бактериальная инфекция представляет собой инфекцию, резистентную к карбапенему, вызванную Enterobacteriaceae.

Технические результаты

В настоящем изобретении синтезировано соединение формулы (II) и его изомеры с помощью более простого способа получения и получен новый класс аминогликозидных антибиотиков для борьбы с лекарственно-резистентной бактериальной инфекцией, вызванной супербактериями, такими как CRE (резистентные к карбапенему Enterobacteriaceae), что решает проблемы лекарственной резистентности из-за инактивации ферментом и наличия ототоксичности и нефротоксичности для традиционных антибиотиков. Между тем, соединение согласно настоящему изобретению обладает более широким антибактериальным спектром, лучшей активностью и отсутствием цитотоксичности.

Определения и описания

Предполагается, что если не указано иное, следующие термины и фразы, используемые в настоящем описании, имеют следующие значения. Конкретный термин или фразу не следует считать неопределенными или неясными без специального определения, их следует понимать в их обычном значении. В случае когда в настоящем описании фигурирует товарный знак, он предназначен для обозначения соответствующего товара или его активного ингредиента.

Термин "фармацевтически приемлемый" в настоящем описании относится к соединениям, материалам, композициям и/или лекарственным формам, по результатам достоверной медицинской оценки подходящим для применения в контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергических реакций или других проблем или осложнений, и соответствующим разумному соотношению польза/риск.

Термин "фармацевтически приемлемая соль" относится к соли соединения согласно настоящему изобретению, которая получена из соединения, предложенного согласно настоящему изобретению, с применением конкретного заместителя (заместителей) и относительно нетоксичной кислоты или основания. В случае когда соединение согласно настоящему изобретению содержит относительно кислотную функциональную группу, соль присоединения основания может быть получена путем приведения нейтральной формы соединения в контакт с достаточным количеством основания в чистом растворе или подходящем инертном растворителе. Фармацевтически приемлемые соли присоединения основания включают соль натрия, калия, кальция, аммония, органического амина или магния или схожие соли. В случае когда соединение согласно настоящему изобретению содержит относительно основную функциональную группу, соль присоединения кислоты может быть получена путем приведения нейтральной формы соединения в контакт с достаточным количеством кислоты в чистом растворе или подходящем инертном растворителе. Примеры фармацевтически приемлемых солей присоединения кислоты включа-

ют соли неорганических кислот и соли органических кислот. Неорганическая кислота включает, например, соляную кислоту, бромистоводородную кислоту, азотную кислоту, угольную кислоту, гидрокарбонат, фосфорную кислоту, моногидрофосфат, дигидрофосфат, серную кислоту, гидросульфат, йодистоводородную кислоту, фосфористую кислоту и т.д. Органическая кислота включает, например, уксусную кислоту, пропионовую кислоту, изомасляную кислоту, малеиновую кислоту, малоновую кислоту, бензойную кислоту, янтарную кислоту, субериновую кислоту, фумаровую кислоту, молочную кислоту, миндальную кислоту, фталевую кислоту, бензолсульфоновую кислоту, *p*-толуолсульфоновую кислоту, лимонную кислоту, винную кислоту и метансульфоновую кислоту и тому подобное. Примеры фармацевтически приемлемых солей присоединения кислоты также включают соли аминокислот (таких как аргинин и т.д.) и соли органических кислот, таких как глюкуроновая кислота. Некоторые конкретные соединения согласно настоящему изобретению содержат основные и кислотные функциональные группы, так что их можно превращать в любую соль присоединения основания или кислоты.

Фармацевтически приемлемая соль согласно настоящему изобретению может быть синтезирована из исходного соединения, содержащего кислотный или основной радикал, с помощью обычных химических способов. Обычно такие соли получают путем проведения реакции указанных соединений в форме свободной кислоты или свободного основания со стехиометрическими количествами подходящего основания или кислоты в воде или органическом растворителе или их смеси.

Могут существовать конкретные геометрические изомеры или стереоизомеры соединений согласно настоящему изобретению. Настоящее изобретение предполагает все такие соединения, включая таутомеры, *cis*-изомеры и *trans*-изомеры, (-)-энантиомеры и (+)-энантиомеры, (R)-энантиомеры и (S)-энантиомеры, диастереомеры, (D)-изомеры, (L)-изомеры, их рацемические смеси и другие смеси, такие как энантиомеры или диастереомерные обогащенные смеси. Все указанные смеси входят в объем настоящего изобретения. Дополнительные асимметричные атомы углерода могут присутствовать в заместителях, таких как алкил. Все указанные изомеры и их смеси включены в объем настоящего изобретения.

Если не указано иное, термин "энантиомер" или "оптический изомер" относится к стереоизомерам, которые являются зеркальным отображением друг друга.

Если не указано иное, термин "*cis*-, *trans*-изомер" или "геометрический изомер" является следствием невозможности свободного вращения из-за двойных связей или одинарных связей образующих кольцо атомов углерода.

Если не указано иное, термин "диастереомер" относится к стереоизомеру, в котором молекула имеет два или более хиральных центров, и молекулы не являются зеркальным отображением друг друга.

Если не указано иное, "(D)" или "(+)" означает правовращение, "(L)" или "(-)" означает левовращающий, а "(DL)" или "(±)" означает рацемический.

Если не указано иное, связь клиновидной сплошной линией (↗) и связь клиновидной штриховой линией (⋯) используются для представления абсолютной конфигурации стереоцентра, связь прямой сплошной линией (↘) и связь прямой штриховой линией (⋯) используются для представления относительной конфигурации стереоцентра, а волнистая линия (~~~~) используется для представления связи клиновидной сплошной линией (↗) или связи клиновидной штриховой линией (⋯), или волнистая линия (~~~~) используется для представления связи прямой сплошной линией (↘) и связи прямой штриховой линией (⋯).

Соединение согласно настоящему изобретению может быть специфическим. Если не указано иное, термин "таутомер" или "таутомерная форма" означает, что при комнатной температуре изомеры различных функциональных групп находятся в динамическом равновесии и могут быстро превращаться друг в друга. Если возможны таутомеры (например, в растворе), может быть достигнуто химическое равновесие таутомеров. Например, в случае протонного таутомера (также называемого прототропным таутомером) происходит взаимное превращение путем миграции протона, такое как кето-енольная таутомеризация и имино-енаминная таутомеризация. В случае валентного таутомера происходит взаимное превращение путем рекомбинации некоторых связывающих электронов. Конкретным примером кето-енольной таутомеризации является таутомеризация двух таутомеров пентан-2,4-диона и 4-гидроксипент-3-ен-2-она.

Если не указано иное, термины "обогащенный одним изомером", "богатый изомерами", "богатый одним энантиомером" или "богатый энантиомерами" относятся к содержанию одного из изомеров или энантиомеров, которое составляет менее 100% и составляет 60% или более, или 70% или более, или 80% или более, или 90% или более, или 95% или более, или 96% или более, или 97% или более, или 98% или более, или 99% или более, или 99,5% или более, или 99,6% или более, или 99,7% или более, или 99,8% или более, или 99,9% или более.

Если не указано иное, термин "изомерная чистота" или "энантиомерная чистота" относится к разнице между относительными процентными содержаниями двух изомеров или двух энантиомеров. Например, если содержание одного изомера или энантиомера составляет 90%, и содержание другого изомера или энантиомера составляет 10%, изомерная или энантиомерная чистота (значение ЭЧ) составляет 80%.

Оптически активные (R)- и (S)-изомеры, а также D- и L-изомеры могут быть получены путем хирального синтеза или с применением хиральных реагентов или другими обычными способами. Если не-

обходим энантиомер соединения согласно настоящему изобретению, он может быть получен путем асимметрического синтеза или дериватизации с применением хиральных вспомогательных веществ, в которой полученную смесь диастереомеров разделяют, и вспомогательные группы удаляют с получением желаемого чистого энантиомера. В качестве альтернативы, когда молекула содержит основную функциональную группу (такую как аминогруппа) или кислотную функциональную группу (такую как карбоксильная группа), она образует диастереомерную соль с подходящими оптически активными кислотой или основанием, после чего диастереоизомеры разделяют обычным способом, известным в данной области техники, и восстанавливают чистые энантиомеры. Кроме того, разделение энантиомеров и диастереомеров, как правило, выполняют с помощью хроматографии, в которой используется хиральная неподвижная фаза, и которая, необязательно, объединена с химической дериватизацией (например, образованием карбамината из аминов). Соединения согласно настоящему изобретению могут содержать не встречающиеся в природе отношения атомных изотопов одного или более атомов, составляющих соединение. Например, соединения могут быть помечены с помощью радиоизотопов, таких как тритий (^3H), иод-125 (^{125}I) или C-14 (^{14}C). В качестве другого примера дейтерированные лекарственные средства могут быть образованы путем замены водорода дейтерием. Связь между дейтерием и углеродом прочнее, чем связь между обычным водородом и углеродом. По сравнению с недеитерированными лекарственными средствами дейтерированные лекарственные средства обладают такими преимуществами, как снижение токсических побочных эффектов, повышение стабильности лекарственного средства, повышение эффективности и продление биологического периода полувыведения лекарственных средств. Все изменения изотопного состава соединений согласно настоящему изобретению, являющиеся или не являющиеся радиоактивными, включены в объем настоящего изобретения. "Необязательный" или "необязательно" означает, что событие или условие, описанное далее, может, но не обязательно, произойти, и настоящее описание включает ситуацию, когда событие или условие происходит, и ситуацию, когда событие или условие не происходит.

Для лекарственных средств или фармакологически активных агентов термин "эффективное количество" или "терапевтически эффективное количество" относится к достаточному количеству лекарственного средства или агента, которое является нетоксичным, но может обеспечить желаемый эффект. В случае лекарственной формы для перорального введения согласно настоящему изобретению "эффективное количество" одного активного вещества в композиции относится к количеству, необходимому для достижения желаемого эффекта в сочетании с другим активным веществом в композиции. Определение эффективного количества варьируется от человека к человеку в зависимости от возраста и общего состояния реципиента, а также от конкретного активного вещества. Подходящее эффективное количество в случае может быть определено специалистами в данной области техники в соответствии с обычными экспериментами.

Термины "активный ингредиент", "терапевтический агент", "активное вещество" или "активный агент" относятся к химическому соединению, которое может обеспечить эффективное лечение целевого расстройства, заболевания или состояния.

