



# [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 92100038.3

[51] Int.Cl<sup>5</sup>

C07K 7/06

[43] 公开日 1992年7月29日

[22] 申请日 92.1.3

[30] 优先权

[32] 91.1.3 [33] EP [31] 91100123.8

[71] 申请人 格鲁波莱佩蒂特公司

地址 意大利米兰

[72] 发明人 P·塔韦恰瓦 S·洛西尔 R·查泊蒂  
E·塞尔瓦

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利  
代理部  
代理人 黄革生

A61K 37/02

说明书页数: 111 附图页数:

[54] 发明名称 抗菌素 GE2270 因子的酰胺类化合物  
衍生物

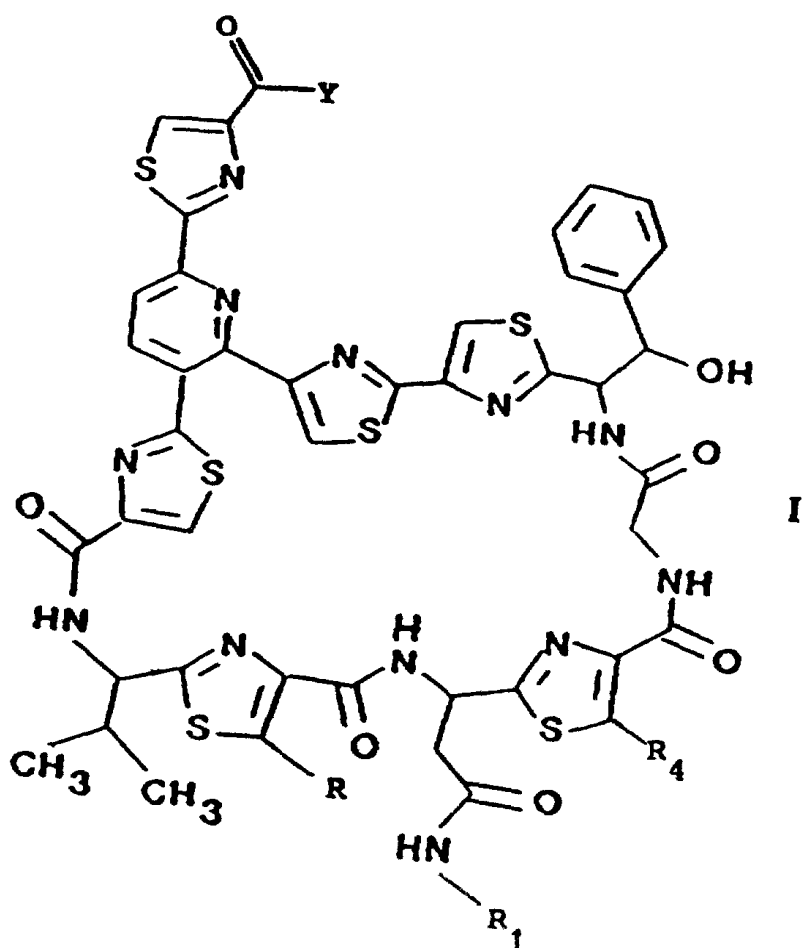
[57] 摘要

本发明涉及抗菌素 GE2270 化合物的新的酰胺类衍生物及其制备方法。该酰胺类衍生物是作用于革兰氏阳性和阴性细菌有效的抗菌剂。

<20>

# 权 利 要 求 书

1. 具有如下通式 I 的抗菌素 GE 2270 的酰胺衍生物以及药用的加成盐

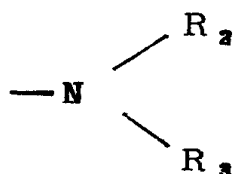


其中

R 代表氢、羟甲基或甲氧基甲基；

R<sub>1</sub> 代表氢或甲基；

Y 代表下式基团，



其中

$R_2$  代表氢、(C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基、氨基 (C<sub>2</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基、(C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基氨基 - (C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基或二 - (C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基；

$R_3$  代表氢；带有 1~3 个以下取代基的线性或带支链的 (C<sub>1</sub> - C<sub>14</sub>) 烷基；羧基；磺基；磷酰基；可被低级烷氧羰基或苄氧羰基任意保护的氨基；(C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷氧氨基 (其中烷氧基部分可被羧基任意取代)；二 - (C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基氨基、羟基、卤素、(C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷氧基 (其中烷基部分可被羧基任意取代)；(C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷氧羰基、巯基、(C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷硫基 (其中烷基部分可被羧基任意取代)；可被 1 - 3 个选自羧基、磺基、羟基、卤素和巯基的取代基任意取代的苯基、氨基甲酰基、(C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>) 烷基氨基甲酰基 (其中烷基部分可被 1 - 2 个选自羧基、氨基、(C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基氨基和二 - (C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基氨基的取代基任意取代)；二 - (C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基氨基甲酰基 (其中烷基可与相邻的氮原子一起代表 - 五 - 七元杂环，在该杂环的一个环碳原子上可被羧基或氨基甲酰基任意取代，而且该杂环还可任意含有选自 O、S 和 N 的另外的杂原子)；苯甲酰氨基 (其中苯基可被 1-3 个羟基取代)；不饱和、部分饱和或完全饱和的含氮五 - 六元杂环，并且该杂环还可含有 1 - 3 个选自 N、S 和 O 的杂原子 [其中环碳原子之一可任意地带带有羧基、磺基、羧基 (C<sub>1</sub>

-C<sub>4</sub>) 烷基和磺基 (C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基, 且该环氮原子可被 (C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基、羧基 (C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基、磺基 (C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基和苄基任意取代); C<sub>3</sub> - C<sub>6</sub> 链烯基 (可被羧基或磺基任意取代); 1-脱氧-1-山梨糖基; 2-脱氧-2-葡萄糖基; 完全饱和的五~七元含氮杂环 [其中氮原子可被 (C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基或苄基任意取代, 且环骨架的 1 个或 2 个碳原子可带有选自 (C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基、羧基和磺基的取代基];

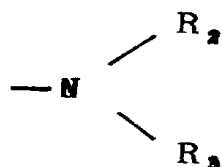
或 R<sub>2</sub> 和 R<sub>3</sub> 与相邻的氮原子一起共同代表一完全饱和的五~七元杂环, 该杂环可任意含有选自 O、S 和 N 的另外的杂原子, 且在环碳原子上可任意地带有所自 (C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基、苄基、羧基、磺基、羧基 (C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基和磺基 (C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基的 1 个或 2 个取代基;

R<sub>4</sub> 代表氢、甲基或羟甲基;

条件是, 当 R<sub>4</sub> 为氢或羟甲基时, 则 R 同时为甲氧基甲基, 且 R<sub>1</sub> 为甲基。

2. 按照权利要求 1 所述的化合物, 其中 R 代表甲氧基甲基, 且其它取代基的定义同权利要求 1。

3. 按照权利要求 1 所述的化合物, 其中 R 代表甲氧基甲基, R<sub>1</sub> 和 R<sub>4</sub> 代表甲基, Y 代表下式基团,



其中 R<sub>2</sub> 为氢, R<sub>3</sub> 的定义同权利要求 1。

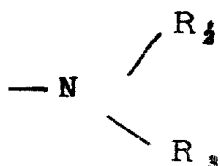
4. 按照权利要求 1 的所述的化合物, 其中 R 为甲氧基甲基,

$R_1$  和  $R_4$  代表甲基,  $Y$  为氨基, 该氨基来自例如甘氨酸、鸟氨酸、丝氨酸、天冬氨酸、酪氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、脯氨酸、赖氨酸等天然氨基酸, 或来自例如甘氨酸赖氨酸、丝氨酸脯氨酸、甘氨酸脯氨酸、酪氨酸脯氨酸、苏氨酸脯氨酸或亮氨酸脯氨酸等合成的二肽。

5. 按照权利要求 1 所述的化合物, 其中  $R$  为甲氧基甲基,  $R_1$  和  $R_4$  为甲基,  $Y$  为  $NR_2R_3$  [其中  $R_2$  为氢,  $R_3$  为被选自  $COOH$ 、 $SO_3H$  和  $PO_3H_2$  的基团所取代的直链烷基, 其碳原子数为 3—12 个较好, 为 3—7 个更好]。

6. 按照权利要求 1 所述的化合物, 其中  $R$  为甲氧基甲基,  $R_1$  和  $R_4$  为甲基,  $Y$  为  $NR_2R_3$  基团 (其中  $R_2$  为氢,  $R_3$  为  $CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2COOH$ )。

7. 按照权利要求 1 所述的化合物, 其中  $R$  代表氢、羟甲基或甲氧基甲基,  $R_1$  代表氢或甲基,  $R_4$  代表氢、甲基或羟甲基,  $Y$  代表下式基团,



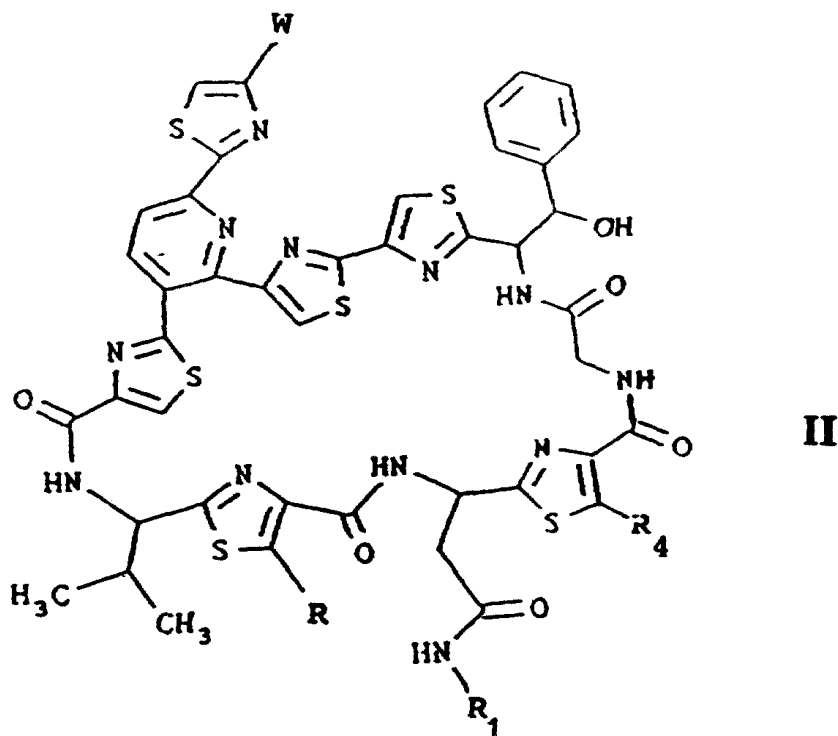
(其中  $R_2$  为氢,  $R_3$  的定义同权利要求 1)。

8. 按照权利要求 7 所述的化合物, 其中  $Y$  为氨基, 该氨基来自例如甘氨酸、鸟氨酸、丝氨酸、天冬氨酸、酪氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、脯氨酸、苏氨酸、赖氨酸等天然氨基酸或来自例如甘氨酸赖氨酸、丝氨酸脯氨酸、甘氨酸脯氨酸、酪氨酸脯氨酸、苏氨酸脯氨酸、亮氨酸脯氨酸等合成的二肽。

9. 按照权利要求1所述的化合物, 其中R为氢、羟甲基或甲氧基甲基,  $R_1$ 为氢或甲基,  $R_4$ 为氢、甲基或羟甲基, Y为 $NR_2R_3$ 基团(其中 $R_2$ 为氢,  $R_3$ 为被选自 $COOH$ 、 $SO_3H$ 和 $PO_3H_2$ 的基团取代的直链烷基, 其碳原子数为3—12个较好, 为3—7个更好)。

10. 按照权利要求1所述的化合物, 其中R为氢、羟甲基或甲氧基甲基,  $R_1$ 为氢或甲基,  $R_4$ 为氢、甲基或羟甲基, Y为 $NR_2R_3$ 基团(其中 $R_2$ 为氢,  $R_3$ 为 $CH_2$ ,  $CH_2$ ,  $CH_2$ ,  $CH_2$ ,  $CH_2$ ,  $-COOH$ )。

11. 一种制备权利要求1所述化合物的方法, 它包括在惰性有机溶剂中将抗菌素GE2270化合物(式II)与所选择的式 $HNR_2R_3$ 胺(其中 $R_2$ 和 $R_3$ 的定义同权利要求1)反应,



其中

W 代表羧基或活性酯官能团；

R 代表氢、羟甲基或甲氧基甲基；

R<sub>1</sub> 代表氢或甲基；

R<sub>4</sub> 代表氢、甲基或羟甲基；

条件是当 R<sub>4</sub> 为氢或羟甲基时，R 同时为甲氧基甲基，R<sub>1</sub> 为甲基，并且当 W 为羧基时在缩合剂存在下进行。

12. 按照权利要求 11 所述的方法，其中缩合剂系选自：  
(C<sub>1</sub>—C<sub>4</sub>) 烷基、苯基或杂环基磷酰叠氮酯，如磷酰叠氮二苯酯 (DPPA)、磷酰叠氮二乙酯、磷酰叠氮二(4-硝基苯基)酯、磷酰叠氮二吗啉基酯和磷酰叠氮二苯酯。

13. 按照权利要求 11 和 12 所述的方法，其中相对于抗菌素起始物胺反应物 HNR<sub>2</sub>，R<sub>2</sub> 应用 1—2 倍过量的摩尔，且反应温度为 0—20℃。

14. 应用权利要求 1—10 中任一项所述的化合物作为药物。

15. 含有权利要求 1—10 中任一项化合物作为有效成分以及可药用载体组成的混合物的药用组合物。

16. 应用权利要求 1—10 中任一项的化合物制备用作为抗菌素药物。

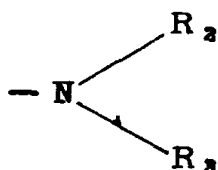


其中

R 代表氢、羟甲基或甲氧基甲基；

R<sub>1</sub> 代表氢或甲基；

Y 代表下式基团，



其中

R<sub>2</sub> 代表氢、(C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基、氨基(C<sub>2</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基、(C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基氨基-(C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基或二-(C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基氨基-(C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> 烷基)；

R<sub>3</sub> 代表氢；带有 1 - 3 个取代基的直链或支链(C<sub>1</sub> - C<sub>14</sub>) 烷基，该取代基系选自：羧基、磺基、磷酰基；可任意被低级烷氧羰基或苄氧羰基保护的氨基；(C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基氨基(其中烷基可任意被一羧基取代)；二-(C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基氨基；羟基；卤素；(C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷氧基(其中烷基部分可任意被一羧基取代)；(C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷氧羰基；巯基；(C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷硫基(其中烷基部分可任意被一羧基取代)；可被 1 - 3 个选自羧基、磺基、羟基、卤素和巯基取代基任意取代的苯基；氨基甲酰基；(C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>) 烷基氨基甲酰基(其中烷基部分可被选自羧基、氨基、(C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基氨基和二-(C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基氨基的 1 - 2 个取代基任意取代)；二-(C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基氨基甲酰基(其中烷基部分与其相邻的氮原子一起也可代表一饱和的五~七元杂环，该杂环的一个环碳原子可被羧基或氨基甲酰基任意取代，而且该杂环还可另外含有任意选

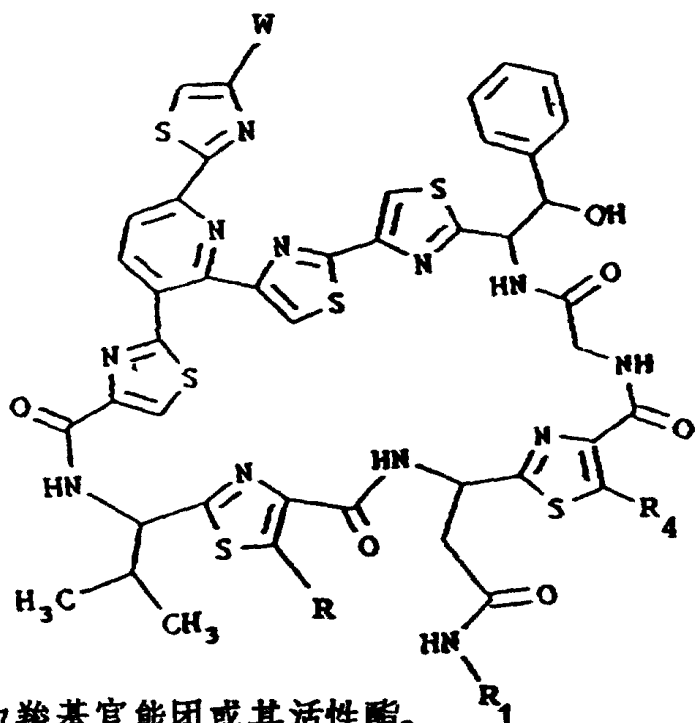
自 O、S 和 N 的杂原子)；苯甲酰氨基(其中苯基可被 1-3 个羟基取代)；不饱和、部分饱和或完全饱和的含氮五~六元杂环，并且该杂环还可含有 1-3 个选自 N、S 和 O 的另外的杂原子(其中环碳原子之一可任意地带带有羧基、磺基、羧基(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基和磺基(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基，且该环氮原子可被(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基、羧基(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基、磺基(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基和苄基任意取代)；(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)链烯基(可被羧基或磺基任意取代)；1-脱氧-1-山梨糖基；2-脱氧-2-葡萄糖基；全饱和的五~七元含氮杂环(其中氮原子可被(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基或苄基任意取代，且环骨架的 1 个或 2 个碳原子可带有选自(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基、羧基和磺基的取代基)；

或 R<sub>2</sub> 和 R<sub>3</sub> 与相邻的氮原子一起共同代表一完全饱和的五~七元杂环，该杂环可任意含有选自 O、S 和 N 的另外的杂原子，且在环碳原子上可任意地带带有选自(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基、苄基、羧基、磺基、羧基(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基和磺基(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基的 1 个或 2 个取代基；

R<sub>4</sub> 代表氢、甲基或羟甲基；

条件是当 R<sub>4</sub> 为氢为羟甲基时，则 R 同时为甲氧基甲基，且 R<sub>1</sub> 为甲基。

本发明也包括由相应的式(II)起始化合物制备本发明化合物的方法，



II

其中 W 为羧基官能团或其活性酯。

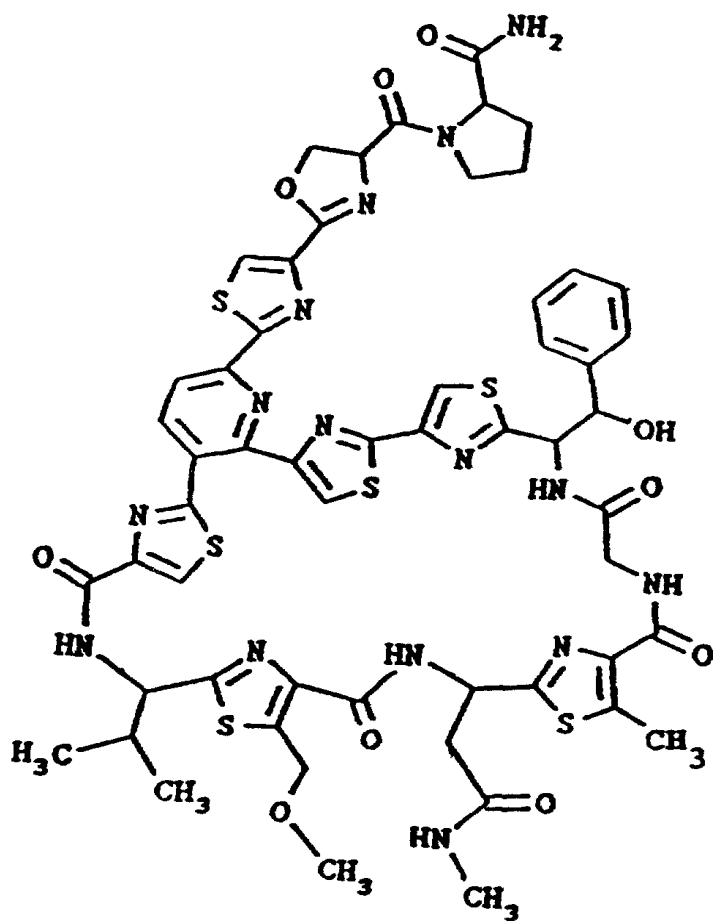
抗菌素 GE 2270 是通过培养玫瑰游动双孢菌 ATCC 53773 或其变异株或突变株，并从菌丝体和 / 或发酵液中分离所需的抗菌素物质而制得。玫瑰游动双孢菌 ATCC 53773 由土壤样品分离得到，并且于 1988 年 6 月 14 日保藏在布达佩斯条约所规定的美国典型培养物收集中心 (ATCC) (12301 Parklawn Drive, Rockville, MD 20852 Maryland U. S. A.)。

