



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110437157 B

(45) 授权公告日 2022.05.17

(21) 申请号 201910602001.6

CN 105622524 A, 2016.06.01

(22) 申请日 2019.07.05

US 2016333021 A1, 2016.11.17

(65) 同一申请的已公布的文献号

CN 103910664 A, 2014.07.09

申请公布号 CN 110437157 A

CN 104803926 A, 2015.07.29

US 4428953 A, 1984.01.31

(43) 申请公布日 2019.11.12

US 2004024059 A1, 2004.02.05

(73) 专利权人 西华大学

衣云鹏.《截短侧耳素类衍生物的合成、结构鉴定与生物活性研究》.《中国博士学位论文全文数据库(电子期刊)-农业科技辑》.2019,

地址 610039 四川省成都市金牛区土桥金周路999号

刘东良等.《截短侧耳类药物耐药机制研究进展》.《畜牧与兽医》.2017,第49卷(第2期),

(72) 发明人 张园园 谢川 雍灿 余晚晴

何倩 曹宇龙 黄本成

骆健.《含苯基哌嗪侧链的截短侧耳素衍生物设计、合成及抑菌机制研究》.《中国优秀硕士学位论文全文数据库(电子期刊)-医药卫生科技辑》.2017,

(51) Int. Cl.

C07D 239/42 (2006.01)

C07D 409/04 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

Simon F. Nielsen.《Cationic Chalcone Antibiotics. Design, Synthesis, and Mechanism of Action》.《J. Med. Chem》.2005,(第48期),

