

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200480022816.9

[51] Int. Cl.

C07D 405/04 (2006.01)

C07D 405/06 (2006.01)

C07D 405/14 (2006.01)

C07D 413/14 (2006.01)

C07D 417/14 (2006.01)

A61K 31/395 (2006.01)

[43] 公开日 2006 年 9 月 13 日

[11] 公开号 CN 1832941A

[22] 申请日 2004.8.6

[21] 申请号 200480022816.9

[30] 优先权

[32] 2003.8.8 [33] US [31] 60/493,336

[86] 国际申请 PCT/CA2004/001466 2004.8.6

[87] 国际公布 WO2005/014585 英 2005.2.17

[85] 进入国家阶段日期 2006.2.8

[71] 申请人 尤利塞斯药品公司

地址 加拿大魁北克

[72] 发明人 S·钱伯兰 F·马卢宁

[74] 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任公司

代理人 王 旭

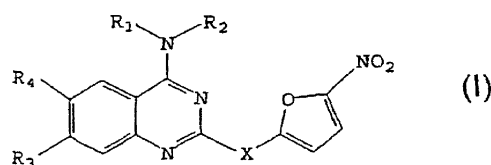
权利要求书 7 页 说明书 27 页 附图 3 页

[54] 发明名称

作为抗菌剂的卤代喹啉基硝基呋喃类化合物

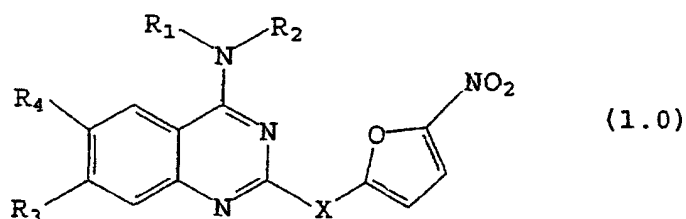
[57] 摘要

本发明包括通式 (I) 的新化合物及其药物上可接受的盐, 其中 X 不存在或为反式或顺式 CHCH, R₁ 为未被取代或被 1-3 个羟基取代的 (C₁-C₁₀) 烷基、未被取代或被 1-3 个羟基取代的 (C₁-C₁₀) 烯基、未被取代或被 1-3 个羟基取代的 (C₁-C₁₀) 炔基或未被取代或被 1-3 个羟基取代的芳基; R₂ 为氢、烷基或芳基; R₃ 和 R₄ 彼此独立为 H、卤素或增溶基, 条件是 R₃ 和 R₄ 中至少一个为卤素。本发明还包括所述化合物的药物上可接受的制剂, 它们表现出对微生物, 包括耐多抗生素族的生物体的广谱抗生素活性, 且用作治疗或预防细菌感染的抗菌剂; 或本发明包括所述制剂作为防腐剂、灭菌或消毒用活性剂的应用。



1. 如下通式的化合物或其药物上可接受的盐：

5



10 其中：

X 不存在或为反式或顺式 CHCH；

R₁ 为未被取代或被 1—3 个羟基取代的(C₁-C₁₀)烷基、未被取代或被 1—3 个羟基取代的(C₁-C₁₀)烯基、未被取代或被 1—3 个羟基取代的(C₁-C₁₀)炔基、或未被取代或被 1—3 个羟基取代的芳基；

15 R₂ 为氢、烷基或芳基；

R₃ 和 R₄ 彼此独立为 H、卤素或增溶基，

条件是 R₃ 和 R₄ 中至少一个为卤素。

2. 权利要求 1 的化合物，其中 R₁ 为未被取代或被 1—3 个羟基取代的芳基且 R₂ 为氢。

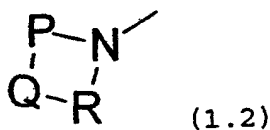
20 3. 权利要求 1 的化合物，其中 R₁ 为被 1 个羟基取代的芳基且 R₂ 为氢。

4. 权利要求 1—3 中任意一项的化合物，其中 R₄ 为卤素。

5. 权利要求 1—3 中任意一项的化合物，其中 R₄ 为氟。

6. 权利要求 1—3 中任意一项的化合物，其中 R₃ 或 R₄ 的增溶基为：

25



其中：

P 和 R 彼此独立为 CH₂、CH₂CH₂ 和 CH₂CHT，其中 T 为烷基，且 Q 为 O、S、NH 或 NCH₃。

30 7. 权利要求 6 的化合物，其中 R₃ 为卤素且 R₄ 为部分通式(1.2)，其中

Q 为 NH 或 NCH₃。

8. 权利要求 6 或权利要求 7 的化合物, 其中 Q 为 NCH₃。
9. 权利要求 1—8 中任意一项的化合物, 其中 R₃ 为含有杂环的胺。
10. 权利要求 1—8 中任意一项的化合物, 其中 R₃ 为 N-甲基哌嗪。
- 5 11. 权利要求 1—10 中任意一项的化合物, 其中 X 为反式 CHCH。
12. 权利要求 1—11 中任意一项的化合物, 其中 R₁ 为羟基乙醇。
13. 权利要求 1—11 中任意一项的化合物, 其中 R₁ 为羟基苯胺。
14. 权利要求 1—11 中任意一项的化合物, 其中 R₁ 为羟基苯基。
15. 权利要求 1—11 中任意一项的化合物, 其中 R₁ 为 2-羟基乙醇。
- 10 16. 权利要求 1—11 中任意一项的化合物, 其中 R₁ 为 4-羟基苯胺。
17. 权利要求 1—11 中任意一项的化合物, 其中 R₁ 为 4-羟基苯基。
18. 权利要求 1—17 中任意一项的化合物, 其中 R₂ 为苯基、取代的苯基、吡喃基、取代的吡啶基、噻吩基、取代的噻吩基、呋喃基、取代的呋喃基、噻唑、噁唑或取代或未被取代的咪唑。
- 15 19. 权利要求 12 或权利要求 15 的化合物, 其中 R₂ 为 N-烷基咪唑。
20. 式 6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(对-羟基苯胺基)-喹唑啉的化合物。
21. 式 7-(4-甲基哌嗪基)-6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(对-羟基苯胺基)-喹唑啉的化合物。
- 20 22. 式 6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-氯喹唑啉的化合物。
23. 式 7-(4-甲基哌嗪基)-6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-氯喹唑啉的化合物。
24. 式 6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(3H)喹唑啉酮。
25. 式 7-(4-甲基哌嗪基)-6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(3H)喹唑啉酮的化合物。
- 25 26. 一种组合物, 包括权利要求 1—21 中任意一项的化合物。
27. 一种组合物, 包括权利要求 1—21 中任意一项的化合物和载体、稀释剂或赋形剂。
28. 一种药物组合物, 包括权利要求 1—21 中任意一项的化合物和药物上可接受的载体。
- 30

29. 治疗人或动物细菌感染的方法，包括对所述的人或所述的动物给予有效治疗细菌感染的治疗有效量的权利要求 1—21 中任意一项的化合物。

30. 预防人或动物细菌感染的方法，包括对所述的人或所述的动物给予有效预防细菌感染的预防有效量的权利要求 1—21 中任意一项的化合物。

31. 用于对物体，包括人的细菌消毒的方法，包括：使所述物体与权利要求 1—21 中任意一项的化合物接触，其接触量和时间足以获得所需程度的消毒。

32. 权利要求 1—21 中任意一项的化合物在对物体，包括人的细菌消毒中的使用方法，包括：使所述物体与权利要求 1—21 中任意一项的化合物接触，其接触量和时间足以获得所需程度的消毒。

33. 对物体，包括人表面的细菌进行灭菌的方法，该方法包括：选择灭菌表面的区域，并将权利要求 1—21 中任意一项的化合物以足以获得灭菌的用量和时间施用在该物体表面上。

34. 权利要求 1—21 中任意一项的化合物在制备用于治疗或预防细菌感染的药物中的应用。

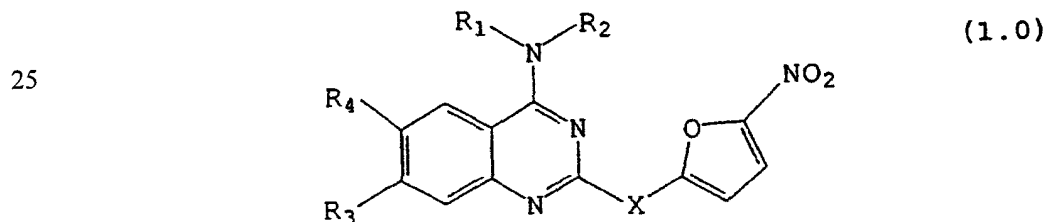
35. 权利要求 1—21 中任意一项的化合物在治疗或预防人或动物细菌感染中的应用。

