

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6286536号
(P6286536)

(45) 発行日 平成30年2月28日 (2018. 2. 28)

(24) 登録日 平成30年2月9日 (2018. 2. 9)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 D 263/20 (2006. 01)

C O 7 D 263/20 C S P

A 6 1 K 31/5377 (2006. 01)

A 6 1 K 31/5377

A 6 1 P 31/04 (2006. 01)

A 6 1 P 31/04

A 6 1 P 31/04 1 7 1

請求項の数 12 (全 45 頁)

(21) 出願番号 特願2016-526946 (P2016-526946)
 (86) (22) 出願日 平成26年7月28日 (2014. 7. 28)
 (65) 公表番号 特表2016-535039 (P2016-535039A)
 (43) 公表日 平成28年11月10日 (2016. 11. 10)
 (86) 国際出願番号 PCT/IN2014/000497
 (87) 国際公開番号 W02015/068173
 (87) 国際公開日 平成27年5月14日 (2015. 5. 14)
 審査請求日 平成29年7月5日 (2017. 7. 5)
 (31) 優先権主張番号 5063/CHE/2013
 (32) 優先日 平成25年11月8日 (2013. 11. 8)
 (33) 優先権主張国 インド (IN)
 (31) 優先権主張番号 2254/CHE/2014
 (32) 優先日 平成26年5月5日 (2014. 5. 5)
 (33) 優先権主張国 インド (IN)

(73) 特許権者 516123745
 リー ファーマ リミテッド
 LEE PHARMA LIMITED
 インド ハイデラバード 500037
 バラナガー (ポスト) ムーサベット (ヴ
 イレッジ) オービービー. アイディーピ
 ーエルファクトリー シーブロッグ ドア
 ナンバー 11-6-56 エスワイ. ナン
 バー 257 & 258/1
 (74) 代理人 100107984
 弁理士 廣田 雅紀
 (74) 代理人 100102255
 弁理士 小澤 誠次
 (74) 代理人 100096482
 弁理士 東海 裕作

早期審査対象出願

最終頁に続く

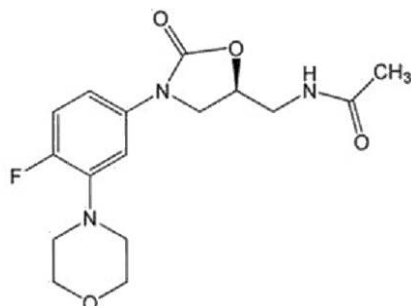
(54) 【発明の名称】 新規オキサゾリジノン抗菌化合物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 I

【化 1】



化合物I

10

のオキサゾリジノン抗菌化合物 [(S) - N - [[3 - [4 - フルオロ - 3 - モルホリノ
 フェニル] - 2 - オキサオキサゾリジン - 5 - イル] メチル] アセトアミド]、その薬学

20

的に許容される塩、溶媒和物、又は水和物。

【請求項 2】

3335 cm^{-1} 、3085 cm^{-1} 、2984 cm^{-1} 、2900 cm^{-1} 、2743 cm^{-1} 、2697 cm^{-1} 、1736 cm^{-1} 、1671 cm^{-1} 、1609 cm^{-1} 、1597 cm^{-1} 、1542 cm^{-1} 、1512 cm^{-1} 、1474 cm^{-1} 、1420 cm^{-1} 、1369 cm^{-1} 、1348 cm^{-1} 、1318 cm^{-1} 、1285 cm^{-1} 、1231 cm^{-1} 、1142 cm^{-1} 、1114 cm^{-1} 、1083 cm^{-1} の IR スペクトルデータを有する、請求項 1 に記載のオキサゾリジノン化合物。

【請求項 3】

2.01 (s, 3H) ppm、3.06 (t, 4H) ppm、3.60 ~ 3.78 (m, 4H) ppm、3.85 ~ 3.86 (t, 2H) ppm、4.03 (t, 2H) ppm、4.78 (m, 1H) ppm、6.12 (s, 1H) ppm、6.82 ~ 6.85 (m, 1H) ppm、6.98 ~ 7.03 (q, 1H) ppm、7.32 ~ 7.34 (dd, 1H) ppm の ^1H -NMR: CDCl_3 を有する、請求項 1 に記載のオキサゾリジノン化合物。

【請求項 4】

22.7 ppm、41.7 ppm、47.7 ppm、50.5 ppm、66.6 ppm、71.8 ppm、109.6 ppm、111.9 ppm、116.2 ppm、134.3 ppm、139.9 ppm、140.0 ppm、150.8 ppm、153.2 ppm、154.6 ppm、171.2 ppm の ^{13}C -NMR: CDCl_3 を有する、請求項 1 に記載のオキサゾリジノン化合物。

【請求項 5】

338.37 (M+1) の ESI-MS (m/z) を有する、請求項 1 に記載のオキサゾリジノン化合物。

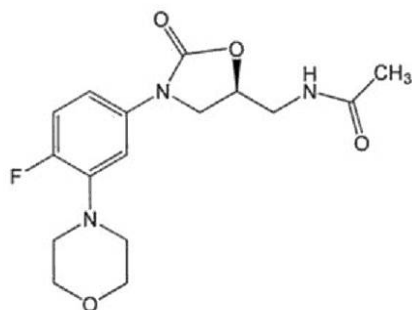
【請求項 6】

8.898、13.05、13.799、15.849、18.817、19.138、19.454、20.193、21.395、21.686、22.289、22.833、23.504、26.133 及び 32.448 ° 2 に主ピークを有する XRD スペクトルを有する、請求項 1 に記載のオキサゾリジノン化合物。

【請求項 7】

式 I

【化 2】

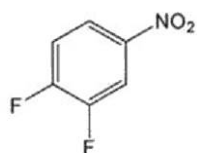


化合物I

のオキサゾリジノン化合物 (S) - N - ((3 - (4 - フルオロ - 3 - モルホリノフェニル) - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル) メチル) アセトアミドを調製するための方法であって、

a) 式II

【化 3】

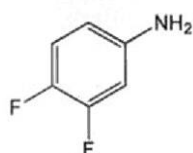


化合物II

10

の 3 , 4 - ジフルオロニトロベンゼン化合物を還元して、式III

【化 4】



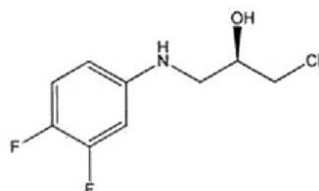
化合物III

20

の 3 , 4 - ジフルオロ - アニリン化合物を得るステップ ;

b) 化合物IIIを (R) エピクロロヒドリンと反応させて、式IV

【化 5】



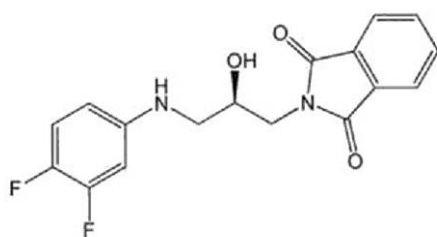
化合物IV

30

の (R) - 1 - クロロ - 3 - ((3 , 4 - ジフルオロフェニル) アミノ) プロパン - 2 - オール化合物を得るステップ ;

c) 式IVの前記 (R) - 1 - クロロ - 3 - ((3 , 4 - ジフルオロフェニル) アミノ) プロパン - 2 - オール化合物をフタルイミドカリウムとカップリングさせて、式V

【化 6】



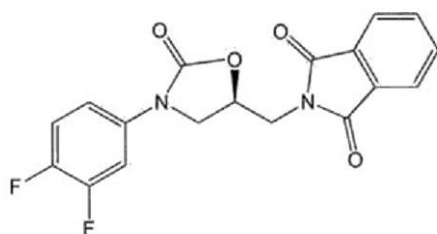
化合物V

10

の (R) - 2 - (3 - ((3 , 4 - ジフルオロフェニル) アミノ) - 2 - ヒドロキシルプロピル) イソインドリン - 1 , 3 - ジオン化合物を得るステップ ;

d) C D I を用い、式 V の (R) - 2 - (3 - ((3 , 4 - ジフルオロフェニル) アミノ) - 2 - ヒドロキシルプロピル) イソインドリン - 1 , 3 - ジオン化合物を環化させて、式 VI

【化 7】



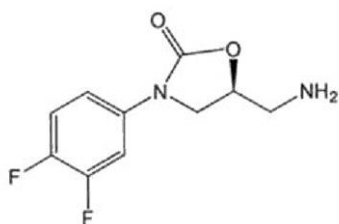
化合物VI

20

の (S) - 2 - ((3 - (3 , 4 - ジフルオロフェニル) - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル) メチル) イソインドリン - 1 , 3 - ジオン化合物を得るステップ ;

e) ヒドラジン水和物と反応させることにより、化合物 VI のフタルイミド環を開環して、式 VII

【化 8】



化合物VII

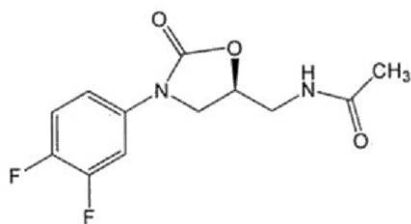
30

40

の (S) - 5 - (アミノメチル) - 3 - (3 , 4 - ジフルオロフェニル) オキサゾリジン - 2 - オン化合物を得るステップ ;

50

f) 無水酢酸を用い化合物VIIをアシル化して、対応する式VIII
【化 9】

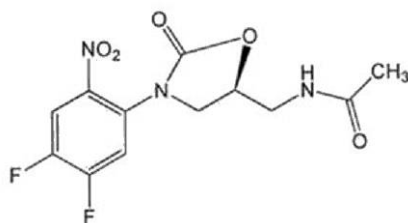


化合物VIII

10

の(S)-N-((3-(3,4-ジフルオロフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)アセトアミド化合物を得るステップ；

g) ニトロ化試薬である硝酸及び硫酸を用い化合物VIIIをニトロ化して、式IX
【化 10】



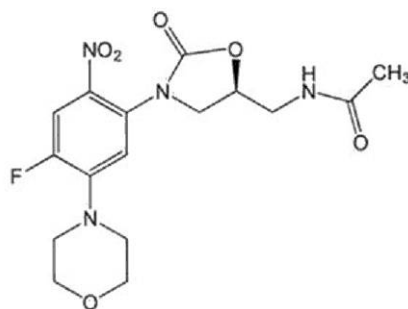
化合物IX

20

の(S)-N-((3-(4,5-ジフルオロ-2-ニトロフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)アセトアミド化合物を得るステップ；

h) (S)-N-((3-(4,5-ジフルオロ-2-ニトロフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)アセトアミド化合物IXをモルホリンと反応させて、式X

【化 11】



化合物X

30

40

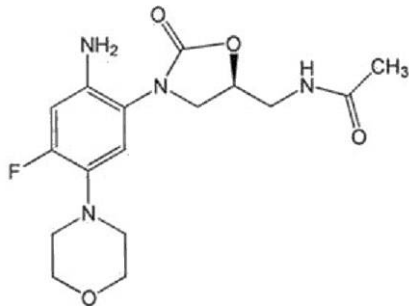
の(S)-N-((3-(4-フルオロ-5-モルホリノ-2-ニトロフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)アセトアミド化合物を得るステップ；

50

オキソオキサゾリジン - 5 - イル) メチル) アセトアミド化合物を得るステップ ;

i) 式 X の (S) - N - ((3 - (4 - フルオロ - 5 - モルホリノ - 2 - ニトロフェニル) - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル) メチル) アセトアミド化合物を還元して、式 XI

【化 1 2】



化合物 XI

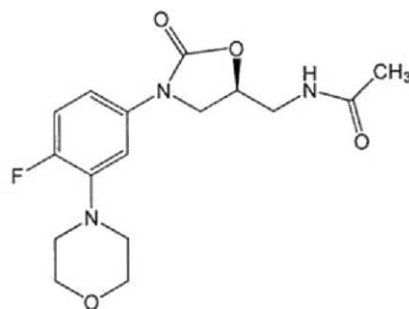
10

の (S) - N - ((3 - (2 - アミノ - 4 - フルオロ - 5 - モルホリノフェニル) - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル) メチル) アセトアミドを得るステップ ;

20

j) (S) - N - ((3 - (2 - アミノ - 4 - フルオロ - 5 - モルホリノフェニル) - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル) メチル) アセトアミド (化合物 XI) を脱アミノ化して、式 I

【化 1 3】



化合物 I

30

の (S) - N - ((3 - (4 - フルオロ - 3 - モルホリノフェニル) - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル) メチル) アセトアミド化合物を得るステップ

を含む、前記方法。

40

【請求項 8】

鏡像異性的に純粋な、請求項 1 に記載の式 I の化合物。

【請求項 9】

薬学的に許容される担体、及び請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載のオキサゾリジノン化合物 I 又はその薬学的に許容される塩を含む医薬組成物。

【請求項 10】

式 I の化合物を、組成物の 0 . 1 重量 % ~ 99 重量 % の量で含む、請求項 9 に記載の医薬組成物。

【請求項 11】

請求項 10 に記載の医薬組成物を含む製剤。

50

【請求項 1 2】

$1 \mu\text{g} \sim 100 \text{mg} / \text{kg}$ 体重 / 日の範囲で式 I の化合物を含む、請求項 1 1 に記載の製剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

相互参照

本出願は、インド特許出願第 5063 / CHE / 2013 号及びインド特許出願第 2254 / CHE / 2014 号の優先権を主張するものである。両方とも、本 PCT 出願において本明細書に組み込まれている。

10

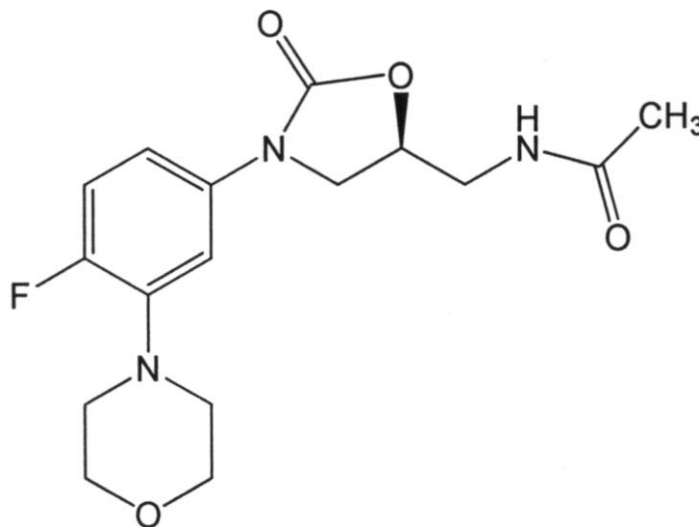
【0002】

本発明は、新規オキサゾリジノン化合物に関する。より詳細には、本発明は、インド特許出願第 5063 / CHE / 2013 号及びそれに対応する PCT / IN 2014 / 000018 号に開示された式 I の新規 [(S) - N - [[3 - [4 - フルオロ - 3 - モルホリノフェニル] - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル] メチル] アセトアミド] 化合物に関する。本化合物は、多剤耐性 S . マルトフィリア (S. Maltophilia) 病原菌並びに多数のグラム陽性及びグラム陰性病原菌に対して効果的な、広範に及ぶ抗微生物剤である。本化合物は、既知の広く使用されているオキサゾリジノン誘導体のうちのいくつかを含む多数の抗生物質に耐性を持つに至った S . マルトフィリアに対して、優れた生物学的活性を示した。

