



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103191091 A

(43) 申请公布日 2013.07.10

(21) 申请号 201210000957.7

(22) 申请日 2012.01.04

(71) 申请人 天津市国际生物医药联合研究院
地址 300457 天津市滨海新区经济技术开发区洞庭路 220 号

(72) 发明人 饶子和 杨诚 姜智勇 肖燕燕
王静 王泰一 刘伟 夏强

(74) 专利代理机构 北京德恒律师事务所 11306
代理人 陆鑫 房岭梅

(51) Int. Cl.

A61K 31/18(2006.01)

A61K 31/36(2006.01)

A61P 31/04(2006.01)

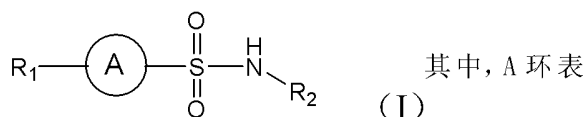
权利要求书2页 说明书10页 附图2页

(54) 发明名称

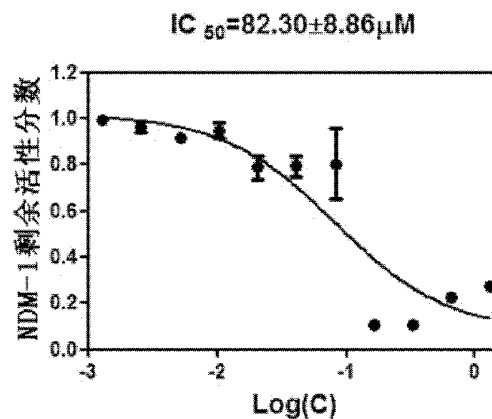
磺酰胺类化合物在抑制 NDM-1 活性中的应用

(57) 摘要

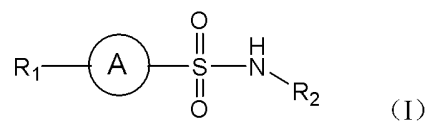
本发明提供了磺酰胺类化合物在制备抑制耐药细菌活性的药物中的应用,尤其是在制备抑制产 NDM-1 耐药细菌活性的药物中的应用,其中,所述磺酰胺类化合物具有下列结构通式 (I):



示 C_5 - C_{10} 芳环或 5-10 元杂芳环; R_1 选自氢、羟基、卤素、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_4 烷氧基或硝基; 和 R_2 选自 C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_6 环烷基、 C_5 - C_{10} 芳烷基、或 C_5 - C_{10} 芳烷基- C_1 - C_4 烷基, 其中所述芳烷基是未取代的或任选被一个或多个选自下列的基团取代: 卤素、 C_1 - C_4 烷基、卤代 C_1 - C_4 烷基、 C_1 - C_4 烷氧基、 C_1 - C_4 烷酰基、 C_1 - C_4 烷酰氧基或硝基。该类化合物具有抑制 NDM-1 活性的作用。



1. 磺酰胺类化合物在制备抑制耐药细菌活性的药物中的应用,其中,所述磺酰胺类化合物具有下列结构通式(I):



其中,A环选自C₅-C₁₀芳环或5-10元杂芳环;

R₁选自氢、羟基、卤素、C₁-C₆烷基、C₁-C₄烷氧基或硝基;和

R₂选自C₁-C₆烷基、C₃-C₆环烷基、C₅-C₁₀芳烷基、或C₅-C₁₀芳烷基-C₁-C₄烷基,其中所述芳烷基是未取代的或任选被一个或多个选自下列的基团取代:卤素、C₁-C₄烷基、卤代C₁-C₄烷基、C₁-C₄烷氧基、C₁-C₄烷酰基、C₁-C₄烷酰氧基或硝基。

2. 根据权利要求1所述的应用,其中,所述磺酰胺类化合物具有结构通式(I),其中:

A环选自C₅-C₁₀芳环;

R₁选自氢、羟基、卤素、C₁-C₄烷基、C₁-C₄烷氧基或硝基;和

R₂选自C₃-C₆烷基、C₃-C₆环烷基、C₅-C₁₀芳烷基、或C₅-C₁₀芳烷基-C₁-C₄烷基,其中所述芳烷基是未取代的或任选被一个或多个选自下列的基团取代:卤素、C₁-C₄烷基、卤代C₁-C₄烷基、C₁-C₄烷氧基、或C₁-C₄烷酰基。

3. 根据权利要求1所述的应用,其中,所述磺酰胺类化合物具有结构通式(I),其中:

A环选自苯环;

R₁选自卤素、C₁-C₄烷基、或C₁-C₄烷氧基;

R₂选自C₃-C₆烷基、C₃-C₆环烷基、C₅-C₁₀芳烷基、C₅-C₁₀芳烷基-C₁-C₄烷基,其中所述芳烷基和所述杂环基是未取代的或任选被一个或多个选自下列的基团取代:卤素、C₁-C₄烷基、卤代C₁-C₄烷基、C₁-C₄烷氧基、或C₁-C₄烷酰基。

4. 根据权利要求1所述的应用,其中,所述磺酰胺类化合物具有结构通式(I),其中:

A环选自苯环;

R₁选自卤素、或C₁-C₄烷基;和

R₂选自叔丁基、环丙烷基、苯基、萘基、或苄基-C₁-C₄烷基,其中所述苯基或萘基是未取代的或任选被一个或多个选自下列的基团取代:卤素、C₁-C₄烷基、C₁-C₄烷氧基、或C₁-C₄烷酰基。

