

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2017 年 12 月 7 日 (07.12.2017)



(10) 国际公布号
WO 2017/206948 A1

(51) 国际专利分类号:
C07D 471/08 (2006.01) **A61P 31/04** (2006.01)
A61K 31/439 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2017/087004

(22) 国际申请日: 2017 年 6 月 2 日 (02.06.2017)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201610392575.1 2016 年 6 月 3 日 (03.06.2016) CN

(71) 申请人: 南京明德新药研发股份有限公司
(**MEDSHINE DISCOVERY INC.**) [CN/CN]; 中国江
苏省南京市南京高新区高新路 9 号商务
办公楼 218 室, Jiangsu 210032 (CN)。

(72) 发明人: 胡伯羽(**HU, Boyu**); 中国上海市浦东新区富特中路 288 号, Shanghai 200131 (CN)。 丁照中(**DING, Charles Z.**); 中国上海市浦东新区富特中路 288 号, Shanghai 200131 (CN)。 黄志刚(**HUANG, Zhigang**); 中国上海市浦东新区富特中路 288 号, Shanghai 200131 (CN)。 来巍(**LAI, Wei**); 中国上海市浦东新区富特中路 288 号, Shanghai 200131 (CN)。 林锐彬(**LIN, Ruibin**); 中国上海市浦东新区富特中路 288 号, Shanghai 200131 (CN)。 肖敏亮(**XIAO, Minliang**); 中国上海市浦东新区富特中路 288 号, Shanghai 200131 (CN)。 雷鸽娟(**LEI, Gejuan**); 中国上海市浦东新区富特中路 288 号, Shanghai 20031 (CN)。 谢金生(**XIE, Jinsheng**); 中国上海市浦东新区富特中路 288 号, Shanghai 200131 (CN)。 胡国平(**HU, Guoping**); 中国上海市浦东新区富特中路 288 号, Shanghai 200131 (CN)。 黎健(**LI, Jian**); 中国上海市浦东新区富特中路 288 号, Shanghai 200131 (CN)。 陈曙辉(**CHEN, Shuhui**); 中国上海市浦东新区富特中路 288 号, Shanghai 200131 (CN)。

(74) 代理人: 上海弼兴律师事务所 (**SHANGHAI BESHINING LAW OFFICE**); 中国上海市小木桥路 681 号外经大厦 21 楼, Shanghai 200032 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

根据细则 4.17 的声明:

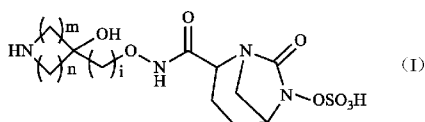
- 关于申请人有权申请并被授予专利(细则 4.17(ii))
- 发明人资格(细则 4.17(iv))

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

(54) Title: NOVEL DIAZABICYCLO B-LACTAMASE INHIBITORS

(54) 发明名称: 新型二氮杂二环β-内酰胺酶抑制剂



(57) Abstract: Disclosed in the present invention are a series of novel diazabicyclo β-lactamase inhibitors, and specifically disclosed are a compound represented by formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

(57) 摘要: 本发明公开了一系列新型二氮杂二环β-内酰胺酶抑制剂, 具体公开了式(I)所示化合物或其药学上可接受的盐。



WO 2017/206948 A1

新型二氮杂二环 β -内酰胺酶抑制剂

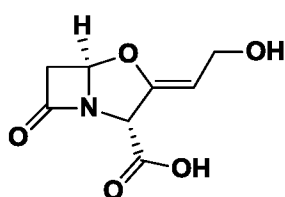
发明领域

本发明涉及一系列新型二氮杂二环 β -内酰胺酶抑制剂，具体公开了式(I)所示化合物或其药学上可接受的盐。

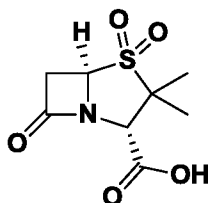
发明背景

β -内酰胺类抗生素使用至今已有 70 多年，是临床上治疗各种感染的主力品种。但是，随着这类药物的大量使用和滥用，细菌耐药性也在快速增加。过去的 20 年间，内科医生面临的境况越来越糟，那就是无论是在社区还是医院，细菌性感染的发病率和死亡率都在迅速攀升。临床上耐受抗生素能力强且亟需新治疗药物的致病菌株主要有两种：一种是多重耐药菌(multidrug-resistant strains, MDR)，是指细菌对常用抗菌药物主要分类的 3 类或以上耐药；另一种是广泛耐药菌(extremely drug-resistant strains, XDR)，是指细菌对常用抗菌药物几乎全部耐药。院内感染的 30-50% 是 ESKAPE 导致的。ESKAPE 包括屎肠球菌(*Enterococcus faecium*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*)、鲍氏不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)及肠杆菌属(*Enterobacter species*)等 6 类致病菌。这六类菌涵盖了大多数的 MDR 和 XDR 菌株，极大地限制了医生对于治疗方案的选择。

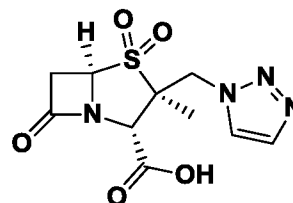
细菌对 β -内酰胺类抗生素产生耐药的机制有几种，最主要的是细菌能产生使 β -内酰胺环水解开裂的酶，从而导致抗生素失去抗菌活性。细菌还可以选择性改变抗生素的作用靶标。如耐甲氧西林金黄色葡萄球菌具有多重耐药性就与产生新的 PBP_{2a}、使 PBPs 合成增加、与药物亲和力下降有关。 β -内酰胺酶可与某些耐酶 β -内酰胺类抗生素迅速结合，使药物停留在胞质膜外间隙中，不能达到作用靶位发挥抗菌作用。另外，G-菌的外膜对某些 β -内酰胺类抗生素不易透过，产生非特异性低水平耐药。还有些细菌的胞质膜上存在主动外排系统，细菌由此主动外排药物。因此，将 β -内酰胺类抗生素和 β -内酰胺酶抑制剂联合使用是临床上最有效的方法。细菌可以产生多种类型的 β -内酰胺酶，按照其氨基酸和核苷酸序列可以分为 A、B、C、D 四类。A、B 和 D 类酶以丝氨酸为活性位点来催化水解，B 类酶通过其活性位点上的一个或多个金属原子使环开裂。



克拉维酸



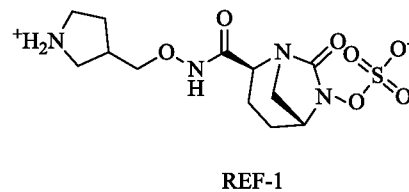
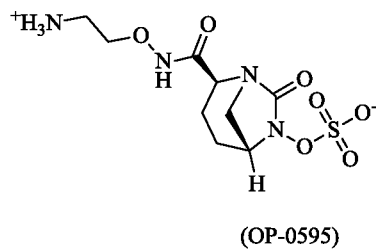
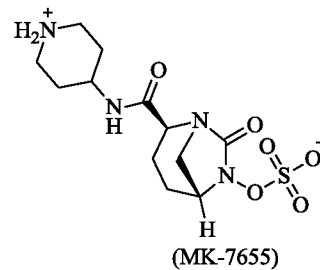
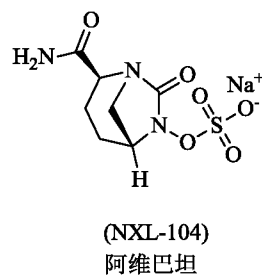
舒巴坦



他唑巴坦

第一个广为人知的高活性 β -内酰胺酶抑制剂是克拉维酸钾，迄今为止，它与阿莫西林的组合在市场上仍然畅销。市场上另外两个重要的 β -内酰胺酶抑制剂是舒巴坦和他唑巴坦。这三个药物的共同之处是结构中都有高活性的 β -内酰胺环，是抑制剂的活性位点。虽然这三个药物在市场销售情况火热，但是其本身的抗菌谱很窄。它们只对 A 和 D 类 β -内酰胺酶有作用效果，而对 C 类酶和 A 类中极为重要的 KPC 酶则完全无效。

2015 年 2 月, FDA 批准了一种新的 β -内酰胺酶抑制剂, 名叫阿维巴坦(NXL-104)。该药物的结构中含有一个新型的二氮杂二环, 具有比上述三个老一代的 β -内酰胺酶抑制剂更广的抗菌谱。 β -内酰胺酶抑制剂的专利中披露了大量的二氮杂二环的新化合物, 包括: WO2009133442, WO2009091856, WO2010126820, WO2012086241, WO2013030733, WO2013030735, WO2013149121, WO2013149136, WO2013180197, WO20140191268, WO2014141132, WO2014135931, WO2015063653, WO2015110885, US20140296526。其中, MK-7655 和 OP-0595 这两个新药已进入临床阶段。MK-7655 已进入 III 期临床, OP-0595 已进入 I 期临床。OP-0595 体外活性极好, 为罗氏制药所有。印度的 Wockhardt 公司也在进行二氮杂环类抑制剂研究, 其中化合物 REF-1 在该公司两篇专利 US20150203503A1 和 WO2014033560A1 中被公开, 具有一定的生物活性。因此, 二氮杂二环类抑制剂将会是 β -内酰胺酶抑制剂开发的一个新的方向。



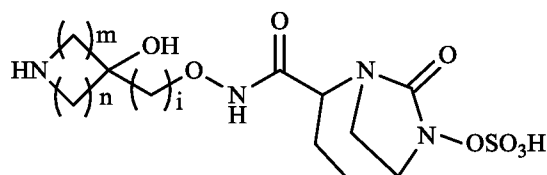
目前, 抗生素耐药已经成为一个世界性的卫生问题, 世界范围内新的耐药菌不断出现。伴随当下抗生素研发步伐放缓, 临床上面临的抗菌治疗日趋严峻, 甚至出现“无药可用”的情况。鉴于此种情况, 开发新的安全、高效的 β -内酰胺酶抑制剂是刻不容缓、势在必行的。

背景研发资料参考以下文献:

- [1]US2013225554A1;
- [2]WO2014091268A1;
- [3]WO2014033560A1;
- [4]S. Biondi, S. Long, M. Panunzio and W.L. Qin, Curr. Med. Chem., 2011(18), 4223-4236;
- [5]Ken Garber, Nat. Rev. Drug Discov., 2015(14), 445-447;
- [6]Wenling, Qin, Mauro Panunzio and Stefano Biondi, Antibiotics, 2014(3), 193-215;

发明内容

本发明提供式 (I) 所示化合物或其药学上可接受的盐,



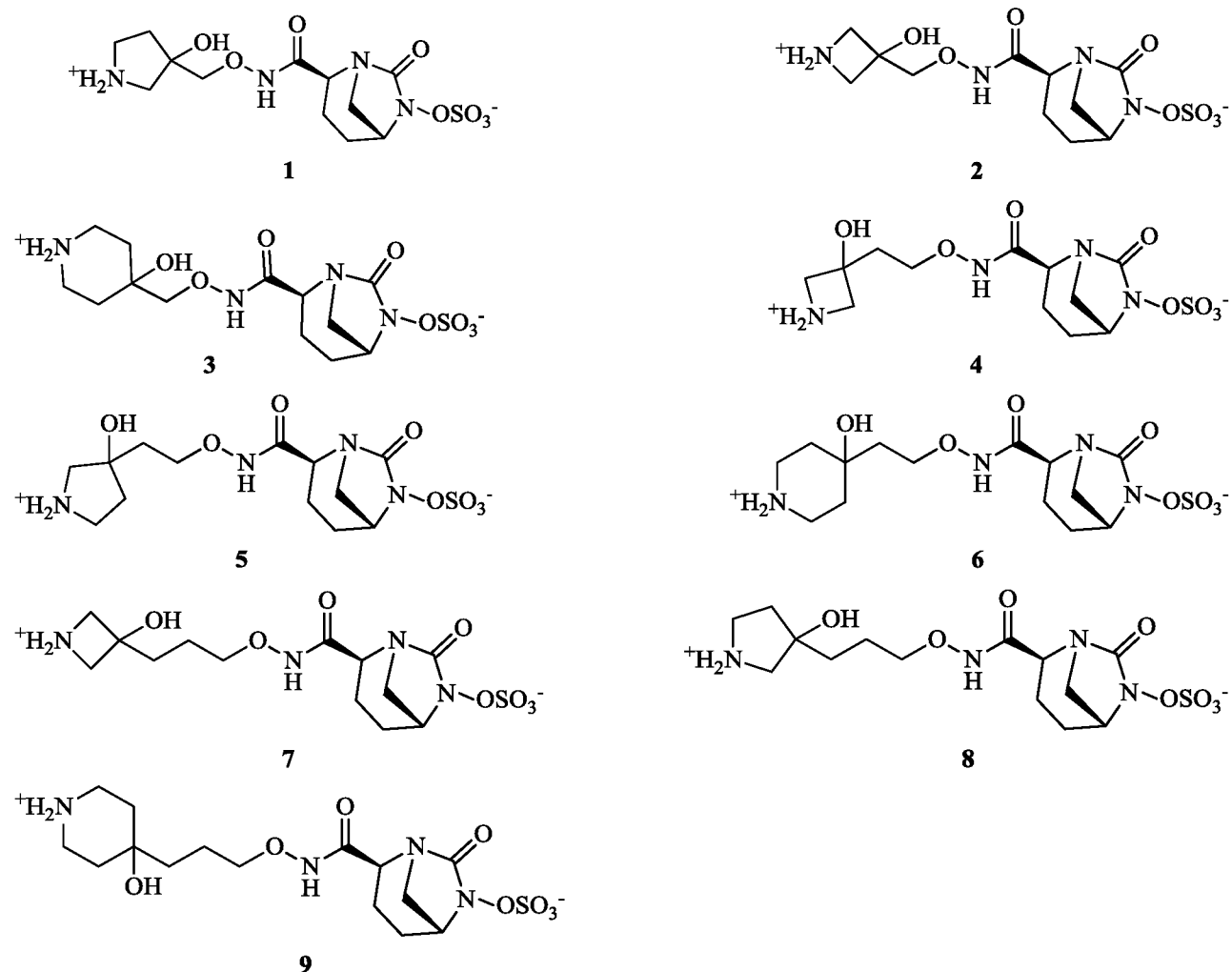
其中,

m 为 1 或 2;

n 为 1 或 2;

i 为 1、2 或 3。

5 在本发明的一些方案中, 上述化合物或其药学上可接受的盐, 选自



10 本发明还提供一种药物组合物, 其含有治疗有效量根据权利要求上述的化合物或其药学上可接受的盐和药学上可接受的载体。

本发明还提供上述的化合物或其药学上可接受的盐或上述的药物组合物在制备用于治疗细菌感染的 β -内酰胺酶抑制剂中的应用。

15 定义和说明

除非另有说明, 本文所用的下列术语和短语旨在具有下列含义。一个特定的术语或短语在没有特别定义的情况下不应该被认为是不确定的或不清楚的, 而应该按照普通的含义去理解。当本文中出現商品名时, 意在指代其对应的商品或其活性成分。这里所采用的术语“药学上可接受的”, 是针对那些化合物、材料、组合物和/或剂型而言, 它们在可靠的医学判断的范围之内, 适用于与人类和动物的组织接触使用, 而没有过多的毒性、刺激性、过敏性反应或其它问题或并发症, 与合理的利益/风险比相称。

