



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101977901 A

(43) 申请公布日 2011. 02. 16

(21) 申请号 200980108874. 6

A61K 31/395 (2006. 01)

(22) 申请日 2009. 03. 12

A61P 31/10 (2006. 01)

(30) 优先权数据

61/036, 165 2008. 03. 13 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010. 09. 10

(86) PCT申请的申请数据

PCT/IB2009/051032 2009. 03. 12

(87) PCT申请的公布数据

W02009/113033 EN 2009. 09. 17

(71) 申请人 锡耶纳大学

地址 意大利锡耶纳

(72) 发明人 M·伯塔 F·拉菲 P·维斯卡

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公

司 31100

代理人 郭辉 周承泽

(51) Int. Cl.

C07D 255/02 (2006. 01)

C07D 259/00 (2006. 01)

权利要求书 10 页 说明书 10 页

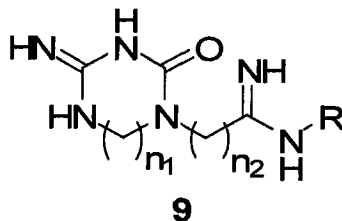
(54) 发明名称

线性和环状胍衍生物及其制备和使用方法

(57) 摘要

本发明涉及线性和环状胍衍生物,其制备和使用方法,以及可以用作杀真菌剂的药学组合物,特别是用来抵抗假丝酵母类的药学组合物。

1. 通式 (9) 所示的化合物, 及其任意的盐,

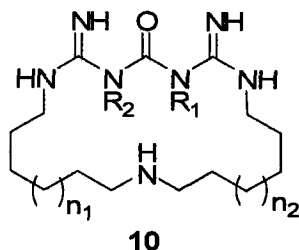


式中:

R = H, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基或 γ, γ -二甲基烯丙基, 苄基, 丁-2-烯基, 异丁烯基, 异戊二烯基;

n_1 和 n_2 是数值, 它们是相等或不同的, 包括 4 至 8。

2. 通式 (10) 所示的化合物, 及其任意的盐,



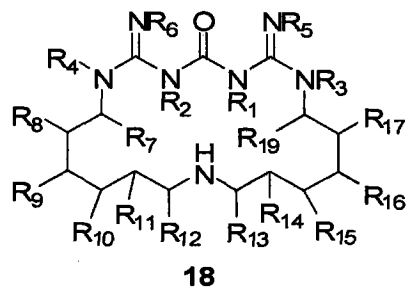
式中:

R_1 = H, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基或 γ, γ -二甲基烯丙基;

R_2 = H, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基或 γ, γ -二甲基烯丙基;

n_1 和 n_2 是数值, 它们是相等或不同的, 包括 1 至 3。

3. 通式 (18) 所示的化合物, 及其任意的盐,



式中:

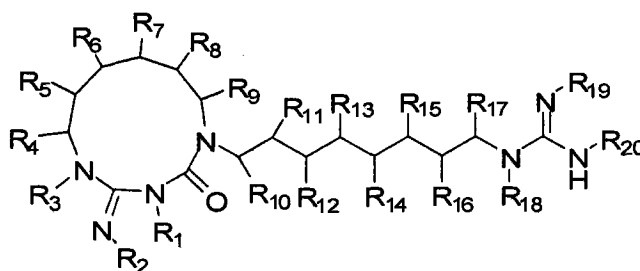
R_1 = H, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ, γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基;

R_2 = H, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ, γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基;

R_3 = H, 甲基, 乙基或苄基;

R_4 至 R_{19} 是相同的, 或者各自独立地是 H, 甲基或乙基。

4. 通式 (19) 所示的化合物, 及其任意的盐,



19

式中：

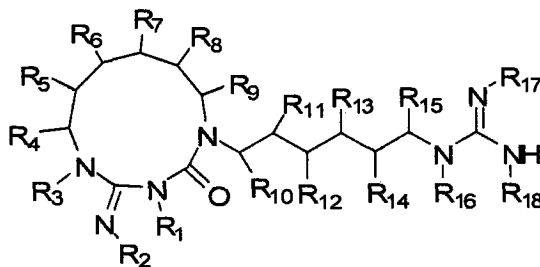
R_1, R_2, R_{18} 和 $R_{19} = H$ ；

$R_3 = H$, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ, γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基；

$R_{20} = H$, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ, γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基；

R_4 - R_9 以及 R_{10} - R_{17} 是相同的, 或者各自独立地是 H, 甲基或乙基。

5. 通式 (20) 所示的化合物, 及其任意的盐,



20

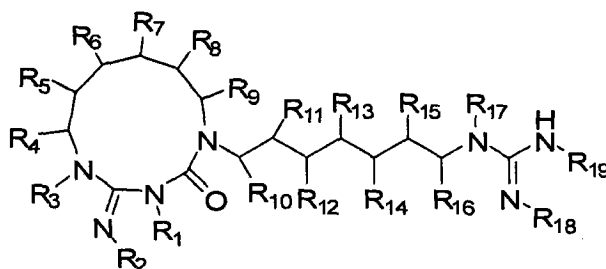
式中：

R_1, R_2, R_{16} 和 $R_{17} = H$ ；

R_3 和 R_{18} 是相同的, 或者各自独立地是 H, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ, γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基；

R_4 - R_9 以及 R_{10} - R_{15} 是相同的, 或者各自独立地是 H, 甲基或乙基。

6. 通式 (21) 所示的化合物, 及其任意的盐,



21

式中：

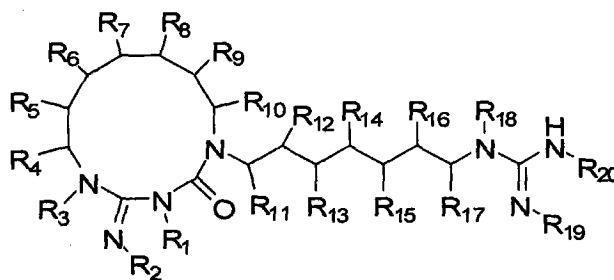
R_1, R_2, R_{17} 和 $R_{18} = H$ ；

$R_3 = H$, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ, γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基；

$R_{19} = \text{H}$, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ, γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基;

R_4 - R_9 以及 R_{10} - R_{16} 是相同的, 或者各自独立地是 H, 甲基或乙基。

7. 通式 (22) 所示的化合物, 及其任意的盐,



22

式中:

$R_1 = \text{H}$;

$R_2 = \text{H}$;

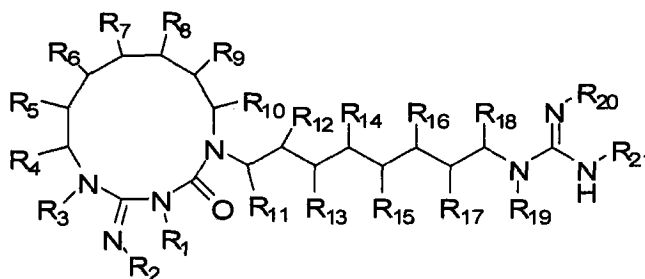
R_{18} - $R_{19} = \text{H}$;

$R_3 = \text{H}$, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ, γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基;

$R_{20} = \text{H}$, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ, γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基;

R_4 - R_{10} 以及 R_{11} - R_{17} 是相同的, 或者各自独立地是 H, 甲基或乙基。

8. 通式 (23) 所示的化合物, 及其任意的盐,



23

式中:

$R_1 = \text{H}$;

$R_2 = \text{H}$;

