(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2016-199497
(P2016-199497A)
(43)公開日　平成28年12月1日(2016.12.1)

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
A61K 31/166	(2006.01)	A61K	31/166	4C206
A61P 31/04	(2006.01)	A61P	31/04	

審査請求 未請求　請求項の数 2　ＯＬ　（全 21 頁）

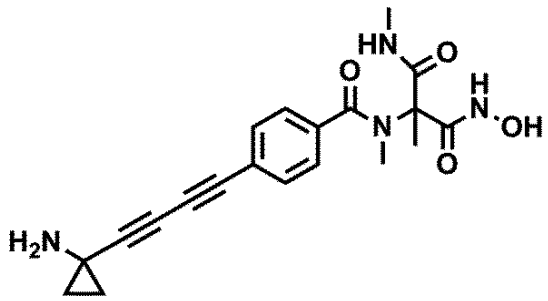
(21)出願番号　特願2015-80513(P2015-80513)
(22)出願日　平成27年4月10日(2015.4.10)

(71)出願人　000002819
大正製薬株式会社
東京都豊島区高田３丁目２４番１号
(72)発明者　高島　一
東京都豊島区高田３丁目２４番１号　大正製薬株式会社内
(72)発明者　毒島　剛
東京都豊島区高田３丁目２４番１号　大正製薬株式会社内
(72)発明者　藪内　哲也
東京都豊島区高田３丁目２４番１号　大正製薬株式会社内

Ｆターム(参考)　4C206 AA01　AA02　HA16　KA01　MA01
MA04　NA14　ZB35

(54)【発明の名称】ヒドロキサム酸誘導体を含有する医薬

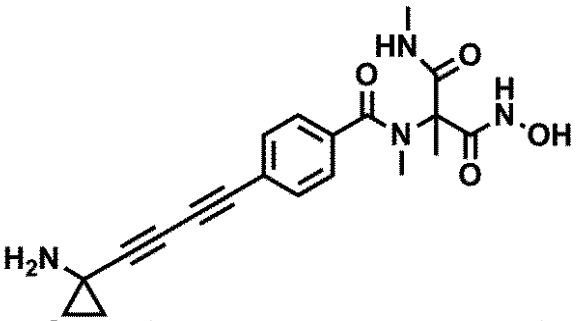
(57)【要約】
【課題】本発明の課題は、緑膿菌をはじめとするグラム陰性細菌及びその薬剤耐性菌に対して強い抗菌活性を有し医薬品として有用な新規化合物を有効成分として含有する感染症の予防又は治療薬を提供することである。
【解決手段】式［１］



[1]

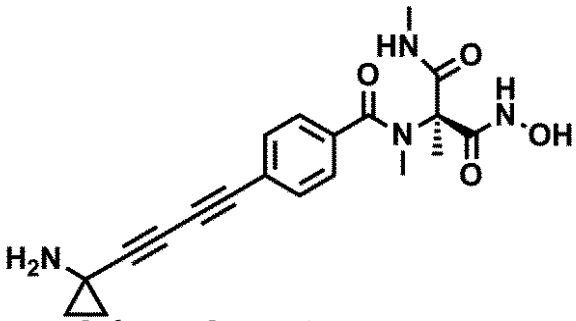
で表される２－［｛４－［４－（１－アミノシクロプロピル）ブタ－１，３－ジイン－１－イル］ベンゾイル｝（メチル）アミノ］－Ｎ－ヒドロキシ－Ｎ’，２－ジメチルプロパンジアミド又はその薬学的に許容される塩を有効成分として含有する感染症の予防又は治療薬。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
式［１］
【化１】



[1]

で表される２－［｛４－［４－（１－アミノシクロプロピル）ブタ－１，３－ジイン－１－イル］ベンゾイル｝（メチル）アミノ］－Ｎ－ヒドロキシ－Ｎ’，２－ジメチルプロパンジアミドである化合物又はその薬学的に許容される塩を有効成分として含有する感染症の予防及び／又は治療のために用いる医薬。
【請求項２】
式［２］
【化２】



[2]

で表される（２Ｓ）－２－［｛４－［４－（１－アミノシクロプロピル）ブタ－１，３－ジイン－１－イル］ベンゾイル｝（メチル）アミノ］－Ｎ－ヒドロキシ－Ｎ’，２－ジメチルプロパンジアミドである化合物又はその薬学的に許容される塩を有効成分として含有する感染症の予防及び／又は治療のために用いる医薬。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、グラム陰性細菌及びその薬剤耐性菌に対して抗菌活性を有する新規なヒドロキサム酸誘導体に関する。本発明は、ヒドロキサム酸誘導体を含有する感染症の予防及び／又は治療のために用いる医薬に関するものである。
【背景技術】
【０００２】
グラム陰性細菌には、グラム陽性細菌には存在しない脂質二重層からなる外膜が存在する。したがって、薬剤透過性の問題からグラム陽性細菌と比較して、グラム陰性細菌は強い薬剤抵抗性を有する傾向にある。また、グラム陰性細菌は複数の薬剤排出蛋白を持つことが知られている。非特許文献１には、薬剤排出蛋白も薬剤抵抗性に関与していることが開示されている。さらに、外膜の主要な構成成分の一つであるリポポリサッカライド（ＬＰＳ）は、エンドトキシンとして毒性に大きく関与している。
【０００３】
グラム陰性細菌の中でも、特に緑膿菌（Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ　ａｅｒｕｇｉｎｏｓａ）は各種の抗菌薬に自然耐性を示す傾向が強いことが知られている。緑膿菌は自然環境や生活環境中に広く常在するが、健常者には通常病原性を示さない弱毒細菌である。しかし、重篤な基礎疾患を持つ患者や、移植等により免疫抑制剤を使用するいわゆるコンプロ

マイズドホストといわれる患者、医療用カテーテルや気管挿管、外科手術等の医療行為を行っている患者に対しては、緑膿菌は敗血症等の重篤な急性感染症を引き起こす病原菌となる。それゆえに、緑膿菌は日和見感染症や院内感染症の重要な起因細菌の一つである。

【０００４】

近年、医療現場において、本来緑膿菌に効果が期待される第３世代セフェム系薬、カルバペネム系薬、又はアミノ配糖体系薬等に耐性を獲得した緑膿菌がしばしば臨床分離されている（非特許文献２）。また、前記３系統薬全てに耐性を獲得した多剤耐性緑膿菌も分離されている（非特許文献３）。

【０００５】

多剤耐性緑膿菌に感染すると有用な薬剤がほとんどないことから、多剤耐性緑膿菌は、難治性の感染症疾患の起因菌として世界的に大きな問題となっている。そこで、新規作用機序を有する薬剤の開発が切望されている。

【０００６】

ＵＤＰ－３－Ｏ－アシル－Ｎ－アセチルグルコサミンデアセチラーゼ（ＬｐｘＣ）は、外膜の構成成分であるＬＰＳの疎水性アンカーであるリピドＡの合成を担う酵素である。リピドＡ生合成は１０段階の反応からなる。ＬｐｘＣはその生合成反応の第２段階を触媒し、ＵＤＰ－３－Ｏ－アシル－Ｎ－アセチルグルコサミンのアセチル基を離脱させる（非特許文献４）。リピドＡは外膜形成に必須な成分であり、結果的にグラム陰性細菌の生存に必須である（非特許文献５）。

【０００７】

すなわち、ＬｐｘＣは、リピドＡ生合成過程において律速となる重要な酵素の一つであり、リピドＡ生合成に必須な酵素である。したがって、ＬｐｘＣの活性を阻害する薬剤は、緑膿菌を含むグラム陰性細菌に対して、特に従来薬剤と異なる作用機序を有することから薬剤耐性緑膿菌に対して有効な抗菌剤になり得ることが強く期待される。

【０００８】

ＬｐｘＣ阻害剤として、アミド構造を有する阻害剤が特許文献１～１１及び非特許文献６～１３に開示されている。

【０００９】

これらの中で、マロン酸アミド骨格を有する化合物として、特許文献５及び９には、マロン酸アミド骨格及びジエチニル構造を有する化合物が開示されている。

【００１０】

特許文献５には、具体的に、シクロプロピル環をジエチニル末端部分に有する化合物５０７が開示されている。

【００１１】

また、特許文献９には、具体的に、シクロプロピル環を有する化合物として化合物２３３が開示されている。特許文献９には、化合物１９７、化合物２０９及び化合物２２１が開示され、化合物８は合成法及び抗菌活性が開示されている。

【先行技術文献】

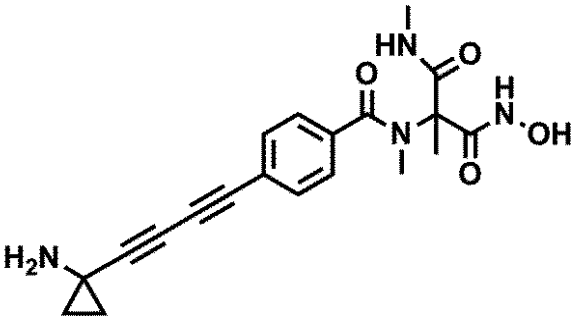
【特許文献】

【００１２】

【特許文献１】国際公開第２００４／０６２６０１号
【特許文献２】国際公開第２００７／０６９０２０号
【特許文献３】国際公開第２００８／１５４６４２号
【特許文献４】国際公開第２０１０／０３１７５０号
【特許文献５】国際公開第２０１１／１３２７１２号
【特許文献６】国際公開第２０１２／１５４２０４号
【特許文献７】国際公開第２０１３／０３９９４７号
【特許文献８】国際公開第２０１３／１７００３０号
【特許文献９】国際公開第２０１３／１７０１６５号
【特許文献１０】国際公開第２０１４／１４２２９８号