记录该菌株的登记号为 ATCC 53773。

抗菌素 GE 2270 因子 A 是抗菌素 GE 2270 复合物中的主要成分。

欧洲专利申请公开号 359062 对抗菌素 GE 2270 因子 A 以及玫瑰游动双孢菌 ATCC 53773 已有叙述。

最近的研究表明，抗菌素 GE 2270 因子 A 可用以下通式 (II) 表示，



III

当在选择性水解条件下处理抗菌素GE2270因子A时,得到一些称作抗菌素GE2270因子A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>和A<sub>3</sub>的衍生物。所说的因子A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>和A<sub>3</sub>以及制备它们的水解方法已在欧洲专利申请公开号406745以及美国专利申请号547,647中公开。

以上所提到的水解条件通常包括使用缓冲的或未缓冲的酸性水介质和极性有机溶剂的混合液。反应温度随所使用的酸的强度和浓度等因素的变化而变化,且一般在-10℃至90℃之间。反应时间还显著地取决于温度、酸强度及其浓度等参数,一般为几分钟至几小时。

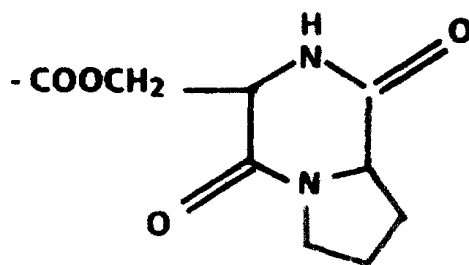
一般来说,当使用较温和的水解条件时(如较短的反应时间和较

低的温度或较低的酸强度或浓度)，通常得到抗菌素 G E 2 2 7 0 因子 A<sub>1</sub>，而使用较强的水解条件则得到抗菌素 G E 2 2 7 0 因子 A<sub>2</sub>，为了获得抗菌素 G E 2 2 7 0 因子 A<sub>3</sub>，则必需使用更剧烈的水解条件。

虽然抗菌素 G E 2 2 7 0 因子 A<sub>2</sub> 和 A<sub>3</sub> 可被直接用作生产本发明化合物的起始物质，而抗菌素 G E 2 2 7 0 因子 A<sub>1</sub> 不适于用作直接生产本发明化合物的起始物质，但抗菌素 G E 2 2 7 0 因子 A<sub>1</sub> 如同下面将要进一步解释的那样可被用作上述起始物质的前体。

抗菌素 G E 2 2 7 0 因子 A<sub>2</sub> 和 A<sub>3</sub> 的特征在于，在分子的上部分别具有酯基和羧基官能团。具体地说，已发现抗菌素 G E 2 2 7 0 因子 A<sub>2</sub> 和因子 A<sub>3</sub> 可由上面所定义的式 II 表示，其中：

W 代表 C O O H ( 抗菌素 G E 2 2 7 0 因子 A<sub>3</sub> ) 或酯基 ( 抗菌素 G E 2 2 7 0 因子 A<sub>2</sub> )



R 为甲氧基甲基，

R<sub>1</sub> 为甲基，

R<sub>4</sub> 为甲基。

抗菌素 G E 2 2 7 0 因子 A<sub>2</sub> 和因子 A<sub>3</sub> ( 及其混合物 ) 都可用作制备本发明化合物的合适起始物，但优选其中的因子 A<sub>2</sub>。因子 A<sub>3</sub>

可以作为活性酯直接加以使用，或者通过上面所述的剧烈酸水解或用稀释的碱进行碱水解（见欧洲专利申请公开号406745和美国专利申请号547,647）而被转化为因子A<sub>2</sub>。

最近已发现（欧洲专利申请公开号451486和美国专利申请665,612），可从玫瑰游动双孢菌ATCC53773或其产生抗菌素GE2270的变异株或突变株的菌种中分离出其它较少的成分。具体地说，这些成分已在菌丝体以及所培养的微生物发酵液中被发现。

从菌丝体中回收所说的抗菌素GE2270的较少的成分的优选方法包括用可与水混溶的有机溶剂萃取过滤或离心的菌丝体、浓缩萃取液并通过沉淀（有选择地加入沉淀剂）、用不可与水混溶的有机溶剂萃取水溶性残渣、或在吸附层析后从吸附基质中洗脱所需产物等方法回收粗的抗菌素物质。

最近发现（欧洲专利申请号91114667.8），从上面所述的玫瑰游动双孢菌ATCC53773的相同培养物中可分离出其他较少的成分（因子C<sub>2a</sub>）。

抗菌素GE2270 C<sub>2a</sub>的理化性质如下：

A)用Perkin Elmer 320型光谱仪所记录的紫外吸收光谱显示出如下的最大吸收：

溶剂	UV max (nm)
0.1M HCl	245-250 (肩峰) 300-315
0.1M KOH	245-250 (肩峰) 300-315

磷酸盐缓冲液 (PH 7.38)	245-250 (肩峰)
	300-315
甲醇	245-250 (肩峰)
	300-315

B) 抗菌素 GE2270 因子  $C_{2a}$  的  $^1H-NMR$  光谱是用 250 MHz Bruker 光谱仪记录的。以 TMS 作为内标 (0.00ppm), 在  $DM SO-d_6$  中抗菌素的光谱显示出如下信号 ( $\delta$ , ppm, m) (s = 单峰, d = 双峰, t = 三峰, m = 多重峰, Py = 吡啶, Tz = 噻唑)

9.03, d, (NH); 8.70, d, (2NH's); 8.60, s, 8.54, s, 8.29, s, 和 7.38, s, (TzCH's); 8.48, m, (甘氨酸NH); 8.43, d, 和 8.27, d, (Py CH's); 7.35-7.20, m, (芳香族CH's和伯酰胺NH); 6.98, s (伯酰胺NH); 6.04, d, (OH); 5.80, t (OH); 5.35-5.15, m, ( $\alpha$ CH's); 5.04, m, (苯基丝氨酸 $\beta$ CH); 4.98, s (CH<sub>2</sub>(OCH<sub>3</sub>)); 4.87, d, (CH<sub>2</sub>(OH)); 4.81, m 和 4.56, m, (噁唑啉CH<sub>2</sub>); 4.35-3.75, m, (甘氨酸的CH<sub>2</sub>和脯氨酸酰胺CH's); 3.39, s, (OCH<sub>3</sub>); 2.71, m, 和 1.30, m, (天冬氨酸的CH<sub>2</sub>); 2.48, d, (N-甲基天冬氨酸的NCH<sub>3</sub>); 2.22-1.80, m, (异丙基CH和脯氨酸酰胺CH's); 0.88和0.84, d, (缬氨酸CH<sub>3</sub>'s)

C) 当用下列反相 HPLC 系统进行分析时, 相对于抗菌素 GE 2270 因子 A ( $R_t$  16.6) 的保留时间 0.76 min, 抗菌素 GE 2270 因子  $C_{2a}$  的保留时间为 12.6 min;

柱子: Bakerbond<sup>®</sup> C8 (5  $\mu$ m) 4.6  $\times$  250 mm  
(Bakerbond<sup>®</sup> 是反相辛基甲硅烷基硅胶 HPLC 柱的商品名, 由 J. T. Baker Research Product, Phillipsburg, New Jersey 08865 USA 提供)

流速: 1.8 ml/min

A 相: CH<sub>3</sub> CN; 四氢呋喃; 40 mM HCOONH<sub>4</sub> =  
40 : 40 : 20

B 相: CH<sub>3</sub> CN; 四氢呋喃; 40 mM HCOONH<sub>4</sub> =  
10 : 10 : 80

洗脱: 在 20 min 内用 20%—30% A 相进行线性梯度洗脱

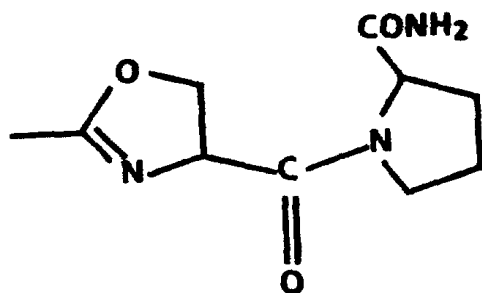
检测: UV 254 nm

D) 抗菌素 GE 2270 因子  $C_{2a}$  的主要 FAB-MS 峰为 1306 道尔顿。它最可能对应于质子化了的分子离子的最低同位素。分析是在 Kratos MS-50 双聚集质谱仪上进行, 使用了 8 kV 的加速电压和具有 Xe 气体的鞍形场原子枪 (在离子源压力计上显示的压力为  $2 \times 10^{-5}$  托), 其电压为 6 kV, 电流为 1 mA。用于 FAB-MS 分析的抗菌素是与含有 0.1 M 乙酸的硫甘油基质混合在一起。

所说的抗菌素 GE 2270 的某些较少的成分 (即因子  $B_1$ ,  $B_2$ ,  $C_1$ ,  $C_2$ ,  $C_{2a}$ ,  $D_1$ ,  $D_2$  和 E) 可用上面所提到的通

式 II 代表, 其中

W 代表下列基团:



R 分别代表氢 (GE 2270 因子 C<sub>1</sub> 和 D<sub>1</sub>)、甲基 (因子 B<sub>2</sub>)、羟甲基 (因子 D<sub>2</sub> 和 E) 和甲氧基甲基 (因子 B<sub>1</sub>、C<sub>2</sub> 和 C<sub>2a</sub>);

R<sub>1</sub> 代表氢 (GE 2270 因子 B<sub>1</sub>、D<sub>1</sub> 和 E) 和甲基 (GE 2270 因子 B<sub>2</sub>、C<sub>1</sub>、C<sub>2</sub>、C<sub>2a</sub> 和 D<sub>2</sub>);

R<sub>4</sub> 代表氢 (GE 2270 因子 C<sub>2</sub>)、甲基 (GE 2270 因子 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、C<sub>1</sub>、D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub> 和 E) 或羟甲基 (因子 C<sub>2a</sub>)。

当按照上面由抗菌素 GE 2270 因子 A 制备抗菌素 GE 2270 因子 A<sub>1</sub> 和 A<sub>2</sub> 所述相同的水解方法 (及欧洲专利申请公布号 406745 和美国专利申请号 547,647) 处理抗菌素 GE 2270 因子 D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub> 和 E 或其混合物时, 上述共同的基团 W 被水解成羧基, 而取代基 R、R<sub>1</sub> 和 R<sub>4</sub> 则未变。

因此, 其中 W 为羧基或活性酯官能团, R 为氢、羟甲基或甲氧基甲基, R<sub>1</sub> 为氢或甲基且 R<sub>4</sub> 为氢、甲基或羟甲基的式 II 衍生物可用作本发明的起始物, 条件是当 R<sub>4</sub> 为氢或羟甲基时 R 为甲氧基甲基且 R<sub>1</sub> 为甲基。应当清楚的是, 如同其它微生物一样, 产生 GE 2270

菌株的特征在于需经变异。例如，通过用各种已知的诱变因子（如紫外线、X-射线、高频波、放射线，化学药品，如亚硝酸、N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基-胍以及许多的其它因素）进行处理，可获得该菌株的人工变异株和突变体。在本发明中，所有属于游动双孢菌属且产生抗菌素GE 2270的天然和人工变异株和突变体均被看作与菌株玫瑰游动双孢菌ATCC 53773等同。

这里所用的术语“烷基”，不论是单独存在还是与其它取代基相结合，都包括直链和支链的烃基；更具体地说，“(C<sub>1</sub> - C<sub>14</sub>) 烷基”代表具有1-14个碳原子的直链或支链的脂肪烃，如甲基、乙基、丙基、1-甲基乙基、丁基、1-甲基丙基、1,1-二甲基乙基、戊基、1-甲基丁基、2-甲基丁基、1-己基、2-己基、3-己基、3,3-二甲基-1-丁基、4-甲基-1-戊基和3-甲基-1-戊基、庚基、辛基、壬基、癸基、十一烷基、十二烷基、十三烷基和十四烷基。同样，“(C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基”代表具有1-4个碳原子的直链或支链的烃，如前面所列举的1-4个碳原子的烷基。

如前所述，“(C<sub>1</sub> - C<sub>14</sub>) 烷基”可带有1-3个取代基。

术语“卤素”代表选自氟、氯、溴和碘的卤原子。

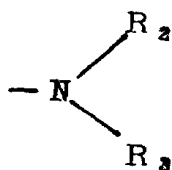
这里所用的术语“(C<sub>3</sub> - C<sub>6</sub>) 链烯基”指具有3-6个碳原子和双键的链烯基；它包括丙烯基、3-丁烯基、2-丁烯基、2-甲基丙烯基、2-戊烯基、3-己烯基等，它们可被羧基或磺基任意取代。

本发明所表述的“可含有1-3个选自N、S和O的其它杂原子的含氮五~六元杂环”包括未饱和、部分饱和和完全饱和的环系统，

如吡啶、嘧啶、吡嗪、吡咯烷、哌啶、哌嗪、噁唑、噁唑啉、噁唑烷、吡唑啉、吡唑烷、噻唑烷、吗啉、硫代吗啉、吡咯、吡咯啉、咪唑、咪唑烷、噻二唑、噁二唑和四唑等。

在所说的“含氮五~六元杂环”中1-3个环碳原子可任意地带  
有羧基、磺基、羧基(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基和磺基(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷  
基,且环氮原子可任意地被(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基、羧基(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)  
烷基、磺基(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基和苄基取代。

“其中氮原子可被(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基或苄基任意取代的全饱和  
的五~七元含氮杂环”这一表述是指含有1个可被(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷  
基或苄基任意取代的氮原子,并且碳骨架可任意地带  
(C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>)烷基、羧基和磺基取代基的全饱和五~七元杂环。该  
杂环是通过下式的氮原子和杂环架的碳原子之间的键与该氮原子相  
连,



该基团的例子有:1-甲基-4-吡咯烷基、3-哌啶基、1-乙基-4-哌啶基、1-苄基-2,6-二甲基-4-哌啶基和4-羧基-1-甲基-2-哌啶基。

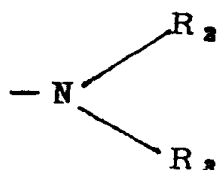
当R<sub>2</sub>和R<sub>3</sub>与相邻的氮原子一起共同代表“可任意地含有选自O、S和N的其它杂原子的全饱和五~七元杂环”时,该表述包括例如下面的杂环基团:吡咯烷子基、吗啉代、哌啶子基、哌嗪子基、硫代吗啉代、吡唑烷子基、1,3-噁唑烷子基、1,3-噻唑烷子基和六氢氮杂葑子基。当其它杂原子为N时,它可任意地带  
有选自

(C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基、苄基、羧基、羧基(C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基、磺基和磺基(C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>) 烷基的取代基。

术语“1-脱氧-1-山梨糖基”指其中Y为来自葡糖胺的式(I)化合物,即Y为1-氨基-1-脱氧-山梨糖醇。术语“2-脱氧-2-葡糖基”指其中Y为来自葡糖胺的式(I)化合物,即Y为2-氨基-2-脱氧葡萄糖。

优选的一组本发明化合物为其中R代表甲氧基甲基、R<sub>1</sub>和R<sub>4</sub>代表甲基和其它取代基的定义同前的式I化合物。

更优选的一组本发明化合物是其中R代表甲氧基甲基、R<sub>1</sub>和R<sub>4</sub>代表甲基以及Y代表下式基团的式I化合物,



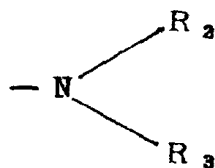
其中R<sub>2</sub>为氢, R<sub>3</sub>的定义同上。

另一组更优选的本发明化合物为下述式I化合物,其中R为甲氧基甲基, R<sub>1</sub>和R<sub>4</sub>代表甲基,并且Y代表氨基,该氨基来源于例如甘氨酸、鸟氨酸、丝氨酸、天冬氨酸、酪氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、脯氨酸、苏氨酸、赖氨酸等天然氨基酸,或来源于例如甘氨酸赖氨酸、丝氨酸脯氨酸、甘氨酸脯氨酸、酪氨酸脯氨酸、苏氨酸脯氨酸、亮氨酸脯氨酸等合成的二肽。

另一组更优选的化合物包括如下式I化合物,其中R为甲氧基甲基, R<sub>1</sub>和R<sub>4</sub>为甲基, Y为NR<sub>2</sub> R<sub>2</sub>基团(其中R<sub>2</sub>为氢, R<sub>2</sub>为被选自COOH、SO<sub>3</sub>H和PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>基团取代的具有3-12个碳原子,优选3-7个碳原子的线性烷基链。

最优选的化合物为其中 R 为甲氧基甲基、R<sub>1</sub> 和 R<sub>4</sub> 为甲基和 Y 为 NR<sub>2</sub> R<sub>3</sub> 基团 (其中 R<sub>2</sub> 为氢, R<sub>3</sub> 为 CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-COOH) 的式 I 化合物。

另一组更优选的本发明化合物是如下式 I 化合物, 其中 R 代表氢、羟甲基和甲氧基甲基, R<sub>1</sub> 代表氢或甲基, Y 代表下式基团,



其中 R<sub>2</sub> 为氢, R<sub>3</sub> 和 R<sub>4</sub> 的定义同上。

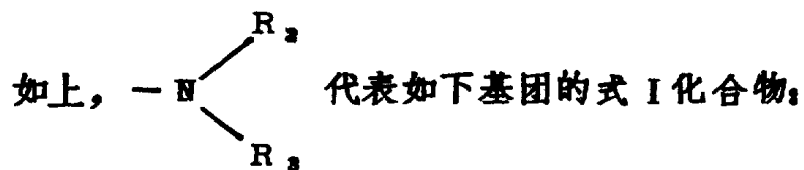
另一组更优选的本发明化合物是如下式 I 化合物, 其中 R 为氢、羟甲基或甲氧基甲基, R<sub>1</sub> 代表氢或甲基, R<sub>4</sub> 为氢、甲基或羟甲基 (条件是当 R<sub>4</sub> 为氢或羟甲基时 R 为甲氧基甲基, R<sub>1</sub> 为甲基), 且 Y 为氨基, 该氨基来源于例如甘氨酸、鸟氨酸、丝氨酸、天冬氨酸、酪氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、脯氨酸、苏氨酸、赖氨酸等天然氨基酸, 或来源于例如甘氨酰赖氨酸、丝氨酰脯氨酸、甘氨酰脯氨酰胺、酪氨酰脯氨酰胺、苏氨酰脯氨酰胺、亮氨酰脯氨酰胺等合成的二肽。

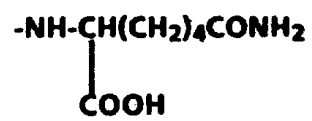
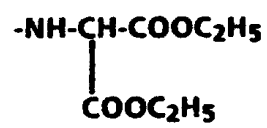
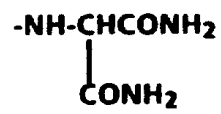
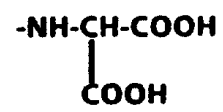
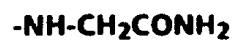
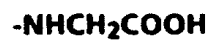
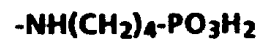
另一组优选的化合物包括如下式 I 化合物, 其中 R 为氢、羟甲基或甲氧基甲基, R<sub>1</sub> 为氢或甲基, R<sub>4</sub> 为氢、甲基或羟甲基 (条件是当 R<sub>4</sub> 为氢或羟甲基时 R 为甲氧基甲基, R<sub>1</sub> 为甲基), 且 Y 为 NR<sub>2</sub> R<sub>3</sub> 基团, 其中 R<sub>2</sub> 为氢, R<sub>3</sub> 为被 COOH、SO<sub>3</sub>H 和 PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> 基团取代的优选具有 3-12 个碳原子 (更优选具有 3-7 个碳原子) 的线性烷基链。

