(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107011287 A
(43)申请公布日 2017.08.04

(21)申请号 201710192245.2

(22)申请日 2011.11.21

(30)优先权数据
PCT/RU2010/000688 2010.11.19 RU

(62)分案原申请数据
201180055813.5 2011.11.21

(71)申请人 洛桑联邦理工学院(EPFL)
地址 瑞士洛桑

(72)发明人 V·马卡洛瓦 S·科尔

(74)专利代理机构 北京北翔知识产权代理有限公司 11285
代理人 钟守期 隋丹丹

(51)Int.Cl.
C07D 279/08(2006.01)
A61K 31/5415(2006.01)
A61P 31/04(2006.01)
A61P 31/06(2006.01)
A61P 31/08(2006.01)

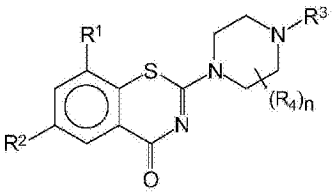
权利要求书1页 说明书25页 附图1页

(54)发明名称

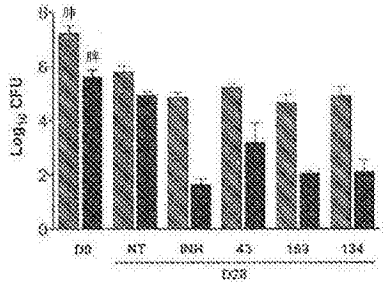
2-哌嗪-1-基-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮衍生物及其用于治疗哺乳动物感染的用途

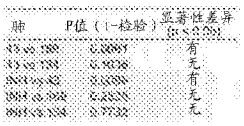
(57)摘要

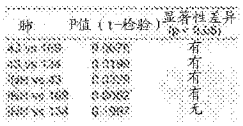
本发明涉及新型2-哌嗪-1-基-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮衍生物及其用于治疗由细菌引起的哺乳动物感染的用途,所述疾病尤其是例如,由感染紧密相关的分枝杆菌而引起的结核病(TB)、Buruli溃疡和麻疯病。



(I)

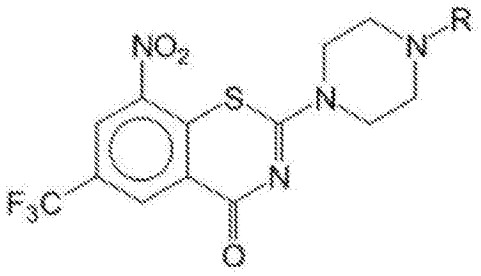






CN 107011287 A

1.式(1)化合物



(1)

其中

R选自环己基、环己基甲基、2-环己基乙基、戊基、庚基、1-甲基丁基、3-环己基丙基、仲丁基和1-乙基丙基,和/或其药学上可接受的盐。

2.权利要求1的式(1)化合物,其中所述化合物为2-[4-(环己基甲基)哌嗪-1-基]-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮。

3.权利要求1的式(1)化合物,其中所述化合物为2-(4-庚基哌嗪-1-基)-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮。

4.药物组合物,其含有权利要求1-3任一项的式(1)化合物和/或其药学上可接受的盐。

5.权利要求4的药物组合物,还包括药学上可接受的载体和/或赋形剂。

6.权利要求1-3任一项的化合物或权利要求4或5的药物组合物用于制备治疗和/或预防处理在需要其的患者中由微生物感染引起的疾病的药物的用途。

7.权利要求1-3任一项的化合物或权利要求4或5的药物组合物用于制备抑制微生物感染的药物的用途。

8.权利要求6或7的用途,其中所述由微生物感染引起的疾病选自结核病、麻疯病或Buruli溃疡。

9.权利要求6或7的用途,其中所述微生物感染由属于以下属的细菌引起:分枝杆菌、棒状杆菌或诺卡氏菌。

2-哌嗪-1-基-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮衍生物及其用于治疗哺乳动物感染的用途

[0001] 本申请是申请日为2011年11月21日,申请号为201180055813.5,发明名称为“2-哌嗪-1-基-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮衍生物及其用于治疗哺乳动物感染的用途”的发明专利申请的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及新型2-哌嗪-1-基-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮衍生物及其用于治疗和/或预防处理由细菌引起的哺乳动物感染疾病的用途,所述疾病尤其是例如,由感染紧密相关的分枝杆菌(mycobacteria)而引起的结核病 (TB)、Buruli溃疡和麻疯病(leprosy)。

背景技术

[0003] 分枝杆菌通过引发重大疾病(例如结核病(TB)、麻疯病和Buruli 溃疡)已经困扰了人类数千年。就疾病负担和死亡率而言,TB对人类健康无疑是最重要和最具有挑战性的威胁,这在某种程度上是因为对目前药物的原发耐药性普遍性增加。因此,不断需要具有新型作用方式的新化合物(Balganesh,T.S.,P.M.Alzari和S.T.Cole.Trends Pharmacol Sci, 2008.29(11):第576-81页)并且这些化合物还可在治疗其它分枝杆菌疾病中发现应用。由于世界卫生组织实施的防治措施,麻疯病作为公共健康问题已经几乎消失(Britton,W.J.和D.N.Lockwood.Lancet,2004. 363(9416):第1209-19页),而新兴疾病Buruli溃疡正受到不断关注 (Demangel,C.,T.P.Stinear和S.T.Cole.Nat Rev Microbiol,2009.7(1):第50-60页)。

[0004] 在过去的20年里,耐药性结核病(drug resistant tuberculosis)已经呈现出令人担忧的新的规模。在20世纪90年代值得关注的是多药耐药 (MDR)形式,其中结核杆菌(Mycobacterium tuberculosis)对主要的前线药物异烟肼和利福平已经获得了耐药性。世界范围内估计有500,000 例MDR-TB,其中约70,000例发生在欧洲(Zignol,M.et al.J Infect Dis, 2006.194:479-485;Fears,R.,S.Kaufmann,V.Ter Meulen&A.Zumla.Tuberculosis(Edinb)2010.90:182-187)。

[0005] 在过去的十年中,结核杆菌的MDR菌株对二线药物已经获得了其它耐药突变,这使得发生了广泛耐药(XDR)疾病。除了异烟肼和利福平,结核杆菌的XDR菌株还对氟喹诺酮及可注射的氨基糖苷类具有耐药性 (Jassal,M.&W.R.Bishai.Lancet Infect Dis 2009.9:19-30)。50多个国家目前已经报道了XDR-TB,因而强调了发现新药物治疗药物敏感性 TB和耐药性TB的必要性和重要性。除了新的作用机理,新TB药所需要的其它有利特征包括高效力(potency),以使得可以缩短治疗时间;高特异性(specificity),以避免不想要的副作用(包括破坏肠道菌群);和口服给药。

[0006] 2-氨基取代的1,3-苯并噻嗪-4-酮可作为药物用于治疗人和哺乳动物的分枝杆菌疾病。迄今可获得的最具活性的化合物是2-[(2S)-2-甲基-1,4- 二氧杂-8-氮杂螺[4.5]癸烷-8-基]-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4- 酮(BTZ043)(V.Makarov et

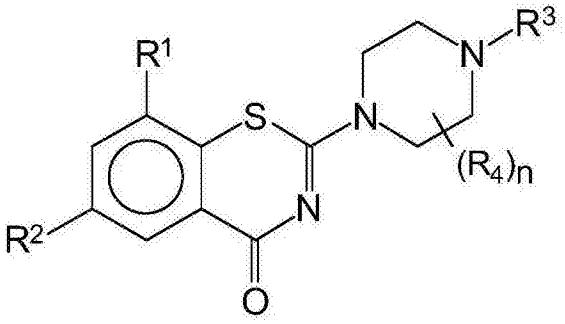
al.Science,2009,324,801;M.R.Pasca,et al.Antimicrob.Agents Chemother.,2010,54,1616)。

[0007] 具体的2-氨基取代的1,3-苯并噻嗪-4-酮公开于例如WO 2007/134625和WO 2009/010163。

[0008] 鉴于这一背景,高度需要生产新型2-哌嗪取代的1,3-苯并噻嗪-4- 酮,所述新型2-哌嗪取代的1,3-苯并噻嗪-4-酮不仅对结核杆菌具有高度活性,而且比先前描述的1,3-苯并噻嗪-4-酮显示更优良的类药特性。本发明描述了一种作为潜在新型TB药物且对结核杆菌具有活性的新一代1,3-苯并噻嗪-4-酮,其中2-氨基取代由N-取代的哌嗪表示。

发明内容

[0009] 本发明涉及式(1)的化合物

[0010] 

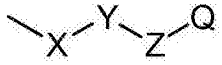
(1)

[0011] 其中

[0012] R^1为NO_2、NH_2、$NHOR^4$、$COOR^4$、$CONR^5R^6$或CHO;

[0013] R^2为卤素、$SO_2NR^5R^6$、低级烷氧基、$COOR^4$、$CONR^5R^6$、CHO、OCF_3、或单氟甲基、二氟甲基或三氟甲基;

[0014] R^3为具有3-12个碳原子的饱和或不饱和的、卤代或未卤代的、直链、支链或环状的烷基,其中如果存在,任选的一个或两个亚甲基被 O、S或NR^4或下式取代

[0015] 

[0016] 其中

[0017] X为具1-6个碳原子的饱和或不饱和的、直链或支链的脂族基;

[0018] Y为O、S或NR^4;

[0019] Z为直接的键,具有1-3个碳原子的直链或支链的脂族基;

[0020] Q为苯基、萘基、吡啶基、喹啉基(chinolyl)、吡嗪基、嘧啶基、吡唑基、三嗪基、咪唑基、呋喃基或噻吩基,并且任选地,其中1-3 个氢原子被R^7基团取代;

[0021] R^4为H或C_{1-3}烷基;n=0、1、2、3或4;

[0022] R^5和R^6彼此独立地选自H、C_{1-4}烷基、OC_{1-4}烷基、卤素、$COOR^5$、 $CONR^6R^7$、OCF_3、CF_3或CN;

