

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C07D477/20

A61K 31/40



[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 99809163.4

[45] 授权公告日 2004 年 6 月 23 日

[11] 授权公告号 CN 1154649C

[22] 申请日 1999.7.23 [21] 申请号 99809163.4

[30] 优先权

[32] 1998.7.28 [33] EP [31] 98114067.6

[86] 国际申请 PCT/EP1999/005295 1999.7.23

[87] 国际公布 WO2000/006574 英 2000.2.10

[85] 进入国家阶段日期 2001.1.23

[71] 专利权人 汉斯·鲁道夫·普芬德勒

地址 德国斯托克多夫

[72] 发明人 汉斯·鲁道夫·普芬德勒

审查员 姚 云

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

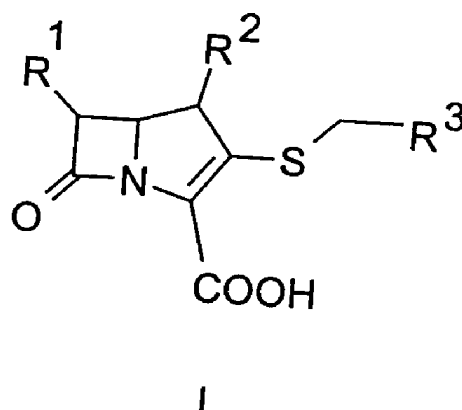
代理人 李 瑛

权利要求书 2 页 说明书 35 页

[54] 发明名称 碳青霉烯-3-甲酸衍生物

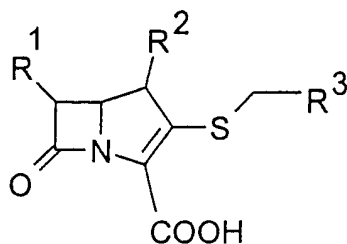
[57] 摘要

通式(I)的化合物,及其可药用盐、酯和酰胺衍生物是广谱抗生素和 β -内酰胺酶抑制剂,其中 R^1 代表氢、羟基甲基或1-羟基乙基, R^2 代表氢或甲基,且 R^3 代表可药用基团,其通过氧-碳单键或氮-碳单键连接到该分子的剩余部分上。



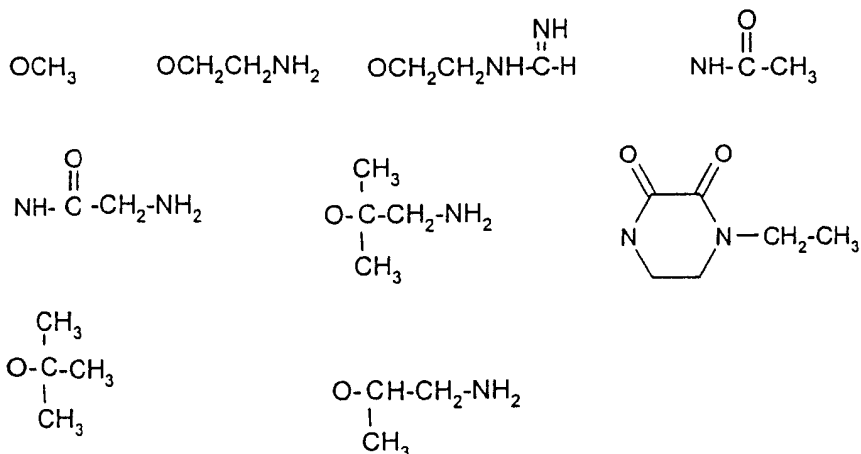
ISSN 1008-4274

1. 结构式 I 的化合物, 及其可药用盐、酯和酰胺衍生物,



I

其中 R¹ 代表氢、或 1-羟基乙基, R² 代表氢或甲基, 且 R³ 代表可药用基团, 其通过氧-碳单键或氮-碳单键连接到该分子的剩余部分上, 并且选自下述基团:

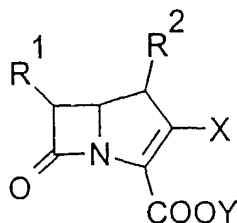


2. 含有抗菌有效量的至少一种权利要求 1 的化合物和可药用载体或稀释剂的药物组合物。

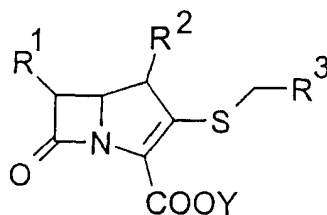
3. 制备权利要求 2 的药物组合物的方法, 包括将抗菌有效量的至少一种权利要求 1 的化合物混合到可药用载体或稀释剂内。

4. 至少一种权利要求 1 的化合物用于制备在需要抑制细菌的患者中抑制细菌的药物组合物的应用。

5. 含有抑制 β -内酰胺酶有效量的至少一种权利要求 1 的化合物、常规 β -内酰胺类抗生素以及可药用载体或稀释剂的药物组合物。
6. 制备权利要求 5 的组合物的方法, 包括将有效量的至少一种权利要求 1 的化合物与常规 β -内酰胺类抗生素混合到可药用载体或稀释剂内。
7. 至少一种权利要求 1 的化合物和常规 β -内酰胺类抗生素用于制备在需要抑制 β -内酰胺酶的患者中抑制 β -内酰胺酶的药物组合物的应用。
8. 制备权利要求 1 的化合物的方法, 包括将下式化合物



其中 R^1 和 R^2 的定义同权利要求 1, X 是离去基团, 且 Y 是常规羧基保护基, 与式 $HS-CH_2-R^3$ 硫醇化合物或其有机盐或无机盐反应, 其中 R^3 的定义同权利要求 1, 然后将所得到的下式所示化合物与脱保护剂反应



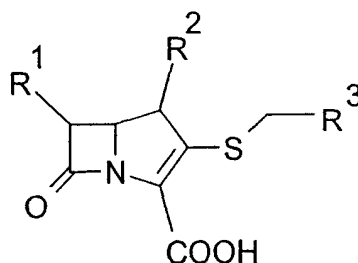
其中 R^1 、 R^2 、 R^3 的定义同权利要求 1, Y 如上所定义。

碳青霉烯-3-甲酸衍生物

本发明描述和背景技术

至于有关的背景技术, 参见 EP 0079244 A, EP 0168707 A 和 EP 0169410 A. 现有技术中所述的化合物在结构上部分地接近于本发明的某些化合物。然而, 在上述专利中所公开的化合物或者是只具有 β -内酰胺酶活性的抗生素或者是只具有抗菌活性的抗生素。

本发明涉及通式 I 所示新的碳青霉烯-3-甲酸的 2-S/O-和 S/N 甲醛缩醛衍生物



I

其中 R^1 代表氢、羟基甲基或 1-羟基乙基, R^2 代表氢或甲基, 且 R^3 代表可药用基团, 其通过氧-碳单键或氮-碳单键连接到该分子的剩余部分上, 并且选自下述被取代或未被取代的基团: 烷氧基、链烯基氧基、炔基氧基、环烷氧基、N-杂环基、杂环基氧基、杂环基羰基氧基、杂环基硫代羰基氧基、酰基氧基、硫代酰基氧基、烷氧基羰基氧基、氨基甲酰基氧基、硫代氨基甲酰基氧基、杂环基氧基羰基氧基、杂环基氧基硫代羰基氧基、N-杂环基氨基甲酰基氧基、N-杂环基硫代氨基甲酰基氧基、杂环基羰基氨基、杂环基硫代羰基氨基、杂环基氧基羰基氨基、酰基氨基、烷氧基羰基氨基、烷氧基硫代羰基氨基、硫代酰基氨基、N-杂环基氨基甲酰基氨基、N-杂环基硫代氨基甲酰基氨基、氨基甲酰基氨基、硫代氨基甲酰基氨基、亚胺酰基氨基、胍基、N-杂环

基烷氧基羰基氨基、N-杂环基烷基硫代羰基氨基和N-磺酰基氨基，其中上述烷基、链烯基、炔基、酰基、硫代酰基或亚胺酰基分子部分含有1-6个碳原子，杂环基部分是单环或二环并含有3-10个环原子，其中有一个或多个环原子选自：氧、硫和氮，上述基团R³上的取代基可以是：烷基、酰基、硫代酰基、杂环基、羟基、羟基烷基、烷氧基、羟基烷氧基、氨基烷氧基、脒基烷氧基、胍基烷氧基、酰基氧基、杂环基氧基、烷基杂环基氧基、羟基烷基杂环基氧基、氨基烷基杂环基氧基、氨基甲酰基、烷基氨基甲酰基、二烷基氨基甲酰基、氨基甲酰基氧基、烷基氨基甲酰基氧基、二烷基氨基甲酰基氧基、硫代氨基甲酰基、烷基硫代氨基甲酰基、二烷基硫代氨基甲酰基、硫代氨基甲酰基氧基、烷基硫代氨基甲酰基氧基、二烷基硫代氨基甲酰基氧基、巯基、烷硫基、羟基烷硫基、氨基烷硫基、一烷基氨基烷硫基、二烷基氨基烷硫基、脒基烷硫基、酰基硫基、杂环基硫基、烷基杂环基硫基、羟基烷基杂环基硫基、氨基烷基杂环基硫基、氨基甲酰硫基、一烷基氨基甲酰硫基、二烷基氨基甲酰硫基、硫代氨基甲酰硫基、烷基硫代氨基甲酰硫基、二烷基氨基甲酰硫基、氨基、一烷基氨基、羟基烷基氨基、氨基烷基氨基、二烷基氨基、氧代、肟基、或烷基亚氨基、亚胺酰基氨基、烷基亚胺酰基氨基、二烷基亚胺酰基氨基、三烷基铵、环烷基氨基、杂环基氨基、烷基杂环基氨基、杂环基羰基氨基、烷基杂环基羰基氨基、酰基氨基、脒基、一烷基脒基、二烷基脒基、胍基、烷基胍基、二烷基胍基、氨基甲酰基氨基、硫代氨基甲酰基氨基、烷基氨基甲酰基氨基、硫代氨基甲酰基氨基、烷基硫代氨基甲酰基氨基、硝基、氯代、溴代、氟代、碘代、叠氨基、氰基、烷基亚磺酰基、烷基磺酰基氨基磺酰基、氨基磺酰基氧基、烷基氨基磺酰基氧基、烷基磺酰基氧基、磺基、磺基氧基、甲酰氨基、N-一烷基甲酰氨基、N,N-二烷基甲酰氨基、或羧基，其中所述取代基彼此间独立地出现一次或数次，它们的烷基部分含有1-6个碳原子，杂环基部分是单环或二环并含有3-10个环原子，其中有一个或多个环原子选自：氧、硫和氮，通式I化合物及其可药用盐、酯和酰胺衍生物可用作抗生素和β-内酰胺酶抑

制剂。

通过氧-碳单键或氮-碳单键连接的可药用基团 R^3 是常规基团，例如在 β -内酰胺类抗生素或 β -内酰胺酶抑制剂领域内的常规基团。在例如 M. S. Sassiver, A. Lewis 的“应用微生物学进展”，Ed. D. Perlman, Academic Press N.Y. (1970) 和许多专利，例如 US 5096899 中记载

了这类基团。

本说明书和权利要求书中所用的术语“可药用盐”包括无毒酸和碱盐以及两性离子盐。与碱形成的盐包括无机盐例如钠盐、钾盐、镁盐和钙盐、或铵盐，以及与无毒胺形成的盐，所述胺是例如三烷基胺、链烷醇胺、精氨酸或环状胺例如哌嗪、普鲁卡因以及其它用来与羧酸成盐的胺。与酸形成的盐包括无机酸盐例如盐酸盐、硫酸盐、磷酸盐等，和有机酸盐例如乙酸盐、马来酸盐、柠檬酸盐、琥珀酸盐、抗坏血酸盐、乳酸盐、富马酸盐、酒石酸盐和草酸盐，以及与用来和胺成盐的酸形成的其它有机酸盐。

