



# (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108003155 A

(43)申请公布日 2018.05.08

(21)申请号 201711445665.3

(51)Int.Cl.

(22)申请日 2012.08.10

C07D 471/04(2006.01)

(30)优先权数据

A61K 31/55(2006.01)

11177115.0 2011.08.10 EP

A61K 31/551(2006.01)

A61P 31/04(2006.01)

(62)分案原申请数据

201280038607.8 2012.08.10

(71)申请人 爱尔兰詹森科学公司

地址 爱尔兰科克郡

(72)发明人 J.E.G. 吉尔勒蒙特

D.F.A. 兰科伊斯 M.M.S. 莫特

A. 考尔 W.M.A. 巴勒曼斯

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 黄希贵

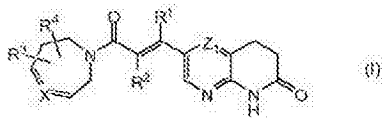
权利要求书6页 说明书38页

(54)发明名称

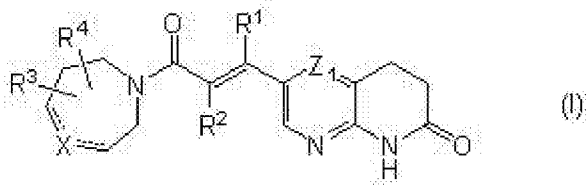
抗菌的高嘧啶基取代的3,4二氢-1H[1,8]萘啶酮类

(57)摘要

本发明涉及新颖的具有化学式(I)的化合物,这些化合物抑制FabI酶的活性,因此它们在细菌感染的治疗中是有用的。本发明进一步涉及包含这些化合物的药物组合物,以及用于制备这些化合物的化学过程。



1. 一种具有化学式 (I) 的化合物



其中

表示一个基团, 其中这两个 键中只有一个表示单键或双键, 并且另一个 键则表示单键;

X表示碳或氮, 并且当X表示氮时, 这两个 键则均表示单键;

Z<sub>1</sub>表示CH或N;

R<sub>1</sub>是氢、C1-4烷基或卤素;

R<sub>2</sub>是氢、C1-4烷基或卤素;

R<sub>3</sub>是氢、C1-6烷基、羟基或卤素;

R<sub>4</sub>是氢、C1-6烷基、卤素、芳基、杂芳基、经芳基取代的C1-6烷基、或经杂芳基取代的C1-6烷基;

并且当取代基R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>位于相邻的位置上时, 所述R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>可以一起形成一个具有化学式 =CH-CH=CH-CH= 的基团, 其条件是X表示碳, 并且这两个 键表示单键;

芳基是 苯基; 经一个、两个或三个取代基取代的苯基, 各取代基单独地选自卤素、羟基、C1-4烷基、多卤代C1-4烷基、C1-4烷氧基、多卤代C1-4烷氧基、氰基、硝基和氨基;

杂芳基是 呋喃基、苯硫基、吡咯基、吡啶基、咪唑基、异噁唑基、噻唑基、三唑基、四唑基、异噻唑基、噻二唑基、噁二唑基、吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、苯并[1,3]二氧杂环戊烯基、苯并呋喃基、苯并噻唑基、吡啶基、2,3-二氢-1H-吡啶基、四氢苯硫基或喹啉基;

其中各杂芳基可以被一个或两个取代基取代, 各取代基独立地选自卤素、氰基、C1-4烷基、C1-4烷氧基、C1-4烷基羰基或苯基;

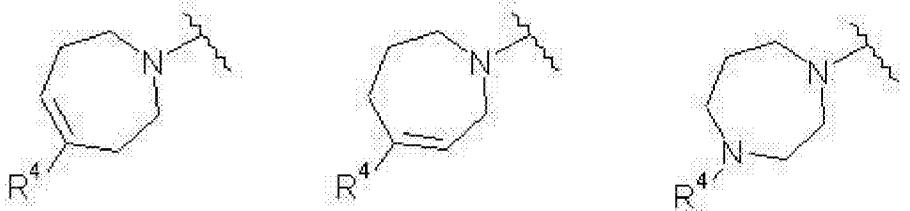
或其药学上可接受的一种酸加成盐。

2. 如权利要求1所述的化合物, 其中

X表示C, 并且两个 键中的一个表示双键, 并且另一个表示单键; 或者

X表示N, 在这种情况下, 两个 键均表示单键。

3. 如权利要求1或权利要求2所述的化合物, 其中含有X的环表示:






4. 如权利要求1至2中任一项所述的化合物, 其中:


Z<sub>1</sub>表示CH;

R<sub>1</sub>是氢或C1-4烷基;

R<sub>2</sub>是氢或C1-4烷基。

5. 如权利要求1或2所述的化合物,其中

 表示一个基团,其中这两个  键中只有一个表示单键或双键,并且另一个  键则表示单键;


X表示碳或氮,并且当X表示氮时,这两个  键则均表示单键;

R1是氢;

R2是氢;

R3是氢、C1-6烷基或卤素;

R4是卤素、芳基、杂芳基、或经芳基取代的C1-6烷基;

并且当取代基R3和R4位于相邻的位置上时,所述R3和R4可以一起形成一个具有化学式=CH-CH=CH-CH=的基团,其条件是X表示碳,并且这两个  键表示单键;

芳基是 苯基;经一个或两个取代基取代的苯基,各取代基单独地选自卤素、C1-4烷基、多卤代C1-4烷基、C1-4烷氧基以及多卤代C1-4烷氧基;

杂芳基是 苯硫基、吡咯基、噻唑基或三唑基;

或其药学上可接受的一种酸加成盐。

6. 如权利要求1至2中任一项所述的化合物,其中R1是氢,并且R2是氢。


7. 如权利要求1至2中任一项所述的化合物,其中R3表示氢。

8. 如权利要求1至2中任一项所述的化合物,其中R3表示C1-4烷基或卤素。

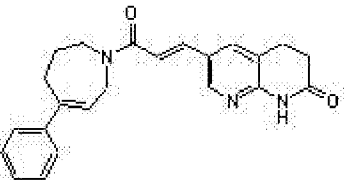
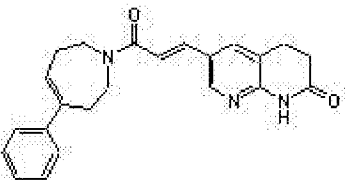
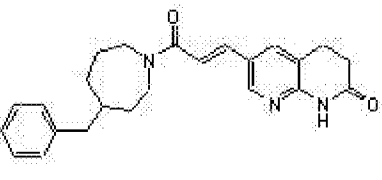
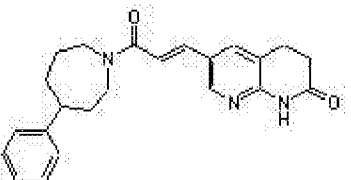
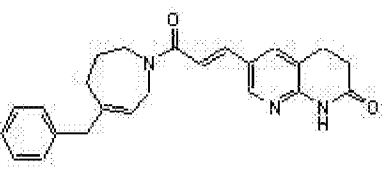
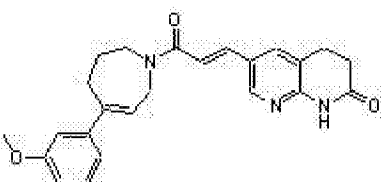
9. 如权利要求1至2中任一项所述的化合物,其中R4是芳基。

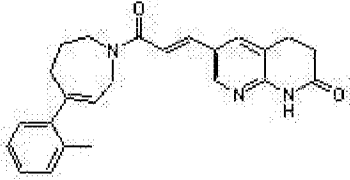
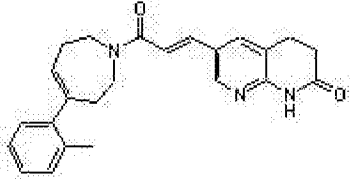
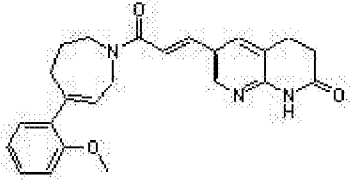
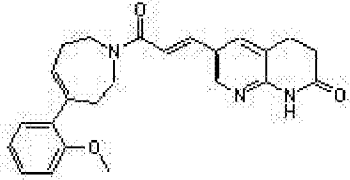
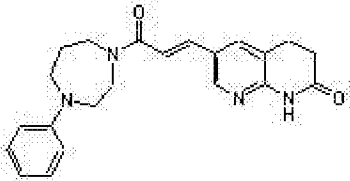
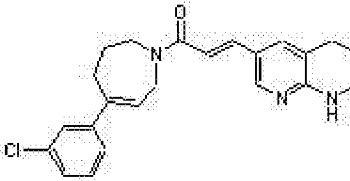
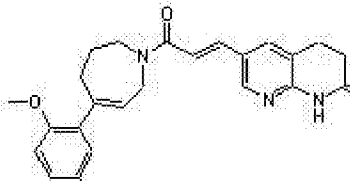
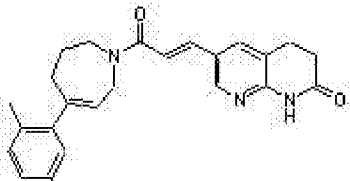
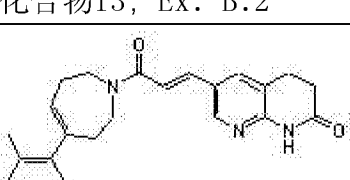
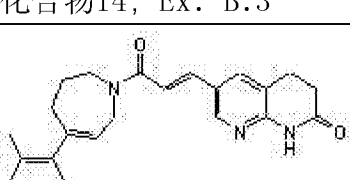
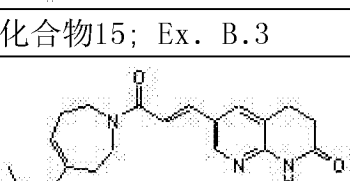
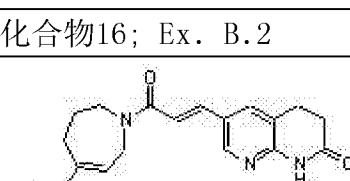
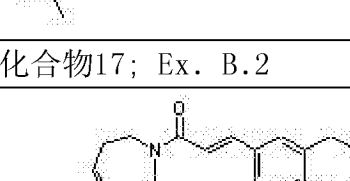
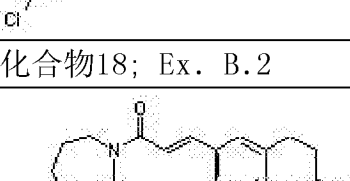
10. 如权利要求1至2中任一项所述的化合物,其中R4是杂芳基。

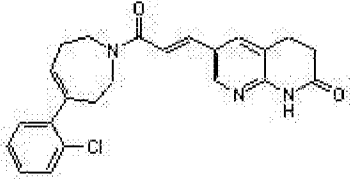
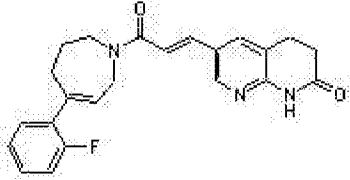
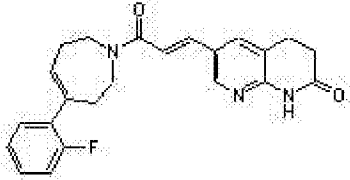
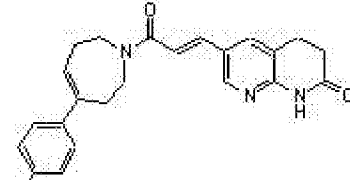
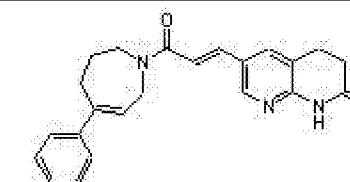
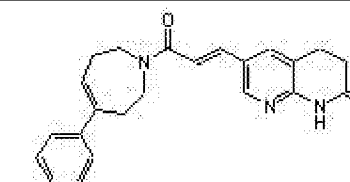
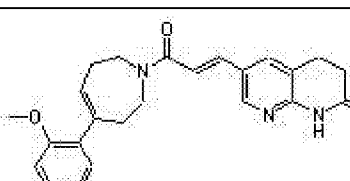
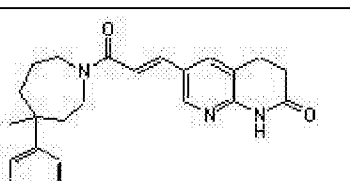
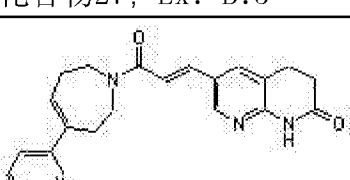
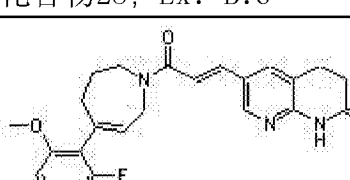
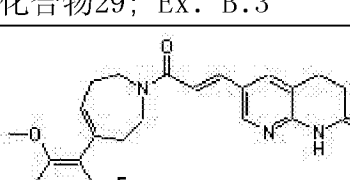
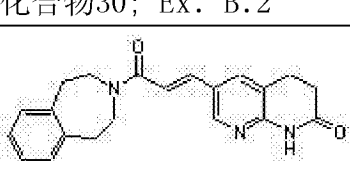
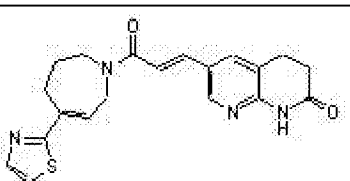
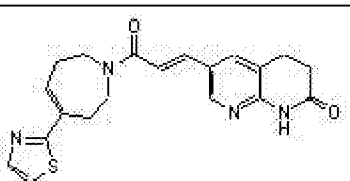
11. 如权利要求1至2中任一项所述的化合物,其中R4是经芳基取代的C1-6烷基。

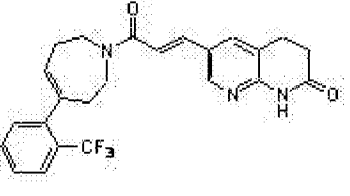
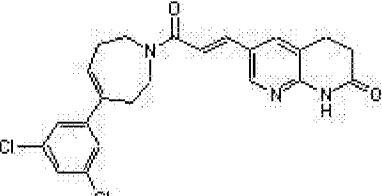
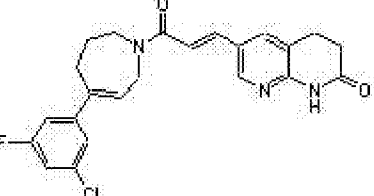
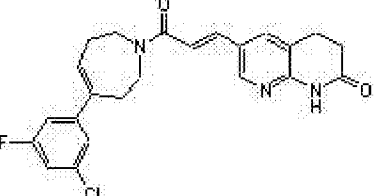
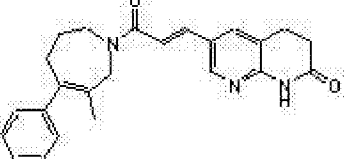
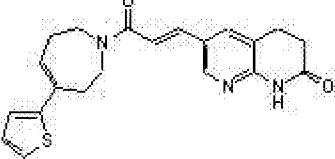
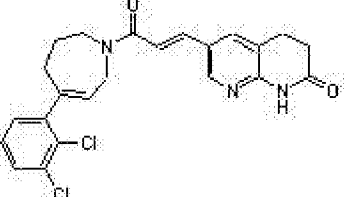
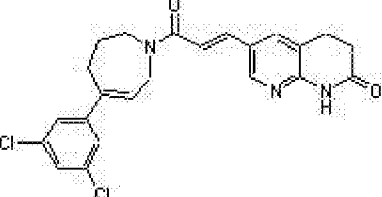
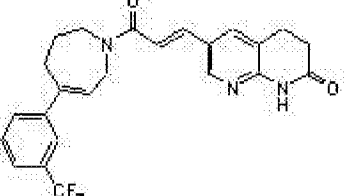
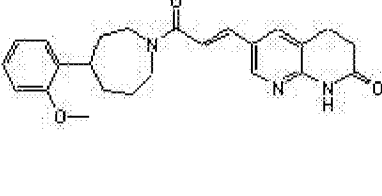
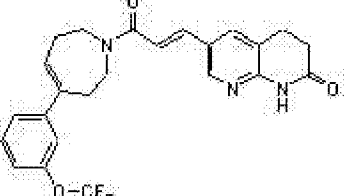
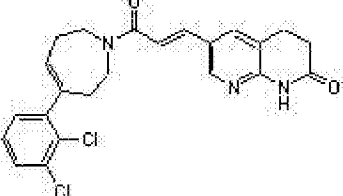
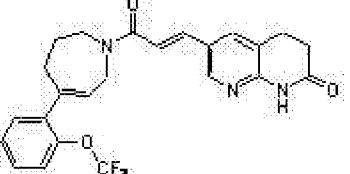
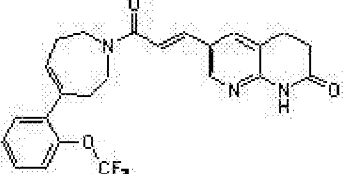
12. 如权利要求1或2所述的化合物,其中X表示碳并且这两个  键表示单键,并且R3和R4位于相邻的位置上并且一起形成一个具有化学式=CH-CH=CH-CH=的基团。

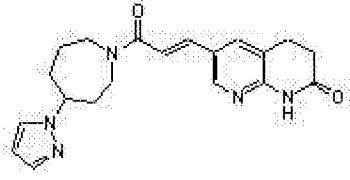
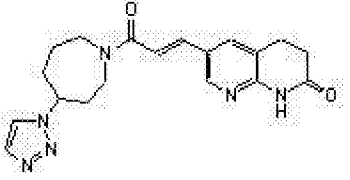
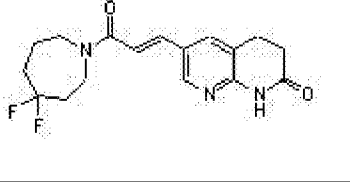
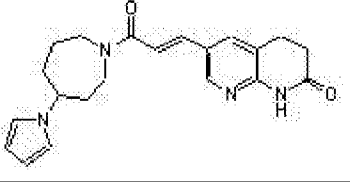
13. 化合物或其药学上可接受的盐,所述化合物选自:

	
化合物1; Ex. B.1	化合物2; Ex. B.1
	
化合物3; Ex. B.1	化合物4; Ex. B.1
	
化合物5; Ex. B.1	化合物6; Ex. B.2

	
化合物7; Ex. B.2	化合物8; Ex. B.2
	
化合物9; Ex. B.3	化合物10; Ex. B.3
	
化合物11; Ex. B.4	化合物12; Ex. B.6
	
化合物13; Ex. B.2	化合物14; Ex. B.3
	
化合物15; Ex. B.3	化合物16; Ex. B.2
	
化合物17; Ex. B.2	化合物18; Ex. B.2
	
化合物19; Ex. B.1	化合物20; Ex. B.6

	
化合物21; Ex. B.6	化合物22; Ex. B.2
	
化合物23; Ex. B.2	化合物24; Ex. B.2
	
化合物25; Ex. B.3	化合物26; Ex. B.3
	
化合物27; Ex. B.5	化合物28; Ex. B.6
	
化合物29; Ex. B.3	化合物30; Ex. B.2
	
化合物31; Ex. B.2	化合物32; Ex. B.1
	
化合物33; Ex. B.1	化合物34; Ex. B.1

	
化合物35; Ex. B.1	化合物36; Ex. B.1
	
化合物37; Ex. B.1	化合物38; Ex. B.1
	
化合物39; Ex. B.5	化合物40 Ex. B.1
	
化合物41; Ex. B.1	化合物42; Ex. B.1
	
化合物43; Ex. B.1	化合物44; Ex. B.5
	
化合物45; Ex. B.1	化合物46; Ex. B.1
	

化合物47; Ex. B.1	化合物48; Ex. B.1
	
化合物49; Ex. B.4	化合物50; Ex. B.4
	
化合物51; Ex. B.4	化合物52; Ex. B.4

14. 一种药物组合物,该药物组合物包含一种药学上可接受的载体以及治疗活性量的如权利要求1至13中任一项所述的化合物。

15. 一种用于制备如权利要求14所述的药物组合物的方法,其中将治疗活性量的如权利要求1至13中任一项所述的化合物与一种药学上可接受的载体紧密混合。

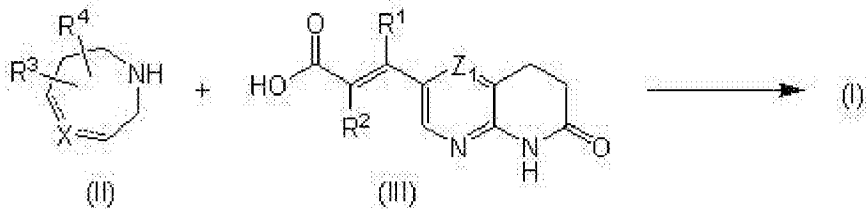
16. 如权利要求1至13中任一项所定义的具有化学式 (I) 的化合物,用作一种药物。

