

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷



[12] 发明专利申请公开说明书

C07K 5/10

A61K 47/48

C07J 43/00

A61K 31/58

[21] 申请号 03816097.8

[43] 公开日 2005 年 9 月 7 日

[11] 公开号 CN 1665831A

[22] 申请日 2003.7.8 [21] 申请号 03816097.8

[30] 优先权

[32] 2002.7.8 [33] US [31] 60/395,190

[86] 国际申请 PCT/IB2003/003792 2003.7.8

[87] 国际公布 WO2004/005313 英 2004.1.15

[85] 进入国家阶段日期 2005.1.7

[71] 申请人 普利瓦研究院有限公司

地址 克罗地亚萨格勒布

[72] 发明人 M·默塞普 M·麦西克

L·托马斯科维克 S·马科维克

[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

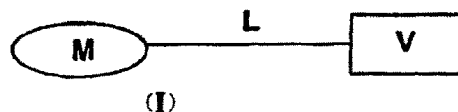
代理人 顾颂邛

权利要求书 20 页 说明书 65 页

[54] 发明名称 作为甾类/非甾类抗炎、抗肿瘤和抗
病毒活性分子载体的新化合物、组
合物

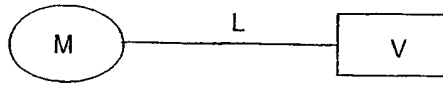
[57] 摘要

本发明涉及(a)通式 I 表示的新化合物,其中 M 表示来源于具有在炎性细胞内累积特性的大环内酯的大环内酯亚单位(大环内酯部分),V 表示抗炎甾类或非甾类亚单位或抗肿瘤或抗病毒亚单位,并且 L 表示共价连接 M 和 V 的连接基;(b)所述新化合物的药学上可接受的盐、前体药物和溶剂化物;(c)其制备方法和中间体;和(d)它们在治疗人和动物的炎性/肿瘤/病毒性疾病和病症中的应用。



ISSN 1008-4274

1. 通式 I 的化合物及其药学上可接受的盐和溶剂化物及其各非对映异构体:



I

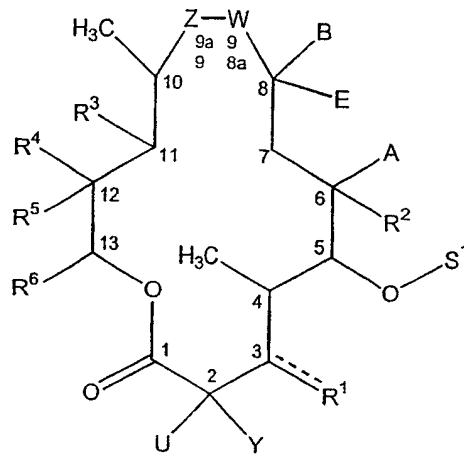
其中:

M 表示具有在炎性细胞内累积特性的大环内酯亚单位;

V 为抗炎甾类亚单位或非甾类抗炎亚单位或抗肿瘤亚单位或抗病毒亚单位, 且

L 为与 M 和 V 各自共价连接的连接分子。

2. 权利要求 1 的化合物, 其中 M 表示通式 II 的基团:



II

其中:

(i) Z 和 W 独立为: $>C=O$ 、 $>CH_2$ 、 $>CH-NR_tR_s$ 、 $>N-R_N$ 或 $>C=N-R_M$ 或键,

其中:

R_t 和 R_s 独立为氢或烷基;

R_M 为羟基、烷氧基、取代的烷氧基或 OR^P ;

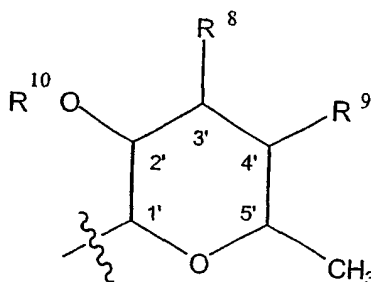
R_N 为氢、 R^P 、烷基、链烯基、炔基、烷氧基、烷氧基烷基或 $-C(X)-NR_tR_s$; 其中 X 为 $=O$ 或 $=S$;

条件是 Z 和 W 不能同时为 $>C=O$ 、 $>CH_2$ 、 $>CH-NR_tR_s$ 、 $>N-R_N$ 或 $>C=N-R_M$ 或键;

(ii) U 和 Y 独立为氢、卤素、烷基或羟基烷基;

(iii) R^1 为羟基、 OR^P 、 $-O-S^2$ 基团或 $=O$;

(iv) S^1 为下式的糖部分:



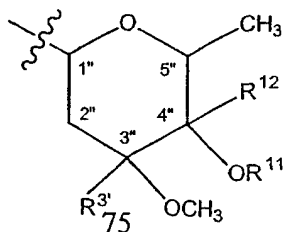
其中:

R^8 和 R^9 均为氢或一起形成键, 或 R^9 为氢且 R^8 为 $-N(CH_3)R^y$, 其中:

R^y 为 R^P 、 R^Z 或 $-C(O)R^Z$, 其中 R^Z 为氢或烷基或链烯基或炔基或环烷基或芳基或杂芳基或被 C_2-C_7 -烷基、 C_2-C_7 -链烯基、 C_2-C_7 -炔基、芳基或杂芳基取代的烷基;

R^{10} 为氢或 R^P ;

(v) S^2 为下式的糖部分:



其中:

$R^{3'}$ 为氢或甲基;

R^{11} 为氢、 R^P 或 $O-R^{11}$ 为与 R^{12} 和与 $C/4''$ 碳原子形成 $>C=O$ 或环氧基的

基团；

R^{12} 为氢或与 $O-R^{11}$ 和与 C/4" 碳原子形成 $>C=O$ 或环氧基的基团；

(vi) R^2 为氢、羟基、 OR^p 或烷氧基；

(vii) A 为氢或甲基；

(viii) B 为甲基或环氧基；

(ix) E 为氢或卤素；

(x) R^3 为羟基、 OR^p 、烷氧基或 R^3 为与 R^5 和与 C/11 和 C/12 碳原子形成环碳酸酯或环氨基甲酸酯的基团；或如果 W 或 Z 为 $>N-R_N$ ，那么 R^3 为与 W 或 Z 形成环氨基甲酸酯的基团；

(xi) R^4 为 C_1-C_4 烷基；

(xii) R^5 为氢、羟基、 OR^p 、 C_1-C_4 -烷氧基或与 R^3 和与 C/11 和 C/12 碳原子形成环碳酸酯或环氨基甲酸酯的基团；

(xiii) R^6 为氢或 C_1-C_4 -烷基；

其中 M 含有连接位置，它通过该位置经连接基 L 与 V 连接；条件是连接位置位于下列基团中的一个或多个上：

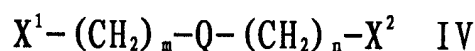
a) 位于 S^1 、 S^2 或糖苷配基氧上的任意活性羟基、氮或环氧基，条件是 S^1 或 / 和 S^2 被裂解；

b) 位于 Z 或 W 上的活性 $>N-R_N$ 或 $-NR_tR_s$ 或 $=O$ ；

c) 位于 R^1 、 R^2 、 R^3 和 R^5 中任意一个上的活性羟基；

d) 可以首先被衍生成羟基或 $-NR_tR_s$ 基团的任意其它基团；且 R^p 为羟基或氨基保护基。

3. 如权利要求 1 中所述的化合物，其中 L 表示通式 IV 组中的成员：



其中：

X^1 选自 $-CH_2-$ 、 $-C(O)-$ 、 $OC(O)-$ 、 $N-O-$ 、 $-OC(O)NH-$ 或 $-C(O)NH-$ ；

X^2 为 $-NH-$ 或 $-NHC(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-O$ 或 $-CH_2-$ ；

Q 为 $-NH-$ 或 $-CH_2-$ 或不存在；

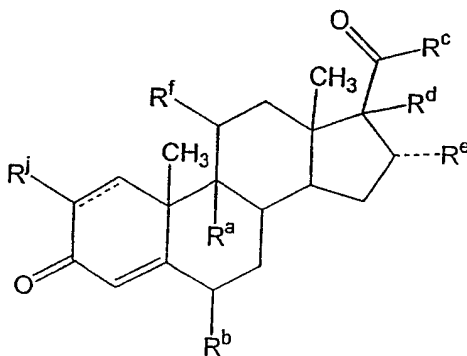
其中 $-\text{CH}_2-$ 或 $-\text{NH}-$ 基团各自可以任选被 C_1-C_7 -烷基、 C_2-C_7 -链烯基、 C_2-C_7 -炔基、 $\text{C}(\text{O})\text{R}^x$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{OR}^x$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{NHR}^x$ 取代，其中 R^x 可以为 C_1-C_7 -烷基、芳基或杂芳基；

符号 m 和 n 独立为 $0-4$ 的整数，条件是如果 Q 为 NH ，那么 n 不能为 0 ；

且 V 仅为抗肿瘤亚单位或抗病毒亚单位。

4. 权利要求 1 的化合物，其中 L 表示肽连接基，包含约 2 - 约 50 个氨基酸的多肽。

5. 如权利要求 1 中所述的化合物，其中 V 表示通式 X 组中的成员：



其中：

R^a 和 R^b 独立地表示氢或卤素；

R^c 为羟基、烷氧基、烷基、硫代氨基甲酰基、氨基甲酰基或价键；

R^d 和 R^e 独立地表示氢、羟基、甲基或 C_1-C_4 -烷氧基或各自为与另一个形成 1,3-二氧戊环的基团或价键；

R^f 为氢、羟基、氯或与它所连接的碳原子形成酮基；

R^j 为氢或卤素。

6. 权利要求 1 的化合物，其中 V 来源于 NSAID，所述的 NSAID 选自醋氯芬酸、阿西美辛、对乙酰氨基酚、醋氨沙洛、乙酰水杨酸、乙酰基-水杨-2-氨基-4-甲基吡啶-酸、5-氨基乙酰水杨酸、阿氯芬酸、

氨洛芬、氨芬酸、氨基安替比林、安吡昔康、阿尼利定、苜达酸、苯噁洛芬、柏莫洛芬、 α -没药醇、溴芬酸、5-溴水杨酸乙酸酯、溴水杨苷、布氯酸、丁布芬、卡洛芬、塞来考昔、chromoglycate、桂美辛、clindanac、氯吡酸、双氯芬酸钠、二氟尼柳、地他唑、屈噁昔康、恩芬那酸、依托度酸、依托芬那酯、联苯乙酸、芬布芬、芬克洛酸、芬度柳、非诺洛芬、芬替酸、非普地醇、flufenac、氟芬那酸、氟尼辛、氟诺洛芬、氟比洛芬、glutametacin、水杨酸乙二醇酯、异丁芬酸、布洛芬、异丁普生、吲哚美辛、吲哚洛芬、三苯唑酸、伊索克酸、伊索昔康、酮洛芬、酮咯酸、氯诺昔康、洛索洛芬、甲氧芬那酸、甲芬那酸、美洛昔康、5-氨基水杨酸、甲嗪酸、莫苯唑酸、孟鲁司特、萘丁美酮、萘普生、尼氟酸、尼美舒利、奥沙拉秦、奥沙西罗、噁丙嗪、羟布宗、对乙酰氨基酚、帕沙米特、哌立索唑、苯乙酰水杨酸酯、保泰松、水杨酸苯酯、吡拉唑酸、吡罗西康、吡洛芬、普拉洛芬、丙替嗪酸、reserveratol、醋水杨胺、水杨酰胺、水杨酰胺-0-乙酸、水杨酰硫酸酯、水杨苷、水杨酰胺、双水杨酯、舒林酸、舒洛芬、suxibutazone、他莫昔芬、替诺昔康、噻洛芬酸、噻拉米特、ticlopridine、替诺立定、托芬那酸、托美丁、tropesin、联苯丁酸、希莫洛芬、扎托洛芬、佐美酸、托莫普罗、扎鲁司特和环孢菌素。

7. 权利要求1的化合物，其中V来源于抗肿瘤化合物，所述的抗肿瘤化合物选自 bicaluatnide、喜树碱、雌莫司汀磷酸酯、氟他胺、氮芥、塞替派、异环磷酰胺、羟基脲、博来霉素、紫杉醇、洛莫司汀、伊立替康、甲氨蝶呤、长春瑞滨、阿那曲唑、氟尿苷、美法仑、长春新碱、长春碱、丝裂霉素、诺龙、戈舍瑞林、亮丙立德、曲普瑞林、氟鲁米特、米托坦、顺铂、苯丁酸氮芥、喷司他丁、克拉屈滨、白消安、依托泊苷、米托蒽醌、伊达比星、环磷酰胺、硫嘌呤、硫鸟嘌呤、阿糖胞苷、环磷酰胺、多柔比星、柔红霉素、替尼泊苷、他莫昔芬、泰索帝和托泊替康。

8. 权利要求 1 的化合物, 其中 V 来源于抗病毒化合物, 所述的抗病毒化合物选自阿昔洛韦、泛昔洛韦、更昔洛韦、西多福韦、拉米夫定、利托那韦、茚地那韦、奈韦拉平、齐多夫定、去羟肌苷、司他夫定、阿巴卡韦、扎西他滨、氨普奈韦、利巴韦林和金刚烷。

9. 权利要求 2 的化合物, 其中 Z 和 W 共同为: $-N(CH_3)-CH_2-$ 、 $-NH-CH_2-$ 、 $-CH_2-NH-$ 、 $-C(O)-NH-$ 或 $-NH-C(O)-$;

A 和 B 为甲基;

E 为氢;

R^2 为羟基或甲氧基;

S^1 表示去氧糖胺糖, 其中 R^8 选自氢、甲基、氨基、 C_1-C_6 烷基氨基或 C_1-C_6 二烷基氨基;

R^9 和 R^{10} 为氢;

R^1 为羟基或 $O-S^2$ 基团, 其中 S^2 表示克拉定糖, 其中:

R^{11} 为氢或 $O-R^{11}$ 为与 R^{12} 和与 C/4" 碳原子形成 $>C=$ 或环氧基的基团;

R^{12} 为氢或与 $O-R^{11}$ 和与 C/4" 碳原子形成 $>C=O$ 或环氧基的基团;

R^{13} 为甲基;

U 为氢;

Y 为甲基;

R_6 为羟基、甲基或乙基;

R^5 为氢、羟基、甲氧基或与 R^3 和与 C/11 和 C/12 碳原子形成环碳酸酯或环氨基甲酸酯桥的基团;

R^3 为羟基或与 W 或 Z 形成环氨基甲酸酯桥的基团, 或 R^3 为与 R^5 和与 C/11 和 C/12 碳原子形成环碳酸酯或环氨基甲酸酯桥的基团;

R^4 为甲基;

条件是连接键通过 N/9a 位上 Z 的氮或通过均在 S^2 糖 C/4" 位上的 R^{12} 的碳或 R^{11} 的氧。

10. 权利要求 3 的化合物, 其中:

X^1 为 $-\text{CH}_2-$ 或 $-\text{OC}(O)-$;

X^2 为 $-\text{NHC}(O)-$;

Q 为 $-\text{NH}-$ 或不存在。

11. 权利要求 6 的化合物, 其中:

V 来源于 NSAID, 所述的 NSAID 选自 S-(+)-布洛芬、吲哚美辛、氟比洛芬、萘普生、酮洛芬、乙酰水杨酸、舒林酸、依托度酸、酮咯酸、舒洛芬、氟尼辛、双氯芬酸钠和托美丁钠。

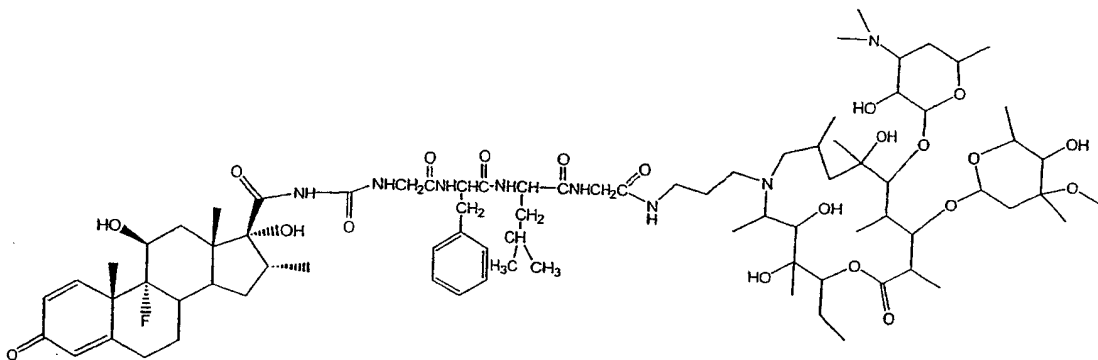
12. 权利要求 7 的化合物, 其中:

V 来源于抗肿瘤化合物, 所述的抗肿瘤化合物选自甲氨蝶呤、紫杉醇、喜树碱和多柔比星。

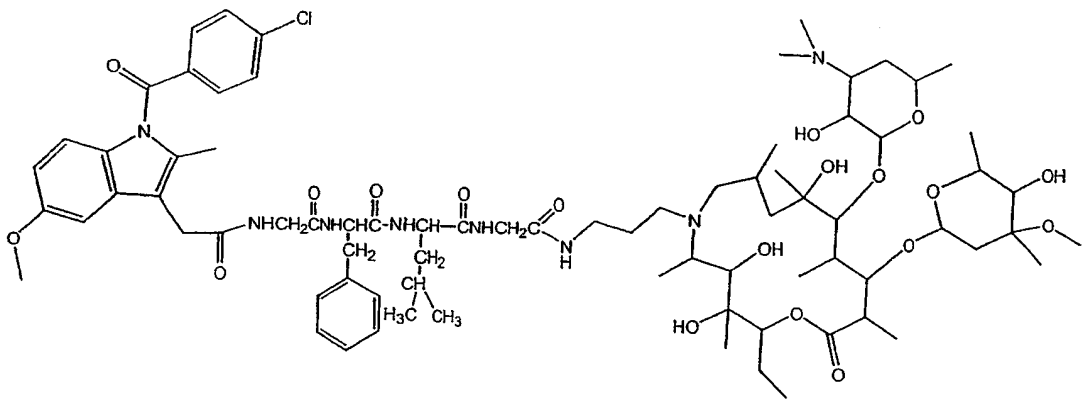
13. 权利要求 8 的化合物, 其中:

V 来源于抗病毒化合物, 所述的抗病毒化合物选自齐多夫定、去羟肌苷和司他夫定组成的组。

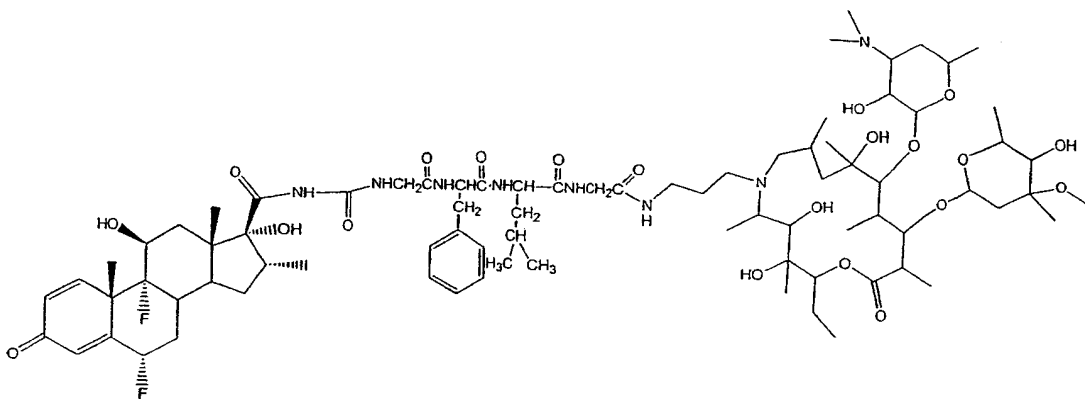
14. 如下式的化合物:



