



(45) 授权公告日 2015.03.11

页.

CN 1290168 A, 2001. 04. 04, 权利要求 2, 说明书第 8 页.

CN 101355971 A, 2009.01.28, 说明书第 1-67 页.

CN 1496351 A, 2004.05.12, 说明书第 1-36

页.

Jinhong Chang et al. Novel Imino

Sugar Derivatives Demonstrate

Potent Antiviral Activity against

Flaviviruses. 《ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY》. 2009, 第 53 卷 (第 4 期), 第 1501-1508 页.

Ariel M. Silber. The effects of oligosaccharide trimming inhibitors on glycoprotein expression and infectivity of Junin virus. 《FEMS Microbiology Letters》. 1993. 第 109 卷第 39-43 页.

审查员 安欣

Ariel M. Silber. The effects of oligosaccharide trimming inhibitors on glycoprotein expression and infectivity of Junin virus. 《FEMS Microbiology Letters》. 1993. 第 109 卷第 39-43 页.

Letters》.1993, 第109卷第39-43页.

审查员 安欣

审查员 安欣

审查员 安欣

审查员 安欣

审查员 安欣

审查员 安欣

审查员 安欣

审查员 安欣

审查员 安欣

审查员 安欣

审查员 安欣

审查员 安欣

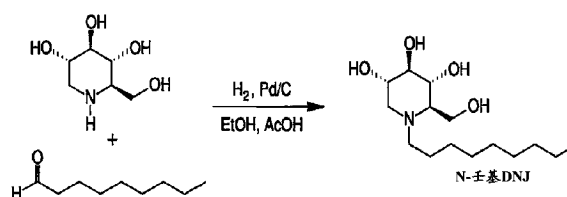
权利要求书2页 说明书11页 附图9页

审查员 安欣

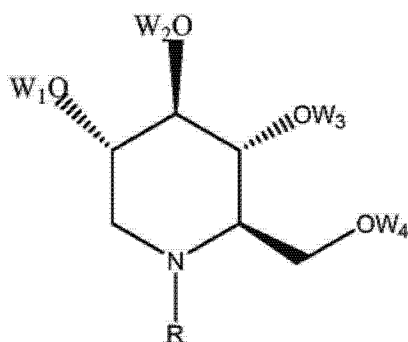
审查员 安欣

审查员 安欣

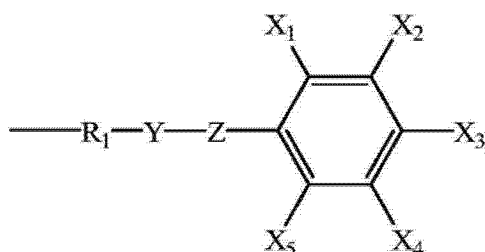
审查员 安欣



1. 下式化合物或其药学上可接受的盐用于制备治疗或预防由属于沙粒病毒家族的病毒引起的疾病或症状的药物中的用途,所述治疗或预防包括将有效量的下式化合物或其药学上可接受的盐给药于有此需要的受治者,



其中, R 选自 C_1 - C_{16} 烷基、或者 C_1 - C_{16} 烷氧基;或者其中 R 是



R_1 -Y 是 C_2 - C_{20} 烷基;

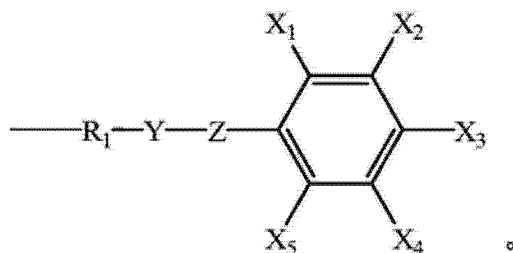
X_{1-5} 独立地选自 H、 NO_2 、 N_3 或 NH_2 ;

Z 为 NH;

并且

其中, W_{1-4} 的每一个都为氢。

2. 如权利要求 1 所述的用途,其中, R 选自 C_1 - C_{16} 烷基、或者 C_1 - C_{16} 烷氧基。
3. 如权利要求 1 所述的用途,其中, R 为 C_2 - C_{12} 烷基。
4. 如权利要求 1 所述的用途,其中, R 为 C_3 - C_6 烷基。
5. 如权利要求 1 所述的用途,其中,所述给药包括给药 N- 丁基脱氧野尻霉素或其药学上可接受的盐。
6. 如权利要求 1 所述的用途,其中, R 为 C_1 - C_{16} 烷氧基。
7. 如权利要求 1 所述的用途,其中, R 为含有 1 至 3 个氧原子的 C_2 - C_{16} 烷氧基。
8. 如权利要求 1 所述的用途,其中, R 为含有 1 至 2 个氧原子的 C_6 - C_{12} 烷氧基。
9. 如权利要求 1 所述的用途,其中,所述给药包括给药 N-(7- 癸氧基) 脱氧野尻霉素或其药学上可接受的盐。
10. 如权利要求 1 所述的用途,其中,所述给药包括给药 N-(9- 甲氧基壬基) 脱氧野尻霉素或其药学上可接受的盐。
11. 如权利要求 1 所述的用途,其中, R 为



12. 如权利要求 11 所述的用途,其中, X_1 为 NO_2 并且 X_3 为 N_3 。
13. 如权利要求 11 所述的用途,其中, X_2 、 X_4 和 X_5 中的每一个为氢。
14. 如权利要求 1 所述的用途,其中,所述给药包括给药 N-(N-{4'-叠氮-2'-硝基苯基}-6-氨基己基)脱氧野尻霉素或其药学上可接受的盐。
15. 如权利要求 1 所述的用途,其中,所述受治者是哺乳动物。
16. 如权利要求 1 所述的用途,其中,所述受治者是人类。
17. 如权利要求 1 所述的用途,其中,所述病毒选自:伊皮病毒、拉沙病毒、淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒、莫巴拉病毒、Mopeia 病毒、阿马帕里病毒、Flexal 病毒、瓜纳瑞托病毒、胡宁病毒、拉丁美洲病毒、马丘坡病毒、Oliveros 病毒、巴拉那病毒、皮钦德病毒、Pirital 病毒、萨比亚病毒、塔卡里伯病毒、塔米阿米病毒、白水阿罗约病毒和查帕雷病毒。
18. 如权利要求 1 所述的用途,其中,所述病毒为皮钦德病毒。
19. 如权利要求 1 所述的用途,其中,所述病毒为胡宁病毒。
20. 如权利要求 1 所述的用途,其中,所述疾病或病症选自:淋巴细胞性脉络丛脑膜炎、拉沙热、阿根廷出血热、玻利维亚出血热、巴西出血热、塔卡里伯发热、委内瑞拉出血热、与 Flexal 病毒有关的流感样疾病、以及与白水阿罗约病毒有关的出血热。
21. 如权利要求 1 所述的用途,其中,所述疾病或病症是阿根廷出血热。
22. 如权利要求 1 所述的用途,其中,所述疾病或病症是拉沙热。

亚氨基糖以及治疗沙粒病毒感染的方法

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求 2009 年 2 月 24 日提交的美国临时申请第 61/202,391 号的优先权和 2009 年 9 月 4 日提交的美国临时申请第 61/272,251 号的优先权,上述美国临时申请的全部内容通过引用并入本文。

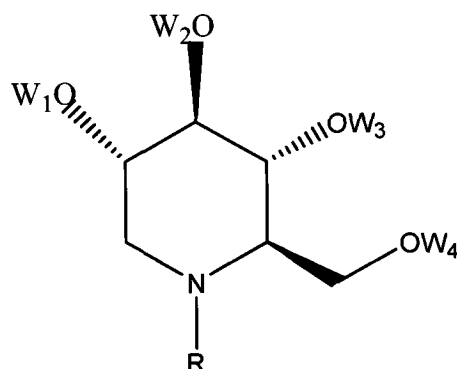
技术领域

[0003] 本申请涉及亚氨基糖和用亚氨基糖治疗病毒感染的方法,具体而言,本申请涉及亚氨基糖在治疗和预防由属于沙粒病毒家族的病毒引起的或与属于沙粒病毒家族的病毒有关的病毒感染方面的用途。

