



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0023869
(43) 공개일자 2014년02월27일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07C 259/06 (2006.01) **C07D 265/30** (2006.01)
A61K 31/166 (2006.01) **A61P 31/04** (2006.01)
- (21) 출원번호 10-2013-7012799
- (22) 출원일자(국제) 2011년11월04일
 심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2013년05월16일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2011/059280
- (87) 국제공개번호 WO 2012/154204
 국제공개일자 2012년11월15일
- (30) 우선권주장
 61/412,311 2010년11월10일 미국(US)

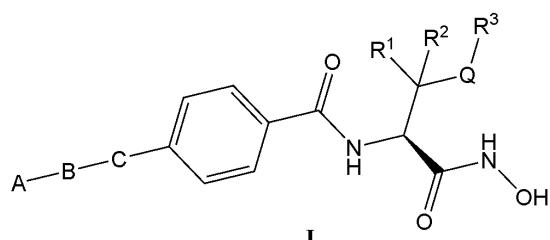
- (71) 출원인
아카오젠, 인코포레이티드
 미국 캘리포니아 94080 사우스 샌프란시스코 써드
 플로어 쇼어라인 코트 7000
- (72) 발명자
카사르, 라페쉬
 미국, 캘리포니아 94610, 오크랜드, 985 베이뷰
 에버뉴
린셀, 마틴 셔링엄
 미국, 캘리포니아 94402, 샌 마테오, 602 이스트
 16 에버뉴
 (뒷면에 계속)
- (74) 대리인
손민

전체 청구항 수 : 총 23 항

(54) 발명의 명칭 **하이드록삼산 유도체 및 세균 감염 치료에서의 이들의 사용**

(57) 요약

본 발명은 하기 화학식 I의 항세균성 화합물뿐만 아니라 이의 입체이성질체 또는 약학적으로 허용가능한 염; 이러한 화합물을 포함하는 약학적 조성물; 이러한 화합물을 투여하여 세균 감염을 치료하는 방법; 세균 감염의 치료에 있어서의 이러한 화합물의 사용; 및 이러한 화합물의 제조 방법을 제공한다:



(72) 발명자

아겐, 제임스 브래들리

미국, 캘리포니아 94010, 벌링게임, 1311 캘리포니아 드라이브

루, 청 (제인)

미국, 캘리포니아 94404, 포스터 시티, 50 포세일 코트

왕, 댄

미국, 캘리포니아 94539, 프리몬트, 48331 코니퍼 스트리트

처치, 팀

미국, 캘리포니아 94403, 샌 마테오, 3913 패서디나 드라이브

모저, 하인즈 이.

미국, 캘리포니아 94402, 샌 마테오, 1566 어센션 드라이브

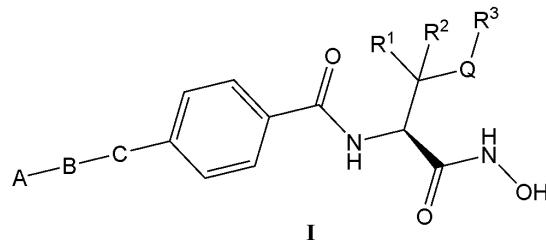
페튼, 필립 에이.

미국, 캘리포니아 94028, 포틀라 벨리, 261 라 쿼스타 드라이브

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 I의 화합물 또는 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:



상기 식에서,

A는 치환된 C₃-C₆ 사이클로알킬이고, 여기에서 적어도 하나의 치환기는 C₁-C₃ 1차 알코올이며;

B는 존재하지 않거나, -CH=CH-, -C≡C- 또는 비치환된 페닐이고;

C는 -CH=CH-, -C≡C- 또는 비치환된 페닐이며, 여기에서 만일 B가 -CH=CH-이면 C도 -CH=CH-가 아니고;

R¹, R² 및 R³은 독립적으로 수소 및 치환된 또는 비치환된 C₁-C₃ 알킬로부터 선택되거나, 또는

R¹ 및 R²는 이들이 부착된 탄소 원자와 함께 비치환된 C₃-C₆ 사이클로알킬기를 형성하거나, 또는

R² 및 R³은 이들이 부착된 탄소 원자 및 Q와 함께, 5 내지 8개의 고리 원자를 갖는, 치환된 또는 비치환된 헤테로사이클릭 고리를 형성하고, 여기에서 헤테로사이클릭 고리의 1-2개의 고리 원자는 N, O 및 S로부터 선택되고;

Q는 O 또는 NR이며, 여기에서 R은 수소 또는 비치환된 C₁-C₃ 알킬이다.

청구항 2

제1항에 있어서, Q는 NR인 화합물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, R¹, R² 및 R³은 독립적으로 수소 및 치환된 또는 비치환된 C₁-C₃ 알킬로부터 선택되는 화합물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, R¹, R² 및 R³은 독립적으로 수소 및 비치환된 C₁-C₃ 알킬로부터 선택되는 화합물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, R¹ 및 R²는 독립적으로 비치환된 C₁-C₃ 알킬인 화합물.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, A는 하이드록시메틸로 치환된 C₃-C₆ 사이클로알킬인 화합물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, B는 -C≡C-이고 C는 -C≡C-인 화합물.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 화합물을

N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-1**);

N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-y1)-4-(((1R,2R)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-2**);

N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1S,2S)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-3**);

N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-시스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-4**);

N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4'-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)에티닐)비페닐-4-카복사미드 (**I-5**);

N-((S)-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-3-(메틸아미노)-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-6**);

N-((S)-1-(하이드록시아미노)-3-(2-하이드록시에틸아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-7**);

N-((S)-1-(하이드록시아미노)-3-(2-하이드록시에틸아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-8**);

N-((S)-3-(디메틸아미노)-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-9**);

N-((S)-3-하이드록시-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-10**);

N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1S,2R)-2-(하이드록시메틸)-2-메틸사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-11**);

N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,3-시스)-3-(하이드록시메틸)사이클로부틸)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-12**);

N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,3-트랜스)-3-(하이드록시메틸)사이클로부틸)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-13**);

N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,3-트랜스)-3-(하이드록시메틸)사이클로펜틸)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-14**);

N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,4-시스)-4-(하이드록시메틸)사이클로헥실)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-15**);

N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,4-트랜스)-4-(하이드록시메틸)사이클로헥실)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-16**);

N-((S)-1-(1-아미노사이클로부틸)-2-(하이드록시아미노)-2-옥소에틸)-4-(((트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 트리플루오로아세테이트 (**I-17**);

N-((S)-1-(1-아미노사이클로부틸)-2-(하이드록시아미노)-2-옥소에틸)-4-(((시스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 트리플루오로아세테이트 (**I-18**);

N-((S)-1-(1-(디메틸아미노)사이클로부틸)-2-(하이드록시아미노)-2-옥소에틸)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-19**);

N-((S)-2-(하이드록시아미노)-1-((S)-모르폴린-3-일)-2-옥소에틸)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-20**);

N-((S)-2-(하이드록시아미노)-1-((S)-4-메틸모르폴린-3-일)-2-옥소에틸)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-21**);

N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-((E)-4-((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부트-1-엔-3-인일)벤즈아미드 (**I-22**); 또는

N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-((E)-4-((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부트-1-엔-3-인일)벤즈아미드 (**I-23**)인 화합물.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 화합물은

N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-1**);

N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4'-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)에티닐)비페닐-4-카복사미드 (**I-5**);

N-((S)-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-3-(메틸아미노)-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-6**);

N-((S)-1-(하이드록시아미노)-3-(2-하이드록시에틸아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-7**);

N-((S)-1-(하이드록시아미노)-3-(2-하이드록시에틸아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-8**);

N-((S)-3-(디메틸아미노)-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-9**);

N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,3-시스)-3-(하이드록시메틸)사이클로부틸)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-12**);

N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,3-트랜스)-3-(하이드록시메틸)사이클로부틸)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-13**); 또는

N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,3-트랜스)-3-(하이드록시메틸)사이클로펜틸)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-14**)인 화합물.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 화합물은

N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-1**);

N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4'-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)에티닐)비페닐-4-카복사미드 (I-5);

N-((S)-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-3-(메틸아미노)-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (I-6);

N-((S)-1-(하이드록시아미노)-3-(2-하이드록시에틸아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (I-7);

N-((S)-1-(하이드록시아미노)-3-(2-하이드록시에틸아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (I-8); 또는

N-((S)-3-(디메틸아미노)-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (I-9)인 화합물.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 및 약학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제를 포함하는 약학적 조성물.

청구항 12

치료적으로 유효한 양의 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 제11항의 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상에게 투여하는 단계를 포함하는 세균 감염에 걸린 대상을 치료하는 방법.

청구항 13

제11항에 있어서, 상기 세균 감염은 그람-음성 세균 감염인 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 그람-음성 세균 감염은 슈도모나스 아에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*), 버크홀데리아(*Burkholderia*), 엔테로박테리아세아에(*Enterobacteriaceae*), 프란시스셀라세아에(*Francisellaceae*), 세라티아(*Serratia*), 프로테우스(*Proteus*), 클렙시엘라(*Klebsiella*), 엔테로박터(*Enterobacter*), 시트로박터(*Citrobacter*), 살모넬라(*Salmonella*), 프로비덴시아(*Providencia*), 예르시니아(*Yersinia*), 모르가넬라(*Morganella*) 또는 에스케리키아 콜리(*Escherichia coli*)인 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 그람-음성 세균 감염은 슈도모나스 아에루기노사, 버크홀데리아, 프란시스셀라세아에, 엔테로박터, 예르시니아 또는 에스케리키아 콜리인 방법.

청구항 16

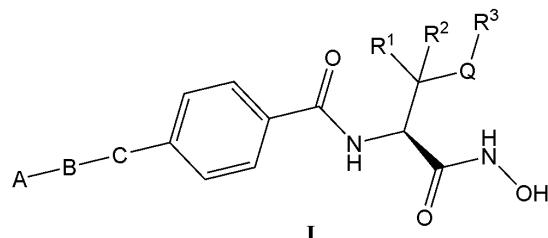
제15항에 있어서, 상기 그람-음성 세균 감염은 슈도모나스 아에루기노사인 방법.

청구항 17

제15항에 있어서, 상기 그람-음성 세균 감염은 에스케리키아 콜리인 방법.

청구항 18

제2 항세균제, 및 하기 화학식 I의 화합물 또는 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 약학적 조성물:



상기 식에서,

A는 치환된 C₃-C₆ 사이클로알킬이고, 여기에서 적어도 하나의 치환기는 C₁-C₃ 1차 알코올이며;

B는 존재하지 않거나, -CH=CH-, -C≡C- 또는 비치환된 페닐이고;

C는 -CH=CH-, -C≡C- 또는 비치환된 페닐이며, 여기에서 만일 B가 -CH=CH-이면 C도 -CH=CH-가 아니고;

R¹, R² 및 R³은 독립적으로 수소 및 치환된 또는 비치환된 C₁-C₃ 알킬로부터 선택되거나, 또는

R¹ 및 R²는 이들이 부착된 탄소 원자와 함께 비치환된 C₃-C₆ 사이클로알킬기를 형성하거나, 또는

R² 및 R³은 이들이 부착된 탄소 원자 및 Q와 함께, 5 내지 8개의 고리 원자를 갖는, 치환된 또는 비치환된 헤테로사이클릭 고리를 형성하고, 여기에서 헤테로사이클릭 고리의 1-2개의 고리 원자는 N, O 및 S로부터 선택되고;

Q는 O 또는 NR이며, 여기에서 R은 수소 또는 비치환된 C₁-C₃ 알킬이다.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 항세균제는 반코마이신 또는 리팜핀인 약학적 조성물.

청구항 20

제18항에 있어서, 상기 조합은 생체 내 상승작용을 나타내는 약학적 조성물.

청구항 21

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 제11항의 약학적 조성물을 이러한 억제를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 그람-음성 세균 내의 디아세틸라제 효소를 억제하는 방법.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 그람-음성 세균은 슈도모나스 아에루기노사, 베크홀데리아, 엔테로박테리아세아에, 프란시스셀라세아에, 세라티아, 프로테우스, 클렙시엘라, 엔테로박터, 시트로박터, 살모넬라, 프로비デン시아, 예르시니아, 모르가넬라 또는 에스케리키아 콜리인 방법.

청구항 23

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 제11항의 약학적 조성물을 이러한 억제를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 그람-음성 세균 내 LpxC를 억제하는 방법.

명세서

기술 분야

[0001]

관련 출원에 대한 상호 참조

[0002]

본 출원은 2010년 11월 10일자로 출원된, 미국 가출원 번호 제61/412,311호의 35 U.S.C. § 119(e) 하의 이익을 주장하고, 상기 출원은 전부 참조로 본 명세서에 포함된다.

[0003]

정부 이익의 선언

[0004]

본 발명은 미국 국방부에 의하여 수여되는 약정 제HDTRA1-07-C-0079호 하에 정부 지원으로 이루어졌다. 미국 정부는 본 발명에 특정 권리를 갖는다.

[0005]

본 발명은 일반적으로 그람-음성 세균에 의해 야기되는 감염을 치료하는 것에 관한 것이다. 더욱 상세하게는, 본 명세서에 개시된 발명은 UDP-3-0-(R-3-하이드록시데카노일)-N-아세틸글루코사민 디아세틸라제(LpxC)의 활성을 억제함으로써 그람-음성 감염을 치료하는 것에 관한 것이다. 본 발명은 LpxC의 소분자 억제제, 이러한 억제제를 함유하는 약학적 제형, 이러한 약학적 제형을 사용하여 환자를 치료하는 방법, 및 이러한 약학적 제형 및 억제제를 제조하는 방법을 제공한다. 본 명세서에 개시된 발명은 UDP-3-0-(R-3-하이드록시데카노일)-N-아세틸글루코사민 디아세틸라제(LpxC)의 활성을 억제할 수 있는 화합물을 단독으로 또는 제2의 항세균제와 조합하여 투여함으로써 그람-음성 감염을 치료하는 것에 관한 것이다.

배경 기술

[0006]

지난 수십년에 걸쳐, 항균제 내성을과 이의 심각한 감염 질환과의 관련성은 놀라운 속도로 증가하여 왔다. 항세균제 내성의 문제는 다수의 항세균제에 대해 내성인 세균 균주의 존재에 의해 악화된다. 따라서, 새로운 항세균제, 특히 새로운 작용 메커니즘을 갖는 항세균제에 대한 필요성이 있다. 이전에 이용되지 않았으나, 고도로 보존된(conserved) 표적인 LpxC는, 표적-관련 내성을 거의 겪지 않고, 필요에 따라, 자연적으로 발생한(naturally-occurring) 것이어야 하는, 새로운 부류의 활성 살세균의 화학적 존재물을 포함하는, 광범위(broad-spectrum) 항세균성 소분자를 개발하기 위한 새로운 기회를 제공한다. LpxC (효소 우리딜디포스포-3-0-(R-하이드록시데카노일)-N-아세틸글루코사민 디아세틸라제)는 대상이 되는 모든 그람-음성 세균 종에 걸쳐 존재하며 외부 막 생합성에 있어 제1의 헌신적인(committed) 단계에 관련된다. 따라서, LpxC는 생존을 위하여 필수적이며 그람-음성 세균 종의 항생 활성을 위한 이상적인 표적을 제공한다.

[0007]

연구자들은 지질 A 생합성을 표적하는 항세균 활성을 갖는 몇몇 화합물을 확인하였다. 예를 들어, Jackman et al. (J. Biol. Chem., 2000, 275(15), 11002-11009); Wyckoff et al. (Trends in Microbiology, 1998, 6(4), 154-159); 미국 특허공개 제2001/0053555호 (2001년 12월 20일 공개됨, 1998년 5월 7일 공개된 PCT 국제공개 제WO 98/18754호에 대응함); PCT 국제공개 제WO 00/61134호 (2000년 10월 19일 공개됨); 미국 공개특허 제2004/0229955호 (2004년 11월 18일 공개됨); 및 PCT 국제공개 제WO 2008/154642호 (2008년 12월 18일 공개됨)는 모두 항세균의 항-LpxC 활성을 갖는 화합물을 개시한다. 이들 LpxC 억제제의 상업적인 개발은 항세균 활성을 위하여 요구되는 이들의 농도 또는 이들의 근접 농도에서의 포유 동물에 있어서의 이들 화합물의 독성에 의하여 곤란하였다. 본 명세서에서 제공되는 화합물은 항-LpxC 활성을 갖는 다른 밀접하게 관련된 화합물보다 현저하게 우수한 내성이 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008]

비록 당해 분야에서 진전들이 있었을지라도, 그램-음성 세균에 대한 살세균제로서 활성을 갖고 허용가능한 독성/내성 프로파일을 갖는 LpxC 억제제에 대한 요구가 여전히 남아 있다. 따라서, 본 발명의 목적은 비-독성 항세균제의 제조에 사용하기 위한 화합물 및 이러한 화합물과 그램-음성 세균 감염을 억제할 수 있는 다른 약제의 조합을 제공하는 것이다. 본 발명의 다른 목적은 고유한 항세균 특성뿐만 아니라 다른 항세균제에 대해 그램-음성 세균의 외부 막의 투과성을 향상시키는 능력을 가지는, 항세균제와 LpxC 억제제의 상승작용적인 조합을 제공하는 것이다. 약물의 상승작용적인 조합의 사용은 사용되는 더 적은 투여량 또는 더 짧아진 치료 기간으로 인한 약물의 감소된 부작용, 입원을 단축시키는 더욱 빠른 치료, 제어되는 병원균의 범위의 증가, 및 항생제에 대한 내성의 발달의 발생률 감소를 포함하는 통상적인 단일 화합물 화학요법 이상의 많은 장점을 가질 수 있다.

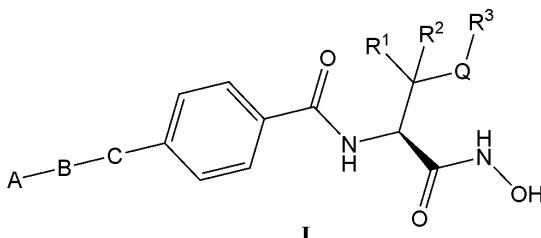
과제의 해결 수단

[0009]

본 발명은 새로운 화합물, 상기 화합물을 포함하는 약학적 제형, UDP-3-O-(R-3-하이드록시데카노일)-N-아세틸글루코사민 디아세틸라제(LpxC)를 억제하는 방법, 및 그램-음성 세균 감염을 치료하는 방법을 제공한다.

[0010]

일 양태로서, 본 발명은 하기 화학식 I의 화합물 및 이의 입체 이성질체 및 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다:



[0011]

상기 식에서, A는 치환된 C₃-C₆ 사이클로알킬이고, 여기에서 적어도 하나의 치환기는 C₁-C₃ 1차 알코올이며; B는 존재하지 않거나, -CH=CH-, -C≡C- 또는 비치환된 페닐이고; C는 -CH=CH-, -C≡C- 또는 비치환된 페닐이며, 여기에서 만일 B가 -CH=CH-이면 C도 -CH=CH-가 아니고; R¹, R² 및 R³은 독립적으로 수소 및 치환된 또는 비치환된 C₁-C₃ 알킬로부터 선택되거나, 또는 R¹ 및 R²는 이들이 부착된 탄소 원자와 함께 비치환된 C₃-C₆ 사이클로알킬기를 형성하거나, 또는 R² 및 R³은 이들이 부착된 탄소 원자 및 Q와 함께, 5 내지 8개의 고리 원자를 갖는, 치환된 또는 비치환된 헤테로사이클릭 고리를 형성하고, 여기에서 헤테로사이클릭 고리의 1-2개의 고리 원자는 N, O 및 S로부터 선택되고; Q는 O 또는 NR이며, 여기에서 R은 수소 또는 비치환된 C₁-C₃ 알킬이다.

[0013]

다른 양태로서, 본 발명은 화학식 I의 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 및 약학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다.

[0014]

다른 양태로서, 본 발명은 유효량의 화학식 I의 항세균 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 및 약학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다.

[0015]

다른 양태로서, 본 발명은 화학식 I의 LpxC-억제 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 이러한 억제를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 세균 성장에 영향을 주기 위하여 그램-음성 세균 내의 디아세틸라제 효소를 억제하는 방법을 제공한다.

[0016]

다른 양태로서, 본 발명은 화학식 I의 LpxC-억제 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 이러한 억제를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 세균 감염의 독성을 조절하기 위하여 그램-음성 세균 내 LpxC를 억제하는 방법을 제공한다.

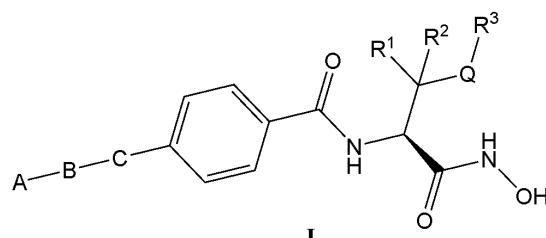
[0017]

다른 양태로서, 본 발명은 항세균적으로 유효한 양의 화학식 I의 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 이를 필요로 하는 대상에게 투여하는 단계를 포함하는 세균 감염에 걸린 대상을 치료하는

방법을 제공한다. 치료 방법의 더욱 구체적인 구현예에서, 세균 감염은 그람-음성 세균 감염이다. 하나의 이러한 구현예에서, 세균은 슈도모나스 아에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*), 버크홀데리아(*Burkholderia*)(예를 들어, 버크홀데리아 세파시아(*Burkholderia cepacia*)), 엔테로박테리아세아에(*Enterobacteriaceae*), 프란시스셀라세아에(*Francisellaceae*)(예를 들어, 프란시스셀라 툴라렌시스(*Francisella tularensis*)), 세라티아(*Serratia*), 프로테우스(*Proteus*), 클렙시엘라(*Klebsiella*), 엔테로박터(*Enterobacter*), 시트로박터(*Citrobacter*), 살모넬라(*Salmonella*), 프로비덴시아(*Providencia*), 예르시니아(*Yersinia*)(예를 들어, 예르시니아 페스티스(*Yersinia pestis*)), 모르가넬라(*Morganella*) 또는 에스케리키아 콜리(*Escherichia coli*)이다. 하나의 특별한 구현예에서, 세균은 슈도모나스 아에루기노사, 버크홀데리아, 프란시스셀라세아에, 엔테로박터, 예르시니아 또는 에스케리키아 콜리이다. 하나의 특별한 구현예에서, 세균은 슈도모나스 아에루기노사이다. 또 다른 이러한 구현예에서, 세균은 에스케리키아 콜리이다. 또 다른 구현예에서, 세균은 스텐토로포모나스 말토필라(*Stenotrophomonas maltophilia*), 알칼리게네스 자일로속시단스(*Alcaligenes xylosoxidans*), 헤모필리스(*Haemophilus*), 나이세리아 종(*Neisseria species*), 세데세아 종(*Cedecea species*) 또는 에드워드시엘라 종(*Edwardsiella species*)이다. 또 다른 구체적인 구현예에서, 대상은 포유동물이고, 특정한 구현예에서, 인간이다.

[0018]

본 발명의 일 양태는 LpxC의 억제제 및 제2 항세균제를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다. 일 실시로서, 제2 항세균제는 반코마이신, 리네졸리드, 아지트로마이신, 이미페넴, 테이코플라닌, 담토마이신, 클린다마이신, 리팜핀, 세포탁심, 젠타마이신, 노보비오신, 및 텔라반신으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 하나의 이러한 실시에서, 제2 항세균제는 반코마이신 또는 리팜핀이다. 또 다른 구현예에서, LpxC 억제제는 하기 화학식 I의 화합물 또는 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염이다:



[0019]

상기 식에서, A는 치환된 C₃-C₆ 사이클로알킬이고, 여기에서 적어도 하나의 치환기는 C₁-C₃ 1차 알코올이며; B는 존재하지 않거나, -CH=CH-, -C≡C- 또는 비치환된 페닐이고; C는 -CH=CH-, -C≡C- 또는 비치환된 페닐이며, 여기에서 만일 B가 -CH=CH-이면 C도 -CH=CH-가 아니고; R¹, R² 및 R³은 독립적으로 수소 및 치환된 또는 비치환된 C₁-C₃ 알킬로부터 선택되거나, 또는 R¹ 및 R²는 이들이 부착된 탄소 원자와 함께 비치환된 C₃-C₆ 사이클로알킬기를 형성하거나, 또는 R² 및 R³은 이들이 부착된 탄소 원자 및 Q와 함께, 5 내지 8개의 고리 원자를 갖는, 치환된 또는 비치환된 헤테로사이클릭 고리를 형성하고, 여기에서 헤테로사이클릭 고리의 1-2개의 고리 원자는 N, O 및 S로부터 선택되고; Q는 O 또는 NR이며, 여기에서 R은 수소 또는 비치환된 C₁-C₃ 알킬이다.

[0021]

본 발명의 또 다른 양태는 항세균제 및 화학식 I의 LpxC 억제제의 상승작용적인 양, 예를 들어 생체 내 상승작용적인 양을 병용투여하는 단계를 포함하는 그람-음성 세균 감염에 걸린 환자를 치료하는 방법을 제공한다. 일 실시로서, 항세균제는 반코마이신, 리네졸리드, 아지트로마이신, 이미페넴, 테이코플라닌, 담토마이신, 클린다마이신, 리팜핀, 세포탁심, 젠타마이신, 노보비오신, 및 텔라반신으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 하나의 이러한 실시에서, 항세균제는 반코마이신 또는 리팜핀이다.

[0022]

본 발명의 이들 및 다른 양태는 이하 상세한 설명을 참조하여 명백하여 질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0023]

도 1은 세균 균주 ATCC 43816에서 화합물 I-1 및 반코마이신의 생체 내 상승작용을 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0024]

본 발명은 새로운 화합물, 그람-음성 세균 내 LpxC를 억제하는 방법, 세균 감염을 치료하는 새로운 방법을 제공

한다. 본 명세서에서 제공된 화합물은 본 발명의 방법에 유용한 약학적 제형 및 약제로 제형화될 수 있다. 또한, 본 발명은 약제 및 약학적 제형을 제조함에 있어 상기 화합물의 사용, LpxC를 억제함에 있어 상기 화합물의 사용, 및 대상의 세균 감염을 치료함에 있어 상기 화합물의 사용을 제공한다. 또한, 본 발명은 UDP-3-O-(R-3-하이드록시테카노일)-N-아세틸글루코사민 디아세틸라제 (LpxC)의 활성을 억제할 수 있는 화합물을 단독으로 투여함으로써, 또는 제2 항세균성 화합물을 투여하는 것과 조합함으로써 그램-음성 감염을 치료하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다.

A. 정의

하기 약어 및 정의는 본 출원 전체에서 사용된다:

"LpxC"는 UDP-3-O-(R-3-하이드록시데카노일)-N-아세틸글루코사민 디아세틸라제를 나타내는 약어이다.

본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 달리 지시되지 않는다면 하기 정의가 적용되어야 한다.

"알킬"은 1 내지 10개의 탄소 원자, 바람직하기로 1 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 1가의 포화 지방족 탄화수소기를 언급한다. 이러한 용어는 예로서, 선형 및 분지형 탄화수소기, 예컨대 메틸 (CH_3-), 에틸 (CH_3CH_2-), *n*-프로필 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 이소프로필 ($(\text{CH}_3)_2\text{CH}-$), *n*-부틸 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 이소부틸 ($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2-$), 세크-부틸 ($(\text{CH}_3)(\text{CH}_3\text{CH}_2)\text{CH}-$), *t*-부틸 ($(\text{CH}_3)_3\text{C}-$), *n*-펜틸 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 및 네오펜틸 ($(\text{CH}_3)_3\text{CCH}_2-$)을 포함한다.

"알콕시"는 -0-알킬기를 언급하며, 여기에서 알킬은 본 명세서에서 정의한 바와 같다. 알콕시는 메톡시, 에톡시, *n*-프로포록시, 이소프로포록시, *n*-부톡시, *t*-부톡시, 세크-부톡시, *n*-펜톡시 등을 포함한다.

"아미노"는 $-\text{NH}_2$ 기를 언급한다.

"1차 알코올"은 -알킬-OH 기를 언급하며, 여기에서 하이드록실 라디칼이 1차 탄소에 연결된다. 예로는 $-\text{CH}_2\text{OH}$ (하이드록시메틸), $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ (하이드록시메틸) 및 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{OH}$ (1-하이드록시프로판-2-일)을 포함한다.

"알케닐"은 2 내지 6개의 탄소 원자, 바람직하기로 2 내지 4개의 탄소 원자를 가지며, 적어도 1개의, 바람직하기로 1 내지 2개의 비닐 ($>\text{C}=\text{C}<$) 불포화 자리(site)를 갖는, 직쇄 또는 분지된 탄화수소기를 언급한다. 이러한 기의 예로는 비닐, 알릴, 및 부트-3-엔-1-일이 있다. 이러한 용어 내에 시스 및 트랜스 이성질체 또는 이들 이성질체의 혼합물이 포함된다.

"알키닐"은 2 내지 6개의 탄소 원자, 바람직하기로 2 내지 3개의 탄소 원자를 가지며, 적어도 1개의, 바람직하기로 1 내지 2개의 아세틸렌성 $-\text{C}\equiv\text{C}-$ 불포화 자리를 갖는, 직쇄 또는 분지된 1가 탄화수소기를 언급한다. 이러한 알키닐기의 예로는 아세틸레닐 ($-\text{C}\equiv\text{CH}$), 및 프로파르길 ($-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$)을 포함한다.

"카르복실" 또는 "카르복시"는 $-\text{COOH}$ 또는 이의 염을 언급한다.

"시아노" 또는 "나이트릴"은 $-\text{CN}$ 기를 언급한다.

"사이클로알킬"은 단일 결합을 갖는 3 내지 13개의 탄소 원자의 사이클릭 알킬기를 언급한다. 사이클로알킬기의 예로는 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로옥틸 등을 포함한다.

"구아니디노"는 $-\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 기를 언급한다.

"할로" 또는 "할로겐"은 플루오로, 클로로, 브로모, 및 아이오도를 언급하며, 전형적으로 플루오로 또는 클로로이다.

"하이드록시" 또는 "하이드록실"은 $-\text{OH}$ 기를 언급한다.

"헤테로사이클", "헤테로사이클릭" 및 "헤테로사이클일"은 단일 고리를 가지며, 3 내지 15개의 고리 원자를 가지고, 1 내지 4개의 헤테로 원자를 포함하는, 포화 또는 불포화 기를 언급한다. 이들 고리 원자는 질소, 황 또는 산소로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일 실시로서, 헤테로사이클릭 기의 질소 및/또는 황 원자(들)은 임의로 산화되어 N-옥사이드, $-\text{S}(\text{O})-$, 또는 $-\text{SO}_2-$ 부분을 제공한다.

- [0042] "니트로"는 $-NO_2$ 기를 언급한다.
- [0043] "니트로소"는 $-NO$ 기를 언급한다.
- [0044] "옥소"는 원자 ($=O$)를 언급한다.
- [0045] "치환된"은 알콕시, 아실, 아실아미노, 아실옥시, 아미노, 아미노카보닐, 아미노티오카보닐, 아미노카보닐아미노, 아미노티오카보닐아미노, 아미노카보닐옥시, 아미디노, 카르복실, 카르복실 에스테르, (카르복실 에스테르)아미노, (카르복실 에스테르)옥시, 시아노, 구아니디노, 할로, 하이드록시, 니트로, SO_3H , 설포닐, 설포닐옥시, 티오아실, 티올, 및 알킬티오로 이루어진 군으로부터 선택되는 치환기로 대체된 하나 이상의 수소를 갖는 기를 언급하며, 여기에서 상기 치환기는 본 명세서에서 정의된 바와 같다. 특정한 치환된 사이클릭기에서, "치환된"은 또한 단일의 이중 결합된 산소 원자(옥소기) 또는 단일의 이중 결합된 황 원자(티옥소)로 대체된 2개의 수소를 갖는 기를 언급한다. 몇몇의 실시에서, 치환된 기는 1 내지 3개의 전술한 치환기를 갖는다. 다른 실시에서, 치환된 기는 1 내지 2개의 전술한 치환기를 갖는다.
- [0046] "설포닐"은 $-SO_2-$ 알킬, $-SO_2-$ 치환된 알킬, $-SO_2-$ 알케닐, $-SO_2-$ 치환된 알케닐 기를 언급하며, 여기에서 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 및 치환된 알키닐은 본 명세서에서 정의한 바와 같다. 설포닐은 메틸- SO_2- 과 같은 기를 포함한다.
- [0047] "설포닐옥시"는 $-OSO_2-$ 알킬, $-OSO_2-$ 치환된 알킬, $-OSO_2-$ 알케닐, $-OSO_2-$ 치환된 알케닐, $-OSO_2-$ 알키닐, $-OSO_2-$ 치환된 알키닐기를 언급하며, 여기에서 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 및 치환된 알키닐은 본 명세서에서 정의한 바와 같다.
- [0048] "티오아실"은 $H-C(S)-$, 알킬- $C(S)-$, 치환된 알킬- $C(S)-$, 알케닐- $C(S)-$, 치환된 알케닐- $C(S)-$, 알키닐- $C(S)-$, 및 치환된 알키닐- $C(S)-$ 기를 언급하며, 여기에서 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 및 치환된 알키닐은 본 명세서에서 정의한 바와 같다.
- [0049] "티올"은 $-SH$ 기를 언급한다.
- [0050] "티옥소"는 ($=S$) 원자를 언급한다.
- [0051] "알킬티오"는 $-S-$ 알킬기를 언급하며, 여기에서 알킬은 본 명세서에서 정의한 바와 같다. 다른 실시에서, 황은 $-S(O)-$ 로 산화될 수 있다. 설포사이드는 하나 이상의 입체 이성질체로서 존재할 수 있다.
- [0052] 달리 기재되어 있지 않다면, 본 명세서에 명시적으로 정의되어 있지 않는 치환기의 명명법은 작용기의 말단 부분을 명명하고 이어서 부착 지점에 대한 인접하는 작용기를 명명함으로써 수행한다. 예를 들어, 치환기 "아릴알킬옥시카보닐"은 (아릴)-(알킬)- $O-C(O)-$ 기를 언급한다.
- [0053] 일반적으로, 수소 또는 H와 같은 특정한 원소에 대한 언급은 그 원소의 모든 동위원소를 포함하는 것을 의미한다. 예를 들어, 치환기가 수소 또는 H를 포함하는 것으로 정의된 경우, 이는 또한 중수소 및 삼중수소를 포함한다.
- [0054] 본 발명은 또한 본 발명의 동위원소적으로 표지된 화합물을 포함하며, 이는 일반적으로 자연에서 발견되는 원자량 또는 원자 질량수와 상이한 원자량 또는 원자 질량수를 갖는 원자에 의하여 하나 이상의 원자가 대체되었다는 사실 이외에, 본 명세서에 개시된 화합물과 구조적으로 동일하다. 본 발명의 화합물에 포함될 수 있는 동위원소의 예는 수소, 탄소, 질소, 산소, 인, 황, 플루오린 및 클로린의 동위원소, 예컨대 2H , 3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F 및 ^{36}Cl 을 각각 포함한다. 전술한 동위원소 및/또는 다른 원자의 다른 동위원소를 함유하는, 본 발명의 화합물, 이의 전구약물, 및 상기 화합물 및 상기 전구약물의 약학적으로 허용가능한 염은 본 발명의 범위 내에 있다. 본 발명의 특정한 동위원소적으로 표지된 화합물, 예를 들어 3H 및 ^{14}C 와 같은 방사성 동위원소에 결합된 화합물은 약물 및/또는 기질 조직 분포 어세이에 유용하다. 삼중수소, 즉 3H , 및 탄소-14, 즉 ^{14}C 동위원소는 이들의 제조 용이성 및 검출가능성으로 인하여 특히 바람직하다. 또한, 중수소, 즉 2H 와 같은 더욱 무거운 동위원소로 치환하는 것은, 예를 들어 증가된 생체내 반감기 또는 감소된 투여 요구량과 같은, 더욱 큰 대사 안정성으로부터 발생하는 특정한 치료적인 이점을 제공할 수 있으며, 이에 따라 일부 상황에서 바람직할 수 있다. 본 발명의 동위원소적으로 표지된 화합물 및 이의 전구약물은 일반적으로 공지 또는 참조문헌의

과정을 수행하고 동위원소적으로 표지되지 않은 시약 대신에 용이하게 입수가능한 동위원소적으로 표지된 시약으로 대체함으로써 제조할 수 있다.

