



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 90101759.0

[51] Int.Cl⁵

C07K 9/00

[43] 公开日 1990年10月10日

[22] 申请日 90.3.29

[30] 优先权

[32] 89.3.29 [33] EP [31] 89105525.3

[71] 申请人 格鲁波莱佩蒂特公司

地址 意大利米兰

[72] 发明人 艾德里亚娜·梅拉巴巴

皮尔发斯托·塞尼西

朱根·苛特·凯坦莹

罗密欧·西亚巴提

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利

代理部

代理人 侯天军

A61K 37/02

说明书页数: 80 附图页数:

[54] 发明名称 新的取代的替考拉宁的烷基酰胺衍生物

[57] 摘要

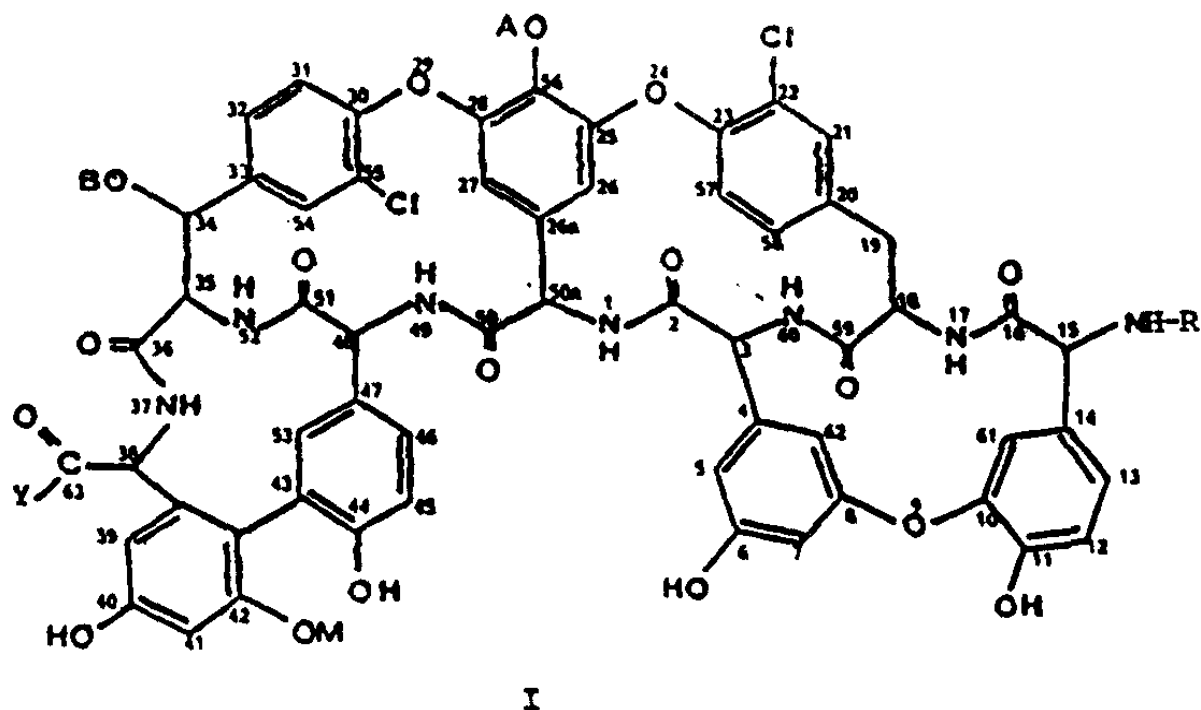
本发明涉及替考拉宁的新的 C⁶³ 酰胺衍生物(其中酰胺部分是由二或多烷基胺衍生而得)和制备这些衍生物的方法。

制备本发明的衍生物的方法包括将相应的替考拉宁与形成活性酯的反应物如氯乙酰反应,然后将所述的活性酯与合适的二或多烷基胺接触。

本发明的酰胺衍生物对抗格兰氏阳性和格兰氏阴性细菌有活性。

权 利 要 求 书

1. 制备通式 I 的替考拉宁衍生物和药用酸加成盐的方法,



式中,

R 为氢或胺官能团保护基;

Y 为通式 $-WR_1 - alk_1 - [X - alk_2]_p - [T - alk_3]_q - W$ 的化合物, 其中

R_1 为氢或 $(C_1 - C_4)$ 烷基;

alk_1 、 alk_2 和 alk_3 各自为含 2 至 10 个碳原子的直链或支链亚烷基;

p 为 1 至 50 的一个整数;

q 为 0 至 12 的一个整数;

X 为 $-NR_2-$ 或氧原子, 其中 R_2 为氢、 $(C_1 - C_4)$ 烷基、 alk_4 、 NR_3 、 R_4 基, 其中 alk_4 为含 2 至 4 个碳原子的直链或支链亚烷基, R_3 为氢或 $(C_1 - C_4)$ 烷基, R_4 为氢、 $(C_1 - C_4)$ 烷基或 5-6 元环烷基; 或 R_1 和 R_2 一起形成连接二个氮原子的 $(C_2 - C_4)$ 亚烷基, 其条件是这种情况下 p 为 1;

T 为 $-NR_5-$ 或氧原子, 其中 R_5 为氢、 $(C_1 - C_4)$ 烷基、 alk_5 、 NR_6 、 R_7 基, 其中 alk_5 为含 2 至 4 个碳原子的直链或支链亚烷基, R_6 为氢或 $(C_1 - C_4)$ 烷基, R_7 为氢、 $(C_1 - C_4)$ 烷基或 5-6 元环烷基; 或 R_2 和 R_5 一起形成连接二个氮原子的 $(C_2 - C_4)$ 亚烷基, 其条件是在这种情况下 p 和 q 均为 1;

W 为羟基、 NR_8 、 R_9 , 其中 R_8 为 H 或 $(C_1 - C_6)$ 烷基, R_9 为 H、 $(C_1 - C_6)$ 烷基、5-6 元环烷基、 $COOR_{10}$ (其中 R_{10} 为 $(C_1 - C_6)$ 酰氧基- $(C_1 - C_4)$ 烷基) 和 $N^{\oplus}R_{11}$ 、 R_{12} 、 R_{13} 、 $An^{\ominus}$, 其中

R_{11} 、 R_{12} 和 R_{13} 各为 $(C_1 - C_4)$ 烷基, $An^{\ominus}$ 为药用酸衍生的阴离子; 其条件是, 当 X 同时为 NR_2 时, p 为 1, q 为零, 而 W 不为羟基;

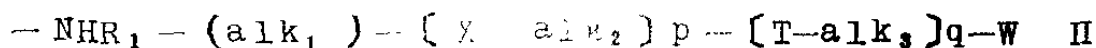
A 为 H 或 $-N[(C_1 - C_{12}) \text{脂族酰基}] - \beta - D - \text{脱氧} - 2 - \text{氨基吡喃葡萄糖基}$,

B 为 H 或 $N - \text{乙酰基} - \beta - D - 2 - \text{脱氧} - 2 - \text{氨基吡喃葡萄糖基}$;

M 为氢或 $\alpha - D - \text{吡喃甘露糖基}$;

其另一条件是, 只有当 A 和 M 同时为氢时, B 才能为氢;

该方法包括用下列通式 II 的胺



(式中 R_1 、 alk_1 、 alk_2 、 alk_3 、 X 、 T 、 p 、 q 和 W 如上所定义)对通式 I 相应的羧酸替考拉宁原料(式中 A 、 B 、 M 如上所定义, Y 为 OH)进行酰胺化。

2. 权利要求 1 所述的方法, 其中酰胺化反应在缩合剂的存在下, 在惰性有机溶剂中, 在 0 至 $20^\circ C$ 的温度下进行, 所述缩合剂选自叠氮磷酸的 $(C_1 - C_4)$ 烷酯、苯酯或杂环酯。

3. 权利要求 1 所述的方法, 其中酰胺化通过将羧酸原料转化成其相应的活性酯, 其 N^{15} - 氨基最好被保护, 然后将该活性酯与摩尔过量的权利要求 1 中的通式 II 的胺在有机极性溶剂存在下, 在 5 至 $60^\circ C$ 的温度下, 最好在 10 至 $30^\circ C$ 的温度下进行反应。

4. 权利要求 3 所述的方法, 其中活性酯是氰甲基酯, 其与胺的摩尔比为 $1:5$ 至 $1:30$ 。

5. 权利要求 4 所述的方法, 其中氰甲基酯的制备是在惰性有机溶剂和对反应过程无影响的碱存在下, 将 N^{15} - 氨基官能团最好被保护的羧酸原料与摩尔用量过量约 20 至 30 倍的氯乙腈在 5 至 $60^\circ C$, 最好在 10 至 $30^\circ C$ 的温度下反应。

6. 制备通式 I 的化合物的方法, 式中 W 为 $-NR_8$, R_8 - , 其中 R_8 如权利要求 1 所定义, R_9 为 $COOR_{10}$, 而 R_{10} 为 $(C_1 - C_4)$ 酰氧基- $(C_1 - C_4)$ 烷基, 该方法包括在无水碱金属碳酸盐存在下将 N^{63} - 酰胺的 N^{15} 被保护的衍生物(式中 W 为 $-WHR_8$, 而 R_8 如权利要求 1 所定义)与碳酸 α - 酰氧基烷基对硝基苯基酯反应。

7. 权利要求 1 至 6 所述的方法, 该方法还包括除去 N^{15} 保护基的附加步骤。

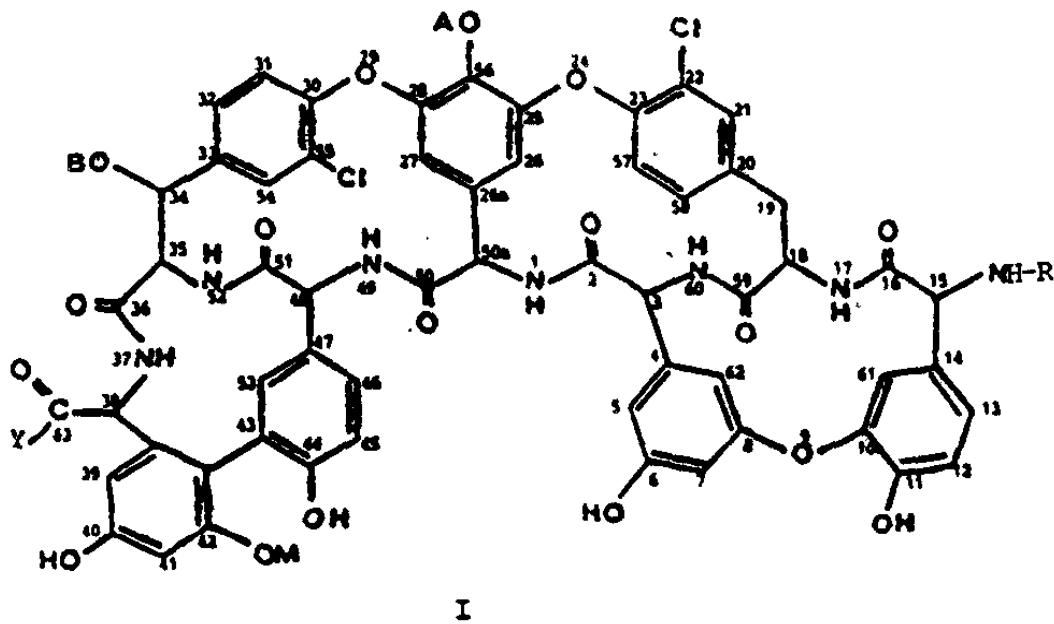
8. 制备权利要求1的一种替考拉宁酰胺衍生物的方法, 该方法包括在惰性溶剂中酸接受体存在下, 将通式I的N^{6,3} 酰胺的N¹⁵ 被保护的衍生物(式中Y为-NR₁-alk₁-XH或NR₁-alk₁-[X-alk₂]_p-TH)与通式r-[alk₂]_p-[T-alk₃]_q-W或r-[alk₃]_q-W(式中符号R₁、alk₁、alk₂、alk₃、X和T如权利要求1所定义, r为卤素、甲磺酰基或甲苯磺酰基)所示的反应物反应。

9. 制备通式I的化合物的方法, 式中A为氢, B为N-乙酰基-β-D-2-脱氧-2-氨基吡喃葡萄糖基, M为α-D-吡喃甘露糖基, 该方法包括在室温下用浓有机酸水溶液, 最好是在10至50°C的温度下用浓度为75至95%的三氟乙酸水溶液对通式I相应的酰胺化合物进行水解, 式中A为N-[(C₀-C₁₂)脂族乙酰基]-β-D-2-脱氧-2-氨基-吡喃葡萄糖基, B为N-乙酰基-β-D-2-脱氧-2-氨基-吡喃葡萄糖基, M为α-D-吡喃甘露糖基。

10. 制备通式I的化合物的方法, 式中A和M均为氢, B为N-乙酰基-β-D-2-脱氧-2-氨基吡喃葡萄糖基, 该方法包括将通式I相应的酰胺化合物(式中A为N-(C₀-C₁₂)脂族酰基)-β-D-2-脱氧-2-氨基吡喃葡萄糖基, B为N-乙酰基-β-D-2-脱氧-2-氨基吡喃葡萄糖基, M为α-D-吡喃甘露糖基)在极性非质子有机溶剂中与强酸接触, 所述有机溶剂选自在室温下为液态的醚, 酮和其混合物。

新的取代的替考拉宁的烷基酰胺衍生物

本发明涉及具有通式 I 的取代的替考拉宁 (Teicoplanin) 化合物的烷基酰胺及其药用加成盐,



式中

R 为氢或胺官能团的保护基;

Y 为通式 $-NR_1 - a_1 k_1 - (X - a_1 k_2)_p - (T - a_1 k_3)_q - W$ 的化合物, 其中

R_1 为氢或 $(C_1 - C_4)$ 烷基;

$a_1 k_1$ 、 $a_1 k_2$ 和 $a_1 k_3$ 各为含有 2—10 个碳原子的直链或支链亚烷基；

P 为 1 至 50 的一个整数；

q 为 0 至 12 的一个整数；

X 为 $-NR_2-$ 或氧原子，其中 R_2 为氢、 (C_1-C_4) 烷基、 $a_1 k_4 NR_3 R_4$ ，其中 $a_1 k_4$ 为含有 2—4 个碳原子的直链或支链亚烷基， R_3 为氢或 (C_1-C_4) 烷基， R_4 为氢、 (C_1-C_4) 烷基或 5—6 元环烷基；或 R_1 和 R_2 一起形成连接两个氮原子的 (C_2-C_4) 亚烷基，其条件是这种情况下 P 为 1；

T 为 $-NR_5-$ 或氧原子，其中 R_5 为氢、 (C_1-C_4) 烷基、 $a_1 k_5 NR_6 R_7$ ，其中 $a_1 k_5$ 为含有 2—4 个碳原子的直链或支链亚烷基， R_6 为氢或 (C_1-C_4) 烷基， R_7 为氢、 (C_1-C_4) 烷基或 5—6 元环烷基，或 R_2 和 R_5 一起形成连接二个氮原子的 (C_2-C_4) 亚烷基，其条件是在这种情况下 p 和 q 均为 1；

W 为羟基、 $NR_8 R_9$ ，其中 R_8 为 H 或 (C_1-C_6) 烷基， R_9 为 H、 (C_1-C_6) 烷基、5—6 元环烷基、 $COOR_{10}$ （其中 R_{10} 为 (C_1-C_6) 酰氧基— (C_1-C_4) 烷基）和 $N^{\oplus} R_{11} R_{12} R_{13} A_n^{\ominus}$ ，其中