Термин "замещенный" означает, что любые один или более атомов водорода при конкретном атоме заменены на заместители и могут включать варианты дейтерия и водорода при условии, что валентность конкретного атома является обычной, и замещенное соединение является стабильным. В случае когда заместитель представляет собой кислород (то есть, $=\text{O}$), это означает, что заменены два атома водорода. Замещение кислородом не встречается в ароматических группах. Термин "необязательно замещенный" означает, что он может быть замещенным или незамещенным. Если не указано иное, тип и число заместителей могут быть выбраны произвольно исходя из того, что они могут быть реализованы химически.

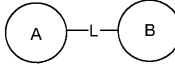
В случае когда какая-либо переменная (такая как R) встречается в составе или структуре соединения более одного раза, ее определение в каждой ситуации является независимым. Таким образом, например, если группа замещена 0-2 R, указанная группа может быть необязательно замещена не более чем двумя R, и R имеет независимые варианты в каждой ситуации. Кроме того, комбинации заместителей и/или их вариантов допустимы только в том случае, если такие комбинации приведут к стабильным соединениям.

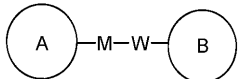
В случае когда индекс при связывающей группе равен 0, например $-(\text{CRR})_0-$, это указывает на то, что связывающая группа представляет собой одинарную связь.

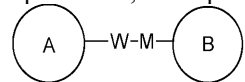
В случае когда одна из переменных выбрана из одинарной связи, это означает, что две группы, соединенные с помощью нее, связаны непосредственно. Например, когда L в A-L-Z представляет собой одинарную связь, это означает, что указанная структура фактически представляет собой A-Z.

В случае когда заместитель является вакантным, это означает, что заместитель отсутствует. Например, когда X в A-X является вакантным, это означает, что указанная структура фактически представляет собой A. Когда не указано, какой атом указанного заместителя связан с замещенной группой, такой заместитель может быть связан через любой атом. Например, пиридильная группа в качестве заместителя может быть присоединена к замещенной группе через любой из атомов углерода пиридинового кольца.

Когда не указано направление соединения указанной связывающей группы, направление соедине-

ния является произвольным. Например, в  связывающая группа L представляет собой -MW-, и -MW- может соединять кольцо A и кольцо B в направлении, соответствующем порядку чтения

слева направо, с получением , а также может соединять кольцо A и кольцо B в направлении, противоположном порядку чтения слева направо, с получением



Комбинации связывающих групп, заместителей и/или их вариантов допустимы только в том случае, если такая комбинация приведет к стабильным соединениям.

Если не указано иное, термин "C₁₋₆алкил" используют для обозначения линейной или разветвленной насыщенной углеводородной группы, содержащей от 1 до 6 атомов углерода. C₁₋₆алкил включает C₁₋₅, C₁₋₄, C₁₋₃, C₁₋₂, C₂₋₆, C₂₋₄, C₆ и C₅алкил и т.п. Он может быть одновалентным (таким как метил), двухвалентным (таким как метилен) или многовалентным (таким как метин). Примеры C₁₋₆алкила включают, но не ограничиваются ими, метил (Me), этил (Et), пропил (включая н-пропил и изопропил), бутил (включая н-бутил, изобутил, втор-бутил и трет-бутил), пентил (включая н-пентил, изопентил и неопентил), гексил и т.п.

Если не указано иное, термин "C₁₋₃алкил" используют для обозначения линейной или разветвленной насыщенной углеводородной группы, содержащей от 1 до 3 атомов углерода. C₁₋₃алкил включает C₁₋₂ и C₂₋₃алкил и т.п. Он может быть одновалентным (таким как метил), двухвалентным (таким как метилен) или многовалентным (таким как метин). Примеры C₁₋₃алкила включают, но не ограничиваются ими, метил (Me), этил (Et), пропил (включая н-пропил и изопропил) и т.п.

Термин "уходящая группа" относится к функциональной группе или атому, которые могут быть заменены другими функциональной группой или атомом в результате реакции замещения (например, нуклеофильного замещения). Например, типичные уходящие группы включают трифлат; хлор, бром, иод; сульфонатные группы, такие как мезилат, тозилат, п-бромбензолсульфонат, п-тозилат и т.д., ацилокси-группы, такие как ацетокси, трифторацетокси и т.п.

Термин "защитная группа" включает, но не ограничивается ими, "аминозащитную группу", "гидроксизащитную группу" или "сульфгидрилзащитную группу". Термин "аминозащитная группа" относится к защитной группе, которая подходит для предотвращения побочных реакций по азотному центру аминокислотной группы. Типичные аминозащитные группы включают, но не ограничиваются ими, формил; ацил, такой как алканоил (такой как ацетил, трихлорацетил или трифторацетил); алкоксикарбонил, такой как трет-бутоксикарбонил (Boc); арилметилоксикарбонил, такой как бензилоксикарбонил (Cbz) и 9-флуоренилметилоксикарбонил (Fmoc); арилметил, такой как бензил (Bn), тритил (Tr), 1,1-ди(4'-метоксифенил)метил; силлил, такой как триметилсиллил (TMS) и трет-бутилдиметилсиллил (TBS), и так далее. Термин "гидроксизащитная группа" относится к защитной группе, которая подходит для предотвращения побочных реакций гидроксильной группы. Типичные гидроксизащитные группы включают, но не ограничиваются ими, алкил, такой как метил, этил и трет-бутил; ацил, такой как алканоил (такой как ацетил); арилметил, такой как бензил (Bn), п-метилоксибензил (PMB), 9-флуоренилметил (Fm) и дифенилметил (дифенилметил, DPM); силлил, такой как триметилсиллил (TMS) и трет-бутилдиметилсиллил (TBS), и так далее. Соединения согласно настоящему изобретению могут быть получены различными способами синтеза, хорошо известными специалистам в данной области техники, включая перечисленные ниже конкретные варианты реализации, варианты реализации, полученные путем их комбинации с другими способами химического синтеза, и эквивалентные альтернативы, хорошо известные специалистам в данной области техники. Предпочтительные варианты реализации включают, но не ограничиваются ими, примеры согласно настоящему изобретению.

Растворитель, применяемый в настоящем изобретении, является коммерчески доступным.

В настоящем изобретении используются следующие сокращения: КОЕ означает количество колоний; Boc означает трет-бутоксикарбонил; МИК означает минимальную ингибирующую концентрацию.

Краткое описание чертежей

На фиг. 1 показаны данные по эффективности *in vivo* соединения 1 (в дозе 30 мг/кг) и плазомицина (в дозе 30 мг/кг) в модели мышцы бедра мыши (*Enterobacteria* ATCC-25922).

На фиг. 2 показаны данные по эффективности *in vivo* соединения 1 (в дозе 10 мг/кг и 30 мг/кг), плазомицина (в дозе 10 мг/кг и 30 мг/кг) и меропенема (в дозе 100 мг/кг) в модели пневмонии мыши (*Klebsiella Pneumoniae* ATCC-BAA-1705).

На фиг. 3 показаны изменения амплитуды потенциала действия соединения: изменения значения амплитуды ПДС соединения 1, гентамицина и плазомицина при различных интенсивностях, когда частота была зафиксирована на 32 кГц.

На фиг. 4 показаны изменения амплитуды потенциала действия соединения: изменения значения амплитуды ПДС соединения 1, гентамицина и плазомицина при различных интенсивностях, когда частота была зафиксирована на 16 кГц.

На фиг. 5 показаны изменения амплитуды потенциала действия соединения: изменения значения

амплитуды ПДС соединения 1, гентамицина и плазомицина при различных интенсивностях при коротком звуке (щелчке).

На фиг. 6 показано повреждение волосковых клеток улитки: А иллюстрирует повреждения внутренних волосковых клеток, вызванные соединением 1, гентамицином и плазомицином; и В иллюстрирует повреждения наружных волосковых клеток, вызванные соединением 1, гентамицином и плазомицином.

На фиг. 7 показаны изменения плотности нейронов спирального ганглия, вызванные соединением 1, гентамицином и плазомицином.

На фиг. 8 показана кривая регрессии токсичности плазомицина на клетках НК-2.

На фиг. 9 показана кривая регрессии токсичности соединения 1 на клетках НК-2.

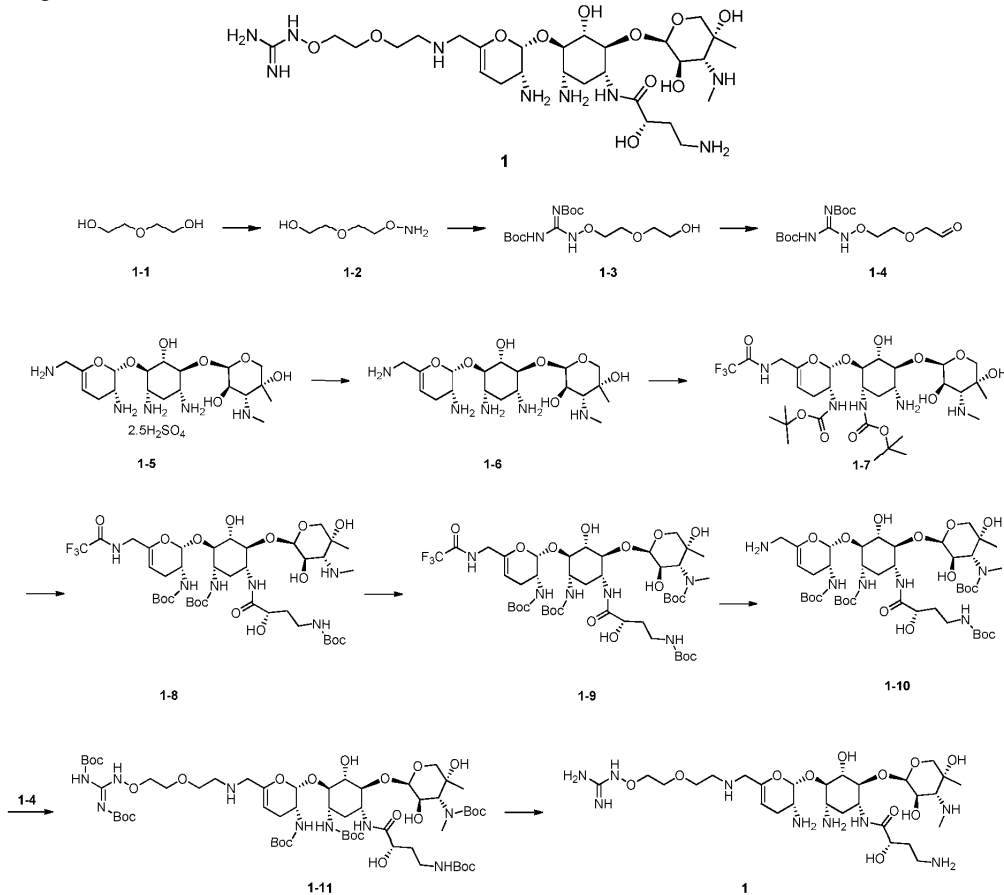
На фиг. 10 показана кривая регрессии токсичности нетилмицина на клетках НК-2.