【特許文献１１】国際公開第２０１４／１６５０７５号
【非特許文献】
【００１３】
【非特許文献１】Ａｎｔｉｍｉｃｒｏｂｉａｌ Ｒｅｓｉｓｔａｎｃｅ（２００２）Ｍａｒ １，３４，ｐ．６３４－６４０．
【非特許文献２】Ｊ．Ａｎｔｉｍｉｃｒｏｂ．Ｃｈｅｍｏｔｈｅｒ．（２００３）Ｊａｎ １４，５１，ｐ．３４７－３５２．
【非特許文献３】Ｊｐｎ．Ｊ．Ａｎｔｉｂｉｏｔｉｃｓ（２００６），５９（５），ｐ．３５５－３６３．
【非特許文献４】Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．（１９９５）Ｄｅｃ ２２，２７０，ｐ．３０３８４－３０３９１．
【非特許文献５】Ｊ．Ｂａｃｔｅｒｉｏｌ．（１９８７），１６９，ｐ．５４０８－５４１５
【非特許文献６】Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．（２００２），４５，ｐ３１１２－３１２９．
【非特許文献７】Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ（２００７），１０４，ｐ１８４３３－１８４３８．
【非特許文献８】Ｃｈｅｍ．Ｂｉｏｌ．（２０１１），１８，ｐ３８－４７．
【非特許文献９】Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．（２０１１），１９，ｐ８５２－８６０．
【非特許文献１０】Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．（２０１１），２１，ｐ１１５５－１１６１．
【非特許文献１１】Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．（２０１２），１９，ｐ２０３８－２０５０．
【非特許文献１２】Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．（２０１３），２３，ｐ２３６２－２３６７．
【非特許文献１３】Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．（２０１３），５６，ｐ６９５４－６９６６．
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【００１４】
しかしながら、特許文献５に開示される化合物５０７は骨格部分のヒドロキサム酸に隣接する炭素原子にメチル基を有していない。また、置換基として無置換アミノ基をジエチニル末端部分に有する化合物も特許文献５には開示されていない。
【００１５】
また、特許文献９に開示される化合物は全てヒドロキシメチル基をシクロプロピル環上に置換基として有する化合物であり、またキラルな末端構造を有している。また、特許文献９には、置換基としてアミノ基をジエチニル末端部分に有する化合物は開示されていない。
【００１６】
本発明の課題は、緑膿菌をはじめとするグラム陰性細菌及びその薬剤耐性菌に対して強い抗菌活性を有し、医薬品として有用な新規化合物を有効成分として含有する感染症の予防及び／又は治療のために用いる医薬を提供することにある。
【課題を解決するための手段】
【００１７】
本発明者らは鋭意研究を進めた結果、ジエチニル末端部分にアキラルな置換基である１－アミノシクロプロピル基を有する、下記式［１］
【００１８】

【化１】



[1]

【００１９】

で表される２－［｛４－［４－（１－アミノシクロプロピル）ブター１，３－ジイン－１－イル］ベンゾイル｝（メチル）アミノ］－Ｎ－ヒドロキシ－Ｎ’，２－ジメチルプロパンジアミドを含有する感染症の予防及び／又は治療のために用いる医薬が上記課題を解決し得ることを見出し、本発明を完成した。

【００２０】

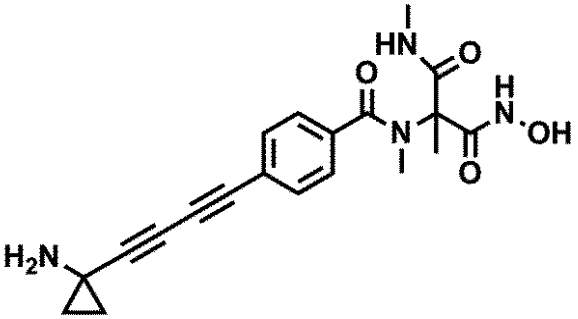
本発明は、以下のとおりである。

（１）

式［１］

【００２１】

【化２】



[1]

【００２２】

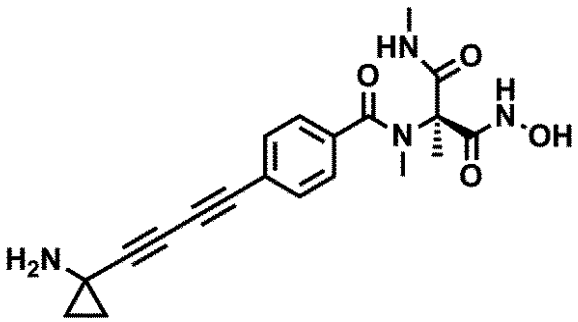
で表される２－［｛４－［４－（１－アミノシクロプロピル）ブター１，３－ジイン－１－イル］ベンゾイル｝（メチル）アミノ］－Ｎ－ヒドロキシ－Ｎ’，２－ジメチルプロパンジアミドである化合物又はその薬学的に許容される塩を有効成分として含有する感染症の予防及び／又は治療のために用いる医薬。

（２）

式［２］

【００２３】

【化３】



[2]

【００２４】

で表される（２Ｓ）－２－［｛４－［４－（１－アミノシクロプロピル）ブター１，３－ジイン－１－イル］ベンゾイル｝（メチル）アミノ］－Ｎ－ヒドロキシ－Ｎ’，２－ジメチルプロパンジアミドである化合物又はその薬学的に許容される塩を有効成分として含有する感染症の予防及び／又は治療のために用いる医薬。

【発明の効果】
【００２５】
本発明により、緑膿菌をはじめとするグラム陰性細菌及びその薬剤耐性菌に強い抗菌活性を有する新規なヒドロキサム酸誘導体を有効成分として含有する感染症の予防及び／又は治療のために用いる医薬を提供することができる。
【発明を実施するための形態】
【００２６】
以下、本発明を実施するための形態について以下詳細に説明する。なお、本発明は、以下の実施形態に限定されるものではなく、その要旨の範囲内で種々変形して実施することができる。
【００２７】
本発明において、「薬学的に許容される塩」とは、細菌感染症の化学療法及び予防において使用される塩を意味する。
【００２８】
「薬学的に許容される塩」としては、例えば、酢酸、プロピオン酸、酪酸、ギ酸、トリフルオロ酢酸、マレイン酸、酒石酸、クエン酸、ステアリン酸、コハク酸、エチルコハク酸、マロン酸、ラクトビオン酸、グルコン酸、グルコヘプトン酸、安息香酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、２－ヒドロキシエタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、パラトルエンスルホン酸（トシル酸）、ラウリル硫酸、リンゴ酸、アスパラギン酸、グルタミン酸、アジピン酸、システイン、Ｎ－アセチルシステイン、塩酸、臭化水素酸、リン酸、硫酸、ヨウ化水素酸、ニコチン酸、シュウ酸、ピクリン酸、チオシアン酸、ウンデカン酸、アクリル酸ポリマー及びカルボキシビニルポリマー等の酸との塩、モルホリン及びピペリジン等の有機アミンとの塩、並びにアミノ酸との塩などが挙げられる。
【００２９】
「薬学的に許容される塩」としては、無機塩基との塩であってもよい。無機塩基との塩としては、例えば、リチウム塩、ナトリウム塩、カリウム塩、マグネシウム塩及びカルシウム塩などが挙げられる。
【００３０】
本発明の化合物（以下、「本発明の化合物」とは、式［１］で表される化合物、式［２］で表される化合物又はそれらの薬学的に許容される塩である場合を含む意味で用いる。）は、水和物を形成していてもよく、溶媒和物を形成していてもよい。本発明の化合物が水和物又は溶媒和物を形成する場合、それらも本発明の範囲内に含まれる。
【００３１】
本発明の化合物が「溶媒和物」を形成する場合の「溶媒」とは特に示さない限り、例えば極性溶媒（例えば、メタノール、エタノール、１－プロパノール、２－プロパノール及びブタノール等のアルコール系溶媒並びに酢酸エチル等）、不活性溶媒（例えば、クロロホルム及び塩化メチレン等のハロゲン化炭化水素系溶媒、ジエチルエーテル、イソプロピルエーテル、テトラヒドロフラン及びジオキサン等のエーテル系溶媒、ジメチルホルムアミド及びジメチルアセトアミド等のアミド系溶媒、ジメチルスルホキシド及びアセトニトリル等の非プロトン性溶媒、トルエン等の芳香族炭化水素類並びにヘキサン及びシクロヘキサン等の炭化水素類など）、２－ブタノン及びアセトンなどを意味する。
【００３２】
「溶媒」としては、ここに例示した溶媒の混合溶媒であってもよい。
【００３３】
本発明において、「抗菌剤」とは、グラム陽性細菌やグラム陰性細菌といった細菌に作用してその生育を抑制又は殺菌する能力を持つ物質を意味する。菌の繁殖を抑えたり、一部の菌を殺してその数を減少させたりするようなものでもよい。
【００３４】
グラム陽性細菌としては、例えば、ブドウ球菌属（黄色ブドウ球菌及び表皮ブドウ球菌等）、連鎖球菌属（化膿連鎖球菌、Ｂ群連鎖球菌及び肺炎球菌等）、腸球菌属（エンテロ

コッカス・フェカーリス及びエンテロコッカス・フェシウム等）などが挙げられる。

【００３５】

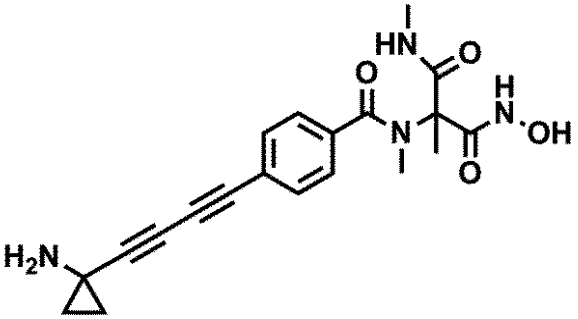
グラム陰性細菌としては、例えば、シュードモナス属（緑膿菌等）、大腸菌属（大腸菌等）、クレブシエラ属（肺炎桿菌及びクレブシエラ・オキシトカ等）、ヘモフィルス属（インフルエンザ菌及びパラインフルエンザ菌等）、ボルデテラ属（百日咳菌及び気管支敗血症菌等）、セラチア属（セラチア・マルセッセンス等）、プロテウス属（プロテウス・ブルガリス及びプロテウス・ミラビリス等）、エンテロバクター属（エンテロバクター・エアロジェネシス及びエンテロバクター・クロアカ等）、カンピロバクター属（カンピロバクター・ジェジュニ等）、シトロバクター属（シトロバクター・フレウンディ等）、プロビデンシア属（プロビデンシア・スチュアーティ等）、ステノトロフォモナス属（ステノトロフォモナス・マルトフィリア等）、ビブリオ属（腸炎ビブリオ及びコレラ菌等）、モルガネラ属（モルガネラ・モルガニ等）、サルモネラ属（チフス菌及びパラチフス菌等）、シゲラ属（赤痢菌等）、アシネトバクター属（アシネトバクター・バウマニー及びアシネトバクター・カルコアセチカス等）、レジオネラ属（レジオネラ・ニューモフィラ等）、バクテロイデス属（バクテロイデス・フラジリス等）、ナイセリア属（淋菌及び髄膜炎菌等）、モラキセラ属（モラキセラ・カタラーリス等）、クラミジア属（クラミジア・トラコマティス及びクラミジア・シッタシー等）及びヘリコバクター属（ヘリコバクター・ピロリ等）などが挙げられる。本発明の化合物はグラム陰性細菌への抗菌剤として好ましく使用することができる。

