

發明專利說明書

200418508

(本申請書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：92132018

※申請日期：92 年 11 月 14 日

※IPC 分類：A61K47/48

壹、發明名稱：

(中) 經肽脫甲醯酶活化之前藥

(外) Peptide deformylase activated prodrugs

貳、申請人：(共 1 人)

1. 姓 名：(中) 新拜爾帝斯股份有限公司

(英) NEWBIOTICS, INC.

代表人：(中) 1. 柴爾斯 海瑞克

(英) 1. HEADRICK, CHRIS C.

地 址：(中) 美國加州聖地牙哥索蘭多谷路一一七六〇號E室

(英) 11760 Sorrento Valley Road, Suite E, San Diego, CA 92121,
U.S.A.

國籍：(中英) 美國 U.S.A.

參、發明人：(共 3 人)

1. 姓 名：(中) 凡卡塔 多帕拉普迪

(英) DOPPALAPUDI, VENKATA RAMANA

地 址：(中) 美國加州聖地牙哥西海空大道一〇九八六號

(英) 10986 West Ocean Air Drive, #278, San Diego, CA 92130, U.
S. A.

2. 姓 名：(中) 瑪利亞 塞吉瓦

(英) SERGEEVA, MARIA V.

地 址：(中) 美國加州聖地牙哥西聖羅菲爾路一一三三八號

(英) 11338 West San Raphael Drwy., San Diego, CA 92130, U. S. A.

3. 姓 名：(中) 卡諾 貝洛駝

(英) BALLATORE, CARLO

地 址：(中) 美國加州聖地牙哥諾貝爾大道三九九〇號

(英) 3990 Nobel Drive, #204, San Diego, CA 92122, USA

肆、聲明事項：

◎本案申請前已向下列國家（地區）申請專利 ☐ 主張國際優先權：

【格式請依：受理國家（地區）；申請日；申請案號數 順序註記】

1. 美國 ; 2002/11/14 ; 60/426,771 ☒ 有主張優先權

(1)

玖、發明說明

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於以酵素催化性治療活化 (ECTATM) 之療法，特定言之，是針對表現肽脫甲醯酶 ("PDF") 之微生物的 ECTA 療法。

【先前技術】

本說明文中，各種文獻係以第一作者及日期（括號內）、專利號碼或公告號碼表示。完整的書目則列於本申請案的卷末。爲了更完整的說明本申請案之最新技藝，此類參考文獻之說明文在此并入參考文獻。

酵素催化性治療活化 (ECTATM) 治療方法是一種提供目標酵素之獨特前藥受質的新穎技藝。其與習見療法不同之處，在於 ECTA 前藥物既不能抑制目標酵素亦無法使其不可逆的去活性。見美國專利第 6,159,706；6,245,750 及 6,339,151B1 號。亦可參閱 PCT/US98/16607；PCT/US99/01332；以及 PCT/US00/20008。

相較於在無表現目標酵素之環境下，目標酵素在標的細胞或表現目標酵素之環境（受感染之細胞）中可將 ECTA 前藥轉化成毒素。由於此化合物不需要導向藥劑，彼可直接應用於局部性或全身性治療。

在多數情況下，ECTA 分子不會自發性地產生（缺乏目標酵素活化）細胞毒性產物。彼並不會被非目標酵素所活化而對非疾病的或未受感染的組織產生毒性。表 1 總結

(2)

ECTA 分子及 酵 素 活 化 劑 之 特 性 。

表 1

ECTA 目標酵素之特性	ECTA 前藥物之特性
傳染病：必須僅存在於目標細胞（包括疾病的細胞、細菌、真菌等）。必須有酵素以持續其存活力或致病性。	（它本身或前藥物）必須能夠進入細胞。
必須將一個類似天然反應基質（ECTA 分子）的分子水解成具有細胞毒的毒物。類似物僅須具有酵素/受質交互作用專一性以及酵素在細胞內加工受質產生毒物能力之顯著性。	至少一個酶催化反應形成之產物必須視具有細胞毒性。然而，ECTA 仍保持不活性的形式直到被目標酵 素活化為止。化合物必須對目標酵 素具有高度專一性，即使被非目標 酵素轉變，若產物不具毒性則仍可 接受。
必須不被 ECTA 分子、中間物、或反應產物去活化。	必須不抑制或去活化定向的酵素。

當植物、人或具農業價值的重要動物受細菌、病毒及真菌感染時，可能的 ECTA 目標酵素來源是在病源生物體僅有的（但不存在於宿主）代謝途徑。例如，有一些路徑包含的酵素僅能在細菌、真菌以及植物中發現而並不存在於哺乳動物細胞。實施例之一是合成必須要胺基酸（動物不能合成的胺基酸，必須攝取自食物）的酵素。

(3)

另一實施例是肽去甲醯酶 ("PDF", EC 3.5.1.88) , 其可在加長多胜鍵時催化 N-端 N-甲醯基甲硫胺酸之去甲醯基化作用。見 Meinne (1999) 。該酵素存在於細菌中並具有活性 (Meinzel et al, 1993) , 但於哺乳動物細胞中並無活性。最近在哺乳動物中已發現與細菌 PDF 序列同源的序列, 但其精確的功能仍是未知。見 Giglione (2000a) 及 (2000b) 。

由於人類中並無此酵素的活性, 所以可作為抗菌藥物 (通常是 PDF 抑制劑) 之目標。二硫基化合物能作為非專一性 PDF 抑制劑, 其硫氫基可與活性部位之金屬離子配位。見 Rajagopalan (1997) 。就 1,2-或 1,3-二硫基化合物而言, 其可緩慢的從活性部位萃取金屬離子。此作用係由於其分別各自形成內含兩個金屬-硫鍵的穩定 5-或 6-員環所致。

用合理設計出的組合基因庫可選擇基於此機制之 PDF 抑制劑 (其一般結構 $\text{HS-CH}_2\text{-CH(R}_a\text{)-CONH-CH(R}_b\text{)-CONH-R}_c$) 。見 Wei et al. (2000a) 。由此基因庫選出之最理想抑制劑具有 n-Bu 基團作為 R_a , $\text{R}_b = \text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-NH-C(=NH)-NH}_2$, 而 R_c 為 2-萘。此化合物係作為競爭性 PDF 抑制劑, 其 K_i 為 15 微米。

Jayasekera et al. (2000) 描述以一系列結構上相關於習知之抗膽固醇血症的促甲狀腺酸的非胜肽化合物來抑制大腸桿菌 PDF。放線醯胺素據稱是有效的 PDF 抑制劑

(4)

，其活性在次毫微莫耳 Ki 範圍。見 Chen (2000) 和 Guilloteau et al (2002)。

Wei, et al. (2000a) 提及 5-氟脫氧尿核苷之 5'-二肽基衍生物在經 PDF 催化之去甲醯基作用下可釋放出小分子 (5-氟脫氧尿核苷 (5-F-dUrd))。在以純化的 PDF 或大腸桿菌粗溶解液催化之受質反應中可監測到 5-F-dUrd 形成。當施用至大腸桿菌時該化合物只有些微的細胞毒性 ($IC_{50} > 100$ 微莫耳濃度)。細菌中 PDF 之表現增加 (使用 PDF-過度表現之品系) 並不會提昇藥效。化合物對於革蘭氏陽性菌之效力則略微增加 ($IC_{50} = 50$ 微莫耳濃度)。

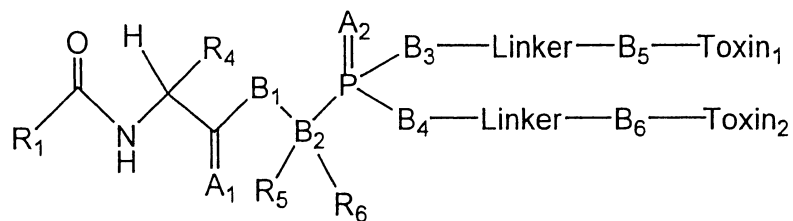
其它種抑制劑則描述於 Apfel et al. (2000)、Apfel et al. (2001a)、Apfel et al. (2001b)、Clements et al. (2001)、Durand et al. (1999)、Chen et al. (2000)、Yuan et al (2001) 及 Wise et al (2002)。

然而，迄今尚未出現任何本身非為抑制劑、但可經 PDF 選擇而有效地活化成毒素之化合物或藥劑。本發明可滿足此一需要並提供相關的優點。

【發明內容】

因此，本發明之特色之一係關於一種化合物，其構造為：

(5)



其中：

R_1 為氫或 CH_3 ；

R_4 係選自：經取代的或未經取代的芳基團、經取代的或未經取代的、飽和的或不飽和的 C_1 - C_6 烷基團以及 $CH_2CH_2XCH_3$ ，其中 X 係選自：氧、硫以及 CH_2 ；

R_5 以及 R_6 係獨立係選自：氫、經取代的或未經取代的 C_5 - C_{14} 芳基團以及經取代的或未經取代的、飽和的或不飽和的 C_1 - C_6 烷基團；

$=A_1$ 或為不存在，此時其所附著的碳變成 CH_2 基團，或 A_1 係選自：氧、硫、 NH 、 NOH 、 NR_8 、以及 CR_9R_{10} ，其中 R_8 、 R_9 以及 R_{10} 係獨立選自：氫和 C_1 - C_6 烷基；

$=A_2$ 或為不存在，此時其所附著的碳變成 CH_2 基團，或 A_2 係選自：氧、硫、 NH 、 NOH 以及 NR_{11} ，其中 R_{11} 係選自：氫和 C_1 - C_6 烷基；

B_1 或為不存在或係選自：氧、硫、 NR_{12} 以及 $CR_{13}R_{14}$ ，其中 R_{12} 、 R_{13} 以及 R_{14} 係獨立選自：氫和經取代的或未經取代的飽和的或不飽和的烷基；

B_2 係選自：碳、氧氣和氮，其中當 B_2 為氧時， R_5 及 R_6 不存在，當 B_2 為氮時， R_5 或 R_6 從缺；

B_1 可經由 R_{12} 、 R_{13} 或 R_{14} 相聯至 R_5 或 R_6 以形成飽和的或不飽和的、經取代的或未經取代的環，該環可含有 0-3

(6)

個氮原子及 / 或 0-1 個氧或硫原子；

B_3 以及 B_4 係相互獨立可相同或不同以及可不存在或係選自：氧、硫、NH、 CH_2 、 NR_{17} 、 CHR_{18} 、 $CR_{21}R_{22}$ ，以及當連結子 - B_5 -毒素、或連結子 2- B_6 -毒素 2 從缺時其為 OR_{15} 、 SR_{16} 、 $NR_{19}R_{20}$ 以及 $CR_{23}R_{24}R_{25}$ ，其中 R_{15} - R_{25} 係獨立選自：氫、經取代的或未經取代的、飽和的或不飽和的烷基以及經取代的或未經取代的芳基；

