

Цитовані в даній заявці посилання не треба розглядати як попередній рівень для заявленого винаходу.

Сибірка являє собою бактерійну інфекцію, що продукується *Bacillus anthracis*. Ендоспори *Bacillus anthracis* можуть потрапити в організм через садно на шкірі, шляхом дихання або ковтання. *Bacillus anthracis* продукує сибірковий токсин, який часто є летальним [Dixon et al., (1999) N. Engl. J. Med. 341, 815-26].

Сибірковий токсин складається з трьох білків: компонента, зв'язуючого рецептор, позначеного як захисний антиген, і двох ферментативних компонентів, названих набряклий фактор і летальний фактор («ЛФ»). [Mock et al., (2001) Annu. Rev. Microbiol. 55, 647-71]. Летальний фактор являє собою цинкозалежну металопротеазу, яка спричиняє виникнення токсичних ефектів за рахунок розщеплення мітогенактивованих кіназ протеїнкінази (MKK) [Vitale et al., (1998) Biochem. Biophys. Res. Commun. 248, 706-11, Vitale et al., (2000) Biochem. J. 352 Pt 3, 739-45, Duesbery et al., (1998) Science 280, 734-7, Duesbery et al., опублікована міжнародна заявка №WO 99/50439, опубл. 7 жовтня 1999р.].

Для ідентифікації сайту в різних МКК, які розщеплюються летальним фактором, Vitale і співробітники використали мікросеквенування [дивись таблицю 1, Vitale et al., (2000) Biochem. J. 352 Pt 3, 739-45]. Розщеплення летальним фактором різних МКК відбувалося в N-кінцевій ділянці, що передує домену кінази. Вирівнювання послідовностей, фланкуючих сайт розщеплення, виявило деякі мотиви узгодженості: гідрофобний залишок в положенні P2 і P1' і, щонайменше, один залишок між P4 і P7. [Vitale et al., (2000) Biochem. J. 352 Pt 3, 739-45].

Було показано, що летальний фактор розщеплює синтетичні пептиди *in vitro* [Hammond et al., (1998) Infect. Immun. 66, 2374-8]. Розщеплення *in vitro* інгібувалося 1,10-фенантроліном або 10мМ EDTA, обидва з яких утворюють хелатну сполуку з цинком.

Bacillus anthracis являє собою спороутворювальну грампозитивну бацилу, яка є етіологічним агентом сибірки виразки. Сибірка являє собою захворювання, яке може бути повсюдно знайдене в зонах з помірним кліматом (наприклад в Південній і Центральній Америці, в Південній і Східній Європі, Азії, Африці, на Середньому Сході і Карибських островах) і передається людям через контакти або споживання забруднених продуктів тваринного походження (наприклад, через вживання недостатньо прожареного м'яса інфікованих тварин). Дикі ссавці, такі як олень, гну, слони і домашні тварини, такі як кози, вівці, велика рогата худоба, коні і свині, представляють велику небезпеку для зараження. Зараження звичайно виникає при утримуванні худоби на зараженому пасовищі, при вживанні забрудненої їжі або вживанні води із забруднених свердловин. Спори *Bacillus anthracis* можуть залишатися життєздатними в ґрунті протягом багатьох років. [Дивись: Helgason et al., Applied and Environmental Microbiology 2000 66(6) pgs. 2627-2630; Wiber et al., Antimicrob Agents and Chemotherapy 1988 32 (5):642-645; i Doganay et al., Scand. J. Inf. Dis. 1991 23:333-335 для додаткового обговорення *Bacillus anthracis*].

У людей можуть зустрічатися три форми сибіркової інфекції: шкірна, шлунково-кишкова і легенева. При шкірній формі інфікування відбувається в тому випадку, коли бактерія або спора попадає в поріз або дряпину на шкірі. [Дивись: Synder, J.W., Shapiro, D.S., Gilchrist, M.J.R., et al., «Basic Diagnostic Testing Protocols for Level A Laboratories (For The Presumptive Identification of *Bacillus Anthracis*)» на: www.ban.asm.la.cp. 102401f, Oct.24, 2001, pgs. 1-20 i Dixon et al., NEJM 341:815-826 Sept 9, 1999 Number 11]. Симптоми шкірної інфекції звичайно включають нарости або шишку, схожу на укусу комах, яка викликає свербіж. Протягом від одного до двох днів нарости або шишка розвиваються в наповнений рідиною пухирець, який розривається з утворенням безболісної виразки з характерною чорною некротичною (омертвілою) ділянкою в середині. Якщо не провести лікування, може наступити смерть, однак, якщо провести антибіотикотерапію, смертельні випадки не часті.

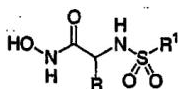
Шлунково-кишкова форма сибірки звичайно виникає внаслідок споживання забрудненого бактеріями м'яса, що приводить до гострого запалення кишкового тракту. Такі симптоми як нудота, втрата апетиту, блювання, жар, разом з болем в ділянці черевної порожнини, блюванням з кров'ю і сильною діареєю є показниками шлунково-кишкової виразки. Летальність внаслідок даної форми сибірки у людей становить 25-60%.

Легенева форма сибірки найбільш ймовірно є результатом навмисного аерозольного застосування *Bacillus anthracis*, наприклад, в результаті біотероризму. Дана форма людської сибіркової інфекції звичайно має інкубаційний період від одного до шести днів, при цьому первинними ознаками є жар, нездужання, непродуктивний кашель і/або іноді невеликий дискомфорт в ділянці грудної клітки. Після вказаних первинних симптомів часто йде короткий період поліпшення, після якого виникає раптовий розвиток важкого респіраторного дистрес-синдрому з ускладненим диханням, потовиділенням і посинінням шкіри. Незважаючи на інтенсивне лікування, через 24-36 годин після виникнення респіраторного дистрес-синдрому звичайно настає смерть.

Більшість штамів *Bacillus anthracis* сприйнятливі до широкого діапазону антибіотиків. Лікарські засоби, що найчастіше використовуються в цей час, включають ципрофлоксацин, пеніцилін або доксициклін. Однак профілі ефективності і побічних дій даних лікарських засобів не є ідеальними.

Хоч антибіотики можуть вбивати бактерії, які викликають сибірку, сибірковий токсин, що складається з трьох частин, продовжує вражати організм навіть коли самі бактерії гинуть. Тому все ще існує потреба в нових і ефективних лікарських препаратах з поліпшеною ефективністю, що надають незначну побічну дію або не мають такої, які інгібують «ножицеподібну» здатність летального фактора відрізати значущі молекули хазяїна.

Даний винахід відноситься до нових сполук формули I



I

або до фармацевтично прийнятної солі, енантіомеру, діастереоізомеру або складного ефіру, що гідролізується *in vivo*, або їх суміші, де

R¹ являє собою C₆₋₁₀арил, C₅₋₁₀гетероарил або C₅₋₁₀гетероцикліл, причому вказаний арил, гетероарил і гетероцикліл необов'язково заміщений 1-3 групами R^a,

R^a являє собою C₁₋₆алкіл, галоген, OH, арил(C₁₋₆)алкіл, (C₁₋₆)алкокси, (C₁₋₆)алкокси(C₁₋₆)алкіл, галоген(C₁₋₆)алкіл, нітро, аміно, моно- або ді-N-(C₁₋₆)алкіламіно, ациламіно, ацилокси, карбокси, солі карбонових кислот, складні ефіри карбонових кислот, карбамоїл, моно- і ді-N-(C₁₋₆) алкілкарбамоїл, (C₁₋₆)алкоксикарбоніл, арилалкоксикарбоніл, уреїдо, гуанідино, сульфоніламіно, аміносульфоніл, (C₁₋₆)алкілтіо, (C₁₋₆)алкілсульфініл, (C₁₋₆)алкілсульфоніл, гетероцикліл, гетероцикліл(C₁₋₆) алкіл; і

R являє собою C₁₋₈алкіл, C₃₋₁₀циклоалкіл, C₃₋₁₀гетероциклоалкіл, C₅₋₁₀гетероарил або C₅₋₁₁гетероцикліл, причому гетероарил і гетероцикліл необов'язково заміщені 1-3 групами R^a і вказаний алкіл необов'язково заміщений 1-3 групами, вибраними з групи, що складається з арилу, гетероциклілу, (C₁₋₆)алкілтіо, ціано, гетероарилу, гуанідино, (1-аміноетилкарбоніл)аміно, (амінометилкарбоніл)аміно, ((2-амінопроп-2-іл)карбоніл)аміно, ацетамідо, 4-(амінометил)фенілу, тіо, трет-бутилсульфонілу, (C₂₋₆)алкенілтіо, (C₂₋₆)алкінілтіо, аміно, моно- або ді-(C₁₋₆)алкіламіно, арилтіо, гетероциклілтіо, (C₁₋₆)алкокси, арил(C₁₋₆)алкокси, арил(C₁₋₆)алкілтіо, циклоалкілу, циклоалкенілу, карбокси і складних ефірів карбонових кислот, гідрокси і галогену.