【００３６】

本発明の化合物である下記式［１］

【００３７】

【化４】



[1]

【００３８】

で表される２－［｛４－［４－（１－アミノシクロプロピル）ブター１，３－ジイン－１－イル］ベンゾイル｝（メチル）アミノ］－Ｎ－ヒドロキシ－Ｎ’，２－ジメチルプロパンジアミドには光学異性体が存在しうるが、式［１］で表される化合物には、それら光学異性体及び光学異性体の混合物が含まれる。医薬組成物や抗菌剤は、特定の光学異性体を含有してもよいし、光学異性体の混合物、とりわけラセミ体を含有してもよい。

【００３９】

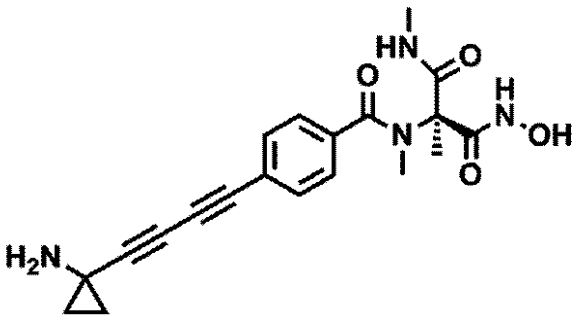
本発明の化合物は、式［１］で表される化合物及びその薬学的に許容される塩が含まれ、式［１］で表される化合物及びその薬学的に許容される塩の結晶多形も含まれる。

【００４０】

本発明の化合物の好ましい光学異性体は、下記式［２］

【００４１】

【化５】



[2]

で表される（２Ｓ）－２－［｛４－［４－（１－アミノシクロプロピル）ブタ－１，３－ジイン－１－イル］ベンゾイル｝（メチル）アミノ］－Ｎ－ヒドロキシ－Ｎ’，２－ジメチルプロパンジアミドである。

【００４２】

本発明には、式［２］で表される化合物及びその薬学的に許容される塩が含まれ、式［２］で表される化合物及びその薬学的に許容される塩の結晶多形も本発明に含まれる。

【００４３】

本発明の化合物は、一つ又は二つ以上の医薬的に許容される担体、賦形剤又は希釈剤と組み合せて医薬的組成物とすることができる。

【００４４】

上記担体、賦形剤及び希釈剤として、例えば、水、乳糖、デキストロース、フラクトース、ショ糖、ソルビトール、マンニトール、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、デンプン、ガム、ゼラチン、アルギネート、ケイ酸カルシウム、リン酸カルシウム、セルロース、水シロップ、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、メチルセルロース、ポリビニルピロリドン、アルキルパラヒドロキシベンゾソルベート、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、グリセリン及び各種油（ゴマ油、オリーブ油及び大豆油等）などが挙げられる。

【００４５】

医薬組成物には、上記担体、賦形剤又は希釈剤に必要に応じて一般に使用される増量剤、結合剤、崩壊剤、ｐＨ調整剤、溶解剤及び着香剤等の添加剤を混合してもよい。

【００４６】

医薬組成物は、常用の製剤技術によって錠剤、丸剤、カプセル剤、顆粒剤、粉剤、液剤、乳剤、懸濁剤、軟膏剤、注射剤（筋肉内注射剤及び静脈内注射剤を含む）、点滴静注剤及び皮膚貼付剤などの経口又は非経口用医薬として調製することができる。

【００４７】

本発明の化合物は、成人患者に対して３０～３０００ｍｇ、好ましくは１００～１５００ｍｇを１日１回又は数回に分けて非経口又は経口で投与することが可能である。好ましい投与形態は、点滴静脈内注射又は静脈内注射であり、より好ましい投与形態は点滴静脈内注射である。投与量は治療対象となる疾病の種類、患者の年齢、体重及び症状などに応じて、適宜増減することが可能である。また、本発明の化合物は、他の薬剤との組み合わせで使用することも可能である。

【００４８】

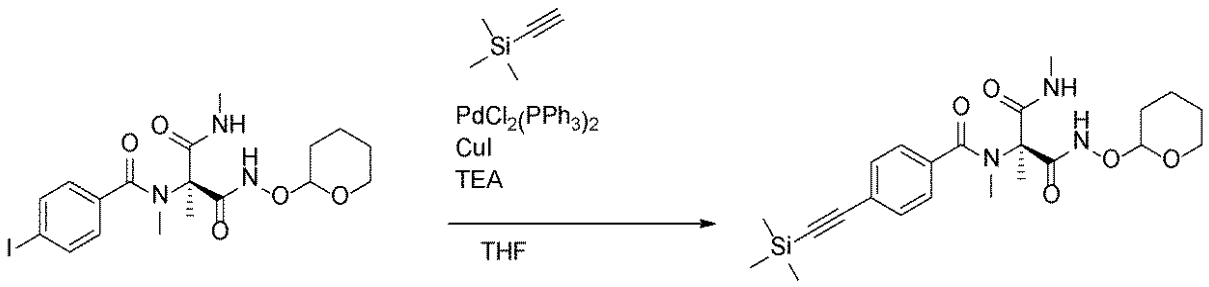
とくに、液体組成物とする際には、ｐＨ調節剤としては、とくに制限されないが、例えば塩酸、硫酸、クエン酸、酢酸、リン酸、コハク酸、乳酸、酒石酸、安息香酸等の酸性物質、また必要に応じて水酸化ナトリウム、クエン酸三ナトリウム等の塩基性物質を用いることができる。ｐＨ調節剤は、好ましくは、塩酸、クエン酸である。

【００４９】

注射剤に用いられる容器としては、ガラス製やプラスチック製が好ましく、プラスチック製の具体例としては、環状ポリオレフィン、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリカーボネート、ポリスチレン、ポリエチレンテレフタレート等が挙げられる。

【００５０】
とくに、注射剤とする際には、無菌充填にて容器に注射液を充填する他、加熱滅菌、高圧蒸気滅菌等、注射液に対する種々の公知の滅菌方法を採用することができる。
【００５１】
注射剤として液体組成物等の溶液を調製する際には、例えば滅菌蒸留水を用い滅菌状態の溶液を得たり、メンブランフィルターろ過等の滅菌処理を行う等の操作を行うこともできる。
【００５２】
一度、液体組成物とした溶液を各種の乾燥手段により、乾燥物とする方法等が挙げられる。乾燥手段としては、凍結乾燥法、スプレードライ法、減圧乾燥法等があるが、特に凍結乾燥法が好ましい。このようにして得られた水性組成物又は乾燥組成物は、注射剤、経口剤、坐剤、経粘膜投与剤及び外用剤等の製剤として使用できる。
【実施例】
【００５３】
以下に、実施例及び試験例により本発明をさらに詳細に説明する。本発明はこれらの実施例によって何ら限定されるものではない。特に、本発明における化合物の合成法は以下の方法に限定されず、各工程の順序を入れ替える、官能基の保護・脱保護を経るなど、当業者に周知の方法を用いて合成することもできる。
【００５４】
ＭＳ（マススペクトル）はＬＣＭＳ－ＩＴ－ＴＯＦ （Ｓｈｉｍａｄｚｕ）の装置にて測定した。イオン化法としては、ＥＳＩ（Ｅｌｅｃｔｒｏｓｐｒａｙ Ｉｏｎｉｚａｔｉｏｎ、エレクトロスプレーイオン化）法又は、ＥＳＩとＡＰＣＩ（Ａｔｍｏｓｐｈｅｒｉｃ Ｐｒｅｓｓｕｒｅ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｉｏｎｉｚａｔｉｏｎ、大気圧化学イオン化）法とのデュアルイオン化法を用いた。データは実測値（ｆｏｕｎｄ）を記載した。通常、分子イオンピークが観測されるが、水酸基（－ＯＨ）を有する化合物の場合、フラグメントピークとしてH_2Oが脱離したピークが観測されることもある。塩の場合は、通常、フリー体の分子イオンピーク若しくはフラグメントイオンピークが観測される。
【００５５】
高速液体クロマトグラフィーマススペクトル（ＬＣＭＳ）は、以下の条件を用いた。
測定機械：Ａｇｉｌｅｎｔ社 Ａｇｉｌｅｎｔ１２９０及びＡｇｉｌｅｎｔ社 Ａｇｉｌｅｎｔ６１３０
カラム：Ｗａｔｅｒｓ社 Ａｃｑｕｉｔｙ ＵＰＬＣ（登録商標） ＣＳＨ（登録商標） Ｃ１８ １．７μｍ ２．１ｘ５０ｍｍ
イオン化法：電子衝撃イオン化法Ｅｌｅｃｔｒｏｎ Ｓｐｒａｙ Ｉｏｎｉｚａｔｉｏｎ：ＥＳＩ）
溶媒：Ａ液；０．１％ぎ酸含有水、Ｂ液；０．１％ぎ酸含有アセトニトリル
（条件１）
流速：０．８ｍＬ／ｍｉｎ
グラジエント：０分（Ａ液／Ｂ液＝８０／２０）、１．２分（Ａ液／Ｂ液＝８０／２０）、１．４分（Ａ液／Ｂ液＝１／９９）
（条件２）
流速：０．８ｍＬ／ｍｉｎ（０分－１．２分）、１．０ｍＬ／ｍｉｎ（１．２分－１．３８分）
グラジエント：０分（Ａ液／Ｂ液＝９５／５）、１．２分（Ａ液／Ｂ液＝５０／５０）、１．３８分（Ａ液／Ｂ液＝３／９７）
【００５６】
ＮＭＲスペクトルはプロトンＮＭＲを示し、内部基準としてテトラメチルシランを用いて、δ値をｐｐｍで示した。
【００５７】
元素分析はｖａｒｉｏ ＭＩＣＲＯ ｃｕｂｅ（ｅｌｅｍｅｎｔａｒ）の装置にて測定