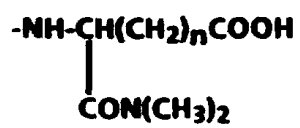
最后一组优选的化合物是如下式 I 化合物, 其中 R 为氢、羟甲基

或甲氧基甲基， $R_1$  为氢或甲基， $R_4$  的定义同上，且 Y 为  $NR_2R_3$  基团（其中  $R_2$  为氢， $R_3$  为  $CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-COOH$ ）。

本发明化合物的代表性实例包括其中  $R$ 、 $R_2$ 、 $R_4$  和 Y 的定义



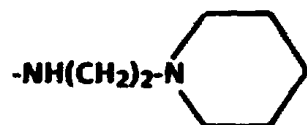
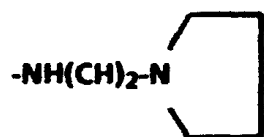


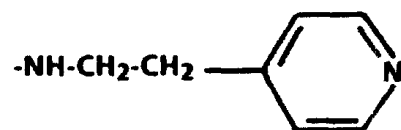
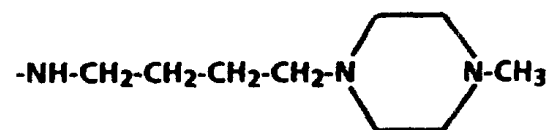
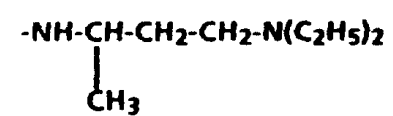
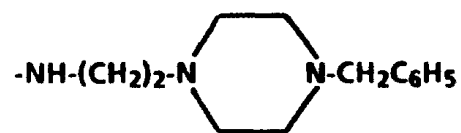
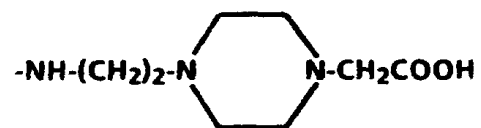
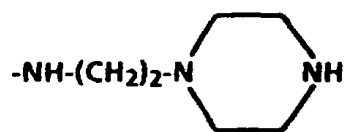
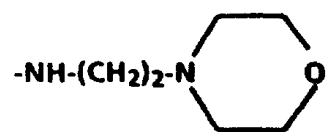


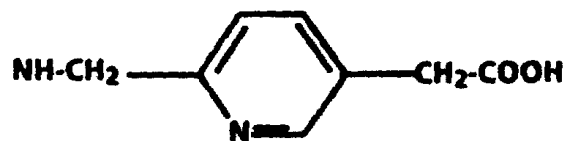
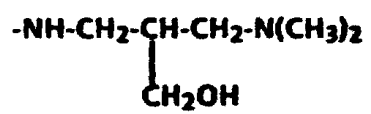
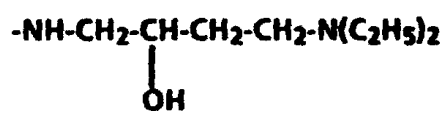
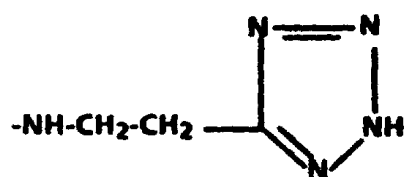
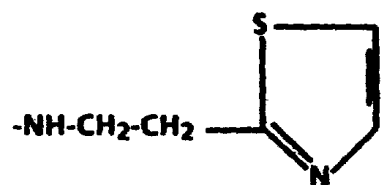
其中  $n$  为 2, 3 或 4

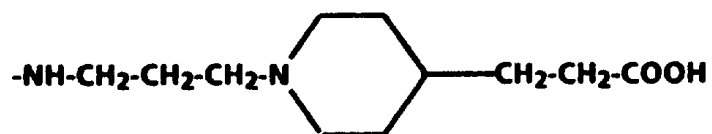
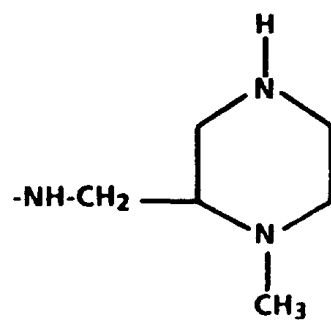
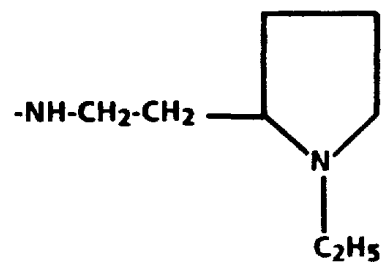


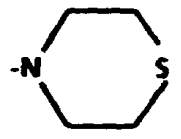
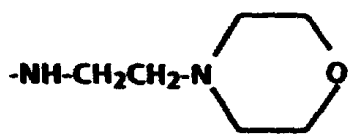
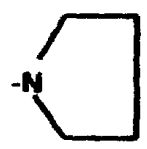
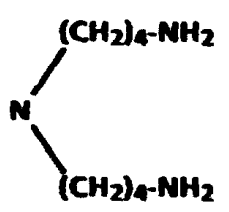
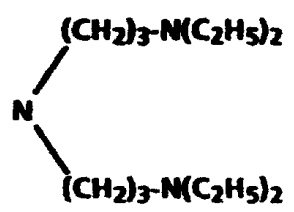
其中  $n$  为 2, 3, 4, 5, 6, 7 或 8

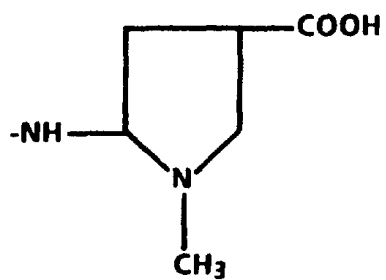
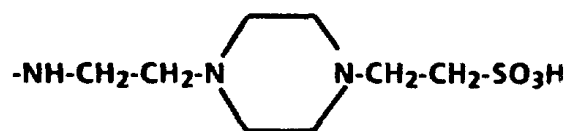
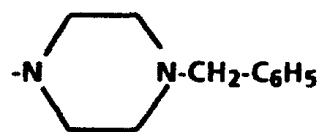
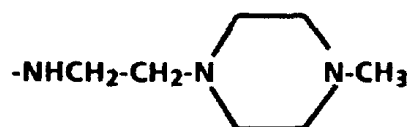
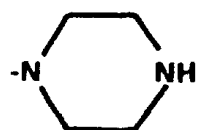


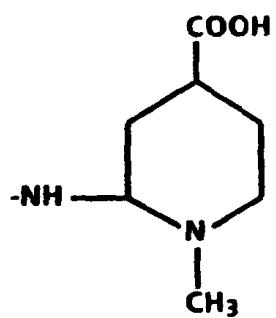
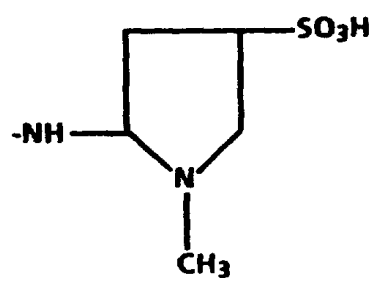
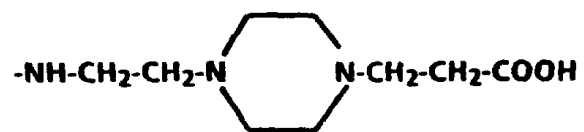


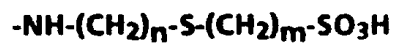
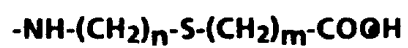
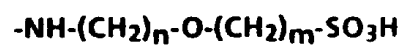
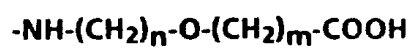
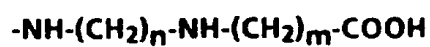
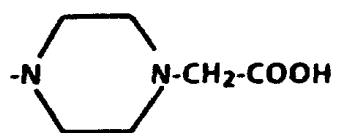
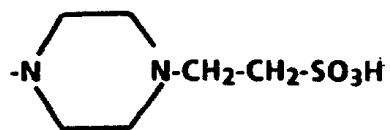




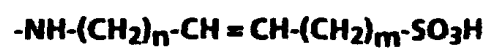








其中  $n$  为 2, 3, 4 或 5  $m$  为 1, 2, 3 或 4



其中  $n$  为 1, 2 或 3     $m$  为 0, 1 或 2

本发明的化合物可按照常规方法形成盐。

具体地，其中—NR<sub>2</sub>，R<sub>2</sub>基团含有另外的胺官能团的式I化合物可以形成酸加成盐。

另外，在—NR<sub>2</sub>，R<sub>2</sub>基团中含有酸官能团的本发明化合物还可以形成碱加成盐。

一般来说，含有酸和碱官能团的本发明化合物可形成内盐。在本发明的范围内，“内盐”包括在“非盐”形式的定义中。

优选的本发明化合物的加成盐是可药用的酸和/或碱加成盐。

术语“可药用的酸和/或碱加成盐”意指与酸和/或碱形成的盐，从生物学、制药和配方的角度看这些在制药实践以及用于促进动物生长方面均是适用的。

式I化合物的代表性和适宜的酸加成盐包括通过常规反应与有机和无机酸形成的盐，这些有机和无机酸的例子有：盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸、乙酸、三氟乙酸、三氯乙酸、琥珀酸、柠檬酸、抗坏血酸、乳酸、马来酸、富马酸、棕榈酸、胆酸、双羟萘酸、粘酸、谷氨酸、樟脑酸、戊二酸、羟基乙酸；邻苯二甲酸、酒石酸、月桂酸、硬脂酸、水杨酸、甲磺酸、十二烷基磺酸（*estolic acid*）、苯磺酸、山梨酸、苦味酸、苯甲酸、肉桂酸以及类似的酸。

上述碱的代表性实例有：碱金属或碱土金属氢氧化物，如氢氧化钠、氢氧化钾和氢氧化钙；氨和有机脂族、脂环族或芳族胺，如甲胺、二甲胺、三甲胺、2-氨基-2-羟甲基-1,3-丙二醇（*TRIS*）、甲基吡啶；以及碱性氨基酸，如赖氨酸、鸟氨酸、精氨酸和组氨酸。

将本发明的游离氨基或非盐化合物转化成相应的加成盐，以及反

过来将本发明化合物的加成盐转化成非盐或游离氨基形式都属于常规技术并包括在本发明中。

例如，通过将非盐形式的化合物溶于水溶性溶剂中并加入稍微过量摩尔的选择的酸或碱，可将式 I 化合物转化成相应的酸或碱加成盐。然后将产生的溶液或悬浮液冷冻干燥就可得到所需的盐。在某些情况下，不通过冷冻干燥而是用有机溶剂萃取、将分离出的有机相浓缩至小体积并加入非溶剂沉淀，也可能得到最终所需的盐。

在最终的盐不溶于有机溶剂而非盐形式可溶的情况下，可在加入化学计算量稍微过量摩尔的选择酸或碱之后，通过过滤非盐形式的有机溶液的方法可以得到最终的盐。

非盐形式可通过下面方法制备：将相应的酸或碱盐溶于水溶性溶剂，然后进行中和，游离出非盐形式。再通过用有机溶剂萃取回收，或者通过加入选择酸或碱并按上述方法操作而转化成另一种碱或酸加成盐。

当需要进行下面的中和脱盐时，可使用普通的脱盐方法。

例如，可方便地使用在控制的微孔葡聚糖树脂（如 Sephadex LH 20）或硅烷化的硅胶上进行柱层析。用水溶液洗去不需要的盐后，用水与极性或非极性有机溶剂的混合液（如从 50 : 50 乙腈 / 水至 100 % 乙腈）进行线性梯度或阶跃梯度洗脱，可洗脱出所需产物。

正如现有技术所已知的，与可药用的酸（碱）或非药用的酸（碱）成盐可以用作为常规纯化技术。在成盐和分离之后可以将式 I 化合物的盐形式转化为相应的非盐或转化为可药用的盐。

在某些情况下，式 I 化合物的酸加成盐更易溶于水和亲水溶剂，

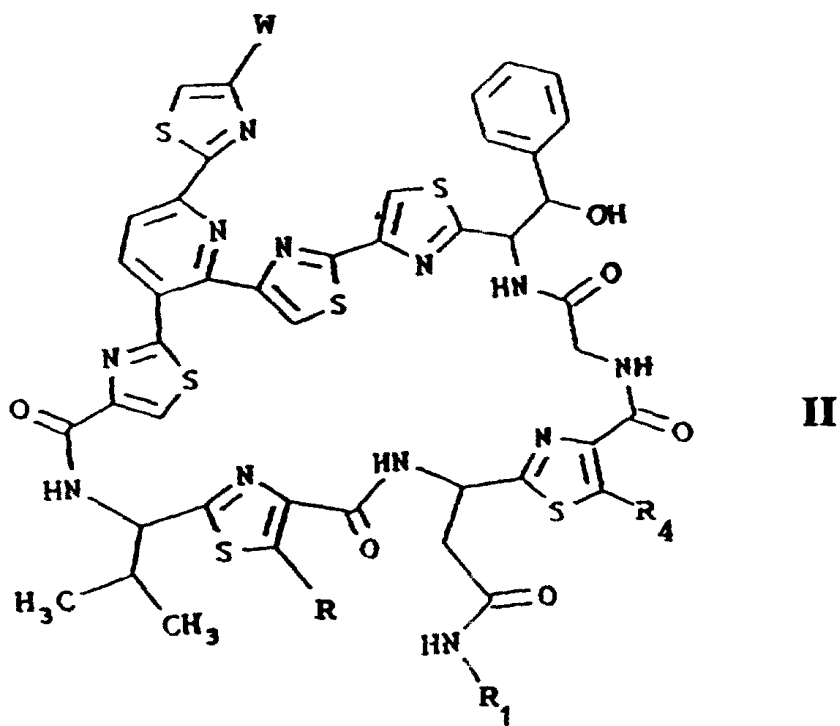
且其化学稳定性得到提高。

但是，鉴于式 I 化合物和它们的盐性质上的相似性，本申请中论及的式 I 化合物的生物活性同样适用于其可药用的盐，反之亦然。

鉴于本发明化合物的特性，在制备用于治疗人体或动物的药品中本发明化合物可以用作为有效成分。

具体地说，式 I 所示的抗菌素 G E 2 2 7 0 化合物的酰胺类衍生物主要可用作抗革兰氏阳性细菌以及抗革兰氏阳性和抗阴性厌氧菌的抗菌剂。

制备本发明化合物的一般方法是将合适的抗菌素 G E 2 2 7 0 化合物式 (II) 与所选择的式  $\text{HNR}_2$ ,  $\text{R}_2$  的胺 (其中  $\text{R}_1$  和  $\text{R}_2$  的定义同上) 在惰性有机溶剂中反应 (酰胺化)，



其中

W 代表羧基或活性酯官能团；

R 代表氢、羟甲基或甲氧基甲基；

R<sub>1</sub> 代表氢或甲基；

R<sub>4</sub> 代表氢、甲基或羟甲基；

条件是当 R<sub>4</sub> 代表氢或羟甲基时，R 同时为甲氧基甲基，R<sub>1</sub> 为甲基；并且当 W 为羧基时，在缩合剂存在下进行反应。

在进行酰胺化制备本发明化合物时，有时需要将反应物上不参与酰胺化反应但对反应条件敏感或对反应进程产生不利影响（如产生不需要的副产物）的官能团进行保护。

此外，当氨基酸含有其它可能影响酰胺化反应进程的活性官能团（如氨基、羧基或巯基）时，可用本身已知方法将它们保护起来，这些方法在 E. Gross and J. Meienhofer "The Peptides" Vol. 3, Academic Press, New York, 1981 和 M. Bodanszky and A. Bodanszky "The Practice of Peptide Synthesis", Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 1984 等参考书中已有叙述。这些保护基在进行酰胺反应的条件下必须是很稳定的，并且能够在反应结束时很容易地脱去而不影响新形成的酰胺键或分子的任何其它部分。

能够较好地用在本发明的方法中保护氨基官能团的 N-保护基的代表性实例有形成氨基甲酸酯的试剂，其特征在于具有以下氧羰基：1, 1-二甲基丙炔基-氧羰基、叔丁基氧羰基、乙烯基氧羰基、芳基氧羰基、肉桂酰氧羰基、苄基氧羰基、对-硝基苄基氧羰基-3, 4-二甲氧基-6-硝基苄基氧羰基、2, 4-二氯苄基氧

羰基、5-苯并异噁唑基甲氧羰基、9-蒽基甲氧羰基、二苯基甲氧羰基、异烟酰氧羰基、S-苄基氧羰基等。

对活性羧酸官能团的适当保护方法是通过例如形成酯官能团。

根据本申请的公开内容，熟悉本领域的技术人员能够决定哪些胺  $\text{HN R}_2$ 、 $\text{R}_2$  官能团需要保护、怎样保护以及为了得到所需最终化合物如何适当的去保护反应。

熟悉本领域的技术人员均知道，根据所需要的具体酰胺衍生物的特性，最终选择具体的保护基。事实上，终产物的酰胺官能团在脱去保护基的条件下必须是稳定的。

由于除去不同保护基的条件是已知的，因此熟练的技术人员能够选择出适当的保护基。

用于缩合反应的情性有机溶剂是那些不会对反应进程产生不利影响并且能够至少部分溶解抗菌素起始物的溶剂。

所述情性溶剂的例子有：有机酰胺、二元醇和多元醇的醚、磷酰胺、亚砷。优选的情性溶剂的例子有：二甲基甲酰胺、二甲氧基乙烷、六甲基磷酰胺、二甲基亚砷、二噁烷及其混合液。

对反应条件，有时水是合适的。

当 W 为羧基时本发明方法中所使用的缩合剂是那些适于在有机化合物尤其是在肽合成中形成酰胺键的试剂。

代表性的和优选的缩合剂的例子有： $(\text{C}_1 - \text{C}_4)$  烷基、苯基或杂环基磷酰叠氮酯，如磷酰叠氮二苯酯 (DPPA)、磷酰叠氮二乙酯、磷酰叠氮二(4-硝基苯基)酯、磷酰叠氮二吗啉基酯和磷酰叠氮二苯酯或苯并三唑-1-基-氧代-三吡咯烷并磷鎓六氟磷酸酯 (PyBOP)。优选的缩合剂是磷酰叠氮二苯酯 (DPPA)。

在本发明方法中，通常应用稍微过量摩尔的胺反应物 $\text{HNR}_2\text{R}_3$ 。一般应用1—2倍摩尔过量，优选1.2—1.5倍摩尔过量。

为了进行酰胺化反应，胺 $\text{HNR}_2\text{R}_3$ 必须能够与抗菌素起始物的羧基官能团形成盐。当在所选定的反应介质中胺 $\text{HNR}_2\text{R}_3$ 不足以成盐时，必须向反应混合物中按与抗菌素起始物等摩尔的量加入形成盐的碱。

这类形成盐的碱其例子有：有机脂族或脂环族叔胺（如三甲胺、三乙胺、N-甲基吡咯烷）和杂环碱（如甲基吡啶）等。

通常应用稍微过量摩尔（如1.1—1.5），优选为抗菌素GE 2270起始物1.2倍的缩合剂。

另外，也可将胺 $\text{HNR}_2\text{R}_3$ 以其相应的酸加成盐如盐酸盐的形式很便利地加至反应介质中。在此情况下，必须使用能够从其盐中游离出 $\text{HNR}_2\text{R}_3$ 胺的至少2倍（优选2—3倍）。同样，在这种情况下，合适的碱是如同上面所列举的有机脂族或脂环族叔胺。事实上，至少在某些情况下，最好使用胺 $\text{HNR}_2\text{R}_3$ 的盐，然后用上述碱将其游离出来，特别是当该盐比相应的游离胺更稳定时尤其如此。