本文所用的可药用酯和酰胺衍生物起前药作用，它们在体内被水解以生成本身的抗生素。它们优选口服给药，因为水解主要是在消化酶的作用下发生的。在某些情况下，当水解是在血液中发生时，可采用非胃肠道给药。可药用酯和酰胺衍生物的实例包括已知的并且在青霉素和头孢菌素领域中使用的、可在生理条件下水解的酯和酰胺，例如在药物研究进展 (Advances in Drug Res.) 17, 197 (1988) 中描述的酯和酰胺。这种酯和酰胺衍生物是通过本领域已知的常规技术制得的。

本发明化合物具有几个不对称中心，因此可以以几种立体化学形式存在。本发明包括异构体混合物以及个别的立体异构体。在最优选的式 I 化合物中，取代的碳青霉烯核具有 1R、5S 和 6S 构型，并且 6-(1-羟基乙基)侧链具有 1'R 或 1'S 构型。

此外，取代基 R^3 中也可能包含不对称中心。本发明包括在取代基 R^3 中具有 R 和 S 构型的化合物。

本发明还涉及制备化合物 (I) 的方法，含有化合物 (I) 的药物组合物，以及治疗方法，该治疗方法包括当指示需要进行抗生素治疗时施用所述化合物和组合物。

本发明这类化合物的命名可基于基础名“碳青霉烯”、采用俗名和简单命名体系（在一般描述中使用）来进行。或者，还可通过依据化学文摘体系的命名法则（二环命名法则）来描述这些化合物，这种

命名法则更适于描述这类化合物中的个别化合物。因此在实施例部分使用化学文摘命名法则。



碳青霉烯命名法则

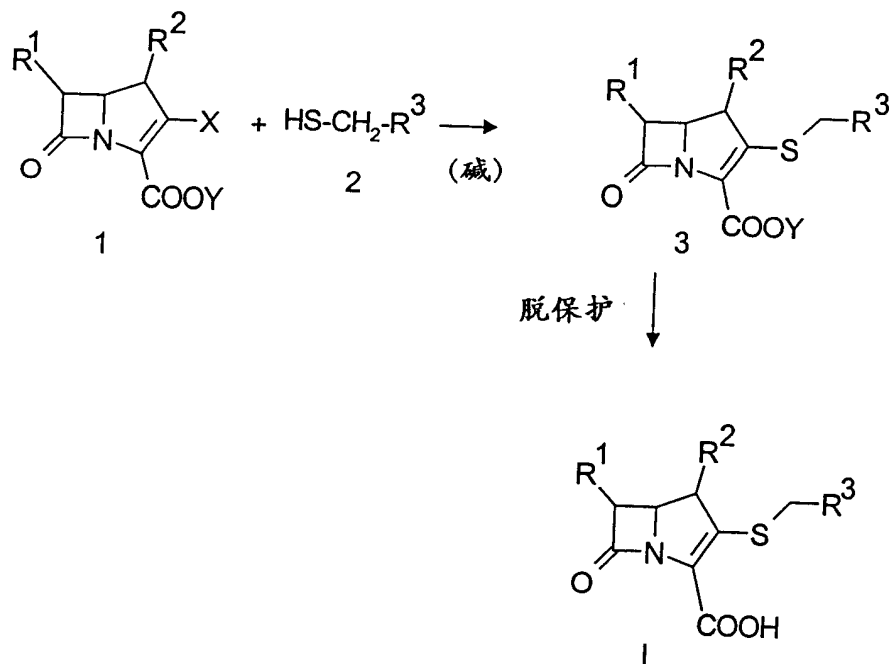
经典的 β -内酰胺类抗生素例如青霉素或头孢菌素在传染病的治疗中已经由于细菌抗药性而变得部分无效。除了一些细菌的天然抗药性以外，许多病原微生物菌株已经由于连续大量使用抗生素而获得了抗药性。因此，大多数种类的金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 已经变得对青霉素具有抗药性，许多革兰氏阴性菌例如阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae*)、铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 或者甚至是大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 已经对头孢菌素产生了抗药性。

因此，人们不断地需要新的抗生素。特别需要研制出广谱或具有口服活性的抗生素。

在 β -内酰胺类抗生素当中，碳青霉烯是最有效的一类化合物。碳青霉烯对多数青霉素和头孢菌素抗性菌株也具有活性。然而，目前使用的碳青霉烯是非胃肠道施用的，这是因为它们不具有足够的口服活性。其缺乏口服活性是本领域内已知的，例如在感染 (Infection) 14, (1986), 增刊 2, S 115 中描述了这一点。

本发明的目的是提供具有非常广的抗菌谱且具有口服活性的一类新的碳青霉烯抗生素。

上述式 I 化合物一般可依据下述方案制得：



因此，中间体 3 是这样制得的：将含有离去基团 X 、并且 R^1 和 R^2 定义同上的原料 1 与 HS/O -或 HS/N -甲醛缩醛 $HS-CH_2-R^3$ 反应，其中 R^3 定义同上，该反应优选在碱存在下进行。

因为 HS/O -或 HS/N -甲醛缩醛具有高反应性、尤其是在碱存在下更是如此，所以离去基团 X 并不非常关键。实际上，该反应可通过使用多种离去基团 X 来进行。这类离去基团 X 的实例是烷氧基例如甲氧基，烷基磺酰基氧基或芳基磺酰基氧基例如甲基磺酰基氧基、三氟甲基磺酰基氧基和对甲苯磺酰基氧基或二烷氧基膦酰基氧基或二芳氧基膦酰基氧基例如二甲氧基膦酰基氧基或优选的二苯氧基膦酰基氧基。

杂环类 (Heterocycles) 1984, 21, 29-40 或四面体通讯 (Tetrahedron Lett.) 1980, 21, 4221-4224 中描述了制备原料 1 的实例。

可在过程 $1 \rightarrow 3$ 中使用无机碱或有机碱，例如碳酸钾或碳酸铯或叔胺例如三乙胺和吡啶或优选的受阻碱例如二异丙基乙胺和 2,6-二甲基吡啶。

因为上述 HS/O -或 HS/N -甲醛缩醛具有高反应性，所以该反应的温度可在很宽的范围内变化。过程 $1 \rightarrow 3$ 优选在 -70°C - 室温下进行。

非极性或极性溶剂例如二氯甲烷或乙腈、或优选的 N,N-二甲基甲酰胺是适用的。还可采用相转移条件,例如使用水、非极性溶剂例如四氯化碳或二氯甲烷的相转移条件,并使用相转移催化剂例如溴化四丁基铵来进行过程 1→3。

还可通过使用预形成的 HS/O-或 HS/N-甲醛缩醛 2 的盐,优选其碱金属盐、碱土金属盐或四烷基铵盐来进行过程 1→3。使用无机盐时,优选在极性溶剂例如 N,N-二甲基甲酰胺中且不使用另外的碱来进行过程 1→3。使用溶解性更强的四烷基铵盐时,弱极性溶剂例如四氢呋喃是优选的。

原料 1 和中间体 3 中的保护基 Y 是易于除去的、本身已知的基团,例如在有机合成中常用的保护基。这类保护基记载在例如 Gunda I. Georg 的“β-内酰胺类的有机化学”,VCH Publishers UK, Cambridge, 1993, pp. 23-29 中。

在脱保护过程 3→I 中,生成了游离羧酸或相应的无机盐。在特殊情况下,可在过程 3→I 期间同时改变所选的取代基 R³。这种特殊过程的一个实例是,在通过催化氢解来将 3 (Y = 对硝基苄基) 脱保护的期间,同时将 2-叠氮基乙氧基 R³ 还原成 2-氨基乙氧基。

制备结构式 I 化合物的先决条件是获得相应的 HS/O-或 HS/N-甲醛缩醛 2。我们发现,这类简单的 HS/O 甲醛缩醛 (R³ = 未取代的烷氧基) 和 HS/N-甲醛缩醛 (R³ = 未取代的酰基氨基) 是现有技术中未知的。因此,本发明的目的还是制备合适的新的甲醛衍生物 2。

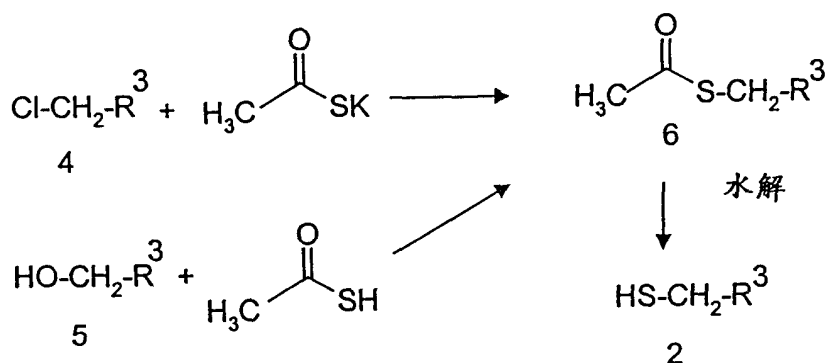
EP 0010317 中报道了 2-烷氧基烷硫基碳青霉烯。其是用已知的未取代的 2-烷氧基链烷醇作为试剂制得的。然而,通过该方法不能制得 2-烷氧基甲硫基碳青霉烯,这是因为所需试剂—在其烷氧基分子部分中具有 1-6 个碳原子的 HS/O 甲醛缩醛 (2, R³ = 未取代的烷氧基) 是一类现有技术中未知的化合物。现有技术认为这类反应物太不稳定而没有实际应用价值 (Houben-Weyl, 有机化学方法 (Methoden der Org. Chemie.), Vol. E 14a/1, G. Thieme ed., Stuttgart, N.Y. 1991, p. 793.)。这篇报道构成了偏见,认为不能使用上述 2-烷氧

基甲硫醇，以及不能采用能导致获得 2-甲氧基甲硫基碳青霉烯-3-甲酸的本发明解决方法。

虽然在早期的文献 (Chem. Zentralbl. 1912, 1192) 中错误地报道了甲氧基甲硫醇是沸点为 52℃/20 毫巴 (15 mm) 的化合物，但是我们发现在《化学文摘》中后来没有任何使用该试剂的报道。采用报道过的方法，没能制得甲氧基甲硫醇，其必须通过完全不同的途径 (4→6→2 或 5→6→2) 制备。实际上，真正的甲氧基甲硫醇比所报道的化合物的挥发性强得多，并且在环境压力下的沸点是 51℃！因为相应的 HS/O 甲醛缩醛没能获得，所以 2-烷氧基甲硫基碳青霉烯 I (R^3 = 甲氧基) 从来没有制得过，并因此没有在《化学文摘》中描述过。

同样，未取代的 HS/N 甲醛缩醛 2 (R^3 = 未取代的酰基氨基) 也是一类未知的化合物。因为在酰基氨基甲硫基碳青霉烯 I (R^3 = 酰基氨基) 的制备中需要试剂 2 (R^3 = 酰基氨基)，所以酰基氨基甲硫基碳青霉烯 I 没能通过现有技术获得。因此，《化学文摘》中没有描述过 2-酰基氨基甲硫基碳青霉烯。

新的 HS/O-或 HS/N-甲醛缩醛 2 可通过下述途径方便地制得：



其中 R^3 定义同上。起始化合物 4 和 5 是已知的，并且可依据本身已知的方法制得，或者可商购获得，例如氯甲基甲基醚 (4, R^3 = OCH_3) 或 N-羟基甲基乙酰胺 (5, R^3 = HN-CO-CH_3)。过程 4→6 优选在极性或非极性溶剂例如乙腈、乙醚或氯仿中于 -70℃ - 室温下进行。过程 5→6 也可在溶剂中，或者优选不使用溶剂 (使用过量硫代乙酸) 于 -30℃ - +60℃ 进行。或者，可使用其它碱金属或碱土金属硫代乙酸盐来代替市

