

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2020 年 5 月 7 日 (07.05.2020)



(10) 国际公布号
WO 2020/088053 A1

(51) 国际专利分类号:
C07K 1/04 (2006.01) *C07D 233/46* (2006.01)
C07K 1/06 (2006.01) *C07D 233/48* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2019/101927

(22) 国际申请日: 2019 年 8 月 22 日 (22.08.2019)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201811290315.9 2018年10月31日 (31.10.2018) CN

(71) 申请人: 清华大学 (TSINGHUA UNIVERSITY)
[CN/CN]; 中国北京市海淀区清华园,
Beijing 100084 (CN)。

(72) 发明人: 饶燊(RAO, Yu); 中国北京市海淀区清华园, Beijing 100084 (CN)。 宗昱(ZONG, Yu); 中国北京市海淀区清华园, Beijing 100084 (CN)。

(74) 代理人: 北京清亦华知识产权代理事务所 (普通合伙) (TSINGYIHUA INTELLECTUAL PROPERTY LLC); 中国北京市海淀区清华园清华大学照澜院商业楼301室, Beijing 100084 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL,

SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

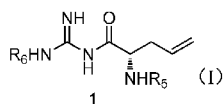
(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

(54) Title: SYNTHETIC ROUTE TOWARDS TEIXOBACTIN AND ANALOGUE THEREOF

(54) 发明名称: 抗生素teixobactin及其类似物的合成路线



(57) Abstract: Disclosed are a synthetic route towards teixobactin and an analogue thereof, and method for preparing unnatural amino acid. The method comprises: oxidative ring closure processing of a compound of formula (I), wherein R₅ is independently Fmoc, Boc, Phth and Cbz, and R₆ is independently H, Fmoc, Boc, Phth and Cbz. The initially provided method implements oxidative ring closure reaction for obtaining a high yield of L-allo-Enduracidine (End), an unnatural amino acid, low byproducts and facilitates separation and purification.

(57) 摘要: 公开了抗生素teixobactin及其类似物的合成路线以及一种制备非天然氨基酸的方法。该方法包括: 将式(I)所示化合物进行氧化关环处理, (I) 其中, R₅独立地为Fmoc、Boc、Phth、Cbz, R₆独立地为H、Fmoc、Boc、Phth、Cbz。该方法是首次提出的, 利用氧化关环反应, 一步就能得到L-allo-Enduracidine(End)非天然氨基酸, 该方法收率高、副产物少, 分离纯化简单。

WO 2020/088053 A1

抗生素 teixobactin 及其类似物的合成路线

优先权信息

本申请请求 2018 年 10 月 31 日向中国国家知识产权局提交的、专利申请号为 201811290315.9 的专利申请的优先权和权益，并且通过参照将其全文并入此处。

技术领域

本发明涉及药物化学领域，具体地，本发明涉及用于耐药革兰氏阳性菌及结核治疗的新型抗生素的制备方法，更具体地，本发明涉及抗生素 teixobactin 及其类似物的合成路线。

背景技术

革兰氏阳性细菌感染为常见病与多发病，危害人类健康。近年来，革兰氏阳性球菌感染日见增多，耐甲氧西林金黄色葡萄球菌（MRSA）检出率上升，耐青霉素肺炎链球菌（PRSP）在许多国家与地区传播，耐糖肽和其他多种抗生素的耐万古霉素肠球菌（VRE）出现，多重药性结核杆菌有增无减。为了有效地控制此等现有抗生素与抗菌药的耐药菌感染，研究开发治疗革兰氏阳性耐药菌感染的药物已成为举世关注的点。

目前细菌接触抗菌药物可发生变异而获得耐药性，其机制主要有 4 种：①产生抗生素酶，灭活抗生素；②作用靶位变异，不应答药物；③外膜通透性改变，阻断药物进入；④增强外排，加速泵出进入菌体内的药物。在与抗菌药物一次次的“遭遇战”中，存活下来的细菌都积累了丰富的“战斗经验”，成为耐药品种，尔后又演进出交叉耐药、多重耐药、泛耐药、全耐药等“超级细菌”。不久前，一项由中外研究者联合进行的、成果发表在新一期《柳叶刀·传染病》杂志上的研究引发关注。该研究显示：存在一种特殊基因 MCR-1，携带该基因的细菌对多粘菌素表现出强耐药性，且这种耐药性还能快速转移至其他菌株，这意味着一种新的“超级细菌”被发现。

2015 年，我国大肠埃希菌对第三代头孢菌素的耐药菌检出率为 59%，对喹诺酮类的耐药菌检出率为 53.5%。肺炎克雷伯菌对第三代头孢菌素的耐药菌检出率是 36.5%，甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌检出率为 35.8%，这些具有代表性的耐药菌检出率都处于较高水平。需要指出的是，万古霉素耐药屎肠球菌已成为发达国家的一大挑战，美国 ICU 患者的血流感染屎肠球菌万古霉素耐药率高达 80.7%。全球来看，北美洲屎肠球菌万古霉素耐药平均检出率高达 66.8%，拉丁美洲为 39.4%。一些多重耐药、泛耐药的细菌已将临床逼到了绝境，加速研发新型抗菌药物迫在眉睫。

目前，碳青霉烯类抗生素是公认的细菌“终极防线”，常用于治疗由多重耐药菌引

起严重感染。近几年，碳青霉烯类耐药菌通过质粒间传播造成了严重的细菌耐药问题，包括近期发现的粘菌素耐药。这些救命药因其毒性较大，往往临床使用受限。因此，需要提供一种结构新颖的抗菌化合物。2015 年，发表在 Nature 上的一项抗生素研究工作吸引了世界范围内的积极反响。美国 Northeastern University 的 Kim Lewis 教授通过 iChip 的技术发现了近 30 年来第一种新型抗生素—teixobactin，其可以杀死 MRSA、结核分枝杆菌等多种致命病原体。这份研究不仅呈现了一种新颖的抗生素结构，而且也给未来新型无耐药性抗生素的出现带来了希望，甚至将 teixobactin 称为超级抗生素。Teixobactin 是结构具有一定复杂性的十一肽，结构中含有一个通过 C 端 8 位苏氨酸与 11 位异亮氨酸的内酯键形成的环状四肽。分子中除了含有四个 D 型氨基酸和一个 N-甲基苯丙氨酸外，还含有一个 L-allo-Enduracidine (End) 非天然氨基酸。体外活性实验表明 teixobactin 针对不同结核分枝杆菌的 MIC 在 0.31~0.125 ug/mL，而且可有效抑制耐药结核杆菌；并且 teixobactin 不会引起细胞毒、溶血、hERG 抑制、遗传毒性等；初期的体外药动学研究表明其半衰期较合适。

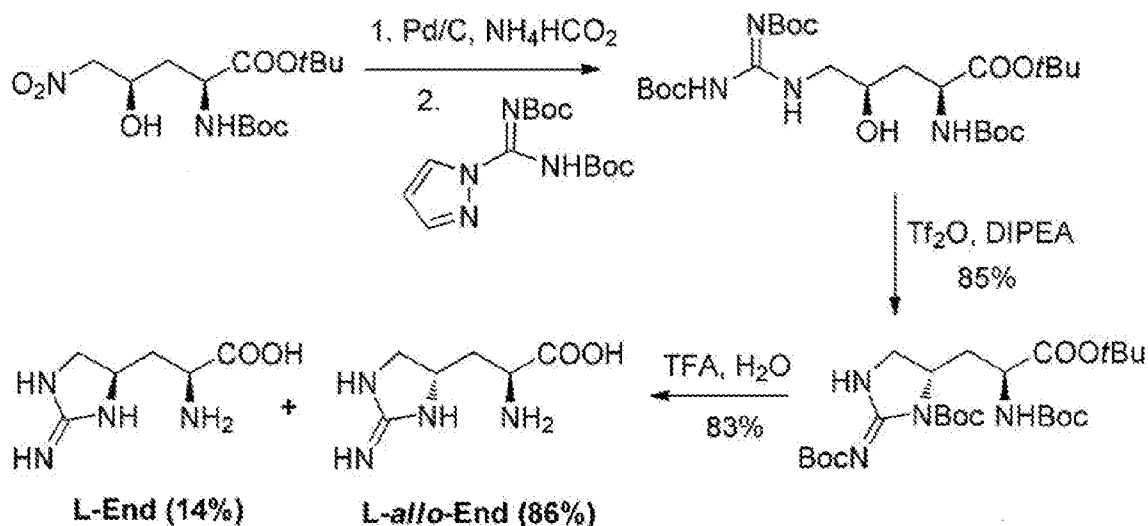
因而，构建高效的汇聚式合成路线是研究 teixobactin 构效关系的重要手段。其中 L-allo-Enduracidine (End) 非天然氨基酸对于抗菌活性起到重要的作用，但是其结构复杂，目前还没有较为简单的合成策略，进而，teixobactin 的全合成更为困难。

因而，teixobactin 及其类似物的全合成路线的简化，特别是其中 End 的合成路线的简化迫在眉睫。

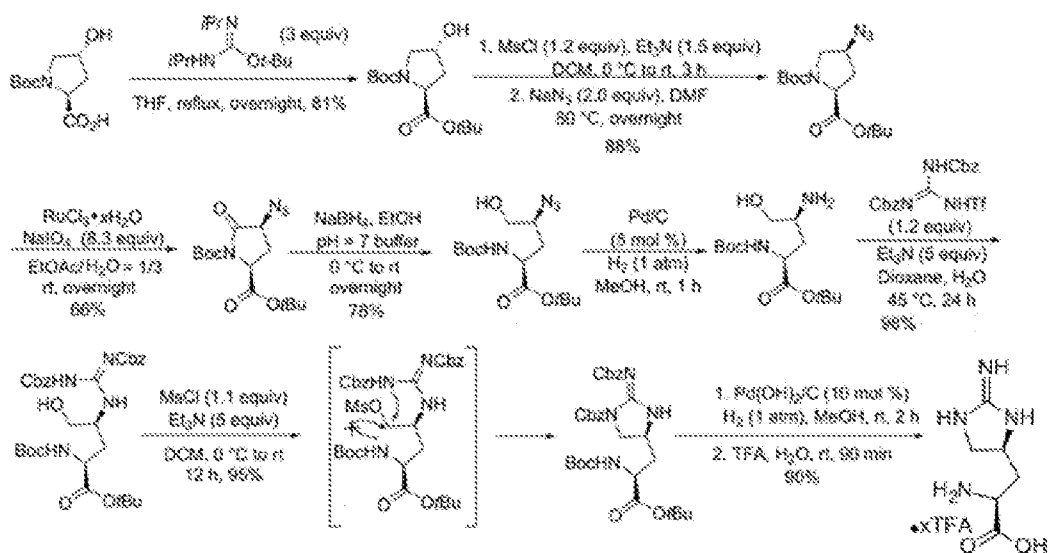
发明内容

Teixobactin 的合成难点主要是非天然氨基酸 L-allo-enduracididine (End) 的合成和十三元环的构建。其中，关于 End 的合成，现有技术中目前有如下几种合成路线：

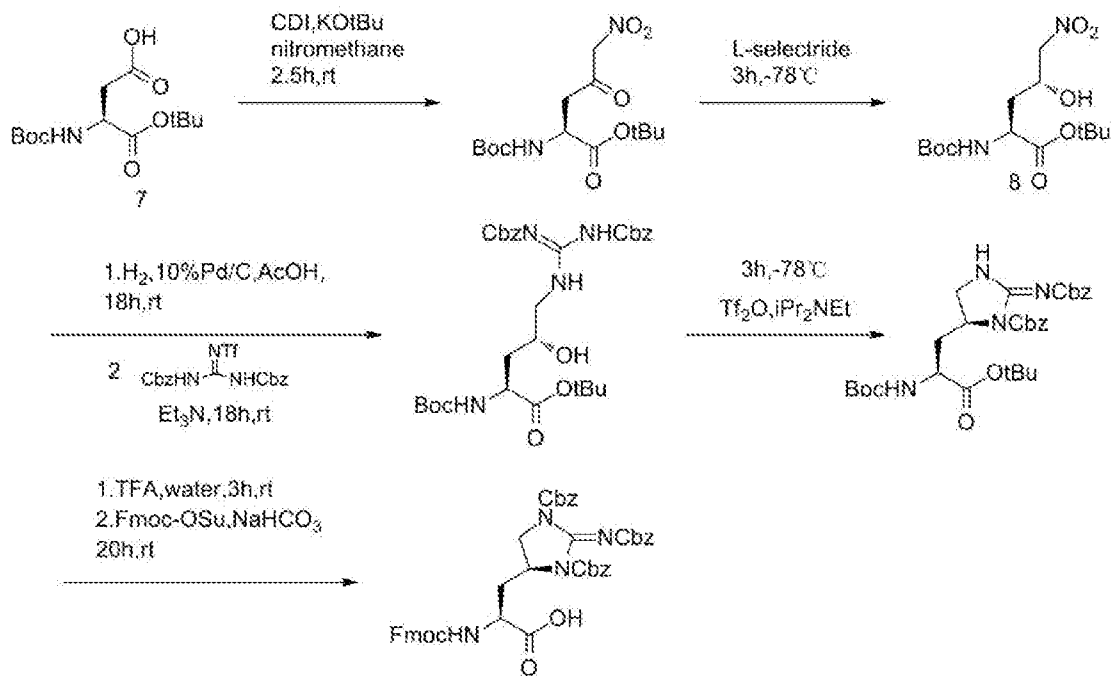
1) Rudolph 及其同事以起始原料经四步合成得到 L-allo-enduracididine (如下所示)。然而 L-allo-enduracididine 的非对映体 L-enduracididine 也被合成得到，与 L-allo-enduracididine 的比例为 1:6，进而造成后续分离困难，



2) Yuan 和其同事建立了一个高立体选择性的合成 L-allo-enduracididine 的方法。该合成路线以反式羟基脯氨酸为起始原料，经过十步反应得到目标产物，产率约 31%，并且非对映体比例甚至超过 50:1（如下所示）。但是该方法合成路线长、收率低。



