

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C07D501/24

G01N 21/77

G01N 31/22

G01N 33/569



[12] 发 明 专 利 说 明 书

专利号 ZL 01819079.0

[45] 授权公告日 2005 年 11 月 2 日

[11] 授权公告号 CN 1225468C

[22] 申请日 2001.9.21 [21] 申请号 01819079.0

[30] 优先权

[32] 2000. 9. 22 [33] JP [31] 288719/00

[86] 国际申请 PCT/JP2001/008235 2001.9.21

[87] 国际公布 WO2002/024707 日 2002.3.28

[85] 进入国家阶段日期 2003.5.19

[71] 专利权人 全药工业株式会社

地址 日本东京都

[72] 发明人 川岛诚一郎 山崎宏亮 原田秀范

平松启一 花木秀明

审查员 杨 轶

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

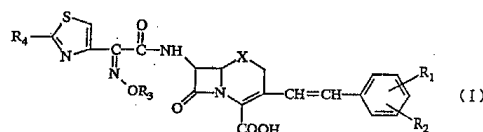
代理人 郭广迅

权利要求书 2 页 说明书 17 页

[54] 发明名称 头孢烯化合物以及含有该化合物的
ESBL 检测试剂

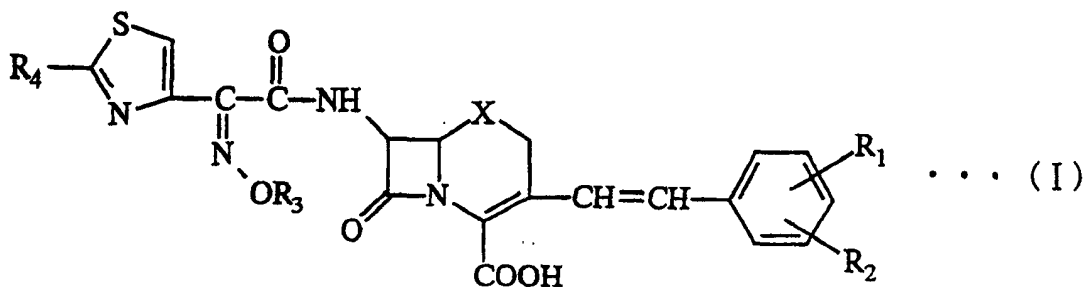
[57] 摘要

通式(I)所示的头孢烯化合物或其药学上可接受的盐: 其中 R_1 、 R_2 可以相同或不同, 为氢原子、硝基或氰基; R_3 表示可被羧基取代的 $C_1 - C_6$ 烷基; R_4 表示氢原子或氨基; X 表示 -S- 或 -SO-; 条件是 R_1 和 R_2 不同时为氢原子。



ISSN 1008-4274

1. 通式(I)所示的头孢烯化合物或其药学上可接受的盐,



5 式中, R_1 、 R_2 可以相同或不同, 表示氢原子、硝基或氰基; R_3 表示可被羧基取代的 C_1 - C_6 烷基; R_4 表示氢原子或氨基; X 表示-S-或-SO-; 条件是 R_1 、 R_2 不同时为氢原子。

2. 权利要求 1 的化合物, 其中 X 为-S-。

3. 权利要求 1 的化合物, 其中 R_3 为可被羧基取代的甲基或被羧基取代的丙基。

4. 权利要求 1 的化合物, 其中 R_4 为氨基。

5. 权利要求 1 的化合物, 其中 X 为-S-, R_3 为可被羧基取代的甲基或被羧基取代的丙基, R_4 为氨基。

6. 权利要求 1 的化合物, 其中通式(I)所示化合物为下列化合物:

15 7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-(1-羧基-1-甲基乙氧基亚氨基)乙酰氨基]-3-(2,4-二硝基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸、

7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-(1-羧基-1-甲基乙氧基亚氨基)乙酰氨基]-3-(4-硝基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸、

20 7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-(1-羧基-1-甲基乙氧基亚氨基)乙酰氨基]-3-(4-氰基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸、

7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-甲氧基亚氨基乙酰氨基]-3-(4-硝基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸、

7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-羧基甲氧基亚氨基乙酰氨基]-3-(2,4-二硝基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸或

7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-羧基甲氧基亚氨基乙酰氨基]-3-(4-硝基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸。

7. 权利要求 1 的化合物，其中通式(I)所示化合物为 7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-(1-羧基-1-甲基乙氧基亚氨基)乙酰氨基]-3-(2,4-二硝基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸。

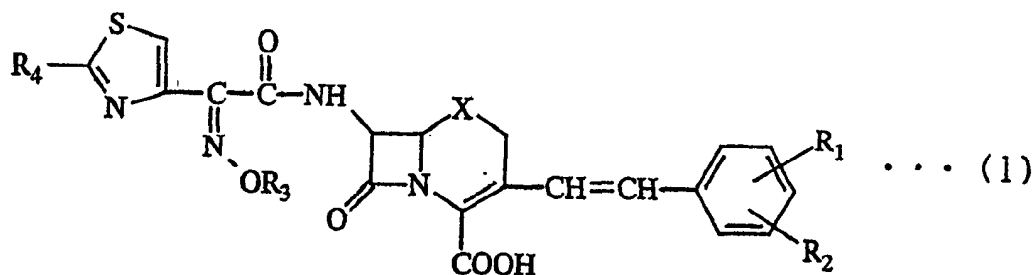
8. 权利要求 1 的化合物，其中通式(I)所示化合物为 7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-羧基甲氧基亚氨基乙酰氨基]-3-(2,4-二硝基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸。