36. 权利要求 1—21 中任意一项的化合物在消毒中的应用。

37. 权利要求 1—21 中任意一项的化合物在防腐中的应用。

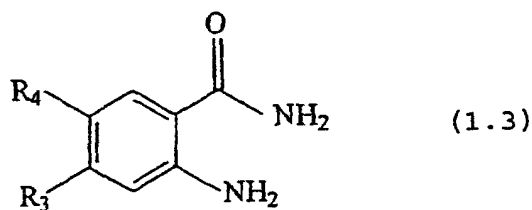
38. 权利要求 1—21 中任意一项的化合物在灭菌中的应用。

39. 制备通式 1.0 的化合物的方法：

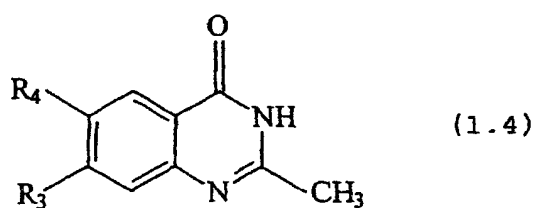


其中 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 如权利要求 1 中所定义；
该方法包括：

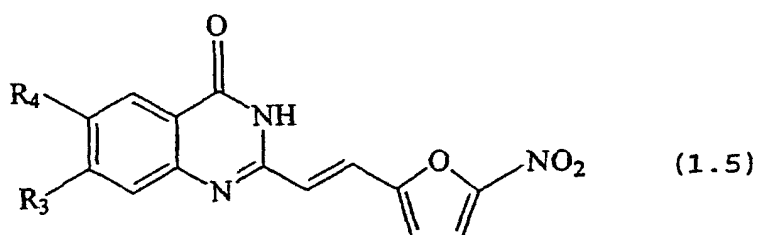
a)使通式(1.3)的化合物



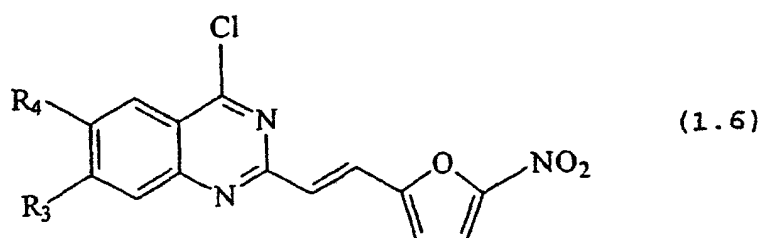
与盐酸、乙酸酐和氨水反应而生成通式(1.4)的化合物



b)使通式 1.4 的化合物与 5-硝基-2-呋喃甲醛反应，生成通式(1.5)的化合物：

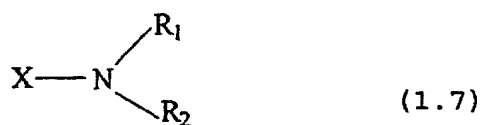


c) 使通式 1.5 的化合物与五氯化磷和磷酰氯反应而生成通式(1.6)的化合物



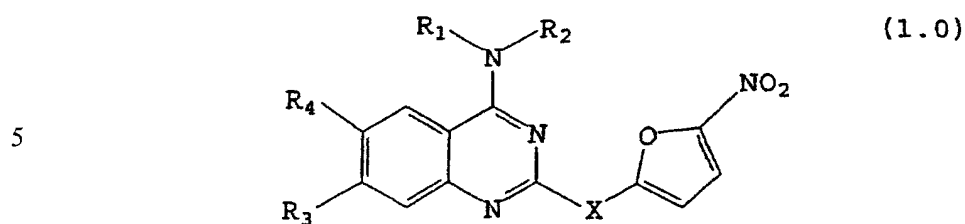
和

d) 使通式 1.6 的化合物与通式 1.7 的化合物反应



其中 X 为 H 且 R₁ 和 R₂ 如上述所定义。

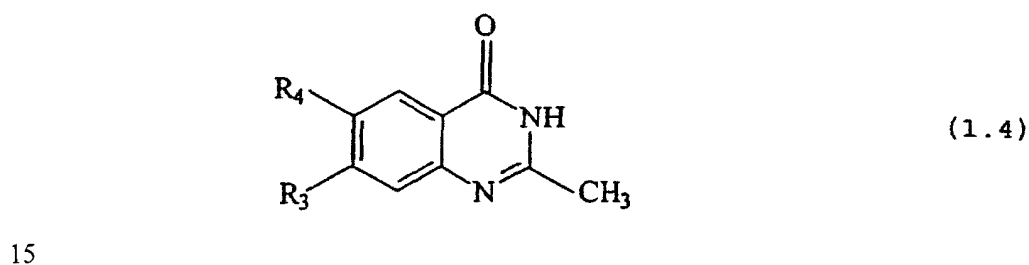
40. 制备通式 1.0 的化合物的方法:



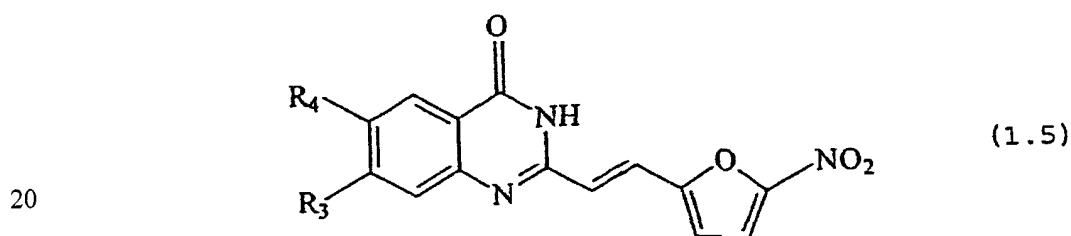
其中 R₁、R₂、R₃ 和 R₄ 如权利要求 1 中所定义;

该方法包括:

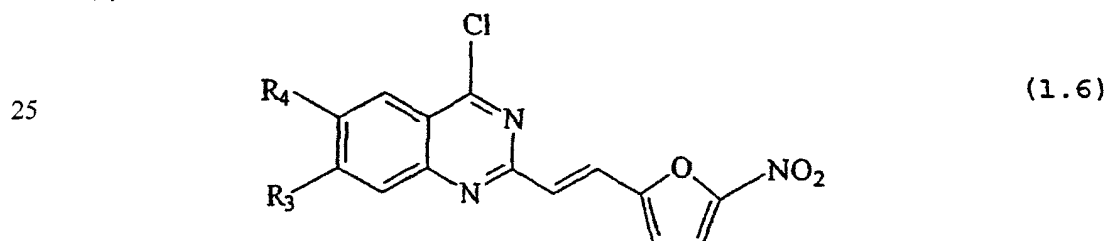
10 b)使通式 1.4 的化合物



与 5-硝基-2-呋喃甲醛反应而生成通式(1.5)的化合物



c) 使通式 1.5 的化合物与五氯化磷和磷酰氯反应而生成通(1.6)的化合物



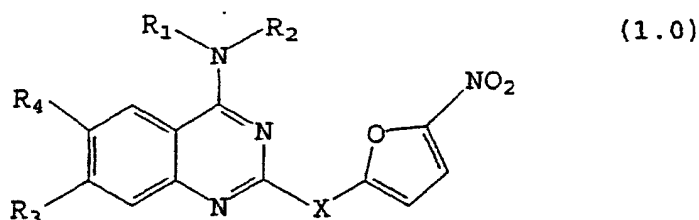
和

30 d) 使通式 1.6 的化合物与通式 1.7 的化合物反应



其中 X 为 H 且 R₁ 和 R₂ 如上述所定义。

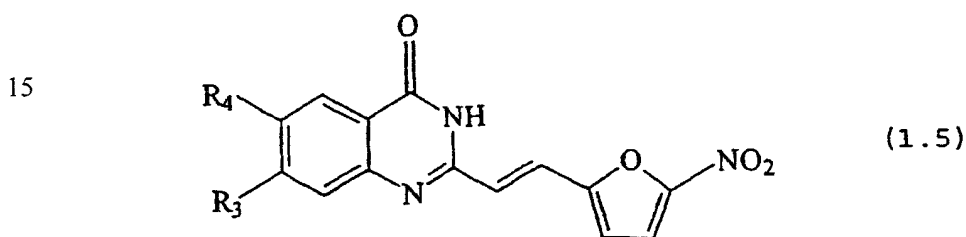
5 41. 制备通式 1.0 的化合物的方法:



10

其中 R₁、R₂、R₃ 和 R₄ 如权利要求 1 中所定义；
该方法包括:

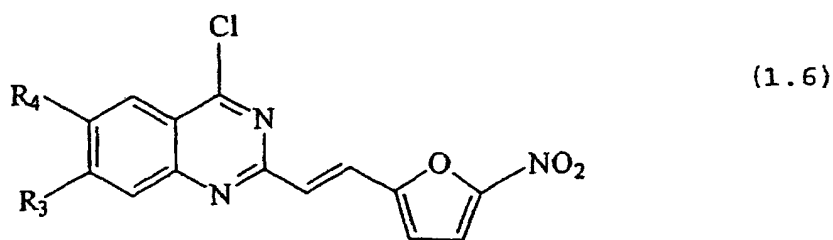
c) 使通式 1.5 的化合物



15

与五氯化磷和磷酰氯反应而生成通式(1.6)的化合物

20



25 和

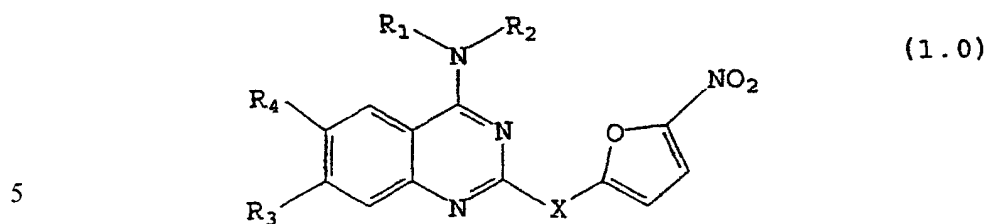
d) 使通式 1.6 的化合物与通式 1.7 的化合物与反应



30

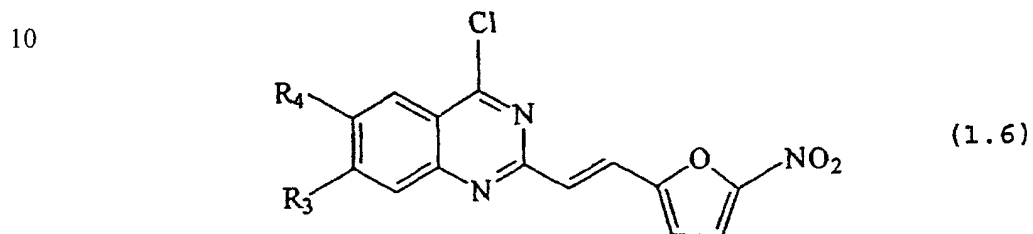
其中 X 为 H 且 R₁ 和 R₂ 如上述所定义。

42. 制备通式 1.0 的化合物的方法:



其中 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 如权利要求 1 中所定义;
该方法包括:

d) 使通式 1.6 的化合物



15 与通式 1.7 的化合物



反应;

20 其中 X 为 H 且 R_1 和 R_2 如上述所定义。

作为抗菌剂的卤代喹唑啉基硝基呋喃类化合物

5 相关申请的交叉参考

本申请要求 2003 年 8 月 8 日提交的美国临时专利申请的利益，将该文献引入本文作为参考。

发明领域

10 本发明涉及新的硝基呋喃抗生素及其在治疗或预防人或动物细菌感染中的应用或其作为防腐剂、杀菌剂或消毒剂的应用。这些化合物表现出对广谱微生物，包括耐多抗生素族的生物体的抗生素活性。

发明背景

提供下列本发明的背景技术综述仅为了有助于理解本发明，但该综述及其中引述的任何参考文献均不视为针对本发明的现有技术。

15 控制医院或后天免疫性群体的细菌感染因出现细菌耐受一族或多族抗生素而变得极为困难。令人遗憾的是，抗生素的普遍和不加区别的应用已经导致耐抗生素的细菌菌株数量快速增加。最重要的是，耐药性已经在临床上重要的微生物中出现，而这些微生物威胁着目前可用抗生素库的应用。世界卫生组织和科学文献中充分证明对抗生素的耐药性增加是一个全

20 球的趋势，其中根据地理学区域的不同而变化形式广泛。

对新的和有效的对耐受目前可用药物的微生物特别具有活性的抗生素存在需求。例如。导致泌尿道感染的细菌对甲氧苄啶-磺胺甲噁唑、 β -内酰胺类和氟喹诺酮类产生耐受性正在变成控制这类感染中的主要因素。尽管硝基呋喃抗生素主要用于治疗泌尿道感染已经应用了几十年，但是该

25 族活性剂的在最常遇到的微生物中的耐药性仍然保持很低(0-2%)(Gupta K.“解决抗生素抗性”(antibiotic resistance.)—《每月疾病》(Dis Mon.) 2003 年 2 月; 49(2): 99-110; Nicolle LE.《泌尿道感染—传统药理学疗法》(Urinary Tract Infection: Traditional pharmacologic therapies.) 2003 年 2 月; 49(2): 111-128)。