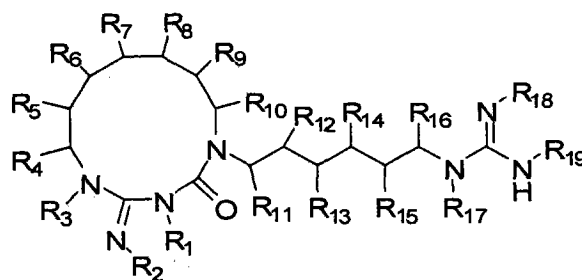
R_{19} - $R_{20} = \text{H}$;

$R_3 = \text{H}$, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ, γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基;

$R_{19} = \text{H}$, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ, γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基;

R_4 - R_{10} 以及 R_{11} - R_{17} 是相同的, 或者各自独立地是 H, 甲基或乙基。

9. 通式 (24) 所示的化合物, 及其任意的盐,



24

式中：

$R_1 = H$ ；

$R_2 = H$ ；

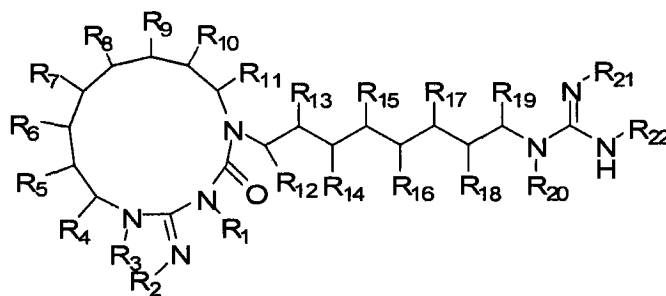
$R_{17}-R_{18} = H$ ；

$R_3 = H$, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ , γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基；

$R_{19} = H$, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ , γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基；

R_4-R_{10} 以及 $R_{11}-R_{17}$ 是相同的, 或者各自独立地是 H, 甲基或乙基。

10. 通式 (25) 所示的化合物, 及其任意的盐,



25

式中：

$R_1 = H$ ；

$R_2 = H$ ；

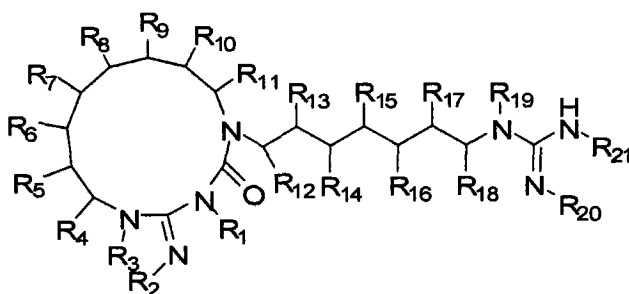
$R_{20}-R_{21} = H$ ；

$R_3 = H$, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ , γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基；

$R_{22} = H$, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ , γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基；

R_4-R_{11} 以及 $R_{12}-R_{20}$ 是相同的, 或者各自独立地是 H, 甲基或乙基。

11. 通式 (26) 所示的化合物, 及其任意的盐,



26

式中：

$R_1 = H$ ；

$R_2 = H$ ；

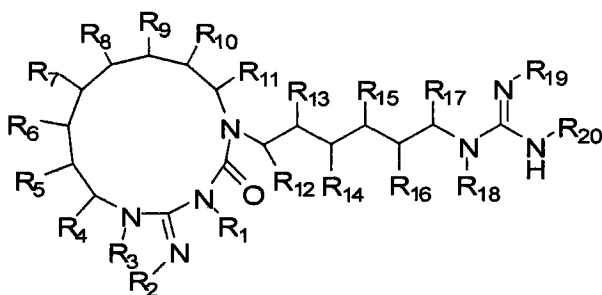
$R_{19}-R_{20} = H$ ；

$R_3 = H$, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ, γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基；

$R_{21} = H$, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ, γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基；

R_4-R_{11} 以及 $R_{12}-R_{18}$ 是相同的, 或者各自独立地是 H, 甲基或乙基。

12. 通式 (27) 所示的化合物, 及其任意的盐,



27

式中：

$R_1 = H$ ；

$R_2 = H$ ；

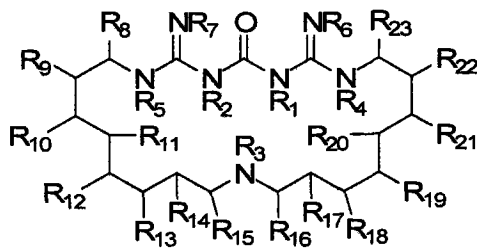
$R_{18}-R_{19} = H$ ；

$R_3 = H$, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ, γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基；

$R_{20} = H$, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ, γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基；

R_4-R_{11} 以及 $R_{12}-R_{17}$ 是相同的, 或者各自独立地是 H, 甲基或乙基。

13. 通式 (28) 所示的化合物, 及其任意的盐,



28

式中：

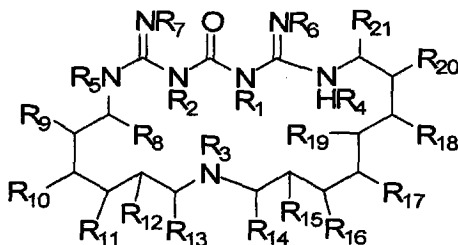
R₁ = H, 炔丙基, 环丙基甲基, γ-甲基烯丙基, β-甲基烯丙基, γ, γ-二甲基烯丙基, 甲基或乙基；

R₂ = H, 炔丙基, 环丙基甲基, γ-甲基烯丙基, β-甲基烯丙基, γ, γ-二甲基烯丙基, 甲基或乙基；

R₃ = H, 甲基, 乙基或苄基；

R₄-R₂₃ 是相同的, 或者各自独立地是 H, 甲基或乙基。

14. 通式 (29) 所示的化合物, 及其任意的盐,



29

式中：

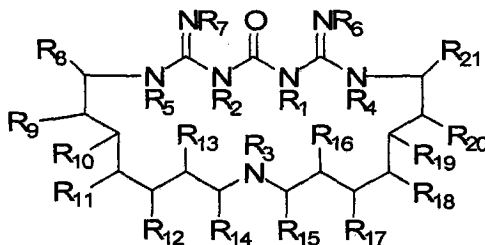
R₁ = H, 炔丙基, 环丙基甲基, γ-甲基烯丙基, β-甲基烯丙基, γ, γ-二甲基烯丙基, 甲基或乙基；

R₂ = H, 炔丙基, 环丙基甲基, γ-甲基烯丙基, β-甲基烯丙基, γ, γ-二甲基烯丙基, 甲基或乙基；

R₃ = H, 甲基, 乙基或苄基；

R₄-R₂₁ 是相同的, 或者各自独立地是 H, 甲基或乙基。

15. 通式 (30) 所示的化合物, 及其任意的盐,



30

式中：

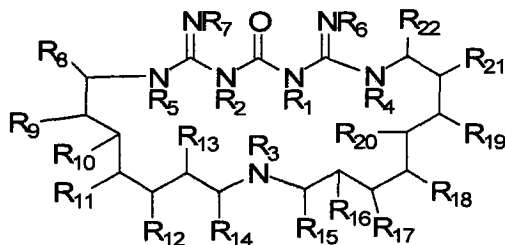
R₁ = H, 炔丙基, 环丙基甲基, γ-甲基烯丙基, β-甲基烯丙基, γ, γ-二甲基烯丙基, 甲基或乙基；