Даний винахід відноситься також до застосування сполук формули I при лікуванні сибірки і інших станів, які пов'язані з сибірковою інфекцією.

Вказані і інші аспекти винаходу стануть більш ясними при уважному розгляді винаходу загалом.

Даний винахід відноситься до сполук формули I і способу лікування сибірки або до інгібування летального фактора шляхом введення композиції, що містить сполуку формули I і фармацевтично прийнятний носій, переважно внутрішньовенно або внутрішньом'язово.

Винахід описаний детально з використанням визначених нижче термінів, якщо не вказане інше.

Коли будь-яка змінна (наприклад, арил, гетероцикл, R¹, R і т.д.) зустрічається в будь-якій складовій більше одного разу, її визначення в кожному місці є незалежним від визначення в кожному іншому місці. Крім того, комбінації замісників/або змінних допустимі тільки в тому випадку, якщо такі комбінації приводять до отримання стійких сполук.

Термін «алкіл» відноситься до радикала, зробленого з одновалентного алкану (вуглеводню), що містить від 1 до 10 атомів вуглецю, якщо не визначено інше. Він може бути прямим, розгалуженим або циклічним. Переважні алкільні групи включають метил, етил, пропіл, ізопропіл, бутіл, трет-бутіл, циклопентил і циклогексил. Коли говориться, що алкільна група заміщена алкільною групою, це означає, що її використовують взаємозамінно з «розгалуженою алкільною групою».

Алкеніл переважно являє собою C₂₋₆алкеніл.

Алкініл переважно являє собою C₂₋₆алкініл.

Циклоалкіл є різновидом алкілу, що містить від 3 до 15 атомів вуглецю, якщо не вказане інше, при цьому він не має резонансних подвійних зв'язків, або подвійних зв'язків, що чергуються між атомами вуглецю. Він може містити від 1 до 4-х кілець, які є конденсованими. Прикладами циклоалкільних груп є циклопропіл, циклобутил, циклопентил, циклогексил і циклогептил.

Гетероциклоалкіл означає циклоалкільні циклічні групи, що складаються з атомів вуглецю і одного-чотирьох гетероатомів, вибраних з групи, що складається з N, O і S, і включає біциклічні групи. Вказаний гетероциклоалкіл може бути необов'язково заміщений представленими в даному описі 1-3 групами R^a. Прикладами гетероциклоалкілів є океан, метилоксан, діоксан, піран, тіолан, піперидин, піролідін, азиридин, азетидин і т.д.

Алкокси відноситься до C₁₋₆алкіл-O-, при цьому алкільна група необов'язково заміщена як вказано вище. Прикладами алкоксигруп є метокси, етокси, пропокси, буюкси і їх ізомерні групи.

«Гало» є скороченою назвою галогену і відноситься до хлориду, фториду, броміду і йодиду.

Використаний в даному описі термін «арил» означає будь-яке стійке моноциклічне або біциклічне вуглецеве кільце, що містить до 7 членів в кожному кільці, причому щонайменше одне кільце є ароматичним. Приклади таких арильних фрагментів включають феніл, нафтил, тетрагідронафтил, інданіл, біфеніл, фенантрин, антрин або аценафтил.

Використаний в даному описі термін «гетероцикліл» або «гетероциклічний» являє собою стійке 5-7-членне моноциклічне або стійке 8-11-членне біциклічне гетероциклічне кільце, яке є насиченим або ненасиченим і яке складається з атомів вуглецю і одного-чотирьох гетероатомів, вибраних з групи, що складається з N, O і S, і включає будь-яку біциклічну групу, в якій будь-яке з визначених вище гетероциклічних кілець конденсоване з бензольним кільцем. Гетероциклічне кільце може бути приєднане до будь-якого гетероатому або атому вуглецю, що приводить до створення стійкої структури. Конденсована гетероциклічна кільцева система може включати карбоциклічні кільця і за необхідності може включати тільки одне гетероциклічне кільце. Термін «гетероцикл» або «гетероциклічний» включає гетероарильні групи. Приклади таких гетероциклічних фрагментів включають, але без обмеження, азепініл, бензімідазоліл, бензізоксазоліл, бензофуразаніл, бензопіраніл, бензотіопіраніл, бензофурил, бензотіазоліл, бензотієніл, бензоксазоліл, хроманіл, цинолініл, дигідробензофурил, дигідробензотієніл, дигідробензотіопіраніл, дигідробензотіопіранілсульфон, 1,3-діоксоланіл, фурил, імідазолідиніл, імідазолініл, імідазоліл, індолініл, індоліл, ізохроманіл, ізоіндолініл, ізохінолініл, ізотіазоліл, ізотіазолідиніл, морфолініл, нафтиридиніл, оксадіазоліл, 2-оксазепініл, оксазоліл, 2-оксопіперазиніл, 2-оксопіперидиніл, 2-оксопіролідиніл, піперидил, піперазиніл, піридил, піразиніл, піразолідиніл, піразоліл, піридазиніл, піримідиніл, піролідиніл, піроліл, хіназолініл, хінолініл, хіноксалініл, тетрагідрофурил, тетрагідрізохінолініл, тетрагідрохінолініл, тіаморфолініл, тіаморфолінілсульфоксид, тіазоліл, тіазолініл, тіенофурил, тієнотієніл і тієніл. Варіант прикладів таких гетероциклічних фрагментів включає, але без обмеження, азепініл, бензімідазоліл, бензізоксазоліл, бензофуразаніл, бензопіраніл, бензотіопіраніл, бензофурил, бензотіазоліл, бензотієніл, бензоксазоліл, хроманіл, цинолініл, дигідробензофурил, дигідробензотієніл, дигідробензотіопіраніл, дигідробензотіопіранілсульфон, фурил, імідазолідиніл, імідазолініл, імідазоліл, індолініл, індоліл, ізохроманіл, ізоіндолініл, ізохінолініл, ізотіазоліл, ізотіазолідиніл, морфолініл, нафтиридиніл, оксадіазоліл, 2-оксазепініл, оксазоліл, 2-оксопіперазиніл, 2-оксопіперидиніл, 2-оксопіролідиніл, піперидил, піперазиніл, піридил, 2-піридиноніл, піразиніл, піразолідиніл,

піразоліл, піридазиніл, піримідиніл, піролідиніл, піроліл, хіназолініл, хінолініл, хіноксалініл, тетрагідрофурил, тетрагідроізохінолініл, тетрагідрохінолініл, тіаморфолініл, тіаморфолінілсульфоксид, тіазоліл, тіазолініл, тіенофурил, тієнотієніл, тієніл і триазоліл.

Гетероцикл переважно вибраний з 2-азепінонілу, бензімідазолілу, 2-діазапінонілу, імідазолілу, 2-імідазолідинонілу, індолілу, ізохінолінілу, морфолінілу, піперидилу, піперазинілу, піридилу, піролідинілу, 2-піперидинонілу, 2-піримідинонілу, 2-піролідинонілу, хінолінілу, тетрагідрофурилу, тетрагідроізохінолінілу і тієнілу.