した。
【００５８】
ＯＨ型シリカゲルクロマトグラフィー及びＮＨ型シリカゲルクロマトグラフィーにおける担体は、グレースジャパン株式会社製ＲＥＶＥＬＥＲＩＳ（登録商標）などのパックドカラムを用いた。フェーズセパレーターは、バイオタージ株式会社製のものを用いた。
【００５９】
実施例中の略号を以下に示す。
ＡｃＯＥｔ：酢酸エチル
ＢＳＡ：Bovine Serum Albumin（ウシ血清アルブミン）
ＣｕＩ：ヨウ化銅
ＤＭＡＰＯ：４－（ジメチルアミノ）ピリジン　１－オキシド
ＨＥＰＥＳ：2-[4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl]ethanesulfonic acid
（２－［４－（２－ヒドロキシエチル）－１－ピペラジニル］エタンスルホン酸）
ＩＰＥ：ジイソプロピルエーテル
ＭｅＯＨ：メタノール
ＭＮＢＡ：２－メチル－６－ニトロ安息香酸無水物
ＮＢＳ：Ｎ－ブロモコハク酸イミド
$PdCl_2(PPh_3)_2$：ビス（トリフェニルホスフィン）パラジウム（ＩＩ）ジクロリド
スーパースティブルパラジウム：トリス｛トリス［３，５－ビス（トリフルオロメチル）フェニル］ホスフィン｝パラジウム
ｐ－ＴｓＯＨ・H_2O：ｐ－トルエンスルホン酸一水和物
ＴＥＡ：トリエチルアミン
ＴＨＦ：テトラヒドロフラン
ｓ：シングレット
ｂｒ．ｓ．：ブロードシングレット（幅広いシングレット）
ｄ：ダブレット
ｄｄ：ダブルダブレット
ｍ：マルチプレット
ｔ：トリプレット
ｑ：カルテット
本発明において、「ｐ－」は、パラを意味する。「ｎ－」はノルマルを、「ｔ－」はターシャリーを意味する。また、室温とは１０～３０度を意味し、場合によっては１～３０度を意味する。
【００６０】
実施例１
（２Ｓ）－２－［｛４－［４－（１－アミノシクロプロピル）ブタ－１，３－ジイン－１－イル］ベンゾイル｝（メチル）アミノ］－Ｎ－ヒドロキシ－Ｎ’，２－ジメチルプロパンジアミド（化合物１）
【００６１】
【化６】



【００６２】

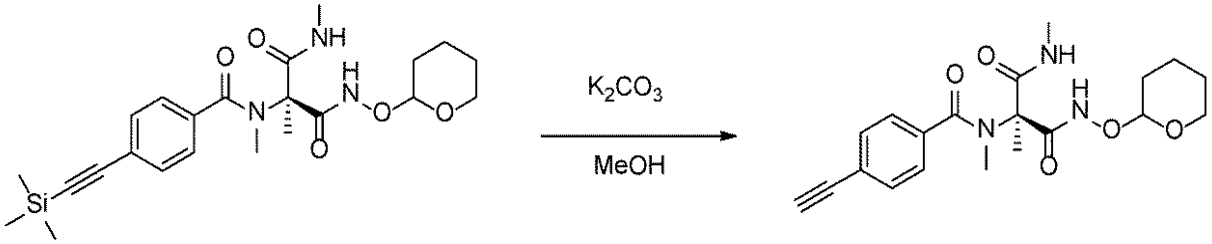
（１）窒素雰囲気下、特許文献５（国際公開第２０１１／１３２７１２号）に記載の方法で得られた（２Ｓ）－２－［（４－ヨードベンゾイル）（メチル）アミノ］－Ｎ，２－ジメチル－Ｎ’－（テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－２－イルオキシ）プロパンジアミド（１９．２ｇ）のＴＨＦ（２００ｍＬ）懸濁液に室温でＣｕＩ（０．２９９ｇ）、$PdCl_2(PPh_3)_2$（０．５５１ｇ）及びＴＥＡ（１０．９ｍＬ）を加えた。その後、トリメチルシリルアセチレン（５．０１ｇ）を５分間かけて加え、室温で２時間撹拌した。反応混合物をＮＨ型シリカゲル（クロロホルム／ＭｅＯＨ＝９５／５）でろ過、濃縮して得られた残渣をＯＨ型シリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン／ＡｃＯＥｔ＝１００／０→０／１００）で精製して得られた淡橙色固体をＩＰＥで洗浄、乾燥して（２Ｓ）－Ｎ，２－ジメチル－２－（メチル｛４－［（トリメチルシリル）エチニル］ベンゾイル｝アミノ）－Ｎ’－（テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－２－イルオキシ）プロパンジアミド（１７．６ｇ、無色固体、９７％）を得た。

ＭＳ（ＥＳＩ／ＡＰＣＩ　ｄｕａｌ）：ｍ／ｚ＝４８２（Ｍ＋Ｎａ）$^+$，４５８（Ｍ－Ｈ）$^-$

^{1}H NMR (600 MHz, CHLOROFORM-d) δ ppm 0.26 (9H, s), 1.48 - 1.90 (6H m), [1.80], 1.81 (3H , s), 2.82 - 2.87 (3H, m), [3.13], 3.15 (3H, s), 3.50 - 3.69 (1H, m), 3.82 - 4.05 (1H, m), 4.92 - 5.01 (1H, m), 7.41 - 7.48 (2H, m), 7.48 - 7.54 (2H, m), [6.99], 7.62 (1H, br. s.), [10.06], 10.47 (1H, s)

【００６３】

【化７】



【００６４】

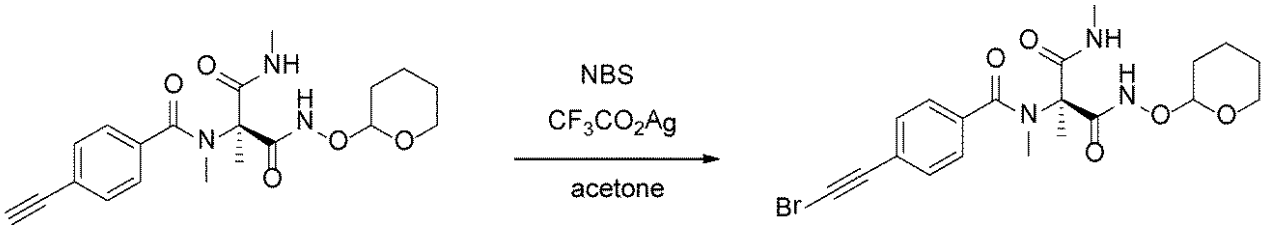
（２）実施例１－（１）で得られた化合物（１７．１ｇ）のＭｅＯＨ（２５０ｍＬ）溶液に氷冷下で炭酸カリウム（５．１４ｇ）を加え、同温で５０分間撹拌後、室温に昇温して１時間撹拌した。反応混合物を、飽和塩化アンモニウム水溶液（１．０Ｌ）とクロロホルム（１．０Ｌ）の混合物に加えて有機層を分離し、水層をクロロホルム（０．５Ｌ）で抽出した。合わせた有機層を、乾燥（硫酸マグネシウム）、ろ過、濃縮した。得られた粗精製物をＯＨ型シリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン／ＡｃＯＥｔ＝８０／２０→０／１００）で精製して得られた淡橙色固体をＩＰＥで洗浄、乾燥して（２Ｓ）－２－［（４－エチニルベンゾイル）（メチル）アミノ］－Ｎ，２－ジメチル－Ｎ’－（テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－２－イルオキシ）プロパンジアミド（１２．４ｇ、無色固体、８６％）を得た。

ＭＳ（ＥＳＩ／ＡＰＣＩ　ｄｕａｌ）：ｍ／ｚ＝４１０（Ｍ＋Ｎａ）$^+$，３８６（Ｍ－Ｈ）$^-$

^{1}H NMR (600 MHz, CHLOROFORM-d) δ ppm 1.49 - 1.91 (6H, m), [1.80], 1.81 (3H, s), 2.83 - 2.87 (3H, m), 3.12 - 3.19 (1H, m), [3.14], 3.16 (3H, s), 3.53 - 3.69 (1H, m), 3.83 - 4.05 (1H, m), 4.93 - 5.01 (1H, m), 7.44 - 7.51 (2H, m), 7.52 - 7.57 (2H, m), [6.98], 7.62 (1H, br. s.), [10.06], 10.47 (1H, s)

【００６５】

【化８】



【００６６】

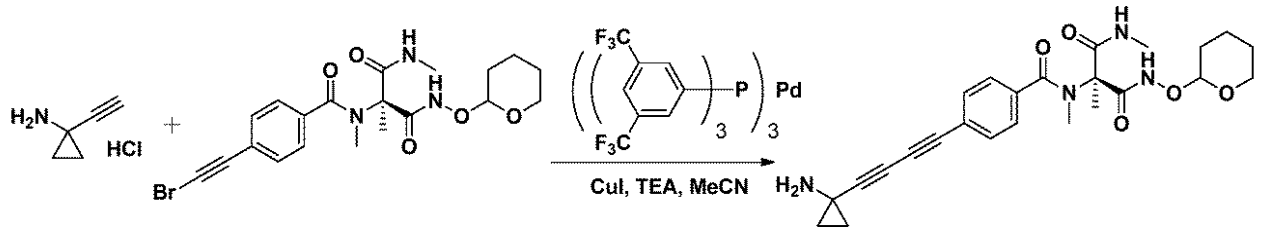
（３）ＮＢＳ（６．６２ｇ）とトリフルオロ酢酸銀（３４２ｍｇ）のアセトン（５０ｍＬ）混合物に氷冷下で、実施例１－（２）で得られた化合物（１２．０ｇ）のアセトン（１５０ｍＬ）混合物を滴下し、同温で１．５時間撹拌した。反応混合物を飽和重曹水（６００ｍＬ）に加えて０．５時間撹拌後、クロロホルム（６００ｍＬ）を加えて不溶物をろ過し、有機層を分離した。水層をクロロホルム（１００ｍＬ）で抽出した。合わせた有機層を、乾燥（無水硫酸マグネシウム）、ろ過、濃縮した。得られた残渣に水（５００ｍＬ）を加えた懸濁液を１．５時間撹拌後、ろ過、洗浄（水、５００ｍＬ）した。得られた淡橙色固体をクロロホルム（５００ｍＬ）に溶解した。得られたクロロホルム溶液を水（２００ｍＬ）で洗浄し、乾燥（無水硫酸マグネシウム）、ろ過、濃縮した。得られた淡橙色固体をＯＨ型シリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム／ＭｅＯＨ＝１００／０→９０／１０）で精製後、再結晶（ＡｃＯＥｔ／ＩＰＥ）して（２Ｓ）－２－｛［４－（ブロモエチニル）ベンゾイル］（メチル）アミノ｝－Ｎ，２－ジメチル－Ｎ’－（テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－２－イルオキシ）プロパンジアミド（８．０２ｇ、５６％）を得た。