R_{11} 、 R_{12} 和 R_{13} 各为 (C_1-C_4) 烷基， $A_n^{\ominus}$ 为药用酸衍生的阴离子；其条件是，当 X 同时为 NR_2 时，P 为 1，q 为 0，而 W 不为羟基；

A为H或 $-N((C_9-C_{12})\text{脂族酰基})-\beta-D-2\text{-脱氧-2-氨基吡喃葡萄糖基}$;

B为H或 $N\text{-乙酰基}-\beta-D-2\text{-脱氧-2-氨基吡喃葡萄糖基}$;

M为氢或 $\alpha-D\text{-吡喃甘露糖基}$;

其另一条件是,只有当A和M同时为氢时,B才能为氢。

替考拉宁(Teicoplanin)是早先称为teichomycin的抗菌物质的国际非独占名称(INN),该抗菌物质是通过在含有可吸收碳、氮和无机盐源的培养基中培养菌株(*Actinoplanes teichomyceticus* nov. sp. ATCC 31121)的方法获得的(见美国专利4,239,751号)。

根据上面引用的专利所描述的步骤,含Teichomycin A₁、A₂和A的抗菌复合物可按常规方法通过用适宜的不溶于水的有机溶剂萃取,再从萃取溶剂中沉淀的方法自发酵液中收集。然后用交联葡萄糖凝胶(Sephadex[®])的柱色谱将分离的抗菌复合物的主要成份Teichomycin A₂与其它成份分离。英国专利2121401号指出,抗菌Teichomycin A₂实际是五种密切相关的共同组分的主要组分的混合物。

根据近来的结构研究,替考拉宁A₂(早先称为Teichomycin A₂)主组分1、2、3、4和5可用上面的通式I表示,式中R为氢,Y为羟基,A为 $-N((C_{10}-C_{11})\text{脂族酰基})-\beta-D-2\text{-脱氧-2-氨基-吡喃葡萄糖基}$,M为 $\alpha-D\text{-吡喃甘露糖基}$ 。

更具体地说，在替考拉宁A₂组分1中，〔(C₁₀—C₁₁)—脂族酰基〕取代基为2—4—癸烯酰基。在替考拉宁A₂组分2中所述的取代基为8—甲基壬酰基，在替考拉宁A₂组分3中所述的取代基为癸酰基，在替考拉宁A₂组分4中所述的取代基为8—甲基癸酰基，在替考拉宁A₂组分5中所述的取代基为9—甲基癸酰基。

欧洲专利申请公开3 0 6 6 4 5号描述了替考拉宁化合物的生产，其中β—D—2—脱氧—2—氨基—吡喃葡萄糖基的脂肪酰基是6—甲基—辛酰基（化合物A或RS 3）或正壬基（化合物B或BS 4）。

Z a n o l 等人在第十七届色谱分析国际讨论会（1988年9月25日至30日在维也纳举行）发表的题为《替考拉宁的少量组分的高效色谱分离和结构测定》的论文中描述了其它二种替考拉宁化合物（RS 1和RS 2）。

所述的化合物的特征在于β—D—2—脱氧—2—氨基吡喃葡萄糖基的脂族酰基分别是甲基—十一烷酰基（RS 1）和十二烷酰基（RS 2）。

所有的糖基如果存在，则通过O—配糖键连接到替考拉宁核上。

另外，现已发现，可将替考拉宁，它的一种纯的成分或任意的各种成分以任意比例形成的混合物通过对一个或二个糖基选择性水解转化成单一的抗菌产品。他们被称为抗生素L 1 7 0 5 4和抗菌生素L 1 7 0 4 6并分别述于欧洲专利1 1 9 5 7 5号和欧洲专利

119574号。

生产抗生素L17054的优选水解条件是：采用0.5N盐酸，反应温度为70至90℃，反应时间通常为15至90分钟。

抗生素L17054可用通式I表示，式中Y为羟基，R和A为氢，B为N-乙酰基- β -D-2-脱氧-2-氨基-吡喃葡萄糖基，M为 α -D-吡喃甘露糖基，其中糖基通过O-配糖键连接到肽核上。

制备抗生素L17046的优选水解条件是：采用1-3N盐酸，反应温度为50至90℃，反应时间通常为30至60分钟。

抗生素L17046可用通式I表示，式中Y为羟基，R、A或M为氢原子，B为N-乙酰基- β -D-2-脱氧-2-氨基-吡喃葡萄糖基，其中糖基通过O-配糖键连接到肽核上。

欧洲专利申请公开301247号描述了脱甘露糖基替考拉宁衍生物，即通式I中A和B不为氢，M为氢且Y为羟基的化合物。

替考拉宁化合物的所有糖基完全选择裂解得到糖苷配基分子，该分子称为抗生素L17392或脱葡萄糖替考拉宁，且可用通式I表示，式中Y为羟基，R、A、B和M各自为氢。该选择水解方法在欧洲专利申请公开146053中有述。

欧洲专利申请公开0090578号公开了具有相同结构式的一种物质，该物质称为抗生素A41030成分B。

该物质可用生物方法获得，该方法包括在合适的介质中用菌株费吉尼亚链霉菌(*streptomyces virginiae*)NRRL12525或费吉尼亚链霉菌NRRL15156进行发酵，然后离析，提

纯并分离抗生素A 4 1 0 3 0的组分，抗生素A 4 1 0 3 0是至少七种成分的抗生素复合物，包括抗生素A 4 1 0 3 0成分B。

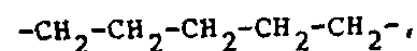
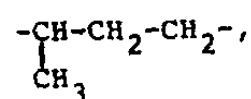
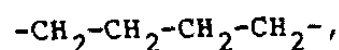
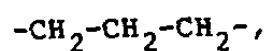
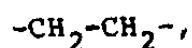
所有上述化合物，即替考拉宁、替考拉宁A₂复合物、替考拉宁A₂组分1、替考拉宁A₂组分2、替考拉宁A₂组分3、替考拉宁A₂组分4、替考拉宁A₂组分5、“化合物A或RS 3”“化合物B或RS 4”、RS 1、RS 2、抗生素L 1 7 0 5 4、抗生素L 1 7 0 4 6、抗生素L 1 7 3 9 2、欧洲专利申请公开3 0 1 2 4 7号的脱甘露糖基替考拉宁衍生物和其以任何比例形成的混合物是制备本发明的取代的烷基酰胺衍生物的适宜原料。

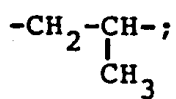
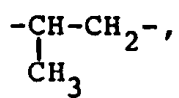
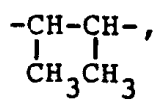
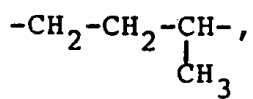
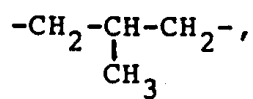
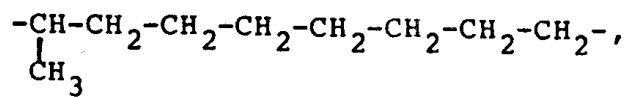
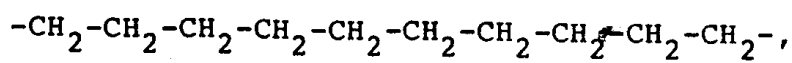
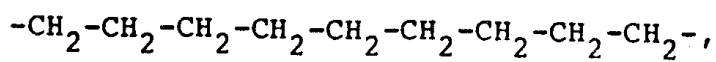
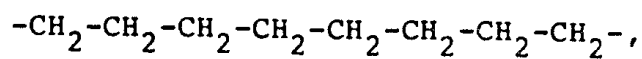
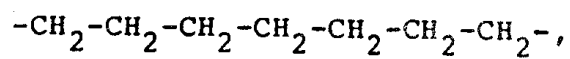
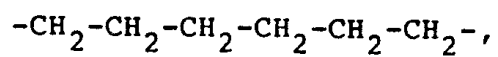
在本说明书中，“替考拉宁化合物”或“替考拉宁原料”是指上述原料中的任意一种，好美国专利4, 239, 751所述方法获得的替考拉宁、其进一步提纯的任何物质、替考拉宁A₂复合物，上述通式I中各取代基是下述基团的化合物：R为氢或N-保护基，Y为羟基，A为氢或-N〔(C₉-C₁₂)脂族酰基〕-β-D-2-脱氧-2-氨基吡喃葡萄糖基，B为氢或N-乙酰基-β-D-2-氨基吡喃葡萄糖基，M为氢或α-D-吡喃甘露糖基，其条件是只有当A和M同时为氢时，B才为氢；其盐或上述物质以任何比例形成的混合物。

本文所用的术语“烷基”，不管是单独还是与其它取代基组合，均包括直链或支链烃基，具体地说，“(C₁-C₆)烷基”表示含1至6个碳原子的直链或支链脂族烃链，如甲基、乙基、丙基、1-甲基乙基、丁基、1-甲基丙基、1, 1-二甲基乙基、戊基、1-甲基丁基、2-甲基丁基、1-己基、2-己基、3

—己基、3,3-二甲基—1-丁基、4-甲基—1-戊基和3-甲基—1-戊基等；“(C₁—C₄)烷基”表示含1至4个碳原子的直链或直链烃链，如上面例举的含1至4个碳原子的那些烷基。

本文所用的术语“a l k₁”、“a l k₂”、“a l k₃”表示含2至10个碳原子的独立的直链或支链亚烷基链，例如：





类似地，“a l k₄”和“a l k₅”表示含2至4个碳原子的独立的直链或支链亚烷基链，例如上面例举的含2至4个碳原子的那些亚烷基。

优选的通式 I 的化合物是式中，

R 为氢或氨基官能团的保护基；

Y 为通式 $-NR_1 - a l k_1 - (X - a l k_2)_p - (T - a l k_3)_q - W$ 的化合物及其药用加成盐，

其中，

R₁ 为氢或 (C₁ - C₄) 烷基，

a l k₁、a l k₂ 和 a l k₃ 各自为含2 - 4个碳原子的直链或支链亚烷基；

p 为1至12的一个整数；

q 为0至12的一个整数；

X 为 $-NR_2 -$ 或氧原子，其中，R₂ 为氢、(C₁ - C₄) 烷基、a l k₄ NR₃ R₄ 基，其中 a l k₄ 为含2至4个碳原子的直链或直链亚烷基，R₃ 为氢或 (C₁ - C₄) 烷基，R₄ 为氢、(C₁ - C₄) 烷基或5 - 6元环烷基；或 R₁ 和 R₂ 一起形成连接二个氮原子的 (C₂ - C₄) 亚烷基，其条件是在这种情况下 p 为1：

T 为 $-NR_5 -$ 基或氧原子，其中，R₅ 为氢、(C₁ - C₄) 烷基、a l k₅ NR₆ R₇ 基，其中 a l k₅ 为含2至4个碳原子的直链或直链亚烷基，R₆ 为氢或 (C₁ - C₄) 烷基，R₇ 为氢、(C₁ - C₄) 烷基或5 - 6元环烷基；或 R₂ 和 R₅ 一起形

成连接二个氮原子的 (C₂ - C₄) 亚烷基, 其条件是在这种情况下 p 和 q 均为 1:

W 为羟基、NR₈ R₉, 其中 R₈ 为 H 或 (C₁ - C₆) 烷基, R₉ 为 H、(C₁ - C₆) 烷基、5 - 6 元环烷基、CCOR₁₀, 其中 R₁₀ 为 (C₁ - C₆) 酰氧基 - (C₁ - C₄) 烷基, 和 N[⊕] R₁₁ R₁₂ R₁₃ A_n[⊖], 其中,

R₁₁、R₁₂ 和 R₁₃ 各自为 (C₁ - C₄) 烷基和由药用盐衍生的阴离子; 其条件是当 X 同时为 NR₂ 时, p 为 1, q 为 0, 而 W 不为羟基;

A 为 H 或 -N((C₉ - C₁₂) 脂族酰基) - β-D-2-脱氧-2-氨基吡喃葡萄糖基,

B 为氢或 N-乙酰基 - β-D-2-脱氧-2-氨基吡喃葡萄糖基;

M 为氢或 α-D-吡喃甘露糖基;

其另一条件是只有当 A 和 M 同时为氢时, B 才能为氢。

优选的是, 当 X 和 / 或 T 为 -NR₂ - 和 / 或 -NR₅ - 时, a₁k₄ 和 a₁k₅ 为 C₂ - C₄ 直链。

如上所述, P 为 1 至 50 的一个整数, q 为 0 至 12 的一个整数。优选的是, 当 X 和 / 或 T 为 -NR₂ - 和 / 或 -NR₅ - 时, P 和 q 为 1 至 12, 而当 X 和 T 均为氧原子时, P + q 应为 2 至 50。

本说明书和权利要求书所用的术语“C₅ - C₆ 环烷基”是指被含 1 至 3 个碳原子的低级烷基 (如甲基和乙基) 任意取代的环戊

基和环己基。

优选的化合物是通式 I 中 X 为 $-NR_2-$ 基 (R_2 为氢、 (C_1-C_4) 烷基或 $a_1k_4NR_3R_4$) 的那些化合物。

另一组优选的化合物是通式 I 中 P 为 1 且 X 为 $-NR_2-$ (其中 R_2 和 R_1 一起为连接氮原子的 (C_2-C_3) 亚烷基) 的那些化合物。

在达种情况下, 特别优选的是 a_1k_1 为 $-CH_2-CH_2-$ 的那些化合物。

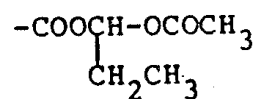
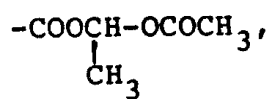
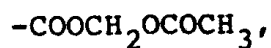
再一组优选的化合物是通式 I 中 P 为 1、q 为 1 以及 X 和 T 分别为 $-NR_2$ 和 $-NR_5-$ (其中 R_2 和 R_5 一起为连接氮原子的 (C_2-C_3) 亚烷基) 的那些化合物。

在这种情况下, 特别优选的是 a_1k_2 为 $-CH_2-CH_2-$ 的那些化合物。

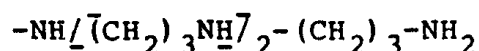
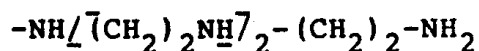
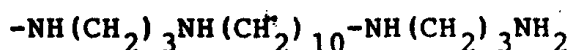
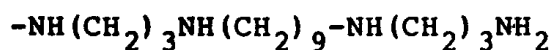
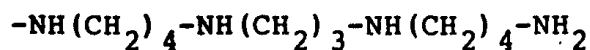
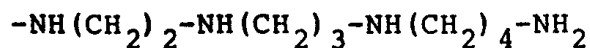
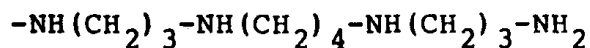
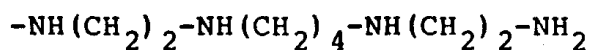
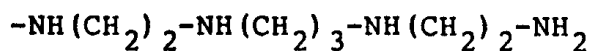
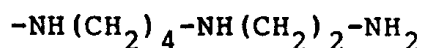
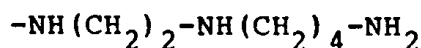
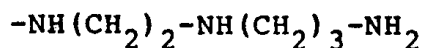
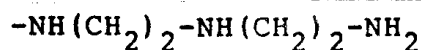
其它优选的化合物是通式 I 中 X 和 T 为氧原子, $p+q$ 为 2 至 5⁰, W 为羟基或 NR_8R_9 , 其中 R_8 为氢或 (C_1-C_4) 烷基, R_9 为氢、 (C_1-C_4) 烷基、环戊基或环己基的化合物。