(56) 对比文件

CN 105837530 A, 2016.08.10

US 2017305883 A1, 2017.10.26

CN 101538254 A, 2009.09.23

审查员 杨谔

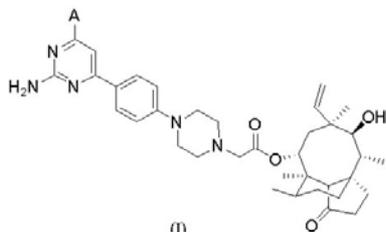
权利要求书3页 说明书7页

(54) 发明名称

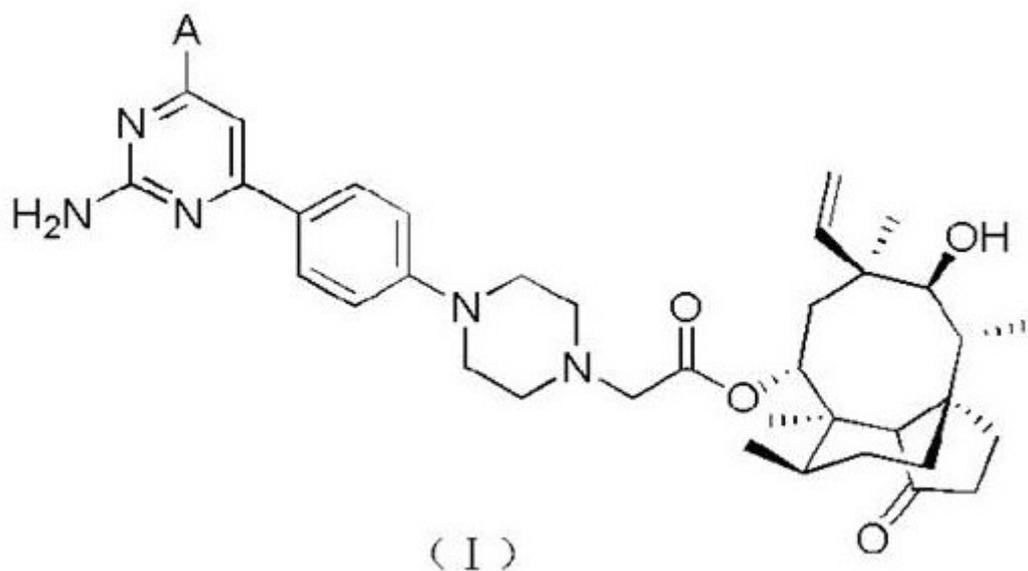
一种芳基嘧啶类截短侧耳素衍生物及其制备方法和用途

(57) 摘要

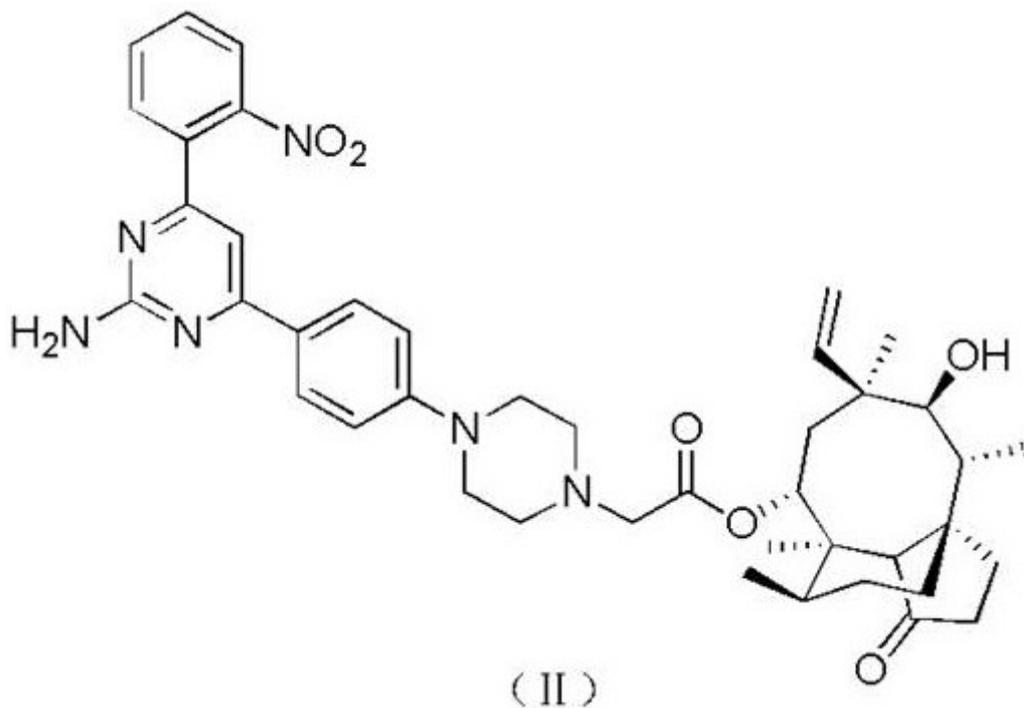
本发明涉及一种通式(I)所述的截短侧耳素衍生物及其立体异构体、药学上可接受的盐或晶型,或包含它们的药物组合物,以及它们的制备方法和中间体,以及在用于制备抗菌药物中的用途。通式(I)所述的定义与说明书一致。