[0023] R^7基为卤素、具1-3个碳原子的饱和或不饱和的直链或支链的脂族基、$SO^2NR^5R^6$、低级烷氧基、$COOR^4$、$CONR^5R^6$、CHO、OCF_3、单氟甲基、二氟甲基、三氟甲基或苯基,

[0024] 和/或其药学上可接受的盐。

[0025] 还公开了包括本发明的式(1)化合物和/或其药学上可接受的盐的药物组合物。

[0026] 还公开了式(1)的化合物和/或其药学上可接受的盐，用在治疗和/或预防处理疾病中。

[0027] 此外，公开了包括本发明的式(1)化合物和/或其药学上可接受的盐的药物组合物，用在治疗和/或预防处理疾病中。

[0028] 本发明还提供了对需要其的患者治疗和/或预防处理由微生物感染引起的疾病的方法，其包括给予治疗有效量的化合物物或药物组合物。

[0029] 还公开了一种抑制微生物感染的方法，其包括给予治疗有效量的化合物或药物组合物。

附图说明

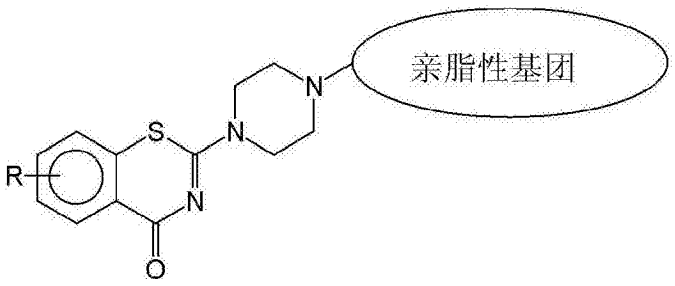
[0030] 图1代表示意图和统计结果，其示出了在慢性TB小鼠模型中化合物2和8相比较于用BTZ043的处理在肺和脾中减少CFU负荷的作用；D0：在开始处理时的CFU负荷；NT，在第28天未处理的动物； INH表示异烟肼；43＝BTZ043；169＝PBTZ169表示化合物2； 134＝PBTZ134表示化合物8。

具体实施方式

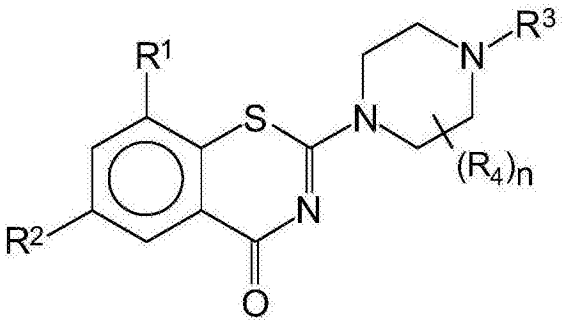
[0031] 之前描述的2-氨基取代的1,3-苯并噻嗪-4-酮衍生物的弊端之一在于它们的低水溶性，其限制了它们在胃和肠道中的吸收。为了使这些化合物更加溶于水，人们做出了许多努力，例如，通过向1,3-苯唑噻嗪-4-酮衍生物中增加亲水性基团，但是这些化合物具非常低的抗分支杆菌活性。

[0032] 因此，一方面，最好有具有亲水性部分的更溶于水的化合物；另一方面，这一化合物必须保持亲脂性以能够通过疏水性非常强的分支杆菌细胞壁。

[0033] 这些问题已经在本发明中通过提供以下化合物得到解决，在所述化合物中，小的亲水性基团(哌嗪)“掩藏”于两个大的亲脂性片断之间，所述亲脂性片断之一为1,3-苯并噻嗪-4-酮。

[0034] 

[0035] 在第一方面，本发明提供了式1的化合物

[0036] 

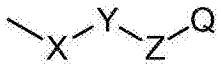
（1）

[0037] 其中

[0038] R^1为NO_2、NH_2、$NHOR^4$、$COOR^4$、$CONR^5R^6$或CHO；

[0039] R^2为卤素、$SO_2NR^5R^6$、低级烷氧基、$COOR^4$、$CONR^5R^6$、CHO、OCF_3、或单氟甲基、二氟甲基或三氟甲基；

[0040] R^3为具有3-12个碳原子的饱和或不饱和的、卤代或未卤代的、直链、支链或环状的烷基，其中如果存在，任选一个或两个亚甲基被O、S或NR^4或下式取代

[0041] 

[0042] 其中

[0043] X为具1-6个碳原子的饱和或不饱和的、直链或支链的脂族基；

[0044] Y为O、S或NR^4；

[0045] Z为直接的键，具有1-3个碳原子的直链或支链的脂族基；

[0046] Q为苯基、萘基、吡啶基、喹啉基、吡嗪基、嘧啶基、吡唑基、三嗪基、咪唑基、呋喃基或噻吩基，并且任选地，其中1-3个氢原子被R^7基团取代；

[0047] R^4为H或C_{1-3}烷基；n＝0、1、2、3或4；

[0048] R^5和R^6彼此独立地选自H、C_{1-4}烷基、OC_{1-4}烷基、卤素、$COOR^5$、$CONR^6R^7$、OCF_3、CF_3或CN；

[0049] R^7基为卤素、具1-3个碳原子的饱和或不饱和的直链或支链的脂族基、$SO^2NR^5R^6$、低级烷氧基、$COOR^4$、$CONR^5R^6$、CHO、OCF_3、单氟甲基、二氟甲基、三氟甲基或苯基，

[0050] 和/或其药学上可接受的盐。

[0051] 术语“包含(comprise/comprising)”通常用于“包括(include/including)”的意思，即允许存在一个或多个特征或组分。此外，术语“包含”还包括术语“构成(consisting)”。

[0052] 如在说明书和权利要求中所使用的，除非文中另作明确说明，否则单数形式“一(a、an)”和“所述(the)”包括了复数形式。

[0053] 在本文中所使用的“至少一个”意为“一个或多个”。

[0054] 在一个优选的实施方案中，本发明涉及式(1)的化合物，其选自

[0055] 2-(4-R^3-哌嗪-1-基)-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮、

[0056] 2-(4-R^3-哌嗪-1-基)-8-硝基-6-R^2-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮、

[0057] 2-(4-R^3-哌嗪-1-基)-8-R^1-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮、

[0058] 2-(4-(环己基甲基)-哌嗪-1-基)-8-R^1-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮、

[0059] 2-(4-(环己基甲基)-哌嗪-1-基)-8-硝基-6-R^2-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮、

[0060] 2-{4-[2-(4-卤代苯氧基)乙基]-哌嗪-1-基}-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮、

[0061] 2-{4-[2-(3-卤代苯氧基)乙基]-哌嗪-1-基}-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮、

[0062] 2-{4-[3-(4-卤代苯氧基)丙基]-哌嗪-1-基}-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮、

[0063] 2-{4-[3-(3-卤代苯氧基)丙基]-哌嗪-1-基}-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮、

[0064] 2-(4-{2-[(4-卤代苄基)氧基]乙基}哌嗪-1-基}-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮，

[0065] 其中R^1、R^2、R^3具有如上定义。

[0066] 本发明甚至更具体涉及至少一种选自以下的化合物：

[0067] 2-(4-己基哌嗪-1-基)-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮、

[0068] 2-(4-庚基哌嗪-1-基)-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮、

[0069] 2-[4-(环己基甲基)哌嗪-1-基]-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮、

[0070] 2-[4-(2-环己基乙基)哌嗪-1-基]-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪 -4-酮、

[0071] 2-(4-丁基哌嗪-1-基)-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮、

[0072] 2-[4-(3-甲基丁基)哌嗪-1-基]-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮、

[0073] 2-[4-(2-甲基丁基)哌嗪-1-基]-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮、

[0074] 2-[4-(2-乙氧基乙基)哌嗪-1-基]-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪 -4-酮、

[0075] 2-{4-[2-(苄氧基)乙基]哌嗪-1-基}-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮、

[0076] 2-{4-[3-(4-氟苯氧基)丙基]哌嗪-1-基}-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮。

[0077] 此外，本发明涉及式(1)化合物的药学上可接受的盐，例如盐酸盐、硫酸盐、乙酸盐、三氟乙酸盐、马来酸盐、富马酸盐等。

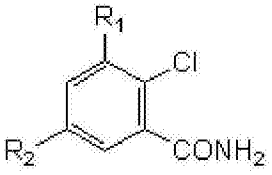
[0078] 式(1)的化合物可通过在现有技术中描述的以下方法之一合成。这些方法包括：

[0079] 1)将硫氰酸盐与2-氯苄基氯代酸酐 (2-chlorobenzylchloroanhydride)反应，随后用相应的胺对反应物料进行处理(参见，例如，Coll.Czech.Chem.Commun.,1982,47,3268-3282;Coll.Czech.Chem.Commun.,1983,48,3315-3328;Coll. Czech.Chem.Commun.,1983,48,3427-3432)；

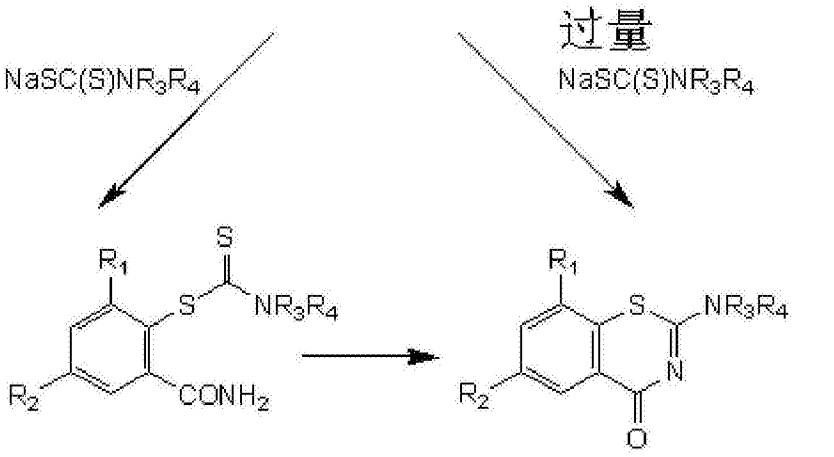
[0080] 2)将3,4-二取代-6-巯基苯甲酸与合适的氨氰进行缩合反应(参见 US 3,522,247)；