发明内容

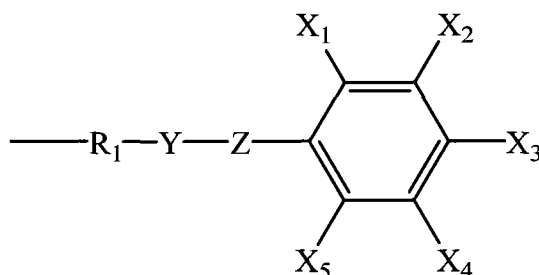
[0004] 一种实施方式提供治疗或预防由属于沙粒病毒家族的病毒引起的或与属于沙粒病毒家族的病毒有关的疾病或病症的方法,所述方法包括将下式化合物给药于有此需要的受治者,

[0005]



[0006] 其中, R 选自取代或未取代的烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的芳基或者取代或未取代的烷氧基;或者其中, R 为

[0007]



[0008] R_1 是取代或未取代的烷基;

[0009] X_{1-5} 独立地选自 H, NO_2 , N_3 或 NH_2 ;

[0010] Y 缺失或为取代或未取代的 C_1 -烷基(除羰基之外);以及

[0011] Z 选自化学键或 NH;在 Z 为化学键的条件下, Y 缺失;在 Z 为 NH 的条件下, Y 为取代或未取代的 C_1 -烷基(除羰基之外);并且

[0012] 其中, W_{1-4} 独立地选自氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的卤代烷基、取代或未取代的烷酰基、取代或未取代的芳酰基或取代或未取代的卤代烷酰基。

附图说明

[0013] 图 1(A) 至图 1(E) 表示下列亚氨基糖的化学通式: A) N-丁基-脱氧野尻霉素 (NB-DNJ 或 UV-1); B) N-壬基脱氧野尻霉素 (NN-DNJ 或 UV-2); C) N-(7-癸氧基) 脱氧野尻霉素 (N7-O-DNJ 或 UV-3); D) N-(9-甲氧基壬基) 脱氧野尻霉素 (N9-DNJ 或 UV-4); E) N-(N-{4'-叠氮-2'-硝基苯基}-6-氨基己基) 脱氧野尻霉素 (NAP-DNJ 或 UV-5)。

[0014] 图 2 是 NN-DNJ 的合成示意图。

[0015] 图 3A 至图 3D 举例说明 N7-O-DNJ 的合成。具体而言, 图 3A 表示生成 N7-O-DNJ 的一系列反应; 图 3B 举例说明制备 6-丙氧基-1-己醇; 图 3C 举例说明制备 6-丙氧基-1-己醛; 图 3D 举例说明合成 N7-O-DNJ。

[0016] 图 4A 至图 4C 涉及 N-(9-甲氧基壬基) 脱氧野尻霉素的合成。具体而言, 图 4A 举例说明制备 9-甲氧基-1-壬醇; 图 4B 举例说明制备 9-甲氧基-1-壬醛; 图 4C 举例说明合成 N-(9-甲氧基壬基) 脱氧野尻霉素。

[0017] 图 5 表示 NB-DNJ、N7-O-DNJ 和 N9-DNJ 抑制皮钦德 (Pichinde) 病毒释放的数据。

[0018] 图 6 表示所选择的亚氨基糖对皮钦德病毒 (PICV) 和胡宁 (Junin) 病毒 (JUNV) 的活性。

[0019] 图 7 表示 NB-DNJ、N7-O-DNJ 和 N9-DNJ 对 PICV 的抗病毒活性。

[0020] 图 8 表示 NB-DNJ、NN-DNJ、N7-O-DNJ、N9-DNJ 和 NAP-DNJ 对 JUNV 的抗病毒活性。

具体实施方式

[0021] 术语的定义

[0022] 除非另有说明, 单数形式 (“a” 或 “an”) 是指一个 (一种) 或一个以上 (一种以上)。

[0023] 如本文使用的术语“病毒感染”描述了疾病状态, 其中, 病毒入侵健康细胞, 使用所述细胞的再生机制以繁殖或复制并且最终溶解所述细胞导致所述细胞死亡, 释放病毒颗粒以及通过新产生的子代病毒感染其他细胞。一些病毒的潜伏性感染也可能是由病毒感染引起的。

[0024] 如本文使用的术语“治疗或预防病毒感染”是指抑制特定病毒的复制, 抑制病毒传播或防止病毒在宿主中自身建立以及改善或缓解由病毒感染所引起的疾病症状。如果病毒载荷降低, 那么, 认为所述治疗在治疗上降低了死亡率和 / 或发病率。

[0025] IC₅₀ 或 IC₉₀ (50 或 90 抑制浓度) 是诸如亚氨基糖之类的治疗剂的浓度, 所述浓度分别用于实现使病毒载荷降低 50% 或 90%。

[0026] 相关申请

[0027] 本申请通过引用并入 2009 年 2 月 24 日提交的美国临时申请第 61/202, 391 号的全部内容。

[0028] 公开的内容

[0029] 本申请的发明人发现诸如脱氧野尻霉素衍生物之类的一些亚氨基糖可有效对抗

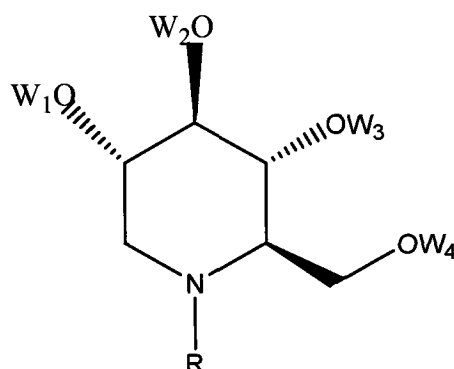
属于沙粒病毒家族的病毒。具体而言,所述脱氧野尻霉素衍生物可用于治疗或预防由属于沙粒病毒家族的病毒引起的或与属于沙粒病毒家族的病毒有关的疾病或病症。

[0030] 属于沙粒病毒家族的病毒包括属于沙粒病毒属的沙粒病毒。沙粒病毒可导致多种病毒性出血热。所述沙粒病毒属包括伊皮 (Ippy) 病毒、拉沙病毒、淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒、莫巴拉 (Mobala) 病毒、Mopeia 病毒、阿马帕里 (Amapari) 病毒、Flexal 病毒、瓜纳瑞托 (Guanarito) 病毒、胡宁 (Junin) 病毒、拉丁美洲 (Latino) 病毒、马丘坡 (Machupo) 病毒、Oliveros 病毒、巴拉那 (Paraná) 病毒、皮钦德 (Pichinde) 病毒、Pirital 病毒、萨比亚 (Sabiá) 病毒、塔卡里伯 (Tacaribe) 病毒、塔米阿米 (Tamiami) 病毒、白水阿罗约 (Whitewater Arroyo) 病毒、查帕雷 (Chapare) 病毒。沙粒病毒通常可通过与啮齿动物接触来传播,所述啮齿动物可作为病毒的储藏器。沙粒病毒感染可以是全球地方病并且每年引起超过 1 百万病例以及数千死亡。沙粒病毒属中的成员皮钦德病毒通常用作模型以测试化学化合物对抗该属病毒的活性,所述皮钦德病毒对人类不像其他沙粒病毒那样危险。

[0031] 由沙粒病毒引起的或与沙粒病毒有关的疾病包括由淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒引起的淋巴细胞性脉络丛脑膜炎、由拉沙病毒引起的拉沙热、由胡宁病毒引起的阿根廷出血热、由马丘坡病毒引起的玻利维亚出血热、由瓜纳瑞托病毒引起的委内瑞拉出血热、由萨比亚病毒引起的巴西出血热、与塔卡里伯病毒有关的塔卡里伯发热、与 Flexal 病毒有关的流感样疾病、与白水阿罗约病毒有关的出血热。

[0032] 在许多实施方式中,亚氨基糖可以是 N- 取代的脱氧野尻霉素。在一些实施方式中,该 N- 取代的脱氧野尻霉素可以是下式化合物:

[0033]



[0034] 其中, W_{1-4} 独立地选自氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的卤代烷基、取代或未取代的烷酰基、取代或未取代的芳酰基或者取代或未取代的卤代烷酰基。

[0035] 在一些实施方式中, R 可选自取代或未取代的烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的芳基或者取代或未取代的烷氧基。