30 美国专利 US3,970,648、US3,973,021 和 US 3,974,277 中披露了下列通

式的硝基呋喃类化合物: 2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(苯胺基)喹唑啉、
2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(对-羟基苯胺基)-喹唑啉、2-[2-(5-硝基-2-
呋喃基)乙烯基]-4-(邻-羟基苯胺基)-喹唑啉和 2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯
基]-4-(间-羟基苯胺基)-喹唑啉。这些专利中教导了这些化合物作为杀虫剂
5 和动物生长促进剂在改善诸如家禽、猪和牛这类动物的饲喂效率中的应用。
尽管这些分子与带有直接连接的硝基呋喃基的喹唑啉分子相比获得了
用于动物生长促进的足够可食用食品添加剂的特性(美国专利 US
3,542,784), 但是来自上述专利(美国专利 US 3,970,648、US3,973,021 和
US3,974,277)的化合物的缺陷在于这些专利教导了它们目前缺乏对重要病
10 原体, 诸如大肠埃希氏杆菌、金黄色葡萄球菌和沙门氏菌的活性。需要获
得提供显著改善的功效和扩展活性抗菌谱的硝基呋喃类。这意味着需要较
低量的化合物在体外和体内(动物体内)产生对各种侵害动物和人的病原体的
抗菌作用。

除此之外, 仅有少量硝基呋喃抗生素目前在人体中用于治疗感染性疾病
15 且已知其通用名称呋喃妥因(商品名包括: 呋喃妥因胶囊 (Macrobid)、
呋喃坦啶 (Macrodantin)、呋喃丹啶 (Furadantin))。它在成年人和儿童
中用于治疗急性泌尿道感染和预防复发性泌尿道感染。呋喃妥因的缺陷在
于它不具有良好的功效(即需要相对高的用量才能发挥其抗菌活性)且它不
具有广谱抗菌活性, 这限制了该化合物在治疗细菌感染中的应用。

20 具有优良抗菌功效和改善的药理学特性的新硝基呋喃类可以提供治
疗因抗生素敏感的和耐药微生物导致的严重感染的备选。

发明概述

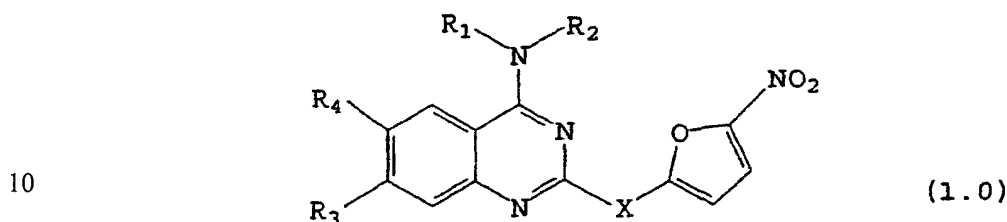
本文所述的化合物可以用作治疗或预细菌感染的抗生素或用作防腐
25 剂、杀菌剂或消毒剂。

这些化合物的一般结构特征在于直接或通过乙烯基与喹唑啉的2位连
接的硝基呋喃。认为这种硝基呋喃是抗菌活性必不可少的, 而例如特别作
为被卤素和/或甲基哌嗪基取代的喹唑啉改善了功效, 扩展了活性谱(例如
对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、分枝杆菌、厌氧菌和耐多种抗
30 生素的微生物的活性), 提供了杀菌(致死)活性(即与抑制菌生长-抑制活性

相反), 提供了体内活性并改善了溶解性。

喹唑啉在 4 位上含有一个或两个通过胺连接的官能基且在 6 或 7 位上含有氢、卤素或增溶基(诸如含有杂环基的胺或更优选含有杂环基的胺, 所述的杂环基进一步含有至少一个氧或氮的基团), 条件是 6 或 7 位中的至少一个被卤素取代。

本发明包括如下通式的化合物及其药物上可接受的盐:



其中:

X 不存在或为反式或顺式 CHCH;

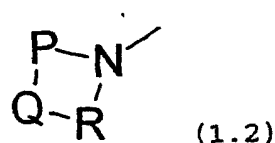
15 R_1 为未被取代或被 1-3 个羟基取代的(C_1 - C_{10})烷基、未被取代或被 1-3 个羟基取代的(C_1 - C_{10})烯基、未被取代或被 1-3 个羟基取代的(C_1 - C_{10})炔基或未被取代或被 1-3 个羟基取代的芳基;

R_2 为氢、烷基或芳基;

R_3 和 R_4 彼此独立为 H、卤素或增溶基,

条件是 R_3 和 R_4 中至少一个为卤素。

20 优选所述的增溶基为:



25 其中:

P 和 R 彼此独立为 CH_2 、 CH_2CH_2 和 CH_2CHT , 其中 T 为烷基, 且

Q 为 O、S、NH 或 NCH_3 。

30 本发明还包括所述化合物的药物上可接受的制剂, 所述化合物表现出对广谱微生物, 包括耐多个抗生素族的生物体的抗生素活性, 且用作治疗或预防细菌感染的抗菌剂, 或本发明还包括这些化合物作为防腐剂、灭菌

或消毒用活性剂的应用。本发明在另一个方面中提供了包括本发明化合物的组合物。本发明在另一个方面中提供了制备本发明化合物的方法。在本申请中使用的某些术语如下所定义。

术语"烷基"指的是包括直链烷基、支链烷基、环烷基(脂环族)基团、
5 烷基取代的环烷基和环烷基取代的烷基的饱和脂族基团。典型的烷基包括,但不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、戊基、异戊基、己基等。烷基优选(C₁-C₁₀)烷基且更优选(C₁-C₆)烷基且甚至更优选(C₂-C₄)烷基。

术语"烷基"可以包括杂烷基,其中烃主链的一个或多个碳被杂原子,
10 例如 N、O 或 S 取代。术语"烷基"可以包括带有取代烃主链的一个或多个碳上的氢的取代基的"取代的烷基"。这类取代基可以包括:例如卤素、羟基、羰基(诸如羧基、酮类(包括烷基羰基和芳基羰基)和酯类(包括烷氧基羰基和芳氧基羰基))、硫代羰基、酰氧基、烷氧基、磷酰基、磷酸酯、次磷酸酯、氨基、酰基氨基、酰氨基、脒、亚氨基、氰基、硝基、叠氮基、硫
15 氢基、烷硫基、硫酸酯、磺酸酯、氨磺酰基、亚磺酰氨基、杂环基、芳烷基或芳族或杂芳族部分。如果合适,烃链上取代的部分自身可以被取代。例如,取代的烷基的取代基可以包括取代和未被取代形式的氨基、叠氮基、亚氨基、酰氨基、磷酰基(包括磷酸酯类和次磷酸酯类)、磺酰基(包括硫酸酯类、磺酰氨基、氨磺酰基和磺酸酯类)和甲硅烷基以及醚类、烷硫基、羰基
20 基(包括酮类、醛类、羧酸酯类和酯类)、-CF₃、-CN 等。典型的取代的烷基如下所述。环烷基可以进一步被烷基、烯基、烷氧基、烷硫基、氨基烷基、羰基-取代的烷基、-CF₃、-CN 等取代。任意取代的烷基可以带有 1—5 个取代基或 1—5 个取代基的任意组合。

术语"烯基"和"炔基"指的是在长度和可能的取代上与上述烷基类似的
25 不饱和脂族基团,优选(C₂-C₁₀)且更优选(C₂-C₆)烷基且甚至更优选(C₂-C₄),但分别含有至少一个双键或三键。"烯基"为带有至少一个碳-碳双键的不饱和的支链、直链或环状烃基。基团在双键方面可以为顺式或反式构象。典型的烯基包括,但不限于乙烯基、丙烯基、异丙烯基、丁烯基、异丁烯基、叔丁烯基、戊烯基、己烯基等。"炔基"为带有至少一个碳-碳三键的不饱和
30 的支链、直链或环状烃基。典型的炔基包括,但不限于乙炔基、丙炔基、

丁炔基、异丁炔基、戊炔基、己炔基等。

术语"芳基"指的是带有 3-14 个环原子的芳族基团且至少一个环带有共轭 π 电子系统。优选环原子中的至少两个，更优选至少四个为碳原子。例如，芳基可以为 C_5 、 C_6 、 C_7 、 C_8 、 C_9 或 C_{10} 环。术语"芳基"包括"杂芳基"化合物。术语"杂芳基"指的是通常在环上带有一个或多个选自 O、S 和 N 的杂原子的芳族杂环基。芳基的实例包括，但不限于苯基、取代的苯基、吡啶基、取代的吡啶基、吡啶基、取代的吡啶基、噻吩基、取代的噻吩基、呋喃基、取代的呋喃基、噻唑、噁唑或取代或未被取代的咪唑。这类取代基可以包括：例如卤素、羟基、羰基(诸如羧基、酮类(包括烷基羰基和芳基羰基)和酯类(包括烷氧基羰基和芳氧基羰基))、硫代羰基、酰氧基、烷氧基、磷酰基、磷酸酯、次磷酸酯、氨基、酰基氨基、酰氨基、脒、亚氨基、氰基、硝基、叠氮基、硫氢基、烷硫基、硫酸酯、磺酸酯、氨磺酰基、亚磺酰氨基、杂环基、芳烷基或芳族或杂芳族部分。如果合适，烃链上取代的部分自身可以被取代。例如，取代的芳基的取代基可以包括取代和未被取代形式的氨基、叠氮基、亚氨基、酰氨基、磷酰基(包括磷酸酯类和次磷酸酯类)、磺酰基(包括硫酸酯类、磺酰氨基、氨磺酰基和磺酸酯类)和甲硅烷基以及醚类、烷硫基、羰基(包括酮类、醛类、羧酸酯类和酯类)、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 等。这类取代的芳基可以带有 1—5 个取代基或 1—5 个取代基的任意组合。

术语"卤素"指的是氟(fluoro)、氯(chloro)、溴(bromo)或碘(iodo)或氟化物、氯化物、溴化物或碘化物或氟、氯(chlorine)、溴(bromine)或碘(iodine)。

本发明包括一般通式 1.0 所定义的化合物的药物上可接受的盐。

本文所用的术语"药物上可接受的盐"指的是对活生物体基本上无毒性的本发明化合物的盐，例如硫酸盐、焦硫酸盐、硫酸氢盐、亚硫酸盐、亚硫酸氢盐、磷酸盐、磷酸一氢盐、磷酸二氢盐、偏磷酸盐、焦磷酸盐、溴化物、氢溴酸盐、碘化物、乙酸盐、丙酸盐、癸酸盐、癸酸盐、辛酸盐、丙烯酸盐、抗坏血酸盐、甲酸盐、盐酸盐、二盐酸盐、异丁酸盐、己酸盐、庚酸盐、丙炔酸盐、葡糖醛酸盐、谷氨酸盐、丙酸盐、苯基丙酸盐、水杨酸盐、草酸盐、丙二酸盐、琥珀酸盐、辛二酸盐、癸二酸盐、富马酸盐、