ＭＳ（ＥＳＩ／ＡＰＣＩ　ｄｕａｌ）：ｍ／ｚ＝４８８（Ｍ＋Ｎａ）$^+$，４６４（Ｍ－Ｈ）$^-$

^{1}H NMR (600 MHz, CHLOROFORM-d) δ ppm 1.46 - 1.90 (6H, m), [1.80], 1.81 (3H, s), 2.82 - 2.87 (3H, m), [3.14], 3.16 (3H, s), 3.52 - 3.68 (1H, m), 3.82 - 4.04 (1H, m), 4.92 - 5.01 (1H, m), 7.42 - 7.53 (4H, m), [6.97], 7.61 (1H, br. s.), [10.05], 10.47 (1H, s)

【００６７】

【化９】



【００６８】

（４）文献（Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ、２０１０年、２３巻、３９６７－３９７３頁）に記載の方法により合成した１－エチニルシクロプロピルアミン塩酸塩（１．５９ｇ）のアセトニトリル（５０ｍＬ）溶液にＴＥＡ（４．３５ｇ）、スーパースティブルパラジウム（５４７ｍｇ）及びＣｕＩ（４９ｍｇ）を加え、実施例１－（３）で得られた化合物のアセトニトリル（１０ｍＬ）溶液を１０分かけて滴下し、窒素雰囲気下、室温で１時間した。反応液をろ過後、ろ液を減圧下濃縮し、得られた残留物をＯＨ型シリカゲルクロマトグラフィー（ヘキサン／ＡｃＯＥｔ＝５０／５０→０／１００）にて精製して、（２Ｓ）－２－［｛４－［４－（１－アミノシクロプロピル）ブタ－１，３－ジイン－１－イル］ベンゾイル｝（メチル）アミノ］－Ｎ，２－ジメチル－Ｎ’－（テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－２－イルオキシ）プロパンジアミドを得た（２．４２ｇ、淡黄色泡状物、６０％）。

ＬＣＭＳ保持時間：０．８１分（条件２）

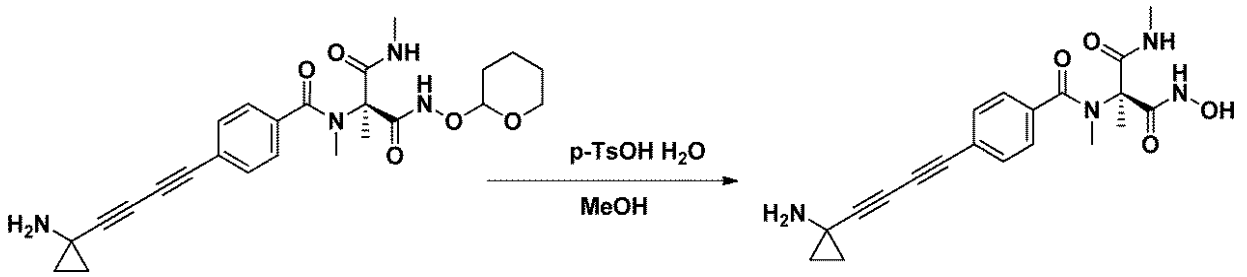
ＭＳ（ＥＳＩ）：ｍ／ｚ＝４６５（Ｍ－Ｈ）$^-$

^{1}H NMR (600 MHz, CHLOROFORM-d) δ ppm 1.00 - 1.02 (2H, m), 1.06 - 1.08 (2H, m),

1.39 - 2.13 (6H, m), [1.79], 1.80 (3H, s), 2.83 - 2.85 (3H, m), [3.13], 3.16 (3H, s), 3.55 - 3.66 (1H, m), 3.84 - 4.02 (1H, m), 4.89 - 5.00 (1H, m), 7.41 - 7.55 (4H, m), [6.97], 7.61 (1H, br. s.), [10.07], 10.48 (1H, br. s.)

【００６９】

【化１０】



【００７０】

（５）実施例１－（４）で得られた化合物（２．３９ｇ）のＭｅＯＨ溶液（５０ｍＬ）にｐ－ＴｓＯＨ・Ｈ$_2$Ｏ（１．４６ｇ）を加え、室温で１時間攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム溶液を加え、クロロホルムで抽出後、有機層を飽和食塩水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥した後に乾燥剤を濾別し、溶媒を減圧下留去した。得られた残留物をＯＨ型シリカゲルクロマトグラフィー（クロロホルム／ＭｅＯＨ＝１００／０→８５／１５）にて精製して、（２Ｓ）－２－［｛４－［４－（１－アミノシクロプロピル）ブター１，３－ジイン－１－イル］ベンゾイル｝（メチル）アミノ］－Ｎ－ヒドロキシ－Ｎ’，２－ジメチルプロパンジアミド（化合物１、１．６９ｇ、淡黄色固体、８６％）を得た。

ＬＣＭＳ保持時間：０．５３分（条件２）

ＭＳ（ＥＳＩ）：ｍ／ｚ＝３８１（Ｍ－Ｈ）$^-$

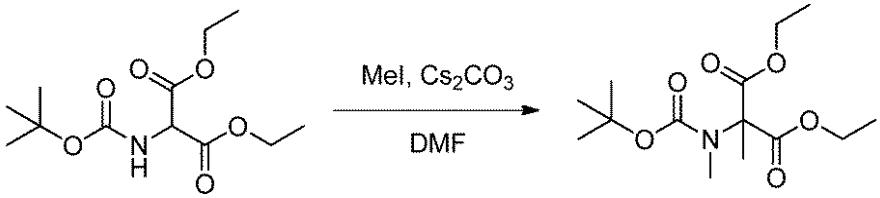
^{1}H NMR (600 MHz, CD3OD) δ ppm 0.95 - 1.00 (2H, m), 1.02 - 1.06 (2H, m), 1.76 (3H, s), 2.78 (3H, s), 3.13 (3H, s), 7.47 - 7.60 (4H, m)

【００７１】

化合物１は、以下に示す方法によっても合成することができる。

【００７２】

【化１１】



【００７３】

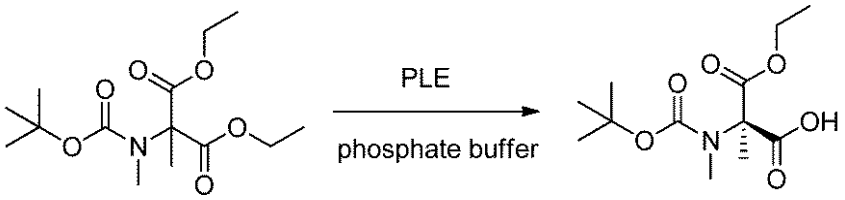
（６）２－（（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）アミノ）マロン酸ジエチル（２５・７ｇ）のジメチルホルムアミド（２５０ｍＬ）溶液に、炭酸セシウム１２２ｇを加えた後、水浴下でヨウ化メチル（２３．２ｍＬ）を滴下した。滴下終了後、反応系を密閉系にして室温で５日間攪拌した。反応液に水を加え、ｎ－ヘキサン／ＡｃＯＥｔ＝４／１溶液（７００ｍＬ）を加えて抽出後、有機層を飽和塩化アンモニウム水溶液及び飽和食塩水で順次洗浄した。有機層に無水硫酸マグネシウム及び活性炭（２ｇ）を加えて１時間攪拌し、セライト（登録商標）濾過した。濾液を減圧下濃縮して、２－（（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）（メチル）アミノ）－２－メチルマロン酸ジエチルを得た（２５．０ｇ、淡黄色油状物、８８％）。

ＭＳ（ＥＳＩ／ＡＰＣＩ　ｄｕａｌ）：ｍ／ｚ＝３２６（Ｍ＋Ｎａ）$^+$

^{1}H NMR (600 MHz, CHLOROFORM-d) δ ppm 1.27 (6H, t, J=7.0 Hz), 1.38 - 1.47 (9H, m), 1.68 (3H, s), 2.87 (3H, s) 4.22 (4H, q, J=7.0 Hz)

【００７４】

【化１２】



【００７５】

（７）実施例１－（６）で得られた化合物（２２．８ｇ）に、リン酸バッファー水溶液（６８０ｍＬ）を加え、これにＰＬＥ（Ｐｉｇ　Ｌｉｖｅｒ　Ｅｓｔｅｒａｓｅ、豚肝臓エステラーゼ）（３４２ｍｇ）を加えて室温で２６時間攪拌した。リン酸バッファー水溶液は、０．２Ｍのリン酸二水素ナトリウム水溶液（６５ｍＬ）及び０．２Ｍのリン酸水素二ナトリウム水溶液（４３５ｍＬ）の混合物を水で希釈して１０００ｍＬにしたものを用いた。反応液に１ｍｏｌ／Ｌの水酸化ナトリウム水溶液（７５ｍＬ）を加えてｐＨ８～９に調整した後、トルエン（０．５Ｌ）を用いて抽出した。この際に混合液が泡状になったため、セライト（登録商標）濾過を２度実施した。抽出後得られた水層にリン酸（２０ｍＬ）を加えてｐＨ２～３に調整し、ＡｃＯＥｔ（１Ｌ）を用いて抽出した。この際にも混合液が泡状になったため、セライト（登録商標）濾過を実施した。得られた有機層に無水硫酸マグネシウムを加えて乾燥した後に乾燥剤を濾別し、溶媒を減圧下留去した。残留物をＡｃＯＥｔ（０．２Ｌ）に溶かして活性炭（１．８ｇ）を加えて１時間攪拌した。活性炭を濾別し溶媒を減圧下留去して、（Ｒ）－２－（（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）（メチル）アミノ）－３－エトキシ－２－メチル－３－オキソプロパン酸を得た（１８．０ｇ、淡黄色シロップ状物、８７％、ｅｅ＞９９％）。