[0081] 3)用合适的胺转化2-卤代-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮(参见US 3,470,168)；

[0082] 4)制备2-氨基取代的1,3-苯并噻嗪-4-酮的两种方法描述于WO 2007/134625和WO 2009/010163,其公开了以下方法:

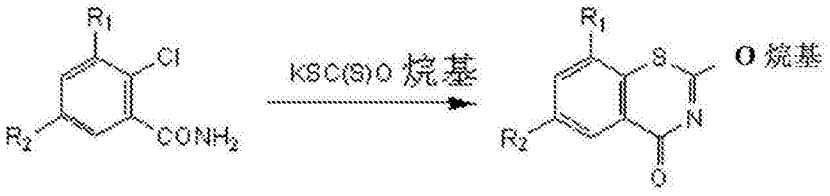


[0083]

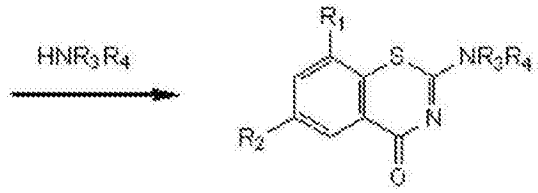


;

[0084] 5)WO2009/010163中表示的方法为:



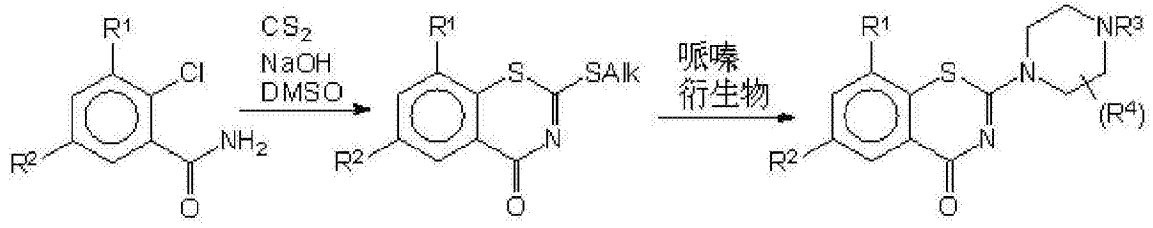
[0085]



;

[0086] 6)2-氨基-1,3-苯并噻嗪-4-酮衍生物的最近发现的并且非常有用的制备方法,其包括首先合成2-烷基巯基-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮,并且随后将其与相应的哌嗪衍生物缩合

[0087]



.

[0088] 上述所有六种方法可用于合成式(1)的化合物。优选使用方法6。

[0089] 式(1)化合物可通过在本领域已知的合适的溶剂中处理相应酸,容易地转化为水

溶性药学上可接受的盐，例如盐酸盐、硫酸盐或乙酸盐。

[0090] 使用SOS-显色反应(SOS-chromotest)对所选择的本发明式(1) 化合物的潜在诱变(potential mutagenicity)进行检测(P.Quillardet, O.Huisman,R.D'Ari,M.Hofnung, Proc.Natl.Acad.Sci.USA,1982, 79,5971-5)并且发现所述化合物在鼠伤寒沙门氏菌(Salmonella typhimurium)菌株TA98、TA100和TA1535的AMES试验中每孔25-50 μg时是非诱变的且在5μg/mL时是阴性的(D.M.Maron and B.N.Ames, Mutation Res.,1983,113, 173-215)。

[0091] BTZ043在结核杆菌中的主要靶标是必需酶(essential enzyme)——十异戊二烯基磷酰基-β-D-核糖2'-差向异构酶且BTZ抗性词干来自相应的基因dprE1的错义突变(missense mutation)。当将耻垢分枝杆菌(Mycobacterium smegmatis)或牛结核分枝杆菌BCG (Mycobacterium bovis BCG)(Makarov,V.et al.Science 2009.324: 801-804)的BTZ-耐药突变体对这些化合物的易感性进行测试，发现其对所选择的式(1)化合物具有交叉耐药性，因此表明2-哌嗪取代的 1,3-苯并噻嗪-4-酮与1,3-苯并噻嗪-4-酮具有相同靶标。

[0092] 由于硝基还原酶NfnB的过量产生(Manina,G.,et al.Mol Microbiol 2010.epub 2010/07/14)，BTZ043的另一耐药机理已经在耻垢分枝杆菌中有所描述。当检测NfnB-过量产生的突变体MN39对所选择的2-哌嗪取代的1,3-苯并噻嗪-4-酮的易感性时，发现MIC与野生型母本菌株的易感性相似。与之相比，MN39显示其在MIC中的增加是BTZ043的6倍。这表明哌嗪基取代的1,3-苯并噻嗪-4-酮与1,3-苯并噻嗪-4-酮衍生物相比可能不易由不良来源进行硝基还原。

[0093] 为了将所选择的哌嗪取代的1,3-苯并噻嗪-4-酮的相对细胞毒性与 BTZ043的相对细胞毒性相比较，使用两种不同的人体细胞系测定 IC_{90}。通过刃天青还原法(resazurin reduction assay)测定，两个系列的化合物对肺囊虫细胞系A549(pneumocyte cell line A549)均显示了在12.5-100μg/mL范围内的IC_{90}值。使用相同的方法，对人肝癌细胞系Huh7的IC_{90}在6.25-12.5μg/mL范围内。

[0094] 在本发明的第二方面，式(1)的化合物和/或其药学上可接受的盐对在人和动物中治疗和/预防处理疾病是有用的，尤其是对治疗和/ 或预防处理由微生物感染引起的疾病是有用的，更具体而言，对治疗和/或预防处理结核病和其它分枝杆菌感染，或者甚至对其它放线菌感染(例如白喉)是有用的。

[0095] 出人意料的是，本发明人已经示出了所选择的本发明的化合物在慢性TB鼠科模型中具有治疗活性，其通过在肺和脾中菌落形成单位 (colony forming units)的减少水平确定。某些化合物的活性比主要的TB药物——INH，其用作阳性对照——更高。此外，如在实施例 24中所示，一些新型1,3-苯并噻嗪-4-酮的哌嗪衍生物比2-氨基-1,3-苯并噻嗪-4-酮(如示例的BTZ043)在这一模型中具有显著更高的活性。

[0096] 在给药高达2000mg/kg的每OS剂量后，本发明的化合物是无毒性的。所述化合物在给药后第一个24小时内，动物具有良好的耐受性。在7天观察期内，化合物(2)和(18)没有引起小鼠一般状态和行为上的改变，也没有影响肌动活动和反射活动、活动-静止周期、喂食或摄食量。没有动物死亡的情况。化合物(2)和(18)的LD_{50}>2000mg/kg。

[0097] 在一个实施方案中，本发明的化合物和/或其药学上可接受的盐对治疗和/或预防

处理疾病是有用的。所述疾病优选选自结核病、麻疯病或Buruli溃疡。

[0098] 通常，所述微生物感染是由属于棒状杆菌属(Corynebacterium) 或诺卡氏菌属(Nocardia)或分枝杆菌属(Mycobacterium)的细菌引起的。

[0099] 星形诺卡菌(Nocardia asteroides)是最常见的感染人类的诺卡氏菌属(Nocardia)属种，并且在大多数情况下在免疫功能低下的患者中以机会性感染发生。其它具有医学兴趣的属种是巴西诺卡菌(N. brasiliensis)和豚鼠诺卡菌(N.caviae)。人类诺卡菌疾病的最常见形式是缓慢进展性肺炎(slow progressive pneumonia)。

[0100] 棒状杆菌属含有导致引起白喉的细菌杆。

[0101] 分枝杆菌是放线菌属，其具有自己的科——分枝杆菌科 (Mycobacteriaceae)。所述属包括已知引起哺乳动物严重疾病的病原体，所述疾病包括结核病(结核杆菌)和麻疯病(麻风分支杆菌 (Mycobacteriu leprae))。

[0102] 因此，本发明的第二方面涉及含式(1)和/或其药学上可接受的盐的药物组合物。

[0103] 在一个实施方案中，所述药物组合物还包括药学上可接受的载体和/或赋形剂。

[0104] 药学上可接受的赋形剂在药学领域是已知的，其描述于，例如Remington's Pharmaceutical Sciences，第15版，Mack Publishing Co., New Jersey(1991)。所述药物赋形剂可根据预期的给药途径和规范化药物实践进行选择。所述赋形剂在对其受体是无毒的意义上必须是可接受的。

[0105] 在本文中所使用的术语“药学上可接受的载体和/或赋形剂”是指例如赋形剂(vehicle)、稀释剂、溶剂(例如一元醇(例如乙醇、异丙醇)；多元醇(例如乙二醇)；可食用油(例如大豆油、椰子油、橄榄油、红花油、棉子油)；油酯(例如油酸乙酯、肉豆蔻酸异丙酯))、粘合剂、佐剂、增溶剂、增稠剂、稳定剂、崩解剂、助流剂、润滑剂、缓冲剂、乳化剂、润湿剂、悬浮剂、增甜剂、着色剂、调味剂、包衣剂、防腐剂、抗氧化剂、加工剂、药物释放改性剂和促进剂例如磷酸钙、磷酸镁、滑石、单糖、二糖、淀粉、明胶、纤维素、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、葡萄糖、羟丙基-β-环糊精、聚乙烯吡咯烷酮、低熔点蜡和离子交换树脂。

[0106] 在第三方面，本发明涉及治疗由微生物感染引起的疾病的方法，所述方法包括向需要其的患者给予治疗有效量的式(1)的化合物和/ 或其药学上可接受的盐或药物组合物。

[0107] 在本文中所使用的术语“治疗有效量”为对缓解或预防症状有效的量。

[0108] 术语“需要其的患者”是指需要治疗由微生物感染引起的疾病的患者。在本发明的一方面，“需要其的患者”是指可能患有、或存在患有微生物感染的风险的任意患者。所述需要其的患者优选指动物，最优选指哺乳动物，甚至更优选指人。

[0109] 在本发明中所使用的“给药”是指使式(1)的化合物和/或其药学上可接受的盐或药物组合物通常以治疗有效量的形式接触需要其的患者，优选动物，最优选哺乳动物，甚至更优选人。