$R_2 = \text{H}$, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ, γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基;

$R_3 = \text{H}$, 甲基, 乙基或苄基;

R_4 - R_{21} 是相同的, 或者各自独立地是 H, 甲基或乙基。

16. 通式 (31) 所示的化合物, 及其任意的盐,



31

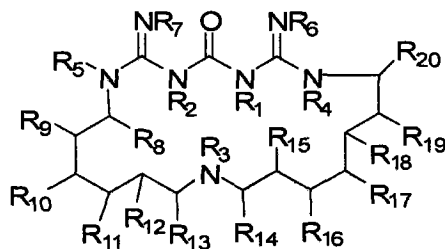
$R_1 = \text{H}$, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ, γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基;

$R_2 = \text{H}$, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ, γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基;

$R_3 = \text{H}$, 甲基, 乙基或苄基;

R_4 - R_{22} 是相同的, 或者各自独立地是 H, 甲基或乙基。

17. 通式 (32) 所示的化合物, 及其任意的盐,



32

式中:

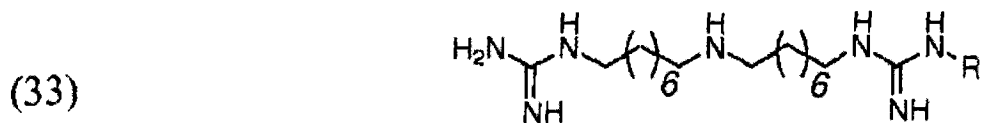
$R_1 = \text{H}$, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ, γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基;

$R_2 = \text{H}$, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ, γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基;

$R_3 = \text{H}$, 甲基, 乙基或苄基;

R_4 - R_{20} 是相同的, 或者各自独立地是 H, 甲基或乙基。

18. 通式 (33) 所示的化合物



式中 R 是甲基环丙基或异戊二烯基。

19. 如以上权利要求中任一项所述的化合物作为药物的应用。

20. 如权利要求 1-18 中任一项所述的化合物作为抗感染药的应用。

21. 如权利要求 20 所述的化合物作为抗真菌药的应用。

22. 如权利要求 21 所述的化合物作为抗假丝酵母种的抗真菌药的应用。

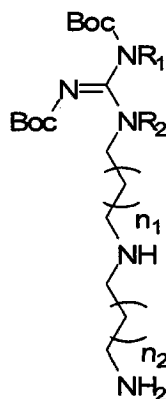
23. 如权利要求 22 所述的化合物,其特征在於,所述假丝酵母种属于下组:白色假丝酵母,克鲁氏假丝酵母,近平滑假丝酵母。

24. 一种药学组合物,其包含如权利要求 1-18 中任一项所述的化合物或其任意混合物,以及合适的赋形剂和稀释剂。

25. 如权利要求 24 所述的药学组合物,其特征在於,所述组合物还包含至少一种其它的具有抗真菌活性的化合物。

26. 一种用来制备如权利要求 1-18 中任一项所述的化合物的方法,该方法包括以下步骤:

a) 在合适的溶剂中,使得合适的胺 R_1-NH_2 与合适的 S-甲基异硫脲反应,制得化合物 2



2

式中:

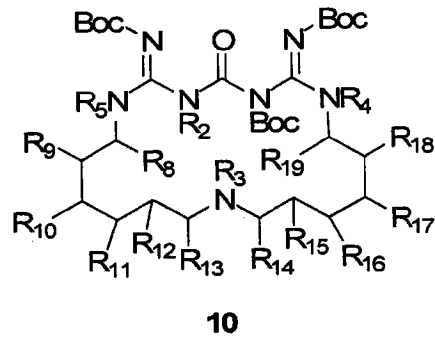
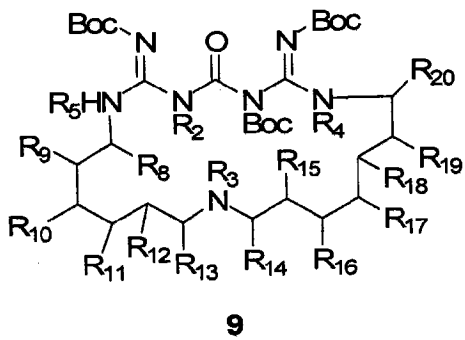
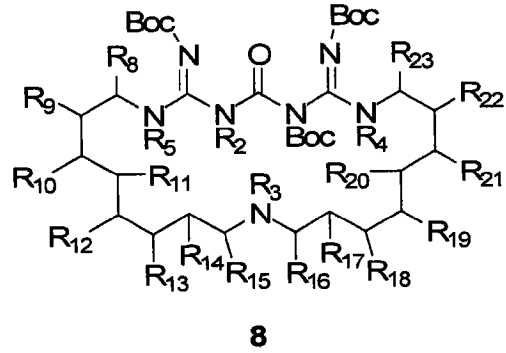
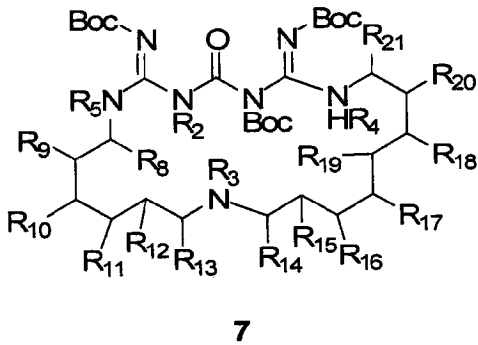
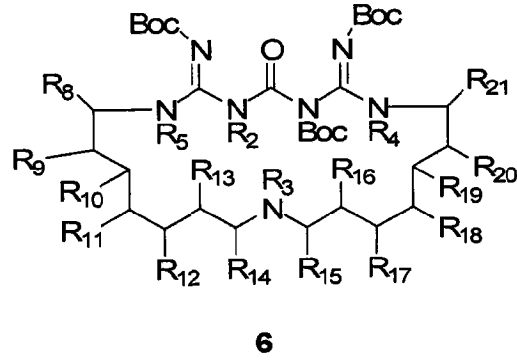
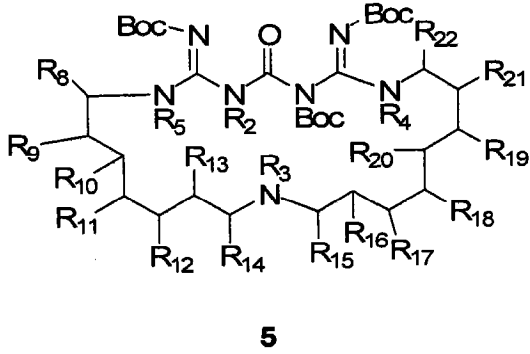
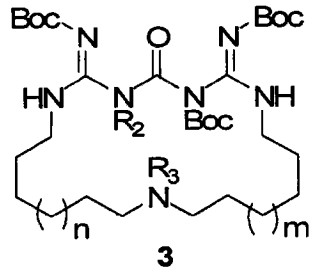
n_1 和 n_2 是 4 或 6, n_2 可以是 n_1 , 或者 n_2 可以与 n_1 不同;

$R_1 = H$, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ, γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基;

$R_2 = H$, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ, γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基;

b) 对步骤 a) 制得的化合物 2 进行萃取和 / 或纯化;

c) 在适于制得化合物 3 或者以下结构式 5-10 所示的化合物的条件下,使得化合物 2 与合适的 N, N' - 二(叔丁氧基羰基)-N-(烷基)-S-甲基异硫脲反应:



式中：

$R_2 = \text{H}$, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ, γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基；

$R_3 = \text{H}$, 甲基, 乙基或苄基；

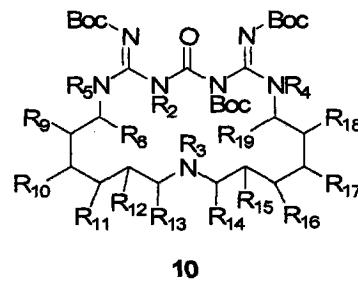
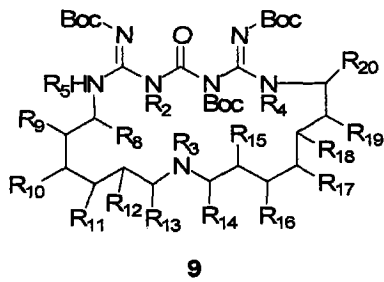
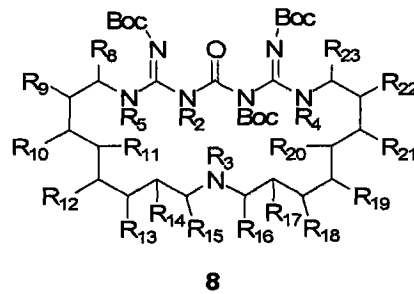
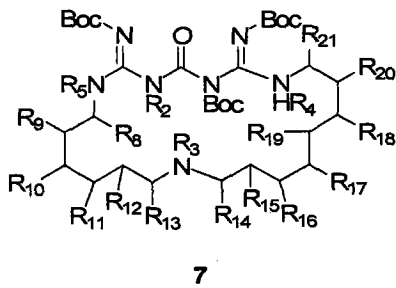
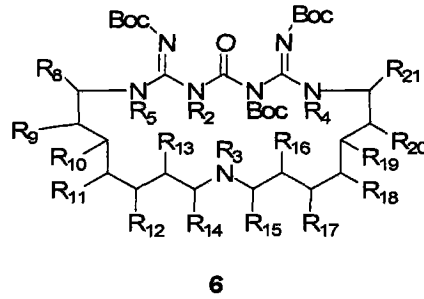
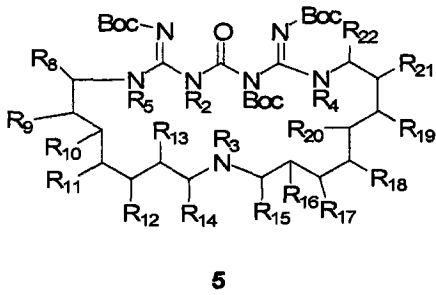
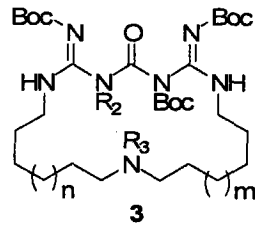
$R_4-R_{23} = \text{H}$, 甲基或乙基； R_4-R_{23} 可以是相同的或者不同的；

d) 对步骤 c) 的化合物 3, 5-10 进行纯化；

e) 在适于制得如权利要求 1-17 所述的化合物的条件下使得化合物 3, 5-10 反应；

f) 对步骤 e) 制得的化合物进行萃取和 / 或纯化。

27. 式 3, 5-10 所示的中间体：



线性和环状胍衍生物及其制备和使用方法

技术领域

[0001] 本发明涉及线性和环状胍衍生物,其制备和使用方法,以及可以用作杀真菌剂的药学组合物,特别是用来抵抗假丝酵母类的药学组合物。

背景技术

[0002] 条件性病原微生物人类病原体白色假丝酵母和其它非白色类在临床中获得了广泛的关注,它们被看作免疫力降低的病人的传染物,是发病和死亡的重要成因。人们推荐的疗法依赖于氟康唑、伏立康唑和卡泊芬净。实际上,文献中出现的许多新的可能的抗真菌剂也都包括吡咯苄。

[0003] 假丝酵母的致病物质不仅仅具有严重的传染性,而且能够产生对很多种抗真菌剂的耐药性。实际上,普遍地长期使用吡咯导致快速形成对多种药物的耐药性,这是抗真菌治疗的一个主要障碍。由于耐药性会快速出现,许多现有的药物对新的或重新出现的真菌变得无效。由于这些问题,使得人们需要开发新的有效的抗真菌药。因此,近年来,人们报道了具有新的结构类型的抗真菌药,其中证明胍衍生物具有非常有趣的抑制活性。例如,双胍盐(在农业中用作杀真菌剂的胍和聚胺的混合物)被归为中等毒性的抗真菌药,而通过体内动物研究获得的结果证明双胍盐和相关的化合物很有可能能够作为抗真菌药。作者最近报道了双胍盐的组分能够对白色假丝酵母和非白色假丝酵母类发挥作用。

发明内容

[0004] 本发明涉及不同聚胺的新颖的环状胍化(guanilated)衍生物。基于用双胍盐的组分获得的结果,我们已经合成了不同聚胺的新的环状胍衍生物,使用这些衍生物对假丝酵母的8种临床分离物和3种参比种(白色假丝酵母(*C. albicans*) ATCC 60193,克鲁氏假丝酵母(*C. krusei*) ATCC 14243,近平滑假丝酵母(*C. parapsilosis*) ATCC 34136)进行了生物学评价。本发明的新的化合物对象具有极佳的抗真菌活性,而且具有以下性质:

[0005] 1. 对不同的假丝酵母种具有极高的活性;

[0006] 2. 具有低毒性;

[0007] 3. 对假丝酵母的耐药性菌株也具有活性。

[0008] 在权利要求1-18中揭示了本发明的化合物。这些揭示的内容构成说明书的一部分。

[0009] 本发明的另一个目的是权利要求1-18所述的任意化合物作为药物的应用。

[0010] 本发明的另一个目的涉及权利要求1-18中任一项所述的化合物作为抗感染药的应用,优选作为抗真菌药,更优选作为抗假丝酵母种的抗真菌药,更优选作为下组的假丝酵母种的抗真菌药:白色假丝酵母,克鲁氏假丝酵母,近平滑假丝酵母。

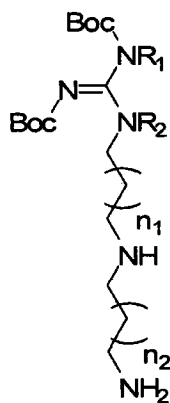
[0011] 本发明的另一个目的涉及一种药学组合物,该药学组合物包含权利要求1-18中任一项所述的任意化合物,或其任意混合物,以及合适的赋形剂和稀释剂。本领域的普通技术人员应当能够根据给药方式(局部给药,口服给药,肠胃外给药等)选择合适的赋形剂和

稀释剂。在一个优选的实施方式中,所述组合物还包含至少一种其它的具有抗真菌活性的化合物。

[0012] 本发明的另一个目的涉及一种用来制备如权利要求 1-18 中任一项所述的化合物的方法,所述方法包括以下步骤:

[0013] a) 在合适的溶剂中,使得合适的胺 R_1-NH_2 与合适的 S-甲基异硫脲反应,制得化合物 2

[0014]



2

[0015] 式中:

[0016] n_1 和 n_2 是 4 或 6, n_2 可以是 n_1 , 或者 n_2 可以与 n_1 不同;

