



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103298780 A

(43) 申请公布日 2013. 09. 11

(21) 申请号 201180063912. 8

菲利普·A·帕顿

(22) 申请日 2011. 11. 04

(74) 专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理
有限责任公司 11204

(30) 优先权数据

61/412, 311 2010. 11. 10 US

代理人 王达佐 安佳宁

(85) PCT申请进入国家阶段日

2013. 07. 02

(51) Int. Cl.

C07C 259/06 (2006. 01)

C07D 265/30 (2006. 01)

A61K 31/166 (2006. 01)

A61K 31/5375 (2006. 01)

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2011/059280 2011. 11. 04

A61P 31/04 (2006. 01)

(87) PCT申请的公布数据

W02012/154204 EN 2012. 11. 15

(71) 申请人 尔察祯有限公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 拉麦施·卡萨

马丁·舍灵汉姆·里恩塞尔

詹姆士·布拉德利·阿根 卢青(简)

王丹 蒂姆·丘奇

海因兹·E·摩泽尔

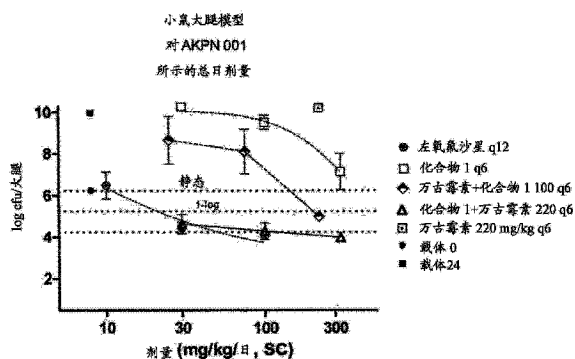
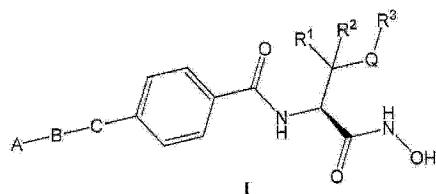
权利要求书4页 说明书68页 附图1页

(54) 发明名称

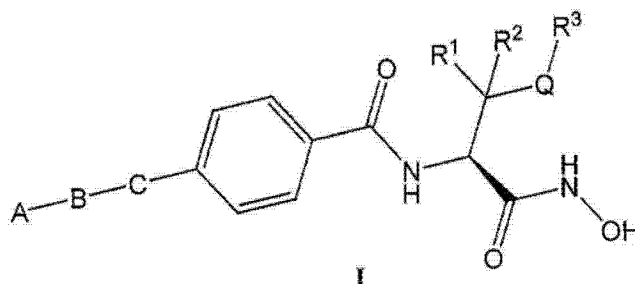
异羟肟酸衍生物及其在治疗细菌感染中的用途

(57) 摘要

提供了式 I 的抗菌化合物及其立体异构体和药物可接受的盐;包含这样的化合物的药物组合物;通过给予这样的化合物治疗细菌感染的方法;这样的化合物在治疗细菌感染中的用途和这样的化合物的制备方法。



1. 式 I 的化合物或其立体异构体或药物可接受的盐：



其中

A 是取代的 C_3-C_6 环烷基, 其中至少一个取代基是 C_1-C_3 伯醇；

B 为不存在、 $-CH=CH-$ 、 $-C\equiv C-$ 或未取代的苯基；

C 是 $-CH=CH-$ 、 $-C\equiv C-$ 或未取代的苯基, 其中如果 B 是 $-CH=CH-$, 则 C 不同时是 $-CH=CH-$ ；

R^1 、 R^2 和 R^3 独立地选自 H 和取代或未取代的 C_1-C_3 烷基, 或者

R^1 和 R^2 与同它们连接的碳原子一起形成未取代的 C_3-C_6 环烷基, 或者

R^2 和 R^3 与同它们连接的碳原子和 Q 一起形成取代或未取代的具有 5 至 8 个环原子的杂环, 其中所述杂环的 1-2 个环原子选自 N、O 和 S；并且

Q 是 O 或 NR, 其中 R 是 H 或未取代的 C_1-C_3 烷基。

2. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中 Q 是 NR。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其中 R^1 、 R^2 和 R^3 独立地选自 H 和取代或未取代的 C_1-C_3 烷基。

4. 如权利要求 1-3 中任一权利要求所述的化合物, 其中 R^1 、 R^2 和 R^3 独立地选自 H 和未取代的 C_1-C_3 烷基。

5. 如权利要求 1-4 中任一权利要求所述的化合物, 其中 R^1 和 R^2 独立地为未取代的 C_1-C_3 烷基。

6. 如权利要求 1-5 中任一权利要求所述的化合物, 其中 A 是羟甲基取代的 C_3-C_6 环烷基。

7. 如权利要求 1-6 中任一权利要求所述的化合物, 其中 B 是 $-C\equiv C-$, 且 C 是 $-C\equiv C-$ 。

8. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中所述化合物是：

N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-1)；

N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1R,2R)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-2)；

N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1S,2S)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-3)；

N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-顺)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-4)；

N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4'-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)乙炔基)联苯基-4-甲酰胺 (I-5)；

N-((S)-1-(羟氨基)-3-甲基-3-(甲基氨基)-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-6) ;

N-((S)-1-(羟氨基)-3-(2-羟乙基氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-7) ;

N-((S)-1-(羟氨基)-3-(2-羟乙基氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-8) ;

N-((S)-3-(二甲基氨基)-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-9) ;

N-((S)-3-羟基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-10) ;

N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1S,2R)-2-(羟甲基)-2-甲基环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-11) ;

N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,3-顺)-3-(羟甲基)环丁基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-12) ;

N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,3-反)-3-(羟甲基)环丁基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-13) ;

N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,3-反)-3-(羟甲基)环戊基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-14) ;

N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,4-顺)-4-(羟甲基)环己基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-15) ;

N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,4-反)-4-(羟甲基)环己基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-16) ;

N-((S)-1-(1-氨基环丁基)-2-(羟氨基)-2-氧代乙基)-4-(((反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺三氟乙酸盐 (I-17) ;

N-((S)-1-(1-氨基环丁基)-2-(羟氨基)-2-氧代乙基)-4-(((顺)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺三氟乙酸盐 (I-18) ;

N-((S)-1-(1-(二甲基氨基)环丁基)-2-(羟氨基)-2-氧代乙基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-19) ;

N-((S)-2-(羟氨基)-1-((S)-吗啉-3-基)-2-氧代乙基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-20) ;

N-((S)-2-(羟氨基)-1-((S)-4-甲基吗啉-3-基)-2-氧代乙基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-21) ;

N-((S)-3-氨基-1-羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-((E)-4-(1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1-烯-3-炔基)苯甲酰胺 (I-22) ;或

N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-((E)-4-((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1-烯-3-炔基)苯甲酰胺 (I-23)。

9. 如权利要求 8 所述的化合物,其中所述化合物是:

N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-1) ;

N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4'-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)乙炔基)联苯基-4-甲酰胺 (I-5) ;

N-((S)-1-(羟氨基)-3-甲基-3-(甲基氨基)-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-6) ;

N-((S)-1-(羟氨基)-3-(2-羟乙基氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-7) ;

N-((S)-1-(羟氨基)-3-(2-羟乙基氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-8) ;

N-((S)-3-(二甲基氨基)-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-9) ;

N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,3-顺)-3-(羟甲基)环丁基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-12) ;

N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,3-反)-3-(羟甲基)环丁基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-13) ;或

N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,3-反)-3-(羟甲基)环戊基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-14)。

10. 如权利要求 9 所述的化合物,其中所述化合物是:

N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-1) ;

N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4'-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)乙炔基)联苯基-4-甲酰胺 (I-5) ;

N-((S)-1-(羟氨基)-3-甲基-3-(甲基氨基)-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-6) ;

N-((S)-1-(羟氨基)-3-(2-羟乙基氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-7) ;

N-((S)-1-(羟氨基)-3-(2-羟乙基氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-8) ;或

N-((S)-3-(二甲基氨基)-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-9)。

11. 药物组合物,包含权利要求 1-10 中任一权利要求所述的化合物或其药物可接受的盐,以及药物可接受的载体或稀释剂。

12. 用于治疗患有细菌感染的个体的方法,包括对有需要的个体给予治疗有效量的权利要求 1-10 中任一权利要求所述的化合物或权利要求 11 所述的药物组合物。

13. 如权利要求 11 所述的方法,其中所述细菌感染是革兰氏阴性菌感染。

14. 如权利要求 13 所述的方法,其中所述革兰氏阴性菌感染是铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、伯克氏菌 (*Burkholderia*)、肠杆菌 (*Enterobacteriaceae*)、弗氏菌 (*Francisellaceae*)、沙雷氏菌 (*Serratia*)、变形杆菌 (*Proteus*)、克雷伯菌 (*Klebsiella*)、肠杆菌 (*Enterobacter*)、柠檬酸杆菌 (*Citrobacter*)、沙门氏菌 (*Salmonella*)、普罗维登斯菌 (*Providencia*)、耶尔森菌 (*Yersinia*)、摩根菌 (*Morganella*)

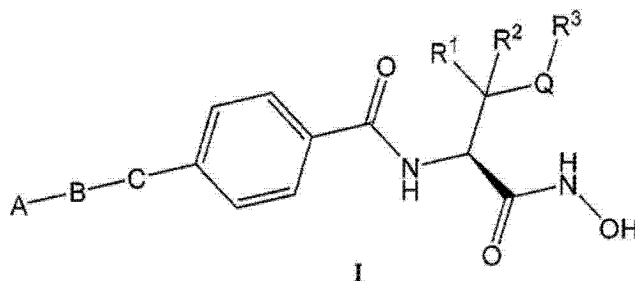
或大肠杆菌 (*Escherichia coli*)。

15. 如权利要求 14 所述的方法, 其中所述革兰氏阴性菌感染是铜绿假单胞菌、伯克氏菌、弗氏菌、肠杆菌、耶尔森菌或大肠杆菌。

16. 如权利要求 15 所述的方法, 其中所述革兰氏阴性菌感染是铜绿假单胞菌。

17. 如权利要求 15 所述的方法, 其中所述革兰氏阴性菌感染是大肠杆菌。

18. 药物组合物, 包含第二抗菌剂和式 I 化合物或其立体异构体或药物可接受的盐:



其中

A 是取代的 C_3-C_6 环烷基, 其至少一个取代基是 C_1-C_3 伯醇;

B 为不存在、 $-CH=CH-$ 、 $-C\equiv C-$ 或未取代的苯基;

C 是 $-CH=CH-$ 、 $-C\equiv C-$ 或未取代的苯基, 其中如果 B 是 $-CH=CH-$, 则 C 不同时是 $-CH=CH-$;

R^1 、 R^2 和 R^3 独立地选自 H 和取代或未取代的 C_1-C_3 烷基, 或者

R^1 和 R^2 与同它们连接的碳原子一起形成未取代的 C_3-C_6 环烷基, 或

R^2 和 R^3 与同它们连接的碳原子和 Q 一起形成取代或未取代的具有 5 至 8 个环原子的杂环, 其中所述杂环的 1-2 个环原子选自 N、O 和 S, 并且

Q 是 O 或 NR, 其中 R 是 H 或未取代的 C_1-C_3 烷基。

19. 如权利要求 18 所述的药物组合物, 其中所述抗菌剂是万古霉素或利福平。

20. 如权利要求 18 所述的药物组合物, 其中所述组合在体内具有协同作用。

21. 抑制革兰氏阴性菌中的脱乙酰酶的方法, 包括对需要这样的抑制的患者给予权利要求 1-10 中任一权利要求所述的化合物或权利要求 11 所述的药物组合物

22. 如权利要求 21 所述的方法, 其中所述革兰氏阴性菌是铜绿假单胞菌、伯克氏菌、肠杆菌、弗氏菌、沙雷氏菌、变形杆菌、克雷伯菌、肠杆菌、柠檬酸杆菌、沙门氏菌、普罗维登斯菌、耶尔森菌、摩根菌或大肠杆菌。

23. 抑制革兰氏阴性菌中的 LpxC 的方法, 包括对需要这样的抑制的患者给予权利要求 1-10 中任一权利要求所述的化合物或权利要求 11 所述的药物组合物。

异羟肟酸衍生物及其在治疗细菌感染中的用途

[0001] I. 相关申请的引用

[0002] 本申请依据 35U. S. C. § 119(e) 要求 2010 年 11 月 10 日提交的第 61/412,311 号美国临时专利申请的权益,前述申请以其整体通过引用并入本文。

[0003] II. 政府权益声明

[0004] 基于美国国防部授予的第 HDTRA1-07-C-0079 号合同,本发明基于政府支持完成。政府具有本发明的某些权利。

[0005] III. 背景

[0006] A. 领域

[0007] 本发明一般地涉及治疗由革兰氏阴性菌引起的感染。更具体地,本文所述的发明涉及通过抑制抑制 UDP-3-O-(R-3-羟基癸酰基)-N-乙酰葡萄糖胺脱乙酰酶 (LpxC) 的活性来治疗革兰氏阴性菌感染。本发明提供了 LpxC 的小分子抑制剂、含有这样的抑制剂的药物制剂、用这样的药物制剂治疗患者的方法以及制备这样的药物制剂和抑制剂的方法。本文所述的发明涉及通过单独或与第二抗菌剂组合给予能够抑制 UDP-3-O-(R-3-羟基癸酰基)-N-乙酰葡萄糖胺脱乙酰酶 (LpxC) 活性的化合物来治疗革兰氏阴性菌感染。

[0008] B. 相关领域描述

[0009] 在过去的几十年中,抗生素耐药性的频率及其与严重的传染病的联系已经以惊人的速度增加。多种抗菌药物的耐药菌株的存在,加剧了抗生素耐药性问题。因此,就需要新的抗菌剂,特别是具有新型作用机制的抗菌药。先前未开发但高度保守的靶 LpxC 提供了开发广谱抗菌小分子的新的机会,所述小分子包括一类新的活性杀菌化学实体,其应该很少遇到天然存在的与靶相关的抗性。LpxC(酶尿苷酰二磷酸(uridyldiphospho)-3-O-(R-羟基癸酰基)-N-乙酰葡萄糖胺脱乙酰酶)存在于所有革兰氏阴性细菌物种中,并且参与外膜生物合成的第一关键步骤。因此 LpxC 是革兰氏阴性细菌物种生存所必需的,是抗菌活性的理想靶点。

[0010] 研究人员已经确定了一些靶向脂质 A 生物合成的具有抗菌活性的化合物。例如,Jackman 等人(J. Biol. Chem., 2000, 275(15), 11002-11009); Wyckoff 等人(Trends in Microbiology, 1998, 6(4), 154-159); 美国专利申请公开第 2001/0053555 号(公布于 2001 年 12 月 20 日,对应国际 PCT 公开第 WO 98/18754 号,公布于 1998 年 5 月 7 日); 国际 PCT 公开第 W000/61134 号(2000 年 10 月 19 日公开); 美国专利申请公开第 2004/0229955 号(2004 年 11 月 18 日公开) 和国际 PCT 公开第 WO 2008/154642 号(2008 年 12 月 18 日公开),均披露了具有抗菌抗 LpxC 活性的化合物。由于在或接近抗菌活性所需的浓度时,这些化合物在哺乳类动物中产生毒性,使得这些 LpxC 抑制剂的商业开发变得复杂化。本文介绍的化合物比其他密切相关的具有抗 LpxC 活性的化合物,显示明显更好的耐受性。

[0011] 虽然在该领域中已经有所进步,但仍然需要 LpxC 抑制剂,其对革兰氏阴性菌具有杀菌活性,并具有可接受的毒性/耐受性。因此,本发明的目的是提供化合物以及用于制备无毒的抗菌剂的这样的化合物与能够抑制革兰氏阴性菌感染的其它药物的组合。本发明的另一目的在于,提供抗菌剂与 LpxC 抑制剂的协同组合,它具有固有的抗菌性能,以及提高

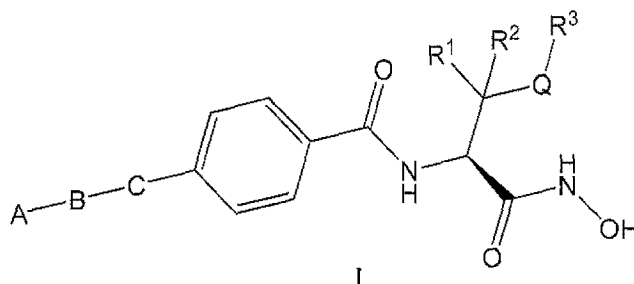
其它抗菌剂对革兰氏阴性菌的外膜的穿透性的能力。药物的协同组合的应用,可以比传统的单一化合物化学治疗具有许多优点,包括由于使用较低的剂量或较短的治疗时间,可以降低药物的副作用,更快速治愈感染从而缩短住院治疗时间,提高受控制的病原体的谱图,以及降低对抗生素的抗药性的发生率。

[0012] IV. 简述

[0013] 本发明提供了新颖的化合物,包括该化合物的药物制剂,抑制 UDP-3-O- (R-3- 羟基癸酰基)-N- 乙酰葡萄糖胺脱乙酰酶 (LpxC) 的方法,和治疗革兰氏阴性菌感染的方法。

[0014] 在一方面,本发明提供了式 I 化合物及其立体异构体和药物可接受的盐:

[0015]



[0016] 其中 A 是取代的 C₃-C₆ 环烷基,其中至少一个取代基是 C₁-C₃ 伯醇;B 为不存在、-CH=CH-、-C≡C- 或未取代的苯基;C 是 -CH=CH-、-C≡C- 或未取代的苯基,其中如果 B 是 -CH=CH-,则 C 不同时是 -CH=CH-;R¹、R² 和 R³ 独立地选自 H 和取代或未取代的 C₁-C₃ 烷基,或者 R¹ 和 R² 与同它们连接的碳原子一起形成未取代的 C₃-C₆ 环烷基,或者 R² 和 R³ 与同它们连接的碳原子和 Q 一起形成取代或未取代的具有 5 至 8 个环原子的杂环,其中该杂环的 1-2 个环原子选自 N、O 和 S;并且 Q 是 O 或 NR,其中 R 是 H 或未取代的 C₁-C₃ 烷基。

[0017] 在另一方面,本发明提供了药物组合物,其包含式 I 化合物或其立体异构体或药物可接受的盐,以及药物可接受的载体或稀释剂。

[0018] 在另一方面,本发明提供了药物组合物,其包含有效量的抗菌的式 I 化合物或其立体异构体或药物可接受的盐,以及药物可接受的载体或稀释剂。

[0019] 在另一方面,本发明提供了抑制革兰氏阴性菌中的脱乙酰酶,从而影响细菌生长的方法,包括给予需要这样的抑制的患者具有抑制 LpxC 的活性的式 I 化合物或其立体异构体或药物可接受的盐。

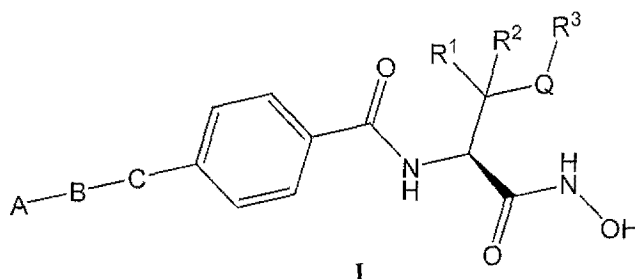
[0020] 在另一方面,本发明提供了抑制革兰氏阴性菌中的 LpxC,从而调节细菌感染的毒性的方法,包括给予需要这样的抑制的患者具有抑制 LpxC 的活性的式 I 化合物或其立体异构体或药物可接受的盐。

[0021] 在另一方面,本发明提供了用于治疗患有细菌感染的个体的方法,包括给予需要该方法的该个体抗菌有效量的式 I 化合物或其立体异构体或药物可接受的盐。在该治疗方法的更具体的实施方案中,细菌感染是革兰氏阴性细菌感染。在一这样的实施方案中,细菌是铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、伯克氏菌 (*Burkholderia*) (例如洋葱伯克霍尔德菌 (*Burkholderia cepacia*))、肠杆菌 (*Enterobacteriaceae*)、弗氏菌 (*Francisellaceae*) (例如土拉弗氏菌 (*Francisella tularensis*))、沙雷氏菌 (*Serratia*)、变形杆菌 (*Proteus*)、克雷伯菌 (*Klebsiella*)、肠杆菌 (*Enterobacter*)、柠檬酸杆菌 (*Citrobacter*)、沙门氏菌 (*Salmonella*)、普罗维登斯菌 (*Providencia*)、耶

尔森菌 (*Yersinia*) (如鼠疫耶尔森菌 (*Yersinia pestis*))、摩根菌 (*Morganella*) 或大肠杆菌 (*Escherichia coli*)。在一具体的实施方案中,细菌是铜绿假单胞菌、伯克氏菌、弗氏菌、肠杆菌、耶尔森菌或大肠杆菌。在一这样的实施方案中,细菌是铜绿假单胞菌。在另一这样的实施方案中,细菌是大肠杆菌。在另一实施方案中,细菌是嗜麦芽黄杆菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*)、木糖氧化产碱菌 (*Alcaligenes xylosoxidans*)、嗜血杆菌 (*Haemophilus*)、奈瑟菌属 (*Neisseria* species)、西地西菌 (*Cedecea*) 或爱德华氏菌属 (*Edwardsiella* species)。在进一步的具体实施方案中,个体是哺乳动物,并且在某些实施方案中,是人。

[0022] 本发明的一方面提供了药物组合物,其包含 LpxC 抑制剂和第二抗菌剂。在一实施方式中,第二抗菌剂选自万古霉素、利奈唑胺、阿奇霉素、亚胺培南、替考拉宁、达托霉素、克林霉素、利福平、头孢噻肟、庆大霉素、新生霉素和特拉万星。在一实施方式中,第二抗菌剂是万古霉素或利福平。在另一实施方式中,LpxC 抑制剂是式 I 化合物或其立体异构体或药物可接受的盐:

[0023]



[0024] 其中 A 是取代的 C_3-C_6 环烷基,其至少一个取代基是 C_1-C_3 伯醇;B 为不存在、 $-CH=CH-$ 、 $-C\equiv C-$ 或未取代的苯基;C 是 $-CH=CH-$ 、 $-C\equiv C-$ 或未取代的苯基,其中如果 B 是 $-CH=CH-$,则 C 不同时是 $-CH=CH-$; R^1 、 R^2 和 R^3 独立地选自 H 和取代或未取代的 C_1-C_3 烷基,或者 R^1 和 R^2 与同它们连接的碳原子一起形成未取代的 C_3-C_6 环烷基,或者 R^2 和 R^3 与同它们连接的碳原子和 Q 一起形成取代或未取代的具有 5 至 8 个环原子的杂环,其中该杂环的 1-2 个环原子选自 N、O 和 S;并且 Q 是 O 或 NR,其中 R 是 H 或未取代的 C_1-C_3 烷基。

[0025] 本发明的另一方面提供了用于治疗患有革兰氏阴性细菌感染的患者的方法,包括共同给予协同量的,例如体内协同量的,抗菌剂和式 I 的 LpxC 抑制剂。在一实施方式中,抗菌剂选自万古霉素、利奈唑胺、阿奇霉素、亚胺培南、替考拉宁、达托霉素、克林霉素、利福平、头孢噻肟、庆大霉素、新生霉素和特拉万星。在一这样的实施方式中,抗菌剂是万古霉素或利福平。

[0026] 经参考下列详细描述,本发明的这些和其它方面显而易见。

[0027] V. 附图简述

[0028] 图 1 示出菌株 ATCC 43816 中化合物 I-1 与万古霉素的体内协同作用。

[0029] VI. 详细描述

[0030] 本发明提供了新颖的化合物,在革兰氏阴性菌中抑制 LpxC 的方法,以及用于治疗细菌感染的新方法。本文所提供的化合物能够配制成药物制剂和药物,其可用于本发明的方法中。本发明还提供了化合物在制备药物和药物制剂中的用途,化合物在抑制 LpxC 中的用途,以及化合物在治疗个体的细菌感染中的用途。本发明还提供了通过单独或与给予第

二抗菌化合物相结合给予能够抑制 UDP-3-O-(R-3- 羟基癸酰基)-N- 乙酰葡萄糖胺脱乙酰酶 (LpxC) 的活性的化合物来治疗革兰氏阴性菌感染的组合物和方法。

[0031] A. 定义

[0032] 在整个本申请文件中使用如下缩写和定义：

[0033] “LpxC”是表示 UDP-3-O-(R-3- 羟基癸酰基)-N- 乙酰葡萄糖胺脱乙酰酶的缩写。

[0034] 除非另有说明，如本文所用，应适用下列定义。

[0035] “烷基”是指具有 1 至 10 个碳原子、优选 1 至 6 个碳原子的一价饱和脂族烃基。此术语包括，通过举例的方式，直链和支链的烃基，如甲基 (CH_3-)、乙基 (CH_3CH_2-)、正丙基 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2-$)、异丙基 ($(\text{CH}_3)_2\text{CH}-$)、正丁基 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$)、异丁基 ($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2-$)、仲丁基 ($(\text{CH}_3)(\text{CH}_3\text{CH}_2)\text{CH}-$)、叔丁基 ($(\text{CH}_3)_3\text{C}-$)、正戊基 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$) 和新戊基 ($(\text{CH}_3)_3\text{CCH}_2-$)。

[0036] “烷氧基”是指基团 -O- 烷基，其中烷基如本文所定义。烷氧基包括甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、叔丁氧基、仲丁氧基、正戊氧基等等。

[0037] “氨基”是指基团 $-\text{NH}_2$ 。

[0038] “伯醇”是指基团 - 烷基 -OH，其中羟基基团被连接到伯碳上。实例包括 $-\text{CH}_2\text{OH}$ (羟基甲基)， $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ (羟基甲基) 和 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{OH}$ (1- 羟基丙 -2- 基)。

[0039] “烯基”是指具有 2 至 6 个碳原子、优选 2 至 4 个碳原子并具有至少 1 处、优选 1 至 2 处乙烯基 ($>\text{C}=\text{C}<$) 不饱和的直链或支链烃基。这类基团的实例是乙烯基、烯丙基和丁 -3- 烯 -1- 基 (but-3-en-1-yl)。顺式和反式异构体或这些异构体的混合物包含在该术语中。

[0040] “炔基”是指具有 2 至 6 个碳原子、优选 2 至 3 个碳原子并具有至少 1 处、优选 1 至 2 处乙炔基 $-\text{C}\equiv\text{C}-$ 不饱和的直链或支链的一价烃基。这样的炔基的实例包括乙炔基 ($-\text{C}\equiv\text{CH}$) 和丙炔基 ($-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$)。

[0041] “羧基”是指 $-\text{COOH}$ 或其盐。

[0042] “氰基”或“腈”是指基团 $-\text{CN}$ 。

[0043] “环烷基”是指 3 至 13 个碳原子的单环状烷基。环烷基的实例包括环丙基、环丁基、环戊基、环辛基等。

[0044] “胍基”是指基团 $-\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 。

[0045] “卤”或“卤素”是指氟、氯、溴和碘，通常是氟或氯。

[0046] “羟基”是指基团 $-\text{OH}$ 。

[0047] “杂环”和“杂环基”是指具有单环并具有 3 至 15 个环原子、包括 1 至 4 个杂原子的饱和或不饱和基团。这些环原子选自氮、硫或氧。在一实施方式中，杂环基的氮和 / 或硫原子任选地被氧化，以提供 N- 氧化物、 $-\text{S}(\text{O})-$ 或 $-\text{SO}_2-$ 部分。

[0048] “硝基”是指基团 $-\text{NO}_2$ 。

[0049] “亚硝基”是指基团 $-\text{NO}$ 。

[0050] “氧代”是指原子 ($=\text{O}$)。

[0051] “取代的”是指一个或多个氢被取代基取代的基团，所述取代基选自烷氧基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、氨基羰基、氨基硫代羰基、氨基羰基氨基、氨基硫代羰基氨基、氨基羰氧基、脒基、羧基、羧基酯、(羧基酯) 氨基、(羧酸酯) 氧基、氰基、胍基、卤素、羟基、硝基、

SO₃H 基、磺酰基、磺酰氧基、硫代酰基 (thioacyl)、巯基和烷硫基 (alkylthio), 其中所述取代基如本文所定义。在某些取代的环状基团中, “取代的” 也指两个氢原子被单一的双键氧原子 (氧代基团), 或单一的双键硫原子 (硫代 (thioxo)) 所取代的基团。在某些实施方式中, 被取代的基团有 1 至 3 个上述取代基。在其他实施方式中, 被取代的基团有 1 至 2 个上述的取代基

[0052] “磺酰基” 是指基团 -SO₂- 烷基、-SO₂- 取代的烷基、-SO₂- 烯基、-SO₂- 取代的烯基, 其中烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基和取代的炔基如本文所定义。磺酰基包括诸如甲基 -SO₂- 的基团。

[0053] “磺酰氧基” 是指基团 -OSO₂- 烷基、-OSO₂- 取代的烷基、-OSO₂- 烯基、-OSO₂- 取代的烯基、-OSO₂- 炔基、-OSO₂- 取代的炔基, 其中烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基和取代的炔基如本文所定义。

[0054] “硫代酰基 (Thioacyl)” 是指基团 H-C(S)-、烷基 -C(S)-、取代的烷基 -C(S)-、烯基 -C(S)-、取代的烯基 -C(S)-、炔基 -C(S)- 和取代的炔基 -C(S)-, 其中烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基如本文所定义。

[0055] “巯基” 是指基团 -SH。

[0056] “硫代 (thioxo)” 是指原子 (= S)。

[0057] “烷硫基” 是指基团 -S- 烷基, 其中烷基如本文所定义。在其他实施方式中, 硫可以被氧化为 -S(O)-。亚砷可以一种或多种立体异构体的形式存在。

[0058] 除非另有说明, 本文中没有明确定义的取代基的命名是按照命名功能基团的末端部分然后向连接点的方向命名紧邻的功能基团来完成的。例如, 取代基 “芳基烷氧基羰基” 是指 (芳基)-(烷基)-O-C(O)-。