Використаний в даному описі термін «гетероарил» означає будь-яке стійке моноциклічне і біциклічне вуглецеве кільце, що містить до 7 членів в кожному кільці, де щонайменше одне кільце є ароматичним і де від одного до чотирьох атомів вуглецю заміщене гетероатомами, вибраними з групи, що складається з N, O і S. Приклади таких гетероциклічних фрагментів включають, але без обмеження, бензімідазоліл, бензізоксазоліл, бензофуразаніл, бензопіраніл, бензотіопіраніл, бензофурил, бензотіазоліл, бензотієніл, бензоксазоліл, хроманіл, цинолініл, дигідробензофурил, дигідробензофураніл, дигідробензотієніл, дигідробензотіопіраніл, дигідробензотіопіранілсульфон, фурил, імідазоліл, індолініл, індоліл, ізохроманіл, ізоіндолініл, ізохінолініл, ізотіазоліл, нафтиридиніл, оксадіазоліл, піридил, піразиніл, піразоліл, піридазиніл, піримідиніл, піроліл, хіназолініл, хінолініл, хіноксалініл, тетрагідроізохінолініл, тетрагідрохінолініл, тіазоліл, тієнофурил, тієнотієніл, тієніл і триазоліл.

В одному варіанті даного винаходу, що відноситься до сполук формули I, R являє собою гетероциклоалкіл, а всі інші змінні є такими, як вони описані вище.

В іншому варіанті даного винаходу, що відноситься до сполук формули I, R являє собою гетероарил, а всі інші змінні є такими, як вони описані вище.

У ще одному іншому варіанті даного винаходу, що відноситься до сполук формули I, R¹ являє собою фенільну групу, необов'язково заміщену 1-3 групами R^a, і R являє собою гетероциклоалкільну або гетероарильну групу.

У ще іншому варіанті даного винаходу, що відноситься до сполук формули I, R являє собою фенільну групу, заміщену 1-3 групами, вибраними з метокси, галогену, метилу, етилу, пропілу, бутилу, нафтилу, 5-(2-піридил)тіофен-2-ілу або їх суміші, і R являє собою гетероциклоалкіл або гетероарил.

У ще одному іншому варіанті даного винаходу, що відноситься до сполук формули Ia, R являє собою гетероциклоалкіл, а всі інші змінні є такими, як вони описані вище.

В іншому варіанті даного винаходу, що відноситься до сполук формули Ia, R являє собою гетероарил, а всі інші змінні є такими, як вони описані вище.

В іншому варіанті даного винаходу, що відноситься до сполук формули Ia, R являє собою C₁₋₄алкіл, а всі інші змінні є такими, як вони описані вище.

У ще одному іншому варіанті даного винаходу, що відноситься до сполук формули Ia, R¹ являє собою фенільну групу, необов'язково заміщену 1-3 групами R^a, і R являє собою алкільну, гетероциклоалкільну або гетероарильну групу.

У ще одному іншому варіанті даного винаходу, що відноситься до сполук формули Ia, R¹ являє собою фенільну групу, заміщену 1-3 групами, вибраними з метокси, галогену, метилу, етилу, пропілу, бутилу, нафтилу, 5-(2-піридил)тіофен-2-ілу або їх суміші, і R являє собою алкіл, гетероциклоалкіл або гетероарил.

Інший варіант даного винаходу відноситься до фармацевтичної композиції, що містить сполуку формули I і фармацевтично прийнятний носій.

Інший варіант даного винаходу включає застосування сполуки формули I для отримання лікарського препарату, призначеного для лікування або профілактики сибірки і пов'язаних з нею станів. Ще один інший варіант винаходу включає застосування сполуки формули I для отримання лікарського препарату, призначеного для інгібування летального фактора.

Сполуки формули I можуть бути об'єднані з одним або декількома відомими лікарськими засобами, вибраними з клінічно застосованих антибактерійних засобів (наприклад, інших бета-лактамів або аміноглікозидів), інгібіторів бета-лактамази, блокторів ниркових каналців (наприклад пробенециду) і інгібіторів метаболічних ферментів (наприклад, інгібіторів деїдропептидаз, наприклад Z-2-ациламіно-3-заміщених пропеноатів, таких як циластатин) і N-ацильованих амінокислот [дивись, наприклад, EP-A-178911], які зменшують небажану дію на нирки. Прикладами лікарських засобів, які можуть бути об'єднані із сполуками формули I, є іміпенем, меропенем, ванкоміцин, циластатин, цефокситин, пеніцилін, клавуланова кислота, пробенецид, тетрациклін, ципрофлоксацин, норфлоксацин або їх суміш. Коли як лікарський засіб використовується іміпенем, його переважно використовувати в комбінації з циластатином (дана комбінація представлена на ринку під торговою маркою PRIMAXIN®).

Відповідні фармацевтично прийнятні солі сполук, використаних в даному винаході, включають адитивні кислотні солі, такі як гідрохлорид, гідробромід, цитрат, малеат, і солі, утворені фосфорною і сірчаною кислотами. Відповідно до іншого аспекту відповідні солі являють собою основні солі, такі як сіль лужного металу, наприклад натрію або калію, сіль лужноземельного металу, наприклад, кальцію або магнію, органічну сіль аміну, наприклад триетиламіну, морфоліну, N-метилпіперидину, N-етилпіперидину, прокаїну, дибензіламіну, N,N-дибензил етил аміну, або амінокислот, наприклад лізину. Переважними фармацевтично прийнятними солями є солі натрію і калію.

Складні ефіри, що гідролізуються in vivo, являють собою такі фармацевтично прийнятні складні ефіри, які гідролізуються в організмі людини з продукуванням вихідної сполуки. Такий складний ефір може бути ідентифікований введенням піддослідній тварині, наприклад внутрішньовенно, випробуваної сполуки і подальшим дослідженням рідин організму піддослідної тварини. Відповідні складні ефіри карбонових кислот, що гідролізуються in vivo, включають C₁-алкоксиметиллові ефіри, наприклад метоксिमетилловий, C₁-алканолоксиметилловий ефіри, наприклад півалоїлоксиметилловий, фталидиловий ефіри і додаткові складні ефіри, розкриті [в патенті США №5478820], включеному в даний опис у всій своїй повноті як посилання.

Використані в даному винаході сполуки являють собою:

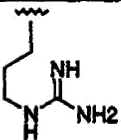
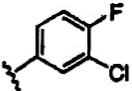
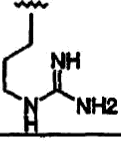
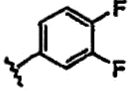

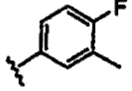

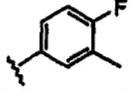
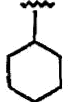
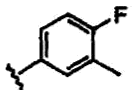
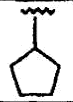
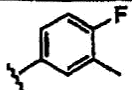
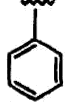
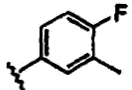
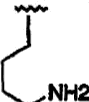
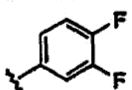

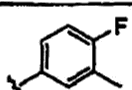
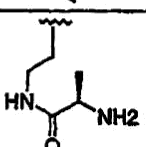
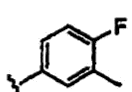

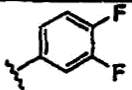
N-трет-бутоксі-2(R)-[(4-фтор-3-метилфенілсульфоніл)]аміно-3-метилбутирамід;
N-гідрокси-2(N)-[(4-фтор-3-метилфенілсульфоніл)]аміно-3-метилбутирамід;
N-трет-бутоксі-2(R)-[(4-фтор-3-метилфенілсульфоніл)]аміно-2-(4'-тетрагідропіраніл)ацетамід;
N-гідрокси-2(R)-[(4-фтор-3-метилфенілсульфоніл)]аміно-2-(4'-тетрагідропіраніл)ацетамід;
N-гідрокси-2(R)-[(4-фтор-3-метилфенілсульфоніл)]аміно-3-(S)-циклопропілбутирамід;
і їх фармацевтично прийнятні солі, енантиомери, діастереомери або складні ефіри, що гідролізуються *in vivo*, або їх суміші.