20

【0003】

【化 1】



30

化合物I

40

【背景技術】

【0004】

ステノトロホモナス・マルトフィリア (Stenotrophomonas Maltophilia) は、一般的に S . マルトフィリアとして知られ、好気性、グラム陰性、新興多剤耐性の、世界的規模で見られる日和見病原菌である。院内及び市中感染による S . マルトフィリア感染症の発生

50

率の増加は、この病原性微生物が、著しい致死ノ症例比を伴うこと、及び菌血症患者の14～69%に及ぶ粗死亡率を伴う重大な院内病原菌として出現したことから、免疫低下者にとって、特に懸念される。

【0005】

S・マルトフィリアは、TMP-SMX、 β -ラクタム抗生物質、マクロライド、セファロsporin、フルオロキノロン、アミノグリコシド、カルバペネム、クロラムフェニコール、テトラサイクリン、ポリミキシン、セフェピム、チカルシリクラブラン酸塩 (ticarcillin-clavulanate)、セフトジジム及びピペラシリン・タゾバクタムを含む数多くの抗生物質に対する耐性を示す。

【0006】

したがって、S・マルトフィリアは、多剤耐性病原菌として世界中で出現しており、重篤な呼吸器感染、血流及び尿路感染を引き起こす可能性がある。この広く知られている病原菌によって引き起こされる一般的な感染症の一部には、肺炎、血流感染症、皮膚感染症、手術部位感染、尿路感染、心内膜炎髄膜炎、腹腔内感染症、合併性疾患 (co-morbid illness)、眼内炎及び嚢胞性線維症 (主に膵臓、呼吸器系及び汗腺に影響する外分泌腺の遺伝性代謝障害) が含まれる。

【0007】

ある研究によると、S・マルトフィリアの薬剤耐性は、米国及び欧州各国において10%～15%の率で増大しており、治療選択肢が限られている中で、S・マルトフィリア感染症の治療を著しく困難なものにしている。

【0008】

式Iの新規化合物 [(S)-N-[[3-[4-フルオロ-3-モルホリノフェニル]-2-オキソオキサゾリジン-5-イル]メチル]アセトアミド] は、参照により本明細書に組み込まれている本出願人のインド特許出願第5063/CHE/2013号及びそれに対応するPCT/IN2014/000018号に開示された。本化合物は、バクテロイド、クロストリジア種 (clostridia species) などの嫌気性生物、マイコバクテリウム・ツベルクローシス (mycobacterium tuberculosis)、マイコバクテリウム・アビウム (mycobacterium avium) などの抗酸菌、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA, methicillin resistant Staphylococcus aureus)、表皮ブドウ球菌 (MRSE, Staphylococcus epidermitis)、ペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP, penicillin-resistant Streptococcus pneumoniae) 及びバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE, vancomycin-resistant enterococci) を含む多剤耐性グラム陽性細菌を含めた、いくつかのヒト及び動物病原菌に対する強力な抗微生物活性を有することが知られているオキサゾリジノン系の薬剤に属する。

【0009】

オキサゾリジノン系の抗菌薬は、細菌タンパク質合成を阻害する特有の機序を有する。リネゾリドは、強力な抗菌活性を有する薬剤のうち最も重要なオキサゾリジノン系の1つであり、多くの重要な耐性病原菌に対して潜在的な抗菌活性を有する、臨床使用で承認された最初のオキサゾリジノンであった。しかしながら、S・マルトフィリアは、リネゾリドに対しても同様に耐性を示したことから、発明者らは、S・マルトフィリア及び他の多剤耐性病原菌に対して効果的であると思われる新たな抗菌化合物の開発を目指した。

【0010】

発明者らは、インド特許出願第5063/CHE/2013号及びそれに対応するPCT/IN2014/000018号に開示された式Iの新規化合物 [(S)-N-[[3-[4-フルオロ-3-モルホリノフェニル]-2-オキソオキサゾリジン-5-イル]メチル]アセトアミド] を開発した。化合物Iに関するさらなる抗微生物研究において、本化合物が多剤耐性S・マルトフィリア病原菌によって引き起こされる感染症の治療並びに広範に及ぶグラム陽性及びグラム陰性病原菌に対抗する非常に大きな可能性を示したこと、また、本化合物に関して実施された単回投与急性毒性試験において有望な結果を示したことが観察された。本化合物は、既知の広く使用されているオキサゾリジノン誘導体の

10

20

30

40

50

うちのいくつかを含む多数の抗生物質に耐性を持つに至った *S. マルティフィリア* に対して、優れた生物学的活性を示した。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0011】

本発明の主な目的は、多剤耐性 *S. マルティフィリア* 感染症の治療のための抗生物質治療を提供することである。

【0012】

本発明の別の目的は、多剤耐性 *S. マルティフィリア* 及び他の薬剤耐性病原菌によって引き起こされる感染症の治療のための新規抗菌薬を提供することである。

10

【0013】

本発明の別の目的は、多剤耐性 *S. マルティフィリア* 並びに他のグラム陽性及びグラム陰性病原菌によって引き起こされる感染症の治療のための新規の広範に及ぶオキサゾリジノン誘導体を提供することである。

【0014】

本発明の別の目的は、新規抗菌化合物及びその薬学的に許容される塩を提供することである。

【0015】

本発明のさらなる目的は、ヒト及び動物使用のための新規抗菌薬の医薬組成物を提供することである。

20

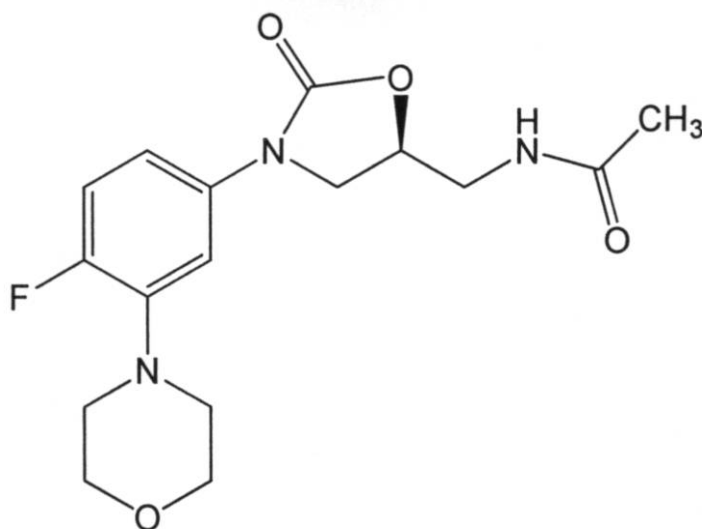
【課題を解決するための手段】

【0016】

式 I の新規オキサゾリジノン化合物 [(S) - N - [[3 - [4 - フルオロ - 3 - モルホリノフェニル] - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル] メチル] アセトアミド] は、参照により本明細書に組み込まれている、本出願人のインド特許出願第 5063 / CHE / 2013 号及びそれに対応する PCT / IN 2014 / 000018 号に開示された。

【0017】

【化 2】



30

化合物I

40

50

【 0 0 1 8 】

式 I の化合物は、以下の ^1H - NMR、 ^{13}C - NMR、質量及び IR スペクトルデータにより特徴付けられる。

【 0 0 1 9 】

IR スペクトルデータ

3335、3085、2984、2900、2743、2697、1736、1671、1609、1597、1542、1512、1474、1420、1369、1348、1318、1285、1231、1142、1114、1083。(図 1 に示す通り)

(^1H - NMR: CDCl_3 : 2.01 (s, 3H)、3.06 (t, 4H)、3.60 ~ 3.78 (m, 4H)、3.85 ~ 3.86 (t, 2H)、4.03 (t, 2H)、4.78 (m, 1H)、6.12 (s, 1H)、6.82 ~ 6.85 (m, 1H)、6.98 ~ 7.03 (q, 1H)、7.32 ~ 7.34 (dd, 1H) (図 2 に示す通り)

^{13}C - NMR: CDCl_3 : 22.7、41.7、47.7、50.5、66.6、71.8、109.6、111.9、116.2、134.3、139.9、140.0、150.8、153.2、154.6、171.2。(図 3 に示す通り)

ESI - MS (m/z): 338.37 ($M+1$) (図 4 に示す通り)

【 0 0 2 0 】

式 I の化合物はさらに、8.898、13.05、13.799、15.849、18.817、19.138、19.454、20.193、21.395、21.686、22.289、22.833、23.504、26.133 及び 32.448 ° 2 の XRD スペクトルにより特徴付けられる (図 5 に示す通り)。

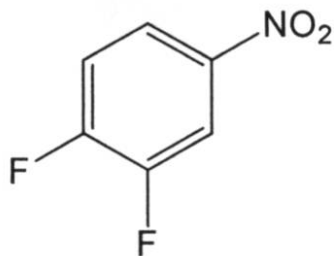
【 0 0 2 1 】

化合物 I は、

a) 式 II

【 0 0 2 2 】

【 化 3 】



化合物 II

【 0 0 2 3 】

の 3, 4 - ジフルオロニトロベンゼン化合物を還元して、式 III

【 0 0 2 4 】

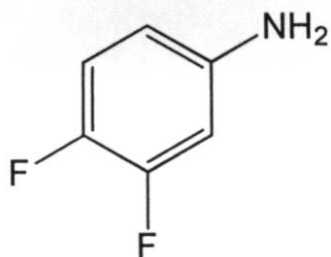
10

20

30

40

【化 4】



化合物III

10

【 0 0 2 5 】

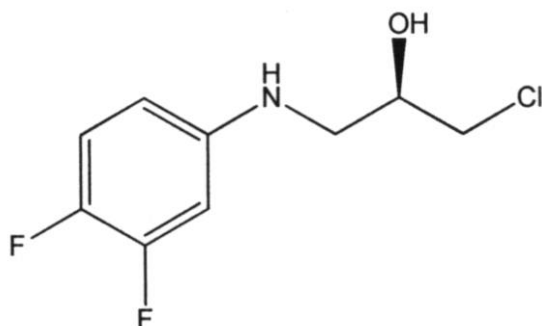
の 3 , 4 - ジフルオロ - アニリン化合物を得るステップ ;

b) 化合物IIIを (R) エピクロロヒドリンと反応させて、式IV

【 0 0 2 6 】

【化 5】

20



化合物IV

30

【 0 0 2 7 】

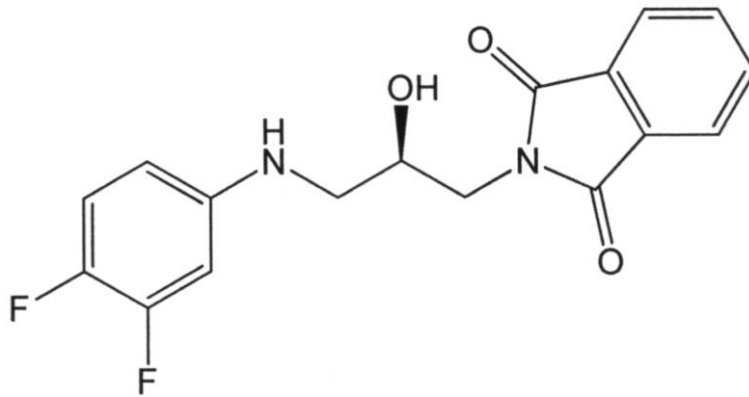
の (R) - 1 - クロロ - 3 - ((3 , 4 - ジフルオロフェニル) アミノ) プロパン - 2 - オール化合物を得るステップ ;

c) 式IVの (R) - 1 - クロロ - 3 - ((3 , 4 - ジフルオロフェニル) アミノ) プロパン - 2 - オール化合物をフタルイミドカリウムとカップリングさせて、式V

【 0 0 2 8 】

40

【化 6】



10

化合物V

20

【0029】

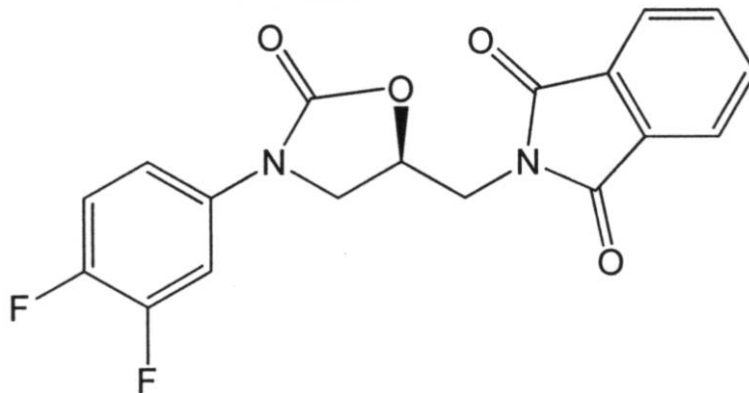
の(R)-2-((3-((3,4-ジフルオロフェニル)アミノ)-2-ヒドロキシプロピル)イソインドリン-1,3-ジオン化合物を得るステップ；

d) CDIを用い、式Vの(R)-2-((3-((3,4-ジフルオロフェニル)アミノ)-2-ヒドロキシプロピル)イソインドリン-1,3-ジオン化合物を環化させて、式VI

【0030】

【化 7】

30



40

化合物VI

【0031】

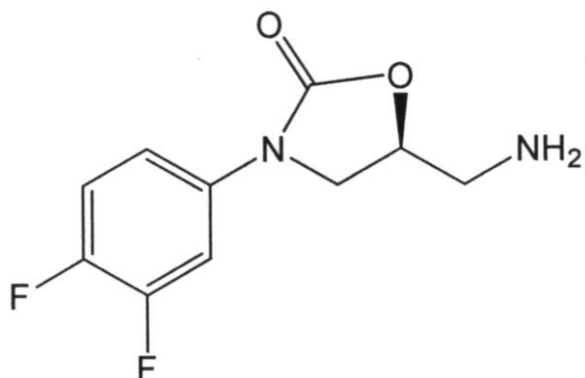
の(S)-2-((3-((3,4-ジフルオロフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)イソインドリン-1,3-ジオン化合物を得るステップ；

