[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl[7]
C07C237/26
C07C231/12 A61K 31/65
A61P 31/04

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 00815432.5

[43] 公开日 2003 年 2 月 26 日

[11] 公开号 CN 1399627A

[22] 申请日 2000.9.13 [21] 申请号 00815432.5
[30] 优先权
[32] 1999. 9.14 [33] US [31] 60/154,701
[32] 2000. 9.12 [33] US [31] 60/232,091
[86] 国际申请 PCT/US00/25040 2000.9.13
[87] 国际公布 WO01/19784 英 2001.3.22
[85] 进入国家阶段日期 2002.5.8
[71] 申请人 塔夫茨大学信托人
地址 美国麻萨诸塞州
[72] 发明人 M·L·内尔森 G·伦尼
D·J·科扎
[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 马崇德
权利要求书 7 页 说明书 34 页

[54] 发明名称 用基于过渡金属的化学制备取代四环素的方法

[57] 摘要

本发明涉及用于生产在此之前未能获得的取代四环素化合物的新的化学，其呈现明显的抗菌活性。 在形成用所需的有机取代基取代的四环素化合物的条件下，在此公开的方法使用基于活性四环素的前体化合物、活性有机取代基前体和过渡金属催化剂。 在本发明一个实施方案中，在形成用有机取代基取代的四环素化合物的条件下，在过渡金属催化剂例如氯化钯存在下，通过使基于活性四环素的前体化合物例如芳烃四环素重氮盐和活性有机取代基前体例如烯烃、取代烯烃、乙烯基单体、芳族和杂芳族结合，可制备取代四环素化合物。 这样的化合物可任选作为制备其它化合物的中间体起作用，例如在取代基上氢化不饱和基团。

ISSN1008-4274

体具有至少一个包含活性π-键的基团。

11. 权利要求 10 的方法，其中所述活性有机取代基前体为链烯基、炔基或芳族。

12. 权利要求 11 的方法，其中所述活性有机取代基前体为链烯基。

13. 权利要求 12 的方法，其中所述链烯基活性有机取代基前体为乙烯基单体。

14. 权利要求 12 的方法，其中所述链烯基活性有机取代基前体被取代。

15. 权利要求 12 或 14 的方法，其中所述链烯基活性有机取代基前体为亚甲基化合物、共轭二烯、异戊二烯、乙烯基醚、碘代烯烃或它们的衍生物。

16. 权利要求 11 的方法，其中所述芳基活性有机取代基前体为杂芳族。

17. 权利要求 11 或 16 的方法，其中所述芳基活性有机取代基前体为芳基硼酸、碘代芳基、醌、芳基乙烯或苯乙烯。

18. 权利要求 10 的方法，其中所述活性有机取代基前体包含羰基或硫代羰基。

19. 权利要求 18 的方法，其中所述活性有机取代基前体为芳基乙烯基酮、芳基异戊二烯基酮、α,β-不饱和醛、α,β-不饱和酮、α,β-不饱和酸或它们的衍生物。

20. 权利要求 11 的方法，其中所述炔基活性有机取代基前体为取代或未取代的乙炔。

21. 一种活性四环素化学复合物，它包括基于活性四环素的前体化合物和过渡金属催化剂。

22. 权利要求 21 的活性四环素化学复合物，其中所述催化剂包括有机钯催化剂。

23. 权利要求 22 的活性四环素化学复合物，其中所述有机钯催化

1. 一种制备取代四环素化合物的方法，该方法包括在形成由所述有机取代基取代的四环素化合物的条件下，使包含基于活性四环素的前体化合物和形成活性化学中间体的过渡金属催化剂的活性四环素化学复合物(complex)与活性有机取代基前体接触。

2. 一种制备取代四环素化合物的方法，该方法包括在形成由所述有机取代基取代的四环素化合物的条件下，在过渡金属催化剂存在下，使基于活性四环素的前体化合物和活性有机取代基前体结合。

3. 权利要求 1 或 2 的方法，其中所述过渡金属催化剂包括有机钯催化剂。

4. 权利要求 3 的方法，其中所述有机钯催化剂包括氯化钯、乙酸钯、$PdCl_2(PhCN)_2$、$PdCl_2(Ph_3P)_2$、$Pd_2(dba)_3$-$CHCl_3$ 或它们的组合。

5. 权利要求 1-4 中任一项的方法，其中所述过渡金属催化剂包括铜、铑、铁、铱、铬、锆或镍。

6. 权利要求 5 的方法，其中所述过渡金属催化剂包括 $CuCl_2$、CuI_2、乙酸铑(II)、$Rh_6(CO)_{16}$ 或它们的组合。

7. 权利要求 1-6 中任一项的方法，其中所述基于活性四环素的前体化合物为基于土霉素、金霉素、地美环素、多西环素、四环林、米诺环素、罗利环素、赖甲环素、山环素、美他环素、阿哌环素、氯莫环素、胍甲环素、甲葡环素、mepylcycline、青哌环素、匹哌环素、乙莫环素或培莫环素的前体化合物。

8. 权利要求 1-6 中任一项的方法，其中所述基于活性四环素的前体化合物选自基于活性米诺环素的前体化合物、基于活性多西环素的前体化合物和基于活性山环素的前体化合物。

9. 权利要求 1-8 中任一项的方法，其中所述基于活性四环素的前体化合物为四环素化合物的芳烃重氮盐、碘代衍生物或硼酸衍生物。

10. 权利要求 1-9 中任一项的方法，其中所述活性有机取代基前

剂包括氯化钯、乙酸钯、$PdCl_2(PhCN)_2$、$PdCl_2(Ph_3P)_2$、$Pd_2(dba)_3$-$CHCl_3$或它们的组合。

24. 权利要求21-23中任一项的活性四环素化学复合物，其中所述过渡金属催化剂包括铜、铑、铁、铱、铬、锆或镍。

25. 权利要求24的活性四环素化学复合物，其中所述过渡金属催化剂包括$CuCl_2$、CuI_2、乙酸铑(II)、$Rh_6(CO)_{16}$或它们的组合。

26. 权利要求21-25中任一项的活性四环素化学复合物，其中所述基于活性四环素的前体化合物为基于土霉素、金霉素、地美环素、多西环素、四环林、米诺环素、罗利环素、赖甲环素、山环素、美他环素、阿哌环素、氯莫环素、胍甲环素、甲葡环素、mepylcycline、青哌环素、匹哌环素、乙莫环素或培莫环素的前体化合物

27. 权利要求21-25中任一项的活性四环素化学复合物，其中所述基于活性四环素的前体化合物选自基于活性米诺环素的前体化合物、基于活性多西环素的前体化合物和基于活性山环素的前体化合物。

28. 权利要求21-27中任一项的活性四环素化学复合物，其中所述基于活性四环素的前体化合物为四环素化合物的芳烃重氮盐、碘代衍生物或硼酸衍生物。

29. 一种7-取代四环素化合物，其中所述7位上的取代基与-C-C-键连接，且其中所述取代基包含芳族或杂芳族部分。

30. 权利要求29的7-取代四环素化合物，其中所述化合物为7-4'-Cl-苯基山环素。

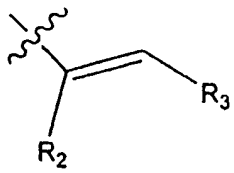
31. 权利要求29的7-取代四环素化合物，其中所述化合物为7-(4-氟苯基)山环素。

32. 权利要求29的7-取代四环素化合物，其中所述化合物为7-(4-硝基苯基)山环素。

33. 权利要求29的7-取代四环素化合物，其中所述化合物为7-(2-吡啶基)多西环素。

34. 一种7-取代四环素化合物，其中所述7位上的取代基与-C-C-键连接，且其中所述取代基包含与所述-C-C-键相邻的-C=C-键。

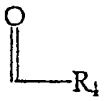
35. 权利要求34的7-取代四环素化合物，其中所述取代基具有下式



(Z)

其中 R_2 和 R_3 每一个独立为氢、烷基、链烯基、炔基、环烷基、芳基、烷基羰基、芳基羰基、烷氧基羰基、芳氧基羰基、氨基、羟基、氰基、烷氧基、芳氧基、羧基、烷氧基羰基、芳氧基羰基，或 R_2 和 R_3 一起形成取代或未取代的碳环或杂环。

36. 权利要求35的7-取代四环素化合物，其中 R_2 为氢和 R_3 为



，及 R_4 为氢、氰基或 C_1-C_5 烷氧基。

37. 权利要求35的7-取代四环素化合物，其中 R_2 和 R_3 一起形成取代或未取代碳环或杂环。

38. 权利要求35或37的7-取代四环素化合物，其中所述环包含5-15个原子。

39. 权利要求35、37或38中任一项的7-取代四环素化合物，其中所述环为共轭或非共轭芳族环系。

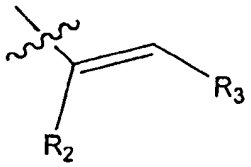
40. 权利要求35的7-取代四环素化合物，其中所述化合物为7-乙烯基山环素。

41. 一种9-取代四环素化合物，其中所述9位上的取代基与-C-C-键连接，且其中所述取代基包含芳族或杂芳族部分。

42. 一种9-取代四环素化合物，其中所述9位上的取代基与-C-C-键连接，且其中所述取代基包含与所述-C-C-键相邻的-C=C-键。

43. 权利要求42的9-取代四环素化合物，其中所述取代基具有下

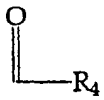
式



(Z)

其中 R_2 和 R_3 每一个独立为氢、烷基、链烯基、炔基、环烷基、芳基、烷基羰基、芳基羰基、烷氧基羰基、芳氧基羰基、氨基、羟基、氰基、烷氧基、芳氧基、羧基、烷氧基羰基、芳氧基羰基，或 R_2 和 R_3 一起形成取代或未取代的碳环或杂环。

44. 权利要求 43 的 9-取代四环素化合物，其中 R_2 为氢和 R_3 为



，其中 R_4 为氢、氰基或 C_1-C_5 烷氧基。

45. 权利要求 43 的 9-取代四环素化合物，其中 R_2 和 R_3 一起形成取代或未取代碳环或杂环。

46. 权利要求 43 或 45 的 9-取代四环素化合物，其中所述环在环上具有 5-15 个原子。

47. 权利要求 43、45 或 46 中任一项的 9-取代四环素化合物，其中所述环为共轭或非共轭芳族环系。

48. 一种通过以下方法制备的取代四环素化合物，所述方法包括在形成由所述有机取代基取代的四环素化合物的条件下，使包含基于活性四环素的前体化合物和形成活性化学中间体的过渡金属催化剂的活性四环素化学复合物与活性有机取代基前体接触。

49. 权利要求 48 的取代四环素化合物，其中所述基于活性四环素的前体化合物在 7、9 或 13 位上被所述有机取代基取代。

50. 权利要求 48 或 49 的取代四环素化合物，其中所述催化剂包括有机钯催化剂。

51. 权利要求 50 的取代四环素化合物，其中所述有机钯催化剂包括氯化钯、乙酸钯、$PdCl_2(PhCN)_2$、$PdCl_2(Ph_3P)_2$、$Pd_2(dba)_3$-$CHCl_3$ 或它们的组合。

52. 权利要求 48-51 中任一项的取代四环素化合物，其中所述过渡金属催化剂包括铜、铑、铁、铱、铬、锆或镍。

53. 权利要求 48-52 中任一项的取代四环素化合物，其中所述过渡金属催化剂包括 $CuCl_2$、CuI_2、乙酸铑(II)、$Rh_6(CO)_{16}$ 或它们的组合。