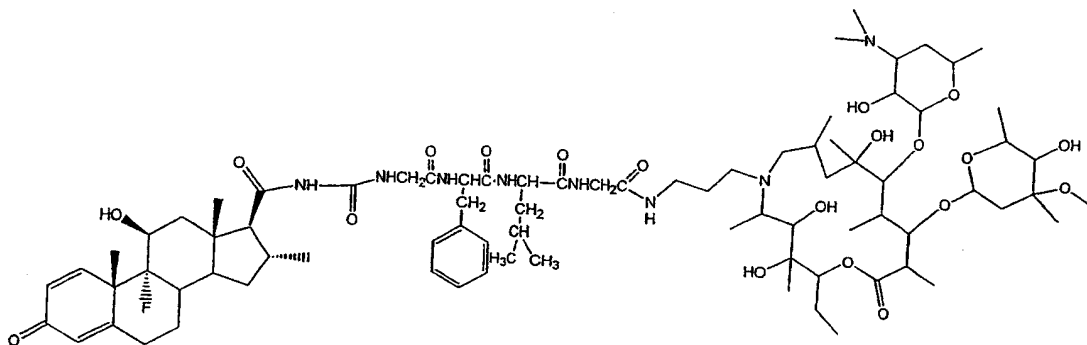
15. 如下式的化合物:



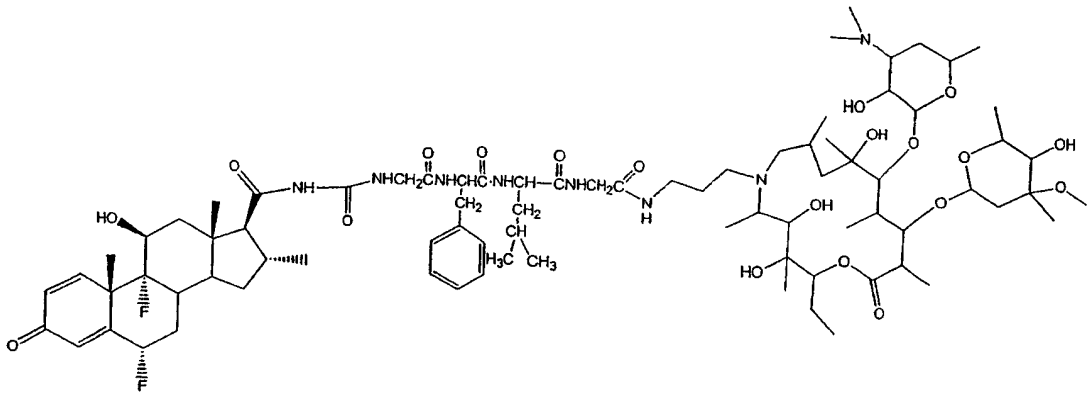
16. 如下式的化合物:



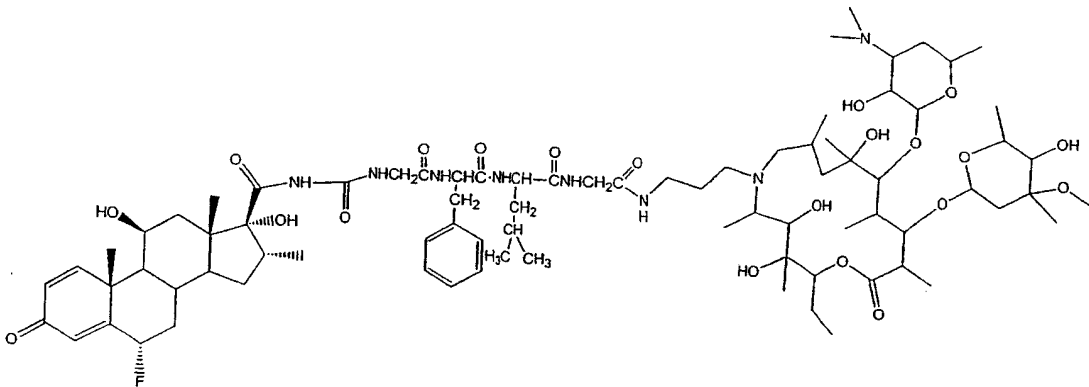
17. 如下式的化合物:



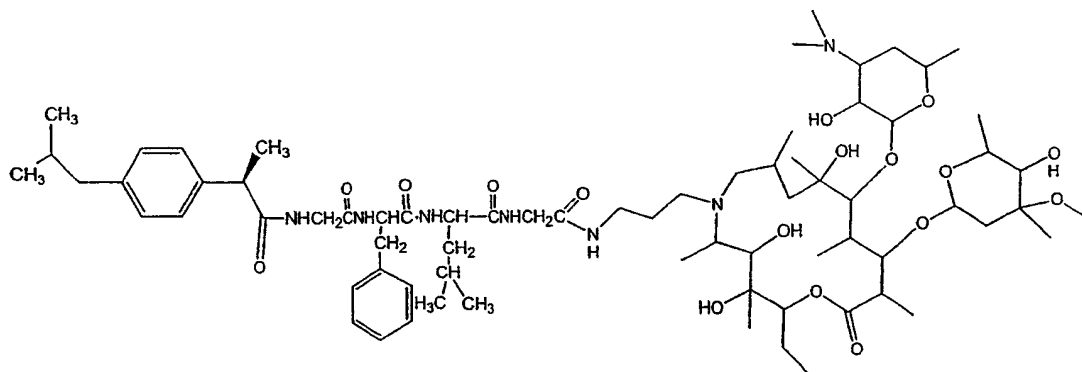
18. 如下式的化合物:



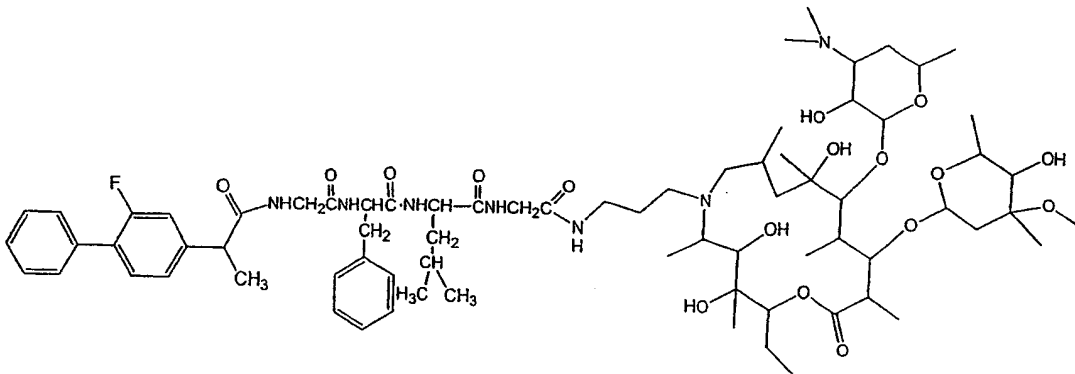
19. 如下式的化合物:



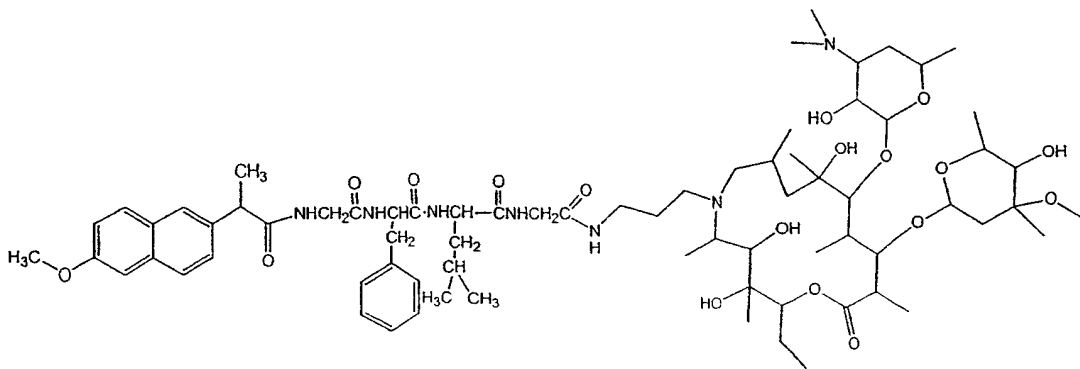
20. 如下式的化合物:



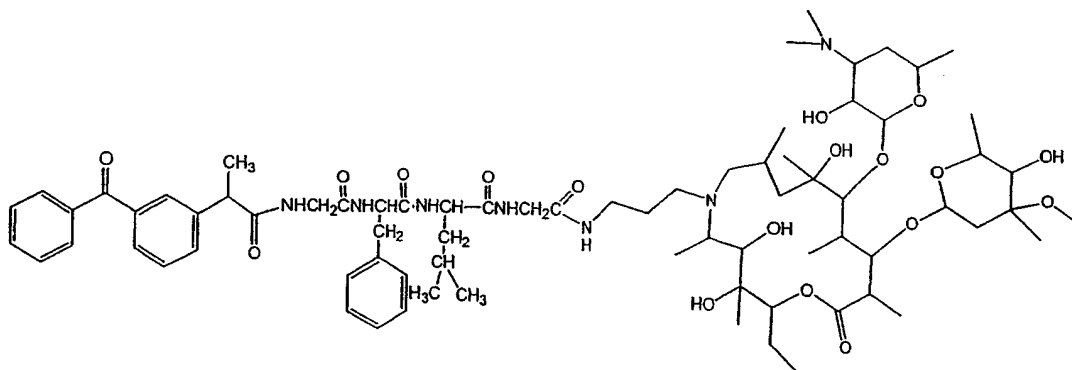
21. 如下式的化合物:



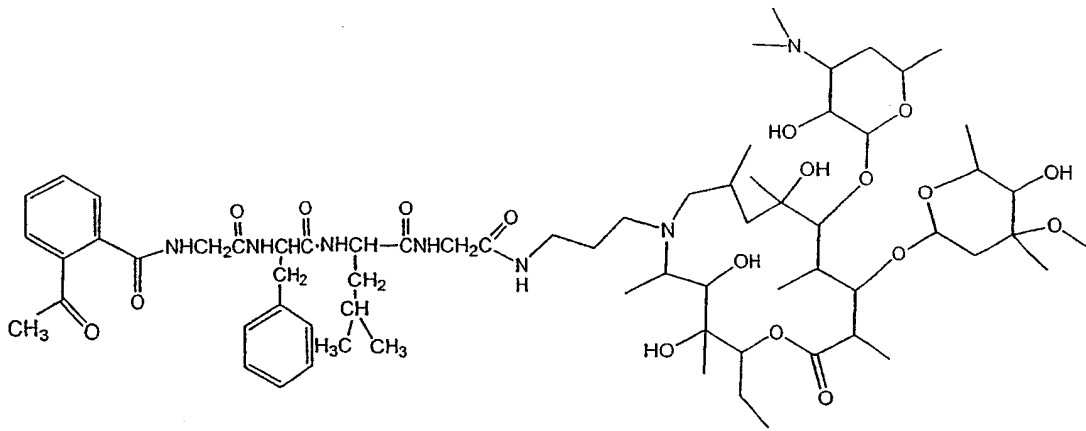
22. 如下式的化合物:



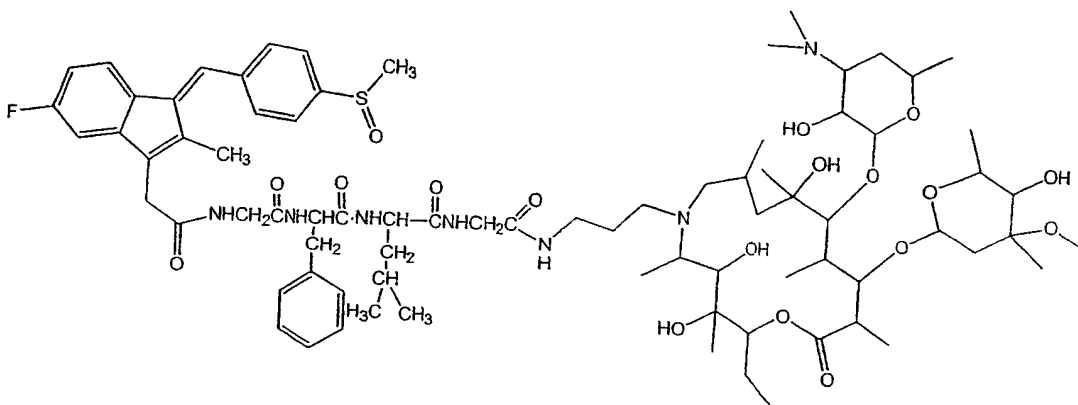
23. 如下式的化合物:



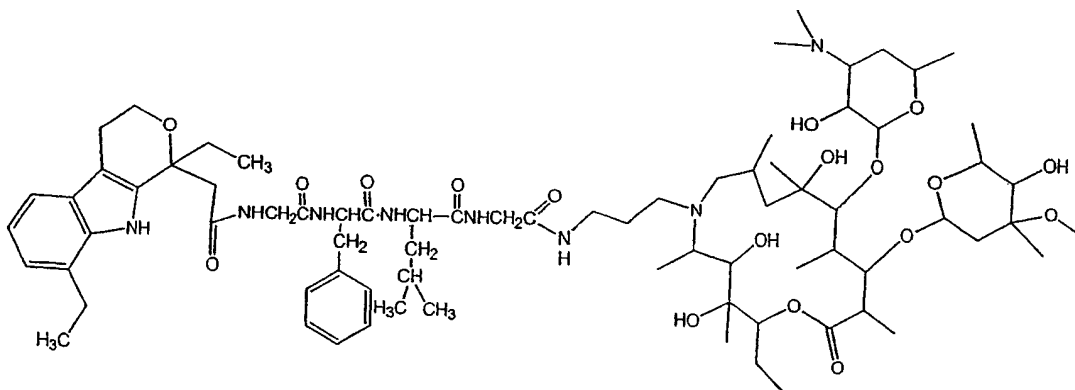
24. 如下式的化合物:



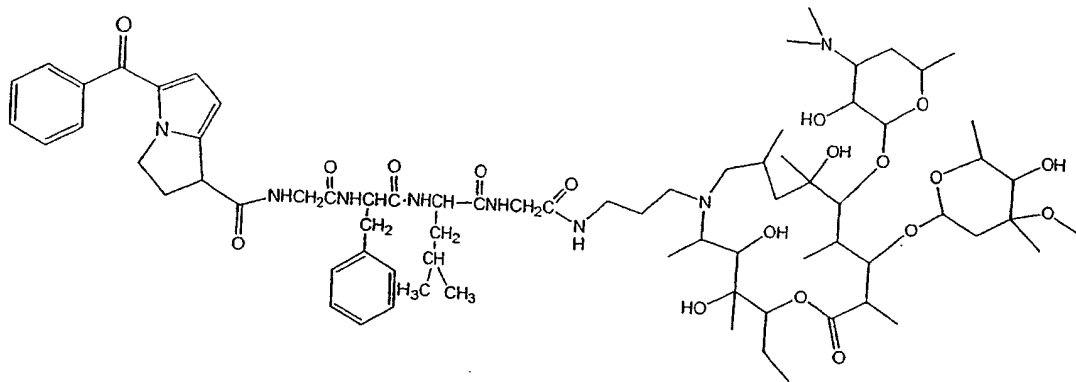
25. 如下式的化合物:



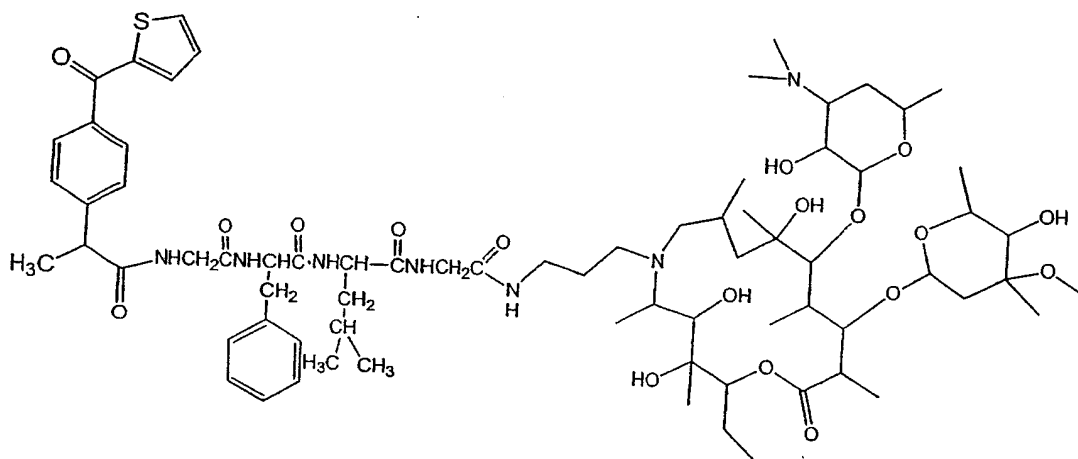
26. 如下式的化合物:



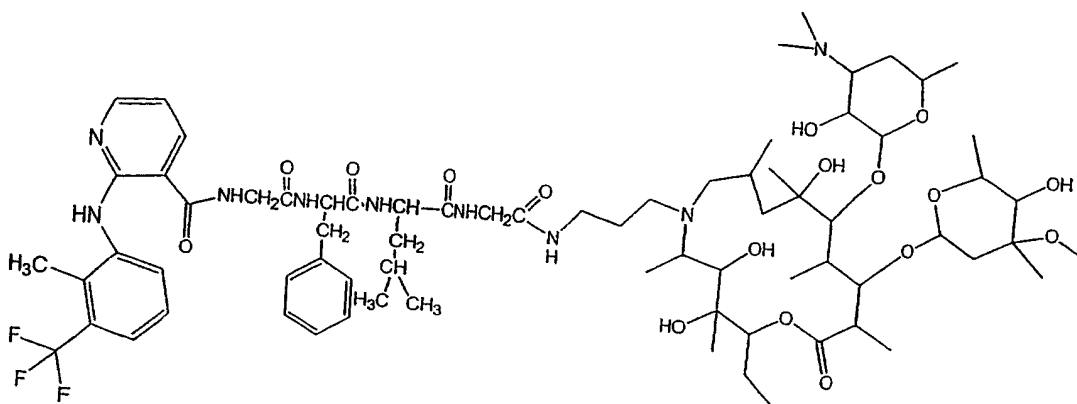
27. 如下式的化合物:



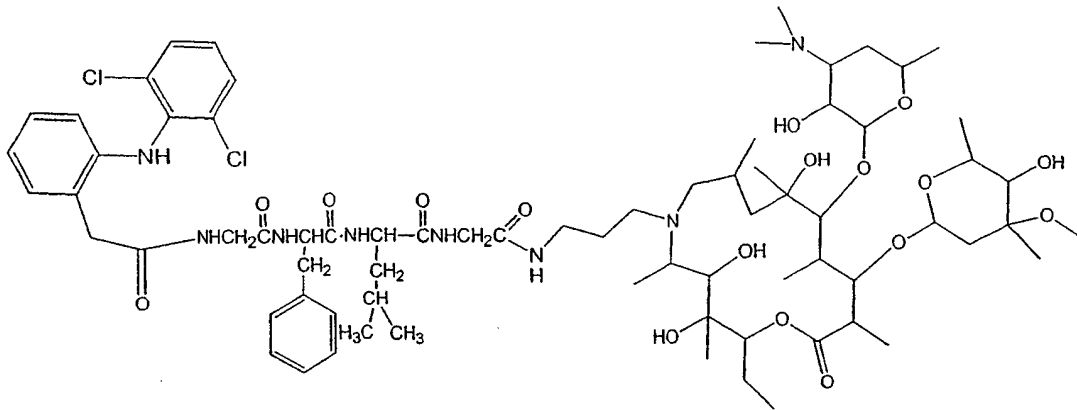
28. 如下式的化合物:



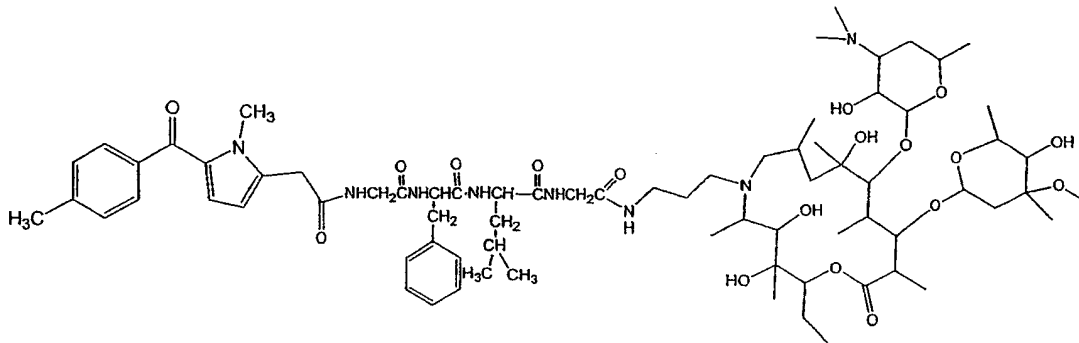
29. 如下式的化合物:



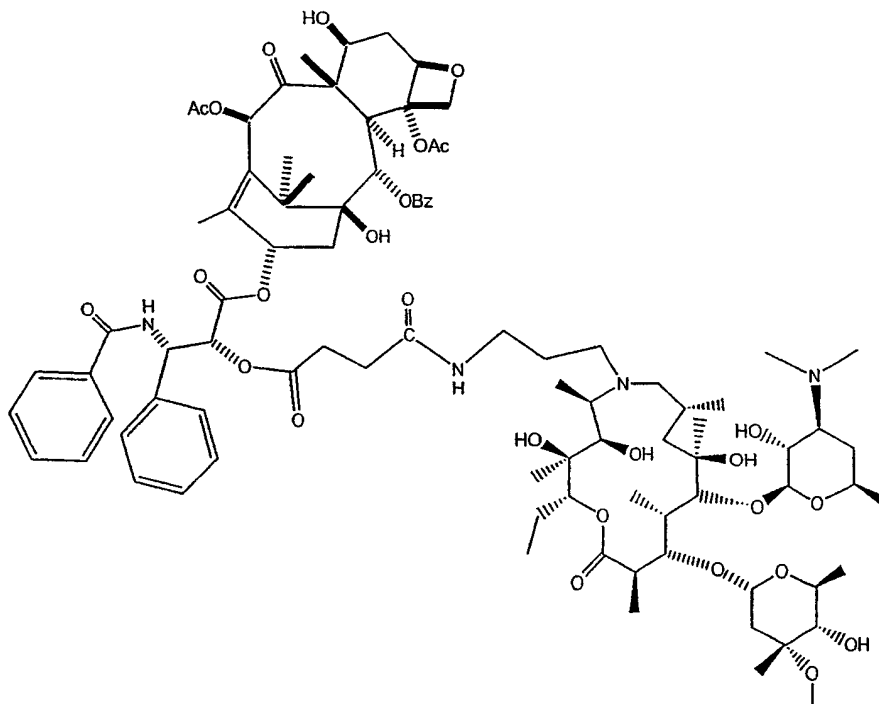
30. 如下式的化合物:



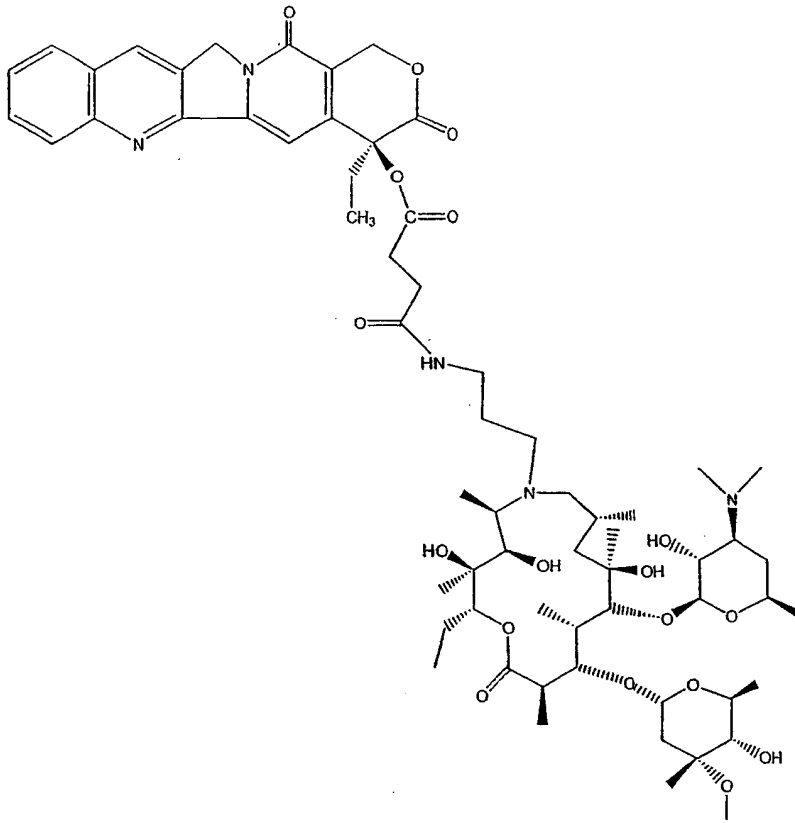
31. 如下式的化合物:



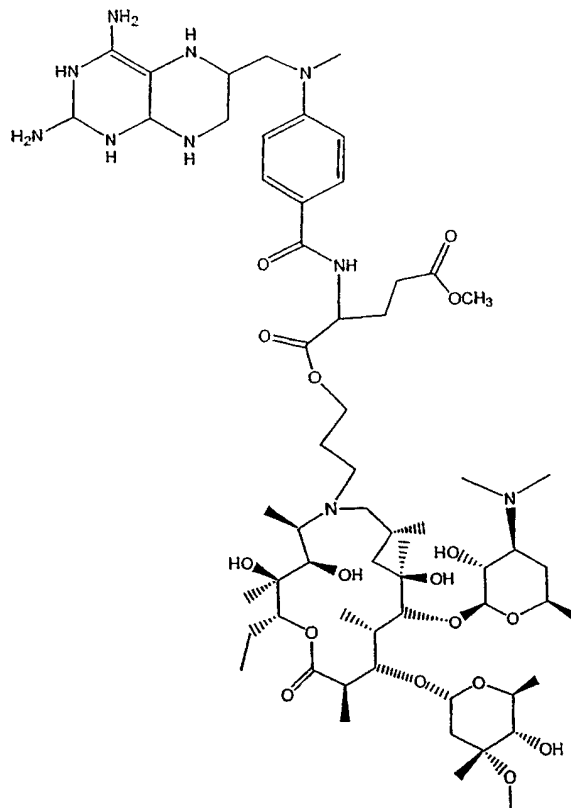
32. 如下式的化合物:



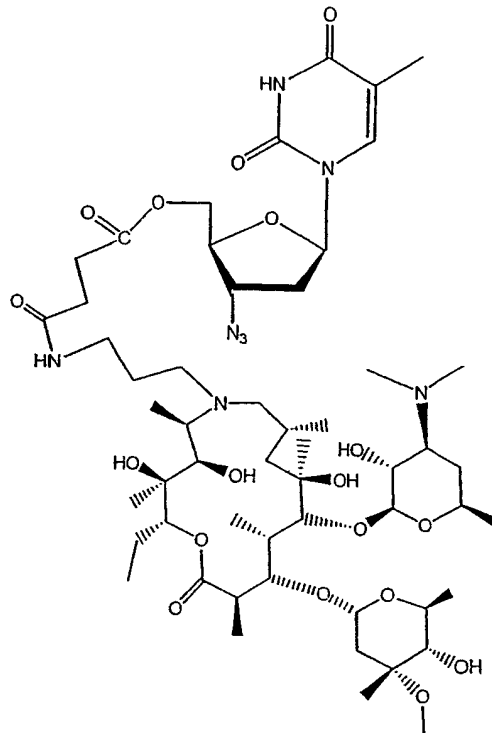
33. 如下式的化合物:



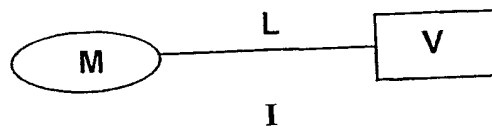
34. 如下式的化合物:



35. 如下式的化合物:

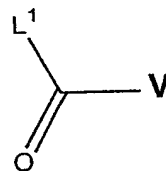


36. 通式 I 化合物的制备方法



包括:

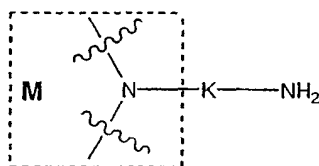
a) 为了得到其中 X^2 为 $-\text{NHC}(O)-$ 的通式 I 化合物, 使通式 VI 的化合物与通式 VIIa 表示的大环内酯游离氨基反应, 其中通式 VI 如下:



VI

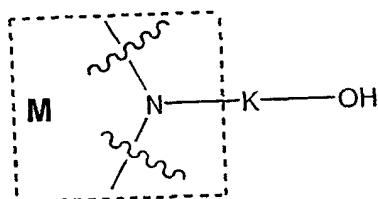
其中 L^1 表示离去基团,

且通式 VIIa 如下:



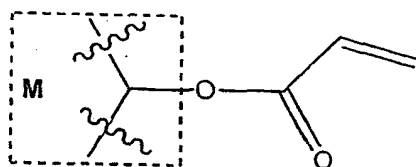
VIIa

b) 为了得到其中 X^2 为 $-OC(O)-$ 的通式 I 化合物, 使通式 VI 的化合物与通式 VIIb 表示的大环内酯游离羟基反应,



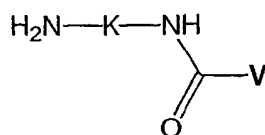
VIIb

c) 为了得到其中 X^1 为 $-OC(O)-$ 、 Q 为 $-NH-$ 且 X^2 为 $-NHC(O)-$ 的通式 I 化合物, 使通式 VIIc 表示的大环内酯:



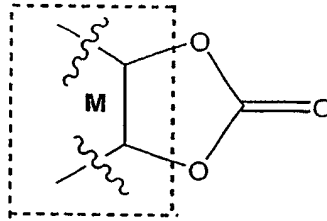
VIIc

与通式 VIb 表示的化合物的游离氨基反应,



VIb

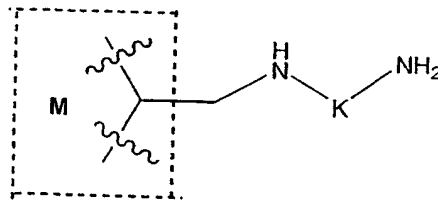
d) 为了得到其中 X^1 为 $-OC(O)NH-$ 且 X^2 为 $-NHC(O)-$ 的通式 I 化合物, 使通式 VIIId 表示的大环内酯



VIIId

与通式 VIb 表示的化合物的游离氨基反应;

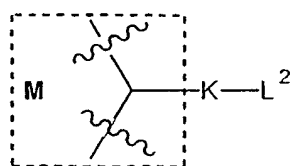
e) 为了得到其中 X^1 为 $-CH_2-$ 、 Q 为 $-NH-$ 且 X^2 为 $-NHC(O)-$ 的通式 I 化合物, 使通式 VIIe 表示的大环内酯:



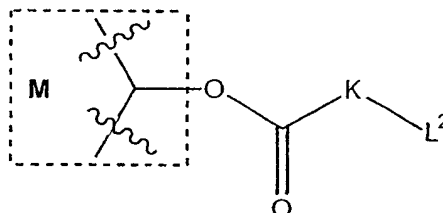
VIIe

与通式 VI 的化合物反应;

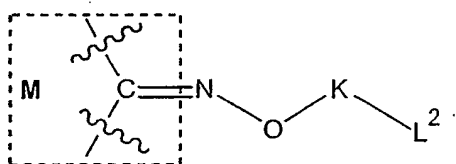
f) 为了得到通式 I 的任意 L 化合物, 使含有离去基团 L^2 的通式 VIIIf 或通式 VIIIg 或通式 VIIHh 表示的大环内酯与通式 VIc 表示的非甾类抗炎亚单位的游离羧酸反应, 其中通式 VIIIf、通式 VIIIg、通式 VIIHh 如下:



VIII f

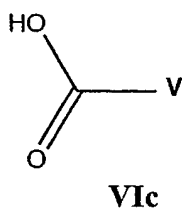


VIII g



VIII h

其中通式 VIc 如下:



VIc

37. 药物组合物, 包含如权利要求 1 的化合物或所述化合物的药学上可接受的盐或溶剂化物以及药学上可接受的稀释剂或载体。

38. 治疗炎性疾病、失调和病症的方法, 所述炎性疾病、失调和病症的特征在于不需要的炎性免疫反应或与之相关, 尤其是 TNF- α 和 IL-1 过度分泌诱导或与之相关的疾病和病症, 该方法包括给予患有所述失调或病症之一的对象权利要求 1 的化合物。

39. 在需要的对象中治疗与白细胞浸润入发炎组织相关的炎症病症或免疫或过敏性失调的方法，包括给予所述的对象治疗有效量的通式 I 表示的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物。

40. 权利要求 39 的方法，其中所述的病症或失调选自哮喘、成人呼吸窘迫综合征、支气管炎和囊性纤维化。

41. 权利要求 39 的方法，其中所述的炎症病症或失调选自肺、关节、眼、肠、皮肤和心脏的炎症病症或免疫失调。

42. 权利要求 39 的方法，其中所述的炎症病症或失调选自哮喘、成人呼吸窘迫综合征、支气管炎、囊性纤维化、类风湿性关节炎、类风湿性脊椎炎、骨关节炎、痛风性关节炎、眼色素层炎、结膜炎、炎症性肠病、克罗恩病、溃疡性结肠炎、远端直肠炎、牛皮癣、湿疹、皮炎、冠状动脉梗死性损害、慢性炎症、内毒素休克和平滑肌增生性失调。

43. 减轻患病器官或组织炎症的方法，包括将治疗有效量的通式 I 表示的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物递送至所述的器官或组织。

44. 治疗病毒性疾病、失调和病症的方法，包括给予患有所述疾病或失调之一的对象有效量的权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物。

45. 权利要求 44 所述的方法，其中所述的病毒性疾病为 HIV。

46. 减轻病毒感染的征候或症状或标记的方法，包括给予存在所

述征候或症状或标记的对象治疗有效量的权利要求 1 的化合物。

47. 治疗病毒感染的症状或征候或标记的方法，包括给予存在所述征候或症状或标记的对象治疗有效量的权利要求 1 的化合物。

48. 权利要求 47 所述的方法，其中所述的症状或征候选自所述对象中的病毒负荷、病毒复制、病毒活性、病毒血症、病毒特异性抗原、病毒 RNA、病毒 DNA、逆转录酶活性、抗病毒细胞毒性细胞活性和所述对象的 T-细胞或 CD4+细胞计数。

49. 治疗瘤形成的症状或征候或标记的方法，包括给予存在所述症状或征候的对象治疗有效量的权利要求 1 的化合物。

50. 权利要求 49 所述的方，其中所述瘤形成的症状或征候选自肿瘤负荷、肿瘤大小、患病器官重量、肿瘤复发、存活时间、对象缓解的时间长度或程度、癌细胞生长、癌细胞存活、编程性细胞死亡指数、转移程度或转移速率、与特定类型瘤形成相关的生物标记、增殖标记、与受体功能相关的肿瘤相关癌基因调节障碍的激活、肿瘤特异性抗原和与肿瘤相关的血管发生。

51. 治疗瘤形成的方法，包括给予患有瘤形成的对象治疗有效量的权利要求 1 的化合物。

52. 权利要求 4 所述的化合物，其中所述的多肽选自 Gly-Phe-Leu、Gly-Gly-Phe、Gly-Phe-Phe、Gly-Phe-Gly、Gly-Leu-Gly、Gly-Val-Ala、Gly-Phe-Ala、Gly-Leu-Phe、Gly-Leu-Ala、Ala-Val-Ala、Gly-Gly-Phe-Leu、Gly-Phe-Leu-Gly、Gly-Phe-Ala-Leu、Ala-Leu-Ala-Leu、Gly-Phe-Phe-Leu、Gly-Leu-Leu-Gly、Gly-Phe-Tyr-Ala、Gly-Phe-Gly-Phe、Ala-Gly-Val-Phe 和 Gly-Phe-Phe-Gly。

作为甾类/非甾类抗炎、抗肿瘤
和抗病毒活性分子载体的新化合物、组合物

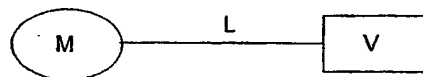
优先权

本申请要求 2002 年 7 月 8 日提交的美国临时申请的 60/395,190 的优先权，将该文献的全部内容引入本文作为参考。

发明概述

本发明涉及：

(a) 由结构 I 表示的新化合物：



I

其中 M 表示具有在炎性细胞内累积特性的大环内酯亚单位，V 表示抗炎化合物，可以为甾类或非甾类亚单位或抗肿瘤药亚单位或抗病毒化合物亚单位，并且 L 表示共价连接 M 和 V 的连接基；

(b) 所述化合物的药学上可接受的盐、前体药物和溶剂化物；

(c) 这类化合物的制备方法和中间体；和

(d) 它们在治疗人和动物炎症、肿瘤和病毒疾病和病症中的应用。

这类化合物可以作为前体药物使用，前体药物将所述化合物转运入靶细胞并在这类靶细胞内释放高于单独化合物一般所达到的浓度的所述化合物；或这类化合物可以以如所给予的杂交形式具有活性。这些化合物及其应用由此是对增加上述活性组分中的一种或多种的有效性和/或功效和/或减少其副作用的技术问题的反应，通过将它们以杂交形式优先转运至靶细胞或靶细胞邻近处来实现。

发明背景

传统上可以将抗炎药分类成甾类和非甾类。甾类抗炎化合物仍然是最有效治疗炎性疾病和病症的药物，所述的疾病和病症诸如：哮喘、慢性阻塞性肺病；炎性鼻病，诸如过敏性鼻炎、鼻息肉；肠病，诸如克罗恩病、结肠炎、溃疡性结肠炎；皮肤炎症，诸如湿疹、牛皮癣、过敏性皮炎、神经性皮炎、瘙痒症、结膜炎；自身免疫疾病，诸如类风湿性关节炎；和移植免疫抑制。此外，甾类用作治疗各种恶性肿瘤的辅助化疗剂，所述的恶性肿瘤包括白血病、淋巴瘤、骨髓瘤和其它造血系统的恶性肿瘤。除极佳的功效和有效性外，这类药物还存在大量例如对碳水化合物代谢、钙吸收、内源性皮质类固醇的分泌以及对垂体、肾上腺皮质和胸腺生理功能的不利副作用。近来研发的甾类对炎性疾病和过程高度有效，因为它们抑制许多炎症介体，而其全身副作用得到减少。专利申请 WO 94/13690、WO 94/14834、WO 92/13873 和 WO 92/13872 中描述了用于局部施用在炎症部位的所谓"软"甾类或可水解皮质类固醇，而其全身副作用因"软"甾类在血清中的不稳定性而得到减少，其中活性甾类快速水解成失活形式。然而，尚未发现作为用于控制诸如哮喘或克罗恩病这类疾病所需的在长期和持续治疗中没有不利作用的理想甾类。因此，对具有改善的治疗特性和/或较少或较轻度副作用的甾类存在迫切需求。

具有不同作用机制的非甾类抗炎药物对特定的炎症介体起作用，由此提供治疗作用。由于不仅在作用机制、而且在所抑制的特定炎症介体方面存在差异，所以甾类和非甾类药物具有不同的抗炎作用分布，由此对特定的病症而言，某些药物可能比其它药物更为合适。此外，大部分非甾类抗炎药物并非绝对具有特异性，并且在以较大剂量或长期使用其应用伴随有不利的副作用。已知许多非甾类抗炎药物起内源性 COX-1 酶抑制剂的作用，而内源性 COX-1 酶在维持胃粘膜完整性方面极为重要。因此，这些药物的应用通常导致胃粘膜受损乃至出血。(Warner T. D. 《美国国家科学院学报》 (Proc. Natl. Acad. Sci. U.