反应温度将明显地取决于特定的起始物和反应条件。一般来说，在0—20℃之间进行该反应较好。

同样，反应时间也明显地取决于其它反应参数。一般来说，缩合反应在约5—24 h内完成。

在任何情况下，均按照现有技术中的已知方法通过TCC（优选HPLC）监测反应进程。

根据测定的结果，熟悉本领域的技术人员能够对反应进程进行评估以及决定何时终止反应，并使用已知方法处理反应物质。这些方法

包括用溶剂萃取、加入非溶剂沉淀以及通过柱层析进一步分离和纯化。

如前所述，当需要对反应物  $HNR_2$ 、 $R_2$  进行保护时，被保护的最终产物可通过已知方法脱去保护，所用的具体方法主要取决于所用的保护基。

当活性酯用作为  $GE2270$  起始物时，该酯是其中酯化的醇具有一离去基团的酯，而该离去基团在对分子的其它部分不发生改变的反应条件下能够很容易地被  $HNR_2$ 、 $R_2$  胺所置换或取代。在上面所提到的溶剂中，应用的胺反应物其摩尔数通常超过活性酯和低级烷醇的量。反应温度一般为  $0^\circ C - 100^\circ C$ 。活性酯的例子包括其中低级烷基部分被氰基和硝基任意取代的低级烷基酯、被卤素和硝基取代的苯基酯以及  $GE2270$  因子  $A_2$  中含有的酯基部分。

很显然，在很多情况下可以多种方式制备本发明化合物，并且可以利用本身已知反应将本发明的一种化合物转化成另一种化合物。

例如，当  $HNR_2$ 、 $R_2$  胺含有可被进一步转化成相应的酰胺衍生物的羧基或酯官能团时，可通过如下方法制备所需的式 I 化合物：首先将上述的胺与所选择的  $GE2270$  起始物缩合，然后通过与合适的胺反应将羧基或酯基转化成酰胺。

以下各表列出了本发明某些代表性化合物的结构式（表 I）及其制备方法（在实验部分有详细叙述）、起始物和反应产率（表 II）。

下列(表 I)中报道了具有代表性的本发明化合物的结构式

表 I


实施例号 的化合物	Y	R	R <sub>1</sub>	R <sub>4</sub>
1	-NH CH <sub>2</sub> COOH	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
2	-NH CHCOOH   CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
3	-NH CHCOOH   CH <sub>2</sub> OH	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
4	-NH CHCOOH   CH <sub>2</sub> COOH	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
5	-NH CH-COOH   CH <sub>2</sub> - 	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>

表 I (续)

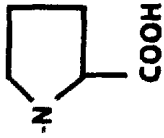
实施例号 的化合物	Y	R	R <sub>1</sub>	R <sub>4</sub>
6	$\begin{array}{c} \text{-NH CHCOOH} \\   \\ \text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2 \end{array}$	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
7	$\begin{array}{c} \text{-NH CH-COOH} \\   \\ \text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
8	$\begin{array}{c} \text{-NH CHCOOH} \\   \\ \text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3 \end{array}$	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
9		CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
10	$\begin{array}{c} \text{-NH CHCOOH} \\   \\ \text{HO}-\text{CH}-\text{CH}_3 \end{array}$	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>

表 I (续)

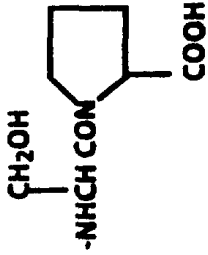
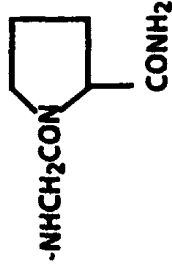
实施例号 的化合物	Y	R	R <sub>1</sub>	R <sub>4</sub>
11	-NH CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH(NH <sub>2</sub> )COOH	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
12	-NH CH <sub>2</sub> CONHCH(COOH)   CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
13		CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
14		CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>

表 I (续)

实施例号 的化合物	Y	R	R <sub>1</sub>	R <sub>4</sub>
15		CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
16		CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
17		CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>

表 I (续)

实施例号 的化合物	Y	R	R <sub>1</sub>	R <sub>4</sub>
18	-NH CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
19	-NH CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
20	-NH CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
21	-NH CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
22	-NH CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> H	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
23	-NH CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> H	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>

表 I (续)



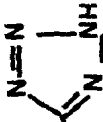
实施例号 的化合物	Y	R	R <sub>1</sub>	R <sub>A</sub>
24	-NH CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
25	-NH CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
26	-NH CH <sub>2</sub> -  -COOH	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
27	-N  -COOH	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
28	-NH CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> - 	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>

表 I (续)

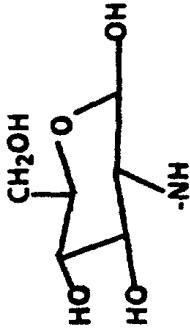
实施例号 的化合物	Y	R	R <sub>1</sub>	R <sub>4</sub>
29	$  \begin{array}{c}  \text{N-CH}_2\text{CH} \\    \\  \text{CH}_3 \\    \\  \text{CH} \\    \\  \text{OH} \\    \\  \text{CH} \\    \\  \text{OH} \\    \\  \text{CH} \\    \\  \text{OH} \\    \\  \text{CH} \\    \\  \text{OH} \\    \\  \text{CH}_2\text{OH}  \end{array}  $	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
30		CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
31	$  \begin{array}{c}  \text{O} \\     \\  \text{-NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH} \\    \\  \text{C}_6\text{H}_3(\text{OH})_2  \end{array}  $	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
32	-NH CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>

表 I (续)


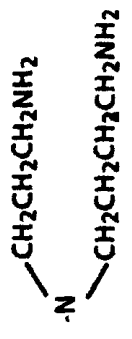
实施例号 的化合物	Y	R	R <sub>1</sub>	R <sub>4</sub>
33		CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
34		CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
35	-NH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
36	-NH CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>

表 I (续)

实施例号 的化合物	Y	R	R <sub>1</sub>	R <sub>4</sub>
37	-NH CH <sub>2</sub> CHO	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
38	-NH CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
39	-NH CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> SCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
40	-NH CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH = CHCOOH	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
41	-NH CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>

表 I (续)

实例号 的化合物	Y	R	R <sub>1</sub>	R <sub>4</sub>
42	-NH CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH	CH <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OH
43	-NH CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH	H	H	CH <sub>3</sub>
44	-NH CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH	CH <sub>2</sub> OH	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>

第 2, 11, 12, 34, 36 号化合物是以三氟乙酸盐的形式分离

表 II


实施例号 化合物	起始物 (GE2270因子+胺反应物)	方法	总产率
1	$A_3 + HCl.NH_2CH_2COOEt$	A <sub>1</sub>	80%
2	$A_3 + HCl.NH_2CHCOOMe$   $CH_2CH_2CH_2NH.Cbz$	A <sub>1</sub>	72%
3	$A_3 + HCl.NH_2CHCOOMe$   $CH_2OH$	A <sub>1</sub>	70%
4	$A_3 + HCl.NH_2CHCOOMe$   $CH_2COOMe$	A <sub>1</sub>	54%
5	$A_3 + HCl.NH_2CH-COOMe$   $CH_2-$ 	A <sub>1</sub>	70%
6	$A_3 + HCl.NH_2CHCOOMe$   $CH_2CH(CH_3)_2$	A <sub>1</sub>	70%

表 II (续)


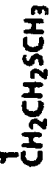
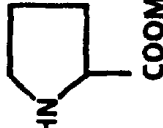

实施例号 化合物	起始物 (GE 2270 因子 + 胺反应物)	方法	总产率
7	$A_3 + HCl.NH_2CHCOOMe$ 	A <sub>1</sub>	60%
8	$A_3 + HCl.NH_2CHCOOMe$ 	A <sub>1</sub>	70%
9	$A_3 + HCl.HN$ 	A <sub>1</sub>	75%
10	$A_3 + HCl.NH_2CHCOOMe$ 	A <sub>1</sub>	70%

表 II (续)

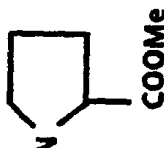
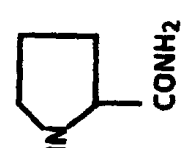
实施例号 化合物	起始物 (O 2 2 7 0 因子 + 胺反应物)	方法	总产率
11	$A_3 + NH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH-COOH$ $ $ $NH.Cbz$	B <sub>1</sub>	64%
12	$A_3 + TFA.NH_2CH_2CONHCHCOOH$ $ $ $CH_2CH_2CH_2CH_2NH.Cbz$	B <sub>1</sub>	74%
13	$3 + HCl.HN$ 	C <sub>1</sub>	70%
14	$1 +$ 	C	83%

表 II (续)

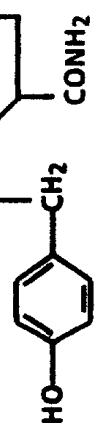
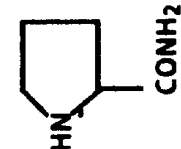
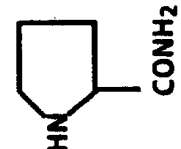
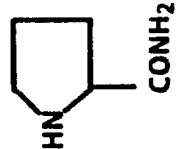
实施例号 化合物	起始物 ( G II 2 2 7 0 因子 + 胺反应物 )	方法	总产率
15	$A_3 + HCl.NH_2CHCON$ 	A	60%
16	<p>or</p> $5 +$  $10 +$ 	C	70%
17	$6 +$ 	C	65%

表 II (续)

实施例号 化合物	起始物 (G B 2 2 7 0 因子+胺反应物)	方法	总产率
18	A <sub>3</sub> + HCl.NH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOMe	A <sub>1</sub>	73%
19	A <sub>3</sub> + HCl.NH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOMe	A <sub>1</sub>	77%
	A <sub>3</sub> + NH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH	B	70%
20	A <sub>3</sub> + PTSA.NH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOMe	A <sub>1</sub>	75%
21	A <sub>3</sub> + PTSA.NH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOMe	A <sub>1</sub>	70%
22	A <sub>3</sub> + NH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> H	B	20%

表 II (续)

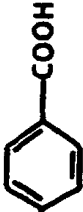
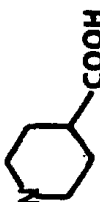
实施例号 化合物	起始物 (GE 2270 因子+胺反应物)	方法	总产率
23	$A_3 + NH_2CH_2CH_2CH_2SO_3H$	B	25%
24	$A_3 + NH_2CH_2CH_2CH_2PO_3H_2$	B	40%
25	$A_3 + NH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2PO_3H_2$	B	35%
26	$A_3 + NH_2CH_2$ - 	B	60%
27	$A_3 + HN$ - 	B	50%

表 II (续)

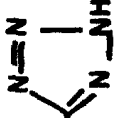
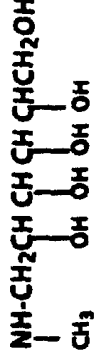
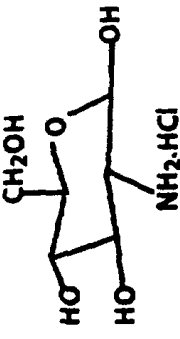
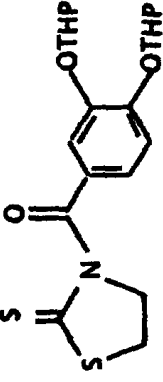
买施例号 化合物	起始物 (GE 2270 因子 + 胺反应物)	方法	总产率
28	$A_3 + NH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2$ 	B	65%
29	$A_3 + NH-CH_2CH(CH_3)CH(OH)CH_2OH$ 	A	20%
30	$A_3 +$ 	A	80%
31	$36 +$ 	C <sub>1</sub>	80%

表 II (续)

实施例号 化合物	起始物 (G E 2 2 7 O 因子+胺反应物)	方法	总产率
32	$A_3 + NH_2CH_2CH_2N(CH_3)_2$	A	75%
33	$A_3 + NH_2$ 	A	60%
34	$A_3 + NH$ 	A <sub>1</sub>	50%
35	$A_3 + NH_3$ in MeOH	D	83%
36	$A_3 + NH_2CH_2CH_2CH_2NH.Boc$	A <sub>1</sub>	70%

表 II (续)

实施例号 化合物	起始物 (G E 2 2 7 0 因子+胺反应物)	方法	总产率
37	$A_3 + NH_2CH_2CH \begin{array}{l} \diagup OCH_3 \\ \diagdown OCH_3 \end{array}$	A <sub>1</sub>	65%
38	37 + HCl.NH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	C <sub>1</sub>	20%
39	A <sub>3</sub> + TFA.NH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> SCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOCH <sub>3</sub>	A <sub>1</sub>	33%
40	A <sub>3</sub> + TFA.NH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH=CH-COOH	B	51%

表 II (续)

实施例号 化合物	起始物 (GE 2270 因子+胺反应物)	方法	总产率
41	A <sub>3</sub> + TFA.NH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH	B	37%
42	C <sub>2a</sub> + HCl.NH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOCH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH	F G	40% 35%
43	D <sub>1</sub> + HCl.NH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOCH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH	H I	50% 40%
44	D <sub>2</sub> + HCl.NH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOCH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH	J K	35% 30%

TFA = 三氟乙酸

PTSA = 对甲苯磺酸

## HPLC 分析

下表(表 III)报道了具有代表性的本发明化合物的  $R_t$  值。

分析是在装有  $10\ \mu\text{l}$  小孔注射器的 Varian 5000 LC 型泵和 Varian 2050 可变波长检测器上于  $254\ \text{nm}$  处进行的。

柱子: 在 LiChroCart - LiChrosorb RP-8 ( $5\ \mu\text{m}$ ) 前置柱后面接着一个 LiChroCart 125-4 LiChrospher 100 RP-8 ( $5\ \mu\text{m}$ ) 柱。

洗脱剂: A  $0.05\ \text{M}$   $\text{HCOONH}_4$  水溶液

B  $\text{CH}_3\text{CN}$

C THF

方法 A: 成分恒定的洗脱剂, 44% B 在 A 中的溶液

流速:  $0.7\ \text{ml}/\text{min}$

方法 B: 成分恒定的洗脱剂, 40% B 在 A 中的溶液

流速:  $0.7\ \text{ml}/\text{min}$

方法 C: 成分恒定的洗脱剂, 38% B 在 A 中的溶液

流速:  $0.5\ \text{ml}/\text{min}$

方法 D: 成分恒定的洗脱剂, 30% B 在 A 中的溶液

流速:  $0.7\ \text{ml}/\text{min}$

方法 E: 成分恒定的洗脱剂, 38% B 在 A 中的溶液

流速:  $0.7\ \text{ml}/\text{min}$

方法 F: 按照以下方案在  $11\ \text{min}$  内用 38%—55% B 在 A 中的溶液进行梯度洗脱

时间 (min)	A 中 B 的百分数
0	3.8
6	3.8
7	4.5
10	4.5
11	5.5

流速: 0.7 ml/min

方法G: 按照以下方案在 2.5 min 内用 3.8%~5.5% B 在 A 中的溶液进行梯度洗脱

时间 (min)	A 中 B 的百分数
0	3.8
6	3.8
10	4.4
15	4.5
25	5.5

流速: 0.7 ml/min

方法H: 成分恒定的洗脱剂, 5.5% B 在 A 中的溶液

流速: 0.7 ml/min

方法I: 成分恒定的洗脱剂, 6.0% B 在 A 中的溶液

流速: 0.7 ml/min

方法L: 成分恒定的洗脱剂, 4.8% B 在 A 中的溶液

流速: 0.7 ml/min

方法M: 按照以下方案进行梯度洗脱

时间 (min)	% A	% B	% C
0	7.4	1.0	1.6
20	6.2	1.9	1.9

流速: 0.7 ml/min

表 Ⅲ

## HPLC 分析

化合物号	方法	R <sub>t</sub> (min)	K
1	A	2.56	0.92
2	B	4.09	1.15
3	C	6.21	1.12
4	D	14.70	1.79
5	E	5.99	1.28
6	A	4.05	1.46
7	A	4.52	1.63
8	A	3.44	1.24
9	E	5.32	1.18
10	E	4.22	0.90
11	F	14.30	3.05
12	F	5.99	1.28
13	E	4.88	1.04
14	G	14.09	3.01
15	G	17.60	3.76
16	G	13.77	2.94
17	G	23.75	5.07
18	G	7.49	1.60

K = 相对保留时间

表 Ⅲ (续)

化合物号	方法	R <sub>t</sub> (min)	K
19	F	8.84	1.89
20	G	17.77	3.78
21	G	31.10	6.64
22	F	5.01	1.07
23	F	4.40	0.94
24	F	6.27	1.34
25	F	11.17	2.39
26	F	29.04	6.02
27	F	6.28	1.34
28	F	12.14	2.59
29	F	8.02	1.71
30	E	6.81-7.61 端基异构混合物	1.45-1.62 端基异构混合物
31	F	17.64	3.76
32	B	9.64	2.70
33	H	15.10	7.40
34	I	7.22	3.92
35	L	10.28	4.11
36	F	19.32	4.13

K = 相对保留时间

表 Ⅲ (续)

化合物号	方法	R <sub>t</sub> (min)	K
37	F	14.56	3.11
38	F	11.00	2.35
39	F	9.48	2.02
40	F	6.84	1.46
41	F	3.95	0.84
42	M	17.23	1.32 *
43	M	15.76	1.52 **
44	M	16.64	1.50 ***
19	M	20.81	1.32

K = 相对保留时间

K = 相对保留时间 = R<sub>t</sub> 酰胺 / R<sub>t</sub> GE 227.0 合适起始物  
(即其中 W 为 COOH 的式 II 化合物)

## 实验部分

### 表 N-N. M. R

$^1\text{H-NMR}$ 谱是用 TMS 作为内标 (0.00 ppm), 用  $\text{DMSO-d}_6$  为溶剂, 在 250 MHz 和/或 500 MHz 的 Bruker 谱分析仪上进行记录的 (s = 单峰, br s = 宽单峰, d = 双峰, dd = 双双峰, t = 三重峰, m = 多重峰)。

### 表 V-I. R.

红外光谱 (IR) 是在石蜡糊中用 Perkin Elmer 580 型分光光度计记录的。

### 表 VI-U. V.

紫外吸收光谱是用 Perkin Elmer 320 型分光计记录的。

熟练的技术人员都知道, 下面的表 N. V 和 VI 中的数据并不代表所获得的所有峰值, 而仅代表单个物质特征的峰值。

表 IV-10. M. R 光谱

化合物号	<sup>1</sup> H-NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ(ppm)
1	0.84 (d, 3H); 0.87 (d, 3H); 2.57 (s, 3H); 3.39 (s, 3H); 3.77 (dd, 1H); 3.99 (d, 2H); 4.25 (dd, 1H); 4.96 (s, 2H); 7.36-7.22 (m, 7H); 8.28 (s, 1H); 8.50 (s, 1H); 8.59 (s, 1H)
2	0.79 (d, 3H); 0.85 (d, 3H); 2.05-1.70 (m, 4H); 2.54 (s, 3H); 3.33 (s, 3H); 3.65 (m, 2H); 3.81 (dd, 1H); 4.10 (m, 1H), 4.35 (dd, 1H); 4.99 (s, 2H); 7.35-7.05 (m, 7H); 8.20 (s, 1H); 8.42 (s, 1H); 8.58 (s, 1H)
3	0.84 (d, 3H); 0.87 (d, 3H); 2.58 (s, 3H); 3.37 (s, 3H); 3.80 (dd, 2H); 3.84 (dd, 1H); 3.91 (dd, 1H); 4.26 (dd, 1H); 4.55 (m, 1H); 4.97 (s, 2H); 7.36-7.20 (m, 7H); 8.29 (s, 1H); 8.55 (s, 1H); 8.59 (s, 1H)
4	0.85 (d, 3H); 0.89 (d, 3H); 2.58 (s, 3H); 2.90 (m, 2H); 3.38 (s, 3H); 3.70 (dd, 1H); 4.29 (dd, 1H); 4.85 (m, 1H); 4.98 (s, 2H); 7.40-7.20 (m, 7H); 8.28 (s, 1H); 8.52 (s, 1H); 8.58 (s, 1H)
5	0.85 (d, 3H); 0.88 (d, 3H); 2.58 (s, 3H); 3.11 (m, 2H); 3.26 (br, s, 1H); 3.38 (s, 3H); 3.78 (dd, 1H); 4.28 (dd, 1H) 4.64 (m, 1H); 4.97 (s, 2H); 6.68 (d, 1H); 7.09 (d, 1H); 7.40-7.20 (m, 7H); 8.27 (s, 1H); 8.47 (s, 1H); 8.59 (s, 1H)

表 N (续)