[0055] "입체이성질체" 및 "입체이성질체들"은 동일한 원자 연결성을 가지나 공간 내 상이한 원자 배열을 갖는 화합물을 언급한다. 입체이성질체는 시스-트랜스 이성질체, E 및 Z 이성질체, 에난티오머, 및 디아스테로이머를 포함한다.

[0056] "토토머(tautomer)"는 양성자의 위치가 상이한 분자의 교대의 형태, 예컨대 에놀-케토 및 이민-엔아민 토토머, 또는 $-N=C(H)-NH-$ 고리 원자 배열을 함유하는 헤테로아릴기의 토토머 형태, 예컨대 피라졸, 이미다졸, 벤지미다졸, 트리아졸, 및 테트라졸을 언급한다. 당업자는 다른 토토머의 고리 원자 배열이 가능하다는 점을 인식할 것이다.

[0057] "환자"는 인간 및 인간이 아닌 동물, 특히 포유동물을 언급한다.

[0058] "약학적으로 허용가능한 염"은, 상기 염이 당해 기술에서 잘 알려져 있는 다양한 유기 및 무기 상대 이온으로부터 유도되며, 단지 예로서 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 암모늄, 테트라알킬암모늄 등을 포함하고; 상기 분자가 염기성 작용기, 유기 또는 무기산의 염, 예컨대 하이드로클로라이드, 하이드로브로마이드, 타르트레이트, 메실레이트, 아세테이트, 말레이트, 옥살레이트, 포스페이트, 셀페이트 등을 함유하는, 화합물의 약학적으로 허용가능한 염을 언급한다.

[0059] "약학적으로 유효량" 및 "치료적으로 유효량"은 지정된 질병 또는 질환 또는 하나 이상의 이의 증상을 치료 및/ 또는 상기 질환 또는 질병의 발생을 예방하기에 충분한 화합물의 양을 언급한다.

[0060] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "상승작용" 또는 "상승작용적인"은 조합으로 사용된 경우의 화합물의 결합 효과가 단독으로 사용된 경우의 화합물의 첨가 효과보다 더욱 큰 것을 의미한다. "상승효과(Synergism)"는 ≤ 0.5 의 분할 억제 농도 지수(FICI)로서 정량적으로 정의될 수 있으며, 여기에서 FICI는 2종의 화합물의 조합에서 개별적인 구성요소의 분할 억제 농도(FIC)의 합으로서 정의되고, FIC는 화합물 단독의 최소 억제 농도(MIC)로 나눈 조합의 화합물의 MIC의 비로서 정의된다:

$$FICI = \left(\frac{MIC_{조합_종_약물A}}{MIC_{약물A_단독}} \right) + \left(\frac{MIC_{조합_종_약물B}}{MIC_{약물B_단독}} \right)$$

[0061] 택일적으로, "상승효과", 더욱 특히, "생체 내 상승효과"는 LpxC 억제제 또는 제2 항세균제 단독에 비해 조합하여 사용한 작용제의 정적 투여량(static dose)에서 적어도 2-배의 감소로서 정량적으로 정의될 수 있다. 특정한 경우에, 하나의 작용제 단독은 결코 정적인 투여량에 도달할 수 없다. 이러한 경우에, 조합은, 세균 성장이 단독으로는 정지 상태(stasis)에 도달할 수 없는 2종의 화합물의 조합 투여에 의해 중지될 수 있는 경우 (감염 후 0 시간에 측정된 것과 동일한 24 시간째의 CFU 하중(load)) 상승작용적이다.

[0063] "병용 투여"는 활성 작용제들을 함유하는 단일 제형(예를 들어, 본 발명의 화합물 및 제2 항세균제와 함께 약학적으로 허용가능한 부형제를 화합시키고, 이때 상기 2종의 활성 성분을 임의로 이들 각각의 방출 속도와 지속기간을 독립적으로 제어하도록 설계된 상이한 부형제 혼합물 내로 분리시킴)의 형태이거나 또는 활성 작용제들을 함유하는 개별적인 제형의 독립적인 투여에 의한 것일 수 있다. "병용 투여"는 또한, 본 발명의 화합물과 제2 항세균제 모두가 적어도 부분적으로 겹치는 시간 동안 치료적으로 유효한 농도로 체내에 존재하는 한, 동시 투여(본 발명의 화합물 및 제2 항세균제의 동시 투여) 및 시간 변경된 투여(제2 항세균제와 상이한 시간에 본 발명의 화합물의 투여)를 포함한다.

[0064] 용어 "항세균제(antibacterial agent)"는 살세균 또는 정균 활성 중 어느 하나를 갖는 작용제를 언급한다. 용어 "성장 억제"는 특별한 세균의 개체군 수의 증가 속도가 감소되는 것을 나타낸다. 따라서, 상기 용어는 세균 개체군이 증가하나 감소된 속도로 증가하는 상황뿐만 아니라 개체군의 성장이 중단된 상황은 물론, 개체군 내 세균의 수가 감소되거나 심지어 개체군이 제거된 상황도 포함한다. 효소 활성 어세이가 억제제에 대한 스크리닝에 사용되는 경우, 효소 억제와 성장 억제를 서로 연관시키기 위하여, 화합물에 대해 섭취/유출, 용해도, 반감기 등에 변형을 가할 수 있다. 항세균제의 활성은 세균에 대해 필수적으로 제한되는 것은 아니며, 기생동물, 바이러스 및 진균에 대한 활성 또한 포함할 수 있다.

[0065] 만일 문맥상 달리 요구하지 않는다면, 명세서 및 이에 뒤따르는 특허청구범위 전체적으로, 단어 "포함하다" 및 이의 변형, 예컨대 "포함한다" 및 "포함하는"은 개방적이고, 포괄적인 의미, 즉 "포함하나, 이에 제한되지 않는

것"으로서 해석된다.

[0066]

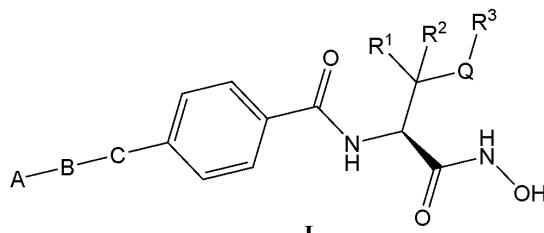
본 명세서 전체적으로 "하나의 구현예" 또는 "일 구현예"에 대한 언급은 상기 구현예와 관련하여 기술된 특별한 특징, 구조 또는 특성이 본 발명의 적어도 하나의 구현예에 포함된다는 것을 의미한다. 따라서, 본 명세서 전반에 걸쳐 다양한 곳에서 나타낸 문구 "하나의 구현예에서" 또는 "일 구현예에서"는 필수적으로 모두 동일한 구현예를 언급하는 것은 아니다. 또한, 상기 특별한 특징, 구조 또는 특성은 하나 이상의 구현예에서 임의의 적합한 방식으로 조합될 수 있다.

[0067]

B. 화합물, 조성물 및 이의 사용

[0068]

일 양태로서, 본 발명은 하기 화학식 I의 화합물 및 이의 입체이성질체 및 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다:



[0069]

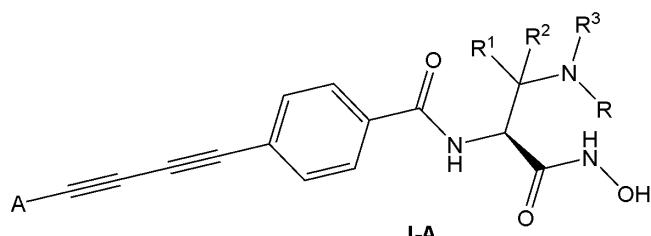
상기 식에서, A는 치환된 C_3-C_6 사이클로알킬이고, 여기에서 적어도 하나의 치환기는 C_1-C_3 1차 알코올이며; B는 존재하지 않거나, $-CH=CH-$, $-C\equiv C-$ 또는 비치환된 페닐이고; C는 $-CH=CH-$, $-C\equiv C-$ 또는 비치환된 페닐이며, 여기에서 만일 B가 $-CH=CH-$ 이면 C도 $-CH=CH-$ 가 아니고; R^1 , R^2 및 R^3 은 독립적으로 수소 및 치환된 또는 비치환된 C_1-C_3 알킬로부터 선택되거나, 또는 R^1 및 R^2 는 이들이 부착된 탄소 원자와 함께 비치환된 C_3-C_6 사이클로알킬기 를 형성하거나, 또는 R^2 및 R^3 은 이들이 부착된 탄소 원자 및 Q와 함께, 5 내지 8개의 고리 원자를 갖는, 치환된 또는 비치환된 헤테로사이클릭 고리를 형성하고, 여기에서 헤테로사이클릭 고리의 1-2개의 고리 원자는 N, O 및 S로부터 선택되고; Q는 O 또는 NR이며, 여기에서 R은 수소 또는 비치환된 C_1-C_3 알킬이다.

[0071]

특정한 구현예에서, Q는 NR이고, 몇몇의 이러한 구현예에서, Q는 NH 또는 NCH_3 이다. 특정한 구현예에서, R^1 , R^2 , 및 R^3 은 독립적으로 수소 및 치환된 또는 비치환된 C_1-C_3 알킬로부터 선택되고, 몇몇의 이러한 구현예에서, 수소 및 비치환된 C_1-C_3 알킬로부터 선택된다. 특정한 구현예에서, R^1 및 R^2 는 독립적으로 비치환된 C_1-C_3 알킬이다. 특정한 구현예에서, A는 하이드록시메틸로 치환된 C_3-C_6 사이클로알킬이다. 다른 구현예에서, B 및 C는 모두 $\equiv C-$ 이다.

[0072]

본 발명의 일 양태는 하기 화학식 I-A의 화합물 및 이의 입체이성질체 및 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다:



[0073]

상기 식에서, A는 치환된 C_3-C_6 사이클로알킬이고, 여기에서 적어도 하나의 치환기는 C_1-C_3 1차 알코올이며; R^1 , R^2 및 R^3 은 독립적으로 수소 및 치환된 또는 비치환된 C_1-C_3 알킬로부터 선택되거나, 또는 R^1 및 R^2 는 이들이 부착된 탄소 원자와 함께 C_3-C_6 사이클로알킬기를 형성하거나, 또는 R^2 및 R^3 은 이들이 부착된 탄소 원자 및 질소와

함께, 5 내지 8개의 고리 원자를 갖는, 치환된 또는 비치환된 헤테로사이클릭 고리를 형성하고, 여기에서 헤테로사이클릭 고리의 1-2개의 고리 원자는 N, O 및 S로부터 선택되고; R은 수소 또는 비치환된 C₁-C₃ 알킬이다. 특정한 구현예에서, R¹, R² 및 R³은 독립적으로 수소 및 치환된 또는 비치환된 C₁-C₃ 알킬로부터 선택되고, 몇몇의 이러한 구현예에서, 수소 및 비치환된 C₁-C₃ 알킬로부터 선택된다. 일 구현예에서, A는 C₁-C₃ 1차 알코올로 단일 치환된 C₃-C₆ 사이클로알킬이다.

[0075]

본 발명의 화합물은 하기 표 1에 기록된 것을 포함한다. 표 1에 도시된 특정한 화합물은 2종의 디아스테로머의 혼합물을 나타낸다. 이러한 경우에, "*" 표시는 사이클릭 부분에 부착된 2종의 부분이 서로에 대해 트랜스임을 나타낸다. "#*" 표시는 사이클릭 부분에 부착된 2종의 부분이 서로에 대해 시스임을 나타낸다.

표 1

	A	B	C	R ¹	R ²	R ³	Q
I-1		≡	≡	CH ₃	CH ₃	H	NH
I-2		≡	≡	CH ₃	CH ₃	H	NH
I-3		≡	≡	CH ₃	CH ₃	H	NH
I-4		≡	≡	CH ₃	CH ₃	H	NH
I-5		≡	페닐	CH ₃	CH ₃	H	NH

[0076]

표 1

	A	B	C	R ¹	R ²	R ³	Q
I-6		≡	≡	CH ₃	CH ₃	CH ₃	NH
I-7		≡	≡	CH ₃	CH ₃	CH ₂ CH ₃	NH
I-8		≡	≡	CH ₃	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	NH
I-9		≡	≡	CH ₃	CH ₃	CH ₃	NCH ₃
I-10		≡	≡	CH ₃	CH ₃	H	O

[0077]

표 1

	A	B	C	R ¹	R ²	R ³	Q
I-11		≡	≡	CH ₃	CH ₃	H	NH
I-12		≡	≡	CH ₃	CH ₃	H	NH
I-13		≡	≡	CH ₃	CH ₃	H	NH
I-14		≡	≡	CH ₃	CH ₃	H	NH
I-15		≡	≡	CH ₃	CH ₃	H	NH

[0078]

표 1

	A	B	C	R ¹	R ²	R ³	Q
I-16		≡	≡	CH ₃	CH ₃	H	NH
I-17		≡	≡	사이클로부틸		H	NH
I-18		≡	≡	사이클로부틸		H	NH
I-19		≡	≡	사이클로부틸	CH ₃	NCH ₃	
I-20		≡	≡	H	모르폴리노		NH

[0079]

II 1

	A	B	C	R ¹	R ²	R ³	Q
I-21				H		모르폴리노	NCH ₃
I-22				CH ₃	CH ₃	H	NH
I-23				CH ₃	CH ₃	H	NH

* = 트랜스 # = 시스

[0080]

[0081] 본 발명의 화합물은 본 명세서에 기술된 방법, 또는 당업계에 잘 알려진 다른 방법을 사용하여 용이하게 합성될 수 있다. 예를 들어, 하이드록삼산 또는 매우 다양한 치환기를 갖는 유사한 스캐폴드의 합성은 Kline, T., et al., "Potent, novel in vitro inhibitors of the *Pseudomonas aeruginosa* deacetylase LpxC" *J. Med. Chem.* 2002, 45(14), 3112-29; 미국특허 제5,925,659호; Pirrung, M. C., et al., "A Convenient Procedure for the Preparation of Amino Acid Hydroxamate from Esters" *J. Org. Chem.* 1995, 60, 8084-8085; Nhu, K., et al., "A New and Efficient Solid Phase Synthesis of Hydroxamic Acids" *J. Org. Chem.* 1997, 62, 7088-7089; PCT 국제공개 제W098/18754호; Mellor, S. L., et al., "N-Fmoc-aminoxy-2-chlorotriptyl Polystyrene Resin: A Facile Solid-phase Methodology for the Synthesis of Hydroxamic Acids" *Tetrahedron Lett.* 1997, 38, 3311-3314; Khan, S. I., et al., "A Facile and Convenient Solid-phase Procedure for Synthesizing Nucleoside Hydroxamic Acids" *Tetrahedron Lett.* 1998, 39, 8031-8034; Zhang, Y., et al., "Design, Combinatorial Chemical Synthesis, and in vitro Characterization of Novel Urea Based Gelatinase Inhibitors" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1999, 9, 2823-2826; Ito, Y., et al., "Synthetic Reactions by Complex Catalysts. XXXI, A Novel and Versatile Method of Heterocycle Synthesis" *J. Am. Chem. Soc.* 1973, 95, 4447-4448; Ito, Y., et al., "Synthetic Reactions by Complex Catalysts XXXV" *Syn. Commun.* 1974, 4, 97-103; Witte, H., et al., "Cyclische Imidsaurester aus Nitrilen und Aminoalkoholen" *Liebigs Ann. Chem.* 1974, 996-1009; Pattenden, G., et al., "Naturally Occurring Linear Fused Thiazoline-Thiazole Containing Metabolites: Total Synthesis of (-) Didehydromirabazole A, a Cytotoxic Alkaloid from Blue-Green Algae" *J. Chem. Soc. Perkin Trans* 1993, 1, 1629-1636; Boyce, R. J., et al., "Total Synthesis of Thiangazole, A Novel Naturally Occurring HIV-1 Inhibitor from Polyangium sp." *Tetrahedron* 1995, 51, 7321-7330; Galeotti, N., et al., "Synthesis of Peptidyl Aldehydes from Thiazolines" *Tetrahedron Lett.* 1997, 38, 2459-2462; Charette, A. B., et al., "Mild Method for the Synthesis of Thiazolines from Secondary and Tertiary Amides" *J. Org. Chem.* 1998, 63, 908-909; Bergeron, R. J., et al., "Effects of C-4 Stereochemistry and C-4' Hydroxylation on the Iron Clearing Efficiency and Toxicity of Desferrithiocin Analogues" *J. Med. Chem.* 1999, 42, 2432-2440; Raman, P., et al., "Titanium (IV)-mediated Tandem Deprotection-cyclodehydration of Protected Cysteine N-Amides: Biomimetic Synthesis of Thiazoline- and Thiazole-containing Heterocycles" *Org. Lett.* 2000, 2, 3289-3292; Fernandez, X., et al., "Novel Synthesis of 2-Thioazolines" *Tetrahedron Lett.* 2000, 41, 3381-3384; 및 Wipf, P., et al., "C. Thiolysis of Oxazolinenes: A New, Selective Method for the Direct Conversion of Peptide Oxazolines into Thiazolines" *Tetrahedron Lett.* 1995, 36, 6395-6398에서 광범위하게 검토되었으며, 이들은 참조 문헌으로서 본 명세서에 포함된다.

[0082] 다른 양태로서, 본 발명은 화학식 I의 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 및 약학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다.

[0083] 또 다른 양태로서, 본 발명은 화학식 I의 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을

이러한 억제를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 세균 성장에 영향을 주기 위하여 그람-음성 세균 내의 디아세틸라제 효소를 억제하는 방법을 제공한다.

[0084] 또 다른 양태로서, 본 발명은 화학식 I의 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 이러한 억제를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 그람-음성 세균 내 LpxC를 억제하여 세균 감염의 독성을 조절하는 방법을 제공한다. 본 발명의 화합물을 사용하여 LpxC를 억제하는 방법의 특정한 구현예에서, 상기 화합물의 IC₅₀ 값은 LpxC에 대해 10 μM 이하이다. 다른 구현예에서, 상기 IC₅₀ 값은 LpxC에 대해 1 μM 이하, 0.1 μM 이하, 0.050 μM 이하, 0.030 μM 이하, 0.025 μM 이하, 0.010 μM 이하이다.

[0085] 다른 양태로서, 본 발명은 항세균적으로 유효한 양의 화학식 I의 화합물 또는 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 이를 필요로 하는 대상에게 투여하는 단계를 포함하는 그람-음성 세균 감염에 걸린 대상을 치료하는 방법을 제공한다. 하나의 이러한 구현예에서, 세균은 슈도모나스 아에루기노사, 베크홀데리아(예를 들어, 베크홀데리아 세파시아), 엔테로박테리아세아에, 프란시스셀라세아에(예를 들어, 프란시스셀라 툴라렌시스), 세라티아, 프로테우스, 클렙시엘라, 엔테로박터, 시트로박터, 살모넬라, 프로비텐시아, 예르시니아(예를 들어, 예르시니아 페스티스), 모르가넬라 또는 에스케리키아 콜리이다. 하나의 특별한 구현예에서, 세균은 슈도모나스 아에루기노사, 베크홀데리아, 프란시스셀라세아에, 엔테로박터, 예르시니아 또는 에스케리키아 콜리이다. 하나의 이러한 구현예에서, 세균은 슈도모나스 아에루기노사이다. 또 다른 이러한 구현예에서, 세균은 에스케리키아 콜리이다. 또 다른 구현예에서, 세균은 스테노트로포모나스 말토필라, 알칼리게네스 자일로속 시단스, 해모필러스, 나이세리아 종, 세데세아 종 또는 에드워드시엘라 종이다.

[0086] 특정한 구현예에서, 대상은 포유동물일 수 있고, 몇몇의 구현예에서, 인간일 수 있다.

[0087] 본 발명에 따른 치료에 영향을 받기 쉬운 세균 감염은 세균 종, 및 예를 들어, 세균, 바이러스, 기생동물 및 진균과 같은 하나 이상의 추가적인 감염성 매개물에 의해 야기된 일차 감염 및 동시 감염(co-infection)을 포함한다.

[0088] 본 발명의 화합물은 내독소의 세균 생산, 특히 그람-음성 세균, 및 지질다당(LPS) 또는 내독소의 생합성에서 LpxC를 사용하는 세균에 의하여 야기되는 상태를 치료하기 위하여 사용될 수 있다.

[0089] 본 발명의 화합물은 또한 지질 A 및 LPS 또는 내독소의 세균 생산에 의하여 야기되거나 악화되는 상태, 예컨대, 패혈증, 패혈성 쇼크, 전신성 염증, 국부 염증, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD) 및 만성 기관지염의 급성 악화(AEC B)를 치료하는데 유용하다. 이들 상태를 위하여, 치료는 본 발명의 화합물, 또는 본 발명의 화합물의 조합을, 임의로 제2 작용제와 함께 투여하는 것을 포함하며, 여기에서 상기 제2 작용제는 제2 항세균제 또는 비-항세균제이다.

[0090] 패혈증, 패혈성 쇼크, 전신성 염증, 국부 염증, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD) 및 만성 기관지염의 급성 악화(AEC B)의 경우, 대표적인 비-항세균제는 내독소 수용체-결합 항체, 내독소-결합 항체, 항-CD14-결합 단백질 항체, 항-지질다당-결합 단백질 항체 및 티로신 키나제 억제제를 포함하는 항내독소를 포함한다.

[0091] 심한 또는 만성의 기도 감염의 치료에 있어, 본 발명의 화합물은 또한 흡입에 의하여 투여되는 비-항세균제와 함께 사용될 수 있다. 이러한 치료에 사용되는 대표적인 비-항세균제는 항-염증 스테로이드, 비-스테로이드성 항-염증제, 기관지 확장제, 거담제(mucolytic), 항-천식 치료제 및 폐액 계면활성제를 포함한다. 특히, 비-항세균제는 알부테롤, 살부테롤, 부데소니드, 베클로메타손, 텍사메타손, 니도크로밀, 베클로메타손, 플루티카손, 플루니솔리드, 트리암시놀론, 이부프로芬, 로페록시브, 나프록센, 셀레록시브, 니도크로밀, 이프라트로피움, 메타프로테레놀, 피르부테롤, 살메테롤, 포르모테롤, 인다카테롤, 기관지 확장제, 거담제, 칼팩턴트(calfactant), 베락턴트(beractant), 포락턴트 알파(poractant alfa), 설파신(surfaxin) 또는 펠모자임(도메이즈 알파(domase alfa)로도 불림)일 수 있다.

[0092] 본 발명의 화합물은 단독으로 사용되거나, 또는 엔테로박터 아에로게네스(*Enterobacter aerogenes*), 엔테로박터 클로아카에(*Enterobacter cloacae*), 에스케리키아 콜리, 클렙시엘라 뉴모니아에(*Klebsiella pneumoniae*), 클렙시엘라 옥시토카(*Klebsiella oxytoca*), 프로테우스 미라빌리스(*Proteus mirabilis*), 세라티아 마르세스센스(*Serratia marcescens*), 스테노트로포모나스 말토필리아(*Stenotrophomonas maltophilia*), 슈도모나스 아에루기노사, 베크홀데리아 세파시아, 알칼리게네스 자일로속시단스, 플라보박테리움 메닌고세티쿰(*Flavobacterium meningosepticum*), 프로비텐시아 스투아르티아(*Providencia stuartii*) 및 시트로박터 프레운디(*Citrobacter freundii*)에 의해 야기되는 것과 같은 심각한 폐 및 원내 감염, 해모필러스 인플루엔자에(*Haemophilus Influenzae*), 레지오넬라 종(*Legionella species*), 모락셀라 카타르할리스(*Moraxella catarrhalis*), 브란하렐

라 카타르할리스(*Branhamella catarrhalis*), 엔테로박터 종, 클렙시엘라 종, 및 프로테우스 종에 의하여 야기되는 것과 같은 집단(community) 폐감염, 및 네이세리아 종(*Neisseria species*), 시겔라 종(*Shigella species*), 살모넬라 종, 헬리코박터 파일로리(*Helicobacter pylori*), 비브리오나세아에(*Vibrionaceae*) 및 보르데렐라 종(*Bordetella species*)과 같은 다른 세균 종에 의해 야기된 감염뿐만 아니라 브루셀라 종(*Bacillus species*), 프란시셀라 툴라렌시스 및/또는 예르시니아 페스티스에 의해 야기되는 감염을 포함하는 심각한 또는 만성의 기도 감염의 치료를 위한 제2 항세균제와 조합하여 사용될 수 있다.

[0093] 그램-음성 세균 감염에 감염된 대상을 치료하기 위하여 사용되는 경우, 본 발명의 화합물은 제2 항세균제의 효과에 대해 그램-음성 세균을 민감하게 하기 위하여 사용될 수 있다.

[0094] 본 발명은 화학식 I의 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 화합물의 새로운 조합뿐만 아니라 그램-음성 세균에 감염된 대상을 치료하는 방법을 제공한다. 본 명세서에서 제공된 새로운 조합은 본 발명의 방법에 유용한 약학적 제형 및 약제로 제형화될 수 있다. 본 발명은 또한 환자의 세균 감염을 치료하는데 상기 조합을 사용하기 위한, 약제 및 약학적 제형을 제조함에 있어 상기 새로운 조합의 사용을 제공한다.

[0095] 체커보드 어세이(checkerboard assay)로서 언급되는, 상승작용을 평가하기 위한 하나의 전통적인 방법이 항세균제의 효능을 예측하기 위하여 사용되며, 이는 Scribner et. al., (1982, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 21(6):939-943) 및 Goodman & Gilman (1980, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, Sixth Edition, pp. 1097-1098)에 개시되어 있다. 체커보드 어세이는 브로쓰(in broth) 중 개별적인 항생제 및 이의 조합의 일련의 2-배 희석액을 만들고, 그 다음 여기에 테스트되는 미생물을 접종하는 것을 수반한다. 인큐베이션 후, 개별적으로 사용된 각각의 약물 및 조합으로 사용된 약물의 최소 억제 농도(MIC)를 측정한다(주의, MIC는 배지 중 성장을 억제하는 약물의 가장 낮은 농도임). 상승효과는 조합으로 사용한 경우 각 약물의 MIC가 감소하는 것을 나타낸다. 길항작용은 조합으로 사용된 경우 어느 하나 또는 둘 모두의 약물의 MIC가 증가하는 것을 나타낸다. 상승작용을 평가하는 대안적인 방법은 Greco, et al., *Pharmacological Reviews* 47(2):331-285 (1995)에 논의되어 있으며, 이는 그 전체로서 참조문헌으로 본 명세서에 포함된다.

[0096] 그러나, 체커보드 어세이에서의 양의 결과, 즉 MIC 아래의 상승작용을 나타내는 결과는 반드시 생체내 상승작용적인 거동으로 이어지지는 않는다. 미국 공개특허 제2004-229955A1호는 이. 콜라이 균주 ATCC 25922에 대한 에리트로마이신과 LpxC 억제제인 N-[(1S)-1-(아미노메틸)-2-(하이드록시아미노)-2옥소에틸]-4-(4-{4-[(3-메틸페닐)메틸]아미노}아세틸)아미노]페닐]부타-1,3디인일)벤즈아미드 간의 강한 상승작용을 보고하고 있다. PCT 국제 출원 제PCT/US2010/33910호는 에리트로마이신과 다양한 LpxC 억제제의 조합이 생체 내에서 상승작용을 보이지 않음을 입증하였다.

[0097] 그램-음성 세균의 필수적인 유전자인 LpxC는 우리딜디포스포-3-O-(R-하이드록시데카노일)-N-아세틸글루코사민디아세틸라제 효소를 인코딩한다. 이러한 효소는 모든 그램-음성 세균의 필수적인 성분인 지질다당의 지질 부분인 지질 A의 생합성에 있어 초기 헌신적인 단계에 대하여 촉매작용을 한다. MIC 이상에서, LpxC 억제제는 외부 막을 파괴시킬 것으로 기대되며, 이에 따라 다른 항세균성 화합물이 외부 막을 침투하도록 허용한다. 일단 이들 작용제가 외부 막을 침투하게 되면, 이들은 반코마이신을 사용한 경우와 같이 주변세포질 표적에 영향을 줄 수 있거나, 또는 그 다음 내부 막을 가로질러 확산하여 리보좀(에리트로마이신) 또는 RNA 폴리머라제(리팜핀)와 같은 세포 내의 표적과 상호작용할 수 있다. LpxC 억제제가 존재하지 않는 경우, 이들 표적에 접근하는 반코마이신과 같은 작용제의 능력은 외부 막에 의해 크게 줄어든다. 따라서, 이론에 얹매이는 것을 원하지 않고, 관찰된 상승작용의 근거가 될 수 있는 생화학적인 메커니즘은 LpxC 억제제와 조합되는 경우 반코마이신과 같은 작용제에 대한 외부 막의 강화된 투과성인 것으로 여겨진다.

[0098] 일 구현예에서, 화학식 I의 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염과 조합하여 사용되는 제2 항세균제는 반코마이신, 리네졸리드, 아지트로마이신, 이미페넴, 테이코플라닌, 담토마이신, 클린다마이신, 리팜핀, 세포탁심, 젠타마이신, 노보비오신, 또는 텔라반신이다. 하나의 이러한 구현예에서, 제2 항세균제는 반코마이신, 테이코플라닌, 리팜핀, 아지트로마이신, 텔라반신 또는 노보비오신이다. 하나의 이러한 구현예에서, 제2 항세균제는 반코마이신 또는 리팜핀이다. 본 발명의 몇몇의 구현예에서, 제2 항세균제 및/또는 화학식 I의 화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 치료용량 이하의 투여량으로 투여되며, 여기에서 치료용량 이하의 투여량은 단독으로 투여되는 경우 세균 감염을 치료하기에 불충분한 투여량이다.

[0099] 본 발명의 약학적 조성물은 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제와 함께 제형화된, 화학식 I의

화합물 또는 이의 입체이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "약학적으로 허용가능한 담체"는 비독성의 비활성 고체, 반고체 또는 액체 충진제, 희석제, 캡슐화 물질 또는 임의의 탑입의 제형 보조제를 의미한다. 약학적으로 허용가능한 담체 역할을 할 수 있는 물질의 몇몇의 예로는 락토스, 글루코스 및 수크로스와 같은 당; 옥수수 전분 및 감자 전분과 같은 전분; 소듐 카르복시메틸 셀룰로스, 에틸 셀룰로스 및 셀룰로스 아세테이트와 같은 셀룰로스 및 이의 유도체; 분말화 트래거캔스; 맥아; 젤라틴; 탈크; 코코아 버터 및 좌제 왁스와 같은 부형제; 땅콩 오일, 면실유, 흥화유, 참기름, 올리브유, 옥수수유 및 대두유와 같은 오일; 프로필렌 글리콜과 같은 글리콜; 에틸 올리에이트 및 에틸 라우레이트와 같은 에스테르; 한천(agar); 마그네슘 하이드록사이드 및 알루미늄 하이드록사이드와 같은 완충제; 알긴산; 발열성 물질 제거수; 등장성 식염수; 링거액; 에틸 알코올; 및 인산염 완충액은 물론 소듐 라우릴 설페이트 및 마그네슘 스테아레이트와 같은 다른 비독성의 혼화성 윤활제가 있고, 뿐만 아니라 착색제, 이형제, 코팅제, 감미제, 풍미제 및 향료, 보존제 및 항산화제를 또한 고안자의 판단에 따라 조성물 중에 넣을 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 인간 및 다른 동물에게 경구적으로, 직장으로, 비경구적으로(정맥내, 근육내 또는 피하 주사에 의한 것과 같은), 수조내로(intracisternally), 질내로, 복막내로, 국부적으로(분말, 연고, 또는 점액에 의한 것과 같이), 협측으로(bucally), 또는 경구 또는 비강 스프레이, 또는 액체 에어로졸 또는 흡입용 건조 분말 제형으로서 투여될 수 있다.

[0100] 경구 투여용 액체 투약(dosage) 제형은 약학적으로 허용가능한 에멀젼, 마이크로에멀젼, 용액, 혼탁액, 시럽 및 엘릭서를 포함한다. 활성 화합물 이외에, 상기 액체 투약 제형은 예를 들어, 물 또는 다른 용매, 용매화제 및 에멀젼화제, 예컨대 에틸 알코올, 이소프로필 알코올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸렌 글리콜, 디메틸포름아미드, 오일(특히, 면실유, 땅콩 오일, 옥수수유, 배아유, 올리브유, 피마자유, 및 참기름), 글리세롤, 테트라하이드로페퍼릴 알코올, 폴리에틸렌 글리콜 및 소르비탄의 지방산 에스테르, 및 이의 혼합물과 같은 당업계에서 일반적으로 사용되는 비활성 희석제를 함유할 수 있다. 비활성 희석제 외에, 경구 조성물은 또한 습윤제, 에멀젼화제 및 혼탁제, 감미제, 풍미제, 및 향료와 같은 보조제를 포함할 수 있다.

[0101] 주사가능한 제제, 예를 들어, 멸균의 주사가능한 수성 또는 유성 혼탁액은 적합한 분산제 또는 습윤제 및 혼탁제를 사용하여 공기 기술에 따라 제형화될 수 있다. 멸균의 주사가능한 제제는 또한 예를 들어 1,3-부탄디올 중의 용액과 같이, 비독성의 비경구적으로 허용가능한 희석제 또는 용매 중의 멸균의 주사가능한 용액, 혼탁액 또는 에멀젼일 수 있다. 사용될 수 있는 허용가능한 비히를 및 용매 중에는 물, 링거액, 1% 리도카인, U.S.P. 및 등장성 염화 나트륨 용액이 있다. 또한, 멸균의 고정 오일(fixed oil)이 용매 또는 혼탁 매질로서 통상적으로 사용된다. 이러한 목적을 위하여, 합성 모노- 또는 디글리세라이드를 포함하여 임의의 무자극 고정 오일이 사용될 수 있다. 또한, 올레산과 같은 지방산이 주사가능제의 제조에 사용된다.

[0102] 주사가능한 제형은 예를 들어, 세균-보유능(bacterial-retaining) 필터를 통해 여과하거나, 또는 사용 전에 멸균수 또는 다른 멸균의 주사가능한 매질 중에 용해되거나 분산될 수 있는 멸균의 고체 조성물의 형태로 멸균화제를 결합시킴으로써 멸균화될 수 있다.

