[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
C07K 11/02 (2006.01)
A61K 38/08 (2006.01)
A61K 38/15 (2006.01)
A61K 38/12 (2006.01)
C07K 7/56 (2006.01)

[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200580042817.4

[43] 公开日 2008 年 3 月 5 日

[11] 公开号 CN 101137665A

[22] 申请日 2005.10.8
[21] 申请号 200580042817.4
[30] 优先权
[32] 2004.10.20 [33] DE [31] 102004051023.7
[86] 国际申请 PCT/EP2005/010858 2005.10.8
[87] 国际公布 WO2006/042655 德 2006.4.27
[85] 进入国家阶段日期 2007.6.13
[71] 申请人 艾库里斯有限及两合公司
地址 德国伍珀塔尔
[72] 发明人 弗朗茨·冯努斯鲍姆 尼娜·布吕纳
赖纳·恩德曼 昌塔尔·菲尔斯特纳
埃尔克·哈特曼 雅克·拉戈
吉多·席费尔 约阿希姆·舒马赫尔
尼尔斯·斯文施特鲁普
约阿希姆·泰尔塞 索尼亚·安劳夫
迈克－亚历山大·布吕宁
[74] 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任公司
代理人 王 旭
权利要求书 4 页 说明书 77 页

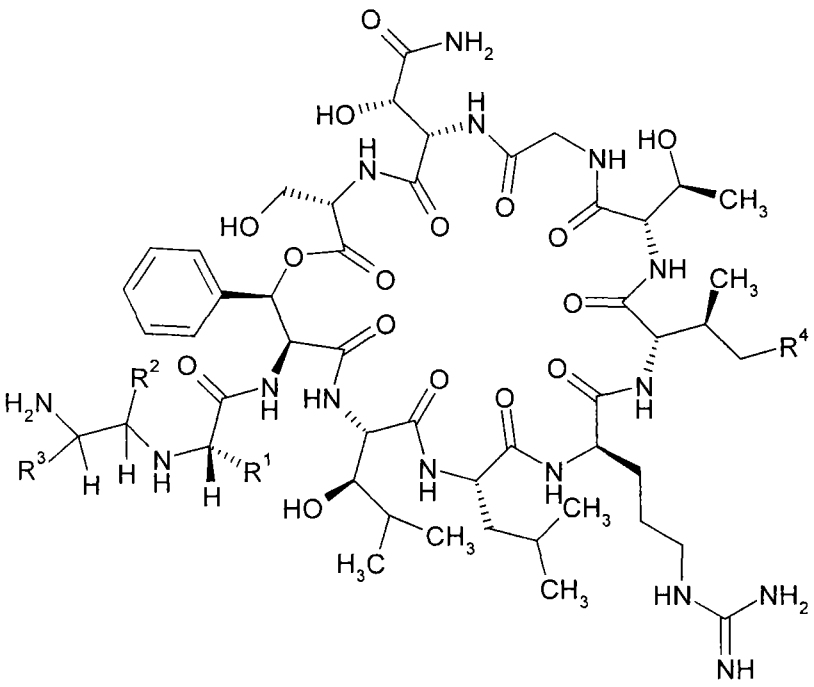
[54] 发明名称

脱氧九酯肽类

[57] 摘要

本发明涉及九酯肽类，它们的生产方法，和它们在制备用于治疗和/或预防疾病、特别是细菌感染性疾病的药物中的应用。

1. 下式的化合物，



(Ia),

其中

R^1 表示 C_1-C_2-烷基，

其中 C_1-C_2-烷基被选自下组的取代基取代：

三甲代甲硅烷基，烷氧羰基，C_3-C_6-环烷基，烷氧基-取代的苯基，2-吡啶基和 3-吡啶基，

或

表示 C_4-C_8-烷基，

R^2 表示氢或 C_1-C_4-烷基，

R^3 表示 C_1-C_2-烷基，

其中 C_1-C_2-烷基被取代基三甲代甲硅烷基取代，

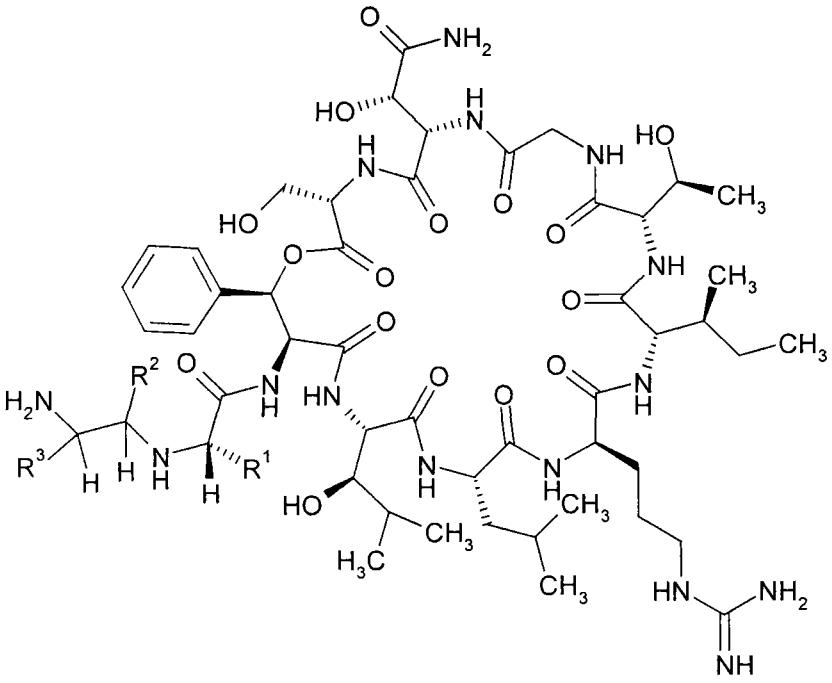
或

表示 C_4-C_6-烷基，

R^4 表示氢或甲基，

或它的盐、它的溶剂合物或它的盐的溶剂合物中的一种。

2. 根据权利要求 1 的化合物，其特征在于它对应于下式：



(I),

其中

R^1 表示 C_1-C_2-烷基,

其中 C_1-C_2-烷基被选自下组的取代基取代： 三甲代甲硅烷基, 烷氧羰基, C_3-C_6-环烷基, 烷氧基-取代的苯基, 2-吡啶基和 3-吡啶基,

或

表示 C_4-C_8-烷基,

R^2 表示氢或 C_1-C_4-烷基,

R^3 表示 C_1-C_2-烷基,

其中 C_1-C_2-烷基被取代基三甲代甲硅烷基取代,

或

表示 C_4-C_6-烷基,

或它的盐、它的溶剂合物或它的盐的溶剂合物中的一种。

3. 根据权利要求 2 的化合物，其特征在于：

R^1 表示 C_1-C_2-烷基

其中 C_1-C_2-烷基被取代基三甲代甲硅烷基取代,

或

表示 C_4-C_6-烷基,

R^2 表示氢或甲基,

R^3 表示 C_1-C_2-烷基,

其中 C_1-C_2-烷基被取代基三甲代甲硅烷基取代,

或

表示 C_4-C_6-烷基,

或它的盐、它的溶剂合物或它的盐的溶剂合物中的一种。

4. 根据权利要求 2 或 3 任一项的化合物，其特征在于：

R^1 表示三甲代甲硅烷基甲基或 2,2-二甲基丙-1-基,

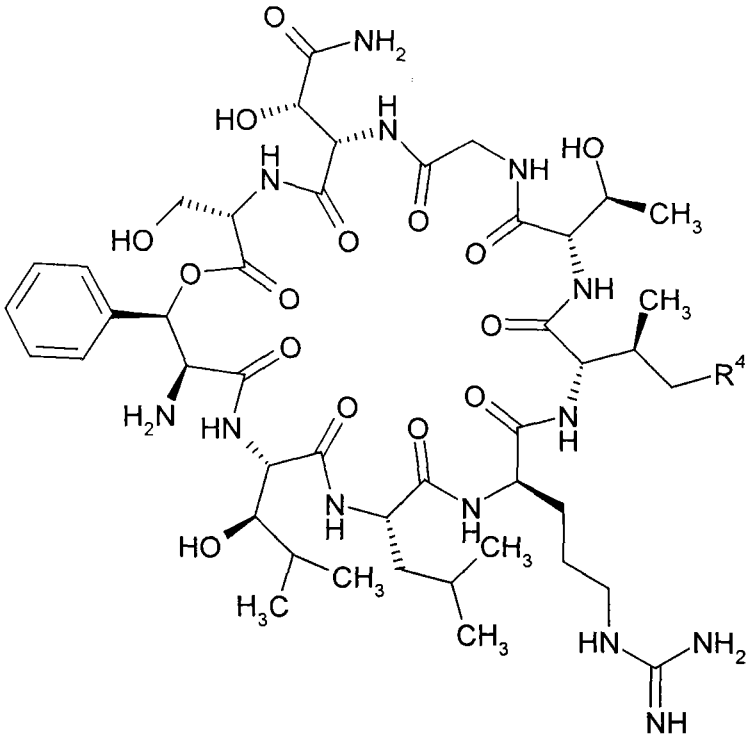
R^2 表示氢,

R^3 表示三甲代甲硅烷基甲基或 2,2-二甲基丙-1-基,

或它的盐、它的溶剂合物或它的盐的溶剂合物中的一种。

5. 用于制备根据权利要求 1 的式(Ia)化合物的方法，其特征在于：

式(II)的化合物

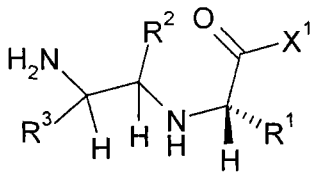


(II),

其中

R^4 具有权利要求 1 中所示的含义,

与式(III)的化合物反应,



(III),

其中

R^1, R^2 和 R^3 具有权利要求 1 中所示的含义，并且

X^1 表示卤素，优选溴、氯或氟，或羟基。

6. 用于治疗和/或预防疾病的根据权利要求 1 至 4 任一项的化合物。

7. 根据权利要求1至4任一项的化合物在制备用于治疗和/或预防疾病的药物中的应用。

8. 根据权利要求1至4任一项的化合物在制备用于治疗和/或预防细菌感染的药物中的应用。

9. 药物，其含有与惰性的、非毒性的药用赋形剂组合的根据权利要求 1 至 4 任一项的化合物。

10. 根据权利要求 9 的药物，其用于治疗和/或预防细菌感染。

11. 用于在人和动物中控制细菌感染的方法，该方法施用抗菌有效量的根据权利要求 1 至 4 任一项的至少一种化合物、根据权利要求 9 或 10 的药物或根据权利要求 7 或 8 获得的药物。

脱氧九酯肽类

本发明涉及九酯肽类(nonadepsipeptides)和它们的制备方法，还涉及它们在制备用于治疗和/或预防疾病、特别是细菌感染性疾病的药物中的应用。

细菌细胞壁是通过许多酶合成的(细胞壁生物合成)并且对微生物的生存和繁殖是必要的。该大分子的结构，还有涉及它的合成的蛋白质，在细菌内是高度保守的。由于它的关键本性和一致性，细胞壁生物合成是新抗生素理想的攻击点(D.W.Green, The bacterial cell wall as a source of antibacterial targets, *Expert Opin. Ther. Targets*, **2002**, *6*, 1-19)。

万古霉素和青霉素是细菌细胞壁生物合成的抑制剂并且代表该作用原理的抗生素功效的成功实例。它们已经在临床上使用了数十年，用于治疗细菌感染，特别是革兰氏阳性病原体的细菌感染。由于耐药微生物的不断出现，例如耐甲氧西林的葡萄球菌(staphylococci)、耐青霉素的肺炎双球菌(pneumococci)和耐万古霉素的肠球菌(enterococci)(F. Baquero, Gram-positive resistance: challenge for the development of new antibiotics, *J. Antimicrob. Chemother.*, **1997**, *39*, Suppl A:1-6; A.P. Johnson, D.M. Livermore, G.S. Tillotson, Antimicrobial susceptibility of Gram-positive bacteria: what's current, what's anticipated ?, *J. Hosp. Infect.*, **2001**, (49), Suppl A: 3-11)和最近也首次出现的耐万古霉素的葡萄球菌(B. Goldrick, First reported case of VRSA in the United States, *Am. J. Nurs.*, **2002**, *102*, 17)，这些物质正日益丧失它们的治疗功效。

本发明描述了一类新的对于已知类别的抗生素没有交叉抗性的细胞壁生物合成抑制剂。

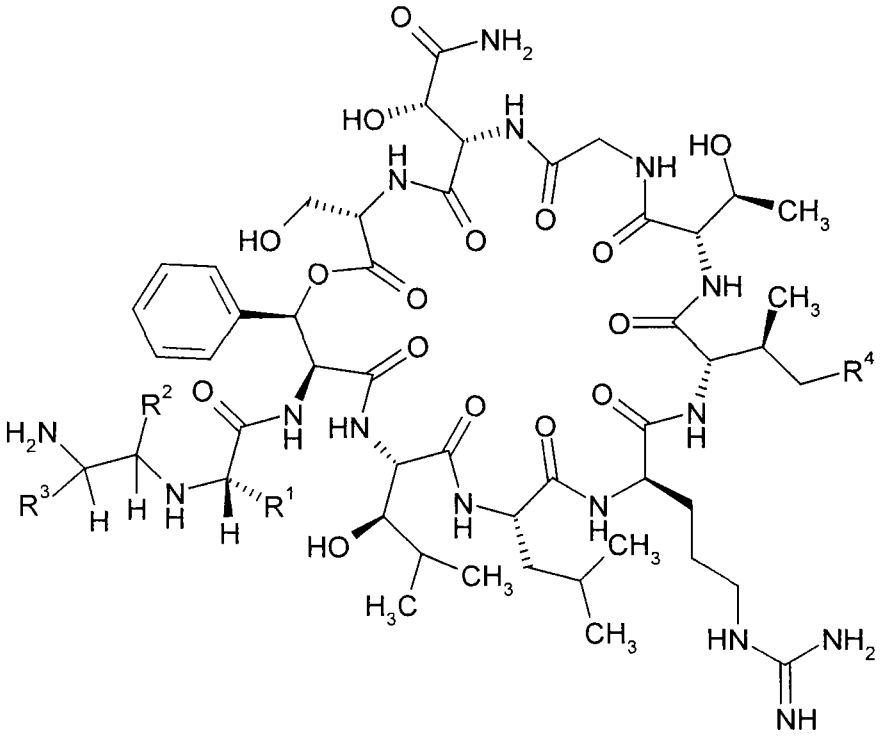
在 US 4,754,018 中将天然产物溶杆菌素(lysobactin)和一些衍生物描述为具有抗菌活性。在 EP-A-196 042 和 JP 01132600 中还描述了溶杆菌素的分离和抗菌活性。WO 04/099239 描述了具有抗菌活性的溶杆菌素衍生物。

在 O'Sullivan, J. 等, *J. Antibiot.* **1988**, *41*, 1740 – 1744, Bonner, D. P. 等, *J. Antibiot.* **1988**, *41*, 1745 – 1751, Shoji, J. 等, *J. Antibiot.* **1988**, *41*, 713 –

718 和 Tymiak, A. A.等, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 1149 – 1157 中还描述了溶杆菌素和片野菌素 A 的抗菌活性。

本发明的一个目的是提供具有可比较的或改善的抗菌活性、更好的溶解性和更好的耐受性的备选化合物，该化合物用于人和动物中细菌疾病的治疗。

本发明涉及下式化合物，



(Ia),

其中

R^1 表示 C_1-C_2-烷基，

其中 C_1-C_2-烷基被选自下组的取代基取代： 三甲代甲硅烷基，烷氧羰基，C_3-C_6-环烷基，烷氧基-取代的苯基，2-吡啶基和 3-吡啶基，

或

表示 C_4-C_8-烷基 ，

R^2 表示氢或 C_1-C_4-烷基，

R^3 表示 C_1-C_2-烷基，

其中 C_1-C_2-烷基被取代基三甲代甲硅烷基取代，

或

表示 C_4-C_6-烷基，

R^4 表示氢或甲基，

和它们的盐、它们的溶剂合物和它们的盐的溶剂合物。

本发明的化合物是式(I)和(Ia)的化合物和它们的盐、溶剂合物及其盐的溶剂合物和前药，由式(I)和(Ia)包括的以下提及的各式的化合物和它们的盐、溶剂合物、所述盐的溶剂合物和前药，以及由式(I)和(Ia)包括的作为示例性实施方案的在下文提及的化合物和它们的盐、溶剂合物、所述盐的溶剂合物和前药，就由式(I)和(Ia)所涵盖并且在后来提及的化合物而言，它们还不是盐、溶剂合物、所述盐的溶剂合物和前药。

取决于它们的结构，本发明的化合物以立体异构型(对映异构体，非对映异构体)存在。因此，本发明涉及对映异构体或非对映异构体及其各自的混合物。从对映异构体和/或非对映异构体的这些混合物中，立体异构纯的组分可以以已知方式分离出来是可能的。

如果本发明的化合物可以以互变异构形式存在，本发明包括所有的互变异构形式。

优选用于本发明的目的盐是本发明的化合物的生理可接受的盐。然而，本身不适合于药物应用但是可以用于例如分离或纯化本发明的化合物的盐也被包括在内。

本发明化合物的生理可接受的盐包括无机酸、羧酸和磺酸的酸加成盐，例如盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸、甲磺酸、乙磺酸、甲苯磺酸、苯磺酸、萘二磺酸、乙酸、三氟乙酸、丙酸、乳酸、酒石酸、苹果酸、柠檬酸、富马酸、马来酸和苯甲酸的盐。

本发明的化合物的生理可接受的盐还包括常用的碱的盐，诸如，作为实例，并且优选地碱金属盐(例如，钠和钾盐)，碱土金属盐(例如钙和镁盐)和衍生自氨或具有 1-16 个碳原子的有机胺的铵盐，所述有机胺诸如作为实例，并且优选地，乙胺、二乙胺、三乙胺、乙基二异丙胺、单乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、二环已胺、二甲基氨基乙醇、普鲁卡因、二苄基胺、*N*-甲基吗啉、精氨酸、赖氨酸、乙二胺和 *N*-甲基哌啶。

对于本发明的目的而言，溶剂合物指通过与溶剂分子的配位作用形成固体或液体状态的复合物的本发明的化合物的那些形式。水合物是溶剂合物的特殊形式，其中与水发生配位作用。

对于本发明的目的而言，除非另外指出，取代基具有下列含义：

烷基本身以及烷氧基和烷氧羰基中的“alk（烷基）”和“alkyl（烷基）”表示通常具有 1 至 6 个、优选 1 至 4 个、特别优选 1 至 3 个碳原子的直链或支链烷基基团，作为实例并且优选甲基、乙基、正丙基、异丙基、叔丁基、2,2-二甲基丙-1-基、正戊基和正己基。

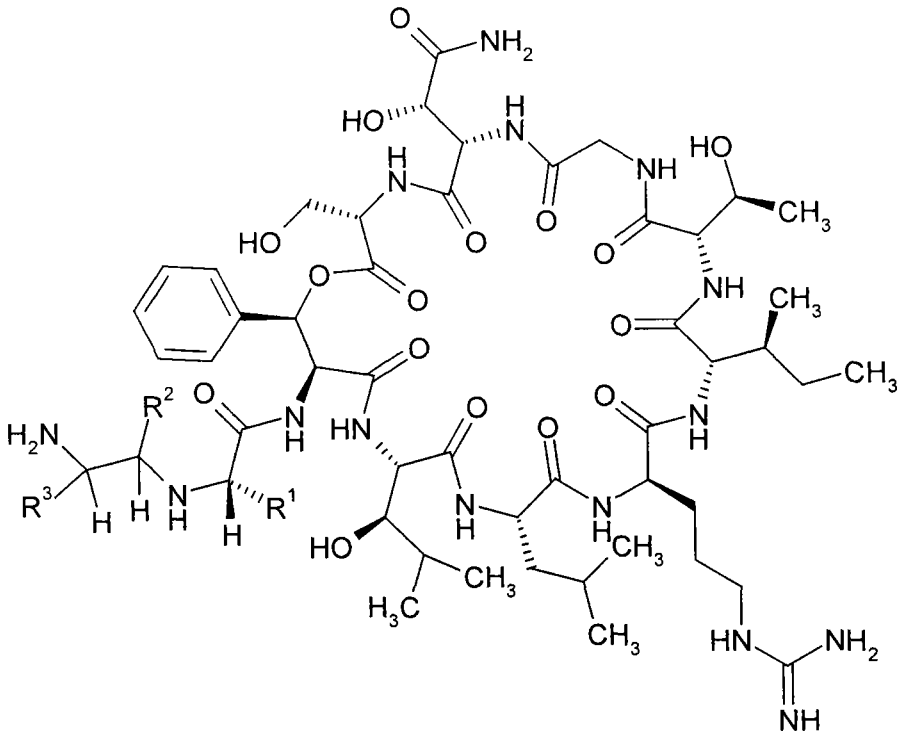
烷氧基，作为实例并且优选表示甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、叔丁氧基、正戊氧基和正己氧基。

烷氧羰基，作为实例并且优选表示甲氧羰基、乙氧羰基、正丙氧羰基、异丙氧羰基、叔丁氧羰基、正戊氧羰基和正己氧羰基。

环烷基表示通常具有 3 至 6 个碳原子的环烷基基团，作为实例并且优选为环丙基，环丁基，环戊基和环己基。

在各基团的分子式中，直线的末端，除了在每种情形中存在*以外，不表示碳原子或 CH_2 基团，而是与氮原子的键的组成部分，所述式的基团与所述氮原子连接。

用于本发明目的的优选化合物是下式的那些，



(I),

其中

R^1 表示 C_1-C_2-烷基，

其中 C_1-C_2-烷基被选自下组的取代基取代： 三甲代甲硅烷基，烷氧

羰基，C_3-C_6-环烷基，烷氧基-取代的苯基，2-吡啶基和 3-吡啶基，

或

表示 C_4-C_8-烷基，

R^2 表示氢或 C_1-C_4-烷基，

R^3 表示 C_1-C_2-烷基，

其中 C_1-C_2-烷基被取代基三甲代甲硅烷基取代，

或

表示 C_4-C_6-烷基，

和它们的盐，它们的溶剂合物和它们的盐的溶剂合物。

优选的化合物还有式(I)的那些，其中

R^1 表示 C_1-C_2-烷基

其中 C_1-C_2-烷基被取代基三甲代甲硅烷基取代，

或

表示 C_4-C_6-烷基，

R^2 表示氢或甲基，

R^3 表示 C_1-C_2-烷基，

其中 C_1-C_2-烷基被取代基三甲代甲硅烷基取代，

或

表示 C_4-C_6-烷基，

和它们的盐，它们的溶剂合物和它们的盐的溶剂合物。

特别优选的化合物是式(I)的那些，其中

R^1 表示三甲代甲硅烷基甲基或 2,2-二甲基丙-1-基，

R^2 表示氢，

R^3 表示三甲代甲硅烷基甲基或 2,2-二甲基丙-1-基，

和它们的盐，它们的溶剂合物和它们的盐的溶剂合物。

特别优选的化合物是式(I)的那些，其中 R^1 表示 2,2-二甲基丙-1-基。

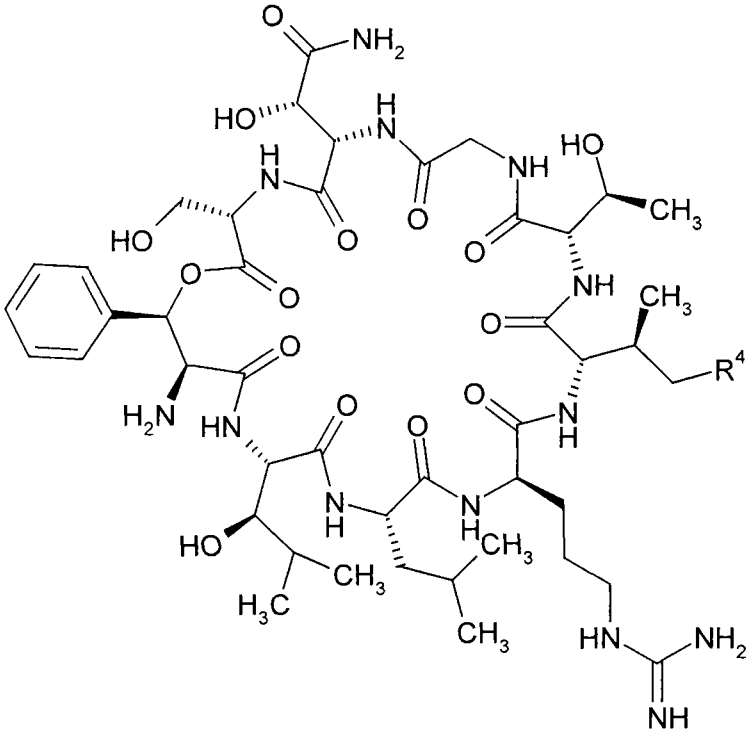
特别优选的化合物是式(I)的那些，其中 R^2 表示氢。

特别优选的化合物是式(I)的那些，其中 R^3 表示 2,2-二甲基丙-1-基。

在原子团的各个组合或优选组合中的具体指出的原子团的定义，也任意地被独立于所述原子团的各个组合的不同组合的原子团定义所替代。

还非常特别优选两个或更多上述优选范围的组合。

本发明进一步涉及制备式(Ia)的化合物的方法，其中下式的化合物

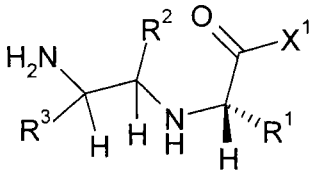


(II),

其中

R^4 具有以上所示含义,

与下式化合物反应，



(III),

其中

R^1, R^2 和 R^3 具有以上所示含义，并且

X^1 表示卤素，优选溴，氯或氟，或羟基。

如果 X^1 是卤素，则所述反应一般发生在惰性溶剂中，当合适时存在碱，优选在大气压下在-30°C 至 50°C 的温度范围内。

惰性溶剂是，例如，四氢呋喃、二氯甲烷、吡啶、二噁烷或二甲基甲酰胺；优选吡啶或二甲基甲酰胺。

优选的惰性溶剂是四氢呋喃或二氯甲烷。

碱是，例如，三乙胺、二异丙基乙胺或 N-甲基吗啉；优选二异丙基乙

胺。

如果 X^1 是羟基，所述反应一般在脱水剂存在下在惰性溶剂中进行，当合适时在碱存在下，优选在大气压下在-30°C 至 50°C 的温度范围内。

惰性溶剂是，例如，卤代烃诸如二氯甲烷或三氯甲烷，烃诸如苯、硝基甲烷、二噁烷、二甲基甲酰胺或乙腈。同样可以采用这些溶剂的混合物。特别优选二氯甲烷或二甲基甲酰胺。

因此适合的脱水剂的实例有碳二亚胺诸如*N,N'*-二乙基-, *N,N,'*-二丙基-, *N,N'*-二异丙基-, *N,N'*-二环已基碳二亚胺, *N*-(3-二甲基氨基异丙基)-*N'*-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC), *N*-环已基碳二亚胺-*N'*-丙基氧基甲基聚苯乙烯(PS-碳二亚胺)或鎓基化合物诸如鎓二咪唑, 或1,2-噁唑鎓(oxazolium)化合物诸如2-乙基-5-苯基-1,2-噁唑鎓-3-硫酸盐或2-叔-丁基-5-甲基异噁唑鎓高氯酸盐, 或酰基氨基化合物诸如2-乙氧基-1-乙氧基羰基-1,2-二氢喹啉, 或丙烷膦酸酐, 或氯甲酸异丁酯, 或二(2-氧代-3-噁唑烷基)磷酰氯, 或苯并三唑基氧基-三-(二甲基氨基)六氟膦酸鏻, 或*O*-(苯并三唑-1-基)-*N,N,N',N'*-四甲基脲鎓六氟磷酸盐(HBTU), 2-(2-氧代-1-(2H)-吡啶基)-1,1,3,3-四甲基脲鎓四氟硼酸盐(TPTU)或*O*-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-*N,N,N',N'*-四甲基脲鎓六氟磷酸盐(HATU), 或1-羟基苯并三唑(HOBt)，或苯并三唑-1-基氧基三-(二甲基氨基)六氟磷酸鏻(BOP), 或*N*-羟基琥珀酰亚胺，或这些与碱的混合物。

碱是，例如，碱金属碳酸盐，诸如，例如，碳酸钠或碳酸钾，或碳酸氢盐，或有机碱诸如三烷基胺，例如，三乙胺、*N*-甲基吗啉、*N*-甲基哌啶、4-二甲基氨基吡啶或二异丙基乙胺。