术语“药学上可接受的盐”是指本发明化合物的盐, 由本发明发现的具有特定取代基的化合物与相对无

毒的酸或碱制备。当本发明的化合物中含有相对酸性的功能团时，可以通过在纯的溶液或合适的惰性溶剂中用足够量的碱与这类化合物的中性形式接触的方式获得碱加成盐。药学上可接受的碱加成盐包括钠、钾、钙、铵、有机氨或镁盐或类似的盐。当本发明的化合物中含有相对碱性的官能团时，可以通过在纯的溶液或合适的惰性溶剂中用足够量的酸与这类化合物的中性形式接触的方式获得酸加成盐。药学上可接受的酸加成盐的实例包括无机酸盐，所述无机酸包括例如盐酸、氢溴酸、硝酸、碳酸，碳酸氢根，磷酸、磷酸一氢根、磷酸二氢根、硫酸、硫酸氢根、氢碘酸、亚磷酸等；以及有机酸盐，所述有机酸包括如乙酸、丙酸、异丁酸、马来酸、丙二酸、苯甲酸、琥珀酸、辛二酸、反丁烯二酸、乳酸、扁桃酸、邻苯二甲酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、柠檬酸、酒石酸和甲磺酸等类似的酸；还包括氨基酸（如精氨酸等）的盐，以及如葡萄糖醛酸等有机酸的盐（参见 Berge et al., "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Science 66: 1-19 (1977)）。本发明的某些特定的化合物含有碱性和酸性的官能团，从而可以被转换成任一碱或酸加成盐。

优选地，以常规方式使盐与碱或酸接触，再分离母体化合物，由此再生化合物的中性形式。化合物的母体形式与其各种盐的形式不同之处在于某些物理性质，例如在极性溶剂中的溶解度不同。

本文所用的“药学上可接受的盐”属于本发明化合物的衍生物，其中，通过与酸成盐或与碱成盐的方式修饰所述母体化合物。药学上可接受的盐的实例包括但不限于：碱基比如胺的无机酸或有机酸盐、酸根比如羧酸的碱金属或有机盐等等。药学上可接受的盐包括常规的无毒性的盐或母体化合物的季铵盐，例如无毒的无机酸或有机酸所形成的盐。常规的无毒性的盐包括但不限于那些衍生自无机酸和有机酸的盐，所述的无机酸或有机酸选自 2-乙酰氧基苯甲酸、2-羟基乙磺酸、乙酸、抗坏血酸、苯磺酸、苯甲酸、碳酸氢根、碳酸、柠檬酸、依地酸、乙烷二磺酸、乙烷磺酸、富马酸、葡庚糖、葡萄糖酸、谷氨酸、乙醇酸、氢溴酸、盐酸、氢碘酸盐、羟基、羟萘、羟乙磺酸、乳酸、乳糖、十二烷基磺酸、马来酸、苹果酸、扁桃酸、甲烷磺酸、硝酸、草酸、双羟萘酸、泛酸、苯乙酸、磷酸、多聚半乳糖醛、丙酸、水杨酸、硬脂酸、亚乙酸、琥珀酸、氨基磺酸、对氨基苯磺酸、硫酸、单宁、酒石酸和对甲苯磺酸。

本发明的药学上可接受的盐可由含有酸根或碱基的母体化合物通过常规化学方法合成。一般情况下，这样的盐的制备方法是：在水或有机溶剂或两者的混合物中，经由游离酸或碱形式的这些化合物与化学计量的适当的碱或酸反应来制备。一般地，优选醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇或乙腈等非水介质。

除了盐的形式，本发明所提供的化合物还存在前药形式。本文所描述的化合物的前药容易地在生理条件下发生化学变化从而转成本发明的化合物。此外，前体药物可以在体内环境中通过化学或生化方法被转换到本发明的化合物。

本发明的某些化合物可以以非溶剂化形式或者溶剂化形式存在，包括水合物形式。一般而言，溶剂化形式与非溶剂化的形式相当，都包含在本发明的范围之内。

本发明的某些化合物可以具有不对称碳原子（光学中心）或双键。外消旋体、非对映异构体、几何异构体和单个的异构体都包括在本发明的范围之内。

本文中消旋体、ambiscalemic and scalemic 或者对映体纯的化合物的图示法来自 Maehr, J. Chem. Ed. 1985, 62: 114-120。1985 年，62: 114-120。除非另有说明，用楔形键和虚线键表示一个立体中心的绝对构型。当本文所述化合物含有烯属双键或其它几何不对称中心，除非另有规定，它们包括 E、Z 几何异构体。同样地，所有的互变异构形式均包括在本发明的范围之内。

本发明的化合物可以存在特定的几何或立体异构体形式。本发明设想所有的这类化合物，包括顺式和反式异构体、(-)- 和 (+)-对映体、(R)- 和 (S)-对映体、非对映异构体、(D)-异构体、(L)-异构体，及其外消旋混合物和其他混合物，例如对映异构体或非对映体富集的混合物，所有这些混合物都属于本发明的范围之内。烷基等取代基中可存在另外的不对称碳原子。所有这些异构体以及它们的混合物，均包括在本发明的范围之内。

可以通过的手性合成或手性试剂或者其他常规技术制备光学活性的(R)-和(S)-异构体以及D和L异构体。如果想得到本发明某化合物的一种对映体，可以通过不对称合成或者具有手性助剂的衍生作用来制备，其中将所得非对映体混合物分离，并且辅助基团裂开以提供纯的所需对映异构体。或者，当分子中含有碱性官能团（如氨基）或酸性官能团（如羧基）时，与适当的光学活性的酸或碱形成非对映异构体的盐，然后通过本领域所公知的常规方法进行非对映异构体拆分，然后回收得到纯的对映体。此外，对映异构体和非对映异构体的分离通常是通过使用色谱法完成的，所述色谱法采用手性固定相，并任选地与化学衍生法相结合（例如由胺生成氨基甲酸盐）。

本发明的化合物可以在一个或多个构成该化合物的原子上包含非天然比例的原子同位素。例如，可用放射性同位素标记化合物，比如氚（³H），碘-125（¹²⁵I）或C-14（¹⁴C）。本发明的化合物的所有同位素组成的变换，无论放射性与否，都包括在本发明的范围之内。

术语“药学上可接受的载体”是指能够递送本发明有效量活性物质、不干扰活性物质的生物活性并且对宿主或者患者无毒副作用的任何制剂或载体介质代表性的载体包括水、油、蔬菜和矿物质、膏基、洗剂基质、软膏基质等。这些基质包括悬浮剂、增粘剂、透皮促进剂等。它们的制剂为化妆品领域或局部药物领域的技术人员所周知。关于载体的其他信息，可以参考 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Ed., Lippincott, Williams & Wilkins (2005)，该文献的内容通过引用的方式并入本文。

术语“赋形剂”通常是指配制有效的药物组合所需要载体、稀释剂和/或介质。

针对药物或药理学活性剂而言，术语“有效量”或“治疗有效量”是指无毒的但能达到预期效果的药物或药剂的足够用量。对于本发明中的口服剂型，组合中一种活性物质的“有效量”是指与该组合中另一种活性物质联用时为了达到预期效果所需要的用量。有效量的确定因人而异，取决于受体的年龄和一般情况，也取决于具体的活性物质，个案中合适的有效量可以由本领域技术人员根据常规试验确定。

术语“活性成分”、“治疗剂”，“活性物质”或“活性剂”是指一种化学实体，它可以有效地治疗目标紊乱、疾病或病症。

“任选”或“任选地”指的是随后描述的事件或状况可能但不是必需出现的，并且该描述包括其中所述事件或状况发生的情况以及所述事件或状况不发生的情况。

术语“被取代的”是指特定原子上的任意一个或多个氢原子被取代基取代，可以包括重氢和氢的变体，只要特定原子的价态是正常的并且取代后的化合物是稳定的。当取代基为酮基（即=O）时，意味着两个氢原子被取代。酮取代不会发生在芳香基上。术语“任选被取代的”是指可以被取代，也可以不被取代，除非另有规定，取代基的种类和数目在化学上可以实现的基础上可以是任意的。

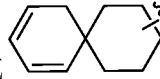
当任何变量（例如R）在化合物的组成或结构中出现一次以上时，其在每一种情况下的定义都是独立的。因此，例如，如果一个基团被0-2个R所取代，则所述基团可以任选地至多被两个R所取代，并且每

种情况下的 R 都有独立的选项。此外，取代基和/或其变体的组合只有在这样的组合会产生稳定的化合物的情况下才是被允许的。

当一个连接基团的数量为 0 时，比如 $-(CRR)_0-$ ，表示该连接基团为单键。

当其中一个变量选自单键时，表示其连接的两个基团直接相连，比如 A-L-Z 中 L 代表单键时表示该结构实际上是 A-Z。

当一个取代基为空缺时，表示该取代基是不存在的，比如 A-X 中 X 为空缺时表示该结构实际上是 A。当一个取代基的键可以交叉连接到一个环上的两个原子时，这种取代基可以与这个环上的任意原子相键合。当所列举的取代基中没有指明其通过哪一个原子连接到化学结构通式中包括但未具体提及的化合物时，这种取代基可以通过其任何原子相键合。取代基和/或其变体的组合只有在这样的组合会产生稳定的化合物的

情况下才是被允许的。例如，结构单元  或  表示其可在环己基或者环己二烯上的任意一个位置发生取代。

除非另有规定，术语“杂”表示杂原子或杂原子团(即含有杂原子的原子团)，包括碳(C)和氢(H)以外的原子以及含有这些杂原子的原子团，例如包括氧(O)、氮(N)、硫(S)、硅(Si)、锗(Ge)、铝(Al)、硼(B)、-O-、-S-、=O、=S、-C(=O)O-、-C(=O)-、-C(=S)-、-S(=O)-、-S(=O)₂-，以及任选被取代的-C(=O)N(H)-、-N(H)-、-C(=NH)-、-S(=O)₂N(H)-或-S(=O)N(H)-。

除非另有规定，“环”表示被取代或未被取代的环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、环炔基、杂环炔基、芳基或杂芳基。所谓的环包括单环、联环、螺环、并环或桥环。环上原子的数目通常被定义为环的元数，例如，“5~7元环”是指环绕排列5~7个原子。除非另有规定，该环任选地包含1~3个杂原子。因此，“5~7元环”包括例如苯基、吡啶和哌啶基；另一方面，术语“5~7元杂环烷基环”包括吡啶基和哌啶基，但不包括苯基。术语“环”还包括含有至少一个环的环系，其中的每一个“环”均独立地符合上述定义。

除非另有规定，术语“杂环”或“杂环基”意指稳定的含杂原子或杂原子团的单环、双环或三环，它们可以是饱和的、部分不饱和的或不饱和的(芳族的)，它们包含碳原子和1、2、3或4个独立地选自N、O和S的环杂原子，其中上述任意杂环可以稠合到一个苯环上形成双环。氮和硫杂原子可任选被氧化(即NO和S(O)_p，p是1或2)。氮原子可以是被取代的或未取代的(即N或NR，其中R是H或本文已经定义过的其他取代基)。该杂环可以附着到任何杂原子或碳原子的侧基上从而形成稳定的结构。如果产生的化合物是稳定的，本文所述的杂环可以发生碳位或氮位上的取代。杂环中的氮原子任选地被季铵化。一个优选方案是，当杂环中S及O原子的总数超过1时，这些杂原子彼此不相邻。另一个优选方案是，杂环中S及O原子的总数不超过1。如本文所用，术语“芳族杂环基团”或“杂芳基”意指稳定的5、6、7元单环或双环或7、8、9或10元双环杂环基的芳香环，它包含碳原子和1、2、3或4个独立地选自N、O和S的环杂原子。氮原子可以是被取代的或未取代的(即N或NR，其中R是H或本文已经定义过的其他取代基)。氮和硫杂原子可任选被氧化(即NO和S(O)_p，p是1或2)。值得注意的是，芳香杂环上S和O原子的总数不超过1。桥环也包含在杂环的定义中。当一个或多个原子(即C、O、N或S)连接两个不相邻的碳原子或氮原子时形成桥环。优选的桥环包括但不限于：一个碳原子、两个碳原子、一个氮原子、两个氮原子和一个碳-氮基。值得注意的是，一个桥总是将单环转换成三环。桥环中，环上的取代基也可以出现在桥上。