B_3 或 B_4 可為經由一個 R_{15} - R_{25} 相聯至 B_1 、 R_5 或 R_6 以形成飽和的或不飽和的、經取代的或未經取代的環，該環含有一個磷原子以及該環可含有 0-3 個氮原子及 / 或 0-1 個氧或硫原子；

B_5 以及 B_6 係獨立為相同或不同以及可不存在或係選自：氧、硫、 $OC(=O)$ 、 $SC(=S)$ 、 $OC(=O)NH$ 、

$SC(=S)NH$ 、 $OC(=S)NH$ 、 $N(R_{26})$ 以及

$C(R_{27})(R_{28})$ ，其中 R_{26} 、 R_{27} 以及 R_{28} 係獨立選自：氫和經取代的或未經取代的、飽和的或不飽和的烷基；

連結子，以及連結子 2 係獨立為相同或不同以及可不存在或存在，若存在的話亦無蹤跡；以及

毒素之一，或毒素 2 可不存在。

本發明的一個特色中， R_1 為氫以及 R_4 為 $CH_2CH_2XCH_3$ ，以及 X 係選自： CH_2 、硫以及氧。

本發明的一個特色中， X 為硫。

本發明的一個特色中， A 以及 A_2 均為氧。

本發明的一個特色中，連結子 - B_5 -毒素從缺。

(7)

本發明的一個特色中， B_1 從缺。

本發明的一個特色中， B_2 為碳。

本發明的一個特色中， B_2 為氮。

本發明的一個特色中， B_3 係選自： OH 、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 以及 OC_6H_5 。

本發明的一個特色中，連結子 2 係選自：經取代的或未經取代的烯丙基；

經取代的或未經取代的苺基；

$C_6H_4CH_2X_1C(=X_2)$ ，其中 X_1 以及 X_2 係獨立選自：氧、硫以及 $N(R_{29})$ ，其中 R_{29} 為氫或 C_1-C_6 烷基；和
 $(CH_2)_nN(R)C(=O)$ ，其中 n 為 2 或 3 以及 R 為氫或 C_1-C_6 烷基。

本發明的一個特色中， B_6 從缺。

本發明的一個特色中，在上述任何化合物中，毒素、以及毒素 2 係獨立選自：胺基糖苷、絲裂黴素、CC-1065、杜卡黴素 (ducarmycin)、環丙基吡啶、環丙基苯並吡啶類似物、蒽土黴素、長春花屬生物鹼、絲裂黴素、博來黴素、盤尼西林、頭芽孢菌素、苯唑西林、卡波潘能 (carbopenems)、四環素、氯黴素、大環內酯、環絲氨酸、氟喹啉酮 (包括但非限於：環丙沙星以及諾氟沙星)、糖肽、胺基糖苷、肽抗生素、噁唑啉酮、喹啉酮、磺胺、細胞毒的核苷、喋啶家族、氮芥、多鹵化的聯芳基醚類、達因類 (diynenes)、鬼臼毒素、類紅豆杉醇、阿霉素、洋紅黴素、柔紅霉素、胺基蝶呤、甲胺蝶呤、胺基甲基葉

(8)

酸、二氯甲烷蝶呤、絲裂黴素 C、泊非霉素、6-巯嘌呤、阿糖胞苷、鬼臼毒素、鬼臼亞乙苷、磷酸依托泊苷、苯丙氨酸氮芥、長春地辛、長春花鹼、長春新鹼、長春西定、長春素、雙-(2-氯乙基)胺、三氯卡班(carban)、三氯羰苯胺、三氯生、三溴柳基苯胺、磺胺甲基嘧啶、氯黴素、環絲氨酸、三甲氧苄胺嘧啶、氯己定、六氯酚、分丁克羅(fenticlor)、5-氯-2-(2,4-二氯啡氧基)酚、4-氯-2-(2,4-二氯啡氧基)酚、3-氯-2-(2,4-二氯啡氧基)酚、6-氯-2-(2,4-二氯啡氧基)酚、5-氯-2-(3,4-二氯啡氧基)酚、5-氯-2-(2,5-二氯啡氧基)酚、5-氯-2-(3,5-二氯啡氧基)酚、2,2'-二羥基聯苯醚、鹵化的2-羥基苯甲酮、2-氯硫基吡啶-N-氧化物、康布塔斯達廷(combretastin)、康多絲辛(camptothecin)、亞波多林汀(apoptolidene)、順式鉑氨、埃坡黴素、鹵化軟骨膠、半星芒體林、甲硫苄胺嘧啶、毒胡蘿蔔素、氯喹、4-羥基環磷醯胺、鬼臼亞乙苷、秋水仙素、苯丙氨酸氮芥、槲皮素、染料木黃酮、爾巴斯達廷(erbstatin)、N-(4-胺基丁基)-5-氯-2-萘-磺胺、吡啶基嘧啶-2-酮、異喹啉基嘧啶酮-2-酮、異搏定、奎寧、奎尼定、以及氯喹寧。

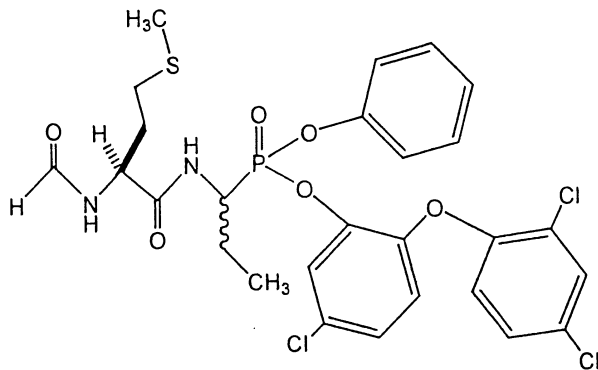
本發明的一個特色中，毒素2為喹啉酮。

本發明的一個特色中，毒素2係選自：三氯生、環丙基吡啶、環丙基苯並吡啶以及其衍生物。

本發明的一個特色中，B₁相聯至R₅或R₆以形成環。

(9)

本發明的一個特色中，化合物具有以下之構造：



本發明的一個特色中，組成物包含本文之化合物及醫藥學上可接受的載體。

本發明的一個特色是治療因表現肽脫甲醯酶微生物所引起的疾病之方法，其係包含投用有效量之如申請專利範圍第 1 項之化合物至需要它治療的病人。

本發明係提供一種藉由使微生物與有效量之上述化合物接觸而抑制表現 PDF 之微生物生長的方法。本方法可抑制革蘭氏陽性或革蘭氏陰性菌生長，例如：金黃葡萄球菌、表皮葡萄球菌、肺炎克氏桿菌、產氣腸桿菌、陰溝腸桿菌、鼻黏膜炎莫拉氏菌、大腸桿菌、糞便腸球菌、流感嗜血菌以或銅綠假單孢菌。本方法可在活體外、體外及活體內進行。本發明進一步的提供一種對患者投用或遞送有效量之上述化合物以便使感染表現 PDF 微生物之患者的症狀緩和之方法。本文中"患者"之定義包括哺乳動物例如人類病患。

本發明亦提供包含上述前藥化合物、單獨或結合其它化合物或其它藥劑（習知的或尚未發現的）、以及載體之組成物。特色之一中，載體是另一分子或惰性物質，例如

(10)

平板或管柱。另一具體實施例中，載體為醫藥學上可接受的載體。醫藥學上可接受的載體為已知的技藝，並簡短的說明如上。

發明之詳細描述

圖表之概述

表 1 列出 ECTA 目標酵素以及 ECTA 前藥之非限制的特徵。

表 2 為表現 PDF 以及因此預期對本發明之化合物具有易受感性之細菌的非限制性名單。

討論

除非特別說明，施行本發明將使用有機化學、藥理學、分子生物學（包括重組技藝）、細胞生物學、生化學、以及免疫學等習見的技藝。該技藝充分地說於以下之文獻，例如 "MOLECULAR CLONING : A LABORATORY MANUAL" Second Edition (Sambrook et al., 1989); "OLIGONUCLEOTIDE SYNTHESIS" (M.J. Gait, ed., 1984); "ANIMAL CELL CULTURE" (R.I. Freshney, ed., 1987); 系列的 "METHODS IN ENZYMOLOGY" (Academic Press, Inc.); "HANDBOOK OF EXPERIMENTAL IMMUNOLOGY" (D.M. Weir & C.C. Blackwell, eds.); "GENE TRANSFER VECTORS FOR MAMMALIAN CELLS" (J.M. Miller & M.P. Calos, eds., 1987); "CURRENT PROTOCOLS IN

(11)

MOLECULAR BIOLOGY" (F.M. Ausubel et al., eds., 1987, 以及更新的期刊); "PCR: THE POLYMERASE CHAIN REACTION" (Mullis et al., eds., 1994); "CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY" (J.E. Coligan et al., eds., 1991); J. March, ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY: REACTIONS, MECHANISMS AND STRUCTURE, 4th edition (John Wiley & Sons, NY (1992))。

本文中某些術語之定義如下。

除非文章中另行說明，單數形式"a"、"an"以及"the"均包括複數之含義。例如本文之術語"a 細胞"包括複數的細胞、包括其混合物。

本文之術語"包含"係指組成物及方法包括列舉的元件，但不排除其它元件。在定義組成物以及方法時，"本質上其係由...組成"應排除組合中任何其它本質上顯著的元件。因此，一種本質上由本文定義之元件組成之組成物，其元件定義將不排除源自分離以及純化方法及醫藥學上可接受的載體，例如磷酸鹽緩衝生理食鹽水、防腐劑等之微量污染物。"其係由...組成"，應排除在投用本發明組成物時其它成分以及實質方法步驟中之微量元素以外的其它成分。由這些暫定術語定義之具體實施例均屬於本發明之範疇。

本文之術語"擬肽的"意指內含能模擬或拮抗。

本文之術語"取代基"包括（但並非限制於）：鹵素原子以及鹵素甲基團，例如 CF_3 以及 CCl_3 ；含氧基團，例

(12)

如：酮基、羥基、羧基、羧烷基、烷氧基、烷醯基、烷醯基氧基、芳氧基、芳醯基、以及芳醯基氧基；含氮基團，例如：胺基、烷基胺基、二烷基胺基、氰基、疊氮化物以及硝基；含硫基團，例如：硫醇、烷基硫基、磺醯基以及亞砷；本身可經取代之雜環基團；本身可經取代之烷基團；以及本身可經取代之芳基團。

本文之術語"烷基"意指任何分支的或未分支的、環狀或非環狀的、飽和的（烷基）或不飽和的（烯基或炔基）烴基自由基。本術語並不限於單價的自由基。環狀之烷基團為 C_3 至 C_{12} 。非環狀之烷基團為 C_1 至 C_{16} 。本文之術語"烷氧基"及"芳氧基"分別係指烷基-O及芳基-O基團。"烷醯基"及"芳醯基"基團分別係指烷基-CO及芳基-CO。