17. 如权利要求1至13中任一项所定义的具有化学式 (I) 的化合物,用于在治疗细菌感染中使用。

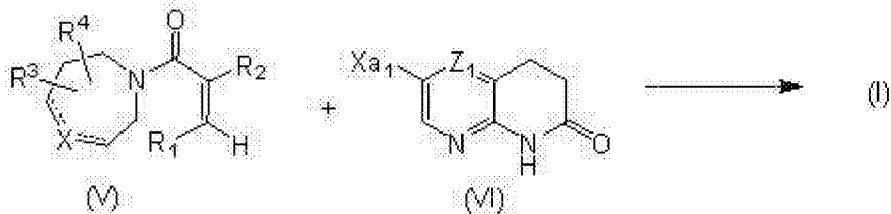
18. 如权利要求17所述的化合物,其中该细菌感染是由一种表达FabI酶的细菌引起的。

19. 一种用于制备如权利要求1所定义的具有化学式 (I) 的化合物的方法:

(i) 通过使一种具有化学式 (II) 的中间体与一种具有化学式 (III) 的中间体发生反应,



(ii) 通过使一种具有化学式 (V) 的中间体与一种具有化学式 (VI) 的中间体发生反应,



其中,  $X^{a1}$  表示一个合适的离去基团,并且其他整体是如权利要求1所定义的;

或者,如果希望的话,将具有化学式 (I) 的化合物转化成一种药学上可接受的酸加成盐,或相反地,将具有化学式 (I) 的化合物的一种酸加成盐用碱转化成一种游离碱形式。

## 抗菌的高哌啶基取代的3,4-二氢-1H[1,8]萘啶酮类

[0001] 本申请是分案申请,其与母案的发明名称相同,其母案的中国申请号是201280038607.8,国际申请号是PCT/EP2012/065729,申请日是2012年8月10日。

### 技术领域

[0002] 本发明涉及新颖的具有化学式(I)的化合物,这些化合物抑制FabI酶的活性,因此它们在细菌感染的治疗中是有用的。本发明进一步涉及包含这些化合物的药物组合物、以及用于制备这些化合物的化学过程。

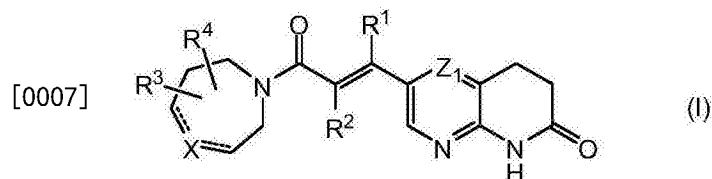
### 背景技术

[0003] 本发明的化合物是抑制FabI蛋白的抗菌化合物,FabI蛋白是一种在脂肪酸生物合成途径中的NADH依赖性烯酰-酰基载体蛋白(ACP)还原酶。脂肪酸合酶(FAS)参与所有生物体中的饱和脂肪酸的总生物合成途径,但是在它们中FAS的结构组织有很大的差别。脊椎动物和酵母的FAS的显著特征是:所有的酶活性被编码在一条或两条多肽链上,并且酰基载体蛋白(ACP)是以复合物的形式存在的。相比之下,在细菌FAS中,各合成步骤是由一个独特的单功能酶催化的,并且ACP是一种离散的蛋白。因此,有可能通过使用抑制剂阻断合成步骤中的一个步骤来选择性地抑制细菌FAS。NADH依赖性烯酰-ACP还原酶(Fab I)参与细菌脂肪酸生物合成的每一轮所涉及的四个反应步骤中的最后一步。因此,FabI酶是在细菌脂肪酸生物合成的总合成途径中的生物合成酶。



[0004] 该FabI酶已经显示出在主要病原体如大肠杆菌(E. Coli)中构成一个基本靶标(Heath(希思)等人,J. Biol. Chem. (《生物化学杂志》),1995年,270,26538;Bergler(贝格勒)等人,Eur. J. Biochem. (《欧洲生物化学杂志》),2000年,275,4654)。因此,抑制FabI的化合物作为抗菌剂可以是有用的。

[0005] 具有FabI酶抑制活性的化合物已经披露于WO 01/26652、WO 01/26654和WO-01/27103中。具有FabI抑制活性的经取代的萘啶酮化合物已经披露于WO 03/088897、WO 2007/043835和WO 2008/098374中。国际专利申请WO 2007/053131还披露了用于作为FabI抑制剂的潜在用途的各种萘啶酮化合物。然而,这些文献都没有公开这样一种化合物:具有一个直接衔接至羰基部分的环状氨基,该羰基部分是 $\alpha$ 至烯炔。国际专利申请WO 2011/061214还披露了用于作为FabI抑制剂的潜在用途的各种化合物。然而,该文献没有另外确切地披露具有可任选地含有一个双键的七元含氮环状基团的化合物。

[0006] 本发明涉及一种具有化学式(I)的化合物



[0008] 其中

[0009]  表示一个基团,其中这两个  键中只有一个表示单键或双键,并且另一个

====键则表示单键；

[0010] X表示碳或氮，并且当X表示氮时，这两个====键则均表示单键；

[0011] Z<sub>1</sub>表示CH或N；

[0012] R<sup>1</sup>是氢、C<sub>1-4</sub>烷基或卤素；

[0013] R<sup>2</sup>是氢、C<sub>1-4</sub>烷基或卤素；

[0014] R<sup>3</sup>是氢、C<sub>1-6</sub>烷基、羟基或卤素；

[0015] R<sup>4</sup>是氢、C<sub>1-6</sub>烷基、卤素、芳基、杂芳基、经芳基取代的C<sub>1-6</sub>烷基、或

[0016] 经杂芳基取代C<sub>1-6</sub>烷基；

[0017] 并且当取代基R<sup>3</sup>和R<sup>4</sup>位于相邻的位置上时，所述R<sup>3</sup>和R<sup>4</sup>可以一起形成具有化学式=CH-CH=CH-CH=的基团，其条件是X表示碳，并且两个====键表示单键；

[0018] 芳基是苯基；经一个、两个或三个取代基取代的苯基，各取代基单独地选自卤素、羟基、C<sub>1-4</sub>烷基、多卤代C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-4</sub>烷氧基、多卤代C<sub>1-4</sub>烷氧基、氰基、硝基和氨基；

[0019] 杂芳基是呋喃基、苯硫基、吡咯基、吡啶基、咪唑基、异噁唑基、噻唑基、三唑基、四唑基、异噻唑基、噻二唑基、噁二唑基、吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、苯并[1,3]二氧杂环戊烯基、苯并呋喃基、苯并噻唑基、吡啶基、2,3-二氢-1H-吡啶基、四氢苯硫基或喹啉基；

[0020] 其中各杂芳基可以被一个或两个取代基取代，各取代基独立地选自卤素、氰基、C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-4</sub>烷氧基、C<sub>1-4</sub>烷基羰基或苯基；

[0021] 或其药学上可接受的一种酸加成盐。

[0022] 如前述定义中所使用的：

[0023] -卤素是氟、氯、溴和碘的通称；

[0024] -C<sub>1-4</sub>烷基定义了具有1至4个碳原子的直链和支链饱和烃基，例如像，甲基、乙基、丙基、丁基、1-甲基乙基、2-甲基丙基等等；

[0025] -C<sub>1-6</sub>烷基意为包括C<sub>1-4</sub>烷基及其具有5或6个碳原子的更高级的同系物，例如像，2-甲基丁基、戊基、己基等等；

[0026] -多卤代C<sub>1-4</sub>烷基定义为经2至6个卤素原子取代的多卤素取代的C<sub>1-4</sub>烷基(如上文所定义的)，如二氟甲基、三氟甲基、三氟乙基等。

[0027] 如在本说明书中所用的，每当使用术语“具有化学式(I)的化合物”时，它意味着还包括具有化学式(I)的化合物能够形成的药学加成盐，以及具有化学式(I)的化合物或具有化学式(I)的化合物的药学上可接受的酸加成盐能够形成的溶剂化物。

[0028] “具有化学式(I)的化合物”的定义固有地包括具有化学式(I)的化合物的所有立体异构体，或者作为一种纯立体异构体或者作为两种或更多种立体异构体的混合物。对映异构体是彼此不能重叠的镜像的立体异构体。一对对映异构体的1:1混合物是一种外消旋体或外消旋混合物。非对映体(或非对映异构体)为不是对映异构体的立体异构体，即它们不是镜像相关的。如果化合物含有二取代的环烷基基团，这些取代基可以是顺式的或反式的构型。因此，本发明包括对映异构体、非对映体、外消旋体、顺式异构体、反式异构体以及它们的混合物。

[0029] 根据Cahn-Ingold-Prelog系统来指定绝对构型。由R或S来指定在一个不对称原子上的构型。具有未知的绝对构型的拆分化合物可通过(+)或(-)来指定，取决于它们的旋转平面偏振光的方向。当一个特定的立体异构体被鉴定时，这意味着所述立体异构体是基本

上不含其他异构体,即与少于50%、优选少于20%、更优选少于10%、甚至更优选少于5%、特别是少于2%、并且最优选少于1%的其他异构体相关联。因此,当具有化学式(I)的化合物例如被指定为(R)时,这是指该化合物基本上不含(S)异构体;当具有化学式(I)的化合物例如被指定为E时,这是指该化合物基本上不含Z异构体;当具有化学式(I)的化合物例如被指定为顺式时,这是指该化合物基本上不含反式异构体。

[0030] 在上文或下文中的术语“立体异构体”或“立体化学异构形式”是可互换使用的。

[0031] 在使用熟知的方法(例如像X射线衍射)时,本领域的普通技术人员可以容易地确定具有化学式(I)的化合物的以及在它们的制备中使用的中间体的绝对立体化学构型。

[0032] 一些具有化学式(I)的化合物也可以按它们的互变异构形式存在。虽然没有在上述化学式中明确指出此类形式,这类形式旨在被包括在本发明的范围之内。

[0033] 此外,一些具有化学式(I)的化合物以及一些用于制备它们的中间体可以展现多晶性。应当理解,本发明包括具有可用于上文所指出的病症的治疗中的特性的任何多晶型形式。

[0034] 如在上文提及的药学上可接受的酸加成盐意为包括具有化学式(I)的化合物能够形成的治疗活性的无毒酸加成盐形式。这些药学上可接受的酸加成盐可以方便地通过用这种适当的酸来处理碱形式来获得。适当的酸包括,例如,无机酸,如氢卤酸(如盐酸或氢溴酸)、硫酸、硝酸、磷酸等酸类;或有机酸,例如像乙酸、丙酸、羟基乙酸、乳酸、丙酮酸、草酸(即乙二酸)、丙二酸、琥珀酸(即丁二酸)、马来酸、富马酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、甲磺酸、乙磺酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、环己烷氨基磺酸、水杨酸、对氨基水杨酸、双羟萘酸等酸类。

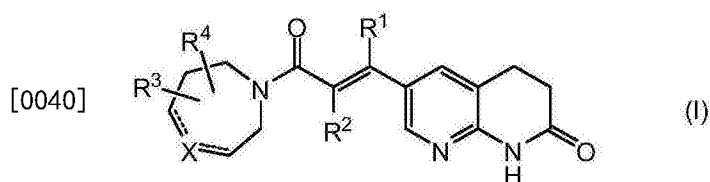
[0035] 相反地,所述盐形式可以通过用适当的碱处理而转化为游离碱形式。

[0036] 具有化学式(I)的化合物可以按未溶解形式和溶解形式存在。在此所用的术语“溶剂化物”描述了包括本发明的化合物以及一种或多种药学上可接受的溶剂分子的(如水或乙醇)的分子缔合物。当所述溶剂是水时,使用术语“水合物”。

[0037] 术语“FabI”是本领域公认的,并且指的是被认为在细菌脂肪酸生物合成的每一轮中所涉及的四个反应的最后步骤中起烯酰-酰基载体蛋白(ACP)还原酶作用的细菌酶。这种酶被认为是广泛分布在细菌中的。

[0038] 可以提及的具有化学式(I)的化合物包括下述化合物,其中:

[0039] (i)  $Z_1$ 表示CH,并且由此具有化学式I的化合物表示如下:



[0041] 其中

[0042] (ii) 当 $R^1$ 或 $R^2$ 代表卤素时,那么它们优选是F或Cl;

[0043] (iii)  $R^1$ 表示氢或 $C_{1-4}$ 烷基;和/或

[0044] (iv)  $R^2$ 表示氢或 $C_{1-4}$ 烷基。

[0045] 感兴趣的具有化学式(I)的化合物是适用一个或多个下述限制的具有化学式(I)的那些化合物:

[0046] a)  $R^1$ 和 $R^2$ 表示氢;或者

[0047] b)  $R^3$ 表示氢;或者

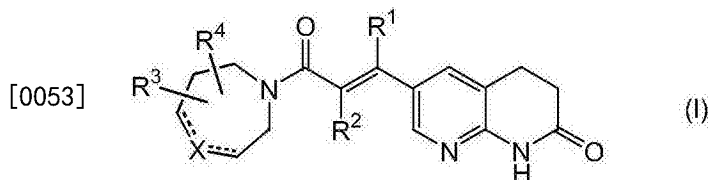
[0048] c)  $R^3$ 表示 $C_{1-4}$ 烷基或卤素;或者

[0049] d)  $R^4$ 表示卤素、芳基、杂芳基或经芳基取代的 $C_{1-4}$ 烷基;或者


[0050] e)  $R^3$ 和 $R^4$ 位于相邻的位置上,并且一起形成具有化学式 $=CH-CH=CH-CH=$ 的基团,其条件是X表示碳,并且两个 $\equiv$ 键表示单键;并且

[0051] f) 杂芳基为苯硫基、吡咯基、噻唑基或三唑基。

[0052] 第一组化合物是具有化学式(I)的化合物



[0054] 其中

[0055]  表示一个基团,其中这两个 $\equiv$ 键中只有一个表示单键或双键,并且另一个 $\equiv$ 键则表示单键;

[0056] X表示碳或氮,并且当X表示氮时,这两个 $\equiv$ 键则均表示单键;

[0057]  $R^1$ 是氢;

[0058]  $R^2$ 是氢;

[0059]  $R^3$ 是氢、 $C_{1-6}$ 烷基或卤素;

[0060]  $R^4$ 是卤素、芳基、杂芳基或经芳基取代的 $C_{1-6}$ 烷基;

[0061] 并且当取代基 $R^3$ 和 $R^4$ 位于相邻的位置上时,所述 $R^3$ 和 $R^4$ 可以一起形成具有化学式 $=CH-CH=CH-CH=$ 的基团,其条件是X表示碳,并且两个 $\equiv$ 键表示单键;

[0062] 芳基是苯基;经一个、两个或三个取代基取代的苯基,各取代基单独地选自卤素、 $C_{1-4}$ 烷基、多卤代 $C_{1-4}$ 烷基、 $C_{1-4}$ 烷氧基以及多卤代 $C_{1-4}$ 烷氧基;

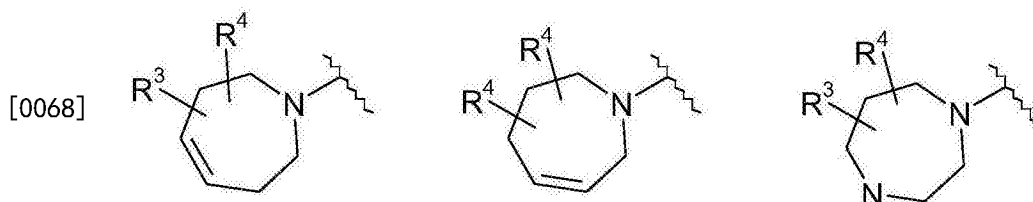
[0063] 杂芳基是苯硫基、吡咯基、噻唑基或三唑基;

[0064] 或其药学上可接受的一种酸加成盐。

[0065] 可以提到的具有化学式(I)的化合物包括那些化合物,其中X表示C,两个 $\equiv$ 键表示单键,并且 $R^3$ 和 $R^4$ 存在并位于相邻的位置上,并且一起形成具有化学式 $=CH-CH=CH-CH=$ 的基团。然而,特别优选的具有化学式(I)的化合物包括那些化合物,其中:

[0066] X表示C,并且两个 $\equiv$ 键中的一个表示双键(并且另一个表示单键);或者

[0067] X表示N(在这种情况下,两个 $\equiv$ 键均表示单键),并且由此特别优选下述的含X的环:



[0069] 在这个例子中,优选的是相邻的 $R^3$ 和 $R^4$ 基团不会一起形成一个基团。

[0070] 在具有化学式(I)的化合物中,优选的是:

[0071] (i) 存在至少一个不表示氢的 $R^3$ 或 $R^4$ 取代基;

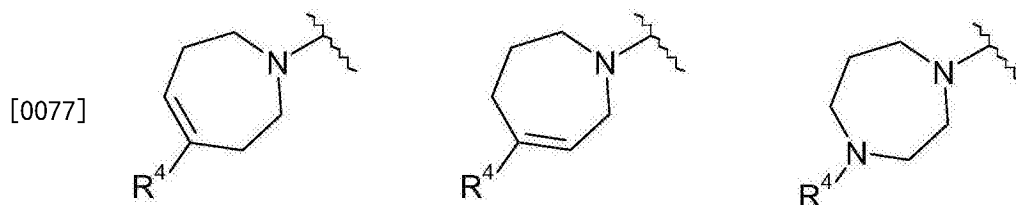
[0072] (ii)  $R^3$ 和 $R^4$ 中的一个(例如 $R^3$ )表示氢、卤素、 $C_{1-3}$ 烷基或羟基,并且 $R^3$ 和 $R^4$ 中的另一个(例如 $R^4$ )表示一个除氢之外的取代基;

[0073] (iii)  $R^3$ 表示氢、 $C_{1-4}$ 烷基(例如甲基)或卤素(例如氟),并且最优选地表示氢(即 $R^3$ 本质上是不存在的);

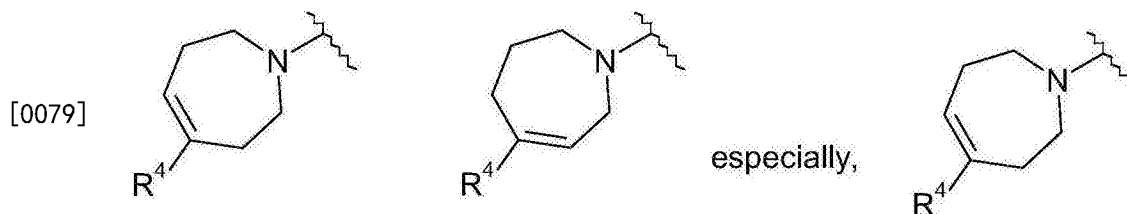
[0074] (iv)  $R^4$ 表示一个除氢以外的取代基(即存在的并且不表示氢的 $R^4$ 取代基);

[0075] (v)  $R^4$ 表示一个除氢以外的附接至X上的取代基,

[0076] 其中上述的任何项可以合在一起或组合。例如,(iii)、(iv)和/或(v)可以组合来提供下述的特别优选的具有化学式(I)的化合物:



[0078] 其中 $R^4$ 表示一个除氢以外的取代基。在具有化学式(I)的化合物中最优选的含X的环是:



[0080] 其中 $R^4$ 表示一个除氢以外的取代基。 $R^4$ (在这里以及其他地方)可表示的特别优选的取代基包括:

[0081] (i) 可任选经取代的芳基;

[0082] (ii) 可任选经取代的杂芳基;