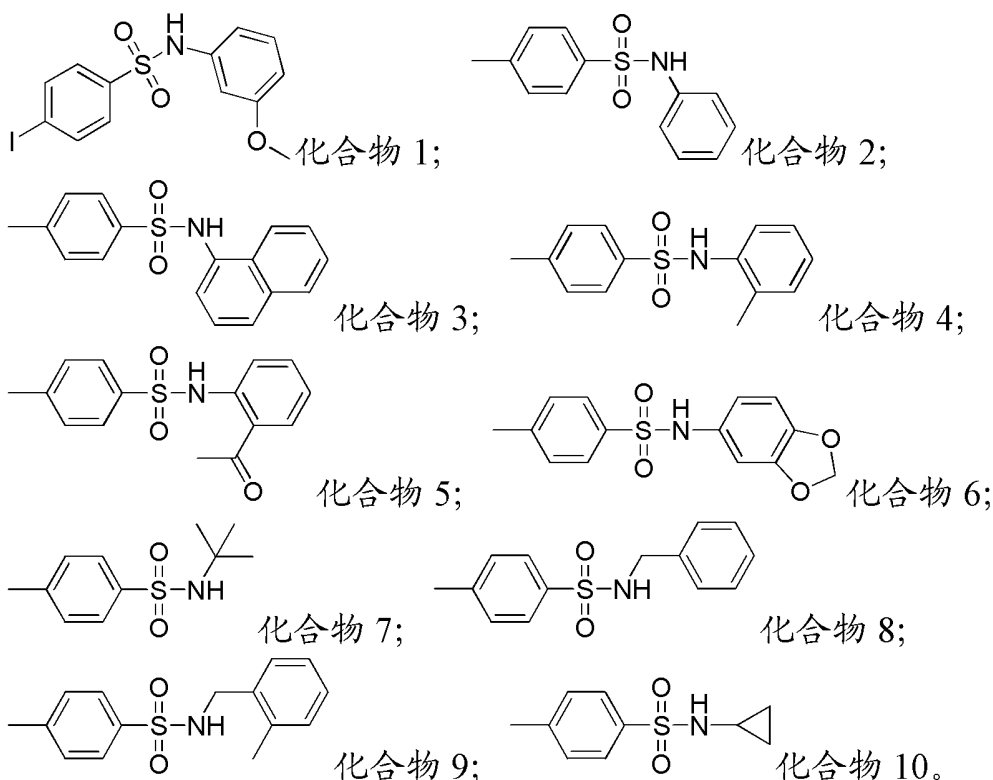
5. 根据权利要求1所述的应用,其中,所述磺酰胺类化合物具有结构通式(I),其中:

A环选自苯环;

R₁选自卤素或甲基;和

R₂选自叔丁基、环丙烷基、苯基、萘基、或苄基,其中所述苯基、萘基、或苄基是未取代的或任选被一个或多个选自下列的基团取代:甲基、甲氧基、亚甲二氧基、或乙酰基。

6. 根据权利要求1所述的应用,其中所述磺酰胺类化合物选自以下化合物:



7. 根据权利要求 1 所述的应用, 其中所述耐药细菌是产新德里金属 β -内酰胺酶(NDM-1) 耐药细菌。

8. 根据权利要求 7 所述的应用, 其中所述产 NDM-1 耐药细菌选自大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、阴沟肠杆菌、变形杆菌、弗劳地枸橼酸菌、产酸克雷伯菌、摩根摩根菌、普罗威登菌中的一种或多种。

9. 根据权利要求 1 所述的应用, 其中所述药物包含所述磺酰胺类化合物和一种或多种 β -内酰胺类抗生素。

10. 根据权利要求 9 所述的应用, 其中所述 β -内酰胺类抗生素选自青霉素类、头孢菌素类、头霉素类、硫霉素类、单环 β -内酰胺类和碳青霉烯类抗生素中的一种或多种。

磺酰胺类化合物在抑制 NDM-1 活性中的应用

技术领域

[0001] 本发明涉及药物化学领域,具体而言,涉及磺酰胺类化合物的用途。

背景技术

[0002] 抗生素是由某些微生物在生活过程中产生的,对某些其它病原微生物具有抑制或杀灭作用的一类化学物质,它也是人类抵御细菌感染类疾病的主要武器。然而,2010年8月,著名医学杂志《柳叶刀》报道了一例对所有 β -内酰胺类抗生素耐药、对环丙沙星也不敏感、仅对粘菌素敏感的病例,深入研究发现其携带肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*)编码的一种新型金属 β -内酰胺酶,并根据患者可能感染地点(印度新德里)将这种酶命名为新德里金属 β -内酰胺酶(NDM-1, New Delhi metallo- β -lactamase-1)。这种酶能存在于大肠杆菌的DNA中从而使其产生广泛的抗药性,人被感染后很难治愈甚至死亡。在现在抗生素被滥用的情况下,是非常危险的一种超级细菌。

[0003] 根据上述研究结果,英国、印度等国研究人员在印度、巴基斯坦、英国等开展了较大范围的流行病学调查,产NDM-1肠杆菌科细菌占所检测细菌的1.2%-13%,主要菌种为大肠埃希菌(*Escherichia coli*)和肺炎克雷伯菌,其它细菌还有阴沟肠杆菌(*Enterobacter cloacae*)、变形杆菌(*Proteus species*)、弗劳地枸橼酸菌(*Citrobacter freundii*)、产酸克雷伯菌(*Klebsiella oxytoca*)、摩根摩根菌(*Morganella morganii*)、普罗威登菌(*Providencia Ewing*)等;这些细菌主要引起尿路、血流、伤口、肺部和导管相关感染等。不到一个月的时间内,在美国、加拿大、日本、韩国、澳大利亚、比利时以及我国大陆、香港、台湾地区等都已经感染病例报道。

[0004] 由于产NDM-1细菌的蔓延十分迅速,有关产NDM-1细菌感染治疗的临床和基础研究还较少。目前已经阐明NDM-1属于B类 β -内酰胺酶超家族中的一员,在其活性部位结合有锌离子,因此又称为金属 β -内酰胺酶。其水解底物包括青霉素类、头孢菌素类和碳青霉烯类等,表现为产酶细菌对这些药物广泛耐药。与之前发现的其他B类 β -内酰胺酶相比,NDM-1具有能够水解几乎所有的 β -内酰胺类抗生素,且耐受大多数 β -内酰胺酶抑制剂等特点。NDM-1的存在是导致NDM-1超级细菌几乎对所有 β -内酰胺抗菌药物耐药的分子基础,同时由于细菌具有其它耐药机制,对氨基糖苷类、喹诺酮类等也多耐药,目前只对多粘菌素和替加环素具有较高体外敏感性。