苹果酸盐、马来酸盐、羟基马来酸盐 (hydroxymateate)、扁桃酸盐、甲磺酸盐、烟酸盐、异烟酸盐、肉桂酸盐、马尿酸盐、硝酸盐、硬脂酸盐、邻苯二甲酸盐、对苯二甲酸盐 (teraphthalate)、丁炔-1,4-dioate、丁炔-1,4-二羧酸盐、己炔-1,4-二羧酸盐、己炔-1,6-dioate、苯甲酸盐、氯苯甲酸盐、5 甲基苯甲酸盐、羟基苯甲酸盐 (hydrozybenzoate)、甲氧基苯甲酸盐、二硝基苯甲酸盐、邻-乙酰氧基苯甲酸盐、萘-2-苯甲酸盐、邻苯二甲酸盐、对-甲苯磺酸盐、对-溴苯磺酸盐、对-氯苯磺酸盐、二甲苯磺酸盐、苯基乙酸盐、三氟乙酸盐、苯基丙酸盐、苯基丁酸盐、柠檬酸盐、乳酸盐、 α -羟基丁酸盐、乙醇酸盐、酒石酸盐、半酒石酸盐、苯磺酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、丙磺酸盐、羟基乙磺酸盐、1-萘磺酸盐、2-萘磺酸盐、1,5-萘二磺酸盐、扁桃酸盐、酒石酸盐 (tartarate) 等。

附图简述

附图 1. 化合物 6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(对-羟基苯胺基)喹唑啉(化合物 V, 实施例 I)、化合物 7-(4-甲基哌嗪基)-6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(对-羟基苯胺基)喹唑啉(化合物 XV, 实施例 VII)和环丙沙星抗金黄色葡萄球菌 ATCC 29213 的时间-杀菌曲线。

附图 2. 化合物 6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(对-羟基苯胺基)喹唑啉(实施例 I, 化合物 V)和环丙沙星抗大肠杆菌 ATCC 25922 的时间-杀菌曲线。

附图 3. 化合物 6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(对-羟基苯胺基)喹唑啉(实施例 I, 化合物 V)在小鼠金黄色葡萄球菌全身感染模型中的体内活性。

详细描述

本发明的化合物一般含有直接或提通过乙烯基与喹唑啉环连接的硝基呋喃。喹唑啉环在 4 位上含有一个或两个通过胺连接的官能基, 在 6 位或 7 位或两者上含有卤素和在 6 位或 7 位任一上含有氢、卤素或增溶基(诸如含有杂环的胺或更优选含有至少一个氮和氧或氮的杂环)和与 2 位上连接的硝基呋喃部分。

一般可以使用下列方法制备本发明的化合物。向 5-氟-氨基苄酰胺乙酸盐中分步骤加入盐酸、乙酐和氨水,形成 6-氟-2-甲基-4-(3H)喹唑啉酮。接下来加入 5-硝基-2-呋喃甲酰胺与乙酐和硫酸,形成 6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(3H)喹唑啉酮(III),将其用于制备氯和苯胺基衍生物。

5 例如,加入五氯化磷和磷酰氯而形成 6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-氯喹唑啉(IV),可以将不同官能基添加到加入喹唑啉上的 4 位上。我们涉及的实施例用于更具体地描述这些方法。

抗菌数据

10 综述。体外和体内(动物体内)试验已经揭示出了 6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(对-羟基苯胺基)-喹唑啉和衍生物的独特抗菌特性且证实了这些分子的活性谱高度适合于治疗难治的人体感染。特别地,6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(对-羟基苯胺基)喹唑啉和 7-(4-甲基哌嗪基)-6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(对-羟基苯胺基)-喹唑啉为高度
15 有效的广谱抗菌剂,它们显示出对多种革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、耐酸和厌氧菌的活性。这类特性与极其有效的大环内酯、 β -内酰胺或氟喹诺酮类商品药物相差无几或更优于它们。此外,本发明的硝基呋喃类,如 6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(对-羟基苯胺基)-喹唑啉和 7-(4-甲基哌嗪基)-6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(对-羟基苯胺基)-喹唑啉具
20 有不同的结构类型,它们不受常见的近年类发生的对大部分目前临床使用的抗菌剂的耐药性的微生物机制的影响。此外,我们能够证实通过管饲法给予的 6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(对-羟基苯胺基)喹唑啉在小鼠感染模型中具有体内活性,由此证明了口服生物利用度和相对低的毒性。所有这些抗菌和化学特性代表了那些有效和安全的抗生素分子的抗菌
25 和化学特性。

在不同实施方案中,本发明的硝基呋喃类可以在治疗上用于预防或治疗细菌感染的制剂或药物中。本发明提供了相应的医疗方法,其中,例如以药物上可接受的制剂的形式将治疗剂量的本发明硝基呋喃给予需要的患者或受试者。因此,本发明还提供了治疗组合物,包括本发明的硝基呋喃和药物上可接受的稀释剂、佐剂、赋形剂或载体。在一个实施方案中,
30

这类组合物包括足以治疗或预防细菌感染的治疗或预防有效量的本发明的硝基呋喃。该治疗组合物可以溶于生理上可接受的 pH 下的水溶液。

"治疗有效量"指的是在剂量和必不可少的时间期限下有效获得所需治疗效果, 诸如细菌感染减轻的用量。本发明硝基呋喃的治疗有效量可以根据诸如个体疾病情况、年龄、性别和体重以及化合物在个体中引起所需反应这类因素的不同而改变。可以调整剂量方案以提供最佳治疗反应。治疗有效量还为化合物的任何毒性和有害作用比其治疗有益作用更为重要的用量。"预防有效量"指的是在剂量和必不可少的时间期限下有效获得所需预防效果, 诸如预防或抑制与细菌感染相关的疾病发生或发展比例的用量。可以如上述对治疗有效量所述确定预防有效量。对任何特定的受试者而言, 可以根据个体需要和给药或监督组合物给药的人员的专业判断在一定时间内调整具体的剂量方案。

本文所用的"药物上可接受的载体"或"赋形剂"包括任意和所有的生理上相容的溶剂、分散介质、包衣材料、抗菌剂和抗真菌剂、等渗剂和延缓吸收剂等。在一个实施方案中, 所述的载体适合于非肠道给药。另一方面, 所述的载体可以适合于静脉内、腹膜内、肌内、舌下或口服给药。药物上可接受的载体包括无菌水溶液或分散液和用于临时制备无菌可注射溶液或分散液的无菌粉末。这类用于药物活性物质的介质和试剂的应用是本领域众所周知的。除任意常用介质或试剂与活性化合物不相容的以外, 关注它们在本发明药物组合物中的应用。还可以将补充的活性化合物混入组合物。

治疗组合物一般必须是无菌的且在制备和储存条件下是稳定的。可以将组合物配制成溶液、微乳、脂质体或其它适合于高药物浓度的有序结构。载体可以为溶剂或分散介质, 例如它们含有水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇与液体聚乙二醇等)及其合适的混合物。例如, 可以通过使用包衣材料, 诸如卵磷脂, 就分散体而言通过维持所需的颗粒大小且通过使用表面活性剂来维持合适的流动性。在许多情况中, 优选在组合物中包括等渗剂, 例如糖类、多元醇类, 诸如甘露糖醇、山梨醇或氯化钠。可以通过在组合物中包括延缓吸收的试剂, 例如单硬脂酸盐和明胶使可注射组合物延长吸收。此外, 可以以定时释放制剂的形式给予本发明的硝基呋喃, 例如在包

括缓释聚合物的组合物。可以使用防止化合物快速释放的载体制备活性化合物，诸如控释制剂，包括植入物微囊化递送系统。可以使用生物可降解的生物相容聚合物，诸如乙烯乙酸乙烯酯、聚酞类、聚乙醇酸、胶原蛋白、聚原酸酯类、聚乳酸和聚乳酸聚乙醇酸共聚物(PLG)。用于制备这类制剂的许多方法获得了专利或一般为本领域技术人员所公知。

可以通过将活性化合物(例如本发明的硝基呋喃)以所需量混入含有上述组分之一或其组合的合适的溶剂，如果需要，随后进行无菌过滤来制备无菌可注射溶液。一般来说，通过将活性化合物混入含有碱性分散介质和来自上述的所需其它组分的无菌媒介物来制备分散液。就用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末而言，优选的制备方法为从预先无菌过滤的溶液中真空干燥和冷冻干燥，产生活性组分与任意其它所需组分。按照本发明的备选方面，可以使用一种或多种提高硝基呋喃溶解性的其它化合物配制本发明的硝基呋喃。

本发明的另一个方面提供了包括本发明硝基呋喃的本发明的治疗组合物，它们在容器中或商品包装中，进一步包括硝基呋喃在预防和/或治疗细菌感染中的使用说明书。

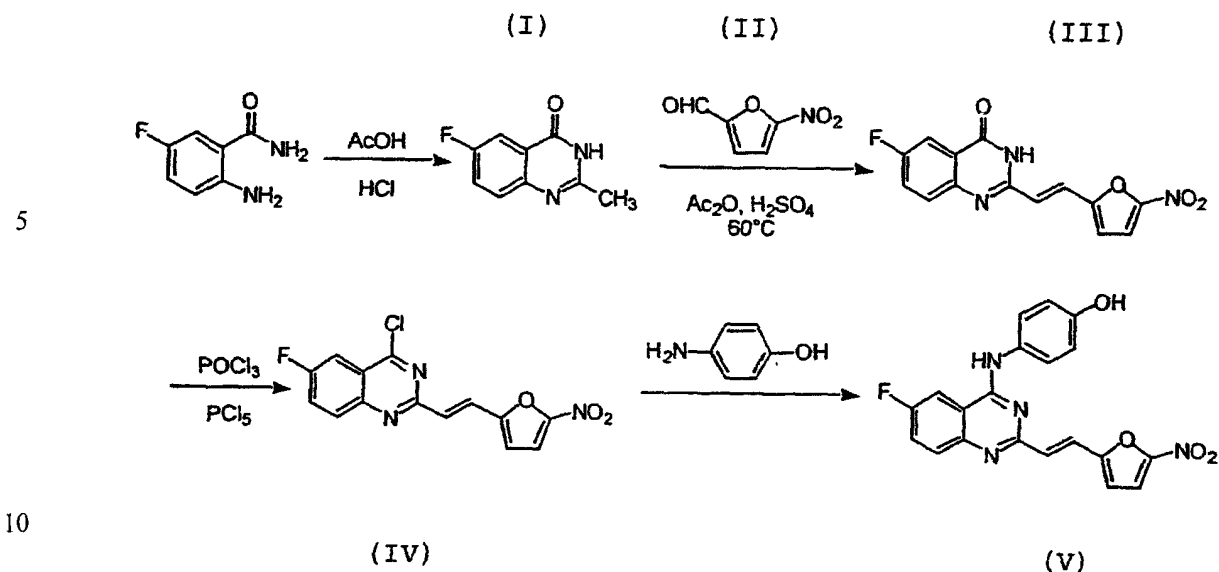
因此，本发明进一步提供了商品包装物，包括部分的硝基呋喃或上述治疗组合物与用于预防和/或治疗细菌感染的说明书。

本发明进一步提供了本发明的硝基呋喃在预防和/或治疗细菌感染中的应用。本发明进一步提供了本发明的硝基呋喃在制备用于预防和/或治疗细菌感染的药物中的应用。

本发明进一步提供了本发明的硝基呋喃作为防腐剂、杀菌剂或消毒剂的应用。

现在为了更具体地定义本发明的某些实施方案，下列实施例提供了对本发明具体化合物、其生产方法和由测试这类化合物产生的结果的详细描述。

实施例 I

6-氟-2-甲基-4-(3H)喹唑啉酮(I)