9. 底物范围扩大的 β -内酰胺酶的检测试剂，该试剂含有权利要求 1-8 中任一项的化合物作为显色成分。

头孢烯化合物以及含有该化合物的 ESBL 检测试剂

5 技术领域

本发明涉及一种新型头孢烯化合物，该化合物可用于检测产生底物范围扩大的(extended-spectrum) β -内酰胺酶(ESBL)的细菌，第三代头孢烯抗生素对该产ESBL菌无效。具体而言，本发明涉及通式(I)



10 [式中, R_1 、 R_2 可以相同或不同, 表示氢原子、硝基或氰基; R_3 表示可被羧基取代的 C_1 - C_6 烷基; R_4 表示氢原子或氨基; X 表示-S-或-SO-。条件是 R_1 、 R_2 不同时为氢原子。]所示的可用于检测产 ESBL 菌的头孢烯化合物或其药学上可接受的盐。

15 背景技术

从 20 世纪 80 年代中期以来, 欧洲以及随后的美国开始出现由产生 ESBL 的肺炎杆菌、大肠杆菌所引起的医院感染, 最近在我国也出现了这些细菌逐渐增加的趋势。

ESBL 甚至可以水解对传统型 β -内酰胺酶稳定的广谱第三代 β -内酰胺抗菌药如头孢氨噻肟(CTX)、头孢他定(CAZ)和氨曲南(AZT)等,降低这些药物的敏感性。将这些药物持续投给产生这种 ESBL 的细菌,不仅没有治愈的希望,反而可能会出现产 ESBL 菌蔓延、出现新的耐药菌的危险。

因此，需要通过适当且迅速的检测方法鉴定出产 ESBL 菌，注意使用适当的抗生素药物。

现在的 ESBL 检测法例如有：1) 在棒酸(CVA)存在或不存在下，测定对 CTX、CAZ、AZT 的 MIC 的方法；2) 放置 CVA 与 CTX、CAZ 或 AZT 的 2 种纸片，观察其抑菌环的双纸片法；3) 分别使用 CAZ 和 CAZ/CVA 的 MIC 比进行的 E-测试法等。

5 但现状是在任何情况下，为了判断是否为产 ESBL 菌都需要通过药物易感性试验测定 MIC，这就需要数日来进行细菌的培养分离，从而无法迅速作出判断。因此，希望有这样一种方法，它不需要发

炎菌培养以外的特别操作或机器，并且用短于 MIC 测定期间的时间即可完成检测。

10 作为青霉素酶(PCase)、头孢菌素酶(CEPase)等传统型 β -内酰胺酶的迅速检测法，与底物的 β -内酰胺环分解相伴，有例如下述方法：

(1) 以 pH 指示剂的颜色变化表示 pH 变化的酸量法(acidmetry)；(2) 以淀粉碘化物反应的颜色变化进行指示的碘量法；(3) 以直接可见区的吸收变化指示共轭体系变化的显色法；(4) 以紫外区的吸收变化指示

15 共轭体系变化的 UV 法等。从敏感性和不需要特别的测定设备的角度出发，可以说显色法最易于使用。实际上，市场上已经有以头孢硝噻吩(特公昭 56-18197、USP3830700、GB1408391)为底物的利用显色法的产品出售，但由于该产品与所有 β -内酰胺酶反应，因而根本无望将其选择性地用于产 ESBL 菌。

20

发明的公开

25 鉴于这些情况，本发明者们为了迅速检测出 ESBL，对仅选择性分解 ESBL 的 β -内酰胺化合物的合成进行了潜心研究，结果发现通式(I)所示新 β -内酰胺化合物具有在显色法中成为能够在可见光下检出的底物的理想特性，从而完成了本发明。

本发明的化合物用前述通式(I)表示，下面对用于该式中各符号定义的语句意思和例子进行说明。

“C₁-C₆”如果没有限定则是指具有 1-6 个碳原子数的基团。

“C₁-C₆ 烷基”是指甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、正戊基、正己基等直链或支链烷基。

为了使本发明化合物(I)在β-内酰胺环分解时产生由共轭体系变化而引起的可见区吸收变化, 要求 R₁ 或 R₂ 取代基中至少一方为吸电子基团硝基或氰基。从而 R₁ 和 R₂ 不同时为氢原子。

本发明化合物可以例举下列化合物, 但本发明化合物并不限于这些化合物。

1. 7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-(1-羧基-1-甲基乙氧基亚氨基)乙酰氨基]-3-(2,4-二硝基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸
2. 7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-(1-羧基-1-甲基乙氧基亚氨基)乙酰氨基]-3-(2,6-二硝基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸
3. 7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-(1-羧基-1-甲基乙氧基亚氨基)乙酰氨基]-3-(4-硝基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸
4. 7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-(1-羧基-1-甲基乙氧基亚氨基)乙酰氨基]-3-(2,4-二氰基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸
5. 7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-(1-羧基-1-甲基乙氧基亚氨基)乙酰氨基]-3-(4-氰基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸
6. 7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-(1-羧基-1-甲基乙氧基亚氨基)乙酰氨基]-3-(2-氰基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸
7. 7-[2-(1-羧基-1-甲基乙氧基亚氨基)-2-(噻唑-4-基)乙酰氨基]-3-(2,4-二硝基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸
8. 7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-(1-羧基-1-甲基乙氧基亚氨基)乙酰氨基]-3-(2,4-二硝基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸-1-氧化物
9. 7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-甲氧基亚氨基乙酰氨基]-3-(4-硝基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸
10. 7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-甲氧基亚氨基乙酰氨基]-3-(2,4-二氰基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸
11. 7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-甲氧基亚氨基乙酰氨基]-3-(2,6-二氰基苯