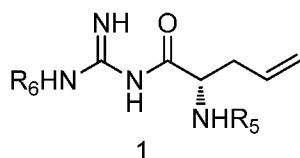
3) Payne 和其研究小组完成了双 Cbz 保护的 L-allo-enduracididine 的合成（如下所示）。该合成方法以 Boc-L-Asp-OtBu 为起始原料，经一系列反应得到受 Fmoc 和双 Cbz 保护的 L-allo-enduracididine。该合成的难点在于羰基的立体选择性还原为醇羟基。该路线用了三仲丁基硼氢化锂作为还原剂，得到了两个产物(2S,4R)和(2S,4S)，其比例为 5:1。但两个产物为一对非对映体，需要经过 Flash 柱层析才可以得到单一的产物。



由上述方法可知，现有技术中相关的非天然氨基酸 End 的合成路线长，分离提纯困难。进一步地，teixobactin 及其类似物的全合成也被制约着发展，同样也面临着合成路线复杂，合成过程中副产物多，分离纯化困难，产率低，不适合工业化生产等问题。

- 5 基于上述事实和问题的发现和认识，发明人提出了一种新的 L-allo-Enduracidine (End) 非天然氨基酸的合成路线，操作简单，能方便快速得到产物，且产率高。同时，基于上述 End 的合成路线的提出，发明人还提出了一种新的 teixobactin 及其类似物的全合成策略，合成过程中副产物少、分离纯化简单，产率高，适合工业化生产。

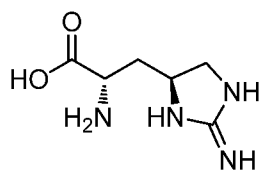
- 10 在本发明的第一方面，本发明提出了一种制备非天然氨基酸的方法。根据本发明的实施例，所述方法包括：将式 (1) 所示化合物进行氧化关环处理，



其中， R_5 独立地为 Fmoc、Boc、Phth、Cbz， R_6 独立地为 H、Fmoc、Boc、Phth、Cbz。发明人首次提出了利用氧化关环反应，一步就能得到 L-allo-Enduracidine (End) 非天然氨基酸，同时收率高、副产物少，分离纯化简单。

- 15 根据本发明的实施例，上述方法还可以进一步包括如下附加技术特征至少之一：

根据本发明的实施例，所述方法进一步包括将氧化关环处理产物进行脱保护处理，以便获得式 (I) 所示化合物，



(I)。所述脱保护处理是指脱除 R⁵ 和 R⁶ 取代基。

根据本发明的实施例，所述氧化关环处理是在氧化剂的条件下进行的。

根据本发明的实施例，所述氧化剂包括选自单质碘、NIS、碘苯二乙酸、NBS、戴斯-马丁氧化剂（Dess-Martin 高碘试剂）以及三价碘氧化剂的至少之一。

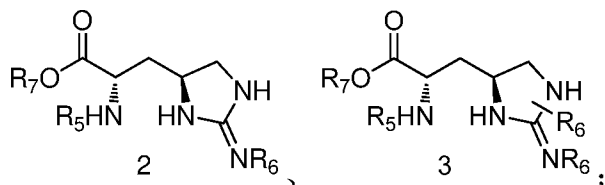
5 需要说明的是，氧化剂的用量没有特别限制，只要满足能使得式 (I) 所示化合物发生氧化关环反应即可。根据本发明的实施例，所述式 (1) 所示化合物与所述氧化剂的摩尔比为 1: (1-5)。

根据本发明的实施例，所述式 (1) 所示化合物与所述氧化剂的摩尔比为 1:3。

10 根据本发明的实施例，所述脱保护处理是在酸性条件下进行的。在酸性条件下能同时脱除 R₅ 和 R₆ 基团。

根据本发明的实施例，所述酸性条件由 TFA/H₂O 提供。在 TFA/H₂O 的条件下，脱除 R₅ 和 R₆ 基团的效率更高。

15 在本发明的第二方面，本发明提出了一种制备式 (3) 所示化合物的方法。根据本发明的实施例，所述方法包括：1) 将式 (1) 所示化合物的氧化关环产物与 R₇OH 进行酯化反应，以便获得式 (2) 所示化合物，2) 将式 (2) 所示化合物进行上保护处理，以便获得式 (3) 所示化合物，



20 其中，R₇ 为甲基、乙基、丙基。通过保护基团的引入，得到一个待后续合成 teixobactin 及其类似物的原料。根据本发明实施例的方法获得的化合物能进一步用到 teixobactin 及其类似物的全合成中，大大简化了全合成的路线，提高了收率。

根据本发明的实施例，所述酯化反应是在酸性条件下进行的。由此，酯化效率高、副产物少。

根据本发明的实施例，所述酸性条件是甲酸或乙酸提供的。由此，酯化效率更高、副产物更少。

25 根据本发明的实施例，所述上保护处理是在带有 R₆ 基团的离去基团存在的条件下进行的。

根据本发明的实施例，所述带有 R₆ 基团的离去基团为 Cbz-OSu 或 Fmoc-OSu。由此，能更有效地仅在胍基上连上保护基团 R⁶。

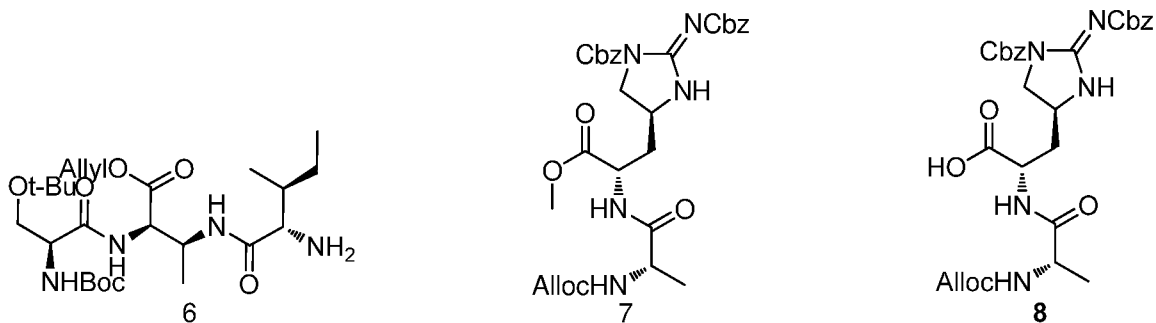
根据本发明的实施例，所述 R_5 与 R_6 不相同，且 R_5 比 R_6 易脱除。由此，利用保护基团的脱除难易程度来控制后续在相应的位点连接所需要的基团。

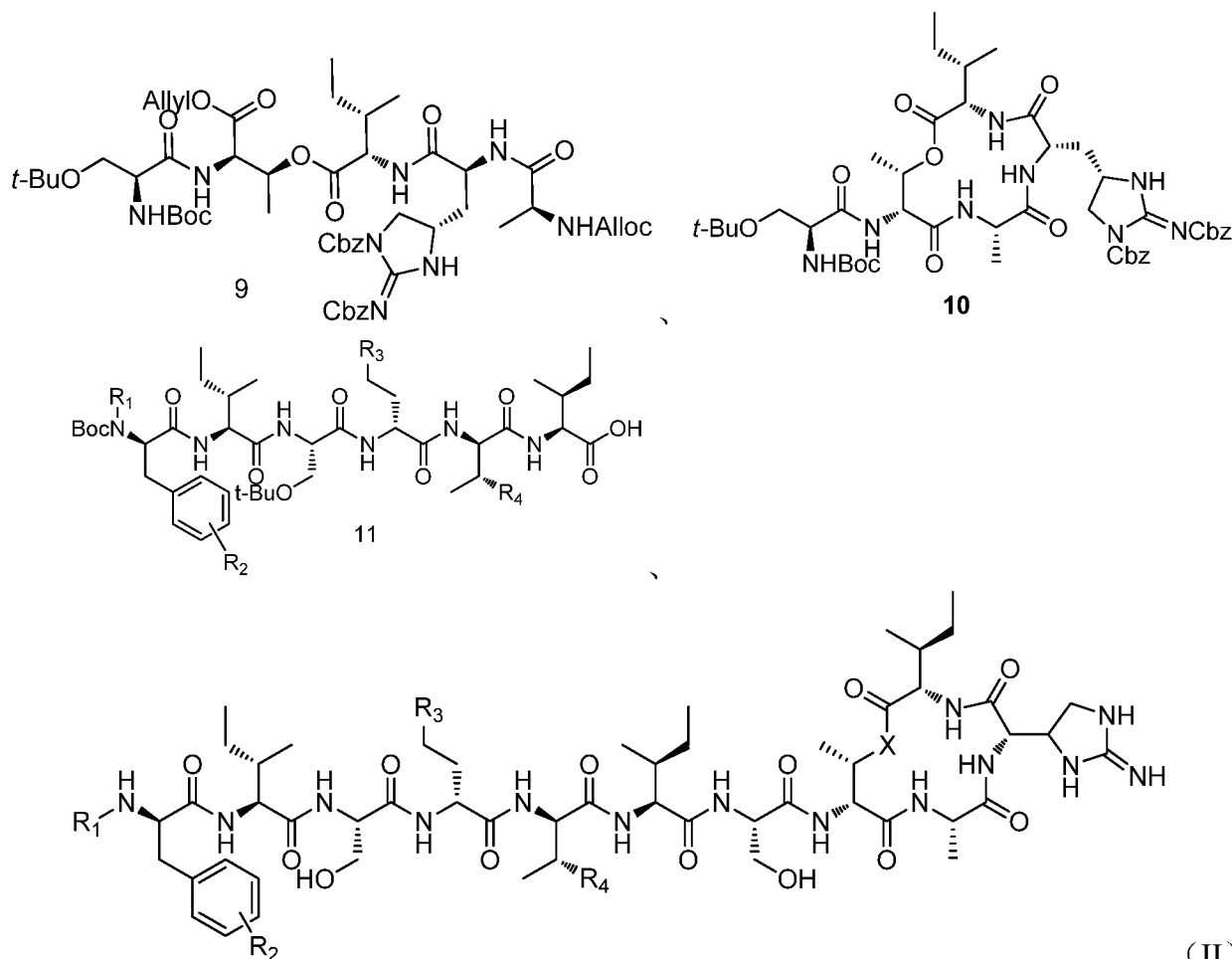
在本发明的第三方面，本发明提出了一种化合物。根据本发明的实施例，所述化合物具有式 (3) 所示结构。根据本发明实施例的化合物能进一步用到 teixobactin 及其类似物的全合成中，大大简化了全合成的路线，提高了收率。

在本发明的第四方面，本发明提出了一种化合物。根据本发明的实施例，所述化合物是通过前面所述的方法获得的。根据本发明实施例的化合物能进一步用到 teixobactin 及其类似物的全合成中，大大简化了全合成的路线，提高了收率。

在本发明的第五方面，本发明提出了一种制备式 (II) 所示化合物或式 (II) 所示化合物的盐的方法。根据本发明的实施例，所述方法包括：将前面所述的化合物与数个氨基酸进行缩合处理，以便获得式 (II) 所示化合物。发明人首次提出了上述 L-allo-Enduracidine (End) 非天然氨基酸及其衍生物的合成路线，操作简单，能方便快捷得到产物，且产率高，并将上述化合物应用到 teixobactin 及其类似物的全合成中，合成过程中副产物少、分离纯化简单，产率高，适合工业化生产。

需要说明的是，根据 R^5 、 R^6 、 R^7 保护基的不同，本领域技术人员可以进行适度调整脱除上述基团的脱除试剂，以便进行根据本发明实施例的相应的操作。根据本发明的具体实施例，所述 R^5 为 Fmoc 基团，所述 R^6 为 Cbz 基团，且连接在胍基的氮上，所述 R^7 为甲基，所述方法进一步包括：1) 将前面所述的化合物进行脱 Fmoc 基团处理；2) 将步骤 1) 所得产物与 Alloc-Ala-OH 进行缩合反应，以便得到式 (7) 所示化合物；3) 将所述式 (7) 所示化合物进行水解处理，以便获得式 (8) 所示化合物；4) 将式 (6) 所示化合物与式 (8) 所示化合物进行缩合反应，以便得到式 (9) 所示化合物；5) 将所述式 (9) 所示化合物进行 Allyl 基团和 Alloc 基团脱除处理；6) 将步骤 5) 脱除处理产物进行缩合处理，以便得到式 (10) 所示化合物；7) 将所述式 (10) 所示化合物与式 (11) 所示化合物进行缩合处理，得到式 (II) 所示化合物；





其中, R_1 为氢、 C_{1-15} 烷基、 C_{2-15} 烯基、 C_{2-15} 炔基、 C_{6-10} 芳基或酰基;

5 R_2 为氢、卤素、 C_{1-15} 烷基、 C_{2-15} 烯基、 C_{2-15} 炔基、 C_{6-10} 芳基或酰基, 其中所述 C_{6-10} 芳基可任选被 1~5 个 R_x 取代;

R_x 为卤素、 C_{1-6} 烷基、卤代 C_{1-6} 烷基;

R_3 为氨基、胍基、脲基或甲酰胺基;

R_4 为 C_{1-15} 烷基、 C_{2-15} 烯基、 C_{2-15} 炔基、 C_{6-10} 芳基;

10 X 为 O、S 或 NH。发明人首次提出了上述这种新的 teixobactin 及其类似物的全合成策略, 合成过程中副产物少、分离纯化简单, 产率高, 适合工业化生产。

根据本发明的实施例, 所述步骤 7) 进一步包括: 7-1) 将所述式 (10) 所示化合物进行 Boc 基团脱除处理; 7-2) 步骤 7-1) 中得到的脱除 Boc 基团的化合物与式 (11) 化合物进行缩合反应; 7-3) 步骤 7-2) 中得到的缩合产物进行 Cbz 基团、t-Bu 基团以及 Boc 基团
15 脱除处理, 以便获得式 (II) 所示化合物。

根据本发明的实施例, 所述步骤 7-1) 中的 Boc 基团脱除处理是在盐酸乙酸乙酯溶液的条件下进行 15~20min。由此, Boc 基团脱除效率高, 且不会影响其他保护基团, 如 t-Bu、Cbz。