化合物号	<sup>1</sup> H-NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ (ppm)
6	0.84 (d, 3H); 0.87 (d, 3H); 0.92 (d, 3H); 0.95 (d, 3H); 1.69 (m, 2H); 1.86 (m, 1H); 2.57 (s, 3H); 3.37 (s, 3H); 3.78 (dd, 1H); 4.26 (dd, 1H); 4.53 (m, 1H); 4.97 (s, 2H); 7.38-7.20 (m, 7H); 8.28 (s, 1H); 8.46 (s, 1H); 8.59 (s, 1H)
7	0.84 (d, 3H); 0.88 (d, 3H); 2.58 (s, 3H); 3.20 (m, 2H); 3.37 (s, 3H); 3.77 (dd, 1H); 4.25 (dd, 1H); 4.73 (m, 1H); 7.40-7.2 (m, 12H); 8.28 (s, 1H); 8.47 (s, 1H) 8.59 (s, 1H)
8	0.85 (d, 3H); 0.89 (d, 3H); 2.08 (s, 3H); 2.16 (m, 2H); 2.56 (m, 2H); 2.57 (s, 3H); 3.40 (s, 3H); 3.79 (dd, 1H); 4.27 (dd, 1H); 4.61 (m, 1H); 5.00 (s, 2H); 7.37-7.20 (m, 7H); 8.29 (s, 1H); 8.52 (s, 1H); 8.60 (s, 1H)
9	0.84 (d, 3H); 0.88 (d, 3H); 2.45-1.70 (m, 4H); 2.58 (s, 3H); 3.37 (s, 3H); 3.68 (m, 2H); 3.78 (dd, 1H); 4.10 (m, 1H); 4.27 (dd, 1H); 4.49 (m, 1H); 7.35-7.22 (m, 7H); 8.27 (s, 1H); 8.50 (s, 1H); 8.59 (s, 1H)
10	0.85 (d, 3H); 0.88 (d, 3H); 1.19 (d, 3H); 2.59 (s, 3H); 3.39 (s, 3H); 3.78 (dd, 1H); 4.30 (m, 2H); 4.48 (dd, 1H); 4.99 (s, 2H); 7.4-7.2 (m, 7H); 8.33 (s, 1H); 8.49 (s, 1H); 8.60 (s, 1H)

表 N (续)

化合物号	$^1\text{H-NMR}$ ( $\text{DMSO-d}_6$ ) $\delta$ (ppm)
11	0.84 (d, 3H); 0.88 (d, 3H); 1.55-1.35 (m, 2H); 1.61 (m, 2H); 1.83 (m, 2H); 2.58 (s, 3H); 3.34 (m, 2H); 3.38 (s, 3H); 3.79 (dd, 1H); 3.91 (br, s, 1H); 4.29 (dd, 1H); 4.97 (s, 2H); 7.35-7.13 (m, 7H); 8.27 (s, 1H); 8.43 (s, 1H); 8.59 (s, 1H)
12	0.85 (d, 3H); 0.88 (d, 3H); 1.37 (m, 2H); 1.70-1.49 (m, 3H); 1.75 (m, 1H); 2.58 (s, 3H); 2.76 (m, 2H); 3.38 (s, 3H); 3.78 (dd, 1H); 4.03 (m, 2H); 4.28 (m, 2H); 4.97 (s, 2H); 7.35-7.20 (m, 7H); 8.28 (s, 1H); 8.49 (s, 1H); 8.59 (s, 1H)
13	0.84 (d, 3H); 0.88 (d, 3H); 1.98-1.82 (m, 2H); 2.18 (m, 2H); 2.56 (s, 3H); 2.69 (dd, 2H); 3.36 (s, 3H); 3.85-3.62 (m, 3H); 4.31 (m, 2H); 4.85 (m, 1H); 4.96 (s, 2H); 7.38-7.19 (m, 7H); 8.24 (s, 1H); 8.55 (s, 1H); 8.63 (s, 1H)
14	0.85 (d, 3H); 0.88 (d, 3H); 1.99-1.82 (m, 3H); 2.06 (m, 1H); 2.58 (s, 3H); 3.58 (m, 1H); 3.67 (m, 1H); 3.79 (dd, 1H); 4.18 (d, 2H); 4.28 (dd, 1H); 4.97 (s, 2H); 6.93 (s, 1H); 7.36-7.28 (m, 8H); 8.28 (s, 1H); 8.52 (s, 1H); 8.59 (s, 1H)
15	0.85 (d, 3H); 0.88 (d, 3H); 2.07-1.63 (m, 4H); 2.58 (s, 3H); 2.99 (dd, 1H); 3.09 (dd, 1H); 3.38 (s, 3H); 3.51 (m, 1H); 3.77 (m, 2H); 4.30 (m, 2H); 4.89 (m, 1H); 4.98 (s, 2H); 6.66 (d, 1H); 6.95 (br, s, 1H); 7.16 (d, 1H); 7.39-7.20 (m, 8H); 8.23 (s, 1H); 8.42 (s, 1H); 8.58 (s, 1H)

表 IV (续)

化合物号	<sup>1</sup> H-NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ(ppm)
16	0.84 (d, 3H); 0.87 (d, 3H); 1.20 (d, 3H); 1.98-1.80 (m, 3H); 2.08 (m, 1H); 2.56 (s, 3H); 3.36 (s, 3H); 3.85-3.71 (m, 2H); 4.13 (m, 1H); 4.28 (dd, 1H); 4.31 (dd, 1H); 4.73 (m, 1H); 5.05 (d, 1H); 6.89 (br; s, 1H); 7.15 (br; s, 1H); 7.38-7.19 (m, 7H); 8.26 (s, 1H); 8.51 (s, 1H); 8.56 (s, 1H)
17	0.84 (d, 3H); 0.87 (d, 3H); 0.94 (d, 3H); 0.98 (d, 3H); 2.10-1.62 (m, 7H); 2.56 (s, 3H); 3.36 (s, 3H); 3.65 (m, 1H); 3.88-3.70 (m, 2H); 4.31 (m, 2H); 4.88 (m, 1H); 4.96 (s, 2H); 6.79 (br, s, 1H); 7.18 (br; s, 1H); 7.35-7.20 (m, 7H); 8.25 (s, 1H); 8.48 (s, 1H); 8.56 (s, 1H)
18	0.84 (d, 3H); 0.88 (d, 3H); 1.81 (m, 2H); 2.30 (t, 2H); 2.58 (s, 3H); 3.35 (m, 2H); 3.37 (s, 3H); 3.78 (dd, 1H); 4.28 (dd, 1H); 4.97 (s, 2H); 7.35-7.20 (m, 7H); 8.27 (s, 1H); 8.46 (s, 1H); 8.59 (s, 1H)
19	0.84 (d, 3H); 0.87 (d, 3H); 1.35 (m, 2H); 1.56 (m, 4H); 2.22 (t, 2H); 2.58 (s, 3H); 3.36 (m, 2H); 3.38 (s, 3H); 3.80 (dd, 1H); 4.29 (dd, 1H); 4.97 (s, 2H); 7.42-7.22 (m, 7H); 8.29 (s, 1H); 8.45 (s, 1H); 8.62 (s, 1H)

表 N (续)

化合物号	<sup>1</sup> H-NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ (ppm)
20	0.84 (d, 3H); 0.88 (d, 3H); 1.31 (br, s, 6H); 1.51 (m, 2H); 1.57 (m, 2H); 2.19 (t, 2H); 2.58 (s, 3H); 3.32 (m, 2H); 3.37 (s, 3H); 3.79 (dd, 1H); 4.28 (dd, 1H); 4.97 (s, 2H); 7.38-7.19 (m, 7H); 8.27 (s, 1H); 8.45 (s, 1H); 8.59 (s, 1H)
21	0.84 (d, 3H); 0.88 (d, 3H); 1.41-1.20 (m, 12H); 1.47 (m, 2H); 1.57 (m, 2H); 2.17 (t, 2H); 2.58 (s, 3H); 3.29 (m, 2H); 3.38 (s, 3H); 3.79 (dd, 1H); 4.28 (dd, 1H); 4.97 (s, 2H); 7.38-7.19 (m, 7H); 8.27 (s, 1H); 8.43 (s, 1H); 8.59 (s, 1H)
22	0.85 (d, 3H); 0.87 (d, 3H); 2.57 (s, 3H); 2.79 (t, 2H); 3.37 (s, 3H); 3.59 (t, 2H); 3.78 (dd, 1H); 4.28 (dd, 1H); 4.97 (s, 1H); 7.41-7.20 (m, 7H); 8.27 (s, 1H); 8.44 (s, 1H); 8.57 (s, 1H)
23	0.84 (d, 3H); 0.87 (d, 3H); 1.67 (m, 2H); 2.53 (t, 2H); 2.57 (s, 3H); 3.26 (t, 2H); 3.37 (s, 3H); 3.78 (dd, 1H); 4.28 (dd, 1H); 4.97 (s, 2H); 7.41-7.26 (m, 7H); 8.26 (s, 1H); 8.44 (s, 1H); 8.57 (s, 1H)
24	0.85 (d, 3H); 0.88 (d, 3H); 1.58 (m, 2H); 1.79 (m, 2H); 2.58 (s, 3H); 3.38 (s, 3H); 3.50 (m, 2H); 3.78 (dd, 1H); 4.28 (dd, 1H); 4.97 (s, 2H); 7.38-7.21 (m, 7H); 8.27 (s, 1H); 8.45 (s, 1H); 8.59 (s, 1H)

表 N (续)

化合物号	<sup>1</sup> H-NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ(ppm)
25	0.84 (d, 3H); 0.88 (d, 3H); 1.65-1.35 (m, 8H); 4.58 (s, 3H); 3.38 (s, 3H); 3.78 (dd, 1H); 4.28 (dd, 1H); 4.97 (s, 2H); 7.40-7.20 (m, 7H); 8.28 (s, 1H); 8.43 (s, 1H); 8.59 (s, 1H)
26	0.85 (d, 3H); 0.89 (d, 3H); 2.56 (s, 3H); 3.36 (s, 3H); 3.80 (dd, 1H); 4.31 (dd, 1H); 4.62 (br; s, 2H); 4.96 (s, 2H); 7.39-7.15 (m, 7H); 7.47 (d, 2H); 7.90 (d, 2H); 8.26 (s, 1H); 8.41 (s, 1H); 8.58 (s, 1H)
27	0.84 (d 3H); 0.88 (d, 3H); 1.62 (br, s, 2H); 1.92 (br, s, 2H); 2.58 (s, 3H); 2.60 (m, 1H); 3.38 (s, 3H); 3.79 (dd, 1H); 4.16 (m, 2H); 4.29 (dd, 1H); 4.38 (m, 2H); 7.35-7.19 (m, 7H); 8.25 (s, 1H); 8.29 (s, 1H); 8.57 (s, 1H)
28	0.85 (d, 3H); 0.89 (d, 3H); 1.39 (m, 2H); 1.61 (m, 2H) 1.76 (m, 2H); 2.58 (s, 3H); 2.88 (t, 2H); 3.33 (m, 2H); 3.80 (dd, 1H); 4.29 (dd, 1H); 4.98 (s, 2H); 7.34-7.20 (m, 7H) 8.26 (s, 1H); 8.45 (s, 1H); 8.58 (s, 1H)
29	0.84 (d, 3H); 0.88 (d, 3H); 2.58 (s, 6H); 3.38 (s, 3H); 3.70-3.41 (m, 5H); 3.89-3.75 (m, 2H); 3.98 (br; s, 1H); 4.35-4.26 (m, 2H); 4.97 (s, 2H); 7.35-7.21 (m, 7H); 8.26 (s, 1H); 8.28 (s, 1H); 8.58 (s, 1H)

表 IV (续)

化合物号	$^1\text{H-NMR}$ ( $\text{DMSO-d}_6$ ) $\delta$ (ppm)
30	0.84 (d, 3H); 0.88 (d, 3H); 2.58 (s, 3H); 3.29-3.14 (m, 2H); 3.38 (s, 3H); 3.90-3.49 (m, 4H); 4.29 (dd, 1H); 4.92 (m, 1H); 4.97 (s, 2H); 5.12 (t, 1H); 7.35-7.18 (m, 7H); 8.26 (s, 1H); 8.51 (s, 1H); 8.58 (s, 1H)
31	0.86 (d, 3H); 0.89 (d, 3H); 1.81 (m, 2H); 2.59 (s, 3H); 3.32 (m, 4H); 3.39 (s, 3H); 3.80 (dd, 1H); 4.30 (dd, 1H); 4.99 (s, 2H); 6.75 (d, 1H); 7.41-7.18 (m, 9H); 8.28 (s, 1H); 8.46 (s, 1H); 8.59 (s, 1H)
32	0.85 (d, 3H); 0.88 (d, 3H); 2.21 (s, 6H); 2.59 (s, 3H); 3.38 (s, 3H); 3.43 (m, 4H); 3.81 (dd, 1H); 4.31 (dd, 1H); 4.98 (s, 2H); 7.45-7.19 (m, 7H); 8.28 (s, 1H); 8.45 (s, 1H); 8.61 (s, 1H)
33	0.86 (d, 3H); 0.90 (d, 3H); 1.91-1.70 (m, 2H); 2.26-2.05 (m, 2H); 2.60 (s, 3H); 2.91-2.69 (m, 4H); 3.40 (s, 3H); 3.51 (br; s, 2H); 3.95-3.75 (m, 2H); 4.30 (dd, 1H); 4.99 (s, 2H); 7.41-7.18 (m, 12H); 8.28 (s, 1H); 8.45 (s, 1H); 8.66 (s, 1H)
34	0.85 (d, 3H); 0.89 (d, 3H); 1.81-1.49 (m, 4H); 2.01-1.88 (m, 2H); 2.59 (s, 3H); 2.98-2.65 (m, 4H); 3.39 (s, 3H); 3.80-3.51 (m, 4H); 3.81 (dd, 1H); 4.31 (dd, 1H); 4.99 (s, 2H); 7.41-7.18 (m, 7H); 7.90-7.65 (m, 6H); 8.25 (s, 1H); 8.36 (s, 1H); 8.61 (s, 1H)

表 N (续)

化合物号	<sup>1</sup> H-NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ(ppm)
35	0.85 (d, 3H); 0.88 (d, 3H); 2.59 (s, 3H); 3.39 (s, 3H); 3.79 (dd, 1H); 4.29 (dd, 1H); 4.98 (s, 2H); 7.40-7.19 (m, 7H); 7.72 (br, s, 1H); 8.03 (br, s, 1H); 8.28 (s, 1H); 8.47 (s, 1H); 8.60 (s, 1H)
36	0.85 (d, 3H); 0.88 (d, 3H); 1.87 (m, 2H); 2.54 (s, 3H); 2.89 (m, 2H); 3.37 (s, 3H); 3.42 (m, 2H); 3.79 (dd, 1H); 4.29 (dd, 1H); 4.96 (s, 2H); 7.38-7.20 (m, 7H); 7.69 (br, s, 3H); 8.29 (s, 1H); 8.49 (s, 1H); 8.61 (s, 1H)
37	0.83 (d, 3H); 0.87 (d, 3H); 1.32 (m, 1H); 2.16 (m, 1H); 2.46 (d, 3H); 2.57 (s, 3H); 2.71 (m, 1H); 3.37 (s, 3H); 3.78 (dd, 1H); 4.16 (d, 1H); 4.26 (dd, 1H); 4.67 (m, 1H); 4.96 (s, 2H); 6.02 (d, 1H); 6.35 (dd, 1H); 7.35-7.20 (m, 7H); 8.28 (s, 1H); 8.49 (s, 1H); 8.60 (s, 1H); 9.61 (s, 1H)
38	0.83 (d, 3H); 0.87 (d, 3H); 1.25 (m, 1H); 2.2 (m, 1H); 2.5 (s, 3H); 2.70 (m, 3H); 3.35 (s, 3H); 3.63 (m, 1H); 3.79 (d, 1H); 4.27 (dd, 1H); 4.97 (s, 2H); 7.4-7.15 (m, 7H); 8.28 (s, 1H); 8.53 (s, 1H); 8.61 (s, 1H)

表 N (续)

化合物号	$^1\text{H-NMR}$ ( $\text{DMSO-d}_6$ ) $\delta$ (ppm)
39	0.83 (d, 3H); 0.87 (d, 3H); 1.32 (m, 1H); 2.16 (m, 1H); 2.47 (d, 3H); 2.57 (s, 3H); 2.72 (m, 4H); 3.37 (s, 3H); 3.50 (m, 2H); 3.78 (dd, 1H); 4.27 (dd, 1H); 4.97 (s, 2H); 7.40-7.20 (m, 7H); 8.28 (s, 1H); 8.49 (s, 1H); 8.60 (s, 1H)
40	0.83 (d, 3H); 0.87 (d, 3H); 1.32 (m, 1H); 1.71 (m, 2H); 2.25-2.14 (m, 3H); 2.46 (d, 3H); 2.57 (s, 3H); 2.7 (m, 1H); 3.37 (s, 3H); 3.76 (dd, 1H); 4.27 (dd, 1H); 4.97 (s, 2H); 5.81 (d, 1H, $J=15.7$ Hz); 6.78 (m, 1H); 7.39-7.12 (m, 7H); 8.28 (s, 1H); 8.45 (s, 1H); 8.60 (s, 1H)
41	0.86 (d, 3H); 0.89 (d, 3H); 1.43 (m, 1H); 2.19 (m, 1H); 2.47 (d, 3H); 2.59 (s, 3H); 2.72 (m, 1H); 3.39 (s, 3H); 3.50 (t, 2H); 3.98 (t, 2H); 3.68 (t, 2H); 3.79 (dd, 1H); 4.99 (s, 2H); 7.42-7.20 (m, 7H); 8.27 (m, 1H); 8.47 (s, 1H); 8.59 (s, 1H)
42	0.83 (d, 3H); 0.85 (d, 3H); 1.2-1.4 (m, 3H); 1.5-1.65 (m, 4H); 2.82 (t, 3H); 2.60 (d, 1H); 2.69 (d, 1H); 3.37 (s, 3H); 3.79 (dd, 1H); 4.27 (dd, 1H); 4.86 (d, 2H); 4.97 (s, 2H); 5.00 (dd, 1H); 5.1-5.4 (m, 3H); 5.74 (t, 1H); 6.00 (d, 1H); 7.2-7.4 (m, 7H); 8.27 (s, 1H); 8.44 (s, 1H); 8.62 (s, 1H)

表 N (续)

化合物号	<sup>1</sup> H-NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ(ppm)
43	0.84 (d, 3H); 0.89 (d, 3H); 1.4-1.2 (m, 3H); 1.65-1.50 (m, 4H); 2.23 (t, 3H); 2.59 (s, 3H); 2.79 (m, 1H); 3.87 (m, 1H); 4.25 (m, 1H); 5.04 (t, 1H); 5.35-5.20 (m, 3H); 6.09 (d, 1H); 6.67 (br, s, 1H); 7.04 (br, s, 1H); 7.35-7.15 (m, 6H); 8.24 (s, 1H); 8.26 (s, 1H); 8.45 (s, 1H); 8.61 (s, 1H)
44	0.84 (d, 3H); 0.88 (d, 3H); 1.4-1.25 (m, 3H); 1.65-1.50 (m, 4H); 2.23 (t, 3H); 2.58 (s, 3H); 2.75 (m, 1H); 3.78 (dd, 1H); 4.28 (dd, 1H); 4.98 (m, 3H); 5.35-5.15 (m, 3H); 6.03 (m, 2H); 7.42-7.15 (m, 7H); 8.30 (s, 1H); 8.45 (s, 1H); 8.62 (s, 1H)

表 V-I. R. 光谱

化合物号	I.R. ( 液体石蜡法 $\text{cm}^{-1}$ )
1	3370; 3110; 1730; 1655; 1545; 1520
2	3350; 3110; 1720; 1650; 1535; 1500
3	3340; 3105; 1720; 1645; 1535; 1500
4	3360; 1725; 1640; 1535
5	3350; 3110; 1725; 1650; 1535; 1510
6	3370; 3105; 1725; 1655; 1535; 1500
7	3360; 3100; 1725; 1655; 1535; 1490
8	3370; 3105; 1725; 1655; 1535; 1505
9	3370; 3110; 3100; 1725; 1657; 1550; 1530; 1505
10	3370; 3105; 1730; 1655; 1540; 1510
11	3359; 3115; 1653; 1551; 1510;
12	3360; 3113; 1720; 1662; 1547; 1510

