



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I746652 B

(45)公告日：中華民國 110 (2021) 年 11 月 21 日

(21)申請案號：106133157

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 09 月 27 日

(51)Int. Cl. : C07D471/18 (2006.01)

A61K31/437 (2006.01)

A61P31/04 (2006.01)

(30)優先權：2016/09/28 美國

62/401,022

(71)申請人：瑞士商諾華公司 (瑞士) NOVARTIS AG (CH)

瑞士

(72)發明人：卡薩瑞茲 安東尼 CASAREZ, ANTHONY (US)；傅瑞加提 馬可仕 FUREGATI, MARKUS (CH)；考奇 蓋多 KOCH, GUIDO (CH)；林 曉東 LIN, XIAODONG (US)；歐梭拉 芙拉維歐 OSSOLA, FLAVIO (CH)；瑞克 佛克特 RECK, FOLKERT (DE)；西蒙斯 羅伯特 羅威 SIMMONS, ROBERT LOWELL (US)；朱慶明 ZHU, QINGMING (CN)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

WO 2009/091856A2

Biorganic & Medicinal Chemistry Letters, vol.6, no.14, 23 July 1996

JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY, vol.54, no.2, 1 Jan 2004

審查人員：吳敏翠

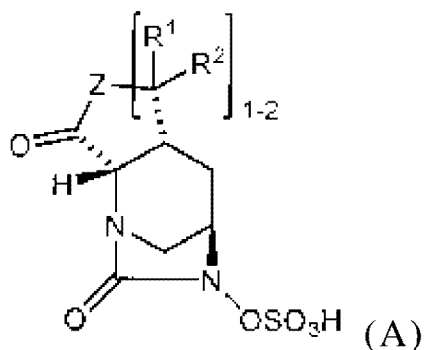
申請專利範圍項數：項 圖式數： 共頁

(54)名稱

 β -內醯胺酶抑制劑

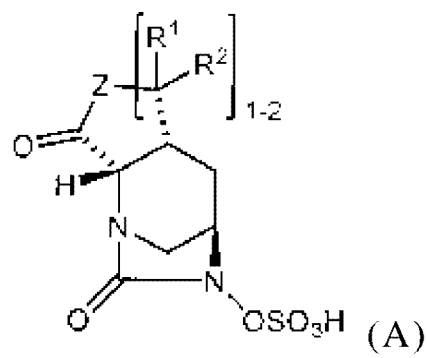
(57)摘要

本發明概言之係關於式(A)化合物，



如本文進一步闡述，其充當 β -內醯胺酶抑制劑；及其鹽、結晶型及調配物。在某些態樣中，本發明係關於使用該等化合物與 β -內醯胺抗生素之組合來治療由革蘭氏陰性(Gram-negative)細菌(包括耐藥菌株)造成之感染之方法。

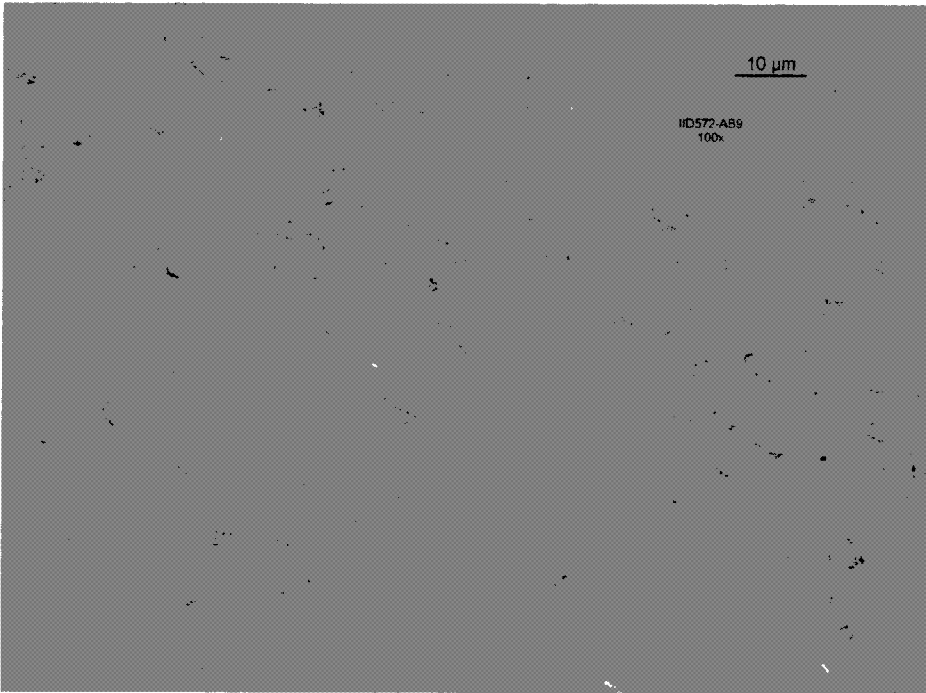
This invention pertains generally to compounds of Formula (A),



as further described herein, which act as beta-lactamase inhibitors, and salts, crystalline forms and formulations thereof. In certain aspects, the invention pertains to methods of using such compounds in combination with a beta-lactam antibiotic to treat infections caused by Gram-negative bacteria, including drug-resistant strains.

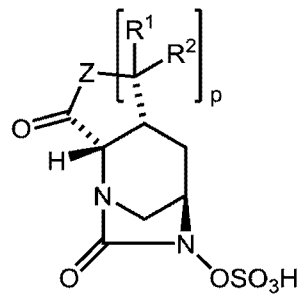
指定代表圖：

式(VII)化合物之結晶形式的掃描電子顯微鏡影像



【圖 1】

特徵化學式：





I746652

【發明摘要】

【中文發明名稱】

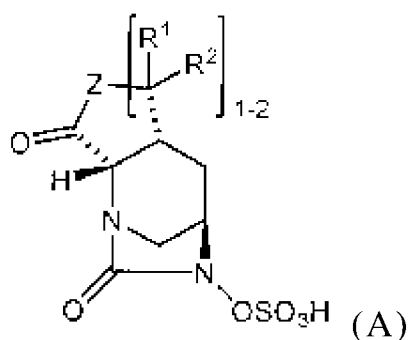
 β -內醯胺酶抑制劑

【英文發明名稱】

BETA-LACTAMASE INHIBITORS

【中文】

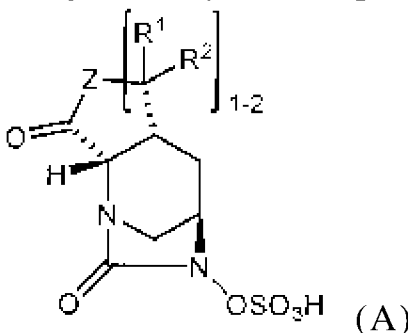
本發明概言之係關於式(A)化合物，



如本文進一步闡述，其充當 β -內醯胺酶抑制劑；及其鹽、結晶型及調配物。在某些態樣中，本發明係關於使用該等化合物與 β -內醯胺抗生素之組合來治療由革蘭氏陰性(Gram-negative)細菌(包括耐藥菌株)造成之感染之方法。

【英文】

This invention pertains generally to compounds of Formula (A),



as further described herein, which act as beta-lactamase inhibitors, and salts, crystalline forms and formulations thereof. In certain aspects,

the invention pertains to methods of using such compounds in combination with a beta-lactam antibiotic to treat infections caused by Gram-negative bacteria, including drug-resistant strains.

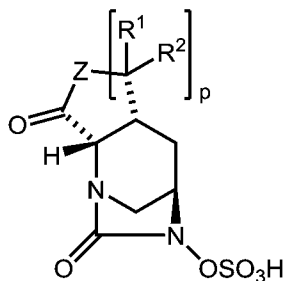
【指定代表圖】

圖 1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徴化學式】



【發明說明書】

【中文發明名稱】

β -內醯胺酶抑制劑

【英文發明名稱】

BETA-LACTAMASE INHIBITORS

【技術領域】

本發明係關於抑制 β -內醯胺酶之化合物、製備該等化合物之方法及其與 β -內醯胺抗生素組合用於治療細菌感染之用途。

【先前技術】

在過去幾十年中，抗微生物抗性頻率及其與嚴重傳染病之關聯以驚人的速率增加。院內病原體之抗性日益盛行尤其令人不安。在美國每年超過二百萬的院內感染中，50%至60%係由細菌之抗微生物抗性菌株造成。對通常使用之抗細菌劑之高抗藥率會增加發病率、死亡率及與院內感染相關之成本。在美國，認為院內感染導致或引起每年超過77,000的死亡且每年花費約\$50億至\$100億。

目前使用之最重要抗生素係幾類含有 β -內醯胺環之化合物，包括青黴素(penicillin)、青黴烯(penem)、碳青黴烯(carbapenem)、頭孢菌素(cephalosporin)、單環 β 內醯胺(monobactam)及舒巴坦(sulbactam)。該等 β -內醯胺抗生素因結合至稱為青黴素結合蛋白(PBP)之蛋白質而抑制細胞壁生物合成，該等青黴素結合蛋白係合成肽聚醣(革蘭氏陰性(Gram-negative)及革蘭氏陽性細菌之細胞壁之主要組分)所必需的。儘管 β -內醯胺抗生素在全世界範圍內極其重要，但其廣泛使用導致巨大且日益嚴重的問題：細菌已發展出對 β -內醯胺之抗性，正如其對大多數其他可用抗生素

一樣。實際上，世界衛生組織(WHO)聲稱抗生素抗性係「嚴重的世界性的威脅...」。

已鑑別出 β -內醯胺抗生素抗性之若干不同機制：一些抗性菌株具有外排幫浦以分泌抗生素，且其他發展出對抗生素較不敏感之突變PBP。抗性之尤其困擾形式係發展出細菌酶，該等細菌酶與該等抗生素反應，藉由打開 β -內醯胺環而破壞抗生素。該等抗生素降解酶稱為 β -內醯胺酶且特別的成問題，乃因其可賦予對許多不同 β -內醯胺抗生素之抗性，且其可經由質體在不同細菌菌株與物種之間轉移。在革蘭氏陰性細菌中，存在四類 β -內醯胺酶，A類、C類及D類絲胺酸 β -內醯胺酶及金屬 β -內醯胺酶(B類)。

對 β -內醯胺抗生素之抗性之重要原因包括超廣譜 β -內醯胺酶(ESBL)、A類絲胺酸碳青黴烯酶(例如KPC-2)及D類絲胺酸碳青黴烯酶(例如OXA-48) (在克雷伯氏肺炎菌(*Klebsiella pneumoniae*)、大腸桿菌(*Escherichia coli*)及奇異變形桿菌(*Proteus mirabilis*)中)，以及針對由C類 β -內醯胺酶AmpC介導之第三代頭孢菌素之高度抗性(在腸桿菌屬(*Enterobacter species*)及佛氏檸檬酸桿菌(*Citrobacter freundii*)及假單胞菌屬(*Pseudomonas*)、不動桿菌屬(*Acinetobacter*)及寡養單胞菌屬(*Stenotrophomonas*)之多藥抗性菌株中)。抗細菌抗性之問題因存在含有多種 β -內醯胺酶之細菌菌株而變得複雜。舉例而言，具有NDM-1金屬- β -內醯胺酶之克雷伯氏肺炎菌通常在攜載NDM-1之同一質體上攜載其他絲胺酸- β -內醯胺酶。

由於 β -內醯胺抗生素係有效抵抗革蘭氏陰性細菌之新穎類別抗生素，故已作出許多努力來加固其控制抗性細菌菌株之能力，以便避免損失該等有巨大價值之抗細菌劑。舉例而言，已對一些 β -內醯胺進行結構修飾

以使得其對 β -內醯胺酶較不敏感，但此方法伴有已存在許多不同 β -內醯胺酶且不斷地出現新的 β -內醯胺酶之事實。另一方法係藉由使用小分子 β -內醯胺酶抑制劑(BLI)與 β -內醯胺抗生素之組合來抑制降解該等抗生素之 β -內醯胺酶。該等BLI可與經批准 β -內醯胺抗生素組合使用來治療經因 β -內醯胺酶活性而對單獨抗生素具有抗性之細菌感染之患者。經批准BLI之實例包括克拉維酸(clavulanic酸)、舒巴坦、三唑巴坦(tazobactam)及阿維巴坦(avibactam)。據報導其他藥物(瑞來巴坦(relebactam)、法硼巴坦(vaborbactam) (RPX7009)、茲德巴坦(zidebactam)及那庫巴坦(nacubactam))正在研發中。

在革蘭氏陽性生物體中，由青黴素酶型 β -內醯胺酶介導之青黴素抗性係金黃色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) (MSSA)中重要的抗性機制。 β -內醯胺酶介導之青黴素抗性亦見於嫌氧物種(如類桿菌)中。

三種最常用的絲胺酸 β -內醯胺酶抑制劑(克拉維酸、三唑巴坦及舒巴坦)僅對一些A類 β -內醯胺酶(不包括絲胺酸碳青黴烯酶)具有有效活性。阿維巴坦係 β -內醯胺酶抑制劑之二氮雜二環辛烷(DBO)類別之成員且廣泛涵蓋A類(包括KPC)、C類且對D類有一些抑制。連同 β -內醯胺酶抑制一起，阿維巴坦藉助抑制青黴素結合蛋白2 (PBP-2)亦對一些臨床菌株具有抗細菌活性(Asli等人，*Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60, 第2期, 752, 2016)。具有此作用機制之抗細菌化合物(包括DBO)在活體外以極高頻率針對抗性進行選擇(Doumith等人，*J. Antimicrobial Chemotherapy* 2016, 71, 2810-2814)。因此，目前尚不明確一些DBO β -內醯胺酶抑制劑之固有抗細菌活性之任何潛在臨床益處。阿維巴坦之弱抗細菌活性可能並非臨床相關的，乃因阿維巴坦之臨床劑量相當低，然而，其可使活體外敏

感性測試複雜化及/或促進抗性。阿維巴坦/ β -內醯胺組合抵抗臨床分離物之活體外敏感性測試通常係使用可能不反映臨床達成量之高的固定濃度之阿維巴坦(4 $\mu\text{g/mL}$)來實施。在該等人工活體外測試條件下，阿維巴坦對抗細菌活性之直接貢獻可影響預測阿維巴坦/ β -內醯胺酶組合之臨床效能之準確度。缺乏顯著抗細菌活性之DBO β -內醯胺酶抑制劑可能沒有此額外混雜活性，且活體外測試方案將僅量測臨床分離物中 β -內醯胺酶介導之抗性之逆轉，使得能夠基於活體外敏感性結果更加準確的預測臨床效能。

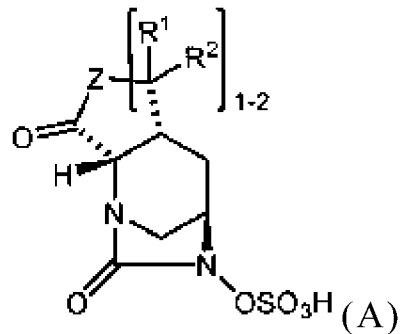
除目前可使用之BLI以外，具有BLI活性之其他化合物揭示於以下中： WO2002/100860 、 US2003/0199541 、 US2004/0157826 、 WO2008/039420、及WO2009/091856、US2010092443、WO2010/126820、WO2013/122888、WO2013/038330、US2013/0225554、WO2013149121、WO2013149136、WO2014141132及WO2014/033560。

先前所闡述之BLI之藥物動力學及物理性質可能不能理想地與每種 β -內醯胺抗生素一起使用。此外，據報導已知BLI會隨時間損失有效性(K. Bush, *Int. J. Antimicrob. Agents* 46(5), 483-93 (Nov 2015))，乃因發展出抗性細菌菌株且不斷地出現新穎 β -內醯胺酶。因此，業內需要新穎 β -內醯胺酶抑制劑來延長有價值 β -內醯胺抗生素之有用性；實際上，新穎BLI亦可對抗對已知BLI之抗性以及對已知及未來研發之 β -內醯胺抗生素之抗性。本發明提供新穎 β -內醯胺酶抑制劑，其可加強各種 β -內醯胺抗生素之活性，而其本身展現極少固有(直接)抗生素活性。

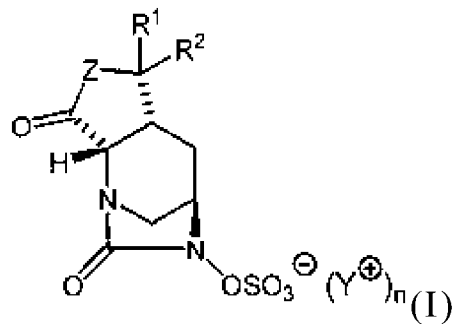
【發明內容】

本發明包括新穎BLI化合物、包括該等化合物之醫藥組合物及調配物及使用該等化合物及組合物治療患有細菌感染之患者的方法。BLI可與 β -

內醯胺抗生素(例如青黴素衍生物、青黴烯、碳青黴烯、頭孢菌素(頭孢烯(cephem))、單環β內醯胺或舒巴坦)組合使用，且主要可用於治療革蘭氏陰性細菌感染，但亦可用於治療革蘭氏陽性及嫌氧感染，其中抗性係藉助細菌產生β-內醯胺酶介導的。本發明包括式(A)化合物及其變體，



及該等化合物之鹽，包括式(I)化合物：



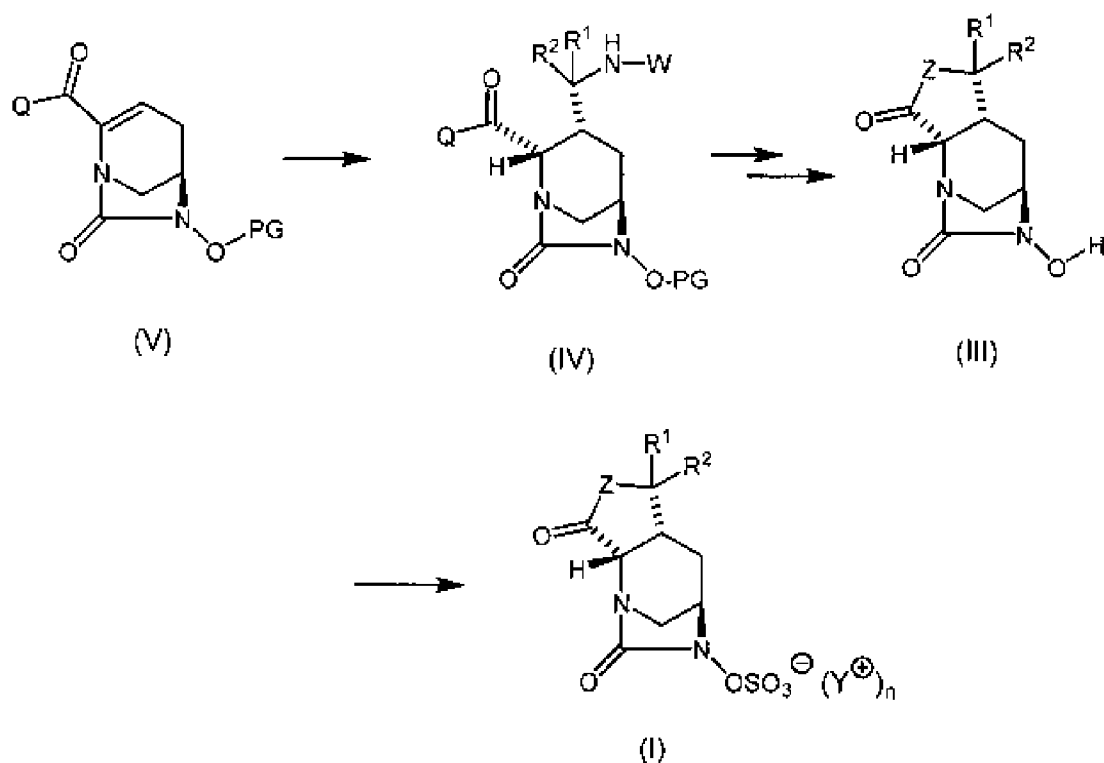
其中式(I)化合物可呈鹽或兩性離子形式，如本文進一步闡述。

本發明之BLI化合物可與β-內醯胺抗生素(其實例在本文有揭示)組合使用來治療細菌感染、尤其革蘭氏陰性細菌感染。BLI及β-內醯胺抗生素可一起或分開投與，且BLI增強β-內醯胺抗生素抵抗至少一種展現β-內醯胺抗生素抗性之細菌菌株之有效性，其中該抗性係由β-內醯胺酶活性介導的。β-內醯胺抗生素及式(A)之BLI之組合可用於治療由革蘭氏陰性細菌(包括腸桿菌科(*Enterobacteriaceae*))，諸如沙門桿菌屬(*Salmonella*)、大腸桿菌(*E. coli*)、克雷伯氏肺炎菌、變形桿菌屬(*Proteus*)、腸桿菌屬、沙雷氏菌屬(*Serratia*)及檸檬酸桿菌屬(*Citrobacter*)，非發酵細菌，包括綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、不動桿菌屬、伯克氏菌屬(*Burkholderia*)、

莫拉菌屬(*Moraxella*)及寡養單胞菌屬)、革蘭氏陽性細菌(諸如產生 β -內醯胺酶之金黃色葡萄球菌)以及嫌氧細菌(諸如脆弱類桿菌(*Bacteroides fragilis*)或多形類桿菌(*Bacteroides thetaiotaomicron*)))造成之感染。

在一態樣中，本發明提供新穎的式(A)及式(I)之化合物(包括其鹽或兩性離子形式)，該等可有效的作為一或多種細菌 β -內醯胺酶之抑制劑。該等化合物可用於加強 β -內醯胺抗生素之抗細菌活性。其因此可與 β -內醯胺抗生素組合使用。 β -內醯胺及 β -內醯胺抗生素可一起或分開投與；在一些實施例中，式(A)或式(I)之 β -內醯胺及 β -內醯胺抗生素係組合在通常亦包含至少一種醫藥上可接受之載劑之醫藥組合物中。

在一態樣中，本發明提供製備式(A)或式(I)化合物之方法及可用於製備式(A)或式(I)化合物之新穎前體，如本文所闡述。具體而言，本發明提供將式(V)化合物轉化為式(IV)化合物之製程；及將式(III)化合物轉化為式(I)化合物之方法。



在另一態樣中，本發明提供包含式(A)及式(I)化合物與至少一種醫藥

上可接受之載劑或賦形劑混合之醫藥組合物。在一些實施例中，組合物包含兩種或更多種該等載劑或賦形劑。視情況，醫藥組合物進一步包括 β -內醯胺抗生素，但BLI化合物可與 β -內醯胺抗生素分開調配及投與。

在另一態樣中，本發明提供治療患有細菌感染之個體之方法，該方法包含視情況與醫藥上可接受之載劑組合向有需要之個體投與抗細菌有效量之 β -內醯胺抗生素及有效量之式(A)或式(I)之BLI (包括鹽及兩性離子形式)。在某些實施例中，個體係哺乳動物，且在一些實施例中，個體係人類。此態樣提供用於治療細菌感染之式(A)或式(I)化合物，包括醫藥上可接受之鹽或兩性離子形式，其中該化合物係與 β -內醯胺抗生素組合使用。其亦包括式(A)或式(I)化合物或其鹽或兩性離子形式之用途，其用於製造藥劑。較佳地，該藥劑係用於治療革蘭氏陰性細菌感染者，尤其具有足以賦予一定程度之 β -內醯胺抗生素抗性之 β -內醯胺酶活性者，其中該藥劑適合與 β -內醯胺抗生素(諸如本文所闡述之彼等)組合使用。 β -內醯胺抗生素及式(A)或式(I)之BLI化合物可同時或分開及以任一順序投與，前提係BLI與 β -內醯胺抗生素在活體內同時存在以便加強 β -內醯胺抗生素之有效性。

革蘭氏陰性細菌可具有選自以下各項之屬：檸檬酸桿菌屬、腸桿菌屬、埃希氏菌屬(*Escherichia*)、克雷伯氏菌屬(*Klebsiella*)、摩根菌屬(*Morganella*)、變形桿菌屬、沙門桿菌屬、沙雷氏菌屬、假單胞菌屬、不動桿菌屬、類桿菌屬(*Bacteroides*)、伯克氏菌屬、曲桿菌屬(*Campylobacter*)、奈瑟菌屬(*Neisseria*)及寡養單胞菌屬。具體而言，由以下物種造成之細菌感染可藉由本文所揭示之方法來治療：檸檬酸桿菌屬、腸桿菌屬、埃希氏菌屬、克雷伯氏菌屬、摩根菌屬、變形桿菌屬、沙門桿菌屬、沙雷氏菌屬、假單胞菌屬或不動桿菌屬。用於該治療之具體細菌物

種包括弗氏檸檬酸桿菌 (*Citrobacter freundii*)、柯氏檸檬酸桿菌 (*Citrobacter koseri*)、陰溝腸桿菌 (*Enterobacter cloacae*)、產氣腸桿菌 (*Enterobacter aerogenes*)、大腸桿菌、克雷伯氏肺炎菌、產酸克雷伯氏菌 (*Klebsiella oxytoca*)、摩氏摩根菌 (*Morganella morganii*)、奇異變形桿菌、沙門桿菌屬、黏質沙雷氏菌 (*Serratia marcescens*)、綠膿桿菌及鮑氏不動桿菌 (*Acinetobacter baumannii*) 以及脆弱類桿菌 (*Bacteroides fragilis*)、洋蔥伯克氏菌 (*Burkholderia cepacia*)、空腸曲桿菌 (*Campylobacter jejuni*)、淋病奈瑟菌 (*Neisseria gonorrhoeae*) 及嗜麥芽寡養單胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*)。革蘭氏陽性細菌可為(例如)糞腸球菌 (*Enterococcus faecalis*)、屎腸球菌 (*Enterococcus faecium*)、金黃色葡萄球菌或肺炎鏈球菌 (*Streptococcus pneumoniae*)。

在另一態樣中，本發明提供抑制細菌生長或調節細菌感染之毒力的方法，其中該方法包含向需要該抑制之患者投與式(A)或式(I)化合物及 β -內醯胺抗生素。適用於該等方法中之 β -內醯胺抗生素係如本文所闡述。

提供本發明之醫藥組合物，其包括本文所述化合物中之任一者及醫藥上可接受之載劑。在一些實施例中，組合物包括諸如 β -內醯胺抗生素等另一治療劑。

本發明之其他態樣論述於本文中。

【圖式簡單說明】

圖1. 式(VII)之結晶化合物之SEM。

圖2. 式(VII)之結晶化合物之XRPD。

圖3. 式(VII)之結晶化合物之熱重分析及差示掃描量熱法分析。

【實施方式】

相關申請案的交互參照

本申請案主張2016年9月28日提出申請之美國臨時申請案第62/401,022號之優先權之權益，該案之內容係以引用方式併入本文中。

出於解釋本說明書之目的，除非另有指定或上下文明顯矛盾，否則以下定義均適用。適宜時，以單數形式使用之術語亦將包括複數形式，且反之亦然。

定義

本說明書中所用術語具有以下含義：

如本文所使用，術語「個體」係指動物。在某些態樣中，動物係哺乳動物。個體亦係指(例如)靈長類動物(例如人類)、牛、綿羊、山羊、馬、狗、貓、兔、大鼠、小鼠、魚、鳥及諸如此類。在某些實施例中，個體係人類。

如本文所使用，術語「抑制(inhibition或inhibiting)」係指減輕或阻抑給定病況、症狀或病症或疾病，或顯著降低生物活性或過程之基線活性，或降低細菌群體之活力、數量或生長速率。

在一個實施例中，如本文所使用，術語「治療(treating或treatment)」任一疾病或病症係指改善該疾病或病症(即，減緩或阻止或減少該疾病或其至少一種臨床症狀之發展)。在另一實施例中，「治療(treating或treatment)」係指減輕或改善至少一個物理參數(包括患者不能感受到之彼等)。在又一實施例中，「治療(treating或treatment)」係指在物理方面調節疾病或病症(例如，穩定可感受到之症狀)或在生理學方面調節疾病或病症(例如，穩定物理參數)或二者皆有。在另一實施例中，「治療(treating或treatment)」係指預防或延遲疾病或病症之發作或發展或進

展。

除非本文另外指示或上下文明顯矛盾，否則如本文所使用，在本發明上下文(尤其在申請專利範圍之背景下)中使用之術語「一(a、an)」、「該」及類似術語應理解為涵蓋單數及複數二者。

除非本文另有指示或上下文另外明顯矛盾，否則本文所闡述之所有方法皆可以任一適宜順序實施。除非另外主張，否則本文所提供之任何及所有實例或實例性語言(例如「諸如」)之使用僅意欲更好地說明本發明且不對本發明範圍加以限制。

術語「抗細菌劑」係指在實驗室中合成或改質之具有殺菌或抑菌活性之藥劑。此上下文中之「活性」劑將抑制綠膿桿菌及/或其他革蘭氏陰性細菌之生長。術語「抑制生長」指示降低特定細菌群體數量之增加速率。因此，該術語包括細菌群體增加但速率降低之情形以及群體停止生長之情形以及群體中細菌數量減少或群體甚至消除之情形。

術語「 β -內醯胺抗生素」係指含有4員內醯胺環(亦稱為 β -內醯胺)且具有抗細菌活性之抗細菌劑。 β -內醯胺抗生素之類別包括青黴素、頭孢菌素、單環 β 內醯胺、碳青黴烯、氧青黴烯、頭孢烯、碳頭孢烯、氧頭孢烯、青黴烯、青黴烷(penam)、舒巴坦及克拉維烷(clavam)。適用於本發明之方法及組合物中之特定 β -內醯胺抗生素係如本文所闡述，且包括胺曲南(aztreonam)、必倍西林(piperacillin)、頭孢他啶(ceftazidime)、美羅培南(meropenem)及 β -內醯胺5。

如本文所用術語「 β -內醯胺酶」係指細菌所具有或展現之酶活性，該活性酶催化 β -內醯胺抗生素之降解或去活化。通常，其催化單環或二環 β -內醯胺抗生素之 β -內醯胺環之水解，且在可造成哺乳動物個體、尤其人

類感染之革蘭氏陰性或革蘭氏陽性細菌中表現。所關注 β -內醯胺酶包括A類(包括超廣譜 β -內醯胺酶及絲胺酸碳青黴烯酶)以及C類及D類 β -內醯胺酶。

如本文所用術語「 β -內醯胺酶抑制劑」或「BLI」係指抑制至少一種細菌 β -內醯胺酶之化合物。此意味著其抑制絲胺酸 β -內醯胺酶類別之至少一個成員，例如A類、C類或D類 β -內醯胺酶。藉由降低 β -內醯胺酶活性，該等化合物增強與BLI組合使用之 β -內醯胺抗生素之活性；此效應在本文中稱作加強，乃因BLI本身沒有顯著抗細菌活性但增強或加強抗生素在具有 β -內醯胺酶活性之細菌方面之抗細菌活性。加強源於以下事實：BLI容許 β -內醯胺抗生素在活體內在細菌周質隔室內或在細菌病原體附近存留更長時間，使得抗生素更加有效，或使得其在與不存在式(A)之BLI下可能需要者相比更低之劑量下有效。較佳地，BLI在低於約100 $\mu\text{g/mL}$ (微克/mL),或低於約50 $\mu\text{g/mL}$ 或低於約25 $\mu\text{g/mL}$ 之50%抑制濃度係有效的。

適於與本發明BLI組合使用之 β -內醯胺抗生素包括(例如)胺曲南、亞胺培南(imipenem)、厄他培南(ertapenem)、美羅培南、多尼培南(doripenem)、比阿培南(biapenem)、必倍西林、頭孢曲松(ceftriaxone)、頭孢哌酮(cefoperazone)、頭孢噻肟(cefotaxime)、頭孢他啶、頭孢洛紮(ceftolozane)、頭孢吡肟(cefepime)、帕尼培南(panipenem)、替卡西林(ticarcillin)、胺苄青黴素(ampicillin)、阿莫西林(amoxicillin)、卡本西林(carbenicillin)、阿洛西林(azlocillin)、美洛西林(mezlocillin)、替卡西林、頭孢哌酮、 β -內醯胺5 (本文所顯示)及諸如此類。

「視情況經取代」意指所提及基團可在一或多個位置經任一個下文所列示基團或該等基團之任一組合取代。該取代涉及使用另一部分替代未

經取代之基團之氫原子；因此，可添加至任何未經取代基團中之取代基數量等於未經取代基團上之氫原子數。若無另外指定，則「視情況經取代」意指可存在至多至三個非氫取代基。

如本文所使用，「鹵基」或「鹵素」可為氟、氯、溴或碘。

如本文所使用之「C₁-C₆烷基」或「C₁₋₆烷基」表示具有1至6個碳原子之直鏈或具支鏈烷基。若指定碳原子數不同(諸如C₈或C₃)，則該定義應作相應修改，諸如「C₁-C₄烷基」將包括甲基、乙基、丙基、異丙基、丁基、異丁基、第二丁基及第三丁基。

如本文所使用之「C₁-C₆烷氧基」或「C₁₋₆烷氧基」表示具有1至6個碳原子之直鏈或具支鏈烷氧基。若指定碳原子數不同(諸如C₈或C₃)，則該定義應作相應修改，例如「C₁-C₄烷氧基」將代表甲氧基、乙氧基、丙氧基、異丙氧基、丁氧基、異丁氧基、第二丁氧基及第三丁氧基。

如本文所使用之「C₁-C₄-鹵烷基」或「C₁₋₄鹵烷基」表示其中至少一個氫已經鹵素替代之具有1至4個碳原子之直鏈或具支鏈烷基。若指定碳原子數不同(諸如C₆或C₃)，則該定義應作相應修改，因此「C₁-C₄鹵烷基」將代表至少一個氫經鹵素取代之甲基、乙基、丙基、異丙基、丁基、異丁基、第二丁基及第三丁基，諸如其中鹵素係氟：CF₃CF₂-、(CF₃)₂CH-、CH₃-CF₂-、CF₃CF₂-、CF₃、CF₂H-、CF₃CF₂CHCF₃或CF₃CF₂CF₂CF₂-。

如本文所使用之「C₃-C₈-環烷基」或「C₃₋₈環烷基」係指3至8個碳原子之飽和單環烴環。該等基團之實例包括環丙基、環丁基、環戊基及環己基。若指定碳原子數不同(諸如C₃-C₆)，則該定義應作相應修改。

「4至8員雜環基」、「5至6員雜環基」、「3至10員雜環基」、「3至14員雜環基」、「4至14員雜環基」及「5至14員雜環基」分別係指含

有1至7個、1至5個或1至4個選自由氮、氧及硫組成之群之雜原子的4至8員、5至6員、3至10員、3至14員、4至14員及5至14員雜環，其可為飽和或部分飽和的。「雜環」可與「雜環基」互換使用。雜環基團可在雜原子或碳原子處附接。術語「雜環基」包括單環基團、稠合環基團及橋接基團。該雜環基之實例包括(但不限於)吡咯啉、六氫吡啶、六氫吡嗪、噁唑啉、吡咯啉酮、嗎啉、四氫呋喃、四氫噻吩、四氫噻喃、四氫吡喃、1,4-二噁烷、1,4-氧硫雜環己烷、8-氮雜-二環[3.2.1]辛烷、3,8-二氮雜二環[3.2.1]辛烷、3-氧雜-8-氮雜-二環[3.2.1]辛烷、8-氧雜-3-氮雜-二環[3.2.1]辛烷、2-氧雜-5-氮雜-二環[2.2.1]庚烷、2,5-二氮雜-二環[2.2.1]庚烷、氮雜環丁烷、伸乙基二側氧基、氧雜環丁烷及噻唑啉。較佳地，除非另外指定，否則雜環或雜環基係飽和或部分飽和單環基團，且含有5-7個環原子，具有至多兩個選自N、O及S之雜原子作為環成員。在一些實施例中，雜環基進一步包括含有1或2個雜原子(諸如N、O或S)作為環成員且包含兩個稠合3員、4員、5員或6員環之二環系統，諸如3-氮雜二環[3.1.0]己烷、8-氮雜-二環[3.2.1]辛烷、3,8-二氮雜二環[3.2.1]辛烷、3-氧雜-8-氮雜-二環[3.2.1]辛烷、8-氧雜-3-氮雜-二環[3.2.1]辛烷、2-氧雜-5-氮雜-二環[2.2.1]庚烷、2,5-二氮雜-二環[2.2.1]庚烷。

「雜芳基」係完全不飽和之(芳香族)環。術語「雜芳基」係指具有1至8個選自N、O或S之雜原子之5-14員單環或二環或三環芳香族環系統。通常，雜芳基係5-10員環系統(例如，5-6員單環或8-10員二環)或5-6員環系統。除非另外指定，否則雜芳基較佳係含有至多4個選自N、O及S之雜原子作為環成員之經分離之5-6員環。典型雜芳基包括呋喃、異噻唑、噻二唑、噁二唑、吡啶、吡啶、喹啉、2-或3-噻吩基；2-或3-呋喃基；2-或

3-吡咯基；1-、2-、4-或5-咪唑基；1-、3-、4-或5-吡唑基；2-、4-或5-噻唑基、3-、4-或5-異噻唑基、2-、4-或5-噁唑基、3-、4-或5-異噁唑基、3-或5-(1,2,4-三唑基)、4-或5-(1,2,3-三唑基)、四唑基、三嗪、嘧啶、2-、3-或4-吡啶基、3-或4-嗒嗪基、3-、4-或5-吡嗪基、2-吡嗪基及2-、4-或5-嘧啶基。

術語「羟基(hydroxy或hydroxyl)」係指基團-OH，或在用作基團名稱(諸如羟基烷基)之一部分時，其係指經-OH取代之所命名基團。

「兩性離子」係具有正電及負電基團但總體無電荷(亦即+及-電荷在分子內平衡)之分子。為將陰離子分子轉化為中性分子，則通常可用中性基團替代陰離子，但為將陰離子分子轉化為兩性離子，則用陽離子基團替代中性基團。

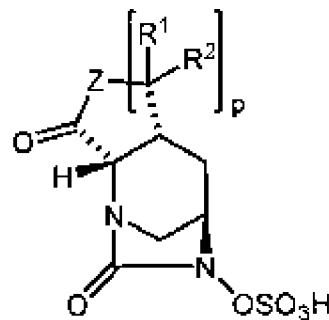
式(A)化合物以自由形式以鹽或兩性離子存在。在此說明書中，除非另外指示，否則諸如「式(A)化合物」等語言應理解為涵蓋任一形式之化合物，例如游離鹼或酸加成或交換鹽形式。可能不適於醫藥用途但可用於(例如)分離或純化游離式(A)化合物之鹽(諸如苦味酸鹽或過氯酸鹽)亦包括在內。對於治療用途，採用僅醫藥上可接受之鹽、兩性離子或游離化合物(若適用呈醫藥製劑形式)，且其因此較佳。鹽較佳為藉由添加酸或鹼或藉由離子交換(若適用)而形成之生理上可接受之鹽。

式(A)化合物可以各種兩性離子之形式存在。舉例而言，式(A)化合物可顯示質子化胺基及去質子化硫酸根基團。在此說明書中，所繪製之呈自由形式之化合物亦包括其他可能兩性離子。本發明亦涵蓋式(A)化合物之兩性離子。

式(A)化合物可以光學活性形式或以光學異構物混合物之形式(例如

以外消旋混合物或非鏡像異構物混合物之形式)存在。具體而言，不對稱碳原子可存在於式(A)化合物及其鹽中。本發明涵蓋所有光學異構物及其混合物(包括外消旋混合物)。本文闡述本發明之多個實施例。應認識到，在每一實施例中指定之特徵可與其他指定特徵組合以得到其他實施例。以下經編號實施例代表本發明之其他態樣。