根据本发明的实施例, 所述盐酸乙酸乙酯溶液的浓度为 2M~3M。由此, Boc 基团脱除

效率更高。

根据本发明的实施例，所述步骤 7-2) 中的缩合反应是在 DEPBT/DIEA 的条件下进行的。

根据本发明的实施例，所述步骤 7-2) 中式 (10)、DEPBT、DIEA 的摩尔比为 1:1:1。

5 根据本发明的实施例，所述步骤 7-3) 中的 Cbz 基团、t-Bu 基团以及 Boc 基团脱除处理是在三氟乙酸、三氟甲烷磺酸、苯甲硫醚以及间甲苯酚的混合溶剂下进行的。由此，能同时进行 Cbz 基团、t-Bu 基团以及 Boc 基团的脱除，且脱除效率高。

根据本发明的实施例，所述三氟乙酸、三氟甲烷磺酸、苯甲硫醚以及间甲苯酚的体积比为 $(70 \pm 5):(12 \pm 5):(10 \pm 5):(8 \pm 5)$ 。由此，脱除效率高。

10 根据本发明的实施例，所述三氟乙酸、三氟甲烷磺酸、苯甲硫醚以及间甲苯酚的体积比为 70:12:10:8。由此，脱除效率更高。

根据本发明的实施例，所述步骤 1) 中脱除 Fmoc 基团是在二乙胺的条件下进行的。由此，仅脱除了 Fmoc 基团，而不会影响其他保护基团的脱除，如 Cbz 基团、甲酯基。

15 根据本发明的实施例，所述步骤 2) 中的缩合反应是在缩合剂为 HATU/DIEA 或 PyAOP、溶剂为二氯甲烷和 DMF 的混合溶剂的条件下进行的。

根据本发明的实施例，所述步骤 2) 中的权利要求 5 或 6 所示的化合物、Alloc-Ala-OH、HATU、DIEA 的摩尔比为 1:2:2:2。由此，缩合效率进一步提高。

20 根据本发明的实施例，所述步骤 3) 中的水解反应是在四氢呋喃/水的混合溶剂、碱为 LiOH 的条件下进行的。由此，能仅仅水解掉甲酯基，而不会影响其他保护基团，如 Cbz 基团、Alloc 基团。

根据本发明的实施例，所述式 (7) 所示化合物、LiOH 的摩尔比为 1:1.5。由此，水解效率进一步提高。

根据本发明的实施例，所述步骤 4) 中的缩合反应是在缩合剂为 DEPBT/DIEA、溶剂为 THF 和 DMF 的混合溶剂的条件下进行的。

25 根据本发明的实施例，所述步骤 4) 中的式 (6) 所示化合物、式 (8) 所示化合物、DEPBT、DIEA 的摩尔比为 1:0.5:1:1。由此，缩合效率进一步提高。

根据本发明的实施例，所述步骤 5) 中的脱除处理是在催化剂为四三苯基膦钯、在 1,3-二甲基巴比妥酸提供的酸性条件下进行的。由此，能同时脱除 Allyl 基团和 Alloc 基团，且脱除效率高。

30 根据本发明的实施例，所述步骤 5) 中式 (9) 所示化合物、四三苯基膦钯、1,3-二甲基巴比妥酸的摩尔比为 0.3:0.06:0.6。由此，脱除效率进一步提高。

根据本发明的实施例，所述步骤 6) 中的缩合反应是在缩合剂为 HATU/HOAT/DIEA 或

PyAop 的条件下进行的。

根据本发明的实施例，所述步骤 6) 中式 (9) 所示化合物、HATU、HOAT、DIEA 的摩尔比为 0.3:1:1:2。由此，缩合效率高。

根据本发明的实施例，所述盐为盐酸盐、三氟乙酸盐、醋酸盐、磺酸盐。

- 5 根据本发明的实施例， R_1 为氢、 C_{1-10} 烷基、 C_{2-10} 烯基、 C_{2-10} 炔基、 C_{6-8} 芳基或酰基； R_2 为氢、卤素、 C_{1-10} 烷基、 C_{2-10} 烯基、 C_{2-10} 炔基、 C_{6-8} 芳基或酰基，其中所述 C_{6-8} 芳基可任选被 1~5 个 R_x 取代；

R_x 为卤素、 C_{1-6} 烷基、卤代 C_{1-6} 烷基；

R_4 为 C_{1-10} 烷基、 C_{2-10} 烯基、 C_{2-10} 炔基、 C_{6-8} 芳基。

- 10 根据本发明的实施例， R_1 为氢、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{6-7} 芳基或酰基； R_2 为氢、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{6-7} 芳基或酰基，其中所述 C_{6-7} 芳基或 C_{5-6} 杂芳基可任选被 1~3 个 R_x 取代；

R_x 为卤素、 C_{1-4} 烷基、卤代 C_{1-4} 烷基；

R_4 为 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{6-7} 芳基。

- 15 根据本发明的实施例， R_1 为氢、甲基、乙基、正丙基、异丙基、丁基、乙烯基、丙烯基、烯丙基、乙炔基、丙炔基、炔丙基、苯基、苄基或酰基；

R_2 为氢、卤素、甲基、乙基、正丙基、异丙基、丁基、乙烯基、丙烯基、烯丙基、乙炔基、丙炔基、炔丙基、苯基、苄基或酰基，其中所述苯基或苄基可任选被 1~3 个 R_x 取代；

R_x 为卤素、甲基、乙基、正丙基、异丙基、丁基、一氟甲基、二氟甲基、三氟甲基；

- 20 R_4 为甲基、乙基、正丙基、异丙基、丁基、乙烯基、丙烯基、烯丙基、乙炔基、丙炔基、炔丙基、苯基、苄基。

根据本发明的实施例，所述式 (6) 所示化合物是通过如下步骤获得的：将式 (5) 所示化合物与 Fmoc-L-异亮氨酸进行酯化、氨解以及脱 Fmoc 基团反应，以便得到式 (6) 所示化合物。

- 25 根据本发明的实施例，所述酯化反应是在缩合剂为 EDCI、催化剂为 DMAP 的条件下进行的。

根据本发明的实施例，所述式 (5) 所示化合物、Fmoc-L-异亮氨酸、EDCI、DMAP 的摩尔比为 9:10:10:1。

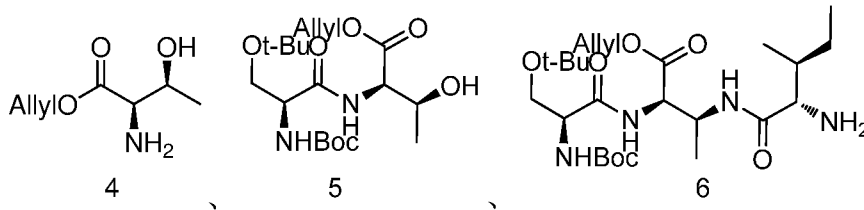
- 30 根据本发明的实施例，所述氨解以及脱 Fmoc 基团反应是在二乙胺溶液的条件下进行的。

根据本发明的实施例，所述二乙胺的浓度为 33%。

根据本发明的实施例，式 (5) 所示化合物是通过如下步骤获得的：将式 (4) 所示化

合物与 Boc-Ser(tBu)-OH 进行缩合反应, 以便得到式 (5) 所示化合物。

根据本发明的实施例, 所述缩合反应是在以二氯甲烷和 DMF 的混合溶剂中, 以 HCTU/DIEA 为缩合剂的条件下进行的;



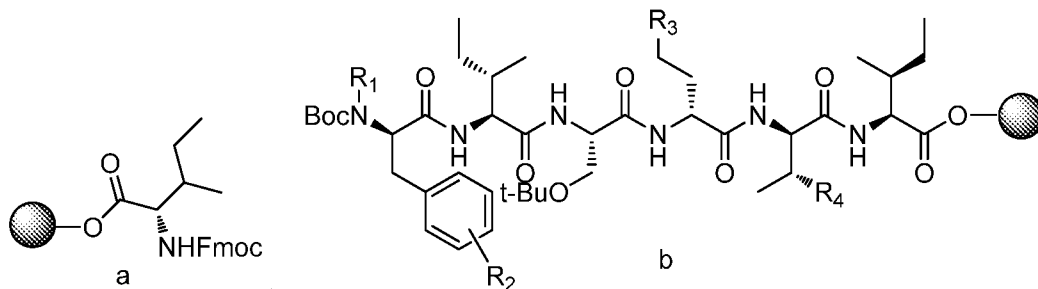
5 根据本发明的实施例, 式 (11) 所示化合物是通过固相合成方法获得的。由此, 合成简便高效。

根据本发明的实施例, 所述固相合成方法是通过如下步骤进行的:

A) 将 2-Cl 树脂和 Fmoc-L-异亮氨酸发生取代反应, 以便得到式 (a) 所示化合物, 其中圆圈表示树脂;

10 B) 将式 (a) 所示化合物依次与 N-Fmoc-N'-三苯甲基-D-谷氨酰胺、Fmoc-L-丝氨酸、Fmoc-L-异亮氨酸、Boc-D-4,4'-二苯基苯丙氨酸以及 N-叔丁氧羰基-N-甲基-D-苯丙氨酸中最末端的氨基酸发生缩合反应, 以便得到式 (b) 所示的化合物;

C) 将式 (b) 所示的化合物进行脱树脂反应, 以便得到式 (11) 所示的化合物;



15 根据本发明的实施例, 所述 2-Cl 树脂预先经过活化处理, 所述活化处理是在二氯甲烷和 DMF 中进行 20min。

根据本发明的实施例, 所述活化处理后、偶联反应前进一步包括抽取溶剂处理。

根据本发明的实施例, 步骤 1) 中的偶联反应是在 DIEA 为缩合剂、DMF 为溶剂的条件下进行的。

20 根据本发明的实施例, 步骤 2) 中的每一次缩合反应进行前需要预先将待缩合原料进行脱 Fmoc 处理, 所述脱 Fmoc 处理是在哌啶溶液中进行的。

根据本发明的实施例, 步骤 2) 中的缩合反应是在缩合剂为 HATU/DIEA、室温的条件下进行的。

25 根据本发明实施例的方法, 利用脱保护和上保护反应 (正交保护策略) 策略, 成功实现了在不同的反应位点引入不同的反应活性的保护基团, 进而利用不同的反应活性的保护

基团的脱除顺序，在不同的反应位点上引入不同的基团。进而利用根据本发明实施例的方法合成具有不同保护基团的中间体，如式（7）、（8）等所示化合物，操作简单，能方便快捷得到产物，且产率高，并将上述化合物应用到 teixobactin 及其类似物的全合成中，合成过程中副产物少、分离纯化简单，产率高，适合工业化生产。

5

具体实施方式

下面详细描述本发明的实施例。下面描述的实施例是示例性的，旨在用于解释本发明，而不能理解为对本发明的限制。

需要说明的是，本发明的缩合反应，可以自行选择常规的缩合剂进行缩合反应，收率可能会随着缩合剂的不同而有所差异，但是只要能完成缩合反应，均在本发明的保护范围内。

需要说明的是，如果本发明的整体合成路线中的任何一步可以进行商业购买到原料，则可以采用商业购买的原料进行反应，也可以采用本发明中提出的方法进行合成原料来进行反应，也可以采用其他方法获得的本发明的原料来进行反应。

需要说明的是，本申请的编号对实际的合成先后顺序不起限定作用，本领域技术人员可以根据其需要来进行调整，以便获得其需要的目标产物。

除非另外说明，本发明所使用的所有科技术语具有与本发明所属领域技术人员的通常理解相同的含义。本发明涉及的所有专利和公开出版物通过引用方式整体并入本发明。

除非另外说明，应当应用本文所使用得下列定义。出于本发明的目的，化学元素与元素周期表CAS版，和《化学和物理手册》，第75版，1994一致。此外，有机化学一般原理可参考"Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999, 和 "March's Advanced Organic Chemistry" by Michael B. Smith and Jerry March, John Wiley & Sons, New York: 2007中的描述，其全部内容通过引用并入本文。

除非另有说明或者上下文中有明显的冲突，本文所使用的冠词“一”、“一个（种）”和“所述”旨在包括“至少一个”或“一个或多个”。因此，本文所使用的这些冠词是指一个或多于一个（即至少一个）宾语的冠词。例如，“一组分”指一个或多个组分，即可能有多于一个的组分被考虑在所述实施方案的实施方式中采用或使用。

像本发明所描述的，本发明的化合物可以任选地被一个或多个取代基所取代，如上面的通式化合物，或者像实施例里面特殊的例子，子类，和本发明所包含的一类化合物。应了解“任选取代的”这个术语与“取代或非取代的”这个术语可以交换使用。一般而言，术语“取代的”表示所给结构中的一个或多个氢原子被具体取代基所取代。除非其他方面表明，一个任选的取代基团可以在基团各个可取代的位置进行取代。当所给出的结构式中不只一个位置能被选自具体基团的一个或多个取代基所取代，那么取代基可以相同或不同

地在各个位置取代。

另外，需要说明的是，除非以其他方式明确指出，在本发明中所采用的描述方式“各…独立地为”与“…各自独立地为”和“…独立地为”可以互换，均应做广义理解，其既可以是指在不同基团中，相同符号之间所表达的具体选项之间互相不影响，也可以表示在相

同的基团中，相同符号之间所表达的具体选项之间互相不影响。

在本说明书的各部分，本发明公开化合物的取代基按照基团种类或范围公开。特别指出，本发明包括这些基团种类和范围的各个成员的每一个独立的次级组合。例如，术语“C₁₋₆烷基”特别指独立公开的甲基、乙基、C₃烷基、C₄烷基、C₅烷基和 C₆烷基。

在本发明的各部分，描述了连接取代基。当该结构清楚地需要连接基团时，针对该基团所列举的马库什 变量应理解为连接基团。例如，如果该结构需要连接基团并且针对该变量的马库什基团定义列举了“烷基”或“芳基”，则应该理解，该“烷基”或“芳基”分别代表连接的亚烷基基团或亚芳基基团。

本发明使用的术语“烷基”或“烷基基团”，表示含有 1 至 20 个碳原子，饱和的直链或支链一价烃基基团，其中，所述烷基基团可以任选地被一个或多个本发明描述的取代基所取代。除非另外详细说明，烷基基团含有 1-20 个碳原子。在一实施方案中，烷基基团含有 1-15 个碳原子；在另一实施方案中，烷基基团含有 1-6 个碳原子；在又一实施方案中，烷基基团含有 1-4 个碳原子；还在一实施方案中，烷基基团含有 1-3 个碳原子。