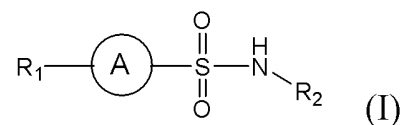
[0005] NDM-1能轻易地从一种细菌跳到另一种上面,科学家忧虑NDM-1跟危险性病毒结合,变成无法医治的人传人病毒,并且NDM-1是一种多重抗药性细菌,一旦在全球散播,抗生素作废的时期将拉开序幕,因此开发能够抑制产NDM-1耐药细菌的活性的药物迫在眉睫。

发明内容

[0006] 为了找到能够抑制NDM-1活性的药物,本发明提供了磺酰胺类化合物在制备抑制耐药细菌活性的药物中的应用,尤其是在制备抑制产NDM-1耐药细菌活性的药物中的应

用,其中,所述磺酰胺类化合物具有下列结构通式(I):

[0007]



[0008] 其中,A环选自C₅-C₁₀芳环或5-10元杂芳环;

[0009] R₁选自氢、羟基、卤素、C₁-C₆烷基、C₁-C₄烷氧基或硝基;和

[0010] R₂选自C₁-C₆烷基、C₃-C₆环烷基、C₅-C₁₀芳烷基、或C₅-C₁₀芳烷基-C₁-C₄烷基,其中所述芳烷基是未取代的或任选被一个或多个选自下列的基团取代:卤素、C₁-C₄烷基、卤代C₁-C₄烷基、C₁-C₄烷氧基、卤代C₁-C₄烷氧基、C₁-C₄烷酰基、C₁-C₄烷酰氧基或硝基。

[0011] 在一个优选的实施方案中,所述磺酰胺类化合物具有上述结构通式(I),其中:

[0012] A环选自C₅-C₁₀芳环;

[0013] R₁选自氢、羟基、卤素、C₁-C₄烷基、C₁-C₄烷氧基或硝基;和

[0014] R₂选自C₃-C₆烷基、C₃-C₆环烷基、C₅-C₁₀芳烷基、或C₅-C₁₀芳烷基-C₁-C₄烷基,其中所述芳烷基是未取代的或任选被一个或多个选自下列的基团取代:卤素、C₁-C₄烷基、卤代C₁-C₄烷基、C₁-C₄烷氧基、或C₁-C₄烷酰基。

[0015] 在一个更优选的实施方案中,所述磺酰胺类化合物具有上述结构通式(I),其中:

[0016] A环选自苯环;

[0017] R₁选自卤素、C₁-C₄烷基、或C₁-C₄烷氧基;

[0018] R₂选自C₃-C₆烷基、C₃-C₆环烷基、C₅-C₁₀芳烷基、C₅-C₁₀芳烷基-C₁-C₄烷基,其中所述芳烷基和所述杂环基是未取代的或任选被一个或多个选自下列的基团取代:卤素、C₁-C₄烷基、卤代C₁-C₄烷基、C₁-C₄烷氧基、或C₁-C₄烷酰基。

[0019] 在进一步优选的实施方案中,所述磺酰胺类化合物具有上述结构通式(I),其中:

[0020] A环选自苯环;

[0021] R₁选自卤素、或C₁-C₄烷基;和

[0022] R₂选自叔丁基、环丙烷基、苯基、萘基、或苯基-C₁-C₄烷基,其中所述苯基或萘基是未取代的或任选被一个或多个选自下列的基团取代:卤素、C₁-C₄烷基、C₁-C₄烷氧基、或C₁-C₄烷酰基。

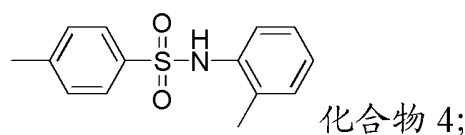
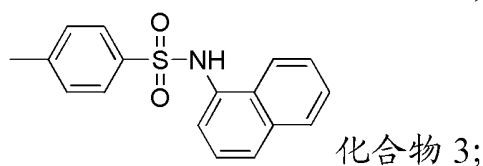
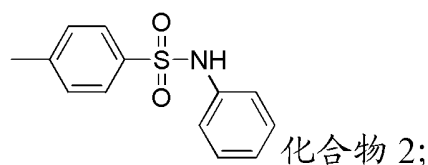
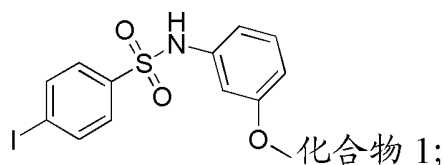
[0023] 在更进一步优选的实施方案中,所述磺酰胺类化合物具有上述结构通式(I),其中:A环选自苯环;

[0024] R₁选自卤素或甲基;和

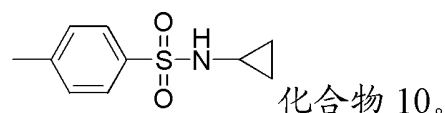
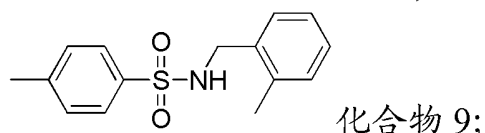
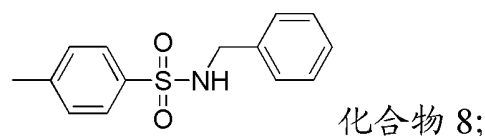
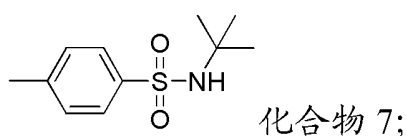
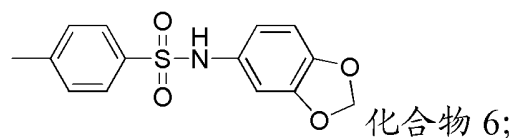
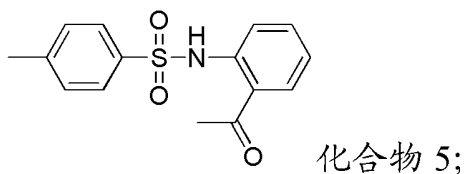
[0025] R₂选自叔丁基、环丙烷基、苯基、萘基、或苄基,其中所述苯基、萘基、或苄基是未取代的或任选被一个或多个选自下列的基团取代:甲基、甲氧基、亚甲二氧基、或乙酰基。