本文之術語"芳基"意指芳族基團，例如：苯基或萘基，或內含一個或多個雜原子之雜原子基團，例如：吡啶基、吡咯基、呋喃甲醯基以及噻吩基。本術語並不限於單價的自由基。本文之術語"芳族"意指其特徵在於具有至少一個苯環之任何化合物。芳族基團實施例包括（但非限於）苯及萘。

烷基及芳基團可經取代或未經取代。本文之術語"脂肪族的"意指其特徵在於任何以及所有具有直鏈碳原子的含氫及碳之有機化合物。"脂肪族的"亞類化合物包括：烷、烯、以及炔。脂肪族的基團可為未經取代的或經取代。例如參閱以上之取代基。

本文之術語"脂環族的"意指及涵蓋任何以及所有相聯

(13)

形成一個或多個環之含氫及碳原子有機化合物。脂肪族的基團可為未經取代的或經取代。例如參閱以上之取代基。

"環烷基"包括飽和的環基團，例如：環丙基、環丁基、或環戊基。本術語並不限於單價的自由基。環烷基團可為未經取代的或經取代。例如參閱以上之取代基。

本文之術語"烯基"意指具有一個或多個不飽和位點之正常烯基、支鏈烯基以及環烯基團。"炔基"包括直鏈的或分支構型的炔鏈以及鏈上任何穩定點的一個或多個碳-碳參鍵，例如：乙炔基以及丙炔基。此類術語並不限於單價的自由基。烯基或炔基團可為未經取代的或經取代。例如參閱以上之取代基。

"較低碳數烷基"係指上述寬廣定義之烷基團中具有 1 至 6 個碳之正常較低碳數烷基，以及具有 3 至 6 個碳之較低支鏈烷基（例如：2-甲基-丙烷）及環烷基團。同樣地，"較低烯基"的定義是具有 2 至 6 個碳之正常較低烯基團，以及具有 3 至 6 個碳之支鏈及環的較低烯基團。同樣地"較低炔基"的定義是具有 2 至 6 個碳之正常較低炔基團，以及具有 4 至 6 個碳之支鏈的較低炔基團。較低碳數烷基、烯基及炔基團可為未經取代的或經取代。例如參閱以上之取代基。

"鹵烷基"包括具有特定數目的碳原子、經一個或多個鹵素取代（例如 $-C_v-F_w$ ， $v=1$ 至 3 以及 $w=1$ 至 $(2v+1)$ ）的分支及直鏈的飽和脂肪族烴基團。本文術語之鹵烷基並不限於單價的自由基。"鹵素"包括：氟、氯、溴、碘以及

(14)

斯達廷 (statine)。鹵烷基之實施例包括 (但非限於) : 三氟甲基、三氯甲基、五氟乙基、以及五氯乙基。

本文之術語 "雜環的" 意指環結構中有一種以上原子之任何化合物。雜環化合物之實施例包括 (但非限於) : 吡啶、呋喃以及吡咯。本術語並不限於單價的自由基。雜環基團可為未經取代的或經取代。參閱以上取代基之定義。

本文之術語 "前藥" 係指相較於藥物代謝物對於標的細胞之細胞毒性較低、且能經酵素活化或轉換成更具活性之醫藥學活性劑或物質的前驅物或衍生物形式。

"組成物" 係指活性劑及另一惰性 (例如表面劑、塗劑、可偵測的藥劑或標記或醫藥學上可接受的載體) 或活性化合物或組成物 (例如佐劑或消毒劑) 之組合。

"藥學組成物" 意指包括活性劑與惰性或活性載體之組合, 以便組成物適用於活體外、活體內或體外的診斷或治療。

本文之術語 "預防上之有效量" 意指能有效預防患者感染或植物遭寄生蟲侵擾的劑量。

本文之術語 "醫藥學上可接受的載體" 及 "生物可接受的載體" 意指一種投用劑量足以遞送有效量化合物之載體或佐劑, 當其與本發明化合物共同投用於宿主或病患後並不會破壞本發明化合物之醫藥學活性且為無毒。適當的載體實施例包括: 液相載體, 例如滅菌溶液或水溶液、及下述之溶液。醫藥學上可接受的載體實施例包括任何醫藥上的標準載體, 例如: 磷酸鹽緩衝生理食鹽水溶液、水、以

(15)

及乳狀液，例如油狀物/水或水/油乳劑；以及各種溼化劑。組成物亦可包括穩定劑及防腐劑。載體、穩定劑以及佐劑之實施例，參閱 Martin, REMINGTON' S PHARM.SCI., 15th Ed. (Mack Publ.Co., Easton (1975))。

本文之術語"治療"意指以下任何一種：緩和病患特定病症之症狀；增進相關於特定病症測量的確定性；或降低微生物的數目。熟悉此技藝的專業人士可依降低微生物的負荷或緩和相關感染的症狀測定宿主是否已"治癒"。

本文之術語"醫藥學上可接受的鹽、前藥或衍生物"係關於任何醫藥學上可接受的鹽、酯、醚、酯鹽、溶合物，例如：乙醇化物，或其它本發明化合物之衍生物，彼投用至患者後能提供（直接的或間接的）本發明化合物或其活性代謝物或殘基。以尤佳的衍生物及前藥物投用至哺乳動物時可增加本發明化合物之生物效性（例如口服投用化合物可立即被血液吸收）或增進母化合物傳輸至生物的隔間（例如腦或淋巴系統）。

本發明化合物之鹽類可源自無機或有機酸及鹼。酸之實施例包括：氯化氫、溴化氫、硫酸、硝酸、高氯酸、反丁烯二酸、順丁烯二酸、磷酸、乙醇酸、乳酸、水楊酸、琥珀酸、甲苯對-磺酸、酒石酸、乙酸、檸檬酸、甲磺酸、乙磺酸、甲酸、苯甲酸、丙二酸、萘-2-磺酸以及苯磺酸。可使用本身不是醫藥學上可接受的其它酸（例如草酸）製備得到本發明之化合物及其醫藥學上可接受的酸之加成鹽的適用之中間物鹽類。鹼之實施例包括：鹼金屬（例

(16)

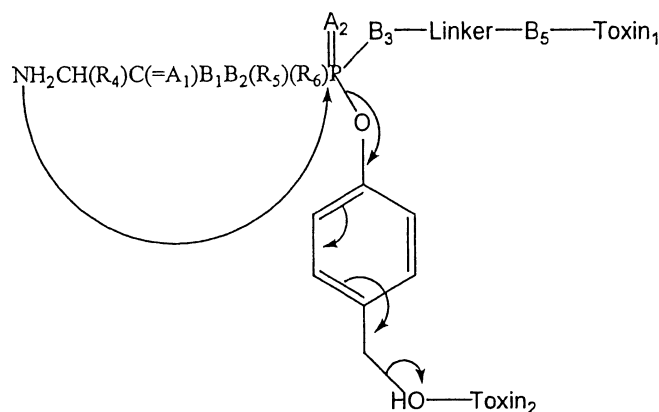
如鈉) 氫氧化物、鹼土金屬(例如鎂) 氫氧化物、氨水、式 NW_4^+ 之化合物，其中 W 是 C_{1-4} 烷基以及 THAM (2-胺基-2-羥甲基-1,3-丙烷二醇)。

鹽類之實施例包括：乙酸鹽、己二酸鹽、褐藻酸鹽、天門冬胺酸鹽、苯甲酸鹽、苯磺酸鹽、重硫酸鹽、丁酸鹽、檸檬酸鹽、樟腦酸鹽、樟腦磺酸鹽、環戊烷丙酸鹽、二葡萄糖酸鹽、十二烷基硫酸鹽、乙烷磺酸鹽、反丁烯二酸鹽、氟庚酸鹽、磷酸甘油、半硫酸鹽、庚酸鹽、己酸鹽、氯化氫、溴化氫、碘化氫、2-羥基乙烷磺酸鹽、乳酸鹽、順丁烯二酸鹽、甲磺酸鹽、2-萘磺酸鹽、菸鹼酸鹽、草酸鹽、棕櫚酸鹽、果膠質酸鹽、高硫酸鹽、苯基丙酸鹽、苦味酸鹽、叔戊酸鹽、丙酸鹽、琥珀酸鹽、酒石酸鹽、硫氰酸鹽、甲苯磺醯鹽以及十一酸鹽。其它鹽類之實施例包括：本發明化合物之陰離子與適當陽離子，例如： Na^+ 、 Li^+ 、 NH_4^+ 、以及 NW_4^+ (其中 W 為 C_{1-4} 烷基團)。

用於治療時，本發明化合物之鹽類是醫藥學上可接受的鹽類。然而，亦可使用非醫藥學上可接受的酸及鹼之鹽類，例如用於製備或純化醫藥學上可接受的化合物或用於降低植物微生物寄生蟲侵擾。

本文之術語“無蹤跡的連結子”意指介於單一分子二個部份之間の間隔子或連接子，當特定的鍵結連結於分子二個部份分子之間時，連接子仍可附著至分子的第二部分，消除後不會留下蹤跡。檢查下列非限制的實施例可容易地觀察到此無蹤跡的連結子：

(17)



一旦 PDF 使前藥物去甲醯基化顯露出胺基，此胺基之氮可攻擊磷以形成具有去除含氧基團之六員環，彼可進行半醯甲基化物重排作用因而釋放出毒素而不會殘留微量之連結子部分，如此使連結子"了無痕跡"。基於本揭示其它無痕跡之連結子對熟悉此技藝的專業人士而言將是顯而易見的以及屬於本發明範圍之內。參閱例如，de Groot et al. (2000)。

本文之術語"有效量"係包括在治療上或預防上有效之數量。意指當單一治療或結合其它藥劑時，能有效治療或預防病患感染或植物寄生蟲侵擾的數量。

微生物"抑制生長"係指與藥劑接觸後，比未接觸藥劑之相同對照組微生物更能降低該微生物之增殖速率。

"對象"可為任何生命體、植物或動物，其可為表現 PDF 之微生物的直接或間接宿主。因此本發明範圍之對象包括（並非限制）：作物例如玉米、大豆、穀物、觀賞植物、樹木等，以及動物例如（並非限制）：魚類、貝類、鳥類、哺乳動物、以及人類。哺乳動物包括（但非限於）：齧齒動物、猴子、家畜、運動動物、寵物及人類。

(18)