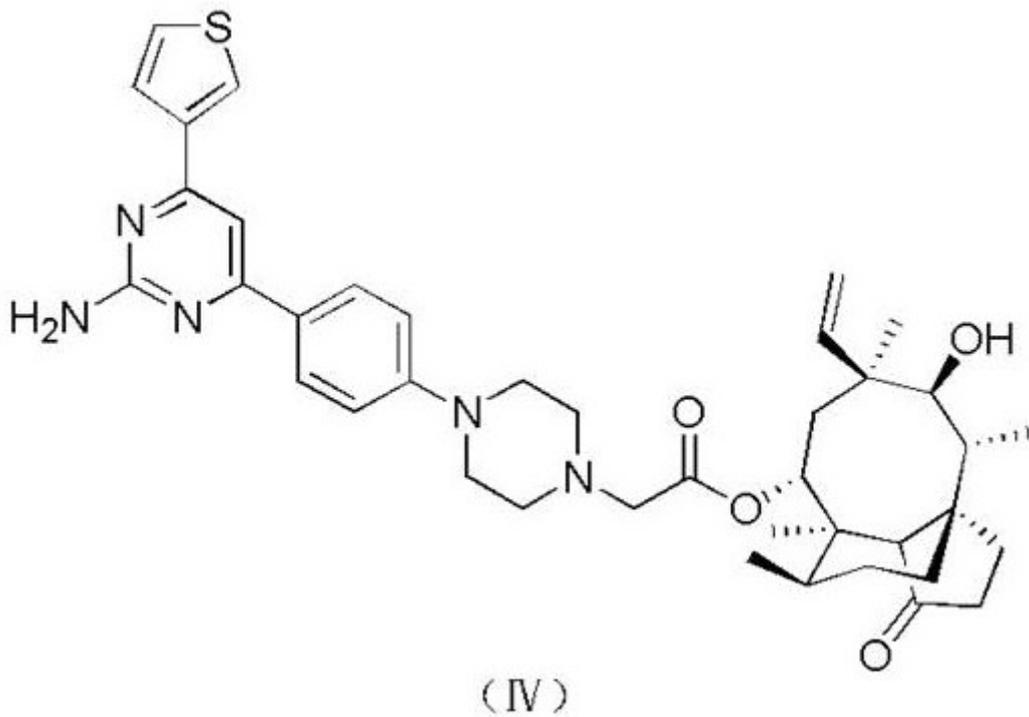
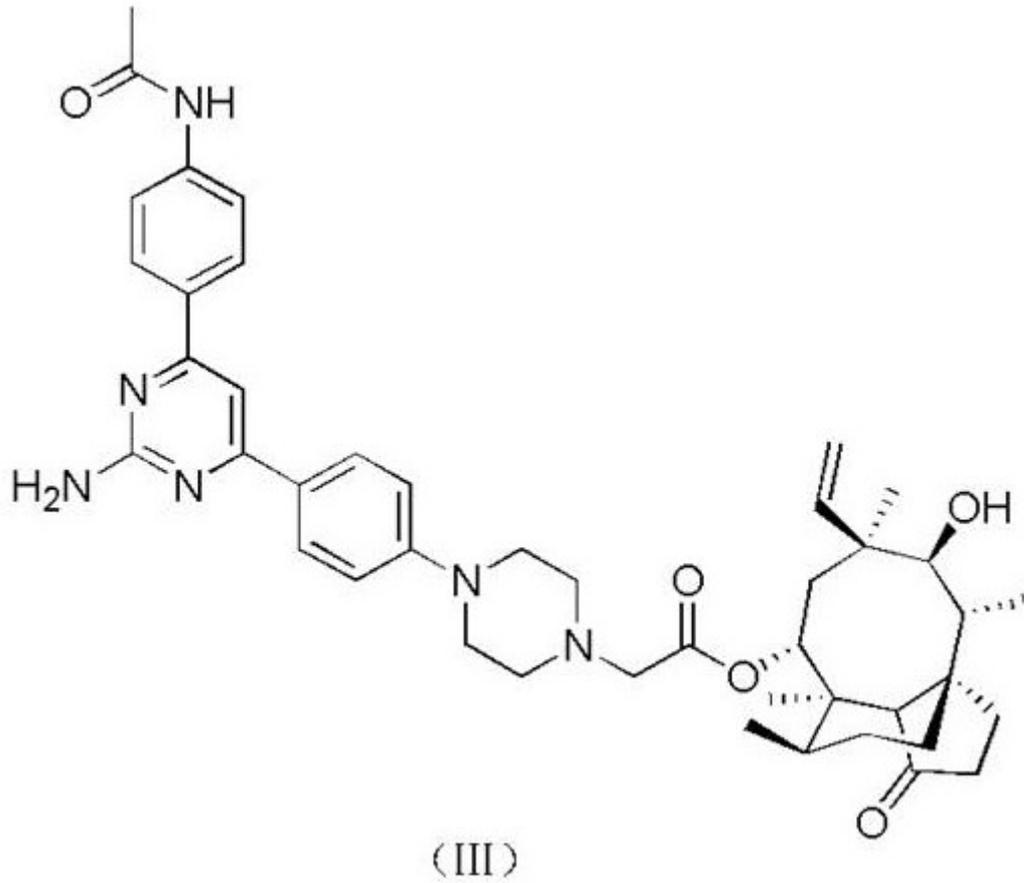


1. 一种通式 (I) 所述的化合物及其药学上可接受的盐, 其中 A 选自噻吩基或苯基, 所述的噻吩基或苯基任选进一步被 0 至 5 个选自 H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、NO₂、C₁₋₄ 烷基、C₁₋₄ 烷氧基、乙酰基氨基或甲酰基氨基的取代基所取代



2. 根据权利要求 1 所述的化合物及药学上可接受的盐, 其中该化合物选自如下结构式 II~IV 之一:





3. 根据权利要求1~2任意一项所述的化合物及其药学上可接受的盐,其中所述的盐选自盐酸盐、富马酸盐、苹果酸盐、氢溴酸盐、琥珀酸盐、磷酸盐、甲磺酸盐或苯甲酸盐。

4. 一种药物组合物,所述药物组合物含有治疗有效剂量的权利要求1~3中任一项所述的化合物或药学上可以接受的盐,以及药学上可接受的载体或者赋形剂。

5. 权利要求1~3任意一项所述的化合物及其药学上可接受的盐,或者权利要求4所述的药物组合物,在用于制备耐药菌引起的感染性疾病药物中的应用。

一种芳基嘧啶类截短侧耳素衍生物及其制备方法和用途

技术领域

[0001] 本发明涉及一种通式(I)所述的截短侧耳素衍生物及其立体异构体、药学上可接受的盐或晶型,或包含它们的药物组合物,以及它们的制备方法和中间体,以及在用于制备抗菌药物中的用途。