表 V (续)

化合物号	I.R. ( 液体石蜡法 $\text{cm}^{-1}$ )
13	3370; 3110; 1720; 1655; 1530; 1505
14	3350; 3120; 1655; 1535; 1500
15	3350; 3100; 1650; 1530; 1510;
16	3340; 3105; 1650; 1530
17	3340; 3100; 1655; 1530
18	3350; 3100; 1710; 1645; 1540
19	3360; 3115; 1720; 1665; 1540; 1506;
20	3350; 3113; 1720; 1659; 1549; 1506
21	3340; 1710; 1645; 1540; 1500
22	3304; 1653; 1540
23	3333; 1657; 1547; 1092; 1030;
24	3354; 3113; 1653; 1550; 1506; 1245

表 V (续)

化合物号	I.R. ( 液体石蜡法 $\text{cm}^{-1}$ )
25	3348; 3111; 1660; 1548; 1507; 1245
26	3315; 1653; 1539; 1248
27	3361; 3113; 1720; 1653; 1531; 1507; 1092
28	3333; 1653; 1547; 1494; 1243
29	3356; 3114; 1653; 1508; 1088
30	3360; 1670; 1505; 1200
31	3351; 3115; 1653; 1549; 1509; 1250
32	3370; 3110; 1655; 1545; 1500; 1245
33	3350; 1655; 1530; 1490; 1220
34	3360; 3105; 1650; 1545; 1510; 1240
35	3320; 1747; 1650; 1540; 1225
36	3330; 1662; 1547; 1496; 1201

表 7 ( 续 )

化合物号	I.R. ( 液体石蜡法 $\text{cm}^{-1}$ )
37	3327; 1730; 1653; 1464; 1377
38	3355; 1720; 1657; 1543; 1377
39	3321; 1717; 1652; 1545
40	3337; 1665; 1549
41	3341; 1721; 1653; 1548; 1377
42	3335; 1722; 1647; 1543
43	3317; 1665; 1539
44	3317; 1720; 1649; 1545

表 VI

U.V. 数据  $\lambda_{\max}$  ( $E^{1\%}$ )  
1cm

化合物号	MeOH	HCl 0.1N	磷酸盐缓冲液 pH 7.38	KOH 0.1N
1	309 (290.9)	312	309 (247.9)	309 (252.7)
2	309 (257.5)	310 (222.6)	311	309 (226.3)
3	309 (297.5)	312	309 (229.6)	309 (235.8)
4	309 (245.1)	312	308 (234.7)	308 (234.1)
5	308 (173.8)	312	309 (150.0)	305 (181.2)
6	309 (277.1)	313	309 (229.8)	309 (236.7)
7	309 (258.6)	313	309 (207.9)	309 (218.9)
8	309 (279.8)	311	309 (225.9)	309 (229.4)
9	309 (261.9)	313	308 (228.1)	309 (235.0)
10	309 (279.3)	314	309 (241.8)	309 (251.1)
11	309 (216.8)	310 (178.5)	312	310 (194.9)
12	309 (226.2)	310 (188.3)	311	309 (202.4)

表 VI (续)

U.V. 数据  $\lambda_{\max}$  ( $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ )

化合物号	MeOH	HCl 0.1N	新配盐酸冲液 pH 7.38	KOH 0.1N
13	308 (237.9)	314	308 (247.4)	308. (260.3)
14	309 (263.4)	313	313	314
15	309 (222.6)	313	314	304 (169.8)
16	309 (235.6)	313	312	312
17	309 (230.3)	312	312	312
18	309 (200.8)	313	309 (239.4)	309 (240.0)
19	309 (203.2)	312	309 (220.3)	309 (230.1)
20	309	314	309	309
21	309 (271.6)	313	311 (221.6)	309 (221.6)
22	309 (190.9)	309 (152.2)	308 (160.4)	309 (165.6)
23	309 (242.2)	310 (182.2)	309 (200.9)	309 (200.9)
24	309	312	310	309

表 VI (续)  
U.V. 数据  $\Delta_{\max}$  ( $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ )

化合物号	MeOH	HCl 0.1N	磷酸盐缓冲液 pH 7.38	KOH 0.1N
25	309	312	310	309
26	309 (260.0)	313	310 (197.7)	310 (208.6)
27	310 (264.6)	313	310 (227.4)	310 (232.1)
28	309 (260.5)	314	310 (186.8)	310 (203.6)
29	309 (243.4)	311	312	311
30	309 (248.5)	311	311	309
31	305 (253.7)	310	310	313 (249.5)
32	309 (267.9)	310 (234.9)	312	312
33	309 (247.5)	311 (234.4)	314	312
34	310 (224.0)	309 (198.2)	310	312
35	308 (269.8)	314	313	313
36	309 (243.9)	309 (205.5)	312	313

表 VI (续)  
U.V. 数据  $\lambda_{max}$  ( $E_{1\%}^{1cm}$ )

化合物号	MeOH	HCl0.1N	磷酸盐缓冲液 pH 7.38	KOH0.1N
37	309 (255.1)	312	314	312
38	308	308	308	308
39	308 (247.9)	312	308 (201.3)	308 (215)
40	309 (304.3)	312	309 (235.9)	309 (262.0)
41	309 (256.4)	312	309 (215.1)	309 (228.6)
42	309	312	309	307
43	309 (253.6)	313	309 (208.4)	309 (235.4)
44	309 (264.9)	314	309 (208.1)	309 (223.7)

本发明化合物的抗菌活性可通过一系列的体外标准试验加以证实。

通过琼脂稀释法测定对疮疱丙酸杆菌和对脆弱拟杆菌的 M I C (接种物  $10^4 / 10^5$  C F U / 班)。对其它细菌的 M I C 是用微量肉汤稀释法测定 (接种物  $10^4 - 10^5$  C F U / m l)。除流感嗜血菌、疮疱丙酸杆菌和脆弱拟杆菌的培养时间为 48 h 外,其它细菌的培养时间均为 18 - 24 h。所有细菌均于 37 °C 培养;流感嗜血菌于 5% C O<sub>2</sub> 环境中培养,厌氧菌于厌氧气体混合物中培养。所用的培养基为: Iso - Sensitest 肉汤 (Oxoid) (葡萄球菌、粪链球菌、大肠杆菌、普通变形菌); 脑心浸出肉汤 (Difco) + 1% 补体 C (Difco) (流感嗜血菌)。

下面表 VII 中报道了对一些细菌的最小抑制浓度 (M I C,  $\mu$ g / m l)。

表 VII (MIC, ug/ml)

菌 株	实施例号化合物							
	1	2	6	7	8			
金黄色葡萄球菌 L165Tour	0.5	0.13	<0.13	0.25	0.25			
表皮葡萄球菌 L147ATCC12228	1	0.25	1	0.5	2			
溶血葡萄球菌 L602	4	16	1	4	2			
肺炎链球菌 L44UC41	8	>128	2	4	4			
粪链球菌 L149ATCC7080	0.25	0.06	<0.13	<0.13	0.25			
疮疱丙酸杆菌 L1014ATCC6919	<0.13	0.06	<0.13	<0.13	<0.13			
脆弱拟杆菌 L1010ATCC23745	8	>128	>128	>128	32			
流感嗜血菌 typeB	8	>128	32	128	64			
大肠杆菌 L47SKF12140	>128	>128	>128	>128	>128			
普通变形菌 ATCC881	>128	>128	>128	>128	>128			



表 VII (续)

菌 株	买施例号化合物				
	27	28	32	35	
金黄色葡萄球菌 L165Tour	0.25	0.13	0.5	0.13	
表皮葡萄球菌 L147ATCC12228	0.5	0.5	0.5	0.13	
溶血葡萄球菌 L602	1	1	0.5	0.5	
肺炎链球菌 L44UC41	8	2	1	>128	
粪链球菌 L149ATCC7080	1	0.06	0.25	0.06	
疮疱丙酸杆菌 L1014ATCC6919	0.03	0.008	0.13	0.004	
脆弱拟杆菌 L1010ATCC23745	64	>128	>128	>128	
流感嗜血菌 typeB	8	>128	>128	>128	
大肠杆菌 L47SKF12140	>128	>128	>128	>128	
普通变形菌 ATCC881	>128	>128	>128	>128	



表 VII (续)

菌 株	实施例号化合物			
	41	42	43	44
金黄色葡萄球菌 L165Tour	0.25	0.13	0.13	0.13
表皮葡萄球菌 L147ATCC12228	0.5	0.13	0.5	0.5
溶血葡萄球菌 L602	1	0.5	0.5	1
肺炎链球菌 L44UC41	2	1	0.5	1
粪链球菌 L149ATCC7080	≤0.13	0.13	0.13	0.06
疮疱丙酸杆菌 L1014ATCC6919	≤0.13	0.016	0.016	0.016
脆弱拟杆菌 L1010ATCC23745	4	>128	>128	>128
流感嗜血菌 typeB	1	4	>128	>128
大肠杆菌 L47SKF12140	>128	>128	>128	>128
普通变形菌 ATCC881	>128	>128	>128	>128

鉴于其性质，本发明化合物可用作制备治疗人体或动物的药品的有效成分。

具体地说，抗菌素GE 2'270化合物的酰胺衍生物(式I)主要对革兰氏阳性细菌以及革兰氏阳性和阴性厌氧菌具有抗菌作用。

本发明抗菌物质主要的治疗作用表现在可用它们处理对其敏感的细菌所引起的感染。

术语“处理”意指预防、治疗和治愈。

接受治疗的患者可以是任何动物，包括灵长类动物(尤其是人)和其它哺乳动物(如马、牛、猪和羊)；以及普通的家畜和家养动物。

本发明的化合物可以单独服用，或者与可药用的载体混合后服用，也可与其它的抗菌剂联合服用。联合疗法包括依次、同时和单独服用各有效成分，其方式是在第一次服用的治疗作用还未完全消失时服用下一成分。

一种优选的药用制剂是适于在无损伤或损伤的皮肤或粘膜上进行局部给药的制剂。这类制剂的例子有粉剂、软膏、乳膏和洗液。这类制剂中赋形剂是普通的可药用载体，如油脂性软膏基质(如十六烷基酯蜡、油酸、橄榄油、石蜡、鲸蜡、甘油淀粉)；吸收性软膏基质(如无水羊毛脂、亲水性矿脂)；乳化软膏基质(如十六烷醇、单硬脂酸甘油酯、羊毛蜡、硬脂酸)；水溶性软膏基质(如乙二醇醚及其衍生物，包括聚乙二醇、聚(氧-1,2-乙烷二基)- $\alpha$ -氢- $\omega$ -一羟基-十八酸酯、聚山梨酸酯和聚乙二醇单硬酸酯)。

这些制剂中可含有其它已知赋形剂，如防腐剂，并且可以按照现有技术中已知方法和Remington's Pharmaceutical

Sciences, Seventeenth edition, 1985, Mack Publishing Co. 等参考书中所报道的方法进行制备。

也可按照现有技术中所已知的方法将本发明的化合物配制成适用于非经胃肠道给药的制剂。例如, 可以将本发明化合物与用聚丙二醇或二甲基乙酰胺以及聚氧乙烯山梨糖醇单油酸酯或聚乙氧化的蓖麻油等表面活性剂一起配制。

优选的非经胃肠道给药制剂包括以下赋形剂: Cremophor® EL (聚氧烷基 35 蓖麻油 USP / NF) 20%, 丙二醇 5-10%。

在治疗对本发明抗菌素敏感的细菌引起的任何感染时, 优选上述用于静脉给药的制剂。

适用于静脉给药的配方其一个例子是:

化合物 19	100mg
丙二醇	1 ml
注射用水 (足量)	5 ml
磷酸盐缓冲液 (PH 8-8.5)	

在治疗由于胃肠道中存在厌氧菌而引起的假膜结肠炎或其它疾病时, 可将本发明化合物的有效剂量以合适的药用形式 (如胶囊或水悬浮液) 口服给药。

有效成分的剂量取决于许多因素, 其中包括患者的类型、年龄和状况、特定的有效成分、所选择的给药制剂以及给药方式等。

一般来说, 是按每个单位剂量形式使用抗菌有效的剂量。一般用这些剂量形式进行重复给药 (如每天 2-6 次) 较好。有效剂量一般为 0.5-50mg/Kg 体重/天。

一优选的局部制剂是含有 1-10% 本发明化合物的软膏。

无论如何，有处方权的医师能够为具体情况下的某一患者确定最佳剂量。

本发明化合物除了可用作人和兽医治疗的药物外，还可被用作动物生长促进剂。

为此，可将本发明的化合物加到合适的饲料中进行口服给药。所使用的具体浓度是当正常量的饲料被消耗时产生促进生长作用所需有效成分的浓度。

向动物饲料中加入本发明的有效化合物，最好是制备含有有效量本发明化合物的合适饲料预混合物，并将该预混合物加至全部的定量物中。

或者可将含有有效成分的中间物精饲料或饲料添加剂与饲料混和。上述饲料预混合物和全部定量物的制备和服用的方式在参考书中有所记载（如“Applied Animal Nutrition”，W. H. Freedman and CO., S. Francisco, USA, 1969或“Livestock Feeds and Feeding” O and B books, Corvallis, Oregon, USA, 1977）。

以下的实施例进一步说明了本发明，但无论如何不应将其理解为是对本发明的限定。

**方法 A**—起始物 **GE 2270** 因子 A，与所选择的胺反应。

**实施例 1**：制备化合物 **15、29、30、32、33**

于 0℃，在搅拌下向 1 mmol **GE 2270** 因子 A，（按欧洲专利申请公开号 406745 中所述的方法制备）的 10 ml 二甲基甲酰胺（DMF）溶液中加入 1.2 mmol 所选择的胺、1.4 mmol 三乙胺（TEA）和 1.2 mmol 磷酰叠氮二苯酯（DPPA）（如果使用所选择胺的盐（盐酸盐、对一甲苯磺酸盐等），则必须使用两倍数量的 TEA）。让温度升至室温，并继续搅拌约 4 h。然后用 1 N 盐酸水溶液将反应混合物酸化至约 pH 3，并用水稀释至产物完全析出。湿固体风干后经硅胶 60（230—400 目 ASTM—Merck）快速层析纯化，用 3—5% 甲醇的氯仿溶液洗脱。将含有标题化合物的部分合并，并蒸发溶剂。该固体与乙醚一起研磨后得到细粉状的标题化合物。

**方法 A 1**—起始物 **GE 2270** 因子 A，与所选择的含有其它活性官能团（均被保护）的胺反应，随后脱去保护基。

**实施例 2**：制备化合物 **34、36**

基本按照实施例 1 所述的方法进行反应。当反应产物通过快速层析纯化后，用 7 ml 冷的三氟乙酸（TFA）处理 1 mmol 所得的固体。将悬浮液搅拌几分钟，直至得到一种溶液，并且在冷却下“真空”蒸发 TFA。仍含有微量 TFA 的胶状产物用乙醚处理，得到三氟乙酸盐形式的标题化合物，为细粉状物。

**实施例 3**：制备化合物 **1、3—10、18—21、39**

基本按照实施例 1 所述的方法进行反应。当反应产物通过快速层

析纯化后，将 1 mmol 所得固体溶于 20 ml 二噁烷，并于室温和搅拌下加入 1.2 ml 1 N NaOH 水溶液。5 h 后用 1 N 盐酸水溶液酸化该溶液至 pH 2，并用水稀释至标题化合物完全析出。再经过滤和风干，得到细粉状的标题化合物。

#### 实施例 4：制备化合物 2

按照实施例 3 所述的方法进行反应。当完成酯官能团的水解以及产物风干后，将 1 mmol 所得固体溶于 20 ml TFA，并按照 Y. Kiso 等 (Chem. Pharm. Bull. 28, 673, 1980) 所述的方法，于室温和搅拌下加入 50 mmol 苯硫基甲烷。3.5 h 后，在冷却下“真空”蒸发 TFA，并将残余物溶于最小量的 1% 甲醇的氯仿溶液中。加入乙醚使标题化合物沉淀，再经过滤、用较多的乙醚洗涤和“真空”干燥得到标题化合物的三氟乙酸盐，为细粉状物。

#### 实施例 4-2：制备化合物 37

基本按照实施例 1 所述的方法进行反应。当起始物从反应混合物中消失后，加水并过滤出所得的沉淀物，再用水洗涤并风干。然后将粗品溶于 3 ml THF，在 10% 盐酸水溶液存在下于室温搅拌过夜用水稀释，使产物完全沉淀，并且过滤和风干。然后固体经硅胶 60 (230-400 目 ASTM-Merck) 快速层析，用 2-4% 甲醇的氯仿溶液洗脱。将含有标题化合物的部分合并，并蒸发溶剂，得到浅黄色粉末。

方法 B 一起始物 GE 2270 因子 A，与所选择的含有未被保护的酸残基的胺反应。

#### 实施例 5：制备化合物 19，22-28，40，41

于 0℃ 在搅拌下将 1.1 mmol DPPA 加至 1 mmol

GE 2270 因子和 1.5 mmol TEA 的 10 ml DMF 溶液中。让温度升至室温，并继续搅拌 4.5 小时。然后于室温下向溶液中加入 1.5 mmol 所选择的胺和 2 mmol TBA，并在同一温度下继续搅拌 5 h（如果选择的胺含有一个以上的酸性官能团，则调整 TEA 的量以使游离出氨基）。然后用 1 M 盐酸水溶液将反应混合物酸化至约 pH 2，用水稀释至产物完全析出。将湿固体风干，并通过硅胶 60（230—400 目 ASTM—Merck）进行快速层析纯化，用 5—10% 甲醇的氯仿溶液洗脱。合并含有标题化合物的部分，并且蒸发溶剂。固体与乙醚一起研磨后得到细粉状标题化合物。

方法 B 1—起始物 GE 2270 因子 A，与所选择的含有活性官能团（除了未被保护的酸性基团外，其它所有官能团均通过各种方式加以保护）的胺反应，随后脱去保护基。

实施例 6：制备化合物 11, 12

基本上按照实施例 5 所述的方法进行反应。当反应产物通过快速层析纯化后，将 1 mmol 所得的固体溶于 20 ml TEA，并于室温和搅拌下加入 50 mmol 苯硫基甲烷。3.5 小时后，在冷却下“真空”蒸发 TFA，并将残余物溶于最小量的 1% 甲醇的氯仿溶液中。加入乙醚以使标题化合物沉淀，再经过滤、用较多的乙醚洗涤和“真空”干燥，得到标题化合物的三氟乙酸盐，为细粉状物。

方法 C—选择作为起始物的 GE 2270 因子 A，的酰胺衍生物与所选择的试剂反应

实施例 7

由化合物 1, 5, 10, 6 分别制备化合物 14, 15, 16, 17

于 0℃ 和搅拌下将 1.2 mmol 所选择的胺、1.4 mmol TEA 和 1.2 mmol DPPA 加至 1 mmol GE 2270 因子 A<sub>3</sub> 的合适酰胺衍生物（按前面实施例中所述的方法制备）的 10 ml DMF 溶液中〔如果使用所选择的胺的盐（盐酸盐、对一甲苯磺酸盐等），则必须用两倍数量的 TEA〕。让温度升至室温，并继续搅拌约 4 h。然后用 1 N 盐酸水溶液将反应混合物酸化至约 pH 3，并用水稀释至产物完全析出。湿固体风干后经硅胶 60（230—400 目 ASTM—Merck）快速层析纯化，用 3—5% 甲醇的氯仿溶液洗脱。合并含有标题化合物的部分并蒸发溶剂。固体与乙醚一起研磨后得到细粉状标题化合物。

方法 C 1—选择作为起始物的 GE 2270 因子 A<sub>3</sub> 的酰胺衍生物与所选择的含有其它活性官能团（均被保护）的试剂反应，随后脱去保护基。

#### 实施例 8

由化合物 3 制备化合物 13

按照实施例 7 所述的方法进行反应。当反应产物经快速层析纯化后，将 1 mmol 所得固体溶于 20 ml 二噁烷，并于室温和搅拌下加入 1.2 ml 1 N NaOH 水溶液。5 h 后用 1 N 盐酸水溶液将溶液酸化至 pH 2，并用水稀释至标题化合物完全析出。再经过滤和风干后得到细粉状标题化合物。

