

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl<sup>7</sup>

A61K 31/195

C07C229/48 C07K 5/023



# [12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 96108880. X

[43] 授权公告日 2003 年 7 月 23 日

[11] 授权公告号 CN 1115145C

[22] 申请日 1996. 7. 19 [21] 申请号 96108880. X

[30] 优先权

[32] 1995. 7. 19 [33] DE [31] 19526274. 3

[71] 专利权人 拜尔公司

地址 联邦德国莱沃库森

[72] 发明人 M·马茨克 H·C·米利泽

J·米滕多夫 F·库尼什

A·施米特 W·舍恩费尔德

K·齐格包尔

[56] 参考文献

CN1080634A 1994. 01. 12 C07C229/48

US5037809 1991. 08. 06 A61K31/195

审查员 瞿卫军

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 王景朝 田舍人

权利要求书 1 页 说明书 21 页

[54] 发明名称 药理活性  $\beta$  -氨基酸的可耐受性的改进

[57] 摘要

本发明涉及  $\alpha$  -氨基酸和/或其衍生物和环戊烷 -  $\beta$  -氨基酸和/或其衍生物的混合物、上述的  $\alpha$  -氨基酸和环戊烷 -  $\beta$  -氨基酸的二肽和上述的混合物和二肽的混合物；与纯的环戊烷 -  $\beta$  -氨基酸相比较，它们在温血动物中具有改善的可耐受性。

ISSN 1008-4274

1. 一种包含 $\alpha$ -氨基酸和环戊烷- $\beta$ -氨基酸，或其盐，以及一种可  
药用载体的抗菌混合物，所述 $\alpha$ -氨基酸和环戊烷- $\beta$ -氨基酸选自(S)-  
5 异亮氨酸与2-氨基-4-亚甲基环戊烷-1-羧酸，(S)-丙氨酸与2-氨基-4-亚  
甲基环戊烷-1-羧酸和(S)-脯氨酸与1,2-顺-氨基环戊烷-1-羧酸。

2. 按照权利要求1的混合物，其中所述 $\alpha$ -氨基酸和环戊烷- $\beta$ -  
氨基酸分别是(S)-异亮氨酸和2-氨基-4-亚甲基环戊烷-1-羧酸。

3. 按照权利要求1或2的混合物在制备用于治疗患者微生物感染  
10 的药物中的用途。

4. 按照权利要求3的用途，其中所述的微生物感染是真菌病。

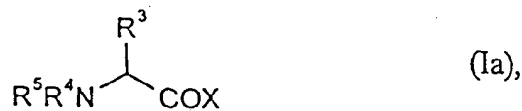
药理活性β-氨基酸的可耐受性的改进

5 由EP-A-571870、DOS 4302155、JP 02174753 A2和J. Antibiot. (1991), 44 (5), 546-9 中得知环戊烷-β-氨基酸和环戊烯-β-氨基酸。这样的β-氨基酸具有抗微生物、特别是抗霉菌作用。然而它们有副作用。

10 现已令人惊异地发现：α-氨基酸和/或其衍生物与环戊烷-β-氨基酸和/或其衍生物的混合物、来自上述α-氨基酸和上述环戊烷-β-氨基酸的二肽和上述混合物与上述二肽的混合物没有不合需要的副作用或者副作用较小，因此在温血动物中的可耐受性得到改善。

15 因此，本发明涉及包含一种或多种α-氨基酸和/或其衍生物和一种或多种环戊烷-β-氨基酸和/或其衍生物的混合物。术语“衍生物”包括衍生自相应的氨基酸并具有类似的作用的那些化合物，特别是相应的盐。

适宜于本发明混合物的α-氨基酸优选通式(Ia)α-氨基酸



20 式中

R<sup>3</sup> 代表具有 3-8 个碳原子的环烷基，或代表具有 6-10 个碳原子的芳基或氢或代表具有至多 8 个碳原子的直链或支链烷基，其中所述烷基可任选地被氟基、甲硫基、羟基、巯基、胍基或者式 -NR<sup>7</sup>R<sup>8</sup> 或 R<sup>9</sup>-OC- 基团取代，

25 式中

R<sup>7</sup> 和 R<sup>8</sup> 相互独立地代表氢、具有至多 8 个碳原子的直链或支链烷基或苯基，

和

$R^9$  代表羟基、苄氧基、具有至多 6 个碳原子的烷氧基或上述的基团  $-NR^7R^8$ ,

5 或者所述烷基可任选地被具有 3-8 个碳原子的环烷基或具有 6-10 个碳原子的芳基取代, 所述环烷基或芳基又被羟基、卤素、硝基、具有至多 8 个碳原子的烷氧基或基团  $-NR^7R^8$  取代, 式中  $R^7$  和  $R^8$  的定义同上,

$R^4$  和  $R^5$  代表氢,

或者

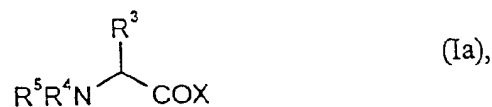
10  $R^3$  和  $R^4$  一起形成式  $-(CH_2)_3-$  基团,

$R^5$  代表氢,

和

$X$  代表羟基、具有 6-10 个碳原子的芳氧基、具有至多 6 个碳原子的烷氧基或基团  $-NR^7R^8$ , 式中  $R^7$  和  $R^8$  的定义同上。

15 特别适宜的  $\alpha$ -氨基酸是通式 (Ia)  $\alpha$ -氨基酸:



式中

20  $R^3$  代表具有至多 6 个碳原子的直链或支链烷基, 该烷基可任选地被羟基或苯基取代, 所述苯基又可被羟基取代,

$R^4$  和  $R^5$  代表氢,

或者

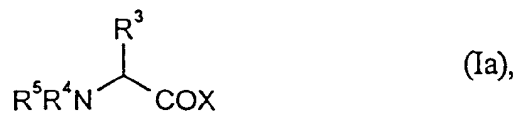
$R^3$  和  $R^4$  一起形成式  $-(CH_2)_3-$  基团,

$R^5$  代表氢,

25 和

$X$  代表羟基。

更适宜的  $\alpha$ -氨基酸是通式 (Ia)  $\alpha$ -氨基酸:



式中

$\text{R}^3$  代表甲基, 或代表式  $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$  基团,