54. 权利要求 48-53 中任一项的取代四环素化合物，其中所述所述基于活性四环素的前体化合物为基于土霉素、金霉素、地美环素、多西环素、四环林、米诺环素、罗利环素、赖甲环素、山环素、美他环素、阿哌环素、氯莫环素、胍甲环素、甲葡环素、mepylcycline、青哌环素、匹哌环素、乙莫环素或培莫环素的前体化合物。

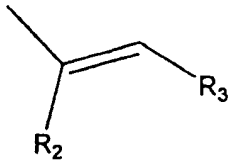
55. 权利要求 48-53 中任一项的取代四环素化合物，其中所述基于活性四环素的前体化合物选自基于活性米诺环素的前体化合物、基于活性多西环素的前体化合物和基于活性山环素的前体化合物。

56. 权利要求 48-55 中任一项的取代四环素化合物，其中所述基于活性四环素的前体化合物为四环素化合物的芳烃重氮盐、碘代衍生物或硼酸衍生物。

57. 权利要求 48-56 中任一项的取代四环素化合物，其中所述活性有机取代基前体具有至少一个包含活性π-键的基团。

58. 权利要求 48-57 中任一项的取代四环素化合物，其中所述活性有机取代基前体选自烯烃、取代烯烃、乙烯基单体、芳族和杂芳族活性基团。

59. 权利要求 48-58 中任一项的取代四环素化合物，其中所述有机取代基具有下式

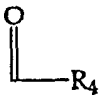


(Z)

其中 R_2 和 R_3 每一个独立为氢、烷基、链烯基、炔基、环烷基、芳基、烷基羰基、芳基羰基、烷氧基羰基、芳氧基羰基、氨基、羟基、氰基、烷氧基、芳氧基、羧基、烷氧基羰基、芳氧基羰基，或 R_2 和 R_3 一起

形成取代或未取代的碳环或杂环。

60. 权利要求 59 的取代四环素化合物，其中 R_2 为氢，R_3 为



，其中 R_4 为氢、氰基或 C_1-C_5 烷氧基。

61. 权利要求 59 的取代四环素化合物，其中 R_2 和 R_3 一起形成取代或未取代的碳环或杂环。

62. 权利要求 59 或 61 的取代四环素化合物，其中所述环在环上具有 5-15 个原子。

63. 权利要求 59、61 或 62 中任一项的取代四环素化合物，其中所述环为共轭或非共轭芳族环系。

64. 权利要求 59 或 61-63 中任一项的取代四环素化合物，其中所述环在环上具有 5-8 个原子。

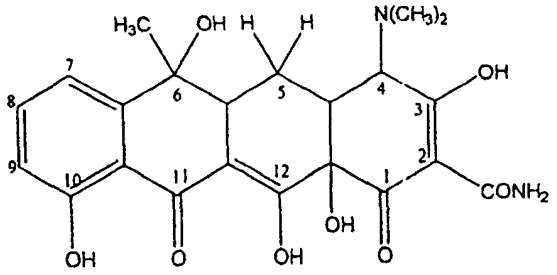
用基于过渡金属的化学制备取代四环素的方法

相关申请

本申请涉及1999年9月14日递交的同时待审的U.S.临时申请60/154,701号和2000年9月12日递交的Attorney Docket的U.S.临时申请第PKZ-018-2号，两者全部内容通过引用结合到本文中。

发明背景

四环素抗生素的开发是从世界许多地区收集的证明能生产杀菌和/或抑菌组合物的微生物的土壤样品系统筛选的直接结果。1948年推出这些新化合物中的第一个，称为金霉素。两年后土霉素成为可得到的。这些药物的化学结构的详细说明证实了它们的相似性并为1952年生产该组的第三个成员四环素提供了分析基础。到1957年，制备了一族新的四环素组合物，其化学特征是存在于早期组合物中的环上6位连接的OH基团不存在，并在1967年成为公开可获得的；至1972年米诺环素投入使用。各种四环素类药物在结构上的比较列于以下表I中，参考以下结构式绘制该表：



表I

同源物	取代基	在碳位置上的编号
金霉素	-Cl	(7)
土霉素	-OH,-H	(5)

地美环素	-OH,-H; -Cl	(6;7)
美他环素	-OH,-H; $=CH_2$	(5;6)
多西环素	-OH,-H; $-CH_3$,-H	(5;6)
米诺环素	-H,-H; $-N(CH_3)_2$	(6;7)

最近研究努力已集中在开发在变化的治疗条件和给药途径下有效的新的四环素抗生素组合物，并且用于开发新的四环素类似物，所述类似物可证实与1948年开始的最早推出的四环素家族具有等同的效力或比后者更有效。这样发现的代表包括U.S.专利3,957,980、3,674,859、2,980,584、2,990,331、3,062,717、3,557,280、4,018,889、4,024,272、4,126,680、3,454,697和3,165,531。应理解这些公开的专利仅代表寻找其药理学上有效的四环素和四环素类似物组合物的多种研究的范围。

在历史上，在它们初步开发和引入后不久，不考虑具体的制剂或化学结构，药理学发现四环素对立克次体、多种革兰氏阳性和革兰氏阴性菌高度有效，且这些药物对性病性淋巴肉芽肿、包涵体结膜炎和鹦鹉热起作用。因此，四环素称作“广谱”抗生素。随着它们的体外抗微生物活性、实验性感染的有效性和药理性质的随后的确立，四环素作为一类药物迅速广泛地用于治疗目的。然而，四环素广泛用于严重的和轻微的两类疾患和疾病直接导致出现对这些抗生素的耐药性，甚至在高度易感的共栖和病原菌种两类中出现-例如肺炎球菌和沙门氏菌属。耐四环素有机体的出现已导致使用四环素和四环素类似物组合物作为抗生素的选择普遍降低。

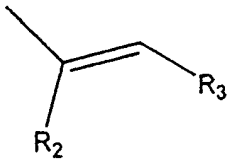
发明概述

本发明涉及用于生产取代的四环素化合物的新的化学过程，包括呈现明显的抗菌活性的取代的四环素化合物。在形成用所需的有机取代基取代四环素化合物的条件下，在此公开的方法使用基于活

性四环素的前体化合物、活性有机取代基前体和过渡金属或过渡金属催化剂。在本发明一个实施方案中，在形成用有机取代基取代四环素化合物的条件下，在过渡金属催化剂例如氯化钯存在下，通过使基于活性四环素的前体化合物例如芳烃四环素重氮盐和活性有机取代基前体例如烯烃、取代的烯烃、乙烯基单体、芳族和杂芳族结合，可制备取代的四环素化合物。在另一个实施方案中，在形成用有机取代基取代四环素化合物的条件下，通过使包含基于活性四环素的前体化合物和形成活性化学中间体的过渡金属或过渡金属催化剂的活性四环素化学复合物(complex)与活性有机取代基前体接触，可制备取代的四环素化合物。

在另一个实施方案中，本发明涉及活性四环素化学复合物，所述复合物包括基于活性四环素的前体化合物和形成化学中间体的过渡金属催化剂，化学中间体可有利地用于本发明方法中。

在另一个实施方案中，公开了取代四环素类似物，其中在所需的位置例如 7、9、13 位上的取代基(在此指“Z”)与-C-C-键连接，并且其中取代基包括芳族或杂芳族部分。取代基也可包括与-C-C-键相邻的-C=C-键，例如



(Z)

，

其中 R_2 和 R_3 每一个独立为氢、烷基、链烯基、炔基、环烷基、芳基、烷基羰基、芳基羰基、烷氧基羰基、芳氧基羰基、氨基、羟基、氰基、烷氧基、芳氧基、羧基、烷氧基羰基、芳氧基羰基，或 R_2 和 R_3 一起形成环上具有 5-15 个原子的取代或未取代的碳环或杂环。

在此公开的方法和化学中间体涉及新的取代四环素类化合物和治疗方法和包含这样化合物的药用组合物。

本发明的方法包括通过包含在所需的位置上形成活性中间体(在一个优选实施方案中包含四环素芳烃重氮盐)和在过渡金属催化剂存在下将活性化合物例如含有π键的化合物加成到该位置的方法在基本的四环素的环结构上提供上述的Z取代基。可就地形成活性中间体。在一个有利的实施方案中，这样的取代基被提供到基本的四环素环结构的D环上，例如7和/或9位。在另一个有利的实施方案中，这样的取代度可发生在13位上。在该领域中，到现在为止这样的合成流程是新的，并且有利于在所需的位置上的不同的和/或在此之前复合的(complex)取代基团的直接取代。

本发明化合物对易感的微生物有活性，包括四环素敏感菌以及四环素耐药菌。对抑制四环素耐药的大肠杆菌(E.colis)、金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)和粪肠球菌(*E. faecalis*)菌株例如大肠杆菌pHCM1、金黄色葡萄球菌RN4250和粪肠球菌pMV158，本发明特别优选的化合物呈现大约10 μg/mL或更小的24小时最小抑制浓度(MIC)值，更优选为大约1 μg/mL或更小。本发明的优选化合物也包括对抑制四环素敏感的大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和粪肠球菌菌株例如大肠杆菌D31m4、金黄色葡萄球菌RN450和粪肠球菌ATCC9790呈现这样MIC值的那些化合物。

本发明提供对抗易感的微生物例如细菌、真菌、立克次体、寄生虫等和与这样的微生物有关的疾病的治疗方法。这些治疗方法通常包括给予患有或对易感微生物例如细菌、真菌、立克次体等的感染易感的活体对象(living subject)治疗有效量的一种或更多种本发明化合物。适宜的接受治疗的对象包括动物，特别是哺乳动物例如人，或植物。

也提供包含一种或更多种本发明化合物和适宜的载体的药用组合物。

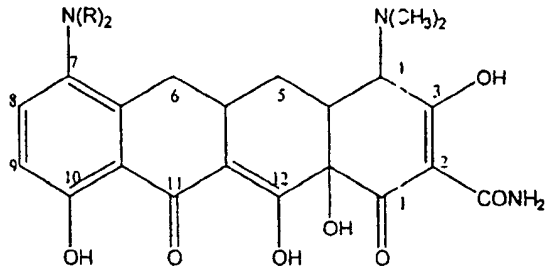
发明详述

通过参照以下概述的定义将更充分地说明本发明。

“四环素”或“四环素类”打算包括四环素和其它的的四环素族成员，例如土霉素、金霉素、地美环素、多西环素、四环林、米诺环素、罗利环素、赖甲环素、山环素、美他环素、阿哌环素、氯莫环素、胍甲环素、甲葡环素、mepylcycline、青哌环素、匹哌环素、乙莫环素、培莫环素等以及在本发明背景中值得提到的具有特征性的并四苯 A-B-C-D 环结构的其它四环素化合物。另外，如在以上结构式指明的那样，在此涉及的编号的四环素环的位置是相同的。

“基于活性四环素的前体化合物”或“基于 RT 的前体化合物”包括在四环素环结构上，例如在 7、9 或 13 位上具有活性位置的四环素，以便可以如在此所公开的，实现基于活性四环素的前体化合物的取代，以形成取代的四环素化合物。基于 RT 的前体化合物的实例包括衍生自本领域已知的四环素化合物族的衍生物。未加以限制，这样的四环素化合物族包括米诺环素、多西环素和山环素。