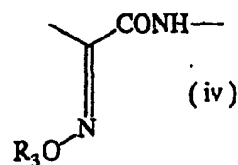
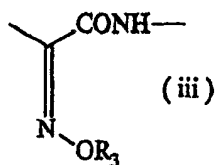
乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸

12. 7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-甲氧基亚氨基乙酰氨基]-3-(2-氰基苯乙
烯基)-3-头孢烯-4-羧酸
13. 7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-羧基甲氧基亚氨基乙酰氨基]-3-(2,4-二硝
基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸
14. 7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-羧基甲氧基亚氨基乙酰氨基]-3-(2,6-二硝
基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸
15. 7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-羧基甲氧基亚氨基乙酰氨基]-3-(4-硝基
苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸
16. 7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-羧基甲氧基亚氨基乙酰氨基]-3-(2-硝基
苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸
17. 7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-羧基甲氧基亚氨基乙酰氨基]-3-(2,4-二硝
基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸
18. 7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-羧基甲氧基亚氨基乙酰氨基]-4-(4-氰基
苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸
19. 7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-羧基甲氧基亚氨基乙酰氨基]-4-(2-氰基
苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸
20. 7-[2-羧基甲氧基亚氨基-2-(噻唑-4-基)乙酰氨基]-3-(2,4-二硝基苯乙
烯基)-3-头孢烯-4-羧酸
21. 7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-羧基甲氧基亚氨基乙酰氨基]-3-(2,4-二硝
基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸-1-氧化物。

由于通式(I)的化合物在其结构中 3 位上具有乙烯基, 因而存在下示顺式异构体(i)和反式异构体(ii), 各异构体及其混合物都包括在本发明化合物中。



7 位的亚氨基存在下示顺式异构体(iii)和反式异构体(iv), 各异构体及其混合物都包括在本发明化合物中, 但优选顺式异构体。



(式中, R_3 与上述定义相同)。

此外, 本发明化合物也可以是其药理学上可接受的盐的形式, 如碱盐、有机铵盐或酸加成盐。适当的碱盐的例子有钾盐、钠盐、钙盐、镁盐、钡盐或铵盐; 适当的酸加成盐的例子有无机酸盐例如盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐、硝酸盐、磷酸盐等, 有机酸盐例如乙酸盐、草酸盐、丙酸盐、甘醇酸盐、乳酸盐、丙酮酸盐、丙二酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、富马酸盐、苹果酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、苯甲酸盐、桂皮酸盐、甲磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐、水杨酸盐等。

本发明化合物可以通过下述方法进行制备。

本发明的化合物(I)可以通过在溶剂中, 在盐酸、氯化铝、甲酸、三氟乙酸、对甲苯磺酸等脱保护剂的存在下, 除去合成中间体(7)的保护基而得到。溶剂可以使用四氢呋喃(THF)、二氯甲烷、氯仿、苯、乙酸乙酯、二甲基甲酰胺(DMF)、丙酮或它们的混合溶剂。相对于 1 摩尔(7)化合物使用 1-200 倍摩尔的上述酸, 在冰冷却至室温的温度范围内进行 1-6 小时反应。但是, 在使用三氟乙酸的情况下, 为了促进反应、抑制副反应, 最好在茴香醚、茴香硫醚或苯酚的存在下进行反应。

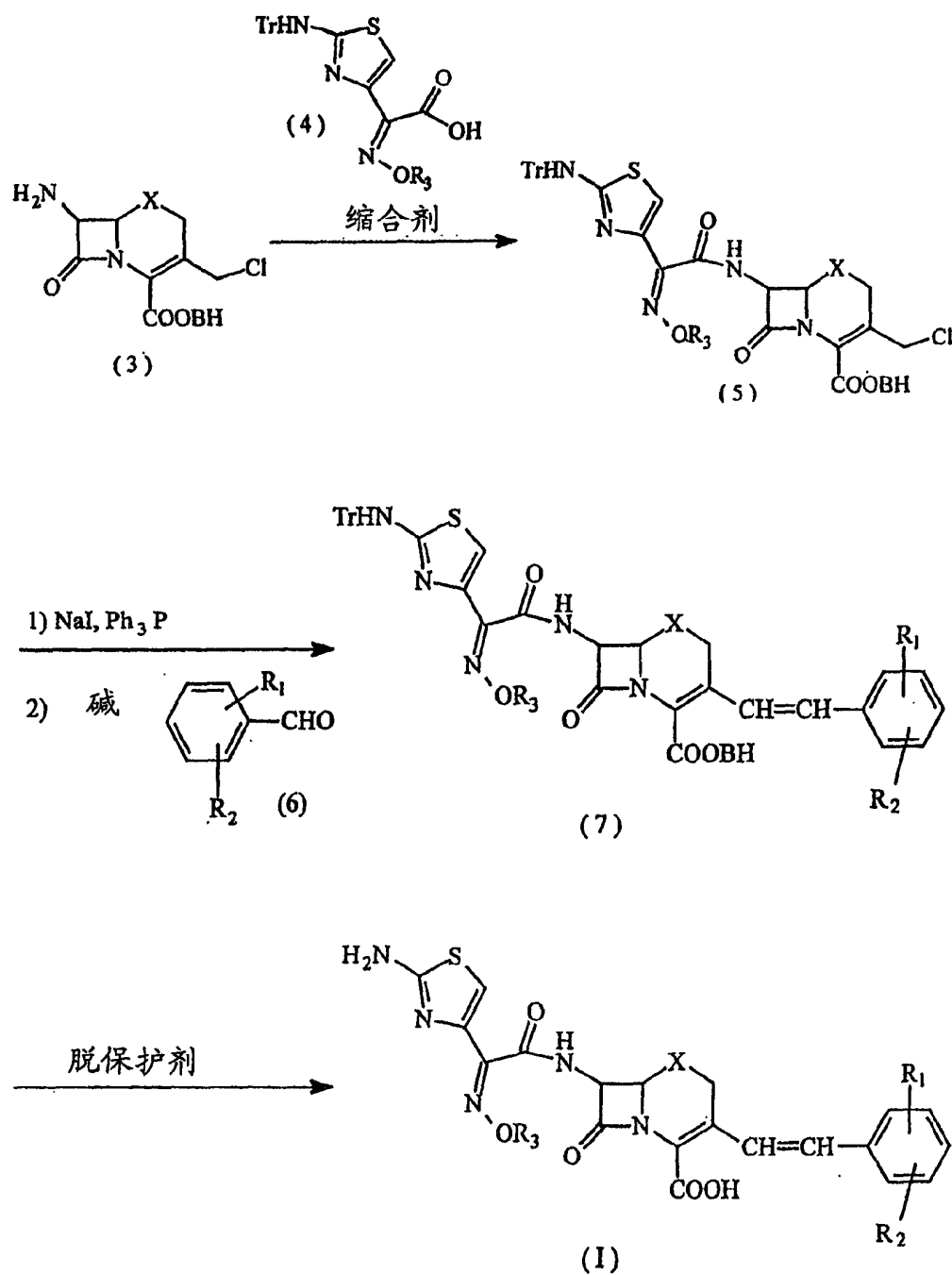
这样获得的本发明化合物根据需要可以通过常规手段例如萃取、浓缩、中和、过滤、重结晶、柱层析等进行分离提纯。

