



## (12)发明专利

(10)授权公告号 CN 102762586 B

(45)授权公告日 2016.10.05

(21)申请号 201080049560.6

(22)申请日 2010.11.02

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 102762586 A

(43)申请公布日 2012.10.31

(30)优先权数据

0919194.1 2009.11.02 GB

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2012.05.02

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/GB2010/002024 2010.11.02

(87)PCT国际申请的公布数据

W02011/051692 EN 2011.05.05

(73)专利权人 莱特克斯生物制药股份有限公司

地址 挪威特罗姆斯

(72)发明人 莫顿·斯特罗姆 特科特·汉森

玛蒂娜·哈沃克娃

沃罗尼卡·特佛斯

(74)专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理

有限责任公司 11204

代理人 王达佐 阴亮

(51)Int.Cl.

C07K 5/02(2006.01)

C07D 237/20(2006.01)

C07D 279/14(2006.01)

C07K 7/02(2006.01)

C07D 295/192(2006.01)

C07D 295/185(2006.01)

A61P 31/04(2006.01)

A61K 38/08(2006.01)

(56)对比文件

EP 2105433 A1,2009.09.30,

DE 102006018080 A1,2007.10.18,

EP 0564533 A1,1993.10.13,

STROEM M B et.al.The pharmacophore of short cationic antibacterial peptides.

《Journal of medicinal chemistry》.2003,第46卷(第9期),1567-1570.

审查员 劳芳

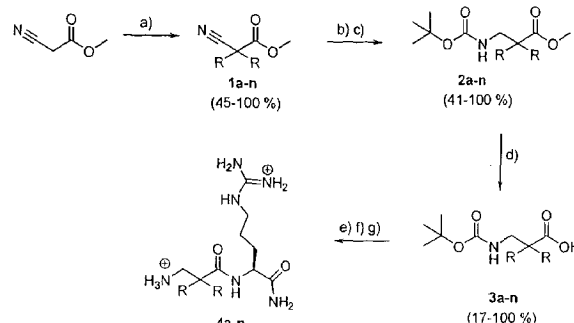
权利要求书4页 说明书34页 附图4页

(54)发明名称

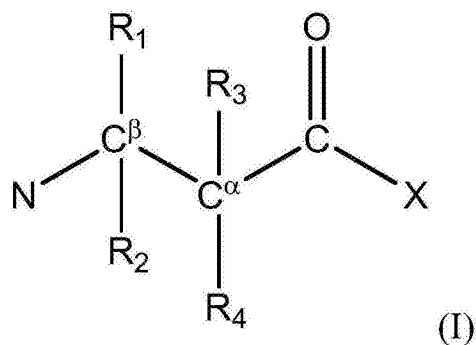
治疗肽

(57)摘要

本发明提供了作为细胞溶解治疗剂的具有至少+2的净正电荷并包含双取代的β氨基酸的肽、拟肽或氨基酸衍生物,所述β氨基酸中的各个取代基相同或不同并包含至少(7)个非氢原子,其为亲脂性的并且具有至少一个环状基团,取代基内的一个或多个环状基团可与其它取代基内的一个或多个环状基团连接或耦合并且在环状基团以该方式耦合的情况下,所述两个取代基的非氢原子的合并的总数至少为(12);以及这些分子和某些由该定义所定义的新型化合物的非治疗用途。



1. 肽或氨基酸衍生物在制备细胞溶解治疗剂中的用途, 其中所述肽或氨基酸衍生物包含如通式I的基团所示的 $\beta$ 氨基酸:



其中

所述肽或氨基酸衍生物具有至少+2的净正电荷;

$R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 和 $R_4$ 中的任意2个为氢原子且2个为取代基, 所述取代基可相同或不同, 包含7至20个非氢原子, 为亲脂性的并包括一个或两个环状基团, 所述环状基团不与 $\alpha$ 碳原子或 $\beta$ 碳原子直接连接, 其中所述亲脂性R基团的非氢原子选自C、O、N、S和F, 并且各个亲脂性取代基包含任意取代的苯基或环己基或萘基, 并且所述环状基团与所述 $\alpha$ 碳原子或 $\beta$ 碳原子通过1个至4个连接原子分离;

X表示O、C、N或S; 以及

所述肽或氨基酸衍生物的长度为1至4个氨基酸。

2. 如权利要求1所述的用途, 其中所述两个取代基相同。

3. 如权利要求1或2所述的用途, 其中所述 $\beta$ 氨基酸为 $\beta^{2,2}$ 双取代氨基酸或 $\beta^{3,3}$ 双取代氨基酸。

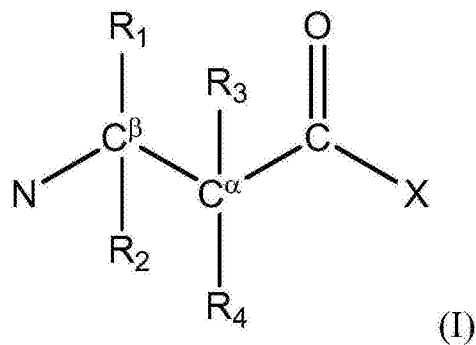
4. 如权利要求1或2所述的用途, 其中各个亲脂性取代基包含8个至12个非氢原子。

5. 如权利要求1或2所述的用途, 其中所述肽或氨基酸衍生物的C端为酰胺化的以及任意取代的。

6. 如权利要求1或2所述的用途, 其中所述肽包含阳离子氨基酸。

7. 如权利要求6所述的用途, 其中所述肽包含精氨酸或赖氨酸。

8. 肽或氨基酸衍生物在制备抗菌剂中的用途, 其中所述肽或氨基酸衍生物包含如通式I的基团所示的 $\beta$ 氨基酸:



其中

所述肽或氨基酸衍生物具有至少+2的净正电荷;

$R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 和 $R_4$ 中的任意2个为氢原子且2个为取代基,所述取代基可相同或不同,包含7至20个非氢原子,为亲脂性的并包括一个或两个环状基团,所述环状基团不与 $\alpha$ 碳原子或 $\beta$ 碳原子直接连接,其中所述亲脂性R基团的非氢原子选自C、O、N、S和F,并且各个亲脂性取代基包含任意取代的苯基或环己基或萘基,并且所述环状基团与所述 $\alpha$ 碳原子或 $\beta$ 碳原子通过1个至4个连接原子分离;

X表示O、C、N或S;以及

所述肽或氨基酸衍生物的长度为1至4个氨基酸。

9.如权利要求8所述的用途,其中所述两个取代基相同。

10.如权利要求8或9所述的用途,其中所述 $\beta$ 氨基酸为 $\beta^{2,2}$ 双取代氨基酸或 $\beta^{3,3}$ 双取代氨基酸。

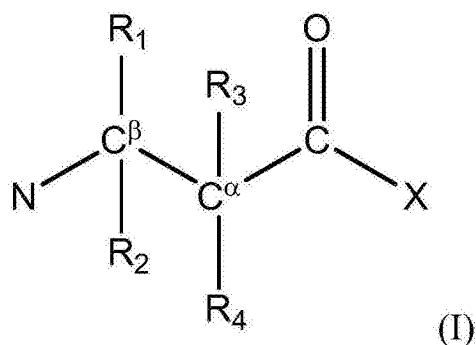
11.如权利要求8或9所述的用途,其中各个亲脂性取代基包含8个至12个非氢原子。

12.如权利要求8或9所述的用途,其中所述肽或氨基酸衍生物的C端为酰胺化的以及任意取代的。

13.如权利要求8或9所述的用途,其中所述肽包含阳离子氨基酸。

14.如权利要求13所述的用途,其中所述肽包含精氨酸或赖氨酸。

15.肽或氨基酸衍生物在制备抗肿瘤剂的用途,其中所述肿瘤选自淋巴瘤、白血病、成神经细胞瘤和成胶质细胞瘤、恶性腺瘤、黑素瘤、和纤维肉瘤,并且其中所述肽或氨基酸衍生物包含如通式I的基团所示的 $\beta$ 氨基酸:



其中

所述肽或氨基酸衍生物具有至少+2的净正电荷;

$R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 和 $R_4$ 中的任意2个为氢原子且2个为取代基,所述取代基可相同或不同,包含7个至20个非氢原子,为亲脂性的并包括一个或两个环状基团,所述环状基团不与 $\alpha$ 碳原子或 $\beta$ 碳原子直接连接,其中所述亲脂性R基团的非氢原子选自C、O、N、S和F,并且各个亲脂性取代基包含任意取代的苯基或环己基或萘基,并且所述环状基团与所述 $\alpha$ 碳原子或 $\beta$ 碳原子通过1个至4个连接原子分离

X表示O、C、N或S;以及

所述肽或氨基酸衍生物的长度为1至4个氨基酸。

16.如权利要求15所述的用途,其中所述两个取代基相同。

17.如权利要求15或16所述的用途,其中所述 $\beta$ 氨基酸为 $\beta^{2,2}$ 双取代氨基酸或 $\beta^{3,3}$ 双取代氨基酸。

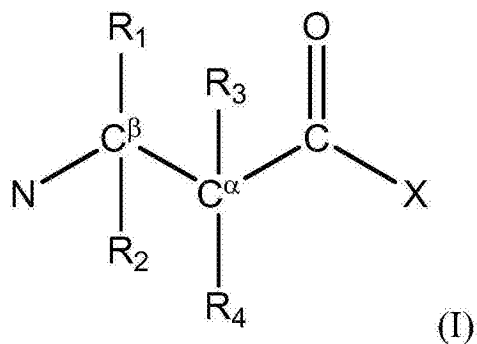
18.如权利要求15或16所述的用途,其中各个亲脂性取代基包含8个至12个非氢原子。

19. 如权利要求15或16所述的用途, 其中所述肽或氨基酸衍生物的C端为酰胺化的以及任意取代的。

20. 如权利要求15或16所述的用途, 其中所述肽包含阳离子氨基酸。

21. 如权利要求20所述的用途, 其中所述肽包含精氨酸或赖氨酸。

22. 肽或氨基酸衍生物作为细胞溶解剂的体外用途, 其中所述肽或氨基酸衍生物包含如通式I的基团所示的 $\beta$ 氨基酸:



其中

所述肽或氨基酸衍生物具有至少+2的净正电荷;

$R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 和 $R_4$ 中的任意2个为氢原子且2个为取代基, 所述取代基可相同或不同, 包含7至20个非氢原子, 为亲脂性的并包括一个或两个环状基团, 所述环状基团不与 $\alpha$ 碳原子或 $\beta$ 碳原子直接连接, 其中所述亲脂性R基团的非氢原子选自C、O、N、S和F, 并且各个亲脂性取代基包含任意取代的苯基或环己基或萘基, 并且所述环状基团与所述 $\alpha$ 碳原子或 $\beta$ 碳原子通过1个至4个连接原子分离;

X表示O、C、N或S; 以及

所述肽或氨基酸衍生物的长度为1至4个氨基酸。

23. 如权利要求22所述的用途, 其中所述两个取代基相同。

24. 如权利要求22或23所述的用途, 其中所述 $\beta$ 氨基酸为 $\beta^{2,2}$ 双取代氨基酸或 $\beta^{3,3}$ 双取代氨基酸。

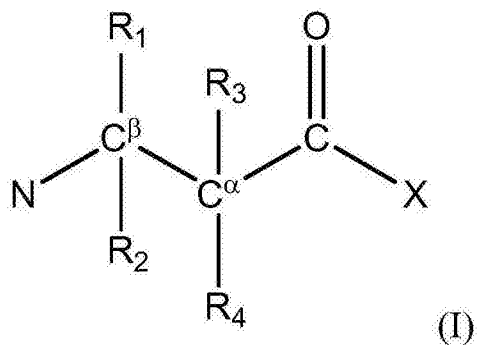
25. 如权利要求22或23所述的用途, 其中各个亲脂性取代基包含8个至12个非氢原子。

26. 如权利要求22或23所述的用途, 其中所述肽或氨基酸衍生物的C端为酰胺化的以及任意取代的。

27. 如权利要求22或23所述的用途, 其中所述肽包含阳离子氨基酸。

28. 如权利要求27所述的用途, 其中所述肽包含精氨酸或赖氨酸。

29. 肽或氨基酸衍生物, 其包含如通式I的基团所示的 $\beta$ 氨基酸:



其中

所述肽或氨基酸衍生物具有至少+2的净正电荷,

R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>中的任意2个为氢原子且2个为取代基,所述取代基可相同或不同,包含7至20个非氢原子,为亲脂性的并包括一个或两个环状基团,所述环状基团不与 $\alpha$ 碳原子或 $\beta$ 碳原子直接连接,其中所述亲脂性R基团的非氢原子选自C、O、N、S和F,并且各个亲脂性取代基包含任意取代的苯基或环己基或萘基,并且所述环状基团与所述 $\alpha$ 碳原子或 $\beta$ 碳原子通过1个至4个连接原子分离

X表示O、C、N或S;以及

所述肽或氨基酸衍生物的长度为1至4个氨基酸。

30.如权利要求29所述的肽或氨基酸衍生物,其中所述两个取代基相同。

31.如权利要求29或30所述的肽或氨基酸衍生物,其中所述 $\beta$ 氨基酸为 $\beta^{2,2}$ 双取代氨基酸或 $\beta^{3,3}$ 双取代氨基酸。

32.如权利要求29或30所述的肽或氨基酸衍生物,其中各个亲脂性取代基包含8个至12个非氢原子。

33.如权利要求29或30所述的肽或氨基酸衍生物,其中所述肽或氨基酸衍生物的C端为酰胺化的以及任意取代的。

34.如权利要求29或30所述的肽或氨基酸衍生物,其中所述肽包含阳离子氨基酸。

35.如权利要求34所述的肽或氨基酸衍生物,其中所述肽包含精氨酸或赖氨酸。

36.制剂,其包含权利要求29至35中任一项所述的肽或氨基酸衍生物和稀释剂、载体或赋形剂。

37.权利要求29至35中任一项所述的肽或氨基酸衍生物在制备治疗剂中用途。

38.作为在抗细菌感染的治疗中单独、同时或相继使用的联合制剂的产品,包含(a)权利要求29至35中任一项所述的肽或氨基酸衍生物和(b)其它抗菌剂。

39.作为在肿瘤细胞的治疗中单独、同时或相继使用的联合制剂的产品,其包含(a)权利要求29至35中任一项所述的肽或氨基酸衍生物和(b)其它抗肿瘤剂。

## 治疗肽

[0001] 本发明涉及修饰的氨基酸、肽和拟肽及其作为细胞溶解剂的用途,发现这些细胞溶解剂具有作为抗菌剂和抗肿瘤剂的特殊用途。

[0002] 在过去20-25年中,由多重耐药菌引起的感染成为社会关注的主要问题。这在医院中尤其是一个问题,特别是在由耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌(MRSA)、耐万古霉素的金黄色葡萄球菌(VRSA)和耐甲氧西林的表皮葡萄球菌(MRSE)引起感染能导致严重损伤、住院期延长和死亡,特别是在免疫缺乏的患者中。万古霉素曾经是药物治疗的最后手段,但来自全球医院的报告表明情况并非如此,反而万古霉素的使用非常频繁。

[0003] 与上述革兰氏阳性种相同,临床医生还报告了包括绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*)和大肠杆菌(*Escherichia coli*)的革兰氏阴性种的多重耐药性问题。人们非常希望知道单一的抗生素分子能否表现出对包括革兰氏阳性种和革兰氏阴性种的广谱抗菌活性。

[0004] 最大型制药公司用于开发新型抗菌化合物已经枯竭,明显这是由于巨大的开发成本和与慢性疾病的治疗相比相对有限的患者治疗时间。然而,对于新型抗菌剂的需求是迫切的并且目前在美国医源性感染引起的死亡数直逼HIV相关的死亡数。

[0005] 有前途的一类抗菌剂是阳离子抗菌肽(AMP),其还称为宿主防御肽。AMP通过以非受体特异性方式以细菌的内膜和/或外膜为靶向而具有独特的作用模式。仍不完全清楚通过AMP来破坏膜的详细机制,并且已经提出各种模型以解释观察到的作用。

[0006] 由于原核生物和真核肿瘤细胞的脂质细胞膜组分之间的相对的相似性,还观察到这些抗菌肽对肿瘤细胞的选择性膜破坏和最终的裂解活性。对于靶向细胞类型,已经识别具有净正电荷和亲脂基团或基团的有效两亲肽类和拟肽分子二者。而对于这些分子的第一代,假设作用的成孔模式并且它们通常包含十个或更多氨基酸,最近越来越多地表明更小的分子能保持治疗相关的活性水平和选择性(Strøm M.B.等人, *J. Med. Chem.* 2003, 46, 1567-1570)。

[0007] 然而,有时治疗活性、选择性、毒性、体内和体外稳定性、生产成本和方便递送的相冲突的目标使得需要不断开发在该一般种类的分子中的新的候选药物。

[0008] 本发明者发现通过使用双取代的 $\beta$ 氨基酸,能产生具有高度有前景的活性和其它期望性质的新种类的细胞溶解分子,例如包括诸如抗革兰氏阳性种和革兰氏阴性种的活性的广谱抗菌活性。优选地,分子适于口服递送。

[0009] 因此,在一个方面,本发明提供了具有至少+2的净正电荷并包含双取代的 $\beta$ 氨基酸的肽、拟肽或(修饰的)氨基酸,其用作细胞溶解治疗剂,所述 $\beta$ 氨基酸中的各个取代基可为相同或不同的并包含至少7个非氢原子,且为亲脂性的并且具有至少一个环状基团,取代基内的一个或多个环状基团可与其它取代基内的一个或多个环状基团连接或稠合,并且在环状基团以该方式稠合的情况下,所述两个取代基的非氢原子的合并总数至少为12个。 $\beta$ 氨基酸上的2个取代基优选为相同的。

[0010] 不期望受理论的束缚,包含双取代的 $\beta$ 氨基酸似乎增加了分子稳定性,并且通过受迫的构象变化改善了分子的两亲性,由于双取代的残基中两个亲脂部分的排斥作用还导致