通过将 20 ml 浓盐酸(37%重量)加入到 27.3 g 5-氟-氨基喹酰胺在 200 ml 甲醇中的溶液中制备 5-氟-氨基喹酰胺盐酸盐。将该混合物在冰浴中冷却以沉淀盐酸盐，然后收集并干燥至得到产物。将由此获得的 17.4 g(0.1 mole) 15 部分的盐酸盐与 100 ml 乙酐一起回流 3 小时并使该体系稳定过夜。然后将该混合物在冰浴中冷却并通过在布氏漏斗上过滤收集固体。将滤饼在 100 ml 水中搅拌成淤浆并温热以促进溶解且然后加入 28%氨水，直到该混合物呈碱性。冷却后，6-氟-2-甲基-4-(3H)喹唑啉酮作为固体沉淀，然后收集， 20 用少量冷水洗涤并在 70°C 下干燥至得到所需产物。

5-硝基-2-呋喃甲醛(II)

在 10—15 分钟期限内将总计 86.5 g 5-硝基亚糠基 (nitrofurfurylidine) 二乙酸酯分小部分加入到 90 ml 硫酸(73%重量)中。将该混合物在环境温度 25 下搅拌 30 分钟，在 50°C 下搅拌 10 分钟，冷却至 30°C 且然后倾倒在 150 g 碎冰上。过滤该混合物，在布氏漏斗上借助于橡胶齿障尽可能在吸干，该步骤得到 51.5 g 5-硝基-2-呋喃甲醛，它在 32°-34°C 下融化。

6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(3H)喹唑啉酮(III)

30 向 16 g(0.1 mole)6-氟-2-甲基-4-(3H)喹唑啉酮中加入 100 ml 乙酐、0.5

ml 96%硫酸和 20 g(0.14 mole)5-硝基-2-呋喃甲醛，并将该混合物在 50-60 °C下搅拌 2 小时。将该反应混合物倾入水并煮沸 10 分钟。在稳定过夜后，通过过滤收集产物，用水，然后用甲醇洗涤。得到黄色固体。将该固体 6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(3H)喹唑啉酮用于制备下述氯-(IV)和苯胺基(V)衍生物。

6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-氯喹唑啉(IV)

给安装了搅拌器、回流冷凝器并用氯化钙阱保护的 500 ml 3 颈烧瓶中添加 9.0 g 五氯化磷(0.043 mole)和 70 ml 磷酰氯并搅拌该混合物。向其中加入 11.3 g(0.04 mole)6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(3H)喹唑啉酮并用 15 ml 磷酰氯冲洗入烧瓶。将该混合物在回流状态下加热 4 小时，在冰浴中冷却并用 150 ml 乙醚稀释。通过过滤收集沉淀的 6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-氯喹唑啉，用 100-150 ml 乙醚洗涤，在 100 ml 乙醚中搅拌成淤浆且然后再过滤，得到 8.09 g 所需产物。

6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(对-羟基苯胺基)-喹唑啉(V)

给安装了磁性搅拌器和加热用油浴的 250 ml 锥形瓶中添加 8.0 g(0.07 mole)对-氨基苯酚和 25 ml 二甲基甲酰胺。在通过搅拌将对-氨基苯酚溶解后，加入(0.03 mole) 6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-氯喹唑啉(IV)。然后将该反应混合物在 70°C-90°C下加热 2 小时，此后加入 60 ml 水并将冷却后的溶液放入冷藏箱内结晶。3 天后，收集褐黄色固体，首先用水，然后用甲醇洗涤且然后干燥至得到 7.20 g 产物。

实施例 II

6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(间-羟基苯胺基)-喹唑啉(VI)

新锥形瓶中添加 4.8 g(0.044 mole)间-氨基苯酚和 100 ml 二甲基甲酰胺。搅拌添加物以溶解间-氨基苯酚并加入 6.5 g(0.02 mole) 6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-氯喹唑啉(IV)。如实施例 I 中所述使反应混合物反应而得到 6.5 g 粗产物，为黄色固体，它在 241-242°C下熔化，同时分解。使 5.5 g 样品从 40 ml 二甲基甲酰胺中重结晶并向温热溶液中加入 74 ml 甲

醇，然后冷却以使纯化的产物重结晶。

实施例 III

6-氟-2-[2-(5-硝基-呋喃基)乙烯基]-4-(邻-羟基苯胺基)-喹唑啉(VII)

- 5 给安装了磁性搅拌器和加热用油浴的 250 ml 锥形瓶中添加 5.0 g(0.046 mole)邻-氨基苯酚和 100 ml 二甲基甲酰胺。搅拌添加物以溶解邻-氨基苯酚并加入 6.0 g(0.02 mole) 6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-氯喹唑啉(IV)。使反应混合物在 80-90℃下反应 2 小时而形成有机沉淀；向温热混合物中加入 100 ml 水，然后冷却并放入冷藏箱内过夜以结晶。收集固体，用
- 10 甲醇洗涤并干燥至得到 7.5 g 棕色-黄褐色固体。用活性炭处理产物在 100 ml 二甲基甲酰胺中的溶液并过滤。向温热的滤液中加入第一部分 75 ml 甲醇木然后再加入 25 ml 部分。冷却并刮取而得到 5.5 g 纯化产物的橙色结晶。

实施例 IV

- 15 6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-苯胺基喹唑啉(VIII)

- 给安装了搅拌器、回流冷凝器和温度计的 250 ml 烧瓶中添加 4.1 g(0.044 mole)苯胺和 100 ml 二甲基甲酰胺。将添加物搅拌至溶解并加入 6 g(0.02 mole)6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-氯喹唑啉(IV)。使该混合物在 130-132℃下反应 2 小时而形成深红色溶液。向温热溶液中加入 75 ml
- 20 部分的水，使其在室温下稳定过夜，然后在冰浴中冷却 1 小时。收集结晶的固体，用甲醇洗涤并干燥至得到 5.5 g 棕色固体。将该固体溶于 50 ml 温的二甲基甲酰胺，用活性炭脱色并通过添加 100 ml 甲醇沉淀，同时冷却并刮取以诱导结晶。收集沉淀的固体并用甲醇洗涤而得到所需产物。

- 25 实施例 V

7-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(对-羟基苯胺基)-喹唑啉(IX)

按照与 6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(对-羟基苯胺基)-喹唑啉(实施例 I)相同的方式，但使用 4-氟氨基苄胺(27 g)作为原料制备该化合物。

- 按照下列参考文献中所述合成类似的(非-硝基呋喃)6-卤代喹唑啉化合物。
- 30 物。

“4-喹唑啉酮衍生物的合成和组胺 H₂-拮抗剂活性”—Ogawa, Nobuo; Yoshida, Toshihiko; Aratani, Takayuki; Koshinaka, Eiichi; Kato, Hideo; Ito, Yasuo. 《化学与药物简报》(Chemical & Pharmaceutical Bulletin) (1988), 36(8), 2955-67。

- 5 “一类新的抑制微管蛋白聚合的抗有丝分裂抗癌剂 2-苯乙烯基喹唑啉-4(3H)-酮类的合成和生物评价” —Jiang, Jack B.; Hesson, D. P.; Dusak, B. A.; Dexter, D. L.; Kang, G. J.; Hamel, E. 《药物化学杂志》(Journal of Medicinal Chemistry) (1990), 33(6), 1721-8。

10 Kuo, Sheng-chu; Hour, Mann-jen; Huang, Li-jiau; Lee, Kuo-hsiung. “作为抗癌和抗血小板药的 2-苯基-4-喹唑啉酮类和 2-苯基-4-烷氧基-喹唑啉类的制备”—U. S.(2002), 23 pp。

“6-烷氨基-和 2,3-二氢-3'-甲氧基-2-苯基-4-喹唑啉酮类和相关化合物: 其合成、细胞毒性和对微管蛋白聚合的抑制” —Hour, Mann-Jen; Huang, Li-Jiau; Kuo, Sheng-Chu; Xia, Yi; Bastow, Kenneth; Nakanishi, Yuka; Hamel, Ernest; Lee, Kuo-Hsiung. 《药物化学杂志》(Journal of Medicinal Chemistry) (2000), 43(23), 4479-4487。

实施例 VI

6,7-二氟-2-甲基-4-(3H)喹唑啉酮(X)

20 通过将 10 ml 浓盐酸(37%重量)加入到 10 g 4,5-二氟氨基苄酰胺在 100 ml 甲醇中的溶液中制备 4,5-二氟-氨基苄酰胺盐酸盐。

将该混合物在冰浴中冷却以沉淀盐酸盐, 然后收集并干燥至得到产物。将由此获得的(0.01 mole)盐酸盐部分与 10 ml 乙醚一起回流 3 小时并使该体系稳定过夜。然后将该混合物在冰浴中冷却并通过在布氏漏斗上过滤收集固体。将滤饼在 10 ml 水中搅拌成淤浆并温热以促进溶解, 且然后加入 28%氨水, 直到该混合物呈碱性。冷却后, 6,7-二氟-2-甲基-4-(3H)喹唑啉酮作为固体沉淀, 然后收集, 用少量冷水洗涤并在 70℃下干燥至得到所需产物。

30 6,7-二氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(对-羟基苯胺基)喹唑啉(XI)

按照与实施例 I 中或合成 6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(对-羟基苯胺基)喹唑啉中所述相同的方式, 通过使用 6,7-二氟-2-甲基-4-(3H)喹唑啉酮(1 g)作为原料制备该化合物。

按照下列参考文献中所述合成 4,5-氟-氨基酰胺。

- 5 Hayes, Thomas K.; Kiely, John S.: “三环四氢喹啉衍生物和三环四氢喹啉组合库” —PCT 国际申请(1998), 119 pp. WO 9834111 A1 19980806。

Hayes, Thomas K.; Forood, Behrouz; Kiely, John S.: “4-取代的喹啉衍生物和 4-取代的喹啉组合库” —PCT 国际申请(1998), 124 pp. WO 9834115 A1 19980806。

