



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101977604 A

(43) 申请公布日 2011. 02. 16

(21) 申请号 200980109680. 8

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2009. 02. 16

A61K 31/4709 (2006. 01)

(30) 优先权数据

A61K 45/06 (2006. 01)

61/029, 180 2008. 02. 15 US

A61P 27/02 (2006. 01)

A61P 31/04 (2006. 01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010. 09. 17

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2009/034219 2009. 02. 16

(87) PCT申请的公布数据

W02009/103053 EN 2009. 08. 20

(71) 申请人 爱尔康研究有限公司

地址 美国得克萨斯

(72) 发明人 G·R·欧文 A·C·布鲁克斯

L·F·伯纳佩雷兹 D·W·斯托曼

J·J·达克斯

(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 11038

代理人 吴宗颐

权利要求书 3 页 说明书 11 页

(54) 发明名称

眼用氟喹诺酮衍生物

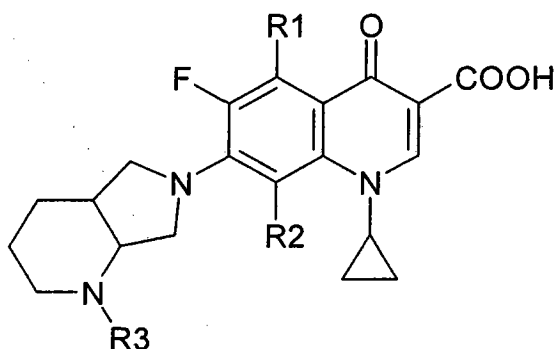
(57) 摘要

本发明涉及具有提高的眼部渗透特性和 / 或抗微生物活性的氟喹诺酮衍生物, 并且涉及含有这些衍生物的组合物。这些衍生物和组合物特别适用于治疗眼部细菌感染。本发明更特别地涉及如下发现: 连接于喹诺酮环系上的二氮杂二环基团上的 2- 甲基取代产生了提高的渗透性特征, 而氟喹诺酮环系上的 5- 氨基取代获得了提高的抗微生物活性。

1. 局部眼用药物组合物, 包含:

药学有效量的一种或多种以下通式 (I) 的化合物:

(I)



其中:

R1 是 H、氨基、C1-C4 烷基氨基或 C1-C4 二烷基氨基;

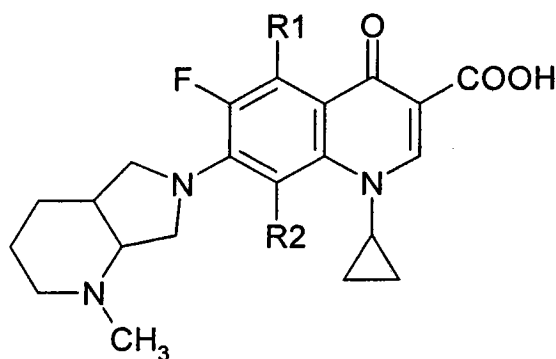
R2 是 F、OMe 或 H;

R3 是甲基、C2-C4 烷基或 H; 且

R1 和 R3 中的至少一个不是 H;

和药学可接受的载体。

2. 权利要求 1 的局部用组合物, 其中通式 (I) 的化合物是

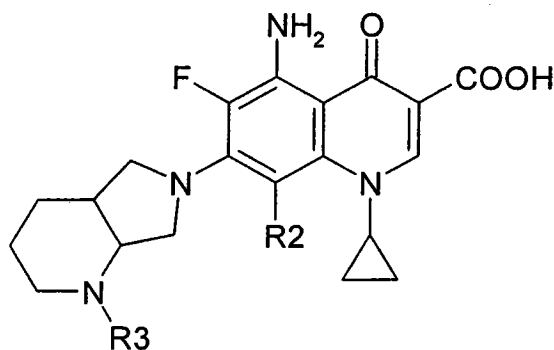


其中:

R1 是 H、氨基、C1-C4 烷基氨基或 C1-C4 二烷基氨基; 且

R2 是 F、OCH₃ 或 H。

3. 权利要求 1 的局部用组合物, 其中通式 (I) 的化合物是:

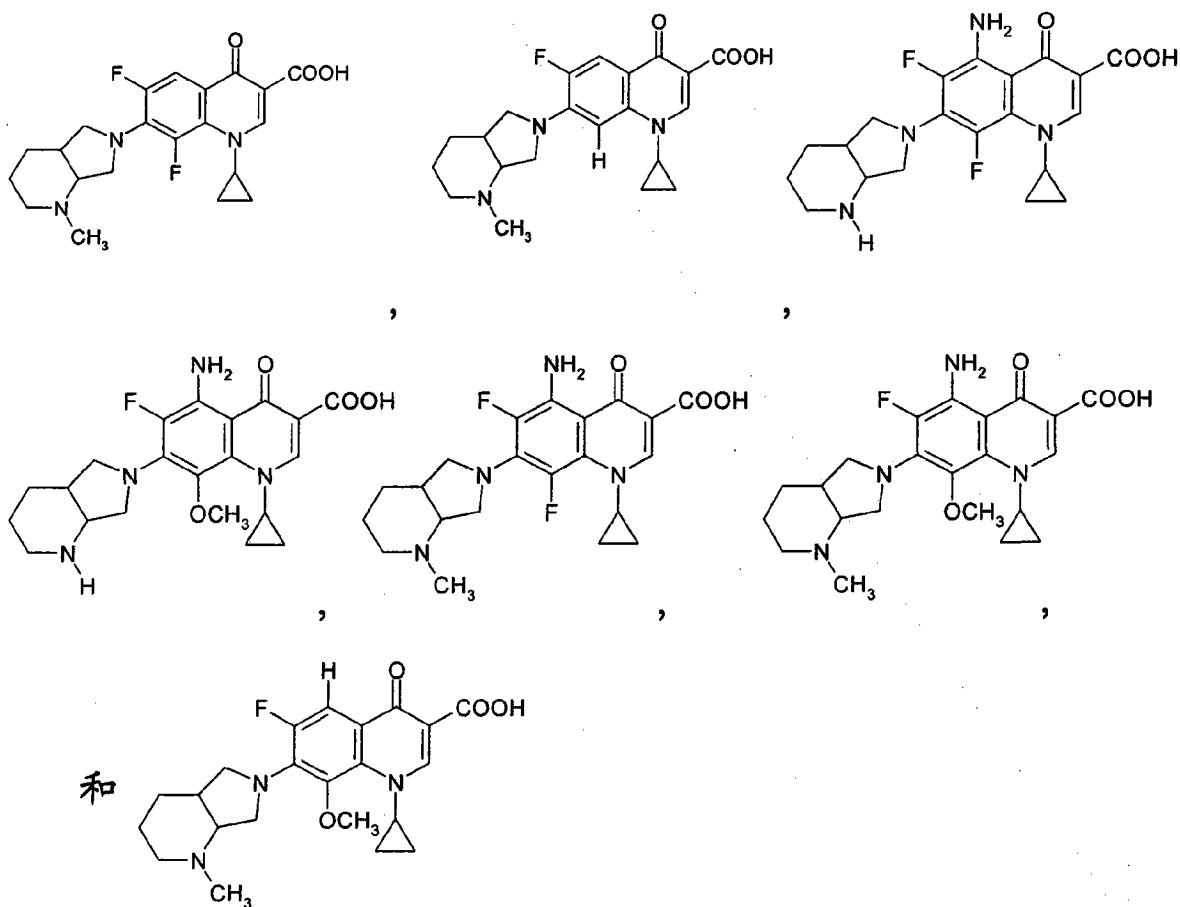


其中:

R2 是 F、OCH₃ 或 H；且

R3 是 CH₃、C2-C4 烷基或 H。

4. 权利要求 1 的局部用组合物,其中通式 (I) 的化合物选自:



5. 权利要求 1 的局部用组合物,还包含抗炎剂。

6. 权利要求 5 的局部用组合物,其中所述抗炎剂选自:甾体和非甾体抗炎剂。

7. 权利要求 5 的局部用组合物,其中所述抗炎剂选自:地塞米松、泼尼松龙、利美索龙、奈帕芬胺和西洛司特。

8. 权利要求 1 的局部用组合物,其中所述化合物以 0.05% -0.3% w/v 的浓度存在。

9. 权利要求 9 的局部用组合物,其中所述化合物以约 0.3% w/v 的浓度存在。

10. 治疗或预防眼部感染的方法,其包括将药学有效量的权利要求 1 的组合物局部施用于眼部组织。

11. 治疗或预防眼部感染的方法,其包括将药学有效量的权利要求 4 的组合物局部施用于受感染的眼部组织。

12. 权利要求 10 的方法,其中所述组合物包含 0.05% -0.3% w/v 浓度的所述化合物。

13. 权利要求 12 的方法,其中所述组合物包含约 0.3% w/v 浓度的所述化合物。

14. 权利要求 10 的方法,其中所述组合物每日施用 1-3 次。

15. 权利要求 10 的方法,其中所述组合物一天施用一次。

16. 权利要求 10 的方法,其中所述组合物包含抗炎剂。

17. 权利要求 10 的方法,其中所述抗炎剂选自:甾体和非甾体抗炎剂。

18. 权利要求 17 的方法,其中所述抗炎剂选自 :地塞米松、泼尼松龙、利美索龙、奈帕芬胺和西洛司特。

眼用氟喹诺酮衍生物

[0001] 相关申请的交叉参考

[0002] 本申请依据 35U. S. C. § 119 要求享有 2008 年 2 月 15 日提交的 U. S. 临时专利申请 No. 61/029, 180 的优先权, 在此将其全部内容引入作为参考。

技术领域

[0003] 本发明一般涉及眼用氟喹诺酮衍生物。本发明特别涉及具有提高的眼渗透性和/或抗微生物活性的氟喹诺酮衍生物。

背景技术

[0004] 认为使用氟喹诺酮化合物治疗感染, 包括眼部感染, 是现有的治疗技术。Alcon Laboratories, Inc. 销售一种称为 **VIGAMOX[®]** 滴眼液的局部眼用组合物, 其含有氟喹诺酮抗生素莫西沙星 (0.5%)。其他可购得的氟喹诺酮抗生素包括加替沙星、左氧氟沙星、氧氟沙星、环丙沙星、诺氟沙星和洛美沙星。然而, 尽管通常可以获得氟喹诺酮治疗的一般功效, 但比现有抗生素能更有效地对抗关键眼病病原体的改良的基于抗生素的组合物和治疗方法仍然存在着需求。

[0005] 通常希望能使用最小量来获得所需效果的抗微生物化合物。这是因为通过使用例如高浓度组合物、更高频率的给药或较长持续时间的治疗, 而在递送部位使用较高浓度的抗微生物剂时, 不利的副作用 (如毒性或刺激) 更有可能发生。不幸地, 尽管使用较低浓度的抗微生物化合物通常有助于降低不利影响的可能性, 但这种操作增加了化合物不能获得所需抗微生物作用水平的风险。此外, 如果没有使用足够浓度的抗微生物化合物, 很快会产生微生物抗药性。因此, 使用具有良好抗微生物活性的化合物是期望的, 因为这些化合物相对于具有较低活性的化合物可以以较低的浓度来使用, 降低不利副作用的发生和风险, 同时防止产生微生物抗药性。