#### 实施例 9—1

由化合物 36 制备化合物 31

于室温和搅拌下将 1.2 mmol TEA 和 1.1 mmol 所选择的试剂（见表）加至 1 mmol GE 2270 因子 A<sub>3</sub> 的合适

酰胺衍生物（按照前面实施例所述的方法制备）的 10 ml 10% 甲醇的氯仿溶液中。20 min 后“真空”蒸发溶剂，并用 5%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  水溶液处理残余物。所得固体经过滤、再用 5%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  和水洗涤，再溶于 10 ml 甲醇中。向该溶液中加入 0.5 ml 水和 0.1 mmol 对一甲苯磺酸，并将反应混合物于室温下搅拌过夜。真空浓缩溶液至少体积（约 2 ml）并加水沉淀标题化合物，风干后得到细粉状标题化合物。

### 实施例 9-2

由化合物 37 制备化合物 38

于室温和搅拌下，将 9.2 mmol 乙酸、9.2 mmol 乙酸钠和 0.506 mmol 所选择的试剂（见表 III）加至 0.23 mmol GE 2270 因子 A<sub>1</sub> 的合适酰胺衍生物（按前面实施例所述方法制备）的 40 ml 乙醇溶液中。2 h 后加入 0.46 mmol  $\text{NaBH}_4$ （Fluka）并于同一温度下搅拌过夜。蒸发溶剂，得到粗产物，并用 10 ml 1 N HCl 洗涤，过滤和风干。然后固体经硅胶 60（230-400 目 ASTM-Merck）快速层析纯化，用 0-10% 甲醇的二氯甲烷溶液洗脱。合并含有标题化合物的甲基酯（中间产物）的部分。蒸发溶剂，将产生的固体再溶于 2 ml 二噁烷中，并于室温下用 1.2 mol 过量的 1 N NaOH 处理过夜。蒸发溶剂，将得到的固体与 1:1 的乙酸乙酯和甲醇的混合液一起研磨而进一步纯化，得到细粉状的标题化合物。

方法 D 一起始物 GE 2270 因子 A<sub>1</sub>，与所选择的胺反应。

### 实施例 10

制备化合物 35

将 1 m m o l G E 2 2 7 0 因子A<sub>2</sub> (按照欧洲专利申请公开号 4 0 6 7 4 5 所述的方法制备) 溶于 1 0 m l 氨饱和的甲醇溶液中。该溶液于室温下放置 3 天后, “真空”蒸发溶剂。残余物溶于 2 m l 甲醇中, 并用水沉淀标题化合物。过滤并风干。与乙醚一起研磨后得到细粉状标题化合物。

方法 E—制备本发明化合物的盐

实施例 1 1

制备化合物 1 9 的精氨酸盐

在搅拌下将 423 m g L-精氨酸 (2. 4 2 m m o l ) 的 1 2 0 m l 水溶液加至 3 g 化合物 1 9 ( 2. 4 2 m m o l ) 的 1 8 0 m l 二噁烷的悬浮液中, 并冷冻干燥浑浊溶液以得到所需的盐。

方法 F—起始物 G E 2 2 7 0 成分 C<sub>2a</sub> (即其中 R 为甲氧基甲基、R<sub>1</sub> 为甲基、R<sub>4</sub> 为羟甲基并且 W 为 C O O H 的式 II 化合物) 与所选择的含有其它活性官能团 (均被保护) 的胺反应, 随后脱去保护基团。

实施例 1 2

制备化合物 4 2

按照实施例 3 所述的方法并且用起始物 G E 2 2 7 0 成分 C<sub>2a</sub> 代替因子 A<sub>2</sub> 进行反应。

方法 G—方法 F 中所述的起始物 G E 2 2 7 0 成分 C<sub>2a</sub> 与所选择的含有未被保护的酸残基的胺反应

实施例 1 3

制备化合物 4 2

按照实施例 5 所述方法用起始物 G E 2 2 7 0 成分 C<sub>2a</sub> 代替因子

A. 进行反应。

方法H一起始物GE 2 2 7 0成分D<sub>1</sub> (即其中R和R<sub>1</sub>为氢、R<sub>4</sub>为甲基并且W为COOH的式II化合物)与所选择的含有其它活性官能团(均被保护)的胺反应,随后脱去保护基团。

实施例 1 4

制备化合物 4 3

按照实施例3所述方法并且用起始物GE 2 2 7 0成分D<sub>1</sub>代替因子A,进行反应。

方法I—方法H中所述的起始物GE 2 2 7 0成分D<sub>1</sub>与所选择的含有未被保护的酸残基的胺反应

实施例 1 5

制备化合物 4 3

按照实施例5所述的方法并且用起始物GE 2 2 7 0成分D<sub>1</sub>代替因子A,进行反应。

方法J一起始物GE 2 2 7 0成分D<sub>2</sub> (即其中R为羟甲基、R<sub>1</sub>和R<sub>4</sub>为甲基、W为COOH的式II化合物)与所选择的含有其它活性官能团(均被保护)的胺反应,随后脱去保护基团。

实施例 1 6

制备化合物 4 4

按照实施例3所述的方法并且用起始物GE 2 2 7 0成分D<sub>2</sub>代替因子A,进行反应。

方法K—方法J中所述的起始物GE 2 2 7 0成分D<sub>2</sub>与所选择的含有未被保护的酸残基的胺反应。

### 实施例 17

#### 制备化合物 44

按照实施例 5 所述的方法并且用起始物 GE 2270 成分 D<sub>2</sub> 代替因子 A<sub>2</sub> 进行反应。

方法 L—抗菌素 GE 2270 的较少成分 (C<sub>2a</sub>、D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub> 和 E) 的混合物 (起始物) 与所选择的含有其它活性官能团 (均被保护) 的胺反应, 随后脱去保护基团。

### 实施例 18

按照实施例 3 所述的方法并且用抗菌素 GE 2270 的较少成分 (C<sub>2a</sub>、D、D<sub>2</sub> 和 E) 的混合物 (起始物) 代替因子 A<sub>2</sub> 和 6-氨基己酸甲酯盐酸盐 (Fluka) 进行反应。Rt (min) 参见 HPLC 分析部分所述的 HPLC 方法 M。

当 Y = -NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOCH<sub>3</sub> 时, GE 2270 因子 C<sub>2a</sub>、D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub> 和 E 的 Rt (min) 分别为 43.43、39.42、42.29 和 37.41。

当 Y = -NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH 时, GE 2270 因子 C<sub>2a</sub>、D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub> 和 E 的 Rt (min) 分别为 17.23、15.76、16.64 和 15.13。

方法 M—所选择的抗菌素 GE 2270 的较少成分 (C<sub>2a</sub>、D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub> 和 E) 的混合物 (起始物) 与所选择的含有未被保护的胺反应

### 实施例 19

按照实施例 5 所述的方法, 并且用所选择的抗菌素 GE 2270 的较少成分 (C<sub>2a</sub>、D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub> 和 E) 的混合物 (起始物) 代替因子

A<sub>2</sub> 和 6-氨基己酸 (Fluka) 进行反应

R<sub>t</sub> (min) 参见 HPLC 分析部分所述的方法 M. GB2270  
因子 C<sub>2a</sub>、D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub> 和 E 的 R<sub>t</sub> (分) 分别为 17.23、  
15.76、16.64 和 15.13。

### 制备起始物

1. 以下起始物购自 Fluka (Fluka, Chemika-Biochemika, Buchs, Switzerland);

甘氨酸乙酯盐酸盐,

L-苏氨酸甲酯盐酸盐,

L-酪氨酸甲酯盐酸盐,

L-亮氨酸甲酯盐酸盐,

L-苯丙氨酸甲酯盐酸盐,

L-甲硫氨酸甲酯盐酸盐,

L-脯氨酸甲酯盐酸盐,

Na-Cbz-L-赖氨酸,

4-氨基丁酸甲酯盐酸盐,

6-氨基己酸甲酯盐酸盐,

6-氨基己酸,

4-(甲基氨基)苯甲酸,

哌啶-4-羧酸,

N-甲基-D-葡萄糖胺,

D(+)-葡萄糖胺盐酸盐,

2-二甲基氨基乙胺,

氨基乙醛缩二甲醇,

$\beta$ -丙氨酸乙酯盐酸盐。

2. 以下起始物购自 Sigma (Sigma, Biochemicals Organic Compounds, St. Louis U. S. A.):

N $\delta$ -Cbz-L-鸟氨酸,

L-天冬氨酸二甲酯盐酸盐。

3. 以下起始物购自 Aldrich (Aldrich, Catalogo Prodotti di Chimica Fine, Milano, Italy):

L-脯氨酸,

牛磺酸,

3-氨基-1-丙烷磺酸,

3-氨基丙基磷酸,

4-氨基-1-苄基吡啶。

4. 为制备抗菌素 GE 2270 因子 A、B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、C<sub>1</sub>、C<sub>2</sub>、C<sub>2a</sub>、D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub> 和 E 而生产抗菌素 GE 2270

将玫瑰游动双孢菌 ATCC 53773 的培养物在燕麦粉琼脂斜面上于 28—30°C 培养两周。然后用于接种 500 ml 烧瓶内含

100 ml 具有如下组成的种子培养基:

淀粉	10 g/l
聚脲	5 g/l
酵母浸膏	3 g/l
牛浸膏	2 g/l
大豆粉	2 g/l
碳酸钙	1 g/l
蒸馏水 (定容)	100 ml

(灭菌前调节 pH 至 7.0)

将烧瓶在旋转振荡器 (200 rpm) 上于 28—30℃ 培养 92 h。然后用所得的培养物接种 4 l 发酵罐内含有的培养基, 并于搅拌 (约 900 rpm) 和通气 (约 1 标准升/容积/分的空气) 下将培养物于 28—30℃ 培养 48 h。

将所得的培养液转移至含有 50 l 下列培养基的发酵罐中:

淀粉	20 g/l
胨	2.5 g/l
水解的酪蛋白	2.5 g/l
酵母浸膏	3 g/l
牛浸膏	2 g/l
大豆粉	2 g/l
碳酸钙	1 g/l
蒸馏水	适量

(灭菌前将 pH 调至 7.0)

并于 28—30℃ 培养约 72 h。

利用生长于 Davis 基本培养基上的枯草芽孢杆菌 ATCC 6633。通过纸盘琼脂检测法监测产生的抗菌素。于 35℃ 培养过夜后对抑制区进行评估。

#### 4 a) 制备抗菌素 GE 2270 粗品

收集上面所获得的发酵物质 (50 l) 并用过滤器 (Clarcell) 过滤。

尽管也可从滤液中得到一定数量的抗菌素 GE 2270, 但它主要存在于菌丝体中。

调节滤液的  $P H$  至约 7.0, 并用乙酸乙酯 (50 l) 萃取。离心分离出有机相, 并将其减压浓缩至小体积。然后用石油醚处理所得的油状残余物以析出抗菌素 G E 2 2 7 0 粗品。再经过滤收集和干燥后得到 4.15 g 抗菌素 G E 2 2 7 0 粗品。

用 20 l 甲醇萃取菌丝体两次, 所收集的萃取液经减压浓缩后得到水溶性残余物, 用乙酸乙酯将其萃取两次。加入石油醚, 从浓缩的有机相中析出抗菌素 G E 2 2 7 0 粗品 (6.06 g)。

#### 4 b-1 分离抗菌素 G E 2 2 7 0 因子 A

将按照上面所述的方法从菌丝体获得的粗品 (3 g) 溶于四氢呋喃, 并在硅胶 (230-400 目) 存在下减压浓缩。收集所得的固体残余物, 并加到由 300 g 硅胶 (230-400 目) 和二氯甲烷 ( $C H_2 C l_2$ ) 装填的层柱上。该柱子首先用二氯甲烷 (2 l) 展层, 接着用 1.5 l 具有如下比例的二氯甲烷与甲醇的混合液展层: 98/2; 96/4, 94/6, 92/8, 90/10 和 88/12 (V/V)。

收集各个部分, 通过 T L C、H P L C 或对枯草芽孢杆菌的抗菌作用等进行分析, 并按其抗菌素含量进行收集。

减压浓缩所收集的含有抗菌素 G E 2 2 7 0 因子 A 的部分, 得到油状残渣, 然后用四氢呋喃将其溶解。

向该溶液中加入石油醚以析出抗菌素 G E 2 2 7 0 因子 A (600 mg)。

#### 4 b-2 分离抗菌素 G E 2 2 7 0 较少成分的混合物

通过与每种单个成分的分析样品进行 H P L C 比较, 确定一个尤其富含  $C_2 a$ 、 $D_1$ 、 $D_2$  和 E 成分的代表性混合物。

Rt (min) 参见 HPLC 分析部分所述的 HPLC 方法 M, 且 GE 2270 因子 C<sub>2a</sub>、D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub> 和 E 的 Rt (min) 分别为 20.55、17.43、18.17 和 16.61。

该部分减压浓缩物为一油状残余物, 将其重新溶于四氢呋喃并用石油醚沉淀后得到白色粉末。

4c) 分离和纯化抗菌素 GE 2270 因子 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、C<sub>1</sub>、C<sub>2</sub>、D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub> 和 E。

利用装有 Nucleosil<sup>®</sup> C 18 (用十八烷基硅烷使硅胶活化) (5 μm) 的 250 × 20 mm 柱进行制备性 HPLC, 并用 A 相 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CN; 四氢呋喃; 40 mM HCOONH<sub>4</sub> = 10:40:20) 和 B 相 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CN; 四氢呋喃; 40 mM HCOONH<sub>4</sub> = 10:10:80) 的混合液进行洗脱, 从上面所得的粗混合物中分离和纯化抗菌素 GE 2270 因子 D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub> 和 E。将抗菌素混合物 (6 mg) 溶于 3 ml B 相和 1 ml A 相, 并注入 HPLC 柱中, 用 26:74 的 A 相与 B 相的混合液按 1.4 ml/min 的流速洗脱。根据 254 nm 处的 UV 吸收图谱收集洗脱成分。合并在随后层析时具有同一含量的部分, 并减压浓缩以除去 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>、CN。纸盘检测法表明残余溶液具有抗金黄色葡萄球菌的作用。将这些溶液至少冻干三次, 从 HPLC 相中完全除去 HCOONH<sub>4</sub> 缓冲液残余物。

产量如下: 抗菌素 GE 2270 因子 E, 11 mg; 抗菌素 GE 2270 因子 D<sub>1</sub>, 12 mg; 抗菌素 GE 2270 因子 D<sub>2</sub>, 10 mg。

4d) 含有抗菌素 GE 2270 因子 C<sub>2a</sub> 与其它 GE 2270 因子纯化混合物的分离

合并 6 次重复发酵制得的粗 GE 2270 因子并溶于 12 l CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: 甲醇 (93:7)。过滤除去不溶物, 并将含有抗菌

素复合物的溶液加至用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  : 甲醇 (93 : 7) 平衡过的 13 mg (230—400目) 硅胶柱上。用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  : 甲醇 (93 : 7) 从柱子上洗脱出抗菌素 GE 2270 因子 $\text{C}_{2a}$ 。合并含有本发明抗菌素的部分 (HPLC分析), 减压浓缩并干燥, 得到 23.5 g 抗菌素 GE 2270 因子 $\text{C}_{2a}$  及其它较少因子的混合物。

在用二氯甲烷 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) 平衡过的含有 400 g 硅胶 (230—400目) 的柱子上, 将部分上述制品 (5.5 g) 通过快速层析再次纯化。首先用二氯甲烷 (11) 展层, 然后用以下比例的二氯甲烷/甲醇系列混合液展层: 96/4 (31); 94/6 (11); 92/8 (21); 90/10 (61) 和 88/12 (41)。

收集并浓缩主要含 GE 2270 因子 $\text{C}_{2a}$  (HPLC分析) 的部分。加入石油醚后沉淀出抗菌素制品 (646 mg)。

4 e) 分离纯的抗菌素 GE 2270 因子 $\text{C}_{2a}$

从上述制品中通过制备性 HPLC 使主要含抗菌素 GE 2270 因子 $\text{C}_{2a}$  的纯化混合物进一步纯化。

将部分上述抗菌素制品 (10 mg) 溶于 1 ml A 相 ( $\text{CH}_3\text{CN}$  : 四氢呋喃 : 40 mM  $\text{HCOONH}_4$  — 40 : 40 : 20) 和 1 ml B 相 ( $\text{CH}_3\text{CN}$  : 四氢呋喃 : 40 mM  $\text{HCOONH}_4$  — 10 : 10 : 80) 并注入 HPLC 250 × 20 mm Hibar 柱 (E. Merck; Darmstadt F. R. Germany), 该柱子中填有用 40% A 相和 60% B 相的混合液平衡过的 7  $\mu\text{m}$  Nucleosil<sup>®</sup> C18 (用十八烷基硅烷使硅胶活化)。按 1.5 ml/min 的流速在 22 min 内

用40—50%A相进行线性梯度洗脱。于254nm处进行UV检测。随后将经过10次层析的含有本发明纯抗菌素的部分合并，并通过减压浓缩除去CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>。用水沉淀出抗菌素GE2270因子C<sub>2a</sub>。离心收集沉淀物，再经蒸馏水洗涤两次和真空干燥后得到66mg纯抗菌素。

#### 5. 制备抗菌素GE2270因子A<sub>2</sub>

将抗菌素GE2270因子A（按上述方法制备）（86mg）溶于17ml95%乙醇和1.7ml乙酸。于60℃保温24小时后，所产生的溶液用0.1M磷酸钠调节至pH7.5。通过减压蒸发除去乙醇，水溶性残余物用乙酸乙酯（100ml）萃取两次。减压浓缩有机相，得到一固体残余物，将其用四氢呋喃溶解后，再加入石油醚使其沉淀。得到含有少量抗菌素GE2270因子A和A<sub>1</sub>的抗菌素GE2270因子A<sub>2</sub>（62mg）。通过下面的HPLC可获得纯的抗菌素GE2270因子A<sub>2</sub>。

将10mg上述粗产物溶于四氢呋喃中，用水稀释至溶解度的限度后注入HPLC系统，该系统含有填充了Nucleosil<sup>R</sup>C18（5μm）逆相硅胶（Stacroma<sup>®</sup>）的柱子，以约15ml/min的流速用64%—93%B相在A相中的溶液进行线性梯度洗脱（20min）。该系统中，A相为18mM磷酸钠（pH7.2）和乙腈的混合液（90:10（V/V）），B相为18mM磷酸钠（pH7.2）和乙腈的混合液（40:60（V/V））。收集5次连续层析的部分，于330nm处进行UV监测。合并含有大量抗菌素GE2270因子A<sub>2</sub>的部分（对应于洗脱液UV图谱中的主峰），减压浓缩得到水相，并用乙酸乙酯萃取两次。然后用蒸馏水洗

将该有机相以除去残余的无机盐，浓缩后以便析出固体残余物，再将其溶于四氢呋喃并用石油醚再次沉淀，得到纯的抗菌素GE2270因子A<sub>2</sub>（45%）。

欧洲专利申请公开号406745叙述了制备抗菌素GE2270因子A主要反应产物的抗菌素GE2270因子A<sub>2</sub>的其它替代方法。

#### 6. 制备抗菌素GE2270因子A<sub>2</sub>

于室温下将抗菌素GE2270因子A<sub>2</sub>在0.5M碳酸钠中保温1小时。然后用冷水稀释反应混合物，并用盐酸调至PH6.5。中和溶液含有作为主要反应产物的抗菌素GE2270因子A<sub>2</sub>。用乙酸乙酯从水相中萃取该抗菌素，然后通过加入石油醚从浓缩的有机相中沉淀出该抗菌素。

通过如下所述的柱层析得到纯的抗菌素GE2270因子A<sub>2</sub>。

将1.5g粗品GE2270A<sub>2</sub>溶于60ml甲醇与二氯甲烷混合液（1/1（V/V））中，并减压蒸发溶剂使粗品GE2270A<sub>2</sub>吸附在硅胶（75—230目）上。然后将固体残余物加到经二氯甲烷平衡过的硅胶（75—230目）柱（柱高40cm）的顶端。按照如下顺序用甲醇在二氯甲烷中的混合液洗柱：1）2%甲醇（450ml）；2）5%甲醇（500ml）；3）10%甲醇（600ml）；4）15%甲醇（500ml）；5）20%甲醇（500ml）；6）30%甲醇（250ml）。