5  $\text{R}^4$  和  $\text{R}^5$  代表氢,

或者

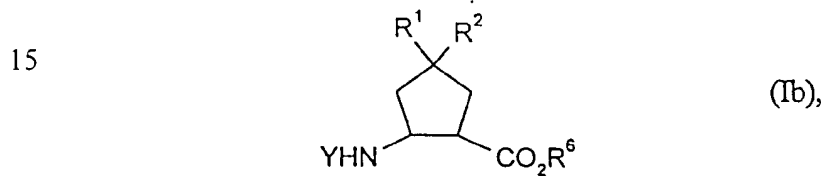
$\text{R}^3$  和  $\text{R}^4$  一起形成式  $-(\text{CH}_2)_3-$  基团,

$\text{R}^5$  代表氢, 和

$\text{X}$  代表羟基。

10 可提及的这样的  $\alpha$ -氨基酸的实例是: (S)-异亮氨酸, (S)-丙氨酸和 (S)-脯氨酸。

适宜于本发明混合物的环戊烷  $\beta$ -氨基酸优选通式 (Ib) 环戊烷  $\beta$ -氨基酸



式中

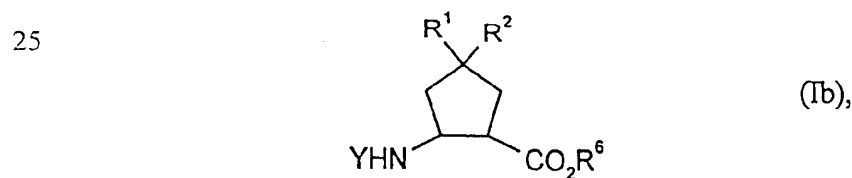
$\text{R}^1$  和  $\text{R}^2$  代表氢, 或者  $\text{R}^1$  和  $\text{R}^2$  一起形成式  $=\text{CH}_2$  基团,

20  $\text{R}^6$  代表氢, 或代表具有至多 8 个碳原子的直链或支链烷基或苯基,

和

$\text{Y}$  代表氢, 具有至多 8 个碳原子的直链或支链烷基或芳基。

特别适宜的环戊烷  $\beta$ -氨基酸是通式 (Ib) 环戊烷  $\beta$ -氨基酸:



式中

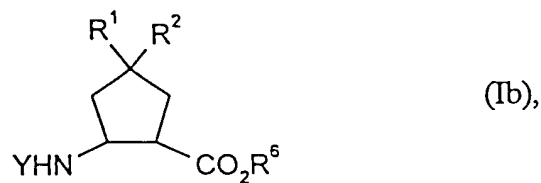
$R^1$  和  $R^2$  代表氢, 或者  $R^1$  和  $R^2$  一起形成式  $=CH_2$  基团,

$R^6$  代表氢, 或代表具有至多 6 个碳原子的直链或支链烷基或苯基,

和

5 Y 代表氢。

更适宜的环戊烷  $\beta$ -氨基酸是通式(Ib)环戊烷  $\beta$ -氨基酸:



式中

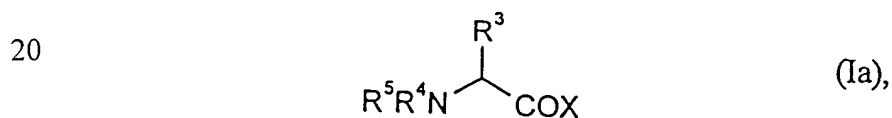
$R^1$  和  $R^2$  代表氢, 或者  $R^1$  和  $R^2$  一起形成式  $=CH_2$  基团,

$R^6$  代表氢, 和

Y 代表氢。

15 可提及的这样的环戊烷- $\beta$ -氨基酸的实例是: 2-氨基-4-亚甲基环戊烷-1-羧酸和 1,2-顺-氨基环戊烷-1-羧酸。

优选的本发明混合物包含通式(Ia)  $\alpha$ -氨基酸和通式(Ib)环戊烷- $\beta$ -氨基酸, 所述通式(Ia)如下:



式中

$R^3$  代表具有 3-8 个碳原子的环烷基, 或代表具有 6-10 个碳原子的芳基或氢, 或代表具有至多 8 个碳原子的直链或支链烷基,

25 其中所述烷基可任选地被氰基、甲硫基、羟基、巯基、胍基或者式  $-NR^7R^8$  或  $R^9-OC-$  基团取代,

式中

$R^7$  和  $R^8$  相互独立地代表氢、具有至多 8 个碳原子的直链或支链烷

基或苯基,

和

$R^9$  代表羟基、苄氧基、具有至多 6 个碳原子的烷氧基或上述的基团  $-NR^7R^8$ ,

5 或者所述烷基可任选地被具有 3-8 个碳原子的环烷基或具有 6-10 个碳原子的芳基取代, 所述环烷基或芳基又被羟基、卤素、硝基、具有至多 8 个碳原子的烷氧基或基团  $-NR^7R^8$  取代, 式中  $R^7$  和  $R^8$  的定义同上,

$R^4$  和  $R^5$  代表氢,

10 或者

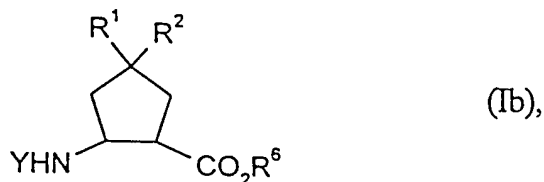
$R^3$  和  $R^4$  一起形成式  $-(CH_2)_3-$  基团,

$R^5$  代表氢,

和

15  $X$  代表羟基、具有 6-10 个碳原子的芳氧基、具有至多 6 个碳原子的烷氧基或基团  $-NR^7R^8$ , 式中  $R^7$  和  $R^8$  的定义同上;

所述通式(Ib)如下:



20

式中

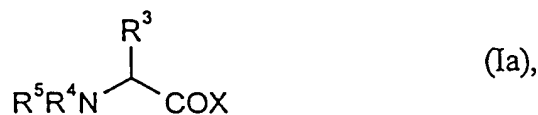
$R^1$  和  $R^2$  代表氢, 或者  $R^1$  和  $R^2$  一起形成式  $=CH_2$  基团,

$R^6$  代表氢, 或代表具有至多 8 个碳原子的直链或支链烷基或苯基,

和

25  $Y$  代表氢、具有至多 8 个碳原子的直链或支链烷基或芳基。

特别优选的本发明混合物包含通式(Ia)  $\alpha$ -氨基酸和通式(Ib)环戊烷- $\beta$ -氨基酸, 所述通式(Ia)如下:



式中

$\text{R}^3$  代表具有至多 6 个碳原子的直链或支链烷基, 该烷基可任选地被羟  
5 基或苯基取代, 所述苯基又可被羟基取代,

$\text{R}^4$  和  $\text{R}^5$  代表氢,

或者

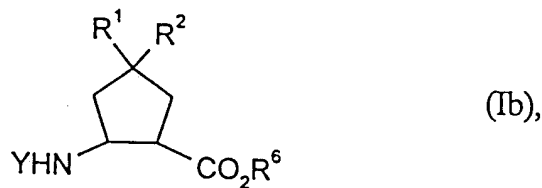
$\text{R}^3$  和  $\text{R}^4$  一起形成式  $-(\text{CH}_2)_3-$  基团,

$\text{R}^5$  代表氢,

10 和

X 代表羟基;

所述通式(Ib)如下:



15

式中

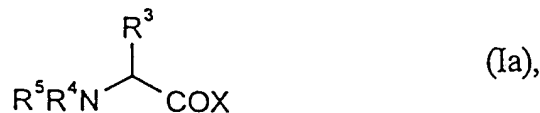
$\text{R}^1$  和  $\text{R}^2$  代表氢, 或者  $\text{R}^1$  和  $\text{R}^2$  一起形成式  $=\text{CH}_2$  基团,

$\text{R}^6$  代表氢, 或代表具有至多 6 个碳原子的直链或支链烷基或苯基, 和

20

Y 代表氢。

更优选的混合物包含通式(Ia)  $\alpha$ -氨基酸和通式(Ib)环戊烷- $\beta$ -氨基  
酸, 所述通式(Ia)如下:



25

式中

$\text{R}^3$  代表甲基, 或代表式  $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$  基团,

$\text{R}^4$  和  $\text{R}^5$  代表氢,

或者

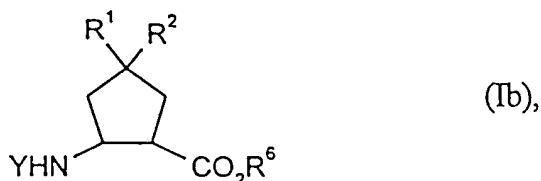
$R^3$  和  $R^4$  一起形成式  $-(CH_2)_3-$  基团,

$R^5$  代表氢, 和

X 代表羟基;

所述通式(Ib)如下:

5



式中

10  $R^1$  和  $R^2$  代表氢, 或者  $R^1$  和  $R^2$  一起形成式  $=CH_2$  基团,

$R^6$  代表氢, 和

Y 代表氢。

可提及的这样的本发明混合物的实例是: (S)-异亮氨酸与 2-氨基-4-亚甲基环戊烷-1-羧酸的混合物, (S)-丙氨酸与 2-氨基-4-亚甲基环戊烷-1-羧酸的混合物或(S)-脯氨酸与 1,2-顺-氨基环戊烷-1-羧酸的混合物。

15

在混合物的情况下,  $\alpha$ -氨基酸和/或其衍生物与环戊烷- $\beta$ -氨基酸和/或其衍生物的摩尔混合比在 1:99 至 99:1 范围内, 优选在 1:10 至 10:1 范围内, 特别优选在 1:5 至 5:1 范围内, 更优选在 1:3 至 3:1 范围内。

20 本发明混合物通常通过将优选的细粉状各组分混合来获得。

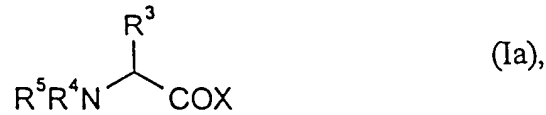
本发明还涉及含有  $\alpha$ -氨基酸或其衍生物和环戊烷- $\beta$ -氨基酸或其衍生物的二肽。

适宜于本发明二肽的  $\alpha$ -氨基酸优选在上面描述本发明混合物时所述的通式(Ia)  $\alpha$ -氨基酸, 其中在式(Ia)中的 X 代表所述  $\alpha$ -氨基酸与

25 所述环戊烷- $\beta$ -氨基酸结合的共价键部分。

适宜于本发明二肽的环戊烷- $\beta$ -氨基酸优选在上面描述本发明混合物时所述的通式(Ib)环戊烷- $\beta$ -氨基酸, 其中在式(Ib)中的 Y 代表所述  $\alpha$ -氨基酸与

本发明涉及含有通式(Ia)  $\alpha$ -氨基酸和通式(Ib)环戊烷- $\beta$ -氨基酸的优选的二肽, 所述通式(Ia)如下:



5

式中

$\text{R}^3$  代表具有 3-8 个碳原子的环烷基, 或代表具有 6-10 个碳原子的芳基或氢, 或代表具有至多 8 个碳原子的直链或支链烷基,

其中所述烷基可任选地被氨基、甲硫基、羟基、巯基、胍基或者式  
10  $-\text{NR}^7\text{R}^8$  或

$\text{R}^9$ -OC-基团取代,

式中

$\text{R}^7$  和  $\text{R}^8$  相互独立地代表氢、具有至多 8 个碳原子的直链或支链烷基或苯基,

15

和

$\text{R}^9$  代表羟基、苄氧基、具有至多 6 个碳原子的烷氧基或上述的基团  
 $-\text{NR}^7\text{R}^8$ ,

或者所述烷基可任选地被具有 3-8 个碳原子的环烷基或具有 6-10  
个碳原子的芳基取代, 所述环烷基或芳基又被羟基、卤素、硝基、  
20 具有至多 8 个碳原子的烷氧基或基团  $-\text{NR}^7\text{R}^8$  取代, 式中  $\text{R}^7$  和  $\text{R}^8$   
的定义同上,

$\text{R}^4$  和  $\text{R}^5$  代表氢,

或者

$\text{R}^3$  和  $\text{R}^4$  一起形成式  $-(\text{CH}_2)_3$ -基团,

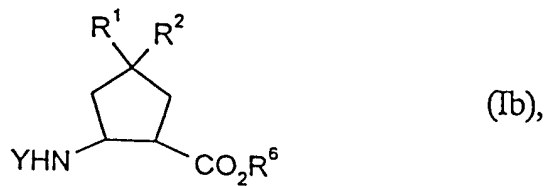
25

$\text{R}^5$  代表氢,

和

X 代表所述  $\alpha$ -氨基酸与所述环戊烷- $\beta$ -氨基酸结合的共价键部分;