[0006] 抗微生物化合物具有良好的渗透特性 (例如, 快速扩散至施用的组织中) 也是所需的。不能渗透组织的抗微生物化合物作为局部药剂通常是无用的。此外, 抗微生物剂的渗透速率是重要的, 因为抗微生物化合物应当具有快速治疗感染组织的表面和深层部位的能力。

[0007] 发明名称为“作为抗菌剂和饲料添加剂的 7-(1-吡咯烷基)-3-喹诺酮-和-萘啶酮羧酸衍生物”的 U. S. 专利 No. 4, 990, 571 公开了用作抗微生物剂的特定氟喹诺酮化合物。发明名称为“含有莫西沙星的眼用抗生素组合物”的 U. S. 专利 No. 6, 716, 830 公开了用作眼用抗生素的喹诺酮化合物。这两个专利都没有公开这种化合物的结构与其活性和/或渗透性之间的关系。

发明内容

[0008] 本发明涉及氟喹诺酮衍生物, 以及这些衍生物治疗眼病的用途。本发明人出人意料地发现了本发明的氟喹诺酮衍生物与已知的眼用氟喹诺酮化合物相比, 在眼部组织中具

有提高的抗微生物活性和 / 或渗透性。本发明的一种氟喹诺酮衍生物在眼部组织中具有可测量的渗透性,比公知的抗感染剂莫西沙星大约高三倍。本发明公开的氟喹诺酮衍生物的提高的抗微生物活性和 / 或渗透性使得该化合物非常适于用作眼部抗感染剂。相对于许多其他眼部抗感染剂,本发明的化合物可以以较低浓度和降低的给药频率来使用。本发明的具有良好渗透特性的化合物也是快速作用的并且可以用作急性感染中的头等抗感染剂。

[0009] 本发明的氟喹诺酮衍生物可以用于在此公开的各种眼用组合物中。这样的组合物优选是无菌的,并且具有生理学上相容的特性,特别是与眼部组织相容。这样的眼用组合物可以用于眼部感染的治疗中,包括但不限于,结膜炎、角膜炎、眼内炎和眼睑炎。角膜溃疡也可以通过本发明的组合物来治疗。

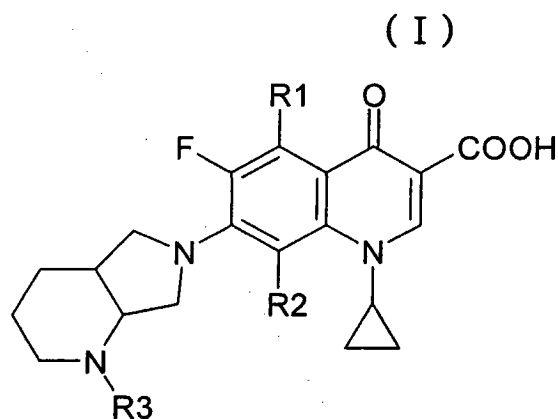
[0010] 本发明的组合物除了氟喹诺酮衍生物以外可以任选含有抗炎剂。组织感染常常与相关的浮肿和发炎一起存在,本发明的抗微生物和抗炎组合物在治疗这些感染中也是有用的。

[0011] 本发明的组合物也可以用于组织创伤(包括由外科手术操作导致的创伤)后的感染预防中。氟喹诺酮和抗炎剂组合物在该预防中特别有用,因为外科手术或物理创伤后的组织中尤其会存在发炎。

具体实施方式

[0012] 本发明的氟喹诺酮衍生物具有以下通式:

[0013]



[0014] 其中:

[0015] R1 是 H、氨基、C1-C4 烷基氨基或 C1-C4 二烷基氨基;

[0016] R2 是 F、OCH₃ 或 H;

[0017] R3 是 CH₃、C2-C4 烷基或 H;且

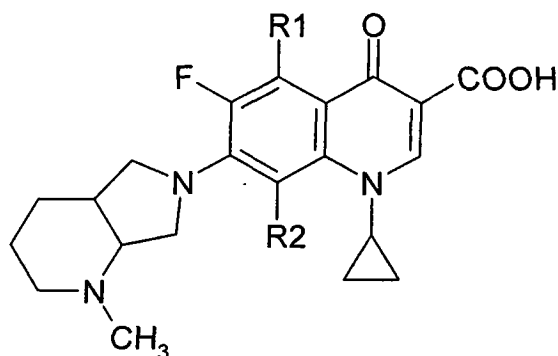
[0018] R1 和 R3 中的至少一个不是 H。

[0019] 本发明人发现了在通式 (I) 中将 R3 表示的位置用甲基或 C2-C4 烷基取代相对于其他氟喹诺酮(如莫西沙星)产生了提高的渗透特性。在优选的实施方案中,这种取代表征为连接氟喹诺酮环的二氮杂二环基团上的 2-甲基取代。此外,本发明人发现了在通式 (I) 中 R1 位置上的氨基或取代氨基衍生物导致了相对于其他氟喹诺酮的提高的抗微生物活性和渗透特性。在优选的实施方案中,这种取代表征为氟喹诺酮环上的 5-氨基取代。实施例 3 和 4 中对于一些优选化合物呈现的数据证明了本发明人发现的结构和活性 / 渗透性的关