[0083] (iii) 被芳基或杂芳基取代的 $C_{1-6}$ 烷基(后面的两个芳基和杂芳基基团是如在此所定义的其自身可任选经取代的基团)。

[0084] 特别优选的是 $R^4$ 基团含有芳族部分,并且因此上述(i)、(ii)和(iii)是特别优选的。

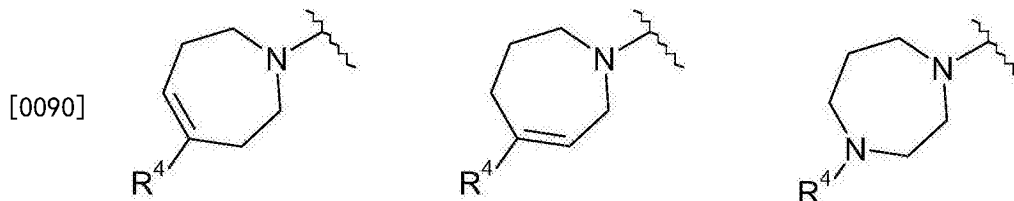
[0085] 在 $R^4$ 表示上述的(i)时的情况下,该芳基基团则优选是苯基,该基团可以是未经取代的或者是经一个或两个(例如一个)选自以下项的取代基取代的:卤素(例如氯、氟)、 $C_{1-4}$ 烷基(例如甲基)、多卤代 $C_{1-4}$ 烷基(例如 $-CF_3$ )、 $C_{1-4}$ 烷氧基(例如 $-OCH_3$ )、多卤代 $C_{1-4}$ 烷氧基(例如 $-OCF_3$ )。

[0086] 在 $R^4$ 表示上述的(ii)时的情况下,该杂芳基基团则优选是包含一至四个杂原子(例如一个或两个杂原子)的单环5元或6元环,这样形成了例如噻唑基(例如2-噻唑基)、噻吩基(例如2-噻吩基)、吡唑基(例如1-或2-吡唑基)、三唑基(例如1,2,3-三唑-1-基)或吡咯基(例如1-吡咯基)。

[0087] 在 $R^4$ 表示上述的(iii)的情况下,该 $C_{1-6}$ 烷基基团则优选是甲基,即 $-CH_3$ ,该烷基部分是被芳基(例如苯基,如未经取代的苯基)取代的。

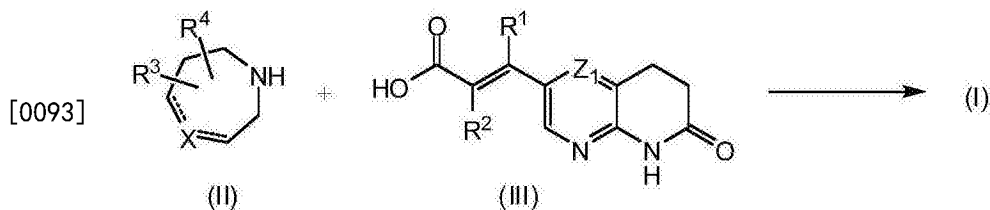
[0088] 最优选地,该 $R^4$ 基团表示上述的(i)或(ii),即芳基或杂芳基。甚至更优选地,该 $R^4$ 基团表示上述的(i),尤其是未经取代的苯基。

[0089] 如上文所述的,以下含X的环是特别优选的:



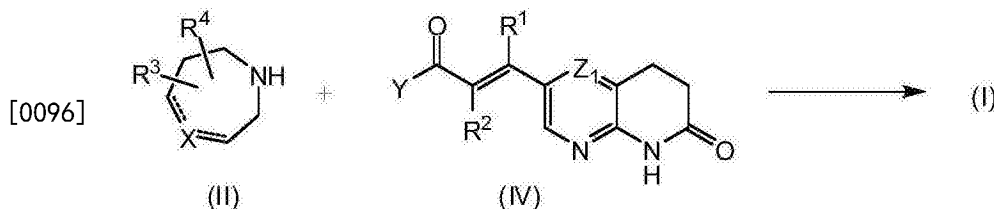
[0091] 并且特别是其中 $R^4$ 是如上所定义的那些。此类含有与双键相邻的N( $R^4$ )部分或C( $R^4$ )部分的化合物可以是有益的。这是因为氮原子的形状(例如,与不和双键相邻的CR $^4$ 部分相比,在本质上是更平面的),或在含有X的环中的双键的存在可有助于使 $R^4$ 基团(如果存在的话)定向,这样使得整个化合物(例如,鉴于 $R^4$ 取代基的取向)展示更好的/改进的与FabI细菌酶的结合特性。因此,在双键的存在可导致对FabI酶的改进的结合/抑制的意义上,本发明的这些化合物可以是有利的。因此,凭借这些可以相应地导致更好的效力、功效等的特性,本发明的化合物可以是有利的化合物(如与已知的化合物相比)。

[0092] 大体上可以通过使具有化学式(II)的中间体与具有化学式(III)的中间体在至少一种反应惰性溶剂中,并且可任选地在至少一种合适的偶联剂和/或一种合适的碱的存在下,发生反应来制备具有化学式(I)的化合物,所述方法进一步可任选地包括将具有化学式(I)的化合物转化成其加成盐,和/或制备其立体化学异构形式。



[0094] 可以方便地通过添加有效量的反应促进剂来活化具有化学式(III)的羧酸。此类反应促进剂的非限制性实例包括羰基二咪唑、N,N'-二环己基碳二亚胺或1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺、羟基苯并三唑、苯并三唑基-氧基三(二甲氨基)-磷六氟磷酸盐、四吡咯烷基-磷六氟磷酸盐、溴代三吡咯烷基磷六氟磷酸盐、或它们的功能衍生物。

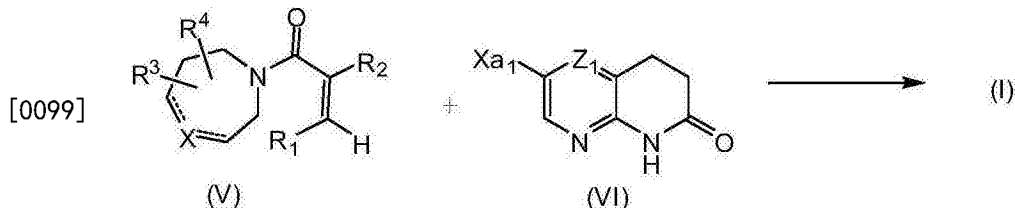
[0095] 还可以通过使具有化学式(II)的中间体与具有化学式(IV)(其中Y表示羟基或卤素)的中间体发生反应来制备具有化学式(I)的化合物。该反应可在反应惰性溶剂(例如像二氯甲烷或二甲基甲酰胺)中、并且可任选地在合适的碱(例如像二异丙基乙基胺(DIPEA))的存在下进行。



[0097] 起始材料和一些中间体是已知的化合物,并且是可商购的或可根据本领域所公知的常规反应程序来制备。

[0098] 还可以在适宜的反应条件下,例如在金属催化剂偶联反应条件下(例如贵金属偶联反应条件,其中该贵金属是例如基于钯的),特别是在赫克反应条件下,优选采用钯基催化剂,如乙酸钯、四(三苯基膦)合钯(0)、双(三苯基膦)合钯(II)二氯化物、[1,1'-双(二苯

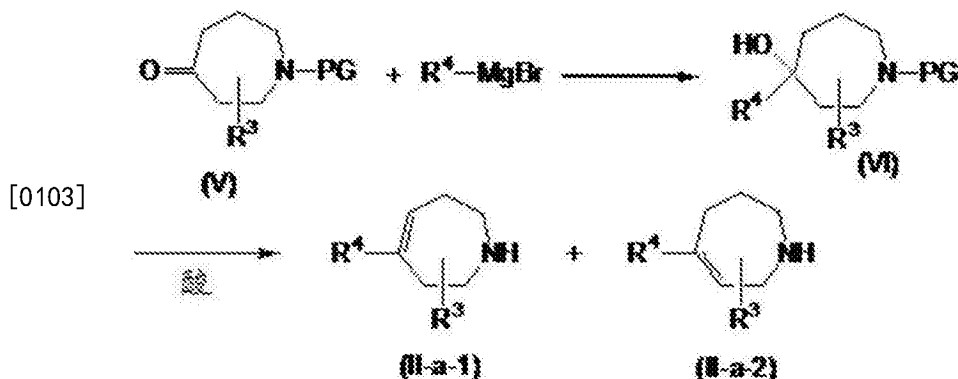
基膦基)二茂铁]钯(II)二氯化物或类似物(优选地,该催化剂是乙酸钯),例如可任选地在合适的溶剂(如乙腈或类似物)、碱(如胺碱,例如N,N-二异丙胺或类似物)、以及配体(如三苯基膦、三-邻甲苯基膦或类似物)的存在下,通过使具有化学式(V)的中间体与具有化学式(VI)(其中, $X_{a1}$ 表示合适的离去基团,如合适的卤素基团(例如氯、碘、以及尤其是溴),并且其他整体是如上文定义的)的中间体发生反应来制备具有化学式(I)的化合物。



[0100] 该反应可以在密封管中和/或在微波炉中进行。

[0101] 起始材料和一些中间体是已知的化合物,并且是可商购的或可以根据本领域所公知的常规反应程序来制备。

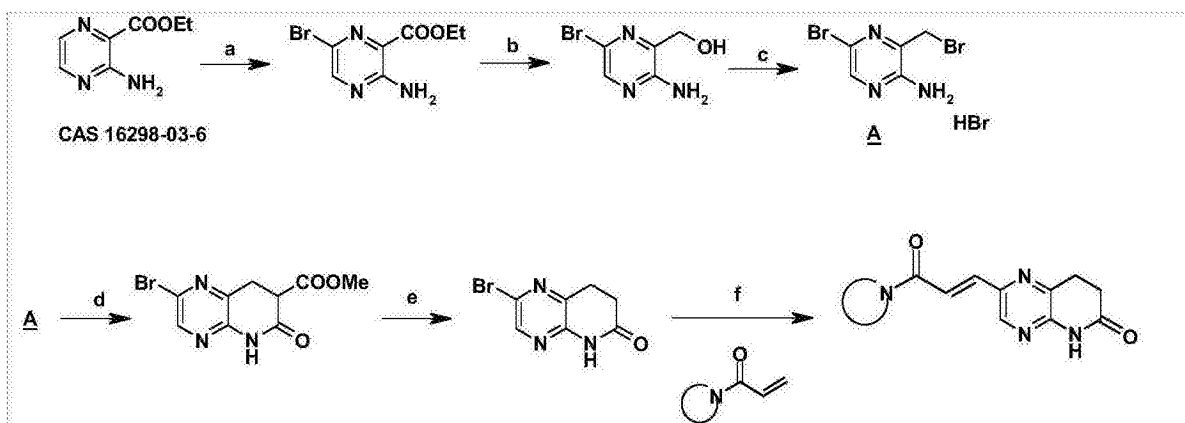
[0102] 可以根据下述的一般反应方案来制备具有化学式(II-a)的中间体,如具有化学式(II)的中间体所定义的,其中X表示碳,并且 $R^4$ 位于高哌啶基环的4-位上。



[0104] 在以上反应方案中,中间体(V)和(VI)中的基团PG是一个氮保护基团,例如像叔丁氧羰基,该基团可以容易地在酸性条件下除去。可以使用本领域已知的有机金属反应例如格利雅反应,获得有机镁试剂 $R^4-MgBr$ 。

[0105] 对于这些其中 $Z_1$ 表示CH的化合物,中间体(IV)和(VI)可以如在此所述的来制备,或根据本领域公知的常规反应程序来制备。对于这些相应的其中 $Z_1$ 表示N的中间体,这也可以是这种情况。然而,此类化合物还可以按照以下方案进行制备:

[0106]



[0107] 条件:

[0108] a) NBS, ACN, 回流, 3h, 70%; b) 在THF中的LiAlH<sub>4</sub>1M, THF, 5°C至RT, o.n., 20%; c) PBr<sub>3</sub>, DCM, RT, o.n., 90%; f) 丙二酸二甲酯, 在MeOH中的NaOMe, MeOH, RT, o.n., 25%; g) NaOH, MeOH, 回流, 4h, HCl, 回流, o.n.; h) DIEA, Pd(OAc)<sub>2</sub>, 三-邻甲苯基膦, ACN, DMF,  $\mu$ w, 180°C, 25min。

[0109] 如在上文描述的方法中制备的具有化学式(I)的化合物可以是对映异构体的外消旋混合物的形式合成的, 这些对映异构体可以按照本领域已知的拆分方法与彼此分离。那些以外消旋形式获得的具有化学式(I)的化合物可以通过与合适的手性酸发生反应而转化成相应的非对映异构体盐的形式。随后例如通过选择性或分级结晶将所述的非对映异构体盐的形式进行分离, 并且通过碱将这些对映异构体从中释放出来。将具有化学式(I)的化合物的对映异构体形式进行分离的可替代的方式涉及使用了手性固定相的液相色谱法。所述的纯立体化学异构形式还可以从适当的起始材料的相应的纯立体化学异构形式衍生而来, 其条件是该反应是立体专一性地发生。优选地, 如果希望一个特定的立体异构体, 所述化合物将通过立体专一制备方法而合成。这些方法将有利地使用对映异构体纯的起始材料。

[0110] 在此所述的化合物是FabI酶的抑制剂, 如在药理学实例1中所证实的。鉴于这些对FabI酶的抑制特性, 在此所述的化合物对于治疗细菌感染是有用的。例如, 这些化合物可用于治疗细菌感染, 例如像上呼吸道感染(例如中耳炎、细菌性气管炎、急性会厌炎、甲状腺炎)、下呼吸道感染(例如、脓胸、肺脓肿)、心脏感染(例如感染性心内膜炎)、胃肠感染(例如分泌性腹泻、脾脓肿、腹膜后脓肿)、CNS(例如脑脓肿)、眼部感染(例如眼睑炎、结膜炎、角膜炎、眼内炎、前蜂窝和眼眶蜂窝织炎、泪囊炎)、肾和泌尿道感染(例如附睾炎、肾内和肾周脓肿、中毒性休克综合征)、皮肤感染(如脓疱疮、毛囊炎、皮肤脓肿、蜂窝组织炎、伤口感染、细菌性肌炎)以及骨关节感染(如化脓性关节炎、骨髓炎)。此外, 与已知的抗生素组合的这些化合物可以是有用的。

[0111] 因此, 本发明还涉及用作一种药物的具有化学式(I)的化合物, 该药物尤其用于治疗细菌感染、特别是由表达FabI酶的细菌所引起的细菌感染。随后, 本发明的化合物可以用于制造一种用以治疗细菌感染、尤其是由表达FabI酶的细菌所引起的细菌感染的药物。

[0112] 此外, 本发明提供了一种治疗细菌感染的方法, 该方法包括向有需要的受试者给予一种具有化学式(I)的抑制FabI酶的化合物。

[0113] 需要治疗的受试者具有细菌感染或者已经暴露于传染性细菌, 其症状可以通过给予治疗有效量的本发明的化合物来减轻。例如, 需要治疗的受试者可以具有感染, 可以给予具有化学式(I)的化合物作为对这种感染的治疗。在另一个实例中, 需要治疗的受试者可以具有开放性伤口或烧伤, 可以给予具有化学式(I)的化合物作为对这种开放性伤口或烧伤的预防。典型地, 将对受试者的存在的细菌感染进行治疗。

[0114] 受试者可以具有由以下细菌引起的细菌感染: 炭疽杆菌、柠檬酸杆菌属、大肠杆菌、土拉弗朗西斯菌、流感嗜血杆菌、单核细胞增多性李斯特氏菌、卡他莫拉菌、结核分枝杆菌、脑膜炎奈瑟菌、奇异变形杆菌、普通变形杆菌、沙门氏菌属、沙雷氏菌属、志贺氏菌属、嗜麦芽寡养单胞菌、金黄色葡萄球菌或表皮葡萄球菌。优选地, 对该受试者治疗(预防性或治疗性地)由表达FabI酶的细菌所引起的细菌感染。

[0115] 术语“治疗(treating)”和“治疗(treatment)”,如在此使用的,是指治愈性、缓和性以及预防性的治疗,包括逆转、减轻、抑制进展,或预防该术语适用的疾病、失调或病症或者这种疾病、失调或病症的一种或多种症状。

[0116] 本发明的化合物的“治疗有效量”是指当给予需要治疗的受试者时,改进受试者的预后(例如延迟与细菌感染相关的一种或多种受试者症状的发作和/或降低其严重性)的量。有待给予受试者这种披露的化合物的量将取决于具体的疾病、给药方式以及受试者的特征,如总体健康、其他疾病、年龄、性别、基因型、体重以及药物耐受性。本领域普通技术人员将能够取决于这些以及其他因素确定适当的剂量。

[0117] 可以在几种生物测定法的一种测定中对这些化合物进行测试,以确定具有给定药理作用所需要的化合物浓度。

[0118] 此外,本发明提供了药物组合物,这些药物组合物包括至少一种药学上可接受的载体以及治疗有效量的具有化学式(I)的化合物。

[0119] 为了制备本发明的药物组合物,将有效量的处于碱或酸加成盐形式的、作为活性成分的特定化合物与至少一种药学上可接受的载体组合成紧密混合物,其中该载体取决于所希望的用于给药的制剂形式可以采取多种多样的形式。这些药物组合物希望是处于单位剂型,优选适用于口服给药、直肠给药、经皮给药或肠胃外注射。

[0120] 例如,在制备处于口服剂型的这些组合物中,在口服液体制剂如悬浮液、糖浆剂、酏剂以及溶液的情况下,可以使用任何常用的液体药物载体,例如像水、二醇类、油类、醇类等;或者如在粉剂、丸剂、胶囊和片剂的情况下,使用固体药物载体,例如淀粉、糖、高岭土、润滑剂、粘合剂、崩解剂等。因为易于给药,片剂和胶囊代表最有利的口服剂量单位形式,在这种情况下,显然使用固体药物载体。对于肠胃外注射组合物,药物载体将主要包括无菌水,但可以包括其他成分来用于改进活性成分的溶解性。可注射溶液可以例如通过使用一种包括盐溶液、葡萄糖溶液或两者的混合物的药物载体来制备。还可使用适当的液体载体、悬浮剂等来制备可注射悬浮液。在适用于经皮给药的组合物中,药物载体可以可任选地包括渗透增强剂和/或合适的润湿剂,可任选地与小比例的不会对皮肤造成显著有害影响的合适的添加剂组合。可以选择所述添加剂以便促进活性成分的皮肤给药和/或有助于制备所希望的组合物。这些局部用组合物可以按多种方式给予,例如作为透皮贴剂,点涂剂或软膏。由于具有化学式(I)的化合物的加成盐与相应的碱形式相比有增加的水溶性,显然更适用在水性组合物的制备中。

[0121] 这点对于配制处于便于易于给药和剂量均匀的剂量单位形式的本发明的药物组合物是尤其有利的。如在此所用的“剂量单位形式”是指适用于作为单位剂量的物理离散单位,每个单位含有经计算可以与所需的药物载体结合来产生希望的治疗效果的预定量的活性成分。此类剂量单位形式的实例是片剂(包括刻痕片或包衣片)、胶囊、丸剂、粉包、圆片、可注射溶液或悬浮液、一茶匙量或一汤匙量等等计,以及它们的分隔的多重体。

[0122] 对于口服给药,本发明的药物组合物可以采取固体剂型的形式,例如片剂(可吞咽及可咀嚼的形式)、胶囊或软胶囊,它们是由常规手段制得的,采用药学上可接受的赋形剂和载体,如结合剂(如预胶化玉米淀粉、聚乙烯吡咯烷酮、羟丙基甲基纤维素等)、填料(如乳糖、微晶纤维素、磷酸钙等)、润滑剂(如硬脂酸镁、滑石粉、二氧化硅等)、崩解剂(如马铃薯淀粉、淀粉乙醇酸钠等)、润湿剂(如十二烷基硫酸钠)等。此类片剂还可通过本领域熟知的

方法来进行包衣。

[0123] 用于口服给药的液体制剂可以采取例如溶液、糖浆或悬浮液的形式,或其可以被配制成一种在使用前与水和/或其他合适的液体载体混合的干产品。此类液体制剂可以通过常规手段来制备,可任选地使用其他药学上可接受的添加剂,如悬浮剂(如山梨醇糖浆、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素或氢化食用脂肪)、乳化剂(如卵磷脂或阿拉伯胶)、非水性载体(例如杏仁油、油酯或乙醇)、甜味剂、调味剂、掩蔽剂以及防腐剂(如对羟基苯甲酸甲酯或丙酯或山梨酸)。

