

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

C07K 1/20 (2006.01)

C07K 7/00 (2006.01)



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 02816615.9

[45] 授权公告日 2008年9月17日

[11] 授权公告号 CN 100418980C

[22] 申请日 2002.8.23 [21] 申请号 02816615.9

[30] 优先权

[32] 2001.8.24 [33] US [31] 60/314, 712

[86] 国际申请 PCT/US2002/026854 2002.8.23

[87] 国际公布 WO2003/018608 英 2003.3.6

[85] 进入国家阶段日期 2004.2.24

[73] 专利权人 施万制药

地址 美国加利福尼亚

[72] 发明人 D·小施密特 J·D·斯甘伽

[56] 参考文献

WO, A2, 0198328 2001.12.27

US, A, 5843889 1998.12.1

审查员 林峻凯

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

代理人 郭建新

权利要求书2页 说明书41页

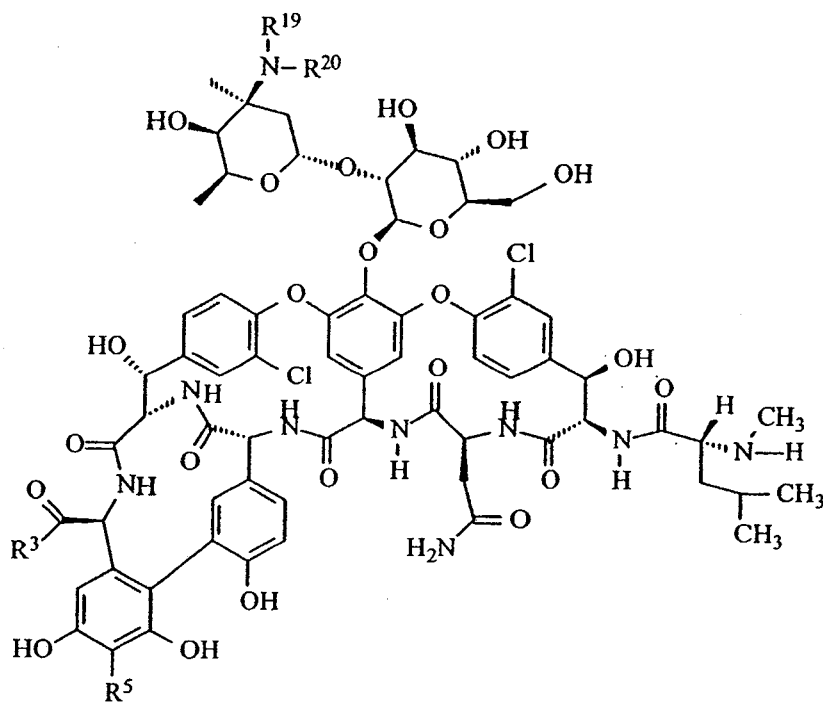
[54] 发明名称

纯化糖肽磷酸酯衍生物的方法

[57] 摘要

公开了纯化糖肽的方法，这些糖肽被一个或多个各自包含一个或多个磷酸基的取代基取代，可用作抗菌剂。该方法包括使糖肽衍生物的溶液与含有聚苯乙烯的树脂接触，用水溶液洗脱树脂，再分离所纯化的糖肽衍生物。

1. 纯化式 I 化合物或其药学上可接受的盐或立体异构体的方法:



(I)

其中:

 R^{19} 是氢; R^{20} 是 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{NH}-(\text{CH}_2)_9\text{CH}_3$; R^3 是 $-\text{OH}$; R^5 是 $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$;

该方法包含下列步骤:

- (a) 使包含式 I 化合物的第一酸化水溶液与聚苯乙烯二乙烯基苯树脂接触;
- (b) 将所接触的树脂用包含极性有机溶剂的第二酸化水溶液洗脱, 形成洗脱液; 和
- (c) 从洗脱液中分离式 I 化合物。

2、权利要求1的方法，其中存在于第二酸化水溶液中的极性有机溶剂是乙腈。

3、权利要求1的方法，其中存在于第二酸化水溶液中的极性有机溶剂与水之比为1:4至1:15极性有机溶剂:水。

4、权利要求1的方法，其中存在于第二酸化水溶液中的酸是乙酸。

5、权利要求1的方法，其中存在于第二酸化水溶液中的酸是盐酸。

6、权利要求1的方法，其中存在于第二酸化水溶液中的极性有机溶剂的溶液中的酸的浓度为5毫摩尔至50毫摩尔。

7、权利要求1的方法，其中在步骤(a)中，聚苯乙烯二乙烯基苯树脂的孔径为50Å至1000Å。

8、权利要求1的方法，其中步骤(c)是借助冷冻干燥进行的。

9、权利要求1的方法，其中步骤(c)是借助包含沉淀的过程进行的。

10、权利要求1的方法，其中步骤(c)包括第一浓缩步骤，其中对所述洗脱液进行处理以形成所含式I化合物的浓度比所述洗脱液高的溶液，从该溶液中分离式I化合物。

11、权利要求1的方法，其中步骤(c)产物中的式I化合物纯度大于80%。

纯化糖肽磷酸酯衍生物的方法

发明背景

发明领域

本发明涉及新颖的糖肽抗生素和有关化合物磷酸酯衍生物的纯化。确切而言，本发明涉及借助树脂色谱法纯化糖肽磷酸酯衍生物。

背景

糖肽（例如 dalbaheptides）是一类熟知的由各种微生物产生的抗生素（参见 Glycopeptide Antibiotics, edited by R. Nagarajan, Marcel Dekker, Inc. New York (1994)）。这些复杂的多环肽化合物是非常有效的抗菌剂，对抗多数革兰氏阳性细菌。尽管是有力的抗菌剂，不过糖肽抗生素没有象其他种类抗生素那样经常用于治疗细菌性疾病，例如半合成的青霉素、头孢菌素和林可霉素，这是出于关于毒性的考虑。

不过近些年来，细菌已经对很多常用抗生素产生耐药性（参见 J. E. Geraci et al., Mayo Clin. Proc. 1983, 58, 88-91; 以及 M. Foldes, J. Antimicrob. Chemother. 1983, 11, 21-26）。由于糖肽抗生素经常有效对抗这些耐药性菌株，诸如万古霉素等糖肽已经成为治疗由这些生物所致感染的最后手段。不过最近，已经在多种微生物中出现对万古霉素的耐药性，例如万古霉素-耐受性肠球菌 (VRE)，引起对未来有效治疗细菌感染的能力的考虑日益增加（参见 Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, Infection Control Hospital Epidemiology, 1995, 17, 364-369; A. P. Johnson et al., Clinical Microbiology Rev., 1990, 3, 280-291; G. M. Eliopoulos, European J. Clinical Microbiol., Infection Disease, 1993, 12, 409-412; 以及 P. Courvalin, Antimicrob. Agents Chemother, 1990, 34, 2291-2296）。

有大量万古霉素衍生物和其他糖肽都是本领域已知的。例如参见

美国专利 Nos. 4,639,433; 4,643,987; 4,497,802; 4,698,327; 5,591,714; 5,840,684; 和 5,843,889。其他衍生物公开在 EP 0 802 199; EP 0 801 075; EP 0 667 353; WO 97/28812; WO 97/38702; WO 98/52589; WO 98/52592; 以及 J. Amer. Chem. Soc., 1996, 118, 13107-13108; J. Amer. Chem. Soc., 1997, 119, 12041-12047; 和 J. Amer. Chem. Soc., 1994, 116, 4573-4590 中。

糖肽抗生素的制备一般包括纯化步骤。适合于纯化糖肽、特别是万古霉素和有关化合物的方法例如描述在美国专利 Nos. 4,440,753, 4,845,194, 4,874,843, 5,149,784, 5,258,495 和 5,853,720 中。其他方法公开在 WO 91/08300 和 WO 93/21207 中。

尽管已有上述参考文献的公开,目前仍然需要新颖的具有有效抗菌活性和提高了的哺乳动物安全性的糖肽衍生物。确切而言,需要这样的糖肽衍生物,它们有效对抗广谱的病原性微生物,包括万古霉素-耐受性微生物,并且具有减少了的组织蓄积和/或肾毒性。进而,为了使这些新颖的衍生物是有用的,需要有效的纯化所述化合物的方法,以非常纯净的形式回收适合于药物产品合成的产物。

发明概述

本发明提供纯化新颖的糖肽磷酸酯衍生物的方法,这些衍生物具有非常有效的抗菌活性和提高了的哺乳动物安全性。更具体而言,本发明提供了借助树脂色谱法纯化糖肽衍生物的方法。

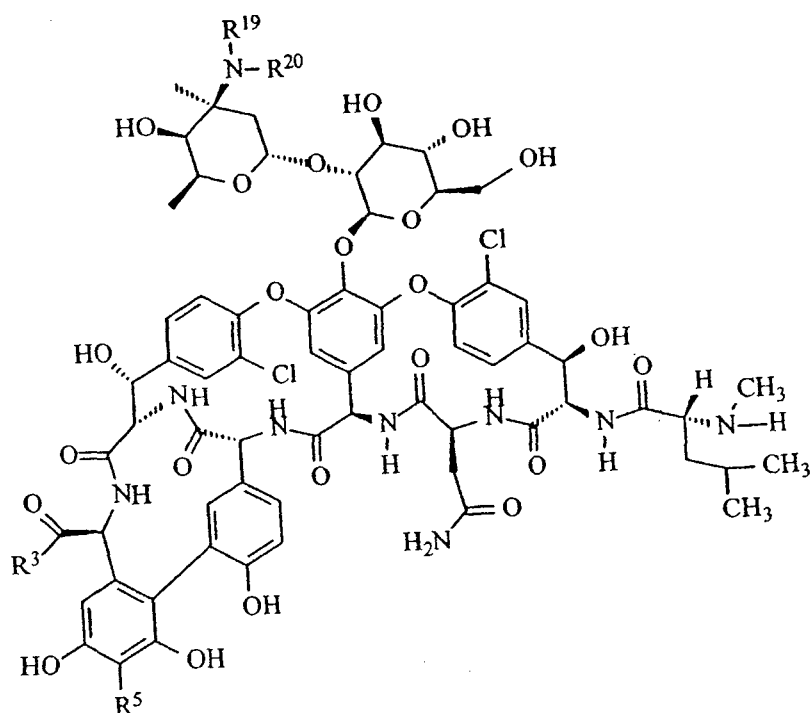
在对哺乳动物给药时,按照本发明方法所纯化的糖肽磷酸酯衍生物表现减少了的组织蓄积和/或肾毒性。这些糖肽化合物被一个或多个(例如 1、2 或 3 个)取代基取代,所述取代基包含一个或多个(例如 1、2 或 3 个)磷酸基($-PO_3H_2$);或其药学上可接受的盐、立体异构体或前体药物。优选地,糖肽化合物被一个或两个取代基取代,取代基包含一个或两个磷酸基。更优选地,糖肽化合物被一个取代基取代,取代基包含一个或两个磷酸基,优选一个磷酸基。可选地,这些糖肽化合物还可以被其它不包含磷酸基的取代基取代,其条件是至少一个取代基包含一个或多个磷酸基。

因此，在一种优选的衍生物中，糖肽化合物在 C-末端被包含一个或两个膦酰基($-PO_3H_2$)的取代基取代；或其药学上可接受的盐、立体异构体或前体药物。优选地，含膦酰基的取代基是通过酰胺键、酯键或硫酯键与 C-末端羰基连接的；更优选地，通过酰胺键连接。优选地，含膦酰基的取代基包含一个膦酰基。特别优选的 C-末端含膦酰基的取代基包括膦酰甲氨基、3-膦酰丙氨基和 2-羟基-2-膦酰乙氨基。

在另一种优选的衍生物中，糖肽化合物在 R-末端（在雷琐酚环上）被包含一个或两个膦酰基($-PO_3H_2$)的取代基取代；或其药学上可接受的盐、立体异构体或前体药物。优选地，含膦酰基的取代基是通过连接到 R-末端的氮甲基的氮原子与 R-末端（即雷琐酚环）连接的。优选地，含膦酰基的取代基包含一个膦酰基。特别优选的 R-末端含膦酰基的取代基包括 N-(膦酰甲基)氮甲基、(2-羟基-2-膦酰乙基)氮甲基、N-羧甲基-N-(膦酰甲基)氮甲基、N,N-双(膦酰甲基)氮甲基和 N-(3-膦酰丙基)氮甲基。

在另一种优选的衍生物中，糖肽化合物在 C-末端和 R-末端被包含一个或两个膦酰基($-PO_3H_2$)的取代基取代；或其药学上可接受的盐、立体异构体或前体药物。优选地，含膦酰基的取代基各自包含一个膦酰基。

优选的糖肽衍生物是式 I 糖肽：



(I)

其中:

R^{19} 是氢;

R^{20} 是 $-R^a-Y-R^b-(Z)_x$ 、 R^f 、 $-C(O)R^f$ 或 $-C(O)-R^a-Y-R^b-(Z)_x$;

R^3 是 $-OR^c$ 、 $-NR^cR^c$ 、 $-O-R^a-Y-R^b-(Z)_x$ 、 $-NR^c-R^a-Y-R^b-(Z)_x$ 、 $-NR^cR^e$ 或 $-O-R^e$; 或者 R^3 是包含一个或多个磷酰基的氮-连接的、氧-连接的或硫-连接的取代基;

R^5 选自由氢、卤代、 $-CH(R^c)-NR^cR^c$ 、 $-CH(R^c)-NR^cR^e$ 、 $-CH(R^c)-NR^c-R^a-Y-R^b-(Z)_x$ 、 $-CH(R^c)-R^x$ 、 $-CH(R^c)-NR^c-R^a-C(=O)-R^x$ 和包含一个或多个磷酰基的取代基组成的组;

每个 R^a 独立地选自由亚烷基、取代的亚烷基、亚烯基、取代的亚烯基、亚炔基和取代的亚炔基组成的组;

每个 R^b 独立地选自由共价键、亚烷基、取代的亚烷基、亚烯基、取代的亚烯基、亚炔基和取代的亚炔基组成的组, 其条件是当 Z 是氢时, R^b 不是共价键;

每个 R^c 独立地选自由氢、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、芳基、杂芳基、杂环基和 $-C(O)R^d$ 组成的组;

每个 R^d 独立地选自由烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、芳基、杂芳基和杂环基组成的组;

R^e 是糖基;

每个 R^f 独立地是烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、芳基、杂芳基或杂环基;

R^x 是 N-连接的氨基糖或 N-连接的杂环;

每个 Y 独立地选自由氧、硫、 $-S-S-$ 、 $-NR^c-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-NR^cC(O)-$ 、 $-OSO_2-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-NR^cSO_2-$ 、 $-C(O)NR^c-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-SO_2NR^c-$ 、 $-SO_2O-$ 、 $-P(O)(OR^c)O-$ 、 $-P(O)(OR^c)NR^c-$ 、 $-OP(O)(OR^c)O-$ 、 $-OP(O)(OR^c)NR^c-$ 、 $-OC(O)O-$ 、 $-NR^cC(O)O-$ 、 $-NR^cC(O)NR^c-$ 、 $-OC(O)NR^c-$ 、

-C(=O)-和-NR^cSO₂NR^c-组成的组;

每个 Z 独立地选自氢、芳基、环烷基、环烯基、杂芳基和杂环基;
且

x 是 1 或 2;

或其药学上可接受的盐、立体异构体或前体药物;

其条件是, R³ 和 R⁵ 至少有一个是包含一个或多个磷酰基的取代基。

优选地, R²⁰ 是 -CH₂CH₂-NH-(CH₂)₉CH₃; -CH₂CH₂CH₂-NH-(CH₂)₈CH₃;
-CH₂CH₂CH₂CH₂-NH-(CH₂)₇CH₃; -CH₂CH₂-NHSO₂-(CH₂)₉CH₃; -CH₂CH₂-NHSO₂-
(CH₂)₁₁CH₃; -CH₂CH₂-S-(CH₂)₈CH₃; -CH₂CH₂-S-(CH₂)₉CH₃; -CH₂CH₂-S-
(CH₂)₁₀CH₃; -CH₂CH₂CH₂-S-(CH₂)₈CH₃; -CH₂CH₂CH₂-S-(CH₂)₉CH₃;
-CH₂CH₂CH₂-S-(CH₂)₃-CH=CH-(CH₂)₄CH₃ (反式); -CH₂CH₂CH₂CH₂-S-
(CH₂)₇CH₃; -CH₂CH₂-S(O)-(CH₂)₉CH₃; -CH₂CH₂-S-(CH₂)₆Ph;
-CH₂CH₂-S-(CH₂)₈Ph; -CH₂CH₂CH₂-S-(CH₂)₈Ph; -CH₂CH₂-NH-CH₂-4-
(4-Cl-Ph)-Ph; -CH₂CH₂-NH-CH₂-4-[4-(CH₃)₂CHCH₂-]-Ph;
-CH₂CH₂-NH-CH₂-4-(4-CF₃-Ph)-Ph; -CH₂CH₂-S-CH₂-4-(4-Cl-Ph)-Ph;
-CH₂CH₂-S(O)-CH₂-4-(4-Cl-Ph)-Ph; -CH₂CH₂CH₂-S-CH₂-4-(4-Cl-Ph)-
Ph; -CH₂CH₂CH₂-S(O)-CH₂-4-(4-Cl-Ph)-Ph; -CH₂CH₂CH₂-S-CH₂-4-
[3,4-二-Cl-PhCH₂O-]-Ph; -CH₂CH₂-NHSO₂-CH₂-4-[4-(4-Ph)-Ph]-Ph;
-CH₂CH₂CH₂-NHSO₂-CH₂-4-(4-Cl-Ph)-Ph; -CH₂CH₂CH₂-NHSO₂-CH₂-4-
(Ph-C≡C-)-Ph; -CH₂CH₂CH₂-NHSO₂-4-(4-Cl-Ph)-Ph; 或 -CH₂CH₂CH₂-
NHSO₂-4-(萘-2-基)-Ph。优选地, R²⁰ 还是 4-(4-氯苯基)苄基或 4-(4-
氯苄氧基)苄基。

作为替代选择, 糖肽衍生物是这样的式 I 化合物, 其中 R¹⁹ 是氢;
R²⁰ 是 -CH₂CH₂NH-(CH₂)₉CH₃; R³ 是 -OH; R⁵ 是包含磷酰基的取代基; 或其
药学上可接受的盐。

在另一种替代选择中, 糖肽衍生物是这样的式 I 化合物, 其中 R¹⁹
是氢; R²⁰ 是 -R^a-Y-R^b-(Z)_x、R^f、-C(O)R^f 或 -C(O)-R^a-Y-R^b-(Z)_x; R³ 是
-OH; R⁵ 是 -CH₂-NH-CH₂-P(O)(OH)₂; 或其药学上可接受的盐。

上述化合物是非常有效的抗菌剂。本发明的糖肽化合物和治疗患

有细菌性疾病的哺乳动物的方法—包含对哺乳动物给以治疗有效量的本发明化合物—进一步描述在2001年5月1日提交的被普遍转让的美国专利申请系列号09/847,042中,其公开内容结合在此作为参考。

制备在C-末端被包含一个或多个磷酰基的取代基取代的糖肽的方法包括使对应的其中C-末端是羧基的起始糖肽与含有磷酰基的适合化合物偶联。

制备在R-末端被包含一个或多个磷酰基的取代基取代的糖肽的方法包括使对应的其中R-末端是未取代的起始糖肽与适合的含磷酰基的化合物偶联。当起始糖肽在万古胺(vancosamine)氨基末端被取代时,这样一种方法可以进一步可选地包括通过还原性烷基化对应的其中万古胺氨基末端是对应的胺的糖肽来制备起始糖肽。

制备在C-末端被取代的糖肽的方法包括衍生对应的其中C-末端是羧基的起始糖肽。制备在R-末端被取代的糖肽的方法包括衍生对应的其中R-末端是未取代的(即氢)起始糖肽。

另外,制备其中 R^3 是-OH、 R^5 是 $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{R}^a-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ 、 R^{19} 是氢、 R^{20} 是 $-\text{R}^a-\text{Y}-\text{R}^b-(\text{Z})_x$ 或 $-\text{R}^f$ 且 R^a 、 R^b 、 R^f 、 Y 、 Z 和 x 是如本文所定义的式I化合物或其盐包含下列步骤:

(a)将式I化合物或其盐,其中 R^3 是-OH、 R^5 、 R^{19} 和 R^{20} 是氢,用式 $\text{HC}(\text{O})-\text{R}^{a'}-\text{Y}-\text{R}^b-(\text{Z})_x$ 或 $\text{HC}(\text{O})\text{R}^f$ 醛还原性烷基化,其中 $\text{R}^{a'}$ 和 R^f 分别代表减去一个 $-\text{CH}_2-$ 基团的 R^a 和 R^f ,生成式I化合物或其盐,其中 R^3 是-OH、 R^5 和 R^{19} 是氢、 R^{20} 是 $-\text{R}^a-\text{Y}-\text{R}^b-(\text{Z})_x$ 或 $-\text{R}^f$;和

(b)使步骤(a)产物与甲醛和 $\text{H}_2\text{N}-\text{R}^a-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ 反应,生成式I化合物或其盐,其中 R^3 是-OH、 R^5 是 $-\text{CH}_2\text{NH}-\text{R}^a-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ 、 R^{19} 是氢、 R^{20} 是 $-\text{R}^a-\text{Y}-\text{R}^b-(\text{Z})_x$ 或 $-\text{R}^f$ 。

优选的式I糖肽化合物如下表I所示,其中 R^{19} 是氢。

表 I: 优选的式 I 化合物

化合物	R ³	R ⁵	R ²⁰
1	膦酰基甲氨基	H	CH ₃ (CH ₂) ₉ NHCH ₂ CH ₂ -
2	膦酰基甲氨基	H	CH ₃ (CH ₂) ₉ OCH ₂ CH ₂ -
3	膦酰基甲氨基	H	CH ₃ (CH ₂) ₉ SCH ₂ CH ₂ -
4	膦酰基甲氨基	H	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ -
5	膦酰基甲氨基	H	4-(4-氯苯基)苄基
6	膦酰基甲氨基	H	2-(4-(4-氯苯基)苄氨基)乙基
7	膦酰基甲氨基	H	4-(4'-氯联苯)丁基
8	膦酰基甲氨基	H	5-(4'-氯联苯)戊基
9	3-膦酰基丙氨基	H	CH ₃ (CH ₂) ₉ SCH ₂ CH ₂ -
10	2-羟基-2-膦酰基乙氨基	H	4-(4-氯苯基)苄基
11	OH	(膦酰甲基)氨基甲基	CH ₃ (CH ₂) ₉ NHCH ₂ CH ₂ -
12	OH	(膦酰甲基)氨基甲基	CH ₃ (CH ₂) ₉ SCH ₂ CH ₂ -
13	OH	(膦酰甲基)氨基甲基	CH ₃ (CH ₂) ₉ OCH ₂ CH ₂ -
14	OH	(膦酰甲基)氨基甲基	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ -
15	OH	(膦酰甲基)氨基甲基	4-(4-氯苯基)苄基
16	OH	(膦酰甲基)氨基甲基	2-(4-(4-氯苯基)苄氨基)乙基
17	OH	(膦酰甲基)氨基甲基	4-(4'-氯联苯)丁基
18	OH	(膦酰甲基)氨基甲基	5-(4'-氯联苯)戊基
19	OH	(膦酰甲基)氨基甲基	3-[4-(4-氯苄氧基)苄硫基]丙基
20	OH	N-(2-羟基-2-膦酰乙基)氨基甲基	CH ₃ (CH ₂) ₉ SCH ₂ CH ₂ -
21	OH	N-(羧甲基)-N-2-膦酰甲基)氨基甲基	CH ₃ (CH ₂) ₉ SCH ₂ CH ₂ -
22	OH	N,N-双(膦酰甲基)氨基甲基	CH ₃ (CH ₂) ₉ NHCH ₂ CH ₂ -
23	OH	3-膦酰丙基氨基甲基	CH ₃ (CH ₂) ₉ SCH ₂ CH ₂ -
24	OH	3-膦酰丙基氨基甲基	4-(4-氯苯基)苄基
25	膦酰基甲氨基	-CH ₂ -N-(N-CH ₃ -D-葡萄糖胺)	CH ₃ (CH ₂) ₉ NHCH ₂ CH ₂ -
26	OH	(膦酰甲基)氨基甲基	-(CH ₂) ₃ NH-SO ₂ -4-(4-氯苯基)苯基

已经发现本文所述膦酰基化合物在对哺乳动物给药时,意外地表现减少了的组织蓄积和/或肾毒性。不希望受理论所限,据信膦酰基部

分作用是在生理条件下增加糖肽的总体负电荷，从而促进给药后从哺乳动物排泄。本发明磷酸基化合物排泄的意外增加可以解释就这些化合物所观察到的减少了的组织蓄积和/或减少了的肾毒性，相对于对应的缺乏磷酸基官能度的化合物而言。

按照本发明的实施方式，糖肽的磷酸基衍生物是借助树脂色谱法纯化的，使用基于聚苯乙烯与二乙烯基苯的共聚物的树脂。多种有用的聚苯乙烯树脂可由商业来源提供，例如 TosoHaas (Montgomery, PA), Rohm & Haas (Philadelphia, PA)、Mitsubishi Chemical Industries Ltd. (Tokyo, Japan) 和 Dow Chemical Co. (Midland, MI)。