对膜的强大破坏作用。这产生了能为细胞毒性的细胞溶解作用。

[0011] 细胞溶解活性可为抗菌的,优选为抗菌活性和/或抗肿瘤活性并且这类药物用途构成本发明优选的实施方案。因此,本发明提供了上述用作细胞溶解抗菌剂或抗肿瘤剂的肽、拟肽和修饰的氨基酸(并且下文更详细地描述)。另外来看,本发明提供了上述用于治疗微生物(特别是细菌)感染或治疗肿瘤细胞(特别是实体瘤)的肽、拟肽和修饰的氨基酸(并且下文更详细地描述)。

[0012] 可被作为靶向或治疗的微生物包括细菌(革兰氏阳性和革兰氏阴性)、真菌、古生菌和原生生物。细菌由于其感染人类和其它动物以威胁健康和生命的能力而特别受关注。

[0013] 优选的细菌靶向包括革兰氏阳性菌,特别是金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌(MRSA)和耐甲氧西林的表皮葡萄球菌(MRSE)。还可以治疗诸如绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*)和大肠杆菌(*Escherichia coli*)的革兰氏阴性种。慢性伤口常被革兰氏阳性种和革兰氏阴性种感染并且本发明优选地用于患有或疑似患有或发展多病原体感染(例如,在慢性伤口的部位)的患者的治疗。

[0014] 抗菌活性还提供了例如作为消毒剂的而非治疗性用途,并且在本发明的另一方面中提供了本文定义和描述的肽、拟肽或修饰的氨基酸作为细胞溶解剂的体外用途。

[0015] 能通过例如,诸如1-辛醇/水的液-液双相体系中分子的分布来检测亲脂性。本领域公知在诸如1-辛醇/水的液-液双相体系中,诸如羟基、羧基、羰基、氨基和酯的极性取代基降低分配系数,因为它们降低亲脂性;因此,亲脂性取代基所包含的这类极性基团优选不多于两个,更优选地一个或没有。

[0016]  $\beta$ 氨基酸具有与 $\beta$ 碳原子连接的氨基;作为遗传编码的氨基酸为其中氨基与 $\alpha$ 碳原子连接的 $\alpha$ 氨基酸。包含一个或多个 $\beta$ 氨基酸的肽骨架由每个 $\beta$ 氨基酸的一个原子而排列延长。在该排列中, $\alpha$ 碳原子和/或 $\beta$ 碳原子能被取代。 $\alpha$ 或 $\beta$ 碳原子可为双取代的;如果 $\alpha$ 碳原子为双取代的,则产生 $\beta^{2,2}$ 氨基酸,并且如果 $\beta$ 碳原子为双取代的,则产生 $\beta^{3,3}$ 氨基酸。 $\alpha$ 碳原子或 $\beta$ 碳原子上各自有一个取代基,则产生 $\beta^{2,3}$ 氨基酸。根据本发明,优选使用 $\beta^{2,2}$ 双取代和 $\beta^{3,3}$ 双取代的氨基酸, $\beta^{2,2}$ 双取代的氨基酸为特别优选的。

[0017]  $\beta$ 氨基酸由包含至少7个非氢原子的两个基团取代。优选一个,更优选地两个取代基包含至少8个,更优选至少10个非氢原子。这些基团的性质为亲脂性的并且同时它们可为不同的,优选为相同的。各个取代基包含至少一个环状基团,通常为可为脂肪族或芳香族的6元环,优选为芳香族的,并可为取代的,取代基可包含诸如氧、氮、硫或卤素的杂原子,特别是氟或氯。优选的取代基包括 $C_1$ - $C_4$ 烷基(特别是正丁基)、甲氧基、氟和氟甲基。环状基团可为溴代的或杂环的,优选地,它们可为碳原子的同素环。优选的亲脂性取代基包含两个或三个环状基团,优选为两个环状基团,其可为连接的或稠合的,优选为稠合的。特别优选的取代基包含萘基。

[0018] 进一步优选组的亲脂性取代基具有单取代的或未取代的环状基团,优选为苯基或环己基。

[0019] 一个或多个环状基团通常与肽骨架(即与 $\beta$ 氨基酸的 $\alpha$ 碳原子或 $\beta$ 碳原子)通过1至4个,优选为1至3个原子的链而分隔开;这些连接原子可包括氮和/或氧但通常为碳原子,优选的连接原子为未取代的。这些间隔基团当然也是本文定义的取代基的部分。

[0020] 双取代的 $\beta$ 氨基酸的各个取代部分通常包含7至20个非氢原子,优选为7至13个,更

优选为8至12个,最优选为9至11个非氢原子。

[0021] 本发明使用的分子的长度优选为1或2至12个氨基酸或等效亚基的肽或拟肽。除非上下文另外清楚地规定,本文引用的“氨基酸”包括拟肽中的等效亚基。对于抗菌的目的,优选的分子具有1至3或4个氨基酸,对于抗肿瘤目的,优选的分子更长,例如,长度为3至12个氨基酸,更优选为5至12个氨基酸。如实施例所证实的,本发明使用的分子可仅包含单一的氨基酸但其为“修饰的”氨基酸以满足电荷要求。

[0022] 单一的氨基酸以及肽和拟肽优选包含修饰的C端,C端修饰基团通常导致电荷反转,即例如,通过氨基的存在来消除羧基负电荷并增加正电荷。假设N末端为未修饰的,则仅该修饰将使分子整体具有+2的净电荷。不论C端是否被修饰以产生电荷反转或仅仅消除羧基的负电荷,分子还优选包含一个或多个阳离子氨基酸。因此,对于较大的分子,分子的总电荷可为+3、+4或更高。

[0023] 性质优选为阳离子的适合的C-端基团通常的大小最大为15个非氢原子。C-端优选为酰胺化的并且可将酰胺基团进一步取代以形成N-烷基或N,N-二烷基酰胺。伯酰胺基团和仲酰胺基团为优选的。合适用于取代酰胺基团的基团包括氨基烷基,例如,氨基乙基或二甲基氨基乙基;酰胺基团的氮原子可形成部分环状基团,例如,吡唑烷、哌啶、咪唑烷和哌嗪,哌嗪为优选的,这些环状基团本身可为取代的,例如由烷基或氨基烷基取代。

[0024] 本发明使用的肽优选包含一个或多个阳离子氨基酸,优选的是赖氨酸、精氨酸、鸟氨酸和组氨酸,但可包含在pH 7.0下携带正电荷的任何非遗传编码或修饰的氨基酸。

[0025] 适合的非遗传编码的阳离子氨基酸和修饰的阳离子氨基酸包括赖氨酸、精氨酸和组氨酸类似物,诸如高赖氨酸(homolysine)、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基庚二酸、二氨基丙酸和高精氨酸以及三甲基赖氨酸和三甲基鸟氨酸、4-氨基哌啶-4-羧酸、4-氨基-1-甲脒基哌啶-4-羧酸和4-胍基苯丙氨酸。

[0026] 二肽通常包含一个阳离子氨基酸且较长的肽通常包含另外的阳离子氨基酸,因此4或5个氨基酸的肽可具有2或3个阳离子氨基酸并且6至9个氨基酸的肽可具有3至6个阳离子氨基酸。

[0027] 优选组的分子包括与C-端L-精氨酸酰胺残基连接的 $\beta^{2,2}$ 双取代的氨基酸且具有该排列的二肽为特别优选的。

[0028] 具有三个或多个氨基酸的肽通常具有一个或多个另外的亲脂性氨基酸,即具有亲脂性R基团的氨基酸。通常,亲脂性R基团具有至少一个,优选两个环状基团,其可为稠合或连接的。亲脂性R基团可包含诸如O、N或S的杂原子但通常有不多于一个杂原子,优选地其为氮。该R基团优选具有不多于2个极性基团,更优选没有或一个,最优选没有。

[0029] 色氨酸是优选的亲脂性氨基酸且肽优选包含1至3个色氨酸残基。可能包含的其它基因编码的亲脂性氨基酸为苯丙氨酸和酪氨酸。

[0030] 亲脂性氨基酸可为非基因编码的,包括具有修饰的R基团的基因编码的氨基酸。

[0031] 拟肽通常特征为保留其肽等效物的极性、三维尺寸和功能(生物活性)但其中肽键常由更稳定的连接基团代替。“稳定的”是指更耐受由水解酶产生的酶降解。通常,代替酰胺键(酰胺键代替物)的键保留许多酰胺键的性质,例如构象、空间位阻、静电性质、结合氢的可能性等。“Drug Design and Development(药物设计与开发)”第14章,Krogsgaard, Larsen, Liljefors和Madsen(编辑)1996, Horwood Acad. Pub提供了设计和合成拟肽的技术

的一般性讨论。在本案中,在分子与膜而非酶的特异性活性位点反应的情况下,所描述的精确模仿亲合力和功效或底物功能的一些问题并不相关并且基于给定的肽结构或所需官能团的基序能容易地制备拟肽。适合的酰胺键代替物包括下列基团:N-烷基化(Schmidt,R.等人,Int.J.Peptide Protein Res.,1995,46,47)、逆反酰胺(retro-inverse amide)(Chorev,M和Goodman,M.,Acc.Chem.Res,1993,26,266)、硫酰胺(Sherman D.B.和Spatola,A.F.J.Am.Chem.Soc,1990,112,433)、硫酯、磷酸酯、酮亚甲基(Hoffman,R.V.和Kim,H.O.J.Org.Chem.,1995,60,5107)、羟基亚甲基、氟乙烯基(Allmendinger,T.等人,Tetrahedron Lett.,1990,31,7297)、乙烯基、亚甲基氨基(Sasaki,Y和Abe,J.Chem.Pharm.Bull.1997 45,13)、亚甲基硫(Spatola,A.F.,Methods Neurosci,1993,13,19)、烷烃(Lavielle,S.等人,Int.J.Peptide Protein Res.,1993,42,270)和磺酰胺基(Luisi,G.等人,Tetrahedron Lett.1993,34,2391)。

[0032] 本发明的分子包含双取代的 $\beta$ 氨基酸且仅包含一个其它氨基酸的多种分子在实施例中进行描述,即具有2个通过酰胺键连接的氨基酸的分子。由于酰胺键这类分子被认为是二肽;然而,实际上这些分子中的酰胺键由于 $\beta$ 氨基酸的双取代而非易断裂的,因此这些分子能够被认为是为拟肽。出于本发明的目的,这类分子(和具有更多氨基酸的较大分子)由于酰胺键的存在笨被认为是肽(而非拟肽)。这使得命名法清楚而不需要测试给定的酰胺键是否为易断裂的或在何种程度上为易断裂的。换言之,如果分子中的所有氨基酸均通过酰胺键连接,即使一个或多个酰胺键并不容易断裂,该分子也被认为是肽。

[0033] 本发明的拟肽化合物通常具有可识别的亚基,所述亚基在尺寸和功能上与氨基酸近似等效。拟肽通常具有与氨基酸的R基团等效的基团并且本文讨论的适合的R基团以及N端和C端修饰基团加以必要修改应用于拟肽化合物。

[0034] 如在上述引用的教科书中讨论的,与酰胺键的代替相同,拟肽可包括使用二或三拟肽结构代替较大的结构部分,并且在该情况下诸如唑衍生的模拟物的包含肽键的模拟部分可用作二肽代替物。然而,拟肽以及由此其中仅酰胺键如上述被代替的拟肽骨架是优选的。

[0035] 适合的拟肽包括还原肽,其中通过使用例如硼烷或诸如氢化锂铝的氢化物试剂的还原剂的处理酰胺键已经被还原为亚甲基胺。这样的还原具有增加分子的总阳离子度(cationicity)的另外的优点。

[0036] 其它拟肽包括例如通过酰胺-功能化的多聚甘氨酸的逐步合成所形成的拟肽。容易从诸如已经全甲基化的肽的它们的肽前体获得一些拟肽骨架,Ostresh,J.M.等人在Proc.Natl.Acad.Sci.USA(1994)91,11138-11142描述了适合的方法。与O-甲基化相比,强碱条件更有助于N-甲基化并导致肽键中一些或所有氮原子和N-端氮的甲基化。

[0037] 优选的肽键代替物包括酯、多胺及其衍生物以及取代的烷烃和烯烃,特别是氨基和酮亚甲基。拟肽优选具有可根据本文的描述修饰的N和C端。

[0038] 在其它方面中,本发明提供了治疗或预防微生物感染,优选为细菌感染的方法,所述方法包括给予个体上述定义的肽、拟肽或修饰的氨基酸。

[0039] 在其它方面中,本发明提供了治疗肿瘤细胞或预防或降低肿瘤的生长、形成扩散或转移的方法,所述方法包括给予个体上述定义的肽、拟肽或修饰的氨基酸。

[0040] 如本文使用的,微生物/细菌感染的治疗优选是指减少能存活的微生物/细菌细胞

的数量但还可包括抑菌型活性,其中,所包含的细胞数量与如果使感染继续而未被抑制的个体相比,对个体的伤害更小。“预防”包括抑制微生物/细菌细胞生长使得可检测和/或有害种群不在受治疗的个体中形成。

[0041] 被治疗的肿瘤细胞可为流动的但通常为实体瘤的一部分;就微生物细胞而言,治疗优选地包括通过细胞溶解的细胞死亡。细胞溶解可能导致肿瘤细胞抗原的出现并产生预防或抑制继发性肿瘤发展的获得性免疫。

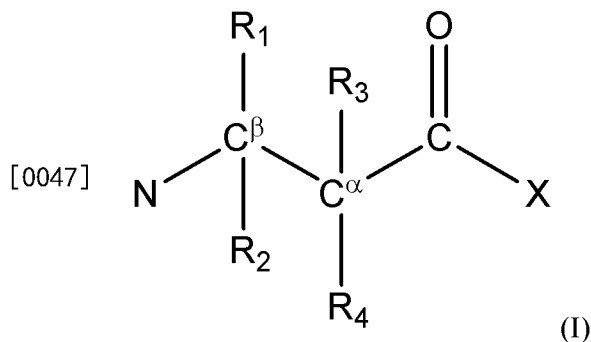
[0042] 在其它方面中,本发明提供了作为在抗菌感染的治疗中单独、同时或相继使用的联合制剂产品,其包含(a)上述所定义的肽、拟肽或修饰的氨基酸和(b)其它抗菌剂。

[0043] 在其它方面中,本发明提供了作为在肿瘤细胞的治疗中单独、同时或相继使用的联合制剂产品,其包含(a)上述所定义的肽、拟肽或修饰的氨基酸和(b)其它抗肿瘤剂。

[0044] 在其它方面中,本发明提供了上述所定义的肽、拟肽或修饰的氨基酸在制备用于治疗微生物感染,优选为细菌感染的药物中的用途。

[0045] 在其它方面中,本发明提供了上述所定义的肽、拟肽或修饰的氨基酸在制备用于治疗肿瘤细胞或预防或降低肿瘤的生长、形成扩散或转移的药物中的用途。

[0046] 从上述描述种类的分子中,存在新的一组高度有效的分子。这些分子适于本文描述的各种用途和方法。因此,在一个方面中,本发明提供了具有至少+2的净正电荷的肽、拟肽或(修饰)氨基酸,其包含通式I的基团:



[0048] 其中R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>中的任意2个为氢原子且2个为取代基,所述取代基可为相同或不同的,其包含至少7个非氢原子,其为亲脂性的并包括环状基团,所述环状基团未与α碳原子或β碳原子直接连接而任选与其它取代基中的环状基团连接或耦合,在环状基团耦合的情况下,所述两个取代基的非氢原子的合并的总数至少为12个,且其中X表示O、C、N或S,但不包括化合物N-甲基-L-苯丙氨酰基-L-赖氨酰基-L-脯氨酰基-2,2-双(苯基甲基)-β-丙氨酰基-D-精氨酸和N-甲基-L-苯丙氨酰基-L-赖氨酰基-L-脯氨酰基-D-环己基丙氨酰基-2,2-双(苯基甲基)-β-丙氨酰基-D-精氨酸。

[0049] 使用化学文摘型命名法而非IUPAC体系,上述两个分子称为D-精氨酸,N<sub>2</sub>-[N-[1-[N<sub>2</sub>-(N-甲基-L-苯丙氨酰基)-L-赖氨酰基]-L-脯氨酰基]-2,2-双(苯基甲基)-β-丙氨酰基]和D-精氨酸,N<sub>2</sub>-[N-[3-环己基-N-[1-[N<sub>2</sub>-(N-甲基-L-苯丙氨酰基)-L-赖氨酰基]-L-脯氨酰基]-D-丙氨酰基]-2,2-双(苯基甲基)-β-丙氨酰基]且它们的CAS号分别为145149-42-4和145149-43-5。

[0050] 未要求保护的化合物在WO 92/12168中进行公开,其是用于治疗炎性疾病状态的过敏毒素受体配体,因此该文件没有解决通过本发明所解决的问题。

[0051] 应当理解,当通过将未耦合基团的最小数相加(7+7=14)并减去2而达到各个部分

的环状基团稠合时,两个 $R_{1-4}$ 基团中的非氢原子的合并的总数的最小值为12,这是因为非氢原子中的两个有效参与各个基团中的环形成。优选地,当各个部分的环状基团稠合时,两个 $R_{1-4}$ 基团中的非氢原子的合并的总数为14。在两个基团与 $C^a$ 或 $C^b$ 连接的情况下,能设想复杂稠合和连接的基团可能包含多于一对的稠合环状基团,在取代基之间包含或不包含其它连接键。然而,两个取代基优选不稠合或连接,因为其中这些基团具有最大运动灵活性的分子是优选的。

[0052] 通式(I)基团中的氮原子优选不连接于基团 $R_{1-4}$ 的任何原子,当然除了间接通过 $C^b$ 或 $C^a$ 之外。优选地,上述骨架( $N-C^b-C^a-C-X$ )中的5个原子仅以线性而非环状方式彼此连接。应当理解,通式(I)中的X和N具有它们的标准化合价,因此通常被进一步取代,这是因为它们连接于化合物的其它部分,例如另外的氨基酸或N-或C-端封端基团。