На фиг. 11 показана кривая регрессии токсичности амикацина на клетках НК-2.

Подробные варианты реализации

Настоящее изобретение подробно описано с помощью следующих примеров, которые не предполагают какого-либо неблагоприятного ограничения настоящего изобретения. Несмотря на то, что настоящее изобретение подробно описано в настоящем документе с раскрытием его конкретных вариантов реализации, различные изменения и улучшения, которые можно внести в него, будут очевидны для специалистов в данной области техники, не отступая от сущности и объема настоящего изобретения.

Пример 1. Соединение 1.



Стадия 1.

Дифенилфосфинилгидроксиламин (10 г, 42,88 ммоль, 1 экв.), соединение 1-1 (13,65 г, 128,64 ммоль, 12,19 мл, 3 экв.) и трет-бутоксид натрия (4,95 г, 51,46 ммоль, 1,2 экв.) растворяли в тетрагидрофуране (100 мл), перемешивали и проводили реакцию при 5-15°C в течение 16 ч. Реакционную жидкость фильтровали, и фильтрат концентрировали с получением соединения 1-2.

Стадия 2.

Соединение 1-2 (5,19 г, 42,84 ммоль, 1 экв.), полученное на предыдущей стадии, в тетрагидрофуране (100 мл) и N,N-ди-BOC-1H-пирозол-1-карбоксамидин (13,30 г, 42,84 ммоль, 1 экв.) перемешивали и проводили реакцию при 66°C в течение 16 ч. Реакционную жидкость охлаждали до комнатной температуры и подвергали экстракции с использованием этилацетата (100 мл×2) после добавления воды (300 мл). Органические фазы объединяли, сушили над сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат концентрировали с получением неочищенного продукта, и соединение 1-3 получали с помощью колоночной хроматографии (диоксид кремния, петролейный эфир/этилацетат=20/1, 1/1 (об./об.)).

Стадия 3.

Соединение 1-3 (1 г, 2,75 ммоль, 1 экв.) и 2-иодоксибензойную кислоту (847,59 мг, 3,03 ммоль, 1,1 экв.) растворяли в диметилсульфоксиде (10 мл), и реакционную жидкость перемешивали при 40°C в течение 1 ч реакции. Реакционную жидкость фильтровали, и фильтрат подвергали экстракции трет-бутилметиловым эфиром (20 мл×2 раза) после добавления воды (40 мл). Органические фазы объединяли и промывали насыщенным тиосульфатом натрия (10 мл). Органическую фазу сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением соединения 1-4.

Стадия 4.

Amberlite (ионообменную смолу) IRA-402(OH) (500 г) добавляли к метанолу (500 мл), и полученный раствор перемешивали при 20°C в течение 1 ч. Затем смесь фильтровали, остаток на фильтре добавляли к метанолу (500 мл), и затем в указанную смесь добавляли соединение 1-5. Смесь перемешивали при 20°C в течение 11 ч. Во время реакции соединение 1-5 растворялось. Реакционную жидкость фильтровали, и фильтрат концентрировали с получением соединения 1-6. ЖХМС (ИЭР) m/z: 448,4 (M+1).

Стадия 5.

Соединение 1-6 (15 г, 33,52 ммоль, 1 экв.) растворяли в метаноле (150 мл), а затем к указанному выше метанольному раствору по каплям добавляли S-этил-2,2,2-трифторэтилтиозфир (4,24 г, 26,82 ммоль, 0,8 экв.) в метаноле (150 мл). Смешанный раствор перемешивали при 20°C в течение 16 ч. Затем к указанному раствору добавляли ацетат цинка (14,72 г, 80,44 ммоль, 2,4 экв.), и затем к смешанному раствору по каплям добавляли (N-гидрокси-5-норборнен-2,3-дикарбоксимидо)-трет-бутиловый сложный эфир (16,85 г, 60,33 ммоль, 1,8 экв.) и триэтиламин (10,17 г, 100,55 ммоль, 14,00 мл, 3 экв.) в тетрагидрофуране (170 мл). Реакционную жидкость перемешивали при 20°C в течение 30 часов, затем гасили глицином (7 г), а затем концентрировали. Концентрированную жидкость разбавляли дихлорметаном (1000 мл), и затем дважды промывали водным раствором аммиака (300 мл) (вода: аммиак=7:3). Органическую фазу концентрировали. Неочищенный продукт очищали с помощью колоночной хроматографии (диоксид кремния, дихлорметан/метанол= 50/1-5/1 (об./об.), содержащий небольшое количество аммиачной воды) с получением соединения 1-7. ЖХМС (ИЭР) m/z: 744,3 (M+1).

Стадия 6.

(2S)-4-(трет-бутилоксикарбониламино)-2-гидроксимасляную кислоту (6,85 г, 31,26 ммоль, 1,5 экв.) растворяли в N,N-диметилформамиде (150 мл), и к полученному раствору добавляли N-гидрокси-5-норборнен-2,3-дикарбоксимид (5,60 г, 31,26 ммоль, 1,5 экв.) и 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимид (4,85 г, 31,26 ммоль, 5,53 мл, 1,5 экв.). Реакционную жидкость перемешивали при 20°C в течение 2 ч с последующим добавлением в нее соединения 1-7 (15,5 г, 20,84 ммоль, 1 экв.). Реакционную жидкость перемешивали при 20°C в течение 16 ч, затем разбавляли водой (200 мл) и подвергали экстракции с использованием этилацетата (50 мл×3). Объединенные органические фазы промывали насыщенным соевым раствором (100 мл), затем сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат концентрировали с получением смеси. Указанную смесь очищали с помощью колоночной хроматографии (диоксид кремния, дихлорметан/метанол=50/1-10/1 (об./об.)) с получением соединения 1-8. ЖХМС (ИЭР) m/z: 945,5 (M+1).

Стадия 7.

Соединение 1-8 (16,40 г, 17,35 ммоль, 1 экв.), ди-трет-бутилдикарбонат (4,55 г, 20,83 ммоль, 4,78 мл, 1,2 экв.), DIEA (2,69 г, 20,83 ммоль, 3,6 мл, 1,2 экв.) растворяли в тетрагидрофуране (170 мл). Замену азота выполняли три раза. Реакционную жидкость перемешивали при 20°C в течение 16 ч. Реакционную жидкость разбавляли водой (200 мл), и затем подвергали экстракции дихлорметаном (100 мл×2). Объединенные органические фазы последовательно промывали 0,1 М соляной кислотой (20 мл) и насыщенным соевым раствором (60 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат концентрировали с получением твердой смеси. Указанную смесь очищали с помощью колоночной хроматографии (диоксид кремния, петролейный эфир/этилацетат=15/1-0/1 (об./об.)) с получением целевого соединения 1-9. ЖХМС (ИЭР) m/z: 1045,3 (M+1).

Стадия 8.

Соединение 1-9 (15,00 г, 14,35 ммоль, 1 экв.) и аммиачную воду (63,70 г, 1,82 моль, 70 мл, 126,62 экв.) растворяли в метаноле (80 мл), и полученную смесь перемешивали при 20°C в течение 16 ч. Реакционную жидкость концентрировали для удаления растворителя, разбавляли водой (100 мл) и подвергали экстракции дихлорметаном (100 мл×3 раза). Объединенные органические фазы промывали насыщенным соевым раствором (200 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат концентрировали, и концентрированную смесь очищали с помощью колоночной хроматографии (диоксид кремния, сначала петролейный эфир/этилацетат = 10/1-0/1 (об./об.), затем дихлорметан/метанол = 6/1 (об./об.), элюент содержал небольшое количество аммиачной воды) с получением соединения 1-10. ЖХМС (ИЭР) m/z: 949,3 (M+1).

Стадия 9.

Соединение 1-4 (50,63 мг, 0,15 ммоль) и соединение 1-10 (145,00 мг, 0,15 ммоль) растворяли в метаноле (5,00 мл), и затем добавляли молекулярное сито 4A (0,5 г). Смесь перемешивали в течение 0,5 ч