树脂通常由多孔的珠粒组成，其特征性大小在约 20 μm 与约 800 μm 之间的范围内，孔径在约 50 \AA 与约 1000 \AA 之间的范围内。

本发明的纯化方法包括：

使第一酸化水溶液与聚苯乙烯二乙烯基苯树脂接触，该溶液包含糖肽磷酸酯衍生物和极性有机溶剂；

将所接触的树脂用第二酸化水溶液洗脱，该溶液包含极性有机溶剂，形成洗脱液；和

从洗脱液中分离所纯化的糖肽磷酸酯衍生物。

本文所用的术语“极性有机溶剂”包括甲醇、乙醇、异丙醇、乙腈、丙酮、正丙醇、正丁醇、异丁醇、甲乙酮、四氢呋喃等溶剂，它们具有相当大的水溶性，或者是可与水混溶的。优选的极性有机溶剂是甲醇、乙醇、异丙醇和乙腈。

适合于酸化第一与第二水溶液的酸包括乙酸、三氟乙酸、盐酸、硫酸、磷酸等酸。关于本发明，乙酸和盐酸是优选的。

所纯化的产物是借助本领域已知的方法分离的，例如冷冻干燥，或者沉淀继之以蒸发和/或过滤。可选地，分离方法包括第一浓缩步骤，其中将洗脱液用树脂加工，优选聚苯乙烯二乙烯基苯树脂，形成纯化产物浓度更高的溶液，从中分离产物。

在一种纯化方法中，将树脂上柱，分批收集洗脱液，借助薄层色谱法 (TLC) 和高压液相色谱法 (HPLC) 监测糖肽的存在。在分离产物之前

汇集产物浓度和纯度高于所需阈值的部分。利用本发明的方法，已经得到纯度超过 80%的磷酰基糖肽样本。

发明的详细说明

本发明涉及新颖的化合物的纯化，这些化合物是包含一个或多个包含一个或多个磷酰基的取代基的糖肽抗生素衍生物。在描述化合物时，下列术语具有下列含义，另有指示除外。

定义

术语“烷基”表示一价直链或支链饱和烃链，优选地具有 1 至 40 个碳原子，更优选 1 至 10 个碳原子，进而更优选 1 至 6 个碳原子。该术语例如有甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、正己基、正癸基、十四烷基等。

术语“取代的烷基”表示如上所定义的烷基，具有 1 至 8 个取代基，优选 1 至 5 个取代基，更优选 1 至 3 个取代基，选自由烃氧基、取代的烃氧基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、取代的氨基、氨基酰基、氨基酰氧基、氧基氨基酰基、叠氨基、氰基、卤素、羟基、酮基、硫代酮基、羧基、羧基烷基、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、巯基、硫代烃氧基、取代的硫代烃氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟基氨基、烃氧基氨基、硝基、-SO-烷基、-SO-取代的烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO₂-烷基、-SO₂-取代的烷基、-SO₂-芳基、-SO₃H、胍基和-SO₂-杂芳基组成的组。

术语“亚烷基”表示二价直链或支链饱和烃链，优选地具有 1 至 40 个碳原子，优选 1-10 个碳原子，更优选 1-6 个碳原子。该术语例如有亚甲基(-CH₂-)、亚乙基(-CH₂CH₂-)、亚丙基异构体（例如 -CH₂CH₂CH₂-和 -CH(CH₃)CH₂-）等。

术语“取代的亚烷基”表示如上所定义的亚烷基，具有 1 至 5 个取代基，优选 1 至 3 个取代基，选自由烃氧基、取代的烃氧基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、取代的氨基、氨基酰基、氨基酰氧基、氧基氨基酰基、叠氨基、

氰基、卤素、羟基、羧基、羧基烷基、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、巯基、硫代烃氧基、取代的硫代烃氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟基氨基、烃氧基氨基、硝基、-SO-烷基、-SO-取代的烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO₂-烷基、-SO₂-取代的烷基、-SO₂-芳基和-SO₂-杂芳基组成的组。另外，这类取代的亚烷基包括其中该亚烷基上2个取代基稠合构成一个或多个下列基团的那些：环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、芳基、杂环基或杂芳基，与该亚烷基稠合。优选地，这类稠合的基团含有1至3个稠合的环结构。另外，术语取代的亚烷基包括这样的亚烷基，其中1至5个亚烷基碳原子被氧、硫或-NR-代替，其中R是氢或烷基。取代的亚烷基的实例有氯代亚甲基(-CH(Cl)-)、氨基亚乙基(-CH(NH₂)CH₂-)、2-羧基亚丙基异构体(-CH₂CH(CO₂H)CH₂-)、乙氧基乙基(-CH₂CH₂O-CH₂CH₂-)等。

术语“烷芳基”表示-亚烷基-芳基和-取代的亚烷基-芳基，其中亚烷基、取代的亚烷基和芳基是如本文所定义的。这类烷芳基例如有苜基、苜乙基等。

术语“烃氧基”表示烷基-O-、烯基-O-、环烷基-O-、环烯基-O-和炔基-O-，其中烷基、烯基、环烷基、环烯基和炔基是如本文所定义的。优选的烃氧基是烷基-O-，例如包括甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、叔丁氧基、仲丁氧基、正戊氧基、正己氧基、1,2-二甲基丁氧基等。

术语“取代的烃氧基”表示取代的烷基-O-、取代的烯基-O-、取代的环烷基-O-、取代的环烯基-O-和取代的炔基-O-，其中取代的烷基、取代的烯基、取代的环烷基、取代的环烯基和取代的炔基是如本文所定义的。

术语“烷基烃氧基”表示-亚烷基-O-烷基、亚烷基-O-取代的烷基、取代的亚烷基-O-烷基和取代的亚烷基-O-取代的烷基，其中烷基、取代的烷基、亚烷基和取代的亚烷基是如本文所定义的。优选的烷基烃氧基是亚烷基-O-烷基，例如包括亚甲基甲氧基(-CH₂OCH₃)、亚乙基甲

氧基(-CH₂CH₂OCH₃)、正亚丙基异丙氧基(-CH₂CH₂CH₂OCH(CH₃)₂)、亚甲基叔丁氧基(-CH₂-O-C(CH₃)₃)等。

术语“烷基硫代烃氧基”表示-亚烷基-S-烷基、亚烷基-S-取代的烷基、取代的亚烷基-S-烷基和取代的亚烷基-S-取代的烷基，其中烷基、取代的烷基、亚烷基和取代的亚烷基是如本文所定义的。优选的烷基硫代烃氧基是亚烷基-S-烷基，例如包括亚甲基硫代甲氧基(-CH₂SCH₃)、亚乙基硫代甲氧基(-CH₂CH₂SCH₃)、正亚丙基异硫代丙氧基(-CH₂CH₂CH₂SCH(CH₃)₂)、亚甲基叔硫代丁氧基(-CH₂SC(CH₃)₃)等。

术语“烯基”表示一价直链或支链不饱和烃基，优选地具有2至40个碳原子，更优选2至10个碳原子，进而更优选2至6个碳原子，并且具有至少1个、优选1-6个乙烯基不饱和位置。优选的烯基包括乙烯基(-CH=CH₂)、正丙烯基(-CH₂CH=CH₂)、异丙烯基(-C(CH₃)=CH₂)等。

术语“取代的烯基”表示如上所定义的烯基，具有1至5个取代基，优选1至3个取代基，选自自由烃氧基、取代的烃氧基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、取代的氨基、氨基酰基、氨基酰氧基、氧基氨基酰基、叠氨基、氰基、卤素、羟基、酮基、硫代酮基、羧基、羧基烷基、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、巯基、硫代烃氧基、取代的硫代烃氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟基氨基、烃氧基氨基、硝基、-SO-烷基、-SO-取代的烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO₂-烷基、-SO₂-取代的烷基、-SO₂-芳基和-SO₂-杂芳基组成的组。

术语“亚烯基”表示二价直链或支链不饱和烃基，优选地具有2至40个碳原子，更优选2至10个碳原子，进而更优选2至6个碳原子，并且具有至少1个、优选1-6个乙烯基不饱和位置。该术语例如有亚乙烯基(-CH=CH-)、亚丙烯基异构体(例如-CH₂CH=CH-和-C(CH₃)=CH-)等。

术语“取代的亚烯基”表示如上所定义的亚烯基，具有1至5个取代基，优选1至3个取代基，选自自由烃氧基、取代的烃氧基、环烷

基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、取代的氨基、氨基酰基、氨基酰氧基、氧基氨基酰基、叠氨基、氰基、卤素、羟基、羧基、羧基烷基、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、巯基、硫代烃氧基、取代的硫代烃氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟基氨基、烃氧基氨基、硝基、-SO-烷基、-SO-取代的烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO₂-烷基、-SO₂-取代的烷基、-SO₂-芳基和-SO₂-杂芳基组成的组。另外，这类取代的亚烯基包括其中该亚烯基上 2 个取代基稠合构成一个或多个下列基团的那些：环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、芳基、杂环基或杂芳基，与该亚烯基稠合。

术语“炔基”表示一价不饱和烃，优选地具有 2 至 40 个碳原子，更优选 2 至 20 个碳原子，进而更优选 2 至 6 个碳原子，并且具有至少 1 个、优选 1-6 个乙炔（三键）不饱和位置。优选的炔基包括乙炔基（-C≡CH）、炔丙基（-CH₂C≡CH）等。

术语“取代的炔基”表示如上所定义的炔基，具有 1 至 5 个取代基，优选 1 至 3 个取代基，选自由烃氧基、取代的烃氧基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、取代的氨基、氨基酰基、氨基酰氧基、氧基氨基酰基、叠氨基、氰基、卤素、羟基、羧基、羧基烷基、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、巯基、硫代烃氧基、取代的硫代烃氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟基氨基、烃氧基氨基、硝基、-SO-烷基、-SO-取代的烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO₂-烷基、-SO₂-取代的烷基、-SO₂-芳基和-SO₂-杂芳基组成的组。

术语“亚炔基”表示二价不饱和烃，优选地具有 2 至 40 个碳原子，更优选 2 至 10 个碳原子，进而更优选 2 至 6 个碳原子，并且具有至少 1 个、优选 1-6 个乙炔（三键）不饱和位置。优选的亚炔基包括亚乙炔基（-C≡C-）、亚炔丙基（-CH₂C≡C-）等。

术语“取代的亚炔基”表示如上所定义的亚炔基，具有 1 至 5 个取代基，优选 1 至 3 个取代基，选自由烃氧基、取代的烃氧基、环烷

基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、取代的氨基、氨基酰基、氨基酰氧基、氧基氨基酰基、叠氨基、氰基、卤素、羟基、酮基、硫代酮基、羧基、羧基烷基、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、巯基、硫代烃氧基、取代的硫代烃氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟基氨基、烃氧基氨基、硝基、-SO-烷基、-SO-取代的烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO₂-烷基、-SO₂-取代的烷基、-SO₂-芳基和-SO₂-杂芳基组成的组。

术语“酰基”表示 HC(O)-、烷基-C(O)-、取代的烷基-C(O)-、环烷基-C(O)-、取代的环烷基-C(O)-、环烯基-C(O)-、取代的环烯基-C(O)-、芳基-C(O)-、杂芳基-C(O)-和杂环基-C(O)-，其中烷基、取代的烷基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、芳基、杂芳基和杂环基是如本文所定义的。

术语“酰氨基”或“氨基羰基”表示-C(O)NRR，其中每个 R 独立地是氢、烷基、取代的烷基、芳基、杂芳基、杂环基，或者其中两个 R 连接构成杂环基（例如吗啉代基），其中烷基、取代的烷基、芳基、杂芳基和杂环基是如本文所定义的。

术语“氨基酰基”表示-NRC(O)R，其中每个 R 独立地是氢、烷基、取代的烷基、芳基、杂芳基或杂环基，其中烷基、取代的烷基、芳基、杂芳基和杂环基是如本文所定义的。

术语“氨基酰氧基”或“烃氧基碳酰氨基”表示-NRC(O)OR，其中每个 R 独立地是氢、烷基、取代的烷基、芳基、杂芳基或杂环基，其中烷基、取代的烷基、芳基、杂芳基和杂环基是如本文所定义的。

术语“酰氧基”表示烷基-C(O)O-、取代的烷基-C(O)O-、环烷基-C(O)O-、取代的环烷基-C(O)O-、芳基-C(O)O-、杂芳基-C(O)O-和杂环基-C(O)O-，其中烷基、取代的烷基、环烷基、取代的环烷基、芳基、杂芳基和杂环基是如本文所定义的。