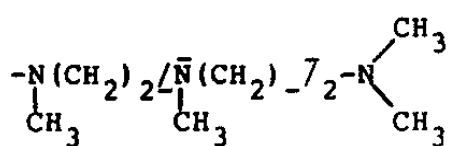
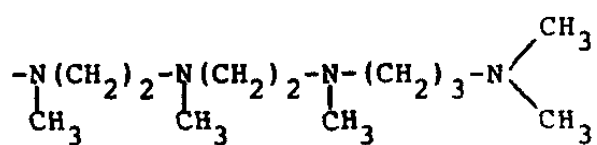
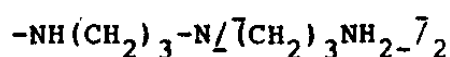
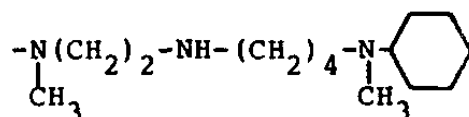
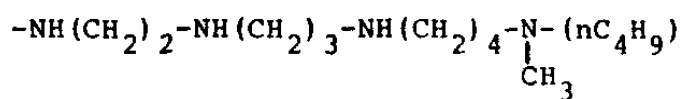
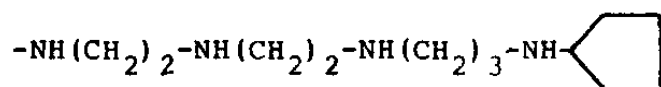
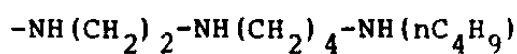
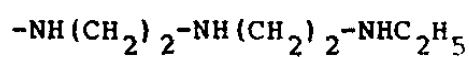
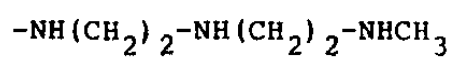
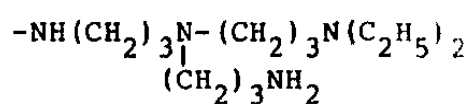
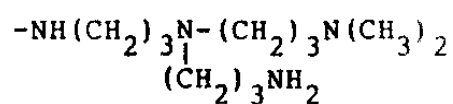
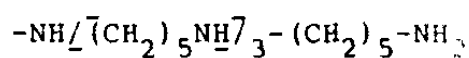
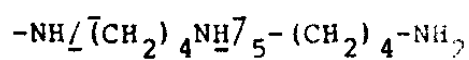
还有一些优选的化合物是式中 W 为 NR_8R_9 (其中 R_8 如上所定义, R_9 为 $COOR_{10}$, 而 R_{10} 为 (C_1-C_6) 酰氧基- (C_1-C_4) 烷基) 的那些化合物。

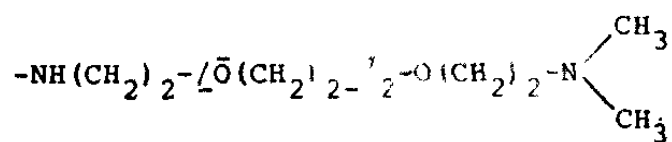
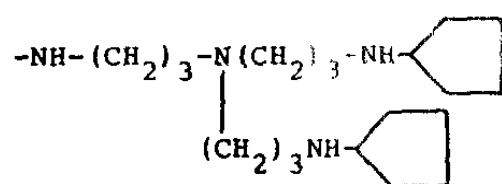
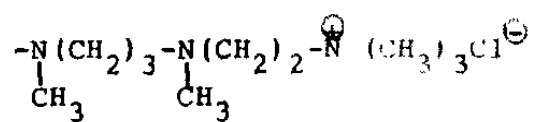
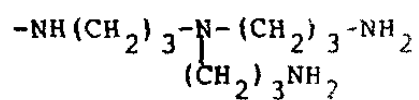
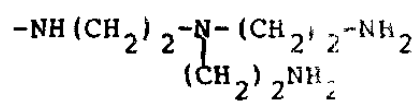
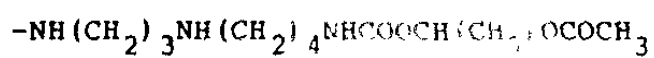
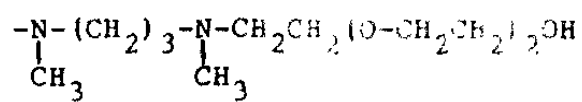
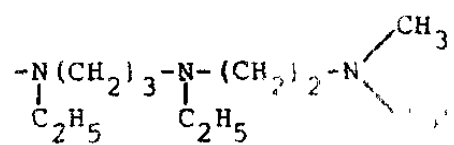
在术语 “ (C_1-C_6) 酰氧基- (C_1-C_4) 烷基” 中, (C_1-C_4) 烷基是被 (C_1-C_3) 直链或支链烷基任意取代的亚烷基, 例如:

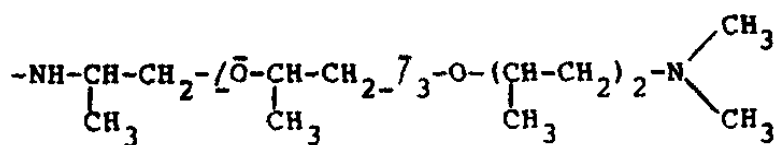
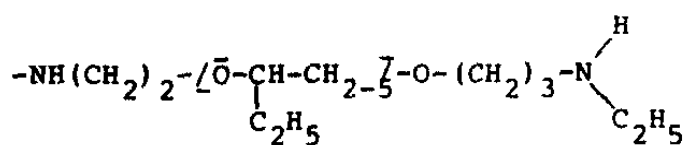
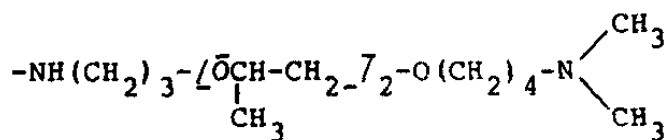
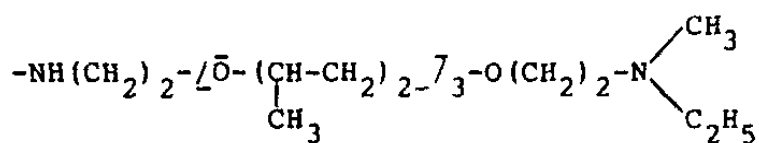
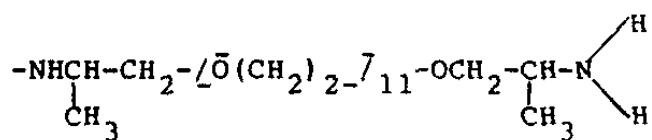
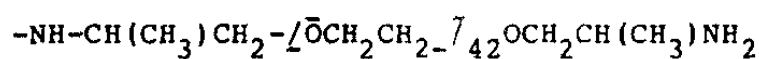
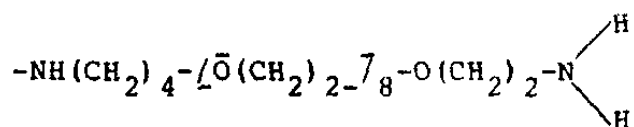
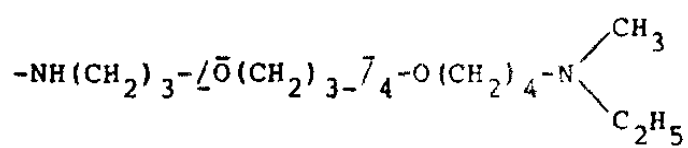


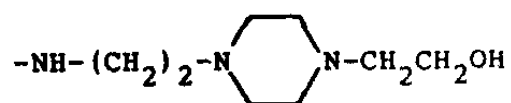
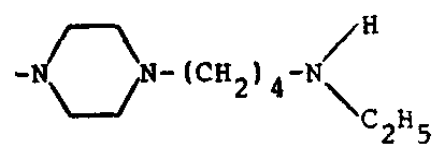
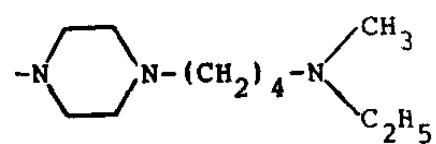
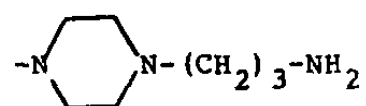
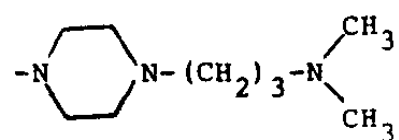
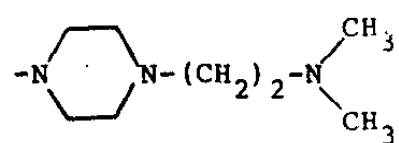
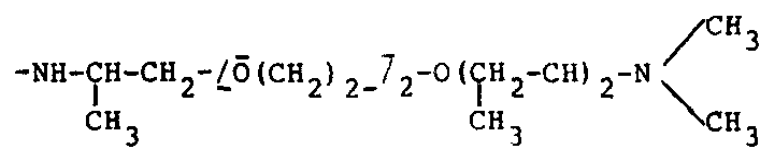
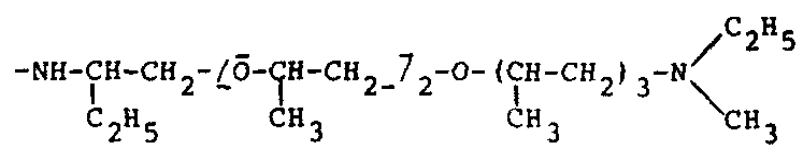
根据上面所给的总定义，基团 $-\text{NR}_1 - \text{a l k}_1 - (\text{x} - \text{a l k}_2)_p - (\text{y} - \text{a l k}_3)_q - \text{W}$ 的代表性实例有：

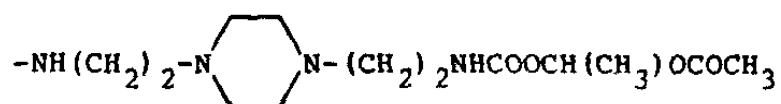
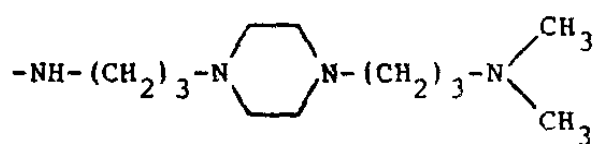
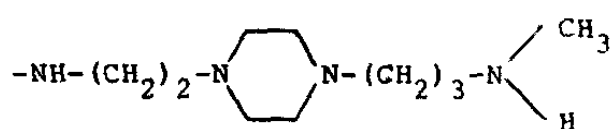
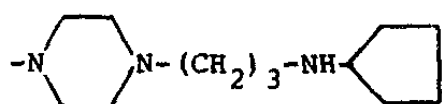
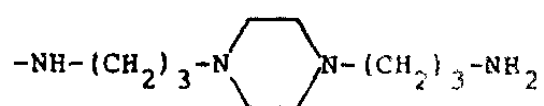












本发明的化合物显示出抗菌活性，可用作抗格兰氏阳性细菌的半合成抗菌剂，但对抗格兰氏阴性细菌，具体地说对抗大肠埃希氏菌和绿脓假单胞菌也有特别的活性。

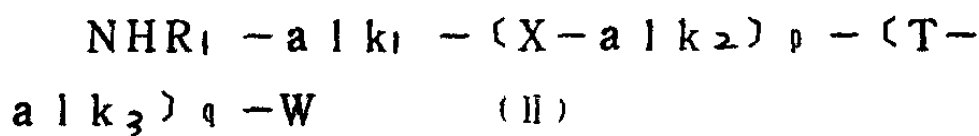
替考拉宁复合物的各种C⁶³酰胺衍生物、其单一组分和其糖苷配基和假糖苷配基在欧洲专利申请公开218099号和国际专利申请公开WO88/06600号中有所描述。

本发明的化合物可通过对通式I（式中Y为OH）的相应衍生物（即相应的羧酸）进行酰胺化的方法来制备。

用作制备本发明的化合物的上述原料物质既可以是单一的产物，也可以是一种或多种产物的混合物。

因为制备本发明的化合物的所述原料可以以所述二种形式使用，所以获得的最终产物也是上述通式I的单一化合物或二种或多种化合物的混合物。化合物的这些混合物也是发明的一部分，可用于生物应用和用途，或者采用本领域已知步骤被最终分离成其单一组分。适合于从替考拉宁酰胺衍生物的最终产品的混合物中获得单一组分的分离方法的例子在下列文献中有所描述：欧洲专利申请公开218099号和国际专利申请公开WO88/06600号。

在上述欧洲专利申请和国际专利申请中所述的酰胺化步骤也可用于本发明化合物的制备。所述步骤包括在缩合剂存在下，在惰性有机溶剂中将上述羧酸原料与过量的通式II的适宜胺缩合。



式中 R_1 、 alk_1 、 alk_2 、 alk_3 、 X 、 T 、 p 、 q 和 W 与上述定义相同。

用于酰胺化反应的情性有机溶剂是有机非质子溶剂，该溶剂对反应过程无不利影响且能至少部分溶解替考拉宁原料。

所述的情性有机溶剂的例子有有机酰胺，烷基醚、二元醇和多元醇的醚、磷酰胺和亚砷、情性有机溶剂的优选例子有二甲基甲酰胺、二甲氧基乙烷、六甲基磷酰胺、二甲基亚砷和其混合物。

本发明的缩合剂是适合在有机化合物，特别是肽的合成中形成酰胺键的缩合剂。

缩合剂的典型例子是叠氮磷酸的 ($C_1 - C_4$) 烷酯、苯酯或杂环酯，例如叠氮磷酸二苯酯、叠氮磷酸二乙酯、叠氮磷酸二(4-硝基苯基)酯，二吗啡酚基叠氮磷酸酯和氯磷酸二苯酯。优选的缩合剂是叠氮磷酸二苯酯，即磷酸二苯酯叠氮化物 (DPPA)。在这里所述的本发明的酰胺化方法中，胺反应物的摩尔用量通常过量。

总的来说，当胺反应物是相当便宜的或易获得的反应物时，其摩尔用量为过量 2 至 6 倍，以 3 至 4 倍为优选。

为了进行酰胺化反应，胺必须能与替考拉宁的羧酸官能团形成盐。若胺在选择反应介质中不足以强到形成盐，则必须往反应混合物中加入至少与替考拉宁原料等摩尔量的一种成盐碱。

当胺反应物相当贵或难以获得时，其适宜的方法是使胺反应物的摩尔过量减少，同时加入一种成盐碱。

所述的成盐碱的例子是有机脂族或杂环叔胺；如三甲胺，三乙

胺，N-甲基吡咯烷或甲基吡啶等。

缩合剂的摩尔用量通常略为过量，例如为替考拉宁原料化合物的1.2至1.7倍，较好的为1.5倍。

另外，胺反应物也可以以相应的酸加茂盐（例如盐酸盐）的形式较为方便地加入到反应介质中。在这种情况下，要使用至少二倍摩尔量，最好过量2至4倍摩尔量的能使胺从其盐中游离出的强碱。在这种情况下，适用的碱仍然是如上所列举的有机脂族或杂环叔胺。事实上，至少在某些情况下，更优先选用胺的盐（其胺可用碱游离出），尤其是当胺的盐比相应的游离胺更稳定时。