联性。

[0020] 本发明优选的氟喹诺酮衍生物是以下的两个通式。第一个通式包括相对于已知氟喹诺酮化合物具有提高的渗透性的化合物,如下所示:

[0021]



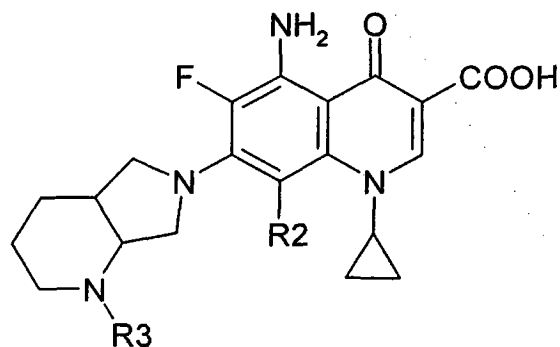
[0022] 其中:

[0023] R1 是 H、氨基、C1-C4 烷基氨基或 C1-C4 二烷基氨基;且

[0024] R2 是 F、OCH₃ 或 H。

[0025] 第二个通式包括相对于已知氟喹诺酮具有提高的抗微生物活性的化合物:

[0026]



[0027] 其中:

[0028] R2 是 F、OCH₃ 或 H;且

[0029] R3 是 CH₃、C2-C4 烷基或 H。

[0030] 本发明最优选的氟喹诺酮衍生物列于以下的表 1 中(表 1 中表示的取代基涉及通式(I)),其结构也显示于以下的表 1 中。

[0031] 表 1

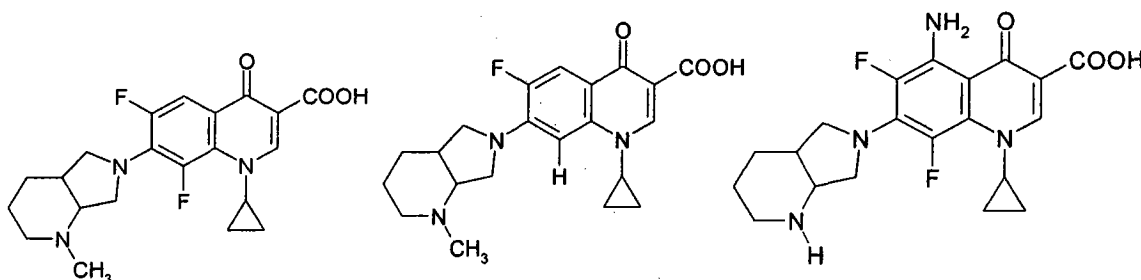
[0032]

化合物 No.	R1	R2	R3
1	H	F	CH ₃
2	H	H	CH ₃
3	NH ₂	F	H
4	NH ₂	OCH ₃	H

5	NH ₂	F	CH ₃
6	NH ₂	OCH ₃	CH ₃
7	H	OCH ₃	CH ₃

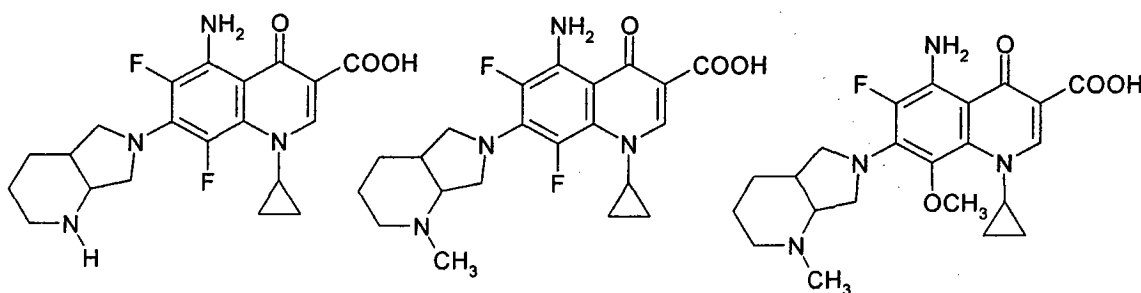
[0033] 化合物 1 化合物 2 化合物 3

[0034]



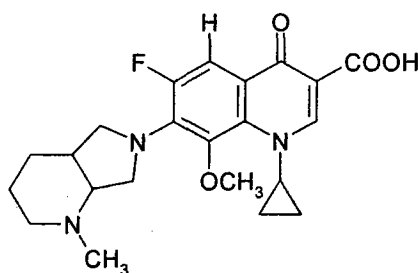
[0035] 化合物 4 化合物 5 化合物 6

[0036]



[0037] 化合物 7

[0038]



[0039] 相对于许多其他眼用抗感染剂,本发明的化合物可以以较低的浓度和降低的给药频率来使用。考虑了本发明组合物中的活性氟喹诺酮成分的浓度可以不同,但优选 0.05-0.8w/v%,更优选 0.05-0.5w/v%。最优选的浓度范围是 0.05-0.3w/v%,最优选的浓度是约 0.3w/v%。本发明氟喹诺酮的药学活性量通常是在合理的收益/风险比例下足以产生期望效果的浓度(如,对于与治疗的感染相关的感染生物体,获得 MIC₉₀ 水平)。药理学量可以根据例如待治疗的疾病或感染原、给药的特定制剂、或者疾病或感染原的严重程度等因素而不同。

[0040] 可以使用 U.S. 专利 No. 4,990,517 (Petersen 等)(在此将其全部引入作为参考)中公开的方法,并结合本领域技术人员可利用的已知合成方法来制备本文公开的衍生物。本发明的氟喹诺酮衍生物包括衍生物的在药学上有用的立体异构体,以及这些衍生物和立