杂环化合物的实例包括但不限于：吡啶基、吡辛因基、苯并咪唑基、苯并呋喃基、苯并巯基呋喃基、苯并巯基苯基、苯并恶唑基、苯并恶唑啉基、苯并噻唑基、苯并三唑基、苯并四唑基、苯并异恶唑基、苯并异噻唑基、苯并咪唑啉基、咪唑基、4aH-咪唑基、咪啉基、苯并二氢吡喃基、色烯、噌啉基十氢噌啉基、2H, 6H-1, 5, 2-二噻嗪基、二氢呋喃并[2,3-b]四氢呋喃基、呋喃基、呋喃基、咪唑烷基、咪唑啉基、咪唑基、1H-吡唑基、吡唑啉基、二氢吡唑基、中氮茛基、吡唑基、3H-吡唑基、异苯并呋喃基、异吡唑基、异二氢吡唑基、异噻啉基、异噻唑基、异恶唑基、亚甲二氧基苯基、吗啉基、萘啶基、八氢异噻啉基、恶二唑基、1,2,3-恶二唑基、1,2,4-恶二唑基、1,2,5-恶二唑基、1,3,4-恶二唑基、恶唑烷基、恶唑基、羟吡唑基、噻啉基、菲啶基、菲咯啉基、吩嗪、吩噻嗪、苯并黄嘌呤基、酚恶嗪基、酞嗪基、哌嗪基、哌啶基、哌啶酮基、4-哌啶酮基、胡椒基、蝶啶基、嘌呤基、吡喃基、吡嗪基、吡唑烷基、吡唑啉基、吡唑基、咕嗪基、吡啶并恶唑、吡啶并咪唑、吡啶并噻唑、吡啶基、吡咯烷基、吡咯啉基、2H-吡咯基、吡咯基、噻唑啉基、噻啉基、4H-噻嗪基、噻啉基、奎宁环基、四氢呋喃基、四氢异噻啉基、四氢噻啉基、四唑基、6H-1,2,5-噻二嗪基、1,2,3-噻二唑基、1,2,4-噻二唑基、1,2,5-噻二唑基、1,3,4-噻二唑基、噻蒎基、噻唑基、异噻唑基噻吩基、噻吩并恶唑基、噻吩并噻唑基、噻吩并咪唑基、噻吩基、三嗪基、1,2,3-三唑基、1,2,4-三唑基、1,2,5-三唑基、1,3,4-三唑基和咕吨基。还包括稠环和螺环化合物。

除非另有规定，术语“烃基”或者其下位概念（比如烷基、烯基、炔基、芳基等等）本身或者作为另一取代基的一部分表示直链的、支链的或环状的烃原子团或其组合，可以是完全饱和的（如烷基）、单元或多元不饱和的（如烯基、炔基、芳基），可以是单取代或多取代的，可以是一价（如甲基）、二价（如亚甲基）或者多价（如次甲基），可以包括二价或多价原子团，具有指定数量的碳原子（如 C₁-C₁₂ 表示 1 至 12 个碳，C₁₋₁₂ 选自 C₁、C₂、C₃、C₄、C₅、C₆、C₇、C₈、C₉、C₁₀、C₁₁ 和 C₁₂；C₃₋₁₂ 选自 C₃、C₄、C₅、C₆、C₇、C₈、C₉、C₁₀、C₁₁ 和 C₁₂）。“烃基”包括但不限于脂肪烃基和芳香烃基，所述脂肪烃基包括链状和环状，具体包括但不限于烷基、烯基、炔基，所述芳香烃基包括但不限于 6-12 元的芳香烃基，例如苯、萘等。在一些实施例中，术语“烃基”表示直链的或支链的原子团或它们的组合，可以是完全饱和的、单元或多元不饱和的，可以包括二价和多价原子团。饱和烃原子团的实例包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基、仲丁基、异丁基、环己基、（环己基）甲基、环丙基甲基，以及正戊基、正己基、正庚基、正辛基等原子团的同系物或异构体。不饱和烃基具有一个或多个双键或三键，其实例包括但不限于乙烯基、2-丙烯基、丁烯基、巴豆基、2-异戊烯基、2-（丁二烯基）、2，4-戊二烯基、3-（1，4-戊二烯基）、乙炔基、1-和 3-丙炔基，3-丁炔基，以及更高级的同系物和异构体。

除非另有规定，术语“杂烃基”或者其下位概念（比如杂烷基、杂烯基、杂炔基、杂芳基等等）本身或者与另一术语联合表示稳定的直链的、支链的或环状的烃原子团或其组合，有一定数目的碳原子和至少一个杂原子组成。在一些实施例中，术语“杂烷基”本身或者与另一术语联合表示稳定的直链的、支链的烃原子团或其组合，有一定数目的碳原子和至少一个杂原子组成。在一个典型实施例中，杂原子选自 B、O、N 和 S，其中氮和硫原子任选地被氧化，氮杂原子任选地被季铵化。杂原子或杂原子团可以位于杂烃基的任何内部位置，包括该烃基附着于分子其余部分的位置，但术语“烷氧基”、“烷氨基”和“烷硫基”（或硫代烷氧基）属于惯用表达，是指分别通过一个氧原子、氨基或硫原子连接到分子的其余部分的那些烷基基团。实例包括但不限于 -CH₂-CH₂-O-CH₃、-CH₂-CH₂-NH-CH₃、-CH₂-CH₂-N(CH₃)-CH₃、-CH₂-S-CH₂-CH₃、

-CH₂-CH₂、-S(O)-CH₃、-CH₂-CH₂-S(O)₂-CH₃、-CH=CH-O-CH₃、-CH₂-CH=N-OCH₃ 和 -CH=CH-N(CH₃)-CH₃。
至多两个杂原子可以是连续的，例如-CH₂-NH-OCH₃。

除非另有规定，术语“环烃基”、“杂环烃基”或者其下位概念（比如芳基、杂芳基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、环炔基、杂环炔基等等）本身或与其他术语联合分别表示环化的“烃基”、“杂烃基”。

5 此外，就杂烃基或杂环烃基（比如杂烷基、杂环烷基）而言，杂原子可以占据该杂环附着于分子其余部分的位置。环烃基的实例包括但不限于环戊基、环己基、1-环己烯基、3-环己烯基、环庚基等。杂环基的非限制性实例包括 1-（1,2,5,6-四氢吡啶基）、1-哌啶基、2-哌啶基、3-哌啶基、4-吗啉基、3-吗啉基、四氢呋喃-2-基、四氢呋喃吡啶-3-基、四氢噻吩-2-基、四氢噻吩-3-基，1-哌嗪基和 2-哌嗪基。

10 除非另有规定，术语“烷基”用于表示直链或支链的饱和烃基，可以是单取代（如-CH₂F）或多取代的（如-CF₃），可以是一价（如甲基）、二价（如亚甲基）或者多价（如次甲基）。烷基的例子包括甲基(Me)，乙基(Et)，丙基(如，n-丙基和 异丙基)，丁基(如，n-丁基，异丁基，s-丁基，t-丁基)，戊基(如，n-戊基，异戊基，新戊基)等。

15 除非另有规定，“烯基”指在链的任何位点上具有一个或多个碳碳双键的烷基，可以是单取代或多取代的，可以是一价、二价或者多价。烯基的例子包括乙烯基，丙烯基，丁烯基，戊烯基，己烯基，丁间二烯基，戊间二烯基，己间二烯基等。

除非另有规定，“炔基”指在链的任何位点上具有一个或多个碳碳三键的烷基，可以是单取代或多取代的，可以是一价、二价或者多价。炔基的例子包括乙炔基，丙炔基，丁炔基，戊炔基等。

20 除非另有规定，环烷基包括任何稳定的环状或多环烃基，任何碳原子都是饱和的，可以是单取代或多取代的，可以是一价、二价或者多价。这些环烷基的实例包括，但不限于，环丙基、降冰片烷基、[2.2.2]二环辛烷、[4.4.0]二环癸烷等。

除非另有规定，环烯基包括任何稳定的环状或多环烃基，该烃基在环的任何位点含有一个或多个不饱和的碳-碳双键，可以是单取代或多取代的，可以是一价、二价或者多价。这些环烯基的实例包括，但不限于，环戊烯基、环己烯基等。

25 除非另有规定，环炔基包括任何稳定的环状或多环烃基，该烃基在环的任何位点含有一个或多个碳-碳三键，可以是单取代或多取代的，可以是一价、二价或者多价。

除非另有规定，术语“卤代素”或“卤素”本身或作为另一取代基的一部分表示氟、氯、溴或碘原子。此外，术语“卤代烷基”意在包括单卤代烷基和多卤代烷基。例如，术语“卤代（C₁-C₄）烷基”意在包括但不仅限于三氟甲基、2, 2, 2-三氟乙基、4-氯丁基和 3-溴丙基等等。除非另有规定，卤代烷基的实例包括但不仅限于：三氟甲基、三氯甲基、五氟乙基，和五氯乙基。

30 “烷氧基”代表通过氧桥连接的具有特定数目碳原子的上述烷基，除非另有规定，C₁₋₆烷氧基包括 C₁、C₂、C₃、C₄、C₅ 和 C₆ 的烷氧基。烷氧基的例子包括但不限于：甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基、正戊氧基和 S-戊氧基。除非另有规定，术语“芳基”表示多不饱和的芳族烃取代基，可以是单取代或多取代的，可以是一价、二价或者多价，它可以是单环或多环（比如 1 至 3 个环；其中至少一个环是芳族的），它们稠合在一起或共价连接。术语“杂芳基”是指含有一至四个杂原子的芳基（或环）。在一个示范性实例中，杂原子选自 B、N、O 和 S，其中氮和硫原子任选地被氧化，氮原

35

子任选地被季铵化。杂芳基可通过杂原子连接到分子的其余部分。芳基或杂芳基的非限制性实施例包括苯基、1-萘基、2-萘基、4-联苯基、1-吡咯基、2-吡咯基、3-吡咯基、3-吡啶基、2-咪唑基、4-咪唑基、吡嗪基、2-恶唑基、4-恶唑基、2-苯基-4-恶唑基、5-恶唑基、3-异恶唑基、4-异恶唑基、5-异恶唑基、2-噻唑基、4-噻唑基、5-噻唑基、2-呋喃基、3-呋喃基、2-噻吩基、3-噻吩基、2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、2-嘧啶基、4-嘧啶基、5-苯并噻唑基、嘌呤基、2-苯并咪唑基、5-咪唑基、1-异喹啉基、5-异喹啉基、2-喹啉基、5-喹啉基、3-喹啉基和 6-喹啉基。上述任意一个芳基和杂芳基环系的取代基选自下文所述的可接受的取代基。

除非另有规定，芳基在与其他术语联合使用时（例如芳氧基、芳硫基、芳烷基）包括如上定义的芳基和杂芳基环。因此，术语“芳烷基”意在包括芳基附着于烷基的那些原子团（例如苄基、苄乙基、吡啶基甲基等），包括其中碳原子（如亚甲基）已经被例如氧原子代替的那些烷基，例如苯氧基甲基、2-吡啶氧甲基、3-（1-萘氧基）丙基等。

术语“离去基团”是指可以被另一种官能团或原子通过取代反应（例如亲和取代反应）所取代的官能团或原子。例如，代表性的离去基团包括三氟甲磺酸酯；氯、溴、碘；磺酸酯基，如甲磺酸酯、甲苯磺酸酯、对溴苯磺酸酯、对甲苯磺酸酯等；酰氧基，如乙酰氧基、三氟乙酰氧基等等。

术语“保护基”包括但不限于“氨基保护基”、“羟基保护基”或“巯基保护基”。术语“氨基保护基”是指适合用于阻止氨基氮位上副反应的保护基团。代表性的氨基保护基包括但不限于：乙酰基；酰基，例如链烷酰基（如乙酰基、三氯乙酰基或三氟乙酰基）；烷氧基羰基，如叔丁氧基羰基(Boc)；芳基甲氧羰基，如苄氧羰基(Cbz)和 9-苄基甲氧羰基(Fmoc)；芳基甲基，如苄基(Bn)、三苯甲基(Tr)、1,1-二-(4'-甲氧基苯基)甲基；甲硅烷基，如三甲基甲硅烷基(TMS)和叔丁基二甲基甲硅烷基(TBS)等等。术语“羟基保护基”是指适合用于阻止羟基副反应的保护基。代表性羟基保护基包括但不限于：烷基，如甲基、乙基和叔丁基；酰基，例如链烷酰基（如乙酰基）；芳基甲基，如苄基(Bn)，对甲氧基苄基(PMB)、9-苄基甲基(Fm)和二苯基甲基(二苯甲基，DPM)；甲硅烷基，如三甲基甲硅烷基(TMS)和叔丁基二甲基甲硅烷基(TBS)等等。

本发明的化合物可以通过本领域技术人员所熟知的多种合成方法来制备，包括下面列举的具体实施方式、其与其他化学合成方法的结合所形成的实施方式以及本领域技术上人员所熟知的等同替换方式，优选的实施方式包括但不限于本发明的实施例。

本发明所使用的溶剂可经市售获得。本发明采用下述缩略词：aq 代表水；HATU 代表 O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐；EDC 代表 N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐；m-CPBA 代表 3-氯过氧苯甲酸；eq 代表当量、等量；CDI 代表羰基二咪唑；DCM 代表二氯甲烷；PE 代表石油醚；DIAD 代表偶氮二羧酸二异丙酯；DMF 代表 N,N-二甲基甲酰胺；DMSO 代表二甲亚砜；EtOAc 代表乙酸乙酯；EtOH 代表乙醇；MeOH 代表甲醇；CBz 代表苄氧羰基，是一种胺保护基团；BOC 代表叔丁基羰基是一种胺保护基团；HOAc 代表乙酸；NaCNBH₃ 代表氰基硼氢化钠；rt.代表室温；O/N 代表过夜；THF 代表四氢呋喃；Boc₂O 代表二-叔丁基二碳酸酯；TFA 代表三氟乙酸；DIPEA 代表二异丙基乙基胺；SOCl₂ 代表氯化亚砷；CS₂ 代表二硫化碳；TsOH 代表对甲苯磺酸；NFSI 代表 N-氟-N-(苯磺酰基)苯磺酰胺；NCS 代表 1-氯吡咯烷-2,5-二酮；n-Bu₄NF 代表氟化四丁基铵；iPrOH 代表 2-丙醇；mp