[0059] 一般情况下, 提及诸如氢或 H 的某种元素是指包括该元素的所有同位素。例如, 如果取代基被定义为包括氢或 H, 它也包括氘和氚。

[0060] 本发明还包括同位素标记的本发明化合物, 它们在结构上与本文所公开的那些化合物相同, 但实际上一个或多个原子被原子质量或质量数与通常在自然界中发现的原子质量或质量数不同的原子所取代。可以掺入到本发明化合物中的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、硫、氟和氯的同位素, 分别例如 ²H、³H、¹³C、¹⁴C、¹⁵N、¹⁸O、¹⁷O、³¹P、³²P、³⁵S、¹⁸F 和 ³⁶Cl。

[0061] 含有上述同位素和 / 或其他原子的其他同位素的本发明化合物、其前药以及所述化合物和所述前药的药物可接受的盐均在本发明的范围之内。本发明的某些同位素标记的化合物, 例如, 引入诸如 ³H 和 ¹⁴C 的放射性同位素的那些, 可用于药物和 / 或底物组织分布试验。氚 (即 ³H) 和碳 -14 (即 ¹⁴C) 同位素, 由于它们的易于制备和可检测性, 是特别优选的。另外, 用诸如氘 (²H) 的更重的同位素取代, 可产生更大的代谢稳定性, 例如增加体内的半衰期或减少所需剂量, 从而产生某些治疗优势, 因此, 在某些情况下可能是优选的。通常能够通过采用已知的或参考文献的步骤, 并通过用现成的同位素标记的试剂代替非同位素标记的试剂来制备本发明的同位素标记的化合物及其前药。

[0062] “立体异构体” 是指具有相同的原子连接, 但原子的空间排列不同的化合物。立体异构体包括顺反异构体、E 和 Z 异构体、对映异构体和非对映异构体。

[0063] “互变异构体” 是指质子的位置不同的分子的可选形式, 如烯醇 - 酮和亚胺 - 烯胺互变异构体, 或含有 -N = C(H)-NH- 环原子重排的杂芳基的互变异构体, 如吡唑、咪唑、苯并

咪唑、三唑和四唑。本领域普通技术人员将认识到,其他的互变异构环原子排列是可能的。

[0064] “患者”是指人类和非人类动物,尤其是哺乳动物。

[0065] “药物可接受的盐”是指化合物的药物可接受的盐,所述盐来自于本领域公知的各种各样的有机和无机抗衡离子,并包括例如钠、钾、钙、镁、铵、四烷基铵等;并且当该分子含有碱性功能性时,包括有机或无机酸盐,如盐酸盐、氢溴酸盐、酒石酸盐、甲磺酸盐、乙酸盐、马来酸盐、草酸盐、磷酸盐、硫酸盐等。

[0066] “药物有效量”和“治疗有效量”是指足以治疗指明的病症或疾病或其一种或多种症状和/或预防疾病或病症的发生的化合物的量。

[0067] 本文所用的术语“协同效应”或“协同”,是指化合物组合使用时的组合效果,大于化合物单独使用时的加合效应。“协同效应”能够被定量定义为分级抑制浓度指数(FICI) ≤ 0.5 ,其中FICI被定义为两种化合物的组合中各个组分的分级抑制浓度(FIC)的总和,且FIC被定义为组合中化合物的最小抑制浓度(MIC)除以单独使用时该化合物的MIC的比值:

[0068]

$$FICI = \left(\frac{MIC_{\text{组合中的药物A}}}{MIC_{\text{药物A单独}}} \right) + \left(\frac{MIC_{\text{组合中的药物B}}}{MIC_{\text{药物B单独}}} \right)$$

[0069] 或者,“协同效应”,更具体地“体内协同效应”,能够量化地定义为:相比单独的LpxC抑制剂或第二抗菌剂,组合使用的药剂的静态剂量(static dose)减少至少两倍。在某些情况下,单靠一个药剂可能永远达不到静态剂量。在这样的情况下,如果无法单独达到静态的两种化合物的联合给药能够使细菌生长停止(24小时时的CFU负荷与感染后0小时时所测得的CFU负荷相同),则这种组合是具有协同效应的。

[0070] “共同给药”能够为单一制剂的形式(将例如本发明的化合物和第二抗菌剂与药物可接受的赋形剂组合,任选将这两种活性成分各自分散在不同的赋形剂混合物中以独立地控制它们各自的释放速度和持续时间),或者能够独立地给予含有活性剂的单独制剂。“共同给药”进一步包括同时给药(本发明化合物和第二抗菌剂在同一时间给药)和变化时间地给药(本发明化合物的给药时间不同于第二抗菌剂的给药时间),只要在至少部分重叠的时间内,本发明化合物和第二抗菌剂均以治疗有效浓度存在于体内。

[0071] 术语“抗菌剂”是指具有杀菌或抑菌活性的药剂。术语“抑制生长”表示特定细菌群落数量增加的速度降低。因此,该术语包括细菌群落增加但是速度降低的情况,以及群落数量不再增加的情况,以及群落中细菌的数量降低甚至群落消失的情况。如果使用酶活性测定法筛选抑制剂,能够在吸收/流出、溶解度、半衰期等方面对化合物进行修饰,以使酶抑制与生长抑制相关。抗菌剂的活性并不一定仅限于细菌,也可以包括对寄生虫、病毒和真菌的活性。

[0072] 除本文另有所指外,整个说明书和权利要求书遵循,单词“包括(comprise)”和其变体,如“包括(comprises)”和“包括(comprising)”,以开放的、包含性的意义解释,即“包括,但不限于”。

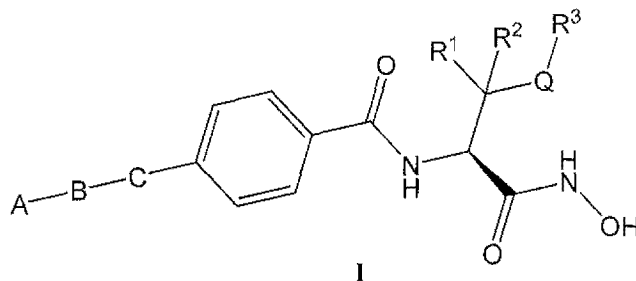
[0073] 在整个说明书中“一实施例”或“实施例”是指与该实施例相关的描述的特定特征、结构或特性包括在本发明的至少一实施方案中。因此,在本说明书的多个地方,短语“在一

实施方案中”或“在实施方案中”的出现未必都指相同的实施方案。此外,特定的特征、结构或特性可以任何适当方式被组合在一个或多个实施方案中。

[0074] B. 化合物,组合物及其用途

[0075] 在一方面,本发明提供了式 I 化合物及其立体异构体和药物可接受的盐:

[0076]

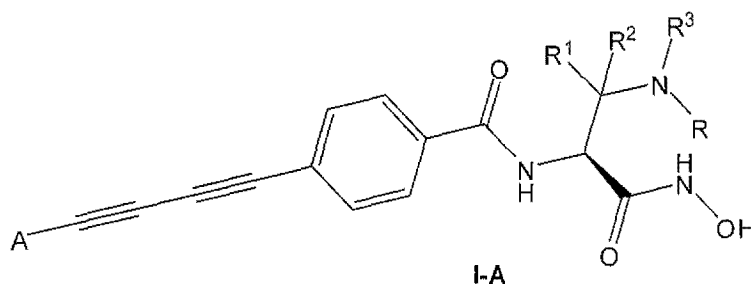


[0077] 其中 A 是取代的 C_3-C_6 环烷基,其中至少一个取代基是 C_1-C_3 伯醇;B 为不存在、 $-CH=CH-$ 、 $-C\equiv C-$ 或未取代的苯基;C 是 $CH=CH-$ 、 $-C\equiv C-$ 或未取代的苯基,其中如果 B 是 $-CH=CH-$,则 C 不同时是 $-CH=CH-$; R^1 、 R^2 和 R^3 独立地选自 H 和取代或未取代的 C_1-C_3 烷基,或者 R^1 和 R^2 与同它们连接的碳原子一起形成未取代的 C_3-C_6 环烷基,或 R^2 和 R^3 与同它们连接的碳原子和 Q 一起形成取代或未取代的具有 5 至 8 个环原子的杂环,其中该杂环的 1-2 个环原子选自 N、O 和 S;并且 Q 是 O 或 NR,其中 R 是 H 或未取代的 C_1-C_3 烷基。

[0078] 在某些实施方案中,Q 是 NR,并且在某些这样的实施方案中,Q 是 NH 或 NCH_3 。在某些实施方案中, R^1 、 R^2 和 R^3 独立地选自 H 和取代或未取代的 C_1-C_3 烷基,并且在某些这样的实施方案中,选自氢和未取代的 C_1-C_3 烷基。在某些实施方案中, R^1 和 R^2 独立地是未取代的 C_1-C_3 烷基。在某些实施方案中,A 是羟甲基取代的 C_3-C_6 环烷基。在其它实施方案中,B 和 C 均是 $-C\equiv C-$ 。

[0079] 本发明的一方面提供了式 I-A 化合物及其立体异构体和药物可接受的盐:

[0080]



[0081] 其中 A 是取代的 C_3-C_6 环烷基,其中至少一个取代基是 C_1-C_3 伯醇; R^1 、 R^2 和 R^3 独立地选自 H 和取代或未取代的 C_1-C_3 烷基,或者 R^1 和 R^2 与同它们连接的碳原子一起形成 C_3-C_6 环烷基,或者 R^2 和 R^3 与同它们连接的碳原子和氮一起形成取代或未取代的具有 5 至 8 个环原子的杂环,其中该杂环的 1-2 个环原子选自 N、O 和 S;并且 R 是 H 或未取代的 C_1-C_3 烷基。在某些实施方案中, R^1 、 R^2 和 R^3 独立地选自 H 和取代或未取代的 C_1-C_3 烷基,并且在某些这样的实施方案中,选自 H 和未取代的 C_1-C_3 烷基。在一实施方案中,A 是被 C_1-C_3 伯醇单取代的 C_3-C_6 环烷基。

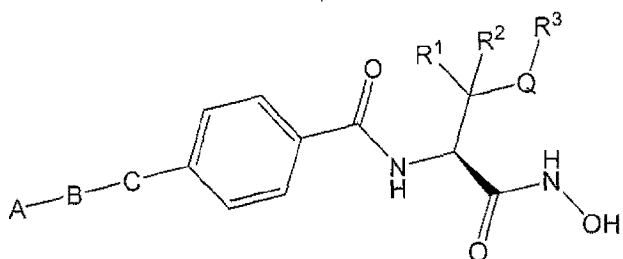
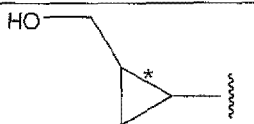
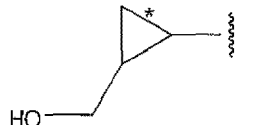
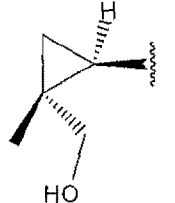
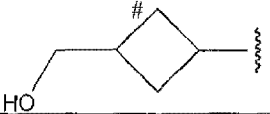
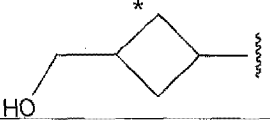
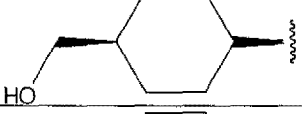
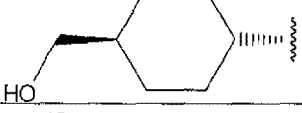
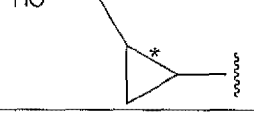
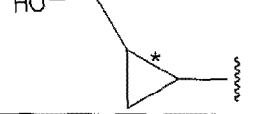
[0082] 本发明化合物包括列于表 I 中的化合物。表 I 中所示的某些化合物代表两种非对映异构体的混合物。在这种情况下,符号“*”表示连接于环部分的两个部分彼此是反式

(trans) 的。符号“#”表示连接于环部分的两个部分彼此是顺式 (cis) 的。

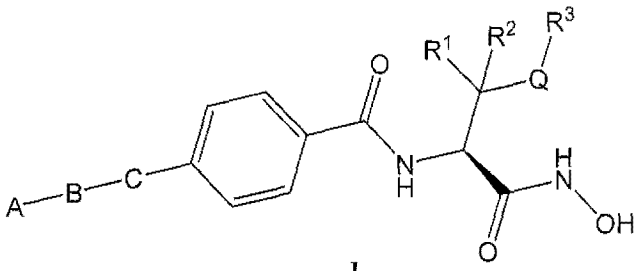
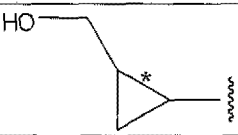
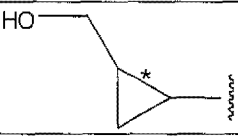
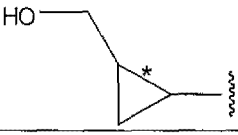
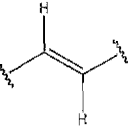
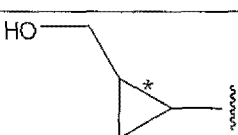
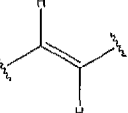
[0083]

表 I							
	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		≡	苯基	CH ₃	CH ₃	H	NH
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

[0084]

表 I							
 I							
	A	B	C	R ¹	R ²	R ³	Q
I-9				CH ₃	CH ₃	CH ₃	NCH ₃
I-10				CH ₃	CH ₃	H	O
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
I-16				CH ₃	CH ₃	H	NH
I-17				环丁基		H	NH
I-18				环丁基		H	NH

[0085]

表 I							
							
	A	B	C	R ¹	R ²	R ³	Q
I-19				环丁基		CH ₃	NCH ₃
I-20				H	吗啉基		NH
I-21				H	吗啉基		NCH ₃
I-22				CH ₃	CH ₃	H	NH
I-23				CH ₃	CH ₃	H	NH

[0086] * = 反式 # = 顺式

[0087] 能够使用本文所述的方法或本领域众所周知的其他方法容易地合成本发明化合物。例如,具有各种各样的取代基的氧肟酸(hydroxamic acids)或类似的骨架的合成方法在如下文献中被详尽地综述:Kline, T. 等人,“Potent, novel in vitro inhibitors of the *Pseudomonas aeruginosa* deacetylase LpxC(铜绿假单胞菌脱乙酰酶 LpxC 的有效的新体外抑制剂)”J. Med. Chem. 2002, 45(14), 3112-29; 美国专利第 5,925,659 号; Pirrung, M. C. 等人,“A Convenient Procedure for the Preparation of Amino Acid Hydroxamate from Esters(由酯制备氨基酸氧肟酸的方便方法)”J. Org. Chem. 1995, 60, 8084-8085; Nhu, K. 等人,“A New and Efficient Solid Phase Synthesis of Hydroxamic Acids(氧肟酸的新的有效固相合成)”J. Org. Chem. 1997, 62, 7088-7089; 国际 PCT 公开第 W098/18754 号; Mellor, S. L. 等人,“N-Fmoc-aminoxy-2-chlorotrityl Polystyrene Resin: A Facile Solid-phase Methodology for the Synthesis of Hydroxamic Acids(N-芴甲氧羰基-氨氧基-2-氯三苯甲基聚苯乙烯树脂:氧肟酸的温和的固相合成方法)”Tetrahedron Lett. 1997, 38, 3311-3314; Khan, S. I. 等人,“A Facile and Convenient Solid-phase Procedure for Synthesizing Nucleoside Hydroxamic Acids(核苷氧肟

酸的温和和方便的固相合成方法)”Tetrahedron. Lett. 1998, 39, 8031-8034 ;Zhang, Y. 等人, “Design, Combinatorial Chemical Synthesis, and in vitro Characterization of Novel Urea Based Gelatinase Inhibitors(新的脲基白明胶酶抑制剂的设计、组合化学合成和体外表征)”Bioorg. Med. Chem. Lett. 1999, 9, 2823-2826 ;Ito, Y. 等人, “Synthetic Reactions by Complex Catalysts. XXXI, A Novel and Versatile Method of Heterocycle Synthesis(新颖万能的杂环合成方法)”J. AmChem. Soc. 1973, 95, 4447-4448 ;Ito, Y. 等人, “Synthetic Reactions by Complex Catalysts XXXV(通过配合物催化剂 XXXV 的合成方法)”Syn. Commun. 1974, 4, 97-103 ;Witte, H. 等人, “Cyclische Imidsaurester aus Nitrilen und Aminoalkoholen(来自腈和氨基酸的环状 Imidsaurester)”Liebigs Ann. Chem. 1974, 996-1009 ;Pattenden, G. 等人, “Naturally Occurring Linear Fused Thiazoline-Thiazole Containing Metabolites: Total Synthesis of (-) Didehydromirabazole A, a Cytotoxic Alkaloid from Blue-Green Algae(天然存在的线性稠合的含噻唑啉-噻唑的代谢物: 来自蓝绿藻的细胞毒素生物碱 (-) 二脱氢 mirabazole A 的全合成)”J. Chem. Soc. Perkin Trans1993, 1, 1629-1636 ;Boyce, R. J. 等人, “Total Synthesis of Thiagazole, A Novel Naturally Occurring HIV-1 Inhibitor from Polyangium sp. (来自多囊菌的新的天然存在的 HIV-1 抑制剂 Thiagazole 的全合成)”Tetrahedron 1995, 51, 7321-7330 ;Galeotti, N. 等人, “Synthesis of Peptidyl Aldehydes from Thiazolines(来自噻唑啉的肽基醛的合成)”Tetrahedron. Lett. 1997, 38, 2459-2462 ;Charette, A. B. 等人, “Mild Method for the Synthesis of Thiazolines from Secondary and Tertiary Amides(由仲和叔酰胺合成噻唑啉的温和方法)”J. Org. Chem. 1998, 63, 908-909 ;Bergeron, R. J. 等人, “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 ;Rarnan, P. 等人, “Titanium(IV)-mediated Tandem Deprotection-cyclodehydration of Protected Cysteine N-Amides: Biomimetic Synthesis of Thiazoline-and Thiazole-containing Heterocycles(受保护的半胱氨酸 N-酰胺的钛(IV)介导的串联脱保护-环化脱水: 含噻唑啉和噻唑的杂环的生物模拟合成)”Org. Lett. 2000, 2, 3289-3292 ;Fernandez, X. 等人, “Novel Synthesis of 2-Thioazolines(2-噻唑啉的新合成)”Tetrahedron Lett. 2000, 41, 3381-3384 ;以及 Wipf, P. 等人, “C. Thiolytic of Oxazolinones: A New, Selective Method for the Direct Conversion of Peptide Oxazolinones into Thiazolines(C. 噻唑啉酮的硫解: 肽噻唑啉直接转化成噻唑啉的新的选择性方法)”Tetrahedron Lett. 1995, 36, 6395-6398, 这些均通过引用的方式并入本文。

[0088] 在另一方面, 本发明提供了药物组合物, 其包含式 I 化合物或其立体异构体或药物可接受的盐, 以及药物可接受的载体或稀释剂。

[0089] 在另一方面, 本发明提供了抑制革兰氏阴性菌中的脱乙酰酶, 从而影响细菌生长的方法, 包括给予需要这样的抑制的患者式 I 化合物或其立体异构体或药物可接受的盐。

[0090] 在另一方面, 本发明提供了抑制革兰氏阴性菌中的 LpxC, 从而调制细菌感染的毒性的方法, 包括给予需要这样的抑制的患者式 I 化合物或其立体异构体或药物可接受的盐。在使用本发明化合物抑制 LpxC 的方法的某些实施方案中, 相对于 LpxC, 化合物的 IC₅₀

值小于或等于 $10 \mu\text{M}$ 。在其它实施方案中, IC_{50} 值小于或等于 $1 \mu\text{M}$, 小于或等于 $0.1 \mu\text{M}$, 小于或等于 $0.050 \mu\text{M}$, 小于或等于 $0.030 \mu\text{M}$, 小于或等于 $0.025 \mu\text{M}$, 或者小于或等于 $0.010 \mu\text{M}$ 。

[0091] 在另一方面, 本发明提供了用于治疗患有革兰氏阴性菌感染的个体的方法, 包括给予有需要的该个体抗菌有效量的式 I 化合物或其立体异构体或药物可接受的盐。在一这样的实施方案中, 细菌是铜绿假单胞菌、伯克氏菌 (例如洋葱伯克霍尔德菌)、肠杆菌、弗氏菌 (例如土拉弗氏菌)、沙雷氏菌、变形杆菌、克雷伯菌、肠杆菌、柠檬酸杆菌、沙门氏菌、普罗维登斯菌、耶尔森菌 (如鼠疫耶尔森菌)、摩根菌或大肠杆菌。在一具体的实施方案中, 细菌是铜绿假单胞菌、伯克氏菌、弗氏菌、肠杆菌、耶尔森菌或大肠杆菌。在一这样的实施方案中, 细菌是铜绿假单胞菌。在另一这样的实施方案中, 细菌是大肠杆菌。在另一实施方案中, 细菌是嗜麦芽黄杆菌、木糖氧化产碱菌、嗜血杆菌、奈瑟菌属、西地西菌或爱德华氏菌属。

[0092] 在某些实施方案中, 个体可以是哺乳动物, 并且在某些实施方案中, 是人。

[0093] 对本发明的治疗敏感的细菌感染包括原发性感染和由一种细菌与诸如细菌、病毒、寄生虫和真菌的一种或多种另外的感染原引起的共感染。

[0094] 本发明化合物能够用于治疗由细菌产生的内毒素引起的疾病状态, 尤其是由革兰氏阴性菌和在脂多糖 (LPS) 或内毒素的生物合成中使用 LpxC 的细菌。

[0095] 本发明化合物还可用于治疗由细菌产生的脂质 A 和 LPS 或内毒素引起或加剧的疾病状态, 如败血症、败血性休克、全身炎症、局部炎症、慢性阻塞性肺疾病 (COPD) 和慢性支气管炎急性加重 (AECB)。对于这些疾病状态, 治疗包括给予本发明化合物, 或本发明化合物任选地与第二药剂的组合, 其中所述第二药剂是第二抗菌剂或非抗菌剂。

[0096] 对于败血症、败血性休克、全身炎症、局部炎症、慢性阻塞性肺疾病 (COPD) 和慢性支气管炎急性加重 (AECB), 代表性的非抗菌剂包括抗内毒素, 其包括内毒素受体结合抗体、内毒素结合抗体、抗 CD14 结合蛋白抗体、抗脂多糖结合蛋白抗体和酪氨酸激酶抑制剂。

[0097] 在严重或慢性呼吸道感染的治疗中, 还可以使用本发明化合物与通过吸入给药的非抗菌剂。在这种治疗中使用的代表性的非抗菌剂包括抗炎甾体、非甾体抗炎剂、支气管扩张剂、粘液溶解剂、抗哮喘剂剂和肺液表面活性剂 (lung fluid surfactant)。具体地, 非抗菌剂可以是舒喘宁、沙丁胺醇、布地奈德、倍氯米松、地塞米松、奈多罗米、倍氯米松、氟替卡松、氟尼缩松、曲安西龙、布洛芬、罗非昔布、萘普生、塞来昔布、奈多罗米、异丙托溴铵、奥西那林、吡布特罗、沙美特罗、福莫特罗、茚达特罗、支气管扩张剂、粘液溶解剂、卡尔法坦、贝拉克坦、猪肺磷脂、芦西纳坦 (surfaxin) 或阿法链道酶 (也称为 domase α)。

[0098] 本发明化合物能够单独使用或与第二抗菌剂组合使用, 用于治疗严重或慢性呼吸道感染, 包括严重的院内肺部感染, 例如由产气肠杆菌 (*Enterobacter aerogenes*)、阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae*)、大肠杆菌 (*Escherichia coli*)、肺炎克雷伯菌 (*Klebsiella pneumoniae*)、产酸克雷伯菌 (*Klebsiella oxytoca*)、奇异变形杆菌 (*Proteus mirabilis*)、粘质沙雷氏菌 (*Serratia marcescens*)、嗜麦芽寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*)、铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、洋葱伯克霍尔德菌 (*Burkholderia cepacia*)、木糖氧化产碱菌 (*Alcaligenes xylosoxidans*)、脑膜炎败血性黄杆菌 (*Flavobacterium meningosepticum*)、斯氏普罗威登斯菌 (*Providencia stuartii*) 和弗氏柠檬酸杆菌 (*Citrobacter freundii*) 引起的那些, 社区肺部感染, 例如由流感嗜血杆菌 (*Haemophilus Influenzae*)、军团菌属细菌 (*Legionella species*)、卡他

莫拉菌 (*Moraxella catarrhalis*)、卡他布兰汉氏菌 (*Branhamella catarrhalis*)、肠杆菌属细菌 (*Enterobacter species*)、克雷伯菌属细菌 (*Klebsiella species*)、变形杆菌属细菌 (*Proteus species*) 引起的那些, 由诸如奈瑟菌属细菌 (*Neisseria species*)、志贺氏菌属细菌 (*Shigella species*)、沙门氏菌属细菌 (*Salmonella species*)、幽门螺旋杆菌 (*Helicobacter pylori*)、弧菌 (*Vibrionaceae*) 和博德特氏菌属细菌 (*Bordetella species*) 的其它细菌引起的感染, 以及由布鲁氏菌属细菌 (*Brucella species*)、土拉弗朗西斯菌 (*Francisella tularensis*) 和 / 或鼠疫耶尔森氏菌 (*Yersinia Pestis*) 引起的感染。

[0099] 当用于治疗革兰氏阴性菌感染的个体时, 本发明化合物能够用于使革兰氏阴性菌对第二抗菌剂的效果敏感。

[0100] 本发明提供了新的化合物的组合, 包括式 I 化合物或其立体异构体或药物可接受的盐, 以及用于治疗革兰氏阴性菌感染的个体的方法。能够将本文提供的新的组合配制成可用于本发明方法中的药物制剂和药物。本发明还提供了该新的组合在制备药物和药物制剂中的用途, 该组合在治疗患者的细菌感染中的用途。

[0101] 使用被称为棋盘稀释法 (checkerboard assay) 的一种经典的评估协同作用的方法来预测抗菌剂的功效, 所述方法在 Scribner 等人, (1982, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* (抗微生物剂和化学疗法) 21(6):939-943) 和 Goodman & Gilman (1980, *The Pharmacological Basis of Therapeutics* (治疗的药理学基础), 第六版, 第 1097-1098 页) 文献中描述。棋盘稀释法包括将抗生素单独和组合地在液体培养基中连续两倍地稀释, 然后接种待测试的微生物。孵育后, 测定单独使用和组合使用的每种药物的最低抑制浓度 (MIC) (MIC 是药物在培养基中抑制生长的最低浓度)。组合使用时, 每种药物的 MIC 减少, 表示产生了协同效应。组合使用时一方或双方的 MIC 增加, 说明产生了拮抗作用。评估协同作用的替代方法在 Greco 等人, *Pharmacological Reviews* 47(2):331-285(1995) 中综述, 通过引用将其全文引入本文。

[0102] 然而, 棋盘稀释法中的阳性结果, 即表明低于 MIC 的协同作用, 并不一定会导致在体内的协同行为。美国专利申请公开第 2004-229955A1 号报导了红霉素与 LpxC 抑制剂 N-[(1S)-1-(氨基甲基)-2-(羟氨基)-2-氧代乙基]-4-(4-{4-[(3-甲基苯基)甲基]氨基}乙酰基)氨基]苯基}1,3-丁二炔基)苯甲酰胺, 对大肠杆菌菌株 ATCC 25922 强的协同作用。国际 PCT 专利申请第 PCT/US2010/33910 号表明, 红霉素与多种 LpxC 抑制剂的组合在体内没有显示协同作用。

[0103] LpxC, 革兰氏阴性菌的必需基因, 编码尿苷酰二磷酸-3-O-(R-3-羟基癸酰基)-N-乙酰葡萄糖胺脱乙酰酶。该酶催化脂质 A 生物合成中的早期关键步骤, 所述脂质 A 是脂多糖的脂质部分, 是所有革兰氏阴性菌的重要组分。在 MIC 以上, 预期 LpxC 抑制剂破坏外膜, 从而允许其他抗菌化合物穿透外膜。一旦这些药物已经渗透外膜, 它们可能会与万古霉素一样, 影响周质靶点, 或者然后他们可以扩散穿过内膜, 与诸如核糖体 (红霉素) 或 RNA 聚合酶 (利福平) 的细胞内靶点相互作用。缺少 LpxC 抑制剂时, 由于外膜, 诸如万古霉素的药剂接近靶点的能力会大大降低。因此, 不受理论的约束, 相信作为观察到的协同作用的基础的生物化学机理为与 LpxC 抑制剂结合时, 外膜对诸如万古霉素的药剂的渗透性增强。

[0104] 在一实施方案中, 与式 I 化合物或其立体异构体或药物可接受的盐组合使用的第

二抗菌剂为万古霉素、利奈唑胺、阿奇霉素、亚胺培南、替考拉宁、达托霉素、克林霉素、利福平、头孢噻肟、庆大霉素、新生霉素或特拉万星。在一这样的实施方案中，第二抗菌剂是万古霉素、替考拉宁、利福平、阿奇霉素、特拉万星或新生霉素。在一这样的实施方案中，第二抗菌剂是万古霉素或利福平。在本发明的某些实施方案中，第二抗菌剂和 / 或式 I 化合物或其立体异构体或药物可接受的盐，以亚治疗剂量给药，亚治疗剂量是指如果单独给予则不足以治疗细菌感染的剂量。

