



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0074995
(43) 공개일자 2011년07월05일

(51) Int. Cl.

C07D 239/54 (2006.01) C07D 239/52 (2006.01)

A61K 31/515 (2006.01) A61K 31/505 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-7009356

(22) 출원일자(국제출원일자) 2009년10월27일

심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2011년04월25일

(86) 국제출원번호 PCT/US2009/062147

(87) 국제공개번호 WO 2010/062573

국제공개일자 2010년06월03일

(30) 우선권주장

12/605,584 2009년10월26일 미국(US)

61/108,595 2008년10월27일 미국(US)

(71) 출원인

폴리메딕스, 인코포레이티드

미국 펜실베이니아주 19087. 래드너, 쉬트 300, 엔.
래드너 체스터 로드 170

(72) 발명자

데그란도, 윌리엄, 에프

미국, 펜실베이니아 19063, 매디아, 뱅크로프트 로드 502

뤼, 다후이

미국, 펜실베이니아 19096, 윈우드, 도버 로드 822

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

최덕규

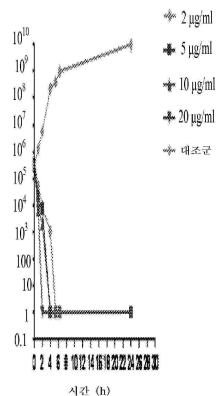
전체 청구항 수 : 총 51 항

(54) 숙주 방어의 합성 모사체 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 아릴아미드 화합물 및 항생제로서 이를 제조하고 사용하는 방법을 제공한다.

대표도 - 도1a



(72) 발명자

스코트, 리차드, 더블유

미국, 펜실베이니아 19087, 래드너, 엔. 래드너 체스
털 로드 170

쑤, 용지앙

미국, 펜실베이니아 19087, 웨인, 벨셀 로드 651

탕, 하이즈홍

미국, 뉴저지 08648, 로우렌스빌, 지-1, 프랭클린
코넬 로드 161

콜크작, 보제나

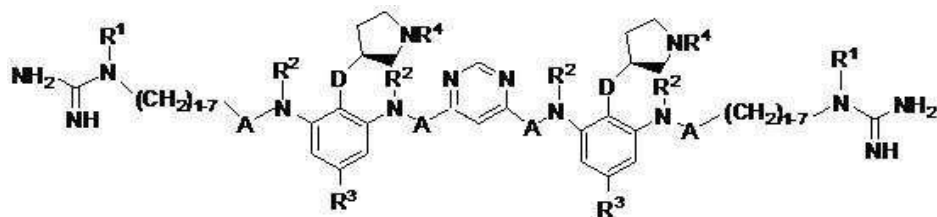
미국, 펜실베이니아 19087, 웨이네, 슈트 104, 빌딩
디, 슈가타운 로드 219

특허청구의 범위

청구항 1

화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염;

화학식 I



위의 화학식 I에서,

각각의 A는, 독립적으로, -C=O, -C=S, 또는 -CH₂이고;

각각의 D는, 독립적으로, O 또는 S이고;

각각의 R¹은, 독립적으로, 수소, C₁-₃알킬, C₁-₃알콕시, 할로, 또는 할로C₁-₃알킬이고;

각각의 R²는, 독립적으로, 수소, C₁-₃알킬, C₁-₃알콕시, 할로, 또는 할로C₁-₃알킬이고;

각각의 R³은, 독립적으로, 수소, C₁-₄알킬, C₁-₄알콕시, 할로, 또는 할로C₁-₄알킬이며;

각각의 R⁴는, 독립적으로, 수소, C₁-₃알킬, C₁-₃알콕시, 할로, 또는 할로C₁-₃알킬이다.

청구항 2

제1항에 있어서, 각각의 A가 -C=O인 화합물 또는 염.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 각각의 D가 O인 화합물 또는 염.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중의 어느 한 항에 있어서, 각각의 R¹이, 독립적으로, 수소, 메틸, 에틸, 메톡시, 에톡시, 할로, 또는 할로C₁-₃알킬인 화합물 또는 염.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중의 어느 한 항에 있어서, 각각의 R¹이, 독립적으로, 수소, 메틸, 메톡시, 할로, 또는 할로C₁-₃알킬인 화합물 또는 염.

청구항 6

제1항 내지 제3항 중의 어느 한 항에 있어서, 각각의 R¹이, 독립적으로, 수소, 메틸, 또는 메톡시인 화합물 또는 염.

청구항 7

제1항 내지 제3항 중의 어느 한 항에 있어서, 각각의 R¹이 수소인 화합물 또는 염.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중의 어느 한 항에 있어서, 각각의 R^2 가, 독립적으로, 수소, 메틸, 에틸, 메톡시, 에톡시, 할로, 또는 할로 C_{1-3} 알킬인 화합물 또는 염.

청구항 9

제1항 내지 제7항 중의 어느 한 항에 있어서, 각각의 R^2 가, 독립적으로, 수소, 메틸, 메톡시, 또는 할로인 화합물 또는 염.

청구항 10

제1항 내지 제7항 중의 어느 한 항에 있어서, 각각의 R^2 가 수소인 화합물 또는 염.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중의 어느 한 항에 있어서, 각각의 R^3 이, 독립적으로, 수소, 메틸, 에틸, 메톡시, 에톡시, 할로, 또는 할로 C_{1-3} 알킬인 화합물 또는 염.

청구항 12

제1항 내지 제10항 중의 어느 한 항에 있어서, 각각의 R^3 이, 독립적으로, 메틸, 메톡시, 할로, 또는 할로 C_{1-3} 알킬인 화합물 또는 염.

청구항 13

제1항 내지 제10항 중의 어느 한 항에 있어서, 각각의 R^3 이, 독립적으로, 할로 또는 할로 C_{1-3} 알킬인 화합물 또는 염.

청구항 14

제1항 내지 제10항 중의 어느 한 항에 있어서, 각각의 R^3 이, 독립적으로, 할로 C_{1-3} 알킬인 화합물 또는 염.

청구항 15

제1항 내지 제10항 중의 어느 한 항에 있어서, 각각의 R^3 이 트리플루오로메틸인 화합물 또는 염.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중의 어느 한 항에 있어서, 각각의 R^4 가, 독립적으로, 수소, 메틸, 에틸, 메톡시, 에톡시, 또는 할로 C_{1-3} 알킬인 화합물 또는 염.

청구항 17

제1항 내지 제15항 중의 어느 한 항에 있어서, 각각의 R^4 가, 독립적으로, 수소, 메틸, 메톡시, 할로, 또는 할로 C_{1-3} 알킬인 화합물 또는 염.

청구항 18

제1항 내지 제15항 중의 어느 한 항에 있어서, 각각의 R^4 가, 독립적으로, 수소, 메틸, 메톡시, 또는 할로인 화합물 또는 염.

청구항 19

제1항 내지 제15항 중의 어느 한 항에 있어서, 각각의 R^4 가 수소인 화합물 또는 염.

청구항 20

제1항에 있어서,

각각의 A가, 독립적으로, $-C=O$ 또는 $-C=S$ 이고;

각각의 D는, 독립적으로, O 또는 S이고;

각각의 R^1 은, 독립적으로, 수소, 메틸, 에틸, 메톡시, 에톡시, 할로, 할로메틸, 또는 할로에틸이고;

각각의 R^2 는, 독립적으로, 수소, 메틸, 메톡시, 할로, 또는 할로메틸이고;

각각의 R^3 은, 독립적으로, C_{1-3} 알킬, C_{1-3} 알콕시, 할로, 또는 할로알킬이며;

각각의 R^4 는, 독립적으로, 수소, 메틸, 에틸, 메톡시, 에톡시, 할로, 할로메틸, 또는 할로에틸인 화합물 또는 염.

청구항 21

제1항에 있어서,

각각의 A는, 독립적으로, $-C=O$ 또는 $-C=S$ 이고;

각각의 D는, 독립적으로, O 또는 S이고;

각각의 R^1 은, 독립적으로, 수소, 메틸, 메톡시, 할로, 또는 할로메틸이고;

각각의 R^2 는, 독립적으로, 수소, 할로, 또는 할로메틸이고;

각각의 R^3 은, 독립적으로, 메틸, 에틸, 메톡시, 에톡시, 할로, 할로메틸, 또는 할로에틸이며;

각각의 R^4 는, 독립적으로, 수소, 메틸, 에틸, 메톡시, 에톡시, 할로, 할로메틸, 또는 할로에틸인 화합물 또는 염.

청구항 22

제1항에 있어서,

각각의 A는 $-C=O$ 이고;

각각의 D는 O이고;

각각의 R^1 은, 독립적으로, 수소, 할로, 또는 할로메틸이고;

각각의 R^2 는, 독립적으로, 수소 또는 할로이고;

각각의 R^3 은, 독립적으로, 메틸, 메톡시, 할로, 또는 할로메틸이며;

각각의 R^4 는, 독립적으로, 수소, 메틸, 메톡시, 할로, 또는 할로메틸인 화합물 또는 염.

청구항 23

제1항에 있어서,

각각의 A는 $-C=O$ 이고;

각각의 D는 O이고;

각각의 R^1 은, 독립적으로, 수소 또는 할로이고;

각각의 R^2 는, 독립적으로, 수소 또는 할로이고;

각각의 R^3 은, 독립적으로, 메틸, 할로, 또는 할로메틸이며;

각각의 R^4 는, 독립적으로, 수소, 메틸, 할로, 또는 할로메틸인 화합물 또는 염.

청구항 24

제1항에 있어서,

각각의 A는 $-C=O$ 이고;

각각의 D는 O이고;

각각의 R^1 은, 독립적으로, 수소 또는 할로이고;

각각의 R^2 는, 독립적으로, 수소 또는 할로이고;

각각의 R^3 은, 독립적으로, 할로 또는 할로메틸이며;

각각의 R^4 는, 독립적으로, 수소 또는 할로인 화합물 또는 염.

청구항 25

제1항에 있어서,

각각의 A는 $-C=O$ 이고;

각각의 D는 O이고;

각각의 R^1 은, 독립적으로, 수소 또는 할로이고;

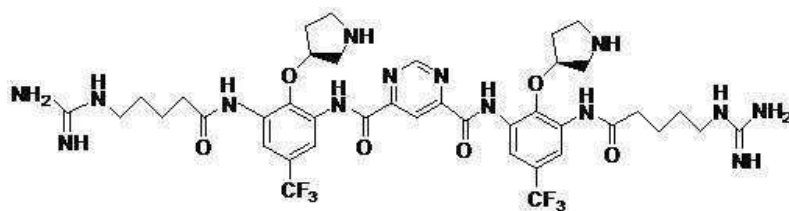
각각의 R^2 는, 독립적으로, 수소 또는 할로이고;

각각의 R^3 은, 독립적으로, 메틸, 할로, 또는 할로메틸이며;

각각의 R^4 는, 독립적으로, 수소, 메틸, 할로, 또는 할로메틸인 화합물 또는 염.

청구항 26

아래의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염:



청구항 27

제1항 내지 제26항 중의 어느 한 항의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 28

제1항 내지 제26항 중의 어느 한 항의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 제형으로, 여기서 상기 제형은 정제수, 프로필렌 글리콜, PEG 400, 글리세린, DMA, 에탄올, 벤질 알콜, 시트르산/시트르산나트륨(pH 3), 시트르산/시트르산나트륨(pH 5), 트리스(하이드록시메틸)아미노 메탄 HCl(pH 7.0), 0.9% 식염수, 및

1.2% 식염수, 또는 이의 임의의 조합으로부터 선택된 부형제를 포함하는 제형.

청구항 29

제1항 내지 제26항 중의 어느 한 항의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 제형으로, 여기서 상기 제형은 프로필렌 글리콜, 정제수, 및 글리세린으로부터 선택된 부형제를 포함하는 제형.

청구항 30

제1항 내지 제26항 중의 어느 한 항의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 제형으로, 여기서 상기 제형은 식염수 중의 20% w/v 프로필렌 글리콜, 식염수 중의 30% w/v 프로필렌 글리콜, 식염수 중의 40% w/v 프로필렌 글리콜, 식염수 중의 50% w/v 프로필렌 글리콜, 정제수 중의 15% w/v 프로필렌 글리콜, 정제수 중의 30% w/v 프로필렌 글리콜, 정제수 중의 50% w/v 프로필렌 글리콜, 정제수 중의 30% w/v 프로필렌 글리콜 및 5 w/v 에탄올, 정제수 중의 15% w/v 글리세린, 정제수 중의 30% w/v 글리세린, 정제수 중의 50% w/v 글리세린, 정제수 중의 20% w/v 클렙토스(Kleptose), 정제수 중의 40% w/v 클렙토스, 및 정제수 중의 25% w/v 캡티솔(Captisol)로부터 선택된 부형제를 포함하는 제형.

청구항 31

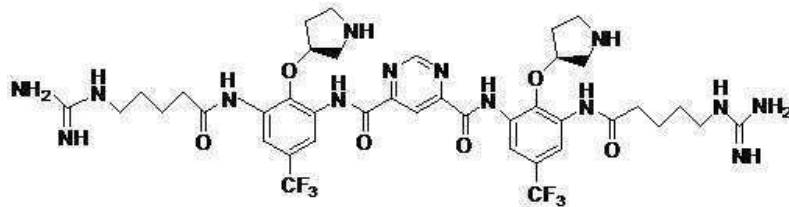
제1항 내지 제26항 중의 어느 한 항의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 제형으로, 여기서 상기 제형은 정제수 중의 50% w/v 프로필렌 글리콜, 정제수 중의 15% w/v 글리세린, 정제수 중의 20% w/v 클렙토스, 정제수 중의 40% w/v 클렙토스, 및 정제수 중의 25% w/v 캡티솔로부터 선택된 부형제를 포함하는 제형.

청구항 32

제1항 내지 제26항 중의 어느 한 항의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 제형으로, 여기서 상기 제형은 정제수 중의 20% w/v 클렙토스, 정제수 중의 20% w/v 프로필렌 글리콜, 및 정제수 중의 15% w/v 글리세린으로부터 선택된 부형제를 포함하는 제형.

청구항 33

정제수 중의 20% w/v 클렙토스에서, 아래의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 제형:



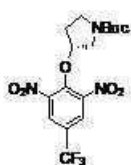
청구항 34

제33항에 있어서, 상기 화합물이 50 mg/mL에서 존재하는 제형.

청구항 35

a) (R)-(-)-N-Boc-3-피롤리디놀을 강염기와 반응시켜 혼합물을 형성하고; 혼합물을 2-클로로-5-(트리플루오로메틸)-1,3-디니트로벤젠과 추가로 반응시켜 화학식 II의 화합물을 형성하는 단계;

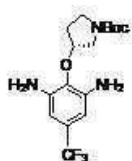
화학식 II



b) 화학식 II의 화합물을, 수소의 존재하에 알콜 및 전이 금속 촉매와 반응시켜 화학식 III의 화합물을 형성하

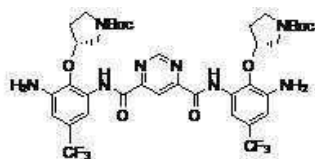
는 단계;

화학식 III



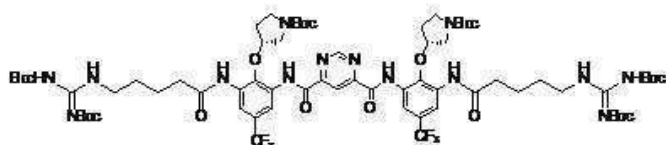
c) 화학식 III의 화합물 및 피리미딘-4,6-디카복실산을 2-클로로-4,6-디메톡시-1,3,5-트리아진 및 N-메틸모르폴린의 혼합물에 가하여 화학식 IV의 화합물을 형성하는 단계;

화학식 IV



d) 화학식 IV의 화합물을 N-Boc-구아니딘 부틸산과 반응시켜 화학식 V의 화합물을 형성하는 단계; 및

화학식 V



e) 화학식 V의 화합물을 탈보호시켜 제26항의 화합물을 생성하는 단계를 포함하는 제26항의 화합물의 제조방법.

청구항 36

제35항에 있어서,

단계 a)에서, 상기 강 염기가 NaH이고;

단계 b)에서, 상기 전이 금속 촉매가 Pd/C이며, 상기 알콜이 에탄올인 방법.

청구항 37

a) (R)-3-하이드록시피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를 탈보호시키고, 생성 화합물을 2-클로로-1,3-디니트로-5-트리플루오로메틸벤젠과 반응시켜 (R)-3-(2,6-디니트로-4-트리플루오로메틸페녹시)피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를 형성하는 단계;

b) (R)-3-(2,6-디니트로-4-트리플루오로메틸페녹시)피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를, 알콜, 전이 금속 촉매, 및 수소의 존재하에 환원시켜 (R)-3-(2,6-디아미노-4-트리플루오로메틸페녹시)-피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를 형성하는 단계;

c) (R)-3-(2,6-디아미노-4-트리플루오로메틸페녹시)-피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를, 1-[(3-(디메틸아미노)-프로필)]-3-에틸카보디이미드 하이드로클로라이드의 존재하에 피리미딘-4,6-디카복실산과 커플링시켜 피리미딘-4,6-디카복실산 비스-{[3-아미노-2-((R)-1-(3급-부톡시카보닐)피롤리딘-3-일옥시)-5-트리플루오로메틸-페닐]아미드}를 형성하는 단계;

d) 피리미딘-4,6-디카복실산 비스-{[3-아미노-2-((R)-1-(3급-부톡시카보닐)피롤리딘-3-일옥시)-5-트리플루오로메틸-페닐]아미드}를, 포스포러스 옥시클로라이드의 존재하에 ([3-(3급-부톡시카보닐)아미노][3-(3급-부톡시카보닐)이미노]메틸)아미노)펜타노익산과 반응시켜 피리미딘-4,6-디카복실산 비스-{[3-(5-([3-(3급-부톡시카보닐)아미노][3-(3급-부톡시카보닐)이미노]메틸)아미노)-펜타노일아미노]-2-((R)-1-(3급-부톡시카보닐)-피롤리딘-3-일옥시)-5-트리플루오로메틸-페닐]-아미드}를 형성하는 단계;

e) 피리미딘-4,6-디카복실산 비스-([3-(5-((3급-부톡시카보닐)아미노)[(3급-부톡시카보닐)이미노]메틸)아미노)-펜타노일아미노)-2-((R)-1-(3급-부톡시카보닐)-피롤리딘-3-일옥시)-5-트리플루오로메틸-페닐]-아미드}를 탈보호시켜 조 피리미딘-4,6-디카복실산 비스-([3-(5-구아니디노-펜타노일아미노)-2-((R)-피롤리딘-3-일옥시)-5-트리플루오로메틸-페닐]-아미드}테트라하이드로클로라이드를 형성하는 단계; 및

f) 조 피리미딘-4,6-디카복실산 비스-([3-(5-구아니디노-펜타노일아미노)-2-((R)-피롤리딘-3-일옥시)-5-트리플루오로메틸-페닐]-아미드}테트라하이드로클로라이드를 역상 크로마토그래피에 의해 정제시키는 단계를 포함하는 제26항의 화합물의 제조방법.

청구항 38

a) (R)-3-하이드록시피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를 탈보호시키고, 추가로, 생성된 화합물을 2-클로로-1,3-디니트로-5-트리플루오로메틸벤젠과 반응시켜 (R)-3-(2,6-디니트로-4-트리플루오로메틸페녹시)피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를 형성하는 단계;

b) (R)-3-(2,6-디니트로-4-트리플루오로메틸페녹시)피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를, 알콜, 전이 금속 촉매, 및 수소의 존재하에 환원시켜 (R)-3-(2,6-디아미노-4-트리플루오로메틸페녹시)-피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를 형성하는 단계;

c) (R)-3-(2,6-디아미노-4-트리플루오로메틸페녹시)-피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를, 1-[(3-(디메틸아미노)-프로필)]-3-에틸카보디이미드 하이드로클로라이드의 존재하에 피리미딘-4,6-디카복실산과 커플링시켜 피리미딘-4,6-디카복실산 비스-([3-아미노-2-((R)-1-(3급-부톡시카보닐)피롤리딘-3-일옥시)-5-트리플루오로메틸-페닐]아미드}를 형성하는 단계;

d) 피리미딘-4,6-디카복실산 비스-([3-아미노-2-((R)-1-(3급-부톡시카보닐)피롤리딘-3-일옥시)-5-트리플루오로메틸-페닐]아미드}를 티오닐 클로라이드의 존재하에 N-Cbz 산과 반응시키는 단계;

e) d)의 생성 화합물을, 알콜, 전이 금속 촉매, 및 수소의 존재하에 환원시키는 단계;

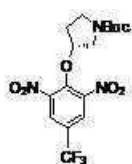
f) e)의 생성 화합물을 디-Boc 피라졸과 반응시키는 단계; 및

g) f)의 생성 화합물을 탈보호시켜 제26항의 화합물을 생성하는 단계를 포함하는 제26항의 화합물의 제조방법.

청구항 39

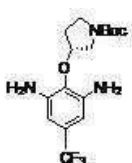
a) (R)-(-)-N-Boc-3-피롤리디놀을 강염기와 반응시켜 혼합물을 형성하고; 추가로, 혼합물을 2-클로로-5-(트리플루오로메틸)-1,3-디니트로벤젠과 반응시켜 화학식 II를 갖는 화합물을 형성하는 단계;

화학식 II



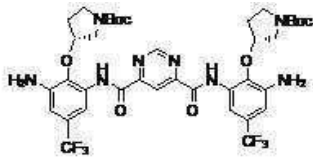
b) 화학식 II의 화합물을, 수소의 존재하에 알콜 및 전이 금속 촉매와 반응시켜 화학식 III의 화합물을 형성하는 단계;

화학식 III



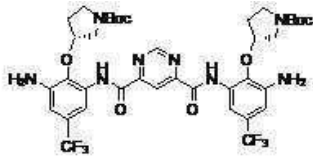
c1) 화학식 III의 화합물 및 피리미딘-4,6-디카복실산을 2-클로로-4,6-디메톡시-1,3,5-트리아진 및 N-메틸모르폴린의 혼합물에 가하여 화학식 IV의 화합물을 형성하는 단계; 또는

화학식 IV



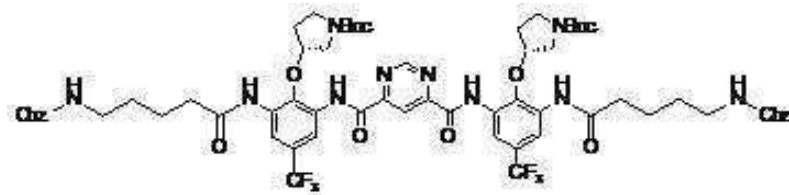
c2) 화학식 III의 화합물 및 피리미딘-4,6-디카복실산을 1-에틸-3-[3-(디메틸아미노)프로필]-카보디이미드 하이드로클로라이드(EDC1) 및 무수 피리딘의 혼합물에 가하여 화학식 IV의 화합물을 형성하는 단계;

화학식 IV



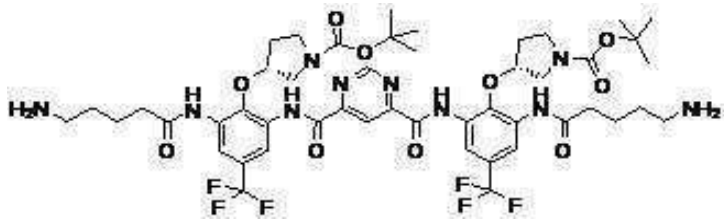
d) N-Cbz 산을 갖는 화학식 IV의 화합물을 무수 피리딘, 디메틸아미노프로필아민, 및 티오닐 클로라이드, POCl_3 , $(\text{EtO})_2\text{POCl}$, 또는 옥살릴 클로라이드 중의 임의의 하나를 포함하는 용액에 가하여 화학식 Va의 화합물을 형성하는 단계;

화학식 Va



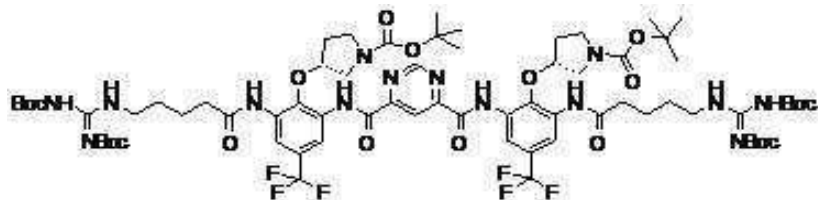
e) 화학식 Va의 화합물의 Cbz 그룹을 수소화반응시켜 화학식 VI의 화합물을 생성하는 단계;

화학식 VI



f) 화학식 VI의 화합물을 보호시켜 화학식 VII의 화합물을 생성하는 단계; 및

화학식 VII



g) 화학식 VII의 화합물을 탈보호시켜 제26항의 화합물의 약제학적으로 허용되는 염을 생성하는 단계를 포함하는, 제26항의 화합물의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법.

청구항 40

미생물을 제1항 내지 제26항 중의 어느 한 항의 화합물과 접촉시키는 단계를 포함하여, 미생물의 성장을 억제하

는 방법.

청구항 41

미생물 감염의 치료가 필요한 포유동물에게 제1항 내지 제26항 중의 어느 한 항의 화합물의 항-미생물학적 유효량을 투여함을 포함하여, 미생물 감염을 갖는 포유동물을 치료하는 방법.

청구항 42

제40항 또는 제41항에 있어서, 상기 미생물 또는 미생물 감염이 그람-음성 호기성균, 그람-양성 호기성균, 그람-음성 혐기성균, 그람-양성 혐기성균, 또는 효모인 방법.

청구항 43

제42항에 있어서, 상기 그람-음성 호기성균이 에스케리치아 콜라이(*Escherichia coli*), 시트로박터 프레운디(*Citrobacter freundii*), 시트로박터 디베루스(*Citrobacter diverus*), 시트로박터 코세리(*Citrobacter koseri*), 엔테로박터 클로아케(*Enterobacter cloacae*), 엔테로박터 파에칼리스(*Enterobacter faecalis*), 클렙시엘라 뉴모니아(*Klebsiella pneumonia*), 클렙시엘라 옥시토카(*Klebsiella oxytoca*), 모르가넬라 모르가니(*Morganella morganii*), 프로비덴시아 스투아티(*Providencia stuartii*), 프로테우스 불가리스(*Proteus vulgaris*), 프로테우스 미라빌리스(*Proteus mirabilis*), 세라티아 마르세스센스(*Serratia marcescens*), 아시네토박터 해몰리티쿠스(*Acinetobacter haemolyticus*), 아시네토박터 주니(*Acinetobacter junii*), 아시네토박터 로피(*Acinetobacter lwoffii*), 해모필러스 인플루엔자(*Haemophilus influenzae*), 스테노트로포모나스 말토포리아(*Stenotrophomonas maltophilia*), 또는 슈도모나스 아에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*)인 방법.