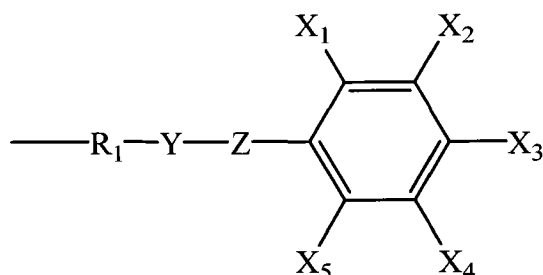
[0036] 在一些实施方式中, R 可以是包含 1 至 16 个碳原子、4 至 12 个碳原子或 8 至 10 个碳原子的取代或未取代的烷基和 / 或取代或未取代的烷氧基。术语“烷氧基”是指烷基衍生物,所述烷氧基可含有 1 至 5 个或 1 至 3 个或 1 至 2 个氧原子。术语“烷氧基”包括羟基为末端和甲氧基为末端的烷基衍生物。

[0037] 在一些实施方式中, R 可选自但不限于: $-(CH_2)_6OCH_3$, $-(CH_2)_6OCH_2CH_3$, $-(CH_2)_6O(CH_2)_2CH_3$, $-(CH_2)_6O(CH_2)_3CH_3$, $-(CH_2)_2O(CH_2)_5CH_3$, $-(CH_2)_2O(CH_2)_6CH_3$, $-(CH_2)_2O(CH_2)_7CH_3$; $-(CH_2)_9-OH$; $-(CH_2)_9OCH_3$ 。

[0038] 在一些实施方式中, R 可以是分支的或未分支的、取代的或未取代的烷基。在一些实施方式中, 烷基可以是长链烷基, 所述烷基可以是 C6-C20 烷基; C8-C16 烷基或 C8-C10 烷基。在一些实施方式中, R 可以是长链烷氧基, 即, 可含有 1 至 5 个或 1 至 3 个或 1 至 2 个氧原子的长链烷基。

[0039] 在一些实施方式中, R 可具有下式:

[0040]



[0041] 其中, R₁ 是取代或未取代的烷基;

[0042] X₁₋₅ 独立地选自 H、NO₂、N₃ 或 NH₂;

[0043] Y 缺失或为取代或未取代的 C₁-烷基 (除羰基之外); 并且

[0044] Z 选自化学键或 NH; 在 Z 为化学键的条件下, Y 缺失, 在 Z 为 NH 的条件下, Y 为取代或未取代的 C₁-烷基 (除羰基之外)。

[0045] 在一些实施方式中, Z 是 NH 并且 R₁-Y 是取代或未取代的烷基, 例如, C2-C20 烷基或 C4-C12 烷基或 C4-C10 烷基。

[0046] 在一些实施方式中, X₁ 是 NO₂ 且 X₃ 是 N₃。在一些实施方式中, X₂、X₄ 和 X₅ 中的每一个是氢。

[0047] 在一些实施方式中, 所述亚氨基糖可以是在美国专利申请公开第 2007/0275998 号中公开的 DNJ 衍生物, 该美国专利申请公开通过引用并入本文。

[0048] 在一些实施方式中, 脱氧野尻霉素衍生物可以是图 1 所示的化合物中的一种。

[0049] 脱氧野尻霉素衍生物的合成方法在例如, 美国专利第 5, 622, 972 号, 第 5, 200, 523 号, 第 5, 043, 273 号, 第 4, 994, 572 号, 第 4, 246, 345 号, 第 4, 266, 025 号, 第 4, 405, 714 号和第 4, 806, 650 号, 以及美国专利申请公开第 2007/0275998 号中公开, 上述美国专利或美国专利申请公开的全部内容通过引用并入本文。

[0050] 在一些实施方式中, 所述亚氨基糖可以从无机酸或有机酸获得的盐的形式。药学上可接受的盐以及盐形式的制备方法在例如 Berge 等人 (J. Pharm. Sci. 66:1-18, 1977) 的文章中公开。合适的盐的例子包括但不限于下列盐: 醋酸盐、己二酸盐、藻酸盐、柠檬酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、硫酸氢盐、丁酸盐、樟脑酸盐 (camphorate)、樟脑磺酸盐、二葡萄糖酸盐、环戊烷丙酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、葡庚酸盐 (glucoheptanoate)、甘油磷酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、富马酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、2-羟基乙磺酸盐、乳酸盐、马来酸盐、甲磺酸盐、烟酸盐、2-萘磺酸盐、草酸盐、扑酸盐、果胶盐 (pectinate)、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、甲苯磺酸盐、甲磺酸盐和十一酸盐。

[0051] 在一些实施方式中, 所述亚氨基糖也可以前药的形式来使用。诸如 6-磷酸化 DNJ 衍生物之类的 DNJ 衍生物的前药在美国专利第 5, 043, 273 号和第 5, 103, 008 号中公开。

[0052] 在一些实施方式中,所述亚氨基糖可用作组合物的一部分,所述组合物还包括药学上可接受的载体和/或用于将组合物递送至动物的组分。本领域已知多种用于将组合物递送至人体的药学上可接受的载体和用于将组合物递送至诸如牛之类的其他动物的组分。将这样的载体和组分加至本发明的组合物中恰好在本领域普通技术人员的水平之内。

[0053] 在一些实施方式中,药物组合物可基本上由 N- 取代的脱氧野尻霉素构成,这可意味着 N- 取代的脱氧野尻霉素是组合物中唯一的活性成分。

[0054] 而在一些实施方式中,N- 取代的脱氧野尻霉素可与一种或一种以上额外的抗病毒化合物一同给药。

[0055] 在一些实施方式中,所述亚氨基糖可在脂质体组合物中使用,所述脂质体组合物例如,美国专利申请公开第 2008/0138351 号、2009 年 3 月 25 日提交的美国申请第 12/410,750 号以及 2009 年 3 月 27 日提交的美国临时申请第 61/202,699 号中所公开的那些脂质体组合物。

[0056] 诸如 DNJ 衍生物之类的亚氨基糖可给药于受病毒感染的细胞或动物。所述亚氨基糖可抑制病毒的形态发生或它可治疗个体。所述治疗可降低、减轻或消除动物中的病毒感染。

[0057] 可被属于沙粒病毒家族的病毒感染的动物包括诸如鸟类和哺乳动物之类的脊椎动物,所述哺乳动物包括灵长类动物、人类、啮齿类动物和蝙蝠。

[0058] 本发明的方法中,给药于动物或动物细胞的亚氨基糖的量可以是有效抑制细胞中属于沙粒病毒家族的病毒的形态发生的量。本文使用的术语“抑制”可以是指可检测的降低和/或消除在不存在亚氨基糖的条件下所表现出的生物活性。术语“有效量”可以是指为了实现所说明的效果所必需的亚氨基糖的量。本文使用的术语“治疗”可以是指减轻或缓解受治者的症状、预防症状恶化或加重、抑制或消除病原体或在未患病的受治者中预防与属于沙粒病毒家族的病毒有关的感染或失调。

[0059] 因此,例如,由病毒引起的或与病毒有关的疾病的治疗可包括破坏传染原、抑制或干扰传染原的生长或成熟以及中和传染原的病理学作用。可给药于细胞或动物的亚氨基糖的量优选为不诱导任何毒性作用的量,所述毒性作用比所述亚氨基糖的给药所伴随的优势更重要。

[0060] 药物组合物中活性成分的实际剂量水平可不同,以使得对于特定患者而言,给药有效实现期望的治疗响应的活性化合物的量。

[0061] 选择的剂量水平可取决于亚氨基糖的活性、给药途径、所治疗的病症的严重性、病症以及所治疗的患者先前的药物历史。然而,本领域技术人员以低于实现期望的治疗效果所需的剂量水平为化合物的起始剂量并且逐渐增加剂量直至实现期望的效果。如果需要的话,每日有效剂量可根据给药目的分为多个剂量,例如,每天两个剂量至四个剂量。然而,理解的是,任何特定患者的具体剂量水平可取决于包括体重、一般健康水平、饮食、给药时间和途径以及与其他治疗剂的联合、所治疗的病症或疾病的严重性在内的多种因素。成年人每日剂量可为约 1mg 亚氨基糖/10kg 体重至约 1g 亚氨基糖/10kg 体重或约 10mg 亚氨基糖/10kg 体重至 100mg 亚氨基糖/10kg 体重。当然,应当施用于细胞或动物的亚氨基糖的量可取决于本领域技术人员已经理解的多种因素,例如,亚氨基糖的分子量以及给药途径。