[0105] 本发明的药物组合物包含与一种或多种药物可接受的载体或稀释剂一起配制的式 I 化合物或其立体异构体或药物可接受的盐。如本文所用，术语“药物可接受的载体”是指无毒的惰性固体、半固体或液体填充剂、稀释剂、封装材料或任何类型的制剂助剂。能够作为药物可接受的载体的材料的某些实例是糖，例如乳糖，葡萄糖和蔗糖；淀粉，如玉米淀粉和土豆淀粉；纤维素及其衍生物，如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和乙纤维素；粉状西黄蓍胶；麦芽 (malt)；明胶；滑石；赋形剂，如可可脂和栓剂蜡；油，如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油；二醇类，如丙二醇；酯，如油酸乙酯和月桂酸乙酯；琼脂；缓冲剂，如氢氧化镁和氢氧化铝；藻酸；无热原水；等渗盐水；林格氏溶液；乙醇；和磷酸缓冲溶液；以及其他无毒相容的润滑油，例如十二烷基硫酸钠和硬脂酸镁；并且着色剂、释放剂、包衣剂、甜味剂、矫味剂和芳香剂、防腐剂和抗氧化剂也可以根据配制者的判断存在于组合物中。能够将本发明的药物组合物口服、直肠、肠胃外（如通过静脉内、肌内或皮下注射）、脑池内、阴道内、腹膜内、局部（作为粉剂、油膏或滴剂）、口腔内、或作为口腔或鼻腔喷雾或用于吸入的液体气溶胶或干粉制剂给予人类和其它动物。

[0106] 用于口服给药的液体剂型包括药物可接受的乳剂、微乳、溶液、悬浮液、糖浆和酏剂。除了活性化合物外，液体剂型可以含有本领域常用的惰性稀释剂，例如水或其他溶剂、增溶剂和乳化剂，如乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苄醇、苯甲酸苄酯、丙二醇、1,3-丁二醇、二甲基甲酰胺、油（特别是棉籽油、花生油、玉米油、胚芽油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油）、甘油、四氢糠醇、聚乙二醇和脱水山梨糖醇的脂肪酸酯，以及它们的混合物。除了惰性稀释剂，口服组合物还能够包括辅助剂，如润湿剂、乳化剂和悬浮剂、甜味剂、矫味剂和芳香剂。

[0107] 可以根据已知技术使用合适的分散剂或润湿剂和悬浮剂配制注射制剂，例如无菌注射液或油状悬浮液。无菌注射制剂也可以是在无毒的肠胃外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌注射溶液、悬浮液或乳液，例如，在 1,3-丁二醇中的溶液。其中可以采用的可接受的媒介和溶剂是水、林格氏溶液、1%利多卡因、U.S.P. 和等渗氯化钠溶液。此外，无菌的固定油通常用作溶剂或悬浮介质。为此，能够采用任何温和的固定油，包括合成的单或二甘油酯。此外，在注射制剂制备过程中使用脂肪酸，如油酸。

[0108] 能够通过例如通过保留细菌的过滤器过滤，或加入无菌的固体组合物形式的无菌剂对可注射的制剂进行灭菌，该组合物能够在使用前溶解或分散于无菌水或其它无菌注射介质。

[0109] 为了延长药物的作用，通常期望减缓来自皮下或肌内注射的药物的吸收。这可以通过使用水溶性差的晶体或无定形材料的液体悬浮液来实现。对药物的吸收速率取决于它的溶解速率，反过来，可能取决于晶体尺寸和晶体形式。或者，肠胃外给药的药物形式的延迟吸收可以通过将药物溶解或悬浮在油媒中来实现。通过在诸如聚丙交酯-聚乙交酯的可

生物降解的聚合物中形成药物的微胶囊矩阵制备可注射的储库形式。基于药物与聚合物的比例和采用的特定聚合物的性质,能够控制药物的释放速率。其他可生物降解的聚合物的实例包括聚原酸酯类 (poly(orthoesters)) 和聚酐类 (poly(anhydrides))。还可以通过将药物包埋在与身体组织相容的脂质体或微乳状液中制备可注射的贮库制剂。

[0110] 直肠或阴道给药的组合物优选为栓剂,其能够通过混合本发明化合物与适宜的无刺激性赋形剂或载体(如可可脂、聚乙二醇或栓剂蜡,它们在环境温度下为固体,但在体温下是液体,因此在直肠或阴道腔内熔化,释放活性化合物)而制备。

[0111] 用于口服给药的固体剂型包括胶囊、片剂、丸剂、粉剂和颗粒剂。在这样的固体剂型中,将活性化合物与至少一种惰性的、药物可接受的赋形剂或载体如枸橼酸钠或磷酸二钙和/或a) 填料或填充剂,如淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露糖醇和硅酸,b) 粘合剂,例如羧甲基纤维素、藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖和阿拉伯胶,c) 保湿剂,如甘油,d) 崩解剂,如琼脂、碳酸钙、土豆或木薯淀粉、藻酸、某些硅酸盐和碳酸钠,e) 溶液阻滞剂,如石蜡,f) 吸收促进剂,如季铵化合物,g) 润湿剂,例如乙酰基醇和甘油单硬脂酸酯,h) 吸收剂,如高岭土和膨润土粘土,以及i) 润滑剂,如滑石、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、十二烷基硫酸钠,和它们的混合物。在胶囊、片剂和丸剂的情况下,所述剂型还可以包括缓冲剂。

[0112] 也可使用相似类型的固体组合物作为软和硬明胶胶囊中的填充剂,所述胶囊使用诸如乳糖或奶糖以及高分子量聚乙二醇等的赋形剂。

[0113] 能够制备具有包衣或壳的片剂、糖衣丸、胶囊剂、丸剂和颗粒剂的固体剂型,如药物制剂领域公知的肠溶衣和其它包衣。它们可以任选地含有遮光剂,也可以是只或优先在肠道的某一部分中释放活性成分的组合物,可选地以延迟的方式。能够使用的嵌入组合物的实例包括聚合物物质和蜡。

[0114] 也可以使用相似类型的固体组合物作为软和硬明胶胶囊中的填料,所述胶囊使用诸如乳糖或奶糖以及高分子量聚乙二醇等的赋形剂。

[0115] 抗菌化合物还能够为使用上文所述的一种或多种赋形剂的微胶囊的形式。能够制备具有包衣和壳的片剂、糖衣丸、胶囊剂、丸剂和颗粒剂的固体剂型,所述包衣例如肠溶包衣、控释包衣和药物制剂领域公知的其它包衣。在这样的固体剂型中,可以将活性化合物与诸如蔗糖、乳糖或淀粉的至少一种惰性稀释剂混合。在一般情况下,这样的剂型还可以包含惰性稀释剂以外的其它物质,例如片剂润滑剂和其他片剂助剂,如硬脂酸镁和微晶纤维素。在胶囊、片剂和丸剂的情况下,该剂型还可以包含缓冲剂。它们可以任选地含有遮光剂,也可以是只或优先在肠道的某一部分释放活性成分的组合物,可选地以延迟的方式。能够使用的嵌入组合物的实例包括聚合物物质和蜡。

[0116] 本发明的化合物的局部或经皮给药的剂型包括软膏、糊剂、霜剂、洗剂、凝胶剂、粉剂、溶液剂、喷雾剂、吸入剂或贴剂。在无菌条件下混合活性成分与药物可接受的载体和可能需要的任何所需的防腐剂或缓冲剂。眼用制剂、滴耳剂等,也考虑在本发明的范围之内。

[0117] 除本发明活性化合物外,软膏剂、糊剂、霜剂和凝胶可以含有赋形剂,如动物和植物脂肪、油、蜡、石蜡、淀粉、黄蓍胶、纤维素衍生物、聚乙二醇、硅酮、膨润土、硅酸、滑石和氧化锌,或它们的混合物。

[0118] 还可以将本发明的组合物配制成作为液体气雾剂或可吸入的干粉进行递送。液体气雾剂可以主要被雾化成能够被递送到具有支气管感染(例如慢性支气管炎和肺炎)的患

者的存在细菌的末端和呼吸性细支气管的粒径。致病细菌通常存在于整个呼吸道直至支气管、细支气管和肺薄壁组织中,尤其是在末端和呼吸性细支气管中。在感染加重期间,细菌还能够存在于肺泡中。液体气雾剂和可吸入的干粉制剂优选被递送通过整个支气管系统到达末端细支气管并最终到达薄壁组织。

[0119] 本发明气雾剂可以使用诸如喷嘴、振动多孔板或超声雾化器的气雾形成装置进行递送,优选选择,以允许形成的气雾颗粒的质量平均直径主要在 $1\mu\text{m}$ 至 $5\mu\text{m}$ 。另外,该制剂优选具有平衡的摩尔渗透压离子强度和氯离子浓度,和能够递送有效剂量的本发明化合物至感染部位的最小的气雾体积。此外,优选地,雾化制剂不负面地损害气道的功能,不导致不希望副作用。

[0120] 适用于本发明的气雾剂的给药的雾化装置包括例如喷嘴、振动多孔板、超声雾化器和通电干粉吸入器,其能雾化本发明制剂至气雾颗粒的主要尺寸大小范围为 $1\text{--}5\mu\text{m}$ 。在本申请中主要是指至少 70%、但优选 90% 以上的所有生成的气雾颗粒为 $1\text{--}5\mu\text{m}$ 。喷射雾化器通过空气压力进行工作,将液体溶液打碎成气雾液滴。震动多孔板雾化器通过利用快速振动的多孔板产生的声波真空通过多孔板挤出溶剂滴进行工作。超声雾化器的工作原理是通过压电晶体将液体剪成小气雾滴。各种合适的设备是可用的,包括例如 AeroNeb 和 AeroDose 振动多孔板雾化器 (AeroGen, Inc., Sunnyvale, Calif.)、Sidestream7 雾化器 (Medic-Aid Ltd., West Sussex, England), Pari LC7 和 Pari LC Star7 喷射雾化器 (Pari Respiratory Equipment, Inc., Richmond, Va.), 以及 Aerosonic (DeVilbiss Medizinische Produkte (Deutschland) GmbH, Heiden, Germany) 和 UltraAire7 (Omron Healthcare, Inc., Vernon Hills, Ill.) 超声雾化器。

[0121] 本发明的化合物还可以被配制成局部用粉剂和喷雾剂,除了本发明化合物,其能够包含赋形剂,如乳糖、滑石、硅酸、氢氧化铝、硅酸钙和聚酰胺粉末,或这些物质的混合物。另外,喷雾剂能够包含常用的推进剂,如氯氟烃。

[0122] 透皮贴剂具有提供化合物至身体的受控递送的另外的优势。这样的剂型能够通过将化合物溶解或分散在合适的介质中来制备。吸收促进剂也能够用来增加化合物穿过皮肤的量。能够通过提供速率控制膜,或通过将化合物分散在聚合物基质中或凝胶中来控制速率。

[0123] 根据本发明的治疗方法,通过以达到期望效果所需的量和时间给予患者治疗有效量的式 I 化合物或其立体异构体或药物可接受的盐,来治疗或预防诸如人或低级哺乳动物的患者的细菌感染。本发明化合物的“治疗有效量”是指在适用于任何医疗的合理的效益/风险比下,足以治疗细菌感染的化合物的量。然而,应当理解,本发明的化合物和组合物总的每日使用量由主治医生在可靠的医学判断的范围内决定。对任何特定患者的具体治疗有效剂量水平将取决于多种因素,包括被治疗的疾病和该疾病的严重程度;所采用的具体化合物的活性;所使用的具体组合物;患者的年龄、体重、一般健康状况、性别和饮食;给药时间,给药途径,所用具体化合物的排泄率;治疗的持续时间;与所用具体化合物组合或同时使用的药物;和类似的在医学领域公知的因素。

[0124] 给予人或其它哺乳动物的本发明化合物的单次或分次给药的每日总剂量能够是例如 0.01 至 200 毫克/公斤体重,或更通常为 0.1 至 50 毫克/公斤体重。在某些实施方案中,给予人或其他哺乳动物的每日总剂量是 1.0 至 100 毫克/公斤体重,或 5.0 至 25 毫

克 / 公斤体重。单剂量组合物可以包含这样的量或其约数,以构成每日剂量。一般情况下,本发明的治疗方案包括对需要此治疗的患者每天单剂量或多剂量给予本发明化合物约 10 毫克至约 15 克,更通常 100 毫克至 5 克,更通常每天单剂量或多剂量 250 毫克至 1 克。

[0125] 配制方法在本领域中是众所周知的,并已被公开在例如 Remington :The Science and Practice of Pharmacy(雷明顿制药科学与实践),Mack Publishing Company, Easton, Pa., 19th Edition(1995) 中。在本发明中使用的药物组合物能够是无菌、无热原的液体溶液或悬浮液、包衣胶囊、栓剂、冻干粉剂、经皮贴剂或本领域已知的其它形式。

[0126] 本申请中所用的“试剂盒”包括含有药物组合物的容器,并且还可以包括分开的容器,如分开的瓶子或分开的箔包。容器能够是由药物可接受的材料制成的本领域已知的任何常规的形状或形式,例如纸或纸板盒、玻璃或塑料瓶或罐、可密封的袋子(例如,为了容纳片剂的“再填物”(“refill”)以放置在不同容器中)或根据治疗时间表压出包装的具有单独剂量的泡罩包装。使用的容器能够取决于涉及的确切的剂型,例如传统的纸箱一般不会被用来盛悬浮液。可以在单一的包装中一起使用多个容器,以作为单一剂型出售。例如,片剂可以包含在瓶中,而该瓶又包含在盒子中。

[0127] 这样的试剂盒的实例是所谓的泡罩包装。泡罩包装在包装工业中是众所周知的,并且正被广泛地用于药物的单位剂量形式(片剂、胶囊剂等)的包装。泡罩包装一般由较坚硬的被优选为透明的塑料材料的箔覆盖的片材组成。在包装过程中,在塑料箔中形成凹槽。该凹槽具有待包装的单个片剂或胶囊剂的大小和形状,或可具有容纳待包装的多个片剂和 / 或胶囊剂的大小和形状。接着,将片剂或胶囊剂相应地放置在凹槽中,将较硬的片材在背对着塑料箔的箔表面,在与凹槽形成方向相反的方向上进行密封。结果,片剂或胶囊剂根据需要单独密封或共同密封在塑料箔与片材之间的凹槽中。优选地,片材的强度为使得通过在凹槽处手动施加压力从而在凹槽处的片材中形成开口,能够将片剂或胶囊剂从泡罩包装中取出。然后能够通过所述开口取出片剂或胶囊剂。

[0128] 可能期望提供书面辅助提示,书面辅助提示包含为医师、药师或其他医疗保健提供者或个体提供的信息和 / 或指示,例如,靠近片剂或胶囊剂的数字形式,其中数字与指定应当摄入的片剂或胶囊剂的治疗方案的天数相对应,或含有相同类型的信息的卡片形式。这样的辅助提示的另一实例是在卡上印有例如如下内容的日历:“第一周,周一,周二”... 等... “第二周,周一,周二...”等。辅助提示的其它变化将是显而易见的。“每日剂量”能够是在某一天要服用的单一的片剂或胶囊剂或者若干片剂或胶囊剂。当试剂盒包含分开的组合物时,试剂盒中一个或多个组合物的每日剂量能够由一个片剂或胶囊剂组成,而试剂盒中另外的一个或多个组合物的每日剂量能够由若干片剂或胶囊剂组成。

[0129] 试剂盒的另一具体实施例是分配器,其被设计为按照其拟定用途每次一个地分配每日剂量。优选地,该分配器配备有辅助提示,从而进一步帮助遵守治疗方案。这样的辅助提示的实例是机械计数器,它指示已被分配的每日剂量数。这样的辅助提示的另一实例是与液晶读出器连接的电池供电的微芯片内存或声音提醒信号,其例如读出服用最后一次每日剂量的日期和 / 或提醒何时服用下一剂量。

[0130] 除了本发明化合物,本发明的试剂盒还可以包括一种或多种另外的药用活性化合物。例如,附加的第二抗菌化合物。可以与本发明的化合物在相同剂型中或不同的剂型中给予另外的化合物。同样,能够与本发明的化合物在相同的时间或不同的时间给予另外的

化合物。

[0131] 还可以将本发明化合物的组合物与具有类似谱的其它已知的抗菌剂组合使用,以(1) 提高该化合物的谱覆盖的严重的革兰氏阴性菌感染的治疗,或(2) 在严重感染中增加覆盖面,其中多种微生物受到怀疑,且除了该化合物以外可能需要具有不同谱的另一种药物。潜在的药物包括氨基糖苷类、青霉素类、头孢菌素类、氟喹诺酮类、大环内酯类、糖肽类、脂肽类和噁唑烷酮类。治疗能够涉及给予组合物,该组合物具有本发明的化合物和第二抗菌化合物两者,或者在给予第二抗菌剂之前或之后给予本发明化合物

[0132] 通过参照下面的实施例,可以更好地理解前述内容,所述实施例作为示例而给出,而不是要限制本发明概念的范围。

[0133] VII. 实施例

[0134] 参照下面的实施例,本发明的化合物通过高效液相色谱(HPLC)用具有 2690 分离模块(Milford, Mass.) 的 Waters Millenium 色谱系统表征。分析柱为 Alltima C-18 反相,4.6×250 毫米,购自 Alltech(Deerfield, Ill.)。使用梯度洗脱,通常以 5%乙腈/95%水开始,并在 40 分钟的时间内进展到 100%乙腈。所有的溶剂含有 0.1%三氟乙酸(TFA)。通过 220 或 254 纳米下的紫外光(UV)吸收检测化合物。在某些情况下,通过使用玻璃或塑料制成的支持硅胶板的薄层色谱(TLC)检验纯度,例如, Baker-Flex Gel 1 B2-F 柔韧片。TLC 的结果很容易在紫外灯下肉眼检测到,或通过采用已知的碘蒸气和其他各种显色技术检测到。

[0135] 在两个 LCMS 仪器中的一个上进行了质谱分析:Waters 系统(Alliance HT HPLC 和 Micromass ZQ 质谱仪;色谱柱:Eclipse XDB-C-18,2.1×50mm;溶剂系统:5-95%(或 35-95%或 65-95%或 95-95%)含有 0.05% TFA 的乙腈水溶液;流速为 0.8 毫升/分钟;分子量范围为 500-1500;锥孔电压 20V;柱温 40℃),或 Hewlett Packard 系统(1100 系列 HPLC;色谱柱:Eclipse XDB-C18,2.1×50mm;溶剂体系:含有 0.05% TFA 的 1-95%乙腈水溶液;流速 0.4 毫升/分钟;分子量范围为 150-850;锥孔电压 50V;柱温 30℃)。所有报告中的质量均为质子化母离子的质量。

[0136] 在 Hewlett Packard 仪器(具有质量选择检测器 5973 的 HP6890 系列气相色谱;注射器容量:1 μL;初始柱温:50℃;最终柱温:250℃;斜坡时间:20 分钟;气体流速:1 毫升/分钟;色谱柱:5%苯基甲基硅氧烷,型号 #HP190915-443,尺寸:30.0m×25m×0.25m)上进行了 GCMS 分析。

[0137] 用 Varian 300MHz NMR(Palo Alto, Calif.)进行了核磁共振(NMR)分析。谱图的参照为 TMS 或已知的溶剂的化学位移。在升高的温度(例如 75℃)下运行了某些化合物样品,以促进样品溶解度增加。

[0138] 通过元素分析(Desert Analytics, Tucson, Ariz.)对本发明一些化合物的纯度进行了评估。

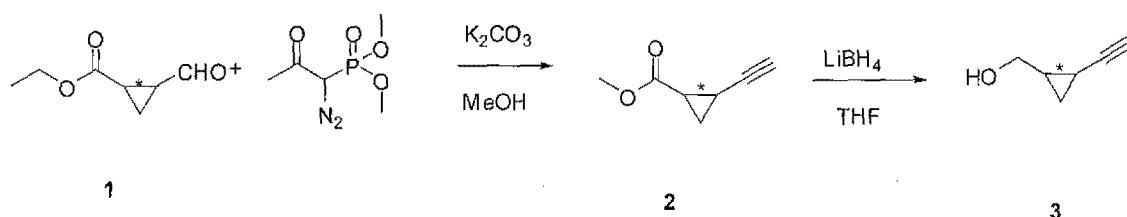
[0139] 在实验室设备 Mel-Temp 设备(Holliston, Mass.)上测定了熔点。

[0140] 使用 Flash40 色谱系统和 KP-Sil, 60A(Biotage, Charlottesville, Va.),或通过使用硅胶(230-400 目)填装材料的快速柱色谱,或通过使用 C-18 反相柱的 HPLC,进行了制备分离。Flash 40 Biotage 系统和快速柱色谱所采用的典型溶剂为二氯甲烷、甲醇、乙酸乙酯、己烷、丙酮、羟胺水溶液和三乙胺。反相 HPLC 所采用的典型溶剂是含有 0.1%三氟乙酸

的乙腈和水的不同浓度的溶液。

[0141] A. N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-1) 的合成

[0142]



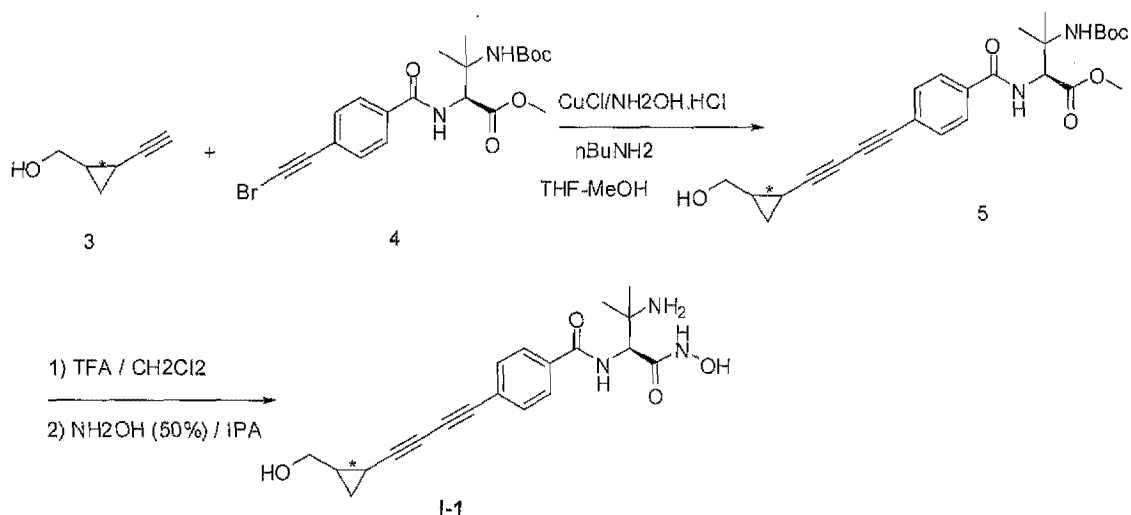
[0143] 2-乙炔基环丙烷羧酸甲酯 (2)

[0144] 在氮气中,将外消旋的 2-甲酰基环丙烷羧酸乙酯 1 (10 克, 70.3mmol) 和 Bestmann Ohira 试剂 (16.4 克, 85mmol) 溶于无水甲醇 (100ml) 中。然后慢慢地分批加入碳酸钾 (19.4 克, 141mmol), 将溶液搅拌 18 小时。在 20℃ 下减压除去溶剂, 加入水 (100ml), 并用二氯甲烷 (2×200 毫升) 萃取产物, 用硫酸钠干燥, 并慢慢地浓缩, 得到外消旋的 2-乙炔基环丙烷羧酸甲酯 (4.16 克), 通过 NMR 进行确认。

[0145] (2-乙炔基环丙基) 甲醇 (3)

[0146] 然后在氮气中, 将硼氢化锂 (175mg, 8.06mmol) 缓慢地加入含外消旋 2-乙炔基环丙烷羧酸甲酯 (1 克, 20.6mmol) 的无水 THF (20ml) 中, 并继续搅拌 2 小时。用几滴乙酸淬灭反应混合物, 并除去溶剂。将粗产物用乙酸乙酯 (2×50 毫升) 萃取, 用硫酸钠干燥, 并慢慢地浓缩, 得到外消旋 (2-反-乙炔基环丙基) 甲醇, 3, 其为黄色液体 (735mg), 直接用于下一步。

[0147]



[0148] (2S)-3-(叔-丁氧羰基氨基)-2-(4-((2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺基)-3-甲基丁酸甲酯 (5)

[0149] 在氮气下, 将 CuCl (42mg, 0.416mmol) 缓慢地加入到含外消旋 (2-反-乙炔基环丙基) 甲醇 (400 毫克, 4.16mmol)、2-(S)-4-(溴乙炔基)苯甲酰胺基)-3-(叔丁氧羰基氨基)-3-甲基丁酸甲酯 (1.9 克, 4.16mmol) 的 THF (20ml)、甲醇 (10ml) 与丁胺 (10ml) 的混合物的搅拌溶液中, 然后加入少量盐酸羟胺 (30mg) 的晶体。继续搅拌 4 小时。在减压下除

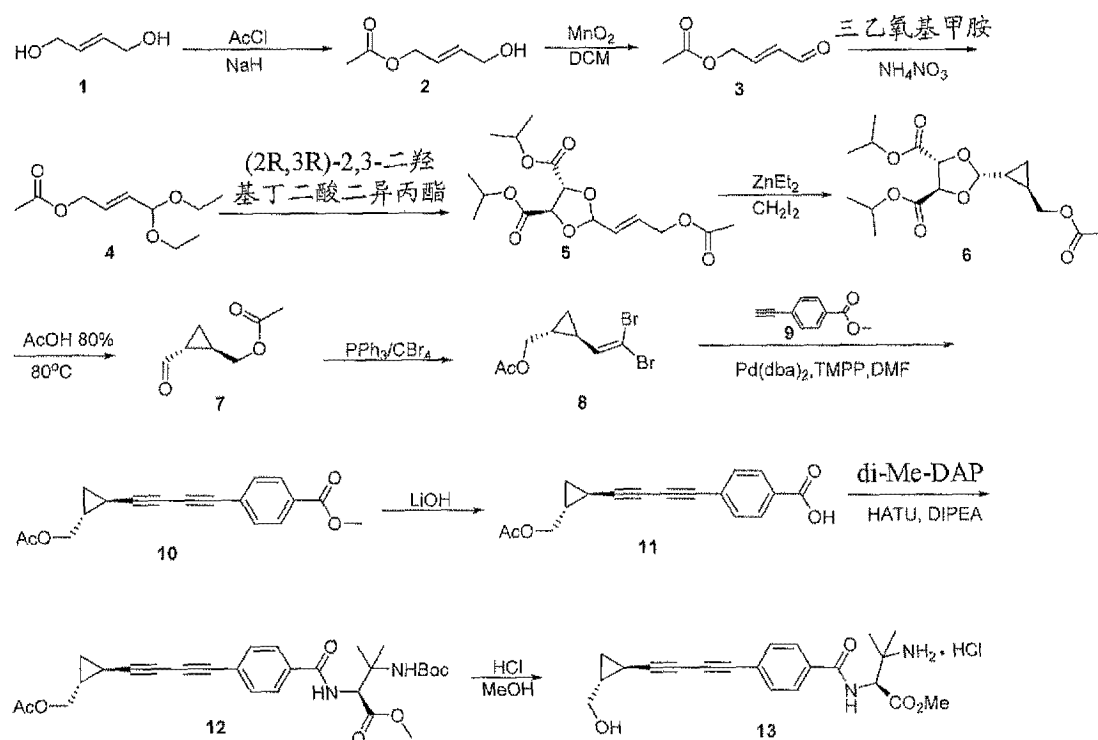
去溶剂,加入水(100ml),并用乙酸乙酯(2x150ml)萃取,用硫酸钠干燥,浓缩并在 ISCO 上纯化,得到 432mg 的 (2S)-3-(叔丁氧羰基氨基)-2-(4-((2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺基)-3-甲基丁酸甲酯。

[0150] I-1: N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺

[0151] 将 (2S)-3-(叔丁氧羰基氨基)-2-(4-((2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺基)-3-甲基丁酸甲酯 5 (0.370g, 0.814mmol) 加入到二氯甲烷 (25ml) 中,用 TFA (2ml) 处理,并搅拌 20 分钟。在减压下除去过量的溶剂和 TFA,得到脱保护的材料,将其重新溶于 IPA (10mL) 中,用羟胺水溶液 (50%, 2 毫升, 过量) 处理并在冰箱中放置 2 天。在减压下除去过量的溶剂,将粗产物通过反相 HPLC 纯化,得到 42mg I-1 的三氟乙酸盐。LC-MS(M+1) 370, 化学式: $C_{20}H_{23}N_3O_4$, 准确分子量: 369.17。 ^1H NMR(DMSO- d_6), 三氟乙酸盐: 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)。

[0152] B. N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1R,2R)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-2) 的合成

[0153]



[0154] (E)-4-羟基丁-2-烯基乙酸酯 (2)

[0155]

试剂	MW	当量	mol	g, mL
化合物 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

[0156] 在 -20℃ 下向 (E)-丁-2-烯-1,4-二醇 1 (264 克, 3.0mol) 的 THF 1.5L 的溶液中, 分批加入氢化钠 (120 克, 3.0mol)。加入后, 将混合物保持在 -20℃ 下搅拌 30 分钟。然后逐滴加入乙酰氯 (235.5 克, 3mol), 使混合物升温至室温并在室温下保持搅拌另外 3 小时。过滤该混合物, 并用 THF 洗涤残余物。将合并的有机层干燥并浓缩, 得到粗品 2, 通过硅胶柱 (PE : EA = 5 : 1-2 : 1) 纯化得到 2210 克, 其为无色油状物。收率 : 54%。¹HNMR : CP-0005065-043 (CDCl₃, 400M HZ) δ : 5.85 (m, 1H), 5.62 (m, 1H), 4.67 (t, J = 6.2Hz, 2H), 4.26 (t, J = 6.0Hz, 2H), 2.10 (s, 1H), 2.06 (s, 3H)。

[0157] (E)-4-氧代丁-2-烯基乙酸酯 (3)

[0158]

试剂	MW	当量	mol	g, mL
化合物 2	130.14	1	1.5	195 g
MnO ₂ (活性)	86.94	10	15	1305 g
DCM				3 L

[0159] 向含二氧化锰 (活性, 1305 克, 15 摩尔) 的 2.5 升二氯甲烷的悬浮液中, 分批加入 (E)-4-羟基丁-2-烯基乙酸酯 2 (195 克)。将该混合物在室温下保持搅拌 48 小时。过滤该混合物, 并用二氯甲烷洗涤残余物。将合并的有机层干燥并浓缩, 得到粗品 3, 将其通过硅胶柱 (PE : EA = 10 : 1-5 : 1) 纯化得到 3130 克, 其为无色油状物。收率 : 64%。¹HNMR : CP-0005065-044 (CDCl₃, 400M HZ) δ : 10.01 (d, J = 6.4Hz, 1H), 6.52 (m, 1H), 6.10 (m, 1H), 5.08 (m, 2H), 2.10 (s, 3H)。