反应温度变化很大，取决于具体的原料和反应条件。进行反应的优选温度通常为0至20℃。

反应时间变化很大，取决于其它反应参数。缩合反应通常在24—48小时内完成。

在任何情况下，可按本领域已知的方法用薄层色谱法或高效液相色谱法监测反应过程。

基于这些分析结果，本领域熟练技术人员将能够判断反应过程，决定何时中止反应并按众所周知的技术开始处理反应物料，所述技术包括，例如，用溶剂萃取，加入非溶剂进行沉淀等，同时进行进一步的常规分离操作和提纯，例如柱色谱。

如果胺反应物含有选择的反应条件下不呈惰性的其它官能团，则所述的官能团可用众所周知的保护基进行合适的保护。

根据本发明的另一优选实施方案，通式I中Y为上述定义的基团的化合物可通过将相同通式I（式中Y为OH，N¹⁵-氮官能团

最好被保护)的羧酸的“活性酯”与通式 I I 的适宜胺反应的方法来制备。

N¹⁵—氨基官能团可按以下文献所述的本领域已知的方法进行保护,例如 T. W. Greene, “Protective Groups in Organic Synthesis”, John Wiley and Sons, New York, 1981 和 M. Mc. Omie, “Protecting Groups in Organic Chemistry” Plenum Press, New York, 1973。

保护基团在反应工艺条件下必须稳定,对酰胺化反应不产生不利的影响,并且在反应结束后易于解离和从反应介质中脱除而不改变新形成的酰胺键和化合物如糖组分的总体结构。

用以保护原料替考拉宁中的 N¹⁵ 伯氨基官能团的(必要时)胺(I I)试剂中氨基官能团的本发明方法适用的 N—保护基团的代表例是以如下氧羰基为特征的氨基甲酸酯生成剂: 1, 1—二甲基丙炔氧基羰基, 叔丁氧基羰基, 烯氧基羰基, 芳氧基羰基, 肉桂氧基羰基, 苄氧基羰基, 对—硝基苄氧基羰基, 3, 4—二甲氧基—6—硝基苄氧基羰基, 2, 4—二氯苄氧基羰基, 5—苯并异恶唑甲氧基羰基, 9—氨基蒽甲氧基羰基, 二苯基甲氧基羰基, 异烟碱氧基羰基, 2—苄氧基羰基等。

其他适宜的 N—保护试剂是可与待保护的氨基生成席夫碱的醛或酮或其衍生物。

优选的席夫碱生成剂的例子是苯甲醛, 尤其优选的是 2—羟基

苯甲醛（水扬醛）。

在某些情况下，一种方便的保护方法是生成亚苄基衍生物，其制备是使胺与苯甲醛在低级醇如乙醇中并最好在室温下反应。与选择的替考拉宁原料反应完毕后，可按本领域已知方法如催化加氢（使用例如钨／炭作催化剂）除去亚苄基保护基。

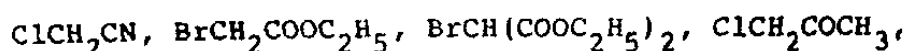
但是，在上述情况下，应注意某些基团可通过催化加氢改性。对式（I）氨基被保护的衍生物（其中A代表如上定义的基团，其酰基部分为（Z）-4-癸烯酰基）或其混合物催化加氢的一个典型后果是癸烯酰基化合物至少部分转化成相应的癸烷酰基化合物。

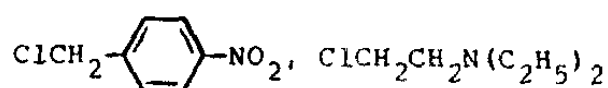
正如熟练技术人员所知，保护基团的具体选择最终取决于所需具体酰胺衍生物的特性。实际上，最终化合物的酰胺官能团应在除去保持基团的条件下稳定。

由于不同保护基的脱除条件是公知的，熟练技术人员能够选择适当的保护基团。

“活性酯”的生成反应在以下文献中有概括叙述，Fieser，“Reagent for Organic Synthesis”，John Wiley and Sons Inc.，第129-130页（1967）。

本发明方法使用的所述活性酯的生成试剂的例子由R. Schweizer等在Helv. Chim. Acta, 1955, 38, 69-70中叙述并包括：





属于该类型的一个优选试剂是氯乙腈。在该例中，氯乙腈本身或二甲基甲酰胺（DMF）可作为优选的溶剂使用。

一般地讲，适宜生成“活性酯”的惰性有机溶剂是那些对反应过程不产生不利影响并能够至少部分地溶解羧酸原料的有机非质子溶剂。

所述惰性有机溶剂的例子有有机酰胺类，烷基醚类，二醇醚和多醇醚类，磷酰胺类，亚砷类和芳族化合物。优选的惰性有机溶剂的例子有二甲基甲酰胺，二甲氧基乙烷，六甲基磷酰胺，二甲基亚砷，苯，甲苯及其混合物。

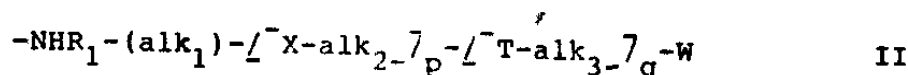
更优选的溶剂选自乙腈，二甲亚砷，二甲基甲酰胺。活性酯的生成反应通常是在不影响反应过程的碱的存在下进行，碱的例子有例如三烷基胺如三乙胺，碳酸钾或碳酸钠，或碳酸氢钾或碳酸氢钠。一般地讲，碱对替考拉宁羧酸原料的摩尔比为2—6，推荐的是，碱以三倍摩尔过量使用。优选的碱是三乙胺。

“活性酯”的生成试剂的使用量比替考拉宁羧酸原料大为过量。摩尔用量通常过量5—35倍，最好是过量约20—30倍。反应温度在10—60℃之间，最好在15—30℃之间。反应时间一般取决于其他具体反应参数，通常为3—48小时。

在这种情况下，可利用高效液相色谱法（HPLC）或薄层色谱法（TLC）监测反应过程以确定反应完成时间和回收所需中间体的时间。“活性酯”中间体可在与制备本身相同的反应介质中直

接使用，但是，在通常情况下，可利用非溶剂沉淀法或溶剂萃取法分离中间体，而且不必进一步提纯，用于下一反应步骤。但是若必要，可以利用柱色谱法如快速柱色谱法或反相柱色谱法提纯。

然后，所得“活性酯”中间体与摩尔过量的式 I I 胺衍生物在有机极性溶剂存在下，在 5—60℃，最好在 10—30℃ 温度下反应。



在该例中，有机极性溶剂可以是极性质子溶剂或非质子溶剂。

优选的有机极性质子溶剂的例子有 (C₂—C₄) 低级烷醇如乙醇，正丙醇，异丙醇，正丁醇等，或其混合物，最好以无水状态使用。

优选的有机极性非质子溶剂的例子有 N，N—二甲基甲酰胺 (DMF)，六甲基磷酰胺 (HMPA)，或其混合物，1，3—二甲基—3，4，5，6—四氢—2(1H)—嘧啶酮 (DMPU)，二甲基亚砷 (DMSO) 或二甲氧乙烷 (DMF)。

“活性酯”与选择的胺的反应在 5—60℃，较好在 10—30℃，最好在 20—35℃ 温度下进行，“活性酯”中间体与上述定义的胺 (I I) 的摩尔比较好为 1:5—1:30，最好为 1:10—1:20。反应过程通常可利用薄层色谱法或高效液相色谱法来鉴别。

可以按照普通方法，例如溶剂蒸发法或加入非溶剂法将在酰胺化反应中所得的酰胺衍生物从反应溶液中分离出。氨基保护基团通

常是在从酰胺化反应中分离出的粗产品上脱除的。

国际专利申请WO 88/06600号叙述了从替考拉宁衍生物脱除所述保护基团的方法例。

如果采用催化加氢方法，则该反应通常是在稀的强酸（最好为无机酸）水溶液存在下，在与所述稀的强酸水溶液混溶的有机溶剂中进行。然后对反应滤液进行后处理以回收式I酰胺的无机酸加成盐或相应的游离碱。如果氨基保护基团可用稀的无机酸脱除（例如保护基团为席夫碱或C₁₋₄烷氧羰基），则可在不引起糖部分裂解的条件（例如低温，短的反应时间）下，进行上述类似方法。

本发明式I化合物的另一个制备方法包括：在酸接受剂存在下，在惰性溶剂中使式I中N¹⁵保护的N⁶³酰胺衍生物（其中Y为-NR₁-alk₁XH或NR₁-alk₁(X-alk₂)-TH）与式r-(alk₂)_p-(T-alk₃)_q-W或式r-(alk₃)_q-W试剂反应，其中，符号R₁，alk₁，alk₂，alk₃，X和T分别如上所定义，r代表卤素，甲磺酰基或甲苯磺酰基。在该例中，p最好为1或2，q不为零并最好为1或2，X和T较好代表NH或氧，最好代表氧。按照制备本发明式I化合物的通用方法，制备上述N¹⁵保护的N⁶³酰胺衍生物。

若需要其中W代表-NR₈R₉-（其中R₈如上定义，R₉为COOR₁₀，R₁₀为（C₁-C₆）酰氧基—（C₁-C₄）烷基）的式I化合物，则需要使N¹⁵保护的N⁶³酰胺衍生物（式中W为-NHR₈），而R₈如上定义）与碳酸α-酰氧基-烷基对硝基苯基酯在无碳酸碱金属盐如碳酸钠的存在下进行反应。

碳酸 α -酰氧基-烷基对硝基苯基酯可按 J. Med. Chem., 31, 第 318-322 (1988) 页所述方法进行制备。

本发明的某些酰胺如替考拉宁 A₂ 复合物, 其单一组分或两种或多种组分的混合物可用作制备单一抗生素的原料, 方法是按欧洲专利 1 195 75 号和 1 195 74 号所述方法, 选择水解一个或多个糖部分。

制备其中 A 为氢, B 为 N-乙酰基- β -D-2-脱氧-2-氨基吡喃葡萄糖基, M 为 α -D-吡喃甘露糖基的式 I 化合物的另一个方法包括按照欧洲专利申请公开 1 468 22 号所述方法水解相应的式 I 酰胺化合物 (其中 A 为 -N-(C₇-C₁₂) 脂族酰基)- β -D-2-脱氧-2-氨基吡喃葡萄糖基, B 为 N-乙酰基- β -D-2-脱氧-2-氨基吡喃葡萄糖基, M 为 α -D-吡喃甘露糖基, 即, 替考拉宁 A₂ 复合物或其单一组分的羧酰胺衍生物)。

该方法包括使上述原料与浓的有机酸水溶液在室温下接触, 最好是与浓度为 75%-95% 的三氟乙酸水溶液在 10-50℃ 温度下接触。

式 I 化合物 (其中 A 和 M 均为氢, B 为 N-乙酰基- β -D-2-脱氧-2-氨基吡喃葡萄糖基) 的另一个制备方法包括使式 I 化合物 (其中 A 为 N-(C₇-C₁₂) 脂族酰基)- β -D-2-脱氧-2-氨基吡喃葡萄糖基, B 为 N-乙酰基- β -D-2-脱氧-2-氨基吡喃葡萄糖基, M 为 α -D-吡喃甘露糖基) 按欧洲

专利申请 1 7 5 1 0 0 所述方法进行水解。

该方法包括在室温下为液态并选自醚、酮或其混合物的极性非质子有机溶剂存在下，使上述原料与强酸接触。

在后一种情况下，也可以使用 A 为氢、B 为 N-乙酰基- β -D-2-脱氧-2-氨基吡喃葡萄糖基、M 为 α -D-吡喃甘露糖基的式 I 酰胺化合物，该化合物是用浓的三氟乙酸水溶液按上述方法进行水解而获得的。

为了分离酸加成盐，通过加入碱溶液如氢氧化钠水溶液将由裂解氨基保护基团得到的反应溶液的 PH 值调至 4-7，减压蒸除溶剂后，形成的固体以与强酸（在除去保护步骤过程中已加入）的加成盐的形式分离出。可以利用普通技术，例如柱色谱法，加非溶剂从溶液沉淀法，高效液相制备色谱法等进一步提纯该产品。可以将酸加成盐转化成相应的式 I 游离碱，方法是，将酸加成盐悬浮于或溶解于溶剂水溶液中，然后将其调至适当的 PH 值，随后形成游离碱。然后利用例如有机溶剂萃取法回收该产品，或者，通过加入选择的酸和如上后处理将该产品转化成另一酸加成盐。

有时，在上述操作之后，需要使回收的产品进行常规的脱盐操作。

例如，可以采用控制多孔聚葡聚糖树脂（例如 Sephadex LH 20）柱色谱法或硅烷化硅胶柱色谱法。用水溶液洗脱不需要的盐之后，用水和极性或非极性有机溶剂的混合物，例如乙腈/水，从 5%-100% 乙腈线性梯度或阶梯梯度洗脱所需产物，然后通过蒸发溶剂或冻干回收产物。

式 I 化合物的游离碱可以转化成相应的酸加成盐，方法是：将游离碱悬浮或溶解于含水的溶剂中并且加入略微过量的选择的酸。然后冷冻干燥所形成的悬浮液或溶液，得到所需酸加成盐。在某些情况下，可不采用冷冻干燥，而加入可与水溶混的非溶剂，通过沉淀作用回收最终的盐。

如果最终的盐不溶于有机溶剂而其游离碱溶于有机溶剂，则可以在加入化学计量量的或略微过量的选择的酸之后，过滤无盐的有机溶液得到最终的盐。

式 I 化合物代表性的和适宜的酸加成盐包括与有机酸和无机酸进行标准反应而生成的酸加成盐，例如这些酸包括盐酸，氢溴酸，硫酸，磷酸，乙酸，三氟乙酸，三氯乙酸，琥珀酸，柠檬酸，抗坏血酸，乳酸，马来酸，富马酸，棕榈酸，胆酸，pantoic acid，粘酸，樟脑酸，戊二酸，乙醇酸，苯二甲酸，酒石酸，月桂酸，硬脂酸，水杨酸，甲磺酸，苯磺酸，山梨酸，苦味酸，苯甲酸，肉桂酸等。

本发明优选的酸加成盐是药用酸加成盐。

术语“药用酸加盐”是指与生物学定义酸的加成盐，其制备和配方标准均符合药典要求。

适宜作“药用酸加盐”的酸包括以上列举的酸。

本发明化合物的游离碱和其酸加成盐适宜作抗菌剂，可抗格兰氏阳性和格兰氏阴性细菌。

但是，本发明化合物对格兰氏阴性细菌，尤其是对绿脓假单胞菌具有异常好的活性。

实际上，目前在替考拉宁抗生素中这些化合物是对该属微生物最有效的衍生物。具有脱糖替考拉宁核的本发明化合物具有突出的活性，而具有替考拉宁核的本发明化合物也具有显著的活性。

使用D i f c o T o d d - H e w i t t 肉汤（酿脓链球菌和肺炎链球菌）或O x o i d I s o - S e n s i t e s t 肉汤（葡萄球菌，粪链球菌和格兰氏阴性微生物），利用在微量滴定管中的标准两倍稀释试验，可以说明本发明化合物的体外抗菌活性。足够稀释肉汤培养物以使最终接种物的菌落生长单位/ ml （C F U/ ml ）约为 10^4 。最低抑制浓度（M I C）是在 37°C 孵育18—24小时后没有观察到生长的最低浓度。

本发明代表化合物的抗菌试验结果总结于表 I。

化合物 22，23，25，26，27和29对某些绿脓假单胞菌的多抵抗临床隔离物的活性见诸表 I I。

表 I

体外活性 (MIC 微克/ml)