[0103] 약물의 효과를 연장시키기 위하여, 종종 피하 또는 근육내 주사로부터의 느린 약물의 흡수가 바람직하다. 이는 적은 수용해도를 갖는 결정성 또는 비결정질 물질의 액체 혼탁액을 사용함으로써 달성할 수 있다. 그 다음 약물의 흡수 속도는, 결국 결정 크기 및 결정 형태에 의존할 수 있는 이의 용해 속도에 의존한다. 택일적으로, 비경구적으로 투여된 약물 형태의 지연된 흡수는 오일 비히를 중에 약물을 용해 또는 혼탁시킴으로써 달성할 수 있다. 주사가능한 데포(depot) 형태는 폴리락타이드-폴리글리콜라이드와 같은 생분해성 고분자 중에 약물의 마이크로캡슐 매트릭스를 형성함으로써 제조된다. 약물 대 고분자의 비율 및 사용된 특별한 고분자의 성질에 의존하여, 약물 방출의 속도가 제어될 수 있다. 다른 생분해성 고분자의 예로는 폴리(오르토에스테르) 및 폴리(안하이드라이드)를 포함한다. 데포 주사가능한 제형은 또한 체조직과 양립할 수 있는 리포좀 또는 마이크로에멀젼 중에 약물을 엔트래핑시킴으로써 제조할 수 있다.

[0104] 직장 또는 질 투여용 조성물은 바람직하기로, 대기 온도에서는 고체이나 체온에서는 액체이어서 직장 또는 질강(vaginal cavity) 내에서 용융되어 활성 화합물을 방출하는 적합한 비자극성 부형제 또는 담체, 예컨대 코코아 버터, 폴리에틸렌 글리콜 또는 좌제 왁스와 본 발명의 화합물을 혼합함으로써 제조될 수 있는 좌제이다.

[0105] 경구 투여용 고체 투약 형태는 캡슐, 정제, 알약, 분말, 및 과립을 포함한다. 이러한 고체 투약 형태에서, 활성 화합물은 적어도 하나의 비활성의 약학적으로 허용가능한 부형제 또는 담체, 예컨대 소듐 시트레이트 또는 디칼슘 포스페이트, 및/또는 a) 충진제 또는 증량제, 예컨대 전분, 락토스, 수크로스, 글루코스, 만니톨, 및 규산,

b) 결합제, 예를 들어 카르복시메틸셀룰로스, 알지네이트, 젤라틴, 폴리비닐피롤리돈, 수크로스, 및 아카시아, c) 보습제, 예컨대 글리세롤, d) 봉해제, 예컨대 한천(agar-agar), 칼슘 카보네이트, 감자 또는 타피오카 전분, 알긴산, 특정한 실리케이트, 및 소듐 카보네이트, e) 용액 지연제(solution retarding agent), 예컨대 파라핀, f) 흡수 촉진제, 예컨대 4급 암모늄 화합물, g) 습윤제, 예컨대 아세틸 알코올 및 글리세롤 모노스테아레이트, h) 흡수제, 예컨대 카울린 및 벤토나이트 클레이, 및 i) 윤활제, 예컨대 탈크, 칼슘 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 고체 폴리에틸렌 글리콜, 소듐 라우릴 설페이트, 및 이의 혼합물과 함께 혼합된다. 캡슐, 정제 및 알약의 경우에, 상기 투약 형태는 또한 완충제를 포함할 수 있다.

[0106] 또한, 연질 및 경질의 충진된 젤라틴 캡슐 내에 충진제로서 락토스 또는 유당뿐만 아니라 고분자량의 폴리에틸렌 글리콜 등과 같은 이러한 부형제를 사용하는 유사한 타입의 고체 조성물이 사용될 수 있다.

[0107] 정제, 당의정, 캡슐, 알약 및 과립의 고체 투약 형태는 장용 코팅제, 및 약학적 제형화 기술에서 잘 알려져 있는 다른 코팅제와 같은 코팅제 및 쉘을 사용하여 제조될 수 있다. 이들은 임의로 불투명화제를 함유할 수 있고, 또한 활성 성분(들)만을 방출하거나, 또는 우선적으로, 장관의 특정한 부분에서 방출하거나, 임의로 지연된 방식으로 방출하는 조성물일 수 있다. 사용될 수 있는 삽입(embedding) 조성물의 예는 고분자성 물질 및 왁스를 포함한다.

[0108] 또한, 연질 및 경질의 충진된 젤라틴 캡슐 내에 충진제로서 락토스 또는 유당뿐만 아니라 고분자량의 폴리에틸렌 글리콜 등과 같은 이러한 부형제를 사용하는 유사한 타입의 고체 조성물이 사용될 수 있다.

[0109] 항세균성 화합물은 또한 상기에서 지적된 바와 같은 하나 이상의 부형제를 사용한 마이크로-캡슐화(micro-encapsulated) 형태일 수 있다. 정제, 당의정, 캡슐, 알약 및 과립의 고체 투약 형태는 장용 코팅제, 방출 제어 코팅제 및 약학적 제형화 기술에서 잘 알려져 있는 다른 코팅제와 같은 코팅제 및 쉘을 사용하여 제조될 수 있다. 이러한 고체 투약 형태에서, 활성 화합물은 적어도 하나의 비활성 희석제, 예컨대 수크로스, 락토스 또는 전분과 함께 혼합될 수 있다. 또한, 이러한 투약 형태는, 보통의 실시와 같이, 비활성 희석제 이외의 추가적인 물질, 예를 들어 정제화 윤활제 및 다른 정제화 보조제, 예컨대 마그네슘 스테아레이트 및 미결정성 셀룰로스를 포함할 수 있다. 캡슐, 정제 및 알약의 경우에, 상기 투약 형태는 또한 완충제를 포함할 수 있다. 이들은 임의로 불투명화제를 함유할 수 있고, 또한 활성 성분(들)만을 방출하거나, 또는 우선적으로, 장관의 특정한 부분에서 방출하거나, 임의로 지연된 방식으로 방출하는 조성물일 수 있다. 사용될 수 있는 삽입(embedding) 조성물의 예는 고분자성 물질 및 왁스를 포함한다.

[0110] 본 발명의 화합물의 국부 또는 경피 투여용 투약 형태는 연고, 페이스트, 크림, 로션, 젤, 분말, 용액, 스프레이, 흡입제 또는 패치를 포함한다. 활성 화합물은 약학적으로 허용가능한 담체 및 임의의 필요한 보존제 또는 필요할 수 있는 완충제와 함께 멸균 조건 하에서 혼합된다. 안과적 제형, 점이액(ear drops) 등은 또한 본 발명의 범위 이내에 있는 것으로서 고려된다.

[0111] 연고, 페이스트, 크림 및 젤은, 본 발명의 활성 화합물 이외에, 동물성 및 식물성 지방, 오일, 왁스, 파라핀, 전분, 트래거캔스, 셀룰로스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 규산, 탈크 및 산화아연, 또는 이의 혼합물과 같은 부형제를 함유할 수 있다.

[0112] 본 발명의 조성물은 또한 액체 에어로졸 또는 흡입가능한 건조 분말로서 전달하기 위하여 제형화될 수 있다. 액체 에어로졸 제형은, 기관지 감염, 예컨대 만성 기관지염 및 폐렴에 걸린 환자 내에 세균이 거주하고 있는 말단 및 호흡기관의 세기관지에 전달될 수 있는 입자 크기로 대부분 분무될 수 있다. 병원성 세균은 흔히 기관지, 세기관지 및 폐 실질(lung parenchyma), 특히 말단 및 호흡기관의 세기관지 아래로 기도 전체에 걸쳐 존재한다. 감염의 악화 중에, 세균은 또한 폐포에 존재할 수 있다. 액체 에어로졸 및 흡입가능한 건조 분말 제형은 바람직 하기로 기관지 나무에 걸쳐 말단 세기관지 및 최종적으로 실질 조직(parenchymal tissue)으로 전달된다.

[0113] 본 발명의 에어로졸화 제형은, 바람직하기로 대부분 1 내지 5 μm 사이의 질량 평균 직경을 갖는 에어로졸 입자의 형성을 허용하기 위하여 선택된, 에어로졸 형성 장치, 예컨대 제트, 진동 다공성 판(vibrating porous plate) 또는 초음파 네블라이저를 사용하여 전달될 수 있다. 또한, 상기 제형은 바람직하기로 오스몰농도, 이온 강도 및 클로라이드 농도가 균형을 이루며, 최소의 에어로졸화 가능한 부피가 감염의 부위에 본 발명 화합물의 효과적인 투여량을 전달할 수 있다. 또한, 에어로졸화 제형은 바람직하기로 기도의 기능을 부정적으로 손상시키지 않고 바람직하지 못한 부작용을 야기하지 않는다.

[0114] 본 발명의 에어로졸 제형의 투여를 위한 적합한 에어로졸화 장치는 예를 들어, 제트, 진동 다공성 판, 초음파 네블라이저 및 동력화(energized) 건조 분말 흡입기를 포함하며, 이들은 대부분 1-5 μm 범위의 크기의 에어로졸

입자 크기로 본 발명의 제형을 분무할 수 있다. 이러한 적용에서 "대부분"은 모든 발생된 에어로졸 입자의 적어도 70%이나, 바람직하기로 90% 이상이 1 내지 5 μm 범위임을 의미한다. 제트 네블라이저는 액체 용액을 에어로졸 방울로 뿜어시키는 공기압에 의하여 작동한다. 진동 다공성 판 네블라이저는 다공성 판을 통해 용매 방울을 압출시키는 급속 진동 다공성 판에 의해 생성되는 소닉(sonic) 진공을 사용함으로써 작동한다. 초음파 네블라이저는 액체를 작은 에어로졸 방울로 전단시키는(shear) 압전성 결정에 의해 작동한다. 예를 들어, AeroNeb 및 AeroDose 진동 다공성 판 네블라이저 (AeroGen, Inc., Sunnyvale, Calif.), Sidestream7 네블라이저 (Medic-Aid Ltd., West Sussex, England), Pari LC7 및 Pari LC Star7 제트 네블라이저 (Pari Respiratory Equipment, Inc., Richmond, Va.), 및 Aerosonic (DeVilbiss Medizinische Produkte (Deutschland) GmbH, Heiden, Germany) 및 UltraAire7 (Omron Healthcare, Inc., Vernon Hills, Ill.) 초음파 네블라이저를 포함하는, 다양한 적합한 장치가 이용가능하다.

[0115] 본 발명의 화합물은 또한 본 발명의 화합물 이외에, 락토스, 탈크, 규산, 알루미늄 하이드록사이드, 칼슘 실리케이트 및 폴리아미드 분말, 또는 이를 물질의 혼합물과 같은 부형제를 함유할 수 있는 국부적 분말 및 스프레이로서 사용하기 위하여 제형화될 수 있다. 스프레이는 클로로플루오로하이드로카본과 같은 일반적인 추진제를 추가적으로 함유할 수 있다.

[0116] 경피적 패치는 신체에 대한 화합물의 제어된 전달을 제공하는 추가적인 장점을 갖는다. 이러한 투약 형태는 적절한 매질 내에 화합물을 용해 또는 분배함으로써 제조할 수 있다. 흡수 강화제가 또한 피부를 통한 화합물의 유입을 증가시키기 위하여 사용될 수 있다. 속도는 속도 제어 막을 제공하거나 또는 고분자 매트릭스 또는 겔에 화합물을 분산시킴으로써 제어할 수 있다.

[0117] 본 발명의 치료 방법에 따라, 환자에게 치료적 유효량의 화학식 I의 화합물, 또는 이의 입체이성질체 또는 약학적으로 허용가능한 염을 원하는 결과를 달성하기 위하여 필요한 양으로 이를 위하여 필요한 시간 동안 투여함으로써, 세균 감염이 인간 또는 하등 포유동물과 같은 환자에서 치료 또는 예방된다. 본 발명의 화합물의 "치료적 유효량"은 임의의 의료적 치료에 적용가능한 합리적 이익/위험 비율로 세균 감염을 치료하기 위한 화합물의 충분한 양을 의미한다. 그러나, 본 발명의 화합물 및 조성물의 전체 일일 사용량은 견실한 의료적 판단의 범위 내에서 주치의에 의하여 결정될 것으로 이해될 것이다. 임의의 특별한 환자를 위한 특정의 치료적으로 유효한 투여량 수준은 치료되는 질병 및 질병의 심각도; 사용된 특정 화합물의 활성; 사용된 특정 조성물; 환자의 연령, 체중, 전반적인 건강, 성별 및 식단; 사용된 특정 화합물의 투여 시간, 투여 경로, 및 배출율; 치료 기간; 사용된 특정 화합물과 함께 조합하여 또는 동시에 사용된 약물; 및 의료 분야에 잘 알려져 있는 유사한 인자를 포함하는 다양한 인자에 의존할 것이다.

[0118] 단회 또는 분할 투여로 인간 또는 다른 포유동물에게 투여되는 본 발명의 화합물의 전체 일일 투여량은 예를 들어, 0.01 내지 200 mg/kg 체중, 또는 더욱 일반적으로 0.1 내지 50 mg/kg 체중의 양일 수 있다. 특정한 구현 예에서, 인간 또는 다른 포유동물에게 투여되는 전체 일일 투여량은 1.0 내지 100 mg/kg 체중 또는 5.0 내지 25 mg/kg 체중이다. 단회 투여량 조성물은 일일 투여량을 구성하는 양 또는 이의 약수(submultiple)를 함유할 수 있다. 일반적으로, 본 발명에 따른 치료 처방(regimen)은 단회 또는 다회 투여량으로 일일당 본 발명의 화합물(들)의 약 10 mg 내지 약 15 g, 더욱 일반적으로 100 mg 내지 5 g, 더욱더 일반적으로 단회 또는 다회 투여량으로 일일당 250 mg 내지 1 g을 이러한 치료가 필요한 환자에게 투여하는 것을 포함한다.

[0119] 제형화 방법은 당업계에 잘 알려져 있으며, 예를 들어 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 19th Edition (1995)에 개시되어 있다. 본 발명에서 사용하기 위한 약학적 조성물은 멸균의, 비-발열성 액체 용액 또는 혼탁액, 코팅된 캡슐, 좌제, 동결건조된 분말, 경피적 패치의 형태 또는 당업계에 알려져 있는 다른 형태일 수 있다.

[0120] 본 발명에 사용되는 바와 같은 "키트"는 약학적 조성물을 담기 위한 용기를 포함하고, 또한 분할된 병 또는 분할된 호일 패킷(foil packet)과 같은 분할된 용기를 포함할 수 있다. 용기는 약학적으로 허용가능한 물질로 만들어진 당업계에 알려진 바와 같은 임의의 통상적인 형상 또는 형태, 예를 들어 종이 또는 판지(cardboard) 박스, 유리 또는 플라스틱 병 또는 단지(jar), 재밀봉가능한 백(예를 들어, 다른 용기에 배치하기 위한 정제의 "리필(refill)"을 위한), 또는 치료 스케줄에 따라 개별적인 투여량이 백으로부터 프레싱(pressing) 되는 블리스터 팩일 수 있다. 사용되는 용기는 수반되는 정확한 투약 형태에 의존할 수 있으며, 예를 들어 통상적인 판지 박스는 일반적으로 액체 혼탁액을 보유하기 위하여 사용되지 않을 것이다. 단회 투약 형태로 시판하기 위하여 하나 이상의 용기를 단일의 패키지로 함께 사용하는 것이 실현 가능하다. 예를 들어, 정제를 병에 넣어 결국에는 박스 내에 넣을 수 있다.

- [0121] 이러한 키트의 예로는 소위 블리스터 팩이 있다. 블리스터 팩은 포장 산업에서 잘 알려져 있으며 약학적 단위 투약 형태(정제, 캡슐 등)의 포장에 널리 사용되고 있다. 블리스터 팩은 바람직하기로 투명한 플라스틱 물질의 호일로 덮인 비교적 강성의 물질의 시트로 일반적으로 이루어진다. 포장 공정 중에, 리세스(recess)가 플라스틱 호일에 형성된다. 상기 리세스는 포장되는 개별적인 정제 또는 캡슐의 크기 및 형상을 가지거나 또는 포장되는 다수개의 정제 및/또는 캡슐을 수용하기 위한 크기 및 형상을 가질 수 있다. 그 다음, 정제 또는 캡슐이 그에 따라 상기 리세스에 배치되고 비교적 강성의 물질의 시트가 상기 리세스가 형성된 반대 방향의 호일 면에서 상기 플라스틱 호일을 밀봉한다. 그 결과, 정제 또는 캡슐은, 원하는 바에 따라, 플라스틱 호일과 시트 사이의 리세스 내에 개별적으로 밀봉되거나 또는 일괄적으로 밀봉된다. 바람직하기로, 상기 시트의 강도는 정제 또는 캡슐이 리세스 상에 손으로 압력을 가함으로써 블리스터 팩으로부터 제거될 수 있고 이에 의하여 리세스의 위치에서 시트 내에 개구부(opening)가 형성되는 정도이다. 그 다음, 정제 또는 캡슐은 상기 개구부를 통해 제거될 수 있다.
- [0122] 서면 메모리 보조수단(written memory aid)이 제공되는 것이 바람직할 수 있으며, 상기 서면 메모리 보조수단은 의사, 약사 또는 다른 건강 관리 제공자, 또는 대상을 위한 정보 및/또는 지시사항을, 예를 들어, 지정된 정제 또는 캡슐이 섭취되어야 하는 처방 일에 상응하는 숫자를 정제 또는 캡슐 옆의 숫자의 형태로, 또는 동일한 타입의 정보를 포함하는 카드의 형태로 포함하는 타입이다. 이러한 메모리 보조수단의 또 다른 예는, 예를 들어, "첫주, 월요일, 화요일, ... 등 ... 둘째주, 월요일, 화요일, ..." 등과 같이 카드 상에 프린트된 달력이다. 메모리 보조수단의 또 다른 변형은 쉽게 식별할 수 있을 것이다. "일일 투여량"은 주어진 날에 섭취되는 단일의 정제 또는 캡슐 또는 수개의 정제 또는 캡슐일 수 있다. 키트가 개별적인 조성물을 포함하는 경우, 키트의 하나 이상의 조성물의 일일 투여량은 하나의 정제 또는 캡슐로 이루어지면서, 키트의 또 다른 하나 이상의 조성물의 일일 투여량은 수개의 정제 또는 캡슐로 이루어질 수 있다.
- [0123] 키트의 또 다른 구체적인 구현예는 의도된 사용 순서로 한번에 하나씩 일일 투여량을 분배하도록 고안된 디스펜서이다. 바람직하기로, 상기 디스펜서는, 처방 준수를 더욱 용이하게 하기 위하여, 메모리-보조수단을 구비한다. 이러한 메모리-보조수단의 예는 분배된 일일 투여량의 숫자를 나타내는 기계적 카운터(counter)이다. 이러한 메모리-보조수단의 또 다른 예는 액정 판독기(readout), 또는 예를 들어, 마지막 일일 투여량을 섭취한 날짜를 읽어주고 및/또는 다음 투여량을 섭취해야 하는 날짜를 상기시켜주는, 가청(audible) 리마인더 시그널을 갖춘 배터리-동력의 마이크로-칩 메모리이다.
- [0124] 본 발명의 키트는 또한 본 발명의 화합물 이외에, 하나 이상의 추가적인 약학적 활성 화합물을 포함할 수 있다. 예를 들어, 상기 추가적인 화합물은 제2 항세균제이다. 상기 추가적인 화합물은 본 발명의 화합물과 동일한 투약 형태 또는 다른 투약 형태로 투여될 수 있다. 마찬가지로, 상기 추가적인 화합물은 본 발명의 화합물과 동시에 또는 다른 시간에 투여될 수 있다.
- [0125] 본 발명의 화합물의 조성물은 또한 (1) 이러한 화합물의 스펙트럼에 의해 커버되는 심한 그람-음성 감염의 치료를 강화하기 위하여 또는 (2) 이러한 화합물 이외에 다른 스펙트럼의 또 다른 작용제가 필요할 수 있는 다수의 생물이 의심되는 심한 감염의 적용범위를 추가하기 위하여 유사한 스펙트럼의 다른 공지의 항세균제와 조합하여 사용될 수 있다. 가능성이 있는 작용제로는 아미노글리코사이드류, 페니실린류, 세팔로스포린류, 플루오로퀴놀론류, 마크롤라이드류, 글리코펩타이드류, 리포펩타이드류 및 옥사졸리디논류의 구성원들을 포함한다. 상기 치료는 본 발명의 화합물 및 제2 항세균성 화합물 모두를 갖는 조성물의 투여, 또는 본 발명의 화합물의 투여, 및 그 이후 또는 그 이전의 제2 항세균제의 투여를 수반할 수 있다.
- [0126] 상술한 내용은 이하 실시예를 참조하여 더욱 잘 이해될 수 있으며, 이러한 실시예는 설명을 위하여 제공되고 본 발명의 개념의 범위를 제한하고자 하는 것이 아니다.
- [0127] VII. 실시예
- [0128] 이하의 실시예와 관련하여, 본 발명의 화합물은 2690 Separation Module (Milford, Mass.)과 함께 Waters Millennium 크로마토그래피 시스템을 사용하는 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)에 의하여 특징지어졌다. 분석 컬럼은 Alltech (Deerfield, Ill.)의 Alltima C-18 역상, 4.6×250 mm이었다. 기울기 용리를 사용하였으며, 전형적으로 5% 아세토나이트릴/95% 물로 시작하여 100% 아세토나이트릴로 40 분의 기간에 걸쳐 진전시켰다. 모든 용매는 0.1% 트리플루오로아세트산(TFA)을 함유하였다. 화합물은 220 또는 254 nm에서 자외선 (UV) 흡수로 검출

하였다. 일부 경우에, 순도를 유리 또는 플라스틱 배경의(backed) 실리카 젤 플레이트, 예를 들어 Baker-Flex Silica Gel 1 B2-F 플렉서블 시트를 사용하여 박막 크로마토그래피 (TLC)로 평가하였다. TLC 결과는 자외선 하에서 시각적으로 쉽게 검출하거나, 또는 잘 알려져 있는 요오드 증기 및 다른 다양한 염색 기술을 사용하여 검출할 수 있다.

[0129] 질량분광학적 분석은 하기의 2종의 LCMS 기기 중 하나 상에서 수행하였다: Waters System. (Alliance HT HPLC 및 a Micromass ZQ 질량 분광계; 컬럼: Eclipse XDB-C-18, 2.1×50 mm; 용매 시스템: 0.05% TFA를 함유하는 물 (water) 중의 5-95% (또는 35-95%, 또는 65-95% 또는 95-95%) 아세토나이트릴; 유속 0.8 mL/min; 분자량 범위 500-1500; 콘 전압(cone Voltage) 20 V; 컬럼 온도 40°C) 또는 Hewlett Packard System (Series 1100 HPLC; 컬럼: Eclipse XDB-C18, 2.1×50 mm; 용매 시스템: 0.05% TFA를 함유하는 물 중의 1-95% 아세토나이트릴; 유속 0.4 mL/min; 분자량 범위 150-850; 콘 전압 50 V; 컬럼 온도 30°C). 모든 질량은 양성자화된 어미 이온의 질량으로서 기록하였다.

[0130] GCMS 분석은 Hewlett Packard 기기 (Mass Selective Detector 5973을 장착한 HP6890 Series 기체 크로마토그래프; 주입기 부피: 1 μ l; 초기 컬럼 온도: 50°C; 최종 컬럼 온도: 250°C; 구배 시간(ramp time): 20 분; 기체 유속: 1 mL/min; 컬럼: 5% 폐닐 메틸 실록산, Model #HP 190915-443, 치수: 30.0 m×25 m×0.25 m) 상에서 수행하였다.

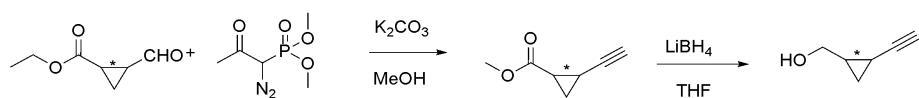
[0131] 핵자기 공명 (NMR) 분석은 Varian 300 MHz NMR (Palo Alto, Calif.)을 사용하여 수행하였다. 스펙트럼의 기준 (reference)은 TMS 또는 공지의 용매의 화학적 이동이었다. 몇몇의 화합물 샘플은 샘플 용해도의 증가를 촉진하기 위하여 상승된 온도(예를 들어, 75°C)로 실시하였다.

[0132] 몇몇의 본 발명의 화합물의 순도를 원소 분석기 (Desert Analytics, Tucson, Ariz.)로 평가하였다.

[0133] 용점은 Laboratory Devices Mel-Temp 장치 (Holliston, Mass.) 상에서 측정하였다.

[0134] 예비적인(preparative) 분리를 Flash 40 크로마토그래피 시스템 및 KP-Sil, 60A (Biotage, Charlottesville, Va.)을 사용하여, 또는 실리카 젤 (230-400 메시) 패킹 물질을 사용하는 플래시 컬럼 크로마토그래피로, 또는 C-18 역상 컬럼을 사용하는 HPLC로 수행하였다. Flash 40 Biotage 시스템 및 플래시 컬럼 크로마토그래피에 사용되는 전형적인 용매는 디클로로메탄, 메탄올, 에틸 아세테이트, 헥산, 아세톤, 하이드록실아민 수용액 및 트리에틸 아민이었다. 역상 HPLC에 사용되는 전형적인 용매는 0.1% 트리플루오로아세트산을 함유하는 다양한 농도의 아세토나이트릴 및 물이었다.

[0135] A. N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (I-1)의 합성



[0136]

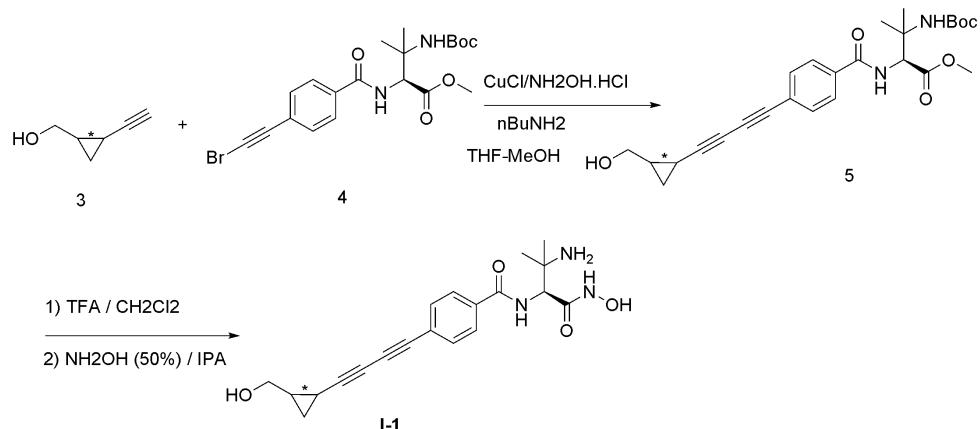
메틸 2-에티닐사이클로프로판카복실레이트(2)

[0138] 라세믹 에틸 2-포밀사이클로프로판카복실레이트 1 (10 g, 70.3 mmol) 및 베스트만 오히라 시약(Bestmann Ohira reagent) (16.4g, 85mmol)을 N_2 하에 무수 메탄올 (100mL) 중에 용해시켰다. 그 다음, 포타슘 카보네이트 (19.4g, 141 mmol)를 분할하여 서서히 첨가하고 상기 용액을 18 시간 동안 교반하였다. 용매를 20°C에서 감압 하에 제거하고, 물 (100mL)을 첨가한 후 생성물을 디클로로메탄 (2x 200mL)으로 추출한 다음, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 서서히 농축시켜 라세믹 메틸 2-에티닐사이클로프로판카복실레이트 (4.16g)를 얻었으며 이를 NMR로 확인하였다.

(2-에티닐사이클로프로필)메탄올 (3)

[0140] 그 다음, 리튬 보로하이드라이드 (175mg, 8.06mmol)를 질소 하에 무수 THF (20mL) 중의 라세믹 메틸 2-에티닐사이클로프로판카복실레이트 (1g, 20.6mmol)에 서서히 첨가하고, 교반을 2 시간 동안 계속하였다. 반응 혼합물을

몇 방울의 아세트산으로 퀸칭시키고 용매를 제거하였다. 조생성물을 에틸 아세테이트 (2x50ml)로 추출하고, 황산 나트륨 상에서 건조시킨 후, 서서히 농축시켜 황색 액체 (735mg)로서 라세미 (2-트랜스-에티닐사이클로프로필)메탄올, 3을 얻었으며 이를 다음 단계에 그대로 사용하였다.



[0141]

(2S)-메틸

3-(터트-부톡시카보닐아미노)-2-(4-((2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)-3-메틸부타노에이트 (5)

[0143]

CuCl (42mg, 0.416 mmol)을 질소 하에 THF (20ml), 메탄올 (10ml) 및 부틸 아민 (10ml)의 혼합물 중의 라세미 (2-트랜스-에티닐사이클로프로필)메탄올 (400mg, 4.16mmol), 메틸 2-(S)-(4-(브로모에티닐)벤즈아미도)-3-(터트-부톡시카보닐아미노)-3-메틸부타노에이트 (1.9g, 4.16mmol)의 교반 용액에 서서히 첨가하고, 수개의 결정의 하이드록실아민 하이드로클로라이드 (30mgs)를 첨가하였다. 교반을 4 시간 동안 계속하였다. 용매를 감압 하에 제거하고, 물 (100ml)을 첨가한 후 에틸 아세테이트 (2x150ml)로 추출한 다음, 황산 나트륨 상에서 건조시킨 후 농축시킨 뒤 ISCO 상에서 정제하여 432mg의 (2S)-메틸 3-(터트-부톡시카보닐아미노)-2-(4-((2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)-3-메틸부타노에이트를 얻었다.

[0144]

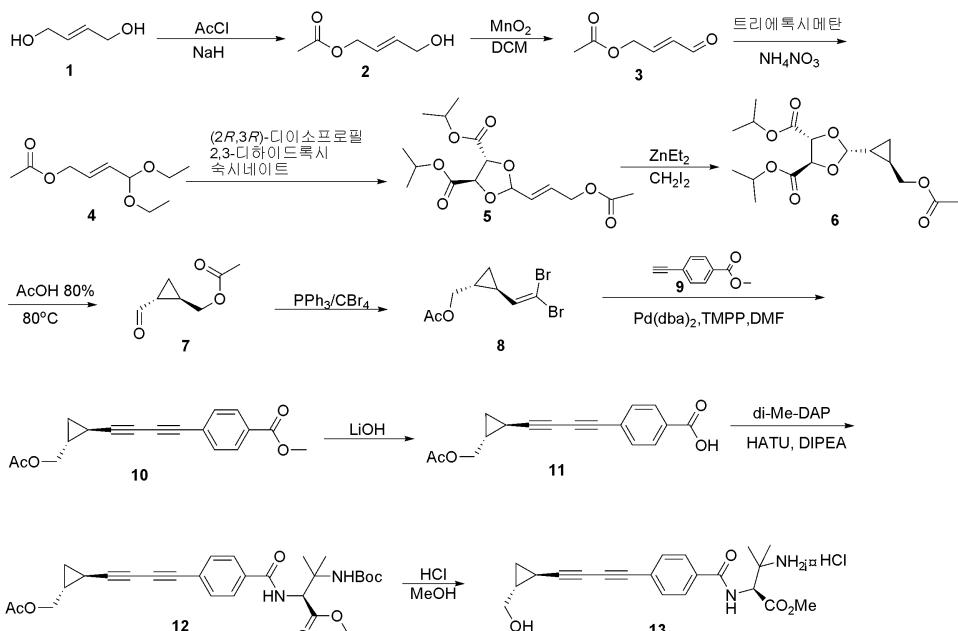
I-1: *N*-(*S*)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드

[0145]

(2S)-메틸 3-(터트-부톡시카보닐아미노)-2-(4-((2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)-3-메틸부타노에이트 5 (0.370g, 0.814mmol)를 디클로로메탄 (25ml)에 넣고, TFA (2ml)로 처리한 후 20 분 동안 교반하였다. 과량의 용매 및 TFA를 감압 하에 제거하여 탈보호화된 물질을 얻고 이를 IPA (10mL) 중에 재용해시킨 후 하이드록실아민 수용액 (50%, 2mL, 과량)으로 처리한 다음 2일 동안 냉장고 안에 두었다. 과량의 용매를 감압 하에 제거하고 조생성물을 역상 HPLC로 정제하여 트리플루오로아세트산염으로서 42mgs의 I-1을 얻었다. LC-MS (M+1) 370, 화학식: C₂₀H₂₃N₃O₄, 정확한 질량: 369.17. ¹HNMR (DMSO-d6), TFA 염: δ 0.9 (m, 2H) 1.24(s, 3H), 1.29 (s, 3H), 1.40(m, 1H), 3.24(m, 1H), 3.4(m, 1H), 4.64(d, 1H), 4.69(d, 1H), 7.61(d, 2H), 7.88(d, 2H), 7.90(br.d, 1NH), 8.65(d, 1NH), 9.1(br.S, OH).

[0146]

B. *N*-(*S*)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-((1*R*,2*R*)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (I-2)의 합성



[0147]

[0148] (E)-4-하이드록시부트-2-에닐 아세테이트 (2)

시약	MW	Eq.	mol	g, mL
화합물 1	88.05	1	3	264 g
NaH(60%)	24.00	1	3	120.0 g
CH ₃ COCl	78.50	1	3	235.5 g
THF				1.5 L

[0149]

[0150] THF 1.5 L 중의 (E)-부트-2-엔-1,4-디올 1 (264g, 3.0 mol)의 용액에 소듐 하이드라이드 (120g, 3.0 mol)를 -20°C 하에서 분할하여 첨가하였다. 첨가 후에, 상기 혼합물을 30분 동안 -20°C에서 교반하였다. 그 다음, 아세틸 클로라이드 (235.5g, 3 mol)를 적가하고, 상기 혼합물을 상온으로 따뜻해지게 한 후, 추가 3 시간 동안 상온에서 교반하였다. 상기 혼합물을 여과하고 잔여물을 THF로 세척하였다. 화합된 유기층을 건조시키고 농축하여 조생성물 2를 얻은 후 실리카 젤 컬럼(PE:EA=5:1-2:1)으로 정제하여 무색 오일로서 210 g의 2를 얻었다. 수율: 54%. ¹HNMR:CP-0005065-043 (CDCl₃, 400 MHz) δ: 5.85(m, 1H), 5.62(m, 1H), 4.67(t, J=6.2 Hz, 2H), 4.26(t, J=6.0 Hz, 2H), 2.10(s, 1H), 2.06(s, 3H).

[0151]

(E)-4-옥소부트-2-에닐 아세테이트 (3)

시약	MW	Eq.	mol	g, mL
화합물 2	130.14	1	1.5	195 g
MnO ₂ (활성)	86.94	10	15	1305 g
DCM				3 L

[0152]

[0153] 2.5L 디클로로메탄 중의 이산화 망간 (활성, 1305g, 15mol)의 혼탁액에 (E)-4-하이드록시부트-2-에닐 아세테이트 2 (195g)를 분할하여 첨가하였다. 상기 혼합물을 48 시간 동안 상온에서 교반하였다. 상기 혼합물을 여과하

고 잔여물을 디클로로메탄으로 세척하였다. 화합된 유기층을 건조시키고 농축하여 조생성물 **3**을 얻은 후 실리카 젤 컬럼(PE:EA=10:1-5:1)으로 정제하여 무색 오일로서 130 g의 **3**을 얻었다. 수율: 64%. $^1\text{H}\text{NMR}$:CP-0005065-044(CDC₁₃, 400 MHz) δ : 10.01(d, $J=6.4\text{Hz}$, 1H), 6.52(m, 1H), 6.10(m, 1H), 5.08 (m, 2H), 2.10(s, 3H).