所述通式(Ib)如下:



式中

- 5  $R^1$  和  $R^2$  代表氢, 或者  $R^1$  和  $R^2$  一起形成式  $=CH_2$  基团,  
 $R^6$  代表氢, 或代表具有至多 8 个碳原子的直链或支链烷基或苯基,  
 和

Y 代表所述  $\alpha$ -氨基酸与所述环戊烷- $\beta$ -氨基酸结合的共价键部分。

- 10 特别优选的二肽含有取代基如下定义的通式 (Ia)  $\alpha$ -氨基酸和通式  
 (Ib) 环戊烷- $\beta$ -氨基酸;

在所述通式 (Ia) 中

$R^3$  代表具有至多 6 个碳原子的直链或支链烷基, 该烷基可任选地被羟  
 基或苯基取代, 所述苯基又可被羟基取代,

$R^4$  和  $R^5$  代表氢,

- 15 或者  
 $R^3$  和  $R^4$  一起形成式  $-(CH_2)_3-$  基团,

$R^5$  代表氢,

和

X 代表所述  $\alpha$ -氨基酸与所述环戊烷- $\beta$ -氨基酸结合的共价键部分;

- 20 在所述通式 (Ib) 中:

$R^1$  和  $R^2$  代表氢, 或者  $R^1$  和  $R^2$  一起形成式  $=CH_2$  基团,

$R^6$  代表氢, 或代表具有至多 6 个碳原子的直链或支链烷基或苯基, 和

Y 代表所述  $\alpha$ -氨基酸与所述环戊烷- $\beta$ -氨基酸结合的共价键部分。

- 25 更优选的二肽含有取代基如下定义的通式 (Ia)  $\alpha$ -氨基酸和通式 (Ib)  
 环戊烷- $\beta$ -氨基酸;

在所述通式 (Ia) 式中:

$R^3$  代表甲基, 或代表式  $-CH(CH_3)CH_2CH_3$  基团,

$R^4$  和  $R^5$  代表氢,

或者

$R^3$  和  $R^4$  一起形成式  $-(CH_2)_3-$  基团,

$R^5$  代表氢, 和

X 代表所述  $\alpha$ -氨基酸与所述环戊烷- $\beta$ -氨基酸结合的共价键部分;

5 在所述通式(Ib)中:

$R^1$  和  $R^2$  代表氢, 或者  $R^1$  和  $R^2$  一起形成式  $=CH_2$  基团,

$R^6$  代表氢, 和

Y 代表所述  $\alpha$ -氨基酸与所述环戊烷- $\beta$ -氨基酸结合的共价键部分。

10 下列二肽是特别优选的: 1,2-顺-2-(S)-异亮氨酰基氨基-4-亚甲基环戊烷-1-羧酸和 1,2-顺-2-(S)-丙氨酰基氨基-4-亚甲基环戊烷-1-羧酸。

本发明混合物和二肽可以包含基本纯的立体异构体或立体异构体的混合物。

上面所述的  $\alpha$ -氨基酸、环戊烷- $\beta$ -氨基酸和二肽还可以以其盐的形式存在。这里一般可以提及与有机或无机碱或酸形成的盐和内盐。

15 可使用的酸最好包括氢卤酸例如氢氟酸和氢溴酸, 特别优选氢氟酸, 此外还包括磷酸, 硝酸, 硫酸, 单和双官能羧酸和羟基羧酸, 例如乙酸、马来酸、丙二酸、草酸、葡糖酸、琥珀酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、水杨酸、山梨酸和乳酸, 和磺酸, 例如对甲苯磺酸盐、1,5-萘二磺酸或樟脑磺酸。

20 生理上可接受的盐还可以是具有游离羧基的本发明化合物的金属盐或铵盐。特别优选的盐是例如钠盐、钾盐、镁盐或钙盐, 还有衍生自氨或有机胺的铵盐, 所述有机胺有例如乙胺、二或三乙胺、二或三乙醇胺、二环己胺、二甲氨基乙醇、精氨酸、赖氨酸、乙二胺或苯乙胺。

25 本发明混合物和二肽可以立体异构形式例如以镜像(对映体)或非镜像(非对映体)形式存在, 或者可以非对映体混合物或者纯的顺式或反式异构体形式存在。本发明既涉及对映体、外消旋体和非对映体混合物, 也涉及纯的异构体。外消旋体象非对映体一样, 可用已知方法

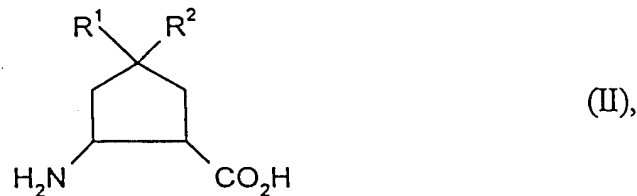
分离成立体异构单一的成分。分离成立体异构单一的化合物这一操作可利用非对映的酯和酰胺来进行，或在光活性相上进行。还可以利用非对映盐的结晶。

5 在本发明中，由基团( $R^5R^4-N-CHR^3-CO-$ )定义的氨基酸基团是 L-氨基酸。

本发明还涉及本发明二肽的制备方法。

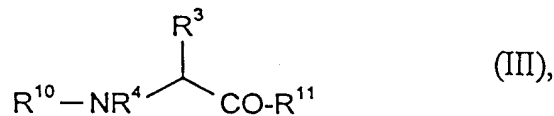
这些二肽可用包括下述步骤的方法来制备：首先使通式(II)化合物通过与通式(III)保护的氨基酸在溶剂中并在碱存在下反应，而将其转化成通式(IV)化合物，所述通式(II)、(III)和(IV)如下：