售硫代乙酸钾。

水解过程 6→2 可这样进行：采用碱性或酸性条件，例如使用碱金属或碱土金属氢氧化物或碱金属或碱土金属醇化物，优选使用氢氧化钠或甲醇钠，在极性溶剂例如水、乙腈或甲醇中进行水解。在过程 6→2 中，合适的酸性条件是在极性溶剂例如水或甲醇中使用强酸、优选盐酸来实现的。该水解优选在 -30℃ - 室温下进行。HS/O-或 HS/N-甲醛缩醛 2 可以以它们的游离态或者作为碱金属盐、碱土金属盐或四烷基铵盐分离出来。

如上所述，目前使用的碳青霉烯不具有足够的口服活性。本发明化合物 I 的口服活性是由于新的 S/O 或 S/N 甲醛缩醛基团所致。类似的甲醛衍生物，即 O/O 甲醛缩醛可增加青霉素的口服吸收度，例如在默克索引，第 11 版 7484, p. 1193 中描述的青霉素的新戊酰基氧基甲基酯的口服吸收度提高了。在头孢菌素领域中报道了取代基间隔长度的巨大影响（抗生素杂志（Journ. Antibiot.）1993, 46, 177），在该领域内，口服生物利用度已经成为深入研究的目标。据该文献报道，S/S 甲醛缩醛衍生物优于 14 种其它化合物。不幸的是，由于该 S/S 缩醛部分的非极性特征，其对铜绿假单胞菌的活性——氨基噻唑头孢菌素类的固有活性被大大降低了。

在碳青霉烯领域中，欧洲专利申请 0481511 A2 中也报道了 2-S/S 甲醛缩醛衍生物的口服活性，其中提出亚甲基适于用作两个硫原子之间的间隔基来给这类抗生素提供口服活性。

然而，没有任何关于 S/O-或 S/N 甲醛缩醛的报道，并且没有任何关于其口服生物利用度或其抗菌活性的数据是已知的。与上述报道的 2-S/S-甲醛缩醛类相比，本发明化合物 I 的极性更强，并因此针对在临床上重要的病原体铜绿假单胞菌也具有活性。

与其它报道的在其亚烷基部分中有较大间隔长度的 2-烷氧基烷硫基碳青霉烯或 2-酰氨基烷硫基碳青霉烯相比，化合物 I 由于其可口服吸收性而是非常优选的。

在本发明的一般描述中，基团 R¹ 代表氢、羟基甲基或 1-羟基乙基，

R^2 代表氢或甲基, 且 R^3 代表通过氧-碳单键或氮-碳单键连接到该分子剩余部分上的可药用基团, 并且选自下述被取代或未被取代的基团: 烷氧基、链烯基氧基、炔基氧基、环烷氧基、N-杂环基、杂环基氧基、杂环基羰基氧基、杂环基硫代羰基氧基、酰基氧基、硫代酰基氧基、烷氧基羰基氧基、氨基甲酰基氧基、硫代氨基甲酰基氧基、杂环基氧基羰基氧基、杂环基氧基硫代羰基氧基、N-杂环基氨基甲酰基氧基、N-杂环基硫代氨基甲酰基氧基、杂环基羰基氨基、杂环基硫代羰基氨基、杂环基氧基羰基氨基、酰基氨基、烷氧基羰基氨基、烷氧基硫代羰基氨基、硫代酰基氨基、N-杂环基氨基甲酰基氨基、N-杂环基硫代氨基甲酰基氨基、氨基甲酰基氨基、硫代氨基甲酰基氨基、亚胺酰基氨基、胍基、N-杂环基烷氧基羰基氨基、N-杂环基烷基硫代羰基氨基和 N-磺酰基氨基, 其中上述烷基、链烯基、炔基、酰基、硫代酰基或亚胺酰基分子部分含有 1-6 个碳原子, 杂环基部分是单环或二环并含有 3-10 个环原子, 其中有一个或多个环原子选自: 氧、硫和氮, 上述基团 R^3 上的取代基可以是: 烷基、酰基、硫代酰基、杂环基、羟基、羟基烷基、烷氧基、羟基烷氧基、氨基烷氧基、胍基烷氧基、胍基烷氧基、酰基氧基、杂环基氧基、烷基杂环基氧基、羟基烷基杂环基氧基、氨基烷基杂环基氧基、氨基甲酰基、烷基氨基甲酰基、二烷基氨基甲酰基、氨基甲酰基氧基、烷基氨基甲酰基氧基、二烷基氨基甲酰基氧基、硫代氨基甲酰基、烷基硫代氨基甲酰基、二烷基硫代氨基甲酰基、硫代氨基甲酰基氧基、烷基硫代氨基甲酰基氧基、二烷基硫代氨基甲酰基氧基、巯基、烷硫基、羟基烷硫基、氨基烷硫基、一烷基氨基烷硫基、二烷基氨基烷硫基、胍基烷硫基、酰基硫基、杂环基硫基、烷基杂环基硫基、羟基烷基杂环基硫基、氨基烷基杂环基硫基、氨基甲酰硫基、一烷基氨基甲酰硫基、二烷基氨基甲酰硫基、硫代氨基甲酰硫基、烷基硫代氨基甲酰硫基、二烷基氨基甲酰硫基、氨基、一烷基氨基、羟基烷基氨基、氨基烷基氨基、二烷基氨基、氧代、胍基、或烷基亚氨基、亚胺酰基氨基、烷基亚胺酰基氨基、二烷基亚胺酰基氨基、四烷基铵、环烷基氨基、杂环基氨基、烷基杂环基氨基、杂

环基羰基氨基、烷基杂环基羰基氨基、酰基氨基、脒基、一烷基脒基、二烷基脒基、胍基、烷基胍基、二烷基胍基、氨基甲酰基氨基、硫代氨基甲酰基氨基、烷基氨基甲酰基氨基、硫代氨基甲酰基氨基、烷基硫代氨基甲酰基氨基、硝基、氯、溴、氟、碘、叠氨基、氰基、烷基亚磺酰基、烷基磺酰基、氨基磺酰基、氨基磺酰基氧基、烷基氨基磺酰基氧基、烷基磺酰基氧基或磺基、磺基氧基、甲酰氨基、N-一烷基甲酰氨基、N,N-二烷基甲酰氨基、或羧基，其中所述取代基彼此间独立地出现一次或数次，它们的烷基部分含有1-6个碳原子，杂环基部分是单环或二环并含有3-10个环原子，其中有一个或多个环原子选自：氧、硫和氮。

优选的化合物 I 是定义如下的化合物 I：其中 R^1 代表氢、羟基甲基或1-羟基乙基， R^2 代表氢或甲基，且 R^3 代表取代或未取代的烷氧基、杂环基氧基、酰基氧基、氨基甲酰基氧基、N-杂环基、酰基氨基、氨基甲酰基氨基、亚胺酰基氨基，其中上述烷基、酰基、硫代酰基、或亚胺酰基分子部分含有1-3个碳原子并且杂环基部分是单环，并含有3-6个环原子，其中有一个或多个环原子选自：氧、硫和氮，并且上述基团 R^3 上的取代基可以是：烷基、酰基、硫代酰基、杂环基、羟基、羟基烷基、烷氧基、羟基烷基氧基、氨基烷基氧基、脒基烷基氧基、胍基烷基氧基、酰基氧基、杂环基氧基、烷基杂环基氧基、羟基烷基杂环基氧基、氨基烷基杂环基氧基、氨基甲酰基、烷基氨基甲酰基、二烷基氨基甲酰基、氨基甲酰基氧基、烷基氨基甲酰基氧基、二烷基氨基甲酰基氧基、硫代氨基甲酰基、烷基硫代氨基甲酰基、二烷基硫代氨基甲酰基、硫代氨基甲酰基氧基、烷基硫代氨基甲酰基氧基、二烷基硫代氨基甲酰基氧基、巯基、烷基巯基、羟基烷基巯基、氨基烷基巯基、一烷基氨基烷基巯基、二烷基氨基烷基巯基、脒基烷基巯基、酰基巯基、杂环基巯基、烷基杂环基巯基、羟基烷基杂环基巯基、氨基烷基杂环基巯基、氨基甲酰巯基、一烷基氨基甲酰巯基、二烷基氨基甲酰巯基、硫代氨基甲酰巯基、烷基硫代氨基甲酰巯基、二烷基氨基甲酰巯基、氨基、一烷基氨基、羟基烷基氨基、氨基烷基氨基、二烷基氨基、氧代、肟

基、或烷基亚氨基、亚胺酰基氨基、烷基亚胺酰基氨基、二烷基亚胺酰基氨基、四烷基铵、环烷基氨基、杂环基氨基、烷基杂环基氨基、杂环基羰基氨基、烷基杂环基羰基氨基、酰基氨基、脒基、一烷基脒基、二烷基脒基、胍基、烷基胍基、二烷基胍基、氨基甲酰基氨基、硫代氨基甲酰基氨基、烷基氨基甲酰基氨基、硫代氨基甲酰基氨基、烷基硫代氨基甲酰基氨基、硝基、氯、溴、氟、碘、叠氮基、氰基、烷基亚磺酰基、烷基磺酰基、氨磺酰基、氨磺酰基氧基、烷基氨磺酰基氧基、烷基磺酰基氧基或磺基、磺基氧基、甲酰氨基、N-一烷基甲酰氨基、N,N-二烷基甲酰氨基或羧基，其中所述取代基彼此间独立地出现一次或数次，它们的烷基部分含有1-6个碳原子，杂环基部分是单环并含有3-6个环原子，其中有一个或多个环原子选自：氧、硫和氮。

特别优选的本发明化合物 I 是定义如下的化合物 I：其中 R^1 代表1-羟基乙基， R^2 代表甲基且 R^3 代表取代的烷氧基、酰基氨基、烷基氨基甲酰基氨基、烷氧基氨基甲酰基氨基、N-杂环基和亚胺酰基氨基，其中上述烷基、酰基或亚胺酰基分子部分含有1-3个碳原子，并且杂环基部分是单环并含有3-6个环原子，其中有一个或多个环原子选自：氧、硫和氮，并且上述基团 R^3 上的取代基是碱性基团，例如氨基、烷基氨基、二烷基氨基、亚胺酰基、脒基和胍基。在这种情况下，本发明化合物 I 具有非常强的极性，并且可以以其两性离子形式存在。因此，这类化合物尤其具有抗包括铜绿假单胞菌在内的革兰氏阴性菌的活性。

在圆盘敏感性测试中，施用10微克后，所选取的本发明化合物 I 表现出高度抗菌活性，其中抑制直径如下：金黄色葡萄球菌(9-39 mm)，大肠杆菌(27-34 mm)，阴沟肠杆菌(23-17 mm)和铜绿假单胞菌(13-26 mm)。这些数据与如在抗微生物化疗杂志(Journ. Antimicrob. Chemotherapy) 24, (1989), 增刊 A, 253 中所述的在临床上有用的注射碳青霉烯的数据相当。

因此，本发明这些新的抗生素具有抗多种细菌病原体的活性，所

述细菌病原体代表性地包括革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌，例如金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、阴沟肠杆菌、肠球菌(Enterococcus)和铜绿假单胞菌。

令人惊奇的是，我们发现，本发明化合物能强有力地抑制从阴沟肠杆菌和大肠杆菌中分离出的细菌 β -内酰胺酶。此外，所有测试的头孢他啶耐药性革兰氏阴性菌都对头孢他啶与本发明化合物的组合敏感。因此，本发明化合物是非常有效力的 β -内酰胺酶抑制剂。在头孢噻吩测试(R. Reimer, 化学方法: 抗生素, 维生素和激素(Methodicum Chemicum: Antibiotics, Vitamins and Hormons); F. Korte, M. Goto, eds., Thieme, Stuttgart, 1977, p. 11, E. Wasielewski, Arzneimittel, Vol. 4; 化学疗法(Chemotherapeutica), 第一部分, Verlag Chemie, Weinheim 1972)中, 使用分离的细菌酶也观察到本发明化合物 I 作为 β -内酰胺酶抑制剂的非常强的活性。