合成中间体(7)可以通过下述反应式 1 的方法获得。即, 通过使通式(3)的 7-氨基-3-氯甲基头孢烯化合物与通式(4)的 2-氨基噻唑羧酸在二氯甲烷、DMF、THF 等溶剂中, 在二环己基碳化二亚胺、 N,N' -羰基二咪唑等缩合剂的存在下, 在 -20°C - $+40^{\circ}\text{C}$ 的温度下反应 1-24 小时, 可以获得通式(5)的化合物。随后, 通过使通式(5)的化合物在

溶剂中与碘化钠和三苯膦反应 1-6 小时后，在碱的存在下，使其与通式(6)的醛反应，可以获得化合物(7)。

- 5 溶剂可以使用丙酮、二氯甲烷、二氯甲烷-水混合溶剂、DMF、THF、苯、乙酸乙酯等。碱可以使用碳酸氢钠、碳酸钠、氢氧化钠、叔丁醇钾、乙醇钠、甲醇钠等无机碱，另外还可以使用 1,8-二氮杂双环[5.4.0]-7-十一碳烯(DBU)、1,5-二氮杂双环[4.3.0]壬-5-烯(DBN)等有机碱。

反应式 1



(式中, R_1 、 R_2 、 R_3 和 X 定义同前)

5 [试验例]

下面公开通式(I)所示本发明化合物对 β -内酰胺酶类的反应性,以说明其作为检测试剂的有用性。试验例所示受验化合物编号与后

述实施例的化合物编号相对应。另外，使用β-内酰胺酶的非特异性检测试剂头孢硝噻吩[化合物 A: 3-(2,4-二硝基苯乙烯基)-7-(2-噻吩基乙酰氨基)-3-头孢烯-4-羧酸]作为比较化合物。

5 试验例 1)

 将受验化合物溶解于二甲基亚砜中，将直径 8 mm 的滤纸片浸渍其中，然后风干，使其每片含有 5 μg 或 25 μg 受验化合物。向这些滤纸片滴加 50 μl 用蒸馏水配制成 1U/ml 浓度的β-内酰胺酶类的溶液，观察放置 10 分钟后的色调变化，将各受验化合物对β-内酰胺酶类的反应性记载于下表 1 中。

表 1 对β-内酰胺酶类的反应性

受验化合物	含量(μg/片)	PCase	CEPase	ESBL	色调变化
化合物 1	5	-	-	++	淡黄色→红色
化合物 2	5	-	-	+	淡黄色→橙色
化合物 3	25	-	-	+	淡黄色→黄橙色
化合物 4	5	-	-	++	淡黄色→橙色
化合物 5	5	-	-	++	淡黄色→红色
化合物 6	5	-	-	++	淡黄色→橙色
化合物 A	5	++	++	++	淡黄色→红色
-: 阴性		+: 阳性		++: 强阳性	

 PCase 为分离自 B.cereus 的酶(Sigma Chemical Co.产品: PCase Type I); CEPase 为分离自 E.cloacae 的酶(Sigma Chemical Co.产品: CEPase Type IV)。

 由上表 1 的结果可知，本发明化合物对传统型β-内酰胺酶 PCase、CEPase 不反应，而对 ESBL 则是在短时间内反应，从淡黄色变成黄橙色至红色，由此判断本发明化合物可用于 ESBL 的选择性检测，而这是作为传统型β-内酰胺酶检测试剂的比较化合物所无法检测的。