[0062] 在本发明的方法中有用的药物组合物可以口服固体剂型、眼用剂型、栓剂、气雾

剂、局部剂型或其他类似剂型全身给药。例如,所述药物组合物可以是以下物理形式:粉末、片剂、胶囊、锭剂、凝胶、溶液、悬浮液、糖浆,等等。除了亚氨基糖之外,这些药物组合物可含有药学上可接受的载体和其他已知的提高和促进药物给药的成分。其他可能的剂型,例如,纳米颗粒、脂质体、再封装的红细胞以及基于免疫学的体系也可用于亚氨基糖的给药。这些药物组合物可通过多种途径给药。本文使用的术语“肠胃外”包括而不限于:皮下、静脉内、动脉内、鞘内以及注射和注入技术。举例而言,药物组合物可口服给药、局部给药、肠胃外给药、全身给药或通过肺部途径给药。

[0063] 这些组合物可以单一剂量或多剂量给药,所述多剂量在不同时间施用。因为所述组合物对属于沙粒病毒家族的病毒的抑制效果可持续,可调整给药方案,这样阻止病毒繁殖而最低程度地影响宿主细胞。举例而言,可将一定剂量的本发明的组合物每周一次给药于动物,由此阻止病毒繁殖持续整周,而每周一次抑制宿主细胞功能仅仅持续较短时间段。

[0064] 本文所述的实施方式通过下列实施例来进一步举例说明,但不限于下列实施例。

[0065] 实施例

[0066] 1. N- 壬基 DNJ 的合成

[0067] 表 1. 用于合成 NN-DNJ 的物质

[0068]

名称	量
DNJ	500mg
壬醛	530mg
乙醇	100mL
AcOH	0.5mL
Pd/C	500mg

[0069] 步骤:在室温下,向装配有磁力搅拌器的 50-mL、单颈圆底烧瓶中装入 DNJ (500mg)、乙醇 (100mL)、壬醛 (530mg) 和乙酸 (0.5mL)。将反应混合物加热至 40℃ 至 45℃ 并且在氮气条件下搅拌 30 分钟至 40 分钟。将反应混合物冷却至环境温度并加入 Pd/C。由气球中的氢气排空并代替反应烧瓶中的空气。重复该过程三次。最后,在环境温度下搅拌反应混合物过夜。反应的进行由 TLC 来监测 (标记 1)。通过硅藻土垫过滤反应混合物并用乙醇洗涤。在真空中浓缩滤液,从而得到粗产物。通过柱层析 (230 目至 400 目硅胶) 纯化粗产物。二氯甲烷中的甲醇的溶剂梯度 (10% 至 25%) 用于从柱上洗脱产物。将含有期望的产物的所有组分合并,在真空中浓缩,从而得到纯产物 (420mg)。通过使用薄层硅胶板的薄层层析 (TLC) 来监测反应完成;洗脱剂,甲醇:二氯甲烷 = 1 : 2。

[0070] 2. N-7- 癸氧基 DNJ 的合成

[0071] 2a. 6- 丙氧基 -1- 己醇的合成

[0072] 表 2. 合成 6- 丙氧基 -1- 己醇的物质

[0073]

名称	量
1,6- 己二醇	6.00g
1- 碘代丙烷	8.63g
叔丁醇钾	5.413mg
THF	140mL

[0074] 步骤:在室温下,向装配有磁力搅拌器的 500-mL、单颈圆底烧瓶中装入 1,6- 己二醇 (6.00g)、叔丁醇钾 (5.413g)。搅拌反应混合物持续 1 小时,然后加入 1- 碘代丙烷 (8.63g)。将反应混合物加热至 70℃至 80℃并搅拌过夜。反应的进行通过 TLC 来监测 (标记 1)。反应完成之后,向反应混合物中加入水并用乙酸乙酯 (2x 100mL) 萃取。在真空中浓缩合并的有机层,从而得到粗产物。将粗产物溶于二氯甲烷并用水洗涤、然后盐水洗涤,通过硫酸钠干燥。在真空中浓缩有机层,从而得到粗产物。该粗产物通过使用 230 目至 400 目硅胶的柱层析来纯化。己烷中的乙酸乙酯的溶剂梯度 (10%至 45%) 用于从柱上洗脱产物。将含有期望的纯产物的所有组分合并,在真空中浓缩,从而得到纯的 6- 丙氧基 -1- 己醇 (编号 D-1029-048, 1.9g, 25%)。通过薄层层析 (TLC) 来监测反应完成 (洗脱剂:己烷中 60%乙酸乙酯)。

[0075] 2b. 6- 丙氧基 -1- 己醛的制备

[0076] 表 3. 制备 6- 丙氧基 -1- 己醛的物质

[0077]

名称	量
6- 丙氧基 -1- 己醇	1.00g
PDC	4.70g
硅藻土	1.00g
NaOAc	100mg
CH ₂ Cl ₂	10mL

[0078] 步骤:向装配有磁力搅拌器的 50-mL、单颈圆底烧瓶中装入 6- 丙氧基 -1- 己醇 (1.0g)、PDC (4.7g)、二氯甲烷 (10mL)、硅藻土 (1.0g) 和醋酸钠 (100mg)。在室温、氮气条件下搅拌反应混合物持续 5 分钟。将 PDC (4.70g) 加至反应混合物中,并搅拌过夜。通过 TLC (标记 1) 来监测反应的进行。反应完成之后,将反应混合物直接加载在柱 (230 目至 400 目硅胶) 上。乙酸乙酯中的二氯甲烷的溶剂梯度 (10%至 20%) 用于从柱上洗脱产物。将含有期望的纯产物的所有组分合并,在真空中浓缩,从而得到纯的 6- 丙氧基 -1- 己醛 (编号, D-1029-050, 710mg, 71%)。反应的完成通过薄层层析 (TLC) 来监测 (洗脱剂:己烷中 60%乙酸乙酯)。

[0079] 2c. N-7- 癸氧基 -DNJ 的合成

[0080] 表 4. 合成 N-7- 癸氧基 -DNJ 的物质

[0081]

名称	量
DNJ	500mg
6- 丙氧基 -1- 己醛	585mg
Pd/C	125mg
乙醇	15mL
乙酸	mL

[0082] 步骤：室温下，向装配有磁力搅拌器的 50-mL、单颈圆底烧瓶中装入 DNJ (500mg)、乙醇 (15mL)、6- 丙氧基 -1- 己醛 (585mg) 和乙酸 (0. 1mL)。将反应混合物加热至 40℃ 至 45℃ 并在氮气条件下搅拌 30 分钟至 40 分钟。将反应混合物冷却至环境温度并加入 Pd/C。由气球中的氢气排空并代替反应烧瓶中的空气。重复该过程三次。最后，在环境温度下搅拌反应混合物过夜。通过 TLC (标记 1) 来监测反应的进行。通过硅藻土垫过滤反应混合物并用乙醇洗涤。在真空中浓缩滤液，从而得到粗产物。粗产物通过柱层析 (230 目至 400 目硅胶) 来纯化。二氯甲烷中的甲醇的溶剂梯度 (10% 至 40%) 用于从柱上洗脱产物。合并含有期望的产物的所有组分并在真空中浓缩，从而得到纯的产物。(编号, D-1029-052 (840mg))。通过薄层层析 (TLC) 来监测反应完成 (洗脱剂：二氯甲烷中 50% 甲醇)。

[0083] 3. N-(9- 甲氧基)- 壬基 DNJ 的合成

[0084] 3a. 9- 甲氧基 -1- 壬醇的制备

[0085] 表 5. 制备 9- 甲氧基 -1- 壬醇的物质

[0086]

名称	量
1,9- 壬二醇	10. 0g
硫酸二甲酯	41. 39g
氢氧化钠	5. 0g
DMSO	100mL

[0087] 步骤：向装配有磁力搅拌器和搅拌棒的 500-mL、单颈圆底烧瓶中装入溶于二甲亚砜 (100mL) 和水 (100mL) 中的 1,9- 壬二醇 (10. 00g, 62. 3mmol)。在室温下，向上述反应混合物中缓慢加入氢氧化钠 (5. 0g, 125. 0mmol) 的水 (10mL) 溶液。在加入氢氧化钠的过程中，反应混合物放热并且温度上升至约 40℃。搅拌混合物 1 小时，然后将硫酸二甲酯 (16. 52g, 131mmol) 分为四份加入，同时保持反应混合物的温度为约 40℃。在室温下搅拌反应混合物