在一個實施例中，本發明提供式(A)化合物：



其中p為1或2；

R^1 及 R^2 獨立地選自H及視情況經至多三個選自鹵基、CN、-OR、側氧基及-NRR'之基團取代之 C_1 - C_4 烷基；

Z為NR³或N-OR³；

R^3 在每次出現時獨立地選自H、Cy及視情況經至多三個選自Cy、鹵基、CN、-OR及-NRR'之基團取代之 C_1 - C_4 烷基；

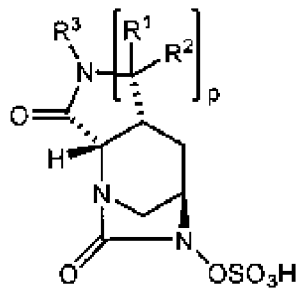
Cy係 C_3 - C_6 環烷基環或含有一或兩個選自N、O及S之雜原子作為環成員之4至6員雜環，且Cy視情況經至多三個選自側氧基、鹵基、 C_1 - C_2 烷基、CN、-OR及-NRR'之基團取代；且

R及R'獨立地選自H及視情況經一或兩個選自以下之基團取代之 C_1 - C_4 烷基：鹵基、-OH、-CN、-O-(C_1 - C_4 烷基)、側氧基、-NH₂、-NH(C_1 - C_4 烷基)及-N(C_1 - C_4 烷基)₂，或R及R'與二者所附接之氮原子一起可形成選自六氫吡啶、嗎啉、吡咯啉及氮雜環丁烷之環，其中該環視情況經一或兩

個選自以下之基團取代：鹵基、 C_1 - C_2 烷基、 $-OH$ 、 $-CN$ 、 $-O-(C_1-C_4$ 烷基)、側氧基、 $-NH_2$ 、 $-NH(C_1-C_4$ 烷基)及 $-N(C_1-C_4$ 烷基) $_2$ ；

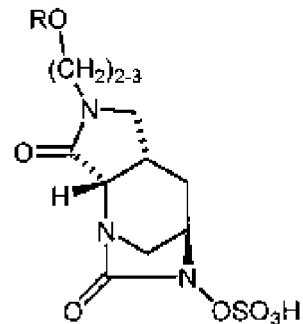
或其鹽或兩性離子形式。

該等化合物之特定實施例包括下式化合物：



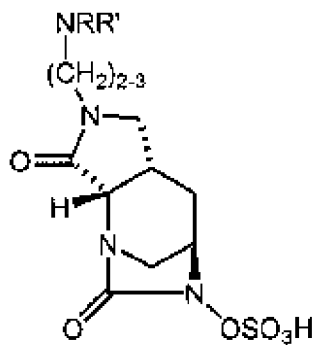
(A-1)

；



(A-2a)

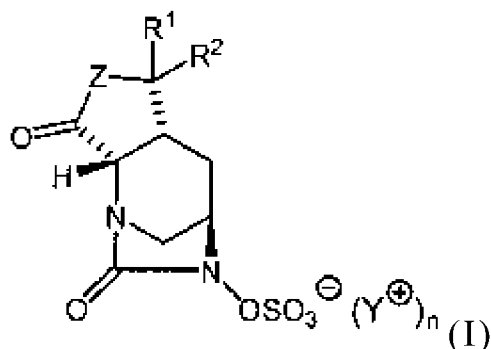
；



(A-2b)；或

或其鹽或兩性離子形式。

特別關注的實施例係式(I)化合物：



其中：

R^1 及 R^2 獨立地選自H及視情況經至多三個選自鹵基、 CN 、 $-OR$ 、側氧基及 $-NRR'$ 之基團取代之 C_1 - C_4 烷基；

Z 為 NR^3 或 $N-OR^3$ ；

R^3 在每次出現時獨立地選自H、Cy及視情況經至多三個選自Cy、鹵基、CN、-OR及-NRR'之基團取代之 C_1 - C_4 烷基；

Cy係 C_3 - C_6 環烷基環或含有一或兩個選自N、O及S之雜原子作為環成員之4至6員雜環，且Cy視情況經至多三個選自側氧基、鹵基、 C_1 - C_2 烷基、CN、-OR及-NRR'之基團取代；且

R及R'獨立地選自H及視情況經一或兩個選自以下之基團取代之 C_1 - C_4 烷基：鹵基、-OH、-CN、-O-(C_1 - C_4 烷基)、側氧基、-NH₂、-NH(C_1 - C_4 烷基)及-N(C_1 - C_4 烷基)₂，或R及R'與二者所附接之氮原子一起可形成選自六氫吡啶、嗎啉、吡咯啉及氮雜環丁烷之環，其中該環視情況經一或兩個選自以下之基團取代：鹵基、 C_1 - C_2 烷基、-OH、-CN、-O-(C_1 - C_4 烷基)、側氧基、-NH₂、-NH(C_1 - C_4 烷基)及-N(C_1 - C_4 烷基)₂；

Y係陽離子基團；

n為0或1；且

當n為0時，式I化合物呈兩性離子形式。

本文實例之每一化合物係本發明之特定實施例。

如前述實施例中任一者之化合物，其中Z為NR³，

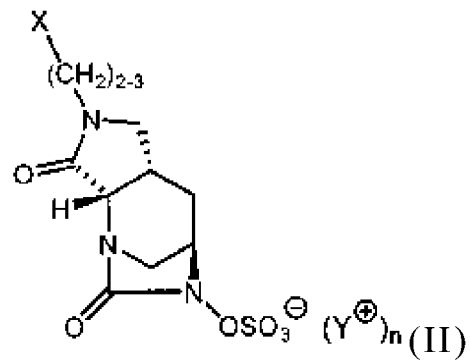
且R³為H或視情況經-OR或-NRR'取代之 C_1 - C_4 烷基，或其鹽或兩性離子形式。

如實施例4之化合物，其中R³為視情況經-OR或-NRR'取代之 C_1 - C_2 烷基，或其鹽或兩性離子形式。

如實施例4之化合物，其中R³為H，或其鹽或兩性離子形式。

如實施例1至6中任一者之化合物，其中R¹及R²皆為H，或其鹽或兩性離子形式。

如實施例1之化合物，其具有此結構：



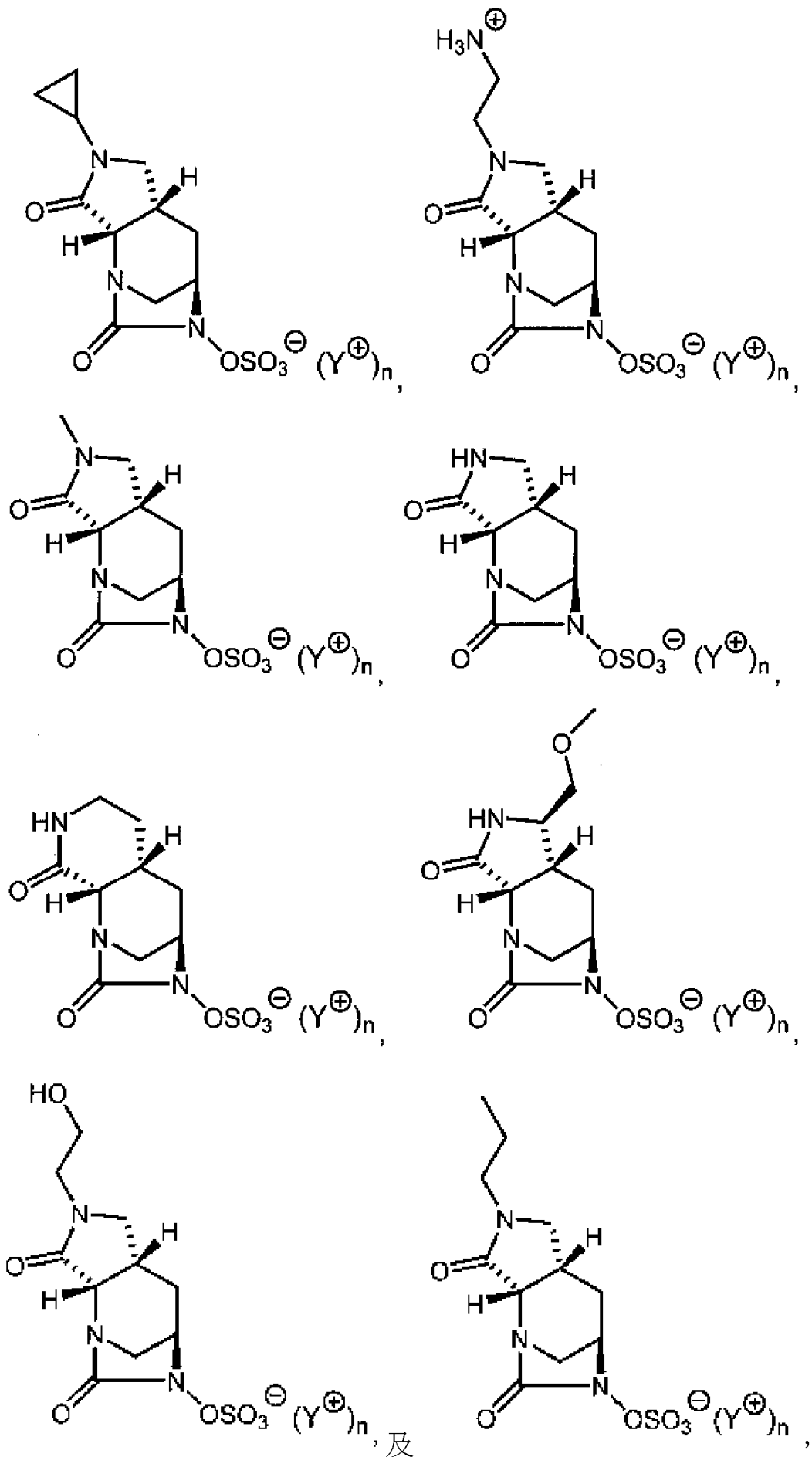
其中X為-OR或-NRR'；

Y係陽離子基團；

n為0或1；且

當n為0時，式II化合物呈兩性離子形式。

如實施例1之化合物，其係選自：



第 19 頁(發明說明書)

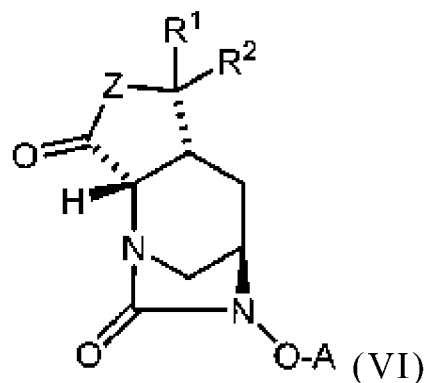
或其鹽或兩性離子形式。

如前述實施例中任一者之化合物，其中 n 為1且 Y 選自鈉、鉀、銨、鈣、鎂、鐵、銀、鋅及銅。

如前述實施例中任一者之化合物，其中 Y 為鈉。

如前述實施例中任一者之化合物，其係醫藥上可接受之鹽或兩性離子。

特別關注的實施例係式(VI)化合物：



其中：

R^1 及 R^2 獨立地選自H及視情況經至多三個選自鹵基、CN、-OR、側氧基及-NRR'之基團取代之 C_1 - C_4 烷基；

Z 為NR³或N-OR³；

R^3 在每次出現時獨立地選自H、Cy及視情況經至多三個選自Cy、鹵基、CN、-OR及-NRR'之基團取代之 C_1 - C_4 烷基；

Cy係 C_3 - C_6 環烷基環或含有一或兩個選自N、O及S之雜原子作為環成員之4至6員雜環，且Cy視情況經至多三個選自側氧基、鹵基、 C_1 - C_2 烷基、CN、-OR及-NRR'之基團取代；且

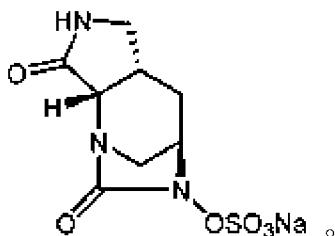
R 及 R' 獨立地選自H及視情況經一或兩個選自以下之基團取代之 C_1 - C_4 烷基：鹵基、 C_1 - C_2 烷基、-OH、-CN、-O-(C_1 - C_4 烷基)、側氧基、-

NH_2 、 $-\text{NH}(\text{C}_1\text{-C}_4\text{烷基})$ 及 $-\text{N}(\text{C}_1\text{-C}_4\text{烷基})_2$ ，或R及R'與二者所附接之氮原子一起可形成選自六氫吡啶、嗎啉、吡咯啉及氮雜環丁烷之環，其中該環視情況經一或兩個選自以下之基團取代：鹵基、 $\text{C}_1\text{-C}_2$ 烷基、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{O}(\text{C}_1\text{-C}_4\text{烷基})$ 、側氧基、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NH}(\text{C}_1\text{-C}_4\text{烷基})$ 及 $-\text{N}(\text{C}_1\text{-C}_4\text{烷基})_2$ ；

A為H或 $-\text{CH}_2\text{-Ph}$ ，其中Ph代表視情況經一或兩個選自以下之基團取代之苯基：鹵基、 $\text{C}_1\text{-C}_4$ 烷基、 $\text{C}_1\text{-C}_4$ 烷氧基；

或其鹽或兩性離子。

特別關注的實施例係式(VII)化合物：



如實施例12之化合物，其係呈結晶型。

如實施例13之化合物，其在差示掃描量熱法上在 283°C 與 350°C 之間展現吸熱。

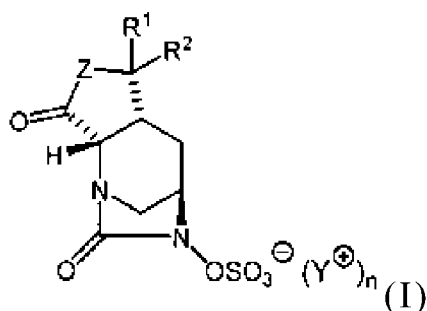
如實施例13之化合物，其特徵在於在 8.3° 及 16.6° 之繞射角(2θ)處之XRPD峰。

如實施例15之化合物，其特徵進一步在於一或多個其他在 25.1° 或 31.3° 之繞射角(2θ)處之XRPD峰。

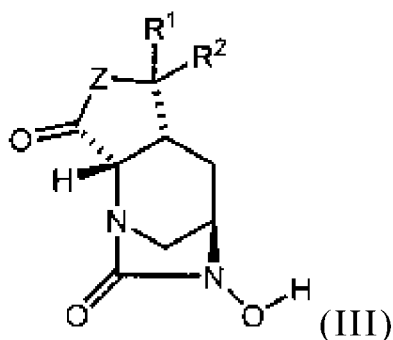
如實施例16之化合物，其特徵進一步在於一或多個其他在 27.4° 或 28.7° 之繞射角(2θ)處之XRPD峰。

如實施例17之化合物，其特徵進一步在於其他在 19.5° 或 21.7° 之繞射角(2θ)處之XRPD峰。

一種製備如實施例3之式(I)化合物或其鹽或兩性離子形式之方法，



其中該方法包含使式(III)化合物與磺醯基化劑在鹼存在下接觸，

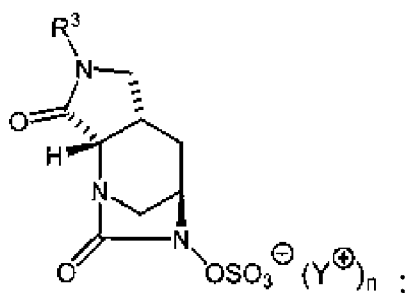


其中Z、R¹及R²及R³係如實施例3中所定義。

如實施例19之方法，其中Z為NR³，且R³為H或視情況經-OR或-NRR'取代之C₁-C₂烷基，

或其醫藥上可接受之鹽。

如實施例19或20之方法，其中式(I)化合物具有下式

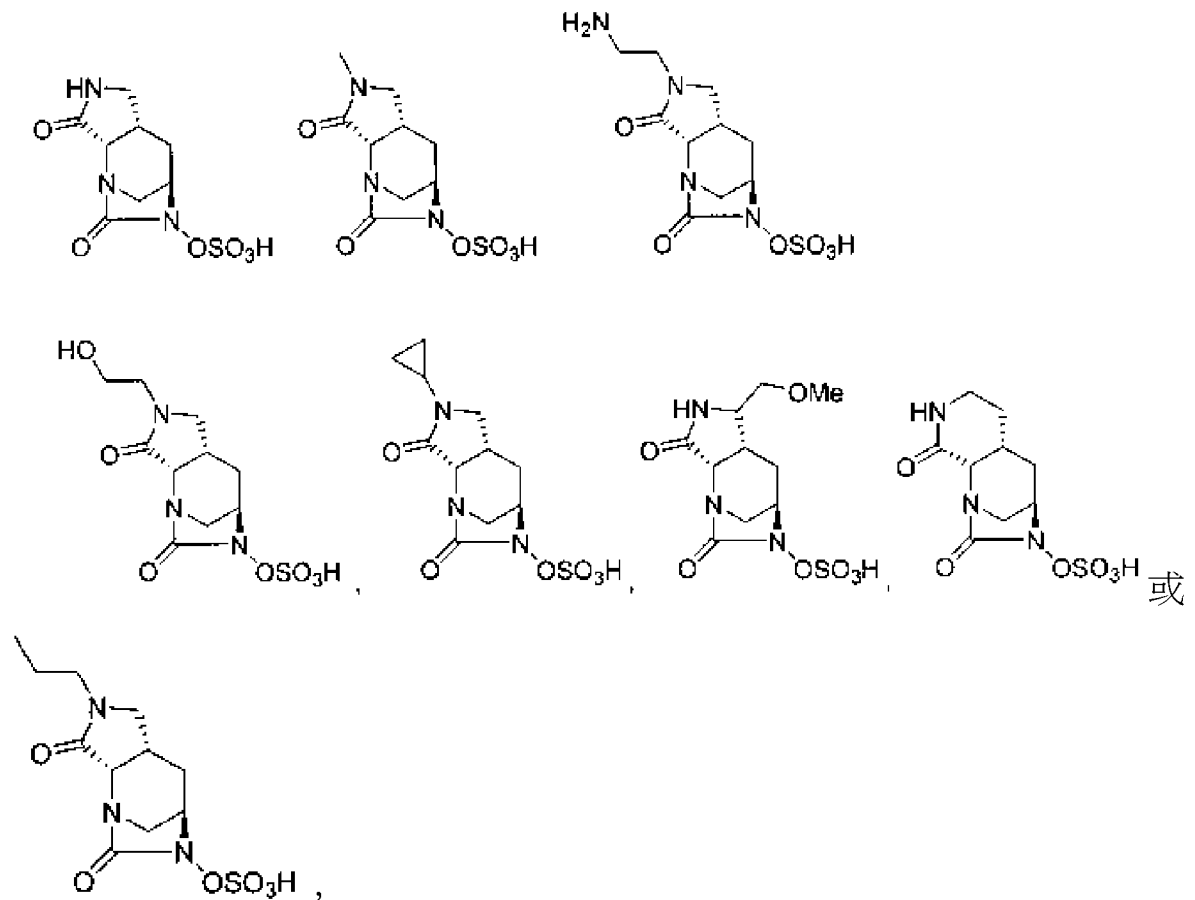


或其鹽或兩性離子形式。

如實施例19至21中任一者之方法，其中R³為H。

式(III)化合物可用於合成如實施例3及上文其他實施例中所闡述之式(I)化合物。

特定的式(A)及式(I)化合物包括：



或其鹽或兩性離子。

在另一態樣中，本發明提供：

醫藥組合，其包含(a)第一治療劑，其係本發明化合物，例如本文所述之式(A)或其任一子式之化合物，及(b)如上文所述之第二治療劑。該第二治療劑通常係 β -內醯胺抗生素。

如上文所定義之方法，其包含例如同時或依序共投與治療有效量之本發明化合物(例如本文所述之式(A)或其任一子式之化合物)及如上文所述之第二治療劑。

本文所用術語「共投與(co-administration)」或「組合投與(combined administration)」或諸如此類意欲涵蓋向單一患者投與所選治療劑，且意欲包括其中該等藥劑無需藉由相同投與途徑或在同一時間投與

之治療方案。固定組合亦在本發明之範圍內。投與本發明之醫藥組合與僅施用其醫藥活性成份中之一者之單療法相比可產生有益效應，例如協同治療效應。

本發明組合之每一組分可單獨、一起或以其任一組合來投與。

本發明化合物與任何其他藥劑可以單獨劑型進行調配。另一選擇為，為減少投與患者之劑型數量，本發明化合物與任何其他藥劑可以任一組合一起調配。舉例而言，本發明抑制劑化合物可以一種劑型進行調配，而另一藥劑可以另一劑型一起調配。任何單獨劑型皆可同時或在不同時間投與。

另一選擇為，本發明組合物包含如本文所述之另一藥劑。每一組分皆可以個別組合物、組合組合物或以單一組合物形式存在。

本發明化合物可藉由下文之一般合成途徑來合成，該等合成途徑之特定實例更詳細闡述於實例中。

本發明化合物及中間體亦可根據熟習此項技術者通常已知之方法彼此轉化。

在本文範圍內，除非上下文另外指明，否則僅將不為本發明化合物之具體期望最終產物之成分且易於移除之基團稱為「保護基團」。該等保護基團對官能基之保護、保護基團本身及其裂解反應闡述於例如標準參考著作中，例如 J. F. W. McOmie, 「Protective Groups in Organic Chemistry」, Plenum Press, London and New York 1973；T. W. Greene 及 P. G. M. Wuts, 「Protective Groups in Organic Synthesis」, 第三版, Wiley, New York 1999；「The Peptides」；第3卷(編者：E. Gross 及 J. Meienhofer), Academic Press, London and New York 1981；

「Methoden der organischen Chemie」 (Methods of Organic Chemistry), Houben Weyl, 第4版, 第15/I卷, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974 ; H.-D. Jakubke 及 H. Jeschkeit, 「Aminosäuren, Peptide, Proteine」 (Amino acids, Peptides, Proteins), Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, and Basel 1982 ; 及 Jochen Lehmann, 「Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide und Derivate」 (Chemistry of Carbohydrates: Monosaccharides and Derivatives), Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974。保護基團之特徵在於其可易於藉由例如溶劑分解、還原、光解或另一選擇為在生理學條件下(例如藉由酶裂解)移除(即,並不發生不期望之二級反應)。

具有至少一種成鹽基團之本發明化合物之鹽可以熟習此項技術者已知之方式來製備。舉例而言,可藉由(例如)在適當適宜溶劑(諸如異丁醇/水混合物)中用金屬化合物(諸如適宜有機羧酸之鹼金屬鹽(例如2-乙基己酸之鈉鹽))處理化合物或化合物之鹽(如四丁基銨鹽)來形成具有酸性基團之本發明化合物之鹽,此可能促進不期望離子對(例如2-乙基己酸四丁基銨(在使用四丁基銨鹽之情況下))沈澱。較佳地,可使本發明化合物之鹽(諸如銨鹽)經受呈鹼金屬或鹼土金屬形式之離子交換樹脂以促進相對離子交換。本發明化合物之酸加成或交換鹽係以常用方式藉由例如用酸或適宜陰離子交換試劑處理該等化合物來獲得。本發明化合物之含有酸性及鹼性鹽形成基團(例如游離硫酸根基團及游離胺基)之兩性離子或內鹽可藉由例如用例如弱鹼將鹽(例如酸加成鹽)中和至等電點或藉由用離子交換劑處理來形成。

可根據熟習此項技術者已知之方法將鹽轉化為游離化合物。可藉由

例如用適宜鹼性試劑處理來轉化鹽酸鹽。通常可以熟習此項技術者已知之方式將可根據本發明獲得之異構物之混合物分離成個別異構物；可藉由例如在多相溶劑混合物之間分配、再結晶及/或例如矽膠上之層析分離或藉由例如反相管柱上之中壓液相層析來分離非鏡像異構物，且可藉由例如使用光學純之鹽形成試劑形成鹽來分離外消旋物，且由此獲得之非鏡像異構物混合物可藉助例如分段結晶或光學活性管柱材料上之層析來分離。

可根據標準方法(例如，使用層析方法、分佈方法、(再)結晶及諸如此類)對中間體及最終產物實施處理及/或純化。

下列內容通常適用於上文及下文所提及之所有製程。

用於製備本發明化合物之所有製程步驟皆可在熟習此項技術者已知之反應條件下實施，該等條件包括所特定提及之彼等：在溶劑或稀釋劑不存在或(習慣上)存在下，該等溶劑或稀釋劑包括(例如)對所用試劑呈惰性並使其溶解之溶劑或稀釋劑；在觸媒、縮合劑或中和劑(例如離子交換劑，例如陽離子交換劑，例如，呈H⁺形式，此端視反應及/或反應物之性質而定)不存在或存在下；在低溫、常溫或高溫下(例如約-100℃至約190℃之溫度範圍內，包括(例如)約-80℃至約150℃，例如在-80℃至-60℃下，在室溫下，在-20℃至40℃下或在回流溫度下)；在常壓下或在密閉器皿中，適宜時，該器皿係在壓力下及/或在惰性氣氛中，例如在氬或氮氣氛中。

在該等反應之所有階段，可將所形成異構物之混合物分離成個別異構物(例如，非鏡像異構物或鏡像異構物)或分離成任何期望之異構物混合物(例如，外消旋物或非鏡像異構物之混合物)。

除非在闡述該等製程時另外指明，否則可自其選擇彼等適用於任一

具體反應之溶劑的溶劑包括所特定提及之彼等，或(例如)水、酯(例如低碳數鏈烷酸低碳數烷基酯，例如乙酸乙酯)、醚(例如脂肪族醚，例如乙醚)或環醚(例如四氫呋喃或二噁烷)、液體芳香族烴(例如苯或甲苯)、醇(例如甲醇、乙醇或1-丙醇或2-丙醇)、腈(例如乙腈)、鹵代烴(例如二氯甲烷或氯仿)、醯胺(例如二甲基甲醯胺或二甲基乙醯胺)、鹼(例如雜環氮鹼，例如吡啶或N-甲基吡咯啶-2-酮)、羧酸酐(例如低碳數烷酸酐，例如乙酸酐)、環狀、直鏈或具支鏈烴(例如環己烷、己烷或異戊烷、甲基環己烷)或彼等溶劑之混合物(例如水溶液)。該等溶劑混合物亦可藉由(例如)層析或分配用於處理中。

本發明化合物(包括其鹽)亦可以水合物形式獲得，或其晶體可包括(例如)用於結晶之溶劑。可存在不同結晶型。

用於合成本發明化合物之所有起始材料、結構單元、試劑、酸、鹼、脫水劑、溶劑及觸媒皆市面有售，或可藉由熟習此項技術者已知之有機合成方法產生。

術語「光學異構物」或「立體異構物」係指本發明給定化合物中可存在之各種立體異構物構形中之任一者且包括幾何異構物。應瞭解，取代基可附接至碳原子之手性中心。術語「手性」係指具有與其鏡像配體不重疊之性質的分子，而術語「非手性」係指與其鏡像配體可重疊之分子。因此，本發明包括化合物之鏡像異構物、非鏡像異構物或外消旋物。「異構物」係一對彼此為非重疊鏡像之立體異構物。鏡像異構物對之1:1混合物為「外消旋」混合物。若適宜，該術語可用於指示外消旋混合物。「非鏡像異構物」係具有至少兩個不對稱原子、但彼此不為鏡像之立體異構物。根據Cahn- Ingold- Prelog R-S系統來指定絕對立體化學。當化合物係純

淨鏡像異構物時，每一手性碳之立體化學可指定為*R*或*S*。絕對構形未知之經拆分化合物可端視其在鈉D線波長下旋轉平面偏振光之方向(右旋或左旋)而指定為(+)或(-)。本文所闡述之某些化合物含有一或多個不對稱中心或軸且可由此產生鏡像異構物、非鏡像異構物及其他立體異構物形式，該等形式可根據絕對立體化學定義為(*R*)-或(*S*)-。

端視起始材料及程序之選擇，化合物可以一種可能異構物或其混合物之形式存在，例如純淨光學異構物或異構物混合物，例如外消旋物及非鏡像異構物混合物，此端視不對稱碳原子之數量而定。本發明意欲包括所有該等可能的立體異構物，包括外消旋混合物、非鏡像異構物混合物及光學純形式。可使用手性合成子或手性試劑來製備光學活性(*R*)-及(*S*)-異構物或使用習用技術進行拆分。若化合物含有雙鍵，則取代基可為E或Z構形。若化合物含有二取代之環烷基，則環烷基取代基可具有順式或反式構形。本發明亦欲包括所有互變異構物形式。

任何所得異構物混合物皆可基於其成分之物理化學差異(例如)藉由層析法及/或分級結晶分離成純淨或實質上純淨之幾何或光學異構物、非鏡像異構物、外消旋異構物。

可藉由已知方法將最終產物或中間體之任何所得外消旋異構物拆分成光學鏡像體，例如，藉由分離使用光學活性酸或鹼獲得之其非鏡像異構物鹽並釋放光學活性酸性或鹼性化合物。具體而言，由此可採用鹼性部分藉由(例如)分級結晶用光學活性酸(例如酒石酸、二苯甲醯基酒石酸、二乙醯基酒石酸、二-*O,O'*-對-甲苯甲醯基酒石酸、扁桃酸、蘋果酸或樟腦-10-磺酸)形成之鹽將本發明化合物拆分成其光學鏡像體。亦可使用手性吸附劑藉由手性層析(例如高效液相層析(HPLC))來拆分外消旋產物。

此外，本發明化合物(包括其鹽)亦可以其水合物形式獲得，或包括其他用於其結晶之溶劑。本發明化合物可固有地或經設計與醫藥上可接受之溶劑(包括水)形成溶劑合物；因此，預計本發明涵蓋溶劑化及未溶劑化形式二者。術語「溶劑合物」係指本發明化合物(包括其鹽或兩性離子形式)與一或多種溶劑分子之分子錯合物。該等溶劑分子係在醫藥領域中常用且已知對接受者無害之彼等，例如，水、乙醇及諸如此類。術語「水合物」係指溶劑分子為水之複合物。

本發明化合物(包括其鹽、水合物及溶劑合物)可固有地或經設計形成多晶型物。

如本文所使用，術語「鹽(salt或salts)」係指本發明化合物之酸加成鹽或鹼加成鹽。「鹽」包括具體而言「醫藥上可接受之鹽」。術語「醫藥上可接受之鹽」係指保留本發明化合物之生物有效性及性質且通常為生物學上或其他方面合意之鹽。在許多情形下，本發明化合物能夠藉助所存在之胺基及/或硫酸根基團或其相似基團形成酸性及/或鹼性鹽。

可使用無機酸及有機酸來形成醫藥上可接受之酸加成或交換鹽，例如，乙酸鹽、天冬胺酸鹽、苯甲酸鹽、苯磺酸鹽、溴化物/氫溴酸鹽、碳酸氫鹽/碳酸鹽、硫酸氫鹽/硫酸鹽、樟腦磺酸鹽、氯化物/鹽酸鹽、氯茶鹼、檸檬酸鹽、乙二磺酸鹽、富馬酸鹽、葡庚糖酸鹽、葡萄糖酸鹽、葡糖醛酸鹽、馬尿酸鹽、氫碘酸鹽/碘化物、羥乙磺酸鹽、乳酸鹽、乳糖酸鹽、月桂基硫酸鹽、蘋果酸鹽、馬來酸鹽、丙二酸鹽、扁桃酸鹽、甲磺酸鹽、甲基硫酸鹽、萘酸鹽、萘磺酸鹽、菸鹼酸鹽、硝酸鹽、十八烷酸鹽、油酸鹽、草酸鹽、棕櫚酸鹽、巴莫酸鹽(pamoate)、磷酸鹽/磷酸氫鹽/磷酸二氫鹽、聚半乳糖醛酸鹽、丙酸鹽、硬脂酸鹽、琥珀酸鹽、磺基水楊酸

鹽、酒石酸鹽、甲苯磺酸鹽及三氟乙酸鹽。

可引入或自其衍生鹽之無機酸或「陰離子基團」包括(例如)鹽酸、氫溴酸、硫酸、硝酸、磷酸及諸如此類。

可引入或自其衍生鹽之有機酸或「陰離子基團」包括(例如)乙酸、丙酸、羥乙酸、草酸、馬來酸、丙二酸、琥珀酸、富馬酸、酒石酸、檸檬酸、苯甲酸、扁桃酸、甲磺酸、乙磺酸、甲苯磺酸、磺基水楊酸及諸如此類。可使用無機鹼及有機鹼來形成醫藥上可接受之鹼加成或交換鹽。

可引入或自其衍生鹽之無機鹼或「陽離子基團」包括(例如)銨鹽及來自週期表第I欄至第XII欄之金屬。在某些實施例中，鹽衍生自陽離子基團鈉、鉀、銨、鈣、鎂、鐵、銀、鋅及銅；尤其適宜之鹽包括銨鹽、鉀鹽、鈉鹽、鈣鹽及鎂鹽。

可引入或自其衍生鹽之有機鹼或「陽離子基團」包括(例如)一級、二級及三級胺、經取代胺(包括天然經取代胺)、環胺、鹼性離子交換樹脂及諸如此類。某些有機胺包括異丙胺、苄星青黴素鹽(benzathine)、膽酸鹽、二乙醇胺、二乙胺、離胺酸、葡甲胺、六氫吡嗪及胺丁三醇。

本發明之鹽可自鹼性或酸性部分，藉由習用化學方法來合成。通常，該等鹽可藉由使游離酸形式之該等化合物與化學計量之適當鹼(例如Na、Ca、Mg或K之氫氧化物、碳酸鹽、碳酸氫鹽或諸如此類)反應來製備，或藉由使游離鹼形式之該等化合物與化學計量之適當酸反應來製備。較佳地，可使本發明化合物之鹽(諸如銨鹽)經過呈鹼金屬或鹼土金屬形式之離子交換樹脂處理，以促進抗衡離子交換。本發明化合物之酸加成或交換鹽係以常用方式，藉由例如用酸或適宜陰離子交換試劑處理該等化合物來獲得。本發明化合物之含有形成酸性及鹼性鹽基團(例如游離硫酸根基

及游離胺基)之兩性離子或內鹽可藉由例如用例如弱鹼將鹽(例如酸加成鹽)中和至等電點或藉由用離子交換劑處理來形成。該等反應通常係在水或有機溶劑或二者之混合物中實施。通常，若可行，則期望使用非水性介質，例如，醚、乙酸乙酯、乙醇、異丙醇或乙腈。其他適宜鹽可參見(例如)「Remington's Pharmaceutical Sciences」，第20版, Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985)；及「Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use」，Stahl 及 Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2002)。

本文所給出之任一化學式亦意欲代表本發明化合物之未經標記形式以及經同位素標記之形式。經同位素標記之化合物具有由本文所給式繪示之結構，只是一或多個原子由具有所選原子質量或質量數之原子替代。可納入本發明化合物中之同位素之實例包括氫、碳、氮、氧、磷、氟及碘之同位素，例如分別為 ^2H 、 ^3H 、 ^{11}C 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{18}F 、 ^{31}P 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{36}Cl 、 ^{125}I 。本發明包括多種經同位素標記之本發明化合物，例如彼等存在放射性同位素(例如 ^3H 及 ^{14}C)者或彼等存在非放射性同位素(例如 ^2H 及 ^{13}C)者。該等經同位素標記之化合物可用於代謝研究(^{14}C)、反應動力學研究(例如， ^2H 或 ^3H)、檢測或成像技術(例如正電子發射斷層掃描術(PET)或單光子發射電腦斷層掃描術(SPECT)，包括藥物或受質組織分佈分析)或患者之放射性治療。具體而言，經 ^{18}F 標記之本發明化合物對於PET或SPECT研究可尤其合意。經同位素標記之本發明化合物通常可藉由熟習此項技術者已知之習用技術來製備，或可藉由與闡述於隨附實例及製備中之彼等類似之製程使用經適當同位素標記之試劑替代先前採用的非標記試劑來製備。

此外，使用較重同位素、尤其氘(即， ^2H 或D)取代可提供某些治療優點，此歸因於較大代謝穩定性，例如活體內半衰期延長或劑量需求降低或治療指數改良。應理解，將此背景下之氘視為本發明化合物之取代基。此一較重同位素(特定而言氘)之濃度可定義為同位素富集係數。如本文所使用，術語「同位素富集係數」意指指定同位素之同位素豐度與天然豐度之比率。若本發明化合物中之取代基表示為氘，則該化合物每一指定氘原子之同位素富集係數為至少3500 (在每一指定氘原子處納入52.5%氘)、至少4000 (納入60%氘)、至少4500 (納入67.5%氘)、至少5000 (納入75%氘)、至少5500 (納入82.5%氘)、至少6000 (納入90%氘)、至少6333.3 (納入95%氘)、至少6466.7 (納入97%氘)、至少6600 (納入99%氘)或至少6633.3 (納入99.5%氘)。

本發明之醫藥上可接受之溶劑合物包括其中結晶溶劑可經同位素取代之彼等，例如 D_2O 、 d_6 -丙酮、 d_6 -DMSO。

含有能夠起氫鍵之供體及/或受體作用之基團的本發明化合物可能夠使用適宜共晶體形成劑來形成共晶體。該等共晶體可藉由已知共晶體形成程序自本發明化合物製得。該等程序包括在結晶條件下在本發明化合物之溶液中與共晶體形成劑一起研磨、加熱、共昇華、共熔融、或接觸並分離藉此形成之共晶體。適宜共晶體形成劑包括闡述於WO 2004/078163中之彼等。因此，本發明進一步提供包含本發明化合物之共晶體。

除非本文另有說明或上下文另外明顯矛盾，否則本文所闡述之所有方法皆可以任一適宜順序實施。除非另外闡明，否則本文所提供之任何及所有實例或實例性語言(例如「諸如」)之使用皆僅意欲用於更好地說明本發明且並不對本發明範圍加以限制。

本發明提供新穎化合物、包括該等化合物之醫藥調配物及治療革蘭氏陰性細菌感染之方法。具體而言，該等化合物適用於治療由以下細節造成之感染：伯克氏菌屬、檸檬酸桿菌屬、腸桿菌屬、埃希氏菌屬、克雷伯氏菌屬、摩根菌屬、假單胞菌屬、變形桿菌屬、沙門桿菌屬、沙雷氏菌屬、不動桿菌屬、類桿菌屬、曲桿菌屬、奈瑟菌屬或寡養單胞菌屬細菌，包括本文所命名之物種。

經較重同位素(例如氘，即 ^2H)取代可因具有更強代謝穩定性而提供某些治療優勢，例如，或體內半衰期延長或劑量需求減少，且因此可在一些情況下較佳。舉例而言，不可交換烴鍵處之氘取代(例如， C-H)可阻滯活體內差向異構及/或代謝氧化。

經同位素標記之本發明化合物(即式(A)化合物)通常可藉由熟習此項技術者已知之習用技術來製備，或可藉由與闡述於隨附實例及製備部分中之彼等類似之製程使用經適當同位素標記之試劑替代先前採用的非標記試劑來製備。

在再一態樣中，本發明提供治療患有細菌感染之個體之方法，該方法包含以下步驟：與 β -內醯胺抗生素組合向有需要之個體投與抗細菌有效量之本發明化合物(例如式(A)化合物或其鹽)與醫藥上可接受之載劑。用於該等方法中之適宜 β -內醯胺抗生素包括(但不限於)青黴素，例如青黴素G、青黴素V、甲氧西林(methicillin)、扼煞西林(oxacillin)、氯唑西林(cloxacillin)、二氯唑西林、萘夫西林(nafcillin)、胺苄青黴素、阿莫西林、卡本西林、替卡西林、美洛西林、必倍西林、阿洛西林、替莫西林(temocillin)；頭孢菌素，例如頭孢噻吩(cephalothin)、頭孢匹林(cephapirin)、頭孢華定(cephradine)、頭孢利定(cephaloridine)、頭孢若