50

e) ヒドラジン水和物と反応させることにより、化合物VIのフタルイミド環を開環して、式VII

【0032】

【化8】



10

化合物VII

20

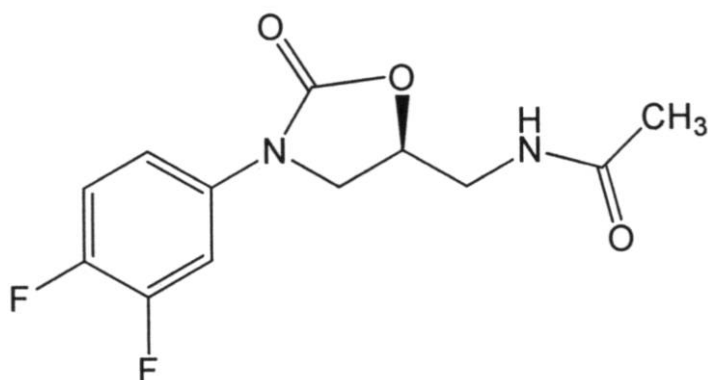
【0033】

の(S)-5-(アミノメチル)-3-(3,4-ジフルオロフェニル)オキサゾリジン-2-オン化合物を得るステップ；

f) 無水酢酸を用い化合物VIIをアシル化して、対応する式VIII

【0034】

【化9】



30

40

化合物VIII

【0035】

の(S)-N-((3-(3,4-ジフルオロフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-

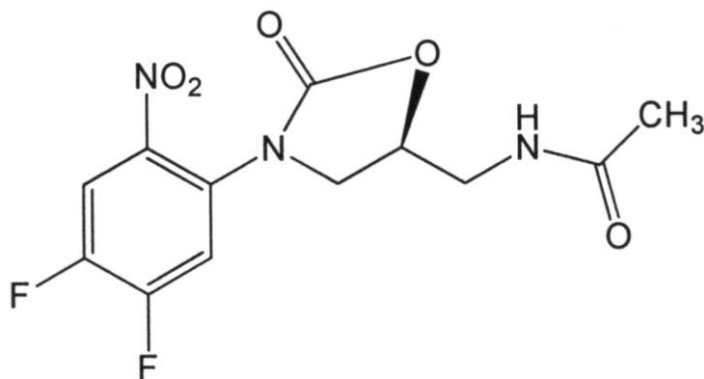
50

5 - イル) メチル) アセトアミド化合物を得るステップ ;

g) ニトロ化試薬 (硝酸及び硫酸) を用い化合物VIIIをニトロ化して、式IX

【 0 0 3 6 】

【 化 1 0 】



10

化合物IX

20

【 0 0 3 7 】

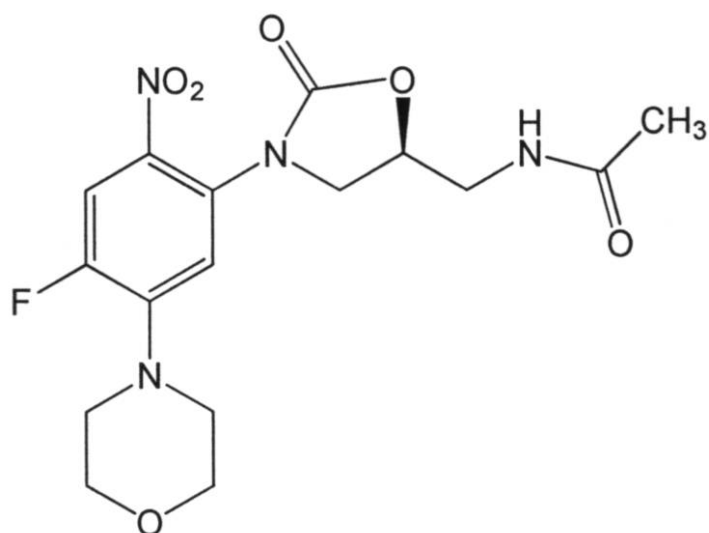
の (S) - N - ((3 - (4 , 5 - ジフルオロ - 2 - ニトロフェニル) - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル) メチル) アセトアミド化合物を得るステップ ;

h) (S) - N - ((3 - (4 , 5 - ジフルオロ - 2 - ニトロフェニル) - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル) メチル) アセトアミド化合物IXをモルホリンと反応させて、式X

【 0 0 3 8 】

30

【化 1 1】



10

化合物X

20

【 0 0 3 9 】

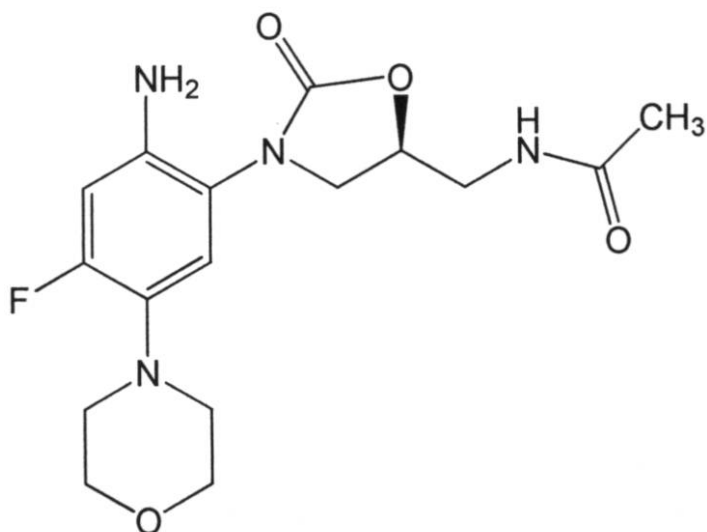
の (S) - N - ((3 - (4 - フルオロ - 5 - モルホリノ - 2 - ニトロフェニル) - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル) メチル) アセトアミド化合物を得るステップ ;

i) 式 X の (S) - N - ((3 - (4 - フルオロ - 5 - モルホリノ - 2 - ニトロフェニル) - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル) メチル) アセトアミド化合物を還元して、式XI

【 0 0 4 0 】

30

【化 1 2】



10

化合物XI

20

【0041】

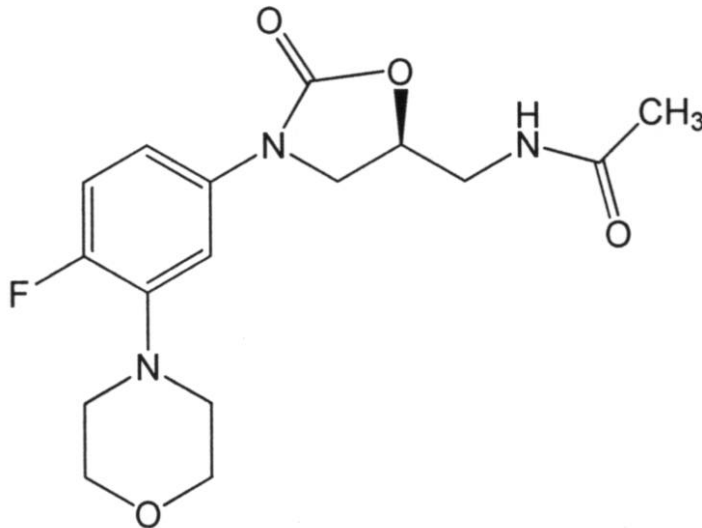
の(S)-N-((3-((2-アミノ-4-フルオロ-5-モルホリノフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)アセトアミドを得るステップ；

j) (S)-N-((3-((2-アミノ-4-フルオロ-5-モルホリノフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)アセトアミド(化合物XI)を脱アミノ化して、式I

【0042】

30

【化 1 3】



10

化合物I

20

【0043】

の(S)-N-((3-(4-フルオロ-3-モルホリノフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)アセトアミド化合物を得るステップを含む方法により調製される。

【0044】

化合物Iの抗菌活性を確かめるために、詳細な抗微生物研究を実施し、その有効範囲並びに静菌性及び殺菌性活性を研究した。

30

【0045】

化合物Iの生物活性試験をI I C T (INDIAN INSTITUTE OF CHEMICAL TECHNOLOGY) ハイデラバードで実施したところ、薬剤耐性S・マルトフィリア病原菌に限らず、M・ルテウス(M. luteus)、B・ステアロテルモフィルス(B. sterothemophilus)、P・プチダ(P. putida)、K・ニューモニエ(K. pneumonia)、緑膿菌(P. aeruginosa)、大腸菌(E. coli)、P・ブルガリス(P. vulgaris)、チフス菌(S. typhi)、枯草菌(B. subtilis)、S・ミュータンス(S. mutans)、B・スファエリクス(B. sphaericus)、B・サーキュランス(B. circulans)、リジニバチルス(Lysinobacillus)、B・セレウス(B. cereus)、B・メガテリウム(B. megatherium)、P・ミラビリス(P. mirabilis)、S・パラチフス(S. paratyphi)などの他のグラム陽性及びグラム陰性病原菌に対する有望な結果が得られた。

40

【0046】

以下のパラメータに関して、ステノトロホモナス・マルトフィリアに対する化合物Iの抗菌性評価を行った。

- a. 様々な濃度での寒天プレートアッセイ(10、50、100、150 µg)
- b. MIC研究
 - 1. 様々な濃度による(1000 ~ 5 µg/ml 10通りまでの様々な濃度)
 - 2. 様々な期間(4 ~ 32時間 8通りの時間間隔)
- c. 生物の生存性に関する作用様式
 - 1. 濃度による及びインキュベーション時間に基づく殺菌性/静菌性

50

2. コロニー計数 / 色素に基づく評価

d. 感受性試験 (様々な性質の 40 種を超える抗生物質の評価)

e. 他の感染性細菌による抗菌能研究 (antibacterial potential studies) (20 種までの様々な株)

【0047】

化合物 I の抗菌活性から以下のことが判明した。

- 化合物 I は、S. マルティリアに対して作用するが、リネゾリド及びバンコマイシンは阻害性がない。

- 濃度に基づく阻害活性は、S. マルティリアに対して認められた。

- MIC 研究により、500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上が、S. マルティリアの完全阻害 (殺菌性) に有効であることが示唆された。 10

- 500 μg 未満の濃度で、24 時間まで静菌性作用が持続する。

- S. マルティリアの抗生物質感受性プロファイルを探った。

- 化合物 I は、キサントモナス科 (Xanthomonadaceae) (S. マルティリア及びシュードモナス種 (Pseudomonas sp.)) 並びにバチルス (バチルス・セレウス (Bacillus cereus)) 属のうちのいくつかの種に対して有効である。

【0048】

検査室での分析 (lab analysis) の間、10 μg レベルでの化合物 I が S. マルティリアの増殖阻害に効果的であることが見出された。また、化合物 I の濃度の増加により、増殖阻害の範囲が拡大するという結果となった。しかし、寒天プレートアッセイ上の化合物 I の濃度の増加に伴う比例的な増殖阻害範囲は認められなかった。 20

【0049】

低用量の化合物 I が S. マルティリアの増殖を阻害するのに十分であることが観察された。一方、化合物 I の濃度と比例関係にない阻害範囲が観察されたことは興味深い事実である。これは、実験の間、薬剤及び微生物の相互作用に影響を及ぼす寒天中の化合物 I の物質輸送 (mass transfer) に起因している可能性がある。物質輸送の影響を低減し、化合物 I と微生物株の接触を改善するための代替法の 1 つは、固体バリアを除去すること、又は液体希釈法 (broth dilution method) による培地中の化合物の拡散を増加させることであった。

【0050】

化合物 I の抗微生物能を把握するために、グラム陽性及びグラム陰性のものからなる 20 種の様々な細菌株を使用して、リネゾリド及びバンコマイシンに対する相対的な微生物増殖阻害範囲を評価する最初の検査室での実験を計画した。比較のためのバンコマイシンの選択は、バンコマイシンがグラム陽性細菌感染症を治療するために一般に使用されている代替的な抗生物質であるという事実に基づいた。試験したすべての微生物株の中でも、S. マルティリア、P. エルジノーサ (P. aeruginosa)、さらには B. セレウスの株のうちの 1 つが、バンコマイシン又はリネゾリドではなく、化合物 I に対する抗菌活性を示した。このことから、化合物 I が上記の生物に関係する感染症をより効果的に制御する潜在的薬剤候補となり得るが示唆された。さらに検査室での分析から、化合物 I がキサントモナス科 (S. マルティリア及びシュードモナス種) 並びにバチルス (バチルス・セレウス) 属のうちのいくつかの種に対して有効であることも確立された。 30 40

【図面の簡単な説明】

【0051】

【図 1】式 I のオキサゾリジノン化合物の I P スペクトルデータの図である。

【図 2】式 I のオキサゾリジノン化合物の H - N M R スペクトルデータの図である。

【図 3】式 I のオキサゾリジノン化合物の ^{13}C - N M R スペクトルデータの図である。【図 4】式 I のオキサゾリジノン化合物の E S I - M S (m/z) スペクトルデータの図である。

【図 5 A - 5 B】式 I のオキサゾリジノン化合物の X R D データの図である。

【図 6】式 I のオキサゾリジノン化合物の寒天プレートアッセイの写真である。 50

【図 7】化合物 I に対する S . マルトフィリアの阻害範囲を示す寒天プレートの写真である。

【図 8】12 時間の試験管希釈法 (tube dilution method) による化合物 I の M I C の写真である。

【図 9】S . マルトフィリアに対する化合物 I の殺菌性 / 静菌性の色素ベース評価の写真である。

【図 10】市販の抗生物質での S . マルトフィリアの抗微生物プロファイルを示す寒天プレートの写真である。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 5 2 】

10

本発明の詳細な実施形態を以下に開示する。但し、開示される実施形態が本発明の単なる例示にすぎず、様々な形態で具現化され得ることを理解されたい。本発明の範囲は、開示される実施形態に限定されることなく、本明細書で使用する用語及び語句は、限定であることを意図したものでなく、むしろ本発明に関する理解しやすい説明を与えるものである。本発明は、本明細書に添付される特許請求の範囲により明確に定められる。