体异构体的药学上有用的水合物和盐,并可以和药学可接受的载体一起配制。

[0041] 本发明特别针对治疗具有微生物组织感染或处于具有微生物组织感染风险中的哺乳动物和人患者。本发明的实施方案对于治疗眼部组织感染特别有用。眼睛的感染可能发生在所有眼部组织或流体中,包括眼睑或睑缘的疾病(眼睑炎)、结膜的疾病(结膜炎)、角膜的疾病(微生物角膜炎)和较深的眼房水或组织的疾病(眼内炎)。对于这些病症中的每一种,适合的局部抗生素的选择是重要的——抗生素必须以合适的水平渗透至受影响的组织中。

[0042] 本发明的实施方案也可以预防性地用于防止组织受感染原的感染。在这样的实施方案中,将处于感染风险中的组织接触本发明的组合物。这样的预防用途在外科手术之中或之后或形成感染风险的组织物理创伤中特别有用。

[0043] 可以以本领域技术人员已知的各种给药方案来使用本发明的组合物。根据治疗方案,可以将这样的给药频率维持不同的持续时间。特定的治疗方案的持续时间可以从一次给药至延长一个月或更长的方案。本领域技术人员将熟知确定具体适应症的治疗方案。涉及这种确定的因素包括待治疗的疾病、患者具体的特征和特定的抗微生物组合物。本发明的优选给药方案包括但不限于,一天一次给药,一天两次给药和一天三次给药。

[0044] 本发明的组合物除了氟喹诺酮衍生物以外可以任选地包含抗炎剂。这样的药剂包括但不限于,甾体类,如泼尼松龙、地塞米松、氢化可的松和利美索龙,以及非甾体化合物,如奈帕芬胺、萘普生、布洛芬、阿司匹林、PDE IV 抑制剂(如西洛司特)、细胞因子抑制剂和本领域技术人员已知的其他抗炎剂。

[0045] 除了公开的氟喹诺酮衍生物,本发明的组合物任选包含一种或多种赋形剂。药物组合物中常用的赋形剂包括但不限于,张力调节剂、防腐剂、螯合剂、缓冲剂、表面活性剂和抗氧化剂。其他赋形剂包括增溶剂、稳定剂、提高舒适感的物质、聚合物、软化剂、pH 调节剂和/或润滑剂。各种赋形剂中的任何一种可以用于本发明的组合物中,包括水、水和水溶性溶剂的混合物,如 C1-C7- 烷醇,含有 0.5-5% 无毒水溶性聚合物的植物油或矿物油,天然产物,如藻酸盐,果胶,黄蓍胶,刺梧桐胶,黄原胶,角叉菜胶,琼脂和阿拉伯树胶,淀粉衍生物,如淀粉醋酸酯和羟丙基淀粉,以及其他合成产物,如聚乙烯醇,聚乙烯吡咯烷酮,聚乙烯甲酯,聚氧乙烯,优选交联的聚丙烯酸以及这些制品的混合物。赋形剂的浓度通常为氟喹诺酮衍生物浓度的 1-100,000 倍。在优选的实施方案中,基于对氟喹诺酮衍生物的惰性来选择赋形剂。

[0046] 相对于眼用制剂,合适的张力调节剂包括但不限于,甘露糖醇,氯化钠,甘油,山梨糖醇等。合适的缓冲剂包括但不限于,磷酸盐,硼酸盐,醋酸盐等。合适的表面活性剂包括但不限于,离子和非离子表面活性剂(尽管优选非离子表面活性剂),RLM 100,POE 20 鲸蜡基硬脂基醚,如**Procol**[®] CS20,以及泊洛沙姆,如**Pluronic**[®] F68。合适的抗氧化剂包括但不限于,亚硫酸盐,抗坏血酸盐,丁羟茴醚(BHA)和丁羟甲苯(BHT)。

[0047] 在此列出的组合物可以包括一种或多种防腐剂。这样的防腐剂实例包括对羟基苯甲酸酯,氯化钠,尼泊金类,如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯,醇类,如氯丁醇,苯甲醇或苯乙醇,胍衍生物,如聚六亚甲基双胍,过硼酸钠或山梨酸。在特定的实施方案中,组合物可以是不需要防腐剂的本身能防腐的。

[0048] 在优选的组合物中,以滴液的形式在含水溶液中配制本发明的氟喹诺酮衍生物,

用于眼睛的局部施用。术语“含水”通常表示其中组合物的 > 50%，更优选 > 75%，特别优选 > 90% 的重量是水的含水组合物。可以从单剂量安瓿中传递这些滴液，安瓿优选是无菌的，因此不需要组合物的抑菌成分。或者，从多剂量瓶子中传递滴液，瓶子可以优选包括随着组合物传递从其中提取出任何防腐剂的装置，这样的装置是本领域已知的。

[0049] 在其他方面中，本发明的成分可以作为浓缩凝胶或相似的载体传递至眼睛，或作为可溶解的嵌入物，将其放入眼睑下。在其他方面中，本发明的成分可以作为膏剂、油包水型或水包油型乳液、溶液或悬浮液传递至眼睛。

[0050] 本发明的组合物优选是等渗的或略微低渗的，以防止任何由蒸发和 / 或疾病引起的眼泪高渗性。这可能需要张力调节剂，使组合物的重量摩尔渗透压浓度至 210-320 毫渗摩尔 / 公斤 (mOsm/kg) 或接近 210-320 毫渗摩尔 / 公斤 (mOsm/kg)。溶液的 pH 可以是 3.0-8.0 的眼睛可接受范围。本发明的组合物通常具有 220-320mOsm/kg 范围的重量摩尔渗透压浓度，优选具有 235-300mOsm/kg 范围的重量摩尔渗透压浓度。眼用组合物通常配制成无菌水溶液。