啉(cefazolin)、頭孢孟多(cefamandole)、頭孢呋辛(cefuroxime)、頭孢力新(cephalexin)、頭孢丙烯(cefprozil)、頭孢可若(cefaclor)、氯碳頭孢(loracarbef)、頭孢西丁(cefroxitin)、頭孢美唑(cefinetazole)、頭孢噻肟、頭孢唑肟(ceftizoxime)、頭孢曲松、頭孢哌酮、頭孢他啶、頭孢克肟(cefixime)、頭孢泊肟(cefpodoxime)、頭孢布烯(ceftibuten)、頭孢地尼(cefdinir)、頭孢匹羅(cefpirome)、頭孢吡肟、頭孢洛紮；碳氫黴烯，例如多尼培南、亞胺培南、美羅培南及帕尼培南、比阿培南；及單環 β 內醯胺，例如胺曲南及 β 內醯胺5(其揭示於本文中)。

本發明化合物之「有效量」係實質上加強與本發明化合物組合使用之 β -內醯胺抗生素之活性之量，諸如使得抗生素抵抗靶細菌之活性大至少4倍之量，亦即將針對靶標細菌之最低抑制濃度(或「最小抑制濃度」、「MIC」)降低至少4倍且較佳至少8倍之量。

如本文所用BLI加 β -內醯胺抗生素之組合之「有效量」係指有效治療個體(通常人類個體)之細菌感染之量。有效量取決於感染細菌對所選抗生素之敏感性及由組合使用之BLI提供之加強程度。熟習此項技術者可基於欲治療個體之參數、感染細菌及欲使用之組合確定該等組合之有效量，此可包括確定具體組合對所靶細菌之MIC。通常，欲治療之細菌係對至少一些 β -內醯胺抗生素具有抗性者，乃因該細菌表現 β -內醯胺酶活性。

本發明化合物亦可用於治療罹患或易感以下疾病之患者：皮膚感染、肺炎、敗血症、囊性纖維化、傷口、複雜糖尿病足、複雜腹腔內感染或複雜尿路感染及由革蘭氏陰性或革蘭氏陽性病原體造成之性傳播疾病。本發明化合物亦可用於由以下細菌物種造成之病況中：檸檬酸桿菌屬、腸桿菌屬、埃希氏菌屬、克雷伯氏菌屬、摩根菌屬、變形桿菌屬、沙門桿菌

屬、沙雷氏菌屬、假單胞菌屬、不動桿菌屬、類桿菌屬、伯克氏菌屬、曲桿菌屬、奈瑟菌屬或寡養單胞菌屬。具體而言，由以下細菌物種引起之細菌感染可藉由本文方法來治療：檸檬酸桿菌屬、腸桿菌屬、埃希氏菌屬、克雷伯氏菌屬、摩根菌屬、變形桿菌屬、沙門桿菌屬、沙雷氏菌屬、假單胞菌屬或不動桿菌屬。用於該治療之具體細菌物種包括弗氏檸檬酸桿菌、柯氏檸檬酸桿菌、陰溝腸桿菌、糞腸桿菌、屎腸桿菌(*Enterobacter faecium*)、大腸桿菌、克雷伯氏肺炎菌、產酸克雷伯氏菌、摩氏摩根菌、奇異變形桿菌、沙門桿菌屬、黏質沙雷氏菌、綠膿桿菌及鮑氏不動桿菌以及脆弱類桿菌、洋蔥伯克氏菌、空腸曲桿菌、淋病奈瑟菌及嗜麥芽寡養單胞菌。

術語「組合」意指呈一種劑量單位形式之固定組合，或用於組合投與之套組或說明書(其中本發明化合物及組合 β 內醯胺抗生素伴侶可同時獨立地或一起投與或在時間間隔內分開投與，該等時間間隔尤其容許該等組合伴侶顯示協作效應(例如協同效應))，或其任一組合。

本發明之實施例提供本發明化合物與 β 內醯胺抗生素及第三治療劑之醫藥組合。在一些實施例中，第三治療劑係另一抗細菌劑或另一 β -內醯胺酶抑制劑。在一些實施例中，該組合包括至少一種其他抗細菌劑，其可為選自下文所述類別之另一 β -內醯胺抗生素或另一抗細菌劑。用於本發明醫藥組合中之其他抗細菌劑之非限制性實例可選自以下群：

(1) 巨環內酯或酮內酯，例如紅黴素(erythromycin)、阿奇黴素(azithromycin)、克拉黴素(clarithromycin)及泰利黴素(telithromycin)；

(2) β -內醯胺抗生素，包括青黴素，例如青黴素G、青黴素V、甲氧西林、扼煞西林、氯唑西林、二氯唑西林、萘夫西林、胺苄青黴素、阿莫

西林、卡本西林、替卡西林、美洛西林、必倍西林、阿洛西林、替莫西林；頭孢菌素，例如頭孢噻吩、頭孢匹林、頭孢華定、頭孢利定、頭孢若啉、頭孢孟多、頭孢呋辛、頭孢力新、頭孢丙烯、頭孢可若、氯碳頭孢、頭孢西丁、頭孢美唑、頭孢噻肟、頭孢唑肟、頭孢曲松、頭孢哌酮、頭孢他啶、頭孢克肟、頭孢泊肟、頭孢布烯、頭孢地尼、頭孢匹羅、頭孢吡肟、頭孢洛紮；及碳氫黴烯，例如多尼培南、亞胺培南、美羅培南、帕尼培南；及單環 β 內醯胺，例如胺曲南及本文之 β -內醯胺5；

(3)糖肽，例如萬古黴素(vancomycin)及替考拉寧(teicoplanin)；

(4)喹諾酮(quinolone)，例如萘啶酮酸(nalidixic acid)、歐索林酸(oxolinic acid)、諾氟沙星(norfloxacin)、培氟沙星(pefloxacin)、依諾沙星(enoxacin)、氧氟沙星(ofloxacin)、左氧氟沙星(levofloxacin)、環丙沙星(ciprofloxacin)、替馬沙星(temafloxacin)、洛美沙星(lomefloxacin)、氟羅沙星(fleroxacin)、格裡沙星(grepafloxacin)、司帕沙星(sparfloxacin)、曲發沙星(trovafloxacin)、克林沙星(clinafloxacin)、加替沙星(gatifloxacin)、莫西沙星(moxifloxacin)、西他沙星(sitafloxacin)、加雷沙星(ganefloxacin)、吉米沙星(gemifloxacin)、德拉沙星(delafloxacin)及帕珠沙星(pazufloxacin)；

(5)抗細菌性磺醯胺及抗細菌性對胺基苯磺醯胺，包括對-胺基苯甲酸、磺胺二噁納、磺胺異噁唑、磺胺甲噁唑及酞醯磺胺噻唑；

(6)胺基糖苷，例如鏈黴素(streptomycin)、新黴素(neomycin)、康黴素(kanamycin)、巴龍黴素(paromycin)、慶大黴素(gentamicin)、妥布黴素(tobramycin)、阿米卡星(amikacin)、奈替米星(netilmicin)、大觀黴素(spectinomycin)、西索米星(sisomicin)、地貝卡星(dibekalin)、普拉左米

星(plazomicin)及異帕米星(isepamicin)；

(7) 四環素類(tetracyclines)，例如四環素、氯四環素(chlortetracycline)、去甲基氯四環素(demeclocycline)、米諾四環素(minocycline)、氧四環素(oxytetracycline)、美他環素(methacycline)、去氧經四環素(doxycycline)、替吉環素(tigecycline)及埃拉卡環素(eravacyclin)；

(8)利福平類(rifamycins)，例如利福平(亦稱為雷發平(rifampin))、利福噴汀(rifapentine)、利福布汀(rifabutin)、苯并噁嗪利福平及利福昔明(rifaximin)；

(9)林可醯胺類(lincosamides)，例如林可黴素(lincomycin)及克林達黴素(clindamycin)；

(10)鏈黴殺陽素類(streptogramins)，例如奎奴普丁(quinupristin)及達夫普丁(daflopristin)；

(11)噁唑啉酮類，例如利奈唑胺(linezolid)或特地唑胺(tedizolid)；

(12)多黏菌素(Polymyxin)、黏菌素(colistin)及多黏菌素E(colymycin)；

(13)甲氧苄啶(trimethoprim)及枯草菌素(bacitracin)；及

(14)外排幫浦抑制劑

(15) β -內醯胺酶抑制劑，諸如金屬 β -內醯胺酶抑制劑。

β -內醯胺或第二抗細菌劑可與本發明化合物組合投與，其中 β -內醯胺或第二抗細菌劑係在一或多種本發明化合物之前、同時或之後投與。當期望同時投與本發明化合物與第二或第三藥劑且投與途徑相同時，則本發明化合物可與第二藥劑一起調配成同一劑型。含有本發明化合物及第二或第

三藥劑之劑型之實例係靜脈內投與。替代實例係肌內投與包含本發明化合物及第二或第三藥劑之溶液。

本文所述之化合物及組合物可與 β -內醯胺及一或多種用作免疫調節劑之治療劑(例如共刺激分子之活化劑或免疫抑制分子之抑制劑或疫苗)組合使用或投與。程式化死亡1 (PD-1)蛋白質係T細胞調節劑之擴展CD28/CTLA4家族之抑制成員(Okazaki等人(2002) *Curr Opin Immunol* 14: 391779-82 ; Bennett等人(2003) *J. Immunol.*170:711-8)。PD-1係在經活化B細胞、T細胞及單核球上表現。PD-1係負面調節TCR信號之免疫抑制蛋白質(Ishida, Y.等人(1992) *EMBO J.* 11:3887-3895 ; Blank, C.等人(Epub 2006年12月29日) *Immunol. Immunother.* 56(5):739-745)，且在慢性感染中上調。PD-1與PD-L1之間之相互作用可充當免疫檢查點，其可導致例如浸潤性淋巴球之降低、T細胞受體介導之增殖之降低及/或癌性或感染細胞之免疫逃避(Dong等人(2003) *J. Mol. Med.* 81:281-7 ; Blank等人(2005) *Cancer Immunol. Immunother.* 54:307-314 ; Konishi 等人(2004) *Clin. Cancer Res.* 10:5094-100)。免疫抑制可藉由抑制PD-1與PD-L1或PD-L2之局部相互作用來逆轉；該效應在PD-1與PD-L2之相互作用亦被阻斷時係加性的(Iwai等人(2002) *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 99:12293-7 ; Brown等人(2003) *J. Immunol.* 170:1257-66)。免疫調節可藉由結合至免疫抑制蛋白(例如，PD-1)或調節抑制蛋白之結合蛋白(例如，PD-L1、PD-L2)來達成。

在一個實施例中，本發明之組合療法包括為免疫檢查點分子之抑制分子之抑制劑或拮抗劑的免疫調節劑。在另一實施例中，免疫調節劑結合至通常抑制免疫抑制檢查點分子之蛋白質。當與抗細菌化合物組合使用

時，該等免疫調節劑可增強抗微生物反應，且因此相對於單獨使用抗細菌化合物之治療增強效能。

術語「免疫檢查點」係指CD4及CD8 T細胞之細胞表面上之分子群。該等分子可有效地用作下調或抑制適應性免疫反應之「制動器」。免疫檢查點分子包括(但不限於)直接抑制免疫細胞之程式化死亡受體1 (PD-1)、細胞毒性T淋巴球抗原4 (CTLA-4)、B7H1、B7H4、OX-40、CD137、CD40及LAG3。可充當可用於本發明方法中之免疫檢查點抑制劑之免疫治療劑包括(但不限於) PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4及/或TGFR β 之抑制劑。抑制性分子之抑制可藉由抑制DNA、RNA或蛋白質含量來實施。在一些實施例中，可使用抑制性核酸(例如，dsRNA、siRNA或shRNA)來抑制抑制性分子之表現。在其他實施例中，抑制性信號之抑制劑係多肽，例如可溶性配體，或結合至抑制性分子之抗體或其抗原結合片段。

「與.....組合」並非意欲暗示療法或治療劑必須同時投與及/或經調配以一起遞送，但該等遞送方法在本文所述之範圍內。免疫調節劑可與一或多種本發明化合物及 β -內醯胺伴侶及視情況一或多種其他療法或治療劑同時、在其之前或之後投與。呈組合形式之治療劑可以任一順序投與。一般而言，每一藥劑將以對該藥劑確定之劑量及/或時間表投與應進一步瞭解，用於此組合中之治療劑可以單一組合物一起投與或以不同組合物分開投與。一般而言，預期用於組合中之每一治療劑係以不超過個別利用其時之量的量來使用。在一些實施例中，用於組合中之量將低於個別利用之彼等。

在某些實施例中，本文所闡述之 β -抑制劑係與 β -內醯胺及一或多種為PD-1、PD-L1及/或PD-L2之抑制劑之免疫調節劑組合來投與。每一該抑制劑可為抗體、其抗原結合片段、免疫黏附素、融合蛋白或寡肽。該等免疫調節劑之實例為業內已知。

在一些實施例中，免疫調節劑係選自MDX-1106、Merck 3475或CT-011之抗PD-1抗體。

在一些實施例中，免疫調節劑係免疫黏附素(例如，包含融合至恆定區(例如，免疫球蛋白序列之Fc區)之PD-L1或PD-L2之細胞外或PD-1結合部分之免疫黏附素)。

在一些實施例中，免疫調節劑係PD-1抑制劑，例如AMP-224。

在一些實施例中，免疫調節劑係PD-L1抑制劑，例如抗PD-L1抗體。

在一些實施例中，免疫調節劑係選自YW243.55.S70、MPDL3280A、MEDI-4736、MSB-0010718C或MDX-1105之抗PD-L1結合拮抗劑。MDX-1105 (亦稱為BMS-936559)係闡述於WO2007/005874中之抗PD-L1抗體。抗體YW243.55.S70係闡述於WO 2010/077634中之抗PD-L1。

在一些實施例中，免疫調節劑係尼沃魯單抗(nivolumab)(CAS登記號：946414-94-4)。尼沃魯單抗之替代名稱包括MDX-1106、MDX-1106-04、ONO-4538或BMS-936558。尼沃魯單抗係特異性阻斷PD-1之完整人類IgG4單株抗體。尼沃魯單抗(純系5C4)及特異性結合至PD-1之其他人類單株抗體揭示於US 8,008,449、EP2161336及WO2006/121168中。

在一些實施例中，免疫調節劑係抗PD-1抗體派姆單抗(Pembrolizumab)。派姆單抗(亦稱為蘭布魯珠單抗、MK-3475、

MK03475、SCH-900475或KEYTRUDA®；Merck)係結合至PD-1之人類化IgG4單株抗體。派姆單抗及其他人類化抗PD-1抗體揭示於Hamid, O.等人(2013) New England Journal of Medicine 369 (2): 134-44、US 8,354,509、WO2009/114335及WO2013/079174中。

在一些實施例中，免疫調節劑係結合至PD1之人類化IgG1k單株抗體匹利珠單抗(Pidilizumab，CT-011；Cure Tech)。匹利珠單抗及其他人類化抗PD-1單株抗體揭示於WO2009/101611中。

可作為免疫調節劑用於本文所揭示方法中之其他抗PD1抗體包括AMP 514 (Amplimmune)以及US 8,609,089、US 2010028330及/或US 20120114649中所揭示之抗PD1抗體。在一些實施例中，抗PD-L1抗體係MSB0010718C。MSB0010718C (亦稱為A09-246-2；Merck Serono)係結合至PD-L1之單株抗體。

在一些實施例中，免疫調節劑係結合至PD-L1之人類Fc最佳化IgG1單株抗體MDPL3280A (Genentech / Roche)。針對PD-L1之MDPL3280A及其他人類單株抗體揭示於美國專利第7,943,743號及美國公開案第20120039906號中。可作為免疫調節劑用於本發明方法之其他抗PD-L1結合劑包括YW243.55.S70 (參見WO2010/077634)、MDX-1105 (亦稱為BMS-936559)及WO2007/005874中所揭示之抗PD-L1結合劑。

在一些實施例中，免疫調節劑係AMP-224 (B7-DCIg；Amplimmune；例如WO2010/027827及WO2011/066342中所揭示)，其係阻斷PD1與B7-H1之間之相互作用的PD-L2 Fc融合物可溶性受體。

在一些實施例中，免疫調節劑係抗LAG-3抗體(諸如BMS-986016)。BMS-986016 (亦稱為BMS986016)係結合至LAG-3之單株抗體。BMS-

986016 及其他人類化抗LAG-3抗體揭示於US 2011/0150892、WO2010/019570及WO2014/008218中。

在某些實施例中，本文所揭示之組合療法包括共刺激分子或抑制分子(例如共抑制配體或受體)之調節劑。

在一個實施例中，共刺激分子之共刺激調節劑(例如激動劑)係選自以下之激動劑(例如，激動劑抗體或其抗原結合片段或可溶性融合物)：OX40、CD2、CD27、CDS、ICAM-1、LFA-1 (CD11a/CD18)、ICOS (CD278)、4-1BB (CD137)、GITR、CD30、CD40、BAFFR、HVEM、CD7、LIGHT、NKG2C、SLAMF7、NKp80、CD160、B7-H3或CD83配體。

在另一實施例中，本文所揭示之組合療法包括為共刺激分子之免疫調節劑，例如與包括CD28、CD27、ICOS及/或GITR之共刺激結構域之正信號相關之激動劑。

實例性GITR激動劑包括(例如)GITR融合蛋白及抗GITR抗體(例如，二價抗GITR抗體)，例如闡述於以下中之GITR融合蛋白：美國專利第6,111,090號、歐洲專利第090505B1號、美國專利第8,586,023號、PCT公開案第WO 2010/003118號及第2011/090754號，或闡述於以下中之抗GITR抗體：例如美國專利第7,025,962號、歐洲專利第1947183B1號、美國專利第7,812,135號、美國專利第8,388,967號、美國專利第8,591,886號、歐洲專利第EP 1866339號、PCT公開案第WO 2011/028683號、PCT公開案第WO 2013/039954號、PCT公開案第WO2005/007190號、PCT公開案第WO 2007/133822號、PCT公開案第WO2005/055808號、PCT公開案第WO 99/40196號、PCT公開案第WO 2001/03720號、PCT公開案第

WO99/20758號、PCT公開案第WO2006/083289號、PCT公開案第WO2005/115451號、美國專利第7,618,632號及PCT公開案第WO2011/051726號。

在一個實施例中，所用免疫調節劑係可溶性配體(例如，CTLA-4-Ig)或結合至PD-L1、PD-L2或CTLA4之抗體或抗體片段。舉例而言，抗PD-1抗體分子可與(例如)抗CTLA-4抗體(例如伊匹單抗(ipilimumab))組合投與。實例性抗CTLA4抗體包括曲美目單抗(Tremelimumab) (IgG2單株抗體，可自Pfizer購得，先前稱為替西木單抗(ticilimumab)、CP-675,206)；及伊匹單抗(CTLA-4抗體，亦稱為MDX-010，CAS編號477202-00-9)。

在一個實施例中，抗PD-1抗體分子係在使用如本文所述之本發明化合物治療後投與。

在另一實施例中，抗PD-1或PD-L1抗體分子係與抗LAG-3抗體或其抗原結合片段組合投與。在另一實施例中，抗PD-1或PD-L1抗體分子係與抗TIM-3抗體或其抗原結合片段組合投與。在其他實施例中，抗PD-1或PD-L1抗體分子係與抗LAG-3抗體及抗TIM-3抗體或其抗原結合片段組合投與。本文所列舉抗體之組合可分開(例如作為分開抗體)或結合(例如作為雙特異性或三特異性抗體分子)投與。在一個實施例中，投與包括抗PD-1或PD-L1抗體分子及抗TIM-3或抗LAG-3抗體或其抗原結合片段之雙特異性抗體。在某些實施例中，使用本文所列舉抗體之組合來治療癌症，例如如本文所述之癌症(例如，實體腫瘤)。可在業內已知之動物模型中測試上述組合之效能。舉例而言，測試抗PD-1及抗LAG-3之協同效應之動物模型闡述於例如Woo等人(2012) Cancer Res. 72(4):917-27)中。

可用於組合療法中之實例性免疫調節劑包括(但不限於)例如阿福圖珠單抗 (afutuzumab，可自 Roche® 購得)；聚乙二醇非格司亭 (pegfilgrastim，Neulasta®)；雷利寶邁 (lenalidomide，CC-5013、Revlimid®)；沙利寶邁 (thalidomide，Thalomid®)、艾迪美 (actimid，CC4047)；及細胞介素，例如 IL-21 或 IRX-2 (包括介白素 1、介白素 2 及干擾素 γ 之人類細胞介素之混合物，CAS 951209-71-5，可自 IRX Therapeutics 購得)。

可與本發明之抗細菌性化合物組合使用之該等免疫調節劑的實例性劑量包括約 1 mg/kg 至 10 mg/kg、例如 3 mg/kg 之抗 PD-1 抗體分子之劑量及約 3 mg/kg 之抗 CTLA-4 抗體(例如伊匹單抗)的劑量。

使用本發明化合物與 β 內醯胺抗生素及免疫調節劑之組合之方法實施例的實例包括該等：

i. 一種治療個體之細菌感染之方法，其包含向個體投與如本文所述之式(A)化合物及免疫調節劑。

ii. 如實施例 i 之方法，其中免疫調節劑係共刺激分子之活化劑或免疫檢查點分子之抑制劑。

iii. 如實施例 i 及 ii 中任一者之方法，其中共刺激分子之活化劑係以下中之一或多者之激動劑：OX40、CD2、CD27、CDS、ICAM-1、LFA-1 (CD11a/CD18)、ICOS (CD278)、4-1BB (CD137)、GITR、CD30、CD40、BAFFR、HVEM、CD7、LIGHT、NKG2C、SLAMF7、Nkp80、CD160、B7-H3 及 CD83 配體。

iv. 如上述實施例 i 至 iii 中任一者之方法，其中免疫檢查點分子之抑制劑選自 PD-1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、LAG3、VISTA、

BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4及TGFR β 。

v.如實施例i至iii中任一者之方法，其中免疫檢查點分子之抑制劑選自PD-1、PD-L1、LAG-3、TIM-3或CTLA4之抑制劑或其任一組合。

vi.如實施例i至v中任一者之方法，其中免疫檢查點分子之抑制劑係結合至免疫檢查點分子之可溶性配體或抗體或其抗原結合片段。

vii.如實施例i至vi中任一者之方法，其中抗體或其抗原結合片段來自IgG1或IgG4 (例如，人類IgG1或IgG4)。

viii.如實施例i至vii中任一者之方法，其中改變(例如突變)抗體或其抗原結合片段以增加或降低以下中之一或多者：Fc受體結合、抗體醮基化、半胱胺酸殘基數、效應細胞功能或補體功能。

ix.如實施例i至viii中任一者之方法，其中抗體分子係具有針對PD-1或PD-L1之第一結合特異性及針對TIM-3、LAG-3或PD-L2之第二結合特異性的雙特異性或多特異性抗體分子。

x.如實施例i至ix中任一者之方法，其中免疫調節劑係選自尼沃魯單抗、派姆單抗或匹利珠單抗之抗PD-1抗體。

xi.如實施例i至x中任一者之方法，其中免疫調節劑係選自YW243.55.S70、MPDL3280A、MEDI-4736、MSB-0010718C或MDX-1105之抗PD-L1抗體。

xii.如實施例i至x中任一者之方法，其中免疫調節劑係抗LAG-3抗體分子。

xiii.如實施例xii之方法，其中抗LAG-3抗體分子係BMS-986016。

xiv.如實施例i至x中任一者之方法，其中免疫調節劑係以下列劑量藉由注射(例如，皮下或靜脈內)投與之抗PD-1抗體分子：約1 mg/kg至30

mg/kg，例如約5 mg/kg至25 mg/kg、約10 mg/kg至20 mg/kg、約1 mg/kg至5 mg/kg或約3 mg/kg，例如每週一次至每2週、每3週或每4週一次。

xv.如實施例xiv之方法，其中抗PD-1抗體分子係以約10 mg/kg至20 mg/kg之劑量每隔一週投與。

xvi.如實施例xv之方法，其中抗PD-1抗體分子(例如尼沃魯單抗)係以約1 mg/kg至3 mg/kg、例如約1 mg/kg、2 mg/kg或3 mg/kg之劑量每兩週靜脈內投與。

xvii.如實施例xv之方法，其中抗PD-1抗體分子(例如尼沃魯單抗)係以約2 mg/kg之劑量以3週間隔靜脈內投與。

語言化合物之「有效量」係增強所使用之 β -內醯胺抗生素之效能從而治療或預防細菌感染及/或本文所述之疾病或病況之所需或足夠的量。在實例中，化合物之有效量係在與 β -內醯胺一起投藥時足以治療個體之細菌感染之量。在另一實例中，化合物之有效量係在與 β -內醯胺抗生素組合投藥時足以治療個體中由(但不限於)腸桿菌科物種及諸如此類造成之細菌感染之量。有效量可端視諸如以下等因素而變化：個體之大小及重量、疾病類型、造成疾病之細菌病原體之特徵(例如所產生 β -內醯胺酶之類型及含量)或本發明之特定化合物以及欲與本發明化合物一起使用之 β -內醯胺抗生素。舉例而言，本發明化合物之選擇可影響「有效量」之構成。熟習此項技術者應能對本文所含因素進行研究並作出關於本發明化合物之有效量的決定而無需過多實驗。

投與方案可影響有效量之構成。本發明化合物可在細菌感染開始之前或之後投與個體。通常，將該化合物投與經診斷患有細菌感染且需要該治療之個體。此外，可每6小時、每8小時、每12小時或每天或依序投與

若干分開劑量以及交錯劑量，或可連續輸注該劑量，或可濃注注射。此外，依據治療或預防情形之緊急程度，本發明化合物之劑量可按比例增加或降低。通常，本發明化合物將在至少5天、更通常至少7天或至少10天或至少14天之時程內、經由每天3次或4次輸注(每6小時或8小時)來投與。

本發明化合物可用於治療如本文所述之狀態、病症或疾病或用於製造用來治療該等疾病之醫藥組合物。本發明提供使用本發明化合物治療該等疾病或使用具有本發明化合物之醫藥製劑治療該等疾病之方法。

語言「醫藥組合物」包括適於投與哺乳動物(例如人類)之製劑。當本發明化合物作為醫藥投與哺乳動物(例如人類)時，其可以原狀或作為含有例如0.1%至99.5% (更佳0.5%至90%)活性成分與醫藥上可接受之載劑之組合的醫藥組合物給予。

片語「醫藥上可接受之載劑」為業內所公認且包括適於向哺乳動物投與本發明化合物之醫藥上可接受之材料、組合物或媒劑。載劑包括參與將個別藥劑自身體之一個器官或部分攜載或輸送至身體之另一器官或部分的液體或固體填充劑、稀釋劑、賦形劑、溶劑或囊封材料。在可與調配物之其他成分相容且不損害患者之意義上，每一載劑必須系「可接受的」。可用作醫藥上可接受之載劑之材料之一些實例包括：糖，例如乳糖、葡萄糖及蔗糖；澱粉，例如玉米澱粉及馬鈴薯澱粉；纖維素及其衍生物，例如羧甲基纖維素鈉、乙基纖維素及乙酸纖維素；粉末狀黃耆膠；麥芽；明膠；滑石；賦形劑，例如可可油及栓劑蠟；油，例如花生油、棉籽油、紅花油、芝麻油、橄欖油、玉米油及大豆油；二醇，例如丙二醇；多元醇，例如甘油、山梨醇、甘露醇及聚乙二醇；酯，例如油酸乙酯及月桂酸乙酯；瓊脂；緩衝劑，例如氫氧化鎂及氫氧化鋁；海藻酸；無熱源水；等滲

鹽水；林格氏溶液(Ringer's solution)；乙醇；磷酸鹽緩衝溶液；及用於醫藥組合物中之其他無毒相容物質。在一些實施例中，醫藥上可接受之載劑在與本發明化合物組合之前已滅菌。

在一些實施例中，本發明之醫藥組合物包含經編號實施例中任一者之化合物及至少一種醫藥上可接受之載劑或賦形劑。在某些實施例中，本發明之醫藥組合物包含經編號實施例中任一者之化合物及至少兩種醫藥上可接受之載劑或賦形劑。

潤濕劑、乳化劑及潤滑劑(諸如月桂基硫酸鈉及硬脂酸鎂)以及防腐劑及抗氧化劑亦可存在於組合物中。

醫藥上可接受之抗氧化劑之實例包括：水溶性抗氧化劑，例如抗壞血酸、半胱胺酸鹽、硫酸氫鈉、偏亞硫酸氫鈉、亞硫酸鈉及諸如此類；油溶性抗氧化劑，例如抗壞血酸棕櫚酸酯、丁基化羥基苯甲醚(BHA)、丁基化羥基甲苯(BHT)、卵磷脂、沒食子酸丙酯、 α -生育酚及諸如此類；及金屬螯合劑，例如檸檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨醇、酒石酸、磷酸及諸如此類。

本發明調配物包括適於經口、經鼻、吸入、局部、經皮、經頰、舌下、經直腸、經陰道及/或非經腸投與之彼等。通常，本發明化合物將以通常為等滲之溶液(例如鹽水或葡萄糖溶液)形式靜脈內投與。調配物可便捷地以單位劑型存在，且可藉由製藥領域熟知之任何方法來製備。可與載劑材料組合以產生單一劑型之活性成分之量通常應為產生治療效應之化合物的量。一般而言，以100%計，此量將在約1%至約99%活性成分、較佳約5%至約70%、最佳約10%至約30%之範圍內。

製備該等調配物或組合物之方法包括使本發明化合物與載劑及視情

況一或多種輔助成分混合之步驟。一般而言，藉由使本發明化合物與液體載劑均勻且緊密地結合來製備調配物。

適用於非經腸投與之本發明醫藥組合物包含一或多種本發明化合物以及一或多種醫藥上可接受之無菌等滲之含水或不含水溶液、分散液、懸浮液或乳液、或無菌粉末，該等無菌粉末可在即將使用前重構成無菌可注射溶液或分散液，該等醫藥組合物可含有抗氧化劑、緩衝劑、抑菌劑、可使調配物與預期接受者之血液等滲之溶質或懸浮劑或增稠劑。

可用於本發明醫藥組合物中之適宜水性及非水性載劑之實例包括水、乙醇、多元醇(例如，甘油、丙二醇、聚乙二醇及諸如此類)及其適宜混合物、植物油(例如橄欖油)及可注射有機酯(例如油酸乙酯)。舉例而言，藉由使用諸如卵磷脂等包衣材料、維持所需粒徑(在分散劑之情形下)及使用表面活性劑可維持適當流動性。

該等組合物亦可含有佐劑，例如防腐劑、潤濕劑、乳化劑及分散劑。微生物作用之預防可藉由納入各種抗細菌及抗真菌劑來確保，例如對羥基苯甲酸、氯丁醇、苯酚山梨酸及諸如此類。該等組合物中亦可期望包含等滲劑，例如糖、氯化鈉及諸如此類。此外，可藉由納入延遲吸收之藥劑(例如，單硬脂酸鋁及明膠)達成可注射醫藥形式之長效吸收。

可注射儲積形式係藉由在生物可降解聚合物(例如聚交酯-聚乙交酯)中形成標的化合物之微囊封基質來製備。端視藥物對聚合物之比率及所用具體聚合物之性質，可控制藥物釋放速率。其他生物可降解聚合物之實例包括聚(原酸酯)及聚(酸酐)。儲積可注射調配物亦可藉由將藥物包裹入與身體組織相容之脂質體或微乳液中來製備。

可經口、非經腸、經局部或經直腸給予本發明製劑。當然，其係藉

由適於每一投與途徑之形式來給予。舉例而言，其係以錠劑或膠囊形式藉由注射、吸入來投與；以眼用洗劑、軟膏劑、栓劑等形式藉由注射、輸注或吸入來投與；以洗劑或軟膏劑形式局部投與；及以栓劑形式經直腸投與。以靜脈內投與較佳。

本文所使用之片語「非經腸投與 (parenteral administration 及 administered parenterally)」意指除經腸及局部投與外，通常藉由注射之投與模式，且包括(但不限於)靜脈內、肌內、動脈內、鞘內、囊內、眶內、心內、真皮內、腹膜腔內、經氣管、皮下、表皮下、關節內、囊下、蛛膜下、脊椎內及胸骨內注射及輸注。

如本文所使用之片語「全身性投與」、「以全身方式投與」、「外周性投與」及「以外周方式投與」意指以除直接進入中樞神經系統以外之方式投與化合物、藥物或其他材料，使得其進入患者全身且由此進行代謝及其他類似過程，例如皮下投與。

該等化合物可藉由任何適宜投與途徑投與人類及其他動物，用於療法，包括肌內注射、經口、經鼻、以(例如)噴霧劑形式吸入、經直腸、陰道內、非經腸、腦池內及以粉末、軟膏劑或滴劑形式經局部(包括經頰及舌下)。在一些實施例中，本發明化合物係藉由注射或輸注，通常藉由輸注來投與，且其可與 β -內醯胺抗生素一起共投與。 β -內醯胺抗生素可藉由任一適當途徑來投與；在一些實施例中， β -內醯胺抗生素係經口投與，且在其他實施例中， β -內醯胺抗生素係藉由注射或輸注來投與。當本發明化合物係與 β -內醯胺抗生素一起共投與，且二者係藉由相同途徑來投與時，其可視情況混合，以藉由注射或輸注來投與，或其可分開投與，前提係 β -內醯胺酶抑制劑連同 β -內醯胺抗生素一起全身性地存在於經治療個體中，

從而可出現加強。

無論選擇何種投與途徑，可以適宜水合形式使用之本發明化合物及/或本發明醫藥組合物係藉由熟習此項技術者已知之習用方法調配成醫藥上可接受之劑型。

本發明醫藥組合物中活性成分之實際劑量值可有所變化，以獲得可有效地達成具體患者、組合物及投與模式之期望治療反應，且對患者無毒之活性成分量。

所選劑量將端視眾多種因素而定，該等因素包括所用本發明具體化合物或其鹽之活性、投與途徑、投與時間、所用具體化合物之排泄速率、治療之持續時間、與所用具體化合物組合使用之其他藥物、化合物及/或材料、所治療患者之年齡、性別、體重、病況、一般健康狀況及先前病史、造成感染之細菌病原體之屬、種及菌株及已為醫學界熟知之類似因素。

一般而言，本發明化合物之適宜日劑量係可有效地產生治療效應之劑量之化合物量。此一有效劑量通常將端視上述因素而定。一般而言，在與用於指示抗細菌效應之 β 內醯胺組合使用時，用於患者之本發明化合物之靜脈內及皮下劑量將在約2 mg至約100 mg/公斤體重/天、更佳約5 mg至約100 mg/公斤體重/天、且再更佳約10 mg至約50 mg/kg/天之範圍內。有效量為在與 β -內醯胺抗生素組合投藥時治療細菌感染之量。

若期望，活性化合物之有效日劑量可以2、3、4、5、6或更多個子劑量來投與，該等子劑量係以適宜間隔在全天內、視情況以單位劑型或以連續輸注分開投與。

儘管本發明化合物可單獨投與，但較佳以醫藥組合物形式投與該化

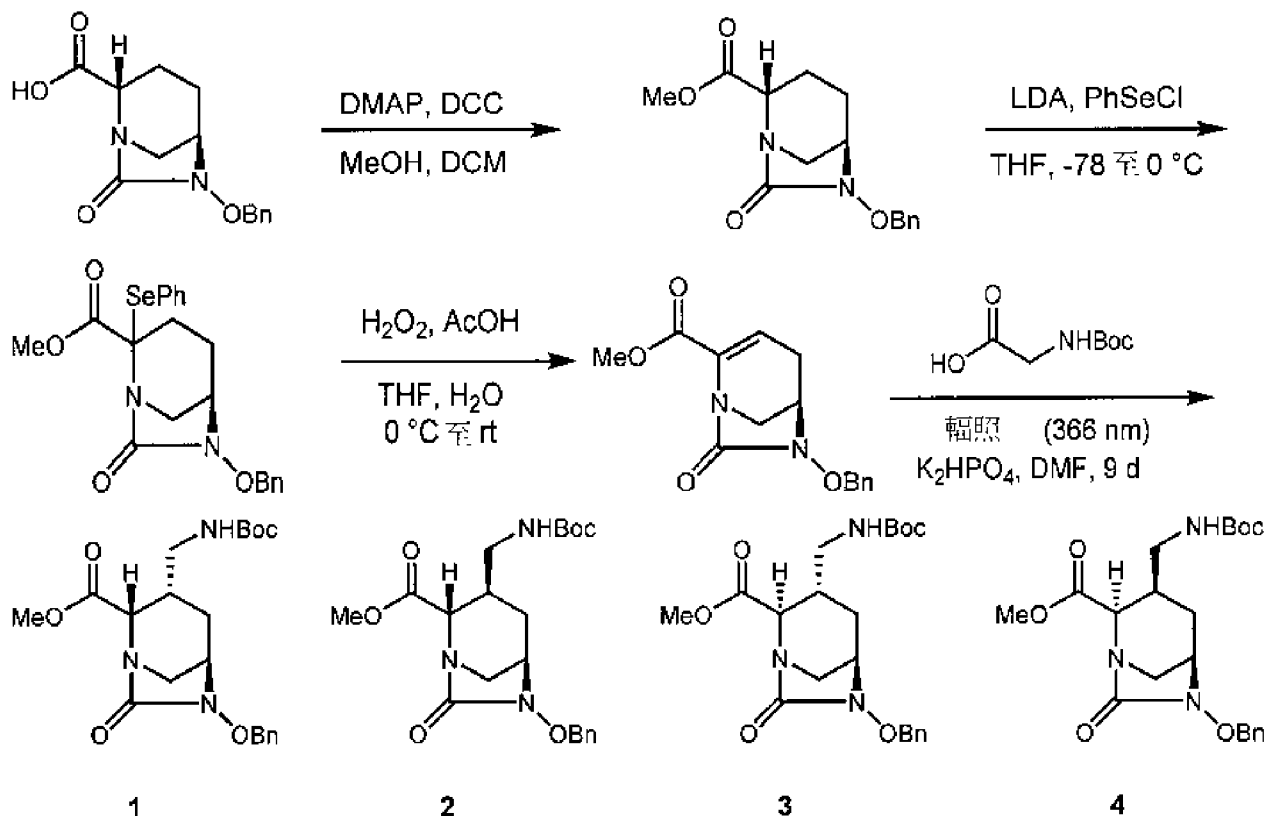
合物。

如實施例中所定義之化合物可藉由以下一般合成途徑來合成，其特定實例更詳細闡述於實例中。

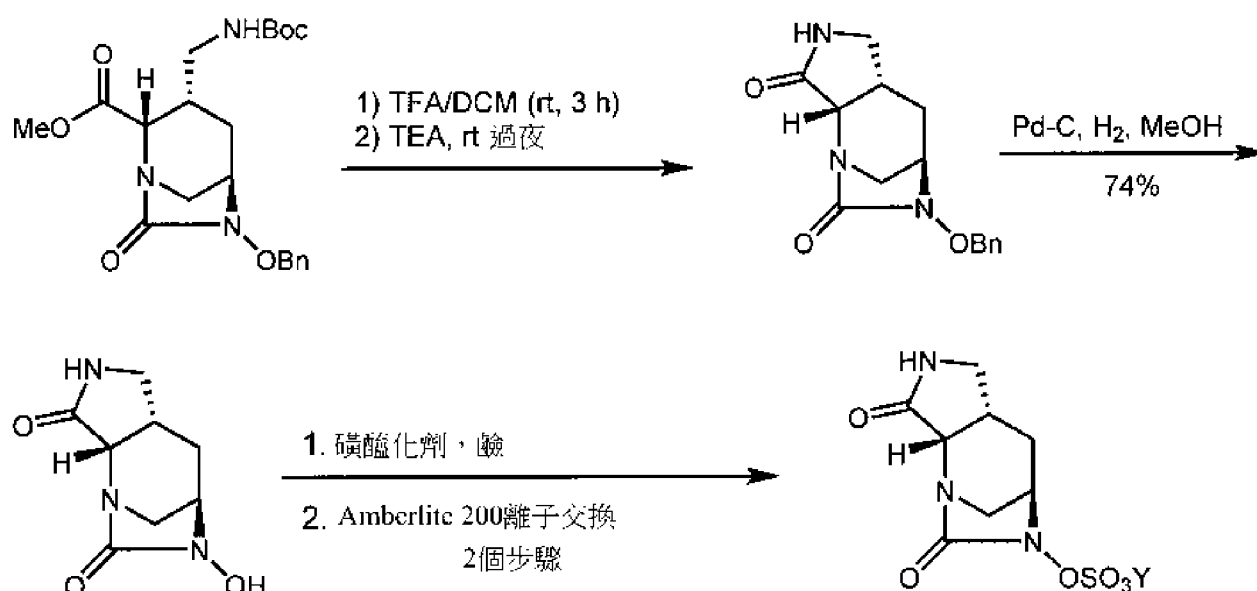
一般合成方案

以下反應方案中繪示一種用於合成式(I)化合物之方法。方案A闡釋以經保護形式官能化已知二氮雜二環辛烷骨架以引入胺基烷基，如工作實例中所闡述。方案B闡釋稠合內醯胺環之形成，該形成亦藉由實例來闡釋。方案C闡釋內醯胺可如何容易地*N*-烷基化以引入視情況經取代之烷基。