[0110] 本发明的化合物是通过在药学上可接受的水介质、有机介质或水- 有机介质中制备稀溶液或悬浮液而配制用于局部或肠胃外给药，所述给药通过静脉注射、皮下注射或肌内注射实现，或者用于鼻内施用；或者将本发明的化合物与常规赋形剂配制成片剂、胶囊剂或水悬浮液的形式用于口服给药或作为栓剂。

[0111] 本发明的化合物可以单独给药或者与药学上可接受的载体组合给药，所述给药经

由——但不限于——一种或多种以下形式实现：口服 (例如片剂、胶囊剂或作为可吸收溶液)、局部、粘膜(例如，作为用于吸入剂的鼻喷雾剂或气溶胶)、鼻、肠胃外(例如通过可注射形式)、胃肠道、脊柱内、腹腔内、肌内、静脉、子宫内、眼内、真皮内、颅内、气管内、阴道内、脑室内、大脑内、皮下、眼(包括玻璃体或前房)、经皮、直肠、口腔、硬脑膜外和舌下。

[0112] 更具体的，本发明的新型化合物可以多种不同剂型给药，即，它们可与各种药学上可接受的惰性载体组合以以下形式给药：片剂、胶囊剂、锭剂(lozenges、troches)、硬糖、粉剂、喷雾剂、霜剂、油膏、栓剂、凝胶剂、糊剂、洗剂、软膏剂、水悬浮液、注射液、酏剂、糖浆等。这些载体包括固体稀释剂或填充剂、无菌水介质和各种无毒的有机溶剂等。此外，口服药物组合物可适当地变甜和/或变香。

[0113] 本发明还涉及式(1)的化合物和/或其药学上可接受的盐，用于在哺乳动物中治疗或预防细菌感染的方法。用于所述方法的优选的式 (1)的化合物和/或其药学上可接受的盐为具体列于上文的那些。

[0114] 在另一方面，本发明涉及抑制细菌感染的方法，其包括给予有效量的式(1)的化合物和/或其药学上可接受的盐或者含式(1)的化合物和/或其药学上可接受的盐的药物组合物。

[0115] 本发明的式(1)的化合物，由于其展示了强的抗细菌活性，可用于抑制微生物感染的方法中，尤其以约0.19-15ng/mL的最小抑制浓度 (MIC)对抗分枝杆菌用于结核分枝杆菌H37Rv。

[0116] 出人意料的是，本发明人已经发现本发明的化合物对分枝杆菌和相关放线菌显示出了高水平的选择性，这减少了潜在的不良副作用。实施例22示出了通过刃天青还原法测定的典型结果(typical result) (J.C.Palomino,A.Martin,M.Camacho,H.Guerra,J.Swings,F. Portaels,Antimicrob.Agents Chemother.,2002,46,2720-2)。

[0117] 所述化合物可以0.001-1000mg/kg体重的剂量使用。下文试验部分后的实施例用于说明本发明，但是不应解释为限制本发明。

[0118] 本发明的化合物结构通过合成及元素分析以及核磁共振和质谱进行确定。

[0119] 实施例

[0120] 化学品和溶剂购自Alfa-Aesar(GB)或Aldrich Co.(Sigma-Aldrich Company,St-Louis,US)。它们无需另外纯化直接使用。

[0121] 熔点根据BP程序测定并且未经校正(Electrothermal 9001,GB)。

[0122] 如果仅通过元素符号表明分析，分析结果在理论值的±0.3%范围内(Carlo-Erba 5500,意大利)。

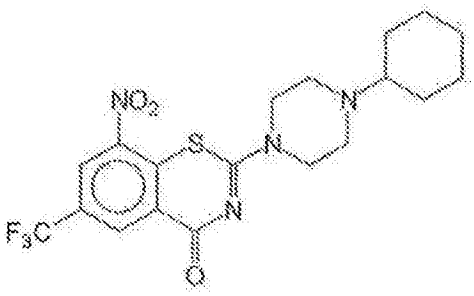
[0123] NMR谱使用Varian Unity Plus 300(USA)测定。^{1}H NMR的化学位移(以ppm计)从TMS低场报告(δ)。

[0124] 质谱使用Finnigan SSQ-700(USA)仪器直接进样获得。

[0125] 反应和化合物纯度使用Silicagel 60 F_{254}铝板(Merck Co,德国)通过TLC控制。

[0126] 实施例1

[0127] 2-(4-环己基甲基哌嗪-1-基)-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪 -4-酮(化合物1)

[0128] 

[0129] 将氢氧化钠(0.9g;粉末)溶于10mL DMSO中,在10-15℃的温度下加入2.1mL二硫化碳。在10℃的温度下以小份向该溶液中加入 3.0g 2-氯-3-硝基-5-三氟甲基苯甲酰胺。15分钟后,在10-20℃的温度下加入0.7mL MeI。反应进行30分钟,随后加入100mL水。将所得的2-甲硫基-8-硝基-6-三氟甲基-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮黄色固体通过过滤分离。

[0130] 收率:47%

[0131] mp:200-203℃(乙酸乙酯)

[0132] MS(m/z):322(M^+)

[0133] ^{1}H NMR(DMSO-d_6):δ8.95和8.81(两个1H,两个s,2CH),2.73 (3H,s,CH_3)ppm

[0134] 分析$C_{10}H_5F_3N_2O_3S_2$:

[0135] 计算值:C,37.28;H,1.56;N,8.69;S,19.90

[0136] 测量值:C,37.21;H,1.54;N,8.64;S,20.03

[0137] 室温下用1.5g 4-环己基哌嗪处理含有3.0g 2-甲硫基-8-硝基-6-三氟甲基-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮的15mL乙醇悬浮液。将反应混合物加热至50-60℃持续20分钟。冷却后加入100mL水。将所得的2-(4-环己基哌嗪-1-基)-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮淡黄色固体通过过滤分离。

[0138] 收率:74%

[0139] mp:189-191℃(乙醇)

[0140] MS(m/z):442(M^+)

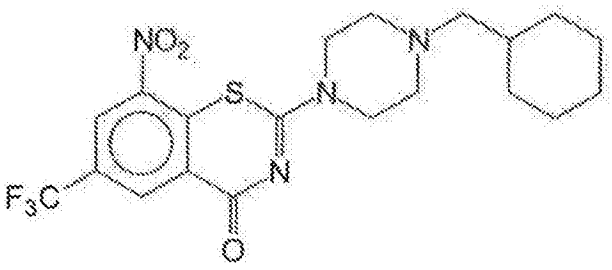
[0141] ^{1}H NMR(DMSO-d_6):δ8.87和8.76(两个1H,两个s,2CH),3.89(4H, 宽的s,N(CH_2)$_2$),2.66(4H,宽的s,N(CH_2)$_2$),2.32(1H,宽的m,1CH),1.79, 1.58和1.20(10H,3个宽的m,C_5H_{10})ppm

[0142] 分析$C_{19}H_{21}F_3N_4O_3S$:

[0143] 计算值:C,51.58;H,4.78;N,12.66

[0144] 测量值:C,51.56;H,4.72;N,12.81。

[0145] 实施例2

[0146] 

[0147] 2-[4-(环己基甲基)哌嗪-1-基]-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4- 酮(化合物2)

[0148] 以与实施例1相同的方式制备化合物2，除了使用4-(环己基甲基)哌嗪作为胺，获得黄色晶状固体。

[0149] 收率：71％

[0150] mp：184-186℃(乙醇)

[0151] MS(m/z)：456(M^+)

[0152] ^1H NMR(DMSO-d_6)：δ8.86和8.76(两个1H，两个s，2CH)，3.91(4H，宽的s，N(CH_2)$_2$)，2.51(4H，宽的s，N(CH_2)$_2$)，2.13(2H，d，CH_2)，1.53(1H，宽的m，1CH)，1.70，1.20和0.85(10H，3个宽的m，C_5H_{10})ppm

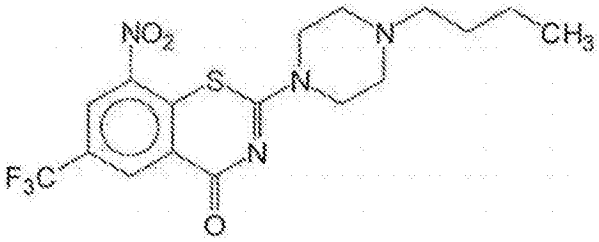
[0153] 分析$C_{20}H_{23}F_3N_4O_3S$：

[0154] 计算值：C，52.62；H，5.08；N，12.27

[0155] 测量值：C，52.60；H，5.01；N，12.34。

[0156] 实施例3

[0157] 2-(4-丁基哌嗪-1-基)-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1，3-苯并噻嗪-4-酮(化合物3)

[0158] 

[0159] 以与实施例1相同的方式制备化合物3，除了使用4-丁基哌嗪作为胺，获得黄色晶状固体。

[0160] 收率：69％

[0161] mp：119-120℃(正己烷)

[0162] MS(m/z)：416(M^+)

[0163] ^1H NMR(DMSO-d_6)：δ8.85和8.76(两个1H，两个s，2CH)，3.90(4H，宽的s，N(CH_2)$_2$)，2.51(4H，宽的s，N(CH_2)$_2$)，2.32(2H，t，CH_2)，1.46和1.33 (4H，2m，2CH_2)，0.91(3H，t，CH_3)ppm

[0164] 分析$C_{17}H_{19}F_3N_4O_3S$：

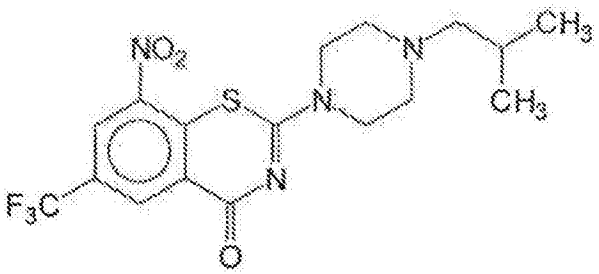
[0165] 计算值：C，49.03；H，4.60；N，13.45

[0166] 测量值：C，48.94；H，4.67；N，13.38。

[0167] 实施例4

[0168] 2-(4-异丁基哌嗪-1-基)-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1，3-苯并噻嗪-4-酮