本文之 "毒素以及毒素 2" 係各自為活化酵素活化後之毒物，以及可為相同或不同。一般而言，彼各自意指適用於治療或防止因表達 PDF 的病理生物體引起植物或動物傷害之任何化學品。該化學品包括（而非限制）：驅蟲劑、抗菌素包括抗生素以及合成的化合物、抗真菌劑、抗癌劑、抗原生動物劑等。據瞭解，特色之一中，取決於前藥物之構造以及釋放活性物種之機制，"毒素" 可包含 B₃、B₄、B₅ 或 B₆。實施例之一可參閱圖 1，其中氧附著的 "Tox" 基團實際上是實際的毒素（三氫生）實際上的成分（作為羥基）。一些化學品特定的實施例可包含毒素、以及毒素 2，其為胺基糖苷、絲裂黴素、CC-1065、杜卡黴素（ducarmycin）、丙基吡啶、環丙基苯並吡啶類似物、蔥土黴素、長春花生物鹼、絲裂黴素、博來黴素、盤尼西林、頭芽孢菌素、苯唑西林、卡波潘能（carbopenems）、四環素、氯黴素、大環內酯、環絲氨酸、氟喹啉酮（包括，但非限於：環丙沙星以及諾氟沙星）、糖肽、胺基糖苷、肽抗生素、喹唑啉酮、喹啉酮、磺胺、細胞毒的核苷、嘧啶家族、氮芥、多鹵化的聯芳基醚類、達因類（diynenes）、鬼臼毒素、類紅豆杉醇、阿霉素、洋紅黴素、柔紅霉素、胺基蝶呤、甲胺蝶呤、胺基甲基葉酸、二氯甲胺蝶呤、絲裂黴素 C、泊非霉素、6-巰嘌呤、阿糖胞苷、鬼臼毒素、鬼臼亞乙苷、磷酸依托泊苷、苯丙氨酸氮芥、長春地辛、長春花鹼、長春新鹼、長春西定、長春素、雙-（2-氯乙基）胺、三氯卡班（carban）、三氯羰苯胺、

(19)

三氯生、三溴柳基苯胺、磺胺甲基嘧啶、氯黴素、環絲氨酸、三甲氧苄胺嘧啶、氯己定、六氯酚、分丁克羅 (fenticlor)、5-氯-2-(2,4-二氯啡氧基) 酚、4-氯-2-(2,4-二氯啡氧基) 酚、3-氯-2-(2,4-二氯啡氧基) 酚、6-氯-2-(2,4-二氯啡氧基) 酚、5-氯-2-(3,4-二氯啡氧基) 酚、5-氯-2-(2,5-二氯啡氧基) 酚、5-氯-2-(3,5-二氯啡氧基) 酚、2,2'-二羥基聯苯醚、鹵化的 2-羥基苯甲酮、2-氯硫基吡啶-N-氧化物、康布塔斯達廷 (combretastin)、康多絲辛 (camptothecin)、亞波多林汀 (apoptolidene)、順式鉑氨、埃坡黴素、鹵化軟骨膠、半星芒體林、甲硫苄胺嘧啶、毒胡蘿蔔素、氯喹、4-羥基環磷醯胺、鬼臼亞乙苷、秋水仙素、苯丙氨酸氮芥、槲皮素、染料木黃酮、爾巴斯達廷 (erbstatin)、N-(4-胺基丁基)-5-氯-2-萘-磺胺、吡啶基嘧啶-2-酮、異喹啉基嘧啶酮-2-酮、異搏定、奎寧、奎尼定、以及氯喹。

PDF 是已被徹底研究過的酵素其晶體結構已被說明。Chan et al. (1997)。該酵素可於大腸桿菌 BL21 (DE3) 細胞中表現，Rajagopalan et al. (1997)。(1997) 本文作者以根據該文獻上之基因序列設計之引子用 PCR 分離大腸桿菌 def 基因。純化的酵素由於催化位點的 Fe^{2+} 被大氣中的氧快速氧化而不穩定。Rajagopalan et al. (1998)。避免酵素去活化的適當操作條件已有報導。Rajagopalan et al. (1997)。含 Zn^{2+} 及 Ni^{2+} 之 PDF 是穩定酵素，可在活體外評估酵素的催化性質。可使用簡單連

(20)

續比色法測定 PDF。Wei et al. (1997)。使用 N-甲醯基甲硫(丁)胺醯基白胺酸對-硝基苯胺作為受質。在 PDF 反應後耦合胺肽酶反應所釋放之對-硝基苯胺可用分光光度計在 405nm 下監測。

PDF 是一種理想的 ECTA 目標酵素。在細菌中具有活性，在人類宿主中則無活性。彼具有寬廣的受質專一性。去甲醯化作用會釋出甲硫胺酸(或另一胺基酸或可作為受質 R_3 之胺基酸類似物，例如：正白胺酸)之自由胺基，其後可進行親核攻擊反應。在合理設計的二肽或相當的受質擬肽斷片中，自由胺基攻擊受質上適當之磷基團位置，如此形成一個環分子並釋放毒素。受質可經最適化以增進環化。二肽受質反應範例之圖解如圖 1。X 可為例如硫(甲硫胺酸)或 $-CH_2-$ (正白胺酸)。 R_1 及 R_2 為脂肪族自由基，其可依 PDF 發表的 SAR 數據選擇。Hu et al. (1998)。

本發明亦提供包含上述前藥化合物、單獨或結合其它化合物或其它藥劑(習知的或尚未發現的)、以及載體之組成物。特色之一中，載體是另一分子或惰性物質，例如平板或管柱。另一具體實施例中，載體為醫藥學上可接受的載體。醫藥學上可接受的載體為已知的技藝，並簡短的說明如上。

本發明亦提供包含上述前藥化合物、單獨或結合其它化合物或其它藥劑(習知的或尚未發現的)、以及載體之組成物。任何上述之化合物均可與載體合併，例如：醫藥

(21)

學上可接受的載體及或其它有效的藥劑，例如：抗生素。此類化合物以及組成物亦適用於結合習知的或尚未發現的治療劑及治療方法以增進藥物之治療或功效。

本發明亦提供藉由使微生物與有效量之上述化合物接觸以抑制表現 PDF 之微生物生長方法。偵測 PDF 表現之方法為已知技藝。參閱例如，Wei, et al. (1997)。該方法尤其是可用於抑制革蘭氏陽性及革蘭氏陰性菌之生長，例如：金黃葡萄球菌、表皮葡萄球菌、肺炎克氏桿菌、產氣腸桿菌、陰溝腸桿菌、黏膜炎莫拉氏菌、大腸桿菌、糞便腸球菌、流感嗜血菌以及銅綠假單孢菌，以及以下表 2 中確認之細菌。本方法可在活體外、體外及活體內進行。本發明進一步的對由表現 PDF 之微生物引起的感染症之患者投用或遞送有效量之上述化合物，提供緩和患者感染症狀之方法。本發明亦對由表現 PDF 之微生物引起的感染症之患者投用或遞送有效量之上述化合物，提供治療感染之方法。”患者”之定義如上，包括哺乳動物例如：人類病患。表現 PDF 之微生物的實施例以及由此類微生物感染引起的對應疾病及症狀，如以下之表 2。

(22)

表 2

表現 PDF 之微生物	感染引起疾病或症狀
革蘭氏陽性	
金黃葡萄球菌	主要的人類病原體、菌血症、肺炎
表皮葡萄球菌和其它凝固酶陰性的葡萄球菌	尿道感染、骨髓炎、菌血症
釀膿鏈球菌	菌血症、淋巴管炎、肺炎
肺炎鏈球菌	肺炎、中耳炎、鼻竇炎
無乳鏈球菌	初級菌血症、肺炎、心內膜炎、骨髓炎
革蘭氏陽性	
腸球菌	尿道感染、菌血症、心內膜炎、腹腔內及骨盆感染、腦膜炎
革蘭氏陰性	
淋病奈氏球菌	生殖器官的傳染、肝周炎
鼻黏膜炎莫拉氏菌	中耳炎、下呼吸道感染、肺炎、菌血症
空腸彎曲桿菌	急性的腸炎、急性的結腸炎、菌血症
腸道菌科（包括埃希氏菌屬、沙門氏菌屬、克雷白氏菌屬、腸桿菌）	腸內的感染、尿道感染、呼吸感染、菌血症
綠膿假單胞菌	心內膜炎、呼吸感染、菌血症、中樞神經系統感染
不動桿菌	呼吸道感染、菌血症、泌尿生殖器的感染
流感嗜血菌	腦膜炎、會厭軟骨炎、肺炎、菌血症

(23)

在臨床上使用前藥時，抗生素將依照現有的指導方針。劑量將與已使用的大多數其它抗生素相似。前藥估計的劑量將介於 100 微克至 100 毫克至 1 克，或每八小時一次、或一天一次為期一或二種週，或直到病患的感染性生物體測試呈陰性為止。

本發明之化合物預期之投用劑量為反映出前藥活性化合物之文獻劑量，並考量其分子量差異。因此，估計的前藥物劑量範圍介於 100 微克至 100 毫克至 1 克。

特色之一中，本發明包含對由表現 PDF 微生物引起的感染症施用有效量之受質前藥治療或保護植物之方法。

為了使用於治療植物之化合物有良好的分散及黏連，可有利用分散及黏連輔助劑配製化合物。適用的輔助劑為熟悉此技藝的專業人士所習知。

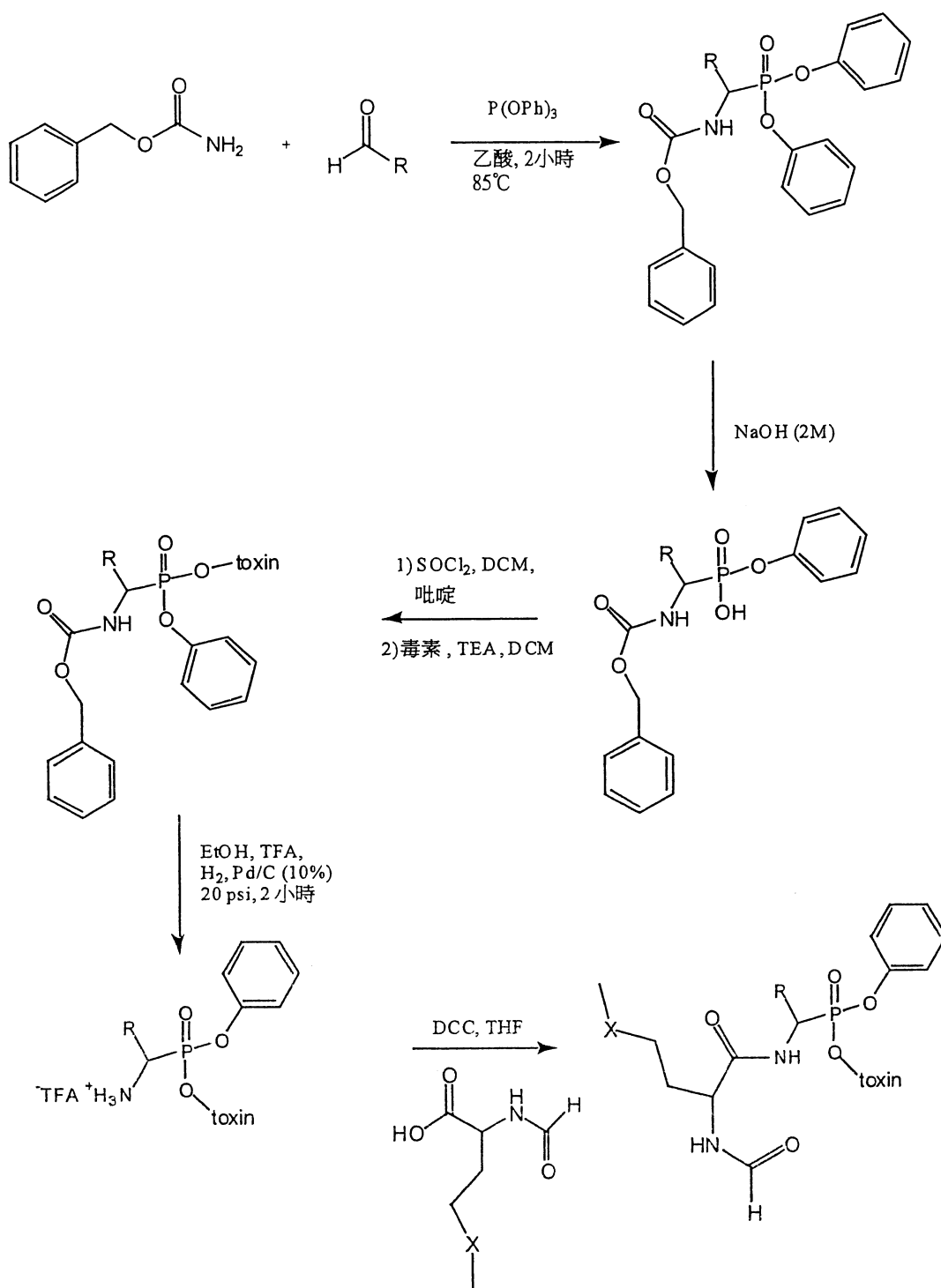
本發明亦可對植物的樹葉、根或土壤周圍或根施用有效量之前藥化合物，對受到表現 PDF 微生物感染之植物提供治療或保護之方法。此類個別化合物可與習知的殺蟲劑或殺蟲劑合併使用。