[0124] 在本发明的药物组合物中有用的药学上可接受的甜味剂优选包括至少一种强力甜味剂,如阿斯巴甜、乙酰磺胺酸钾、环己氨基磺酸钠、阿力甜、二氢查耳酮甜味剂、莫内林、甜菊苷三氯蔗糖(4,1',6'-三氯-4,1',6'-三脱氧半乳糖)或优选的是糖精、糖精钠或钙、以及可任选的至少一种填充型甜味剂,如山梨糖醇、甘露糖醇、果糖、蔗糖、麦芽糖、异麦芽糖、葡萄糖、氢化葡萄糖糖浆、木糖醇、焦糖或蜂蜜。强力甜味剂在低浓度时便于使用。例如,在糖精钠的情况下,所述浓度的范围可以从最终制剂的约0.04%至0.1%(重量/体积)。该填充型甜味剂可以在较大的以下浓度范围内有效地使用:从约10%至约35%,优选从约10%至15%(重量/体积)。

[0125] 可以掩盖在低剂量制剂中的苦味成分的药学上可接受的调味剂优选是果味调味剂,如樱桃、覆盆子、黑醋栗或草莓调味剂。两种调味剂的组合可以产生非常好的效果。在高剂量制剂中,可以需要较强的药学上可接受的调味剂,如焦糖巧克力、冰薄荷、迷幻剂(Fantasy)等等。每种调味剂可以按范围为从约0.05%至1%(重量/体积)的浓度存在于最终组合物中。可有利地使用所述强调味剂的组合。优选地,使用在配制品的环境下不会出现任何味道和/或颜色的改变或丢失的调味剂。

[0126] 可以将具有化学式(I)的化合物配制成用于通过注射(方便地在静脉内、肌内或皮下注射)的肠胃外给药,例如通过静脉快速推注或连续静脉滴注。用于注射的配制品可以按单位剂型呈现,例如在安瓿或多剂量容器中,包括添加的防腐剂。它们可以采取此类形式,如悬浮液、溶液或在油性或水性媒介物中的乳剂,并且可以包含配制剂,如等渗剂、悬浮剂、稳定剂和/或分散剂。可替代地,活性成分可以在使用前处于粉末形式以便与合适的媒介物(例如无菌无热原的水)混合。

[0127] 具有化学式(I)的化合物还可以被配制成直肠用组合物(如栓剂或保留灌肠剂),例如包含常规的栓剂基质(诸如可可脂和/或其他甘油酯)。

[0128] 在对与FabI酶的抑制有关的抗菌性疾病的治疗熟练的技术人员会很容易地从下文呈现的测试结果中确定具有化学式(I)的化合物的治疗有效量。一般来说,预期的是,治疗有效剂量将是约0.001mg/kg至约50mg/kg体重,更优选是从约0.01mg/kg至约10mg/kg有待治疗的患者的体重。可以适当地将治疗有效剂量以两个或更多个子剂量以适当的间隔在一天内给药。所述子剂量可以被配制成单位剂型,例如每个单位剂型含有的活性成分是从约0.1mg至约1000mg,更特别地是从约1至约500mg。

[0129] 给药的确切剂量以及频率取决于所用的具体的具有化学式(I)的化合物、所治疗的具体病症、被治疗的病症的严重性、具体患者的年龄、体重和总体身体状况以及该患者可能服用的其他药物,如本领域的普通技术人员所熟知的。此外,所述“治疗有效量”可被降低或增加,这取决于接受治疗的患者的反应和/或取决于开出本发明的化合物的医生的评估。

因此,上文提及的有效日剂量范围仅具有指导意义。

[0130] 具有化学式(I)的化合物可以具有的优点是,与现有技术中已知的化合物相比,它们更有效、毒性更小、作用时间更长、更有力、产生的副作用更少、更易于吸收、和/或具有更好的药代动力学特性(例如,更高的口服生物利用度和/或更低的清除率),和/或具有其他有用的药理学、物理或化学特性,无论是否用于上述的适应症。

[0131] 例如,具有化学式(I)的化合物可以具有的优点是它们具有良好的或改进的热力学溶解度(例如,与现有技术中已知的化合物相比;并且例如,如通过一种已知的方法和/或在此所述的方法所确定的)。具有化学式(I)的化合物还具有的优点是它们具有广谱的抗菌活性(例如与现有技术中已知的化合物相比具有更广谱的抗菌活性;并且例如,如通过一种已知的测试和/或在此所述的测试所确定的)。具有化学式(I)的化合物还可以具有的优点是,它们具有良好的或改进的体内药代动力学和口服生物利用度。它们还可以具有的优点是,它们具有良好的或改进的体内效力。例如,本发明的化合物可以适应于静脉内配制品/给药,并且因此当在静脉内给药时可以展现出改进的体内效力。

[0132] 具有化学式(I)的化合物可以出人意料地具有上述优点,或者与现有技术中已知的化合物相比是出人意料的。特别地,出人意料的是,具有化学式(I)的化合物由于相对较大的7元含X的环的存在而具有有利的或甚至可比的特性。另外,具体的具有化学式(I)的化合物可以展现出另外的此类优点(例如上文所述的那些),例如其中含X的环包含NR<sup>4</sup>的化合物,并且尤其是该环包含与双键相邻的CR<sup>4</sup>部分(例如,其中X是CR<sup>4</sup>)的那些化合物。任何这些另外的有利特性可以归因于与双键相邻的NR<sup>4</sup>或CR<sup>4</sup>部分的存在。

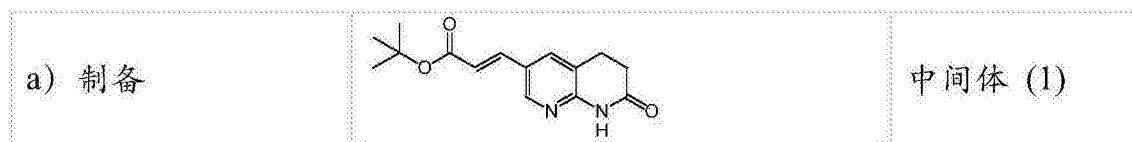
## 具体实施方式

[0133] “DMF”被定义为N,N-二甲基甲酰胺,“DCM”或“CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>”被定义为二氯甲烷,“MeOH”被定义为甲醇,“EtOH”被定义为乙醇,“MgSO<sub>4</sub>”被定义为硫酸镁,并且“THF”被定义为四氢呋喃;HATU是1-[双(二甲氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶盐3-氧化物六氟磷酸盐;AcOEt或EtOAc是乙酸乙酯;DIPEA是二异丙基乙胺;EDCI被定义为N’(乙基碳亚胺基)N,N-二甲基-1,3-丙烷-二胺单盐酸盐;HOBT是指1-羟基-1H-苯并三唑;K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>是指碳酸钾;NH<sub>4</sub>OH被定义为氢氧化铵;NH<sub>4</sub>Cl被定义为氯化铵;N<sub>2</sub>是氮气;并且TFA是指三氟乙酸。

[0134] A. 中间体的合成

[0135] 实例A.1

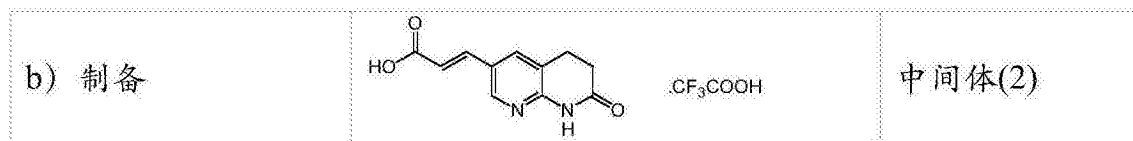
[0136]



[0137] 将6-溴-3,4-二氢-1H-[1,8]萘啶-2-酮(1.0g,4.4mmol)、丙烯酸叔丁酯(2.56ml,17.62mmol)和N,N-二异丙基乙胺(1.46ml,8.81mmol)于乙腈(20ml)和DMF(7ml)中的溶液进行搅拌,并且用氮气脱气10分钟。添加三-邻甲苯基膦(0.27g,0.88mmol)和乙酸钡(II)(钡含量47%)(0.099g,0.44mol),并将所得的混合物用微波处理(1600W,180°C,35分钟)。将反应混合物蒸发至干,放在DCM/甲醇(8/2)(50ml)中,通过硅藻土短垫过滤,并且用DCM洗涤。将有机层用水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并且蒸发至干。将残余物放在冷乙醇(10ml)中,在5

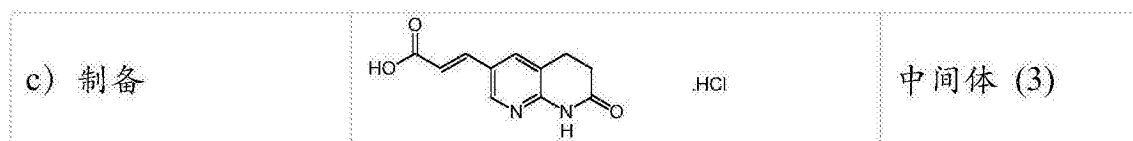
℃下搅拌5分钟,将沉淀物滤出,用冷乙醇(3ml)洗涤,并且在真空下干燥,得到950mg中间体(1)。

[0138]



[0139] 将中间体(1)(4.1g, 14.95mmol)溶解在三氟乙酸(23.2ml)于DCM(41ml)中的混合物中。在室温下将该反应搅拌30分钟。将该反应混合物在减压下进行浓缩。将得到的固体用二乙醚研磨,滤出并在真空下干燥,得到3.97g中间体(2)。

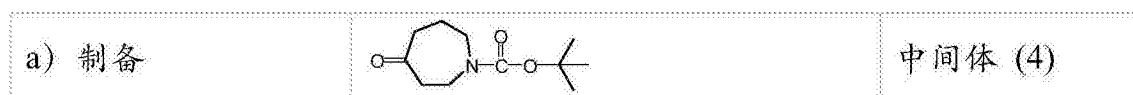
[0140]



[0141] 在HCl于二噁烷(4M, 48ml)中的混合物中研磨中间体(2)过夜,将固体滤出,用二乙醚洗涤,并且在真空下干燥,给出3.7g中间体(3)。

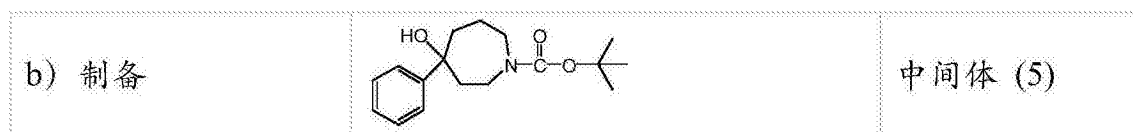
[0142] 实例A.2

[0143]



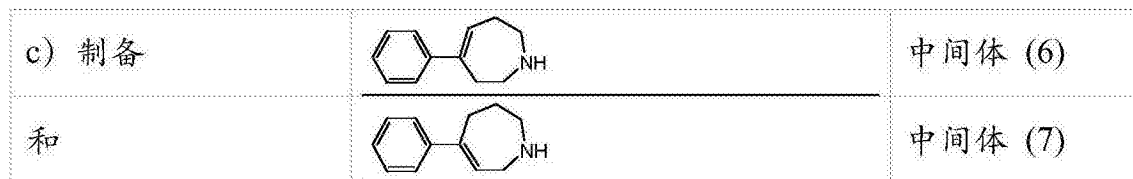
[0144] 将N-苄基六氢氮杂卓-4-酮盐酸盐(25.0g, 104.3mmol)、二碳酸二叔丁酯(25.0g, 114.7mmol)和Pearlman催化剂(4.46g, 31.3mmol)于EtOAc(550ml)和三乙胺(17.4ml, 125.13mmol)中的混合物在在帕尔(Parr)振荡器中在室温下氢化过夜。将反应混合物通过硅藻土®短垫过滤,用EtOAc洗涤滤饼,将滤液用水洗涤,然后用盐水洗涤,干燥(MgSO<sub>4</sub>)并蒸发至干,给出23.4g中间体(4)。

[0145]



[0146] 在N<sub>2</sub>下反应。在0℃,将氯化苯镁(93.8ml, 169mmol)逐滴添加至中间体(4)(30g, 141mmol)于THF(300ml)中的溶液中,然后将混合物在5℃搅拌3小时,添加NH<sub>4</sub>Cl的10%水溶液和EtOAc,分离有机层,用水和盐水洗涤,干燥(MgSO<sub>4</sub>)并蒸发至干,给出39.2g中间体(5)。

[0147]

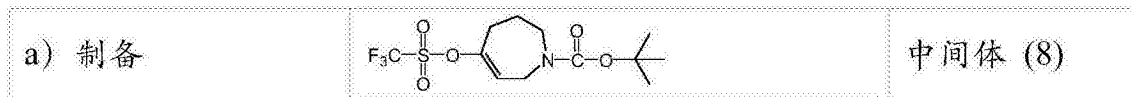


[0148] 将中间体(5)(38.85g, 133.3mmol)于HCl(在水中35%, 200ml)中的溶液在室温下搅拌1小时。将反应混合物倾倒入碎冰中,并且将K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>固体分部分加入(直至pH=9-10),然

后将其用DCM萃取两次。收集有机层,用水洗涤,干燥(MgSO<sub>4</sub>)并蒸发至干。将残余物用制备型液相色谱法纯化(硅胶20-45 $\mu$ m,1000g,流动相(1%NH<sub>4</sub>OH,93%DCM,7%MeOH))。收集纯的部分并蒸发溶剂,产生中间体(6)和中间体(7)。

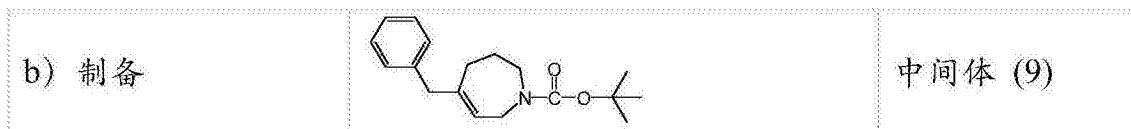
[0149] 实例A.3

[0150]



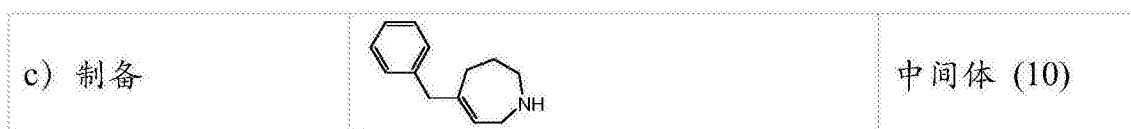
[0151] 在N<sub>2</sub>下反应。在-20℃,将在己烷中的1.6M正丁基锂(6.35ml,9.31mmol)逐滴添加至二异丙基胺(1.43ml,10.2mmol)于THF(15ml)中的溶液中,然后将混合物在-20℃下搅拌20分钟。然后在-78℃下添加中间体(4)(1.9g,8.46mmol)于THF(20ml)中的溶液,并且将所得的混合物在-78℃下搅拌30分钟。在78℃下加入2-[N,N-双(三氟甲基磺酰基)-氨基]-5-氯吡啶(3.8g,9.31mmol)于THF(10ml)中的溶液,然后允许混合物达到室温,并且搅拌过夜并浓缩。将残余物通过正相柱色谱法(硅胶20-45 $\mu$ m,450g,流动相(80%庚烷,20%乙酸乙酯))纯化。收集纯的部分并蒸发溶剂,给出1.34g中间体(8)。

[0152]



[0153] 在N<sub>2</sub>下反应。将中间体(8)(0.24g,0.695mmol)于THF(2ml)中的溶液和苄基溴化锌于THF中的溶液(0.5M,3.34ml,1.67mmol)用氮气鼓泡脱气10分钟,然后添加1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁二氯-钯(II)(0.102g,0.139mmol)。将该混合物在20分钟内进行微波处理,冷却至室温,加入水和乙酸乙酯,将混合物通过硅藻土短垫过滤,分离有机层,用水洗涤,然后用盐水洗涤,干燥(MgSO<sub>4</sub>)并蒸发至干。将残余物通过快速色谱法在短硅胶柱上用庚烷至庚烷/EtOAc(90/10)的混合物进行纯化。收集纯的部分并蒸发溶剂,产生0.11g中间体(9)。

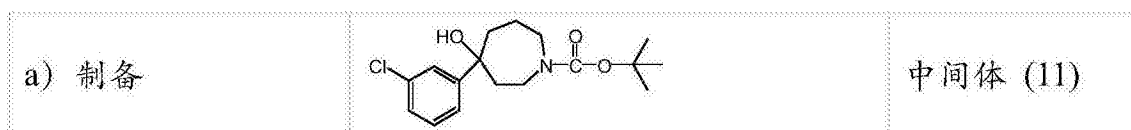
[0154]



[0155] 将中间体(9)(0.11g,0.383mmol)和TFA(0.3ml)于DCM(2ml)中的混合物在室温下搅拌30分钟,然后将反应混合物倾倒入K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(10%水溶液)中并用DCM萃取。分离有机层,用水洗涤,干燥(MgSO<sub>4</sub>)并蒸发至干,产生0.058g中间体(10)。

[0156] 实例A.4

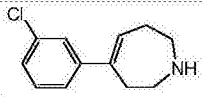
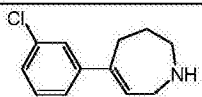
[0157]



[0158] 在N<sub>2</sub>下反应。在0℃,将3-氯化苯基镁溴化物(100ml,50.0mmol)逐滴添加至中间体(4)(8.9g,41.7mmol)于THF(90ml)中的溶液中,然后将混合物在5℃搅拌3小时。加入NH<sub>4</sub>Cl(10%水溶液)和EtOAc,分离有机层,用水和盐水洗涤,干燥(MgSO<sub>4</sub>)并蒸发至干。将残余物

在硅胶柱上 (15-40 $\mu$ m, 庚烷/EtOAc 80/20至庚烷/EtOAc 60/40) 通过快速色谱法进行处理。收集纯的部分并蒸发溶剂, 产生4.4g中间体 (11)。

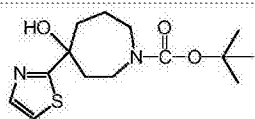
[0159]

b) 制备		中间体 (12)
和		中间体 (13)

[0160] 将中间体 (11) (4.4g, 13.5mmol) 于在水中的HCl (35%, 22ml) 中的溶液在室温下搅拌1小时。将反应混合物倾倒入碎冰中, 并且将K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>固体分部分加入 (直至pH=9-10), 然后将其用DCM萃取两次。收集有机层, 用水洗涤, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>) 并蒸发至干。将水层蒸发, 放在DCM中, 并过滤。用第一提取物将其收集, 并蒸发至干。将残余物在硅胶上 (15-40 $\mu$ m, 90g, 从DCM到DCM/MeOH/NH<sub>4</sub>OH: 90/10/0.5) 通过快速色谱法进行处理。收集有机层, 并且蒸发至干。将残余物通过制备型液相色谱法 (硅胶15-45 $\mu$ m, 300g, 流动相 (0.5% NH<sub>4</sub>OH, 90% DCM, 10% MeOH)) 进行纯化。收集纯的部分并蒸发溶剂, 给出1g中间体 (12) 和0.4g中间体 (13)。

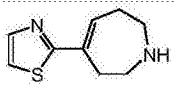
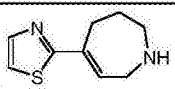
[0161] 实例A.5

[0162]

a) 制备		中间体 (14)
-------	--	----------

[0163] 在N<sub>2</sub>下反应。在-78 $^{\circ}$ C, 将正丁基锂于己烷中的溶液 (1.6M, 3.52ml, 5.63mmol) 逐滴添加至噻唑 (0.366ml, 5.16mmol) 于二乙醚 (5ml) 中的溶液中, 并且将混合物搅拌30分钟。添加中间体 (4) (1.0g, 4.69mmol) 于二乙醚 (5ml) 中的溶液, 然后将混合物搅拌, 并允许其达到室温2小时。添加水和EtOAc, 分离有机层, 用水洗涤, 然后用盐水洗涤, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>) 并蒸发至干。通过制备型液相色谱法 (硅胶15-40 $\mu$ m, 25g, 流动相 (70%的庚烷, 30%的EtOAc)), 将残余物进行纯化, 给出1.05g中间体 (14)。

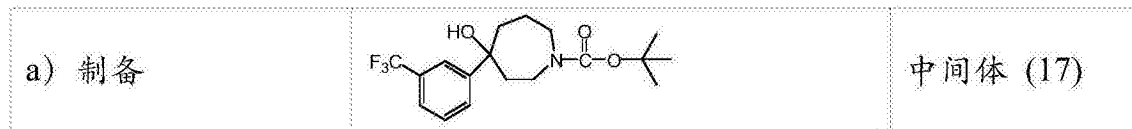
[0164]

b) 制备		中间体 (15)
和		中间体 (16)