[0169] (化合物4)

[0170] 

[0171] 以与实施例1相同的方式制备化合物4，但是使用4-异丁基哌嗪作为胺，获得黄色

晶状固体。

[0172] 收率:77%

[0173] mp:150-153℃(乙醇)

[0174] MS(m/z):416(M^+)

[0175] ^1H NMR(DMSO-d_6):δ8.85和8.76(两个1H,两个s,2CH),3.90(4H, 宽的s,N(CH_2)$_2$),2.50(4H,宽的s,N(CH_2)$_2$),2.11(2H,d,CH_2),1.79(1H, m,CH),0.88(6H,d,2CH_3)ppm

[0176] 分析$C_{17}H_{19}F_3N_4O_3S$:

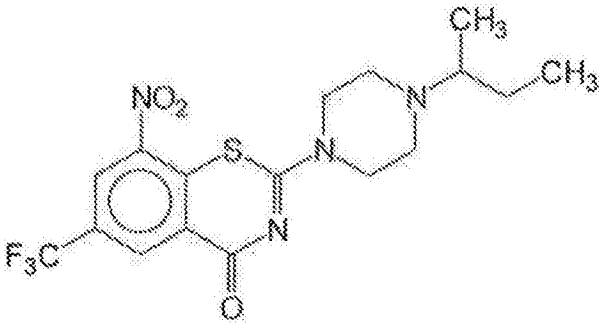
[0177] 计算值:C,49.03;H,4.60;N,13.45

[0178] 测量值:C,49.12;H,4.63;N,13.43。

[0179] 实施例5

[0180] 2-(4-仲丁基哌嗪-1-基)-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮

[0181] (化合物5)

[0182] 

[0183] 以与实施例1相同的方式制备化合物5,除了使用4-仲丁基哌嗪作为胺,获得黄色晶状固体。

[0184] 收率:62%

[0185] mp:127-128℃(乙醇)

[0186] MS(m/z):416(M^+)

[0187] ^1H NMR(DMSO-d_6):δ8.85和8.76(两个1H,两个s,2CH),3.90(4H, 宽的s,N(CH_2)$_2$),2.67(H,宽的s,CH),2.50(4H,宽的s,N(CH_2)$_2$),1.41 (2H,d m,CH_2),0.85(6H,m,2CH_3)ppm

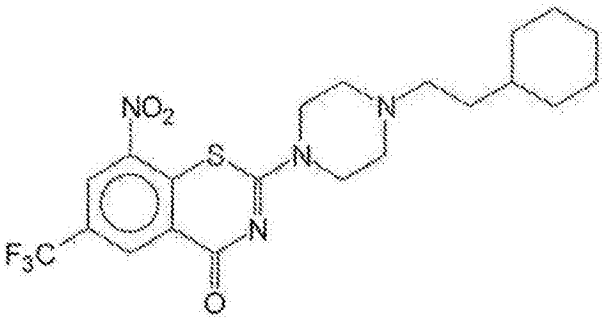
[0188] 分析$C_{17}H_{19}F_3N_4O_3S$:

[0189] 计算值:C,49.03;H,4.60;N,13.45

[0190] 测量值:C,49.10;H,4.51;N,13.37。

[0191] 实施例6

[0192] 2-[4-(2-环己基乙基)哌嗪-1-基]-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮(化合物6)

[0193] 

[0194] 以与实施例1相同的方式制备化合物6,除了使用4-(2-环己基乙基) 哌嗪作为胺,获得黄色晶状固体。

[0195] 收率:62%

[0196] mp:175-177℃(乙醇)

[0197] MS(m/z):470(M^+)

[0198] ^1H NMR(DMSO-d_6):δ8.86和8.76(两个1H,两个s,2CH),3.91(4H, 宽的s,N(CH_2)$_2$),2.51(4H,宽的s,N(CH_2)$_2$),2.36(2H,t,CH_2),1.70-0.85 (13H,4个宽的m,CH2-CH(C_5H_{10}))ppm

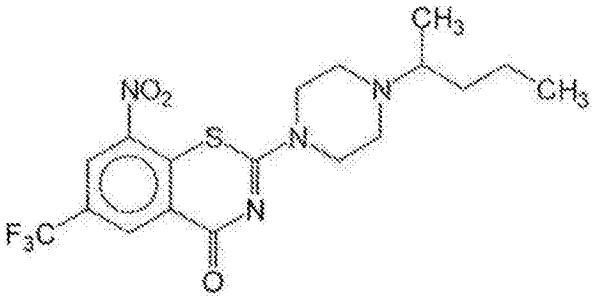
[0199] 分析$C_{21}H_{25}F_3N_4O_3S$:

[0200] 计算值:C,53.61;H,5.36;N,11.91

[0201] 测量值:C,53.52;H,5.43;N,11.81。

[0202] 实施例7

[0203] 2-[4-(1-甲基丁基)哌嗪-1-基]-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮(化合物7)

[0204] 

[0205] 以与实施例1相同的方式制备化合物7,除了使用4-(1-甲基丁基)哌嗪作为胺,获得黄色晶状固体。

[0206] 收率:55%

[0207] mp:132-133℃(乙醇)

[0208] MS(m/z):471(M^+)

[0209] ^1H NMR(DMSO-d_6):δ8.85和8.76(两个1H,两个s,2CH),3.85(4H, 宽的s,N(CH_2)$_2$),2.65(4H,宽的s,N(CH_2)$_2$),2.54(H,宽的s,CH),1.47和 1.32(4H,2m,2CH_2),0.84(6H,m,2CH_3)ppm

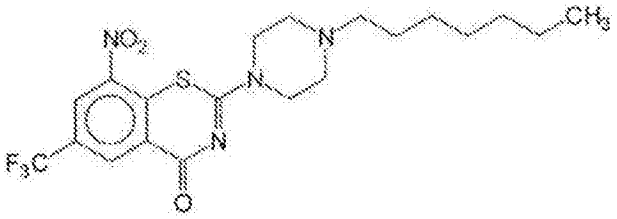
[0210] 分析$C_{18}H_{21}F_3N_4O_3S$:

[0211] 计算值:C,50.23;H,4.92;N,13.02

[0212] 测量值:C,50.21;H,5.06;N,13.13。

[0213] 实施例8

[0214] 2-(4-庚基哌嗪-1-基)-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮(化合物8)

[0215] 

[0216] 以与实施例1相同的方式制备化合物8,除了使用4-庚基哌嗪作为胺,获得黄色晶状固体。

[0217] 收率:68%

[0218] mp:125-127℃(乙醇)

[0219] MS(m/z):458(M^+)

[0220] ^1H NMR(DMSO-d_6):δ8.85和8.76(两个1H,两个s,2CH),3.90(4H, 宽的s,N(CH_2)$_2$),2.52(4H,宽的s,N(CH_2)$_2$),2.33(3H,t,CH),1.43(2H, 宽的m,CH_2),1.28(8H,宽的m,4CH_2),0.86(3H,t,CH_3)ppm

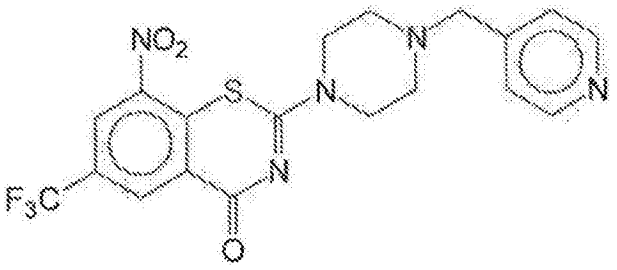
[0221] 分析$C_{20}H_{25}F_3N_4O_3S$:

[0222] 计算值:C,50.23;H,4.92;N,13.02

[0223] 测量值:C,50.21;H,5.06;N,13.13。

[0224] 实施例9

[0225] 8-硝基-2-[4-(吡啶-4-基甲基)哌嗪-1-基]-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮(化合物9)

[0226] 

[0227] 以与实施例1相同的方式制备化合物9,除了使用4-(吡啶-4-基甲基) 哌嗪作为胺,获得黄色晶状固体。

[0228] 收率:64%

[0229] mp:200-202℃(乙醇)

[0230] MS(m/z):451(M^+)

[0231] ^1H NMR(DMSO-d_6):δ8.85和8.76(两个1H,两个s,2CH),8.52(2H, d,N(CH)$_2$),7.37(2H,d,2CH),3.95(4H,宽的s,N(CH_2)$_2$),3.63(2H,s, CH_2),2.58(4H,宽的s,N(CH_2)$_2$)ppm

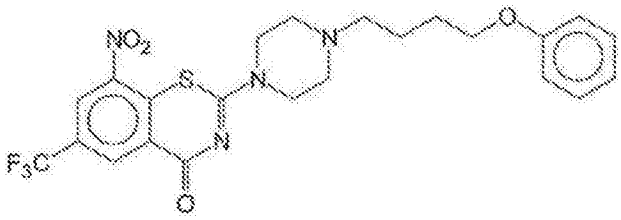
[0232] 分析$C_{19}H_{16}F_3N_5O_3S$:

[0233] 计算值:C,50.55;H,3.57;N,15.51

[0234] 测量值:C,50.58;H,3.56;N,15.43。

[0235] 实施例10

[0236] 8-硝基-2-[4-(4-苯氧基丁基)哌嗪-1-基]-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮(化合物10)

[0237] 

[0238] 以与实施例1相同的方式制备化合物10,除了使用4-(4-苯氧基丁基) 哌嗪作为胺,获得淡黄色晶状固体。

[0239] 收率:44%

[0240] mp:256-258℃(乙醇)

[0241] MS(m/z):508(M^+)

[0242] ^{1}H NMR(DMSO-d_6):δ8.91和8.80(两个1H,两个s,2CH),7.29(2H, t,2CH),6.93(3H,d,3CH),4.03(2H,t,OCH_2),3.65(2H,d,2CH),3.19 (4H,宽的m,N(CH_2)$_2$),1.94和1.79(4H,2个宽的m,$2CH_2$)ppm