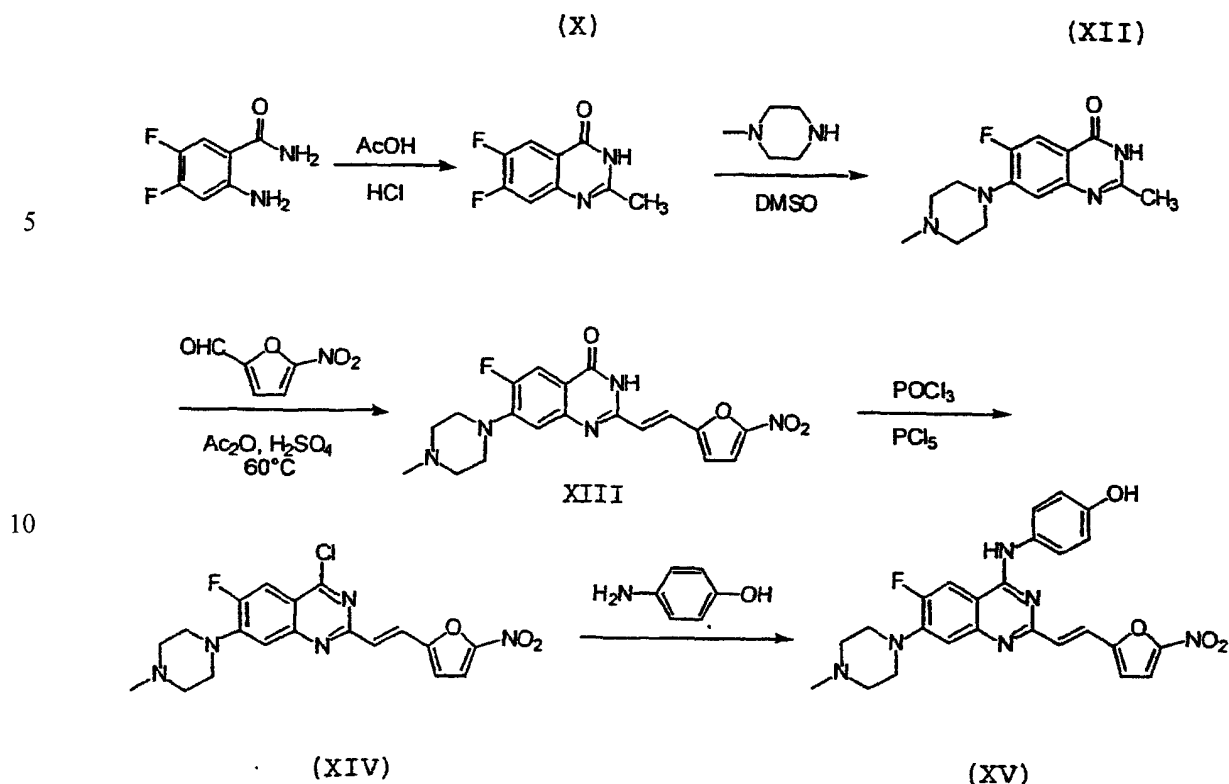
- 10 Gao, Yun.: “含有 N-氨基-和 N-羟基-喹唑啉酮类的组合物和制备其组合库的方法” —. S.(2001), 15 pp. US 6184377 B1 20010206。

- Desos, Patrice; Lepagnol, Jean M.; Morain, Philippe; Lestage, Piere; Cordi, Alex A.: “在一系列在 3-位上具有不同酸性功能的 2[1H]-喹诺酮类的结构-活性相关性: 6,7 二氯-2[1H]-氧代喹啉-3-磷酸一种具有神经保护作用特性新的有效和选择性 AMPA/红藻氨酸盐拮抗剂” —《药物化学杂志》
15 (Journal of Medicinal Chemistry) (1996), 39(1), 197-206。

- Sadhu, Chanchal; Dick, Ken; Treiberg, Jennifer; Sowell, C. Gregory; Kesicki, Edward A.; Oliver, Amy. “作为人磷脂酰肌醇 3-激酶 δ 抑制剂的嘌呤基喹唑啉酮的制备” —美国专利申请公开号(2002), 86 pp., 美国申请顺序
20 号 841,341 的部分继续申请 US 2002161014 A1 20021031。

Sadhu, Chanchal; Dick, Ken; Treiberg, Jennifer; Sowell, C. Gregory; Kesicki, Edward A.; Oliver, Amy. “作为人磷脂酰肌醇 3-激酶 δ 抑制剂的嘌呤基喹唑啉酮衍生物” —PCT 国际申请(2001), 278 pp WO 0181346 A2 20011101。

实施例 VII

15 7-(4-甲基哌嗪基)-6-氟-2-甲基-4-(3H)喹唑啉酮(XII)

向 6,7-二氟-2-甲基-4-(3H)喹唑啉酮(X)(5 mmol)在 DMSO(10 ml)中的溶液中加入 4-甲基-哌啶(20 mmol)。将该混合物加热至 80℃下 4 小时。冷却后,加入水(30 ml)并通过过滤收集固体。通过快速色谱法进一步纯化产物。

20

7-(4-甲基哌嗪基)-6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(3H)喹唑啉酮(XIII)

按照与对 6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(3H)喹唑啉酮(III)所述相同的方式制备该化合物。由此使用 XII(3 mmol)作为原料获得所需产物。

25

7-(4-甲基哌嗪基)-6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-氯喹唑啉(XIV)

按照与对 6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-氯喹唑啉(IV)所述相同的方式制备该化合物。由此使用 XIII(1.5 mmol)作为原料获得所需产物。

30

7-(4-甲基哌嗪基)-6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(对-羟基苯胺基)-喹唑啉(XV)

按照与对 6-氟-2-[2-(5-硝基-2-呋喃基)乙烯基]-4-(对-羟基-苯胺基)喹唑啉(V)所述相同的方式制备该化合物。由此使用 XIII(1.5 mmol)作为原料获得所需产物。

实施例 VIII

化合物的评价方法

最低抑制浓度(MIC)的测定。细菌(原始菌株组, 表 1)。

按照由国家临床标准委员会(NCCLS)的建议进行敏感试验。通过肉汤微稀释法技术, 使用 100 μ l 终体积的阳离子调节的 Mueller Hinton 肉汤(MHBCA)和 10^5 - 10^6 菌落形成单位(CFU)/ml 的细菌接种物测定 MICs。验证接种物并通过将 10- μ l 10-倍稀释液滴涂在 Tryptic 大豆琼脂平板上精确测定。在 35°C 下保温 24 小时后对 CFU 计数。排除表现出大于或小于 10^5 - 10^6 CFU/ml 的接种物的任何实验。制备浓度等于 2-倍最高所需终浓度的对照抗生素和测试化合物。然后通过使用多通道移液管连续 2-倍稀释将化合物直接在 96-孔微量滴定板中稀释。在 35°C 下的 24 小时过程中保温微量滴定板并通过使用微量滴定板读出器在 650 nm 处并通过目视观察记录生长。将 MIC 定义为不产生可见生长的化合物的最低浓度。在每次 MIC 试验中始终包括至少两种商品抗生素(例如亚胺培南、环丙沙星、诺氟沙星、呋喃妥因、利福平、氯霉素、氨苄西林、头孢噻肟和万古霉素)作为内部微量滴定板对照品。从任何微量滴定板中排除与 ATCC 菌株的 NCCLS 参比数据相比在这类对照抗生素 MICs 中表现出偏差的结果(MIC 差别在于 2 倍以上稀释)。

难养菌。用于单核细胞增生利斯特氏菌、脑膜炎奈瑟氏球菌和空肠弯曲杆菌空肠氏亚种的培养基为含有已溶马血的 MHBCA。用于流感嗜血杆菌和粘膜炎布兰汉氏球菌(粘膜炎莫拉氏菌)的培养基为 NCCLS 推荐的 HTM。将这些难养菌的培养物在 35°C 下和 5% CO₂ 气中保温。给用于在 MIC 前使耻垢分枝杆菌生长的 MHBCA 培养基补充 0.02% Tween-80, 且在保温 48 小时后读取来自微量滴定板的结果。用于脆弱拟杆菌的培养基

为 Wilkins Chalgren 肉汤并在 35℃ 下的缺氧气体中生长 48 小时。

最终还对不同临床菌株群体测试了化合物(抗生素抗性株组, 表 1)。

表 1. 用于评价化合物的抗菌活性的菌株组

原始菌株组:

5 革兰氏阳性菌

金黄色葡萄球菌 ATCC 29213

金黄色葡萄球菌 MRSA COL

表皮葡萄球菌 ATCC 12228

腐生性葡萄球菌 ATCC 15305

10 粪肠球菌 ATCC 29212

屎肠球菌 ATCC 35667

蜡样芽胞杆菌 ATCC 11778

枯草芽孢杆菌 ATCC 6633

萎缩芽孢杆菌 ATCC 9372

15 单核细胞增生利斯特氏菌* ATCC 13932

革兰氏阴性菌:

大肠埃希氏杆菌 ATCC 25922

大肠埃希氏杆菌 MC4100

鼠伤寒沙门氏菌 ATCC 14028

20 鲍氏不动杆菌 ATCC 19606

小肠结肠炎耶尔森氏菌 ATCC 23715

流感嗜血杆菌* ATCC 49247

流感嗜血杆菌* ATCC 49766

粘膜布兰汉氏球菌(粘膜莫拉氏菌)* ATCC 8176

25 空肠弯曲杆菌空肠氏亚种* ATCC 33291

厌氧菌:

脆弱拟杆菌* ATCC 25285

抗酸菌

耻垢分枝杆菌* ATCC 19420

30 抗生素抗性株组:

10 金黄色葡萄球菌 MRSA

8 大肠埃希氏杆菌

1 屎肠球菌 VRE(vanA)

注意: * = 难养菌的种类

- 5 最小杀菌浓度(MBC)。在为测定 MIC 读取微量滴定板后, 将每一澄清孔中的 10- μ l 样品(至少 5 个孔中没有可见的生长)涂在 TSA 平板上用于活菌计数测定。

在 35°C 下将培养皿确切保温 24 小时并对细菌菌落进行计数。MBC 为导致 99.9% 杀灭原始接种物的最低抗生素浓度。例如, 如果原始接种物为
10 1×10^6 CFU/ml, MBC 为在 TSA 平板上表现出小于等于 10 个菌落的浓度。

时间-杀菌曲线。还在一段时间内评价了化合物的杀菌作用(时间-杀菌曲线实验)。制备 1×10^5 - 1×10^7 菌落形成单位(CFU)/ml 的细菌接种物。验证接种物并通过将 10- μ l 10-倍稀释液滴涂在 Tryptic 大豆琼脂平板上精确测定。
15 在 35°C 下保温 24 小时后对 CFU 计数。排除表现出大于或小于所需范围 CFU/ml 的接种物的任何实验。在 24 小时期限内 50-ml 振动烧瓶内的 30 ml MHB 中进行时间-杀菌曲线实验。在 0 小时加入测试化合物和对照抗生素, 且在每一时间点处从烧瓶中取出样品并如上所述通过平板计数测定 CFU。将来自化合物-处理的培养物的 CFU 与从不含抗生素的对照烧瓶
20 中采集到的 CFU 进行比较。如上所述在 MIC 下或如通过肉汤微量稀释技术测定的多个 MIC 下检测测试化合物和对照抗生素。

体内功效。还在小鼠金黄色葡萄球菌全身感染模型中评价了化合物的抗菌活性。为了产生全身感染, 给 CD-1 雌性小鼠(20g)经腹膜内注射 10^7
25 CFU 的悬浮于 0.5 ml 不含内毒素的含有 5% 粘蛋白(w/v)的 PBS 中的金黄色葡萄球菌菌株 Newman。在感染后 1 小时通过口腔管饲法给予化合物(15 mg/kg)并在细菌接种后 5 小时对每只动物摘除肾并收集。将组织在 PBS 中匀化并将匀化物依次稀释, 且铺板以便进行 CFU 测定。