[0026] 在最优选的实施方案中,所述磺酰胺类化合物选自以下化合物:

[0027]



[0028]



[0029] 本文所述“C₅-C₁₀ 芳环”是指含有 5-10 个碳原子的单环或双环芳环基,例如苯环或萘环。

[0030] 本文所述“5-10 元杂芳环”是指含有至少一个选自氧、氮、或硫的杂原子的 5-10 元单或稠合杂芳环,实例包括但不限于呋喃环、噻吩环、吡咯环、恶唑环、异恶唑环、噻唑环、异噻唑环、咪唑环、吡唑环、1,3,4-噻二唑环、吡啶环、哒嗪环、嘧啶环、吡嗪环、吡啶环、异吡啶环、苯并呋喃环、苯并噻吩环、苯并咪唑环、苯并噻唑环、苯并恶唑环、喹啉环、或异喹啉环。

[0031] 本文所述“卤素”或“卤代”是指卤素原子,即氟、氯、溴、或碘。

[0032] 本文所述“C₁-C₆ 烷基”是指直链或者支链的含有 1-6 个碳原子的烷基,包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、异戊基、正己基等。

[0033] 本文所述“C₁-C₄ 烷基”是指直链或者支链的含有 1-4 个碳原子的烷基,包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基等。

[0034] 本文所述“C₃-C₆ 烷基”是指直链或支链的含有 3-6 个碳原子的烷基,包括丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、异戊基、新戊基、正己基等。

[0035] 本文所述“C₁-C₄ 烷氧基”是指通过氧键合连接的 C₁-C₄ 烷基,其实例包括但不限于甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、丁氧基、叔丁氧基等。

[0036] 本文所述“C₃-C₆ 环烷基”指含有 3-6 个碳原子的环烷基,例如环丙烷、环丁烷、环戊基、环己基等。

[0037] 本文所述“C₅-C₁₀ 芳烷基”是指单环或双环的、含有 5-10 个碳原子的芳环烷基,优选含有 6-10 个碳原子,例如苯基、萘基等。

[0038] 本文所述“C₅-C₁₀ 芳烷基-C₁-C₄ 烷基”是指 C₅-C₁₀ 芳烷基通过 C₁-C₄ 烷基与母核相连,实例包括但不限于苄基、2-苯乙基、3-苯丙基等。

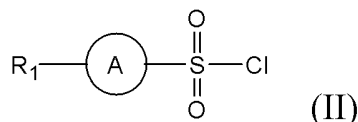
[0039] 本文所述“卤代 C_1-C_4 烷基”是指被一个或多个卤素原子取代的 C_{1-4} 烷基,实例包括氯甲基、三氟甲基、氯代乙基、2-氯代丙基、2,2,2-三氟乙基等。

[0040] 本文所述“ C_1-C_4 烷酰基”是指通过羰基键合的 C_1-C_4 烷基,实例包括乙酰基、丙酰基、丁酰基、异丁酰基、叔丁酰基等。

[0041] 本文所述“ C_1-C_4 烷酰氧基”是指通过氧基键合的 C_1-C_4 烷酰基,实例包括乙酰氧基、丙酰氧基、丁酰氧基、异丁酰氧基、叔丁酰氧基等。

[0042] 本发明涉及的磺酰胺类化合物可以采用本领域已知的方法制备得到。在一个具体实施例中,所述方法包括使式 (II) 化合物

[0043]



[0044] 与 R_2-NH_2 在碱性条件下反应生成本发明所述式 (I) 化合物,其中取代基 R_1 和 R_2 分别如上面通式 (I) 中所定义的。

[0045] 在本发明所述的应用中,所述耐药细菌是指对于几乎所有的 β -内酰胺类抗菌药物具有耐药性,同时对氨基糖苷类、喹诺酮类抗菌药物也多具有耐药性的细菌。在一个具体实施例中,耐药细菌是指产 NDM-1 耐药细菌。产 NDM-1 耐药细菌选自大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、阴沟肠杆菌、变形杆菌、弗劳地枸橼酸菌、产酸克雷伯菌、摩根摩根菌、普罗威登菌等中的一种或多种。

[0046] 在本发明所述的应用中,所述抑制耐药细菌的活性的药物包含上面所述的磺酰胺类化合物和一种或多种 β -内酰胺类抗生素。 β -内酰胺类抗生素选自青霉素类、头孢菌素类、头霉素类、硫霉素类、单环 β -内酰胺类和碳青霉烯类抗生素中的一种或多种。

[0047] 所述药物还可以包括本领域公知的药学上可接受的赋形剂和载体。术语“药学上可接受的”是指当给药至动物例如哺乳动物(例如人类)时生理学上可耐受且通常不会产生过敏或类似的不良反应(例如头晕等)的添加剂或组合物。药物载体和赋形剂可以包括但不限于稀释剂,例如乳糖、葡萄糖、甘露糖和/或甘油;润滑剂;聚乙二醇;粘合剂,例如硅酸铝镁、淀粉、明胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠和/或聚乙烯吡咯烷酮;并且,如果需要的话,还包括崩解剂,例如淀粉、琼脂、海藻酸或其盐如海藻酸钠;和/或吸附剂、着色剂、防腐剂、稳定剂、矫味剂和甜味剂。