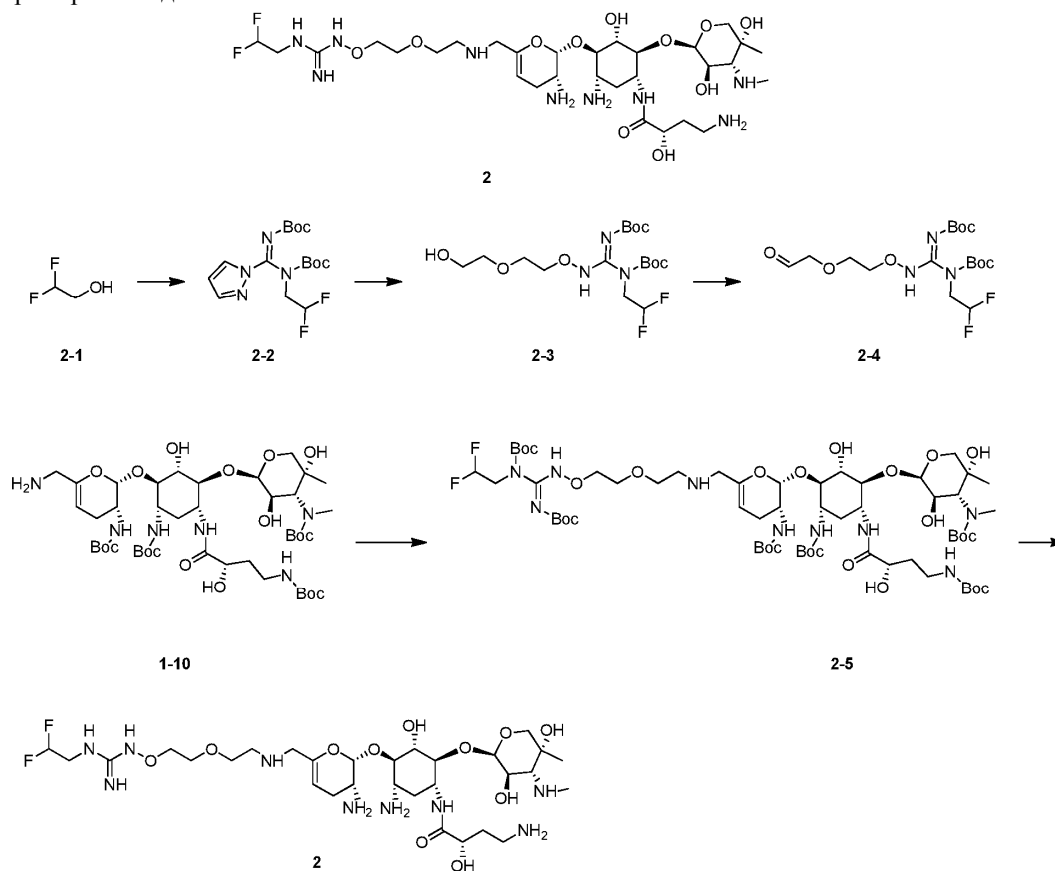
при 18°C в атмосфере азота. Затем добавляли цианоборгидрид натрия (19,20 мг, 0,30 ммоль) и перемешивали в течение 1 ч. Завершение реакции определяли с помощью ЖХ-МС. Реакционную жидкость фильтровали, концентрировали и разделяли с помощью препаративной ВЭЖХ: Phenomenex Synergi C18 150×25 мм×10 мкм; подвижная фаза: [вода (0,225% муравьиной кислоты)-ацетонитрил]; % ацетонитрила: 60%-90% в течение 10 мин; с получением соединения 1-11. ЖХМС (ИЭР) m/z: 1294,7 (M+1).

Стадия 10.

Соединение 1-11 (91,00 мг, 71,97 мкмоль) растворяли в безводном дихлорметане (2,00 мл), охлаждали до 0°C в атмосфере азота. Добавляли трифторуксусную кислоту (1,54 г, 13,51 ммоль), и реакционную жидкость перемешивали при 0-19°C в течение 9 ч, концентрировали при комнатной температуре, суспендировали с применением ацетонитрила/метил-трет-бутилового эфира (4 мл, 1/3), фильтровали и концентрировали с получением соединения 1.

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ (ppm): 5.62 (s, 1H), 5.24 (s, 1H), 5.08 (s, 1H), 4.09-4.06 (m, 1H), 3.98-3.96 (m, 2H), 3.94-3.93 (m, 5H), 3.77-3.73 (m, 4H), 3.24 (s, 1H), 3.22-3.10 (m, 6H), 2.83 (s, 3H), 2.61-2.14 (m, 2H), 2.04-2.14 (m, 6H), 1.26 (s, 3H); LCMS (ESI) m/z: 664.5 (M+1).

Пример 2. Соединение 2.



Стадия 1.

Соединение 2-1 (1 г, 12,19 ммоль, 71,94 мкл, 1,2 экв.), N,N-бис-BOC-1H-пиразол-1-карбоксамидин (3,15 г, 10,16 ммоль, 1 экв.) и трифенилфосфин (3,20 г, 12,19 ммоль, 1,2 экв.) растворяли в тетрагидрофуране (40 мл), DIAD (2,46 г, 12,19 ммоль, 2,37 мл, 1,2 экв.) добавляли по каплям при 0°C. Затем полученную смесь нагревали до 20°C и перемешивали в течение 12 ч. Воду (100 мл) добавляли к реакционному раствору, который затем подвергали экстракции с использованием этилацетата (50 мл, 3 раза). Объединенные органические фазы промывали водой (30 мл, 3 раза), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали с помощью хроматографической колонки (диоксид кремния, петролейный эфир/этилацетат = от 50/1 до 20/1 (об./об.)) с получением соединения 2-2.

Стадия 2.

Соединение 2-2 (3,25 г, 8,67 ммоль, 0,5 экв.) добавляли к соединению 1-2 (2,1 г, 17,34 ммоль, 1 экв.) в тетрагидрофуране (50 мл) при 20°C, и реакционную жидкость перемешивали при 67°C в течение 12 ч. Воду (100 мл) добавляли к реакционной жидкости, которую затем подвергали экстракции с использованием этилацетата (50 мл×3). Объединенные органические фазы промывали водой (30 мл, 3 раза), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением неочищенного продукта, который очищали с помощью хроматографической колонки (диоксид кремния, петролейный эфир/этилацетат = от 10/1 до 1/1 (об./об.)) с получением соединения 2-3.

Стадия 3.

2-Йодоксибензойную кислоту (108,09 мг, 386,02 мкмоль, 1,1 экв.) добавляли к соединению 2-3 (150 мг, 350,93 мкмоль, 1 экв.) в диметилсульфоксиде (3 мл) при 40°C. Реакционную жидкость перемешивали при 40°C в течение 2 ч. К реакционной жидкости добавляли насыщенный бикарбонат натрия/тиосульфат натрия (30 мл (об./об.)), и реакционную жидкость подвергали экстракции этилацетатом (20 мл×2). Объединенные органические фазы промывали насыщенным бикарбонатом натрия/тиосульфатом натрия (10 мл×3 раза (1/1, об./об.)), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением соединения 2-4.

Стадия 4.

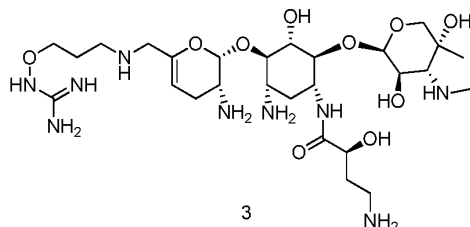
Соединение 2-5 (118 мг, 277,37 мкмоль, 1,1 экв.) и молекулярное сито 4A (300 мг) добавляли к соединению 1-10 (239,32 мг, 252,16 мкмоль, 1 экв.) в 1,2-дихлорэтане (2 мл) при 20°C. Полученную смесь перемешивали в течение 1 часа, и затем добавляли ацетат-боргидрид натрия (sodium acetate borohydride) (64,13 мг, 302,59 мкмоль, 1,2 экв.). Реакционную жидкость перемешивали при 20°C в течение 12 ч. Воду (20 мл) добавляли к реакционной жидкости, которую затем подвергали экстракции дихлорметаном (20 мл×3). Объединенные органические фазы промывали водой (10 мл×3), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением неочищенного продукта, который затем очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (колонка: Phenomenex Synergi C18 150×25 мм×10 мкм; подвижная фаза: [вода (0,225% муравьиной кислоты)-ацетонитрил]; % ацетонитрила: 35%-56%, 7 мин) с получением соединения 2-6. ЖХМС (ИЭР) m/z: 1358,7 (M+1).

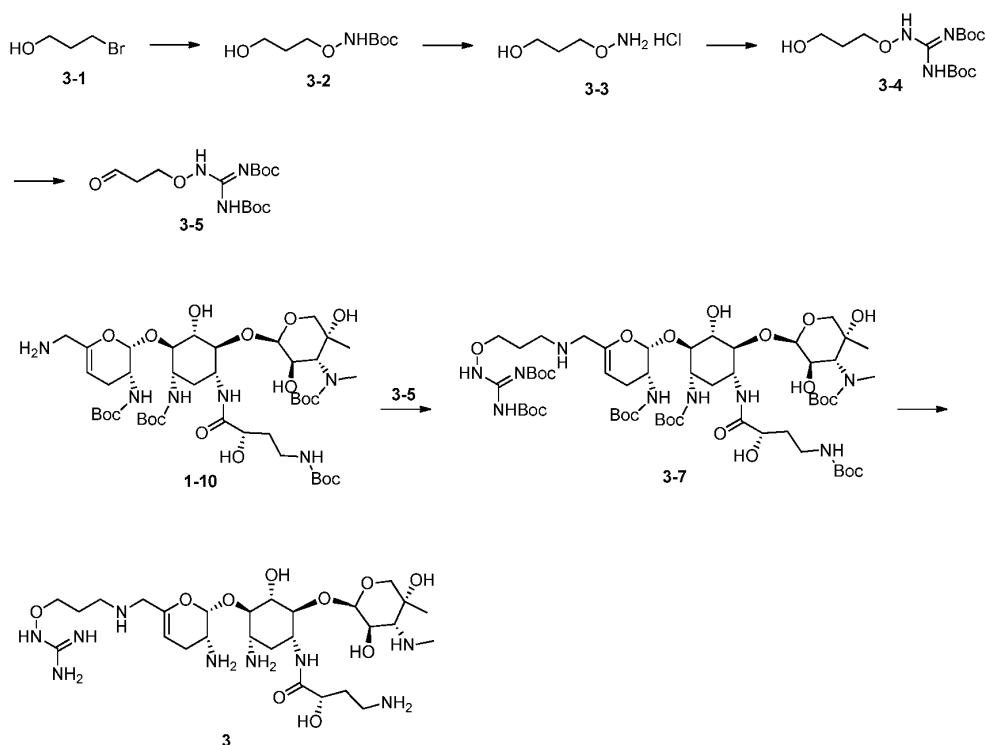
Стадия 5.

Соединение 2-8 (40 мг, 29,44 мкмоль, 1 экв.) растворяли в дихлорметане (1 мл) и добавляли трифторуксусную кислоту (1,54 г, 13,51 ммоль, 1 экв.) при 0°C. Реакционную жидкость нагревали до 20°C и перемешивали в течение 2 ч, а затем охлаждали до 0°C. Добавляли метил-трет-бутиловый эфир (15 мл), и полученную смесь фильтровали, промывали метил-трет-бутиловым эфиром (2 мл×3) и сушили с помощью масляного насоса при 40°C с получением соединения 2.