方案A



方案B



磺醯化劑之實例包括(但不限於)三氧化硫吡啶複合物及諸如此類。

鹼之實例包括(但不限於)吡啶及諸如此類。

實例

藉由以下實例進一步闡釋本發明，其不應理解為具有限制性。在實例通篇中使用之分析係可接受的。該等分析中效能之展示可預測個體中之效能。

一般條件

質譜係在LC-MS、SFC-MS或GC-MS系統上使用電噴霧、化學及電子碰撞電離方法自以下構形之一系列儀器來獲取：Waters ACQUITY UPLC系統且配備有ZQ 2000或SQD MS系統，其(M+1)係指化學物質之質子化分子離子，(M+)係指未經質子化之四級銨陽離子，且(M-1)係指化學物質之去質子化分子離子。

在Bruker BioSpin 600MHz、Bruker AVANCE 500MHz或Varian 400MHz NMR光譜儀上、使用ICON-NMR、在TopSpin程式控制下運行NMR光譜。除非另外指示，否則光譜係在298K下量測，且相對於溶劑共振來參考。

儀器配置

MS方法：

方法2m_酸性：

管柱 Kinetex C18 50 × 2.1 mm, 2.6 μm

管柱溫度 50℃

溶析劑 A：H₂O，B：乙腈，二者含有0.1% TFA

流速 1.2 mL/min

梯度 2%至88% B保持1.30 min，0.15 min 95% B

方法2m_酸性_極性：

管柱 Kinetex C18 50 × 2.1 mm, 2.6 μm

管柱溫度 50℃

溶析劑 A：H₂O，B：乙腈，二者含有0.1% TFA

流速 1.2 mL/min

梯度 1%至30% B保持1.30 min，0.15 min 98% B

方法T3_3m_極性：

管柱 T3 C18 50 × 2.1 mm, 2.6 μm

管柱溫度 50℃

溶析劑 A：H₂O，B：乙腈，二者含有0.1% TFA

流速 1.2 mL/min

梯度 100% A保持1.1 min，30% B保持1.20 min，95% B保持0.7

min

方法LCMS_2 MIN_反應_監測：

管柱 Acquity UPLC HSS T3 50 × 2.1 mm, 1.8 μm

管柱溫度 60℃

溶析劑 A：H₂O，B：乙腈，二者含有0.05% TFA

流速 1.0 mL/min

梯度 5%至98% B保持1.4 min

UV檢測 TAC (210-450 nm)

方法LCMS_2_MIN_最終_分析：

管柱 Acquity UPLC HSS T3 50 × 2.1 mm, 1.8 μm

管柱溫度 60℃

溶析劑 A：H₂O (0.05% FA+3.75 mM AA，B：乙腈(0.04% FA)

流速 1.0 mL/min

梯度 5%至98% B保持1.4 min

UV檢測 TAC (210-450 nm)

方法LCMS_2_MIN_極性：

管柱 Acquity UPLC HSS T3 50 × 2.1 mm, 1.8 μm

管柱溫度 60℃

溶析劑 A：H₂O (0.05% FA+3.75 mM AA，B：乙腈(0.04% FA)

流速 1.0 mL/min

梯度 凹形，1%至98% B保持1.4 min

UV檢測 TAC (210-450 nm)

方法HPLC_手性：

管柱 Chiralpak IC KK025 250 × 4.6 mm, 5 μm

管柱溫度 rt

溶析劑 庚烷/EtOH/二乙胺92:8:0.05

流速 1.0 mL/min

UV檢測 220 nm

縮寫：

AA 乙酸銨

ACN 乙腈

app 表觀

ATP 5'-三磷酸腺苷

BINAP 外消旋2,2'-雙(二苯基膦基)-1,1'-聯萘

Boc 第三丁基羧基

br 寬峰

br s 寬單峰

BSA 牛血清白蛋白

d 雙重峰

dd 雙重峰之雙重峰

DCC 二環己基碳化二亞胺

DCE 1,2-二氯乙烷

DCM 二氯甲烷

DIAD 偶氮二甲酸二異丙基酯

DIPEA 二異丙基乙胺

DMAP 4-(*N,N*-二甲基胺基)吡啶

DME 1,4-二甲氧基乙烷

DMF *N,N*-二甲基甲酰胺

DMSO 二甲亞砜

EDTA 乙二胺四乙酸

ESI 電噴霧電離

EtOAc 乙酸乙酯

FA 甲酸

g 克

h 小時

HATU 1-[雙(二甲基胺基)亞甲基]-1*H*-1,2,3-三唑并[4,5-*b*]吡啶鎢
3-氧化物六氟磷酸鹽

HBTU 1-[雙(二甲基胺基)亞甲基]-1*H*-苯并三唑鎢六氟磷酸鹽(1-)
3-氧化物

HCl 鹽酸

HOBt 1-羥基苯并三唑

HPLC 高效液相層析

LCMS 液相層析及質譜

LDA 二異丙基醯胺鋰

MeOH 甲醇

MS 質譜法

m 多重峰

mg 毫克

MIC 最低或最小抑制濃度

min 分鐘

mL 毫升

mmol 毫莫耳

m/z 質荷比

NMR 核磁共振

o/n 過夜

p 五重峰

$\text{PdCl}_2(\text{dppf})\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 1,1'-雙(二苯基膦基)二茂鐵-二氯化鈾(II)二氯甲烷錯合物

ppm 百萬份數

PyBOP 苯并三唑-1-基氧基三吡咯啶基磷六氟磷酸鹽

q 四重峰

rac 外消旋

rbf 圓底燒瓶

rt 室溫

R_t 保留時間

s 單峰

t 三重峰

TBME 甲基第三丁基醚

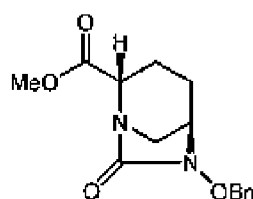
TFA 三氟乙酸

TFAA 三氟乙酸酐

THF 四氫呋喃

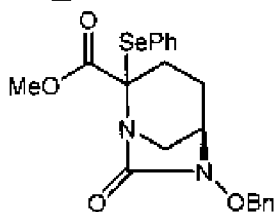
Tris·HCl 胺基參(羥基甲基)甲烷鹽酸鹽

中間體之製備



第 58 頁(發明說明書)

中間體A：(2*S*,5*R*)-6-(苄基氧基)-7-側氧基-1,6-二氮雜二環[3.2.1]辛烷-2-甲酸甲酯。在0℃下向(2*S*,5*R*)-6-(苄基氧基)-7-側氧基-1,6-二氮雜二環[3.2.1]辛烷-2-甲酸(5.0 g, 18.1 mmol)、MeOH (880 μ L, 21.7 mmol)及DMAP (44 mg, 0.36 mmol)於DCM (50 mL)中之溶液中添加DCC (3.92 g, 19.0 mmol)。在rt下2 h後，用DCM將其稀釋並用水、然後鹽水洗滌。用DCM (2 $\times$)萃取水層並將合併之有機層經Na₂SO₄乾燥，過濾，然後在真空中濃縮。用乙醚研磨粗製殘餘物，過濾並在真空中濃縮。矽膠層析純化粗製濾液以得到標題化合物(4.3 g, 82%)。LCMS R_t = 0.87 min, m/z = 291.3 (M+1)，方法2 MIN_反應_監測。

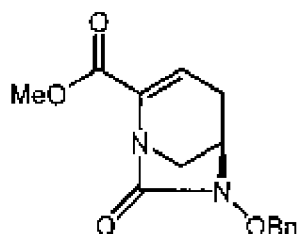


中間體B：(5*R*)-6-(苄基氧基)-7-側氧基-2-(苯基硒基)-1,6-二氮雜二環[3.2.1]辛烷-2-甲酸甲酯。在-70℃下經10分鐘向二異丙胺(29.6 ml, 210 mmol)於THF (800 mL)中之溶液中逐滴添加正丁基鋰(1.6 M於己烷中，108 ml, 172 mmol)。在-73℃下攪拌50分鐘之後，經45分鐘逐滴添加(2*S*,5*R*)-6-(苄基氧基)-7-側氧基-1,6-二氮雜二環[3.2.1]辛烷-2-甲酸甲酯(43.5 g, 150 mmol)於THF (350 mL)中之溶液。在-78℃下攪拌1.5小時之後，經45分鐘逐滴添加於THF (260 mL)中之苯基氯化硒(57.4 g, 300 mmol)。在-78℃下攪拌45 min之後，經60分鐘使其升溫至-10℃並再攪拌1小時，隨後使其冷卻至-30℃並用HCl (2 M, 50 mL)淬滅，隨後添加甲醇(250 mL)。經15 min使混合物達到rt，然後用TBME (1 L)稀釋並用鹽水：水(2:1, 2 L)洗滌。分離各相，並用鹽水(2 L)洗滌有機相。用TBME (2 $\times$ 500 mL)萃取水層。將合併之有機相經Na₂SO₄乾燥，過濾並在真空中

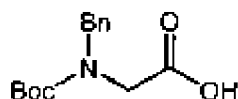
第 59 頁(發明說明書)

C208342PBX20210621C.docx

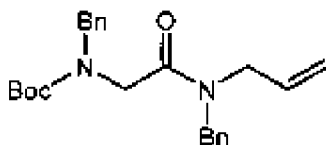
濃縮。經由矽膠層析純化粗製殘餘物，得到褐色油狀標題化合物(23.70 g, 36%, 非鏡像異構物之3:1混合物)。LCMS $R_t = 1.12/1.16$ min, $m/z = 447.3$ (M+1)，方法2 MIN_反應_監測； ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3 , 主要非鏡像異構物) δ 7.59 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.42-7.30 (m, 8H), 5.00 (d, $J = 11.5$ Hz, 1H), 4.88 (d, $J = 11.5$ Hz, 1H), 4.15 (d, $J = 11.7$ Hz, 1H), 3.68 (s, 3H), 3.35 (s, 1H), 3.18 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H), 2.44 (ddd, $J = 17.4, 11.8, 6.6$ Hz, 1H), 2.07-2.01 (m, 1H), 1.91 (dd, $J = 16.6, 5.8$ Hz, 1H), 1.72 (td, $J = 12.9, 6.0$ Hz, 1H)。



中間體C：(5R)-6-(苄基氧基)-7-側氧基-1,6-二氮雜二環[3.2.1]辛-2-烯-2-甲酸甲酯。在 0°C 下向中間體B於THF:水(20:1, 22 mL)中之溶液中添加 H_2O_2 (30% aq, 0.8 mL, 7.83 mmol)及AcOH (0.55 mL, 9.61 mmol)。在 0°C 下攪拌1小時之後，用EtOAc對其進行稀釋並添加亞硫酸鉀(5% aq)。在破壞所有過氧化物(KJ-stärke測試)之後，分離各相並用鹽水洗滌有機層。用EtOAc萃取水層並用 NaHCO_3 (5% aq)、鹽水洗滌合併之有機層，經 Na_2SO_4 乾燥，過濾並在真空中濃縮。經由矽膠層析純化粗殘餘物，以得到標題化合物(419 mg, 81%)。LCMS: $R_t = 0.88$ min, $m/z = 288.1$ (M+1)，方法2_MIN_最終_分析。 ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7.45-7.41 (m, 2H), 7.40-7.33 (m, 3H), 6.88-6.86 (m, 1H), 4.89 (s, 2H), 3.96 (br s, 1H), 3.67 (s, 3H), 3.35-3.28 (m, 1H), 2.82 (d, $J = 11.0$ Hz, 1H), 2.58-2.52 (m, 1H), 2.38 (s, 1H), 2.34 (s, 1H)。

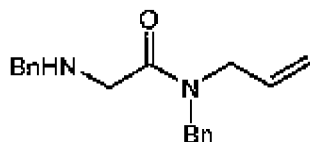


中間體D：N-苄基-N-(第三丁氧基羰基)甘胺酸。向N-苄基甘胺酸(24.3 g, 147 mmol)於THF:水(1:1, 500 mL)中之懸浮液中添加Boc-酸酐(33.7 g, 154 mmol)。6.5 h之後，用TBME (250 mL)稀釋混合物並添加檸檬酸(33 g)直至pH = 4為止。在攪拌10 min後，分離各相並用鹽水(250 ml)洗滌有機相。用TBME (2×100 mL)洗滌水層並將合併之有機相經Na₂SO₄乾燥，過濾，然後在真空(45℃)中濃縮，得到無色油狀標題化合物(40.70 g)，其在靜置時開始結晶。HPLC: 99.7% (藉由UV)，LCMS: R_t = 0.94 min, m/z = 264.3 (M-H)，方法LCMS_ 2_MIN_最終_分析。¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)* δ 12.62 (br s, 1 H), 7.44-7.09 (m, 5 H), 4.41 (d, *J* = 8.1 Hz, 2 H) 1.44-1.24 (m, 9 H) 3.89-3.67 (m, 2 H)。*作為具有O(Boc)₂ (約9%)之混合物。

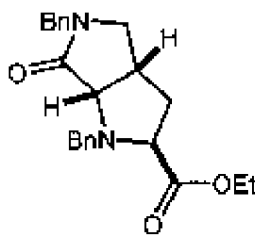


中間體E：(2-(烯丙基(苄基)胺基)-2-側氧基乙基)(苄基)胺基甲酸第三丁基酯。用中間體D (31.6 g, 107 mmol)隨後EtOAc (500 mL)裝填具有機械攪拌器、內部溫度計、冷凝器及氮入口之1500 mL 4頸反應燒瓶。在冰浴(4℃)中冷卻反應混合物，隨後添加N-烯丙基苄基胺(16.44 g, 107 mmol)及丙基膦酸酐(T3P, 136 g, 214 mmol, 50%於乙酸乙酯中)。經5 min向混合物中逐滴添加三乙胺(90 mL, 643 mmol)。在rt下將褐色溶液攪拌20 min然後倒入冰水之攪拌混合物(500 mL)中。分離各相並用HCl (0.5 N, 500 mL)、飽和NaHCO₃ (500 mL)及鹽水(500 mL)接續洗滌有機相。用EtOAc (2×250 mL)萃取初始水層且經Na₂SO₄乾燥合併之有機層，過濾

並在真空中在(45℃)下濃縮，得到褐色油狀標題化合物(43.94 g)。LCMS: $R_t = 1.31$, min $m/z = 395.5$ (M+1)，方法LCMS_ 2_MIN_最終_分析。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.53-6.99 (m, 10 H), 5.94-5.55 (m, 1 H), 5.24-4.97 (m, 2 H) 4.55-4.25 (m, 4 H), 4.16-3.68 (m, 4 H), 1.42-1.28 (m, 9 H)。

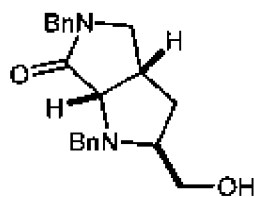


中間體F：N-烯丙基-N-苄基-2-(苄基胺基)乙醯胺。用於DCM (400 mL)中之中間體E (43.9 g, 108 mmol)裝填配備有機械攪拌器、內部溫度計、冷凝器及氮入口之750 ml 4頸反應燒瓶。向溶液中添加TFA (83 ml, 1.079 mol)。在攪拌過夜之後，將黃色溶液緩慢倒入(快速氣體逸出)飽和NaHCO₃溶液(aq, 1.5 L)及冰(1 kg)之攪拌混合物中。在攪拌10 min之後，分離各相並用½飽和NaHCO₃ (aq, 0.5 L)然後鹽水(0.5 L)洗滌有機相。用DCM (0.5 L)萃取水層並將合併之有機層經Na₂SO₄乾燥，過濾並在真空(45℃)中濃縮，以得到褐色油狀標題化合物(31.30 g)。LCMS: $R_t = 0.71$ min $m/z = 295.3$ (M+1)，方法LCMS_ 2_MIN_最終_分析。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 7.49-7.04 (m, 10 H), 5.90-5.55 (m, 1 H), 5.19-4.92 (m, 2 H), 4.64-4.37 (m, 2 H), 3.98-3.76 (m, 2 H), 3.73-3.61 (m, 2 H), 3.44-3.32 (m, 2 H), 2.44-2.28 (m, 1 H)。



中間體G：外消旋(2*S**,3*aS**,6*aS**)-1,5-二苄基-6-側氧基八氫吡咯并

[3,4-*b*]吡咯-2-甲酸乙酯。向配備有Huber恒溫器390W、具有自動化溫度、劑量控制之Flexy ALR及氮入口之氮惰性化之60 L Buechi反應器CR60中添加中間體F (1.460 kg, 4.81 mol)於甲苯(20 L)中之溶液、硫酸鎂(2.32 kg, 19.24 mol)及三乙胺(0.872 L, 6.25 mol)。在1小時內將淺黃色懸浮液加熱至回流。經15 h經由劑量幫浦向回流混合物中添加乙醛酸乙酯(50%於甲苯中, 1.179 kg, 5.77 mol)。在回流下再攪拌6 h之後, 使黃色懸浮液冷卻至15°C (內部溫度), 隨後添加水(20 L)(放熱)。在攪拌15 min之後, 將混合物轉移至80 L分離器皿並分離各相。用水(15 L)然後鹽水(15 L)接續萃取有機層。用TBME (2×10 L)洗滌水層。藉助矽藻土(含於可溶性材料中)過濾第二TBME洗滌物, 用TBME溶析。在真空(45°C)中將合併之有機相部分地濃縮至6 L之體積, 經Na₂SO₄乾燥, 過濾並在真空(50°C)中濃縮。將此物質進一步乾燥過夜(50°C, 10毫巴(mbar)), 以得到褐色油狀標題化合物(1.970 kg), 該標題化合物係非鏡像異構物之5.2:1混合物。LCMS: R_t = 1.21 min (67.1% a) m/z = 379.3 (M+1); (12.9% a)在R_t = 1.16 min下m/z = 379.3 (M+1), 方法LCMS_ 2_MIN_最終_分析。

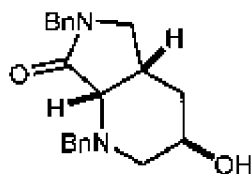


中間體H：外消旋(2*S**,3*aS**,6*aS**)-1,5-二苄基-2-(羥基甲基)-六氫吡咯並-[3,4-*b*]吡咯-6(1*H*)-酮。在0°C下在配備有Huber恒溫器1015W、Flexy ALR、自動化溫度控制及氮入口之氮惰性化之30 L Büchi反應器CR30內經10 min向中間體G (1.967 kg, 5.847 mol)於THF (20 L)中之溶液中逐份添加硼氫化鋰(0.238 kg, 10.39 mol) (稍微放熱)。在rt下5天後, 引入其他硼氫化鋰(0.025 kg, 1.143 mol)。在rt下再過5天後, 添加硼氫化鋰

第 63 頁(發明說明書)

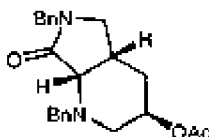
C208342PBX20210621C.docx

(0.017 kg, 0.780 mol)。再過6天後，使混合物冷卻至 -10°C ，隨後經由劑量幫浦經2 h逐滴添加HCl (2 N, 8 L)，得到 $\text{pH} = 3$ (注意：形成極強氣體及泡沫!)。在劇烈攪拌之後，形成黃色懸浮液，將該懸浮液在 0°C 下攪拌30 min。添加飽和 NaHCO_3 (aq, 10 L)並將混合物轉移至80 L分離器皿且在添加水(8L)之後用TBME (20 L)萃取，該水輔助相分離。用鹽水(2×10 L)洗滌有機相並用TBME (2×7 L)萃取水層。在真空(45°C)中將合併之有機層濃縮至8 L之體積，然後經 Na_2SO_4 乾燥，過濾並在真空(50°C)中濃縮。將殘餘物溶解於甲苯(3 L)中，在真空中濃縮並乾燥3 h (50°C , 10毫巴)，以得到黃褐色油狀標題化合物(1.630 kg)，該標題化合物係非鏡像異構物之10.5:1混合物。LCMS: $R_t = 0.77$ min* $m/z = 337.3$ (M+1)，方法LCMS_2_MIN_最終_分析。*主要非鏡像異構物。



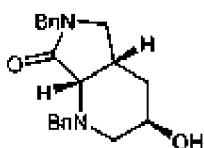
中間體I：外消旋($3R^*, 4aS^*, 7aS^*$)-1,6-二苄基-3-羥基八氫-7H-吡咯并[3,4-b]吡啶-7-酮。在 -5°C 下經35 min向於配備有自動化溫度控制、Unistat 390W、回流冷凝器及氮入口之氮惰性化30 L三夾套Amsi Glas反應器中之中間體H (1.627 kg, 4.836 mol)、分子篩(4 Å, 2.5 kg)及THF (23 L)之懸浮液中逐滴添加TFAA (0.820 L, 5.81 mol)。在 0°C 下攪拌15 min之後，經10 min添加三乙胺(3.37 L, 24.18 mol)，隨後將其加熱至回流(內部溫度 68°C)並保持6天，達到9:1之產物對起始材料之平衡比。將混合物轉移至含有冰冷NaOH (1 M, 24 L)之80 L分離器皿中並攪拌15 min。向褐色懸浮液中添加矽藻土(3 kg)，在其中將其攪拌15 min，然後經由矽藻土墊過濾，用TBME洗滌。用TBME (20 L)萃取濾液。用飽和 NaHCO_3 (aq,

10 L)然後鹽水(1×15 L)洗滌有機相。用TBME (2×7 L)萃取水層並在真空(45℃)中將合併之有機層濃縮至8 L之體積並經Na₂SO₄ (2 kg)乾燥。經由矽膠(1 kg, 40-63 μm)過濾懸浮液，用EtOAc (4×2 L)洗滌。在真空(45℃)中濃縮溶析液並乾燥3 h (50℃, 15毫巴)，以得到深褐色油狀標題化合物(1.366 kg)。LCMS: R_t = 0.84 min, m/z = 337.3 (M+1)，方法LCMS_2_MIN_最後_分析。¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.40-7.15 (m, 10 H), 4.69-4.57 (m, 1 H), 4.65-4.56 (m, 1 H), 4.43 (d, *J* = 13.8 Hz, 1 H), 4.29-4.21 (m, 1 H), 3.62-3.49 (m, 1 H), 3.46-3.39 (m, 1 H), 3.18 (d, *J* = 8.3 Hz, 2 H), 2.86 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 2.70 (dd, *J* = 10.7, 2.7 Hz, 1 H), 2.66-2.56 (m, 1 H), 1.83-1.67 (m, 2 H), 1.39-1.29 (m, 1 H)。

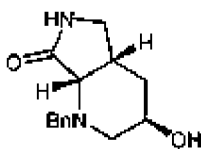


中間體J：(3*R*,4*aS*,7*aS*)-乙酸1,6-二苄基-7-側氧基八氫-1*H*-吡咯并[3,4-*b*]-吡啶-3-基酯。將於具有自動化溫度控制、Unistat 390W、冷凝器及氮入口之氮惰性化之30 L三夾套反應器中之中間體I (1.364 kg, 3.04 mol)、乙酸乙烯酯(4.20 L, 45.6 mol)、脂酶QLM (產鹼桿菌屬(*Alcaligenes* sp)形式，Meito Sangyo，活性：101400 U/g，25 g，3.04 mol)及TBME (21 L)之懸浮液在30℃ (內部溫度)下攪拌6天。使混合物冷卻至20℃並經由hyflo (500 g)過濾。在真空(35℃)中將濾液濃縮至3 L之體積，隨後添加甲苯(1 L)，然後在真空(35℃，然後在50℃下)中進一步濃縮。將粗產物溶解於TBME:庚烷(2:1, 3 L)中並以若干份經由矽膠層析(庚烷-EtOAc-甲醇)進行純化，得到褐色油狀標題化合物(626 g)。LCMS: R_t = 1.16 min, m/z = 379.3 (M+1)，方法LCMS_2_MIN_最後_分析。

HPLC: $R_t = 33.45$ min, 98.2% ee (次要鏡像異構物: $R_t = 23.92$ min)方法 HPLC_手性。 ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 7.41-7.22 (m, 10 H), 4.74-4.65 (m, 1 H) 4.56-4.51 (m, 1 H), 4.36-4.26 (m, 2 H), 3.75 (d, $J = 14.3$ Hz, 1 H) 3.30-3.21 (m, 2 H) 3.00 (dd, $J = 9.5, 5.9$ Hz, 1 H), 2.75-2.68 (m, 1 H), 2.62 (sxt, $J = 6.2$ Hz, 1 H), 2.23 (dd, $J = 11.6, 7.2$ Hz, 1 H), 1.97 (s, 3 H), 1.66 (t, $J = 6.05$ Hz, 2 H)。

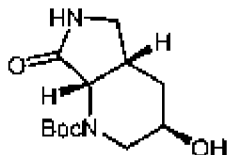


中間體K: (3R,4aS,7aS)-1,6-二苄基-3-羥基八氫-7H-吡咯并[3,4-b]-吡啶-7-酮。將中間體J (616 g, 1221 mmol)、THF (4 L)及NaOH (2 N, 3.97 L, 7.94 mol)於Büchi旋轉蒸發器之20 L圓底燒瓶中之混合物在25℃下劇烈攪拌18 h且在40℃下劇烈攪拌6 h，隨後使其冷卻至25℃，隨後添加MeOH (2 L)並將其攪拌過夜。用TBME (6 L)萃取混合物並用鹽水(4 L)洗滌有機相。用TBME (3×3 L)萃取水層並將合併之有機相在真空(45℃)中濃縮至5 L之體積，然後經無水硫酸鈉(1 kg)乾燥，過濾並在真空(45℃)中濃縮。將殘餘物溶解於甲苯(3 L)中並再濃縮，然後乾燥2 h (60℃, 20毫巴)，得到褐色油狀標題化合物(555 g)。LCMS: $R_t = 0.84$ min, $m/z = 337.3$ ($M+1$)，方法LCMS_2_MIN_最後_分析。 ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7.58-7.04 (m, 10 H), 4.66-4.5 (m, 2 H), 4.43 (d, $J = 13.9$ Hz, 1 H), 4.25 (d, $J = 15.2$ Hz, 1 H), 3.54 (tq, $J = 9.3, 4.5$ Hz, 1 H), 3.47-3.39 (m, 1 H), 3.18 (d, $J = 8.3$ Hz, 2 H), 2.85 (d, $J = 5.9$ Hz, 1 H), 2.70 (dd, $J = 11.0, 2.8$ Hz, 1 H), 2.64-2.57 (m, 1 H), 1.78-1.67 (m, 2 H), 1.27 - 1.39 (m, 1 H)。

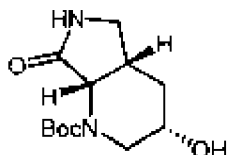


中間體L：(3R,4aS,7aS)-1-苄基-3-羥基八氫-7H-吡咯并[3,4-b]-吡啶-7-酮。向30 L Büchi反應器CR30 (配備有Huber恒溫器1015、具有自動化溫度控制之Flexy ALR、氬及氨入口，經氬惰性化，預冷卻至-80℃，填充有液氨(無水，10.0 kg，587 mol)，且出口附接至填充有硫酸(30%，100 L)之氣體洗刷器)中添加中間體K (543 g，1.614 mol)於THF (1.5 L)中之溶液，隨後乙醇(無水，236 mL，4.04 mol)。經15 min向所得溶液中逐份添加鋰(顆粒狀，44.8 g，6.46 mol) (溫度自-72℃升高至-63℃)。1 h後，向灰色混合物中添加鋰(22.4 g，3.23 mol)及乙醇(無水，94 mL，1.616 mol)，同時維持在-60℃下攪拌。1 h後，添加其他鋰(11.2 g，1.615 mol)及乙醇(無水，47 mL，0.808 mol)。45 min後，添加更多鋰(11.2 g，1.615 mol)。15 h後，將乙醇(無水，94 mL，1.616 mol)添加至深藍色混合物中。繼續攪拌直至所剩餘起始材料<5%為止，並藉由經10 min逐份添加氯化銨(2.0 kg，37.4 mol)將其淬滅。在-28℃下將反應混合物攪拌17 h且在2℃下攪拌約2 h，使得氨完全蒸發。向混合物中添加水(15 L)及TBME (8 L)，隨後HCl (32%)，直至獲得pH = 9-10為止。分離各相，並用鹽水(5 L)洗滌有機層。用DCM (3×2 L)萃取水層並將合併之有機層在真空中在45℃下濃縮至3 L之體積，然後經Na₂SO₄ (1 kg)乾燥，過濾並在真空(45℃，然後在65℃、20毫巴下2 h)中濃縮，得到褐色油狀標題化合物(373 g)。LCMS: R_t = 0.75, m/z = 247.2 (M+H)，方法LCMS_ 2_MIN_極性。¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.78 (s, 1 H), 7.34-7.24 (m, 4 H), 7.27-7.16 (m, 1 H), 4.65-4.60 (m, 1 H), 4.32 (d, *J* = 13.9 Hz, 1 H), 3.64-3.54 (m, 1 H), 3.44

(d, $J = 13.9$ Hz, 1 H), 3.13 (d, $J = 8.1$ Hz, 2 H), 2.69 (dd, $J = 10.82, 2.75$ Hz, 1 H), 2.66-2.62 (m, 1 H), 2.60-2.54 (m, 1 H), 1.80-1.69 (m, 2 H), 1.41-1.30 (m, 1 H)。

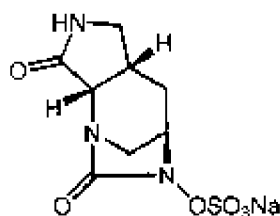


中間體M：*(3R,4aS,7aS)-3-羥基-7-側氧基八氫-1H-吡咯並-[3,4-b]吡啶-1-甲酸第三丁基酯*。向中間體L (372.0 g, 1.51 mol)及Boc-酸酐(346 g, 1.59 mol)於THF (4.0 L)中之溶液中添加Pd-C 10% (15 g)。將混合物在振盪鴨形裝置中在22-25℃下及0.1巴H₂壓力攪動89 h。在57%氫吸收後，添加另一份Pd-C 10% (15 g)。經由矽藻土過濾混合物，用THF洗滌並在真空中濃縮以獲得淺褐色固體狀粗產物(545 g)。將殘餘物懸浮於EtOAc (1 L)中並在75℃下攪拌1小時。在75℃下向懸浮液中緩慢添加庚烷(1.5 L)。在rt下攪拌2 h之後，藉由過濾收集產物，用庚烷洗滌固體然後在真空(45℃)中乾燥，得到白色晶體狀標題化合物(278.5 g)。LCMS: $R_t = 0.86$ min, $m/z = 257.3$ (M+1)，方法LCMS_ 2_MIN_極性。¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.83-7.65 (m, 1 H), 4.80-4.49 (m, 2 H), 3.93-3.67 (m, 2 H), 3.43-3.37 (m, 1 H), 2.72 (br d, $J = 9.5$ Hz, 1 H), 2.60 (br d, $J = 12.5$ Hz, 1 H), 2.48-2.39 (m, 1 H), 1.82-1.70 (m, 1 H), 1.40 (br d, $J = 6.8$ Hz, 9 H) 1.36-1.27 (m, 1 H)。

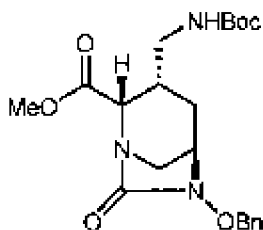


中間體N：*(3S,4aS,7aS)-3-羥基-7-側氧基八氫-1H-吡咯並-[3,4-b]吡啶-1-甲酸第三丁基酯*。在-5℃ (內部溫度)下向含於具有自動化溫度控

制、Unistat 390W、冷凝器及氮入口之氮惰性化之20 L三夾套反應器(Amsi Glas)中之中間體M (270 g, 948 mmol)於THF (13 L)中之溶液中添加4-硝基苯甲酸(323 g, 1.90 mol)及三苯基膦(524 g, 1.90 mol)。經30 min向所得溶液中逐滴添加DIAD (359 ml, 1.85 mol)於THF (1.3 L)中之溶液，同時維持內部溫度為-4℃至-10℃。使混合物升溫至rt並攪拌過夜，然後在真空(45℃)中濃縮以得到褐色油狀粗物質(1.64 kg，濕的)。向油狀殘餘物於MeOH (15 L)中之溶液中添加K₂CO₃ (393 g, 2.844 mol)。在攪拌1 h之後，在真空(40℃)中濃縮懸浮液，得到橙色固體，向其中添加DCM (6 L)。30 min後，過濾懸浮液，用DCM洗滌並在真空(45℃)中濃縮濾液。將殘餘物懸浮於DCM:MeOH (97:3, 4 L)中並在rt下攪拌30 min。過濾懸浮液，用DCM洗滌並將濾液在真空(45℃)中濃縮至3 L之體積並以兩份藉由矽膠層析進行純化，得到固體狀產物(189 g)。在45℃下向溶解於DCM:MeOH (95:5, 5 L)中之此物質中緩慢添加庚烷(5 L)。將溶液部分地濃縮(45℃)，去除一些DCM，使得產物在15 min後結晶。在rt下1 h後，經由過濾收集固體，用庚烷洗滌並在真空(45℃)中乾燥直至獲得恆定重量為止，得到晶體狀標題化合物(167.7 g)。LCMS: R_t = 0.95 min, m/z = 257.3 (M+1)，方法LCMS_ 2_MIN_極性。¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)* δ 7.80 (d, *J* = 20.2 Hz, 1H), 4.97 (t, *J* = 4.8 Hz, 1H), 4.57 (dd, *J* = 92.2, 7.0 Hz, 1H), 3.89 (ddd, *J* = 18.8, 9.3, 6.5 Hz, 1H), 3.33-3.23 (m, 1H), 2.75 (ddd, *J* = 9.7, 4.6, 2.0 Hz, 1H), 2.43 (ddt, *J* = 16.9, 11.8, 6.1 Hz, 1H), 2.08 (ddd, *J* = 86.6, 12.5, 10.7 Hz, 1H), 1.94 (dd, *J* = 12.2, 5.5 Hz, 1H), 1.39 (d, *J* = 22.6 Hz, 9H), 1.04 (dq, *J* = 15.2, 12.0 Hz, 1H)。*以所觀察到之旋轉異構物報告。

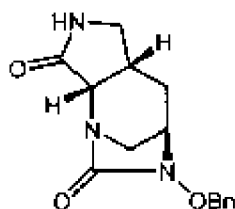


實例1. (4R,5aS,8aS)-2,8-二側氧基六氫-2H-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-d][1,3]二氮砷-3(4H)-基硫酸鈉。

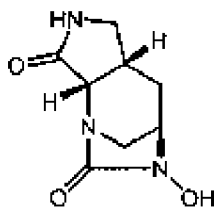


步驟1：(2S,3S,5R)-6-(苄基氧基)-3-(((第三丁氧基羰基)胺基)-甲基)-7-側氧基-1,6-二氮雜二環[3.2.1]辛烷-2-甲酸甲酯。將中間體C (0.82 g, 2.84 mmol)、Boc-Gly-OH (1.00 g, 5.69 mmol) 及 Ir[df(CF₃)ppy₂(dtbpy)]PF₆ (32 mg, 0.028 mmol) 溶解於 DMF (20 mL) 中。向溶液中添加磨細的磷酸氫二鉀(0.59 g, 3.41 mmol)並將所得懸浮液在氬(氣球)下在500 mL滴液漏斗(底部用圓底燒瓶且頂部用隔膜封閉)中用8W UVA螢光管輻照7天。將燒瓶水平地置於燈之頂部上(空氣冷卻)以確保最大輻照。4天後，添加 Ir[df(CF₃)ppy₂(dtbpy)]PF₆ (32 mg, 0.028 mmol)。

向混合物中添加水(100 mL)，然後飽和NaHCO₃ (aq, 100 mL)，並用TBME (4×80 mL)對其進行萃取。用飽和NaHCO₃ (aq, 50 mL)、水(50 mL)然後鹽水(50 mL)依序洗滌合併之有機相。經Na₂SO₄乾燥有機層，過濾並在真空中濃縮。經由矽膠層析(EtOAc-庚烷，15-100%)純化粗殘餘物，以得到油狀標題化合物(108 mg, 9%)。LCMS: R_t = 1.04 min，方法2m_酸性。



步驟2：(4*R*,5*aS*,8*aS*)-3-(苄基氧基)六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮呋-2,8(3*H*)-二酮。在rt下向(2*S*,3*S*,5*R*)-6-(苄基氧基)-3-(((第三丁氧基羰基)胺基)-甲基)-7-側氧基-1,6-二氮雜二環[3.2.1]辛烷-2-甲酸甲酯(108 mg, 0.26 mmol)於DCM (3 mL)中之溶液中逐滴添加TFA (1.0 mL, 13 mmol)。將其在rt下攪拌3 h，隨後將其在真空中濃縮。將粗製殘餘物溶解於DCM (3 mL)中，冷卻至0℃，並添加三乙胺(0.31 mL, 2.3 mmol)。1 h後，添加更多三乙胺(0.11 mL, 0.75 mmol)及DCM (5 mL)。去除冰浴並將反應混合物在rt下攪拌過夜(o/n)，隨後用檸檬酸(10 mL，約20% aq)將其洗滌。用DCM (3×8 mL)萃取水相並用水(5 mL)、鹽水(2×10 mL)洗滌合併之有機相，經Na₂SO₄乾燥，過濾並在真空中濃縮。經由矽膠層析(DCM-MeOH, 2-7%)純化粗殘餘物，以得到米色固體狀標題化合物(47 mg, 61%)。LCMS: *R*_t = 0.61 min, *m/z* = 288 (*M*+1)，方法2m_酸性。



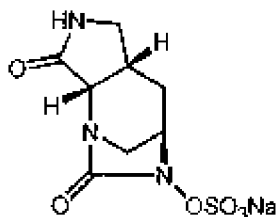
步驟3：(4*R*,5*aS*,8*aS*)-3-羟基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮呋-2,8(3*H*)-二酮。將(4*R*,5*aS*,8*aS*)-3-(苄基氧基)六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮呋-2,8(3*H*)-二酮(80 mg, 0.278 mmol)及Pd-C (10 %迪高沙型(Degussa type)101, 50%水, 34 mg)於MeOH (1.8 mL)中之漿液蒸發並用H₂ (3×)回填。2.5 h後，藉助矽藻土塞對其進行過

第 71 頁(發明說明書)