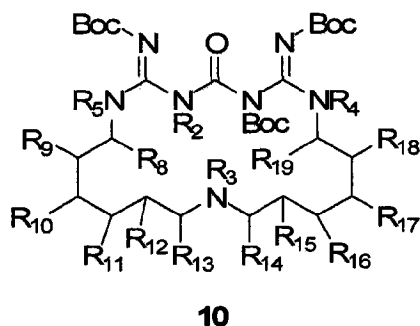
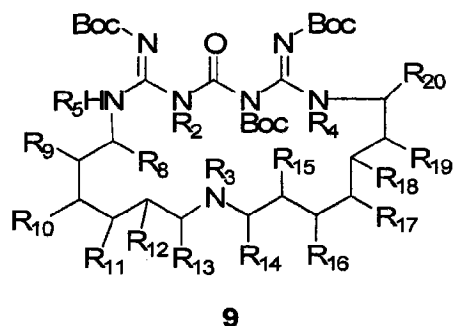
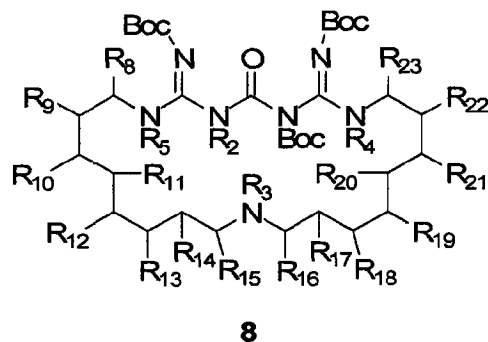
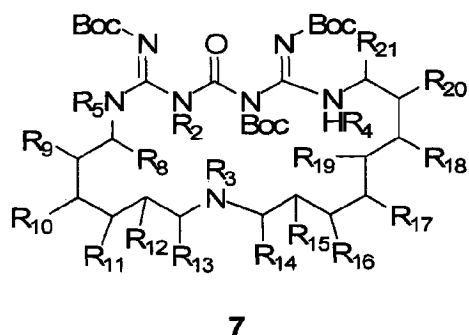
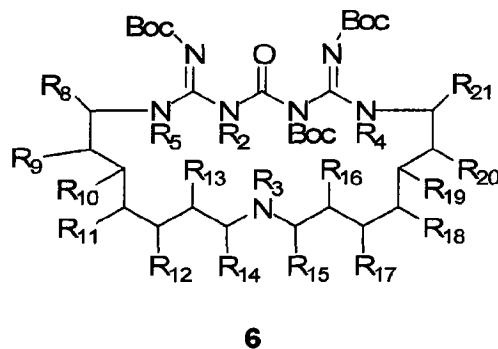
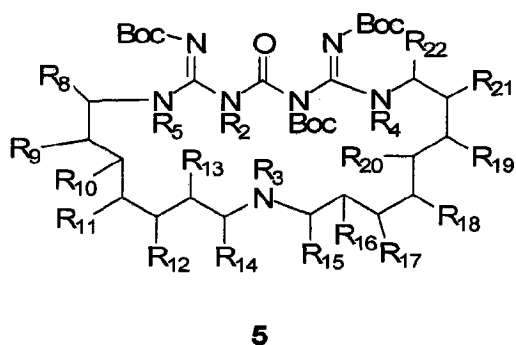
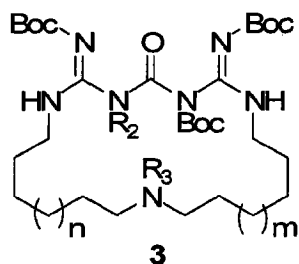
[0017] $R_1 = H$, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ, γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基;

[0018] $R_2 = H$, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ, γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基;

[0019] b) 对步骤 a) 制得的化合物 2 进行萃取和 / 或纯化;

[0020] c) 在适于制得化合物 3 或者以下结构式 5-10 所示的化合物的条件下,使得化合物 2 与合适的 N,N'-二(叔丁氧基羰基)-N-(烷基)-S-甲基异硫脲反应:

[0021]



[0022] 式中：

[0023] $R_2 = \text{H}$, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基, γ, γ -二甲基烯丙基, 甲基或乙基；

[0024] $R_3 = \text{H}$, 甲基, 乙基或苄基；

[0025] $R_4-R_{23} = \text{H}$, 甲基或乙基； R_4-R_{23} 可以是相同的或者不同的；

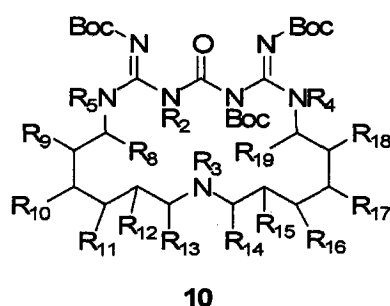
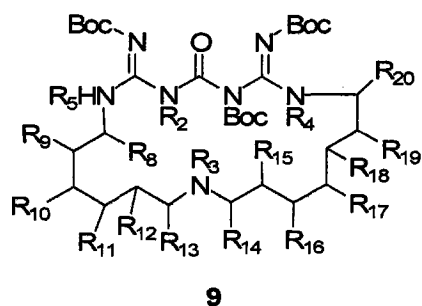
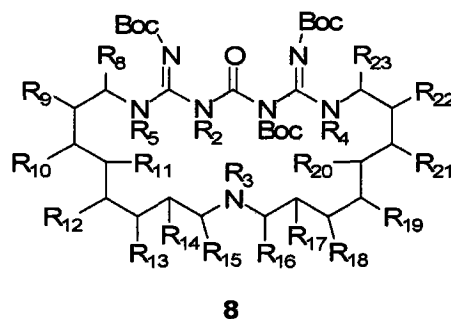
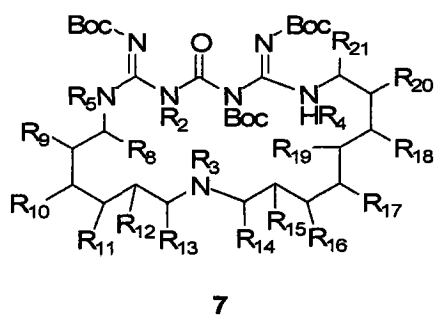
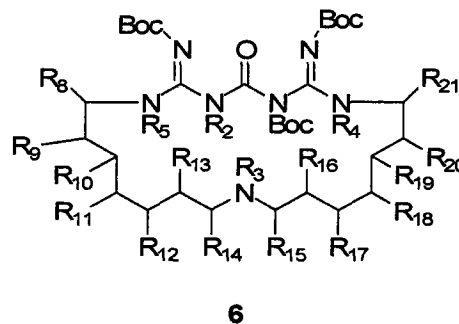
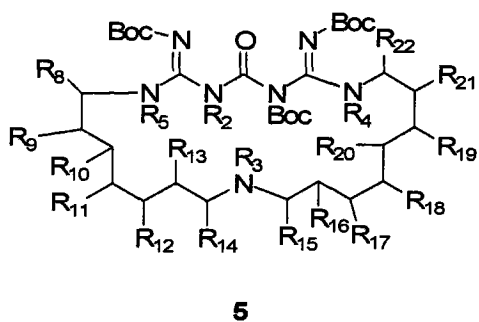
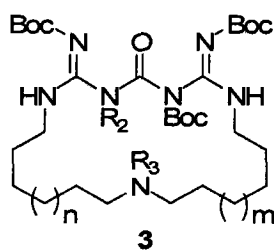
[0026] d) 对步骤 c) 的化合物 3, 5-10 进行纯化；