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ = 6.18-5.87 (m, 1H), 5.63 (s, 1H), 5.28-5.22 (m, 1H), 5.08 (d, J= 3.8 Hz, 1H), 4.23-4.16 (m, 1H), 4.09-4.03 (m, 3H), 3.98-3.89 (m, 2H), 3.83 (br t, J=5.2 Hz, 1H), 3.79-3.68 (m, 8H), 3.46-3.38 (m, 1H), 3.33 (br d, J=13.0 Hz, 1H), 3.26-3.22 (m, 2H), 3.16-3.07 (m, 2H), 2.83 (s, 3H), 2.69-2.55 (m, 1H), 2.42-2.28 (m, 1H), 2.19-2.06 (m, 2H), 1.95-1.85 (m, 1H), 1.83-1.71 (m, 1H), 1.29-1.23 (m, 3H). LCMS (ESI) m/z: 758.3 (M+1).

Пример 3. Соединение 3.





Стадия 1.

Соединение 3-1 (16,00 г, 115,12 ммоль) растворяли в ацетонитриле (200,00 мл) и последовательно добавляли N-BOC-гидроксиламин (15,33 г, 115,12 ммоль) и DBU (19,28 г, 126,63 ммоль). Полученную смесь подвергали реакции при 11-25°C в течение 16 ч, а затем концентрировали. Остаток разбавляли этилацетатом (350 мл), промывали водой (100 мл×3), один раз промывали насыщенным солевым раствором (100 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали. Остаток разделяли с помощью колоночной хроматографии (наполнитель: порошок силикагеля, элюент: этилацетат/петролейный эфир = 0-1/1 (об./об.)) с получением соединения 3-2.

Стадия 2.

Соединение 3-2 (1,00 г, 5,23 ммоль) и раствор хлористого водорода в диоксане (10 мл, 4 ммоль) смешивали и перемешивали при 20°C в течение 16 ч, а затем концентрировали при пониженном давлении с получением соединения 3-3.

Стадия 3.

Соединение 3-3 (581,27 мг, 6,38 ммоль) и N,N-бис-BOC-L-гуанилпиразол (1,80 г, 5,8 ммоль) растворяли в тетрагидрофуране (20 мл) и добавляли триэтиламин (1 мл). Раствор перемешивали при 80°C в течение 16 ч, и завершение реакции определяли с помощью ЖХ-МС. Смесь вливали в воду (100 мл) и подвергали экстракции этилацетатом (100 мл×3). Объединенные органические фазы промывали насыщенным солевым раствором (30 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали. Остаток разделяли с помощью колоночной хроматографии (наполнитель: порошок силикагеля, элюент: этилацетат/петролейный эфир = 50/1-20/1 (об./об.)) с получением соединения 3-4.

Стадия 4.

2-Йодоксибензойную кислоту (0,34 г, 1,2 ммоль) добавляли к соединению 3-4 (0,40 г, 1,50 ммоль) в диметилсульфоксиде (5,00 мл), и полученную смесь перемешивали при 40°C в течение 3 ч в атмосфере азота. Реакционную жидкость разбавляли этилацетатом (100 мл), промывали водой (50 мл×2) и насыщенным солевым раствором (50 мл) и концентрировали. Остаток разделяли с помощью колоночной хроматографии (наполнитель: порошок силикагеля, элюент: этилацетат/петролейный эфир = 0-1/1) с получением соединения 3-5.

Стадия 5.

Молекулярное сито 4A (0,5 г) добавляли к соединению 3-5 (50,63 мг, 0,15 ммоль) и соединению 1-10 (145,00 мг, 0,15 ммоль) в метаноле (5,00 мл). Полученную смесь перемешивали в течение 0,5 ч при 18°C в атмосфере азота, и затем перемешивали в течение еще 1 ч после добавления цианоборгидрида натрия (19,20 мг, 0,30 ммоль). Завершение реакции определяли с помощью ЖХ-МС. Реакционную жидкость фильтровали, концентрировали и разделяли с помощью препаративной ВЭЖХ: Phenomenex Synergi C18 150×25×10 мкм; подвижная фаза: [вода (0,225% муравьиной кислоты)-ацетонитрил]; % ацетонитрила: 60%-90% в течение 10 мин; с получением соединения 3-7.

Стадия 6.

Соединение 3-7 (91,00 мг, 71,97 мкмоль) растворяли в безводном дихлорметане (2,00 мл) и охлаждали

до 0°C в атмосфере азота. Добавляли трифторуксусную кислоту (1,54 г, 13,51 ммоль), и реакционную жидкость перемешивали при 0-19°C в течение 9 ч, концентрировали при комнатной температуре, и остаток промывали ацетонитрилом/метил-трет-бутиловым эфиром (4 мл, 1/3) с получением соединения 3.

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ(ppm): 5.62 (s, 1H), 5.24 (s, 1H), 5.08 (s, 1H), 4.09-4.06 (m, 1H), 3.98-3.96 (m, 2H), 3.94-3.93 (m, 5H), 3.77-3.73 (m, 4H), 3.24 (s, 1H), 3.22-3.10 (m, 6H), 2.83 (s, 3H), 2.61-2.14 (m, 2H), 2.04-2.14 (m, 6H), 1.26 (s, 3H); LCMS (ESI) m/z: 664.5(M+1).

Анализ биологической активности.

Экспериментальный пример 1. Обнаружение антибактериального эффекта соединения (МИК).

Три штамма Enterobacteriaceae E.coli ATCC 25922, E.coli ATCC BAA-2523, K. pneumonia ATCC BAA-1705 применяли для определения минимальной ингибирующей концентрации (МИК) каждого соединения методом микрожидкостного разведения в соответствии с требованиями Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI). Соединения, подвергнутые серии 2-кратных разведений (с диапазоном конечных концентраций 0,125 мкг/мл -128 мкг/мл), добавляли в 96-луночный планшет с круглым дном (№ в каталоге 3788, Corning). Один клон свежих бактерий на планшете с агаром Мюллера-Хинтон (Mueller Hinton) II (MHA, кат. № 211438, BD BBL™) после культивирования в течение ночи собирали и суспендировали в стерильном физиологическом растворе для доведения концентрации до 1×10⁸ КОЕ/мл, а затем разбавляли до 5×10⁵ КОЕ/мл с помощью бульона Мюллера-Хинтон II со стандартизированным содержанием катионов (МНВ, № в каталоге 212332, BD BBL™), 100 мкл которого добавляли в 96-луночный планшет с круглым дном, содержащий лекарственное средство. Планшет переворачивали и инкубировали при 37°C в течение 20-24 ч, и считывали значение МИК. Самая низкая концентрация лекарственного средства, которая ингибирует рост бактерий, была определена как МИК. Результаты показаны в табл. 1.

Таблица 1
Данные обнаружения антибактериального эффекта (МИК)
соединений согласно настоящему изобретению

Штаммы	МИК (мкМ)		
	<i>K. pneumoniae</i> ATCC BAA-1705	<i>E. coli</i> ATCC BAA-2523	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Соединение 1	4	2	2
Соединение 2	4	4	2
Соединение 3	0,25	1	0,5

Вывод: соединения согласно настоящему изобретению обладают хорошей антибактериальной активностью in vitro.

Экспериментальный пример 2. Оценка фармакокинетики у крыс.

Цель эксперимента.

Произвести испытания фармакокинетических параметров соединения согласно настоящему изобретению у крыс.

Протокол эксперимента:

- 1) Экспериментальное лекарственное средство: Соединение 1;
- 2) Экспериментальные животные: 3 самца крыс SD в возрасте 7-9 недель;
- 3) Получение лекарственного средства: Соответствующее количество лекарственного средства взвешивали и растворяли в физиологическом растворе с получением 60 мг/мл раствора.

Ход эксперимента.

Животным вводили лекарственное средство в дозе 150 мг/кг и концентрации 60 мг/мл путем однократной внутривенной капельной инфузии через хвостовую вену в течение 30 мин. Образцы плазмы собирали у животных через 0, 0,0333, 0,0833, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8 и 24 ч после введения. Для определения концентрации лекарственного средства в образце плазмы применяли метод ЖХ-МС/МС, и кинетические параметры испытываемого лекарственного средства приведены в табл. 2.

Таблица 2

Результаты оценки фармакокинетики соединения согласно
настоящему изобретению у крыс

Соединение	Скорость клиренса	Максимальная концентрация	Объем распределения	Период полувыведения	Площадь под кривой
	Cl (мл/кг/мин)	C _{max} (нМ)	Vd (л/кг)	T _{1/2} (ч)	AUC (нМ•ч)
Соединение 1	9,48	315667	1,50	3,62	440373

Вывод: соединение согласно настоящему изобретению обладает хорошими фармакокинетическими свойствами у крыс.

Экспериментальный пример 3. Исследование фармакокинетики у мышей.

Цель эксперимента.

Целью данного эксперимента является оценка фармакокинетического поведения соединения после однократной внутривенной инъекции и внутрижелудочного введения, а также исследование биодоступности после внутрижелудочного введения.

Ход эксперимента.

Самцов мышей CD-1 в возрасте от 7 до 10 недель отбирали и обрабатывали путем внутривенного введения в дозе 1 мг/кг. Мышей не кормили в течение по меньшей мере 12 ч перед введением, и возобновляли кормление через 4 ч после введения. Мыши могли пить в течение всего эксперимента.

В день эксперимента животным в группе внутривенного введения вводили соответствующее соединение путем однократной инъекции через хвостовую вену с объемом введения 5 мл/кг. Животных взвешивали перед введением, и объем введения рассчитывали на основе массы тела. Время сбора образцов составляло: 0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8 и 24 ч. Примерно 30 мкл цельной крови собирали через подкожную вену в каждый момент времени для получения плазмы для высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (ЖХ-МС/МС) для определения концентрации. Всех животных подвергали эвтаназии под анестезией CO₂ после того, как были собраны ФК-образцы в последний момент времени. Для обработки данных по концентрации в плазме применяли некомпартментную модель фармакокинетического программного обеспечения WinNonlin™ версии 6.3 (Pharsight, Mountain View, CA), а для расчета фармакокинетических параметров применяли линейно-логарифмический метод трапеций.

Результаты эксперимента.

Результаты оценки ФК-свойств у мышей показаны в табл. 3.

Таблица 3

Оценка фармакокинетических свойств соединения согласно
настоящему изобретению у мышей

Соединение	Скорость клиренса	Максимальная концентрация	Объем распределения	Период полувыведения	Площадь под кривой
	Cl (мл/кг/мин)	C _{max} (нМ)	Vd (л/кг)	T _{1/2} (ч)	AUC (нМ•ч)
Соединение 1	15,1	7088	0,369	0,396	1924

Вывод: соединение согласно настоящему изобретению обладает хорошими фармакокинетическими свойствами у мышей.