청구항 44

제42항에 있어서, 상기 그람-양성 호기성균이 엔테로코커스-파에칼리스(*Enterococcus faecalis*), 엔테로코커스 파에쿰(*Enterococcus faecium*), 마이코박테리움 튜버쿨로시스(*Mycobacterium tuberculosis*), 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*), 스타필로코커스 뉴모니아(*Staphylococcus pneumoniae*), 스타필로코커스 에피더미디스(*Staphylococcus epidermidis*), 스타필로코커스 사프로피티쿠스(*Staphylococcus saprophyticus*), 스타필로코커스 콜미(*Staphylococcus colmii*), 스타필로코커스 스키후리(*Staphylococcus sciuri*), 스타필로코커스 와르네리(*Staphylococcus warneri*), 스트렙토코커스 아갈락티에(*Streptococcus agalactiae*), 스트렙토코커스 피오케네스(*Streptococcus pyogenes*), 스트렙토코커스 안지노서스(*Streptococcus anginosus*), 스트렙토코커스 미티스(*Streptococcus mitis*) 또는 스트렙토코커스 오랄리스(*Streptococcus oralis*)인 방법.

청구항 45

제42항에 있어서, 상기 그람-음성 혐기성균이 박테로이데스 프라질리스(*Bacteroides fragilis*)인 방법.

청구항 46

제42항에 있어서, 상기 그람-양성 혐기성균이 클로스트리디움 디피실(*Clostridium difficile*) 또는 클로스트리디움 퍼프린젠스(*Clostridium perfringens*)인 방법.

청구항 47

제42항에 있어서, 상기 효모가 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*) 또는 칸디다 크루세이(*Candida krusei*)인 방법.

청구항 48

미생물 감염을 치료하기 위한, 1항 내지 제26항 중의 어느 한 항에 따른 화합물.

청구항 49

미생물 감염 치료용 약제를 제조하는데 사용하기 위한, 제1항 내지 제26항 중의 어느 한 항에 따른 화합물.

청구항 50

미생물 성장을 억제하는 제1항 내지 제26항 중의 어느 한 항의 화합물의 용도.

청구항 51

포유동물 내 미생물 감염을 치료하는 제1항 내지 제26항 중의 어느 한 항의 화합물의 용도.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 아릴아미드 화합물 및 이를 제조하고 사용하는 방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 항미생물 펩타이드(AMP)는 다수의 종에 대한 미생물에 대해 최전선 방어를 나타낸다. AMP는 전형적으로 작은(12 개 내지 80개의 아미노산) 양이온성 양친매체이다. 리보솜 및 비리보솜으로 합성된 펩타이드를 포함하여 2 종류의 AMP가 존재한다. 700개 이상의 AMP가 인식되어왔고, 일반적으로는 α -나선형[마가이닌(magainin) 및 세크로핀(cecropin)] 또는 디설파이드-리치 β -시트(disulfide-rich β -sheet)[박테네신(bactenecin) 및 디펜신(defensin)]이다. 펩타이드는 다수의 상이한 서열로 이루어지지만, 이의 생리화학적 특성은 현저하게 유사하다. 이들은 제2 구조의 한 면에 분리된 양성 전하된 그룹 및 상반된 표면 상에 소수성 그룹을 가진 양쪽친화성 구조체를 채택했다. 포유동물에서, 펩타이드는 피부, 점막 표면 및 호중구에서 생산되고 분비되며, 침입에 반응하여 국소적으로 작용한다. 이는 이들 펩타이드의 생물학적 활성에 주로 책임이 있는 전체적인 생리화학적 특성이다.

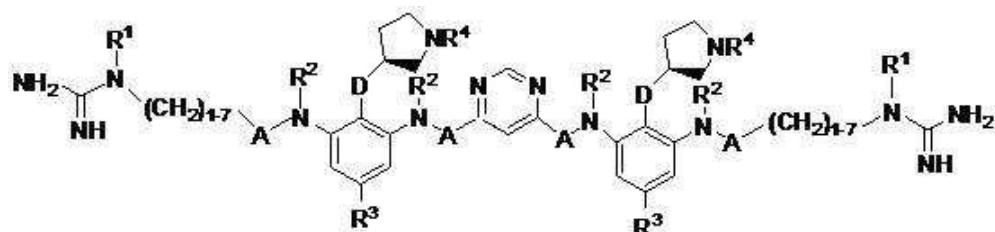
[0003] 숙주 방어 단백질의 일부 항미생물학적 활성은 직접적인 세포독성 작용 및 본질적인 면역 시스템의 조절과 연결되어 왔다. 이의 직접적인 항미생물학적 활성은 막 및 막이 아닌 영향 둘 다를 포함하도록 제안된다. 항미생물학적 펩타이드는, 이들의 작용 메커니즘이 독성 기질에 대한 내성을 유도하는 박테리아 반응에 반대하는 것을 암시하면서 진화 시간에 걸쳐 박테리아 감염에 대한 효과적인 무기로 남아있다. 이 전제는 항미생물 펩타이드의 작용에 대한 인지가 가능한 내성이 펩타이드의 치사-이하의 농도의 존재하에 박테리아의 복합 일련 통로(multiple serial passage) 이후에 발생함을 나타내는 직접적인 실험 데이터에 의해 지지된다.

[0004] 다수의 항생제의 유용성을 제한하는 내성 문제를 피하는 새로운 타겟을 공격하는 신규한 항미생물제의 개발에 대한 시급한 요구성이 존재한다. 추가로, 이들 새로운 제제는 박테리아가 효과적으로 저항하지 않는 메커니즘을 통해 항미생물학적 활성을 발휘해야 한다. 일련의 비-펩타이드 유사체의 작은 규모로 인해 안정성을 증가시키며 조직 분포를 향상시키고 잠재력 및 안정성의 최적화에 대한 이의 물리학적 특성을 미세-조절하는 능력을 향상시키는 펩타이드에 대한 다수의 잇점을 가지는 일련의 비-펩타이드 유사체가 개발되어 왔다. 항미생물 펩타이드의 구조적 특성을 모방하는 일련의 아릴아미드 화합물은 포유동물 세포에 대해 강력한 항미생물학적 활성 및 넓은 선택성 비율을 갖는 것으로 밝혀졌다.

[0005] 발명의 요약

[0006] 본 발명은 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 제공한다:

[0007] 화학식 I



[0008]

[0009] 위의 화학식 I에서, 각각의 A는, 독립적으로, -C=O, -C=S, 또는 -CH₂이고; 각각의 D는, 독립적으로 O 또는 S이고; 각각의 R¹은 독립적으로, 수소, C₁-₃알킬, C₁-₃알콕시, 할로, 또는 할로C₁-₃알킬이고; 각각의 R²는, 독립적으로, 수소, C₁-₃알킬, C₁-₃알콕시, 할로, 또는 할로C₁-₃알킬이고; 각각의 R³은, 독립적으로, 수소, C₁-₄알킬, C₁-₄알콕시, 할로, 또는 할로C₁-₄알킬이며; 각각의 R⁴는, 독립적으로, 수소, C₁-₃알킬, C₁-₃알콕시, 할로, 또는 할로

C₁₋₃알킬이다.

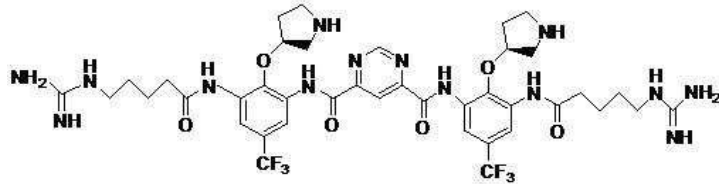
- [0010] 일부 구체예에서, 각각의 A는 -C=O이다.
- [0011] 일부 구체예에서, 각각의 D는 O이다.
- [0012] 일부 구체예에서, 각각의 R¹은, 독립적으로, 수소, 메틸, 에틸, 메톡시, 에톡시, 할로, 또는 할로C₁₋₃알킬이다.
일부 구체예에서, 각각의 R¹은, 독립적으로, 수소, 메틸, 메톡시, 할로, 또는 할로C₁₋₃알킬이다. 일부 구체예에서, 각각의 R¹은, 독립적으로, 수소, 메틸, 또는 메톡시이다. 일부 구체예에서, 각각의 R¹은 수소이다.
- [0013] 일부 구체예에서, 각각의 R²는, 독립적으로, 수소, 메틸, 에틸, 메톡시, 에톡시, 할로, 또는 할로C₁₋₃알킬이다.
일부 구체예에서, 각각의 R²는, 독립적으로, 수소, 메틸, 메톡시, 또는 할로이다. 일부 구체예에서, 각각의 R²는 수소이다.
- [0014] 일부 구체예에서, 각각의 R³은, 독립적으로, 수소, 메틸, 에틸, 메톡시, 에톡시, 할로, 또는 할로C₁₋₃알킬이다.
일부 구체예에서, 각각의 R³은, 독립적으로, 메틸, 메톡시, 할로, 또는 할로C₁₋₃알킬이다. 일부 구체예에서, 각각의 R³은, 독립적으로, 할로 또는 할로C₁₋₃알킬이다. 일부 구체예에서, 각각의 R³은, 독립적으로, 할로C₁₋₃알킬이다. 일부 구체예에서, 각각의 R³은 트리플루오로메틸이다.
- [0015] 일부 구체예에서, 각각의 R⁴는, 독립적으로, 수소, 메틸, 에틸, 메톡시, 에톡시, 또는 할로C₁₋₃알킬이다. 일부 구체예에서, 각각의 R⁴는, 독립적으로, 수소, 메틸, 메톡시, 할로, 또는 할로C₁₋₃알킬이다. 일부 구체예에서, 각각의 R⁴는, 독립적으로, 수소, 메틸, 메톡시, 또는 할로이다. 일부 구체예에서, 각각의 R⁴는 수소이다.
- [0016] 일부 구체예에서, 각각의 A는, 독립적으로, -C=O, -C=S, 또는 CH₂이고; 각각의 D는, 독립적으로, O 또는 S이고; 각각의 R¹은, 독립적으로, 수소, 메틸, 에틸, 메톡시, 에톡시, 할로, 할로메틸, 또는 할로에틸이고; 각각의 R²는, 독립적으로, 수소, 메틸, 메톡시, 할로, 또는 할로메틸이고; 각각의 R³은, 독립적으로, C₁₋₃알킬, C₁₋₃알콕시, 할로, 또는 할로알킬이며; 각각의 R⁴는, 독립적으로, 수소, 메틸, 에틸, 메톡시, 에톡시, 할로, 할로메틸, 또는 할로에틸이다.
- [0017] 일부 구체예에서, 각각의 A는, 독립적으로, -C=O 또는 -C=S이고; 각각의 D는, 독립적으로, O 또는 S이고; 각각의 R¹은, 독립적으로, 수소, 메틸, 메톡시, 할로, 또는 할로메틸이고; 각각의 R²는, 독립적으로, 수소, 할로, 또는 할로메틸이고; 각각의 R³은, 독립적으로, 메틸, 에틸, 메톡시, 에톡시, 할로, 할로메틸, 또는 할로에틸이며; 각각의 R⁴는, 독립적으로, 수소, 메틸, 에틸, 메톡시, 에톡시, 할로, 할로메틸, 또는 할로에틸이다.
- [0018] 일부 구체예에서, 각각의 A는 -C=O이고; 각각의 D는 O이고; 각각의 R¹은, 독립적으로, 수소, 할로, 또는 할로메틸이고; 각각의 R²는, 독립적으로, 수소 또는 할로이고; 각각의 R³은, 독립적으로, 메틸, 메톡시, 할로, 또는 할로메틸이며; 각각의 R⁴는, 독립적으로, 수소, 메틸, 메톡시, 할로, 또는 할로메틸이다.
- [0019] 일부 구체예에서, 각각의 A는 -C=O이고; 각각의 D는 O이고; 각각의 R¹은, 독립적으로, 수소 또는 할로이고; 각각의 R²는, 독립적으로, 수소 또는 할로이고; 각각의 R³은, 독립적으로, 메틸, 할로, 또는 할로메틸이며; 각각의 R⁴는, 독립적으로, 수소, 메틸, 할로, 또는 할로메틸이다.
- [0020] 일부 구체예에서, 각각의 A는 -C=O이고; 각각의 D는 O이고; 각각의 R¹은, 독립적으로, 수소 또는 할로이고; 각각의 R²는, 독립적으로, 수소 또는 할로이고; 각각의 R³은, 독립적으로, 할로 또는 할로메틸이며; 각각의 R⁴는,

독립적으로, 수소 또는 할로이다.

[0021] 일부 구체예에서, 각각의 A는 $-C=O$ 이고; 각각의 D는 O이고; 각각의 R^1 은, 독립적으로, 수소 또는 할로이고; 각각의 R^2 는, 독립적으로, 수소 또는 할로이고; 각각의 R^3 은, 독립적으로, 메틸, 할로, 또는 할로메틸이며; 각각의 R^4 는, 독립적으로, 수소, 메틸, 할로, 또는 할로메틸이다.

[0022] 일부 구체예에서, 상기 화합물은 아래 화합물 A 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:

[0023] 화합물 A



[0024]

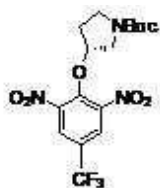
[0025] 본 발명은 또한 위에 기재된 하나 이상의 화합물 또는 위에 기재된 임의의 화합물의 염을 포함하는 약제학적 조성물 및 약제학적으로 허용되는 담체를 제공한다.

[0026] 본 발명은 또한 위에 기재된 하나 이상의 화합물을 포함하는 제형을 제공하고, 여기서, 이러한 제형은 식염수, 물, 사이클로덱스트린 용액, 또는 pH 3 내지 9의 완충액을 포함한다. 일부 구체예에서, 당해 제형은 경구 비-흡수된 제형이다. 일부 구체예에서, 당해 제형은 정제수, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌글리콜 400(PEG 400), 글리세린, DMA, 에탄올, 벤질 알콜, 시트르산/시트르산나트륨(pH 3), 시트르산/시트르산나트륨(pH 5), 트리스(하이드록시메틸)아미노 메탄 HCl(pH 7.0), 0.9% 식염수, 및 1.2% 식염수로부터 선택된 부형제, 또는 이의 임의의 조합을 포함한다. 일부 구체예에서, 당해 제형은 식염수 내 20% w/v 프로필렌 글리콜, 식염수 내 30% w/v 프로필렌 글리콜, 식염수 내 40% w/v 프로필렌 글리콜, 식염수 내 50% w/v 프로필렌 글리콜, 정제수 내 15% w/v 프로필렌 글리콜, 정제수 내 30% w/v 프로필렌 글리콜, 정제수 내 50% w/v 프로필렌 글리콜, 정제수 내 30% w/v 프로필렌 글리콜 및 정제수 내 5 w/v 에탄올, 정제수 내 15% w/v 글리세린, 정제수 내 30% w/v 글리세린, 정제수 내 50% w/v 글리세린, 정제수 내 20% w/v 클렙토스(Kleptose), 정제수 내 40% w/v 클렙토스, 및 정제수 내 25% w/v 캡티솔(Captisol)로부터 선택된 부형제를 포함한다.

[0027] 본 발명은 또한,

[0028] a) (R)-(-)-N-Boc-3-피롤리디놀을 강염기와 반응시켜 혼합물을 형성하고; 추가로 이러한 혼합물을 2-클로로-5-(트리플루오로메틸)-1,3-디니트로벤젠과 반응시켜 화학식 II의 화합물을 형성하는 단계;

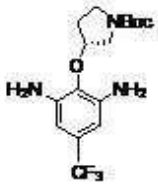
[0029] 화학식 II



[0030]

[0031] b) 화학식 II의 화합물을, 수소의 존재하에 알콜 및 전이 금속 촉매와 반응시켜 화학식 III의 화합물을 형성하는 단계;

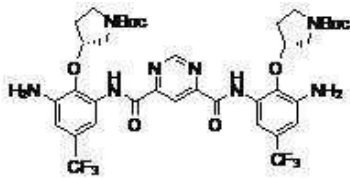
[0032] 화학식 III



[0033]

[0034] c) 화학식 III의 화합물 및 피리미딘-4,6-디카복실산을 2-클로로-4,6-디메톡시-1,3,5-트리아진 및 N-메틸모르폴린의 혼합물에 가하여 화학식 IV의 화합물을 형성하는 단계;

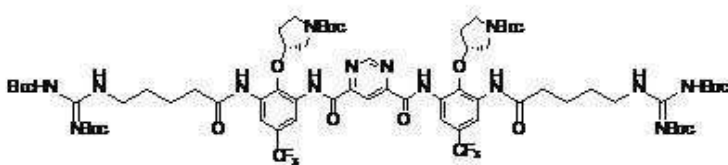
[0035] 화학식 IV



[0036]

[0037] d) 화학식 IV의 화합물을 N-Boc-구아니딘 부틸산과 반응시켜 화학식 V의 화합물을 형성하는 단계; 및

[0038] 화학식 V



[0039]

[0040] e) 화학식 V의 화합물을 탈보호시켜 화합물 A를 생성하는 단계를 포함하여, 화합물 A의 제조방법을 제공한다.

[0041] 본 발명은 또한,

[0042] a) (R)-3-하이드록시피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를 탈보호시키고, 반응 화합물을 2-클로로-1,3-디니트로-5-트리플루오로메틸벤젠과 반응시켜 (R)-3-(2,6-디니트로-4-트리플루오로메틸페녹시)피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를 형성하는 단계;

[0043] b) (R)-3-(2,6-디니트로-4-트리플루오로메틸페녹시)피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를, 알콜, 전이 금속 촉매, 및 수소의 존재하에 환원시켜 (R)-3-(2,6-디아미노-4-트리플루오로메틸페녹시)-피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를 형성하는 단계;

[0044] c) (R)-3-(2,6-디아미노-4-트리플루오로메틸페녹시)-피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를, 1-[(3-(디메틸아미노)-프로필)-3-에틸카보디이미드 하이드로클로라이드의 존재하에 피리미딘-4,6-디카복실산과 커플링시켜 피리미딘-4,6-디카복실산 비스-{[3-아미노-2-((R)-1-(3급-부톡시카보닐)피롤리딘-3-일옥시)-5-트리플루오로메틸-페닐]아미드}를 형성하는 단계;

[0045] d) 피리미딘-4,6-디카복실산 비스-{[3-아미노-2-((R)-1-(3급-부톡시카보닐)피롤리딘-3-일옥시)-5-트리플루오로메틸-페닐]아미드}를, 포스포러스 옥시클로라이드의 존재하에 ([3-((3급-부톡시카보닐)아미노)[(3급-부톡시카보닐)이미노]메틸]아미노)헵탄산과 반응시켜 피리미딘-4,6-디카복실산 비스-{[3-(5-([3-((3급-부톡시카보닐)아미노)[(3급-부톡시카보닐)이미노]메틸]아미노)-헵타노일아미노)-2-((R)-1-(3급-부톡시카보닐)피롤리딘-3-일옥시)-5-트리플루오로메틸-페닐]-아미드}를 형성하는 단계;

[0046] e) 피리미딘-4,6-디카복실산 비스-{[3-(5-([3-((3급-부톡시카보닐)아미노)[(3급-부톡시카보닐)이미노]메틸]아미노)-헵타노일아미노)-2-((R)-1-(3급-부톡시카보닐)피롤리딘-3-일옥시)-5-트리플루오로메틸-페닐]-아미드}를 탈보호시켜 조 피리미딘-4,6-디카복실산 비스-{[3-(5-구아니디노-헵타노일아미노)-2-((R)-피롤리딘-3-

일옥시)-5-트리플루오로메틸-페닐]-아미드}테트라하이드로클로라이드를 형성하는 단계; 및;

[0047] f) 피리미딘-4,6-디카복실산 비스-{[3-(5-구아니디노-펜타노일아미노)-2-((R)-피롤리딘-3-일옥시)-5-트리플루오로메틸-페닐]-아미드}테트라하이드로클로라이드를, 예를 들면, 역상 크로마토그래피에 의해 정제시키는 단계를 포함하여, 화합물 A의 대안적인 제조방법을 제공한다.

[0048] 본 발명은 또한,

[0049] a) (R)-3-하이드록시피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를 탈보호시키고, 반응 화합물을 2-클로로-1,3-디니트로-5-트리플루오로메틸벤젠과 추가로 반응시켜 (R)-3-(2,6-디니트로-4-트리플루오로메틸페녹시)피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를 형성하는 단계;

[0050] b) (R)-3-(2,6-디니트로-4-트리플루오로메틸페녹시)피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를, 알콜, 전이 금속 촉매, 및 수소의 존재하에 환원시켜 (R)-3-(2,6-디아미노-4-트리플루오로메틸페녹시)-피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를 형성하는 단계;

[0051] c) (R)-3-(2,6-디아미노-4-트리플루오로메틸페녹시)-피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를, 1-[(3-(디메틸아미노)-프로필)]-3-에틸카보디이미드 하이드로클로라이드의 존재하에 피리미딘-4,6-디카복실산과 커플링시켜 피리미딘-4,6-디카복실산 비스-{[3-아미노-2-((R)-1-(3급-부톡시카보닐)피롤리딘-3-일옥시)-5-트리플루오로메틸-페닐]아미드}를 형성하는 단계;

[0052] d) 피리미딘-4,6-디카복실산 비스-{[3-아미노-2-((R)-1-(3급-부톡시카보닐)피롤리딘-3-일옥시)-5-트리플루오로메틸-페닐]아미드}를, 티오닐 클로라이드의 존재하에 N-Cbz 산과 반응시키는 단계;

[0053] e) d)의 생성 화합물을, 알콜, 전이 금속 촉매, 및 수소의 존재하에 환원시키는 단계;

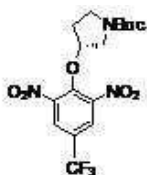
[0054] f) e)의 생성 화합물을 디-Boc 피라졸과 반응시키는 단계; 및

[0055] g) f)의 생성 화합물을 탈보호시켜 화합물 A를 생성하는 단계를 포함하여, 화합물 A의 제2의 대안적인 제조방법을 제공한다.

[0056] 본 발명은 또한,

[0057] a) (R)-(-)-N-Boc-3-피롤리디놀을 강염기와 반응시켜 혼합물을 형성하고; 혼합물을 2-클로로-5-(트리플루오로메틸)-1,3-디니트로벤젠과 반응시켜 화학식 II의 화합물을 형성하는 단계;

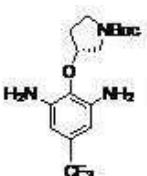
[0058] 화학식 II



[0059]

[0060] b) 화학식 II의 화합물을, 수소의 존재하에 알콜 및 전이 금속 촉매와 반응시켜 화학식 III의 화합물을 형성하는 단계;

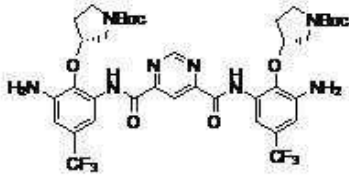
[0061] 화학식 III



[0062]

[0063] c1) 화학식 III의 화합물 및 피리미딘-4,6-디카복실산을 2-클로로-4,6-디메톡시-1,3,5-트리아진 및 N-메틸모르폴린의 혼합물에 가하여 화학식 IV의 화합물을 형성하는 단계; 또는

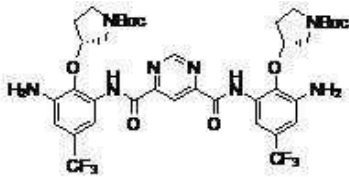
[0064] 화학식 IV



[0065]

[0066] c2) 화학식 III의 화합물 및 피리미딘-4,6-디카복실산을 1-에틸-3-[3-(디메틸아미노)프로필]-카보디이미드 하이드로클로라이드(EDC1) 및 무수 피리딘의 혼합물에 가하여 화학식 IV의 화합물을 형성하는 단계;

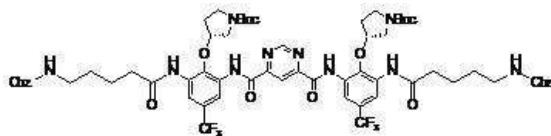
[0067] 화학식 IV



[0068]

[0069] d) N-Cbz 산을 가진 화학식 IV의 화합물을, 무수 피리딘, 디메틸아미노프로필아민, 및 티오닐 클로라이드, POCl₃, (EtO)₂POCl, 또는 옥살릴 클로라이드의 임의의 하나를 포함하는 용액에 가하여, 화학식 Va의 화합물을 형성하는 단계;

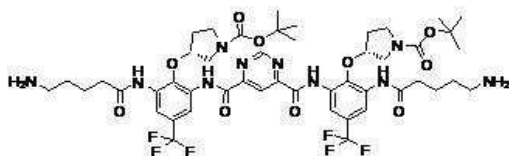
[0070] 화학식 Va



[0071]

[0072] e) 화학식 Va의 화합물의 Cbz 그룹을 수소화반응시켜 화학식 VI의 화합물을 생성하는 단계;

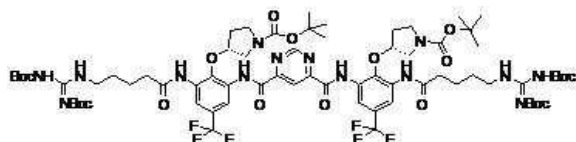
[0073] 화학식 VI



[0074]

[0075] f) 화학식 VI의 화합물을 보호시켜 화학식 VII의 화합물을 생성하는 단계; 및

[0076] 화학식 VII



[0077]

[0078] g) 화학식 VII의 화합물을 탈보호시켜 화합물 A의 약제학적으로 허용되는 염을 생성하는 단계를 포함하여, 화합물 A의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다.

[0079] 본 발명은 또한, 미생물을 위에 기재된 임의의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염과 접촉시킴을 포함하여, 미생물의 성장을 억제하는 방법을 제공한다.