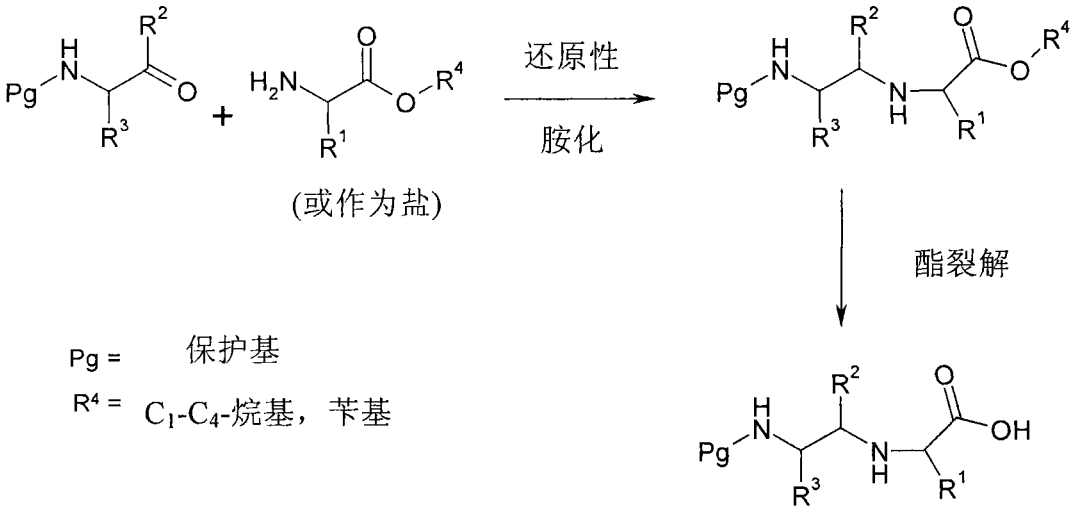
优选利用 HATU 或利用 EDC 在 HOBt 存在下进行所述缩合。

式(III)的化合物任选含有保护基，因此在这些情况下式(II)化合物与式(III)化合物的反应之后根据本领域技术人员已知的方法，例如使用三氟乙酸或通过氢解除去所述保护基。

可以从溶杆菌素(实施例 1A)通过双 Edmann 降解法合成式(II)的化合物，如实验部分中实施例 2A 至 5A 的实验部分中所述。

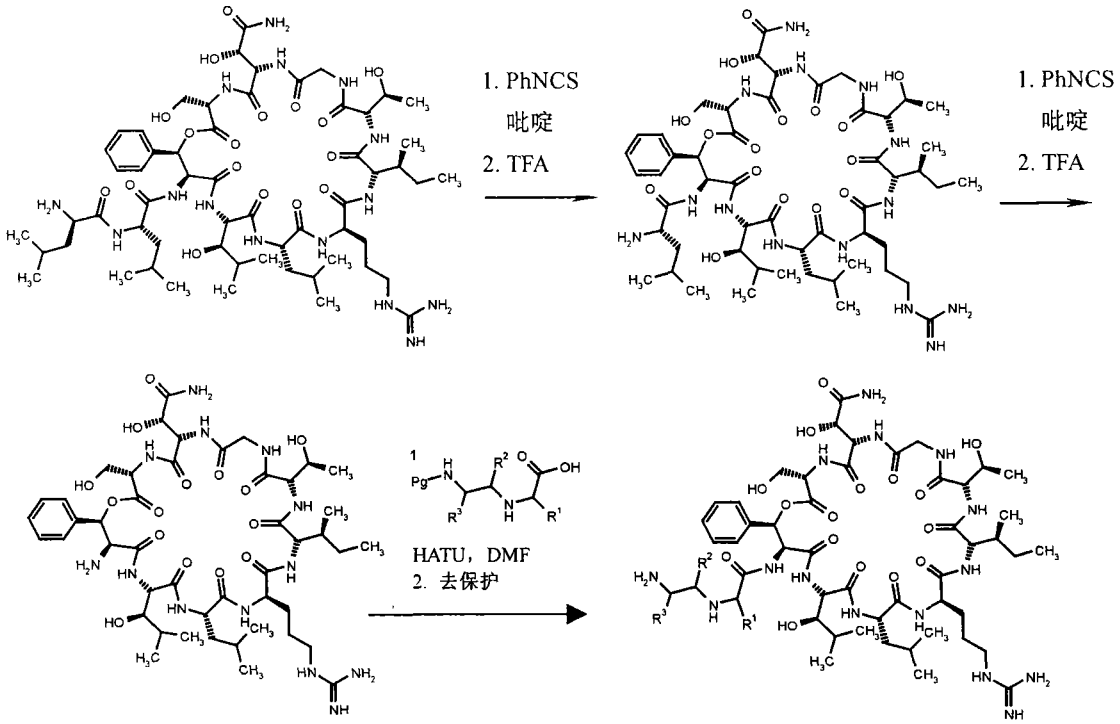
式(III)的化合物是已知的或者可以由相应的原材料通过已知方法、例如通过下列合成方案合成：

合成方案 1:

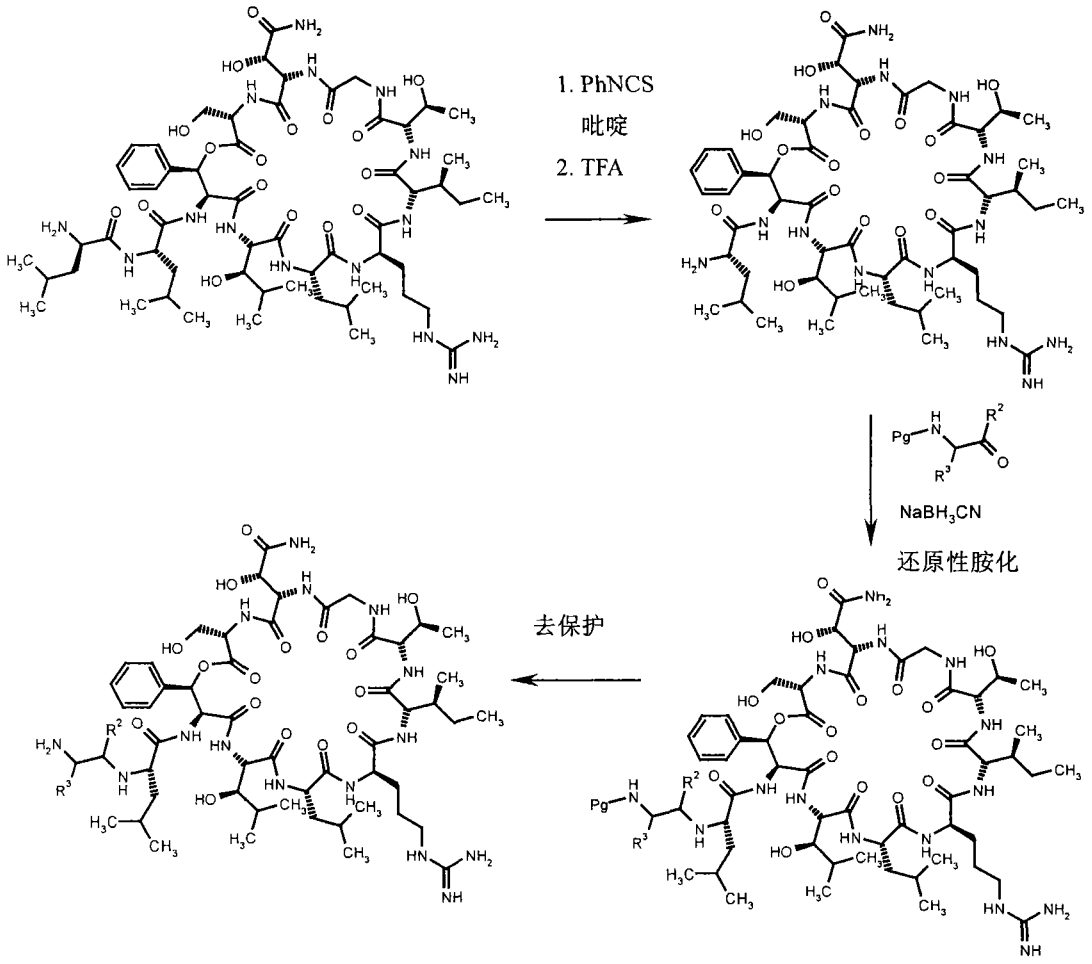


本发明化合物的制备可以通过下列合成方案举例说明。

合成方案 2:



合成方案 3:



本发明的化合物显示不能被预测的有价值的药理学活性谱。它们显示抗菌活性。

它们因此适用于用作治疗和/或预防人和动物中疾病的药物。

本发明的化合物特征在于与溶杆菌素相比更好的溶解性。

所述九酯肽类作为细菌细胞壁生物合成的抑制剂。

本发明的制剂针对细菌和类细菌的微生物是特别有效的。它们因此特别适于由这些病原体在人和兽医学中所引起的局部和全身感染的预防和化学疗法。

原则上，可以将本发明的制剂用于针对拥有细菌细胞壁(胞壁质球囊)或相应酶系统的全部细菌和类细菌的微生物，例如下列病原体或下列病原体的混合物：

革兰氏阴性球菌(淋病奈瑟氏菌(*Neisseria gonorrhoeae*))还有革兰氏阴

性杆菌诸如肠杆菌科(Enterobacteriaceae)，例如大肠杆菌(*Escherichia coli*)、流感嗜血杆菌(*Haemophilus influenzae*)、假单胞菌属(Pseudomonas)、克雷伯氏菌属(Klebsiella)、柠檬酸杆菌属(Citrobacter)(弗氏柠檬酸杆菌(*C. freundii*)、*C.divernis*)、沙门氏菌属(Salmonella)和志贺氏杆菌属(Shigella)；此外还有肠杆菌属(Enterobacter)(产气肠杆菌(*E. aerogenes*)、成团肠杆菌(*E. agglomerans*)、哈夫尼菌属(Hafnia)、沙雷氏菌属(Serratia)(粘质沙雷氏菌(*S. marcescens*))、普罗威登斯菌属(Providencia)、耶尔森氏菌属(Yersinia)，还有不动杆菌属(Acinetobacter)、布兰汉氏球菌属(Branhamella)和衣原体(Chlamydia)。而且，所述抗菌谱包括严格厌氧菌诸如，例如，脆弱拟杆菌(*Bacteroides fragilis*)，消化球菌属(Peptococcus)、消化链球菌属(Peptostreptococcus)的代表，还有梭状芽胞杆菌属(Clostridium)；此外还有分枝杆菌属(Mycobacteria)，例如结核分枝杆菌(*M. tuberculosus*)。本发明的化合物显示对于革兰氏阳性球菌的特别显著的效果，所述革兰氏阳性球菌例如葡萄球菌(Staphylococci)(金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)、表皮葡萄球菌(*S. epidermidis*)、溶血葡萄球菌(*S. haemolyticus*)、肉葡萄球菌(*S. carnosus*))、肠球菌属(enterococci)(粪肠球菌(*E. faecalis*)、屎肠球菌(*E. faecium*))和链球菌属(streptococci)(无乳链球菌(*S. agalactiae*)、肺炎链球菌(*S. pneumoniae*)、化脓链球菌(*S. pyogenes*))。

上述病原体列表仅应被解释为是例举性的而绝非限制性的。可以提到的由所述病原体或混合感染所引起并且可以通过本发明的制剂预防、改善或治愈的疾病例如有：

在人中的感染性疾病，例如，无并发症的和并发的尿路感染，无并发症的皮肤和表皮感染，并发的皮肤和软组织感染，医院中获得性肺炎和作为门诊患者、医院的肺炎，慢性支气管炎的急性恶化和继发细菌感染，急性中耳炎，急性鼻窦炎，链球菌咽炎，细菌性脑膜炎，无并发症的淋球菌和非-淋球菌尿道炎/宫颈炎，急性前列腺炎，心内膜炎，无并发症的和并发的腹内感染，妇科感染，盆腔炎疾病，细菌性阴道病，急性和慢性骨髓炎，急性细菌性关节炎，发热性中性白细胞减少患者(febrile neutropenic patients)中的经验疗法，还有菌血症(bacteraemias)，MRSA 感染，急性传染性腹泻，幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)感染，手术后的感染，牙原性

感染(odontogenic infections)，眼科感染，手术后的感染(包括门静脉周脓肿、创伤感染、胆道感染，乳腺炎和急性阑尾炎)，囊性纤维化病和支气管扩张症。

除人之外，还可以在其它物种中治疗细菌感染。可以提到的实例是：

猪：腹泻、肠源性毒血症(enterotoxaemia)、败血症、痢疾、沙门氏菌病、子宫炎-乳腺炎-乳泌缺乏综合征(agalactiae syndrome)、乳腺炎；

反刍动物(牛、绵羊、山羊)：腹泻、败血症、支气管性肺炎、沙门氏菌病、巴斯德菌病、生殖器感染；

马：支气管性肺炎、关节病、分娩的和分娩后感染、沙门氏菌病；

狗和猫：支气管肺炎、腹泻、皮炎、耳炎、尿路感染、前列腺炎；

家禽(小鸡、火鸡、鹌鹑、鸽子、观赏鸟类及其它)：大肠杆菌感染、慢性呼吸道疾病、沙门氏菌病、巴斯德菌病、鹦鹉热。

它同样可以在饲养和抚养生产性和观赏用鱼类中治疗细菌病，所述抗菌谱从而在上述病原体上还延伸到病原体诸如，例如，巴斯德菌属(Pasteurella)、布鲁氏菌属(Brucella)、弯曲杆菌属(Campylobacter)、李斯特菌属(Listeria)、丹毒丝菌属(Erysipelothris)、棒状杆菌(Corynebacteria)、疏螺旋体属(Borellia)、密螺旋体(Treponema)、诺卡氏菌属(Nocardia)、立克次氏体(Rickettsia)、耶尔森氏菌属(Yersinia)。

本发明还涉及本发明的化合物用于治疗和/或预防疾病，特别是细菌感染性疾病的应用。

本发明还涉及本发明的化合物用于治疗和/或预防疾病，特别是上述疾病的应用。

本发明还涉及本发明的化合物用于生产治疗和/或预防疾病、特别是上述疾病的药物的应用。

优选将本发明的化合物用于生产适于预防和/或治疗细菌疾病的药物。

本发明还涉及利用抗菌有效量的本发明化合物治疗和/或预防疾病的方法，所述疾病特别是上述疾病。

本发明还涉及包含至少一种本发明化合物和至少一种或多种另外的活性化合物的药物，特别是用于治疗和/或预防上述疾病。组合用的优选活性化合物是抗菌活性的化合物，其具有不同的活性谱，特别是补充的活性谱，

和/或对本发明的化合物是有协同作用的。

本发明的化合物可以全身和/或局部起作用。为此目的，它们可以以适合的方式进行施用，所述方式诸如，例如通过口服的、肠胃外的、经肺的、经鼻的、舌下的、舌的、颊的、直肠的、皮肤的、透皮的、结膜的、耳的途径，或作为植入物或支架。

本发明的化合物可以以适合于这些给药途径的给药形式进行施用。

适合于口服给药的是这样的给药形式，其按照现有技术发挥功能并且快速地和/或以改进的方式递送本发明的化合物，并且其包括晶体形式和/或非晶形形式和/或溶解形式的本发明的化合物，诸如，例如片剂(未包衣的或包衣片剂，例如具有延迟溶解或者是不可溶的并且控制本发明化合物释放的肠溶衣或包衣)，快速在口腔中崩解的片剂或薄膜/糯米纸囊剂，薄膜/冻干物，胶囊(例如硬或软明胶胶囊)，糖衣片剂，颗粒剂，丸剂，粉末，乳剂，混悬剂，气溶胶或溶液。

肠胃外给药的发生可以避免吸收步骤(例如，静脉内、动脉内、心脏内、脊髓内或腰椎内)，或包含吸收(例如，肌内、皮下、皮内、经皮或腹膜内)。适合于肠胃外给药的给药形式特别是，用于注射和输注的，以溶液、混悬液、乳剂、冻干物或无菌粉末形式存在的制剂。

适合于其它给药途径的实例是用于吸入的药物形式(特别是粉末吸气器，喷雾器)，滴鼻剂，溶液，喷雾剂；可以通过舌、舌下或颊施用的片剂，薄膜/糯米纸囊剂或胶囊；栓剂，用于眼和耳的制剂，阴道胶囊，水性混悬液(洗剂，振摇混合物)，亲脂性混悬液，软膏剂，乳膏剂，透皮治疗系统（如，例如贴片），乳，糊剂，泡沫，扑粉，植入物或支架。

可以将本发明的化合物转化成为所述的给药形式。这可以以本身已知的方式通过混合以惰性、非毒性的药用的赋形剂来进行。这些赋形剂包括，特别是，载体(例如微晶纤维素，乳糖，甘露醇)，溶剂(例如液体聚乙二醇)，乳化剂和分散剂或湿润剂(例如十二烷基硫酸钠，聚氧基失水山梨糖醇油酸酯)，粘合剂(例如聚乙烯吡咯烷酮)，合成的和天然的聚合物(例如白蛋白)，稳定剂(例如抗氧化剂诸如抗坏血酸)，颜料(例如无机颜料诸如氧化铁)或味道和/或气味矫正剂。

本发明还涉及这样的药物和将其用于前述目的的应用，所述药物包括

至少一种本发明的化合物，以及通常地一种或多种惰性、非毒性药用的赋形剂。

通常，以约 0.001 到 100 mg/kg，优选地约 0.1 到 10 mg/kg 体重的静脉内给药量施用从而获得有效效果被证明有利的，并且口服给药所用的剂量是约 0.01 到 50 mg/kg，优选地 0.5 到 10 mg/kg 体重。

然而，可能需要的是，当需要时偏离提及的量，其具体地作为体重、给药途径、对活性成分的个体行为、制剂类型和在施用发生过程中的时间或间隔的函数。因此，在某些情形中以少于前述最小量进行的施用可以是充分的，而在其它情形中，必须超过提及的上限。在更大量的施用的情形中，可以推荐将这些分成一天内的多个单独剂量。

除非另外指出，在下述测试中的百分比是重量百分比；实施例中的产率是摩尔百分比；份是重量份。液体/液体溶液的溶剂比率、稀释比率和浓缩在每种情形中都是基于体积。

A. 实施例

缩写

Area	(峰)面积
BHI	脑心浸液
Boc	叔-丁氧羰基
br.	宽信号(在 NMR 光谱中)
calc.	计算值
conc.	浓缩的
d	双峰(在 NMR 光谱中)
DCI	直接化学电离(在 MS 中)
DCM	二氯甲烷
DIEA	*N,N*-二异丙基乙胺
DMF	*N,N*-二甲基甲酰胺
DMSO	二甲亚砜
EA	乙酸乙酯(乙酸乙基酯)

EDC	1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺 (也是EDCI)
EDCxHCl	1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐
EI	电子碰撞电离(MS 中)
ESI	电喷雾电离(MS 中)
Ex.	实施例
fnd.	实验值
Gen.	一般地
h	小时
HATU	邻-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-*N,N,N',N'*-四甲基脲鎓六氟磷酸盐
HOBt	1-羟基苯并三唑
HPLC	高压或高效液相色谱法
HR	高分辨率
i. V.	真空
LC-MS	液相色谱-偶联质谱法
LDA	二异丙基氨基化锂
m	中间(在 UV 和 IR 光谱中)
m	多重峰(在 NMR 光谱中)
MALDI	基体-辅助的激光脱附/电离
MIC	最低抑制浓度
min	分钟(单数)/分钟(复数)
Mp.	熔点
MRSA	耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌
MS	质谱法
NCCLS	国家临床实验室标准委员会(National Committee for Clinical Laboratory Standards)
neg.	负的
NMM	*N*-甲基吗啉
NMR	核磁共振光谱法

of th.	理论值的
p.a.	分析级(per analysi)
Pd-C	披钯碳
perc.	百分比
pos.	正的
quant.	定量
RP-HPLC	反相 HPLC
RT	室温
R_t	保留时间(在 HPLC 中)
s	强 (在 UV 和 IR 光谱中)
s	单峰(在 NMR 光谱中)
satd.	饱和的
TBTU	邻-(苯并三唑-1-基)-*N,N,N',N'*-四甲基脲鎓四氟硼酸盐
TCTU	邻-(1H-6-氯苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲鎓四氟硼酸盐
TFA	三氟乙酸
TFE	2,2,2-三氟乙醇
THF	四氢呋喃
TLC	薄层色谱法
TOF	飞行时间
UV	紫外线
vis	可见的
VRSA	耐万古霉素的金黄色葡萄球菌
w	弱(在 UV 和 IR 光谱中)
Z, Cbz	苄氧羰基

文献

对于肽和环酯肽(cyclodepsipeptides)的命名法，参考：

1. A Guide to IUPAC Nomenclature of Organic Compounds

(Recommendations 1993), **1993**, Blackwell Scientific publications.

2. Nomenclature and symbolism for amino acids and peptides. Recommendations 1983. IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature, UK. *Biochemical Journal* **1984**, *219*, 345–373. 以及引用的文献。

通用方法 LC-MS, HR-MS, HPLC 和凝胶色谱法

方法 1 (HPLC): 仪器: HP1100，具有 DAD (G1315A)和自动取样器 (G1329A), 自动取样器 therm (G1330A, 5°C), 脱气器 (G1322A)和双泵 (G1312A); 前置柱: Waters Symmetry C-18, 10 x 2.1 mm, 3.5 μm; 分析柱: Waters Symmetry C-18, 50 x 2.1 mm, 3.5 μm; 柱温: 45°C; 洗脱剂 A: 水/0.05% 三氟乙酸; 洗脱剂 B: 乙腈/0.05% 三氟乙酸; 流速: 0.4 ml/min.; 梯度 9 min 内 0-100% B, 此后在 100% B 下 3 min, 此后再生柱。

方法 2 (LC-MS): 仪器: Micromass LCT; 电离化: ESI 正/负; HP1100，具有 DAD 和自动取样器; 炉 40°C; 柱: Waters Symmetry C-18, 50 x 2.1 mm, 3.5 μm; 洗脱剂 A: 0.1% 甲酸/乙腈, 洗脱剂 B: 0.1% 甲酸/水; 流速: 0.5 ml/min.; 梯度: 0-1 min 0% A, 1-6 min 90% A, 6-8 min 100% A, 8-10 min 100% A, 10-15 0% A.

方法 3 (HPLC): 仪器: Gilson Abimed HPLC; UV 检测器 254 nm; 双泵系统; 柱: Nucleosil RP-18, 7 μm; 250 x 50 mm; 流速: 30 ml/min; 洗脱剂 A: 水/0.1% 三氟乙酸, 洗脱剂 B: 乙腈/0.1% 三氟乙酸; 梯度: 0-40 min 20-25% B, 40-60 min 25% B, 60-110 min 25-50% B, 110-120 min 50% B, 120-130 min 50-100% B, 130-160 min 100% B, 随后再生色谱柱。

方法 4 (HPLC): 仪器: Gilson Abimed HPLC; UV 检测器 254 nm; 双泵系统; 柱: Nucleosil RP-18, 7 μm; 250 x 50 mm; 流速: 40 ml/min; 洗脱剂 A: 水/0.05% 三氟乙酸, 洗脱剂 B: 乙腈/0.05% 三氟乙酸; 梯度: 0-105 min 20-25% B, 105-111 min 25% B, 111-131 min 25-27% B, 131-157 min 27-35% B, 157-192 min 35-40% B, 192-207 min 40-45% B, 随后再生色谱柱。

方法 5 (HPLC): 仪器: Gilson Abimed HPLC; UV 检测器 254 nm; 双泵系统; 柱: Nucleosil RP-18, 7 μm; 250 x 50 mm; 流速: 40 ml/min; 洗脱剂 A: 水/0.05% 三氟乙酸, 洗脱剂 B: 乙腈/0.05% 三氟乙酸; 梯度: 0-40 min

20-25% B, 40-105 min 25% B, 105-130 min 25-27% B, 130-170 min 27-40% B, 170-190 min 40% B, 190-210 min 40-45% B, 随后再生色谱柱。

方法 6 (在 Sephadex LH-20 上的凝胶色谱法): 在不加压下在 Sephadex LH-20 (Pharmacia)上进行凝胶色谱分离。根据 UV 活性(UV 检测器，254 nm, Knauer)进行分级(级分收集器 ISCO Foxy 200)，柱尺寸：32×7 cm (1000–100 μmol 规模)；30×4 cm (100–10 μmol 规模)；25×2 cm (10–1 μmol 规模)。

方法 7 (制备 HPLC; Symmetry): 仪器: Gilson Abimed HPLC; UV 检测器 210 nm; 双泵系统; 柱: SymmetryPrep$^{TM}C_{18}$, Waters, 7 μm; 300 x 19 mm; 流速: 20 ml/min; 洗脱剂 A: 水中的 0.05% 三氟乙酸, 洗脱剂 B: 乙腈中的 0.05%三氟乙酸; 梯度: 0-3 min 10% B, 3-30 min 梯度斜度(斜度)10-90% B, 30-38 min 90% B, 38-45 min 10% B.

方法 8 (制备 HPLC; Symmetry; TFA): 仪器: Gilson Abimed HPLC; UV 检测器 210 nm; 双泵系统; 柱: SymmetryPrep$^{TM}C_{18}$, Waters, 7 μm; 300 x 19 mm; 流速: 7 ml/min; 洗脱剂 A: 水/0.1-0.25% 三氟乙酸, 洗脱剂 B: 乙腈; 梯度: 0-8 min 5% B, 8-40 min 5-60% B, 40-60 min 60% B, 60-75 min 60-100% B, 75-80 min 100% B, 随后再生色谱柱。

方法 9 (制备 HPLC; Kromasil, 乙酸): 仪器: Gilson Abimed HPLC; UV 检测器 210 nm; 双泵系统; 柱: Kromasil-100A C_{18}, 5 μm; 250 x 20 mm; 流速: 25 ml/min; 洗脱剂 A: 水/0.25-0.5% 乙酸, 洗脱剂 B: 乙腈; 梯度: 0-3 min 5% B, 3-30 min 5-100% B, 30-38 min 100% B, 随后再生色谱柱。

方法 10 (制备 HPLC; Symmetry; 对于终产物灵敏): 仪器: Gilson Abimed HPLC; UV 检测器 210 nm; 双泵系统; 柱: SymmetryPrep$^{TM}C_{18}$, Waters, 7 μm; 300 x 19 mm; 洗脱剂 A: 在水中 0.05% 三氟乙酸, 洗脱剂 B: 在乙腈中 0.05% 三氟乙酸; 梯度: 0-5 min 5% B，流速 20 ml/min, 5-30 min 的 5 至 60%B 的梯度斜度，具有下列流速增加: 从 6 min 起 22 ml/min, 从 10 min 起 23 ml/min, 从 15 min 起 24 ml/min; 30-35 min 的 60%至 98% B 的梯度斜度，从 38 min 起流速降低至 21 ml/min; 40-45 min 10% B。

方法 11 (LC-MS): 仪器类型 MS: Micromass ZQ; 仪器类型 HPLC: HP 1100 系列; UV DAD; 柱: Grom-Sil 120 ODS-4 HE 50 x 2 mm, 3.0 μm;

洗脱剂 A: 水/0.025% 甲酸/l, 洗脱剂 B: 乙腈/0.025% 甲酸; 梯度: 0-2.9 min 0-70% B, 2.9-3.1 min 70-90% B, 3.1-4.5 min 70-90% B; 炉: 50°C, 流速: 0.8 ml/min, UV 检测: 210 nm.

方法 12 (LC-MS): 仪器类型 MS: Micromass LCT (ESI pos./neg.); 仪器类型 HPLC: HP 1100 系列; UV DAD 1100 系列; 柱 SymmetryPrep$^{TM}C_{18}$, Waters, 50 x 2.1 mm, 3.5 µm; 洗脱剂 A: 水/0.1% 甲酸, 洗脱剂 B: 乙腈/0.1% 甲酸; 梯度: 0-1 min 0% B, 1-5.5 min 0-95% B, 5.5-8 min 95% B, 8-8.1 min 95-0% B, 8.1-10 min 0% B, 随后再生色谱柱。 炉: 40°C, 流速: 0.5 ml/min (在 8.1-10 min 短时间至 1 ml/min), UV 检测: 210 nm.

方法 13 (HPLC): 仪器类型 HPLC: HP 1050 系列; UV DAD 1100 系列; 柱 SymmetryPrep$^{TM}C_{18}$, Waters, 50 x 2.1 mm, 3.5 µm; 洗脱剂 A: 水/0.05% 三氟乙酸, 洗脱剂 B: 乙腈; 梯度: 0-9 min 0-100% B, 9-11 min 100% B, 11-12 min 100-0% B, 随后再生色谱柱。 炉: 40°C, 流速: 0.4 ml/min, UV 检测: 210 nm.