[0053]  $R_{1-4}$ 的取代基在性质上通常为亲脂性的并优选不携带电荷且优选具有不多于两个,更优选不多于一个极性基团。 $R_{1-4}$ 取代基中的一个或两个优选包含至少8个,更优选至少9个或10个非氢原子,例如7-13个,7-12个,8-12个或9-11个非氢原子。如果仅为合成简便,则这些两个取代基优选为相同的。优选地,两个取代基为 $R_1$ 和 $R_2$ 或 $R_3$ 和 $R_4$ , $R_3$ 和 $R_4$ 为最优选的。

[0054] 如上所述, $R_{1-4}$ 的环状基团不直接与 $\alpha$ 碳原子或 $\beta$ 碳原子连接,这是因为它们通过1至4个,优选为1至3个原子的链与其分离;这些连接原子可包含氮和/或氧但通常为碳原子,优选地连接原子为未取代的。优选的间隔部分在实施例中表示并形成本文所定义的 $R_{1-4}$ 取代基的一部分。

[0055] X可为取代的或未取代的并优选为N原子且优选为取代的。当X为N时,其可形成具有另外的氨基酸的酰胺键的一部分,如实施例1的分子所显示的。或者,N原子可为取代的,例如通过诸如氨乙基或氨丙基或二甲基氨基乙基的氨基烷基,这类分子在实施例2中示出。在另外的替代方案中,N原子可形成诸如哌嗪的环状基团的一部分,其本身可由烷基或氨基烷基取代,还如实施例2所显示的。

[0056] 包含通式I的基团的肽或拟肽优选具有修饰的C端,其优选为酰胺化的并在上述关于用作细胞溶解治疗剂的分子进行描述。

[0057] 前述定义优选的 $\beta$ 氨基酸的取代基的讨论加上必要修改应用于 $R_{1-4}$ 的两个取代基。包含通式I的基团的肽和拟肽为本申请先前所描述的用作细胞溶解治疗剂的分子的优选子集,因此所有前述讨论定义分子的优选特征,例如它们的长度和它们包含的其它氨基酸,也应用于通过它们包含的通式I的基团所定义的这些分子,并且反之亦然。特别优选的分子为长度为1至7或8个(例如1至5个),更优选为1、2、3或4个的氨基酸。拟肽分子包含相同数量的亚基但这些亚基通常通过酰胺键模拟物连接;优选的连接基团在上文中进行讨论并包含酯和氨甲基和酮亚甲基。

[0058] 本文的实施例表明本发明的二肽(实施例1)和单一修饰的氨基酸和七肽(实施例2和4)形式的结构基序。实施例的分子代表本发明和用于本发明的优选分子。

[0059] 本发明的肽、拟肽和氨基酸可为盐形式、环状或酯化的以及上述讨论的优选的酰胺化衍生物。

[0060] 本发明或用于本发明的优选种类的分子为 $\beta$ -氨基酸衍生物,优选为 $\beta^{2,2}$ -氨基酸衍生物,其具有包含上述定义的两个亲脂性侧链的单一 $\beta^{2,2}$ -氨基酸,双取代的 $\beta$ -氨基酸通过

两个阳离子基团侧面连接。如前述描述的,两个取代基优选为相同的,包含6元环基团和至少8个,优选至少10个非氢原子。这些分子特别适合用作抗菌剂并适用于口服给药。

[0061] 可以任何简便方式合成本文描述的分子。通常,在整个合成过程中将所存在的活性基团(例如氨基、巯基和/或羧基)进行保护。因此,合成的最后步骤为本发明受保护衍生物的脱保护。化合物合成方法构成本发明的另外方面。例如,在一个实施方案中提供了具有至少+2净正电荷的肽、拟肽或修饰的氨基酸的合成方法,其包含本文定义的通式I的基团,所述方法包括从所述肽、拟肽或修饰的氨基酸中去除保护基。

[0062] 在形成肽中,尽管C-端起始步骤为优选的,但原则上能在C-端或N-端开始。

[0063] 肽合成方法在本领域为公知的但对于本发明,在固相载体上进行合成可能特别方便,这样的载体为本领域公知的。

[0064] 各种氨基酸的保护基是已知的并且适合的胺保护基可包括苄氧羰基(carbobenzyloxy)(还指定为Z)、叔丁氧羰基(还指定为Boc)、4-甲氧基-2,3,6-三甲基苯磺酰基(Mtr)和9-芴基甲氧基-羰基(还指定为Fmoc)。应当理解,当从C-端形成肽时,胺保护基将存在于各个新添加的残基的氨基上并需要在下一步偶联步骤之前选择性去除。

[0065] 例如,可采用的羧基保护基包括容易断裂的酯基,诸如苄基(Bzl)、对硝基苄基(ONb)或叔丁基(OtBu)以及固体载体上的偶联基团,例如与聚苯乙烯连接的Rink酰胺。

[0066] 巯基保护基包括对甲氧基苄基(Mob)、三苯甲基(Trt)和乙酰氨基甲基(Acm)。

[0067] 对于Lys、Orn、Dab和Dap的胺侧链以及色氨酸残基的吲哚氮的保护可使用叔丁氧羰基(Boc)保护基方便地制备本发明优选的肽。Fmoc能用于 $\alpha$ -氨基的保护。对于包含Arg, 2, 2, 4, 6, 7-五甲基二氢苯并呋喃-5-磺酰基的肽能用于胍侧链的保护。

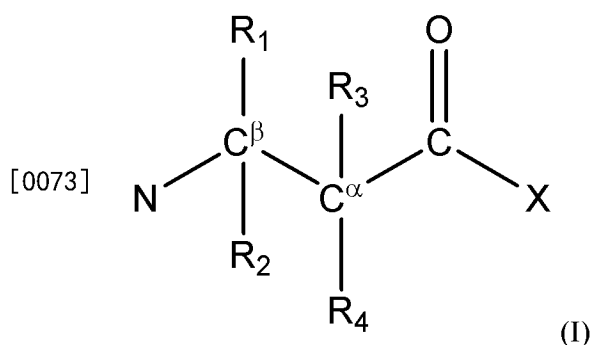
[0068] 存在用于去除胺和羧基保护基的多种步骤。然而,这些必须与所采用的合成策略一致。在下一步偶联步骤之前,侧链保护基必须对用于去除暂时的 $\alpha$ -氨基保护基的条件稳定。

[0069] 通过例如三氟醋酸的酸处理可以同时去除诸如Boc的胺保护基和诸如tBu的羧基保护基。使用诸如碘的氧化剂可选择性去除诸如Trt的巯基保护基。

[0070] 上述提供了用于合成拟肽化合物的参考文献和技术并其为技术人员所已知的。

[0071] 包含一种或多种与适合的稀释剂、载体或赋形剂混合的本发明化合物的制剂构成本发明的其它方面。这类制剂尤其可用于药学(包括兽医)目的,因此适合的稀释剂、载体或赋形剂优选为药物可接受的。适合的稀释剂、载体或赋形剂为技术人员已知的。

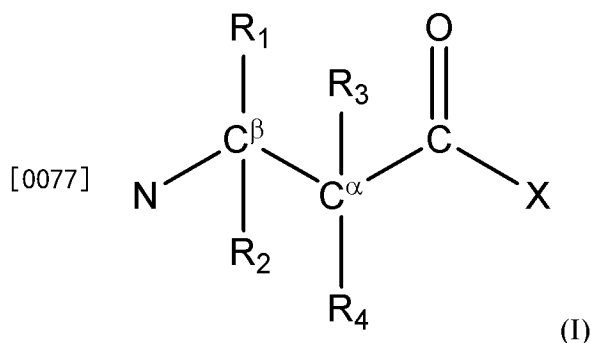
[0072] 本文描述的分子为细胞溶解性的并且作为例如抗细菌剂或抗真菌剂的抗菌剂有特殊用途,抗细菌剂用途为优选的。分子的特异性还使它们适用作抗肿瘤剂。因此,本发明的其它方面提供了用于治疗具有至少+2的净正电荷的肽、拟肽或(修饰的)氨基酸,其包含通式I的基团:



[0074] 其中R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>中的任意2个为氢原子且2个为取代基,所述取代基可为相同或不同的,其包含至少7个非氢原子,其为亲脂性的并包括环状基团,所述环状基团未与α或β碳原子直接连接而任选与其它取代基中的环状基团连接或稠合,在环状基团稠合的情况下,所述两个取代基的非氢原子的合并的总数至少为12个,且其中X表示O、C、N或S,

[0075] 但不包括化合物N-甲基-L-苯丙氨酰基-L-赖氨酰基-L-脯氨酰基-2,2-双(苯基甲基)-β-丙氨酰基-D-精氨酸和N-甲基-L-苯丙氨酰基-L-赖氨酰基-L-脯氨酰基-D-环己基丙氨酰基-2,2-双(苯基甲基)-β-丙氨酰基-D-精氨酸。

[0076] 本发明还提供了用作细胞溶解治疗剂的具有至少+2的净正电荷的肽、拟肽或(修饰的)氨基酸,其包含通式I的基团:



[0078] 其中来自R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>中的任意2个为氢原子且2个为取代基,所述取代基可为相同或不同的,其包含至少7个非氢原子,其为亲脂性的并包括环状基团,所述环状基团未与α或β碳原子直接连接而任选与其它取代基中的环状基团连接或稠合,在环状基团稠合的情况下,所述两个取代基的非氢原子的合并的总数至少为12个,且其中X表示O、C、N或S。优选的用途为用作抗菌剂,特别是抗细菌剂或用作抗肿瘤剂。

[0079] 本发明的其它方面提供了治疗或预防微生物感染,优选为细菌感染的方法,所述方法包括给予个体上述定义的肽、拟肽或修饰的氨基酸。

[0080] 本发明的其它方面提供了治疗肿瘤细胞或预防或降低肿瘤的生长、形成扩散或转移的方法,所述方法包括给予个体上述定义的肽、拟肽或修饰的氨基酸。

[0081] 本发明的其它方面提供了上述定义的肽、拟肽或修饰的氨基酸在制备用于治疗微生物感染,优选为细菌感染的药物中的用途。

[0082] 本发明的其它方面提供了上述定义的肽、拟肽或修饰的氨基酸在制备用于治疗肿瘤细胞或预防或降低肿瘤的生长、形成扩散或转移的药物中的用途。

[0083] 微生物感染可为或疑似为多病原感染,并且这类感染(例如,在慢性伤口的部位)的治疗,例如包括革兰氏阳性细菌种和革兰氏阴性细菌种的感染的治疗代表本发明用途和

方法的优选靶向。

[0084] 给药量应为有效杀死所有或部分靶向细胞或预防或降低它们的增殖率或抑制转移或另外减少肿瘤对患者的有害影响。临床医生或患者应观察到一个或多个与肿瘤相关的参数或症状的改善。给药还可为预防性的。患者通常为人类患者但还可治疗诸如家畜或牧畜的非人类动物。

[0085] 与大多数具有蛋白质靶向的试剂不同,本发明的分子能以多种癌症为靶向。优选的癌靶向包括淋巴瘤、白血病、成神经细胞瘤和成胶质细胞瘤(例如源自大脑)、癌和恶性腺瘤(特别是源自乳腺、结肠、肾、肝、肺、卵巢、胰腺、前列腺和皮肤)和黑素瘤。

[0086] 可例如以适用于口服给药、局部给药、鼻给药、肠胃外给药、静脉注射、瘤内注射、直肠给药或局部给药(例如隔离肢体灌注)的形式提供本发明的组合物。通常通过肠胃外途径,优选通过皮下注射、肌肉注射、囊内注射、椎管内注射、瘤内注射或静脉注射给药。

[0087] 可以常规给药的药理学形式提供本文定义的活性化合物,例如片剂、包衣片剂、鼻喷雾剂、溶液剂、乳剂、脂质体、粉末剂、胶囊剂或缓释剂型。可采用常规的药物赋形剂以及常规制备方法制备这些剂型。

[0088] 还可使用器官特异性载体系统。

[0089] 可以常规方式制备注射溶液,例如通过添加诸如对羟基苯甲酸酯的防腐剂或诸如EDTA的稳定剂。然后,将溶液填充进入注射小瓶或安瓶中。

[0090] 优选的制剂是其中肽溶于盐水的那些。这类制剂适于以优选的给药方式使用,特别是局部给药,即肿瘤内给药,例如通过注射或通过优选的隔离(包括部分隔离)肢体、身体区域或器官的灌注/浸泡。

[0091] 包含活性分子的剂量单位优选包含0.1mg至10mg,例如1mg至5mg的抗肿瘤剂。药物组合物可另外包含其它活性成分,包括诸如其它抗肿瘤肽的其它细胞毒试剂。其它活性成分可包含不同类型的细胞因子,例如IFN- $\gamma$ 、TNF、CSF和生长因子、免疫调节剂、例如顺铂或抗体或癌症疫苗的化疗药物。

[0092] 在全身采用这类组合物中,以达到至少约5g/ml的生物活性分子的血清水平的量提供活性分子。通常,血清水平不需超过500 $\mu$ g/ml。优选的血清水平为约100 $\mu$ g/ml。可通过在组合物中结合生物活性分子以在1mg/kg至约10mg/kg的剂量下全身给药来达到这样的血清水平。通常,不需要在超过100mg/kg的剂量下给予分子。

[0093] 本发明的其它方面提供了联合制剂产品,其包含(a)具有至少+2的净正电荷并包含本文定义的通式(I)的基团的肽、拟肽或修饰的氨基酸和(b)其它抗菌剂,该产品在抗菌感染的治疗中单独、同时或相继使用。

[0094] 本发明的其它方面提供了联合制剂产品,其包含(a)具有至少+2的净正电荷并包含本文定义的通式(I)的基团的肽、拟肽或修饰的氨基酸和(b)其它抗肿瘤剂,该产品在肿瘤细胞的治疗中单独、同时或相继使用。

[0095] 本发明的化合物和适用于本发明的方法和用途的化合物包括盐形式并且肽的适合的药物可接受的盐以及类似的分子对于本领域技术人员而言是公知的。

[0096] 在下列实施例中进一步描述本发明,其包括在本发明范围外的一些参考分子并参考附图,其中:

[0097] 图1表示实施例1的化合物4a-4n。

[0098] 图2表示实施例1描述的化合物4a-4n的合成的图解概况。

[0099] 图3表示实施例4的化合物4a-4d、5a-5d、6a-6d和7a-7d。

[0100] 图4表示实施例4的化合物的合成的图解概况。a) NaOMe (1eq.), R-Br (1eq.), 进行两次, 78°C s: MeOH。b) Ra/Ni, H<sub>2</sub>(g), 45°C, 5天, s: 包含2%醋酸的MeOH, c) TEA, pH 8, Boc<sub>2</sub>O (1.2eq.), r. t, 18h, s: H<sub>2</sub>O: 二氧六环(1:5)。d) LiOH(6eq.), 18h, 100°C, s: H<sub>2</sub>O: 二氧六环(1:3)。e) DIPEA(3eq.), TFFH(1.5eq.), r. t, 2h, 然后加入期望的胺(2eq.), 多达7天, s: DMF。f) TFA:TIS:H<sub>2</sub>O(95:2.5:2.5), r. t, 2h, s: DCM。以它们的双氟醋酸盐-三氟醋酸盐形式分离所有的β<sup>2,2</sup>-氨基酸衍生物。

## 实施例

### [0101] 实施例1

[0102] 产生一系列基于与C-端L-精氨酸酰胺残基偶联的非手性亲脂性3-氨基-2,2-双取代的丙酸(β<sup>2,2</sup>-氨基酸)骨架的分子并测试它们的抗菌活性。这些二肽具有由β<sup>2,2</sup>-氨基酸衍生物产生的三肽的侧链功能。如图1所示, 开发了多种β<sup>2,2</sup>-氨基酸衍生物的亲脂性取代基。在图2中表示化合物4a-4n的合成概况。

### [0103] 试剂和分析方法

[0104] 在400MHz或600MHz 瓦里安光谱仪上记录<sup>1</sup>H NMR和<sup>13</sup>C NMR光谱。在Micromass Quattro LC(Micromass, Manchester, UK)上获得质谱。在Waters Micromass LCT Premier(Micromass, Manchester, UK)上获得高分辨率质谱。从Sigma-Aldrich购买可商购的化合物和溶剂并不进一步纯化而使用。在装备有RP Bondapak C18 125 Å, 10μm, 25×100mm的Waters系统上进行制备RP-HPLC, 并使用均包含0.1% TFA的乙腈和水洗脱。在装备有RP-HPLC Delta Pak C18, 100 Å, 5μm, 3.9×150mm Waters柱的Waters 2695 HPLC上进行分析HPLC并使用跨度为波长210nm至310nm的PDA检测器在波长214nm下分析。通过使用来自Radleys®的平行反应旋转圆盘制备所有化合物。

### [0105] 氰乙酸甲酯的二烷基化的一般步骤(GP1)1a-1n

[0106] 将甲醇钠(20mmol)溶于甲醇(0.2M)并加入氰乙酸甲酯(20mmol)。在室温下搅拌5min后, 加入期望的苄溴(20mmol)并将溶液加热至回流。在15min后, 将溶液冷却至室温。加入第二部分甲醇钠(20mmol)并在室温下搅拌5min后, 再次加入期望的苄溴(20mmol), 随后回流15min。真空下将反应混合物的体积减少至1/3并用水/乙酸乙酯萃取。在MgSO<sub>4</sub>上干燥有机相并蒸发至干燥。产物用于随后的合成而不需任何进一步的纯化。