 将本发明化合物(I)用于 PCase、CEPase 或产 ESBL 菌时也得到

同样的结果，因此有望将其用作产 ESBL 菌检测试剂。

当将本发明化合物(I)用作产 ESBL 菌检测试剂时，检测用样本不仅可以用分离培养的菌株，而且可以充分利用咳痰的菌增殖培养物。

5 将本发明化合物用作 ESBL 检测试剂时，迅速检测出 ESBL 存在的方法如下：将本发明化合物溶于 N,N-二甲基甲酰胺、二甲基亚砷等溶剂中，浸渍滤纸、葡聚糖等白色或淡色的吸收性纤维素片状物，向这些浸渍片上滴加 5-10 μ l 培养菌液，观察 10 分钟后或最长 30 分钟后的色调变化，即可容易地判定是否有 ESBL 存在。这种情况下，
10 更优选由反应前的本发明的颜色为淡黄色变成红色或橙色等深颜色。

本发明化合物的特征在于伴随着 β -内酰胺环的分解在短时间内显色，所以不需要 UV-VIS 分光光度计等光学测定仪器即可进行判定，从而可用作 ESBL 的简易型迅速检测试剂。

15 另外，通过使检测试剂的浓度、检测用样本的培养时间标准化，可进行定量测定。

因此，本发明还涉及底物范围扩大的 β -内酰胺酶的检测试剂，该试剂含有本发明的化合物作为显色成分。

20 实施发明的最佳方式

下面举出本发明的实施例进行更具体的说明，但本发明并不限于这些实施例。

25 实施例 1) 7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-(1-羧基-1-甲基乙氧基亚氨基)乙酰氨基]-3-(2,4-二硝基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸(化合物 1)的制备

(1) 将 940 mg(0.97 mmol)的 7-[2-(1-甲基-1-叔丁氧基羰基乙氧基亚氨基)-2-(2-三苯甲基氨基噻唑-4-基)乙酰氨基]-3-氯甲基-3-头孢烯-4-羧酸二苯甲酯溶于 10 ml 丙酮中，加入 145.4 mg(0.97 mmol)碘化钠和 254.4 mg(0.97 mmol)三苯膦，在室温下搅拌 1 小时。减压浓缩
30 丙酮至半量，加入 10 ml 二氯甲烷、10 ml 水、760.9 mg(3.88 mmol) 2,4-

二硝基苯甲醛和 244.4 mg(2.91 mmol)碳酸氢钠, 在室温下搅拌过夜。取出二氯甲烷层, 再将水层用 20 ml 二氯甲烷萃取, 与先前的二氯甲烷层合并, 用硫酸镁干燥。向过滤后的滤液中加入 10 g Wako Gel™ C-200, 减压馏去溶剂使之吸附, 通过填充了 Wako Gel™ C-200 的干柱层析, 用 400 ml 己烷-乙酸乙酯(4:1)除去杂质, 随后用己烷-乙酸乙酯(1:1)洗脱出目的物质。减压馏去溶剂, 用己烷-乙醚(1:1)使残余物结晶, 得到 730 mg(收率 67.7%)橙色粉末状的 7-[2-(1-甲基-1-叔丁氧基羰基乙氧基亚氨基)-2-(2-三苯甲基氨基噻唑-4-基)乙酰氨基]-3-(2,4-二硝基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸二苯甲酯。

10 NMR 谱显示该试料为 Z-异构体。

¹H-NMR (CDCl₃) δ:

1. 36(3H, s), 1. 37(3H, s), 1. 41(9H, s), 2. 92(1H, d, J=18. 3Hz), 3. 27(1H, d, J=18. 3Hz), 5. 04(1H, d, J=5. 0Hz), 6. 05(1H, dd, J=8. 6Hz, 5. 0Hz), 6. 70(1H, s), 6. 80(1H, d, J=13. 0Hz), 6. 84(1H, d, J=13. 0Hz), 6. 89(1H, br), 6. 93(1H, s), 7. 2-7. 4(25H, m), 7. 47(1H, d, J=8. 6Hz), 8. 19(1H, d, J=8. 6Hz), 8. 29(1H, dd, J=8. 6Hz, 2. 3Hz), 8. 85(1H, d, J=2. 3Hz)

15 (2) 在冰冷却条件下, 向 500 mg(0.45 mmol)所得化合物和 1 ml(9.0 mmol)茴香醚的混合物中滴加 5.2 ml(67.5 mmol)三氟乙酸, 在该温度下搅拌 2.5 小时。加入 50 ml 异丙醚, 过滤得到生成的沉淀物, 用异丙醚洗涤、干燥, 得到 160 mg(收率 46.7%)黄色粉末状的题述化合物。

NMR 谱显示该试料为 E-异构体。

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ :

1. 48(3H, s), 1. 49(3H, s), 3. 75(1H, d, J=17. 5Hz), 4. 09(1H, d, J=17. 5Hz), 5. 30(1H, d, J=5. 0Hz), 5. 90(1H, dd, J=8. 2Hz, 5. 0Hz), 6. 78(1H, s), 7. 17(1H, d, J=16. 5Hz), 7. 60(1H, d, J=16. 5Hz), 7. 70(2H, d, J=8. 7Hz), 8. 23(2H, d, J=8. 7Hz), 9. 62(1H, d, J=8. 2Hz)

20

实施例 2) 7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-(1-羧基-1-甲基乙氧基亚氨基)乙酰氨基]-3-(4-硝基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸(化合物 2)的制备