烷基基团的实例包含，但并不限于，甲基 (Me、-CH₃)，乙基 (Et、-CH₂CH₃)，正丙基 (*n*-Pr、-CH₂CH₂CH₃)，异丙基 (*i*-Pr、-CH(CH₃)₂)，正丁基 (*n*-Bu、-CH₂CH₂CH₂CH₃)，异丁基 (*i*-Bu、-CH₂CH(CH₃)₂)，仲丁基 (*s*-Bu、-CH(CH₃)CH₂CH₃)，叔丁基 (*t*-Bu、-C(CH₃)₃)，正戊基 (-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃)，2-戊基 (-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₃)，3-戊基 (-CH(CH₂CH₃)₂)，2-甲基-2-丁基 (-C(CH₃)₂CH₂CH₃)，3-甲基-2-丁基 (-CH(CH₃)CH(CH₃)₂)，3-甲基-1-丁基 (-CH₂CH₂CH(CH₃)₂)，2-甲基-1-丁基 (-CH₂CH(CH₃)CH₂CH₃)，正己基 (-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃)，2-己基 (-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₂CH₃)，3-己基 (-CH(CH₂CH₃)(CH₂CH₂CH₃))，2-甲基-2-戊基 (-C(CH₃)₂CH₂CH₂CH₃)，3-甲基-2-戊基 (-CH(CH₃)CH(CH₃)CH₂CH₃)，4-甲基-2-戊基 (-CH(CH₃)CH₂CH(CH₃)₂)，3-甲基-3-戊基 (-C(CH₃)(CH₂CH₃)₂)，2-甲基-3-戊基 (-CH(CH₂CH₃)CH(CH₃)₂)，2,3-二甲基-2-丁基 (-C(CH₃)₂CH(CH₃)₂)，3,3-二甲基-2-丁基 (-CH(CH₃)C(CH₃)₃)，正庚基，正辛基，等等。

术语“亚烷基”表示从饱和的直链或支链烃基中去掉两个氢原子所得到的饱和的二价烃基基团。除非另外详细说明，亚烷基基团含有 1-12 个碳原子。在一实施方案中，亚烷基基团含有 1-6 个碳原子；在另一实施方案中，亚烷基基团含有 1-4 个碳原子；在又一实施方案中，亚烷基基团含有 1-3 个碳原子；还在一实施方案中，亚烷基基团含有 1-2 个碳原子。

这样的实例包括亚甲基 (-CH₂-), 亚乙基 (-CH₂CH₂-), 亚异丙基 (-CH(CH₃)CH₂-) 等等。

术语“烯基”表示含有 2-15 个碳原子的直链或支链一价烃基, 其中至少有一个不饱和位点, 即有一个碳-碳 sp² 双键, 其中, 所述烯基基团可以任选地被一个或多个本发明所描述的取代基所取代, 其包括“cis”和“trans”的定位, 或者“E”和“Z”的定位。在一实施方案中, 烯基基团包含 2-8 个碳原子; 在另一实施方案中, 烯基基团包含 2-6 个碳原子; 在又一实施方案中, 烯基基团包含 2-4 个碳原子。烯基基团的实例包括, 但不限于, 乙烯基(-CH=CH₂)、烯丙基(-CH₂CH=CH₂)等等。

术语“炔基”表示含有 2-15 个碳原子的直链或支链一价烃基, 其中至少有一个不饱和位点, 即有一个碳-碳 sp 三键, 其中, 所述炔基基团可以任选地被一个或多个本发明所描述的取代基所取代。在一实施方案中, 炔基基团包含 2-8 个碳原子; 在另一实施方案中, 炔基基团包含 2-6 个碳原子; 在又一实施方案中, 炔基基团包含 2-4 个碳原子。炔基基团的实例包括, 但不限于, 乙炔基(-C≡CH)、炔丙基(-CH₂C≡CH)、1-丙炔基(-C≡C-CH₃)等等。

术语“芳基”表示含有 6-14 个环原子, 或 6-12 个环原子, 或 6-10 个环原子的单环、双环和三环的碳环体系, 其中, 至少一个环体系是芳香族的, 其中每一个环体系包含 3-7 个原子组成的环, 且有一个或多个附着点与分子的其余部分相连。术语“芳基”可以和术语“芳香环”交换使用。芳基基团的实例可以包括苯基、萘基和蒽。所述芳基基团可以独立任选地被一个或多个本发明所描述的取代基所取代。

本发明所使用的“药学上可接受的盐”是指本发明的化合物的有机盐 and 无机盐。药学上可接受的盐在所属领域是为我们所熟知的, 如文献: S. M. Berge *et al.*, describe pharmaceutically acceptable salts in detail in J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66: 1-19. 所记载的。药学上可接受的无毒的酸形成的盐包括, 但不限于, 与氨基基团反应形成的无机酸盐有盐酸盐, 氢溴酸盐, 磷酸盐, 硫酸盐, 高氯酸盐, 和有机酸盐如乙酸盐, 草酸盐, 马来酸盐, 酒石酸盐, 柠檬酸盐, 琥珀酸盐, 丙二酸盐, 或通过书籍文献上所记载的其他方法如离子交换法来得到这些盐。其他药学上可接受的盐包括己二酸盐, 藻酸盐, 抗坏血酸盐, 天冬氨酸盐, 苯磺酸盐, 苯甲酸盐, 重硫酸盐, 硼酸盐, 丁酸盐, 樟脑酸盐, 樟脑磺酸盐, 环戊基丙酸盐, 二葡萄糖酸盐, 十二烷基硫酸盐, 乙磺酸盐, 甲酸盐, 反丁烯二酸盐, 葡庚糖酸盐, 甘油磷酸盐, 葡萄糖酸盐, 半硫酸盐, 庚酸盐, 己酸盐, 氢碘酸盐, 2-羟基-乙磺酸盐, 乳糖醛酸盐, 乳酸盐, 月桂酸盐, 月桂基硫酸盐, 苹果酸盐, 丙二酸盐, 甲磺酸盐, 2-萘磺酸盐, 烟酸盐, 硝酸盐, 油酸盐, 棕榈酸盐, 扑酸盐, 果胶酸盐, 过硫酸盐, 3-苯基丙酸盐, 苦味酸盐, 特戊酸盐, 丙酸盐, 硬脂酸盐, 硫氰酸盐, 对甲苯磺酸盐, 十一酸盐, 戊酸盐, 等等。通过适当的碱得到的盐包括碱金属, 碱土金属, 铵和 N⁺(C₁₋₄烷基)₄ 的盐。本发明也拟构思了任何所包含 N 的基团的化合物所形成的季铵盐。水溶性或

油溶性或分散产物可以通过季铵化作用得到。碱金属或碱土金属盐包括钠，锂，钾，钙，镁，等等。药学上可接受的盐进一步包括适当的、无毒的铵，季铵盐和抗平衡离子形成的胺阳离子，如卤化物，氢氧化物，羧化物，硫酸化物，磷酸化物，硝酸化物，C₁₋₈ 磺酸化物和芳香磺酸化物。

5 可药用的酸加成盐可与无机酸和有机酸形成，例如乙酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、溴化物/氢溴酸盐、碳酸氢盐/碳酸盐、硫酸氢盐/硫酸盐、樟脑磺酸盐、氯化物/盐酸盐、氯茶碱盐、柠檬酸盐、乙二磺酸盐、富马酸盐、葡庚糖酸盐、葡糖酸盐、葡糖醛酸盐、马尿酸盐、氢碘酸盐/碘化物、羟乙基磺酸盐、乳酸盐、乳糖醛酸盐、月桂基硫酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、扁桃酸盐、甲磺酸盐、甲基硫酸盐、萘甲酸盐、萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、十八酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、扑酸盐、磷酸盐/磷酸氢盐/磷酸二氢盐、聚半乳糖酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、磺基水杨酸盐、酒石酸盐、10 甲苯磺酸盐和三氟乙酸盐。

可以由其衍生得到盐的无机酸包括例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等。

可以由其衍生得到盐的有机酸包括例如乙酸、丙酸、羟基乙酸、草酸、马来酸、丙二15 酸、琥珀酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、扁桃酸、甲磺酸、乙磺酸、对甲苯磺酸、磺基水杨酸等。

可药用碱加成盐可与无机碱和有机碱形成。

可以由其衍生得到盐的无机碱包括，例如铵盐和周期表的 I 族至 XII 族的金属。在某些实施方案中，该盐衍生自钠、钾、铵、钙、镁、铁、银、锌和铜；特别适合的盐包括铵、20 钾、钠、钙和镁盐。

可以由其衍生得到盐的有机碱包括伯胺、仲胺和叔胺，取代的胺包括天然存在的取代的胺、环状胺、碱性离子交换树脂等。某些有机胺包括，例如，异丙胺、苄星青霉素 (benzathine)、胆碱盐(choline)、二乙醇胺、二乙胺、赖氨酸、葡甲胺 (meglumine)、吡啶和氨丁三醇。

25 本发明的可药用盐可以用常规化学方法由母体化合物、碱性或酸性部分来合成。一般而言，该类盐可以通过使这些化合物的游离酸形式与化学计量量的适宜碱 (如 Na、Ca、Mg 或 K 的氢氧化物、碳酸盐、碳酸氢盐等) 反应，或者通过使这些化合物的游离碱形式与化学计量量的适宜酸反应来进行制备。该类反应通常在水或有机溶剂或二者的混合物中进行。一般地，在适当的情况中，需要使用非水性介质如乙醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇30 或乙腈。在例如 “Remington's Pharmaceutical Sciences”，第 20 版，Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985)；和 “药用盐手册：性质、选择和应用 (Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use)”，Stahl and Wermuth (Wiley-VCH,

Weinheim, Germany, 2002) 中可找到另外一些适宜盐的列表。

另外，本发明公开的化合物，包括它们的盐，也可以以它们的水合物形式或包含其溶剂（例如乙醇、DMSO，等等）的形式得到，用于它们的结晶。本发明公开化合物可以与药学上可接受的溶剂（包括水）固有地或通过设计形成溶剂化物；因此，本发明旨在包括溶剂化的和未溶剂化的形式。

本发明给出的任何结构式也意欲表示这些化合物未被同位素富集的形式以及同位素富集的形式。同位素富集的化合物具有本发明给出的通式描绘的结构，除了一个或多个原子被具有所选择原子量或质量数的原子替换。可引入本发明化合物中的示例性同位素包括氢、碳、氮、氧、磷、硫、氟和氯的同位素，如 ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{18}F , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl 和 ^{125}I 。

另一方面，本发明所述化合物包括同位素富集的本发明所定义的化合物，例如，其中存在放射性同位素，如 ^3H , ^{14}C 和 ^{18}F 的那些化合物，或者其中存在非放射性同位素，如 ^2H 和 ^{13}C 。该类同位素富集的化合物可用于代谢研究（使用 ^{14}C ）、反应动力学研究（使用例如 ^2H 或 ^3H ）、检测或成像技术，如正电子发射断层扫描术（PET）或包括药物或底物组织分布测定的单光子发射计算机断层成像术（SPECT），或可用于患者的放疗中。 ^{18}F 富集的化合物对 PET 或 SPECT 研究而言是特别理想的。同位素富集的式 (I) 所示化合物可以通过本领域技术人员熟悉的常规技术或本发明中的实施例和制备过程所描述使用合适的同位素标记试剂替代原来使用过的未标记试剂来制备。

此外，较重同位素特别是氘（即， ^2H 或 D）的取代可提供某些治疗优点，这些优点是由代谢稳定性更高带来的。例如，体内半衰期增加或剂量需求降低或治疗指数得到改善带来的。应当理解，本发明中的氘被看做式 (I) 化合物的取代基。可以用同位素富集因子来定义该类较重同位素特别是氘的浓度。本发明所使用的术语“同位素富集因子”是指所指定同位素的同位素丰度和天然丰度之间的比例。如果本发明化合物的取代基被指定为氘，该化合物对各指定的氘原子而言具有至少 3500（各指定氘原子处 52.5%的氘掺入）、至少 4000（60%的氘掺入）、至少 4500（67.5%的氘掺入）、至少 5000（75%的氘掺入）、至少 5500（82.5%的氘掺入）、至少 6000（90%的氘掺入）、至少 6333.3（95%的氘掺入）、至少 6466.7（97%的氘掺入）、至少 6600（99%的氘掺入）或至少 6633.3（99.5%的氘掺入）的同位素富集因子。本发明可药用的溶剂化物包括其中结晶溶剂可以是同位素取代的例如 D_2O 、丙酮- d_6 、DMSO- d_6 的那些溶剂化物。

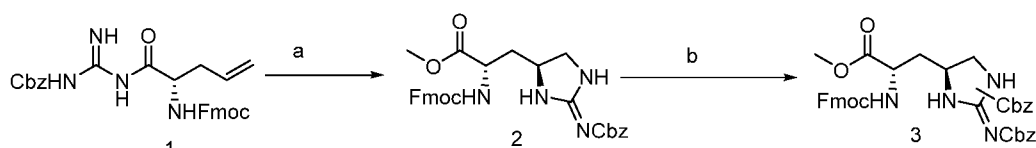
本发明中涉及到的缩写如下所示：

HCTU: 6-氯苯并三氮唑-1,1,3,3-四甲基脒六氟磷酸酯

DIEA: N,N-二异丙基乙胺

EDCI	碳化二亚胺
DMAP	4-二甲氨基吡啶
Fmoc-Ile-OH	Fmoc-L-异亮氨酸
DMF	N,N-二甲基甲酰胺
Et ₂ OH	二乙胺
LiOH	氢氧化锂
DEPBT	3-(二乙氧基磷酰氧基)-1,2,3-苯并三嗪-4-酮
Pd(PPh ₃) ₄	四三苯基膦钯
HATU	2-(7-氧化苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯
HOAT	1-羟基-7-偶氮苯并三氮唑

实施例 1:



Conditions: a) i) 3equiv. I₂ or NIS, 4 equiv. NaHCO₃, 0 °C, 45 min; ii) MeOH/AcOH (9:1), 30 °C, 15 min, 68% for 2 steps; b) 2.5 equiv. CbzOSu, 3.5 equiv. DIEA, DCM, 30 °C, 4 h, 80%; c) i) 3 equiv. LiOH, THF/H₂O; ii) Pd(OH)₂/C, H₂, MeOH.