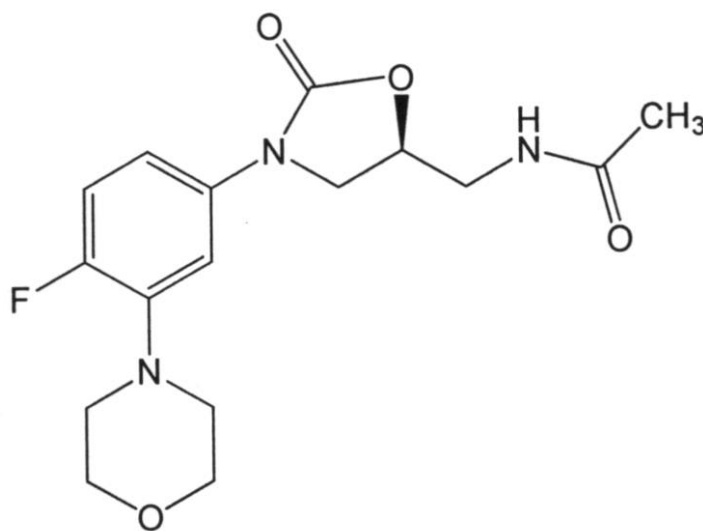
【 0 0 5 3 】

式 I の新規オキサゾリジノン化合物 [(S) - N - [[3 - [4 - フルオロ - 3 - モルホリノフェニル] - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル] メチル] アセトアミド] は、参照により本明細書に組み込まれている、インド特許出願第 5 0 6 3 / C H E / 2 0 1 3 号及びそれに対応する P C T / I N 2 0 1 4 / 0 0 0 0 1 8 号に開示された。

20

【 0 0 5 4 】

【化 1 4 】



30

化合物I

40

【 0 0 5 5 】

式 I の化合物は、以下の ^1H - NMR、 ^{13}C - NMR、質量及び IR スペクトルデータにより特徴付けられる。

【 0 0 5 6 】

IR スペクトルデータ

3 3 3 5、3 0 8 5、2 9 8 4、2 9 0 0、2 7 4 3、2 6 9 7、1 7 3 6、1 6 7 1、

50

1 6 0 9、1 5 9 7、1 5 4 2、1 5 1 2、1 4 7 4、1 4 2 0、1 3 6 9、1 3 4 8、
1 3 1 8、1 2 8 5、1 2 3 1、1 1 4 2、1 1 1 4、1 0 8 3。(図 1 に示す通り)
(H - NMR : C D C l₃ : 2 . 0 1 (s , 3 H)、3 . 0 6 (t , 4 H)、3 . 6 0
~ 3 . 7 8 (m , 4 H)、3 . 8 5 ~ 3 . 8 6 (t , 2 H)、4 . 0 3 (t , 2 H)、4
. 7 8 (m , 1 H)、6 . 1 2 (s , 1 H)、6 . 8 2 ~ 6 . 8 5 (m , 1 H)、6 . 9
8 ~ 7 . 0 3 (q , 1 H)、7 . 3 2 ~ 7 . 3 4 (d d , 1 H) (図 2 に示す通り)
¹³C - NMR : C D C l₃ : 2 2 . 7、4 1 . 7、4 7 . 7、5 0 . 5、6 6 . 6、7
1 . 8、1 0 9 . 6、1 1 1 . 9、1 1 6 . 2、1 3 4 . 3、1 3 9 . 9、1 4 0 . 0、
1 5 0 . 8、1 5 3 . 2、1 5 4 . 6、1 7 1 . 2。(図 3 に示す通り)
E S I - M S (m / z) : 3 3 8 . 3 7 (M + 1) (図 4 に示す通り)

10

【 0 0 5 7 】

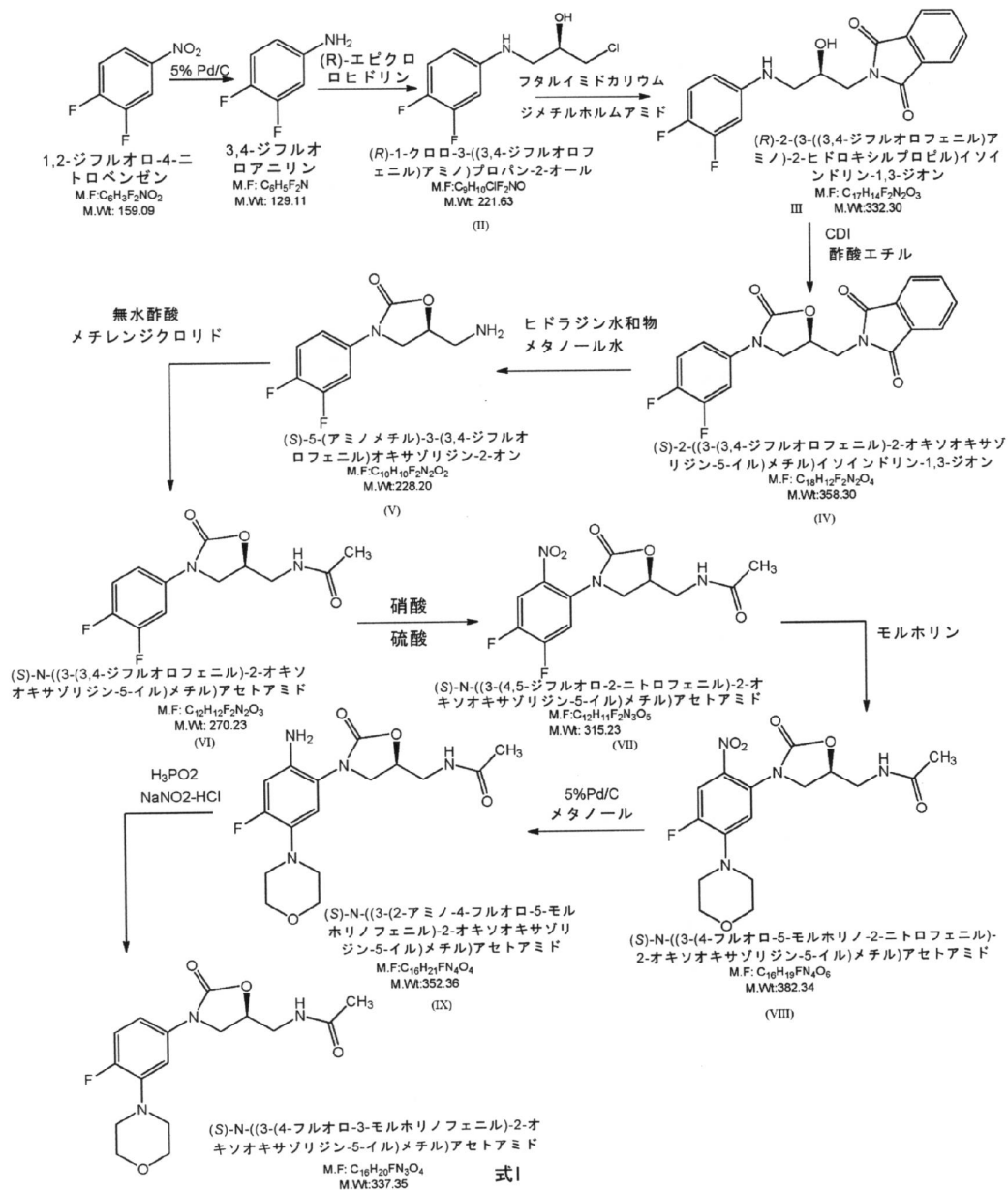
式 I の化合物はさらに、8 . 8 9 8、1 3 . 0 5、1 3 . 7 9 9、1 5 . 8 4 9、1 8
. 8 1 7、1 9 . 1 3 8、1 9 . 4 5 4、2 0 . 1 9 3、2 1 . 3 9 5、2 1 . 6 8 6、
2 2 . 2 8 9、2 2 . 8 3 3、2 3 . 5 0 4、2 6 . 1 3 3 及び 3 2 . 4 4 8 ° 2 の X
R D スペクトルにより特徴付けられる (図 5 に示す通り)。

【 0 0 5 8 】

式 I の新規オキサゾリジノン化合物の合成方法を、以下のスキーム - I で説明する：

【 0 0 5 9 】

【化 15】



スキームI

【0060】

新規オキサゾリジノン化合物〔(S)-N-〔〔3-〔4-フルオロ-3-モルホリノフェニル〕-2-オキソオキサゾリジン-5-イル〕メチル〕アセトアミド〕(式I)の合成方法は以下のステップを含む:

a) 式II

【0061】

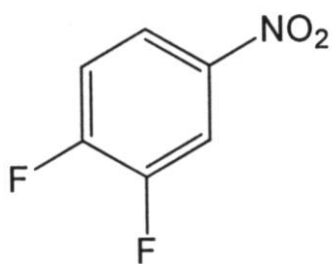
10

20

30

40

【化 1 6】



化合物II

10

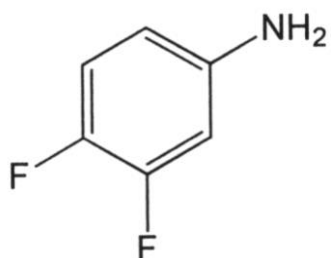
【 0 0 6 2】

の 3 , 4 - ジフルオロニトロベンゼン化合物を還元して、式III

【 0 0 6 3】

【化 1 7】

20



化合物III

30

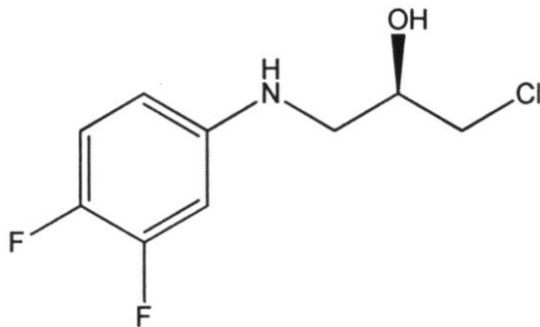
【 0 0 6 4】

の 3 , 4 - ジフルオロ - アニリン化合物を得るステップ ;

b) 化合物IIIを (R) エピクロロヒドリンと反応させて、式IV

【 0 0 6 5】

【化 18】



10

化合物IV

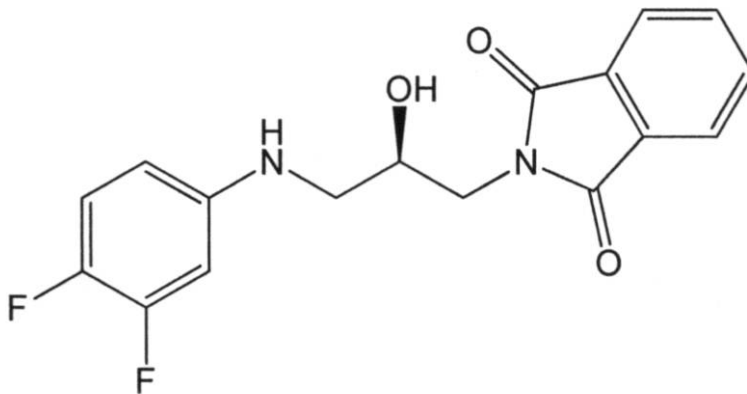
【0066】

の (R) - 1 - クロロ - 3 - ((3 , 4 - ジフルオロフェニル) アミノ) プロパン - 2 - オール化合物を得るステップ ; 20

c) 式IVの (R) - 1 - クロロ - 3 - ((3 , 4 - ジフルオロフェニル) アミノ) プロパン - 2 - オール化合物をフタルイミドカリウムとカップリングさせて、式V

【0067】

【化 19】



30

化合物V

40

【0068】

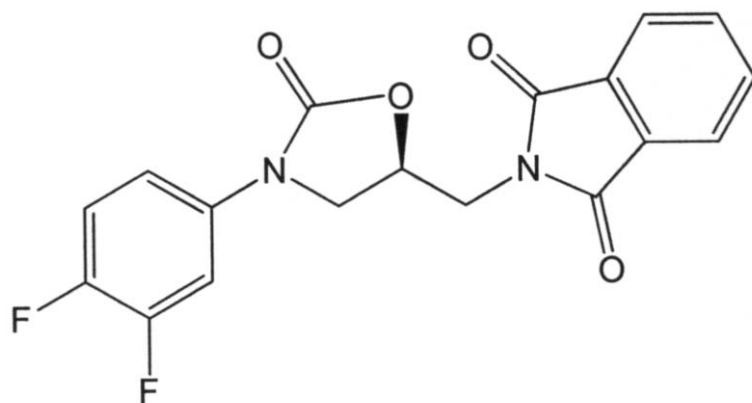
の (R) - 2 - (3 - ((3 , 4 - ジフルオロフェニル) アミノ) - 2 - ヒドロキシプロピル) イソインドリン - 1 , 3 - ジオン化合物を得るステップ ;

d) CDI を用い、式Vの (R) - 2 - (3 - ((3 , 4 - ジフルオロフェニル) アミノ) - 2 - ヒドロキシプロピル) イソインドリン - 1 , 3 - ジオン化合物を環化させて 50