[0048] 本发明所述的磺酰胺类化合物对 NDM-1 具有很好的抑制效果,从而可以减少甚至消除 NDM-1 对 β -内酰胺类抗生素的水解,解决由于 NDM-1 引起的耐药性。本发明的磺酰胺类化合物与 β -内酰胺类抗生素联用,通过抑制 NDM-1 的活性,可以进一步提高抗生素疗效,从而能够治疗由 NDM-1 引起的耐药细菌感染,具有良好的药物应用前景。

附图说明

[0049] 图 1 示出了药筛酶活体系底物亚安培南一水合物的化学结构式及其与 NDM-1 的作用位点。

[0050] 图 2 示出了底物亚安培南一水合物反应前后全波长扫描的紫外吸收光谱图的比较结果。

[0051] 图3示出了根据实施例1所述的4-碘-N-(3-甲氧基苯基)苯磺酰胺的NDM-1剩余活性分数对化合物浓度对数的曲线图。

具体实施方式

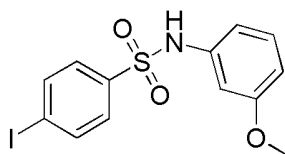
[0052] 下面对本发明的各个方面和特点作进一步的描述。

[0053] 本发明使用的各种术语和短语具有本领域技术人员公知的一般含义,即便如此,本发明仍然希望在此对这些术语和短语作更详尽的说明和解释,提及的术语和短语如有与公知含义不一致的,以本发明所表述的含义为准。本文所用的缩略语通常为本领域技术人员所熟知的,或者可以是根据基础知识易于理解的。

[0054] 下列实施例仅用于举例说明本发明所述化合物的制备,对本发明没有任何限制。本发明所用的起始原料均为商购的已知化合物。

[0055] 实施例14- 4-碘-N-(3-甲氧基苯基)苯磺酰胺的制备

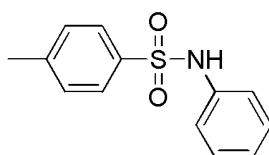
[0056]



[0057] 选择50ml圆底烧瓶作为反应容器,在0℃下,将对碘苯磺酰氯(302mg,1mmol)溶于10ml乙醇中,将该溶液滴入间甲氧基苯胺(123mg,1mmol)中,然后加入碳酸氢钠(170mg,2mmol),将其移到室温下,电磁搅拌,TLC检测至反应完全后,停止反应,将10ml水加入到反应后的溶液中,出现白色固体,将其过滤出来,对得到的白色固体进行真空干燥,得到标题化合物320mg,收率达到82%。该化合物的鉴定数据如下:ESI-MS:m/z 390.20([M+H]⁺);¹HNMR(400MHz, CDCl₃, δ ppm):7.82(dd, J = 2.0Hz, 2.8Hz, 2H), 7.49(dd, J = 2.0, 2.8Hz, 2H), 7.16(t, J = 8.4Hz, 1H), 6.71(m, 2H), 6.61(d, J = 1.2Hz, 1H), 6.51(s, 1H), 3.78(s, 3H)。

[0058] 实施例24- 4-甲基-N-苯基苯磺酰胺的制备

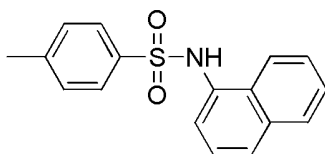
[0059]



[0060] 用对甲基苯磺酰氯替换实施例1中的对碘苯磺酰氯,以及用苯胺替换实施例1中的间甲氧基苯胺作为起始原料,采用与实施例1相似的步骤,制备该化合物,收率为76%。该化合物为白色固体,其鉴定数据如下:ESI-MS:m/z 248.21([M+H]⁺);¹HNMR(400MHz, DMSO-d₆, δ ppm):10.19(s, 1H), 7.63(d, J = 8.4Hz, 2H), 7.33(d, J = 4.0Hz, 2H), 7.29(d, J = 7.8Hz, 1H), 7.06(m, J = 7.0Hz, 1H), 6.14(s, 1H), 2.49(s, 3H)。

[0061] 实施例34- 4-甲基-N-萘基苯磺酰胺的制备

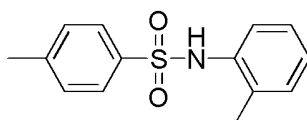
[0062]



[0063] 用对甲基苯磺酰氯替换实施例 1 中的对碘苯磺酰氯, 以及用 1-萘胺替换替换实施例 1 中的间甲氧基苯胺作为起始原料, 采用与实施例 1 相似的步骤, 制备该化合物, 收率为 72%。该化合物为白色固体, 其鉴定数据如下所示: ESI-MS: m/z 298.21 ($[M+H]^+$); 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6 , δ ppm): 10.16 (s, 1H), 8.04 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.77 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.58 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.38 (m, 3H), 7.30 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.14 (dd, $J = 0.8, 7.6$ Hz, 1H), 2.33 (s, 1H)。

[0064] 实施例 44- 甲基 -N-(2- 甲基苯基) 苯磺酰胺的制备

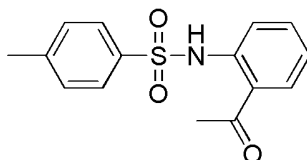
[0065]



[0066] 用对甲基苯磺酰氯替换实施例 1 中的对碘苯磺酰氯, 以及用邻甲基苯胺替换替换实施例 1 中的间甲氧基苯胺作为起始原料, 采用与实施例 1 相似的步骤, 制备该化合物, 收率为 75%。该化合物为白色固体, 其鉴定数据如下所示: ESI-MS: m/z 262.32 ($[M+H]^+$); 1H NMR (600MHz, DMSO- d_6 , δ ppm): 9.48 (s, 1H), 7.54 (d, $J = 4.8$ Hz, 2H), 7.53 (d, $J = 1.8$ Hz, 2H), 7.13 (m, 1H), 7.09 (m, 2H), 6.14 (s, 1H), 6.96 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 2.37 (s, 3H), 1.99 (s, 3H)。