S. A.) 1999, 96, 7563-7568)。因此, 选择性抑制 COX-2、而不抑制 COX-1 的活性剂对治疗炎性疾病是优选的。另外, 已知某些抗炎化合物(诸如茶碱)具有极窄的治疗指数, 其应用受限。

近来, FDA 批准特异性阻断 COX-2 的非甾类抗炎药塞来考昔(celecoxib)用于治疗类风湿性关节炎(Luong 等《药物治疗学年鉴》(Ann. Pharmacother.) 2000, 34, 743-760)。COX-2 还在许多癌症和癌前期损害中得到, 并表达且存在选择性 COX-2 抑制剂可以用于治疗和预防结肠直肠癌和其它癌症的确定证据(Taketo, M. M., 《国家癌症研究院杂志》(J. Natl. Cancer Inst.) 1998, 90, 1609-1620, Fournier 等《细胞生物化学杂志》(J. Cell Biochem.) 增刊 2000, 34, 97-102)。

在 1975 年, 将 TNF- α 定义为内毒素诱导并在体外和体内导致肿瘤坏死的血清因子(Carswell EA 等, 《美国国家科学院学报》(Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.), 1975, 72 : 3666- 3670)。除抗肿瘤作用外, TNF- α 还具有许多其它在生物体内稳态和病理生理状况方面重要的生物作用。TNF- α 的主要来源为单核细胞-巨噬细胞、T-淋巴细胞和肥大细胞。

抗-TNF- α 抗体(cA2)对患有类风湿性关节炎(RA)的患者具有治疗作用这一发现(Elliott M 等, 《柳叶刀》(Lancet), 1994, 344 : 1105-1110)导致对寻找能够作为 RA 的有效药物的新 TNF- α 抑制剂的兴趣增加。类风湿性关节炎是一种自身免疫性慢性炎症疾病, 其特征在于关节发生不可逆的病理改变。除 RA 疗法外, TNF- α 拮抗剂还可以用于许多病理状况和疾病, 诸如脊椎炎、骨关节炎、痛风和其它关节炎性疾病、脓毒症、脓毒性休克、毒性休克综合征、特应性皮炎、接触性皮炎、牛皮癣、肾小球肾炎、红斑狼疮、硬皮病、哮喘、恶病质、慢性阻塞性非失调、充血性心力衰竭、胰岛素抵抗、肺纤维化、多发性硬化、克罗恩病、溃疡性结肠炎、病毒感染和 AIDS。

两种不同的反录病毒、即人免疫缺陷病毒(HIV)1 型(HIV- 1)或 2 型(HIV-2)在病原学上与免疫反应性疾病、获得性免疫缺陷综合征

(AIDS)有关。HIV血清反应阳性个体开始无症状，而一般发生与 AIDS 相关的复合症状(ARC)，随后发展成 AIDS。受侵害个体表现出重度免疫抑制，其使他们先倾向于衰弱以及最终的致命的机会性感染。

AIDS 病是 HIV-1 或 HIV-2 病毒按照其复杂的病毒生命周期产生的结果。病毒体的生命周期包括病毒体通过使病毒体保护外壳表面上的糖蛋白与淋巴细胞上的 CD4 糖蛋白结合而自身附着在宿主人 T-4 淋巴细胞免疫细胞上。一旦附着，病毒体则脱落其糖蛋白外壳、透入宿主细胞膜并且不包被其 RNA。病毒体酶逆转录酶指导 RNA 转录成单链 DNA 的过程。病毒 RNA 被降解且生成第二 DNA 链。此时双链 DNA 被整合入人细胞基因且这些基因用于病毒复制。RNA 聚合酶将整合的病毒 DNA 转录成病毒 mRNA。病毒 RNA 被翻译成前体 gag-pol 融合多蛋白。然后该多蛋白被 HIV 蛋白酶裂解得到成熟病毒蛋白。因此，HIV 蛋白酶与调节裂解过程级联有关，而裂解过程导致病毒颗粒成熟成能够具有完全传染性的病毒。

担负杀伤侵入的病毒体的典型人免疫系统负荷较重，因为病毒感染和杀伤免疫系统 T 细胞。此外，用于生成新病毒体颗粒的酶、即病毒逆转录酶并非极具特异性且产生转录错误，这种转录错误导致病毒保护外壳表面上的糖蛋白连续改变。这种特异性的缺乏降低了免疫系统的有效性，因为对一种糖蛋白特异性产生的抗体可能对另一种糖蛋白无作用，由此减少可用于抗击病毒的抗体数量。病毒持续复制，而免疫反应系统持续衰弱。在大部分情况中，由于没有治疗介入，所以 HIV 使宿主免疫系统变衰弱，从而开始发生机会性感染。如果不给予抗病毒药或免疫调节剂或两者，那么可以导致死亡。

肝炎是主要由病毒且通常较少由某些药物或毒素(例如醇)导致的肝部炎症。病毒感染通常通过接触污染的血液获得。那些最可能接触病毒的是共用污染针头的静脉内药物使用者，不过，与患有有一定形式肝炎的人发生性接触也可以扩散这种疾病。在某些情况中，接触污染血液的保健工作者和需要反复输血的人已感染了一定形式的肝炎。

已经鉴定了三种主要类型的病毒性肝炎，即甲型肝炎、乙型肝炎

和丙型肝炎，不过，至少四种其它病毒可以导致肝炎。甲型肝炎是具有高度传染性形式的肝炎且是这种疾病的最常见形式。甲型肝炎通常通过污染的食物或水传播。甲型肝炎的症状通常与肠型流感的症状类似且大部分患有甲型肝炎的人会完全康复。

急性乙型肝炎可能是最严重形式的病毒性肝部感染。其症状与甲型肝炎非常相同，但症状更为严重且持续时间更长。甲型肝炎和乙型肝炎的初期症状包括食欲差、恶心、呕吐和发热。在肝炎后期，尿变深色且发生持续或复发性黄疸。约 20%的肝炎病例最终发展成肝硬化（肝脏瘢痕形成）。可以通过评价肝功能的血液检查诊断作为肝炎后果的肝硬化。由肝硬化侵害的肝脏最终也变脆弱。认为主要病原体是非甲和非乙型肝炎的丙型肝炎与甲型肝炎和乙型肝炎共有常见的症状且患者发生可以最终导致肝硬化的慢性感染。

肿瘤疾病是由自主的无法控制的细胞分裂导致的常见死亡原因。这种分裂可以由下列因素引起：

1. 由致癌剂导致的基因突变；
2. 病毒；
3. 激活某些细胞类型有丝分裂的外部信号。

用各种有丝分裂和细胞代谢抑制剂治疗肿瘤疾病。然而，特异性已经成为使用抗癌药的主要问题。就抗癌药而言，药物需要区分癌性宿主细胞与非癌性宿主细胞。大批抗癌药在这种水平上无差别。一般来说，抗癌药具有负面的血液作用（例如终止有丝分裂和分解骨髓和淋巴样组织中形成的成分）和免疫抑制作用（例如受抑的细胞计数）以及对上皮组织（例如肠粘膜）、生殖组织（例如精子发生异常）和神经系统的严重影响。P. Calabresi 和 B. A. Chabner: Goodman 和 Gilman 《治疗剂的药理学基础》（The Pharmacological Basis of Therapeutics）（Pergamon Press, 第 8 版）（pp. 1209-1216）。成功使用化疗剂作为抗癌药还受到多药物抗性现象的阻碍，所述的多药物抗性为对广泛结构不相关的细胞毒性抗癌化合物产生耐受性。J. H. Gerlach 等，《癌症调查》（Cancer Surveys），5: 25-46（1986）。在诊断时进行性

药物抗性的主要原因可能是肿瘤内的小群体药物抗性细胞所致(例如突变体细胞)。J. H. Goldie 和 Andrew J. Coldman, 《癌症研究》(Cancer Research), 44: 3643-3653 (1984)。用单一药物治疗这类肿瘤首先会产生缓解, 其中肿瘤在尺寸上萎缩作为杀伤主要药物敏感性细胞的结果。由于杀伤了药物敏感性细胞, 所以剩余的药物抗性细胞持续繁殖且最终控制肿瘤细胞群。最后, 对癌症的治疗受到甚至同一种类型癌症中存在显著的异质性的阻碍。例如, 某些癌症具有侵入组织并表现出特征在于转移的生长侵害过程的能力。这些肿瘤对患者而言一般愈后极差, 并且仍然没有鉴定这类肿瘤并从非侵害性癌中区分这类肿瘤的手段, 临床医师难以改变疗法和/或使其最优化。需要的是对各种肿瘤类型均可靠且特别适合于侵害性肿瘤的特异性抗癌手段。重要的是这种治疗必须在最低宿主毒性下有效。因此, 必须克服细胞减少活性药物胞内量的能力以改善细胞靶向和/或改善抗癌药的药动学。

大环内酯类、诸如大环内酯类抗生素优选累积在给予这类分子的受试者的不同细胞中, 尤其是在吞噬细胞中, 诸如单核外周血细胞、多形核细胞、腹膜和肺泡巨噬细胞; 以及支气管肺泡上皮周围的液体中 (Glaude R. P. 等《抗菌剂与化疗》(Antimicrob. Agents Chemother.), 1989, 33, 277-282; Olsen K. M. 等《抗菌剂与化疗》(Antimicrob. Agents Chemother.) 1996, 40, 2582-2585)。此外, 描述了某些大环内酯类相对弱的炎性作用。例如, 近来描述了红霉素衍生物 (Labro M. T. 《抗菌药与化疗杂志》(J. Antimicrob. Chemother.), 1998, 41, 37-46; WO 00/42055) 和阿奇霉素衍生物 (EP 0283055) 的抗炎作用。还从实验性动物模型的体外和体内研究中得知了某些大环内酯类的抗炎作用, 诸如 zimosane-诱导的小鼠腹膜炎 (Mikasa 等《抗菌药与化疗杂志》(J. Antimicrob. Chemother.) 1992, 30, 339-348) 和内毒素-诱导的大鼠气管中性白细胞累积 (《免疫学杂志》(J. Immunol.) 1997, 159, 3395-4005)。大环内酯类对细胞因子、诸如白细胞介素 8 (IL-8) (《美国呼吸疾病保健药物标准杂

志》(Am. J. Respir. Crit. Care Med.) 1997, 156, 266-271)或白细胞介素 5 (IL-5) (EP 0775489 和 EP 0771564)的调节作用也是已知的。另外,大环内酯类有利的药动学分布可以升高化合物的组织、例如在肝中的浓度或增加白细胞/血浆比值(Girard A. E.等,《抗菌剂与化疗》(Antimicrob. Agents Chemother.) 31 1987 1948-54; Widlfeuer A. 等,《抗菌剂与化疗》(Antimicrob. Agents Chemother.) 40 1996, 75-79)。

为了获得对需要选择活性的疾病具有改善/新活性性能的化合物,使几种不同活性物质与不同类型的连接基连接。已经报导了红霉素 A 衍生物和核酸碱基(尿嘧啶和胸腺嘧啶)或胸腺嘧啶-衍生的核苷的杂化物/辄合物/嵌合体(Costa A. M. 等《四面体通讯》(Tetrahedron Lett.) 41, 2000, 3371-3375)。然而,这类构建体没有表现出对所需靶物的活性/选择性。此外,尚未报导连接基为肽型的大环内酯构建体。

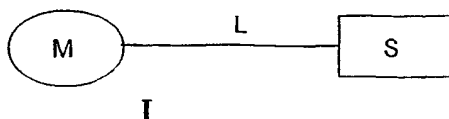
引入我们的杂交分子作为连接基的肽连接基能够使所述分子起前体药物的作用,从而通过靶细胞内特异性溶酶体裂解释放 V 部分。对其它小分子(在我们的由抗炎、抗肿瘤和抗病毒化合物的杂化物表示的情况中)和大分子或聚合物描述了类似的连接基(Duncan R. 等: Robinson J. R. 和 Lee V. H. (eds.)《控释药物转运基础和应用》(Controlled Drug Delivery: Fundamentals and Applications), 第 2 版, 1987 581-607, Subr V. 等,《控释研究杂志》(J. Controlled Rel.) 181992 123-132)。

发明详述

通式 I 表示的化合物与现有技术的化合物的区别在于,其结构使得它们能够累积在以影响需要治疗的炎性免疫反应或肿瘤或感染为靶的器官中和发生上述情况的细胞中。还可以升高抑制化合物在对照射敏感的肿瘤细胞内的胞内浓度。通式 I 化合物的治疗作用由具有累积在免疫系统细胞、特别是吞噬细胞药动学特性的大环内酯部分 M 产生。它使得式 I 化合物能够主要通过"控制"补充至活性组分可以发挥其活

性的炎症或感染或恶性肿瘤部位的炎性极强的细胞内的大环内酯起作用，而并非仅在炎症或肿瘤或感染部位起作用。按照这类方式，甾类或非甾类抗炎物质或抗癌药或抗病毒化合物不利的全身副作用会明显减少乃至消除(应注意甾类用作治疗恶性肿瘤的辅助疗法且本发明还关注具有抗肿瘤应用的甾类)。在局部或全身施用后，本发明的杂交分子(如果可释放，则和/或其组成部分)快速累积在炎症部位或肿瘤中或感染细胞或其附近。

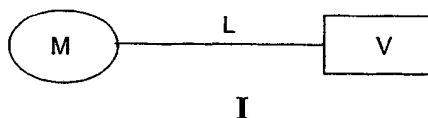
近来我们已经发现了在这类炎性疾病、失调和病症中发挥改善的治疗作用的通式 I 中的某些化合物：



上述结构中的符号 M 表示具有在炎性细胞中累积特性的大环内酯亚单位，S 表示抗炎甾类亚单位，并且 L 表示共价连接 M 和 S 的连接基。我们拥有的普通未审国际专利申请 PCT/HR02/00001 (将该文献的全部内容引入本文作为参考) 中描述了带有通过链 L 与 9-二氢-9-脱氧-9a-氮杂-9a-高红霉素的 N/9a 位或与脱-克拉定糖基阿奇霉素衍生物的 C/3 位或与去氧糖胺基糖 (desozaminesugar) 的 C/2' 位连接的甾类亚单位 S 的化合物。然而，迄今为止尚未描述带有与 9-二氢-9-脱氧-9a-氮杂-9a-高红霉素的 N/9a 位上肽连接基连接的甾类亚单位的杂交化合物，它们也具有上述治疗作用。也没有描述带有与 N/9a 位上肽连接基连接的非甾类/抗肿瘤/抗病毒亚单位的杂交化合物。也没有描述带有与抗病毒或抗肿瘤亚单位连接的大环内酯的杂交化合物。所有这类化合物均属于本申请的主题。

本发明涉及：

(a) 通式 I 表示的新"杂交"化合物：



其中 M 表示具有在炎性细胞中累积特性的大环内酯亚单位，V 表示如

下所定义的抗炎甾类或非甾类亚单位或抗肿瘤或抗病毒亚单位，且 L 表示连接 M 和 V 的连接基；

(b) 含有上述化合物中的一种或多种的组合物，所述化合物的用量可有效抗炎或抗恶性肿瘤或抗病毒，并且由此治疗涉及包括人在内的哺乳动物炎症、恶性肿瘤或病毒感染的失调和病症；和

(c) 使用这些化合物治疗这类失调和病症的方法。

本发明的化合物有利地提供了改善的治疗作用和/或改善的副作用性能。

用于本发明杂化化合物的合适的大环内酯亚单位可以选自但不限于多元内酯环分子，其中"元"指的是环上的碳原子或杂原子，并且"多"是大于约 10 的原子数、优选 10 - 约 50、更优选 12-、14-、15-、16-、17-和 18-元内酯环的大环内酯类。特别优选 14-和 15-元环的大环内酯亚单位，最优选阿奇霉素及其衍生物和红霉素及其衍生物。

大环内酯亚单位可以选自的分子的更具体的非限制性实例如下：

(i) 大环内酯抗菌素，包括：氮杂内酯类 (azalides)，例如红霉素、地红霉素、阿奇霉素、9-二氢-9-脱氧-9a-氮杂-9a-高红霉素、HMR 3004、HMR 3647、HMR 3787、交沙霉素、红霉胺 (erythromycylamine)、ABT 773、氟红霉素、克拉霉素、泰洛星、替米考星、竹桃霉素、脱碳霉糖泰乐菌素 (desmycosin)、CP-163505、罗红霉素、美奥卡霉素和洛他霉素及其衍生物，诸如酮内酯类 (例如 3-酮)；内酰胺类 (例如 8a-或 9a-内酰胺类) 和缺乏一个或多个糖部分的衍生物。

(ii) 大环内酯免疫抑制剂，诸如 FK 506、环孢菌素、两性霉素和雷帕霉素；

(iii) 具有宿主细胞抑制特性的大环内酯抗真菌药，诸如巴弗洛霉素、刀球肱霉素 (concanamycin)、制霉菌素、那他霉素、克念菌素、非律平 (filipin)、鲁斯霉素 (efruscomycin)、曲古霉素 (trichomycin)。

用于合成上述并非商购的大环内酯类的方法和大环内酯的合成

操作一般是本领域技术人员所公知的或可以在下列文献中找到: Denis A 等《生物有机和药物化学通讯》(Bioorg. & Med. Chem. Lett) 1999, 9, 3075-3080; Agouridas C. 等《药物化学杂志》(J. Med. Chem.) 1998, 41, 4080-4100; 和 EP-00680967 (1998); Sun Or Y. 等《药物化学杂志》(J. Med. Chem.) 2000, 43, 1045-1049; US-05747467 (1998); McFarland J. W. 等《药物化学杂志》(J. Med. Chem.) 1997, 40, 1041-1045; Denis A. 等《生物有机和药物化学通讯》(Bioorg. & Med. Chem. Lett) 1998, 8, 2427-2432; WO-09951616 (1999); Larrey 等《药物化学杂志》(J. Med. Chem.) 1995, 38, 1793-1798; EP 0984019; WO 98/56801, 将这些文献的全部内容引入本文作为参考。

其它合适的大环内酯类是已知的, 某些公开在下列文献中: Bryskier, A. J. 等的《大环内酯类、化学、药理学和临床应用》(Macrolides, Chemistry, Pharmacology and Clinical Use); Arnette Blackwell: Paris, 1993, pp 485-491, 14(R)-羟基克拉霉素、红霉素-11,12-碳酸酯、三-O-乙酰基竹桃霉素、螺旋霉素、白霉素、麦迪霉素、rasaramycin, 将该文献的全部内容引入作为参考; Ma, Z. 等《最新药物化学-抗感染药》(Current Medicinal Chemistry-Anti-Infective Agents), 2002, 1, 15-34, 也将该文献的全部内容引入作为参考; 苦霉素、那波霉素、HMR-3562、CP-654743、CP-605006、TE-802、TE-935、TE-943、TE-806、6,11-桥连的酮内酯类、CP-544372、FMA-199、A-179461; 特别参见: Bryskier 等在 487-491 页上描述的 14-和 16-元环的大环内酯类的结构和衍生物; 和 Ma 等描述的各种酮内酯衍生物和合成, 注意所有的结构表和所有的反应方案。与 Ve 结合后的所有这些大环内酯类属于本发明的范围。上述特别具体命名或参照的大环内酯化合物是商购的或其合成方法是已知的。

重要的是大环内酯亚单位来源于具有累积在补充至炎症部位的免疫系统细胞、尤其是吞噬细胞内特性的大环内酯。已知上述定义的大部分内酯环化合物具有这种特性。例如, 14-元大环内酯类、诸如红霉