方法 14 (LC-MS): 仪器类型 MS: Micromass ZQ; 仪器类型 HPLC: Waters Alliance 2795; 柱: Phenomenex Synergi 2 µm Hydro-RP Mercury 20 x 4 mm; 洗脱剂 A: 水/0.25% 甲酸, 洗脱剂 B: 乙腈/0.25% 甲酸; 梯度: 0.0-2.5 min, 90-30% A, 流速 1-2 ml/min, 2.5-3.0 min, 30-5% A, 流速 2.0 min, 3.0-4.5 min, 5% A; 炉: 50°C; UV 检测: 210 nm.

方法 15 (分析 HPLC): 仪器类型 HPLC: HP 1050 系列; UV DAD 1100 系列; 柱: Kromasil C_{18}, 60 x 2 mm, 3.5 µm; 洗脱剂 A: 水/0.5% 高氯酸, 洗脱剂 B: 乙腈; 梯度: 0–0.5 min 2% B, 0.5–4.5 min 2–90% B, 4.5–9.0 min 90% B, 9.0–9.2 min 90–2% B, 9.2–10.0 min 2% B; 流速: 0.75 ml/min, 炉: 30°C, UV 检测 210 nm.

方法 16 (LC-MS): 仪器: Micromass Quattro LCZ 和 HPLC Agilent 系列 1100; 柱: Phenomenex Synergi 2 µ Hydro-RP Mercury 20 mm x 4 mm; 洗脱剂 A: 1 l 水 + 0.5 ml 的 50% 甲酸, 洗脱剂 B: 1 l 的乙腈 + 0.5 ml 的 50% 甲酸; 梯度: 0.0 min 90%A → 2.5 min 30%A → 3.0 min 5%A → 4.5 min 5%A; 流速: 0.0 min 1 ml/min, 2.5 min/3.0 min/4.5 min 2 ml/min; 炉: 50°C; UV 检测: 208–400 nm.

方法 17 (LC-MS): 仪器类型 MS: Micromass ZQ; 仪器类型 HPLC: HP 1100 系列; UV DAD; 柱: Phenomenex Synergi 2 μ Hydro-RP Mercury 20 mm x 4 mm; 洗脱剂 A: 1 l 水 + 0.5 ml 的 50% 甲酸, 洗脱剂 B: 1 l 的乙腈 + 0.5 ml 的 50% 甲酸; 梯度: 0.0 min 90%A → 2.5 min 30%A → 3.0 min 5%A → 4.5 min 5%A; 流速: 0.0 min 1 ml/min, 2.5 min/3.0 min/4.5 min. 2 ml/min; 炉: 50°C; UV 检测: 210 nm.

方法 18 (LC-MS): 仪器: Micromass Quattro LCZ 和 HPLC Agilent 系列 1100; 柱: Phenomenex Synergi 2 μm Hydro-RP Mercury 20 mm x 4 mm; 洗脱剂 A: 1 l 水 + 0.5 ml 的 50% 甲酸, 洗脱剂 B: 1 l 的乙腈 + 0.5 ml 的 50% 甲酸; 梯度: 0.0 min 90%A → 2.5 min 30%A → 3.0 min 5%A → 4.5 min 5%A; 流速: 0.0 min 1 ml/min, 2.5 min/3.0 min/4.5 min 2 ml/min; 炉: 50°C; UV 检测: 208–400 nm.

方法 19 (分析 HPLC): 仪器: Agilent 1100，具有 DAD (G1315B), 双泵 (G1312A), 自动取样器 (G1313A), 溶剂脱气器 (G1379A)和柱恒温器 (G1316A); 柱: Agilent Zorbax Eclipse XDB-C8 4.6 x 150 x 5 mm; 柱温: 30°C; 洗脱剂 A: 0.05% 70% 高氯酸，在水中; 洗脱剂 B: 乙腈; 流速: 2.00 ml/min; 梯度: 0–1 min 10% B, 斜度, 4–5 min 90% B, 斜度, 5.5 min 10% B.

方法 20 (MALDI-MS): 在装配了 TOF/TOF 离子光学系统和 200 Hz Nd:YAG 激光器(355 nm)的 4700 Proteomics Analyzer (Applied Biosystems, Framingham, MA, USA)上进行 *MALDI-MS/MS* 研究。准分子离子在离子源中使用 8 kV 加速，使用电子偏转器(MS1)选择，并在布置在 MS1 和 MS2 之间的冲击室中与氩原子撞击。获得的碎片离子使用 15 kV 再加速，并使用第二次飞行质量分析仪(MS2)进行表征。

方法 21 (TOF-HR-MS): 使用 Micromass LCT 仪器 (毛细管电压: 3.2 KV, 锥形电压(cone voltage): 42 V, 源极温度: 120°C, 去溶剂化温度: 280°C)记录 *TOF-HR-MS-ESI*+光谱。为此，将输液泵(Harvard Instrument)用于进样。将亮氨酸脑磷脂(enkephalin)(Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu)用作标准。

方法 22 (制备 HPLC): 仪器: Gilson Abimed HPLC; UV 检测器 210 nm; 双泵系统; 柱: Reprosil ODS-A, 5 μm, 250 x 20 mm; 洗脱剂 A: 在水中的

0.2%三氟乙酸，洗脱剂 B: 乙腈; 流速: 25 ml/min; 柱温 40°C; 0–10 min 20% B, 10–15 min 80% B.

方法 23 (FT-ICR-HR-MS): 在高分辨率 Apex II 傅里叶变换离子回旋共振质谱计(Bruker Daltonik GmbH, Bremen)上进行质量精密测量，所述质谱计配置了 7 特斯拉磁铁、外部电喷雾离子源和基于 Unix 的 XMASS 数据系统。质量分辨率约为 40,000 (50%谷值定义(valley definition))。

方法 24 (LC-MS): 仪器: Micromass Platform LCZ，具有 HPLC Agilent 系列 1100; 柱: Phenomenex Synergi 2 μ Hydro-RP Mercury 20 mm x 4 mm; 洗脱剂 A: 1 l 水 + 0.5 ml 的 50% 甲酸, 洗脱剂 B: 1 l 的乙腈 + 0.5 ml 的 50% 甲酸; 梯度: 0.0 min 90%A → 2.5 min 30%A → 3.0 min 5%A → 4.5 min 5%A; 流速: 0.0 min 1 ml/min, 2.5 min/3.0 min/4.5 min 2 ml/min; 炉: 50°C; UV 检测: 210 nm.

方法 25 (制备 HPLC)仪器: Gilson Abimed HPLC; UV 检测器 210 nm; 双泵系统; 柱: Grom-Sil SNo.4051 120 ODS-4HE, 10 μm, 250 x 40 mm; 洗脱剂 A: 在水中 0.1% 三氟乙酸 , 洗脱剂 B: 在乙腈中 0.1% 三氟乙酸; 流速: 50 ml/min; 0-3 min 10% B, 3-27 min 梯度斜度, 27-35 min 95% B, 35-40 min 10% B.

<u>一般工作步骤</u>

一般工作步骤 1 (Edman$^{0.5\ 和\ 1.5}$)

在氩气保护气体的气氛下将异硫氰酸苯酯 (50 mmol)滴加到无水吡啶(30 ml)中的无 N-末端的肽(0.3 mmol)的溶液中。将反应混合物在 37°C 下搅拌（约 1 小时）直至分析 HPLC 检查(方法 13)指示充分转化(>95%)。在温度控制下(<40°C)真空浓缩反应混合物，然后冻干。

一般工作步骤 2 (Edman$^{1.0\ 和 2.0}$)

在氩气保护气体的气氛下，将肽硫脲(0.2 mmol)作为固体用无水三氟乙酸在剧烈搅拌下处理，然后在 40°C 搅拌(约 20 min)直至分析 HPLC 检查指示充分转化(>95%)。将反应混合物在室温下（温控）真空快速浓缩。为了将粗产物与其余的三氟乙酸分离，将粗产物置入二氯甲烷中，再次真空去除溶剂。将该过程使用甲苯（两次）和使用二氯甲烷（两次）重复多次。

最后，将粗产物冻干。

一般工作步骤 3 (还原性胺化)

(脱氧(二肽)酯实施例 25A 至 37A 和实施例 51A 至 54A 的制备)

将 N-保护的氨基醛(1.2 –1.3 eq.)，胺（氨基酯或实施例 3A，为盐酸盐或 TFA 盐）(1 eq.)和乙酸钠(1 eq.)最初提供在无水 DMF 中并在 0°C 下用氰基硼氢钠(2 eq.)处理。从 0°C 至 RT 搅拌获得的溶液直至胺完全反应（通过分析 HPLC (方法 19)或 LC-MS (方法 17)测定反应）。

对于小批次（可达约 0.7 mmol)，然后将全部的反应混合物通过 HPLC (方法 7)纯化。对于较大批次，将混合物首先通过 Sephadex 柱 (方法 6)预纯化，随后通过制备 HPLC (方法 7)再次纯化获得的产物。通过冻干适当的级分来分离产物。

含有吡啶基的化合物通常通过该方法提供吡啶基-氰基硼烷。在本情形中，将这溶解在乙醇中并在回流下加热 24 小时。获得游离的脱氧二肽酸酯(deoxodipeptidic acid ester)。这用少许二甲亚砜处理，在 Rotavapor 上除去乙醇并通过 HPLC (方法 7)纯化。

一般工作步骤 4 (来自甲酯的脱氧(二肽)酸)

(制备实施例 38A 至 49A)

将脱氧(二肽)甲酯溶解在甲醇中并与过量的氢氧化锂(5-10 eq., 在水中的 1N 溶液)在 RT 下搅拌直至分析 HPLC (方法 19)显示完全水解。然后用 1N 盐酸将混合物酸化，在 Rotavapor 上浓缩并通过制备 HPLC 纯化。通过冻干适当的级分分离产物。

一般工作步骤 5 (从苄基酯氢解释放脱氧(二肽)酸)

(制备实施例 50A)

将脱氧(二肽)苄基酯溶解在乙醇(10-15 ml/mmol)中并在 1 atm.的氢下在作为催化剂的 Pd (10%，在碳上) (40-50 mg/mmol)的存在下氢化。在反应完成后(通过 HPLC (方法 19)检测)，滤去催化剂并用甲醇洗涤，然后在旋转蒸发仪上浓缩滤液。高真空下干燥残余物。

一般工作步骤 6 (用 Ed2.0 缩合脱氧(二肽)酸)

(制备实施例 55A 至 67A)

将脱氧(二肽)酸 (2 eq.)和实施例 5A 的化合物(1 eq.)在氩气下和冰冷却下提供在 DMF 中，加入 NMM (4 eq.), HATU (2.1 eq.)和再次 NMM (5 eq.)，将混合物在 0°C 下搅拌直至反应完全(通过分析 HPLC (方法 19)或 LC-MS (方法 17)测定反应)。对于小批次（可达约 0.2 mmol)，然后将全部的反应混合物通过 HPLC (方法 7)纯化。对于较大批次，将混合物首先通过 Sephadex 柱 (方法 6)预纯化，随后通过制备 HPLC (方法 7)再次纯化获得的产物。通过冻干适当的级分来分离产物。

一般工作步骤 7 (去除叔丁氧羰基保护基)

(制备实施例 1-6)

将 Boc-保护的原材料溶解在二氯甲烷/TFA 3:1 (20-200 ml/mmol)中并在 RT 下搅拌直至反应完成(5-20 min., 通过 HPLC (方法 19) 检查)。随后，将混合物用 1,2-二氯乙烷稀释并在 Rotavapor 上浓缩。将残余物置入水/乙腈，冻干，然后再次溶解在水中并通过制备 HPLC (方法 10)纯化。通过冻干适当的级分获得终产物。

一般工作步骤 8 (去除苄氧羰基保护基)

(制备实施例 7-17)

将 Z-保护的原材料溶解在异丙醇(15-100 ml/mmol)中并在 1 atm 的氢下在作为催化剂的 Pd (10%，在碳上) (50-200 mg/mmol)的存在下氢化。在反应完成后(通过 HPLC (方法 19)检测)，滤去催化剂并用甲醇洗涤，然后在旋转蒸发仪上浓缩滤液。将残余物溶解在水中并通过制备 HPLC (方法 10)纯化。通过冻干适当的级分获得终产物。

一般工作步骤 9 (对于 MALDI-MS 的水解样品制备)

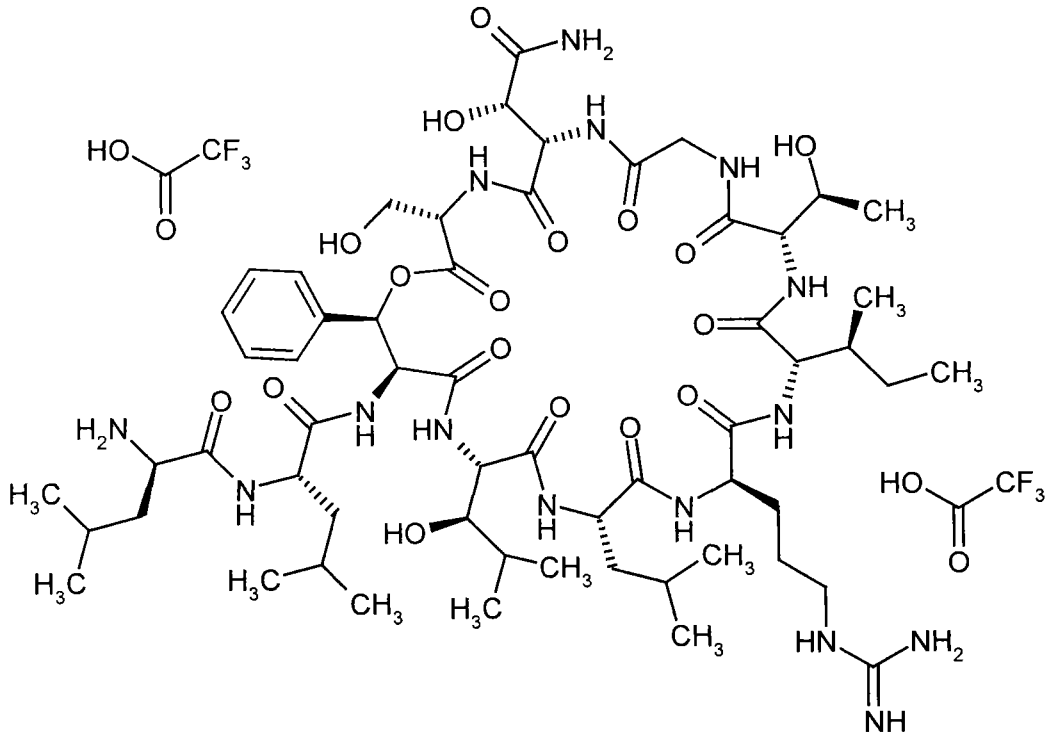
将待打开的酯肽(例如，溶杆菌素, 0.05 μmol)首先用硼酸盐-盐酸缓冲液(Merck)pH 8 (250 μl)在微管中处理。使得混合物静置过夜，加入乙酸

(100 μl)，将样品冻干。在无进一步纯化步骤的情形下通过 MALDI-MS 测序研究粗产物。

起始化合物

实施例 1A

D-亮氨酰-N^1-{(3*S*,6*S*,12*S*,15*S*,18*R*,21*S*,24*S*,27*S*,28*R*)-6-[(1*S*)-2-氨基-1-羟基-2-氧代乙基]-18-(3-{[氨基(亚氨基)甲基]氨基}丙基)-12-[(1*S*)-1-羟基乙基]-3-(羟基甲基)-24-[(*1R*)-1-羟基-2-甲基丙基]-21-异丁基-15-[(1*S*)-1-甲基-丙基]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-九氧代-28-苯基-1-氧杂-4,7,10,13,16,19,22,25-八氮杂环二十八碳烷-27-基}-L-亮氨酰胺(亮氨酰胺)双三氟乙酸盐 (溶杆菌素)



发酵:

培养基:

YM: 酵母-麦芽琼脂: D-葡萄糖(4 g/l), 酵母提取物(4 g/l), 麦芽提取物(10 g/l), 1 升的离子交换树脂水(Lewatit water)。在灭菌(121°C 下 20 分钟)之前将 pH 调节至 7.2。

HPM: 甘露糖醇(5.4 g/l)，酵母提取物(5 g/l)，肉蛋白胨(3 g/l)。

工作保藏: 将冻干的菌株(ATCC 53042)在 50 ml 的 YM 培养基中培养。

烧瓶发酵：用 2 ml 所述工作保藏接种物 1 升锥形瓶中的 150 ml 的 YM 培养基或 100 ml 的 HPM 培养基并且使其在 28°C 在 240 rpm 的振荡器上培养 30-48 小时。

30 l 的发酵： 将 300 ml 的烧瓶发酵(HPM 培养基)用于接种无菌的 30 l 营养培养基溶液(每升 1 ml 消泡剂 SAG 5693)。将该培养物在 28° C，300 rpm 并用 0.3 vvm 的无菌空气通气下生长 21 小时。用 1 M 盐酸将 pH 在 pH=7.2 保持恒定。总计，在培养周期期间加入 880 ml 的 1 M 盐酸。

主要培养(200 l)： 将 1 l 锥形瓶中的 15 × 150 ml 的 YM 培养基用 2 ml 的工作保藏接种并使其在振荡器上在 28°C 和 240 rpm 下生长 48 小时。将 2250 ml 的该培养物用于接种无菌的 200 l 营养培养基溶液(YM) (每升 1 ml 消泡剂 SAG 5693)并使其在 28°C，150 rpm 和用 0.3 vvm 无菌空气通气下生长 18.5 小时。

每小时取样(50 ml)以检验所述发酵过程。将 1 ml 的甲醇(0.5%三氟乙酸)加入到 2 ml 的该培养液并且将所述混合物通过 0.45 μm 过滤器过滤。将 30 μl 的该悬浮液通过 HPLC(方法 1 和方法 2)分析。

在 18.5 小时后，将主要培养物的培养液在 17000 rpm 下分成上清液和沉淀物。

离析：

利用浓缩的三氟乙酸或氢氧化钠溶液将所述上清液(183 l)调节到 pH 6.5-7 并且装载到 Lewapol 柱(OC 1064, 60 l 容量)上。随后用纯水、水/甲醇 1:1 并随后用纯甲醇(含有 0.1%三氟乙酸)进行洗脱。将该有机相真空浓缩成 11.5 l 的残留水残液。

将残留的水相结合到硅胶 C_{18} 并分离(MPLC，Biotage Flash 75，75×30 cm，KP-C18-WP，15-20 μm，流速：30 ml/min; 洗脱液：含有 0.1%三氟乙酸的乙腈/水；梯度：10%，15%和 40%乙腈)。将含有实施例 1A 主要量的 40%乙腈相真空浓缩并随后冷冻干燥(约 13 g)。将该固体混合物首先在制备 HPLC(方法 7)上，随后通过 Sephadex LH-20 (5 × 70 cm，乙腈/水 1:1，在每个情况下含有 0.05%三氟乙酸)上的凝胶过滤和进一步的制备 HPLC (方法 4)分离成 1.2 g 的部分。

该过程提供 2250 mg 的实施例 1A。

将所述沉淀物置入 4 l 的丙酮/水 4:1 中，加入 2 kg 的 C 盐，将所述混合物利用三氟乙酸调节到 pH=6，搅拌并离心。将所述溶剂真空浓缩，并且将残余物冷冻干燥。将获得的冻干物(89.9 g)置入甲醇中，过滤，浓缩并在硅胶(方法 5)上分离。然后将实施例 1A 通过凝胶过滤(Sephadex LH-20, 5 × 68 cm, 水/乙腈 9:1 (含有 0.05% 三氟乙酸)，流速：2.7 ml/min，级分大小 13.5 ml)纯化而得到纯物质。

该过程得到 447 mg 的实施例 1A。

HPLC (方法 1): R_t = 6.19 min

MS (ESIpos): m/z = 1277 $(M+H)^+$

^{1}H NMR (500.13 MHz, d_6-DMSO): δ = 0.75 (d, 3H), 0.78 (d, 6H), 0.80 (t, 3H), 0.82 (d, 3H), 0.90 (d, 3H), 0.91 (d, 3H), 0.92 (d, 3H), 0.95 (d, 3H), 0.96 (d, 3H), 1.05 (m, 1H), 1.19 (d, 3H), 1.25 (m, 2H), 1.50 (m, 4H), 1.51 (m, 2H), 1.55 (m, 1H), 1.61 (m, 1H), 1.65 (m, 1H), 1.84 (m, 1H), 1.85 (m, 1H), 1.86 (m, 1H), 1.89 (m, 1H), 1.95 (m, 1H), 2.75 (m, 2H), 3.40 (m, 1H), 3.52 (m, 2H), 3.53 (dd, 1H), 3.64 (m, 2H), 3.66 (m, 1H), 3.68 (dd, 1H), 3.73 (m, 2H), 4.00 (dd, 1H), 4.02 (br., 1H), 4.13 (br., 1H), 4.32 (dd, 1H), 4.39 (t, 1H), 4.55 (m, 1H), 4.75 (dd, 1H), 5.19 (t, 1H), 5.29 (d, 1H), 5.30 (br., 1H), 5.58 (m, 2H), 6.68 (m, 3H), 6.89 (d, 1H), 6.93 (m, 3H), 6.94 (br., 1H), 6.98 (d, 1H), 7.12 (br., 1H), 7.20 (br., 2H), 7.23 (m, 2H), 7.42 (m, 2H), 7.54 (d, 1H), 7.58 (d, 1H), 8.32 (br., 1H), 9.18 (br., 1H), 9.20 (m, 2H), 9.50 (br., 1H).

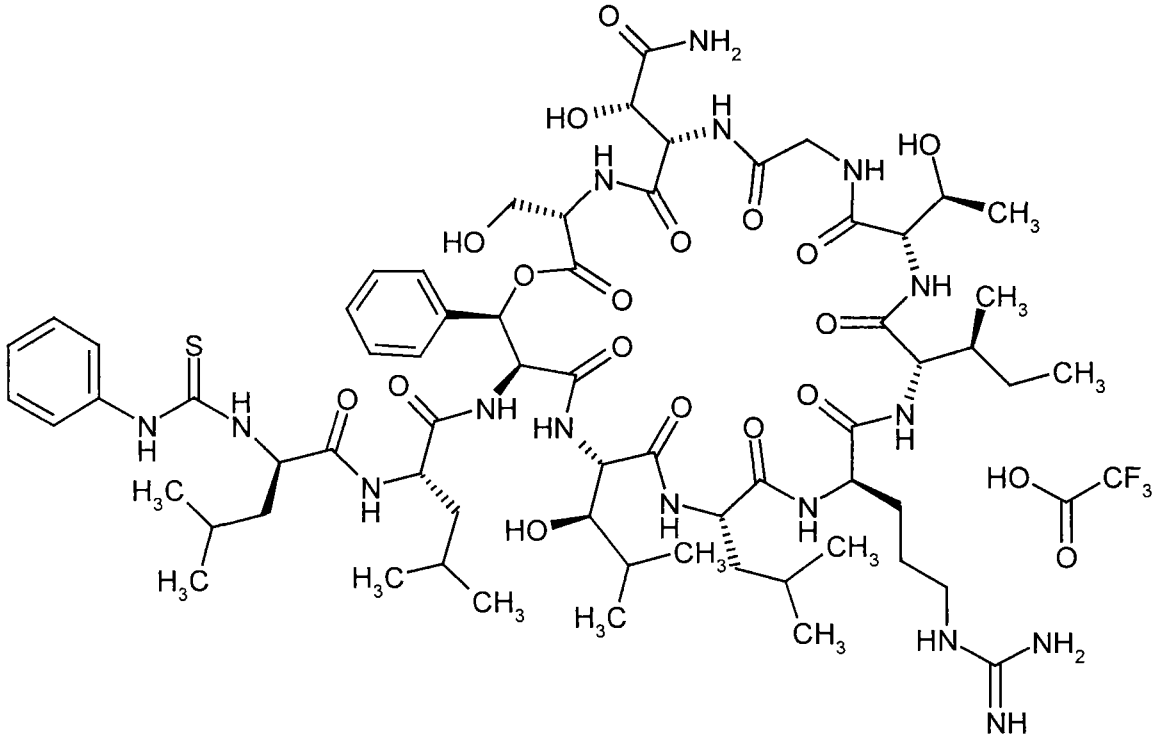
^{13}C-NMR (125.77 MHz, d_6-DMSO): δ = 10.3, 15.3, 19.0, 19.2, 19.6, 20.0, 20.9, 22.0, 22.4, 23.0, 23.2, 24.3, 24.4, 25.0, 25.4, 26.0, 27.8, 30.9, 35.4, 39.5, 40.8, 40.9, 41.6, 44.1, 51.5, 52.7, 55.9, 56.2, 56.4, 57.9, 58.8, 60.2, 61.1, 62.6, 70.1, 71.6, 71.7, 75.5, 128.1, 128.6, 136.7, 156.8, 168.2, 170.1, 170.4, 171.2, 171.5, 171.9, 172.2, 172.4, 173.7.

根据文献(T. Kato, H. Hinoo, Y. Terui, *J. Antibiot.*, **1988**, *61*, 719-725)中描述的指定进行所述信号的指定(assignment)。

实施例 2A

N-(苯胺基硫羰基(carbonothioyl))-D-亮氨酰-N^1-{(3*S*,6*S*,12*S*,15*S*,18*R*,21*S*,24*S*,27*S*,28*R*)-6-[(1*S*)-2-氨基-1-羟基-2-氧代乙基]-18-(3-{[氨基(亚氨基)-甲基]氨基}丙基)-12-[(1*S*)-1-羟基乙基]-3-(羟基甲基)-24-[(1*R*)-1-羟基-2-甲基丙基]-21-异丁基-15-[(1*S*)-1-甲基丙基]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-九氧代-28-苯基-1-氧杂-4,7,10,13,16,19,22,25-八氮杂环二十八碳烷-27-基}-L-亮氨酰胺单三氟乙酸盐

{*N*-(苯胺基硫羰基)溶杆菌素单三氟乙酸盐}



按照一般工作步骤 1，将溶杆菌素双三氟乙酸盐 (500 mg, 0.33 mmol)(实施例 1A)反应。获得 600 mg (quant.)的产物，其可以以未纯化形式进一步反应。

为了进一步纯化，可以将粗产物凝胶-色谱分离(方法 6; 甲醇/0.1% 乙酸)。将含有产物的级分在室温下真空浓缩并然后冻干。以 80%产率获得产物。

HPLC/UV-vis (方法 13): R_t = 6.84 min,

λ_{max} (定性的)= 220 nm (s), 248 (m), 269 (m).

LC-MS (方法 11): R_t = 2.64 min;

MS (ESIpos.): m/z (%)= 706.5 (50)$[M + 2H]^{2+}$, 1412 (20)$[M + H]^+$;

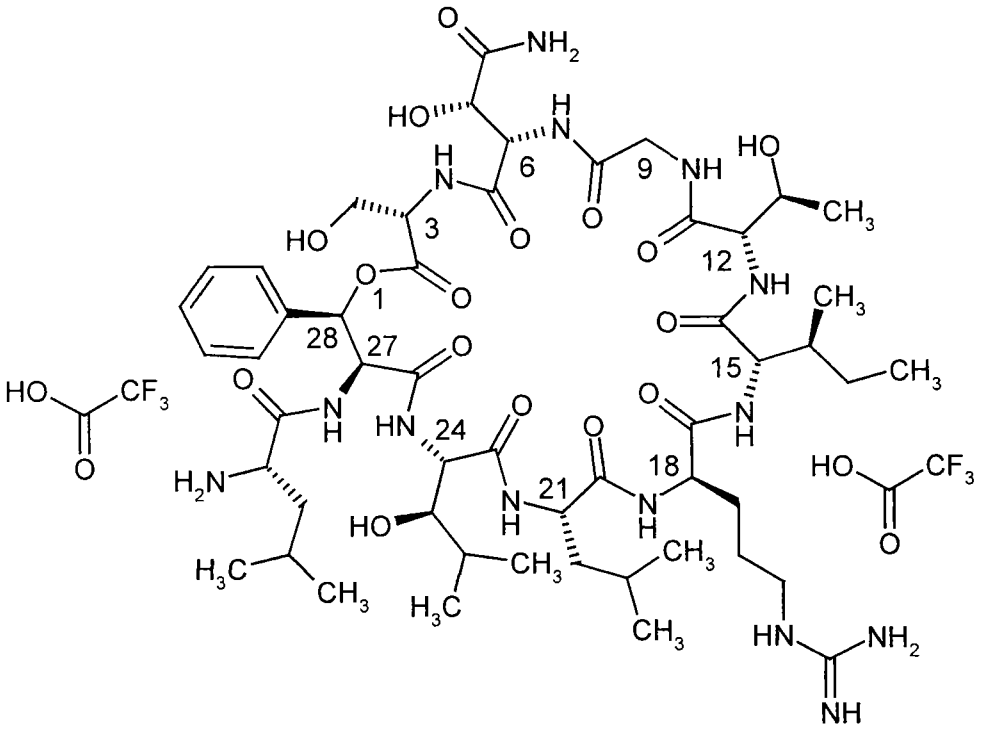
LC-MS (方法 12): R_t = 4.95 min;

MS (ESIpos.): m/z (%)= 1412 (100)$[M + H]^+$.