背景技术

[0002] 由于抗生素的滥用导致细菌的产生多重耐药性的速率已经远超人类研发新型抗生素的速率,这对人类的生命健康产生了巨大的挑战。为此更多科研工作者将目标瞄准已有的抗生素,通过对其结构优化以期得到稳定性更佳、较低毒副作用以及更广的抗菌谱的新型抗生素。从而减轻甚至解决细菌耐药性急剧增加问题。

[0003] 截短侧耳素(Pleuromutilin)作为一种从高等真菌中分离出来的一种具有良好抗菌活性的三环二萜类的化合物。许多科研工作者投入其研究,试图通过改变该类药物代谢不稳定,肝毒性,口服生物利用度,心脏安全性存在风险,胃肠道副作用等问题,从而研发出新型的截短侧耳素类药物。通多对其研究,近些年来截短侧耳素衍生物得以顺利上市。如泰妙菌素(Tamulin)以延胡索酸的形势在1979作为兽医专用抗生素,在临床上用于猪和鸡的呼吸系统疾病的预防。1999年欧共体批准沃尼妙林(Valnemulin)上市,葛兰素史克(GlaxoSmithKline)公司开发的瑞他妙林(Ratapamulin)由于其优异的体外体内活性于2007年被美国FDA批准为第一个用于人类皮肤感染的外用抗菌剂的截短侧耳素衍生物。研究表明,截短侧耳素结合在细菌核糖体50S亚基的23S rRNA上,通过其三环母核定位在核糖体50S亚基的肽基转移酶(PTC)中心,在A位点形成一个紧密的口袋,同时,其侧链部分覆盖了tRNA结合的P位点,由此直接抑制肽键的形成,从而阻止了细菌蛋白质的合成,正是这种特殊的作用机制,使其不易于其它类抗生素产生交叉耐药性。

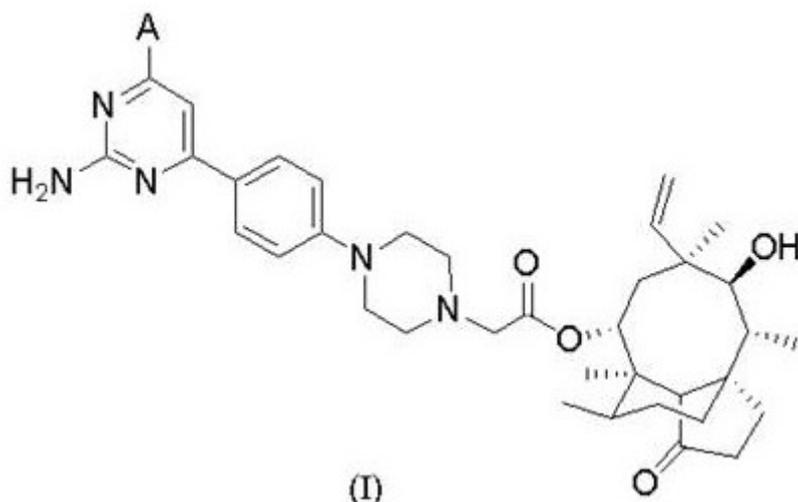
[0004] 截短侧耳素在兽用药物发展上比较迅速,但在人用药物的作用上还未能完全体现。基于未满足的临床需求,开发具有新颖结构、独特作用机制的较高抗菌活性的药物迫在眉睫。。