式 2 所示化合物的合成:

将式 1 所示的化合物 (10 mmol) 加入圆底烧瓶中, 加入 20 毫升乙腈, 加入碳酸氢钠
5 固体 (40mmol) 在零下度下搅拌, 缓慢加入单质碘 (30mmol) 搅拌一小时后将乙腈旋干; 接
下来加入乙酸甲醇混合混合溶液 (乙酸: 甲醇/1: 9) 室温搅拌 15 分钟后将甲醇旋掉, 碳
酸氢钠水溶液洗涤后经过硅胶柱分离 (二氯甲烷: 甲醇/20: 1) 得到目标产物, 产率 71%。

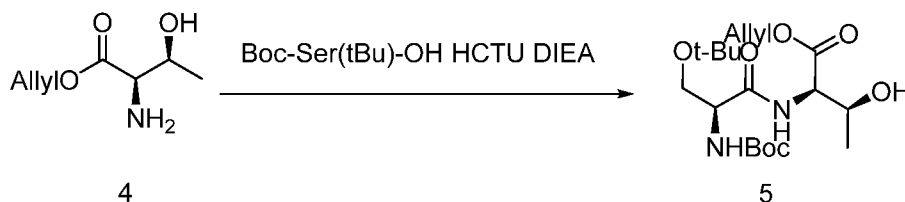
¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ (ppm) 7.90-7.88 (d, J = 7.48 Hz, 2H), 7.82-7.80 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.71-7.69 (m, 2H), 7.43-7.31 (m, 8H), 5.21 (s, 2H), 4.36-4.26 (m, 3H), 4.22-4.21 (m, 1H),
10 3.97-3.92 (t, J = 9.48Hz, 1H), 3.87-3.80 (m, 1H), 3.62 (s, 3H), 3.51-3.47 (m, 1H), 1.86-1.82 (m, 2H). ¹³C NMR (400 MHz, DMSO) δ 172.82, 156.07, 152.86, 151.95, 143.74, 142.56, 140.73, 139.41, 137.41, 135.61, 128.92, 128.48, 128.39, 128.24, 127.86, 127.64, 127.28, 127.08, 125.19, 124.90, 121.38, 120.13, 120.02, 109.76, 67.33, 65.64, 54.18, 52.70, 51.96, 51.53, 50.71, 46.64, 37.35.

式 3 所示化合物的合成:

将式 2 所示化合物 (2mmol) 加入加入圆底烧瓶中, 加入 10 毫升二氯甲烷, 加入 CbzOSu
(6mmol) 在室温下搅拌, 缓慢加入 N,N-二异丙基乙胺 (6mmol), 30°C 搅拌 5 小时后将溶
剂旋干, 经过正相硅胶柱分离 (二氯甲烷: 甲醇/20: 1) 得到目标产物, 产率 80%。¹H NMR

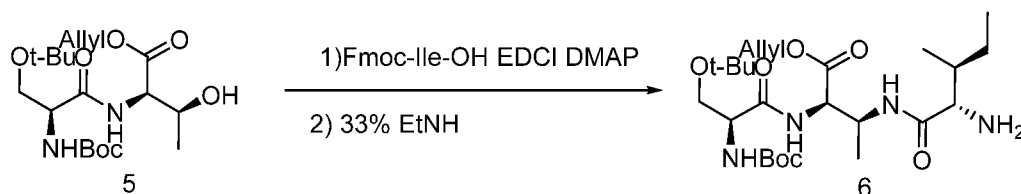
(400 MHz, DMSO) δ (ppm) 7.89-7.87 (d, $J = 7.52$ Hz, 2H), 7.84-7.82 (d, $J = 7.92$ Hz, 1H), 7.71-7.69 (d, $J = 7.40$ Hz, 2H), 7.48-7.46 (d, $J = 6.56$ Hz, 2H), 7.43-7.42 (m, 2H), 7.36-7.29 (m, 10H), 5.15 (s, 2H), 5.05 (s, 2H), 4.36-4.35 (m, 2H), 4.24-4.23 (m, 2H), 4.00-3.95 (t, $J = 9.56$ Hz, 1H), 3.84-3.81 (m, 1H), 3.62 (s, 3H), 2.12-2.08 (m, 1H), 1.88-1.81 (m, 1H).

5 式5所示化合物的合成:



将Boc-Ser(tBu)-OH置于圆底烧瓶中, 加入二氯甲烷和N,N-二甲基甲酰胺当混合溶剂50 ml, HCTU (6-氯苯并三氮唑-1,1,3,3-四甲基脒六氟磷酸酯) (11 mmol)和DIEA (N,N-二异丙基乙胺) (11 mmol) 加入到反应液中, 再加入式4所示化合物 (10 mmol), 室温搅拌3小时
10 后, 加入稀盐酸淬灭反应。加入100ml 二氯甲烷稀释反应液, 分别用碳酸氢钠, 氯化钠饱和和水溶液洗涤, 减压蒸去二氯甲烷, 所得产品采用硅胶柱分离 (石油醚: 乙酸乙酯 2: 1), 得式5所示化合物。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.23-7.21 (d, $J = 8.72$ Hz, 1H), 5.92-5.85 (m, 1H), 5.44 (s, 1H), 5.34-5.29 (dd, $J_1 = 1.28$ Hz, $J_2 = 17.2$ Hz, 1H), 5.24-5.21 (dd, $J_1 = 1.04$ Hz, $J_2 = 10.36$ Hz, 1H), 4.66-4.64 (d, $J = 7.44$ Hz, 2H), 4.61-4.58 (m, 1H), 4.31-4.30 (m, 1H),
15 4.20 (s, 1H), 3.76-3.75 (m, 1H), 3.45-3.41 (m, 1H), 1.46-1.43 (m, 9H), 1.21-1.15 (m, 12H). ¹³C NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 171.22, 170.48, 155.65, 131.58, 119.03, 118.94, 80.19, 74.17, 68.25, 66.16, 61.77, 57.51, 54.91, 28.41, 27.46, 20.02.

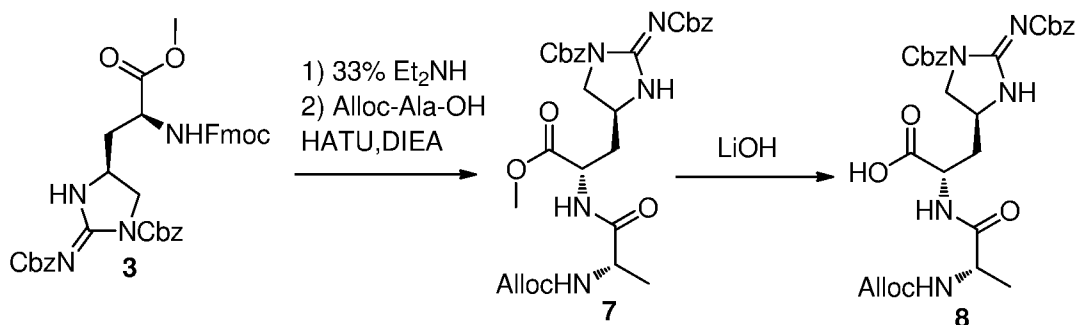
式6所示化合物的合成:



20 将Fmoc-L-异亮氨酸(10 mmol) 置于圆底烧瓶中, EDCI (碳化二亚胺) (10 mmol)、DMAP (4-二甲氨基吡啶) (1 mmol) 加入到反应液中搅拌20min, 再加入式5所示化合物 (9 mmol)室温搅拌过夜后, 加入稀盐酸淬灭反应。加入100ml二氯甲烷稀释反应液, 分别用碳酸氢钠, 氯化钠饱和和水溶液洗涤, 减压蒸去二氯甲烷, 再将中间体加入圆底烧瓶中, 加入33%二乙胺溶液30毫升, 待反应完成后, 所得产品采用硅胶柱分离 (石油醚: 乙酸乙酯 2:
25 1) 分离得到化合物6, 产率71%。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.21-7.20 (s, 1H), 5.90-5.82 (m, 1H), 5.50-5.44 (m, 2H), 5.33-5.29 (d, $J = 17.24$ Hz, 1H), 5.26-5.23 (d, $J = 9.36$ Hz, 1H), 4.86-4.83 (d, $J = 10.36$ Hz, 1H), 4.64-4.52 (m, 2H), 4.24 (s, 1H), 3.80 (s, 1H), 3.46-3.42 (m,

1H), 3.24-3.23 (d, $J = 4.84$ Hz, 1H), 1.68-1.67 (s, 1H), 1.60 (s, 1H), 1.45 (s, 9H), 1.29-1.28 (d, $J = 6.40$ Hz, 3H), 1.20 (s, 1H), 1.19-1.17 (m, 2H), 0.90-0.89 (m, 6H). ^{13}C NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 174.47, 171.36, 169.05, 155.63, 131.35, 119.29, 80.19, 74.21, 71.29, 66.41, 61.72, 59.68, 55.52, 54.82, 38.73, 28.44, 27.53, 24.18, 17.06, 15.80, 11.68.

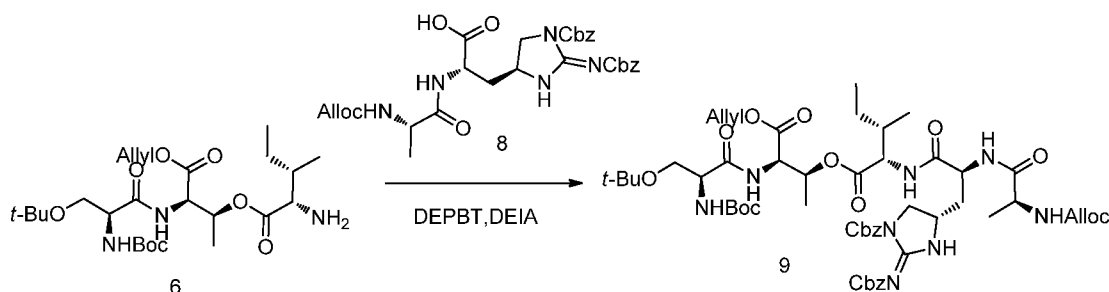
式8所示化合物的制备



将化合物3(1 mmol)置于圆底烧瓶中, 加入33% 二乙胺10 ml, 室温搅拌15分钟, 将溶剂旋干; 将Alloc-Ala-OH (2mmol)和HATU (2 mmol)、DIEA (2 mmol)加入到圆底烧瓶中, 加入二氯甲烷和N,N-二甲基甲酰胺当混合溶剂10 mL, 室温搅拌3小时, 加入稀盐酸淬灭反应。加入100mL二氯甲烷稀释反应液, 分别用碳酸氢钠、氯化钠饱和水溶液洗涤, 减压蒸去二氯甲烷, 所得产品采用硅胶柱分离(石油醚: 乙酸乙酯 1: 1), 得式7所示化合物。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7.40-7.34 (m, 10H), 5.94-5.87 (m, 1H), 5.73-5.71 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 5.31-5.27 (m, 1H), 5.24-5.17 (m, 5H), 4.83-4.82 (m, 1H), 4.57-4.55 (d, $J = 5.32$ Hz, 2H), 4.39-4.36 (m, 1H), 4.13-4.10 (m, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.47-3.45 (m, 1H), 2.22-2.20 (m, 1H), 1.87-1.89 (m, 1H), 1.43-1.41 (d, $J = 7$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 173.23, 171.73, 155.87, 152.27, 135.75, 134.88, 133.00, 128.87-128.43 (t, 10C), 117.56, 68.77, 68.13, 65.70, 60.52, 53.56, 52.84, 50.65, 50.46, 50.33, 37.96, 19.07, 0.13.

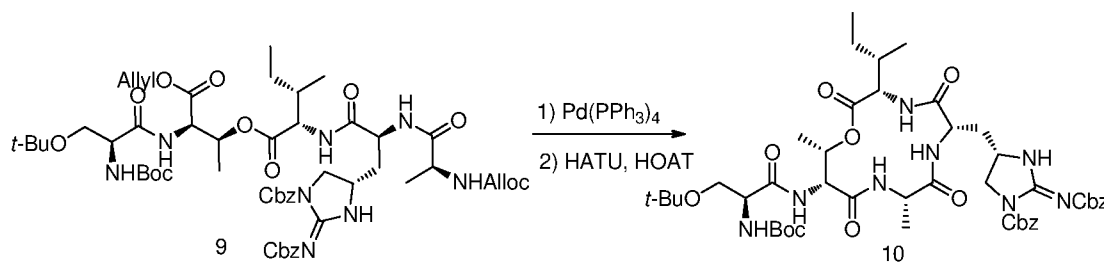
将化合物7置于圆底烧瓶中, 加入混合溶剂四氢呋喃/水 (3: 1), 加入氢氧化锂 (1.5 mmol), 室温搅拌3分钟, 加入稀盐酸淬灭反应, 加入乙酸乙酯萃取, 将溶剂旋干得到化合物8。