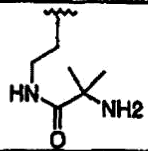
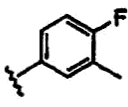
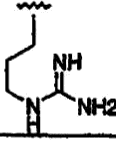
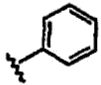
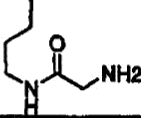
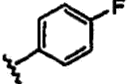

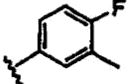

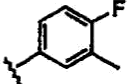

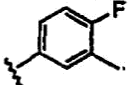

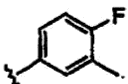
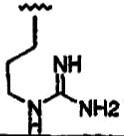
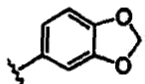
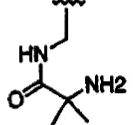
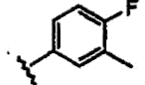

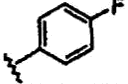
Додаткові сполуки даного винаходу розкриті в таблиці 1:

Таблиця 1

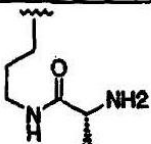
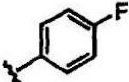

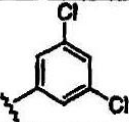

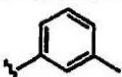
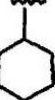
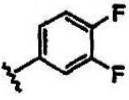
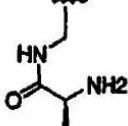
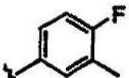
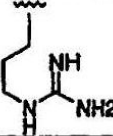
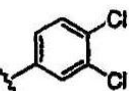

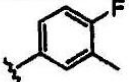

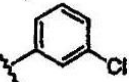

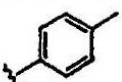
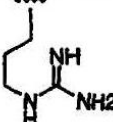
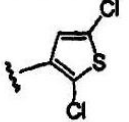



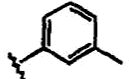
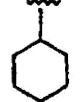
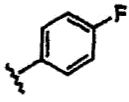
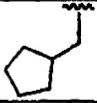
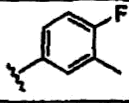

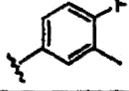

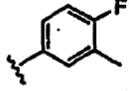
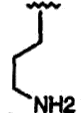
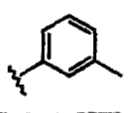

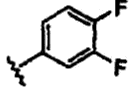
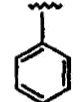
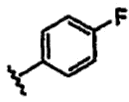
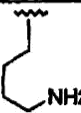
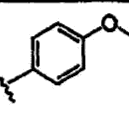

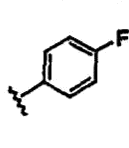
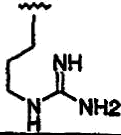
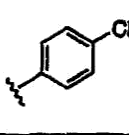
Приклад№	R1	R2
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		



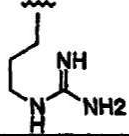
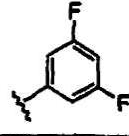
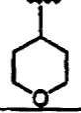
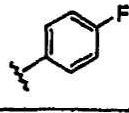
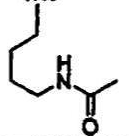
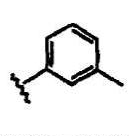
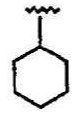
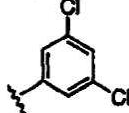

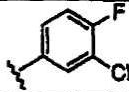
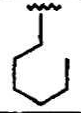
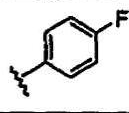
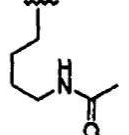
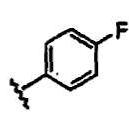
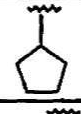
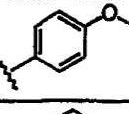

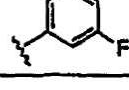
10		
11		
12		
13		
14		
15		
16		
17		
18		
19		
20		

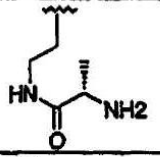
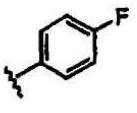
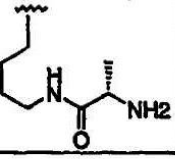
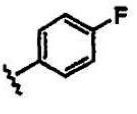

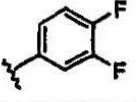

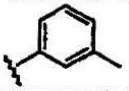

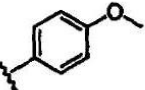
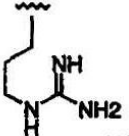
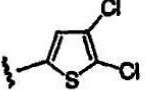
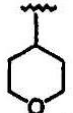
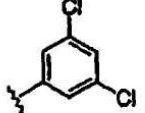

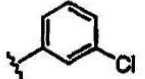

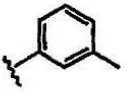

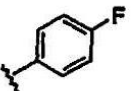
21		
22		
23		
24		
25		
26		
27		
28		
29		
30		

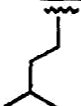
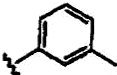

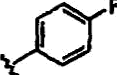
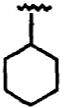
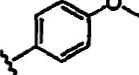

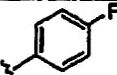

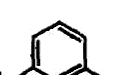

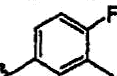

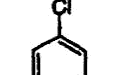
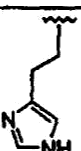
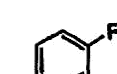

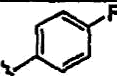
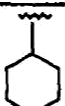

31		
32		
33		
34		
35		
36		
37		
38		
39		
40		


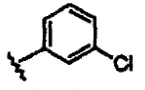

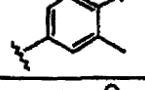

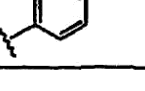
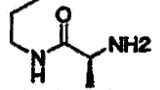
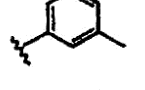
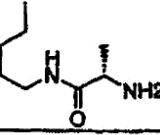
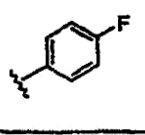

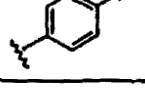

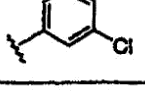
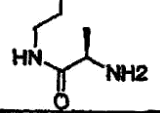
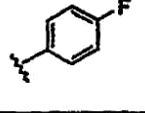
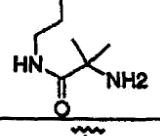
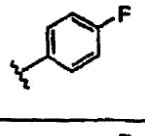

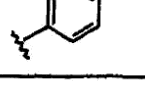
41		
42		
43		
44		
45		
46		
47		
48		
49		
50		

51		
52		
53		
54		
55		
56		
57		
58		
59		
60		
61		


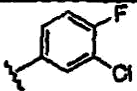
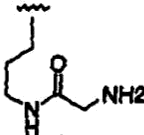
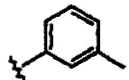

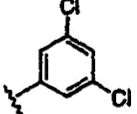

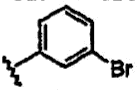

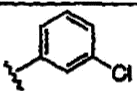

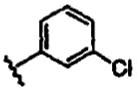

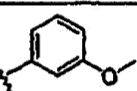

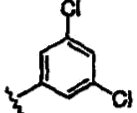
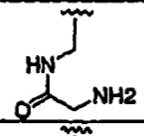
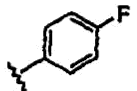

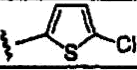
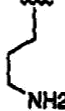
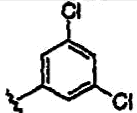
62		
63		
64		
65		
66		
67		
68		
69		
70		
71		


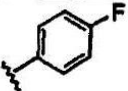

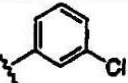
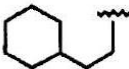
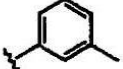

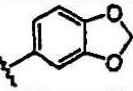
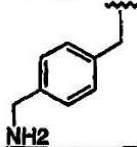
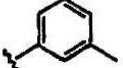