[0160] (E)-4,4-二乙氧基丁-2-烯基乙酸酯 (4)

[0161]

试剂	MW	当量	mol	g, mL
化合物 3	128.13	1	0.75	96 g
三乙氧基甲烷	148.20	1.2	0.90	133.2 g
NH ₄ NO ₃	79.90	0.05	0.038	3.0 g
EtOH				500 mL

[0162] 向含 (E)-4-氧代丁-2-烯基乙酸酯 3 (96.0 克, 0.75mol) 和三乙氧基甲烷 (133.2 克, 0.9mol) 的 500 毫升乙醇溶液中, 加入硝酸铵 (3.0 克, 0.038mol), 将混合物保持在室温下搅拌 15 小时。用 800 毫升 EtOAc 稀释该混合物, 用饱和碳酸氢钠洗涤。用 EtOAc (300 毫升 $\times$ 2) 将水层反萃取。将合并的有机层干燥并浓缩, 得到粗制的 4140 克, 其为红色的油, 将其用于下一步, 无需进一步纯化。

[0163] (4R,5R, E)-2-(3-乙酰氧基丙-1-烯基)-1,3-二氧戊环-4,5-二羧酸二异丙酯 (5)

试剂	MW	当量	mol	g, mL
化合物 4	202.25	1	0.3	60.6 g
[0164] (2R,3R)-2,3-二羟基丁二酸二异丙酯	234.25	1.1	0.33	77.2 g
PPTS	251.09	0.05	0.015	3.8 g
苯				500 ml

[0165] 向含 (E)-4,4-二乙氧基丁-2-烯基乙酸酯 4 (60.6 克, 0.3mol) 和 (2R,3R)-2,3-二羟基丁二酸二异丙酯 (77.2 克, 0.33mol) 的 500 毫升苯的溶液中加入 PPTS (3.8 克, 15mmol), 将混合物加热至 90℃, 以蒸馏除去乙醇 15 小时。将混合物冷却至室温并真空浓缩。用硅胶 (PE : EA = 50 : 1-30 : 1) 纯化, 得到 38.5g5, 其为无色油状物。收率 : 37.3%。GCMS : CP-0005065-070-2 (85% 纯度)。

[0166] (4R,5R)-2-((1S,2R)-2-(乙酰氧基甲基)环丙基)-1,3-二氧戊环-4,5-二羧酸二异丙酯 (6)

[0167]

试剂	MW	当量	mol	g, mL
化合物 5	344.36	1	0.1	34.4 g
ZnEt ₂ (1M 在己烷中)		5	0.5	500 ml
CH ₂ I ₂	267.84	10	1	267.8 g
己烷				1.5 L

[0168] 在氩气下, 在 -20℃ 下向含 (4R,5R, E)-2-(3-乙酰氧基丙-1-烯基)-1,3-二氧戊环-4,5-二羧酸二异丙酯 5 (34.4 克, 0.1mol) 的己烷 (1.5L) 溶液中, 分批加入二乙基锌 (在己烷中 1M, 500ml)。加入后, 在强烈的搅拌下在 -20℃ 以下, 滴加二碘乙烷。使该混合物升温至室温并保持搅拌另外 8 小时。加入 800 毫升冷的氯化铵水溶液淬灭该反应混合物, 然后用乙醚 (800 毫升 × 5) 萃取, 用硫代硫酸钠水溶液、水、盐水洗涤合并的有机层, 干燥并浓缩, 得到粗化合物 6, 将其通过硅胶柱 (PE : EA = 30 : 1-10 : 1) 纯化, 得到 6, 16 克, 其为无色油状物。收率 : 44.7%。¹H NMR : PO5 (CDCl₃, 400MHz) δ : 5.13 (m, 2H), 4.95 (d, J = 5.6Hz, 1H), 4.67 (d, J = 3.6Hz, 1H), 4.57 (d, J = 4.0Hz, 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)。

[0169] ((1R,2R)-2-甲酰基环丙基) 甲基乙酸酯 (7)

[0170]

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 6	358.38	1	40	14.3g
AcOH (80%)				140 mL

[0171] 将含 (4R,5R)-2-((1S,2R)-2-(乙酰氧基甲基)环丙基)-1,3-二氧戊环-4,5-二羧酸二异丙酯 6 (14.3 克, 40mmol) 的 140 毫升 80% 乙酸的混合物, 加热至 80℃, 并保持在该

温度下搅拌 2 小时。当 TLC 显示几乎没有 6 剩余时,将混合物滴加至 300 毫升饱和碳酸氢钠溶液中,然后用二氯甲烷 (200 毫升 $\times$ 3) 萃取。将合并的有机层用水、盐水洗涤,干燥并浓缩,得到粗品 7,将其通过硅胶柱 (PE : EA = 10 : 1-5 : 1) 纯化,得到 3.5 克 7,其为无色油状物。收率 :62%。¹HNMR :CP-0005065-072 (CDCl₃, 400M HZ) 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)。

[0172] ((1R, 2R)-2-(2,2-二溴乙烯基)环丙基)甲基乙酸酯 (8)

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 7	142.15	1	21	3.00 g
CBr ₄	331.63	2	42	13.9 g
PPh ₃	262.29	4	84	22.0 g
DCM				120 mL

[0174] 在氩气下在 -20℃ 下,向含四溴化碳 (13.9 克, 42 毫摩尔) 的 30 毫升二氯甲烷的溶液中,滴加含三苯基膦 (22.0 克, 84mmol) 的 50ml 二氯甲烷的溶液。将混合物保持在该温度下搅拌半小时,然后冷却到 -78℃。滴加含 ((1R, 2R)-2-甲酰基环丙基)甲基乙酸酯 7 (3.00 克, 21mmol) 的 40 毫升二氯甲烷的溶液,保持温度半小时。使该混合物在 30 分钟内升温至室温。除去溶剂,通过硅胶柱 (PE : EA = 100 : 1 至 50 : 1) 纯化,得到 4.3 克 8,其为无色油状物。收率 :69%。¹HNMR :CP-0005065-075 (CDCl₃, 400M HZ) 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)。

[0175] 4-(((1R, 2R)-2-(乙酰氧基甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸甲酯 (10)

[0176]

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 8	297.97	1	14.5	4.3 g
化合物 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

[0177] 在氩气下用 4-乙炔基苯甲酸甲酯 9 (2.64 克, 11mmol) 处理含 ((1R, 2R)-2-(2,2-二溴乙烯基)环丙基)甲基乙酸酯 8 (4.3 克, 14.5mmol)、Pd₂dba₂ (86.3mg, 0.15mmol)、三(4-甲基苯基)膦 (204mg, 0.58mmol)、三乙胺 (4.35 克, 43.5mmol) 的 100 毫升 DMF 的溶液。将该混合物在室温下保持搅拌 5 小时。当 TLC 显示几乎无化合物 8 剩余时,将反应混合物用 EtOAc (300 毫升) 稀释,并用水 (3 $\times$ 100 毫升) 洗涤,将有机层干燥并浓缩,得到粗品 10,将其通过硅胶柱色谱 PE : EA = 50 : 1 至 30 : 1 纯化,得到 2.0 克 10,其为黄色固体。收率 :46.5%。LCMS :CP-0005065-085-2 (ESI) m/z = 297 (M+1) 纯度 :92.4% (214nm)。

[0178] 4-(((1R, 2R)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸 (11)

[0179]

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 10	296.32	1	6.5	1.92 g
NaOH	40.10	10	65	2.60 g
THF				40 mL

[0180] 将 4-(((1R,2R)-2-(乙酰氧基甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸甲酯 10 (1.92 克, 6.5mmol) 溶解于 THF (40mL) 中, 然后加入含氢氧化钠 (2.60 克, 65mmol) 的 10 毫升水的溶液中。将该混合物在室温下保持搅拌 8 小时。当 LCMS 显示几乎无化合物 10 剩余时, 在减压下除去溶剂, 用水 (50mL) 稀释残余物, 调整 pH 值至 4.0, 用乙酸乙酯 (4×50 毫升) 萃取, 将有机层干燥并浓缩, 得到 1.4g 粗品 11, 其为黄色固体, 将其用于下一步, 无需进一步纯化。LCMS :CP-0005065-088-3 (ESI)m/z = 241 (M+1) 纯度 :89% (214nm). 收率 :89% .

[0181] (S)-2-(4-(((1R,2R)-2-(乙酰氧基甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺基)-3-(叔-丁氧基羰基氨基)-3-甲基丁酸甲酯 (12)

[0182]

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 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

[0183] 用 (S)-2-氨基-3-(叔丁氧基羰基氨基)-3-甲基丁酸甲酯 (1.48 克, 6.0mmol) 和 DIPEA (3.58 克, 20mmol) 处理含 4-(((1R,2R)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸 11 (1.20 克, 5.0mmol)、HATU (2.34 克, 6mmol) 的 50 毫升 DMF 的溶液。将混合物在室温下保持搅拌 5 小时。当 LCMS 显示几乎无化合物 11 剩余时, 用 EtOAc (100ml) 稀释反应混合物, 用 5%氯化锂 (3×50 毫升) 洗涤, 将有机层干燥并浓缩, 得到 12, 其为黄色油状物。通过硅胶柱色谱 PE : EA = 2 : 1 纯化, 得到 2.0 克 12, 其为无色油状物, 收率 :70%。LCMS :CP-0005065-091-3 (ESI)m/z = 469 (M+1) 纯度 :95% (214nm).

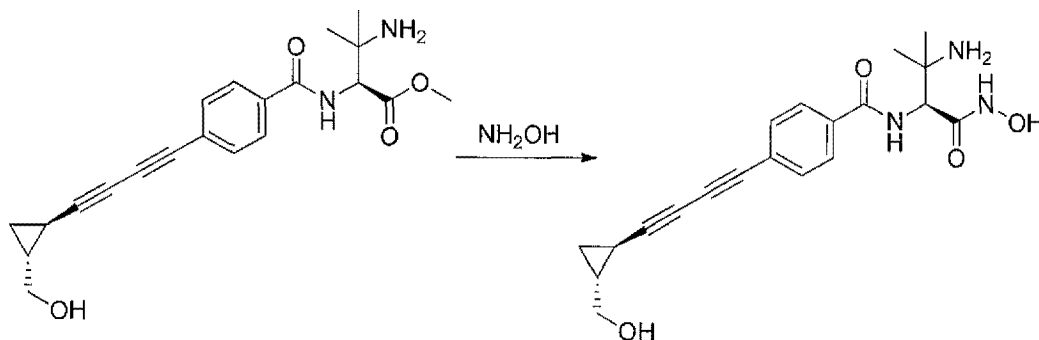
[0184] (S)-3-氨基-2-(4-(((1R,2R)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺基)-3-甲基丁酸甲酯盐酸盐 (13)

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 12	468.23	1	4.0	1.87 g
HCl(g)	36.5			
CH ₃ OH				50 mL

[0186] 将 (S)-2-(4-(((1R,2R)-2-(乙酰氧基甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺基)-3-(叔-丁氧基羰基氨基)-3-甲基丁酸甲酯 12 (1.87 克, 4.0mmol) 溶解于甲醇 (50ml) 中, 用干 HClg 处理 10 分钟。当 LCMS 显示几乎没有化合物 12 剩余时,

停止 HCl 流。在减压下除去溶剂,得到 1.45 克 13,其为黄色固体。收率:91%。LCMS: CP-0005065-096-4-LCMSA019 (ESI) $m/z = 369 (M+1)$ 纯度:98% (214nm)。¹H NMR: CP-0005065-096-4 (DMSO- d_6 , 400MHz) δ : 9.04 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 8.36 (s, 3H), 7.98 (d, $J = 6.4$ Hz, 2H), 7.64 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H), 4.89 (d, $J = 6.8$ Hz, 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)。

[0187]

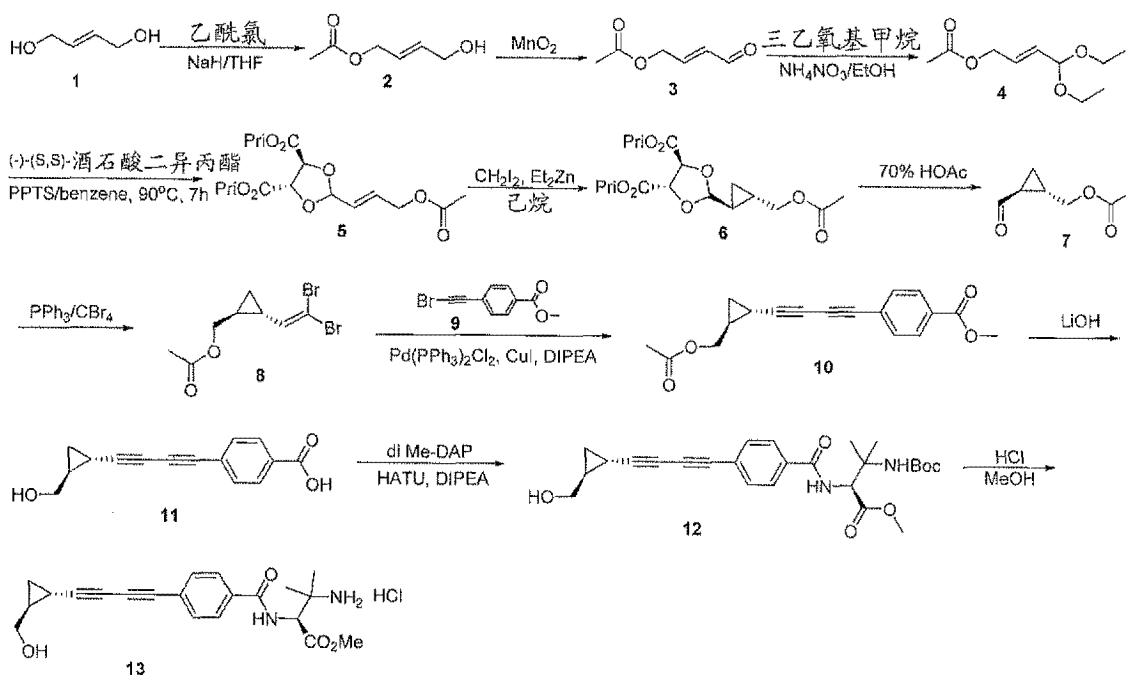


[0188] 用异丙醇 (10 毫升) 和 50% 羟胺水溶液 (4.1mL, 61.7mmol, 20 当量) 处理 (S)-3-氨基-2-(4-(((1R,2R)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺基)-3-甲基丁酸甲酯盐酸盐 13 (1.25 克, 3.1mmol), 直到通过 LCMS 检测处理完成。

[0189] 采用反相 HPLC (均含 0.1% TFA 的 0-30% 乙腈水溶液, 在 120 分钟内梯度洗脱), 将粗产物纯化, 汇集所需的流份, 冷冻干燥, 得到 N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1R,2R)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺的三氟乙酸盐 (白色固体, 647mg, 1.3mmol, 43%)。质谱数据: 期望值 ($M+1$): 370.4, 观测值: 370.2。质子 NMR (400MHz, $dmsO-d_6$): 11.20 (s, 1H), 9.43 (br s, 1H), 8.55 (d, 1H, $J = 9.6$ Hz), 8.00 (br s, 3H), 7.89 (dd, 2H, $J = 1.8, 6.6$ Hz), 7.60 (dd, 2H, $J = 2.0, 6.8$ Hz), 8.66 (d, 1H, $J = 9.2$ Hz), 3.39 (dd, 1H, $J = 4.8, 11.6$ Hz), 3.22 (dd, 1H, $J = 5.8, 11.4$ Hz), 1.39-1.46 (m, 2H), 1.30 (s, 3H), 1.25 (s, 3H), 0.84-0.93 (m, 2H)

[0190] C. N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1S,2S)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-3) 的合成

[0191]



[0192] (4S,5S, E)-2-(3-乙酰氧基丙-1-烯基)-1,3-二氧戊环-4,5-二羧酸二异丙酯 (5)

[0193]

试剂	MW	当量	mol	g, mL
化合物 4	202.25	1	0.37	75 g
(-)-(S,S)-酒石酸二异丙酯	234.25	1	0.37	86.8 g
PPTS	251.09	0.05	0.0185	4.66 g
苯				800 ml

[0194] 向含 (E)-4,4-二乙氧基丁-2-烯基乙酸酯 4 (75 克, 0.37mol) 和 (-)-(S, S)-酒石酸二异丙酯 (86.8 克, 0.3mol) 的 800 毫升苯的溶液中加入 PPTS (4.66 克, 0.0185mol), 将混合物加热至 9°C 15 小时, 至蒸馏除去乙醇。将混合物冷却至室温并真空浓缩。用蒸馏法纯化, 得到化合物 5 (50.0 克, 39%), 其为无色油状物。¹H NMR: (CDCl₃, 400MHz) δ: 6.04-6.01 (m, 1H), 5.81-5.80 (m, 1H), 5.57 (d, J = 8Hz, 1H), 5.07-5.01 (m, 2H), 4.65 (d, J = 4Hz, 1H), 4.57 (d, J = 4Hz, 1H), 4.54-4.53 (m, 2H), 1.99 (s, 3H), 1.23-1.19 (m, 12H).

[0195] (4S,5S)-2-((1R,2S)-2-(乙酰氧基甲基)环丙基)-1,3-二氧戊环-4,5-二羧酸二异丙酯 (6)

[0196]

试剂	MW	当量	mol	g, mL
化合物 5	344.36	1	0.12	40 g
ZnEt ₂ (在己烷中 1M)		10	1.20	1.16 L
CH ₂ I ₂	267.84	20	2.40	623 g
己烷				1.0 L

[0197] 在氩气下在 -20°C 下, 向含 (4S,5S, E)-2-(3-乙酰氧基丙-1-烯基)-1,3-二氧

戊环-4,5-二羧酸二异丙酯 5 (40 克, 0.12mol) 的己烷 (1.0L) 溶液中, 分批加入二乙基锌 (1M 己烷溶液, 1.16L)。加入后, 在 -20℃ 以下在强烈的搅拌下, 滴加二碘甲烷 (623 克, 2.40mol)。使该混合物升温至室温, 并保持搅拌另外 8 小时。用 800 毫升冷的氯化铵水溶液淬灭该反应混合物, 然后用乙醚 (800 毫升 × 5) 萃取。用硫代硫酸钠水溶液、水、盐水洗涤合并的有机层, 然后干燥并浓缩, 得到粗的化合物 6, 将其用硅胶柱以用含乙酸乙酯的石油醚 (3% - 10% v/v) 纯化, 得到化合物 6 (20.0 克, 50%), 其为无色油状物。¹H NMR: (CDCl₃, 400MHz) δ : 5.15-5.08 (m, 2H), 4.95 (d, J = 5.6Hz, 1H), 4.67 (d, J = 3.6Hz, 1H), 4.57 (d, J = 4.0Hz, 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)。

[0198] ((1S, 2S)-2-甲酰基环丙基) 甲基乙酸酯 (7)

[0199]

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 6	358.38	1	55.80	20.0 g
AcOH (80%)				200 mL

[0200] 将 (4S, 5S)-2-((1R, 2S)-2-(乙酰氧基甲基) 环丙基)-1,3-二氧戊环-4,5-二羧酸二异丙酯 6 (20.0g, 55.8mmol) 与 200 毫升 80% 乙酸的混合物加热至 80℃, 并在该温度下保持搅拌 2 小时。当 TLC 显示几乎无 6 剩余时, 用水 (150ml) 稀释混合物, 用乙酸乙酯 (200 毫升 × 3) 萃取。用饱和碳酸氢钠、水、盐水洗涤合并的有机层, 然后干燥并浓缩, 得到粗化合物 7, 将其用硅胶柱以含乙酸乙酯的石油醚 (8% - 20% v/v) 纯化, 得到化合物 7 (3.0, 38%), 其为无色油状。¹H NMR: (CDCl₃, 400MHz) 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)。

[0201] ((1S, 2S)-2-(2,2-二溴乙烯基) 环丙基) 甲基乙酸酯 (8)

[0202]

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 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

[0203] 在氩气下在 -20℃ 下, 向含四溴化碳 (13.9 克, 42mmol) 的 30 毫升二氯甲烷的溶液中, 滴加含三苯基膦 (22.0 克, 84mmol) 的 50ml 二氯甲烷的溶液。将混合物保持在该温度下搅拌半小时, 然后冷却到 -78℃。滴加含 ((1S, 2S)-2-甲酰基环丙基) 甲基乙酸酯 7 (3.00 克, 21mmol) 的 40 毫升二氯甲烷的溶液, 再保持温度半小时。使该混合物在 30 分钟内升温至室温。真空去除溶剂, 通过硅胶柱用石油醚纯化, 得到化合物 8 (3.20g, 51%), 其为无色油状物。通过 GC-MS 确认。

[0204] 4-(((1S, 2S)-2-(乙酰氧基甲基) 环丙基) 丁-1,3-二炔基) 苯甲酸甲酯 (10)

[0205]	试剂	MW	当量	mmol	g, mL
	化合物 8	297.97	1	10.85	3.2 g
	化合物 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

[0206] 在氩气下,用 4-乙炔基苯甲酸甲酯 9(2.43g, 15.2mmol) 处理 ((1S,2S)-2-(2,2-二溴乙炔基)环丙基)甲基乙酸酯 8(3.2 克, 10.85mmol)、Pd₂dba₂(62.4mg, 0.11mmol)、三(4-甲基苯基)膦(153mg, 0.43mmol)、三乙胺(1.44g, 14.25mmol) 的 DMF(50 毫升) 的溶液。将该混合物在室温下搅拌过夜。将反应混合物用 EtOAc(300 毫升) 稀释,用水(3×100 毫升) 洗涤,将合并的有机层干燥并浓缩,得到粗品化合物 10,通过硅胶柱色谱以含乙酸乙酯的石油醚(3% -10% v/v) 纯化,得到化合物 10(1.4g, 46.5%), 为黄色固体。LC-MS: 297 [M+H]⁺.

[0207] 4-(((1S,2S)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸(11)

[0208]	试剂	MW	当量	mmol	g, mL
	化合物 10	296.32	1	4.72	1.4 g

[0209]	NaOH	40.10	4	18.90	756 mg
	THF				30 mL

[0210] 向 4-(((1S,2S)-2-(乙酰氧基甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸甲酯 10(1.4g) 的 THF(30mL) 溶液中加入氢氧化钠(75mg, 18.9mmol) 的水(10mL) 溶液。将该混合物在室温下搅拌过夜。此后,在减压下除去溶剂,将残余物用水(50mL) 稀释,用 1M HCl 调整 pH 值至 4.0,然后用乙酸乙酯(4×50 毫升) 萃取,将有机层干燥并浓缩,得到化合物 11(1.05g, 93%), 其为黄色固体,将其用于下一步,无需进一步纯化。LC-MS: 241 [M+H]⁺.

[0211] (S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-2-(4-(((1S,2S)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺基)-3-甲基丁酸甲酯(12)

[0212]

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 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

[0213] 向 4-(((1S,2S)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸 11(1.05g, 4.38mmol)、HATU(1.83g, 4.81mmol) 的 DMF(25mL) 溶液中加入 (S)-2-氨基-3-(叔丁氧基

羰基氨基)-3-甲基丁酸甲酯 (1.076g, 4.38mmol) 和 DIPEA (1.69g, 13.1mmol)。将混合物在室温下保持搅拌 5 小时。此后,用水 (20ml) 稀释反应混合物,然后用乙酸乙酯 (60mLx3) 萃取,用水和盐水洗涤合并的有机层,然后干燥并浓缩,得到化合物 12 (1.35g, 65%), 其为黄色油状物。LC-MS :469 [M+H]⁺。

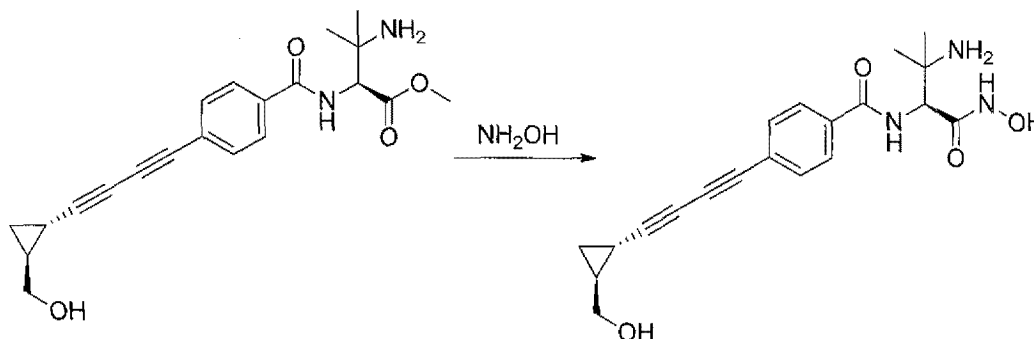
[0214] (S)-3-氨基-2-(4-(((1S,2S)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺基)-3-甲基丁酸甲酯盐酸盐 (13)

[0215]

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 12	468.23	1	2.78	1.3 g
HCl(g)				
CH ₃ OH				20 mL

[0216] 将 (S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-2-(4-(((1S,2S)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺基)-3-甲基丁酸甲酯 12 (1.3g, 2.78mmol) 的甲醇 (20ml) 溶液连接于 HCl 设备。然后将反应物在室温下搅拌,直到 TLC 显示起始原料完全消耗。在这之后,将溶液在减压下浓缩,得到 13 (1.1g, 98%), 其为黄色固体。LC-MS :369 [M+H]⁺。1H-NMR : (DMSO-d₆, 400MHz) 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)。

[0217]

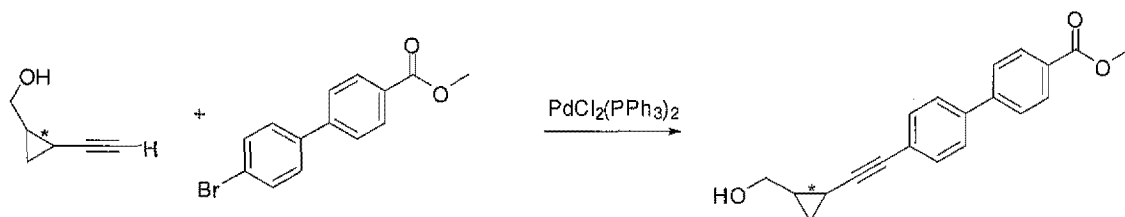


[0218] 用异丙醇 (10 毫升) 和 50% 羟胺水溶液 (3.8mL, 56.8mmol, 20 当量) 处理 (S)-3-氨基-2-(4-(((1S,2S)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺基)-3-甲基丁酸甲酯盐酸盐 13 (1.15g, 2.8mmol), 直到通过 LCMS 检测处理完成。

[0219] 采用反相 HPLC (含 0.1% TFA 的 0-30% 乙腈水溶液, 在 120 分钟内梯度洗脱), 将粗产物纯化, 汇集所需的流份, 冷冻干燥, 得到 N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1S,2S)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺的三氟乙酸盐 (白色固体, 446mg, 0.92mmol, 33%)。质谱数据 :期望值 (M+1) :370.4, 观测值 :370.2。质子 NMR (400MHz, dmsO-d₆) :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)。

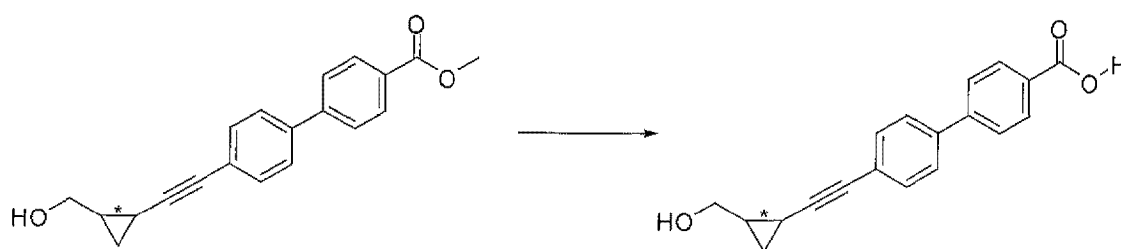
[0220] D.N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4'-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)乙炔基)联苯基-4-甲酰胺 (I-5) 的合成

[0221]



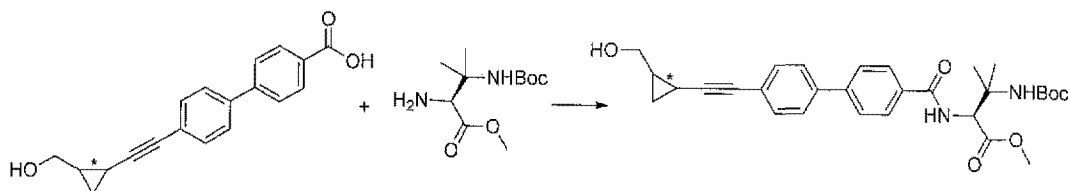
[0222] 向圆底烧瓶中加入 4'-溴联苯基-4-羧酸甲酯 (2.0g, 6.87mmol, 1.0 当量), 然后加入溶于 THF (20mL) 的外消旋 2-反-乙炔基环丙基) 甲醇 (0.991g, 10.30mmol, 1.5 当量) 的溶液。向其中加入二氯化钯双-三苯基膦 (241mg, 0.343mmol, 0.05 当量)、碘化亚铜 (copper(I) iodide) (131mg, 0.687mmol, 0.1 当量), 然后加入三乙胺 (6.87mL, 49.3mmol, 7.18 当量)。将反应混合物在 75°C 下搅拌约 2 小时。将反应物冷却至室温, 滤出固体, 用 THF 冲洗。将该溶液在冰箱中放置 5 天。浓缩至干。加入 DCM, 形成沉淀。过滤沉淀, 以最小量的 DCM 冲洗。TLC 显示沉淀 (ppt) 主要包含产物 (约 1.5g 固体)。用含 10% EtOAc 的己烷 (5mL) 溶液磨碎, 用移液管除去溶剂, TLC 表明固体包含产物且去除的液体包含溴化物起始原料和一些基线杂质。加入额外的含 10% EtOAc 的己烷溶液 (5mL), 并搅拌 30 分钟, 过滤, 用含 10% EtOAc 的己烷溶液 (5mL) 漂洗, 并干燥固体。得到 900mg 粗产物 4'-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)乙炔基)联苯基-4-羧酸甲酯。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).