[0154] *(E)-4,4-디에톡시부트-2-에닐 아세테이트 (4)*

시약	MW	Eq.	mol	g, mL
화합물 3	128.13	1	0.75	96 g
트리에톡시메탄	148.20	1.2	0.90	133.2 g
NH_4NO_3	79.90	0.05	0.038	3.0 g
EtOH				500 mL

[0155]

500 mL 에탄올 중의 *(E)-4-옥소부트-2-에닐 아세테이트* **3** (96.0 g, 0.75 mol) 및 트리에톡시메탄 (133.2g, 0.9 mol) 용액에 질산 암모늄 (3.0 g, 0.038mol)을 첨가하고, 상기 혼합물을 15 시간 동안 상온에서 교반하였다. 상기 혼합물을 800 mL EtOAc로 희석시키고 포화 소듐 바이카보네이트로 세척하였다. 수층을 EtOAc (300mL x 2)로 역추출하였다. 화합된 유기층을 건조시키고 농축하여 적색 오일로서 140 g의 조생성물 **4**를 얻고, 이를 추가적인 정제 없이 다음 단계를 위하여 사용하였다.

[0157] *(4R,5R,E)-디이소프로필-2-(3-아세톡시프로포-1-에닐)-1,3-디옥솔란-4,5-디카복실레이트 (5)*

시약	MW	Eq.	mol	g, mL
화합물 4	202.25	1	0.3	60.6 g
(2R,3R)-디이소프로필 2,3-디하이드록시숙시네이트	234.25	1.1	0.33	77.2 g
PPTS	251.09	0.05	0.015	3.8 g
벤젠				500 mL

[0158]

500 mL 벤젠 중의 *(E)-4,4-디에톡시부트-2-에닐 아세테이트* **4** (60.6g, 0.3 mol) 및 (2R,3R)-디이소프로필 2,3-디하이드록시숙시네이트 (77.2g, 0.33 mol) 용액에 PPTS (3.8 g, 15 mmol)를 첨가하고, 상기 혼합물을 90°C로 가열하여 15 시간 동안 에탄올을 증류시켰다. 상기 혼합물을 상온으로 냉각시킨 후 진공 농축시켰다. 실리카 젤(PE:EA=50:1-30:1로 정제하여 무색 오일로서 38.5 g의 **5**를 얻었다. 수율:37.3%. GCMS:CP-0005065-070-2 (85% 순도).

[0160] *(4R,5R)-디이소프로필-2-((1S,2R)-2-(아세톡시메틸)사이클로프로필)-1,3-디옥솔란-4,5-디카복실레이트 (6)*

시약	MW	Eq.	mol	g, mL
화합물 5	344.36	1	0.1	34.4 g
ZnEt ₂ (헥산 중 1M)		5	0.5	500 mL
CH ₂ I ₂	267.84	10	1	267.8 g
헥산				1.5 L

[0161]

헥산 (1.5L) 중의 *(4R,5R,E)-디이소프로필-2-(3-아세톡시프로포-1-에닐)-1,3-디옥솔란-4,5-디카복실레이트* **5**

(34.4 g, 0.1 mol) 용액에 디에틸 징크 (헥산 중의 1M, 500 mL)를 -20°C에서 아르곤 하에 분할하여 첨가하였다. 첨가 후에, 디아이오도에탄을 강력하게 교반하면서 -20°C 이하에서 적가하였다. 상기 혼합물을 상온으로 따뜻해지게 한 후 추가 8 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 800 mL 냉각 염화 암모늄 수용액으로 퀸청시킨 다음, 에테르 (800 mL x 5)로 추출하였다. 화합된 유기층을 소듐 티오설레이트 수용액, 물, 식염수로 세척한 다음, 건조시키고 농축하여 조생성물 **6**을 얻은 후 실리카 겔 컬럼(PE:EA=30:1-10:1)으로 정제하여 무색 오일로서 16 g의 **6**을 얻었다. 수율: 44.7%. ^1H NMR:PO5 (CDC13, 400 MHz) δ : 5.13(m, 2H), 4.95(d, J =5.6 Hz, 1H), 4.67(d, J =3.6 Hz, 1H), 4.57 (d, J =4.0 Hz, 1H), 4.07(m, 1H), 3.88(m, 1H), 2.06(s, 3H), 1.38(s, 12H), 1.23(m, 1H), 0.83(m, 1H), 0.66(m, 1H).

[0163] **((1R,2R)-2-포밀사이클로프로필)메틸 아세테이트 (7)**

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 6	358.38	1	40	14.3g
AcOH(80%)				140 mL

[0164] [0165] 140 mL 80% 아세트산 중의 (4R,5R)-디이소프로필-2-((1S,2R)-2-(아세톡시메틸)사이클로프로필)-1,3-디옥솔란-4,5-디카복실레이트 **6** (14.3 g, 40 mmol)의 혼합물을 80°C로 가열하고, 2 시간 동안 상기 온도에서 교반하였다. TLC가 **6**이 거의 남아있지 않음을 나타내었을 때, 상기 혼합물을 300 mL 포화 소듐 바이카보네이트에 적가한 다음, 디클로로메탄 (200 mL x 3)으로 추출하였다. 화합된 유기층을 물, 식염수로 세척하고, 건조시킨 후 농축하여 조생성물 **7**을 얻고 이를 실리카 겔 컬럼(PE:EA=10:1-5:1)으로 정제하여 무색 오일로서 3.5 g의 **7**을 얻었다. 수율 : 62%. ^1H NMR:CP-0005065-072(CDC13, 400 MHz) δ : 9.15 (s, 1H), 4.11 (m, 1H), 3.91 (m, 1H), 2.08 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 1.88 (m, 2H), 1.39 (m, 1H), 1.12 (m, 1H).

[0166] **((1R,2R)-2-(2,2-디브로모비닐)사이클로프로필)메틸 아세테이트 (8)**

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 7	142.15	1	21	3.00 g
CB ₄	331.63	2	42	13.9 g
PPh ₃	262.29	4	84	22.0 g
DCM				120 mL

[0167] [0168] 디클로로메탄 30 mL 중의 카본 테트라브로마이드 (13.9 g, 42 mmol) 용액에 50 mL 디클로로메탄 중의 트리페닐포스핀 (22.0 g, 84 mmol) 용액을 아르곤 하에서 -20°C에서 적가하였다. 상기 혼합물을 30분 동안 상기 온도에서 교반한 다음, -78°C로 냉각시켰다. 40 mL 디클로로메탄 중의 ((1R,2R)-2-포밀사이클로프로필)메틸 아세테이트 **7** (3.00 g, 21 mmol) 용액을 적가하고, 추가 30분 동안 상기 온도를 유지하였다. 상기 혼합물을 30분에 걸쳐 상온으로 따뜻해지게 하였다. 용매를 제거하고 실리카 겔 컬럼(PE:EA=100:1~50:1)으로 정제하여 무색 오일로서 4.3g의 **8**을 얻었다. 수율: 69%. ^1H NMR:CP-0005065-075(CDC13, 400 MHz) δ : 5.85(d, J =8.8Hz, 1H), 3.98(m, 2H), 2.09 (m, 3H), 1.61 (m, 1H), 1.35(m, 1H), 0.88(m, 2H).

[0169]

메틸 4-(((1R,2R)-2-(아세톡시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤조에이트 (10)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 8	297.97	1	14.5	4.3 g
화합물 9	160.17	1.1	16.0	2.56 g
Pd ₂ dba ₂	575.22	0.01	0.15	86.3 mg
TMPP	352.24	0.04	0.58	204.2 mg
NEt ₃	101.19	3	43.5	4.35 g
DMF				100 mL

[0170]

DMF 100 mL 중의 ((1R,2R)-2-(2,2-디브로모비닐)사이클로프로필)메틸 아세테이트 **8** (4.3g, 14.5mmol), Pd₂dba₂ (86.3mg, 0.15mmol), 트리(4-메틸페닐)포스핀 (204mg, 0.58mmol), 트리에틸아민 (4.35g, 43.5mmol) 용액에 메틸 4-에티닐벤조에이트 **9** (2.64g, 11mmol)을 아르곤 하에 처리하였다. 상기 혼합물을 5 시간 동안 상온에서 교반하였다. TLC가 화합물 **8**이 거의 남아있지 않음을 나타내었을 때, 상기 반응물을 EtOAc (300 mL)로 희석시키고 물(3x100 mL)로 세척한 후, 유기층을 건조시키고 농축하여 조생성물 **10**을 얻은 뒤, 실리카 젤 컬럼 크로마토그래피 PE:EA= 50:1~30:1로 정제하여 황색 고체로서 2.0 g의 **10**을 얻었다. 수율: 46.5 %, LCMS:CP-0005065-085-2 (ESI) m / z =297 (M+1) 순도:92.4 % (214nm).

[0172]

4-(((1R,2R)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤조산 (11)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 10	296.32	1	6.5	1.92 g
NaOH	40.10	10	65	2.60 g
THF				40 mL

[0173]

메틸 4-(((1R,2R)-2-(아세톡시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤조에이트 **10** (1.92g, 6.5mmol)을 THF (40 mL) 중에 용해시킨 다음, 10mL 물 중의 수산화 나트륨 (2.60g, 65 mmol) 용액을 첨가하였다. 상기 혼합물을 8 시간 동안 상온에서 교반하였다. LCMS가 화합물 **10**이 거의 남아있지 않음을 나타내었을 때, 용매를 감압 하에 제거하고, 잔여물을 물 (50 mL)로 희석시키고, pH를 4.0으로 조정한 후, 에틸 아세테이트 (4x50 mL)로 추출한 후, 유기층을 건조시키고 농축하여 황색 고체로서 1.4 g의 조생성물 **11**을 얻은 후, 이를 추가적인 정제 없이 다음 단계를 위하여 사용하였다. LCMS:CP-0005065-088-3 (ESI) m/z =241 (M+1) 순도:89 % (214nm). 수율: 89 %.

[0175]

(S)-메틸 2-(4-(((1R,2R)-2-(아세톡시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)-3-(터트-부톡시카보닐 아미노)-3-메틸부타노에이트 (12)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 11	240.25	1	5.0	1.20 g
Boc-di-Me-DAP	246.30	1.2	6.0	1.48g
HATU	390.12	1.2	6.0	2.34 g
DIPEA	129.24	4	20	3.58 g
DMF				50 mL

[0176]

[0177] DMF 50mL 중의 4-(((1R,2R)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤조산 11 (1.20g, 5.0mmol), HATU (2.34 g, 6 mmol) 용액에 (S)-메틸 2-아미노-3-(터트-부톡시카보닐아미노)-3-메틸부타노에이트 (1.48g, 6.0mmol) 및 DIPEA (3.58g, 20mmol)를 처리하였다. 상기 혼합물을 5 시간 동안 상온에서 교반하였다. LCMS가 화합물 11이 거의 남아있지 않음을 나타내었을 때, 반응물을 EtOAc (100 mL)로 희석시키고, 5% 리튬 클로라이드 (3x50mL)로 세척한 후, 유기층을 건조시키고 농축하여 황색 오일로서 12를 얻었다. 이를 실리카 젤 컬럼 크로마토그래피 PE:EA=2:1로 정제하여 무색 오일로서 2.0g의 12를 얻었다. 수율: 70%, LCMS:CP-0005065-091-3 (ESI) m/z = 469 ($M+1$) 순도:95 % (214nm).

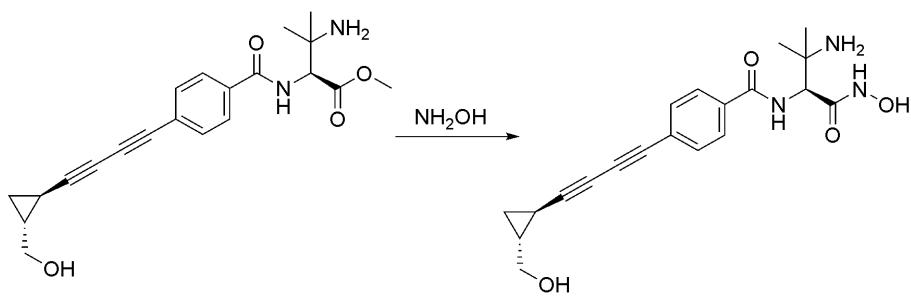
[0178]

(S)-메틸 3-아미노-2-(4-(((1R,2R)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)-3-메틸부타노에이트 하이드로클로라이드 (13)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 12	468.23	1	4.0	1.87 g
HCl(g)	36.5			
CH ₃ OH				50 mL

[0179]

[0180] (S)-메틸2-(4-(((1R,2R)-2-(아세톡시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)-3-(터트-부톡시카보닐아미노)-3-메틸부타노에이트 12 (1.87g, 4.0mmol)를 메탄올 (50mL) 중에 용해시키고, 10분 동안 건조 HCl_g로 처리하였다. LCMS가 화합물 12가 거의 남아있지 않음을 나타내었을 때, HCl 흐름을 중지시켰다. 용매를 감압 하에 제거하여 황색 고체로서 1.45g의 13을 얻었다. 수율: 91%, LCMS: CP-0005065-096-4-LCMSA019 (ESI) m/z = 369 ($M+1$) 순도: 98 % (214nm). ¹H NMR:CP-0005065-096-4 (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 9.04(d, *J*=6.8Hz, 1H), 8.36(s, 3H), 7.98(d, *J*=6.4Hz, 2H), 7.64(d, *J*=6.8Hz, 2H), 4.89(d, *J*=6.8Hz, 1H), 3.73(s, 3H), 3.44(m, 1H), 3.22(m, 1H), 1.48(m, 2H), 1.40(s, 6H), 0.94(m, 2H).



[0181]

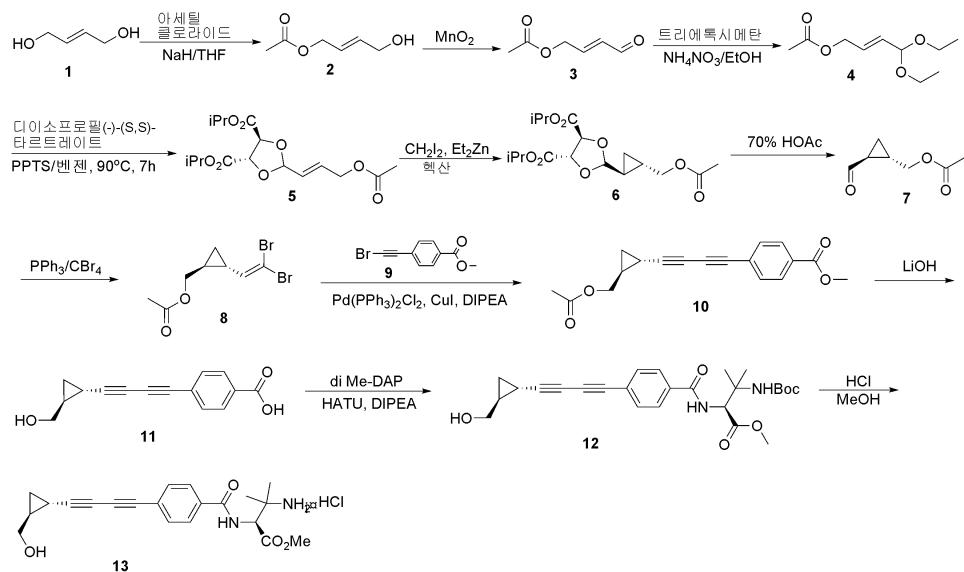
[0182] (S)-메틸 3-아미노-2-(4-(((1R,2R)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)-3-메틸부타노에이트 하이드로클로라이드 13 (1.25g, 3.1mmol)을 이소프로판을 (10mL) 및 50% 하이드록실아민 수용액 (4.1mL, 61.7mmol, 20 당량)으로 LCMS에 의해 대부분이 완료된 것으로 나타날 때까지 처리하였다.

[0183]

조생성 물질을 역상 HPLC (물 중의 0-30% 아세토나이트릴의 기울기, 각각 0.1% TFA 함유, 120 분에 걸쳐)로 정제하고 원하는 분획을 모아서 동결건조시켜 트리플루오로아세테이트 염으로서 N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1R,2R)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드를 얻었다 (백색 고체, 647mg, 1.3mmol, 43%). 질량 분광 데이터: 예측치 (M+1): 370.4, 실측치: 370.2. 양성자 NMR (400MHz, dmso-d6): 11.20 (s, 1H), 9.43 (br s, 1H), 8.55 (d, 1H, $J = 9.6\text{Hz}$), 8.00 (br s, 3H), 7.89 (dd, 2H, $J = 1.8, 6.6\text{Hz}$), 7.60 (dd, 2H, $J = 2.0, 6.8\text{Hz}$), 8.66 (d, 1H, $J = 9.2\text{Hz}$), 3.39 (dd, 1H, $J = 4.8, 11.6\text{Hz}$), 3.22 (dd, 1H, $J = 5.8, 11.4\text{Hz}$), 1.39 - 1.46 (m, 2H), 1.30 (s, 3H), 1.25 (s, 3H), 0.84 - 0.93 (m, 2H)

[0184]

C. N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1S,2S)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (I-3)의 합성



[0185]

(4S,5S,E)-디이소프로필-2-(3-아세토나이트릴)-1,3-디옥솔란-4,5-디카복실레이트 (5)

시약	MW	Eq.	mol	g, mL
화합물 4	202.25	1	0.37	75 g
디이소프로필(-)-(S,S)-타르트레이트	234.25	1	0.37	86.8 g
PPTS	251.09	0.05	0.0185	4.66 g
벤젠				800 ml

[0187]

800 ml 벤젠 중의 (E)-4,4-디에톡시부트-2-에닐 아세테이트 4 (75 g, 0.37 mol) 및 디이소프로필(-)-(S,S)-타르트레이트 (86.8g, 0.3 mol) 용액에 PPTS (4.66 g, 0.0185 mol)를 첨가하고, 상기 혼합물을 9°C로 가열하여 15 시간 동안 에탄올을 증류시켰다. 상기 혼합물을 상온으로 냉각시키고 진공 농축시켰다. 이를 증류 정제하여 무색 오일로서 화합물 5 (50.0 g, 39%)를 얻었다. 1H NMR: (CDCl3, 400 MHz) δ : 6.04-6.01(m, 1H), 5.81-5.80 (m, 1H), 5.57(d, $J = 8\text{Hz}$, 1H), 5.07-5.01(m, 2H), 4.65(d, $J = 4\text{ Hz}$, 1H), 4.57 (d, $J = 4\text{ Hz}$, 1H), 4.54-4.53 (m, 2H), 1.99(s, 3H), 1.23-1.19(m, 12H).

[0189] (4S,5S)-디이소프로필-2-((1R,2S)-2-(아세톡시메틸)사이클로프로필)-1,3-디옥솔란-4,5-디카복실레이트 (6)

시약	MW	Eq.	mol	g, mL
화합물 5	344.36	1	0.12	40 g
ZnEt ₂ (헥산 중 1M)		10	1.20	1.16 L
CH ₂ Cl ₂	267.84	20	2.40	623 g
헥산				1.0 L

[0190]

[0191] 헥산 (1.0L) 중의 (4S,5S,E)-디이소프로필-2-(3-아세톡시프로프-1-에닐)-1,3-디옥솔란-4,5-디카복실레이트 5 (40g, 0.12mol) 용액에 디에틸 징크 (헥산 중 1M, 1.16L)를 -20°C에서 아르곤 하에 분할하여 첨가하였다. 첨가 후에, 디아이오도메탄 (623g, 2.40mol)을 강력하게 교반하면서 -20°C 이하에서 적가하였다. 상기 혼합물을 상온으로 따뜻해지게 한 후, 추가 8 시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 800 mL 냉각 염화 암모늄 수용액으로 퀸칭시킨 다음, 에테르 (800 mL x 5)로 추출하였다. 화합된 유기층을 소듐 티오실레이트 수용액, 물, 식염수로 세척한 다음, 건조시키고 농축하여 조 화합물 6을 얻은 후, 석유 에테르 중의 에틸 아세테이트 (3%-10% v/v)를 사용하여 실리카 겔 컬럼으로 정제하여 무색 오일로서 화합물 6 (20.0 g, 50%)을 얻었다. ¹H NMR: (CDCl₃, 400 MHz) δ: 5.15-5.08 (m, 2H), 4.95(d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.67(d, J = 3.6 Hz, 1H), 4.57 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 4.07-4.04 (m, 1H), 3.91-3.86(m, 1H), 2.06(s, 3H), 1.40-1.37(m, 1H), 1.31-1.28 (m, 12H), 1.24-1.22(m, 1H), 0.85-0.82(m, 1H), 0.68-0.63(m, 1H).

[0192]

((1S,2S)-2-포밀사이클로프로필)메틸 아세테이트 (7)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 6	358.38	1	55.80	20.0 g
AcOH (80%)				200 mL

[0193]

[0194] 200mL 80% 아세트산 중의 (4S,5S)-디이소프로필-2-((1R,2S)-2-(아세톡시메틸)사이클로프로필)-1,3-디옥솔란-4,5-디카복실레이트 6 (20.0g, 55.8mmol)의 혼합물을 80°C로 가열하고 2 시간 동안 상기 온도에서 교반하였다. TLC가 6이 거의 남아있지 않음을 나타내었을 때, 상기 혼합물을 물 (150mL)로 희석시키고, 에틸 아세테이트 (200mL x 3)로 추출하였다. 화합된 유기층을 포화 소듐 바이카보네이트, 물, 식염수로 세척한 다음, 건조시키고 농축하여 조 화합물 7을 얻고, 석유 에테르 중의 에틸 아세테이트 (8%-20% v/v)를 사용하여 실리카 겔 컬럼으로 정제하여 무색 오일로서 화합물 7 (3.0, 38%)을 얻었다. ¹H NMR: (CDCl₃, 400 MHz) δ: 9.15(d, J = 4.8, 1H), 4.14-4.09(m, 1H), 3.95-3.90 (m, 1H), 2.08 (s, 3H), 1.92-1.88(m, 2H), 1.38-1.36(m, 1H), 1.12-1.09(m, 1H).

[0195]

((1S,2S)-2-(2,2-디브로모비닐)사이클로프로필)메틸 아세테이트 (8)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 7	142.15	1	21.00	3.00 g
CBr ₄	331.63	2	42.00	13.90 g
PPh ₃	262.29	4	84.00	22.00 g
DCM				120 mL

[0196]

[0197]

디클로로메탄 (30mL) 중의 카본 테트라브로마이드 (13.9g, 42.0 mmol) 용액에 50mL 디클로로메탄 중의 트리페닐 포스핀 (22.0g, 84.0mmol) 용액을 아르곤 하에 -20°C에서 적가하였다. 상기 혼합물을 30분 동안 상기 온도에서 교반한 다음, -78°C로 냉각시켰다. 40mL 디클로로메탄 중의 ((1S,2S)-2-포밀사이클로프로필)메틸 아세테이트 7 (3.0g, 21.0mmol) 용액을 적가하고, 추가 30분 동안 상기 온도를 유지하였다. 상기 혼합물을 30분에 걸쳐 상온으로 따뜻해지게 하였다. 용매를 진공 하에 제거하고 잔여물을 석유 에테르를 사용하여 실리카 겔 컬럼으로 정제하여 무색 오일로서 화합물 8 (3.20g, 51%)을 얻었다. 이를 GC-MS로 확인하였다.

[0198]

메틸 4-(((1S,2S)-2-(아세톡시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤조에이트 (10)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 8	297.97	1	10.85	3.2 g
화합물 9	160.17	1.1	15.20	2.43 g
Pd ₂ dba ₂	575.22	0.01	0.11	62.4 mg
TMPP	352.24	0.04	0.43	153 mg
NEt ₃	101.19	3	14.25	1.44 g
DMF				50 mL

[0199]

[0200]

DMF (50mL) 중의 ((1S,2S)-2-(2,2-디브로모비닐)사이클로프로필)메틸 아세테이트 8 (3.2g, 10.85mmol), Pd₂dba₂ (62.4mg, 0.11mmol), 트리(4-메틸페닐) 포스핀 (153mg, 0.43mmol), 트리에틸아민 (1.44g, 14.25mmol) 용액에 메틸 4-에티닐벤조에이트 9 (2.43g, 15.2mmol)를 아르곤 하에 처리하였다. 상기 혼합물을 하룻밤 동안 상온에서 교반하였다. 상기 반응물을 EtOAc (300mL)로 희석시키고, 물 (3 x 100mL)로 세척한 후, 화합된 유기층을 건조시키고 농축하여 조 화합물 10을 얻고, 석유 에테르 중의 에틸 아세테이트 (3%-10% v/v)를 사용하여 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 황색 고체로서 화합물 10 (1.4g, 46.5%)을 얻었다. LC-MS:297 [M+H]⁺.

[0201]

4-(((1S,2S)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤조산 (11)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 10	296.32	1	4.72	1.4 g
NaOH	40.10	4	18.90	756 mg
THF				30 mL

[0202]

[0203]

THF (30 mL) 중의 메틸 4-(((1S,2S)-2-(아세톡시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤조에이트 10 (1.4g) 용액에 물 (10 mL) 중의 수산화 나트륨 (75mg, 18.9mmol) 용액을 첨가하였다. 상기 혼합물을 하룻밤 동안 상온에서 교반하였다. 상기 시간 이후에, 용매를 감압 하에 제거하고, 잔여물을 물 (50mL)로 희석시키고, 1M HCl를 사용하여 pH 4.0로 조정한 다음, EtOAc (4 x 50mL)로 추출한 후, 유기층을 건조시키고 농축하여 황색 고체로서 화합물 11 (1.05g, 93%)을 얻었으며, 이를 추가적인 정제 없이 다음 단계를 위하여 사용하였다. LC-MS:241 [M+H]⁺.

[0204]

(S)-메틸 3-(터트-부톡시카보닐아미노)-2-(4-(((1S,2S)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)-3-메틸부타노에이트 (12)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 11	240.25	1	4.38	1.05 g
Boc-di-Me-DAP	246.30	1	4.38	1.076g
HATU	390.12	1.1	4.81	1.83 g
DIPEA	129.24	3	13.10	1.69 g
DMF				25 mL

[0205]

[0206] DMF (25mL) 중의 4-(((1S,2S)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤조산 11 (1.05g, 4.38mmol), HATU (1.83g, 4.81mmol) 용액에 (S)-메틸 2-아미노-3-(터트-부톡시카보닐아미노)-3-메틸부타노에이트 (1.076g, 4.38mmol) 및 DIPEA (1.69g, 13.1mmol)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 5 시간 동안 상온에서 교반하였다. 상기 시간 후에, 반응물을 물 (20mL)로 희석시킨 다음, 에틸 아세테이트 (60mL x 3)로 추출하였다. 화합된 유기층을 물 및 식염수로 세척한 다음, 건조시키고 농축하여 황색 오일로서 화합물 12를 얻었다. (1.35g, 65%) LC-MS:469 [M+H]⁺.

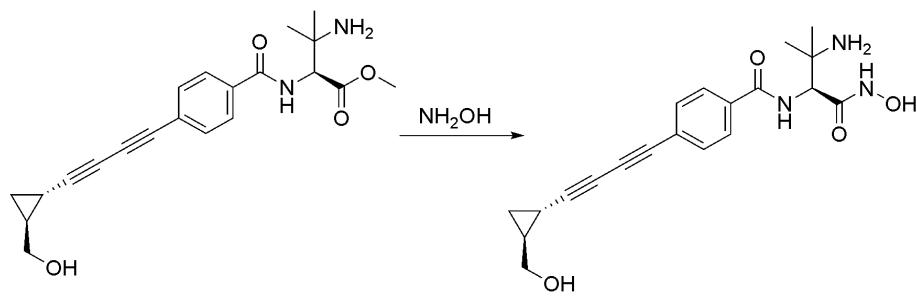
[0207]

(S)-메틸 3-아미노-2-(4-(((1S,2S)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)-3-메틸부타노에이트 하이드로클로라이드 (13)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 12	468.23	1	2.78	1.3 g
HCl(g)				
CH ₃ OH				20 mL

[0208]

[0209] 메탄올 (20mL) 중의 (S)-메틸 3-(터트-부톡시카보닐아미노)-2-(4-(((1S,2S)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)-3-메틸부타노에이트 12 (1.3g, 2.78mmol) 용액을 HCl 장치에 부착시켰다. 그 다음, TLC가 출발 물질의 전체 소비를 나타낼 때까지 상기 반응물을 상온에서 교반하였다. 그 후, 상기 용액을 감압 하에 농축시켜 황색 고체로서 13을 얻었다 (1.1 g, 98%). LC-MS:369 [M+H]⁺. 1H-NMR: (DMSO-d₆, 400 MHz) δ: 9.04(d, *J* = 6.8Hz, 1H), 8.38(s, 3H), 7.98(d, *J* = 6.8Hz, 2H), 7.64(d, *J* = 6.4Hz, 2H), 4.88(d, *J* = 6.8Hz, 1H), 3.72(s, 3H), 3.45-3.42(m, 1H), 3.28-3.24(m, 1H), 1.49-1.46(m, 2H), 1.40(s, 6H), 0.95-0.90(m, 2H).



[0210]

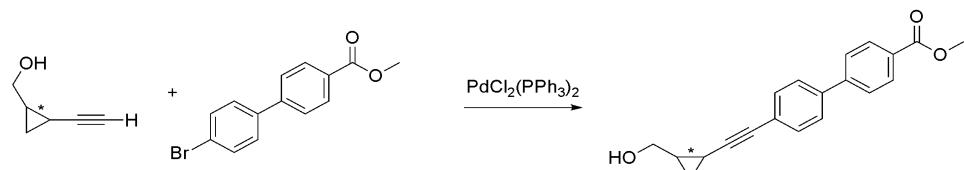
[0211] (S)-메틸 3-아미노-2-(4-(((1S,2S)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)-3-메틸부타노에이트 하이드로클로라이드 13 (1.15g, 2.8mmol)을 이소프로판올 (10mL) 및 50% 하이드록실아민 수용액 (3.8mL, 56.8mmol, 20 당량)으로 LCMS에 의하여 대부분이 완료된 것으로 나타날 때까지 처리하였다.

[0212]

상기 조생성 물질을 역상 HPLC (물 중 0-30% 아세토나이트릴의 기울기, 각각 0.1% TFA 함유, 120 분에 걸쳐)로 정제하고, 원하는 분획을 모아 동결건조시켜 트리플루오로아세테이트 염으로서 N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1S,2S)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드를 얻었다 (백색 고체, 446mg, 0.92mmol, 33%). 질량 분광 데이터: 예측치 (M+1): 370.4, 실측치: 370.2. 양성자 NMR (400MHz, d₆-DMSO): 11.20 (s, 1H), 9.22 (br s, 1H), 8.55 (d, 1H, J = 9.6Hz), 7.99 (br s, 3H), 7.89 (dd, 2H, J = 2.0, 6.8Hz), 7.61 (dd, 2H, J = 1.6, 6.8Hz), 4.66 (d, 1H, J = 9.6Hz), 3.40 (dd, 1H, J = 5.0, 11.4Hz), 3.22 (dd, 1H, J = 5.8, 11.8Hz), 1.38 - 1.46 (m, 2H), 1.30 (s, 3H), 1.25 (s, 1H), 0.84 - 0.93 (m, 2H).

[0213]

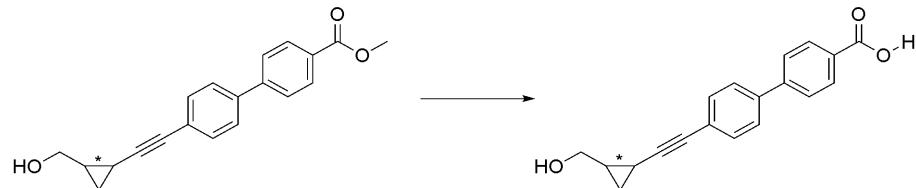
D. N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)에티닐)비페닐-4-카복사미드 (I-5)의 합성



[0214]

[0215]

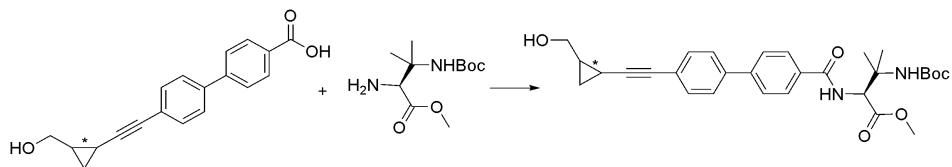
등근 바닥 플라스크에 메틸 4'-브로모비페닐-4-카복실레이트 (2.0 g, 6.87 mmol, 1.0 당량)를 넣은 후 THF (20 mL) 중에 용해된 라세믹 2-트랜스-에티닐사이클로프로필)메탄올 (0.991 g, 10.30 mmol, 1.5 당량) 용액을 넣었다. 여기에 팔라듐 디클로라이드 비스-트리페닐포스핀 (241 mg, 0.343 mmol, 0.05 당량), 구리(I) 아이오다이드 (131 mg, 0.687 mmol, 0.1 당량)를 첨가한 다음, 트리에틸아민 (6.87 mL, 49.3 mmol, 7.18 당량)을 첨가하였다. 상기 반응물을 ~2 시간 동안 75°C에서 교반하였다. 상기 반응물을 상온으로 냉각시키고, 고체를 여과하여 제거하고, THF로 헹구었다. 상기 용액을 5일 동안 냉동고에 두었다. 이를 농축 건조시켰다. DCM을 첨가하여 침전물을 형성시켰다. 침전물을 여과하고, 최소의 DCM으로 헹구었다. TLC가 침전물(ppt)이 주로 생성물 (~1.5g 고체)을 함유하고 있음을 나타내었다. 헥산 중의 10% EtOAc (5 mL)를 사용하여 분쇄하고, 용매를 피펫으로 제거한 후, TLC가 고체는 생성물을 함유하고 제거된 액체는 출발 물질-브로마이드 및 일부 기준선(baseline) 불순물을 함유함을 나타내었다. 추가적인 헥산 중의 10% EtOAc (5 mL)를 첨가하고 30분 동안 교반한 후, 여과하고, 헥산 중의 10% EtOAc (5 mL)로 헹군 뒤, 건조시켜 고체를 얻었다. 900 mg의 조생성 메틸 4'-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)에티닐)비페닐-4-카복실레이트를 수득하였다. 1H NMR (DMSO-d₆): δ 0.82-0.85 (m, 2H), 1.35-1.43 (m, 2H), 3.23-3.29 (m, 1H), 3.40-3.42 (m, 1H), 3.84 (s, 3H), 4.65-4.67 (t, 1H), 7.43-7.45 (d, 2H), 7.67-7.70 (d, 2H), 7.80-7.82 (d, 2H), 7.99-8.01 (d, 2H).