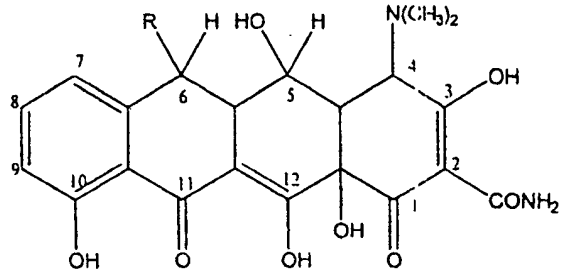
“基于米诺环素的前体化合物”打算包括具有米诺环素的核心结构的化合物，它因为在 7 位存在二甲基氨基，而在 6 位缺少甲基和羟基和在 5 位缺少羟基而不同于四环素的核心结构。为了阐述的目的，以下显示基于米诺环素的前体化合物的核心结构：



应该理解基于米诺环素的前体化合物，例如在除 5 和 6 以外的位置上可以被取代、未取代或衍生化(derivatized)。例如，在核心结构的其它位置例如 8 位可以被取代或未取代且其它的位置可以被取代或衍生化，例如 2-位酰氨基。适宜的取代基包括诸如氢、烷基、

链烯基、炔基、环烷基、芳基、烷基羰基、芳基羰基、烷氧基羰基、芳氧基羰基、氨基、羟基、氰基、烷氧基、芳氧基、羧基、甲酰胺基、羧酸酯(carboxy ester)、烷氧基羰基、芳氧基羰基、碳环或杂环基团的部分和它们的组合。本领域技术人员将意识到其它的取代基。另外，上式中 R 可表示非甲基的基团，例如低级烷基如乙基、丙基等。基于活性米诺环素的前体化合物包括(但不限于)基于 9-重氮米诺环素的化合物，基于 9-碘代米诺环素的化合物、基于 9-溴代米诺环素的化合物和基于 9-氯代米诺环素的化合物。

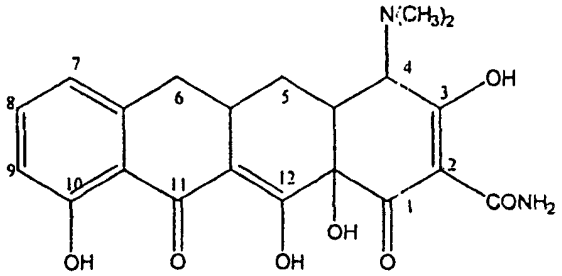
“基于多西环素的前体化合物”打算包括具有多西环素的核心结构的化合物，所述化合物因用氢取代 6 位羟基和用羟基取代 5 位的氢而不同于四环素的核心结构。为了说明的目的，以下显示基于多西环素的前体化合物的核心结构:



应理解基于多西环素的前体化合物，例如在 7、8 和/或 9 位上可以被取代、未取代或衍生化。例如，在核心结构的其它位置例如 8 位可以被取代或未取代且其它的位置可以被取代或衍生化的，例如 5-位羟基或 2-位酰氨基。适宜的取代基包括诸如氢、烷基、链烯基、炔基、环烷基、芳基、烷基羰基、芳基羰基、烷氧基羰基、芳氧基羰基、氨基、羟基、氰基、烷氧基、芳氧基、羧基、甲酰胺基、羧酸酯、烷氧基羰基、芳氧基羰基、碳环或杂环基团的部分和它们的组合。本领域技术人员将意识到其它的取代基。另外，上式中 R 可表示非甲基的基团，例如低级烷基如乙基、丙基等。基于活性多西环素的前体化合物包括(但不限于)7-和/或 9-重氮多西环素的化合物，

7-和/或 9-碘代多西环素的化合物、7-和/或 9-溴代多西环素的化合物和 7-和/或 9-氯代多西环素的化合物。

“基于山环素的前体化合物”打算包括具有山环素的核心结构的化合物，所述化合物因用氢取代甲基和用氢取代 6 位的羟基而不同于四环素的核心结构。为了说明的目的，以下显示基于山环素的前体化合物的核心结构:



应理解基于山环素的前体化合物可以在例如 7、8 和/或 9 位上被取代、未取代或衍生化。例如，在核心结构的其它位置例如 8 位可以被取代或未取代且其它的位置可以被取代或衍生化，例如 2-位酰氨基。适宜的取代基包括诸如氢、烷基、链烯基、炔基、环烷基、芳基、烷基羰基、芳基羰基、烷氧基羰基、芳氧基羰基、氨基、羟基、氰基、烷氧基、芳氧基、羧基、甲酰胺基、羧酸酯、烷氧基羰基、芳氧基羰基、碳环或杂环基团的部分和它们的组合。本领域技术人员将意识到其它的取代基。基于活性山环素的前体化合物包括(但不限于)7-和/或 9-重氮山环素的化合物，7-和/或 9-碘代山环素的化合物、7-和/或 9-溴代山环素的化合物和 7-和/或 9-氯代山环素的化合物。

在优选实施方案中，基于活性四环素的前体化合物为芳烃四环素重氮盐，及另外的碘衍生的四环素化合物或具有双键且与硼酸衍生物例如在 13 位上反应的四环素化合物。在一个实施方案中，通过本领域已知的技术(参见例如 Hegedus, 复杂有机分子合成中的过渡金属(*Transition Metals in the Synthesis of Complex Organic Molecules*, University Science Books), Mill Valley, CA, 1994，通过引用结合到本

文中)，基于活性四环素的前体化合物和过渡金属催化剂形成用于制备新的四环素活性化学中间体。用活性有机取代基前体优选就地形成活性化学中间体。

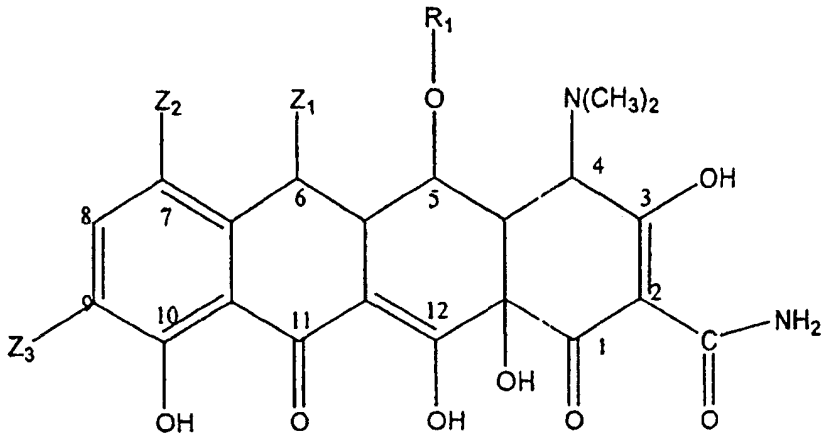
“过渡金属催化剂”为本领域熟知术语，它包括过渡金属和包含过渡金属的催化剂，例如包括元素 21-29，39-47， 57-79 和 89。举例说明的过渡金属催化剂包括 $CuCl_2$、三氟甲磺酸铜(I)、氯化铜噻吩、氯化钯(II)、有机钯催化剂如乙酸钯、$Pd(PPh_3)_4$、$Pd(AsPh_3)_4$、$PdCl_2(PhCN)_2$、$PdCl_2(Ph_3P)_2$、$Pd_2(dba)_3$-$CHCl_3$(“dba”=二苄基丙酮)和它们的组合。其它的过渡金属催化剂包括那些含有金属例如铑(例如乙酸铑(II)和 $Rh_6(CO_{16})$)、铁、铱、铬、锆和镍。基于现有的文献(参见例如 Lipshutz, B.H. Org. React. 1992. 41:135，通过引用结合到本文中)，熟练的技术人员将能够选择合适的过渡金属催化剂以进行所需的反应。

“活性有机取代基前体”包括具有用于加成到如在此公开的基于四环素的活性前体化合物上的活性基团的有机取代基。优选活性有机取代基前体包括至少一个活性基团。在一个实施方案中，活性有机取代基前体可包括π-键合物质(π-bonded species)，例如亚甲基化合物、芳基硼酸、活化芳环和未取代和取代的烯烃和炔烃、腈、乙炔、取代乙炔、芳基乙烯、苯乙烯、共轭二烯、异戊二烯、乙烯醚、α,β-不饱和醛和酮、芳基乙烯和芳基异戊二烯酮、碘代烯烃和碘代芳烃、醌、α,β-不饱和酸和它们的衍生物。

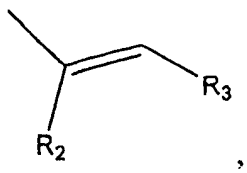
“活性有机取代基前体”也包括与活性中间体反应以形成所需的四环素类似物的化合物(所述化合物可就地形成)。例如，通过与其它有机金属配合物例如三丁基锡化合物和二有机铜酸锂反应，活性中间体可经金属转移形成各种各样的类似物(参见例如，Kalanin, *Synthesis*, 1992, 413; Sawamuru, *Chem. Rev.* 1992, 92:857; Negeishi, *Acct. Chem. Res.*, 1982, 15:340, 通过引用结合到本文中)。其它前体包括适用于过渡金属催化的反应的那些前体，包括具有与含有过渡金属的

中间体为活性的键的化合物。这样的前体包括例如具有卤素基团、羟基、三氟甲磺酸根、硫羟基、氨基的化合物。分子内反应也被包括，其中活性有机取代基前体与反应性化学中间体键合或缔合(参见Hegedus，上文)。

本发明化合物包括7-取代的四环素类似物、9-取代的四环素类似物和13-取代的四环素类似物。可通过以下通式阐述这些化合物



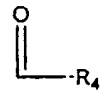
其中 Z_1、Z_2和 Z_3各自为 H 或



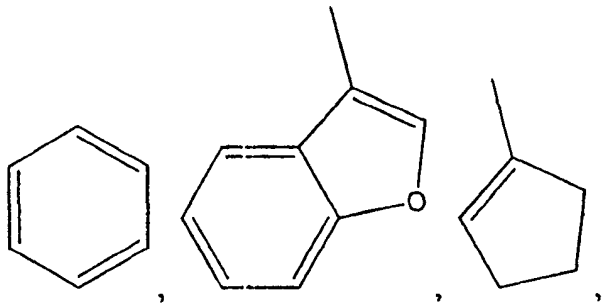
，

其中 R_2和 R_3每一个独立为氢、烷基、链烯基、炔基、环烷基、芳基、烷基羰基、芳基羰基、烷氧基羰基、芳氧基羰基、氨基、羟基、氰基、烷氧基、芳氧基、羧基、烷氧基羰基、芳氧基羰基；或 R_2和 R_3一起形成在环中具有 5-15 个原子的取代的或未取代的碳环或杂环；且 R_1为 H 或 OH。

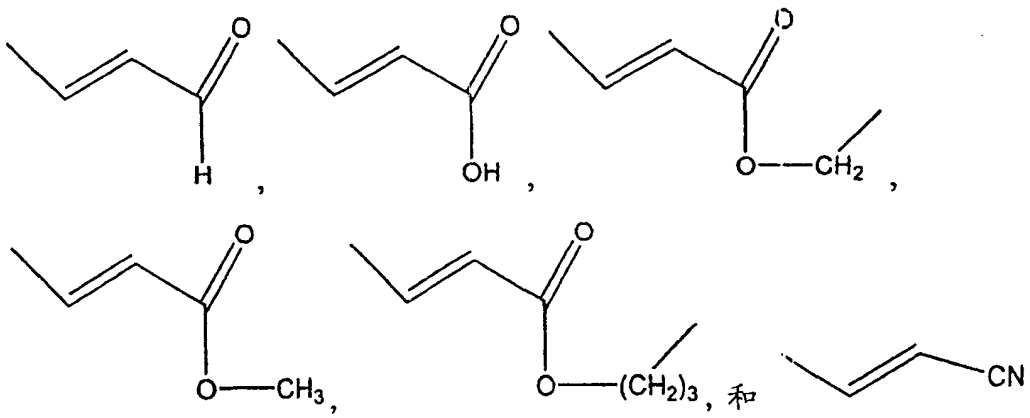
在另一个实施方案中，R_2为氢，并且 R_3为



，其中 R_4 为氢、氰基或 C_1-C_5 烷氧基。在另一个实施方案中，R_1 和 R_2 一起形成在环中具有 5-15 个原子的取代的或未取代的碳环或杂环；环可为共轭或非共轭的芳族环系，优选为 C_5-C_8。