[0051] 在特定的实施方案中，在含有一种或多种眼泪替代物的组合物中配制氟喹诺酮衍生物。各种眼泪替代物是本领域已知的，包括但不限于：单体多元醇，如，甘油，丙二醇和乙二醇；聚合多元醇，如，聚乙二醇；纤维素酯，如羟丙基甲基纤维素，羧甲基纤维素钠和羟丙基纤维素；葡聚糖，如葡聚糖 70；乙烯聚合物，如聚乙烯醇；瓜尔豆胶，如 HP-瓜尔豆胶和其他瓜尔豆胶衍生物，和卡波姆，如卡波姆 934P，卡波姆 941，卡波姆 940 和卡波姆 974P。本发明的特定组合物可以和隐形眼镜或其他眼用产品一起使用。

[0052] 在特定的实施方案中，本文列出的组合物具有 0.5-100cps 的粘度，优选 0.5-50cps，最优选 1-20cps。这些粘度确保产品是舒适的，没有引起模糊，并且在制造、转移和灌装操作过程中容易操作。

[0053] 本文所述的氟喹诺酮衍生物可以包括在各种类型的具有抗微生物活性以外的活性的组合物中。这样的组合物实例包括：眼用药物组合物，如润眼产品，人工眼泪，收敛剂，局部消毒剂（单独或组合其他抗微生物剂，例如聚维酮碘等）等。

[0054] 使用将组合物维持于约 3 的 pH 至约 8.0 的 pH 的缓冲体系来制备优选的组合物，pH 优选 5.5-7.5，最优选 6.0-7.4。局部眼用组合物（特别是局部眼用组合物）是优选的，其具有适合于被施用或分配组合物的组织的生理 pH。

[0055] 本文列出的方法中，可以通过本领域技术人员已知的各种方法将药学有效量的本发明的组合物施用于患者，这些方法包括但不限于，局部，结膜下，眼周围，眼球后，Subtenon，眼内，视网膜下，后 Juxtasclear 或脉络膜施用。在优选的实施方案中，通过局部施用于眼睛表面来施用本发明的组合物。

[0056] 呈现以下实施例来进一步说明本发明的优选实施方案。

[0057] 实施例 1

[0058]

成分	
氟喹诺酮衍生物	0.3%

矿物油, USP	2.0%
白凡士林, USP	补足 100%

[0059] 实施例 2

[0060]

成分	
氟喹诺酮衍生物	0.3%
硼酸	0.3%
氯化钠	0.7%
水	补足 100%

[0061] 实施例 3- 渗透性研究

[0062] 在角膜组织中测定了本发明的化合物和其他氟喹诺酮（如莫西沙星）的渗透性。以下概述了所用的程序。

[0063] 首先用氯胺酮 (30mg/kg) 和赛拉嗪 (6mg/kg) 麻醉, 接着将过量的 SLEEPAWAY* (戊巴比妥钠, 1ml 26% 的溶液) 注入雌性新西兰白兔的耳缘静脉中, 再将该雌性新西兰白兔处死。然后连同眼睑和结膜囊一起剝出完整的眼睛, 并立即存储于约 70ml 用 O₂/CO₂ (95 : 5) 饱和的新鲜 BSS **PLUS**® 灌洗液中。

[0064] 按照 Schoenwald R.N. 和 Huang H-S., “Corneal Penetration Behavior of β -Blocking Agents I: Physiochemical Factors,” (β -阻断剂的角膜渗透行为 I: 生理化学因素), Journal of Pharmaceutical Science, 72(11) (1983 年 11 月) 中所述的, 在 1 小时内, 将剝出的兔子眼睛装在改进的灌流室中。为了完成这, 将所剝出眼睛的暴露的角膜小心地放在角膜固定器上, 在保持角膜弯曲度的情况下将眼睛固定在合适位置。解剖眼睛的各种组织, 留下角膜、小环的巩膜组织和睑结膜。结膜和巩膜组织充当衬垫, 并且容许角膜悬浮在灌流室中央的角膜环内。将灌流室夹套, 以将角膜和灌流液维持在 35°C。角膜固定器和灌流室在衣阿华大学 (衣阿华市, IA) 从丙烯酸塑料制得。

[0065] 在灌流室的两个圆柱形隔室之间夹住装好的角膜, 并且将 7.5ml BSS **PLUS**® 灌洗液放入灌流室的接受 (内皮) 侧, 并使用 O₂/CO₂ (95 : 5) 混合物的搅拌和鼓泡。然后, 将 7ml 以 100 μ M (这大约为 4mg/100mL) 浓度溶解于 BSS **PLUS**® 灌洗液中的氟喹诺酮加入灌流室的供应 (上皮) 侧, 也使用 O₂/CO₂ (95 : 5) 混合物的搅拌和鼓泡。体积的差异确保了角膜在实验过程中不会变形。