[0080] 본 발명은 또한, 항-미생물학적 유효량의 위에 기재된 임의의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 미생물 감염의 치료가 필요한 포유동물에게 투여함을 포함하여 미생물 감염을 갖는 포유동물을 치료하는 방법을 제공한다.

[0081] 일부 구체예에서, 미생물 또는 미생물 감염은 그람-음성 호기성균, 그람-양성 호기성균, 그람-음성 혐기성균, 그람-양성 혐기성균, 마이코박테리움 또는 효모이다. 일부 구체예에서, 그람-음성 호기성균은 에스케리치아 콜라이(*Escherichia coli*), 시트로박터 프레운디(*Citrobacter freundii*), 시트로박터 디베루스(*Citrobacter diverus*), 시트로박터 코세리(*Citrobacter koseri*), 엔테로박터 클로아케(*Enterobacter cloacae*), 엔테로박터 파에칼리스(*Enterobacter faecalis*), 클렙시엘라 뉴모니아(*Klebsiella pneumonia*), 클렙시엘라 옥시토카(*Klebsiella oxytoca*), 모르가넬라 모르가니(*Morganella morganii*), 프로비덴시아 스투아티(*Providencia stuartii*), 프로테우스 불가리스(*Proteus vulgaris*), 프로테우스 미라빌리스(*Proteus mirabilis*), 세라티아 마르세스센스(*Serratia marcescens*), 아시네토박터 해몰리티쿠스(*Acinetobacter haemolyticus*), 아시네토박터 주니(*Acinetobacter junii*), 아시네토박터 로피(*Acinetobacter lwoffii*), 해모필러스 인플루엔자(*Haemophilus influenzae*), 스테노트로포모나스 말토피리아(*Stenotrophomonas maltophilia*), 또는 슈도모나스 아에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*)이다. 일부 구체예에서, 그람-양성 호기성균은 엔테로코커스-파에칼리스(*Enterococcus faecalis*), 엔테로코커스 파에쿰(*Enterococcus faecium*), 마이코박테리움 튜버쿨로시스(*Mycobacterium tuberculosis*), 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*), 스타필로코커스 뉴모니아(*Staphylococcus pneumoniae*), 스타필로코커스 에피더미디스(*Staphylococcus epidermidis*), 스타필로코커스 사프로피티쿠스(*Staphylococcus saprophyticus*), 스타필로코커스 콜미(*Staphylococcus colmi*), 스타필로코커스 스키후리(*Staphylococcus sciuri*), 스타필로코커스 와르네리(*Staphylococcus warneri*), 스트렙토코커스 아갈락티에(*Streptococcus agalactiae*), 스트렙토코커스 피오게네스(*Streptococcus pyogenes*), 스트렙토코커스 안지노스(*Streptococcus anginosus*), 스트렙토코커스 미티스(*Streptococcus mitis*) 또는 스트렙토코커스 오랄리스(*Streptococcus oralis*)이다. 일부 구체예에서, 그람-음성 혐기성균은 박테로이데스 프라질리스(*Bacteroides fragilis*)이다. 일부 구체예에서, 그람-양성 혐기성균은 클로스트리디움 디피실(*Clostridium difficile*) 또는 클로스트리디움 퍼프링겐스(*Clostridium perfringens*)이다. 일부 구체예에서, 마이코박테리움은 마이코박테리움 튜버쿨로시스(*Mycobacterium tuberculosis*), 마이코박테리움 보비스(*Mycobacterium bovis*), 마이코박테리움 아프리카눔(*Mycobacterium africanum*), 마이코박테리움 카네티(*Mycobacterium canetti*), 또는 마이코박테리움 마이크로티(*Mycobacterium microti*)이다. 일부 구체예에서, 효모는 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*) 또는 칸디다 크루세이(*Candida krusei*)이다.

[0082] 본 발명은 또한 미생물 감염을 치료하기 위해 위에 기재된 임의의 화합물을 제공한다.

[0083] 본 발명은 또한 미생물 감염의 치료를 위한 의약을 제조하는데 사용하기 위해 위에 기재된 임의의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 제공한다.

[0084] 본 발명은 또한 미생물의 성장을 억제하기 위해 위에 기재된 임의의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 용도를 제공한다.

[0085] 본 발명은 또한 포유동물에서 미생물 감염을 치료하기 위해, 위에 기재된 임의의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 용도를 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0086] 도 1a 및 도 1b는 에스.아우레우스(*S. aureus*) ATCC27660 대 화합물 A의 시간-사멸 연구를 나타낸다(도 1b는 도 1a의 확대도이다).

도 2는 MSSA 및 MRSA 둘 다에 대한 통로 3(4개의 이중 회색색)에 의해 MIC 값에서 상당한 증가를 갖는 노르플록사신(*norfloxacin*)을 갖는 에스.아우레우스(*S. aureus*)의 통로의 관계를 나타낸다.

도 3은 마우스 대퇴부 부담 모델(Mouse Thigh Burden Model)에서 에스.아우레우스에 대한 화합물 A의 효능을 나타낸다.

도 4는 랫트 대퇴부 부담 모델에서 에스.아우레우스에 대한 반코마이신 대 화합물 A의 효능을 나타낸다.

도 5는 마우스 패혈증 모델에서 에스.아우레우스에 대한 화합물 A의 효능을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0087] 여기서 사용된 용어 "약"은 기재된 값의 $\pm 5\%$ 를 의미한다. 예를 들면, 약 100은 95 내지 105를 의미한다.

[0088] 여기서 사용된 용어 " C_{1-3} 알킬", " C_{1-4} 알킬", 및 " $(CH_2)_{1-7}$ "은 각각 1개 내지 3개의 탄소, 1개 내지 4개의 탄소,

및 1개 내지 7개의 탄소를 갖는 포화, 1가 비측쇄 또는 측쇄 탄화수소쇄를 의미한다. 알킬 그룹의 예는 (C₁-C₇)알킬 그룹, 예를 들면, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 2-메틸-1-프로필, 2-메틸-2-프로필, 2-메틸-1-부틸, 3-메틸-1-부틸, 2-메틸-3-부틸, 2-메틸-1-펜틸, 2,2-디메틸-1-프로필, 3-메틸-1-펜틸, 4-메틸-1-펜틸, 2-메틸-2-펜틸, 3-메틸-2-펜틸, 4-메틸-2-펜틸, 2,2-디메틸-1-부틸, 3,3-디메틸-1-부틸, 2-에틸-1-부틸, 부틸, 이소부틸, t-부틸, 펜틸, 이소펜틸, 네오펜틸, 헥실 및 헵틸을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 알킬 그룹은 치환될 수 없거나 1개 또는 2개의 적합한 치환체로 치환될 수 있다.

[0089] 여기서 사용된 용어 "C₁₋₃알콕시" 및 "C₁₋₄알콕시"는 -O-알킬을 의미하고, 여기서 알킬은 위에 정의된 바와 같다. 알콕시 그룹은 치환될 수 없거나 1개 또는 2개의 적합한 치환체로 치환될 수 있다. 알콕시 그룹의 알킬쇄는 길이가 1개 내지 3개의 탄소 원자 또는 1개 내지 4개의 탄소 원자이다.

[0090] 여기서 사용된 용어 "할로"는 할로젠, 예를 들면, 불소, 염소, 브롬, 또는 요오드를 의미한다.

[0091] 여기서 사용된 용어 "할로C₁₋₃알킬" 및 "할로C₁₋₄알킬"은 위에 한정된 바와 같은 알킬 그룹을 의미하고, 여기서, 하나 이상(즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10)의 수소는 위에 한정된 바와 같이 할로로 대체된다.

[0092] 여기서 사용된 용어 "분리된"은 화학식 I의 화합물이 (a) 천연 공급원, 예를 들면, 세포, 예를 들면, 박테리아 배양물, 또는 (b) 합성 유기 화학 반응 혼합물(예를 들면, 통상적인 기술에 의함) 중의 하나의 기타 구성성분으로부터 분리되고, 화학식 I의 화합물이 정제됨을 의미한다.

[0093] 여기서 사용된 용어 "포유동물"은 설치류(즉, 마우스, 랫트, 또는 기니아 피그), 원숭이, 고양이, 소, 말, 돼지, 또는 사람을 의미한다. 일부 구체예에서, 포유동물은 사람이다.

[0094] 여기서 사용된 용어 "미생물"은 박테리아, 진균, 원생동물, 또는 바이러스를 의미한다.

[0095] 여기서 사용된 문구 "약제학적으로 허용되는 염(들)"은 산성 또는 염기성 그룹의 염을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.

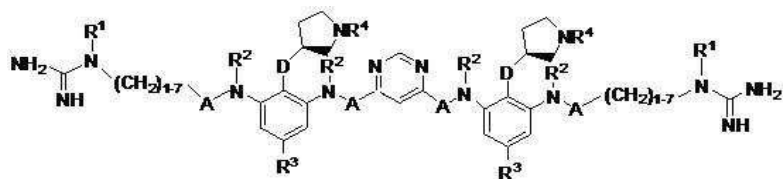
[0096] 여기서 사용된 용어 "정제된"은 분리된 경우, 분리물이 분리물의 중량대비 화학식 I의 화합물의 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%를 함유함을 의미한다.

[0097] 여기서 사용된 문구 "적절한 치환체"는 화학식 I의 화합물 또는 이를 제조하기 위한 유용한 중간체의 합성 또는 약제학적 유용성을 무효로 하지 않는 그룹을 의미한다. 적합한 치환체의 예는 (C₁-C₄)알킬, (C₁-C₄)알케닐, (C₁-C₄)알키닐, (C₁-C₄)알콕시, -CN, -OH, 옥소, 할로, -NO₂, -CO₂H, -NH₂, -NH((C₁-C₄)알킬), -N((C₁-C₄)알킬)₂, -CHO, -CO((C₁-C₄)알킬), 및 -CO₂((C₁-C₄)알킬)을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 당업자는 화학식 I의 화합물의 안정성 및 약동학적 및 합성 활성을 기준으로 하는 적절한 치환체를 즉시 선택할 수 있다.

[0098] 여기서 사용된, 화학식 I을 포함하는 화합물의 문구 "항-미생물학적 유효량"은 화합물의 항-미생물학적 유효성으로 측정된다. 일부 구체예에서, 항-미생물학적 유효량은 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%로 특정 미생물의 성장을 억제한다. 일부 구체예에서, "항-미생물학적 유효량"은 또한 화합물이 포유동물 위의 미생물의 적어도 하나의 유해한 효과를 감소시키거나 제거하는 "치료학적 유효량"이다.

[0099] 본 발명은 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 제공한다:

[0100] 화학식 I



[0101]

[0102] 위의 화학식 I에서,

[0103] 각각의 A는, 독립적으로, -C=O, -C=S, 또는 CH₂이고;

- [0104] 각각의 D는, 독립적으로, 0 또는 S이고;
- [0105] 각각의 R^1 은, 독립적으로, 수소, C_{1-3} 알킬, C_{1-3} 알콕시, 할로, 또는 할로 C_{1-3} 알킬이고;
- [0106] 각각의 R^2 는, 독립적으로, 수소, C_{1-3} 알킬, C_{1-3} 알콕시, 할로, 또는 할로 C_{1-3} 알킬이고;
- [0107] 각각의 R^3 은, 독립적으로, 수소, C_{1-4} 알킬, C_{1-4} 알콕시, 할로, 또는 할로 C_{1-4} 알킬이며;
- [0108] 각각의 R^4 는, 독립적으로, 수소, C_{1-3} 알킬, C_{1-3} 알콕시, 할로, 또는 할로 C_{1-3} 알킬이다.
- [0109] 일부 구체예에서, 적어도 하나의 A는 $-C=O$ 이다. 일부 구체예에서, 각각의 A는 $-C=O$ 이다.
- [0110] 일부 구체예에서, 적어도 하나의 D는 O이다. 일부 구체예에서, 각각의 D는 O이다.
- [0111] 일부 구체예에서, 각각의 R^1 은, 독립적으로, 수소, 메틸, 에틸, 메톡시, 에톡시, 할로, 또는 할로 C_{1-3} 알킬이다. 일부 구체예에서, 각각의 R^1 은, 독립적으로, 수소, 메틸, 메톡시, 할로, 또는 할로 C_{1-3} 알킬이다. 일부 구체예에서, 각각의 R^1 은, 독립적으로, 수소, 메틸, 또는 메톡시이다. 일부 구체예에서, 적어도 하나의 R^1 은 수소이다. 일부 구체예에서, 각각의 R^1 은 수소이다.
- [0112] 일부 구체예에서, 각각의 R^2 는, 독립적으로, 수소, 메틸, 에틸, 메톡시, 에톡시, 할로, 또는 할로 C_{1-3} 알킬이다. 일부 구체예에서, 각각의 R^2 는, 독립적으로, 수소, 메틸, 메톡시, 또는 할로이다. 일부 구체예에서, 적어도 하나의 R^2 는 수소이다. 일부 구체예에서, 각각의 R^2 는 수소이다.
- [0113] 일부 구체예에서, 각각의 R^3 은, 독립적으로, 수소, 메틸, 에틸, 메톡시, 에톡시, 할로, 또는 할로 C_{1-3} 알킬이다. 일부 구체예에서, 각각의 R^3 은, 독립적으로, 메틸, 메톡시, 할로, 또는 할로 C_{1-3} 알킬이다. 일부 구체예에서, 각각의 R^3 은, 독립적으로, 할로 또는 할로 C_{1-3} 알킬이다. 일부 구체예에서, 각각의 R^3 은, 독립적으로, 할로 C_{1-3} 알킬이다. 일부 구체예에서, 적어도 하나의 R^3 은 트리플루오로메틸이다. 일부 구체예에서, 각각의 R^3 은 트리플루오로메틸이다.
- [0114] 일부 구체예에서, 각각의 R^4 는, 독립적으로, 수소, 메틸, 에틸, 메톡시, 에톡시, 또는 할로 C_{1-3} 알킬이다. 일부 구체예에서, 각각의 R^4 는, 독립적으로, 수소, 메틸, 메톡시, 할로, 또는 할로 C_{1-3} 알킬이다. 일부 구체예에서, 각각의 R^4 는, 독립적으로, 수소, 메틸, 메톡시, 또는 할로이다. 일부 구체예에서, 적어도 하나의 R^4 는 수소이다. 일부 구체예에서, 각각의 R^4 는 수소이다.
- [0115] 일부 구체예에서, 각각의 A는, 독립적으로, $-C=O$ 또는 $-C=S$ 이고; 각각의 D는, 독립적으로, 0 또는 S이고; 각각의 R^1 은, 독립적으로, 수소, 메틸, 에틸, 메톡시, 에톡시, 할로, 할로메틸, 또는 할로에틸이고; 각각의 R^2 는, 독립적으로, 수소, 메틸, 메톡시, 할로, 또는 할로메틸이고; 각각의 R^3 은, 독립적으로, C_{1-3} 알킬, C_{1-3} 알콕시, 할로, 또는 할로알킬이며; 각각의 R^4 는, 독립적으로, 수소, 메틸, 에틸, 메톡시, 에톡시, 할로, 할로메틸, 또는 할로에틸이다.
- [0116] 일부 구체예에서, 각각의 A는, 독립적으로, $-C=O$ 또는 $-C=S$ 이고; 각각의 D는, 독립적으로, 0 또는 S이고; 각각의 R^1 은, 독립적으로, 수소, 메틸, 메톡시, 할로, 또는 할로메틸이고; 각각의 R^2 는, 독립적으로, 수소, 할로, 또는 할로메틸이고; 각각의 R^3 은, 독립적으로, 메틸, 에틸, 메톡시, 에톡시, 할로, 할로메틸, 또는 할로에틸이며; 각각의 R^4 는, 독립적으로, 수소, 메틸, 에틸, 메톡시, 에톡시, 할로, 할로메틸, 또는 할로에틸이다.

[0117] 일부 구체예에서, 각각의 A는 $-C=O$ 이고; 각각의 D는 O이고; 각각의 R^1 은, 독립적으로, 수소, 할로, 또는 할로메틸이고; 각각의 R^2 는, 독립적으로, 수소 또는 할로이고; 각각의 R^3 은, 독립적으로, 메틸, 메톡시, 할로, 또는 할로메틸이며; 각각의 R^4 는, 독립적으로, 수소, 메틸, 메톡시, 할로, 또는 할로메틸이다.

[0118] 일부 구체예에서, 각각의 A는 $-C=O$ 이고; 각각의 D는 O이고; 각각의 R^1 은, 독립적으로, 수소 또는 할로이고; 각각의 R^2 는, 독립적으로, 수소 또는 할로이고; 각각의 R^3 은, 독립적으로, 메틸, 할로, 또는 할로메틸이며; 각각의 R^4 는, 독립적으로, 수소, 메틸, 할로, 또는 할로메틸이다.

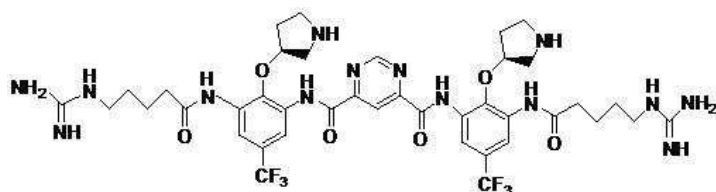
[0119] 일부 구체예에서, 각각의 A는 $-C=O$ 이고; 각각의 D는 O이고; 각각의 R^1 은, 독립적으로, 수소 또는 할로이고; 각각의 R^2 는, 독립적으로, 수소 또는 할로이고; 각각의 R^3 은, 독립적으로, 할로 또는 할로메틸이며; 각각의 R^4 는, 독립적으로, 수소 또는 할로이다.

[0120] 일부 구체예에서, 각각의 A는 $-C=O$ 이고; 각각의 D는 O이고; 각각의 R^1 은, 독립적으로, 수소 또는 할로이고; 각각의 R^2 는, 독립적으로, 수소 또는 할로이고; 각각의 R^3 은, 독립적으로, 메틸, 할로, 또는 할로메틸이며; 각각의 R^4 는, 독립적으로, 수소, 메틸, 할로, 또는 할로메틸이다.

[0121] 일부 구체예에서, 각각의 A는 $-C=O$ 이고; 각각의 D는 O이고; 각각의 R^1 은, 독립적으로, 수소 또는 할로이고; 각각의 R^2 는, 독립적으로, 수소 또는 할로이고; 각각의 R^3 은, 독립적으로, 할로 또는 할로메틸이며; 각각의 R^4 는, 독립적으로, 수소, 할로, 또는 할로메틸이다.

[0122] 일부 구체예에서, 화합물은 화합물 A 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:

[0123] 화합물 A



[0124]

[0125] 염의 적합한 예는, 예를 들면, 염산 및 트리플루오로아세트산을 포함한다.

[0126] 화학식 I의 화합물은 하나 이상의 키랄 중심 및/또는 이중 결합을 함유할 수 있고, 따라서, 입체이성질체, 예를 들면, 이중-결합 이성질체(즉, 기하이성질체), 거울상이성질체, 또는 부분입체이성질체로서 존재한다. 본 발명에 따르면, 여기서 나타난 화학 구조체, 및 이에 따라 화학식 I의 화합물은 모든 상응하는 화합물의 거울상이성질체 및 부분입체이성질체, 즉, 입체이성질체로 정제 형태(예를 들면, 기하이성질체로 정제, 거울상이성질체로 정제, 또는 부분입체이성체로 정제) 및 거울상이성질 및 부분입체이성질 혼합물 둘 다를 포함한다. 거울상이성질체 및 부분입체이성질체 혼합물은 잘 공지된 방법, 예를 들면, 키랄-상 가스 크로마토그래피, 키랄-상 고성능 액체 크로마토그래피에 의해 화합물을 키랄 염 착물로서 결정화시키거나, 화합물을 키랄 용매 중에 결정화시켜 구성성분 거울상이성질체 또는 부분입체이성질체로 분해할 수 있다. 거울상이성질체 및 입체이성질체는 또한 잘 공지된 비대칭 합성 방법에 의해 입체이성질- 또는 거울상이성체-로 정제 중간체, 시약, 및 촉매로부터 수득될 수 있다.

[0127] 화학식 I의 화합물은 추가로 수화물 및 용매화물을 포함한다.

[0128] 아민 작용기를 포함하는 화합물은 또한 N-옥사이드를 형성할 수 있다. 아민 작용기를 포함하는 화합물에 대한 본원의 참조문헌은 또한 N-옥사이드를 포함한다. 화합물이 몇몇의 아민 작용기를 가지는 경우, 하나 이상의 질소 원자는 산화되어 N-옥사이드를 형성할 수 있다. N-옥사이드의 예는 질소-함유 헤테로사이클의 3급 아민 또는 질소 원자의 N-옥사이드를 포함한다. N-옥사이드는 상응하는 아민을 과산화수소 또는 퍼-애시드(예를 들면, 퍼옥시카복실산)(문헌 참조: Advanced Organic Chemistry, by Jerry March, 4th Edition, Wiley Interscience)와 같은 산화제로 처리함으로써 형성할 수 있다.

- [0129] 일부 구체예에서, 화학식 I의 화합물은 분리되고/되거나 정제된다.
- [0130] 본 발명은 또한 위에 기재된 하나 이상의 화합물, 또는 이의 하나 이상의 염, 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0131] 적합한 조성물은 경구 비-흡수된 조성물을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 적합한 조성물은 또한 식염수, 물, 사이클로덱스트린 용액, 및 pH 3 내지 9의 완충 용액을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.
- [0132] 화합물 A, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하여, 여기서 기재된 화합물은 정제수, 프로필렌 글리콜, PEG 400, 글리세린, DMA, 에탄올, 벤질 알콜, 시트르산/시트르산나트륨(pH 3), 시트르산/시트르산나트륨(pH 5), 트리스(하이드록시메틸)아미노 메탄 HCl(pH 7.0), 0.9% 식염수, 및 1.2% 식염수, 및 이의 임의의 조합을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는 다수의 부형제와 제형화될 수 있다. 일부 구체예에서, 부형제는 프로필렌 글리콜, 정제수, 및 글리세린으로부터 선택된다.
- [0133] 일부 구체예에서, 부형제는 식염수 중의 20% w/v 프로필렌 글리콜, 식염수 중의 30% w/v 프로필렌 글리콜, 식염수 중의 40% w/v 프로필렌 글리콜, 식염수 중의 50% w/v 프로필렌 글리콜, 정제수 중의 15% w/v 프로필렌 글리콜, 정제수 중의 30% w/v 프로필렌 글리콜, 정제수 중의 50% w/v 프로필렌 글리콜, 정제수 중의 30% w/v 프로필렌 글리콜 및 5 w/v 에탄올, 정제수 중의 15% w/v 글리세린, 정제수 중의 30% w/v 글리세린, 정제수 중의 50% w/v 글리세린, 정제수 중의 20% w/v 클렙토스(Kleptose), 정제수 중의 40% w/v 클렙토스, 및 정제수 중의 25% w/v 캡티솔(Captisol)로부터 선택된 복합-성분 시스템이다. 일부 구체예에서, 부형제는 정제수 중의 50% w/v 프로필렌 글리콜, 정제수 중의 15% w/v 글리세린, 정제수 중의 20% w/v 클렙토스, 정제수 중의 40% w/v 클렙토스, 및 정제수 중의 25% w/v 캡티솔로부터 선택된다. 일부 구체예에서, 부형제는 정제수 중의 20% w/v 클렙토스, 정제수 중의 20% w/v 프로필렌 글리콜 및 정제수 중의 15% w/v 글리세린으로부터 선택된다.
- [0134] 일부 구체예에서, 당해 제형은 정제수 내 20% w/v 클렙토스 중의 50 mg/mL 화합물 A를 포함한다.
- [0135] 일부 구체예에서, 당해 제형은 고체로 동결건조시킨 다음, 사용하기 직전에 예를 들면, 물로 재구성시킬 수 있다.
- [0136] 포유동물(예를 들면, 수의학 용도를 위한 동물 또는 의학 용도를 위한 사람)에게 투여시, 화학식 I의 화합물은 분리된 형태로 투여될 수 있다. 대안적으로, 화학식 I의 화합물은 기타 항생제, 예를 들면, 1) 아미카신(amikacin), 아노스마이신(anisomycin), 아프라마이신(apramycin), 아지트로마이신(azithromycin), 블라스티시딘 에스(blasticidine S), 브레펠딘 에이(brefeldin A), 부티로신(butirosin), 클로람페니콜(chloramphenicol), 클로르테트라사이클린(chlortetracycline), 클린다마이신(clindamycin), 클로트리마졸(clotrimazole), 사이클로헥시이미드(cycloheximide), 데메클로사이클린(demeclocycline), 디벤키아신(dibekacin), 디하이드로스트렙토마이신(dihydrostreptomycin), 독시사이클린(doxycycline), 듀라마이신(duramycin), 에메틴(emetine), 에리트로마이신(erythromycin), 푸시드산(fusidic acid), G 418, 겐타마이신(gentamicin), 헬볼릭산(helvolic acid), 하이그로마이신 비(hygroscopic B), 조사마이신(josamycin), 카나마이신(kanamycin), 키로마이신(kirromycin), 린코마이신(lincomycin), 메클로사이클린(meclocycline), 메파르트린(mepartricin), 미데카마이신(midecamycin), 미노사이클린(minocycline), 네오마이신(neomycin), 네틸미신(netilmicin), 니트로푸란토인(nitrofurantoin), 누르세오트리신(nourseothricin), 올레안도마이신(oleandomycin), 옥시테트라사이클린(oxytetracycline), 파로모마이신(paromomycin), 푸로마이신(puromycin), 라파마이신(rapamycin), 리보스타마이신(ribostamycin), 리팜피신(rifampicin), 리파마이신(rifamycin), 로사미신(rosamicin), 시소미신(sisomicin), 스펙티노마이신(spectinomycin), 스피라마이신(spiramycin), 스트렙토마이신(streptomycin), 테트라사이클린(tetracycline), 티아페니콜(thiamphenicol), 티오스트렙톤(thiostrepton), 토브라마이신(tobramycin), 투니카마이신(tunicamycin), 타일로신(tylosin), 비오마이신(viomycin), 및 버지니아마이신(virginiamycin)을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 단백질 합성 억제제; 2) 캄토테신(camptothecin), 10-디아세틸박카틴 III(10-deacetylbaicatin III), 아자사이티딘(azacytidine), 7-아미노악티노마이신 디(7-aminoactinomycin D), 8-퀴놀리놀(8-quinolinol), 9-디하이드로-13-아세틸박카틴 III, 아클라루비신(acclarubicin), 악티노마이신 D, 악티노마이신 I, 악티노마이신 V, 바필로마이신 A1(bafilomycin A1), 블레오마이신(bleomycin), 카프레오마이신(capreomycin), 크로모마이신(chromomycin), 시녹사신(cinoxacin), 시프로플록사신(ciprofloxacin), 시스-디아민플라티늄(II) 디클로라이드, 쿠메르마이신 A1(coumermycin A1), L(+)-락트산, 사이토칼라신 비(cytochalasin B), 사이토칼라신 D, 다카르바진(dacarbazine), 다우노루비신(daunorubicin), 디스타마이신 에이(distamycin A), 독소루비신(doxorubicin), 에키노마이신(echinomycin), 엔로플록사신(enrofloxacin), 에토포시드(etoposide), 플루메퀸(flumequine), 포르