式9所示化合物的制备



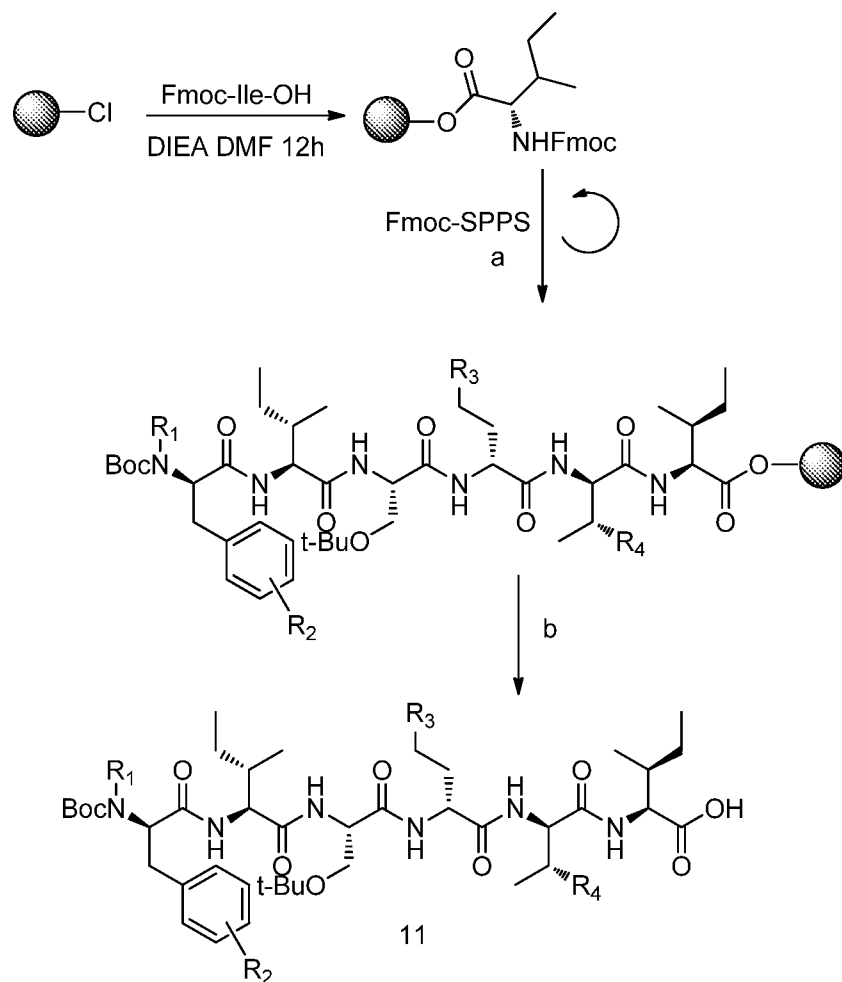
将化合物 6(1 mmol)、化合物 8(0.5 mmol)置于圆底烧瓶中, 加入四氢呋喃和 N,N-二甲基甲酰胺混合溶剂 5mL, 置于零下搅拌, 将 DEPBT (1 mmol)、DIEA (1 mmol) 加入到反应液中, 室温搅拌过夜, 加入稀盐酸淬灭反应。加入 100ml 二氯甲烷稀释反应液, 分别用碳酸氢钠, 氯化钠饱和水溶液洗涤, 减压蒸去二氯甲烷, 所得产品采用硅胶柱分离 (二氯甲烷: 甲醇/ 10: 1), 得式 9 所示化合物, 产率 58%。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.41-7.38 (m, 4H), 7.33-7.31 (m, 6H), 6.62-6.61 (m, 1H), 5.92-5.86 (m, 2H), 5.48 (s, 1H), 5.31 (s, 1H), 5.27-5.26 (m, 1H), 5.23-5.22 (m, 2H), 5.20-5.15 (m, 3H), 4.69-4.68 (m, 1H), 4.57 (s, 2H), 4.52 (s, 2H), 4.32 (s, 1H), 4.31-4.30 (m, 1H), 4.27-4.23 (m, 1H), 4.20-4.18 (m, 1H), 4.04-4.03 (m, 2H), 3.68-3.66 (m, 1H), 3.61-3.59 (m, 2H), 2.10 (s, 1H), 1.91-1.89 (m, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.37-1.35 (m, 3H), 1.26-1.25 (m, 3H), 1.17 (s, 9H), 0.91-0.90 (m, 6H). ¹³C NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 175.92, 173.75, 173.08, 171.28, 169.97, 158.19, 157.38, 152.55, 138.02, 136.85, 134.22, 132.90, 129.56-128.97 (m, 10C), 118.90, 117.60, 80.74, 74.65, 72.79, 69.22, 68.34, 67.25, 67.18, 66.93, 66.90, 66.87, 66.58, 63.23, 58.81, 56.71, 56.62, 56.36, 54.81, 52.31, 50.81, 38.57, 37.83, 28.71, 27.73, 25.93, 18.07, 17.21, 16.27, 16.02, 11.87.

式10所示化合物的制备



将式9所示化合物 (0.3 mmol)、四三苯基膦钯(0.06 mmol)、1, 3-二甲基巴比妥酸置于圆底烧瓶中, 加入二氯甲烷5ml, 室温搅拌2小时,待反应完成后, 加入混合溶剂至100毫升 (二氯甲烷: N,N-二甲基甲酰胺/4: 1), HATU(2-(7-氧化苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯-缩合剂(1 mmol)、HOAT (1-羟基-7-偶氮苯并三氮唑) (1 mmol)、DIEA(2 mmol) 加入到反应液中, 室温搅拌24小时, 洗涤, 减压蒸去二氯甲烷, 所得产品采用硅胶柱分离 (二氯甲烷: 甲醇 10 : 1), 得式10所示化合物。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.40-7.37 (m, 4H), 7.31-7.29 (m, 6H), 5.59-5.57 (m, 1H), 5.28-5.23 (m, 2H), 5.20-5.12 (m, 2H), 4.63-4.59 (m, 1H), 4.24-4.22 (d, J = 8.12 Hz, 1H), 4.14-4.11 (m, 2H), 4.09-4.05 (m, 2H), 3.67-3.61 (m, 3H), 3.31-3.30 (m, 2H), 2.16 (m, 1H), 2.07 (m, 1H), 1.73 (s, 1H), 1.45 (s, 9H), 4.42-1.40 (m, 3H), 1.32-1.30 (d, J = 6.52 Hz, 3H), 1.26-1.24 (m, 1H), 1.20 (s, 9H), 0.92-0.86 (m, 6H).

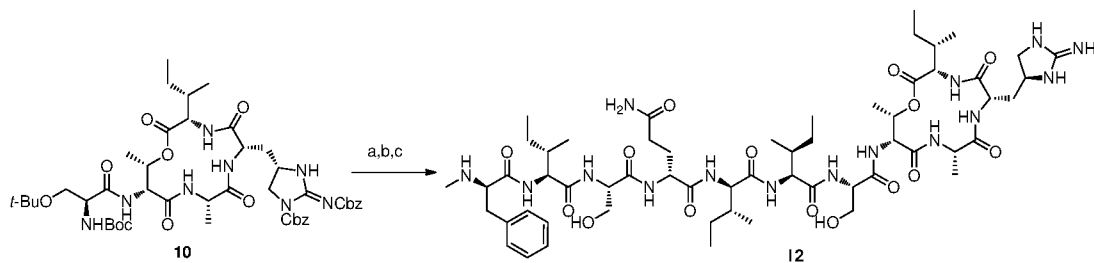
式11所示化合物的制备



(a) (i) piperidine, DMF; (ii) Fmoc-AA-OH, HATU, DIEA, DMF;;
 (b) TFE:DCM/1:4, 3h

按照多肽固相合成的方法, 将 2-Cl 树脂(0.5 mmol)置于固相合成管中, 加入二氯甲烷和 N,N-二甲基甲酰胺, 活化 20 min, 抽取溶剂, 将 Fmoc-L-异亮氨酸(5 mmol), DIEA(5mmol)溶解在 DMF 中加入反应仪器中, 搅拌 2h, 抽去溶剂, 用 20%哌啶溶液脱去 Fmoc 15min, 将 Fmoc-D-异亮氨酸 (1.5 mmol), HATU (1.5 mmol), DIEA(3 mmol)加入反应容器中, 室温搅拌 50min。接下来按照同样的方式条件, 将 N-Fmoc-N'-三苯甲基-D-谷氨酰胺、Fmoc-L-丝氨酸、Fmoc-L-异亮氨酸以及 Boc-D-4,4'-二苯基苯胺或 N-叔丁氧羰基-N-甲基-D-苯丙氨酸最末端的氨基酸接上去。最后将 25wt%三氟乙醇 (用二氯甲烷稀释) 加入反应管中, 室温搅拌 4h, 将溶剂旋干, 得到式 11 所示化合物。

10 式 (II) 所示化合物的制备



Conditions: a) 1.0 equiv. compound **10**, 3 M HCl in dioxane, 15 min; b) 1.2 equiv. compound **11**, 1.2 equiv. DEPBT, 1.2 equiv. DIEA, THF:DMF/1:1, 12 h, 60 %; c) TFA:TfOH:thioanisole: m-cresol (70:12:10:8 v/v/v/v).

将式10所示化合物（0.1 mmol）置于圆底烧瓶中，加入2M盐酸乙酸乙酯溶液5ml，室温搅拌20min，加入乙酸乙酯10ml稀释，加入饱和碳酸氢钠水溶液洗涤，有机相用无水硫酸钠干燥，减压蒸去乙酸乙酯溶剂，得到粗品中间体。再将化合物11（0.13mmol）置于圆底烧瓶中，加四氢呋喃和N,N-二甲基甲酰胺当混合溶剂4ml，置于冰水浴下，加入DEPBT（0.13 mmol），DIEA（0.13 mmol），待反应1小时后，置于室温下搅拌过夜。加入稀盐酸淬灭反应。加入10ml乙酸乙酯稀释反应液，氯化钠饱和水溶液洗涤，减压蒸去乙酸乙酯，所得产品采用硅胶柱分离（二氯甲烷：甲醇 10：1）。最后将混合溶剂（三氟乙酸：三氟甲烷磺酸：苯甲硫醚：间甲苯酚/70：12：10：8）加入圆底烧瓶中，将所有保护基脱除得到终产物12，

用氮气将溶剂吹干，加入冰乙醚沉淀，离心得到粗品，用反相HPLC分离后冷冻干燥。

最终化合物12的核磁结果如下表1所示。

表1:

	Teixobactin	阳性对照		Teixobactin	阳性对照
1	2.47(3H,brs)	2.47 (3H,brs)	29	4.37(1H,m)	4.37(1H,m)
2	4.23(1H, m)	4.23 (1H, m)	29-NH	7.90(1H,m)	7.90(1H,m)
2-NH	9.73,9.06 (2H, v br s)	9.66,9.05(2H, v br s)	30	1.83(1H,m)	1.83(1H,m)
3	2.96(1H, dd, 13, 10.3)	2.96(1H, dd, 13.04, 10.2)	31	0.89(3H,d,6.68)	0.89(3H,d,6.6)
	3.23(1H, dd,	3.22(1H, dd, 12.76, 4.8)	32	1.07(1H,m)	1.07(1H,m)
5,5'	7.23 (2H,m)	7.23 (2H,m)		1.44(1H,m)	1.44(1H,m)
6,6'	7.30(2H,m)	7.30(2H,m)	33	0.77(1H,m)	0.77(1H,m)
7	7.26(1H,m)	7.26(1H,m)	35	4.64(1H,m)	4.64(1H,m)
9	4.10(1H,t,7.3 6)	4.10(1H,t,7.68)	35-NH	9.01(1H,d,9.28)	9.01(1H,d,9.59)
9-NH	8.56(1H,d,8.	8.57(1H,d,8.08)	36	3.56(1H,m)	3.56(1H,m)

	48)				
10	1.55(1H, m)	1.55(1H, m)		3.87(1H,m)	3.87(1H,m)
11	0.55(3H,d,6.76)	0.55(3H,d,6.72)	38	4.70(1H,d,11.6)	4.71(1H,d,11.32)
12	0.74(1H, m)	0.74(1H, m)	38-NH	8.91(1H,d,10.08)	8.92(1H,d,9.92)
	1.06(1H, m)	1.06(1H, m)	39	5.38(1H,m)	5.38(1H,m)
13	0.63(3H,t,6.96)	0.63(3H,t,7.00)	40	1.05(3H,d,6.32)	10.5(3H,d,6.32)
15	4.32(1H, m)	4.32(1H, m)	42	3.89(1H,m)	3.89(1H,m)
15-N H	8.06(1H,d,7.76)	8.06(1H,d,7.92)	43	1.26(3H,d,7.32)	1.26(3H,d,7.36)
16	3.53(1H, m)	3.53(1H, m)	45	4.37(1H, m)	4.37(1H, m)
	3.62(1H, m)	3.62(1H, m)	45-NH	8.85(1H,d,10.2)	8.85(1H,d,10.28)
18	4.33(1H, m)	4.33(1H, m)	46	2.05(2H, m)	2.05(2H, m)
18-N H	7.98(1H, m)	7.98(1H, m)	47	3.82(1H, m)	3.82(1H, m)
19	1.70(1H, m)	1.70(1H, m)	47-NH	7.98(1H, m)	7.98(1H, m)
	1.88(1H, m)	1.88(1H, m)	48	3.45(1H,t,8.52)	3.45(1H,t,8.24)
20	2.07 (2H, m)	2.06 (2H, m)		3.60(1H, m)	3.60(1H, m)
21-N H2	6.77(1H, br s)	6.77(1H, br s)	48-NH	8.15(1H,d,4.76)	8.15(1H,d,5.16)
	7.25(1H, br s)	7.25(1H, br s)	49-NH	7.74(1H, m)	7.74(1H, m)
23	4.38(1H, m)	4.39(1H, m)	51	4.01(1H,t,9.76)	4.01(1H,t,9.84)
23-N H	7.77(1H, m)	7.76(1H,d,9.36)	51-NH	8.75(1H,d,9.96)	8.75(1H,d,9.76)
24	1.80(1H, m)	1.80(1H, m)	52	1.88(1H, m)	1.88(1H, m)
25	0.77(3H, m)	0.77 (3H, m)	53	0.78(3H, m)	0.78(3H, m)
26	1.07(1H, m)	1.07(1H, m)	54	1.15(1H, m)	1.15(1H, m)
	1.27(1H, m)	1.27(1H, m)		1.45(1H, m)	1.45(1H, m)

27	0.80(3H, m)	0.80(3H, m)	55	0.80(3H, m)	0.80(3H, m)
----	-------------	-------------	----	-------------	-------------

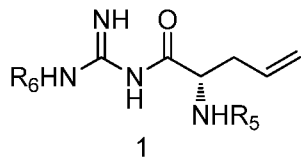
其中，左侧为化合物 12 Teixobactin 的核磁数据，右侧为阳性对照（positive control）。
¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm)由上述数据可知，所制备的化合物结构正确。