代表熔点；LDA 代表二异丙基胺基锂。

化合物经手工或者 ChemDraw®软件命名，市售化合物采用供应商目录名称。

附图说明

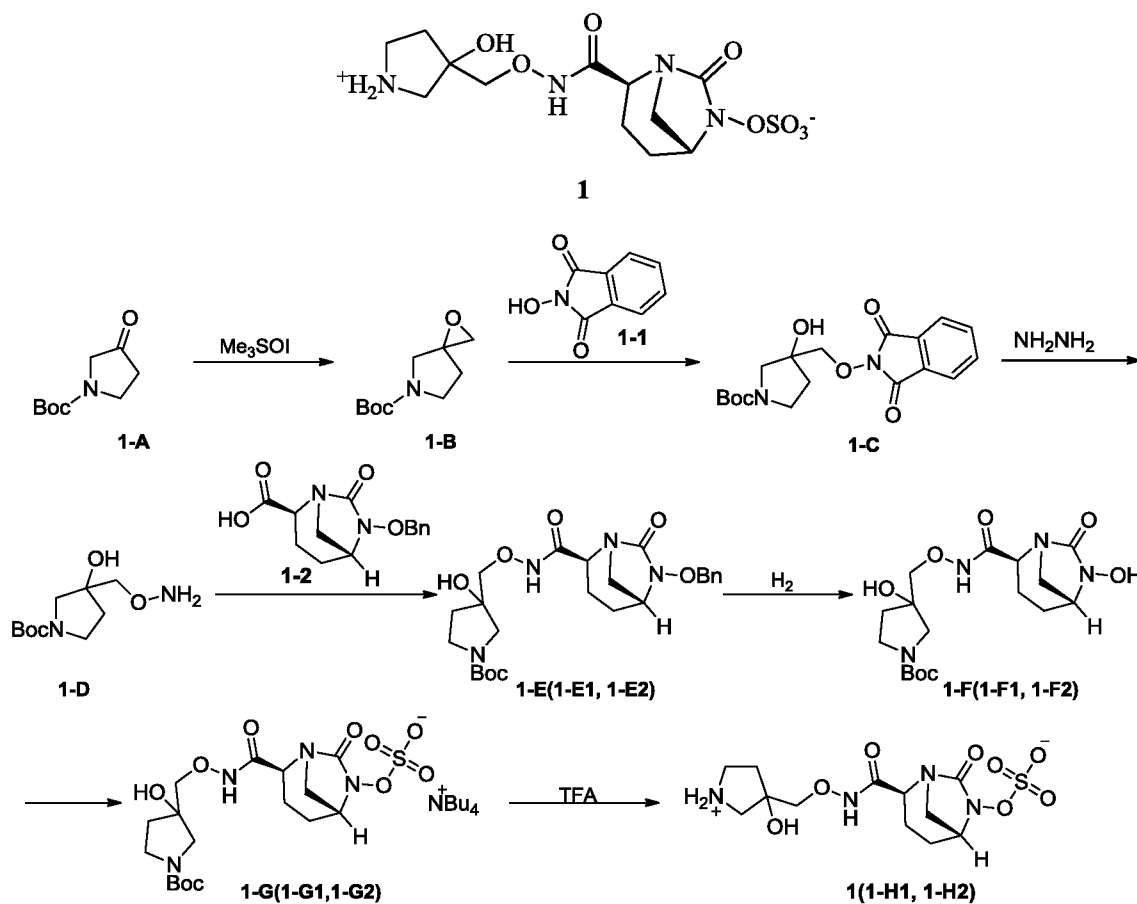
5 图 1 为化合物 1 与参照化合物 OP-0595 在小鼠大腿肌肉感染模型中的药效比较。

图 2 为化合物 1-H2 与参照化合物 OP-0595 在小鼠大腿肌肉感染模型中的药效量效关系比较。

具体实施方式

下面通过实施例对本发明进行详细描述，但并不意味着对本发明任何不利限制。本文已经详细地描述
10 了本发明，其中也公开了其具体实施方式，对本领域的技术人员而言，在不脱离本发明精神和范围的情况下针对本发明具体实施方式进行各种变化和改进行将是显而易见的。

实施例 1：化合物 1



15 步骤 1:

把三甲基碘化亚砷（12.00克，54.53毫摩尔）溶解在80毫升N,N-二甲基甲酰胺和40毫升四氢呋喃的混合溶液中，然后冷却到0℃，在氮气保护下分批缓慢加入60%的钠氢（2.16克，54毫摩尔），然后升温到20-25℃搅拌30分钟。澄清的反应液随后冷却到-78℃，缓慢滴加溶解在40毫升四氢呋喃的**1-A**（10.00克，54毫摩尔）溶液，加完后，反应混合物缓慢升温到20-25℃，并搅拌90分钟。薄层色谱（石油醚/乙酸乙酯=5/1）跟踪反应显示反应结束，反应也用100毫升乙酸乙酯稀释，然后倒入500毫升冰水中，分层后水相用乙酸乙酯萃取三次，每次100毫升。合并的有机相用饱和食盐水洗涤后，用无水硫酸钠干燥，过滤，将滤液减压

20

浓缩得到粗品，粗品用柱层析法（石油醚/乙酸乙酯=10/1到5/1梯度洗脱）分离纯化得到化合物**1-B**（4.5克，收率42%）。

步骤 2:

在 15℃下，把化合物 **1-B**（500 毫克，2.51 毫摩尔）和 N-羟基邻苯二甲酰亚胺 **1-1**（491.23 毫克，3.01 毫摩尔）溶解在 15 毫升 N,N-二甲基甲酰胺中，氮气保护下一次性加入三乙胺（304.71 毫克，3.01 毫摩尔），然后将反应混合物加热到 90℃并搅拌 2 小时，薄层色谱分析显示反应完成，把反应降温到 15℃并用 30 毫升乙酸乙酯稀释，然后用 30 毫升水洗涤 1 次，用饱和食盐水洗涤 2 次，每次 30 毫升，有机层用无水硫酸钠干燥后减压浓缩得到化合物 **1-C** 的粗品 800 毫克。

¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 7.89 (d, *J* = 2.8 Hz, 2H), 7.85 - 7.78 (m, 2H), 4.41 - 4.25 (m, 2H), 3.84 - 3.76 (m, 2H), 3.63 - 3.38 (m, 5H), 2.61 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 1.97 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 1.48 (s, 9H).

步骤 3:

在 15℃下，把上述化合物 **1-C**（700 毫克，1.92 毫摩尔）溶解在 20 毫升甲醇中，氮气保护下一次性加入一水合肼（961.66 毫克，19.20 毫摩尔），然后把反应混合物加热到 50℃并搅拌 1 小时，薄层色谱跟踪反应显示反应完成，反应液随后冷却到 15℃并过滤，滤液减压浓缩得到粗品，粗品用柱层析法（乙酸乙酯/石油醚混合液，梯度 50%~100%）分离纯化得到氧胺化合物 **1-D**（600 毫克，收率 51%）。

步骤 4:

在 15℃下，把化合物 **1-D**（350 毫克，1.51 毫摩尔）和 (2S,5R)-6-苄氧基-7-氧-1,6-二氮杂二环[3.2.1]辛-2-羧酸 **1-2**（438.06 毫克，1.59 毫摩尔）（合成方法参考专利 WO2012172368A1）溶解在 20 毫升二氯甲烷中，然后加入 EDCI（376.31 毫克，1.96 毫摩尔）和 HOBt（265.24 毫克，1.96 毫摩尔），最后加入二异丙基乙胺（292.73 毫克，2.27 毫摩尔），反应混合物在氮气保护下搅拌 16 小时，LCMS 跟踪显示反应完成，减压浓缩移除二氯甲烷，粗品用柱层析（乙酸乙酯/石油醚梯度洗脱，50%~100%）精制得到缩合化合物 **1-E**（300 毫克，收率 27%）。利用常规的超临界色谱技术（SFC）将 **1-E** 拆分成两个非对映异构体化合物 **1-E1**（保留时间为 2.80 分钟）和 **1-E2**（保留时间为 3.40 分钟）。

步骤 5:

在 15℃下，把化合物 **1-E**（300 毫克，0.611 毫摩尔）溶解在 15 毫升四氢呋喃中，氮气保护下加入 100 毫克 10%的干钯碳，氢气置换三次后，在氢气球氛围下混合物于 15℃搅拌 4 小时，薄层色谱跟踪显示反应结束，催化剂用硅藻土过滤，浓缩滤液得到化合物 **1-F**（240 毫克，收率 98%）。用相同的方法，由 **1-E1** 合成得到化合物 **1-F1**，用 **1-E2** 合成得到化合物 **1-F2**。

步骤 6:

在 15℃下，把化合物 **1-F**（240 毫克，0.599 毫摩尔）溶解在 5 毫升异丙醇和 5 毫升水的混合溶液中，氮气保护下一次性加入 N,N-二甲基甲酰胺的三氧化硫络合物（100.09 毫克，0.719 毫摩尔），随后加入三乙胺（15.16 毫克，0.15 毫摩尔），反应混合物在 15℃下搅拌 16 小时，LCMS 跟踪显示反应结束，将异丙醇在室温下浓缩，再加入饱和磷酸二氢钠溶液 30 毫升调节 pH 值到 6 左右，然后用石油醚/乙酸乙酯 = 2:1 的混合溶液洗涤两次，每次 20 毫升，然后加入四丁基硫酸氢铵（407 毫克，1.2 毫摩尔），该溶液用乙酸乙酯萃取 3 次，每次 20 毫升，合并的有机相用 20 毫升饱和食盐水洗涤 1 次，然后用无水硫酸钠干燥，过滤浓缩得到粗品。粗品用薄层析精制（乙酸乙酯/丙酮梯度洗脱，0~66%）得到化合物 **1-G**（260 毫克，收率

60%)。用相同的方法，由 **1-F1** 合成得到化合物 **1-G1**，由 **1-F2** 合成得到化合物 **1-G2**。

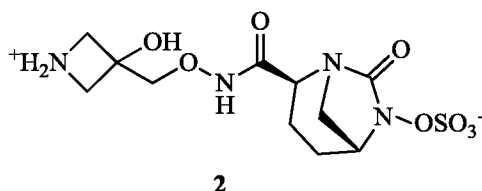
步骤 7:

把化合物 **1-G** (260 毫克, 0.36 毫摩尔) 溶解在 10 毫升无水二氯甲烷中, 然后冷却到 0℃, 氮气保护下加入三氟乙酸 (1.38 克, 12.08 毫摩尔), 然后把反应液升温到 15℃ 并搅拌 1 小时, LCMS 跟踪显示反应完成, 在 15℃ 下减压浓缩除掉二氯甲烷和三氟乙酸, 粗品用乙腈打浆过滤 3 次, 除掉杂质和大部分三氟乙酸, 最后得到的固体用水溶解冻干得化合物 **1** (83 毫克, 收率 59%, 纯度 97%)。¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 4.13 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H), 4.06 (t, *J* = 2.2 Hz, 2H), 3.99 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 3.51 - 3.41 (m, 2H), 3.35 - 3.29 (m, 2H), 3.24 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 3.05 (d, *J* = 12.2 Hz, 1H), 2.15 - 1.95 (m, 4H), 1.93 - 1.81 (m, 1H), 1.80 - 1.68 (m, 1H). LCMS (ESI) *m/z*: 379.0 (M-1);

用相同的方法, 由化合物 **1-G1** 合成得到化合物 **1-H1**。¹H NMR (400MHz, D₂O) δ 4.14 (br. s., 1H), 4.11 - 4.02 (m, 2H), 4.00 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 3.53 - 3.42 (m, 2H), 3.33 (s, 2H), 3.25 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 3.06 (d, *J* = 12.2 Hz, 1H), 2.18 - 2.00 (m, 4H), 1.88 (dt, *J* = 7.6, 15.6 Hz, 1H), 1.82 - 1.68 (m, 1H); LCMS (ESI) *m/z*: 379.0 (M-1);

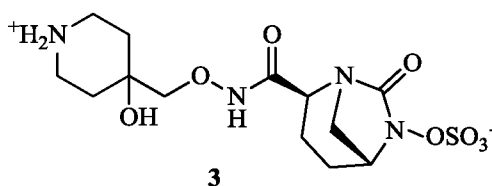
用相同的方法, 由化合物 **1-G2** 合成得到化合物 **1-H2**。¹H NMR (400MHz, D₂O) δ 4.15 (br. s., 1H), 4.08 (s, 2H), 4.02 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 3.47 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 3.37 - 3.32 (m, 2H), 3.27 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 3.08 (d, *J* = 12.2 Hz, 1H), 2.17 - 2.03 (m, 4H), 1.96 - 1.84 (m, 1H), 1.84 - 1.71 (m, 1H). LCMS (ESI) *m/z*: 379.0 (M-1);

实施例 2: 化合物 2



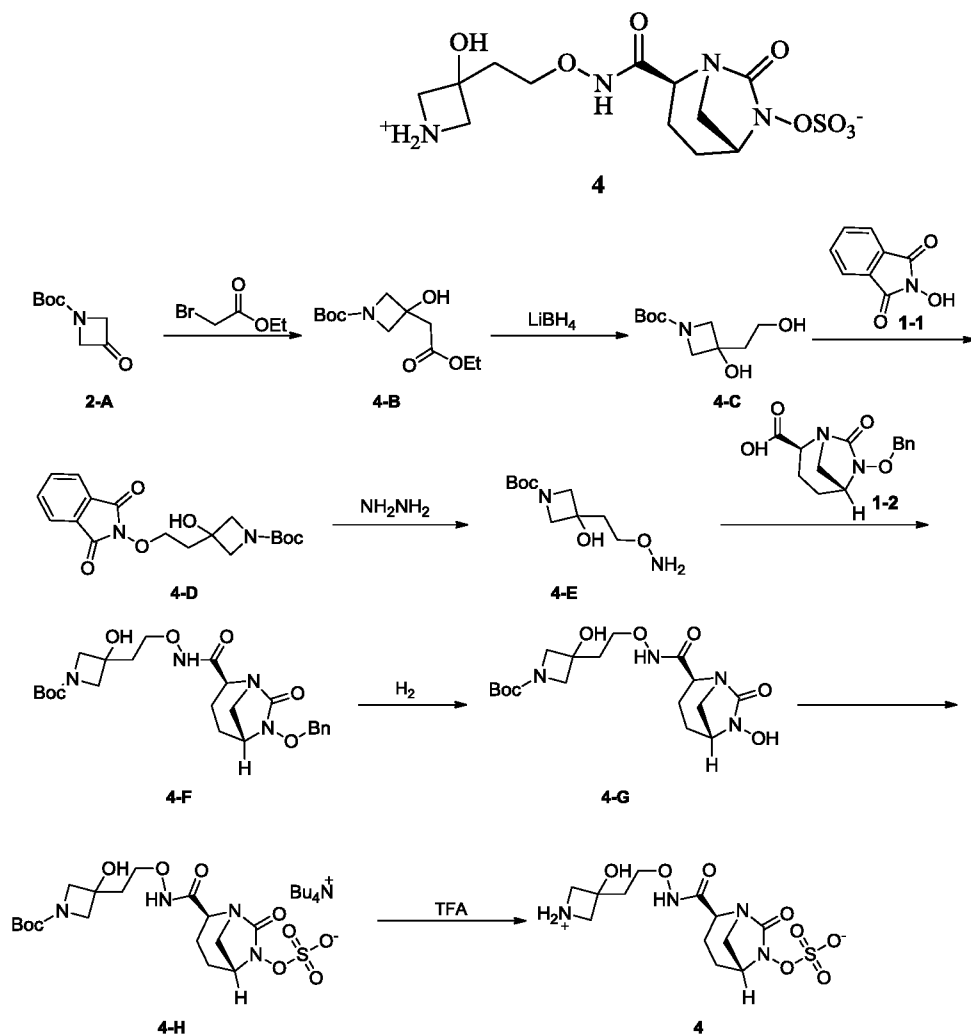
化合物**2**以1-叔丁氧羰基-3-氮杂环丁酮(**2-A**)为起始原料, 采用与实施例1相同方法合成得到。¹H NMR (400MHz, D₂O) δ 4.23 (d, *J* = 10.4 Hz, 2H), 4.15 - 3.98 (m, 6H), 3.25 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H), 3.16 - 3.02 (m, 1H), 2.09 (d, *J* = 15.0 Hz, 1H), 2.05 - 1.99 (m, 1H), 1.91 - 1.82 (m, 1H), 1.79 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), LCMS (ESI) *m/z*: 365.0 (M-1);

实施例 3: 化合物 3



化合物**3**以1-叔丁氧羰基-4-哌啶酮(**3-A**)为起始原料, 采用与实施例1相同方法合成得到。¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 4.16 (br, 1H), 4.02 (br, 1H), 3.88 (s 2H), 3.27(br, 5H), 3.11 (br, 1H), 2.01 (br, 3H), 1.87 (br, 5H). LCMS (ESI) *m/z*: 493.1 (M-1).