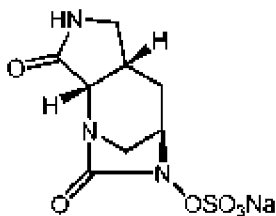
C208342PBX20210621C.docx

濾，用MeOH洗滌並在真空中濃縮，得到標題化合物(40 mg, 74%)。

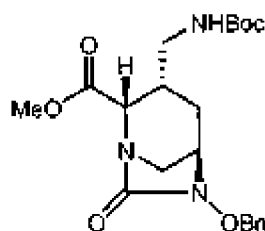
LCMS: $R_t = 0.13$ min, $m/z = 198.1$ ($M+1$) 方法2m_酸性。



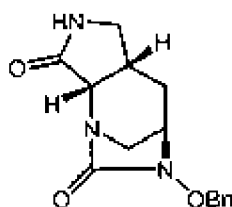
步驟4：(4*R*,5*aS*,8*aS*)-2,8-二側氧基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮砒-3(4*H*)-基硫酸鈉。在0℃下向粗製(4*R*,5*aS*,8*aS*)-3-羥基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮砒-2,8(3*H*)-二酮(40.7 mg, 0.206 mmol)於吡啶(2 mL)中之漿液中添加SO₃•Py複合物(335 mg, 2.064 mmol)。在劇烈攪拌19 h之後，過濾漿液並在真空中濃縮。將粗製殘餘物溶解於THF:水(1:1, 6 mL)中並添加Amberlite 200 Na交換樹脂(1.5 g)。將懸浮液攪拌2 h，隨後將其過濾，在真空中部分地濃縮，冷凍並凍乾。使所得固體經受矽膠層析(水-乙腈, 2-5%)，得到非晶形固體狀標題化合物(12.3 mg, 16%，經2個步驟)。LCMS: $R_t = 0.25$ min, $m/z = 278.0$ ($M+1$) 方法T3_3m_極性；¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 4.24-4.18 (m, 2H), 3.52 (dd, $J = 10.7, 6.2$ Hz, 1H), 3.33 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 3.10 (d, $J = 10.7$ Hz, 1H), 2.95 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 2.81 (p, $J = 8.5$ Hz, 1H), 2.54-2.46 (m, 1H), 1.65 (dd, $J = 14.7, 9.2$ Hz, 1H)。



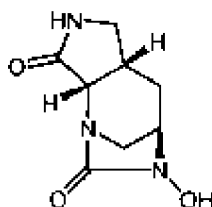
實例1. 替代程序。(4*R*,5*aS*,8*aS*)-2,8-二側氧基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮砒-3(4*H*)-基硫酸鈉。



步驟1：(2*S*,3*S*,5*R*)-6-(苄基氧基)-3-(((第三丁氧基羰基)胺基)甲基)-7-側氧基-1,6-二氮雜二環[3.2.1]辛烷-2-甲酸甲酯。經由N₂吹掃將中間體 C (3 g, 10.41 mmol)、2-((第三丁氧基羰基)胺基)乙酸(2.55 g, 14.57 mmol)、Ir[df(CF₃)ppy]₂(dtbpy)PF₆ (0.117 g, 0.104 mmol)及磷酸氫二鉀 (2.72 g, 15.61 mmol)於DMF (30.6 mL)中之攪拌混合物脫氣15 min並在 N₂下用Kessil H150-Blue LED (風扇冷卻)輻照92 h。添加2-((第三丁氧基羰基)胺基)乙酸(2.55 g, 14.57 mmol)、磷酸氫二鉀(2.72 g, 15.61 mmol)及 Ir[df(CF₃)ppy]₂(dtbpy)PF₆ (0.117 g, 0.104 mmol)並在 N₂下用 Kessil H150-Blue LED (風扇冷卻)將混合物再輻照20 h。用飽和NaHCO₃ (aq)稀釋混合物並用EtOAc (3×)萃取。用水、鹽水洗滌合併之有機層，經 Na₂SO₄乾燥，過濾並在減壓下濃縮。藉由矽膠層析(EtOAc-庚烷，0%-100%)純化粗物質，以得到黃色泡沫狀標題化合物(352 mg, 8%)。LC/MS: R_t = 0.87 min ; m/z = 420.2 (M+1) 方法2m_酸性；¹H NMR (500MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.46-7.42 (m, 2H), 7.42-7.34 (m, 3H), 6.84 (br s, 1H), 4.93 (d, *J* = 4.3 Hz, 2H), 3.88 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 3.76 (br s, 1H), 3.66-3.65 (m, 3H), 3.21 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 3.12-3.03 (m, 1H), 2.86-2.78 (m, 2H), 2.14 (br s, 1H), 2.00-1.93 (m, 1H), 1.51 (t, *J* = 12.3 Hz, 1H), 1.34 (s, 9H)

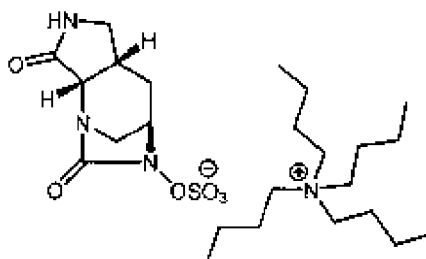


步驟2：(4R,5aS,8aS)-3-(苄基氧基)六氫-2H-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-d][1,3]二氮呋-2,8(8aH)-二酮。向(2S,3S,5R)-甲基6-(苄基氧基)-3-(((第三丁氧基羰基)胺基)甲基)-7-側氧基-1,6-二氮雜二環[3.2.1]辛烷-2-甲酸酯(352 mg, 0.839 mmol)於DCM (4.19 mL)中之溶液中逐滴添加TFA (1.61 mL, 20.98 mmol)。90 min後，將其在真空中濃縮，將其溶解於DCM中並再濃縮(3×)。在0℃下向溶解於DCM (5 mL)中之殘餘物中添加TEA (1.17 mL, 8.39 mmol)，此後去除冷卻浴。在rt下20 h後，用飽和NaHCO₃ (aq)稀釋混合物並用EtOAc (3×)萃取。用水、鹽水洗滌合併之有機層，經Na₂SO₄乾燥，過濾並在真空中濃縮。藉由矽膠層析(MeOH-DCM, 0-20%)純化粗物質，得到澄清薄膜狀標題化合物(158 mg, 66%, 2個步驟)。LC/MS: R_t = 0.65 min; m/z = 288.0 (M+1) 方法2m_酸性; ¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.99 (s, 1H), 7.48-7.33 (m, 5H), 4.99-4.88 (m, 2H), 3.81 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 3.59 (br s, 1H), 3.32-3.22 (m, 1H), 2.89 (br d, *J* = 11.9 Hz, 1H), 2.75 (d, *J* = 9.8 Hz, 1H), 2.63 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H), 2.26-2.17 (m, 1H), 1.38 (ddd, *J* = 14.3, 9.2, 1.9 Hz, 1H)



步驟3：(4R,5aS,8aS)-3-羟基六氫-2H-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-d][1,3]二氮呋-2,8(8aH)-二酮。將(4R,5aS,8aS)-3-(苄基氧基)六氫-2H-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-d][1,3]二氮呋-2,8(8aH)-二酮(158 mg, 0.550

mmol) 及 Pd-C (10 % 迪高沙型 101, 50% 水, 117 mg, 0.055 mmol) 於 MeOH:DCM (3:1, 3.67 mL) 中之漿液蒸發並用 H₂ 回填。2 h 後, 藉助矽藻土過濾混合物並在真空(浴溫 < 30 °C) 中濃縮以得到灰白色固體狀標題化合物(102 mg, 94%)。LC/MS: R_t = 0.12 min; m/z = 198.0 (M+1) 方法 2m_ 酸性。

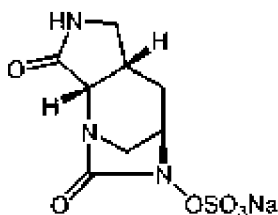


步驟 4 : (4R,5aS,8aS)-2,8-二側氧基六氫-2H-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-d][1,3]二氮砒-3(4H)-基硫酸四丁基銨。向粗製(4R,5aS,8aS)-3-羥基六氫-2H-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-d][1,3]二氮砒-2,8(8aH)-二酮(102 mg, 0.517 mmol) 於吡啶(5.17 mL) 中之溶液中添加 SO₃•Py (412 mg, 2.59 mmol)。在劇烈攪拌 19 h 之後, 過濾混合物並在真空(浴溫 < 30 °C) 中濃縮。將所得物質溶解於 NaH₂PO₄ (1 M, 10 mL) 中, 隨後添加四丁基硫酸氫銨(263 mg, 0.776 mmol)。在攪拌 30 min 之後, 用 IPA:CHCl₃ (1:4, 3×) 對其進行萃取。將合併之有機層經 Na₂SO₄ 乾燥, 過濾並在真空(浴溫 < 30 °C) 中濃縮。藉由矽膠層析(MeOH-DCM, 0%-30%) 純化粗殘餘物, 以得到白色泡沫狀標題化合物(180 mg, 67%)。LC/MS: R_t = 0.13 min; m/z = 278 (M+1) 方法 2m_ 酸性; ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 7.97 (s, 1H), 3.98 (br s, 1H), 3.81 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 3.28 (dd, J = 6.1, 9.9 Hz, 1H), 3.19 - 3.13 (m, 8H), 2.98 (br d, J = 12.1 Hz, 1H), 2.78 (d, J = 9.9 Hz, 1H), 2.65 (d, J = 12.1 Hz, 1H), 2.49-2.44 (m, 1H), 2.28-2.19 (m, 1H), 1.63-1.51 (m, 8H), 1.40 (br dd, J = 9.3, 12.7 Hz, 1H), 1.31 (sxt, J = 7.4

第 75 頁(發明說明書)

C208342PBX20210621C.docx

Hz, 8H), 0.93 (t, $J = 7.3$ Hz, 12H)



步驟5：(4*R*,5*aS*,8*aS*)-2,8-二側氧基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮砒-3(4*H*)-基硫酸鈉。藉由與NaOH (2 N)一起攪拌3 h條件化DOWEX 50Wx8氫形式(200-400網目)。將樹脂加載至管柱上並用水洗滌直至pH為約6為止。然後用1:1水/丙酮對其進行洗滌。將(4*R*,5*aS*,8*aS*)-2,8-二側氧基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮砒-3(4*H*)-基硫酸四丁基銨(180 mg, 0.347 mmol)溶解於1:1丙酮/水中並藉助樹脂利用1:1丙酮/水進行溶析。在真空(浴溫< 30℃)中部分地濃縮試樣，並凍乾以得到白色固體狀標題化合物(75 mg, 68%)。LC/MS: $R_t = 0.25$ min; $m/z = 278.0$ ($M+1$)方法T3_3m_極性; ^1H NMR (500MHz, D_2O) δ 4.24-4.18 (m, 2H), 3.51 (dd, $J = 10.7, 6.2$ Hz, 1H), 3.33 (br d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 3.10 (d, $J = 10.7$ Hz, 1H), 2.95 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 2.81 (p, $J = 8.1$ Hz, 1H), 2.54-2.46 (m, 1H), 1.65 (dd, $J = 14.7, 9.2$ Hz, 1H)。

替代步驟5程序：(4*R*,5*aS*,8*aS*)-2,8-二側氧基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮砒-3(4*H*)-基硫酸氫鹽。在40℃下經由注射器幫浦以8 mL/h向(4*R*,5*aS*,8*aS*)-2,8-二側氧基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮砒-3(4*H*)-基硫酸四丁基銨(6.9 g, 13.30 mmol)於異丁醇(20.8 mL)及水(1.35 mL)中之溶液中添加2-乙基己酸鈉(4.56 g, 26.6 mmol)於異丁醇(20.8 mL)及水(1.35 mL)中之溶液。將混合物在40℃下攪拌1 h，然

後冷卻至rt並攪拌過夜，隨後用布氏漏斗(Buchner funnel)使用沃特曼定量濾紙(Whatman qualitative filter paper)對其進行過濾。用異丁醇(3×)及然後冰冷丙酮(3×)洗滌濾餅。將真空施加至漏斗且N₂流在濾餅上方保持3 h，隨後凍乾3天，此得到結晶白色固體狀標題化合物(3.05 g, 73%)。LC/MS: R_t = 0.25 min ; m/z = 278.0 (M+1)方法T3_3m_極性。

¹H NMR (500MHz, D₂O) δ =4.20 - 4.12 (m, 2H), 3.48 (dd, J=6.2, 10.7 Hz, 1H), 3.33 - 3.25 (m, 1H), 3.05 (d, J=10.7 Hz, 1H), 2.90 (d, J=12.2 Hz, 1H), 2.82 - 2.71 (m, 1H), 2.46 (tdd, J=2.8, 8.7, 14.7 Hz, 1H), 1.66 - 1.56 (m, 1H)

鈉鹽之X-射線粉末繞射光譜顯示於圖1中。

儀器：X射線繞射儀(Bruker, 型號D8)

來源- Cu k α

步寬0.02°

電壓40 kV

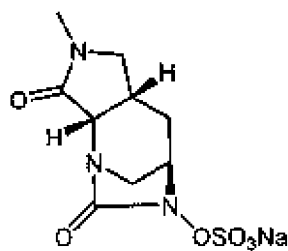
電流40 mA

每步驟時間120秒

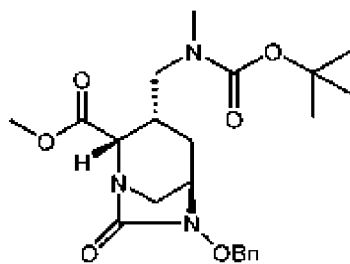
掃描範圍3°至39°

峰	2θ
1	8.31 ± 0.2)
2	11.66± 0.2)
3	14.45± 0.2)
4	16.63± 0.2)
5	17.64 (± 0.2)

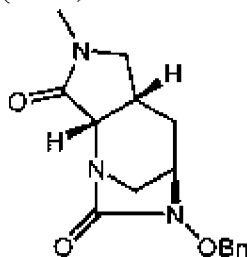
6	18.12± 0.2)
7	18.64± 0.2)
8	19.51± 0.2)
9	21.68± 0.2)
10	23.54± 0.2)
11	24.32± 0.2)
12	25.06 (± 0.2)
13	27.37± 0.2)
14	27.86± 0.2)
15	28.72± 0.2)
16	31.33± 0.2)
17	32.60± 0.2)
18	33.58± 0.2)
19	34.43± 0.2)
20	35.40± 0.2)
21	38.17 (± 0.2)



實例2. (4*R*,5*aS*,8*aS*)-7- 甲基-2,8- 二側氧基六氫-2*H*-1,4- 橋亞甲基吡咯并
[3,4-*d*][1,3]二氮砷-3(4*H*)-基硫酸鈉。



步驟1：(2*S*,3*S*,5*R*)-6-(苄基氧基)-3-(((第三丁氧基羰基)(甲基)胺基)甲基)-7-側氧基-1,6-二氮雜二環[3.2.1]辛烷-2-甲酸甲酯。藉由將N₂鼓泡穿過懸浮液將中間體C (3 g, 10.41 mmol)、2-(((第三丁氧基羰基)(甲基)胺基)乙酸(2.56 g, 13.53 mmol)、Ir[df(CF₃)ppy]₂(dtbpy)PF₆ (0.117 g, 0.104 mmol)及磷酸氫二鉀(2.175 g, 12.49 mmol)於DMF (30 mL)中之攪拌混合物脫氣15 min且然後在N₂管線下靜置並用Kessil H150-Blue LED (風扇冷卻)輻照48 h。用飽和NaHCO₃稀釋反應物並用EtOAc (3×)萃取。用水、鹽水洗滌合併之有機層，經Na₂SO₄乾燥，過濾並在真空中濃縮。藉由矽膠層析(EtOAc-庚烷，0-100%)純化粗物質，以得到橙色泡沫狀物(233 mg)。藉由矽膠層析(EtOAc-庚烷，0-70%)再純化此物質，得到黃色固體狀標題化合物(140 mg, 3%)。LC/MS: R_t = 0.92 min; m/z = 434.1(M+1)方法2m_酸性; ¹H NMR (500MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.46-7.42 (m, 2H), 7.41-7.33 (m, 3H), 4.98-4.91 (m, 2H), 3.88-3.81 (m, 1H), 3.78 (br s, 1H), 3.68 (br s, 3H), 3.26-3.03 (m, 2H), 2.84 (br d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 2.67 (s, 3H), 1.97-1.88 (m, 1H), 1.62 (br t, *J* = 12.6 Hz, 1H), 1.34 (br s, 9H)

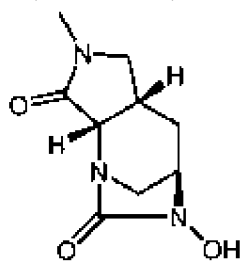


步驟2：(2*S*,3*S*,5*R*)-6-(苄基氧基)-3-((甲基胺基)甲基)-7-側氧基-1,6-二氮雜二環[3.2.1]辛烷-2-甲酸甲酯。在rt下在N₂下向(2*S*,3*S*,5*R*)-6-(苄基

第 79 頁(發明說明書)

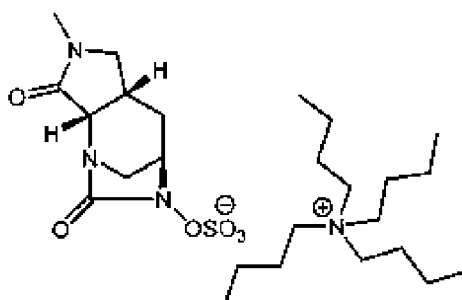
C208342PBX20210621C.docx

氧基)-3-(((第三丁氧基羰基)(甲基)胺基)甲基)-7-側氧基-1,6-二氮雜二環[3.2.1]辛烷-2-甲酸甲酯(140 mg, 0.323 mmol)於DCM (1.6 mL)中之攪拌溶液中逐滴添加TFA (0.622 mL, 8.07 mmol)。將反應物在rt下攪拌90 min且然後濃縮並與DCM (3×)一起共蒸發。將殘餘物溶解於DCM (2 mL)中並冷卻至0℃。添加TEA (0.450 mL, 3.23 mmol)，去除冷卻浴並或反應物在rt下攪拌90 min。用飽和NaHCO₃稀釋反應物並用EtOAc (3×)萃取。用水、鹽水洗滌合併之有機層，經Na₂SO₄乾燥，過濾並在真空中濃縮。藉由矽膠層析(MeOH-DCM, 0-20%)純化粗物質，以得到澄清薄膜狀標題化合物(86 mg, 88%)。LC/MS: R_t = 0.46 min; m/z = 301.9 (M+1)方法2m_酸性; ¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.50-7.32 (m, 5H), 5.03-4.86 (m, 2H), 3.86 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 3.60 (br s, 1H), 3.39-3.34 (m, 1H), 2.93-2.83 (m, 2H), 2.76 (s, 3H), 2.57 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H), 2.49-2.42 (m, 1H), 2.32-2.18 (m, 1H), 1.38 (ddd, *J* = 14.3, 9.0, 1.9 Hz, 1H)

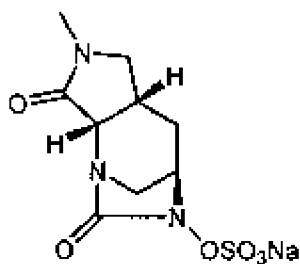


步驟3：(4*R*,5*aS*,8*aS*)-3-羥基-7-甲基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮呿-2,8(8*aH*)-二酮。將(2*S*,3*S*,5*R*)-6-(苄基氧基)-3-((甲基胺基)甲基)-7-側氧基-1,6-二氮雜二環[3.2.1]辛烷-2-甲酸甲酯(143 mg, 0.475 mmol)溶解於甲醇(2.4 mL)中並添加Pd-C (10 %,迪高沙型101, 50%水, 101 mg, 0.047 mmol)。在真空下蒸發混合物並用H₂回填。在攪拌1 h後，藉助矽藻土過濾混合物並在真空(浴溫< 30℃)中濃縮以得到白色固體狀標題化合物(63 mg, 63%)。LC/MS: R_t = 0.11 min; m/z = 211.9 (M+1)

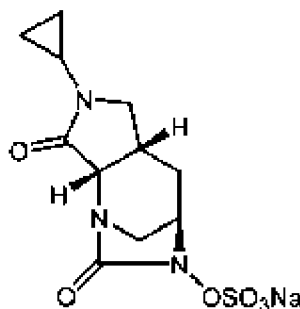
方法2m_酸性。



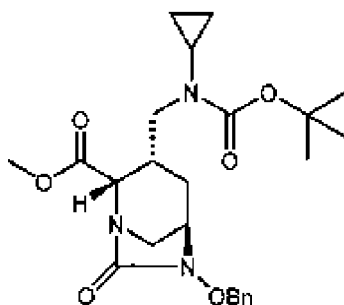
步驟4：(4*R*,5*aS*,8*aS*)-7-甲基-2,8-二側氧基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮砒-3(4*H*)-基硫酸四丁基銨。將(4*R*,5*aS*,8*aS*)-3-羥基-7-甲基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮砒-2,8(8*aH*)-二酮(63 mg, 0.298 mmol)溶解於吡啶(2.9 mL)中並添加SO₃•吡啶(237 mg, 1.49 mmol)。將反應物在rt下攪拌20 h。藉助拋棄式塑膠過濾器過濾反應物並在減壓(浴溫< 30℃)下濃縮。將此物質溶解於NaH₂PO₄ (1 M, 10 mL)中並添加四丁基硫酸氫銨(152 mg, 0.447 mmol)。在rt下攪拌30 min之後，用EtOAc (4×)對其進行萃取。用鹽水洗滌合併之有機層，經Na₂SO₄乾燥，過濾並在真空中濃縮。用於CHCl₃中之20% IPA進一步萃取水層(2×)，經硫酸鈉乾燥並在真空(浴溫< 30℃)中濃縮。藉由矽膠層析(MeOH-DCM, 0-30%)純化合併之有機物質以得到澄清薄膜狀標題化合物(62 mg, 39%)。LC/MS: R_t = 0.13 min ; m/z = 291.9 (M+1)方法2m_酸性；¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ = 4.34 (br s, 1H), 4.04 (br d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 3.44 (dd, *J* = 10.0, 5.6 Hz, 1H), 3.34 (br d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 3.28 (br dd, *J* = 10.3 Hz, 5.1 Hz, 8H), 2.97-2.91 (m, 4H), 2.80 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 2.75-2.61 (m, 2H), 1.74-1.60 (m, 9H), 1.44 (sxt, *J* = 7.4 Hz, 8H), 1.00 (t, *J* = 7.3 Hz, 12H)。



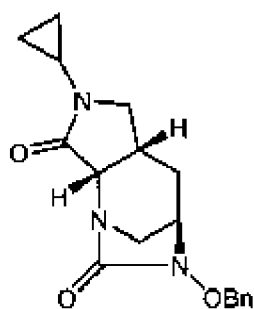
步驟5：(4R,5aS,8aS)-7-甲基-2,8-二側氧基六氫-2H-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-d][1,3]二氮䓬-3(4H)-基硫酸鈉。藉由與NaOH (2 N)一起攪拌3 h條件化DOWEX 50Wx8氫形式(200-400網目)。將樹脂加載至玻璃管柱上並用水洗滌直至pH為約6為止。然後用水:丙酮(1:1)對其進行洗滌。將(4R,5aS,8aS)-7-甲基-2,8-二側氧基六氫-2H-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-d][1,3]二氮䓬-3(4H)-基硫酸四丁基銨(62 mg, 0.12 mmol)溶解於1:1丙酮:水中並使其穿過使用丙酮:水(1:1)之管柱。在真空(浴溫< 30°C)中部分地濃縮試樣，然後凍乾以得到白色粉末狀標題化合物(32 mg, 83%)。LC/MS: $R_t = 0.48$ min; $m/z = 291.8$ (M+1)方法T3_3m_極性; ^1H NMR (500MHz, D_2O) $\delta = 4.20\text{-}4.15$ (m, 2H), 3.60 (dd, $J = 10.6, 6.4$ Hz, 1H), 3.30 (dddd, $J = 12.3, 4.0, 2.7, 1.3$ Hz, 1H), 3.13 (d, $J = 10.4$ Hz, 1H), 2.90 (s, 3H), 2.86 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 2.77-2.69 (m, 1H), 2.49 (tdd, $J = 14.8, 8.8, 3.0$ Hz, 1H), 1.59 (ddd, $J = 14.8, 8.9, 2.0$ Hz, 1H)。



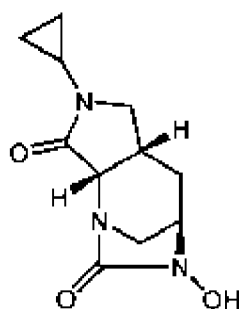
實例3. (4R,5aS,8aS)-7-環丙基-2,8-二側氧基六氫-2H-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-d][1,3]二氮䓬-3(4H)-基硫酸鈉。



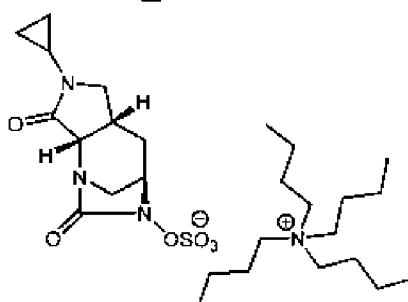
步驟1：(2*S*,3*S*,5*R*)-6-(苄基氧基)-3-(((第三丁氧基羰基)(環丙基)胺基)甲基)-7-側氧基-1,6-二氮雜二環[3.2.1]辛烷-2-甲酸甲酯。經由N₂吹掃將中間體C (4 g, 13.87 mmol)、2-((第三丁氧基羰基)(環丙基)胺基)乙酸 (3.88 g, 18.04 mmol)、Ir[df(CF₃)ppy₂(dtbpy)]PF₆ (0.156 g, 0.139 mmol)及磷酸氫二鉀(2.90 g, 16.65 mmol)於DMF (40 mL)中之攪拌混合物脫氣15 min。用Kessil H150-Blue LED (風扇冷卻)將混合物在N₂下輻照42 h，隨後用飽和NaHCO₃對其進行稀釋，過濾並用EtOAc (3×)萃取。用水、鹽水洗滌合併之有機層，經Na₂SO₄乾燥，過濾並在真空中濃縮。藉由矽膠層析(EtOAc-庚烷，0-100%)純化粗製殘餘物。藉由矽膠層析(EtOAc-庚烷，0-100%，然後EtOAc-庚烷，0-70%)將此物質再純化2次以上得到澄清薄膜狀標題化合物(190 mg, 3%產率)。LC/MS: R_t = 0.99min；m/z = 460.2 (M+1)方法2m_酸性；¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ = 7.45-7.34 (m, 5H), 5.05 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H), 4.89 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H), 4.09 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.37-3.25 (m, 2H), 3.17-3.07 (m, 1H), 2.92-2.83 (m, 1H), 2.64-2.52 (m, 1H), 2.44-2.35 (m, 1H), 2.09-1.98 (m, 1H), 1.68 (t, *J* = 12.7 Hz, 1H), 1.58-1.52 (m, 1H), 1.44-1.39 (m, 9H), 0.80-0.66 (m, 2H), 0.59-0.46 (m, 2H)



步驟2：*(4R,5aS,8aS)*-3-(苄基氧基)-7-環丙基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮呋-2,8(8*aH*)-二酮。在rt下在N₂下向(2*S*,3*S*,5*R*)-6-(苄基氧基)-3-(((第三丁氧基羰基)(環丙基)胺基)甲基)-7-側氧基-1,6-二氮雜二環[3.2.1]辛烷-2-甲酸甲酯(190 mg, 0.413 mmol)溶解於DCM (4.1 mL)中之攪拌溶液中逐滴添加TFA (0.796 mL, 10.34 mmol)。將溶液在rt下攪拌90 min且然後在真空中濃縮，用DCM稀釋並再濃縮(3×)。將殘餘物溶解於DCM (2 mL)中並冷卻至0℃。添加TEA (0.576 mL, 4.13 mmol)並將其rt下攪拌18 h。在減壓下濃縮溶液並藉由矽膠層析(MeOH-DCM, 0-20%)純化粗物質，得到澄清薄膜狀標題化合物(103 mg, 76%)。LC/MS: $R_t = 0.69\text{min}$ ； $m/z = 328.0$ (M+1)方法2m_酸性；¹H NMR (500MHz, DMSO-*d*₆) $\delta = 7.46\text{-}7.42$ (m, 2H), 7.41-7.33 (m, 3H), 4.97-4.89 (m, 2H), 3.87 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 3.59 (br s, 1H), 3.31-3.27 (m, 1H), 2.91-2.85 (m, 1H), 2.76 (d, $J = 9.8$ Hz, 1H), 2.66 (tt, $J = 7.5, 4.1$ Hz, 1H), 2.56 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H), 2.42 (dd, $J = 8.5, 6.1$ Hz, 1H), 2.19 (ddt, $J = 14.3, 8.5, 3.0$ Hz, 1H), 1.31 (ddd, $J = 14.3, 9.2, 1.9$ Hz, 1H), 0.78-0.68 (m, 2H), 0.66-0.55 (m, 2H)。



步驟3：(4*R*,5*aS*,8*aS*)-7-環丙基-3-羥基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮呋-2,8(8*aH*)-二酮。將(4*R*,5*aS*,8*aS*)-3-(苄基氧基)-7-環丙基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮呋-2,8(8*aH*)-二酮(103 mg, 0.315 mmol)溶解於MeOH (3.2 mL)中並添加Pd-C (10%迪高沙型 101, 50%水, 67.0 mg, 0.031 mmol)。將混合物在真空中脫氣並用H₂回填。在攪拌40 min之後，藉助矽藻土對其進行過濾並在真空(浴溫< 30℃)中濃縮以得到白色固體狀標題化合物(75 mg, 100%)。LC/MS: R_t = 0.54 min; m/z = 238.0 (M+1) 方法2m_酸性。

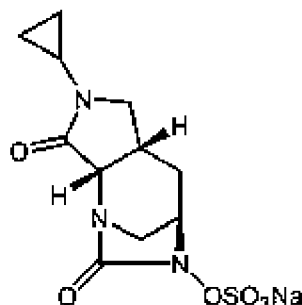


步驟4：(4*R*,5*aS*,8*aS*)-7-環丙基-2,8-二側氧基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮呋-3(4*H*)-基硫酸四丁基銨。向(4*R*,5*aS*,8*aS*)-7-環丙基-3-羥基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮呋-2,8(8*aH*)-二酮(75 mg, 0.316 mmol)於吡啶(3.16 mL)中之溶液中添加SO₃•吡啶(151 mg, 0.948 mmol)。在攪拌20 h之後，過濾漿液並在真空(浴溫< 30℃)中濃縮。將粗製殘餘物溶解於飽和NaH₂PO₄ (10 mL)中並用EtOAc洗滌。向水層中添加四丁基硫酸氫銨(161 mg, 0.474 mmol)。在攪拌45 min之後，用DCM (4×)對其進行萃取，經Na₂SO₄乾燥，過濾並在真空(浴溫< 30℃)中

第 85 頁(發明說明書)

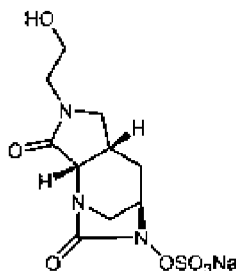
C208342PBX20210621C.docx

濃縮。經由矽膠層析(丙酮-DCM, 0-100%)純化粗殘餘物，以得到121 mg 澄清薄膜狀物。LC/MS: $R_t = 0.14$ min ; $m/z = 318.0$ (M+1)方法2m_酸性； ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) $\delta = 3.93$ (br s, 1H), 3.87 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 3.34-3.29 (m, 1H), 3.19-3.13 (m, 8H), 2.99-2.94 (m, 1H), 2.78 (d, $J = 9.7$ Hz, 1H), 2.68 (tt, $J = 7.4, 4.2$ Hz, 1H), 2.57 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H), 2.46-2.36 (m, 1H), 2.26-2.17 (m, 1H), 1.61-1.52 (m, 8H), 1.35-1.26 (m, 9H), 0.93 (t, $J = 7.3$ Hz, 12H), 0.78-0.69 (m, 2H), 0.66-0.57 (m, 2H)。

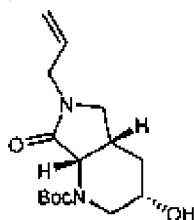


步驟5：(4*R*,5*aS*,8*aS*)-7-環丙基-2,8-二側氧基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮砷-3(4*H*)-基硫酸鈉。藉由與NaOH (2 N)一起攪拌 3 h條件化DOWEX 50Wx8氫形式200-400網目。將樹脂將加載至玻璃管柱上並用水(直至pH約等於6為止)隨後水:丙酮(1:1)洗滌。將(4*R*,5*aS*,8*aS*)-7-環丙基-2,8-二側氧基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮砷-3(4*H*)-基硫酸四丁基銨(121 mg, 0.217 mmol)於水:丙酮(1:1)中之溶液加載至管柱上並使其穿過該管柱(用水:丙酮(1:1)溶析)。在真空(浴溫< 30℃)中濃縮試樣並凍乾，得到白色粉末狀標題化合物(51 mg, 66%產率)。LC/MS: $R_t = 0.36$ min ; $m/z = 318.0$ (M+1)方法2m_酸性； ^1H NMR (500MHz, D_2O) δ 4.20-4.14 (m, 2H), 3.55 (dd, $J = 10.6, 6.1$, Hz, 1H), 3.32-3.26 (m, 1H), 3.09 (d, $J = 10.6$ Hz, 1H), 2.83 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H),

2.73-2.65 (m, 2H), 2.50-2.42 (m, 1H), 1.51 (dd, $J = 14.6, 9.1$ Hz, 1H), 0.90-0.74 (m, 3H), 0.71-0.63 (m, 1H)。

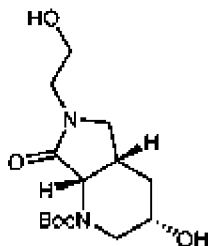


實例4. (4R,5aS,8aS)-7-(2-羥基乙基)-2,8-二側氧基六氫-2H-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-d][1,3]二氮砷-3(4H)-基硫酸鈉。

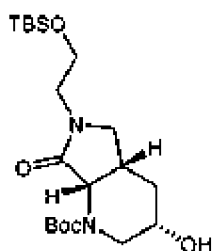


步驟1：(3S,4aS,7aS)-6-烯丙基-3-羥基-7-側氧基八氫-1H-吡咯并[3,4-b]吡啶-1-甲酸第三丁基酯。在0℃下向(3S,4aS,7aS)-3-羥基-7-側氧基八氫-1H-吡咯并[3,4-b]吡啶-1-甲酸第三丁基酯(1.50 g, 5.62 mmol)於DMF (56 mL)中之溶液中添加第三丁醇鉀(1 M於THF中, 5.6 mL, 5.6 mmol)。在5 min後，去除冷浴並將其於rt下攪拌30 min，然後冷卻至0℃，隨後逐滴添加烯丙基溴(490 μL, 5.66 mmol)。5 min後去除冷浴且在rt下再保持2 h後，將其於真空中濃縮並經由矽膠層析(乙酸乙酯-庚烷, 0-100%)直接純化以得到白色固體狀標題化合物(1.688 g, 81%)。LC/MS: $R_t = 0.70$ min; $m/z = 297.1$ (M+1)方法2m_酸性; ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 5.72$ (ddt, $J = 16.4, 11.1, 5.9$ Hz, 1H), 5.23-5.15 (m, 2H), 4.96 (s, 1H), 4.77 (d, $J = 7.1$ Hz, 0.5H), 4.62 (d, $J = 7.1$ Hz, 0.5H), 3.97-3.85 (m, 1.5H), 3.85-3.75 (m, 1H), 3.71 (dd, $J = 15.3, 6.3$ Hz, 0.5H), 3.49-3.42 (m, 1H), 2.83 - 2.77 (m, 1H), 2.50-2.40 (m, 1H), 2.14

(t, $J = 11.6$ Hz, 0.5H), 2.03-1.91 (m, 1.5H), 1.42 (s, 4.5H), 1.38 (s, 4.5H) 0.96 (p, $J = 12.1$ Hz, 1H)。*以旋轉異構物之混合物形式報告。

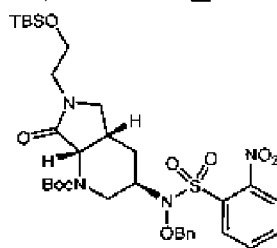


步驟2：(3*S*,4*aS*,7*aS*)-3-羥基-6-(2-羥基乙基)-7-側氧基八氫-1*H*-吡咯并[3,4-*b*]吡啶-1-甲酸第三丁基酯。在-78℃下用O₃將(3*S*,4*aS*,7*aS*)-6-烯丙基-3-羥基-7-側氧基八氫-1*H*-吡咯并[3,4-*b*]吡啶-1-甲酸第三丁基酯(2.72 g, 9.18 mmol)於DCM (92 ml)中之溶液吹掃30 min。然後在-78℃下藉由鼓泡O₂將其再吹掃20 min。向澄清溶液中添加二甲硫醚(6.74 ml, 92 mmol)並使其升溫至rt並攪拌30 min。使其冷卻至0℃並添加MeOH (18 mL)隨後硼氫化鈉(694 mg, 18.4 mmol)，然後使其緩慢升溫至rt。在rt下14 h後，使其冷卻至0℃並添加飽和NH₄Cl (aq, 10 mL)。在rt下20 min後，將其在真空中濃縮，隨後添加MeOH並再濃縮。將殘餘物吸收於MeOH中，過濾，然後再濃縮。添加甲苯并對漿液進行音波處理，然後再濃縮。LCMS: $R_t = 0.40$ min； $m/z = 301.4$ (M+1)方法2m_酸性。

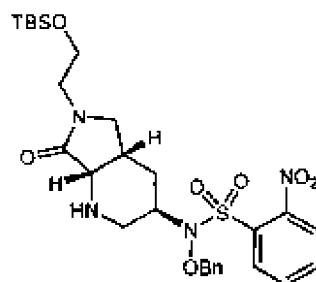


步驟3：(3*S*,4*aS*,7*aS*)-6-(2-((第三丁基二甲基矽基)氧基)乙基)-3-羥基-7-側氧基八氫-1*H*-吡咯并[3,4-*b*]吡啶-1-甲酸第三丁基酯。向(3*S*,4*aS*,7*aS*)-3-羥基-6-(2-羥基乙基)-7-側氧基八氫-1*H*-吡咯并[3,4-*b*]吡啶-1-甲酸第三丁基酯(9.18 mmol)於吡啶(18 ml)中之溶液中添加TBS-Cl

(1.384 g, 9.18 mmol)。在rt下攪拌24 h之後，將其在真空中濃縮並將其吸收於EtOAc中並用水洗滌。用EtOAc(2×)萃取水層，且用鹽水洗滌合併之有機層，經Na₂SO₄乾燥，過濾並在真空中濃縮。經由矽膠層析純化粗殘餘物，得到白色固體狀標題化合物(2.433 g, 64%，3個步驟)。LCMS: R_t = 0.89 min；m/z = 415.4 (M+1)方法2m_酸性。