[0027] e) 在适于制得权利要求 1-18 所述的化合物的条件下使得化合物 3, 5-10 反应；

[0028] f) 对步骤 e) 制得的化合物进行萃取和 / 或纯化。

[0029] 本发明的另一个目的涉及任意结构式 3, 5-10 所示的中间体；

[0030]

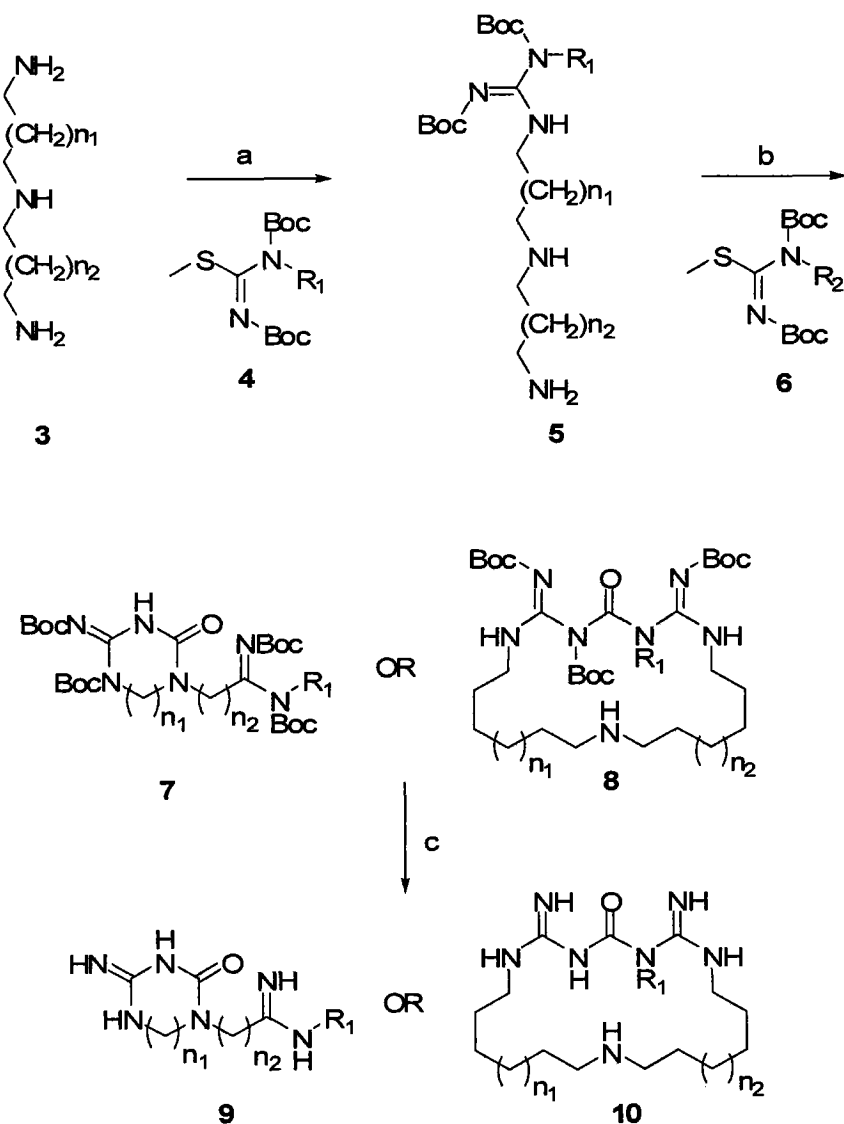


具体实施方式

[0031] 化学过程

[0032] 本发明所述的化合物可以通过如下所述的方式合成：

[0033]



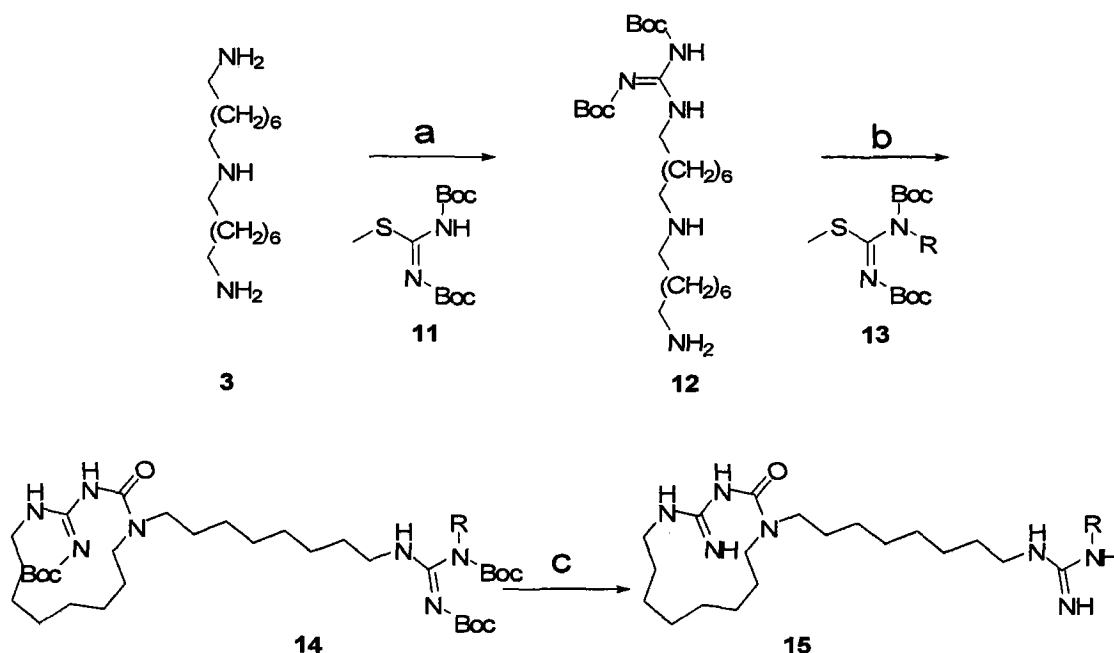
[0034] a) THF : MeOH (5 : 3), 50 °C ; b) THF 60 °C ; c) 10 % TFA, 无水 CH_2Cl_2 , 24 小时, 室温。

$R_1 = \text{H}$, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基或 γ, γ -二甲基烯丙基, $R_2 = \text{H}$, 炔丙基, 环丙基甲基, γ -甲基烯丙基, β -甲基烯丙基或 γ, γ -二甲基烯丙基,

[0035] $n_1 = 6-8$, $n_2 = 6-8$ 。

[0036] 合成过程的实施例 :

[0037]



[0038] 实施例 1 :1-氨基 -17-[N^2, N^3 -二(叔丁氧基羰基)胍基]-9-氮杂十七烷 (12) 的制备

[0039] 在 50°C 的温度下,在 1 小时的时间内,向 1,17-二氨基 -9-氮杂十七烷 3 (4.9 克, 15.06 毫摩) 的 THF/CH₃OH 5/3 (80 毫升) 搅拌溶液中滴加 N,N'-二(叔丁氧基羰基)-S-甲基异硫脲 (1.456 克, 5.02 毫摩) 的 THF (25 毫升) 溶液。16 小时之后,反应混合物在减压条件下浓缩,残余物用闪式色谱纯化 (6% 的甲醇, 4% 的三乙基胺, 90% 的乙酸乙酯), 制得 3.51 克浅黄色油状物 12 (70%)。