[0223]



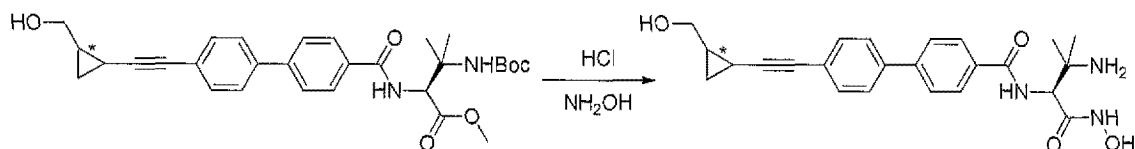
[0224] 4'-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)乙炔基)联苯基-4-羧酸甲酯 (900mg, 2.94mmol, 1.0 当量) 溶解于甲醇 (5mL)、DMF (2mL) 和 THF (5mL) 中。在室温下加入 1.0M 的 NaOH (4.41mL, 4.407mmol, 1.5 当量)。将反应物搅拌 4 天。浓缩反应以除去甲醇和 THF, 用 6N 盐酸 (约 5mL) 酸化至 pH 约 3。用乙酸乙酯 (3×50 毫升) 萃取, 合并有机层, 用饱和 NaCl 洗涤, 干燥 (硫酸镁), 过滤, 浓缩。得到 890 毫克的 4'-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)乙炔基)联苯基-4-羧酸。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).

[0225]



[0226] 将 (S)-2-氨基-3-(叔丁氧基羰基氨基)-3-甲基丁酸甲酯 (150mg, 0.609mmol, 1.0 当量) 和 4'-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)乙炔基)联苯基-4-羧酸 (178mg, 0.609mmol, 1.0 当量) 溶于 DMF (2mL) 中。向其中加入 DIPEA (0.266mL, 1.523mmol, 2.5 当量), 然后加入 HATU (278mg, 0.731mmol, 1.2 当量)。在室温下搅拌约 48 小时。使反应物在 1M 的柠檬酸和乙酸乙酯之间分层。用半饱和的氯化钠、饱和碳酸氢钠、然后用饱和氯化钠洗涤有机相, 用硫酸镁干燥并蒸发至干。产生了 370 毫克粗产物 (S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-2-(4'-(((1S,2S)-2-(羟甲基)环丙基)乙炔基)联苯基-4-甲酰胺基)-3-甲基丁酸甲酯。LCMS M+1 期望值 = 521.3, 观测值 = 521.3。

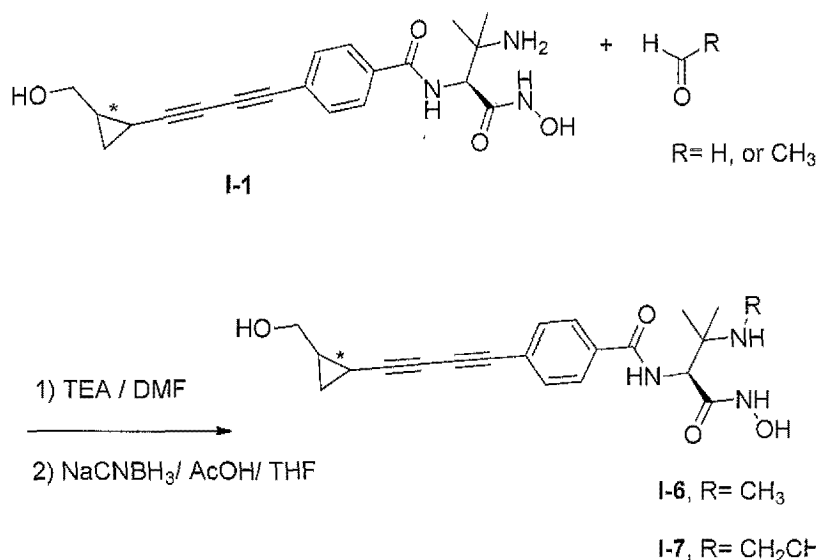
[0227]



[0228] (S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-2-(4'-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)乙炔基)联苯基-4-基甲酰胺基)-3-甲基丁酸甲酯 (粗品) 溶于甲醇 (1mL) 中。在室温下添加含 4.0M 盐酸的二噁烷 (1.283mL, 5.13mmol, 8.43 当量)。在 90 分钟后 (HPLC) 反应完成。将反应在 0℃ 下在旋转蒸发仪上浓缩。向其中加入 IPA (1mL), 然后加入羟胺溶液 (0.804mL, 12.18mmol, 20 当量)。将烧瓶放置在 4℃ 下约 120 小时。(将反应保持在 0℃ 下) 浓缩反应至形成胶状物。向其中加入水 (3mL) 和 ACN (0.5mL)。在 0℃ 下用 TFA (3mL) 酸化。加入额外的水 (1mL) 和 ACN (1mL)。通过 RP HPLC (1" 号柱, 25ml/min 时, 含 0.1% TFA 的水/ACN, 在 10% B 中平衡) 纯化。使用注射器过滤器 (2X6.5mL) 加载到 1" 号柱 (10mL/min 时, 5% B) 上。1 分钟内升至 25ml/min。用 10% B 洗脱 15 分钟, 然后用 10-70% B 洗脱 80 分钟, 产物在 41-48 分钟被洗脱。将期望流份合并、冷冻并放在冻干机 (1yo) 上。得到 105mg N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4'-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)乙炔基)联苯基-4-甲酰胺 (I-5), TFA。LCMS M+1 期望值 = 422.2, 观测值 = 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)。

[0229] E.N-((S)-1-(羟氨基)-3-甲基-3-(甲基氨基)-1-氧代丁-2-基)-4'-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-6) 和 N-((S)-1-(羟氨基)-3-(2-羟乙基氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4'-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-7) 的合成

[0230]

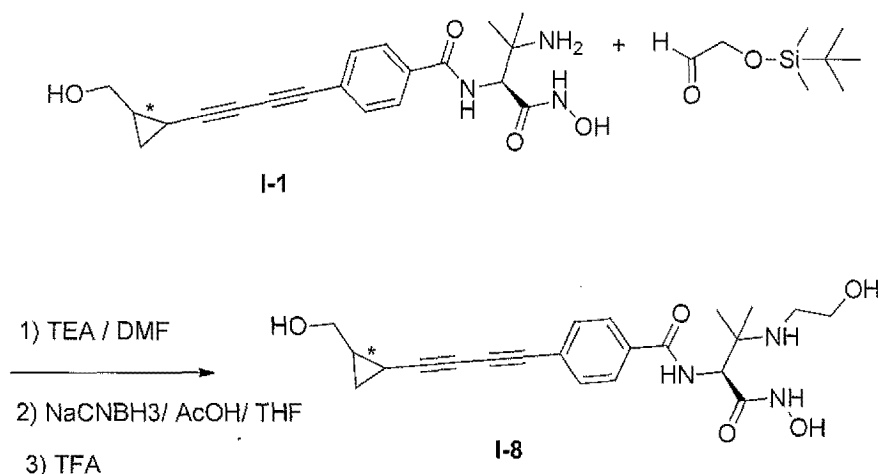


[0231] 在 250mL 的圆底烧瓶中,加入 N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-1) (1.2g, 3.25mmol)、三乙胺 (2mL, 14.35mmol) 和含甲醛 (0.2g, 6.66mmol) 的 DMF (20ml), 得到黄色溶液。将反应混合物搅拌 3 小时。用正丁胺 (2ml) 淬灭过量的甲醛。在 0℃、室温下,加入氰基硼氢化钠 (570mg, 14.3mmol) 和乙酸 (4ml)。用 LCMS 检测反应混合物。除去溶剂后,将产物用 HPLC 纯化,得到 440mg N-((S)-1-(羟氨基)-3-甲基-3-(甲基氨基)-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 I-6。LC-MS(M+1) 384; 化学式: C₂₁H₂₅N₃O₄, 准确分子量: 383.18。1HNMR(DMSO-d₆), TFA 盐: 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)。

[0232] 在 250mL 的圆底烧瓶中,加入 N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-1) (1g, 2.71mmol)、三乙胺 (0.377ml, 2.71mmol) 和含乙醛 (0.119g, 2.71mmol) 的 DMF (20ml), 得到黄色溶液。将反应混合物搅拌 3 小时。在室温下,加入氰基硼氢化钠 (570mg, 14.3mmol) 和乙酸 (2ml), 用 LCMS 检测反应混合物。将反应混合物浓缩,用 HPLC 纯化,得到 642mg N-((S)-1-(羟氨基)-3-(2-羟乙基氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 I-7。LC-MS(M+1) 398; 化学式: C₂₂H₂₇N₃O₄, 准确分子量: 397.20。1HNMR(DMSO-d₆), TFA 盐: 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(br. t, 1NH), 9.23(s, NH), 11.15(s, OH)。

[0233] F. N-((S)-1-(羟氨基)-3-(2-羟乙基氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-8) 的合成

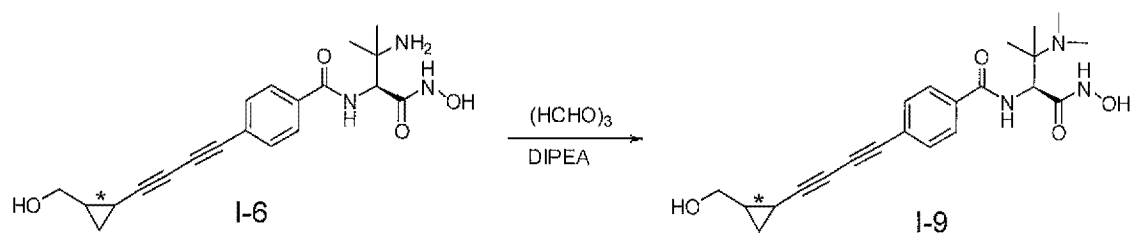
[0234]



[0235] 在 250 毫升的圆底烧瓶 (t = g) 中, 加入 N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (1g, 2.71mmol) 和含三乙胺 (0.377ml, 2.71mmol) 的 DMF (20ml), 得到黄色溶液。加入 2-(叔丁基二甲基甲硅烷氧基)乙醛 (0.494g, 2.83mmol)。将反应混合物搅拌 18 小时, 浓缩至干。将残余物溶于 THF (15ml) 中, 并在室温下加入乙酸 (2ml) 和氰基硼氢化钠 (600mg, 15mmol)。通过 LCMS 检查反应混合物。在室温下搅拌 2 小时后, 加入 TFA (5ml), 并搅拌另外的 3 小时。用 LCMS 确认反应完成, 将反应浓缩, 将产物在 HPLC 上纯化, 得到 370 毫克的 N-((S)-1-(羟氨基)-3-(2-羟乙基氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 I-8. LC-MS (M+1) 414; 化学式: C₂₂H₂₇N₃O₅, 准确分子量: 413.20; ¹H NMR (DMSO-d₆), TFA 盐: 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, 1H) 8.71 (d, 1H), 9.26 (s, NH), 11.19 (s, OH).

[0236] G. N-((S)-3-(二甲基氨基)-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-9) 的合成

[0237]



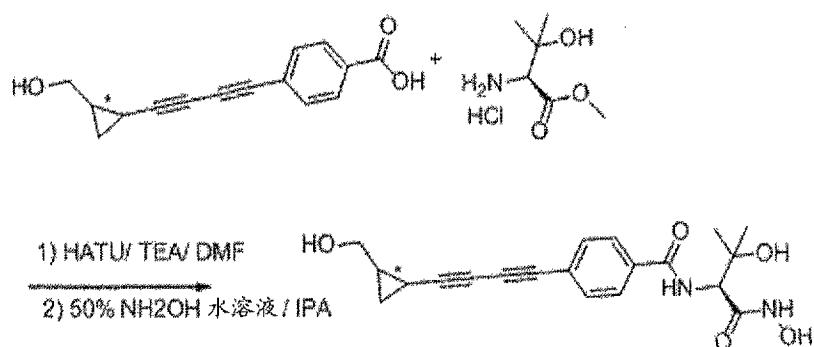
[0238] 将 N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-((-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (300mg, 0.81mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (10mL) 中, 并用多聚甲醛 (732mg, 8.1mmol, 10 当量) 和 N,N-二异丙基乙胺 (0.56mL, 3.3mmol, 4 当量) 在室温下处理 16 小时。引入三氟乙酸 (1.3mL, 16.2mmol, 20 当量) 和氰基硼氢化钠 (101mg, 1.6mmol, 2 当量)。

[0239] 将粗产物通过反相 HPLC 纯化, 汇集所需的流份并冻干, 得 N-((S)-3-(二甲基氨基)-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺的三氟乙酸盐 (白色固体, 2.9mg, 5.3 μmol, 0.7%)。质谱数据:

期望值 (M+1) :398.5, 观测值 :398.2. 质子 NMR(400MHz, dms_o-d₆) :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 (峰被水所掩盖), 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).

[0240] H.N-((S)-3-羟基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-10) 的合成

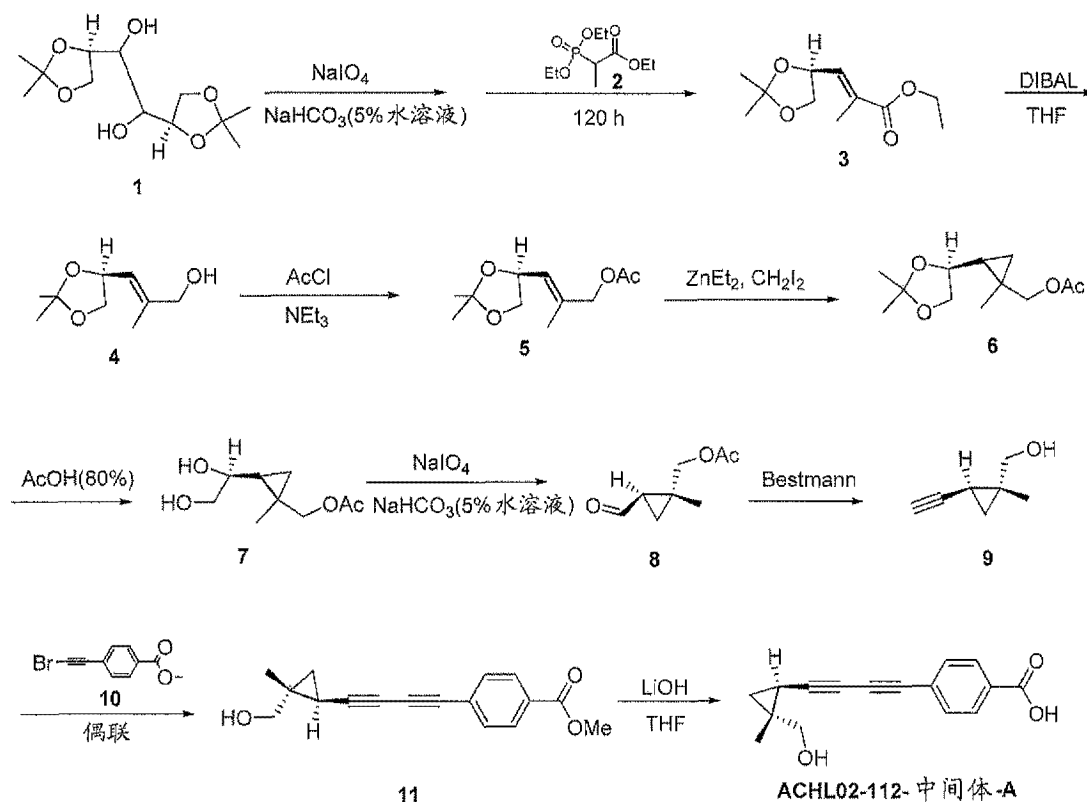
[0241]



[0242] 在室温下,向搅拌着的含 4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸 (750mg, 3.12mmol)、HATU(570mg, 1.5mmol) 和 DIEA(3.4ml 过量) 的 DMF(30ml) 的溶液中加入 (S)-2-氨基-3-羟基-3-甲基丁酸甲酯盐酸盐 (402mg, 1.5mmol)。将反应混合物在室温下搅拌 1 小时,然后用水 (50ml) 稀释。用乙酸乙酯 (100ml×3) 和盐水 (20ml) 萃取溶液。用 MgSO₄ 干燥有机层并蒸发。将所得到的产物 (1.3 克) 溶于 IPA(20mL) 中,用羟胺 (10mL, 过量) 处理,并在室温下搅拌 3 天。除去过量的溶剂,并通过反相 HPLC 纯化粗产物,得到 178mg N-((S)-3-羟基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 I-10。LC-MS(M+1) 371; 化学式: C₂₀H₂₂N₂O₅ 准确分子量: 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).

[0243] I.N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1S,2R)-2-(羟甲基)-2-甲基环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-11) 的合成

[0244]



[0245] (S, E)-3-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)-2-甲基丙烯酸乙酯 (3)

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 1	262.30	1	49.6	13.0g
[0246] NaIO ₄	213.89	1.2	59.5	12.7 g
化合物 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%水溶液)				60 mL

[0247] 在室温下,向搅拌的含双丙酮D-甘露糖醇1(13.0g,49.6mmol)的碳酸氢钠(5%水溶液,60ml)的溶液中滴加高碘酸钠(12.74克,59.5毫摩尔)的饱和溶液。加入后,将混合物在室温下保持搅拌2小时。然后,加入2-(二乙氧基磷酰基)丙酸乙酯2(23.0g,99.2mmol),接着加入碳酸钾(14.3g,103.6mmol),将混合物在室温下保持搅拌另外120小时。将该混合物加入到500毫升水中,用EtOAc(300mLx3)萃取。用无水硫酸钠干燥合并的有机层,浓缩,然后用PE:EA(30/1)层析,得到所需的化合物35.5g,其为无色油状,收率:51.8%。

[0248] (S, E)-3-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)-2-甲基丙基-2-烯-1-醇 (4)

[0249]

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 3	214.26	1	25	5.35 g
DIBALH	甲苯中 1M	2	50	50 mL
THF				150 mL

[0250] 向 (S,E)-3-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)-2-甲基丙烯酸乙酯 3 (5.35g, 5mmol) 的 150ml THF 的溶液中, 在氩气下, 在 0℃ 下, 滴加 DIBAL-H 溶液 (50mL, 50mmol)。加入后, 将混合物保持在 0℃ 下搅拌 3 小时。当 TLC 显示几乎无化合物 3 剩余时, 用 30 毫升氨水将反应淬灭, 并用 300ml 二氯甲烷再搅拌 1 小时。将混合物过滤, 并用 THF 洗涤残余物, 干燥合并的有机层并浓缩, 得到粗品 4, 将其用硅胶柱以 PE : EA = 10 : 1-5 : 1 纯化, 得到 3.0g 化合物 4, 其为无色油状物, 收率 : 70%。

[0251] (S,E)-3-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)-2-甲基烯丙基乙酸酯 (5)

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 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

[0252] 向 (S,E)-3-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)-2-甲基丙-2-烯-1-醇 4 (2.92g, 17mmol) 的 100 毫升 THF 的溶液中加入三乙胺 (4.3 克, 42.5 毫摩尔)。然后, 在氩气下, 在 0℃ 下, 滴加乙酰氯 (2.7 克, 34 毫摩尔)。加入后, 将混合物保持在 0℃ 下搅拌 3 小时。当 TLC 显示几乎没有化合物 4 剩余时, 将反应倒入到 150 毫升水中。用 EtOAc (50mLx3) 萃取。用无水硫酸钠干燥合并的有机层, 浓缩, 然后用 PE : EA (10/1) 层析, 得到 3.4 克所需的化合物 5, 其为无色油状物, 收率 : 89%。

[0254] ((反)-2-((S)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)-1-甲基环丙基) 甲基乙酸酯 (6)

试剂	MW	当量	mol	g, mL
化合物 5	214.26	1	15	3.2 g
Et ₂ Zn	己烷中 1M	5	75	75 mL
CH ₂ I ₂	267.84	10	150	40 g
己烷				200 mL

[0255] 向 (S,E)-3-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)-2-甲基烯丙基乙酸酯 5 (3.2g, 15mmol) 的 200 毫升己烷的溶液中, 在氩气下在 -20℃ 下, 分批加入二乙基锌 (在己烷中 1M, 75mL)。加完后, 在强烈的搅拌、低于 -20℃ 下, 滴加二碘甲烷 (40g, 150mmol)。将混合物保持在低于 -20℃ 下再搅拌 8 小时, 升温至室温并保持搅拌另外 8 小时。用 100ml 冷的 NH₄Cl 水溶液淬灭反应混合物, 然后用乙醚 (100mLx5) 萃取。用硫代硫酸钠水溶液、水、盐水洗涤合并的有机层, 干燥并浓缩, 得到粗品 6。通过硅胶柱 (PE : EA = 30 : 1-20 : 1) 纯化, 得到 3.0g 6, 其为无色油状物。收率 : 88%。

[0257] ((反)-2-((S)-1,2-二羟基乙基)-1-甲基环丙基) 甲基乙酸酯 (7)

[0258]

试剂	MW	当量	mol	g, mL
化合物 6	228.28	1	13	2.97 g
乙酸(80%)				30 mL

[0259] 将((反)-2-((S)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)-1-甲基环丙基)甲基乙酸酯 6 (2.97g, 13mmol) 与 30 毫升 80% 乙酸的混合物保持在室温下搅拌 15 小时。当 TLC 显示几乎无 6 剩余时, 将混合物滴加至 300ml 的饱和碳酸氢钠水溶液中。然后用二氯甲烷 (200ml x3) 萃取。用水、盐水洗涤合并的有机层, 干燥并浓缩, 得到粗品 7, 通过硅胶柱 (PE : EA = 3 : 1-1 : 1) 纯化, 得到 1.5g 化合物 7, 其为无色油状物。收率 : 62%。

[0260] ((反)-2-甲酰基-1-甲基环丙基)甲基乙酸酯 (8)

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
[0261] 化合物 7	188.22	1	7.5	1.41 g
NaIO ₄	213.89	1.2	9	1.93 g
NaHCO ₃ (5%水溶液)				20 mL

[0262] 在室温下, 向搅拌着的含((反)-2-((S)-1,2-二羟基乙基)-1-甲基环丙基)甲基乙酸酯 7 (1.41g, 7.5mmol) 的 20 毫升碳酸氢钠 (5% 水溶液) 的溶液中, 滴加高碘酸钠 (1.93g, 9mmol) 的饱和溶液。加入后, 将混合物在室温下保持搅拌 2 小时。当 TLC 显示几乎无 7 剩余时, 将该混合物加入 50 毫升的水中, 用 EtOAc (100mLx3) 萃取。用无水硫酸钠干燥合并的有机层, 浓缩, 然后用 PE : EA (20/1) 层析, 得到所需的 1.0g 化合物 8, 其为无色油状物, 收率 : 85%。

[0263] ((反)-2-乙炔基-1-甲基环丙基)甲醇 (9)

[0264]

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 8	156.08	1	5	780 mg
Bestmann 试剂	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

[0265] 向((反)-2-甲酰基-1-甲基环丙基)甲基乙酸酯 8 (780mg, 5mmol) 的 15 毫升甲醇的溶液中, 添加 Bestmann 试剂 (1.44g, 7.5mmol) 和碳酸钾 (2.07g, 15mmol), 将混合物在室温下保持搅拌 5 小时。当 TLC 显示几乎无 8 剩余时, 将反应混合物用水 (20mL) 稀释。用乙醚 (20mLx3) 萃取, 将合并的有机层干燥并浓缩, 得到粗 9, 通过硅胶柱 (PE : Et₂O = 10 : 1 至 5 : 1) 纯化, 得到 400mg 9, 其为无色油状物。收率 : 73%。

[0266] 4-(((反)-2-(羟甲基)-2-甲基环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸甲酯 (11)

[0267]

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 9	110.17	1	3.6	400 mg
化合物 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

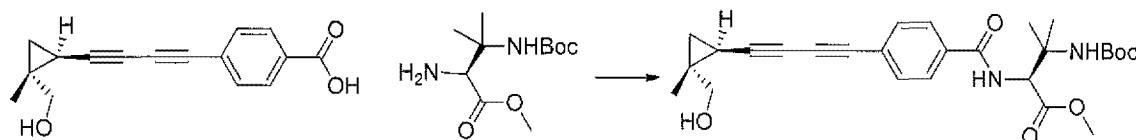
[0268] 在氩气下,用 4-(溴乙炔基)苯甲酸甲酯 10(870mg, 3.6mmol) 处理((反)-2-乙炔基-1-甲基环丙基)甲醇 9(400mg, 3.6mmol)、Pd(PPh₃)₂Cl₂(126mg, 0.18mmol)、CuI(68.4mg, 0.36mmol)、DIPEA(1.09g, 10.8mmol) 的 20 毫升 THF 的溶液。将该混合物在室温下保持搅拌 5 小时。当 TLC 显示几乎无化合物 9 剩余时,在减压下除去溶剂,用水(50ml)稀释残余物,用二氯甲烷(3x50mL)萃取,将有机层干燥并浓缩,得到粗产物 11,其为红色油状物,通过硅胶柱色谱用 PE : EA = 20 : 1 至 10 : 1 纯化,得到 430mg11,其为黄色固体。收率:40%。

[0269] 4-(((1S,2R)-2-(羟甲基)-2-甲基环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸(ACHL02-112-中间体-A)

试剂	MW	当量	Mmol	g, mL
[0270] 化合物 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

[0271] 向搅拌着的 4-(((反)-2-(羟甲基)-2-甲基环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸甲酯 11(400mg, 1.5mmol) 的 16 毫升 THF 的溶液中加入氢氧化锂一水合物(240mg, 6mmol) 的 4mL 水的溶液。加入后,将混合物在室温下保持搅拌 15 小时。当 LCMS 显示无化合物 11 剩余时,将混合物加入至 50 毫升水中。在 0℃下用 1M 的 HCl 调整 pH 值至 3.0,用 EtOAc(100mLx3) 萃取。用无水硫酸钠干燥合并的有机层,浓缩,得到 370mg 所需的化合物,其为黄色粉末,收率:收率 92%。LCMS:CP-0004344-006-3-03665-LCMSA035 (ESI)m/z = 255 (M+1). ¹HNMR: CP-0004344-006-3 (DMSO-d₆, 400MHz) δ :13.1 (s, 1H), 7.91 (d, J = 8.4Hz, 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).