素及其衍生物、15-元大环内酯类、诸如阿奇霉素及其衍生物以及 8a-和 9a-内酰胺类及其衍生物、16-元大环内酯类、诸如替米考星和脱碳霉糖泰乐菌素和螺旋霉素。

累积在特定类细胞中的大环内酯类的其它实例可以在下列文献中找到: Pascual A. 等《临床微生物感染》(Clin. Microbiol. Infect.) 2001, 7, 65-69. (“酮内酯 HMR 3647 在人吞噬和非吞噬细胞中的吸收和胞内活性”(Uptake and intracellular activity of ketolide HMR 3647 in human phagocytic and non-phagocytic cells)); Hand W. L. 等《国际抗菌药杂志》(Int. J. Antimicrob. Agents), 2001, 18, 419-425. (“阿奇霉素在人多形核白细胞中累积和流出的特性和机制”(Characteristics and mechanisms of azithromycin accumulation and efflux in human polymorphonuclear leukocytes)); Amsden G. W. 《国际抗菌药杂志》(Int. J. Antimicrob. Agents), 2001, 18, 11-15. (“新一代大环内酯类: 定向于组织的抗菌素”(Advanced-generation macrolides: tissue-directed antibiotics)); Johnson J. D. 等《实验室临床药物杂志》(J. Lab. Clin. Med.) 1980, 95, 429-439. (“肺泡巨噬细胞的抗菌素吸收”(Antibiotic uptake by alveolar macrophages)); Wildfeuer A. 等《抗菌药与化疗》(Antimicrob. Agents Chemother.) 1996, 40, 75-79. (“体内条件下各种细胞对阿奇霉素的吸收及其胞内活性”(Uptake of azithromycin by various cells and its intracellular activity under in vivo conditions)); Scorneaux B. 等《家禽科学》(Poult. Sci.) 1998, 77, 1510-1521. (“替米考星在鸡吞噬细胞中的胞内累积、亚细胞分布和流出”(Intracellular accumulation, subcellular distribution, and efflux of in chicken phagocytes)); Mtairag E. M. 等《抗菌剂与化疗杂志》(J. Antimicrob. Chemother.) 1994, 33, 523-536. (“人中性白细胞体外地红霉素和红霉胺吸收的研究”(Investigation of dirithromycin and erythromyclamine uptake by human neutrophils in vitro)); Anderson R. 等《抗

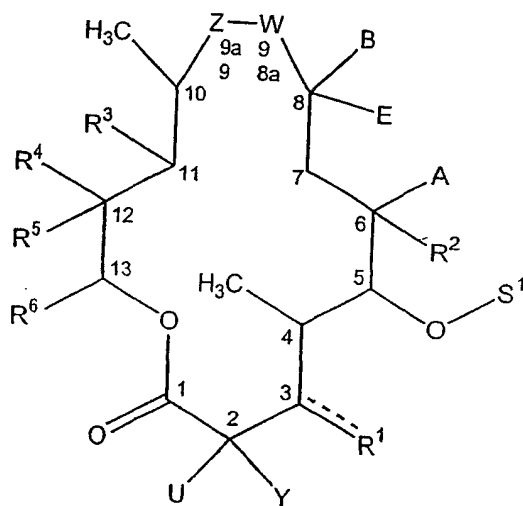
菌剂与化疗杂志》(J. Antimicrob. Chemother.) 1988, 22, 923-933. (“新大环内酯抗菌药克拉霉素(A-56268, TE-031)的细胞吸收和吞噬细胞内生物活性的体外评价”(An in-vitro evaluation of the cellular uptake and intraphagocytic bioactivity of clarithromycin (A-56268, TE-031), a new macrolide antimicrobial agent)); Tasaka Y. 等《日本抗生素杂志》(Jpn. J. Antibiot.) 1988, 41, 836-840. (“肺泡巨噬细胞的洛他霉素吸收”(Rokitamycin uptake by alveolar macrophages)); Harf R. 等《抗菌剂与化疗杂志》(J. Antimicrob. Chemother.) 1988, 22, 135-140. (“肺泡巨噬细胞的螺旋霉素吸收”(Spiramycin uptake by alveolar macrophages)), 将这些文献的全部内容引入本文作为参考。2002年7月8日提交的美国临时申请60/94,671和60/394,670中描述了可以用于本发明上下文中的各种大环内酯连接复合物, 将这些文献的全部内容引入本文作为参考。

此外, 补充至炎症部位的免疫系统细胞、尤其是吞噬细胞内累积活性的存在易于由本发明领域的普通技术人员使用用于该目的的众所周知的试验之一测定。例如, 可以使用 Olsen, K. M. 等在《抗菌剂与化疗》(Antimicrob. Agents & Chemother.) 1996, 40, 2582-2585中所述的具体步骤。简单的说, 可以通过 Ficoll-Hypaque 离心从健康志愿者的静脉血中获得受测试的细胞、例如多形核白细胞, 随后进行2%葡聚糖沉降。通过渗透裂解除去红细胞并通过锥虫蓝排除法评价 PMN。另一方面, 可以分离其它细胞级分并按照类似方式测试。将氘代的大环内酯化合物(例如10 μ M)与2.5 $\times 10^6$ 个细胞一起保温120分钟(37 $^{\circ}$ C, 5%CO₂, 90%相对湿度)且随后通过离心、例如通过硅油-石蜡层(86 vol%: 14 vol%)从含有化合物的上清液中除去细胞。例如, 通过闪烁计数测定化合物的量, 并且显著高于背景的得分表明大环内酯累积在测试细胞中。参见 Bryskier 等《大环内酯、化学、药理学和临床应用》(Macrolides, Chemistry, Pharmacology and Clinical Use); Arnette Blackwell: Paris, 1993 pp 375-386, 381页, 第2栏, 第

3 行。另一方面, 不对该化合物进行放射性标记, 而可以通过 HPLC 测定化合物的量。

可以使用的其它试验方法公开在 Bryskier, A. J. 等的《大环内酯、化学、药理学和临床应用》(Macrolides, Chemistry, Pharmacology and Clinical Use); Arnette Blackwell: Paris, 1993 pp 375-386 中, 将该文献引入作为参考。特别参见 380-381 页上的吞噬细胞吸收测定和 381、383 和 385 页以及 382 和 383 页上的表对大环内酯类吸收和定位的具体描述。

本发明在某些优选的实施方案中涉及通式 I 表示的化合物、其盐和溶剂化物, 其中 M 特别表示 14-或 15-元内酯环的大环内酯亚单位, 最优选通式 II 表示的化合物:



II

其中:

(i) Z 和 W 独立为: $\text{C}=\text{O}$, CH_2 , $\text{CH}-\text{NR}_i\text{R}_s$, NR_N , $\text{C}=\text{NR}_M$,
或键, 其中:

R_i 和 R_s 独立为氢或烷基 (优选甲基或 H);

R_M 为 OH、 OR^P 、烷氧基或取代的烷氧基 (Syn 或 Anti 构型或其混合物形式);

R_N 为 H、 R^P 、烷基、链烯基、炔基、烷氧基、烷氧基烷基或 $-\text{C}(=\text{X})-\text{NR}_i\text{R}_s$;

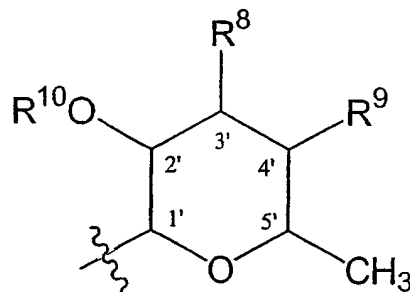
X 为 O 或 S;

条件是 Z 和 W 不能同时为 $\text{C}=\text{O}$, $\text{CH}-\text{NR}_t\text{R}_s$, CH_2 , NR_N , $\text{C}=\text{NR}_M$, 或键;

(ii) U 和 Y 独立为 H、卤素、烷基或羟基烷基 (优选 H、甲基或羟甲基);

(iii) R^1 为羟基、 OR^p 、 $-\text{O}-\text{S}^2$ 或 $=\text{O}$;

(iv) S^1 为如下通式糖苷配基环 C/5 位上的糖部分 (例如去氧糖胺 (desozamine) 基团):



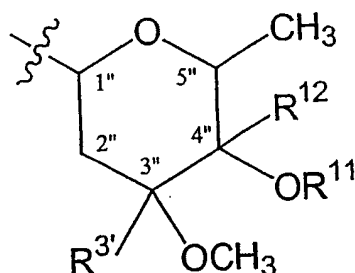
其中:

R^8 和 R^9 均为氢或一起形成键或 R^9 为氢且 R^8 为 $-\text{N}(\text{CH}_3)\text{R}^y$, 其中:

R^y 为 R^p 、 R^z 或 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^z$, 其中 R^z 为氢或环烷基 (优选环己基) 或烷基 (优选 C_1 - C_7 烷基) 或链烯基 (优选 C_2 - C_7 -链烯基) 或炔基 (优选 C_2 - C_7 -炔基) 芳基或杂芳基或被 C_1 - C_7 -烷基或 C_2 - C_7 -链烯基或 C_2 - C_7 -炔基、芳基或杂芳基取代的烷基 (R^y 优选为氢、甲基或乙基);

R^{10} 为氢或 R^p ;

(v) S^2 为如下通式的糖苷配基环 C/3 位上的糖部分 (例如为克拉定糖基):



其中:

$R^{3'}$ 为氢或甲基；且 R^{11} 和 R^{12} 独立为氢， R^{11} 可以为 R^p 或 R^{11} 和 R^{12} 共同形成键；

(vi) R^2 为 H、羟基、 OR^p 、烷氧基(优选 C_1-C_4 烷氧基，最优选甲氧基)、取代的烷氧基；

(vii) A 为 H 或甲基；

(viii) B 为甲基或环氧；

(ix) E 为 H 或卤素(优选氟)；

(x) R^3 为羟基、 OR^p 或烷氧基(优选 C_1-C_4 烷氧基，最优选甲氧基)、取代的烷氧基，或 R^3 为可以与 R^5 合并成"桥"(例如环碳酸酯或环氨基甲酸酯)的基团；或如果 W 或 Z 为 $(\begin{array}{c} \diagdown \\ NR_N \\ \diagup \end{array})$ ，那么 R^3 为可以与 W

或 Z 合并成"桥"(例如环氨基甲酸酯)的基团；

(xi) R^4 为 C_1-C_4 烷基(优选甲基)；

(xii) R^5 为氢、羟基、 OR^p 、 C_1-C_4 -烷氧基、取代的烷氧基或可以与 R^3 合并成桥(例如环碳酸酯或环氨基甲酸酯)的基团；

(xiii) R^6 为 H 或 C_1-C_4 烷基(优选甲基或乙基)；

其中亚单位 M 含有连接位置，它通过该位置经连接基 L 与亚单位 D 连接；所述的连接位置位于下列基团中的一个或多个上：

a 位于 S^1 、 S^2 或糖苷配基氧上的任意活性羟基、N 或环氧基，条件是 S^2 (或条件是 S^2 和 S^1) 被裂解；

b 位于 Z 或 W 上的活性 $>N-R_N$ 、 $-NR_1R_2$ 或 $=O$ 基团；

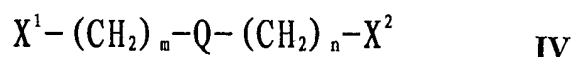
c 位于 R^1 、 R^2 、 R^3 和 R^5 中任意一个上的活性羟基；

d 可以首先被衍生成羟基或 $-NR_1R_2$ 基团，然后与 L 的全部或部分连接的任意其它基团(例如， $OH \rightarrow =O \rightarrow$ 环氧 $\rightarrow (\begin{array}{c} OH \\ | \\ -CH-CH_2-N-L \\ | \\ H \end{array})$)。

一个或多个 R^p 基团可以独立地存在于通式 II 的大环内酯亚单位上，其中 R^p 表示保护基，其可以选自烷基(优选甲基)、烷酰基(优选乙酰基)、烷氧羰基(优选甲氧羰基或叔丁氧羰基)、芳基甲氧羰基(优选苄氧羰基)、芳酰基(优选苯甲酰基)、芳烷基(优选苄基)、烷基甲硅

烷基(优选三甲基甲硅烷基)或烷基甲硅烷基烷氧基烷基(优选三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)。可以通过常规技术除去氨基保护基。因此,可以通过溶剂解、例如通过在酸性或碱性条件下水解除去例如酰基,如烷酰基、烷氧羰基或芳酰基。可以在有催化剂、诸如钯/活性炭存在的情况下通过氢解裂解芳基甲氧羰基(苄氧羰基)。

可以将 L 选为通式 IV 表示的连接基:



其中:

X^1 选自 $-CH_2-$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $=NO-$ 、 $-OC(=O)NH-$ 或 $-C(=O)NH-$;

X^2 选自 $-NH-$ 、 $-CH_2-$ 、 $-NHC(=O)-$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-C(=O)-$ 或 $-O-$;

Q 为 $-NH-$ 或 $-CH_2-$ 或不存在;

其中 $-CH_2-$ 或 $-NH-$ 基团各自可以任选被 C_1-C_7 -烷基、 C_2-C_7 -链烯基、 C_2-C_7 -炔基、 $C(O)R^x$ 、 $C(O)OR^x$ 、 $C(O)NHR^x$ 取代,其中 R^x 可以为 C_1-C_7 -烷基、芳基或杂芳基;

符号 m 和 n 独立为 0-4 的整数,

条件是如果 $Q=NH$, 那么 n 不能为 0。

L 表示具有约 2-约 50 个彼此连接的氨基酸的多肽连接基,优选三肽或四肽,诸如:

Gly-Phe-Leu、Gly-Gly-Phe、Gly-Phe-Phe、Gly-Phe-Gly、Gly-Leu-Gly、Gly-Val-Ala、Gly-Phe-Ala、Gly-Leu-Phe、Gly-Leu-Ala、Ala-Val-Ala、Gly-Gly-Phe-Leu、Gly-Phe-Leu-Gly、Gly-Phe-Ala-Leu、Ala-Leu-Ala-Leu、Gly-Phe-Phe-Leu、Gly-Leu-Leu-Gly、Gly-Phe-Tyr-Ala、Gly-Phe-Gly-Phe、Ala-Gly-Val-Phe、Gly-Phe-Phe-Gly, 并不限于此。

优选的 L 由通式 $Gly-(W)_p-Gly$ 表示,其中 p 为 0-3 的整数且 W 为任意的氨基酸或任意氨基酸的组合。

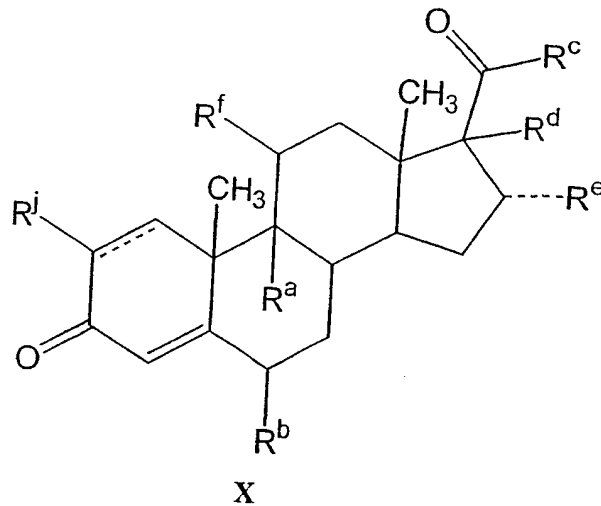
在 V 为甾类或非甾类抗炎亚单位的情况中,

L 仅为肽连接基。

V 可以表示抗炎甾类或非甾类化合物亚单位或抗肿瘤或抗病毒化

合物亚单位。

当 V 为甾类亚单位时，优选通式 X:



(ii) 其中:

R^a 和 R^b 彼此独立为氢或卤素;

R^c 为羟基、烷氧基(优选甲氧基)、烷基、硫代氨基甲酰基、氨基甲酰基或价键;

R^d 和 R^e 彼此独立为氢、OH、 CH_3 或 C_1-C_4 烷氧基(优选甲氧基或正丙氧基)或各自为与其它基团(任选烷基或链烯基单取代或二取代的)(优选 2,2-二甲基或 2-丙基或反式-丙烯基环)形成 1,3-二氧戊环的基团或价键;

R^f 为氢、羟基、氯或与它所连接的碳原子一起形成酮基的=O;

R^j 为氢或氯

及其药学上可接受的盐和溶剂化物。

另一方面，本发明为 W0 94/14834 中公开的甾类亚单位，其中它们带有基团 $>CH-S(O)_n-R^c$ 而不是基团 $>CH-C(O)-R^c$ ，其中 n 为 0-2 的整数。参见 W094/14834，将该文献的全部内容引入作为参考，尤其是 pp 2-3。

更一般而言，用作甾类亚单位源的甾类包括、但不限于皮质类固醇(诸如糖皮质激素和盐皮质激素)和雄激素。皮质类固醇的非限制性实例包括皮质醇、可的松、氟倍他索、氢化可的松、氟氢可的松、氟

氢缩松、氟米松、氟尼缩松、氟轻松、醋酸氟轻松、氟可龙、氟米龙、泼尼松、泼尼松龙、6- α -甲泼尼龙、曲安西龙、阿氯米松、倍氯米松、倍他米松、布地奈德、地塞米松、安西奈德、可的伐唑、地奈德、去羟米松、二氟可龙、二氟泼尼酯、fluclorolone 和二氯松、fluperinidene、氟替卡松、哈西奈德、甲泼尼松、甲泼尼龙、帕拉米松、泼那唑啉、泼尼立定、替可的松、曲安西龙及它们的酸性衍生物，例如醋酸、丙酸、二丙酸、戊酸、磷酸、异烟酸、间磺基苯甲酸、tebutate 和半琥珀酸衍生物)。

V 可以为非甾类抗炎亚单位，即非甾类抗炎药 (NSAID) 的部分，包括：那些抑制环加氧酶的部分，所述的酶可以导致前列腺素和某些自体激素抑制剂的生物合成，包括各种环加氧酶的各种同工酶 (包括、但不限于环加氧酶-1 和-2) 抑制剂；且作为环加氧酶和脂氧化酶抑制剂涉及非甾类抗炎药 (NSAID)，诸如商购的 NSAID 醋氯芬酸、阿西美辛、对乙酰氨基酚、醋氨沙洛、乙酰水杨酸、乙酰基-水杨-2-氨基-4-甲基吡啶-酸、5-氨基乙酰水杨酸、阿氯芬酸、氨洛芬、氨芬酸、氨基安替比林、安吡昔康、阿尼利定、苄达酸、苯噁洛芬、柏莫洛芬、 α -没药醇 (α -bisabolol)、溴芬酸、5-溴水杨酸乙酸酯、溴水杨苷、布氯酸、丁布芬、卡洛芬、塞来考昔 (celexocib)、chromoglycate、桂美辛、clindanac、氯吡酸、双氯芬酸钠、二氟尼柳、地他唑、屈噁昔康、恩芬那酸、依托度酸、依托芬那酯、联苯乙酸、芬布芬、芬克洛酸、芬度柳、非诺洛芬、芬替酸、非普地醇、flufenac、氟芬那酸、氟尼辛、氟诺洛芬、氟比洛芬、glutametacin、水杨酸乙二醇酯、异丁芬酸、布洛芬、异丁普生、吲哚美辛、吲哚洛芬、三苯唑酸、伊索克酸、伊索昔康、酮洛芬、酮咯酸、氯诺昔康、洛索洛芬、甲氧芬那酸、甲芬那酸、美洛昔康、5-氨基水杨酸、甲嗪酸、莫苯唑酸、孟鲁司特、萘丁美酮、萘普生、尼氟酸、尼美舒利、奥沙拉秦、奥沙西罗、噁丙嗪、羟布宗、对乙酰氨基酚、帕沙米特、哌立索唑、苯乙酰水杨酸酯 (苯乙酰水杨酸酯 (phenyl-acethyl-salicylate))、保泰松、水杨酸苯酯、吡拉唑酸、吡罗西康、吡洛芬、普拉洛芬、丙替嗪酸、

reserveratol、醋水杨胺、水杨酰胺、水杨酰胺-0-乙酸(salicylamide-0-acetyl acid)、水杨酰硫酸酯(salicylsulphuric acid)、水杨苷、水杨酰胺、双水杨酯、舒林酸、舒洛芬、suxibutazone、他莫昔芬、替诺昔康、噻洛芬酸、噻拉米特、ticlopridine、替诺立定、托芬那酸、托美丁、tropesin、联苯丁酸、希莫洛芬、扎托洛芬、佐美酸、托莫普罗、扎鲁司特和环孢菌素。其它NSAID类和特定的NSAID化合物公开在美国专利US 6,297,260中,将该文献全部引入作为参考(尤其是在其权利要求1的一般通式和其中包含的对NSAID的具体目录中);且thiazulidene NSAID公开在国际专利申请WO 01/87890中,将该文献的全部内容引入本文作为参考)。