、式VI

【 0 0 6 9 】

【 化 2 0 】



10

化合物VI

20

【 0 0 7 0 】

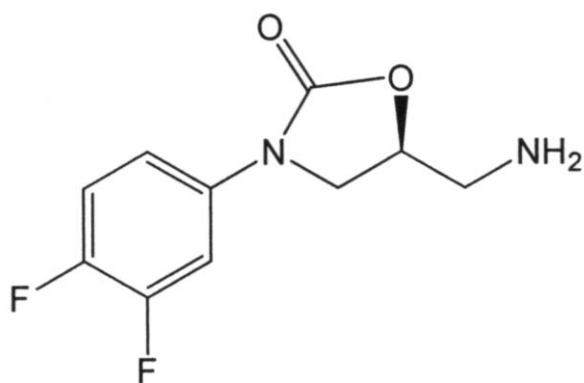
の (S) - 2 - ((3 - (3 , 4 - ジフルオロフェニル) - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル) メチル) イソインドリン - 1 , 3 - ジオン化合物を得るステップ ;

e) ヒドラジン水和物と反応させることにより、化合物VIのフタルイミド環を開環して、式VII

【 0 0 7 1 】

【 化 2 1 】

30



40

化合物VII

50

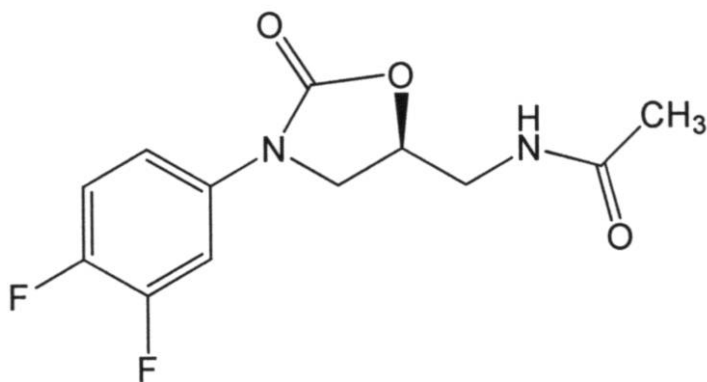
【 0 0 7 2 】

の (S) - 5 - (アミノメチル) - 3 - (3 , 4 - ジフルオロフェニル) オキサゾリジン - 2 - オン化合物を得るステップ ;

f) 無水酢酸を用い化合物VIIをアシル化して、対応する式VIII

【 0 0 7 3 】

【 化 2 2 】



10

20

化合物VIII

【 0 0 7 4 】

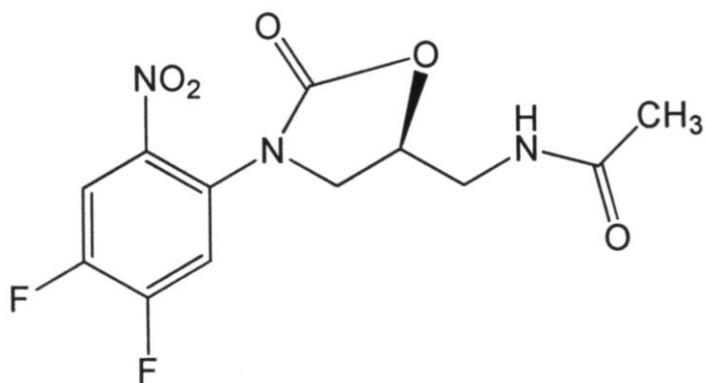
の (S) - N - ((3 - (3 , 4 - ジフルオロフェニル) - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル) メチル) アセトアミド化合物を得るステップ ;

g) ニトロ化試薬 (硝酸及び硫酸) を用い化合物VIIIをニトロ化して、式IX

30

【 0 0 7 5 】

【化 2 3】



10

化合物IX

20

【0076】

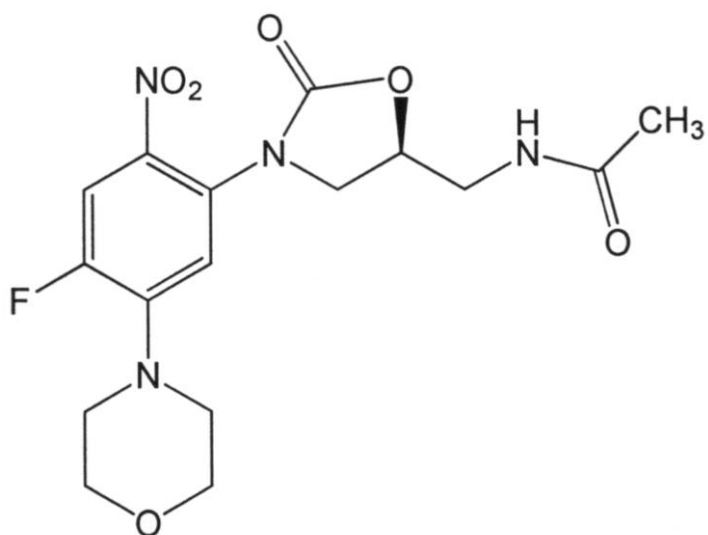
の (S) - N - ((3 - (4 , 5 - ジフルオロ - 2 - ニトロフェニル) - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル) メチル) アセトアミド化合物を得るステップ ;

h) (S) - N - ((3 - (4 , 5 - ジフルオロ - 2 - ニトロフェニル) - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル) メチル) アセトアミド化合物IXをモルホリンと反応させて、式 X

【0077】

【化 2 4】

30



40

化合物X

50

【 0 0 7 8 】

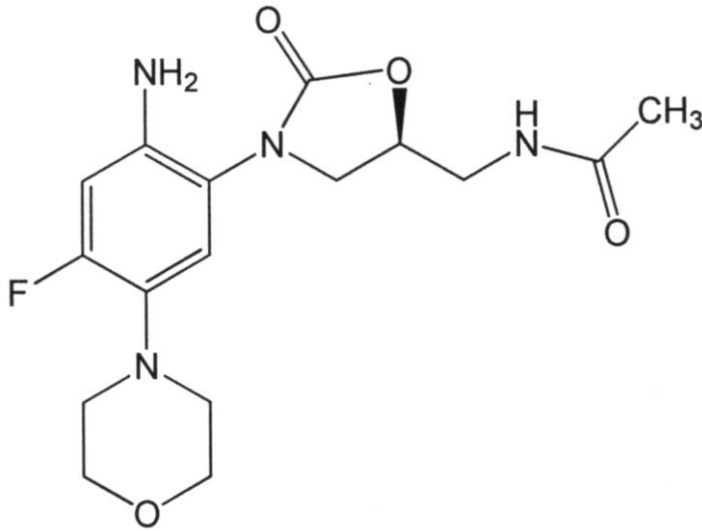
の (S) - N - ((3 - (4 - フルオロ - 5 - モルホリノ - 2 - ニトロフェニル) - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル) メチル) アセトアミド化合物を得るステップ ;

i) 式 X の (S) - N - ((3 - (4 - フルオロ - 5 - モルホリノ - 2 - ニトロフェニル) - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル) メチル) アセトアミド化合物を還元して、式 XI

【 0 0 7 9 】

【 化 2 5 】

10



20

化合物XI

30

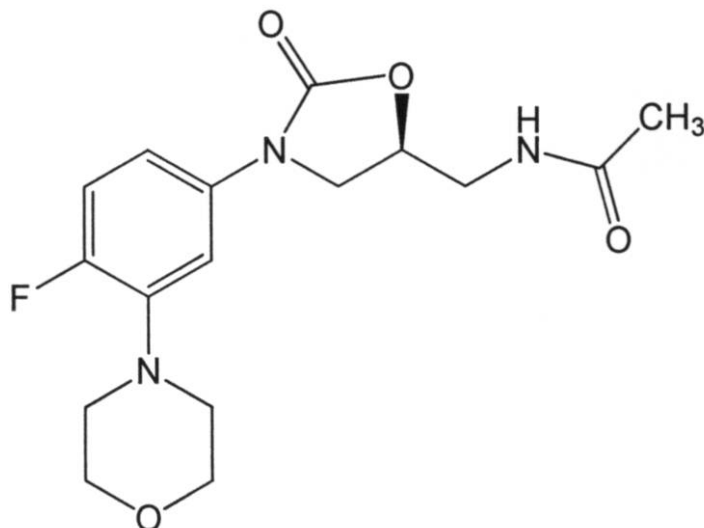
【 0 0 8 0 】

の (S) - N - ((3 - (2 - アミノ - 4 - フルオロ - 5 - モルホリノフェニル) - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル) メチル) アセトアミドを得るステップ ;

j) (S) - N - ((3 - (2 - アミノ - 4 - フルオロ - 5 - モルホリノフェニル) - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル) メチル) アセトアミド (化合物 XI) を脱アミノ化して、式 I

【 0 0 8 1 】

【化 2 6】



10

化合物I

20

【0082】

の(5)-N-((3-(4-フルオロ-3-モルホリノフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)アセトアミド化合物を得るステップ。

【0083】

上記の方法の各ステップはさらに、以下本明細書で詳述する。

【0084】

ステップa: 3,4-ジフルオロニトロベンゼンを還元して、3,4-ジフルオロ-アニリンを得るステップ

30

式Iの3,4-ジフルオロニトロベンゼンをオートクレーブ内で水素ガスを加えながらpd/Cで還元し、3~4時間反応を維持する。反応終了後、ろ過及び蒸留して、式IIIの化合物を得る。

【0085】

ステップb: 3,4-ジフルオロ-アニリンを(R)エピクロロヒドリンと反応させて、式IVの(R)-1-クロロ-3-((3,4-ジフルオロフェニル)アミノ)プロパン-2-オールを得るステップ

本ステップは、50~55で5.0~6.0時間加熱しながら、3,4-ジフルオロ-アニリンを(R)エピクロロヒドリンと反応させ、反応終了後、真空下で蒸留し、式IVの(R)-1-クロロ-3-((3,4-ジフルオロフェニル)アミノ)プロパン-2-オールを得ることを伴う。

40

【0086】

ステップc: 式IVの(R)-1-クロロ-3-((3,4-ジフルオロフェニル)アミノ)プロパン-2-オールをフタルイミドカリウムとカップリングさせて、式Vの(R)-2-(3-((3,4-ジフルオロフェニル)アミノ)-2-ヒドロキシルプロピル)イソインドリン-1,3-ジオンを得るステップ

本ステップにおいて、式IVの(R)-1-クロロ-3-((3,4-ジフルオロフェニル)アミノ)プロパン-2-オールを、DMF中で140~150で5.0~6.0時間フタルイミドカリウムで処理する。その後、冷却し、ろ過し、水とメタノールとの混合

50

物で洗浄し、式Vの(R)-2-(3-(3,4-ジフルオロフェニル)アミノ)-2-ヒドロキシプロピル)イソインドリン-1,3-ジオンを得る。

【0087】

ステップd: C D Iを用い、式Vの(R)-2-(3-(3,4-ジフルオロフェニル)アミノ)-2-ヒドロキシプロピル)イソインドリン-1,3-ジオンを環化させて、式VIの(S)-2-(3-(3,4-ジフルオロフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)イソインドリン-1,3-ジオンを得るステップ

本ステップにおいて、C D Iを用い、酢酸エチル中の(R)-2-(3-(3,4-ジフルオロフェニル)アミノ)-2-ヒドロキシプロピル)イソインドリン-1,3-ジオン(式V)を環化させ、3.0~4.0時間室温で撹拌する。反応終了後、酢酸エチルで洗浄し、次いで水で洗浄することにより、式VIの(S)-2-(3-(3,4-ジフルオロフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)イソインドリン-1,3-ジオンを得る。

10

【0088】

ステップe: ヒドラジン水和物と反応させることにより、(S)-2-(3-(3,4-ジフルオロフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)イソインドリン-1,3-ジオンのフタルイミド環を開環して、式VIIの(S)-5-(アミノメチル)-3-(3,4-ジフルオロフェニル)オキサゾリジン-2-オンを得るステップ

本ステップは、室温で、メタノールと水との中での(S)-2-(3-(3,4-ジフルオロフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)イソインドリン-1,3-ジオンとヒドラジン水和物との反応、さらには65~70℃まで加熱し、同温度で2.0~3.0時間撹拌することを伴う。反応終了後、ジクロロメタンでの抽出、蒸留を経て、式VIIの(S)-5-(アミノメチル)-3-(3,4-ジフルオロフェニル)オキサゾリジン-2-オンを得る。

20

【0089】

ステップf: 無水酢酸を用い、式VIIの(S)-5-(アミノメチル)-3-(3,4-ジフルオロフェニル)オキサゾリジン-2-オンをアシル化して、対応する式VIIIの(S)-N-(3-(3,4-ジフルオロフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)アセトアミドを得るステップ

本ステップにおいて、式VIIの(S)-5-(アミノメチル)-3-(3,4-ジフルオロフェニル)オキサゾリジン-2-オンを、25~30℃でジクロロメタン中で無水酢酸と反応させ、3.0~4.0時間撹拌する。反応終了後、有機層を蒸留し、水で洗浄して、式VIIIの(S)-N-(3-(3,4-ジフルオロフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)アセトアミドを得る。

30

【0090】

ステップg: ニトロ化試薬(硝酸及び硫酸)を用い(S)-N-(3-(3,4-ジフルオロフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)アセトアミドをニトロ化して、式IXの(S)-N-(3-(4,5-ジフルオロ-2-ニトロフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)アセトアミドを得るステップ

本ステップは、(S)-N-(3-(3,4-ジフルオロフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)アセトアミドを、ジクロロメタン中の硫酸及び硝酸溶液に加え、0~5℃で30分間撹拌し、3.0~4.0時間撹拌することを伴う。その後、温度を上げ、有機層を分離し、ジクロロメタンで抽出して、(S)-N-(3-(4,5-ジフルオロ-2-ニトロフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)アセトアミドを得る。

40

【0091】

ステップh: (S)-N-(3-(4,5-ジフルオロ-2-ニトロフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)アセトアミドをモルホリンと反応させて、式Xの(S)-N-(3-(4-フルオロ-5-モルホリノ-2-ニトロフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)アセトアミドを得るステップ

50

本ステップにおいて、イソプロピルアルコール中の (S) - N - ((3 - (4 , 5 - ジフルオロ - 2 - ニトロフェニル) - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル) メチル) アセトアミドの溶液に、モルホリンを加えて、70 ~ 75 で 1.0 ~ 2.0 時間撹拌する。その後、水を加え、水を用いて分離及び洗浄し、(S) - N - ((3 - (4 - フルオロ - 5 - モルホリノ - 2 - ニトロフェニル) - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル) メチル) アセトアミドを得る。

【0092】

ステップ i : 式 X の (S) - N - ((3 - (4 - フルオロ - 5 - モルホリノ - 2 - ニトロフェニル) - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 イル) メチル) アセトアミドを還元して、式 XI の (S) - N - ((3 - (2 - アミノ - 4 - フルオロ - 5 - モルホリノフェニル) - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル) メチル) アセトアミドを得るステップ

10

本ステップにおいて、メタノール中、Pd / C で、(S) - N - ((3 - (4 - フルオロ - 5 - モルホリノ - 2 - ニトロフェニル) - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル) メチル) アセトアミドを還元し、5.0 ~ 6.0 Kg / Cm² の水素ガスで 3.0 ~ 4.0 時間、35 ~ 40 で維持する。反応終了後、触媒をろ過し、溶媒を完全に留去して、(S) - N - ((3 - (2 - アミノ - 4 - フルオロ - 5 - モルホリノフェニル) - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 イル) メチル) アセトアミドを得る。

【0093】

ステップ j : (S) - N - ((3 - (2 - アミノ - 4 - フルオロ - 5 - モルホリノフェニル) - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル) メチル) アセトアミドを脱アミノ化して、所望の (S) - N - ((3 - (4 - フルオロ - 3 - モルホリノフェニル) - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル) メチル) アセトアミドを得るステップ

20

本ステップは、(S) - N - ((3 - (2 - アミノ - 4 - フルオロ - 5 - モルホリノフェニル) - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル) メチル) アセトアミドに濃縮 HCl を添加し、温度 0 ~ 5 で反応塊を維持し、その後、亜硝酸ナトリウム水溶液を加え、撹拌することを伴う。反応終了後、10 未満で次亜リン酸 (H₃PO₂) を加え、反応塊の温度を 30 ~ 35 まで上げる。反応終了後、ジクロロメタンを加えて、ジクロロメタンを用いて抽出し、所望の新規 (S) - N - ((3 - (4 - フルオロ - 3 - モルホリノフェニル) - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル) メチル) アセトアミドを得る。