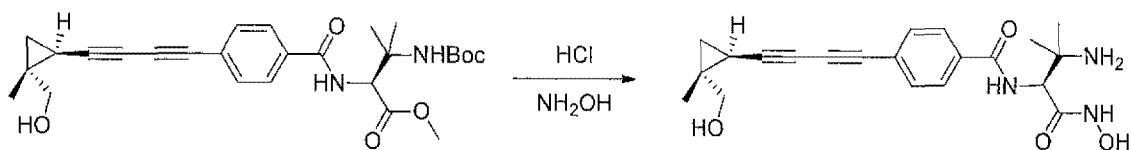
[0272]



[0273] 将 (S)-2-氨基-3-(叔丁氧基羰基氨基)-3-甲基丁酸甲酯(347mg, 1.408mmol, 1.0 当量) 和 4-(((1S,2R)-2-(羟甲基)-2-甲基环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸(358mg, 1.408mmol, 1.0 当量) 溶于 DMF(3mL) 中。向其中加入 DIPEA(0.615mL, 3.52mmol, 2.5 当量), 然后加入 HATU(642mg, 1.689mmol, 1.2 当量)。在室温下搅拌约 16 小时。使反应物在 1M 的柠檬酸和乙酸乙酯之间分层。用半饱和的氯化钠、饱和碳酸氢钠、然后用饱和氯化钠洗涤有机

相,用硫酸镁干燥并蒸发至干。得到912mg粗品(S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-2-(4-(((1S,2R)-2-(羟甲基)-2-甲基环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺基)-3-甲基丁酸甲酯。LCMS M+1 期望值=483.2,观测值=483.2。

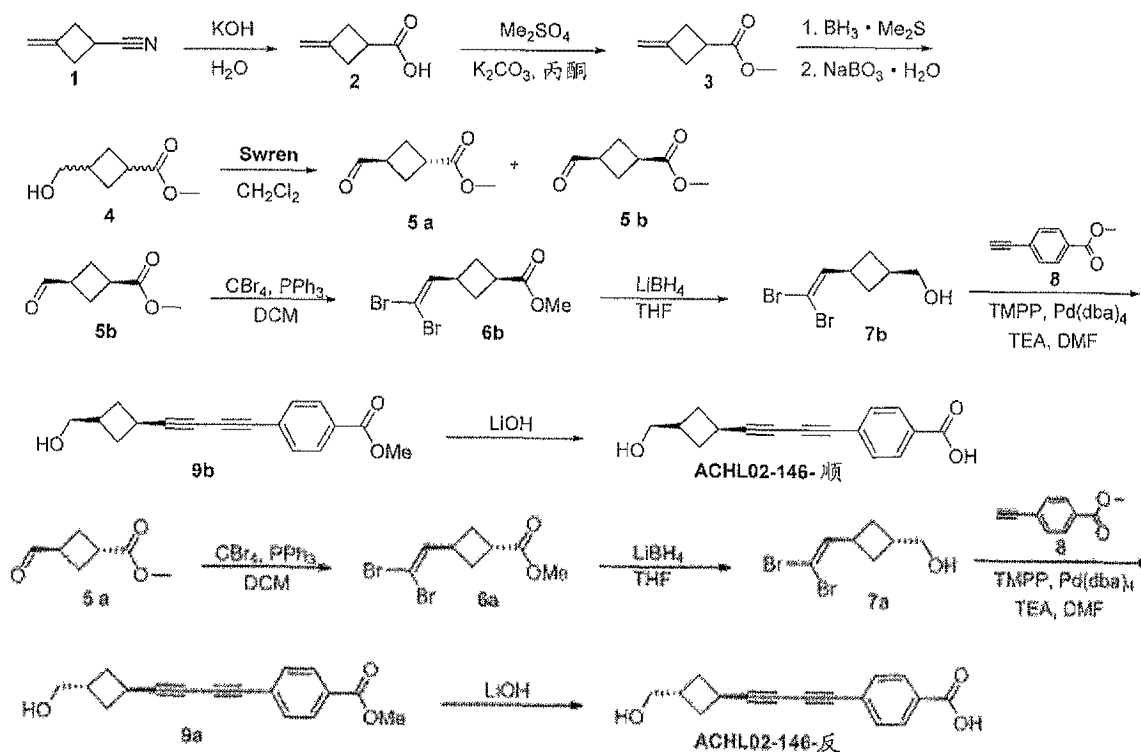
[0274]



[0275] 将(S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-2-(4-(((1S,2R)-2-(羟甲基)-2-甲基环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺基)-3-甲基丁酸甲酯(粗品)溶于甲醇(1mL)中。在室温下加入含4.0M盐酸的二噁烷(2.97mL,11.86mmol,8.43当量)。60分钟后反应完成(HPLC)。将反应在0℃下在旋转蒸发仪上浓缩。向其中加入IPA(2mL),然后加入羟胺溶液(1.859mL,28.1mmol,20当量)。将烧瓶于4℃下放置约40小时。浓缩反应物,(保持反应在0℃)得到胶状物。向其中加入水(3mL)和ACN(0.5mL)。在0℃下用TFA(3mL)酸化。加入额外的水(1mL)和ACN(1mL)。通过反相高效液相色谱(2"柱,50mL/min,包含0.1%TFA的水/乙腈,在5%B下平衡)。使用注射器过滤器(2X6.5mL)加载到2"柱(10mL/min,5%B)上。在1分钟内升至50mL/min。在66分钟内5-30%B,产物由25%B洗脱得到,合并所需的流份,冷冻并放入冻干机,得到410mg N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1S,2R)-2-(羟甲基)-2-甲基环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺(I-11),三氟乙酸盐。LCMS M+1 期望值=384.2,观测值=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)。

[0276] J.N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,3-顺)-3-(羟甲基)环丁基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺(I-12)和N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,3-反)-3-(羟甲基)环丁基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺(I-13)的合成

[0277]



[0278] 3- 甲烯基环丁烷羧酸 (2)

[0279]

试剂	MW	当量	mol	g, mL
化合物 1	93	1.0	0.3	27.9 g
KOH	56	5.0	1.5	84 g
EtOH				200mL
H ₂ O				200mL

[0280] 用氢氧化钾 (84g, 1.5mol) 处理含 3- 甲烯基环丁烷甲腈 1 (27.9g, 0.3mol) 的乙醇 (200mL) 和水 (200mL) 的溶液。将所得的混合物搅拌并加热至 105℃ 4 小时。在减压下除去乙醇。将残余物冷却至 0℃, 将 pH 值调节至 1 至 2, 然后用乙酸乙酯萃取, 用硫酸钠干燥, 过滤并除去溶剂。(30.2 克, 收率 = 90%)。

[0281] 3- 甲烯基环丁烷羧酸甲酯 (3)

试剂	MW	当量	mol	g, mL
化合物 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
丙酮				500mL

[0283] 将 3- 甲烯基环丁烷羧酸 2 (29.12g, 0.26mol)、碳酸钾 (70.2g, 0.52mol)、丙酮 (500mL) 与硫酸二甲酯 (39.312g, 0.312mol) 的混合物加热回流 2 小时。将反应混合物冷却至室温并过滤。在减压下除去溶剂。将残余物用硅胶柱色谱纯化, 得到所需产物, 其为无色

油状。(27.5 克, 收率 = 84%)。

[0284] 3-(羟甲基)环丁烷羧酸甲酯 (4)

[0285]

试剂	MW	当量	mol	g, mL
化合物 3	126	1.0	0.210	26.46 g
BH ₃ THF (在 THF 中 1M)		0.3	0.070	70.0 mL
THF				130 mL
NaOH (3M)	40			30 mL
H ₂ O ₂ (30%)	34	1.0	0.210	34.0 g

[0286]

[0287] 向干燥的三颈烧瓶中加入 3-甲烯基环丁烷羧酸甲酯 3 (24.46g, 0.21mol) 和无水 THF (130 毫升), 并冷却至 -10℃, 然后通过注射器逐滴加入硼烷-THF 配合物 (70.0mL)。将所得混合物在室温下搅拌 4 小时, 并冷却至 -20℃至 -10℃, 加入甲醇, 搅拌 15 分钟。依次加入氢氧化钠 (3M30mL) 和过氧化氢 (34.0g, 0.210mol)。将混合物搅拌 2 小时, 并加入饱和亚硫酸钠溶液 (100 毫升)。将反应混合物用水稀释, 然后用乙酸乙酯萃取, 用水和盐水洗涤, 用硫酸钠干燥, 过滤, 除去溶剂, 将残余物用硅胶柱色谱法纯化。(28.73 克, 95%)。

[0288] (反)-3-甲酰基环丁烷羧酸甲酯 (5a) 和 (顺)-3-甲酰基环丁烷羧酸甲酯 (5b)

[0289]

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 4	144	1.0	69.4	10 g
草酰氯	128	2.0	139	17.8 g
DMSO	78	4.0	278	21.7 g
DCM				650 mL
TEA	101	10.0	700	71 g

[0290] 在 -78℃ 下, 向草酰氯 (17.8g, 139mmol, 2.0 当量) 的 CH₂Cl₂ (450mL) 的溶液中慢慢地加入含 DMSO (21.7g, 278mmol, 4.0 当量) 的二氯甲烷 (50mL)。30 分钟后, 在 -78℃ 下滴加含 3-(羟甲基)环丁烷羧酸甲酯 4 (10g, 69.4mmol, 1.0 当量) 的二氯甲烷 (150mL)。在 -78℃ 下再搅拌该混合物 2 小时, 然后在 -78℃ 下加入三乙胺 (70g, 700mmol, 10.0 当量)。20 分钟后, 将混合物升温至室温, 加入饱和 NH₄Cl 水溶液。分层, 并用二氯甲烷 (3×200 毫升) 萃取水层。用盐水洗涤合并的有机层, 干燥 (硫酸钠), 过滤并浓缩, 得到粗产物, 其为顺式和反式异构体的混合物。通过硅胶柱纯化得到 5a (反式, 3.1g) 和 5b (顺式, 2.9g)。

[0291] (顺)-3-(2,2-二溴乙烯基)环丁烷羧酸甲酯 (6b)

[0292]

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 5a	142	1.0	20.40	2.9 g
PPh ₃	262	4.0	81.80	21.41 g
CBr ₄	332	2.0	40.90	13.56 g
DCM				200 mL

[0293] 在低于 -20℃、氩气下,向四溴化碳 (13.56g, 40.89mmol, 2.0 当量) 的 40 毫升二氯甲烷的溶液中,滴加三苯基膦 (21.41g, 81.80mmol, 4.0 当量) 的 80 毫升二氯甲烷的溶液。将混合物保持在 -20℃下搅拌 30 分钟,然后冷却到 -78℃。滴加含 ((顺)-3-甲酰基环丁烷羧酸甲酯 **5b** (2.9g, 20.40mmol, 1.0 当量) 的 80 毫升二氯甲烷,并在 -78℃下再搅拌 1 小时。使该混合物升温至室温。将反应混合物逐滴加入到搅拌的 300mL PE 中。将混合物过滤并用 PE 洗涤残渣。将合并的有机层用硫酸钠干燥并浓缩,通过硅胶柱纯化,得到目标化合物。(2.3 克, 收率 = 37%)

[0294] ((顺)-3-(2,2-二溴乙烯基)环丁基)甲醇 (**7b**)

[0295]

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 6b	298	1.0	8.4	2.5 g
LiBH ₄	22	1.1	9.2	203 mg
THF				10 mL

[0296] 将化合物 **6b** (2.5g, 8.4mmol, 1.0 当量) 溶于 THF (10mL) 中,在 0℃下加入硼氢化锂 (203mg)。将反应混合物保持在室温下搅拌 3 小时。加入水 (5mL),并用乙酸乙酯萃取。将合并的乙酸乙酯层干燥并在减压下浓缩。粗产物用硅胶柱以 PE : EA = 5 : 1 纯化。(1.88 克, 收率 = 83%)。

[0297] 4-(((顺)-3-(羟甲基)环丁基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸甲酯 (**9b**)

[0298]	试剂	MW	当量	mmol	g, mL
	化合物 7b	270	1.0	6.9	1.88 g
	化合物 8	160	1.4	9.7	1.56 g
	TMPP	352	0.04	0.28	98 mg
[0299]	Pd(dba) ₄	916	0.01	0.069	64 mg
	DMF				30 mL
	TEA	101	3.0	20.9	2.11 g

[0300] 在氮气氛下,向含 ((顺)-3-(2,2-二溴乙烯基)环丁基)甲醇 **7b** (1.88g, 6.9mmol, 1.0 当量)、4-乙炔基苯甲酸甲酯 **8** (1.56g, 9.7mmol, 1.4 当量)、三(4-甲基苯基)膦 (98mg, 0.28mmol, 0.04 当量)、Pd(dba)₄ (64mg, 0.069mmol, 0.01 当量) 的无水 DMF (30mL) 的混合物中加入三乙胺 (2.11g, 20.9mmol, 3.0 当量)。将反应混合物保持在 80℃下搅拌 15 小时。LCMS 监测反应。用 NH₄Cl 水溶液稀释该反应混合物,并用乙酸乙酯萃取。用水、盐水洗涤合并的乙酸乙酯层并干燥。在减压下蒸馏除去溶剂,得到粗品,将其用硅胶柱以 PE : EA =

5 : 1 纯化。(450 毫克, 收率 = 24%)。

[0301] 4-(((顺)-3-(羟甲基)环丁基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸 (ACHL02-146-顺)

[0302]

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 9a	268	1.0	1.68	450 mg
LiOH H ₂ O	42	4.0	6.72	282 mg
THF				20 mL

[0303] 向 4-(((顺)-3-(羟甲基)环丁基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸甲酯 9b (450mg, 1.0 当量) 的 THF (200 毫升) 溶液中加入氢氧化锂一水合物 (282mg, 4.0 当量), 然后使混合物在 25°C 下反应 5 小时。然后将反应溶剂除去, 用 3N HCl 中和至 PH 值 5-6, 用乙酸乙酯萃取。用盐水洗涤合并的乙酸乙酯层并干燥。蒸馏除去溶剂, 以获得目标化合物。(400mg, 收率 = 94%)。

[0304] ((反)-3-(2,2-二溴乙烯基)环丁烷羧酸甲酯 (6a)

[0305]

试剂	MW	当量	Mmol	g, mL
化合物 5a	142	1.0	16.90	2.4 g
PPh ₃	262	4.0	67.60	17.7 g
CBr ₄	332	2.0	33.80	11.2 g
DCM				200 mL

[0306] 在低于 -20°C、氩气下, 向四溴化碳 (11.2g, 33.80mmol, 2.0 当量) 的 40 毫升二氯甲烷的溶液中滴加三苯基膦 (17.7g, 67.60mmol, 4.0 当量) 的 80 毫升二氯甲烷的溶液。将混合物保持在 -20°C 下搅拌 30 分钟, 然后冷却到 -78°C。滴加含 ((反)-3-甲酰基环丁烷羧酸甲酯 5a (2.4g, 16.90mmol, 1.0 当量) 的 80 毫升二氯甲烷, 并在 -78°C 下再搅拌 1 小时。使该混合物升温至室温。将反应混合物逐滴加入到搅拌的 300mL PE 中。过滤并用 PE 洗涤残渣。用硫酸钠干燥合并的有机层并浓缩, 通过硅胶柱纯化, 得到目标化合物。(2.5 克, 收率 = 50%)

[0307] ((反)-3-(2,2-二溴乙烯基)环丁基)甲醇 (7a)

[0308]

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 6a	298	1.0	8.4	2.5 g
LiBH ₄	22	1.1	9.2	203 mg
THF				10 mL

[0309] 将 ((反)-3-(2,2-二溴乙烯基)环丁烷羧酸甲酯 6a (2.5g, 8.4mmol, 1.0 当量) 溶于 THF (10mL) 中, 在 0°C 下加入硼氢化锂 (203mg)。将反应混合物保持在室温下搅拌 3 小时。加入水 (5mL), 并用乙酸乙酯萃取。将合并的乙酸乙酯层干燥并在减压下浓缩。用硅胶柱以 PE : EA = 5 : 1 纯化粗产物。(1.70 克, 收率 = 75%)。

[0310] 4-(((反)-3-(羟甲基)环丁基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸甲酯 (9a)

[0311]

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

[0312]

[0313] 在氮气下,向含((反)-3-(2,2-二溴乙烯基)环丁基)甲醇 7a(1.70g,6.3mmol,1.0 当量)、化合物 8(1.41g,8.8mmol,1.4 当量)、三(4-甲基苯基)膦(89mg,0.25mmol,0.04 当量)、Pd(dba)₄(58mg,0.063mmol,0.01 当量)的无水 DMF(30ml)的混合物中加入三乙胺(1.91g,18.9mmol,3.0 当量)。将反应混合物保持在 80℃下搅拌 15 小时。LCMS 监测反应。用 NH₄Cl 水溶液稀释该反应混合物,并用乙酸乙酯萃取。用水、盐水洗涤合并的乙酸乙酯层并干燥。在减压下蒸馏除去溶剂,得到粗品,将其用硅胶柱以 PE : EA = 5 : 1 纯化。(550 毫克,收率 = 33%)。

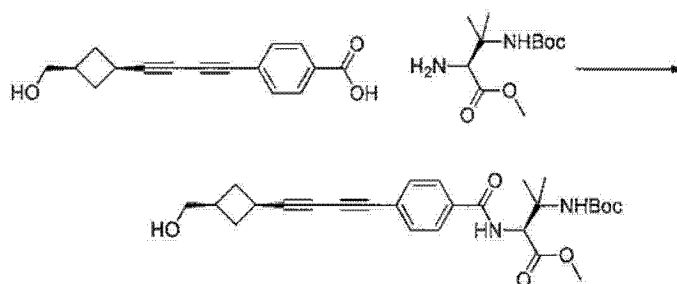
[0314] 4-(((反)-3-(羟甲基)环丁基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸 (ACHL02-146-反式)

[0315]

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 9a	268	1.0	2.05	550 mg
LiOH H ₂ O	42	4.0	8.21	345 mg
THF				20 mL

[0316] 向 4-(((反)-3-(羟甲基)环丁基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸甲酯 9a(550mg,1.0 当量)的 THF(20 毫升)的溶液中加入氢氧化锂一水合物(345mg,4.0 当量),然后使混合物在 25℃下反应 5 小时。然后将反应溶剂除去,用 3N HCl 中和至 PH 值 5-6,用乙酸乙酯萃取。用盐水洗涤合并的乙酸乙酯层并干燥。蒸馏除去溶剂,以获得目标化合物。(340mg,收率 = 65%)。

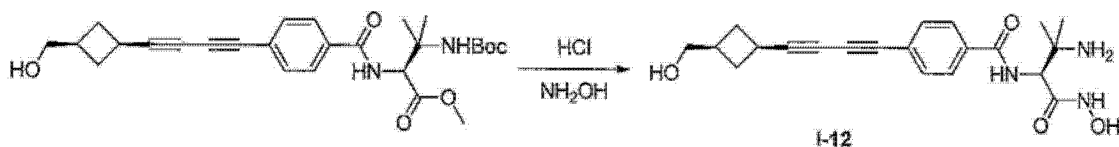
[0317]



[0318] 将(S)-2-氨基-3-(叔丁氧基羰基氨基)-3-甲基丁酸甲酯(387mg,1.573mmol,1.0 当量)和 4-(((1,3-顺)-3-(羟甲基)环丁基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸(400mg,1.573mmol,1.0 当量)溶于 DMF(3ml)中。向其中加入 DIPEA(0.687mL,3.93mmol,2.5 当量),

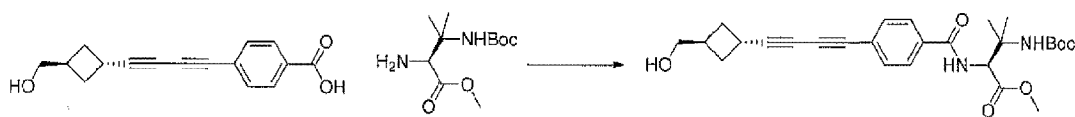
然后加入 HATU (718mg, 1.888mmol, 1.2 当量)。在室温下搅拌约 16 小时。使反应在 1M 的柠檬酸和乙酸乙酯之间分层。用半饱和的氯化钠、饱和碳酸氢钠, 然后用饱和氯化钠洗涤有机相, 硫酸镁干燥并蒸发至干。得到 1.035g 粗品 (S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-2-(4-(((1,3-顺)-3-(羟甲基)环丁基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺基)-3-甲基丁酸甲酯。LCMS M+1 期望值 = 483.2, 观测值 = 483.2。

[0319]



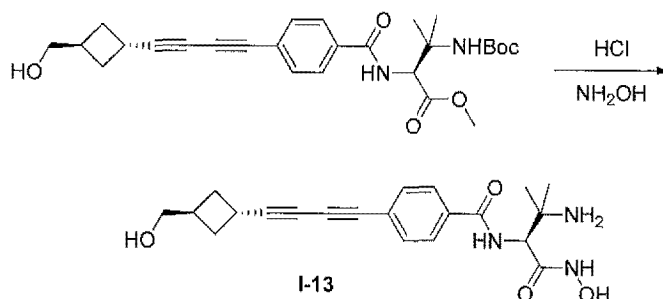
[0320] 将 (S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-2-(4-(((1,3-顺)-3-(羟甲基)环丁基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺基)-3-甲基丁酸甲酯 (粗品) 溶于甲醇 (1mL) 中。在室温下加入含 4.0M 盐酸的二噁烷 (3.3mL, 13.26mmol, 8.43 当量) 中。60 分钟后反应完成 (HPLC)。将反应在 0℃ 下在旋转蒸发仪上浓缩。向其中加入 IPA (2mL), 然后加入羟胺溶液 (2mL, 31.5mmol, 20 当量)。将烧瓶在 4℃ 下放置 24 小时。浓缩反应, (保持反应在 0℃) 得到胶状物。向其中加入水 (3mL) 和乙腈 (0.5mL)。在 0℃ 下用 TFA (3mL) 酸化。加入额外的水 (1mL) 和乙腈 (1mL)。物通过反相高效液相色谱 (2" 柱, 50mL/min, 含 0.1% TFA 的水 / 乙腈, 在 5% B 下平衡)。使用注射器过滤器 (2X6mL) 加载到 2" 柱 (10mL/min, 5% B) 上。在 1 分钟内升至 50mL/min。在 55 分钟内 5-35% B, 产物在 24.5-26% B 处被洗脱, 合并所需的流份, 冷冻并放置在冻干机中, 得到 460mg N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,3-顺)-3-(羟甲基)环丁基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺, TFA。LCMS M+1 期望值 = 384.2, 观测值 = 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)。

[0321]



[0322] 将 (S)-2-氨基-3-(叔丁氧基羰基氨基)-3-甲基丁酸甲酯 (329mg, 1.377mmol, 1.0 当量) 和 4-(((1,3-反)-3-(羟甲基)环丁基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸 (340mg, 1.377mmol, 1.0 当量) 溶于 DMF (3mL) 中。向其中加入 DIPEA (0.584mL, 3.34mmol, 2.5 当量), 然后加入 HATU (610mg, 1.605mmol, 1.2 当量)。在室温下搅拌约 16 小时。使反应在 1M 的柠檬酸和乙酸乙酯之间分层。用半饱和的氯化钠、饱和碳酸氢钠、然后用饱和氯化钠洗涤有机相, 用硫酸镁干燥并蒸发至干。得到 990mg 粗品 (S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-2-(4-(((1,3-反)-3-(羟甲基)环丁基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺基)-3-甲基丁酸甲酯。LCMS M+1 期望值 = 483.2, 观测值 = 483.2。

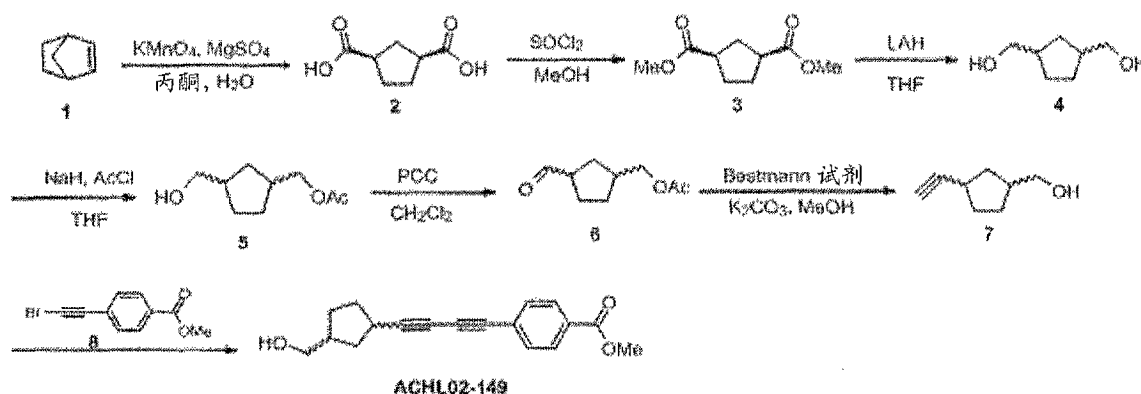
[0323]



[0324] 将(S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-2-(4-(((1,3-反)-3-(羟甲基)环丁基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺基)-3-甲基丁酸甲酯(粗品)溶于甲醇(1mL)中。在室温下加入含4.0M盐酸(2.82mL,11.27mmol,8.43当量)的二噁烷。60分钟后反应完成(HPLC)。将反应在0℃下在旋转蒸发仪上浓缩。向其中加入IPA(2mL),然后加入羟胺溶液(1.77mL,26.7mmol,20当量)。将烧瓶在4℃下放置96小时。浓缩反应(保持反应在0℃)得到胶状物。向其中加入水(3mL)和乙腈(0.5mL)。在0℃下用TFA(3mL)将溶液酸化。加入额外的水(1mL)和乙腈(1mL)。通过反相高效液相色谱(2"柱,50mL/min,含0.1%TFA的水/乙腈,在5%B下平衡);使用注射器过滤器(2X7mL)加载到2"柱(10mL/min,5%B)上。在1分钟内升至50mL/min且在55分钟内梯度为5-35%B。产物在22.9-25.5%B处被洗脱。合并所需的流份,冷冻并放在冻干机中。该过程得到410mgN-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,3-反)-3-(羟甲基)环丁基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺, TFA。LCMS M+1期望值=384.2,观测值=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)。

[0325] K.N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,3-反)-3-(羟甲基)环戊基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺(I-14)的合成

[0326]



[0327] (顺)-环戊烷-1,3-二羧酸(2)

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
[0328] 化合物 1	94	1.0	106	10 g
KMnO ₄	158	2.8	297	47 g

[0329]	MgSO ₄	120	0.33	35.4	4.3 g
	H ₂ O				500mL
	丙酮				15 mL

[0330] 向搅拌着的高锰酸钾 (47g, 0.297mol) 和硫酸镁 (4.3g, 35.4mmol) 在冷却至 5℃ 的水 (500ml) 中的悬浮液中, 一次性加入二环 [2.2.1] 庚-2-烯 1 (10g, 0.106mol) 的丙酮 (15mL) 溶液 (5℃ -40℃)。除去冰浴, 将反应再搅拌 2 小时。在此时间后, 将混合物过滤, 将滤液用亚硫酸氢钠处理, 并用 1N HCl 酸化至 pH = 2。然后用乙酸乙酯 (800 毫升 × 3) 萃取, 用水 (1L)、盐水 (1L) 洗涤合并的有机层, 干燥, 浓缩, 得到目标化合物 2 (7.5 克, 46%), 其为白色固体, 不经纯化用于下一步骤。

[0331] (顺)-环戊烷-1,3-二羧酸二甲酯 (3)

[0332]	试剂	MW	当量	mmol	g, mL
	化合物 2	158	1.0	47.5	7.5 g
	SOCl ₂	119	4.0	190	22.6 g
	MeOH				200mL

[0333] 在冰浴中, 向搅拌着的 (顺)-环戊烷-1,3-二羧酸 2 (7.5g, 47.5mmol) 的甲醇 (200 毫升) 溶液中加入亚硫酰氯 (22.6 克, 0.19 摩尔)。然后将反应混合物加热回流过夜。在此时间后, 将混合物浓缩, 得到化合物 3 (8.3 克, 94%), 其为黄色油状物, 不经纯化用于下一步。用 GC-MS 确认。

[0334] 环戊烷-1,3-二基二甲醇 (4)

[0335]

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 2	186	1	44.6	8.3 g
LiAlH ₄	38	2.0	89.2	3.4 g
THF				150 ml

[0336] 在冰浴的情况下, 向搅拌着的 LAH (3.4 克, 89.2 毫摩尔) 的 THF (100mL) 溶液中, 加入 (顺)-环戊烷-1,3-二羧酸二甲酯 3 (8.3 克, 44.6 毫摩尔) 的 THF (50ml) 溶液。然后将反应混合物在室温下搅拌过夜。在此时间后, 将混合物用水 (6.5 毫升) 稀释, 然后过滤, 将滤液浓缩, 用硅胶色谱法 (PE : EA = 2 : 1) 纯化残余物, 得到化合物 4 (4.0 克, 69%), 其为黄色油状物。HNMR (400MHz, 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)

[0337] 3-(羟甲基)环戊基)甲基乙酸酯 (5)

[0338]

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 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

[0339] 在冰浴中,向搅拌着的环戊烷-1,3-二基二甲醇 4(4.0 克,31 毫摩尔)的 THF(60ml)溶液中加入 NaH(60%)(1.1 克,28 摩尔)。然后在冰浴中将反应混合物搅拌 0.5 小时,然后向反应混合物中加入乙酰氯(2.7 克,34 毫摩尔)。并将该混合物在室温下搅拌过夜。在此时间后,将混合物用水(1.0 毫升)稀释,然后过滤,浓缩滤液,将残余物用硅胶色谱纯化,得到化合物 5(1.7g,25%),其为黄色油状物。HNMR(400MHz, 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)。

[0340] 3-甲酰基环戊基)甲基乙酸酯(6)

	试剂	MW	当量	mmol	g, mL
[0341]	化合物 5	172	1	9.9	1.7 g
	PCC	215	3.0	29.7	6.4 g
	CH ₂ Cl ₂				50 ml

[0342] 向搅拌着的 3-(羟甲基)环戊基)甲基乙酸酯 5(1.7 克,9.9 毫摩尔)的 CH₂Cl₂(50 毫升)溶液中,分批加入 PCC(6.4 克,29.7 毫摩尔)。然后将反应混合物在室温下搅拌过夜。在此时间后,将混合物浓缩,残余物用硅胶色谱(PE : EA = 6 : 1)纯化,得到化合物 6(0.7 克,44%),其为黄色油状物。

[0343] 3-乙炔基环戊基)甲醇(7)

	试剂	MW	当量	mmol	g, mL
[0344]	化合物 6	170	1.0	4.1	0.7 g
	Bestmann 试剂(80%)	192	1.5	6.15	1.18 g
	K ₂ CO ₃	138	1.5	6.15	0.85 g
	MeOH				50 mL

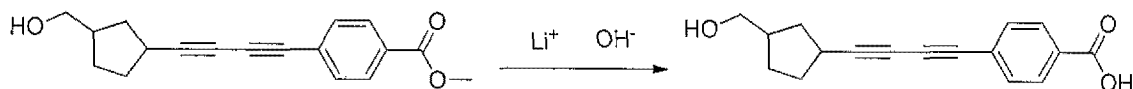
[0345] 向搅拌着的 3-甲酰基环戊基)甲基乙酸酯 6(0.7 克,4.1 毫摩尔)的甲醇(50ml)溶液中加入碳酸钾(0.85 克,6.15 毫摩尔)和 Bestmann 试剂(1.18 克,6.15 毫摩尔)。将反应混合物在室温下搅拌过夜。在此时间后,将混合物用水(50mL)稀释,用乙醚(80 毫升×3)萃取,将合并的有机层干燥,浓缩,用硅胶色谱(PE : EA = 2 : 1)纯化残余物,得到化合物 7(0.31 克,60%),其为黄色油状物。

[0346] 4-((3-(羟甲基)环戊基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸甲酯(ACHL02-149)

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 7	124	1.0	2.42	0.3 g
化合物 8	240	1.2	2.9	0.7 g
[0347] 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

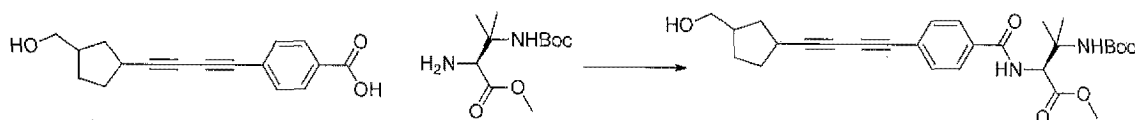
[0348] 在氮气、室温下,将 DIPEA(936 毫克,7.26 毫摩尔)逐滴加入到含 3-乙炔基环戊基)甲醇 7(0.3g,2.42mmol)、4-(溴乙炔基)苯甲酸甲酯 8(0.7g,2.9mmol)、PdCl₂(PPh₃)₂(70mg,0.1mmol)和 CuI(46mg,0.242mmol)的 THF(60mL)的混合物。将反应混合物在室温下搅拌过夜。LCMS 监测反应。用水(60 毫升)稀释该反应混合物,并用乙酸乙酯(80 毫升×3)萃取。将乙酸乙酯层用饱和 NH₄Cl 水溶液、水和盐水洗涤。干燥后,在减压下浓缩乙酸乙酯溶液。用硅胶柱(PE : EA = 5 : 1)纯化残余物,得到化合物 ACHL02-149(顺式和反式异构体的混合物)(140 毫克,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)。

[0349]



[0350] 将 4-((3-(羟甲基)环戊基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸甲酯(115 毫克,0.407 毫摩尔,1.0 当量)溶于甲醇(5ml)中,然后加入氢氧化锂(29.3 毫克,1.222 毫摩尔,3.0 当量)和水(5mL)。在室温下搅拌约 72 小时。将反应浓缩以除去甲醇,用 6N 盐酸(约 5 毫升)酸化至 pH 约 3。用乙酸乙酯萃取(3×50 毫升),合并有机相,用饱和 NaCl 洗涤,干燥(硫酸镁),过滤,浓缩。得到 0.14g 粗品 4-((3-(羟甲基)环戊基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸。LCMS M+1 期望值 = 269.1,观测值 = 269.1。

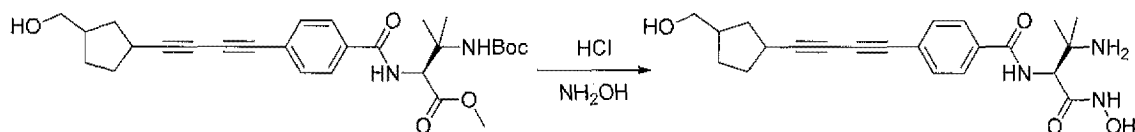
[0351]



[0352] 将 (S)-2-氨基-3-(叔丁氧基羰基氨基)-3-甲基丁酸甲酯(100mg,0.406mmol,1.0 当量)和 4-((3-(羟甲基)环戊基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸(粗品)(理论上 109mg,0.406mmol,1.0 当量)溶于 DMF(1ml)中。向其中加入 DIPEA(0.177mL,1.016mmol,2.5 当量),然后加入 HATU(185mg,0.488mmol,1.2 当量)。在室温下搅拌约 16 小时。使反应在 1M 的柠檬酸和乙酸乙酯之间分层。用半饱和的氯化钠、饱和碳酸氢钠、然后用饱和氯化钠洗涤有机相,用硫酸镁干燥并蒸发至干。得到 500mg 粗品 (S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-3-甲基丁酸甲酯。

基)-2-(4-((3-(羟甲基)环戊基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺基)-3-甲基丁酸甲酯.LCMS M+1 期望值=497.3,观测值=497.2.