Экспериментальный пример 4. Экспериментальная оценка эффективности лекарственного средства у мышей (модель мышцы бедра мыши).

12 самок мышей CD-1 разделяли на 4 клетки, по 3 мыши на клетку, и им вводили путем внутри-

брюшинной инъекции иммунодепрессант циклофосфамид (150 мг/кг).

Через 24 ч мышам из 4 клеток снова вводили путем внутрибрюшинной инъекции иммунодепрессант циклофосфамид (100 мг/кг). Штамм *E.coli* ATCC-25922 (*Enterobacteria* ATCC-25922) выделяли на планшете с МНА. Выделенные колонии собирали и растворяли в физиологическом растворе с получением бактериального раствора *E.coli* ATCC-25922 с концентрацией $1,00E+07$ КОЕ/мл для последующего применения для инфицирования мышцы бедра мыши. Количество бактериального раствора, введенного путем инъекции в мышцу бедра экспериментальных мышей, составляло 100 мкл/мышь, то есть количество инокуляции составляло $1,00E+06$ КОЕ/мышь. Через 2 ч после заражения мышечную ткань бедра мышей в контрольной группе отбирали и помещали в 10 мл физиологического раствора, гомогенизировали и точно помещали на планшет с градиентным разбавлением.

Конкретное введение мышам осуществляли следующим образом.

(1) Через 2 ч после заражения: По истечении 2 ч заражения мышечную ткань бедра мышей в первой клетке отбирали и помещали в 10 мл физиологического раствора, гомогенизировали и точно помещали на планшет с градиентным разбавлением, в двух повторностях для каждой мыши. Количество бактерий, внесенных в мышечную ткань бедра мыши, подсчитывали. Мышам в третьей и четвертой клетках вводили путем подкожной инъекции, соответственно, 30 мг/кг плазомицина и соединения 1.

(2) Через 10 ч после заражения: Мышам в третьей и четвертой клетках вводили путем подкожной инъекции, соответственно, 30 мг/кг плазомицина и соединения 1. По истечении 24 ч заражения мышечную ткань бедра мышей во второй-четвертой клетках отбирали и помещали в 10 мл физиологического раствора, гомогенизировали и точно помещали на планшет с градиентным разбавлением, в двух повторностях для каждой мыши. Количество бактерий, внесенных в мышечную ткань бедра мыши, подсчитывали, и результаты эксперимента обобщали и демонстрировали на фиг. 1.

Вывод: результаты, приведенные на фиг. 1, свидетельствуют о том, что соединение 1 при 30 мг/кг имеет лучшую эффективность *in vivo*, чем плазомицин.

Экспериментальный пример 5. Экспериментальная оценка эффективности лекарственного средства у мышей (модель пневмонии мыши).

21 мышь CD-1 разделяли на 7 клеток, по 3 мыши на клетку, и им вводили путем внутрибрюшинной инъекции иммунодепрессант циклофосфамид (150 мг/кг) на 4-й день.

В первый день мышам из 7 клеток снова вводили путем внутрибрюшинной инъекции иммунодепрессант циклофосфамид (100 мг/кг). Штамм *Kpn* ATCC-BAА-1705 (*Klebsiella Pneumoniae* ATCC-BAА-1705) выделяли на планшете с МНА. Выделенные колонии собирали и растворяли в физиологическом растворе с получением бактериального раствора *Kpn* ATCC-BAА-1705 с концентрацией $4,00E+08$ КОЕ/мл для последующего применения для инфицирования легких мыши. Количество бактериального раствора, которым были инфицированы легкие экспериментальных мышей, составляло 50 мкл/мышь, то есть количество инокуляции составляло $2,00E+07$ КОЕ/мышь. Через 2 ч и 24 ч после заражения легочную ткань мышей в контрольной группе отбирали и помещали в 5 мл физиологического раствора, гомогенизировали и точно помещали на планшет с градиентным разбавлением.

Конкретное введение мышам осуществляли следующим образом.

(1) Через 2 ч после заражения: По истечении 2 ч после заражения легочную ткань мышей в первой клетке отбирали и помещали в 5 мл физиологического раствора, гомогенизировали и точно помещали на планшет с градиентным разбавлением, в двух повторностях для каждой мыши. Количество бактерий, внесенных в легочную ткань мыши, подсчитывали. Мышам в третьей и четвертой клетках вводили путем подкожной инъекции, соответственно, 30 мг/кг и 10 мг/кг соединения плазомицина, мышам в пятой и шестой клетках вводили путем подкожной инъекции, соответственно, 30 мг/кг и 10 мг/кг соединения 1, и мышам в седьмой клетке вводили путем подкожной инъекции 100 мг/кг меропенема.

(2) Через 10 ч после заражения: Мышам в третьей и четвертой клетках вводили путем подкожной инъекции, соответственно, 30 мг/кг и 10 мг/кг плазомицина, мышам в пятой и шестой клетках вводили путем подкожной инъекции, соответственно, 30 мг/кг и 10 мг/кг соединения 1, а мышам в седьмой клетке вводили путем подкожной инъекции 100 мг/кг меропенема. По истечении 24 ч заражения легочную ткань мышей во второй-седьмой клетках отбирали и помещали в 5 мл физиологического раствора, гомогенизировали и точно помещали на планшет с градиентным разбавлением, в двух повторностях для каждой мыши. Количество бактерий, переносимых в легочной ткани мыши, подсчитывали, и результаты эксперимента обобщали и демонстрировали на фиг. 2.

Вывод: на фиг. 2 показано, что плазомицин и соединение 1 обладают хорошей активностью *in vivo* в модели заражения легких штаммом *Klebsiella Pneumoniae* 1705. В то же время эффективность соединения 1 лучше, чем у плазомицина, и эффективность соединения 1 в дозе 10 мг/кг эквивалентна эффективности плазомицина в дозе 30 мг/кг.

Экспериментальный пример 6: отчет об исследовании безопасности для слуха новых аминогликозидных антибиотиков.

Цели исследования.

Оценить влияние соединения 1 и существующего антибиотика плазомицина на слуховую функцию у морских свинок и оценить токсичность соединения 1 для слуха.

Метод исследования.

Здоровых взрослых морских свинок (150-250 г) использовали в качестве объектов исследования, и их случайным образом разделяли на контрольную группу физиологического раствора, группу гентамицина, группу соединения плазомицина и группу соединения 1 по 8 животных в каждой группе.

Применяли подкожное введение, и проводили следующие анализы во время и после введения в течение 14 дней подряд.

1. Для анализа влияния различных лекарственных средств на слуховую функцию морских свинок регистрировали потенциал действия соединения (ПДС) у животных на 14-й день (29-й день, то есть через 4 недели) после введения. Полученные результаты анализировали, и сравнивали изменения порогового сдвига, амплитуды, латентности и других показателей среди различных групп лечения.

2. После обработки различных групп животных и сбора данных об их слуховой функции, улитку животных извлекали для фиксации и окрашивания. С одной стороны выполняли подготовку поверхности базиллярной мембраны улитки для подсчета потери волосковых клеток, чтобы составить карту улитки, и с другой стороны улитку декальцировали и делали замороженные срезы. Плотность нейронов спирального ганглия подсчитывали и сравнивали между группами.

Результаты исследования.

1. Способ введения и обработка.

Применяли гентамицин от Dalian Meilun Biotechnology Co., Ltd. и плазомицин и соединение 1 от WuXi AppTec (WuHan) Co., Ltd., растворы которых готовили каждый раз непосредственно перед использованием с применением физиологического раствора для растворения до концентрации 50 мг/мл, а инъекционная доза составляла 100 мг/кг массы тела. Способ: подкожная инъекция и подтверждение отсутствия утечки жидкости после каждой инъекции.

2. Анализ потенциала действия соединения (ПДС).

Потенциал действия соединения (ПДС) испытывали и регистрировали, когда щелчки и различные частоты чистых тонов (1 кГц-32 кГц) применяли к каждой группе животных, и изменения амплитуды и латентности главным образом сравнивали, когда применяли щелчки и средне- и высокочастотные чистые тона (16, 32 кГц). Величина амплитуды отражает чувствительность волосковых клеток и слуховых нервов. Чем больше была амплитуда, и чем больше был наклон кривой ввода/вывода (I/O), тем лучше была чувствительность, и тем лучше была функция. Кроме того, улитка от апикального завитка до базального завитка реагировала на звуки от низкочастотных до высокочастотных, соответственно, что является частотным соответствием базиллярной мембраны улитки. Функциональные изменения на разных частотах соответствуют различным структурным и функциональным изменениям улитки от апикального завитка до базального завитка. Величина латентности также была связана с функцией волосковых клеток и ответа слухового нерва. В целом, увеличение порогового значения при повреждении улитки неизбежно приводит к увеличению латентности. Кроме того, увеличение латентности в случае, когда пороговое значение существенно не менялось, также отражало снижение синхронности разрядов в слуховом нерве. Другими словами, увеличение латентности отражало снижение функции ответа. Ранее ототоксичность аминогликозидных антибиотиков была главным образом сконцентрирована в высокочастотной области. В этом исследовании группа гентамицина соответствовала ранее полученным результатам, как кратко описано ниже.

Соединение 1 вызывало лишь уменьшение амплитуды ПДС экспериментальной группы на высокой частоте (32 кГц), что свидетельствует о повреждении слуха в высокочастотной области, но амплитуда все еще была выше, чем у групп гентамицина и плазомицина. Повреждение в группе плазомицина происходило в более широком диапазоне, повреждение происходило как на 16 кГц, так и на 32 кГц, и повреждение на 32 кГц было больше, чем у соединения 1, но значительно меньше, чем у группы гентамицина. Повреждение в экспериментальной группе, вызванное гентамицином, было сконцентрировано в высокочастотной (32 кГц) области, пороговый сдвиг на 32 кГц был очевидным, и повреждение было более серьезным, чем у лекарственных средств двух других групп (см. фиг. 3-5).

1) Результаты для амплитуды на 16 кГц показали, что соединение 1 не отличалось от контрольной группы, в то время как у группы плазомицина было повреждение, составлявшее 25,9%.

2) Результаты для амплитуды ПДС на 32 кГц показали, что соединение 1, плазомицин и гентамицин вызывали повреждение слуха на 32 кГц, составлявшее 34,7%, 48,2% и 74,3%, соответственно, то есть соединение 1 все же вызывало повреждение слуха на 32 кГц, которое, однако, было снижено на 13,5% и 39,6%, соответственно, по сравнению с плазомицином и гентамицином.