마이신(formycin), 푸마길린(fumagillin), 간시클로버(ganciclovir), 글리오톡신(gliotoxin), 로메플록사신(lomefloxacin), 메트로니다졸(metronidazole), 미트라마이신 에이(mithramycin A), 미토마이신 씨(mitomycin C), 날리딕산(nalidixic acid), 네트로핀(netropsin), 니트로푸란토인(nitrofurantoin), 노갈라마이신(nogalamycin), 노낙틴(nonactin), 노보비오신(novobiocin), 오픈록사신(ofloxacin), 옥소리닉산(oxolinic acid), 파클리탁셀(paclitaxel), 페나진(phenazine), 플레오마이신(phleomycin), 피페미딕산(pipemidic acid), 레베카마이신(rebeccamycin), 시네푀긴(sinefungin), 스트렙토니그린(streptonigrin), 스트렙토조신(streptozocin), 석시닐설파티아졸(succinylsulfathiazole), 설파디아진(sulfadiazine), 설파디메톡신(sulfadimethoxine), 설파구아니딘 푸럼(sulfaguanidine purum), 설파메타진(sulfamethazine), 설파모노메톡신(sulfamonomethoxine), 설파닐아미드(sulfanilamide), 설파퀴녹살린(sulfaquinoxaline), 설파살라진(sulfasalazine), 설파티아졸(sulfathiazole), 트리메토프림(trimethoprim), 투버시딘(tubercidin), 5-아자사이티딘(azacytidine), 코르다이셉틴(cordycepin), 및 포르마이신 에이(formycin A)를 포함하지만, 이에 제한되지 않는 DNA 합성 간섭제; 3) (+)-6-아미노페니실라닉산((+)-6-aminopenicillanic acid), 7-아미노데스아세톡시세팔로스포라닉산(7-aminodesacetoxycephalosporanic acid), 아목시실린(amoxicillin), 암피실린(ampicillin), 아즈록실린(azlocillin), 박시트라신(bacitracin), 카르베니실린(carbenicillin), 세파클로(cefaclor), 세파만돌(cefamandole), 세파졸린(cefazolin), 세프메타졸(cefmetazole), 세포페라존(cefoperazone), 세포탁심(cefotaxime), 세프실로딘(cefsulodin), 세프트리아손(ceftriaxone), 세팔렉신(cephalexin), 세팔로스포린 씨(cephalosporin C), 세팔로틴(cephalothin), 세프라딘(cephradine), 클록실린(cloxacillin), 디-사이클로세린(D-cycloserine), 디클록사실린(dicloxacillin), 디-페니실라민(D-penicillamine), 에코나졸(econazole), 에탐부톨(ethambutol), 라이소스타핀(lysothaphin), 목살락탐(moxalactam), 나프실린(nafcillin), 니크코마이신 제트(nikkomycin Z), 니트로푸란토인(nitrofurantoin), 옥사실(oxacillin), 페니실릭(penicillic), 페니실린 귀(penicillin G), 펜에티실린(phenethicillin), 페녹시메틸페니실리닉산, 포스포마이신, 피페미딕산(pipemidic acid), 피페라실린(piperacillin), 리스토마이신(ristomycin), 및 반코마이신(vancomycin)을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 세포벽 합성 간섭제; 4) 2-머캅토피리딘(2-mercaptopyridine), 4-브로모칼시마이신 A23187, 알라메티신(alamethicin), 암포테리신 비(amphotericin B), 칼시마이신 A23187(calcimycin A23187), 클로르헥시딘(chlorhexidine), 클로트리마졸(clotrimazole), 콜리스틴(colistin), 에코나졸(econazole), 하이드로코르티손(hydrocortisone), 필리핀(filipin), 글리오톡신(gliotoxin), 그라미시딘 에이(gramicidin A), 그라미시딘 씨(gramicidin C), 요오노마이신(ionomycin), 라살로시드 에이(lasalocid A), 로모마이신 에이(lonomycin A), 모넨신(monensin), N-(6-아미노헥실)-5-클로로-1-나프탈렌설포나미드, 나라신(narasin), 니게리신(nigericin), 니신(nisin), 노낙틴(nonactin), 나이스타틴(nystatin), 페나진(phenazine), 피마리신(pimaricin), 폴리마이신 비(polymyxin B), 디엘-페니실라민(DL-penicillamine), 폴리마이신 비(polymyxin B), 프라지퀀텔(praziquantel), 살리노마이신(salinomycin), 수르팍틴(surfactin), 및 발리노마이신(valinomycin)을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 세포막 투과성 간섭제[이오노포어(ionophore)]; 5) (+)-우스닉산((+)-usnic acid), (±)-미코나졸((±)-miconazole), (S)-(+)-캄프토테신((S)-(+)-camptothecin), 1-디옥시만노지리마이신(1-deoxymannojirimycin), 2-헵틸-4-하이드록시퀴놀린 N-옥사이드(2-heptyl-4-hydroxyquinoline N-oxide), 코르다이세핀(cordycepin), 1,10-페난트롤린(1,10-phenanthroline), 6-디아조-5-옥소-L-노르류신(6-diazo-5-oxo-L-norleucine), 8-퀴놀리놀(8-quinolinol), 안티마이신(antimycin), 안티페인(antipain), 아스코마이신(ascomycin), 아자세린(azaserine), 바필로마이신(bafilomycin), 세루레닌(serulenin), 클로로퀸(chloroquine), 시녹사신(cinoxacin), 시프로플록사신(ciprofloxacin), 메바스타틴(mevastatin), 콘카나마이신 에이(concanamycin A), 콘카나마이신 씨(concanamycin C), 코우머마이신 에이원(coumermycin A1), L(+)-락트산(L(+)-lactic acid), 사이클로스포린 에이(cyclosporin A), 에코나졸(econazole), 엔로플록사신(enrofloxacin), 에토포시드(etoposide), 플루메퀸(flumequine), 포르마이신 에이(formycin A), 푸라졸리돈(furazolidone), 푸사릭산(fusaric acid), 겔다나마이신(geldanamycin), 글리오톡신(gliotoxin), 그라미시딘 에이(gramicidin A), 그라미시딘 씨(gramicidin C), 헤르비마이신 에이(herbimycin A), 인도메타신(indomethacin), 이르가산(irgasan), 로메플록사신(lomefloxacin), 마이코페놀릭산(mycophenolic acid), 마익소티아졸(myxothiazol), N-(6-아미노헥실)-5-클로로-1-나프탈렌설포나미드, 날리딕산, 네트로핀, 니클로스아미드, 니크코마이신(nikkomycin), N-메틸-1-디옥시노지리마이신(N-methyl-1-deoxynojirimycin), 노갈라마이신(nogalamycin), 노낙틴(nonactin), 노보비오신(novobiocin), 오픈록사신(ofloxacin), 올레안도마이신(oleandomycin), 올리고마이신(oligomycin), 옥솔리닉산(oxolinic acid), 피에리시딘 에이(piericidin A), 피페미딕산(pipemidic acid), 라디시콜(radicicol), 라파마이신(rapamycin), 레베카마이신(rebeccamycin), 시네푀긴(sinefungin), 스타우로스포린(staurosporine), 스티그마텔린(stigmatellin), 석시닐설파티아졸(succinylsulfathiazole), 설파디아진(sulfadiazine), 설파디메

톡신(sulfadimethoxine), 설파구아니딘(sulfaguanidine), 설파메타진(sulfamethazine), 설파모노메톡신(sulfamonomethoxine), 설파닐아미드(sulfanilamide), 설파퀴녹살린(sulfaquinoxaline), 설파살라진(sulfasalazine), 설파티아졸(sulfathiazole), 트리악신 씨(triacsin C), 트리메토프림(trimethoprim), 및 비네오마이신 A1(vineomycin A1)을 포함하지만, 이에 제한되지 않은 효소 억제제; 및 6) 파라셀신(paracelsin)을 포함하지만, 이에 제한되지 않은 막 개질제와 함께(즉, 혼합된 제형 또는 분리 제형으로서) 투여할 수 있다.

[0137] 일부 구체예에서, 용어 "약제학적으로 허용되는"은 연방 정부 또는 주 정부의 규제 에이전시에 의해 승인되거나, 또는 U.S. 파마코페이아(U.S. Pharmacopeia) 또는 동물, 보다 바람직하게는 사람에게 사용하기 위한 기타 일반적으로 인식된 파마코페이아에 나열된 것을 의미한다. 용어 "담체"는 화학식 I의 화합물과 함께 투여되는 희석제, 보조제, 또는 부형제를 의미한다. 이러한 약제학적 담체는 예를 들면, 석유, 동물, 식물 또는 합성 기원의 것을 포함하는 물 및 오일, 예를 들면, 땅콩 오일, 콩오일, 광유, 참기름 등과 같은 액체일 수 있다. 약제학적 담체는 또한, 식염수, 아카시아검, 젤라틴, 전분 페이스트, 탈크, 케라틴, 콜로이드성 실리카, 요소 등일 수 있다. 또한, 보조제, 안정화제, 농화제, 윤활제 및 착색제를 사용할 수 있다. 사람에게 투여시, 화학식 I의 화합물 및 약제학적으로 허용되는 담체는 무균일 수 있다. 물은 화학식 I의 화합물이 정맥내 투여시 적합한 담체이다. 식염수 용액 및 수성 텍스트로스와 글리세롤 용액을 또한 액체 담체, 특히, 주사용액으로서 사용할 수 있다. 적합한 약제학적 담체는 또한 부형제, 예를 들면, 전분, 글루코스, 락토스, 슈크로스, 젤라틴, 말트, 쌀, 밀, 초크, 실리카겔, 나트륨 스테아레이트, 글리세롤 모노스테아레이트, 탈크, 염화나트륨, 무수 탈지유, 그릴세룰, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올 등을 포함한다. 본 조성물은, 목적하는 경우, 또한 소량의 습윤제 또는 유화제, 또는 pH 완충제를 함유할 수 있다.

[0138] 여기서 기재된 조성물은 용액, 현탁액, 유화액, 정제, 환약, 펠렛, 캡슐, 액체를 함유한 캡슐, 가루, 서방출 제형, 좌제, 에어로졸, 스프레이, 또는 사용하기에 적합한 임의의 기타 형태를 취할 수 있다. 적합한 약제학적 담체의 예는 문헌[참조: Remington's Pharmaceutical Sciences, A.R. Gennaro (Editor) Mack Publishing Co.]에 기재되어 있다.

[0139] 하나의 구체예에서, 화학식 I의 화합물은 사람에게 투여하기에 적합한 약제학적 조성물로서 통상적인 절차에 따라 제형화된다. 전형적으로, 화학식 I의 화합물은 무균 등장 수성 완충액 내 용액이다. 필요한 경우, 조성물은 또한 용해보조제를 포함할 수 있다. 정맥 투여용 조성물은 임의로 국소 마취제, 예를 들면 리도카인을 포함하여 주입 부위에서 통증을 경감시킬 수 있다. 일반적으로, 구성성분은 별개로 또는 단위 투여량 형태, 예를 들면, 무수 동결건조된 가루 또는 활성제의 양을 나타내는 앰플 또는 사케테(sachette)와 같은 밀봉 용기 내 무수 농축물로서 함께 혼합되어 공급된다. 본 발명의 화합물이 주입에 의해 투여되는 경우, 예를 들면, 무균 약제학적 등급수 또는 식염수를 함유하는 주입병으로 분배될 수 있다. 화학식 I의 화합물이 주사에 의해 투여되는 경우, 주사용 무균수 또는 식염수의 앰플을 제공하여 구성성분이 투여하기 전에 혼합될 수 있도록 제공될 수 있다.

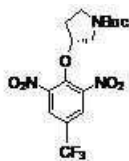
[0140] 화학식 I의 화합물, 및 이를 포함하는 조성물을 경구로 투여할 수 있다. 화합물 및 경구 전달용 조성물은 예를 들면, 정제, 로젠지(lozenge), 수성 또는 유성 현탁액, 입자, 가루, 현탁액, 캡슐, 시럽 또는 엘릭서(elixir)의 형태일 수 있다. 경구 투여된 조성물은 하나 이상의 임의의 제제, 예를 들면, 과당, 아스파탐 또는 사카린과 같은 감미제; 페퍼민트, 윈터그린 또는 체리 오일과 같은 향미제; 착색제; 및 보존제를 함유해서 약제학적으로 맛이 좋은 제제를 제공할 수 있다. 더구나, 정제 또는 환제 형태인 경우, 조성물을 피복시켜 위장관에서 분해 및 흡수를 지연시킴으로써 연장된 기간의 시간에 걸쳐 서방 작용을 제공할 수 있다. 삼투압으로 활성인 구동 화합물을 둘러싸는 선택적으로 투과가능한 막이 또한 화학식 I의 경구 투여된 화합물에 적합하다. 경구 조성물은 표준 비히클, 예를 들면, 만니톨, 락토스, 전분, 스테아르산마그네슘, 사카린나트륨, 셀룰로오스, 탄산 마그네슘 등을 포함할 수 있다. 이러한 비히클은 약제학적 등급이 적합하다.

[0141] 약제학적 조성물은 단위 투여량 형태일 수 있다. 이러한 형태에서, 조성물은 적절한 양의 활성 성분을 함유하는 단위 용량으로 분할될 수 있다. 단위 투여량 형태는 패키징된 제제, 제제의 별개의 양을 함유하는 패키지(package), 예를 들면, 포장된 정제, 캡슐, 및 바이알 또는 앰플내 가루일 수 있다. 단위 투여량 형태는 또한 캡슐, 카세트(cachet), 또는 정제 자체일 수 있거나, 또는 적절한 수의 임의의 이들 패키징된 형태일 수 있다.

[0142] 본 발명은 또한,

[0143] 1a) (R)-(-)-N-Boc-3-피롤리디놀을 강염기와 반응시켜 혼합물을 형성하고; 상기 혼합물을 2-클로로-5-(트리플루오로메틸)-1,3-디니트로벤젠과 추가로 반응시켜 화학식 II의 화합물을 형성하는 단계;

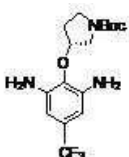
[0144] 화학식 II



[0145]

[0146] 1b) 화학식 II의 화합물을, 수소의 존재하에 알콜 및 전이 금속 촉매와 반응시켜 화학식 III의 화합물을 형성하는 단계;

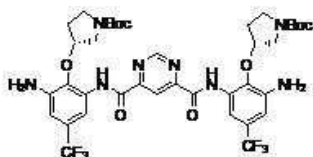
[0147] 화학식 III



[0148]

[0149] 1c) 화학식 III의 화합물 및 피리미딘-4,6-디카복실산을 2-클로로-4,6-디메톡시-1,3,5-트리아진 및 N-메틸모르폴린의 혼합물에 가하여 화학식 IV의 화합물을 형성하는 단계;

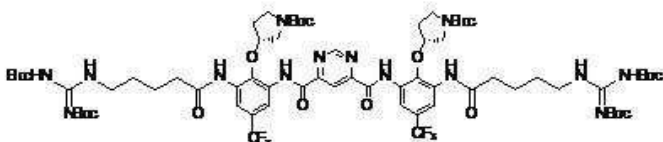
[0150] 화학식 IV



[0151]

[0152] 1d) 화학식 IV의 화합물을 N-Boc-구아니딘 부틸산과 반응시켜 화학식 V의 화합물을 형성하는 단계; 및

[0153] 화학식 V



[0154]

[0155] 1e) 화학식 V의 화합물을 탈보호시켜 화합물 A를 생성하는 단계를 포함하는 화합물 A의 제조방법을 제공한다.

[0156] 일부 구체예에서, a)에서 강염기는 NaH이고; b)에서 전이 금속 촉매는 Pd/C이며, 알콜은 에탄올이다. 특히, 이 방법은 아래 실시예 1에 보다 상세하게 기재되어 있다.

[0157] 본 발명은 또한,

[0158] a) (R)-3-하이드록시피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를 탈보호시키고, 생성 화합물을 2-클로로-1,3-디니트로-5-트리플루오로메틸벤젠과 반응시켜 (R)-3-(2,6-디니트로-4-트리플루오로메틸페녹시)피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를 형성하는 단계;

[0159] b) (R)-3-(2,6-디니트로-4-트리플루오로메틸페녹시)피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를, 알콜, 전이 금속 촉매, 및 수소의 존재하에 환원시켜 (R)-3-(2,6-디아미노-4-트리플루오로메틸페녹시)-피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를 형성하는 단계;

[0160] c) (R)-3-(2,6-디아미노-4-트리플루오로메틸페녹시)-피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를, 1-[(3-(디메틸아미노)-프로필)]-3-에틸카보디이미드 하이드로클로라이드의 존재하에 피리미딘-4,6-디카복실산과 커플링시켜 피리미딘-4,6-디카복실산 비스-{[3-아미노-2-((R)-1-(3급-부톡시카보닐)피롤리딘-3-일옥시)-5-트리플루오로메틸-페닐]아미드}를 형성하는 단계;

[0161] d) 피리미딘-4,6-디카복실산 비스-{[3-아미노-2-((R)-1-(3급-부톡시카보닐)피롤리딘-3-일옥시)-5-트리플루오로

메틸-페닐]아미드}를, 포스포러스 옥시클로라이드의 존재하에 ([3-(3급-부톡시카보닐)아미노][3-(3급-부톡시카보닐)이미노]메틸}아미노)펜타노익산과 반응시켜 피리미딘-4,6-디카복실산 비스-{[3-(5-([3-(3급-부톡시카보닐)아미노][3-(3급-부톡시카보닐)이미노]메틸}아미노)-펜타노일아미노)-2-((R)-1-(3급-부톡시카보닐)-피롤리딘-3-일옥시)-5-트리플루오로메틸-페닐]-아미드}를 형성하는 단계;

[0162] e) 피리미딘-4,6-디카복실산 비스-{[3-(5-([3-(3급-부톡시카보닐)아미노][3-(3급-부톡시카보닐)이미노]메틸}아미노)-펜타노일아미노)-2-((R)-1-(3급-부톡시카보닐)-피롤리딘-3-일옥시)-5-트리플루오로메틸-페닐]-아미드}를 탈보호시켜 조 피리미딘-4,6-디카복실산 비스-{[3-(5-구아니디노-펜타노일아미노)-2-((R)-피롤리딘-3-일옥시)-5-트리플루오로메틸-페닐]-아미드}테트라하이드로클로라이드를 형성하는 단계; 및

[0163] f) 조 피리미딘-4,6-디카복실산 비스-{[3-(5-구아니디노-펜타노일아미노)-2-((R)-피롤리딘-3-일옥시)-5-트리플루오로메틸-페닐]-아미드}테트라하이드로클로라이드를 역상 크로마토그래피에 의해 정제시키는 단계를 포함하여, 화합물 a의 대안적인 제조방법을 제공한다.

[0164] 일부 구체예에서, b)에서, 전이 금속 촉매는 Pd/C이고, 알콜은 에탄올이다. 특히, 이러한 방법은 아래 실시예 2에 보다 상세하게 기재되어 있다.

[0165] 본 발명은 또한,

[0166] a) (R)-3-하이드록시피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를 탈보호시키고, 추가로, 생성 화합물을 2-클로로-1,3-디니트로-5-트리플루오로메틸벤젠과 반응시켜 (R)-3-(2,6-디니트로-4-트리플루오로메틸페녹시)피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를 형성하는 단계;

[0167] b) (R)-3-(2,6-디니트로-4-트리플루오로메틸페녹시)피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를, 알콜, 전이 금속 촉매, 및 수소의 존재하에 환원시켜 (R)-3-(2,6-디아미노-4-트리플루오로메틸페녹시)-피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를 형성하는 단계;

[0168] c) (R)-3-(2,6-디아미노-4-트리플루오로메틸페녹시)-피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를, 1-[(3-(디메틸아미노)-프로필)]-3-에틸카보디이미드 하이드로클로라이드의 존재하에 피리미딘-4,6-디카복실산과 커플링시켜 피리미딘-4,6-디카복실산 비스-{[3-아미노-2-((R)-1-(3급-부톡시카보닐)피롤리딘-3-일옥시)-5-트리플루오로메틸-페닐]아미드}를 형성하는 단계;

[0169] d) 피리미딘-4,6-디카복실산 비스-{[3-아미노-2-((R)-1-(3급-부톡시카보닐)피롤리딘-3-일옥시)-5-트리플루오로메틸-페닐]아미드}를, 티오닐 클로라이드의 존재하에 N-Cbz 산과 반응시키는 단계;

[0170] e) d)의 생성된 화합물을, 알콜, 전이 금속 촉매, 및 수소의 존재하에 환원시키는 단계;

[0171] f) e)의 생성 화합물을 디-Boc 피라졸과 반응시키는 단계; 및

[0172] g) f)의 생성 화합물을 탈보호시켜 화합물 A를 생성하는 단계를 포함하는, 화합물 A의 제2의 대안적인 제조방법을 제공한다.

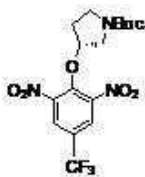
[0173] 일부 구체예에서, b) 및 e)에서 전이 금속 촉매는 Pd/C이고, 알콜은 에탄올이다. 특히, 이러한 방법은 아래 실시예 3에 보다 상세하게 기재되어 있다.

[0174] 당해 분야의 숙련가는 본원에 기재된 방법에 인용된 시약을 적합한 시약으로 치환해서 화합물 A 뿐만 아니라 화학식 I의 추가적인 화합물을 제조할 수 있을 것이다.

[0175] 본 발명은 또한,

[0176] a) (R)-(-)-N-Boc-3-피롤리디놀을 강염기와 반응시켜 혼합물을 형성하고; 추가로, 혼합물을 2-클로로-5-(트리플루오로메틸)-1,3-디니트로벤젠과 반응시켜 화학식 II를 갖는 화합물을 형성하는 단계;

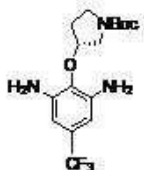
[0177] 화학식 II



[0178]

[0179] b) 화학식 II의 화합물을, 수소의 존재하에 알콜 및 전이 금속 촉매와 반응시켜 화학식 III의 화합물을 형성하는 단계;

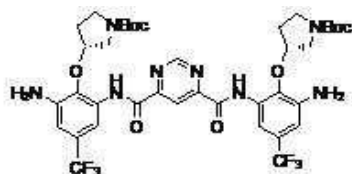
[0180] 화학식 III



[0181]

[0182] c1) 화학식 III의 화합물 및 피리미딘-4,6-디카복실산을 2-클로로-4,6-디메톡시-1,3,5-트리아진 및 N-메틸모르폴린의 혼합물에 가하여 화학식 IV의 화합물을 형성하는 단계; 또는

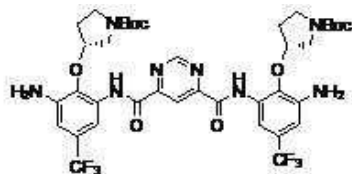
[0183] 화학식 IV



[0184]

[0185] c2) 화학식 III의 화합물 및 피리미딘-4,6-디카복실산을 1-에틸-3-[3-(디메틸아미노)프로필]-카보디이미드 하이드로클로라이드(EDC1) 및 무수 피리딘의 혼합물에 가하여 화학식 IV의 화합물을 형성하는 단계;

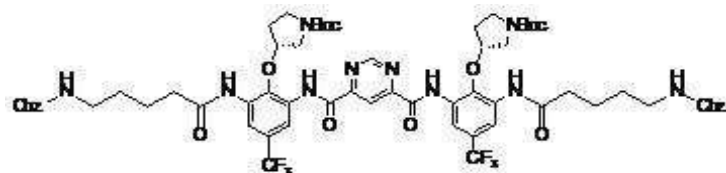
[0186] 화학식 IV



[0187]

[0188] d) N-Cbz 산을 갖는 화학식 IV의 화합물을 무수 피리딘, 디메틸아미노프로필아민, 및 티오닐 클로라이드의 임의의 하나, POCl₃, (EtO)₂POCl, 또는 옥살릴 클로라이드를 포함하는 용액에 가하여 화학식 Va의 화합물을 형성하는 단계;

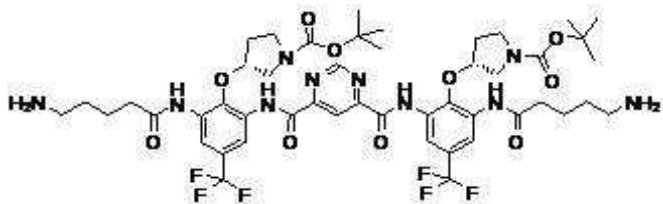
[0189] 화학식 Va



[0190]

[0191] e) 화학식 Va의 화합물의 Cbz 그룹을 수소화반응시켜 화학식 VI의 화합물을 생성하는 단계;

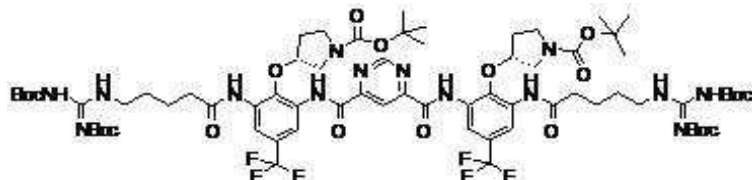
[0192] 화학식 VI



[0193]

[0194] f) 화학식 VI의 화합물을 보호시켜 화학식 VII의 화합물을 생성하는 단계; 및

[0195] 화학식 VII



[0196]

[0197] g) 화학식 VII의 화합물을 탈보호시켜 화합물 A의 약제학적으로 허용되는 염을 생성하는 단계를 포함하여, 화합물 A의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다.