【0094】

30

式 I の新規オキサゾリジノン誘導体化合物 [(S) - N - [[3 - [4 - フルオロ - 3 - モルホリノフェニル] - 2 - オキソオキサゾリジン - 5 - イル] メチル] アセトアミド] を調製するための上述の方法をさらに、以下に与える実施例により説明する。

[実施例]

【実施例 1】

【0095】

式 IV の (R) - 1 - クロロ - 3 - ((3 , 4 - ジフルオロフェニル) アミノ) プロパン - 2 - オールの調製

200.0 g の 3 , 4 - ジフルオロニトロベンゼン、600.0 ml のトルエン及び 12.0 g の Pd / C を、25 ~ 35 でオートクレーブ中に取り。水素ガス 2.0 ~ 6.0 Kg / Cm² を加え、3 ~ 4 時間、25 ~ 35 で反応を維持し、TLC により反応塊を調べて、反応終了を確認する。反応後、反応塊を装填せず、ハーフローベッドを通してろ過し、トルエン (200.0 ml) で洗浄する。ろ液を取り除き、50 未満真空下で蒸留する。得られた 3 , 4 - ジフルオロアニリン粗重量 152.0 g、収率：93.8 %、HPLC による純度：95.85 %。

40

【0096】

前ステップの 3 , 4 - ジフルオロアニリン 140.0 g、120.4 g の (R) - エピクロロヒドリンをきれいな丸底フラスコに入れ、50 ~ 55 までゆっくり加熱し、5.0 ~ 6.0 時間、50 ~ 55 で反応塊を維持し、TLC により反応塊を調べて、反応終了を確認する。反応終了 (compiles) 後、50 未満で真空下、低蒸留器で蒸留して

50

、式IIIの粗化合物(170.0 g、収率: 71.0%、純度: 73.29%)を得る。

【実施例2】

【0097】

(R)-2-(3-(3,4-ジフルオロフェニル)アミノ)-2-ヒドロキシプロピル)イソインドリン-1,3-ジオン(式V)の調製

156.0 gのフタルイミドカリウム及び170.0 mlのDMFを用いて5.0~6.0時間140~150 で処理し、実施例1から得られた粗生成物。TLCにより反応塊を調べて、反応終了を確認した。反応塊を室温まで冷却し、850.0 mlの水及び255.0 mlのメタノールを加えて、1.0~2.0時間室温で撹拌した。ろ過した固形物(the filtered the solids)を、水及びメタノールの混合物(170.0 ml)で洗

10

【実施例3】

【0098】

(S)-2-(3-(3,4-ジフルオロフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)イソインドリン-1,3-ジオン(式VI)の調製

410.0 gの(R)-2-(3-(3,4-ジフルオロフェニル)アミノ)-2-ヒドロキシプロピル)イソインドリン-1,3-ジオン(式V)、820.0 mlの酢酸エチル及び210.0 gのCDIを丸底フラスコに入れた。3.0~4.0時間室温で撹拌した。TLCにより反応塊を調べて、反応終了を確認した。反応終了後固形物をろ過し、205.0 mlの酢酸エチルで洗浄した。その後、ウェットケーキ及び1800.0 mlの水を丸底フラスコに入れた。1.0~2.0時間40~45 で撹拌し、固形物をろ過し、410.0 mlの水で洗浄した。ウェットケーキを乾燥させ、(S)-2-(3-(3,4-ジフルオロフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)イソインドリン-1,3-ジオンを得た。重量: 272.0 g、収率: 57.9%、HPLCによる純度: 94.22%。

20

【実施例4】

【0099】

(S)-N-(3-(3,4-ジフルオロフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)アセトアミド(式VIII)の調製

370.0 gの(S)-2-(3-(3,4-ジフルオロフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)イソインドリン-1,3-ジオン、370.0 mlのメタノール及び1480.0 mlの水、216.5 gのヒドラジン水和物を室温で丸底フラスコに入れた。反応塊を65~70 までゆっくり加熱し、同温度で2.0~3.0時間撹拌した。TLCにより反応塊を調べて、反応終了を確認した。反応終了後、反応塊を室温まで冷却し、ジクロロメタンで生成物を抽出した。有機層を完全に蒸留し(distilled off)、式VIIの粗生成物(208.0 g)を得た。

30

【0100】

上記の得られた粗生成物に370.0 mlのジクロロメタンを加え、25~30 で上記反応塊に147.5 gの無水酢酸をゆっくり加え、3.0~4.0時間撹拌し、TLCにより反応塊を調べて、反応終了を確認した。反応終了後、反応塊を水で洗浄した。有機層を完全に蒸留(distilled off)し、得られた粗生成物塊を得て、撹拌下、この塊に370.0 mlの水を加えて、1時間維持し、固形物をろ過し、水で洗浄した。乾燥させて、式VIIIの(S)-N-(3-(3,4-ジフルオロフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)アセトアミド、重量: 230.0 g、収率: 81.6%、HPLCによる純度: 95.54%を得た。

40

【実施例5】

【0101】

(S)-N-(3-(4-フルオロ-5-モルホリノ-2-ニトロフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)アセトアミド(式X)の調製

50

320.3 gの硫酸を丸底フラスコに入れた。0～5 まで冷却し、0～5 で88.7 gの硝酸をゆっくり加え、30分間攪拌し、850.0 mlのジクロロメタンを加えた。その後、170.0 gの(S)-N-((3-(3,4-ジフルオロフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)アセトアミドを0～5 でロット単位で加え、0～5 で30分間攪拌し、反応塊の温度を室温まで上げた。3.0～4.0時間攪拌し、TLCを調べて、反応終了を確認した。反応終了後、反応物を850.0 mlの冷却水中でクエンチし、有機層を分離した。ジクロロメタンで水性層を抽出した。合わせた有機層から溶媒を留去した。式IXの粗化合物(S)-N-((3-(4,5-ジフルオロ-2-ニトロフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)アセトアミド。(182.0 g)

10

【0102】

こうして得られた粗生成物に、182.0 mlのイソプロピルアルコールを加え、これに122.4 gのモルホリンをゆっくり加え、1.0～2.0時間、70～75 で攪拌した。TLCを調べて、反応終了を確認した。終了後、340.0 mlの水を反応塊に加え、その後、室温まで冷却した。こうして分離された材料をろ過し、170.0 mlの水で洗浄した。乾燥させて、式Xの得られた生成物(S)-N-((3-(4-フルオロ-5-モルホリノ-2-ニトロフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)アセトアミド、重量：189.0 g、収率：78.68%、HPLCによる純度：91.12%を得た。

【実施例6】

20

【0103】

(S)-N-((3-(2-アミノ-4-フルオロ-5-モルホリノフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)アセトアミド(式XI)の調製

100.0 gの(S)-N-((3-(4-フルオロ-5-モルホリノ-2-ニトロフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)アセトアミド、1500.0 mlのメタノール及び10.0 gのPd/Cを、オートクレーブ内で水素付加にかける。5.0～6.0 Kg/Cm²の水素ガスで、3.0～4.0時間35～40 で維持する。TLCにより反応終了を確認する。反応終了後、触媒をろ過し、溶媒を完全に留去した。得られた式XIの(S)-N-((3-(2-アミノ-4-フルオロ-5-モルホリノフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)アセトアミド、重量：80.0 g、収率：86.9%、HPLCによる純度：96.32%。

30

【実施例7】

【0104】

(S)-N-((3-(4-フルオロ-3-モルホリノフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)アセトアミド(式I)の調製

82.0 mlの濃HClに、80.0 gの(S)-N-((3-(2-アミノ-4-フルオロ-5-モルホリノフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)アセトアミド(式XI)をゆっくり加え、反応塊の温度0～5 を維持した。この反応塊に、0～5 で23.5 gの亜硝酸ナトリウム水溶液125.0 mlを加えて、30分間攪拌し、TLCを調べて反応終了を確認した。終了後、10 未満で22.5 gの次亜リン酸(H₃PO₂)を加え、その後、反応塊の温度を30～35 まで上げ、30分間攪拌し、TLCを調べて反応終了を確認した。反応終了後、反応塊を0～5 まで冷却し、400.0 mlのジクロロメタンを加え、48%の腐食性の苛性アルカリ溶液(caustic lye)を用いてpHを7.0～8.0に調整した。有機層を分離し、ジクロロメタンを用いて水性層を抽出した。合わせた有機層を蒸留し(distilled off)、粗生成物を得た。その後、この粗生成物をカラムクロマトグラフィーで精製し、さらにメタノールで再結晶し、式Iの(S)-N-((3-(4-フルオロ-3-モルホリノフェニル)-2-オキソオキサゾリジン-5-イル)メチル)アセトアミド、重量：10.0 g、収率：13.0%、HPLCによる純度：99.5%を得た。¹H-NMR、¹³C-NMR、質量、IRスペクトルデータにより構造を確認した。

40

50

【0105】

式Iの化合物の構造的解明は、以下に述べるように¹H-NMR、¹³C-NMR、質量、IRスペクトルデータなどにより確かめる。

【0106】

IRスペクトルデータ：

3335、3085、2984、2900、2743、2697、1736、1671、1609、1597、1542、1512、1474、1420、1369、1348、1318、1285、1231、1142、1114、1083。(図I)

(H-NMR: CDCl₃: 2.01 (s, 3H)、3.06 (t, 4H)、3.60 ~ 3.78 (m, 4H)、3.85 ~ 3.86 (t, 2H)、4.03 (t, 2H)、4.78 (m, 1H)、6.12 (s, 1H)、6.82 ~ 6.85 (m, 1H)、6.98 ~ 7.03 (q, 1H)、7.32 ~ 7.34 (dd, 1H) (図II)

¹³C-NMR: CDCl₃: 22.7、41.7、47.7、50.5、66.6、71.8、109.6、111.9、116.2、134.3、139.9、140.0、150.8、153.2、154.6、171.2。(図III)

ESI-MS (m/z): 338.37 (M+1); (図IV)

【0107】

式Iの化合物はさらに、8.898、13.05、13.799、15.849、18.817、19.138、19.454、20.193、21.395、21.686、22.289、22.833、23.504、26.133及び32.448° 2θのXRDスペクトルにより特徴付けられる(図5に示す通り)。

【0108】

XRD分析の方法：

粉末XRD作成：Bruker D2 Phaser

PMMAホルダー及び以下に詳述する走査パラメータを用いて収集したLDサンプルデータ：

2θ範囲：3 ~ 40°

ステップサイズ：0.012

ステップの時間：72秒

Generator KV: 30

Generator mA: 10

検出器：Lynx Eye

スピナ：15rpm

X線源：CuK

【0109】

抗微生物研究

化合物Iの抗菌活性を確かめるために、詳細な抗微生物研究を行い、その有効範囲並びに静菌及び殺菌活性を研究した。

【0110】

以下のパラメータに関してステノトロホモナス・マルトフィリアに対する化合物Iの抗菌性評価を行った。

f. 様々な濃度での寒天プレートアッセイ (10、50、100、150 μg)

g. MIC研究

1. 様々な濃度による (1000 ~ 5 μg/ml 10通りまでの様々な濃度)

2. 様々な期間 (4 ~ 32時間 8通りの時間間隔)

h. 生物の生存性に関する作用様式

1. 濃度による及びインキュベーション時間に基づく殺菌性/静菌性

2. コロニー計数/色素に基づく評価

i. 感受性試験 (様々な性質の40種を超える抗生物質の評価)

j. 他の感染性細菌による抗菌能研究 (20種までの様々な株)

【 0 1 1 1 】

結果

寒天プレートアッセイ

肺疾患、院内感染、合併性疾患、菌血症、髄膜炎、心内膜炎などの既知の原因微生物株である、ステノトロホモナス・マルトフィリアを使用した化合物Ⅰの抗菌性を速やかに評価するために、寒天プレートアッセイを行った。

【 0 1 1 2 】

所与の背景情報を考慮して、寒天プレートを使用した *S. マルトフィリア* に対する化合物Ⅰ、バンコマイシン及びリネゾリドの抗菌特性をベースにした初期の寒天プレートの評価し、 $50\ \mu\text{g}$ の各化合物を DMSO 溶液中に溶解させた。必要であれば、*S. マルトフィリア* への DMSO の影響を排除するため、試験化合物として DMSO もまた使用し、表 1 及び図 6 にデータを提示する。

10

【 0 1 1 3 】

【表 1】

表1:ステノトロホモナス・マルトフィリアに対する化合物Ⅰの抗微生物活性

S. No	化合物	増殖阻害範囲(mm)
1	バンコマイシン	00
2	リネゾリド	00
3	LDD-01/2013	17
4	DMSO	00

20

【 0 1 1 4 】

上の表から、*S. マルトフィリア* の増殖は、化合物Ⅰによってのみ阻害され、バンコマイシン及びリネゾリドのいずれによっても阻害されなかったことが明らかであり、化合物Ⅰが、保健医療の分野において将来性があることが示唆される。

30

【 0 1 1 5 】

化合物Ⅰ濃度による増殖阻害研究

さらなる研究を開始する前に、化合物Ⅰの抗菌効率を理解することが重要である。化合物Ⅰの抗菌効率を評価するために、寒天プレートアッセイについて $0 \sim 250\ \mu\text{g}$ の濃度範囲を使用した。2つのパーセント (two percent) の寒天プレートを用意し、24時間増殖した *S. マルトフィリア* を寒天プレート上に蔓延させ、4 でインキュベートした。30分後、*S. マルトフィリア* からなる寒天プレートを室温で無菌環境に移し、滅菌穿孔を使用してウェルを設けた。各ウェルに、DMSO中に溶解した既知の濃度の化合物Ⅰを加えた。37 で24時間のインキュベーション後、阻害範囲を測定した。表 2 及び図 7 にデータを提示する。

40

【 0 1 1 6 】

【表 2】

表2:ステノトロホモナス・マルトフィリアに対する様々な濃度の化合物Iの抗微生物活性

S. No	化合物I濃度(μ g/ml)	増殖阻害範囲(mm)
1	00	00
2	10	16
3	50	17
4	100	18
5	150	20
6	200	20
7	250	22

10

【0117】

20

表2及び図7に提示されたデータは、明白に以下のことを示す

- i. 化合物Iは、10 μ gのレベルでS.マルトフィリアの増殖阻害に効果的である。
- ii. 化合物I濃度を上げた結果、増殖阻害範囲の拡大がもたらされた。
- iii. 寒天プレートアッセイにおける化合物I濃度の上昇に伴う比例的な増殖阻害範囲は認められなかった。