优选的NSAID为乙酰水杨酸、吲哚美辛、萘普生、布洛芬、氟比洛芬、酮洛芬、舒林酸、依托度酸、酮咯酸、舒洛芬、氟尼辛、双氯芬酸钠和托美丁。

V可以表示抗病毒化合物,包括阿昔洛韦、泛昔洛韦、更昔洛韦、西多福韦、拉米夫定、利托那韦、茚地那韦、奈韦拉平、齐多夫定、去羟肌苷、司他夫定、阿巴卡韦、扎西他滨、氨普奈韦、利巴韦林和金刚烷,但不限于此。优选的抗病毒化合物为齐多夫定、去羟肌苷和司他夫定。V抗炎表示抗肿瘤药,包括bicaluatnide、喜树碱、雌莫司汀磷酸酯、氟他胺、氮芥、塞替派、异环磷酰胺、羟基脲、博来霉素、紫杉醇、洛莫司汀、伊立替康、甲氨蝶呤、长春瑞滨、阿那曲唑(anastrozole)、氟尿苷、美法仑、长春新碱、长春碱、丝裂霉素、诺龙、戈舍瑞林、亮丙立德、曲普瑞林、氨鲁米特、米托坦、顺铂、苯丁酸氮芥、喷司他丁、克拉屈滨、白消安、依托泊苷、米托蒽醌、伊达比星、环磷酰胺、巯嘌呤、硫鸟嘌呤、阿糖胞苷(cytarbine)、环磷酰胺、多柔比星、柔红霉素、替尼泊苷和他莫昔芬,但不限于此。优选的抗肿瘤药为甲氨蝶呤、紫杉醇、喜树碱、多柔比星、泰索帝和托泊替康。

本文中包含的通式中的黑体键表示位于纸面水平上;绘制的虚线键(dash-drawn bonds)表示位于纸面水平下,而虚线(broken line)

表示可以位于纸面水平下或其上的键。平行实线和虚线表示单键或双键。除非本文另有说明，下列术语具有下文对其所解释的含义：

"烷基"指的是1-10个碳原子、更优选1-6个碳原子的直链或支链饱和一价烃基。优选的直链或支链烷基包括甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、仲丁基和叔丁基。最优选甲基。烷基可以被至多5个取代基取代，包括卤素(优选氟或氯)、羟基、烷氧基(优选甲氧基或乙氧基)、酰基、酰氨基、氰基、氨基、N-(C₁-C₄)烷氨基(优选N-甲氨基或N-乙氨基)、N,N-二(C₁-C₄-烷基)氨基(优选二甲氨基或二乙氨基)、芳基(优选苯基)或杂芳基、硫代羰基氨基、酰氧基、氨基、脒基、烷基脒基、硫代脒基、氨基酰基、氨基羰基氨基、氨基硫代羰基氨基、氨基羰基氧基、芳基、杂芳基、芳氧基、芳氧基芳基、硝基、羧基、羧基烷基、羧基取代的烷基、羧基-环烷基、羧基取代的环烷基、羧基芳基、羧基取代的芳基、羧基杂芳基、羧基取代的杂芳基、羧基杂环基、羧基取代的杂环基、环烷基、环烷氧基、杂芳氧基、杂环基氧基和氧基羰基氨基。这类取代的烷基属于本发明"烷基"的定义范围。本发明烷基的定义可以扩展至其它带有烷基部分的基团，诸如烷氧基。

"链烯基"指的是2-10且优选2-6个碳原子的含有至少一个碳-碳双键的直链或支链一价烃基。链烯基可以被与烷基相同的基团取代且这类任选取代的链烯基包括在术语"链烯基"中。优选乙烯基、丙烯基、丁烯基和环己烯基。

"炔基"指的是带有2-10且优选2-6个碳原子的直链或支链且含有至少一个且优选不超过三个碳-碳三键的直链或支链一价烃基。炔基可以被与烷基相同的基团取代且这些取代的基团属于该炔基的定义中。优选乙炔基、丙炔基和丁炔基。

"环烷基"指的是带有3-8个碳原子的含有任选与芳基或杂芳基稠合的单环的环状基团。环烷基可以被如下对"芳基"所述的取代基取代且取代的环烷基属于该"环烷基"的定义范围。优选的环烷基为环戊基和环己基。

"芳基"指的是带有6-14个碳原子的含有单环、诸如苯基或多稠

合环、诸如萘基的不饱和芳族碳环基。芳基可以任选进一步与脂族基团或芳基稠合或可以被一个或多个取代基取代，诸如卤素(氟、氯和/或溴)、羟基、C₁-C₇烷基、C₁-C₇烷氧基或芳氧基、C₁-C₇烷硫基或芳硫基、烷基磺酰基、氰基或伯氨基或非伯氨基。

"杂芳基"指的是含有2-10个碳原子和1-4个杂原子、诸如O、S或N的单环或二环芳烃环。杂芳环可以任选与另一个杂芳基、芳基或脂族环状基团稠合。该类的实例为呋喃、噻吩、吡咯、咪唑、吡啶、嘧啶、噻唑、吡咯、吡唑、四唑、咪唑、吡嗪和三嗪，优选呋喃、吡咯、吡啶和咪唑。该术语包括被如对上述芳基所述相同的取代基取代的基团。

"杂环基"指的是含有单环或多环以及1-10个碳原子和1-4个选自氮、硫或氧的杂原子的饱和或不饱和基团，其中在稠合环系中，另一个环或其它环可以为芳基或杂芳基。杂环基可以被如对烷基所述的取代基取代且由此取代的杂环基属于本定义的范围。

"氨基酸"指的是含有氨基和羧基基团的任意化合物。氨基基团可以出现在与羧基官能基相邻的位置上、诸如 α -氨基酸上或该分子内的任意位置上。氨基酸还可以含有其它官能基，诸如氨基、硫、羧基、甲酰胺、咪唑等。氨基酸可以为合成或天然存在的或修饰的天然存在的氨基酸，诸如正缬氨酸或正亮氨酸。

符号K在上下文需要时有时指与M或V连接的L基团的部分。

在制备结构I表示的具有特定药理活性的化合物中，制备某些新化合物作为制备具有药理活性的化合物的中间体。本发明还涉及这类中间体。

本发明还包括本发明化合物的药学上可接受的盐。本发明化合物的药学上合适的盐包括与无机酸(例如盐酸、氢溴酸、磷酸、偏磷酸、硝酸或硫酸)或有机酸(例如酒石酸、乙酸、甲磺酸、三氟乙酸、柠檬酸、马来酸、乳酸、富马酸、苯甲酸、琥珀酸、甲磺酸、草酸和对甲苯磺酸)形成的盐。

本发明还包括通式I化合物的前体药物，即在对哺乳动物受试者

给药时在体内释放通式 (I) 的活性母体药物的化合物。通过修饰存在于通式 I 化合物上的官能基制备通式 I 化合物的前体药物，按照这类方式使所述的修饰物可以在体内被裂解以释放母体化合物。前体药物包括通式 I 的化合物，其中通式 I 化合物的羟基、氨基或羧基与任意可以在体内被裂解而分别重新生成羟基、氨基或羧基的基团结合。前体药物的实例包括但不限于通式 I 化合物的酯类 (例如乙酸酯、甲酸酯和苯甲酸酯衍生物) 或在接触生理 pH 时或通过酶作用被转化成活性母体药物的任意其它衍生物。在本段落的内容中，"前体药物" 不指释放 V 部分的本发明的杂化物 (如本说明书其它地方所述的)，而指 V 部分的衍生物 (其可以释放大环内酯或保持与大环内酯连接)。连接或释放状态的 V 部分衍生物随后可以转化成游离形式或与大环内酯连接的活性母体药物。

本发明还包括通式 I 化合物或其盐的溶剂化物 (优选水合物)。

通式 I 的化合物带有一个或多个手性中心且随各取代基性质的不同，它们还可以具有几何异构体。在原子空间排列上不同的异构体称作 "立体异构体"。彼此不为镜像的立体异构体称作 "非对映体" 且那些彼此为不能重叠的镜像的称作 "对映体"。当化合物带有一个手性中心时，出现一对对映体是可能的。对映体的特征可以在于其不对称中心的绝对构型且由 Cahn 和 Prelog 的 R--和 S--顺序法则描述或通过分子绕偏振光面旋转的方式描述并命名为右旋或左旋 (即分别称作 (+) 或 (-)-异构体)。手性化合物可以作为单个对映体或作为对映体混合物存在。含有等比例的对映体的混合物称作 "外消旋混合物"。本发明包括通式 I 化合物的所有各异构体。在本说明书和权利要求中对特定化合物的描述或命名用以包括各对映体及其混合物，否则就是其外消旋物。用于测定立体异构体的立体化学及其拆分的方法是本领域众所周知的。

本发明还包括遇到的 syn-anti 型立体异构体及其混合物，此时存在肟或类似基团。将与肟的末端双键原子连接的最高 Cahn Ingold Prelog 优先顺序法则的基团与肟的羟基比较。将该立体异构体命名为

Z(zusammen = 共同)或 Syn, 条件是肟羟基位于通过 C=N 双键的参考面的同侧上作为最优先基团; 将另一种立体异构体命名为 E(entgegen =相反)或 Anti。

"药学上可接受的赋形剂"指的是用于制备一般安全、无毒性且既无生物上又无其它不需要的作用的药物组合物的赋形剂且包括对兽药应用和人药应用而言可接受的赋形剂。本申请中所用的"药学上可接受的赋形剂"包括一种和一种以上这类赋形剂。

"治疗 (Treating) "或"治疗 (treatment) "状态、失调或病症包括:

(1) 预防或延缓在哺乳动物中发生的状态、失调或病症的临床症状的表现, 所述的哺乳动物可以患有或倾向于所述的状态、失调或病症, 但尚未发生或出现所述状态、失调或病症的临床或亚临床症状;

(2) 抑制状态、失调或病症, 即阻止或减缓疾病或其至少一种临床或亚临床症状的发生; 或

(3) 减轻疾病, 即使状态、失调或病症或其至少一种临床或亚临床症状退化。

对治疗的受试者的有益性或具有统计学意义或至少对患者或临床医师而言是可感受到的。

"治疗有效量"指的是当对哺乳动物给药治疗状态、失调或病症时足以进行这类治疗 (该措词如上述所定义) 的用量。"治疗有效量"随化合物、疾病及其严重程度和所治疗哺乳动物的身体情况和反应性的不同而改变。

急性炎症的四种传统症状为患病区域发红、升温、肿胀和疼痛且患病器官功能丧失。

与具体病症相关的炎症症状和征候包括:

· 类风湿性关节炎-涉及的关节疼痛、肿胀、温热和触痛; 全身性强直和晨僵;

· 胰岛素依赖性糖尿病-胰岛炎; 该病可以导致各种与炎症成分相关的并发症, 包括视网膜病、神经病、肾病; 冠状动脉疾病、外周血

管疾病和脑血管疾病;

- 自身免疫性甲状腺炎-虚弱、便秘、气短、面部、手和足浮肿 (puffiness)、外周性水肿、心律过缓;
- 多发性硬化-痉挛状态、视力模糊、眩晕、肢体虚弱、感觉异常;
- 眼色素层视网膜炎-夜视力下降、周边视力降低;
- 红斑狼疮-关节痛、疹、光敏感性、发热、肌痛、手和足浮肿、尿液分析异常(血尿、管型尿(cylinduria)、蛋白尿)、肾小球肾炎、认知功能障碍、血管血栓形成、心包炎;
- 硬皮病-雷诺氏病; 手、臂、腿和面部肿胀; 皮肤增厚; 手指和膝疼痛、肿胀强直、胃肠功能障碍、限制性肺病; 心包炎; 肾衰竭;
- 具有炎症成分的其他关节炎性疾病, 诸如类风湿性脊椎炎、骨关节炎、脓毒性关节炎和多关节炎-发热、疼痛、肿胀、触痛;
- 其他炎症性脑病, 诸如脑膜炎、阿尔茨海默病、AIDS 痴呆性脑炎-畏光、认知功能障碍、记忆损失;
- 其他炎症性的眼部炎症, 诸如视网膜炎-视力下降;
- 炎症性皮肤病, 诸如湿疹、其他皮炎(例如特应性皮炎、接触性皮炎)、牛皮癣、UV 照射诱发的灼伤(日光射线和类似的 UV 源)-红斑、疼痛、脱屑、肿胀、触痛;
- 炎症性肠病, 诸如克罗恩病、溃疡性结肠炎-疼痛、腹泻、便秘、直肠出血、发热、关节炎;
- 哮喘-气短、喘鸣;
- 其他过敏性疾病, 诸如过敏性鼻炎-喷嚏、痒、鼻漏;
- 与急性哮喘相关的疾病, 诸如中风后的损伤-感觉缺失、运动丧失、认知丧失;
- 因心肌缺血导致的组织损伤-疼痛、气短;
- 肺损伤, 诸如发生成人呼吸窘迫综合征的肺损伤-气短、换气过度、氧合作用下降、肺浸润;
- 伴有感染的炎症, 诸如脓毒症、脓毒性休克、中毒性休克综合征-发热、呼吸衰竭、心动过速、低血压、白细胞增多;

· 其它与特定器官或组织相关的炎性疾病, 诸如肾炎(例如肾小球肾炎)-少尿、尿液分析异常;

附件炎-发热、疼痛、触痛、白细胞增多;

痛风-涉及的关节疼痛、触痛、肿胀和红斑、血清和/或尿的尿酸升高;

胆囊炎-腹痛和触痛、发热、恶心、白细胞增多;

慢性阻塞性肺病-气短、喘鸣;

充血性心力衰竭-气短、啰音、外周性水肿;

II型糖尿病-晚期器官并发症, 包括心血管、眼、肾和周围血管疾病;

肺纤维化-换气过度、气短、氧合作用下降;

血管疾病, 诸如动脉粥样硬化和再狭窄-疼痛、感觉丧失、脉搏下降、功能丧失;

和导致移植物排斥的同种异体免疫-疼痛、触痛、发热。

亚临床症状包括、但不限于用于炎症的诊断标记, 其表现可以先于临床表现。一类亚临床症状为免疫学症状, 诸如促炎淋巴样细胞在器官或组织中的侵入或累积或识别对器官或组织特异性的病原体或抗原的活化促炎淋巴样细胞局部或周围的存在。可以通过本领域中公知的技术测定淋巴样细胞的活化。

"转运"至宿主内特定部位的活性组分的治疗有效量指的是在特定部位产生治疗上有效的活性组分的血药浓度。例如, 可以通过对宿主局部或全身给予活性组分达到上述目的。具体的病毒性疾病包括病毒性肝炎(甲型、乙型、丙型、戊型)、流感、病毒性肺炎、病毒性支气管炎、疱疹感染(单纯疱疹病毒、EB病毒(传染性单核细胞增多症)、带状疱疹)、脊髓灰质炎、AIDS(HIV感染)、成人T-细胞白血病(ATL)、乳头状瘤、麻疹、风疹、幼儿急疹、传染性红斑、病毒性脑炎、病毒性脊髓炎、巨细胞病毒感染、流行性腮腺炎、水痘、狂犬病、病毒性肠炎、病毒性心肌炎、病毒性心包炎等。

与具体病症相关的病毒感染的症状和征候包括: 病毒负荷、病毒

复制、病毒活性、病毒血症、病毒特异性抗原、病毒 RNA 或 DNA、逆转录酶活性、宿主中的抗病毒 CTL 活性、T-细胞或 CD4+细胞计数(对 HIV 而言)。癌症包括、但不限于下列癌：非小细胞肺癌、小细胞肺癌、结肠癌、乳腺癌、卵巢癌、白血病、成纤维细胞、肾癌、黑素瘤、前列腺癌、CNS 癌、骨/肌肉、淋巴瘤和血癌。

与具体病症相关的瘤形成症状和征候包括：肿瘤负荷、肿瘤大小、受侵害的器官重量、肿瘤复发、受试者存活时间、缓解时间和程度、癌细胞生长、癌细胞存活、编程性细胞死亡指数、转移程度和比例、与特定类型瘤形成相关的生物标记、增殖标记、相关癌基因的活化、与肿瘤相关的受体功能的调节异常、肿瘤特异性抗原和与肿瘤相关的血管发生。

识别对器官或组织具有特异性病原体或抗原的活化促炎淋巴样细胞局部或周围存在病毒感染或瘤形成的亚临床症状。可以通过本领域中公知的技术测定淋巴样细胞的活化。其它亚临床症状包括在疾病发生的任何临床征候前的各种替代标记(诸如上述各类中的那些)的存在和/或量。此外，感染和瘤形成通常伴有肿瘤部位上免疫系统活性增加，所以炎症征候在此也适用。

在通式 II 表示的化合物中，优选：

Z 和 W 共同为 $-N(R_N)C(O)-$ 、 $-C(O)N(R_N)-$ 、 $>C-NR_sR_t$ 、 $-C(O)-$ 、 $>C=N-R_M-$ 、 $-CH_2NR_N-$ 或 $-NR_NCH_2-$ ，最优选 $-NCH_3CH_2-$ 、 $-NHCH_2-$ 、 $-CH_2NH-$ 、 $-C(O)NH$ 、 $-NHCO-$ ；

R_s 、 R_t 为甲基或 H；

R_M 为 OH 或甲氧基；

X 为 O；

R_N 为 H、甲基或 $-C(=X)-NR_sR_t$ ；

A 为 H 或甲基；

U、Y 为 H、F、甲基或羟甲基；

R^1 为羟基、 $-O-S^2$ 或=O；

R^2 为 H、羟基或甲氧基；

R^3 为 OH、甲氧基或与 W 或 Z 形成环氨基甲酸酯桥的基团；

R^4 为甲基；

R^5 为 H、OH、甲氧基或与 R^3 形成环碳酸酯或环氨基甲酸酯桥的基团；

连接键通过 N/9a 或 N/8a 位上 Z 的氮或通过均位于 S^2 糖 C/4" 位上 R^{12} 的碳或 R^{11} 的氧；

R^6 为 H、甲基或乙基；

R^8 为 H、 $N(CH_3)_2$ 、 $NH(CH_3)N(CH_3)CH_2CH_3$ ；

R^9 为 H；

连接位置优选位于 C/3 位上或通过 S^1 糖 C/3' 位上或 C/11 位或 W 或 Z 上的氨基或通过 S^2 糖 C/4" 位。

还优选通式 I 中的化合物，其中 M 具有通式 II 且：(i) Z 为 NCH_3 ，W 为 CH_2 ， R^2 为羟基；或 (ii) Z 为 NH ，W 为 $=CO$ 且 R^2 为甲氧基。(该段中所述的化合物可以满足或可以不满足前一部分中剩余的上述优选条件，但优选它们满足这些条件。)

本发明的另一个方面涉及通式 I 表示的化合物的制备方法。一般来说，可以通过下列方式获得通式 I 的化合物：首先使链的一端与大环内酯连接，然后使该链的另一端与 V 连接；或首先使链的一端与 V 连接，然后使该链的另一端与大环内酯连接；或最后，使该链的一个部分与大环内酯连接，而使该链的另一个部分与 V 连接，然后使链部分的末端以化学方式连接形成链 L。