當本發明化合物用於治療或保護受到表現 PDF 微生物感染之植物時，可調製成可溼性粉劑、顆粒及其類似者、或可微封包於適當的介質中。其它製劑之實施例包括（但非限於）可溶解的粉末、可與水混合的顆粒、乾燥水懸劑、水溶性水懸劑、可與水混合的分散性粒劑、濃縮乳劑及懸浮水溶液。其它適用的製劑亦為熟悉此技藝的專業人士所習知。

(24)

本發明進一步提供一種對魚類投用有效量的前藥化合物以預防或治療由表現 PDF 微生物引起的感染之方法。投用化合物時可將化合物併入魚類食物。此外，魚類生活的水中可添加或內含化合物。最後，化合物可以適當的醫藥學的製劑投用至魚類。其它適用的製劑亦為熟悉此技藝的專業人士所習知。本發明進一步的提供產生前藥物之方法。一般而言該方法包含下列步驟：

(25)



上述圖表中，X 可為硫（甲硫胺酸）或 $-\text{CH}_2$ （正白胺酸）。R 可為之定義如上之 R_5 或 R_6 。反應條件及縮寫之全名可參見以下實驗的實施例。

本發明提供一種藉由使內含表現 PDF 微生物之樣本

(26)

與有效量之候選化合物接觸而確認可能抑制表現 PDF 生物體生長之治療劑的方法。在各樣本中，將相同的微生物與本發明有效量之前藥接觸。若藥劑之抗增殖能力與本文描述之前藥類似，則其為適用於抑制表現 PDF 微生物生長或殺死表現 PDF 微生物之候選藥劑。

將前藥在適於 PDF 活化前藥之條件下與樣本接觸，然後測定樣本之生長抑制或微生物的死亡。此外，可測試樣本中 PDF 受質反應副產品之存在。將不同量之受質在可有效地使 PDF 從細胞釋放毒素量的時間下與表現 PDF 之微生物接觸，溶解細菌並使用已知技藝的方法分析分析物（例如：高效能液相色譜法（"HPLC"）），以確認反應產物。

將各種濃度之候選藥劑與樣品接觸以測定藥劑的最理想有效濃度。因此，特色之一中，本發明係關於發現藥劑，並使用彼作為選擇 PDF 底物。

本發明亦提供內含在此描述之前藥物以及進行篩選必要說明之組套。

本發明方法可在活體外、體外的或活體內進行。在動物例如：老鼠或提供合宜的動物模式系統之老鼠，活體內進行本發明，可用於臨床測試治療劑或前藥之前。此系統中，相較於未經處理的受感染動物，若可降低微生物的負荷或改善感染症狀，則有可能是成功的前藥。亦可進行未感染的細胞或動物之負控制組實驗，以提供比對。

當進行活體內實驗時，有效量的候選前藥可投用或遞

(27)

送於動物。本文之術語”投用”於活體內以及體外係指提供患者有效量之候選前藥以有效降低微生物的負荷。此類實例中，藥劑或前藥可與醫藥學上可接受的載體投用。本發明之藥劑、前藥物以及組成物可用於製作藥劑以及依據習見的程序投藥，例如：有效成份之藥學組成物，治療人類及其它動物。

藥學組成物之投用方法是一般熟悉此技藝的專業人士熟知的方法，包括（但非限於）：微注射、靜脈內的或不經腸道的方法給藥。組成物可以局部、口服、或局部以及靜脈內、皮下、或肌肉內投藥。可經治療療程連續或間歇投藥。最有效的投藥方式及劑量之決定方法為熟悉此技藝的專業人士所熟知，其係視治療之前藥、治療之目的、治療之微生物、感染之嚴重性、以及受治療之患者而異。可由治療醫師選擇單一或多重投藥進行之劑量水準以及模式。例如，組成物可投用至患有抗生素抗性細菌感染的患者。此情況下，投用組成物的有效”治療量”可預防及至少局部遏止微生物的生長以及增殖以及改善相關之感染症狀。

然而，前藥物可投用於病患或體弱的或具有感染風險之個人。此類具體實施例中，投用”預防上之有效量”組成物可維持細胞存活力及接近在感染前之功能水準。

活體內投藥可為單一劑量、連續或間歇治療療程。決定最有效的投藥方式及劑量之方法為熟悉此技藝的專業人士所熟知，視治療之組成物、治療之目的、治療之標的細胞、以及治療之患者而變化。可由治療醫師選擇單一或多

(28)

重投藥進行之劑量水準以及模式。適當的劑量製劑以及投用藥劑之方法如下文。

藥學組成物可用口服、鼻內、非經腸或吸氣治療的方式投用，其形式可為藥片、錠劑、顆粒、膠囊、藥丸、安瓿、栓劑或氣溶膠形式。彼亦可為懸浮液、溶液以有效成份之水溶性或非水溶性稀釋劑之乳狀液、糖漿、顆粒或粉末等形式。除了本發明藥劑之外，藥學組成物亦可含有其它醫藥學上活性化合物或多數本發明化合物。

更明確的說本發明有效成份之藥劑，可用任何適當的路徑，包括：口服、直腸、鼻腔、局部的（包括經皮、氣溶膠、口頰的以及舌下的）、陰道、非經腸的（包括皮下、肌肉內、靜脈內的以及皮膚內的）以及肺部的投用治療。投用路徑將視病患之症狀以及年齡，及治療的疾病而變化。

在理想狀況下，在投用藥劑時須能使活性化合物之濃度在疾病位點達到最高。達成之方式為，例如：藉由靜脈注射，視需要內含生理食鹽水之藥劑，或口服投用，例如：內含有效成份之藥片、膠囊或糖漿。連續灌入可使藥劑的血液含量令人滿意以便維持患病組織內有效成份的治療量。可使用操作結合物作為治療性組合，其係因在藥劑中各個成份之使用總劑量比單獨使用各個治療化合物或藥物之劑量低，從而降低不良副作用。

各藥劑可單獨投用，但以藥學製劑較佳，其中包含至少一個有效成份（定義如上）和一種或多種醫藥學上可接

(29)

受的載體，視需要包含其它治療劑。各載體必須是”可接受的”，意指其可與調配物的其他成分相容而對病患無害。

製劑係指包括適用於口服、直腸、鼻腔、局部（包括經皮、口頰以及舌下）、陰道、非經腸（包括皮下、肌肉內、靜脈內以及皮膚內）以及肺部投藥的製劑。製劑可為方便使用的單位劑量形式且可用製藥業已知的任何方法製備。該方法包括將有效成份與載體結合之步驟，以構成一個或多個附件成分。一般而言，製備製劑時係將有效成份與液體載體或細分的固體載體或兩者均勻地及緊密地結合，然後視須要將產物成型。

適用於口服投藥的本發明製劑可為分離單位，例如：膠囊、澱粉囊劑或藥片，各自內含預定量的有效成份；可為粉末或顆粒；可為溶液或懸浮液之水溶性或非水溶性液體；或水包油液體乳劑或油包水液體乳劑。有效成份亦可為食團、藥糖劑或糊狀醬料。

可視需要與一種或多種附件成分經壓縮或模製製作藥片。可經適當的機器壓縮成可流動形式的有效成份，例如：粉末或顆粒，製備壓縮的藥片，可視需要的混合結合劑（例如：聚乙烯吡咯酮、明膠、羥基丙基甲基纖維素）、潤滑劑、惰性稀釋劑、防腐劑、崩解劑（例如，鈉澱粉乙醇酸鹽、交聯的聚乙烯吡咯酮、交聯的鈉羧甲基纖維素）界面活性劑或分散藥劑。可用適當的機器將粉末狀的化合物混合物用惰性液體稀釋劑潮濕化模製製作模製藥片。藥

(30)

片可視需要塗覆，使用例如各種比例之羥基丙基甲基纖維素提供所要求的釋放輪廓，及可為調製成延釋或控制釋放有效成份之藥片。藥片可視需要提供腸內的塗層，提供腸內（而非胃）之部分地釋放。

適用於口腔局部投藥之製劑包括包含風味化有效成份之錠劑，通常為蔗糖以及阿拉伯膠或特拉加康斯膠樹；包含惰性載劑有效成份之原料糊，例如：明膠以及甘油、或蔗糖以及阿拉伯膠；以及包含適當液體載體有效成份的嗽口劑。

依據本發明局部投藥的藥學組成物可調製成藥膏、乳油、懸浮液、乳液、粉末、溶液、漿糊、凝膠、噴灑、氣溶膠或油。此外，調配物可包含貼片或調料，例如：含浸有效成分以及可視需要一個或多個賦形劑或稀釋劑之繃帶或黏合劑膏藥。

視須要，乳油之水相可包括，例如至少約 30% w/w 之多元醇，即具有兩種或多種羥基之醇類，例如：丙二醇、丁烷-1,3-二醇、甘露糖醇、山梨糖醇、甘油以及聚乙二醇及以上之混合物。局部的製劑可包括提高吸收或藥劑經由皮膚或其它影響區域穿透之化合物。該真皮穿透增強子之實施例包括：二甲（基）亞砒以及相關的類似物。