[0040] 实施例 2 :制备 14 的一般步骤。

[0041] 在 60°C 下,向 12 (1.5 毫摩) 的 THF (15 毫升) 搅拌溶液中滴加合适的 N,N'-二(叔丁氧基羰基)-N-(烷基)-S-甲基异硫脲 (1 毫摩) 的 THF (5 毫升) 溶液。该反应混合物在 60°C 搅拌 16 小时,在室温下冷却,在减压条件下浓缩。该粗混合物通过闪式色谱纯化,制得黄色油状物 14a-b。

[0042] 化合物 14a-b 的 NMR 数据

[0043] 2,6[(二叔丁氧基羰基)二亚氨基]-3-苄基-5-叔丁氧基羰基-1,3,5,7,16-五氮杂环二十四烷-4-酮 (14a)。

[0044] ¹H NMR (CDCl₃) δ 12.06 (NH, br s), 8.73 (NH, br s), 8.06 (NH, br s), 7.26-7.24 (5H, m), 4.82 (2H, s), 3.47-3.32 (2H, m), 3.25-3.18 (2H, m), 3.00-2.93 (4H, m), 2.01-1.82 (4H, m), 1.48 (9H, s), 1.43 (9H, s), 1.41 (9H, s), 1.29-1.11 (20H, m). MS (ESI) :m/z = 772.1 [M+H]⁺。

[0045] 2,6[(二叔丁氧基羰基)二亚氨基]-3-炔丙基-5-叔丁氧基羰基-1,3,5,7,16-五氮杂环二十四烷-4-酮 (14b)。

[0046] ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.09 (NH, br s), 4.45 (2H, s), 3.50 (1H, s), 3.45-3.20 (4H, m), 3.25-3.15 (4H, m), 2.01-1.82 (4H, m), 1.48 (9H, s), 1.43 (9H, s), 1.41 (9H, s), 1.32-1.11 (20H, m). MS (ESI) :m/z = 720.2 [M+H]⁺。

[0047] 实施例 3 :合成化合物 4a-4e 的一般过程。

[0048] 用新鲜蒸馏的 TFA 的 10% 的无水 DCM 溶液 (1 毫摩用量 30 毫升) 处理化合物 3a-3e, 该反应混合物在室温、氩气气氛下搅拌。24 小时之后, 反应混合物在减压条件下浓缩, 以定量产率制得所需化合物, 该化合物为三 (三氟乙酸盐) (棕色油状物) 的形式。所述混合物用半制备性 HPLC 纯化, 制得最终化合物, 该化合物为三 (三甲酸盐) 的形式。

[0049] 化合物 15a-15e 的 NMR 数据

[0050] 三 (三氟乙酸) 2,6-二亚氨基-3-苄基-1,3,5,7,16-五氮杂环二十四烷-4-酮 (15a)。

[0051] ^1H NMR (CD_3) $_2\text{CO}$ δ 8.25 (NH, br s), 7.75 (NH, br s), 7.44 (NH, br s), 7.35-7.32 (5H, m), 4.55-4.52 (2H, d, $J = 5\text{Hz}$), 3.75-3.44 (4H, m), 3.32-3.29 (4H, m), 1.64-1.57 (8H, m), 1.30 (16H, br s)。MS (ESI) : $m/z = 472.1$ [M+H] $^+$ 。

[0052] 三 (三氟乙酸) 2,6-二亚氨基-3-炔丙基-1,3,5,7,16-五氮杂环二十四烷-4-酮 (15b)。

[0053] ^1H NMR (CD_3) $_2\text{CO}$ δ 8.26 (NH, br s), 7.60 (NH, br s), 7.44 (NH, br s), 4.16-4.14 (2H, m), 3.48-3.45 (4H, m), 3.33-3.27 (4H, m), 2.89 (1H, s), 1.68-1.59 (8H, m), 1.35-1.29 (16H, m)。MS (ESI) : $m/z = 420.1$ [M+H] $^+$ 。

[0054] 三 (三甲酸) 2,6-二亚氨基-3-(γ -甲基烯丙基)-1,3,5,7,16-五氮杂环二十四烷-4-酮 (15c)。

[0055] ^1H NMR (CD_3) $_2\text{CO}$ δ 8.24 (NH, br s), 7.77 (NH, br s), 7.20 (NH, br s), 5.77-5.45 (2H, m), 3.74-3.71 (2H, m), 3.30-3.25 (4H, m), 3.19-3.12 (4H, m), 1.70-1.46 (12H, m), 1.34-1.26 (16H, m)。MS (ESI) : $m/z = 436.2$ [M+H] $^+$ 。

[0056] 三 (三甲酸) 2,6-二亚氨基-3-(β -甲基烯丙基)-1,3,5,7,16-五氮杂环二十四烷-4-酮 (15d)。

[0057] ^1H NMR (CD_3) $_2\text{CO}$ δ 8.30 (NH, br s), 7.58 (NH, br s), 4.93-4.88 (2H, d, $J = 10\text{Hz}$), 3.84-3.82 (2H, m), 3.46-3.40 (4H, m), 3.37-3.20 (4H, m), 1.72 (3H, s), 1.62 (8H, br s), 1.32-1.27 (16H, m)。MS (ESI) : $m/z = 436.3$ [M+H] $^+$ 。

[0058] 三 (三甲酸) 2,6-二亚氨基-3-(γ, γ -二甲基烯丙基)-1,3,5,7,16-五氮杂环二十四烷-4-酮 (15e)。

[0059] ^1H NMR (CD_3) $_2\text{CO}$ δ 8.22 (NH, br s), 7.90 (NH, br s), 5.28-5.25 (1H, m), 3.74-3.71 (2H, m), 3.40-3.30 (4H, m), 3.20-3.10 (4H, m), 1.65-1.44 (14H, m), 1.30-1.28 (16H, m)。MS (ESI) : $m/z = 450.3$ [M+H] $^+$ 。

[0060] 生物学测试

[0061] 通过 AFST-EUCAST 标准方法测定 MIC。

[0062] 实验培养基。实验培养基是 RPMI 1604, 其不含 NaHCO_3 , 包含 L-谷氨酰胺 (意大利, 希格玛艾尔德里奇公司 (Sigma Aldrich, Italy)), 用 0.165M 的吗啉丙磺酸 (意大利, 希格玛艾尔德里奇公司) 使得 pH 值缓冲至 7.0, 补充 2% (w/v) 的葡萄糖。所述培养基以双倍浓度溶液的形式制得, 通过过滤灭菌, 用在无菌蒸馏水中制备的真菌接种物以 1 : 2 (v/v) 的比例进行稀释。

[0063] 接种准备

[0064] 在测试之前, 酵母分离物在 37°C 的温度下, 在 Sabouraud 右旋糖琼胶 (西班牙, 马

德里市的奥克斯尼德公司 (Oxoid, Madrid, Spain)) 中培育 48 小时。通过将每种培养物的直径大于 1 毫米的五个独立的菌落合并起来, 制备悬浮液。采用用于接种准备的分光光度法。在无菌蒸馏水中制备的最终接种物悬浮液包含 $0.5 \cdot 10^5$ 至 $2.5 \cdot 10^5$ cfu/mL。

[0065] 抗真菌药

[0066] 在 100% 的二甲亚砷中制备测试化合物的储备用液。制备的储备用液的浓度是抗真菌活性测试中最高浓度的 100 倍, 在 -70°C 冷冻, 直至使用。