以 25 mg/kg 的剂量口服治疗后, 本发明化合物 I 的代表在小鼠中表现出高的血液水平, 这表明其具有良好的口服吸收度。

因此, 本发明的目的是, 提供在兽医和人治疗以及无生命体系中有重要价值的一类新的碳青霉烯抗生素和 β -内酰胺酶抑制剂。本发明化合物强的以及广谱抗菌活性和 β -内酰胺酶抑制效力与其口服活性不能从现有技术中预期到。

本发明新化合物是有价值的抗微生物物质, 其具有抗大多数革兰氏阳性和革兰氏阴性病原体、还包括大多数青霉素和头孢菌素耐药性细菌以及厌氧细菌的活性。本发明化合物游离酸以及特别是碱金属盐和碱土金属盐或两性离子盐是有用的杀细菌剂, 因此可用于将病原体从牙科和医疗器械中除去, 以用来除去微生物以及在人和动物中实现治疗应用。对于后一目的, 可使用例如本身已知的并且在青霉素和头孢菌素的给药中使用的可药用盐。这些盐可与可药用液体与固体赋形剂一起使用, 以形成合适的单位剂型例如丸剂、片剂、胶囊剂、栓剂、糖浆剂、酏剂等, 这些剂型可通过本身已知的方法制得。

本发明化合物是有价值的抗生素, 其能抗大多数病原菌, 因此可

用于人医疗和兽医。本发明化合物可用作抗菌药，来治疗由革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌引起的感染，所述细菌有例如金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、肺炎克雷伯氏菌(*Klebsiella pneumoniae*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhosa*)、阴沟肠杆菌、肠球菌、铜绿假单胞菌和变形杆菌(*Bacterium proteus*)。

本发明抗菌剂还可用作动物饲料的添加剂，以保存粮食或饲料，以及用作消毒剂。例如，它们可以以0.1-100份抗生素/百万份溶液的浓度在水制剂中使用，以杀灭和抑制医疗器械上的有害细菌，并作为杀菌剂用于工业领域，例如在水基涂料和造纸厂所用的软水中使用，来抑制有害细菌的生长。

本发明产物可单独或者与其它活性组分一起在多种药物制剂中使用。这些制剂可以以胶囊形式使用，或者作为片剂、粉剂或液体溶液或悬浮液或酏剂使用。它们可口服给药、静脉内给药或肌肉内给药。

本发明制剂优选以适于经由胃肠道吸收的形式施用。用于口服给药的片剂和胶囊剂可以呈单位剂型，并含有常规药物赋形剂例如粘合剂如糖浆、阿拉伯胶、明胶、山梨醇或聚乙烯吡咯烷酮；填充剂，例如乳糖、糖、玉米淀粉、磷酸钙、山梨醇或甘油；润滑剂，例如硬脂酸镁、滑石、聚乙二醇或二氧化硅；崩解剂，例如土豆淀粉；或可接受的润湿剂例如十二烷基硫酸钠。可通过已知方法将片剂包衣。口服液体制剂可以呈水或油悬浮液、溶液、乳剂、糖浆剂、酏剂等剂型，或者可以以无水产品的形式存在，以例如在使用前用水或其它合适赋形剂重新配制。这类液体制剂可以含有本身已知的添加剂，例如悬浮剂如山梨醇糖浆、甲基纤维素、葡萄糖/蔗糖糖浆、明胶、羟乙基纤维素、羧甲基纤维素、硬脂酸铝凝胶、或氢化食用油例如杏仁油、分馏椰子油、油酯、丙二醇或乙醇；防腐剂，例如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯或山梨酸。栓剂含有本身已知的栓剂基质，例如可可脂或其它甘油酯。

可将注射用制剂以单位剂量形式置于含有几个剂量单位和添加的防腐剂的安瓿或容器中。注射剂可以呈在油或水赋形剂中的悬浮液或

溶液或乳剂的形式，并且可以含有配制剂例如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂。或者，活性组分可以呈粉末形式，以在使用前用合适的赋形剂例如无菌不含热源的水重新配制。

本发明制剂还可以呈用于经由鼻粘膜和咽喉粘膜或支气管组织粘膜吸收的合适剂型，并且可以呈粉剂或液体喷雾剂或吸入剂、吮吸糖果、咽喉涂剂等剂型。对于眼睛和耳朵治疗，本发明制剂可以以液体或半固体单个胶囊的形式使用，或者可作为滴剂等剂型使用。局部施用制剂可在疏水载体中配制，例如软膏剂、霜剂、洗剂、涂剂、粉剂等。

除了赋形剂以外，本发明制剂还可以含有其它组分例如稳定剂、粘合剂、抗氧化剂、防腐剂、润滑剂、悬浮剂、粘度控制剂或矫味剂等。

除了赋形剂以外，本发明制剂还可以含有酶抑制剂例如 cilastatin (默克索引，第 11 版 2275) 来提高疗效。

此外，本发明制剂可含有一种或多种活性抗菌组分以获得更广的抗菌范围。这样的其它活性组分的实例是抗生素，优选 β -内酰胺类抗生素，例如青霉素如氨苄西林或阿莫西林，或头孢菌素例如头孢氨苄、氯氨苄头孢菌素或头孢他啶。通过加入这样的常规 β -内酰胺类抗生素，本发明活性组分既起抗菌剂作用、又起细菌 β -内酰胺酶抑制剂作用。

对于兽医应用，本发明制剂可配制成例如在缓释或速释载体中的乳房内制剂。施用剂量高度取决于受治疗者的状况、宿主体重以及给药方法和次数。日口服剂量一般包含约 10 - 约 20 mg 活性组分/kg 受治疗者体重，每天给药一次或多次。对于成人，优选的日剂量为约 20 - 120 mg 活性组分/kg 体重。

本发明制剂可以以多种单位剂型给药，例如以可口服的固体或液体剂型给药。本发明制剂可含有 0.1 - 99% 活性组分/固体或液体单位剂型。优选范围为约 10 - 60%。本发明制剂一般包含 15 - 约 1500 mg 活性组分，但是一般优选以约 250 - 1000 mg 的剂量使用。对于非胃

肠道给药，单位剂型通常是在无菌水溶液中的纯化合物，或者是可溶解的可溶性粉末的形式。

下述实施例举例说明本发明产物、方法、制剂和治疗方法。

实施例 1

甲氧基甲硫醇

在 0℃、搅拌下，将硫羧乙酸甲氧基甲酯 (2.40 g, 20 mmol) 加到 5.2 N 氢氧化钠水溶液 (7.7 ml, 40 mmol) 中。30 分钟后，向该黄色溶液中加入 5 N 盐酸 (4.0 ml, 20 mmol)，析出了油层。在 0℃ 用氯化钠将水层饱和后，分离出该油相，用硫酸镁干燥，过滤，将滤液在环境压力蒸馏，获得了无色液体。 b.p. 51°C.

NMR 光谱 (在 CDCl₃ 中): 2.0 (t, 1H, J = 12 Hz), 3.4 (s, 3H), 4.8 (d, 2H, J = 12 Hz) ppm.

或者，用氘氯仿萃取该两相混合物。用硫酸镁将所得溶液干燥，过滤，并保藏在冰箱中。该溶液含有纯的本标题化合物 (1.17 g, 80 %)。

用 2N 氢氧化钠水溶液 (7.5 ml, 15 mmol) 萃取该溶液，立即将萃取液在高度真空下冷冻干燥，获得了无色固体甲氧基甲硫醇钠。

实施例 2

2-(叠氮基乙氧基)甲硫醇

在 -15℃，将无水 HCl 通入 2-叠氮基乙醇 (2.0 g, 23 mmol) 和三氧杂环己烷 (0.74 g, 8.2 mmol) 的混合物中。1.5 小时后，固体液化了。用氮气将该装置冲洗后，该混合物由 (2-叠氮基乙基) 氯甲基醚组成。NMR 光谱 (在 CDCl₃ 中): 3.5 (m, 2H), 3.9 (m, 2H), 5.5 (s, 2H) ppm.

在 0℃、搅拌下，将 (2-叠氮基乙基) 氯甲基醚 (粗产物, 23 mmol) 加到硫羧乙酸钾 (2.63 g, 23 mmol) 在无水乙醚 (7.5 ml) 内的悬

浮液中。将该混合物在室温搅拌过夜。通过过滤除去不溶物，将滤液真空蒸发，获得了橙色液体。用短径蒸馏装置和安全防护屏将该橙色液体在高度真空下 0.003 毫巴 (0.002 mm) 蒸馏。以 65% 的产率获得了纯的硫羧乙酸(2-叠氨基乙氧基)甲酯，为浅黄色液体，其沸点为 80 - 90 °C / 0.003 毫巴 (0.002 mm)。NMR 光谱(在 CDCl₃ 中): 2.38 (s, 3H), 3.36 (m, 2H), 3.61 (m, 2H), 5.10 (s, 2H) ppm.

在 0 °C、搅拌下，将硫羧乙酸(2-叠氨基乙氧基)甲酯 (848 mg, 4.84 mmol) 在四氢呋喃 (5 ml) 中的溶液滴加到 0.20 N 氢氧化钠水溶液 (121 ml, 24.2 mmol) 中。将该反应混合物在 0 °C 搅拌 15 分钟。将所得溶液用乙醚 (100 ml) 洗涤，然后在 0 °C 用 1.0 N 盐酸 (19.4 ml) 酸化至 pH 6。然后用乙醚 (50 ml) 将该水溶液萃取 2 次。合并乙醚层，用硫酸镁干燥，将溶剂真空 (17 毫巴) (13 mm) 蒸发。通过硅胶 (200 - 63 μm, 23 g) 色谱法纯化所得粗产物，用己烷-乙醚 (9:1) 洗脱，在 17 毫巴 (13 mm) 真空干燥后，以 47% 的产率获得了无色本标题化合物。

NMR 光谱(在 CDCl₃ 中): 2.0 (t, 2H, $J = 10$ Hz), 3.4 (t, 2H, $J = 6$ Hz), 3.7 (t, 2H, $J = 6$ Hz), 4.8 (d, 2H, $J = 10$ Hz) ppm.

实施例 3

(2-叠氨基-1,1-二甲基乙氧基)甲硫醇

在 0 °C、搅拌下，将 1-叠氨基-2-甲基-2-丙醇 (1.15 g, 10 mmol) 在无水 THF (2 ml) 中的溶液加到氢化钠 (310 mg, 13 mmol) 在无水四氢呋喃 (5 ml) 内的悬浮液中。当不再有氢气释放出来时，在 0 °C 向该浅黄色溶液中加入无水六甲基磷三氯化物 (3 ml) 和氯甲基甲基醚 (1.14 ml, 15 mmol)，将该反应混合物在室温搅拌过夜。将该反应混合物倒入 10% 氯化钠水溶液 (40 ml) 中，并用两份 (150 和 50 ml) 乙醚萃取 2 次。合并乙醚层，用 10% 氯化钠溶液 (50 ml) 与饱和氯化钠溶液 (50 ml) 洗涤 2 次。将该乙醚层用硫酸镁干燥，将溶剂真空 17 毫巴 (13 mm) 除去，获得了甲醛((2-叠氨基-1,1-二甲基乙基)甲基

缩醛 (1.41 g, 89%)。

NMR 光谱 (在 CDCl_3 中): 1.28 (s, 6H), 3.22 (s, 2H), 3.39 (s, 3H), 4.74 (s, 2H) ppm.

在 0°C 、搅拌下, 向甲醛 ((2-叠氮基-1,1-二甲基乙基)甲基缩醛 (1.35 g, 8.47 mmol) 在无水二氯甲烷 (5 ml) 内的溶液中加入 1M 三氯化硼溶液 (3.46 ml, 3.46 mmol)。将该反应混合物在室温搅拌 3 小时, 获得了 (2-叠氮基-1,1-二甲基乙基)氯甲基醚的溶液。

NMR 光谱 (在 CDCl_3 中): 1.36 (s, 6H), 3.24 (ABq, 2H), 5.60 (s, 2H) ppm.