30 化合物评价结果

实施例 I(化合物 V)和实施例 VII(化合物 XV)的抑制活性。评价来自实施例 I 和 VII 的化合物抗如表 1 中所述的微生物组以便测定其相对功效(MICs 和 MBCs)和抗菌谱的宽度。在表 2 中概况的结果中,用于表征实施例 I 和 VII 的活性试验中各自包括许多参比微生物(美国典型培养物保藏中心 (American Type Culture Collection), ATCC 菌株)和许多商购抗生素以便验证测定结果并确保高质量的数据。

表 2.以µg/ml 计的来自原始菌株组中的各种革兰氏阳性菌获得的对照抗生素以及实施例 I 和 VII 化合物的 MICs(和 MBCs)

抗生素	金黄色葡萄球菌 ATCC 29213	金黄色葡萄球菌 MRSA COL	表皮葡萄球菌 ATCC 12228	腐生葡萄球菌 ATCC 15305	粪肠球菌 ATCC 29212	屎肠球菌 ATCC 35667
实施例 I 化合物 V	0.03-0.06 (0.06)	0.015 (0.06)	0.03 (0.03)	0.015-0.03 (0.03-0.06)	0.03 (0.03)	0.06 (0.25)
实施例 VII 化合物 XV	2	0.5	1-2	2	2-8	8
氨苄西林	1-2	8	64	0.12	1	1
头孢噻肟	1-2	512	0.5-1	8	2-8	16
头孢曲松	2	512	1	8	8	64
氯霉素	16	8	8	4-8 (16-32)	8	8
红霉素	0.5	0.25	0.5	0.25	2-4	2
呋喃唑酮	4-16	8	2-4	2	8-16	>128
庆大霉素	0.5-2	0.5	0.06-0.25	0.06	4-16	4-16
亚胺培南	0.015	16	0.008-0.015	0.03 (0.03-0.06)	0.5	2
美罗培南	0.06	16	0.06	0.25	2-4	16
呋喃妥因	16	16	16	8 (16)	8-16	64
呋喃西林	16	8-16	8	8	64	128
诺氟沙星	1	0.5-1	0.5	2 (4)	4	16
苯唑西林	0.12-0.25	512	0.12	1	8-16	32
利福平	0.008-0.015	0.008-0.015	0.004-0.008	0.03	0.5-1	32
四环素	0.5-1	2	128	1	16-32	0.5
TMP/SMX (1/19)	0.06/1.2	0.25/4.8-0.5/9.5	0.12/2.4-0.25/4.8	0.06/1.2 (0.25/4.8)	0.015/0.3	0.12/2.4
万古霉素	0.5-2	1-2	1-2	1 (1)	2	0.5

化合物 V 和化合物 XV 表现出对一般导致严重机会和/或医院感染的革兰氏阳性菌的敏感活性(表 2)。它们包括甲氧西林耐药的和甲氧西林-敏感性金黄色葡萄球菌菌株[分别为 MRSA 和 MSSA]、表皮葡萄球菌、粪肠球菌和屎肠球菌。实施例 I 对 MRSA、粪肠球菌和屎肠球菌的活性优于亚胺培南、诺氟沙星、万古霉素或几种其它商品抗生素对所述细菌的活性。化合物 XV 对表 2 中所有菌株的活性均优于市售的硝基呋喃类,如呋喃妥因和呋喃西林对这些菌株的活性。

化合物 V 也对通常导致泌尿道感染的病原体极具活性(例如表 2 的腐生葡萄球菌和表 3 的大肠杆菌)。化合物 V 对参比菌株的活性优于通常用于治疗泌尿道感染商品硝基呋喃活性剂,如呋喃妥因对参比菌株的活性。

化合物 V 的 MBCs 在大部分时间内等于 MICs 或仅高于 MICs 2—4 倍,表明该化合物为杀菌剂而非抑菌剂。

还证实化合物 V 对细菌属芽孢杆菌属的三个种类(即蜡状芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌和萎缩芽孢杆菌)具有极为良好的活性, MICs 的范围在 0.03—0.125 μ g/ml(数据未显示)。导致炭疽的细菌性病原体炭疽芽孢杆菌也是该细菌属的成员。

化合物 V 和 XV 对导致后天免疫性群体中耳炎和肺炎的呼吸道病原体表现出极佳的活性(表 4)。化合物 V 对流感嗜血杆菌 ATCC 49247 和粘膜炎症布兰汉氏球菌的活性优于 β -内酰胺类药物(氨苄西林、头孢噻肟和美罗培南)和大环内酯类(红霉素、克拉霉素)对这些菌株的活性。化合物 V 和 XV 还对耻垢分枝杆菌极具活性且其活性优于市售的硝基呋喃类诺氟沙星和利福平的活性。导致结核病的细菌病原体结核分枝杆菌是该细菌属的成员。化合物 V 对导致肠道传染的单核细胞增生和空肠弯曲杆菌空肠氏亚种和通常导致难以治疗的糖尿病患者中的脓肿和感染的厌氧菌脆弱拟杆菌极具活性。

表 3. 以 $\mu\text{g/ml}$ 计的从来自原始菌株组中的各种革兰氏阴性菌获得的对照
抗生素以及实施例 I 化合物的 MICs(和 MBCs)

化合物	大肠杆菌 ATCC 25922	鼠伤寒沙门氏 菌 ATCC14028	鲍氏不动杆菌 ATCC 19606	小肠结肠炎耶尔森 氏菌 ATCC 23715
实施例 I 化合物 V	0.5 (0.5)	1	1-2	0.25
氨苄西林	4-8	---	---	---
美罗培南	0.015-0.06	---	2	>0.5
氯霉素	4 (16)	---	---	---
头孢噻肟	0.06-0.12	>2	16	>2
亚胺培南	0.12	---	16	0.5
头孢曲松	0.03-0.06	---	---	---
苯唑西林	512->512	---	---	---
红霉素	64	---	---	---
利福平	8	---	4	8
诺氟沙星	0.03 (0.06)	---	---	---
四环素	1-2	---	16	>32
庆大霉素	0.5-2	---	32	2
呋喃妥因	8 (8)	32	128	64
呋喃西林	8-16	8	32	64
呋喃唑酮	1-2	2	32	>16
TMP/SMX (1/19)	0.25/4.75-0.5/9.5	---	8/152	0.125/2.4

表 4. 以 $\mu\text{g/ml}$ 计的对革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌和抗酸难养菌种类获得的对照抗生素以及实施例 I 和 VII 化合物的 MICs(和 MBCs)

化合物	流感嗜血杆菌 ATCC 49247	流感嗜血杆菌 ATCC 49766	粘膜炎布兰汉 氏球菌 ATCC 8176	耻垢分枝杆菌 ATCC 19420
实施例 I 化合物 V	0.03 (0.06)	0.06 (0.06)	0.008 (0.03)	0.06
实施例 VII 化合物 XV	2	2	0.5	0.25
氨苄西林	2-4 (4)	≤ 0.12 (≤ 0.12)	≤ 0.03 (≤ 0.03)	---
头孢噻肟	0.12 (0.12)	0.008 (0.008)	0.03 (0.06)	---
环丙沙星	0.008-0.015 (0.015)	0.008 (0.015)	0.03 (0.06)	---
克拉霉素	16	128 (>128)	0.5 (1)	---
红霉素	2 (2)	8 (16)	0.06 (0.12)	---
美罗培南	0.06 (0.06)	0.03 (0.06)	0.002 (0.008)	---
呋喃妥因	---	---	---	64
呋喃西林	---	---	---	64
诺氟沙星	---	---	---	2
利福平	---	---	---	8
化合物	单核细胞增生 利斯特氏菌 ATCC 13932	空肠弯曲杆菌空肠 氏亚种 ATCC 33291	脆弱拟杆菌 ATCC 25285	
实施例 I 化合物 V	0.03-0.25	0.016	0.016	
实施例 VII 化合物 XV	0.5	---	0.5	
氯霉素	0.001	4	4	
利福平	0.06	---	---	
诺氟沙星	0.008	---	---	
四环素	---	0.5	0.25	
亚胺培南	---	0.125	0.125-0.5	

化合物 V 和 XV 的活性未受到存在于多重耐药的屎肠球菌(例如菌株 VanA, 表 5)的抗性机制的影响。类似地, 化合物 V 和 XV 的活性不受存在于多重耐药的 MRSA 菌株中的耐药机理的影响(表 6)。这一数据明显考虑到了至少 80%的测试菌株对常用库中的许多抗生素产生耐药性(例如苯唑西林、红霉素、诺氟沙星)。

化合物 V 的活性也不受存在于下列菌株中的耐药机理的影响: 多重耐药的大肠杆菌(例如菌株 Ec022c、Ec027c、Ec117c、Ec118c 和 Ec119c, 表 7)或病变型, 即菌株的毒力特征(例如肠出血型大肠杆菌 0157: H7 或肠外大肠杆菌 EIEC, 表 7)。

化合物 V 和 XV 对多重耐药微生物, 即对至少两种结构类型的药物产生耐药性的微生物的活性表明, 与所测试的所有其它抗生素类型相反, 本发明的硝基咪唑类预先并未遇到这类菌株耐药, 或不会在这些菌株中引起耐药性的发生(表 5、6 和 7)。

表 5. 以µg/ml 计的对抗生素多重耐药性屎肠球菌(VanA)获得的对照抗生素以及实施例 I 和 VII 化合物的 MICs

化合物	粪肠球菌 ATCC 29212	屎肠球菌 ATCC 35667	屎肠球菌 VanA
实施例 I 化合物 V	0.03	0.06	0.03
实施例 VII 化合物 XV	2-8	8	0.5
万古霉素	2	0.5	>128
头孢噻肟	2-8	16	>128
克拉霉素	16	---	>128
四环素	16-32	0.5	128
利福平	0.5-1	32	>128
呋喃唑酮	8-16	>64	64
呋喃西林	64	>64	64

表 6. 以 $\mu\text{g/ml}$ 计的对各种抗生素多重耐药性 MRSA 菌株获得的对照抗生素以及实施例 I 和 VII 化合物的 MICs

MRSA 菌株(n=10)	实施例 I 化合物 V	实施例 VII 化合物 XV	苯唑西林	红霉素	诺氟沙星	庆大霉素	呋喃妥因
MRSA COL	0.015	0.5	>128	0.25	1	0.5	8-16
Sa211c	≤ 0.06	2	16-32	>32	>32	1	16-32
Sa212c	0.125	4	16	>32	>32	0.25	32
Sa220c	≤ 0.06	0.25	8-16	0.5	>32	0.5	16
Sa224c	≤ 0.06	1	32-64	>32	>32	0.25	16
Sa228c	≤ 0.06	2	128	>32	>32	32	16-32
Sa234c	≤ 0.06	2	32->128	>32	>32	1	16-32
Sa248c	≤ 0.06	0.5	512	>128	32	>128	16
Sa249c	≤ 0.06	0.5	512	>128	32	>128	16
Sa253c	≤ 0.06	2	1024	>128	>128	>128	16