[0216]

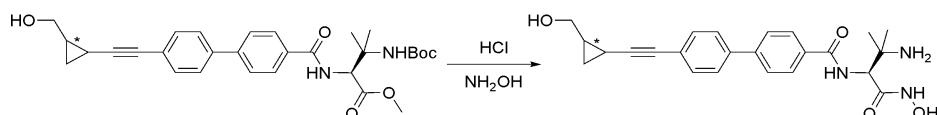
[0217]

메틸 4'-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)에티닐)비페닐-4-카복실레이트 (900 mg, 2.94 mmol, 1.0 당량)를 메탄올 (5 mL), DMF (2 mL), 및 THF (5 mL) 중에 용해시켰다. 상온에서 1.0M NaOH (4.41 mL, 4.407 mmol, 1.5 당량)를 첨가하였다. 상기 반응물을 4일 동안 교반하였다. 반응물을 농축시켜 MeOH 및 THF를 제거하고, 6N HCl (~5mL)을 사용하여 pH ~3으로 산성화시켰다. EtOAc (3x50 mL)로 추출하고, 유기층을 화합시킨 후, 포화 NaCl로 세척한 뒤, 건조시키고 (MgSO₄), 여과한 다음, 농축시켰다. 890 mg의 4'-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)에티닐)비페닐-4-카복실산을 수득하였다. 1H NMR (DMSO-d₆): δ 0.79-0.88 (m, 2H), 1.34-1.44 (m, 2H), 3.22-3.26 (m, 1H), 3.40-3.44 (m, 1H), 7.42-7.44 (d, 2H), 7.66-7.68 (d, 2H), 7.76-7.78 (d, 2H), 7.97-7.99 (d, 2H), 8.10 (s, 1H).



[0218]

[0219] (S)-메틸 2-아미노-3-(터트-부톡시카보닐아미노)-3-메틸부타노에이트 (150 mg, 0.609 mmol, 1.0 당량) 및 4'-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)에티닐)비페닐-4-카르복실산 (178 mg, 0.609 mmol, 1.0 당량)을 DMF (2 mL) 중에 용해시켰다. 여기에 DIPEA (0.266 mL, 1.523 mmol, 2.5 당량)를 첨가한 다음 HATU (278 mg, 0.731 mmol, 1.2 당량)를 첨가하였다. 이를 ~48 시간 동안 상온에서 교반하였다. 상기 반응물을 1M 시트르산과 에틸 아세테이트 사이에 분배시켰다. 유기물을 반-포화(semi-saturated) 염화 나트륨, 포화 소듐 바이카보네이트, 그 다음 포화 염화 나트륨으로 세척하고, 황산 마그네슘 상에서 건조시킨 후 증발 건조시켰다. 370 mg의 조생성 (S)-메틸 3-(터트-부톡시카보닐아미노)-2-(4'-(((1S,2S)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)에티닐)비페닐-4-일카복사미도)-3-메틸부타노에이트를 수득하였다. LCMS M+1 예측치 = 521.3, 실측치 = 521.3.



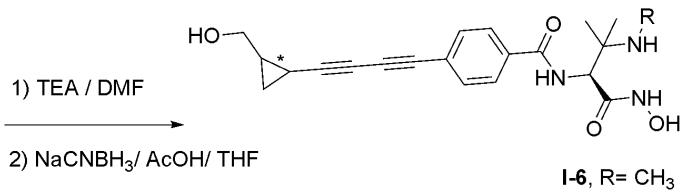
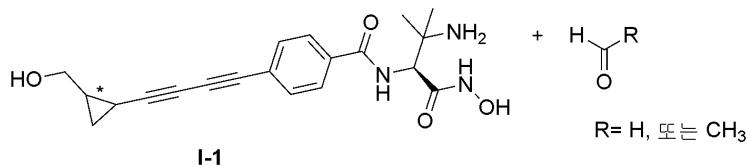
[0220]

[0221] (S)-메틸-3-(터트-부톡시카보닐아미노)-2-(4'-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)에티닐)비페닐-4-일카복사미도)-3-메틸부타노에이트 (조 화합물)를 메탄올 (1 mL) 중에 용해시켰다. 상온에서 디옥산 중의 4.0M HCl (1.283 mL, 5.13 mmol, 8.43 당량)을 첨가하였다. 상기 반응은 90분 후에 완료되었다 (HPLC). 상기 반응물을 0°C에서 회전증발기(rotovap) 상에서 농축시켰다. 여기에 IPA (1 mL)를 첨가한 다음 하이드록실아민 용액 (0.804 mL, 12.18 mmol, 20 당량)을 첨가하였다. 플라스크를 ~120 시간 동안 4°C에 두었다. 반응물을 겹상의(gummy) 덩어리로 농축시켰다 (0°C에서 반응물 보관). 여기에 물 (3 mL) 및 ACN (0.5 mL)을 첨가하였다. 0°C에서 TFA (3 mL)를 사용하여 산성화시켰다. 추가의 물 (1 mL) 및 ACN (1 mL)을 첨가하였다. RP HPLC (1" 컬럼, 25mL/min, 물/ACN 중의 0.1% TFA, 10%B에서 평형)로 정제하였다. 1" 컬럼 (10mL/min, 5%B) 상에 시린지 필터를 사용하여 로딩하였다 (2X6.5 mL). 1분에 걸쳐 25mL/min으로 구배(ramped) 시켰다. 15분 동안 10%B로 한 다음, 80분에 걸쳐 10-70%B로 하여, 생성물을 41-48분에 용리시켰다. 원하는 분획을 화합하여, 동결시키고 동결건조기 (lyo)에 넣었다. 105 mg의 N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4'-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)에티닐)비페닐-4-카복사미드 (I-5), TFA를 수득하였다. LCMS M+1 예측치 = 422.2, 실측치 = 422.2. 1H NMR (DMSO-d6): δ 0.80-0.88 (m, 2H), 1.27 (s, 3H), 1.31 (s, 3H), 1.36-1.44 (m, 2H), 3.21-3.29 (m, 1H), 3.40-3.45 (m, 1H), 4.65-4.71 (m, 2H), 7.44-7.46 (d, 2H), 7.68-7.71 (d, 2H), 7.79-7.81 (d, 2H), 7.97-7.99 (d, 2H), 8.46-8.48 (d, 1H), 9.22 (s, 1H), 11.21 (br, 1H).

[0222]

E.

N-((S)-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-3-(메틸아미노)-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (I-6) 및 N-((S)-1-(하이드록시아미노)-3-(2-하이드록시에틸아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (I-7)의 합성



[0223]

[0224]

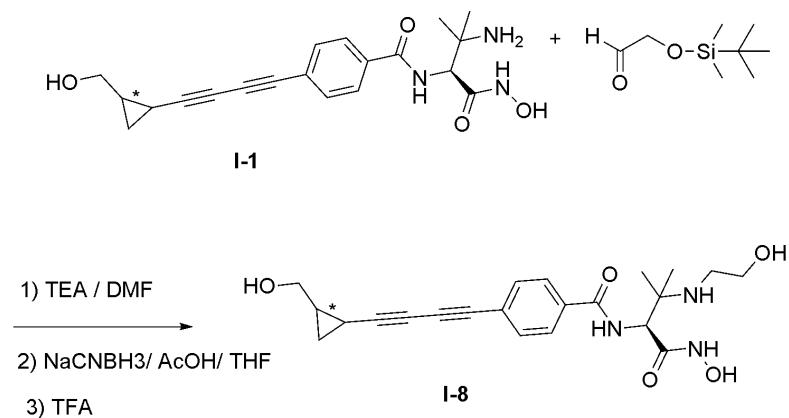
250mL 등근-바다 플라스크에 DMF (20 mL) 중의 N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-1**) (1.2g, 3.25mmol), 트리에틸아민 (2 mL, 14.35 mmol), 및 포름알데하이드 (0.2 g, 6.66 mmol)를 넣어 황색 용액을 얻었다. 상기 반응 혼합물을 3 시간 동안 교반하였다. 과량의 포름알데하이드를 n-부틸아민 (2mL)으로 퀸칭시켰다. 소듐 시아노보로하이드라이드 (570mg, 14.3mmol) 및 아세트산 (4mL)을 상온 및 0°C에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 LCMS로 체크하였다. 용매를 제거한 후, 생성물을 HPLC로 정제하여 440mg의 N-((S)-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-3-(메틸아미노)-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드, **I-6**을 얻었다. LC-MS (M+1) 384; 화학식: C₂₁H₂₅N₃O₄, 정확한 질량: 383.18. ¹HNMR (DMSO-d6), TFA 염: δ 0.88(m, 2H), 1.30(s, 3H), 1.35(s, 3H), 1.44(m, 1H), 2.51(s, 1H), 3.39(m, 1H), 3.41(m, 1H), 4.7(br.d, 1H), 4.84(d, 1H), 7.58(d, 2H), 7.91(d, 2H), 8.51(br.m, 1NH), 8.64(d, 1NH), 9.23(S, NH), 11.17(s, OH).

[0225]

250mL 등근-바닥 플라스크에 DMF (20 ml) 중의 N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-1**) (1g, 2.71mmol), 트리에틸아민 (0.377 mL, 2.71 mmol), 및 아세트알데하이드 (0.119 g, 2.71 mmol)를 넣어 황색 용액을 얻었다. 반응 혼합물을 3 시간 동안 교반하였다. 소듐시아노보로하이드라이드 (570mg, 14.3mmol) 및 아세트산 (2mL)을 상온에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 LCMS로 체크하였다. 반응 혼합물을 농축시키고 생성물을 HPLC로 정제하여 642mg의 N-((S)-1-(하이드록시아미노)-3-(2-하이드록시에틸아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드, **I-7**을 얻었다. LC-MS (M+1) 398; 화학식: C₂₂H₂₇N₃O₄, 정확한 질량: 397.20. ¹HNMR (DMSO-d₆), TFA 염: δ 0.85(m, 2H), 1.14(t, 3H), 1.29(s, 3H), 1.39(s, 3H), 1.44(m, 1H), 2.96(br.m, 2H) 3.24(m, 2H) 3.39(m, 2H), 4.64(br.d, 1H), 4.85(d, 1H), 7.60(d, 2H), 7.92(d, 2H), 8.59 (br.m, 1NH) 8.45(brt, 1NH), 9.23(S, NH), 11.15(s, OH).

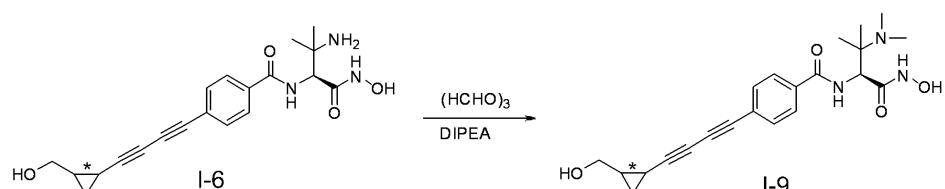
[0226]

F. $N-((S)-1-(\text{하이드록시아미노})-3-(2-\text{하이드록시}|\text{에틸아미노})-3-\text{메틸}-1-\text{옥소부坦}-2-\text{일})-4-(((1,2-\text{트랜스})-2-(\text{하이드록시메틸})\text{사이클로프로필})\text{부티}-1,3-\text{디이미})\text{베즈아미드}$ ([--8]의 합성)



[0228] 250mL 등근-바닥 플라스크($t=g$)에 DMF (20 mL) 중의 N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (1g, 2.71mmol), 및 트리에틸아민 (0.377mL, 2.71mmol)을 넣어 황색 용액을 얻었다. 2-(터트-부틸디메틸실일옥시)아세트알데하이드 (0.494g, 2.83mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 18 시간 동안 교반하고, 농축 건조시켰다. 잔여물을 THF (15mL) 중에 용해시키고 아세트산 (2mL) 및 소듐 시아노보로하이드라이드 (600mg, 15mmol)를 상온에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 LCMS로 체크하였다. 2 시간 동안 상온에서 교반한 후, TFA (5mL)를 첨가하고 추가 3 시간 동안 교반하였다. 반응의 완료를 LCMS로 확인하고 반응물을 농축시킨 후, 생성물을 HPLC 상에서 정제하여 370mg의 N-((S)-1-(하이드록시아미노)-3-(2-하이드록시메틸아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드, I-8을 얻었다. LC-MS (M+1) 414; 화학식: $C_{22}H_{27}N_3O_5$, 정확한 질량: 413.20; 1HNMR (DMSO-d6), TFA 염: δ 0.88 (m, 2H) 1.30(s, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.44(m, 1H), 3.22(m, 2H), 3.39(m, 2H), 4.64(br.d, 1H), 4.90(d, 1H), 5.25(br. S, 1H), 7.60(d, 2H), 7.91(d, 2H), 8.59 (br.m, 1NH), 8.71(d, 1NH), 9.26(S, NH), 11.19(s, OH).

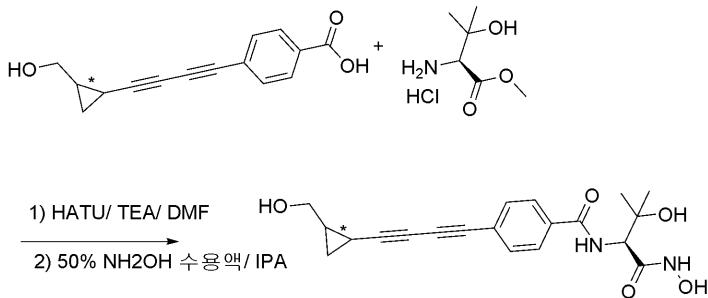
[0229] G. N-((S)-3-(디메틸아미노)-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (I-9)의 합성



[0231] N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-((2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (300mg, 0.81mmol)를 N,N-디메틸포름아미드 (10mL) 중에 용해시키고 16 시간 동안 상온에서 파라포름알데하이드 (732mg, 8.1mmol, 10eq) 및 N,N-디이소프로필에틸아민 (0.56mL, 3.3mmol, 4eq)으로 처리하였다. 트리플루오로아세트산 (1.3mL, 16.2mmol, 20eq) 및 소듐 시아노보로하이드라이드 (101mg, 1.6mmol, 2 eq)를 넣었다.

[0232] 조생성 물질을 역상 HPLC로 정제하고 원하는 분획을 모아서 동결건조시켜 트리플루오로아세테이트 염으로서 N-((S)-3-(디메틸아미노)-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드를 얻었다 (백색 고체, 2.9mg, 5.3 μ mol, 0.7%). 질량 분광 데이터: 예측치 (M+1): 398.5, 실측치: 398.2. 양성자 NMR (400MHz, dmsod6): 11.16 (s, 1H), 9.25 (br s, 1H), 9.05 (br s, 1H), 8.68 (d, 1H, J = 10.0Hz), 7.94 (dd, 2H, J = 1.6, 8.0Hz), 7.59 (dd, 2H, J = 1.8, 8.2Hz), 5.06 (d, 1H, J = 9.6Hz), 3.4 (물에 의해 불분명한 피크), 3.21 (dd, 1H, J = 5.2, 11.2Hz), 2.75 (d, 3H, J = 5.6Hz), 2.73 (d, 3H, J = 5.2Hz), 1.48 (s, 3H), 1.39 - 1.45 (m, 2H), 1.28 (s, 3H), 0.85 - 0.91 (m, 2H).

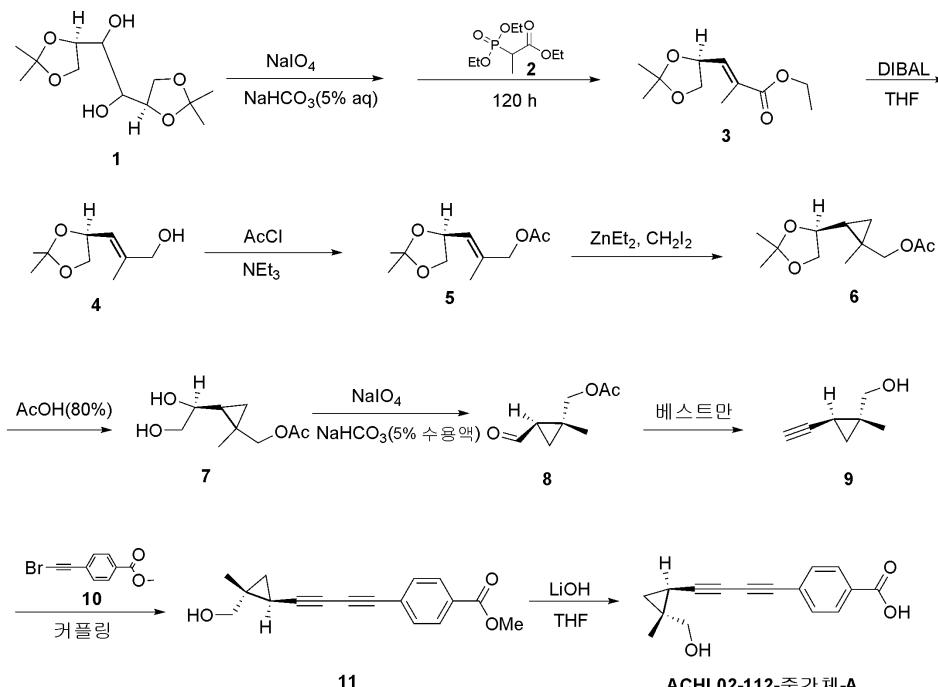
[0233] H. N-((S)-3-하이드록시-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (I-10)의 합성



[0234]

[0235] 상온의 DMF (30 mL) 중의 4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤조산 (750 mg, 3.12mmol), HATU (570mg, 1.5 mmol) 및 DIEA (3.4ml 과량)의 교반 용액에 (S)-메틸 2-아미노-3-하이드록시-3-메틸부타노에이트 하이드로클로라이드 (402 mg, 1.5 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 1 시간 동안 대기 온도에서 교반한 후 물 (50 mL)로 희석하였다. 용액을 에틸 아세테이트 (100 mL x 3) 및 식염수 (20 mL)로 추출하였다. 유기층을 MgSO₄ 상에서 건조시키고 중발시켰다. 결과적인 생성물 (1.3g)을 IPA (20mL) 중에 용해시키고 NH₂OH (10mL, 과량)로 처리한 후 3일 동안 상온에서 교반하였다. 과량의 용매를 제거하고 조생성물을 역상 HPLC 상에서 정제하여 178 mg의 N-((S)-3-하이드록시-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 I-10을 얻었다; LC-MS (M+1) 371; 화학식: C₂₀H₂₂N₂O₅ 정확한 질량: 370.15. ¹H NMR (DMSO-d₆): δ 0.88 (m, 2H), 1.11(s, 3H), 1.16(s, 3H), 1.44(m, 1H), 3.20(m, 1H), 3.40(m, 2H), 4.34(d, 1H), 4.84(d, 1H), 7.58(d, 2H), 7.84(d, 2H), 7.6(d, 1NH), 8.88(br.s, NH), 10.57(s, OH).

[0236] I. N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1S,2R)-2-(하이드록시메틸)-2-메틸사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (I-11)의 합성



[0237]

[0238] (S,E)-에틸 3-(2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4-일)-2-메틸아크릴레이트 (3)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 1	262.30	1	49.6	13.0g
NaIO ₄	213.89	1.2	59.5	12.7 g
화합물 2	238.22	2	99.2	23.0 g
K ₂ CO ₃	138.15	2.1	103.6	14.3 g
NaHCO ₃ (5% 수용액)				60 mL

[0239]

[0240] 소듐 바이카보네이트 (5% aq, 60 mL) 중의 D-만니톨 디아세토니드 **1** (13.0 g, 49.6 mmol)의 교반 용액에 소듐 페리오데이트의 포화 용액 (12.74 g, 59.5 mmol)을 상온에서 적가하였다. 첨가 후에, 상기 혼합물을 2 시간 동안 상온에서 교반하였다. 그 다음, 에틸 2-(디에톡시포스포릴)프로파노에이트 **2** (23.0 g, 99.2 mmol)를 첨가한 후 포타슘 카보네이트 (14.3 g, 103.6 mmol)를 첨가하고, 상기 혼합물을 추가 120 시간 동안 상온에서 교반하였다. 상기 혼합물을 500 mL 물에 첨가하고, EtOAc (300mLx3)로 추출하였다. 화합된 유기층을 무수 황산 나트륨 상에서 건조시키고 농축시킨 다음 PE:EA(30/1)로 크로마토그래피 하여 무색 오일로서 5.5 g의 원하는 화합물 **3**을 얻었다. 수율: 51.8%.

[0241] (S,E)-3-(2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4-일)-2-메틸프로프-2-엔-1-올 (4)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 3	214.26	1	25	5.35 g
DIBALH	톨루엔 중 1M	2	50	50 mL
THF				150 mL

[0242]

[0243] THF 150 mL 중의 (S,E)-에틸 3-(2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4-일)-2-메틸아크릴레이트 **3** (5.35 g, 5 mmol) 용액에 DIBAL-H 용액 (50 mL, 50 mmol)을 0°C에서 아르곤 하에 적가하였다. 첨가 후에, 상기 혼합물을 3 시간 동안 0°C에서 교반하였다. TLC가 화합물 3이 거의 남아 있지 않음을 나타내었을 때, 반응물을 30 mL 암모니아수로 퀸청시키고, 추가 1 시간 동안 300 mL 디클로로메탄과 함께 교반하였다. 상기 혼합물을 여과하고, 잔여물을 THF로 세척한 후, 화합된 유기층을 건조시키고 농축하여 조 화합물 **4**를 얻은 후, PE:EA=10:1-5:1을 사용하여 실리카겔 컬럼으로 정제하여 무색 오일로서 3.0 g의 화합물 **4**를 얻었다. 수율: 70%.

[0244] (S,E)-3-(2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4-일)-2-메틸알릴 아세테이트 (5)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 4	172.22	1	17	2.92 g
NEt ₃	101.19	2.5	42.5	4.3 g
AcCl	78.5	2	34	2.7 g
THF				100 mL

[0245]

[0246] THF 100 mL 중의 (S,E)-3-(2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4-일)-2-메틸프로프-2-엔-1-올 **4** (2.92 g, 17 mmol) 용액에 트리에틸아민 (4.3 g, 42.5 mmol)을 첨가하였다. 그 다음, 아세틸 클로라이드 (2.7 g, 34 mmol)를 0°C에서

아르곤 하에 적가하였다. 첨가 후에, 상기 혼합물을 3 시간 동안 0°C에서 교반하였다. TLC가 화합물 4가 거의 남아 있지 않음을 나타내었을 때, 반응물을 150 mL 물에 부었다. EtOAc (50mLx3)로 추출하였다. 화합된 유기층을 무수 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 농축시킨 다음 PE:EA(10/1)로 크로마토그래피 하여 무색 오일로서 3.4 g의 원하는 화합물 5를 얻었다. 수율: 89%.

[0247] ((트랜스)-2-((S)-2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4-일)-1-메틸사이클로프로필)메틸 아세테이트 (6)

시약	MW	Eq.	mol	g, mL
화합물 5	214.26	1	15	3.2 g
Et ₂ Zn	헥산 중 1M	5	75	75 mL
CH ₂ I ₂	267.84	10	150	40 g
헥산				200 mL

[0248]

헥산 200 mL 중의 (S,E)-3-(2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4-일)-2-메틸알릴 아세테이트 5 (3.2 g, 15 mmol) 용액에 디에틸 징크 (1M in 헥산, 75 mL)를 -20°C에서 아르곤 하에 분할하여 첨가하였다. 첨가 후, 디아이오도메탄(40 g, 150 mmol)을 강력히 교반하면서 -20°C 이하에서 적가하였다. 상기 혼합물을 추가 8 시간 동안 -20°C 이하에서 교반한 후 상온으로 따뜻해지게 한 다음 추가 8 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 100 mL 냉각 NH₄Cl 수용액으로 퀸칭시킨 다음, 에테르 (100 mL x 5)로 추출하였다. 화합된 유기층을 소듐 티오설레이트 수용액, 물, 식염수로 세척한 다음, 건조시키고 농축하여 조 화합물 6을 얻은 후, 실리카 겔 컬럼(PE:EA=30:1-20:1)으로 정제하여 무색 오일로서 3.0 g의 6을 얻었다. 수율: 88%.

[0250] ((트랜스)-2-((S)-1,2-디하이드록시에틸)-1-메틸사이클로프로필)메틸 아세테이트 (7)

시약	MW	Eq.	mol	g, mL
화합물 6	228.28	1	13	2.97 g
AcOH(80%)				30 mL

[0251]

30 mL 80% 아세트산 중의 ((트랜스)-2-((S)-2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4-일)-1-메틸사이클로프로필)메틸 아세테이트 6 (2.97 g, 13 mmol)의 혼합물을 15 시간 동안 상온에서 교반하였다. TLC가 6이 거의 남아 있지 않음을 나타내었을 때, 상기 혼합물을 300 mL 포화 소듐 바이카보네이트 수용액에 적가하였다. 그 다음, 디클로로메탄 (200 mL x 3)으로 추출하였다. 화합된 유기층을 물, 식염수로 세척하고, 건조시킨 후 농축하여 조 화합물 7을 얻은 다음, 실리카 겔 컬럼 (PE:EA=3:1-1:1)으로 정제하여 무색 오일로서 1.5 g의 화합물 7을 얻었다. 수율: 62%.

[0253] ((트랜스)-2-포밀-1-메틸사이클로프로필)메틸 아세테이트 (8)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 7	188.22	1	7.5	1.41 g
NaIO ₄	213.89	1.2	9	1.93 g
NaHCO ₃ (5% 수용액)				20 mL

[0254]

[0255] 소듐 바이카보네이트 (5% 수용액) 20 mL 중의 ((트랜스)-2-((S)-1,2-디하이드록시에틸)-1-메틸사이클로프로필)메틸 아세테이트 7 (1.41 g, 7.5 mmol)의 교반 용액에 소듐 페리오데이트 (1.93 g, 9 mmol)의 포화 용액을 상온에서 적가하였다. 첨가 후에, 상기 혼합물을 2 시간 동안 상온에서 교반하였다. TLC가 7이 거의 남아 있지 않음을 나타내었을 때, 상기 혼합물을 50 mL 물에 첨가하고, EtOAc (100mLx3)로 추출하였다. 화합된 유기층을 무수 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 농축한 다음 PE:EA(20/1)로 크로마토그래피하여 무색 오일로서 1.0 g의 원하는 화합물 8을 얻었다. 수율: 85%.

[0256] ((트랜스)-2-에티닐-1-메틸사이클로프로필)메탄올 (9)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 8	156.08	1	5	780 mg
베스트만 시약	192.11	1.5	7.5	1.44 g
K ₂ CO ₃	138.46	3	15	2.07 g
CH ₃ OH				15 mL

[0257]

[0258] 메탄올 15 mL 중의 ((트랜스)-2-포밀-1-메틸사이클로프로필)메틸 아세테이트 8 (780 mg, 5 mmol) 용액에 베스트만 시약 (1.44 g, 7.5 mmol) 및 포타슘 카보네이트 (2.07 g, 15 mmol)를 첨가하고, 상기 혼합물을 5 시간 동안 상온에서 교반하였다. TLC가 8이 거의 남아 있지 않음을 나타내었을 때, 반응 혼합물을 물 (20 mL)로 희석하였다. 에테르 (20mLx3)로 추출한 후, 화합된 유기층을 건조시키고 농축하여 조 화합물 9를 얻은 다음, 실리카 젤 컬럼 (PE:Et₂O=10:1~5:1)으로 정제하여 무색 오일로서 400 mg의 9를 얻었다. 수율: 73%.

[0259] 메틸 4-(((트랜스)-2-(하이드록시메틸)-2-메틸사이클로프로필)부티-1,3-디인일) 벤조에이트 (11)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 9	110.17	1	3.6	400 mg
화합물 10	239.07	1	3.6	870 mg
Pd(PPh ₃) ₂ Cl ₂	700.13	0.05	0.18	126 mg
CuI	190.23	0.1	0.36	68.4 mg
i-Pr ₂ NH	101.19	3	10.8	1.09 g
THF				20 mL

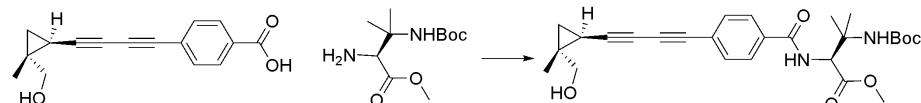
[0260]

[0261] THF 20 mL 중의 ((트랜스)-2-에티닐-1-메틸사이클로프로필)메탄올 9 (400 mg, 3.6 mmol), Pd(PPh₃)₂Cl₂ (126 mg, 0.18 mmol), CuI (68.4 mg, 0.36 mmol), DIPEA (1.09g, 10.8 mmol) 용액에 메틸 4-(브로모에티닐)벤조에이트 10 (870 mg, 3.6 mmol)을 아르곤 하에 처리하였다. 상기 혼합물을 5 시간 동안 상온에서 교반하였다. TLC가 화합물 9가 거의 남아 있지 않음을 나타내었을 때, 용매를 감압 하에 제거하고, 잔여물을 물 (50 mL)로 희석한 후, 디클로로메탄 (3x50 mL)으로 추출한 다음, 유기층을 건조시키고 농축하여 적색 오일로서 조 화합물 11을 얻은 뒤, 실리카 젤 컬럼 크로마토그래피 PE:EA= 20: 1 ~10:1로 정제하여 황색 고체로서 430 mg의 11을 얻었다. 수율: 40 %.

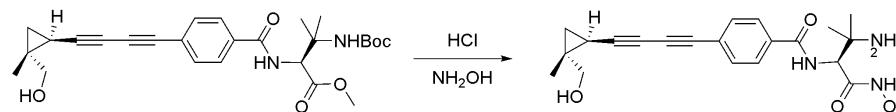
[0262] 4-(((1*S*,2*R*)-2-(하이드록시메틸)-2-메틸사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤조산 (ACHL02-112-중간체-A)

시약	MW	Eq.	Mmol	g, mL
화합물 11	268.31	1	1.5	400 mg
LiOH H ₂ O	40.10	4	6	240 mg
THF/ H ₂ O(V/V=4:1)				20 mL

[0263] THF 16 mL 중의 메틸 4-(((트랜스)-2-(하이드록시메틸)-2-메틸사이클로프로필)부타-1,3-디인일) 벤조에이트 11 (400 mg, 1.5 mmol)의 교반 용액에 4 mL 물 중의 리튬 하이드록사이드 모노-하이드레이트 (240 mg, 6 mmol) 용액을 첨가하였다. 첨가 후에, 상기 혼합물을 15 시간 동안 상온에서 교반하였다. LCMS가 화합물 11이 거의 남아 있지 않음을 나타내었을 때, 상기 혼합물을 50 mL 물에 첨가하였다. 0°C에서 1M HCl을 사용하여 pH를 3.0으로 조정하고, EtOAc (100mLx3)로 추출하였다. 화합된 유기층을 무수 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 농축하여 황색 분말로서 370 mg의 원하는 화합물을 얻었다. 수율 : 92%. LCMS: CP-0004344-006-3-03665-LCMSA035(ESI)m/z=255(M+1). ¹HNMR: CP-0004344-006-3 (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 13.1(s, 1H), 7.91(d, J=8.4 Hz, 2H), 7.62(d, J=8.4Hz, 2H), 4.75(s, 1H), 3.22(m, 2H), 1.59(m, 1H), 1.18(s, 3H), 1.08(m, 1H), 0.66(m, 1H).



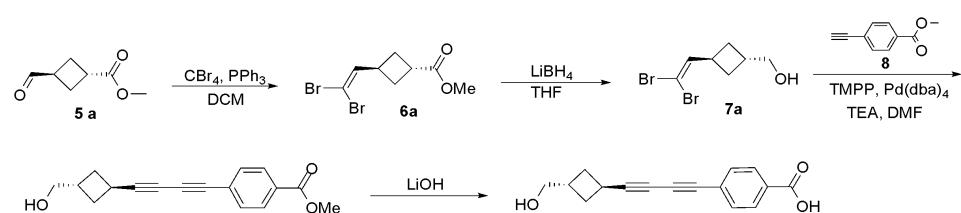
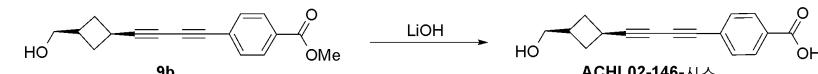
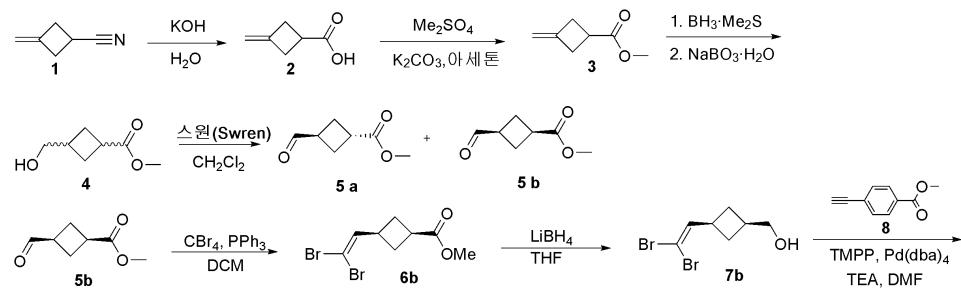
[0264] (S)-메틸 2-아미노-3-(터트-부톡시카보닐아미노)-3-메틸부타노에이트 (347 mg, 1.408 mmol, 1.0 당량) 및 4-(((1*S*,2*R*)-2-(하이드록시메틸)-2-메틸사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤조산 (358 mg, 1.408 mmol, 1.0 당량)을 DMF (3 mL) 중에 용해시켰다. 여기에 DIPEA (0.615 mL, 3.52 mmol, 2.5 당량)를 첨가한 다음, HATU (642 mg, 1.689 mmol, 1.2 당량)를 첨가하였다. 이를 ~16 시간 동안 상온에서 교반하였다. 반응물을 1M 시트르산 및 에틸 아세테이트 사이에 분배하였다. 유기물을 반-포화 염화 나트륨, 포화 소듐 바이카보네이트, 그 다음 포화 염화 나트륨으로 세척하고, 황산 마그네슘 상에서 건조시킨 후 증발 건조시켰다. 912 mg의 조 화합물 (S)-메틸 3-(터트-부톡시카보닐아미노)-2-(4-(((1*S*,2*R*)-2-(하이드록시메틸)-2-메틸사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈 아미도)-3-메틸부타노에이트를 수득하였다. LCMS M+1 예측치 = 483.2, 실측치 = 483.2.



[0265] [0266] (S)-메틸 3-(터트-부톡시카보닐아미노)-2-(4-(((1*S*,2*R*)-2-(하이드록시메틸)-2-메틸사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)-3-메틸부타노에이트 (조 화합물)를 메탄올 (1 mL) 중에 용해시켰다. 상온에서 디옥산 중의 4.0M HCl (2.97 mL, 11.86 mmol, 8.43 당량)을 첨가하였다. 반응은 60 분 후에 완료되었다(HPLC). 반응물을 0 °C에서 회전증발기 상에서 농축시켰다. 여기에 IPA (2 mL)를 첨가한 다음 하이드록실아민 용액 (1.859 mL, 28.1 mmol, 20 당량)을 첨가하였다. 플라스크를 ~40 시간 동안 4°C에 두었다. 반응물을 검상의 덩어리로 농축시켰다 (반응물을 0°C에서 보관). 여기에 물 (3 mL) 및 ACN (0.5 mL)을 첨가하였다. TFA (3 mL)를 사용하여 0°C에서 산성화시켰다. 추가의 물 (1 mL) 및 ACN (1 mL)을 첨가하였다. RP HPLC (2" 컬럼, 50mL/min, 물/ACN 중의 0.1% TFA, 5%B에서 평형)로 정제하였다. 2" 컬럼 (10mL/min, 5%B) 상에 시린지 필터를 사용하여 로딩하였다 (2X6.5 mL). 1분에 걸쳐 50mL/min로 구배시켰다. 66분에 걸쳐 5-30%B로 수행하였고, 생성물(prod)은 25%B에서 용출하였다. 원하는 분획을 화합하고, 동결시킨 후 동결건조기(lyo)에 넣었다. 410 mg의 N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1*S*,2*R*)-2-(하이드록시메틸)-2-메틸사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤

즈아미드 (**I-11**), TFA를 수득하였다. LCMS M+1 예측치 = 384.2, 실측치 = 384.2. 1H NMR (DMSO-d6): δ 0.61-0.64 (t, 1H), 1.02-1.06 (m, 1H), 1.16 (s, 3H), 1.25 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 1.55-1.60 (m, 1H), 3.17-3.29 (m, 2H), 4.65-4.67 (d, 1H), 7.61-7.63 (d, 2H), 7.88-7.90 (d, 2H), 7.98 (s, 2H), 8.53-8.56 (d, 1H), 9.21 (br, 1H), 11.19 (s, 1H).