在本说明书的描述中，参考术语“一个实施例”、“一些实施例”、“示例”、“具体示
5 例”、或“一些示例”等的描述意指结合该实施例或示例描述的具体特征、结构、材料或者
特点包含于本发明的至少一个实施例或示例中。在本说明书中，对上述术语的示意性表述
不必须针对的是相同的实施例或示例。而且，描述的具体特征、结构、材料或者特点可以
在任一个或多个实施例或示例中以合适的方式结合。此外，在不相互矛盾的情况下，本领
域的技术人员可以将本说明书中描述的不同实施例或示例以及不同实施例或示例的特征进
10 行结合和组合。

尽管上面已经示出和描述了本发明的实施例，可以理解的是，上述实施例是示例性的，
不能理解为对本发明的限制，本领域的普通技术人员在本发明的范围内可以对上述实施例
进行变化、修改、替换和变型。

权利要求书

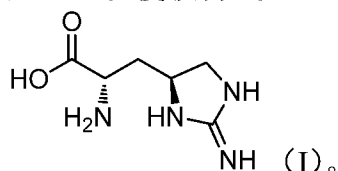
1、一种制备非天然氨基酸的方法，其特征在于，
将式（1）所示化合物进行氧化关环处理，



5 其中， R_5 独立地为 Fmoc、Boc、Phth、Cbz，

R_6 独立地为 H、Fmoc、Boc、Phth、Cbz。

2、根据权利要求 1 所述的方法，其特征在于，进一步包括将氧化关环处理产物进行脱保护处理，以便获得式（I）所示化合物，



10 3、根据权利要求 1 或 2 所述的方法，其特征在于，所述氧化关环处理是在氧化剂的条件下进行的；

任选地，所述氧化剂包括选自单质碘、NIS、碘苯二乙酸、NBS、戴斯-马丁氧化剂以及三价碘氧化剂的至少之一；

任选地，所述式（1）所示化合物与所述氧化剂的摩尔比为 1:（1-5），优选为 1:3；

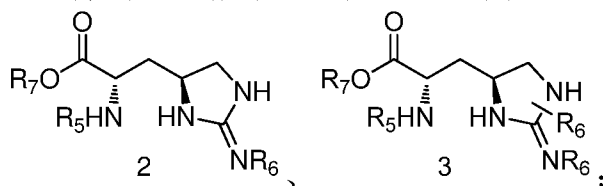
15 任选地，所述脱保护处理是在酸性条件下进行的；

任选地，所述酸性条件由 TFA/ H_2O 提供。

4、一种制备式（3）所示化合物的方法，其特征在于，

1）将式（1）所示化合物的氧化关环产物与 R_7OH 进行酯化反应，以便获得式（2）所示化合物，

20 2）将式（2）所示化合物进行上保护处理，以便获得式（3）所示化合物，



其中， R_7 为甲基、乙基、丙基；

任选地，所述酯化反应是在酸性条件下进行的；

任选地，所述酸性条件是甲酸或乙酸提供的；

25 任选地，所述上保护处理是在带有 R_6 基团的离去基团存在的条件下进行的；

任选地，所述带有 R_6 基团的离去基团为 Cbz-OSu 或 Fmoc-OSu；

任选地, 所述 R_5 与 R_6 不相同, 且 R_5 比 R_6 易脱除。

5、一种化合物, 其特征在于, 具有式 (3) 所示结构。

6、一种化合物, 其特征在于, 是通过权利要求 4 所述的方法获得的。

7、一种制备式 (II) 所示化合物或式 (II) 所示化合物的盐的方法, 其特征在于, 包括:

5 将权利要求 5 或 6 所述的化合物与数个氨基酸进行缩合处理, 以便获得式 (II) 所示化合物。

8、根据权利要求 7 所述的方法, 其特征在于, 所述 R^5 为 Fmoc 基团, 所述 R^6 为 Cbz 基团, 且连接在胍基的氮上, 所述 R^7 为甲基, 所述方法进一步包括:

1) 将权利要求 5 或 6 所述的化合物进行脱 Fmoc 基团处理;

10 2) 将步骤 1) 所得产物与 Alloc-Ala-OH 进行缩合反应, 以便得到式 (7) 所示化合物;

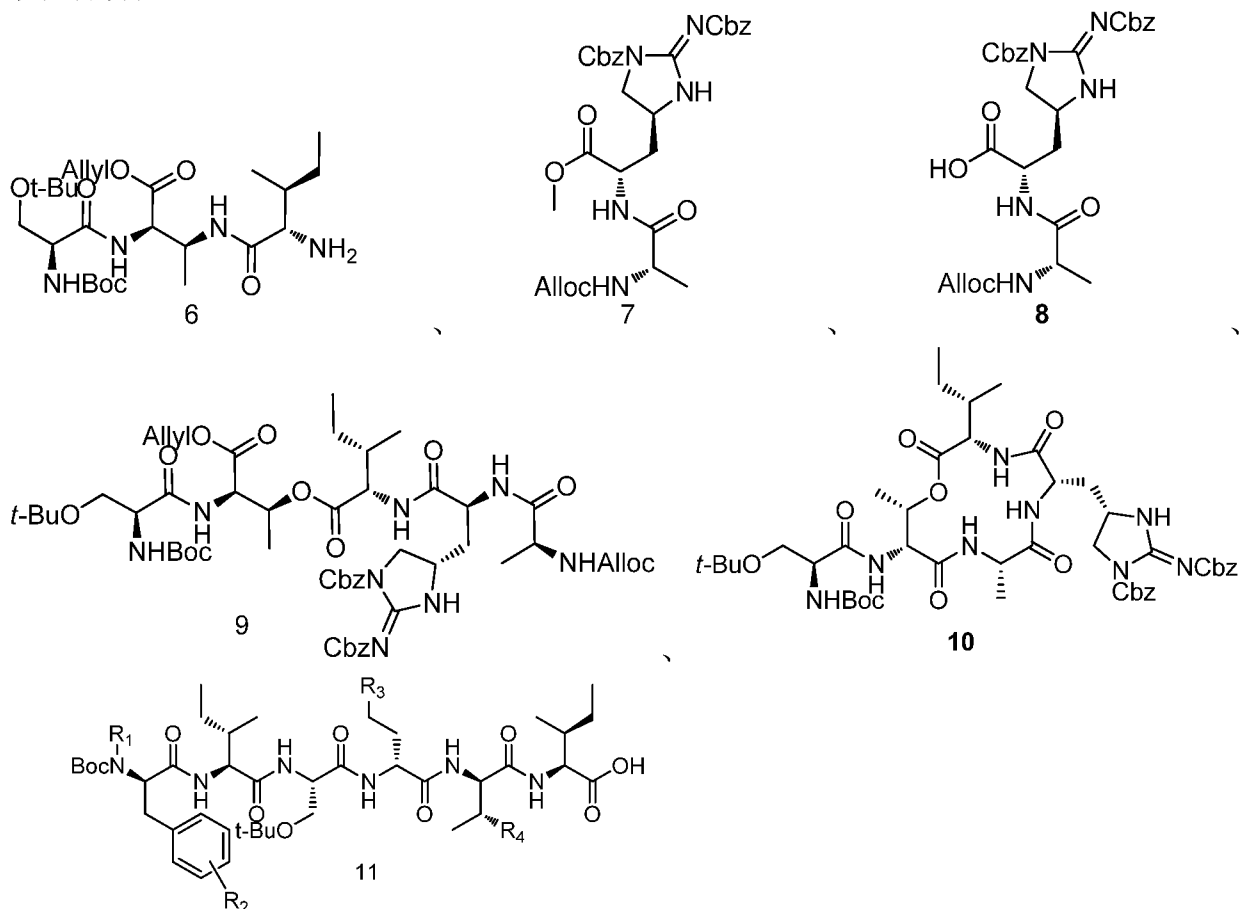
3) 将所述式 (7) 所示化合物进行水解处理, 以便获得式 (8) 所示化合物;

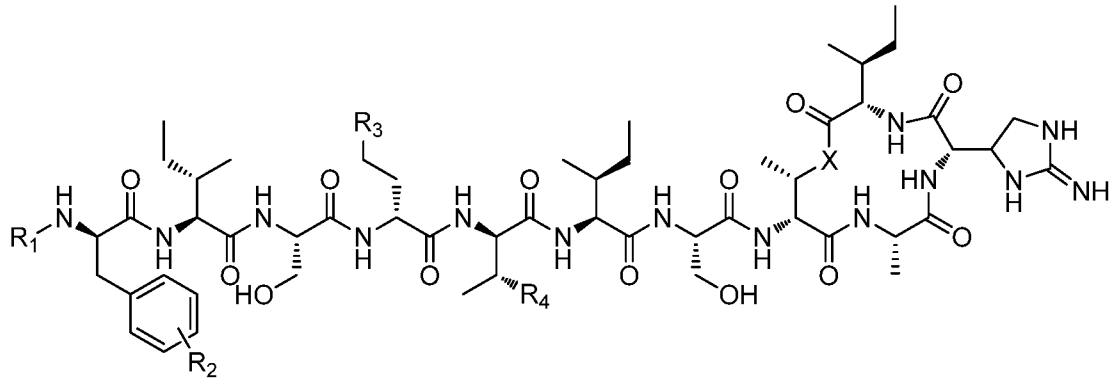
4) 将式 (6) 所示化合物与所述式 (8) 所示化合物进行缩合反应, 以便得到式 (9) 所示化合物;

5) 将所述式 (9) 所示化合物进行 Allyl 基团和 Alloc 基团脱除处理;

15 6) 将步骤 5) 脱除处理产物进行缩合处理, 以便得到式 (10) 所示化合物;

7) 将所述式 (10) 所示化合物与式 (11) 所示化合物进行缩合处理, 得到式 (II) 所示化合物;





其中, R_1 为氢、 C_{1-15} 烷基、 C_{2-15} 烯基、 C_{2-15} 炔基、 C_{6-10} 芳基或酰基;

R_2 为氢、卤素、 C_{1-15} 烷基、 C_{2-15} 烯基、 C_{2-15} 炔基、 C_{6-10} 芳基或酰基, 其中所述 C_{6-10} 芳基可任选被 1~5 个 R_x 取代;

5 R_x 为卤素、 C_{1-6} 烷基、卤代 C_{1-6} 烷基;

R_3 为氨基、胍基、脲基或甲酰胺基;

R_4 为 C_{1-15} 烷基、 C_{2-15} 烯基、 C_{2-15} 炔基、 C_{6-10} 芳基;

X 为 O、S 或 NH;

任选地, 所述步骤 7) 进一步包括:

10 7-1) 将所述式 (10) 所示化合物进行 Boc 基团脱除处理;

7-2) 步骤 7-1) 中得到的脱除 Boc 基团的化合物与式 (11) 化合物进行缩合反应;

7-3) 步骤 7-2) 中得到的缩合产物进行 Cbz 基团、t-Bu 基团以及 Boc 基团脱除处理, 以便获得式 (II) 所示化合物;

任选地, 所述步骤 7-1) 中的 Boc 基团脱除处理是在盐酸乙酸乙酯溶液的条件下进行

15 15~20min;

任选地, 所述盐酸乙酸乙酯溶液的浓度为 2M~3M;

任选地, 所述步骤 7-2) 中的缩合反应是在 DEPBT/DIEA 的条件下进行的;

任选地, 所述步骤 7-2) 中式 (10)、DEPBT、DIEA 的摩尔比为 1:1:1;

任选地, 所述步骤 7-3) 中的 Cbz 基团、t-Bu 基团以及 Boc 基团脱除处理是在三氟乙

20 酸、三氟甲烷磺酸、苯甲硫醚以及间甲苯酚的混合溶剂下进行的;

任选地, 所述三氟乙酸、三氟甲烷磺酸、苯甲硫醚以及间甲苯酚的体积比为 $(70 \pm 5):(12 \pm 5):(10 \pm 5):(8 \pm 5)$;

优选地, 所述三氟乙酸、三氟甲烷磺酸、苯甲硫醚以及间甲苯酚的体积比为 70:12:10:8;

任选地, 所述步骤 1) 中脱除 Fmoc 基团是在二乙胺的条件下进行的;

25 任选地, 所述步骤 2) 中的缩合反应是在缩合剂为 HATU/DIEA 或 PyAOP、溶剂为二氯甲烷和 DMF 的混合溶剂的条件下进行的;

任选地, 所述步骤 2) 中的权利要求 5 或 6 所示的化合物、Alloc-Ala-OH、HATU、DIEA

的摩尔比为 1:2:2:2;

任选地, 所述步骤 3) 中的水解反应是在四氢呋喃/水的混合溶剂、碱为 LiOH 的条件下进行的;

任选地, 所述式 (7) 所示化合物、LiOH 的摩尔比为 1:1.5;

5 任选地, 所述步骤 4) 中的缩合反应是在缩合剂为 DEPBT/DIEA、溶剂为 THF 和 DMF 的混合溶剂的条件下进行的;

任选地, 所述步骤 4) 中的式 (6) 所示化合物、式 (8) 所示化合物、DEPBT、DIEA 的摩尔比为 1:0.5:1:1;

10 任选地, 所述步骤 5) 中的脱除处理是在催化剂为四三苯基磷钨、在 1,3-二甲基巴比妥酸提供的酸性条件下进行的;

任选地, 所述步骤 5) 中式 (9) 所示化合物、四三苯基磷钨、1,3-二甲基巴比妥酸的摩尔比为 0.3:0.06:0.6;

任选地, 所述步骤 6) 中的缩合反应是在缩合剂为 HATU/HOAT/DIEA 或 PyAop 的条件下进行的;

15 任选地, 所述步骤 6) 中式 (9) 所示化合物、HATU、HOAT、DIEA 的摩尔比为 0.3:1:1:2;

任选地, 所述盐为盐酸盐、三氟乙酸盐、醋酸盐、磺酸盐;

任选地, R_1 为氢、 C_{1-10} 烷基、 C_{2-10} 烯基、 C_{2-10} 炔基、 C_{6-8} 芳基或酰基;

R_2 为氢、卤素、 C_{1-10} 烷基、 C_{2-10} 烯基、 C_{2-10} 炔基、 C_{6-8} 芳基或酰基, 其中所述 C_{6-8} 芳基可任选被 1~5 个 R_x 取代;