对 Z 的适宜取代基包括



。

本发明在另一方面也提供用于制备取代的四环素化合物，所需的 7,9 或 13-取代的化合物的方法，另一方面，通过该方法制备四环素化合物。如在下文阐述的流程中一般描述的那样，可制备这些化合物。在流程的讨论中，各种取代基与以上定义相同；“R”包括 R_2 和 R_3。仅为了举例说明的目的，多西环素也被描述为“基本的”四环素化合物，虽然应该理解为可以以相同方法使用种类广泛的四环素化合物。例如，在 7-、9-和/或 13-位取代的基本的四环素化合物可适宜为土霉素、金霉素、地美环素、多西环素、四环林、米诺环素、

罗利环素、赖甲环素、山环素、美他环素、阿哌环素、氯莫环素、胍甲环素、甲葡环素、mepylcycline、青哌环素、匹哌环素、乙莫环素、培莫环素、它们的半合成中间体等。

通过以下流程中概述的方法，可易于制备本发明四环素化合物。流程 I 指的是四环素化合物的制备，它们可从式 1 的起始原料即称作多西环素的临床有用的四环素抗生素制备。已发现 6-(取代的)-5-羟基-6-脱氧四环素(1, R_2=CH_3, 多西环素)或它们的无机酸盐可溶于作为适宜溶剂的浓酸例如 H_2SO_4 中，并与硝化试剂例如硝酸钠或硝酸钾反应，产生 7 和 9-硝基四环素衍生物(2, 3)。通过各种技术分离这些化合物，优选方法为在 C_{18}-反相硅胶上，用包括含有甲醇梯度液的或 0.1% 三氟乙酸的乙腈梯度液的磷酸盐缓冲的乙二胺四乙酸钠盐(EDTA)二元梯度系统洗脱的制备性 HPLC。使用一般还原剂例如氢，用过渡金属催化剂、氧化铂、披钯碳或类似催化剂，这些分离的化合物易于还原为胺官能团，以良好收率得到 7-NH_2 和 9-NH_2 四环素(4, 5)。或者，借助 7-(N,N-二羧基苄氧基肼基)四环素的还原烷基化，可制备 7-NH_2 四环素(多西环素)(例如在 U.S.专利 3,483,251 中详细描述的那样，通过引用结合到本文中)。

用亚硝酸(HONO)或有机试剂例如亚硝酸丁酯，可使具有苯胺基官能团的化合物经受重氮化反应，以几乎定量的收率形成重氮盐(例如盐酸盐或四氟硼酸盐)(6, 7)。作为适宜的重氮盐形式的基于四环素的活性前体化合物(6, 7)现在可与有机钯催化剂和在四环素反应剂中间体与选择的反应性有机取代基前体之间导致碳-碳键形成的物质化学复合(complex)。过渡金属催化剂例如 $CuCl_2$ (the Meerwin 反应)以及钯催化剂例如氯化钯、乙酸钯或以上提及的其它催化剂(乙酸钯为优选)用于生产四环素的 7 和 9 位取代的衍生物。一般在极性溶剂中例如 DMSO、水和含有微量无机酸(HCl, 0.1%)的醇中，与取代的或未取代的芳族或杂芳族、烷基、链烯基或炔基亚结构中进行反应，产生所需的取代化合物。非极性溶剂也可用于进行这些反应。

已知过渡金属卤化物，例如钯和铜卤化物与芳烃重氮盐反应，形成可进一步反应的复合物。通过碳亚结构(双键和具有π-键的其它结构)的基团氧化-还原加成为缺电子的氮重氮化活性基团，过渡金属卤化物作为催化剂有利于碳-碳键形成。例如，当在反应系统中适宜的烯烃形成活性配位作用的复合物时，钯催化的碳-碳键形成易于发生。随后通过插入到碳σ键中，得到三元复合物。通过例如β-氢化物消除，催化剂例如钯被循环并再生，由此形成碳-碳共价键。使用这些条件，用基于活性四环素的前体化合物例如四环素芳烃重氮盐，易于使具有π-键系统的分子亚结构，例如烯烃或丙烯酸酯或具有双键的许多其它化合物的任何一种芳族化。也设计了其它过渡金属催化的反应例如金属转移作用和例如一氧化碳的插入反应(参见，Hegedus，以上例如过渡金属催化的反应)。

使用钯复合物和适宜的活性物质，均相催化碳-碳键形成是可能的。四环素例如多西环素或米诺环素用于在D环中产生活性重氮官能团，而活性附加物可从结构变化多样的化学族中得到。

因此，在适宜的过渡金属催化剂存在下，基于活性四环素的前体化合物例如四环素芳烃重氮盐，即在例如四环素分子的7和9位上具有活性官能团，可与烯烃、取代烯烃、乙烯基单体、芳族和杂芳族活性基团(未取代的或取代的)反应，以良好的收率得到7-(取代的)和9-(取代的)四环素(8, 9，流程I)。例如(流程II)，通过米诺环素(10)硝化为9-NO_2衍生物(11)，随后经催化还原为9-NH_2衍生物(12)，之后经重氮化作用(13)的反应顺序产生的7-位取代的四环素9-重氮盐也可与双键化合物例如烯烃和活性产物及试剂反应，生成式(II)的米诺环素衍生物(14，流程II)。

在一个实施方案中，式I和II的反应产物可进一步衍生化并与如在流程III-VII中描述的试剂反应，因此作为用于制备不易于另外得到的其它化合物的中间体起作用。在低压氢气下，用载于碳上的铂或钯催化剂，式I的9-链烯基取代的多西环素(8, 9)可经受9-链烯

基的氢化，形成多西环素的9-烷基衍生物(15, 16，流程III)。相似地，如在流程IV (17)中显示的那样，使用催化氢化方法，米诺环素的9-链烯基衍生物(14)也可还原为烷基衍生物。

当溶于强酸例如无水氟化氢或甲磺酸或三氟甲磺酸中时，式I的多西环素的7或9衍生物(流程I和III)也可与羧酸反应，得到7和9取代的多西环素的5-酯衍生物(18, 19，流程V)。

通过7或9衍生物与甲醛和适宜的碱(吡咯烷)反应，式I的多西环素的7或9衍生物(流程I, III和V)也可形成Mannich碱衍生物，得到Mannich碱加成产物(20, 21流程VI)。

通过7或9衍生物与甲醛和适宜的碱(吡咯烷)反应，式II的米诺环素的9衍生物(14，流程II)也可形成Mannich碱衍生物，得到Mannich碱加成产物(22，流程VII)。

在过渡金属催化剂例如乙酸钯存在下，在醇中，在流程I中生成的四环素重氮化活性官能团也可与一氧化碳反应，以良好收率得到7和9-羧酸衍生物(23, 24)，它们易于酯化，得到9位四环素酯(25, 26，流程VIII)。

在过渡金属催化剂例如乙酸钯存在下，在醇中，在流程II中生成的米诺环素重氮化活性官能团也可与一氧化碳反应，以良好收率得到9-羧酸衍生物(2)，它们易于酯化，得到9位米诺环素羧酸酯(28，流程IX)。

通过重氮化官能团，与7和9氨基四环素的其它反应是可能的。四环素芳烃重氮盐也可与活性亚甲基化合物反应，包括例如乙酰乙酸酯和它们的衍生物、活性芳族环、未取代的和取代烯烃、乙炔、取代乙炔、芳基乙炔、苯乙烯、共轭二烯、异戊二烯、乙烯醚、α，β-未取代的醛和酮、芳基乙烯基和芳基异戊二烯基酮、醌、α，β-未取代的酸和它们的衍生物。所有的多重键化合物易于与芳烃重氮盐以及亲核试剂偶合。

基于活性四环素的7位和7与9位前体化合物(如在流程X中显

示的四环素的卤代衍生物)也产生四环素的 7 和 9 衍生物。通过例如由 Hlavka, J.J., 等, J. Am. Chem. Soc., 84, 1961, 1426-1430 描述的反应，用碘化、溴化或氯化进行芳族取代反应，以良好收率得到多西环素的 7 和 9 卤素衍生物(29, 30)或山环素的 7 和 9 卤素衍生物(31, 32)。在含有过渡金属催化剂例如铜噻吩氯化物或其它的 N-甲基吡咯烷酮中，四环素的 7 和 9 位卤代衍生物可进一步与碘代烯烃或碘代芳烃偶合，以良好收率得到多西环素的 7 或 9 位衍生物(33, 34)或多西环素的 7 或 9 位衍生物(35, 36)。

在氯化钯或其它过渡金属催化剂存在下，在醇例如甲醇中，通过苯基硼酸与美他环素(37)的环外双键反应(流程 XI)，可以制备四环素的 13-位衍生物，以良好收率得到美他环素的 13-苯基衍生物(38)。

以下合成流程为本发明的例证:

流程 I　7-(取代的)-6-甲基-6-脱氧 5-羟基四环素和 9-(取代的)-6-甲基-6-脱氧 5-羟基四环素

流程 II　9-(取代的)米诺环素

流程 III　7-(烷基取代的)-6-甲基-6-脱氧 5-羟基四环素和 9-(烷基取代的)-6-甲基-6-脱氧 5-羟基四环素

流程 IV　9-(烷基取代的)米诺环素

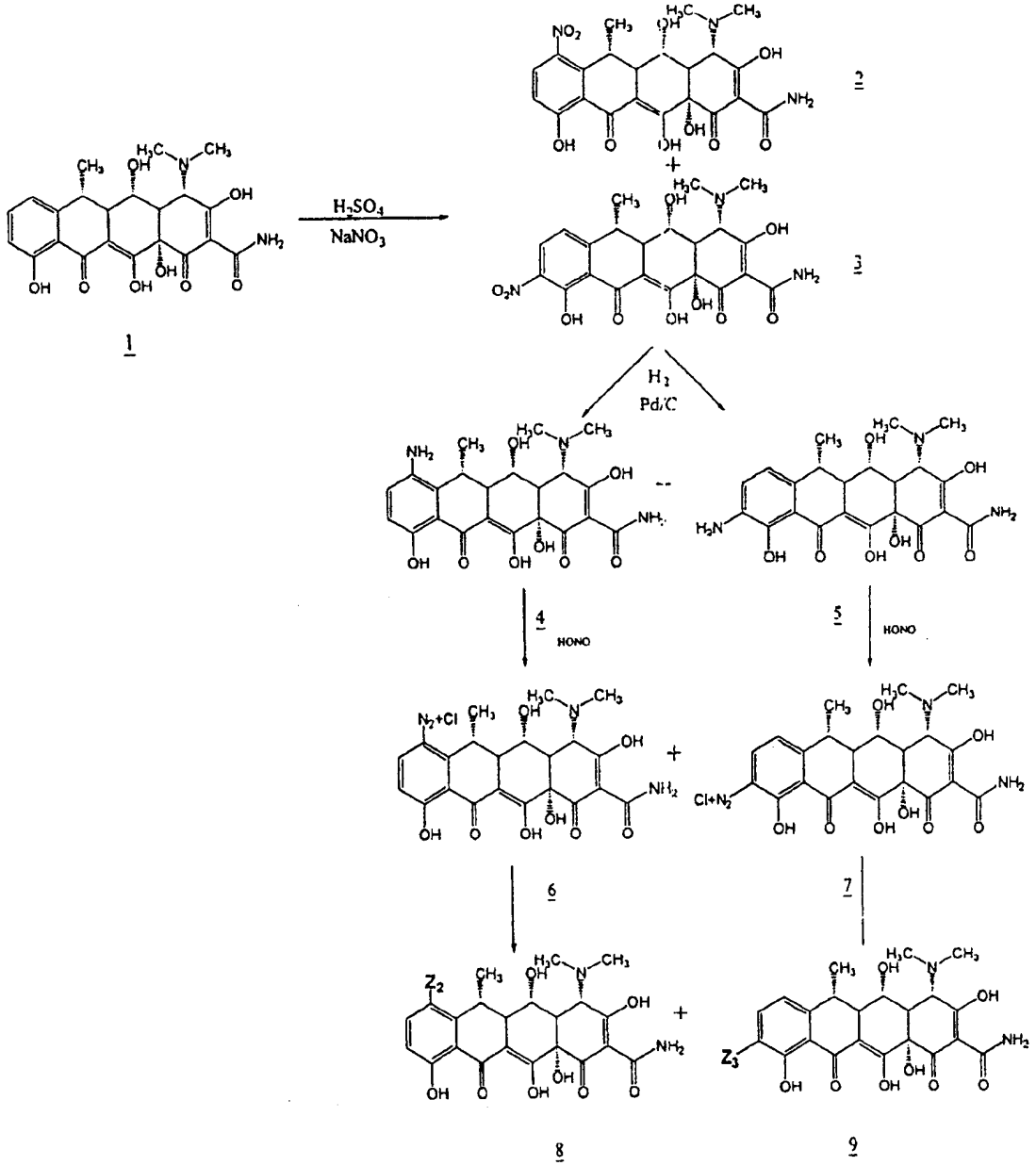
流程 V　7-(烷基或芳基取代的)-6-甲基-6-脱氧 5-酰氧基四环素和 9-(烷基或芳基取代的)-6-甲基-6-脱氧 5-酰氧基四环素

流程 VI　7-(烷基或芳基取代的)-6-甲基-6-脱氧 5-羟基四环素和 9-(烷基或芳基取代的)-6-甲基-6-脱氧 5-羟基 2-(甲酰胺基取代的)四环素

流程 VII　9-(烷基取代的)-2-(甲酰胺基取代的)米诺环素

流程 VIII　7-(羧基或羧基酯)-6-甲基-6-脱氧 5-羟基四环素和 9-(羧基或羧基酯)-6-甲基-6-脱氧 5-羟基 2-(甲酰胺基取代的)四环素

流程 I

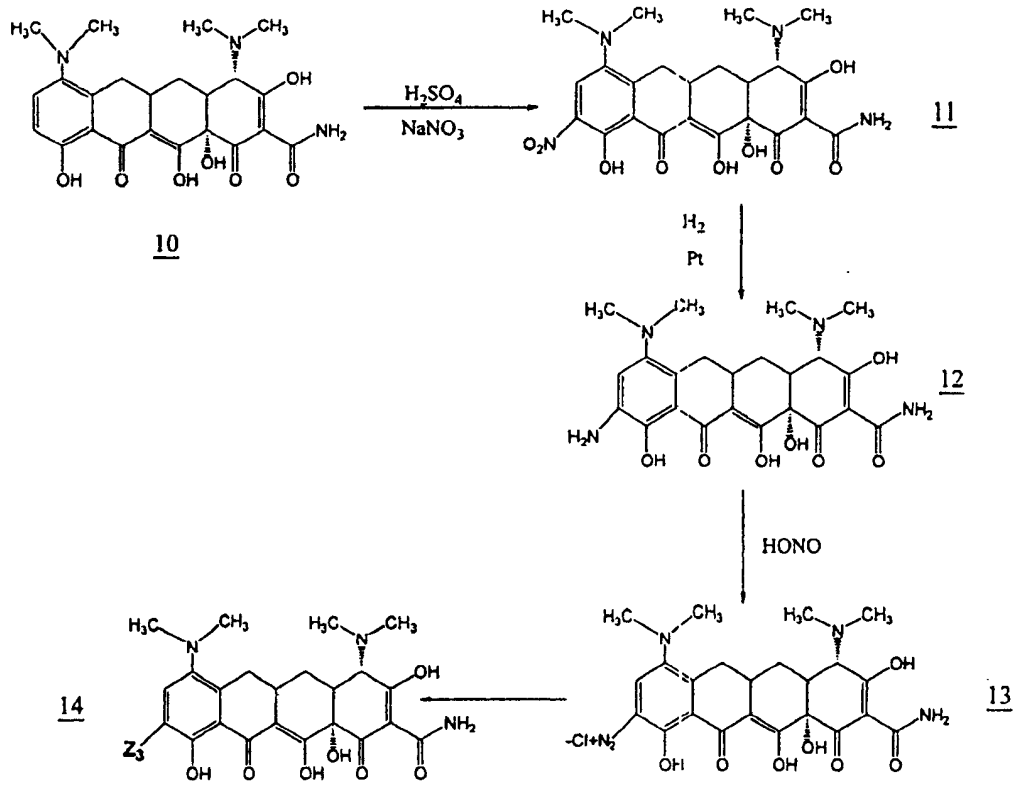


流程 IX　　9-(羧基或羧基酯)米诺环素

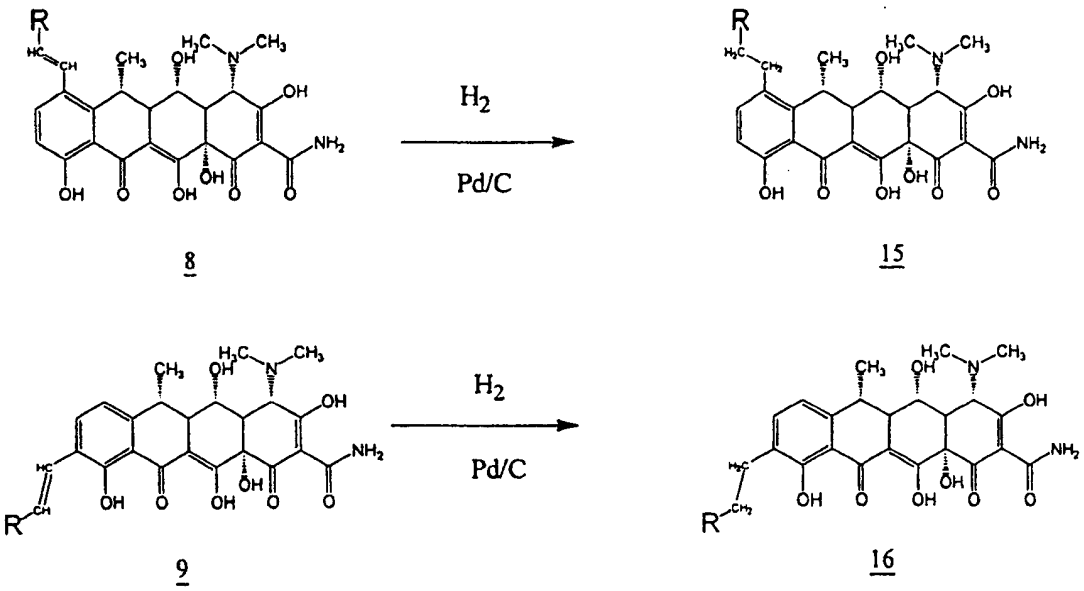
流程 X　　7-(链烯基或芳基)-6-甲基-6-脱氧 5-羟基四环素和 9-(链烯基或芳基)-6-甲基-6-脱氧 5-羟基四环素，X 9-(链烯基或芳基)-6-去甲基-6-脱氧四环素和 9-(链烯基或芳基)-6-去甲基-6-脱氧四环素