(1) 由 775 mg(0.8 mmol) 7-[2-(1-甲基-1-叔丁氧基羰基乙氧基亚氨基)-2-(2-三苯甲基氨基噻唑-4-基)乙酰氨基]-3-氯甲基-3-头孢烯-4-羧酸二苯甲酯、120 mg(0.8 mmol)碘化钠、210 mg(0.8 mmol)三苯膦和 483 mg(3.2 mmol)4-硝基苯甲醛、200 mg(2.4 mmol)碳酸氢钠, 通过与实施例 1) (1)同样的操作, 制得 568 mg(收率 66%)黄色粉末状的 7-[2-(1-甲基-1-叔丁氧基羰基乙氧基亚氨基)-2-(2-三苯甲基氨基噻唑-4-基)乙酰氨基]-3-(4-硝基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸二苯甲酯。

10 NMR 谱显示该试料为 Z-异构体和 E-异构体的混合物(约 3:1)。

¹H-NMR(CDCl₃) δ :

(Z-异构体)

1.43(9H, s), 1.61(3H, s), 1.63(3H, s), 3.11(1H, d, J=18.3Hz), 3.32(1H, d, J=18.3Hz), 5.08(1H, d, J=5.1Hz), 6.09(1H, dd, J=8.7Hz, 5.1Hz), 6.58(1H, d, J=12.2Hz), 6.65(1H, d, J=12.2Hz), 6.73(1H, s), 6.88(1H, br), 6.92(1H, s), 7.2-7.5(27H, m), 8.14(1H, d, J=8.6Hz), 8.27(1H, d, J=8.7Hz)

(E-异构体)

1.41(9H, s), 1.60(6H, s), 3.64(1H, d, J=17.5Hz), 3.77(1H, d, J=17.5Hz), 5.14(1H, d, J=5.1Hz), 6.04(1H, dd, J=8.7Hz, 5.1Hz), 6.74(1H, d, J=16.3Hz), 6.75(1H, s), 6.73(1H, s), 6.88(1H, br), 6.92(1H, s), 7.2-7.5(27H, m), 8.14(1H, d, J=8.6Hz), 8.27(1H, d, J=8.7Hz)

15 (2) 用 400 mg(0.38 mmol)所得化合物、1 ml(9.0 mmol)茴香醚和 5 ml 三氟乙酸, 通过与实施例 1) (2)同样的方法, 制得 175 mg(收率 65%)黄色粉末状的题述化合物。

NMR 谱显示该试料为 Z-异构体和 E-异构体的混合物(约 3:1)。

20 ¹H-NMR(DMSO-d₆) δ :

(Z-异构体)

1.43(3H, s), 1.47(3H, s), 3.16(1H, d, J=17.5Hz), 3.59(1H, d, J=17.5Hz),

5.31(1H, d, J=5.0Hz), 5.86(1H, dd, J=8.1Hz, 5.0Hz), 6.66(1H, d, J=12.2Hz), 6.72(1H, d, J=12.2Hz), 6.77(1H, s), 7.52(2H, d, J=8.7Hz), 8.16(2H, d, J=8.7Hz), 9.45(1H, d, J=8.1Hz)

(E-异构体)

1.48(3H, s), 1.49(3H, s), 3.75(1H, d, J=17.5Hz), 4.09(1H, d, J=17.5Hz), 5.30(1H, d, J=5.0Hz), 5.90(1H, dd, J=8.2Hz, 5.0Hz), 6.78(1H, s), 7.17(1H, d, J=16.5Hz), 7.60(1H, d, J=16.5Hz), 7.70(2H, d, J=8.7Hz), 8.23(2H, d, J=8.7Hz), 9.52(1H, d, J=8.2Hz)

5 实施例3) 7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-(1-羧基-1-甲基乙氧基亚氨基)乙酰氨基]-3-(4-氟基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸(化合物3)的制备

(1) 由 775 mg(0.8 mmol) 7-[2-(1-甲基-1-叔丁氧基羰基乙氧基亚氨基)-2-(2-三苯甲基氨基噻唑-4-基)乙酰氨基]-3-氟甲基-3-头孢烯-4-羧酸二苯甲酯、120 mg(0.8 mmol)碘化钠、210 mg(0.8 mmol)三苯膦、
10 428 mg(3.2 mmol)4-氟基苯甲醛和 200 mg(2.4 mmol)碳酸氢钠, 通过与实施例1)(1)同样的操作, 制得 464 mg(收率 55%)奶油色粉末状的 7-[2-(1-甲基-1-叔丁氧基羰基乙氧基亚氨基)-2-(2-三苯甲基氨基噻唑-4-基)乙酰氨基]-3-(4-氟基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸二苯甲酯。

NMR 谱显示该试料为 Z-异构体和 E-异构体的混合物(约 1:1)。

15 ¹H-NMR (CDCl₃) δ:

(Z-异构体)

1.43(9H, s), 1.60(6H, s), 3.10(1H, d, J=18.1Hz), 3.30(1H, d, J=18.1Hz), 5.08(1H, d, J=5.0Hz), 6.0-6.1(1H, m), 6.57(2H, d × 2, J=12.2Hz),
11 6.73(1H, s), 6.89(1H, br), 6.92(1H, s), 7.2-7.6(29H, m), 8.18(1H, d, J=8.7Hz)

(E-异构体)

1.41(9H, s), 1.61(6H, s), 3.63(1H, d, J=17.5Hz), 3.75(1H, d, J=17.5Hz),
5.14(1H, d, J=5.0Hz), 6.0-6.1(1H, m), 6.75(1H, s), 6.89(1H, br),
7.07(1H, s), 7.2-7.6(31H, m), 8.25(1H, d, J=8.7Hz)

(2) 用 398 mg(0.38 mmol)该化合物、1 ml(9.0 mmol)茴香醚和
5 5 ml(67.5 mmol)三氟乙酸, 通过与实施例 1)(2)同样的方法, 制得 154
mg(收率 58%)奶油色粉末状的题述化合物。