实施例 3A

N[1]-{(3*S*,6*S*,12*S*,15*S*,18*R*,21*S*,24*S*,27*S*,28*R*)-6-[(1*S*)-2-氨基-1-羟基-2-氧代乙基]-18-(3-{[氨基(亚氨基)甲基]氨基}丙基)-12-[(1*S*)-1-羟基乙基]-3-(羟基甲基)-24-[(1*R*)-1-羟基-2-甲基丙基]-21-异丁基-15-[(1*S*)-1-甲基丙基]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-九氧代-28-苯基-1-氧杂-4,7,10,13,16,19,22,25-八氮杂环二十八碳烷-27-基}-L-亮氨酰胺双三氟乙酸盐

{去-D-亮氨酰溶杆菌素双三氟乙酸盐}



按照一般工作步骤 2，使得硫脲 (实施例 2A)(300 mg, 0.2 mmol)反应。将粗产物进行凝胶色谱分离(方法 6; 甲醇/0.25% 乙酸)，然后通过制备 HPLC (方法 8)精制。获得 147 mg (理论值的 65%)的产物。

HPLC/UV-vis (方法 13): R_t = 4.96 min,

λ_{max} (定性的)= 220 nm (s), 255–270 (w).

LC-MS (方法 12): R_t = 3.84 min;

MS (ESIpos.): m/z (%)= 582.4 (100)$[M + 2H]^{2+}$, 1164 (20)$[M + H]^+$.

FT-ICR-HR-MS (方法 23):

$C_{52}H_{88}N_{14}O_{16}$ $[M + 2H]^{2+}$ 计算值 582.32459, 实验值 582.32460;

$C_{52}H_{87}N_{14}NaO_{16}$ $[M + H + Na]^{2+}$ 计算值 593.31556, 实验值 593.31564.

对于氨基酸序列测定，将产物的分析样品按照一般工作步骤 9 进行水解。

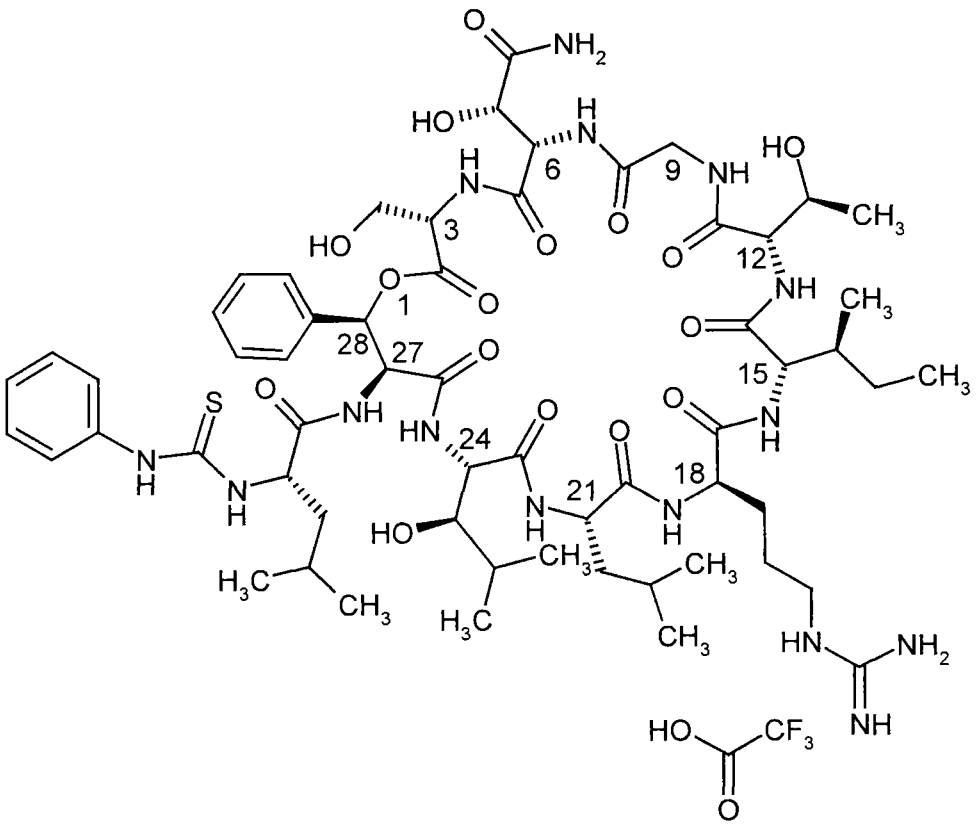
MALDI-MS (方法 20): m/z (%)= 1181.7 (100)$[M + H]^{+}$.

备选的大规模制备方法：

在氩气气氛下将实施例 1A (6.47 g, 4.30 mmol)溶解在吡啶 (90 ml)中。然后加入异硫氰酸苯酯 (1.16 g, 8.60 mmol, 2 当量)并将反应混合物在 37°C 下搅拌 1 小时。随后，在旋转蒸发仪上蒸馏掉溶剂，将残余物在油泵真空下干燥过夜。以 6.60 g 的粗产率获得中间体实施例 2A。在不纯化下将中间体进一步反应。为此，在氩气气氛下将实施例 2A (6.60 g)溶解在三氟乙酸 (107 ml)中并在室温下搅拌 30 min。然后将溶液在旋转蒸发仪上真空浓缩，在油泵真空下简短干燥，置入甲基叔丁基醚(250 ml)中并剧烈搅拌直至获得粉末状无定形固体。将这用真空过滤收集并用甲基叔丁基醚(200 ml)洗涤，然后将其用二氯甲烷洗涤(两次 100 ml)。将固体转移到烧瓶中并在油泵真空下干燥。以 6.0 g (quant.)的粗产率获得实施例 3A。该产物可以在不进一步纯化下反应。

实施例 4A

N^2-(苯胺基硫羰基)-N^1-{(3*S*,6*S*,12*S*,15*S*,18*R*,21*S*,24*S*,27*S*,28*R*)-6-[(1*S*)-2-氨基-1-羟基-2-氧代乙基]-18-(3-{[氨基(亚氨基)甲基]氨基}丙基)-12-[(1*S*)-1-羟基乙基]-3-(羟基甲基)-24-[(1*R*)-1-羟基-2-甲基丙基]-21-异丁基-15-[(1*S*)-1-甲基丙基]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-九氧代-28-苯基-1-氧杂-4,7,10,13,16,19,22,25-八氮杂环二十八碳烷-27-基}-L-亮氨酰胺单三氟乙酸盐



按照一般工作步骤 1，使得去-D-亮氨酰溶杆菌素双三氟乙酸盐 (实施例 3A, 255 mg, 0.18 mmol)反应。获得 322 mg (quant.)的产物，其可以以未纯化形式进一步反应。

为了进一步纯化，可以将粗产物凝胶-色谱分离(方法 6; 甲醇/0.1% 乙酸)。将含有产物的级分在室温下真空浓缩并然后冻干。

HPLC/UV-vis (方法 13): R_t = 6.56 min,

λ_{max} (定性的)= 220 nm (s), 245 (m), 268 (m).

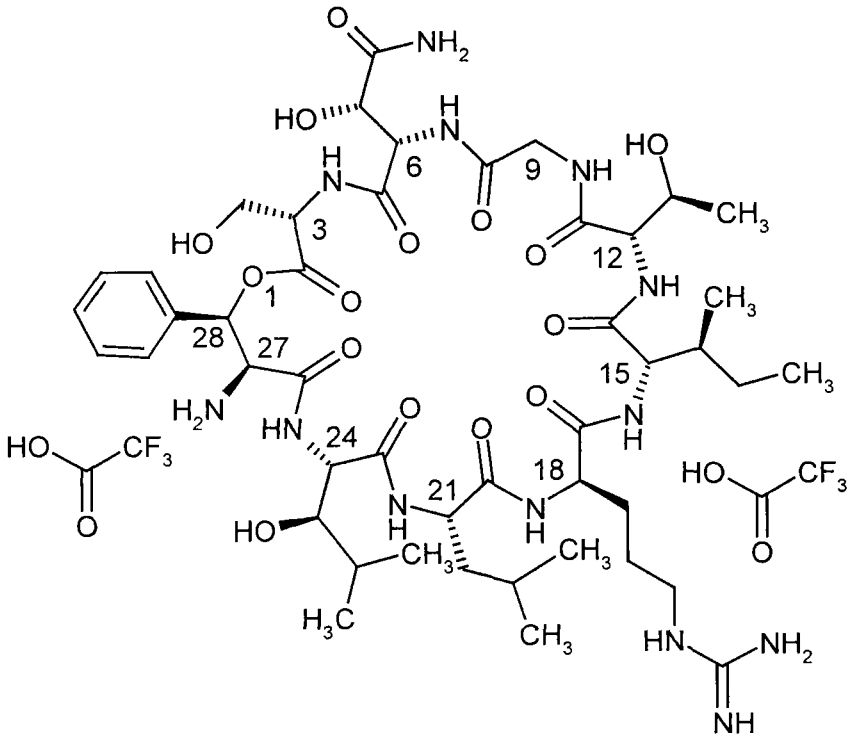
LC-MS (方法 12): R_t = 4.85 min;

MS (ESIpos.): m/z (%)= 1299 (100)$[M + H]^+$.

实施例 5A

(2*S*)-2-{(3*S*,6*S*,12*S*,15*S*,18*R*,21*S*,24*S*,27*S*,28*R*)-27-氨基-18-(3-{[氨基(亚氨基)甲基]氨基}丙基)-12-[(1*S*)-1-羟基乙基]-3-(羟基甲基)-24-[(1*R*)-1-羟基-2-甲基丙基]-21-异丁基-15-[(1*S*)-1-甲基丙基]-2,5,8,11, 14,17,20,23,26-九氧代-28-苯基-1-氧杂-4,7,10,13,16,19,22,25-八氮杂环二十八碳烷-6-基}-2-羟基乙酰胺双三氟乙酸盐

{去(1-D-亮氨酰-2-L-亮氨酰)溶杆菌素双三氟乙酸盐}



按照一般工作步骤 2，使得硫脲 (实施例 4A, 66 mg, 34 μmol)反应。将粗产物通过快速凝胶色谱法预纯化(方法 6; 甲醇/0.25% 乙酸)。制备 HPLC (方法 8 或方法 9，接着随后通过加入 TFA(100 μmol)将色谱产物双分解)获得 45 mg (75%的 th.)的产物。

HPLC/UV-vis (方法 13): R_t = 4.71 min,

λ_{max} (定性的)= 220 nm (s), 255–270 (w).

LC-MS (方法 11): R_t = 1.65 min;

MS (ESIpos.): m/z (%)= 526 (100)$[M + 2H]^{2+}$, 1051 (15)$[M + H]^{+}$.

备选的大规模制备方法:

在氩气气氛下将实施例化合物 3A (6.00 g, 4.30 mmol)溶解在吡啶 (92 ml)中。然后加入异硫氰酸苯酯 (8.75 g, 64.68 mmol, 15 当量)并将反应混合物在 37°C 下搅拌 1 小时。随后，在旋转蒸发仪上蒸馏掉溶剂，将残余物在油泵真空下干燥过夜。以 6.0 g 的粗产率获得实施例 4A。在不纯化下将中间体进一步反应。为此，在氩气气氛下将粗制实施例 4A 溶解在三氟乙酸 (82 ml)中，并在室温下搅拌 30 分钟。然后将溶液在真空下在旋转蒸发仪上浓缩，在油泵真空下简短干燥，置入甲基叔丁基醚(250 ml)中并剧烈搅拌直至获得粉末状无定形固体。将其用真空-过滤收集并用另外的甲

基叔丁基醚(200 ml)洗涤，然后将其用两份每份 100 ml 的二氯甲烷洗涤。将固体转移到烧瓶中并在油泵真空下干燥。以 5.4 g (quant.)的粗产率获得标题化合物。通过制备 HPLC (方法 22)进一步纯化产物。获得 1.79 g 的标题化合物 (理论值的 32%)。

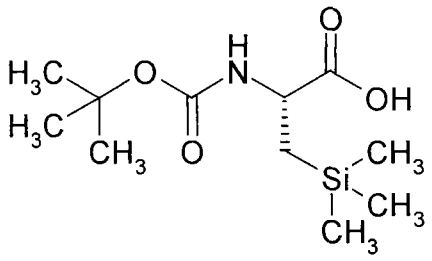
来自氨基酸的前体:

实施例 6A 和实施例 7A

按照 M. Merget, K. Günther, M. Bernd, E. Günther, R. Tacke, *J. Organomet. Chem.* **2001** *628*, 183–194 进行合成。通过在手性相上的制备 HPLC 分离对映异构体(Gilson Abimed HPLC, UV 检测器 212 nm, 柱: Daicel Chiralpak AD-H 5 µm; 250 x 20 mm; 流速: 15 ml/min; 洗脱剂 A: 异己烷, 洗脱剂 B: 0.2% 乙酸/1% 水/ 2-丙醇; 恒溶剂)。

实施例 6A

(2*R*)-*N*-叔-丁氧羰基-3-三甲代甲硅烷基丙氨酸

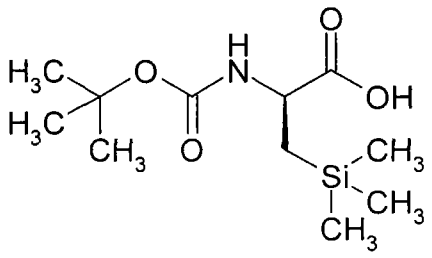


制备 HPLC: R_t = 9.27 min

$[\alpha]_D^{20}$ = –1.6 (*c* = 0.66, 甲醇)

实施例 7A

(2*S*)-*N*-叔-丁氧羰基-3-三甲代甲硅烷基丙氨酸

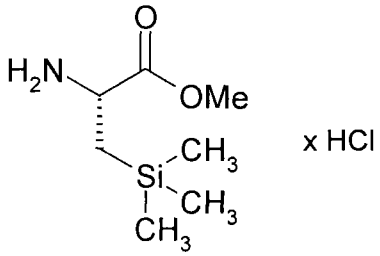


制备 HPLC: R_t = 4.16 min

$[\alpha]_D^{20}$ = +1.1 (*c* = 0.83, 甲醇)

实施例 8A

(2*R*)-3-三甲代甲硅烷基丙氨酸甲酯盐酸盐

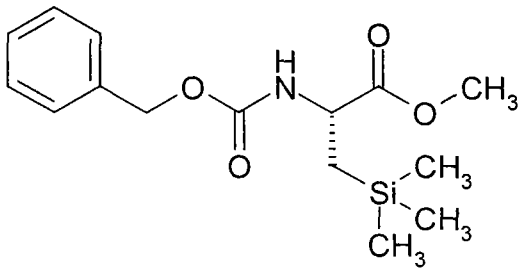


将实施例 6A 的化合物 (300 mg)溶解在甲醇 (3 ml)中并冷却至 0°C。在 30 min.的期间内滴加氯化三甲基硅烷 (590 mg, 4.7 eq.)并将混合物升温至 RT 过夜。在 Rotavapor 上并随后在高真空下去除挥发性组分。获得目标化合物(224 mg, 理论值的 92%)。

^{1}H-NMR (DMSO, 300 MHz): δ = 8.40 (br s, 3H), 3.93 (dd, J = 5.3, 10.9 Hz, 1H), 3.73 (s, 3H), 1.71-0.97 (m, 2H), 0.03 (s, 9H).

实施例 9A

(2*R*)-*N*-苄氧羰基-3-三甲代甲硅烷基丙氨酸甲酯



在氩气下在 0°C 下将实施例 8A 的化合物(2.0 g)提供在 THF (40 ml)中。加入三乙胺 (2.3 g, 2.4 eq.)并随后滴加 N-苄氧羰基氧基琥珀酰亚胺

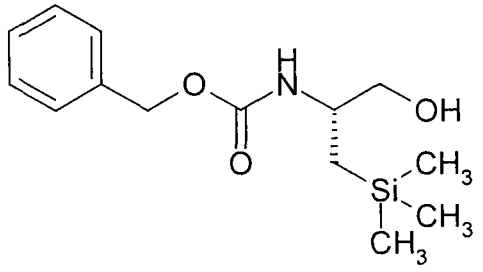
(2.83 g, 1.2 eq.)在 20 ml THF 中的溶液。然后将混合物在 RT 下搅拌过夜，浓缩至一半，用乙酸乙酯稀释，用水洗涤两次和用饱和氯化钠溶液洗涤一次。通过硫酸钠干燥有机相，在旋转蒸发仪上浓缩。通过制备 HPLC (方法 25)纯化残余物。获得目标化合物 (2.32 g, 理论值的 79%)。

HPLC (方法 15): R_t = 4.96 min.

MS (DCI / NH_3): m/z = 327 $[M+NH_4]^+$ (100); 310 $[M+H]^+$ (3).

实施例 10A

(2*R*)-*N*-苄氧羰基-3-三甲代甲硅烷基丙氨醇(alaninol)



将氯化锂(0.64 g, 15 mmol)和氢化硼钠(0.57 g, 15 mmol)和然后 22 ml 乙醇加入实施例 9A (2.32 g, 7.5 mmol)在 THF (14 ml)中的溶液。在 RT 下搅拌混合物过夜。对于后加工，在使用冰水冷却下将混合物用柠檬酸溶液(在水中 10%)调节至 pH 4，然后用 200 ml 水稀释，用二氯甲烷萃取三次。通过硫酸镁干燥合并的有机相，过滤并真空浓缩。将残余物通过 HPLC (方法 25)分离并真空浓缩适当的级分。获得实施例 10A，为油(1.24 g, 理论值的 59%)。

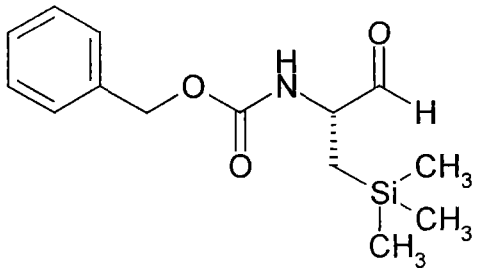
HPLC (方法 15): R_t = 4.48 min.;

MS (DCI / NH_3): m/z = 299 $[M+NH_4]^+$ (100); 282 $[M+H]^+$ (13);

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz): δ = 7.33 (m, 5H), 5.08 (s, 2H), 4.72 (br.m, 1H), 3.83 (br.m, 1H), 3.65 (br.m, 1H), 3.45 (br.m, 1H), 2.13 (br.s, 1H), 0.84-0.58 (m, 2H), 0.03 (s, 9H).

实施例 11A

(2*R*)-*N*-苄氧羰基-3-三甲代甲硅烷基丙氨醛(alaninal)



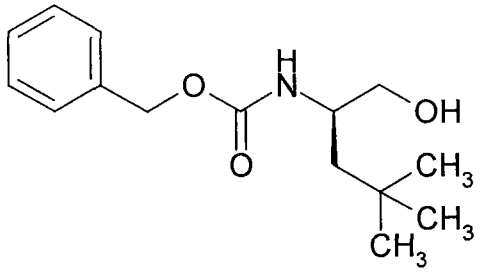
在氩气下将吡啶-SO_3复合物(2.04 g, 12.8 mmol)在无水 DMSO (12 ml)中的溶液在 10°C 下加入实施例 10A (0.36 g, 1.28 mmol)和 N,N-二异丙基乙胺(1.65 g, 12.8 mmol)在 7 ml 的 DMSO 中的溶液。去除冷却浴，随后将混合物搅拌 20 分钟。加入 400 ml 冰水，用二乙醚萃取溶液三次。用柠檬酸溶液(在水中 10%)洗涤合并的有机相两次，用水洗涤一次，用饱和碳酸氢盐溶液洗涤一次，和用饱和氯化钠溶液洗涤一次，通过硫酸镁干燥，过滤和在旋转蒸发仪上浓缩。获得实施例 11A，为油(0.39 g, 理论值的 93%)并作为粗产物直接使用。

MS (DCI / NH_3): m/z = 297 $[M+NH_4]^+$ (100); 280 $[M+H]^+$ (25).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz): δ = 9.53 (s, 1H), 7.35 (m, 5H), 5.13 (s, 2H), 1.12 (dd, J = 5.8, 14.0 Hz, 1H), 0.78 (dd, J = 9.4, 14.0 Hz, 1H), 0.07 (s, 9H).

实施例 12A

(2*R*)-*N*-苄氧羰基-D-3-叔丁基丙氨醇



将硼烷-四氢呋喃复合物在 THF (1M, 8.14 ml, 8.14 mmol)中的溶液缓慢滴加到 N-苄氧羰基-D-(3-叔丁基)丙氨酸二环己基胺盐(1.5 g, 3.26 mmol)在无水 THF (15 ml)中的冰冷溶液中，然后在 1.5 小时期间内用搅拌将溶液达到 RT。在冷却下用水处理混合物，稍微真空浓缩，用饱和氯化钠溶液稀释并用二乙醚萃取三次。用 0.1N 盐酸洗涤合并的有机相两次，用饱和碳酸氢钠溶液洗涤两次，用饱和氯化钠溶液洗涤一次，通过硫酸钠干燥并

在旋转蒸发仪上浓缩。通过制备 HPLC (方法 25)纯化残余物并在旋转蒸发仪上浓缩适当的级分，然后在高真空下干燥。

产率: 485 mg (理论值的 56%).

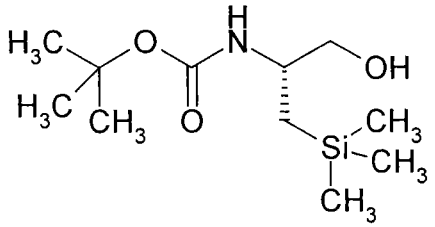
HPLC (方法 15): R_t = 4.4 min.

MS (DCI / NH_3): m/z = 283 $[M+NH_4]^+$ (100); 266 $[M+H]^+$ (60).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz): δ = 7.35 (m, 5H), 5.12 (s, 2H), 4.72 (br.d, J = ca. 5H), 3.83 (m, 1H), 3.63 (dd, J = 4.0, 10.7 Hz, 1H), 3.51 (dd, J = 6.3, 10.7 Hz, 1H), 1.44 (dd, J = 2.9, 14.7 Hz, 1H), 1.28 (dd, J = 8.7, 14.7 Hz, 1H), 0.95 (s, 9H).

实施例 13A

(2*R*)-*N*-叔-丁氧羰基-3-三甲代甲硅烷基丙氨醇



按照实施例 12A 所述的相同方法，使用硼烷-四氢呋喃复合物(2 eq.)，该制备从实施例 6A (2.45 g, 9.37 mmol)开始进行。在硅胶上色谱分离(二氯甲烷/甲醇 100:3)后获得实施例 13A (1.70 g, 理论值的 73%)。

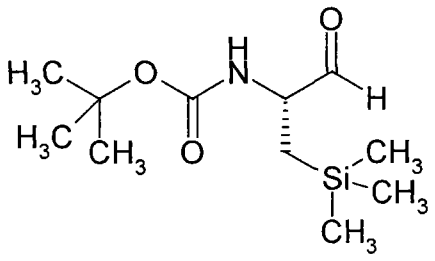
HPLC (方法 15): R_t = 4.4 min.

MS (ESI pos): m/z = 270 $[M+Na]^+$ (46); 192 (100).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz): δ = 4.60-4.38 (br.m, 1H), 3.87-3.72 (br.m, 1H), 3.69-3.56 (br.m, 1H), 3.50-3.38 (br.m, 1H), 2.40 (br.s, 1H)1.44 (s, 9H), 0.82-0.66 (m, 2H), 0.04 (s, 9H).

实施例 14A

(2*R*)-*N*-叔-丁氧羰基-3-三甲代甲硅烷基丙氨醛



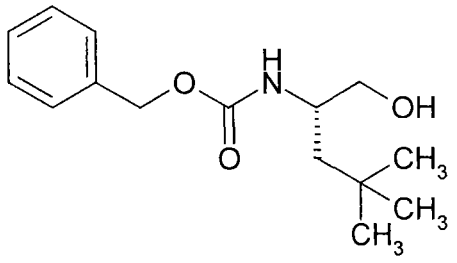
类似于实施例 11A 的合成，该标题化合物制备自实施例 13A (620 mg, 2.51 mmol)。产率 550 mg (理论值的 80%)。在不进一步纯化下使得实施例 14A 反应。

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz): δ = 9.50 (s, 1H), 4.93-4.82 (br.m, 1H), 4.26 (br.q, J = ca. 7-8 Hz, 1H), 1.44 (s, 9H), 1.09 (br. dd, J = 5.3, 14.8 Hz, 1H), 0.74 (dd, J = 10.0, 14.8 Hz, 1H), 0.08 (s, 9H).

类似于上述合成步骤，从可商购的氨基酸衍生物制备下列起始化合物：

实施例 15A

(2*S*)-*N*-苄氧羰基-L-3-叔丁基丙氨醇



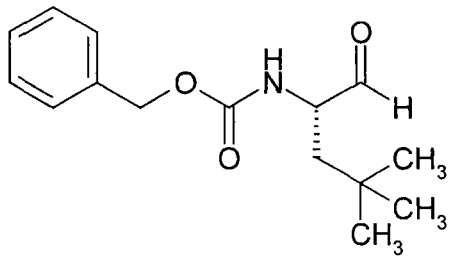
HPLC (方法 15): R_t = 4.42 min.;

MS (DCI / NH_3): m/z = 283 $[M+NH_4]^+$ (100); 266 $[M+H]^+$ (58);

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz): δ = 7.33 (m, 5H), 5.11(s, 2H), 4.71 (m, 1H), 3.83 (m, 1H), 3.62 (dd, J = 4.2, 10.5 Hz, 1H), 3.45 (dd, J = 6.3, 10.9 Hz, 1H), 1.43 (dd, J = 2.9, 14.6 Hz, 1H), 1.29 (dd, J = 8.9, 14.6, 1H), 0.93 (s, 9H).

实施例 16A

(2*S*)-*N*-苄氧羰基-L-3-叔丁基丙氨醛

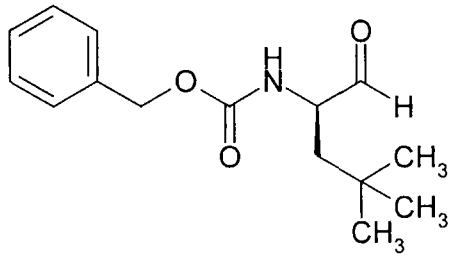


MS (DCI / NH_3): m/z = 281 $[M+NH_4]^+$ (100); 264 $[M+H]^+$ (20).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz): δ = 9.58 (s, 1H), 7.36 (m, 5H), 5.12 (s, 2H), 5.06 (m, 1H), 4.33 (dt, J = 3.8, 8.7 Hz, 1H), 1.83 (dd, J = 3.8, 14.6 Hz, 1H), 1.30 (dd, J = 8.3, 14.7 Hz, 1H), 1.00 (s, 9H).

实施例 17A

(2*R*)-*N*-苄氧羰基-D-3-叔丁基丙氨醛

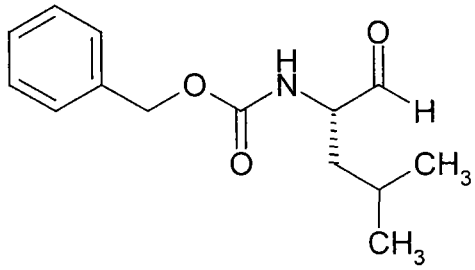


MS (DCI / NH_3): m/z = 281 $[M+NH_4]^+$ (100); 264 $[M+H]^+$ (18).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz): δ = 9.58 (s, 1H), 7.36 (m, 5H), 5.12 (s, 2H), 5.08 (m, 1H), 4.33 (dt, J = 3.8, 8.7 Hz, 1H), 1.83 (dd, J = 3.8, 14.6 Hz, 1H), 1.30 (dd, J = 8.3, 14.7 Hz, 1H), 1.00 (s, 9H).