流程 XI　　13-(取代的)-6-亚甲基-5-羟基-6-脱氧四环素

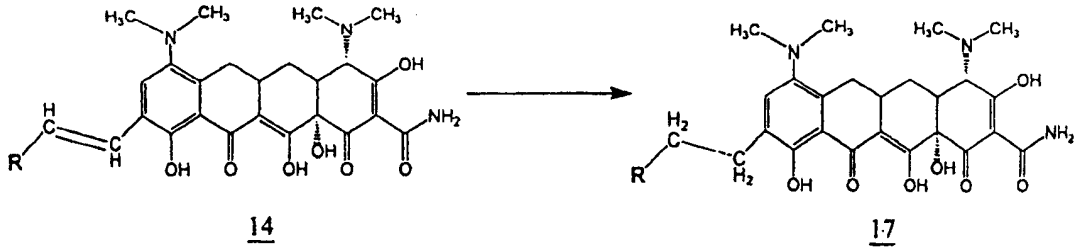
流程 II



流程 III

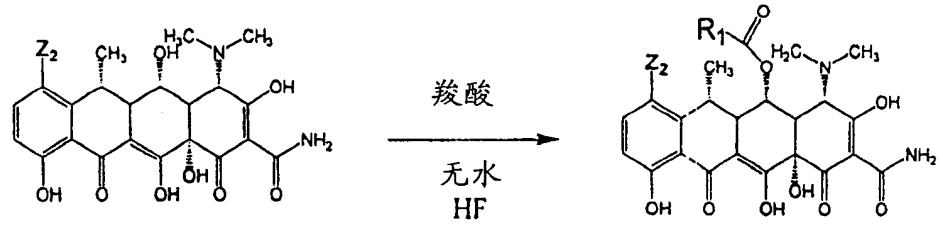


流程 IV

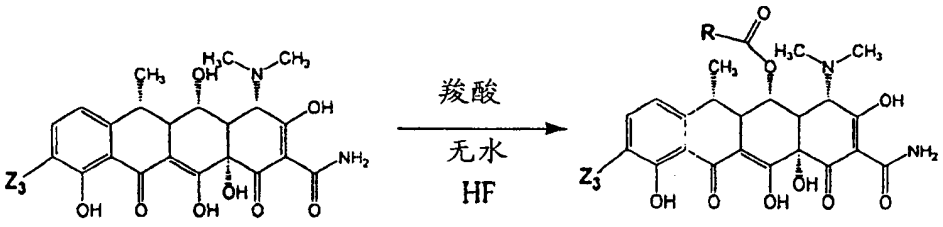


14 17

流程 V

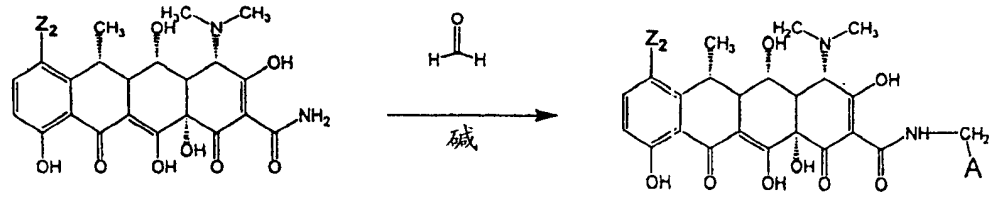


8 18

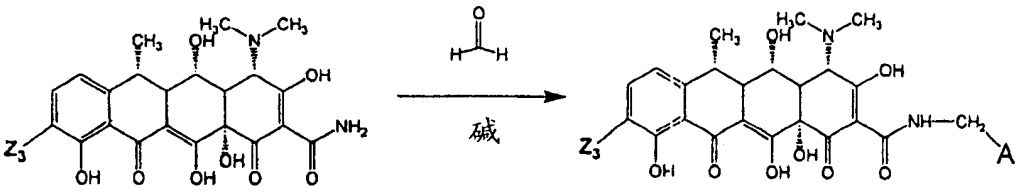


9 19

流程 VI

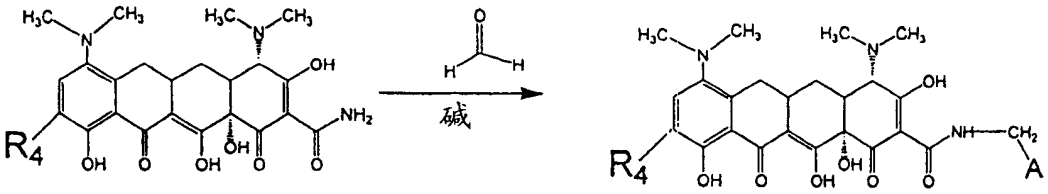


8 20



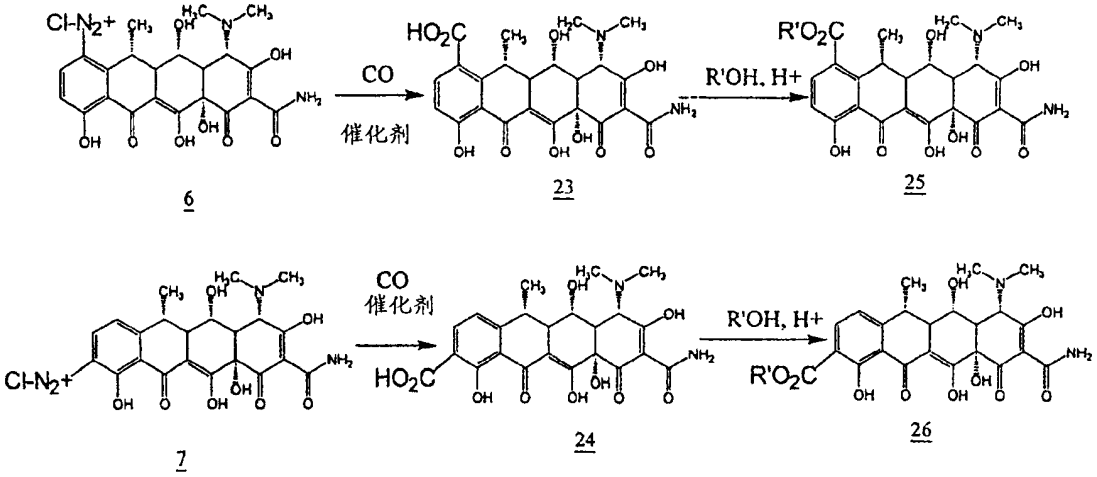
9 21

流程 VII



14 22

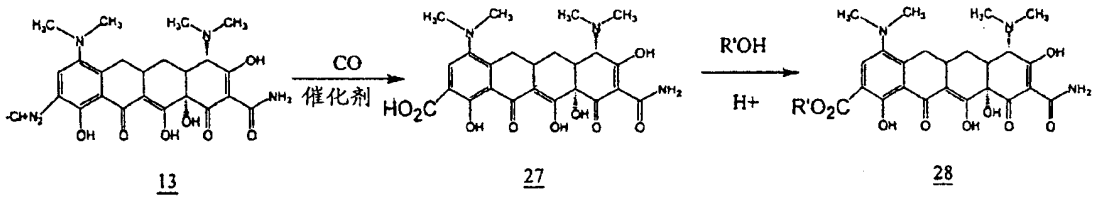
流程 VIII



6 23 25

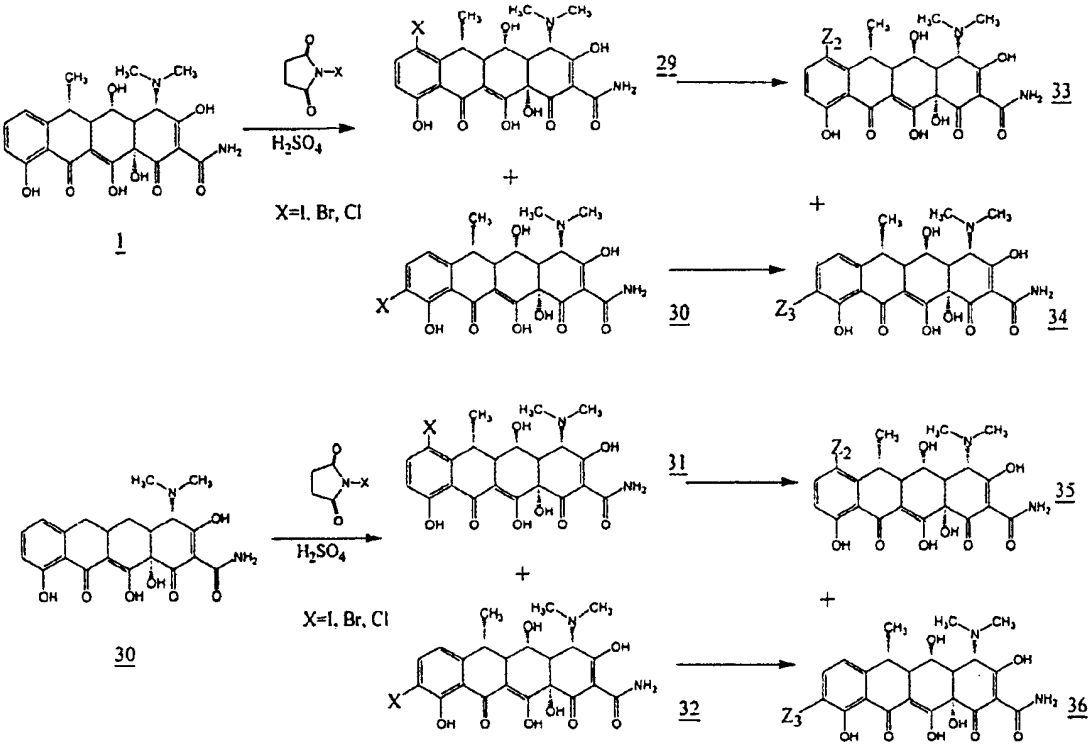
7 24 26

流程 IX



13 27 28

流程 X



流程 XI



本发明化合物对抑制敏感微生物例如细菌、真菌、立克次体、寄生虫等和与这样的微生物包括四环素敏感细菌以及四环素抗性细菌相关的疾病是有活性的。特别优选的本发明化合物在大约 10 μg/mL 或更少，更优选在大约 1 μg/mL 或更少对四环素抗性大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和粪肠球菌菌株例如大肠杆菌 pHCM 1、金黄色葡萄球菌 RN 4250 和粪肠球菌 pMV 158 呈现 24 小时最小抑制浓度(MIC)值。优选的本发明化合物也包括对抑制四环素敏感性大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和粪肠球菌菌株例如大肠杆菌 D31m4、金黄色葡萄球菌 RN 450 和粪肠球菌 ATCC9790 呈现这样 MIC 值的那些化合物。

如以上讨论的那样，本发明提供治疗抗微生物感染和相关疾病的方法，该方法一般包括给予治疗对象治疗有效量的一种或更多种本发明化合物，所述治疗对象可为动物或植物，一般为哺乳动物，优选为灵长类例如人。

在本发明治疗方法中，一种或更多种本发明化合物可单独给予治疗对象，或更一般地，本发明化合物将作为与常规赋形剂混合的药用组合物的部分给药，即赋形剂为适用于非肠道、口服或其它所需的给药途径的药学上可接受的有机或无机载体物质，且它们与活性化合物不发生有害反应且对其接受者无害。适宜的药学上可接受的载体包括(但不限于)水、盐溶液、醇、植物油、聚乙二醇、明胶、乳糖、直链淀粉、硬脂酸镁、滑石粉、硅酸、粘性石蜡、芳香油、脂肪酸单甘油酯和二甘油酯、石油醚脂肪酸酯、羟甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮等。药用制剂可被灭菌并且如果需求可与同活性化合物不发生有害反应的辅剂例如润滑剂、防腐剂、稳定剂、润湿剂、乳化剂、用于影响渗透压的盐、缓冲液、着色剂、矫味剂和/或芳香物质等混合。

至少多种本发明化合物可适宜地以质子化和水溶性的形式给予治疗对象，例如，作为药学上可接受的有机酸或无机酸的盐，例如盐酸盐、硫酸盐、半硫酸盐、磷酸盐、硝酸盐、乙酸盐、草酸盐、

枸橼酸盐、马来酸盐、甲磺酸盐等。当在本发明化合物中也存在适宜的酸性基团时，可使用有机或无机碱的药学上可接受的盐如铵盐或有机胺的盐，或碱金属或碱土金属的盐如钾、钙或钠盐。

按照本发明，通过多种途径中的任何一种，可将治疗化合物给予治疗对象。局部(包括经皮、颊或舌下)和非肠道(包括腹膜内、皮下、静脉、真皮内或肌内注射)通常为优选。

对非肠道应用，特别适宜的为溶液剂，优选为油性或水性溶液剂以及混悬液、乳剂或包括栓剂在内的植入剂。治疗化合物将以无菌形式配制成为多剂量或单一剂量形式，例如分散在通常用于注射的流体载体如灭菌生理盐水或5%盐水葡萄糖溶液中。

对肠道给药，特别适宜的是具有滑石粉和/或碳水化合物载体粘合剂等的片剂、糖锭剂或胶囊剂，载体优选为乳糖和/或玉米淀粉和/或马铃薯淀粉。可使用糖浆剂、酏剂等，其中使用增甜的载体。可配制持续释放的组合物，包括其中活性成分用特异性降解的包衣物例如通过微囊化、多重包衣等加以保护的那些组合物。

对局部应用，治疗化合物可在药理学上惰性的局部用载体例如凝胶、软膏、洗剂或霜剂中适宜混合。这样的局部载体包括水、甘油、乙醇、丙二醇、脂肪醇、甘油三酯、脂肪酸酯或矿物油。其它可能的局部用载体为液体凡士林、棕榈酸异丙酯、聚乙二醇、95%乙醇、在水中的5%聚氧乙烯单月桂酸酯、在水中的5%十二烷基硫酸钠等。另外，如果需要，也可加入物料例如抗氧化剂、湿润剂、粘度稳定剂等。

除人体治疗以外，本发明治疗方法也将具有显著的兽医用途，例如，用于对家畜例如牛、羊、山羊、母牛、猪等、家禽例如鸡、鸭、鹅、火鸡等、马和宠物例如狗和猫的治疗。

应该意识到，在给定的疗法中所使用的活性化合物的实际优选量将按照所使用的具体化合物、所配制的具体组合物、使用模式、

具体给药部位等变化。使用按照先前指南进行的常规剂量测定实验，本领域技术人员可易于确定对给定的给药方法的最佳给药速率。

通常，可以以在较早的四环素疗法中使用的剂量，将用于治疗的本发明化合物给予治疗对象。参见例如，the *Physicians' Desk Reference*。例如，适宜有效量的一种或更多种本发明化合物将在0.01-100 毫克/每公斤体重的治疗对象的范围内，优选在每天每公斤体重的治疗对象 0.1-50 毫克的范围内，更优选在每天每公斤体重的治疗对象 1-20 毫克/的范围内。所需的剂量适宜为每天给药一次，或在一天的适当时间间隔或按其他的合适的时间表给予几个亚剂量，例如 2-5 个亚剂量。