10



式中  $R^1$  和  $R^2$  的定义同上，

15



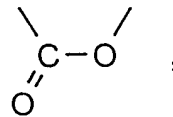
式中

$R^3$  和  $R^4$  的定义同上，

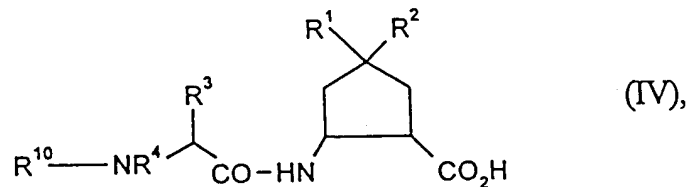
$R^{10}$  代表氨基保护基团，和

20  $R^{11}$  代表在肽化学中常规的活性保护基团，优选羟基琥珀酰亚胺酯基团，或者

$R^{10}$  和  $R^{11}$  一起代表基团



25

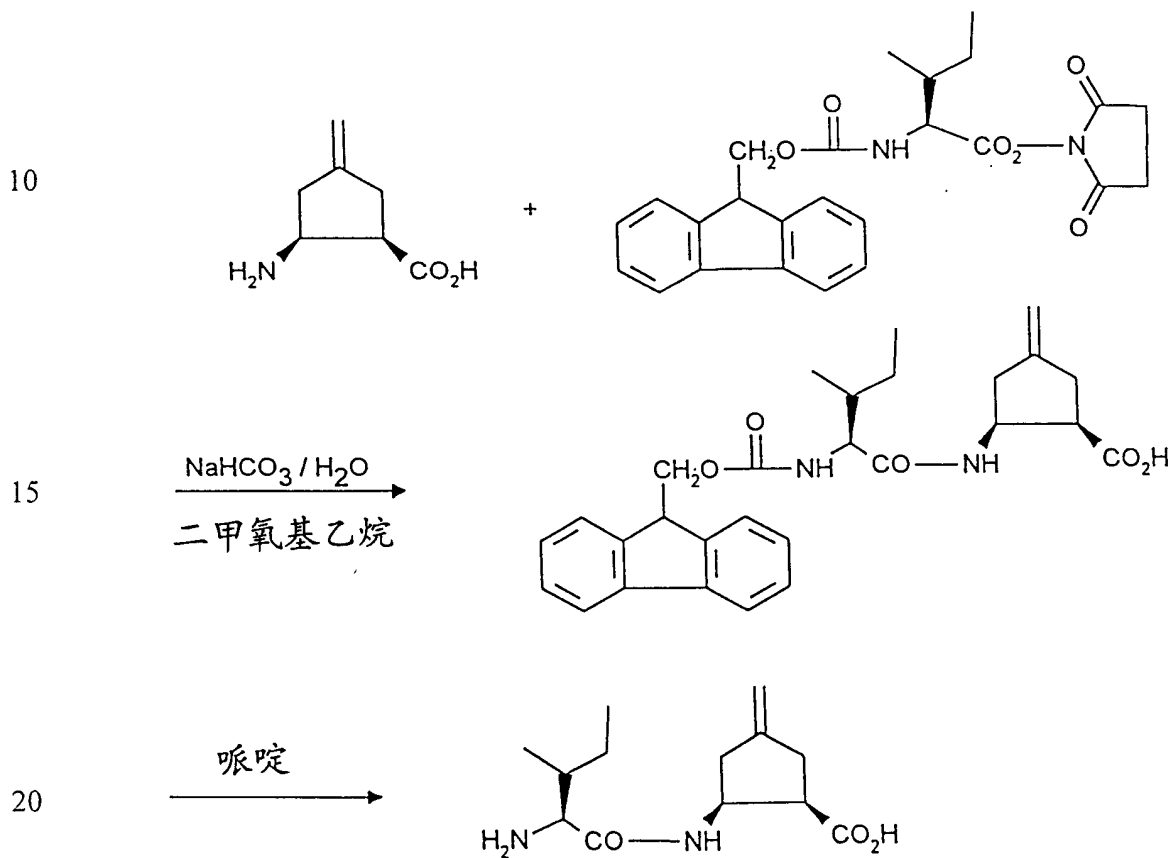


式中  $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$  和  $R^{10}$  的定义同上；

和，最后，将氨基保护基团( $R^{10}$ )裂解，若合适，将立体异构体分离，而且，在酯(在式(Ib)中  $R^6 \neq H$ )的情况下，将该酸用常规方法与相应的醇反应。

5 若合适，将二肽用常规方法转化成盐。

按照本发明的方法可用下面的反应式举例说明：

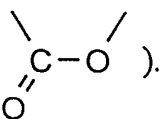


在本发明中的氨基保护基团( $R^{10}$ )是在肽化学中所用的常规的氨基保护基团。

25 所述氨基保护基团最好包括苄氧基羰基，3,4-二甲氧基苄氧基羰基，3,5-二甲氧基苄氧基羰基，2,4-二甲氧基苄氧基羰基，4-甲氧基苄氧基羰基，4-硝基苄氧基羰基，2-硝基苄氧基羰基，2-硝基-4,5-二甲氧基苄氧基羰基，甲氧基羰基，乙氧基羰基，叔丁氧基羰基，烯丙

氧基羰基, 乙烯氧基羰基, 3,4,5-三甲氧基苄氧基羰基, 邻苯二甲酰基, 2,2,2-三氯乙氧基羰基, 2,2,2-三氯叔丁氧基羰基, 盖氧基羰基, 4-硝基苄氧基羰基, 苄基-9-甲氧基羰基 (Fmoc), 甲酰基, 乙酰基, 丙酰基, 新戊酰基, 2-氯乙酰基, 2-溴乙酰基, 2,2,2-三氯乙酰基, 2,2,2-三氯乙酰基, 苯甲酰基, 苄基, 4-氯苄甲酰基, 4-溴苄甲酰基, 4-硝基苄甲酰基, 苯二酰亚氨基, 异戊酰基或苄氧基亚甲基, 4-硝基苄基, 2,4-二硝基苄基, 4-硝基苄基或2-硝基苄基亚磺酰基。Fmoc基团是特别优选的。

适宜的活性羧基基团( $R^{11}$ )一般是与下述物质的加合物: 碳化二亚胺, 例如  $N,N'$ -二乙基、 $N,N'$ -二异丙基或  $N,N'$ -二环己基碳化二亚胺,  $N$ -(3-二甲氨基异丙基)- $N'$ -乙基碳化二亚胺盐酸盐或  $N$ -环己基- $N'$ -(2-吗啉代乙基)碳化二亚胺 metho-对甲苯磺酸盐, 或羰基化合物, 例如碳酰二咪唑, 或1,2-咪唑啉化合物, 例如2-乙基-5-苄基-1,2-咪唑啉-3-磺酸盐或2-叔丁基-5-甲基异咪唑啉高氯酸盐, 或酰氨基化合物, 例如2-乙氧基-1-乙氧基羰基-1,2-二氢喹啉, 或丙烷膦酸酐, 或氯甲酸异丁酯, 或六氟磷酸苯并三唑基氧基-三(二甲氨基)磷, 1-羟基苯并三唑或羟基琥珀酰亚胺酯。此外,  $\alpha$ -氨基酸成分还可以以 Leuch 酐(式(III))

中的  $R^{10}$  和  $R^{11}$  一起代表基团 .