术语“芳基”表示 6 至 20 个碳原子的不饱和芳族碳环基团，具有单一的环（例如苯基）或多个稠合环，其中至少一个环是芳族的（例

如萘基、二氢菲基、芴基或蒽基)。优选的芳基包括苯基、萘基等。

除非受到芳基取代基定义的限制,这类芳基可以可选地被1至5个、优选1至3个取代基取代,选自由酰氧基、羟基、巯基、酰基、烷基、炔氧基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、取代的烷基、取代的炔氧基、取代的烯基、取代的炔基、取代的环烷基、取代的环烯基、氨基、取代的氨基、氨基酰基、酰氨基、烷芳基、芳基、芳氧基、叠氨基、羧基、羧基烷基、氰基、卤代、硝基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、氨基酰氧基、氧基酰氨基、磺酰胺、硫代炔氧基、取代的硫代炔氧基、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、-SO-烷基、-SO-取代的烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO₂-烷基、-SO₂-取代的烷基、-SO₂-芳基、-SO₂-杂芳基和三卤甲基组成的组。优选的芳基取代基包括烷基、炔氧基、卤代、氰基、硝基、三卤甲基和硫代炔氧基。

术语“芳氧基”表示芳基-O-,其中芳基是如上所定义的,包括可选被取代的芳基,也是如上所定义的。

术语“亚芳基”表示从如上所定义的芳基(包括取代的芳基)衍生的二价基团,例如1,2-亚苯基、1,3-亚苯基、1,4-亚苯基、1,2-亚萘基等。

术语“氨基”表示-NH₂。

术语“取代的氨基”表示-NRR,其中每个R独立地选自由氢、烷基、取代的烷基、环烷基、取代的环烷基、烯基、取代的烯基、环烯基、取代的环烯基、炔基、取代的炔基、芳基、杂芳基和杂环基组成的组,只要两个R不都是氢。

“氨基酸”表示任意天然存在的D、L或DL型氨基酸(例如Ala、Arg、Asn、Asp、Cys、Glu、Gln、Gly、His、Hyl、Hyp、Ile、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、Tyr和Val)。天然存在的氨基酸的侧链是本领域熟知的,例如包括氢(例如在甘氨酸中)、烷基(例如在丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸中)、取代的烷基(例如在苏氨酸、丝氨酸、甲硫氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、谷氨酸、谷氨酰胺、精氨酸和赖氨酸中)、烷芳基(例如在

苯丙氨酸和色氨酸中)、取代的芳烷基(例如在酪氨酸中)和杂芳烷基(例如在组氨酸中)。

术语“羧基”表示 $-\text{COOH}$ 。

术语“C-末端”在涉及糖肽时在本领域中有充分理解的含义。例如,关于式I的糖肽,C-末端是被基团 R^3 取代的位置。

术语“二羧基取代的烷基”表示被两个羧基取代的烷基。该术语例如包括 $-\text{CH}_2(\text{COOH})\text{CH}_2\text{COOH}$ 和 $-\text{CH}_2(\text{COOH})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ 。

术语“羧基烷基”或“炔氧羰基”表示“ $-\text{C}(\text{O})\text{O}$ -烷基”、“ $-\text{C}(\text{O})\text{O}$ -取代的烷基”、“ $-\text{C}(\text{O})\text{O}$ -环烷基”、“ $-\text{C}(\text{O})\text{O}$ -取代的环烷基”、“ $-\text{C}(\text{O})\text{O}$ -烯基”、“ $-\text{C}(\text{O})\text{O}$ -取代的烯基”、“ $-\text{C}(\text{O})\text{O}$ -炔基”和“ $-\text{C}(\text{O})\text{O}$ -取代的炔基”,其中烷基、取代的烷基、环烷基、取代的环烷基、烯基、取代的烯基、炔基和取代的炔基是如本文所定义的。

术语“环烷基”表示3至20个碳原子的环状烷基,具有单一的环或多个稠合的环。这类环烷基例如包括单环结构,例如环丙基、环丁基、环戊基、环辛基等,或多环结构,例如金刚烷基等。

术语“取代的环烷基”表示具有1至5个取代基、优选1至3个取代基的环烷基,取代基选自自由炔氧基、取代的炔氧基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、取代的氨基、氨基酰基、氨基酰氧基、氧基氨基酰基、叠氨基、氰基、卤素、羟基、酮基、硫代酮基、羧基、羧基烷基、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、巯基、硫代炔氧基、取代的硫代炔氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟基氨基、炔氧基氨基、硝基、 $-\text{SO}$ -烷基、 $-\text{SO}$ -取代的烷基、 $-\text{SO}$ -芳基、 $-\text{SO}$ -杂芳基、 $-\text{SO}_2$ -烷基、 $-\text{SO}_2$ -取代的烷基、 $-\text{SO}_2$ -芳基和 $-\text{SO}_2$ -杂芳基组成的组。

术语“环烯基”表示4至20个碳原子的环状烯基,具有单一的环和至少一个内不饱和点。适合的环烯基的实例例如包括环丁-2-烯基、环戊-3-烯基、环辛-3-烯基等。

术语“取代的环烯基”表示具有1至5个取代基、优选1至3个

取代基的环烯基, 取代基选自由炔氧基、取代的炔氧基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、取代的氨基、氨基酰基、氨基酰氧基、氧基氨基酰基、叠氨基、氰基、卤素、羟基、酮基、硫代酮基、羧基、羧基烷基、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、巯基、硫代炔氧基、取代的硫代炔氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟基氨基、炔氧基氨基、硝基、-SO-烷基、-SO-取代的烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO₂-烷基、-SO₂-取代的烷基、-SO₂-芳基和-SO₂-杂芳基组成的组。

术语“卤代”或“卤素”表示氟、氯、溴和碘。

“卤代烷基”表示被 1-4 个如本文所定义的卤代基团取代的如本文所定义的烷基, 这些卤代基团可以是相同或不同的。代表性卤代烷基例如包括三氟甲基、3-氟十二烷基、12, 12, 12-三氟十二烷基、2-溴辛基、3-溴-6-氯庚基等。

术语“杂芳基”表示 1 至 15 个碳原子的芳族基团, 在至少一个环(如果存在一个以上的环)内具有 1 至 4 个选自氧、氮和硫的杂原子。

除非受到杂芳基取代基定义的限制, 这类杂芳基可以可选地被 1 至 5 个、优选 1 至 3 个取代基取代, 选自由酰氧基、羟基、巯基、酰基、烷基、炔氧基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、取代的烷基、取代的炔氧基、取代的烯基、取代的炔基、取代的环烷基、取代的环烯基、氨基、取代的氨基、氨基酰基、酰氨基、烷芳基、芳基、芳氧基、叠氨基、羧基、羧基烷基、氰基、卤代、硝基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、氨基酰氧基、氧基酰氨基、硫代炔氧基、取代的硫代炔氧基、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、-SO-烷基、-SO-取代的烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO₂-烷基、-SO₂-取代的烷基、-SO₂-芳基、-SO₂-杂芳基和三卤甲基组成的组。优选的芳基取代基包括烷基、炔氧基、卤代、氰基、硝基、三卤甲基和硫代炔氧基。这类杂芳基可以具有单一环(例如吡啶基或咪唑基)或多个稠合的环(例如咪唑啉基或苯并噻吩基)。优选的杂芳基包括吡啶基、吡咯基和咪唑基。

A 在每次单独出现时可以是 O、N、S 或 P。冠状化合物的实例例如包括 $[-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}-]_3$ 、 $[-((\text{CH}_2)_2-\text{O})_4-((\text{CH}_2)_2-\text{NH})_2]$ 等。通常，这类冠状化合物可以具有 4 至 10 个杂原子和 8 至 40 个碳原子。

术语“杂环氧基”表示杂环基-O-。

术语“硫代杂环氧基”表示杂环基-S-。

术语“N-末端”在涉及糖肽时是本领域熟知的。例如，关于式 II 糖肽，N-末端是被基团 R^{19} 和 R^{20} 取代的位置。

术语“氧基酰氨基”或“氨基碳酰氧基”表示 $-\text{OC}(\text{O})\text{NRR}$ ，其中每个 R 独立地是氢、烷基、取代的烷基、芳基、杂芳基或杂环基，其中烷基、取代的烷基、芳基、杂芳基和杂环基是如本文所定义的。

术语“磷酰基”表示 $-\text{PO}_3\text{H}_2$ 。

术语“磷酰基甲氨基”表示 $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ 。

术语“磷酰基甲氨基甲基”表示 $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ 。

术语“前体药物”是本领域熟知的，包括在哺乳动物系统内转化为本发明药物活性化合物的化合物。例如参见 Remington's Pharmaceutical Sciences, 1980, vol. 16, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 61 和 424。

术语“R-末端”在涉及糖肽时是本领域熟知的。例如，关于式 I 糖肽，R-末端是被基团 R^5 取代的位置。

术语“糖基”表示被氧化、还原或取代的糖一价基，经由糖部分的任意原子（优选经由糖苷配基碳原子）与糖肽或其他化合物共价连接。该术语包括含有氨基的糖基。代表性糖例如包括己糖，例如 D-葡萄糖、D-甘露糖、D-木糖、D-半乳糖、万古胺、3-脱甲基-万古胺、3-表-万古胺、4-表-万古胺、acosamine、actinosamine、道诺糖胺 (daunosamine)、3-表-道诺糖胺、利托糖胺 (ristosamine)、D-葡萄糖胺、N-甲基-D-葡萄糖胺、D-葡萄糖醛酸、N-乙酰基-D-氨基葡萄糖、N-乙酰基-D-半乳糖胺、sialyic acid、艾杜糖醛酸、L-岩藻糖等；戊糖，例如 D-核糖或 D-阿拉伯糖；酮糖，例如 D-核酮糖或 D-果糖；二糖，例如 2-O-(α -L-万古胺基)- β -D-吡喃葡萄糖、2-O-(3-脱甲基- α -L-

万古胺基)- β -D-吡喃葡萄糖、蔗糖、乳糖或麦芽糖；衍生物，例如缩醛、胺、酰化、硫酸化与磷酸化的糖；具有2至10个糖单元的寡糖。出于该定义的目的，这些糖用常规的三字母命名法表示，糖可以是它们的开放形式，或者优选为它们的吡喃糖形式。

术语“含有氨基的糖基”表示具有氨基取代基的糖基。代表性含有氨基的糖包括 L-万古胺、3-脱甲基-万古胺、3-表-万古胺、4-表-万古胺、acosamine、actinosamine、道诺糖胺、3-表-道诺糖胺、利托糖胺、N-甲基-D-葡糖胺等。

术语“螺旋连接的环烷基”表示经由两个环共用的一个碳原子与另一个环连接的环烷基。

术语“立体异构体”在涉及给定的化合物时是本领域熟知的，表示具有相同分子式的另一种化合物，其中组成另一化合物的原子在空间取向的方式上是不同的，但是其中在另一化合物中的原子在原子与其他原子连接方面如同给定化合物中的原子（例如对映异构体、非对映异构体或几何异构体）。例如参见 Morrison 和 Boyde Organic Chemistry, 1983, 第4版, Allyn and Bacon, Inc., Boston, Mass., p. 123.