NMR 谱显示该试料为 Z-异构体和 E-异构体的混合物(1:1)。

实施例 4) 7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-甲氧基亚氨基乙酰氨基]-3-(4-
10 硝基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸(化合物 4)的制备

(1) 由 395 mg(0.47 mmol) 7-[2-甲氧基亚氨基-2-(2-三苯甲基氨基
噻唑-4-基)乙酰氨基]-3-氯甲基-3-头孢烯-4-羧酸二苯甲酯、70
mg(0.47 mmol)碘化钠、123 mg(0.47 mmol)三苯膦、284 mg(1.88
mmol)4-硝基苯甲醛和 120 mg(1.4 mmol)碳酸氢钠, 通过与实施例 1)
15 (1)同样的方法, 制得 242 mg(收率 55%)黄色粉末状的 7-[2-甲氧基亚
氨基-2-(2-三苯甲基氨基噻唑-4-基)乙酰氨基]-3-(4-硝基苯乙烯基)-3-
头孢烯-4-羧酸二苯甲酯。

NMR 谱显示该试料为 Z-异构体和 E-异构体的混合物(约 2:1)。

¹H-NMR(CDCl₃) δ :

20 (Z-异构体)

3.12(1H, d, J=18.3Hz), 3.35(1H, d, J=18.3Hz), 4.07(3H, s), 5.09(1H,
d, J=4.9Hz), 5.9-6.0(1H, m), 6.62(2H, d×2, J=12.0Hz), 6.74(1H, s),
6.79(1H, d, J=8.9Hz), 6.93(1H, s), 7.02(1H, br), 7.2-7.5(27H, m),
8.16(2H, d, J=8.9Hz)

(E-异构体)

3.66 (1H, d, J=17.5Hz), 3.79 (1H, d, J=17.5Hz), 4.09 (3H, s), 5.15 (1H, d, J=5.0Hz), 5.9-6.0 (1H, m), 6.75 (1H, d, J=16.3Hz), 6.76 (1H, s), 6.88 (1H, d, J=8.6Hz), 7.09 (1H, s), 7.2-7.5 (27H, m), 7.53 (1H, d, J=16.3Hz), 8.10 (1H, d, J=8.9Hz)

5 (2) 用 210 mg(0.22 mmol)该化合物、0.5 ml(4.5 mmol)茴香醚和 2.5 ml(33.8 mmol)三氟乙酸, 通过与实施例 1) (2)同样的方法, 制得 100 mg(收率 70%)黄色粉末状的题述化合物。

NMR 谱显示该试料为 Z-异构体和 E-异构体的混合物(约 2:1)。

¹H-NMR(DMSO-d₆) δ :

(Z-异构体)

3.18 (1H, d, J=17.8Hz), 3.57 (1H, d, J=17.8Hz), 3.87 (1H, s), 5.28 (1H, d, J=4.8Hz), 5.82 (1H, dd, J=8.2Hz, 4.8Hz), 6.69 (2H, d×2, J=12.0Hz), 6.79 (1H, s), 7.52 (2H, d, J=8.7Hz), 8.16 (2H, d, J=8.7Hz), 9.65 (1H, d, J=8.2Hz)

10

(E-异构体)

3.75 (1H, d, J=17.0Hz), 4.05 (1H, d, J=17.0Hz), 3.89 (1H, s), 5.28 (1H, d, J=4.8Hz), 5.82 (1H, dd, J=8.2Hz, 4.8Hz), 6.60-6.75 (2H, d×2, J=12.0Hz), 6.80 (1H, s), 7.16 (1H, d, J=16.3Hz), 7.61 (1H, d, J=16.3Hz), 7.70 (2H, d, J=8.7Hz), 8.23 (2H, d, J=8.7Hz), 9.71 (1H, d, J=8.2Hz)

15 实施例 5) 7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-羧基甲氧基亚氨基乙酰氨基]-3-(2,4-二硝基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸(化合物 5 的制备)

(1) 由 500 mg(0.53 mmol) 7-[2-叔丁氧基羰基甲氧基亚氨基-2-(2-三苯甲基氨基噻唑-4-基)乙酰氨基]-3-氯甲基-3-头孢烯-4-羧酸二苯甲酯、416 mg(2.12 mmol)2,4-二硝基苯甲醛、79.4 mg(0.53 mmol)碘化钠、
20 139 mg(0.53 mmol)三苯膦和 133.6 mg(1.59 mmol)碳酸氢钠, 通过与实施例 1) (1)同样的方法, 制得 350 mg(收率 61%)黄色粉末状的 7-[2-

羧基甲氧基亚氨基-2-(2-三苯甲基氨基噻唑-4-基)乙酰氨基]-3-(2,4-二硝基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸二苯甲酯。

NMR 谱显示该试料为 Z-异构体。

¹H-NMR(CDCl₃) δ :

1.42(9H, s), 2.94(1H, d, J=18.1Hz), 3.23(1H, d, J=18.1Hz), 4.73(2H, s), 5.04(1H, d, J=5.0Hz), 5.93(1H, dd, J=7.9Hz, 5.0Hz), 6.77(1H, s), 6.82(2H, s), 6.92(1H, s), 6.99(1H, br), 7.2-7.4(25H, m), 7.50(1H, d, J=8.7Hz), 8.31(1H, dd, J=8.7Hz, 2.3Hz), 8.56(1H, d, J=7.9Hz), 8.85(1H, d, J=2.3Hz)