试验微生物	化合物序号				
	6	9	11	21	22
金黄色酿脓葡萄球菌 TOUR	0.12	0.12	0.12	0.06	0.06
表皮葡萄球菌 ATCC 12228	0.06	0.06	0.06	0.06	0.03
出血性葡萄球菌 L 602	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
酿脓链球菌 C 203	0.06	0.06	0.06	0.12	0.06
肺炎链球菌 UC 41	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
粪链球菌 ATCC 7080	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
大肠埃希氏杆菌 SKF 12140	> 128	> 128	64	8	1
普通变形杆菌 X19H ATCC 881	> 128	> 128	128	64	32
绿脓假单胞菌 ATCC 10145	64	64	32	64	8

表 I (续)

试验微生物	化合物序号				
	23	24	25	26	27
金黄色酿脓葡萄球菌 TOUR	0.06	0.06	0.12	0.06	0.06
表皮葡萄球菌 ATCC 12228	0.06	0.06	0.06	0.016	0.06
出血性葡萄球菌 1602	0.06	0.06	0.12	0.06	0.12
酿脓链球菌 C 203	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
肺炎链球菌 UC 41	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
粪链球菌 ATCC 7080	0.12	0.12	0.12	0.25	0.12
大肠埃希氏杆菌 SKF 12140	2	4	2	0.5	2
普通变形杆菌 X19H ATCC 881	32	128	64	64	64
绿脓假单胞菌 ATCC 10145	8	64	16	2	8

表 I (续)

试验微生物	化合物序号				
	29	30	34	39	44
金黄色酿脓葡萄球菌 TOUR	0.06	0.06	0.06	0.25	0.12
表皮葡萄球菌 ATCC 12228	0.016	0.06	0.06	0.06	0.06
出血性葡萄球菌 L 602	0.06	0.12	0.12	0.12	0.06
酿脓链球菌 C 203	0.06	0.06	0.06	0.12	0.06
肺炎链球菌 UC 41	0.12	0.12	0.12	0.5	0.25
粪链球菌 ATCC 7080	0.12	0.12	0.12	0.5	0.25
大肠埃希氏杆菌 SKF 12140	1	4	4	32	4
普通变形杆菌 X19H ATCC 881	32	128	> 128	> 128	128
绿脓假单胞菌 ATCC 10145	8	16	32	128	16

表 I (续)

试验微生物	化合物序号			
	46	47	50	51
金黄色酿脓葡萄球菌 TOUR	0.5	0.12	0.12	0.12
表皮葡萄球菌 ATCC 12228	0.12	0.12	0.008	0.06
出血性葡萄球菌 L 602	8	2	0.06	0.12
酿脓链球菌 C 203	0.06	0.06	0.06	0.06
肺炎链球菌 UC 41	0.12	0.06	0.12	0.12
粪链球菌 ATCC 7080	0.25	0.12	0.12	0.25
大肠埃希氏杆菌 SKF 12140	> 128	> 128	1	8
普通变形杆菌 X19H ATCC 881	> 128	> 128	128	128
绿脓假单胞菌 ATCC 10145	> 128	> 128	8	32

表 I (续)

试验微生物	化合物序号			
	52	53	54	55
金黄色酿脓葡萄球菌 TOUR	0.12	0.06	0.5	1
表皮葡萄球菌 ATCC 12228	0.03	0.06	0.12	0.12
出血性葡萄球菌 L 602	0.12	0.06	2	1
酿脓链球菌 C 203	0.12	0.06	0.03	0.12
肺炎链球菌 UC 41	0.12	0.12	0.12	0.12
粪链球菌 ATCC 7080	0.12	0.12	2	1
大肠埃希氏杆菌 SKF 12140	32	8	> 128	> 128
普通变形杆菌 X19H ATCC 881	> 128	128	> 128	> 128
绿脓假单胞菌 ATCC 10145	128	32	128	> 128

表 II

绿脓假单胞菌株号	MIC (微克/ml)					
	化合物 2 2	化合物 2 3	化合物 2 5	化合物 2 6	化合物 2 7	化合物 2 9
L 1138	64	64	32	32	64	64
L 1348	4	4	4	4	4	8
L 1498	64	64	64	64	64	64
L 1533	64	128	64	64	64	128

本发明化合物比替考拉宁和欧洲专利申请公开 2 1 8 0 9 9 中以及国际专利申请 WO / 8 8 0 6 6 0 0 中最接近的化合物具有更高的抗绿脓假单胞菌活性。抗相同微生物的 MIC (微克 / ml) 决不低于 3 2。

从由于所述菌株引起的感染的重要性来看，本发明化合物的抗绿脓假单胞菌活性尤其恰如其分。

绿脓假单胞菌临床感染包括局部感染例如创伤（尤其是烧伤）、泌尿道、呼吸道、肠、眼和耳感染，以及全身性感染（血液，骨或败血），全身性感染由抵抗力弱患者的主要局部感染部位引起，导致感染部位向各个器官转移扩展。

对感染败血假单胞菌的患者进行预测是困难的，某些作者报道死亡率非常高（有时达 1 0 0 %）。参见 P . H . C l a r k e 和 M . H . R i c h m o n d 的 “ G e n e t i c s a n d B i o c h e m i s t r y o f P s e u d o m o n a s ”（第二章），J o h n W i l e y a n d S o n s (1 9 7 5)。

此外，与脱糖替考拉宁和替考拉宁假昔配基不同，本发明的替考拉宁化合物，就口服而言，比本领域已知的替考拉宁酰胺衍生物具有显著高的体内活性。

用被酿脓链球菌 C 2 0 3 败血感染的小鼠作体内试验，本发明代表化合物在体内试验中的 ED 5 0 值 (mg / kg) 由表 III 给出，其中酿脓链球菌 C. 2 0 3 按 V . A r i o l i 等在 J o u r n a l o f A n t i b i o t i c s 2 9 , 5 1 1 , 1 9 7 6 所述方法制备。

表 III
体内活性

化合物序号	ED ₅₀ (mg/kg) s.c.	p.o.
2	0.09	约 60
6	0.05	81.2
9	0.06	约 80
11	0.03	81.2
15	0.06	约 60
33	0.06	74.4

已经发现，在治疗被大肠埃希氏杆菌感染的小鼠时，通过静脉内注射（ 40 mg/kg ，7/8观察/待治）和经皮下注射（ $ED_{50} \leq 38\text{ mg/kg}$ ）后，化合物50具有显著的体内活性。

根据上述抗菌活性，本发明化合物可用作人类和兽类抗菌药制剂的活性成分，用来预防和治疗由易感于所述活性成分的病菌引起和感染疾病。

在上述治疗中，可以以单一化合物或以任何比例的混合物形式使用这些化合物。

本发明化合物可以口服，局部给药或非肠胃给药，但最好是非肠胃给药。基于给药途径，这些化合物可制成各种剂型。口服制剂可以是胶囊，片剂，溶液剂或悬浮剂。如本领域公知，除了活性成分外，胶囊剂和片剂还可以包括常规赋形剂如稀释剂例如乳糖，磷酸钙，山梨醇等；润滑剂例如硬脂酸镁，滑石，聚乙二醇；粘合剂例如聚乙烯吡咯烷酮，明胶，山梨醇，黄蓍胶，金合欢；增香剂以及适宜的崩解剂和润湿剂。液体制剂通常为水或油溶液或悬浮液，并可包括常规添加剂如悬浮剂。若用以局部用途，则本发明化合物也可制成用于皮肤、鼻和喉或支气管组织的粘液膜的适当剂型，也可采用乳油剂，软膏剂，液体喷雾剂或吸入剂，锭剂或喉涂剂等剂型。

本发明化合物另一个优点是其在宽的PH值范围内具有显著高的水溶解性，因此避免了药用组合物的一般问题。

对于治疗眼或耳，制剂可采取液体或半流体形式，在疏水性或

亲水基剂中配制，例如软膏剂，乳油剂，洗剂，涂剂或粉剂。

对于直肠给药，本发明化合物可以以结合常规载体的栓剂形式给药，常规载体例如有可可油，石蜡，鲸蜡或聚乙二醇及其衍生物。

注射组合物可以采用以油或水作载体的悬浮液，溶液或乳液，并且可以包括配制剂如悬浮剂，稳定剂和/或分散剂。

另一种作法是，活性成分可采用粉剂形式，使用时可用适当的载体如无菌水重新配制。

活性成分的给药量取决于诸多因素如待治疗对象的大小和状态，给药途径和频率以及涉及的成因剂。

本发明化合物通常在约 0.5—30 mg 活性成分/kg 体重的剂量下是有效的，最好每天分 2—4 次给药。组合物最好制成含约 20—300 mg/单位的剂量单位形式。

以下实施例说明本发明的实施方式，但是不应认为是限制本发明的全部范围。

实施例——实验部分

在以下实施例中，原料可以是替考拉宁 A₂ 复合物 (TGA) 其单一组分或一种或多种所述组分的混合物。

典型的复合物混合物主要由对应于或 I 的五种组分组成，其中符号 A 代表的 β -D-2-脱氧-2-氨基吡喃葡萄糖基的脂族酰基部分分别是：

Z-(4)-癸烯酰基 (AC₁)

8-甲基壬酰基 (AC₂)

癸烯酰基 (AC₃)

8-甲基癸酰基 (AC₄) 和

9-甲基癸酰基 (AC₅),

B是N-β乙酰基-β-D-2-脱氧-2-氨基吡喃葡萄糖基 (AcGlu),

M是α-D-吡喃甘露糖基 (Man) 和

Y是OH。

该混合物用缩写字TGAC₁₋₅表示。若原料是所述混合物的一个单一组分, 则基于上述氨基吡喃葡萄糖基的具体的脂族酰基, 该单一组分用TGAC₁, TGAC₂, TGAC₃, TGAC₄ 或TGAC₅表示。

若使用一种或多种组分的混合物, 则可根据复合物的相同系统标明。例如, 缩写字TGAC₂₋₅表示组分2-5的混合物, 而不再存在组分1。当催化加氢使成分1双键饱和使其转化成组分3时, 便可获得该混合物。缩写字TGAC_{2,3}, 是指组分2, 3的混合物, 缩写字TGAC_{4,5}, 是指成分4和5的混合物。

抗生素L17392 (替考拉宁的糖苷配基) 由DTG表示, 假糖苷配基L17054和L17046分别由TGA3-1和TGA3-2表示, 脱甘露糖基假糖苷配基 (欧洲专利申请公开301247号) 由DM-TGAC表示。

使用如上定义的缩写字AC₁, AC₂, AC₃, AC₄ 和AC₅, 符号A标明β-D-2-脱氧-2-氨基吡喃葡萄糖基的特定脂族酰基取代基 (A/AC), 并参考式I, 来表示下表中的

所得最终产品。若获得的是一种或多种组分的混合物，则通过上述相同的正规系统标明。

实施例 1-30

当需要 TGA C₂₋₅ 混合物的 N⁶³-羧酰胺时，使用下述步骤：

A. 制备 N¹⁵-苄氧羰基 (CBZ) 替考拉宁 A₂ 复合物及其单一组分 1-5

将 4.5 ml 苄基氯甲酸酯的 10 ml 无水丙酮溶液在室温下滴加到 45 g (约 24 mmol) 替考拉宁 A₂ 复合物 (或其单一组分 1-5) 和 6 ml (约 44 mmol) 三乙胺 (TEA) 的 300 ml 二甲基甲酰胺 (DMF) 的搅拌溶液中。约 60 分钟后，加 600 ml 乙醚，过滤收集沉淀 (约 59 g) 再溶于 2.5 l 丙酮/水 (1:1, V/V) 的混合物中。所得溶液在 35℃ 减压浓缩至体积约 1.6 l，然后用 1.6 l 乙醚萃取，乙醚分离后弃掉。

用冰醋酸将水层调至 pH 4.8，用 1.5 l 正丁醇萃取。分离有机层，用 1.5 l 水 (2 × 750 ml) 洗涤，然后在 45℃ 减压浓缩至体积约 200 ml。加入乙酸乙酯 (约 800 ml)，过滤收集分离出的固体，用乙醚 (约 500 ml) 洗涤，并在室温下真空干燥过夜，得到 45.7 g (约 96%) 纯的标题化合物。

B. 制备 N¹⁵-CBZ-替考拉宁 A₂ 复合物及其单一组分 1-5，氰甲基酯

向 45 g (约 22 mmol) N¹⁵-CBZ-替考拉宁 A₂ 复合物 (或其单一组分 1-5) 的 450 ml DMF 搅拌溶液中，室温下加入 5.25 l (约 37 mmol) TEA 和 60 ml 氰乙腈。

20 小时后, 将反应混合物倾入 4.5 l 乙酸乙酯中, 过滤收集沉淀 (约 50 g), 再将其溶于 900 ml 甲醇/水 (1:1, V/V) 混合物中。用水醋酸将所得溶液调至 PH 5.5, 然后加入 1.1 l 正丁醇。在 35 °C 减压蒸除大部分甲醇, 得到正丁醇和水混合物 (约 1.5 l), 分离有机层, 用 500 ml 水洗涤, 在 40 °C 减压浓缩至体积约 200 ml。加入 800 ml 乙酸乙酯, 过滤收集分离出的固体, 用 500 ml 乙醚洗涤, 并在 35 °C 真空干燥过夜, 得到 44.2 g (约 98%) 纯的标题化合物。

C. 制备 N^{15} -CBZ-替考拉宁 A₂ 复合物及其单一组分 1-5 的 N^{63} 羧酰胺

16 g (约 8 mmol) N^{15} -CBZ-替考拉宁 A₂ 复合物 (或其单一组分 1-5), 氰甲基酯和大量过量 (50-100 mmol) 适当胺反应物的 160 ml DMF 或 DMSO 溶液在室温下搅拌 60-120 分钟, 然后加入 160 ml 无水乙醇, 继之 1.5 l 乙酸乙酯。过滤收集分出的固体, 用 500 ml 乙醚萃取, 然后于空气中室温下干燥, 得到纯度足以用于下步氢化步骤 (HPLC 滴定一般 > 90%) 的粉末 (产率一般为 > 85%)。

D. 制备替考拉宁 A₂ 复合物及其单一组分 1-5 的 N^{63} 羧酰胺

将上述所得产物 (5 mmol) 溶于 500 ml 甲醇/0.04 N 盐酸 (7/3, V/V) 混合物中, 所得溶液在室温和常压下在 5% Pd/C (5 g) 存在下氢化。反应一结束 (HPLC), 用硅藻土 (BDH 545) 板滤除催化剂。用 1 N NaOH 将透明的

滤液调至 pH 6.5，加入 500 ml 正丁醇。所得混合物在 40 °C 减压浓缩至体积约 150 ml，然后加入 350 ml 乙醚，过滤收集沉淀。当反应是用含有相当于替考拉宁 A₂ 复合物组分 1 的衍生物的基质进行时，相应的最终产物并不含有组分 1 的羧酰胺，这是因为它已经几乎完全转化成组分 3 的羧酰胺。