术语“磺酰胺”表示式-SO₂NRR 基团，其中每个 R 独立地是氢、烷基、取代的烷基、芳基、杂芳基或杂环基，其中烷基、取代的烷基、芳基、杂芳基和杂环基是如本文所定义的。

术语“巯基”表示-SH。

术语“硫代烃氧基”表示-S-烷基。

术语“取代的硫代烃氧基”表示-S-取代的烷基。

术语“硫代芳氧基”表示芳基-S-，其中芳基是如上所定义的，包括可选被取代的芳基，也是如上所定义的。

术语“硫代杂芳氧基”表示杂芳基-S-，其中杂芳基是如上所定义的，包括可选被取代的芳基，也是如上所定义的。

术语“硫醚衍生物”在用于表示本发明糖肽化合物时包括硫醚(-S-)、亚砷(-SO-)和砷(-SO₂-)。

至于任何含有一个或多个取代基的上述基团，当然可以理解这类基团不含有任何空间上不切实际的和/或合成上不可行的取代或取代方式。另外，本发明化合物包括所有由这些化合物的取代产生的立体化学异构体。

“糖肽”表示寡肽（例如七肽）抗生素（dalbaheptides），是以可选被糖基取代的多环肽核心为特征的，例如万古霉素。包括在该定义内的糖肽实例可以参见“Glycopeptides Classification, Occurrence, and Discovery”，Raymond C. Rao 和 Louise W. Crandall, (“Drugs and the Pharmaceutical Sciences” Volume 63, edited by Ramakrishnan Nagarajan, published by Marcal Dekker, Inc.)。其他糖肽实例公开在美国专利 No. 4,639,433; 4,643,987; 4,497,802; 4,698,327; 5,591,714; 5,840,684; 和 5,843,889; EP 0 802 199; EP 0 801 075; EP 0 667 353; WO 97/28812; WO 97/38702; WO 98/52589; WO 98/52592; 和 J. Amer. Chem. Soc., 1996, 118, 13107-13108; J. Amer. Chem. Soc., 1997, 119, 12041-12047; 和 J. Amer. Chem. Soc., 1994, 116, 4573-4590。代表性糖肽包括 A477、A35512、A40926、A41030、A42867、A47934、A80407、A82846、A83850、A84575、AB-65、阿克他宁、类放线菌素（Actinoidin）、阿达星（Ardacin）、阿伏帕星、Azureomycin、Balhimycin、Chloroorientiein、Chloropolysporin、Decaplanin、N-脱甲基万古霉素、Eremomycin、Galacardin、Helvecardin、Izupeptin、Kibdelin、LL-AM374、甘露糖肽素、MM45289、MM47756、MM47761、MM49721、MM47766、MM55260、MM55266、MM55270、MM56597、MM56598、OA-7653、Orenticin、Parvodicin、利托菌素、利托霉素、Synmonicin、替考拉宁（Teicoplanin）、UK-68597、UK-69542、UK-72051、万古霉素等。本文所用的术语“糖肽”还打算包括上面公开的一大类肽，其上没有糖部分存在，也就是糖肽的糖苷配基系列。例如，附着在万古霉素酚环上的二糖部分被温和水解作用除去，得到万古霉素糖苷配基。在本发明范围内还有附加有另外的糖残基、尤其是氨基苷的糖肽，

方式类似于万古胺。

“可选的”或“可选地”意味着随后所述的事件或环境可以发生也可以不发生，该说明包括其中所述事件或环境发生的场合和其中它不发生的场合。例如，“可选被取代的”意味着基团可以被所述取代基取代或者可以不被取代。

本文所用的术语“惰性有机溶剂”或“惰性溶剂”或“惰性稀释剂”表示这样一种溶剂或稀释剂，在采用它作为溶剂或稀释剂的反应条件下本质上是惰性的。可以用作惰性溶剂或稀释剂的材料代表性实例例如包括苯、甲苯、乙腈、四氢呋喃(“THF”)、二甲基甲酰胺(“DMF”)、氯仿(“CHCl₃”)、亚甲基氯(或二氯甲烷或“CH₂Cl₂”)、二乙醚、乙酸乙酯、丙酮、甲乙酮、甲醇、乙醇、丙醇、异丙醇、叔丁醇、二噁烷、吡啶等。除非有相反指定，用在本发明反应中的溶剂是惰性溶剂。

术语“氮-连接的”或“N-连接的”表示基团或取代基是通过该基团或取代基氮上的键而与化合物(例如式 I 化合物)其余部分连接的。术语“氧-连接的”表示基团或取代基是通过该基团或取代基氧上的键而与化合物(例如式 I 化合物)其余部分连接的。术语“硫-连接的”表示基团或取代基是通过该基团或取代基硫上的键而与化合物(例如式 I 化合物)其余部分连接的。

“药学上可接受的盐”表示这样的盐，它们保留母体化合物的生物功效和性质，在给药剂量下不是生物学有害的或其它方面有害的。本发明化合物能够生成酸盐和碱盐，因为分别存在氨基和羧基。

药学上可接受的碱加成盐可以从无机与有机碱制备。从无机碱衍生的盐包括但不限于钠、钾、锂、铵、钙和镁的盐。从有机碱衍生的盐包括但不限于伯胺、仲胺与叔胺、取代的胺(包括天然存在的取代的胺)和环状胺的盐，碱包括异丙胺、三甲胺、二乙胺、三乙胺、三丙胺、乙醇胺、2-二甲氨基乙醇、氨基丁三醇、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、咖啡因、普鲁卡因、哈胺、胆碱、甜菜碱、乙二胺、氨基葡萄糖、N-烷基葡萄糖胺、可可碱、嘌呤类、哌嗪、哌啶和 N-乙基哌啶。还应当

理解，其他羧酸衍生物也将可用于实施本发明，例如羧酸酰胺，包括甲酰胺、低级烷基甲酰胺、二(低级烷基)甲酰胺等。

药学上可接受的酸加成盐可以从无机与有机酸制备。从无机酸衍生的盐包括盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等的盐。从有机酸衍生的盐包括乙酸、丙酸、乙醇酸、丙酮酸、草酸、苹果酸、丙二酸、琥珀酸、马来酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、甲磺酸、乙磺酸、对-甲苯磺酸、水杨酸等的盐。

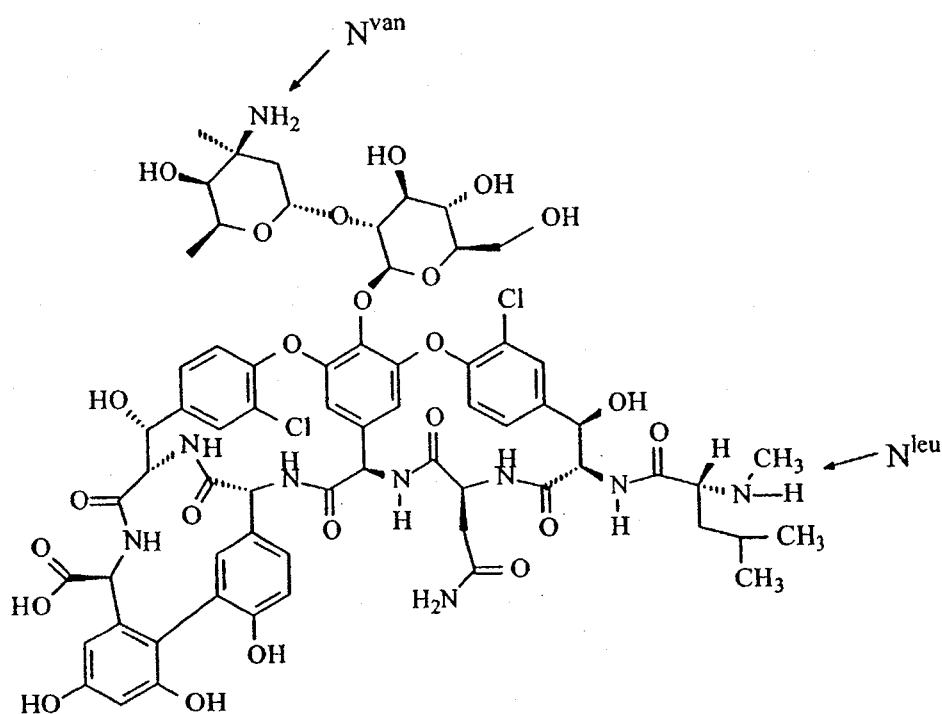
本文所述化合物通常含有一个或多个手性中心。因此，新颖的糖肽化合物打算包括外消旋混合物、非对映异构体、对映异构体和富含一种或多种立体异构体的混合物。

术语“保护基团”或“封闭基团”表示任何这样的基团，在与化合物的一个或多个羟基、巯基、氨基、羧基或其他基团键合时，防止在这些基团上发生不需要的反应，这些保护基团能够被常规的化学或酶学步骤除去，以重建羟基、巯基、氨基、羧基或其他基团。所采用的具体的可除去的保护基团不是关键性的，优选的可除去的羟基保护基团包括常规的取代基，例如烯丙基、苄基、乙酰基、氯乙酰基、硫代苄基、亚苄基、苯乙酰基、叔丁基-二苄基甲硅烷基和任何其他这样的基团，能够通过化学方法引入到羟基官能度上，随后在与产物性质相容的温和条件下被化学或酶学方法选择性除去。保护基团更具体地公开在 T. W. Greene 和 P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis" 3rd Ed., 1999, John Wiley and Sons, N. Y..

优选的可除去的氨基保护基团包括常规的取代基，例如叔丁氧羰基(t-BOC)、苄氧羰基(CBZ)、芴基甲氧羰基(FMOC)、烯丙氧羰基(ALOC)等，它们可以被与产物性质相容的常规条件除去。

优选的羧基保护基团包括酯，例如甲基、乙基、丙基、叔丁基等的酯，它们可以被与产物性质相容的温和条件除去。

“万古霉素”表示具有下式的糖肽抗生素：



在描述万古霉素衍生物时，术语“ N^{van} ”表示取代基是与万古霉素的万古胺部分的氨基共价连接的。类似地，术语“ N^{leu} ”表示取代基是与万古霉素的亮氨酸部分的氨基共价连接的。

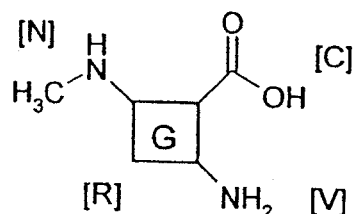
一般合成工艺

利用下列一般方法和工艺，可以从可容易地获得的原料制备糖肽化合物。将被领会到的是尽管给出典型的或优选的方法条件（也就是反应温度、事件、反应物摩尔比、溶剂、压力等），还可以使用其他方法条件，另有规定除外。最佳反应条件可以因所用特定反应物或溶剂而异，但是这类条件可以由本领域技术人员借助常规优化工艺加以确定。

另外，正如将为本领域技术人员所显而易见的，常规的保护基团可能需要用于防止某些官能团经历不需要的反应。适合于特定官能团的保护基团和适合于保护与去保护的条件的选择是本领域熟知的。例如，大量保护基团和它们的引入与除去描述在 T. W. Greene 和 G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis" 3rd Ed., Wiley, N. Y. 1999, 和其中引用的参考文献。

下列反应流程中，糖肽化合物被简化为方框“G”，羧基末端标以

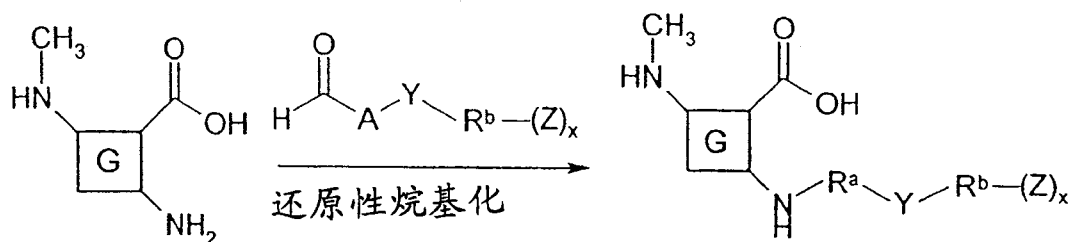
[C], 万古胺氨基末端标以[V], “非糖”氨基末端(亮氨酸胺部分)标以[N], 可选地, 间苯二酚部分标以[R], 如下:



在 C-末端被包含一个或多个(例如 1、2、3、4 或 5 个)磷酰基(-PO₃H₂)的取代基取代的糖肽化合物可以这样制备, 使对应的其中 C-末端是羧基的糖肽化合物与适合的含磷酰基化合物偶联。例如, 其中 C-末端是羧基的糖肽化合物可以与含有磷酰基的胺、醇或硫醇化合物偶联, 分别生成酰胺、酯或硫酯。例如, 其中 R³ 是包含一个或多个磷酰基的氮-连接的部分的式 I 糖肽化合物可以这样制备, 使对应的其中 R³ 是羟基的式 I 糖肽化合物与必需的含磷酰基胺偶联, 生成其中 R³ 是包含一个或多个磷酰基的氮-连接的部分的式 I 化合物。

在 C-末端被包含一个或多个(例如 1、2、3、4 或 5 个)磷酰基(-PO₃H₂)的取代基取代、并且其中万古胺氨基末端(V)被取代的糖肽化合物可以这样制备, 首先还原性烷基化对应的糖肽化合物, 其中万古胺氨基末端(V)是游离的胺(NH₂), 然后使对应的糖肽化合物与必需的含磷酰基化合物(例如含有磷酰基的胺、醇或硫醇)偶联。

举例而言, 糖肽化合物、例如万古霉素可以首先如下反应所示被还原性烷基化:



其中 A 代表 R^a 减去一个碳原子, R^a、R^b、Y、Z 和 x 是如本文所定义的。

该反应通常这样进行，首先在过量、优选约 2.0 当量叔胺的存在下，例如二异丙基乙胺 (DIPEA) 等，使一当量糖肽 (例如万古霉素) 与过量、优选 1.1 至 1.3 当量所需醛接触。该反应通常是这样进行的，在惰性溶剂中，例如 DMF 或乙腈/水，在环境温度下，时间约 0.25 至约 2 小时，直至对应的亚胺和/或半缩醛胺的生成基本上完全。通常不分离所得亚胺和/或半缩醛胺，而是就地与还原剂反应，例如氰基硼氢化钠、吡啶硼烷等，得到对应的胺。该反应优选地是这样进行的，在环境温度下，在甲醇或乙腈/水中，使亚胺和/或半缩醛胺与过量、优选约 3 当量的三氟乙酸接触，再与约 1 至 1.2 当量还原剂接触。所得烷基化产物容易经过常规工艺纯化，例如沉淀法和/或反相 HPLC 法。惊人地，通过在三烷基胺的存在下生成亚胺和/或半缩醛胺，然后用三氟乙酸酸化，再与还原剂接触，还原性烷基化反应的选择性大为改善，也就是说，糖氨基 (例如万古胺) 的还原性烷基化优先于 N-末端 (例如亮氨酸) 的还原性烷基化达至少 10:1，更优选 20:1。