[0198] 화학식 I의 화합물의 제조는 각종 화학 그룹의 보호 및 탈보호를 포함할 수 있다. 보호 및 탈보호에 대한 필요성, 및 적절한 보호 그룹의 선택은 당해 분야의 숙련가에 의해 즉시 결정될 수 있다. 보호 그룹의 화학은, 예를 들면, 문헌[참조: T. W. Greene and P. G. M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd Ed., Wiley & Sons, Inc., New York (1999)]에서 찾을 수 있고, 이는 전문이 본원에 참조로 인용되어 있다.

[0199] 본 발명은 또한 위에 기재된 하나 이상의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염과 미생물을 접촉시킴을 포함하여 미생물의 성장을 억제하는 방법을 제공한다. 일부 구체예에서, 화학식 I의 화합물은 예를 들면, 주방 및 욕실에서와 같이 표면을 세정하기 위한 향균제로서 작용할 수 있다. 이들 구체예에서, 화학식 I의 화합물은 이러한 용도 목적으로 당해 분야의 숙련가에게 잘 공지된 과정에 의해 제형화될 수 있다.

[0200] 본 발명은 또한, 항-미생물학적 유효량의 위에 기재된 하나 이상의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 미생물 감염의 치료가 필요한 포유동물에게 투여함을 포함하여 미생물 감염을 갖는 포유동물을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 구체예에서, 포유동물은 처리하기 전에 미생물 감염으로 예비진단될 수 있다. 일부 구체예에서, 형식적 진단이 이루어질 수 없고; 이러한 구체예에서, 치료가 목적하는 바와 같이 인식되기 위한 미생물 감염을 갖는 포유동물로 의심할 수 있다.

[0201] 하나의 구체예에서, "치료" 또는 "치료하다(treating)"는 미생물 감염, 또는 이의 하나 이상의 식별가능한 증상의 완화; 또는 반드시 환자에 의해 식별가능하지는 않은 하나 이상의 측정가능한 물리적 매개변수를 완화하거나; 또는 미생물 감염의 진행을 억제하거나; 또는 미생물 감염의 개시를 지연시킴을 나타낸다.

[0202] 일부 구체예에서, 미생물, 또는 미생물 감염은 그람-음성 호기성균, 그람-양성 호기성균, 그람-음성 혐기성균, 그람-양성 혐기성균, 또는 효모로 인한 것이다. 일부 구체예에서, 그람-음성 호기성균은 에스케리치아 콜라이(Escherichia coli), 시트로박터 프레운디(Citrobacter freundii), 시트로박터 디베루스(Citrobacter diverus), 시트로박터 코세리(Citrobacter koseri), 엔테로박터 클로아케(Enterobacter cloacae), 엔테로박터 파에칼리스(Enterobacter faecalis), 클렙시엘라 뉴모니아(Klebsiella pneumonia), 클렙시엘라 옥시토카(Klebsiella oxytoca), 모르가넬라 모르가니(Morganella morganii), 프로비덴시아 스투아르티(Providencia stuartii), 프로테우스 불가리스(Proteus vulgaris), 프로테우스 미라빌리스(Proteus mirabilis), 세라티아 마르세센스(Serratia marcescens), 아시네토박터 해모라이티쿠스(Acinetobacter haemolyticus), 아시네토박터 주니(Acinetobacter junii), 아시네토박터 로피(Acinetobacter lwoffii), 해모필러스 인플루엔자(Haemophilus influenzae), 스테노트로포모나스 말토폰리야(Stenotrophomonas maltophilia), 및 슈도모나스 아에루기노사(Pseudomonas aeruginosa)로부터 선택되지만, 이에 제한되지 않는다. 일부 구체예에서, 그람-양성 호기성균은 엔테로코커스-파에칼리스(Enterococcus faecalis), 엔테로코커스 파에쿰(Enterococcus faecium), 마이코박테리움 튜버쿨로시스(Mycobacterium tuberculosis), 스태필로코커스 아우레우스(Staphylococcus aureus), 스태필로코커스 뉴모니아(Staphylococcus pneumoniae), 스태필로코커스 에피더미디스(Staphylococcus epidermidis), 스

타필로코커스 사프로피티쿠스(*Staphylococcus saprophyticus*), 스태필로코커스 콜미(*Staphylococcus colmii*), 스태필로코커스 스키투리(*Staphylococcus sciuri*), 스태필로코커스 와르네리(*Staphylococcus warneri*), 스트렙토코커스 아갈락티에(*Streptococcus agalactiae*), 스트렙토코커스 피오게네스(*Streptococcus pyogenes*), 스트렙토코커스 안지노서스(*Streptococcus anginosus*), 스트렙토코커스 미티스(*Streptococcus mitis*) 및 스트렙토코커스 오랄리스(*Streptococcus oralis*)로부터 선택되지만, 이에 제한되지 않는다. 일부 구체예에서, 그람-음성 혐기균은 박테로이데스 프라질리스이다. 일부 구체예에서, 그람-양성 혐기균은 클로스트리디움 디피실(*Clostridium difficile*) 또는 클로스트리디움 퍼프린젠스(*Clostridium perfringens*)이다. 일부 구체예에서, 마이코박테리움은 마이코박테리움 튜버쿨로시스(*Mycobacterium tuberculosis*), 마이코박테리움 보비스(*Mycobacterium bovis*), 마이코박테리움 아프리카눔(*Mycobacterium africanum*), 마이코박테리움 카네티(*Mycobacterium canetti*), 또는 마이코박테리움 마이크로티(*Mycobacterium microti*)이다. 일부 구체예에서, 효모는 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*) 및 칸디다 크루세이(*Candida krusei*)로부터 선택되지만, 이에 제한되지 않는다.

[0203] 일부 구체예에서, 미생물은 아래 실시예에 인용된 것과 같이, 세균의 항생물질-내성 균주이다.

[0204] 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 및 이를 포함하는 조성물은 다양한 경로, 예를 들면, 주입 또는 볼러스 주사(거환 주사: bolus injection)로 투여할 수 있고, 다른 생물학적 활성제, 예를 들면, 다른 항생제와 함께 투여할 수 있다. 투여는 전신 또는 국소로 투여할 수 있다. 다양한 전달 시스템은, 예를 들면, 리포솜 내 캡슐화, 미세입자, 마이크로캡슐, 캡슐 등이 공지되어 있고, 이들이 사용되어 화학식 I의 화합물을 투여할 수 있다. 투여의 경로는 피부내, 근육내, 복강내, 정맥내, 피하, 비강내, 경막외, 경구, 설하, 비강내, 척추내, 질내, 경피, 항문, 폐, 흡입에 의해, 또는 국소적으로, 특히, 귀, 코, 눈, 또는 피부를 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 일부 구체예에서, 투여의 적합한 경로는 정맥내, 국소, 및 피하를 포함한다. 투여의 목적하는 경로는 전문가의 판단으로 남아 있고, 부분적으로, 치료하고자 하는 포유동물 또는 사람의 의학적 상태 및 미생물 감염의 부위에 따라 달라질 것이다. 대부분의 예에서, 투여는 화학식 I의 화합물을 혈류 내로 방출하는 결과를 야기할 수 있다.

[0205] 일부 구체예에서, 화학식 I의 하나 이상의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 치료가 필요한 영역에 국소적으로 투여하는 것이 바람직할 수 있다. 이는, 예를 들면, 예를 들면, 수술 후 상처 드레싱과 관련한, 수술 동안의 국소 주입, 국소 적용에 의한 주입, 카테터(catheter), 좌제를 사용하거나, 또는 임플란트(여기서, 임플란트는 다공성, 비-다공성, 또는 막을 포함하는 젤라틴 물질, 예를 들면, 시알라스틱 막, 또는 섬유이다)를 사용한 주사에 의해 달성될 수 있으며, 이는 제한되지 않는다.

[0206] 특정 미생물 감염의 치료에 유효할 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 양은, 장애 또는 상태의 성질에 의존할 것이고, 표준 임상 기술에 의해 결정될 수 있다. 또한, 체외 또는 생체내 검정을 임의로 사용하여 최적 투여량 범위를 인식하는데 일조할 수 있다. 조성물에 사용되는 정확한 용량은 또한 투여의 경로 및 감염의 중증도에 의존할 것이고, 전문가 및 각각의 환자의 환경의 판단에 따라 결정되어야 한다. 그러나, 투여하기에 적절한 투여량 범위는 일반적으로 체중 kg당 약 0.001 mg 내지 약 200 mg이다. 일부 구체예에서, 용량은 체중 kg당 약 0.01 mg 내지 약 70 mg, 또는 체중 kg당 약 0.1 mg 내지 약 50 mg, 또는 체중 kg 당 약 0.5 mg 내지 약 20 mg, 또는 체중 kg 당 약 1 mg 내지 약 10 mg이다. 일부 구체예에서, 용량은 체중 kg 당 약 5mg이다. 본원에 기재된 투여량은 투여된 총량을 나타내고; 즉, 화학식 I의 하나 이상의 화합물이 투여된 경우, 투여량은 투여된 화학식 I의 화합물의 총량에 상응한다. 조성물은 중량 대비 10% 내지 95% 활성성분을 함유할 수 있다. 유효용량은 체외 또는 동물 모델 시험 시스템으로부터 기원된 용량-반응 커브로부터 추론될 수 있다. 이러한 동물 모델 및 시스템이 당해 분야에 잘 공지되어 있다.

[0207] 본 발명은 또한 미생물 감염을 치료하기 위해, 위에 기재된 하나 이상의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 또는 위에 기재된 하나 이상의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.

[0208] 또한, 본 발명은 미생물 감염의 치료를 위해 의학의 제조에 사용하기 위한, 위에 기재된 하나 이상의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 또는 위에 기재된 하나 이상의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.

[0209] 본 발명은 또한 미생물의 성장의 억제에 있어서 위에 기재된 하나 이상의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 또는 위에 기재된 하나 이상의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물의 용도를 제공한다.

[0210] 본원에 기재된 발명을 보다 효율적으로 이해할 수 있기 위해서, 아래 실시예가 제공된다. 이들 실시예는 단지

설명하기 위한 목적이고, 어떠한 방식으로라도 본 발명을 제한하는 것으로 의도되어서는 안됨을 이해해야 한다. 이들 실시예 전반에 걸쳐, 분자 클로닝 반응, 및 기타 표준 재조합 DNA 기술은 달리 언급되는 것을 제외하고 시판 시약을 사용하여, 문헌[참조: Maniatis et al, Molecular Cloning - A Laboratory Manual, 2nd ed., Cold Spring Harbor Press (1989)]에 기재된 방법에 따라 수행되었다.

[0211] 실시예

[0212] 간결하게는, 아래 실시예로부터 발생된 결과에서, 화합물 A는 스태필로코커스 아종(*Staphylococci* spp.) 및 기타 그람-양성 및 그람-음성 유기체에 대해 활성을 나타낸다. 예를 들면, 감수성 스크린(susceptibility screen)은 에스.아우레우스(*S. aureus*) 및 응고효소 음성 스태필로코커스의 150개 분리주에 대해 기타 항미생물에 대한 한정된 항세균 감수성으로 수행하였다. 일반적으로, 0.5 내지 2.0 $\mu\text{g/ml}$ 의 MIC₉₀ 값은 150개의 스태필로코커스 유기체의 스크린에서 수득되었고, 기타 항생제에 대한 감수성 표현형에 의해 영향을 받지 않는었다. 17개의 통로에 대한 0.5x MIC 농도에서 에스.아우레우스의 메티실린-감수성(MSSA ATCC 29213) 및 내성(MRSA ATCC 33591) 균주의 일련 통로는 MIC 값에서 어떠한 변화도 야기시키지는 않았다. 일반적으로, 화합물 A는 30분 내지 6시간까지의 범위로 시간을 소요하면서 살균적이었다.

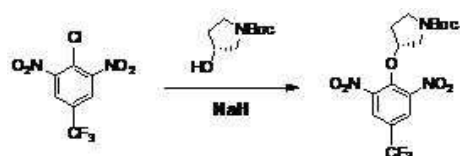
[0213] 화합물 A는 MSSA 29213 및 MRSA 33591에 대해 마우스 대퇴부 부담 모델에서 생체내 유효하다. MSSA 27660을 가진 마우스 대퇴부 부담 모델에서, 화합물 A는 반복 용량 독성 연구에서 잘 견뎠던 용량에서 비처리된, 감염된 대조 마우스에 비해 24시간 감염 후 cfu/대퇴부에서 4^{10} 이하의 감염을 달성하였다. 따라서, MSSA 및 MRSA에 대한 강력한 효능이, 랫트 대퇴부 부담 모델 및 마우스 복막염 모델 내 MSSA에 비해 마우스 대퇴부 부담 모델에서 관찰되었다. 화합물 A는 다수의 종으로부터 혈장 및 분리된 간세포의 존재하에 안정적이었다.

[0214] 화합물 A는 IV 주입에 의한 투여시 급성 독성 연구에서 더 나은 내성을 나타내었다. 마우스(30 mg/kg)에서 화합물 A에 대한 MTD(IV 거환 주사; 볼러스)는 대퇴부 부담 모델(2-4 mg/kg)에서 정적 효능 용량보다 실질적으로 더 높다.

[0215] 화합물 A는 현재 IV pan-스타필로코커스 제제로서 개발하기 위한 제1상 사람 임상 시험 중이다.

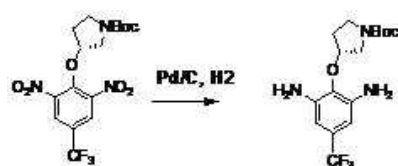
[0216] 실시예 1: 화합물 A의 합성

[0217] 단계 1:



[0219] 나트륨 하이드라이드(1.12 g, 광유 중에 60%, 28 mmol)를 실온에서 (R)-(-)-N-Boc-3-피롤리딘올(5.0 g, 27.6 mmol)의 무수 DMF(24 mL) 용액에 가하였다. 생성 혼합물을 추가 5분 동안 교반하였다. 이후에, 이 혼합물을 0°C에서 2-클로로-5-(트리플루오로메틸)-1,3-디니트로벤젠(7.45 g, 27.6 mmol)의 DMF(20 mL) 용액에 적가하였다. 진한 적색 용액을 실온에서 4시간 동안 교반하였다. 반응물을 빙수로 쿼칭(quenching)한 다음, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기 층을 염수 및 물로 세척한 다음 Na₂SO₄로 건조시켰다. 용매를 제거한 후, 잔사를 설파 칼럼(에틸 아세테이트/헥산 = 1A, v/v)으로 정제하였다. 수율은 54%이었다.

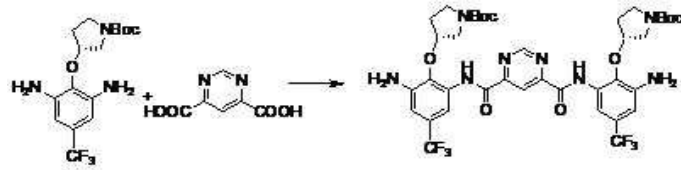
[0220] 단계 2:



[0222] (R)-3-급-부틸 3-(4-(트리플루오로메틸)-2,6-디니트로페녹시)피롤리딘-1-카복실레이트(4.84 g, 9.8 mmol) 및 Pd/C(0.78 g, 탄소 상의 10%) 및 에탄올(140 mL)을 파르 병(Parr bottle)에 위치시켰다. 혼합물을 수소하에 3회 플래쉬(flash)시키고, 40psi 수소하에 실온에서 밤새 교반시켰다. 혼합물을 셀라이트를 통해 여과시켰다. 이러한 케이크(cake)를 에탄올(2x20 mL)로 2회 세척하였다. 여액을 진공하에 증발시켰다. 회백색 고체를 수득하였

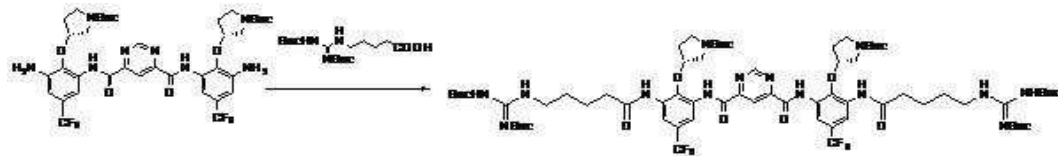
고, 이후 반응을 위해 그대로 사용하였다. 수율은 100%이었다.

단계 3:



2-클로로-4,6-디메톡시-1,3,5-트리아진(5.97 g, 34 mmol)을 무수 THF(200 mL) 중에 교반하였다. N-메틸모르폴린(7.5 mL, 68 mmol)을 가하였다. 생성 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 이후에, (R)-3급-부틸 3-(2,6-디아미노-4-(트리플루오로메틸)페녹시)피롤리딘-1-카복실레이트(10.84 g, 30 mmol) 및 피리미딘-4,6-디카복실산(2.48 g, 14.8 mmol)을 가하였다. 혼합물을 실온에서 24시간 동안 교반하였다. 용매를 진공하에 완전히 증발시켰다. 물(250 mL)을 가한 다음, 혼합물을 4시간 동안 교반하였다. 여과한 후, 황색 케이크를 물(3x100 mL)로 세척한 다음, 4시간 동안 물(250 mL) 중에 교반하였다. 여과 및 세척 과정을 2회 반복하였다. 고체를 공기 중에 건조시키고 디클로로메탄(20 mL) 중에 30분 동안 교반한 후, 1시간 동안 초음파 처리하였다. 여과한 후, 황색 케이크를 냉 디클로로메탄(2x10 mL)으로 빨리 세척하였다. 생성물(10.0 g, 수율: 79.1%)을 이후 반응을 위해 그대로 사용하였다.

단계 4:



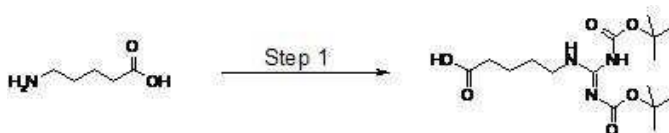
출발 물질(6.5 g, 7.6 mmol), N-Boc 구아니딘 부틸산(10.9 g, 30.4 mmol)을 0℃에서 무수 피리딘(40 mL) 중에 교반하였다. 피리딘(4 mL) 중의 POCl₃(2.78 mL, 30.4 mmol)을 적가하였다. 생성 혼합물을 0℃에서 1.5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 진공하에 증발시켰다. 물(140 mL)을 잔사에 가하였다. 혼합물을 에틸 아세테이트(260 mL)로 추출하였다. 유기 층을 염수(100 mL)로 세척한 다음, Na₂SO₄로 건조시켰다. 증발 후, 잔사를 칼럼 (용출제: 에틸 아세테이트/헥산/디클로로메탄 = 1/1/1, v/v/v 이후 디클로로메탄 중의 2% 내지 4% 메탄올)에 의해 정제시켰다. 수율은 29.1%이었다. R_f는 NMR로 특징지어졌던 표준 샘플과 동일하였다.

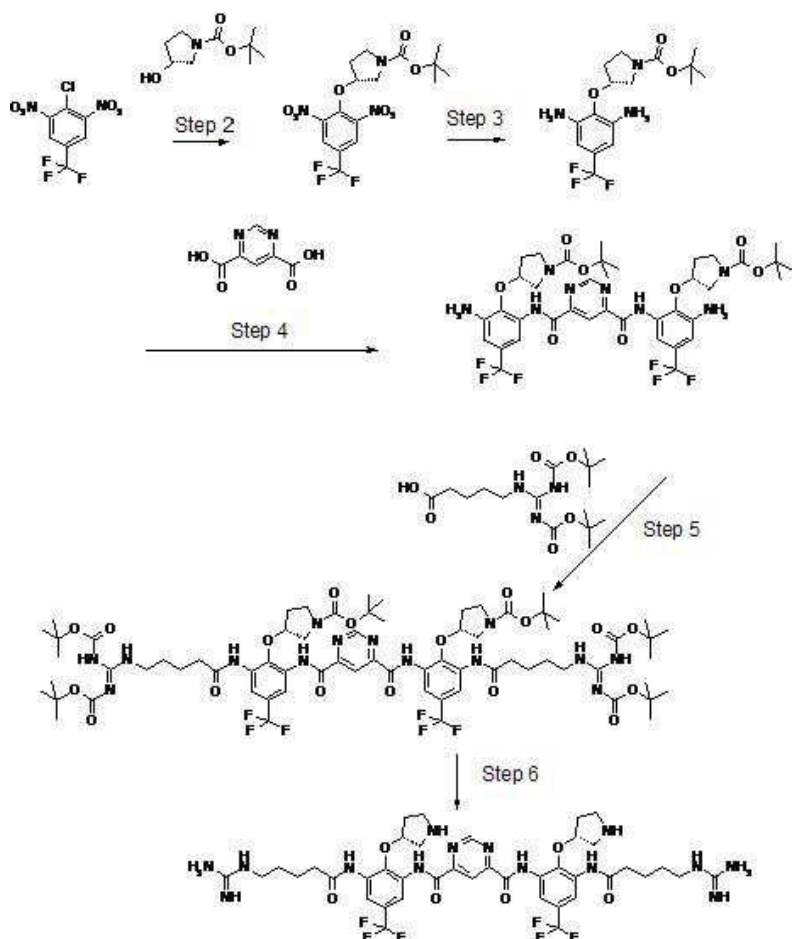
단계 5:



출발 물질(3.4 g, 2.3 mmol)을 실온에서 디옥산(34 mL) 중의 4N HCl 중에 밤새 교반하였다. 용매를 진공하에 제거하였다. 잔사를 에테르 중에 적정하였다. 고체를 여과시킨 다음, C18 역상 C18 칼럼으로 정제시켰다. 얻은 황색 고체를 98%(HPLC)의 순도를 가진 생성물로서 수득하였다; LC-MS (M+1): 937. 수율: 51%.

실시예 2: 화합물 A의 합성





[0234]

[0235]

단계 1: (R)-하이드록시피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를 테트라하이드로푸란(THF) 중의 칼륨 3급-부톡사이드(KOtBu)로 탈-양자화시켰다. 생성 음이온을 3급-부틸 메틸 에테르(MTBE)/THF 중에 2-클로로-1,3-디니트로-5-트리플루오로메틸벤젠으로 반응시켰다. 반응이 완료되면, 반응 혼합물을 물로 퀀칭시키고 보다 많은 양의 MTBE로 분배하였다. 유기 층을 염수 및 물로 세척하고, 회전 증발기 상에 농축시켰다. 고체 농축물을 메탄올 중에 재-용해시킨 다음, 물로 재-침전시켰다. 생성 침전물을 여과시킨 다음, 건조시켜 (R)-3-(2,6-디니트로-4-트리플루오로메틸페녹시)피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를 수득하였고, 이를 추가의 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[0236]

단계 2: 단계 1로부터 생성된 생성물을 메탄올 중에 용해시키고, 10% Pd/C의 존재하에 100 내지 200 psi 및 30-50℃에서 반응이 HPLC에 의해 완료될 때까지 수소화반응시켰다. 반응 혼합물을 셀라이트를 통해 여과시켰다. 여액을 농축시킨 다음, 건조시켜 (R)-3-(2,6-디아미노-4-트리플루오로메틸페녹시)-피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를 수득하고, 이를 추가의 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[0237]

단계 3: 단계 2로부터 생성된 생성물을, 불활성 대기하에 주변 온도에서 2 mol 디아민: 1 mol 2산의 적절한 비율로, 피리딘 중의 1-[(3-(디메틸아미노)-프로필)]-3-에틸카보디이미드 하이드로클로라이드(EDCI)의 존재하에 피리미딘-4,6-디카복실산으로 커플링시킨다. 반응이 완료된 경우, 반응 혼합물을 물로 희석시켰다. 생성 침전물을 분리시킨 다음, MTBE 중에 재-용해시켰다. MTBE 용액을 물, 0.2 N HCl, 및 염수로 세척시키고, 무수 황산 나트륨으로 건조시키고, 분리시킨 다음, 헵탄으로 희석시켰다. 생성 침전물을 여과시켜 분리시킨 다음, 건조시켜 피리미딘-4,6-디카복실산 비스-{[3-아미노-2-((R)-1-(3급-부톡시카보닐)피롤리딘-3-일옥시)-5-트리플루오로메틸-페닐]아미드}를 수득하였고, 이를 추가의 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

[0238]

단계 4: 단계 3으로부터 생성된 생성물을, 포스포러스 옥시클로라이드의 존재하에 약 -5 내지 -10℃의 온도에서 2.5 내지 3몰 당량의 피리딘 중의 ({[3-(3급-부톡시카보닐)아미노][3-(3급-부톡시카보닐)이미노]메틸}아미노)펜탄산과 반응시켰다. 반응물을 15℃의 온도에서 물로 퀀칭하였다. 상층액을 비결정 침전물로부터 분리하고, 이를 MTBE 중에 재-용해시키고, 물 및 염수로 세척하고, 무수 황산 나트륨으로 건조시키고, 분리시킨 다음, 헵탄으로 희석시켰다. 생성 침전물을 여과시켜 분리시킨 다음 건조시켜 피리미딘-4,6-디카복실산 비스-{[3-(5-({[3-(3급-부톡시카보닐)아미노][3-(3급-부톡시카보닐)이미노]메틸}아미노)-펜타노일아미노)-2-((R)-1-(3급-부톡시카보닐)-피

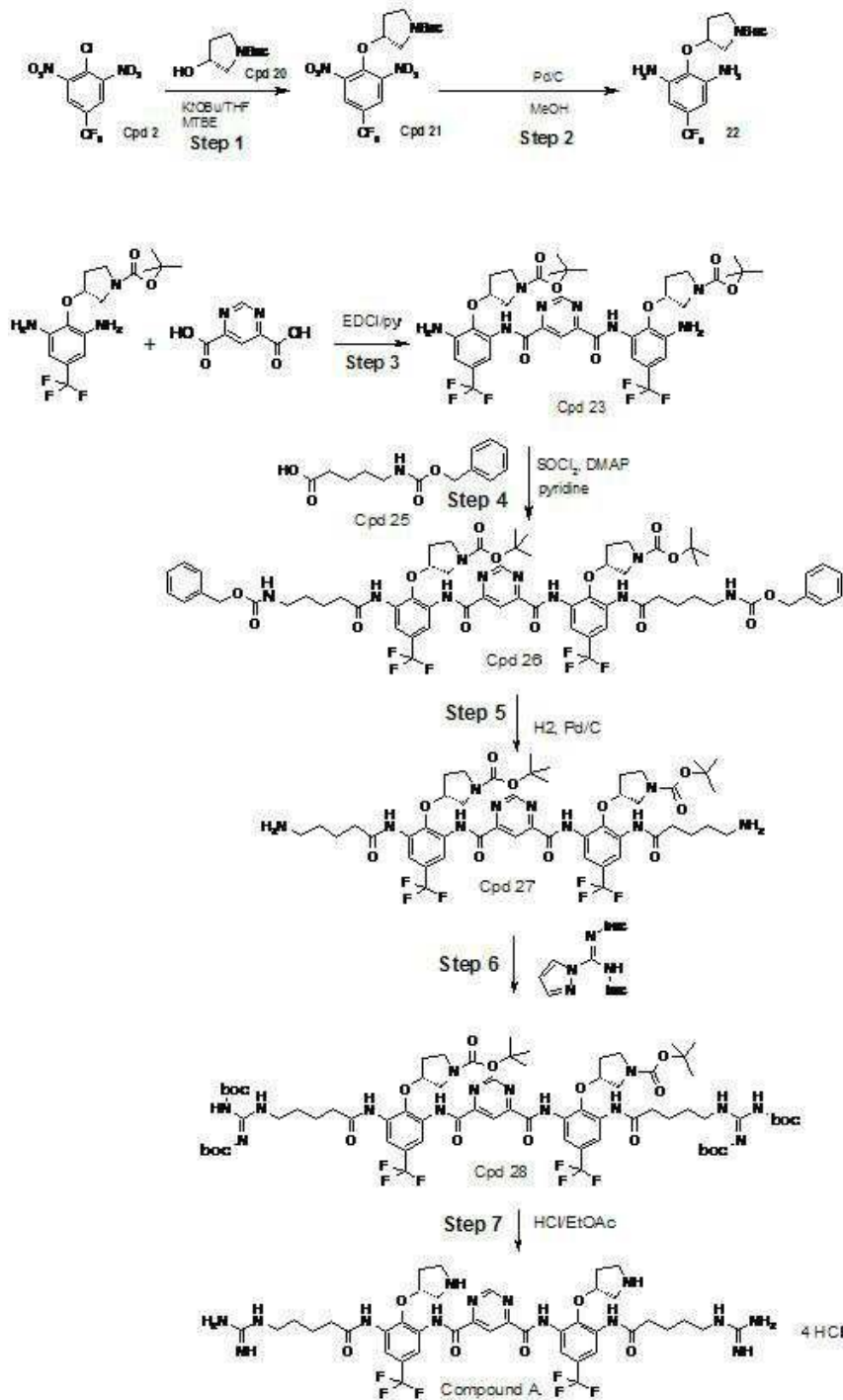
롤리딘-3-일옥시)-5-트리플루오로메틸-페닐]-아미드}를 수득하고, 이를 추가의 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다.