过夜。反应的进行通过 TLC(标记 1) 来监测。TLC 监测表明反应为 25% 转化。在这个阶段, 加入额外的硫酸二甲酯 (24.78g, 196.44mmol) 并在室温下再搅拌得到的混合物 24 小时。反应完成之后, 将氢氧化钠 (10% 水溶液) 加至反应混合物中以调节溶液的 pH 值为 11 至 13。在室温下搅拌混合物 2 小时并用二氯甲烷 (3x 100mL) 萃取。用 H₂O (200mL)、盐水 (150mL) 洗涤合并的有机层, 通过无水硫酸钠 (20g) 干燥, 过滤, 在真空中浓缩, 从而得到粗产物 (14g)。通过使用 250 目至 400 目硅胶的柱层析来纯化粗产物。己烷中的乙酸乙酯的溶剂梯度 (10% 至 50%) 用于从柱上洗脱产物。合并含有期望的纯产物的所有组分并在真空中浓缩, 从而得到纯的 9- 甲氧基 -1- 壬醇 (编号, D-1027-155, 2.38g, 21.9%)。反应的完成通过使用薄层硅胶平板的薄层层析 (TLC) 来监测, 洗脱剂: 己烷中 60% 的乙酸乙酯。

[0088] 3b. 9- 甲氧基 -1- 壬醛的制备

[0089] 表 6. 制备 9- 甲氧基 -1- 壬醛的物质

[0090]

名称	量
9- 甲氧基 -1- 壬醇	1.0g
PDC	4.7g
分子筛, 3A	1.0g
NaOAc	0.1g
CH ₂ Cl ₂	10mL

[0091] 步骤: 在室温下, 向装配有磁力搅拌器和搅拌棒的 50-mL、单颈圆底烧瓶中装入 9- 甲氧基 -1- 壬醇 (1.0g, 5.9mmol)、二氯甲烷 (10mL)、分子筛 (1.0g, 3A)、醋酸钠 (0.1g)。在室温、氮气条件下搅拌反应混合物 5 分钟。向反应混合物中加入重铬酸吡啶 (4.7g, 12.5mmol) 并搅拌过夜。反应的进行通过 TLC(标记 1) 来监测。反应完成之后, 通过硅胶床 (约 15g) 来过滤反应混合物。真空中蒸发滤液, 从而得到粗化合物。该化合物通过使用硅胶柱 (250 目至 400 目, 40g) 的柱层析来纯化。己烷中的乙酸乙酯的溶剂梯度 (10% 至 50%) 用于从柱上洗脱产物。合并含有期望的纯产物的所有组分并在真空中浓缩, 从而得到纯的 9- 甲氧基 -1- 壬醛 (编号, D-1027-156, 553mg, 54.4%)。反应的完成通过使用薄层硅胶平板的薄层层析 (TLC) 来监测, 洗脱剂: 己烷中 60% 乙酸乙酯。

[0092] 3c. N-(9- 甲氧基) -1- 壬基 DNJ 的合成

[0093] 表 7. 合成 N-(9- 甲氧基) -1- 壬基 DNJ 的物质

[0094]

名称	量
DNJ	300mg
9- 甲氧基 -1- 壬醛	476mg

Pd/C	200mg
乙醇	20mL

[0095] 步骤：室温下，向装配有磁力搅拌器和搅拌棒的 50-mL、双颈圆底烧瓶中装入 DNJ (300mg, 1.84mmol)、乙醇 (20mL)、9-甲氧基-1-壬醛 (476mg, 2.76mmol)。在氮气条件下搅拌反应混合物 5 分钟至 10 分钟并在室温下加入 Pd/C。由气球中的氢气排空并代替反应混合物中的空气。重复该过程三次，然后在室温、大气氢气条件下搅拌反应混合物。反应的进行通过 TLC (标记 1) 来监测。反应混合物通过硅藻土床过滤并用乙醇 (20mL) 洗涤。在真空中浓缩滤液，从而得到粗产物。粗产物通过使用 250 目至 400 目硅胶 (20g) 的柱层析来纯化。乙酸乙酯中的甲醇的溶剂梯度 (5% 至 25%) 用于从柱上洗脱产物。合并含有期望的纯产物的所有组分，并在真空中浓缩，从而得到灰白色固体。将所述固体在乙酸乙酯 (20mL) 中研碎，过滤并在高真空下干燥，从而得到白色固体 (编号：D-1027-158 (165.3mg, 28.1%))。反应的完成通过使用薄层硅胶平板的薄层层析 (TLC) 来监测；洗脱剂：二氯甲烷中 50% 甲醇。

[0096] 4. 亚氨基糖对皮钦德病毒的作用

[0097] 图 5 表示下列 UV 亚氨基糖化合物抑制皮钦德病毒释放的数据：NB-DNJ (UV-1)、NN-DNJ (UV-2)、N7-O-DNJ (UV-3)、N9-DNJ (UV-4)、NAP-DNJ (UV-5)。对照 Vero 细胞培养物和使用 100 μ M 化合物处理的 Vero 细胞培养物受病毒感染并在 37°C、5% CO₂ 培养箱中培养 7 天。对用化合物处理的病毒感染的细胞培养物中的感染性病毒颗粒的产量的抑制通过噬菌斑法来测定。

[0098] 病毒噬菌斑法在 1x 改良的 Eagle 培养基 (Gibco) 中、以 5x 10⁵ 细胞 / 孔接种于 6 孔平板中的 Vero 细胞中进行，所述培养基补充了 2% 胎牛血清、2mM L-谷氨酸、100U/ml 青霉素、100 μ g/ml 链霉素。将从化合物处理的感染的细胞培养物中收集的上清液中的待滴定的病毒稀释于细胞培养基中并以 100 μ l 体积接种在细胞上并使其在 37 摄氏度下吸附 1 小时。用含有 0.6% 的琼脂的 1x 改良的 Eagle 培养基 (Gibco) 覆盖细胞，所述培养基补充了 2mM L-谷氨酸、100U/ml 青霉素、100 μ g/ml 链霉素。

[0099] 使代表已感染并杀死细胞的单个感染性病毒颗粒的死亡细胞的噬菌斑在 37°C、5% CO₂ 培养箱中生长并通过中性红对细胞单层进行活体染色使所述噬菌斑显现。实验表明感染性皮钦德病毒的释放在用 UV 亚氨基糖化合物处理之后显著降低。

[0100] 5. 亚氨基糖对皮钦德病毒和胡宁病毒的作用。

[0101] 图 6 表示下列 UV 亚氨基糖化合物抑制皮钦德病毒和胡宁病毒释放的数据：NB-DNJ (UV-1)、NN-DNJ (UV-2)、N7-O-DNJ (UV-3)、N9-DNJ (UV-4)、NAP-DNJ (UV-5)。

[0102] 化合物。在二甲亚砜 (DMSO) 中将下列化合物的基础原液制备成最终最大 DMSO 浓度为 0.5%：UV-1、UV-2、UV-3、UV-4 和 UV-5。将所有化合物从基础原液稀释至实验浓度。

[0103] 病毒。筛选抑制皮钦德病毒 (沙粒病毒) CoAn3739 菌株和胡宁 (沙粒病毒) 病毒 Candid#1 菌株的化合物。通过使用改良的 Eagle 培养基 (MEM, Sigma)，在 Vero 细胞上进行繁殖来制备病毒原液，所述培养基补充了 2% 胎牛血清、2mM L-谷氨酸、100U/ml 青霉素、100 μ g/ml 链霉素，并且使用标准噬菌斑法 (下面所述的方法) 滴定病毒原液。将病毒原液储存于 -80°C 待用。

[0104] 病毒产量降低测试。通过标准噬菌斑法,在用不同浓度的亚氨基糖培养的病毒感染细胞产生的上清液样品上进行病毒产量测试。将具有 10% 胎牛血清的 1mL MEM 中的细胞和具有厄尔 (Earl) 盐 (Sigma, St Louis, MO) 的 MEM 中的 Vero 细胞 (ATCC, Mannassas, VA; ATCC 编号 CCL-81) 接种在 24 孔细胞培养平板上并在 37°C 下孵育 24 小时或直至约 80% 汇合,所述具有厄尔盐的 MEM 补充了 2mM L- 谷氨酸、100U/mL 青霉素 / 链霉素和 2% 热灭活胎牛血清。用补充了 2% 胎牛血清的培养基代替培养基,并且待用化合物浓度起始为 500 μ M、250 μ M 或 125 μ M,使用 8 倍稀释一式三份进行测试。