5

(2) 用 238 mg(0.22 mmol)该化合物、0.5 ml(4.5 mmol)茴香醚和 2.5 ml(33.8 mmol)三氟乙酸, 通过与实施例 1) (2)同样的方法, 制得 120 mg(收率 73%)黄色粉末状的题述化合物。

NMR 谱显示该试料为 E-异构体。

¹H-NMR(DMSO-d₆) δ :

3.75(1H, d, J=17.6Hz), 4.00(1H, d, J=17.6Hz), 4.63(2H, s), 5.30(1H, d, J=4.8Hz), 5.90(1H, dd, J=8.1Hz, 4.8Hz), 6.86(1H, s), 7.26(1H, d, J=16.0Hz), 7.56(1H, d, J=16.0Hz), 8.00(1H, d, J=8.7Hz), 8.51(1H, dd, J=8.7Hz, 2.3Hz), 8.74(1H, d, J=2.3Hz), 9.64(1H, d, J=8.1Hz)

10

实施例 6) 7-[2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-羧基甲氧基亚氨基乙酰氨基]-3-(4-硝基苯乙烯基)-3-头孢烯-4-羧酸(化合物 6)的制备

(1) 由 470 mg(0.5 mmol) 7-[2-叔丁氧基羰基甲氧基亚氨基-2-(2-三苯甲基氨基噻唑-4-基)乙酰氨基]-3-氯甲基-3-头孢烯-4-羧酸二苯甲酯、75 mg(0.5 mmol)碘化钠、131 mg(0.5 mmol)三苯膦、302 mg(2 mmol)4-硝基苯甲醛和 126 mg(1.5 mmol)碳酸氢钠, 通过与实施例 1) (1)同样的方法, 制得 260 mg(收率 50%)黄色粉末状的 7-[2-羧基甲氧基亚氨基-2-(2-三苯甲基氨基噻唑-4-基)乙酰氨基]-3-(4-硝基苯乙烯

15

基)-3-头孢烯-4-羧酸二苯甲酯。

NMR 谱显示该试料为 Z-异构体和 E-异构体的混合物(约 2:1)。

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3) \delta$:

(Z-异构体)

1.44(9H, s), 3.12(1H, d, $J=18.3\text{Hz}$), 3.29(1H, d, $J=18.3\text{Hz}$), 4.76(2H, s), 5.09(1H, d, $J=5.0\text{Hz}$), 5.98(1H, dd, $J=8.3\text{Hz}$, 5.0Hz), 6.58(1H, d, $J=12.0\text{Hz}$), 6.65(1H, d, $J=12.0\text{Hz}$), 6.80(1H, s), 6.91(1H, s), 7.00(1H, br), 7.2-7.5(27H, m), 8.15(2H, d, $J=8.7\text{Hz}$), 8.66(2H, d, $J=8.3\text{Hz}$)
(E-异构体)

1.42(9H, s), 3.63(1H, d, $J=17.2\text{Hz}$), 3.76(1H, d, $J=17.2\text{Hz}$), 4.78(2H, s), 5.15(1H, d, $J=5.0\text{Hz}$), 5.92(1H, dd, $J=8.3\text{Hz}$, 5.0Hz), 6.74(1H, d, $J=16.3\text{Hz}$), 6.83(1H, s), 7.00(1H, br), 7.07(1H, s), 7.2-7.5(27H, m), 7.51(1H, d, $J=16.3\text{Hz}$), 8.10(2H, d, $J=8.7\text{Hz}$), 8.79(2H, d, $J=8.3\text{Hz}$)

(2) 用 257 mg(0.25 mmol)该化合物、0.5 ml(4.5 mmol)茴香醚和 2.5 ml(33.8 mmol)三氟乙酸, 通过与实施例 1) (2)同样的方法, 制得 126 mg(收率 73%)黄色粉末状的题述化合物。

NMR 谱显示该试料为 Z-异构体和 E-异构体的混合物(约 2:1)。

$^1\text{H-NMR}(\text{DMSO}-d_6) \delta$:

(Z-异构体)

3.19(1H, d, $J=18.0\text{Hz}$), 3.59(1H, d, $J=18.0\text{Hz}$), 4.61(1H, s), 5.29(1H, d, $J=5.0\text{Hz}$), 5.84(1H, dd, $J=8.3\text{Hz}$, 5.0Hz), 6.60-6.75(2H, d $\times$ 2, $J=12.0\text{Hz}$), 6.83(1H, s), 7.51(2H, d, $J=8.9\text{Hz}$), 8.16(2H, d, $J=8.9\text{Hz}$), 9.57(1H, d, $J=8.3\text{Hz}$)

(E-异构体)

3.75 (1H, d, J=17.2Hz), 4.06 (1H, d, J=17.2Hz), 4.62 (1H, s), 5.29 (1H, d, J=5.0Hz), 5.54 (1H, dd, J=8.6Hz, 5.0Hz), 6.85 (2H, s), 7.16 (1H, d, J=16.3Hz), 7.61 (1H, d, J=16.3Hz), 7.70 (2H, d, J=8.9Hz), 8.23 (2H, d, J=8.9Hz), 9.62 (1H, d, J=8.6Hz)

产业上的可利用性

- 5 本发明的头孢烯化合物由于伴随着 β -内酰胺环的分解在短时间内显色，因而无需 UV-VIS 分光光度计等光学测定仪器即可选择性地检测出 ESBL，从而能够用作 ESBL 的简易型迅速检测试剂。另外，通过使检测试剂的浓度、检测用样本的培养时间标准化，可以进行定量测定。