[0067] 实施例 54- 甲基 -N-(2- 乙酰基苯基) 苯磺酰胺的制备

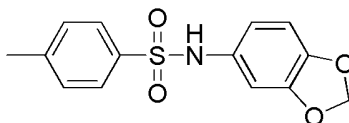
[0068]



[0069] 用对甲基苯磺酰氯替换实施例 1 中的对碘苯磺酰氯, 以及用 2-乙酰基苯胺替换替换实施例 1 中的间甲氧基苯胺作为起始原料, 采用与实施例 1 相似的步骤, 制备该化合物, 收率为 68%。该化合物为白色固体, 其鉴定数据如下所示: ESI-MS: m/z 290.14 ($[M+H]^+$); 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6 , δ ppm): 11.32 (s, 1H), 7.98 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 7.96 (s, $J = 1.2$ Hz, 2H), 7.68 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.55 (m, 1H), 7.40 (m, 2H), 7.18 (m, 1H), 2.60 (s, 3H), 2.34 (s, 3H)。

[0070] 实施例 64- 甲基 -N-(1,2- 亚甲二氧基苯) 苯磺酰胺的制备

[0071]

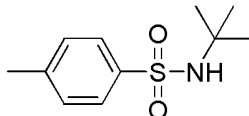


[0072] 用对甲基苯磺酰氯替换实施例 1 中的对碘苯磺酰氯, 以及用 3,4-(亚甲二氧基) 苯胺替换替换实施例 1 中的间甲氧基苯胺作为起始原料, 采用与实施例 1 相似的步骤, 制备该化合物, 收率为 65%。该化合物为白色固体, 其鉴定数据如下所示: ESI-MS: m/z

292.22 ($[M+H]^+$) ; ^1H NMR (600MHz, CDCl_3 , δ ppm) : 7.63 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 2H), 7.27 (t, $J = 9.0\text{Hz}$, 2H), 6.69 (d, $J = 2.4\text{Hz}$, 1H), 6.66 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 6.43 (m, 1H), 6.27 (s, 1H), 5.97 (s, 2H), 2.42 (s, 3H)。

[0073] 实施例 74- 甲基 -N- 叔丁基苯磺酰胺的制备

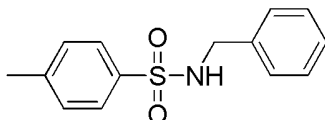
[0074]



[0075] 用对甲基苯磺酰氯替换实施例 1 中的对碘苯磺酰氯, 以及用叔丁基胺替换实施例 1 中的间甲氧基苯胺作为起始原料, 采用与实施例 1 相似的步骤, 制备该化合物, 收率为 76%。该化合物为白色固体, 其鉴定数据如下所示: ESI-MS: m/z 228.13 ($[M+H]^+$) ; ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$, δ ppm) : 7.71 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 2H), 7.43 (s, 1H), 7.36 (d, $J = 4.0\text{Hz}$, 2H), 2.37 (s, 3H), 1.08 (s, 9H)。

[0076] 实施例 84- 甲基 -N- 苄基苯磺酰胺的制备

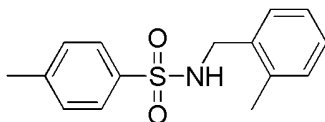
[0077]



[0078] 用对甲基苯磺酰氯替换实施例 1 中的对碘苯磺酰氯, 以及用苄基胺替换实施例 1 中的间甲氧基苯胺作为起始原料, 采用与实施例 1 相似的步骤, 制备该化合物, 收率为 74%。该化合物为白色固体, 其鉴定数据如下所示: ESI-MS: m/z 262.10 ($[M+H]^+$) ; ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$, δ ppm) : 8.04 (s, 1H), 8.92 (s, 1H), 7.70 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 2H), 7.38 (d, $J = 9.6\text{Hz}$, 2H), 7.29 (m, 2H), 7.24 (m, 3H), 3.95 (d, $J = 6.0\text{Hz}$, 2H), 2.39 (s, 3H)。

[0079] 实施例 94- 甲基 -N-(2- 甲基苄基) 苯磺酰胺的制备

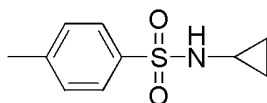
[0080]



[0081] 用对甲基苯磺酰氯替换实施例 1 中的对碘苯磺酰氯, 以及用 2- 甲基苄胺替换实施例 1 中的间甲氧基苯胺作为起始原料, 采用与实施例 1 相似的步骤, 制备该化合物, 收率为 74%。该化合物为白色固体, 其鉴定数据如下所示: ESI-MS: m/z 276.22 ($[M+H]^+$) ; ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$, δ ppm) : 8.10 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.58 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 2H), 7.27 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 2H), 7.20 (m, 5H), 4.32 (dd, $J = 7.2\text{Hz}$, 14.4Hz, 1H), 3.33 (s, 3H), 1.18 (d, $J = 7.2\text{Hz}$, 3H)。

[0082] 实施例 104- 甲基 -N- 环丙基苯磺酰胺的制备

[0083]



[0084] 用对甲基苯磺酰氯替换实施例 1 中的对碘苯磺酰氯, 以及用环丙基胺替换实施例 1 中的间甲氧基苯胺作为起始原料, 采用与实施例 1 相似的步骤, 制备该化合物, 收

率为 74%。该化合物为白色固体,其鉴定数据如下所示:ESI-MS :m/z 211.97 ([M+H]⁺) ;¹HNMR (400MHz, CDCl₃, δ ppm) :7.81 (d, J = 8.4Hz, 2H), 7.33 (m, 2H), 2.46 (s, 3H), 2.25 (t, J = 2.0Hz, 1H), 0.63 (m, 4H)。