[0239] 단계 5: 단계 4로부터 생성된 생성물을 주변 온도에서 포름산 중에 4M HCl/1,4-디옥산으로 탈보호(6개 3급-부톡시카보닐 그룹)시켰다. 반응 혼합물을 1,4-디옥산으로 희석시켰다. 생성 침전물을 여과시키고, 1,4-디옥산으로 세척한 다음, 건조시켜 조 피리미딘-4,6-디카복실산 비스-{[3-(5-구아니디노-펜타노일아미노)-2-((R)-피롤리딘-3-일옥시)-5-트리플루오로메틸-페닐]-아미드}테트라하이드로클로라이드(조 화합물 A)를 수득하였다. 조 생성물을 메탄올 용액으로부터 THF(주변 온도에 대해 50℃)로 재-침전시키고/시키거나 주변 온도에서 물/메탄올 용액으로부터 THF로 재-침전시켜 추가로 정제시켰다.

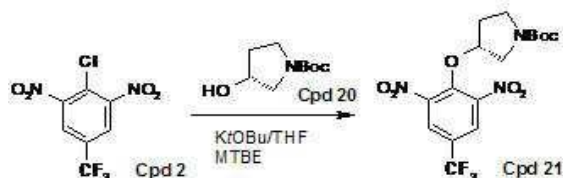
[0240] 단계 6(크로마토그래피 정제): 화합물 A의 최종 정제는 YMC ODS-AQ 상, 50 마이크론, 120 옹스트롬(Angstrom)을 사용하여 역상 크로마토그래피(RP-HPLC)로 달성하고, 프로크롬 다이내믹 축 압축 칼럼(ProChrom dynamic axial compression column) 내로 패킹된 현탁액이었다. 이동 상은 용매 A 중의 용매 B의 구배이고, 여기서 용매 A는 0.05% 트리플루오로아세트산(TFA)을 가진 물이고, 용매 B는 0.05% TFA를 가진 아세트오니트릴이다. 정제된 생성물을 함유하는 분획은 회전식 증발에 의해 농축시켜 화합물 A를 트리플루오로아세테이트 염으로서 수득하였다. 최종 하이드로클로라이드 염 형태를 도웁스(Dowex) 1x2-400(C1-형태) 이온-교환 칼럼을 통해 트리플루오로아세테이트 염의 물/메탄올 용액을 통과하고, API-함유 용출제를 수집하고, 농축시킨 다음, 건조시킴으로써 재-생성시켰다.

[0241] 화합물 A 벌크 약물 기질은 2℃ 내지 8℃에서 저장되고, 암버 HDPE 용기 중에 또는 섬유 드럼 내 이중 폴리에틸렌 가방에서 빛과 공기로부터 보호된다.

[0242] 실시예 3: 화합물 A의 합성



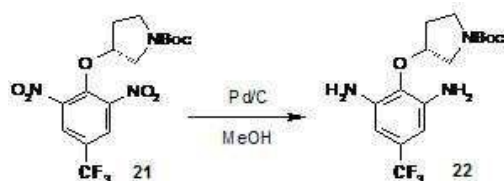
[0243]



[0244]

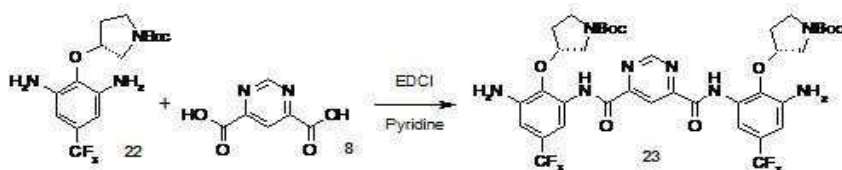
[0245] 단계 1: (R)-하이드록시피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르(화합물 20)는 테트라하이드로푸란(THF) 중에 칼륨 3급-부톡사이드(KOtBu)로 탈-양자화시켰다. 생성 음이온을 3급-부틸 메틸 에테르(MTBE)/THF 중에 2-클로로-1,3-디니트로-5-트리플루오로메틸벤젠(화합물 2)과 반응시켰다. 반응이 완료되면, 반응 혼합물을 물로 퀀칭시키고, 과량의 MTBE와 분배시켰다. 유기 층을 염수 및 물로 세척한 다음, 회전 증발기에 농축시켰다. 고체 농축물을 메탄올 중에 재-용해시킨 다음, 물로 재-침전시켰다. 생성 침전물을 여과시킨 다음, 건조시켜 (R)-3-(2,6-

디니트로-4-트리플루오로메틸페녹시)피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르를 수득하고, 이를 추가의 정제 없이 다음 단계에 사용할 수 있다. 이러한 반응은 화합물 2의 4.2 Kg을 사용하는 규모에서 수행되었다.



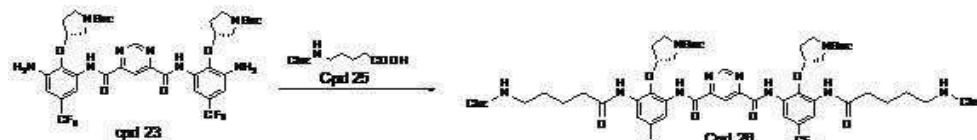
[0246]

단계 2: 화합물 21을 메탄올 중에 용해시킨 다음, 10% Pd/C의 존재하에 100-200 psi 및 30-50°C에서 반응이 HPLC에 의해 완료될 때까지 수소화반응시켰다. 반응 혼합물을 셀라이트를 통해 여과시켰다. 여액을 농축시킨 다음, 건조시켜 92.2%의 HPLC 순도로 (R)-3-(2,6-디아미노-4-트리플루오로메틸페녹시)-피롤리딘-1-카복실산 3급-부틸 에스테르(화합물 22)를 수득하였다. 반응은 각각의 배치(batch)에 대해 화합물 21이 1.64 kg의 규모를 갖는 4개의 배치에서 수행되었다.



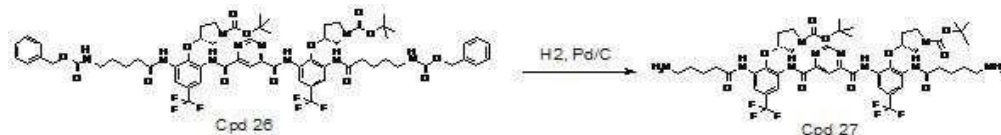
[0248]

단계 3: 화합물 22를 불활성 대기하에 주변 온도에서 피리딘 중의 1-[(3-(디메틸아미노)-프로필)-3-에틸카보디이미드 하이드로클로라이드(EDCI)의 존재하에 2 mol 디아민: 1 mol 2산의 적절한 비율로 피리미딘-4,6-디카복실산(화합물 8)과 커플링시켰다. 반응이 완료되면, 반응 혼합물을 물로 희석시켰다. 생성 침전물을 분리시킨 다음, MTBE 중에 재-용해시켰다. MTBE 용액을 물, 0.2 N HCl, 및 염수로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 분리시킨 다음, 헵탄 중에 희석시켰다. 생성 침전물을 여과시켜 분리시킨 다음, 건조시켜 피리미딘-4,6-디카복실산 비스-{[3-아미노-2-((R)-1-(3급-부톡시카보닐)피롤리딘-3-일옥시)-5-트리플루오로메틸-페닐]아미드}(화합물 23)을 수득하고, 이를 추가의 정제 없이 다음 단계에 사용할 수 있다. 화합물 22의 3.15 kg을 사용하는 규모에서 반응을 수행하였다.



[0250]

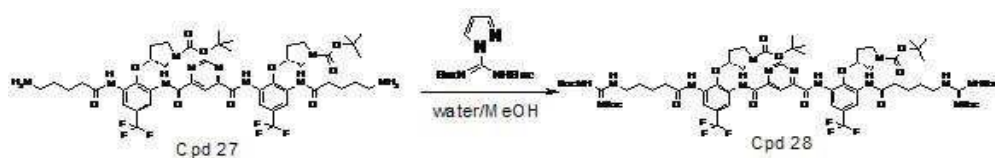
단계 4: 60 ml 무수 피리딘 중의 DMAP의 용액 3.66 g을 빙욕으로 0°C로 냉각시켰다. 티오닐 클로라이드 3.60 g을 천천히 가하였다. 생성 용액을 10분 동안 교반시켰다. 출발 물질 N-Cbz 산(7.53 g, 30 mmol), 화합물 23(8.54 g, 10 mmol)을 용액에 각각 가하였다. 생성 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반하였다. 물(500 mL)을 가하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 격렬하게 교반한 후, 고체를 여과한 다음, 250 mL의 물로 세척하였다. 고체를 에틸 아세테이트(300 mL) 중에 용해시켰다. 유기 층을 10% 시트르산 용액(100 mL) 및 염수(100 mL)로 세척하고, Na₂SO₄로 건조시켰다. 증발시킨 후, 잔사를 40 mL DCM 중에 용해시킨 다음, 250 mL 헥산을 가하였다. 침전물을 수집한 다음, 진공하에 건조시켰다. 생성물 13.20 g을 95% 순도로 수득하였다. 수율: 100%.



[0252]

단계 5: 화합물 26(13.20 g)을 MeOH 중에 2당량의 1N HCl로 용해시킨 다음, 촉매 Pd/C(10%) 1.0 g을 가하였다. 반응 혼합물을 파르 수소화기 상에 위치시킨 다음, 60 psi의 수소하에 2시간 동안 진탕시켰다. LCMASS는 어떠한 진행도 나타내지 않았고, 다른 1.0 g의 촉매를 가하였다. 반응 혼합물을 파르 수소화기에 위치시킨 다음, 60 psi의 수소하에 3시간 동안 진탕시켰다. 혼합물을 셀라이트를 통해 여과시켜 촉매를 제거하였다. 여액을 건조할 때까지 로토바프(rotovap) 상에서 30°C에서 농축시켰다. 생성물 11.50 g을 95% 순도로 수득하였다. 수율: 100%.

[0253]



[0254]

[0255]

단계 6: 화합물 27(11.50 g, 10 mmol)을 60 ml 메탄올 및 DCM(1:1) 중에 용해시켰다. 이후에, 4.04 g 트리에틸아민(40 mmol)을 가하였다. 디-Boc 피라졸 9.3 그램(30 mmol)을 가한 다음, 생성 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 용매의 95%를 제거한 후, 300 mL 물을 가한 다음, 혼합물을 2시간 동안 격렬하게 교반하였다. 고체를 여과시킨 다음, 300 mL 물로 세척하였다. 고체를 300 mL 에틸 아세테이트 중에 용해시킨 다음, Na_2SO_4 로 건조시켰다. 용매를 증발시킨 후, 고체를 40 mL DCM 중에 용해시킨 다음, 500 mL 헥산을 사용하여 생성물을 침전시켰다. 고체를 수집한 다음, 진공하에 건조시켰다. 생성물 13.0 그램을 85% 수율(90 % 순도)로 수득하였다

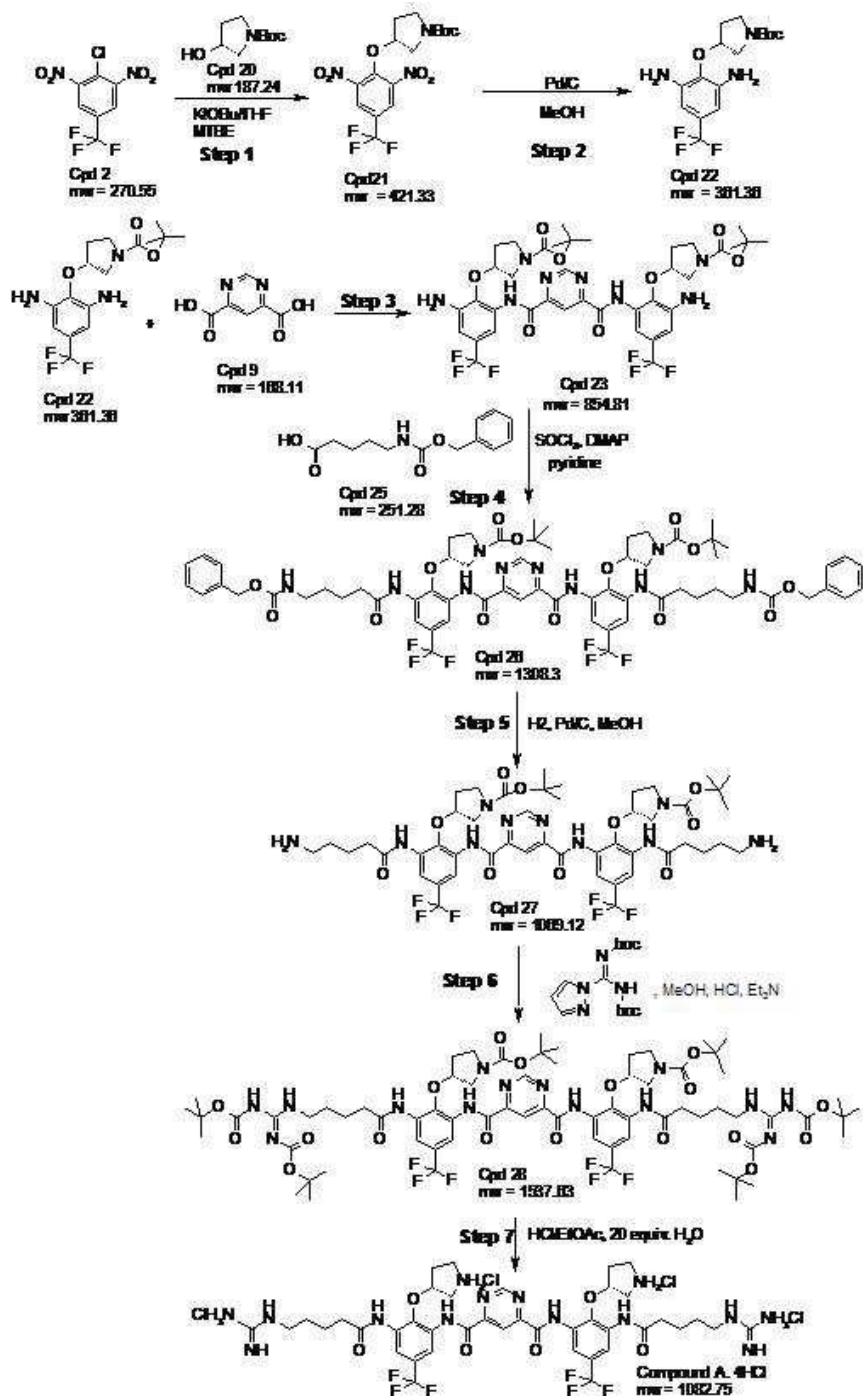


[0256]

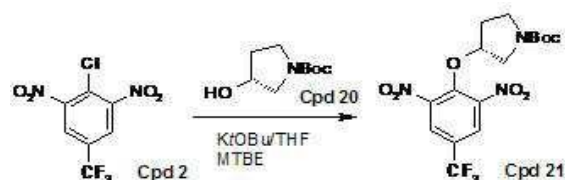
[0257]

단계 7: 화합물 28(1.5 g)을 80 g 실리카겔 칼럼 상에 DCM 중에 10 내지 88 % EtOAc의 구배를 사용함으로써 정제시켰다. 95% 이상의 순도를 가진 분획을 수집하고, 진공하에 증발시킨 다음, 건조시켰다. 회수율은 50 내지 60%이었다. 95% 순도를 갖는 화합물 28(0.3 g)을 용해시킨 다음, 실온(22°C)에서 아르곤 하에 에틸 아세테이트 (3 mL) 중에 교반하였다. HCl 가스를 20분 동안 용액 내로 버블링시켰다. 버블링이 진행되면서 용액의 색이 진한 황색으로 변하였다. 고체가 5분 내에 분쇄되기 시작하였다. 용액을 실온에서 다른 1시간 동안 교반하였다. 에틸 아세테이트 추가 4 mL를, 에틸 아세테이트의 손실로 인해 반응 혼합물 내로 도입하였다. 혼합물을 10분 동안 HCl 가스로 버블링시켰다. 혼합물을 2.5 시간 동안 교반하였다. 혼합물의 1/3을 여과시킨 다음, 에틸 아세테이트로 세척하였다. 혼합물의 2/3을 실온에서 밤새 교반하였다. 이후에, 에틸 아세테이트 30 mL를 혼합물에 가하였다. 여과한 후, 이러한 케이크를 에틸 아세테이트로 2회(2x140 mL) 세척한 다음, 건조시켰다. 고체를 에틸 아세테이트(8 mL) 중에 담근 다음, 냉각기에 유지하였다. 반응 과정을 4시간 내에 수행하였다. 밤새 교반은 많은 변화를 나타내지는 않았다. 최종 생성물의 순도는 1.2%의 하나의 주요 불순물과 함께 98%이었다.

[0258] 실시예 4: 화합물 A의 합성



[0259]



[0260]

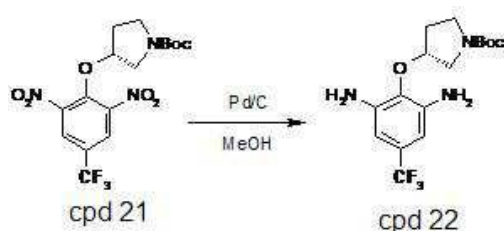
[0261]

단계 1: 질소 퍼징(purging)된 4구 12L RBF에 화합물 2를 305.32 g, MTBE를 700 mL를 교반하면서 가한 다음, 혼합물을 빙/수 욕에 냉각시켰다. 화합물 20(212.43 g)을 칼륨 3급-부록사이드(THF 중의 1M 용액 1.31 L)로 용해시켜 약간 짙은 혼합물을 수득하였다. 이러한 혼합물을 86분에 걸쳐 교반하면서 RBF 중의 화합물 2 용액에 가하면서 9.0℃ 이하의 내부 온도를 유지하였다. 반응물을 30분 후 빙욕으로부터 제거한 다음, 주변 온도에서 15.5시간 동안 교반하도록 두었다. 교반한 후, 몇몇의 소량의 빙 칩을 21.4℃에서 18.4℃로 온도를 감소하면서

가하였다. 이후에, 물(1.5 L) 및 MTBE(1.5 L)을 가한 다음, 혼합물을 10분 동안 교반하였다. 혼합물을 상-분리시킨다음, 6L 분별 깔때기 내에 분리하였다. 수성 층을 MTBE(500 mL)로 재-추출하였다. 유기 층을 합한 다음, 2:1 물/포화 염수(3 x 900 mL)로 세척한 다음, 감압하에 적색/적갈색 고체로 농축시켰다. 이러한 고체를 MeOH 2.45 L 중에 용해시킨 다음, 용액을 4L 에rlenmeyer 플라스크(Erlenmeyer flask)로 이동시켰다. 이후에, 물(1L)을 교반하면서 가해 부분적으로 짙은 현탁액을 생성하였다. 혼합물을 덮은 다음, 냉장기(1 내지 5℃)에서 6 시간 동안 위치시켰다. 고체를 여과시켜 수집한 다음, 진공하에 건조시켰다. 건조된 생성물은 밝은 황색 가루이었다. 수율: 395.3 g, HPLC 순도 94.0%.

[0262]

칼륨 3급-부톡사이드를, 예를 들면, 임의의 알콕사이드, 나트륨 하이드라이드, 칼륨 하이드라이드, 또는 화합물 20의 하이드록실을 탈양자화할 수 있는 임의의 염기로 대체할 수 있다. 화합물 2는 임의의 할라이드의 2번 위치에서 치환될 수 있다.



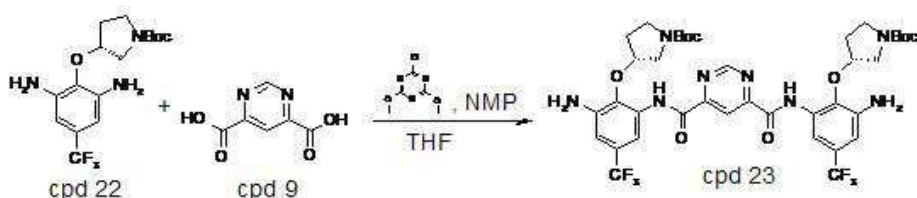
[0263]

[0264]

단계 2: 스테인레스 스틸 2 갈(gal) 파르 교반기 유닛(Parr stirrer unit)에 촉매 Pd/C(10 wt%, 20 g), 단계 1로부터의 화합물 21(394.37 g)을 가한 다음, MeOH 2L를 조심스럽게 교반하였다. 용기를 수소로 충전시킨 다음, 2회 배기시켰다. 이후에, 혼합물을 82 psi 수소에서 교반하기 시작하여 압력을 0 psi로 떨어뜨렸다. 용기를 62 psi, 28 psi 및 36 psi로 각각 충전시키고, 각각의 시간에 압력을 0 psi(51분 내 208 psi의 총 흡수)로 다시 돌아오게 하였다. 내부 온도를 16℃에서 시작한 다음, 혼합물은 최대 38℃로 점진적이지만 빠른 발열을 나타내었다. 내부 온도는 33 내지 38℃에서 유지하였다. 용기를 23psi이 흡수로 49 psi로 압축시켰다. 용기를 1시간에 걸쳐 2psi의 흡수와 함께 90psi로 압축시켰다. 용기를 6시간에 걸쳐 82 psi의 흡수와 함께 120 psi로 압축시켰다. 이후에, 용기를 14.33 시간에 걸쳐 37 psi의 흡수와 함께 51 psi로 재-압축시켰다(수소의 총 흡수는 362 psi이었다). 반응기를 제거한 다음, 혼합물을 MeOH로 예비-습윤된 셀라이트 545의 패드를 통해 여과시켰다(11.0 cm 직경 뷔히너 깔때기). 반응기 및 패드를 MeOH로 세정한 다음, 천천히 떨어뜨려 무색 여액(약 3.0 L 총 용적)을 수득할 때까지 패드를 흡입시켰다. 여액을 플롯모양 페이퍼 디스크를 통해 추가로 여과시켜 일부 미세한 짙은 색의 가루를 제거하였다. 투명 여액을 5L RBF로 이동시킨다음, 주황색/갈색 점성 오일로 농축시키고, 이를 물질이 부분적으로 고체화/결정화되는 동안 3 내지 4℃로 밤새 냉각시켰다. 물질을 가온시키고, 감압하에 추가로 흡입시켜 고체 적갈색/갈색 점착성있는/악소한 경질 고체 청크를 형성하였다. RBF에 헵탄(2 x 700 mL) 및 MTBE(700 mL)를 가하였다. 혼합물을 3.5시간 동안 오버헤드 기계 교반하면서 교반하였다. 액체 상을 고체로부터 버리고, 청크를 작은 조각으로 부수고, 액체를 RBF 내로 다시 위치시킨 다음, 현탁액을 16.75 시간 동안 격렬하게 교반하였다. 이후에, 남겨진 작은 조각을 유리 교반 샤프트(glass stir shaft)의 끝을 사용하여 추가로 크러쉬(crush)하고, 혼합물을 70분 동안 격렬하게 교반하였다. 현탁액을, 여액을 사용하는 포장된 프리트 유리 깔때기를 통해 여과시켜 이동을 완료시켰다. 깔때기를 덮은 다음, 낮은 열(41℃)로 4시간 동안 진공 건조시켜 생성물을 희미한 살구색/베이지 가루로서 수득하였다. 수율 270.60 g, HPLC 순도 98.5%.

[0265]

Pd/C 촉매는 예를 들면, 니트로 그룹의 수소화반응에 적합한 임의의 촉매에 의해 대체시킬 수 있다.