ＭＳ（ＥＳＩ／ＡＰＣＩ　ｄｕａｌ）：ｍ／ｚ＝２９８（Ｍ＋Ｎａ）$^{+}$

^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1.11 - 1.19 (3H, m), 1.32 (9H, br. s.), 1.54 (3H, s), 2.73 (3H, s), 4.02 - 4.13 (2H, m)

【００７６】

実施例１－（７）で得られた化合物のキラル分析は、以下の要領で実施した。

【００７７】

測定機器は、島津製作所製高速液体クロマトグラフィーを用いた。各機器の型番は以下の通りである。

ポンプ：ＬＣ－３０ＡＤ、オートサンプラー：ＳＩＬ－３０ＡＣ、カラムオーブン：ＣＴＯ－２０ＡＣ、光ダイオードアレイ検出器：ＳＰＤ－Ｍ２０Ａ、デガッサー：ＤＧＯ－２０Ａ５Ｒ。

【００７８】

キラルカラムは、株式会社ダイセル製ＡＤ３を、４．６×１５０ｍｍと４．６×２５０ｍｍを直列連結して用いた。展開溶媒はｎ－ヘキサン／エタノール＝９８／２、流速は１．０ｍＬ／毎分であった。

【００７９】

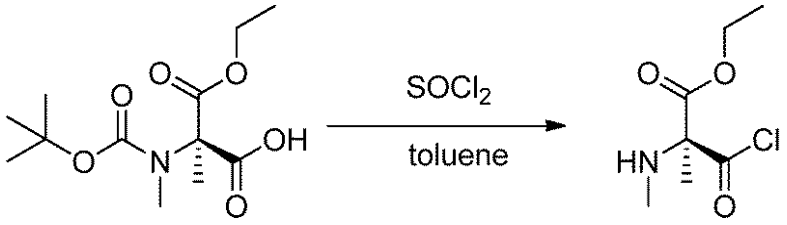
２１０ｎｍにおける吸収波長で検出し、２－（（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）（メチル）アミノ）－３－エトキシ－２－メチル－３－オキソプロパン酸のラセミ体のピークの保持時間は、（Ｓ）体が２６．５分、（Ｒ）体が３７．９分であった。

【００８０】

上記条件のもとで実施例１－（７）で得られた化合物の分析を実施した結果、（Ｒ）体のみが検出され、（Ｓ）体は検出限界以下であった。鏡像体過剰率（ｅｅ）は＞９９％であった。

【００８１】

【化１３】



【００８２】

（８）実施例１－（７）で得られた化合物（１３．３ｇ）のトルエン（１２１ｍＬ）溶液に氷冷下で塩化チオニル（１０．５ｍＬ）を滴下し、室温に昇温して１６時間撹拌した。反応混合物を減圧濃縮して（Ｓ）－３－クロロ－２－メチル－２－（メチルアミノ）－３－オキソプロパン酸エチルを粗精製物として得た（９．３７ｇ、褐色固体）。

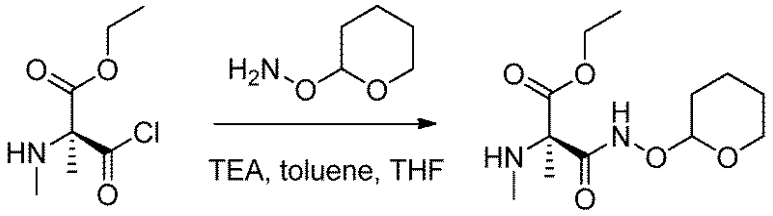
^{1}H NMR (600 MHz, CHLOROFORM-d) δ ppm 1.30 (3H, t, J=7.8 Hz), 1.72 (3H, s), 2.93 (3H, s), 4.23 - 4.33 (2H, m)

Anal.cald for $C_7H_{12}ClNO_3$: C, 43.42; H, 6.25; N, 7.23;

Found : C, 45.49; H, 6.09; N, 6.75;

【００８３】

【化１４】



【００８４】

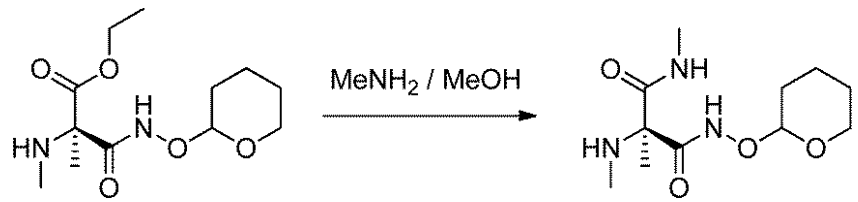
（９）Ｏ－（テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－２－イル）ヒドロキシルアミン（１．００ｇ）をトルエンで２回共沸乾燥後、トルエン（５．０ｍＬ）を加えた溶液にＴＥＡ（３．５７ｍＬ）を加え、氷冷下で実施例１－（８）で得られた化合物（１．９５ｇ）のトルエン（２５ｍＬ）／ＴＨＦ（５．０ｍＬ）混合物を５分間かけて滴下し、室温に昇温して１６時間撹拌した。反応混合物にＡｃＯＥｔ（１０ｍＬ）を加えた懸濁液をろ過し、ろ液を濃縮して得られた粗精製物をＯＨ型シリカゲルクロマトグラフィー（ヘキサン／ＡｃＯＥｔ＝５０／５０→０／１００）にて精製して、（２Ｒ）－２－メチル－２－（メチルアミノ）－３－オキソ－３－（（（テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－２－イル）オキシ）アミノ）プロパン酸エチルを得た（１．７８ｇ、淡褐色油状物、７６％）。

ＭＳ（ＥＳＩ／ＡＰＣＩ　ｄｕａｌ）：ｍ／ｚ＝２７５（Ｍ＋Ｈ）$^+$，２７３（Ｍ－Ｈ）$^-$

^{1}H NMR (600 MHz, CHLOROFORM-d) δ ppm 1.25 - 1.30 (3H, m), 1.43 - 1.90 (6H, m), [1.529] 1.532 (3H, s), 2.30 (3H, s), 3.58 - 3.67 (1H, m), 3.88 - 4.00 (1H, m), 4.13 - 4.34 (2H, m), 4.82 - 5.02 (1H, m), 9.68 (1H, br. s.)

【００８５】

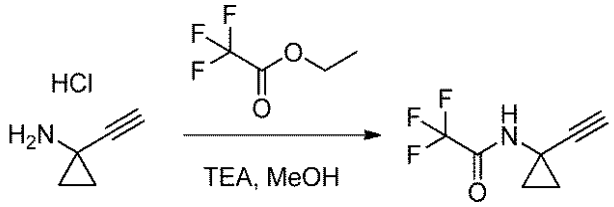
【化１５】



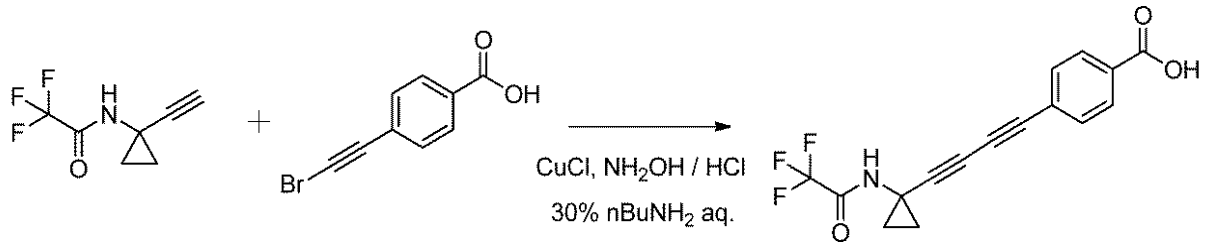
【００８６】

（１０）実施例１－（９）で得られた化合物（５４０ｍｇ）に、４０％のメチルアミンメタノール溶液（６．０ｍＬ）を室温で加え、４９時間撹拌した。反応液を減圧下濃縮し、得られた残渣をＯＨ型シリカゲルクロマトグラフィー（ヘキサン／ＡｃＯＥｔ＝５０／５

０→０／１００→クロロホルム／ＭｅＯＨ＝１９／１）にて精製して、（２Ｓ）－Ｎ，２－ジメチル－２－（メチルアミノ）－Ｎ’－（（テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－２－イル）オキシ）マロンアミドを得た（４３３ｍｇ、淡黄色油状物、８５％）。
ＬＣＭＳ保持時間：０．２８分（条件２）
ＭＳ（ＥＳＩ）：ｍ／ｚ＝２６０（Ｍ＋Ｈ）$^{+}$
^{1}H NMR (600 MHz, CHLOROFORM-d) δ ppm 1.48 - 1.94 (6H, m), [1.529] 1.532 (3H, s), 2.29 (3H, d, J=4.5 Hz), 2.84 (3H, dd, J=5.0, 1.2 Hz), 3.62 - 3.70 (1H, m), 3.93 - 4.06 (1H, m), 4.93 - 5.03 (1H, m), 7.60 - 7.91 (1H, m), 10.72 (1H, br. s.)
【００８７】
【化１６】