[0105] 将化合物加至合适的孔中并在 37°C、5% CO₂ 条件下培养 1 小时。孵育 1 小时后,将病毒加至每个孔中。PICV 感染需要四天, JUNV 感染需要五天。完成感染之后,收集上清液用于滴定。为了滴定 PICV 和 JUNV,使用在生长培养基中的具有 80% 汇合的 Vero 细胞的 12 孔平板。将病毒上清液稀释为 10⁻³ 至 10⁻⁸ 并加 (100uL) 至细胞中,在 37°C 下培养 1 小时同时每 5 分钟至 10 分钟振荡。吸出病毒感染培养基 (100uL) 并用与 2X MEM (5% 胎牛血清) 1 : 1 混合的 1mL 预热的 2% 低熔点琼脂代替,在 37°C、5% CO₂ 条件下培养 6 天,随后通过中性红染色使噬菌斑显现。IC50 被测定为导致 50% 病毒抑制的化合物浓度。

[0106] 图 7 比较了对照、UV-1、UV-3 和 UV-4 化合物对皮钦德病毒的抑制。

[0107] 化合物。在二甲亚砜中,将下列化合物的基础原液制备成最终最大 DMSO 浓度为 0.5% :UV-1、UV-2、UV-3、UV-4 和 UV-5。将所有化合物从基础原液稀释至实验浓度。

[0108] 病毒。筛选抑制皮钦德病毒 CoAn3739 菌株的化合物。

[0109] 结果 :如上所述进行病毒产量测试。发现化合物 NB-DNJ、N7-O-DNJ 和 N9-DNJ 对 PICV CoAn 3739 菌株产生病毒抑制作用。在体外, PICV 抑制作用的结果是在 100 μ M 亚氨基糖浓度条件下 NB-DNJ 产生超过 50% 抑制作用, N7-O-DNJ 产生 70% 抑制作用并且 N9-DNJ 产生超过 99% 抑制作用。

[0110] 图 8 表示 UV-1、UV-2、UV-3、UV-4 和 UV-5 亚氨基糖对胡宁病毒的抑制曲线,所述抑制曲线表示为相对于亚氨基糖化合物的浓度,与对照相比的病毒感染性百分比。

[0111] 化合物。在二甲亚砜 (DMSO) 中将下列化合物的基础原液制备成最终最大 DMSO 浓度为 0.5% :UV-1、UV-2、UV-3、UV-4 和 UV-5。将所有化合物从基础原液稀释至实验浓度。

[0112] 病毒。筛选对抗胡宁病毒 Candid#1 菌株的化合物。

[0113] 结果 :如上所述进行病毒产量测试。发现 EC50 为 350 μ M 的 NB-DNJ 对胡宁病毒产生抑制作用, EC50 为 60 μ M 的 NN-DNJ 对胡宁病毒产生抑制作用, EC50 为 10 μ M 的 NAP-DNJ 对胡宁病毒产生抑制作用。化合物 N7-O-DNJ 和 N9-DNJ 的 EC50 超过 500 μ M。