在 0°C 、搅拌下, 将上述含有 (2-叠氮基-1,1-二甲基乙基)氯甲基醚 (1.23 g, 7.53 mmol) 的溶液 (8.0 ml) 加到固体硫羧乙酸钾粉末 (1.28 g, 11.3 mmol) 在无水二氯甲烷 (8 ml) 内的悬浮液中, 将所得悬浮液在室温搅拌过夜。用二氯甲烷 (80 ml) 将所得混合物稀释, 用水洗涤 3 次 (每次 30 ml), 并用饱和氯化钠溶液 (30 ml) 洗涤 1 次。将有机层用硫酸镁干燥, 将溶剂真空 17 毫巴 (13 mm) 除去, 获得了硫羧乙酸 (2-叠氮基-1,1-二甲基乙氧基)甲酯粗产物。通过硅胶 (40-60 μm) 柱色谱法纯化, 用己烷-乙醚 (4:1) 洗脱, 获得了纯的硫羧乙酸 (2-叠氮基-1,1-二甲基乙氧基)甲酯 (0.81 g, 53%), 为无色液体。

NMR 光谱 (在 CDCl_3 中): 1.28 (s, 6H), 2.37 (s, 3H), 3.21 (s, 2H), 5.02 (s, 2H).

在 0°C 、搅拌下, 将溶于 THF (0.5 ml) 中的硫羧乙酸 (2-叠氮基-1,1-二甲基乙氧基)甲酯 (102 mg, 0.5 mmol) 加到 0.1N 氢氧化钠溶液 (25 ml, 2.5 mmol) 中。将该反应混合物在 0°C 搅拌 90 分钟。将该溶液用乙醚 (15 ml) 洗涤, 然后在 0°C 用 1N 盐酸 (1.8 ml, 1.8 mmol) 酸化至 pH 6-7。将该溶液在 0°C 搅拌 30 分钟, 然后转移到分液漏斗中。振摇 3 分钟后, 收集有机层, 并用乙醚 (8 ml) 将水层再萃取 2 次。合

并乙醚层，用硫酸镁干燥，将溶剂真空 17 毫巴（13 mm）蒸发，获得了本标题化合物，为浅黄色液体（67 mg，83%）。

NMR 光谱(在 CDCl_3

中): 1.28 (s, 6H), 2.18 (t, 1H, $J = 10$ Hz), 3.23 (s, 2H), 4.73 (d, 2H, $J = 10$ Hz) ppm.

实施例 4

N-(巯基甲基)乙酰胺

将 N-(羟基甲基)乙酰胺（13.4 g, 0.15 mol）与硫羧乙酸（14.3 g, 0.188 mol）在 40℃ 加热 3 天。通过硅胶（63–200 μm , 700 g）色谱法纯化所得混合物，用甲苯-乙酸乙酯（4:1 和 1:1）洗脱，获得了纯的硫羧乙酸乙酰氨基甲酯（14.2 g, 64%）。熔点为 93–94℃。

将硫羧乙酸乙酰氨基甲酯（1.47 g, 10 mmol）溶于 2.0N HCl 在无水甲醇（1.8 ml）内的溶液中，将所得溶液在室温保持 3.5 小时。用 2N 甲醇钠在无水甲醇（1.8 ml）中的溶液中和（ $\text{pH} = 7$ ）。通过过滤除去沉淀出的氯化钠，将滤液真空蒸发。通过硅胶（63–200 μm , 30 g）色谱法纯化该残余物，用乙酸乙酯洗脱，获得了纯的本标题化合物（0.70 g, 67%）。将其在氩气氛下于 -30℃ 保存。

NMR 光谱(在 CDCl_3 中):

1.95 (s, 3H), 2.38 (t, 1H, $J = 9$ Hz), 4.28 (dd, 2H, $J = 9$ Hz) 6.81 (broad s, 1H) ppm.

实施例 5

2-叠氨基-N-(巯基甲基)乙酰胺

将 2-叠氨基乙酰胺（1.40 g, 14 mmol）、30% 甲醛水溶液（不含甲醇）（1.40 g, 14 mmol）和 1.0N 氢氧化钾水溶液（0.28 ml, 0.28 mmol）在 0℃ 搅拌 4 小时。将 1.0N 盐酸加到该反应混合物中（ $\text{pH} = 7$ ），将所得混合物真空蒸发。将该残余物悬浮在乙酸乙酯（50 ml）中，用硫酸镁将该溶液干燥，过滤，将滤液浓缩至体积为 5 ml。通过硅胶（63–200 μm , 18 g）色谱法纯化该残余物，用乙酸乙酯洗脱，获得了 2-叠氨基-N-(羟基甲基)乙酰胺，为油状物，产率为 90%。

NMR 光谱 (在 CDCl_3 中): 3.6 (宽信号, 1H), 4.0 (s, 2H), 4.8 (d, 2H, $J = 6$ Hz), 7.3 (宽信号, 1H) ppm.

在 -10°C , 将草酰氯 (635 mg, 5 mmol) 加到 2-叠氮基-N-(羟基甲基)乙酰胺 (650 mg, 5 mmol) 中。10 分钟后, 不再有气体放出。将该混合物用 CDCl_3 稀释。

NMR- 光谱 (在 CDCl_3 中): 4.1 (s, 2H), 5.2 (d, 2H, $J = 10$ Hz), (宽信号, 1H) ppm.

该 NMR 与 2-叠氮基-N-(氯甲基)乙酰胺 (产率为 75%) 一致。

在 0°C , 将硫羧乙酸钾 (520 mg, 4.6 mmol) 加到 2-叠氮基-N-(氯甲基)乙酰胺粗产物 (715 mg) 在 CDCl_3 (4 ml) 内的溶液中, 将该悬浮液在室温搅拌过夜。用氯仿 (50 ml) 将该混合物稀释, 然后用水 (15 ml) 将该溶液洗涤 2 次, 用盐水 (10 ml) 洗涤一次。将有机层用硫酸镁干燥, 将溶剂真空蒸发, 获得了非结晶固体 (530 mg)。通过硅胶 (63–200 μm) 色谱法纯化, 用甲苯-乙酸乙酯 (2:1) 洗脱, 获得了 400 mg (56%) 纯的硫羧乙酸(2-叠氮基乙酰氨基)甲酯。

NMR 光谱 (在 CDCl_3 中): 2.4 (s, 3H), 4.0 (s, 2H), 4.7 (d, 2H, $J = 7$ Hz), 7.2 (宽信号, 1H) ppm.

将纯的硫羧乙酸(2-叠氮基乙酰氨基)甲酯溶于 1.8N HCl 在无水甲醇中的溶液 (0.6 ml, 1.1 mmol), 将该溶液在室温搅拌 6 小时。用 2.2N 甲醇钠在无水甲醇中的溶液 (0.46 ml, 1.03 mmol) 中和 ($\text{pH} = 6$)。通过过滤除去沉淀出的氯化钠, 将滤液用 DMF-d_6 (0.7 ml) 稀释, 然后将甲醇真空 (15 mm) 除去, 最后在高度真空 0.0013 毫巴 (0.001 mm) 下除去甲醇。

将该 DMF-d_6 溶液保持在 -80°C 。NMR 光谱表明是本标题化合物 (产率为 56%, 用 10 μl 苯作为内标确定的)。

NMR 光谱 (在 DMF-d_6 中): 2.9 (宽信号, 1H), 3.95 (s, 2H), 4.38 (dd, 2H), 8.9 (宽信号, 1H) ppm.

实施例 6

1-乙基-4-(巯基甲基)-哌嗪-2,3-二酮

向 1-乙基哌嗪-2,3-二酮 (2.13 g, 15 mmol) 在 30% 甲醛水溶液 (不含有甲醇) (15 mmol) 内的溶液中加入氢氧化钾 (150 mg, 2.7 mmol), 将该混合物在 50℃ 搅拌 7 天。用 5N 盐酸将其中和至 pH = 7。将该混合物在 15 mm 真空蒸发, 然后在高度真空 0.0013 毫巴 (0.001 mm) 下干燥, 获得了 1-乙基-4-(羟基甲基)哌嗪-2,3-二酮, 为无色固体 (100%)。NMR 光谱 (在 CDCl₃ 中): 1.15 (宽信号, 1H), 1.15 (t, 3H, J = 7 Hz), 3.47 (q, 2H, J = 7 Hz), 3.54 (m, 2H), 3.68 (m, 2H), 4.88 (s, 2H) ppm.

在 -10℃, 将草酰氯 (78 μl, 0.906 mmol) 加到 1-乙基-4-(羟基甲基)哌嗪-2,3-二酮 (156 mg, 0.906 mmol) 中, 将该混合物在 -10℃ 搅拌 2 小时。30 分钟后, 不再有气体放出。将该反应混合物在高度真空下干燥, 获得了 1-(氯甲基)-4-乙基哌嗪-2,3-二酮 (100%)。NMR 光谱 (在 CDCl₃ 中): 1.15 (t, 3H, J = 7 Hz), 3.42 (q, 2H, J = 7 Hz), 3.65 (宽信号, 4H), 5.30 (s, 2H) ppm.

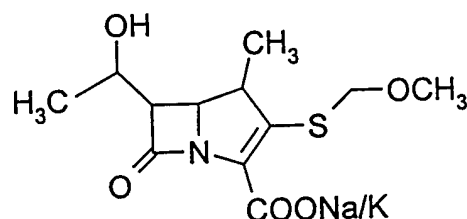
在 0℃、搅拌下, 将固体硫羟乙酸钾 (123 mg, 1.08 mmol) 加到 1-(氯甲基)-4-乙基哌嗪-2,3-二酮粗产物 (170 mg, 0.9 mmol) 在 CDCl₃ (1 ml) 内的溶液中。将该反应混合物在室温搅拌过夜。将该混合物离心, 收集上清液。用 CDCl₃ (2 ml) 洗涤残余固体 (KCl), 合并有机溶液, 将溶剂真空除去。通过硅胶 (6 g, 63-200 μm) 色谱法纯化该残余物, 用氯仿-甲醇 (19:1) 洗脱, 获得了 1-(乙酰基巯基甲基)-4-乙基哌嗪-2,3-二酮, 为白色固体 (总产率为 44%)。NMR 光谱 (在 CDCl₃ 中): 1.22 (t, 3H, J = 7 Hz), 2.44 (s, 3H), 3.48 (q, 2H, J = 7 Hz), 3.4-3.7 (m, 4H), 4.95 (s, 2H) ppm.

将 1-(乙酰基硫基甲基)-4-乙基哌嗪-2,3-二酮 (74 mg, 0.32 mmol) 溶于 1.95 N HCl 在甲醇中的溶液 (0.56 ml, 1.2 mmol), 将该溶液在室温搅拌 6 小时。用 2.24N 甲醇钠在无水甲醇中的溶液 (0.54 ml, 1.2 mmol) 将该混合物中和至 pH = 6。通过过滤除去沉淀出的氯化钠, 将滤液真空蒸发, 把残余物在 0.0013 毫巴 (0.001 mm) 真空下干燥。通过硅胶 (2.0 g, 63 - 200 μm) 色谱法纯化, 用氯仿-甲醇 (19:1) 洗脱, 获得了本标题化合物, 为无色固体 (产率为 80%)。

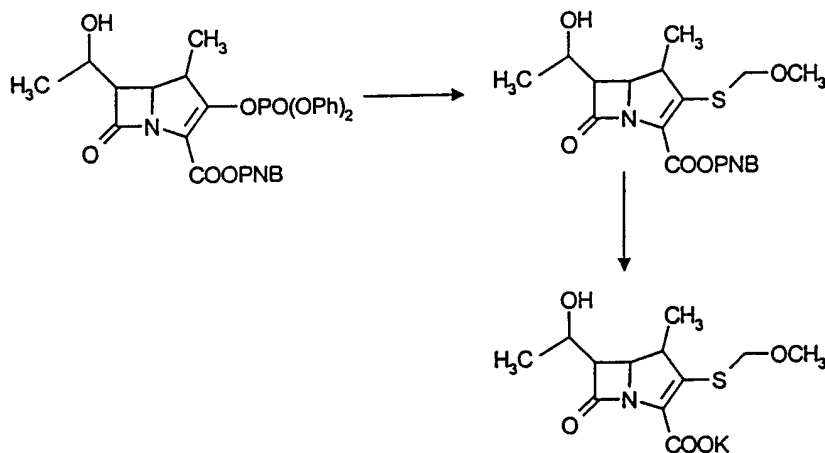
NMR 光谱 (在水中): 1.23 (t, 3H, J = 7Hz), 2.43 (宽信号, 1H) 3.55 (q, 2H, J = 7Hz), 3.67 (宽 s, 4H), 4.60 (宽 s, 2H) ppm.