E. 用反相柱色谱纯化产物

将上面得到的粗产物 (10 g) 溶于乙腈/水 (1:1, V/V) 混合物 (300 ml) 中。加水至形成混浊溶液 (加水量不超过 700 ml)，将其加到硅烷化硅胶 (0.06–0.2 分; Merck Co.) 柱上端。该硅烷化硅胶是用相同的溶剂混合物 (即 CH₃CN 和水，其用量比基于为得到混浊溶液所需的加水量)，以沉淀开始出现时制备的。柱以乙腈在水中 10%–80% 的浓度线性梯度洗脱，(用冰醋酸将乙腈的水溶液事先调至 pH 3.2)，以 400 ml/小时的速率进行 15 小时，同时用 HPLC 监测以 25 ml 份收集。将含有所需纯产物的份合并，加入足量的正丁醇，于 45 °C 减压下燥后得到混浊的无水丁醇溶液。加入 3 倍体积的乙醚，收集分开的固体，用乙醚洗涤，室温下真空干燥过夜，得到纯的目的化合物。

当分子中仅有的碱官能团是替考拉宁 A₂ 复合物 15 位上的游离氨基，或当以酰胺取代基引入的附加氨基其碱性不足以用乙酸形成酸加成盐时，本发明的化合物 (表 I V) 以游离碱形式获得。不然则以乙酸盐形式回收。

当需要这种酸加成盐时，根据下述步骤制备相应的盐酸化物：

将 1 mmol 或是游离碱或是乙酸盐形式的替考拉宁 A₂ 复合物（或其单一组分）的酰胺溶于 10 ml DMF。将摩尔过量 10% 的 10 N HCl（一个氮官能团需 0.11 ml 盐酸，两个氨基需 0.22 ml，以此类推）在 5℃ 搅拌加入，然后加入 40 ml 乙醚。过滤收集形成的沉淀，用乙醚洗涤，室温下真空干燥过夜（产率 > 95%）。

当需要替考拉宁 A₂ 复合物（或混合物 TGAG 1-5）的成分 1（TGAC）的 N⁶³ 羧酰胺时，采用下述步骤：<A' 制备 N¹⁵ 叔丁氧羰基（t-BOC）替考拉宁 A₂ 复合物及其单一成分 1-5

10 g（约 5 mmol）替考拉宁 A₂ 复合物或其单一成分 1-5，1.2 ml（约 8.5 mmol）三乙胺（TEA）和 2.4 g（约 8 mmol）叔丁基-2,4,5-三氯苯基碳酸酯的 100 ml 三甲基甲酰胺（DMF）溶液在室温下搅拌 24 小时。然后将其倾入 200 ml 水中，用 1 N HCl 将所得混浊混合物调至 pH 3，然后用 600 ml 正丁醇/乙酸乙酯（35:65，V/V）混合物萃取。分离有机相，用水洗涤（2 × 100 ml），然后于 45℃ 减压浓缩至体积约 100 ml。加入乙酸乙酯（约 400 ml），过滤收集分开的沉淀，用乙醚（约 200 ml）提取，于室温下真空干燥过夜，得到 10.3 g（约 98%）纯的标题化合物。

B' . 制备 N¹⁵ t-BOC-替考拉宁 A₂ 复合物及其单一组分 1-5，氰甲基酯

基本上如前述步骤 B，由 t-BOC-替考拉宁 A₂ 复合物得

到标题化合物。

C' . 制备 N^{15} -t-BOC-替考拉宁A₂ 复合物及其单一组分1-5的 N^{63} 羧酰胺

基本上按前述步骤C, 但使用二甲亚砜(DMSO)取代DMF作为溶剂, 由 N^{15} -BOC-替考拉宁A₂ 复合物得到标题化合物, 氰甲基酯, 产率(一般>85%), 纯度(HPLC滴定>90%)。

D' . 制备替考拉宁A₂ 复合物或其单一组分的 N^{63} 羧酰胺

将产物(N^{15} -t-BOC-替考拉宁A₂ 复合物或其单一组分的 N^{63} 羧酰胺)(4 mmol)在10℃溶于40 ml无水三氟乙酸(TFA)。一旦形成透明溶液(约2分钟, 在任何情况下, 加入TFA后不超过5分钟), 便在10℃冷却下用40 ml甲醇稀释反应混合物。加入420 ml乙醚, 过滤收集分离的沉淀, 用乙醚洗涤(5×200 ml)

将粗产物(5 g)溶于乙腈/水(1:1, V/V)混合物(150 ml), 用1 N NaOH将溶液PH调至6并用水稀释后, 按照上面E.所述的色谱提纯步骤, 可便利地进行产物纯化。

当需要脱葡萄糖替考拉宁(DTG)的 N^{63} 羧酰胺时, 采用下述步骤

A'' . 制备 N^{15} 叔丁氧羰基(t-BOC)脱葡萄糖替考拉宁

向45 g(约37 mmol)抗生素L17392(脱葡萄糖替考拉宁)的600 ml DMF搅拌溶液中, 加入19.3 g(约65 mmol)叔丁基-2, 4, 5-三氯苯基碳酸酯和10.2

ml (约 7.4 mmol) TEA。反应混合物在室温下搅拌 24 小时，然后倾入 1.5 l 水中。用 1 N 盐酸将溶液的 PH 调至 3，然后用 3 l 乙酸乙酯/正丁醇 (2:1, V/V) 混合物提取。分出有机层，用 1 l 水提取，然后在 40 °C 减压浓缩至体积约为 300 ml。加入 700 ml 乙醚，过滤收集分离的沉淀，用 200 ml 乙醚提取，室温下真空干燥过夜，得到 4.4 g (92 %) 纯的标题化合物。

B^{''} . 制备 N¹⁵-t-Boc-脱葡萄糖替考拉宁氰甲基酯

4.4 g (约 3.3 mmol) N¹⁵-t-Boc-脱葡萄糖替考拉宁，4.7 ml (约 3.4 mmol) TEA 和 4.4 ml 氰乙腈的 440 ml DMF 溶液在室温下搅拌 20 小时，然后加入 1 l 乙酸乙酯，过滤收集沉淀。再将其 (约 4.6 g) 重新溶于 1.5 l 甲醇/水 (1:2, V/V) 混合物，用冰醋酸将溶液调至 PH 5.6。

加入 2 l 正丁醇后，在 30 °C 减压蒸除大部分甲醇，分出有机层，用 1 l 水洗涤，然后在 35 °C 减压浓缩至最终体积约 300 ml。加入 700 ml 乙醚，过滤收集分离的沉淀，用 500 ml 乙醚洗涤，然后在室温下真空干燥过夜，得到 42.5 g (96 %) 纯的标题化合物。

C^{''} . 制备 N¹⁵-t-Boc-脱葡萄糖替考拉宁的 N⁶³-羧酸胺

向 1.4 g (约 1.0 mmol) N¹⁵-t-Boc-脱葡萄糖替考拉宁和大量过量 (100-150 mmol) 适当的反应物胺的 200 ml DMF 搅拌溶液中，在室温下加入 8.9 ml (约 150 mmol) 冰醋酸。冰醋酸的摩尔量取决于反应物胺的结构。实

际上，当胺不含其他碱性官能团时，每毫摩尔胺需要 0.5 mmol 冰醋酸，当胺含有一个附加碱性官能团时，需要 1 mmol（冰醋酸，当胺含有两个附加碱性官能团时，需要 2 mmol 冰醋酸。尽管缩合反应并不需要有冰醋酸，但有时为防止在碱性条件下可能出现的 C₃ 位分子差向异构副反应，采用它是适宜的。

此外，酸的存在在绝大多数情况下不影响缩合反应速率。

3—6 小时后（除在少数情况下，反应一般在 3 小时内完成），加入 600 ml 乙酸乙酯，过滤收集沉淀，用 200 ml 乙醚洗涤，室温下真空干燥过夜，得到其纯度足以适于下面脱保护基步骤的产物（产率 > 75%）。

D'' . 制备脱葡萄糖替考拉宁的 N^{6,3} 羧酸胺

1 mmol 上述得到的产物（HPLC 滴定一般 > 85%，含有某些作为主要杂质的反应物胺的乙酸盐）的 25—30 ml 无水三氟乙酸溶液在室温下搅拌 20 分钟，然后在 25℃ 减压蒸除溶剂。油状残余物重新溶解于 50 ml 水/乙腈（6:4, V/V）混合物中，用水稀释所得溶液至沉淀开始出现。用 1 N 盐酸将悬浮液调至 pH 3.0（如有必要），所得溶液置于水中含有 100 g 硅烷化硅胶（0.06—0.2 分；Merck Co.）的柱的上端。

E'' . 用反相柱色谱纯化产物

装有上述产物的柱用 1 l 水洗脱，然后以线性梯度为 10% 乙腈水溶液至 50% 乙腈 0.01 N 盐酸溶液，用 15 小时，速率为 200 ml/小时洗脱，同时以 10 ml 份收集。将含有纯产物的

份极性化，加入足量的正丁醇，浓缩后得到混浊的无水丁醇溶液（30—100 ml）。加入三倍体积的乙醚，过滤收集分离的固体，用乙醚洗涤，室温下真空干燥2—3天得到纯的盐酸盐形式的脱葡萄糖替考拉宁的酰胺。

按照上面的色谱提纯步骤，但以线性梯度为10%—60%乙醇水溶液洗脱，用加入三氟乙酸来使洗脱剂PH保持在2.5，可得到相应的氟乙酸盐。

通过使用适当的试剂TGAC，其单一组分，DTG或DMTGAC和式为 $-NHR_1 - alk_1 - (X - alk_2)_p - (T - alk_3)_q - W(II)$ 的胺，在前述条件下，可得到表I V中所示的化合物。

表 V

TBA, CUBA, HBA 的羧酸衍生物

化合物号	试 剂		最终式二产物 (R=H)			
	替考拉宁 初始原料	成	A/AC	B	M	N
1	TGAC ₂₋₅	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_2-\text{NH}(\text{CH}_2)_2-\text{NH}_2$	AC ₂₋₅	AcGlu	Man	$-\text{NH}(\text{CH}_2)_2-\text{NH}(\text{CH}_2)_2-\text{NH}_2$
2	TGAC ₂	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_2-\text{NH}(\text{CH}_2)_2-\text{NH}_2$	AC ₂	AcGlu	Man	$-\text{NH}(\text{CH}_2)_2-\text{NH}(\text{CH}_2)_2-\text{NH}_2$
3	TGAC ₂₋₅	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3-\text{NH}(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2$	AC ₂₋₅	AcGlu	Man	$\text{NH}(\text{CH}_2)_3-\text{NH}(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2$
4	TGAC ₂	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3-\text{NH}(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2$	AC ₂	AcGlu	Man	$-\text{NH}(\text{CH}_2)_3-\text{NH}(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2$
5	TGAC ₂₋₅	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3-\text{NH}(\text{CH}_2)_4-\text{NH}_2$	AC ₂₋₅	AcGlu	Man	$-\text{NH}(\text{CH}_2)_3-\text{NH}(\text{CH}_2)_4-\text{NH}_2$ *
6	TGAC ₂	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3-\text{NH}(\text{CH}_2)_4-\text{NH}_2$	AC ₂	AcGlu	Man	$-\text{NH}(\text{CH}_2)_3-\text{NH}(\text{CH}_2)_4-\text{NH}_2$ *
7	TGAC ₂	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_2-\text{NH}(\text{CH}_2)_3-\text{NH}(\text{CH}_2)_2-\text{NH}_2$	AC ₂	AcGlu	Man	$-\text{NH}(\text{CH}_2)_2-\text{NH}(\text{CH}_2)_3-\text{NH}(\text{CH}_2)_2-\text{NH}_2$

* 与 $-\text{NH}(\text{CH}_2)_4-\text{NH}(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2$ 的混合物。

表 N (续)

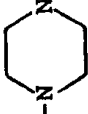
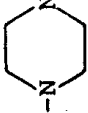
化合物号	试 剂		最终式 I 产物 (R=H)			
	替考拉宁 初始原料	胺	A/AC	B	M	Y
8	TGAC ₂	NH ₂ (CH ₂) ₃ -NH(CH ₂) ₂ -NH(CH ₂) ₃ NH ₂	AC ₂	AcGlu	Man	-NH(CH ₂) ₃ -NH(CH ₂) ₂ -NH(CH ₂) ₃ NH ₂
9	TGAC ₂	NH ₂ (CH ₂) ₃ -NH(CH ₂) ₃ NH(CH ₂) ₃ -NH ₂	AC ₂	AcGlu	Man	-NH(CH ₂) ₃ -NH(CH ₂) ₃ NH(CH ₂) ₃ -NH ₂
10	TGAC ₁₋₅	NH ₂ (CH ₂) ₃ -NH(CH ₂) ₄ NH(CH ₂) ₃ -NH ₂	AC ₂₋₅	AcGlu	Man	-NH(CH ₂) ₃ -NH(CH ₂) ₄ NH(CH ₂) ₃ -NH ₂
11	TGAC ₂	NH ₂ (CH ₂) ₃ -NH(CH ₂) ₄ NH(CH ₂) ₃ -NH ₂	AC ₂	AcGlu	Man	-NH(CH ₂) ₃ -NH(CH ₂) ₄ NH(CH ₂) ₃ -NH ₂
12	TGAC ₂₋₅	NH ₂ (CH ₂) ₂ -NH(CH ₂) ₂ NH(CH ₂) ₂ -NH ₂	AC ₂₋₅	AcGlu	Man	-NH(CH ₂) ₂ -NH(CH ₂) ₂ NH(CH ₂) ₂ -NH ₂
13	TGAC ₂	NH ₂ (CH ₂) ₂ -NH(CH ₂) ₂ NH(CH ₂) ₂ -NH ₂	AC ₂	AcGlu	Man	-NH(CH ₂) ₂ -NH(CH ₂) ₂ NH(CH ₂) ₂ -NH ₂
14	TGAC ₂	NH ₂ (CH ₂) ₂ -N/(CH ₂) ₂ NH ₂ -7 ₂	AC ₂	AcGlu	Man	-NH(CH ₂) ₂ -N/(CH ₂) ₂ NH ₂ -7 ₂
15	TGAC ₂	NH ₂ (CH ₂) ₃ -N  N-(CH ₂) ₃ -NH ₂	AC ₂	AcGlu	Man	-NH(CH ₂) ₃ -N  N-(CH ₂) ₃ -NH ₂

表 IV (续)

化合物号	试 剂		最终式 I 产物 (R=H)			
	替考拉宁 初始原料	胺	A/AO	B	J	Y
21	DTG	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_2\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{-NH}_2$	H	H	H	$-\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{-NH}_2$
22	DTG	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{-NH}_2$	H	H	H	$-\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{-NH}_2$
23	DTG	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$	H	H	H	$-\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{-NH}_2^*$
24	DTG	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_2\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$	H	H	H	$-\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$
25	DTG	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{-NH}_2$	H	H	H	$-\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{-NH}_2$
26	DTG	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{-NH}_2$	H	H	H	$-\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{-NH}_2$
27	DTG	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{-NH}_2$	H	H	H	$-\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{-NH}_2$

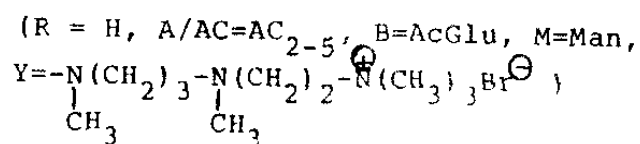
* 与 $-\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{-NH}_2$ 的混合物。

表 N (续)