[0165] 将在乙腈 (6mL) 中的中间体 (14) (710mg, 2.38mmol) 和浓HCl (2mL) 在回流下搅拌2天。蒸发溶剂。加入水和DCM。加入K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>粉末来碱化水层, 并且除去有机层。用K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>将水层饱和之后, 再次用DCM萃取水层。将合并的有机层浓缩, 并且将残余物进行纯化并通过柱色谱法在硅胶 (15-40 $\mu$ m, 25g) 上分离, 产生137mg中间体 (15) 和65mg中间体 (16)。

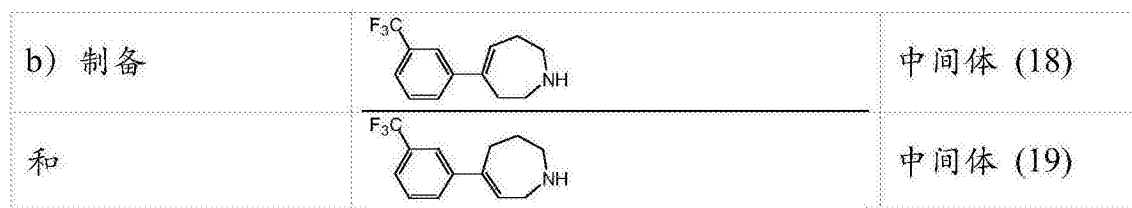
[0166] 实例A.6

[0167]



[0168] 在N<sub>2</sub>下反应。在0℃,将3-(三氟甲基)苯基溴化镁(1.4g,5.6mmol,在10ml二乙醚中)逐滴添加至中间体(4)(1g,4.69mmol)于THF(15ml)中的溶液中,然后将混合物在5℃搅拌3小时。加入NH<sub>4</sub>Cl(10%水溶液)和EtOAc,分离有机层,用水和盐水洗涤,干燥(MgSO<sub>4</sub>)并蒸发至干。通过快速色谱法在硅胶上(40g,庚烷/EtOAc从85/15)进行纯化。收集纯的部分并浓缩,产生520mg中间体(17)。

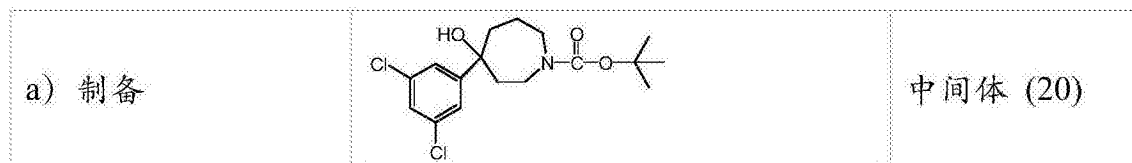
[0169]



[0170] 将中间体(17)(400mg,1.13mmol)于HCl(在水中37%,15ml)中的溶液在回流下搅拌30分钟,然后冷却至室温。将反应混合物倾倒入碎冰中,并且将K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>固体分部分加入(直至pH=9-10),然后将其用DCM萃取两次。收集有机层,用水洗涤,干燥(MgSO<sub>4</sub>)并蒸发至干。通过制备型液相色谱法(硅胶5μm,150×30.0mm,流动相(梯度是从0.2%NH<sub>4</sub>OH、98%DCM、2%MeOH至1.2%NH<sub>4</sub>OH、88%DCM、12%MeOH))将残余物进行纯化。收集纯的部分并蒸发溶剂,产生140mg中间体(18)和42mg中间体(19)。

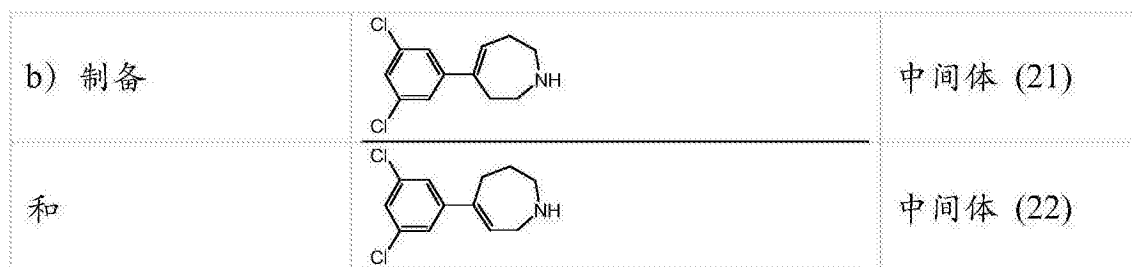
[0171] 实例A.7

[0172]



[0173] 在N<sub>2</sub>下反应。在0℃,将3-氯-5-氟苯基溴化镁(5M,在THF中)(14.1ml,7mmol)逐滴添加至中间体(4)(1g,4.7mmol)于THF(20ml)中的溶液中,然后将混合物在5℃搅拌3小时。加入NH<sub>4</sub>Cl(10%水溶液)和EtOAc,分离有机层,用水和盐水洗涤,干燥(MgSO<sub>4</sub>)并蒸发至干。通过快速色谱法在硅胶上(40g,庚烷/EtOAc从85/15)进行纯化。收集纯的部分并浓缩,产生900mg中间体(20)。

[0174]

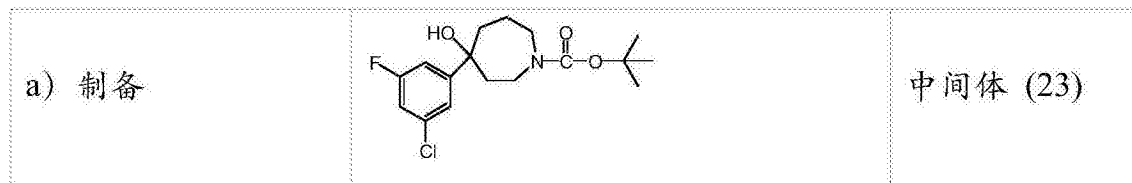


[0175] 将中间体(20)(900mg,2.5mmol)于HCl(在水中37%,30ml)中的溶液在回流下搅拌

30分钟,然后冷却至室温。将反应混合物倾倒入碎冰中,并且将 $K_2CO_3$ 固体分部分加入(直至 $pH=9-10$ ),然后将其用DCM萃取两次。收集有机层,用水洗涤,干燥( $MgSO_4$ )并蒸发至干。通过制备型液相色谱法(硅胶 $5\mu m$ , $150\times 30.0mm$ ,流动相(梯度是从 $0.2\%NH_4OH$ 、 $98\%DCM$ 、 $2\%MeOH$ 至 $1\%NH_4OH$ 、 $90\%DCM$ 、 $10\%MeOH$ ))将残余物进行纯化。收集两种部分并蒸发溶剂,产生290mg中间体(21)和80mg中间体(22)。

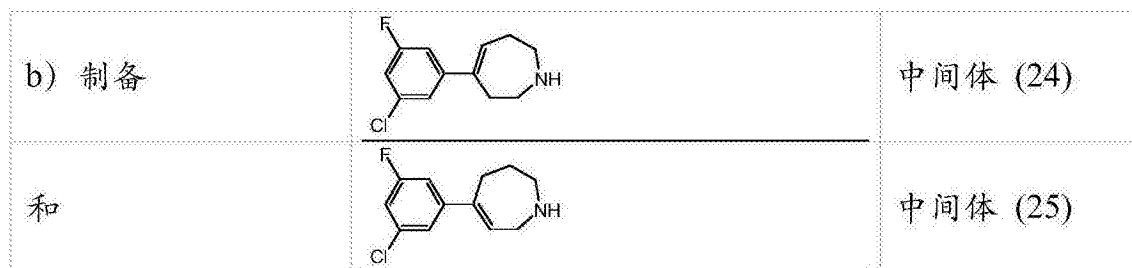
## [0176] 实例A.8

[0177]



[0178] 在 $N_2$ 下反应。在 $0^\circ C$ ,将3-氯-5-氟苯基溴化镁( $0.5M$ ,在THF中, $18.7ml$ , $9.37mmol$ )逐滴添加至中间体(4)( $1g$ , $4.7mmol$ )于THF( $20ml$ )中的溶液中,然后将混合物在 $5^\circ C$ 搅拌3小时。加入 $NH_4Cl$ ( $10\%$ 的水溶液)和EtOAc。收集有机层,用水和盐水洗涤,干燥( $MgSO_4$ )并蒸发至干。通过快速色谱法在硅胶上( $40g$ ,庚烷/EtOAc从 $85/15$ )进行纯化。收集纯的部分并蒸发溶剂,产生650mg中间体(23)。

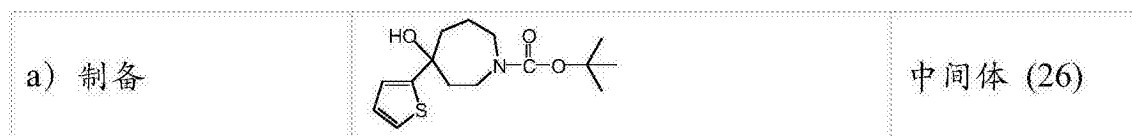
[0179]



[0180] 将中间体(23)( $800mg$ , $2.33mmol$ )于HCl(在水中 $37\%$ , $25ml$ )中的溶液在回流下搅拌30分钟,并且然后冷却至室温。将反应混合物倾倒入碎冰中,并且将 $K_2CO_3$ 固体分部分加入(直至 $pH=9-10$ ),然后将其用DCM萃取两次。收集有机层,用水洗涤,干燥( $MgSO_4$ )并蒸发至干。通过制备型液相色谱法(硅胶 $5\mu m$ , $150\times 30.0mm$ ,流动相(梯度是从 $0.2\%NH_4OH$ 、 $98\%DCM$ 、 $2\%MeOH$ 至 $1\%NH_4OH$ 、 $90\%DCM$ 、 $10\%MeOH$ ))将粗产物进行纯化。收集两种部分并蒸发溶剂,产生325mg中间体(24)和90mg中间体(25)。

## [0181] 实例A.9

[0182]



[0183] 在 $N_2$ 下反应。在 $-78^\circ C$ ,将正丁基锂( $1.6M$ ,在己烷中, $10.55ml$ , $16.88mmol$ )逐滴添加到2-溴噻吩( $1.5ml$ , $15.47mmol$ )于二乙醚( $7.5ml$ )中的溶液中,然后将混合物搅拌30分钟。添加中间体(4)( $3g$ , $14.07mmol$ )于二乙醚( $7.5ml$ )中的溶液。将混合物搅拌并允许其达到室温2小时。加入水和EtOAc,分离有机层,用水洗涤,然后用盐水洗涤,干燥( $MgSO_4$ )并蒸发至干。通过制备型液相色谱法(硅胶 $15-40\mu m$ , $90g$ ,流动相( $80\%$ 庚烷, $20\%$ EtOAc))将残余

物进行纯化。收集纯的部分并蒸发溶剂,产生2.65g中间体(26)。

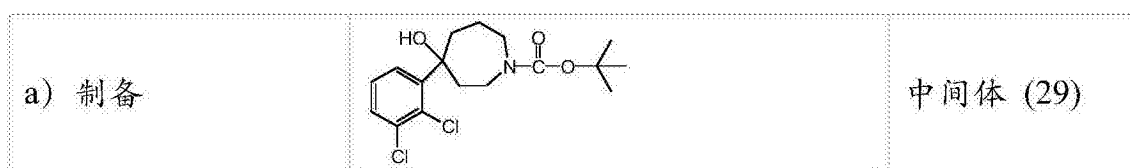
[0184]



[0185] 将在乙酸(45mL)中的中间体(26)(6.3g,21.18mmol)和浓HCl(15mL)在回流下搅拌45分钟。蒸发溶剂。加入水和DCM。加入K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>粉末来碱化,并且除去有机相。用K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>粉末将水相饱和,并用DCM和甲醇(95/5)的溶剂混合物进行萃取。将两个有机相合并,蒸发至干,并且将残余物通过柱色谱法在硅胶上(15-40μm,100g)用DCM/甲醇//NH<sub>4</sub>OH(92/7/1)的溶剂混合物进行纯化,产生中间体(27)。

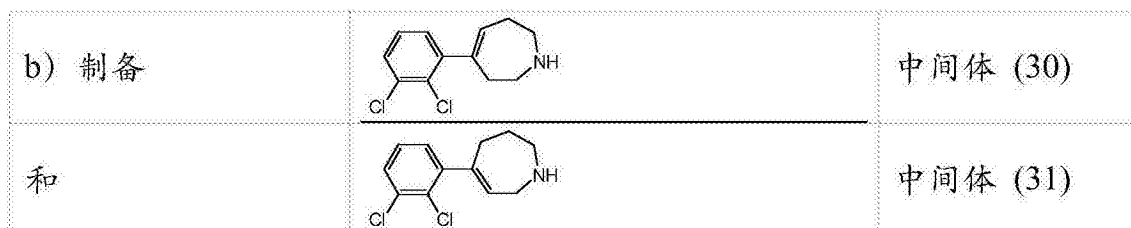
[0186] 实例A.10

[0187]



[0188] 在N<sub>2</sub>下反应。在0℃,将溴(2,3-二氯苯基)-镁(3.75g,15mmol,在20ml二乙醚中)逐滴添加至中间体(4)(2.1g,10mmol)于THF(20ml)中的溶液中,然后将混合物在5℃搅拌3小时。加入NH<sub>4</sub>Cl(10%水溶液)和EtOAc,分离有机层,用水和盐水洗涤,干燥(MgSO<sub>4</sub>)并蒸发至干。将粗产物用庚烷/EtOAc 80/20结晶,并且风干,产生700mg中间体(29)。

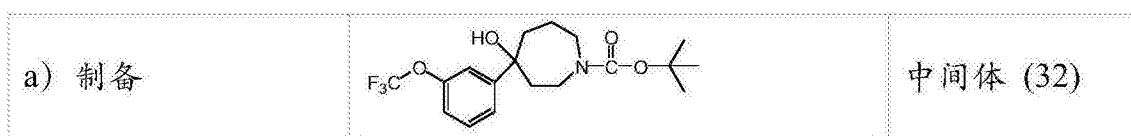
[0189]



[0190] 将中间体(29)(700mg,1.694mmol)于HCl(在水中37%,30ml)中的溶液在回流下搅拌30分钟,然后冷却至室温。将反应混合物倾倒入碎冰中,并且将K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>固体分部分加入(直至pH=9-10),然后将其用DCM萃取两次。收集有机层,用水洗涤,干燥(MgSO<sub>4</sub>)并蒸发至干。通过制备型液相色谱法(硅胶5μm,150×30.0mm,流动相(梯度是从0.2%NH<sub>4</sub>OH、98%DCM、2%MeOH至1.1%NH<sub>4</sub>OH、89%DCM、11%MeOH))将粗产物进行纯化。收集纯的部分并蒸发溶剂,产生中间体(30)和第二部分。通过制备型液相色谱法(硅胶5μm,150×30.0mm,流动相(梯度是从0.2%NH<sub>4</sub>OH、98%DCM、2%MeOH至1.1%NH<sub>4</sub>OH、89%DCM、11%MeOH))将第二部分进行纯化。收集纯的部分并蒸发溶剂,产生中间体(31)。

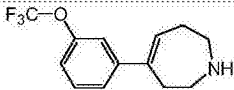
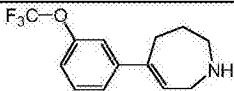
[0191] 实例A.11

[0192]



[0193] 在N<sub>2</sub>下反应。在0℃,将溴[3-(三氟甲氧基)苯基]-镁(1.1g,4.15mmol,在10ml二乙醚中)逐滴添加至中间体(4)(0.6g,2.77mmol)于THF(10ml)中的溶液中,然后将混合物在5℃搅拌3小时。加入NH<sub>4</sub>Cl(10%水溶液)和EtOAc,分离有机层,用水和盐水洗涤,干燥(MgSO<sub>4</sub>)并蒸发至干。通过快速色谱法在硅胶上(40g,庚烷/EtOAc从80/20)进行纯化。收集纯的部分并浓缩,产生250mg中间体(32)。

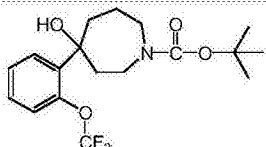
[0194]

b) 制备		中间体 (33)
和		中间体 (34)

[0195] 将中间体(32)(240mg,0.639mmol)于HCl(37%,在水中,10ml)中的溶液在回流下搅拌30分钟,然后冷却至室温。将反应混合物倾倒入碎冰中,并且将K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>固体分部分加入(直至pH=9-10),然后将其用DCM萃取两次。收集有机层,用水洗涤,干燥(MgSO<sub>4</sub>)并蒸发至干。通过柱色谱法在硅胶上(15-40μm,25g),用DCM/甲醇/乙腈(92/7/1)的溶剂混合物,将残余物(136mg)进行纯化,给出86mg中间体(33)和33mg中间体(34)。

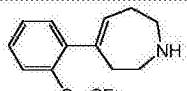
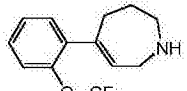
[0196] 实例A.12

[0197]

a) 制备		中间体 (35)
-------	--	----------

[0198] 在N<sub>2</sub>下反应。在0℃,将溴[2-(三氟甲氧基)苯基]-镁(3.63g,13.7mmol,在15ml二乙醚中)逐滴添加至中间体(4)(1.95g,9.1mmol)于THF(20ml)中的溶液中,然后将混合物在5℃搅拌3小时。加入NH<sub>4</sub>Cl(10%水溶液)和EtOAc,分离有机层,用水和盐水洗涤,干燥(MgSO<sub>4</sub>)并蒸发至干。通过快速色谱法在硅胶上(40g,庚烷/EtOAc从80/20)进行纯化。收集纯的部分并浓缩,产生550mg中间体(35)。

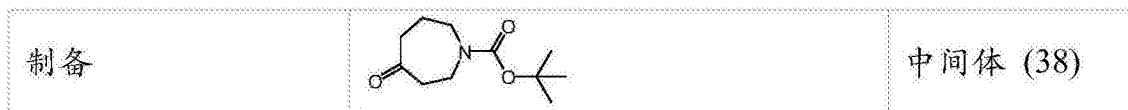
[0199]

b) 制备		中间体 (36)
和		中间体 (37)

[0200] 将在乙酸(4.5mL)中的中间体(35)(450mg,1.2mmol)和浓HCl(1.5mL)在回流下搅拌过夜。蒸发溶剂。加入水和DCM。加入K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>粉末来碱化。将有机层除去并蒸发,并且将粗产物通过制备型液相色谱法(硅胶5μm,150×30.0mm,流动相(梯度是从0.2%NH<sub>4</sub>OH、98%DCM、2%MeOH至1.2%NH<sub>4</sub>OH、88%DCM、12%MeOH))进行纯化。收集两种部分并蒸发溶剂,产生140mg中间体(36)和63mg中间体(37)。

[0201] 实例A.13

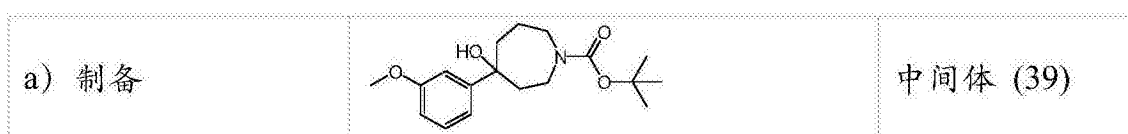
[0202]



[0203] 将六氢-1-(苯甲基)-4H-氮杂卓-4-酮盐酸盐 (56g, 233mmol) 添加至Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (饱和和水溶液, 1000ml) 和EtOAc (1000mL) 中。将该混合物搅拌30分钟。将有机层分离, 将水层用EtOAc (1000mL) 萃取。将合并的有机层用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 将滤液的溶剂蒸发。在室温下 (0.4MPa) 用Pd(OH)<sub>2</sub> (15g) 作为催化剂, 将在EtOAc (800ml) 中的残余物和二碳酸叔丁酯 (66g, 300mmol) 进行氢化。在将氢 (1当量) 吸收后, 将催化剂滤出, 并将滤液进行蒸发。通过柱色谱法在硅胶上 (洗脱液: 石油醚/EtOAc 3/1) 将该残余物进行纯化。收集纯的部分并蒸发溶剂, 产生49g中间体 (38)。