[0085] 药理活性测试方法

[0086] 本发明的活性测试方法以亚胺培南一水合物作为 NDM-1 的底物进行活性检测,亚胺培南一水合物的结构式见图 1,其中“⊗”表示 NDM-1 裂解底物的反应部位。其酶活机制是:底物亚胺培南一水合物的母核部分具有 O = C-N-C = C 共轭结构,表明底物可产生紫外吸收。由于 NDM-1 可以水解 β-内酰胺环酰胺键,因此 NDM-1 与底物反应时可以水解底物的酰胺键,导致共轭结构被破坏,从而使紫外吸收消失。通过对比 NDM-1 与底物反应前后的全波长扫描紫外吸收光谱图发现,底物在 300nm 处有最强紫外吸收,见图 2。如果化合物对 NDM-1 具有抑制作用,则阻止了 NDM-1 对底物的水解,导致底物的紫外吸收值降低减慢,由此可以判断化合物对 NDM-1 是否具有抑制效果,从而进行 NDM-1 抑制剂药物的筛选。

[0087] 药理活性测试方法包括以下 6 个步骤:

[0088] 步骤 1. NDM-1 底物储备液的制备

[0089] 将亚胺培南一水合物 (Imipenem monohydrate, 购自 Sigma 公司) 溶于 50mM 4-羟乙基哌嗪乙磺酸 (HEPES, 购自 BioBasic 公司) 中,配制成 10mM 的底物储备液备用。

[0090] 步骤 2. 化合物的处理

[0091] 将化合物在 95% DMSO 双蒸水溶液中溶解,配制成 100mM 浓度的溶液,然后将配制好的化合物溶液放置在 1.5ml ep 管中,于 4℃ 下保存备用。

[0092] 步骤 3. NDM-1 蛋白缓冲液的配制

[0093] 将 NDM-1 (由本实验室 MDC 蛋白纯化组提供,制备方法参见 Yu Guo, Jing Wang 等, A structural view of the antibiotic degradation enzyme NDM-1 from a superbug. Protein&Cell, 2011, 2(5) :384-394) 溶解在蛋白缓冲液 (pH = 6.8) 中,

[0094] 配制成 50nM 的 NDM-1 蛋白缓冲液,其中蛋白缓冲液含有 50mM HEPES、5 μM ZnCl₂ (购自 BioBasic 公司)、10 μg/ml BSA (购自上海生工工程有限公司)。

[0095] 步骤 4. NDM-1 药筛酶活体系的建立

[0096] NDM-1 药筛酶活体系中包含的成分,其体积和浓度见表 1。

[0097] 表 1 NDM-1 的药筛酶活体系

[0098]

体系	体积	始浓度
NDM-1	100 μl	50nM
底物	50 μl	600 μM
化合物	2 μl	100mM
总计	152 μl	

[0099] 检测体系设置阴性对照,阴性对照体系中加入 2 μl 95% DMSO 双蒸水溶液取代化合物,用于检测 NDM-1 的活性。

[0100] 步骤 5. 化合物的初步筛选

[0101] 向 96 微孔板中的每孔中加入 100 μ l 的浓度为 50nM (终浓度为 33nM) 的 NDM-1 蛋白缓冲液。然后向每孔中加入 2 μ l 的浓度为 100mM (终浓度为 1.3mM) 的化合物溶液。振荡, 室温孵育 1 分钟后, 每孔加入 50 μ l 的 600 μ M (终浓度为 200 μ M) 的底物进行反应。每隔 8 秒用光谱扫描多功能读数仪 (Varioskan Flash, Thermo scientific) 检测一次, 共测 20 次。

[0102] 绘制曲线, 取阴性对照曲线斜率的最大处值为 V_0 , 化合物曲线斜率的最大处值为 V_i , 则 NDM-1 的剩余活性分数 = V_i/V_0 。剩余活性分数越低, 表示化合物对 NDM-1 的活性抑制越强, 即抑制率 (%) = $(1-V_i/V_0)*100\%$, 当化合物对 NDM-1 的抑制率大于 70% 时, 将进一步测定该化合物的 IC_{50} 值。

[0103] 步骤 6. 化合物的 IC_{50} 值的测定

[0104] 将原始浓度为 100mM (终浓度为 1.3mM) 的化合物溶液用 95% DMSO 双蒸水溶液按 1 : 2 (体积比) 的比例进行等比稀释, 共稀释 11 个浓度梯度。最终浓度依次为 1316、658、329、164.5、82.2、41.1、20.6、10.3、5.1、2.6、1.3 μ M。接着进行化合物的 IC_{50} 值检测, 向 96 微孔板中的每孔中加入 100 μ l 的浓度 50nM (终浓度为 33nM) 的 NDM-1 蛋白缓冲液。然后向每孔中加入 2 μ l 的上面配置的 11 个浓度的化合物溶液。振荡, 室温孵育 1 分钟后, 每孔加入 50 μ l 的 600 μ M (终浓度为 200 μ M) 的底物进行反应。每隔 8 秒用光谱扫描多功能读数仪检测一次, 共测 20 次。然后绘制曲线, 计算 NDM-1 的剩余活性分数。最后以化合物浓度对数 (以 10 为底数) 为横坐标, NDM-1 的剩余活性分数为纵坐标绘制曲线。根据曲线, 采用 GraphPad Prism version 5.0 软件 (GraphPad software 公司) 计算 IC_{50} 值。

[0105] 采用上面所述的活性测试方法, 对实施例 1-10 中制得的化合物进行初步筛选, 计算相应化合物的抑制率, 数据见表 2。对抑制率大于 70% 的实施例 1、3、4、9 和 10 中的化合物按照上述步骤 6 进一步测定其 IC_{50} 值, 以化合物浓度对数为横坐标, 以 NDM-1 的剩余活性分数为纵坐标绘制 IC_{50} 曲线图, 最后计算 IC_{50} 值。所得的试验数据见表 2。其中, 以实施例 1 中的化合物为代表, 附上其 IC_{50} 值曲线图, 见图 3。

[0106] 表 2 实施例 1-10 中的化合物对 NDM-1 活性的抑制率及 IC_{50} 值

[0107]

编号	结构	抑制率 * (%)	IC_{50} (μ M)
1	实施例 1	84.7	82.30 ± 8.86
2	实施例 2	18.1	
3	实施例 3	138.9	189.20 ± 18.68
4	实施例 4	75.7	268.30 ± 21.30
5	实施例 5	3.5	
6	实施例 6	49.7	