本發明乳狀液之油性相可由習知的成分用習知的方法構成。而此相可僅包含乳化劑（習知的乳化劑），可包含至少一種乳化劑與脂肪或油或與脂肪及油之混合物。親水性的乳化劑可共同包括親脂的乳化劑作為穩定劑。變化之

(31)

一是包括油以及脂肪。含或不含穩定劑之乳化劑，可共同形成所謂的乳化劑（乳化）蠟，以及蠟與油及/或脂肪可共同形成所謂的乳化劑（乳化）藥膏，其可形成乳油製劑的油性分散相。

應用於本發明調配物的適用乳化劑及乳劑穩定劑包括：Tween60、Span80、鯨硬脂醇、肉豆蔻基醇、單硬脂酸甘油酯及月桂基硫酸鈉。

由於活性化合物在大多數用於醫藥學的乳劑製劑之油類中之溶解度均非常低，因此調配物中適當的油或脂肪之選擇係基於達成所要求的化妝品的性質。因此，乳油應具有適當堅硬度以避免自管中或其它容器滲漏之非油滑、非染色以及可清洗的產物。可使用直鏈的或支鏈、單-或二鹼的烷基酯類例如：二-異己二酸酯、異鯨蠟基硬脂酸鹽、丙二醇二酯之椰子脂肪酸、肉豆蔻酸異丙酯、癸基油酸酯、異丙基棕櫚酸鹽、丁基硬脂酸鹽、2-乙基己基棕櫚酸鹽或習知的支鏈酯類 CrodamolCAP 摻合物。取決於性質須求此類化合物可單獨或結合使用。此外，可使用高熔點脂質例如：白色軟蠟及/或液體石蠟或其它礦物油。

適用於眼睛局部投藥的製劑亦包括眼藥水，其中之有效成份係溶解於或懸浮於適當的載體，尤其是藥劑之水溶性溶劑。

直腸投藥的製劑可為包含適當鹽基（例如：可可油或水楊酸鹽）的栓劑。適用於陰道投藥的製劑可為陰道藥栓、填塞、乳膏、凝膠、軟膏、泡沫或噴灑製劑，除了藥劑

(32)

之外可內含技藝上已知的適當的載體。

適用於鼻腔的投藥製劑，其中載體可為固體，包括粒度，例如介於約 20 至約 500 微米之粗粉末，其可作為乾燥粉末投用或從含有粉末容器之吸入器裝置在接近鼻子的位置快速吸氣經由鼻腔的通路投用。適用的投藥製劑中載體是液體，例如：鼻噴液、鼻腔的點滴、或噴霧器投藥之氣溶膠，包括水溶性或油性之藥劑溶液。

適用於不經腸道方法給藥的製劑，包括水溶性及非水溶性的等張滅菌注射溶液，其可含有抗氧化劑、緩衝溶液、抑菌劑以及可使調配物與接受者之血液等張的溶質；水溶性以及非水溶性滅菌之懸浮液，其可包括懸浮劑及增稠劑、以及脂球體或其它微粒系統，其設計上係使化合物標定血液成份或一個或多個器官。製劑可置於單位劑型或多劑量密封容器中，例如：安瓿以及管形瓶，以及可為儲存於冷凍乾燥的條件下，僅須要在使用之前添加滅菌之液體載體，例如：注射用水。即用的注射溶液及懸浮液可製備自先前描述之滅菌粉末、顆粒及藥片。

單位劑量調配物中內含以上列舉的每日劑量或單位、每日次劑量，或適當比例的藥劑。

除了上述的成分之外，本發明製劑應可包括其它在此調配技藝中上習見的藥劑，例如用於口服投藥時，可進一步包括的藥劑為甜劑、黏稠劑及調味劑。預期本發明的藥劑、組成物及方法可合併其它適當的組成物及療法。

此類本發明藥劑及上述之化合物及其衍生物可用於製

(33)

備用於本文描述方法的藥劑。

下列實施例係用以說明，但非限制本發明。

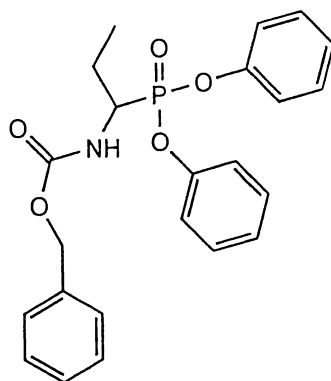
【實施方式】

實施例 1-合成圖解

以下合成申請專利範圍化合物的實施例係用以說明本發明的合成方法而非限制本發明之合成方法。合成方法，例如：參閱下文，係使用熟悉有機及藥用化學技藝的專業人士熟知的合成化合物的方法。預期熟悉有機及藥用化學技藝的專業人士可對本發明化合物之合成步驟進行取代、修飾或加入額外的步驟。參閱例如 J. March, ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY : REACTIONS, MECHANISMS AND STRUCTURE, 4th edition (John Wiley & Sons, NY (1992))。此外，據瞭解，具有一個或多個不對稱中心之化合物，其外消旋混合物以及富含的鏡像異構物（即一種鏡像異構物大於混合物之 50%）或純鏡像異構物（一種鏡像異構物包含混合物之 90%或更多）屬於本發明範圍之內。

合成化合物 1

(34)

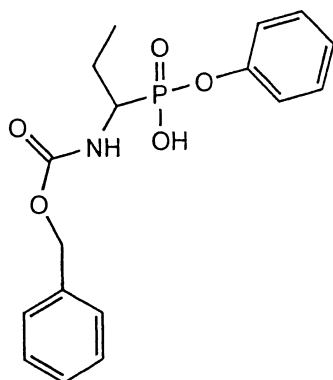


合成 1- (N-苄氧羰基) -胺基丙基膦酸鹽二苯基酯之方法可參見 Oleksyszyn (Synthesis, 1979, pp 985986) 。將亞磷酸三苯酯 (27.1 毫升 , 100 毫莫耳) 、 丙醛 (11.25 毫升 , 150 毫莫耳) 、 苄基胺基甲酸酯 (15.28 克 , 100 毫莫耳) 以及冰醋酸 (15 毫升) 之混合物在室溫下攪拌 1 小時。然後將混合物在 85℃ 下加熱 1 小時。用旋轉蒸發器於水浴煮沸法中移除揮發性的產物得到油性殘餘物並用管柱色層分析法純化 (矽膠 ; 溶析液 : 40% 乙酸乙酯之己烷) 。

^{31}P NMR (CDCl_3 , 500 MHz): 18.15; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz): 1.09 (t, 3H), 1.79 (m, 1H), 2.11 (m, 1H), 4.42 (m, 1H), 5.12 (s, 2H), 7.0-7.38 (m, 15H) 。

合成化合物 2

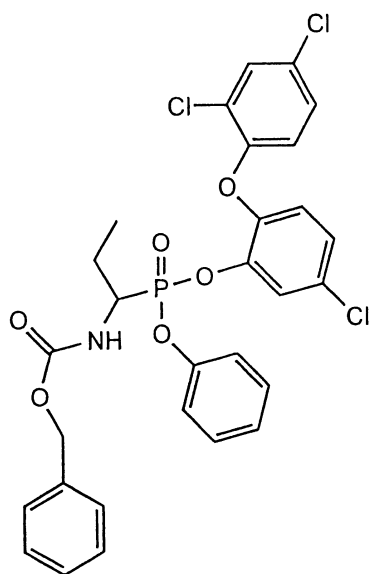
(35)



將化合物 1 (4.0 克, 9.4 毫莫耳) 局部地溶於 2M 氫氧化鈉水溶液 (20 毫升)。產生的懸浮物在室溫下攪拌 18 小時。然後將反應混合用二氯甲烷 (2 X 40 毫升) 清洗, 水層用 2N 硫酸 (45 毫升) 酸化 (酸鹼度 0)。水層依序用二氯甲烷 (85 毫升) 及乙酸乙酯 (2 X 85 毫升) 萃取。用硫酸鈉乾燥有機相 30 分鐘。過濾乾燥劑之後, 蒸發揮發性的化合物, 得到化合物 2 (2.98 克, 8.5 毫莫耳); ^{31}P NMR (D_2O , 500 MHz): 19.21; ^1H NMR (D_2O , 500 MHz): 0.94 (t, 3H, $J = \text{Hz}$), 1.58 (m, 1H), 1.90 (m, 1H), 3.76 (m, 1H), 5.0 (s, 2H), 7.06 (m, 2H), 7.15 (m, 1H), 7.36 (m, 2H), 7.41 (m, 4H)。

合成化合物 3

(36)

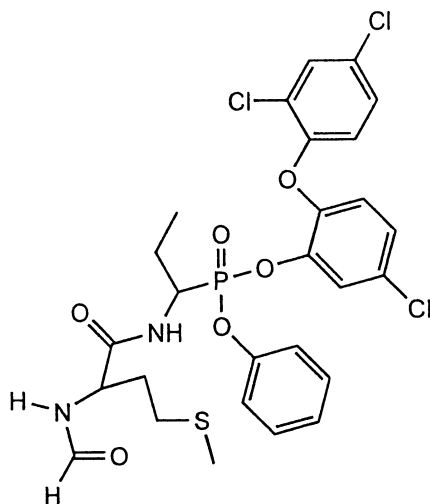


將化合物 2 (1.3 克 , 3.72 毫莫耳) 局部地溶於無水的二氯甲烷 (10 毫升) 。混合物中加入亞硫醯氯 (800 微升) , 接著添加催化的量的無水的吡啶 (10 微升) 。產生的反應混合物在氬氣下攪拌 30 分鐘。在真空下移除揮發性的化合物 , 殘餘物在高真空下靜置 2 小時。然後將天然的磷酸氯再溶於無水的二氯甲烷 (5 毫升) , 混合物在 0℃ 下逐滴添加入三氯生 (1.07 克 , 1 當量) 以及無水的三乙胺 (520 微升 , 1 當量) 之無水的二氯甲烷 (5 毫升) 的攪拌溶液中。將反應混合物加熱至室溫以及在氬氣下攪拌 1 小時。然後將反應混合物用水 (10 毫升) 萃取。用硫酸鈉乾燥有機相 30 分鐘。過濾乾燥劑之後 , 真空蒸餾蒸發揮發性的化合物 , 殘餘物經管柱色層分析法純化 (矽膠 ; 溶析液 : 20% 乙酸乙酯之己烷) 得到化合物 3 (550 毫克) ; ^{31}P NMR(CDCl_3 , 500 MHz): 19.08, 19.29; ^1H NMR(CDCl_3 , 500 MHz): 1.03 (m, 3H), 1.67 (m, 1H), 2.05 (m, 1H), 4.41 (m, 1H), 5.08 (m, 2H), 6.73 (m, 1H), 6.83 (m,

(37)