实施例 7

(4R, 5S, 6S)-6-((1'R)-羟基乙基)-3-(甲氧基甲硫基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸钠或钾 (Ia)



(4R, 5S, 6S)-6-((1'R)-羟基乙基)-3-(甲氧基甲硫基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸对硝基苄酯



在 -50°C , 向 (4R, 5R, 6S)-3-(二苯基氧基膦酰基氧基)-6-((1'R)-羟基乙基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸对硝基苄

酯 (892 mg, 1.5 mmol) 在无水二甲基甲酰胺 (15 ml) 内的溶液中加入甲氧基甲硫醇 (152 mg, 1.95 mmol) 在 CDCl_3 (3 ml) 中的溶液, 然后加入二异丙基乙胺 (334 μl , 1.95 mmol)。将该反应混合物升至 0 $^{\circ}\text{C}$, 在 0 $^{\circ}\text{C}$ 保持 2 小时后, 将该反应混合物用乙酸乙酯 (300 ml) 稀释, 将该溶液在室温放置 5 分钟。将该溶液依次用 10% 碳酸钾水溶液 (125 ml)、水 (3×100 ml) 和盐水 (100 ml) 洗涤。用硫酸镁将有机层干燥, 将溶剂真空除去。通过硅胶 (50 g, 63–200 μm) 色谱法纯化该残余物, 用甲苯–乙酸乙酯 (2:1 和 1:1) 洗脱, 获得了本标题化合物, 为浅黄色非结晶固体 (产率为 78%)。

IR 光谱 (在 CH_2Cl_2 中): 3600, 3050, 2900, 1770, 1710, 1605, 1520, 1345, 1210, 1135, 1080 cm^{-1} .

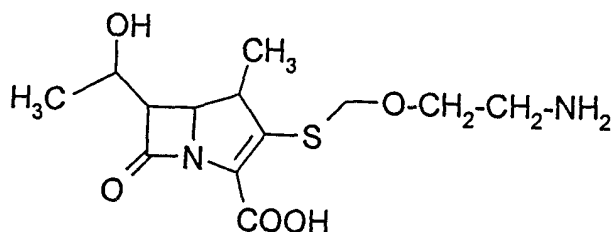
(4R, 5S, 6S)-6-((1'R)-羟基乙基)-3-(甲氧基甲硫基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸钾

向在乙酸乙酯 (30 ml) 与碳酸氢钾 (85 mg, 0.85 mmol) 水 (12 ml) 溶液的两相混合物内于 0 $^{\circ}\text{C}$ 预氢化的 10% 钯炭 (750 mg) 中通过注射器加入 (4R, 5S, 6S)-6-((1'R)-羟基乙基)-3-(甲氧基甲硫基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸对硝基苄酯 (479 mg, 1.13 mmol) 在乙酸乙酯 (10 ml) 中的溶液。然后将该混合物在环境压力下和 0 $^{\circ}\text{C}$ 氢化。70 分钟后, 氢气 (70 ml) 的摄取变得非常慢。再加入一部分催化剂 (150 mg), 继续氢化 100 分钟。又消耗了一部分氢气 (50 ml)。通过过滤除去催化剂, 用乙酸乙酯 (5 ml) 和水 (2 ml) 洗涤, 将滤液转移到分液漏斗中。收集水层, 将有机层用碳酸氢钾 (28 mg, 0.28 mmol) 水 (3 ml) 溶液萃取。合并水溶液, 抽空以除去残余的乙酸乙酯, 然后在 -30 $^{\circ}\text{C}$ 于高度真空下 (0.0013 毫巴) (0.001 mm) 冷冻干燥, 获得了纯的本标题化合物, 为白色粉末 (产率为 50%)。

UV 光谱 (在水中) $\lambda_{\text{max}} = 292$ nm ($\epsilon = 8000$). NMR 光谱 (在 D_2O 中) (内标 $\text{Me}_3\text{SiCD}_2\text{CD}_2\text{COONa}$): 1.21 (d, 3H, $J = 7$ Hz), 1.31 (d, 3H, $J = 6$ Hz), 3.43 (s, 3H), 3.45 (m, 1H), 3.52 (m, 1H), 4.2–4.3 (m, 2H), 4.76 and 5.03 (ABq, $J = 8$ Hz, S- $\text{CH}_2\text{-O}$) ppm.

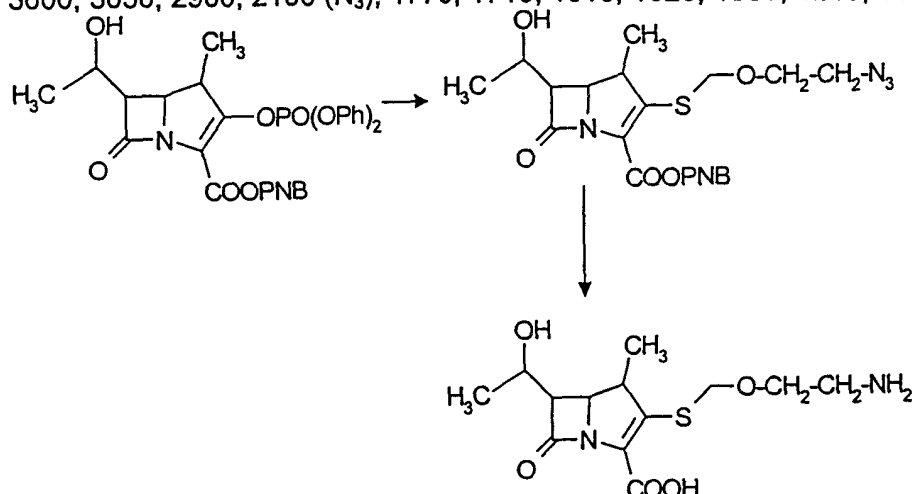
实施例 8

(4R, 5S, 6S)-3-((2-氨基乙氧基)甲硫基)-((1'R)-羟基乙基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸 (Ib)



(4R, 5S, 6S)-3-((2-叠氮基乙氧基)甲硫基)-6-((1'R)-羟基乙基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸对硝基苄酯

依据实施例 7 中所述的方法, 使用 (2-叠氮基乙氧基)甲硫醇进行制备, 通过色谱法纯化后 (用甲苯-乙酸乙酯 (1:1) 洗脱), 以 80% 的产率获得了本标题化合物, 为浅黄色非结晶固体。 IR 光谱 (在 CH_2Cl_2 中): 3600, 3050, 2900, 2100 (N_3), 1770, 1710, 1610, 1520, 1350, 1210, 1140, 1085 cm^{-1} .



(4R, 5S, 6S)-3-((2-氨基乙氧基)甲硫基)-6-((1'R)-羟基乙基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸 (两性离子形式)

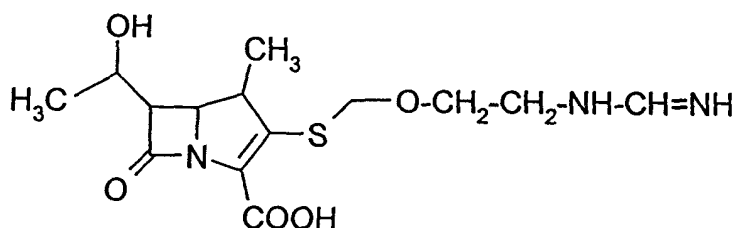
将 10% 钨炭 (700 mg) 在乙酸乙酯 (30 ml) 和水 (15 ml) 的两相混合物内于 0℃ 预氢化, 在 0℃ 通过注射器加入 (4R, 5S, 6S)-3-((2-叠氮基乙氧基)甲硫基)-6-((1'R)-羟基乙基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸对硝基苄酯 (422 mg, 0.884 mmol) 在乙酸乙酯 (10 ml) 中的溶液。在 0℃ 和环境压力下氢解 65 分钟后, 氢气 (70 ml) 的摄取变得非常慢。再加入一部分催化剂 (100 mg), 继续氢化 75 分钟。又吸收了一部分氢气 (35 ml)。通过过滤除去催化剂, 用乙酸乙酯

(5 ml) 和水 (3 ml) 洗涤, 将滤液转移到分液漏斗中。收集水层, 将有机层用冷水 (3 ml) 萃取。合并水溶液, 抽空以除去残余的乙酸乙酯, 然后在 -30°C 于高度真空下 (0.0013 毫巴) (0.001 mm) 冷冻干燥, 获得了本标题化合物, 为白色粉末, 产率为 68%。

UV 光谱(在水中): λ_{max} 292 nm ($\epsilon = 8000$). NMR 光谱(在 D_2O 中) (内标 $\text{Me}_3\text{SiCD}_2\text{CD}_2\text{COONa}$): 1.21 (d, 3H, $J = 7$ Hz), 1.30 (d, 3H, $J = 6$ Hz), 3.23 (m, 2H), 3.48 (dd, 1H), 3.55 (m, 1H) 3.70 and 3.93 (2m, 2H), 4.26 (复合信号, 2H), 4.78 and 5.17 (ABq, 2H, $J = 11$ Hz, S- $\text{CH}_2\text{-O}$) ppm

实施例 9

(4R, 5S, 6S)-3-((2-(甲亚胺酰基氨基)乙氧基)甲硫基)-((1'R)-羟基乙基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸(Ic) (两性离子形式)



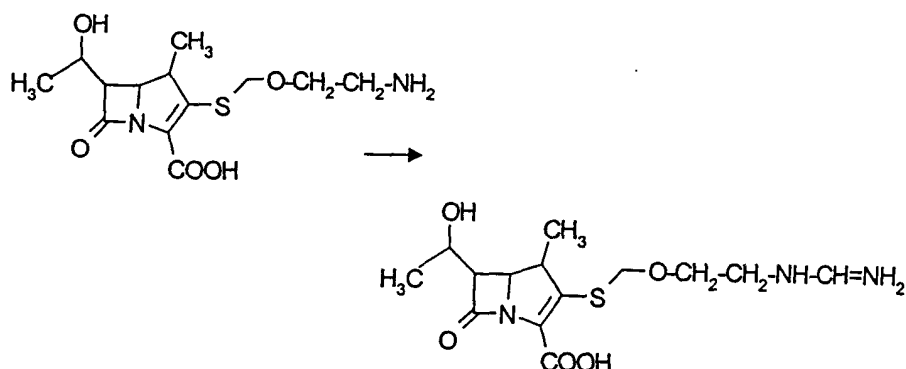
在 0°C , 向 (4R, 5S, 6S)-3-((2-氨基乙氧基)甲硫基)-((1'R)-羟基乙基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸 (4.7 mg, 13.8 μmol) 的水 (0.18 ml) 溶液中加入 0.5N 碳酸氢钾溶液 (83 μl , 41 μmol), 然后加入甲亚胺酸乙酯盐酸盐 (4.5 mg, 41 μmol)。在 0°C 保持 30 分钟后, 再加入 0.5N 碳酸氢钾溶液 (55 μl , 28 μmol) 和甲亚胺酸乙酯盐酸盐 (3.0 mg, 28 μmol) ($\text{pH} = 8$), 将该反应混合物在 0°C 搅拌 60 分钟。最后加入 0.5M 碳酸钾溶液 (9 μl , 45 μmol), 将该混合物在 0°C 搅拌 30 分钟。

在 0°C 通过缓慢地流经含有 Dowex 50W $\times$ 4 (0.5g, Na^+ -循环) 的离子交换柱来纯化该溶液, 用水洗脱。取 12 份级分 (0.5 ml), 通过 TLC (反相硅胶 RP-18, 水-乙腈 (3:1)) 检查。合并含有产物的级分, 通过在高度真空下蒸发来除去乙腈。将所得水溶液在 0.0013 毫巴 (0.001 mm)

真空下冷冻干燥, 以 31% 的产率获得了本标题化合物, 为无色无定形固体。UV 光谱(在水中):

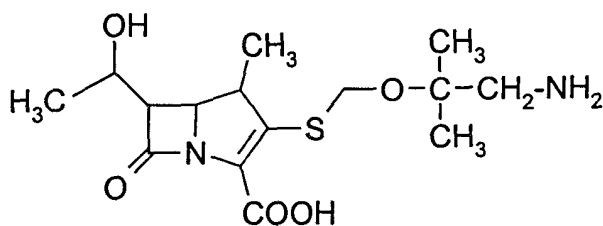
$\lambda_{\max} = 292 \text{ nm}$ ($\epsilon = 8000$). NMR 光谱(在 D_2O 中) (内标

$Me_3SiCD_2CD_2COONa$): 1.21 (d, 3H, $J = 7 \text{ Hz}$), 1.30 (d, 3H, $J = 6 \text{ Hz}$), 3.4 - 4.0 (m, 6H), 4.2 - 4.3 (m, 2H), 4.71 and 5.17 (ABq, 2H, $J = 7 \text{ Hz}$), 7.8 (d, 1H, $J = 3 \text{ Hz}$).