实施例 4: 化合物 4



步骤 1:

- 5 把活化锌粉(12.41 克, 189.87 毫摩尔)悬浮在 150 毫升四氢呋喃中, 在 35°C 下加入三甲基氯硅烷(317.31 毫克, 2.92 毫摩尔, 0.369 毫升), 然后氮气保护下在 66°C 下缓慢滴加溴乙酸乙酯(9.27 克, 55.5 毫摩尔, 6.14 毫升), 在反应过程中, 悬浮物逐渐变成橘黄色的澄清溶液, 等锌粉完全溶解后冷却到 20°C 转移到滴液漏斗中, 在 0°C 下缓慢加到 **2-A** (5 克, 29.21 毫摩尔) 的四氢呋喃(80 毫升)中, 滴加完成后, 反应混合物在 0°C 搅拌 1.5 小时, LCMS 显示反应完成, 反应溶剂减压浓缩, 残留物溶解在 100 毫升乙酸乙酯中,
- 10 再用 1 摩尔/升的盐酸水溶液(50 毫升)洗涤一次, 饱和食盐水洗涤三次, 每次 40 毫升, 然后用无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩得到粗品, 粗品用柱层析分离纯化得到**化合物 4-B**(1.4 克, 收率 18%)。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.22 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H), 3.95 (d, $J = 9.4$ Hz, 2H), 3.83 (d, $J = 9.6$ Hz, 2H), 2.83 (s, 2H), 1.45 (s, 9H), 1.34 - 1.29 (m, 3H)

步骤 2:

- 15 在 15°C 下, 把**化合物 4-B** (1.5 克, 5.78 毫摩尔) 溶解在 35 毫升无水四氢呋喃中, 氮气保护下分批加入硼氢化锂(503.55 毫克, 23.12 毫摩尔), 反应混合物在 15°C 下搅拌 2 小时, 薄层色谱(石油醚/乙酸乙酯=2/1)跟踪显示反应完成, 反应用饱和柠檬酸溶液淬灭并调节 pH 值到 7 左右, 然后加入乙酸乙酯 100 毫升稀释分层。有机相用饱和食盐水洗涤 2 次, 每次 40 毫升, 然后用无水硫酸钠干燥, 再过滤浓缩得到

800 毫克粗品**化合物 4-C**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.60 - 4.52 (m, 1H), 3.96 - 3.81 (m, 6H), 3.10 - 2.96 (m, 1H), 2.01 (t, *J* = 5.4 Hz, 2H), 1.43 (s, 9H)

步骤 3:

把**化合物 4-C** (850 毫克, 3.91 毫摩尔), N-羟基邻苯二甲酰亚胺 **1-1** (701.62 毫克, 4.3 毫摩尔) 和三苯基磷 (1.54 克, 5.87 毫摩尔) 溶解在 30 毫升四氢呋喃中, 然后冷却到 0°C, 氮气保护下 10 分钟内滴加完偶氮二甲酸二异丙酯 (1.16 克, 5.75 毫摩尔), 滴加完之后反应混合物在 0°C 搅拌 2 小时, LCMS 跟踪显示反应完成, 减压浓缩除去四氢呋喃, 残留物用 1:1 的乙酸乙酯和石油醚的混合液打浆, 然后过滤除掉不溶物, 收集到的滤液浓缩干后得到粗产品, 粗品用快速柱层析 (石油醚/乙酸乙酯梯度 5:1 到 1:1) 纯化得到 1.5 克粗品**化合物 4-D**。

步骤 4:

把上述**化合物 4-D** (1.5 克) 溶于 30 毫升二氯甲烷中, 在 0°C 加入一水合肼 (316.97 毫克, 5.38 毫摩尔, 85% 纯度), 反应升温到 9°C 并搅拌 16 小时, 薄层色谱 (乙酸乙酯/石油醚=1/1) 跟踪显示反应结束, 然后把不溶物过滤, 收集到的滤液减压浓缩得到残留物, 用柱层析 (石油醚/乙酸乙酯溶液 50%~100%) 精制纯化得到**化合物 4-E** (380 毫克, 两步收率 42%)。

步骤 5:

在 14°C 下, 把**化合物 4-E** (380 毫克, 1.64 毫摩尔) 溶于 20 毫升干燥的二氯甲烷中, 随后依次分批加入 EDCI (405.89 毫克, 2.12 毫摩尔), HOBt (286.10 毫克, 2.12 毫摩尔) 和二异丙基乙基胺 (378.89 毫克, 2.93 毫摩尔), 最后加入 (2S,5R)-6-苄氧基-7-氧-1,6-二氮杂二环[3.2.1]辛-2-羧酸 **1-2** (450 毫克, 2.63 毫摩尔), 然后反应混合物在 14°C 搅拌 2 小时, LCMS 跟踪显示反应完成, 反应溶剂用减压浓缩除去, 残留物用柱层析分离纯化 (石油醚/乙酸乙酯 = 3/1~1/1 梯度洗脱) 得到粗品, 粗品用制备色谱进一步纯化得到**化合物 4-F** (200 毫克, 收率 25%)。

步骤 6:

在 14°C 下把**化合物 4-F** (200 毫克, 0.407 毫摩尔) 溶解在 10 毫升无水四氢呋喃中, 然后氮气置换空气三次, 加入 10% 的湿钨碳 (150 毫克), 然后氢气置换三次, 反应混合物在氢气球下搅拌 1.5 小时, LCMS 监测显示反应完全, 用硅藻土过滤除去钨催化剂, 滤液减压浓缩干得到 160 毫克粗品**化合物 4-G** 直接用于下一步反应。

步骤 7:

在 15°C 左右把**化合物 4-G** (160 毫克) 溶于水中, 氮气保护下加入三甲胺三氧化硫络合物 (55.61 毫克, 0.4 毫摩尔), 最后加入三乙胺 (8.09 毫克, 0.08 毫摩尔), 反应混合液在 15°C 下搅拌 16 小时, LCMS 显示反应完成, 用 10 毫升饱和硫酸二氢钠淬灭反应并调节反应液 pH 到 5 左右, 然后用乙酸乙酯/石油醚 (1:1) 的混合溶液洗涤 2 次, 每次 15 毫升, 再往水相中加入四丁基硫酸氢铵 (271.33 毫克, 0.8 毫摩尔) 并在 15°C 搅拌 10 分钟, 然后用乙酸乙酯萃取两次, 每次 25 毫升, 合并有机相, 并用 10 毫升食盐水洗涤一次, 无水硫酸钠干燥过滤浓缩得到**化合物 4-H** (260 毫克, 收率 90%)。

步骤 8:

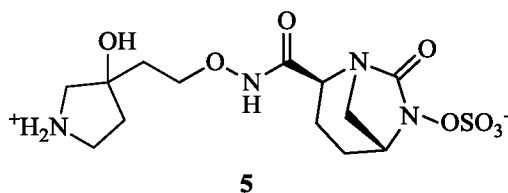
把**化合物 4-H** (260 毫克, 0.36 毫摩尔) 溶于 7 毫升二氯甲烷中, 然后冷却到 0°C, 缓慢加入三氟乙酸 (1.08 克, 9.45 毫摩尔), 反应混合物升温到 15°C 搅拌 1 小时, LCMS 显示反应完全, 反应溶剂在 15°C 浓

缩除去溶剂和大部分三氟乙酸, 残留物用乙腈打浆三次, 每次 20 毫升, 得到**化合物 4**(60 毫克, 收率 43%)。

^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 4.21 - 4.09 (m, 3H), 4.08 - 3.92 (m, 5H), 3.25 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H), 3.06 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H), 2.22 - 1.96 (m, 4H), 1.94 - 1.68 (m, 2H).

5

实施例 5: 化合物 5

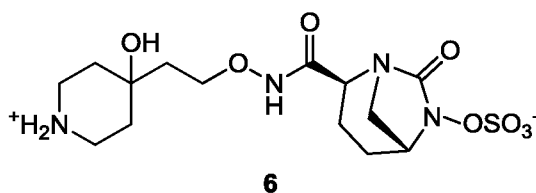


5

化合物 5 以 1-叔丁氧羰基-3-吡咯烷酮(**1-A**)为起始原料, 采用与实施例 4 相同的方法合成得到。 ^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 4.13 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 4.06 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 4.00 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 3.43 (dd, $J = 5.0$, 10.0 Hz, 2H), 3.34 - 3.21 (m, 2H), 3.14 (d, $J = 12.6$ Hz, 1H), 3.06 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H), 2.05 (dd, $J = 3.4$, 6.0 Hz, 6H), 1.95 - 1.82 (m, 1H), 1.81 - 1.70 (m, 1H);

10

实施例 6: 化合物 6

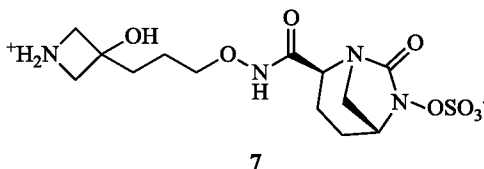


6

化合物 6 以 1-叔丁氧羰基-4-哌啶酮(**3-A**)为起始原料, 采用与实施例 4 相同的方法合成得到。 ^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 4.18 (br. s., 1H), 4.13 - 4.00 (m, 3H), 3.37 - 3.17 (m, 5H), 3.14 - 3.07 (m, 1H), 2.20 - 2.07 (m, 1H), 1.97 - 1.73 (m, 9H).

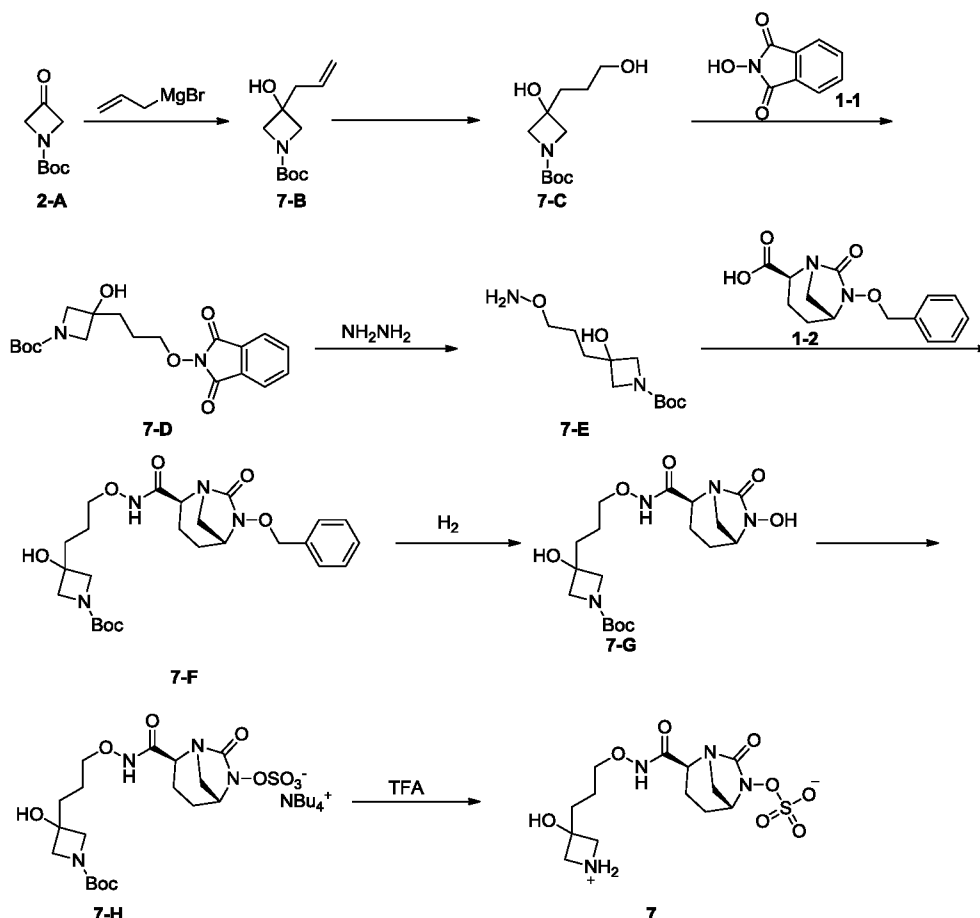
15

实施例 7: 化合物 7



7

20



步骤 1:

在-20℃下往**2-A**（10克，58.41毫摩尔）四氢呋喃（30毫升）中缓慢滴加1摩尔/升的烯丙基溴化镁溶液（75.94毫升，75.94毫摩尔），加完后，反应混合物在氮气保护下搅拌2小时，薄层色谱跟踪显示，反应完全，直接把反应液倒入饱和氯化铵溶液中淬灭反应，再用乙酸乙酯萃取3次，每次100毫升，合并萃取的有机相，用饱和食盐水洗涤3次，每次100毫升。然后用无水硫酸钠干燥有机相，布氏漏斗抽滤，减压浓缩得到粗产品，再用快速层析柱（石油醚/乙酸乙酯=10/~5/1梯度洗脱）快速分离纯化得到14.5克粗品**化合物7-B**。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.76 - 5.96 (m, 1 H), 5.13 - 5.36 (m, 2 H), 3.76 - 3.96 (m, 4 H), 2.63 - 2.78 (m, 1 H), 2.52 (d, *J* = 7.20 Hz, 2 H), 1.45 (s, 9 H)。

步骤2:

在0℃及氮气保护下往**化合物7-B**（3.00克，14.07毫摩尔）的四氢呋喃（100毫升）溶液中缓慢加入浓度为1摩尔/升的硼烷四氢呋喃溶液（28.14毫升，28.14毫摩尔），然后反应温度缓慢升至20℃，搅拌1小时，薄层色谱分析表明原料**7-B**消耗完全，此时把反应重新冷却到0℃，缓慢加入3摩尔/升的氢氧化钠溶液9.38毫升，紧接着加入双氧水（3.19克，28.14毫摩尔，30%），然后反应温度升至20℃并搅拌2小时，薄层色谱显示反应中间体消耗完全，把反应液倒入10毫升水中，用乙酸乙酯萃取三次，每次20毫升，合并的有机相用饱和食盐水洗涤2次，每次20毫升，再用无水硫酸钠干燥，布氏漏斗抽滤，减压浓缩得到粗品，粗品用柱层析精制得到**化合物7-C**（2.6克，收率80%）

步骤3:

在15℃下把**化合物7-C**（1.60克，6.92毫摩尔）和N-羟基邻苯二甲酰亚胺1-1（1.24克，7.61毫摩尔）溶

于四氢呋喃（15毫升），氮气保护下加入三苯基膦（2.72克，10.38毫摩尔），然后把反应加热到40℃左右，缓慢滴加偶氮二甲酸二异丙酯（2.10克，10.38毫摩尔，2.02毫升），然后反应温度降到15℃继续搅拌1小时，薄层色谱跟踪显示原料**7-C**消耗完全，反应溶剂减压浓缩除去，残留物用层析柱（石油醚/乙酸乙酯=10/1~1/1梯度洗脱）分离纯化得到化合物**7-D**（1.1克，收率42%）。

5 步骤4:

在15℃下把**化合物7-D**（1.1克，9.2毫摩尔）溶解在20毫升二氯甲烷中，再加入85%的一水合肼（0.36毫升，5.84毫摩尔），反应混合液在15℃搅拌一小时，薄层色谱跟踪分析显示反应完全，反应中析出的固体过滤移除，滤液减压浓缩干，残留物用层析柱（15%的乙酸乙酯到100%的乙酸乙酯石油醚溶液梯度洗脱）分离纯化得到750毫克含有部分杂质的**化合物7-E**。

10 步骤5:

在0℃下，把**化合物7-E**（580毫克，2.35毫摩尔）溶于10毫升干燥的二氯甲烷中，随后依次分批加入（2S,5R）-6-苄氧基-7-氧-1,6-二氮杂二环[3.2.1]辛-2-羧酸**1-2**（650.62毫克，2.35毫摩尔），EDCI（586.85毫克，3.06毫摩尔），HOBt（413.64毫克，3.06毫摩尔）和二异丙基乙胺（456.51毫克，3.53毫摩尔），然后反应混合物在15℃搅拌16小时，薄层色谱分析显示反应完成，反应溶剂用减压浓缩除去，残留物用柱层析分离纯化（石油醚/乙酸乙酯=3/1~0/1梯度洗脱）得到**化合物7-F**（470毫克，收率37%）。

15 步骤6:

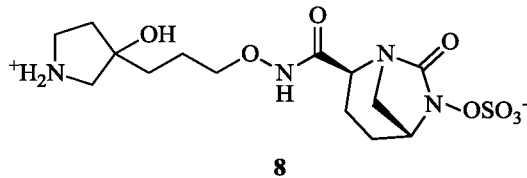
在15℃下，把**化合物7-F**（470毫克，0.93毫摩尔）溶于10毫升无水四氢呋喃，氮气保护下加入含量为10%的干钨碳100毫克，反应悬浮物用氢气置换三次，然后在氢气球氛围中搅拌18小时，薄层色谱分析显示反应进行完全，反应中的催化剂用硅藻土过滤，滤液减压浓缩得到400毫克粗品**化合物7-G**。

20 步骤7:

在15℃下，把上述**化合物7-G**（400毫克）溶解在20毫升水中，然后氮气保护下加入三甲胺三氧化硫络合物（134.32毫克，0.96毫摩尔），反应混合物在15℃搅拌16小时，LCMS监测显示反应完全，反应溶液用15毫升饱和磷酸二氢钠溶液稀释，然后用2:1的石油醚/乙酸乙酯洗涤两次，每次30毫升，再往水相加入四丁基硫酸氢铵（491.54毫克，1.45毫摩尔），用乙酸乙酯萃取2次，每次30毫升，合并有机相，用无水硫酸钠干燥，过滤浓缩得到**化合物7-H**（500毫克，收率70%）。

25 步骤8:

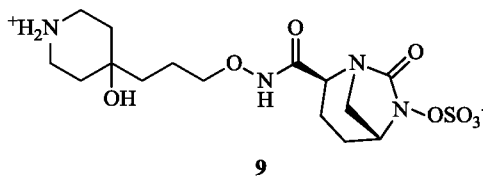
在0℃下，把**化合物7-H**（500毫克，0.68毫摩尔）溶于13毫升二氯甲烷中，再加入三氟乙酸（1.50毫升，20.26毫摩尔），反应混合物在氮气保护下搅拌1小时，LCMS跟踪显示反应完成，反应溶剂和大部分三氟乙酸在0℃左右真空浓缩干，残余物用乙腈打浆三次，每次20毫升，收集到的固体然后溶于水，冻干得**化合物7**（170毫克，收率62%）。¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 4.15 (br. s., 1H), 4.08 - 3.86 (m, 7H), 3.26 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 3.07 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 2.16 - 2.01 (m, 2H), 1.95 - 1.84 (m, 3H), 1.84 - 1.73 (m, 1H), 1.68-1.66 (m, 2H)。



化合物 8 以 1-叔丁氧羰基-3-吡咯烷酮 (1-A) 为起始原料, 采用与实施例 7 相同的方法合成得到。¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 4.13 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 3.99 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 3.91 (t, *J* = 5.4 Hz, 2H), 3.43 (dd, *J* = 5.0, 9.80 Hz, 2H), 3.29 - 3.17 (m, 2H), 3.08 (m, 2H), 2.13 - 1.61 (m, 10H)。

5

实施例 9: 化合物 9



化合物 9 以 1-叔丁氧羰基-4-哌啶酮 (3-A) 为起始原料出发, 采用与实施例 7 相同的方法合成得到。¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 4.11 (s, 1H), 3.98 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 3.89-3.75 (m, 2H), 3.25-3.13 (m, 5H), 3.08 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 2.06-1.98 (m, 2H), 1.79-1.56 (m, 10H)。

10

实验例 1: 体外协同抑制浓度 (SIC) 测试方法

协同抑制浓度测试的建立基于临床实验室标准化协会 (CLSI) 方法 M7, 联用的抗生素起始浓度为 128 微克/毫升, 进行连续的稀释, 总共是 11 个系列稀释浓度, 活性的β-内酰胺酶抑制剂测试浓度固定在 4 微克/毫升。

15 实验目的:

本实验旨在评估实施例中的化合物在体外活性中对比参照化合物 OP-0595 是否具有优势, 本系列实验从两个角度来考察: 一方面是实施例中的化合物恢复抗生素的抗菌活性或者对抗生素产生增效作用; 另一方面化合物自身相对于抗生素的抗菌能力。

实验方法:

20 1) 待测化合物溶解 (如果不溶解可以悬浮) 在二甲基亚砜中稀释到浓度为 12.8 毫克/毫升作为原液, 头孢他啶 (CAZ) 溶解在水中稀释到 25.6 毫克/毫升, 厄它培南 (ETP) 溶解在磷酸缓冲溶液 (PBS) 中稀释到 25.6 毫克/毫升。

2) 向 96-V 孔板的第 2-12 列内加入 30 微升二甲基亚砜。将 60 微升配制好的头孢他啶加到第 1 列内。从第 1 列取 30 微升头孢他啶到第 2 列, 用排枪混匀。同样的操作直到第 11 列, 将第 11 列的混合物弃去 30 微升。这是化合物母板。

3) 将浓度为 12.8 毫克/毫升待测化合物的用 DMSO 稀释为 0.8 毫克/毫升后取 30 微升加入到母板的一列中。用排枪混匀母板内的液体。

4) 在实验前一天, 将保存在 -80℃ 冰箱内的甘油菌取一环划线在胰酶大豆琼脂平板 (TSA) 上, 将该平板放于 37℃ 培养箱过夜培养。在实验当天, 将细菌单克隆悬浮在生理盐水内并将浊度调为 0.5 标准麦氏浊

度，相当于 1×10^8 CFU/毫升。将此悬浮液用阳离子调节米勒-辛顿肉汤(CAMHB)稀释100倍至 1×10^6 CFU/毫升，此为接种液。。

5) 96-U 型板作为实验板。先往实验板的所有孔内加入 98 微升 CAMHB.将母板内的溶液转移 2 微升到实验板内。取 100 微升接种液加到实验板的所有孔内。实验板的每一行包括头孢他啶/待测化合物或厄他培南/待测化合物的浓度分别为 128/4, 64/4, 32/4, 16/4, 8/4, 4/4, 2/4, 1/4, 0.5/4, 0.25/4, 0.125/4, 0/4 微克/毫升。

6) 实验板放在 37°C 培养 20 小时。头孢他啶的最低抑菌浓度为可以完全或明显抑制细菌生长的最低浓度。

待测化合物或者抗生素单独的抗菌活性的测定同样采用上述的方法，表 1 是本实验所用的产β -内酰胺酶的细菌菌株的具体信息：

10

表 1 产β -内酰胺酶的细菌菌株的种类以及来源

细菌种类	供应商代码	产β -内酰胺酶	酶类别
<i>K.pneumoniae</i>	ATCC 51503	TEM-10/TEM-12	A
<i>K.pneumoniae</i>	ATCC 51504	TEM-10	A
<i>K.pneumoniae</i>	ATCC BAA-205	TEM-1/SHV-1/SHV-12	A
<i>K.pneumoniae</i>	ATCC BAA-2343	KPC-type	A
<i>E.coli</i>	ATCC BAA-2340	KPC-type	A
<i>K.pneumoniae</i>	ATCC BAA-1705	KPC-type	A
<i>K.pneumoniae</i>	ATCC BAA-1899	KPC-type	A
<i>K.pneumoniae</i>	ATCC BAA-1898	KPC-type	A
<i>K.pneumoniae</i>	ATCC 700603	SHV-18	A
<i>E.coli</i>	ATCC BAA-198	TEM-26	A
<i>E.coli</i>	ATCC BAA-200	SHV-4	A
<i>E.coli</i>	CCUG 59353	CTX-15	A
<i>E.coli</i>	CCUG 59354	CTX-15	A
<i>K.pneumoniae</i>	ATCC BAA-2473	NDM-1	B
<i>K.pneumoniae</i>	ATCC BAA-2472	NDM-1	B
<i>K.pneumoniae</i>	ATCC BAA-2470	NDM-1	B
<i>K.pneumoniae</i>	NCTC 13439	VIM-1	B
<i>K.pneumoniae</i>	NCTC 13443	NDM-1	B
<i>P.aeruginosa</i>	NCTC 13437	VIM-10; VEB-1	B
<i>E.coli</i>	NCTC 13476	IMP-type	B
<i>K.pneumoniae</i>	NCTC 13440	VIM-1	B
<i>E.cloacae</i>	ATCC BAA-1143	AmpC	C
<i>K.pneumoniae</i>	ATCC BAA-1144	AmpC	C
<i>E.coli</i>	ATCC BAA-2523	OXA-48	D
<i>K.pneumoniae</i>	ATCC BAA-2524	OXA-48	D
<i>E.coli</i>	ATCC 25922	pan-susceptible	敏感菌
<i>K.pneumoniae</i>	ATCC 43816	pan-susceptible	敏感菌

注 1:表 1 中细菌菌株产 β-内酰胺酶的种类来源于供应商的公开网络信息；
注 2:“ATCC”是“American Type Culture Colletcion”的缩写,“CCUG”是“Culture Collection University of Goteborg”的缩写,“NCTC”是“NCTC – National Collection of Type Culture”的缩写。

实验结果:

见表 2~4。

表 2 化合物 1 与头孢他啶的对细菌的协同抑制作用(单位: $\mu\text{g/mL}$)

菌株种类	酶种类	化合物 1	REF-1	OP-0595	头孢他啶	头孢他啶联用化合物 1	头孢他啶联用 REF-1	头孢他啶联用 OP-0595
<i>K.pneumoniae</i> ATCC 51503	TEM-10/12	>128	>128	>128	>128	8	64	4
<i>K.pneumoniae</i> ATCC 51504	TEM-10	>128	>128	>128	>128	16	64	16
<i>K.pneumoniae</i> ATCCAA-205	TEM-1/SHV-1/SHV-12	16	>128	>128	128	≤ 0.125	4	1
<i>K.pneumoniae</i> ATCC BAA-1705	KPC	>128	>128	>128	128	0.5	8	0.25
<i>K.pneumoniae</i> ATCC BAA-1899	KPC	>128	>128	>128	>128	1	8	2
<i>K.pneumoniae</i> ATCC BAA-1898	KPC	>128	>128	>128	>128	0.5	8	0.5
<i>K.pneumoniae</i> ATCC-700603	SHV-18	>128	>128	>128	64	≤ 0.125	2	≤ 0.125
<i>E.cloacae</i> ATCC BAA-1143	AmpC	8	16	8	>128	0.25	0.5	1

5

表 3 化合物 1-H2 与头孢他啶的对细菌的协同抑制作用(单位: $\mu\text{g/mL}$)