也应理解，关于通常给予四环素类以确保它们在正常使用环境下的效力将采取正常、常规的已知预防措施。尤其当用于体内治疗人和动物时，医生应采取所有合理的预防措施以避免通常已知的矛盾和毒性作用。因此，在常规方法中，应充分地考虑通常已认识到的不利反应，包括胃肠道疾患和炎症、肾毒性、过敏性反应、血液变化和铝、钙和镁离子的吸收损伤。禁忌症

生理活性

体外评价方法

如下评价根据本发明制备的各种化合物的体外抗菌活性。使用 L-细菌培养液或 Mueller-Hinton 细菌培养液，通过细菌培养液稀释方法，测定最小抑制浓度，即在它们的适宜温度下，于 18 小时时抑制细菌生长的最低药物浓度。Mueller-Hinton 细菌培养液相应地为阳离子调节的，并如由 Waitz, J.A., National Commission for Clinical Laboratory Standards Document M7-A2, 第 10 卷，第 8 期，第 13-20 页，第 2 版，Villanova, PA (1990)描述的那样，进行所有的细菌学方法。受试有机体代表革兰氏阳性和革兰氏阴性菌种，它们对四环素敏感或由于排出四环素的能力或通过核糖体保护机制具有抗性而对

四环素呈耐药性。临床所使用的菌株对四环素敏感或通过药物排出或核糖体保护呈耐药性。

表 I-化合物的说明

化合物	名称
多西环素	[4S-(4a,12aα)]-4-(二甲基氨基)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-八氢-3,5,10,12,12a-五羟基-6-甲基-1,11-二氧代-2-并四苯甲酰胺
米诺环素	[4S-(4a,12aα)]-4,7-双(二甲基氨基)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-八氢-3,10,12,12a-四羟基-1,11-二氧代-2-并四苯甲酰胺
A	[4S-(4a,12aα)]-9-(硝基)-4-(二甲基氨基)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-八氢-3,5,10,12,12a-五羟基-6-甲基-1,11-二氧代-2-并四苯甲酰胺 (9-硝基-6-脱氧-5-羟基四环素)
B	[4S-(4a,12aα)]-9-(氨基)-4-(二甲基氨基)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-八氢-3,5,10,12,12a-五羟基-6-甲基-1,11-二氧代-2-并四苯甲酰胺 (9-氨基-6-脱氧-5-羟基四环素)
C	[4S-(4a,12aα)]-9-(重氮)-4-(二甲基氨基)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-八氢-3,5,10,12,12a-五羟基-6-甲基-1,11-二氧代-2-并四苯甲酰胺 (9-重氮-6-脱氧-5-羟基四环素)
D	[4S-(4a,12aα)]-9-[3'-(*E*)-丙烯酸]-4-(二甲基氨基)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-八氢-3,5,10,12,12a-五羟基-6-甲基-1,11-二氧代-2-并四苯甲酰胺 (9-[3'-(*E*)-乙基丙烯酸]-6-脱氧-5-羟基四环素)
E	[4S-(4a,12aα)]-9-[3'-(*E*)-丙烯酸丁酯]-4-(二甲基氨基)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-八氢-3,5,10,12,12a-五羟基-6-甲基-

1,11-二氧代-2-并四苯甲酰胺

(9-[3'-(*E*)-丙烯酸丁酯]-6-脱氧-5-羟基四环素)

F [4S-(4a,12aα)]-9-[3'-(*E*)-丙烯酸丁酯]-4,7-双(二甲基氨基)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-八氢-3,10,12,12a-四羟基-1,11-二氧代-2-并四苯甲酰胺

(9-[3'-(*E*)-丙烯酸丁酯]米诺环素

G [4S-(4a,12aα)]-7-[4'-Cl-苯基)]-4-(二甲基氨基)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-八氢-3,10,12,12a-四羟基-1,11-二氧代-2-并四苯甲酰胺

7-(4'-Cl-苯基)山环素

H [4S-(4a,12aα)]-7-苯基-9-苯基-4-(二甲基氨基)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-八氢-3,10,12,12a-四羟基-1,11-二氧代-2-并四苯甲酰胺

7,9-二苯基山环素

I [4S-(4a,12aα)]-13-(4'-甲基苯基)-4-(二甲基氨基)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-八氢-3,5,10,12,12a-五羟基-6-亚甲基-1,11-二氧代-2-并四苯甲酰胺

13-(4'-甲基苯基)-6-脱氧-6-亚甲基-5-羟基四环素

J [4S-(4a,12aα)]-13-(3'-羧基苯基)-4-(二甲基氨基)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-八氢-3,5,10,12,12a-五羟基-6-亚甲基-1,11-二氧代-2-并四苯甲酰胺

13-(3'-羧基苯基)-6-脱氧-6-亚甲基-5-羟基四环素

K [4S-(4a,12aα)]-13-(4'-乙氧基苯基)-4-(二甲基氨基)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-八氢-3,5,10,12,12a-五羟基-6-亚甲基-1,11-二氧代-2-并四苯甲酰胺

13-(4'-乙氧基苯基)-6-脱氧-6-亚甲基-5-羟基四环素

表 II

过渡金属催化的四环素衍生物的抗菌活性

	Doxy	D	E	F	G	H	I	J	K
大肠杆菌 ML308-225 Tc^s	0.78	25	6.25	>50	>50	>50	>50	>50	12.5
大肠杆菌 D1-299 Tc^r	25	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50
大肠杆菌 D1-209 Tc^r	50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50
大肠杆菌 D31m4 Tc^s	1.56	>50	3.12	3.12	0.78	1.56	6.25	>50	12.5
大肠杆菌 D 31m4 pHCM1 Tc^r	25	>50	6.25	6.25	0.78	-	25	>50	>50
金色葡萄球菌 RN450 Tc^s	<0.098	3.12	0.78	1.56	≤0.098	1.56	≤0.098	0.39	0.195
S. wamerii Tc^r ATCC12715	50	>50	6.25	3.12	≤0.098	0.78	12.5	>50	12.5
金色葡萄球菌 RN4250 Tc^r	25	>50	6.25	3.12	≤0.098	0.78	12.5	>50	6.25
金色葡萄球菌 MRSA5 Tc^r	6.25	>50	0.39	3.12	0.195	0.78	6.25	>50	6.25
E. hirae ATCC9790 Tc^s	0.195	3.12	3.12	3.12	≤0.098	0.78	0.39	3.12	0.39
E. hirae 9790 with pMV158 Tc^r	6.25	12.5	6.25	3.12	≤0.098	0.39	3.12	>50	6.25
E. hirae 9790 with pAM211 Tc^r	6.25	>50	6.25	3.12	≤0.098	1.56	12.5	>50	3.12

Tc^s=四环素敏感的

Tc^r=四环素抗性的

实验

如在以上流程 I 至 IX 中和/或如以下描述的那样，可制备本发明化合物。

在流程I中，将多西环素溶于冷的浓硫酸中，并加入等当量的硝酸钾。在1-3小时期间内，把反应物温度维持在0-5℃的范围内，产生式IV的7和9-硝基-6-取代的-5-羟基四环素。具有适宜的化学反应性官能度的这些中间体可与广泛范围的还原剂例如PtO_2或氢和钯或铂催化剂反应，产生通式IV的化合物。通过亚硝酸盐(亚硝酸钠、亚硝酸丁酯或等价物)的作用，产生7和9氨基衍生物的重氮盐，并且中间体无需进一步纯化即可使用。

实施例1

[4S-(4α,12aα)]-9-(硝基)-4-(二甲基氨基)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-八氢-3,5,10,12,12a-五羟基-6-甲基-1,11-二氧代-2-并四苯甲酰胺

向1.0 g多西环素盐酸盐在10 mL浓硫酸中的冰冷溶液中加入0.231 g硝酸钾。在环境气氛下，搅拌反应物1小时。然后，把混合物倾入到150 g冰上，并用正丁醇提取生成的固体，干燥，得到0.9 g为黄绿色固体的所需的产物。

MS (FAB): m/z 490 (M+H)。

^{1}H NMR (CD_3OD): δ 7.50 (d, 1H, J=8.07 Hz, H-8); 6.86 (d, 1H, J=8.07 Hz, H-7); 4.44 (bs, 1H, H-4); 3.62 (dd, 1H, J=11.42; 8.35 Hz, H-5); 2.95 (bs, 6H, NMe_2); 2.81 (d, 1H, J=11.45 Hz, H-4a); 2.71 (dq, 1H, J=12.41; 6.5 Hz, H-6); 2.53 (dd, 1H, J=12.23; 8.20 Hz, H-5a); 1.51 (d, 3H, J=6.78 Hz, CH_3)。

实施例2

[4S-(4α,12aα)]-9-(氨基)-4-(二甲基氨基)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-八氢-3,5,10,12,12a-五羟基-6-甲基-1,11-二氧代-2-并四苯甲酰胺

向200 mL氢化瓶中加入1.0 g实施例1的产物、40 mL甲醇、1 mL浓HCl和100 mg的10%披钯炭。使用氢化装置，使混合物经受30磅/平方英寸的氢3小时。滤除催化剂，干燥滤液，得到0.9 g为黄色

固体的二盐酸盐。

MS (FAB): m/z 460 (M+H)。

^{1}H NMR (CD_3OD): d 7.54 (d, 1H, J=8.08 Hz, H-8); 6.88 (d, 1H, J=8.08 Hz, H-7); 5.16 (dd, J=10.44; 7.94 Hz, H-5); 4.44 (bs, 1H, H-4); 3.74 (d, 1H, J=2.07 Hz, H-4); 3.04 (bs, 6H, NMe_2); 2.90 (dd, 1H, J=7.94; 2.07 Hz, H-4a); 2.72 (dq, 1H, J=12.31; 6.56 Hz, H-6); 2.61 (dd, 1H, J=12.31; 10.44 Hz, H-5a); 2.54 (q, 2H, J=7.48 Hz, CH_2-C); 1.44 (bs, 9H, CMe_3); 1.29 (d, 3H, J=6.56 Hz, CH_3); 1.20 (t, 3H, J=7.48 Hz, C-CH_3)。

实施例 3

[4S-(4α,12aα)]-9-(重氮)-4-(二甲基氨基)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-八氢-3,5,10,12,12a-五羟基-6-甲基-1,11-二氧代-2-并四苯甲酰胺

向 10 mL 圆底烧瓶中加入 100 mg 实施例 2 的产物并在 4 mL 的 0.1 N 的盐酸甲醇(methanolic)溶液中溶解。把溶液冷却至 0℃并伴随搅拌下加入 35 μl 的亚硝酸丁酯。1 小时后，将亮红色的反应混合物滴加到 100 mL 冷的无水乙醚中。经过滤收集产物，用乙醚洗涤，在真空干燥器中干燥，得到 73 mg 为橙色固体的重氮盐。