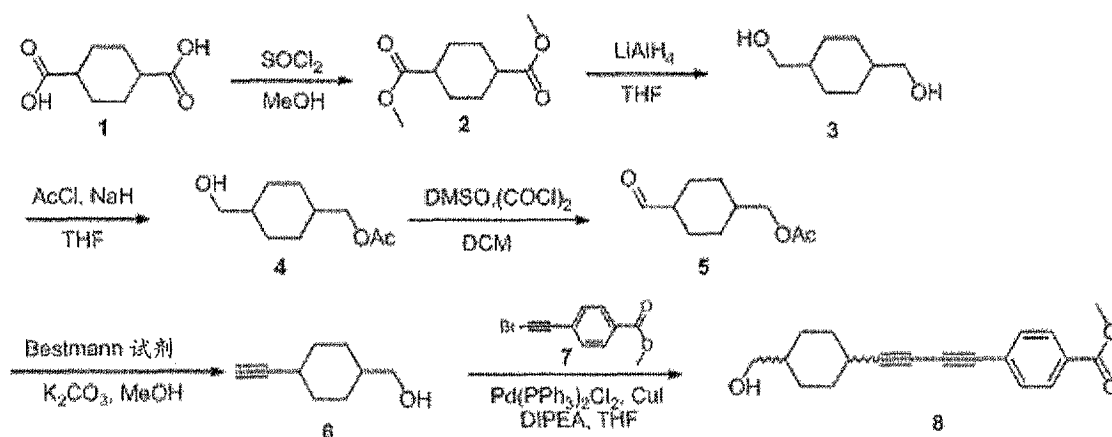
[0353]



[0354] (2S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-2-(4-((3-(羟甲基)环戊基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺基)-3-甲基丁酸甲酯(粗品)溶于甲醇(1mL)中。在室温下加入含4.0M盐酸的二噁烷(0.857mL,3.43mmol,8.43当量)。3小时后反应完成(HPLC)。将反应在0℃下在旋转蒸发仪上浓缩。向其中加入IPA(1mL),然后加入羟胺溶液(0.537mL,8.14mmol,20当量)。将烧瓶在4℃下放置168小时。浓缩反应物,(保持反应在0℃下)得到胶状物。向其中加入水(3mL)和乙腈(0.5mL)。在0℃下用TFA(3mL)酸化。加入额外的水(1mL)和乙腈(1mL)。通过反相高效液相色谱(1"柱,20mL/min,含0.1%TFA的水/乙腈,在5%B下平衡)。使用注射器过滤器(2X8mL)加载到1"柱(10mL/min,5%B)上。在1分钟内升至20mL/min。在80分钟内5-19%B,产物在19%B处洗脱得到,合并所需的流份,冷冻并放在冻干机中,得到145mg的N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-((3-(羟甲基)环戊基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺,I-14,TFA。LCMS M+1 期望值=398.2,观测值=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(b r,1H),11.19(s,1H)。

[0355] L.N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,4-顺)-4-(羟甲基)环己基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺(I-15)和N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,4-反)-4-(羟甲基)环己基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺(I-16)的合成

[0356]



[0357] 步骤1:环己烷-1,4-二羧酸二甲酯(2)

[0358]

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 1	172	1.0	290.7	50g
SOCl ₂	119	4.0	1162.8	138g
MeOH				500mL

[0359] 在冰盐浴中冷却甲醇 (500ml), 滴加亚硫酰氯 (138 克, 4.0 当量)。向所得 HCl 甲醇溶液中加入环己烷-1,4-二羧酸 1 (50 克, 1.0 当量), 将反应混合物加热回流 1 小时。TLC 监测反应。蒸馏除去溶剂, 用水稀释残余物, 用乙酸乙酯萃取。将乙酸乙酯层用 NaHCO₃ 溶液、盐水洗涤, Na₂SO₄ 干燥。蒸发溶剂, 以获得目标化合物 (56.4 克, 97%)。

[0360] 步骤 2: 环己烷-1,4-二基二甲醇 (3)

[0361]

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 2	200	1	150.0	30 g
LiAlH ₄	38	3.0	450.0	17.1 g
THF				200 ml

[0362] 在 0℃ 下向冰冷的 LiAlH₄ 在 THF 中的悬浮液中逐滴加入环己烷-1,4-二羧酸二甲酯 2 的溶液。将反应混合物在室温下保持搅拌 30 分钟。TLC 监测反应。加入 12 当量的水 (32.4mL) 终止反应。将反应混合物过滤, 并浓缩滤液。用 Et₂O 稀释残余物, 用 Na₂SO₄ 干燥。除去 Et₂O, 以收集目标化合物 (19.9 克, 92%), 不经进一步纯化用于下一步。

[0363] 步骤 3: (4-(羟甲基)环己基)甲基乙酸酯 (4)

[0364]

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 3	144	1.0	138.2	19.9 g
AcCl	78	1.0	138.2	10.78 g
NaH (60%)	24	1.0	138.2	5.53 g
THF				150 mL

[0365] 在 0℃ 下向冰冷的 NaH 和环己烷-1,4-二基二甲醇 3 在 THF 中的悬浮液中逐滴加入 AcCl。将反应保持在 15℃ 搅拌 3 小时。TLC 监测反应。加入 1 当量 H₂O (2.5 毫升) 以淬灭反应。将反应混合物过滤, 并将滤液用乙酸乙酯稀释。将乙酸乙酯层用盐水 (5ml) 洗涤, 用 Na₂SO₄ 干燥。在减压下除去溶剂。将残余物用硅胶柱 (DCM : MeOH = 50 : 1 至 10 : 1) 纯化, 得到目标化合物 (8.6 克, 33%)。

[0366] 步骤 4: (4-甲酰基环己基)甲基乙酸酯 (5)

[0367]

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 4	186	1.0	46.24	8.6 g
(COCl) ₂	128	2.0	92.47	11.8 g
DMSO	78	4.0	184.95	14.4 g
DCM				200 mL
TEA	101	8.0	369.92	37.36 g

[0368] 在 -78℃ 下, 向草酰氯的 DCM(60mL) 溶液中逐滴加入含 DMSO 的 DCM(60mL)。30 分钟后, 在 -78℃ 下逐滴加入含 (4-(羟甲基) 环己基) 甲基乙酸酯 4 的 DCM(80 毫升)。将反应混合物在 -78℃ 下搅拌额外的 2 小时, 然后在 -78℃ 下滴加 TEA 以淬灭反应。使该反应混合物升温至室温。将反应混合物用 DCM 稀释, 并用饱和氯化铵水溶液和盐水洗涤。干燥并浓缩 DCM 层。用硅胶柱 (DCM) 纯化残余物, 获得目标化合物 (9.0 克, 仍然是湿的, 含有二氯甲烷)。

[0369] 步骤 5: (4-乙炔基环己基) 甲醇 (6)

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 5	184	1.0	46.2	8.5 g
[0370] Bestmann 试剂 (80%)	192	1.3	60.0	11.56 g
K ₂ CO ₃	138	3.0	138.6	19.04 g
MeOH				100 mL

[0371] 在 0℃ 下向含 (4-甲酰基环己基) 甲基乙酸酯 5 (8.5 克, 1.0 当量)、K₂CO₃ (19.04g, 3.0 当量) 的甲醇 (100 毫升) 的混合物中加入 Bestmann 试剂 (11.56 克, 1.3 当量, 80%)。将该混合物在室温下搅拌 15 小时。TLC 监测反应。将该混合物用水稀释, 用乙酸乙酯萃取, 用盐水洗涤, 硫酸钠干燥, 在减压下浓缩。用硅胶柱 (PE : EA = 3 : 1) 纯化粗产物, 获得目标化合物 (2.6 克, 40%)。

[0372] 步骤 6: 4-((4-(羟甲基) 环己基) 丁-1,3-二炔基) 苯甲酸甲酯 (8)

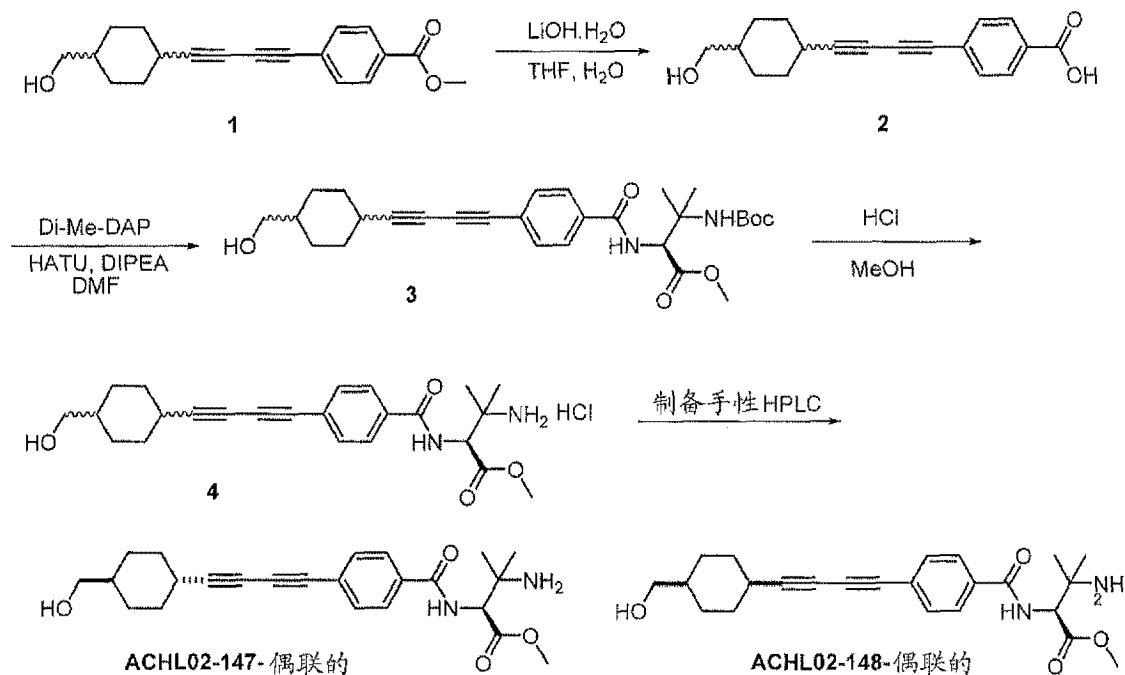
[0373]

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 6	138	1.0	10.14	1.4 g
化合物 7	240	1.2	12.17	2.9 g
PdCl ₂ (PPh ₃) ₂	701	0.03	0.304	213 mg
CuI	191	0.1	1.014	194 mg
DIPEA	129	3.0	30.43	3.92 g
THF				150 mL

[0374] 在氮气下, 在室温下, 将 DIPEA (3.92g, 3.0 当量) 逐滴加入到含 (4-乙炔基环己基) 甲醇 6 (1.4g, 1.0 当量)、4-(溴乙炔基) 苯甲酸甲酯 7 (2.9g, 1.2 当量)、PdCl₂(PPh₃)₂ (213mg, 0.03 当量) 和 CuI (194mg, 0.1 当量) 的 THF (150mL) 的混合物中。将反应混合物在室温下搅拌过夜。LCMS 监测反应。用水 (100 毫升) 稀释该反应混合物, 并用乙

酸乙酯 (300mL) 萃取。将乙酸乙酯层用饱和 NH_4Cl 水溶液、水和盐水洗涤。干燥后,减压浓缩乙酸乙酯溶液。用硅胶柱 ($\text{PE} : \text{EA} = 5 : 1$ 至 $3 : 1$) 纯化残余物,得到目标化合物 (顺式和反式异构体的混合物, 1.2g, 40%)。 ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 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)。

[0375]



[0376] 4-((4-(羟甲基)环己基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸 (2)

[0377]

试剂	MW	当量	Mmol	g, mL
化合物 1	296	1	4.1	1.2 g
$\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$	42	3	12.3	517 mg
THF				20 mL
H_2O				5 mL

[0378] 向 4-((4-(羟甲基)环己基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸甲酯 1 (1.2g, 4.1mmol) 的 THF (20ml) 溶液中,加入氢氧化锂一水合物 (517mg, 12.3mmol) 的水 (5ml) 溶液。将该混合物在室温下保持搅拌过夜。在此时间后,在减压下除去溶剂,用水 (40 毫升) 稀释残余物,用 1M HCl 将 pH 调至 4.0,然后用乙酸乙酯 (3×60 毫升) 萃取。将有机层干燥并浓缩,得到 4-((4-(羟甲基)环己基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸 2 (1.0g, 93%),其为黄色固体,不经纯化将其用于下一步骤中。LC-MS: 283 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0379] (S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-2-(4-((4-(羟甲基)环己基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺)-3-甲基丁酸甲酯 (3)

[0380]

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 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

[0381] 向 4-((4-(羟甲基)环己基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸 2(1.05g, 3.72mmol)、HATU(1.55g, 4.1mmol) 的 DMF(25 毫升) 溶液中加入 (S)-2-氨基-3-(叔丁氧基羰基氨基)-3-甲基丁酸甲酯(915 毫克, 3.72mmol) 和 DIPEA(1.44 克, 11.2mmol)。将该混合物在室温下保持搅拌 5 小时。在此时间后, 将反应用水(20mL) 稀释, 然后用乙酸乙酯(60 毫升 × 3) 萃取。合并有机层, 用水然后用盐水洗涤, 干燥并浓缩, 用硅胶色谱(PE : EA2 : 1) 纯化残余物, 得到 (S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-2-(4-((4-(羟甲基)环己基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺)-3-甲基丁酸甲酯 3(1.6g, 85%), 其为黄色固体。LC-MS : 511 [M+H]⁺. 455 [M-56]

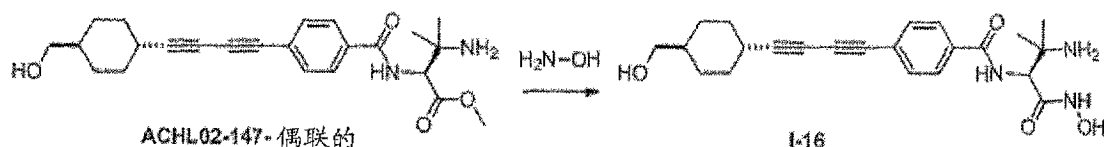
[0382] (S)-3-氨基-2-(4-((4-(羟甲基)环己基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺)-3-甲基丁酸甲酯盐酸盐 (4)

[0383]

试剂	MW	当量	mmol	g, mL
化合物 3	510	1	3.14	1.6 g
HCl(g)				
CH ₃ OH				20 mL

[0384] 将 (S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-2-(4-((4-(羟甲基)环己基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺基)-3-甲基丁酸甲酯 3(1.6 克, 3.14mmol) 的甲醇(20mL) 溶液连接于 HCl 装置。然后将反应在室温下搅拌, 直到 TLC 显示起始原料消耗完毕。在这之后, 将溶液在减压下浓缩, 得到 (S)-3-氨基-2-(4-((4-(羟甲基)环己基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺)-3-甲基丁酸甲酯盐酸盐 4, 其为黄色固体(1.4 克, 99%)。LC-MS : 411 [M+H]⁺。通过手性 HPLC 分离顺式和反式异构体, 得到 (S)-3-氨基-2-(4-(((1,4-顺)-4-(羟甲基)环己基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺基)-3-甲基丁酸甲酯 (ACHL02-148-偶联的, 90mg), 峰 1 和 (S)-3-氨基-2-(4-(((1,4-反)-4-(羟甲基)环己基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺基)-3-甲基丁酸甲酯 (ACHL02-147-偶联的, 750mg), 峰 2。

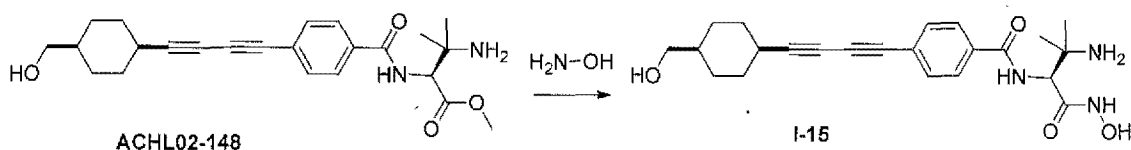
[0385]



[0386] 将 (S)-3-氨基-2-(4-(((1,4-反)-4-(羟甲基)环己基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺基)-3-甲基丁酸甲酯(750mg, 1.827mmol, 1.0 当量) 加入圆底烧瓶中, 向其中加入 IPA(6 毫升), 将悬浮液超声处理 5 分钟, 然后加入 THF(2 毫升) 以形成溶液。加入羟胺溶液(2.4 毫升, 36.5 毫摩尔, 20 当量), 并将烧瓶置于 4℃ 下约 96 小时。浓缩反应(保持反应在

0℃下),以除去 IPA 和 THF。在 0℃下用三氟乙酸 (4mL) 酸化。再加入乙腈 (2ml)。通过反相高效液相色谱 (2" 柱, 50mL/min, 含 0.1% TFA 的水 / 乙腈, 在 10% B 下平衡) 纯化。使用注射器过滤器 (3X8mL) 加载到 2" 柱 (10mL/min, 10% B) 上。在 1 分钟内升至 50mL/min。在 60 分钟内 10-40% B, 产物在 30.5-35% B 处洗脱得到, 合并所需的流份, 冷冻并放置在冻干机中, 得到 706mg N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,4-反)-4-(羟甲基)环己基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺, I-16, TFA。LCMS M+1 期望值 = 412.2, 观测值 = 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)。

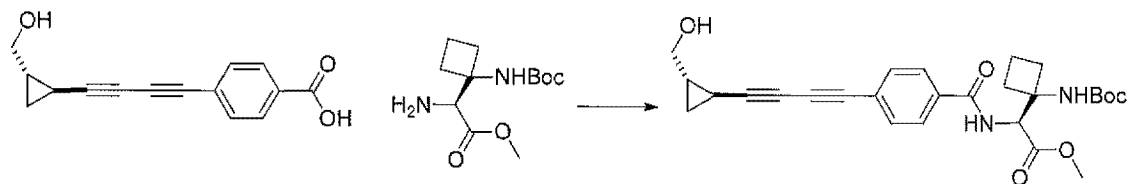
[0387]



[0388] 将 (S)-3-氨基-2-(4-(((1,4-顺)-4-(羟甲基)环己基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺基)-3-甲基丁酸甲酯 (90mg, 0.219mmol, 1.0 当量) 加入圆底烧瓶中。向其中加入 IPA (0.5 毫升), 将溶液振荡 2 分钟, 然后加入羟胺溶液 (0.29mL, 4.38mmol, 20 当量), 将烧瓶置于 4℃ 下约 72 小时。浓缩反应 (保持反应在 0℃ 下) 以除去 IPA。在 0℃ 下用三氟乙酸 (3mL) 酸化。加入乙腈 (0.5mL)。通过反相高效液相色谱 (1" 柱, 25mL/min, 含 0.1% TFA 的水 / 乙腈, 在 10% B 下平衡)。使用注射器过滤器 (7mL) 加载到 1" 柱 (10mL/min, 10% B) 上。在 1 分钟内升至 25mL/min。在 90 分钟内 10-40% B, 产物在 25.5-28% B 处被洗脱, 合并所需的流份, 冷冻并放置在冻干机中。得到 53mg N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,4-顺)-4-(羟甲基)环己基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺, I-15, TFA。LCMS M+1 期望值 = 412.2, 观测值 = 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), 17.98 (br, 2H), 8.54-8.56 (d, 1H), 9.22 (br, 1H), 11.20 (s, 1H)。

[0389] M. N-((S)-1-(1-氨基环丁基)-2-(羟氨基)-2-氧代乙基)-4-(((反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺三氟乙酸盐 (I-17) 和 N-((S)-1-(1-氨基环丁基)-2-(羟氨基)-2-氧代乙基)-4-(((顺)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺三氟乙酸盐 (I-18) 的合成

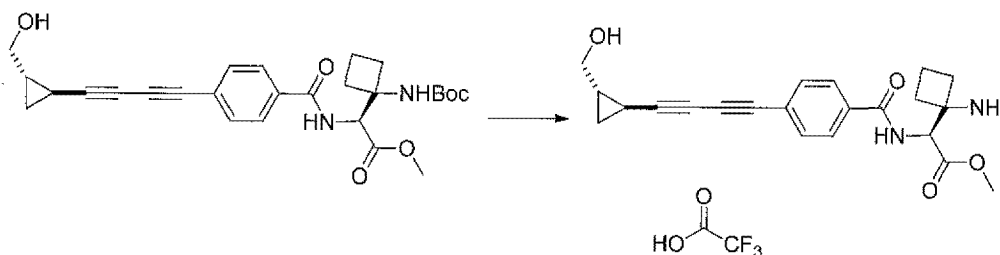
[0390]



[0391] 将 4-(((反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸 (205 毫克, 0.85 毫摩尔, 1 当量) 和 (S)-2-氨基-2-(1-(叔丁氧基羰基氨基)环丁基)乙酸甲酯 (220 毫克,

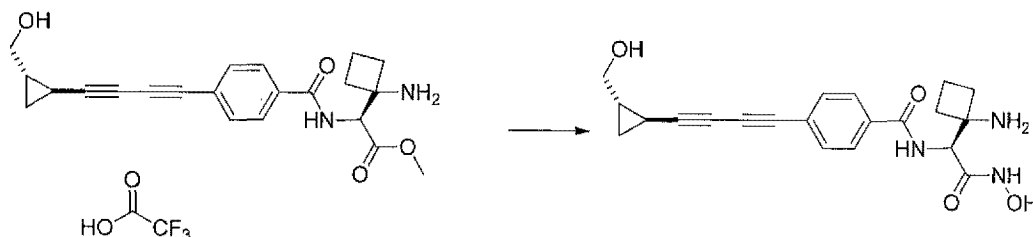
0.85 毫摩尔, 1 当量) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (3ml) 中。加入 N,N-二异丙基乙胺 (0.45mL, 2.6mmol, 3 当量), 随后加入 HATU (356mg, 0.94mmol, 1.1 当量)。将该混合物在室温下保持 2.5 小时, 然后使其在 1M 的柠檬酸和乙酸乙酯之间分层。用 1M 柠檬酸、饱和碳酸氢钠、然后用饱和氯化钠洗涤有机相, 用硫酸镁干燥, 并蒸发至干, 得到 (S)-2-(1-(叔丁氧基羰基氨基) 环丁基)-2-(4-(((反)-2-(羟甲基) 环丙基) 丁-1,3-二炔基) 苯甲酰胺基) 乙酸甲酯 (550 毫克粗品, 134%, 不经进一步净化而使用)。

[0392]



[0393] 在室温下将 (S)-2-(1-(叔丁氧基羰基氨基) 环丁基)-2-(4-(((反)-2-(羟甲基) 环丙基) 丁-1,3-二炔基) 苯甲酰胺基) 乙酸甲酯 (550mg 粗品, 1.1mmol) 溶于二氯甲烷 (6 毫升) 中, 并用 6 毫升三氟乙酸处理 10 分钟。除去挥发物, 将残余物从二氯甲烷再蒸发, 得到 (S)-2-(1-氨基环丁基)-2-(4-(((反)-2-(羟甲基) 环丙基) 丁-1,3-二炔基) 苯甲酰胺基) 乙酸甲酯的三氟乙酸盐, 该产物不经进一步纯化而使用。

[0394]



[0395] 将在上述反应中得到的粗产物 (S)-2-(1-氨基环丁基)-2-(4-(((反)-2-(羟甲基) 环丙基) 丁-1,3-二炔基) 苯甲酰胺基) 乙酸甲酯的三氟乙酸盐溶于异丙醇 (2ml) 中, 并在 4℃ 下用 50% 羟胺水溶液 (2ml) 处理 20 小时。除去挥发物, 将残余物溶于水 / 乙腈中, 用三氟乙酸酸化。采用反相高效液相色谱法 (2" 柱, 50mL/min, 含 0.1% TFA 的水 / 乙腈, 在 2% 下平衡), 使用以下梯度纯化:

[0396] 2% 10min

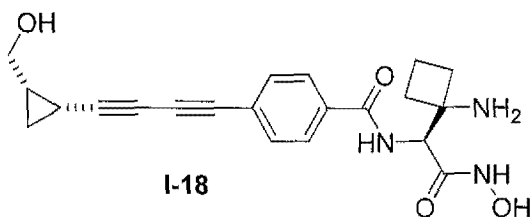
[0397] 2-15 5min

[0398] 15-45 300min

[0399] 产物在 58 和 78 分钟之间被洗脱, 将所需的流份冷冻干燥, 得到 N-((S)-1-(1-氨基环丁基)-2-(羟氨基)-2-氧代乙基)-4-(((反)-2-(羟甲基) 环丙基) 丁-1,3-二炔基) 苯甲酰胺的三氟乙酸盐 (白色固体, 120 毫克, 0.24mmol, 从 4-(((反)-2-(羟甲基) 环丙基) 丁-1,3-二炔基) 苯甲酸起算 28%)。质谱数据: 期望值 (M+1): 382.4, 观测值: 382.1。质子 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). 重新净化不纯的流份后获得额外的 80 毫克。

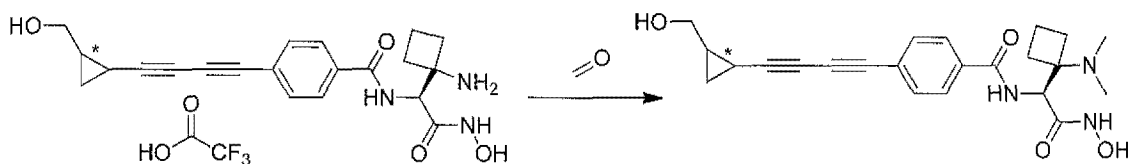
[0400]



[0401] 将主要包含 N-((S)-1-(1-氨基环丁基)-2-(羟氨基)-2-氧代乙基)-4-(((顺)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (主要异构体中的杂质) 的流份单独冻干,并在相同的梯度下再纯化。合并所需流份并冻干,得到 N-((S)-1-(1-氨基环丁基)-2-(羟氨基)-2-氧代乙基)-4-(((顺)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺的三氟乙酸盐 (3.2mg, 8.4 μ mol, 从 4-(((反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸起算 1%)。质谱数据:期望值 (M+1):382.4,观测值:382.1。质子 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)

[0402] N,N-((S)-1-(1-(二甲基氨基)环丁基)-2-(羟氨基)-2-氧代乙基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-19) 的合成

[0403]



[0404] 在室温下将 N-((S)-1-(1-氨基环丁基)-2-(羟氨基)-2-氧代乙基)-4-(((反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺的三氟乙酸盐 I-17 (80mg, 0.16mmol, 1 当量) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (800 μ L) 中,并用多聚甲醛 (48.5mg, 1.1 毫摩尔, 10 当量) 和 N,N-二异丙基乙胺 (56 μ L, 0.32mmol, 2 当量) 处理 21 小时。加入氰基硼氢化钠 (30 毫克, 0.48mmol, 3 当量),接着加入甲醇 (800 μ L) 和乙酸 (28 μ L, 0.48mmol, 3 当量)。将该混合物在室温下保持 3 天,然后加入更多的氰基硼氢化钠和乙酸 (28 μ L)。在室温下一天后,再加入 28 μ L 乙酸。在室温下一天后,采用反相高效液相色谱法 (1"柱, 20mL/min, 含 0.1% TFA 的水/乙腈, 在 2% 下平衡), 使用以下梯度进行纯化:

[0405] 2% 5min

[0406] 2-18% 5min

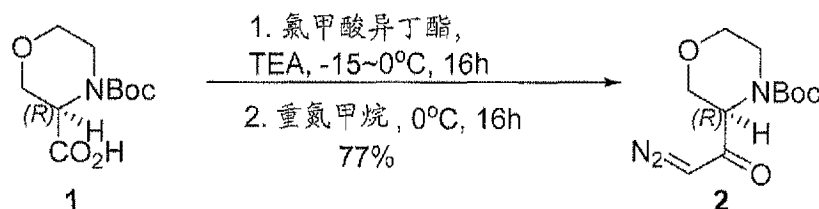
[0407] 18-98% 80min

[0408] 收集所需流份,并冷冻干燥,得到 N-((S)-1-(1-(二甲基氨基)环丁基)-2-(羟氨基)-2-氧代乙基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺的三氟乙酸盐 (63mg, 0.12mmol, 74%)。质谱数据:期望值 (M+1):410.5,观测值:410.2。质子 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, $J = 5.2, 11.6\text{Hz}$), 3.22 (dd, 1H, $J = 6.4, 11.2\text{Hz}$), 2.76 (d, 3H, $J = 4.4\text{Hz}$), 2.68 (d, 3H, $J = 4.4\text{Hz}$), 2.33-2.42 (m, 3H), 1.62-1.78 (m, 2H), 1.37-1.46 (m, 2H), 0.84-0.92 (m, 2H).