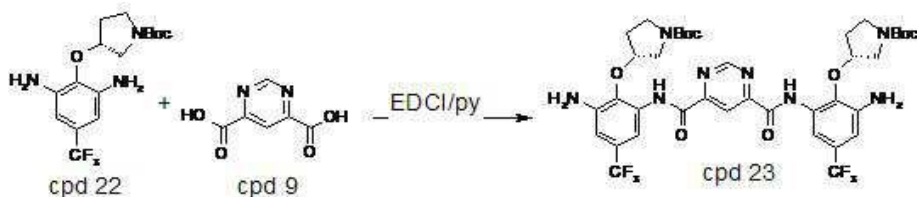


[0266]

[0267]

단계 3(옵션 1): 2-클로로-4,6-디메톡시-1,3,5-트리아진(4.0 g)을 무수 THF(60 mL) 중에 교반하였다. N-메틸모르폴린(4.4 g)을 가하였다 생성 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 이후에, 화합물 22(7.2 g) 및 피리미딘-4,6-디카복실산(1.68 g)을 가하였다. 혼합물을 실온에서 24시간 동안 교반하였다. 이후에, 용매를 진공하에 완전히 증발시켰다. 물(250 mL)을 가한 다음, 혼합물을 4시간 동안 교반하였다. 여과한 후, 황색 케이크를 물(3x100 mL)로 세척한 다음, 물(250 mL) 중에 4시간 동안 다시 교반시켰다. 여액 및 세척 과정을 2회

반복하였다. 이후에, 고체를 공기 중에 건조시켰다. 고체를 DCM:헥산:아세톤(5:5:1) 용액 15 mL 중에 용해시켰다. 혼합물을 실온에서 2일 동안 유지시켰다. 고체를 여과시킨 다음, 10 mL의 DCM:헥산(1:1) 용액으로 2회 세척하였다. 재결정 과정을 1회 이상 반복하여 옅은 황색 고체를 수득하였다. 수율 70%, HPLC 순도 100%.



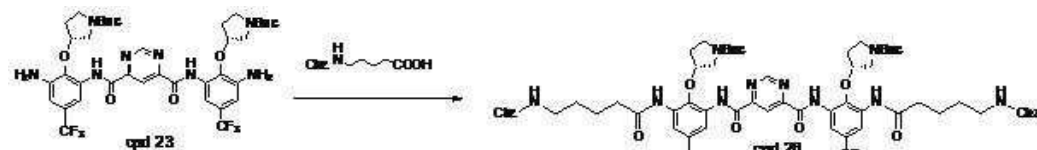
[0268]

[0269]

단계 3(옵션 2): EDCI(6.0 g)를 무수 피리딘(60 mL) 중에 교반하였다. 이후에, 화합물 22(7.2 g) 및 화합물 9(0.56 g)를 가하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 이후에, 다른 부분 피리미딘-4,6-디카복실산(0.56 g)을 가하였다. 혼합물을 실온에서 다른 2시간 동안 교반한 후, 제3 부분 피리미딘-4,6-디카복실산(0.56 g)을 가하였다. 생성 혼합물을 실온에서 24시간 동안 교반하였다. 이후에, 용매를 진공하에 완전히 증발시켰다. 물(250 mL)을 가한 다음, 혼합물을 4시간 동안 교반하였다. 여과한 후, 황색 케이크를 물(3x100 mL)로 세척하고 다시 4시간 동안 물(250mL)로 교반하였다. 여액 및 세척 과정을 2회 반복하였다. 이후에, 고체를 공기 중에 건조시켰다. 고체를 15 mL DCM:헥산:아세톤(5:5:1) 용액 중에 용해시켰다. 혼합물을 실온에서 2일 동안 유지시켰다. 고체를 여과시킨 다음, 10 mL DCM:헥산(1:1) 용액으로 2회 세척하였다. 재결정 과정을 1회 이상 반복하여 옅은 황색 고체를 수득하였다. 수율 70%, HPLC 순도 100%.

[0270]

EDCI는, 예를 들면, 산 무수물 또는 활성화된 에스테르, 예를 들면, CDI, DCC, HOBt, HOAt, POCl₃을 발생시키는 임의의 아마이드 커플링 시약으로 대체될 수 있다.



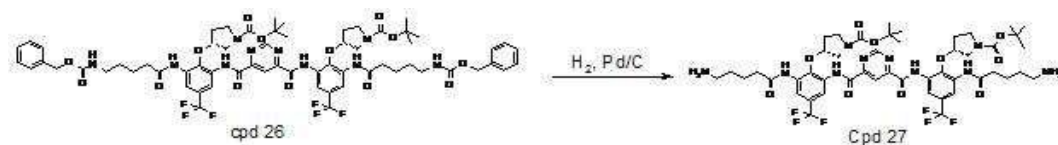
[0271]

[0272]

단계 4: 60 mL 무수 피리딘 중의 DMAP(3.66 g)의 용액을 0°C로 빙욕으로 냉각시켰다. 티오닐 클로라이드(3.60 g)를 천천히 가하였다. 이후에, 생성 용액을 0분 동안 교반하였다. 출발 물질 N-Cbz 산(7.53 g, 30 mmol), 화합물 5(8.54 g, 10 mmol)를 용액에 각각 가하였다. 생성 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반하였다. 이후에, 물(500 mL)을 가하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 격렬하게 교반한 후, 고체를 여과시킨 다음, 250 mL 물로 세척하였다. 고체를 에틸 아세테이트(300 mL) 중에 용해시켰다. 유기 층을 10% 시트르산 용액(100 mL) 및 염수(100 mL)로 세척한 다음, Na₂SO₄로 건조시켰다. 증발한 후, 잔사를 40 mL DCM 중에 용해시킨 후, 250 mL 헥산을 가하였다. 침전물을 수집한 다음, 진공하에 건조시켰다. 13.20 g 생성물을 95% 순도로 수득하였다. 수율: 100%.

[0273]

티오닐 클로라이드를, 예를 들면, POCl₃, (EtO)₂POCl, 또는 옥살릴 클로라이드로 대체할 수 있다.

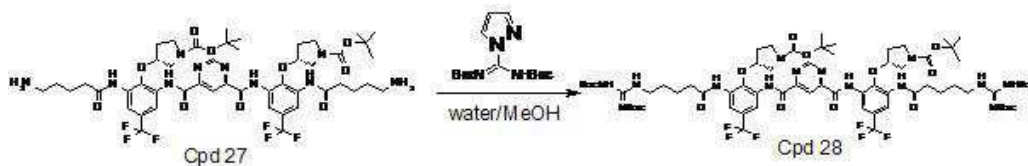


[0274]

[0275]

단계 5: 화합물 26(13.20 g)을 MeOH 중에 2 당량의 1N HCl로 용해시킨 다음, 촉매 Pd/C(10%) 1.0 그램을 가하였다. 반응 혼합물을 파르 수소화기 위에 위치시킨 다음, 2시간 동안 60 psi의 수소 하에 진탕시켰다. LCMASS는 어떠한 진행도 나타내지 않았고, 다른 1.0 그램 촉매를 가하였다. 혼합물을 셀라이트를 통해 여과시켜 촉매를 제거하였다. 여액을 로토바프(rotovap) 상에서 30°C에서 건조할 때까지 농축시켰다. 11.50 g 생성물을 95% 순도로 수득하였다. 수율: 100%.

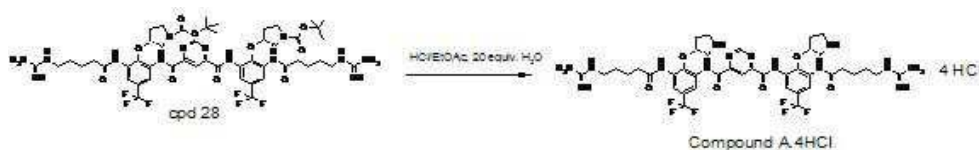
[0276] Pd/C 촉매를, 예를 들면, CBZ 그룹의 수소화발생을 위해 적합한 임의의 촉매로 대체할 수 있다.



[0277]

[0278] 단계 6: 화합물 27(11.50 g, 10 mmol)을 60 mL 메탄올 및 DCM(1:1) 중에 용해시켰다. 이후에, 4.04 g 트리에틸아민(40 mmol)을 가하였다. 디-Boc 피라졸 9.3 그램(30 mmol)을 가한 다음, 생성 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 용매를 95% 제거한 후, 300 mL 물을 가한 다음, 혼합물을 격렬하게 2시간 동안 교반하였다. 고체를 여과시킨 다음, 300 mL 물로 세척하였다. 고체를 300 mL 에틸 아세테이트 중에 용해시킨 다음, Na₂SO₄로 건조시켰다. 용매를 증발시킨 후, 고체를 40 mL DCM 중에 용해시킨 후, 500 mL 헥산을 사용하여 생성물을 침전시켰다. 고체를 수집한 다음, 진공하에 건조시켰다. 13.0 g 생성물을 85% 수율(95% 순도)로 수득하였다.

[0279] 디-Boc 피라졸을 예를 들면, 이소우레아 또는 디-Boc 이소우레아로 대체할 수 있다.



[0280]

[0281] 단계 7: 화합물 28(1.17 kg, 0.76 mol)을 EtOAc 24 L 중에 용해시킨 다음, 물281 mL를 가하였다. HCl 가스를 용액에 가하면서 반응물의 온도를, 조절 첨가 속도에 의해 45℃ 이하로 조절하였다. 총 반응 시간은 5 시간으로 이들 중 1.5 시간은 HCl을 첨가하는 시간이었다. HPLC로 출발 물질이 1% 미만임을 나타내고, 침전된 생성물을 질소하에 여과시켜 수집하였다. 고체를 EtOAc로 세정하고, MeOH/THF(1:1) 로 분배한 다음, 진공하에 건조시켰다. 수율 84%.

[0282] HCl/EtOAc는, 예를 들면, HCl/디옥산으로 대체할 수 있다.

[0283] 실시예 5: 항미생물 활성 vs. 그람-양성 임상 분리주(표 1) 및 그람-음성 임상 분리주(표 2)

[0284] 화합물 A를 본 연구에 시험된 유기체(호기성균, 혐기성균 또는 효모)에 특이적인 한정된 CLSI 문서에 따라 체외 평가하였다. 암피실린(Ampicillin), 세프트라지딴(ceftazidime), 세푸록심(cefuroxime), 시프로플록사신(ciprofloxacin), 리네졸리드(linezolid), 및 반코마이신(vancomycin)을 호기성 세균에 대한 비교측정 제제로서 옆에서 시험하였고; 클린다마이신(clindamycin) 및 메트로니다졸(metronidazole)을 혐기성균에 대한 비교측정 제제로서 시험하였고; 플루코나졸(fluconazole)을 효모 분리주에 대한 비교측정 제제로서 시험하였다. 화합물 A의 스톡 용액을 디메틸 설폭사이드(DMSO) 중에 제조하였다. 암피실린, 세프트라지딴, 세푸록심, 시프로플록사신, 리네졸리드, 반코마이신, 메트로니다졸, 클린다마이신, 및 플루코나졸을 제조업자의 지침서에 따라 각각 제조하였다.

[0285] 호기성균(M7-A7)1

[0286] 최소 억제 농도(MIC)(μg/mL)를 액체배지 미량희석(broth microdilution)에 의해 CLSI 지침 M7-A7에 따라 측정하였다. 모든 호기성균을 뮐러-힌톤(Mueller-Hinton) 액체배지를 사용하여 스트렙토코커스 종을 제외하고 시험하였고, 스트렙토코커스 종은 2 내지 5% 용해된 말 혈액으로 보충된 양이온-조절된 뮐러-힌톤 액체배지를 사용하여 시험하였다. 이러한 결과는 표 1 및 표 2에 도시되어 있다.

표 1

[0287]

유기체 그람-양성	MIC(μg/mL)* 2 내지 3개 분리주/유기체			
	화합물 A	리네졸리드	반코마이신	세프트라지딴
엔테로코커스 파에칼리스	1	1-2	1	>64
엔테로코커스 파에쿰(VRE)	1	1-2	>128	>64
스타필로코커스 아우레우스(MRSA)	0.5-1	1-2	0.5-1	32
스타필로코커스 스피더미디스	0.25-0.5	0.5-1	2	16-32

스타필로코커스 사프로파이티쿠스	0.25-0.5	1-2	1-2	32->64
스타필로코커스 아종(응고효소 음성)	0.25-0.5	1	1-2	16-32
스트렙토코커스 아갈락티에	2	1	0.5	0.5
스트렙토코커스 뉴모니아	4-8	1	0.5	0.25
스트렙토코커스 파이오진스	1-4	1	0.5	0.12
스트렙토코커스 비리디안스	2-8	1	0.5-1	0.5-4

[0288] * 액체배지 미량희석 검정을 표준 CLSI 지침에 따라 수행하였다.

표 2

[0289]

유기체 그램-음성	MIC(μ g/mL) * 2 내지 3개 분리주/유기체			
	화합물 A	세프타지딤	리네졸리드	반코마이신
시트로박터 프레운디	2-4	0.25-2	>16	>128
시트로박터 코세리	1-2	0.12-0.25	>16	>128
엔테로박터 클로아케	0.5-4	0.25	>16	>128
에스케리치아 콜라이	1-2	0.06	>16	>128
클렙시엘라 옥시토카	2-8	0.06-0.12	>16	>128
클렙시엘라 뉴모니아	1-2	0.06-0.12	>16	>128
모르가넬라 모르가니	2->64	2-16	>16	>128
프로테우스 미라빌리스	64->64	0.03-0.06	>16	>128
프로테우스 불가리스	64->64	0.12	>16	>128
프로비덴시아 스투아티	16-64	0.12-0.64	>16	>128
아시네토박터 종	4	2-64	>16	128->128
슈도모나스 아에루기노사	32	1-8	>16	>128
세라티아 마르세스센스	32	0.12-0.25	>16	>128
스테노트로포모나스 말토필리아	8->64	4-8	>16	32-128
해모필러스 인플루엔자	4-8	0.06-0.12	16->16	128

[0290] * 액체배지 미세희석 검정을 표준 CLSI 지침에 따라 수행하였다.

[0291] 화합물 A는 최저 MIC를 나타내는 에스.아우레우스 및 응고효소-음성 스타필로코커스 종을 갖는 그람-양성 병원균에 대해 광범위한 적용범위를 나타내었다. 화합물 A는 그람-음성 병원균에 대해 활성적이지만, 전체 적용범위는 그람-양성 유기체에 대해 미만이였다.

[0292] 실시예 6: 한정된 내성 표현형을 가진 스타필로코커스 종의 MIC

[0293] 선택된 분리주에 대한 화합물 A의 감수성 프로파일의 분석은, CLSI 문서 M7-A7에 따라 밀러-헌튼 액체배지를 사용하여 체외에서 액체배지 미세희석 방법에 의해 수행하였다. CLSI 문서 M100-S17에 의해 지시된 바와 같이 적용가능한 경우 CLSI 해석 정지점을 적용하였다. 이러한 결과는 표 3에 도시되어 있다.

표 3

[0294]

	약물-감수성	OXA-R	VRSA/VISA OXA-R	LZD-NS OXA-R	DAP-NS OXA-R	VRSA/VISA DAP-NS OXA-R
분리주	59	69	7	5	5	3
화합물 A MIC 범위	0.25-1	0.25-2	0.5-1	0.5-1	0.5-2	0.5-1

[0295] * 액체배지 미세희석 검정은 표준 CLSI 지침에 따라 수행하였다.

[0296] OXA-R: 옥사실린-내성; VRSA: 반코마이신-내성 에스.아우레우스; VISA: 반코마이신 중간체 에스.아우레우스;

LZD-NS: 리네졸리드 비-감수성; DAP-NS: 답토마이신 비-감수성.

[0297] 화합물 A는 답토마이신, 리네졸리드, 및 반코마이신에 대해 특징적으로 내성을 갖는 에스.아우레우스를 포함하여, 에스-아우레우스 및 응고효소-음성 스탕필로코커스의 모든 분리주에 대해 체외에서 활성이었다[MRSA와 같은 내성 에스.아우레우스의 치료에 대한 마지막주 치료제(last-line therapeutic)]. 에스.아우레우스 분리주에 대해, 감수성 분리주와 비교하여 내성 분리주에 대한 활성에서 어떠한 변화도 나타나지 않았다. 응고효소-음성 스탕필로코커스에 대해, 활성은 메티실린에 대한 내성에 의해 영향을 받지 않았다.

[0298] **실시예 7: 세포독성 및 선택성**

[0299] 화합물 A의 세포독성은 형질전환된 사람 간 세포주(HepG2, HB-8065) 및 배아 마우스 세포주(NIH/3T3 세포, CRL-1658)를 사용하여 비색 검정으로 분석하였다. 본 검정은 생세포에 의한 가용성 포르마잔 생성물에 대해 신규한 테트라졸리움 화합물의 생환원을 측정하였다. HepG2 세포를 사용하기 24시간 직전에 10% 소태아혈청(FBS)을 가진 MEM 배지 중에 2×10^4 세포/웰로 96 웰 플레이트에서 시딩(seeding)하였다. NIH/3T3 세포를 사용하기 24시간 직전에 10% 어린소혈청(BCS)을 가진 DMEM 배지에서 2×10^4 세포/웰로 96 웰 플레이트에서 시딩하였다. 세포 단층을 혈청-자유 배지에서 세정한 다음, 1시간 동안 혈청-자유 배지에서 화합물 A로 1시간 동안 배양시켰다. 배양 후, 배지를 혈청 보충된 배지로 대체시키고, 생 세포를 Cell Titer 96 Aqueous Non-Proliferation 검정 키트[(제조원: 미국 위스콘신주 매디슨 소재의 프로메가(Promega))]를 사용하여 측정하였다. EC_{50} 값을 4개의 매개변수 계산식: $Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{((\log EC_{50} - X) \cdot \text{HillSlope}))})$ 을 사용하여 측정하였다.

[0300] 화합물 A의 세포독성은 또한 사람 적혈구를 사용하여 용혈 검정으로 측정하였다. 혼주된 총 사람 혈액을 원심분리하여 적혈구 세포(RBC)를 분리하였다. 분리된 RBC를 세정한 다음, 트리스-완충된 식염수(TBS 완충액, pH 7.4) 중에 희석시켜 0.22% RBC 스탁 현탁액을 수득하였다. 화합물 A 스탁 용액의 $5\mu\text{L}$ 를 RBC 현탁액 $45\mu\text{L}$ 에 가한 다음, 1시간 동안 37°C 에서 진탕하면서 배양하였다. 배양 시간의 마지막에, 샘플을 원심분리한 다음, 상층액 $30\mu\text{L}$ 에 물 $100\mu\text{L}$ 를 가하였다. 헤모글로빈 농도에 대해 OD_{414} 측정을 판독하였다. 벌독 펩타이드 멜리틴(bee venom peptide melittin)을 양성 대조군으로서 사용하였다. EC_{50} 값을 위에 기재된 바와 같이 측정하였다. 이의 결과는 표 4에 도시되어 있다.

표 4

[0301]

화합물	MIC 또는 MIC ₉₀ ($\mu\text{g/mL}$)	세포독성 (EC_{50} $\mu\text{g/mL}$)			선택성 (EC_{50}/MIC)		
	에스.아우 레우스	RBC	3T3	HepG2	RBC	3T3	HepG2
화합물 A	1.0*	>500	430	1,031	>500	430	1,031
멜리틴	2	2	4	1	1	2	0.5

[0302] 화합물 A는 전체 선택성을 입증한다.

[0303] **실시예 8: 시간-사멸 vs 에스.아우레우스 (ATCC 27660)**

[0304] 화합물 A 대 E. coli ATCC25922, E. coli(실험실 균주) D31, 및 에스.아우레우스 ATCC27660의 시간-사멸 연구는, 초기 접종물 3 로그 단위를 감소시키는데 걸리는 시간을 측정함으로써 표준 프로토콜로 측정하였다. 양이온-조절된 뮐러-힌톤 배지 3mL를 냉동 세균 스탁 $20\mu\text{L}$ 로 접종시킨 다음, 진탕 플랫폼(250 rpm) 상에서 37°C 에서 밤새 배양시켰다. 현탁액을 약 5×10^5 cfu/mL로 희석시킨 다음, 2x, 5x, 10x, 및 20xMIC(MIC = $1\mu\text{g/mL}$)로 처리하였다. 화합물 A 스탁 용액을 DMSO 내 10 mg/mL에서 제조하였다. 시점을 수집한 다음, 생 세균을 18시간 배양후 MH 아가 플레이트(MH Agar plate) 상에서 계수하였다. 2x MIC 농도에서 에스.아우레우스 ATCC 27660에 대한 화합물 A의 시간-사멸 키네틱을 실험하는 연구는 초기 접종물 중 3 \log_{10} 단위가 5시간 내에 발생함을 나타낸다. 1x MIC 농도에서 72시간에 걸쳐 배양물 중에 어떠한 재-성장도 관찰되지 않는다. 도 1a 및 도 1b를 참조한다.

[0305] **실시예 9: MSSA(ATCC 29213) 및 MRSA(ATCC 33591)에서 일련 통로 내성**

[0306] 에스.아우레우스 ATCC29213 또는 메티실린-내성 에스.아우레우스(MRSA ATCC 33591)의 냉동 세균 스톡(20 μ l)을 3mL 양이온-조절된 킬러-힌톤 배지 내로 접종시킨 다음, 진탕 플랫폼(250 rpm) 상에서 37℃에서 밤새 배양시켰다. 현탁액을 약 5x10⁵ cfu/mL로 희석시킨 다음, 폴리프로필렌(Costar) 96-웰 환저 플레이트(90 μ l 용적) 내로 접종시켰다. 화합물 A 및 노르플록사신(제조원: 미국 미주리주 세인트루이스 소재의 Sigma Aldrich; Catalogue# N9890)의 화합물 스톡 용액을 DMSO 중에 제조한 다음, 화합물의 일련의 2배 희석물을, 10 μ l/mL로 폴리프로필렌 플레이트의 웰에서 직접 0.01% 아세트산, 0.2% 소혈청알부민 중에 제조되었다. 화합물 A의 최종 농도는 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78, 0.39, 0.19, 0.098, 0.049, 및 0.024 μ g/mL이었다. 노르플록사신의 최종 농도 범위는 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78, 0.39, 0.19, 0.098, 및 0.049 μ g/mL이었다. DMSO 농도는 검정에서 1%를 초과하지 않았다. 모든 샘플을 3배로 하여 수행하였다. 37℃에서 24시간 배양한 후, a \geq 2 mm 버튼으로서 CLSI 또는 정확한 혼탁도에 의해 한정된, "허용가능한 성장"의 존재를 관찰함으로써 세포 성장을 평가하였다. MIC 웰을, 허용가능한 성장이 관측되지 않은 경우 최저 농도로서 한정하였다. 일련의 통과에 대해, 50 μ l 분취량은 0.5x MIC에서 3개 중의 2개 반복 웰로부터 취해진 다음, 새로 제조된 양이온-조절된 킬러-힌톤 배지 900 μ l로 합하였다. OD₆₀₀을 측정한 다음, 세포 현탁액을 약 5x10⁵ cfu/mL에서 폴리프로필렌 96-웰 환저 플레이트(90 μ l 용적)로 접종하였다. 화합물 스톡 용액 10 μ l를 미리 웰에 가하여 위에 기재된 각각의 화합물에 대해 농도 범위를 달성하였다. 모든 샘플을 3배로 하여 수행하였다. 플레이트를 24시간 동안 37℃에서 배양하였다. 이러한 과정은 총 17개의 통로에 대해 반복한 다음, MIC 값을 각각의 통로에서 기록하였다.

[0307] 노르플록사신을 가진 에스.아우레우스의 통로는 각각이 통로 15에 의해 128배 및 64배의 증가에 도달한 MSSA 및 MRSA 둘 다에 대해 통로 3(4개의 이중 희석물)에 의해서 MIC 값이 상당히 증가하는 것과 관련이 있었다. 역으로, MSSA ATCC 29213 또는 MRSA ATCC 33591에 대한 화합물 A에 대해 총 17 통로 시간 경로에 걸쳐서 MIC의 어떠한 변화도 나타나지 않았다. 참조: 도 2.

[0308] 실시예 10: 화합물 A의 체외 대사 안정성-혈장

[0309] 사람(혼성), 랫트(혼합 잡종 및 혼성) 및 개(혼합 잡종 및 혼성)로부터 수득한 혼주된 혈장 샘플을 37℃에서 0 내지 60분 동안 화합물 A(5 M)로 배양시켰다. 빙-냉 침전 용매(아세트니트릴:빙초산, 9:1 v/v)를 가하여 배양을 종결시켰다. 상층액을 0.1% 포름산의 동등한 용적으로 희석시킨 다음, HPLC-MS/MS에 의해 분석시켰다. 혈장 안정성은 0분에서 모 화합물의 양과 비교하여 60분에서 모 화합물의 %로서 보고된다. 결과는 표 5에 나타나 있다.

표 5

종	혈장 안정성 (%)
사람	96
랫트 (잡종)	102
개 (잡종)	100

[0311] 사람, 랫트 및 개 혈장에서 37℃에서 1시간 배양한 후, 화합물 A는 높은 혈장 안정성을 나타내면서 어떠한 손실도 나타내지 않았다. 사람, 시노물구스 원숭이, 및 토끼에서 화합물 A는 어떠한 손실도 나타내지 않았다(데이터는 도시되지 않았다).

[0312] 실시예 11: 마우스 대퇴부 부담 모델 내 화합물 A의 효능

[0313] 암컷 6 내지 7주령 CD-1 마우스를, 4일 및 1일째에 사이클로포스파미드(150 mg/kg, i.p.)로 중성구감소를 시킨 다음, 에스.아우레우스(ATCC 13709)로 i.m. 접종시켰다. 에스.아우레우스 접종물을 18-20-시간 트립신 콩 아가(TSA)로부터 무균 PBS로 이동시킴으로써 제조하였다. 밀도는 분광광도계를 사용하여 약 10⁶ cfu/mL로 조절하였고, 접종물 농도를 희석 플레이트 계수 방법에 의해 측정하였다. 마우스를, 각각의 후부 대퇴부에 접종물 0.1 mL를 주입시킴으로써 접종하였다. 화합물 A는, 표 6에 나타난 바와 같이 접종 후 1 및 5, 1 및 9, 또는 1 및 13 시간에서 1 또는 2mg/kg/용량의 i.v.볼리스 용량에 의해 마우스의 분리 그룹(4마리 암컷/그룹)에 주어졌다. 4마리 마우스의 분리 대조군 그룹은 항상 처리를 하지 않고 접종물을 수득하였다. 화합물 A를 50%/50% v/v 무균 USP 정제수/PBS 중에 용해시켰다. 대퇴부를 접종후 25시간째에 회수하였다. 대퇴부 근육 및 뼈 조직을 균질화시키고, 일련 희석액의 분취량을 TSA 상에 위치시킨 다음, 37℃에서 20시간 동안 접종시킨 다음, 콜로니 계수를 수득하여 cfu/대퇴부를 계산하였다. 매개변수는 표 6에 도시되어 있다.