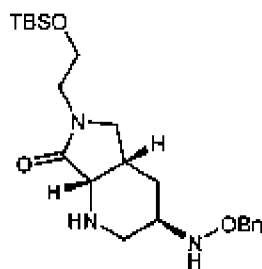


步驟4：(3*R*,4*aS*,7*aS*)-3-((*N*-(苄基氧基)-2-硝基苯基)磺醯胺基)-6-(2-((第三丁基二甲基矽基)氧基)乙基)-7-側氧基八氫-1*H*-吡咯并[3,4-*b*]吡啶-1-甲酸第三丁基酯。在-17℃下向(3*S*,4*aS*,7*aS*)-6-(2-((第三丁基二甲基矽基)氧基)乙基)-3-羥基-7-側氧基八氫-1*H*-吡咯并[3,4-*b*]吡啶-1-甲酸第三丁基酯(2.411 g, 5.82 mmol)、*N*-(苄基氧基)-2-硝基苯磺醯胺(2.160 g, 7.01 mmol)及三苯基膦(1.830 g, 6.98 mmol)於THF (65 ml)中之溶液中逐滴添加DIAD (1.40 ml, 6.98 mmol)於THF (10 mL)中之溶液。使其緩慢升溫至rt並攪拌18 h，然後在真空中濃縮且經由矽膠層析直接純化，得到白色固體狀標題化合物(1.785 g, 44%產率)。LCMS: R_t = 1.15 min；m/z = 705.4 (M+1)方法2m_酸性。

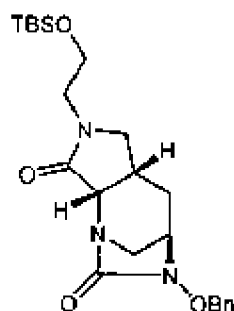


步驟4：N-(苄基氧基)-N-((3*R*,4*aS*,7*aS*)-6-(2-((第三丁基二甲基矽基)

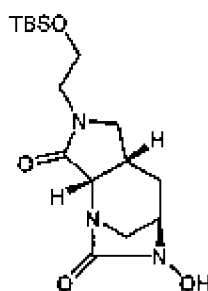
氧基)乙基)-7-側氧基八氫-1*H*-吡咯并[3,4-*b*]吡啶-3-基)-2-硝基苯磺醯胺。向裝填有溴化鋅(II) (1.21 g, 5.37 mmol, 在200°C下乾燥3 h)之燒瓶中添加(3*R*,4*aS*,7*aS*)-3-((*N*-(苄基氧基)-2-硝基苯基)磺醯胺基)-6-(2-((第三丁基二甲基矽基)氧基)乙基)-7-側氧基八氫-1*H*-吡咯并[3,4-*b*]吡啶-1-甲酸第三丁基酯(1.79 g, 2.53 mmol)於DCM (8.5 mL)中之溶液。在rt下攪拌18 h之後,用DCM對其進行稀釋並用飽和NaHCO₃淬滅。在停止鼓泡之後,分離各層並用DCM (3×)萃取水層。將合併之有機層經Na₂SO₄乾燥,過濾並在真空中濃縮,得到白色泡沫狀物。LCMS: $R_t = 0.94$ min; $m/z = 605.3$ ($M+1$)方法2m_酸性。



步驟5 : (3*R*,4*aS*,7*aS*)-3-((苄基氧基)胺基)-6-(2-((第三丁基二甲基矽基)氧基)乙基)八氫-7*H*-吡咯并[3,4-*b*]吡啶-7-酮。向*N*-(苄基氧基)-*N*-((3*R*,4*aS*,7*aS*)-6-(2-((第三丁基二甲基矽基)氧基)乙基)-7-側氧基八氫-1*H*-吡咯并[3,4-*b*]吡啶-3-基)-2-硝基苯磺醯胺(1.53 g, 2.53 mmol)及K₂CO₃ (1.753 g, 12.68 mmol)於ACN (25 mL)中之漿液中添加苯硫酚(1.343 mL, 12.65 mmol)。22 h後,將其過濾並在真空中濃縮。經由矽膠層析純化粗製殘餘物,得到灰白色泡沫狀標題化合物(919 mg, 87%, 2個步驟)。LCMS: $R_t = 0.82$ min; $m/z = 420.4$ ($M+1$)方法2m_酸性。

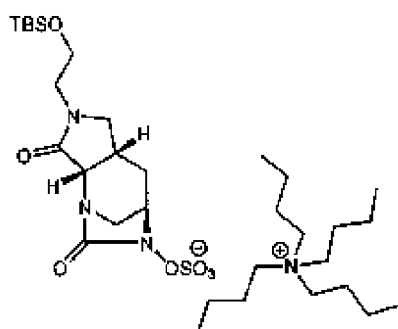


步驟6：(4*R*,5*aS*,8*aS*)-3-(苄基氧基)-7-(2-((第三丁基二甲基矽基)氧基)乙基)-六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮呿-2,8(3*H*)-二酮。在0℃下以8 mL/h之速率向(3*R*,4*aS*,7*aS*)-3-((苄基氧基)胺基)-6-(2-((第三丁基二甲基矽基)氧基)乙基)八氫-7*H*-吡咯并[3,4-*b*]吡啶-7-酮(919 mg, 2.19 mmol)及DIPEA (1.2 mL, 6.87 mmol)於乙腈(68.4 mL)中之溶液中添加光氣(15-20%於甲苯中, 1.60 mL, 2.24 mmol)於乙腈(10 mL)中之溶液。使其緩慢升高至rt。20 h後，將其在真空中濃縮，將其分配於EtOAc/HCl (aq, 0.2 M)之間並分離各相。用EtOAc (2×)萃取水層且用鹽水、飽和NaHCO₃洗滌合併之有機層，經Na₂SO₄/MgSO₄乾燥，過濾並在真空中濃縮。經由矽膠層析純化粗殘餘物，得到白色泡沫狀標題化合物(549 mg, 56%)。LCMS: *R*_t = 0.95 min; *m/z* = 446.4 (*M*+1)方法2*m*_酸性。

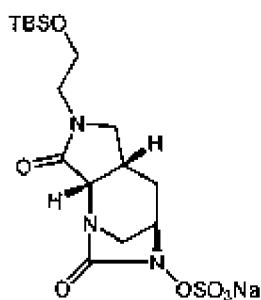


步驟7：(4*R*,5*aS*,8*aS*)-7-(2-((第三丁基二甲基矽基)氧基)乙基)-3-羥基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮呿-2,8(3*H*)-二酮。將(4*R*,5*aS*,8*aS*)-3-(苄基氧基)-7-(2-((第三丁基二甲基矽基)氧基)乙基)六氫-

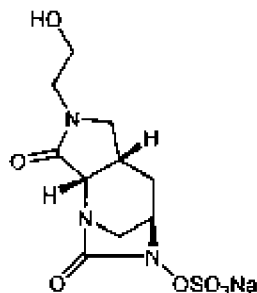
2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮呋-2,8(3*H*)-二酮(110 mg, 0.247 mmol)及Pd-C (10%迪高沙型101, 50%水, 25 mg, 0.012 mmol)於MeOH (2.5 mL)中之漿液脫氣並用H₂ (3×)回填。在劇烈攪拌3 h之後, 用N₂吹掃漿液, 經由矽藻土過濾並在真空中濃縮。添加甲苯并對其進行音波處理, 然後再濃縮。假定定量產率。LCMS: R_t = 0.71 min; m/z = 356.4 (M+1) 方法2m_酸性。



步驟8 : (4*R*,5*aS*,8*aS*)-7-(2-((第三丁基二甲基矽基)氧基)乙基)-2,8-二側氧基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮呋-3(4*H*)-基硫酸四丁基銨鹽。向(4*R*,5*aS*,8*aS*)-7-(2-((第三丁基二甲基矽基)氧基)乙基)-3-羥基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮呋-2,8(3*H*)-二酮(0.247 mmol)於吡啶(1.6 mL)中之溶液中添加SO₃•Py (197 mg, 1.24 mmol)。在rt下攪拌17 h之後, 在真空中濃縮混合物並在DCM中漿液化, 然後過濾及在真空中再濃縮。將所得固體溶解於NaH₂PO₄ (1 M aq, 20 mL)中, 隨後添加四丁基硫酸氫銨(131 mg, 0.386 mmol)。在攪拌45 min之後, 用DCM (4×)對其進行萃取並將合併之有機層經Na₂SO₄乾燥, 過濾並在真空中濃縮。經由矽膠層析(MeOH-DCM, 0%-20%)純化粗殘餘物, 以得到灰白色泡沫狀標題化合物(56 mg, 3個步驟)。LCMS: R_t = 0.81 min; m/z = 436.3 (M+1)方法2m_酸性。



步驟9：(4*R*,5*aS*,8*aS*)-7-(2-((第三丁基二甲基矽基)氧基)乙基)-2,8-二側氧基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮砒-3(4*H*)-基硫酸鈉。藉由與NaOH (2 N)一起攪拌3 h條件化DOWEX 50Wx8氫形式(200-400網目)。將樹脂加載至玻璃管柱上並用水(直至pH約等於6為止)隨後水:丙酮(1:1)洗滌。將(4*R*,5*aS*,8*aS*)-7-(2-((第三丁基二甲基矽基)氧基)乙基)-2,8-二側氧基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮砒-3(4*H*)-基硫酸四丁基銨(56 mg, 0.083 mmol)於水:丙酮(1:1)中之溶液加載至管柱上且使其穿過管柱(用水:丙酮(1:1)溶析)。在真空(浴溫< 30℃)中濃縮試樣並凍乾，得到白色粉末狀標題化合物(36 mg, 95%產率)。LCMS: $R_t = 0.84$ min； $m/z = 436.3$ (M+1)，方法2m_酸性。

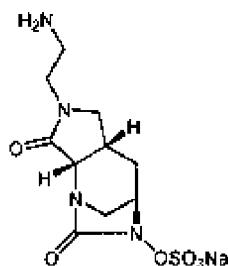


步驟10：(4*R*,5*aS*,8*aS*)-7-(2-羥基乙基)-2,8-二側氧基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮砒-3(4*H*)-基硫酸鈉。向(4*R*,5*aS*,8*aS*)-7-(2-((第三丁基二甲基矽基)氧基)乙基)-2,8-二側氧基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮砒-3(4*H*)-基硫酸鈉(36 mg, 0.079 mmol)於乙腈(790 μ L)中之漿液中逐滴添加三乙胺三氫氟酸鹽(13.07 μ L, 0.079 mmol)，並將所得溶液加熱至45℃並保持3 h。添加其他三乙胺三氫氟酸鹽(13.07 μ L,

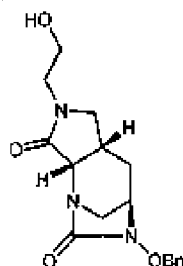
第 93 頁(發明說明書)

C208342PBX20210621C.docx

0.079 mmol)並將其加熱至45°C並保持2 h然後在真空中濃縮。將粗製殘餘物吸收於磷酸鹽緩衝液(pH = 6)中並藉由反相製備型HPLC (T3, Atlantis管柱, 30 × 100 mm, 5 μm, C18管柱；具有3.75 mmol NH₄OAc緩衝液之ACN-水, 20-60 mL/min)純化，得到白色粉末狀標題化合物(13.9 mg)。LCMS: R_t = 0.34 min；m/z = 322.2 (M+1)方法T3_3m_極性。¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 4.8 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 4.14 (s, 1H), 3.69 (t, *J* = 5.4 Hz, 2H), 3.61 (dd, *J* = 10.7, 6.3 Hz, 1H), 3.49-3.37 (m, 2H), 3.29-3.22 (m, 1H), 3.17-3.14 (m, 1H), 2.84 (d, *J* = 12.2 Hz, 1H), 2.75 - 2.67 (m, 1H), 2.45 (ddt, *J* = 14.7, 8.7, 3.0 Hz, 1H), 1.54 (ddd, *J* = 14.8, 9.0, 2.0 Hz, 1H)。

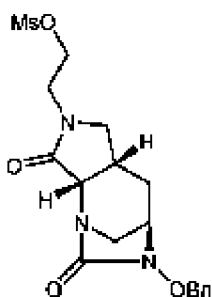


實例5. (4*R*,5*aS*,8*aS*)-7-(2-胺基乙基)-2,8-二側氧基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮砒-3(4*H*)-基硫酸氫鹽。

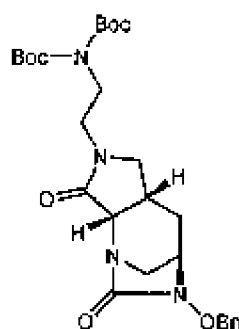


步驟1：(4*R*,5*aS*,8*aS*)-3-(苄基氧基)-7-(2-羥基乙基)六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮砒-2,8(3*H*)-二酮。在0°C下向(4*R*,5*aS*,8*aS*)-3-(苄基氧基)-7-(2-((第三丁基二甲基矽基)氧基)乙基)六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮砒-2,8(3*H*)-二酮(530 mg, 1.19 mmol)於THF

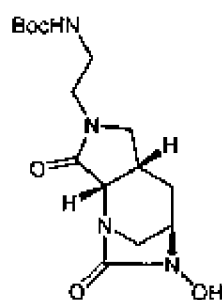
(12 mL)中之溶液中添加TBAF (1.2 mL, 1.20 mmol)。在0°C下1 h後，將其在真空中濃縮，將其分配於EtOAc/水之間並分離各相。用EtOAc(2×)萃取水層，且用鹽水洗滌合併之有機層，經Na₂SO₄/MgSO₄乾燥，過濾並在真空中濃縮。藉由矽膠層析(MeOH-DCM, 0-7%)純化粗殘餘物，以得到白色固體狀標題化合物(268 mg, 68%)。LCMS: R_t = 0.55 min ; m/z = 332.3 (M+1)方法2m_酸性。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃-d) δ 7.48-7.36 (m, 5H), 5.09 (d, *J* = 11.3 Hz, 1H), 4.93 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H), 4.18 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 3.87-3.75 (m, 2H), 3.66-3.54 (m, 2H), 3.42-3.35 (m, 1H), 3.30 (s, 1H), 3.10 (d, *J* = 12.2 Hz, 1H), 3.03 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H), 2.81-2.72 (m, 2H), 2.48-2.39 (m, 2H), 1.38 (dd, *J* = 14.2, 9.2 Hz, 1H)。



步驟2：甲磺酸2-((4*R*,5*aS*,8*aS*)-3-(苄基氧基)-2,8-二側氧基八氫-7*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮矽-7-基)乙酯。向(4*R*,5*aS*,8*aS*)-3-(苄基氧基)-7-(2-羥基乙基)六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮矽-2,8(3*H*)-二酮(265.4 mg, 0.801 mmol)及TEA (140 μl, 1.00 mmol)於DCM (4.0 mL)中之溶液中添加MsCl (65.5 μl, 0.841 mmol)。45 min後，用水對其進行洗滌。用EtOAc (2×)萃取水層且將合併之有機層經Na₂SO₄/MgSO₄乾燥，過濾並在真空中濃縮，得到白色固體狀標題化合物(332 mg)。LCMS: R_t = 0.55 min ; m/z = 410.3 (M+1)方法2m_酸性。

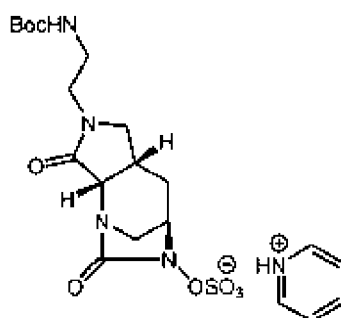


步驟3：(2-((4*R*,5*aS*,8*aS*)-3-(苄基氧基)-2,8-二側氧基八氫-7*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮䓬-7-基)乙基)亞胺基二甲酸二-第三丁基酯。向亞胺基二甲酸二-第三丁基酯(153 mg, 0.704 mmol)於DMF (3.2 mL)中之溶液中添加第三丁醇鉀(1 M於THF中, 700 μ L, 0.700 mmol)。在rt下30 min後，添加甲磺酸2-((4*R*,5*aS*,8*aS*)-3-(苄基氧基)-2,8-二側氧基八氫-7*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮䓬-7-基)乙酯(262 mg, 0.640 mmol)於DMF (2 mL, 2 $\times$ 500 μ L洗滌)中之溶液。將其在rt下攪拌10 min，加熱至50 $^{\circ}$ C並保持100 min然後在rt下攪拌12 h，隨後用EtOAc將其稀釋並用鹽水($\frac{1}{2}$ 飽和)洗滌。用EtOAc(2 $\times$)萃取水層並將合併之有機層經Na₂SO₄/MgSO₄乾燥，過濾，且在真空中濃縮。經由矽膠層析(EtOAc-庚烷，0%-90%)純化粗殘餘物，得到白色固體狀標題化合物(293 mg, 86%)。LCMS: R_t = 0.87 min； m/z = 431.4 ($M - \text{Boc} + 1$)方法2m_酸性。

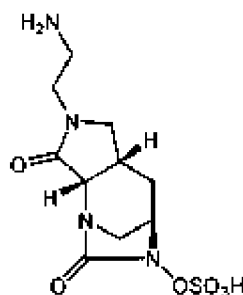


步驟4：(2-((4*R*,5*aS*,8*aS*)-3-羥基-2,8-二側氧基八氫-7*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮䓬-7-基)乙基)胺基甲酸第三丁基酯。將(2-((4*R*,5*aS*,8*aS*)-3-(苄基氧基)-2,8-二側氧基八氫-7*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并

[3,4-d][1,3]二氮砷-7-(基)乙基)亞胺基二甲酸二-第三丁基酯(226.8 mg, 0.427 mmol)及Pd-C (10%迪高沙型101, 50%水, 45.3 mg, 0.021 mmol)於MeOH (4.2 mL)中之漿液脫氣並用H₂ (3×)回填。在劇烈攪拌3 h之後，用N₂吹掃漿液，經由矽藻土過濾並在真空中濃縮。添加甲苯且對其進行音波處理，然後再濃縮。假定定量產率。LCMS: R_t = 0.65 min; m/z = 341.4 (M+1)方法2m_酸性。

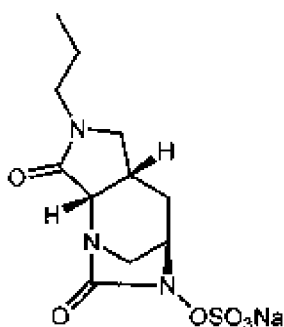


步驟5：吡啶-1-鎧(4R,5aS,8aS)-7-(2-((第三丁氧基羰基)胺基)乙基)-2,8-二側氧基六氫-2H-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-d][1,3]二氮砷-3(4H)-基硫酸鹽。向(2-((4R,5aS,8aS)-3-羥基-2,8-二側氧基八氫-7H-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-d][1,3]二氮砷-7-(基)乙基)胺基甲酸第三丁基酯於吡啶(3 mL)中之溶液中添加SO₃•吡啶(335 mg, 2.10 mmol)。在rt下15 h後，將其在真空中濃縮，在DCM中漿液化並過濾，得到灰白色固體狀標題化合物。假定定量產率。LCMS: R_t = 0.59 min; m/z = 321.4 (M - Boc + 1)方法2m_酸性。

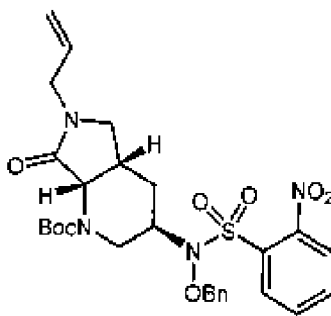


步驟6：(4R,5aS,8aS)-7-(2-胺基乙基)-2,8-二側氧基六氫-2H-1,4-橋

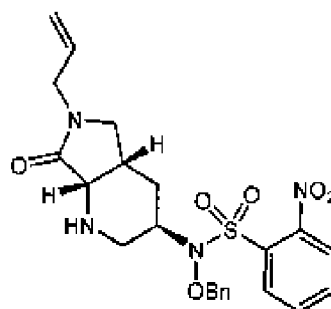
亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮䓬-3(4*H*)-基硫酸氫鹽。在0℃下向吡啶-1-鎘(4*R*,5*aS*,8*aS*)-7-(2-((第三丁氧基羰基)胺基)乙基)-2,8-二側氧基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮䓬-3(4*H*)-基硫酸鹽(210 mg, 0.421 mmol)於DCM (4.2 mL)中之漿液中添加TFA (973 μ l, 12.63 mmol)。在0℃下2.5 h後，將其在真空中濃縮，在DCM中漿液化並再濃縮。將粗製殘餘物吸收於磷酸鹽緩衝液(pH = 6)中，過濾並藉由反相製備型HPLC (T3, Atlantis管柱, 30 $\times$ 100 mm, 5 μ m, C18管柱；具有3.75 mmol NH₄OAc緩衝液之水, 20-60 mL/min)純化，得到白色粉末狀標題化合物(155 mg)。LCMS: R_t = 0.22 min； m/z = 321.4 ($M+1$)方法T3_3m_極性。¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 4.00 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 3.94 (s, 1H), 3.61 (dt, J = 14.3, 6.9 Hz, 1H), 3.45 (dd, J = 10.5, 6.4 Hz, 1H), 3.28 (dt, J = 14.8, 5.6 Hz, 1H), 3.06 (br d, J = 12.4 Hz, 1H), 2.96 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 2.92 (d, J = 10.5 Hz, 1H), 2.68 (d, J = 12.3 Hz, 1H), 2.55 (p, J = 8.3 Hz, 1H), 2.31-2.21 (m, 1H), 1.38 (dd, J = 14.9, 9.1 Hz, 1H)。



實例6. (4*R*,5*aS*,8*aS*)-2,8-二側氧基-7-丙基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮䓬-3(4*H*)-基硫酸鈉。

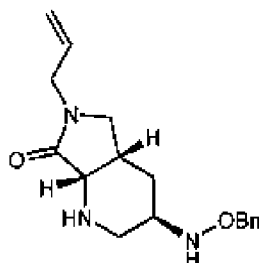


步驟1：(3*R*,4*aS*,7*aS*)-6-烯丙基-3-((*N*-(苄基氧基)-2-硝基苯基)磺醯胺基)-7-側氧基八氫-1*H*-吡咯并[3,4-*b*]吡啶-1-甲酸第三丁基酯。在6:30 pm在-17℃下向(3*S*,4*aS*,7*aS*)-6-烯丙基-3-羥基-7-側氧基八氫-1*H*-吡咯并[3,4-*b*]吡啶-1-甲酸第三丁基酯(786.4 mg, 2.65 mmol)、*N*-(苄基氧基)-2-硝基苯磺醯胺(900 mg, 2.92 mmol)及三苯基膦(835 mg, 3.18 mmol)於THF (29 mL)中之溶液中逐滴添加DIAD (0.640 mL, 3.18 mmol)於THF (4.1 mL)中之溶液。使其緩慢升溫至rt並攪拌22 h然後在真空中濃縮並經由矽膠層析(EtOAc-庚烷, 0-40%)直接純化，得到灰白色固體狀標題化合物(846 mg, 54%)。LCMS: $R_t = 0.95$ min； $m/z = 587.3$ ($M+1$)方法2m_酸性。

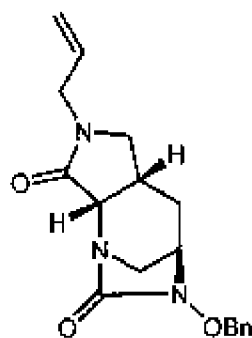


步驟2：*N*-((3*R*,4*aS*,7*aS*)-6-烯丙基-7-側氧基八氫-1*H*-吡咯并[3,4-*b*]吡啶-3-基)-*N*-(苄基氧基)-2-硝基苯磺醯胺。在N₂下向裝填用溴化鋅(II) (681 mg, 3.02 mmol，在200℃下乾燥4 h)及(3*R*,4*aS*,7*aS*)-6-烯丙基-3-((*N*-(苄基氧基)-2-硝基苯基)磺醯胺基)-7-側氧基八氫-1*H*-吡咯并[3,4-*b*]吡啶-1-甲酸第三丁基酯(845 mg, 1.44 mmol)之燒瓶中添加DCM (4.8 mL)。

在rt下攪拌15 h之後，用DCM將其稀釋並用飽和NaHCO₃淬滅。在停止鼓泡之後，分離各層並用DCM (3×)萃取水層。將合併之有機層經Na₂SO₄乾燥並在真空中濃縮，得到白色泡沫狀物。假定定量產率。LCMS: R_t = 0.70 min ; m/z = 487.2 (M+1)方法2m_酸性。

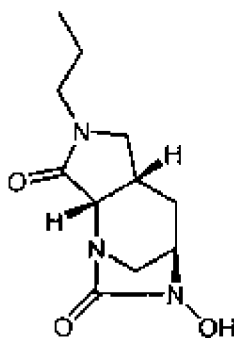


步驟3：(3*R*,4*aS*,7*aS*)-6-烯丙基-3-((苄基氧基)胺基)八氫-7*H*-吡咯并[3,4-*b*]吡啶-7-酮。向*N*-((3*R*,4*aS*,7*aS*)-6-烯丙基-7-側氧基八氫-1*H*-吡咯并[3,4-*b*]吡啶-3-基)-*N*-(苄基氧基)-2-硝基苯磺醯胺(1.44 mmol)及K₂CO₃ (995 mg, 7.20 mmol)於ACN (14.4 mL)中之漿液中添加苯硫酚(764 μL, 7.20 mmol)。21 h後，將其過濾並在真空中濃縮。經由矽膠層析(MeOH-DCM, 0-8%)純化粗殘餘物，得到灰白色泡沫狀標題化合物(385 mg, 89%，2個步驟)。LCMS: R_t = 0.49 min ; m/z = 302.4 (M+1)方法2m_酸性。

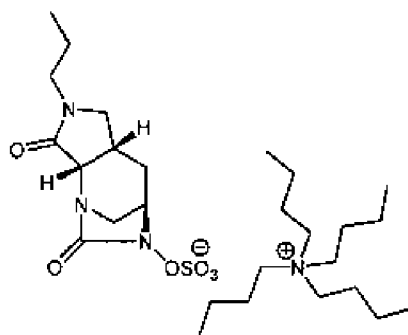


步驟4：(4*R*,5*aS*,8*aS*)-7-烯丙基-3-((苄基氧基)六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮呼-2,8(3*H*)-二酮。在0℃下以6.5 mL/h之速率向(3*R*,4*aS*,7*aS*)-6-烯丙基-3-((苄基氧基)胺基)八氫-7*H*-吡咯并[3,4-*b*]吡啶-7-

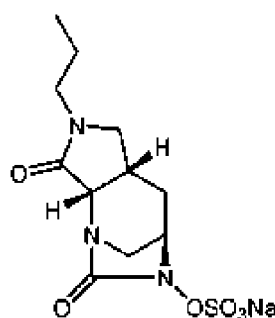
酮(385 mg, 1.28 mmol)及DIPEA (670 μ L, 3.83 mmol)於ACN (40 mL)中之溶液中添加光氣(1.20 mL, 1.66 mmol)於ACN (5.7 mL)中之溶液。使其緩慢升高至rt。20 h後，將其在真空中濃縮，將其分配於EtOAc/HCl (0.2 N)之間並分離各相。用EtOAc (3 $\times$)萃取水層，且用鹽水及飽和NaHCO₃洗滌合併之有機層。將鹽水洗滌液與飽和NaHCO₃洗滌液合併並用10% MeOH/DCM (2 $\times$)萃取溶液。用10% MeOH/DCM (2 $\times$)再萃取酸性水層且經Na₂SO₄乾燥合併之有機層，過濾並在真空中濃縮。經由矽膠層析(MeOH-DCM, 0-10%)純化粗殘餘物，得到白色泡沫狀標題化合物(369.2 mg, 88%)。LCMS: R_t = 0.60 min ; m/z = 328.4 (M+1)方法2m_酸性。



步驟5 : (4*R*,5*aS*,8*aS*)-3-羥基-7-丙基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮呋-2,8(3*H*)-二酮。將(4*R*,5*aS*,8*aS*)-7-烯丙基-3-(苄基氧基)六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮呋-2,8(3*H*)-二酮(209 mg, 0.638 mmol)及Pd-C (10%迪高沙型101, 50%水, 41 mg, 0.019 mmol)於MeOH (6.4 mL)中之漿液脫氣並用H₂ (3 $\times$)回填。在劇烈攪拌5 h之後，用N₂吹掃漿液，添加更多Pd-C (10%迪高沙型101, 50%水, 41 mg, 0.019 mmol)並將其脫氣並用H₂ (3 $\times$)回填。在劇烈攪拌2 h後，用N₂對其進行吹掃然後藉助矽藻土過濾並在真空中濃縮。添加甲苯并對其進行音波處理，然後再濃縮。假定定量產率。LCMS: R_t = 0.27 min ; m/z = 240.3 (M+1)方法2m_酸性。

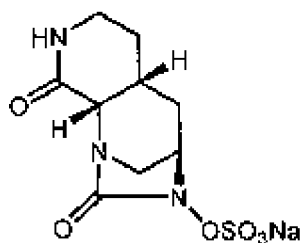


步驟6：(4*R*,5*aS*,8*aS*)-2,8-二側氧基-7-丙基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮砷-3(4*H*)-基硫酸四丁基銨。向(4*R*,5*aS*,8*aS*)-3-羥基-7-丙基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮砷-2,8(3*H*)-二酮 (0.638 mmol) 於吡啶 (6.4 mL) 中之溶液中添加 $\text{SO}_3 \cdot \text{Py}$ (508 mg, 3.19 mmol)。在rt下攪拌13 h之後，過濾混合物並在真空中濃縮。將所得固體溶解於 NaH_2PO_4 (1 M aq, 40 mL) 中，隨後添加四丁基硫酸氫銨 (325 mg, 0.957 mmol)。在攪拌1.5 h之後，用DCM (4×) 對其進行萃取並將合併之有機層經 Na_2SO_4 乾燥，過濾並在真空中濃縮。經由矽膠層析 (MeOH-DCM, 0-15%) 純化粗殘餘物，得到白色固體狀標題化合物 (229 mg, 64%，3個步驟)。LCMS: $R_t = 0.81$ min； $m/z = 436.3$ ($M+1$) 方法2m_酸性。

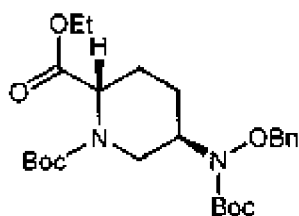


步驟7：(4*R*,5*aS*,8*aS*)-2,8-二側氧基-7-丙基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮砷-3(4*H*)-基硫酸鈉。藉由與NaOH (2 N) 一起攪拌2 h條件化DOWEX 50Wx8氫形式(200-400網目)。將樹脂加載至玻璃管柱上並用水(直至pH約等於6為止)隨後水:丙酮(1:1)洗滌。將(4*R*,5*aS*,8*aS*)-2,8-

二側氧基-7-丙基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮䓬-3(4*H*)-基硫酸四丁基銨(228 mg, 0.408 mmol)於水:丙酮(1:1)中之溶液加載至管柱上並使其穿過管柱(用水:丙酮(1:1)溶析)。在真空(浴溫 < 30°C)中濃縮試樣並凍乾，得到白色粉末狀標題化合物(120 mg, 85%)。LCMS: $R_t = 0.30$ min; $m/z = 320.3$ ($M+1$)方法2m_酸性。¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 4.18 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.14 (s, 1H), 3.54 (dd, $J = 10.9, 6.3$ Hz, 1H), 3.32-3.17 (m, 3H), 3.10 (d, $J = 10.8$ Hz, 1H), 2.80 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 2.69 (p, $J = 8.2$ Hz, 1H), 2.50-2.41 (m, 1H), 1.57-1.47 (m, 3H), 0.81 (t, $J = 7.4$, 3H)。

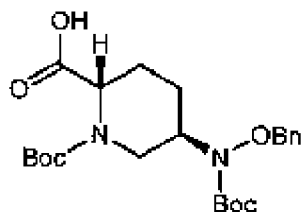


實例7. (4*R*,5*aR*,9*aS*)-2,9-二側氧基八氫-1,4-橋亞甲基吡啶并[3,4-*d*][1,3]二氮䓬-3(2*H*)-基硫酸氫鈉。

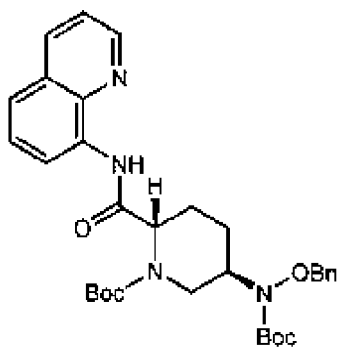


步驟1: (2*S*,5*R*)-5-((苄基氧基)(第三丁氧基羰基)胺基)六氫吡啶-1,2-二甲酸1-(第三丁基)酯2-乙酯。向(2*S*,5*R*)-5-((苄基氧基)胺基)六氫吡啶-2-甲酸乙酯草酸鹽(13.25 g, 36.0 mmol)於EtOAc (200 mL)中之懸浮液中添加Na₂CO₃ (2.0 M, 80 mL, 160 mmol)及氫氧化鈉(1.0 M, 40 mL, 40 mmol)。將混合物在室溫下攪拌30 min。過濾掉所形成之沈澱物並分離濾液之兩個層。用鹽水(50 ml)洗滌有機層，經Na₂SO₄乾燥，過濾並在真空

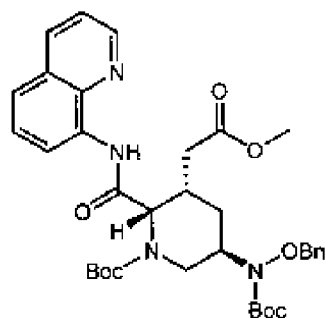
中濃縮，得到黏性油狀物(10.0 g)。向此油狀物(10.0 g, 35.9 mmol)於THF (100ml)中之溶液中添加Boc-酸酐(23.5 g, 108 mmol)、三乙胺(15.0 ml, 108 mmol)及DMAP (4.38 g, 35.9 mmol)。將反應混合物攪拌60 h且然後在50°C下加熱2天。在真空中去除溶劑且將其返回吸收於EtOAc/庚烷(300 mL, 1/1)中，用水(100 mL)、HCl (0.1 N, 50 mL)、鹽水(50 mL)洗滌，經Na₂SO₄乾燥，過濾並在真空中濃縮。經由矽膠層析(EtOAc-庚烷，0-40%)純化粗殘餘物，以得到油狀標題化合物(9.6 g, 55%)。LCMS: R_t = 1.19 min, m/z = 479.2 (M+1)，方法2m_酸性。



步驟2：(2*S*,5*R*)-5-((苄基氧基)(第三丁氧基羰基)胺基)-1-(第三丁氧基羰基)六氫吡啶-2-甲酸。在0°C下向(2*S*,5*R*)-5-((苄基氧基)(第三丁氧基羰基)胺基)六氫吡啶-1,2-二甲酸1-(第三丁基)酯2-乙酯(9.60 mg, 20.06 mmol)於THF:MeOH (3:1, 80 mL)中之溶液中緩慢添加氫氧化鈉之溶液(1 N, 40 mL)。在rt下5 h後，緩慢添加HCl (1 N, 41 mL)，用EtOAc (300 mL)對其進行萃取。將有機層經Na₂SO₄乾燥，過濾並在真空中濃縮，以得到軟固體狀標題化合物(8.78 g, 97%)。LCMS: R_t = 1.05 min, m/z = 451.2 (M+1)方法2m_酸性。



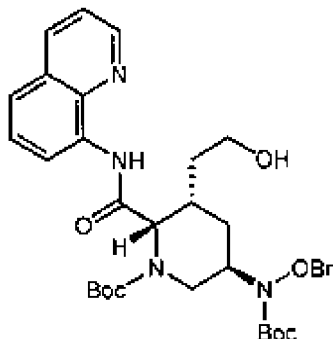
步驟3：(2*S*,5*R*)-5-((苄基氧基)(第三丁氧基羰基)胺基)-2-(喹啉-8-基胺甲醯基)六氫吡啶-1-甲酸第三丁基酯。在0℃下向(2*S*,5*R*)-5-((苄基氧基)(第三丁氧基羰基)胺基)-1-(第三丁氧基羰基)六氫吡啶-2-甲酸(6.010 g, 13.34 mmol)於DCM (100 mL)中之溶液中添加喹啉-8-胺(2116 mg, 14.67 mmol)，隨後添加DIPEA (4.66 mL, 26.7 mmol)及HATU (6.087 g, 16.01 mmol)。在氬下在rt下攪拌2.5 h之後，將混合物倒入水(150 mL)中並用DCM (100 mL)萃取。將有機層經MgSO₄乾燥，過濾並在真空中濃縮。經由矽膠層析(EtOAc-庚烷，10-40%)純化粗殘餘物，得到軟固體狀標題化合物(6.60 g, 86%)。LCMS: $R_t = 1.22$ min, $m/z = 577.3$ (M+1)，方法2m_酸性。



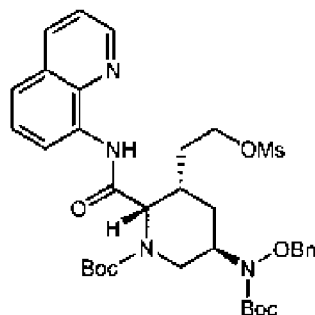
步驟4：(2*S*,3*S*,5*R*)-5-((苄基氧基)(第三丁氧基羰基)胺基)-3-(2-甲氧基-2-側氧基乙基)-2-(喹啉-8-基胺甲醯基)六氫吡啶-1-甲酸第三丁基酯。向(2*S*,5*R*)-5-((苄基氧基)(第三丁氧基羰基)胺基)-2-(喹啉-8-基胺甲醯基)六氫吡啶-1-甲酸第三丁基酯(5.580 g, 9.68 mmol)於2-甲基-2-丁醇(95 mL)中之溶液中添加亞磷酸二苄酯(538 mg, 1.94 mmol)、碳酸銀(5.336 mg, 19.35 mmol)、乙酸Pd(II) (434 mg, 1.94 mmol)及2-溴乙酸甲酯(2.83 mL, 29.0 mmol)。用氬吹掃混合物，密封並加熱至110℃並保持20 h。添加其他乙酸Pd(II) (217 mg, 0.97 mmol)及2-溴乙酸甲酯(1.88 mL, 19.36 mmol)並將反應混合物在110℃下再攪拌20 h。使混合物冷卻至室溫，用

DCM (100 ml)稀釋，過濾並在真空中濃縮。經由矽膠層析(EtOAc-庚烷，0-35%)純化粗殘餘物，以得到黏性油狀標題化合物(2.170 g, 35%)。

LCMS: $R_t = 1.26$ min, $m/z = 649.3$ (M+1)，方法2m_酸性。



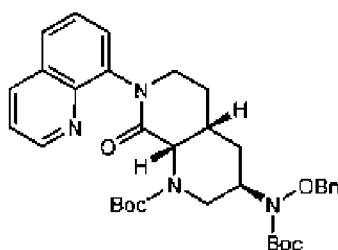
步驟5：(2*S*,3*S*,5*R*)-5-((苄基氧基)(第三丁氧基羰基)胺基)-3-(2-羥基乙基)-2-(喹啉-8-基胺甲醯基)六氫吡啶-1-甲酸第三丁基酯。在0℃下向(2*S*,3*S*,5*R*)-5-((苄基氧基)(第三丁氧基羰基)胺基)-3-(2-甲氧基-2-側氧基乙基)-2-(喹啉-8-基胺甲醯基)六氫吡啶-1-甲酸第三丁基酯(2.40 g, 3.70 mmol)於THF (60 mL)中之溶液中添加三乙基硼氫化鋰(super-hydride)(1.0 M於THF中, 18.50 mL, 18.5 mmol)。在0℃下攪拌5 h之後，添加AcOH (50% aq, 10 ml)隨後飽和NH₄Cl (30 mL)及EtOAc (150 mL)。分離各層並使用鹽水(50 mL)洗滌有機層，經Na₂SO₄乾燥，過濾並在真空中濃縮。經由矽膠層析(EtOAc-庚烷，10-60%)純化粗殘餘物，以得到標題化合物(680 mg, 30%)。LCMS: $R_t = 1.16$ min, $m/z = 621.1$ (M+1)，方法2m_酸性。



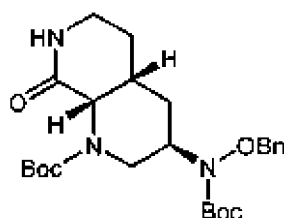
步驟6：(2*S*,3*S*,5*R*)-5-((苄基氧基)(第三丁氧基羰基)胺基)-3-(2-((甲