### [0107] 使用Ra/Ni还原腈到胺以及随后的Boc-保护的一般步骤(GP2)2a-2n

[0108] 在氩气下使用甲醇将Ra/Ni(约2ml/g的腈)洗涤3次, 随后将溶于甲醇(0.1M)的所需的腈(3.5mmol)连同醋酸(约1ml/g的腈)加入。在1巴的H<sub>2</sub>压力下将反应混合物在45°C下氢化5天。此后, 通过硅藻土过滤反应混合物以在将其蒸发至干燥之前去除Ra/Ni。将粗β<sup>2,2</sup>-氨基酸甲酯(0.35mmol)溶于1,4-二氧六环和水5:1(约0.35M)的混合物并使用TEA将pH调整至8, 并加入在尽可能少的1,4-二氧六环中溶解的Boc<sub>2</sub>O(0.42mmol)。将溶液在室温下搅拌约18h并使用乙酸乙酯萃取3次, 随后使用10%柠檬酸将其酸化至pH 2-3。在MgSO<sub>4</sub>上干燥有机相并蒸发至干燥。产物用于随后的合成而不需任何进一步的纯化。

### [0109] 酯水解的一般步骤(GP3)3a-3n

[0110] 将Boc-保护的 $\beta^{2,2}$ -氨基酸甲酯(0.35mmol)溶于1,4-二氧六环和水3:1(1.17mM)的混合物并加入在尽可能少的水中溶解的氢氧化锂(2.1mmol)。在真空下将体积减少至1/5之前,在N<sub>2</sub>下将混合物在回流下搅拌18h。将水(10ml)加入至反应混合物并滴加0.1M HCl逐渐将pH值调整至1-2。使用等体积的乙酸乙酯将该水溶液萃取3次。在MgSO<sub>4</sub>上干燥有机相并蒸发至干燥。产物用于随后的合成而不需任何进一步的纯化。

[0111] Boc-保护的 $\beta^{2,2}$ -氨基酸的L-精氨酸偶联的一般步骤(GP4)4a-4n

[0112] 将Boc-保护的 $\beta^{2,2}$ -氨基酸(0.2mmol)溶于DMF(0.02M)并加入DIPEA(0.6mmol)以及TFFH(0.2mmol)。在加入H-Arg-NH<sub>2</sub>×2HCl(0.3mmol)之前,将氨基酸预活化2h。在使用乙酸乙酯将其稀释之前,将反应混合物在室温下搅拌7天并用盐水洗涤。在MgSO<sub>4</sub>上干燥有机相并蒸发至干燥。通过将其溶于DCM(约0.4M)并加入体积相等的TFA:TIS:水(95:2.5:2.5)将粗Boc-保护的产物脱保护。将混合物在室温下搅拌2h,随后将其蒸发至干燥。通过制备RP-HPLC纯化粗产物。在将溶液蒸发至干燥之前通过分析RP-HPLC检测肽的纯度并将残余物再溶于水中并冻干。所有化合物均具有高于95%的纯度。

[0113] 细胞测试

[0114] 通过TosLab A/S(Tromsø, Norway)进行抗菌测试。在水中将各个化合物稀释至1mg/ml并且在200 $\mu$ g/ml、100 $\mu$ g/ml、50 $\mu$ g/ml、35 $\mu$ g/ml、15 $\mu$ g/ml、10 $\mu$ g/ml、5 $\mu$ g/ml、2.5 $\mu$ g/ml、1 $\mu$ g/ml、0.5 $\mu$ g/ml下测试两次,除此以外,4n由于溶解度问题在50 $\mu$ g/ml、35 $\mu$ g/ml、15 $\mu$ g/ml、10 $\mu$ g/ml、5 $\mu$ g/ml、2.5 $\mu$ g/ml、1 $\mu$ g/ml、0.5 $\mu$ g/ml下测试。所有测试化合物均为双TFA盐。

[0115] 细菌菌株在2%细菌蛋白胨水中生长直至达到指数生长。通过在37℃下的1%细菌蛋白胨水中培养过夜检测MIC。使用 $2 \times 10^6$ cfu/ml的细菌浓度。将阴性对照(没有肽)和阳性对照(庆大霉素)用于所有细菌菌株。通过孔的浊度来判断是否生长。通过在处于或高于MIC值的所有浓度下在琼脂板上铺板、在37℃下培养过夜并且并检测是否生长来检测MBC。

[0116] 使用相同步骤重新测试显示MIC值小于50 $\mu$ g/ml的所有化合物。

[0117] 在表1A和1B中显示MIC值和MBC值。

[0118] 通过Lytix Biopharma A/S(Tromsø, Norway)进行对人红细胞的溶血测试。除了由于溶解度问题而仅测试高达0.5mg/ml的4k和4n之外,从1mg/ml和更低的浓度测试各个化合物。从成熟健康的雄性供体采集8mL血液。将血液等分并分布在可商购的包含测试管的EDTA(BD vacutainer, 7.2mg K<sub>2</sub> EDTA)中和包含40 $\mu$ L的肝素溶液(1000U/mL的0.9%氯化钠)的10mL反应小瓶中。在30分钟后,检测EDTA处理的血液的血细胞比容。将肝素化的血液在1500rpm下离心10分钟并去除上清液。随后,使用预加热的PBS将RBC洗涤三次,并稀释至10%的血细胞比容。在37℃下在搅拌下将溶于PBS(浓度为1 $\mu$ g/mL至1000 $\mu$ g/mL)的化合物和红细胞培养一小时。培养具有0.1%Triton X-100的最终浓度的阳性对照和包含纯PBS缓冲液的阴性对照。将样本离心(4000rpm)5分钟并在405nm下检测上清液的吸收。表1A给出的值相应于50%的溶血。

[0119] 抗 $\alpha$ -糜蛋白酶稳定性

[0120] 通过将所需的化合物溶于1mg/ml的水进行对 $\alpha$ -糜蛋白酶的稳定性测试。在包含2mM CaCl<sub>2</sub>的1mM HCl中将 $\alpha$ -糜蛋白酶溶解至0.1mg/ml。在包含10mM CaCl<sub>2</sub>的100mM TRIS HCl中进行酶消化。最终的酶浓度为2 $\mu$ g/ml,并且最终的肽浓度为100 $\mu$ g/ml。总体积为0.5ml。

[0121] 除了24小时和48小时样本之外,在0min、15min、30min、60min、120min和240min下采集15 $\mu$ l样本。在用水将其稀释至1ml之前,向样本加入外标(阿替洛尔盐酸盐)和100 $\mu$ l的10%醋酸以结束消化。

[0122] 对于每个在不含酶的阴性对照下进行的测试以确保降解由酶活性而非其它因素产生。将琥珀酰基-ala-ala-pro-phe-对硝基苯胺用作阳性对照。所有测试均进行三次。

#### [0123] 结果

[0124] 表1A. 研究中制备的抗菌二肽对金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)、MRSA、MRSE和大肠杆菌(*E. coli*)的最小抑制浓度(MIC)和对人RBC的EC<sub>50</sub>值。

| 化合物              | MIC <sup>a</sup> ( $\mu$ M) |                   |                   | EC <sub>50</sub> <sup>b</sup> ( $\mu$ M) |                  |
|------------------|-----------------------------|-------------------|-------------------|------------------------------------------|------------------|
|                  | 金黄色葡萄球菌 <sup>c</sup>        | MRSA <sup>d</sup> | MRSE <sup>e</sup> | <i>E. coli</i> <sup>f</sup>              | RBC <sup>g</sup> |
| <b>4a</b>        | -                           | -                 | -                 | -                                        | -                |
| <b>4b</b>        | 150                         | 150               | 75                | -                                        | -                |
| <b>4c</b>        | 7.2                         | 7.2               | 7.2               | 144                                      | -                |
| <b>4d</b>        | -                           | -                 | -                 | -                                        | n.t.             |
| <b>4e</b>        | 147                         | 147               | 74                | -                                        | -                |
| [0125] <b>4f</b> | 49                          | 49                | 35                | -                                        | -                |
| <b>4g</b>        | 6.6                         | 5.0               | 6.6               | 266                                      | 470              |
| <b>4h</b>        | 147                         | 74                | 74                | -                                        | -                |
| <b>4i</b>        | 12.7                        | 3.2               | 12.7              | 254                                      | n.t.             |
| <b>4j</b>        | 10.2                        | 6.8               | 6.8               | 136                                      | 386              |
| <b>4k</b>        | 6.5                         | 3.3               | 5.0               | 46                                       | -                |
| <b>4l</b>        | 60                          | 49                | 35                | -                                        | -                |
| <b>4m</b>        | 259                         | 259               | 129               | -                                        | -                |
| <b>4n</b>        | 2.9                         | 2.1               | 10.1              | 5.7                                      | 99               |

[0126] <sup>a</sup>测试的最高浓度为200 $\mu$ g/ml。<sup>b</sup>测试的最高浓度为1000 $\mu$ g/ml。<sup>c</sup>金黄色葡萄球菌(ATTC 25923),<sup>d</sup>耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(ATCC 33591),<sup>e</sup>耐甲氧西林表皮葡萄球菌(ATCC 27626),<sup>f</sup>大肠杆菌(ATTC 25922)和<sup>g</sup>人红细胞。符号“-”表示在测试的浓度范围内没有可检测的活性(MIC或EC<sub>50</sub>)。n. t.: 未测试的。

[0127] 表1B. 对金黄色葡萄球菌、MRSA、MRSE和大肠杆菌的最小杀菌浓度(MBC)。菌株与上述表1A中代表的那些相同。

|        | 化合物       | MBC <sup>°</sup> (μM) |                   |                   | <i>E. coli</i> <sup>d</sup> |
|--------|-----------|-----------------------|-------------------|-------------------|-----------------------------|
|        |           | 金黄色葡萄球菌 <sup>a</sup>  | MRSA <sup>b</sup> | MRSE <sup>c</sup> |                             |
|        | <b>4a</b> | >360                  | >360              | >360              | >360                        |
|        | <b>4b</b> | 301                   | 150               | 75                | >301                        |
|        | <b>4c</b> | 7.2                   | 7.2               | 7.2               | 289                         |
|        | <b>4d</b> | >307                  | >307              | >307              | >307                        |
|        | <b>4e</b> | 147                   | 147               | 74                | >294                        |
| [0128] | <b>4f</b> | 49                    | 49                | 49                | >282                        |
|        | <b>4g</b> | 6.6                   | 5.3               | 6.6               | 266                         |
|        | <b>4h</b> | 147                   | 110               | 110               | >294                        |
|        | <b>4i</b> | 12.7                  | 6.3               | 12.7              | >254                        |
|        | <b>4j</b> | 6.8                   | 6.8               | 6.8               | 136                         |
|        | <b>4k</b> | 6.5                   | 6.5               | 5.2               | 46                          |
|        | <b>4l</b> | 49                    | 49                | 21                | >282                        |
|        | <b>4m</b> | >259                  | 259               | 129               | >259                        |
|        | <b>4n</b> | 4.6                   | 4.6               | 3.4               | 5.7                         |

[0129] 研究选择的六种化合物(4c、4g、4h、4i、4k和4m)对α-糜蛋白酶的蛋白酶水解稳定性。结果显示在48小时内未能检测到任何化合物的降解。我们还发现所有测试化合物在pH 7.4下在水溶液中化学稳定至少48小时。

[0130] 结果证实制备的化合物的抗菌效能和总亲脂性之间强烈的相关性。这能通过化合物对金黄色葡萄球菌的效能之间的比较及其在分析RP-HPLC C18-柱上的保留时间(R<sub>t</sub>)来进行说明,其证实化合物对柱的疏水固定相的亲合力(结果未示出)。

[0131] 将制备的化合物的溶血活性用作毒性测量,并且除了化合物4g、4j和4n之外,化合物在测试的浓度范围(<1000g/ml)内为非溶血的。化合物4n显示最高的溶血活性,但对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌二者,EC<sub>50</sub>浓度不过比MIC值高十倍至几乎50倍。值得注意的是,表现出相似抗菌效能的化合物4j和4k的溶血活性非常不同。这表明通过完全相同的结构性质不能确定溶血活性和抗菌效能。

#### [0132] 实施例2

[0133] 制备本发明其它的分子并测试抗菌活性和抗癌活性。

#### [0134] 材料和方法

##### [0135] 细菌菌株

[0136] 金黄色葡萄球菌(ATTC 25923)

[0137] 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(ATCC 33591)

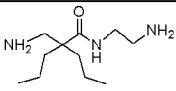
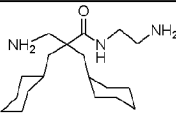
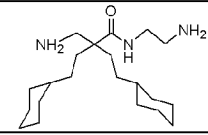
[0138] 耐甲氧西林表皮葡萄球菌(ATCC 27626)

[0139] 大肠杆菌(ATTC 25922)

##### [0140] 癌细胞系

- [0141] A20或MethA
- [0142] 毒性研究所使用的细胞
- [0143] MRC-5和人RBC
- [0144] 各个检验中所测试的最高浓度为
- [0145] 抗菌检验:200 $\mu$ g/ml
- [0146] 抗癌检验:500 $\mu$ g/ml
- [0147] MRC-5检验:500 $\mu$ g/ml
- [0148] RBC检验:1000 $\mu$ g/ml
- [0149] ChemDraw Ultra version 11.0用于计算理化性质Log P、tPSA和CLogP。
- [0150] 分子的合成
- [0151] 树脂的膨胀:在使用7ml DMF洗涤五次之前,在7ml DMF中将Rink酰胺MBHA树脂(0.64mmol/g负载量)膨胀1小时。
- [0152] Fmoc-去除:将7ml 20%哌啶的DMF加入至反应管并在去除溶液之前将悬浮液搅拌10min。在使用7ml DMF将树脂洗涤五次之前,伴随1min的搅拌时间将该步骤重复两次。
- [0153] 氨基酸与受保护的树脂的偶联:将Fmoc-Lys(Boc)-OH或Fmoc-Trp(Boc)-OH(4当量)、HOBt水合物(4当量)和HBTU(3.92当量)溶于5ml DMF,加入DIPEA(8当量)并在将其加入至树脂之前使混合物预活化15分钟。在搅拌1小时后,将偶联混合物去除并使用7ml DMF将树脂洗涤五次。
- [0154]  $\beta$ -氨基酸与受保护树脂的偶联:Fmoc- $\beta$ -aa-OH(2当量)和TFFH(1.96当量)溶于5ml DMF,加入DIPEA(8当量)并在将其加入至树脂之前使混合物预活化15分钟。在搅拌48小时后,将偶联混合物去除并使用7ml DMF将树脂洗涤五次。
- [0155]  $\beta$ -氨基酸之后氨基酸与脱保护的树脂的偶联:将Fmoc-Trp(Boc)-OH(4当量)和TFFH(3.92当量)溶于5ml DMF,加入DIPEA(8当量)并在将其加入至树脂之前使混合物预活化15分钟。在搅拌24小时后,将偶联混合物去除并使用7ml DMF将树脂洗涤五次。
- [0156] 在最后的偶联之后,在使其空气干燥过夜之前使用DCM将树脂洗涤五次。
- [0157] 从树脂断裂和Boc-去除:将10ml TFA:TIS:水95:2.5:2.5加入至反应管并在收集肽溶液之前将悬浮液搅拌2小时。伴随10分钟的搅拌时间将该步骤重复两次。将收集的肽溶液减压蒸发至干燥,用乙醚沉淀并用乙醚洗涤。通过HPLC纯化肽并冻干。
- [0158] 细胞测试
- [0159] 适合的方法在实施例1中描述。
- [0160] 结果
- [0161] 表2
- [0162]  $\beta^{2,2}$ -氨基酸1,2-二氨基乙烷衍生物的生物效能。(所有值均以 $\mu$ g/ml计)。

[0163]

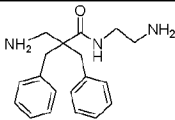
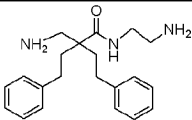
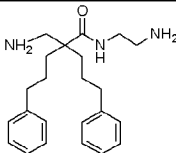
|                          |                                                                                   |                                                                                   |                                                                                        |
|--------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
|                          |  |  |     |
|                          | <b>1</b>                                                                          | <b>2</b>                                                                          | <b>3</b>                                                                               |
| IUPAC 命名                 | N-(2-氨基乙基)-2-(氨基甲基)-2-丙基戊酰胺<br>Log P: 0.53<br>tPSA: 81.14<br>CLogP: 1.24          | 3-氨基-N-(2-氨基乙基)-2,2-双(环己基甲基)丙酰胺<br>Log P: 2.7<br>tPSA: 81.14<br>CLogP: 4.424      | N-(2-氨基乙基)-2-(氨基甲基)-4-环己基-2-(2-环己基乙基)丁酰胺<br>Log P: 3.54<br>tPSA: 81.14<br>CLogP: 5.482 |
| 分子式                      | C <sub>11</sub> H <sub>25</sub> N <sub>3</sub> O                                  | C <sub>19</sub> H <sub>37</sub> N <sub>3</sub> O                                  | C <sub>21</sub> H <sub>41</sub> N <sub>3</sub> O                                       |
| Mw                       | 精确质量: 215,1998<br>分子量: 215,3357                                                   | 精确质量: 323,2937<br>分子量: 323,5166                                                   | 精确质量: 351,3250<br>分子量: 351,5697                                                        |
| 抗菌效能 (MIC)               |                                                                                   |                                                                                   |                                                                                        |
| 金黄色葡萄球菌                  | >200                                                                              | 200                                                                               | 7.5/10                                                                                 |
| MRSA                     | >200                                                                              | 100                                                                               | 5/15                                                                                   |
| MRSE                     | >200                                                                              | 35                                                                                | 2.5/5                                                                                  |
| 大肠杆菌                     | >200                                                                              | >200                                                                              | 15/10                                                                                  |
| 抗癌效能 (IC <sub>50</sub> ) |                                                                                   |                                                                                   |                                                                                        |
| A20                      | n.t.                                                                              | n.t.                                                                              | <3.35 / <3.35 / 1.7                                                                    |
| MethA                    | n.t.                                                                              | n.t.                                                                              | n.t.                                                                                   |
| 毒性                       |                                                                                   |                                                                                   |                                                                                        |
| MRC-5                    | n.t.                                                                              | 18.5                                                                              | <10 / <10                                                                              |
| RBC (EC <sub>50</sub> )  | n.t.                                                                              | >1000                                                                             | 62*                                                                                    |
| 抗癌选择性                    |                                                                                   |                                                                                   |                                                                                        |
| MRC-5/A20                | n.t.                                                                              | n.t.                                                                              | (<5.9)                                                                                 |
| RBC/A20                  | n.t.                                                                              | n.t.                                                                              | 36.5                                                                                   |