【００８８】
（１１）１－エチニルシクロプロピルアミン塩酸塩（１０．０ｇ）のＭｅＯＨ（１００ｍＬ）溶液に、ＴＥＡ（１４．２ｍＬ）を室温で加え、５分撹拌した。反応液にエチルトリフルオロアセテート（１１．２ｍＬ）を室温で加えて終夜撹拌した。反応液を減圧下濃縮し、水を加えてＡｃＯＥｔにて２回抽出した。得られた有機層を合わせて、飽和塩化アンモニウム水溶液で洗浄した後、得られた有機層に無水硫酸マグネシウムを加えて乾燥した後に乾燥剤を濾別し、溶媒を減圧下留去した。残渣よりＮ－（１－エチニルシクロプロピル）－２，２，２－トリフルオロアセトアミドを得た（１４．９ｇ、淡黄色固体、９９％）。
ＭＳ（ＥＳＩ／ＡＰＣＩ　ｄｕａｌ）：ｍ／ｚ＝２００（Ｍ＋Ｎａ）$^{+}$
^{1}H NMR (600 MHz, CHLOROFORM-d) δ ppm 1.19 - 1.23 (2H, m), 1.35 - 1.43 (2H, m), 2.23 (1H, s), 6.74 (1H, br. s.)
【００８９】
【化１７】

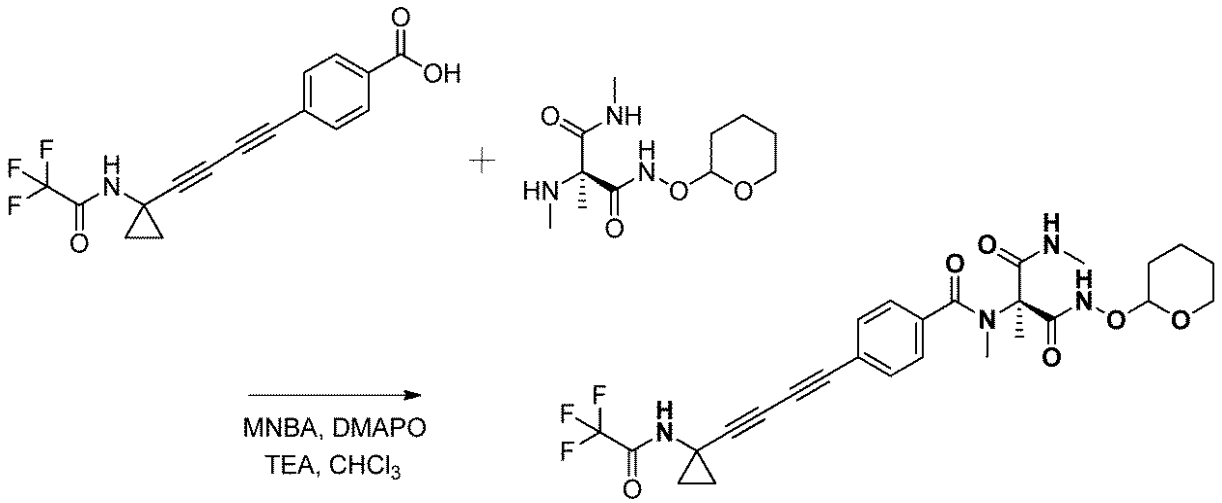


【００９０】
（１２）塩化銅（Ｉ）（４４ｍｇ）を３０％ブチルアミン水溶液（７４．１ｍＬ）に溶解し、ヒドロキシルアミン塩酸塩（３６．７ｍｇ）を加えた。反応液に、Ｎ－（１－エチニルシクロプロピル）－２，２，２－トリフルオロアセトアミド（４．３ｇ）を加えた後、直ちに反応液を氷冷し、５分撹拌した。反応液に４－ブロモエチニル安息香酸（５．０ｇ）を加えて室温に昇温したのち、ヒドロキシルアミン塩酸塩（２２．０ｍｇ）を加えて３０分撹拌した。反応液に飽和塩化アンモニウム水溶液を加えて、ＡｃＯＥｔで２回抽出した。得られた有機層に無水硫酸マグネシウムを加えて乾燥した後に乾燥剤を濾別し、溶媒を減圧下留去した。得られた淡黄色固体をＩＰＥで洗浄、乾燥して４－（（１－（２，２，２－トリフルオロアセトアミド）シクロプロピル）ブタ－１，３－ジイン－１－イル）安息香酸を得た（１．８ｇ、淡紫色固体、２５％）。
ＭＳ（ＥＳＩ／ＡＰＣＩ　ｄｕａｌ）：ｍ／ｚ＝３４４（Ｍ＋Ｎａ）$^{+}$
^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1.18 - 1.29 (2H, m), 1.32 - 1.43 (2H, m), 7.62

(2H, d, J=8.3 Hz), 7.83 - 7.97 (2H, m), 10.23 (1H, s)

【００９１】

【化１８】



【００９２】

（１３）実施例１－（１０）で得られた（２Ｓ）－Ｎ，２－ジメチル－２－（メチルアミノ）－Ｎ’－（（テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－２－イル）オキシ）マロンアミド（４５．０ｍｇ）のクロロホルム（３．５ｍＬ）溶液に、実施例１－（１２）で得られた４－（（１－（２，２，２－トリフルオロアセトアミド）シクロプロピル）ブター１，３－ジイン－１－イル）安息香酸（５０．２ｍｇ）、ＴＥＡ（７２．６μＬ）、ＤＭＡＰＯ（４．８ｍｇ）、ＭＮＢＡ（７７．７ｍｇ）を加えて、室温で４日間撹拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムにて３回抽出した。得られた有機層を合わせてフェーズセパレーターにて乾燥後、減圧留去した。得られた残渣をＯＨ型シリカゲルクロマトグラフィー（クロロホルム／ＭｅＯＨ＝９８／２→８０／２０）にて精製して、（２Ｓ）－Ｎ，２－ジメチル－２－（Ｎ－メチル－４－（（１－（２，２，２－トリフルオロアセトアミド）シクロプロピル）ブター１，３－ジイン－１－イル）ベンズアミド）－Ｎ’－（（テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－２－イル）オキシ）マロンアミド（淡黄色固体）を得た（３３．０ｍｇ，３４％）。

ＭＳ（ＥＳＩ／ＡＰＣＩ　ｄｕａｌ）：ｍ／ｚ＝５８５（Ｍ＋Ｎａ）$^{+}$

^{1}H NMR (600 MHz, CHLOROFORM-d) δ ppm 1.27 - 1.34 (2H, m), 1.41 - 1.51 (2H, m), 1.49 - 1.90 (9H, m), 2.84 (3H, m), 3.15 (3H, m), 3.50 - 3.74 (1H, m), 3.83 - 4.09 (1H, m), 4.86 - 5.06 (1H, m), 6.94 - 7.62 (6H, m), 9.98 - 10.57 (1H, m)

【００９３】

実施例１－（１３）で得られた（２Ｓ）－Ｎ，２－ジメチル－２－（Ｎ－メチル－４－（（１－（２，２，２－トリフルオロアセトアミド）シクロプロピル）ブター１，３－ジイン－１－イル）ベンズアミド）－Ｎ’－（（テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－２－イル）オキシ）マロンアミドのトリフルオロアセチル基を脱保護することによって、実施例１－（４）で得られた化合物と同一の化合物を得ることができる。さらに実施例１－（５）の方法でテトラヒドロピラニル基を脱保護することによって、化合物１を得ることができる。トリフルオロアセチル基の脱保護方法としては例えば、Ｐ．Ｇ．Ｍ．ワッツら、プロテクティブ・グループス・イン・オーガニック・シンセシス（Ｐｒｏｔｅｃｔｉｖｅ　Ｇｒｏｕｐｓ　ｉｎ　Ｏｒｇａｎｉｃ　Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ）第４版、２００６年、ジョン・ウィリイ・アンド・サンズ社（Ｊｏｈｎ　Ｗｉｌｅｙ　＆　Ｓｏｎｓ，ＩＮＣ．）に記載されている方法が挙げられる。

【００９４】

１－エチニルシクロプロピルアミン塩酸塩のアミノ基に対する保護基は、実施例１－（１１）に記載したトリフルオロアセチル基に限るものではなく、上記の「プロテクティブ・グループス・イン・オーガニック・シンセシス」に記載されているような通常よく知ら

れたアミノ基の保護基で保護することも可能である。アミノ基の保護基としては、ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル基やエトキシカルボニル基のようなカーバメート系の保護基又はトリチル基などが挙げられる。例えば、１－エチニルシクロプロピルアミン塩酸塩のアミノ基をトリチル基で保護する事で１－エチニル－Ｎ－トリチルシクロプロピルアミンを得た後、実施例１－（１２）及び１－（１３）と同様の方法を実施し、さらに上記「プロテクティブ・グループス・イン・オーガニック・シンセシス」に記載されているような適切な脱保護方法を用いて、トリチル基及びテトラヒドロピラニル基を順次、あるいは同時に脱保護することによって、化合物１を得ることができる。

【００９５】

本発明において化合物１は注射用蒸留水に加えて撹拌溶解し、また必要に応じてｐＨ調節剤を加えた後に用量調整し、このものをプラスチック製シリンジに充填した後、加熱滅菌等し注射剤とすることができる。

【００９６】

また、本発明において化合物１は、適宜、賦形剤や結合剤を加えて混合後、流動層造粒機等によって造粒、乾燥し、篩過し化合物１を含む顆粒として、これをカプセルに充填しカプセル剤としたり、打錠し錠剤とすることができる。

【００９７】

本発明化合物の作用は以下の試験により確認された。

【００９８】

試験例１　抗菌活性評価試験

最小発育阻止濃度（ＭＩＣ）測定はＣＬＳＩ（クリニカル　アンド　ラボラトリー　スタンダーズ　インスティテュート）標準法に準じ、下記に示す微量液体希釈法を用いた。

【００９９】

Ｌｅｇｉｏｎｅｌｌａ　ｐｎｅｕｍｏｐｈｉｌｉａ　ＡＴＣＣ３３１５２については、ＢＣＹＥ寒天培地で７２時間培養した被検菌体を掻き取り、マクファーランド０．５相当に懸濁し、得られた懸濁液を１０倍に希釈して接種菌液とした。接種菌液０．００５ｍＬを、被検化合物を含む、ＢＹＥα培地に接種し、３５℃にて７２時間培養した。