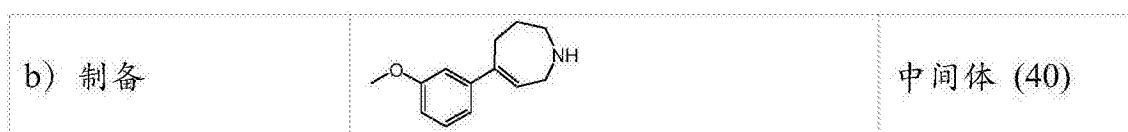
[0204] 实例A.14

[0205]



[0206] 将Mg (0.34g, 14mmol)、几滴1-溴-3-甲氧基-苯 (1.1ml, 9.28mmol) 于THF (5mL) 中的溶液以及在THF (30mL) 中的碘 (0.01g) 引入到一个配备有氮气源、漏斗和回流冷凝器的无水三颈烧瓶中。将混合物温和地加热, 直到反应开始, 然后以可保持回流的速率逐滴添加1-溴-3-甲氧基-苯的剩余溶液。继续搅拌, 直至碘完全消失 (大约1小时)。然后将混合物冷却至0℃。将中间体 (38) (2.0g, 9.38mmol) 于THF (10mL) 中的溶液添加至混合物中。将反应混合物在冰浴中搅拌, 然后加热至室温。将反应混合物用饱和NH<sub>4</sub>Cl (20mL) 淬灭, 并在室温下搅拌过夜。将有机层分离, 将水层用EtOAc (3×50mL) 萃取。将合并的有机层用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 并且将滤液的溶剂进行蒸发。通过柱色谱法在硅胶上 (洗脱液: 石油醚/EtOAc 10/1) 将该残余物进行纯化。收集产物部分并蒸发溶剂, 产生2.3g中间体 (39)。

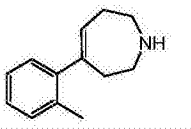
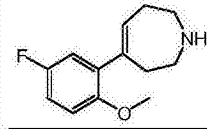
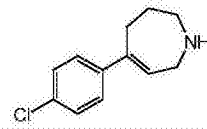
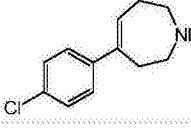
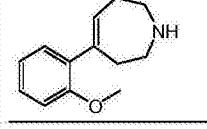
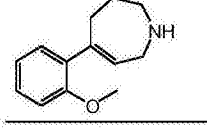
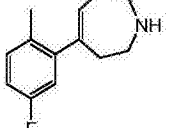
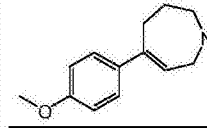
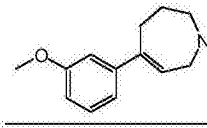
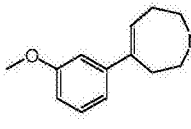
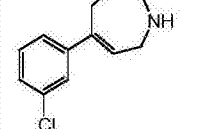
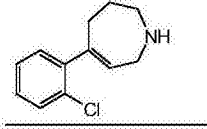
[0207]



[0208] 在0℃, 将TFA (20mL) 逐滴添加至中间体 (39) (2.0g, 6.5mmol) 于DCM (30mL) 中的溶液中。添加之后, 将混合物在室温下搅拌2小时。将反应混合物浓缩 (<35℃)。将混合物用盐水 (20mL)、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (5g) 和EtOAc (20mL) 进行分配, 将水层用EtOAc (3×20mL) 萃取。将合并的有机层用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 并将溶剂进行蒸发。通过柱色谱法在硅胶上 (洗脱液: DCM/MeOH 30/1) 将残余物进行纯化。收集纯的部分并蒸发溶剂, 产生0.2g中间体 (40)。

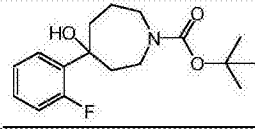
[0209] 以下化合物是用与实例A.14相同的程序制成的, 由此1-甲氧基-3-甲基苯分别被1-溴-2-甲基-苯、2-溴-4-氟-1-甲氧基-苯、1-溴-4-氯-苯、1-溴-2-甲氧基-苯、2-溴-4-氟-1-甲基-苯、1-溴-4-甲氧基-苯、1-溴-3-甲氧基-苯、1-溴-3-氯-苯或1-溴-2-氯-苯替代。

[0210]

		
中间体 (41)	中间体 (42)	中间体 (43)
		
中间体 (44)	中间体 (45)	中间体 (46)
		
中间体 (47)	中间体 (48)	中间体 (49)
		
中间体 (50)	中间体 (51)	中间体 (52)

[0211] 实例A.15

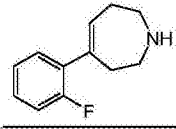
[0212]

a) 制备		中间体 (53)
-------	---	----------

[0213] 将1-溴-2-氟-苯 (1.48g, 8.5mmol) 于无水THF (50mL) 中的溶液在-78℃在氮气下搅拌30分钟, 并且然后在-78℃经5-10分钟逐滴添加正丁基锂 (2.5M, 在己烷中, 3.5mL, 10.1mmol), 并且将形成的混合物搅拌30分钟。然后通过注射器添加在THF (10mL) 中的中间体 (38) (1.5g, 10.1mmol)。添加之后, 移去冷却浴。将反应混合物搅拌1小时, 然后用1N的HCl (200mL) 淬灭。将混合物用DCM (3×100mL) 进行萃取。将合并的有机层分离, 并且用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 然后过滤并在真空下浓缩。

[0214] 通过柱色谱法在硅胶上 (洗脱液: 石油醚/EtOAc 10/1) 将该残余物进行纯化。收集纯的部分并蒸发溶剂, 产生1.54g中间体 (53)。

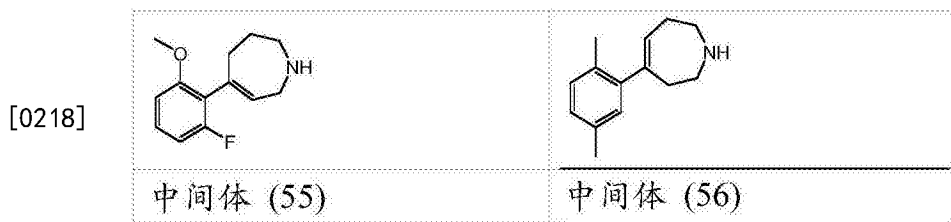
[0215]

b) 制备		中间体 (54)
-------	---	----------

[0216] 在0℃, 将TFA (15mL) 逐滴添加至中间体 (53) (1g, 3.2mmol) 于DCM (20mL) 中的溶液中。添加之后, 将混合物在室温下搅拌2小时。将反应混合物进行浓缩 (<35℃)。将混合物用盐水 (5mL)、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (5g) 和EtOAc (50mL) 分配, 将水层用EtOAc (3×50mL) 进行萃取。将合并的

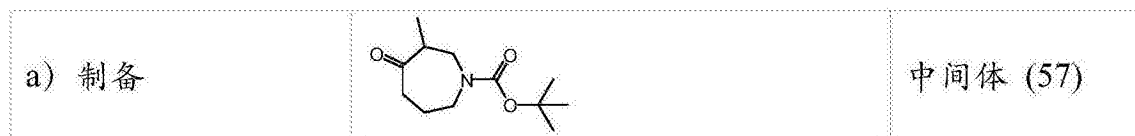
有机层用 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤,并且将溶剂进行蒸发。通过柱色谱法在硅胶上(洗脱液:DCM/MeOH 30/1)将残余物进行纯化。收集纯的部分并蒸发溶剂,产生0.6g中间体(54)。

[0217] 以下化合物是用与实例A.15相同的程序制成的,由此1-溴-2-氟-苯分别被2-溴-1-氟-3-甲氧基-苯或2-溴-1,4-二甲基-苯替代。



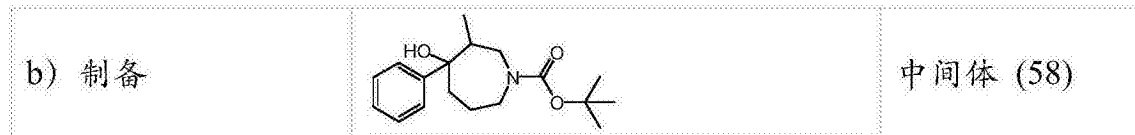
[0219] 实例A.16

[0220]



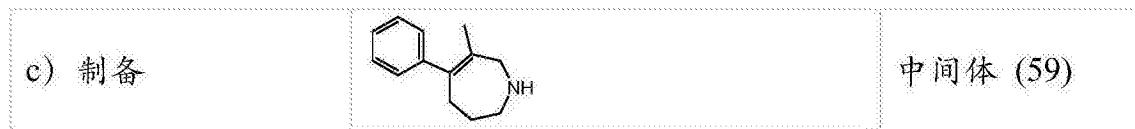
[0221] 在 $-78^\circ\text{C}$ ,将N(1-甲基乙基)-2-丙胺锂盐(23ml,46mmol)添加至中间体(38)(5g,23mmol)于THF(100ml)中的溶液中。将混合物在 $-50^\circ\text{C}$ 下搅拌0.5小时。将碘甲烷(6.5g,46mmol)添加至混合物中,并在环境温度下搅拌过夜。将该反应混合物用100ml盐水进行淬灭。将有机层分离,并且将水层用EtOAc萃取。将这些有机层合并并且浓缩。通过柱色谱法在硅胶上(洗脱液:石油醚/EtOAc 9/1)将粗产物进行纯化。收集产物部分并蒸发溶剂,产生3g中间体(57)。

[0222]



[0223] 在 $0^\circ\text{C}$ ,将溴苯基镁(3.7ml,11.2mmol)添加至中间体(57)(1.7g,7.5mmol)于THF(50ml)中的溶液中。将该混合物在环境温度下搅拌过夜。将该反应混合物用50ml盐水淬灭。将有机层分离,并且将水层用EtOAc萃取。将这些有机层合并并且浓缩。通过柱色谱法在硅胶上(洗脱液:石油醚/EtOAc 1/1)将粗产物进行纯化。收集产物部分并蒸发溶剂,产生0.5g中间体(58)。

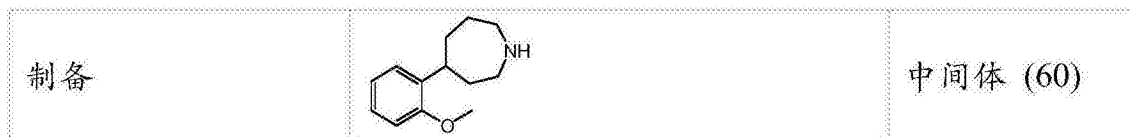
[0224]



[0225] 将中间体(58)(0.5g,1.64mmol)于HCl(10ml,6mol/L,在水中)的混合物回流过夜。在减压下将溶剂除去。将残余物用20ml水溶解。用 $\text{K}_2\text{CO}_3$ 将形成的溶液碱化至pH 10。将所得的溶液用EtOAc(4×50ml)萃取。将有机层合并并且浓缩,产生0.3g中间体(59)。

[0226] 实例A.17

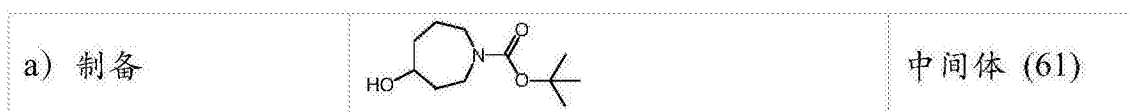
[0227]



[0228] 在40℃ (0.1MPa) 用PtO<sub>2</sub> (0.5g) 作为催化剂, 将中间体 (45) (4mmol) 于MeOH (40mL) 中的溶液进行氢化。在将氢 (1当量) 吸收后, 将催化剂滤出, 并将滤液进行蒸发。通过柱色谱法在硅胶上 (洗脱液: DCM/MeOH 40/1) 将残余物进行纯化。收集纯的部分并蒸发溶剂, 产生1g中间体 (60)。

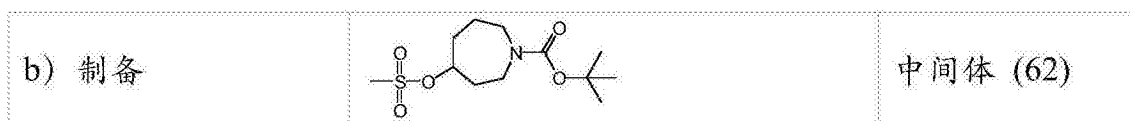
[0229] 实例A.18

[0230]



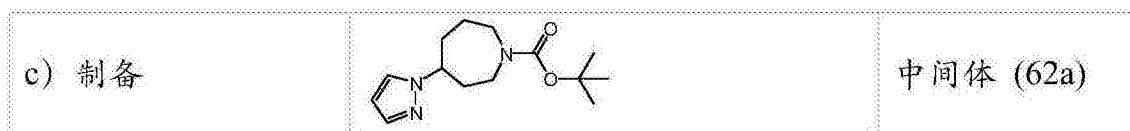
[0231] 在0℃, 氮气流下, 将硼氢化钠 (0.35g, 9.38mmol) 缓慢添加至中间体 (38) (2g, 9.38mmol) 于MeOH (20mL) 中的溶液中。将该混合物在室温下搅拌2小时。将混合物倾倒入水中。将有机层用EtOAc萃取, 用盐水洗涤, 用MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并浓缩, 产生1.62g中间体 (61)。

[0232]



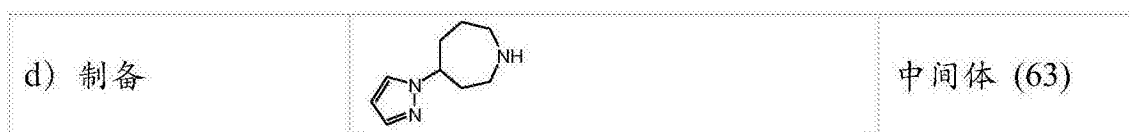
[0233] 将甲磺酰氯 (0.88mL, 11.35mmol) 于DCM (10mL) 中的溶液逐滴添加至中间体 (61) (1.88g, 8.73mmol) 和三乙胺 (3.64mL, 26.2mmol) 于DCM (10mL) 中的溶液中。将溶液在室温下搅拌2小时。添加水和DCM, 并且将有机层分离, 用MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并浓缩, 产生2.53g中间体 (62)。该产物不用进一步纯化而使用。

[0234]



[0235] 在N<sub>2</sub>下反应。在5℃, 将氢化钠 (在矿物油中的60%分散体, 0.082g, 2.05mmol) 分部分地添加至吡唑 (0.14g, 2.05mmol) 于DMF (10mL) 中的溶液中, 并且将混合物搅拌30分钟。逐滴添加中间体 (62) (0.506g, 1.71mmol) 于DMF (5mL) 中的溶液, 并且允许反应混合物达到室温并搅拌过夜。添加水和EtOAc。分离有机层, 用水洗涤, 然后用盐水洗涤, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>) 并蒸发至干, 产生446mg中间体 (62a)。将该残余物照原样而用于下个步骤中。

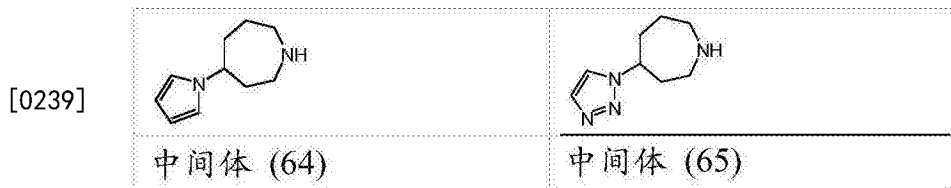
[0236]



[0237] 将TFA (1.23mL, 15.97mmol) 添加至中间体 (62a) (0.446g, 1.6mmol) 于DCM (4mL) 中的溶液中。将反应混合物在室温下搅拌3小时, 添加水和DCM, 添加10%的K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>以碱化, 并且

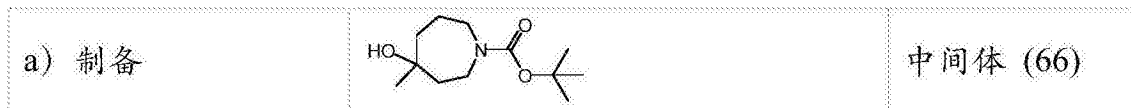
将有机层进行分离,用水洗涤,干燥(MgSO<sub>4</sub>),并蒸发至干,产生78mg中间体(63)。

[0238] 以下化合物是用与实例A.18相同的程序制成的,由此1H-吡唑分别被1H-吡唑或1H-[1,2,3]三唑替代。



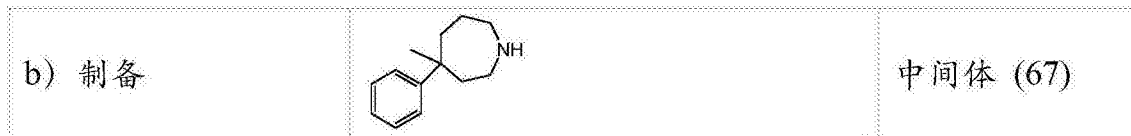
[0240] 实例A.19

[0241]



[0242] 在0℃,将溴甲基镁(5.64mL,16.92mmol)添加至中间体(38)(3g,14.1mmol)于THF(30mL)中的溶液中。添加饱和的NH<sub>4</sub>Cl水溶液(10mL)。将形成的混合物用DCM(2×20mL)进行萃取。将合并的有机层用MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤,将溶剂进行蒸发。通过柱色谱法在硅胶上(洗脱液:DCM/MeOH 100/1)将残余物进行纯化。收集所希望的部分并蒸发溶剂,产生1.74g中间体(66)。

[0243]



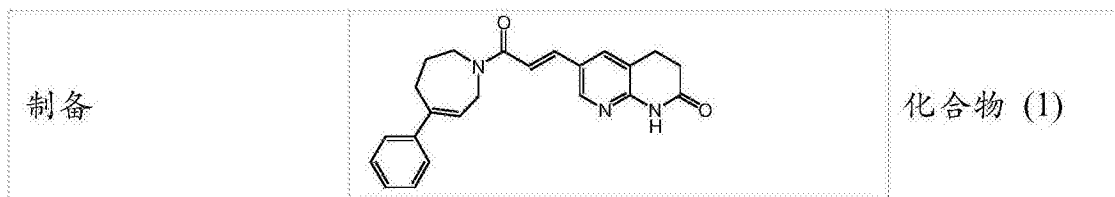
[0244] 将三氯化铝(4.37g,32.75mmol)添加至中间体(66)(1.5g,6.55mmol)于苯(50mL)中的溶液中。将形成的混合物回流过夜。将反应混合物倾倒入冰中,将形成的溶液碱化至pH 8,用DCM(2×50mL)萃取。将合并的有机层用MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤,并且将溶剂进行蒸发。通过柱色谱法在硅胶上(洗脱液:DCM/MeOH 10/1)将残余物进行纯化。收集所希望的部分并蒸发溶剂,产生520mg中间体(67)。

[0245] 在最终化合物的制备中使用的一些中间体化合物是可商购的,如六氢-4-苯基-1H-氮杂卓、2,3,4,5-四氢-1H-3-苯并氮杂卓、六氢-1-苯基-1H-1,4-二氮杂卓、4,4-二氟代六氢-1H-氮杂卓。

[0246] B. 最终化合物的合成

[0247] 实例B.1

[0248]

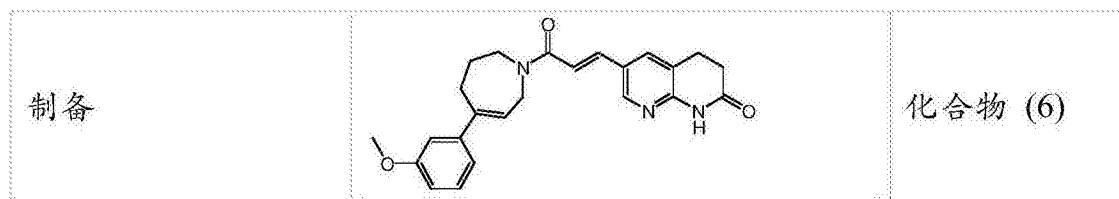


[0249] 将中间体(2)(0.192g,0.577mmol)、中间体(7)(0.15g,0.866mmol)、EDCI(0.133g,0.693mmol)、HOBT(0.0936g,0.693mmol)和三乙胺(0.193mL,1.39mmol)于DCM(4mL)和THF

(4ml)中的混合物在室温下搅拌过夜。添加水和DCM,分离有机层,用水洗涤,干燥(MgSO<sub>4</sub>)并蒸发至干。将残余物吸收在乙醇中,滤出并干燥(真空),产生化合物(1)。