[0164] \*测试培养基中低的溶解度

[0165] n.t. = 未测试的

[0166] 表2.续(所有值均以μg/ml计)

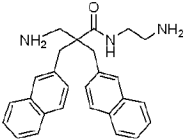
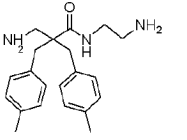
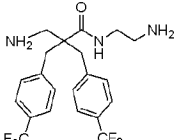
[0167]

|                          |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                      |
|--------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
|                          |    |    |   |
|                          | <b>4</b>                                                                            | <b>5</b>                                                                            | <b>6</b>                                                                             |
| IUPAC 命名                 | 3-氨基-N-(2-氨基乙基)-2,2-二苄基丙酰胺<br>Log P: 2,08<br>tPSA: 81.14<br>CLogP: 2.11             | N-(2-氨基乙基)-2-(氨基甲基)-2-苄基-4-苯基丁酰胺<br>Log P: 2,91<br>tPSA: 81.14<br>CLogP: 3.018      | N-(2-氨基乙基)-2-(氨基甲基)-5-苯基-2-(3-苯基丙基)戊酰胺<br>Log P: 3,75<br>tPSA: 81.14<br>CLogP: 4.076 |
| 分子式                      | C <sub>19</sub> H <sub>25</sub> N <sub>3</sub> O<br>精确质量: 311,1998<br>分子量: 311,4213 | C <sub>21</sub> H <sub>29</sub> N <sub>3</sub> O<br>精确质量: 339,2311<br>分子量: 339,4745 | C <sub>23</sub> H <sub>33</sub> N <sub>3</sub> O<br>精确质量: 367,2624<br>分子量: 367,5276  |
| 抗菌效能 (MIC)               |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                      |
| 金黄色葡萄球菌                  | >200                                                                                | 100                                                                                 | 35/50                                                                                |
| MRSA                     | >200                                                                                | 100                                                                                 | 35                                                                                   |
| MRSE                     | >200                                                                                | 50                                                                                  | 15                                                                                   |
| 大肠杆菌                     | >200                                                                                | >200                                                                                | 200                                                                                  |
| 抗癌效能 (IC <sub>50</sub> ) |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                      |
| A20                      | 68.6                                                                                | n.t.                                                                                | 8.3                                                                                  |
| MethA                    | n.t.                                                                                | n.t.                                                                                | n.t.                                                                                 |
| 毒性                       |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                      |
| MRC-5                    | 261                                                                                 | 21.5                                                                                | 35                                                                                   |
| RBC (EC <sub>50</sub> )  | >1000                                                                               | >1000                                                                               | 820                                                                                  |
| 抗癌选择性                    |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                      |
| MRC-5/A20                | 3.8                                                                                 | n.t.                                                                                | 4.2                                                                                  |
| RBC/A20                  | n.t.                                                                                | n.t.                                                                                | 98.8                                                                                 |

[0168] n.t.=未测试的

[0169] 表2.续(所有值均以μg/ml计)

[0170]

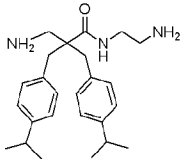
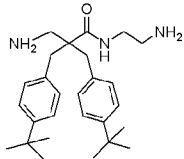
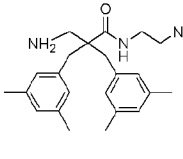
|                         |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                                    |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                         |    |    |                 |
|                         | <b>7</b>                                                                            | <b>8</b>                                                                            | <b>9</b>                                                                                           |
| IUPAC 命名                | 3-氨基-N-(2-氨基乙基)-2,2-(萘-2-基甲基)丙酰胺<br>Log P: 4.07<br>tPSA: 81.14<br>CLogP: 4.458      | 3-氨基-N-(2-氨基乙基)-2,2-双(4-甲基苄基)丙酰胺<br>Log P: 3.05<br>tPSA: 81.14<br>CLogP: 3.108      | 3-氨基-N-(2-氨基乙基)-2,2-双(4-三氟甲基苄基)丙酰胺<br>Log P: 3.92<br>tPSA: 81.14<br>CLogP: 3.876                   |
| 分子式<br>Mw               | C <sub>27</sub> H <sub>29</sub> N <sub>3</sub> O<br>精确质量: 411,2311<br>分子量: 411,5387 | C <sub>21</sub> H <sub>29</sub> N <sub>3</sub> O<br>精确质量: 339,2311<br>分子量: 339,4745 | C <sub>21</sub> H <sub>23</sub> F <sub>6</sub> N <sub>3</sub> O<br>精确质量: 447,1745<br>分子量: 447,4172 |
|                         |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                                    |
| 抗菌效能(MIC)               |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                                    |
| 金黄色葡萄球菌                 | 2.5/5                                                                               | 200                                                                                 | 10                                                                                                 |
| MRSA                    | 5                                                                                   | 100                                                                                 | 5                                                                                                  |
| MRSE                    | 2.5/5                                                                               | 100                                                                                 | 10                                                                                                 |
| 大肠杆菌                    | 15                                                                                  | >200                                                                                | 35                                                                                                 |
|                         |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                                    |
| 抗癌效能(IC <sub>50</sub> ) |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                                    |
| A20                     | <3.35 / 0.7*                                                                        | n.t.                                                                                | <5 / 1.0*                                                                                          |
| MethA                   | n.t.                                                                                | n.t.                                                                                | n.t.                                                                                               |
|                         |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                                    |
| 毒性                      |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                                    |
| MRC-5                   | 13.5 / 14                                                                           | 26 / 44                                                                             | <10 / 12                                                                                           |
| RBC (EC <sub>50</sub> ) | 292*                                                                                | >1000                                                                               | 287                                                                                                |
|                         |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                                    |
| 抗癌选择性                   |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                                    |
| MRC-5/A20               | 19.3 – 20                                                                           | n.t.                                                                                | 10 - 12                                                                                            |
| RBC/A20                 | 417                                                                                 | n.t.                                                                                | 287                                                                                                |

[0171] \*测试培养基中低的溶解度

[0172] n. t. = 未测试的

[0173] 表2. 续(所有值均以μg/ml计)

[0174]

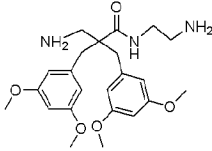
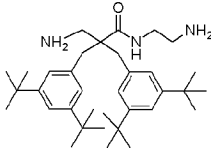
|                         |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                     |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
|                         |    |    |  |
|                         | <b>10</b>                                                                           | <b>11</b>                                                                           | <b>12</b>                                                                           |
| IUPAC 命名                | 3-氨基-N-(2-氨基乙基)-2,2-双(4-异丙基苄基)丙酰胺<br>Log P: 4,55<br>tPSA: 81.14<br>CLogP: 4.964     | 3-氨基-N-(2-氨基乙基)-2,2-双(4-叔丁基苄基)丙酰胺<br>Log P: 5,49<br>tPSA: 81.14<br>CLogP: 5.762     | 3-氨基-N-(2-氨基乙基)-2,2-双(3,5-二甲基苄基)丙酰胺<br>Log P: 4,02<br>tPSA: 81.14<br>CLogP: 4.106   |
| 分子式<br>Mw               | C <sub>25</sub> H <sub>37</sub> N <sub>3</sub> O<br>精确质量: 395,2937<br>分子量: 395,5808 | C <sub>27</sub> H <sub>41</sub> N <sub>3</sub> O<br>精确质量: 423,3250<br>分子量: 423,6339 | C <sub>23</sub> H <sub>33</sub> N <sub>3</sub> O<br>精确质量: 367,2624<br>分子量: 367,5276 |
|                         |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                     |
| 抗菌效能(MIC)               |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                     |
| 金黄色葡萄球菌                 | 5 / 10                                                                              | 2.5                                                                                 | 35                                                                                  |
| MRSA                    | 5 / 10                                                                              | 2.5                                                                                 | 35                                                                                  |
| MRSE                    | 5                                                                                   | 2.5                                                                                 | 5 / 10                                                                              |
| 大肠杆菌                    | 12.5 / 35                                                                           | 5                                                                                   | 50 / 100                                                                            |
|                         |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                     |
| 抗癌效能(IC <sub>50</sub> ) |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                     |
| A20                     | <5 / <5 / 1.4*                                                                      | <5 / <1.65 / <1.65 / 1.1                                                            | <5 / <10 / <10                                                                      |
| MethA                   | n.t.                                                                                | n.t.                                                                                | n.t.                                                                                |
|                         |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                     |
| 毒性                      |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                     |
| MRC-5                   | <6.67 / <6.67                                                                       | 4                                                                                   | 10                                                                                  |
| RBC (EC <sub>50</sub> ) | 47                                                                                  | 12*                                                                                 | n.t.                                                                                |
|                         |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                     |
| 抗癌选择性                   |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                     |
| MRC-5/A20               | (<4.8)                                                                              | 3.6                                                                                 | (>2)                                                                                |
| RBC/A20                 | 33.6                                                                                | 10.9                                                                                | n.t.                                                                                |
|                         |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                     |

[0175] \*测试培养基中低的溶解度

[0176] n.t. = 未测试的

[0177] 表2. 续(所有值均以μg/ml计)

[0178]

|                              |                                                                                                  |                                                                                     |
|------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
|                              |                 |  |
|                              | <b>13</b>                                                                                        | <b>14</b>                                                                           |
| IUPAC 命名                     | 3-氨基-N-(2-氨基乙基)-2,2-双(3,5-二甲氧基苄基)丙酰胺<br>Log P: 1.57<br>tPSA: 118.06<br>CLogP: 2.126              | 3-氨基-N-(2-氨基乙基)-2,2-双(3,5-二叔丁基苄基)丙酰胺<br>Log P: 8.89<br>tPSA: 81.14<br>CLogP: 9.414  |
| 分子式<br>Mw                    | C <sub>23</sub> H <sub>33</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub><br>精确质量: 431,2420<br>分子量: 431,5252 | C <sub>35</sub> H <sub>57</sub> N <sub>3</sub> O<br>精确质量: 535,4502<br>分子量: 535,8466 |
| <b>抗菌效能(MIC)</b>             |                                                                                                  |                                                                                     |
| 金黄色葡萄球菌                      | 200                                                                                              | 3.75 / 5                                                                            |
| MRSA                         | 200                                                                                              | 2.5                                                                                 |
| MRSE                         | 100                                                                                              | 2.5 / 5                                                                             |
| 大肠杆菌                         | >200                                                                                             | 5 / >20                                                                             |
| <b>抗癌效能(IC<sub>50</sub>)</b> |                                                                                                  |                                                                                     |
| A20                          | n.t.                                                                                             | n.t.                                                                                |
| MethA                        | n.t.                                                                                             | n.t.                                                                                |
| <b>毒性</b>                    |                                                                                                  |                                                                                     |
| MRC-5                        | 62.5 / 68                                                                                        | 7.5 / 8.5                                                                           |
| RBC (EC <sub>50</sub> )      | >1000                                                                                            | >62.5 <sup>2*</sup>                                                                 |
| <b>抗癌选择性</b>                 |                                                                                                  |                                                                                     |
| MRC-5/A20                    | n.t.                                                                                             | n.t.                                                                                |
| RBC/A20                      | n.t.                                                                                             | n.t.                                                                                |

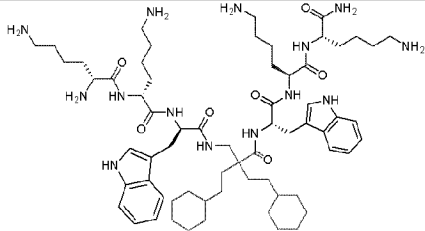
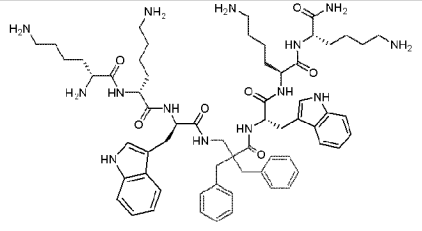
[0179] \*测试培养基中低的溶解度

[0180] <sup>2\*</sup>由于水溶性降低产生的测试的最高浓度

[0181] n.t. = 未测试的

[0182] 表3. 七-β-肽的生物效能(所有值均以μg/ml计)

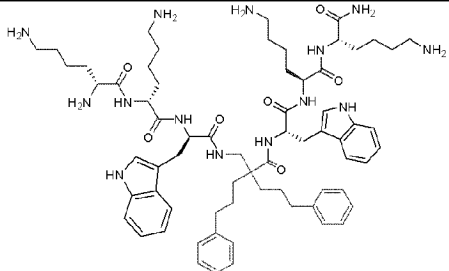
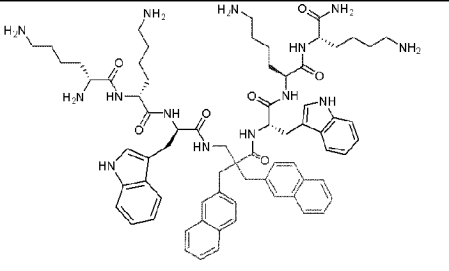
[0183]

|                          |                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                           |
|--------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                          |                                                                                 |                                                                         |
|                          | <b>15</b>                                                                                                                                                        | <b>16</b>                                                                                                                                                 |
| IUPAC 命名                 | (R)-N-((2R,9S,12S,15S)-9-((1H-吡啶-3-基)甲基)-19-氨基-12-(4-氨基丁基)-15-氨基甲酰基-6,6-双(2-环己基乙基)-1-(1H-吡啶-3-基)-3,7,10,13-四氧基-4,8,11,14-四氮杂十九烷-2-基)-6-氨基-2-((R)-2,6-二氨基己酰氨基)己酰胺 | (R)-N-((2R,9S,12S,15S)-9-((1H-吡啶-3-基)甲基)-19-氨基-12-(4-氨基丁基)-6,6-二苄基-15-氨基甲酰基-1-(1H-吡啶-3-基)-3,7,10,13-四氧基-4,8,11,14-四氮杂十九烷-2-基)-6-氨基-2-((R)-2,6-二氨基己酰氨基)己酰胺 |
| 分子式 Mw                   | C <sub>65</sub> H <sub>104</sub> N <sub>14</sub> O <sub>7</sub><br>精确质量: 1192,8212<br>分子量: 1193,6109                                                             | C <sub>63</sub> H <sub>88</sub> N <sub>14</sub> O <sub>7</sub><br>精确质量: 1152,6960<br>分子量: 1153,4624                                                       |
| 抗菌效能 (MIC)               |                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                           |
| 金黄色葡萄球菌                  | n.t.                                                                                                                                                             | n.t.                                                                                                                                                      |
| MRSA                     | n.t.                                                                                                                                                             | n.t.                                                                                                                                                      |
| MRSE                     | n.t.                                                                                                                                                             | n.t.                                                                                                                                                      |
| 大肠杆菌                     | n.t.                                                                                                                                                             | n.t.                                                                                                                                                      |
| 抗癌效能 (IC <sub>50</sub> ) |                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                           |
| A20                      | 15.0                                                                                                                                                             | 263                                                                                                                                                       |
| MethA                    | n.t.                                                                                                                                                             | n.t.                                                                                                                                                      |
| 毒性                       |                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                           |
| MRC-5                    | 45.7                                                                                                                                                             | >500                                                                                                                                                      |
| RBC (EC50)               | n.t.                                                                                                                                                             | n.t.                                                                                                                                                      |
| 抗癌选择性                    |                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                           |
| MRC-5/A20                | 3.0                                                                                                                                                              | (>1.9)                                                                                                                                                    |
| RBC/A20                  | n.t.                                                                                                                                                             | n.t.                                                                                                                                                      |

[0184] n.t. = 未测试的

[0185] 表3. 续(所有值均以μg/ml计)

[0186]

|                             |                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                  |
|-----------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                             |                                                                                |                                                                                |
|                             | <b>17</b>                                                                                                                                                       | <b>18</b>                                                                                                                                                        |
| IUPAC 命名                    | (R)-N-((2R,9S,12S,15S)-9-((1H-吲哚-3-基)甲基)-19-氨基-12-(4-氨基丁基)-15-氨基甲基)-1-(1H-吲哚-3-基)-3,7,10,13-四氧基-6,6-双(3-苯基丙基)-4,8,11,14-四氮杂十九烷-2-基)-6-氨基-2-((R)-2,6-二氨基己酰氨基)己酰胺 | (R)-N-((2R,9S,12S,15S)-9-((1H-吲哚-3-基)甲基)-19-氨基-12-(4-氨基丁基)-15-氨基甲基)-1-(1H-吲哚-3-基)-6,6-双(萘-2-基甲基)-3,7,10,13-四氧基-4,8,11,14-四氮杂十九烷-2-基)-6-氨基-2-((R)-2,6-二氨基己酰氨基)己酰胺 |
| 分子式 Mw                      | C <sub>67</sub> H <sub>96</sub> N <sub>14</sub> O <sub>7</sub><br>精确质量: 1208,7586<br>分子量: 1209,5687                                                             | C <sub>71</sub> H <sub>92</sub> N <sub>14</sub> O <sub>7</sub><br>精确质量: 1252,7273<br>分子量: 1253,5798                                                              |
|                             |                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                  |
| <b>抗菌效(MIC)</b>             |                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                  |
| 金黄色葡萄球菌                     | n.t.                                                                                                                                                            | n.t.                                                                                                                                                             |
| MRSA                        | n.t.                                                                                                                                                            | n.t.                                                                                                                                                             |
| MRSE                        | n.t.                                                                                                                                                            | n.t.                                                                                                                                                             |
| 大肠杆菌                        | n.t.                                                                                                                                                            | n.t.                                                                                                                                                             |
|                             |                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                  |
| <b>抗癌效(IC<sub>50</sub>)</b> |                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                  |
| A20                         | 26.5 / 40 *                                                                                                                                                     | 24                                                                                                                                                               |
| MethA                       | n.t.                                                                                                                                                            | n.t.                                                                                                                                                             |
|                             |                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                  |
| <b>毒性</b>                   |                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                  |
| MRC-5                       | 241 / 221 *                                                                                                                                                     | 103                                                                                                                                                              |
| RBC (EC50)                  | n.t.                                                                                                                                                            | n.t.                                                                                                                                                             |
|                             |                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                  |
| <b>抗癌选择性</b>                |                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                  |
| MRC-5/A20                   | 9.1 / 5.5 *                                                                                                                                                     | 4.3                                                                                                                                                              |
| RBC/A20                     | n.t.                                                                                                                                                            | n.t.                                                                                                                                                             |