【０１００】

Ｈａｅｍｏｐｈｉｌｕｓ　ｉｎｆｌｕｅｎｚａ　ＡＴＣＣ４３０９５については、チョコレートII寒天培地で２４時間培養した被検菌体を掻き取り、マクファーランド０．５相当に懸濁し、得られた懸濁液を１０倍に希釈して接種菌液とした。接種菌液０．００５ｍＬを、被検化合物を含む、ＨＴＭ培地に接種し、３５℃にて２２時間培養した。

【０１０１】

上述の菌株以外の菌株については、ハートインフュージョン寒天培地で１晩培養した被検菌体を掻き取り，マクファーランド０．５相当に懸濁し、得られた懸濁液を１０倍に希釈して接種菌液とした。接種菌液０．００５ｍＬを、被検化合物を含む、カチオン調整ミューラーヒントン培地、または終濃度が５％となるようにヒト血清アルブミン（ＨＳＡ）を添加したカチオン調整ミューラーヒントン培地に接種し、３５℃にて１８時間培養した。菌の発育が肉眼的に認められない最小の薬剤濃度をもってＭＩＣとした。

【０１０２】

化合物１の試験結果を表１に示した。

【０１０３】

【表１】
表１　各種グラム陰性細菌に対する化合物１のＭＩＣ（μｇ／ｍＬ）

菌株名		MIC（μg/mL）
Pseudomonas aeruginosa	TS88	0.25
Pseudomonas aeruginosa	TS88（HSA 添加）	1
Pseudomonas aeruginosa	ATCC27853	2
Pseudomonas aeruginosa	TS109（MEPM 耐性）	2
Pseudomonas aeruginosa	4249（CPFX 耐性）	4
Pseudomonas aeruginosa	5569（MDRP）	1
Escherichia coli	ATCC25922	0.5
Escherichia coli	5748	0.12
Escherichia coli	5799	0.25
Klebsiella pneumoniae	ATCC13883	1
Klebsiella pneumoniae	4085	1
Klebsiella pneumoniae	ATCC BAA-1705	1
Klebsiella oxytoca	ATCC　43086	1
Enterobacter cloacae	ATCC 13047	0.12
Enterobacter aerogenes	ATCC 13048	0.5
Serratia marcescens	ATCC 13880	0.5
Citrobacter freundii	ATCC 8090	0.25
Morganella morganii	ATCC 25830	0.12
Providencia stuartii	ATCC 29914	0.12
Proteus vulgaris	ATCC 29905	0.06
Proteus mirabilis	ATCC 29906	1
Stenotrophomonas maltophilia	ATCC 13636	16
Legionella pneumophilia	ATCC 33152	0.015
Haemophilus influenzae	ATCC 43095	0.03

表１の備考：ＭＥＰＭ（メロペネム）、ＣＰＦＸ（シプロフロキサシン）、ＭＤＲＰ（多剤耐性緑膿菌）

【０１０４】
試験例２　感受性分布試験
緑膿菌３０株及び肺炎桿菌２７株の臨床分離株の最小発育阻止濃度（ＭＩＣ）を測定し、９０％の菌株の発育を阻止したＭＩＣをＭＩＣ$_{90}$として算出した。各臨床分離株のＭＩＣ測定は試験例１で示したものと同様に行った。

【０１０５】
化合物１のＭＩＣ$_{90}$は、緑膿菌では２μｇ／ｍＬであり、肺炎桿菌では２μｇ／ｍＬであった。

【０１０６】
試験例３　感染動物における薬理効果試験
細菌として、緑膿菌ＴＳ８８株（臨床分離株）を用いた。ハートインフュージョン寒天培地で１晩培養した菌体を掻き取り、生理食塩液に懸濁してマクファーランド３．５相当となるように調製した。得られた懸濁液を３ｗ／ｖ％ムチン含有生理食塩液にて約６ｘ１０^{5}ＣＦＵ／ｍＬとなるよう希釈し、接種菌液とした。マウス（ＩＣＲ系、雄性、４．５週齢）に接種菌液０．５ｍＬを腹腔内接種して感染させ、接種１時間後に化合物１（６．２５ｍｇ／ｋｇ）又は媒体（１１ｗ／ｖ％β－シクロデキストリンスルホブチルエーテルナトリウム塩（カプチゾル：登録商標、Ｌｉｇａｎｄ社））を静脈内投与した。

【０１０７】
化合物１投与群での接種３日後における生存率は１００％（８例中８例生存）、媒体投与群での生存率は０％（８例全例死亡）であった。

【０１０８】

試験例４　溶解度測定試験
化合物１の過剰量に生理食塩水０．５ｍＬを加え、塩酸を加えてｐＨ４に調整した後、２４時間振とうした。振とう後の溶解量をＨＰＬＣ（高速液体クロマトグラフィー）により測定し、溶解度を測定した。本試験は２５℃で実施した。
【０１０９】
化合物１の溶解度は、１５．６ｍｇ／ｍＬであった。
【０１１０】
試験例５　血清タンパク結合試験
血清タンパク結合率は平衡透析法を用いて評価した。
【０１１１】
ヒト血清及びマウス血清に化合物１のジメチルスルホキシド溶液を添加し、１μｇ／ｍＬ血清試料を調製した。平衡透析装置の膜の一方に各種血清試料、反対側にリン酸バッファー（ｐＨ７．４）を添加し、３７℃で４時間インキュベートした。インキュベーション終了後、血清試料及びリン酸バッファーをサンプリングし、アセトニトリル／ＭｅＯＨ（９：１）を加え、遠心分離した。ＬＣ－ＭＳ／ＭＳにて上清中化合物１の濃度を測定し、血清タンパク結合率を算出した。
【０１１２】
化合物１のヒト及びマウスにおける血清タンパク結合率は、それぞれ５９．３％、６１．８％であった。
【０１１３】
試験例６　ラット最大耐用量（ＭＴＤ）試験
化合物１の０（対照）、４００、６００及び８００ｍｇ／ｋｇを雄１～３例／群のＳＤラットに単回静脈内投与（１０ｍＬ／ｋｇ、３ｍＬ／ｍｉｎ）して、その最大耐用量（ＭＴＤ）について検討した。対照群には、１１％カプチゾル（登録商標、Ｌｉｇａｎｄ社）（ｐＨ４）を同様に投与した。
【０１１４】
８００ｍｇ／ｋｇ群の１／１例で死亡が認められた。死亡例では、投与中に紅涙、体をよじる及び鳴く行動が認められ、投与終了直後に死亡した。死因は明らかではなかった。
【０１１５】
生存例では、４００及び６００ｍｇ／ｋｇ群で紅涙、体をよじる及び鳴く行動、尾の変色（青紫色）、６００ｍｇ／ｋｇ群で腹臥位が認められた。
【０１１６】
剖検では特筆すべき変化は認められなかった。
【０１１７】
対照群では著変は認められなかった。
【０１１８】
以上より、化合物１を雄性ラットに単回静脈内投与した時、８００ｍｇ／ｋｇで死亡が認められ、ＭＴＤは６００ｍｇ／ｋｇと推定された。
【０１１９】
試験例７　ｈＥＲＧチャネル結合試験
ヒト型ｈＥＲＧチャネル安定発現細胞より調製した膜画分を、結合試験用緩衝液［終濃度；１０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ（ｐＨ７．４）、７１．５ｍＭ　ＮａＣｌ、６０ｍＭ　ＫＣｌ、２ｍＭ　$MgCl_2$、１ｍＭ　$CaCl_2$、０．１％　ＢＳＡ］にて希釈した。予め試験化合物が分注された９６穴プレートに、膜画分（終濃度３０μｇ／ｍＬ）、［^{35}S］ＭＫ－４９９（終濃度０．５ｎＭ）を添加して、室温で７５分間反応させた。反応液をＧＦ／Ｃフィルタープレート上に吸引濾過し、洗浄用緩衝液［終濃度；１０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ（ｐＨ７．４）、１３１．５ｍＭ　ＮａＣｌ、２ｍＭ　$MgCl_2$、１ｍＭ　$CaCl_2$］で５回洗浄し、４５℃で乾燥させた。乾燥したフィルタープレートにＭｉｃｒｏＳｃｉｎｔ－Ｏを添加し、トップカウントＮＸＴを用いて放射活性を測定した。
【０１２０】

上記反応において、試験化合物存在下で得られた［^{35}Ｓ］ＭＫ－４９９結合量との差を特異的結合量とし、ＭＫ－４９９存在下で得られた［^{35}Ｓ］ＭＫ－４９９結合量を非特異的結合量とした。試験化合物非存在下での特異的結合量に対する試験化合物存在下での特異的結合量から、濃度反応曲線のシグモイド解析を行ない、IC_{50}値を算出した。

【０１２１】

化合物１のIC_{50}値は、３０μＭ以上であった。

【０１２２】

試験例８　麻酔下モルモット心血管系に対する安全性薬理試験

化合物１の０（対照）及び７０ｍｇ／ｋｇを３０分間で麻酔下モルモットに静脈内持続投与（５ｍＬ／ｋｇ／３０ｍｉｎ）し、心電図に対する影響を検討した。対照群には、１１％カプチゾル（登録商標、Ｌｉｇａｎｄ社）（ｐＨ４）を同様に投与した。人工呼吸及びペントバルビタール麻酔下において、心電計を用いて四肢標準誘導（第ＩＩ誘導）心電図を測定し、試験物質投与開始１５分前から投与終了３０分後まで５分間隔で解析を実施した。Ｂａｚｅｔｔ式（ＱＴｃＢ＝ＱＴ／√ＲＲ）を用いて補正ＱＴｃＢを求め、ベースライン値［試験物質の投与前３ポイント（－１５、－１０及び－５分）の平均値］からの変化率（ΔＱＴｃＢ）を算出した。

【０１２３】

化合物１の投与終了時のΔＱＴｃＢは－０．１％、最大で＋０．２％（投与開始後２０分及び４５分）であり（対照群：－４．６～－１．０％）、ＱＴｃＢについて被験物質投与による明らかな影響は認められなかった。化合物１は安全性にも優れることが確認できた。

【産業上の利用可能性】

【０１２４】

本発明の新規なヒドロキサム酸誘導体は、緑膿菌をはじめとするグラム陰性細菌及びその薬剤耐性菌に強い抗菌活性を有し、感染症の予防及び／又は治療のための医薬として利用可能である。