[0269] *J. N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,3-시스)-3-(하이드록시메틸)사이클로부틸)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-12**) 및 N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,3-트랜스)-3-(하이드록시메틸)사이클로부틸)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (**I-13**)의 합성*



[0272] 3-메틸렌사이클로부탄카르복실산 (2)

시약	MW	Eq.	mol	g, mL
화합물 1	93	1.0	0.3	27.9 g
KOH	56	5.0	1.5	84 g
EtOH				200mL
H ₂ O				200mL

[0273] [0274] 에탄올 (200mL) 및 물 (200mL) 중의 3-메틸렌사이클로부탄카보니트릴 **1** (27.9g, 0.3mol) 용액을 포타슘 하이드록사이드 (84g, 1.5mol)로 처리하였다. 생성된 혼합물을 교반하고 4 시간 동안 105°C로 가열하였다. 에탄올을 감압 하에 제거하였다. 잔여물을 0°C로 냉각시키고, pH를 1~2로 조정한 다음 에틸 아세테이트로 추출하고, 황산나트륨 상에서 건조시킨 후, 여과하고 용매를 제거하였다. (30.2g, 수율= 90%).

[0275]

메틸 3-메틸렌사이클로부탄카복실레이트 (3)

시약	MW	Eq.	mol	g, mL
화합물 2	112	1.0	0.260	29.12 g
Me ₂ SO ₄	126	1.2	0.312	39.312g
K ₂ CO ₃	138	2.0	0.520	70.2g
아세톤				500mL

[0276]

[0277] 3-메틸렌사이클로부탄카르복실산 **2** (29.12g, 0.26mol), 포타슘 카보네이트 (70.2g, 0.52mol), 아세톤 (500mL) 및 디메틸 셀레이트 (39.312g, 0.312mol)의 혼합물을 2 시간 동안 환류 하에 가열하였다. 상기 반응 혼합물을 상온으로 냉각시키고 여과하였다. 용매를 감압 하에 제거하였다. 잔여물을 실리카 젤 크로마토그래피로 정제하여 무색 오일로서 원하는 생성물을 얻었다. (27.5g, 수율=84%).

[0278]

메틸 3-(하이드록시메틸)사이클로부탄카복실레이트 (4)

시약	MW	Eq.	mol	g, mL
화합물 3	126	1.0	0.210	26.46g
BH ₃ THF (THF 중 1M)		0.3	0.070	70.0mL
THF				130mL
NaOH(3M)	40			30mL
H ₂ O ₂ (30%)	34	1.0	0.210	34.0g

[0279]

[0280]

건조 3구 플라스크에 메틸 3-메틸렌사이클로부탄카복실레이트 3 (24.46g, 0.21mol) 및 건조 THF (130mL)를 넣고 -10°C로 냉각시킨 다음, 보란-THF 복합체(complex) (70.0mL)를 시린지를 통해 적가하였다. 상기 생성 혼합물을 상온에서 4 시간 동안 교반하고, -20°C ~ -10°C로 냉각한 후; 메탄올을 첨가하고, 15분 동안 교반하였다. 수산화 나트륨 (3M 30mL) 및 과산화수소 (34.0g, 0.210mol)를 순서대로 첨가하였다. 상기 혼합물을 2 시간 동안 교반하고 포화 소듐 설파이트 용액 (100mL)을 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 물로 회석시킨 다음, 에틸 아세테이트로 추출하고, 물 및 식염수로 세척한 후, 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 여과한 뒤, 용매를 제거하고 잔여물을 실리카 젤 크로마토그래피로 정제하였다. (28.73g, 95%)

[0281]

(트랙스)-메탈 3-포밀사이클로부탄카복실레이트 (5a) 및 (시스)-메탈 3-포밀사이클로부탄카복실레이트 (5b)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 4	144	1.0	69.4	10g
옥살일 디클로라이드	128	2.0	139	17.8g
DMSO	78	4.0	278	21.7g
DCM				650mL
TEA	101	10.0	700	71g

[0282]

[0283]

CH_2Cl_2 (450mL) 중의 옥살일 클로라이드 (17.8g, 139mmol, 2.0eq) 용액에 디클로로메탄 (50mL) 중의 DMSO (21.7g, 278mmol, 4.0eq)를 -78°C 에서 서서히 첨가하였다. 30분 후, 디클로로메탄 (150mL) 중의 메틸 3-(하이)

드록시메틸)사이클로부탄카복실레이트 **4** (10g, 69.4mmol, 1.0eq)를 -78°C에서 적가하였다. 상기 혼합물을 -78°C에서 추가 2 시간 동안 교반한 다음, 트리에틸아민 (70g, 700mmol, 10.0eq)을 -78°C에서 첨가하였다. 20분 후, 상기 혼합물을 상온으로 따뜻해지게 하고, 포화 NH₄Cl 수용액을 첨가하였다. 층을 분리하고, 수층을 디클로로메탄 (3 X 200mL)으로 추출하였다. 화합된 유기층을 식염수로 세척하고, 건조시킨 후(황산 나트륨), 여과하고 농축하여 시스 및 트랜스 이성질체의 혼합물로서 조생성물을 얻었다. 이를 실리카 컬럼으로 정제하여 **5a** (트랜스, 3.1 g) 및 **5b** (시스, 2.9 g)를 얻었다.

[0284] (시스)-메틸 3-(2,2-디브로모비닐)사이클로부탄카복실레이트 (**6b**)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 5a	142	1.0	20.40	2.9g
PPh ₃	262	4.0	81.80	21.41g
CBr ₄	332	2.0	40.90	13.56g
DCM				200mL

[0285] [0286] 40mL 디클로로메탄 중의 카본 테트라브로마이드 (13.56g, 40.89mmol, 2.0eq) 용액에 80mL 디클로로메탄 중의 트리페닐포스핀 (21.41g, 81.80mmol, 4.0eq) 용액을 아르곤 하에 -20°C 이하에서 적가하였다. 상기 혼합물을 30분 동안 -20°C에서 교반한 다음, -78°C로 냉각하였다. 80mL 디클로로메탄 중의 (시스)-메틸 3-포밀사이클로부탄카복실레이트 **5b** (2.9g, 20.40mmol, 1.0eq)를 적가하고, -78°C에서 추가 1 시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 상온으로 따뜻해지게 하였다. 상기 반응 혼합물을 교반 중인 300mL PE에 적가하였다. 상기 혼합물을 여과하고 잔여물을 PE로 세척하였다. 화합된 유기층을 황산 나트륨 상에서 건조시키고 농축하여 목적 화합물을 얻은 후 실리카 젤 컬럼으로 정제하였다. (2.3g, 수율=37%)

[0287] ((시스)-3-(2,2-디브로모비닐)사이클로부틸)메탄올 (**7b**)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 6b	298	1.0	8.4	2.5g
LiBH ₄	22	1.1	9.2	203mg
THF				10mL

[0288] [0289] THF (10mL) 중에 용해시킨 화합물 **6b** (2.5g, 8.4mmol, 1.0eq)에 리튬 보로하이드라이드 (203mg)를 0°C에서 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 상온에서 3 시간 동안 교반하였다. 물 (5mL)을 첨가하고 에틸 아세테이트로 추출하였다. 화합된 에틸 아세테이트 층을 건조시키고 감압 하에 농축시켰다. 조생성물을 PE: EA=5:1을 사용하여 실리카 젤 컬럼으로 정제하였다. (1.88g 수율=83%).

[0290] 메틸 4-(((시스)-3-(하이드록시메틸)사이클로부틸)부타-1,3-디인일)벤조에이트 (9b)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 7b	270	1.0	6.9	1.88g
화합물 8	160	1.4	9.7	1.56g
TMPP	352	0.04	0.28	98mg
Pd(dba) ₄	916	0.01	0.069	64mg
DMF				30mL
TEA	101	3.0	20.9	2.11g

[0291]

[0292] 견조 DMF (30mL) 중의 ((시스)-3-(2,2-디브로모비닐)사이클로부틸)메탄을 7b (1.88g, 6.9mmol, 1.0eq), 메틸 4-에티닐벤조에이트 8 (1.56g, 9.7mmol, 1.4eq), 트리(4-메틸페닐)포스핀 (98mg, 0.28mmol, 0.04eq), Pd(dba)₄ (64mg, 0.069mmol, 0.01eq)의 혼합물에 트리에틸아민 (2.11g, 20.9mmol, 3.0eq)을 질소 대기 하에 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 15 시간 동안 80°C에서 교반하였다. LCMS로 반응을 모니터링하였다. 상기 반응 혼합물을 NH₄Cl_{aq} 용액으로 희석시키고 에틸 아세테이트로 추출하였다. 화합된 에틸 아세테이트 층을 물, 식염수로 세척하고 건조시켰다. 용매를 감압 하에 제거하여 조생성물을 얻고 PE: EA=5:1을 사용하여 실리카 겔 컬럼으로 정제하였다. (450mg, 수율=24%).

[0293]

4-(((시스)-3-(하이드록시메틸)사이클로부틸)부타-1,3-디인일)벤조산 (ACHL02-146-시스)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 9a	268	1.0	1.68	450mg
LiOH H ₂ O	42	4.0	6.72	282mg
THF				20mL

[0294]

[0295] THF (200mL) 중의 메틸 4-(((시스)-3-(하이드록시메틸)사이클로부틸)부타-1,3-디인일)벤조에이트 9b (450mg, 1.0 당량) 용액에 리튬 하이드록사이드 모노-하이드레이트 (282mg, 4.0 당량)를 첨가한 다음, 상기 혼합물을 5 시간 동안 25°C에서 반응시켰다. 그 다음 반응 용매를 제거하고 3 N HCl을 사용하여 pH 5-6으로 중화시킨 후, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 화합된 에틸 아세테이트 층을 식염수로 세척하고 건조시켰다. 용매를 증발시켜 목적 화합물을 얻었다. (400mg, 수율=94%).

[0296]

(트랜스)-메틸 3-(2,2-디브로모비닐)사이클로부탄카복실레이트 (6a)

시약	MW	Eq.	Mmol	g, mL
화합물 5a	142	1.0	16.90	2.4g
PPPh ₃	262	4.0	67.60	17.7g
CBr ₄	332	2.0	33.80	11.2g
DCM				200mL

[0297]

[0298] 40mL 디클로로메탄 중의 카본 테트라브로마이드 (11.2g, 33.80mmol, 2.0eq) 용액에 80mL 디클로로메탄 중의 트리페닐포스핀 (17.7g, 67.60mmol, 4.0eq) 용액을 아르곤 하에 -20°C 이하에서 적가하였다. 상기 혼합물을 30분

동안 -20°C 에서 교반한 다음, -78°C 로 냉각시켰다. 80mL 디클로로메탄 중의 (트랜스)-메틸 3-포밀사이클로부탄 카복실레이트 **5a** (2.4g, 16.90mmol, 1.0eq)를 적가하고, 추가 1 시간 동안 -78°C 에서 교반하였다. 상기 혼합물을 상온으로 따뜻해지게 하였다. 상기 반응 혼합물을 교반 중인 300mL PE에 적가하였다. 여과하고 잔여물을 PE로 세척하였다. 화합된 유기층을 황산 나트륨 상에서 건조시키고 농축하여 목적 화합물을 얻고 실리카 겔 컬럼으로 정제하였다. (2.5g, 수율=50%).

[0299] ((트랜스)-3-(2,2-디브로모비닐)사이클로부틸)메탄올 (**7a**)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 6a	298	1.0	8.4	2.5g
LiBH ₄	22	1.1	9.2	203mg
THF				10mL

[0300]

THF (10mL) 중에 용해시킨 (트랜스)-메틸 3-(2,2-디브로모비닐)사이클로부탄카복실레이트 **6a** (2.5g, 8.4mmol, 1.0eq)에 리튬 보로하이드라이드 (203mg)를 0°C 에서 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 상온에서 3 시간 동안 교반하였다. 물 (5mL)을 첨가하고 에틸 아세테이트로 추출하였다. 화합된 에틸 아세테이트 층을 건조시키고 감압 하에 농축시켰다. 잔여물을 PE: EA=5:1을 사용하여 실리카 겔 컬럼으로 정제하였다. (1.70g, 수율=75%).

[0302] 메틸 4-(((트랜스)-3-(하이드록시메틸)사이클로부틸)부타-1,3-디인일)벤조에이트 (**9a**)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 7a	270	1.0	6.3	1.70g
화합물 8	160	1.4	8.8	1.41g
TMPP	352	0.04	0.25	89mg
Pd(dba) ₄	916	0.01	0.063	58mg
DMF				30mL
TEA	101	3.0	18.9	1.91g

[0303]

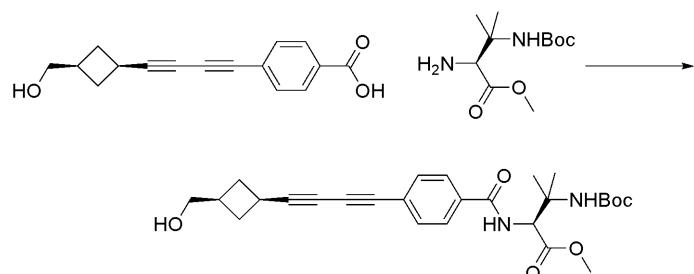
건조된 DMF (30mL) 중의 ((트랜스)-3-(2,2-디브로모비닐)사이클로부틸)메탄올 **7a** (1.70g, 6.3mmol, 1.0eq), 화합물 **8** (1.41g, 8.8mmol, 1.4eq), 트리(4-메틸페닐)포스핀 (89mg, 0.25mmol, 0.04eq), Pd(dba)₄ (58mg, 0.063mmol, 0.01eq)의 혼합물에 트리에틸아민 (1.91g, 18.9mmol, 3.0eq)을 질소 하에 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 15 시간 동안 80°C 에서 교반하였다. LCMS로 반응을 모니터링하였다. 상기 반응 혼합물을 $\text{NH}_4\text{Cl}_{\text{aq}}$ 용액으로 희석시키고 에틸 아세테이트로 추출하였다. 화합된 에틸 아세테이트 층을 물, 식염수로 세척하고 건조시켰다. 용매를 감압 하에 증발시켜 조생성물을 얻고 PE: EA=5:1을 사용하여 실리카 겔 컬럼으로 정제하였다. (550mg, 수율=33%).

[0305] 4-(((트랜스)-3-(하이드록시메틸)사이클로부틸)부타-1,3-디인일)벤조산 (ACHL02-146-트랜스)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 9a	268	1.0	2.05	550mg
LiOH H ₂ O	42	4.0	8.21	345mg
THF				20mL

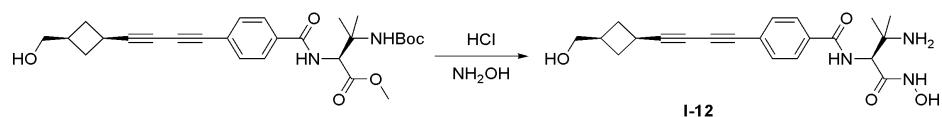
[0306]

THF (20mL) 중의 메틸 4-((트랜스)-3-(하이드록시메틸)사이클로부틸)부타-1,3-디인일)벤조에이트 9a (550mg, 1.0 당량) 용액에 리튬 하이드록사이드 모노-하이드레이트 (345mg, 4.0 당량)를 첨가한 다음, 상기 혼합물을 5시간 동안 25°C에서 반응시켰다. 그 다음 반응 용매를 제거하고 3 N HCl을 사용하여 pH 5-6으로 중화시킨 후, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 화합된 에틸 아세테이트 층을 식염수로 세척하고 건조시켰다. 용매를 증발시켜 목적 화합물을 얻었다. (340mg, 수율=65%).



[0308]

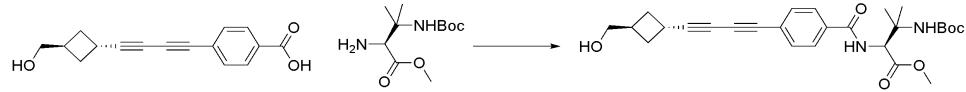
(S)-메틸 2-아미노-3-(터트-부톡시카보닐아미노)-3-메틸부타노에이트 (387 mg, 1.573 mmol, 1.0 당량) 및 4-((1,3-시스)-3-(하이드록시메틸)사이클로부틸)부타-1,3-디인일)벤조산 (400 mg, 1.573 mmol, 1.0 당량)을 DMF (3 mL) 중에 용해시켰다. 여기에 DIPEA (0.687 mL, 3.93 mmol, 2.5 당량)를 첨가한 다음 HATU (718 mg, 1.888 mmol, 1.2 당량)를 첨가하였다. 이를 ~16 시간 동안 상온에서 교반하였다. 반응물을 1M 시트르산 및 에틸 아세테이트 사이에 분배시켰다. 유기물을 반-포화 염화 나트륨, 포화 소듐 바이카보네이트, 그 다음 포화 염화 나트륨으로 세척하고, 황산 마그네슘 상에서 건조시킨 후 증발 건조시켰다. 1.035 g의 조 화합물 (S)-메틸 3-(터트-부톡시카보닐아미노)-2-(4-((1,3-시스)-3-(하이드록시메틸)사이클로부틸)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)-3-메틸부타노에이트를 수득하였다. LCMS M+1 예측치 = 483.2, 실측치 = 483.2.



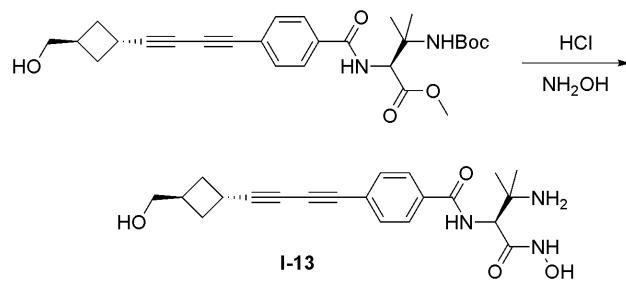
[0310]

(S)-메틸 3-(터트-부톡시카보닐아미노)-2-(4-((1,3-시스)-3-(하이드록시메틸)사이클로부틸)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)-3-메틸부타노에이트 (조 화합물)를 메탄올 (1 mL) 중에 용해시켰다. 상온에서 디옥산 중의 4.0M HCl (3.3 mL, 13.26 mmol, 8.43 당량)을 첨가하였다. 반응은 60분 후에 완료되었다 (HPLC). 반응물을 0°C에서 회전 증발기 상에서 농축시켰다. 여기에 IPA (2 mL)를 첨가한 다음 하이드록실아민 용액 (2 mL, 31.5 mmol, 20 당량)을 첨가하였다. 플라스크를 24 시간 동안 4°C에 두었다. 반응물을 겉상의 냉동리로 농축시켰다 (반응물을 0°C에서 보관). 여기에 물 (3 mL) 및 ACN (0.5 mL)을 첨가하였다. 0°C에서 TFA (3 mL)를 사용하여 산성화시켰다. 추가의 물 (1 mL) 및 ACN (1 mL)을 첨가하였다. RP HPLC (2" 컬럼, 50mL/min, 물/ACN 중의 0.1% TFA, 5%B에서 평형)로 정제하였다. 2" 컬럼 (10mL/min, 5%B) 상에 시린지 필터를 사용하여 로딩하였다 (2X6 mL). 1분에 걸쳐 50mL/min으로 구배시켰다. 55분에 걸쳐 5-35%B로 수행하였고, 생성물을 24.5-26%B에서 용출시켰다. 원하는 분획을 화합하고, 동결시킨 후 동결건조기(lyo)에 넣었다. 460 mg의 N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-

1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,3-시스)-3-(하이드록시메틸)사이클로부틸)부타-1,3-디인일)벤즈아미드, TFA를 수득하였다. LCMS M+1 예측치 = 384.2, 실측치 = 384.2. 1H NMR (DMSO-d6): δ 1.25 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 1.81-1.88 (m, 2H), 2.23-2.34 (m, 3H), 3.08-3.15 (m, 1H), 3.30-3.31 (d, 1H), 4.54 (br, 1H), 4.65-4.67 (d, 1H), 7.61-7.64 (d, 2H), 7.89-7.91 (d, 2H), 7.99 (s, 2H), 8.54-8.56 (d, 1H), 9.22 (br, 1H), 11.20 (s, 1H).

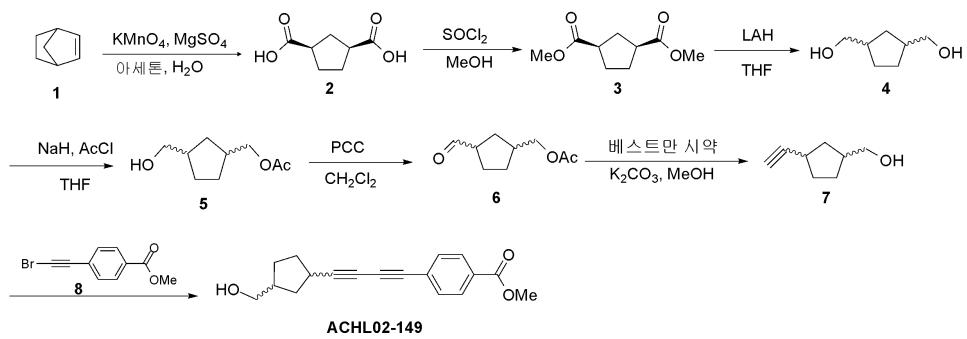


[0313] (S)-메틸 2-아미노-3-(터트-부톡시카보닐아미노)-3-메틸부타노에이트 (329 mg, 1.377 mmol, 1.0 당량) 및 4-(((1,3-트랜스)-3-(하이드록시메틸)사이클로부틸)부타-1,3-디인일)벤조산 (340 mg, 1.377 mmol, 1.0 당량)을 DMF (3 mL) 중에 용해시켰다. 여기에 DIPEA (0.584 mL, 3.34 mmol, 2.5 당량)를 첨가한 다음 HATU (610 mg, 1.605 mmol, 1.2 당량)를 첨가하였다. 이를 ~16 시간 동안 상온에서 교반하였다. 반응물을 1M 시트르산 및 에틸 아세테이트 사이에 분배시켰다. 유기물을 반-포화 염화 나트륨, 포화 소듐 바이카보네이트, 그 다음 포화 염화 나트륨으로 세척하고, 황산 마그네슘 상에서 건조시킨 후 증발 건조시켰다. 990 mg의 조 화합물 (S)-메틸 3-(터트-부톡시카보닐아미노)-2-(4-(((1,3-트랜스)-3-(하이드록시메틸)사이클로부틸)부타-1,3-디인일)벤즈아미도-3-메틸부타노에이트를 수득하였다. LCMS M+1 예측치 = 483.2, 실측치 = 483.2.



[0315] (S)-메틸-3-(터트-부톡시카보닐아미노)-2-(4-(((1,3-트랜스)-3-(하이드록시메틸)사이클로부틸)부타-1,3-디인일)벤즈아미도-3-메틸부타노에이트 (조 화합물)를 메탄올 (1 mL) 중에 용해시켰다. 상온에서 디옥산 중의 4.0M HCl (2.82 mL, 11.27 mmol, 8.43 당량)을 첨가하였다. 반응은 60분 후에 완료되었다 (HPLC). 반응물을 0°C에서 회전 증발기 상에서 농축시켰다. 여기에 IPA (2 mL)를 첨가한 다음 하이드록실아민 용액 (1.77 mL, 26.7 mmol, 20 당량)을 첨가하였다. 플라스크를 96 시간 동안 4°C에서 두었다. 그 다음 반응물을 검상의 냉어리로 농축시켰다 (반응물을 0°C에서 보관). 여기에 물 (3 mL) 및 ACN (0.5 mL)을 첨가하였다. 용액을 0°C에서 TFA (3 mL)를 사용하여 산성화시켰다. 추가의 물 (1 mL) 및 ACN (1 mL)을 첨가하였다. 화합물을 RP HPLC (2" 컬럼, 50mL/min, 물/ACN 중의 0.1% TFA, 5%B에서 평형)로 정제하고; 2" 컬럼 (10mL/min, 5%B) 상에 시린지 필터를 사용하여 로딩한 후 (2X7 mL); 1분에 걸쳐 50mL/min으로 구배시키고 55분에 걸쳐 5-35%B로 수행하였다. 생성물은 22.9-25.5%B에서 용출되었다. 원하는 분획을 화합하고, 동결시킨 후 동결건조기에 넣었다. 상기 과정으로 410 mg의 N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,3-트랜스)-3-(하이드록시메틸)사이클로부틸)부타-1,3-디인일)벤즈아미드, TFA를 수득하였다. LCMS M+1 예측치 = 384.2, 실측치 = 384.2. 1H NMR (DMSO-d6): δ 1.25 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 2.07-2.11 (t, 4H), 2.40-2.43 (m, 1H), 3.22-3.26 (m, 1H), 3.37-3.38 (d, 1H), 4.57 (br, 1H), 4.65-4.67 (d, 1H), 7.62-7.64 (d, 2H), 7.89-7.91 (d, 2H), 7.97 (s, 2H), 8.54-8.56 (d, 1H), 9.21 (br, 1H), 11.19 (s, 1H).

[0316] K. N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,3-트랜스)-3-(하이드록시메틸)사이클로부틸)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (I-14)의 합성



[0317]

(시스)-사이클로펜탄-1,3-디카르복실산 (2)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 1	94	1.0	106	10 g
KMnO4	158	2.8	297	47 g
MgSO4	120	0.33	35.4	4.3 g
H2O				500mL
아세톤				15 mL

[0319]

[0320] 5°C로 냉각시킨 물 (500 mL) 중의 과망간산 칼륨 (47 g, 0.297 mol) 및 황산 마그네슘 (4.3 g, 35.4 mmol)의 교반 혼탁액에 아세톤 (15 mL) 중의 비사이클로[2.2.1]헵트-2-엔 1 (10 g, 0.106 mol) 용액을 한 번에 첨가하였다 (5°C ~ 40°C). 얼음 배쓰를 제거하고 반응물을 추가 2 시간 동안 교반하였다. 상기 시간 후에, 상기 혼합물을 여과하고 여과액을 소듐 하이드로겐설페이트로 처리한 후 1N HCl을 사용하여 pH=2로 산성화시켰다. 그 다음 에틸 아세테이트 (800 mL x 3)로 추출하고 화합된 유기층을 물 (1 L), 식염수 (1 L)로 세척한 후, 건조시키고, 농축하여 다음 단계를 위한 정제 없이 백색 고체로서 목적 화합물 2 (7.5 g, 46 %)를 얻었다.

[0321]

(시스)-디메틸 사이클로펜탄-1,3-디카복실레이트 (3)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 2	158	1.0	47.5	7.5 g
SOCl2	119	4.0	190	22.6 g
MeOH				200mL

[0322]

[0323] 메탄올 (200 mL) 중의 (시스)-사이클로펜탄-1,3-디카르복실산 2 (7.5 g, 47.5 mmol)의 교반 용액에 티오닐 클로라이드 (22.6 g, 0.19 mol)를 얼음 배쓰에서 첨가하였다. 그 다음 반응 혼합물을 하룻밤 동안 환류 하에 가열하였다. 상기 시간 후, 혼합물을 농축하여 다음 단계를 위한 정제 없이 황색 오일로서 화합물 3 (8.3 g, 94%)를 얻었다. GC-MS로 확인하였다.

[0324] 사이클로펜탄-1,3-디일디메탄올 (4)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 2	186	1	44.6	8.3 g
LiAlH ₄	38	2.0	89.2	3.4 g
THF				150 mL

[0325]

THF (100 mL) 중의 LAH (3.4 g, 89.2 mmol)의 교반 용액에 THF (50 mL) 중의 (시스)-디메틸 사이클로펜탄-1,3-디카복실레이트 3 (8.3 g, 44.6 mmol) 용액을 얼음 배쓰에서 첨가하였다. 그 다음 반응 혼합물을 하룻밤 동안 상온에서 교반하였다. 상기 시간 후, 혼합물을 물 (6.5 mL)로 희석시킨 다음, 여과하고, 여과액을 농축시킨 후, 잔여물을 실리카-겔 크로마토그래피 (PE:EA=2:1)로 정제하여 황색 오일로서 화합물 4 (4.0 g, 69 %)를 얻었다. HNMR (400 MHz, DMSO-d6) 0.53-0.50 (m, 1H), 0.96-1.00 (m, 2H), 1.29-1.35 (m, 2H), 1.47-1.54 (m, 1H), 1.66-1.73 (m, 2H), 2.98-3.01 (m, 4H), 4.29 (s, 1H).

[0327] 3-(하이드록시메틸)사이클로펜틸)메틸 아세테이트 (5)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 4	130	1.0	31	4.0 g
AcCl	78	1.0	34	2.7 g
NaH (60%)	24	0.9	28	1.1 g
THF				60 mL

[0328]

THF (60 mL) 중의 사이클로펜탄-1,3-디일디메탄올 4 (4.0 g, 31 mmol)의 교반 용액에 NaH (60 %) (1.1 g, 28 mol)를 얼음 배쓰에서 첨가하였다. 그 다음 반응 혼합물을 0.5 시간 동안 얼음 배쓰에서 교반한 다음, 아세틸 클로라이드 (2.7 g, 34 mmol)를 상기 반응 혼합물에 첨가하였다. 그 후 혼합물을 하룻밤 동안 상온에서 교반하였다. 상기 시간 후, 혼합물을 물 (1.0 mL)로 희석시킨 다음, 여과하고 여과액을 농축시킨 후, 잔여물을 실리카-겔 크로마토그래피로 정제하여 황색 오일로서 화합물 5 (1.7 g, 25 %)를 얻었다. HNMR (400 MHz, DMSO-d6) 0.84-0.87 (m, 1H), 1.28-1.31 (m, 2H), 1.62-1.65 (m, 2H), 1.80-1.83 (m, 1H), 1.99 (s, 1H), 2.10-2.18 (m, 1H), 3.26-3.29 (m, 2H), 3.89 (d, J = 8, 2H), 4.43 (s, 1H).

[0330] 3-포밀사이클로펜틸)메틸 아세테이트 (6)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 5	172	1	9.9	1.7 g
PCC	215	3.0	29.7	6.4 g
CH ₂ Cl ₂				50 mL

[0331]

CH₂Cl₂ (50 mL) 중의 3-(하이드록시메틸)사이클로펜틸)메틸 아세테이트 5 (1.7 g, 9.9 mmol)의 교반 용액에 PCC (6.4 g, 29.7 mmol)를 분할하여 첨가하였다. 그 다음 반응 혼합물을 하룻밤 동안 상온에서 교반하였다. 상기 시간 이후에, 혼합물을 농축시키고, 잔여물을 실리카-겔 크로마토그래피 (PE:EA=6:1)로 정제하여 황색 오일로서 화합물 6 (0.7 g, 44 %)을 얻었다.

[0333]

3-에티닐사이클로펜틸)메탄올 (7)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 6	170	1.0	4.1	0.7 g
베스트만 시약 (80%)	192	1.5	6.15	1.18 g
K ₂ CO ₃	138	1.5	6.15	0.85 g
MeOH				50 mL

[0334]

MeOH (50 mL) 중의 3-포밀사이클로펜틸)메틸 아세테이트 6 (0.7 g, 4.1 mmol)의 교반 용액에 포타슘 카보네이트 (0.85 g, 6.15 mmol) 및 베스트만 시약 (1.18 g, 6.15 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 하룻밤 동안 상온에서 교반하였다. 상기 시간 이후에, 혼합물을 물 (50 mL)로 희석시키고, 에테르 (80 mL x 3)로 추출한 후, 화합된 유기층을 건조시키고, 농축한 뒤 잔여물을 실리카-겔 크로마토그래피 (PE:EA=2:1)로 정제하여 황색 오일로서 화합물 7 (0.31 g, 60 %)을 얻었다.

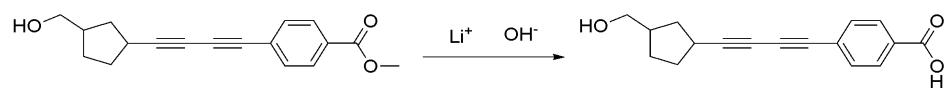
[0335]

메틸 4-((3-(하이드록시메틸)사이클로펜틸)부та-1,3-디인일)벤조에이트 (AChL02-149)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 7	124	1.0	2.42	0.3 g
화합물 8	240	1.2	2.9	0.7 g
PdCl ₂ (PPh ₃) ₂	701	0.03	0.1	70 mg
CuI	191	0.1	0.242	46 mg
DIPEA	129	3.0	7.26	936 g
THF				60 mL

[0337]

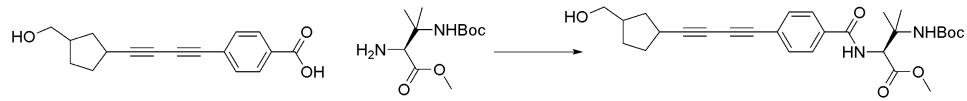
질소 하에, DIPEA (936 mg, 7.26 mmol)를 THF (60 mL) 중의 3-에티닐사이클로펜틸)메탄올 7 (0.3 g, 2.42 mmol), 메틸 4-(브로모에티닐)벤조에이트 8 (0.7 g, 2.9 mmol), PdCl₂(PPh₃)₂ (70mg, 0.1 mmol) 및 CuI (46mg, 0.242 mmol)의 혼합물에 상온에서 적가하였다. 반응 혼합물을 하룻밤 동안 상온에서 교반하였다. LCMS로 반응을 모니터링하였다. 반응 혼합물을 물 (60 mL)로 희석시키고 에틸 아세테이트 (80mL x 3)로 추출하였다. 에틸 아세테이트 층을 포화 NH₄Cl 수용액, 물 및 식염수로 세척하였다. 건조시킨 후, 에틸 아세테이트 용액을 감압 하에 농축시켰다. 잔여물을 실리카-겔 컬럼 (PE: EA = 5:1)으로 정제하여 (시스 및 트랜스 이성질체의 혼합물로서) 화합물 AChL02-149를 얻었다 (140 mg, 25%). H NMR (400MHz, DMSO-d6): 7.95 (d, J = 8.4Hz, 2H), 7.51 (d, J = 8Hz, 2H), 3.91 (s, 1H), 3.61 (d, J = 4Hz, 1H), 3.53 (d, J = 8Hz, 1H), 2.89-2.87 (m, 1H), 2.43-2.40 (m, 1H), 2.21-2.17 (m, 1H), 2.02-1.99 (m, 1H), 1.82-1.76 (m, 1H), 1.54-1.45 (m, 1H), 1.36-1.31 (m, 1H).