20 R_x 为卤素、 C_{1-6} 烷基、卤代 C_{1-6} 烷基;

R_4 为 C_{1-10} 烷基、 C_{2-10} 烯基、 C_{2-10} 炔基、 C_{6-8} 芳基;

任选地, R_1 为氢、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{6-7} 芳基或酰基;

R_2 为氢、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{6-7} 芳基或酰基, 其中所述 C_{6-7} 芳基或 C_{5-6} 杂芳基可任选被 1~3 个 R_x 取代;

25 R_x 为卤素、 C_{1-4} 烷基、卤代 C_{1-4} 烷基;

R_4 为 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{6-7} 芳基;

任选地, R_1 为氢、甲基、乙基、正丙基、异丙基、丁基、乙烯基、丙烯基、烯丙基、乙炔基、丙炔基、炔丙基、苯基、苄基或酰基;

30 R_2 为氢、卤素、甲基、乙基、正丙基、异丙基、丁基、乙烯基、丙烯基、烯丙基、乙炔基、丙炔基、炔丙基、苯基、苄基或酰基, 其中所述苯基或苄基可任选被 1~3 个 R_x 取代;

R_x 为卤素、甲基、乙基、正丙基、异丙基、丁基、一氟甲基、二氟甲基、三氟甲基;

R_4 为甲基、乙基、正丙基、异丙基、丁基、乙烯基、丙烯基、烯丙基、乙炔基、丙炔

基、炔丙基、苯基、苄基；

任选地，所述式（6）所示化合物是通过如下步骤获得的：

将式（5）所示化合物与 Fmoc-L-异亮氨酸进行酯化、氨解以及脱 Fmoc 基团反应，以便得到式（6）所示化合物；

5 任选地，所述酯化反应是在缩合剂为 EDCI、催化剂为 DMAP 的条件下进行的；

任选地，所述式（5）所示化合物、Fmoc-L-异亮氨酸、EDCI、DMAP 的摩尔比为 9:10:10:1；

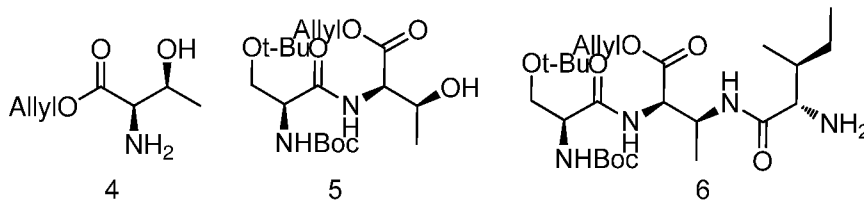
任选地，所述氨解以及脱 Fmoc 基团反应是在二乙胺溶液的条件下进行的；

任选地，所述二乙胺的浓度为 33%；

任选地，式（5）所示化合物是通过如下步骤获得的：

10 将式（4）所示化合物与 Boc-Ser(tBu)-OH 进行缩合反应，以便得到式（5）所示化合物；

任选地，所述缩合反应是在以二氯甲烷和 DMF 的混合溶剂中，以 HCTU/DIEA 为缩合剂的条件下进行的；



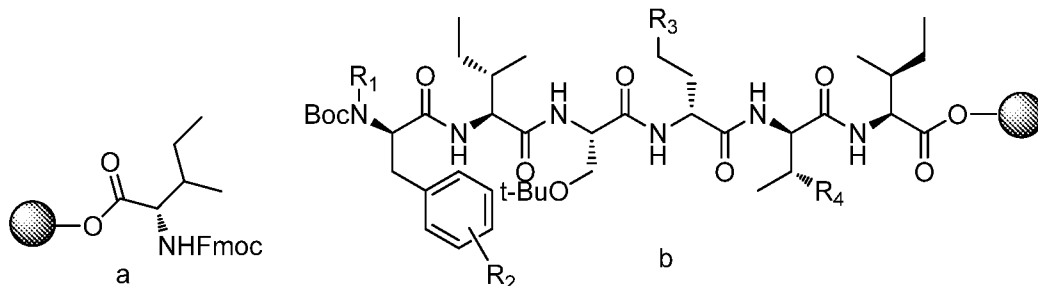
9、根据权利要求 8 所述的方法，其特征在于，式（11）所示化合物是通过固相合成方法获得的；

任选地，所述固相合成方法是通过如下步骤进行的：

A) 将 2-Cl 树脂和 Fmoc-L-异亮氨酸发生取代反应，以便得到式（a）所示化合物，其中圆圈表示树脂；

20 B) 将式（a）所示化合物依次与 N-Fmoc-N'-三苯甲基-D-谷氨酰胺、Fmoc-L-丝氨酸、Fmoc-L-异亮氨酸、Boc-D-4,4'-二苯基苯丙氨酸以及 N-叔丁氧羰基-N-甲基-D-苯丙氨酸中最末端的氨基酸发生缩合反应，以便得到式（b）所示的化合物；

C) 将式（b）所示的化合物进行脱树脂反应，以便得到式（11）所示的化合物；



10、根据权利要求 9 所述的方法，其特征在于，所述 2-Cl 树脂预先经过活化处理，所述活化处理是在二氯甲烷和 DMF 中进行 20min；

任选地，所述活化处理后、偶联反应前进一步包括抽取溶剂处理；

任选地，步骤 1) 中的偶联反应是在 DIEA 为缩合剂、DMF 为溶剂的条件下进行的；

任选地，步骤 2) 中的每一次缩合反应进行前需要预先将待缩合原料进行脱 Fmoc 处理，所述脱 Fmoc 处理是在哌啶溶液中进行的；

任选地，步骤 2) 中的缩合反应是在缩合剂为 HATU/DIEA、室温的条件下进行的。

5

10

15

20

25

30

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2019/101927

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K 1/04(2006.01)i; C07K 1/06(2006.01)i; C07D 233/46(2006.01)i; C07D 233/48(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K, C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS, DWPI, CNTXT, USTXT, EPTXT, CNKI, STN; 饶燧, 清华大学, 胍, 合环, 环合, 环化, 成环, 氧化, 碘, NIS, 碘苯二乙酸, NBS, 戴斯-马丁, 氨基酸, 抗生素, teixobactin, cyclolization, cycling, iodine, oxidation, oxidize, amino acid, antibiotic, Desmartin, Dess-Martin

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 107266531 A (PEKING UNIVERSITY SHENZHEN GRADUATE SCHOOL; SHENZHEN QIANYAN DRUG R & D TECHNOLOGY CO., LTD.) 20 October 2017 (2017-10-20) description, paragraphs [0033] and [0022]-[0030]	5-7
X	ATKINSON, Darcy J. et al. "Enduracididine, a Rare Amino Acid Component of Peptide Antibiotics: Natural Products and Synthesis" <i>Beilstein Journal of Organic Chemistry</i> , Vol. 12, 07 November 2016 (2016-11-07), pp. 2325-2342	4-6
PX	CN 109320590 A (TSINGHUA UNIVERSITY) 12 February 2019 (2019-02-12) entire description	1-10
A	CRAIG, William et al. "A Highly Stereoselective and Scalable Synthesis of L-allo-Enduracididine" <i>Organic Letters</i> , Vol. 17, 10 September 2015 (2015-09-10), pp. 4620-4623	1-10



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"D" document cited by the applicant in the international application

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

04 November 2019

Date of mailing of the international search report

21 November 2019

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing
100088
China

Authorized officer

Facsimile No. (86-10)62019451

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2019/101927

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2014089053 A1 (NOVOBIOTIC PHARMACEUTICALS, LLC) 12 June 2014 (2014-06-12) entire description	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2019/101927

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	107266531	A	20 October 2017	None			
CN	109320590	A	12 February 2019	None			
WO	2014089053	A1	12 June 2014	TW	201908332	A	01 March 2019
				US	2017121372	A1	04 May 2017
				AU	2013356246	B2	08 March 2018
				JP	2016505547	A	25 February 2016
				US	2015313960	A1	05 November 2015
				EP	2925772	B1	07 February 2018
				AU	2013356246	A1	28 May 2015
				JP	6335185	B2	30 May 2018
				US	2014194345	A1	10 July 2014
				EP	3301109	A1	04 April 2018
				ES	2667753	T3	14 May 2018
				US	9163065	B2	20 October 2015
				AU	2018204040	A1	21 June 2018
				EP	2925772	A1	07 October 2015
				TW	201428004	A	16 July 2014
				US	10414800	B2	17 September 2019
				JP	2018138589	A	06 September 2018
				HK	1215952	A1	30 September 2016
				US	9402878	B2	02 August 2016
				CA	2890933	A1	12 June 2014
				AR	093705	A1	17 June 2015

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2019/101927

A. 主题的分类 C07K 1/04(2006.01)i; C07K 1/06(2006.01)i; C07D 233/46(2006.01)i; C07D 233/48(2006.01)i 按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类																				
B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号) C07K, C07D 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用)) CNABS, DWPI, CNTXT, USTXT, EPTXT, CNKI, STN; 饶燊, 清华大学, 胍, 合环, 环合, 环化, 成环, 氧化, 碘, NIS, 碘苯二乙酸, NBS, 戴斯-马丁, 氨基酸, 抗生素, teixobactin, cyclolization, cyclizing, iodine, oxidation, oxidize, amino acid, antibiotic, Desmartin, Dess-Martin																				
C. 相关文件 <table border="1"> <thead> <tr> <th>类 型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>CN 107266531 A (北京大学深圳研究生院 深圳乾延药物研发科技有限公司) 2017年 10月 20日 (2017 - 10 - 20) 说明书第[0033], [0022]-[0030]段</td> <td>5-7</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>ATKINSON, Darcy J. et al. "Enduracididine, a rare amino acid component of peptide antibiotics: Natural products and synthesis" Beilstein Journal of Organic Chemistry, 第12卷, 2016年 11月 7日 (2016 - 11 - 07), 第2325-2342页</td> <td>4-6</td> </tr> <tr> <td>PX</td> <td>CN 109320590 A (清华大学) 2019年 2月 12日 (2019 - 02 - 12) 说明书全文</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CRAIG, William et al. "A highly Stereoselective and Scalable Synthesis of L-allo-Enduracididine" Organic Letters, 第17卷, 2015年 9月 10日 (2015 - 09 - 10), 第4620-4623页</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2014089053 A1 (NOVOBIO TIC PHARMACEUTICALS LLC) 2014年 6月 12日 (2014 - 06 - 12) 说明书全文</td> <td>1-10</td> </tr> </tbody> </table>			类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	X	CN 107266531 A (北京大学深圳研究生院 深圳乾延药物研发科技有限公司) 2017年 10月 20日 (2017 - 10 - 20) 说明书第[0033], [0022]-[0030]段	5-7	X	ATKINSON, Darcy J. et al. "Enduracididine, a rare amino acid component of peptide antibiotics: Natural products and synthesis" Beilstein Journal of Organic Chemistry, 第12卷, 2016年 11月 7日 (2016 - 11 - 07), 第2325-2342页	4-6	PX	CN 109320590 A (清华大学) 2019年 2月 12日 (2019 - 02 - 12) 说明书全文	1-10	A	CRAIG, William et al. "A highly Stereoselective and Scalable Synthesis of L-allo-Enduracididine" Organic Letters, 第17卷, 2015年 9月 10日 (2015 - 09 - 10), 第4620-4623页	1-10	A	WO 2014089053 A1 (NOVOBIO TIC PHARMACEUTICALS LLC) 2014年 6月 12日 (2014 - 06 - 12) 说明书全文	1-10
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																		
X	CN 107266531 A (北京大学深圳研究生院 深圳乾延药物研发科技有限公司) 2017年 10月 20日 (2017 - 10 - 20) 说明书第[0033], [0022]-[0030]段	5-7																		
X	ATKINSON, Darcy J. et al. "Enduracididine, a rare amino acid component of peptide antibiotics: Natural products and synthesis" Beilstein Journal of Organic Chemistry, 第12卷, 2016年 11月 7日 (2016 - 11 - 07), 第2325-2342页	4-6																		
PX	CN 109320590 A (清华大学) 2019年 2月 12日 (2019 - 02 - 12) 说明书全文	1-10																		
A	CRAIG, William et al. "A highly Stereoselective and Scalable Synthesis of L-allo-Enduracididine" Organic Letters, 第17卷, 2015年 9月 10日 (2015 - 09 - 10), 第4620-4623页	1-10																		
A	WO 2014089053 A1 (NOVOBIO TIC PHARMACEUTICALS LLC) 2014年 6月 12日 (2014 - 06 - 12) 说明书全文	1-10																		
☐ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。																				
* 引用文件的具体类型: "A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 "E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 "L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 "P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 "T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 "X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 "Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 "&" 同族专利的文件																				
国际检索实际完成的日期 2019年 11月 4日		国际检索报告邮寄日期 2019年 11月 21日																		
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451		授权官员 王一婷 电话号码 (86-10) 53962245																		

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2019/101927

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	107266531	A	2017年 10月 20日	无			
CN	109320590	A	2019年 2月 12日	无			
WO	2014089053	A1	2014年 6月 12日	TW	201908332	A	2019年 3月 1日
				US	2017121372	A1	2017年 5月 4日
				AU	2013356246	B2	2018年 3月 8日
				JP	2016505547	A	2016年 2月 25日
				US	2015313960	A1	2015年 11月 5日
				EP	2925772	B1	2018年 2月 7日
				AU	2013356246	A1	2015年 5月 28日
				JP	6335185	B2	2018年 5月 30日
				US	2014194345	A1	2014年 7月 10日
				EP	3301109	A1	2018年 4月 4日
				ES	2667753	T3	2018年 5月 14日
				US	9163065	B2	2015年 10月 20日
				AU	2018204040	A1	2018年 6月 21日
				EP	2925772	A1	2015年 10月 7日
				TW	201428004	A	2014年 7月 16日
				US	10414800	B2	2019年 9月 17日
				JP	2018138589	A	2018年 9月 6日
				HK	1215952	A1	2016年 9月 30日
				US	9402878	B2	2016年 8月 2日
				CA	2890933	A1	2014年 6月 12日
				AR	093705	A1	2015年 6月 17日