实施例 18A

(2*S*)-*N*-苄氧羰基-L-亮氨醛(leucinal)

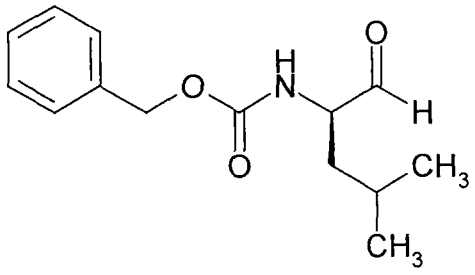


MS (DCI / NH_3): m/z = 267 $[M+NH_4]^+$ (100); 250 $[M+H]^+$ (8).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 9.61 (s, 1H), 7.38 (m, 5H), 5.18 (m, 1H), 5.02 (s, 2H), 4.35 (m, 1H), 1.62-1.55 (m, 2H), 1.41 (m, 1H), 0.96 (d, J = 7 Hz, 3H), 0.94 (d, J = 7 Hz, 3H).

实施例 19A

(2*R*)-*N*-苄氧羰基-D-亮氨醛

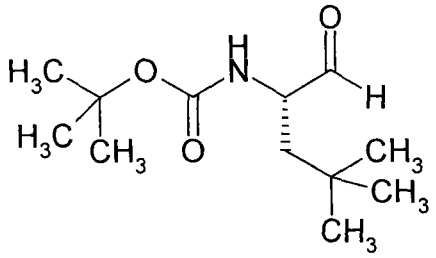


MS (DCI / NH_3): m/z = 267 $[M+NH_4]^+$ (100); 250 $[M+H]^+$ (10).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz): δ = 9.61 (s, 1H), 7.38 (m, 5H), 5.18 (m, 1H), 5.12 (m, 2H), 4.35 (m, 1H), 1.85-1.50 (m, 2H), 1.41 (m, 1H), 0.95 (m, 6H).

实施例 20A

(2*S*)-*N*-叔-丁氧羰基-L-3-叔丁基丙氨醛

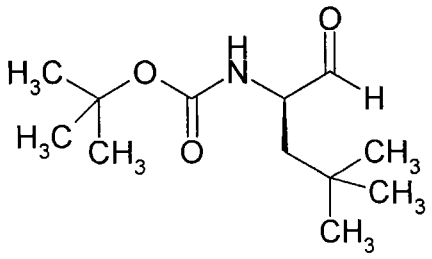


MS (DCI / NH_3): m/z = 247 $[M+NH_4]^+$ (15); 230 $[M+H]^+$ (31), 191 (100).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 9.58 (s, 1H), 4.82 (m, 1H), 4.25 (m, 1H), 1.80 (dd, J = 2, 14.6 Hz, 1H), 1.44 (s, 9H), 1.25 (dd, J = 8.7, 14.6 Hz, 1H), 1.00 (s, 9H).

实施例 21A

(2*R*)-*N*-叔-丁氧羰基-D-3-叔丁基丙氨醛

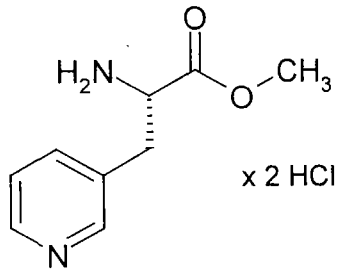


MS (DCI / NH_3): m/z = 247 $[M+NH_4]^+$ (13); 230 $[M+H]^+$ (28), 191 (100).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 9.58 (s, 1H), 4.82 (m, 1H), 4.25 (m, 1H), 1.80 (dd, J = 2, 14.6 Hz, 1H), 1.44 (s, 9H), 1.25 (dd, J = 8.7, 14.6 Hz, 1H), 1.00 (s, 9H).

实施例 22A

L-β-(3-吡啶基)丙氨酸甲酯二盐酸盐



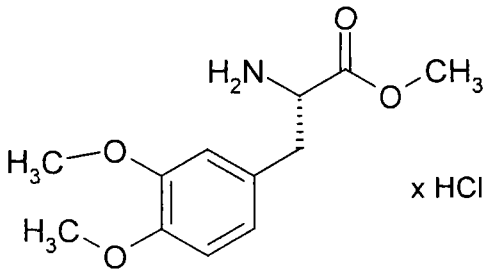
类似于制备实施例 8A，可商购的 Boc-L-β-(3-吡啶基)丙氨酸用甲醇中的氯化三甲基硅烷处理。在反应完成后，将反应混合物用二乙醚处理并氯去沉淀的晶体产物。用冷二乙醚洗涤产物并在高真空下干燥。产率：理论值的 94%。

HPLC (方法 15): R_t = 4.29 min.

^{1}H-NMR (DMSO, 400 MHz): δ = 8.86 (s, 1H), 8.82 (br. s, 3H), 8.80 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 8.38 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.92 (dd, J = 5.5, 8.0 Hz, 1H), 4.50 (m, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.38 (m [ABX], 2H).

实施例 23A

L-β-(3,4-二甲氧基苯基)丙氨酸甲酯盐酸盐

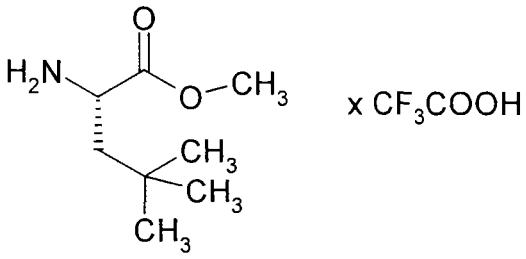


将可商购的L-β-(3,4-二甲氧基苯基)丙氨酸 (225 mg, 1 mmol)提供在甲醇 (5 ml)中，加入亚硫酰(二)氯 (73 µl, 1 eq.)，将混合物在回流下加热 1 小时，然后在旋转蒸发仪上浓缩并在高真空下干燥。获得 277 mg 的产物。

^{1}H-NMR (DMSO, 300 MHz): δ = 8.55 (br.s, 3H), 6.89 (d, J = 8.0 Hz, 1H), (d, J = 1.9 Hz, 1H), 6.73 (dd, J = 1.9, 8.0 Hz, 1H), 4.25 (br.t, J = ca. 6 Hz, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.71 (s, 3H), 3.08 (d, J = 6.2 Hz, 2H).

实施例 24A

L-β-叔丁基丙氨酸甲酯氢三氟乙酸盐(hydrotrifluoroacetate)



将(2*S*)-*N*-叔-丁氧羰基-L-3-叔丁基丙氨酸甲酯 (529 mg, 2.04 mmol)在 RT 下在 TFA/二氯甲烷 1:3 (3 ml)中搅拌，然后将溶液在旋转蒸发仪上浓缩并在高真空下干燥。获得 540 mg (理论值的 97%)的产物。

^{1}H-NMR (DMSO, 300 MHz): δ = 8.33 (br.s, 3H), 3.95 (dd, J = 4.7, 7.5 Hz, 1H), 3.76 (s, 3H), 1.80 (dd, J = 7.5, 14.4 Hz, 1H), 1.59 (dd, J = 4.7, 14.4 Hz, 1H), 0.92 (s, 9H).

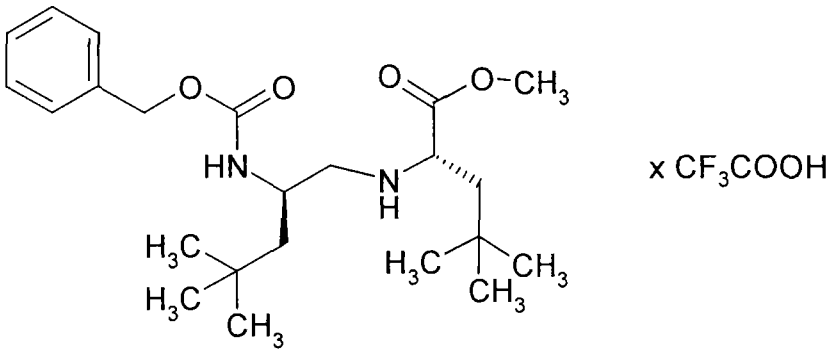
脱氧二肽酯

按照一般工作步骤 3 制备下列实施例 25A 至 37A：

实施例 25A

N-[(2*R*)-2-苄氧羰基氨基-4,4-二甲基戊基]-β-叔丁基丙氨酸甲酯氢-三氟乙酸盐

(Z-D-β-tBu-Ala(ΨCH$_2$NH)-L-β-tBu-Ala-OMe).TFA



制备自实施例 17A 和实施例 24A. 产率: 220 mg (理论值的 65%).

HPLC (方法 15): R_t = 4.7 min.;

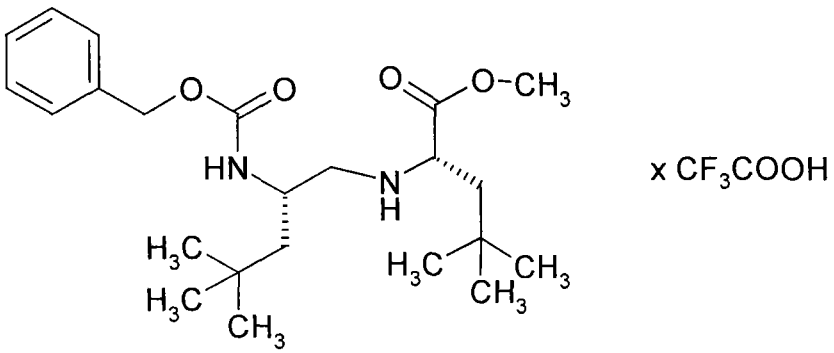
MS (DCI / NH_3): m/z = 407 $[M+H]^+$ (100);

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz): δ = 7.34 (s, 5H), 5.52 (br.d, J = 6.6 Hz, 1H), 5.14 (q, J= 12 Hz, 1H), 5.06 (q, J= 12 Hz, 1H), 4.09-3.95 (m, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.25-3.03 (m, 2H), 2.01-1.78 (m, 2H), 1.50 (dd, J = 7.8, 15, 1H), 1.34 (m, 1H), 0.94 (s, 9H), 0.92 (s, 9H).

实施例 26A

N-[(2*S*)-2-苄氧羰基氨基-4,4-二甲基戊基]-β-叔丁基丙氨酸甲酯氢-三氟乙酸盐

(Z-L-β-tBu-Ala(ΨCH$_2$NH)-L-β-tBu-Ala-OMe).TFA



制备自实施例 16A 和实施例 24A. 产率: 860 mg (理论值的 36%).

HPLC (方法 15): R_t = 4.7 min.;

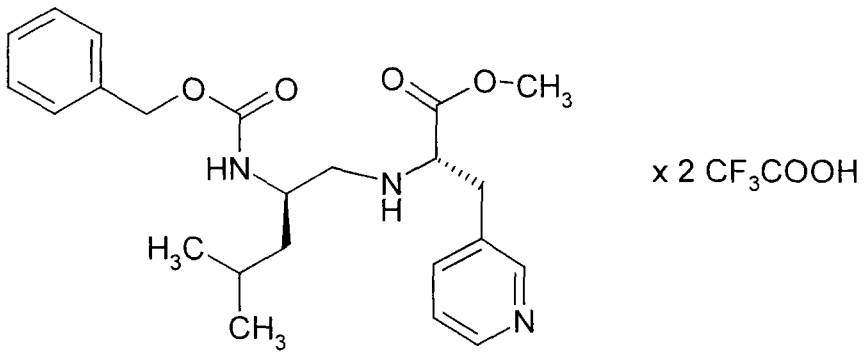
MS (ESI pos): m/z = 407 $[M+H]^+$ (100);

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz): δ = 7.32 (m, 5H), 5.73 (br.d, J = 8.5 Hz, 1H), 5.13 (d, J= 12 Hz, 1H), 5.04 (d, J= 12 Hz, 1H), 3.99 (m, 1H), 3.84 (m, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.33 (dd, J = 10.5, 12 Hz, 1H), 2.89 (dd, J = 3.5, 12 Hz, 1H), 1.95-1.68 (m, 2H), 1.53 (dd, J = 8.7, 14.7, 1H), 1.34 (br.d, J = 15, 1H), 0.93 (s, 9H), 0.91 (s, 1H).

实施例 27A

N-[(*2R*)-2-苄氧羰基氨基-4-甲基戊基]-β-(3-吡啶基)丙氨酸甲酯双氢-三氟乙酸盐

(Z-D-Leu(ΨCH$_2$NH)-L-β-(3-吡啶基)-Ala-OMe).2TFA



制备自实施例 19A 和实施例 22A. 产率: 800 mg (理论值的 60%).

LC-MS (方法 16): R_t = 1.67 min. ES^+: m/z = 414 $[M+H]^+$, ES^-: 458 $[M+HCOOH-H]^+$;

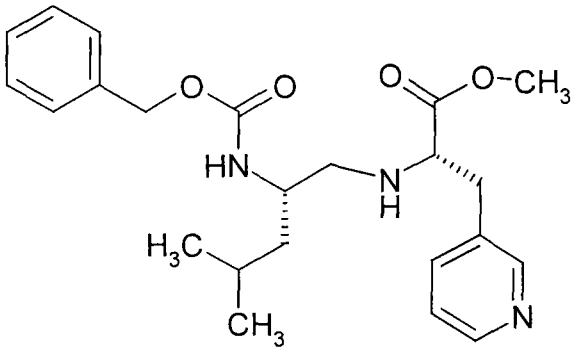
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz): δ = 8.68 (s, 1H), 8.51 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 8.1 (br.d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.54 (dd, J = 5.1, 7.7 Hz, 1H), 7.38-7.28 (m, 5H), 5.12 (m, 1H), 5.03 (d, J= 12.2 Hz, 1H), 4.97 (d, J= 12.2 Hz, 1H), 3.99 (m, 1H), 3.84 (m, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.33-2.99 (m, 3H), 2.85 (m, 1H), 11.61 (m, 1H), 1.42-1.20 (m, 2H), 0.82-0.98 (m, 6H).

实施例 28A

N-[(*2S*)-2-苄氧羰基氨基-4-甲基戊基]-β-(3-吡啶基)丙氨酸甲酯双氢-三

氟乙酸盐

(Z-L-Leu(ΨCH_2NH)-L-β-(3-吡啶基)-Ala-OMe).2TFA



x 2 CF_3COOH

制备自实施例 18A 和实施例 22A. 产率 410 mg (理论值的 48%).

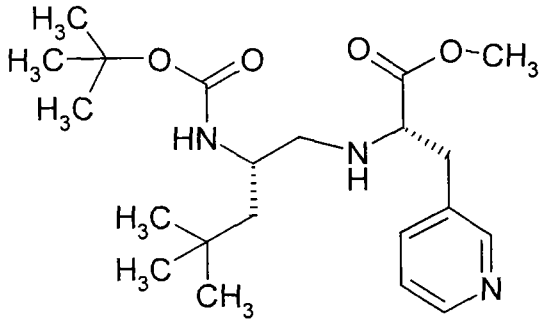
LC-MS (方法 14): R_t= 1.51 min. ES^+: m/z = 414 $[M+H]^+$, ES^-: 458 $[M+HCOOH-H]^-$.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 8.90 (s, 1H), 8.66 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 8.33 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.69 (dd, J = 5.5, 7.8 Hz, 1H), 7.39-7.28 (m, 5H), 5.36 (d, J = 7.1, 1H), 5.06 (m [AB], 2H), 4.35 (t, J = 5.1 Hz, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.54 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 3.28 (t, J = 10.6 Hz, 1H), 3.08 (d, J = 10.5 Hz, 1H), 1.62 (m, 1H), 1.45 (ddd, J = 5.4, 9.1, 14.3 Hz , 1H), 1.29 (ddd, J = 4.9, 8.4, 13.9 Hz, 2H), 0.90 (d, J = 6.6 Hz, 3H), 0.90 (d, J = 6.4 Hz, 3H).

实施例 29A

N-[(2*S*)-2-叔-丁氧羰基氨基-4,4-二甲基戊基]-β-(3-吡啶基)丙氨酸甲酯双-氢三氟乙酸盐

(Boc-L-β-tBu-Ala(ΨCH_2NH)-L-β-(3-吡啶基)-Ala-OMe).2TFA



x 2 CF_3COOH

制备自实施例 20A 和实施例 22A. 产率: 160 mg (理论值的 59%).

HPLC (方法 15): R_t = 4.0 min.;

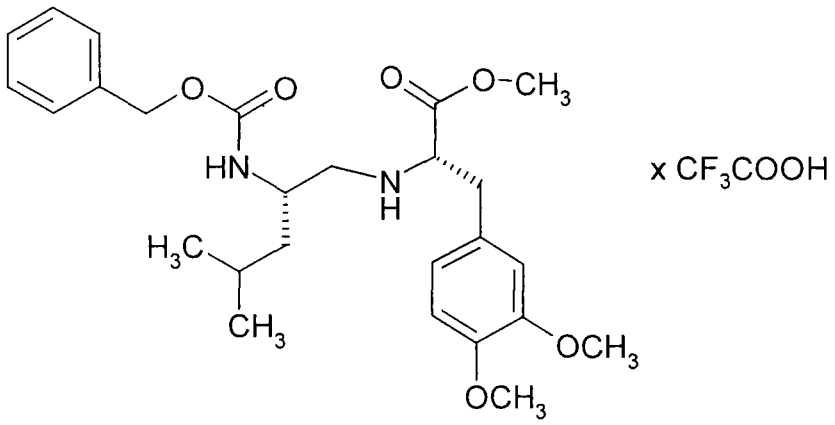
MS (ESI pos): m/z = 394 $[M+H]^+$ (92), 338 (80), 294 (100).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 8.51 (s, 1H), 8.75 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 8.48 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.83 (dd, J = 5.5, 7.8 Hz, 1H), 4.98 (br.d, J = 6.1 Hz, 1H), 4.38 (t, J= 5.6 Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.67–3.52 (m, 2H), 3.35 (t, J = 10.5 Hz, 1H), 2.98 (d, J = 11.7 Hz, 1H), 1.44 (dd, J = 9.0, 14.9 Hz, 1H), 1.40 (s, 9H), 1.31 (dd, J = 2.6, 14.8 Hz, 1H), 0.93 (s, 9H).

实施例 30A

N-[(*2S*)-2-苄氧羰基氨基-4-甲基戊基]-β-(3,4-二甲氧基苯基)丙氨酸甲酯氢三氟乙酸盐

(Z-L-Leu(ΨCH$_2$NH)-L-β-(3,4-二甲氧基苯基)-Ala-OMe).TFA



制备自实施例 18A 和实施例 23A. 产率 200 mg (理论值的 32%).

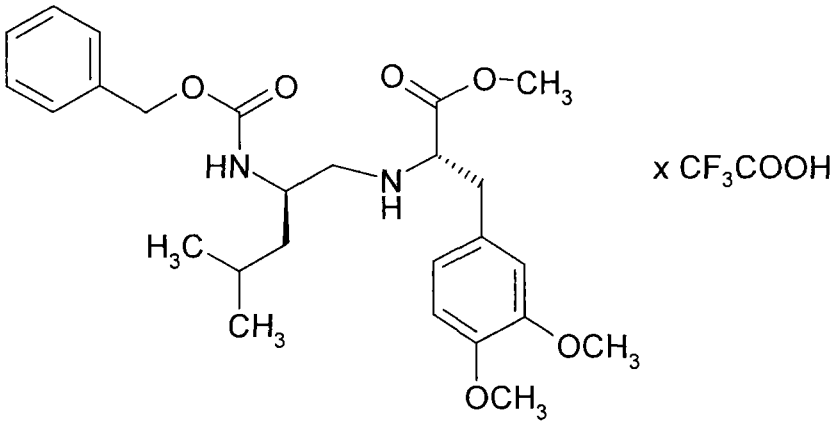
LC-MS (方法 16): R_t= 1.91 min. ES^+: m/z = 473 $[M+H]^+$, ES^-: 517 $[M+HCOOH-H]^-$.

^{1}H-NMR (DMSO, 300 MHz): δ = 9.50-9.00 (br.s, 2H), 7.40-723 (m, 6H), 6.90 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.82 (d, J= 1.5 Hz, 1H), 6.71 (dd, J= 1.6, 8.2 Hz, 1H), 5.05 (q [AB], J = 12.5 Hz, 2H), 4.30 (m, 1H), 3.85 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.64 (s, 3H), 3.20 (dd, J = 5.1, 13.7 Hz, 1H), 3.07-2.93 (m, 3H), 1.58 (m, 1H), 1.38 (ddd, J = 4.6, 9.5, 14.1 Hz, 1H), 1.22 (ddd, J = 4.5, 8.8, 14 Hz, 1H), 0.86 (t, J = 6.4 Hz, 6H).

实施例 31A

N-[(2*R*)-2-苄氧羰基氨基-4-甲基戊基]-β-(3,4-二甲氧基苯基)丙氨酸甲酯氢三氟乙酸盐

(Z-D-Leu(ΨCH_2NH)-L-β-(3,4-二甲氧基苯基)-Ala-OMe).TFA



制备自实施例 19A 和实施例 23A. 产率 190 mg (理论值的 31%).

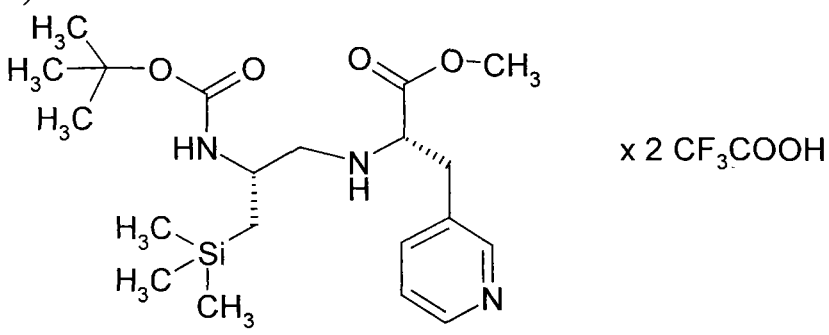
LC-MS (方法 16): R_t= 1.66 min. ES^+: m/z = 473 $[M+H]^+$, ES^-: 517 $[M+HCOOH-H]^-$.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 7.38-7.23 (m, 5H), 6.82-6.77 (m, 2H), 6.67 (dd, J= 1.8, 7.8 Hz, 1H), 5.18 (d, J= 6.2 Hz, 1H), 4.99 (s, 2H), 4.23 (t, J = 5.4 Hz, 1H), 3.98 (m, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.34 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 3.27 (d, J = 5.4 Hz, 2H), 2.94 (t, J = 10.8 Hz, 1H), 1.59 (m, 1H),1.42-1.25 (m, 2H), 0.90 (t, J = 6.5 Hz, 6H).

实施例 32A

N-[(2*R*)-2-叔-丁氧羰基氨基-3-三甲代甲硅烷基丙基]-β-(3-吡啶基)丙氨酸甲酯氢三氟乙酸盐

(Boc-L-β-三甲代甲硅烷基-Ala(ΨCH_2NH)-L-β-(3-吡啶基)-Ala-OMe)·TFA



制备自实施例 14A 和实施例 22A. 产率: 270 mg (理论值的 73%).

HPLC (方法 15): R_t = 4.2 min.;

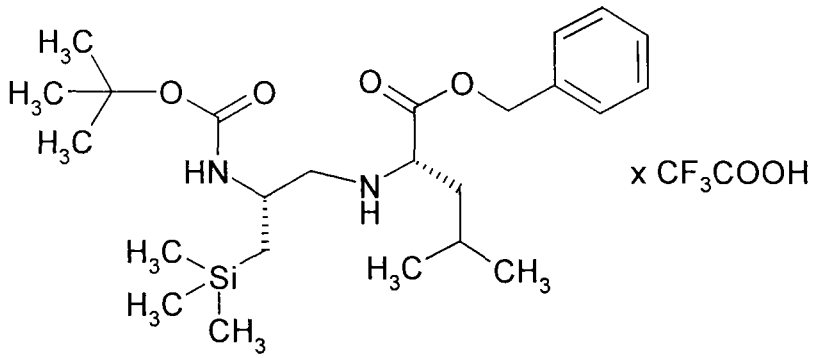
MS (ESI pos): m/z (%)= 410 $[M+H]^+$ (100), 354 (77), 310 (73), 293 (70), 221 (97).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz): δ = 8.85 (s, 1H), 8.71 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 8.47 (br.d, J = 7.4 Hz, 1H), 7.80 (br.dd, J = 4.8, 7.6 Hz, 1H), 4.94 (br.d, J = 6.0 Hz, 1H), 4.40-4.30 (m, 1H), 3.99-3.84 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.65-3.52 (m, 2H), 3.32 (br.t, J = ca. 10 Hz, 1H), 2.98 (br.d, J = 10.5 Hz, 1H), 1.41 (s, 9H), 0.90 (dd, J = 10.5, 15.0, 1H), 0.75 (dd, J = 4.5, 15.0, 1H), 0.05 (s, 9H).

实施例 33A

N-[(*2R*)-2-叔-丁氧羰基氨基-3-三甲代甲硅烷基丙基]亮氨酸苄酯氢三氟乙酸盐

(Boc-L-β-三甲代甲硅烷基-Ala(ΨCH$_2$NH)-L-Leu-OBn)·TFA



制备自实施例 14A 和 L-亮氨酸苄酯氢甲苯磺酸盐(hydrotosylate)。产率 180 mg (理论值的 28%).

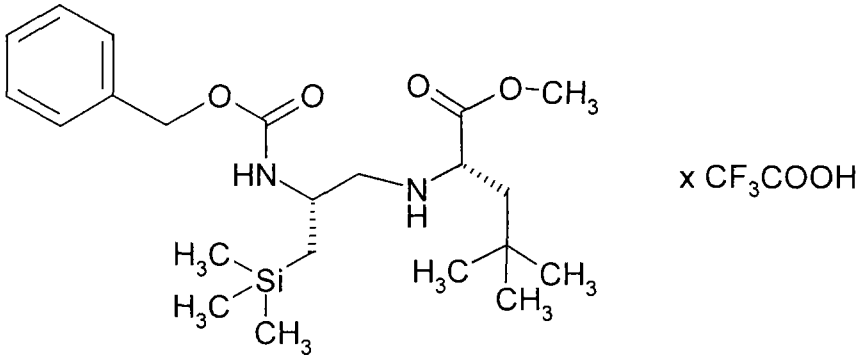
HPLC (方法 15): R_t = 5.1 min.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 7.41-7.34 (m, 5H), 5.23 (m [AB], 2H), 5.06 (br.d, J = ca. 5.0 Hz, 1H), 4.03-3.92 (m, 2H), 3.30 (t, J = 10.5 Hz, 1H), 2.91 (d, J = 11.0 Hz, 1H), 1.80 (m, 2H), 1.66 (m, 1H), 1.43 (s, 9H), 0.91 (d, J = 2.2 Hz, 3H), 0.89 (d, J = 1.9 Hz, 3H), 0.85 (dd, J = 10.3, 14.7 Hz, 1H), 0.68 (dd, J = 5.0, 14.6 Hz, 1H), 0.04 (s, 9H).

实施例 34A

N-[(2*R*)-2-苄氧羰基氨基-3-三甲代甲硅烷基丙基]-β-叔丁基丙氨酸甲酯氢三氟乙酸盐.

(Z-L-β-三甲代甲硅烷基-Ala(ΨCH$_2$NH)-L-β-tBu-Ala-OMe)·TFA



制备自实施例 11A 和实施例 24A. 产率 390 mg (理论值的 66%).

HPLC (方法 15): R_t = 4.8 min.

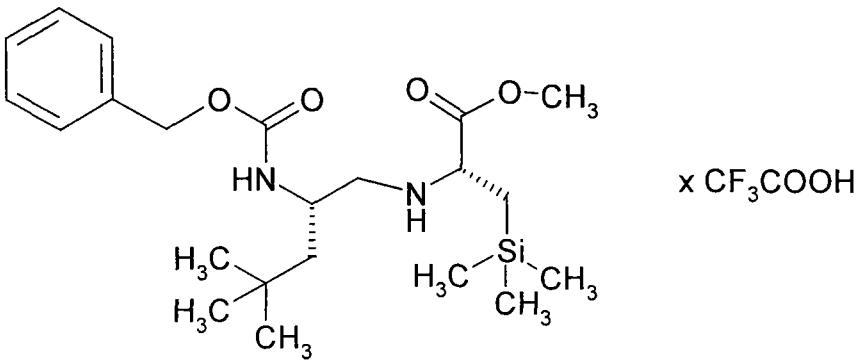
MS (ESI pos.): m/z = 423 $[M+H]^+$ (100).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz): δ = 7.33 (s, 5H), 5.63 (d, J = 0.9 Hz, 1H), 5.16 (d, J = 11.5 Hz, 1H), 5.05 (d, J = 11.5 Hz, 1H), 4.07-3.90 (m, 1H), 3.85 (dd, J = 4.5, 7.9 Hz, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.35 (dd, J = 9.8, 11.3 Hz, 1H), 2.93 (dd, J = 2.5, 12.5 Hz, 1H), 1.95-1.80 (m, 2H), 0.95 (dd, J = 10.2, 14.7 Hz, 1H), 0.94 (s, 9H), 0.76 (dd, J = 5.1, 14.7 Hz, 1H), 0.03 (s, 9H).