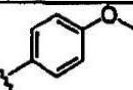

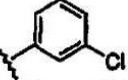
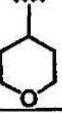
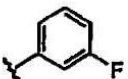



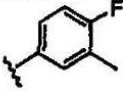

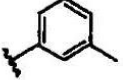

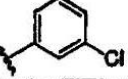
72		
73		
74		
75		
76		
77		
78		
79		
80		
81		

82		
83		
84		
85		
86		
87		
88		
89		
90		
91		

92		
93		
94		
95		
96		
97		
98		
99		
100		
101		

102		
103		
104		
105		
106		
107		
108		
109		
110		
111		

112		
113		
114		
115		
116		
117		
118		
119		
120		
121		
122		

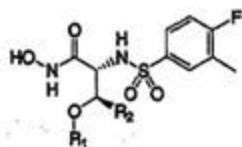
123		
124		
125		
126		
127		
128		
129		
130		
131		
132		
133		
134		









135		
136		
137		
138		
139		
140		
141		
142		
143		
144		

і їх фармацевтично прийнятні солі, енантіомери, діастереомери або складні ефіри, що гідролізуються in vivo, або їх суміші.

Інші додаткові сполуки даного винаходу розкриті в таблиці 2:

Таблиця 2



Приклад №	R1	R2
146		Me
147		Me
148		Me
149		H
150		Me
151		Me
152		Me
153		Me

і їх фармацевтично прийнятні солі, енантіомери, діастереомери або складні ефіри, що гідролізуються in vivo, або їх суміші.

Використані в даному описі переважні сполуки являють собою: N-трет-бутоксі-2(R)-[(4-фтор-3-метилфенілсульфоніл)]аміно-3-метилбутирамід;

N-гідроксі-2(R)-[(4-фтор-3-метилфенілсульфоніл)]аміно-3-метилбутирамід;

N-трет-бутоксі-2(R)-[(4-фтор-3-метилфенілсульфоніл)]аміно-2-(4'-тетрагідропіраніл) ацетамід;

N-гідроксі-2(R)-[(4-фтор-3-метилфенілсульфоніл)]аміно-2-(4'-тетрагідропіраніл)ацетамід;

N-гідроксі-2(R)-[(4-фтор-3-метилфенілсульфоніл)]аміно-3-(S)-циклопропілбутирамід;

і їх фармацевтично прийнятні солі, енантіомери, діастереомери або складні ефіри, що гідролізуються in vivo, або їх суміші.

Для застосування сполуки формули I або її фармацевтично прийнятної солі, енантіомеру, діастереомеру або складного ефіру, що гідролізується in vivo, або їх суміші для терапевтичного лікування ссавців, включаючи людину, особливо для лікування сибірки або інгібування летального фактора, її звичайно приготують відповідно до стандартної фармацевтичної практики у вигляді фармацевтичної композиції.

Використані в даному винаході сполуки можуть бути введені в терапевтично ефективній кількості внутрішньовенно, підшкірно, внутрішньом'язово або будь-яким іншим шляхом, відомим фахівцям в даній галузі (наприклад, ректально, перорально, парентерально). Відповідна фармацевтична композиція, використана в даному винаході, є такою, яка приготована як стерильний ін'єкційний розчин, що містить від 1 до 50 мас./мас.% сполук, використаних в даному винаході.

Відповідні суб'єкти для введення препарату даного винаходу включають приматів, людей і інших тварин, особливо людей і домашніх тваринах, таких як кішки, кролики і собаки.

Наступні необмежувальні приклади, дані з метою ілюстрації, наочно показують, що сполуки, використані в даному винаході, застосовні для лікування сибірки і інгібування летального фактора.

Визначення термінів:

HOBT - гідроксибензотриазол

DMF - диметилформамід

DIEA - діізопропілетиламін

TMSONH₂ - O-триметилсилілгідроксиламін

RyBOP - бензотриазол-1-ілокси-трис-піролідинофосфонігексафторфосфат

TFA - трифтороцтова кислота

HPLC - високоефективна рідинна хроматографія

DCM - дихлорметан

EDC - 1-(3-диметиламінопропіл)-3-етилкарбодіімід

THF - тетрагідрофуран

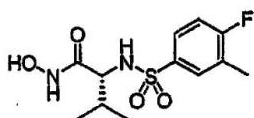
DIC - N,N'-діізопропілкарбодіімід

DMAP - 4-диметиламінопіридин

NMP - 1-метил-2-піролідинон

EDTA - етилендіамінтетраоцтова кислота.

Приклад 1



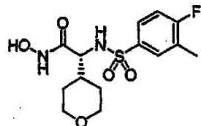
N-трет-бутоксі-2(R)-[(4-фтор-3-метилфенілсульфоніл)]аміно-3-метилбутирамід (1,8г, 4,99ммоль) розчиняли при 0°C в 75мл безводного дихлоретану, що містить етанол (0,30мл, 5ммоль). Протягом 30 хвилин через суміш барботували газоподібний хлористий водень. Колбу закривали мембраною і реакційна суміш перемішувалася протягом 2-х днів. Після видалення розчинника в роторному випарнику залишок розчиняли в метанолі (1-2мл) і розбавляли DCM (20мл). Збирали кристали, що утворилися, і промивали додатково кількістю DCM з отриманням після вакуумного сушіння N-гідроксі-2(R)-[(4-фтор-3-метилфенілсульфоніл)]аміно-3-метилбутирамід. ЯМР (500МГц, CD₃OD) δ: 0,86 (д, 3H), 0,91 (д, 3H), 1,86 (м, 1H), 2,30 (д, 3H), 3,30 (д, 1H), 7,16 (т, 1H), 7,67 (м, 1H), 7,72 (м, 1H).

Вихідні продукти для прикладу 1 отримували таким чином:

D-Валін (1,39г, 11,9ммоль) розчиняли в 80мл суміші діоксан/вода (1:1), що містить K₂CO₃ (3,3г, 24ммоль). При ретельному перемішуванні додавали по краплях розчин 4-фтор-3-метилфенілсульфонілхлориду (10ммоль) в діоксані (4мл). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. Додавали етилацетат (80мл), 1н HCl (50мл). Органічний шар два рази промивали 1н HCl і екстрагували 5% K₂CO₃ (3×25мл). Об'єднані основні екстракти підкисляли і екстрагували етилацетатом (80мл). Органічний шар промивали насиченим розчином солі (2 рази), сушили над Na₂SO₄. У роторному випарнику видаляли розчинник і залишок розтирали в гексані. Тверду речовину, що утворилася, сушили з отриманням 2(R)-[(4-фтор-3-метилфенілсульфоніл)]аміно-3-метилмасляну кислоти.

2(R)-[(4-Фтор-3-метилфенілсульфоніл)]аміно-3-метилмасляну кислоту (2,64г, 9,12ммоль) розчиняли в DCM (30мл) і потім додавали DIEA (3,18мл, 2екв.) і гідрохлорид О-трет-бутилгідроксиламіну (2,3г, 2екв.). Потім порціями додавали EDC.HCl (2,1г, 1,2екв.) у вигляді твердої речовини. Через 40 хвилин додавали додаткову кількість EDC (0,6г, 0,5екв.) і реакційну суміш перемішували протягом ще 30 хвилин. У роторному випарнику при кімнатній температурі видаляли розчинник і залишок розподіляли між етилацетатом (80мл) і 1н HCl (50мл). Органічний шар промивали 1н HCl, насиченим розчином солі і сушили над Na₂SO₄. Неочищений продукт очищали флеш-хроматографією на колонках при елюванні розчинником з градієнтом, яким був 5-12% етилацетат в DCM, з отриманням продукту N-трет-бутоксі-2(R)-[(4-фтор-3-метилфенілсульфоніл)]аміно-3-метилбутирамід у вигляді білої піни. ТШХ (TLC) (етилацетат:DCM 1:10) R_f 0,16. ЯМР (500 МГц, CD₃OD) δ: 0,89 (д, 3H), 0,90 (д, 3H), 1,08 (с, 9H), 1,86 (м, 1H), 2,30 (д, 3H), 3,44 (д, 1H), 7,18 (т, 1H), 7,70 (м, 1H), 7,77 (м, 1H).