收集各部分并通过TLC和对枯草芽孢杆菌ATCC6633的细菌学检测法进行监测。抗菌素GE2270因子A<sub>2</sub>通常存在于含有约15—20%甲醇的洗脱液中。

合并含有所需产物的部分并减压浓缩。向残余物中加入石油醚后

沉淀出抗菌素GE2270因子A<sub>1</sub> (854<sup>2</sup>纯产物)。

### 7. 由抗菌素因子D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub>和C<sub>2a</sub>制备合适的起始物

基本按照上面5和6中所述的方法,但用抗菌素GE2270的单个因子(C<sub>2a</sub>、D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub>和E)为起始物代替因子A,可获得合适的式Ⅲ起始物,其中W为COOH或活性酯,R为氢或CH<sub>2</sub>OH,R<sub>1</sub>为CH<sub>3</sub>或氢,R<sub>4</sub>为羟甲基或甲基。

7a)由抗菌素GE2270的较少成分(C<sub>2a</sub>、D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub>和E)的混合物制备合适的起始物:

基本按照上面5和6所述的方法,但用较少成分(C<sub>2a</sub>、D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub>和E)的混合物为起始物代替单个因子A,可获得合适的式Ⅲ起始物,其中W为COOH或活性剂,R、R<sub>1</sub>和R<sub>4</sub>对于C<sub>2a</sub>分别为甲氧基甲基、甲基和羟甲基,对于D<sub>1</sub>分别为氢、氢和甲基,对于D<sub>2</sub>分别为羟甲基、甲基和甲基,对于E分别为羟甲基、氢和甲基。

Rt(min)参见HPLC分析部分中所述的HPLC方法M<sub>6</sub>

当W为活性酯时,GE2270因子C<sub>2a</sub>、D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub>和E的Rt(min)分别为22.51、19.80、20.41、20.41和18.9。

当W为COOH时,GE2270因子C<sub>2a</sub>、D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub>和E的Rt(min)分别为12.99、10.38、11.08和9.03。

### 8. 制备甘氨酸-Nε-Cbz-L-赖氨酸三氟乙酸酯

于0℃将4.8ml DPPA(22mmol)加至充分搅拌的3.5g BOC-甘氨酸(Fluka)(20mmol)和7.28g Nε-Cbz-L-赖氨酸甲酯盐酸盐(Fluka)(22

mmol) 的 50 ml 无水 DMF 溶液中。于 0℃ 在 10—15 min 内将 5.8 ml TFA (42 mmol) 的 50 ml 无水 DMF 溶液加至上述溶液中。于 0℃ 继续搅拌 2 h, 然后于室温搅拌过夜。用 250 ml 甲苯和 500 ml 乙酸乙酯稀释反应混合物, 并用 1 N 盐酸 (x3)、水、NaHCO<sub>3</sub> 饱和溶液和盐水洗涤。经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥蒸发溶剂后得到 9.7 g 稠油状物, 用任何方法都不能使其结晶。该油状物的 NMR 与 BOC—甘氨酸—Ne—Cbz—L—赖氨酸甲酯的结构非常一致。

将该油状物溶于 200 ml 丙酮/二噁烷 (1:1), 并于 0℃ 在 30 min 内于搅拌下将 2.2 ml 1 N NaOH 加至其中。该反应物于室温下搅拌 45 分钟, 用 300 ml 冷水稀释, 用 25 ml 1 N 盐酸酸化并用氯仿 (x3) 和乙酸乙酯 (x3) 萃取。经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥和蒸发溶剂后得到 9.4 g 树脂状物, 用任何方法均不能使其结晶。该树脂状物的 NMR 与 BOC—甘氨酸—Ne—Cbz—L—赖氨酸的结构完全一致。

用 20 ml 冷三氟乙酸 (TFA) 处理该树脂状化合物。于室温下该反应混合物, 直至所有成分均成为溶液。冷却和真空下使溶液减至小体积, 然后加入乙醚以使标题化合物沉淀。得到 9.6 g 甘氨酸—Ne—Cbz—L—赖氨酸三氟乙酸酯, 为白色粉末。NMR 与其结构完全一致。

#### 9. 制备 L—酪氨酸—L—脯氨酸

于 0℃ 将 0.48 ml DPPA (2 mmol) 加至充分搅拌的 538 mg BOC—L—酪氨酸 (Fluka) (2 mmol), 228.3 mg L—脯氨酸 (Aldrich) (2 mmol) 和

168 mg  $\text{NaHCO}_3$  的 5 ml 无水 DMF 溶液中。于室温下搅拌反应 24 h，然后用 50 ml 水稀释并用氯仿 (x3) 萃取。用水洗涤有机相，经  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥，蒸发溶剂后得到一油状物。通过硅胶 60 (230—400 目 ASTM—Merck) 快速层析进行纯化，并用己烷/丙酮 (2:3) 洗脱。得到 420 mg BOC—L—酪氨酰—L—脯氨酰胺，为白色固体。NMR 与其结构一致。

将所得固体溶于 6 ml 乙酸乙酯，并在 4 ml 3 N 盐酸存在下于室温搅拌 48 h。然后将反应混合物真空蒸发干燥，并将残余物再溶于乙醇中，用乙醚沉淀，得到 302 mg L—酪氨酰—L—脯氨酰胺的白色粉末。NMR 与结构完全一致。

10. 制备 8—氨基辛酸甲酯和 11—氨基十一烷酸甲酯对—甲苯磺酸盐

将 40 mmol 所选择的氨基酸 (Fluka) 和 15.2 g 对—甲苯磺酸—水合物 (Fluka) (80 mmol) 的 200 ml 甲醇溶液回流过夜。然后真空蒸发溶剂并将残余物再溶于乙醚。一段时间之后标题化合物定量地结晶出来。这两个化合物的 NMR 与其结构一致。

11. 制备 5—氨基戊基膦酸

将 3.48 g 5—氨基—1—戊醇 (Fluka) (33.7 mmol) 和 5.0 g 邻苯二酐 (Fluka) (33.7 mmol) 一起于 180 °C 熔融。一直维持该温度 90 min，直至无水产生为止。然后将反应冷却至室温，油状混合物在硅胶 60 (230—400 目 ASTM—Merck) 上层析，用 2% 甲醇的氯仿溶液洗脱，得到 5.9 g 纯油状物。NMR 与其结构一致。

向 5.9 g 油状中间产物 (25 mmol) 中分批加进 1.6 ml PBr<sub>3</sub> (17 mmol), 以控制放热反应。将反应混合物于 100 °C 加热 1.5 h 后倒入碎冰块中, 过滤所分离的固体物质并让其风干过夜。得到 6.6 g 纯的溴代中间物。其质谱数据与计算的分子量一致。

将 500 mg 纯的溴代中间物 (1.69 mmol) 和 140 mg 亚磷酸三乙酯 (Fluka) (0.84 mmol) 一起于 150 °C 加热约 1 h, 然后在同样温度下按照 30 min 的间隔将另外三份 140 mg 的亚磷酸三乙酯分批加入。当所有起始物消失后, 蒸馏掉过量的亚磷酸三乙酯。将粗产物在硅胶 60 (230-400 目 ASTM-Merck) 上快速层析纯化, 并用 2% 甲醇的二氯甲烷溶液洗脱。得到 468 mg 所需亚磷酸二乙酯, 为粘稠状物。NMR 确证其结构。

于室温下将 3 ml 0.2 M 胍的甲醇溶液与 468 mg 亚磷酸二乙酯中间物反应过夜。过滤除去析出的邻苯二甲酰胍, 并将残余的溶液真空蒸发干燥。残余物溶于 1 N 盐酸中, 溶液用乙酸乙酯洗涤。NaOH 碱化并用正丁醇萃取数次。再经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥丁醇相并蒸发干燥后, 得到 175 mg 粘稠的油状物, 其 NMR 与所需产物的结构一致。

将 175 mg 5-氨基戊基膦酸二乙酯在 0.6 ml 浓盐酸中回流 20 h。然后在正丁醇存在下通过共沸蒸馏将酸性溶液蒸发至干燥。经 NMR 确证, 玻璃状油为 5-氨基戊基膦酸。

## 12. 制备 5-(5-氨基戊基)四唑

于 0 °C 及搅拌条件下, 将 12.48 ml 氯甲酸苄酯 (Fluka) (88 mmol) 滴加至 10 ml 6-氨基己腈 (Fluka) (80

mmol) 和 13.3 ml TEA (96 mmol) 的 80 ml 四氢吡喃溶液中。继续于室温下搅拌 2 h, 并真空蒸发溶剂。残余物溶于乙酸乙酯中, 并用 1 N 盐酸和水洗涤, 再经  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥和蒸发溶剂后得到 19.6 g 浆状物, 其 NMR 与结构一致。

在 793 mg 叠氮化钠 (12.2 mmol) 和 834 mg 三乙胺盐酸盐 (6.1 mmol) 存在下, 将 1 g 被保护的 6-氨基己腈 (4.06 mmol) 的 40 ml 1-甲基-2-吡啶烷酮溶液在氢气中于 150 °C 加热。4 h 后, 用 120 ml 水稀释反应混合物, 并用 10% 盐酸小心酸化至 pH 1 (注意, 形成 azotidric acid)。用乙酸乙酯萃取溶液, 再用 10% NaOH 水溶液 (x 2) 萃取有机相, 所得的碱性溶液用乙醚洗涤、用浓盐酸酸化并用乙酸乙酯萃取 (x 3)。干燥并蒸发有机相后得到一浆状物。用甲醇/水结晶后得到 260 mg 细粉。NMR 和质谱确证了其结构。

于室温下将 250 mg N-保护的氨基四唑 (0.86 mmol) 用 5 ml 苯硫基甲烷 (43.25 mmol) 和 17.5 ml 三氟乙酸处理 3 小时。在冷却下真空浓缩三氟乙酸, 并加入乙醚以析出标题化合物, 它为三氟乙酸盐。NMR 和质谱确证了它的结构。

13. 制图 N-[3, 4-二-(0-四氢吡喃) 苯甲酰]-噻唑烷-2-硫酮

在 0.325 ml 浓  $\text{H}_2\text{SO}_4$  存在下, 将 4.62 g 3, 4-二羟基苯甲酸 (Fluka) (30 mmol) 的 40 ml 甲醇溶液回流 24 小时。冷却溶液至室温后, 加入一定量的固体  $\text{NaHCO}_3$ , 并真空蒸发溶剂。残余物溶于乙酸乙酯中, 用水洗涤, 再经  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥蒸发溶剂后得到浆状物, 用乙酸乙酯/己烷将其结晶, 得到

3. 53 g 白色结晶。

于室温和搅拌下，将 9.1 ml 二氢吡喃 (Fluka) (0.1 mol) 和 250 mg 对-甲苯磺酸吡啶鎓 (1 mmol) 加至 1.68 g 3,4-二羟基苯甲酸甲酯 (10 mmol) 的 4 ml 乙酸乙酯和 25 ml 二氯甲烷溶液中。4 天后，反应混合物用 NaHCO<sub>3</sub> 饱和溶液洗涤，用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥，再经蒸发干燥后得到 3.36 g 油状物，未经进一步纯化它可直接用于下一步骤中。

将上面反应中所得的粗产物溶于 40 ml 丙酮，并向该搅拌溶液中加入 20 ml 水、2.76 g K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (20 mmol) 和 10 ml 1 N NaOH 水溶液 (10 mmol)，于室温下继续搅拌 7 天。真空蒸发丙酮并用乙酸乙酯洗涤残余的水相。然后将水相转移至含有等体积氯仿的锥形瓶中，冷却至 0℃，并在激烈搅拌下用 50 ml 1 N 盐酸小心酸化。然后再用氯仿萃取水相三次，合并后的有机层经 0.2% 甲酸铵洗涤、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥和蒸干后得到浆状物，加入己烷结晶后，得到 2.34 g 白色固体，NMR 与其结构相符。

于 0℃ 向 644 mg 苯甲酸中间产物 (2 mmol) 的 14 ml 乙酸乙酯/二氯甲烷 (5:2) 搅拌溶液中依次加入 333 mg 2-噻唑啉-2-硫醇 (Fluka) (2.8 mmol)、577 mg N,N'-二环己基碳二亚胺 (Fluka) (2.8 mmol) 和 35 mg 4-二甲基氨基吡啶。继续于室温下搅拌过夜，过滤除去析出的二环己基脲并真空蒸发黄色溶液后得到一黄色油状物，在硅胶 60 (230-400 目 ASTM—Merck) 快速层析 (用 25% 丙酮的己烷溶液洗脱) 纯化该油状物。用丙酮/己烷结晶得到 700 mg 黄色结晶。NMR 和 IR 确证该化合物就是标题化合物。

#### 14. 制备N<sup>1</sup>-N<sup>8</sup>-二叔丁氧羰基亚精胺

在搅拌下将5.8g亚精胺(Aldrich)(40 mmol)的40 ml脱气THF溶液冷却至0℃,然后在氢气下将19.72g BOC-ON(Aldrich)(80 mmol)的60 ml脱气THF溶液在1 h内滴加至其中。然后将反应于室温下搅拌过夜,接着蒸发至干燥。残余物溶于乙醚中,用1N NaOH(×4)和水(×4)洗涤,Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,并将溶剂真空浓缩至小体积。加入乙醚后,析出11g白色粉末,通过NMR确证它就是标题化合物。

#### 15. 制备N-叔丁氧羰基亚丙基二胺

于室温和搅拌下,向溶于10 ml二噁烷、10 ml水和3.3 ml三乙胺混合液的2g 3-氨基丙腈富马酸盐(Aldrich)(15.6 mmol)溶液中加入4.2g BOC-ON(Aldrich)(17.2 mmol),3小时后,再用水稀释反应混合物,并用二氯甲烷(×3)萃取。合并有机层,用1N NaOH水溶液(×3)和水(×3)洗涤,Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并蒸干。残余的油状物溶于乙醚中并用己烷沉淀后得到2.2g白色粉末。

将1g N-BOC-保护的中间产物(5.9 mmol)的7ml 1N乙醇NaOH溶液在130<sup>o</sup>阮内镍(50%的水浆, pH>9)(Aldrich)于40 psi氢化40 h。过滤除去阮内镍,并蒸发溶剂至干燥。残余物溶于乙酸乙酯中,再经1N NaOH水溶液洗涤,Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥和真空除去溶剂,得到950<sup>o</sup>无色油状物,它在放置后固化。经NMR确证它就是标题化合物。

#### 16. 制备3-(2-氨基乙硫基)丙酸甲酯三氟乙酸盐

于室温及搅拌条件下,将1.4g二叔丁基二碳酸酯

(Aldrich)(6.48 mmol)的5 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  溶液加至0.5 g 半胱胺(Fluka)(6.48 mmol)的5 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  溶液中。30 min后,蒸发有机溶剂,并将粗品溶于5 ml 无水乙醇中。然后依次向该乙醇溶液中加入2.7 ml TEA(19.1 mmol)和1.07 ml 3-溴丙酸甲酯(Fluka)(9.57 mmol)。反应在约30 min内完成。真空除去乙醇,并用15 ml 氯仿代替。再经水洗涤有机相、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥和蒸发溶剂后,得到一油状物。最后于0℃将其用1 ml 三氟乙酸处理5 min。蒸干后得到270 mg 浅黄色油状物。NMR和IR 确证它就是标题化合物。

#### 17. 制备6-氨基-2(E)-己烯酸

于室温和搅拌下,将1.5 ml 苯甲酰氯(Fluka)(12.9 mmol)的5 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  溶液在30 min内加至2 ml 4-氨基丁醛缩二乙醇(Fluka)(11.6 mmol)和3.6 ml TEA(25.6 mmol)的5 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  溶液中。1 h后,用10 ml 以上的 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  稀释反应物,用水洗涤,用 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥有机相,并将体积调至20 ml。然后在1.6 ml TEA(11.5 mmol)、10.2 g 二叔丁基二碳酸酯(Aldrich)(46.8 mmol)和1.4 g 4-二甲基氨基吡啶(Fluka)(11.5 mmol)存在下,于室温和氩气中将所得溶液反应3天。除去溶剂后得到棕色油状物,在硅胶60(230-400目ASTM-Merck)上快速层析纯化(用20%乙酸乙酯的正己烷溶液洗脱),得到1.6 g N,N-去保护的4-氨基丁醛缩二乙醇,为无色油状物。NMR 确证了它的结构。

然后将所得的油状物溶于5 ml THF中,并在室温下用5 ml 1 N HCl 处理3 h。真空除去THF,残余溶液用氯仿洗涤(2 ml  $\times$  3),然后用 $\text{NaHCO}_3$  溶液和水洗涤有机相,经

$\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥，蒸干后得到一油状物，未经进一步纯化将其直接用于下一步骤。

于  $0^\circ\text{C}$  和氩气条件下向  $1.60\text{ g } 60\% \text{ NaH}$  ( $4\text{ mmol}$ ) 的  $5\text{ ml}$  无水 THF 悬浮液中加入  $0.837\text{ ml}$  三乙基膦酰基乙酸酯 (Fluka) ( $4.3\text{ mmol}$ )。30 min 后，加入上面所得的醛 ( $1.17\text{ g}$ ) ( $4.02\text{ mmol}$ ) 的无水 THF ( $2\text{ ml}$ ) 溶液，并将温度升至室温。将反应搅拌过夜，然后于  $0^\circ\text{C}$  加入  $50\text{ mg}$  以上的  $60\% \text{ NaH}$ 。在室温下再经过 2 h 后，用稀盐酸 ( $10\text{ ml}$ ) 处理反应混合物，并用乙酸乙酯 ( $5\text{ ml} \times 3$ ) 萃取。合并有机相，用水洗涤，经  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥，并蒸干。粗品经硅胶 60 (230—400 目 ASTM—Merck) 快速层析并用  $15\%$  乙酸乙酯的正己烷溶液洗脱，得到  $765\text{ mg}$  浆状物。NMR 确证它就是所需的产物，其 E 构型中具有双键 ( $J = 16\text{ Hz}$ )。

在室温及搅拌条件下，将  $6.15\text{ ml } 1\text{ N LiOH}$  ( $6.15\text{ mmol}$ ) 加至  $739\text{ mg}$  前面所获得的不饱和酯 ( $2.05\text{ mmol}$ ) 的  $10\text{ ml}$  THF 溶液中。当起始物消失后，将反应混合物于  $30^\circ\text{C}$  (浴温) 下真空浓缩。用  $1\text{ N HCl}$  酸化水溶液至  $\text{pH } 2$ ，然后用乙酸乙酯萃取。合并后的有机相用  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥，再经过滤和蒸发溶剂后得到一油状物，它在真空下静置后固化。NMR 和 MS 确证它就是 6-N-BOC-氨基-2(E)-己烯酸。

于  $0^\circ\text{C}$  在纯三氟乙酸中脱去 N-BOC 保护得到标题化合物，接着与合适的 GE 2270 起始物偶联。

#### 18. 制备 3-(2-氨基乙氧基)丙酸三氟乙酸盐

在  $-18^\circ\text{C}$ 、搅拌和氩气下，将  $3.88\text{ ml } 1.6\text{ M}$  丁基锂

(Fluka) (6.22 mmol) 溶液加至 1 g N-BOC-乙醇胺 (6.22 mmol) [按照标准方法由乙醇胺 (Fluka) 制备] 的 10 ml 无水 THF 溶液中。30 min 后, 加入 1.3 g 3-溴丙酸叔丁酯 [按照标准方法由 3-溴丙酸 (Fluka) 制得] (6.22 mmol), 将温度开至室温, 并在该温度下搅拌所产生的混合物 20 h。用水稀释后, 用正己烷 (5 ml × 2) 萃取反应混合物, 除去溶剂后得到粗品。再经硅胶 60 (230-400 目 ASTM-Merck) 快速层析纯化 (用 20% 乙酸乙酯的正己烷溶液洗脱), 得到 1.43 g 油状物。NMR 确证它就是偶联化合物。

将偶联化合物完全去保护后, 紧接着在搅拌和室温下将其加至合适的 GE 2270 起始物的三氟乙酸中, 并搅拌约 5 min, 真空除去三氟乙酸后得到标题化合物。