[0187] \*两组结果是来自两次单独的筛选(以及各个筛选中三次平行的平均值)

[0188] n.t. = 未测试的

[0189] 表3.续(所有值均以μg/ml计)

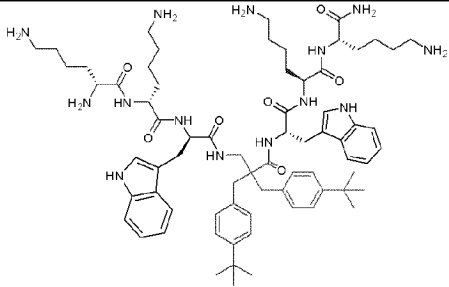
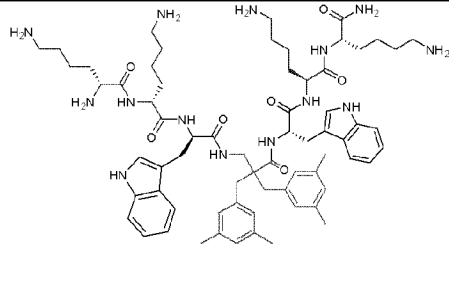
[0190]

|                             |                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                   |
|-----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                             |                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                   |
|                             | <b>19</b>                                                                                                                                                      | <b>20</b>                                                                                                                                                         |
| IUPAC<br>命名                 | (R)-N-((2R,9S,12S,15S)-9-((1H-吡啶-3-基)甲基)-19-氨基-12-(4-氨基丁基)-15-氨基甲酰基-6,6-双(4-氟苄基)-1-(1H-吡啶-3-基)-3,7,10,13-四氧基-4,8,11,14-四氮杂十九烷-2-基)-6-氨基-2-((R)-2,6-二氨基己酰氨基)己酰胺 | (R)-N-((2R,9S,12S,15S)-9-((1H-吡啶-3-基)甲基)-19-氨基-12-(4-氨基丁基)-15-氨基甲酰基-1-(1H-吡啶-3-基)-3,7,10,13-四氧基-6,6-双(4-三氟甲基苄基)-4,8,11,14-四氮杂十九烷-2-基)-6-氨基-2-((R)-2,6-二氨基己酰氨基)己酰胺 |
| 分子式<br>Mw                   | $C_{63}H_{86}F_2N_{14}O_7$<br>精确质量: 1188,6772<br>分子量: 1189,4433                                                                                                | $C_{65}H_{86}F_6N_{14}O_7$<br>精确质量: 1288,6708<br>分子量: 1289,4584                                                                                                   |
| 抗菌效能<br>(MIC)               |                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                   |
| 金黄色葡萄球菌                     | n.t.                                                                                                                                                           | n.t.                                                                                                                                                              |
| MRSA                        | n.t.                                                                                                                                                           | n.t.                                                                                                                                                              |
| MRSE                        | n.t.                                                                                                                                                           | n.t.                                                                                                                                                              |
| 大肠杆菌                        | n.t.                                                                                                                                                           | n.t.                                                                                                                                                              |
| 抗癌效能<br>(IC <sub>50</sub> ) |                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                   |
| A20                         | 197                                                                                                                                                            | 37                                                                                                                                                                |
| MethA                       | n.t.                                                                                                                                                           | n.t.                                                                                                                                                              |
| 毒性                          |                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                   |
| MRC-5                       | >500                                                                                                                                                           | 260                                                                                                                                                               |
| RBC (EC50)                  | n.t.                                                                                                                                                           | n.t.                                                                                                                                                              |
| 抗癌选择性                       |                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                   |
| MRC-5/A20                   | (>2.5)                                                                                                                                                         | 7.0                                                                                                                                                               |
| RBC/A20                     | n.t.                                                                                                                                                           | n.t.                                                                                                                                                              |

[0191] n.t.=未测试的

[0192] 表3.续(所有值均以 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 计)

[0193]

|                          |                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                    |
|--------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                          |                                                                                 |                                                                                  |
|                          | <b>21</b>                                                                                                                                                        | <b>22</b>                                                                                                                                                          |
| IUPAC 命名                 | (R)-N-((2R,9S,12S,15S)-9-((1H-吡啶-3-基)甲基)-19-氨基-12-(4-氨基丁基)-6,6-双(4-叔丁基苄基)-15-氨基甲酰基-1-(1H-吡啶-3-基)-3,7,10,13-四氧基-4,8,11,14-四氮杂十九烷-2-基)-6-氨基-2-((R)-2,6-二氨基己酰氨基)己酰胺 | (R)-N-((2R,9S,12S,15S)-9-((1H-吡啶-3-基)甲基)-19-氨基-12-(4-氨基丁基)-15-氨基甲酰基-6,6-双(3,5-二甲基苄基)-1-(1H-吡啶-3-基)-3,7,10,13-四氧基-4,8,11,14-四氮杂十九烷-2-基)-6-氨基-2-((R)-2,6-二氨基己酰氨基)己酰胺 |
| 分子式<br>Mw                | C <sub>71</sub> H <sub>104</sub> N <sub>14</sub> O <sub>7</sub><br>精确质量: 1264,8212<br>分子量: 1265,6751                                                             | C <sub>67</sub> H <sub>96</sub> N <sub>14</sub> O <sub>7</sub><br>精确质量: 1208,7586<br>分子量: 1209,5687                                                                |
| 抗菌效能 (MIC)               |                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                    |
| 金黄色葡萄球菌                  | n.t.                                                                                                                                                             | n.t.                                                                                                                                                               |
| MRSA                     | n.t.                                                                                                                                                             | n.t.                                                                                                                                                               |
| MRSE                     | n.t.                                                                                                                                                             | n.t.                                                                                                                                                               |
| 大肠杆菌                     | n.t.                                                                                                                                                             | n.t.                                                                                                                                                               |
| 抗癌效能 (IC <sub>50</sub> ) |                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                    |
| A20                      | 14.5 / 17.5 *                                                                                                                                                    | 32 / 40 *                                                                                                                                                          |
| MethA                    | n.t.                                                                                                                                                             | n.t.                                                                                                                                                               |
| 毒性                       |                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                    |
| MRC-5                    | 42 / 55.2 *                                                                                                                                                      | 237 / 205 *                                                                                                                                                        |
| RBC (EC <sub>50</sub> )  | n.t.                                                                                                                                                             | n.t.                                                                                                                                                               |
| 抗癌选择性                    |                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                    |
| MRC/A20                  | 2.9 / 3.2 *                                                                                                                                                      | 7.4 / 5.1 *                                                                                                                                                        |
| RBC/A20                  | n.t.                                                                                                                                                             | n.t.                                                                                                                                                               |

[0194] \*两组结果是来自两次单独的筛选(以及各个筛选中三次平行的平均值)

[0195] n.t.=未测试的

[0196] 表4.β<sup>2,2</sup>-氨基酸二甲基氨基-乙基衍生物的生物效能(所有值均以μg/ml计)

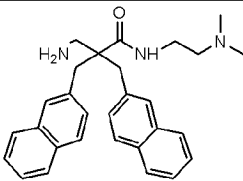
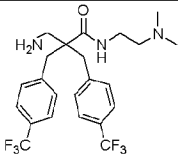
[0197]

|                         |                                                                                     |                                                                                        |                                                                                         |                                                                                            |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|
|                         |                                                                                     |                                                                                        |                                                                                         |                                                                                            |
|                         | <b>23</b>                                                                           | <b>24</b>                                                                              | <b>25</b>                                                                               | <b>26</b>                                                                                  |
| IUPAC 命名                | 3-氨基-2,2-二苄基-N-(2-二甲基氨基)-丙酰胺<br>Log P: 2.97<br>tPSA: 58.36<br>CLogP: 3.0078         | 3-氨基-2,2-双(4-叔丁基苄基)-N-(2-(二甲基氨基)-乙基)丙酰胺<br>Log P: 6.38<br>tPSA: 58.36<br>CLogP: 6.6598 | 3-氨基-N-(2-二甲基氨基)-乙基)-2,2-双(3,5-二甲基苄基)丙酰胺<br>Log P: 4.92<br>tPSA: 58.36<br>CLogP: 5.0038 | 2-(氨基甲基)-N-(2-(二甲基氨基)乙基)-5-苯基-2-(3-苯基丙基)戊酰胺<br>Log P: 4.64<br>tPSA: 58.36<br>CLogP: 4.9738 |
| 分子式 Mw                  | C <sub>21</sub> H <sub>29</sub> N <sub>3</sub> O<br>精确质量: 339,2311<br>分子量: 339,4745 | C <sub>29</sub> H <sub>45</sub> N <sub>3</sub> O<br>精确质量: 451,3563<br>分子量: 451,6871    | C <sub>25</sub> H <sub>37</sub> N <sub>3</sub> O<br>精确质量: 395,2937<br>分子量: 395,5808     | C <sub>25</sub> H <sub>37</sub> N <sub>3</sub> O<br>精确质量: 395,2937<br>分子量: 395,5808        |
| 抗菌效(MIC)                |                                                                                     |                                                                                        |                                                                                         |                                                                                            |
| 金黄色葡萄球菌                 | >100                                                                                | 5                                                                                      | 100                                                                                     | 35                                                                                         |
| MRSA                    | >100                                                                                | 5                                                                                      | 50                                                                                      | 35                                                                                         |
| MRSE                    | >100                                                                                | 2,5                                                                                    | 10                                                                                      | 35                                                                                         |
| 大肠杆菌                    | >100                                                                                | 5                                                                                      | 50                                                                                      | 100                                                                                        |
| 抗癌效能(IC <sub>50</sub> ) |                                                                                     |                                                                                        |                                                                                         |                                                                                            |
| A20                     | n.t.                                                                                | n.t.                                                                                   | n.t.                                                                                    | n.t.                                                                                       |
| MethA                   | n.t.                                                                                | n.t.                                                                                   | n.t.                                                                                    | n.t.                                                                                       |
| 毒性                      |                                                                                     |                                                                                        |                                                                                         |                                                                                            |
| MRC-5                   | n.t.                                                                                | n.t.                                                                                   | n.t.                                                                                    | n.t.                                                                                       |
| RBC (EC <sub>50</sub> ) | >1000                                                                               | 185                                                                                    | 820                                                                                     | 316                                                                                        |
| 抗癌选择性                   |                                                                                     |                                                                                        |                                                                                         |                                                                                            |
| MRC-5/A20               | n.t.                                                                                | n.t.                                                                                   | n.t.                                                                                    | n.t.                                                                                       |
| RBC/A20                 | n.t.                                                                                | n.t.                                                                                   | n.t.                                                                                    | n.t.                                                                                       |

[0198] n.t.=未测试的

[0199] 表4.续(所有值均以μg/ml计)

[0200]

|                              |                                                                                       |                                                                                                    |
|------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                              |      |                 |
|                              | <b>27</b>                                                                             | <b>28</b>                                                                                          |
| IUPAC 命名                     | 3-氨基-N-(2-(二甲基氨基)乙基)-2,2-双(苯-2-基甲基)丙酰胺<br>Log P: 4.97<br>tPSA: 58.36<br>CLogP: 5.3558 | 3-氨基-N-(2-(二甲基氨基)乙基)-2,2-双(4-(三氟甲基)苄基)丙酰胺<br>Log P: 4.82<br>tPSA: 58.36<br>CLogP: 4.7738           |
| 分子式<br>Mw                    | C <sub>29</sub> H <sub>33</sub> N <sub>3</sub> O<br>精确质量: 439,2624<br>分子量: 439,5918   | C <sub>23</sub> H <sub>27</sub> F <sub>6</sub> N <sub>3</sub> O<br>精确质量: 475,2058<br>分子量: 475,4704 |
|                              |                                                                                       |                                                                                                    |
| <b>抗菌效能(MIC)</b>             |                                                                                       |                                                                                                    |
| 金黄色葡萄球菌                      | 5                                                                                     | 10                                                                                                 |
| MRSA                         | 5                                                                                     | 5                                                                                                  |
| MRSE                         | 5                                                                                     | 15                                                                                                 |
| 大肠杆菌                         | 15                                                                                    | 35                                                                                                 |
|                              |                                                                                       |                                                                                                    |
| <b>抗癌效能(IC<sub>50</sub>)</b> |                                                                                       |                                                                                                    |
| A20                          | n.t.                                                                                  | n.t.                                                                                               |
| McthA                        | n.t.                                                                                  | n.t.                                                                                               |
|                              |                                                                                       |                                                                                                    |
| <b>毒性</b>                    |                                                                                       |                                                                                                    |
| MRC-5                        | n.t.                                                                                  | n.t.                                                                                               |
| RBC (EC <sub>50</sub> )      | 145                                                                                   | 329                                                                                                |
|                              |                                                                                       |                                                                                                    |
| <b>抗癌选择性</b>                 |                                                                                       |                                                                                                    |
| MRC-5/A20                    | n.t.                                                                                  | n.t.                                                                                               |
| RBC/A20                      | n.t.                                                                                  | n.t.                                                                                               |
|                              |                                                                                       |                                                                                                    |

[0201] n.t. = 未测试的

[0202] 表5.  $\beta^{2,2}$ -氨基酸N-甲基哌嗪衍生物的生物效能(所有值均以 $\mu\text{g/ml}$ 计)

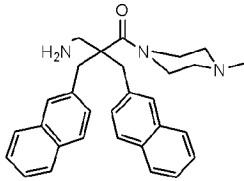
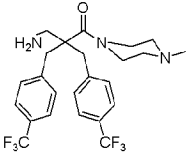
[0203]

|                         |                                                                                         |                                                                                           |                                                                                              |
|-------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
|                         |                                                                                         |                                                                                           |                                                                                              |
|                         | <b>29</b>                                                                               | <b>30</b>                                                                                 | <b>31</b>                                                                                    |
| IUPAC<br>命名             | 3-氨基-2,2-双(4-叔丁基苄基)-1-(4-甲基哌嗪-1-基)丙烷-1-酮<br>Log P: 6,37<br>tPSA: 49.57<br>CLogP: 7.0724 | 3-氨基-2,2-双(3,5-二甲基苄基)-1-(4-甲基哌嗪-1-基)丙烷-1-酮<br>Log P: 4,91<br>tPSA: 49.57<br>CLogP: 5.4164 | 2-(氨基甲基)-1-(4-甲基哌嗪-1-基)-5-苯基-2-(3-苯基丙基)戊烷-1-酮<br>Log P: 4,63<br>tPSA: 49.57<br>CLogP: 5.3864 |
| 分子式<br>Mw               | C <sub>30</sub> H <sub>45</sub> N <sub>3</sub> O<br>精确质量: 463,36<br>分子量: 463,70         | C <sub>26</sub> H <sub>37</sub> N <sub>3</sub> O<br>精确质量: 407,29<br>分子量: 407,59           | C <sub>26</sub> H <sub>37</sub> N <sub>3</sub> O<br>精确质量: 407,29<br>分子量: 407,59              |
| 抗菌效能(MIC)               |                                                                                         |                                                                                           |                                                                                              |
| 金黄色葡萄球菌                 | 10                                                                                      | >200                                                                                      | 200                                                                                          |
| MRSA                    | 10                                                                                      | 200                                                                                       | 200                                                                                          |
| MRSE                    | 5                                                                                       | 35                                                                                        | 200                                                                                          |
| 大肠杆菌                    | 10                                                                                      | 200                                                                                       | 200                                                                                          |
| 抗癌效能(IC <sub>50</sub> ) |                                                                                         |                                                                                           |                                                                                              |
| A20                     | n.t.                                                                                    | n.t.                                                                                      | n.t.                                                                                         |
| MethA                   | n.t.                                                                                    | n.t.                                                                                      | n.t.                                                                                         |
| 毒性                      |                                                                                         |                                                                                           |                                                                                              |
| MRC-5                   | n.t.                                                                                    | n.t.                                                                                      | n.t.                                                                                         |
| RBC (EC <sub>50</sub> ) | 241                                                                                     | >1000                                                                                     | >1000                                                                                        |
| 抗癌选择性                   |                                                                                         |                                                                                           |                                                                                              |
| MRC-5/A20               | n.t.                                                                                    | n.t.                                                                                      | n.t.                                                                                         |
| RBC/A20                 | n.t.                                                                                    | n.t.                                                                                      | n.t.                                                                                         |

[0204] n.t. = 未测试的

[0205] 表5.续(所有值均以μg/ml计)