上述方法在选择性烷基化糖肽抗生素的氨基糖基方面比以前的方法有显著改进。烷基化包含糖-胺的糖肽的方法包括：

将醛或酮、适合的碱和糖肽混合，得到反应混合物；

酸化该反应混合物；和

将反应混合物与适合的还原剂混合，得到在糖-胺处被烷基化的糖肽。

优选地，除了糖-胺以外，糖肽还包含至少一个氨基。

优选地，糖-胺处的还原性烷基化优先于糖肽另一氨基处的还原性烷基化达至少约 10:1，更优选至少约 15:1 或约 20:1。

还原性烷基化方法通常是在适合的溶剂或溶剂组合的存在下进行的，例如卤代烃 (例如亚甲基氯)、直链或支链醚 (例如二乙醚、四氢呋喃)、芳族烃 (例如苯或甲苯)、醇 (甲醇、乙醇或异丙醇)、二甲基亚砷 (DMSO)、N,N-二甲基甲酰胺、乙腈、水、1,3-二甲基-3,4,5,6-四氢-2(1H)-嘧啶酮、四甲基脲、N,N-二甲基乙酰胺、二乙基甲酰胺 (DMF)、1-甲基-2-吡咯烷酮、四亚甲基亚砷、甘油、乙酸乙酯、乙酸异丙酯、N,N-二甲基亚丙基脲 (DMPU) 或二噁烷。优选地，烷

基化是在乙腈/水或 DMF/甲醇中进行的。

优选地，还原作用（也就是用还原剂处理）是在质子溶剂的存在下进行的，例如醇（例如甲醇、乙醇、丙醇、异丙醇或丁醇）、水等。

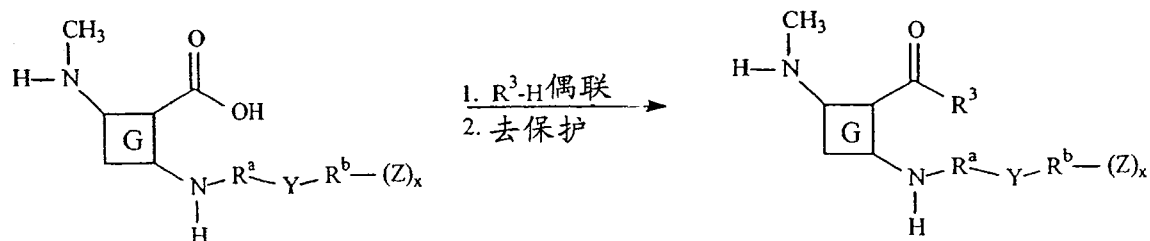
本发明的还原性烷基化方法可以在任何适合的温度下进行，从反应混合物的凝固点到回流温度。优选地，反应是在约 0°C 至约 100°C 的温度下进行的，更优选约 0°C 至约 50°C 的温度，或者约 20°C 至约 30°C 的温度。

在本发明的还原性烷基化方法中可以采用任意适合的碱。适合的碱包括叔胺（例如二异丙基乙胺、N-甲基吗啉或三乙胺）等。

可以使用任意适合的酸来酸化反应混合物。适合的酸包括羧酸（例如乙酸、三氯乙酸、柠檬酸、甲酸或三氟乙酸）、无机酸（例如盐酸、硫酸或磷酸）等。优选的酸是三氟乙酸。

适合于进行本发明还原性烷基化方法的还原剂是本领域已知的。在本发明的方法中可以采用任意适合的还原剂，只要它与存在于糖肽中的官能度是相容的即可。例如，适合的还原剂包括氰基硼氢化钠、三乙酰氧基硼氢化钠、吡啶/硼烷、硼氢化钠和硼氢化锌。还原作用还可以在过渡金属催化剂（例如钯或铂）的存在下、在氢源（例如氢气或环己二烯）的存在下进行。例如参见 *Advanced Organic Chemistry, Fourth Edition*, John Wiley & Sons, New York (1992), 899-900。

然后使还原性烷基化所得糖肽衍生物与含有磷酰基的胺 (R^3-H) 偶联，生成酰胺键。该反应如下反应所述：



其中 R^3 是氮-连接的基团，包含一个或多个磷酰基。该反应中，通常在肽偶联剂的存在下，例如 PyBOP 和 HOBT，使糖肽衍生物与胺接触，

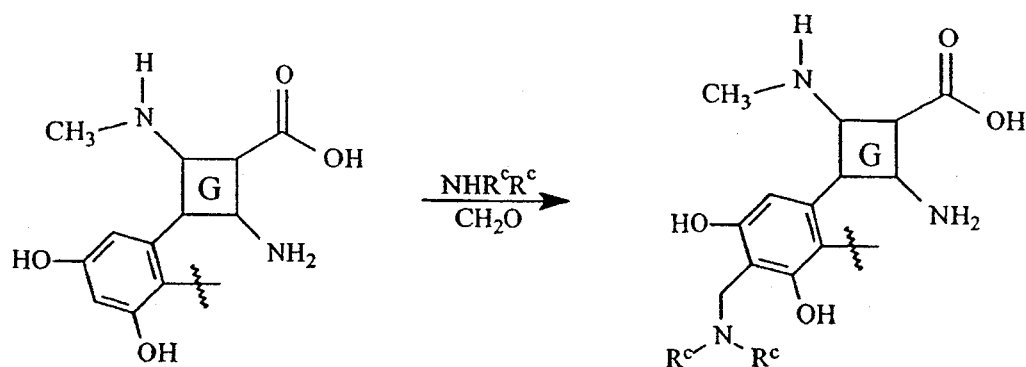
得到酰胺。该反应通常是这样进行的，在惰性稀释剂中，例如 DMF，在约 0°C 至约 60°C 的温度下，时间为约 1 至 24 小时或者直至偶联反应基本上完全。随后利用常规工艺和试剂去保护，得到本发明的化合物。

如果需要的话，可以首先进行上述胺偶联步骤，得到酰胺，然后进行还原性烷基化和去保护，得到本发明的化合物。

如果需要的话，糖肽化合物还可以按逐步方式制备，其中首先通过还原性烷基化连接 $-R^a-Y-R^b-(Z)_x$ 基团的前体与糖肽，随后利用常规试剂和工艺修饰所连接的前体，生成 $-R^a-Y-R^b-(Z)_x$ 基团。另外，在上述还原性烷基化反应中还可以采用酮，得到 α -取代的胺。

在这些还原性烷基化反应中可以采用任何具有氨基的糖肽。这类糖肽是本领域熟知的，它们是商业上可得到的或者可以利用常规工艺分离。适合的糖肽例如公开在美国专利 Nos. 3,067,099; 3,338,786; 3,803,306; 3,928,571; 3,952,095; 4,029,769; 4,051,237; 4,064,233; 4,122,168; 4,239,751; 4,303,646; 4,322,343; 4,378,348; 4,497,802; 4,504,467; 4,542,018; 4,547,488; 4,548,925; 4,548,974; 4,552,701; 4,558,008; 4,639,433; 4,643,987; 4,661,470; 4,694,069; 4,698,327; 4,782,042; 4,914,187; 4,935,238; 4,946,941; 4,994,555; 4,996,148; 5,187,082; 5,192,742; 5,312,738; 5,451,570; 5,591,714; 5,721,208; 5,750,509; 5,840,684 和 5,843,889 中。优选地，用在上述反应中的糖肽是万古霉素。

正如下列流程所述，可以经由 Mannich 反应在糖肽、例如万古霉素的间苯二酚部分上引入含有磷酰基的氨基烷基侧链（该流程中，为清楚起见阐述糖肽的间苯二酚部分）。该反应中，使式 NHRR' 胺（其中 R 和 R' 中的一个或两个是包含一个或多个磷酰基的基团）和醛（例如 CH_2O ）、例如福尔马林（甲醛的来源）与糖肽在碱性条件下反应，得到糖肽衍生物。



包含亚砷或砷的本发明化合物可以利用常规试剂和工艺从对应的硫代化合物制备。适合于氧化硫代化合物为亚砷的试剂例如包括过氧化氢、过酸类（例如 3-氯过苯甲酸 (MCPBA)）、高碘酸钠、亚氯酸钠、次氯酸钠、次氯酸钙、次氯酸叔丁酯等。还可以采用手性氧化试剂（旋光试剂），以得到手性亚砷。这类旋光试剂是本领域熟知的，例如包括 Kagen 等, Synlett., 1990, 643-650 所述的试剂。

用在上述反应性烷基化反应中的醛和酮也是本领域熟知的，它们是商业上可得到的，或者可以利用商业上可得到的原料和常规试剂借助常规工艺加以制备（例如参见 March, *Advanced Organic Chemistry*, Fourth Edition, John Wiley & Sons, New York (1992), 和其中引用的参考文献）。

膦酰基取代的化合物（例如膦酰基取代的胺、醇或硫醇）是商业上可得到的，或者可以利用商业上可得到的原料和试剂借助常规工艺加以制备。例如参见 *Advanced Organic Chemistry*, Jerry March, 4th ed., 1992, John Wiley and Sons, New York, page 959; 和 Frank R. Hartley (ed.) *The Chemistry of Organophosphorous Compounds*, vol. 1-4, John Wiley and Sons, New York (1996)。氨基磷酸

在商业上可从 Aldrich Chemical Company, Milwaukee, Wisconsin 获得。

下列实施例描述另外的细节和其它制备本发明化合物的方法。

纯化方法

本发明提供借助树脂色谱法纯化上述糖肽的磷酸基衍生物的方法，使用基于聚苯乙烯与二乙烯基苯的共聚物的树脂。这类树脂是以孔径约 30Å 至约 1000Å 的多孔珠粒为特征的，大量实例在商业上都有提供。关于本发明，优选的树脂孔径为约 50Å 至约 1000Å。下表 II 给出可用于本发明方法的树脂的示范性列表，包括厂商、孔径和珠粒大小。

表 II: 聚苯乙烯-二乙烯基苯树脂

树脂	孔径 (Å)	珠粒大小 (um)	厂商
Amberchrome CG-300m	300	50-100	TosoHaas
Amberchrome CG-300s	300	20-50	TosoHaas
Amberchrome CG-1000s	1000	20-50	TosoHaas
Amberchrome CG-71m	250	50-100	TosoHaas
Amberlite XAD-2010	280	200-800	Rohm&Haas
Amberlite XAD 1600	~100	350-450	Rohm&Haas
Amberlite XAD 16	100	200-800	Rohm&Haas
Amberlite XAD 16HP	100	200-800	Rohm&Haas
CHP-20P	260	37-75	Mitsubishi
HP-20	260	200-600	Mitsubishi
HP-20SS	260	63-150	Mitsubishi
SP-20SS	260	63-75	Mitsubishi
CHP55Y	260	25-35	Mitsubishi
Optipore L-323	100	200-800	Dow
SD-2	50	200-800	Dow

在示范性纯化方法中，聚苯乙烯树脂、例如表 II 所列举的树脂是这样制备的，在过量水中湿润，用水（可选地酸化）洗涤，和/或用极

性有机溶剂的水溶液（可选地酸化）洗涤，装上市谱柱。将所要纯化的糖肽样本溶于含有极性有机溶剂的酸化水。样本溶液的 pH 优选地在约 2 与 5 之间。取出小部分样本溶液，用作 HPLC 分析的标准物。

将样本溶液装上柱子，用极性有机溶剂的第二酸化水溶液洗脱，分批从柱子上收集之。优选地，第二酸化水溶液的浓度为约 10mM 酸，相应地，极性有机溶剂:水之比为约 1:4 至约 1:15。

借助薄层色谱法监测每一部分中样本的存在。当在洗脱液中不再观察到样本时，使用有机含量更高的洗脱溶液洗涤柱子上的剩余样本。将柱子用酸化极性有机溶剂和酸化水洗涤，使其再生。

借助 HPLC 分析含样本部分的样本浓度和纯度。汇集样本浓度高于所需阈值的部分，从洗脱液中分离所纯化的产物。正如实施例所述，通过冷冻干燥所汇集的部分，可以从洗脱液中回收所纯化的产物。