[0250] 实例B.2

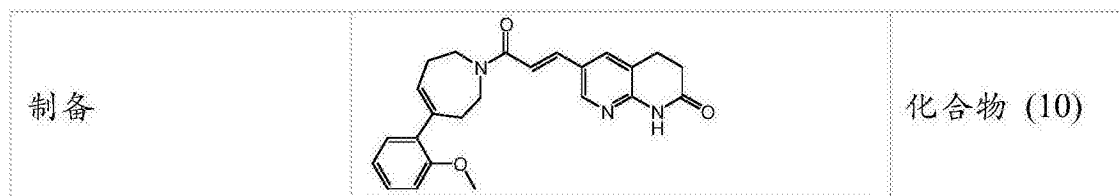
[0251]



[0252] 将中间体(40)(0.98mmol)、中间体(2)(1mmol)、三乙胺(0.5g)和HATU(0.4g)于DMF(10ml)中的混合物在环境温度下搅拌一夜。蒸发溶剂。将残余物添加至DCM(20ml)中,并且用水(20ml×2)洗涤。将分离的有机层进行干燥(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>),过滤,并将溶剂进行蒸发。通过柱色谱法在硅胶上(洗脱液:DCM/MeOH 5/1)将残余物进行纯化。收集产物部分并蒸发溶剂,产生0.07g化合物(6)。

[0253] 实例B.3

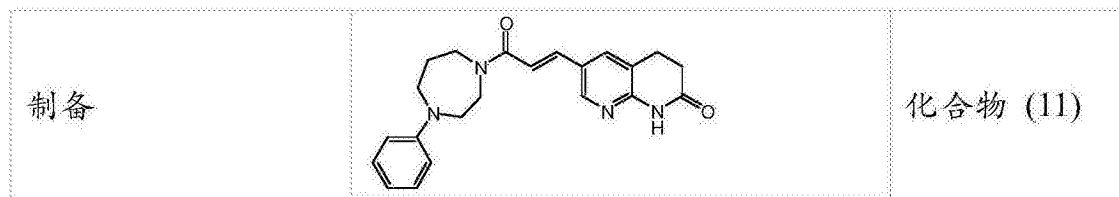
[0254]



[0255] 在0℃氮气下,将DIPEA(8ml,846mmol)逐滴添加至中间体(45)(2.03g,10mmol)、中间体(2)(3.3g,10mmol)和HATU(3.80g,10mmol)于DCM(100mL)中的混合物中。添加完成之后,将得到的混合物在室温下搅拌过夜。将反应混合物用水(300mL)和EtOAc(300mL)分配,将水层用EtOAc(4×200mL)萃取。将合并的有机层用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,将滤液的溶剂进行蒸发。将残余物通过柱色谱法在硅胶上(洗脱剂:EtOAc)进行纯化。收集产物部分并蒸发溶剂。将残余物从EtOAc中结晶,产生1.5g化合物(10)。

[0256] 实例B.4

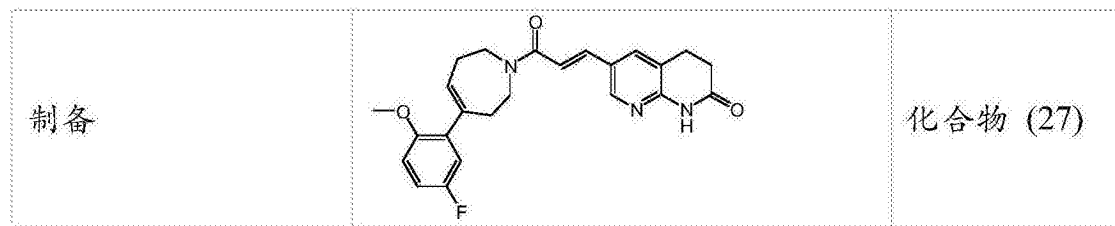
[0257]



[0258] 将六氢-1-苯基-1H-1,4-二氮杂卓(0.085g,0.48mmol)、中间体(2)(0.16g,0.48mmol)、1-羟基苯并三唑(HOBT)(0.078g,0.58mmol)、1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDCI)(0.11g,0.58mmol)和三乙胺(0.23ml,1.69mmol)于DCM(4ml)和THF(4ml)中的溶液在室温下搅拌过夜。将混合物倾倒入水中。将有机层用DCM萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,用MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩。将残余物从乙腈结晶,滤出,并在60℃在真空下进行干燥。将残余物在真空下在70℃进行干燥,获得0.079g化合物(11)(mp=156℃)。

[0259] 实例B.5

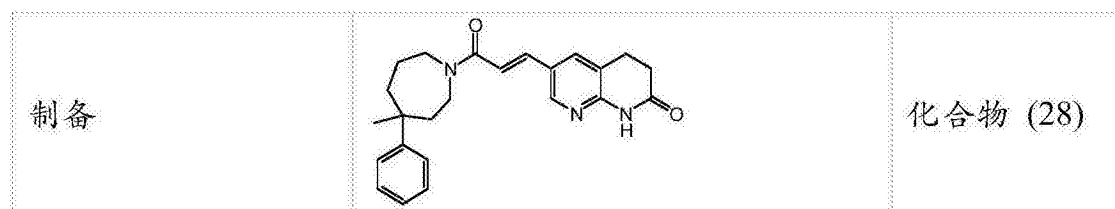
[0260]



[0261] 将中间体 (42) (1.5g, 6.8mmol)、中间体 (2) (2.7g, 8.14mmol)、三乙胺 (2.2g, 17mmol) 和EDCI (1.55g, 8.14mmol) 于DMF (100ml) 中的混合物在环境温度下搅拌一夜。蒸发溶剂。将残余物用DCM (100ml) 处理, 并且将得到的混合物用水 (2×50ml) 洗涤。将分离的有机层进行干燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 过滤, 并将溶剂进行蒸发。通过柱色谱法在硅胶上 (洗脱液: DCM/MeOH 20/1) 将残余物进行纯化。收集产物部分并蒸发溶剂, 产生1g化合物 (27)。

[0262] 实例B.6

[0263]

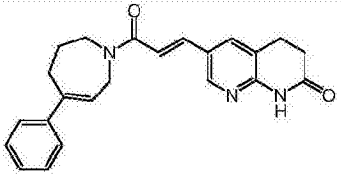
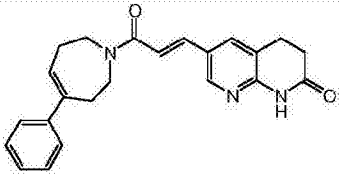
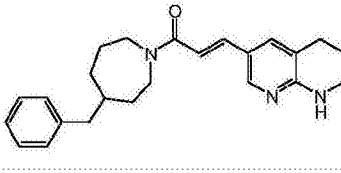
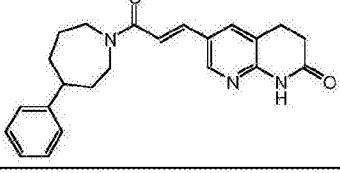
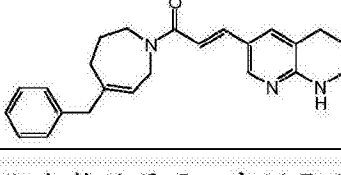
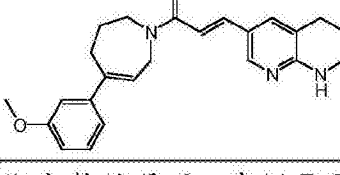


[0264] 将中间体 (67) (0.13g, 0.688mmol)、中间体 (2) (0.251g, 0.757mmol), EDCI (0.145g, 0.757mmol), HOBT (0.102g, 0.757mmol) 和DIPEA (0.445g, 3.44mmol) 于DCM (50ml) 中的混合物在室温下搅拌过夜。添加饱和的NH<sub>4</sub>Cl水溶液 (50mL)。将形成的混合物用DCM (2×20ml) 萃取。将合并的有机层用饱和的NaHCO<sub>3</sub>水溶液 (30mL) 和盐水 (30mL) 洗涤, 用MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 将滤液的溶剂蒸发。通过柱色谱法在硅胶上 (洗脱液: DCM/MeOH 20/1) 以及制备型HPLC将残余物进行纯化。收集所希望的部分并蒸发溶剂, 产生55mg化合物 (28)。

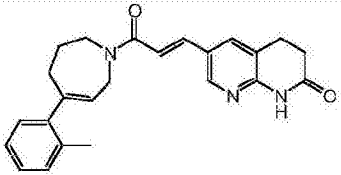
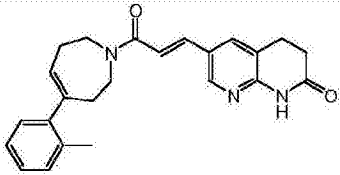
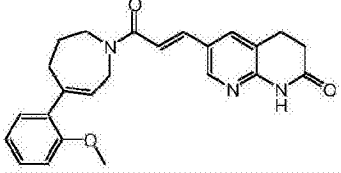
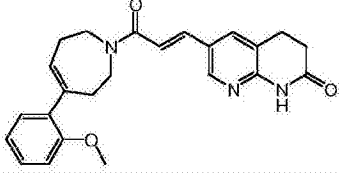
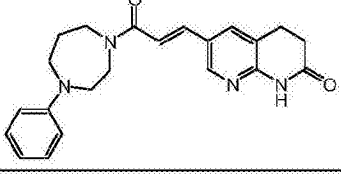
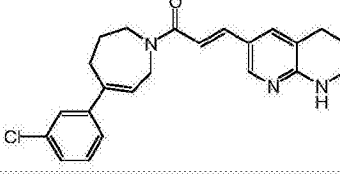
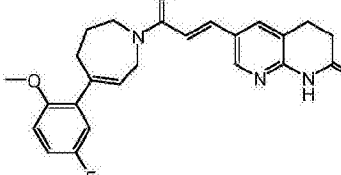
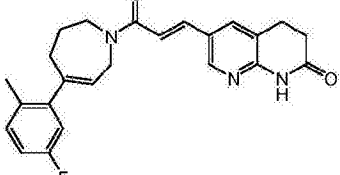
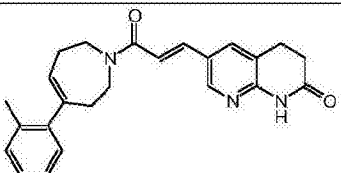
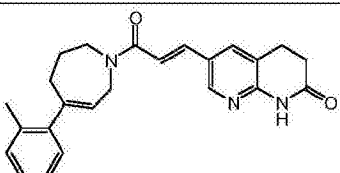
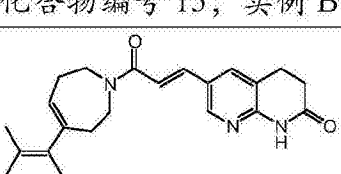
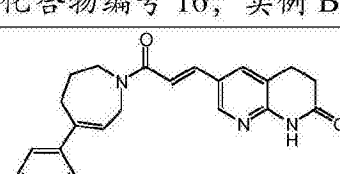
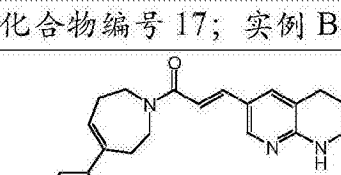
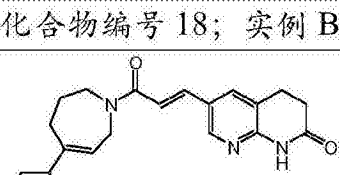
[0265] 表F-1列出了根据以上实例之一制备的化合物。

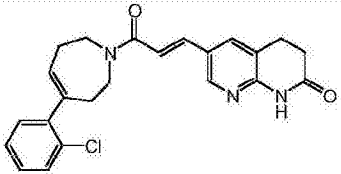
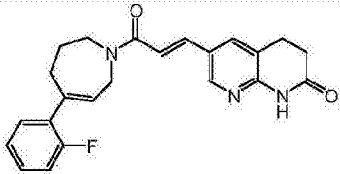
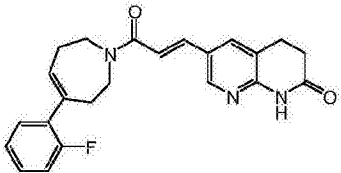
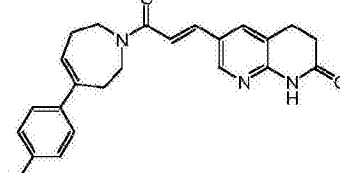
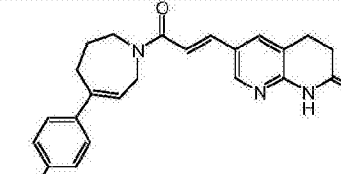
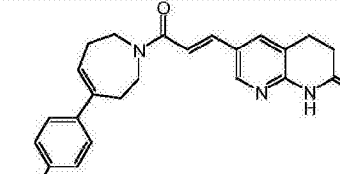
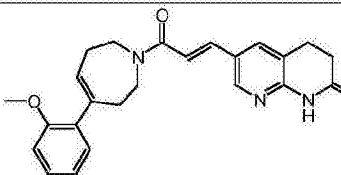
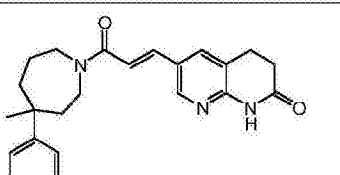
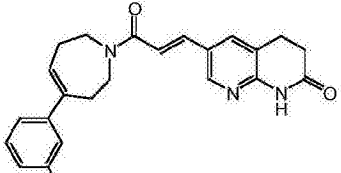
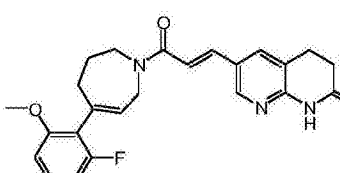
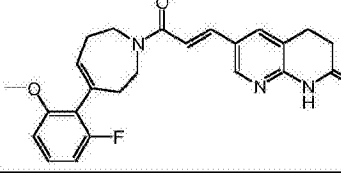
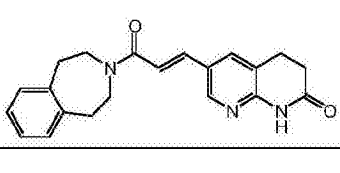
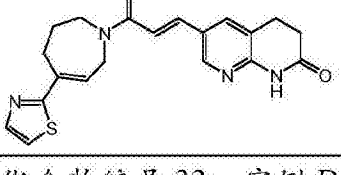
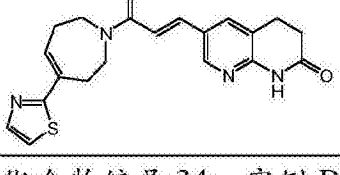
[0266] 表F-1

[0267]

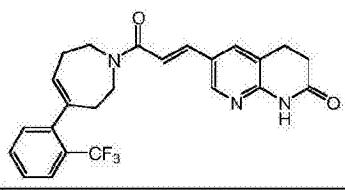
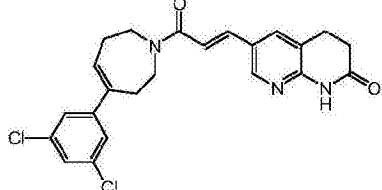
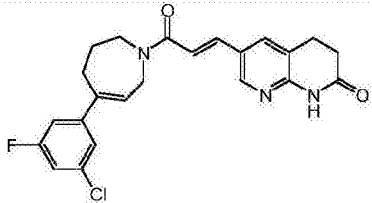
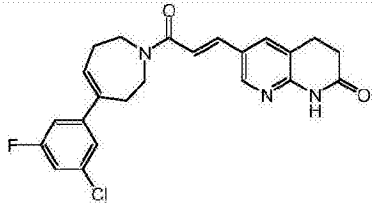
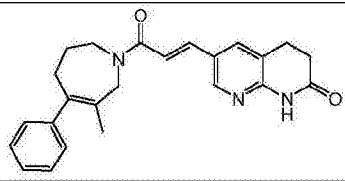
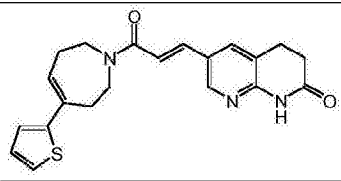
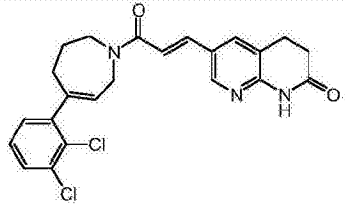
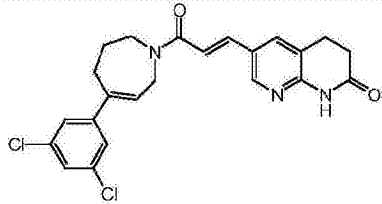
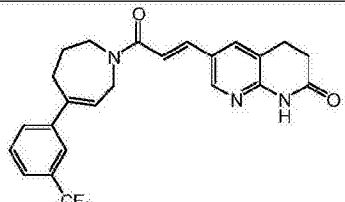
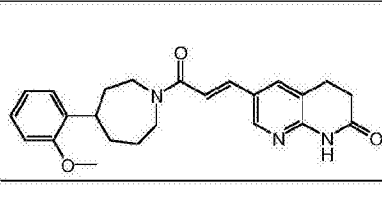
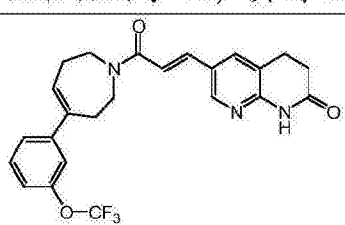
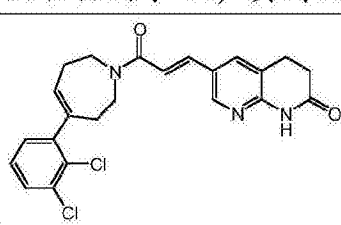
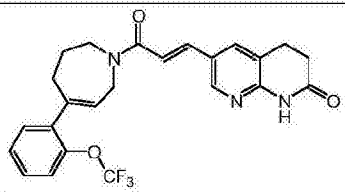
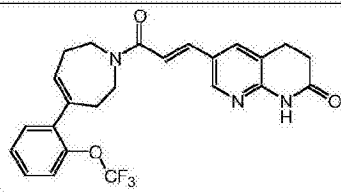
	
化合物编号 1; 实例 B.1	化合物编号 2; 实例 B.1
	
化合物编号 3; 实例 B.1	化合物编号 4; 实例 B.1
	
化合物编号 5; 实例 B.1	化合物编号 6; 实例 B.2

[0268]

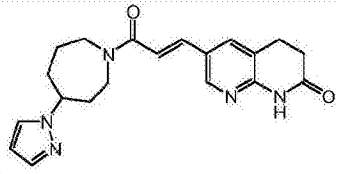
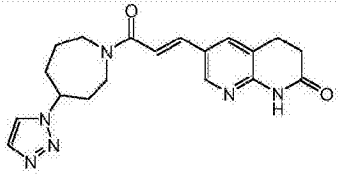
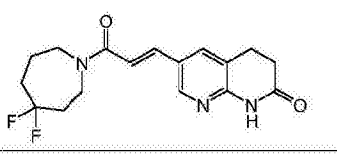
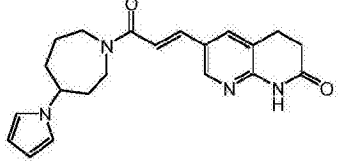
	
化合物编号 7; 实例 B.2	化合物编号 8; 实例 B.2
	
化合物编号 9; 实例 B.3	化合物编号 10; 实例 B.3
	
化合物编号 11; 实例 B.4	化合物编号 12; 实例 B.6
	
化合物编号 13; 实例 B.2	化合物编号 14; 实例 B.3
	
化合物编号 15; 实例 B.3	化合物编号 16; 实例 B.2
	
化合物编号 17; 实例 B.2	化合物编号 18; 实例 B.2
	
化合物编号 19; 实例 B.1	化合物编号 20; 实例 B.6

	
化合物编号 21; 实例 B.6	化合物编号 22; 实例 B.2
	
化合物编号 23; 实例 B.2	化合物编号 24; 实例 B.2
	
化合物编号 25; 实例 B.3	化合物编号 26; 实例 B.3
	
化合物编号 27; 实例 B.5	化合物编号 28; 实例 B.6
	
化合物编号 29; 实例 B.3	化合物编号 30; 实例 B.2
	
化合物编号 31; 实例 B.2	化合物编号 32; 实例 B.1
	
化合物编号 33; 实例 B.1	化合物编号 34; 实例 B.1

[0269]