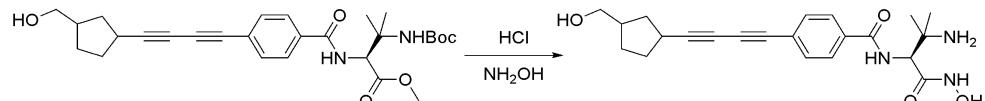
[0338]

메틸 4-((3-(하이드록시메틸)사이클로펜틸)부та-1,3-디인일)벤조에이트 (115 mg, 0.407 mmol, 1.0 당량)를 MeOH (5mL) 중에 용해시키고, 리튬 하이드록사이드 (29.3 mg, 1.222 mmol, 3.0 당량) 및 물 (5 mL)을 첨가하였다. 이를 ~72 시간 동안 상온에서 교반하였다. 반응물을 농축시켜 MeOH를 제거하고, 6N HCl (~5mL)을 사용하여 pH ~3으로 산성화시켰다. EtOAc (3x50 mL)로 추출하고, 유기층을 화합시킨 후, 포화 NaCl로 세척한 다음, 건조

시키고($MgSO_4$), 여과한 뒤 농축시켰다. 0.14 g의 조 화합물 4-((3-(하이드록시메틸)사이클로펜틸)부타-1,3-디인일)벤조산을 수득하였다. LCMS M+1 예측치 = 269.1, 실측치 = 269.1.

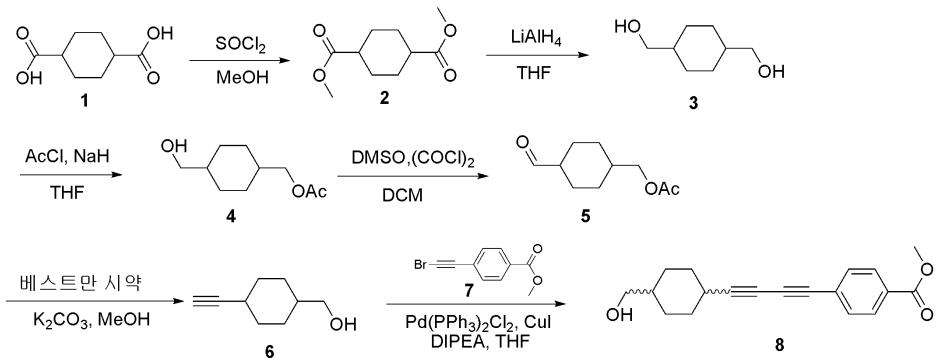


[0342] (S)-메틸 2-아미노-3-(터트-부톡시카보닐아미노)-3-메틸부타노에이트 (100 mg, 0.406 mmol, 1.0 당량) 및 4-((3-(하이드록시메틸)사이클로펜틸)부타-1,3-디인일)벤조산 (조 화합물) (이론치 109 mg, 0.406 mmol, 1.0 당량)을 DMF (1 mL) 중에 용해시켰다. 여기에 DIPEA (0.177 mL, 1.016 mmol, 2.5 당량)를 첨가한 다음 HATU (185 mg, 0.488 mmol, 1.2 당량)를 첨가하였다. 이를 ~16 시간 동안 상온에서 교반하였다. 반응물을 1M 시트르산 및 에틸 아세테이트 사이에 분배시켰다. 유기물을 반-포화 염화 나트륨, 포화 소듐 바이카보네이트, 그 다음 포화 염화 나트륨으로 세척하고, 황산 마그네슘 상에서 건조시킨 후 증발 건조시켰다. 500 mg의 조 화합물 (S)-메틸 3-(터트-부톡시카보닐아미노)-2-(4-((3-(하이드록시메틸)사이클로펜틸)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)-3-메틸부타노에이트를 수득하였다. LCMS M+1 예측치 = 497.3, 실측치 = 497.2.



[0344] (2S)-메틸-3-(터트-부톡시카보닐아미노)-2-(4-((3-(하이드록시메틸)사이클로펜틸)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)-3-메틸부타노에이트 (조 화합물)를 메탄올 (1 mL) 중에 용해시켰다. 상온에서 디옥산 중의 4.0M HCl (0.857 mL, 3.43 mmol, 8.43 당량)을 첨가하였다. 반응은 3 시간 후에 완료되었다 (HPLC). 반응물을 0°C에서 회전 증발기 상에서 농축시켰다. 여기에 IPA (1 mL)를 첨가한 다음 하이드록실아민 용액 (0.537 mL, 8.14 mmol, 20 당량)을 첨가하였다. 플라스크를 168 시간 동안 4°C에서 두었다. 반응물을 겸상의 덩어리로 농축시켰다 (반응물을 0°C에서 보관). 여기에 물 (3 mL) 및 ACN (0.5 mL)을 첨가하였다. 0°C에서 TFA (3 mL)를 사용하여 산성화시켰다. 추가의 물 (1 mL) 및 ACN (1 mL)을 첨가하였다. RP HPLC (1" 컬럼, 20mL/min, 물/ACN 중의 0.1% TFA, 5%B에서 평형)로 정제하였다. 1" 컬럼 (10mL/min, 5%B) 상에 시린지 필터를 사용하여 로딩하였다 (2X8 mL). 1분에 걸쳐 20mL/min으로 구배시켰다. 80분에 걸쳐 5-19%B으로 수행하였고 생성물은 19%B에서 용리되었다. 원하는 분획을 화합시키고, 동결시킨 후 동결건조기에 넣었다. 145 mg의 N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-((3-(하이드록시메틸)사이클로펜틸)부타-1,3-디인일)벤즈아미드, I-14, TFA를 수득하였다. LCMS M+1 예측치 = 398.2, 실측치 = 398.2. 1H NMR (DMSO-d6): δ 1.25 (s, 3H), 1.29 (s, 3H), 1.38-1.45 (m, 1H), 1.53-1.77 (m, 2H), 1.88-2.17 (m, 3H), 2.83-2.91 (m, 1H), 3.21-3.38 (m, 4H), 4.52 (br, 1H), 4.65-4.67 (d, 1H), 7.61-7.63 (d, 2H), 7.88-7.90 (d, 2H), 7.97 (s, 2H), 8.53-8.56 (d, 1H), 9.21 (br, 1H), 11.19 (s, 1H).

[0345] L. N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,4-시스)-4-(하이드록시메틸)사이클로헥실)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (I-15) 및 N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,4-트랜스)-4-(하이드록시메틸)사이클로헥실)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (I-16)의 합성



[0346]

단계 1: 디메틸 사이클로헥산-1,4-디카복실레이트 (2)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 1	172	1.0	290.7	50g
SOCl ₂	119	4.0	1162.8	138g
MeOH				500mL

[0348]

메탄올 (500 mL)을 얼음-소금물(ice-salt) 배쓰에서 냉각시키고 티오닐 클로라이드 (138 g, 4.0eq)를 적가하였다. 상기 메탄올 중의 HCl 생성 용액에 사이클로헥산-1,4-디카르복실산 1 (50g, 1.0 당량)을 첨가하고 반응 혼합물을 1 시간 동안 환류시켰다. TLC로 반응을 모니터링하였다. 용매를 증발시키고 잔여물을 물로 희석시킨 후 에틸 아세테이트로 추출하였다. 에틸 아세테이트 층을 NaHCO₃ 용액, 식염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 용매를 증발시켜 목적 화합물을 얻었다 (56.4g, 97%).

[0350]

단계 2: 사이클로헥산-1,4-디일디메탄올 (3)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 2	200	1	150.0	30g
LiAlH ₄	38	3.0	450.0	17.1g
THF				200mL

[0351]

THF 중의 LiAlH₄의 얼음-냉각된 혼탁액에 디메틸 사이클로헥산-1,4-디카복실레이트 2 용액을 0°C에서 적가하였다. 반응 혼합물을 30분 동안 상온에서 교반하였다. TLC로 반응을 모니터링하였다. 12eq 물 (32.4mL)을 첨가하여 반응을 퀸칭시켰다. 반응 혼합물을 여과하고, 여과액을 농축시켰다. 잔여물을 Et₂O로 희석시키고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. Et₂O를 제거하여 목적 화합물을 수집하고 이를 추가 정제 없이 다음 단계를 위하여 사용하였다 (19.9g, 92%).

[0353] 단계 3: (4-(하이드록시메틸)사이클로헥실)메틸 아세테이트 (4)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 3	144	1.0	138.2	19.9g
AcCl	78	1.0	138.2	10.78g
NaH (60%)	24	1.0	138.2	5.53g
THF				150mL

[0354]

THF 중의 NaH 및 사이클로헥산-1,4-디일디메탄을 3의 얼음-냉각된 혼탁액에 AcCl을 0°C에서 적가하였다. 반응물을 15°C에서 3 시간 동안 교반하였다. TLC로 반응을 모니터링하였다. 1 eq H₂O (2.5mL)를 첨가하여 반응을 끈적시켰다. 반응 혼합물을 여과하고, 여과액을 에틸 아세테이트로 희석시켰다. 에틸 아세테이트 층을 식염수 (5mL)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 용매를 감압 하에 제거하였다. 잔여물을 실리카-겔 컬럼 (DCM: MeOH=50:1 내지 10:1)으로 정제하여 목적 화합물을 얻었다 (8.6g, 33%).

[0356]

단계 4: (4-포밀사이클로헥실)메틸 아세테이트 (5)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 4	186	1.0	46.24	8.6g
(COCl) ₂	128	2.0	92.47	11.8g
DMSO	78	4.0	184.95	14.4g
DCM				200mL
TEA	101	8.0	369.92	37.36g

[0357]

DCM (60mL) 중의 옥살일 클로라이드 용액에 DCM (60mL) 중의 DMSO를 -78°C에서 적가하였다. 30분 이후에, DCM (80mL) 중의 (4-(하이드록시메틸)사이클로헥실)메틸 아세테이트 4를 -78°C에서 적가하였다. 반응 혼합물을 -78°C에서 추가 2 시간 동안 교반한 다음, TEA를 -78°C에서 적가하여 반응을 끈적시켰다. 반응 혼합물을 상온으로 따뜻해지게 하였다. 반응 혼합물을 DCM으로 희석시키고, 포화 염화암모늄 수용액 및 식염수로 세척하였다. DCM 층을 건조시키고 농축하였다. 잔여물을 실리카-겔 컬럼 (DCM)으로 정제하여 목적 화합물을 얻었다 (9.0g, 여전히 디클로로메탄으로 젖은 상태).

[0359]

단계 5: (4-에티닐사이클로헥실)메탄올 (6)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 5	184	1.0	46.2	8.5g
베스트만 시약 (80%)	192	1.3	60.0	11.56g
K ₂ CO ₃	138	3.0	138.6	19.04g
MeOH				100mL

[0360]

CH₃OH (100mL) 중의 (4-포밀사이클로헥실)메틸 아세테이트 5 (8.5g, 1.0eq), K₂CO₃ (19.04g, 3.0eq)의 혼합물에 베스트만 시약 (11.56g, 1.3eq, 80%)을 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 15 시간 동안 상온에서 교반하였다. TLC로 반응을 모니터링하였다. 혼합물을 물로 희석시키고, 에틸 아세테이트로 추출한 후, 식염수로 세척하고,

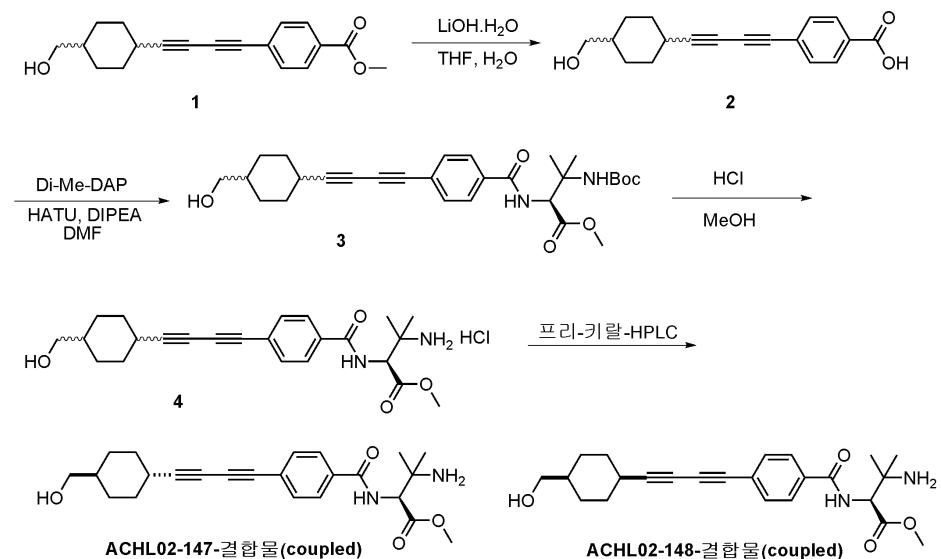
Na_2SO_4 로 건조시킨 뒤, 감압 하에 농축시켰다. 조 생성물을 실리카-겔 컬럼 (PE: EA=3:1)으로 정제하여 목적 화합물을 얻었다 (2.6g, 40%).

[0362] 단계 6: 메틸 4-((4-(하이드록시메틸)사이클로헥실)부티-1,3-디인일)벤조에이트 (8)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 6	138	1.0	10.14	1.4g
화합물 7	240	1.2	12.17	2.9g
$\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$	701	0.03	0.304	213mg
CuI	191	0.1	1.014	194mg
DIPEA	129	3.0	30.43	3.92g
THF				150mL

[0363]

[0364] 질소 하에, DIPEA (3.92g, 3.0 당량)를 THF (150mL) 중의 (4-에티닐사이클로헥실)메탄올 6 (1.4g, 1.0 당량), 메틸 4-(브로모에티닐)벤조에이트 7 (2.9g, 1.2 당량), $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (213mg, 0.03 당량) 및 CuI (194mg, 0.1 당량)의 혼합물에 상온에서 적가하였다. 반응 혼합물을 하룻밤 동안 상온에서 교반하였다. LCMS로 반응을 모니터링하였다. 반응 혼합물을 물 (100mL)로 희석시키고 에틸 아세테이트 (300mL)로 추출하였다. 에틸 아세테이트 층을 포화 NH_4Cl 수용액, 물 및 식염수로 세척하였다. 건조시킨 후, 에틸 아세테이트 용액을 감압 하에 농축시켰다. 잔여물을 실리카-겔 컬럼 (PE: EA=5:1 내지 3:1)으로 정제하여 목적 화합물을 얻었다 (시스 및 트랜스 이성질체의 혼합물로서, 1.2 g, 40%). ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6): 7.959–7.937(d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 7.682–7.660(d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 4.421–4.395(t, $J=5.2\text{Hz}$, 1H), 3.860(s, 3H), 3.207–3.179(t, $J=5.6\text{Hz}$, 2H), 2.085(s, 1H), 1.980–1.941 (m, 2H), 1.747–1.708(m, 2H), 1.366–1.328(m, 3H), 0.935–0.897(m, 2H).



[0365]

[0366] 4-((4-(하이드록시메틸)사이클로헥실)부타-1,3-디인일)벤조산 (2)

시약	MW	Eq.	Mmol	g, mL
화합물 1	296	1	4.1	1.2 g
LiOH.H ₂ O	42	3	12.3	517 mg
THF				20 mL
H ₂ O				5 mL

[0367]

THF (20mL) 중의 메틸 4-((4-(하이드록시메틸)사이클로헥실)부타-1,3-디인일)벤조에이트 1 (1.2g, 4.1mmol) 용액에 물 (5mL) 중의 리튬 하이드록사이드 모노-하이드레이트 (517mg, 12.3mmol) 용액을 첨가하였다. 상기 혼합물을 하룻밤 동안 상온에서 교반하였다. 상기 시간 이후, 용매를 감압 하에 제거하고, 잔여물을 물 (40mL)로 회석시킨 후, pH를 1M HCl을 사용하여 4.0으로 조정한 다음, 에틸 아세테이트 (3 x 60mL)로 추출하였다. 유기층을 건조시키고 농축시켜 황색 고체로서 4-((4-(하이드록시메틸)사이클로헥실)부타-1,3-디인일)벤조산 2 (1.0 g, 93%)를 얻고 이를 추가 정제 없이 다음 단계를 위하여 사용하였다. LC-MS:283 [M+H]⁺.

[0369]

(S)-메틸 3-(터트-부톡시카보닐아미노)-2-(4-((4-(하이드록시메틸)사이클로헥실)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)-3-메틸부타노에이트 (3)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 2	282	1	3.72	1.05 g
Boc-Di-Me-DAP	246	1	3.72	915 mg
HATU	380	1.1	4.1	1.55 g
DIPEA	129	3	11.2	1.44 g
DMF				25 mL

[0370]

DMF (25mL) 중의 4-((4-(하이드록시메틸)사이클로헥실)부타-1,3-디인일)벤조산 2 (1.05g, 3.72mmol), HATU (1.55g, 4.1mmol) 용액에 (S)-메틸 2-아미노-3-(터트-부톡시카보닐아미노)-3-메틸부타노에이트 (915 mg, 3.72mmol) 및 DIPEA (1.44 g, 11.2mmol)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 5 시간 동안 상온에서 교반하였다. 상기 시간 이후, 반응물을 물 (20mL)로 회석시킨 다음, 에틸 아세테이트 (60mL x 3)로 추출하였다. 화합된 유기층을 물로 세척한 다음 식염수로 세척하고, 건조시킨 다음 농축시킨 후, 잔여물을 실리카-겔 크로마토그래피 (PE:EA 2:1)로 정제하여 황색 고체로서 (S)-메틸 3-(터트-부톡시카보닐아미노)-2-(4-((4-(하이드록시메틸)사이클로헥실)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)-3-메틸부타노에이트 3을 얻었다. (1.6 g, 85%). LC-MS:511 [M+H]⁺. 455 [M-56]

[0372]

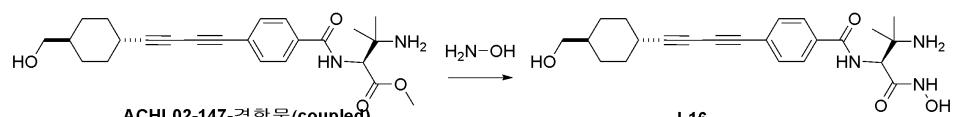
(S)-메틸 3-아미노-2-(4-((4-(하이드록시메틸)사이클로헥실)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)-3-메틸부타노에이트 하이드로클로라이드 (4)

시약	MW	Eq.	mmol	g, mL
화합물 3	510	1	3.14	1.6g
HCl(g)				
CH ₃ OH				20 mL

[0373]

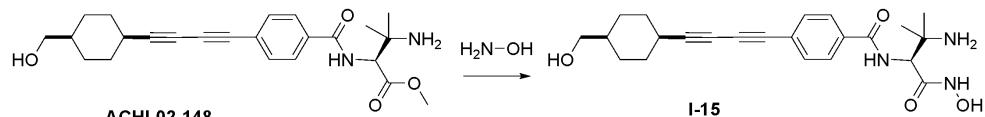
[0374]

메탄올 (20mL) 중의 (S)-메틸 3-(터트-부톡시카보닐아미노)-2-(4-((4-(하이드록시메틸)사이클로헥실)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)-3-메틸부타노에이트 **3** (1.6g, 3.14mmol) 용액을 HCl 장치에 부착시켰다. 그 다음 반응물을 TLC가 출발 물질의 전체적인 소비를 나타낼 때까지 상온에서 교반하였다. 그 이후, 용액을 감압 하에 농축시켜 황색 고체로서 (S)-메틸 3-아미노-2-(4-((4-(하이드록시메틸)사이클로헥실)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)-3-메틸부타노에이트 하이드로클로라이드 **4**를 얻었다 (1.4 g, 99%). LC-MS:411 [M+H]⁺. 시스 및 트랜스 이성질체를 키랄 HPLC로 분리하여 피크 1로서 (S)-메틸 3-아미노-2-(4-((1,4-시스)-4-(하이드록시메틸)사이클로헥실)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)-3-메틸부타노에이트 (AChL02-148-결합물(coupled), 90 mg) 및 피크 2로서 (S)-메틸 3-아미노-2-(4-((1,4-트랜스)-4-(하이드록시메틸)사이클로헥실)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)-3-메틸부타노에이트 (AChL02-147-결합물(coupled), 750 mg)를 얻었다.



[0375]

(S)-메틸-3-아미노-2-(4-((1,4-트랜스)-4-(하이드록시메틸)사이클로헥실)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)-3-메틸부타노에이트 (750 mg, 1.827 mmol, 1.0 당량)를 둥근 바닥 플라스크에 넣었다. 여기에 IPA (6 mL)를 첨가하고, 혼탁액을 5분 동안 초음파 처리한 다음, THF (2 mL)를 첨가하여 용액을 형성시켰다. 하이드록실아민 용액 (2.4 mL, 36.5 mmol, 20 당량)을 첨가하고 플라스크를 ~96 시간 동안 4°C에 두었다. 반응물을 농축시켜 (반응물을 0°C에서 보관) IPA 및 THF를 제거하였다. 0°C에서 TFA (4 mL)를 사용하여 산성화시켰다. 추가의 ACN (2mL)을 첨가하였다. RP HPLC (2" 컬럼, 50mL/min, 물/ACN 중의 0.1% TFA, 10%B에서 평형)로 정제하였다. 2" 컬럼 (10mL/min, 10%B) 상에 시린지 필터를 사용하여 로딩하였다 (3X8 mL). 1분에 걸쳐 50mL/min으로 구배시켰다. 60분에 걸쳐 10-40%로 수행하였고 생성물은 30.5-35%에서 용리되었다. 원하는 분획을 화합시키고, 동결시킨 후 동결건조기에 넣었다. 706 mg의 N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-((1,4-트랜스)-4-(하이드록시메틸)사이클로헥실)부타-1,3-디인일)벤즈아미드, **I-16**, TFA를 수득하였다. LCMS M+1 예측치 = 412.2, 실측치 = 412.2. 1H NMR (DMSO-d6): δ 0.84-0.94 (m, 2H), 1.25 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 1.32-1.36 (m, 1H), 1.68-1.72 (m, 2H), 1.90-1.95 (m, 2H), 2.39-2.42 (m, 1H), 3.15-3.18 (m, 2H), 4.38-4.40 (t, 1H), 4.65-4.67 (d, 1H), 7.62-7.64 (d, 2H), 7.89-7.91 (d, 2H), 7.98 (br, 2H), 8.54-8.56 (d, 1H), 9.22 (br, 1H), 11.21 (br, 1H).

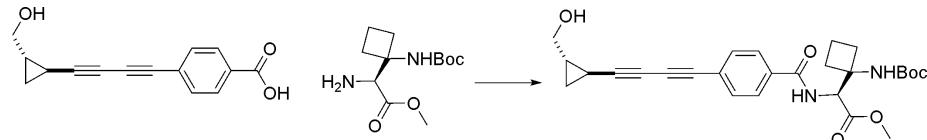


[0377]

(S)-메틸-3-아미노-2-(4-((1,4-시스)-4-(하이드록시메틸)사이클로헥실)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)-3-메틸부타노에이트 (90 mg, 0.219 mmol, 1.0 당량)를 둥근 바닥 플라스크에 넣었다. 여기에 IPA (0.5 mL)를 첨가하고, 용액을 2분 동안 볼텍스(vortex)시킨 다음, 하이드록실아민 용액 (0.29 mL, 4.38 mmol, 20 당량)을 첨가하고 플라스크를 ~72 시간 동안 4°C에 두었다. 반응물을 농축시켜 (반응물을 0°C에서 보관) IPA를 제거하였다. 0°C에서 TFA (3 mL)를 사용하여 산성화시켰다. 아세토니트릴 (0.5 mL)을 첨가하였다. RP HPLC (1" 컬럼, 25mL/min, 물/ACN 중의 0.1% TFA, 10%B에서 평형)로 정제하였다. 1" 컬럼 (10mL/min, 10%B) 상에 시린지 필터를 사용하여 로딩하였다 (7 mL). 1분에 걸쳐 25mL/min으로 구배시켰다. 90분에 걸쳐 10-40%로 수행하였고, 생성물은 25.5-28%에서 용리되었다. 원하는 분획을 화합시키고, 동결시킨 후 동결건조기에 넣었다. 53 mg의 N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-((1,4-시스)-4-(하이드록시메틸)사이클로헥실)부타-1,3-디인일)벤즈아미드, **I-15**, TFA를 수득하였다. LCMS M+1 예측치 = 412.2, 실측치 = 412.2. 1H NMR (DMSO-d6): δ 1.20-1.35 (m, 2H), 1.26 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 1.47-1.59 (m, 4H), 1.71-1.75 (m, 2H), 2.97-2.99 (m,

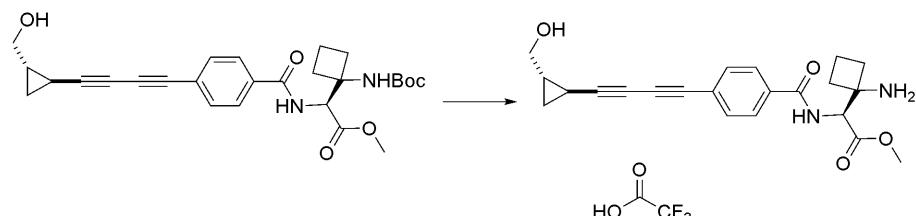
1H), 3.21–3.22 (d, 2H), 4.30 (br, 1H), 4.65–4.68 (d, 1H), 7.64–7.66 (d, 2H), 7.89–7.91 (d, 2H), 7.98 (br, 2H), 8.54–8.56 (d, 1H), 9.22 (br, 1H), 11.20 (s, 1H).

[0379] *M. N-((S)-1-(1-아미노사이클로부틸)-2-(하이드록시아미노)-2-옥소에틸)-4-(((트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 트리플루오로아세테이트 (I-17) 및 N-((S)-1-(1-아미노사이클로부틸)-2-(하이드록시아미노)-2-옥소에틸)-4-((시스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 트리플루오로아세테이트 (I-18)의 합성*



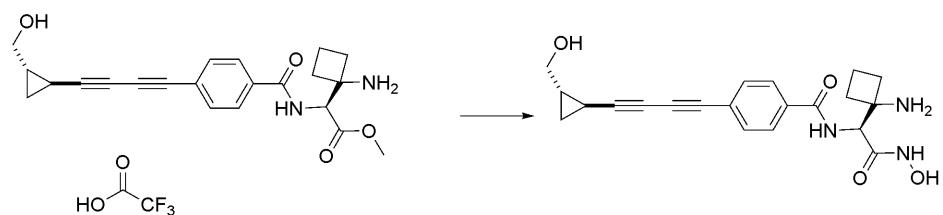
[0380]

[0381] 4-((트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤조산 (205 mg, 0.85 mmol, 1 eq) 및 (S)-메틸-2-아미노-2-(1-(터트-부톡시카보닐아미노)사이클로부틸)아세테이트 (220 mg, 0.85 mmol, 1 eq)를 *N,N*-디메틸포름아미드 (3mL) 중에 용해시켰다. *N,N*-디이소프로필에틸아민 (0.45mL, 2.6mmol, 3eq)을 첨가한 후, HATU (356mg, 0.94mmol, 1.1eq)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 2.5 시간 동안 상온에 유지시킨 다음, 1M 시트르산 및 에틸 아세테이트 사이에 분배시켰다. 유기물을 1M 시트르산, 포화 소듐 바이카보네이트, 그 다음 포화 염화 나트륨으로 세척하고, 황산 마그네슘 상에서 건조시킨 후 증발 건조시켜 (S)-메틸-2-(1-(터트-부톡시카보닐아미노)사이클로부틸)-2-(4-((트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)아세테이트를 얻었다 (550mg 조 화합물, 134%, 추가 정제 없이 사용됨).



[0382]

[0383] (S)-메틸 2-(1-(터트-부톡시카보닐아미노)사이클로부틸)-2-(4-((트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)아세테이트 (550mg 조 화합물, 1.1mmol)를 디클로로메탄 (6mL) 중에 용해시키고 상온에서 10분 동안 6mL 트리플루오로아세트산으로 처리하였다. 휘발성 물질을 제거하고 잔여물을 디클로로메탄으로 부터 재-증발시켜 트리플루오로아세테이트 염으로서 (S)-메틸 2-(1-아미노사이클로부틸)-2-(4-((트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)아세테이트를 얻었으며, 이를 추가 정제 없이 사용하였다.

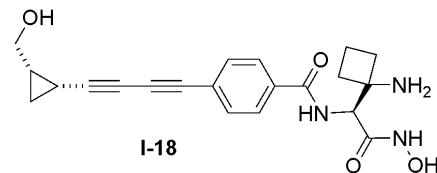


[0384]

[0385] 상기 반응에서 얻은 조 화합물 (S)-메틸 2-(1-아미노사이클로부틸)-2-(4-((트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)아세테이트 트리플루오로아세테이트를 이소프로판올 (2mL) 중에 용해시키고 50% 하이드록실아민 수용액 (2mL)으로 20 시간 동안 4°C에서 처리하였다. 휘발성 물질을 제거하고 잔여물을

트리플루오로아세트산으로 산성화시킨 물/아세토니트릴 중에 용해시켰다. 상기 물질을 역-상 HPLC (2" 컬럼, 50mL/min, 물/ACN 중의 0.1% TFA, 2%에서 평형)로 하기 구배를 사용하여 정제하였다:

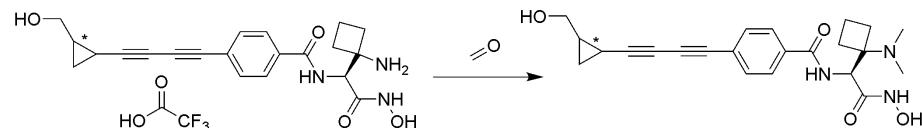
- [0386] 2% 10분
- [0387] 2-15 5분
- [0388] 15-45 300분
- [0389] 생성물은 58분 내지 78분 사이에 용출되었으며, 원하는 분획을 동결건조시켜 트리플루오로아세테이트 염으로서 N-((S)-1-(1-아미노사이클로부틸)-2-(하이드록시아미노)-2-옥소에틸)-4-((트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드를 얻었다 (백색 고체, 120mg, 0.24mmol, 4-((트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤조산으로부터 28%). 질량 분광 데이터: 예측치 (M+1): 382.4, 실측치: 382.1. 양성자 NMR (400MHz, dmso-d6): 11.3 (br s, 1H), 9.24 (s, 1H), 8.62 (d, 1H, J = 8.8Hz), 8.17 (br s, 3H), 7.86 (d, 2H, J = 8.4Hz), 7.63 (d, 2H, J = 8.4Hz), 4.92 (d, 1H, J = 9.2Hz), 4.69 (t, 1H, J = 5.8Hz), 3.40 (m, 1H), 3.26 (m, 1H), 2.12 - 2.21 (m, 4H), 1.89 (m, 1H), 1.80 (m, 1H), 1.39 - 1.46 (m, 2H), 0.84 - 0.93 (m, 2H). 추가의 80mg을 순수하지 않은 분획의 재-정제 하에 얻었다.



[0390]

[0391] 주로 N-((S)-1-(1-아미노사이클로부틸)-2-(하이드록시아미노)-2-옥소에틸)-4-((시스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (주로 이성질체 중의 불순물)를 함유하는 분획들을 개별적으로 동결건조시키고 동일한 구배 하에 재정제하였다. 원하는 분획을 모아서 동결건조시켜 트리플루오로아세테이트 염으로서 N-((S)-1-(1-아미노사이클로부틸)-2-(하이드록시아미노)-2-옥소에틸)-4-((시스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤조산으로부터 1%). 질량 분광 데이터: 예측치 (M+1): 382.4, 실측치: 382.1. 양성자 NMR (400MHz, dmso-d6): 11.30 (bs s, 1H), 9.24 (s, 1H), 8.62 (d, 1H, J = 9.2Hz), 8.16 (br s, 3H), 7.86 (d, 2H, J = 7.6Hz), 7.65 (d, 2H, J = 7.6Hz), 4.92 (d, 1H, J = 9.2Hz), 4.70 (t, 1H, J = 5.2Hz), 3.49 (m, 1H), 3.40 (m, 1H), 2.12 - 2.22 (m, 4H), 1.82-1.95 (m, 1H), 1.70 - 1.80 (m, 2H), 1.36 (m, 1H), 1.08 (m, 1H), 0.58 (m, 1H).

[0392] N. N-((S)-1-(1-(디메틸아미노)사이클로부틸)-2-(하이드록시아미노)-2-옥소에틸)-4-((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (I-19)의 합성



[0393]

[0394] N-((S)-1-(1-아미노사이클로부틸)-2-(하이드록시아미노)-2-옥소에틸)-4-((트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 트리플루오로아세테이트 I-17 (80mg, 0.16mmol, 1eq)을 N,N-디메틸포름아미드 (800 μl) 중에 용해시키고 파라포름알데하이드 (48.5mg, 1.1mmol, 10eq) 및 N,N-디이소프로필에틸아민 (56 μl, 0.32mmol, 2eq)으로 21 시간 동안 상온에서 처리하였다. 소듐 시아노보로하이드라이드 (30mg, 0.48mmol, 3eq)를 첨가한 후 메탄올 (800 μl) 및 아세트산 (28 μl, 0.48mmol, 3eq)을 첨가하였다. 상기 혼합물을 3일 동안 상온에서 유지시킨 다음, 추가의 소듐 시아노보로하이드라이드 및 아세트산 (28 μl)을 첨가하였다. 상온에서 추

가로 1일 유지시킨 이후에, 다시 추가의 28 μl 의 아세트산을 첨가하였다. 상온에서 다시 1일 이후에, 상기 물질을 역-상 HPLC (1" 컬럼, 20mL/min, 물/아세토니트릴 중의 0.1%TFA, 2%에서 평형됨)로 하기 구배를 사용하여 정제하였다:

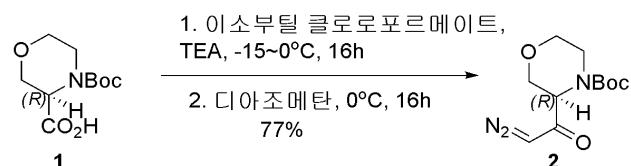
[0395] 2% 5분

[0396] 2-18% 5분

[0397] 18-98% 80분

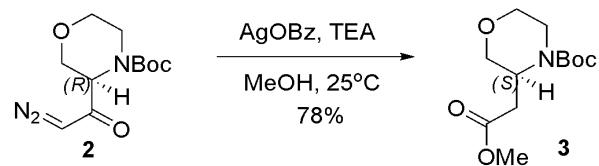
[0398] 원하는 분획을 모아서 동결건조시켜 트리플루오로아세테이트 염으로서 N-((S)-1-(1-(디메틸아미노)사이클로부틸)-2-(하이드록시아미노)-2-옥소에틸)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드를 얻었다 (63mg, 0.12mmol, 74%). 질량 분광 테이터: 예측치 (M+1): 410.5, 실측치: 410.2. 양성자 NMR (400MHz, dmso-d6): 11.29 (s, 1H), 9.72 (br s, 1H), 9.30 (s, 1H), 8.95 (d, 1H, J = 9.2Hz), 7.88 (d, 2H, J = 8.4Hz), 7.61 (d, 2H, J = 8.4Hz), 5.05 (d, 1H, J = 9.2Hz), 4.7 (br s, 1H), 3.40 (dd, 1H, J = 5.2, 11.6Hz), 3.22 (dd, 1H, J = 6.4, 11.2Hz), 2.76 (d, 3H, J = 4.4Hz), 2.68 (d, 3H, J = 4.4Hz), 2.33 - 2.42 (m, 3H), 1.62 - 1.78 (m, 2H), 1.37 - 1.46 (m, 2H), 0.84 - 0.92 (m, 2H).