3) Амплитуда ПДС при щелчке указывала на то, что как соединение 1, так и гентамицин соответствовали контрольной группе, в то время как плазомицин вызывал повреждение слуха.

Конкретные значения были следующими.

1) Амплитуда ПДС на 16 кГц: Двухфакторный дисперсионный анализ (метод Холма-Сидака) показал, что между четырьмя группами животных существовали различия, $F_{3, 570} = 7,858$, $p < 0,001$. Среди них не было статистической разницы в слухе между животными в группе соединения 1, контрольной группе и группе гентамицина. Слух животных в группе плазомицина был ниже, чем слух в контрольной группе ($t=4,566$, $p < 0,001$), группе гентамицина ($t=4,099$, $p < 0,001$) и группе соединения 1 ($t=2,799$,

$p=0,021$), соответственно. *: $p<0,05$. Ответ каждой группы был максимальным при значении 90 дБ, при котором слух животных в группе соединения 1 ($381,646 \pm 20,895$ мкВ) был значительно выше, чем в группе плазимицина ($282,058 \pm 22,569$ мкВ, $t=2,799$, $p=0,021$) и существенно не отличался от контрольной группы ($383,130 \pm 19,545$) и группы гентамицина ($373,329 \pm 15,332$ мкВ).

2) Амплитуда ПДС на 32 кГц: Двухфакторный дисперсионный анализ (метод Холма-Сидака) показал, что между четырьмя группами животных существуют различия, $F_3, 570 = 100,611$, $p<0,001$. Слух животных в группе соединения 1 был ниже, чем слух в контрольной группе ($t=5,019$, $p<0,001$), выше, чем в группе плазимицина ($t=3,128$, $p = 0,002$) и в группе гентамицина ($t=10,484$, $p<0,001$). Ответ каждой группы был максимальным при значении 90 дБ, при котором слух животных в группе соединения 1 ($79,420 \pm 7,000$ мкВ) был ниже, чем в контрольной группе ($121,608 \pm 6,548$ мкВ, $t = 4,401$, $p<0,001$), выше, чем в группе гентамицина ($31,272 \pm 5,137$ мкВ, $t=5,545$, $p<0,001$) и группе плазимицина ($62,982 \pm 7,561$ мкВ, $t=1,595$, $p=0,111$).

3) Амплитуда ПДС при щелчке: Двухфакторный дисперсионный анализ (метод Холма-Сидака) показал различия между четырьмя группами животных, $F_3, 570 = 6,751$, $p<0,001$. Слух животных в группе соединения 1 был значительно лучше, чем в группе плазимицина ($t=3,493$, $p=0,003$), и существенно не отличался между контрольной группой и группой гентамицина.

В целом, результаты для амплитуды ПДС доказали, что повреждение слуха у экспериментальных животных, вызванное соединением 1, было значительно меньше, чем повреждение слуха, вызванное гентамицином и плазимицином.

3. Изменения количества волосковых клеток.

Для сравнения влияния различных лекарственных средств на волосковые клетки выполняли окрашивание и подсчет волосковых клеток на всей базилярной мембране улитки. Результаты показали, что в группе гентамицина наблюдалась потеря наружных волосковых клеток, составлявшая 12-67,7%, в средне- и высокочастотной области (60-100% от апикального завитка), и потеря была более очевидной в высокочастотной области. В группе плазимицина наблюдалась потеря наружных волосковых клеток, составлявшая 11,2-28,1%, в высокочастотной области (70-100% от апикального завитка) и потеря наружных волосковых клеток, составлявшая 16,7-24,2%, в начале апикального завитка (10-20%). Однако в группе соединения 1 потеря наружных волосковых клеток происходила только в низкочастотной области (от верхнего завитка до 40%), в которой уровень потери наружных волосковых клеток составлял примерно 2,5-11%, и наружные волосковые клетки были относительно неповрежденными в высокочастотной области (см. фиг. 6 В). Конкретные значения показаны в табл. 4.

В группе соединения 1 внутренние волосковые клетки были почти не повреждены. Как в группе плазимицина, так и в группе гентамицина наблюдалась потеря внутренних волосковых клеток вблизи конца базального завитка (100% от апикального завитка), составлявшая $3,5 \pm 3,0\%$ и $9,3 \pm 4,1\%$, соответственно (см. фиг. 6А). Конкретные значения показаны в табл. 5.

Таким образом, в группе указанного соединения наблюдалась лишь небольшая потеря наружных волосковых клеток в апикальном завитке, а остальная часть, в частности базальный завиток и внутренние волосковые клетки, сохранялась неповрежденной. Токсичность соединения 1 для волосковых клеток была значительно ниже, чем у гентамицина и плазимицина.

4. Изменения нейронов спирального ганглия.

Улитку морской свинки определяли как завиток 1, завиток 2, завиток 3 и завиток 4 от базального до апикального завитка. Нейроны спирального ганглия (SGN) окрашивали с применением TuJ на замороженных срезах, и их плотность в конкретной области подсчитывали и сравнивали между группами. Не было существенной разницы в плотности SGN в каждом завитке между группой соединения 1 и контрольной группой, то есть не было повреждения нейронов спирального ганглия. В группе гентамицина наблюдалось очевидное повреждение в каждом завитке. В группе плазимицина наблюдалось снижение плотности SGN вблизи апикального завитка, но она была лучше, чем в группе гентамицина. С помощью двухфакторного дисперсионного анализа была выявлена существенная разница между группами, $F(3, 74)=35,43$, $p<0,0001$ (см. фиг. 7). Конкретные значения показаны в табл. 6.

Вывод: на основании анализа потенциалов действия соединений между различными группами было подтверждено, что в группе соединения 1 повреждение слуха наблюдалось только на высокой частоте (32 кГц), что было лучше, чем в группах плазимицина и гентамицина. Наблюдение за волосковыми клетками и нейронами спирального ганглия подтвердило, что за исключением потери наружных волосковых клеток вблизи апикального завитка, составлявшей 2,5-11%, соединение 1 не вызывало очевидного повреждения наружных волосковых клеток в других областях, и количество внутренних волосковых клеток и количество нейронов спирального ганглия не были затронуты, что было значительно лучше, чем в группах гентамицина и плазимицина. Следовательно, соединение 1 подкожно вводили животным (морским свинкам) в течение 14 дней подряд, и его ототоксичность была меньше, чем у плазимицина и гентамицина после еще 14 дней. На основании результатов этого исследования было подтверждено, что соединение 1, полученное согласно настоящему изобретению, было лучше, чем плазимицин и гентамицин с точки зрения слуховой токсичности.

Таблица 4
Повреждение наружных волосковых клеток уха
на 29-й день (% , процент)

Процент повреждения (%)	Соединение 1	Плазомицин	Гентамицин
10	11,0±1,3	24,4±13,5	9,5±2,9
20	6,3±0,9	16,7±13,4	4,1±0,7
30	6,2±1,1	10,5±6,5	2,7±0,7
40	2,5±1,4	7,8±4,0	3,2±1,0
50	1,1±0,8	7,2±2,0	3,2±1,5
60	1,4±1,5	5,7±5,1	12,6±5,6
70	0,7±0,3	11,2±11,8	13,6±6,1
80	0,5±0,3	19,9±15,7	12,0±5,4
90	0,2±0,3	20,7±7,9	42,8±8,2
100	0,9±0,7	28,1±10,1	67,7±9,8

Таблица 5
Повреждение внутренних волосковых клеток
на 29-й день (% , процент)

Процент повреждения (%)	Соединение 1	Плазомицин	Гентамицин
10	0,3±0,3	0,5±0,4	0
20	0	0,3±0,3	0
30	0	0,5±0,5	0
40	0,1±0,1	0,2±0,2	0
50	0	0	0
60	0	0,8±0,8	0,4±0,4
70	0,3±0,3	1,3±1,3	0,6±0,6
80	0	0	0,2±0,2
90	0	0	2,5±1,7
100	0,7±0,5	3,5±3,0	9,3±4,1

Таблица 6

Изменение плотности нейронов спирального ганглия
на 29-й день (п/10000 мкм²)

Завиток	Гентамицин	Плазомицин	Соединение 1	Контроль
Завиток 1	4,407±0,517	6,816±0,852	8,230±0,500	7,548±0,534
Завиток 2	5,540±0,757	5,876±0,536	8,282±0,254	7,695±0,298
Завиток 3	4,604±0,598	5,553±0,793	8,136±0,247	7,935±0,292
Завиток 4	5,259±0,280	5,641±0,767	7,469±0,772	6,936±0,205

Экспериментальный пример 7. Испытание на токсичность соединений согласно настоящему изобретению на клетках НК-2.

Подготовка клеток.

В день эксперимента, когда клетки НК-2 в культуральной колбе достигали 80-90% конfluenceности, культуральную среду удаляли, клетки дважды промывали фосфатно-солевым буфером Дульбекко (DPBS) и расщепляли в течение 1-2 мин с применением 3 мл трипсина (в колбе для клеточных культур T150), и сразу же добавляли 9 мл полной среды (RPMI-1640+10% FBS) для завершения расщепления. После завершения путем осторожного пипетирования получали суспензию отдельных клеток, которую центрифугировали со скоростью 1000 оборотов в секунду в течение 5 мин. Супернатант удаляли, добавляли свежую полную среду, и клетки равномерно пипетировали. Фактическую плотность клеток измеряли в соответствии со счетчиком клеток, и клеточную суспензию доводили до $2,5 \times 10^5$ клеток/мл. 80 мкл клеточной суспензии отбирали с помощью многоканального пипеточного дозатора (row pipettor) и добавляли в 96-луночный планшет с черным дном (2×10^4 клеток/лунка), который определяли как планшет для клеток, а затем инкубировали в CO₂-инкубаторе в течение 4,5 ч.