实施例 35A

N-[(2*S*)-2-苄氧羰基氨基-4,4-二甲基戊基]-β-三甲代甲硅烷基丙氨酸甲酯氢三氟乙酸盐

(Z-L-β-t-丁基-Ala(ΨCH$_2$NH)-L-β-(三甲代甲硅烷基)-Ala-OMe)·TFA



制备自实施例 16A 和实施例 8A. 产率 106 mg (理论值的 37%).

HPLC (方法 15): R_t = 4.8 min.

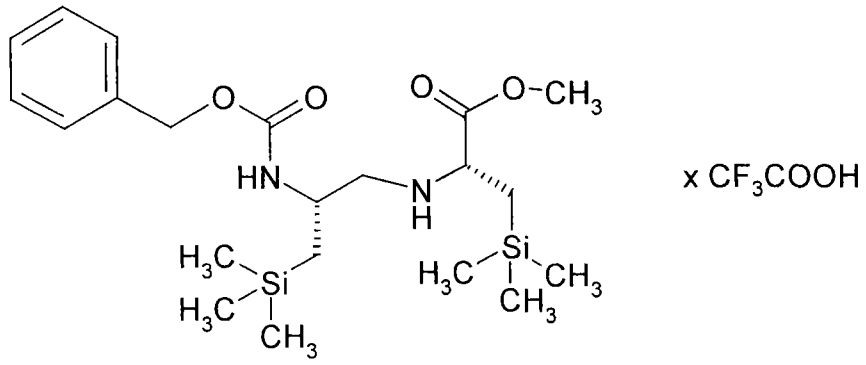
MS (DCI/NH_3): m/z = 423 (100)$[M+H]^+$.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz): δ = 7.32 (br.s, 5H), 8.76 (br.d, J = 9 Hz, 1H), 5.15 (d, J = 12 Hz, 1H), 5.05 (d, J = 12 Hz, 1H), 4.03 (m, 1H), 3.94 (dd, J = 12.6, 3.8 Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.34 (dd, J = 10, 12 Hz, 1H), 2.87 (dd, J = 4, 12 Hz, 1H), 1.53 (dd, J = 8.9, 14.7 Hz, 1H), 1.40-1.22 (m, 2H), 1.12 (dd, J = 12.5, 13.5 Hz, 1H), 0.92 (s, 9H), 0.06 (s, 9H).

实施例 36A

N-[(2*R*)-2-苄氧羰基氨基-3-三甲代甲硅烷基丙基]-β-三甲代甲硅烷基丙氨酸甲酯氢三氟乙酸盐

(Z-L-β-三甲代甲硅烷基-Ala(ΨCH$_2$NH)-L-β-(三甲代甲硅烷基)-Ala-OMe)·TFA



制备自实施例 11A 和实施例 8A. 产率 54 mg (理论值的 24%).

HPLC (方法 15): R_t = 4.93 min.

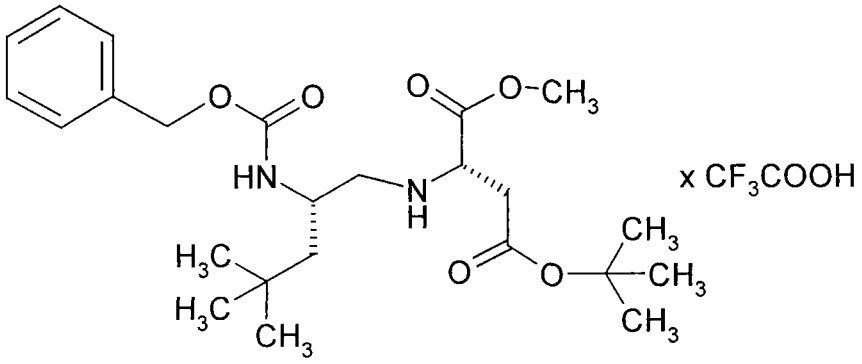
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 7.36-7.26 (m, 5H), 5.47 (br d, J = 6 Hz, 1H), 5.16 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 5.04 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 4.04 (m, 1H), 3.96 (d, J = 10.8 Hz, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.32 (t, J = 9.7 Hz, 1H), 2.91 (d, J = 11.3 Hz, 1H), 1.31 (br.d, J = 14.2 Hz, 1H), 1.12 (t, J = 12.7 Hz, 1H), 0.92 (dd, J = 9.8, 14.9 Hz, 1H), 0.74 (dd, J = 4.8, 14.4 Hz, 1H), 0.06 (s, 9H), 0.02 (s, 9H).

实施例 37A

N-[(2*S*)-2-苄氧羰基氨基-4,4-二甲基戊基]-O^5-叔丁基天冬氨酸甲酯氢

三氟乙酸盐

(Z-L-β-tBu-Ala(ΨCH$_2$NH)-L-Asp(tBu)-OMe)·TFA



制备自实施例 16A 和 H-Asp(tBu)-OMe·盐酸盐。产率 212 mg (理论值的 46%).

HPLC (方法 15): R_t = 4.7 min.

MS (*DCI*/NH_3): m/z = 451 (100)$[M+H]^+$, 317 (23).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz): δ = 7.37–7.27 (m, 5H), 8.76 (br.d, J = 9 Hz, 1H), 5.53 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 5.09 (q [AB], J = 12.2 Hz, 2H), 4.13 (m, 1H), 4.07 (t, J = 4.7 Hz, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.37 (br.t, J = 10.8 Hz, 1H), 3.21-2.99 (m, 3H), 1.53 (dd, J = 8.8, 14.5 Hz, 1H), 1.44 (s, 9H), 1.32 (dd, J = 2.7, 14.5 Hz, 1H), 0.92 (s, 9H).

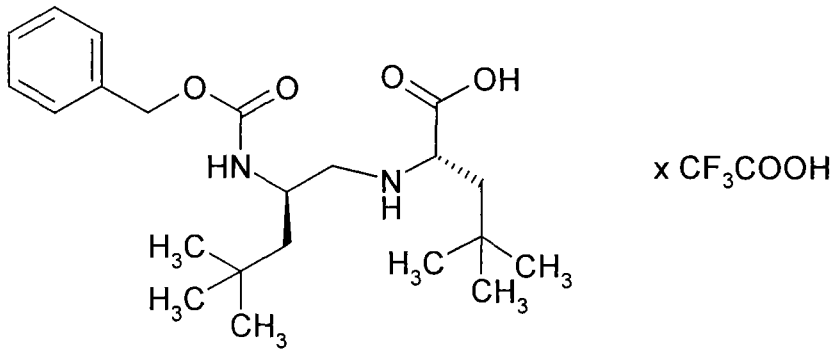
脱氧二肽酸

按照一般工作步骤 4 制备下列脱氧二肽酸(实施例 38A 至 49A):

实施例 38A

N-[(*2R*)-2-苄氧羰基氨基-4,4-二甲基戊基]-β-叔丁基丙氨酸氢三氟乙酸盐

(Z-D-β-tBu-Ala(ΨCH$_2$NH)-L-β-tBu-Ala-OH)·TFA



制备自实施例 25A. 产率: 103 mg (理论值的 51%).

HPLC (方法 15): R_t = 4.5 min.;

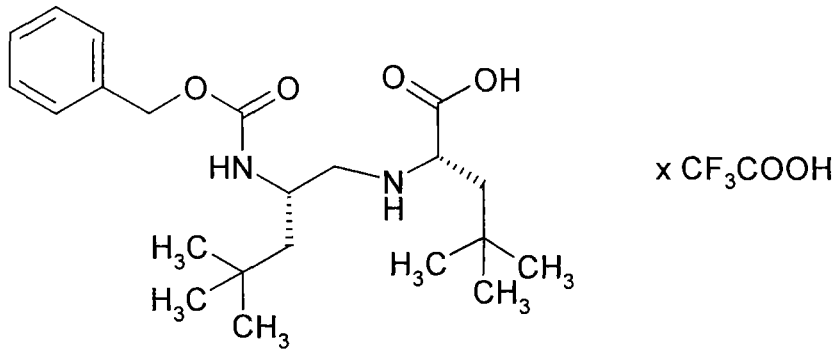
MS (ESI pos.): m/z = 393 $[M+H]^+$, (ESI neg.): 391 $[M-H]^-$.

^{1}H-NMR (DMSO, 300 MHz): δ = 9.30-8.60 (br, 1H), 7.40–7.22 (m, 6H), 5.13 (d, J = 12.7 Hz, 1H), 4.97 (d, J = 12.7 Hz, 1H), 3.92 (m, 1H), 3.84 (br.d, J = 8.9 Hz, 1H), 2.94 (br.d, J = 12.1 Hz, 1H), 2.81 (dd, J = 10.2, 12.2 Hz, 1H), 1.80 (dd, J = 9.5, 13.8 Hz, 1H), 1.67 (br.d, J = 9.5 Hz, 1H), 1.44 (dd, J = 8.6, 14.2 Hz, 1H), 1.30 (dd, J = 2.2, 14.2 Hz, 1H), 0.93 (s, 9H), 0.87 (s, 9H).

实施例 39A

N-[(*2S*)-2-苄氧羰基氨基-4,4-二甲基戊基]-β-叔丁基丙氨酸氢三氟乙酸盐

(Z-L-β-tBu-Ala(ΨCH$_2$NH)-L-β-tBu-Ala-OH)·TFA



制备自实施例 26A. 产率: 895 mg (理论值的 83%).

HPLC (方法 15): R_t = 4.5 min.

MS (ESI pos.): m/z = 393 $[M+H]^+$ (100); ES^-: 391 (4).

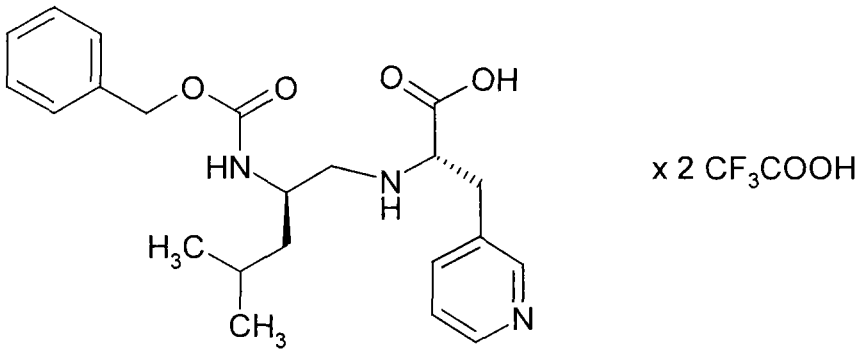
^{1}H-NMR (DMSO, 300 MHz): δ = 7.40-7.27 (m, 5H), 7.07 (d, J = 9.0 Hz,

1H), 5.12 (d, J = 12.7 Hz, 1H), 4.99 (d, J = 12.7 Hz, 1H), 3.99-3.85 (m, 2H), 2.98 (m, 1H), 2.88 (m, 1H), 1.81 (dd, J = 9.7, 14 Hz, 1H), 1.64 (dd, J = 2, 14 Hz, 1H), 1.45-1.30 (m, 2H), 0.93 (s, 9H), 0.89 (s, 9H).

实施例 40A

N-[(2*R*)-2-苄氧羰基氨基-4-甲基戊基]-β-(3-吡啶基)丙氨酸双(氢三氟乙酸盐)

(Z-D-Leu(ΨCH_2NH)-L-β-(3-吡啶基)-Ala-OH)· 2 TFA



制备自实施例 27A. 产率: 744 mg (理论值的 95%).

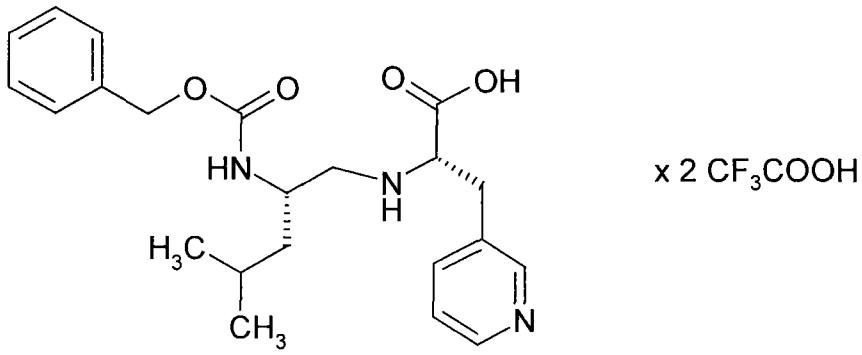
LC-MS (方法 14): R_t = 1.17 min. ES^+: m/z = 400 $[M+H]^+$, ES^-: 398 M-H]$^-$.

^{1}H-NMR (DMSO, 300 MHz): δ = 9.5-8.9 (br, 2H), 8.62 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 8.61 (s, 1H), 7.97 (d, J = 7.8 H, 1H), 7.61 (dd, J = 5.1, 7.8 Hz, 1H), 7.41-7.28 (m, 6H), 5.13 (d, J = 12.5 Hz, 1H), 5.00 (d, J = 12.5 Hz, 1H), 4.29 (dd, J = 5.0, 8.8 Hz, 1H), 3.81 (m, 1H), 3.39 (dd, J = 4.8, 14.2 Hz, 1H), 3.16 (dd, J = 9.0, 14.2 Hz, 1H), 3.12 (br.d, J = 12.4 Hz, 1H), 2.97 (dd, J = 9.6, 12.4 Hz, 1H), 1.59 (m, 1H), 1.39 (ddd, J = 4.9, 9.5, 13.6 Hz, 1H), 1.23 (ddd, J = 4.7, 8.9, 13.6 Hz, 1H), 0.89 (d, J = 6.6 Hz, 3H), 0.86 (d, J = 6.3 Hz, 3H).

实施例 41A

N-[(2*S*)-2-苄氧羰基氨基-4-甲基戊基]-β-(3-吡啶基)丙氨酸双(氢三氟乙酸盐)

(Z-L-Leu(ΨCH_2NH)-L-β-(3-吡啶基)-Ala-OH)· 2 TFA



制备自实施例 28A. 产率: 420 mg (理论值的 74%).

LC-MS (方法 14): R_t = 1.15 min.

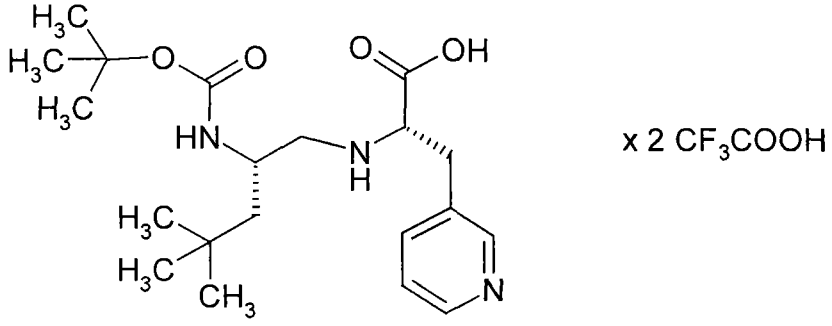
MS: ES^+: m/z = 400 $[M+H]^+$, ES^-: 398 $[M-H]^-$.

^{1}H-NMR (DMSO, 300 MHz): δ = 9.5-8.6 (br, 1H), 8.62 (br.s, 2H), 7.97 (d, J = 7.9 H, 1H), 7.61 (dd, J = 5.2, 7.6 Hz, 1H), 7.43-7.27 (m, 6H), 5.10 (d, J = 12.5 Hz, 1H), 5.02 (d, J = 12.5 Hz, 1H), 4.32 (dd, J = 5.0, 8.4 Hz, 1H), 3.89 (m, 1H), 3.16 (dd, J = 4.8, 14.2 Hz, 1H), 3.18 (dd, J = 8.9, 14.2 Hz, 1H), 3.14-2.98 (m, 2H), 1.59 (m, 1H), 1.39 (ddd, J = 4.9, 8.7, 13.8 Hz, 1H), 1.26 (ddd, J = 4.7, 8.8, 13.8 Hz, 1H), 0.89 (d, J = 6.6 Hz, 3H), 0.86 (d, J = 6.3 Hz, 3H).

实施例 42A

N-[(2*S*)-2-叔-丁氧羰基氨基-4,4-二甲基戊基]-β-(3-吡啶基)丙氨酸双(氢三氟乙酸盐)

(Boc-L-β-tBu-Ala(ΨCH$_2$NH)-L-β-(3-吡啶基)-Ala-OH)· 2 TFA



制备自实施例 29A. 产率: 128 mg (理论值的 77%).

HPLC (方法 15): R_t = 3.9 min.

MS: ES^+: m/z = 380 $[M+H]^+$ (100), 324 (85), 280 (88).

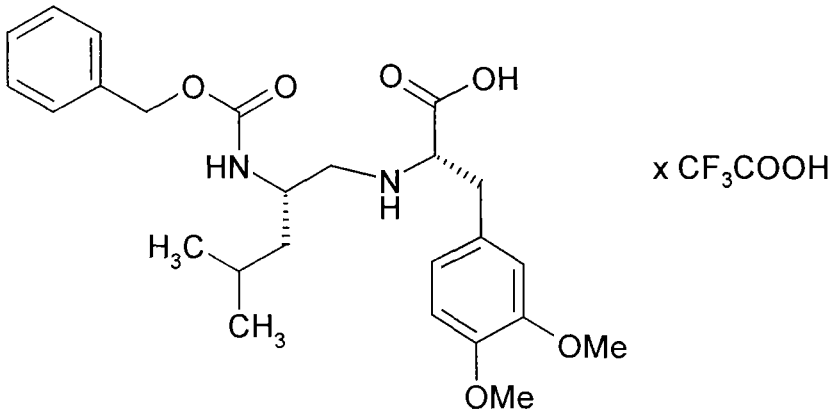
^{1}H-NMR (DMSO, 300 MHz): δ = 9.4-8.3 (br, 1H), 8.59 (d, J = ca. 5 Hz,

1H), 8.58 (s, 1H), 7.93 (d, J = 7.8 H, 1H), 7.56 (dd, J = 5.1, 7.8 Hz, 1H), 6.89 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 4.31 (m, 1H), 3.86 (m, 1H), 3.34 (dd, J = 4.9, 14.1 Hz, 1H), 3.34 (dd, J = 8.9, 14.1 Hz, 1H), 3.10-2.90 (m, 2H), 1.44 (dd, J = 8.9, 14.4 Hz, 1H), 1.39 (s, 9H), 1.32 (dd, J = 2.5, 14.4 Hz, 1H), 0.90 (s, 9H).

实施例 43A

N-[(2*S*)-2-苄氧羰基氨基-4-甲基戊基]-β-(3,4-二甲氧基苯基)丙氨酸氢三氟乙酸盐

(Z-L-Leu-(ΨCH_2NH)-L-β-(3,4-二甲氧基苯基)-Ala-OH)·TFA



制备自实施例 30A. 产率 140 mg (理论值的 72%).

LC-MS (方法 17): R_t= 1.91 min. ES^+: m/z = 459 $[M+H]^+$, ES^-: 457 $[M-H]^-$.

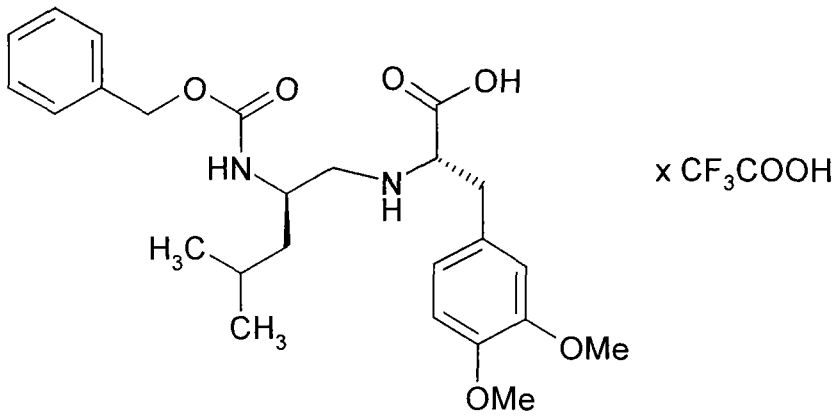
^{1}H-NMR (DMSO, 400 MHz): δ = 9.3-8.4 (br, 2H), 7.41-7.29 (m, 5H), 7.26 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 6.88 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.87 (s, 1H), 6.75 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 5.08 (d, J = 11.0 Hz, 1H), 5.00 (d, J = 11.0 Hz, 1H), 4.11 (m, 1H), 3.82 (m, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.12 (dd, J = 5.2, 14.1 Hz, 1H), 3.02 (dd, J = 7.5, 14.1 Hz, 1H), 3.0-2.83 (m, 2H), 1.55 (m, 1H), 1.34 (ddd, J = 4.9, 9.8, 13.9 Hz, 1H), 1.21 (ddd, J = 4.4, 8.5, 13.6 Hz, 1H), 0.87 (d, J = 6.6 Hz, 3H), 0.84 (d, J = 6.4 Hz, 3H).

实施例 44A

N-[(2*R*)-2-苄氧羰基氨基-4-甲基戊基]-β-(3,4-二甲氧基苯基)丙氨酸氢

三氟乙酸盐

(Z-D-Leu-(ΨCH$_2$NH)-L-β-(3,4-二甲氧基苯基)-Ala-OH)·TFA



制备自实施例 31A. 产率 126 mg (理论值的 99%).

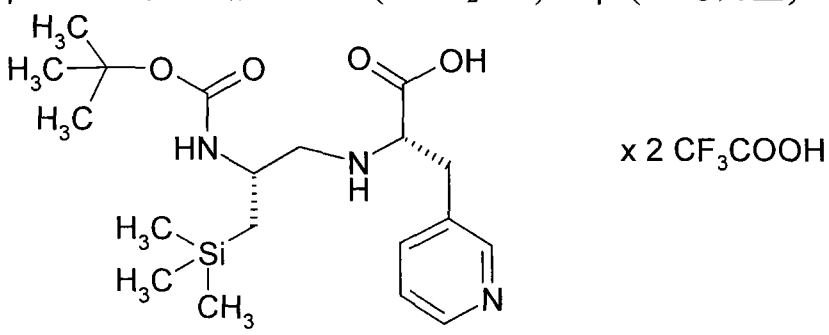
LC-MS (方法 17): R_t= 1.92 min. ES^+: m/z = 459 $[M+H]^+$, ES^-: 457 $[M-H]^-$.

^{1}H-NMR (DMSO, 400 MHz): δ = 9.4-8.4 (br, 2H), 7.41-7.29 (m, 5H), 7.27 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 6.88 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.86 (s, 1H), 6.75 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.11 (d, J = 12.3 Hz, 1H), 5.00 (d, J = 12.3 Hz, 1H), 4.09 (m, 1H), 3.88 (m, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.15 (dd, J = 4.9, 13.6 Hz, 1H), 2.99 (dd, J = 7.9, 14.1 Hz, 1H), 2.97 (br.d, J = ca. 12 Hz, 1H), 2.87 (dd, J = 9.7, 11.8 Hz, 1H), 1.55 (m, 1H), 1.35 (ddd, J = 4.9, 9.8, 13.9 Hz, 1H), 1.21 (ddd, J = 4.9, 8.5, 13.6 Hz, 1H), 0.87 (d, J = 7.8 Hz, 3H), 0.83 (d, J = 7.9 Hz, 3H).

实施例 45A

N-[(2*R*)-2-叔-丁氧羰基氨基-3-三甲代甲硅烷基丙基]-β-(3-吡啶基)丙氨酸氢三氟乙酸盐

(Boc-L-β-三甲代甲硅烷基-Ala(ΨCH$_2$NH)-L-β-(3-吡啶基)-Ala-OH)TFA



制备自实施例 32A. 产率 56 mg (理论值的 20%).

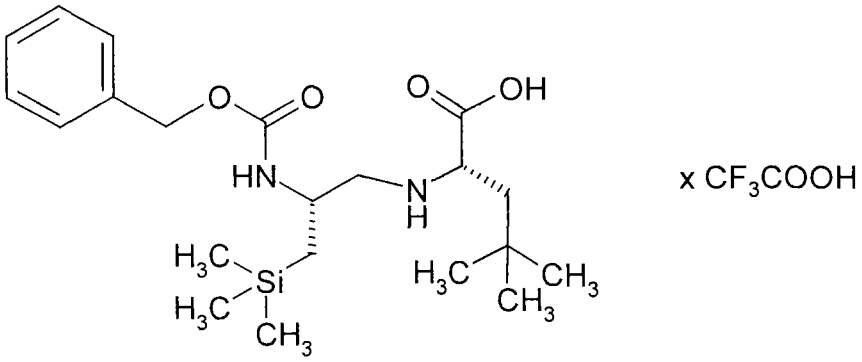
LC-MS (方法 17): R_t = 1.55 min. ES^+: m/z = 396 $[M+H]^+$, ES^-: 394 $[M-H]^-$.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz)(主要旋转异构体): δ = 9.10 (s, 1H), 8.68-8.58 (m, 2H), 7.81 (t, J = 6.6 Hz, 1H), 5.19 (br.d, J = ca. 6 Hz, 1H), 4.19 (m, 1H), 3.99 (m, 1H), 3.71-3.57 (m, 2H), 3.30-3.13 (m, 2H), 1.42 (s, 9H), 0.90 (dd, J = 10.8, 14.8 Hz, 1H), 0.75 (dd, J = 4.4, 15 Hz, 1H), 0.03 (s, 9H).

实施例 46A

N-[(*2R*)-2-苄氧羰基氨基-3-三甲代甲硅烷基丙基]-β-叔丁基丙氨酸氢三氟乙酸盐.

(Z-L-β-三甲代甲硅烷基-Ala(ΨCH$_2$NH)-L-β-tBu-Ala-OH)·TFA



制备自实施例 34A. 产率: 33 mg (理论值的 47%).

HPLC (方法 15): R_t = 4.6 min.;

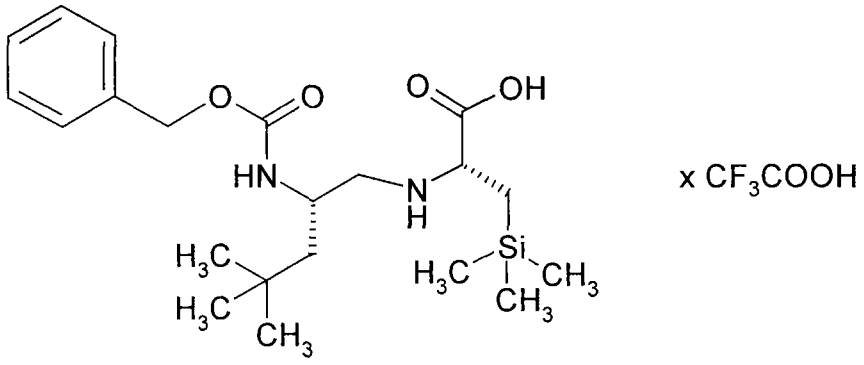
MS (ESI pos): m/z (%)= 409 (100)$[M+H]^+$, ESI neg.: 407 (10)$[M-H]^-$.

^{1}H-NMR (DMSO, 300 MHz): δ = 7.56-7.43 (m, 5H), 7.29 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 5.13 (d, J = 12 Hz, 1H), 5.01 (d, J = 12 Hz, 1H), 4.03-3.80 (m, 2H), 3.10 (m, 1H), 2.88 (m, 1H), 1.84 (dd, J = 9.0, 14.5 Hz, 1H), 1.68 (br.d, J = 14.5 Hz, 1H), 0.95 (s, 9H), 0.82 (m, 2H), 0.03 (s, 9H).

实施例 47A

N-[(*2S*)-2-苄氧羰基氨基-4,4-二甲基戊基]-β-三甲代甲硅烷基丙氨酸氢三氟乙酸盐

(Z-L-β-t-丁基-Ala(ΨCH$_2$NH)-L-β-(三甲代甲硅烷基)-Ala-OH)·TFA



制备自实施例 35A. 产率: 86 mg (理论值的 88%).

HPLC (方法 15): R_t = 4.6 min.

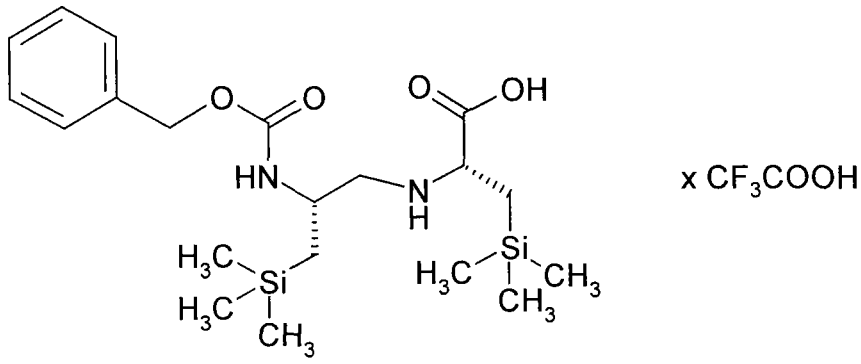
MS: ES^+: m/z = 409 (100)$[M+H]^+$; ES^-: 407 (9)$[M-H]^-$, 113 (100).