[0066] 在五小时的时间段内, 每 30 分钟, 从接受室中取出样品 (150 μ L), 并且立即将等体积的灌洗液加入接受室中, 以维持恒定的体积。使用反相 HPLC 测定样品中的氟喹诺酮浓度。使用装配有 Waters **Symmetry**® C18 5 μ m 柱和 Waters 2487 吸光度检测仪的 Waters 2690 分离模块, 使用 40 μ L 注射量和 1.5mL/min 的流速。以乙腈和 31mM pH3 的磷酸/磷酸钠缓冲液的混合物为流动相。预先确定了用于每种氟喹诺酮的流动相 (乙腈: 磷酸盐缓冲液

v/v) 和 UV 检测波长。例如,对于莫西沙星,为 21 : 79, 295nm ;左氧氟沙星,为 12.6 : 87.4, 287nm ;氧氟沙星,12.6 : 87.4, 295nm。每个渗透性实验后,将角膜修整掉过多的巩膜组织和结膜,称重,并在真空干燥器中用五氧化二磷干燥过夜。然后再次称重,以测定水合水平。正常的角膜具有 76-80% 的水合水平。如果以任何方式损伤了角膜,水合水平升高。放弃了来自水合水平超过 83% 的角膜的数据。

[0067] 然后如下计算接受 (内皮) 室中的药物蓄积速率和氟喹诺酮的表观渗透系数 (Papp) :

[0068] 渗透系数 :

[0069]

$$P_{app} = \frac{\text{速率}}{60 \times A \times C_0} \quad (\text{cm/sec})$$

[0070] 其中 :速率 = $\mu\text{g/min}$ (斜率)

[0071] $A = \text{面积} (\text{cm}^2) = 1.087 \text{cm}^2$

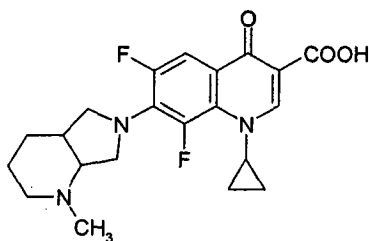
[0072] $C_0 = \text{初始浓度} (\mu\text{g/mL})$

[0073] 表 2

[0074]

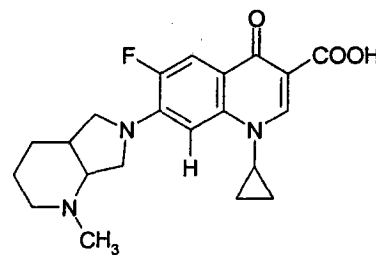
化合物	平均渗透系数 ($\times 10^{-7} \text{ cm/sec}$)	平均滞差时间 (min)
莫西沙星	117	39
氧氟沙星	39	47
左氧氟沙星	35	52
化合物 1	311	12
化合物 2	205	27
化合物 3 (外消旋的)	166	38
化合物 3 (S, S)	136	45

[0075]

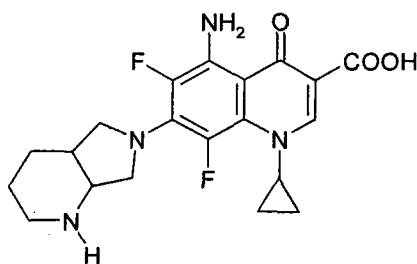


[0076] 化合物 1

[0077]



化合物 2



[0078] 化合物 3

[0079] 化合物 1-3 (包括化合物 3 的立体异构形式) 超过了莫西沙星的渗透性并且相对于莫西沙星具有较低的滞后时间 (除了化合物 3 的 S,S 立体异构体)。在二氮杂二环上具有 2-甲基取代的化合物 1 和 2 具有所研究化合物的最好的渗透性和滞后特征。

[0080] 实施例 4- 抗微生物活性研究

[0081] 使用体外试验评价了本发明化合物的活性。结果概括于以下的表 3 中。从琼脂培养基上或肉汤培养物中培养、或从解冻的冷藏保存物中制备微生物。将真菌培养物过滤以除去菌丝体成分。

[0082] 使用 Mueller Hinton II 肉汤, 0.9% 盐水或其他合适的培养基, 制备每种培养物的悬浮液, 并调节至等于 0.5McFarland 标准品的浊度。(调节至 0.5McFarland 标准品的培养基通常含有大约 1.0×10^8 CFU/mL)。将每种培养物调节的悬浮液在合适的培养基中稀释至 1 : 10, 使得接种物浓度大约为 1.0×10^7 CFU/mL。

[0083] 将待测试的抗微生物剂称重, 并用所计算体积的无菌蒸馏水稀释, 以产生所需的起始浓度。在无菌蒸馏水中制备连续 1 : 2 稀释的抗微生物剂 (大约 10-12 个测试浓度包括合理的实验范围)。将已知量的每种抗微生物稀释液与所计算的等份琼脂培养基混合, 以产生所需的最终抗微生物测试浓度, 并将其分配至平板上。

[0084] 使用以下的等式来确定待称重的抗微生物剂的量:

[0085]

$$\text{重量 (mg)} = \frac{\text{所需体积 (mL)} \times \text{所需浓度} (\mu\text{g/mg})}{\text{试验功效} (\mu\text{g/mL})}$$

[0086] 制备浓度为待测试最高浓度 (常规为 $1024 \mu\text{g/mL}$) 5-10 倍的抗微生物储液。一些溶解度有限的抗微生物剂可能需要较低的浓度或添加几滴 0.1N NaOH (用于阴离子化合物) 或 0.1N H_2SO_4 (用于阳离子化合物), 以帮助溶解。使用无菌水将储液稀释至合适的浓度, 以形成工作溶液。将工作溶液在无菌水中稀释两倍, 直至获得所需的浓度。

[0087] 按照制造商所述的, 制备 Mueller Hinton II 琼脂。可以给 Mueller Hinton II 琼脂补充 5% 去纤维蛋白的羊血, 用于测试链球菌属。将琼脂加入到每个容器的连续稀释的抗微生物溶液中。将溶液充分混合, 并倒入培养皿中 (约 25mL/ 平板)。25°C 下琼脂的 pH 应当在 7.2 ~ 7.4 之间。