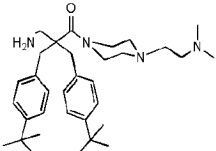
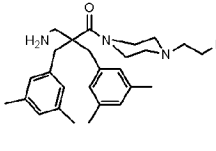
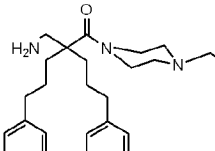
[0206]

|                         |                                                                                         |                                                                                                |
|-------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                         |        |             |
|                         | <b>32</b>                                                                               | <b>33</b>                                                                                      |
| IUPAC 命名                | 3-氨基-1-(4-甲基哌嗪-1-基)-2,2-双(萘-2-基甲基)丙烷-1-酮<br>Log P: 4.96<br>tPSA: 49.57<br>CLogP: 5.7684 | 3-氨基-1-(4-甲基哌嗪-1-基)-2,2-双(4-(三氟甲基)苯基)丙烷-1-酮<br>Log P: 4.81<br>tPSA: 49.57<br>CLogP: 5.1864     |
| 分子式<br>Mw               | C <sub>30</sub> H <sub>33</sub> N <sub>3</sub> O<br>精确质量: 451.26<br>分子量: 451.60         | C <sub>24</sub> H <sub>27</sub> F <sub>6</sub> N <sub>3</sub> O<br>精确质量: 487.21<br>分子量: 487.48 |
|                         |                                                                                         |                                                                                                |
| 抗菌效能(MIC)               |                                                                                         |                                                                                                |
| 金黄色葡萄球菌                 | 10                                                                                      | 35                                                                                             |
| MRSA                    | 5                                                                                       | 10                                                                                             |
| MRSE                    | 10                                                                                      | 50                                                                                             |
| 大肠杆菌                    | 15                                                                                      | 50                                                                                             |
|                         |                                                                                         |                                                                                                |
| 抗癌效能(IC <sub>50</sub> ) |                                                                                         |                                                                                                |
| A20                     | n.t.                                                                                    | n.t.                                                                                           |
| MethA                   | n.t.                                                                                    | n.t.                                                                                           |
|                         |                                                                                         |                                                                                                |
| 毒性                      |                                                                                         |                                                                                                |
| MRC-5                   | n.t.                                                                                    | n.t.                                                                                           |
| RBC (EC <sub>50</sub> ) | 225                                                                                     | 376                                                                                            |
|                         |                                                                                         |                                                                                                |
| 抗癌选择性                   |                                                                                         |                                                                                                |
| MRC-5/A20               | n.t.                                                                                    | n.t.                                                                                           |
| RBC/A20                 | n.t.                                                                                    | n.t.                                                                                           |
|                         |                                                                                         |                                                                                                |

[0207] n.t. = 未测试的

[0208] 表6.β<sup>2,2</sup>-氨基酸N,N-二甲基氨基-乙基-哌嗪衍生物的生物效能(所有值均以μg/ml计)

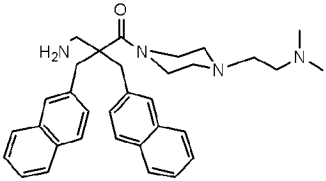
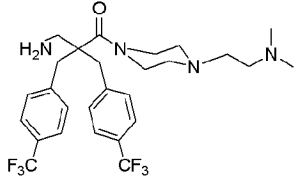
[0209]

|                         |                                                                                     |                                                                                                      |                                                                                                         |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                         |    |                     |                      |
|                         | <b>34</b>                                                                           | <b>35</b>                                                                                            | <b>36</b>                                                                                               |
| IUPAC 命名                | 3-氨基-2,2-双(4-叔丁基苄基)-1-(4-(2-(二甲基氨基)乙基)哌嗪-1-基)丙烷-1-酮<br>tPSA: 52.81<br>CLogP: 7.4475 | 3-氨基-1-(4-(2-(二甲基氨基)乙基)哌嗪-1-基)-2,2-双(3,5-二甲基苄基)丙烷-1-酮<br>Log P: 4.91<br>tPSA: 52.81<br>CLogP: 5.7915 | 2-(氨基甲基)-1-(4-(2-(二甲基氨基)乙基)哌嗪-1-基)-5-苄基-2-(3-苄基丙基)戊烷-1-酮<br>Log P: 4.63<br>tPSA: 52.81<br>CLogP: 5.7615 |
| 分子式<br>Mw               | C <sub>33</sub> H <sub>52</sub> N <sub>4</sub> O<br>精确质量: 520.41<br>分子量: 520.79     | C <sub>29</sub> H <sub>44</sub> N <sub>4</sub> O<br>精确质量: 464.35<br>分子量: 464.69                      | C <sub>29</sub> H <sub>44</sub> N <sub>4</sub> O<br>精确质量: 464.35<br>分子量: 464.69                         |
| 抗菌效能(MIC)               |                                                                                     |                                                                                                      |                                                                                                         |
| 金黄色葡萄球菌                 | 10                                                                                  | 50                                                                                                   | 200                                                                                                     |
| MRSA                    | 10                                                                                  | 50                                                                                                   | 50                                                                                                      |
| MRSE                    | 10                                                                                  | 35                                                                                                   | 50                                                                                                      |
| 大肠杆菌                    | 10                                                                                  | 100                                                                                                  | 200                                                                                                     |
| 抗癌效能(IC <sub>50</sub> ) |                                                                                     |                                                                                                      |                                                                                                         |
| A20                     | n.t.                                                                                | n.t.                                                                                                 | n.t.                                                                                                    |
| MethA                   | n.t.                                                                                | n.t.                                                                                                 | n.t.                                                                                                    |
| 毒性                      |                                                                                     |                                                                                                      |                                                                                                         |
| MRC-5                   | n.t.                                                                                | n.t.                                                                                                 | n.t.                                                                                                    |
| RBC (EC <sub>50</sub> ) | 252                                                                                 | n.t.                                                                                                 | >1000                                                                                                   |
| 抗癌选择性                   |                                                                                     |                                                                                                      |                                                                                                         |
| MRC-5/A20               | n.t.                                                                                | n.t.                                                                                                 | n.t.                                                                                                    |
| RBC/A20                 | n.t.                                                                                | n.t.                                                                                                 | n.t.                                                                                                    |

[0210] n.t.=未测试的

[0211] 表7.续(所有值均以μg/ml计)

[0212]

|                         |                                                                                                   |                                                                                                      |
|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                         |                 |                   |
|                         | <b>37</b>                                                                                         | <b>38</b>                                                                                            |
| IUPAC 命名                | 3-氨基-1-(4-(2-(二甲基氨基)乙基)吡嗪-1-基)-2,2-双(萆-2基甲基)丙烷-1-酮<br>Log P: 4.96<br>tPSA: 52.81<br>CLogP: 6.1435 | 3-氨基-1-(4-(2-(二甲基氨基)乙基)吡嗪-1-基)-2,2-双(4-三氟甲基)苄基)丙烷-1-酮<br>Log P: 4.81<br>tPSA: 52.81<br>CLogP: 5.5615 |
| 分子式<br>Mw               | C <sub>33</sub> H <sub>40</sub> N <sub>4</sub> O<br>精确质量: 508,3202<br>分子量: 508,6969               | C <sub>27</sub> H <sub>34</sub> F <sub>6</sub> N <sub>4</sub> O<br>精确质量: 544,2637<br>分子量: 544,5755   |
| 抗菌效能(MIC)               |                                                                                                   |                                                                                                      |
| 金黄色葡萄球菌                 | 15                                                                                                | 35                                                                                                   |
| MRSA                    | 2,5                                                                                               | 5                                                                                                    |
| MRSE                    | 10                                                                                                | 50                                                                                                   |
| 大肠杆菌                    | 35                                                                                                | 100                                                                                                  |
| 抗癌效能(IC <sub>50</sub> ) |                                                                                                   |                                                                                                      |
| A20                     | n.t.                                                                                              | n.t.                                                                                                 |
| MethA                   | n.t.                                                                                              | n.t.                                                                                                 |
| 毒性                      |                                                                                                   |                                                                                                      |
| MRC-5                   | n.t.                                                                                              | n.t.                                                                                                 |
| RBC (EC <sub>50</sub> ) | 301                                                                                               | 862                                                                                                  |
| 抗癌选择性                   |                                                                                                   |                                                                                                      |
| MRC-5/A20               | n.t.                                                                                              | n.t.                                                                                                 |
| RBC/A20                 | n.t.                                                                                              | n.t.                                                                                                 |

[0213] n. t. = 未测试的

[0214] 实施例3

[0215] 对两种正常细胞系和九种癌细胞系筛选实施例2描述的化合物7。

[0216] 所有细胞系均源于人类。将化合物7的原液溶于包含10% DMSO的检验培养基中。对各个细胞系进行三次平行实验。

[0217] 前面化合物7的结果,对A20癌细胞产生的IC<sub>50</sub>为0.7μg/ml,并且对RBC的EC<sub>50</sub>为292 μg/ml(表2)。前面化合物7的测试,对MRC-5细胞产生的IC<sub>50</sub>为13.5和14μg/ml,而板筛选产生的IC<sub>50</sub>为8.21μg/ml。

[0218] 表8-化合物7对两种正常细胞系(MRC-5和HUV-EC-C)和九种癌细胞系的板筛选的结果。

[0219]

| 细胞系        | 器官   | 疾病      | 细胞类型     | <i>THAP164</i><br><i>IC50</i> $\mu\text{g/ml}$ |
|------------|------|---------|----------|------------------------------------------------|
| MRC-55     | 肺    | 正常      | 纤维原细胞    | 8.21                                           |
| HUV-EC-C   | 脐静脉  | 正常      | 内皮细胞     | 3.81                                           |
| DU-145     | 前列腺  | 癌       | 上皮细胞     | 15.21                                          |
| OVCAR-3    | 卵巢   | 腺癌      | 上皮细胞     | 18.05                                          |
| MDA-MB435  | 乳腺   | 癌       | N/A      | 6.54                                           |
| FEMX       | 皮肤   | 黑素瘤     | N/A      | 17.1                                           |
| UT-SCC-24A | 舌    | 鳞状口腔细胞癌 | 原发性口腔癌细胞 | 14.19                                          |
| UT-SCC-34A | 声门上喉 | 鳞状口腔细胞癌 | 原发性口腔癌细胞 | 16.18                                          |
| HT-29      | 结肠   | 结直肠腺癌   | 上皮细胞     | 15.45                                          |
| Ramos      | N/A  | 伯基特氏淋巴瘤 | B 淋巴细胞   | 2.61                                           |
| Kelly      | N/A  | 成神经细胞瘤  | N/A      | 3.90                                           |

[0220] 实施例4

[0221] 制备本发明的 $\beta^{2,2}$ -氨基酸衍生物并测试抗菌活性和研究它们对口服给药的适应性。

[0222] 合成

[0223] 根据图4所示的路线合成 $\beta^{2,2}$ -氨基酸衍生物(图3)。对于包括多种制备 $\beta$ -氨基的方法参见Abele, S.等人, Eur. J. Org. Chem. [2000]2000, 1-15。将Boc-保护的 $\beta^{2,2}$ -氨基酸3a-3d与四种不同的C-端阳离子基团偶联(图4)。为提高产率, 将1.5eq. 的偶联剂TFFH用于最终的偶联步骤, 并且还使用TFFH将 $\beta^{2,2}$ -氨基酸预活化2h而不是标准的10min。在偶联反应之后是质谱分析并通过加入 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 水溶液结束。然而, 由于空间位阻, 必须将偶联时间延长至高达7天用于连接C-端阳离子基团。

[0224] 用于合成1a-1d的一般步骤

[0225] 该合成是基于前面Cronin等人, Anal. Biochem. [1982]124, 139-149报道的合成。简言之, 在加入氰乙酸甲酯(20mmol)之前将甲醇钠(20mmol)溶于甲醇以获得约0.2M的浓度并将反应混合物在室温下搅拌5min。加入所需的苄溴(20mmol)并在将溶液冷却至室温之前将溶液加热至回流15min, 并加入第二部分的甲醇钠(20mmol)。在室温下搅拌5min之后, 加入另一部分所需的苄溴(20mmol), 随后回流另外15min。在用乙酸乙酯稀释混合物并用水洗涤之前, 将约2/3的甲醇真空去除。在 $\text{MgSO}_4$ 上干燥有机相, 过滤并蒸发至干燥。将产物1a-1d用于随后的合成而不需要任何进一步的纯化。

[0226] 用于合成2a-2d的一般步骤

[0227] 该合成是基于前面Cronin等, supra和Bodanszky等, "The practice of peptide synthesis(肽合成实践)" Springe-Verlag 1994报道的合成。简言之, 使用甲醇洗涤Ra/Ni(通常为2mL)以在加入所需的氰乙酸甲酯衍生物(1a-1d)(3.5mmol)以及醋酸(通常为1mL)和甲醇之前去除水从而产生约0.1M的1a-1d的最终浓度。在将Ra/Ni过滤除去之前使用1巴的 $\text{H}_2$ 使用安装的回流冷凝管将反应混合物在45℃下氢化5天并将反应混合物蒸发至干燥。将粗 $\beta^{2,2}$ -氨基酸甲酯溶于1,4-二氧六环和水5:1(0.35M)的混合物并在加入溶于尽可能少的1,4-二氧六环的 $\text{Boc}_2\text{O}$ (1.5eq)之前使用TEA将pH调整至8, 并将溶液在室温下搅拌18h。使

用0.1M HCl将反应混合物酸化至pH 4-5并在MgSO<sub>4</sub>上干燥有机相之前使用乙酸乙酯萃取三次,并蒸发至干燥。将粗产物2a-2d用于随后的合成而不需任何进一步的纯化。

**[0228] 用于合成3a-3d的一般步骤**

**[0229]** 该合成是基于Seebach等人,Helv.Chim.Acta[1998]81,2218-2243的公开。简言之,将粗Boc-保护的 $\beta^{2,2}$ -氨基酸甲酯2a-2d(0.35mmol)溶于1,4-二氧六环和水3:1的混合物以在加入溶于尽可能少的水的氢氧化锂(2.1mmol)之前达到约1.2mM的最终浓度。在将体积真空减少至约1/5之前将反应混合物加热至回流并保持18h并且通过缓慢添加0.1M HCl将pH调整至1-2。在MgSO<sub>4</sub>上干燥有机相之前使用乙酸乙酯将水溶液萃取三次,并蒸发至干燥。将粗产物3a-3d用于随后的合成而不需任何进一步的纯化。

**[0230] 用于合成4a-4d、5a-5d、6a-6d和7a-7d的一般步骤**

**[0231]** 该合成是基于Chan和White,“Fmoc solid phase peptide synthesis:a practical approach(Fmoc固相肽合成:实际方法)”,Oxford University Press 2000;p346的教科书。简言之,将Boc-保护的 $\beta^{2,2}$ -氨基酸(3a-3d)(通常为0.2mmol)溶于DMF(0.02M)并加入DIPEA(3eq.)以及TFFH(1eq.)。在加入所需的胺(2eq.)之前,将 $\beta^{2,2}$ -氨基酸活化2h。反应之后是MS,并在使用乙酸乙酯稀释和用盐水洗涤之前使其反应多达7天。在MgSO<sub>4</sub>上干燥有机相,过滤并蒸发至干燥。通过将它们溶于DCM并加入等体积的TFA:TIS:水(95:2.5:2.5)将Boc-保护的 $\beta^{2,2}$ -氨基酸衍生物脱保护,并在蒸发至干燥之前在室温下搅拌2h。通过制备RPHPLC纯化粗产物并冻干。通过带有210nm至310nm检测范围的PDA检测器的分析HPLC检验化合物的纯度。所有化合物的纯度均大于95%。

**[0232] 抗菌活性**

**[0233]** 在200 $\mu$ g/ml、100 $\mu$ g/ml、50 $\mu$ g/ml、35 $\mu$ g/ml、15 $\mu$ g/ml、10 $\mu$ g/ml、5 $\mu$ g/ml、2.5 $\mu$ g/ml、1 $\mu$ g/ml、0.5 $\mu$ g/ml下将各个化合物测试两次。所有测试化合物均为双氟醋酸盐至三氟醋酸盐。

**[0234] 溶血活性**

**[0235]** 首先通过离心和使用37 $^{\circ}$ C预热的磷酸盐缓冲盐水(PBS)的三次额外洗涤步骤将肝素化人血液血浆的部分去除。随后,将人RBC稀释至10%血细胞比容并将 $\beta^{2,2}$ -氨基酸衍生物溶于PBS,提供1 $\mu$ g/mL-1000 $\mu$ g/mL的浓度。将稀释的RBC加入至化合物溶液至1%v/v的最终红细胞浓度。含有作为阴性对照和阳性对照的最终浓度为0.1%v/v的PBS和Triton X-100。在37 $^{\circ}$ C下搅拌培养1小时之后,在4000rpm下将样本离心5min。通过在405nm下检测上清液的吸收来测定血红蛋白的释放。根据下列公式,以使用 $\beta^{2,2}$ -氨基酸衍生物处理的样本和表面活性剂处理的样本的比的形式计算溶血活性:

$$\text{[0236] } [\%] \text{ 溶血} = \frac{\text{Abs}[\beta^{2,2}\text{-氨基酸}] - \text{Abs}[\text{阴性对照}]}{\text{Abs}[\text{阳性对照}] - \text{Abs}[\text{阴性对照}]} \times 100$$

[0237]

表 9. 一系列小  $\beta^{2,2}$ -氨基酸衍生物对 MRSA、MRSE、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和绿脓杆菌的最低抑制浓度(以  $\mu\text{M}$  计的 MIC)以及对人 RBC 的溶血活性(以  $\mu\text{M}$  计的  $\text{EC}_{50}$ )。通过对各个细菌菌株的  $\text{EC}_{50}$  RBC 值除以 MIC 值来计算治疗指数。

| 条目 | MIC <sup>a</sup>   |                   |                      |                   | EC <sub>50</sub> <sup>b</sup><br>RBC <sup>h</sup> | 治疗指数              |      |      |         |
|----|--------------------|-------------------|----------------------|-------------------|---------------------------------------------------|-------------------|------|------|---------|
|    | MTRSA <sup>c</sup> | MRSE <sup>d</sup> | 金黄色葡萄球菌 <sup>e</sup> | 大肠杆菌 <sup>f</sup> |                                                   | 绿脓杆菌 <sup>g</sup> | MRSA | MRSE | 金黄色葡萄球菌 |
| 4a | 72                 | 72                | 289                  | 289               | -                                                 |                   |      |      |         |
| 4b | 6.5                | 65                | 45                   | 129               | 1116                                              |                   | 172  | 17   | 25      |
| 4c | 3.4                | 14                | 20                   | 48                | 409                                               |                   | 120  | 29   | 20      |
| 4d | 13                 | 13                | 13                   | 13                | 337                                               | 255               | 26   | 26   | 26      |
| 5a | 315                | 315               | 315                  | 315               | -                                                 |                   |      |      |         |
| 5b | 14                 | 70                | 49                   | 70                | 525                                               |                   | 38   | 7.5  | 11      |
| 5c | 7.4                | 15                | 15                   | 22                | 303                                               | -                 | 41   | 20   | 20      |
| 5d | 15                 | 7.2               | 15                   | 15                | 348                                               | 289               | 23   | 48   | 23      |
| 6a | 56                 | 56                | 56                   | 160               | 507                                               |                   | 9.1  | 9.1  | 9.1     |
| 6b | 7.1                | 21                | 14                   | 50                | 468                                               |                   | 66   | 22   | 33      |
| 6c | 7.5                | 7.5               | 7.5                  | 23                | 117                                               | 300               | 16   | 16   | 16      |
| 6d | 7.4                | 3.7               | 7.4                  | 7.4               | 274                                               | 74                | 37   | 74   | 37      |
| 7a | 59                 | 25                | 71                   | 336               | 1377                                              |                   | 23   | 55   | 19      |
| 7b | 7.4                | 15                | 15                   | 52                | 425                                               |                   | 57   | 28   | 28      |
| 7c | 7.8                | 3.9               | 3.9                  | 24                | 457                                               | 55                | 59   | 117  | 117     |
| 7d | 3.8                | 3.8               | 3.8                  | 7.7               | 18                                                | 23                | 4.7  | 4.7  | 4.7     |