第 106 頁(發明說明書)

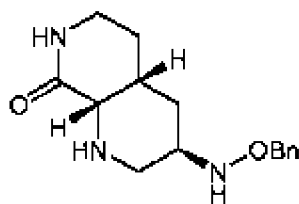
基磺醯基)氧基)乙基)-2-(喹啉-8-基胺甲磺基)六氫吡啶-1-甲酸第三丁基酯。在0℃下向(2*S*,3*S*,5*R*)-5-((苄基氧基)(第三丁氧基羰基)胺基)-3-(2-羥基乙基)-2-(喹啉-8-基胺甲磺基)六氫吡啶-1-甲酸第三丁基酯(680 mg, 1.10 mmol)於二氯甲烷(20 mL)中之溶液中添加三乙胺(0.30 mL, 2.19 mmol)及甲基磺醯氯(0.17 mL, 2.19 mmol)。在rt下攪拌20 h之後，用水(20 mL)及EtOAc (100 mL)稀釋混合物並再攪拌15 min，隨後分離各層。用NaH₂PO₄ (1.0 M, 2×40 mL)、鹽水(30 mL)洗滌有機層，經Na₂SO₄乾燥，過濾並在真空中濃縮，得到軟固體狀標題化合物(定量產率)。LCMS: *R*_t = 1.22 min, *m/z* = 699.4 (*M*+1)，方法2m_酸性。



步驟7：(3*R*,4*aR*,8*aS*)-3-((苄基氧基)(第三丁氧基羰基)胺基)-8-側氧基-7-(喹啉-8-基)八氫-1,7-萘啶-1(2*H*)-甲酸第三丁基酯。在0℃下向(2*S*,3*S*,5*R*)-5-((苄基氧基)(第三丁氧基羰基)胺基)-3-(2-((甲基磺醯基)氧基)乙基)-2-(喹啉-8-基胺甲磺基)六氫吡啶-1-甲酸第三丁基酯(690 mg, 0.99 mmol)於THF (16 mL)中之溶液中添加LDA (1.0 M於THF/己烷中, 1.97 mL)。在0℃下攪拌2.5 h之後，使其升溫至rt並攪拌過夜。添加飽和NH₄Cl (20 mL)溶液並用EtOAc (80 mL)萃取混合物。用鹽水(20 mL)洗滌有機層，經Na₂SO₄乾燥，過濾並在真空中濃縮。經由矽膠層析(EtOAc-庚烷，30%-80%)純化粗殘餘物，以得到軟固體狀標題化合物(680 mg, 45%)。LCMS: *R*_t = 1.03 min, *m/z* = 603.4 (*M*+1)，方法2m_酸性。

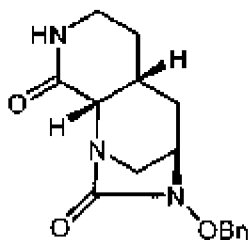


步驟8：(3*R*,4*aR*,8*aS*)-3-((苄基氧基)(第三丁氧基羰基)胺基)-8-側氧基八氫-1,7-萘啶-1(2*H*)-甲酸第三丁基酯。在-78℃下用O₃吹掃(3*R*,4*aR*,8*aS*)-3-((苄基氧基)(第三丁氧基羰基)胺基)-8-側氧基-7-(喹啉-8-基)八氫-1,7-萘啶-1(2*H*)-甲酸第三丁基酯(270 mg, 0.448 mmol)於無水DCM (15 mL)中之溶液，直至藍色持久為止，隨後去除吹掃管線。在-78℃下攪拌45 min之後，藍色消失且用O₃對其再次吹掃直至藍色持久為止。在攪拌15 min後，用O₂吹掃系統直至其保持無色為止。向溶液中添加二甲硫(100 μL, 1.36 mmol)。在室溫下攪拌1 h之後，在真空中濃縮混合物。將殘餘物再溶解於THF (5 mL)中並添加NH₄OH (25% aq, 5 mL)。在攪拌16 h之後，用EtOAc (50 mL)稀釋混合物並用水(20 mL)、鹽水(20 mL)洗滌有機層，經Na₂SO₄乾燥，過濾並在真空中濃縮。經由矽膠層析(EtOAc-庚烷，70%-100%)純化粗殘餘物，以得到固體狀標題化合物(96 mg, 45%)。LCMS: R_t = 1.00 min, m/z = 476.2 (M+1)，方法2m_酸性。

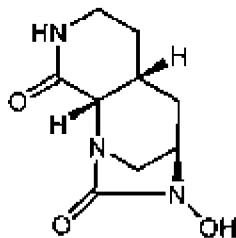


步驟9：(3*R*,4*aR*,8*aS*)-3-((苄基氧基)胺基)八氫-1,7-萘啶-8(2*H*)-酮。在0℃下向(3*R*,4*aR*,8*aS*)-3-((苄基氧基)(第三丁氧基羰基)胺基)-8-側氧基八氫-1,7-萘啶-1(2*H*)-甲酸第三丁基酯(120 mg, 0.252mmol)於DCM (3 mL)中之溶液中緩慢添加TFA (1.5 mL)。在0℃下3 h然後在rt下保持1 h之後，將其在真空(浴溫<30℃)中濃縮。將殘餘物吸收於DCM:EtOH (5:1, 30

mL)中並添加 Na_2CO_3 (2 M, 10 mL)。分離各層，且使用DCM:EtOH (5:1, 2×30 mL)萃取水層。將合併之有機層經 Na_2SO_4 乾燥，過濾並在真空中濃縮。經由矽膠層析(MeOH-DCM, 10-25%)純化粗殘餘物，以得到固體狀標題化合物(60 mg, 86%)。LCMS: $R_t = 0.58$ min, $m/z = 276.1$ (M+1)，方法2m_酸性。

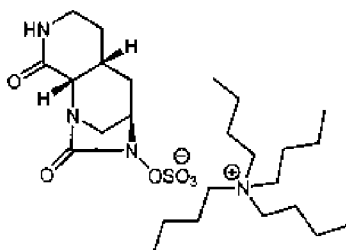


步驟10：(4R,5aR,9aS)-3-(苄基氧基)六氫-1,4-橋亞甲基吡啶并[3,4-d][1,3]二氮呋-2,9(3H,6H)-二酮。在0℃下在 N_2 下向(3R,4aR,8aS)-3-((苄基氧基)胺基)八氫-1,7-萘啶-8(2H)-酮(56 mg, 0.20 mmol)於ACN (21 mL)中之溶液中添加DIPEA (140 μL , 0.81 mmol)。經由注射幫浦(0.1 mL/min)添加三光氣(24 mg, 0.08 mmol)於ACN (3 mL)中之溶液。在0℃下攪拌6 h之後，在真空中將其部分地濃縮(約10 mL)，用DCM (40 mL)稀釋，用水(20 mL)、鹽水(20 mL)洗滌，經 Na_2SO_4 乾燥，過濾並在真空中濃縮。經由矽膠層析(MeOH-DCM, 0-5%)純化粗殘餘物，以得到灰白色固體狀標題化合物(50 mg, 82%)。LCMS: $R_t = 0.65$ min, $m/z = 302.0$ (M+1)，方法2m_酸性。

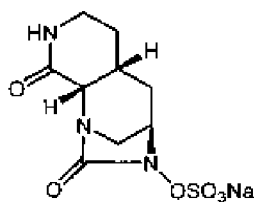


步驟11：(4R,5aR,9aS)-3-羥基六氫-1,4-橋亞甲基吡啶并[3,4-d][1,3]二氮呋-2,9(3H,6H)-二酮。蒸發(4R,5aR,9aS)-3-(苄基氧基)六氫-1,4-橋亞

甲基吡啶并[3,4-d][1,3]二氮呿-2,9(3*H*,6*H*)-二酮(50 mg, 0.17 mmol)及Pd-C (10%迪高沙型101, 50%水, 27 mg)於MeOH:DCM (3:1, 4 mL)中之漿液並用H₂回填。在劇烈攪拌2 h之後，藉助矽藻土塞對其進行過濾，用MeOH洗滌，並在真空中濃縮。LCMS: R_t = 0.20 min, m/z = 212.0 (M+1)方法2m_酸性。

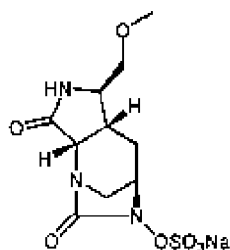


步驟12：(4*R*,5*aR*,9*aS*)-2,9-二側氧基八氫-1,4-橋亞甲基吡啶并[3,4-*d*][1,3]二氮呿-3(2*H*)-基硫酸四丁基銨。在0℃下向粗製(4*R*,5*aR*,9*aS*)-3-羟基六氫-1,4-橋亞甲基吡啶并[3,4-*d*][1,3]二氮呿-2,9(3*H*,6*H*)-二酮(35 mg, 0.17 mmol)於吡啶(3 ml)中之漿液中添加SO₃•Py (132 mg, 0.83 mmol)。在rt下劇烈攪拌20 h之後，過濾漿液並用冷DCM (5 mL)洗滌固體。在真空(浴溫<30℃)中濃縮濾液並將粗製殘餘物溶解於NaH₂PO₄ (1 M, 10 mL)中，隨後添加四丁基硫酸氫銨(84 mg, 0.25 mmol)。30 min後，用CHCl₃:IPA (4:1, 3×30 mL)對其進行萃取。將合併之有機層經Na₂SO₄乾燥，過濾並在真空中濃縮。經由矽膠層析(MeOH-DCM, 5%-20%)純化粗殘餘物，以得到白色泡沫狀標題化合物。LCMS: R_t = 0.15 min, m/z = 292.0 (M+1)，方法2m_酸性。



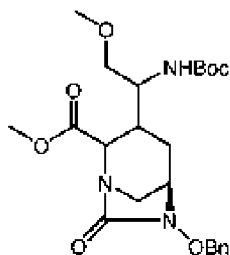
步驟13：(4*R*,5*aR*,9*aS*)-2,9-二側氧基八氫-1,4-橋亞甲基吡啶并[3,4-

d][1,3]二氮砷-3(2*H*)-基硫酸氫鈉。藉由與NaOH (2 N)一起攪拌2 h條件化DOWEX 50Wx8氫形式(200-400網目)。將樹脂加載至玻璃管柱上並用水(直至pH約等於6)隨後水:丙酮(1:1)洗滌。將於丙酮:水(1:1)中之(4*R*,5*aR*,9*aS*)-2,9-二側氧基八氫-1,4-橋亞甲基吡啶并[3,4-*d*][1,3]二氮砷-3(2*H*)-基硫酸四丁基銨(228 mg, 0.408 mmol)加載至管柱上並使其穿過管柱(用水(20 ml)然後丙酮:水(1:4, 30 ml)溶析)。凍乾試樣以得到白色固體狀標題化合物(28 mg, 52%)。LCMS: $R_t = 0.29$ min, $m/z = 291.8$ ($M+1$) 方法T3_3m_極性; ^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 4.31(m, 1H), 4.09 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 3.55 (td, $J = 12.8, 4.3$ Hz, 1H), 3.26-3.34 (m, 2H), 2.87 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 2.55-2.64 (m, 1H), 2.21-2.30 (m, 1H), 1.99-2.09 (m, 1H), 1.80-1.88 (m, 1 H) 1.72-1.79 (m, 1H)。



實例8. (4*R*,5*aS*,6*R*,8*aS*)-6-(甲氧基甲基)-2,8-二側氧基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮砷-3(4*H*)-基硫酸氫鈉

步驟1 : (5*R*)-6-(苄基氧基)-3-(1-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-甲氧基乙基)-7-側氧基-1,6-二氮雜二環[3.2.1]辛烷-2-甲酸甲酯(非鏡像異構物之混合物)。



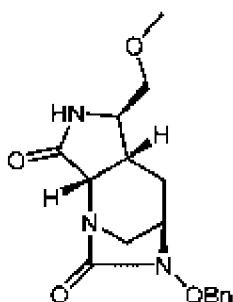
將中間體C (1.10 g, 3.82 mmol)、Boc-L-Ser(OMe)-OH (1.04 g,

第 111 頁(發明說明書)

C208342PBX20210621C.docx

4.58 mmol)及Ir[df(CF₃)ppy₂(dtbpy)]PF₆ (43 mg, 0.04 mmol)溶解於DMF (16 mL)中。向溶液中添加磨細的磷酸氫二鉀(0.62 g, 4.58 mmol)並攪拌所得懸浮液並用Kessil H150-Blue燈自≤2 cm之距離輻照12天。3天後及9天後，添加Ir[df(CF₃)ppy₂(dtbpy)]PF₆ (43 mg, 0.04 mmol)(總共3 mol% 觸媒)。向反應混合物中添加水(15 mL)，隨後飽和NaHCO₃ (aq, 15 mL)，然後用TBME (3×60 mL)對其進行萃取。用鹽水(10 mL)洗滌合併之有機相，經Na₂SO₄乾燥並在真空中濃縮，得到黃色油狀標題化合物(1.85 g)，該標題化合物由4種非鏡像異構物(比率39:16:11:34)組成。LCMS: R_t = 1.02 min、1.05 min、1.08 min、1.12 min，所有皆具有m/z = 464 (M+1)，LCMS_2 MIN_反應_監測。

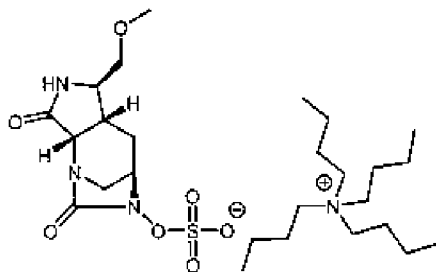
步驟2：(4*R*,5*aS*,6*R*,8*aS*)-3-(苄基氧基)-6-(甲氧基甲基)六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮呿-2,8(3*H*)-二酮。



在0℃下向(5*R*)-6-(苄基氧基)-3-(1-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-甲氧基乙基)-7-側氧基-1,6-二氮雜二環[3.2.1]辛烷-2-甲酸甲酯(1.85 g, 4.0 mmol)於DCM (60 mL)中之溶液中逐滴添加TFA (15.4 mL, 200 mmol)。將反應混合物在rt下攪拌1.5 h，然後在真空中濃縮。將粗製殘餘物溶解於DCM (60 mL)中，然後逐滴添加三乙胺(11.1 mL, 80 mmol)。將反應混合物在rt下攪拌過夜，隨後將其濃縮以得到紅色油狀物(6.8 g)。添加水(20 mL)並用TBME (3×80 mL)萃取混合物。將合併之有機相經Na₂SO₄乾燥並

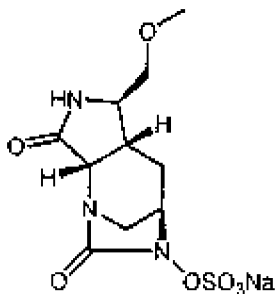
在真空中濃縮以得到黃色油狀物(1.13 g)。用NaCl (s)使水相飽和且用DCM (3×80 mL)進一步萃取。將合併之有機相經Na₂SO₄乾燥並在真空中濃縮以得到其他粗產物(0.95 g)。藉由HPLC層析(Sunfire-C18, 5μm, 50×250mm, 水/ACN +0.1% TFA, 100 ml/min, 18-38%經21min, 總共35min)純化合併之粗產物, 其中經由添加飽和NaHCO₃ (aq)將流份之pH調節至6.9並凍乾以得到淺褐色殘餘物(0.59 g)。將此殘餘物溶解於ACN/水中並經C18筒柱(ACN-水)純化, 隨後凍乾物質得到標題化合物(62 mg, 4.1% (3個步驟))。LCMS: R_t = 0.70 min, m/z = 332 (M+1), LCMS_2 MIN_反應_監測。

步驟3 : (4*R*, 5*aS*, 6*R*, 8*aS*)-3-羥基-6-(甲氧基甲基)六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮呋-2,8(8*aH*)-二酮。將(4*R*, 5*aS*, 6*R*, 8*aS*)-3-(苄氧基)-6-(甲氧基甲基)六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮呋-2,8(8*aH*)-二酮(59 mg, 0.178 mmol)溶解於MeOH:DCM (1:1, 1.78 mL)中。用氮吹掃混合物, 添加Pd-C (10 % Degussa類型101, 50%水, 37.9 mg, 0.018 mmol), 然後在H₂氣氛下放置90 min。藉助矽藻土過濾混合物, 用DCM:MeOH (1:1)溶析並在真空中濃縮, 以得到無色固體狀標題化合物(49 mg, 定量)。LCMS: R_t = 0.12 min; m/z = 242.0 (M+1)方法2m_酸性。



步驟4 : (4*R*, 5*aS*, 6*R*, 8*aS*)-6-(甲氧基甲基)-2,8-二側氧基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮呋-3(4*H*)-基硫酸四丁基銨。向

(4*R*,5*aS*,6*R*,8*aS*)-3-羥基-6-(甲氧基甲基)六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮呋-2,8(8*aH*)-二酮(42 mg, 0.174 mmol)於吡啶(1.85 mL)中之溶液中添加SO₃•吡啶(139 mg, 0.870 mmol)。將混合物攪拌18 h，然後藉助薄膜過濾器過濾並在真空(浴溫< 30°C)中濃縮。將粗製殘餘物溶解於飽和NaH₂PO₄中並用EtOAc洗滌。分離各層並向水相中添加四丁基硫酸氫銨(89 mg, 0.261 mmol)。將混合物攪拌30分鐘，然後用DCM萃取，經硫酸鈉乾燥，並在真空中濃縮。經由矽膠層析(MeOH-DCM, 0-30%)純化粗殘餘物，得到無色薄膜狀標題化合物(57 mg, 58%)。LCMS: R_t = 0.12min; m/z = 322.0 (M+1)方法2m_酸性。



步驟5：(4*R*,5*aS*,6*R*,8*aS*)-6-(甲氧基甲基)-2,8-二側氧基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮呋-3(4*H*)-基硫酸氫鈉。藉由與NaOH (2 N)一起攪拌3 h條件化DOWEX 50Wx8氫形式(200-400網目)，然後加載至管柱上並用水洗滌直至溶析液之pH為約6為止，隨後用水-丙酮(1:1)洗滌。將(4*R*,5*aS*,6*R*,8*aS*)-6-(甲氧基甲基)-2,8-二側氧基六氫-2*H*-1,4-橋亞甲基吡咯并[3,4-*d*][1,3]二氮呋-3(4*H*)-基硫酸四丁基銨(57 mg, 0.101 mmol)溶解於丙酮-水(1:1)中並使其穿過管柱(用1:1丙酮/水溶析)。在真空中濃縮流份並凍乾以得到無色粉末狀期望產物(27 mg, 70%)。LC/MS: R_t = 0.41 min; m/z = 321.9 (M+1)方法T3_3m_極性；¹H NMR (500MHz, D₂O) δ = 4.30 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 4.24 (br s, 1H), 3.60-3.56 (m, 1H), 3.56-3.45

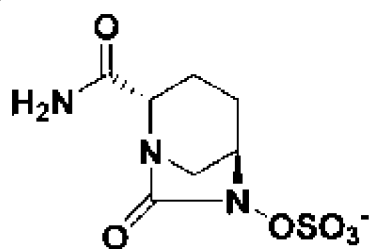
(m, 3H), 3.39 (s, 3H), 3.38-3.34 (m, 1H), 2.97 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 2.67 (q, $J = 8.4$ Hz, 1H), 2.64-2.56 (m, 1H), 1.72 (dd, $J = 14.7, 8.4$ Hz, 1H)。

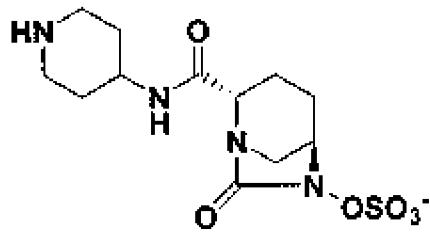
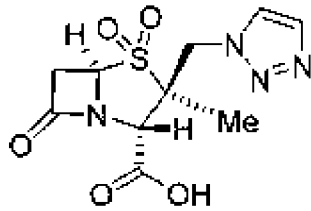
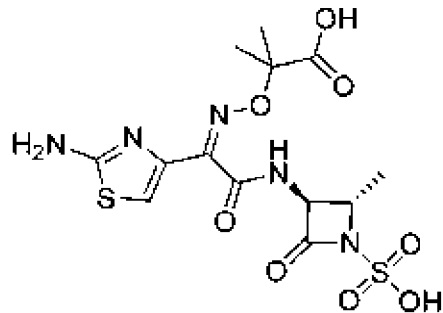
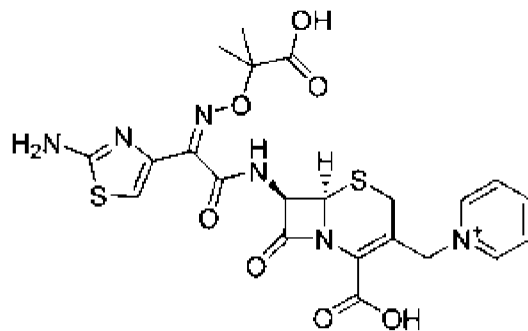
敏感性測試

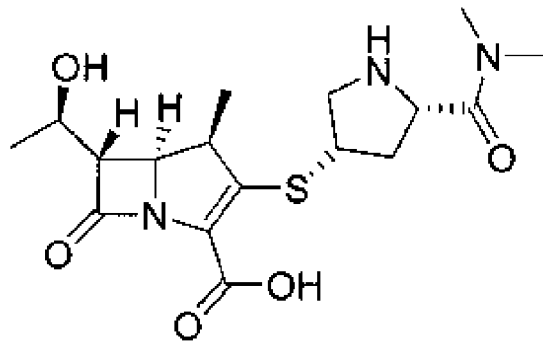
根據臨床及實驗室研究所(Clinical and Laboratories Institute, CLSI)導則藉由培養液微量稀釋法來測定MIC。簡言之，將新鮮過夜細菌培養物懸浮於無菌鹽水中，且調節至0.5麥克法蘭(McFarland)濁度標準。然後於陽離子調節之Mueller-Hinton培養液(MHB II; BBL)中稀釋細菌懸浮液，以產生約 5×10^5 個菌落形成單位(CFU)/mL之最終接種物。以等效於100%二甲基亞砷(DMSO)中之百倍最高期望最終濃度之濃度製備抗生素之母板。然後藉由用多通道移液管連續兩倍稀釋來稀釋母抗生素板。用無菌水或 β -內醯胺酶抑制劑溶液以1:10稀釋所得稀釋系列之化合物，該 β -內醯胺酶抑制劑溶液係在去離子水中以等效於導致10% DMSO最終濃度之11倍期望最終濃度之濃度來製備。將體積為10 μ L之藥物稀釋系列轉移至96孔分析板。用90 μ L細菌懸浮液接種分析板並在35 $^{\circ}$ C下培育20 hr。在600 nm下使用微量滴定板讀取器(Molecular Devices)以及藉由使用讀取鏡進行視覺觀察來讀取分析板。將化合物之防止可見生長之最低濃度記錄為MIC。根據CLSI之導則藉由測試針對實驗室品質控制菌株之胺曲南來監測分析之性能。

在下表中提及以下 β -內醯胺酶抑制劑及 β -內醯胺抗生素：

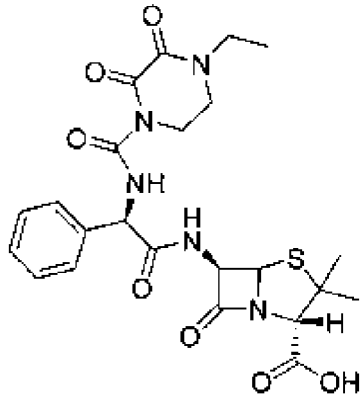
β -內醯胺酶抑制劑1：阿維巴坦



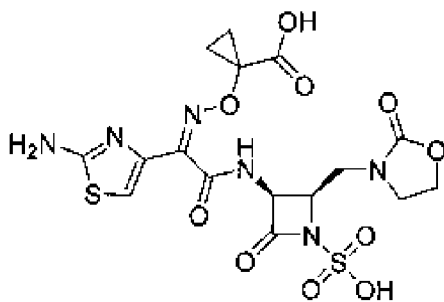
β -內醯胺酶抑制劑2：瑞來巴坦 β -內醯胺酶抑制劑3：三唑巴坦 β -內醯胺1：胺曲南 β -內醯胺2：頭孢他啶 β -內醯胺3：美羅培南



β -內醯胺4：必倍西林



β -內醯胺5 (LYS228)：



藉助抑制 β -內醯胺酶與 β -內醯胺之協同

針對一組同基因型大腸桿菌菌株(每一者表現獨特 β -內醯胺酶)及針對臨床菌株來評價藉助抑制 β -內醯胺酶之 β -內醯胺抗生素之協同或加強。

大腸桿菌同基因型菌株NB27273-CDY0026 (母體)、NB27273-CDY0033 (KPC-2)、NB27273-CDY0030 (SHV-12)、NB27273-CDY0034 (CTX-M-15)及NB27273-CDY0036 (AmpC)之構築。

自Keio轉座子插入保藏中心(Keio transposon insertion collection)獲得菌株NB27273 (BW25113 *pspB::Km^r*)。該菌株具有經康黴素抗性標記

物替代之 $pspB$ 基因(BW25113 $pspB::Km^r$)。經由FLP重組酶使用公開方法使此菌株自 $pspB$ 中之轉座子復原。使用所得菌株BW25113 $pspB$ 作為宿主用於多拷貝載體表現關鍵 β -內醯胺酶。如下建立指導 β -內醯胺酶之組成型表現之多拷貝質體：藉由DNA2.0 (Palo Alto, CA)製備編碼大腸桿菌KPC-2、SHV-12及CTX-M-15 β -內醯胺酶之密碼子最佳化合成基因。每一合成片段經設計在其末端含有NotI及NcoI限制位點，此容許連接至NotI/NcoI消化之pET28a(+)衍生物中用於蛋白質表現。該等載體中之插入物用作模板DNA用於編碼KPC-2、SHV-12及CTX-M-15之基因之PCR擴增，該PCR擴增分別使用引子對E225(tcgcCTCGAGgcgactgcgctgacgaatttgg) (SEQ ID NO:1) 及 E202(aatcGAATTCttactgaccattaacgcccgaagc) (SEQ ID NO:2) 及 E227(tcgcCTCGAGgcgagccccgaaccgctgga) (SEQ ID NO:3) 及 E204(aatcGAATTCttaacgctgccagtgtcaatc) (SEQ ID NO:4) 及 E226(cgctCTCGAGagcggtcccgctgtacgcacaaacg) (SEQ ID NO:5) 及 E203(aatcGAATTCttacagaccgtcggtgacaatc) (SEQ ID NO:6)。密碼子最佳化核苷酸序列及相關引子識別資訊顯示於下文中：

KPC-2

ATGGGCCATCATCATCATCACAGCAGCGGCCTGGAAGTT
CTGTTCCAGGGGCCCCGCGACTGCGCTGA
CGAATTTGGTGGCCGAGCCGTTTCGCGAAATTGGAGCAAGATT
TTGGTGGTTCGATCGGTGTCTACGCGAT
GGACACCGGTAGCGGTGCCACCGTGAGCTACCGTGCCGAAG
AGCGTTTTCCGCTGTGTAGCTCTTTCAAG

GGTTTTCTGGCCGCAGCCGTGCTGGCACGCAGCCAACAGCAA
GCGGGCCTGCTGGACACCCCGATCCGTT
ACGGCAAAAATGCGCTGGTTCCGTGGAGCCCGATTAGCGAA
AAGTACCTGACCACCGGCATGACGGTGGC
GGAGTTGAGCGCTGCGGGCGGTTTCAGTATTCCGATAACGCTGC
GGCAAATCTGCTGCTGAAAGAACTGGGC
GGTCCAGCGGGTCTGACGGCTTTCATGCGTTCTATTGGCGAC
ACCACCTTTCGCTTGGACCGCTGGGAGC
TGGAGCTGAACAGCGCGATTCCGGGGCGACGCACGTGATACG
AGCAGCCCGCGTGCACTGACCGAGAGCCT
GCAGAAGCTGACCCTGGGGCAGCGCACTGGCCGCACCGCAGC
GCCAACAGTTCGTCGATTGGCTGAAGGGT
AACACCACCGGTAACCATCGTATTCGCGCAGCGGTCCCGGCT
GATTGGGCAGTTGGTGACAAGACTGGTA
CGTGCGGGCGTTTATGGTACGGCGAATGACTACGCGGTTGTTT
GGCCTACGGGTCGTGCGCCGATCGTCCT
GGCGGTGTATACCCGTGCTCCGAACAAAGACGATAAACACTC
CGAAGCGGTCATCGCCGCAGCAGCGCGT
CTGGCCCTGGAAGGCTTGGGGCGTTAATGGTCAGTAACGCCGG
CG (SEQ ID NO:7)

E225 TCGCCTCGAGGCGACTGCGCTGACGAATTTGG (SEQ ID
NO:8)

E202 AATCGAATTCTTACTGACCATTAACGCCCAAGC (SEQ ID

NO:9)

REV.

COMP.

E202

GCTTGGGCGTTAATGGTCAGTAAGAATTCGATT (SEQ ID NO:10)

加下劃線處 = 編碼BL之DNA

SHV-12

ATGGGCCATCATCATCATCACAGCAGCGGCCTGGAAGTT
CTGTTCCAGGGGCCCCGCGAGCCCGCAACCGCTGGAGCAGATCAAG
CAGTCTGAGAGCCAGCTGAGCGGCCGTGTGGGTATGATCGAGATG
GATCTGGCTTCCGGCCGTACGCTGACGGCATGGCGTGCCGACGAA
CGTTTCCCGATGATGTCGACCTTTAAAGTTGTTCTGTGTGGTGCGG
TCTTGGCACGTGTAGACGCGGGTGACGAACAACCTGGAGCGCAAGA
TCCATTACCGCCAACAGGACTTGGTCGACTACAGCCCGGTTAGCG
AAAAGCACCTGGCGGATGGCATGACCGTGGGTGAATTGTGCGCCG
CTGCGATTACCATGAGCGACAATAGCGCGGCTAATCTGCTGTTGG
CGACCGTTGGTGGCCCAGCGGGCTTGACCGCATTTCTGCGTCAA
TCGGCGATAATGTTACGCGTCTGGATCGCTGGGAAACGGAGCTGA
ACGAGGCACTGCCGGGTGATGCCCCGTGATACCACGACTCCTGCTA
GCATGGCAGCGACCCTGCGTAAACTGCTGACCAGCCAGCGTCTGA
GCGCACGTAGCCAACGCCAGCTGCTGCAATGGATGGTGGATGACC
GCGTGGCGGGTCCGCTGATCCGCTCCGTCCTGCCAGCAGGCTGGT
TCATTGCGGACAAAACCTGGTGCCCTCTAAGCGTGGTGCGCGTGGTA
TCGTCGCGCTGCTGGGTCCGAACAACAAAGCCGAACGTATTGTGG
TTATCTATCTGCGCGACACCCCGGCAAGCATGGCCGAGCGCAACC

AGCAAATTGCGGGCATTGGTGCGGCACTGATTGAGCACTGGCAGC
GTTAACGCCGGCG (SEQ ID NO:11)

E227 TCGCCTCGAGGCGAGCCCGCAACCGCTGGA (SEQ ID
NO:12)

E204 AATCGAATTCTTAACGCTGCCAGTGCTCAATC (SEQ ID
NO:13)

REV. COMP. E204
GATTGAGCACTGGCAGCGTTAAGAATTCGATT (SEQ ID NO:14)

CTX-M-15

ATGGGCCATCATCATCATCACAGCAGCGGCCTGGAAGTT
CTGTTCCAGGGGGCCCAGCGTCCCGCTGTACGCACAAACGGCCGAC
GTGCAACAGAACTGGCGGAGTTGGAACGTCAGAGCGGTGGCCG
TTTGGGTGTAGCCCTGATCAATACCGCGGACAATAGCCAAATTCT
GTATCGTGCGGACGAACGCTTCGCGATGTGCAGCACGAGCAAGGT
GATGGCCGCTGCGGCCGTTCTGAAGAAATCCGAGAGCGAGCCGAA
CTTGCTGAATCAGCGCGTTGAGATCAAGAAGTCGGATCTGGTGAA
CTATAACCCTATCGCGGAAAAACATGTCAACGGCACCATGTCCCT
GGCAGAGCTGAGCGCGGCTGCGTTGCAGTACTCTGATAACGTCGC
AATGAATAAACTGATCGCACACGTCGGTGGCCCAGCAAGCGTGAC
CGCCTTTGCGCGTCAACTGGGCGATGAACTTTTCGTCTGGATCGT
ACCGAACCGACCCTGAATACGGCAATTCCGGGTGATCCGCGCGAC
ACGACGAGCCCGCGTGCAATGGCACAGACCCTGCGCAACCTGACC
CTGGGTAAAGCGCTGGGCGATAGCCAACGTGCGCAGCTGGTTACG

TGGATGAAGGGTAACACCACCGGTGCGGCCAGCATTCAAGCGGGC
CTGCCGGCCAGCTGGGTTGTTGGTGATAAACTGGCTCCGGTGGT
TATGGTACCACGAATGACATCGCGGTTATTTGGCCGAAGGACCGT
GCGCCGTTGATCCTGGTGACCTACTTCACCCAGCCGCAGCCGAAA
GCTGAGTCTCGCCGTGACGTGCTGGCGAGCGCAGCTAAGATTGTC
ACCGACGGTCTGTAACGCCGGCG (SEQ ID NO:39)

E226 cgctCTCGAGagcgtcccgtgtacgcacaaacg (SEQ ID NO:15)

E203 aatcGAATTCTtacagaccgtcggtgacaatc (SEQ ID NO:16)

使用引子對E252 (gccCTCGAGggcgaggccccggcgatcgc) (SEQ ID NO: 17)及E253 (tgaGAATTCTcagcgcttcagcggcacct) (SEQ ID NO: 18)自菌株綠膿桿菌PAO1 (NB52019) (基因庫ID U5R279)之基因體PCR擴增編碼AmpC之基因。

然後用XhoI及EcoRI消化PCR產物，且將其連接至以類似方式消化之質體pAH63-pstS(BlaP)中。質體pAH63-pstS(BlaP)係質體pAH63 (J Bacteriol:183(21): 6384-6393)之衍生物，其係藉由將質體pBAD (J Bacteriol. 1995年7月177(14):4121-30)之TEM-1 (*bla*)啟動子及信號肽編碼區選殖至質體pAH63中來製備。使用引子對E192 (ttcaCTGCAGtgaacgttgcaagcaacggC) (SEQ ID NO:19)及E194 (TCGAggatcctcgagagcaaaaacaggaaggcaaaatgccg) (SEQ ID NO:20)自pBAD PCR擴增此片段，用PstI及BamHI消化且插入以類似方式消化之質體pAH63中。因此，來自基於pAH63-pstS(BlaP)之構築體之 β -內酰胺酶之表現為組成型的，且提供信號序列以將該等蛋白質引導至胞外質。然而，基於質體pAH63之載體係用於以單拷貝插入基因體中，以提供較高表

現程度以容許更靈敏地檢測化合物對所表現 β -內醯胺酶之敏感性，含於該等載體中之表現插入物移動至可複製多拷貝載體pBAD-Kan (J Bacteriol. 1995 年 7 月 177(14):4121-30)。為實現此目標，使用 E268 (ccgTCTAGAcggatggcctttttgcgtttc) (SEQ ID NO:21)及用於KPC2構築體之E202 (aatcGAATTCttactgaccattaacgcccgaagc) (SEQ ID NO:22)、用於SHV-12構築體之E204 (aatcGAATTCttaacgctgccagtgtctcaatc) (SEQ ID NO:23) 及 用 於 CTX-M-15 構 築 體 之 E203 (aatcGAATTCttacagaccgtcggtgacaatc) (SEQ ID NO:24)自其相應載體，對涵蓋 β -內醯胺酶基因與相關TEM啟動子及信號序列之插入物實施PCR擴增。然後用XbaI及EcoRI消化該等片段，且將每一者插入已經相同酶消化之pBAD18-kan中以生成分別表現KPC-2、SHV-12及CTX-M-15之多拷貝載體。將該等載體轉變至BW25113 *pspB*中以生成菌株NB27273-CDY0033 (表現KPC-2)、NB27273-CDY0030 (表現SHV-12)、NB27273-CDY0034 (表現CTX-M-15)及NB27273-CDY0036 (表現AmpC)。pBAD18-kan載體亦含有TEM啟動子區域及信號序列(但缺少任何完整的 β -內醯胺酶基因)，且使用標準方案將其轉變至BW25113 *pspB*中以生成對照菌株NB27273-CDY0026。藉由驗證對為KPC-2、SHV-12、CTX-M-15或AmpC之已知受質之實例測試抗生素之降低之敏感性來證實 β -內醯胺酶之表現。

大腸桿菌同基因型菌株NB27273-CDY0105 (OXA-18)及NB27273-CDY0048 (TEM-10)之構築。如下構築用於表現OXA-18之質體載體：藉由Life Technologies利用5'-tgccttcctgtttttgctctcgag-3' (SEQ ID NO:40)及5'-gaattcgctagcccaaaaaaacgg-3' (SEQ ID NO:25)側接序列合成編碼

GIM-1 (基因庫ID Q704V1)及(OXA-18 (基因庫ID O07293)之基因。利用 XhoI及EcoRI消化GIM-1編碼片段並將其插入上述KPC-2表現構築體中，藉由用XhoI及EcoRI消化自該上述KPC-2表現構築體去除KPC-2編碼基因。證實性核苷酸測序揭示載體主鏈中之XhoI位點，然後藉由使用引子對 E396 (cgtcttgctccaggccgcgattaaattcc) (SEQ ID NO:26) 及 E397 (tcgcggccttgagcaagacgtttc) (SEQ ID NO:27)進行定點誘變將該XhoI位點去除。然後用XhoI及EcoRI消化編碼OXA-18之基因並將其插入此載體中，已用XhoI及EcoRI自該載體去除GIM-1之基因。

為生成表現TEM-10之載體，使用含有編碼TEM-1之基因之質體 pBAD18 (J Bacteriol. 1995年7月177(14):4121-30)作為基於PCR之定點誘變之模板，以將編碼TEM-1之基因轉化為編碼TEM-10之基因。自此模板DNA，藉由使用以下引子對之PCR生成三個片段；

B124 (tcacgtagcgatagcggag) (SEQ ID NO:28) 及 E387 (tggagccggtaagcgtgggtctcgcggt) (SEQ ID NO:41)以生成編碼E237K取代之片段A

E389 (cgcgagaccacgcttaccgggtccaga) (SEQ ID NO:29) 及 E391 (ctcgccttgatagttgggaaccgga) (SEQ ID NO:30)以生成編碼E237K及R162S取代之片段B

E393 (cggttcccaactatcaaggcgagt) (SEQ ID NO:31) 及 E289 (gacattgccgtcactgcgtct) SEQ ID NO:32)以生成亦引入R162取代之片段C。

然後使用片段A、B及C作為模板來生成編碼TEM-10之完整基因，如下所示：

使用片段A及B作為模板用於PCR（使用引子B124 (tcacgtagcgatagcggag) (SEQ ID NO:33) 及 E390 (gtaactcgccttgatagttgggaaccggagctgaatgaagc) (SEQ ID NO:34))，以將片段A及B組合至片段D中

使用片段B及C作為模板用於PCR（使用引子E290 (gcgggaccaaagccatgaca) (SEQ ID NO:35) 及 E388 (accgcgagacccacgcttaccggctccagatttatcagcaataaacc) (SEQ ID NO:36))，以將片段B及C組合至片段E中

最後，使用片段D及E作為模板用於PCR（使用引子E395 (gtaaGAATTCttaccaatgcttaatcagtgaggc) (SEQ ID NO:37)、E268 (ccgTCTAGAcggatggcctttttgcgtttc) (SEQ ID NO:38))以將片段D及E組合至完整TEM-10編碼產物中。然後用XbaI及EcoRI消化此片段並插入pBAD-kan中，亦用相同酶切割該pBAD-kan。

將表現OXA-18及TEM-10之該等最終載體轉變至BW25113 *pspB*中以生成菌株NB27273-CDY0105 (表現OXA-18)及NB27273-CDY0048 (表現TEM-10)。藉由驗證對為OXA-18或TEM-10之已知受質之實例測試抗生素之降低之敏感性來證實β-內醯胺酶表現。

表1：所選BLI之最小抑制濃度(MIC) (μg/mL)

BLI	大腸桿菌 ATCC 25922	克雷伯氏肺炎菌 (<i>K. pneumoniae</i>) ATCC 43816	綠膿桿菌(<i>P. aeruginosa</i>) ATCC 27853
阿維巴坦	16	32	>64
瑞來巴坦	>64	>64	>64
實例1	>64	>64	>64
實例2	>64	>64	>64

實例3	>64	>64	>64
實例4	>64	>64	>64
實例5	>64	>64	>64
實例6	>64	>64	>64
實例7	>64	>64	>64
實例8	>64	>64	>64

上文表1展示儘管一些β-內醯胺酶抑制劑(諸如阿維巴坦)展現直接抗細菌活性，但式(A)化合物顯示極少直接活性。

以下數據展示本發明化合物在與各種β-內醯胺抗生素組合使用時具有加強效應或協同活性，如藉由實例1之化合物所闡釋。由於實例1之化合物不展現很直接的抗生素活性(參見表1)，故協同或加強在本文定義為與單獨β-內醯胺抗生素相比，由式(A)化合物之存在引起之4倍或更大的β-內醯胺抗生素MIC降低。較佳地，在與單獨β-內醯胺抗生素相比時，本發明之組合展現至少8倍之MIC降低。

在表現個別β-內醯胺酶之大腸桿菌之同基因型菌株中β-內醯胺酶抑制劑對胺曲南之活性(MIC，μg/mL)之加強。

胺曲南 (AZ)	大腸桿菌(KPC-2)	大腸桿菌(TEM-10)	大腸桿菌(SHV-12)	大腸桿菌(CTX-M-15)	大腸桿菌(AmpC)	大腸桿菌(OXA-18)
單獨AZ	64	64	>64	64	4	>64
AZ + 實例1 (2 μg/mL)	0.125	0.125	0.25	≤0.06	0.125	1
AZ + 阿維巴坦 (2 μg/mL)	0.125	0.25	1	0.125	≤0.06	1

AZ+瑞 來巴坦 (2 μg/mL)	1	2	32	0.5	0.125	>64
-----------------------------	---	---	----	-----	-------	-----

在表現個別β-內醯胺酶之大腸桿菌之同基因型菌株中β-內醯胺酶抑制劑對頭孢他啶之活性(MIC , μg/mL)之加強.