发明内容

[0005] 本发明涉及一种结构新颖、机制独特、具有良好抗菌活性的截短侧耳素衍生物。

[0006] 本发明涉及一种通式(I)所述的化合物及其立体异构体、药学上可接受的盐,其中

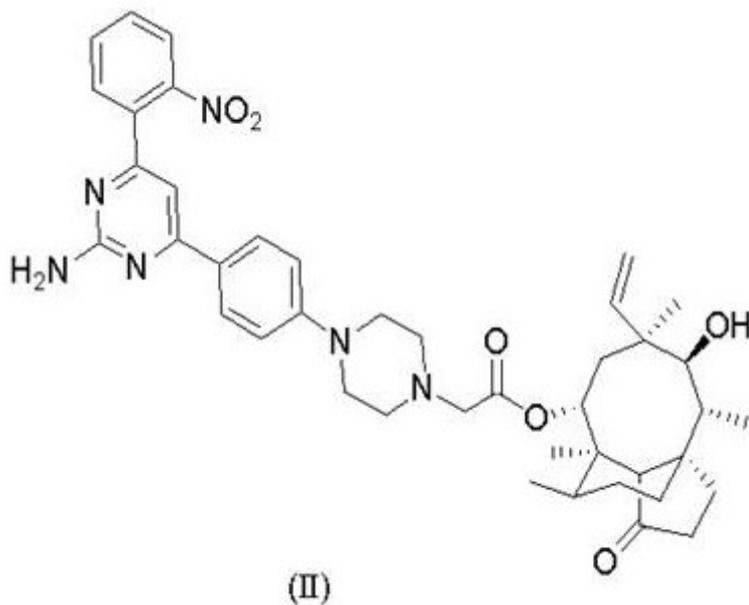
[0007]



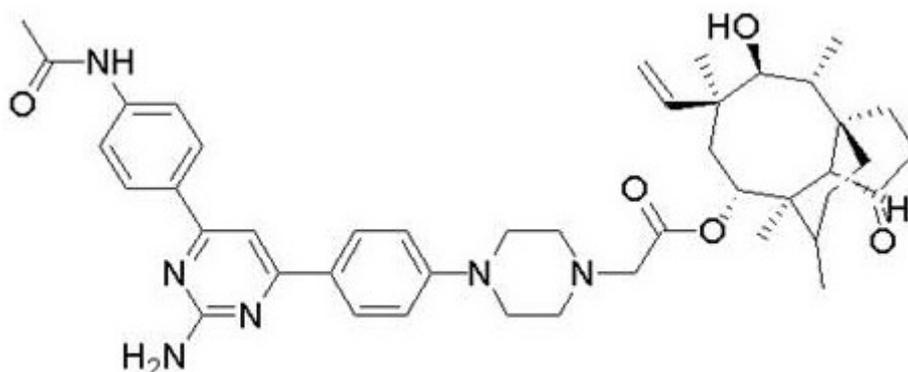
[0008] A选自5至6元杂芳基或6元芳基,优选噻吩基或苯基;所述的芳基、杂芳基、噻吩基或苯基任选进一步被0至5个选自H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、NO₂、1至4个酰基取代的氨基、C₁₋₄烷基或C₁₋₄烷氧基的取代基所取代,优选被0至5个选自H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、NO₂、乙酰基氨基、甲酰基氨基的取代基所取代。

[0009] 本发明的一些实施例涉及一种通式(I)所述的化合物及其立体异构体、药学上可接受的盐,其中该化合物选自如下结构式II~IV之一:

[0010]

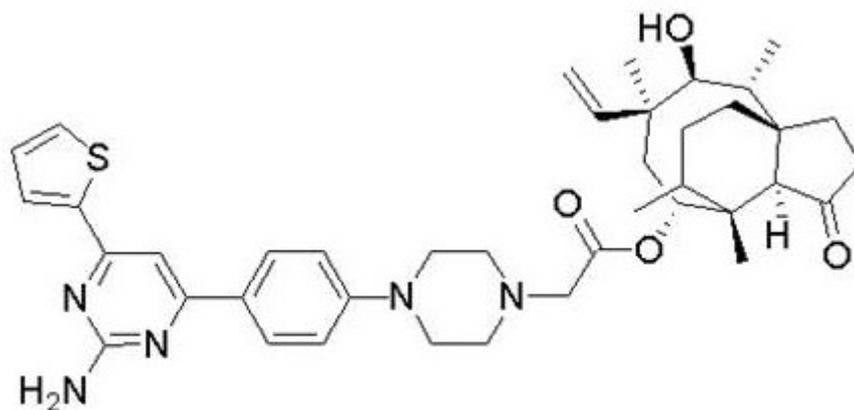


[0011]



(III)

[0012]



(IV)

[0013] 本发明的一些实施例涉及一种通式(I)所述的化合物及其立体异构体、药学上可接受的盐,其中所述的盐选自盐酸盐、富马酸盐、苹果酸盐、氢溴酸盐、琥珀酸盐、磷酸盐、甲磺酸盐或苯甲酸盐。