作为替代选择，可以借助沉淀和过滤从洗脱液中分离所纯化的产物。例如，可以向洗脱液加入过量极性有机溶剂，例如乙腈，生成纯化产物的固体沉淀，然后过滤之。

可选地，可以在分离过程的第一步中从洗脱液形成比洗脱液浓缩更多纯化产物的溶液。然后从更浓缩的溶液中分离产物。例如，更浓缩的溶液可以这样形成，向合并的洗脱部分加入 NaCl，将所得溶液装上市谱柱，柱子含有聚苯乙烯二乙烯基苯树脂，例如上述树脂，用极性有机溶剂浓度高于前面色谱步骤中有机溶剂浓度的溶液洗脱。作为替代选择，更浓缩的溶液可以在分批过程中形成，方法是，使用聚苯乙烯二乙烯基苯树脂，向低温的洗脱液加入树脂，以便产物被吸附在树脂上；过滤树脂，利用室温的含水极性有机溶液使糖肽从树脂上解吸。

如下实施例 4 所述，利用本发明的方法，最初磷酸化糖肽浓度在 67 与 74%之间的样本已被纯化至浓度在约 83 与 94%之间。

尽管已经利用柱色谱法描述了纯化方法，不过正如本领域所知，可以使样本溶液与树脂按可供替代的排列方式接触，例如使用成批加工容器。

下列实施例供阐述本发明，决不被解释为限制本发明的范围。

实施例

下列实施例中，下列缩写具有下列含义。任何没有被定义的缩写具有它们普遍被接受的含义。除非另有规定，所有温度均为摄氏度。

ACN	=	乙腈
BOC, Boc	=	叔丁氧羰基
DIBAL-H	=	氢化二异丁基铝
DIPEA	=	二异丙基乙胺
DMF	=	N,N-二甲基甲酰胺
DMSO	=	二甲基亚砷
eq.	=	当量
EtOAc	=	乙酸乙酯
Fmoc	=	9-芴基甲氧羰基
HOBT	=	1-羟基苯并三唑水合物
Me	=	甲基
MS	=	质谱法
PyBOP	=	苯并三唑-1-基氧基三(吡咯烷基)磷六氟磷酸盐
TEMPO	=	2,2,6,6-四甲基哌啶氧基, 游离基
TFA	=	三氟乙酸
THF	=	四氢呋喃
TLC, tlc	=	薄层色谱法

下列实施例中，盐酸万古霉素半水合物是从 Alpharma, Inc. Fort Lee, NJ 07024 (Alpharma AS, Oslo Norway) 购买的。其它试剂和反应物可从 Aldrich Chemical Co., Milwaukee, WI 53201 获得。

一般工艺 A

万古霉素的还原性烷基化

向万古霉素 (1eq.) 与所需醛 (1.3eq.) 在 DMF 中的混合物加入 DIPEA (2eq.)。将反应物在环境温度下搅拌 1-2 小时，用反相 HPLC 监测。向溶液加入甲醇和 NaCNBH₃ (1eq.)，然后加入 TFA (3eq.)。继

续在环境温度下搅拌另外一小时。反应完全后，在真空中除去甲醇。使残余物在乙腈中沉淀。过滤得到粗产物，然后经过反相 HPLC 纯化。如果需要的话，在该工艺中可以使用其它糖肽抗生素。

一般工艺 B

2-(癸硫基)乙醛的合成

在氮下，向碳酸钾(27g, 200mmol)的丙酮(100ml)悬液加入癸基溴(10ml, 50mmol)和巯基乙醇(4.4ml, 63mmol)。将悬液在室温下搅拌 2 天，然后在水与 80%己烷/乙酸乙酯之间分配。将有机相用 2N 氢氧化钠洗涤，经硫酸镁干燥，在真空下除去挥发物，得到 2-(癸硫基)乙醇(10.2g, 47mmol)，为无色液体，使用时无需进一步纯化。

在氮下，将 2-(癸硫基)乙醇(50g, 230mmol)、N,N-二异丙基乙胺(128ml, 730mmol)和亚甲基氯(400ml)冷却至 -40°C 。历经 15 分钟向该溶液加入三氧化硫-吡啶配合物(116g, 730mmol)的二甲基亚砷(600ml)与亚甲基氯(200ml)溶液。加入后，将混合物在 -40°C 下搅拌另外 15 分钟，然后加入 600ml 冰水。除去混合物的冷却浴，加入 1L 水，使液体分配。将有机相用 1L 1N 盐酸洗涤，经硫酸镁干燥。过滤得到 600ml 液体，用 600ml 己烷稀释，通过 200ml 硅石。将硅石用 100ml 50%亚甲基氯/己烷洗涤，然后用 300ml 亚甲基氯洗涤。合并有机相，在真空中浓缩，得到 2-(癸硫基)乙醛(48g, 220mmol)，为无色液体，使用时无需进一步纯化。

一般工艺 C

N^{van} -2-(癸硫基)乙基万古霉素的合成

工艺 A: 在氮下，向 2-(癸硫基)乙醛(139mg, 0.64mmol)的 N,N-二甲基甲酰胺(8ml)溶液中加入盐酸万古霉素水合物(1g, 0.64mmol)。加入 N,N-二异丙基乙胺(336 μl , 1.9mmol)，将悬液剧烈搅拌 2.5 小时，在此过程中所有万古霉素溶解。加入固体氰基硼氢化钠(60mg, 0.96mmol)，然后加入甲醇(5ml)和三氟乙酸(250 μl , 3.2mmol)。将反应物在室温下搅拌 55 分钟，用反相 HPLC 法分析。基于 280nm 下 UV 吸收的产物分布如下：

洗脱时间 (min)	面积%	产物
2.0	29	万古霉素
3.1	50	N ^{van} -2-(癸硫基)乙基万古霉素
3.2	2	---
3.3	7	N ^{leu} -2-(癸硫基)乙基万古霉素
3.9	13	N ^{van} , N ^{leu} -双-[2-(癸硫基)乙基]万古霉素
4.0	0.5	---

工艺 B: 在氮下, 向 2-(癸硫基)乙醛(粗, 48g, 220mmol)的 N,N-二甲基甲酰胺(1.4L)溶液中加入固体盐酸万古霉素水合物(173g, 110mmol), 然后加入 N,N-二异丙基乙胺(58ml, 330mmol)。将悬液在室温下剧烈搅拌 2 小时, 其间所有万古霉素完全溶解。然后加入三氟乙酸(53ml, 690mmol)。将溶液搅拌另外 90 分钟, 然后加入固体氰基硼氢化钠(10.5g, 170mmol), 然后加入甲醇(800ml)。三小时后, 用反相 HPLC 法分析反应。基于 280nm 下 UV 吸收的产物分布如下:

洗脱时间 (min)	面积%	产物
2.0	15	万古霉素
3.2	77	N ^{van} -2-(癸硫基)乙基万古霉素
3.3	3	---
3.4	0.5	N ^{leu} -2-(癸硫基)乙基万古霉素
4.0	0.8	N ^{van} , N ^{leu} -双-[2-(癸硫基)乙基]万古霉素
4.1	4	---

将来自上述任一工艺的反应混合物倒入水(7L)中, 得到略微浑浊的溶液。用饱和碳酸氢钠调节溶液的 pH 至 5, 导致白色沉淀的生成。过滤收集该沉淀, 用水洗涤, 再用乙酸乙酯洗涤, 在真空下干燥, 得到 N^{van}-2-(癸硫基)乙基万古霉素, 使用时无需进一步纯化。

工艺 C: 在 25°C 下, 将盐酸万古霉素(3.0g, 2.1mmol)的 ACN/H₂O (1:1, 30ml)溶液用二异丙基乙胺(0.54g, 0.72ml, 4.2mmol)处理, 然后用 2-(癸硫基)乙醛(0.91g, 4.2mmol)处理。30 分钟后, 将反应混合物用 TFA (1.92g, 1.29ml, 16.8mmol)处理, 然后用 NaCNBH₃

(0.132g, 2.1mmol)处理。5至10分钟后,使粗产物 $N^{\text{van}}-2-(\text{癸硫基})$ 乙基万古霉素在乙腈(300ml)中沉淀。

实施例 1

化合物 3 的制备

(式 I, 其中 R^3 是 $N-(\text{磷酸甲基})-\text{氨基}$; R^5 是氢; R^{19} 是氢; R^{20} 是 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{S}-(\text{CH}_2)_9\text{CH}_3$)

将 $N^{\text{VAN}}-(2-\text{癸硫基})$ 乙基万古霉素双三氟乙酸盐(1g, 0.53mmol)和二异丙基乙胺(0.23ml, 1.33mmol)混合在 DMF (10ml)中, 搅拌直至均匀。然后向反应混合物加入 HOBt (0.080g, 0.58mmol)和 PYBOP (0.300g, 0.58mmol)。5-10分钟后, 加入含有(氨甲基)磷酸(0.060g, 0.53mmol)和二异丙基乙胺(0.23ml, 1.33mmol)在水(3ml)中的均匀溶液。将反应物在室温下搅拌, 用 MS 监测。当判断反应完全时, 将反应混合物用乙腈(40ml)稀释, 离心。弃去上清液, 将含有所需产物的剩余粒状沉淀溶于 50%含水乙腈(10ml), 经过反相制备型 HPLC 纯化, 得到标题化合物。MS 计算值(M⁺) 1742.7; 实测值(MH⁺) 1743.6。

实施例 2

化合物 11 的制备

(式 I, 其中 R^3 是 $-\text{OH}$; R^5 是 $N-(\text{磷酸甲基})-\text{氨甲基}$; R^{19} 是氢; R^{20} 是 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{NH}-(\text{CH}_2)_9\text{CH}_3$)

将(氨甲基)磷酸(3.88g, 35mmol)和二异丙基乙胺(6.1ml, 35mmol)混合在水(40ml)中, 搅拌直至均匀。然后向反应混合物加入乙腈(50ml)和甲醛(37% H₂O 溶液; 0.42ml, 05.6mmol)。大约 15 分钟后, 向反应混合物加入 $N^{\text{VAN}}-\text{癸氨基乙基}$ 万古霉素三三氟乙酸盐(10.0g, 5.1mmol)和二异丙基乙胺(6.1ml, 35mmol)。将反应物在室温下搅拌大约 18 小时, 此时用 20% TFA 调节 pH 至约 7, 在真空中除去乙腈, 将残余物冷冻干燥。将所得固体用水(100ml)研制, 过滤收集, 在真空中干燥, 经过反相制备型 HPLC 纯化, 得到标题化合物。MS 计算值(MH⁺) 1756.6; 实测值(MH⁺) 1756.6。

化合物 11 也是如下制备的。

将 N^{VAN} -（癸氨基乙基）万古霉素的奎宁环盐（500mg, 0.28mmol, 下列 f 子部分）和氨基磷酸（155mg, 1.4mmol）悬浮在 50% 含水乙腈（10ml）中。加入二异丙基乙胺（972 μ l, 720mg, 5.6mmol），将混合物在室温下搅拌，直至固体溶解。然后将反应混合物在冰浴中冷却，加入福尔马林（3.7%，将商品 37% 福尔马林用 50% ACN/水按 1:9 稀释，220 μ l, 8.8mg, 0.29mmol）。将反应混合物在 0 $^{\circ}$ C 下搅拌 15 小时，此时反应完全。在 0 $^{\circ}$ C 下加入 3N HCl 至约 pH 2，猝灭反应。将混合物用 50% ACN/水稀释至 50ml，然后加入乙腈（75ml，然后 5 x 10ml，间隔 5 分钟，总计 125ml），使产物沉淀。借助真空过滤收集固体，在真空中干燥。经过反相制备型 HPLC 纯化，得到标题化合物。

中间体 N^{VAN} -癸氨基乙基万古霉素三三氟乙酸盐是如下制备的。

a. N-Fmoc-2-（癸氨基）乙醇。将 2-（正癸氨基）乙醇（2.3g, 11mmol, 1.1eq）和 DIPEA（2.0ml, 11mmol, 1.1eq）溶于亚甲基氯（15ml），在冰浴中冷却。加入 9-芴基甲基氯甲酸酯（2.6g, 10mmol, 1.0eq）的亚甲基氯（15ml）溶液，将混合物搅拌 30 分钟，然后用 3N 盐酸（50ml）洗涤两次，用饱和碳酸氢钠（50ml）洗涤。有机相经硫酸镁干燥，在减压下除去溶剂。N-Fmoc-2-（癸氨基）乙醇（4.6g, 11mmol, 108%）在使用时无需进一步纯化。

b. N-Fmoc-癸氨基乙醛。在 -35 至 -45 $^{\circ}$ C 下，历经 20 分钟向草酰氯（12.24ml）和亚甲基氯（50ml）的溶液加入 DMSO（14.75g）的亚甲基氯（25ml）溶液。将反应混合物在 -35 至 -45 $^{\circ}$ C 下搅拌 10 分钟。历经 25 分钟加入 N-Fmoc-癸氨基乙醇（20.0g）的亚甲基氯（70ml）溶液，然后在 -35 至 -45 $^{\circ}$ C 下搅拌 40 分钟。然后加入三乙胺（21.49g），将混合物在 -10 至 -20 $^{\circ}$ C 下搅拌 30 分钟。将反应混合物用水（120ml）、然后用浓硫酸（20.0g）猝灭，同时保持内部温度在 0 - 5 $^{\circ}$ C。分离有机层，用 2% 硫酸（100ml）洗涤，然后用水洗涤（2 x 100ml）。将有机溶液在 60 $^{\circ}$ C 真空下蒸馏至约 100ml。加入庚烷（100ml），将油浴的温度升至 80 $^{\circ}$ C，继续蒸馏，直至残留体积为 100ml。加入更多的庚烷（100ml），重复蒸馏至体积 100ml。将加热浴用 15 $^{\circ}$ C 冷水浴代替。历经 20 分钟缓慢将冷