2H), 7.13 (m, 5H), 7.30 (m, 8H)。

合成化合物 4



將化合物 3 (200 毫克, 0.322 毫莫耳) 溶於絕對酒精 (80 毫升), 然後加入 Pd 10%/碳 (80 毫克) 以及三氟乙酸 (40 微升)。然後將混合物在氫氣 (10psi) 下搖動 30 分鐘。經由寅式鹽墊過濾之後, 將溶液縮至乾燥, 產生的濃密油在高真空下靜置 2 小時。然後將油溶於無水的四氫呋喃 (5 毫升), 生成的溶液攪拌加到 N-甲醯基甲硫胺酸 (60 毫克) 以及 1,3-二環己基氰胺 (66 毫克) 之無水的四氫呋喃 (3 毫升) 溶液中。然後在混合物中加入無水的三乙胺 (50 微升), 以及將反應在氫氣、室溫下攪拌 12 小時。過濾沈澱材料之後, 將混合物用水 (10 毫升) 萃取。用硫酸鈉乾燥有機相 30 分鐘。過濾乾燥劑之後, 真空蒸餾蒸發揮發性的化合物, 殘餘物用製備的 HPLC (逆相, C18; 在 40 分鐘內梯度從 50%乙腈之水至 100%乙腈) 純化。分離所要求的化合物其為非鏡像異構物之混

(38)

合物，滯留時間為 12.28 分鐘。 ^{31}P NMR (CDCl_3 , 500 MHz): 18.04, 18.16, 18.32; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) selected signals: 1.25 (m, 5H), 1.07-2.09 (m, 7H), 4.65 (m, 1H), 6.7-7.47 (m, 11H), 8.12 (s, 1H); m/e 645。

本發明已用上述具體實施例說明，前述的說明及實施例係用以說明而非限制本發明之範圍。對熟悉此技藝的專業人士而言，本發明之其它特色、優點以及修飾是顯而易見的，且均屬於本發明之範圍。

參考文獻

- Apfel, C. et al. (2000) J. Med. Chem. 43:2324-2331.
- Apfel et al. (2001a) Anti. Agents and Chemo. 45(4):1053-1057.
- Apfel et al. (2001b) Anti. Agents and Chemo. 45(4):1058-1064.
- Becker, A. et al. (1998) Nat. Struct. Biol. 5(12): 1053-8.
- Chan, M.K. et al. (1997) Biochemistry 36(45):13904-9.
- Chen, D.Z. et al. (2000) Biochemistry 39(6):1256-62.
- Clements, J.M. et al. (2001) Anti. Agents and Chemo. 45(2):563-570.
- de Groot, F.M.H. et al. (2000) J. Med. Chem. 43:3093-3102.
- Durand et al. (1999) Arch. Bio. And Biophysics. 367(2): 297-302.

(39)

- Giglione, C. et al. (2000a) Mol. Microbiol. 36:1197-205.
- Giglione, C. et al. (2000b) EMBO J. 19(21):5916-5929.
- Guilloteau J-P. et al. (2002) J. Mol. Biol. 320(5):951-962
- Hao, B. et al. (1999) Biochemistry 38(15):4712-9.
- Hu, Y.J. et al. (1998) Bioorg Med Chem Lett. 8(18):2479-82.
- Huntington, K.M. et al. (2000) Biochemistry 39(15):4543-51.
- Jayasekera, M.M. et al. (2000) Arch. Biochem. Biophys. 381(2):313-316.
- Meinzel, T. (1999) Pathol. Biol. 47:780-783.
- Meinzel, T. et al. (1993) Biochimie. 75(12):1061-75. Review.
- Nelson, D.L. et al. (2000) Principles of Biochemistry. 2000, ed. Lehninger,
- Ragusa S., et al. (2000) J Mol. Biol., 280, 551-523.
- Rajagopalan, P.T. et al. (1997) Biochemistry 36(45):13910-8.
- Rajagopalan, P.T. et al. (1998) Biol Chem. 273(35):22305-10.
- Wei Y. et al. (1997) Anal Biochem. 250(1):29-34.
- Wei, Y. et al. (2000) J Comb Chem. 2(6):650-7.
- Wei, Y. et al. (2000b) Bioorg Med Chem Lett. 10(10):1073-6.

(40)

Wise, R. et al (2002) Anti. Agents and Chemo,
46(4):1117-1118.

Yuan, Z. et al. (2001) Drug Discovery Today, 6(18): 954-
961.

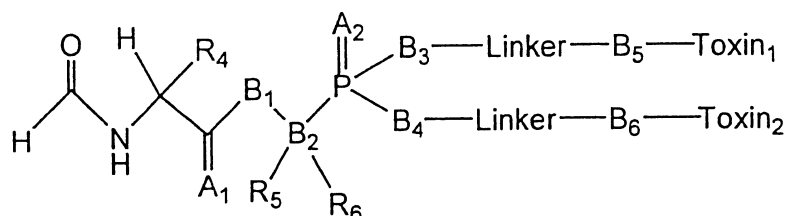
【圖式簡單說明】

圖 1 為本發明化合物經 PDF 活化之建議反應圖。

伍、中文發明摘要

發明之名稱：經肽脫甲醯酶活化之前藥

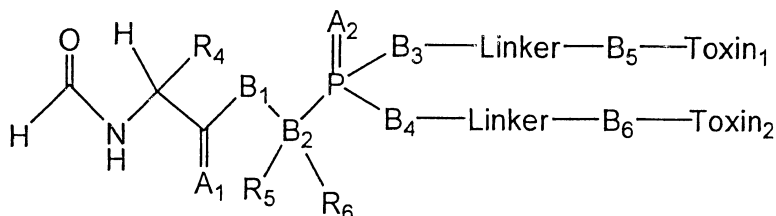
本發明提供一種化合物以及方法，其係用於抑制一種表現肽脫甲醯酶之微生物生長，該化合物具有通式：



陸、英文發明摘要

發明之名稱：Peptide deformylase activated prodrugs

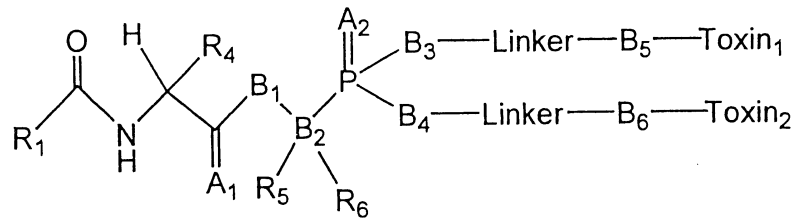
This invention provides compounds and methods for using them to inhibit the growth of microorganism that expresses Peptide Deformylase, the compounds having the general formula:



(1)

拾、申請專利範圍

1. 一種化合物，其具有下述之結構：



其中：

 R_1 為氫或 CH_3 ； R_4 係選自：經取代或未經取代的芳基團、經取代或未經取代、飽和或不飽和的 C_1 - C_6 烷基團以及 $CH_2CH_2XCH_3$ ，其中 X 係選自：氧、硫及 CH_2 ； R_5 和 R_6 係獨立選自：氫、經取代或未經取代的 C_5 - C_{14} 芳基團以及經取代或未經取代、飽和或不飽和的 C_1 - C_6 烷基團； $=A_1$ 為不存在，此時其所連接的碳係 CH_2 基團，或 A_1 係選自：氧、硫、 NH 、 NOH 、 NR_8 、以及 CR_9R_{10} ，其中 R_8 、 R_9 及 R_{10} 係獨立選自：氫和 C_1 - C_6 烷基； $=A_2$ 為不存在，此時其所連接的碳係 CH_2 基團，或 A_2 係選自：氧、硫、 NH 、 NOH 以及 NR_{11} ，其中 R_{11} 係選自：氫和 C_1 - C_6 烷基； B_1 為不存在或係選自：氧、硫、 NR_{12} 及 $CR_{13}R_{14}$ ，其中 R_{12} 、 R_{13} 及 R_{14} 係獨立選自：氫和經取代或未經取代的飽和或不飽和的烷基； B_2 係選自：碳、氧及氮，其中當 B_2 為氧時， R_5 及 R_6 係

(2)

不存在，當 B_2 為氮時， R_5 或 R_6 之一係不存在；

B_1 可經由 R_{12} 、 R_{13} 或 R_{14} 相聯至 R_5 或 R_6 以形成飽和或不飽和、經取代或未經取代的環，該環可含有 0-3 個氮原子及 / 或 0-1 個氧或硫原子；

B_3 和 B_4 係獨立地不存在或係選自：氧、硫、 NH 、 CH_2 、 NR_{17} 、 CHR_{18} 、 $CR_{21}R_{22}$ ，以及當連結子 1- B_5 -毒素 1 或連結子 2- B_6 -毒素 2 不存在時為 OR_{15} 、 SR_{16} 、 $NR_{19}R_{20}$ 以及 $CR_{23}R_{24}R_{25}$ ，其中 R_{15} - R_{25} 係獨立選自：氫、經取代或未經取代、飽和或不飽和的烷基以及經取代或未經取代的芳基；

B_3 或 B_4 可經由 R_{15} - R_{25} 中之 1 個相聯至 B_1 、 R_5 或 R_6 以形成飽和或不飽和、經取代或未經取代的環，該環含有一個磷原子且該環可含有 0-3 個氮原子及 / 或 0-1 個氧或硫原子；

B_5 和 B_6 係獨立地不存在或係選自：氧、硫、 $OC(=O)$ 、 $SC(=S)$ 、 $OC(=O)NH$ 、 $SC(=S)NH$ 、 $OC(=S)NH$ 、 $N(R_{26})$ 以及 $C(R_{27})(R_{28})$ ，其中 R_{26} 、 R_{27} 及 R_{28} 係獨立選自：氫和經取代或未經取代、飽和或不飽和的烷基；

連結子 1 和連結子 2 係獨立地不存在或存在，且若存在係不可追及；以及毒素一或毒素 2 可不存在。

2. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其中

R_1 為氫；以及

R_4 為 $CH_2CH_2XCH_3$ ，其中 X 係選自： CH_2 、硫以及氧。

3. 如申請專利範圍第 2 項之化合物，其中 X 為硫。

(3)

4. 如申請專利範圍第 3 項之化合物，其中 A_1 及 A_2 均為氧。

5. 如申請專利範圍第 4 項之化合物，其中連結子 1-B₅-毒素 1 不存在。

6. 如申請專利範圍第 5 項之化合物，其中 B₁ 不存在。

7. 如申請專利範圍第 5 項之化合物，其中 B₂ 為碳。

8. 如申請專利範圍第 5 項之化合物，其中 B₂ 為氮。

9. 如申請專利範圍第 5 項之化合物，其中 B₃ 係選自：
OH、OCH₃、OCH₂CH₃ 以及 OC₆H₅。

10. 如申請專利範圍第 5 項之化合物，其中連結子 2 係選自：

經取代或未經取代的烯丙基；

經取代或未經取代的苄基；

C₆H₄CH₂X₁C(=X₂)，其中 X₁ 和 X₂ 係獨立選自：氧、硫以及 N(R₂₉)，其中 R₂₉ 為氫或 C₁-C₆ 烷基；以及

(CH₂)_nN(R)C(=O)，其中 n 為 2 或 3 且 R 為氫或 C₁-C₆ 烷基。

11. 如申請專利範圍第 10 項之化合物，其中 B₆ 不存在。

12. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其中其中毒素 1 和毒素 2 係獨立選自：胺基糖苷、絲裂黴素、CC-1065、杜卡黴素(ducarmycin)、環丙基吡啶、環丙基苯並吡啶類似物、蔥土黴素、長春花生物鹼、絲裂黴素、博來黴素