【0118】

上のデータは、とりわけ、低用量でもS.マルトフィリアの増殖を低減するのに十分であるという点が興味深い。一方、化合物Iの濃度と比例関係にない阻害範囲が観察されたことは、注目すべき事実である。これは、実験の間、薬剤及び微生物の相互作用に影響を及ぼす寒天中の化合物Iの物質輸送に起因している可能性がある。物質輸送の影響を低減し、化合物Iと微生物株の接触を改善するための代替法の1つは、固体バリアを除去すること、又は液体希釈法による培地中の化合物の拡散を促進することであった。

30

【0119】

MIC研究

微生物学において、最小発育阻止濃度(MIC, minimum inhibitory concentration)は、一晚インキュベーションした後の微生物の視認できる増殖を阻害する抗微生物薬の最小濃度である。最小発育阻止濃度は、抗微生物剤に対する微生物の耐性を確認し、さらには、新たな抗微生物剤の活性をモニターする診断的検査において重要である。MICは一般に、生物に対する抗微生物剤の活性に関する最も根本的な検査指標とされている。本方法において、拡散に関する上記の問題も除外される。

40

【0120】

試験管希釈法による化合物IのMIC

S.マルトフィリア増殖の阻害に必要な化合物I濃度のMICを見出すため、0~1000 μ g/mlの範囲で10通りの異なる濃度(1000、500、250、125、62.5、31.25、15.62、7.81、3.90、0 μ g/ml)の化合物Iを、 10^7 個の細胞を含有する1mlの滅菌培地中に補充した。これらの試験管を37℃でインキュベートした。12時間後、S.マルトフィリアの増殖が観察された。図8にデータを提示する。

【0121】

50

図 8 より、 $0 \sim 250 \mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲の試験したすべての濃度で *S. マルトフィリア* の増殖が認められたことが明らかになったが、増殖の視認性は、化合物 I の濃度により変化した。 500 及び $1000 \mu\text{g}/\text{ml}$ の化合物 I を補充した試験管においては、増殖は観察されず、*S. マルトフィリア* に対する本化合物の MIC が $500 \mu\text{g}$ であることが示唆された。

【 0 1 2 2 】

各期間での MIC

S. マルトフィリア に対する LD 誘導体の MIC は $500 \mu\text{g}/\text{ml}$ であるが、インキュベーションの時間によって、*S. マルトフィリア* の増殖が微生物の代謝性質又は化合物の生理学的特性により異なる可能性がある。これを考慮して、様々な時間間隔で増殖を目視によりモニターした。報告書の最後に補遺としてデータを提示する。図により、4 時間のインキュベーションを行っても、様々な濃度で化合物 I を補充したいずれの試験管についても増殖が認められなかったことが明らかである。一方、4 ~ 8 時間の増加に伴い、*S. マルトフィリア* の増殖が、 62.5 、 31.25 、 $15/62$ 、 7.81 、 3.90 及び 0 の濃度の化合物 I を補充した試験管で認めることができた。さらに、インキュベーションの時間を 12 時間超に、すなわち 16、20 及び 24 時間に増加させた場合、 500 及び $1000 \mu\text{g}$ を補充した試験管を除いたすべての試験管で、*S. マルトフィリア* の増殖を視認できた。これは、 $500 \mu\text{g}$ の化合物 I が、12 時間、*S. マルトフィリア* の増殖を阻害するのに効果的であることを示している。

【 0 1 2 3 】

生物の生存性に関する作用様式

殺菌性 / 静菌性

S. マルトフィリア の殺菌又は増殖の抑止に関係する化合物 I の増殖阻害特性を評価するために、インキュベーションの時間との関係で、様々な濃度の化合物 I が存在する下での生物の増殖パターンを分析した。結果を表にまとめた。データから、所与のいかなる濃度の化合物 I においても、インキュベーションが 4 時間を経過するまで増殖が検出されなかったことが明らかであった。インキュベーション時間を 4 時間超に増加すると、 62.5 、 12.5 及び $250 \mu\text{g}/\text{ml}$ を補充した試験管において 16 時間のインキュベーションまで目に見える増殖が観察されなかったが、増殖期間のさらなる延長、すなわち 20 時間を超えると *S. マルトフィリア* の増殖が認められた。これは、生物の増殖が一時的に抑止された後、再び増殖を始める可能性があることを示唆しており、一方で、 $500 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の濃度の化合物 I の補充の場合、*S. マルトフィリア* の増殖は 120 時間後であっても観察されなかった。このデータはさらに、化合物 I が $500 \mu\text{g}/\text{ml}$ で使用された場合、*S. マルトフィリア* を根絶するのに効果的であることを裏付ける。さらに、データは、 $500 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の濃度で、化合物 I が殺菌的に作用し、 $500 \mu\text{g}/\text{ml}$ 未満では静菌的に作用し得ることを示唆する。

【 0 1 2 4 】

【表 3】

表3:時間との関連でのステノトロホモナス・マルトフィリアに対する化合物Iの
MIC

S. No	時間 (hrs)	静菌性 μ g/ml	殺菌性 μ g/ml
1	0	該当なし	該当なし
2	4	未検出	未検出
3	8	62.5	--
4	12	125	--
5	16	250	--
6	20	--	500
7	24	--	500*

*注:500 μ g/mlを補充した条件下では、最長10日間増殖が観察されなかった。

【0125】

色素に基づく分析

化合物Iの抗菌性はさらに、色素間相互作用法 (dye interactive method) により確認された。図9は、化合物Iの存在下でのS・マルトフィリアの生存性を示す。図9から、様々な濃度の化合物Iの存在下で増殖したS・マルトフィリア培養物に対してメチレンブルーを補充すると、500及び1000 μ g / mlを補充した培養物に青色が認められ、残りの培養物は青色を示さなかったことが明らかとなった。色の変化又は青色の消失に関する基本的な原理は、還元性の環境に関係している。メチレンブルー溶液は、酸化性の環境では青色であるが、還元剤に曝されると無色に変化する。いかなる生命体の増殖も、代謝として知られる広範な化学反応に関係しており、この反応は基本的に酸化還元反応で特徴付けられ、いくつかの還元補助因子 (reducing cofactor) が、活発に増殖している細胞内に常に存在している。それ故、このような還元性の環境 (生命体) にメチレンブルーを曝すと、色素が直ちに還元され、その色を失う。250 μ g / mlまでの濃度の化合物Iを補充されたS・マルトフィリア培養試験管においてメチレンブルーの色が消失したことから、これは、500 μ g / ml以上の化合物Iの濃度がS・マルトフィリアの増殖にとって有害であることを示す。

【0126】

様々な抗生物質についてのS・マルトフィリアの感受性試験プロファイル (図10)

【0127】

【表 4】

表4:市販抗生物質のS.マルトフィリアの抗微生物プロファイル

S. No	抗生物質	量(μ g)	範囲(mm)
1.	アジスロマイシン	30	12
2.	リファンピシン	5	3
3.	ペニシリン	10	6
4.	ピペラシリン	100	8
5.	オーグメンチン	30	7
6.	アンピシリン/スルバクタム	10/10	12
7.	ロキシスロマイシン	30	4.5
8.	エリスロマイシン	15	4
9.	アンピシリン	10	6.5
10.	クロキサシリン	1	3
11.	アモキシシリン	10	6.5
12.	バンコマイシン	30	6.5
13.	クロラムフェニコール	30	11
14.	シプロフロキサシン	5	12
15.	ノルフロキサシン	10	9
16.	リンコマイシン	2	耐性
17.	ロメフロキサシン	30	12
18.	クリンダマイシン	2	耐性
19.	テトラサイクリン	30	6
20.	レボフロキサシン	5	15
21.	ペフロキサシン	5	9
22.	スパルフロキサシン	5	17
23.	オフロキサシン	5	11
24.	ドキシサイクリン	30	8
25.	ゲンタマイシン	10	7
26.	ネチリン(ネチルマイシン硫酸塩)	30	7
27.	ナリジクス酸	30	7
28.	カナマイシン	30	3
29.	アミカシン	30	8
30.	コトリモキサゾール	25	10
31.	トブラマイシン	10	10
32.	クラリスロマイシン	15	耐性
33.	ニトロフラントイン	300	7
34.	ストレプトマイシン	10	12
35.	オキシテトラサイクリン	30	2

10

20

30

40

36.	フラゾリドン	50	耐性
37.	オーグメンチン	30	8
38.	ガチフロキサシン	5	15
39.	カルベニシリン	100	14
40.	ロメフロキサシン(Lome floxacin)	10	14
41.	イミペネム	10	6
42.	テイコプラニン	30	4
43.	セフェピム	30	9
44.	セファロリジン	30	7
45.	トブラマイシン	10	9

10

【 0 1 2 8 】

他の感染性細菌についての抗菌能研究（20種までの株）

化合物Ⅰの抗菌性を把握するため、グラム陽性及びグラム陰性からなる20の異なる細菌株を使用して、リネゾリド及びバンコマイシンに対する相対的な微生物株増殖阻害範囲を評価する最初の実験を計画した。比較のためのバンコマイシンの選択は、それがグラム陽性細菌感染症を治療するために一般的に使用されている代替の抗生物質であるという事実に基づいていた。結果を表5に報告する。

20

【 0 1 2 9 】

【表5】

表5:他の微生物についての化合物Ⅰの抗微生物活性(増殖阻害範囲(mm))

S. No	株	化合物Ⅰ	リネゾリド	バンコマイシン
1	<i>M. ルテウス</i>	12	45	32
2	<i>B. ステアロテルモフィルス</i>	00	00	00
3	<i>S. マルトフィリア</i>	17	00	00
4	<i>P. プチダ</i>	00	00	00
5	<i>K. ニューモニエ</i>	00	35	25
6	緑膿菌	12	00	00
7	大腸菌	12	35	25
8	<i>P. ブルガリス</i>	00	00	00
9	チフス菌	00	40	14
10	枯草菌	12	40	25
11	<i>S. ミュータンス</i>	00	40	30
12	<i>B. スファエリクス</i>	00	30	12
13	<i>B. サーキュランス</i>	00	38	27
14	リジニバチルス	00	40	30
15	<i>B. セレウス(1)</i>	17	00	00
16	<i>B. メガテリウム</i>	12	37	27
17	<i>B. セレウス(2)</i>	00	35	27
18	<i>P. ミラビリス</i>	00	35	27
19	<i>B. セレウス(3)</i>	00	45	32
20	<i>S. パラチフス</i>	00	00	25

30

40

50

【 0 1 3 0 】

試験を行った様々な微生物株すべての中でも、S．マルトフィリア、P．エルジノーサ、及びB．セレウスの株のうちの1つが化合物Iに対する抗菌活性を示したが、バンコマイシン及びリネゾリドに対しては示さなかったことから、化合物Iが上記の生物に関連した感染症をより効果的に制御するための潜在的な薬剤候補となる可能性があることが示唆された。

【 0 1 3 1 】

結論

化合物Iの抗微生物活性の要約を以下に示す：

- 化合物IはS．マルトフィリアに対して作用するが、これは、増殖を阻害できなかったリネゾリド及びバンコマイシンなどの他の抗生物質と対照的である。 10
- 濃度に基づく抗微生物活性試験により、化合物Iが10 µgのレベルでS．マルトフィリアの増殖阻害に効果的であることが示された。
- MIC研究により、500 µg / ml以上の化合物IがS．マルトフィリアの完全な阻害に効果的であることが示唆された。
- 500 µgの化合物Iは、12時間S．マルトフィリアの増殖を阻害するのに効果的である。
- 化合物Iは、500 µg / ml以上の濃度で殺菌的に作用し、500 µg / ml未満で静菌的に作用し得る。
- S．マルトフィリアの抗生物質感受性プロファイルを探った。 20
- 化合物Iは、キサントモナス科（S．マルトフィリア及びシュードモナス種属）並びにバチルス（バチルス・セレウス）属のうちのいくつかの種に対して有効である。

【 0 1 3 2 】

医薬品・化粧品法（Drugs & Cosmetic Act and Rules）のプロトコールスケジュールに従って、USFDAが承認したTeena Laboratories社（ハイデラバード）でのウイスターラットを使用した化合物Iの単回投与急性毒性の予備試験を実施した。単回投与急性毒性の結果は以下の通りである：

- すべての動物において、治療と関連がある食物摂取：体重及び臨床徴候に対する、治療に係る影響は観察されなかった。
- 単回用量毒性研究において、媒体対照群、低用量、中等度用量及び高用量群の動物において、通常より早い死（pre-terminal deaths）は観察されなかった。 30
- 3つの用量レベルにおいてすべての動物群における血液学的パラメータは、対照動物と比較して正常範囲であることが分かった。
- 3つの用量レベルにおいてすべての動物群における生化学的パラメータは、対照動物と比較して正常範囲であることが分かった。
- 研究により、動物研究における実験条件下の推奨臨床投与計画での投与試験項目に関して、化合物Iが3つの異なる用量レベルにおいて臨床的、行動学的、身体的、生理学的、生化学的、血液学的パラメータに何ら重大な変化をもたらさなかったことが確立された。

【 0 1 3 3 】

したがって、ウイスターラットでの単回投与毒性研究において、低用量、中等度用量及び高用量、すなわち45.0 mg / kg、225.0 mg / kg及び450 mg / kgによる1回の化合物I試験項目の投与後、死亡がみられず、ウイスターラットにおける実験条件下での身体的及び生理学的パラメータに重大な変化が起きなかったことが示された。

【 0 1 3 4 】

したがって、本発明は、多剤耐性S．マルトフィリア病原菌並びに多数のグラム陽性及びグラム陰性病原菌に対する潜在的抗菌薬剤として、治療用の新規オキサゾリジノン化合物Iを提供する。

【 0 1 3 5 】

化合物Iはさらに、医薬組成物及び医薬品での使用のための薬学的に許容される塩、水 50

和物、溶媒和物及び他の薬学的に好適な誘導体に変換され得る。一部の実施形態では、化合物Ⅰのエナンチオマーもまた、当業界において好適に使用されるために調製され得る。

【0136】

薬学的に許容される塩には、無機又は有機塩基及び無機又は有機酸から調製される塩が含まれる。

【0137】

無機塩基から誘導される塩には、アルミニウム (aluminium)、アンモニウム、カルシウム、銅、三価鉄 (ferric)、二価鉄 (ferrous)、リチウム、マグネシウム、マンガン塩 (manganic salts)、マンガンの (manganous)、カリウム、ナトリウム、亜鉛などが含まれる。固形の塩は、2以上の結晶構造で存在し得、また水和物の形態でもあり得る。無毒性有機塩基から誘導される塩には、アルギニン、ペタイン、カフェイン、コリン、N, N - ジベンジルエチレン - ジアミン、ジエチルアミン、2 - ジエチルアミノエタノール、2 - ジメチルエチルアミノエタノール、エタノールアミン、エチレンジアミン、N - エチル - モルホリン、N - エチルピペリジン、グルカミン、グルコサミン、ヒスチジン、ヒドラバミン、イソプロピルアミン、リジン、メチルグルカミン、モルホリン、ピペラジン、ピペリジン、ポリアミン樹脂、プロカイン、プリン、テオブロミン、トリエチルアミン、トリメチルアミン、トリプロピルアミン、トロメタミンなどの一級、二級及び三級アミンの塩、天然由来の置換アミンを含む置換アミン、環状アミン及び塩基性イオン交換樹脂が含まれる。