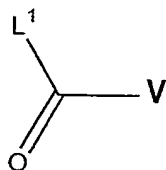
本领域技术人员可以理解需要使用用于制备通式 I 化合物的中间体的被保护的衍生物。可以通过本领域中公知的方法对官能基进行保护和脱保护。羟基或氨基可以被任意羟基或氨基保护基保护，例如，如 Green T. W.; Wuts P. G. M. 在《有机合成中的保护基》(Protective Groups in Organic Synthesis): John Wiley and Sons, New York, 1999 中所述。另外参见上述有关通式 I 的保护基的讨论。可以通过常规技术除去氨基保护基。例如，可以通过溶剂解、例如通过在酸性或碱性条件下水解除去酰基、诸如烷酰基、烷氧羰基和芳酰基。可以在有催

化剂、诸如钯/活性炭存在的情况下通过氢解裂解芳基甲氧羰基(例如苄氧羰基)。

更具体地说,可以通过下列方法制备通式 I 中的化合物:

a) 可以通过使通式 VI 化合物与通式 VIIa 表示的大环内酯的游离氨基反应生成通式 I 的化合物,其中 X^2 为 $-NHC(O)-$,

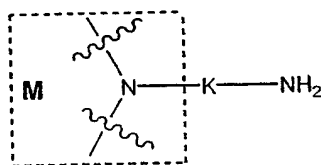
其中通式 VI 的结构式如下:



VI

其中 L^1 表示离去基团(诸如羟基),

且通式 VIIa 的结构式如下:

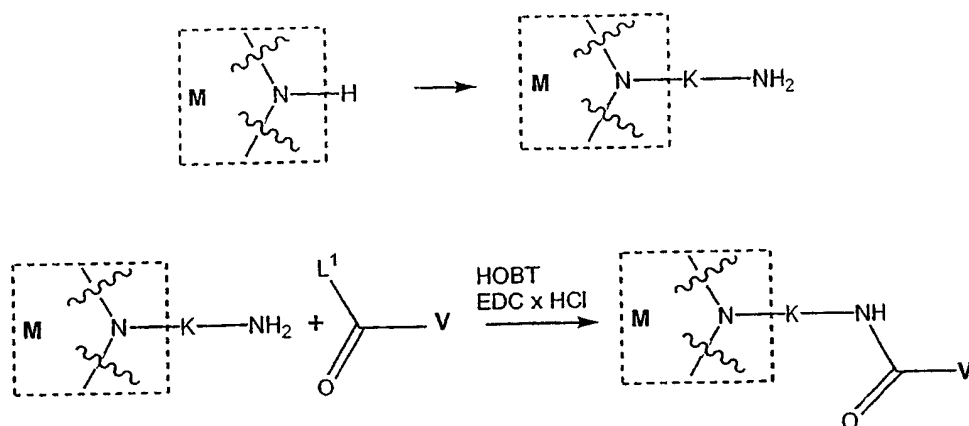


VIIa

其中 K 是与大环内酯亚单位连接的连接分子 L 的部分。

该反应一般与具有活化羧酸基能力的酸性衍生物进行,诸如卤化物、混合的酸酐类且尤其是碳化二亚胺类,诸如-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基-碳环二亚胺(EDC)和苯并三唑类。该反应在室温和惰性气体、诸如氮或氩气环境中并有碱、诸如有机碱(例如三乙胺)存在的情况下进行。该反应可能需要几小时至几天才能完成。

例如,当 L 为 $-K-NH_2$ 时,可以通过将大环内酯环上的 $>NH$ 基团衍生成 $>N-K-NH_2$ 基团并使衍生的大环内酯如下所示与通式 VI 的化合物反应生成通式 I 的化合物。

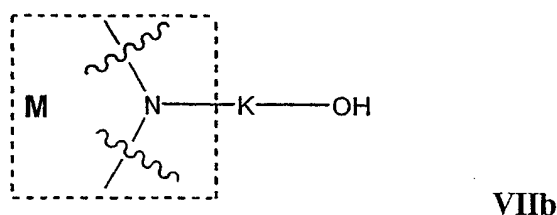


例如，当通式 II 的大环内酯亚单位上的 >NH 基团连接在 C/3' 或 N/9a 位上时可以进行该反应。

通式 VI 表示的化合物是商购的或它们可以通过包括本领域中公知的方法之一来源于亚单位 V。

通式 VIIa 的原料大环内酯的制备描述在 PCT HR 02/0001 中，将该文献的全部内容引入作为参考。另外参见美国专利 US4,474,768 和 Bright, G. M. 等《抗菌素杂志》(J. Antibiot.)1988, 41, 1029-1047, 将每篇文献的全部内容引入作为参考。

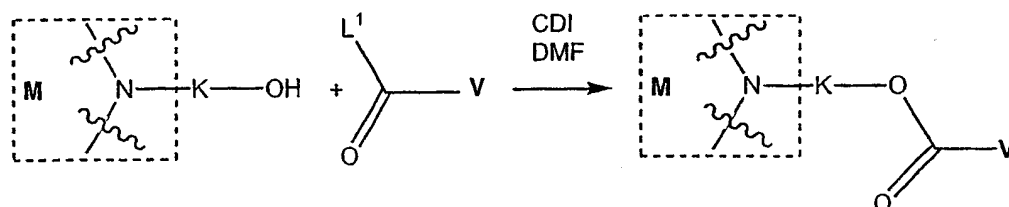
b) 可以通过使通式 VI 的化合物与通式 VIIb 表示的大环内酯的游离羟基反应生成通式 I 表示的化合物，其中 X² 为 -OC(O)-:



该反应一般与具有活化羧基能力的酸性衍生物进行，诸如卤化物(诸如二氯化乙烯 EDC)、混合的酸酐类且尤其是碳化二亚胺类。该反应一般在室温和惰性气体、诸如氮或氩气环境中进行。该反应可能需要几小时至几天才能完成。

例如，当连接部分 L 为 -K-O- 时，可以通过 (1) 将大环内酯环上的 >NH 基团衍生成 >N-K-OH 基团和 (2) 使衍生的大环内酯如下所示与通式

VI 表示的化合物反应而生成通式 I 的化合物:



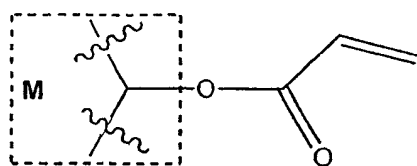
连接基-K-OH 可以如下所述与大环内酯的仲氮原子连接。使大环内酯与链烯酰基衍生物反应，诸如 $\text{CH}_2=\text{CH}(\text{CH}_2)_{m-2}\text{C}(\text{O})\text{O}-\text{烷基}$ (例如，甲基丙烯酸酯)。然后诸如使用金属氢化物 (例如 LiAlH_4) 在无水的有机溶剂中还原酯基 (即 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-\text{烷基}$) 而得到含有连接基-K-OH 的大环内酯 (即 $\text{M}-\text{K}-\text{OH}$)。该还原反应一般在低温且优选在 0°C 或 0°C 以下进行。

例如，当 $>\text{NH}$ 基团连接在通式 II 表示的大环内酯亚单位的 C/3' 或 N/9a 位上时，也可以进行该反应。

通式 VIIb 的原料大环内酯是已知化合物或可以按照对类似化合物所述的步骤获得，诸如描述在 Costa, A. M. 等《四面体通讯》(Tetrahedron Letters) 2000, 41, 3371-3375 中的方法，将该文献引入本文作为参考。

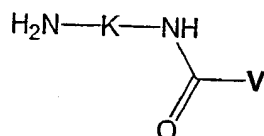
c) 可以通过使通式 VIIc 表示的大环内酯与通式 VIb 表示的化合物反应制备通式 I 表示的化合物，其中 X^1 为 $-\text{OC}(\text{O})-$ ，Q 位 $-\text{NH}-$ 且 X^2 为 $-\text{NHC}(\text{O})-$ ，

其中通式 VIIc 的结构式如下:



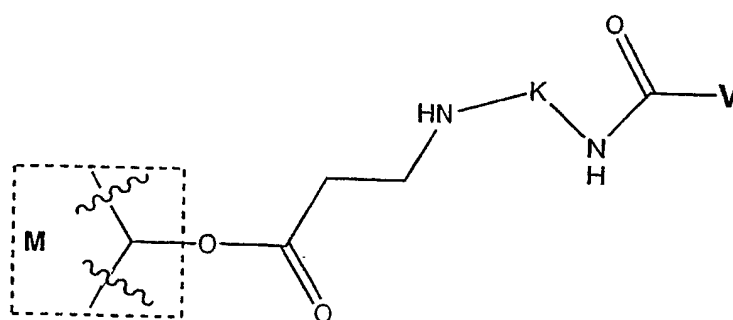
VIIc

其中通式 VIb 的结构式如下:



VIb

从而得到:

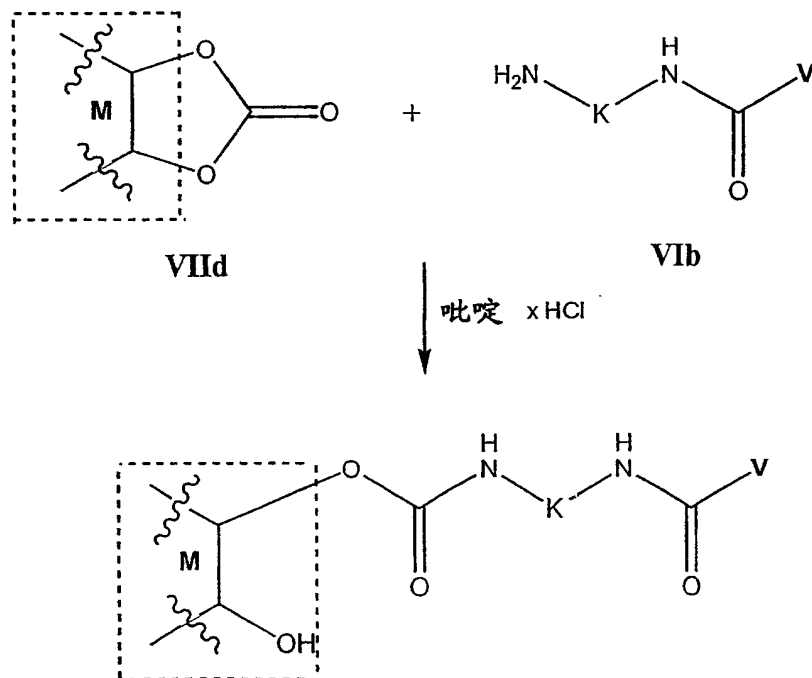


例如, 当 OH 基团连接在通式 II 表示的大环内酯亚单位的 C/6 或 C/4"位上时, 可以进行该反应。

通过使相应的卤代烷酰基氯与大环内酯上游离 OH 反应生成通式 VIIc 表示的大环内酯。

可以通过使适宜的胺(含有连接基-K-NH₂)与通式 VI 的化合物反应生成通式 VIb 表示的化合物。

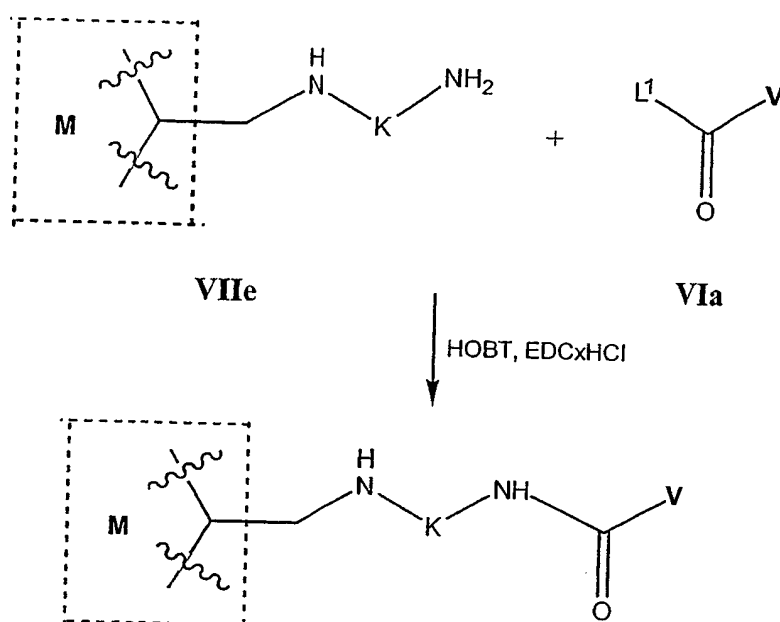
d) 可以通过使通式 VIId 表示的大环内酯如下所示与通式 VIb 的化合物反应制备通式 I 表示的化合物, 其中 X¹ 为 -OC(O)NH- 且 X² 为 -NHC(O)-。



例如, 当两个游离 OH 基团连接在通式 II 表示的大环内酯亚单位的 C/11 或 C/12 位上时, 可以进行该反应。

可以通过使含有两个邻位羟基取代基的大环内酯亚单位上的乙基碳酸酯反应生成通式 VII_d 表示的反应剂大环内酯;

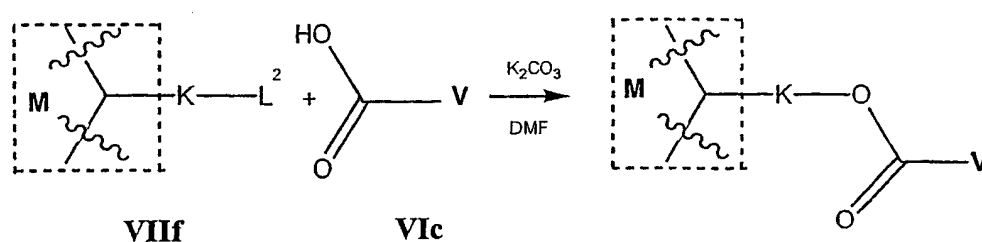
e) 可以通过使通式 VII_e 表示的大环内酯和通式 VI_a 表示的化合物如下所示反应制备通式 I 表示的化合物, 其中 X¹ 为 -CH₂-, Q 为 -NH- 且 X² 为 -NHC(O)-。



例如，当 OH 基团连接在通式 II 表示的大环内酯亚单位的 C/4" 位上时，可以进行该反应。

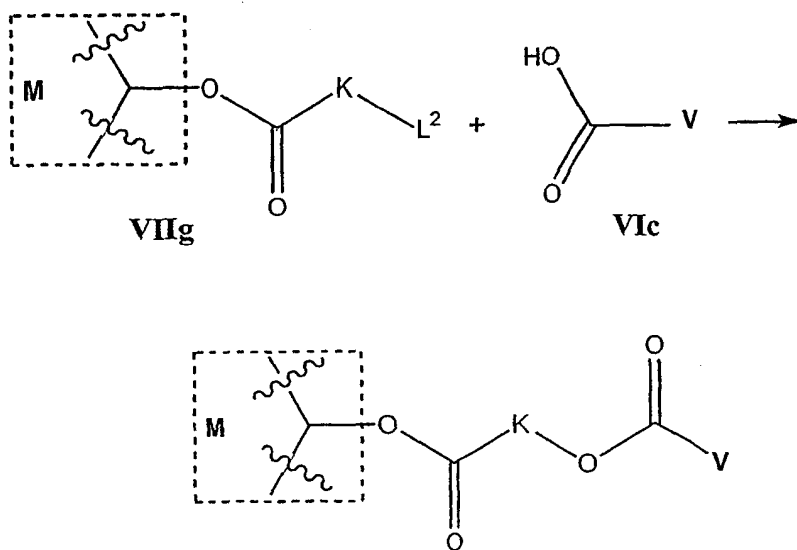
可以通过下列步骤生成通式 VIIe 表示的反应剂大环内酯：氧化相应的含有羟基的大环内酯而得到取代基 ($\text{C}=\text{O}$ 结构式)；转化成环氧基 ($\text{C}=\text{O}$ 结构式)；并用适宜的反应剂 (例如乙二胺) 裂解环氧基。

f) 可以通过使含有离去基团 L^2 (诸如 Br) 的通式 VIIIf 表示的大环内酯和通式 VIc 表示的亚单位 V 如下所示反应制备通式 I 表示的化合物。



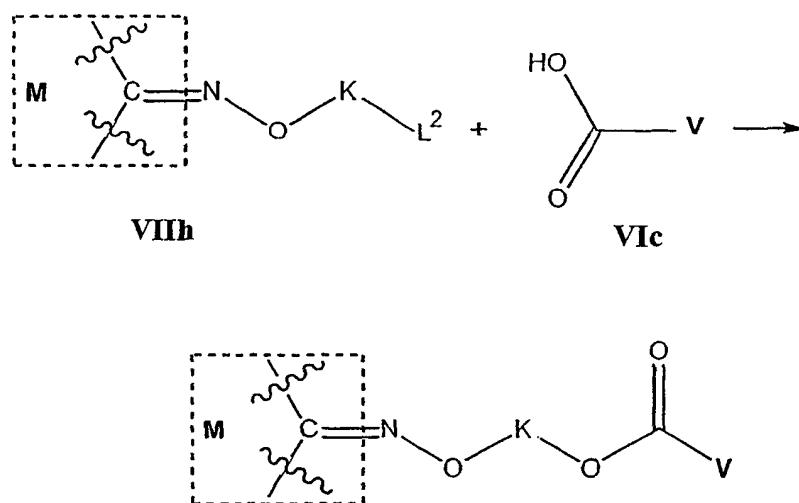
例如, 可以通过裂解连接在用通式 VIIf 表示的大环内酯亚单位 C/3-位上的糖基且然后使所述的大环内酯与 L^3-K-L^2 试剂反应制备通式 VIIg 的原料大环内酯, 其中 L^2 和 L^3 为离去基团。

g) 可以通过使含有离去基团 L^2 (诸如 Br) 的通式 VIIg 表示的大环内酯和通式 VIc 的亚单位 V 如下所示反应制备通式 I 表示的化合物。

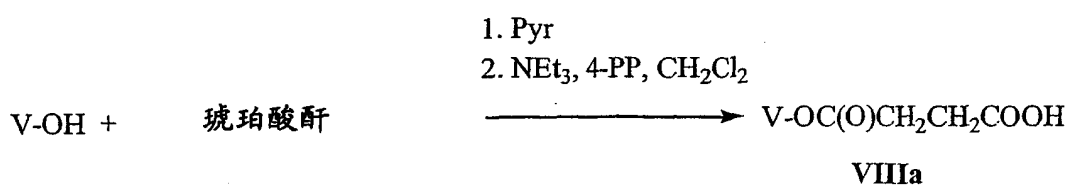


例如, 可以通过使含有连接在通式 II 表示的大环内酯亚单位 C/2' 位上的游离 OH 的大环内酯与通式 $L^3-C(O)-K-L^2$ 试剂反应制备通式 VIIg 的原料大环内酯, 其中 L^2 和 L^3 为离去基团。

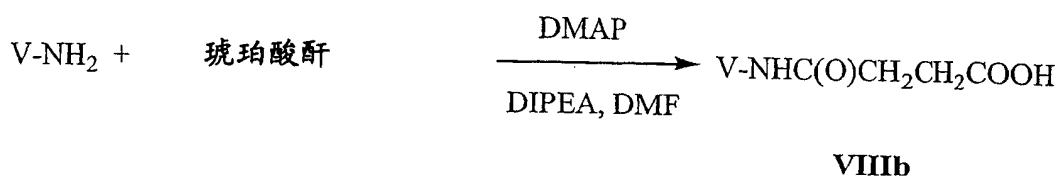
h) 还可以通过使含有离去基团 L^2 (诸如 Br) 的式 VIIh 大环内酯和通式 VIc 的亚单位 V 如下所示反应制备通式 I 表示的化合物。