优选羟基琥珀酰亚胺酯。

适宜的溶剂是在反应条件下不变化的常规有机溶剂, 最好包括醚类, 例如乙醚、二氧六环、四氢呋喃、乙二醇二甲醚或二甲氧基乙烷, 或烃类, 例如苯、甲苯、二甲苯、己烷或环己烷, 或石油馏份, 或二甲基甲酰胺。也可以使用所述溶剂的混合物。四氢呋喃、乙醚和二甲氧基乙烷是优选的。还可以使用水或上述溶剂与水的混合物。

此外, 例如还可以使用碱金属碳酸盐, 例如碳酸钠或碳酸钾, 或者碳酸氢钠或碳酸氢钾, 或有机碱, 例如三烷基胺类例如三乙胺、乙

基二异丙基胺、N-乙基吗啉、N-甲基哌啶或N-甲基吗啉。N-甲基吗啉是优选的。

助剂和碱的用量为每摩尔通式(III)化合物 1.0-3.0 mol, 优选 1.0-1.2 mol。

5 反应一般在常压下在 0 °C 至 100 °C、最好是 0 °C 至 30 °C 的温度范围内进行。

反应可在常压或者加压或减压(例如 0.5-5 巴)下进行, 最好是在常压下进行。

10 氨基保护基团一般用本身已知的方法在酸性或碱性条件下将其裂解掉, 或者通过催化氢化例如用 Pd/C 在有机溶剂例如醚类如四氢呋喃或二氧六环或醇类如甲醇、乙醇或丙醇中还原将其裂解掉。

所述氢化反应一般在 0 °C 至 80 °C 的温度范围内进行, 最好是在 0 °C 至 40 °C 的温度范围内进行。

所述氢化反应一般在 2-8 巴、最好是 3-5 巴的加压下进行。

15 碱例如哌啶、吗啉、二环己胺、对二甲氨基吡啶、二异丙基乙基胺或哌嗪适宜于裂解氨基保护基团( $R^{10}$ =Fmoc)。哌啶是优选的。

助剂和碱的用量为每摩尔通式(IV)化合物 1.0-3.0 mol, 优选 1.0-1.2 mol。

20 反应一般在常压下在 0 °C 至 100 °C、最好是 0 °C 至 30 °C 的温度范围内进行。

反应可在常压或者加压或减压(例如 0.5-5 巴)下进行, 最好是在常压下进行。

通式(II)化合物是已知的。

25 通式(III)化合物在某些情况下是已知的, 或者可用常规方法来制备。

上述制备方法仅用于举例说明。X和Y一起代表共价键部分的本发明通式(Ia)和(Ib)化合物的制备不限于这些方法, 该制备可以以相同的方式使用这些方法的任何的变更形式。

本发明的出发点是澄清下列机理:

所述通式(II)环戊烷- $\beta$ -氨基酸由利用氨基酸转运体的各种各样的酵母富集。 $\beta$ -氨基酸的转运可被脂肪族氨基酸、特别是 L-异亮氨酸、L-亮氨酸、L-丙氨酸、L-蛋氨酸和 L-缬氨酸抑制。 $\beta$ -氨基酸抑制蛋白质生物合成。该抑制作用可被脂肪族氨基酸、特别是 L-异亮氨酸或 L-丙氨酸之一所拮抗。同时给与以混合物形式和/或共价键部分结合的二肽形式的  $\beta$ -氨基酸和所述具有拮抗作用的天然存在的氨基酸，能降低对温血动物的副作用，同时在体内保持抗霉菌作用。

因此，本发明化合物或混合物显示出意想不到的、有价值的药理作用谱。

按照本发明的通式(Ia)和(Ib)化合物或混合物及其酸加成盐在体内具有抗微生物、特别是强力的抗霉菌作用。同时，由于其毒性较低，因此它们具有较好的可耐受性。它们具有广谱抗霉菌作用，能抗皮真菌例如须发癣菌和犬小孢子菌，酵母菌例如白色念珠菌、*Candida glabrata* 和絮状表皮癣菌以及霉菌例如黑曲霉和烟曲霉。所列的微生物仅用于举例说明，按照本发明的通式(Ia)和(Ib)化合物或混合物及其酸加成盐所能杀灭的病菌不限于这些。因此，它们适于治疗皮真菌和系统性霉菌病。

#### 20 体内活性试验

用系统性小鼠念珠菌病作为体内抗霉菌作用的试验模型：通过给每只动物由尾静脉注射  $3 \times 10^5$  CFU 的白色念珠菌使体重为 20 g 的雄性 CFW<sub>1</sub> 小鼠感染。

所有未治疗的对照动物在感染(p.i.)后一星期内均死于泛化念珠菌病，并伴随肾脏中肉芽肿形成。为试验活性，将溶于浓度为 0.2% 的葡萄糖琼脂水溶液中的制剂通过胃管经口给与感染的动物，每天两次。

日剂量为  $2 \times 25$  mg/kg 体重(BW)和  $2 \times 50$  mg/kg 体重，治疗持续时间为 5 天。

每天记录治疗动物的存活率直至 p.i. 后第 10 天。在此时，未治疗的动物中无一存活。

就所述制剂而言，在每种情况下，每个剂量使用 10 只动物和对照组。

5 结果见表 A。

表 A:

实施例序号	剂量 [mg/kg, 2 × 每日]	给药方式	动物存活数
对照			0/10
10 2	25	p.o.	6/10
2	50	p.o.	10/10

或者，体内活性还可以用 Wistar 大鼠进行试验。这就需要较低的日剂量(基于 mg/kg BW)，以达到相似的治疗效果。在这种情况下，试验如下进行:

15 将出生 8 星期且体重为 200 g 的特种无抗原雄性 Wistar 大鼠通过侧尾静脉用在 0.5 ml PBS 中的  $5 \times 10^6$  CFU 的白色念珠菌感染。这导致在 8 天之内的死亡率为 100 %。注射后一天，动物眼睛的近中角部位已经出血；除肾脏外，其它组织器官例如脑、心、肝、脾、视网膜和肺均受到感染。自感染的当天，在每种情况下按 1 ml 葡萄糖(5%) - 琼脂(0.2%) 溶液经口给与所述物质，每天两次，持续 5 天。