Приклад 2

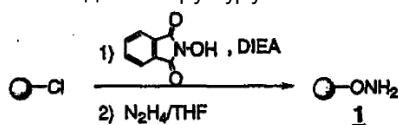


У прикладі 2, відповідно до методики прикладу 1, з D-4'-тетрагідропіранілгліцину отримували N-гідроксі-2(R)-[(4-фтор-3-метилфенілсульфоніл)]аміно-2-(4'-тетрагідропіраніл)ацетамід. ЯМР (500МГц, CD₃OD) δ: 1,19 (м, 1H), 1,34 (м, 1H), 1,40 (м, 1H), 1,74 (м, 1H), 1,80 (м, 1H), 2,32 (д, 3H), 3,31 (м, 2H), 3,37 (д, 1H), 3,90 (м, 2H), 7,18 (т, 1H), 7,65 (м, 1H), 7,72 (м, 1H).

Приклади 3-144

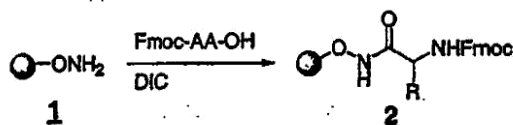
Приклади 3-144, представлені в таблиці 1, здійснювали в твердій фазі таким чином.

Стадія 1. Структурування смоли



Розчин N-гідроксифталіміду (2,8г, 17ммоль), DIEA (3,0мл, 17ммоль) в дихлорметані (30мл) і DMF (15мл) швидко додавали до 4,39г 2-хлортритилової смоли (завантаження 1,1ммоль/г) в забезпеченому фритою картриджі. Суспензію смоли переривисто струшували і залишали на столі на ніч. Смолу п'ятикратно промивали DMF і потім обробляли 40мл розчину гідразину (0,5М в THF) протягом 2-х годин. Навколо смоли утворювалася велика кількість білої твердої речовини. Її два рази промивали сумішшю DMF-вода (1:1) і чотири рази - DMF. Обробку гідрaziном повторювали більше одного разу протягом ще 3-х годин. Смолу два рази промивали сумішшю DMF-вода (1:1), чотири рази - DMF, п'ять разів - DCM, сушили у вакуумі всю ніч з отриманням 4,53г смоли 1. Приріст становив приблизно 1,0ммоль/г зміни маси.

Стадія 2. Завантаження амінокислоти



500мг (завантаження ~1,0ммоль/г) О-зв'язаної гідроксиламінової смоли і піддавали набухання в DCM в картриджі, забезпеченому фритою, і дренували. Додавали розчин Fmoc-D-алоїзолейцину (530мг, 1,5ммоль, 3екв.), DIC (0,120мл, 0,75ммоль, 1,5екв.) в 3мл DMF. Недовго струшували картридж і залишали на столі протягом 1 години. Додавали ще одну порцію DIG (0,04мл, 0,25ммоль, 0,5екв.). Через годину смолу чотири рази промивали DMF, чотири рази - DCM і всю ніч сушили у вакуумі з отриманням смоли 2. Приблизний

приріст становив 0,70ммоль/г приросту маси.

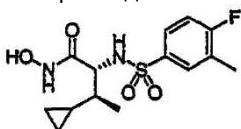
Стадія 3



150мг смоли 2, завантаження ~0,7ммоль/г, обробляли 2 мл суміші піперидин/DMF (25%) протягом 2-х годин. Смоли три рази промивали DMF і три рази - DCM. До смоли додавали розчин DIEA (73мкл, 0,42ммоль, 4екв.) в суміші THF-DCM (0,5мл, 1:1), що містить DMAP (~2мг), потім додавали розчин 3-хлорфенілсульфонілхлориду (66мг, 3екв.) в суміші THF-DCM (0,5мл). Через 3 години смоли три рази промивали DMF, три рази - DCM і двічі розщеплювали сумішшю 5% TFA/DCM (0,5мл) протягом 30 хвилин. Випаровували отриманий при розщепленні об'єднаний розчин і залишок розчиняли в суміші CH₃CN:H₂O і очищали ВЕРХ із оберненою фазою з отриманням сполуки прикладу 25, якою є амід N-гідроксі-2(R)-(3-хлорфенілсульфоніл)аміно-3(S)-метилвалеріанової кислоти. ЯМР (500МГц, CD₃OD) δ: 0,82 (д, д, 6H), 1,04 (м, 1H), 1,35 (м, 1H), 1,64 (м, 1H), 3,52 (д, 1H), 7,50 (т, 1H), 7,60 (д, 1H), 7,76 (д, 1H), 7,84 (м, 1H).

У таблиці 1 перераховані структури сполук прикладів 3-144. Фахівцям в даній галузі зрозуміло, що, відповідно до методики отримання сполуки прикладу 3, з деякими змінами можуть бути отримані сполуки прикладів 4-144. Для деяких сполук після відщеплення смоли необхідна стадія видалення захисної групи (обробка сумішшю 50% TFA/DCM).

Приклад 145



2(R)-[(4-фтор-3-метилфеніл)сульфоніл]аміно-3-(S)-циклопропілмасляну кислоту (10мг, 31мкмоль) розчиняли в DMF (0,3мл) в присутності НОВТ (4,5мг, 0,031ммоль), DIEA (11мкл, 0,062ммоль), О-триметилсилілгідроксиламіну (20мкл, 0,16ммоль). Додавали розчин PyBOP (20мг, 0,038ммоль) в DMF (0,3мл). Через 30 хвилин реакційну суміш гасили сумішшю CH₃CN:H₂O (1:1, 5% TFA) і обробляли ВЕРХ із оберненою фазою з отриманням після ліофілізації N-гідроксі-2-(R)-[(4-фтор-3-метилфеніл)сульфоніл]аміно-3-(S)-циклопропілбутирамід. ЯМР (500МГц, CD₃OD) δ: -0,04 (м, 1H), 0,20 (м, 1H), 0,35 (м, 1H), 0,41 (м, 1H), 0,54 (м, 1H), 0,90 (д, 3H), 1,08 (м, 1H), 2,32 (д, 3H), 3,60 (д, 1H), 7,17 (т, 1H), 7,68 (м, 1H), 7,75 (м, 1H). МС: 331,1 (M+H⁺).

Вихідні продукти для прикладу 145 отримували таким чином:

Метилгліколят (10,4г, 114ммоль), кротилловий спирт (100мл, надлишок) кип'ятили із зворотним холодильником в присутності K₂CO₃ (0,8г) протягом 1 години, при цьому протягом вказаного часу через пастку Діна-Старка було видалено приблизно 10мл конденсату. Після розбавлення гексаном (100мл) тверду речовину фільтрували через коротку колонку з силікагелем (50г), промивали сумішшю етилацетат:гексан (250мл) при співвідношенні компонентів в суміші 1:5. Об'єднаний фільтрат і промивки концентрували до 100мл і знову розбавляли гексаном (100мл), пропускали через колонку з силікагелем і промивали. Розчин концентрували з отриманням ~12,5г масла, яке переганяли у вакуумі з отриманням кротилгліколяту: 9,3г (97°C/20ммHg) у вигляді суміші цис-транс-ізомерів (1:10). ЯМР (500МГц, CDCl₃) δ: 1,3 (м, 3H), 4,15 (с, 2H), 4,62 (д, 2H), 5,6 (м, 1H), 5,84 (м, 1H), інші піки перекриваються транс-ізомером.