测试的最高浓度为<sup>a</sup> 200  $\mu\text{g/ml}$ 和<sup>b</sup> 1000  $\mu\text{g/ml}$ 。以它们的双氟醋酸盐至三氟醋酸盐形式分离的  $\beta^{2,2}$ -氨基酸衍生物，并如此计算摩尔浓度。<sup>c</sup> 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(ATTC 33591)，<sup>d</sup> 耐甲氧西林表皮葡萄球菌 (ATCC 27626)，<sup>e</sup> 金黄色葡萄球菌(ATCC 25923)，<sup>f</sup> 大肠杆菌(ATTC 25922)，<sup>g</sup> 绿脓杆菌 (ATCC 27853)和<sup>h</sup> 人红细胞。符号“-”表示在测试的浓度范围内没有可检测的活性(MIC或  $\text{EC}_{50}$ )。

[0238] 类药性和口服吸收

[0239] 通过使用Schrödinger'sMaestro software v9.1中包括的Schrödinger's

QikProp软件,评估关于里宾斯基五规则(Lipinski's rule of five)的 $\beta^{2,2}$ -氨基酸衍生物的药性评价以及人的口服吸收百分比的评价。口服活性药物的规则状态不应违反下列四个标准中的一项以上:1)辛醇-水分配系数 $\log P$ 应小于5,2)分子量(Mw)不应超过500道尔顿,3)可容纳最大5个氢键供体(HBD)基团,以及4)应有不多于10个氢键受体(HBA)基团。下列表10示出结果。

[0240] 表10.关于里宾斯基五规则制备的 $\beta^{2,2}$ -氨基酸衍生物的药性评价以及人潜在口服吸收的计算。

| 化合物       | 里宾斯基五规则(最高允许值)        |                      |                       |                        | 计算的口服吸收 <sup>e</sup><br>(%) |
|-----------|-----------------------|----------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------------|
|           | Mw <sup>a</sup> (500) | HBD <sup>b</sup> (5) | HBA <sup>c</sup> (10) | Log P <sup>d</sup> (5) |                             |
| <b>4a</b> | 464.7                 | 1                    | 7                     | 3.8                    | 72                          |
| <b>4b</b> | 544.6                 | 1                    | 7                     | 4.2                    | 62                          |
| <b>4c</b> | 508.7                 | 1                    | 7                     | 4.3                    | 63                          |
| <b>4d</b> | 520.8                 | 1                    | 7                     | 4.8                    | 66                          |
| <b>5a</b> | 407.6                 | 1                    | 5                     | 3.9                    | 86                          |
| <b>5b</b> | 487.5                 | 1                    | 5                     | 4.4                    | 88                          |
| <b>5c</b> | 451.6                 | 1                    | 5                     | 4.3                    | 87                          |
| <b>5d</b> | 463.7                 | 1                    | 5                     | 5.1                    | 79                          |
| <b>6a</b> | 395.6                 | 2                    | 4.5                   | 3.8                    | 84                          |
| <b>6b</b> | 475.5                 | 2                    | 4.5                   | 4.6                    | 89                          |
| <b>6c</b> | 439.6                 | 2                    | 4.5                   | 4.7                    | 89                          |
| <b>6d</b> | 451.7                 | 2                    | 4.5                   | 5.3                    | 80                          |
| <b>7a</b> | 367.5                 | 4                    | 3.5                   | 2.9                    | 73                          |
| <b>7b</b> | 447.4                 | 4                    | 3.5                   | 3.4                    | 71                          |
| <b>7c</b> | 411.5                 | 4                    | 3.5                   | 3.4                    | 72                          |
| <b>7d</b> | 423.6                 | 4                    | 3.5                   | 3.7                    | 73                          |

[0242] <sup>a</sup>计算非电离的 $\beta^{2,2}$ -氨基酸衍生物的分子量。<sup>b</sup>氢键供体(HBD)基团的计算值。<sup>c</sup>氢键受体(HBA)基团的计算值。值为大量构型的平均值,因此为非整数值。<sup>d</sup>计算的辛醇-水分配系数 $\log P$ 。<sup>e</sup>计算的人口服吸收百分比。使用Schrödinger'Maestro software v9.1包括的SchrödingerQikProp应用计算所有预测。

[0243] 来自计算的结果显示所有 $\beta^{2,2}$ -氨基酸衍生物符合里宾斯基五规则,因为没有化合物违反四规则中的超过一条。制备的16种 $\beta^{2,2}$ -氨基酸衍生物中的5种违反一条规则,其中这些违反中的三个是由于分子量大于500(4b、4c和4d),而其它两是由于 $\log P$ 值大于5的限制(5d和6d)。

[0244] 通过软件计算的人的口服吸收百分比推断所有 $\beta^{2,2}$ -氨基酸衍生物通过具有62%至89%的计算的口服吸收而可能被吸收得非常充分。计算 $\beta^{2,2}$ -氨基酸衍生物5a、5b、5c、6b和6c的最高口服吸收百分比,其全部均在86%-89%的口服吸收范围内。

[0245] 渗透性

[0246] 受理论计算的鼓励,使用最近建立的磷脂泡囊类障碍物模型(phospholipid vesicle based barrier model)进一步研究 $\beta^{2,2}$ -氨基酸衍生物的渗透性(Flaten等人, Eur.J.Pharm.Sci.[2006]27,80-90)。研究了对MRSA和对大肠杆菌表现出相似效能的四种 $\beta^{2,2}$ -氨基酸衍生物(4c、5c、6c和7c)。基于吸收的模型类别,所有四种化合物显示出相当于人中适度吸收的渗透性。对于实验渗透性值,化合物5c显示最高的渗透性,随后是化合物6c、4c和7c。

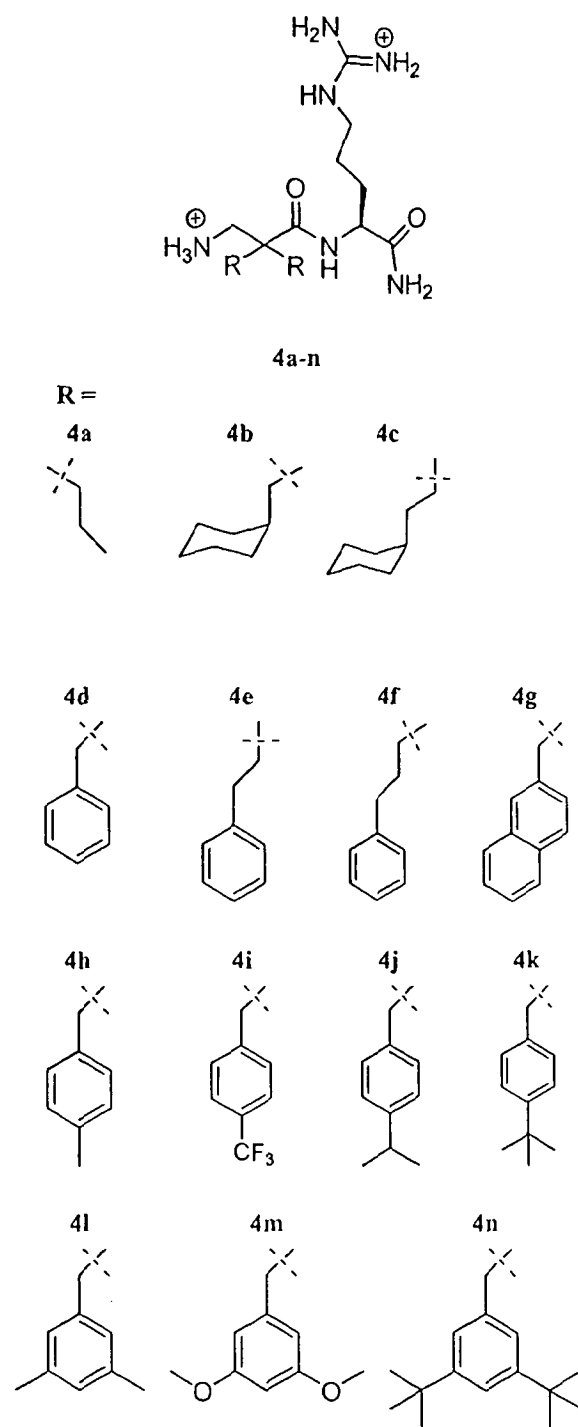


图1

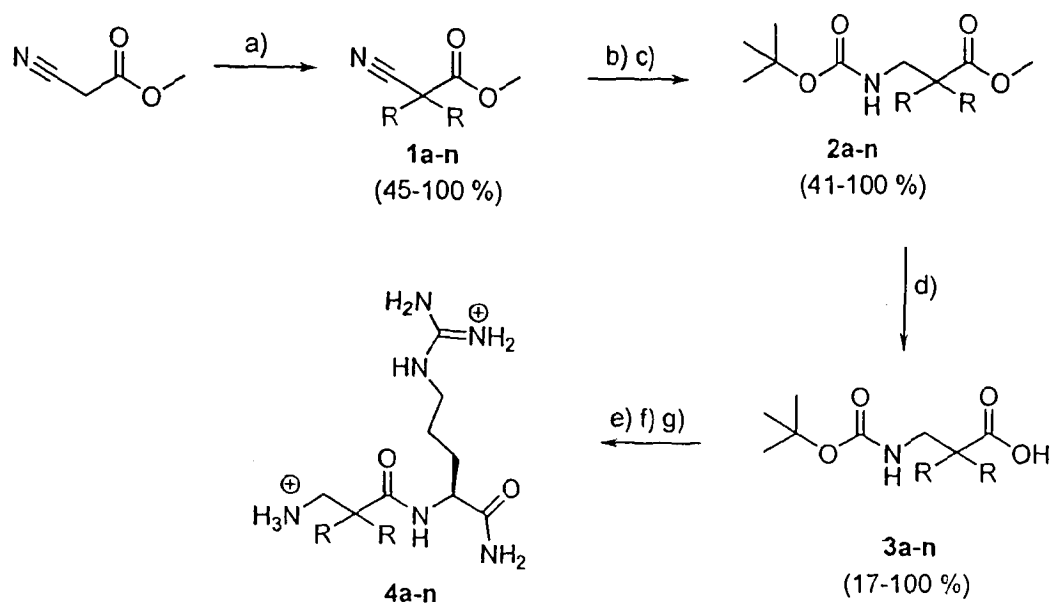


图2

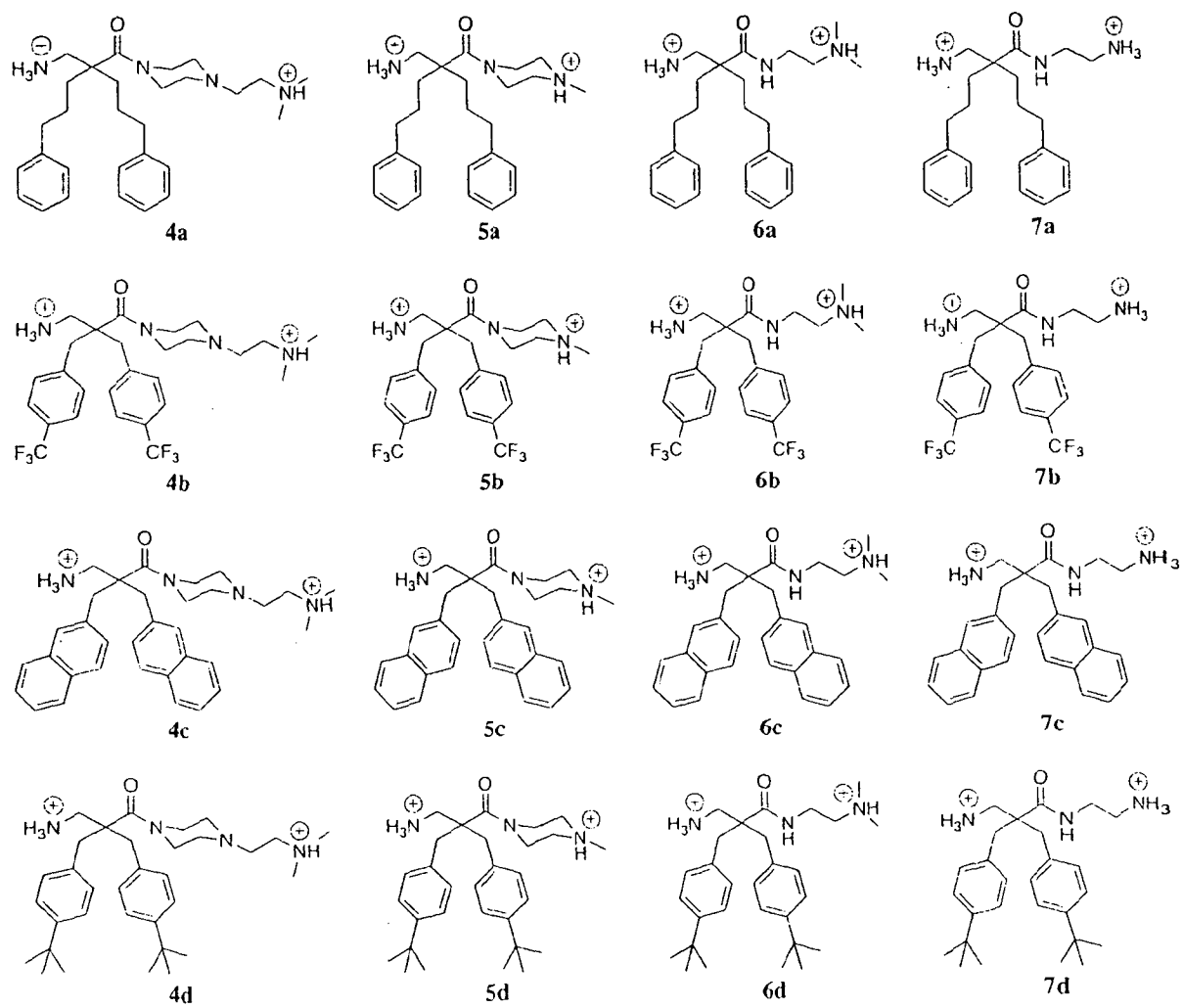


图3

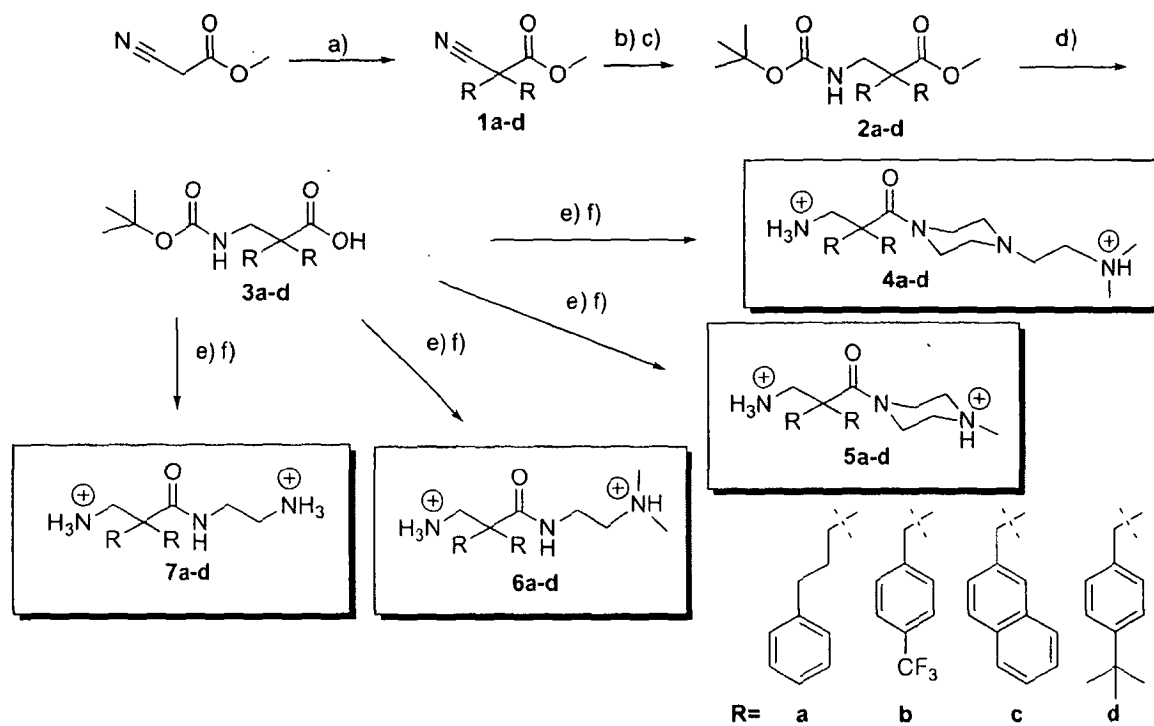


图4