实施例 10

(4R, 5S, 6S)-3-((2-氨基-1, 1-二甲基乙氧基)甲硫基)-((1'R)-羟基乙基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸(Id)

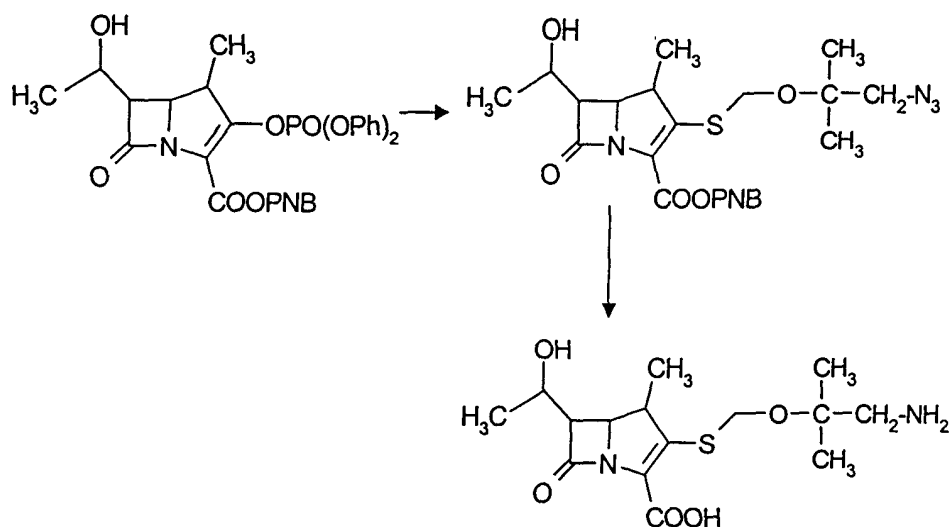


(4R, 5S, 6S)-3-((2-叠氮基-1, 1-二甲基乙氧基)甲硫基)-6-((1'R)-羟基乙基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸对硝基苄酯

依据实施例 7 中所述的方法, 使用 (2-叠氮基-1, 1-二甲基乙氧基) 甲硫醇进行制备, 通过色谱法纯化后 (用甲苯-乙酸乙酯 (2:1) 洗脱), 以 72% 的产率获得了本标题对硝基苄酯, 为浅黄色非结晶固体。

IR光谱(在 CH_2Cl_2 中): 3600, 3025, 2990, 2105 (N_3), 1775, 1710, 1610, 1525,

1350, 1210, 1135, 1055 cm^{-1} .

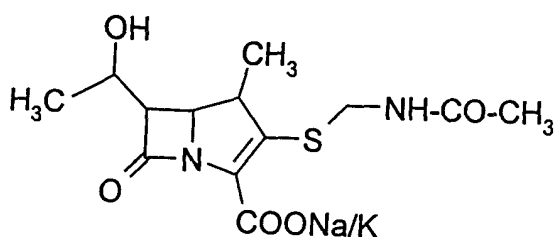


(4R, 5S, 6S)-3-((2-氨基-1,1-二甲基乙氧基)甲硫基)-6-((1'R)-羟基乙基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸 (两性离子形式)

依据实施例 8 中所述的方法, 通过将 (4R, 5S, 6S)-3-((2-叠氮基-1,1-二甲基乙氧基)甲硫基)-6-((1'R)-羟基乙基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸对硝基苄酯氢解, 以 28% 的产率制得了本标题化合物, 为无色冻干粉末。UV 光谱 (在水中): $\lambda_{\max} = 292 \text{ nm}$ ($\epsilon = 8000$)。

实施例 11

(4R, 5S, 6S)-3-(乙酰氨基甲硫基)-((1'R)-羟基乙基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸钠或钾(Ie)

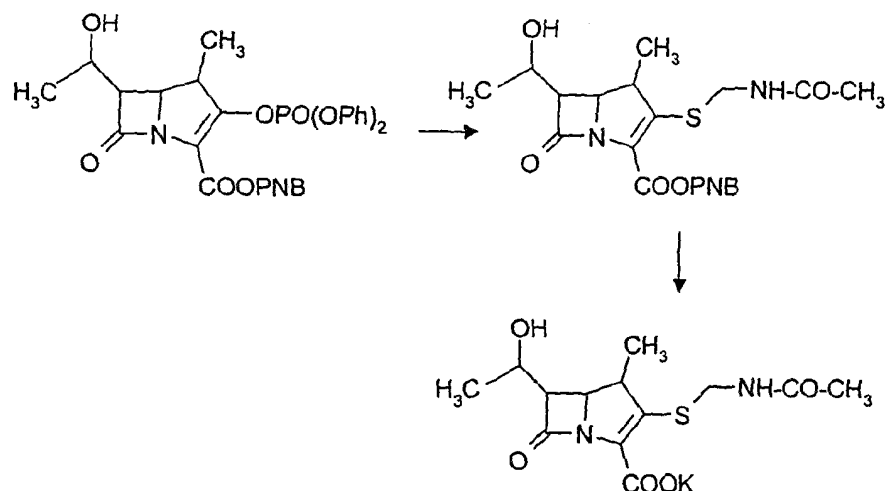


(4R, 5S, 6S)-3-(乙酰氨基甲硫基)-6-((1'R)-羟基乙基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸钠或钾

依据实施例 7 中所述的方法, 使用 N-(巯基甲基)乙酰胺进行制备, 通过色谱法纯化后 (用乙酸乙酯洗脱), 以 36% 的产率获得了本标题对硝基苄酯, 为浅黄色非结晶固体。

IR光谱(在 CH_2Cl_2 中):

3600 (OH), 3430 (NH), 3050, 2950, 1770 (β -内酰胺 $\text{C}=\text{O}$), 1705 (酯 $\text{C}=\text{O}$) 1675 (酰胺 I), 1605, 1525 (NO_2), 1505 (酰胺 II), 1350(NO_2), 1210, 1135 cm^{-1} .



(4R, 5S, 6S)-3-(乙酰氨基甲硫基)-((1'R)-羟基乙基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸钾

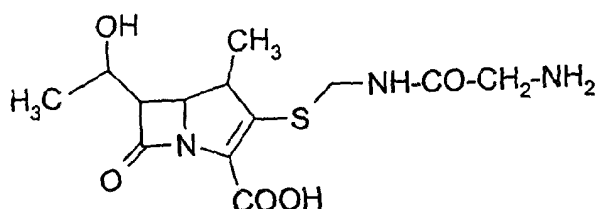
依据实施例 7 中所述的方法, 将该对硝基苄酯氢解, 冷冻干燥后, 以 54% 的产率获得了本标题化合物, 为白色粉末。

UV 光谱(在水中): λ_{max} 294 nm ($\epsilon = 8000$). NMR 光谱(在 D_2O 中)

(内标: $\text{Me}_3\text{CD}_2\text{CD}_2\text{COONa}$): 1.31 (d, 3H, $J = 7$ Hz), 1.30 (d, 3H, $J = 6$ Hz), 2.01 (s, 3H), 3.42 - 3.48 (2m, 2H), 4.20 - 4.25 (2m, 2H), 4.36 and 4.66 (ABq, 2H, $J = 14$ Hz, S- CH_2 -N) ppm.

实施例 12

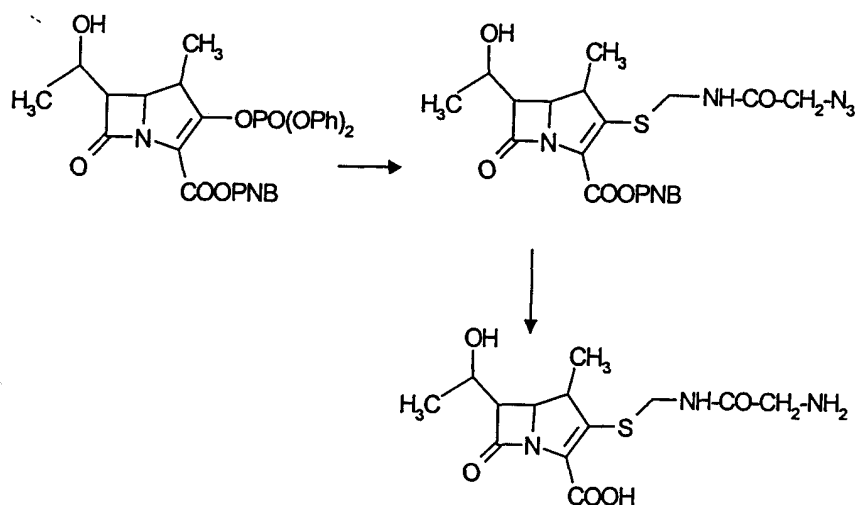
(4R, 5S, 6S)-3-((2-氨基乙酰氨基)甲硫基)-6-((1'R)-羟基乙基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸 (If)



(4R, 5S, 6S)-3-((2-叠氨基乙酰氨基)甲硫基)-6-((1'R)-羟基乙基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸对硝基苄酯

依据实施例 7 中所述的方法, 使用 2-叠氨基-N-(巯基甲基)乙酰胺进行制备, 通过色谱法纯化后(用甲苯-乙酸乙酯(1:1)洗脱), 以 63% 的产率获得了本标题对硝基苄酯, 为浅黄色非结晶固体。

IR光谱(在 CH_2Cl_2 中): 3600 (OH), 2900 (NH), 2100 (N_3), 1770 (β -内酰胺 $\text{C}=\text{O}$), 1705 and 1695 (酯和酰胺 I), 1600 ($\text{C}=\text{C}$), 1520 (NO_2 和酰胺 II), 1350 NO_2 , 1205, 1130 cm^{-1} .

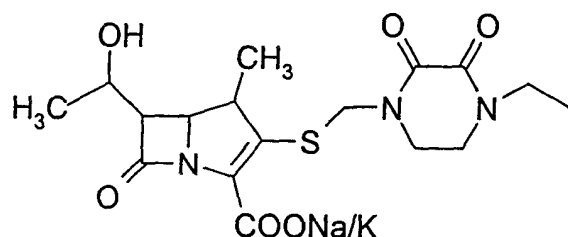


(4R, 5S, 6S)-3-((2-氨基乙酰氨基)甲硫基)-6-((1'R)-羟基乙基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸(两性离子形式)

依据实施例 8 中所述的方法, 将该对硝基苄酯氢解, 冷冻干燥后, 以 53% 的产率制得了本标题化合物, 为白色粉末。NMR光谱(在 D_2O 中)(内标 $\text{Me}_3\text{CD}_2\text{CD}_2\text{COONa}$): 1.21 (d, 3H, $J = 7$ Hz), 1.30 (d, 3H, $J = 6$ Hz), 3.5 (复合信号, 2H), 3.77 (s, 2H), 4.25 (复合信号, 2H), 4.41 and 4.72 (ABq, 2H, $J = 14$ Hz, S- CH_2 -N) ppm.