MS (FAB): m/z 472 (M+H)。

^{1}H NMR (CD_3OD): d 7.55 (d, 1H, J=8.08 Hz, H-8); 6.86 (d, 1H, J=8.08 Hz, H-7); 5.13 (dd, J=10.44; 7.94 Hz, H-5); 4.41 (bs, 1H, H-4); 3.72 (d, 1H, J=2.07 Hz, H-4); 3.04 (bs, 6H, NCH_3); 2.90 (dd, 1H, J=7.94; 2.07 Hz, H-4a); 2.70 (dq, 1H, J=12.31; 6.56 Hz, H-6); 2.61 (dd, 1H, J=12.31; 10.44 Hz, H-5a); 2.2 (m, 6H, J=7.48 Hz, 乙酰基); 1.44 (bs, 9H, $C(CH_3)_3$); 1.29 (d, 3H, J=6.56 Hz, CH_3); 1.20 (t, 3H, J=7.48 Hz, C-CH_3)。

烯化作用的通用方法. 向 0.1 g 的 9-重氮化合物在(湿或干的)甲醇中的溶液中加入 0.05 当量乙酸钯。在室温下，把反应混合物搅拌 5 分钟，并加入 2 当量所需的烯烃。在环境气氛下，继续搅拌 18 小时或随后经历 HPLC。也可在 N_2 气氛下继续搅拌。完成后，滤除催化剂，

干燥滤液，得到粗产物。使用甲醇和磷酸盐缓冲液梯度，经制备性反相 HPLC 分离纯化的产物。

实施例 4

[4S-(4α,12aα)]-9-[3'-(*E*)-丙烯酸]-4-(二甲基氨基)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-八氢-3,5,10,12,12a-五羟基-6-甲基-1,11-二氧代-2-并四苯甲酰胺

MS (FAB): m/z 515 (M+H)。

实施例 5

[4S-(4α,12aα)]-9-[1'-(*E*)-(2'-苯基)乙烯基]4-(二甲基氨基)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-八氢-3,5,10,12,12a-五羟基-6-甲基-1,11-二氧代-2-并四苯甲酰胺

MS (FAB): m/z 547 (M+H)。

实施例 6

[4S-(4α,12aα)]-7-[3'-(*E*)-丙烯酸丁酯]4-(二甲基氨基)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-八氢-3,5,10,12,12a-五羟基-6-甲基-1,11-二氧代-2-并四苯甲酰胺

芳基化的通用方法. 向 9-重氮化合物在甲醇中的溶液中加入 0.10 当量乙酸钯。在室温下，把混合物搅拌 5 分钟，并加入 2 当量芳基硼酸。6 小时后，滤除催化剂，干燥滤液。使用甲醇磷酸盐缓冲梯度液，经制备性反相 HPLC 纯化粗产物。

羧基化的通用方法. 向配备有两个橡胶隔膜、真空源和搅拌棒的三颈圆底烧瓶中加入 100 mg 重氮化合物、6.0 mg 乙酸钯和 10 mL 无水二甲基甲酰胺。把反应容器抽至真空，并借助注射器将 CO 通过混合物 1 小时。把混合物搅拌另外 2 小时，然后真空除去溶剂，得到粗产物。使用二元溶剂梯度液，经制备性 C_{18} 反相 HPLC 分离标题化合物。

实施例 7

[4S-(4α,12aα)]-9-(羧基)-4-(二甲基氨基)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-八氢-3,5,10,12,12a-五羟基-6-甲基-1,11-二氧代-2-并四苯甲酰胺

MS (FAB): m/z 489 (M+H)。

氢化的通用方法。通过将 0.100 g 实施例 4 化合物溶于 10 mL 甲醇中，加入 0.1%浓 HCl 和 10 mg 的 10%披钯炭，制备化合物。在室温下，于帕尔装置中，在 40 磅/平方英寸下，将混合物氢化 6 小时并经 HPLC 监测。借助半制备性二元溶剂方法，在 C_{18} 反相上将生成的粗产物层析，得到要求的产物。

7 位烯化作用的通用方法。向与在实施例 1 和 2 中描述的相似方法生成的 0.1 g 7-重氮化合物在湿的甲醇中的溶液中加入 0.05 当量乙酸钯。在室温下，把反应混合物搅拌 5 分钟，并加入 2 当量所需的烯烃。在环境气氛下继续搅拌 18 小时并随后经 HPLC。完成后，通过硅藻土滤除催化剂并干燥滤液，得到粗产物。使用甲醇和磷酸盐缓冲梯度液，经制备性反相 HPLC 分离纯化的产物。

实施例 8

9-苯基米诺环素

[4S-(4α,12aα)]-9-(苯基)-4,7-双(二甲基氨基)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-八氢-3,5,10,12,12a-四羟基-6-甲基-1,11-二氧代-2-并四苯甲酰胺

使用 0.100 g 的 9-氨基米诺环素和试剂及与在实施例 5 中发现的相似条件制备化合物。在氮气氛下，搅拌反应物过夜，真空除去溶剂，得到 0.063 g 粗产物。使用 C_{18} 反相制备性方法和二元溶剂系统进行层析，随后把产物提取到丁醇中并真空蒸发产物，得到 0.027 g 为黄色固体的所需产物。

MS (FAB): m/z 571 (M+H)。

实施例 12-偶合的通用方法

7-4'-Cl-苯基山环素

将 100 mg 的 7-碘代山环素或 7-碘代多西环素(0.18 mM)和 4 mg 的 $Pd(OAc)_2$ 加入到氩气脱气的甲醇溶液中，随后加入 200 μl 的 2 M Na_2CO_3 中。在室温下，把生成的溶液搅拌 10 分钟。将 4'-Cl-苯基硼酸(58 mg, 0.37 mM)溶于 1 mL 甲醇中，加入到碘代四环素中，并用氩气使反应烧瓶脱气 3 次。在室温下，搅拌反应物 15 分钟，然后加热至回流 18 小时。冷却溶液，过滤，减压除去溶剂。经 C18-反相层析纯化粗产物，得到 23 mg 为深黄色结晶的产物。

MS (FAB): m/z (M+H) 525.1852

^{1}H NMR (甲醇 d_4, 300 MHz) δ 7.35-7.44 (m, 4H), 7.21-7.24 (d, 1H), 6.85-6.88 (d, 1H), 3.55 (s, 1H), 2.88 (s, 6H), 2.47 (m, 2H), 1.52 (m, 2H)。

实施例 13

7,9-二苯基山环素

MS (FAB) m/z (M+H) 567.2545

^{1}H NMR (甲醇 d_4, 300 MHz) δ 7.22-7.85 (m, 11H), 4.02 (m, 1H), 3.53 (s, 1H), 2.86 (br s, 6H), 2.41 (m, 2H), 1.52 (m, 2H)。

实施例 14

7-(4-氟苯基)山环素

MS (FAB): m/z 509 (M+H)

^{1}H NMR (甲醇 d-4, 300 MHz) δ 7.41 (d, J=8.61 Hz, 1H), 7.30 (td, J=6.87, 2.16 Hz, 2H), 7.16 (td, J=6.84, 2.11 Hz, 2H), 6.89 (d, J=8.59 Hz, 1H), 3.56 (s, 2H), 2.91 (s, 7H), 1.52 (m, 4H), 0.95 (m, 2H)。

实施例 15

7-(4-硝基苯基)山环素

MS (FAB): m/z 536 (M+H)

实施例 9

7-碘代多西环素

伴随搅拌下，将 30.0 mL 浓硫酸加入到 1.00 g 多西环素盐酸盐半水合物中，并把溶液冷却至 0℃。在 1 小时内，将 0.973 g 的 N-碘代琥珀酰亚胺分批加入到该溶液中，并经 HPLC 和 TLC 监测反应以确保完全。将溶液倾入到 250 mL 冰水中，用丁醇提取 3 次，减压除去溶剂。经制备性 HPLC 纯化粗品残余物，得到 1.13 g(89%)为深黄色结晶的标题化合物。

MS (FAB): m/z 587 (M+H)。

^{1}H NMR (甲醇 d-4, 300 MHz) δ 7.94 (d, J=8.19 Hz, 1H), 6.78 (d, J=8.18 Hz, 1H), 4.13 (s, 1H), 3.53 (m, 3H), 2.85 (s, 7H), 2.66 (m, 4H), 2.41 (s, 1H), 1.49 (d, J=6.52 Hz, 3H), 0.95 (t, J=7.27 Hz, 2H)。

实施例 10 和 11

7-碘代山环素和 7,9-二碘代山环素

伴随搅拌下，将 30.0 mL 的浓硫酸加入到 1.00 g 的山环素盐酸盐半水合物中，并把溶液冷却至 0℃。在 1 小时内，将 1.09 g 的 N-碘代琥珀酰亚胺分批加入到该溶液中，并经 HPLC 和 TLC 监测反应混合物。将反应混合物倾入到 250 mL 冰水中，用正丁醇提取 3 次，减压除去溶剂。经制备性 HPLC 纯化粗品残余物，分别得到为黄色结晶的 787 mg(61%) 7-碘代山环素和为深黄色结晶的 291 mg(22%) 7,9-二碘代山环素。

MS (FAB): m/z 587 (M+H) 7-碘代山环素

^{1}H NMR (甲醇 d-4, 300 MHz) δ 7.89 (d, J=8.86 Hz, 1H), 6.67 (d, 8.87 Hz, 1H), 3.56 (s, 1H), 3.03 (s, 2H), 2.84 (s, 6H), 2.46 (m, 2H), 1.63 (m, 4H), 0.95 (m, 2H)。

MS (FAB): m/z 667 (M+H) 7,9-二碘代山环素

^{1}H NMR (甲醇 d-4, 300 MHz) δ 8.35 (s, 1H), 3.78 (s, 1H), 3.33 (s, 2H), 2.88 (s, 7H), 2.41 (m, 2H), 1.41 (m, 5H)。

^{1}H NMR (甲醇 d-4, 300 MHz) δ 8.28 (d, J=8.50, 2H), 7.52 (d, J=8.52, 2H), 7.42 (d, J=8.64, 1H), 6.93 (d, J=8.65, 1H), 3.51 (s, 2H), 6.73 (s, 7H), 1.50 (m, 5H), 0.92 (m, 2H)。

实施例 16

7-(2-吡啶基)多西环素

MS (FAB): m/z 522 (M+H)

^{1}H NMR (甲醇 d-4, 300 MHz) δ 8.62 (s, 1H), 7.94 (m, 2H), 7.49 (m, 1H), 7.40 (m, 1H), 6.94 (m, 1H), 4.21 (s, 1H), 3.56 (m, 2H), 2.91 (s, 7H), 2.70 (m, 3H), 1.038 (s, 3H), 0.92 (m, 2H)。

实施例 17

7-乙烯基山环素

MS (FAB): m/z 471 (M+H)

^{1}H NMR (甲醇 d-4, 300 MHz) δ 7.65 (d, J=8.79 Hz, 1H), 6.80 (d, J=8.76 Hz, 1H), 5.56 (d, J=18.42 Hz, 1H), 5.25 (d, J=12.15 Hz, 1H), 3.84 (s, 1H), 3.19 (m, 2H), 2.98 (s, 6H), 2.82 (m, 1H), 2.32 (m, 2H), 0.92 (m, 1H)。

等价物

本领域技术人员将意识到或能够仅仅使用常规实验即可确定在此描述的具体方法的多种等价物。这样的等价物被认为处于本发明范围内且由以下权利要求所覆盖。所有参考文献、授权的专利和贯穿本申请引用的公布的专利申请在此通过引用结合到本文中。