[0114] 虽然上述内容涉及具体优选的实施方式,将会理解的是本发明不限于此。本领域普通技术人员会对所公开的实施方式作出各种修改并且这些修改意在本发明的范围内。

[0115] 本发明引用的所有公开出版物、专利申请和专利的全部内容通过引用并入本文。

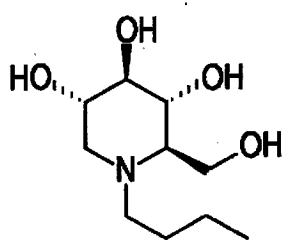


图 1A

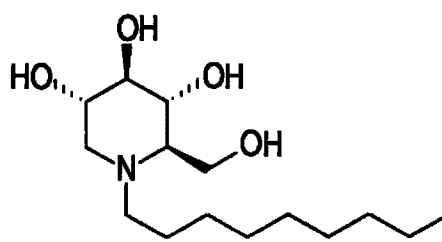


图 1B

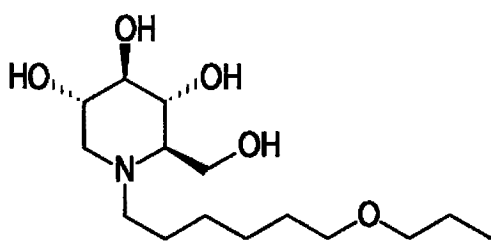


图 1C

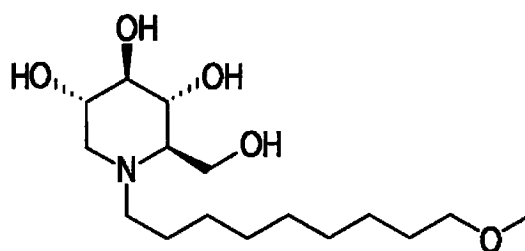


图 1D

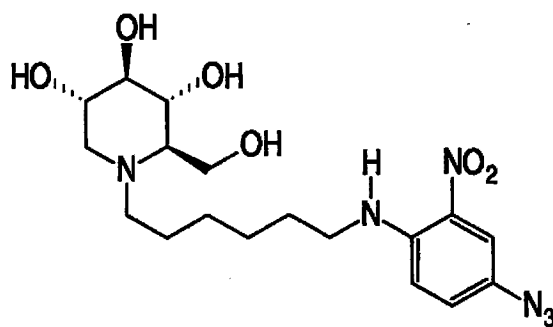


图 1E

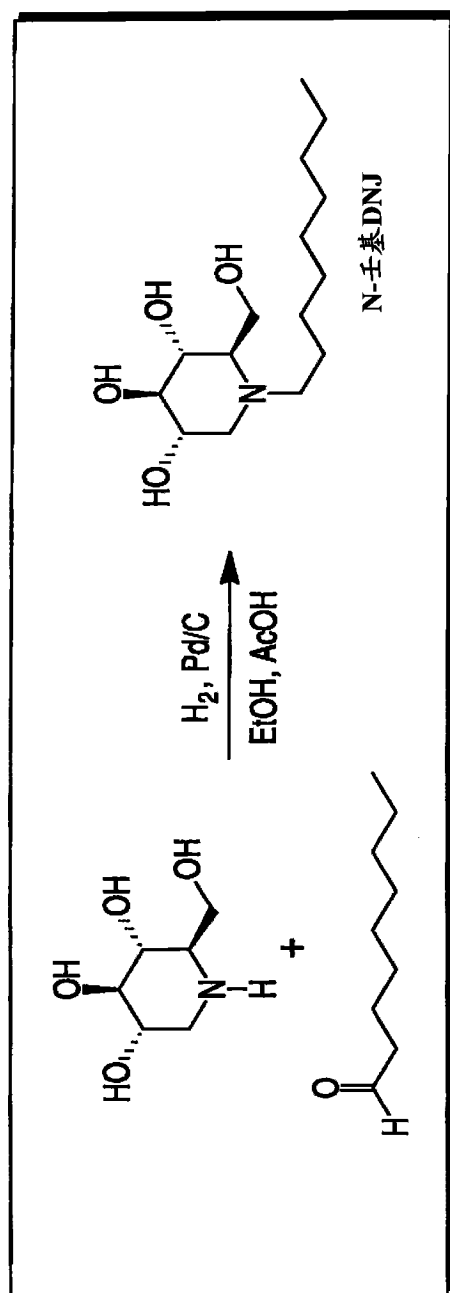


图 2

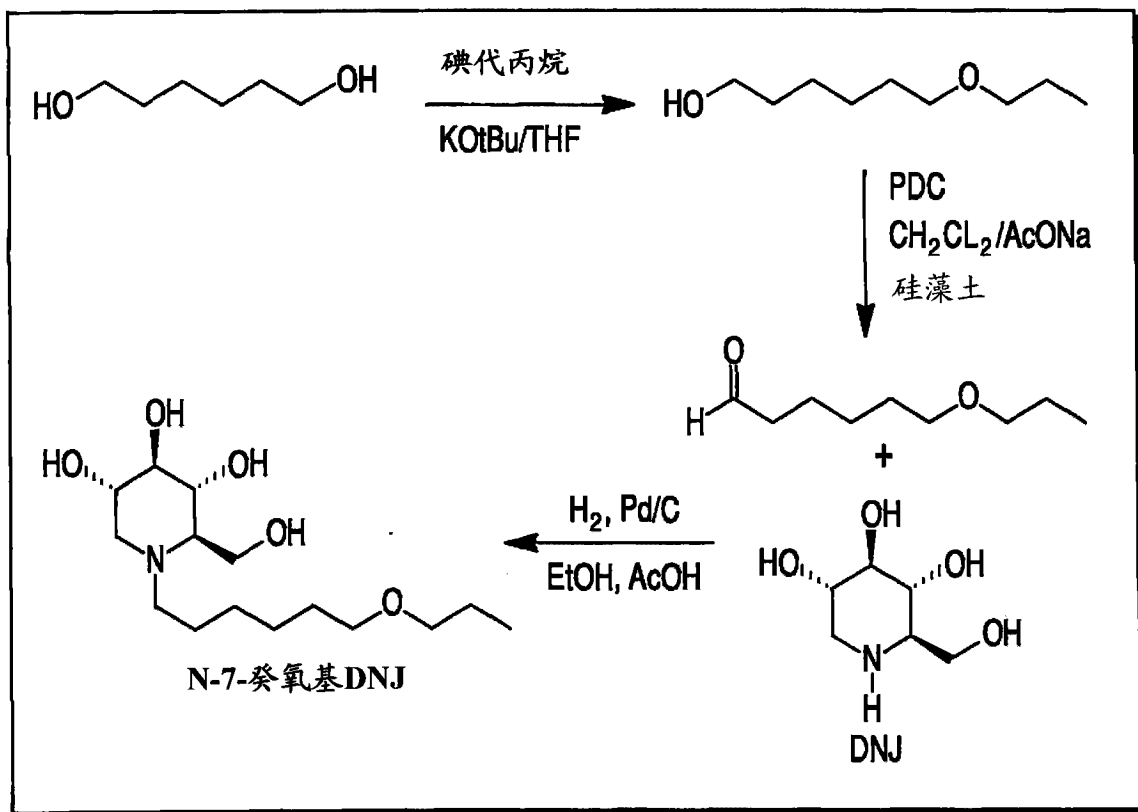


图 3A

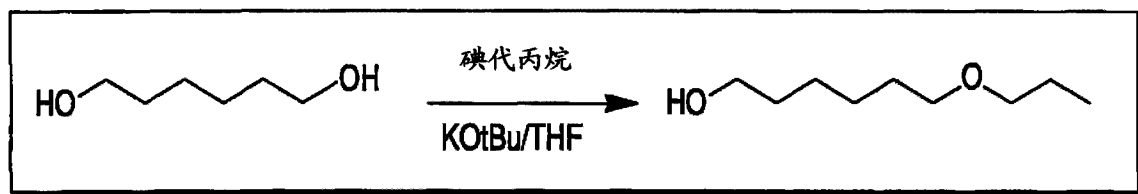


图 3B

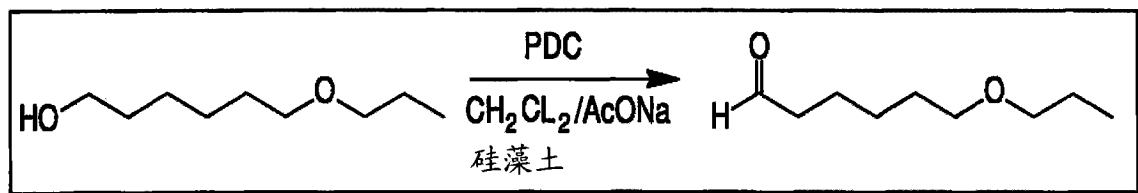


图 3C

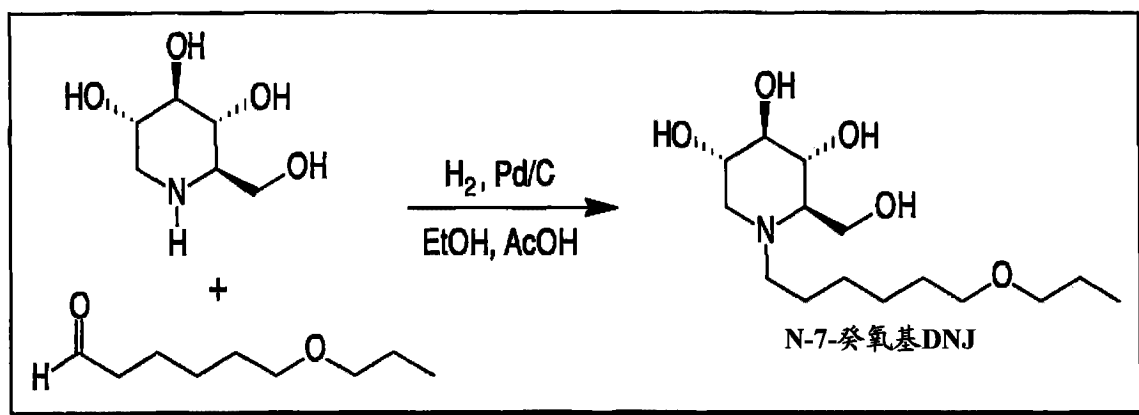