Вищевказаний отриманий кротилгліколят (9,3г, 71ммоль) у THF (10мл) повільно додавали при -78°C до розчину LiN(TMS)₂ (200мл, 1,0М) у THF (200мл). Через 40 хвилин при зазначеній температурі додавали триметилсилілхлорид (25,5мл, 200ммоль). Видаляли охолоджувальну ванну і реакційна суміш перемішувалася всю ніч. Реакційну суміш концентрували до ~150мл і розбавляли етилацетатом (500мл). Її двічі промивали 2н HCl. Промивання реекстрагували додатковою кількістю етилацетату. Об'єднаний органічний шар тричі екстрагували 5% K₂CO₃. Об'єднаний лужний розчин підкисляли холодною концентрованою HCl, екстрагували етилацетатом.

Етилацетатний розчин промивали насиченим NaCl, сушили над Na₂SO₄. У результаті випарювання розчинника і вакуумного сушіння одержували 2-гідрокси-3-метилпропен-4-єнову кислоту у виді суміші діастереоізомерів. ЯМР (500МГц, CD₃OD) для діастереомера 1 [(2R,3S) і (2S,3R)] 6:1,02 (д, 3H), 2,60 (м, 1H), 4,05 (д, 1H), 5,02 (м, 1H), 5,09 (м, 1H), 5,87 (м, 1H); діастереомер 2 [(2R,3R) і (2S,3S)] 5:1,11 (д, 3H), 2,6 (м, 1H), 4,03 (д, 1H), 5,0 (м, 1H), 5,09 (м, 1H), 5,80 (м, 1H).

Відношення діастереоізомерів, визначене ЯМР, складало приблизно 7:1, при цьому основним був діастереоізомер 1.

Вищевказану отриману кислоту (8,5г, 65ммоль) розчиняли в сухому DMF (100мл) і DIEA (16мл, 91ммоль). Додавали метилйодид (11,7мл, 85ммоль). Отримана суміш перемішувалася протягом 15 годин і її розбавляли етилацетатом (500мл), промивали три рази 0,1н HCl, два рази - насиченим розчином соли і сушили над Na₂SO₄. Після випарювання розчинника залишався складний метил-2-гідрокси-3-метилпентен-4-єновий ефір. ЯМР (500МГц, CD₃OD) для діастереомера 1 [(2R,3S) і (2S,3R)] 6:1,02 (д, 3H), 2,55 (м, 1H), 3,70 (с, 3H), 4,04 (д, 1H), 5,02 (м, 1H), 5,06 (м, 1H), 5,81 (м, 1H); діастереомер 2 [(2R,3R) і (2S,3S)] 5:1,08 (д, 3H), 2,58 (м, 1H), 3,70 (с, 3H), 4,07 (д, 1H), 5,00 (м, 1H), 5,06 (м, 1H), 5,80 (м, 1H).

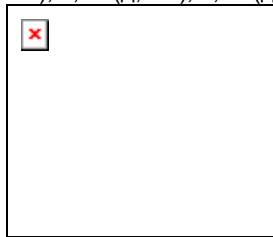
Вищевказаний отриманий складний метиловий ефір (2,9г, 20ммоль) розчиняли в сухому DCM (100мл) у присутності діодметану (8,1мл, 100ммоль) і охолоджували до 0°C. Додавали розчин діетилцинку (100мл, 1,0М в гексані). Видаляли охолоджувальну ванну і суміш перемішувалася під азотом протягом 3-х днів. Для гасіння реакції додавали розчин NH₄Cl. Органічний шар два рази промивали HCl, два рази - насиченим розчином соли і сушили над Na₂SO₄. Після випарювання розчинника залишалося масло, що містить 70% продукту, яким був метил-2-гідрокси-3-циклопропілбутират, і 30% вихідного продукту. Його використовували

без подальшого очищення.

Розчин вищевказаного отриманого складного ефіру (3г, 20ммоль), піридину (2,0мл, 24ммоль) у сухому DCM (10мл) при 0°C повільно додавали до розчину, що перемішується, Tf_2O (4мл, 24ммоль) у DCM (100мл). Для гасіння реакції через 1 годину при 0°C додавали воду. Потім суміш промивали розведеною HCl (0,1н), насиченим розчином соли і сушили над Na_2SO_4 . У результаті випарювання розчинника одержували 5,3г трифлату у вигляді масла. Його перемішували протягом 15 год. з NaN_3 (2,4г, 36ммоль) у DMF (80мл). Реакційну суміш розбавляли етилацетатом (400мл), промивали три рази розведеною HCl , два рази - насиченим розчином соли і сушили над Na_2SO_4 . Після випарювання розчинника залишалося 2,96г масла. У результаті здійснення флеш-хроматографії в колонку із силікагелем з використанням як елюенту 5% простого ефіру в гексані одержували метил-2-азидо-3-циклопропілбутират у вигляді безбарвного масла. Необхідний діастереоізомер 1 [(2R,3S) і (2S,3R)] може бути виділений препаративною ВЕРХ із оберненою фазою при елююванні розчинником із градієнтом, яким була суміш $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$. ЯМР (500МГц, CDCl_3) для діастереомера 1 [(2R,3S) і (2S,3R)] δ : 0,04 (м, 1H), 0,18 (м, 1H), 0,48 (м, 2H), 0,74 (м, 1H), 1,09 (д, 3H), 1,35 (м, 1H), 3,80 (с, 3H), 3,92 (д, 1H).

Вищевказаний виділений діастереоізомер [(2R,3S) і (2S,3R)]азиду (400мг, 2,2ммоль) розчиняли в MeOH (10мл), охолоджену на водяній бані при 20°C. Додавали хлорид олова (II) (860мг, 4,4ммоль). Суміш перемішувалася протягом 15 годин. До реакційної суміші додавали діоксан (10мл), суміш K_2CO_3 (1,5г, 10,1ммоль)/ H_2O (10мл). Відфільтровували тверду речовину і промивали діоксаном (5мл). До об'єднаних фільтрату і промивкам додавали розчин 4-фтор-3-метилфенілсульфонілхлориду (560мг, 2,4ммоль) у діоксані (5мл). Через 30 хвилин реакційну суміш підкисляли HCl до pH 3 і розбавляли сумішшю $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$. У результаті препаративної ВЕРХ із оберненою фазою (повторні інжекції) виділяли продукт, яким був метил-2-(4-фтор-3-метилфенілсульфонамідо)-3-циклопропілбутират. Після додаткового розділення через колонку Chiralpak AD при елююванні 7%. EtOH у гептані одержували два енантіомери, причому необхідний ізомер 1 (2R,3S) екстрагувався першим. ЯМР (500МГц, CD_3OD) δ : 0,01 (м, 2H), 0,39 (м, 2H), 0,62 (м, 1H), 1,01 (д, 3H), 1,19 (м, 1H), 2,312 (д, 3H), 2,23 (с, 3H), 3,90 (д, 1H), 7,18 (т, 1H), 7,68 (м, 1H), 7,73 (м, 1H).

Складний метиловий ефір 2(R)-[(4-фтор-3-метилфеніл)сульфоніл]аміно-3-(S)-циклопропілмасляної кислоти (20мг, 0,061ммоль) розчиняли в MeOH (0,2мл), потім додавали суміш LiOH (8мг, надлишок)/ H_2O (0,15мл). Через 2 години реакційну суміш підкисляли 1,5мл суміші $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (1:1, 5% TFA) і піддавали ВЕРХ із оберненою фазою з одержанням 2(RI)-(4-фтор-3-метилфенілсульфонамідо)-3-(S)-циклопропілмасляної кислоти. ЯМР (500МГц, CD_3OD) δ : -0,01 (м, 1H), 0,15 (м, 1H), 0,40 (м, 2H), 0,65 (м, 1H), 1,02 (д, 3H), 1,22 (м, 1H), 2,31 (д, 3H), 4,83 (д, 1H), 7,16 (т, 1H), 7,69 (м, 1H), 7,75 (м, 1H).