化合物号	试 剂		最终式 I 产物 (R=H)			
	替考拉宁 初始原料	胺	A/C	B	M	Y
28	DTG	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_2\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{-NH}_2$	H	H	H	$\text{-NH}(\text{CH}_2)_2\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{-NH}_2$
29	DTG	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_2\text{N}[(\text{CH}_2)_2\text{NH}_2]_2$	H	H	H	$\text{-NH}(\text{CH}_2)_2\text{N}[(\text{CH}_2)_2\text{NH}_2]_2$
30	DTG	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{-N} \begin{array}{c} \diagup \quad \diagdown \\ \text{---} \quad \text{---} \end{array} \text{N-(CH}_2)_3\text{-NH}_2$	H	H	H	$\text{-NH}(\text{CH}_2)_3\text{-N} \begin{array}{c} \diagup \quad \diagdown \\ \text{---} \quad \text{---} \end{array} \text{N-(CH}_2)_3\text{-NH}_2$

实施例 3 1

制备式 I 化合物 3 1

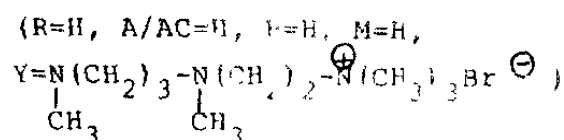


2 g (约 1 mmol) N^{15}CBZ -替考拉宁 A_2 复合物 (如上述制备的氰甲基酯) 和 2 ml 1, 3-二甲基 1, 3-丙二胺的 20 ml DMF 溶液在室温下搅拌 2 小时, 加入 20 ml 无水乙醇, 再加入 200 ml 乙酸乙酯。过滤收集分离的固体。用 50 ml 乙醚洗涤, 室温下真空干燥过夜, 得到 1.95 g 纯的 N^{15}CBZ -替考拉宁 A_2 复合物, 1-甲基-3-(甲氨基)丙基-酰胺。

向 1.37 g (0.65 mmol) 上述化合物的 100 ml 无水甲醇的搅拌溶液中。室温下加入 1 g (9.4 mmol) 无水碳酸氢钠和 2.5 g (10.1 mmol) 溴化 2-溴乙基三甲基铵。反应混合物在 45 °C 搅拌 3 天, 然后冷却至 10 °C, 倾入 100 ml 水中。减压下于 30 °C 蒸除甲醇, 水相用 BuOH/EtOAc (1/2, V/V) 混合物 (300 ml) 提取。分离有机相, 40 °C 减压浓缩至小体积 (约 20 ml)。加入 180 ml 乙醚, 收集沉淀的固体 (1.12 g 标题化合物的 N^{15}CBZ 前体), 在实施例 1 所述条件下氢化, 得到 0.45 g 的化合物 3 1。

实施例 3 2

制备式 I 化合物 3 2



按照实施例 3 1 所述步骤，使用 2 g N¹⁵-CBZ-脱葡萄糖替考拉宁（氰甲基酯），得到化合物 3 2。

实施例 3 3

制备式 I 化合物 3 3

(R=H, A/AC=AC₂₋₅, B=AcGlu, M=Man, Y=-NH(CH₂)₃NH(CH₂)₄NHCOOCH(CH₃)OCOCH₃ 与 Y=-NH(CH₂)₄NH(CH₂)₃NHCOOCH(CH₃)OCOCH₃ 的混合物)

室温下，向 2 g (0.9 mmol) 化合物 5 的 N-CBZ 衍生物（实施例 1 制备）的 50 ml 无水 DMF 溶液中，加入 1.2 g (11 mmol) 无水碳酸钠和 2.7 g (10 mmol) α-乙酰氧基-乙基对硝基苯基碳酸酯。3 小时后，将反应混合物倾入 500 ml 乙酸乙酯中，收集沉淀的固体，用 100 ml 乙酸乙酯洗涤，如实施例 1 所述进行氢化，得到 0.57 g 标题化合物 3 3。

实施例 3 4

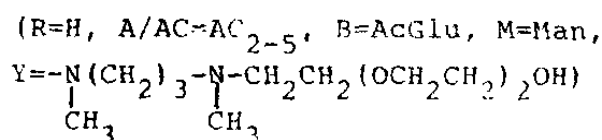
制备式 I 化合物 3 4

(R=H, A/AC=H, B=H, M=H,
Y=NH(CH₂)₃NH(CH₂)₄NHCOOCH(CH₃)
OCOCH₃ 与 Y=NH(CH₂)₄NH(CH₂)₃
NHCOOCH(CH₃)OCOCH₃ 的混合物)

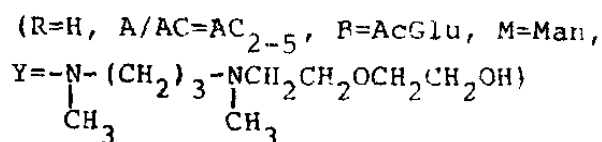
按照实施例 3 2 所述步骤, 使用 2 g 化合物 2 3 的 N—CBZ
衍生物, 得到 0.6 g 化合物 3 4

实施例 3 5—3 6

制备式 I 化合物 3 5



和式 I 化合物 3 6



向 5.3 g (约 2.5 mmol) N¹⁵—CBZ—替考拉宁 A₂
的 560 ml 甲醇的悬浮液中, 于室温下加入 1-甲基-3-(甲
氨基)丙基酰胺 (如实施例 3 1 制备), 17 ml 式分别为为
c1CH₂CH₂(OCH₂CH₂) OH 和 c1CH₂CH₂
OCH₂CH₂OH 的适当氯乙氧基-羟乙基试剂和 1.86 g (

13.5 mmol) 碳酸钾。45℃搅拌3小时后，将反应混合物冷却至15℃，用1N HCl将PH调至6。30℃减压蒸除甲醇，固体残余物如实施例1所述进行氢化，得到1.9 g 化合物35或0.97 g 化合物36。

实施例37-41

制备TGA3-1酰胺衍生物

4 g (约2 mmol) 替考拉宁A₂ 复合物或其单一组分的适当酰胺衍生物(如上所制备并示于下面表V)的100 ml 90%三氟乙酸水溶液在室温下搅拌2小时，然后蒸除溶剂，油状残余物重新溶于200 ml H₂O。将PH调到8后，所得溶液置于于水中含有400 g 硅烷化硅胶的柱上。如实施例1所述进行色谱提纯，得到标题化合物。

表 7

TGA 3-1 聚酰胺衍生物

化合物号	试 剂	最终式 I 产物			
		A/AC	B	M	Y
37	1	H	AcGlu	Man	$-\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{NH}_2$
38	5	H	AcGlu	Man	$-\text{NH}(\text{CH}_2)_3-\text{NH}(\text{CH}_2)_4-\text{NH}_2^*$
39	10	H	AcGlu	Man	$-\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2$
40	12	H	AcGlu	Man	$-\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{NH}(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2$
41	14	H	AcGlu	Man	$-\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{N}[(\text{CH}_2)_2\text{NH}_2]_2$

* 与 $-\text{NH}(\text{CH}_2)_4-\text{NH}(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2$ 的混合物。

实施例 4 2 - 4 5 制备 TAG 3 - 2 酰胺衍生物

4 g. (约 2 mmol) 替考拉宁化合物的适当酰胺衍生物 (如上所制备并示于下面表 V) 溶于 80 ml 1, 2 - 二甲氧乙烷 (DMF) 悬浮液在室温下搅拌 2 天, 同时鼓入 HCl。然后过滤收集不溶物。如实施例 1 进行柱色谱提纯, 得到标题化合物。

表 VI

TGA 3-2 蒽醌衍生物

化合物号	试 剂	最终式 I 产物			
		A/AC	B	M	Y
42	1	H	AcGlu	H	$-\text{NH}(\text{CH}_2)_2-\text{NH}(\text{CH}_2)_2-\text{NH}_2$
43	5	H	AcGlu	H	$-\text{NH}(\text{CH}_2)_3-\text{NH}(\text{CH}_2)_4-\text{NH}_2^*$
44	10	H	AcGlu	H	$-\text{NH}(\text{CH}_2)_3-\text{NH}(\text{CH}_2)_4-\text{NH}(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2$
45	12	H	AcGlu	H	$-\text{NH}(\text{CH}_2)_2-\text{NH}(\text{CH}_2)_2-\text{NH}(\text{CH}_2)_2-\text{NH}_2$

* 与 $-\text{NH}(\text{CH}_2)_4-\text{NH}(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2$ 的混合物。

实施例 46-55A'' 一般步骤 (采用叠氮磷酸二苯基酯基)

向 6 mmol 替考拉宁 A₂ 或其单一组分 (或其组分间任何比例的混合物) 或 N¹⁵ 叔丁氧羰基 (t-BOC) 脱葡萄糖替考拉宁的 60 ml 二甲亚砜 (DMSO) 的搅拌溶液中, 于 0 °C 加入 30 mmol 适当的中间体胺 (制备方法如下) 和 10 mmol 叠氮磷酸二苯基酯 (DPPA)。室温下搅拌过夜, 然后加入 240 ml 乙酸乙酯, 收集沉淀的固体, 如前述方法 E 用反相色谱提纯, 得到纯的 TGAC 酰胺或 N¹⁵ t-BOC-脱葡萄糖替考拉宁酰胺 (BOC-DTG 酰胺)。

在 BOC-DTG 酰胺或在酰胺部分含有 BOC 保护基的酰胺情况下, 通过在室温下将 1 mmol 这类化合物溶于 30 ml 无水三氟乙酸, 并以前述相同的步骤 (例如制备 DTG 的 N⁶³ 羧酰胺的方法 D''), 可以脱除 BOC 保护基。

B'' 制备化合物 46-55 的中间体胺

1. 二胺 0.0'-双(2-氨基丙基)聚乙二醇 1900 (Jeffamine™ ED2001) 是从 Fluka Chemie AG 购买的 (化合物 46 的中间体胺)。

2. 对于化合物 47-52 的中间反应物胺, 先按如下方法制备共同中间体二-(3-BOC-氨基丙基)胺

BOC-NH-(CH₂)₃-NH-(CH₂)₃-NH-BOC

将 142 g 2-(叔丁氧基羰基氧亚氨基-2-苯乙腈 (BOC-ON, Aldrich-Chemie) 的 300 ml 四氢呋喃 (THF) 溶液在 10 °C 滴加到 42 ml 双(3-氨基丙

基)胺(Fluka Chemie AG)的400 ml THF 搅拌溶液中。室温下保持16小时后,蒸除溶剂,将油状残余物溶于1 l 乙酸乙酯,得到的溶液用1 N NaOH(200 ml)洗涤,然后用水(2×300 ml)洗涤,接着用0.01 N HCl(2×500 ml)提取。将水相用1 N NaOH调至PH8,用500 ml 正丁醇提取。分离有机层,用250 ml 水洗涤,然后浓缩至最终体积约70 ml。于6℃静置过夜,形成结晶,过滤收集,得到纯的标题化合物,为游离碱形式。

^1H -NMR: 2.93, 2.44, 1.47(CH_2); 1.38(N-BOC) 6.68(NH)

3. N', N''-二-叔-BOC-三-(3-氨基丙基)胺(用于衍生物47-50)

室温下,向45 g 上述二-叔-BOC中间体三胺的500 ml 无水乙醇搅拌溶液中,加入21 ml 3-溴-1-丙腈和25 g 碳酸钾。反应混合物搅拌过夜,然后过滤并浓缩至最终体积约100 ml,此后用800 ml 水稀释。用乙酸乙酯(2×800 ml)提取所得溶液(PH8)。分离有机相,用水(2×200 ml)洗涤,然后浓缩至最终体积约100 ml。6℃静置过夜,过滤收集分离出的结晶固体,得到34 g 二-(3-叔-BOC-氨基丙基)氨基-1-丙腈。

^1H -NMR: 2.94, 2.63, 2.54, 2.37, 1.47(CH_2); 1.36(N-BOC); 6.73(NH)

将上述产物溶于200 ml 含有8.5 g NaOH的乙醇溶

液。向溶液中加入 4 g 阮内镍（活性催化剂，Aldrich-chemie），悬浮液在 2.5 大气压下氢化 10 小时。滤除催化剂并蒸除溶剂，将油状残余物溶于 500 ml 乙酸乙酯，所得溶液用水洗涤（2 × 100 ml），然后蒸除溶剂，得到约 3.4 g 标题化合物。

$^1\text{H-NMR}$: 2.93, 2.54, 2.32, 1.49 (CH₂), 1.41 (N-BOC); 6.77 (NH)

4.3-(3-氨基丙基)-3-(3,3-二甲基氨基丙基)-1-氨基-1-丙胺（用于衍生物 5.1）

室温下，向 19 g 3,3-二甲基氨基-1-丙基氯盐酸盐的 400 ml 无水乙醇搅拌溶液中，加入 20 g 二叔-BOC 中间体三胺和 28 g 碳酸钾，接着加入 3 g 碘化钾。反应混合物回流 6 小时，然后过滤，蒸除溶剂。残余物再溶于 400 ml 水，用 600 ml 乙酸乙酯提取。分离有机层，用水洗涤（2 × 200 ml），然后蒸除溶剂，得到油状残余物（8.7 g），即标题化合物的二叔-BOC 衍生物，其纯度足以用于下面步骤。

$^1\text{H-NMR}$: 2.91, 2.42, 2.31, 2.16, 1.47 (CH₂), 1.36 (N-BOC), 2.09 (NCH)

室温下用 30 ml 无水三氟乙酸处理含上述产物的 30 ml 二氯甲烷溶液，然后蒸除溶剂。将油状残余物溶于 40 ml 无水乙醇，室温下鼓入无水 HCl 至观察到产物完全沉淀。过滤收集，得到 3.8 g 标题化合物，为四盐酸化物。

$^1\text{H-NMR}$: 3.2-2.91 (6-CH₂); 2.13

—1.90 (3-CH₂) ; 2.73 (NCH₃)

对于与BOC-DTG缩合,使用下述制备的游离碱,即将该四盐酸化物(10 mmol)溶于1N NaOH(40 ml),然后蒸发该溶液至干。将残余物悬浮于二氯甲烷(100 ml),滤除不溶物。蒸除溶剂后,油状残余物不需进一步纯化便可直接使用。

5.3-(3-氨基丙基-3-(2,2-二乙基氨基乙基)-氨基-1-丙胺(用于衍生物52)

采用与上述完全相同的步骤,使用2,2-二乙基氨基-1-乙基氯盐酸盐(21 g)与二叔-BOC中间体三胺(20 g)反应,首先得到11 g标题化合物的二叔-BOC衍生物。以相似的方式用三氟乙酸的二氯甲烷溶液处理,脱除保护基。如上述得到游离碱(油),最后得到标题化合物(8.2 g)。

¹H-NMR: 2.6-2.3 (8-CH₂) ; 1.42 (2-CH₂) ; 0.92 (2-CH₃)

这些反应过程和最终多胺的均一性在硅胶60 F₂₅₄预涂覆板(Merck Co.)上,用含有1%氢氧化铵的二氯甲烷/甲醇(9:1, V/V)混合物作为流动相,进行TLC检查。斑点用碘展开。

6.4-(3,3'-二甲基氨基丙基)哌嗪(用于衍生物53)

向15.8 g 3,3'-二甲基氨基-1-丙基氯的300 ml无水乙醇的搅拌溶液中,加入9 ml 1-苄基哌嗪和14 g 碳酸

钾。反应混合物回流搅拌6小时，然后冷却至室温过滤。蒸除溶剂，油状残余物溶于300 ml 水。用二氯甲烷（2×200 ml）提取所得溶液。分离有机相，用200 ml 水洗涤，然后蒸除溶剂。将油状残余物（9 g）溶于300 ml 95%乙醇，加3 g 10% Pd/C 氢化（25℃，1大气压）。6小时内约吸收1 l H₂。滤除催化剂，将无水HCl 鼓入透明的滤液。收集分出的固体，用无水乙醇洗涤，室温下真空干燥过夜，得到7 g 纯的标题化合物，为三盐酸化物。