水浴冷却至 5°C，引发产物的沉淀。然后将浆液冷却至 -5 至 -10°C，搅拌 2 小时。然后在布氏漏斗上收集固体，用冷 (-5°C) 庚烷洗涤 (2 x 15ml)。将湿固体在真空中干燥，得到醛。

c. N^{van} -(N-Fmoc-2-正癸氨基乙基)万古霉素三氟乙酸盐

将盐酸万古霉素 (12g, 7.7mmol, 1.0eq)、N-Fmoc-2-(正癸氨基)-乙醛 (3.2g, 7.6mmol, 1.0eq) 和 DIPEA (2.6ml, 14.9mmol, 2.0eq) 在室温 DMF (120ml) 中搅拌 90 分钟。加入氰基硼氢化钠 (1.4g, 22mmol, 3.0eq)，然后加入甲醇 (120ml)，然后加入三氟乙酸 (1.8ml, 23mmol, 3.0eq)。将混合物在室温下搅拌 60 分钟，然后在减压下除去甲醇。向 600ml 二乙醚加入所得溶液，生成沉淀，过滤之，用乙醚洗涤，在真空下干燥。粗产物经过反相快速柱纯化，用含 10、20、30% 乙腈的水 (含有 0.1% 三氟乙酸) 洗脱，除去极性杂质 (例如残留的万古霉素)，然后将产物用含 70% 乙腈的水 (含有 0.1% 三氟乙酸) 洗脱，得到 9g N^{van} -(N-Fmoc-2-正癸氨基乙基)万古霉素，为它的三氟乙酸盐 (4.3mmol, 56%)。

d. N^{van} -2-(正癸氨基)乙基万古霉素三氟乙酸盐。将 N^{van} -(N-Fmoc-2-正癸氨基乙基)万古霉素 (100mg) 溶于 1ml DMF (1ml)，用吡啶 (200 μ l) 处理 30 分钟。使混合物沉淀到乙醚中，离心，用乙腈洗涤。反相制备型 HPLC (含 10-70% 乙腈的水，含有 0.1% 三氟乙酸，历经 120 分钟) 得到 N^{van} -2-(正癸氨基)乙基万古霉素，为它的 TFA 盐。

中间体 N^{VAN} -癸氨基乙基万古霉素的奎宁环盐是如下制备的。

e. N^{van} -(N'-Fmoc-癸氨基乙基)万古霉素。向装有机械搅拌器的 2L 烧瓶加入盐酸万古霉素 (50.0g)、N-Fmoc-癸氨基乙醛 (13.5g)、DMF (400ml) 和 N,N-二异丙基乙胺 (11.7ml)。将悬液在室温下搅拌 2 小时，此时固体已经溶解。加入甲醇 (190ml)，然后加入三氟乙酸 (10.4ml)。将反应混合物搅拌 5 分钟后，一次性加入硼烷-吡啶配合物 (3.33g)，用甲醇 (10ml) 冲洗。搅拌 4 小时后，将反应物用冰浴冷却至 5-10°C，加入水 (675ml)，加水的速度要保持温度低于 20°C。使反应混合物温热至室温，加入 10% NaOH 至 pH 4.2-4.3 (大约 15ml)。将所得浆

液在冰浴中冷却 1 小时，然后借助真空过滤收集产物，用冷水洗涤 (2 x 100ml)。将湿固体在 50°C 真空中干燥，得到标题化合物，为灰白色至淡粉红色固体。

f. N^{VAN} -(癸氨基乙基)万古霉素奎宁环盐。将 N^{VAN} -(N' -Fmoc-癸氨基乙基)万古霉素 (88g, 42mmol) 溶于 DMF (500ml)，在室温下搅拌 1 小时。加入奎宁环 (9.4g, 84mmol)，将反应混合物搅拌 18 小时。在真空中除去 DMF，将固体用乙腈 (700ml) 研制 3 小时。在布氏漏斗上收集固体，用乙腈 (200ml) 研制 16 小时。此时加入更多的乙腈 (700ml)，在布氏漏斗上收集固体，用乙腈 (500ml) 洗涤，然后重新悬浮在乙腈 (500ml) 中。搅拌 2 小时后，在布氏漏斗上收集固体，在真空中干燥，得到标题化合物。

实施例 3

化合物 12 的制备

(式 I, 其中 R^3 是 -OH; R^5 是 N-(磷酸甲基)-氨基; R^{19} 是氢; R^{20} 是 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{S}-(\text{CH}_2)_9\text{CH}_3$)

将(氨基)磷酸 (0.295g, 266mmol) 和二异丙基乙胺 (0.649ml, 3.72mmol) 混合在水 (5ml) 中，搅拌直至均匀。然后向反应混合物加入甲醛 (37% H_2O 溶液; 0.044ml, 0.585mmol) 和乙腈 (5ml)。大约 15 分钟后，向反应混合物加入 N^{VAN} -(2-癸硫基)乙基万古霉素双三氟乙酸盐 (1g, 0.53mmol) 和二异丙基乙胺 (0.649ml, 3.72mmol)。将反应物在室温下搅拌大约 18 小时，此时将反应混合物用 ACN (40ml) 稀释，离心。弃去上清液，将含有所需产物的剩余粒状沉淀溶于 50% 含水乙腈 (10ml)，经过反相制备型 HPLC 纯化，得到标题化合物。MS 计算值 (M+) 1772.7; 实测值 (MH+) 1773.4。

利用上述工艺和适当的原料，制备如表 I 所示化合物。关于这些化合物的质谱数据如下：

化合物 No.	MW (游离碱)	观察到的 MH ⁺
1	1725.63	1726.6
2	1726.62	1727.5
3	1742.68	1743.6
4	1724.64	1725.6
5	1742.96	1743.6
6	1786.03	1786.4
7	1785.04	1785.8
8	1799.07	1799.7
9	1770.74	1771.8
10	1772.99	1774.3
11	1755.66	1756.6
12	1772.71	1773.4
13	1756.64	1757.6
14	1754.67	1755.7
15	1772.99	1773.7
16	1816.06	1816.5
17	1815.01	1816.2
18	1829.10	1829.8
19	1878.1	1878.2
20	1802.74	1803.5

21	1830.75	1831.7
22	1849.66	1850.6
23	1800.76	1801.6
24	1801.04	1801.6
25	1932.86	1934.0
26	1880.12	1880.7

实施例 4

化合物 11 的纯化

(式 I, 其中 R^3 是 $-OH$; R^5 是 $N-(\text{磷酸甲基})-\text{氨基}$; R^{19} 是氢; R^{20} 是 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{NH}-(\text{CH}_2)_9\text{CH}_3$)

将 2g Amberlite XAD 1600 与过量 HPLC 级水混合 4 小时。除去过量水, 将树脂连续用 (1) 过量 HPLC 级水; (2) 过量 10mM 乙酸的甲醇溶液; (3) 过量 10mM 乙酸的 50/50 v/v ACN/水溶液; (4) 过量 5/95 v/v 乙酸/水; 和 (5) 过量 10/90 v/v 乙酸/水洗涤。

将树脂装上 1cm 内径的柱子 (Omnifit #56001), 柱子装有 20psi 反压调节器 (Upchurch P-791)、蠕动泵 (Ranin Dynamax Model RP-1) 和分级收集器 (BioRad 2110), 调节流速, 每小时洗脱 1 柱床体积的溶液, 得到 1ml 部分。

将 50mg 粗化合物 11 溶于 5ml 10/90 v/v 乙酸/水, 制备样本。将溶液用声波处理 5 分钟, 装上柱子, 流速为 1 柱床体积/小时。将 20 微升上柱溶液用水按 1:50 v/v 稀释, 用作 HPLC 分析的标准物。

将上柱样本用 10mM 乙酸的 17.5/82.5 v/v ACN/水溶液稀释。收集每一部分, 借助薄层色谱法 (TLC) 测试样本的存在。将每一部分点在 TLC 板 (EM Science #15341) 上, 与来自上柱溶液的参照斑点比较, 以

确认化合物 11 的存在。收集各部分，直至 TLC 不再检测到化合物 11。然后将洗脱溶液转移至 10mM 乙酸的 50/50 v/v ACN/水溶液，目的是洗除柱上任何剩余的样本。洗除部分也用 TLC 测试样本的存在。一旦在洗除部分中不再见到样本，则终止收集。然后将柱子用各为 5 柱床体积的 10mM 乙酸的甲醇溶液、10mM 乙酸的 50/50 v/v ACN/水溶液和 10/90 v/v 乙酸/水溶液洗涤。

使每一部分涡旋，用水按 1:10 稀释到自动进样小瓶内。使自动进样小瓶涡旋，在 Varian HPLC 系统上分析，在 214nm 下紫外检测。将 20 微升的每一稀释部分注射到室温的 Zorbax Bonus-RP, 4.6 x 150mm 柱子上。从柱子上洗脱样本，洗脱梯度为 82% A (5/95 v/v ACN/水, 0.1% TFA)/18% B (95/5 ACN/水, 0.1% TFA) 至 60% A/40% B, 时间 7 分钟。

汇集含有纯度超过 89% 的化合物 11 的部分。将所汇集的部分在 VirTis benchtop 冻干器上冷冻干燥过夜，称重，测定收率。将固体化合物 11 溶于 10/90 v/v 乙酸/水，用水稀释至 100 微克/毫升。将 100 微克/ml 纯化合物 11 用上述 HPLC 方法分析，以检验它的纯度。从下式确定经过校正的收率：

$$\text{化合物 11 收率\%} = \frac{[(\text{mg 纯品})(\text{纯品中化合物 11 的\%})]}{[(\text{mg 粗品})(\text{粗品中化合物 11 的\%})]} \times 100\%$$

如下表 III 第一行所示，起始浓度 74% 的化合物 11 被纯化至 90% 浓度，收率 59%。

实施例 5 - 13

用多种树脂和洗脱溶液纯化化合物 11

使用多种树脂和洗脱溶液，借助实施例 4 的方法纯化化合物 11。结果列在下表 III 中。

表 III: 化合物 11 的纯化

Ex	树脂	洗脱相	最初 %	最终 %	收率 %
4	Amberlite XAD 1600	17.5/82.5 ACN/水, 10mM 乙酸	74	90	59
5	Amberlite XAD 16	17.5/82.5 ACN/水, 10mM 乙酸	74	84	69
6	Amberchrome CG-300S	12/88 IPA/水, 2mM HCl	67	86	78
7	Diaion HP 20	17.5/82.5 ACN/水, 10mM 乙酸	74	85	39
8	Amberlite XAD 16HP	17.5/82.5 ACN/水, 10mM 乙酸	74	87	27
9	Amberlite XAD 1600	17.5/82.5 ACN/水, 2mM HCl	74	85	48
10	Amberlite XAD 1600	17.5/82.5 ACN/水, 0.05% TFA	74	94	36
11	Optipore SD-2	17.5/82.5 ACN/水, 10mM 乙酸	74	83	70
12	Amberchrome CG1000S	12/88 IPA/水, 2mM HCl	70	90	42
13	CHP-20P	12/88 ACN/水, 2mM HCl	68	83	11

从上述结果可以明显看出, 本发明的方法提供磷酸化糖肽衍生生物的纯化, 纯度超过 80%。

尽管已经参照其具体实施方式描述了本发明, 不过本领域技术人员应当理解, 可以进行各种改变和等价替换, 而不背离发明的真正精神和范围。另外, 可以进行很多修饰, 使特定的情形、材料、物质组成、方法、方法步骤适应本发明的目的、精神和范围。所有这样的修饰都打算包括在所附权利要求书的范围内。另外, 上文引用的所有出版物、专利和专利文献都全文结合在此作为参考文献, 如同单独结合作为参考文献一样。