(4)

、盤尼西林、頭芽孢菌素、苯唑西林、卡波潘能(carbopenems)、四環素、氯黴素、大環內酯、環絲氨酸、氟喹啉酮(包括,但非限於:環丙沙星以及諾氟沙星)、糖肽、氨基糖苷、肽抗生素、噁唑啉酮、喹啉酮、磺胺、細胞毒的核苷、喋啶家族、氮芥、多鹵化的聯芳基醚類、達因類(diynenes)、鬼臼毒素、類紅豆杉醇、阿霉素、洋紅黴素、柔紅霉素、胺基蝶呤、甲胺蝶呤、胺基甲基葉酸、二氯甲胺蝶呤、絲裂黴素 C、泊非霉素、6-巯嘌呤、阿糖胞苷、鬼臼毒素、鬼臼亞乙苷、磷酸依托泊苷、苯丙氨酸氮芥、長春地辛、長春花鹼、長春新鹼、長春西定、長春素、雙-(2-氯乙基)胺、三氯卡班(carban)、三氯羰苯胺、三氯生、三溴柳基苯胺、磺胺甲基噁唑、氯黴素、環絲氨酸、三甲氧苄胺嘧啶、氯己定、六氯酚、分丁克羅(fentichlor)、5-氯-2-(2,4-二氯啡氧基)酚、4-氯-2-(2,4-二氯啡氧基)酚、3-氯-2-(2,4-二氯啡氧基)酚、6-氯-2-(2,4-二氯啡氧基)酚、5-氯-2-(3,4-二氯啡氧基)酚、5-氯-2-(2,5-二氯啡氧基)酚、5-氯-2-(3,5-二氯啡氧基)酚、,2'-二羥基聯苯醚、鹵化的 2-羥基苯甲酮、2-氫硫基吡啶-N-氧化物、康布塔斯達廷(combretastin)、康多絲辛(camptothecin)、亞波多林汀(apoptolidene)、順式鉑氨、埃坡黴素、鹵化軟骨膠、半星芒體林、甲硫苄胺嘧啶、毒胡蘿蔔素、氯喹、4-羥基環磷醯胺、鬼臼亞乙苷、秋水仙素、苯丙氨酸氮芥、槲皮素、染料木黃酮、爾巴斯達廷(erbstatin)、N-(4-胺基丁基)-5-氯-2-萘-磺胺、吡啶基噁

(5)

唑-2-酮、異喹啉基噁唑酮-2-酮、異搏定、奎寧、奎尼定、及氯喹。

13. 如申請專利範圍第 11 項之化合物，其中其中毒素 2 係選自：胺基糖苷、絲裂黴素、CC-1065、杜卡黴素(ducarmycin)、環丙基吡啶、環丙基苯並吡啶類似物、蔥土黴素、長春花生物鹼、絲裂黴素、博來黴素、盤尼西林、頭芽孢菌素、苯唑西林、卡波潘能(carbopenems)、四環素、氯黴素、大環內酯、環絲氨酸、氟喹啉酮(包括，但非限於：環丙沙星以及諾氟沙星)、糖肽、胺基糖苷、肽抗生素、噁唑啉酮、喹啉酮、磺胺、細胞毒的核苷、喋啶家族、氮芥、多鹵化的聯芳基醚類、達因類(diynenes)、鬼臼毒素、類紅豆杉醇、阿霉素、洋紅黴素、柔紅霉素、胺基蝶呤、甲胺蝶呤、胺基甲基葉酸、二氯甲胺蝶呤、絲裂黴素 C、泊非霉素、6-巰嘌呤、阿糖胞苷、鬼臼毒素、鬼臼亞乙苷、磷酸依托泊苷、苯丙氨酸氮芥、長春地辛、長春花鹼、長春新鹼、長春西定、長春素、雙-(2,4-氯乙基)胺、三氯卡班(carban)、三氯羰苯胺、三氯生、三溴柳基苯胺、磺胺甲基噁唑、氯黴素、環絲氨酸、三甲氧苄胺嘧啶、氯己定、六氯酚、分丁克羅(fenticlor)、5-氯-2-(2,4-二氯啡氧基)酚、4-氯-2-(2,4-二氯啡氧基)酚、3-氯-2-(2,4-二氯啡氧基)酚、6-氯-2-(2,4-二氯啡氧基)酚、5-氯-2-(3,4-二氯啡氧基)酚、6-氯-2-(2,5-二氯啡氧基)酚、5-氯-2-(3,5-二氯啡氧基)酚、2'-二羥基聯苯醚、鹵化的 2-羥基苯甲酮、2,4-氯硫基吡啶-N-氧化物、康布塔斯達廷

(6)

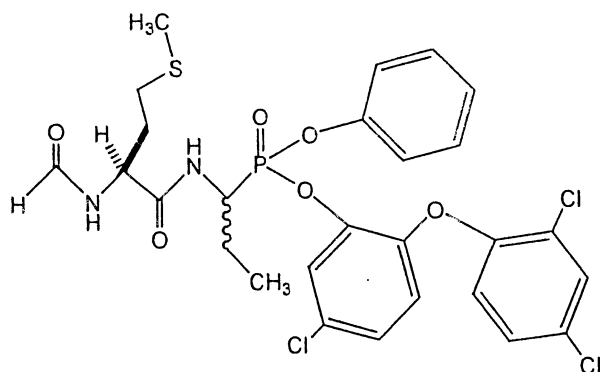
(combretastin)、康多絲辛(camptothecin)、亞波多林汀(apoptolidene)、順式鉑氨、埃坡黴素、鹵化軟骨膠、半星芒體林、甲硫苳胺嘧啶、毒胡蘿蔔素、氯喹、4-羥基環磷醯胺、鬼臼亞乙苷、秋水仙素、苯丙氨酸氮芥、槲皮素、染料木黃酮、爾巴斯達廷(erbstatin)、N-(4-胺基丁基)-5-氯-2-萘-磺胺、吡啶基嘔唑-2-酮、異喹啉基嘔唑酮-2-酮、異搏定、奎寧、奎尼定、及氯喹。

14. 如申請專利範圍第 13 項之化合物，其中毒素 2 為喹啉酮。

15. 如申請專利範圍第 13 項之化合物，其中毒素 2 係選自：三氯生、環丙基吡啶、環丙基苯並吡啶及其衍生物。

16. 如申請專利範圍第 5 項之化合物，其中 B₁ 係相聯至 R₅ 或 R₆ 以形成環。

17. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其具有之下述結構：



18. 一種用於治療因表現肽脫甲醯酶之微生物所引起之疾病之醫藥組成物，其包含有效含量之申請專利範圍第

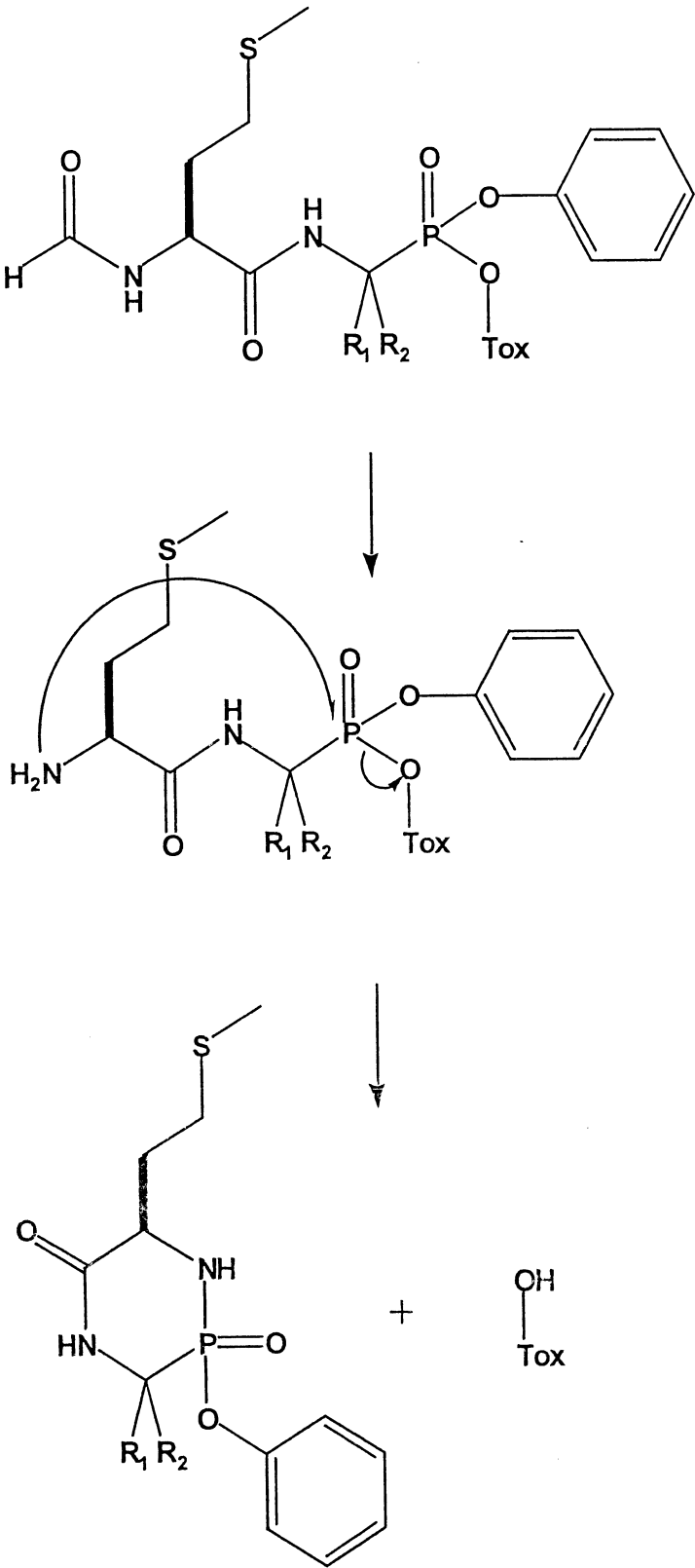
(7)

1 項之化合物和藥學上可接受之載體。

19. 一種申請專利範圍第 1 項之化合物於製造藥物以治療因表現肽脫甲醯酶之微生物所引起之疾病上之用途。

圖 1

842587



柒、(一)、本案指定代表圖為：第 1 圖

(二)、本代表圖之元件代表符號簡單說明：

無

捌、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