菌株种类	酶种类	化合物 1-H2	OP-0595	头孢他啶	头孢他啶联用化合物 1-H2	头孢他啶联用 OP-0595
<i>K.pneumoniae</i> ATCC 51503	TEM-10/12	>128	>128	>128	0.5	4
<i>K.pneumoniae</i> ATCC 51504	TEM-10	>128	>128	>128	4	8
<i>K.pneumoniae</i> ATCC BAA-205	TEM-1/SHV-1/SHV-12	>128	>128	128	≤ 0.125	0.25
<i>E.coli</i> ATCC BAA-2340	KPC	>128	>128	>128	0.5	0.5
<i>K.pneumoniae</i> ATCC BAA-1705	KPC	>128	>128	128	0.5	0.5
<i>K.pneumoniae</i> ATCC BAA-1899	KPC	>128	>128	>128	0.5	1
<i>K.pneumoniae</i> ATCC BAA-1898	KPC	>128	>128	>128	≤ 0.125	1
<i>K.pneumoniae</i> ATCC-700603	SHV-18	>128	>128	64	≤ 0.125	0.25
<i>E.coli</i> ATCC BAA-200	SHV-4	2	2	>128	<0.125	<0.125
<i>E.coli</i> CCUG 59353	CTX-15	8	8	>128	<0.125	<0.125
<i>E.coli</i> CCUG 59354	CTX-15	2	2	4	<0.125	<0.25
<i>E.cloacae</i> ATCC BAA-1143	AmpC	4	4	>128	0.5	0.25
<i>K.pneumoniae</i> ATCC BAA-1144	AmpC	>128	>128	128	≤ 0.125	0.25

表 4 化合物 4 与头孢他啶的对细菌的协同抑制作用(单位: $\mu\text{g/mL}$)

菌株种类	酶种类	化合物 4	OP-0595	头孢他啶	头孢他啶联用 化合物 4	头孢他啶联用 OP-0595
<i>K.pneumoniae</i> ATCC 51503	TEM-10/12	>128	>128	>128	2	4
<i>K.pneumoniae</i> ATCC 51504	TEM-10	>128	>128	>128	8	8
<i>K.pneumoniae</i> ATCC BAA-205	TEM-1/SHV-1 /SHV-12	64	>128	>128	0.25	0.25
<i>E.coli</i> ATCC BAA-2340	KPC	64	64	>128	1	0.5
<i>K.pneumoniae</i> ATCC BAA-1705	KPC	>128	>128	128	1	0.5
<i>K.pneumoniae</i> ATCC BAA-1899	KPC	>128	>128	>128	1	1
<i>K.pneumoniae</i> ATCC BAA-1898	KPC	128	>128	>128	0.25	1
<i>K.pneumoniae</i> ATCC-700603	SHV-18	>128	>128	128	0.25	0.25
<i>E.coli</i> ATCC BAA-200	SHV-4	2	2	32	<0.125	<0.125
<i>E.coli</i> CCUG 59353	CTX-15	4	8	>128	<0.125	<0.125
<i>E.coli</i> CCUG 59354	CTX-15	4	4	8	<0.125	<0.125
<i>E.cloacae</i> ATCC BAA-1143	AmpC	8	16	>128	<=0.125	0.25
<i>K.pneumoniae</i> ATCC BAA-1144	AmpC	16	>128	>128	<0.125	0.25

结论:

化合物 1 恢复头孢他啶抗生素的抗菌活性的能力与参照化合物 OP-0595 完全相当,在 ATCC BAA-1705 和 ATCC BAA-1143 菌株中,活性提高 4 到 8 倍。综合来看,化合物 1 的体外活性表现要略优于参照化合物 OP-0595,要显著优于 REF-1。化合物 1-H2 恢复或者增效头孢他啶的能力与参照化合物 OP-0595 完全相当,特别是对两种克雷伯肺炎杆菌 ATCC 51503 和 ATCC BAA-1898,化合物 1-H2 的增效作用要高 8 倍以上;另外,化合物 1-H2 本对阴沟肠科杆菌也表现出抑菌活性,抑菌浓度均在 8 微克/毫升以下,与 OP-0595 相当。因此,化合物 1 拆分后的异构体 1-H2 要优于参照化合物 OP-0595。化合物 4 体外活性也要略优于参照化合物 OP-0595。

实验例 2: 体外酶学实验方法

实验目的:

本试验旨在评估实施例中的化合物相比 OP-0595 对 β -内酰胺酶的抑制活性的优势。

试验方法:

表 5 酶学实验 100 微升反应体系

酶	酶使用终浓 $^{\circ}\text{C}$	底物(Nitrocefin) 使用终浓度	反应缓冲液
TEM-1	0.25 nM	0.1 mM	1 $\times$ PBS, pH 7.4, 0.1mg/mL BSA
AmpC	0.4 nM	0.1 mM	1 $\times$ PBS, pH 7.4, 0.1mg/mL BSA

- 1) 化合物溶于 DMSO 中制备储存母液(12.8 毫克/毫升,按照实验例 1 的方法);
- 2) 制备缓冲溶液 A (1×PBS, pH 7.4, 0.1 毫克/毫升 BSA) 供酶 TEM-1 和 AmpC 测试用;
- 3) 在一 96 孔尖底板中, 将化合物母液于 DMSO 中进行 11 次 4 倍的梯度稀释, 此为工作液。使用 96 孔平底板为测试孔板, 每孔中预先加入对应的反应缓冲液, 随后每孔加相应体积的工作液 (100 μM-0.095nM 和
- 5 0nM)。其中, EDTA-Na₂ 作为 NDM-1 测试的对照起始终浓度为 20mM;
- 4) 加入对应的 β-内酰胺酶, 将测试孔板于 37℃ 孵育 5 分钟;
- 5) 加入 5μl Nitrocefin (终反应体积为 100 微升); 使用酶标仪对平板内反应溶液的吸光度 OD490 进行跟踪记录, 每分钟读取一次吸光度, 跟踪 30 分钟;
- 6) 酶标仪可以给出 OD490 随时间增长的曲线。于曲线的线性范围内选取两个数据点 Abs1 和 Abs2 计算曲
- 10 线斜率(Abs2-Abs1)/(T2-T1)。
- 7) 相对抑制率的计算公式如下: Slope(EC)为在没有抑制剂时的斜率, Slop(S)为在某一抑制剂浓度时的斜率。

$$\%relative\ inhibition = \frac{Slope(EC) - Slope(S)}{Slope(EC)}$$

相对抑制率和对应的抑制剂浓度用于计算该抑制剂对 β-内酰胺酶的 IC₅₀ 值。本实验使用 GraphPad

15 Prism 5.0 自带的公式, log(inhibitor) vs. normalized response—Variable slope,计算 IC₅₀。

备注: PBS 指的是磷酸盐缓冲溶液 ; BSA 指的是牛血清白蛋白

实验结果: 见表 6:

表 6 化合物对β -内酰胺酶抑制试验结果

化合物编号	酶 TEM-1 (A 类) 半数抑制浓度 (IC ₅₀ , nM)	酶 AmpC (C 类) 半数抑制浓度 (IC ₅₀ , nM)
OP-0595	727.90	62.06
化合物 1	92.06	14.66
化合物 1-H1	13.54	6.41
化合物 1-H2	114.10	1.91

20 **结论:**

相比参照化合物 OP-0595, **化合物 1 和其拆分后的异构体 1-H1 和 1-H2** 对β -内酰胺酶 TEM-1 和 AmpC 的 IC₅₀ 值要低 4 到 53 倍, 表明三个化合物对β -内酰胺酶的抑制活性相比参照**化合物 OP-0595** 提高了 4 倍以上。可见, 实施例中**化合物 1** 及其拆分的异构体 **1-H1** 和 **1-H2** 均要显著优于参照化合物 OP-0595。

25 **实验例 3: 小鼠大腿肌肉感染模型**

实验目的:

本试验旨在考察实施例中的化合物在小鼠大腿肌肉感染模型中的是否具有药效, 并进一步评估其药效对比参照化合物 OP-0595 是否具有显著优势。

实验材料:

30 7 周左右大小的雌性 CD-1 小鼠, 体重 26~28 克左右; 环磷酰胺感染前 4 天注射 150 毫克/千克, 1 天前再注射 100 毫克/千克; 感染细菌为阴沟肠杆菌 1143 (AmpC)。**化合物 1, 1-H2**, 参照化合物 OP-0595

均有实验室合成。

实验流程:

每只雌性 CD-1 小鼠通过右腿肌肉注射 100 微升菌液感染肺炎克雷伯细菌，感染剂量为每只小鼠大于 5.00E+05CFU，感染后 2 小时，各组小鼠通过尾静脉给予相对应的化合物或者联用化合物治疗，第一次治疗间隔 8 小时后，给予第二轮治疗。

小鼠于感染后 24 小时安乐死，取右腿大腿肌肉置入盛有 10 毫升无菌生理盐水的 50 毫升离心管中，放在湿冰上转移至 BSL-2 实验室进行 CFU 计数。

肌肉组织使用 IKA T10 匀浆机研磨（最高转速 20S，重复一次），匀浆液梯度稀释后点于胰蛋白胨大豆琼脂平板，置入 37℃培养箱进行细菌培养，24h 后，取出平板，数出平板上各稀释梯度匀浆液长出的单菌落数，并由此计算每只小鼠右腿腿部肌肉的荷菌量。

实验方案:

表 7 化合物 1 和参照化合物 OP-0595 在小鼠大腿肌肉感染模型的药效评价方案

组别	菌株类型	给药量	给药方式	实验流程	小鼠数量
1	阴沟肠杆菌 1143 (AmpC)	生理盐水	静脉注射 (iv)	细菌感染后，在相隔 2 个小时后第 1 次给药，第 10 小时后第 2 次给药，在第 24 小时核对各组小鼠右腿肌肉的荷菌量	4
2		头孢他啶 (400mpk)			5
3		头孢他啶 (400mpk) & 化合物 1 (100mpk)			5
4		头孢他啶 (400mpk) & 化合物 OP-0595 (100mpk)			5
5		化合物 OP-0595 (100mpk)			5

表 8 化合物 1-H2 和参照化合物 OP-0595 在小鼠大腿肌肉感染模型的药效评价方案

组别	菌株类型	给药量	给药方式	实验流程	小鼠数量
1	阴沟肠杆菌 1143 (AmpC)	生理盐水	静脉注射 (iv)	细菌感染后，在相隔 2 个小时后第 1 次给药，第 10 小时后第 2 次给药，在第 24 小时核对各组小鼠右腿肌肉的荷菌量	5
2		头孢他啶 (400mpk)			5
3		头孢他啶 (400mpk) & 1-H2 (100mpk)			5
4		头孢他啶 (400mpk) & 1-H2 (50mpk)			5
5		头孢他啶 (400mpk) & 1-H2 (25mpk)			5
6		头孢他啶 (400mpk) & 化合物 OP-0595 (100mpk)			5
7		头孢他啶 (400mpk) & 化合物 OP-0595 (50mpk)			5
8		头孢他啶 (400mpk) & 化合物 OP-0595 (25mpk)			5

实验结果:

按照表 7 的实验方案，在抗生素头孢他啶 (CAZ) /化合物 1=400/100mpk 条件下，药效结果见图 1 和图 2。

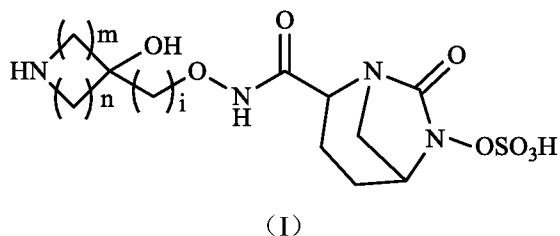
结论:

化合物 1 组比参照化合物 OP-0595 多降低了 0.59log，其药效提高了 3.9 倍。**化合物 1** 药效明显优于参照化合物 OP-0595。**化合物 1-H2** 相对于参考化合物 OP-0595 在该模型中的不同剂量下均显示出了更优的药效。

- 5 三个实验从不同的方面进行了评估，实施例中的化合物均表现出了相对于参照化合物 OP-0595 的明显优势。因此，在目前急需临床新药来对抗日益严重的耐药菌感染的情况下，实施例中的化合物是解决这一问题的一类极具潜力的可开发药物。可以预测，相比较目前一致看好的参照化合物 OP-0595，实施例中的化合物可能会在未来的临床中显现出其更优的临床效果。

权利要求

1. 式 (I) 所示化合物或其药学上可接受的盐,



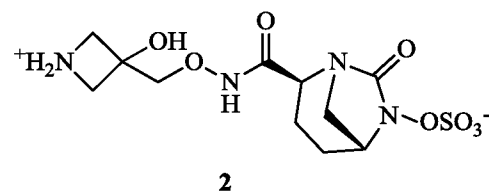
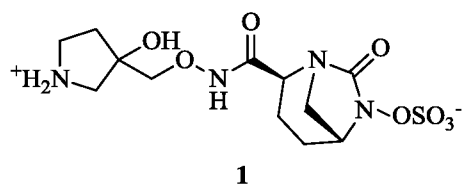
5 其中,

m 为 1 或 2;