^{1}H-NMR (DMSO, 300 MHz): δ = 9.00-8.65 (br., 2H), 7.42-7.25 (m, 5H), 7.28 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 5.13 (d, J = 12.6 Hz, 1H), 4.99 (d, J = 12.6 Hz, 1H), 3.95-3.80 (m, 2H), 3.10 (m, 1H), 2.89 (m, 1H), 1.44 (dd, J = 10.3, 14.3 Hz, 1H), 1.35 (br.d, J = 14.3 Hz, 1H), 1.21 (dd, J = 3.9, 14.0 Hz, 1H), 0.88 (s, 9H), 0.07 (s, 9H).

实施例 48A

N-[(*2R*)-2-苄氧羰基氨基-3-三甲代甲硅烷基丙基]-β-三甲代甲硅烷基丙氨酸氢三氟乙酸盐

(Z-L-β-三甲代甲硅烷基-Ala(ΨCH$_2$NH)-L-β-(三甲代甲硅烷基)-Ala-OH)·TFA



制备自实施例 36A. 产率 43 mg (理论值的 82%).

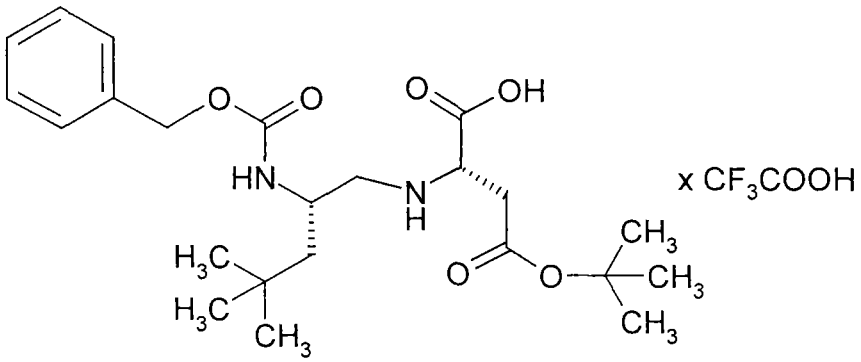
LC-MS (方法 16): R_t = 2.15 min. ES^+: m/z = 425 $[M+H]^+$, ES^-: 423 $[M-H]^-$.

^{1}H-NMR (DMSO, 300 MHz): δ = 9.00-8.55 (br,s, 2H), 7.39-7.22 (m, 5H), 7.25 (d, J = 10.2 Hz, 1H), 5.10 (d, J = 12.3 Hz, 1H), 4.98 (d, J = 12.3 Hz, 1H), 4.00-3.82 (m, 2H), 3.01 (m, 1H), 2.89 (m, 1H), 1.20 (dd, J = 3.9, 14.1 Hz, 1H), 1.03 (t, J = 13.3 Hz, 1H), 0.89-0.75 (m, 2H), 0.10 (s, 9H), 0.05 (s, 9H).

实施例 49A

N-[(*2S*)-2-苄氧羰基氨基-4,4-二甲基戊基]-O^5-叔丁基天冬氨酸氢三氟乙酸盐

(Z-L-β-tBu-Ala(ΨCH_2NH)-L-Asp(tBu)-OH)·TFA



制备自实施例 37A. 产率 78 mg (理论值的 42%).

HPLC (方法 15): R_t = 4.5 min.

MS: ES^+: m/z = 437 (100)$[M+H]^+$, ES^-: 435 (12)$[M-H]^-$.

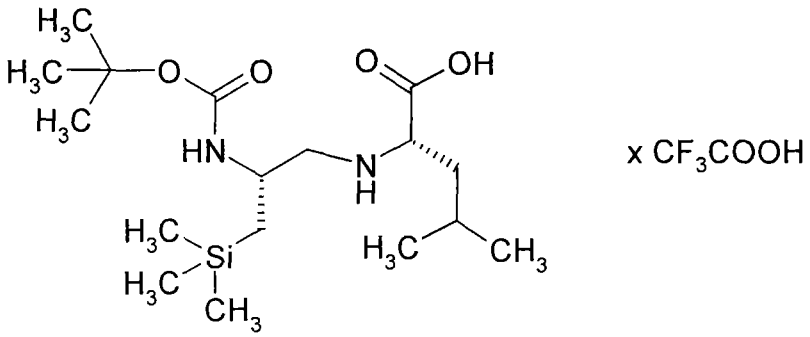
^{1}H-NMR (DMSO, 300 MHz): δ = 9.5-8.0 (br., 2H), 7.39-7.27 (m, 6H), 5.10 (d, J = 12.6 Hz, 1H), 4.99 (d, J = 12.6 Hz, 1H), 4.12 (br.s, 1H), 3.94-3.83 (m, 1H), 3.00-2.82 (m, 2H), 2.82 (d, = 5.6 Hz, 2H), 1.43 (m, 1H), 1.41 (s, 9H), 1.30 (dd, J = 2.7, 14.2 Hz, 1H), 0.89 (s, 9H).

按照一般工作步骤 5 制备下列实施例 50A:

实施例 50A

N-[(*2R*)-2-叔-丁氧羰基氨基-3-三甲代甲硅烷基丙基]亮氨酸氢三氟乙酸盐

(Boc-L-β-三甲代甲硅烷基-Ala(ΨCH$_2$NH)-L-Leu-OH)·TFA



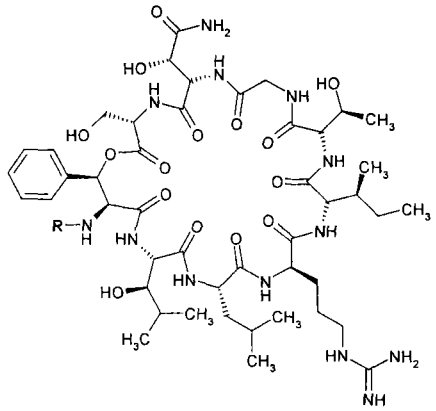
制备自实施例 33A. 产率 155 mg (理论值的 95%).

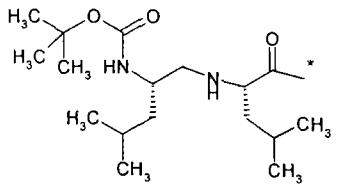
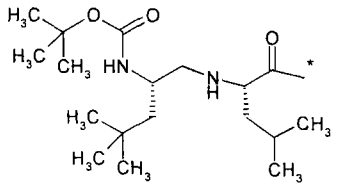
MS (DCI/NH$_3$): m/z = 361 (100)[M+H]$^+$, 315 (85).

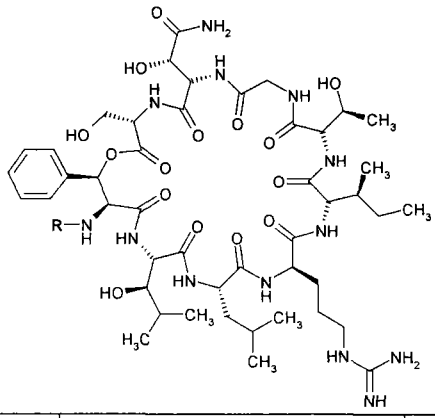
^{1}H-NMR (DMSO, 300 MHz): δ = 9.1-8.5 (br, 2H), 6.85 (d, J = 9.0, 1H), 3.98-3.82 (m, 2H), 3.00 (dd, 7.6, 12.3 Hz, 1H), 2.87 (dd, J = 5.3, 12.3 Hz, 1H), 1.85-1.60 (m, 3H), 1.40 (s, 9H), 0.95 (d, J = ca. 2 Hz, 3H), 0.93 (d, J = ca. 2 Hz, 3H), 0.85-0.78 (m, 2H), 0.03 (s, 9H).

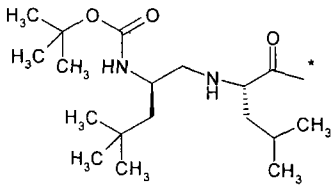
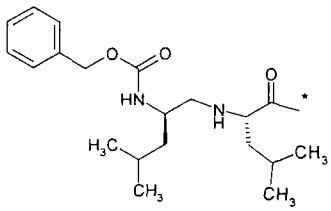
氨基醛的还原性胺化和实施例 3A

按照一般工作步骤 3，由实施例 3A 制备实施例 51A 至 54A。在该阶段未测定产率，而是只有在去除 N-末端保护基以后才测定产率。



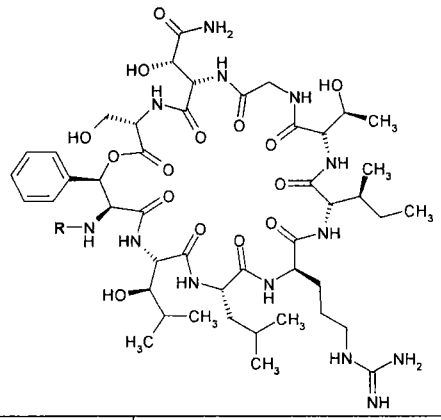
Ex. No.	名称	R	起始化合物/分析
51A	*N*-[(2*S*)-2-叔-丁氧羰基氨基-4-甲基戊-1-基]去(1-D-亮氨酸)-溶杆菌素双-氢三氟乙酸盐		来自实施例 3A 和 Boc-Leu-H. HPLC (方法 15): R_t = 4.52 min. LC/MS: (方法 17): R_t = 2.42 min.; ES^+: 1363 $[M+H]^+$, 682 $[M+2H]^{2+}$; ES^-: 1361 $[M-H]^-$.
52A	*N*-[(2*S*)-2-叔-丁氧羰基氨基-4,4-二甲基戊-1-基]-去(1-D-亮氨酸)-溶杆菌素双-氢三氟乙酸盐		来自实施例 3A 和实施例 20A. HPLC (方法 15): R_t = 4.44 min. LC/MS: (方法 17): R_t = 1.86 min.; ES^+: 1377 $[M+H]^+$, 689.4 $[M+2H]^{2+}$; ES^-: 1375 $[M-H]^-$. HR-MS: $[M+H]^+$ 实验值: 1376.8138 计算值: 1376.8153



Ex. No.	名称	R	起始化合物/分析
53A	*N*-[(2*R*)-2-叔-丁氧羰基氨基-4,4-二甲基戊-1-基]-去(1-D-亮氨酸)-溶杆菌素双-氢三氟乙酸盐		来自实施例 3A 和实施例 21A. HPLC (方法 15): R_t = 4.42 min. LC/MS: (方法 17):R_t = 1.85 min.; ES^+: 1377 $[M+H]^+$; 689.4 $[M+2H]^{2+}$; ES^-: 1375 $[M-H]^-$. HR-MS: $[M+H]^+$ 实验值: 1376.8147 计算值: 1376.8153
54A	*N*-[(2*R*)-2-苄氧羰基氨基-4-甲基戊-1-基]去(1-D-亮氨酸)-溶杆菌素双-氢三氟乙酸盐		来自实施例 3A 和实施例 19A. HPLC (方法 15): R_t = 3.88 min. LC/MS: (方法 17): R_t = 1.93 min.; ES^+: 1397 $[M+H]^+$; ES^-: 1395 $[M-H]^-$

将脱氧二肽酸与实施例 5A 偶联

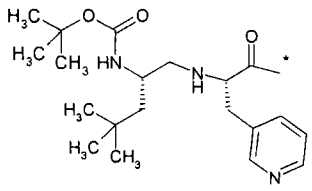
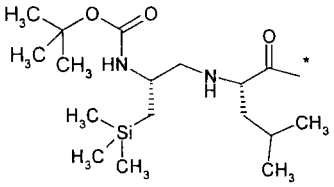
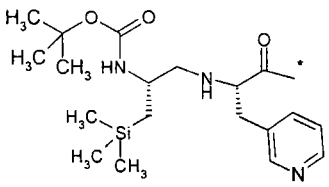
按照一般工作步骤 6，由实施例 5A 制备下列实施例 55A 至 67A。在该阶段未测定产率，而是只有在去除 N-末端保护基以后才测定产率。

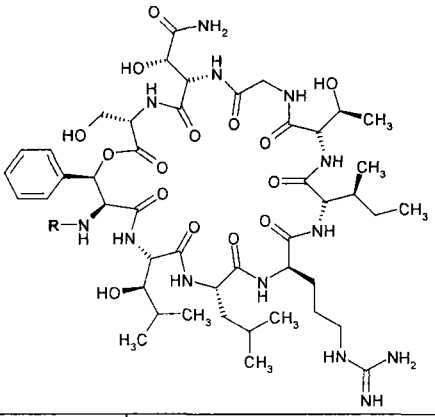


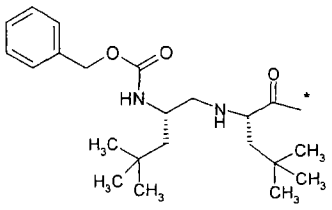
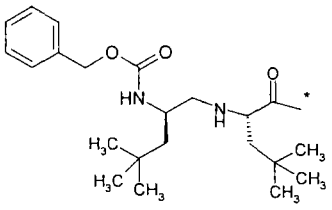
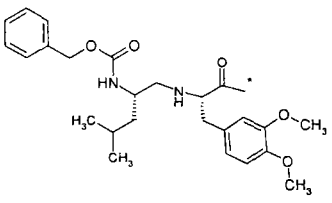
x n CF_3COOH

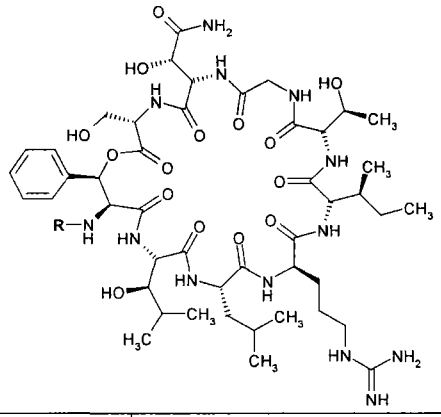
n = 2 或 3

(见化合物名称)

Ex. No.	名称	R	起始化合物/分析
55A	*N*-{*N*-[(2*S*)-2-叔-丁氧羰基氨基-4,4-二甲基戊-1-基]-(β-3-吡啶基-Ala)}-去(1-D-亮氨酸-2-亮氨酸)溶杆菌素 三-氢三氟乙酸盐		来自实施例 5A 和实施例 42A. HPLC (方法 19): R_t = 3.67 min. LC/MS: (方法 17): R_t = 1.78 min.; ES^+: 706.9 $[M+2H]^{2+}$; ES^-: 1410 $[M-H]^-$
56A	*N*-{*N*-[(2*R*)-2-叔-丁氧羰基氨基-3-三甲代甲硅烷基丙-1-基]}去(1-D-亮氨酸)-溶杆菌素双-氢三氟乙酸盐		来自实施例 5A 和实施例 50A. LC/MS: (方法 17): R_t = 1.95 min.; ES^+: 1393 $[M+H]^+$, 697.3 $[M+2H]^{2+}$; ES^-: 1391 $[M-H]^-$
57A	*N*-{*N*-[(2*R*)-2-叔-丁氧羰基氨基-3-三甲代甲硅烷基丙-1-基]-[β-(3-吡啶基)-Ala]}去(1-D-亮氨酸-2-亮氨酸)溶杆菌素 三-氢三氟乙酸盐		来自实施例 5A 和实施例 45A. HPLC (方法 19): R_t = 3.72 min. (未表征, 直接进一步反应获得实施例 6)



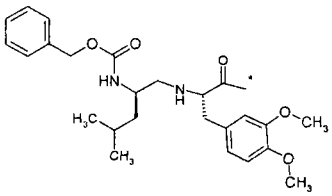
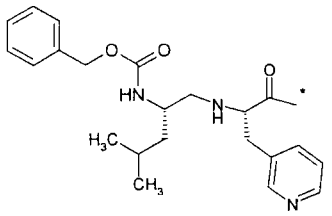
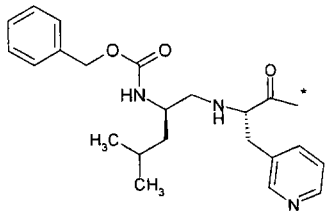
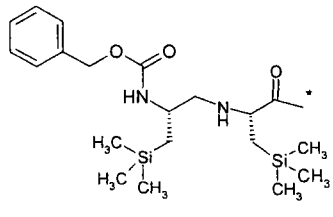
Ex. No.	名称	R	起始化合物/分析
58A	*N*-{*N*-[(2*S*)-2-苄基-氧基羰基氨基-4,4-二甲基戊-1-基]-β-tBu-Ala}去(1-D-亮氨酸-2-亮氨酸)-溶杆菌素双-氢三氟乙酸盐		来自实施例 5A 和实施例 39A. HPLC (方法 19): R_t = 3.91 min. LC/MS: (方法 17): R_t = 1.96 min.; ES^+: 713.4 $[M+H]^+$; ES^-: 1423 $[M-H]^-$.
59A	*N*-{*N*-[(2*R*)-2-苄基-氧基羰基氨基-4,4-二甲基戊-1-基]-β-tBu-Ala}去(1-D-亮氨酸-2-亮氨酸)-溶杆菌素双-氢三氟乙酸盐		来自实施例 5A 和实施例 38A. LC/MS: (方法 17): R_t = 2.01 min.; ES^+: 713.2 $[M+2H]^{2+}$; ES^-: 1423 $[M-H]^-$.
60A	*N*-{*N*-[(2*S*)-2-苄基-氧基羰基氨基-4-甲基戊-1-基]-[β-(3,4-二甲氧基苯基)-Ala]}去(1-D-亮氨酸-2-亮氨酸)溶杆菌素 双(氢三氟乙酸盐)		来自实施例 5A 和实施例 43A. LC/MS: (方法 17): R_t = 1.96 min.; ES^+: 746.4 $[M+2H]^{2+}$; ES^-: 1490 $[M-H]^-$.

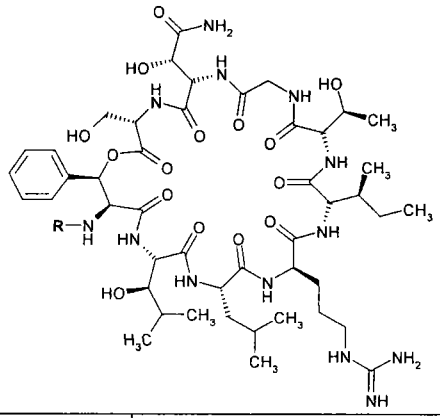


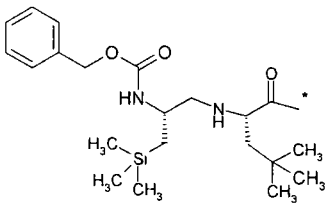
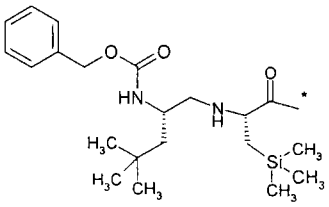
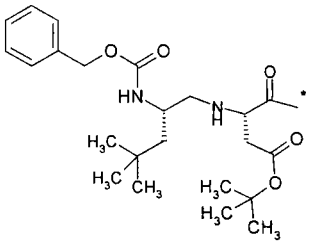
x n CF_3COOH

n = 2 或 3

(见化合物名称)

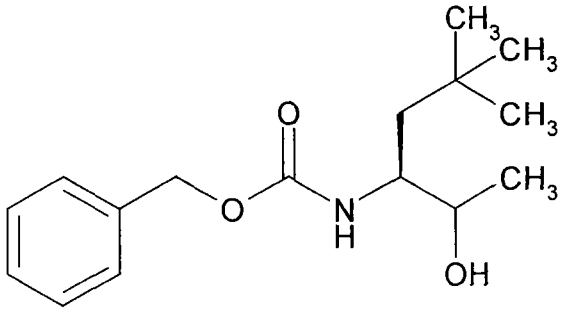
Ex. No.	名称	R	起始化合物/分析
61A	*N*-{*N*-[(2*R*)-2-苄基-氧基羰基氨基-4-甲基戊-1-基]-[β-(3,4-二甲氧基苯基)-Ala]}去(1-D-亮氨酸-2-亮氨酸)溶杆菌素 双(氢三氟乙酸盐)		来自实施例 5A 和实施例 44A. LC/MS: (方法 17): R_t = 1.95 min.; ES^+: 746.4 $[M+2H]^{2+}$; ES^-: 1490 $[M-H]^-$.
62A	*N*-{*N*-[(2*S*)-2-苄基-氧基羰基氨基-4-甲基戊-1-基]-[β-(3-吡啶基)-Ala]}去(1-D-亮氨酸-2-亮氨酸)-溶杆菌素 三-氢三氟乙酸盐		来自实施例 5A 和实施例 41A. HPLC (方法 19): R_t= 3.63 min. LC/MS: (方法 17): R_t = 1.74 min.; ES^+: 716.8 $[M+2H]^{2+}$; ES^-: 1430 $[M-H]^-$.
63A	*N*-{*N*-[(2*R*)-2-苄基-氧基羰基氨基-4-甲基戊-1-基]-(β-3-吡啶基-Ala)}去(1-D-亮氨酸-2-亮氨酸)-溶杆菌素 三-氢三氟乙酸盐		来自实施例 5A 和实施例 40A. HPLC (方法 19): R_t = 3.63 min. LC/MS: (方法 17): R_t = 1.67 min.; ES^+: 716.7 $[M+2H]^{2+}$; ES^-: 1430 $[M-H]^-$.
64A	*N*-{*N*-[(2*R*)-2-苄基-氧基羰基氨基-3-三甲代甲硅烷基丙-1-基]-(β-三甲代甲硅烷基-Ala)}去(1-D-亮氨酸-2-亮氨酸)溶杆菌素 双(氢三氟乙酸盐)		来自实施例 5A 和实施例 48A. LC/MS: (方法 14): R_t = 1.95 min.; ES^+: 1458 $[M+H]^+$, 729.4 $[M+2H]^{2+}$; ES^-: 1456 $[M-H]^-$.



Ex. No.	名称	R	起始化合物/分析
65A	*N*-{*N*-[(2*R*)-2-苄基-氧基羰基氨基-3-三甲代甲硅烷基丙-1-基]-(β-tBu-Ala)}去(1-D-亮氨酸-2-亮氨酸)-溶杆菌素双-氢三氟乙酸盐		来自实施例 5A 和实施例 46A. LC/MS: (方法 17): R_t = 1.90 min.; ES^+: 1441 $[M+H]^+$, 721.3 $[M+2H]^{2+}$; ES^-: 1439 $[M-H]^-$.
66A	*N*-{*N*-[(2*S*)-2-苄基-氧基羰基氨基-4,4-二甲基戊-1-基]-(β-三甲代甲硅烷基-Ala)}-去(1-D-亮氨酸-2-亮氨酸)溶杆菌素双-氢三氟乙酸盐		来自实施例 5A 和实施例 47A. LC/MS: (方法 17): R_t = 1.96 min.; ES^+: 1441 $[M+H]^+$, 721.2 $[M+2H]^{2+}$; ES^-: 1439 $[M-H]^-$.
67A	*N*-{*N*-[(2*S*)-2-苄基-氧基羰基氨基-4,4-二甲基戊-1-基]-Asp(tBu)去(1-D-亮氨酸-2-亮氨酸)-溶杆菌素双-氢三氟乙酸盐		来自实施例 5A 和实施例 49A. LC/MS: (方法 17): R_t = 2.13 min.; ES^+: 1469 $[M+H]^+$, 735.3 $[M+2H]^{2+}$; ES^-: 1467 $[M-H]^-$.

实施例 68A

(2RS,3S)-3-苄氧羰基氨基-5,5-二甲基-2-羟基己烷

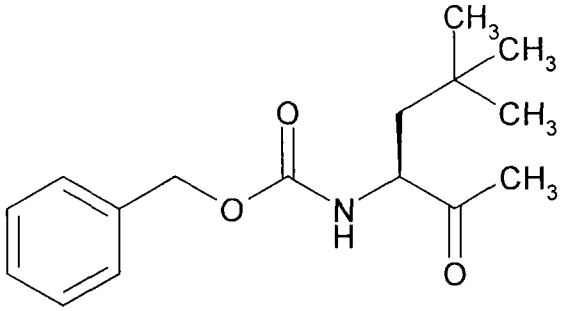


在氩气下在 RT 下将 180 mg (0.68 mmol)的实施例 16A 的化合物在 1 ml 的无水二乙醚中的溶液滴加到 635 µl (0.89 mmol)甲基镁化溴(1.4N，在甲苯:THF 3:1 中)。然后将反应混合物在温热油浴(50°C)中加热 2 小时，冷却并用冰管猝灭。将混合物用 1N 盐酸酸化并用乙酸乙酯萃取三次。将合并的有机相通过硫酸钠干燥并在 Rotavapor 上浓缩。通过制备 HPLC (方法 25)纯化残余物。获得 50 mg (理论值的 20%)的标题化合物。

LC-MS (方法 17): R_t = 2.34 min. MS (ES^+): m/z = 280.3 $[M+H]^+$.

实施例 69A

(3S)-3-苄氧羰基氨基-5,5-二甲基-2-氧代己烷



在 10°C 下将吡啶-SO_3 复合物(285 mg, 1.79 mmol)加入实施例 68A 的化合物(50 mg, 0.18 mmol)和 N,N-二异丙基乙胺(310 µl, 1.79 mmol)在 2 ml 的 DMSO 中的溶液，将混合物缓慢升温至 RT。在 2h 后，将 50 ml 的冰/水加入反应混合物。将混合物用二乙醚萃取四次。将合并的有机相用 10%柠檬酸溶液洗涤三次，然后用水洗涤三次和用饱和氯化钠溶液洗涤两次，通过硫酸镁干燥并且在 20°C 下在 Rotavapor 上浓缩。在不进一步纯化下将粗产物(30 mg, 理论值的 60%)反应。

LC-MS (方法 14): R_t = 2.26 min. MS (ES^+): m/z = 278.4 $[M+H]^+$.

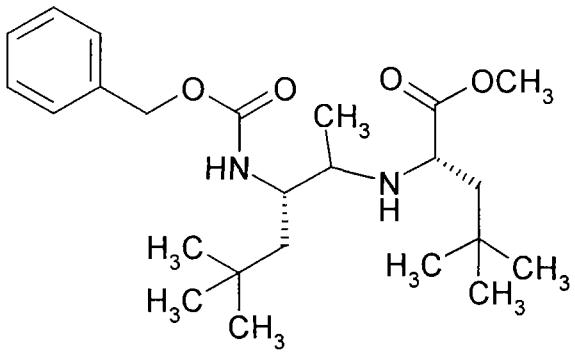
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz): δ = 7.40-7.28 (m, 5H), 5.15- 5.06 (m, 3H),

4.40 (dt, J = 2.3, 9.1 Hz, 1H), 2.21 (s, 3H), 1.68 (dd, J = 2.3, 14.7 Hz, 1H), 1.24 (dd, J = 9.1, 14.7 Hz, 1H), 0.99 (s, 9H).

实施例 70A

N-{(*2RS,3S*)-2-{[(苄氧基)羰基]氨基}-5,5-二甲基己-2-基}-4-甲基-L-亮氨酸甲酯

(Z-L-β-叔丁基-Ala(ΨCHMeNH)-L-β-叔丁基-Ala-OMe)



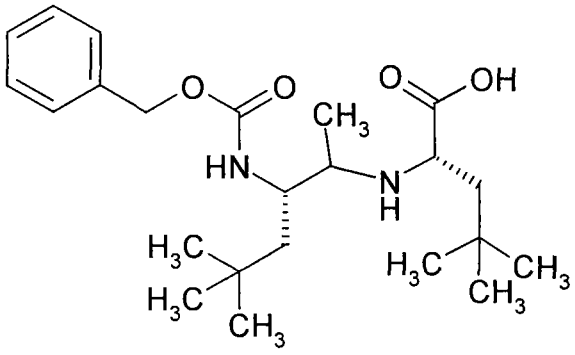
按照一般工作步骤 3，该标题化合物制备自实施例 69A 的化合物(27 mg)和实施例 24A 的化合物 (29 mg)。产率 6 mg (理论值的 13%)。

LC-MS (方法 17): R_t = 2.29 min. MS (ES^+): m/z = 421.2 $[M+H]^+$.