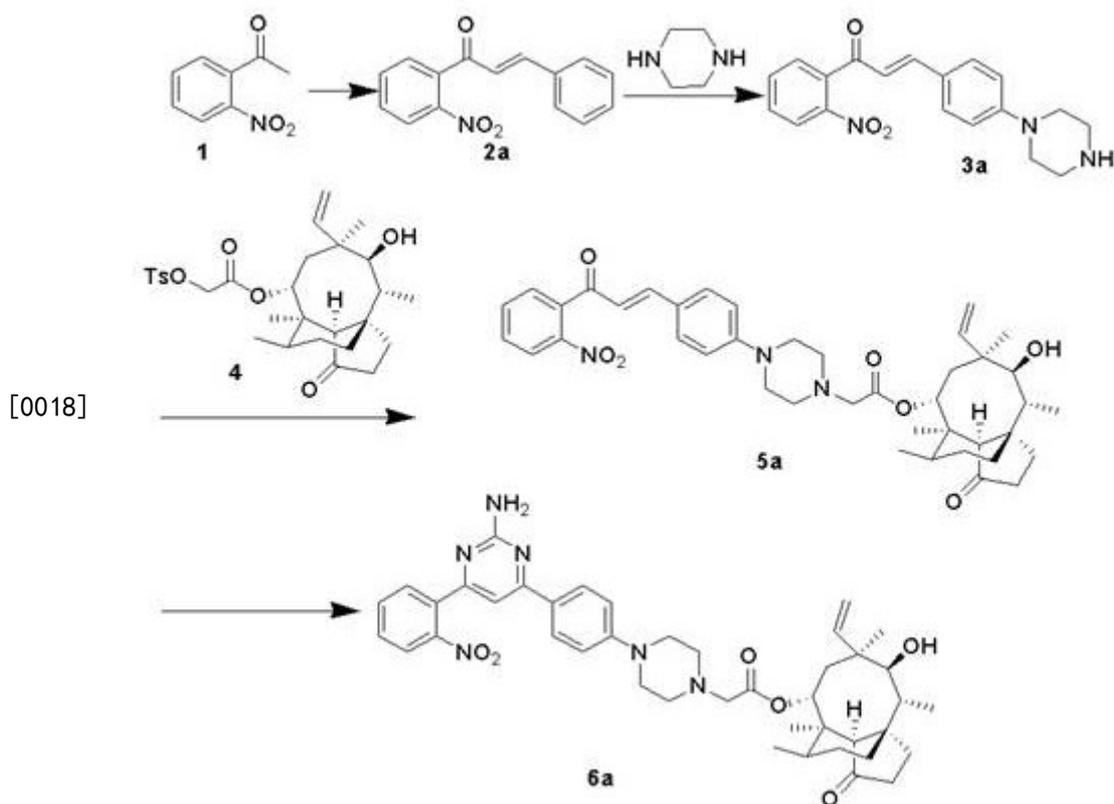
[0014] 本发明的一些实施例涉及一种药物组合物,所述药物组合物含有治疗有效剂量的本发明所述的化合物及其立体异构体或药学上可以接受的盐,以及药学上可接受的载体或者赋形剂。

[0015] 本发明的一些实施例涉及本发明所述的化合物及其立体异构体、药学上可接受的盐,或本发明所述的药物组合物,在用于制备感染性疾病药物中的应用。

[0016] 本发明的一些实施例涉及的上述的应用,所述的感染性疾病选自由支原体或耐药菌引起的感染性疾病。

具体实施例

[0017] 实施例1:15a的合成



[0019] 第一步: 2a的合成

[0020] 将邻硝基苯乙酮 (500.0 mg, 3.0 mmol) 和氢氧化钠 (120.4 mg, 3.01 mmol) 溶于乙醇中置于冰浴条件下搅拌0.5h,再将4-氟苯甲醛 (355.1 μ L, 3.3 mmol) 加入上述混合溶液中继续置于冰浴条件下,TLC监测至反应完全,用1M的盐酸调节反应液pH至酸性,加入适量的水使固体完全析出,抽滤,用水洗涤固体,烘干,用乙醇重结晶,即得到2a (715.0 mg,产率93.3%)。

[0021] 第二步:3a的合成

[0022] 将化合物2a (250.0 mg, 0.7 mmol),碳酸钾 (204.8 mg, 1.5 mmol) 和哌嗪 (255.3 mg, 3.0 mmol) 依次溶于DMF中置于110 $^{\circ}$ C加热搅拌至反应完全,待TLC检测至反应完全,将其反应液冷却至室温向其加入适量的水,用DCM萃取反应液,再用水反萃取所得有机相,无水硫酸镁干燥,减压蒸馏,经柱层析分离提纯可得3a (224.1 mg,产率67.3%)。