[0088] 在接种测试平板之前, 从每个种子平板接种至少一个接种物对照平板 (不含抗微生物剂的琼脂培养基)。从最低浓度开始接种测试平板, 并继续至最高浓度。在所有测试平板接种后, 接种附加的对照平板 (不含抗微生物剂的琼脂培养基)。将平板在非 CO_2 培养箱 (或 CO_2 培养箱, 根据生长需求) 中培养; 对于大部分生物体来说, 在 32-35°C 下培养 18-24 小时就足够了。

[0089] MIC 结果和数据评价

[0090] 检查琼脂表面上所有接种点与接种对照平板相比是否存在生长。总结结果并用于确定最小抑菌浓度 (MIC) :MIC 是能防止生物体的可见生长的抗微生物剂的最低浓度 (负面的分数)。结果概括于以下的表 3 中。

[0091] 表 3

[0092]

	测试生物体	化合物 2	化合物 3 (S,S)	化合物 3 (外消旋的)	化合物 1	莫西沙星
1	金黄色葡萄球菌	0.125	≤ 0.03	≤ 0.03	0.06	0.06
2	金黄色葡萄球菌	≤ 0.25	≤ 0.25	0.5	≤ 0.25	≤ 0.25
3	MRSA	> 2	1	> 2	> 2	2
4	MRSA	>4	2	2	4	4
5	MRSA	> 2	> 2	> 2	> 2	> 2
6	MSSA	>4	4	>4	>4	>4
7	表皮葡萄球菌	2	0.5	0.06	0.25	0.06
8	表皮葡萄球菌	> 2	0.5	> 2	> 2	1
9	MRSE	> 2	> 2	> 2	> 2	> 2
10	MRSE	> 2	> 2	> 2	> 2	> 2
11	MRSE	>4	>4	>4	>4	>4
12	溶血性葡萄球菌	1	0.125	0.125	0.25	0.5
13	溶血性葡萄球菌	>4	1	1	2	2
14	溶血性葡萄球菌	>4	>4	>4	>4	>4
15	粪肠球菌	1	0.125	0.125	0.5	0.5
16	粪肠球菌	≤ 0.25	0.5	1	> 2	≤ 0.25
17	粪肠球菌	>4	>4	>4	>4	>4
18	粪肠球菌	> 2	> 2	> 2	> 2	> 2
19	肺炎链球菌	0.5	0.125	≤ 0.03	0.125	0.25
20	肺炎链球菌	≤ 0.25	≤ 0.25	0.5	0.5	≤ 0.25
21	缓症链球菌	≤ 0.25	≤ 0.25	0.5	0.5	≤ 0.25
22	缓症链球菌	0.5	0.125	0.06	0.25	0.125
23	缓症链球菌	>4	1	1	2	4
24	无枝菌酸棒杆菌	≤ 0.03	0.5	0.06	0.06	0.03
25	无枝菌酸棒杆菌	>4	>4	>4	>4	>4
26	鲍氏不动杆菌	≤ 0.25	≤ 0.25	0.5	0.5	≤ 0.25
27	琼氏不动杆菌	≤ 0.25	≤ 0.25	≤ 0.25	≤ 0.25	≤ 0.25
28	琼氏不动杆菌	0.25	0.06	0.125	≤ 0.03	0.25
29	琼氏不动杆菌	>4	>4	>4	2	>4
30	霍氏肠杆菌	0.25	ND	0.5	ND	ND
31	霍氏肠杆菌	>4	4	4	4	>4
32	大肠杆菌	0.25	0.06	0.06	0.06	0.125
33	大肠杆菌	≤ 0.25	≤ 0.25	≤ 0.25	≤ 0.25	≤ 0.25
34	大肠杆菌	>4	>4	>4	>4	>4
35	摩氏摩根菌	1	0.125	0.5	0.5	0.5
36	摩氏摩根菌	2	1	1	2	4
37	绿脓杆菌	>4	>4	>4	>4	>4
38	绿脓杆菌	>4	0.5	2	2	4
39	沙雷杆菌	4	0.5	0.5	1	2
40	沙雷杆菌	4	1	1	1	2
41	嗜麦芽寡养单胞菌	>4	2	4	>4	>4
42	嗜麦芽寡养单胞菌	2	0.125	≤ 0.03	0.25	0.125

[0093] 与莫西沙星相比,在氟喹诺酮环体系上具有 5-氨基取代基的化合物 3(外消旋的和同分异构的制剂)显示出提高的对抗大部分微生物的抗微生物活性。化合物 1 与莫西沙

星相比,显示出稍微更好些的对抗特定微生物的抗微生物活性,并且作为整体时可同等程度地进行。化合物 2 在抗微生物活性测试中总体来说没有像莫西沙星或化合物 1 和 3 那样表现得那样好。

[0094] 已经详细描述了本发明及其实施方案。然而,不打算将本发明的范围限定于说明书中所述的任何过程、制造、主题组合物、化合物、方式、方法和 / 或步骤的具体方案。可以对所公开的材料进行各种改进、替代和变化,而不脱离本发明的精神和 / 或实质性的特征。因此,本领域技术人员从公开内容将容易得知根据本发明的这些相关实施方案,可以使用与本文所述的实施方案基本上执行相同功能或基本上获得相同结果的之后的改进、替代和 / 或变化。因此,后附的权利要求包括在其范围内的对本文公开的过程、制造、主题组合物、化合物、方式、方法和 / 或步骤所做的各种改进、替代和变化。