Получение соединений:

а) маточный раствор соединения получали в соответствии со следующей таблицей с применением полной среды в качестве растворителя;

Таблица 7

Информация о соединениях

Соединение	Масса (мг)	Чистота (%)	Концентрация (мг/мл)	Объем (мкл)
Плазомицин	5,88	99,65	50	117,19
Соединение 1	5,51	95	50	104,69
Нетилмицин	5,00	-	50	100,00
Амикацин	5,74	-	50	114,80

б) 50 микролитров полной среды добавляли в колонки 3-11 96-луночного планшета с V-образным дном;

с) 75 микролитров испытываемого соединения (50 мг/мл) и положительного контроля добавляли во вторую колонку 96-луночного планшета с V-образным дном;

д) 25 микролитров соединения отбирали из второй колонки и добавляли в третью колонку, несколько раз выдували и всасывали с помощью многоканального пипеточного дозатора, затем 25 микролитров жидкости отбирали из третьей колонки и добавляли в четвертую колонку, и далее подвергали 3-кратному серийному разведению до 10-й колонки. От колонки 2 до колонки 11 концентрация соединения составляла 50, 16,67, 5,56, 1,85, 0,62, 0,21, 0,07, 0,02, 0,008, 0 мг/мл;

е) 20 мкл полученных растворов соединения с различными концентрациями переносили с помощью многоканального пипеточного дозатора в соответствующие лунки планшета для клеток, который определяли как планшет для испытания.

Культивирование планшета для испытания.

Все планшеты инкубировали в инкубаторе при 37°C, 5% CO₂ в течение 43 ч.

Чтение.

После инкубации к планшету для испытания добавляли 10 микролитров Alma Blue. Планшет для испытания сразу же инкубировали в инкубаторе при 37°C, 5% CO₂ в течение 3 ч. Затем значение флуоресценции каждой лунки планшета для испытания считывали с помощью микропланшетного ридера (длина волны Ex 540 нм/Em 585 нм). Затем с помощью программного обеспечения Prism моделировали кривую для расчета значения CC₅₀.

Результаты исследования.

Таблица 8

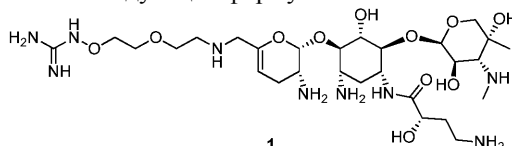
Результаты эксперимента и предсказанная CC₅₀

Соединение	CC ₅₀ для клетки НК-2 (мг/мл)	Максимальная степень ингибирования (%)	CC ₅₀ соединения для клеток, предсказанная с помощью программного обеспечения (Prism) (мг/мл)
Плазомицин	>10	35,98	19,53
Соединение 1	>10	21,96	113,9
Нетилмицин	10,64	48,73	10,64
Амикацин	8,157	68,40	8,156

Вывод: токсичность соединения 1 и плазомицина для клеток НК-2 была значительно ниже, чем нетилмицина и амикацина. В сочетании с кривой регрессии токсичности и полученным с помощью программного обеспечения прогнозом (фиг. 8-11) токсичность соединения 1 для клеток НК-2 была ниже, чем плазомицина.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, представленное следующей формулой:



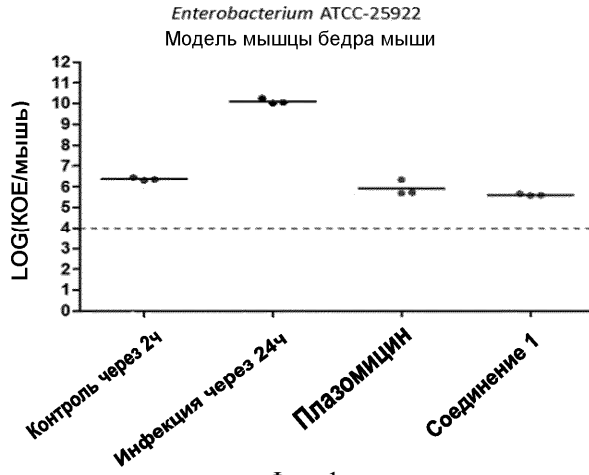
или его фармацевтически приемлемая соль.

2. Фармацевтическая композиция, содержащая в качестве активного ингредиента терапевтически эффективное количество соединения или его фармацевтически приемлемой соли по п.1 и фармацевтически приемлемый носитель.

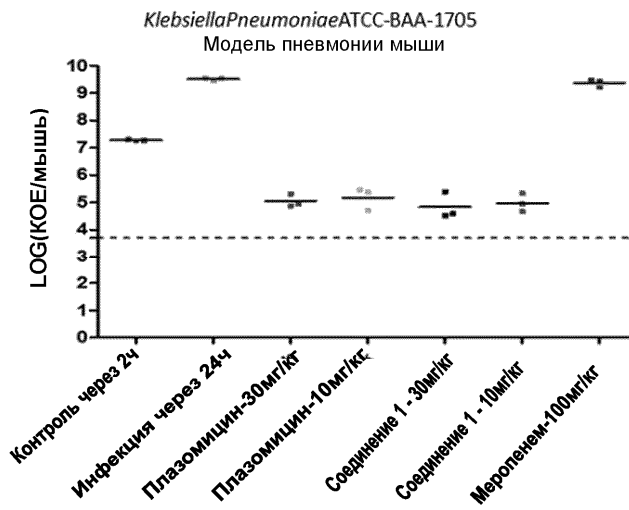
3. Применение соединения или его фармацевтически приемлемой соли по п.1 или фармацевтической композиции по п.2 для получения лекарственного средства для лечения заболеваний, связанных с бактериальной инфекцией.

4. Применение по п.3, в котором бактериальная инфекция представляет собой инфекцию, резистентную к карбапенему, вызванную Enterobacteriaceae.

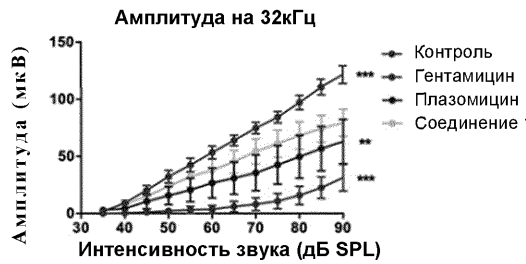
045519



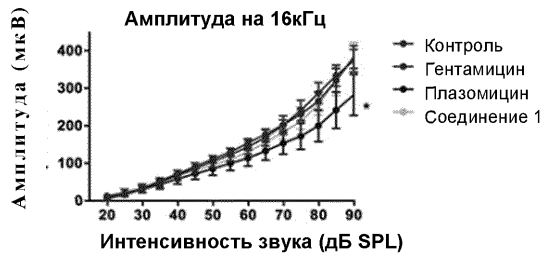
Фиг. 1



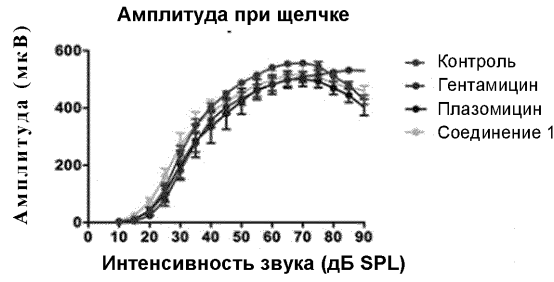
Фиг. 2



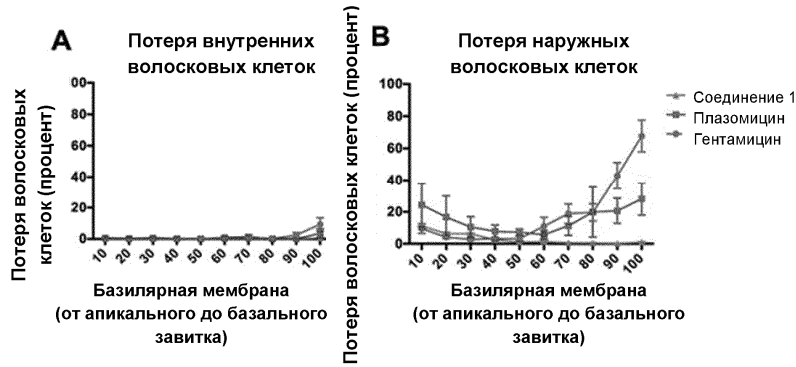
Фиг. 3



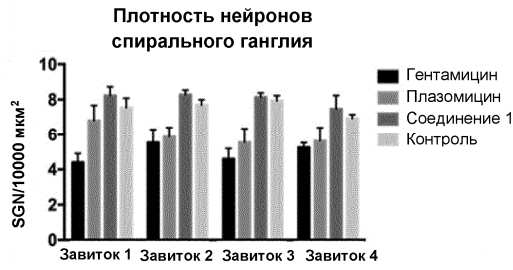
Фиг. 4



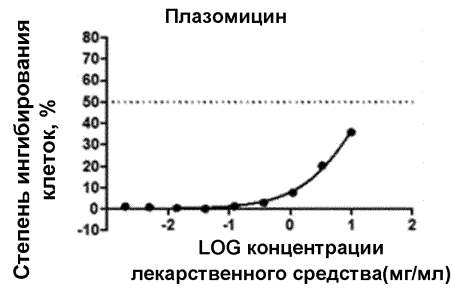
Фиг. 5



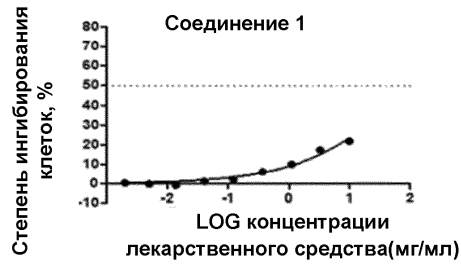
Фиг. 6



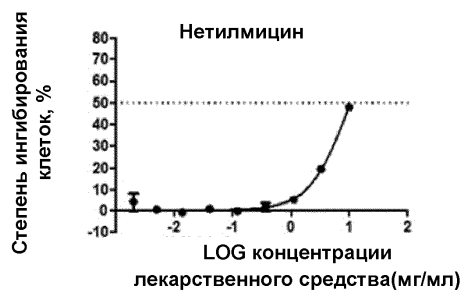
Фиг. 7



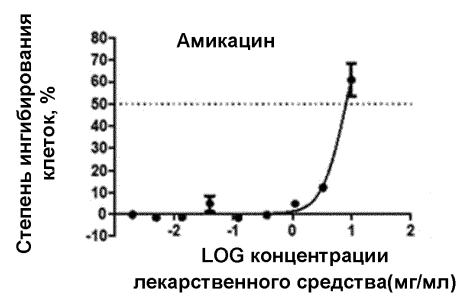
Фиг. 8



Фиг. 9



Фиг. 10



Фиг. 11