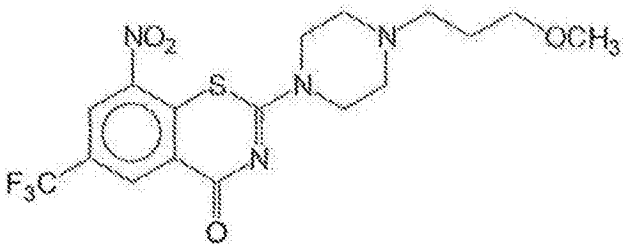
[0243] 分析$C_{23}H_{23}F_3N_4O_4S$:

[0244] 计算值:C,54.32;H,4.56;N,11.02

[0245] 测量值:C,54.36;H,4.67;N,11.07。

[0246] 实施例11

[0247] 2-[4-(3-甲氧基丙基)哌嗪-1-基]-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮(化合物11)

[0248] 

[0249] 以与实施例1相同的方式制备化合物11,除了使用4-(3-甲氧基丙基) 哌嗪作为胺,获得淡黄色晶状固体。

[0250] 收率:37%

[0251] mp:133-134℃(正己烷和乙酸乙酯混合物)

[0252] MS(m/z):432(M^+)

[0253] ^{1}H NMR(DMSO-d_6):δ8.85和8.76(两个1H,两个s,2CH),3.85(4H, 宽的s,N(CH_2)$_2$),3.41(2H,d,OCH_2),3.20(3H,s,CH_3),2.55(4H,宽的s, N(CH_2)$_2$),2.34(2H,t,NCH_2),1.68(2H,m,CH_2)ppm

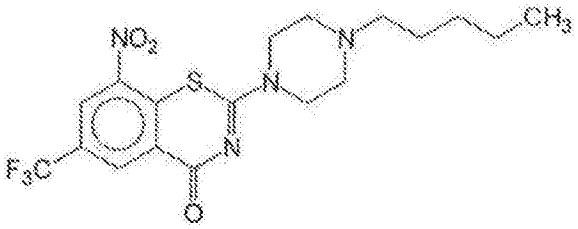
[0254] 分析$C_{17}H_{19}F_3N_4O_4S$:

[0255] 计算值:C,47.22;H,4.43;N,12.96

[0256] 测量值:C,47.19;H,4.54;N,13.08。

[0257] 实施例12

[0258] 8-硝基-2-(4-戊基哌嗪-1-基)-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮 (化合物12)

[0259] 

[0260] 以与实施例1相同的方式制备化合物12,除了使用4-戊基哌嗪作为胺,获得淡黄色晶状固体。

[0261] 收率:71%

[0262] mp:133-134℃(乙醇)

[0263] MS(m/z):430(M^+)

[0264] ^1H NMR(DMSO-d_6):δ8.85和8.76(两个1H,两个s,2C H),3.90(4H, 宽的s,N(CH_2)$_2$),2.51(4H,宽的s,N(CH_2)$_2$),2.32(2H,t,CH_2),1.48(2H, m,CH_2),1.26(4H,m,2CH_2),0.88(3H,t,CH_3)ppm

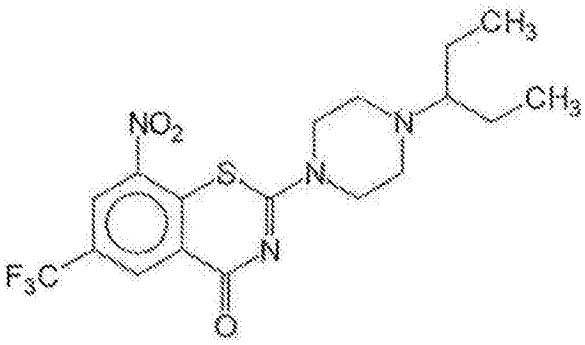
[0265] 分析$C_{18}H_{21}F_3N_4O_3S$:

[0266] 计算值:C,50.23;H,4.92;N,13.02

[0267] 测量值:C,50.29;H,4.85;N,13.10。

[0268] 实施例13

[0269] 2-[4-(1-乙基丙基)哌嗪-1-基]-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮(化合物13)

[0270] 

[0271] 以与实施例1相同的方式制备化合物13,除了使用4-(1-乙基丙基) 哌嗪作为胺,获得黄色晶状固体。

[0272] 收率:79%

[0273] mp:152-153℃(乙醇)

[0274] MS(m/z):430(M^+)

[0275] ^1H NMR(DMSO-d_6):δ8.85和8.76(两个1H,两个s,2C H),3.90(4H, 宽的s,N(CH_2)$_2$),2.62(4H,宽的s,N(CH_2)$_2$),2.23(H,q,CH),1.47(4H,d q,2CH_2),1.26(4H,m,2CH_2),0.90(6H,t,2CH_3)ppm

[0276] 分析$C_{18}H_{21}F_3N_4O_3S$:

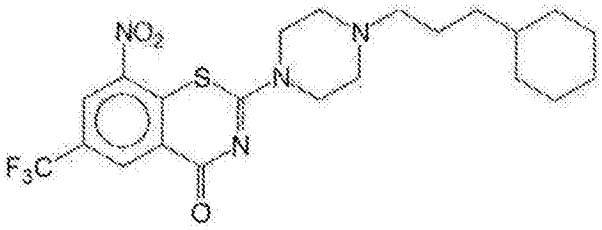
[0277] 计算值:C,50.23;H,4.92;N,13.02

[0278] 测量值:C,50.14;H,5.03;N,12.92。

[0279] 实施例14

[0280] 2-[4-(3-环己基丙基)哌嗪-1-基]-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-

酮(化合物14)

[0281] 

[0282] 以与实施例1相同的方式制备化合物14,除了使用4-(3-环己基丙基) 哌嗪作为胺,获得黄色晶状固体。

[0283] 收率:63%

[0284] mp:145-147℃(正己烷)

[0285] MS(m/z):484(M^+)

[0286] ^1H NMR(DMSO-d_6):δ8.85和8.76(两个1H,两个s,2CH),3.90(4H, 宽的s,N(CH_2)$_2$),2.62(4H,宽的s,N(CH_2)$_2$),2.23(2H,t,CH_2),1.56,1.49, 1.20和0.87(15H,4m,$CH_2CH_2CH(CH_2)_5$)ppm

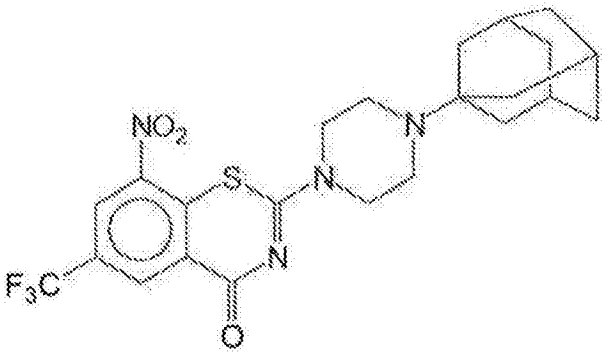
[0287] 分析$C_{22}H_{27}F_3N_4O_3S$:

[0288] 计算值:C,54.53;H,5.62;N,11.56

[0289] 测量值:C,54.48;H,5.53;N,11.71。

[0290] 实施例15

[0291] 2-[4-(1-金刚烷基)哌嗪-1-基]-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮(化合物15)

[0292] 

[0293] 以与实施例1相同的方式制备化合物15,除了使用4-(1-金刚烷基) 哌嗪作为胺,获得黄色晶状固体。

[0294] 收率:77%

[0295] mp:236-238℃(乙醇)

[0296] MS(m/z):494(M^+)

[0297] ^1H NMR(DMSO-d_6):δ8.85和8.76(两个1H,两个s,2CH),3.90(4H, 宽的s,N(CH_2)$_2$),2.74(4H,宽的s,N(CH_2)$_2$),2.08(3H,m,3CH),1.63(12H, 宽的m,6CH_2)ppm

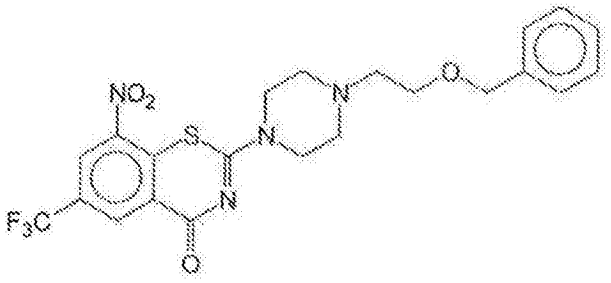
[0298] 分析$C_{23}H_{25}F_3N_4O_3S$:

[0299] 计算值:C,55.86;H,5.10;N,11.53

[0300] 测量值:C,55.78;H,5.17;N,11.52。

[0301] 实施例16

[0302] 2-{4-[2-(苄氧基)乙基]哌嗪-1-基}-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮(化合物16)

[0303] 

[0304] 以与实施例1相同的方式制备化合物16,除了使用4-[2-(苄氧基)乙基]哌嗪作为胺,获得黄色晶状固体。

[0305] 收率:64%

[0306] mp:117-119℃(乙醇)

[0307] MS(m/z):494(M^+)

[0308] ^{1}H NMR(DMSO-d_6):δ8.85和8.76(两个1H,两个s,2CH),7.33(5H, m,C_6H_5),4.49(2H,s,OCH_2),3.85(4H,宽的s,$N(CH_2)_2$),3.60(2H,t, CH_2O),3.41(2H,d,OCH_2),3.20(3H,s,CH_3),2.55(4H,宽的s,$N(CH_2)_2$), 2.49(2H,t,NCH_2)ppm

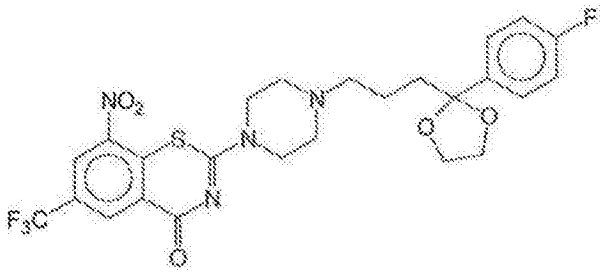
[0309] 分析$C_{22}H_{21}F_3N_4O_4S$:

[0310] 计算值:C,53.44;H,4.28;N,11.33

[0311] 测量值:C,53.30;H,4.11;N,11.39。

[0312] 实施例17

[0313] 2-(4-{3-[2-(4-氟苯基)-1,3-二氧戊-2-基]丙基}哌嗪-1-基)-8-硝基 -6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮(化合物17)

[0314] 

[0315] 以与实施例1相同的方式制备化合物17,除了使用4-{3-[2-(4-氟苯基)-1,3-二氧戊-2-基]丙基}哌嗪作为胺,获得黄色晶状固体。

[0316] 收率:71%

[0317] mp:152-154℃(乙醇)

[0318] MS(m/z):568(M^+)

[0319] ^{1}H NMR(DMSO-d_6):δ8.85和8.76(两个1H,两个s,2CH),7.45(2H, m,2CH),7.19(2H,t,2CH),4.01和3.66(4H,2m,OCH_2CH_2O),3.91(1H, d,CH),3.85(4H,宽的s,$N(CH_2)_2$),2.55(4H,宽的s,$N(CH_2)_2$),2.42(3H,t, CH_2),1.82(1H,d,CH),1.42(2H,宽的m,CH_2)ppm

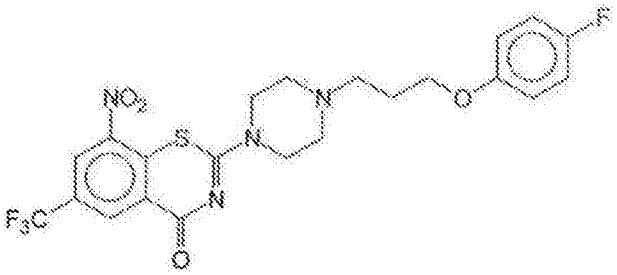
[0320] 分析$C_{24}H_{25}F_4N_4O_5S$:

[0321] 计算值:C,52.81;H,4.25;N,9.85

[0322] 测量值:C,52.93;H,4.24;N,9.84。

[0323] 实施例18

[0324] 2-{4-[3-(4-氟苯氧基)丙基]哌嗪-1-基}-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮(化合物18)

[0325] 

[0326] 以与实施例1相同的方式制备化合物18,除了使用4-[3-(4-氟苯氧基) 丙基]哌嗪作为胺,获得黄色晶状固体。

[0327] 收率:37%

[0328] mp:165-167℃(乙醇)

[0329] MS(m/z):512(M^+)

[0330] ^{1}H NMR(DMSO-d_6):δ8.85和8.76(两个1H,两个s,2CH),7.11(2H, t,2CH),6.94(2H,m,2CH),4.12(2H,t,OCH_2),3.85(4H,宽的s, $N(CH_2)_2$),2.52(4H,宽的s,$N(CH_2)_2$),2.48(2H,m,CH_2),1.83(2H,q,CH_2) ppm

[0331] 分析$C_{22}H_{20}F_4N_4O_4S$:

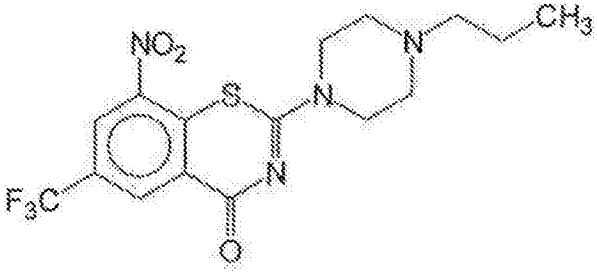
[0332] 计算值:C,51.56;H,3.93;N,10.93

[0333] 测量值:C,51.67;H,4.02;N,10.88

[0334] 实施例19

[0335] 2-(4-丙基哌嗪-1-基)-8-硝基-6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮

[0336] (化合物19)

[0337] 

[0338] 以与实施例1相同的方式制备化合物19,除了使用4-丙基哌嗪作为胺,获得黄色晶状固体。

[0339] 收率:69%

[0340] mp:130-132℃(乙醇)

[0341] MS(m/z):402(M^+)

[0342] ^{1}H NMR(DMSO-d_6):δ8.85和8.76(两个1H,两个s,2CH),3.90(4H, 宽的s,$N(CH_2)_2$),2.51(4H,宽的s,$N(CH_2)_2$),2.32(2H,t,CH_2),1.48(2H, m,CH_2),0.90(3H,t,CH_3)ppm

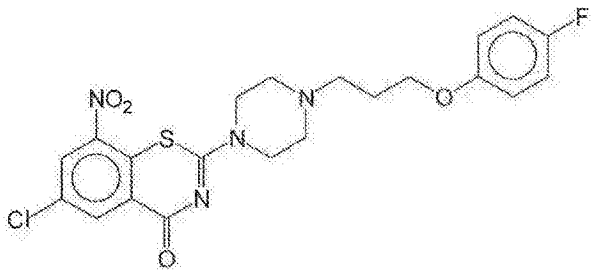
[0343] 分析$C_{16}H_{13}F_3N_4O_3S$:

[0344] 计算值:C,47.76;H,4.26;N,13.92

[0345] 测量值:C,47.81;H,4.20;N,13.87

[0346] 实施例20

[0347] 6-氯-2-{4-[3-(4-氟苯氧基)丙基]哌嗪-1-基}-8-硝基-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮(化合物20)

[0348] 

[0349] 将氢氧化钠(1.0g;粉末)溶于10mL DMSO中,在10-15℃的温度下加入2.4mL二硫化碳。在10℃的温度下以小份向该溶液中加入 3.0g 2,5-二氯-3-硝基苯甲酰胺。15分钟后,在10-20℃的温度下加入 0.9mL MeI。反应进行30分钟,随后加入100mL水。将所得的6-氯 -2-甲硫基-8-硝基甲基-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮黄色固体通过过滤分离。

[0350] 收率:47%

[0351] mp:200-203℃(乙酸乙酯)

[0352] MS(m/z):322(M^+)

[0353] ^{1}H NMR(DMSO-d_6):δ8.54和8.40(两个1H,两个s,2CH),2.71 (3H,s,CH$_3$)ppm

[0354] 分析($C_9H_5ClN_2O_3S_2$):

[0355] 计算值:C,37.44;H,1.75;N,9.79

[0356] 测量值:C,37.40;H,1.71;N,9.874

[0357] 室温下用0.8g 4-[3-(4-氟苯氧基)丙基]哌嗪处理含有1.5g 6-氯-2- 甲硫基-8-硝基甲基-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮的10mL乙醇悬浮液。将反应混合物加热至50-60℃持续20分钟。冷却后,加入100mL水。将所得的6-氯-2-{4-[3-(4-氟苯氧基)丙基]哌嗪-1-基}-8-硝基-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮淡黄色固体通过过滤分离。

[0358] 收率:68%

[0359] mp:192-194℃(乙醇)

[0360] MS(m/z):478(M^+)

[0361] ^{1}H NMR(DMSO-d_6):δ8.64和8.53(两个1H,两个s,2CH),7.11和 6.94(5H,2m,C_6H_4F),4.12(2H,t,OCH_2),3.85(4H,宽的s,N(CH_2)$_2$), 2.55(4H,宽的s,N(CH_2)$_2$),2.50(2H,m,CH_2),1.83(2H,q,CH_2)ppm

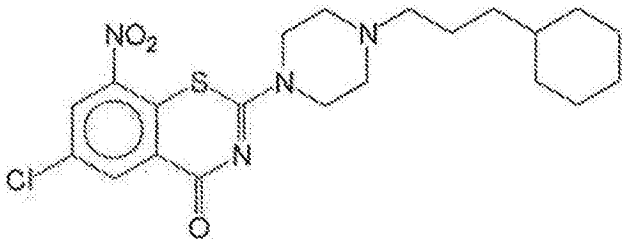
[0362] 分析$C_{21}H_{20}ClFN_4O_4S$:

[0363] 计算值:C,52.66;H,4.21;N,11.70

[0364] 测量值:C,52.53;H,4.14;N,11.69。

[0365] 实施例21

[0366] 6-氯-2-[4-(3-环己基丙基)哌嗪-1-基]-8-硝基-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮 (化合物21)

[0367] 

[0368] 以与实施例19相同的方式制备化合物21，除了使用4-(3-环己基丙基)哌嗪作为胺，获得黄色晶状固体。

[0369] 收率：68％

[0370] mp：194-195℃(乙醇)

[0371] MS(m/z)：450(M^+)

[0372] ^1H NMR(DMSO-d_6)：δ8.64和8.53(两个1 H，两个s，2 C H)，3.90(4H，宽的s，N(CH_2)$_2$)，2.52(4H，宽的s，N(CH_2)$_2$)，2.26(2H，t，CH_2)，1.67，1.47，1.19和0.85(15H，4m，$CH_2CH_2CH(CH_2)_5$) ppm

[0373] 分析$C_{21}H_{27}ClN_4O_3S$：

[0374] 计算值：C，55.93；H，6.03；N，12.42

[0375] 测量值：C，56.02；H，6.14；N，12.49。

[0376] 实施例22

[0377] 测定本发明的化合物对分枝杆菌的体外抑制活性

[0378] 通过刃天青还原方法(MIC_{99})测定对耻垢分枝杆菌(M. smegmatis)和结核分枝杆菌(M.tuberculosis)H37Rv的活性。所述方法具体描述于J.C.Palomino，A.Martin，M.Camacho，H.Guerra，J. Swings，F.Portaels，Antimicrob.Agents Chemother.，2002，46，2720-2。结果示于表1。

[0379] 表1

[0380] 本发明的化合物对放线菌的体外抑制活性——典型MIC值 (ng/mL)

[0381]

化合物	结核分枝杆菌 H37Rv	耻垢分枝杆菌	谷氨酸棒杆菌 ATCC13032
1	0.75	≤170	NA
2	≤0.19	≤170	NA

[0382]