	
化合物编号 35; 实例 B.1	化合物编号 36; 实例 B.1
	
化合物编号 37; 实例 B.1	化合物编号 38; 实例 B.1
	
化合物编号 39; 实例 B.5	化合物编号 40 实例 B.1
	
化合物编号 41; 实例 B.1	化合物编号 42; 实例 B.1
	
化合物编号 43; 实例 B.1	化合物编号 44; 实例 B.5
	
化合物编号 45; 实例 B.1	化合物编号 46; 实例 B.1
	
化合物编号 47; 实例 B.1	化合物编号 48; 实例 B.1

[0270]

	
化合物编号 49; 实例 B.4	化合物编号 50; 实例 B.4
	
化合物编号 51; 实例 B.4	化合物编号 52; 实例 B.4

[0272] C. 化合物鉴定

[0273] C1.LCMS

[0274] 对于本发明的化合物的LCMS表征,使用了以下方法。

[0275] 一般程序A

[0276] 使用UPLC(超高效液相色谱法)Acquity(沃特斯)系统进行LC测量,该系统包括带有脱气机的二元泵、自动进样器、二极管阵列检测器(DAD)以及如在以下各方法中指定的柱,将该柱的温度保持在40℃。将来自柱的流带到MS检测器处。该MS检测器配置有电喷雾电离源。毛细管针电压是3kV,并且Quattro(沃特斯公司(Waters)的三重四极质谱仪)上的源温度维持在130℃。使用氮气作为雾化气。用Waters-Micromass MassLynx-Openlynx数据系统进行数据采集。

[0277] 方法1

[0278] 除了一般过程A之外:在沃特斯的Acquity BEH(桥接乙基硅氧烷/二氧化硅杂化体)C18柱(1.7 $\mu$ m,2.1 $\times$ 100mm)上进行反相UPLC,流速是0.35ml/min。采用两种流动相(流动相A:95%7mM乙酸铵/5%乙腈;流动相B:100%乙腈),运行梯度条件:从90%A和10%B(保持0.5分钟)在3.5分钟内到8%A和92%B(保持2分钟,并且在0.5分钟内回至起始条件,保持1.5分钟。使用2 $\mu$ l的注射体积。对于正电离和负电离模式,锥孔电压是20V。通过使用0.1秒的内扫描延迟在0.2秒内扫描100至1000来采集质谱。

[0279] 方法2

[0280] 除了一般程序A之外:在沃特斯的Acquity BEH(桥接乙基硅氧烷/二氧化硅杂化体)C18柱(1.7 $\mu$ m,2.1 $\times$ 100mm)上进行反相UPLC,流速是0.343ml/min。采用两种流动相(流动相A:95%7mM乙酸铵/5%乙腈;流动相B:100%乙腈),运行梯度条件:从84.2%A和15.8%B(保持0.49分钟)在2.18分钟内到10.5%A和89.5%B,保持1.94分钟,并且在0.73分钟内回至起始条件,保持0.73分钟。使用2 $\mu$ l的注射体积。对于正电离和负电离模式,锥孔电压是20V。通过使用0.1秒的内扫描延迟在0.2秒内扫描100至1000来采集质谱。

[0281] 方法3

[0282] 除了一般程序A之外:在Halo C18柱(2.7 $\mu$ m,4.6 $\times$ 50mm)上,在1.8ml/min的流速下,进行反相UPLC。采用两种流动相(流动相A:H<sub>2</sub>O(0.05%FA);流动相B:乙腈(0.05%FA),运行梯度条件:从时间零至1分钟,从95%A和5%B到5%A和95%B,然后保持1分钟,然后在1分钟内回至95%A,并且保持0.5分钟。使用2 $\mu$ l的注射体积。对于正电离和负电离模式,锥孔

电压是20V。通过使用0.1秒的内扫描延迟在0.2秒内扫描100至1000来采集质谱。

[0283] 表C.1:LC/MS数据

化合物 编号	Rt (min)	MH <sup>+</sup>	LC/MS 方法
5	1.42	386.1	3
30	3.14	378	1
43	2.95	458	2
49	1.91	366	2
50	1.93	367	2

[0285] C2. 熔点

[0286] 对于许多化合物,熔点是用科夫勒热台 (Kofler hot bench) 获得的,科夫勒热台由一个具有线性温度梯度的加热板、一个滑动指针以及一个单位是摄氏度的温度标组成。

[0287] 对于许多化合物,熔点是使用差示扫描量热法 (DSC) 来确定的。用10℃/分钟的温度梯度对熔点进行测量。最高温度是400℃。

[0288] 剩余的熔点是用开放毛细管来确定的。

[0289] 表C.2:熔点数据

[0290]

化合物 编号	熔点	方法	化合物 编号	熔点	方法
1	204.19°C	DSC	26	222-223°C	-
2	198.48°C	DSC	27	102.5-103°C	-
3	158.02°C	DSC	28	231-232.5°C	-
4	241.93°C	DSC	29	165°C	科夫勒 (Kofler)
6	176°C	科夫勒	31	78.5-80.4°C	-
7	118.3-118.6°C	-	32	272.27°C	DSC
8	98-99°C	-	33	75.2-76.9°C	-
9	81.5-82.9°C	-	34	228°C	科夫勒
10	192.2-193.1°C	-	35	136°C	科夫勒
11	229.62°C	DSC	36	66.5-68.5°C	-
12	205.26°C	DSC	37	199.50°	DSC
13	184.5-185°C	-	38	204°C	科夫勒
14	95-97°C	-	39	82.5-83.5°C	-
15	185°C	科夫勒	40	209.35°	DSC
16	99.6-100.7°C	-	41	161°C	科夫勒
17	93.5-94°C	-	42	94-95°C	-
18	165°C	科夫勒	44	>250°C	科夫勒
19	201.20°C	DSC	45	>250°C	科夫勒
20	238.68°C	DSC	46	132°C	科夫勒
21	>240°C	科夫勒	47	108°C	科夫勒
22	113.5-114°C	-	48	174.63°	DSC
23	196-197°C	-	51	164°C	科夫勒
24	267.45°C	DSC	52	182°C	科夫勒
25	165°C	科夫勒			

[0291] D. 药理学实例

[0292] D.1 FabI 酶抑制: 金黄色葡萄球菌 FabI 酶抑制测定。

[0293] 采用半区 384 孔微量滴定板进行 FabI 酶抑制测定。在 40  $\mu$ l 含有 100mM NaADA (pH 6.5) (ADA = N-[2-乙酰氨基]-2-亚氨基二乙酸)、250  $\mu$ M 巴豆酰-CoA、625  $\mu$ M NADH 和 50  $\mu$ M/ml 金黄色葡萄球菌 ATCC 29213 FabI 的测定混合物中对化合物进行评估。抑制剂典型地在 50 至 0.39  $\mu$ M 的范围内变化。将反应混合物在室温下孵育 30 分钟, 并且通过添加 200mM Tris 缓冲液 (pH 9.0) 使 pH 变动而使反应停止。通过测量在 340nm 的吸光度的变化来监测 NADH 的消耗量。通过将样品读数与阴性对照 (无化合物) 和阳性对照组 (无酶) 的读数进行比较, 确定这些化合物对酶活性的抑制百分比。通过最小二乘法对最佳拟合曲线进行拟合。由此, 获得导致 50% 的酶活性抑制的 IC<sub>50</sub> 值 (以  $\mu$ g/ml 表示)。

[0294] 表D.1:金黄色葡萄球菌FabI IC50值

化合物编号	FabI µg/mL	IC50
1	0,36	
2	0,33	
3	0,38	
4	0,25	
5	0,2	
5	0,37	
7	0,44	
8	0,33	
9	0,39	
10	0,35	
11	0,39	
12	0,51	
13	0,58	
14	0,35	
15	0,32	
16	0,38	
17	0,38	
18	0,58	
19	0,43	
20	0,32	
21	0,38	
22	0,26	
23	0,42	
24	0,78	
25	0,86	

[0295]

化合物编号	FabI µg/mL	IC50
27	0,45	
28	~ 0,65	
29	0,97	
31	0,68	
32	0,53	
33	0,41	
34	0,39	
35	0,62	
36	1,09	
37	0,72	
38	0,66	
39	1,07	
40	0,4	
41	0,84	
42	1,01	
43	0,67	
44	0,48	
45	0,76	
46	0,82	
47	0,68	
48	0,68	
49	1,67	
50	0,80	
51	4,22	
52	1,70	

[0296]

化合物编号	FabI µg/mL	IC50
26	0,67	

化合物编号	FabI µg/mL	IC50

[0297] D.2用于针对各种细菌菌株的抗菌活性对化合物进行测试的体外方法

[0298] 用于药敏试验的细菌悬液的制备

[0299] 使用了以下细菌:金黄色葡萄球菌ATCC 29213、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA) ATCC 700788以及大肠杆菌ATCC 35218。在本研究中使用的细菌是在含有100ml的米勒-海顿(Mueller-Hinton)肉汤(Difco cat.nr.0757-17)的烧瓶中、在无菌去离子水中、在振摇下在37°C下生长过夜。将母液在-70°C下储存过夜,直至使用。

[0300] 将细菌在含有5%绵羊血(Becton Dickinson cat.nr.254053)的胰蛋白酶大豆琼脂平板上在35°C下在有氧条件下培养18-24小时(第一代)。对于第二代,在新鲜的米勒-海顿肉汤中接种5-10个菌落,并使其在35°C下生长过夜直至在有氧条件下达到混浊(达到对数期)。然后将细菌悬浮液调整至0.5麦氏(McFarland)密度,并进一步在米勒-海顿肉汤培养基中以1:100稀释。这可用作接种物。

[0301] 在下表D2中对结果(对于STAATCC 29213)进行了描述。

[0302] 抗菌药敏试验:IC<sub>90</sub>的确定

[0303] MIC测定是通过肉汤微量稀释法,在96孔规格(平底微量滴定板)中,采用终体积是0.1ml的含有两倍连续稀释的化合物并接种有 $5 \times 10^5$ CFU/ml细菌(根据CLSI指南的标准接种量)的米勒-海顿肉汤进行的。抑制剂典型地在63至0.49 $\mu$ M的范围内变化。在测定中的最终DMSO浓度是1.25% (最大耐受DMSO浓度=6%)。在测试了人血清对于化合物对抗金黄色葡萄球菌的活性的影响的测定中,以10%的终浓度添加人血清。将板在35 $^{\circ}$ C下孵育16-20小时。在孵育结束时,对细菌生长进行荧光计定量检测。为此,将刃天青添加至所有孔中,并将板再孵育。孵育时间取决于细菌的种类。从蓝色到粉色的颜色变化指示细菌的生长。在计算机控制的荧光计(Fluoroskan Ascent FL,Labsystems)中,在540nm的激发波长和590nm的发射波长下读取荧光。根据标准方法来计算由化合物实现的生长抑制%。IC<sub>90</sub>(以 $\mu$ g/ml表示)被定义为是细菌生长的90%抑制浓度。同时测试一组参比化合物来用于QC认可。

[0304] 在下表D2(STA+10%HS)中对结果进行了描述。

[0305] 细胞毒性测定

[0306] 使用MTT测定来对化合物的细胞毒性进行评估。将在96孔板中生长的人类HeLaM细胞暴露于测试化合物的连续稀释物(最终体积是0.2ml)中,并在37 $^{\circ}$ C以及5%CO<sub>2</sub>下孵育72小时。抑制剂典型地在25至0.8 $\mu$ M的范围内变化。在测定中的最终DMSO浓度是0.5%。添加MTT(3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-二苯基四唑溴化物,一种四唑),并在活细胞中还原成紫色的甲臜。通过添加100 $\mu$ l的2-丙醇来实现甲臜晶体的溶解。通过测量还原的甲臜(在540nm和690nm处给出紫色颜色)的吸光度来确定细胞活力。从在540nm处测定的吸光度自动减去在690nm处的吸光度,从而消除非特异性吸收的影响。根据标准方法来计算由化合物实现的细胞毒性百分比。细胞毒性报告为CC<sub>50</sub>,这是造成细胞活力降低50%的浓度。

[0307] 在下表D2(TOX HELAM)中对结果进行了描述。

[0308] 表D2-代表性实例的数据

[0309]

化合物编号	STA (361.159) IC90 $\mu$ g/mL	STA (361.169) IC90 $\mu$ g/mL	TOX HELAM (222.125) CC50 $\mu$ g/mL
2	0.14	0.33	>9.38089
3	3.94	11.23	>9.7838
4	3.42	3.54	>9.43138
5	4.66	10.92	>9.73331
6	3.21	6.32	>10.1352
7	1.47	2.97	>9.73331
8	0.69	0.84	9.30
9	0.99	1.48	>10.1352
10	0.09	0.20	>10.1352
11	3.24	5.76	>9.45625
12	0.71	4.37	8.23

[0310]

13	1.43	3.05	>10.5871
14	1.54	3.74	9.73
15	0.39	1.02	8.57
16	1.49	3.01	9.09
17	0.33	0.72	4.11
18	1.52	5.08	6.85
19	0.35	1.38	>20.4434
20	0.63	1.15	8.52
21	<0.199781	0.36	9.24
22	0.59	1.03	12.52
23	0.18	0.35	>9.83278
24	1.52	6.17	7.25
25	3.06	5.83	>10.1352
26	1.46	2.86	>10.1352
27	0.10	0.33	>10.5871
28	2.40	7.42	>9.7838
29	0.78	1.66	>10.5871
31	0.21	0.26	>10.5871
32	21.42	20.22	>8.7268

[0311] 实例E

[0312] E.1热力学溶解度/在水溶液中的溶解度

[0313] pH溶解度分析是在环境温度下持续4天的时期进行的。进行了一项饱和溶解度研究,从而确定在特定缓冲溶液中的最大溶解度。将化合物添加至各自的缓冲溶液中,直至达到饱和点。随后在环境温度下摇动烧瓶4天。4天之后,将溶液过滤并注入到UPLC上,并且使用通用HPLC方法对浓度进行测定。

[0314] 结果

[0315]

	化合物编号 27	化合物编号 2
缓冲液pH 2	<0.01	0.002
10% HP-β-CD缓冲液 pH 2	NT	NT
20% HP-β-CD缓冲液 pH 2	NT	NT
缓冲液 pH 4	<0.01	<0.002
10% HP-β-CD缓冲液 pH 4	0.22	1.150

[0316]	20% HP-β-CD缓冲液 pH 4	0.44	0.980
	缓冲液 pH 7.4	<0.01	0.003
	10% HP-β-CD缓冲液 pH 7.4	0.25	1.082
	20% HP-β-CD缓冲液 pH 7.4	0.59	1.054

[0317] NT=未测试。

[0318] E.2活性的抗微生物谱

[0319] 按照临床和实验室标准协会 (CLSI) 针对好氧菌 (CLSI M07-A8) 的方法 (见临床和实验室标准协会, 2009年, 针对好氧生长的细菌进行稀释抗微生物药敏试验的方法, CLSI文件M07-A8, 第29卷, 第2期), 通过肉汤微量稀释法, 采用阳离子调节的米勒-海顿肉汤 (CA-MHB) 培养基 (这种培养基用于除了流感嗜血杆菌以外的大多数生物体, 而流感嗜血杆菌使用嗜血杆菌测试培养基 (HTM) 肉汤), 对最小抑菌浓度 (MIC) 进行确定。在表中可以找到对单独生物的描述。在可能的情况下, 对ATCC标准菌株进行试验。

[0320] 对用于药敏试验的接种密度进行标准化, 以给出大约 $5 \times 10^5$  CFU/mL的最终接种物。将肉汤MIC确定为药物最低浓度, 该药物最低浓度可在35°C-37°C孵育16-24小时 (取决于物种) 之后阻止可见生长。

[0321] 表: 对测试的单独生物的描述

[0322]

生物	特征	MIC测试培养基
金黄色葡萄球菌	ATCC 29213; 参比菌株MSSA	MHB
金黄色葡萄球菌	ATCC 43300; 参比菌株MSSA	MHB
金黄色葡萄球菌	NRS119; LZD-R; SCCmec IV; 来源: 美国	MHB
金黄色葡萄球菌	NRS120; LZD-R; SCCmec IV; 来源: 美国	MHB
金黄色葡萄球菌	NRS121; LZD-R; SCCmec IV; 来源: 美国	MHB
大肠杆菌	ATCC 25922; 参比菌株	MHB
大肠杆菌	Tol C突变	MHB

[0323]

流感嗜血杆菌	ATCC 49247; 参比菌株	HTM肉汤
卡他莫拉菌	ATCC 8176; b-内酰胺酶阴性	MHB

[0324] 这些化合物的母液被以1mg/mL的浓度制备在DMSO中。利奈唑胺被以2mg/mL的浓度制备在DMSO中。将所有化合物的母液稀释成CA-MHB, 得到一系列的2倍稀释液, 取决于被测试的生物体的灵敏度。

[0325] 结果(如果可获得的话)

[0326]

生物	化合物编号以及 MIC <sub>90</sub> (µg/ml)			
	27	19	2	10
金黄色葡萄球菌 ATCC 29213	0.06	0.125	0.06	
金黄色葡萄球菌 ATCC 43300	0.06	0.25	0.06	
金黄色葡萄球菌 NRS119	0.06		0.125	
金黄色葡萄球菌 NRS120	0.125		0.06	
金黄色葡萄球菌 NRS121	0.06		0.125	
大肠杆菌 tolC 突变体	>8	1	0.25	
大肠杆菌 ATCC 25922	>8	>8	>32	
流感嗜血杆菌 ATCC 49247	>8	>8		
卡他莫拉菌 ATCC 8176	1			

[0327] E.3体内药代动力学以及口服生物利用度

[0328] 在单次静脉内 (i.v.) 快速推注以及口服 (p.o.) 给药之后, 在雄性瑞士小鼠 (饲养) 中, 对实例中的化合物的体内药代动力学以及口服生物利用度进行研究。对于 i.v. 以及 p.o. 溶液配制物, 该化合物被溶解在 20% HP-β-CD 溶液中。配制物的 pH 值是约 pH 4。所有的 i.v. 配制物均是等渗的。

[0329] 结果

	化合物编号 10	化合物编号 14	化合物编号 27
i.v.			
剂量 (mg/kg)	2.5	2.5	2.5
n	3	3	3
C <sub>0</sub> (ng/mL)	3402	4550	3350
血浆清除率 Cl (L/h/kg)	1.2	0.36	0.75
Vd <sub>z</sub> (L/kg)	2.0	1.0	1.2
AUC <sub>0-inf</sub> (ng.h/mL)	2165	6699	3562
半衰期 (t <sub>1/2</sub> ) (h)	1.2	2.0	1.1
p.o.			
剂量 (mg/kg)	10	10	10
n	3	3	3
C <sub>max</sub> (ng/mL)	3740	3927	4637
T <sub>max</sub> (h)	0.5	1.0	0.5
AUC <sub>0-inf</sub> (ng.h/mL)	7086	23798	12618
半衰期 (t <sub>1/2</sub> ) (h)	2.0	2.8	2
口服生物利用度 (%)	78	90	89

[0331] E.4体内效力

[0332] 通过对腹腔内感染的小鼠进行治疗来研究一种抗菌化合物的体内效力的概念是在1911年针对奥普托欣对抗肺炎双球菌而引入的(Morgenroth (莫根罗特)和Levy (莱维), 1911年)。该模型的普及来自于其易于使用,同时具有短持续时间的实验、可重现的感染以及简单的终点。

[0333] 方法

[0334] 使用甲氧西林敏感的金黄色葡萄球菌菌株ATCC 29213来感染雌性瑞士白化小鼠。将脑心浸液(BHI)肉汤细菌培养物在感染前一天进行接种,在37°C培养过夜,并且在新鲜的BHI肉汤中稀释至所希望的浓度。在腹部的任意侧下象限中进行腹膜内(i.p.)注射大约 $5 \times 10^9$ 集落形成单位(CFU)。接种之后,将小鼠关在它们的笼子里,每日观察感染或死亡的征象的发展。对于小鼠的治疗,p.o.和i.v.途径两者均可以使用,并且每个小鼠是通过强饲法或i.v.注射来单独治疗。在此模型中对溶液以及悬浮液两者均进行测试。用于监测感染过程和治疗效果的参数是感染后3天内动物的死亡或存活率。因为死亡也可能是由于毒副作用,包括了用最高剂量的测试化合物治疗的未感染对照组的3只小鼠。

[0335] 结果

[0336] 本发明/实例的化合物显示了良好的体内效力特性,例如这些化合物可展现出测量为存活%(按照以上测试)的此类特性。