本发明二肽或混合物较佳的可耐受性按下述方法进行试验:

25 用相应的物质每天饲喂 Wistar 大鼠，并记录重量曲线。给与  $\beta$ -氨基酸本身或等摩尔量的相应的混合物或含有  $\alpha$ -氨基酸的二肽。处理 5 天后，大鼠仍然保持原来的体重，或者在给与本发明二肽或混合物的情况下，体重略有增加，而用  $\beta$ -氨基酸处理的动物体重减轻大约 5-10 %。

本发明还涉及用于治疗疾病、特别是真菌病的含有本发明混合物

和/或二肽的药物和无毒、惰性的药用赋形剂与助剂。

若合适，所述活性化合物(一种或多种)还可以是在一种或多种上述的赋形剂中的微囊化形式。

5 可提及的优选的药用制剂有片剂，包衣片剂，胶囊剂，丸剂，颗粒剂，栓剂，溶液剂，混悬剂和乳剂，糊剂，软膏剂，凝胶剂，乳膏剂，洗剂，粉剂和喷雾剂。

治疗活性化合物或混合物在上述药用制剂中存在的浓度应为该混合物总重量的大约 0.1-99.5 % (重量)，优选大约 0.5-95 % (重量)。

10 除按照本发明的化合物外，上述药用制剂还可以含有其它的药用活性化合物。

所述活性化合物或药物可经口和胃肠外途径使用。

15 业已证明，为获得期望的效果，一般在人用和兽用药方面，每 24 小时使用本发明的化合物(一种或多种)的总量大约为 0.5-500 mg/kg 体重有利，优选 5-100 mg /kg 体重，若合适，以若干单剂量形式使用。单剂量最好含约 1-80 、特别是 3-30 mg/ kg 体重本发明的化合物(一种或多种)。

按照本发明的药物通常为用于在治疗疾病中同时、分开或交错使用的组合物制剂。

20 用于同时使用的组合物制剂是本发明混合物的各组分以物理混合物形式存在的产品，尤其包括片剂、包衣片剂、胶囊剂、丸剂、栓剂和安瓿剂。还可以设想用这样的混合物作为溶液、混悬液或乳液。本发明混合物的单独组分一方面包括  $\alpha$ -氨基酸和/或其衍生物(以下称  $\alpha$ -氨基酸组分)，另一方面包括环戊烷- $\beta$ -氨基酸和/或其衍生物(以下称  $\beta$ -氨基酸组分)。

25 用于分开使用的组合物制剂是本发明混合物的各组分以在空间上彼此分离的形式存在的产品。能满足这种要求的片剂、包衣片剂、胶囊剂、丸剂和栓剂特别适于此目的。

还可以设想用于交错使用的组合物制剂。这种制剂允许间隔一定

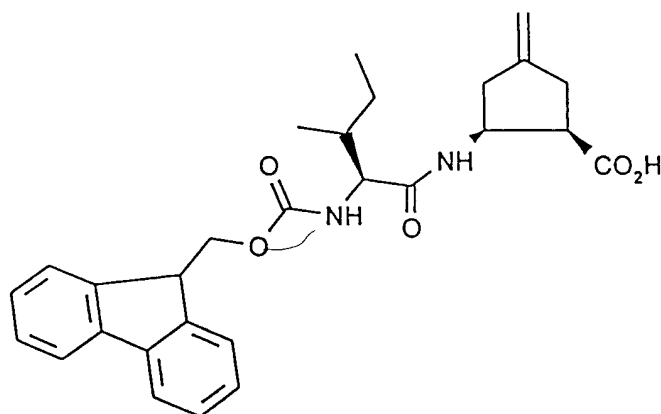
的时间给与本发明混合物的各组分。在交错使用这样的组合物制剂的情况下，设想相对于 $\beta$ -氨基组分的使用，以特殊的方式使用 $\alpha$ -氨基酸组分。 $\alpha$ -氨基酸组分可以与 $\beta$ -氨基酸组分相同的使用方式来使用，或者以另一种常规的使用方式来使用，例如 $\beta$ -氨基酸组分可静脉给与，而 $\alpha$ -氨基酸组分可经口或静脉给与。

在交错使用的情况下，还可以按上述的根据时间使用 $\beta$ -氨基酸组分的关系使用部分剂量的 $\alpha$ -氨基酸组分，并将剩余剂量的 $\alpha$ -氨基酸在给与该 $\beta$ -氨基酸组分后的一定的一段时间内一次或分多次给与。

## 10 起始化合物

### 实施例 I

(-)-1,2-顺-2-((N-(9-苄基甲氧基羰基)-(S)-异亮氨酰基)氨基)-4-亚甲基环戊烷-1-羧酸



将(N-(9-苄基甲氧基羰基)-(S)-异亮氨酸羟基琥珀酰亚胺酯 (89.2 g, 0.198 mol)在 600 ml 二甲氧基乙烷中的溶液于室温滴加至(-)-1,2-顺-2-氨基-4-亚甲基环戊烷-1-羧酸 (35.1 g, 0.198 mol)和碳酸氢钠 (33.36 g, 0.397 mol)在 480 ml 水中的溶液中。将混合物于室温搅拌过夜。然后将反应混合物用稀盐酸酸化至 pH 2，并用乙醚萃取几次。将合并的有机相用硫酸钠干燥并真空浓缩。产物在乙醚/石油醚中结晶析出。  
产量：70 g (收率 74 %)

熔点: 207 °C

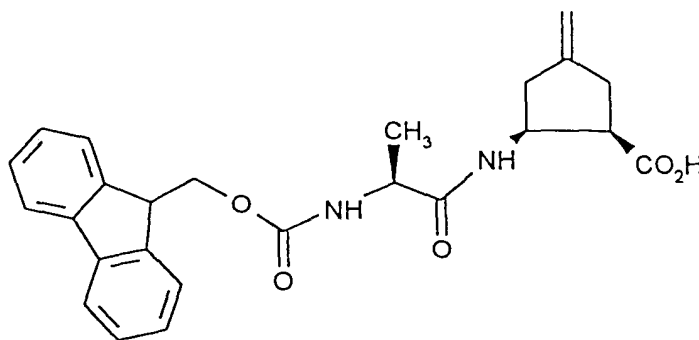
$[\alpha]_D^{20} = -24.1$  (c=1.15, 在氯仿中)

$^1\text{H-NMR}$  (250 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.88$  (m, 6H); 0.98 - 1.15, 1.40 - 1.51, 1.52 - 1.80 (3m, 3H); 2.40 - 2.84 (m, 4H); 3.12 (cm, 1H); 4.10 - 4.48 (m, 4H); 4.61 (cm, 1H); 4.90 (cm, 2H); 5.84 (d, 1H); 7.20 - 7.80 (3m, 9H).