0. N-((S)-2-(하이드록시아미노)-1-((S)-모르폴린-3-일)-2-옥소에틸)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (I-20)의 합성



[0400]

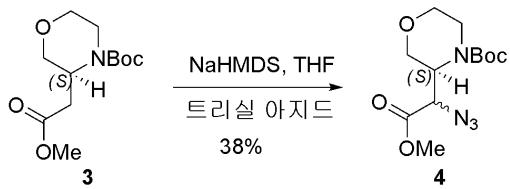
[0401] 건조 에테르 (160 mL) 중의 (R)-4-(터트-부톡시카보닐)모르폴린-3-카르복실산 **1** (5 g, 0.02162 mol)의 미리 냉각시킨 혼탁액에 트리에틸아민 (3.91 mL, 0.0281 mol)을 -16°C 에서 적가하고, 5분 후에, 상기 생성 혼합물을 이소부틸 클로로포르메이트 (3.37 mL, 0.02600 mol)로 30분의 기간 동안 -15°C 에서 서서히 처리한 다음, 반응 혼합물을 16 시간 동안(하룻밤 동안) -15°C ~ 6°C 에서 교반하였다. LCMS로 반응 과정을 모니터링하고, 여과한 후 고체를 에테르 (30mL x 2)로 세척한 다음, 여과액을 다음 단계에 사용하였다. 상기 이전의 여과액을 에테르 (480 mL) 중의 디아세틸메탄(0.24 mol) 용액으로 16 시간 동안(하룻밤 동안) $0\text{~}7^{\circ}\text{C}$ 에서 처리한 다음, 반응물을 빙초산 (5 mL), 물 (50 mL)로 퀸칭시킨 후, 유기층을 소듐 바이카보네이트 (50 mL x 2), 식염수 (50 mL)로 세척하고, 수층을 에테르 (200 mL x 2)로 재추출한 뒤, 화합된 유기층을 무수 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 여과한 후, 농축시켜 조 잔여물을 얻은 다음, 실리카-겔 크로마토그래피 (용리액으로서 석유 중의 20% 에틸 아세테이트 사용)로 정제하여, 황색 고체로서 (R)-터트-부틸-3-(2-디아조아세틸)모르폴린-4-카복실레이트 **2**를 얻었다 4.56g (87% 순도, LCMS, 254nm), 수율: 77%, 2 단계.



[0402]

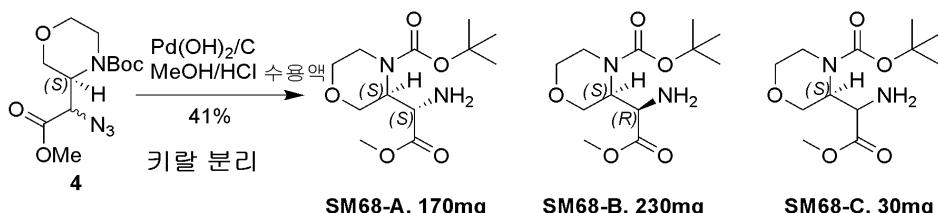
[0403] 메탄올 (30 mL) 중의 (R)-터트-부틸-3-(2-디아조아세틸)모르폴린-4-카복실레이트 **2** (4.55 g, 17.824 mmol) 및 silver 벤조에이트 (25 mg, 0.11 mmol)의 미리 냉각시킨 혼탁액에 트리에틸아민 (250 μl , 1.78 mmol)을 적가하고 상기 혼탁액을 암실에서 16 시간 동안 25°C 에서 교반한 다음 (하룻밤 동안, 오일 배쓰), 여과시키고, 여과액을 증발 건조시킨 후 잔여물을 실리카-겔 크로마토그래피 (용리액으로서 석유 중의 10% 에틸 아세테이트 사용)

로 정제하여, 무색 고체로서 (S)-터트-부틸-3-(2-메톡시-2-옥소에틸)모르폴린-4-카복실레이트 3을 얻었다. 3.34 g, 수율: 78%.



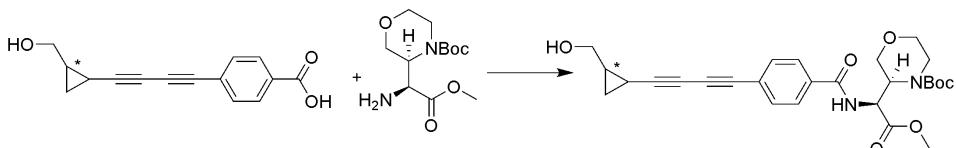
[0404]

[0405] THF (100 mL) 중의 (S)-터트-부틸-3-(2-메톡시-2-옥소에틸)모르폴린-4-카복실레이트 3 (2.737 g, 0.0106 mol)의 미리 냉각시킨 용액에 NaHMDS (8.15 mL, 0.0159 mol)를 -100°C에서 서서히 첨가하고, 생성된 혼탁액을 1 시간 동안 -100°C에서 교반한 다음, THF (10 mL) 중의 트리실일아지드 (5.99 g, 0.0170 mol) 용액을 서서히 첨가하고 (-100°C 이하의 내부 온도를 유지), 추가 1 시간 동안 -100°C에서 계속하여 교반하였다. 빙초산 (3.18 g, 0.0530 mol)을 빠르게 첨가하여 반응을 퀸칭시키고, 상기 반응 혼합물을 상온으로 따뜻해지게 한 후, 3 시간 동안 교반하고, 최종적으로 DCM (200mL x 2)으로 희석시킨 뒤, 포화 NaHCO₃ (100mL), 식염수 (100mL) 및 물 (100mL)로 세척하였다. 화합된 유기층을 무수 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 여과한 후, 농축시켜 조 잔여물을 얻은 다음, 역상 크로마토그래피 (구배: 5분 동안 물 중의 10% 아세토니트릴, 3분 이내에 물 중의 30% 아세토니트릴로 증가시킴, 3분 동안 물 중의 30% 아세토니트릴, 3분 동안 물 중의 30-45% 아세토니트릴, 5분 동안 물 중의 45% 아세토니트릴; 유속: 30mL/min)로 정제하여 백색 고체로서 (S)-터트-부틸-3-(1-아지도-2-메톡시-2-옥소에틸)모르폴린-4-카복실레이트 4 (2종의 디아스테레오머의 혼합물)를 얻었다. 1.22 g, 수율: 38%



[0406]

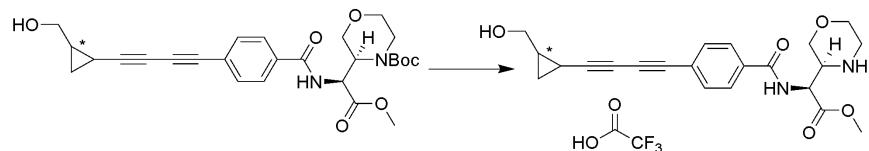
[0407] EtOAc/MeOH (20mL/3mL) 중의 (S)-터트-부틸-3-(1-azido-2-메톡시-2-옥소에틸)모르폴린-4-카복실레이트 4 (1.2 g, 4 mmol), Pd(OH)2/C (200 mg, 15%wt), 2M HCl (2 mL, 4 mmol)의 혼합물을 탈기시키고 16 시간 동안 1 atm. 하에 30°C에서 수소 가스로 처리하였다. 상기 혼합물을 여과하고, 고체를 EtOAc (20mL)로 세척하였다. 화합된 유기물을 물 (20mL), 포화 NaHCO₃ (20mL, pH = 8로 조정하기 위함)로 세척한 다음, 무수 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 여과한 후 농축시켜 조 잔여물을 얻은 뒤 역상 크로마토그래피 (구배: 5분 동안 물 중의 10% 아세토니트릴, 3분 이내에 물 중의 30% 아세토니트릴로 증가시킴, 3분 동안 물 중의 30% 아세토니트릴, 3분 동안 물 중의 30-45% 아세토니트릴, 5분 동안 물 중의 45% 아세토니트릴; 유속: 30mL/min)로 정제하였다. 그 다음 정제된 잔여물을 키랄 분리시켜 (S)-터트-부틸-3-((S)-1-아미노-2-메톡시-2-옥소에틸)모르폴린-4-카복실레이트 (SM68-A, 170 mg, 황색 오일); (S)-터트-부틸-3-((R)-1-아미노-2-메톡시-2-옥소에틸)모르폴린-4-카복실레이트 (SM68-B, 230 mg, 황색 고체); 및 SM68-C, 30 mg, 황색 오일을 얻었다 전체 수율: 41%.



[0408]

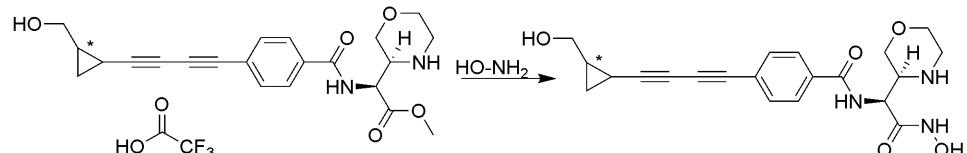
[0409]

4-(((트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤조산 (140 mg, 0.58 mmol) 및 (S)-터트-부틸-3-((S)-1-아미노-2-메톡시-2-옥소에틸)모르폴린-4-카복실레이트 (160 mg, 0.58 mmol)를 DMF (2 mL) 중에 용해시켰다. *N,N*-디이소프로필에틸아민 (255 μ L, 1.46 mmol)을 첨가한 후 HATU (266 mg, 0.70 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 30분 동안 상온에서 유지시킨 다음, 1M 시트르산 및 에틸 아세테이트 사이에 분배시켰다. 유기물을 1M 시트르산, 포화 소듐 바이카보네이트, 그 다음 포화 염화 나트륨으로 세척하고, 황산 마그네슘 상에서 건조시킨 후 증발 건조시켰다. 380mg의 조 화합물 (S)-터트-부틸-3-((S)-1-(4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)-2-메톡시-2-옥소에틸)모르폴린-4-카복실레이트를 얻었다.



[0410]

(S)-터트-부틸-3-((S)-1-(4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)-2-메톡시-2-옥소에틸)모르폴린-4-카복실레이트 (조 화합물, 380 mg)를 디클로로메탄 (4 mL) 중에 용해시키고, 트리플루오로아세트산 (4 mL)을 첨가하였다. 상온에서 5분 후, 상기 혼합물을 10 mL 디클로로메탄으로 흐석시키고 증발시켰다. 이에 따라 얻어진 (S)-메틸-2-(4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)-2-((S)-모르폴린-3-일)아세테이트 2,2,2-트리플루오로아세테이트를 다음 단계에서 조화합물로서 사용하였다.



[0412]

(S)-메틸-2-(4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미도)-2-((S)-모르폴린-3-일)아세테이트 2,2,2-트리플루오로아세테이트 (상기 반응으로부터의 조 화합물)를 이소프로판올 (1 mL) 중에 용해시키고, 하이드록실아민 수용액 (50%, 1 mL)을 첨가하였다. 상기 용액을 18 시간 동안 4°C에서 유지시킨 다음 증발시켰다. 물을 첨가하고 혼합물을 TFA로 산성화시켰다. 조 생성물질을 RP HPLC (2" 컬럼, 50mL/min, 물/ACN 중의 0.1% TFA, 2%에서 평형)로 정제하였다:

[0413]

2% 10분

[0414]

2-11% 5분

[0415]

11-41% 300분

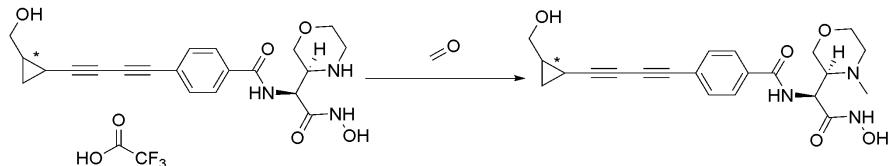
[0416]

원하는 화합물은 88-99분에 용출되었다. 원하는 분획을 동결건조시켜 트리플루오로아세테이트 염으로서 *N*-(*(S*)-2-(하이드록시아미노)-1-((*S*)-모르폴린-3-일)-2-옥소에틸)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 **I-20**을 얻었다 (백색 고체, 118 mg, 0.30 mmol, 4-(((트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤조산으로부터 52%). 질량 분광 데이터: 예측치 (M+1): 398.2, 실측치: 398.1. 양성자 NMR (400MHz, *d*MSO-d6): 11.17 (s, 1H), 9.14 (s, 1H), 9.08 (br s, 1H), 8.93 (br s, 1H), 8.83 (d, 1H, *J* = 8.4Hz), 7.89 (d, 2H, *J* = 8.0Hz), 7.62 (d, 2H, *J* = 8.0Hz), 4.69 (br s, 1H), 4.63 (t, 1H, *J* = 8.8Hz), 3.83 - 3.86 (m, 2H), 3.60 - 3.66 (m, 2H), 3.50 (t, 1H, *J* = 11.0Hz), 3.39 (m, 1H), 3.20 - 3.23 (m, 2H), 3.05 (m, 1H), 1.39 - 1.45 (m, 2H), 0.87 - 0.92 (m, 2H).

[0417]

P. *N*-(*(S*)-2-(하이드록시아미노)-1-((*S*)-4-메틸모르폴린-3-일)-2-옥소에틸)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메

틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (I-21)의 합성



[0419]

[0420] N-((S)-2-(하이드록시아미노)-1-((S)-모르폴린-3-일)-2-옥소에틸)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 트리플루오로아세테이트 I-20 (10 mg, 20 μmol)을 DMF (100 μl) 중에 용해시켰다. 파라포름알데하이드 (5.9 mg, 200 μmol)를 첨가한 후 N,N-디이소프로필에틸아민 (6.8 μl , 39 μmol)을 첨가하였다. 상기 혼합물을 19 시간 동안 상온에서 교반하였다. 소듐 시아노보로하이드라이드 (3.7 mg, 59 μmol), 메탄올 (100 μl) 및 아세트산 (4.5 μl , 78 μmol)을 첨가하고 상기 혼합물을 추가 3일 동안 상온에서 교반하였다. 상기 혼합물을 RP HPLC (2" 컬럼, 50mL/min, 물/ACN 중의 0.1% TFA, 2%에서 평형)로 정제하였다:

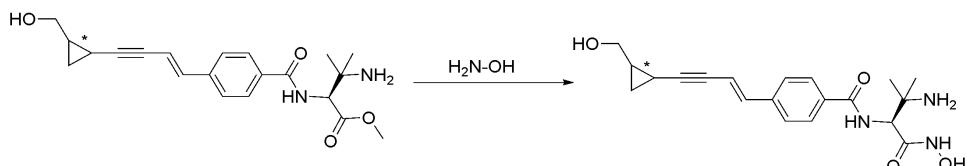
[0421] 2% 10분

[0422] 2-15% 5분

[0423] 15-95% 80분

[0424] 생성물은 23분 내지 24분 사이에 용리되었다. 원하는 분획을 동결건조시켜 트리플루오로아세테이트 염으로서 N-((S)-2-(하이드록시아미노)-1-((S)-4-메틸모르폴린-3-일)-2-옥소에틸)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드를 얻었다 (7.0 mg, 13 μmol , 68%). 질량 분광 데이터: 예측치 (M+1): 411.2, 실측치: 412.2.

Q. N-((S)-3-아미노-1-하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-((E)-4-(1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부트-1-엔-3-인일)벤즈아미드 (I-22)의 합성



[0426]

[0427] (S)-메틸 3-아미노-2-(4-(E)-4-(1S,2S)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부트-1-엔-3-인일)벤즈아미드)-3-메틸부타노에이트 (400 mg, 1.08 mmol, 1.0 당량)를 둥근 바닥 플라스크에 넣었다. 여기에 이소프로필 알코올 (2.0 mL)을 첨가하고, 상기 용액을 2분 동안 볼텍스시킨 후, 플라스크를 얼음 배쓰에서 냉각시킨 다음, 하이드록실아민 용액 (1.4 mL, 21.60 mmol, 20 당량)을 첨가하고 플라스크를 대략 48 시간 동안 4°C에 두었다. 반응물을 (0°C에서) 농축시켜 이소프로필 알코올을 제거한 다음, 0°C에서 TFA (3 mL)를 사용하여 산성화시켰다. 추가의 물 (15 mL) 및 ACN (3 mL)을 첨가하였다. 생성물을 역상 HPLC (2" 컬럼, 50mL/min, 물/ACN 중의 0.1% TFA, 2%에서 평형)로 정제하였다. 컬럼에 10mL/min, 2%B로 시린지 필터 (24 mL)를 사용하여 로딩한 다음 1분에 걸쳐 50mL/min으로 구배시켰다. 2%B로부터 95%B까지의 구배로 73분에 걸쳐 수행하였다. 원하는 분획을 화합시키고, 동결시킨 후 동결건조기에 넣었다. 상기 반응으로부터 177 mg의 N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-((E)-4-((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부트-1-엔-3-인일)벤즈아미드, I-22, TFA를 수득하였다. LCMS M+1 예측치 = 372.2, 실측치 = 372.2. 1H NMR (DMSO-d6): δ 0.77-0.81 (m, 2H), 1.25 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 1.34-1.37 (m, 1H), 3.20-3.24 (dd, 1H), 3.37-3.41 (dd, 1H), 4.65-4.67 (d, 1H), 6.43-6.47 (d, 1H), 6.87-6.91 (d, 1H), 7.55-7.57 (d, 2H), 7.84-7.86 (d, 2H), 7.99 (br, 2H), 8.38-8.41 (d, 1H), 9.22 (br, 1H), 11.20 (s, 1H).

[0428] R. 항미생물 활성

[0429] 세균 스크린 및 배양

[0430] 세균 분리물(isolate)을 -70°C 동결 스톡으로부터 Mueller-Hinton 한천 (Beckton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) 상에서 대기 하에 35°C 에서 하룻밤 동안 계대 배양하였다. 테스트된 임상적 분리물은 미국 및 해외의 다양 한 지리적으로 다른 병원들로부터 입수하였다 (Focus Diagnostics, Herndon, VA and JMI, North Liberty, IA). 품질 대조 균주는 American Type Culture Collection (ATCC; Rockville, Md.)으로부터 입수하였다.

[0431] 민감성 테스트

[0432] 최소 억제 농도 (MIC)를 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 가이드라인에 따라 액체배지 미량희석법(broth microdilution method)으로 측정하였다. 간략히 언급하면, 생물 혼탁액을 0.5 McFarland standard로 조정하여 3×10^5 내지 7×10^5 콜로니-형성 단위 (CFU)/mL의 최종 접종물을 수득하였다. 약물 희석 및 접종물을 멀균의 양이온 조정된 Mueller-Hinton Broth (Beckton Dickinson)로 제조하였다. 100 mL의 접종물 부피를 약물이 2-배로 일련으로 희석된 100 mL의 액체배지를 함유하는 웰에 첨가하였다. 모든 접종된 미량희석 트레이를 18-24 시간 동안 35°C 에서 대기 하에 인큐베이션시켰다. 인큐베이션 후, 가시적으로 성장이 방지된 (OD_{600 nm} < 0.05) 약물의 최소 농도를 MIC로서 기록하였다. 분석의 성능을 실험실 품질-대조구 균주, 및 정의된 MIC 스펙트럼을 갖는 화합물인 레보플록사신을 사용하여 CLSI 가이드라인에 따라 모니터링하였다. 전형적으로, 본 발명의 화합물은 0.03 - 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 MIC 값을 갖는다. 이를 위하여, 특정한 대표적인 화합물의 데이터를 하기 표 2에 나타내었다.

[0433] [표 2]

[0434]

최소 억제 농도 (MIC)

화합물 번호	APAE001	AECO001	APAE002	AKPN001
I-1	A	A	A	A
I-2	A	A	A	A
I-3	A	A	A	A
I-4	A	A	A	A
I-5	A	A	A	A
I-6	A	A	A	A
I-7	A	A	A	A
I-8	A	A	A	A
I-9	A	A	A	A
I-10	A	A	A	A
I-11	A	A	A	A
I-12	A	A	A	A
I-13	A	A	A	A
I-14	A	A	A	A
I-15	A	A	A	A
I-16	A	A	A	A
I-17	A	A	A	A
I-18	A	A	A	A
I-19	A	A	A	A
I-20	A	A	A	A
I-21	B	A	A	B
I-22	A	A	A	A
I-23	A	A	A	A

[0435]

MIC 기준:

A = 2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이하의 MICB = 2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 초과 내지 16.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이하의 MICC = 16.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 초과의 MIC

*AECO001은 *σ*. 쿨라이 ATCC25922; APAE001은 슈도모나스 아에루기노사 ATCC27853; AKPN001은 클렙시엘라 뉴모니아에 ATCC43816; APAE002는 일반적인 수준의 유출 활성(efflux activity)을 나타내는 슈도모나스 아에루기노사의 임상적인 분리물이다.

[0441]

S. 생체내 허용도

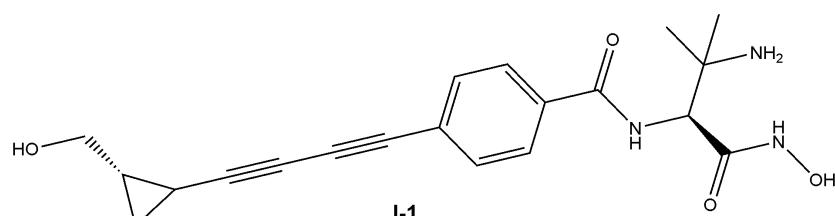
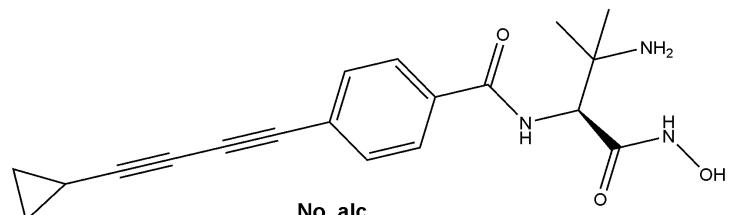
각각의 화합물을 피하 주사로 마우스에 투여하였다. 마우스를 18-28°C 및 ~50% 습도에서 그룹-수용시키고(케이지 당 5마리), 표준 설치류 사료로 급이하였다. 물과 식이는 임의대로 제공하였다. 마우스에 체중의 kg 당 20 mL 이하의 투여량을 피하 주사하였다.

3마리 마우스의 그룹에 pH 5의 20 mM 아세테이트 완충액 중의 15% 캡티솔(Captisol)로 이루어진 제형으로 테스

트 화합물의 단일 투약으로서 50, 100, 200, 400 또는 600 mg/kg/day를 피하 주사로 투여하였다. 피하 주사는 견갑골 사이의 부위에서 등(back)에 수행하였다. 10-20 mL/kg의 부피를 상기 부위에 주사하였다. 바늘을 바늘의 끝이 피하 포켓(subcutaneous pocket) 내에 놓이는 깊이까지 피부 표면에 대해 평행하게 삽입시켰다. 시린지의 내용물이 나오도록 플런저에 부드럽지만 강한 압력을 사용하였다.

[0444] 투약-후 다양한 시점에서 관찰을 수행하였다: 30초 - 1분, 5분, 15분, 30분, 45분, 1시간, 75분, 90분, 105분, 2시간, 그 후 동물이 기준선(base line) 근처까지 회복 정후를 나타낼 때까지, 또는 투약-후 4 시간까지 중 어느 것이 먼저 오던 매시간. 마우스를 모니터하는 최소 시간 범위는 동물이 민첩하고, 정상적이며 반응을 보이는 것으로 보이는 경우 투약-후 30분이었다. 동물이 독성 영향을 나타낸 경우, 이들이 기준선 근처까지 회복 정후를 나타내거나, 또는 투약-후 4 시간까지 중 어느 것이 먼저 오던 이들을 면밀하게 모니터링하였다. 동물은 생존 및 활동 수준의 모니터링을 포함하는 임상적 관찰을 위하여 투약 후 72 시간 동안 유지시켰다. 관찰은 중추신경계 곤란 증상(예컨대, 발작, 무기력, 횡화, 부동성(motionlessness), 활동 과다), 신경근의 비정상(예컨대, 운동 실조증, 단일 수축(twitching), 경련, 벌어진 사지(splayed limbs), 점프 또는 발길질), 자율 신경 증상(예컨대, 타액 분비, 눈물 분비, 배뇨, 배변, 기모(piloerection) 또는 사시(squinting)), 호흡기관 곤란(예컨대, 거칠거나 급한 호흡, 공황(depression), 헐떡임 또는 숨막힘), 상동 거동(stereotypic behavior)(예컨대, 반복적인 저작, 선회, 보행(pacing), 손질 행동(grooming), 스니핑(sniffing), 머리 운동(head movement) 또는 등을 구부린 자세(hunched stance)), 및 비정상적인 행동, 예컨대 탈출 행동 또는 목욕한 개가 몸을 터는 듯한 동작(wet dog shake)을 평가하였다.

[0445] 공지의 화합물, No_alc (이의 합성 및 활성을 PCT 국제공개 제2008/06676호에 개시되어 있음; 화합물 91-12)는 마우스에 피하 주사하는 경우 50 mg/kg 이하의 마우스 내 최대 허용 투여량을 나타내었으나, 이에 반하여 피하 주사에 의한 30 mg/kg의 투여량이 마우스 내 케이. 뉴모니아에 대한 정적 투여량으로서 필요하다. 단지 사이클로프로필기의 하이드록시메틸 치환에 의해, 이러한 공지의 화합물과 상이한, 본 발명의 화합물 I-1은 No_alc과 필적할 만한 항미생물 활성을 가지나 포유동물 내에서 실질적으로 더욱 허용된다 (마우스 내로 피하 주사되는 경우 대략 200 mg/kg의 최대 허용 투여량).



[0448] 표 3은 피하 투여된 마우스의 관찰 결과를 나타낸다. 허용도는 임상적 관찰에 의하여 특징지어졌다. A 등급은 독성 증상을 나타내지 않거나, 또는 약간의 독성 증상, 예컨대, 움직일 때 가끔 단기간의 멈춤, 약간의 곤란한 호흡, 또는 빠른 회복(예를 들어, 10분 이내)을 갖는 약간의 무기력을 나타내는 동물에게 부여하였다. B 등급은 다소의 독성 증상, 예컨대 움직일 때 더욱 길어진 멈춤, 동물이 여전히 주변을 움직일 수 있는 동안 더욱 길어진 회복 시간(1 시간까지)을 갖는 약간의 무기력을 나타내는 동물에게 부여하였다. C 등급은 중간 내지 심한 독성 증상, 예컨대 무기력, 횡화, 사시 및 곤란한 호흡을 동반한 무기력, 심한 단일 수축(점프, 발차기), 또는 탈출 행동을 나타내는 동물에 부여하였다. 마지막으로, D 등급은 임의의 치사 효과(안락사를 필요로 하는 빈사 상태 포함)가 임상적 관찰 시간(투약-후 72 시간까지) 이내에 발생된 경우에 부여하였다.

[0449] [표 3]

[0450]

생체 내 허용도

화합물	50 mg/kg	100 mg/kg	200 mg/kg	400 mg/kg	600 mg/kg
No alc	B	B (n=2) C (n=1)	C	C	
I-1			A	B	C
I-5		A	A (n=1) B (n=2)	C	
I-6			A	C	C
I-7			A	B (n=1) C (n=2)	C
I-8			A	B (n=1) C (n=2)	C
I-9			A	C	
I-12		A	A (n=1) B (n=2)	C	C
I-13		A	B	C	C (n=1) D (n=2)
I-14		A	B (n=2) C (n=1)	C (n=2)	

[0451]

T. 제2 항세균제와의 상승작용

세균 분리물(isolate)을 캐이. 뉴모니아이(ATCC 43816)의 -70°C 동결 스톡으로부터 Mueller-Hinton 한천(Beckton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) 상에서 대기 하에 35°C 에서 하룻밤 동안 계대 배양하였다. 최소 억제 농도 (MIC)를 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 가이드라인에 따라 액체배지 미량희석법(broth microdilution method)으로 측정하였다. 간략히 언급하면, 생물 혼탁액을 0.5 McFarland standard로 조정하여 3×10^5 내지 7×10^5 콜로니-형성 단위 (CFU)/mL의 최종 접종물을 수득하였다. 약물 희석 및 접종물을 멸균의 양이온 조정된 Mueller-Hinton Broth (Beckton Dickinson)로 제조하였다. 100 mL의 접종물 부피를 약물이 2-배로 일련으로 희석된 100 mL의 액체배지를 함유하는 웰에 첨가하였다. 모든 접종된 미량희석 트레이를 18-24 시간 동안 35°C 에서 대기 하에 인큐베이션시켰다. 인큐베이션 후, 가시적으로 성장이 방지된 ($\text{OD}_{600} \text{ nm} < 0.05$) 약물의 최소 농도를 MIC로서 기록하였다.

표준 체커보드 어세이를 기재된 작용제 및 N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (I-1)의 조합을 사용하여 수행하였다. 표 4는 표준 기법에 따라 계산된 FICI를 나타낸다. 화합물 I-1은 반코마이신, 테이코플라닌, 에리트로마이신, 아지트로마이신, 리팜핀 및 노보비오신과 함께 생체 내에서 상승작용을 나타내었다.

[표 4]

[0456]

FICI

항생제	FICI (cmpd I-1)
반코마이신	≤ 0.4
테이코플라닌	≤ 0.5
에리트로마이신	0.3
아지트로마이신	0.2
리팜핀	0.1
노보비오신	0.3
텔라반신	> 2.0
답토마이신	> 2.0
리네졸리드	> 1.5
클린다마이신	0.6
레보플록사신	1.0
세프토비프롤	1.0
세포탁심	1.0
젠타마이신	0.5

[0457]

반코마이신과 N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (I-1)의 생체 내 상승작용을 호중구감소성(neutropenic) 대퇴부 생체 내 효능 모델에서 조사하였다. 상기 모델은 본질적으로 Craig and others (참조 Gudmundsson et al., "Murine Thigh Infection Model," *Handbook of Animal Models of Infection*, M. A. Sande and O. Zak, Eds.; London: Academic Press, 1999, pp 137-144)에 개시된 바와 같이 실시되었다. 간략히 언급하면, 마우스에 사이클로포스파미드를 2번 투약하여 감염 전에 호중구감소성이 되게 한 다음, 케이. 뉴모. (ATCC 43816)의 10^3 - 10^5 CFU의 접종물을 사용하여 대퇴부에 근육내로 감염시켰다. 음성 대조구로서 항생제 또는 비히클 단독을 감염-후 2 시간 및 14 시간에 2회 투여하였다. 감염에 대한 백혈구 세포의 영향을 최소화하기 위하여 실험 기간 동안 동물을 호중구감소성으로 유지시켜 미생물학적인 판독이 약물 및 세균의 생체 내 상호작용을 측정하게 하였다. 감염-후 24 시간에, 대퇴부를 수집하고, 균질화시킨 후, 플레이팅하여 대퇴부 당 생존하고 있는 CFU의 수를 측정하였다. 또한, 하위 접합의 동물 유래의 대퇴부를 감염-후 2 시간에 수집하여 제1 항생제 처리(전-처리) 직전에 존재하는 CFU를 기록하였다. 감염 후 0 시간에 측정된 결과와 동일한 24 시간에서의 CFU 양(load)의 결과에 요구되는 투여량으로서 정의되는, 정적 투여량은 투여량 반응 곡선으로부터 Prism (GraphPad Software)에서 표준 방법으로 계산되었다.

[0459]

이들 조사의 목적은 I-1과 후보 상승작용제의 조합이 각각의 작용제 단독의 합보다 이러한 생체 내 효능 모델에서 더욱 큰 계수 상의(in counts) 감소를 주었는지 여부를 정량적으로 평가하는 것이었다.

[0460]

반코마이신은 케이. 뉴모. ATCC43816의 감염의 처리를 위한 LpxC 억제제와 함께 유의적인 생체 내 상승작용을 나타낸다. 도 1에 도시된 바와 같이, 220 mg/kg/day로 반코마이신 단독을 사용하여 감염된 마우스를 처리하는 것은 CFU의 유의적인 감소를 나타내지 않는다. 그러나, 화합물 I-1을 병용 투여한 경우 LpxC 억제제의 정적 투여량은 유의적으로 감소된다 (도 1 및 표 5).

[0461]

[표 5]

약물	투여량 처방	투여량 (mg/kg)	평균 Log ₁₀ CFU ^a		평균 Log ₁₀ CFU 대비 감소 (reduction vs.)	
			2 시간	26 시간	2 시간	26 시간
비히클	q8hr	-	n.d.	9.95	-3.71	0.00
레보플록사신	q12hr	10	n.d.	6.48	-0.25	3.46
		30	n.d.	4.44	1.79	5.50
		100	n.d.	4.07	2.17	5.88
I-1	q6hr	30	n.d.	10.26	-4.02	-0.31
		100	n.d.	9.51	-3.27	0.44
		300	n.d.	7.13	-0.89	2.82
I-1+ 반코마이신	q6hr	30+220	n.d.	4.63	1.61	5.32
		100+220	n.d.	4.28	1.95	5.67
		300+220	n.d.	3.98	2.26	5.97
반코마이신+ I-1	q6hr	25+100	n.d.	8.65	-2.41	1.30
		75+100	n.d.	8.11	-1.87	1.84
		220+100	n.d.	4.99	1.25	4.96
반코마이신	q6hr	220	n.d.	10.21	-3.97	-0.26
2 시간 대조구	n/a	-	6.24	n.d.	0.00	3.71

[0462]

[0463] 종합하면, 이들 데이터는 반코마이신이 N-((S)-3-아미노-1-(하이드록시아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-4-(((1,2-트랜스)-2-(하이드록시메틸)사이클로프로필)부타-1,3-디인일)벤즈아미드 (I-1)와 함께 예기치 않은 생체 내 상승작용을 나타냄을 보여준다.

[0464]

본 발명에 따른 유기 화합물은 토토며 현상을 나타낼 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 본 명세서 내의 화학적 구조는 가능한 토토며 형태 중 단지 하나를 나타낼 수 있기 때문에, 본 발명은 도시된 구조의 임의의 토토며 형태를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[0465]

또한, 본 발명의 특별한 구현에는 설명의 목적으로 본 명세서에서 도시되고 개시되어 있으며, 이는 물론 당업자에 의하여 본 발명의 개념 및 범위를 벗어나지 않고 특별히 상술한 교시 내용에 비추어 변형이 이루어질 수 있기 때문에 본 발명이 이에 제한되지 않는 것으로 이해될 것이다. 따라서, 본 발명은 첨부되는 특허청구범위에 의한 것을 제외하고는 제한되지 않는다.

[0466]

본 명세서에서 언급된, 모든 미국 특허, 미국 특허출원 공개, 미국 특허 출원, 해외 특허, 해외 특허 출원 및 비특허 간행물은 본 상세한 설명과 일치하지 않는 것이 아닌 정도까지 그 전체로서 참조로서 본원에 포함된다.

도면

도면1