表 7. 以 $\mu\text{g/ml}$ 计的对各种抗生素药性的大肠杆菌菌株和/或不同病变型获得的对照抗生素以及实施例 I 化合物的 MICs

大肠杆菌菌株 (n=10)	病变型	实施例 I 化合 物 V	氨苄 西林	环丙沙星	呋喃 妥因	TMP/SMX (1/19)	四环 素
ATCC 25922	参比	0.5	4	0.03	8-16	0.25/4.75-0.5/9.5	2
MC4100	参比	1	4	---	8-16	---	---
ATCC 35150	O157:H7	1	2	≤ 0.25	2	0.03/0.6	2
d4-OLR-pen10	O157:H7	1	2-4	≤ 0.25	16	0.125/2.4	>32
d25-ALR-pen14	O157:H7	1	2-4	≤ 0.25	16	0.125/2.4	>32
Ec022c	EIEC	1	>64	0.015-0.03	16	>2/38	2
Ec027c	EIEC	1	>64	0.015	16	0.03/0.6	>32
Ec117c	EIEC	1	16	>128	8-16	>2/38	>32
Ec228c	EIEC	1	>64	64	16	>2/38	4
Ec119c	EIEC	2	>64	32	16	>2/38	>32

化合物 V 和 XV 的杀菌活性。在时间-杀菌研究中评价实施例 I 的化合物 V 和实施例 VII 的化合物 XV 抗金黄色葡萄球菌和/或大肠杆菌的(分别为附图 1 和 2)。结果证实化合物 V 和 VII 在 2 小时内对测试菌株具有强烈杀菌作用。化合物 V 在其相应的对两种类的 MIC 或多个 MIC 下优于环丙沙星。化合物 V 类似地对金黄色葡萄球菌 MRSA COL 菌株具有杀菌作用,表明它也能够杀灭对常用抗生素产生耐药性的细菌(数据未显示)。

化合物 V 的体内活性。化合物 V 在体内具有活性。附图 3 中报导了小鼠中感染的金黄色葡萄球菌性腹膜炎模型的结果。结果清楚地表明化合物 V 显著减少了肾中活细菌的存在。这一重要结果证实了化合物 V 的口服生物利用度及其在体内相对低的毒性。

化合物 V 和 XV 的溶解性。评价化合物在水中的溶解程度。化合物 V 在 0.25 mg/ml 浓度下溶于水(未见颗粒),而化合物 XV 比其更易溶 4 倍 (即 1 mg/ml)。

将本文上下文中引述的所有专利、专利申请和公开文献引入本文作为

参考。

尽管已经参照某些具体实施方案并在下列实施例中描述了本发明，但是应理解本发明并不限于此，因为可以对其中进行改变和修改，这些修改和改变属于后附权利要求的完整和预计的范围。

实施例 I (化合物 V)、实施例 VII (化合物 XV) 和环丙沙星抗金黄色葡萄球菌 ATCC 29213 的时间-杀菌曲线

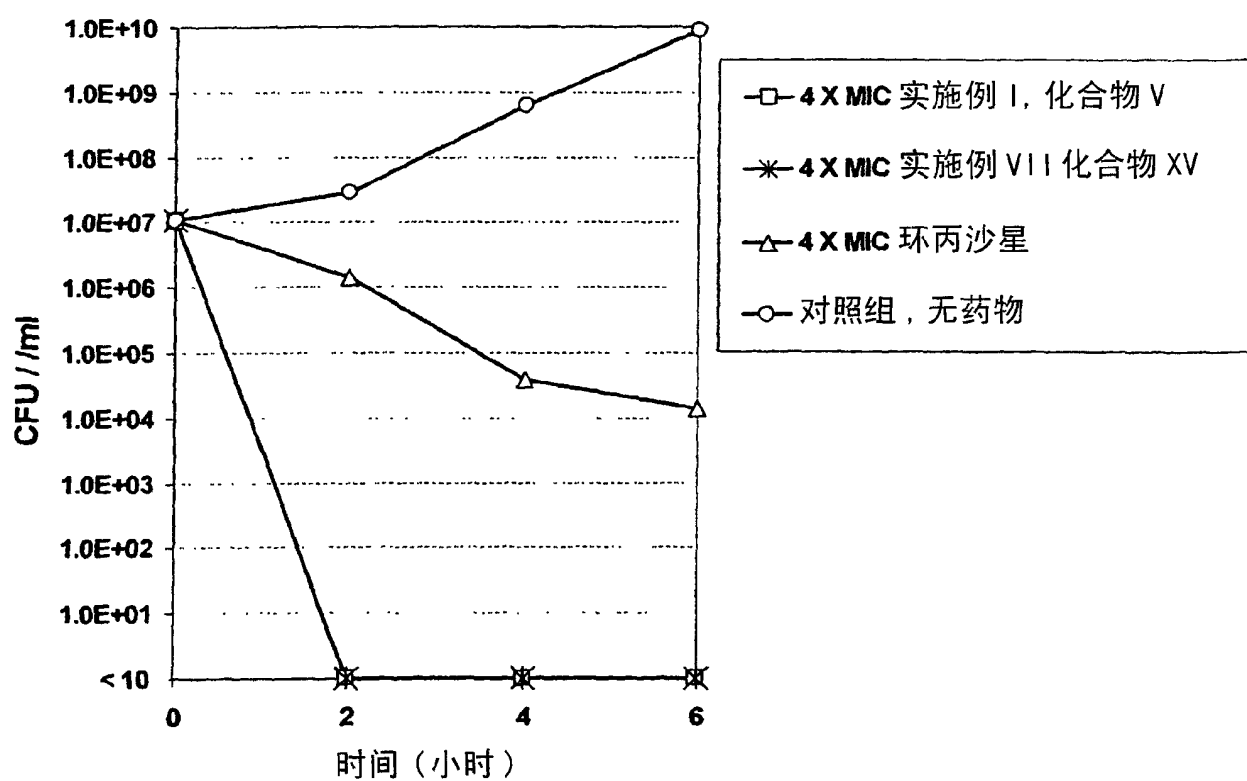


图 1

实施例 I (化合物 V) 和环丙沙星抗大肠杆菌 ATCC 25922 的时间-杀菌曲线

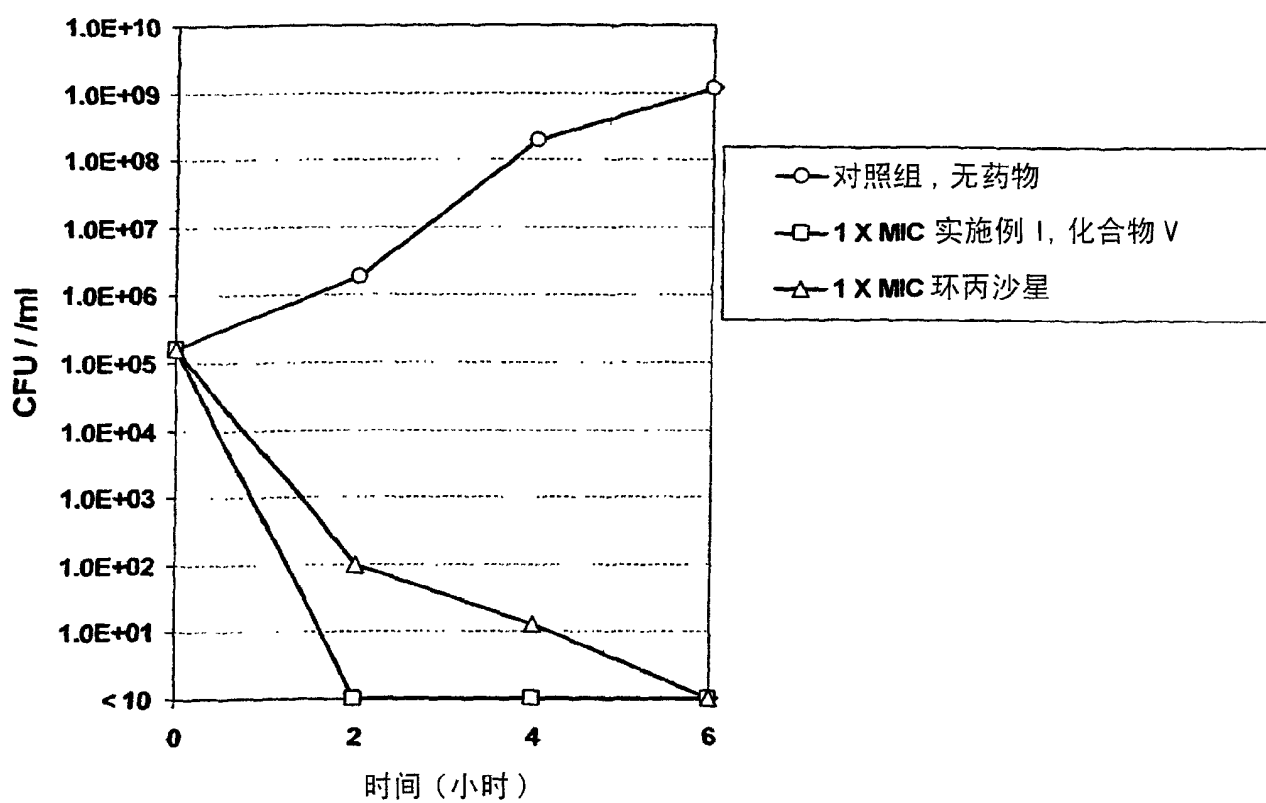


图 2

实施例 I 化合物在小鼠金黄色葡萄球菌全身感染模型中的体内活性

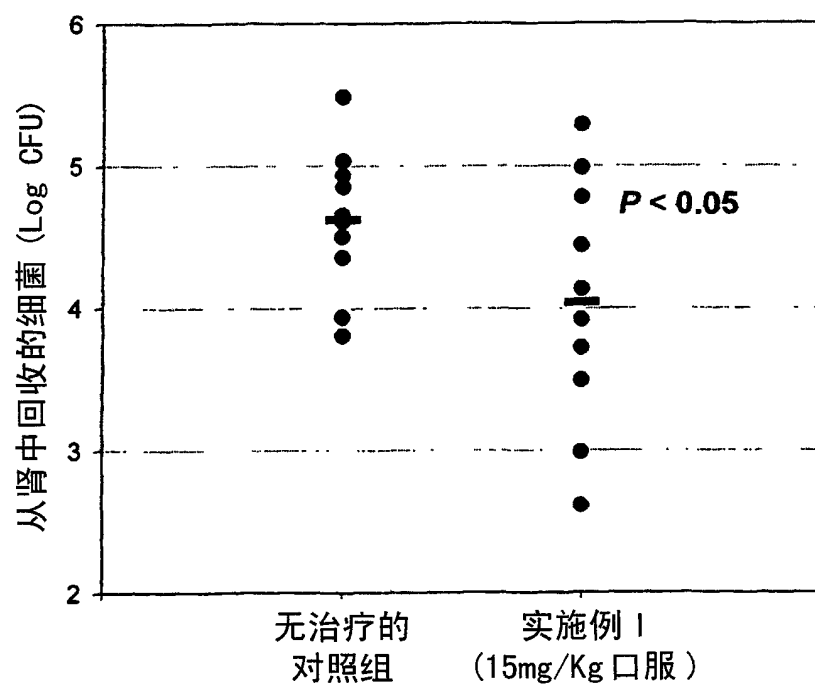


图 3