[0067] 易感性测试

[0068] 使用包括平底凹孔的无菌塑料微量滴定板。所述板包含抗真菌药的系列稀释样, 实验培养基体积为 100 微升 / 凹孔。使用两个无药物的培养基孔作为无菌和生长参比。浅盘中以 100 微升最终接种物 / 凹孔的量进行培养, 但是无菌参比凹孔例外。每种药物的被测浓度为 $1.25\text{--}80 \mu\text{M}$ 。微量滴定板在 37°C 下培养 24 小时。在 24 小时通过目视观察和分光光度法确定最小抑制浓度 (MIC)。

[0069] 目视观察终点测定

[0070] 对于目视观察终点测定, MIC 是根据 S-I-R 标度测定的, 其中 S (易受感) 表示光学清晰的培养物, I (中等易受感) 表示略微混浊的培养物, R (耐受性) 表示混浊度无降低。MIC₅₀ 定义为对应于 S 级培养物的药物最低浓度。

[0071] 分光光度法终点测定

[0072] 在读取结果之前, 用微量滴定板振荡器搅拌微量滴定板, 以确保浊度均匀。MIC 是通过用微量滴定板读数器在 450 纳米处测定的吸光度。从其余的凹孔的读数减去空白值。每种被测的抗真菌药确定两个终点, 其中 MIC₈₀ 表示相对于参比样的生长, 生长减少 80% 或更多 (通过分光光度法测定) 时的最低药物浓度, MIC₅₀ 表示相对于参比样的生长, 生长减少 50% (通过分光光度法测定) 时的最低药物浓度。MIC₅₀ 也定义为分光光度终点。

[0073] 结果

[0074] 生物学测试的结果列于表 1 和表 2。具有体积最大的侧链 (异戊二烯基) 的化合物 15e 对白色假丝酵母 ($20\text{--}40 \mu\text{M}$), 克鲁氏假丝酵母和热带假丝酵母 (*C. tropicalis*) 表现出令人感兴趣的活性, 而近平滑假丝酵母和光滑假丝酵母 (*C. glabrata*) 对该化合物的易感性较低 ($40\text{--}80 \mu\text{M}$)。随着将不饱和链的尺寸减小到丁烯基 (15c), 活性发生显著提高, 对白色假丝酵母 (对所有的菌株均为 $2.5 \mu\text{M}$) 和热带假丝酵母 ($1.25 \mu\text{M}$) 均获得了极佳的结果。克鲁氏假丝酵母菌株也是易感的, 但是在较低的浓度下 ($10 \mu\text{M}$) 是易感的。将丁烯基链改为甲基丙烯基部分 (15d), 使得对所有真菌菌株的活性显著降低。发现该化合物对白色假丝酵母具有最佳的活性 (对标样和 15T 菌株, MIC = $20 \mu\text{M}$)。通过如 15b 所示, 将侧链尺寸进一步减小到炔丙基部分, 重新获得了对白色假丝酵母 (白色假丝酵母 4T 除外, 其对该化合物具有抗性) 和热带假丝酵母 ($5 \mu\text{M}$) 的良好活性。最后, 对侧链进行芳化, 改为苜基 (15a), 获得的活性数据与丁烯基衍生物 15c 获得的活性数据类似。总之, 丁烯基衍生物和苜基衍生物都表现出最佳的抗真菌活性, 其次是炔丙基化合物, 其对很多种真菌菌株都保持了令人感兴趣的活性。

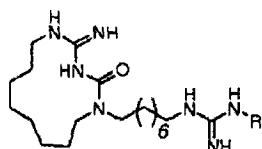
[0075] 表 1. 双胍盐组分与线性和环状胍基衍生物的抗真菌活性。

假丝酵母种	抗真菌活性, 用 MIC ₅₀ (μM) ^a 表示					
	15a	15b	15c	4d	15e	F
白色假丝酵母 ATCC 60193	2.5	2.5	2.5	20	40	0.8
白色假丝酵母 4T	2.5	80	2.5	40	20	209
白色假丝酵母 53T	2.5	5	2.5	40	20	418
白色假丝酵母 15T	5	2.5	2.5	20	20	209
[0076] 克鲁氏假丝酵母 ATCC 14243	20	80	10	40	10	209
克鲁氏假丝酵母 193T	10	40	10	80	20	418
近平滑假丝酵母 ATCC 34136	80	40	>80	>80	>80	6.5
近平滑假丝酵母 64E	20	40	20	>80	>80	32
近平滑假丝酵母 81E	20	80	40	>80	40	13
光滑假丝酵母 70E	40	80	40	80	80	209
热带假丝酵母 86E	2.5	5	1.25	40	20	52

[0077] 在 24 小时通过目视观察和分光光度法测定^aMIC 的值。F 是氟康唑。

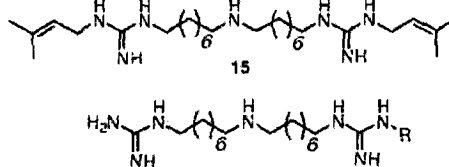
[0078] 表 2. 双胍盐组分与线性和环状胍基衍生物的抗真菌活性。

[0079]



13a R=苄基; 13b R=炔丙基

13e R=异丁烯基; 13f R=异戊二烯基



12c R=甲基环丙基

12f R=异戊二烯基

假丝酵母种	抗真菌活性, 以 MIC ₅₀ (μM) ^a 表示						
	12c	12f	13a	13b	13d	13e	13f
白色假丝酵母 ATCC 60193	20	80	2.5	2.5	2.5	20	40
白色假丝酵母 4T	10	80	2.5	80	1.25	40	20
白色假丝酵母 53T	10	80	2.5	5	2.5	40	20
白色假丝酵母 15T	20	40	5	2.5	1.25	20	20
克鲁氏假丝酵母 ATCC 14243	5	40	20	80	5	40	10
克鲁氏假丝酵母 193T	10	20	10	40	5	80	20
近平滑假丝酵母 ATCC 34136	80	>80	80	40	5	>80	>80
近平滑假丝酵母 64E	5	>80	20	40	5	>80	>80
近平滑假丝酵母 81E	20	40	20	80	5	>80	40
光滑假丝酵母 70E	20	80	40	80	20	80	80
热带假丝酵母 86E	5	20	2.5	5	1,25	40	20

[0080] 在 24 小时通过目视观察和分光光度法测定 MIC 的值。

[0081] 书目

[0082] Chamilos, G. ;Kontoyiannis, D. P. Curr. Opin. Infect. Dis. 2006,19,380。

[0083] Aperis, G. 等, Expert Opin. Investig. Drugs 2006,15,1319。

[0084] Klepser, M. E. Pharmacotherapy 2006,26,68S。

[0085] Pauli, A. Med. Res. Rev. 2006,26,223。

[0086] Buxbaum, A. 等, Antimicrob. Chemother. 2006,58,193。

[0087] Jana, G. H. ;Jain, S. ;Arora, S. K. ;Sinha, N. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2005,15,3592。

[0088] Martin, D. W. 等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1993,90,8377。

[0089] Dreassi, E. 等, . J. Pharm. Biomed. Anal. , 出版中。

[0090] Sheehan, D. J. ;Hitchcock, C. A. ;Sibley, C. M. Clin. Microbiol. Rev. 1999,12,40。

[0091] Pfaller, M. A. 等, J. Clinical Microb. 1999,37,870。

[0092] Herreros, E. 等, Antimicrob. Agents Chemother. 2001,45,3132。

[0093] Deschenes, R. J. 等, Antimicrob. Agents Chemother. 1999,43,1700。