2(R)-[(4-Фтор-3-метилфеніл)сульфоніл]аміно-3(R)-циклопентоксилмасляну кислоту (11мг, 0,03ммоль) розчиняли в DMF (200мкл) у присутності DIEA (12мкл, 0,12ммоль), HOBT (8мг, 0,06ммоль) і TMSONH_2 (10мкл, 0,08ммоль). Додавали розчин PyBOP (31мг, 0,06ммоль) у DMF (100мкл). Через 20 хвилин реакцію гасили сумішшю 5% TFA/ H_2O і в результаті ВЕРХ із оберненою фазою після ліофілізації виділяли продукт, яким був N-гідроксі-2(R)-[(4-фтор-3-метилфеніл)сульфоніл]аміно-3(R)-циклопентоксилбутирамід. ЯМР (500МГц, CD_3OD) δ : 0,97 (д, 3H), 1,44-1,68 (м, 8H), 2,32 (д, $J_{\text{H-F}}$, 3H), 3,61 (д, 1H), 3,72 (м, 1H), 3,67 (м, 1H), 7,18 (м, 1H), 7,70 (м, 1H), 7,76 (м, 1H).

Вихідні продукти для приклада 146 одержували в такий спосіб:

N-Тритил-В-треонінбензиловий ефір (2,5г, 5,5ммоль), TEA (2,8мл, 20ммоль) розчиняли при -50°C в 100мл сухого толуолу. Протягом 15 хвилин додавали розчин сульфурилхлориду (800мкл, 8ммоль) в толуолі (20мл). Реакційній суміші давали можливість нагріватися до к.т. Додавали етилацетат (100мл) і суміш промивали насиченим розчином NaCl і сушили над Na_2SO_4 . Продукт кристалізували в MeOH (10мл) з одержанням бензил-N-третил-3(S)-метилазиридин-2(R)-карбоксилату. ЯМР (500МГц, CDCl_3) δ : 1,37 (д, 3H), 1,64 (м, 1H), 1,95 (д, 1H), 5,15 (д, $J=12\text{Гц}$, 1H), 5,28 (д, $J=12\text{Гц}$, 1H), 7,19-7,28 (м, 12H), 7,33-7,36 (м, 1H), 7,36-7,39 (м, 3H), 7,51-7,54 (м, 4H).

Бензил-N-третил-3(S)-метилазиридин-2(R)-карбоксилат (2,13г, 4,92ммоль) при 0°C розчиняли в 20мл суміші MeOH:DCM (1:1), потім додавали TFA (20мл). Після перемішування при кімнатній температурі протягом 1 години в роторному випарнику видаляли надлишок реагенту і розчинник ($T < 25^\circ\text{C}$). Залишок розподіляли між DCM (50мл) і H_2O (100мл). Водну фазу один раз промивали DCM і з використанням NaHCO_3 доводили pH до лужного значення, екстрагували етилацетатом і сушили над Na_2SO_4 . Внаслідок видалення розчинника залишалося 650мг бензил-3(S)-метилазиридин-2(R)-карбоксилату. Його розчиняли в DMF (15мл) при 0°C. Додавали TEA (2,1мл, 15ммоль), потім Boc_2O (1,64г, 7,5ммоль). Реакційна суміш перемішувалася при кімнатній температурі всю ніч. Додавали етилацетат (100мл), H_2O (100мл) і органічний шар двічі промивали 10% лимонною кислотою, насиченим розчином соли і сушили над Na_2SO_4 . Неочищений продукт піддавали колонковій флеш-хроматографії при елююванні розчинником з градієнтом, яким була суміш 5~10% EA/гексан, що містить 0,1% TEA, з отриманням бензил-N-Бос-3(S)-метилазиридин-2(R)-карбоксилату. ЯМР (500МГц, CD_3OD) δ : 1,21 (д, 3H), 1,44 (с, 9H), 2,82 (м, 1H), 3,21 (д, 1H), 5,2 (кв, 2H), 7,30-7,38 (м, 5H).

Бензил-N-Бос-3(S)-метилазиридин-2(R)-карбоксилат (50мг, 0,17ммоль), цикlopентиловий спирт (0,5мл, 5,5ммоль) розчиняли в DCM (0,5мл) і потім додавали декілька крапель $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$. Суміш перемішувалася при к.т. протягом 10 годин. Розчинник видаляли і залишок очищали ВЕРХ із оберненою фазою. Продукт збирали і

обробляли сумішшю 50% TFA/DCM з отриманням трифторацетату бензил-2(R)-аміно-3(R)-циклопентоксилбутирату. ЯМР (500МГц, CD₃OD) δ: 1,28 (д, 3H), 1,4-1,7 (м, 8H), 3,92 (м, 1H), 4,06 (д, 1H), 4,14 (д кв, 1H), 5,26 (д, J=12Гц, 1H), 5,31 (д, J=12Гц, 1H), 7,38 (м, 3H), 7,43 (м, 2H).

Трифторацетат бензил-2(R)-аміно-3(R)-циклопентоксилбутирату (63мг, 0,16ммоль), DIEA (174мкл, 1,0ммоль), DMAP (1мг) розчиняли в діоксані (2мл), після чого повільно додавали розчин 4-фтор-3-метилфенілсульфонілхлориду (~0,33ммоль) в діоксані (1мл). Через 15 хвилин реакцію гасили сумішшю 5% TFA/H₂O і очищали ВЕРХ із оберненою фазою з отриманням бензил-2(R)-[(4-фтор-3-метилфеніл)сульфоніл]аміно-3(R)-циклопентоксилбутирату. Захисну групу для складного бензилового ефіру видаляли гідруванням в суміші MeOH:EA (1мл) з використанням 10% Pd/C (2мг) протягом ночі з отриманням при цьому 2(R)-[(4-фтор-3-метилфеніл)сульфоніл]аміно-3(R)-циклопентоксилмасляної кислоти.

Відповідно до методики прикладу 146, з використанням модифікацій, відомих фахівцям в даній галузі, отримували сполуки прикладів 147-153, представлених в таблиці 2.

Аналіз для виявлення інгібування летального фактора

Наведений нижче аналіз розкритий [в: Cummings et al., PNAS, May 14, 2002, vol.99, №10, page 6603-6606 і в заявці США 03/05552 від 2/21/2003, поданої відповідно до договору РСТ (заявка на патент США №60/359707, подана 2/25/2002)], включеної в даний опис як посилання у всій своїй повноті. Термін «інгібування летального фактора» означає, що летальний фактор провзаємодіє із сполукою і вважається, що така сполука є інгібітором летального фактора.

Сполуки, що інгібують летальний фактор, можуть бути використані для додаткового дослідження активності летального фактора і такі інгібуючі сполуки, що мають відповідні фармакологічні властивості, можуть бути застосовані для сприяння лікуванню або профілактиці сибірки. Відповідні фармакологічні властивості включають дієвість, метаболізм і відсутність неприйнятних побічних дій.

Для відбору великої кількості сполук з метою ідентифікації таких, які надають вплив на активність летального фактора, може бути використаний високопродуктивний скринінг інгібіторів летального фактора. Високопродуктивний скринінг може бути полегшений аналізом, який легко автоматизувати і в якому використовуються низькі рівні очищеного ферменту.

Вимірювання активності

У способах вимірювання активності летального фактора *Bacillus anthracis* і дії сполуки на вказану активність можуть бути використані субстрати летального фактора. Такі способи включають інкубування вказаного в даному описі субстрату летального фактора з летальним фактором *Bacillus anthracis* з використанням інкубаційного середовища, в якому летальний фактор *Bacillus anthracis* є активним, і можуть включати присутність випробуваної сполуки. Як міра активності летального фактора *Bacillus anthracis* або дія сполуки на активність летального фактора може служити розщеплення субстрату. Вимірювання може бути якісним або кількісним. Аналіз зв'язування ферменту летального фактора показує, що значення IC₅₀ для сполук винаходу знаходиться в діапазоні значень 15мкМ або менше. Значення IC₅₀ для N-гідроксі-2(R)-[(4-фтор-3-метилфенілсульфоніл)]аміно-3-метилбутирамідів і N-гідроксі-2(R)-[(4-фтор-3-метилфенілсульфоніл)]аміно-2-(4'-тетрагідропіраніл)ацетамідів складають відповідно 0,13мкМ і 0,06мкМ.