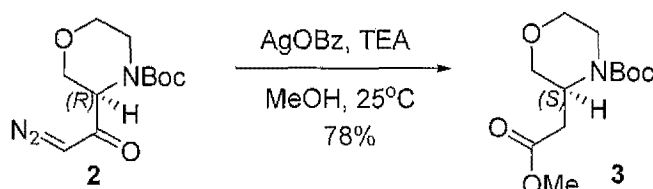
[0409] 0. N-((S)-2-(羟氨基)-1-((S)-吗啉-3-基)-2-氧代乙基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-20) 的合成

[0410]



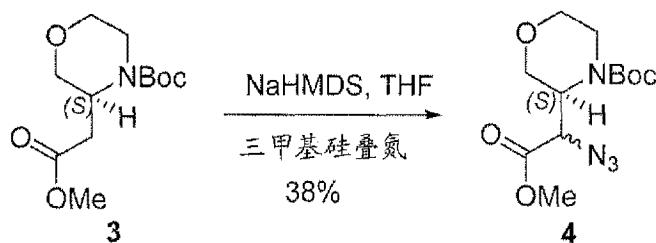
[0411] 在 -16°C 下向预冷却的 (R)-4-(叔丁氧基羰基)吗啉-3-羧酸 1 (5g, 0.02162mol) 的无水乙醚 (160 毫升) 的悬浮液中逐滴加入三乙胺 (3.91 毫升, 0.0281 摩尔), 5min 后, 将得到的混合物慢慢地在 -15°C 下用氯甲酸异丁酯 (3.37 毫升, 0.02600 摩尔) 持续处理 30 分钟, 然后将反应混合物在 -15°C 至 6°C 下搅拌 16 小时 (过夜), LCMS 监测反应过程, 过滤, 用乙醚 (30 毫升 $\times 2$) 洗涤固体, 将滤液转移到下一个步骤。在 0 至 7°C 下, 将上步得到的滤液用重氮甲烷 (0.24 摩尔) 的乙醚 (480mL) 溶液处理 16 小时 (过夜), 然后用冰醋酸 (5mL)、水 (50mL) 淬灭反应, 并用碳酸氢钠 (50 毫升 $\times 2$)、盐水 (50mL) 洗涤有机层, 将水层再次用乙醚 (200 毫升 $\times 2$) 萃取, 用无水硫酸钠干燥合并的有机层, 过滤, 浓缩得到粗品残余物, 将其用硅胶色谱 (将含 20% 乙酸乙酯的石油醚作为洗脱剂), 得到 (R)-3-(2-重氮乙酰基)吗啉-4-羧酸叔丁酯 2, 其为黄色固体, 4.56g (87% 纯度, LCMS, 254nm), 收率: 77%, 2 步。

[0412]



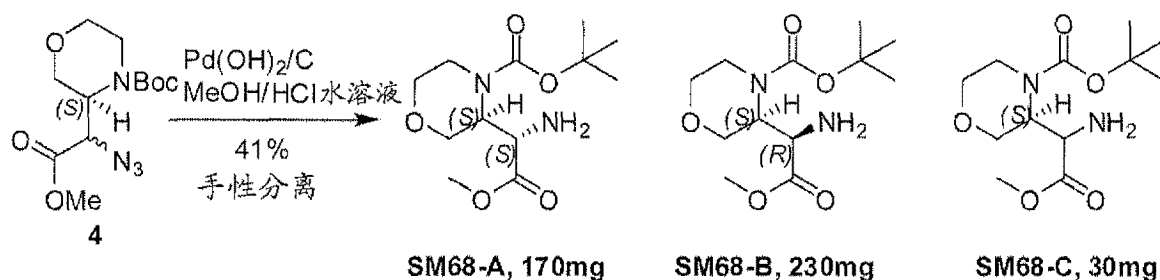
[0413] 向预冷却的 (R)-3-(2-重氮乙酰基)吗啉-4-羧酸叔丁酯 2 (4.55 克, 17.824 毫摩尔) 和苯甲酸银 (25 毫克, 0.11 毫摩尔) 在甲醇 (30mL) 中的悬浮液中, 滴加三乙胺 (250 微升, 1.78 毫摩尔), 在黑暗中将悬浮液在 25°C 下搅拌 16 小时 (过夜, 油浴), 然后过滤, 将滤液蒸发至干, 通过硅胶色谱 (将含 10% 乙酸乙酯的石油醚作为洗脱剂) 纯化残余物, 得到 (S)-3-(2-甲氧基-2-氧代乙基)吗啉-4-羧酸叔丁酯 3, 其为无色固体, 3.34 克, 收率: 78%。

[0414]



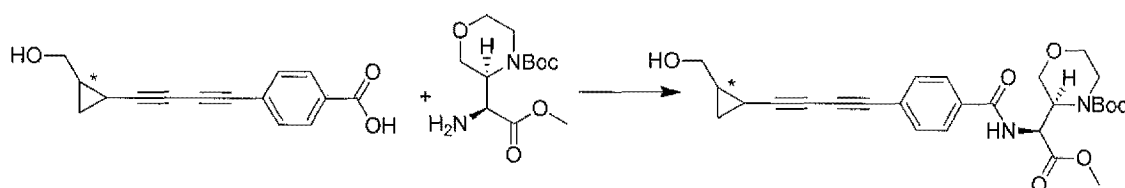
[0415] 在 -100°C 下向预冷却的 (S)-3-(2-甲氧基-2-氧代乙基) 吗啉-4-羧酸叔丁酯 3 (2.737 克, 0.0106 摩尔) 的 THF (100mL) 溶液中缓慢加入 NaHMDS (8.15 毫升, 0.0159 摩尔), 将所得的悬浮液在 -100°C 下搅拌 1 小时, 然后缓慢加入三甲基硅叠氮 (trisilylazide) (5.99 克, 0.0170 摩尔) 的 THF (10mL) 溶液 (保持内温低于 -100°C), 并在 -100°C 下继续搅拌 1 小时。迅速加入冰醋酸 (3.18 克, 0.0530 摩尔) 淬灭反应, 然后使反应混合物升温至室温, 搅拌 3 小时, 最后用 DCM (200 毫升 $\times$ 2) 稀释, 并用饱和 NaHCO_3 (100 毫升)、盐水 (100 毫升) 和水 (100 毫升) 洗涤。用无水硫酸钠干燥合并的有机层, 过滤, 浓缩, 得到粗残余物, 通过反相色谱法 (梯度: 10% 乙腈水溶液 5 分钟, 3min 内增加到 30% 乙腈水溶液, 30% 乙腈水溶液洗脱 3 分钟, 30-45% 乙腈水溶液, 3 分钟, 45% 乙腈水溶液, 5 分钟; 流速: 30ml/min) 纯化, 得到 (S)-3-(1-叠氮基-2-甲氧基-2-氧代乙基) 吗啉-4-羧酸叔丁酯 4 (两种非对映异构体的混合物), 其为白色固体, 1.22g, 收率: 38%。

[0416]



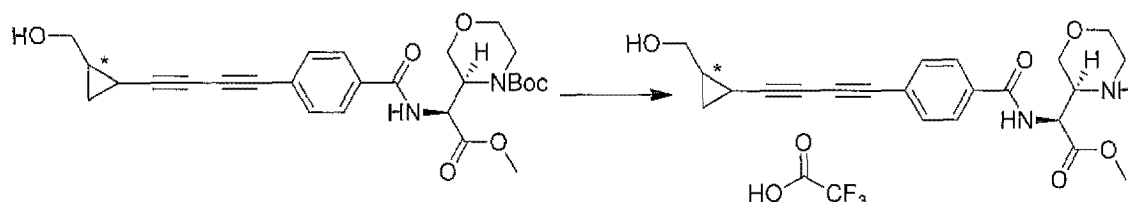
[0417] 将 (S)-3-(1-叠氮基-2-甲氧基-2-氧代乙基) 吗啉-4-羧酸叔丁酯 4 (1.2 克, 4 毫摩尔)、 $\text{Pd(OH)}_2/\text{C}$ (200mg, 15 % wt)、2M HCl (2mL, 4mmol) 在 EtOAc/MeOH (20mL/3mL) 中的混合物脱气, 并在 30°C 下在 1 个大气压下用氢气处理 16 小时。将混合物过滤, 并用 EtOAc (20mL) 洗涤固体。用水 (20mL)、饱和碳酸氢钠 (20 毫升, 调节 $\text{pH} \geq 8$) 洗涤合并的有机相, 然后用无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 得到粗残余物。通过反相色谱法 (梯度: 10% 乙腈水溶液 5 分钟, 3 分钟内提高至 30% 乙腈水溶液, 30% 乙腈水溶液 3 分钟, 30-45% 乙腈水溶液 3 分钟, 45% 乙腈水溶液 5min, 流速: 30mL/min) 纯化。然后对纯化的残余物进行手性分离, 得到 (S)-3-((S)-1-氨基-2-甲氧基-2-氧代乙基) 吗啉-4-羧酸叔丁酯 (SM68-A, 170 毫克, 黄色油状物), (S)-3-((R)-1-氨基-2-甲氧基-2-氧代乙基) 吗啉-4-羧酸叔丁酯 (SM68-B, 230 毫克, 黄色固体) 和 SM68-C 30 毫克, 黄色油状, 总收率: 41%。

[0418]



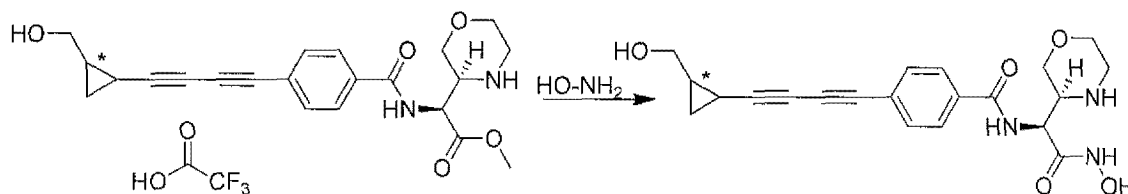
[0419] 将 4-(((反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸 (140 毫克, 0.58 毫摩尔) 和 (S)-3-((S)-1-氨基-2-甲氧基-2-氧代乙基)吗啉-4-羧酸叔丁酯 (160 毫克, 0.58 毫摩尔) 溶于 DMF (2mL) 中。加入 N,N-二异丙基乙胺 (255 微升, 1.46 毫摩尔), 随后加入 HATU (266 毫克, 0.70 毫摩尔)。将反应在室温下保持 30 分钟, 然后使其在 1M 的柠檬酸与乙酸乙酯之间分层。用 1M 柠檬酸、饱和碳酸氢钠、然后用饱和氯化钠洗涤有机相, 用硫酸镁干燥并蒸发至干。得到 380mg 粗品 (S)-3-((S)-1-(4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺基)-2-甲氧基-2-氧代乙基)吗啉-4-羧酸叔丁酯。

[0420]



[0421] 将 (S)-3-((S)-1-(4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺基)-2-甲氧基-2-氧代乙基)吗啉-4-羧酸叔丁酯 (粗品, 380mg) 溶于二氯甲烷 (4mL) 中, 加入三氟乙酸 (4mL)。5 分钟后, 在室温下用 10 毫升二氯甲烷稀释混合物, 并蒸发。得到 (S)-2-(4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺基)-2-((S)-吗啉-3-基)乙酸甲酯 2,2,2-三氟乙酸盐。该粗品在下一步骤中使用。

[0422]



[0423] 将 (S)-2-(4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺基)-2-((S)-吗啉-3-基)乙酸甲酯 2,2,2-三氟乙酸盐 (上述反应中的粗品) 溶于异丙醇 (1 毫升) 中, 添加羟胺水溶液 (50%, 1 毫升)。将该溶液在 4℃ 下保持 18 小时, 然后蒸发。加入水, 将混合物用 TFA 酸化。采用反相高效液相色谱法 (2'' 柱, 50mL/min, 含 0.1% TFA 的水/乙腈, 在 2% 下平衡) 将粗产物纯化:

[0424] 2% 10min

[0425] 2-11% 5min

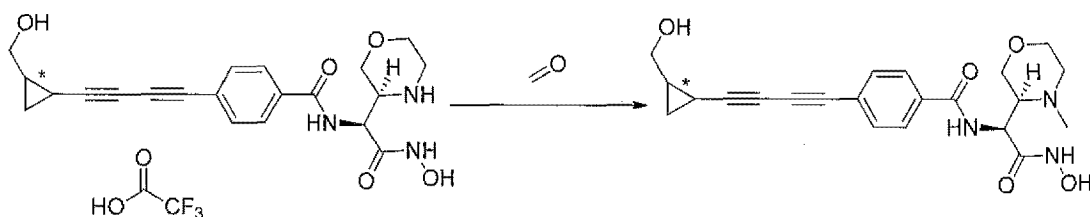
[0426] 11-41% 300min

[0427] 所需的化合物在 88-99 分钟被洗脱。将所需的流份冻干, 得到 N-((S)-2-(羟氨基)-1-((S)-吗啉-3-基)-2-氧代乙基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 I-20 的三氟乙酸盐 (白色固体, 118mg, 0.30mmol, 从 4-(((反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酸起算 52%)。质谱数据: 期望值 (M+1): 398.2, 观测值: 398.1。质子 NMR (400MHz, dmsO-d6): 11.17 (s, 1H), 9.14 (s, 1H), 9.08 (br s, 1H), 8.93 (brs, 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).

[0428] P. N-((S)-2-(羟氨基)-1-((S)-4-甲基吗啉-3-基)-2-氧代乙基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-21) 的合成

[0429]



[0430] 将 N-((S)-2-(羟氨基)-1-((S)-吗啉-3-基)-2-氧代乙基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺三氟乙酸盐 I-20 (10mg, 20 μ mol) 溶于 DMF (100 μ L) 中。加入多聚甲醛 (5.9 毫克, 200 微摩尔), 接着加入 N, N-二异丙基乙胺 (6.8 μ L, 39 微摩尔)。将混合物在室温下搅拌 19 小时。加入氰基硼氢化钠 (3.7 毫克, 59 微摩尔)、甲醇 (100 μ L) 和乙酸 (4.5 微升, 78 微摩尔), 并将该混合物在室温下再搅拌 3 天。用反相高效液相色谱法 (2" 柱, 50mL/min, 含 0.1% TFA 的水/乙腈, 在 2% 下平衡) 纯化该混合物:

[0431] 2% 10min

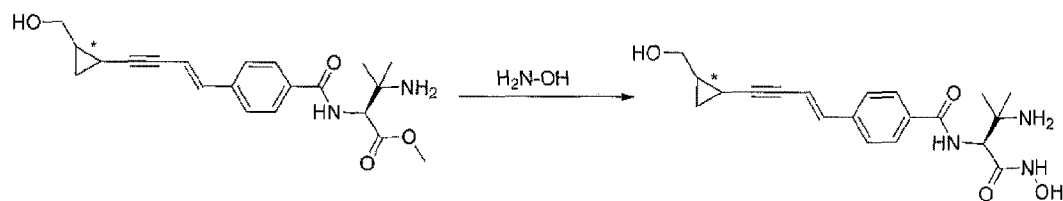
[0432] 2-15% 5min

[0433] 15-95% 80min

[0434] 产物在 23 分钟和 24 分钟之间被洗脱。将所需的流份冷冻干燥, 得到 N-((S)-2-(羟氨基)-1-((S)-4-甲基吗啉-3-基)-2-氧代乙基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺的三氟乙酸盐 (7.0mg, 13 μ mol, 68%)。质谱数据: 期望值 (M+1): 411.2, 观测值: 412.2。

[0435] Q. N-((S)-3-氨基-1-羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-((E)-4-(1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1-烯-3-炔基)苯甲酰胺 (I-22)

[0436]



[0437] 将 (S)-3-氨基-2-(4-(E)-4-(1S,2S)-2-(羟甲基)环丁基)丁-1-烯-3-炔基)苯甲酰胺基)-3-甲基丁酸甲酯 (400mg, 1.08mmol, 1.0 当量) 加入到圆底烧瓶中。向其中加入异丙醇 (2.0mL) 中, 将溶液振荡 2 分钟, 将烧瓶在冰浴中冷却, 然后加入羟胺溶液 (1.4 毫升, 21.60 毫摩尔, 20 当量) 溶液, 将烧瓶放置在 4°C 约 48 小时。将反应浓缩 (在 0°C 下) 以除去异丙醇, 然后在 0°C 下用 TFA (3mL) 酸化。加入水 (15mL) 和乙腈 (3mL)。通过反相 HPLC (2" 柱, 50mL/min, 含 0.1% TFA 的水/乙腈, 在 2% B 下平衡) 纯化产物, 用针筒式过滤器 (24 毫升) 在 10mL/min、2% B 下加载到该柱上, 然后在 1 分钟内升至 50mL/min。在 73 分钟内运行从 2% B 到 95% B 的梯度。合并所需的流份, 冷冻并放置在冻干机

中,得到 177 毫克 N-((S)-3-氨基-1-羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-((E)-4-(1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1-烯-3-炔基)苯甲酰胺, I-22, TFA。LCMS M+1 期望值 = 372.2, 观测值 = 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)。

[0438] R. 抗菌活性

[0439] 细菌筛选和培养

[0440] 将分离菌从 -70℃ 下冷冻库通过于 35℃ 下、环境空气中在 Mueller-Hinton 琼脂 (Beckton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) 上培养过夜。在美国和国外 (Focus Diagnostics, Herndon, VA and JMI, North Liberty, IA) 获得了来自不同地域的医院的临床菌株。质控菌株来自美国典型培养物保藏中心 (ATCC; Rockville, Md.)。

[0441] 药敏试验

[0442] 根据临床和实验室标准化研究所 (CLSI) 的指导,通过微量肉汤稀释法测定最小抑制浓度 (MIC)。简单地说,将菌体悬浮液调整至 0.5 麦氏比浊标准,使得最终的接种物为 3×10^5 至 7×10^5 个菌落形成单位 (CFU)/mL。在无菌的、阳离子调整的 Mueller-Hinton 肉汤 (Beckton Dickinson) 中进行药物的稀释和接种。将 100 μ L 的接种体积加入含有 2 倍系列稀释的药物的 100 μ L 肉汤的孔中。将所有接种的微量稀释盘在环境空气中在 35℃ 下孵育 18-24 小时。孵育之后,将防止可见生长 (OD_{600nm} < 0.05) 的药物的最低浓度记录为 MIC。通过使用实验室质控菌株和左氧氟沙星监控测试的性能,按照 CLSI 指导原则,左氧氟沙星具有明确的 MIC 谱。通常情况下,本发明化合物的 MIC 值为 0.03-16 μ g/mL。为此,某些有代表性的化合物的数据如下面的表 II 所示。

[0443] 表 II

[0444] 最小抑菌浓度 (MIC)

[0445]

化合物编号	APAE001	AEC0001	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

[0446]

[0447] MIC 说明：

[0448] A = MIC 为 2.0 μ g/mL 或更少

[0449] B = MIC 大于 2.0 μ g/mL 小于 16.0 μ g/mL

[0450] C = MIC 大于 16.0 μ g/mL

[0451] *AEC0001 是大肠杆菌 ATCC25922, APAE001 是铜绿假单胞菌 ATCC27853, AKPN001 是肺炎克雷伯菌 ATCC43816, APAE002 是表达正常水平的外排活性的铜绿假单胞菌的临床分离物。

[0452] S. 体内耐受

[0453] 将每个化合物通过皮下注射对小鼠给药。小鼠被分组安置（每笼五只）在 18-28℃ 和约 50% 的湿度下，并饲喂标准鼠饲料（rodent chow）。水和食物为自由采食。小鼠皮下给予的剂量每公斤体重不超过 20 毫升。

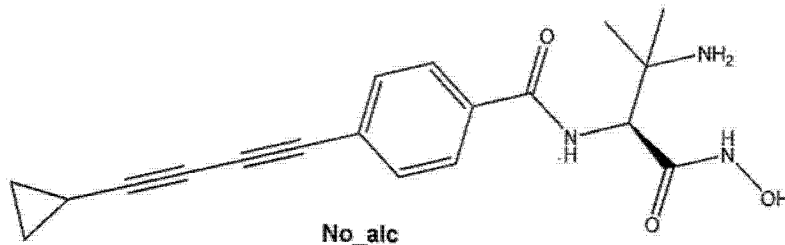
[0454] 通过皮下注射，在由 pH 值为 5 的含 15% Captisol 的 20mM 醋酸盐缓冲液组成的制

剂中,作为试验化合物的单剂量对三只小鼠的组以 50、100、200、400 或 600mg/kg/ 天给药。在肩胛间区的背面上进行皮下注射。在此部位注入 10-20mL/kg 的体积。将针与皮肤表面平行插入到使针点位于皮下袋 (subcutaneous pocket) 内的深度。在柱塞上施加轻但坚实的压力来推出注射器的内容物。

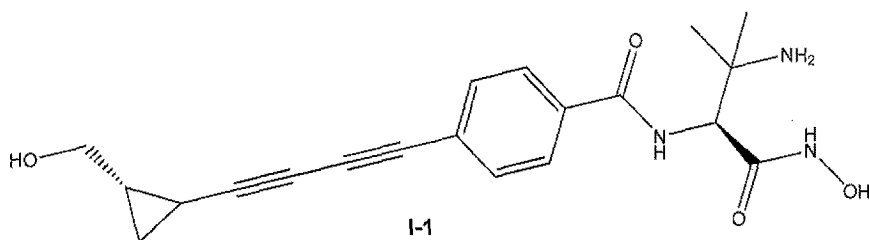
[0455] 给药后在不同的时间点观察:30 秒-1 分钟、5 分钟、15 分钟、30 分钟、45 分钟、1 小时、75 分钟、90 分钟、105 分钟、2 小时、此后每隔一小时,直到动物表现出复苏迹象,接近基准水平,或给药后 4 小时后,以先到者为准。监测小鼠的最小时间范围是给药后 30 分钟,如果动物看上去警觉、正常并且有反应。如果动物表现出毒性反应,则对它们密切监视,直到他们接近基准水平显示出复苏迹象,或最多给药后 4 小时,以先到者为准。给药后,将动物保持 72 小时以进行临床观察,包括监测生存和活动水平。观察考虑到中枢神经系统窘迫的症状(如癫痫、嗜睡、卧、静止不动、多动症)、神经肌肉异常(如共济失调、抽搐、惊厥、四肢叉开、跳跃或踢)、自发病状(如流涎、流泪、排尿、排便、竖毛或斜视)、呼吸困难(如费力或呼吸急促、抑郁、气喘吁吁或喘气)、刻板行为(如反复咀嚼、转圈、踱步、梳理、嗅、头部运动或弯腰驼背的姿态)以及诸如逃避行为或湿狗抖动(wet dogshake)的异常行为。

[0456] 已知化合物 No_alc(其合成和活性在第 2008/06676 号 PCT 国际公开中公开,化合物 91-12),显示小鼠皮下注射时最大耐受剂量小于 50mg/kg,而作为对抗小鼠的肺炎克雷伯菌的静态剂量需要通过皮下注射 30 毫克/千克的剂量。本发明的化合物 I-1 与该已知化合物的不同之处仅在于羟甲基取代了环丙基,其抗微生物活性与 No_alc 相当,但在哺乳动物中的耐受性要好得多(小鼠皮下注入时最大耐受剂量约为 200mg/kg)。

[0457]



[0458]



[0459] 表 III 提供了对小鼠皮下给药的观察结果。耐受性通过临床观察来表征。A 类:动物几乎没有毒性症状,如移动时偶尔短暂停顿,轻微呼吸困难,或具有快速苏醒(例如 10 分钟内)的轻微嗜睡。B 类:动物表现出某些毒性症状,如移动时较长的停顿,具有较长苏醒时间(长达 1 小时)的轻微嗜睡,在此期间动物仍然能够四处走动。C 类:动物具有中度至严重的中毒症状,如嗜睡、伏卧、伴随眯眼和呼吸困难的嗜睡、严重的抽搐(跳跃、踢)或逃避行为。最后, D 类:在临床观察期间(长达给药后 72 小时)发生任何致命的影响(包

括需要安乐死的濒死状态)。

[0460] 表 III

[0461] 体内耐受

[0462]

化合物	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)	

[0463] T. 与第二抗菌剂协同作用

[0464] 将来自肺炎克雷伯菌 (ATCC 43816) 的 -70℃ 冷冻库的分离菌在 35℃、环境空气下在 Mueller-Hinton 琼脂 (Beckton Dickinson, FranklinLakes, NJ) 上培养过夜。根据临床和实验室标准化研究所 (CLSI) 的指导, 用微量肉汤稀释法测定最小抑制浓度 (MIC)。简单地说, 将菌体悬浮液调整至 0.5 麦氏比浊标准, 使得最终的接种物为 3×10^5 至 7×10^5 个菌落形成单位 (CFU)/mL。药物的稀释和接种在无菌的、阳离子调整的 Mueller-Hinton 肉汤 (Beckton Dickinson) 中进行。向含有药物的 2 倍系列稀释的 100 μ L 肉汤的孔中加入 100 μ L 的接种体积。将所有接种的微量稀释盘在环境空气中在 35℃ 下孵育 18 至 24 小时。孵育之后, 将防止可见生长 ($OD_{600nm} < 0.05$) 的药物的最低浓度记录为 MIC。

[0465] 用指定药剂与 N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1, 2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-1) 的组合来进行标准棋盘稀释法。表 IV 提供了按照标准技术计算的 FICI。化合物 I-1 与万古霉素、替考拉宁、红霉素、阿奇霉素、利福平、新生霉素在体外具有协同作用。

[0466] 表 IV

[0467] FICI

[0468]

抗生素	FICI(化合物 I-1)
万古霉素	≤ 0.4
替考拉宁	≤ 0.5
红霉素	0.3
阿奇霉素	0.2
利福平	0.1
新生霉素	0.3
特拉万星	> 2.0
达托霉素	> 2.0
利奈唑胺	> 1.5
克林霉素	0.6
左氧氟沙星	1.0
抗生素	FICI(化合物 I-1)
头孢吡普	1.0
头孢噻肟	1.0
庆大霉素	0.5

[0469]

[0470] 在体内作用模型的中性粒细胞减少的大腿上检测了 N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺 (I-1) 与万古霉素的体内协同效应。模型基本上按照 Craig 及其它 (参见 Gudmundsson 等人, " Murine Thigh Infection Model(鼠科大腿感染模型)," Handbook of Animal Models of Infection(动物感染模型手册), M. A. Sande 和 O. Zak, Eds. ; London : Academic Press, 1999, 第 137-144 页) 来运行。简单地说, 用 2 剂量环磷酰胺使小鼠在感染前呈现中性粒细胞减少, 然后通过接种 10^3 - 10^5 CFU 肺炎克雷伯菌 (ATCC43816) 使其大腿肌肉内感染。将抗生素或单独的溶媒作为阴性对照, 在感染后 2 小时和 14 小时给药两次。在实验期间, 使动物保持中性粒细胞减少, 以尽量减少白血细胞对感染的影响, 使得微生物的读出衡量药物与细菌在体内的相互作用。在感染后 24 小时, 收获大腿、匀浆并盛盘以衡量每个大腿的 CFU 尚存的数量。感染后 2 小时还收获了小部分动物的大腿, 以记录第一抗生素治疗 (预处理) 前存在的 CFU。静态的剂量, 定义为导致感染后 24 小时与 0 小时所测得

的 CFU 载量相同的所需的剂量,用 Prizm(GraphPad 软件)通过标准方法由剂量反应曲线计算。

[0471] 这些研究的目的是定量评估 I-1 与候选协同剂的组合与单独使用每种药剂时的总和相比,在该体内作用模型中,计数是否有较大减少。

[0472] 万古霉素与 LpxC 抑制剂用于治疗由肺炎克雷伯菌 ATCC43816 引起的感染时表现出显著的体内协同作用。如图 1 所示,单用万古霉素以 220mg/kg/ 天治疗感染的小鼠,没有显着减少 CFU。但是,当共同给予化合物 I-1 时,LpxC 抑制剂的静态剂量显着降低(图 1 和表 V)。

[0473] 表 V

药物	给药方案	剂量 (mg/kg)	平均 Log ₁₀ CFU ^a		平均 Log ₁₀ CFU 降低对比	
			2 hr	26 hr	2 hr	26 hr
空白	q8hr	-	n.d.	9.95	-3.71	0.00
左氧氟沙星	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 万古霉素	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
万古霉素+ 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
万古霉素	q6hr	220	n.d.	10.21	-3.97	-0.26
2 Hr 对照	n/a	-	6.24	n.d.	0.00	3.71

[0475] 总而言之,这些数据表明,万古霉素与 N-((S)-3-氨基-1-(羟氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-4-(((1,2-反)-2-(羟甲基)环丙基)丁-1,3-二炔基)苯甲酰胺(I-1)在体内具有令人惊讶的协同作用。

[0476] 应当理解,本发明的有机化合物可以表现出互变异构现象。由于本说明书中的化学结构只能代表其中可能的互变异构形式之一,应当理解,本发明包括所画出的结构的任何互变异构形式。

[0477] 此外,为了说明的目的,虽然本文已经示出和描述了本发明的具体实施方式,但是应当理解,当然,本发明并不限于此,因为在不脱离本发明的精神和范围的情况下,本技术领域技术人员可以作出修改,特别是在上述的教导下。因此,本发明不受限制,除了所附

的权利要求书。

[0478] 在本说明书中提到的所有美国专利、美国专利申请公开、美国专利申请、外国专利、外国专利申请和非专利出版物通过引用整体并入本文，其程度为不与本说明书相抵触。

小鼠大腿模型

对 AKPN 001

所示的总日剂量