頭孢他 啶(Ceft)	大腸桿 菌(KPC- 2)	大腸桿菌 (TEM-10)	大腸桿菌 (SHV-12)	大腸桿菌 (CTX-M-15)	大腸桿 菌 (AmpC)	大腸桿菌 (OXA-18)
單獨頭 孢他啶	4	>64	>64	16	4	>64
Ceft + 實例1 (2 μg/mL)	0.125	0.25	0.25	0.25	0.25	0.5
Ceft + 阿維巴 坦(2 μg/mL)	0.25	1	0.5	0.25	0.125	0.5
Ceft + 瑞來巴 坦(2 μg/mL)	0.25	8	8	0.5	0.125	>64

在表現個別β-內醯胺酶之大腸桿菌之同基因型菌株中β-內醯胺酶抑制劑對美羅培南之活性(MIC , μg/mL)之加強.

美羅培南 (Mero)	大腸桿 菌(KPC- 2)	大腸桿菌 (TEM-10)	大腸桿菌 (SHV-12)	大腸桿菌 (CTX-M-15)	大腸桿 菌 (AmpC)	大腸桿菌 (OXA-18)
單獨Mero	1	≤0.06	≤0.06	≤0.06	≤0.06	≤0.06

Mero + 實 例1 (2µg/mL)	≤0.06	≤0.06	≤0.06	≤0.06	≤0.06	≤0.06
Mero + 阿 維巴坦 (2µg/mL)	≤0.06	≤0.06	≤0.06	≤0.06	≤0.06	≤0.06
Mero + 瑞 來巴坦 (2µg/mL)	≤0.06	≤0.06	≤0.06	≤0.06	≤0.06	≤0.06

在表現個別β-內醯胺酶之大腸桿菌之同基因型菌株中β-內醯胺酶抑制劑對必倍西林之活性(MIC , µg/mL)之加強.

必倍西 林(Pip)	大腸桿 菌(KPC- 2)	大腸桿菌 (TEM-10)	大腸桿菌 (SHV-12)	大腸桿菌 (CTX-M-15)	大腸桿 菌 (AmpC)	大腸桿菌 (OXA-18)
單獨Pip	>32	>32	>32	>32	>32	>32
Pip + 三 唑巴坦 (4 µg/mL)	>32	4	32	4	8	8
Pip + 阿 維巴坦 (2 µg/mL)	4	2	4	4	4	2
Pip + 瑞 來巴坦 (2 µg/mL)	4	>32	>32	16	4	>32
Pip + 實 例1 (2 µg/mL)	4	2	2	2	8	2

第 128 頁(發明說明書)

C208342PBX20210621C.docx

Pip + 實 例2 (2 μg/mL)	2	4	4	4	8	4
Pip + 實 例3 (2 μg/mL)	2	4	2	4	8	4
Pip + 實 例4 (4 μg/mL)	2	4	4	2	4	ND
Pip + 實 例5 (4 μg/mL)	1	2	2	2	16	ND
Pip + 實 例6 (4 μg/mL)	2	4	4	4	4	ND
Pip + 實 例7 (2 μg/mL)	2	2	4	4	8	8
Pip + 實 例8 (4 μg/mL)	4	4	4	2	4	ND

在表現個別β-內醯胺酶之大腸桿菌之同基因型菌株中β-內醯胺酶抑制劑對β-內醯胺5之活性(μg/mL)之加強.

B-內醯 胺5(5)	大腸桿 菌(KPC- 2)	大腸桿菌 (TEM-10)	大腸桿菌 (SHV-12)	大腸桿菌 (CTX-M-15)	大腸桿 菌 (AmpC)	大腸桿菌 (OXA-18)
單獨β- 內醯胺5	0.25	2	0.5	0.125	0.25	0.5

5 + 實例 1 (2 μg/mL)	0.25	0.125	0.25	0.25	0.25	0.25
5 + 阿維 巴坦(2 μg/mL)	0.125	0.125	0.125	0.25	0.125	0.125
5 + 瑞來 巴坦(2 μg/mL)	0.125	0.25	0.125	0.25	0.25	0.25

在β-內醯胺抗性臨床分離物中β-內醯胺酶抑制劑對胺曲南之活性(μg/mL)之加強.

胺曲南	克雷伯氏肺炎菌NB29323(CTX-M-15, OXA-48, VEB-1)	陰溝腸桿菌NB25044(CTX-M-12, ACT, KPC-2)
單獨胺曲南	>64	>64
AZ + 實例1 (2 μg/mL)	0.25	4
AZ + 阿維巴 坦(2 μg/mL)	2	8
AZ + 瑞來巴 坦(2 μg/mL)	8	>64

在β-內醯胺抗性臨床分離物中β-內醯胺酶抑制劑對必倍西林之活性(μg/mL)之加強.

必倍西林	克雷伯氏肺炎菌 NB29082 (KPC-2)	陰溝腸桿菌 NB25055 (CMY-2)	金黃色葡萄球菌(<i>S. aureus</i>) NB01437(BLA+)
必倍西林	>64	>64	64
Pip + 三唑巴 坦(4 μg/mL)	>64	64	1

Pip + 實例1 (2 μg/mL)	8	4	1
------------------------	---	---	---

此數據展示在與用於治療由對一些已知β-內醯胺抗生素具有抗性之細菌造成之感染之商業β-內醯胺抗生素組合使用時，本發明化合物之加強類似於或優於診療所中所使用之一些β-內醯胺酶抑制劑。

熟習此項技術者僅使用常規實驗即可認識或能夠確定本文所述特定實施例及方法之許多等效形式。該等效形式意欲涵蓋於以下申請專利範圍之範圍內。

【補充序列表】

<110>	瑞士商諾華公司	
<120>	β-內醯胺酶抑制劑	
<130>	PAT057369-WO-PCT	
<140>	PCT/IB2017/055973	
<141>	2017-09-28	
<150>	62/401,022	
<151>	2016-09-28	
<160>	41	
<170>	PatentIn version 3.5	
<210>	1	
<211>	32	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400>	1	
	tcgcctcgag gcgactgcgc tgacgaattt gg	32
<210>	2	
<211>	33	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400>	2	
	aatcgaattc ttactgacca ttaacgccca agc	33
<210>	3	
<211>	30	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400>	3	
	tcgcctcgag gcgagcccgcc aaccgctgga	30

<210>	4	
<211>	32	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400>	4	
aatcgaattc ttaacgctgc cagtgc tcaa tc		32
<210>	5	
<211>	34	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400>	5	
cgctctcgag agcgtcccg tgtacgcaca aacg		34
<210>	6	
<211>	32	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400>	6	
aatcgaattc ttacagaccg tcggtgacaa tc		32
<210>	7	
<211>	884	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400>	7	
atgggccatc atcatcatca tcacagcagc ggcctggaag ttctgttcca ggggcccgcg		60
actgcgctga cgaatttggt ggccgagccg ttcgcgaaat tggagcaaga ttttggtggt		120

tcgatcggig tctacgcgat ggacaccggt agcggtgcca ccgtgagcta ccgtgccgaa 180
gagcgttttc cgctgtgtag ctctttcaag ggttttctgg ccgcagccgt gctggcacgc 240
agccaacagc aagcgggcct gctggacacc ccgatccgtt acggcaaaaa tgcgctggtt 300
ccgtggagcc cgattagcga aaagtacctg accaccggca tgacggtggc ggagttgagc 360
gctgcggcgg ttcagtattc cgataacgct gcggcaaate tgctgctgaa agaactgggc 420
ggtccagcgg gtctgacggc ttatcatgctg tctattggcg acaccacctt tcgcttggac 480
cgctgggagc tggagctgaa cagcgcgatt ccgggcgacg cacgtgatac gagcagcccg 540
cgtgcagtga ccgagagcct gcagaagctg accctgggca gcgcactggc cgcaccgcag 600
cgccaacagt tcgtcgattg gctgaagggt aacaccaccg gtaaccatcg tattcgcgca 660
gcgggtcccg ctgattgggc agttggtgac aagactggta cgtgcggcgt ttatggtacg 720
gcgaatgact acgcggttgt ttggcctacg ggtcgtgcgc cgatcgtcct ggcggtgtat 780
acccgtgctc cgaacaaaga cgataaacac tccgaagcgg tcatcgccgc agcagcgcgt 840
ctggccctgg aaggcttggg cgttaatggt cagtaacgcc ggcg 884

<210> 8
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> /注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」

<400> 8
tcgcctcgag gcgactgcgc tgacgaattt gg 32

<210> 9
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> /注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」

<400> 9
aatcgaattc ttactgacca ttaacgcca agc 33

<210> 10
<211> 33

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> /注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」

<400> 10
gcttgggcgt taatggtcag taagaattcg att 33

<210> 11
<211> 866
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> /注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」

<400> 11
atgggccatc atcatcatca tcacagcagc ggccctggaag ttcctgttcca ggggcccgcg 60
agccccgaac cgctggagca gatcaagcag tctgagagcc agctgagcgg ccgtgtgggt 120
atgatcgaga tggatctggc ttccggccgt acgctgacgg catggcgtgc cgacgaacgt 180
ttcccgatga tgtcgacctt taaagtgtgt ctgtgtgggt cggtcttggc acgtgtagac 240
gcggggtgacg aacaactgga gcgcaagatc cattaccgcc aacaggactt ggtcgactac 300
agccccgtta gcgaaaagca cctggcggat ggcatgaccg tgggtgaatt gtgcgccgct 360
gcgattacca tgagcgacaa tagcgcggtt aatctgtctg tggcgaccgt tgggtggccca 420
gcgggcttga ccgcatttct gcgtcaaatc ggcgataatg ttacgcgtct ggatcgctgg 480
gaaacggagc tgaacgaggc actgccgggt gatgcccgtg ataccacgac tcctgctagc 540
atggcagcga ccctgcgtaa actgctgacc agccagcgtc tgagcgcacg tagccaacgc 600
cagctgctgc aatggatggg ggatgaccgc gtggcgggtc cgctgatccg ctccgtcctg 660
ccagcaggct ggttcattgc ggacaaaact ggtgcctcta agcgtgggtg gcgtgggtatc 720
gtcgcgtgctc tgggtccgaa caacaaagcc gaacgtattg tggttatcta tctgcgcgac 780
acccccgcaa gcatggccga gcgcaaccag caaattgcgg gcattgggtgc ggcactgatt 840
gagcactggc agcgttaacg ccggcg 866

<210> 12
<211> 30
<212> DNA

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400>	12	
	tgcctcgag gcgagcccgc aaccgctgga	30
<210>	13	
<211>	32	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400>	13	
	aatcgattc ttaacgctgc cagtgc tcaa tc	32
<210>	14	
<211>	32	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400>	14	
	gattgagcac tggcagcggtt aagaattcga tt	32
<210>	15	
<211>	34	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400>	15	
	cgctctcgag agcgtcccg c tgtacgcaca aacg	34
<210>	16	
<211>	32	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		

<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400>	16	
	aatcgaattc ttacagaccg tcggtgacaa tc	32
<210>	17	
<211>	30	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400>	17	
	gccctcgagg gcgaggcccc ggcggatcgc	30
<210>	18	
<211>	29	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400>	18	
	tgagaattct cagcgcttca gcggcacct	29
<210>	19	
<211>	31	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400>	19	
	ttcactgcag tgaacgttgc gaagcaacgg c	31
<210>	20	
<211>	41	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	

<400> 20 tcgaggatcc tcgagagcaa aaacaggaag gcaaaatgcc g	41
<210> 21 <211> 30 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> /注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400> 21 ccgtctagac ggatggcctt tttgcgtttc	30
<210> 22 <211> 33 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> /注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400> 22 aatcgaattc ttactgacca ttaacgccca agc	33
<210> 23 <211> 32 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> /注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400> 23 aatcgaattc ttaacgctgc cagtgtcaa tc	32
<210> 24 <211> 32 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> /注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400> 24 aatcgaattc ttacagaccg tcggtgacaa tc	32

<210>	25	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400>	25	
	gaattcgcta gcccaaaaaa acgg	24
<210>	26	
<211>	29	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400>	26	
	cgtcttgctc caggccgcga ttaaattcc	29
<210>	27	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400>	27	
	tcgcggcctg gagcaagacg tttc	24
<210>	28	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400>	28	
	tcacgtagcg atagcggag	19
<210>	29	
<211>	28	

<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400>	29	
	cgcgagaccc acgcttaccg gctccaga	28
<210>	30	
<211>	25	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400>	30	
	ctcgccttga tagttgggaa ccgga	25
<210>	31	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400>	31	
	cggttcccaa ctatcaaggc gagt	24
<210>	32	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400>	32	
	gacattgccg tcaactgcgtc t	21
<210>	33	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400>	33	
	tcacgtagcg atagcggag	19
<210>	34	
<211>	41	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400>	34	
	gtaactcgcc ttgatagttg ggaaccggag ctgaatgaag c	41
<210>	35	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400>	35	
	gcgggaccaa agccatgaca	20
<210>	36	
<211>	47	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400>	36	
	accgcgagac ccacgcttac cggctccaga tttatcagca ataaacc	47
<210>	37	
<211>	34	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	

<400>	37	
gtaagaattc ttaccaatgc ttaatcagtg aggc		34
<210>	38	
<211>	30	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400>	38	
ccgtctagac ggatggcctt tttgcgtttc		30
<210>	39	
<211>	875	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	/注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」	
<400>	39	
atgggccatc atcatcatca tcacagcagc ggccctggaag ttctgttcca ggggcccagc		60
gtcccgtgtg acgcacaaac ggccgacgtg caacagaaac tggcggagtt ggaacgtcag		120
agcgggtggcc gtttgggtgt agccctgac aataccgcgg acaatagcca aattctgtat		180
cgtgcggacg aacgcttcgc gatgtgcagc acgagcaagg tgatggccgc tgcggccgtt		240
ctgaagaaat ccgagagcga gccgaacttg ctgaatcagc gcgttgagat caagaagtcg		300
gatctggtga actataaccc tatcgcgga aaacatgtca acggcaccat gtccctggca		360
gagctgagcg cggctgcgtt gcagtactct gataacgtcg caatgaataa actgatcgca		420
cacgtcggtg gccagcaag cgtgaccgcc tttgcgcgtc aactgggcga tgaaactttt		480
cgtctggatc gtaccgaacc gaccctgaat acggcaattc cgggtgatcc gcgcgacacg		540
acgagcccgc gtgcaatggc acagaccctg cgcaacctga ccctgggtaa agcgttgggc		600
gatagccaac gtcgcagct ggttacgtgg atgaagggtta acaccaccgg tgcggccagc		660
attcaagcgg gcctgccggc cagctgggtt gttggtgata aaactggctc cgggtggttat		720
ggtaccacga atgacatcgc gggtatttgg ccgaaggacc gtgcgccgtt gatcctggtg		780
acctacttca cccagccgca gccgaaagct gagtctcgcc gtgacgtgct ggcgagcgca		840

gctaagattg tcaccgacgg tctgtaacgc cggcg 875

<210> 40
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> /注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」

<400> 40
tgccttcctg tttttgctct cgag 24

<210> 41
<211> 28
<212> DNA
<213> 人工序列

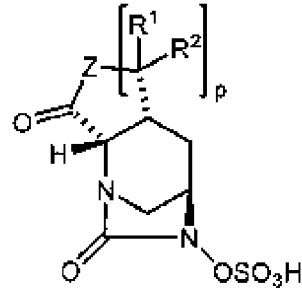
<220>
<223> /注意=「人工序列之闡述：合成多核苷酸」

<400> 41
tggagccggt aagcgtgggt ctgcggt 28

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種式(A)化合物，



其中p為1或2；

R¹及R²獨立地選自H及C₁-C₄烷基，該C₁-C₄烷基係未經取代或經-OR取代；

Z為NR³；

R³在每次出現時獨立地選自H、Cy及C₁-C₄烷基，該C₁-C₄烷基係未經取代或經-OR或-NRR'取代；

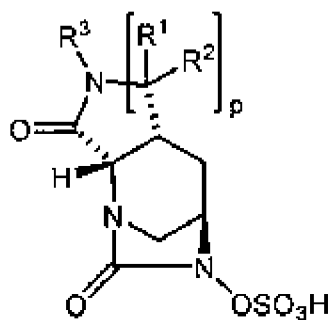
Cy係C₃-C₆環烷基環；且

R及R'獨立地選自H及C₁-C₄烷基；

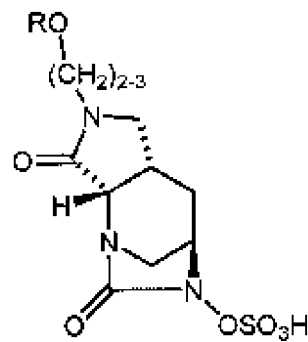
或其鹽或兩性離子形式。

【第2項】

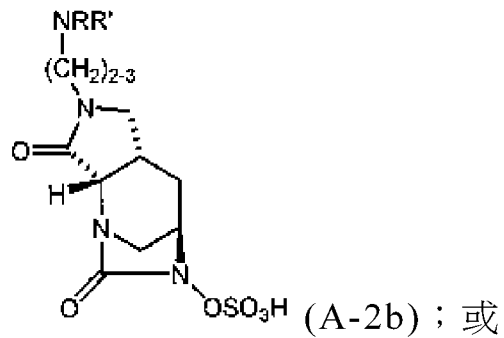
如請求項1之化合物，其係具有以下各式中之一者之化合物：



(A-1) ；



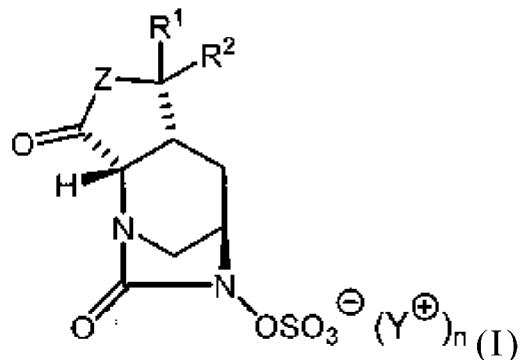
(A-2a) ；



或其鹽或兩性離子形式。

【第3項】

如請求項1之化合物，其係式(I)化合物：



其中：

R^1 及 R^2 獨立地選自H及 C_1 - C_4 烷基，該 C_1 - C_4 烷基係未經取代或經-OR取代；

Z為 NR^3 ；

R^3 在每次出現時獨立地選自H、Cy及 C_1 - C_4 烷基，該 C_1 - C_4 烷基係未經取代或經-OR或-NRR'取代；

Cy係 C_3 - C_6 環烷基環；且

R及R'獨立地選自H及 C_1 - C_4 烷基；

Y係陽離子基團；

n為0或1；且

當n為0時，該式I化合物呈兩性離子形式。

【第4項】

如請求項1或請求項3之化合物，其中Z為 NR^3 ，

且 R^3 為H或 $\text{C}_1\text{-C}_4$ 烷基，該 $\text{C}_1\text{-C}_4$ 烷基係未經取代或經-OR或-NRR'取代，或其鹽或兩性離子形式。

【第5項】

如請求項4之化合物，其中 R^3 為 $\text{C}_1\text{-C}_2$ 烷基，其係未經取代或經-OR或-NRR'取代，或其鹽或兩性離子形式。

【第6項】

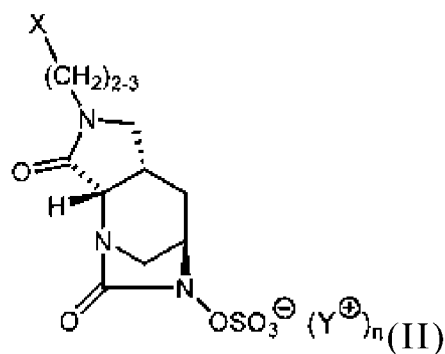
如請求項4之化合物，其中 R^3 為H，或其鹽或兩性離子形式。

【第7項】

如請求項1至3中任一項之化合物，其中 R^1 及 R^2 皆為H，或其鹽或兩性離子形式。

【第8項】

如請求項1或3之化合物，其具有以下結構：

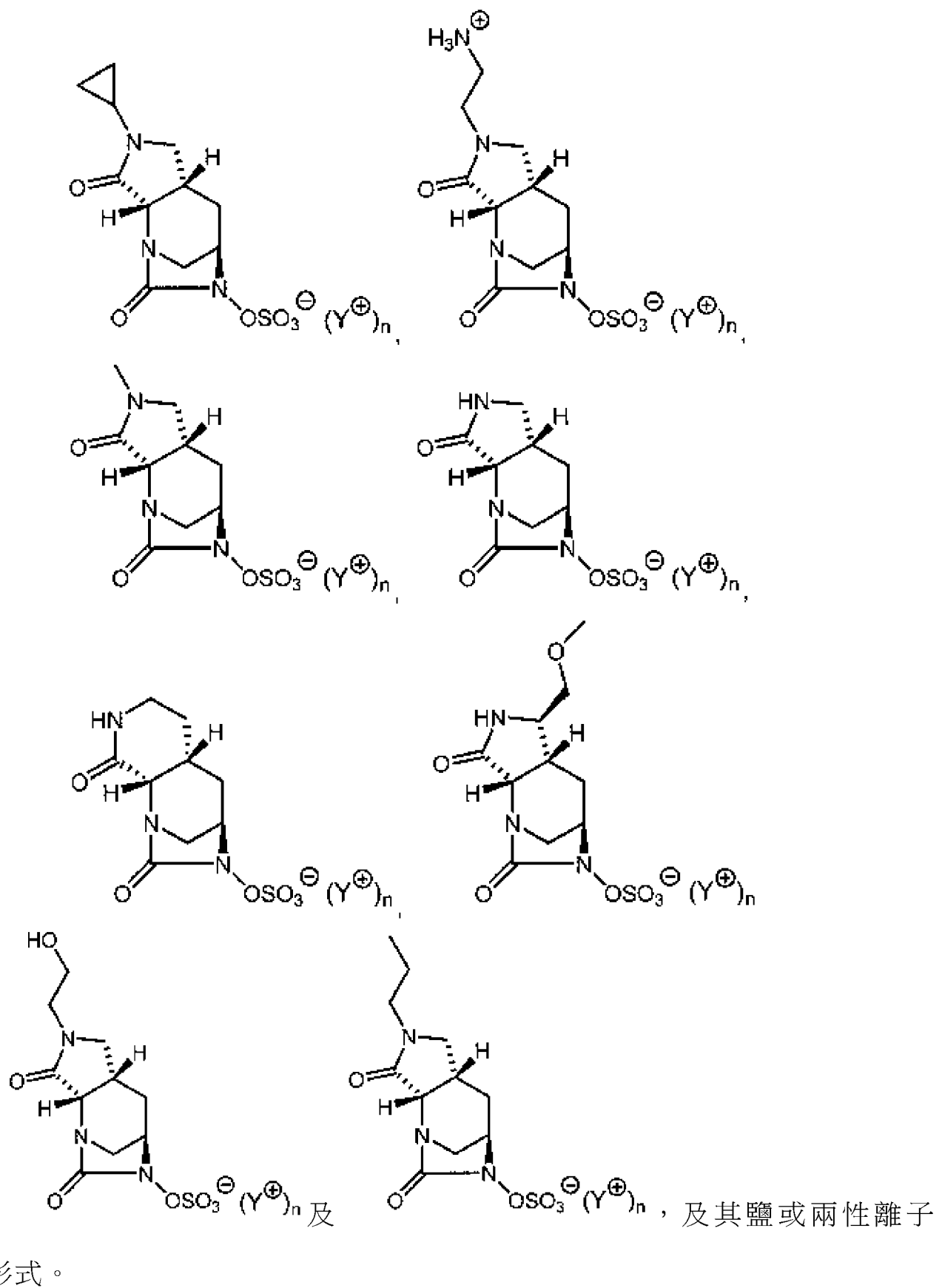


其中X為-OR或-NRR'；

或其鹽或兩性離子形式。

【第9項】

如請求項1或3之化合物，其係選自：



【第10項】

如請求項3之化合物，其中n為1且Y係選自鈉、鉀、銨、鈣、鎂、
第4頁(發明申請專利範圍)

鐵、銀、鋅及銅。

【第11項】

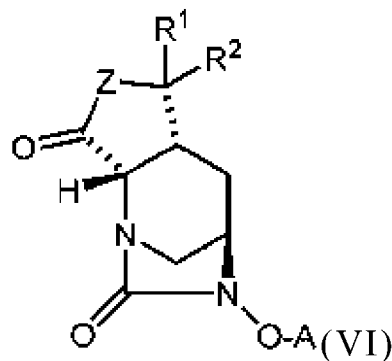
如請求項3之化合物，其中Y為鈉。

【第12項】

如請求項1至3中任一項之化合物，其呈醫藥上可接受之鹽或兩性離子之形式。

【第13項】

一種式(VI)化合物，



其中：

R¹及R²獨立地選自H及C₁-C₄烷基，該C₁-C₄烷基係未經取代或經-OR取代；

Z為NR³；

R³在每次出現時獨立地選自H、Cy及視情況經至多三個選自Cy、鹵基、CN、-OR及-NRR'之基團取代之C₁-C₄烷基，該C₁-C₄烷基係未經取代或經-OR或-NRR'取代；

Cy係C₃-C₆環烷基環；且

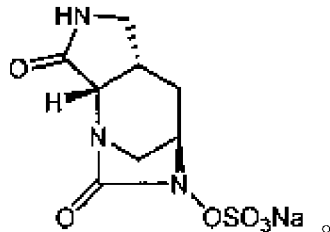
R及R'獨立地選自H及C₁-C₄烷基；

A為H或-CH₂-Ph，其中Ph代表未經取代或經一或兩個選自以下之基團取代之苯基：鹵基、C₁-C₄烷基、C₁-C₄烷氧基；

或其鹽。

【第14項】

一種式(VII)化合物，



【第15項】

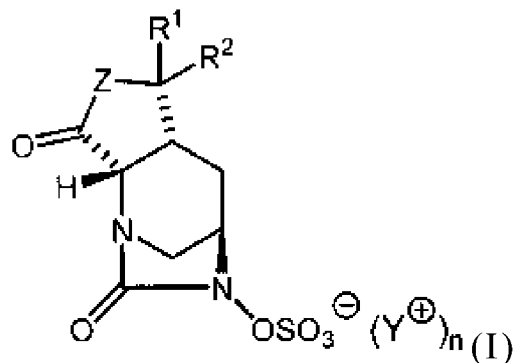
如請求項14之化合物，其係呈結晶型，其特徵在於8.3度及16.6度之繞射角(2θ)處之XRPD峰，進一步特徵在於25.1度或31.3度之繞射角(2θ)處之一或多個其他XRPD峰，進一步特徵在於27.4度或28.7度之繞射角(2θ)處之一或多個其他XRPD峰，及進一步特徵在於19.5度或21.7度之繞射角(2θ)處之其他XRPD峰。

【第16項】

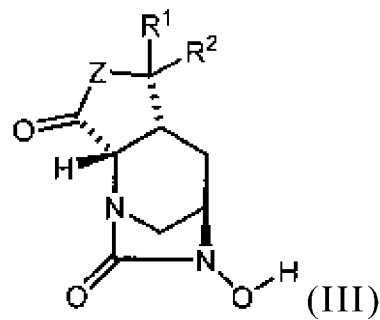
如請求項15之化合物，其在差示掃描量熱法上在283℃與350℃之間展現吸熱。

【第17項】

一種製備如請求項3之式(I)化合物之方法，



其中該方法包含使式(III)化合物與磺醯化劑在鹼存在下接觸，



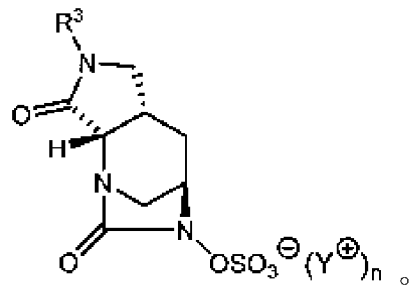
其中Z、 R^1 及 R^2 及 R^3 係如請求項3中所定義。

【第18項】

如請求項17之方法，其中Z為 NR^3 ，且 R^3 為H或視情況經-OR或-NRR'取代之 C_1 - C_2 烷基。

【第19項】

如請求項17或18之方法，其中該式(I)化合物具有下式



【第20項】

如請求項19之方法，其中 R^3 為H。

【第21項】

一種醫藥組合物，其包含如請求項1至16中任一項之化合物及至少一種醫藥上可接受之賦形劑。

【第22項】

一種如請求項1至16中任一項之化合物的用途，其用於製造用於治療細菌感染之藥物。

【第23項】

如請求項22之用途，其中該細菌感染係革蘭氏陰性(Gram-negative)細菌感染。

【第24項】

如請求項22之用途，其中該細菌感染係由以下之物種造成之革蘭氏陰性細菌感染：檸檬酸桿菌屬、腸桿菌屬、埃希氏菌屬、克雷伯氏菌屬、摩根菌屬、莫拉菌屬、普羅威登斯菌屬、假單胞菌屬、變形桿菌屬、沙門桿菌屬、沙雷氏菌屬、不動桿菌屬、類桿菌屬、普雷沃菌屬、曲桿菌屬、奈瑟菌屬或寡養單胞菌屬。

【第25項】

一種醫藥組合，其包含如請求項1至16中任一項之化合物及 β -內醯胺抗生素，其中該 β -內醯胺抗生素係選自胺曲南(aztreonam)、必倍西林(piperacillin)、頭孢他啶(ceftazidime)、美羅培南(meropenem)及 β -內醯胺5。

【第26項】

一種如請求項25之醫藥組合之用途，其用於製造用於治療革蘭氏陰性細菌感染之藥物。

【第27項】

如請求項22之用途，其中該式(A)化合物係呈有效加強該 β -內醯胺抗生素之抗細菌活性之量。

【第28項】

一種如請求項25之醫藥組合之用途，其用於製造用於治療細菌感染之藥物，該細菌感染係由腸桿菌科(Enterobacteriaceae)或假單胞菌屬之物種造成之院內肺炎、腹內感染或尿路感染。

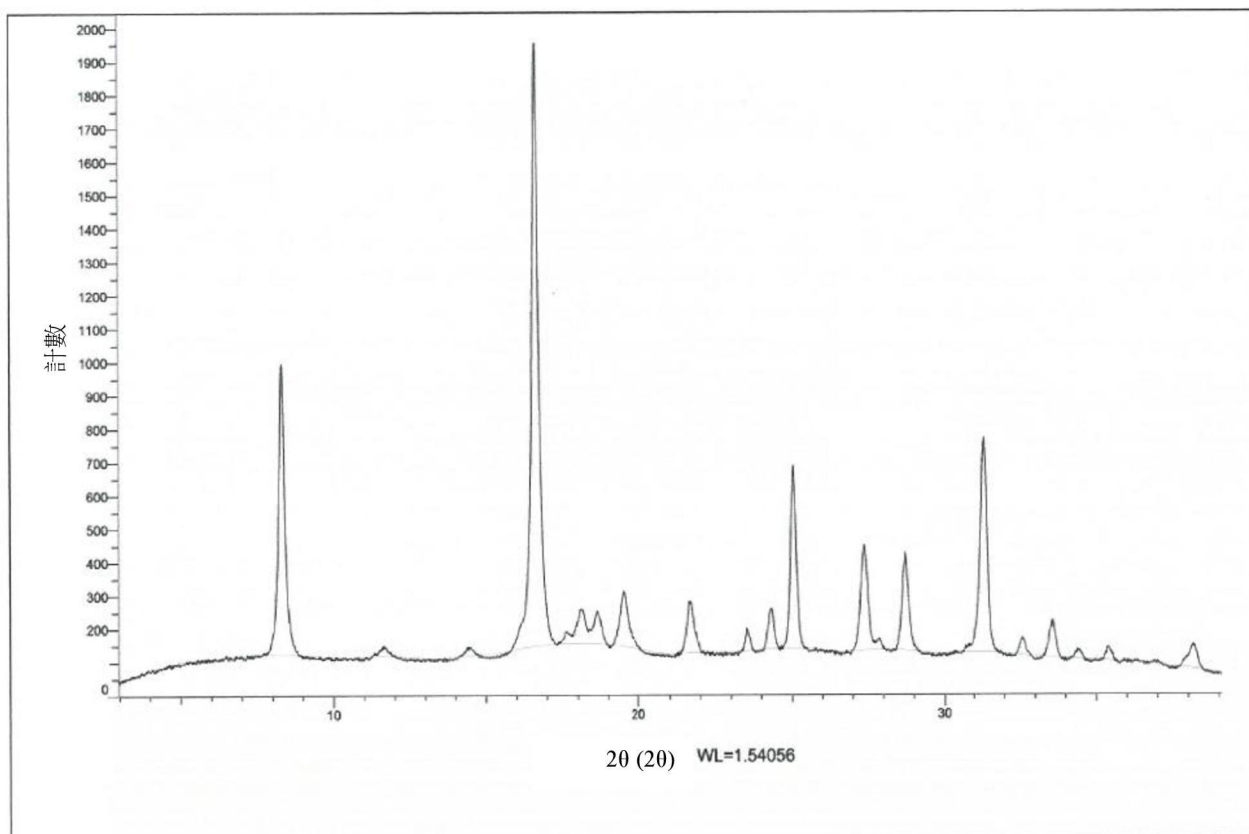
【發明圖式】

式(VII)化合物之結晶形式的掃描電子顯微鏡影像



【圖 1】

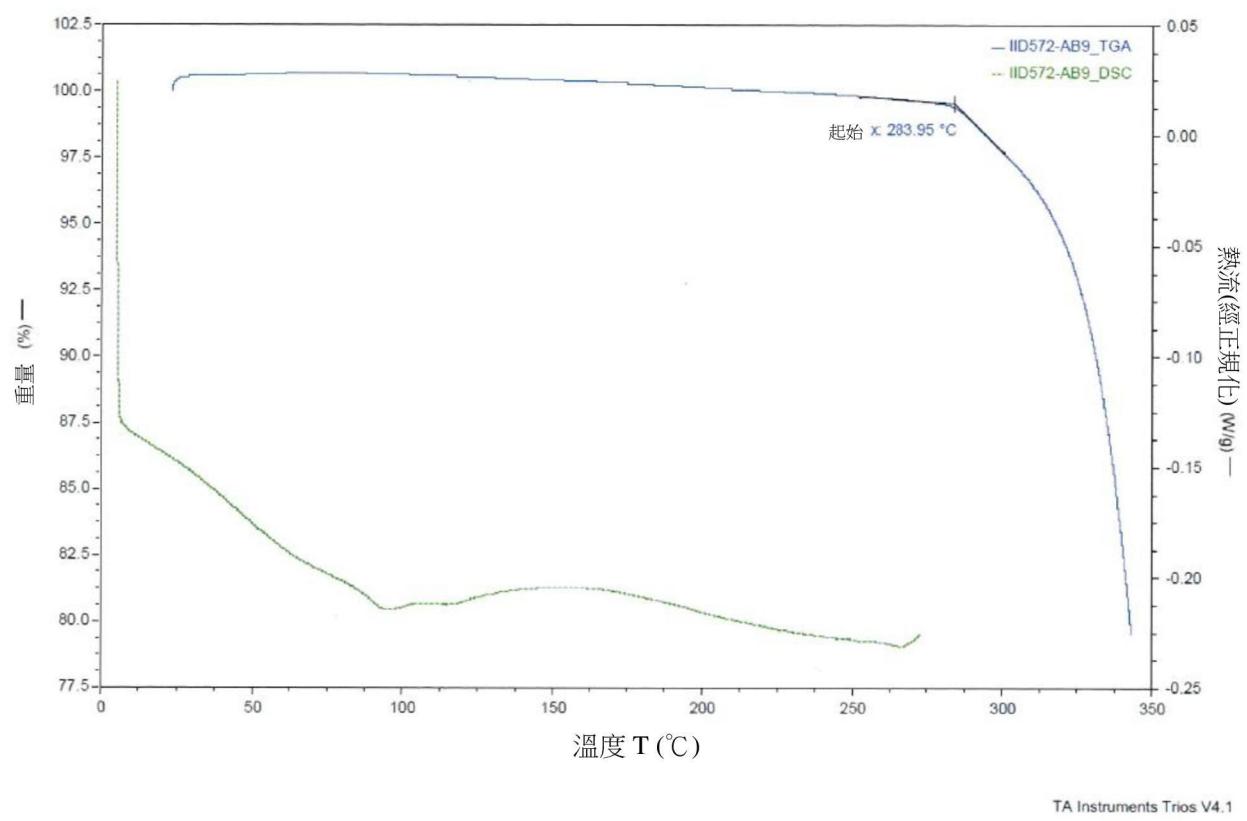
式(VII)之結晶化合物之 XRPD 譜



【圖 2】

式(VII)之結晶化合物之熱重分析及 DSC

疊加 2



DSC: 下部

TGA —上部

【圖 3】