3	1.5	≤170	NA
4	≤1.9	≤1.9	31
5	0.37	≤1.9	62
6	≤0.19	≤1.9	125
7	≤0.19	≤1.9	125
8	≤0.19	≤1.9	125
9	15	62	125
10	1.5	≤1.9	≤1.9
11	3.75	31	250
12	0.37	≤1.9	15
13	0.37	≤1.9	≤1.9
14	≤1.9	≤1.9	750
15	15	62	<500
16	19	31	<500
17	37.5	3.75	250
18	≤1.9	≤1.9	250
19	3.7	≤190	250
20	≤1.9	≤1.9	3.1
21	≤1.9	≤1.9	62

[0383] NA——未获得

[0384] 实施例23

[0385] 测定式(1)的化合物(2)和(19)在急性鼠TB模型中对结核分枝杆菌的体内效力

[0386] 材料与方法:在体重为22-23g的雄性BALB/c/Cit小鼠中进行特定的体内抗结核活性测定。通过在尾侧静脉静脉注射5x10^{6}CFU结核分枝杆菌菌株H37Rv感染小鼠。结核分枝杆菌以制备量生长并且分装在俄罗斯医学科学院国家机构中央结核病研究所(State Institution Central Research Institute of Tuberculosis,Russian Academy of Medical Sciences)的免疫遗传学实验室中。在-70℃下保存等分部分(1 mL)。为了感染小鼠,将等分部分解冻、分散于含有0.025%吐温80 的磷酸盐缓冲溶液中并且调节至5x10^{6}CFU/只小鼠。将所有试验动物分成10组,每组10只小鼠。将上述动物在感染后的2天开始进行处理持续4周。除了周末,将化合物每天通过胃内给药(每周5次)。给药的体积为0.5mL/只小鼠。然后将动物通过颈椎脱臼法处死用于微生物学检查。为了测定每个化学疗法的效力,考虑动物的薄壁组织器官的肉眼可见的改变以及从病理材料中分离结核分枝杆菌。为了测定感染小鼠肺中的结核分枝杆菌CFU,将感染小鼠的肺在2mL生理盐水中进行均质化,然后制备一系列的在盐水中的10倍稀释液,将50μL 的每份稀释液铺在Dubos琼脂上。将铺有肺细胞悬浮液的板在37℃下孵育21天,然后对菌落进行计数,测定肺中的CFU量。

[0387] 化合物和溶液的制备:将精确量(200mg)的化合物(2)和(19) 置于小玻璃瓶中,加

入0.5mL乙酸。化合物迅速溶解，向该溶液中加入99.5mL水。在4周内使用由此制备的受试化合物溶液。化合物(2) 和(19)的使用剂量为50mg/kg；异烟肼(INH)的使用剂量为25mg/kg。

[0388] 研究结果：在阴性对照组的动物中，感染后19-20天出现疾病的初步迹象：体重下降；小鼠与灵活地在笼子里走动相比更经常地聚集成群；出现“凸起(gibbosity)”但是没有液体粪便。对照组中的小鼠死亡出现在感染后26-29天。对该组死亡小鼠内脏的肉眼检查显示了许多结核过程的病灶——大型融合病灶。脾增大至3倍。用化合物(2) 和(19)、BTZ043和INH在规定的时间内处理引起显著改善。肺部状况几近正常，即通气的、粉色的、无结核感染的可视病灶。感染26 天后，将对照组的3只存活小鼠处死以测定肺中的CFU。根据研究图表，在开始处理后4周摘取1-4组小鼠的肺以测定CFU。研究结果列于表2。

[0389] 表2

[0390] 在急性鼠TB模型中处理四周后肺中的结核分枝杆菌H37Rv CFU 量

[0391]

受试化合物	剂量	肺 CFU 的 log 值	平均寿命(天) M ± SEM
化合物(2)	50 mg/kg	4.30	在处死时仍存活

[0392]

化合物(19)	50 mg/kg	4.63	在处死时仍存活
BTZ043*	50 mg/kg	4.78	在处死时仍存活
异烟肼	25 mg/kg	4.34	在处死时仍存活
阴性对照	-	9.21	27 ± 0.22

[0393] *BTZ043——2-[(2S)-2-甲基-1,4-二氧杂-8-氮杂螺[4.5]癸烷-8-基]-8-硝基 -6-(三氟甲基)-4H-1,3-苯并噻嗪-4-酮(V.Makarov et al.Science,2009, 324,801)

[0394] 这一实施例清楚地表明由实施例(2)和(19)代表的新型2-哌嗪 -1,3-苯并噻嗪-4-酮与之前描述的1,3-苯并噻嗪-4-酮相当或与之相比活性更高。

[0395] 实施例24

[0396] 测定在慢性鼠TB模型中式(1)的化合物对结核分枝杆菌的体内效力

[0397] 材料和方法：

[0398] BALB/c小鼠(Charles River Laboratories,France)，年龄4-6 周(20-25g)，通过气溶胶途径用菌株H37Rv(约100CFU)对其进行感染。

[0399] 感染后四周开始用化合物通过灌胃给药处理(每组5只小鼠)，每日一次，6次/周，处理4周。药物以以下浓度(mg/kg)使用：BTZ043: 50mg/kg；INH：25mg/kg；本发明的化合物2和8(均为50mg/kg)。将INH溶于水，而BTZ043和化合物2和8在0.5％羧甲基纤维素中配制。

[0400] 处死对照组小鼠和处理组小鼠，然后将肺和脾均质化并且将稀释液铺于7H10板上用于计算存活杆菌数(CFU计数)。

[0401] 统计分析：在分析前将肺CFU换算成$\log_{10}(x+1)$，其中x为绝对 CFU计数。使用GraphPad v5.0通过单向方差分析比较对照组和实验方案组之间的平均CFU/组的差异。

[0402] 研究结果：实验结果如图1所示，从图1可观察到用化合物2和8 处理与用BTZ043处理相比较在降低肺和脾的CFU负荷作用方面更显著有效。用化合物2和8处理相对于用BTZ043处理显示了统计学显著性差异，而BTZ043稍次于INH。来自慢性TB鼠模型的这些结果表明本发明的化合物作为潜在的抗结核药剂具有希望。

[0403] 实施例25

[0404] 进行一系列比较的体外ADME/T实验以预测在小鼠中发现的 PBTZ169(化合物2)与BTZ043相比改善的效力是否还可在人类中预期。

[0405] 首先，测量PBTZ169在5μM浓度时在模拟胃液中的化学稳定性，60分钟后仍剩余67％的化合物，并且发现在5μM时在人血浆中的半衰期>60分钟。接着，将PBTZ169和BTZ043以1μg/mL的浓度与0.1 mg人或小鼠肝微粒体(Invirogen)一起孵育以测量它们的内在清除率。通过HPLC确定原化合物随时间的保留相对量。卡马西平和硝苯地平分别用作低内在清除率和高内在清除率对照。结果表明BTZ043和 PTBZ169在人和小鼠肝微粒体中均为中等清除率化合物(9<内在清除率(Clint)<47μL/min/mg蛋白质)，PBTZ169的内在清除率稍微升高(表3)。卡马西平和硝苯地均显示了预期的高内在清除率和低内在清除率。

[0406] 表3 BTZ043、PBTZ169和对照药物的内在清除率(Clint)值

[0407]

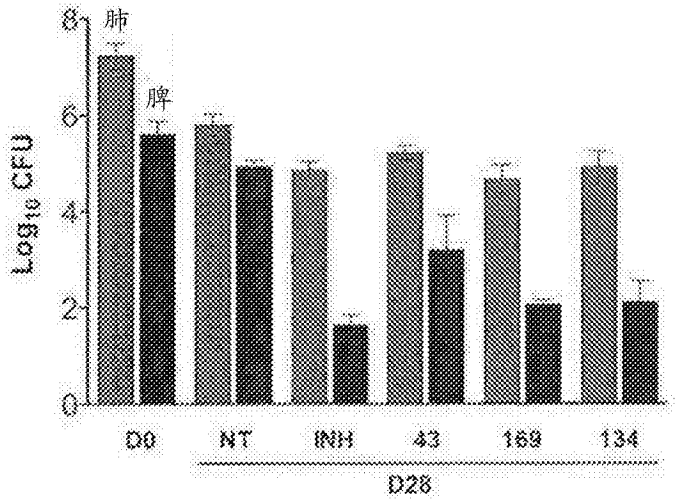
	内在清除率(Clint) μL/min/mg 蛋白质	
	人肝微粒体	小鼠肝微粒体
卡马西平	0.6	1.1
硝苯地平	55.3	48.4
BTZ043	16.2	10.3
PBTZ169	23.9	20.9

[0408] 化合物的选择性指数(SI)很好地提供了候选药物的潜在耐受性的良好表征。SI是引起50％细胞毒素作用(TC50)的化合物浓度除以其MIC。使用两种人细胞系——肝细胞系HepG2和肺细胞系A549，在它们与不同量的化合物孵育72小时后使用刃天青还原方法确立PBTZ169和BTZ043的TC50。PBTZ169和BTZ043对HepG2细胞的 TC50分别为66.7μg/mL和6.3μg/mL；PBTZ169和BTZ043对A549 细胞的TC50分别为73.2μg/mL和16.3μg/mL。PBTZ169和BTZ043 各自的MIC为1ng/mL和2ng/mL。因此，由于在两种情况下，在 PBTZ169中观察到显著较低的细胞毒性，其SI显著优于BTZ043的 SI(表4)。在临床方面，PBTZ169应该比BTZ043更加安全及具有更好的耐受性。

[0409] 表4 对两种细胞系的SI比较

[0410]

化合物	对HepG2的SI	对A549的SI
PBTZ169	66,000	73,000
BTZ043	3,155	8,130



肺	P值（t-检验）	显著性差异 (p < 0.05)
43 vs 169	0.0061	有
43 vs 134	0.1038	无
INH vs 43	0.0093	有
INH vs 169	0.2528	无
INH vs 134	0.7732	无

肺	P值（t-检验）	显著性差异 (p < 0.05)
43 vs 169	0.0078	有
43 vs 134	0.0188	有
INH vs 43	0.0329	有
INH vs 169	0.0062	有
INH vs 134	0.1907	无

图1