实施例 71A

N-{(*2RS,3S*)-2-{[(苄氧基)羰基]氨基}-5,5-二甲基己-2-基}-4-甲基-L-亮氨酸

(Z-L-β-叔丁基-Ala(ΨCHMeNH)-L-β-叔丁基-Ala-OH)



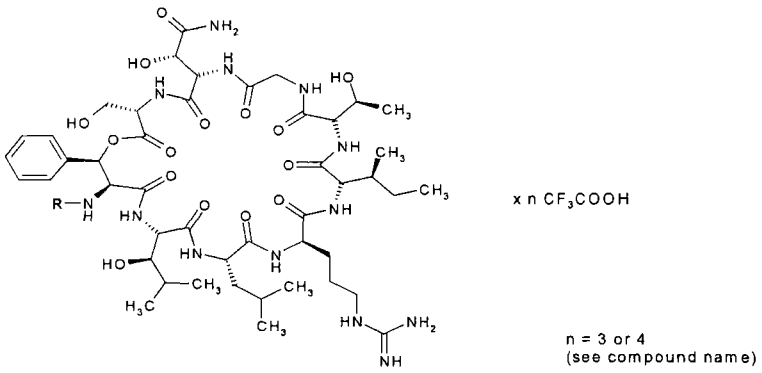
按照一般工作步骤 4，该标题化合物制备自实施例 70A 的化合物(6 mg)。产率 3 mg (理论值的 50%)。分析数据显示非对映异构体。

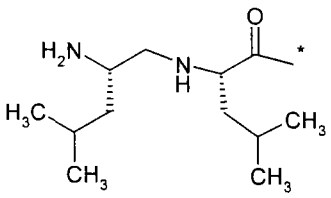
LC-MS (方法 17): R_t = 2.11 min. MS (ES^+): m/z = 407.3 $[M+H]^+$, (ES^-): m/z = 405.2 $[M-H]^-$.

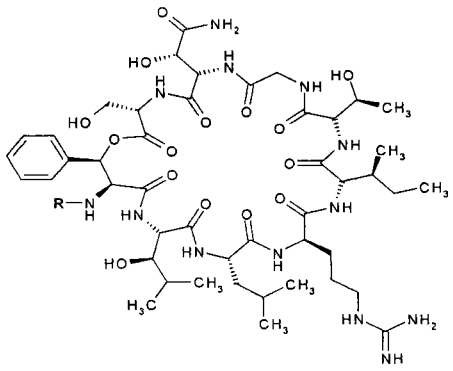
^{1}H-NMR (DMSO-d_6, 400 MHz): δ = 7.38-7.25 (m, 5H), 7.20 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 5.04 和 4.98 (in each case d, [AB 系统], J = 12.7, in each case 1H), 3.51 (m, 1H), 3.18 (t, J = 6.2 Hz, 1H), 2.53 (m, 1H), 2.50 (s, 3H), 1.51 (dd, J = 3.6, 13.9 Hz, 1H), 1.34-1.23 (m, 3H), 0.92 (s, 9H), ca.0.9 (3H), 0.84 (s, 9H).

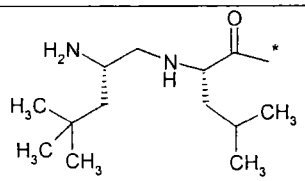
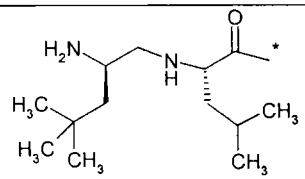
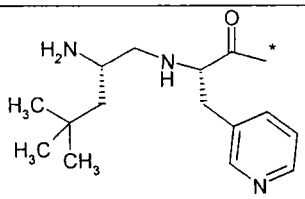
例举性实施方案

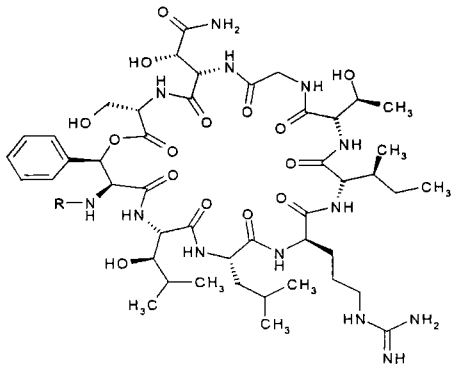
按照一般工作步骤 7 制备实施例 1 至 6：

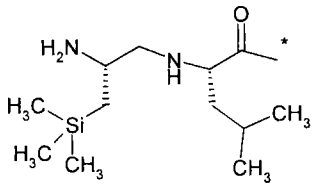
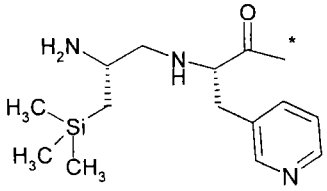


Ex. No.	名称	R	产率/分析 (产率，从实施例 3A 或 5A 开始)
1	*N*-[(2*S*)-2-氨基-4-甲基戊-1-基]去(1-D-亮氨酸)溶杆菌素三氢-三氟乙酸盐		来自实施例 51A; 46.6 mg (理论值的 17%) HPLC (方法 15): R_t = 3.44 min. LC/MS: (方法 17): R_t = 1.47 min.; ES^+: 1263 $[M+H]^+$; ES^-: 1261 $[M-H]^-$. HR-MS: $[M+H]^+$ 实验值: 1262.7522 计算值: 1262.7472 通过 Maldi (方法 20)证实按照方法 9 处理的化合物

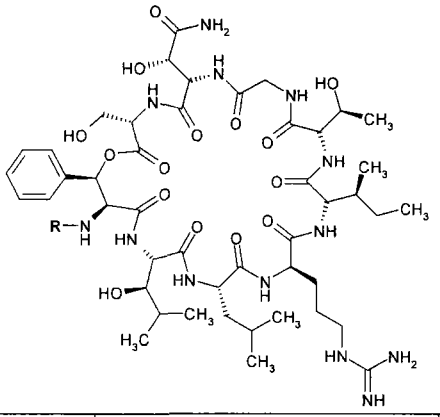


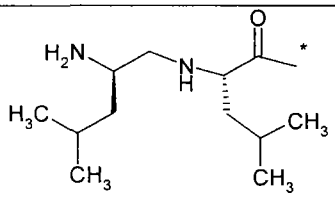
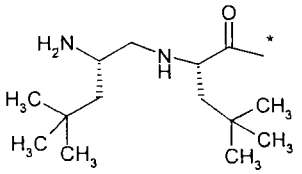
Ex. No.	名称	R	产率/分析 (产率，从实施例 3A 或 5A 开始)
2	*N*-[(2*S*)-2-氨基-4,4-二甲基戊-1-基]去(1-D-亮氨酸)溶杆菌素 三氢-三氟乙酸盐		来自实施例 52A; 52 mg (理论值的 29%) HPLC (方法 15): R_t = 3.95 min. LC/MS: (方法 17): R_t = 1.48 min.; ES^+: 1277 $[M+H]^+$; ES^-: 1275 $[M-H]^-$. HR-MS: $[M+H]^+$ 实验值: 1276.7631 计算值: 1276.7629
3	*N*-[(2*R*)-2-氨基-4,4-二甲基戊-1-基]去(1-D-亮氨酸)溶杆菌素 三氢-三氟乙酸盐		来自实施例 53A; 44 mg (理论值的 23%) HPLC (方法 15): R_t = 3.87 min. LC/MS: (方法 17):R_t = 1.53 min.; ES^+: 1277 $[M+H]^+$; ES^-: 1275 $[M-H]^-$. HR-MS: $[M+H]^+$ 实验值: 1276.7622 计算值: 1276.7629
4	*N*-{*N*-[(2*S*)-2-氨基-4,4-二-甲基戊-1-基]-(β-3-吡啶基-Ala)}去(1-D-亮氨酸-2-亮氨酸)-溶杆菌素 四氢三氟乙酸盐		来自实施例 55A; 81 mg (理论值的 43%) HPLC (方法 15): R_t = 3.87 min. LC/MS: (方法 17): R_t = 1.35 min.; ES^+: 656.8 $[M+2H]^{2+}$; ES^-: 1310 $[M-H]^-$. HR-MS: $[M+H]^+$ 实验值: 1311.7446 计算值: 1311.7425

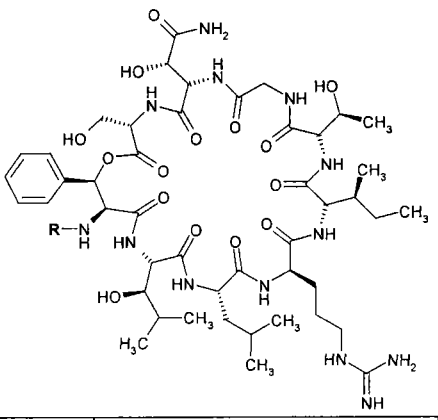


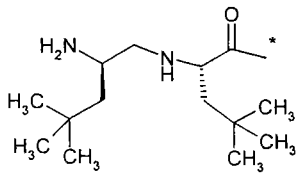
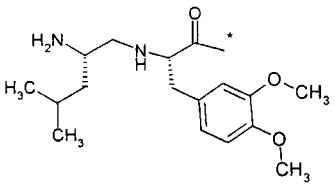
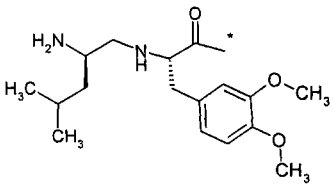
Ex. No.	名称	R	产率/分析 (产率，从实施例 **3A** 或 **5A** 开始)
5	*N*-[(2*R*)-2-氨基-3-三甲代甲硅烷基-丙-1-基]去(1-D-亮氨酸)溶杆菌素 三氢-三氟乙酸盐		来自实施例 56A, 117 mg (理论值的34%). HPLC (方法 15): R_t = 3.92 min. LC/MS: (方法 17): R_t = 1.51 min.; ES^+: 647.3 $[M+2H]^{2+}$; ES^-: 1291 $[M-H]^-$ HR-MS: $[M+H]^+$ 实验值: 1292.7382 计算值: 1292.7398
6	*N*-{*N*-[(2*R*)-2-氨基-3-三甲代甲硅烷基-丙-1-基]-[β-(3-吡啶基)-Ala]}去-(1-D-亮氨酸-2-亮氨酸)溶杆菌素四氢-三氟乙酸盐		来自实施例 57A, 31 mg (理论值的49%). HPLC (方法 15): R_t = 3.98 min. LC/MS: (方法 17): R_t = 1.33 min.; ES^+: 1328 $[M+H]^+$, 664.7 $[M+2H]^{2+}$; ES^-: 1326 $[M-H]^-$. HR-MS: $[M+H]^+$ 实验值: 1327.7228 计算值: 1327.7194

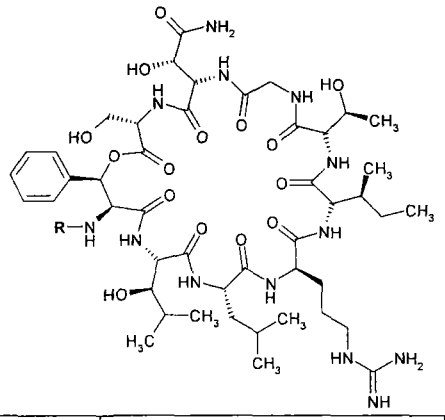
按照一般工作步骤 8 制备实施例 7 至 17:

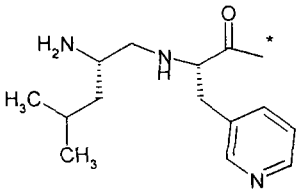
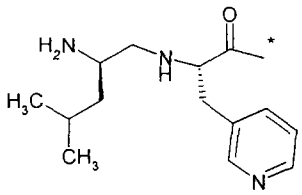


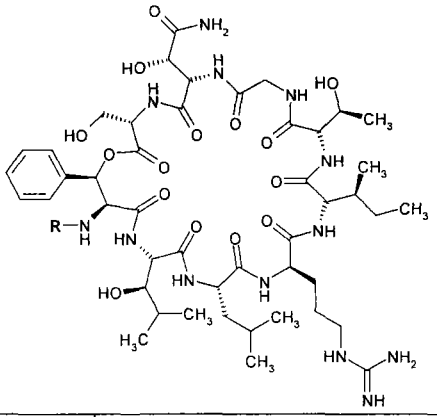
Ex. No.	名称	R	产率/分析 (产率，从实施例 3A 或 5A 开始)
7	*N*-[(2*R*)-2-氨基-4-甲基戊-1-基]去(1-D-亮氨酸)溶杆菌素 三氢-三氟乙酸盐		来自实施例 54A, 34 mg (理论值的 16%). HPLC (方法 15): R_t = 3.47 min. LC/MS: (方法 17): R_t = 1.55 min.; ES^+: 1263 $[M+H]^+$; ES^-: 1261 $[M-H]^-$. HR-MS: $[M+H]^+$ 实验值: 1262.7479 计算值: 1272.7472
8	*N*-{*N*-[(2*S*)-2-氨基-4,4-二甲基戊-1-基]-β-tBu-Ala-去(1-D-亮氨酸-2-亮氨酸)-溶杆菌素 三氢三氟乙酸盐		来自实施例 58A, 41 mg (理论值的 28%). HPLC (方法 15): R_t = 4.00 min. LC/MS: (方法 17): R_t = 1.55 min.; ES^+: 1291 $[M+H]^+$; ES^-: 1290 $[M-H]^-$. HR-MS: $[M+H]^+$ 实验值: 1290.7799 计算值: 1290.7785 通过 Maldi (方法 20)证实按照方法 9 处理的化合物

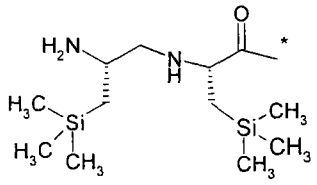
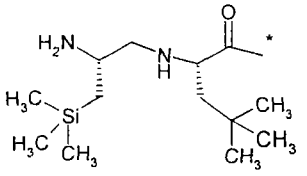
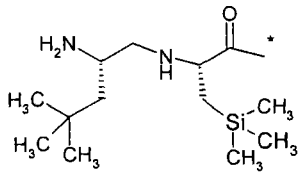


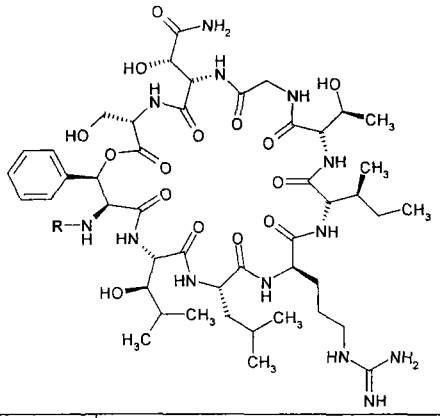
Ex. No.	名称	R	产率/分析 (产率，从实施例 3A 或 5A 开始)
9	*N*-{*N*-[(2*R*)-2-氨基-4,4-二甲基戊-1-基]-β-tBu-Ala-去(1-D-亮氨酸-2-亮氨酸)溶杆菌素 三氢三氟乙酸盐		来自实施例 59A, 105 mg (理论值的47%). HPLC (方法 15): R_t = 3.91 min. LC/MS: (方法 17):R_t = 1.61min.; ES^+: 646.3 $[M+2H]^{2+}$; ES^-: 1290 $[M-H]^-$. HR-MS: $[M+H]^+$ 实验值: 1290.7803 计算值: 1290.7785
10	*N*-{*N*-[(2*S*)-2-氨基-4-甲基戊-1-基]-(β-3,4-二甲氧基苯基-Ala)去(1-D-亮氨酸-2-亮氨酸)-溶杆菌素 三氢-三氟乙酸盐		来自实施例 60A, 5 mg (理论值的13%). LC/MS: (方法 14): R_t = 1.23 min.; ES^+: 1356.7 $[M+H]^+$; ES^-: 1355 $[M-H]^-$, 1400.9 $[M-H+HCOOH]^-$. HR-MS: $[M+H]^+$ 实验值: 1356.7549 计算值: 1356.7527
11	*N*-{*N*-[(2*R*)-2-氨基-4-甲基戊-1-基]-(β-3,4-二甲氧基苯基-Ala)去(1-D-亮氨酸-2-亮氨酸)-溶杆菌素三-氢三氟乙酸盐		来自实施例 61A, 5 mg (理论值的33%) LC/MS: (方法 17): R_t = 1.52 min.; ES^+: 1356 $[M+H]^+$, 679.3 $[M+2H]^{2+}$; ES^-: 1355$[M-H]^-$. HR-MS: $[M+H]^+$ 实验值: 1356.7512 计算值: 1356.7527



Ex. No.	名称	R	产率/分析 (产率，从实施例 3A 或 5A 开始)
12	*N*-{*N*-[(2*S*)-2-氨基-4-甲基戊-1-基]-(β-3-吡啶基-Ala)}去(1-D-亮氨酸-2-亮氨酸)-溶杆菌素 四氢三氟乙酸盐		来自实施例 62A, 61 mg (理论值的 22%) HPLC (方法 15): R_t = 3.30 min. LC/MS: (方法 17): R_t = 1.23 min.; ES^+: 648.8 $[M+2H]^{2+}$; ES^-: 1296 $[M-H]^-$, 1342 $[M-H+HCOOH]^-$. HR-MS: $[M+H]^+$ 实验值: 1297.7244 计算值: 1297.7268
13	*N*-{*N*-[(2*R*)-2-氨基-4-甲基戊-1-基]-(β-3-吡啶基-Ala)}去(1-D-亮氨酸-2-亮氨酸)-溶杆菌素 四氢三氟乙酸盐		来自实施例 63A, 60 mg (理论值的 19%). LC/MS: (方法 17): R_t = 1.25 min.; ES^+: 649.7 $[M+2H]^{2+}$; ES^-: 1296 $[M-H]^-$, 1342 $[M-H+HCOOH]^-$. HR-MS: $[M+H]^+$ 实验值: 1297.7301 计算值: 1297.7268

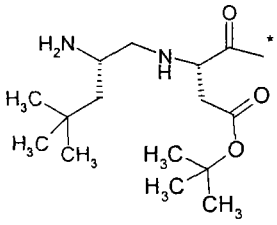


Ex. No.	名称	R	产率/分析 (产率，从实施例 3A 或 5A 开始)
14	*N*-{*N*-[(2*R*)-2-氨基-3-三甲代甲硅烷基-丙-1-基]-(β-三甲代甲硅烷基-Ala)}去(1-D-亮氨酸-2-亮氨酸)-溶杆菌素三氢三氟乙酸盐		来自实施例 64A, 8 mg (理论值的12%). LC/MS: (方法 17): R_t = 1.74 min.; ES^+: 662.3 $[M+2H]^{2+}$; ES^-: 1321 $[M-H]^-$. HR-MS: $[M+H]^+$ 实验值: 1322.7292 计算值: 1322.7324
15	*N*-{*N*-[(2*R*)-2-氨基-3-三-甲基甲硅烷基丙-1-基]-(β-tBu-Ala)}-去(1-D-亮氨酸-2-亮氨酸)溶杆菌素 三氢-三氟乙酸盐		来自实施例 65A, 17 mg (理论值的35%). HPLC (方法 15): R_t = 3.94 min. LC/MS: (方法 17): R_t = 1.61 min.; ES^+: 654.3 $[M+2H]^{2+}$; ES^-: 1306 $[M-H]^-$, 1352 $[M-H+HCOOH]^-$ HR-MS: $[M+H]^+$ 实验值: 1306.7526 计算值: 1306.7555
16	*N*-{*N*-[(2*S*)-2-氨基-4,4-二-甲基戊-1-基]-(β-三甲代甲硅烷基-Ala)}去(1-D-亮氨酸-2-亮氨酸)-溶杆菌素 三-氢三氟乙酸盐		来自实施例 66A, 24 mg (理论值的25%). HPLC (方法 15): R_t = 3.94 min. LC/MS: (方法 17): R_t = 1.56 min.; ES^+: 654.3 $[M+2H]^{2+}$; ES^-: 1305 $[M-H]^-$, 1351 $[M-H+HCOOH]^-$. HR-MS: $[M+H]^+$ 实验值: 1306.7593 计算值: 1306.7555



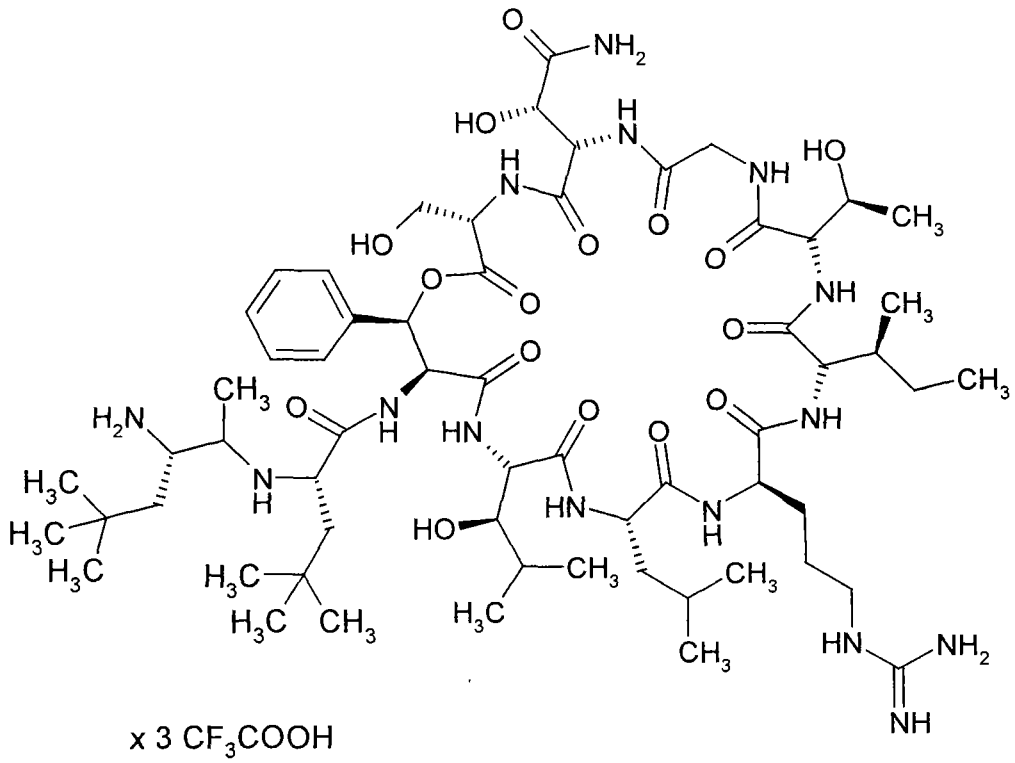
x n CF_3COOH

n = 3 or 4
(see compound name)

Ex. No.	名称	R	产率/分析 (产率，从实施例 3A 或 5A 开始)
17	*N*-{*N*-[(2*S*)-2-氨基-4,4-二甲基戊-1-基]-Asp(tBu)去(1-D-亮氨酸-2-亮氨酸)溶杆菌素 三氢三氟乙酸盐		来自 实施例 67A, 43 mg (理论值的37%). HPLC (方法 15): R_t = 3.97 min. LC/MS: (方法 17): R_t = 1.60 min.; ES^+: 668.3 $[M+2H]^{2+}$; ES^-: 1333 $[M-H]^-$, 1379 $[M-H+HCOOH]^-$. HR-MS: $[M+H]^+$ 实验值: 1334.7729 计算值: 1334.7684

实施例 18

N-{*N*-[(2*RS*,3*S*)-3-氨基-5,5-二甲基戊-2-基]-β-tBu-Ala-去(1-D-亮氨酸-2-亮氨酸)溶杆菌素 三氢三氟乙酸盐



x 3 CF_3COOH

在氩气下将 5.7 mg (4.4 μmol) 实施例 5A 的化合物和 3.0 mg (6.6 μmol) 实施例 71A 的化合物提供在 0.5 ml 的 DMSO 中。加入 20 μl (4.5 eq.)的 N-甲基吗啉，2.7 mg (1.6 eq)的 HATU 和在 15 分钟后另外 20 μl (4.5 eq.)的 N-甲基吗啉。将混合物在 RT 下搅拌过夜，然后通过制备 HPLC (方法 7)直接纯化。通过 LC-MS (方法 17)检查级分。在冻干适当级分(R_t = 2.02, ES (pos): m/z = 1440 $[M+H]^+$)后，将 N-苄氧羰基-保护的中间体立即在 200 μl 的异丙醇中在 1 atm 氢下使用 2 mg 钯（10%，在碳上）氢化。在 4 小时后，过滤混合物，浓缩并通过制备 HPLC (方法 10)纯化。获得 0.5 mg (7%的 th.)标题化合物。

LC-MS (方法 17): R_t = 1.53 min. ES^+: m/z = 1290.7 $[M+H]^+$, 646 $[M+2H]^{2+}$, ES^-: m/z = 1288.7 $[M-H]^-$, 644 $[M-2H]^-$.

B. 生理活性的评价

可以在下列测定中显示本发明化合物的体外活性：

最低抑制浓度(MIC)的测定:

根据 NCCLS 准则在液体稀释试验中测定 MIC。将金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)133、屎肠球菌(*E. faecalis*)27159、粪肠球菌(*E. faecium*)4147 和肺炎链球菌(*S. pneumoniae*)G9a 的过夜培养物在 1:2 的稀释系列中与所述的测试物质温育。用 Isosensitest 培养基(Difco, Irvine/USA)中每 ml 细胞数为 10^5 微生物进行 MIC 测定，除肺炎链球菌在含有 10%牛血清的 BHI 肉汤(Difco, Irvine/USA)中以每 ml 细胞数为 10^6 微生物以外。将所述培养在 37°C 温育 18-24 小时，肺炎链球菌在 10% CO_2 的存在下。

将不再有可见的细菌生长发生的每种情况中的最低物质浓度定义为 MIC。MIC 的值以μg/ml 报道。

在表 A 中显示了本发明化合物的典型体外活性数据：

表 A

实施例 No.	MIC *S. aureus* 133	MIC *S. pneumoniae*	MIC *E. faecalis ICB 27159*
5	0.5	0.063	1
8	0.5	0.063	1
14	0.25	0.0156	0.125
15	0.5	0.063	1

可以在下列动物模型中显示本发明化合物对于细菌感染治疗的适合性：

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) 133 的全身感染：

将金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)133 的细胞在 BHI 肉汤(Oxoid, New York/USA)中过夜培养。将过夜的培养物在新鲜 BHI 肉汤中 1:100 稀释并温育 3 小时。将当时在对数生长期中的细胞离心出并用缓冲的生理盐水洗涤两次。然后将盐水中的细胞悬浮液光度测定地调节到 50 个消光单位。在稀释步骤(1:15)后，将所述悬浮液与 10%粘蛋白溶液 1:1 混合。腹膜内给药 0.25 ml/20 g 小鼠的该感染溶液(相当于 1×10^6 微生物/小鼠)。在感染后 30 分钟在腹膜内或静脉内进行治疗。将雌性 CFW1 小鼠用于感染实验。在 6 天的时期内记录所述动物的存活率。

化合物的溶解度按照本领域技术人员已知的方法测定。

C. 药物组合物的例举性实施方案

本发明的化合物可以以下列方式转化成药物制剂：

片剂：

组成：

100 mg 实施例 1 的化合物，50 mg 乳糖(一水合物)，50 mg 玉米淀粉(天然的)，10 mg 聚乙烯吡咯烷酮(PVP 25) (BASF, Ludwigshafen, 德国)和 2 mg 硬脂酸镁。

片剂重量 212 mg。直径 8 mm，曲率半径 12 mm。

制备:

将活性成分、乳糖和淀粉的混合物用水中的 5%PVP 溶液(m/m)造粒。将所述粒剂干燥然后与硬脂酸镁混合 5 分钟。将该混合物用常规压片机挤压(参见上面用于片剂的形式)。用于压缩的压缩力指标是 15kN。

可以口服给药的混悬剂:

组成:

1000 mg 实施例 1 的化合物，1000 mg 乙醇(96%)，400 mg 的 Rhodigel (来自 FMC 的黄原胶, 宾夕法尼亚, USA)和 99 g 水。

10 ml 的口服混悬剂对应于 100 mg 本发明化合物的单一剂量。

制备:

将 Rhodigel 悬浮在乙醇中，并将所述活性化合物加入到所述悬浮液。搅拌的同时加入水。将所述混合物搅拌约 6h 直到 Rhodigel 的溶胀是完全的。

可以静脉内给药的溶液剂:

组成:

100-200 mg 实施例 1 的化合物，15 g 聚乙二醇 400 和 250 g 注射用水。

制备:

在搅拌下将实施例 1 的化合物和聚乙二醇 400 溶解在水中。通过过滤(孔径 0.22 μm)将所述溶液消毒并在无菌条件之下分配到热灭菌的输液瓶中。将后者用输注塞和卷曲帽封闭。