【0138】

本発明の化合物が塩基性である場合、塩は、無機及び有機酸を含む薬学的に許容される無毒性酸から調製され得る。このような酸には、酢酸、ベンゼンスルホン酸、安息香酸、カンファースルホン酸 (camphorsulfonic)、クエン酸、エタンスルホン酸、フマル酸、グルコン酸、グルタミン酸、臭化水素酸、塩酸、イセチオン酸、乳酸、マレイン酸、リンゴ酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、ムチン酸、硝酸、パモ酸、パントテン酸、リン酸、コハク酸、硫酸、酒石酸、p - トルエンスルホン酸などが含まれる。

【0139】

式Ⅰの化合物の医薬組成物は、化合物又はその薬学的に許容される塩を、本目的のために従来使用されている固体若しくは液体の薬学的に許容される担体又は薬学的に許容される補助剤及び賦形剤と組み合わせることによって調製することができる。

【0140】

医薬組成物は、散剤、錠剤、水和性顆粒剤 (dispersible granules)、カプセル剤、カシエ剤及び坐剤など、固体又は液体の形態であってもよい。固体担体は、希釈剤、香味料、可溶化剤、潤滑剤、懸濁剤、結合剤、錠剤崩壊剤及び被包剤としても機能し得る少なくとも1種の物質とすることができる。不活性固体担体には、炭酸マグネシウム、ステアリン酸マグネシウム、タルク、砂糖、ラクトース、ペクチン、デキストリン、デンプン、ゼラチン、セルロース系材料、低融点ワックス (low melting wax)、ココアバターなどが含まれる。液体医薬組成物は、溶液、懸濁液及び乳濁液であってもよい。例えば、好適な従来の着色剤、香味料、安定剤及び増粘剤を含有していてもよい、水及び水 - プロピレングリコール並びに水 - ポリエチレングリコール系に溶解した本発明の化合物の溶液が提供され得る。

【0141】

好ましくは、医薬組成物は、有効量の活性成分 (式Ⅰの化合物) を含有する単位剤形で提供されてもよい。

【0142】

活性成分 (式Ⅰの化合物) の量は、特定の用途、特定の化合物の効力、医薬組成物及び単位剤形中の所望の濃度に応じて変更又は調整することができる。一般に、活性成分の量は、組成物の0.1重量% ~ 99重量%の間の任意の適切な値であってもよい。

【0143】

治療用途において、化合物又は医薬組成物は、抗菌的に有効となる活性成分の血中濃度

10

20

30

40

50

を達成及び維持するように、経口、非経口及び／又は局所的に投与することができる。一般に、このような活性成分の抗菌的に有効な投与量は、約 $1 \mu\text{g}$ ～ 約 100 mg/kg 体重／日の範囲である。但し、投与量は、患者における必要性、治療対象の細菌感染の重症度、及び使用される特定の化合物に応じて、変わり得る。また、速やかに所望の血中レベルを達成するために、初回投与量を上記の上限レベルを超えて増量する場合もあり、又は初回投与量を至適未満とする場合もあり、治療の経過中に、特定の状況に応じて1日の投与量を漸増する場合もあることが理解されるべきである。所望であれば、1日の投与量を複数回の投与、例えば、1日につき2～4回に分割してもよい。

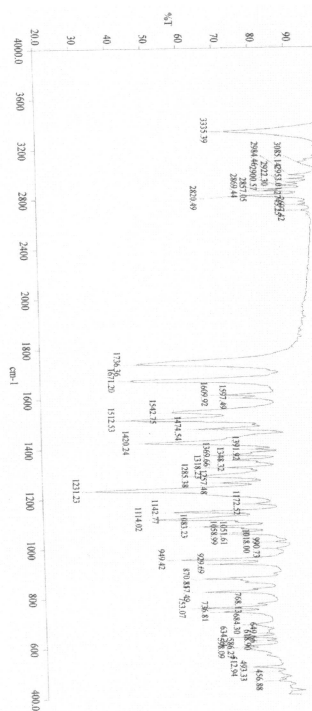
【0144】

式Ⅰの化合物はまた、非経口的、すなわち、注射により、例えば静脈内注射により、又は他の非経口的投与経路により投与されてもよい。非経口投与用の医薬組成物は、一般に、式Ⅰによる薬学的に許容される量の化合物を、薬学的に許容される液体担体中に溶解した可溶性塩として含有し、これらの薬学的に許容される液体担体は、例えば、注射用水、及び好適に緩衝されて約3.5～7のpHを有する等張液を与える緩衝液などである。好適な緩衝剤は、代表的な緩衝剤をほんの一例として、例えば、オルトリン酸三ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、クエン酸ナトリウム、N-メチルグルカミン、L(+) - リジン及びL(+) - アルギニンが挙げられる。式Ⅰによる化合物は一般に、約 1 mg/ml ～ 約 400 mg/ml の範囲の溶液で、薬学的に許容される注射可能な濃度をもたらすのに十分な量の担体中に溶解する。結果として得られる液体医薬組成物は、上述の抗菌的に有効な投与量を得るように投与される。本発明による式Ⅰの化合物は、有利には、固体及び

【0145】

局所治療として、有効量の式Ⅰは、患者の皮膚の治療領域に塗布することができる薬学的に許容されるゲル又はクリーム媒体に混合されてもよい。このようなクリーム及びゲルは当技術分野でよく知られており、浸透賦活薬を含むことができる。

【図1】



【図 3】

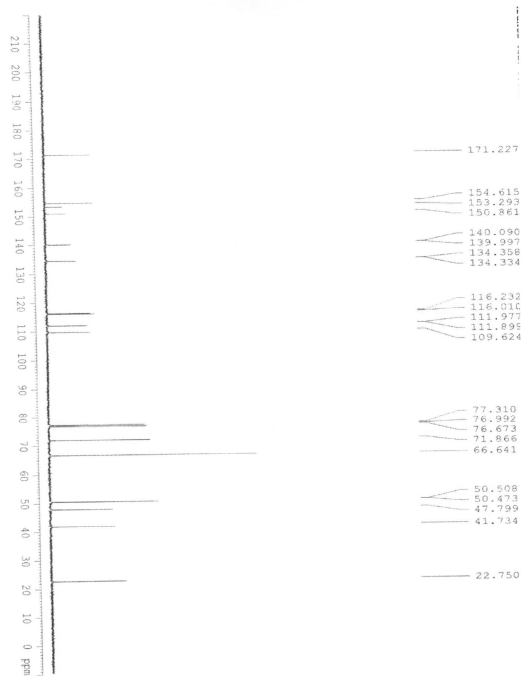


Figure 3

【図 4】

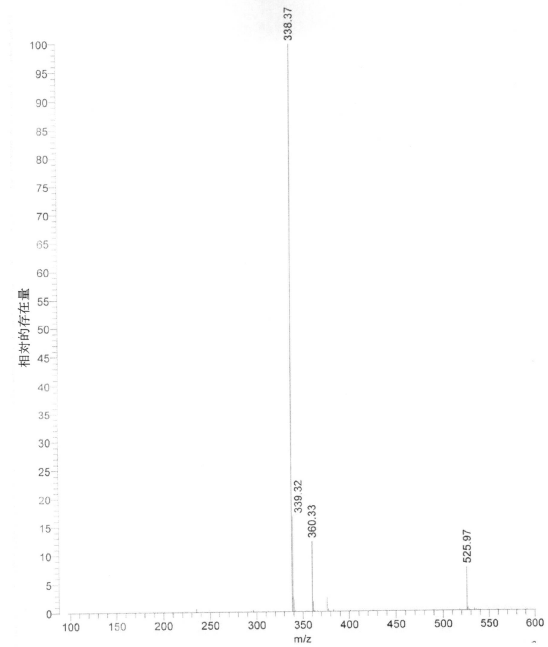


Figure 4

【図 5 A】

2 ^θ	強度
8.898	44.4
13.05	100.0
13.799	72.4
15.849	51.9
18.817	7.4
19.138	8.3
19.454	8.8
20.193	6.5
21.395	10.2
21.686	97.8
22.289	9.6
22.833	10.5
23.504	8.1
26.133	7.1
32.448	6.3

Figure 5A

【図 5 B】

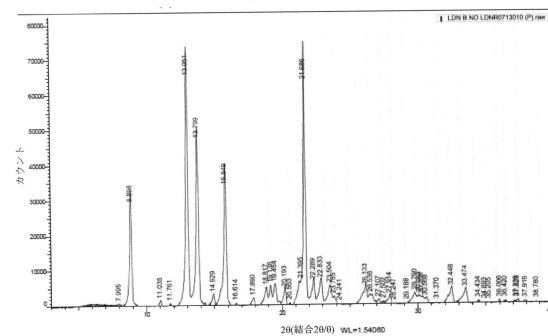


Figure 5 B

【図 6】

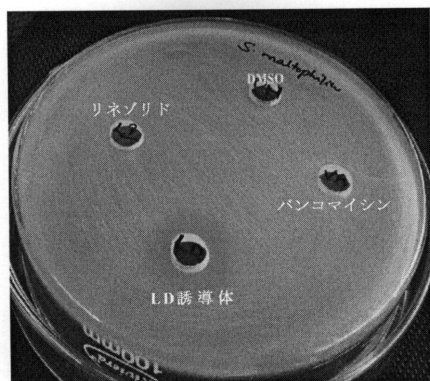


Figure 6

【図 7】

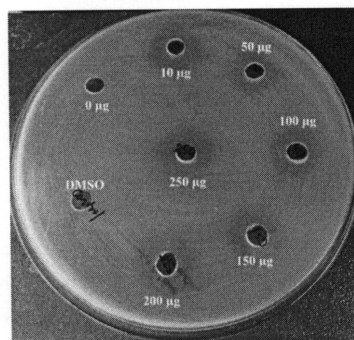


Figure 7

【図 8】

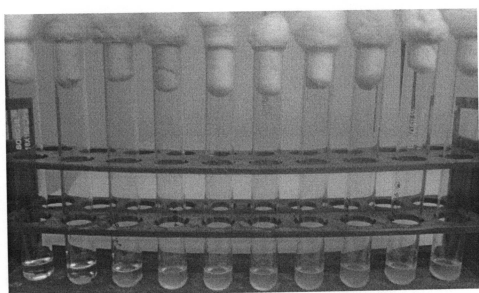


Figure 8

【図 10】

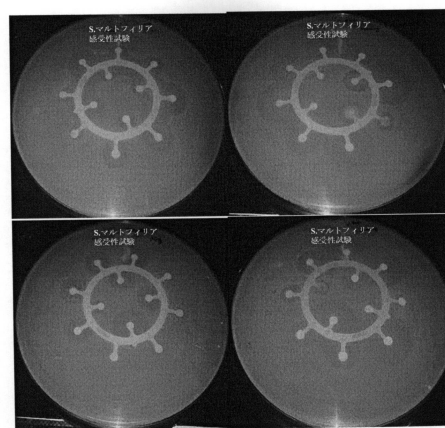


Figure 10

【図 9】

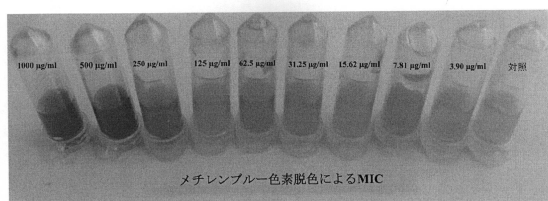


Figure 9

フロントページの続き

- (74)代理人 100188352
弁理士 松田 一弘
- (74)代理人 100131093
弁理士 堀内 真
- (74)代理人 100150902
弁理士 山内 正子
- (74)代理人 100141391
弁理士 園元 修一
- (74)代理人 100198074
弁理士 山村 昭裕
- (72)発明者 アッラ ラグー ミトラ
インド ハイデラバード 500037 パラナガー(ポスト) ムーサベット(ヴィレッジ)
オーピーピー・アイディーピーエルファクトリー シーブロック ドアナンバー11-6-56
エスワイ・ナンバー257&258/1 リー ファーマ リミテッド
- (72)発明者 デュビー アジェイ クマール
インド ハイデラバード 500037 パラナガー(ポスト) ムーサベット(ヴィレッジ)
オーピーピー・アイディーピーエルファクトリー シーブロック ドアナンバー11-6-56
エスワイ・ナンバー257&258/1 リー ファーマ リミテッド
- (72)発明者 マレパリ シュリーニバス レディ
インド ハイデラバード 500037 パラナガー(ポスト) ムーサベット(ヴィレッジ)
オーピーピー・アイディーピーエルファクトリー シーブロック ドアナンバー11-6-56
エスワイ・ナンバー257&258/1 リー ファーマ リミテッド
- (72)発明者 ボンガラティ ラーマクリシュナ レディ
インド ハイデラバード 500037 パラナガー(ポスト) ムーサベット(ヴィレッジ)
オーピーピー・アイディーピーエルファクトリー シーブロック ドアナンバー11-6-56
エスワイ・ナンバー257&258/1 リー ファーマ リミテッド

審査官 早乙女 智美

- (56)参考文献 特表平09-502436(JP,A)
特表2002-501059(JP,A)
特開昭61-134379(JP,A)
特開平11-322729(JP,A)
特表2005-523896(JP,A)
Park, Chung-Ho et al., Antibacterials. Synthesis and Structure-Activity Studies of 3-Aryl-2-oxooxazolidines. 4. Multiply-Substituted Aryl Derivatives, Journal of Medicinal Chemistry, 1992年, 35(6), pp. 1156-1165
Gregory, Walter A. et al., Antibacterials. Synthesis and Structure-Activity Studies of 3-Aryl-2-oxooxazolidines. 2. The "A" Group, Journal of Medicinal Chemistry, 1990年, 33(9), pp. 2569-2578

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07D

A61K

CAPLUS/REGISTRY/MARPAT(STN)