[0023] 第三步:5a的合成

[0024] 将化合物4 (215.3 mg, 0.4 mmol) 和碘化钠 (66.6 mg, 0.4 mmol) 溶于乙腈中置于75 $^{\circ}$ C搅拌0.5h,再将化合物3a (150.0 mg, 0.4 mmol) 和碳酸钾 (111.7 mg, 0.81 mmol) 加入上述反应液中继续搅拌,TLC检测反应结束后减压蒸馏,粗产品经柱层析分离提纯可得5a (163.0 mg,产率57.8%,熔点106.3-107.8 $^{\circ}$ C)。

[0025] 第三步:6a的合成

[0026] 将盐酸胍 (10.6 mg, 0.1 mmol) 和氢氧化钾 (6.2 mg, 0.1 mmol) 溶于乙醇中,将其置于70 $^{\circ}$ C搅拌0.5 h后向其加入化合物5a (70.0 mg, 0.1 mmol),继续在该温度下反应直至TLC检测反应完全,将其反应液经减压蒸馏,柱层析分离提纯可得化合物6a (55.7 mg,产率75.4%,熔点177.2-179.1 $^{\circ}$ C)。

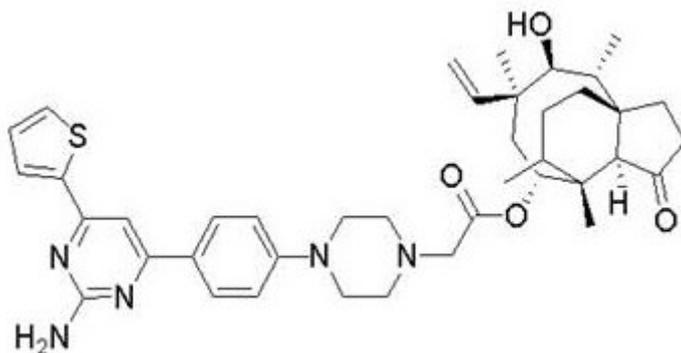
[0027] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 10.16 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.05 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.66 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.61 - 7.50 (m, 2H), 7.39- 7.27 (m, 3H), 6.92 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 6.49 (dd, $J = 17.2, 11.2$ Hz, 1H), 5.80 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 5.33 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H), 5.20 (d, $J = 18.2$ Hz, 1H), 5.16 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H), 4.96 (m, 1H), 3.33 (m, 7H), 2.89 (s, 4H), 2.45 - 2.29 (m, 1H), 2.20 (m, 3H), 2.08 (m, 3H), 1.82 - 1.47 (m, 8H), 1.44 (s, 3H), 1.37 (m, 2H), 1.30 (s, 1H), 1.25 (s, 1H), 1.17 (s, 3H), 1.15 - 1.05 (m, 1H), 0.88 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H), 0.73 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H).

[0028] ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 217.1, 169.1, 152.1, 151.3, 147.8, 139.1, 133.7, 132.0, 131.8, 130.7, 130.6, 128.5, 128.0, 125.0, 117.3, 116.20, 104.1, 77.3, 77.0, 76.7, 74.6, 68.5, 59.9, 58.2, 52.9, 48.4, 45.5, 45.1, 44.0, 41.8, 36.8, 36.1, 34.5, 30.5, 29.7, 26.9, 26.4, 24.9, 16.8, 14.9, 11.5.

[0029] 实施例2:6b的合成

[0030] 制备方法参考实施例1

[0031]