7	实施例 7	2.5	
8	实施例 8	15.2	
9	实施例 9	72.0	169.32±18.33
10	实施例 10	108.1	210.36±16.35

[0108] *:抑制率是在化合物终浓度为 1.3mM 时测定的。

[0109] 综上所述,本发明涉及的磺酰胺类化合物具有抑制 NDM-1 活性的作用,可以减少甚至消除 NDM-1 对 β -内酰胺类抗生素的水解,从而解决 NDM-1 引起的耐药性。本领域普通技术人员应当理解,本发明涉及的化合物与 β -内酰胺类抗生素联用可以通过明显抑制 NDM-1 的活性,进一步地提高抗生素疗效,从而能够治疗由 NDM-1 引起的耐药细菌感染,具有良好的药物应用前景。

[0110] 为了清楚和易于理解的目的,通过举例说明和实施例详细地描述了上述发明。可以在附随的权利要求的范围内进行改变和修改,这对本领域的技术人员来说是很明显的。因此,可以理解,上面的说明书旨在用于说明而不是用于限制。因此,本发明的范围不应参考上述说明书来确定,而应当参照下面所附权利要求以及这些权利要求所享有的等同原则所确定的全部范围确定。

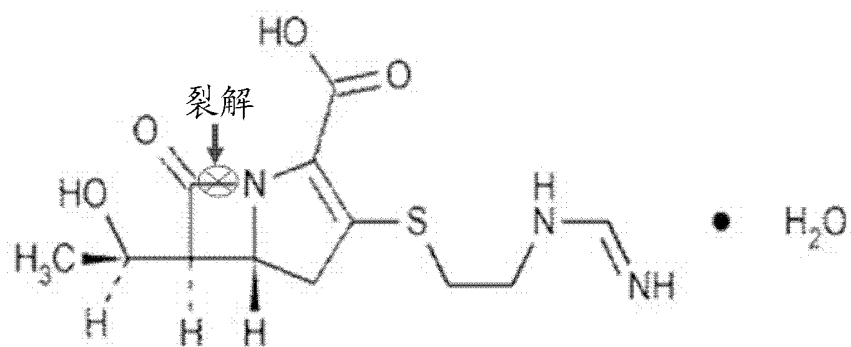


图 1

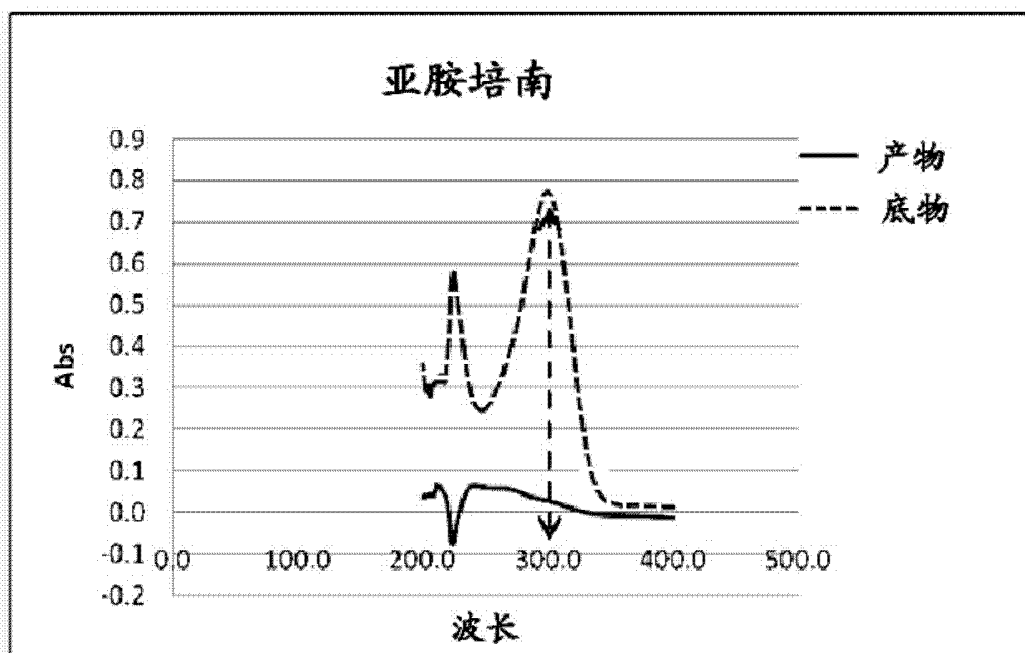


图 2

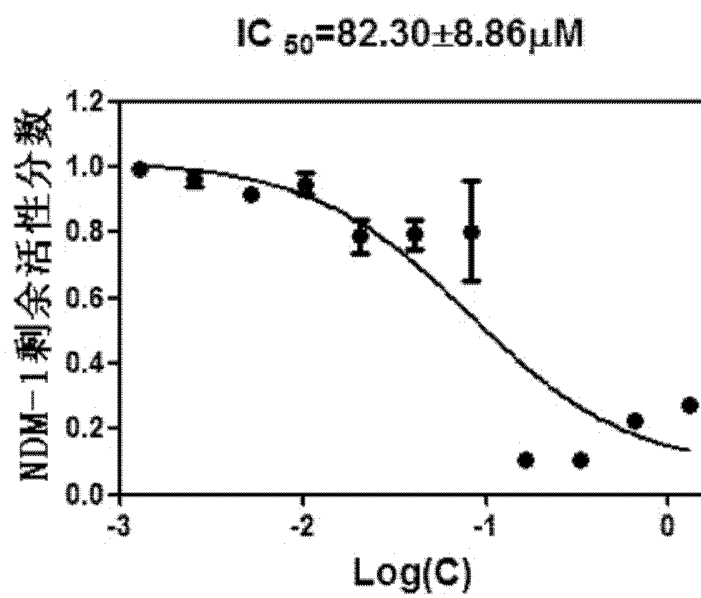


图 3