$\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_5$  (476.6)

## 实施例 II

1,2-顺-2-((N-(9-芴基甲氧基羰基)-(S)-丙氨酰基)氨基)-4-亚甲基环戊烷-1-羧酸



按类似于实施例 I 的方法, 由(-)-1,2-顺-2-氨基-4-亚甲基环戊烷-1-羧酸 (2.27 g, 16.1 mmol)、(N-(9-芴基甲氧基羰基)-(S)-丙氨酸羟基琥珀酰亚胺酯 (7.0 g, 17.2 mmol)和碳酸氢钠 (1.49 g, 17.7 mmol)制得标题化合物。将粗产物用柱层析纯化(甲苯/乙醇, 9:1)。

产量: 5.7 g (收率 81 %)

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta = 1.30$  (d, 3H), 2.43 - 2.79 (m, 4H), 3.10 (cm, 1H), 4.12, 4.21, 4.34, 4.50 (4 cm, 5H), 4.91 (br. s., 2H), 7.30, 7.39, 7.66, 7.79 (4 cm, 8H).

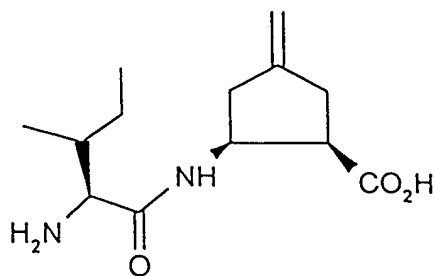
$\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_5$  (434.5)

## 制备实施例

### 实施例 1

(+)-1,2-顺-2-(S)-异亮氨酰基氨基-4-亚甲基环戊烷-1-羧酸

5



10

将得自实施例 1 的化合物 (24.0 g, 0.050 mol) 在吡啶 (200 ml) 中的溶液于室温搅拌 1 小时。当反应结束时, 真空蒸除吡啶。将残余物溶于水中。用乙醚萃取几次后, 将水相真空浓缩, 加入甲苯。产物由异丙醇/乙醚中结晶析出。

产量: 8.5 g (收率 76%)

熔点: 198 °C

$[\alpha]_D^{20} = +23.9$  (c=1.08, 在水中)

15

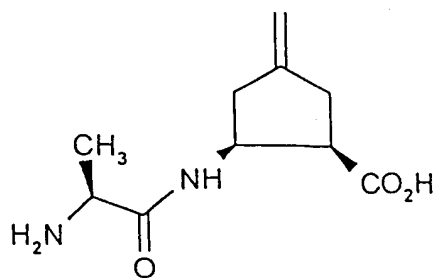
$^1\text{H-NMR}$  (250 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta = 0.70 - 0.88$  (m, 6H); 0.91 - 1.18, 1.19 - 1.43, 1.53 - 1.72 (3m, 3H); 2.23 - 2.67 (m, 4H); 2.88 (cm, 1H); 3.28 (d, 1H); 4.30 (cm, 1H); 4.85 (cm, 2H).

$\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$  (254.3)

### 实施例 2

(+)-1,2-顺-2-(S)-丙氨酰基氨基-4-亚甲基环戊烷-1-羧酸

20



25

按类似于实施例 1 的方法, 由实施例 II 化合物 (5.7 g, 13.1 mmol) 制得标题化合物。将粗产物用硅胶柱层析纯化(二氯甲烷/甲醇, 1:1), 并用甲醇/异丙醇/丙酮结晶。

产量: 0.7 g (收率 25 %)

熔点: 218 °C

$[\alpha]_D^{20} = +5.4$  ( $c = 0.64$ , 在甲醇中)

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta = 1.49$  (d, 3H), 2.45 (cm, 1H), 2.55 - 2.75 (m, 3H), 3.04 (cm, 1H), 4.01 (q, 1H), 4.49 (cm, 1H), 5.00 (br, d, 2H)

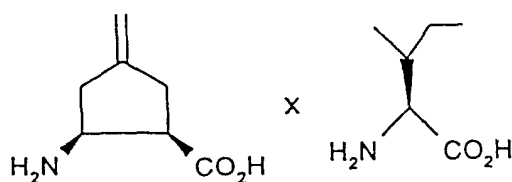
$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3$  (212.3)

5

### 实施例 3

(1R,2S)-2-氨基-4-亚甲基环戊烷-1-羧酸 × (S)-异亮氨酸

10



将(-)-(1R,2S)-2-氨基-4-亚甲基环戊烷-1-羧酸 (25.0 g, 177 mmol) 和(S)-异亮氨酸 (23.2 g, 177 mmol)溶于沸腾的水(250 ml)和乙醇(100 ml)中。将溶液放冷至室温,并于60 °C真空蒸除溶剂。

产量: 48.2 g (收率 100 %)

15

熔点: 230 °C (分解)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta = 0.95$  (t, 3H), 1.00 (d, 3H), 1.18 - 1.35, 1.40 - 1.56 (2m, 2H), 1.99 (cm, 1H), 2.52 - 2.67, 2.73 - 2.88 (2m, 4H); 3.09 (cm, 1H), 3.69 (d, 1H), 3.88 (cm, 1H), 5.09 (cm, 2H).

$\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4$  (272.3)

20

### 实施例 4

将(-)-(1R,2S)-2-氨基-4-亚甲基环戊烷-1-羧酸 (14.1 g, 100 mmol) 和(S)-异亮氨酸 (26.2 g, 200 mmol)研成细粉,然后以粉末形式混合。

25

### 实施例 5

按类似于实施例 4 的方法制备(-)-(1R,2S)-2-氨基-4-亚甲基环戊烷-1-羧酸 (14.1 g, 100 mmol)和(S)-异亮氨酸 (65.5 g, 500 mmol)的混合物。