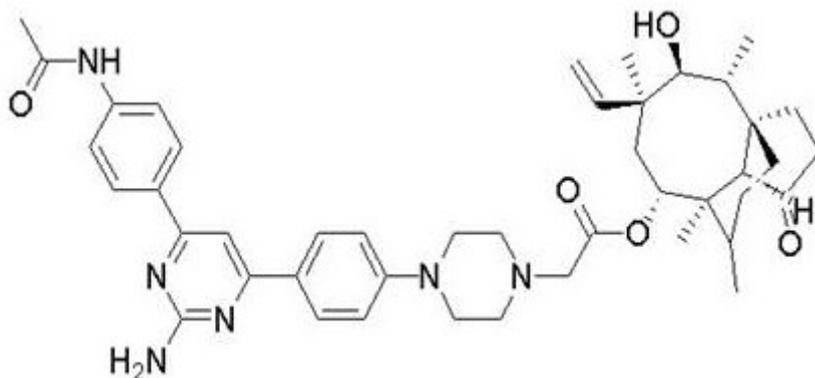


[0032] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 9.74 (s, 1H), 8.74 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.44 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.13 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 7.05 - 6.94 (m, 1H), 6.90 - 6.83 (m, 1H), 6.80 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 6.45 (dd, $J = 17.2, 11.2$ Hz, 1H), 5.74 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 5.28 (d, $J = 10.8$ Hz, 1H), 5.20 - 5.03 (m, 2H), 3.42 (s, 1H), 3.29 (s, 1H), 3.25 - 3.10 (m, 4H), 3.08 - 2.95 (m, 2H), 2.76 - 2.46 (m, 4H), 2.38 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H), 2.34 - 1.78 (m, 6H), 1.77 - 1.67 (m, 2H), 1.53 - 1.41 (m, 3H), 1.38 (s, 3H), 1.30 - 1.24 (m, 2H), 1.10 (s, 3H), 1.07 - 1.01 (m, 1H), 0.81 (d, $J = 6.4$ Hz, 4H), 0.67 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H).

[0033] 实施例3:6c的合成

[0034] 制备方法参考实施例1

[0035]



[0036] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 9.72 (s, 1H), 9.20 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.06 - 7.92 (m, 1H), 7.65 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.58 - 7.31 (m, 3H), 7.12 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 6.82 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.50 (dd, $J = 17.2, 11.2$ Hz, 1H), 5.79 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 5.32 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 5.19 (d, $J = 17.2$ Hz, 1H), 5.06 (d, $J = 16.4$ Hz, 1H), 3.37 (s, 2H), 3.30 - 3.14 (m, 3H), 3.15 - 3.01 (m, 1H), 2.84 - 2.50 (m, 4H), 2.44 - 2.28 (m, 2H), 2.28 - 2.05 (m, 7H), 1.77 (d, $J = 13.2$ Hz, 2H), 1.70 - 1.49 (m, 5H), 1.45 (s, 3H), 1.40 - 1.34 (m, 2H), 1.16 (s, 3H), 1.14 - 1.05 (m, 1H), 0.88 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 0.73 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H).

[0037] 生物活性

[0038] 实验方法

[0039] 最低抑菌浓度(MIC)测试方法

[0040] 1、实验菌株:选取耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(ATCC33591)和耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(ATCC43300)以及普通菌株大肠杆菌(ATCC25922)和金黄色葡萄球菌(ATCC25923)为MIC值测定菌株。

[0041] 2、药物稀释:以乙醇和无菌水为溶剂,将合成化合物和泰妙菌素分别溶解和稀释,配制成浓度为 $1280\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的母液,置于冰箱避光密封保存备用。

[0042] 3、菌液制备:取各受试菌进行活化,挑取单克隆菌落于0.9%生理盐水中,将菌液配置成0.5麦氏浓度($1.5 \times 10^8 \text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$),后用 Mueller-Hinton 无菌肉汤培养基(MHB)稀释10倍备用。

[0043] 4、阳性对照:选取侧链由N-对甲苯基哌嗪修饰的截短侧耳素(化合物7)和泰妙菌素作为阳性对照。

[0044] 5、MIC 测定:在96孔板中除边缘孔和第二列孔外其余孔分别加入100 μL MHB,向第二孔加入160 μL MHB和40 μL 母液。采用二倍稀释法分别对化合物和泰妙菌素进行系列稀释,共稀释成 $128-0.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 10个不同浓度梯度的稀释液,再向除边缘孔外每孔加入100 μL 菌浮液,充分混匀,最后向边缘孔每孔加入无菌水200 μL 。 37°C 恒温培养18-24h,观察受试菌的生长情况,以无生长的药物最低浓度为该药对该受试菌的MIC值;以泰妙菌素为阳性对照,以配制化合物浓度等同的乙醇溶液为阴性对照,每株受试菌进行3个平行实验,实验重复3次。实验结果见表1。

[0045] 表1:部分目标化合物的MIC测试结果

化合物 ^o	MIC ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) ^o			
	ATCC33591 ^o	ATCC43300 ^o	ATCC25922 ^o	ATCC25923 ^o
[0046] 泰妙菌素 ^o	8 ^o	8 ^o	32 ^o	8 ^o
6a ^o	0.5 ^o	0.5 ^o	4 ^o	0.5 ^o

[0047] 结论：新化合物6a具有较好的抗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌ATCC33591和ATCC43300和金黄色葡萄球菌ATCC25923DE的活性。与对照Tiamulin相比，本发明的化合物的MIC可达 $0.5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，抗菌活性提高了8 - 16倍，证明该化合物具有优良的抗菌活性。