¹H-NMR: 2.79, 2.53, 2.30 (CH₂-哌嗪) 2.79, 2.23, 2.15 (CH₂-二甲基氨基丙基); 2.10 (NCH₃)

将上述三盐酸化物（6 g）溶于2 N NaOH（30 ml），接着用二氯甲烷（170 ml）提取并蒸除有机溶剂，得到游离碱。生成的油状残余物不用进一步提纯便可用于制备化合物53。

7. N, N'-双(3-氨基丙基)壬烷-1, 5-二胺和
N, N'-双(3-氨基丙基)癸烷-1, 5-二胺

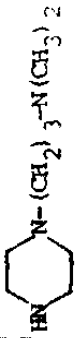
这些衍生物是已知化合物，其制备可按 Israel, M. J., Rosenfield S. S., Mdest, E. J., J. Med. Chem. 1964, 7, 710 的方法，对适当的α-, ω-亚烷基二胺进行一和二氟乙基化，然后通常在温和条件下催化还原腈类。

下面表V II 示出了根据A'' 步骤制备的化合物（46-55）。

表 VII
TGA 和 DTG 羧酸衍生物

化合物号	试 剂		羧酸 I 产物 (R = H)			
	参考拉宁 初始原料	胺	A/AC	B	M	Y
46	TGAC ₂	$\text{NH}_2^-(\text{CH}) (\text{CH}_3) \text{CH}_2-\text{OCH}_2\text{CH}_2-\text{OCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3) \text{NH}_2$	AC ₂	AcGlu	Man	$-\text{NH}-\text{CH}(\text{CH}_3) \text{CH}_2-\text{OCH}_2\text{CH}_2-\text{OCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3) \text{NH}_2$
47	TGAC ₁₋₅	$\text{NH}_2 (\text{CH}_2)_3 -\text{N}^-(\text{CH}_2)_3 \text{NH}-\text{BOC}^-_2$	AC ₁₋₅	AcGlu	Man	$-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3 -\text{N}^-(\text{CH}_2)_3 \text{NH}_2^-_2$
48	TGAC ₂₋₅	$\text{NH}_2 (\text{CH}_2)_3 -\text{N}^-(\text{CH}_2)_3 \text{NH}-\text{BOC}^-_2$	AC ₂₋₅	AcGlu	Man	$-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3 -\text{N}^-(\text{CH}_2)_3 \text{NH}_2^-_2$
49	TGAC ₂	$\text{NH}_2 (\text{CH}_2)_3 -\text{N}^-(\text{CH}_2)_3 \text{NH}-\text{BOC}^-_2$	AC ₂	AcGlu	Man	$-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3 -\text{N}^-(\text{CH}_2)_3 \text{NH}_2^-_2$
50	DTG	$\text{NH}_2 (\text{CH}_2)_3 -\text{N}^-(\text{CH}_2)_3 \text{NH}-\text{BOC}^-_2$	H	H	H	$-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3 -\text{N}^-(\text{CH}_2)_3 \text{NH}_2^-_2$
51	DTG	$\text{NH}_2 (\text{CH}_2)_3 -\text{N}^-(\text{CH}_2)_3 \text{NH}_2^-_7-(\text{CH}_2)_3 \text{N}(\text{CH}_3)_2$	H	H	H	$-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3 -\text{N}^-(\text{CH}_2)_3 \text{NH}_2^-_7-(\text{CH}_2)_3 \text{N}(\text{CH}_3)_2$

表 VII (续)

化合物号	试 剂		最 终 式 二 产 物 (R = 三)			
	参考拉宁 初始原料	胺	A/AC	B	M	Y
52	DTG	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{-N}[(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2]_2\text{-}[(\text{CH}_2)_2\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2]$	H	H	H	$\text{-NH-}(\text{CH}_2)_3\text{-N}[(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2]_2\text{-}[(\text{CH}_2)_2\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2]$
53	DTG		H	H	H	$\text{-N}[(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2]$
54	DTG	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{-NH}(\text{CH}_2)_9\text{-NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$	H	H	H	$\text{-NH-}(\text{CH}_2)_3\text{-NH}(\text{CH}_2)_9\text{-NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$
55	DTG	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{-NH}(\text{CH}_2)_{10}\text{-NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$	H	H	H	$\text{-NH-}(\text{CH}_2)_3\text{-NH}(\text{CH}_2)_{10}\text{-NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$

HPLC分析：用V a r i a n型仪器进行分析，5 0 0 0 LC泵配有2 0微升环管注射器（Rheodyne 型）在2 5 4 nm UV监测。

柱：预装填Lichrosorb RP-8（2 0-3 0微米）的前置柱Hibar Lichro Cart 2 5-4（Merck）（1.9 cm）；然后是预装填Lichrosorb RP-8（1 0微米）的Hibar RT-2 5 0-4（Merck）柱。

洗脱剂：A，0.2% HCOONH_4 水溶液；

B， CH_3CN

流速：2 ml / 分

注射：2 0微升

洗脱：3 0分钟内B在A中的线性梯度为2 0-6 0%。一些代表性化合物的保留时间示于表V III。

酸碱滴定：产物溶于MCS（甲基溶纤剂）： $\text{H}_2\text{O}=4:1$ （V/V），然后将过量0.01M HCl 加入相同溶剂混合物溶液，所得溶液用0.01N NaOH 滴定。一些代表性化合物的当量示于表I X。

用四甲基硅烷（TMS）作为内标（ $\delta=0.00\text{ ppm}$ ）在 $\text{DMSO}-\text{D}_6$ 中在温度2 0-3 0℃记录5 0 0 MHz ^1H -NMR谱（使用B r u k e r AM5 0 0光谱仪）。表X示出了一些代表性化合物最明显的化学位移（ ppm ）。

表 VIII

本发明一些代表性化合物的保留时间 (t_R)

化合物号	t_R (分)
2	15.6
3	16.1
4	16.1
6	15.7
7	16.9
8	16.8
9	16.9
10	17.1
11	17.1
14	15.7
15	17.0
21	12.4
22	12.7
23	12.8

表 VIII (续)

化合物号	t_R (分)
24	15.8
25	15.7
26	15.7
27	15.9
29	12.5
30	15.9
31	13.6
33	15.4
34	14.4
35	13.8
36	13.4
39	13.1
41	11.0
44	14.2
46	6.7
47	14.4
50	13.6
51	13.9
52	14.2
	13.1
	19.5
55	21.0

表 IX

式 I 一些代表性化合物的产率和当量 (E W)。

括号内数值是滴定每分子当量的次数

化合物号	产率 (%)	E W
2	72	675 (x3)
3	61	690 (x3)
4	59	681 (x3)
6	67	681 (x3)
7	81	506 (x4)
8	78	511 (x4)
9	81	512 (x4)
10	75	510 (x4)
11	70	504 (x4)
14	86	492 (x4)
15	81	496 (x4)
21	81	441 (x3)
22	63	442 (x3)

表 IX(续)

化合物号	产率 (%)	E W
23	86	456 (x3)
24	84	348 (x4)
25	83	349 (x4)
26	86	361 (x4)
27	81	351 (x4)
29	88	369 (x4)
30	83	349 (x4)
39	96	421 (x4)
41	91	408 (x4)
44	83	386 (x4)
46	28	1910 (x2)
47	61	499 (x4)
48	60	486 (x4)
49	66	487 (x4)
50	46	356 (x4)
51	34	363 (x4)
52	39	350 (x4)
53	56	475 (x3)
54	55	360 (x4)
55	51	355 (x4)

表 X

用四甲基硅烷作内标, 在 $\text{DMSO}-d_6$ 中记录的一些代表性化合物的 ^1H -NMR 分布 ($\delta=0.00\text{ppm}$)

化合物 2	3.61, 2.95 (CH_2 -侧链); 0.83, 1.18, 1.46, 2.02 (酰基链); 4.18-5.62 (肽CH); 1.89 (乙酰氨基葡萄糖); 6.18-8.45 (芳族质子和肽NH)
化合物 4	3.45, 2.32, 2.13, 2.08, 1.66 (CH_2 -侧链); 0.87, 1.23, 1.45, 2.01 (酰基链); 1.88 (乙酰氨基葡萄糖); 4.15-5.71 (肽CH); 6.26-8.56 (芳族质子和肽NH)
化合物 6	3.52, 2.73, 2.58, 1.91, 1.56 (CH_2 -侧链); 0.84, 1.15, 1.46, 2.02 (酰基链); 1.82 (乙酰葡萄糖胺); 3.42 (甘露糖); 4.15-5.69 (肽CH); 6.29-8.53 (芳族质子和肽NH)
化合物 7	3.68, 3.12, 2.98, 2.05 (CH_2 -侧链); 0.84, 1.16, 1.44, 2.01 (酰基链); 1.89 (乙酰氨基葡萄糖); 3.42 (甘露糖); 4.13-5.58 (肽CH); 6.21-8.53 (芳族质子和肽NH)

表 X (续)

8	3.68, 2.92, 1.98 (CH_2 - 侧链); 0.82, 1.25, 1.43, 2.01 (酰基链); 1.87 (乙酰氨基葡萄糖); 4.17-5.65 (肽 CH); 6.26-8.57 (芳族质子和肽 NH)
9	3.48, 2.98, 1.98 (CH_2 - 侧链); 0.82, 1.12, 1.43, 2.01 (酰基链); 1.86 (乙酰氨基葡萄糖); 4.16-5.62 (肽 CH); 6.18-8.58 (芳族质子和肽 NH)
11	3.71, 2.93, 1.98, 1.73, (CH_2 - 侧链); 0.83, 1.23, 1.47, 2.02 (酰基链); 1.89 (乙酰氨基葡萄糖); 4.13-5.58 (肽 CH); 6.21-8.62 (芳族质子和肽 NH)
15	3.52, 3.13 (CH_2 吡啶); 3.42-2.07 (CH_2 - 侧链); 0.83, 1.16, 1.45, 2.02 (酰基链); 1.88 (乙酰氨基葡萄糖); 4.16-5.32 (肽 CH); 6.18-8.53 (芳族质子和肽 NH)
21	3.52, 3.04, 2.81, (CH_2 -N); 4.15-5.62 (肽 CH); 6.18-8.62 (芳族质子和肽 NH)

表 X (续)

化合物 22	3.17, 2.93, 2.82, 1.87, 1.80 (CH_2 - 侧链) ; 4.15-5.61 (肽 NH); 6.18-8.53 (芳族质子和肽 NH)
" 23	3.42, 2.98, 2.81, 1.72, 1.61 (CH_2 亚精胺) ; 4.15-5.63 (肽 CH); 6.19-8.43 (芳族质子和肽 NH)
" 24	3.38, 3.12, 2.93 (CH_2 -N), 1.89 (CH_2); 4.17-5.58 (肽 CH); 6.18-8.48 (芳族质子和 NH)
" 25	3.34, 3.08, 2.84, 1.78 (CH_2 - 侧链); 4.16-5.58 (肽 CH); 8.31-8.48 (芳族质子和肽 NH)
" 26	3.36, 2.98, 2.87 (CH_2 -N); 1.89, 1.77 (CH_2); 4.15-5.62 (肽 CH); 6.18-8.42 (芳族质子和肽 NH)

表 X (续)

化合物 27	3.12, 3.03-2.82, 1.88, 1.81, 1.65 (CH_2 - 侧链); 4.15-5.62 (肽 CH); 6.19-8.41 (芳族质子和肽 NH)
" 29	3.48, 3.12, 2.83, 2.64 (CH_2 -N); 4.18-5.61 (肽 CH); 6.21-8.70 (芳族质子和肽 NH)
" 30	3.49, 3.11, 2.95, 2.85, 1.85 (CH_2 侧 链); 4.18-5.81 (肽 CH); 6.21-8.56 (芳族质子和肽 NH)
" 31	3.01 $\text{N}(\text{CH}_3)_3$; 2.95, 2.21, 1.68 (CH_2 - 侧链); 2.28, 2.06, (NCH_3); 0.83, 1.21, 1.46 (酰基链); 1.86 (乙酰氨基葡萄糖); 3.48 (甘露糖); 4.17-5.82 (肽 CH); 6.14-8.62 (芳族质子和肽 NH)
" 34	3.03-2.81; 1.82, 1.62, 1.43 (CH_2 - 侧链); 2.01 (CH_3 -CH), 1.23 (CH_3); 4.13-5.62 (肽 CH); 6.19-8.47 (芳族质子和肽 NH)

表 X (续)

化合物35	5.25 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 4.51 (CH_2OH); 2.06 (NCH_3); 0.81, 1.23, 1.45; 2.02 (酰基链); 1.87 (乙酰氨基葡萄糖); 4.12-5.69 (肽 CH); 6.14-8.48 (芳族质子和肽 NH)
" 36	5.22 ($\text{CH}_2\text{-O}$); 3.72, 2.82 (CH_2 - 侧链); 1.93 (NCH_3); 0.83, 1.14, 1.43, 2.01 (酰基链); 1.87 (乙酰氨基葡萄糖); 4.18-5.72 (肽 CH); 6.31-8.45 (芳族质子和肽 NH)
" 44	3.68, 3.34, 2.95, 1.99, 1.84 (亚精胺); 1.87 (乙酰氨基葡萄糖); 4.18-5.61 (肽 CH); 6.19-8.56 (芳族质子和肽 NH)
" 39	3.71, 3.37, 2.98, 1.98, 1.82 (亚精胺); 1.86 (乙酰葡萄糖胺); 3.44 (甘露糖); 4.16-5.58 (肽 CH); 6.29-8.54 (芳族质子和肽 NH)

表 X (续)

化合物 46	3.41, 3.23, 3.16, 2.94 (CH_2 -侧链); 1.12, 1.23 (CH_3 -侧链); 0.81, 1.15, 1.46, 2.00 (酰基链), 1.86 (乙酰葡萄糖胺); 4.16-5.59 (肽 CH); 6.23-8.01 (芳族质子和肽 NH)
" 47	3.45, 3.09, 2.35, 1.84 (CH_2 -侧链); 0.82, 1.14, 1.46, 2.03 (酰基链); 1.86 (乙酰葡萄糖胺); 4.12-5.62 (肽 CH); 6.23-8.43 (芳族质子和肽 NH)
" 50	3.43, 3.24, 2.85, 1.84 (CH_2 -侧链); 4.12-5.62 (肽 CH); 6.21-8.51 (芳族质子和肽 NH)
" 51	3.45, 3.39, 3.05, 2.91, 2.12, 1.98 (CH_2 -侧链); 2.74 (NCH_3); 4.13-5.59 (肽 CH); 6.18-8.61 (芳族质子和肽 NH).
" 52	3.48, 3.12, 1.89 (CH_2 -侧链); 1.18 (2CH_3 -乙基); 4.12-5.61 (肽 CH); 6.20-8.50 (芳族质子和肽 NH)

表 X (续)

化合物 53	3.42, 3.39, 3.30, 1.98 (CH_2-哌嗪, CH_2-丙基); 2.75 (NCH_3); 4.05-5.63 (肽 CH); 6.32-8.52 (芳族质子和肽 N H)
" 55	3.32, 2.98, 2.76, 1.86, 1.52, 1.24 (CH_2 - 侧链); 4.13-5.62 (肽 CH); 6.31-8.42 (芳族质子和肽 N H).
" 54	3.37, 3.34, 3.07, 2.86, 1.75, 1.59, 1.26 (CH_2- 侧链); 4.14-5.61 (肽 CH); 6.21-8.34 (芳族质子和肽 N H)