표 6

그룹 번호	처리	용량(mg/kg/ 용량)	총 용량 (mg/kg)	용적(ml/k g)	처리(접종 후 hr)	대퇴부 회수(접 종 후 hr)	마우스 수
1	접종 대조군	NA	NA	NA	NA	25	4
2	화합물 A	1	2	4	1 및 5	25	4
3	화합물 A	2	4	4	1 및 5	25	4
4	화합물 A	1	2	4	1 및 9	25	4
5	화합물 A	2	4	4	1 및 9	25	4
6	화합물 A	1	2	4	1 및 13	25	4
7	화합물 A	2	4	4	1 및 13	25	4

화합물 A를 2 mg/kg/용량으로 투여시 접종 후 1 및 5시간 또는 1 및 9시간 중의 하나에서 접종된 대퇴부에서 세균 집단을 감소시키는데 대부분 효과적이었다. 이들 2개의 그룹 내 세균 감소는 각각 접종된 대조군 그룹의 감소 보다 3.96 및 3.93 로그 더 적었다. 참조: 도 3

실시예 12: 래트 대퇴부 부담 모델 내 효능 vs. 반코마이신

각각의 실험에 대해, 암컷 8 내지 9주령 대퇴골 정맥 캐뉼라장착된 Cr1:CD(SD) 래트를 4일 및 1일 째에 사이클로포스파미드(150 mg/kg, i.p.)로 중성구감소를 시킨 다음, 에스.아우레우스(ATCC 13507)로 i.m. 접종하였다. 에스.아우레우스의 현탁액을 밤새 배양한 배양물로부터 수득한 콜로니로부터 제조하였고, PBS 중에 위치시킨 다음, 분광광도계를 사용하여 약 10^7 cfu/mL로 조절하였다. 각각의 래트에 0.2 mL의 접종물을 오른쪽 뒷다리의 대퇴부 근육으로 주입하였다. 대퇴부를 접종 후 25시간 째에 수거한 다음, cfu/대퇴부를 측정하도록 진행하였다. 화합물 A는 접종한 후 상이한 시간 간격으로 대퇴부 정맥 캐뉼라를 통해 꼬리 정맥 또는 1시간 i.v. 주입, 또는 4시간 i.v. 주입으로 I.V. 볼러스 주입에 의해 주어졌다. 분리 접종 대조군 그룹은 각각의 실험에서 포함되었고, 반코마이신 그룹은 제1 및 제2 실험에서 비교제제로서 포함되었다. 대조군 및 비교제제를 포함하는 각각의 그룹은 4마리의 래트로 이루어졌다.

화합물 A에 대해, i.v. 볼러스(10 mg/kg/용량, 20 mg/kg 총 용량) 및 1시간 i.v. 주입(10 mg/kg/용량, 20 mg/kg 총 용량)은 접종된 대조군과 비교하여 각각 3.2 및 3.0 로그로 세균 로딩을 감소시켰다. 감염 후 1시간에서 접종 수준에 대한 감소는 각각 약 2.2 내지 2.0 로그이었다. 효능은 반코마이신과 비교가능하였다. 참조: 도 4.

실시예 13: 마우스 패혈증 모델 내 효능 화합물 A: 에스.아우레우스 감염

무균 식염수, 반코마이신, 또는 화합물 A를, 에스.아우레우스(ATCC 13709, 5% 뮤신 중의 5×10^7 cfu/mL, 0.5 mL/마우스)의 i.p. 주입 후 1 및 7시간째에 8주령 암컷 CD-1 마우스(8 마우스/그룹)의 별개의 그룹에 투여하였다. 화합물 A를 50%/50% v/v 무균 USP 정제수/TBS 중에 용해시켰다. 에스.아우레우스의 현탁액을 TSA 플레이트로부터 무균 PBS로 이동시켰던 콜로니로부터 제조하였다. 스톱 현탁액의 분취량을 약 5×10^7 cfu/mL의 최종 농도에 대한 5% 뮤신에 가하였다. 연구 설계 및 용량이 표 7에 도시되어 있다. 마우스를, 접종 후 6일 동안 치사율에 대해 관찰하였다.

표 7

치료	용량(mg/kg/ 용량)	총 용량 (mg/kg)	시험 화합물 의 경로	용적(ml/kg)	시험 화합물 주입 일정표	마우스 수
접종 대조군	NA	NA	NA	NA	NA	8
반코마이신	10	10	s.c.	10	1	8
화합물 A	3	6	i.v.	4	1 & 7	8
화합물 A	5	10	i.v.	4	1 & 7	8
화합물 A	10	20	i.v.	4	1 & 7	8

용량-의존성 효능을 반코마이신 처리 그룹과 비교가능한 화합물 A로 관찰하였다. 모든 비처리된 마우스가 처리 제1일 이내에 죽었다. 화합물 A의 2x5 및 2x10 mg/kg 용량에서, 전체 보호가 화합물 A로 달성되었다. 도 5를 참

조한다.

[0323] 실시예 14: 급성 독성 연구-최대 내성 용량

[0324] 최대 내성 용량(MTD) 결정은 마우스 및 랫트에서 상승/하강 용량 연구 중에 이루어졌다. 화합물 A는 마우스 및 랫트의 꼬리 정맥에서 i.v. 볼러스 주사 또는 랫트의 대퇴부 정맥 내 카테터를 통한 i.v. 주입에 의해 투여되었다. 각각의 용량에서, 2 내지 3마리의 동물들에 화합물을 투여한 다음, 임상적 징후를 4일 내지 7일 기간에 걸쳐 기록하였다. 총 부검은 조사의 마지막에 수행하였다. 결과가 표 8에 도시되어 있다.

표 8

투여량 화합물 A	MTD (mg/kg)	
	마우스	랫트
i.v. 볼러스	30	N.D.
i.v. 주입 - 1시간	N.D.	>24

[0326] 랫트에서 화합물 A에 대한 MTD는 i.v. 주입에 의해 1시간 동안 투여한 경우 >24mg/kg이었다.

[0327] 실시예 15: 랫트에서 화합물 A의 약동학

[0328] Cr1:CD(SD) 랫트에 화합물 A를 i.v. 볼러스 주입에 의해 지시된 투여량으로 투여하였다. 혈장을 9 시점(n=3)에서 28시간에 걸쳐 취한 혈액 샘플로부터 제조하였다. 화합물 수준을 HPLC-MS/MS에 의해 결정하였다. 모든 동물들에 각각의 용량 투여 및 혈액 수집용으로 2개의 경정맥 캐놀라(JVC)를 끼웠다. 각각의 투여 경로를 N=3으로서 투여하였다. 동물들에 시판용 설치류 식품 및 물을 무제한 공급하였다. 각각의 랫트는 투여일인 0 시점에서 적절한 경로의 투여를 통해 투여된 볼러스를 수득하였다. 혈액 샘플링 시간은 표 9에 도시되어 있다.

[0329] 각각의 혈액 샘플을 랫트로부터 JVC를 통해 수집한 다음, 항응고제로서 나트륨 EDTA를 함유하는 냉각된 폴리프로필렌 튜브에 위치시켰다. 샘플을 4℃의 온도 및 13,000 rpm의 속도에서 5분 동안 원심분리하였다. 샘플을 전반적인 과정을 통해 냉각시키도록 유지하였다. 각각의 혈장 샘플을 이후에 표지된 폴리프로필렌 튜브 내로 이동시키고, 무수빙 상에 위치시킨 다음, 냉각기 세트에 저장시켜 -60℃ 내지 -80℃를 유지하였다.

[0330] 혈장 연구 샘플을 추출한 다음, 이전에 개발된 방법을 사용하여 분석하였다. 단일 표준 커브 및 3개 농도의 품질 대조군 샘플의 6개의 복제물을 0.1% 포름산을 함유하는 DMSO를 사용하여 추출하였다. 혈장 샘플(50 μ l)에 150 μ l 용매를 가한 다음, 원심분리하였다. 상층액을 퍼킨 엘머 시리즈 200 마이크로펌프(Perkin Elmer series 200 micropump) 및 PE Sciex API4000 Electrospray 질량분광계를 사용하여 LC/MSMS로 분석하였다. 표준 커브를 10000, 5000, 1000, 500, 250, 100, 50 및 25 ng/mL의 농도에서 제조하였다. 품질 대조군 샘플을 5000, 500, 및 50 ng/mL의 농도에서 제조하였다. 표준 커브 및 품질 대조군 샘플을 독립적으로 제조된 스톡 용액으로부터 제조하였다. 표준물질의 5/8 이상이, LLOQ에서 \pm 20%가 허용되는 경우를 제외하고 \pm 15% 이내에서 정확성을 가져야 한다. 배치 QC의 2/3은 명목적으로 15% 이내에 정확성을 가져야 하고, 하나 이상의 QC가 작동을 허용하기 위해서 각각의 수준에서 통과하여야 한다.

[0331] 화합물 A에 대한 각각의 혈장 농도 대 시간 데이터에 약동학적 프로그램 WinNonlin v4.1을 사용하여 비-구획된 분석을 수행하였다. 측량(25 ng/ml)의 제한 이하의 혈장 농도를 약동학적 분석에 대해 0의 값을 배정하였다. 명목적인 투여 농도를 모든 계산에 사용하였다.

표 9

처리 그룹	시험 화합물	동물 (N)	용량(mg/kg, 자유 염기)	투여 용액 농도(mg/mL)	투여 용적 (mL/kg)	비히클	샘플링 시점
1	화합물 A	3	5	1.25	4	트리스-완충된 식염수, pH 7.4	투여전, 2, 5, 15, 30분, 투여후 1, 2, 4 및 8 시간 용량

[0333] 결과가 아래 표 10에 도시되어 있다.

표 10

PK 매개변수	화합물 A(5mg/kg, i.v. 볼러스)
C _{최고} (μg/mL)	89.2
T _{1/2} (시간)	3
V _D (mL/kg)	110
C _L (mL/hr/kg)	28

랫트 혈장에서 화합물 A에 대한 혈장 반감기는 상당히 길고 클리어런스 값(clearance value)은 낮았다.

실시예 16: 제형

다양한 부형제 중의 화합물 A의 포화 용해도를 25℃에서 조사한 다음, 이러한 결과를 표 11에 보고하였다(자유 염기로서 화합물 A의 포화 용해도).

표 11

부형제	작용 카테고리	25℃에서 화합물 A(자유 염기) 포화용해도(mg/mL)
정제수	대조군	65
프로필렌 글리콜	공용매	90
PEG 400		18.5
글리세린		53
DMA		0.60
에탄올		1.13
벤질 알콜		1.83
시트르산/시트르산나트륨(pH 3)	완충액	65.5
시트르산/시트르산나트륨(pH 5)		11.2
트리스(하이드록시메틸)아미노 메탄 HCl (pH 7.0)		61.4
0.9% 식염수	희석액	N/A
1.2% 식염수		N/A

N/A: 점성 황색 겔로 형성된 제형으로서 이용가능하지 않음.

예비조사는, 벤질 알콜, 에탄올 및 DMA가 화합물 A에 대해 각각 1.83, 1.13 및 0.60 mg/mL의 포화 용해도 값으로 저조한 비히클이었음을 암시하였다. 반면, 90 mg/mL, 65 mg/mL 및 53 mg/mL의 양호한 포화 용해도는 프로필렌 글리콜, 정제수 및 글리세린 중에 달성하였고, 결과적으로 추가 조사하였다. 양호한 용해도 값은 pH 3 및 7.4에서 각각 65.5 및 61.4 mg/mL의 값으로 달성하였다. 그러나, 용해도는 pH 5에서 12.1 mg/mL의 값으로 떨어지는 것으로 나타났다. 0.9% 및 1.2% 염화나트륨 용액 중의 화합물 A의 포화 용해도는 점성 황색 겔로 형성된 제형으로서 검출될 수 없었다.

다양한 복합-구성성분 시스템에서 화합물 A의 포화 용해도는 25℃에서 조사되었으며, 이러한 결과는 표 12(자유 염기로서 화합물 A의 포화 용해도)에 보고되어진다.

표 12

부형제	희석액	25℃에서 화합물 A (자유 염기) 포화 용해도 (mg/mL)
20% w/v 프로필렌 글리콜	식염수	N/A
30% w/v 프로필렌 글리콜	식염수	N/A
40% w/v 프로필렌 글리콜	식염수	N/A
50% w/v 프로필렌 글리콜	식염수	N/A
15% w/v 프로필렌 글리콜	정제수	64.9
30% w/v 프로필렌 글리콜	정제수	59.1*

50% w/v 프로필렌 글리콜	정제수	74.7
30% w/v 프로필렌 글리콜 및 5% w/v 에탄올	정제수	43.9
15% w/v 글리세린	정제수	63.5
30% w/v 글리세린	정제수	63.1
50% w/v 글리세린	정제수	56.8
20% w/v 클렙토스	정제수	79.7
40% w/v 클렙토스	정제수	102.0
25% w/v 캡티솔	정제수	64.3

[0343] N/A: 점성 황색 겔로 형성된 제형으로서 이용가능하지 않음

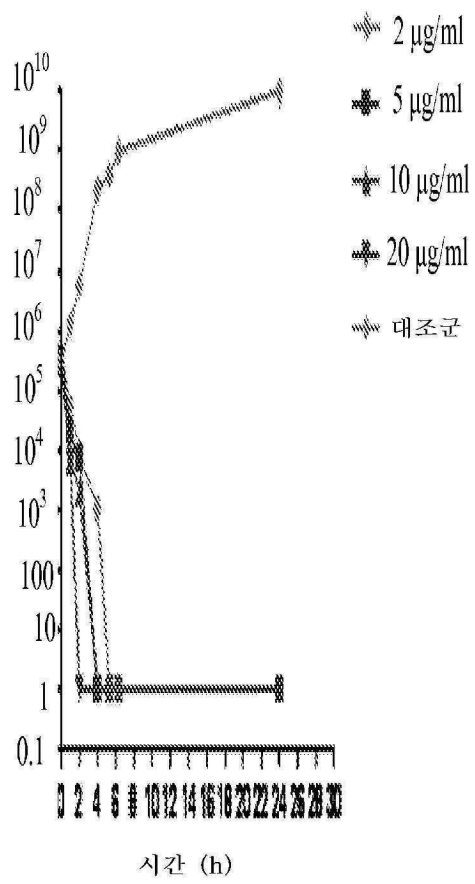
[0344] *: 원심 분리 동안 겔(gel)화 되지만 지속되는 동안 액화되었던 제형

[0345] 적합한 결과를 나타내었던 제형은 25℃에서 각각 74.7 mg/mL 및 63.5 mg/mL의 포화 용해도 값으로 정제수 중의 50% w/v 프로필렌 글리콜 및 15% w/v 글리세린을 포함했다. 양호한 포화 용해도는 또한 20% w/v 클렙토스, 40% w/v 클렙토스 및 25% w/v 캡티솔에 대해 79.7, 102.0 및 64.3 mg/mL의 값을 갖는 각종 복합 제제로 달성하였다. 결과는 또한 화합물 A를 식염수 중의 20 내지 50% w/v 프로필렌 글리콜에 첨가하여 점성 황색 겔을 형성하고, 결과적으로 UV에 의해서 분석할 수 없음을 인식하였다. 그러나, 겔화 현상은 농도 의존적이었고, 약물의 포화 용해도 값에 도달했던 제형 내 화합물 A 농도로서 제형 중에 관찰되었다. 또한, 겔화 과정은 소량의 부형제 제형 또는 에탄올 몇 방울을 가함으로써 쉽게 전환될 수 있었다. 제형 내로 5% w/v 에탄올을 첨가하는 것은 겔화 현상을 나타내지는 않았지만, 여전히 쉽게 전환가능하고, UV 분광광도법에 의해 분석할 수 있었다. 예비 부형제 스크리닝 데이터를 평가한 후, 3개의 적절한 제형이 추가의 제형 개발을 위해 선택되었다. 이들 제형은 20% w/v 클렙토스 용액, 정제수 중의 20% w/v 프로필렌 글리콜, 및 정제수 중의 15% w/v 글리세린이다. 20% w/v 클렙토스 내 50mg/mL의 제형을 1상 임상 시험에 선택하였다. 또한, 물, 클렙토스, 또는 만니톨 중의 화합물 A의 용액은 분취될 수 있고, 고체로 냉동건조시킬 수 있다. 고체는 사용 전에 물과 재구성시킬 수 있다.

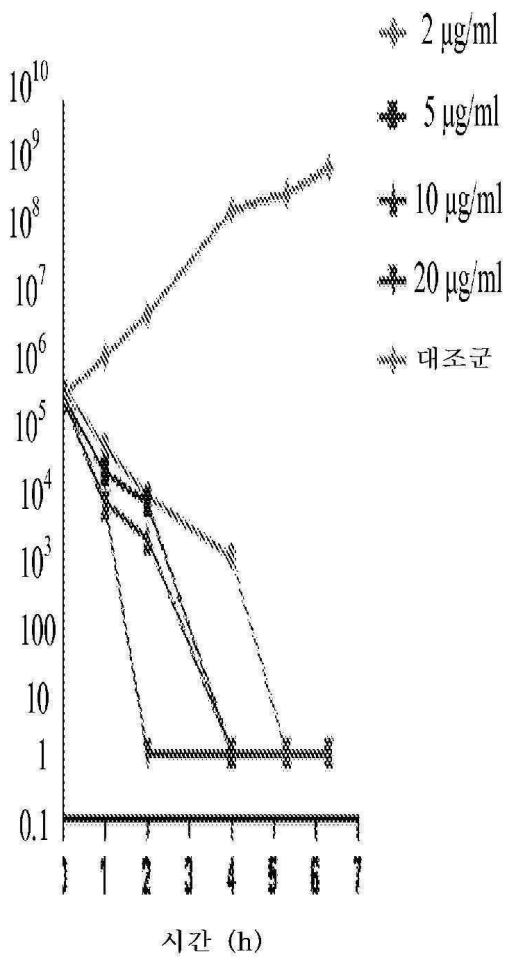
[0346] 본원에 기재된 것에 추가하여, 본 발명의 다양한 변화가 당해 분야의 숙련가에게 위의 기재로부터 명백해질 것이다. 이러한 변화는 또한 첨부된 특허청구범위의 범위 내에 부합하는 것으로 의도된다. 본 출원은 2008년 10월 27일자로 출원된 미국 가출원 시리즈 제61/108,595호에 대한 우선권을 청구하고, 이는 본원에 전문이 참조문헌으로 인용되어 있다. 본 발명은 미국 정부(NIH Grant 제AI74866호 및 제1R43AI058407호)로부터의 자금으로 지지되며, 따라서, 미국 정부는 본 발명 내 분명한 권리를 가질 수 있다.

도면

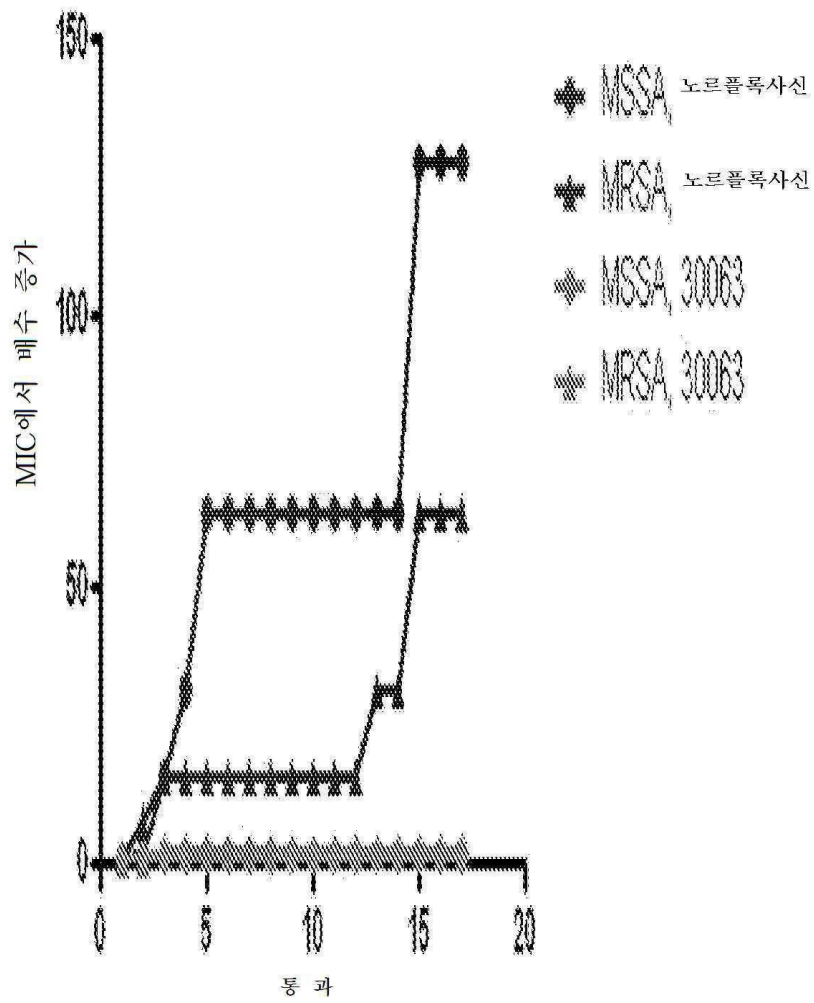
도면1a



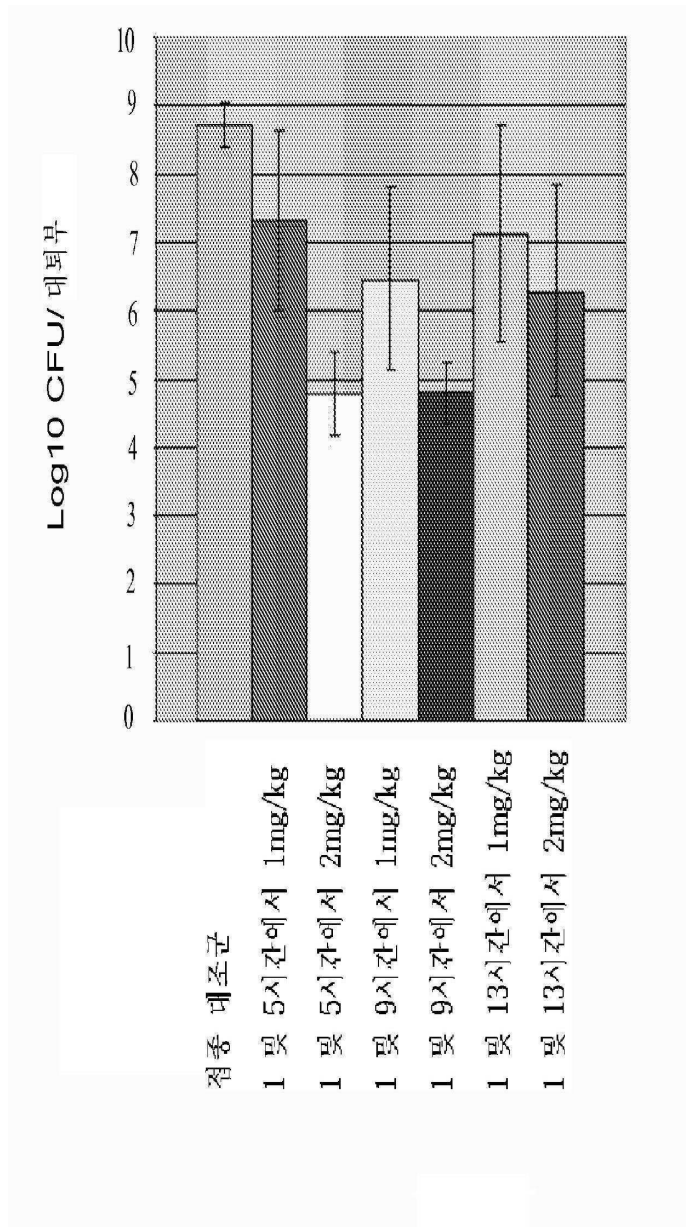
도면1b



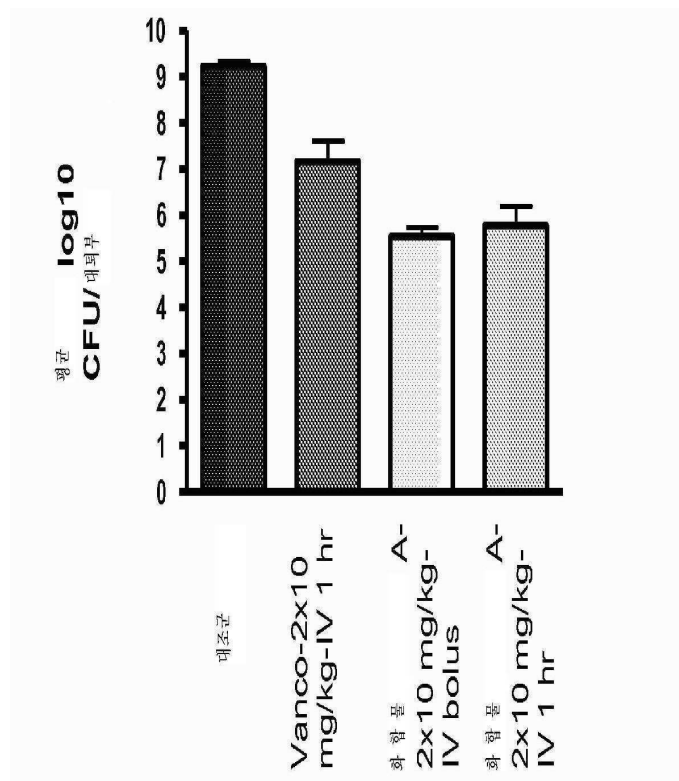
도면2



도면3



도면4



도면5