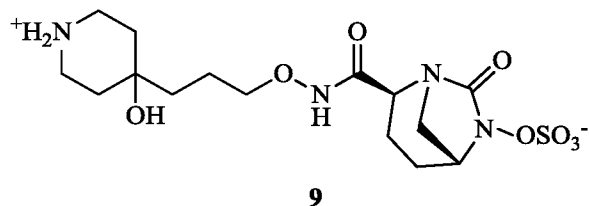
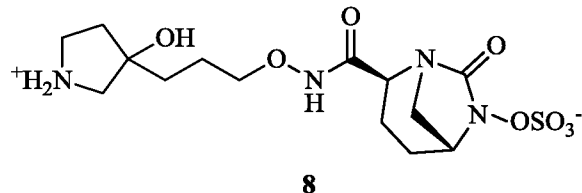
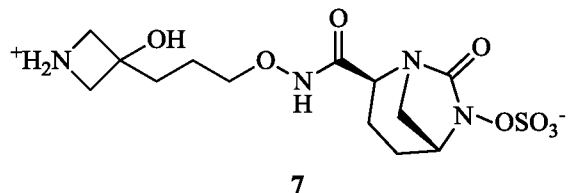
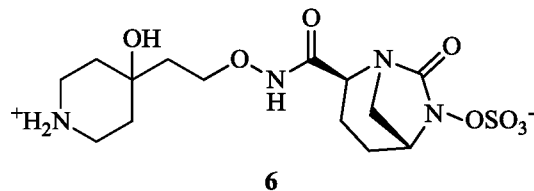
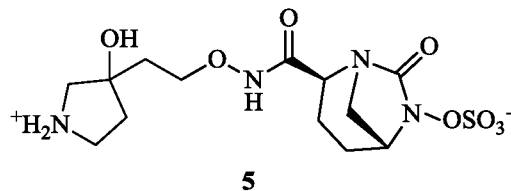
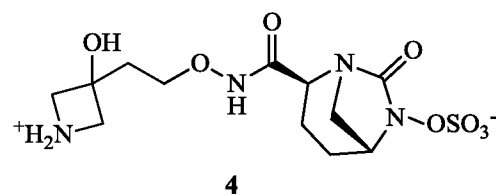
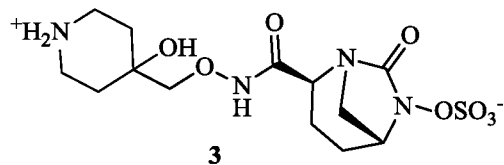
n 为 1 或 2;

i 为 1、2 或 3。

2. 根据权利要求 1 所述化合物或其药学上可接受的盐, 选自



10



15 3. 一种药物组合物, 其含有治疗有效量的根据权利要求 1~2 任意一项所述的化合物或其药学上可接受的盐和药学上可接受的载体。

4. 根据权利要求 1~2 任意一项所述的化合物或其药学上可接受的盐或根据权利要求 3 所述的药物组合物在制备用于治疗细菌感染的 β -内酰胺酶抑制剂中的应用。

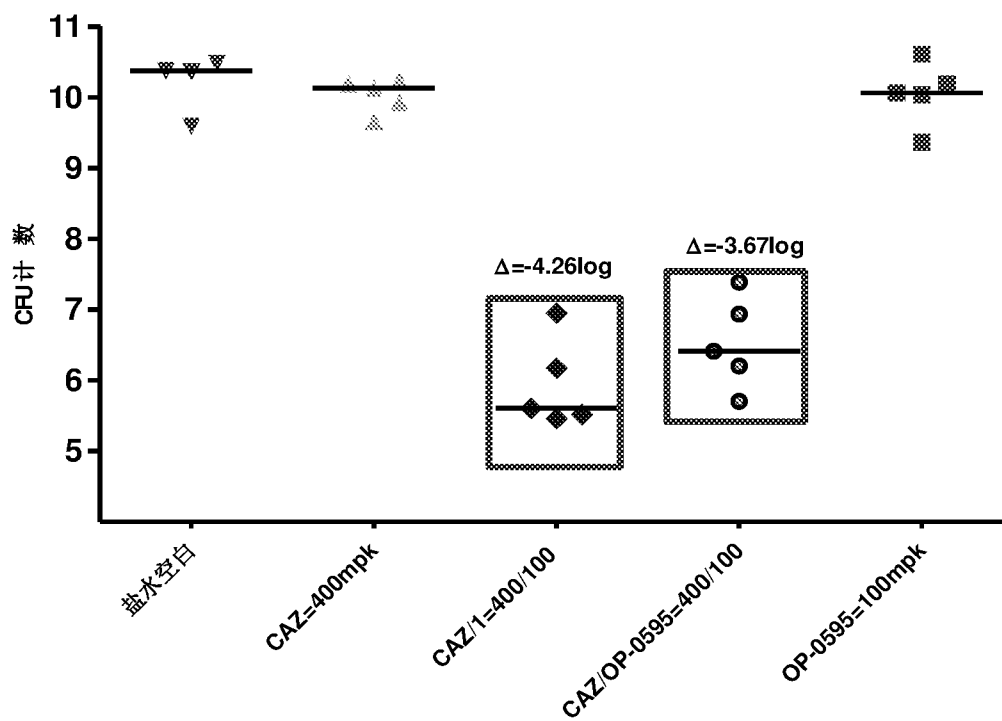


图 1

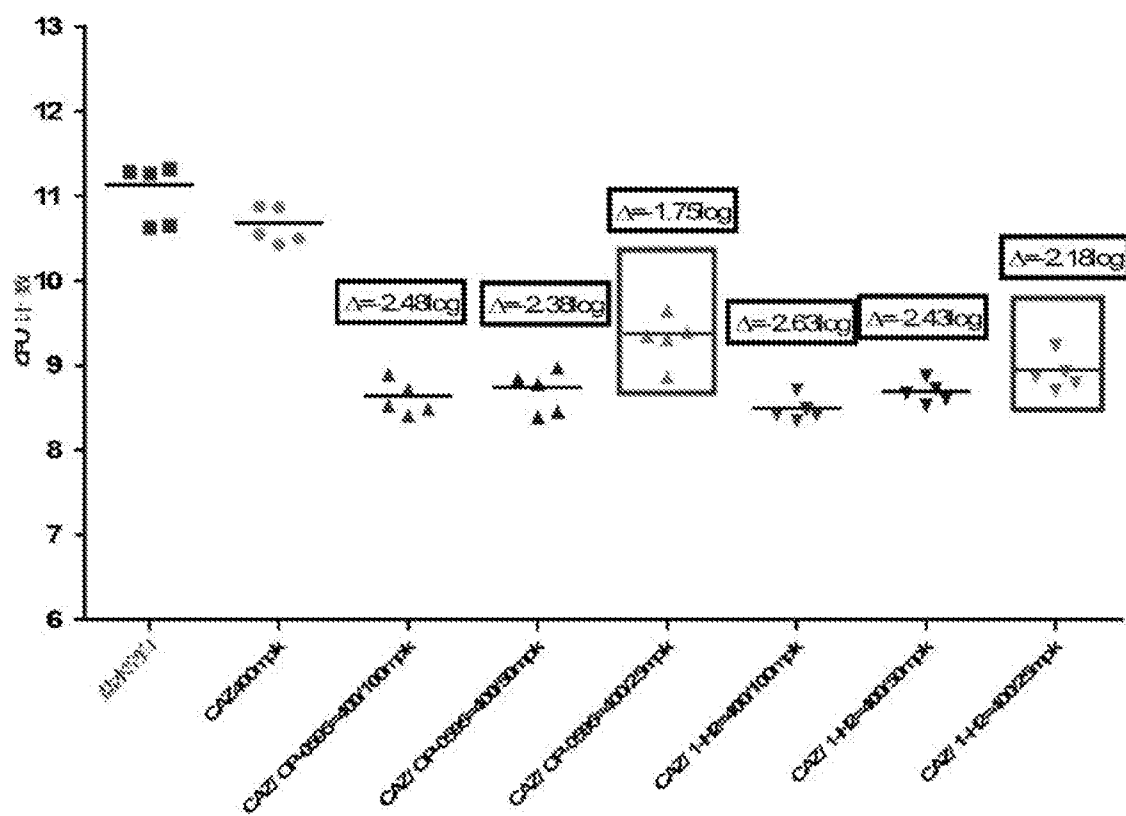


图 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2017/087004

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 471/08 (2006.01) i; A61K 31/439 (2006.01) i; A61P 31/04 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D 471/-, A61P 31/-

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS; VEN; REG; CAPLUS: antibiotic, lactamase, inhibitor, antibacterial, bacterial infections, structure search according to formula (I)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 104768951 A (WOCKHARDT LIMITED), 08 July 2015 (08.07.2015), claims 1 and 4-6, description, pages 1-3, formula (I), and embodiment 5	1-4
X	WO 2014091268 A1 (NAEJA PHARMACEUTICAL INC.), 19 June 2014 (19.06.2014), claims 1-3 and 5-6, and description, pages 4-19, formula (I) and page 17, line 1, the third compound	1-4
X	US 2014288051 A1 (NAEJA PHARMACEUTICAL INC.), 25 September 2014 (25.09.2014), claims 1, 9 and 12, and description, page 26, table 1, compound 107	1-4

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date	“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	“&” document member of the same patent family
“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 28 August 2017 (28.08.2017)	Date of mailing of the international search report 11 September 2017 (11.09.2017)
Name and mailing address of the ISA/CN: State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No.: (86-10) 62019451	Authorized officer XU, Chi Telephone No.: (86-10) 62086349

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2017/087004

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 104768951 A	08 July 2015	JP 2015526501 A	10 September 2015
		RU 2614418 C2	28 March 2017
		WO 2014033560 A1	06 March 2014
		US 2016213655 A1	28 July 2016
		US 2015203503 A1	23 July 2015
		JP 2017128617 A	27 July 2017
		EP 2961751 A1	06 January 2016
		AU 2013308127 A1	10 July 2014
		KR 20150046066 A	29 April 2015
		AU 2015205914 A1	20 August 2015
		MX 2015002177 A	10 April 2015
		US 2016311822 A1	27 October 2016
		NZ 626314 A	24 February 2017
		AU 2015205914 B2	28 July 2016
		CA 2881169 A1	06 March 2014
		RU 2015110500 A	10 October 2016
		AU 2013308127 B2	13 August 2015
WO 2014091268 A1	19 June 2014	PH 12015501303 A1	24 August 2015
		AU 2012396338 A1	16 July 2015
		MA 38227 A1	30 December 2016
		CN 105873930 A	17 August 2016
		IL 239116 A	30 July 2015
		MX 2015007406 A	03 December 2015
		UA 111925 C2	24 June 2016
		EA 201500544 A1	30 December 2015
		IL 239116 D0	30 July 2015
		JP 2016503000 A	01 February 2016
		EP 2931723 A1	21 October 2015
		SG 11201504540T A	30 July 2015
		CR 20150359 A	20 August 2015
		CA 2893804 A1	19 June 2014
		EP 2931723 A4	01 June 2016
		KR 20150093809 A	18 August 2015
US 2014288051 A1	25 September 2014	US 9505761 B2	29 November 2016

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2017/087004

A. 主题的分类 C07D 471/08(2006.01)i; A61K 31/439(2006.01)i; A61P 31/04(2006.01)i 按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类														
B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号) C07D471/-, A61P31/- 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用)) CNABS;VEN;REG;CAPLUS:内酰胺酶, 抑制剂, 抗生素, 细菌感染, lactamase, inhibitor, antibacterial, bacterial infections, 根据式(I)进行了结构式检索														
C. 相关文件 <table border="1"> <thead> <tr> <th>类 型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>CN 104768951 A (沃克哈特有限公司) 2015年 7月 8日 (2015 - 07 - 08) 权利要求1、4-6, 说明书第1-3页式(I), 实施例5</td> <td>1-4</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>WO 2014091268 A1 (NAEJA PHARMACEUTICAL INC) 2014年 6月 19日 (2014 - 06 - 19) 权利要求1-3和5-6, 说明书第4-19页式(I), 第17页第1行第3个化合物</td> <td>1-4</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>US 2014288051 A1 (NAEJA PHARMACEUTICAL INC) 2014年 9月 25日 (2014 - 09 - 25) 权利要求1, 9和12, 说明书第26页表1, 化合物107</td> <td>1-4</td> </tr> </tbody> </table>			类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	X	CN 104768951 A (沃克哈特有限公司) 2015年 7月 8日 (2015 - 07 - 08) 权利要求1、4-6, 说明书第1-3页式(I), 实施例5	1-4	X	WO 2014091268 A1 (NAEJA PHARMACEUTICAL INC) 2014年 6月 19日 (2014 - 06 - 19) 权利要求1-3和5-6, 说明书第4-19页式(I), 第17页第1行第3个化合物	1-4	X	US 2014288051 A1 (NAEJA PHARMACEUTICAL INC) 2014年 9月 25日 (2014 - 09 - 25) 权利要求1, 9和12, 说明书第26页表1, 化合物107	1-4
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求												
X	CN 104768951 A (沃克哈特有限公司) 2015年 7月 8日 (2015 - 07 - 08) 权利要求1、4-6, 说明书第1-3页式(I), 实施例5	1-4												
X	WO 2014091268 A1 (NAEJA PHARMACEUTICAL INC) 2014年 6月 19日 (2014 - 06 - 19) 权利要求1-3和5-6, 说明书第4-19页式(I), 第17页第1行第3个化合物	1-4												
X	US 2014288051 A1 (NAEJA PHARMACEUTICAL INC) 2014年 9月 25日 (2014 - 09 - 25) 权利要求1, 9和12, 说明书第26页表1, 化合物107	1-4												
☐ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。														
* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件														
国际检索实际完成的日期 2017年 8月 28日		国际检索报告邮寄日期 2017年 9月 11日												
ISA/CN的名称和邮寄地址 中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451		受权官员 徐赤 电话号码 (86-10)62086349												

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2017/087004

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	104768951	A	2015年 7月 8日	JP	2015526501	A	2015年 9月 10日
				RU	2614418	C2	2017年 3月 28日
				WO	2014033560	A1	2014年 3月 6日
				US	2016213655	A1	2016年 7月 28日
				US	2015203503	A1	2015年 7月 23日
				JP	2017128617	A	2017年 7月 27日
				EP	2961751	A1	2016年 1月 6日
				AU	2013308127	A1	2014年 7月 10日
				KR	20150046066	A	2015年 4月 29日
				AU	2015205914	A1	2015年 8月 20日
				MX	2015002177	A	2015年 4月 10日
				US	2016311822	A1	2016年 10月 27日
				NZ	626314	A	2017年 2月 24日
				AU	2015205914	B2	2016年 7月 28日
				CA	2881169	A1	2014年 3月 6日
				RU	2015110500	A	2016年 10月 10日
				AU	2013308127	B2	2015年 8月 13日
WO	2014091268	A1	2014年 6月 19日	PH	12015501303	A1	2015年 8月 24日
				AU	2012396338	A1	2015年 7月 16日
				MA	38227	A1	2016年 12月 30日
				CN	105873930	A	2016年 8月 17日
				IL	239116	A	2015年 7月 30日
				MX	2015007406	A	2015年 12月 3日
				UA	111925	C2	2016年 6月 24日
				EA	201500544	A1	2015年 12月 30日
				IL	239116	D0	2015年 7月 30日
				JP	2016503000	A	2016年 2月 1日
				EP	2931723	A1	2015年 10月 21日
				SG	11201504540T	A	2015年 7月 30日
				CR	20150359	A	2015年 8月 20日
				CA	2893804	A1	2014年 6月 19日
				EP	2931723	A4	2016年 6月 1日
				KR	20150093809	A	2015年 8月 18日
US	2014288051	A1	2014年 9月 25日	US	9505761	B2	2016年 11月 29日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)