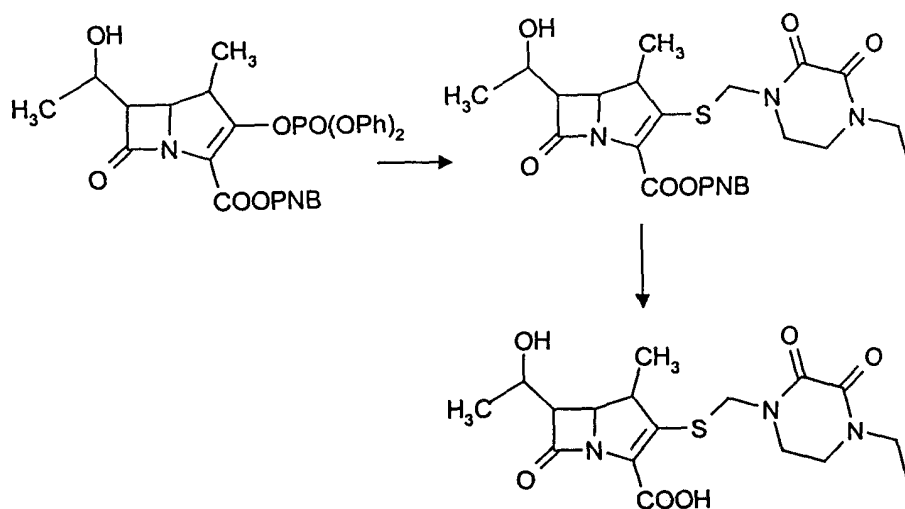
实施例 13

(4R, 5S, 6S)-3-((2, 3-二氧代-4-乙基哌嗪基)甲硫基)-6-((1'R)-羟基乙基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸钠或钾(Ig)



(4R, 5S, 6S)-3-((2,3-二氧代-4-乙基哌嗪基)甲硫基)-6-((1'R)-羟基乙基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸对硝基苄酯

在 -50°C ，向(4R, 5R, 6S)-3-(二苄基氧基膦酰基氧基)-6-((1'R)-羟基乙基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸对硝基苄酯(118 mg, 0.2 mmol)在无水二甲基甲酰胺(1.5 ml)内的溶液中加入1-乙基-4-(巯基甲基)哌嗪-2,3-二酮(49 mg, 0.26 mmol)在 CDCl_3 (1.2 ml)中的溶液，然后加入二异丙基乙胺(44 μl , 0.26 mmol)。将该反应混合物升至 0°C ，在 0°C 保持3小时后，将该反应混合物用乙酸乙酯(50 ml)稀释，将该溶液在室温放置5分钟。将该溶液依次用10%碳酸钾水溶液(20 ml)和盐水(20 ml)洗涤。用硫酸镁将有机层干燥，将溶剂真空除去。通过硅胶(4 g, 63–200 μm)色谱法纯化该残余物，用氯仿-甲醇(9:1)洗脱，获得了本标题对硝基苄酯，为浅黄色非结晶固体(产率为89%)。IR 光谱(在 CDCl_3 中): 3600, 3050, 2900, 1770, 1710 (肩峰), 1610



(4R, 5S, 6S)-3-((2, 3-二氧代-4-乙基哌嗪基)甲硫基)-6-((1'R)-羟基乙基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸钾

向在乙酸乙酯 (4 ml) 与碳酸氢钾 (10.6 mg, 0.106 mmol) 水 (3 ml) 溶液的两相混合物内于 0℃ 预氢化的 10% 钯炭 (90 mg) 中通过注射器加入 (4R, 5S, 6S)-3-((2, 3-二氧代-4-乙基哌嗪基)甲硫基)-6-((1'R)-羟基乙基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸对硝基苄酯 (76 mg, 0.14 mmol) 在乙酸乙酯 (4 ml) 中的溶液。然后将该混合物在环境压力下和 0℃ 氢化。70 分钟后, 氢气 (10.8 ml) 的摄取变得非常慢。再加入一部分催化剂 (30 mg), 继续氢化 45 分钟。又消耗了一部分氢气 (6.6 ml)。通过过滤除去催化剂, 用乙酸乙酯 (2 ml) 和水 (1 ml) 洗涤, 将滤液转移到分液漏斗中。收集水层, 将有机层用碳酸氢钾 (3.6 mg, 0.036 mmol) 水 (1 ml) 溶液萃取。合并水溶液, 抽空以除去残余的乙酸乙酯, 然后在 -30℃ 于高度真空下 (0.0013 毫巴) (0.001 mm) 冷冻干燥, 获得了纯的本标题化合物, 为白色粉末 (产率为 65%)。UV 光谱 (在水中)

$\lambda_{\max} = 292 \text{ nm}$ ($\epsilon = 8000$), 222 nm ($\epsilon = 11200$). NMR 光谱 (在 D_2O 中) rt .

s (内标 $\text{Me}_3\text{CD}_2\text{CD}_2\text{COONa}$): 1.1 - 1.3 (m, 6H), 1.30 (d, 3H, $J = 6 \text{ Hz}$), 3.50 (m, 6H), 3.4 - 3.8 (m, 8H), 4.18 (m, 1H), 4.25 (m, 1H), 4.30 and 5.30 (ABq, 2H, $J = 14 \text{ Hz}$, N- $\text{CH}_2\text{-S}$) ppm.

实施例 14

生物活性

1. 体外抗菌活性

表 I 显示了施用 10 μg 代表性抗生素后的抑制直径 (mm) (平板测试结果)。这些测试是在含有 10 ml Difco 营养琼脂的无菌聚丙烯平皿 (直径为 8.5 cm) 中进行的。在 37℃ 培养 18 小时后记录抑制作用 (接种物约 10^5 个细胞)。

表 I

	Ib	Ic	Ie	If
金黄色葡萄球菌 DSM 1104	39	39	36	33
耐药性金黄色葡萄球菌	35	35	32	30
金黄色葡萄球菌 25768	28	26	27	25
金黄色葡萄球菌 Innsbruck	9	8	—	12
大肠杆菌 DSM1103	30	30	32	27
大肠杆菌 TEM 1	33	33	34	33
阴沟肠杆菌 DSM 30054	26	25	27	23
肠球菌	21	21	18	20
铜绿假单胞菌 DSM 1117	27	25	16	18
耐药性铜绿假单胞菌	17	13	—	14

2. 抗分离的（不含细胞的）酶的 β -内酰胺酶抑制活性

表 II 显示了通过头孢硝噻吩方法测定的、本发明代表性化合物的 β -内酰胺酶抑制活性（mol/升）。 IC_{50} 值是在将酶与抑制剂预培养 15 分钟后在 1 cm UV 池中于 37℃测定的。

表 II

IC_{50} (mol/升)

化合物	从大肠杆菌 TEM1 中分离出的青霉素酶	从阴沟肠杆菌中分离出的 β -内酰胺酶
Ia	2×10^{-7}	4×10^{-9}
Ib	5.5×10^{-7}	8.5×10^{-9}
Ie	3×10^{-7}	6×10^{-9}

3. 抗耐药性细菌的 β -内酰胺酶抑制活性

表 III 显示了未与代表性化合物 Ia（钾盐）联合使用或者与该化合物联合使用的头孢他啶（CAZ）的抗菌活性（MIC, $\mu\text{g/ml}$ ）。

表 III

菌株	酶	CAZ ($\mu\text{g/ml}$)	CAZ + Ia ($\mu\text{g/ml}$)
阴沟肠杆菌 EB 131	I 型头孢菌素酶	>64	2 + 1
肺炎克雷伯氏菌 KL 140	CAZ-酶	>64	2 + 1
肺炎克雷伯氏菌 KL 141	CAZ-酶	>64	64 + 0.12
大肠杆菌 EC 227	CAZ-酶	>64	0.25 + 0.5
大肠杆菌 EC 228	CAZ-酶	16	1 + 0.5
大肠杆菌 EC 225	TEM-5	64	2 + 0.5

4. 在磷酸盐缓冲液中的稳定性

表 IV 显示了通过 UV 方法测定的、代表性化合物在生理磷酸盐缓冲液 pH 7.4 中于 37℃ 下的水解半衰期 (小时)。

表 IV

化合物	半衰期 (小时)
Ia	50
Ib	50
Ic	35
Id	50
Ie	40
If	16
Ig	42

5. 口服活性

表 V 显示了口服施用本发明化合物 Ia (钾盐) (剂量为 25 mg/kg) 后在小鼠中的血浆水平和半衰期。

表 V

化合物	施用后 10 分钟的血浆水平 ($\mu\text{g/ml}$)	近似的血清半衰期 (分钟)
Ia	5.6	25

6. 细胞毒性

表 VI 显示了通过琼脂扩散方法测定的、代表性化合物 (1.0 mg) 在酿酒酵母中的细胞毒性。使用含有 10 ml 酵母和霉菌琼脂、直径为 8.5 cm 的无菌 PP 平皿。在 30℃ 培养 16 小时后记录细胞毒性 (接种物约 10^5 个细胞)。

表 VI

化合物	抑制直径 (mm)
Ib	0
Ie	0
If	0

实施例 15

制备药物制剂

如下所述制备单位剂型：将 60 mg (4R, 5S, 6S)-3-((2-氨基乙氧基)甲硫基)-((1'R)-羟基乙基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸 (Ib) 与 20 mg 乳糖和 5 mg 硬脂酸镁混合，并将 85 mg 混合物填充到 3 号明胶胶囊中。同样，如果使用更多的活性组分和更少的乳糖，可制备其它剂型并填充到 3 号明胶胶囊中。同样，还可以制备更大的明胶胶囊以及压制的片剂和丸剂。下述实施例举例说明了药物制剂的制备。

片剂 (口服使用)

(4R, 5S, 6S)-3-((2-氨基乙氧基)甲硫基)-((1'R)-羟基乙基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸 (Ib)

120 mg

玉米淀粉

6 mg

硬脂酸镁

232 mg

磷酸二钙

192 mg

乳糖

250 mg

将活性组分与磷酸二钙、乳糖和大约一半玉米淀粉混合并粗过筛。在高度真空下干燥，并经由筛孔宽度为 1.0 mm 的筛子 (16 号筛

网)再次过筛。加入余下的玉米淀粉和硬脂酸镁,将该混合物压制成每片重 800 mg、且直径为 1.27 cm (0.5 in.)的片剂。

非胃肠道给药用溶液

安瓿

(4R, 5S, 6S)-3-((2-氨基乙氧基)甲硫基)-((1' R)-羟基乙基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸 (Ib)	250 mg
无菌水 (临用前使用注射器从单独安瓿中加入)	4 ml

眼用溶液

(4R, 5S, 6S)-3-((2-氨基乙氧基)甲硫基)-((1' R)-羟基乙基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸 (Ib)	50 mg
羟丙基甲基纤维素	5 mg
无菌水 (临用前使用注射器从单独安瓿中加入)	1 ml

耳用溶液

(4R, 5S, 6S)-3-((2-氨基乙氧基)甲硫基)-((1' R)-羟基乙基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸 (Ib)	50 mg
苯扎氯铵	0.1 mg
无菌水 (临用前使用注射器从单独安瓿中加入)	1 ml

局部施用的霜剂或软膏剂

(4R, 5S, 6S)-3-((2-氨基乙氧基)甲硫基)-((1' R)-羟基乙基)-4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸 (Ib)	100 mg
聚乙二醇 4000	400 mg
聚乙二醇 400	1.0 g

上述制剂中的活性组分可单独混合,或者与其它生物活性组分一起混合,例如与其它抗菌剂如青霉素或头孢菌素混合,或者与其它治疗剂例如丙磺舒混合。

应当理解,本说明书和实施例只是举例说明,并不是对本发明的限制,在本发明范围内的其它实施方案对于本领域技术人员来说不言自明。