图 3D

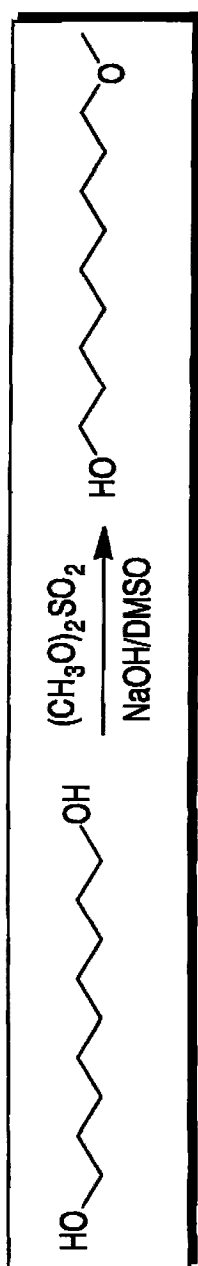


图 4A

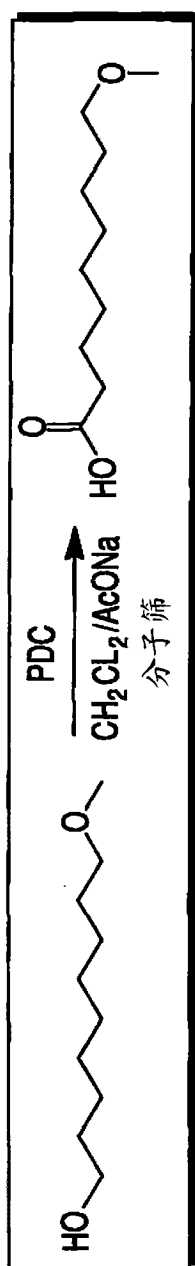


图 4B

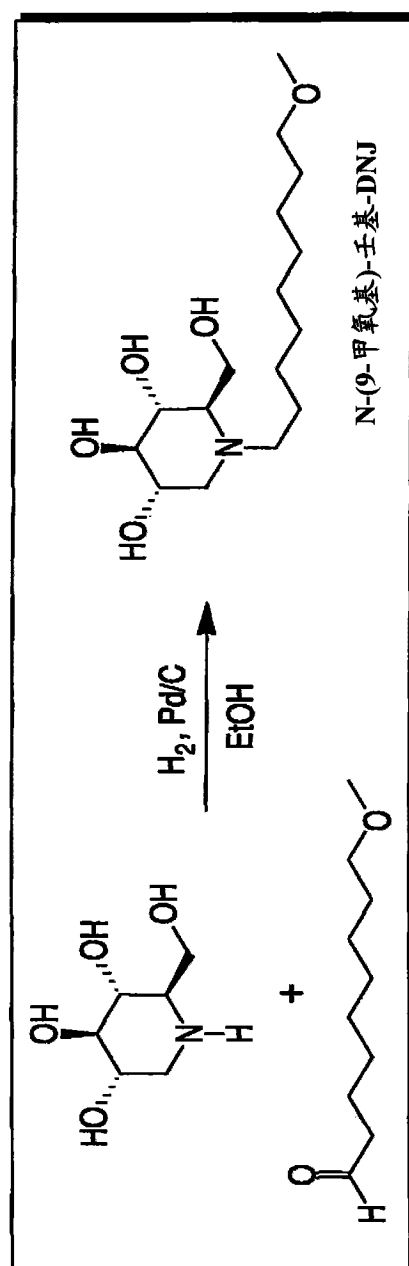


图 4C

病毒（皮钦德）结果

- 病毒释放，对照百分数
- 药物浓度100 uM

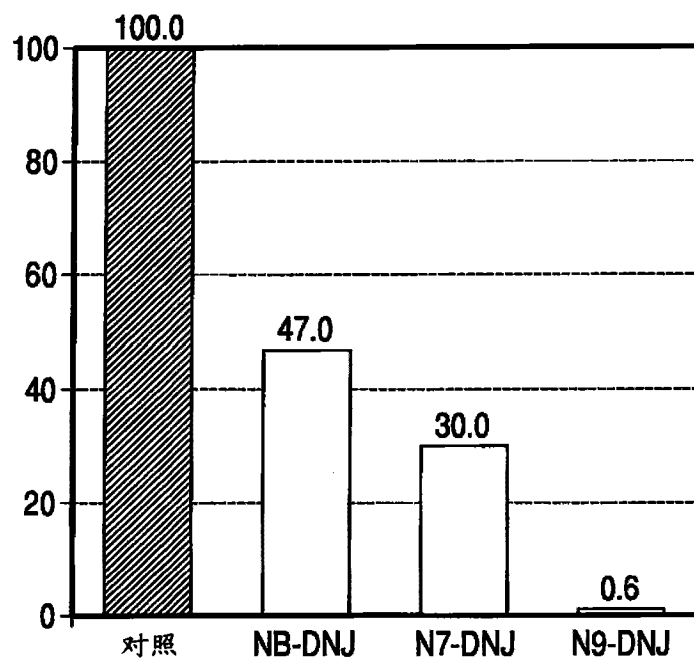


图 5

活性 vs. 沙粒病毒

化合物	PICV		JUNV	
	病毒感染性 @100 uM化合物 浓度	IC50 uM	病毒感染性 @100 uM化合物 浓度	IC50 uM
UV-1	47.0%	>250	100.0%	350
UV-2	--	--	8.0%	60
UV-3	30.0%	>250	80.0%	>500
UV-4	0.6%	--	100.0%	>500
UV-5	--	40	0.2%	10

缩写：PICV-皮钦德病毒；JUNV-胡宁病毒；--数据未获得

图 6

抗病毒活性：皮钦德病毒
病毒感染性，%对照，@100 uM化合物浓度

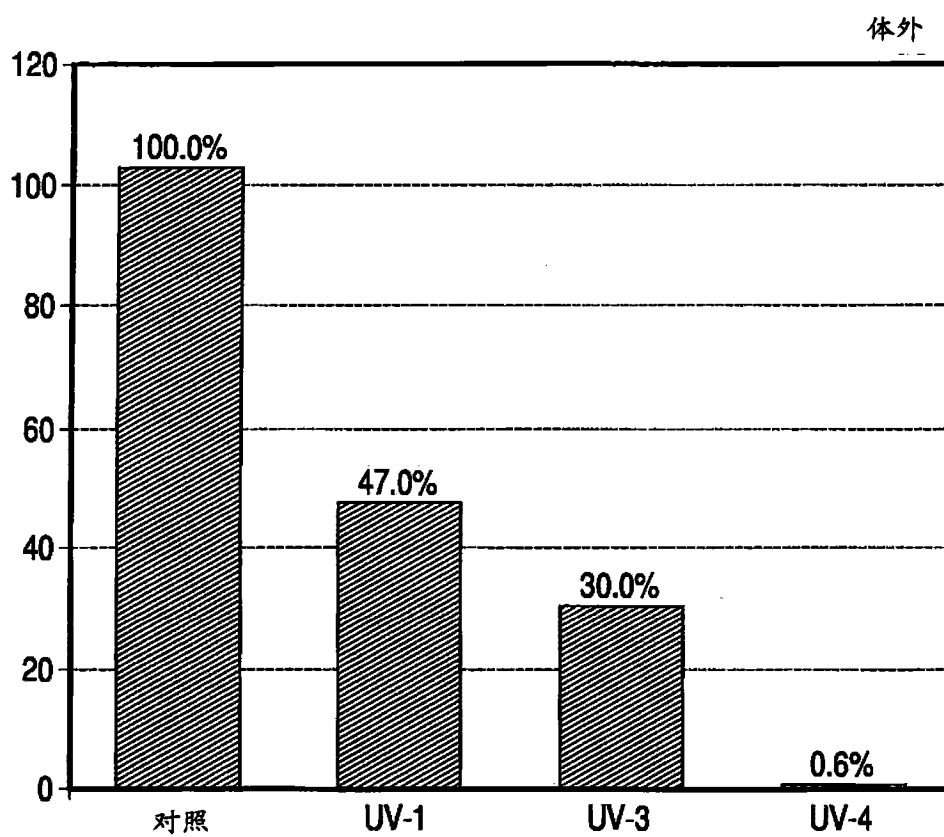


图 7

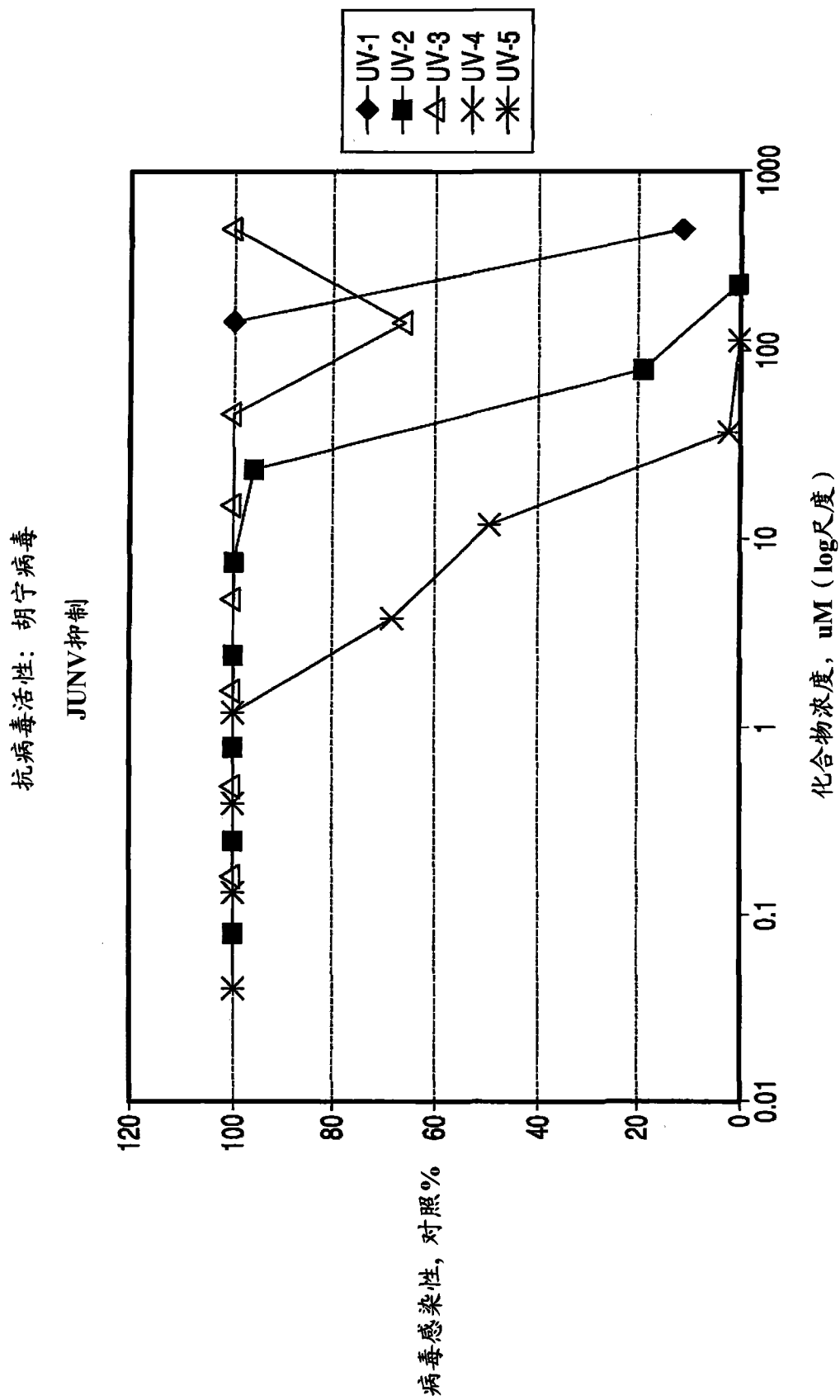


图 8