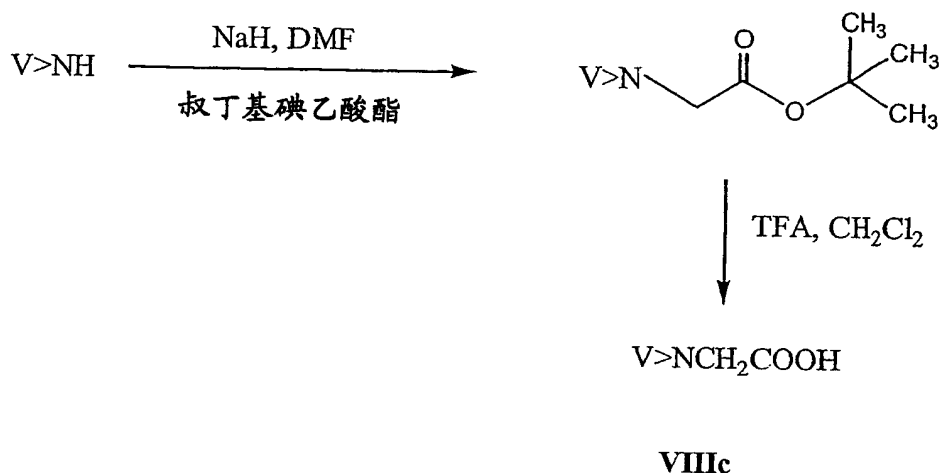
i) 还可以通过使由含有游离羟基的亚单位 V 制备的通式 VIIIa 表示的亚单位 V 与通式 VIIa 表示的大环内酯如下所示反应制备通式 I 表示的化合物 (Huang C. M. 等《化学与生物学》(Chem. & Biol.) 2000, 7, 453-461; Hess S. 等《生物有机与药物化学》(Bioorg. & Med. Chem.) 2001, 9, 1279-1291)。



j) 还可以通过使由含有游离氨基的亚单位 V 制备的通式 VIIIb (Pandori M. W. 等《化学与生物学》(Chem. & Biol.) 2002, 9, 567-573) 或 VIIIc (Hess S. 等《生物有机与药物化学》(Bioorg. & Med. Chem.) 2001, 9, 1279-1291) 表示的亚单位 V 与通式 VIIa 表示的大环内酯如下所示反应制备通式 I 表示的化合物。



或



下列实施例解释了通式 I 化合物的制备方法且并不以任何方式来限定本发明。

可以按照 Huang C. M. 等在《化学与生物学》(Chemistry & Biology), 7, 2000, 453-461 所述的步骤制备琥珀酸紫杉醇(方案 1)。

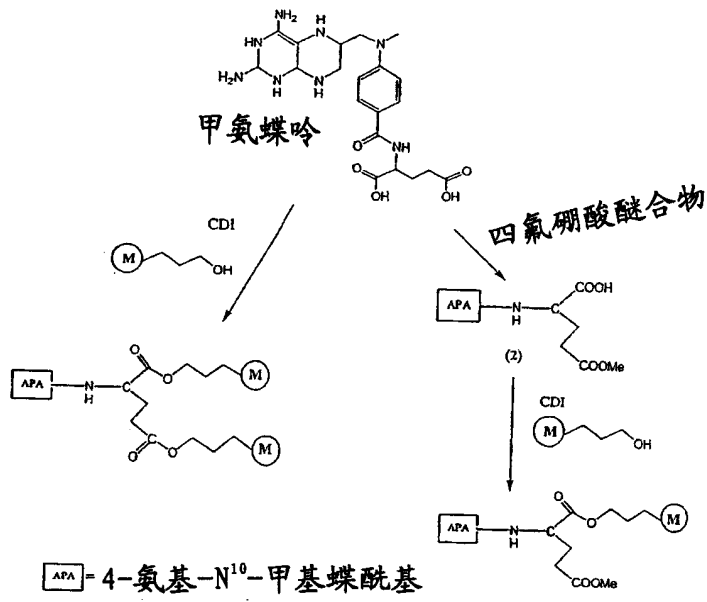
可以按照 Kralovec J. 等在《药物化学杂志》(J. Med. Chem.) 32, 1989, 2426-2431 所述的步骤制备 γ -甲基-N'-[4-[N-[(2,4-二氨基-6-蝶啶基)甲基]-N-甲基氨基]苯甲酰基]-L-谷氨酸酯(2)(方案 2)。

可以按照专利申请 US4943579 制备喜树碱-20-O-半琥珀酸酯(方案 3)。

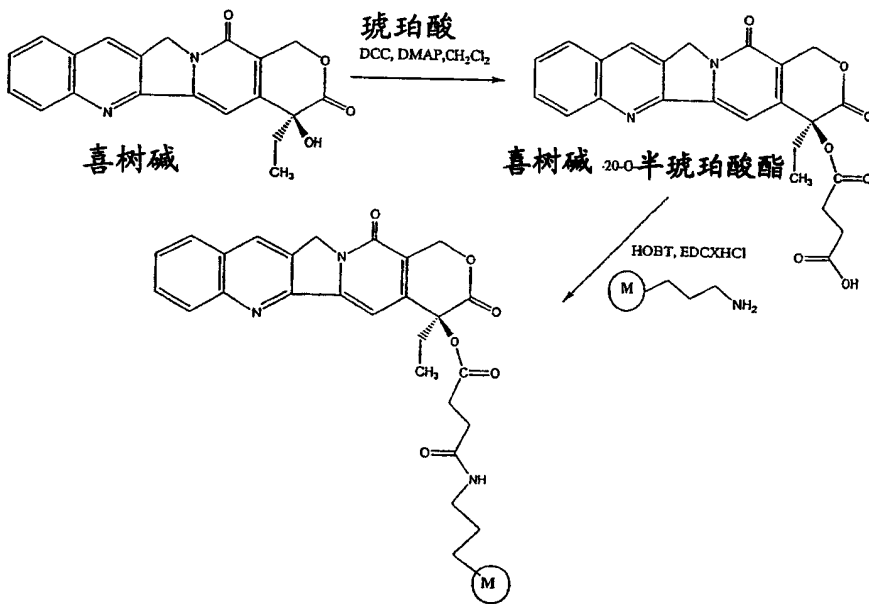
可以按照 Giammona G. 等在《控释杂志》(J. Control. Release) 54, 1998, 321-331 中所述的步骤制备 5'-O-琥珀酰齐多夫定(m=1)(方案 4)。

方案 1: 紫杉醇-大环内酯杂化物的合成

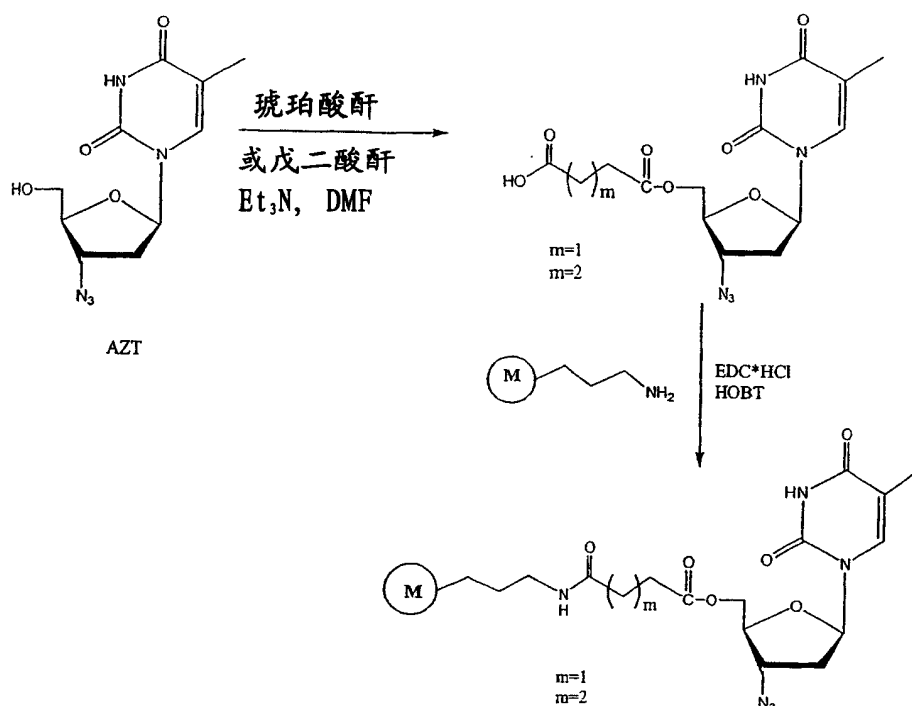
方案 2: 甲氨蝶呤-大环内酯杂化物的合成



方案 3: 喜树碱-大环内酯杂化物的合成



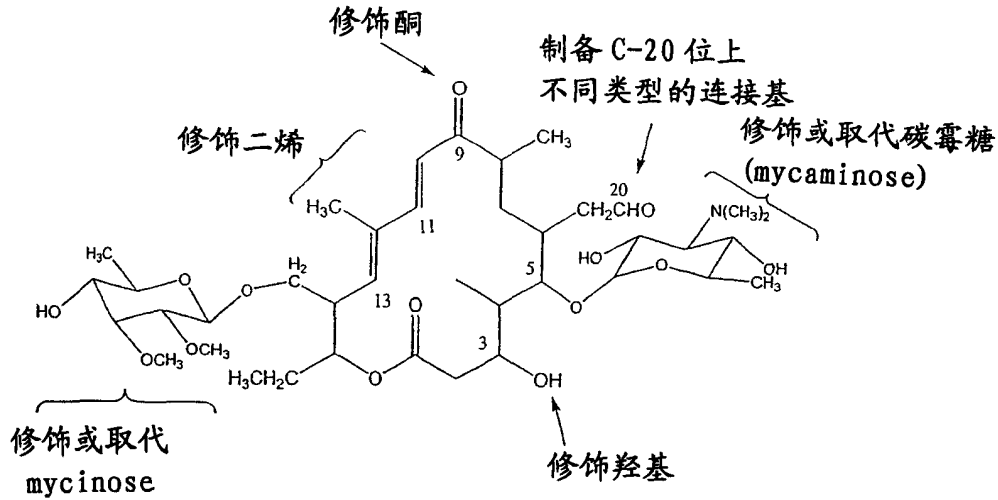
方案 4: 齐多夫定 (AZT)-大环内酯杂化物的合成



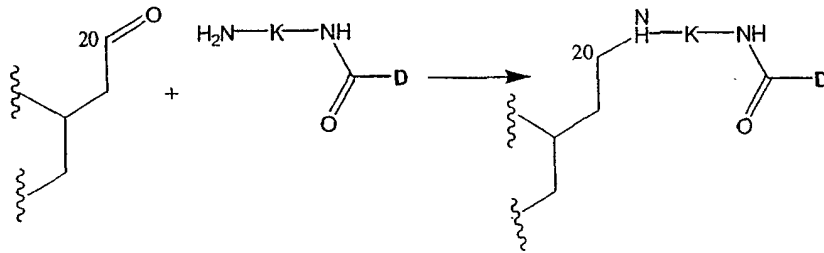
传统上基于糖苷配基的取代模式将 16-元环大环内酯类分成亚家族。该家族的主要原型以白霉素、螺旋霉素和泰洛星为代表。

泰洛星是有代表性的 16-元大环内酯类，其含有带有两个双键 (tylonolide) 和第三个糖取代基 (β -D- mycinose) 以及与 5-羟基连接的二糖的高度取代的糖苷配基。从二糖中水解 mycarose 得到 desmycarosyl-泰洛星 (脱碳霉糖泰乐菌素)。

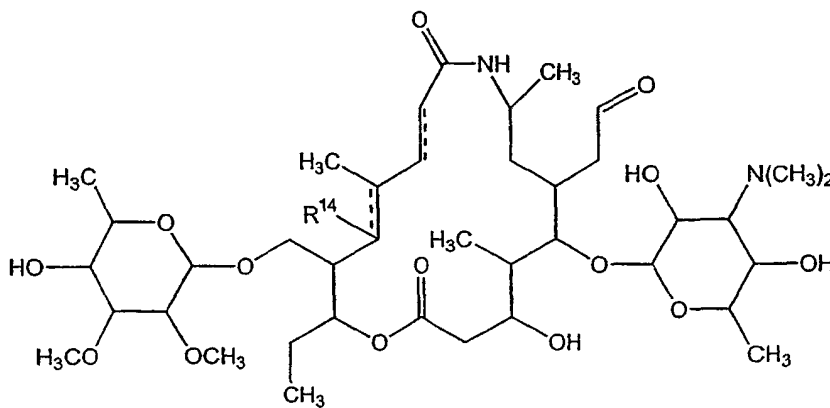
脱碳霉糖泰乐菌素上可能的修饰位置:



例如, 可以通过对 C-20 位醛基进行还原氨基化制备 16-元环的大环内酯杂化物。



该反应还可以用于 17-元氮杂内酯类, 如 8a-氮杂-高脱碳霉糖泰乐菌素及其衍生物 (诸如二-和四氢衍生物)。

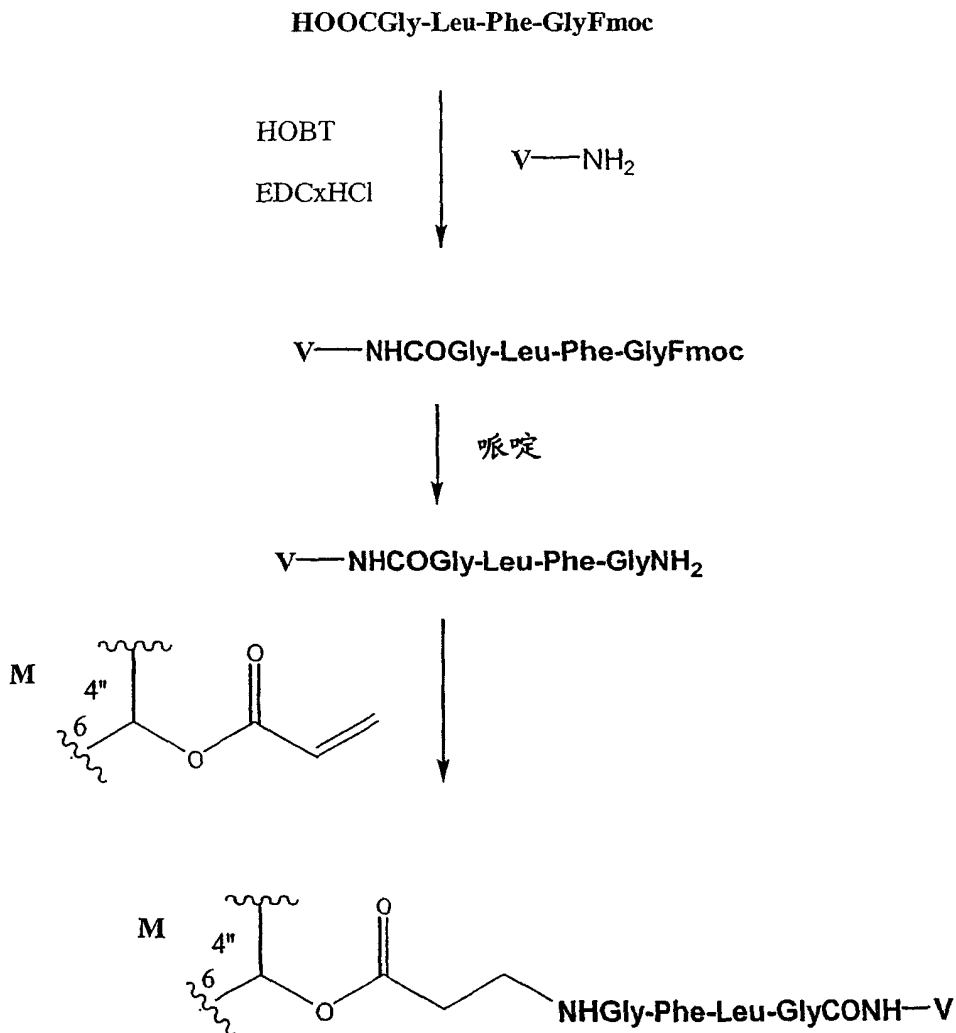


R^{14} 为氢或羟基

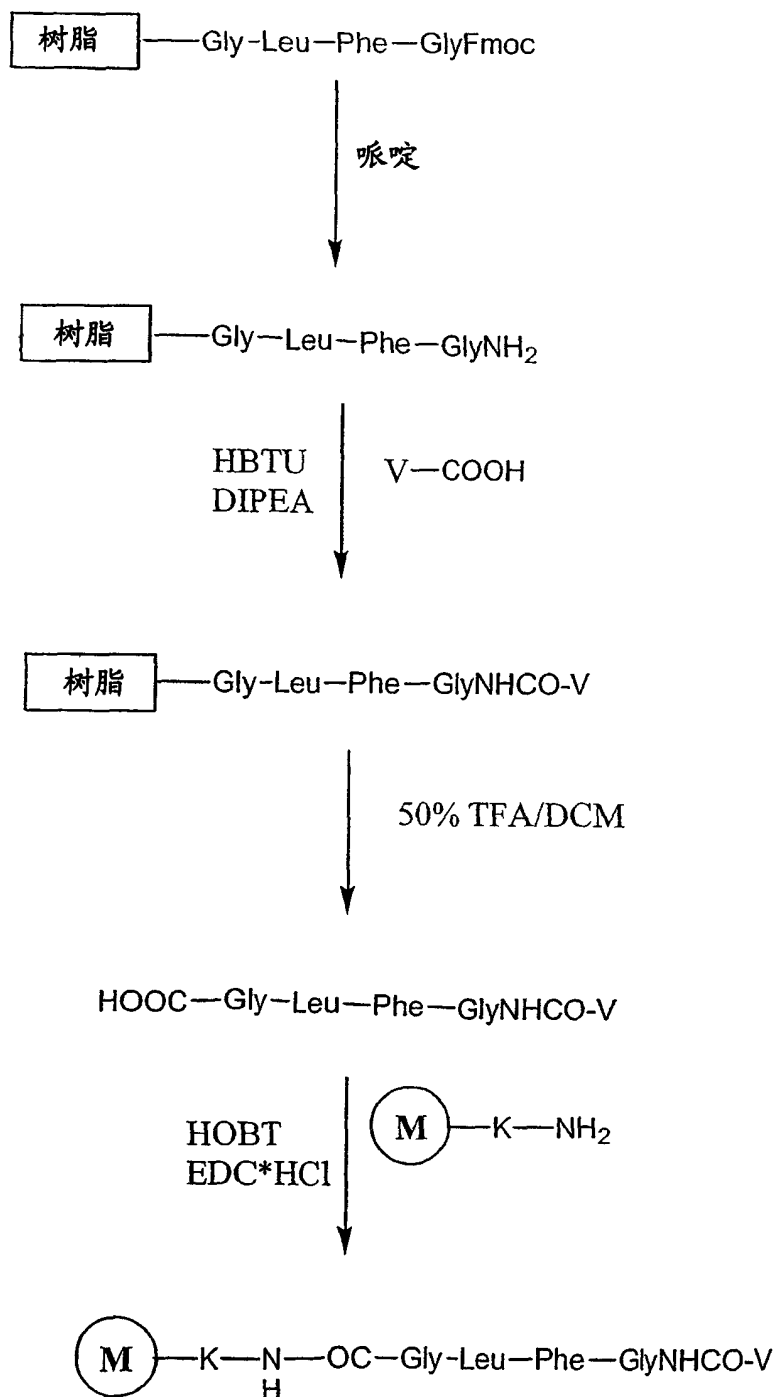
另一方面，16-元环大环内酯的衍生可以通过转化双键(例如环氧化)和使用合适的反应物(诸如二胺类)裂解环氧基而得到大环内酯(M-O-NH-K-NH₂)来进行。

还可以用羟基胺盐酸盐修饰 C/9 位上的酮而得到肟且然后还原成胺。

当 L 为肽连接基时，下面的实例中解释了通式 I 化合物的合成途径(V 为带有游离氨基的甾类、非甾类抗炎、抗病毒和抗肿瘤亚单位)：



当 L 为肽连接基时，下面的实例中解释了通式 I 化合物的合成途径 (V 为带有游离羧基的甾类、非甾类抗炎、抗病毒和抗肿瘤亚单位)：



可以通过使用一般公知的步骤制备通式 I 表示的化合物的盐, 诸如: 例如使结构 I 的化合物与相应的碱或酸在适宜溶剂或溶剂混合物、例如醚类(乙醚)或醇类(乙醇、丙醇或异丙醇)中反应。

本发明的另一个方面涉及通式 I 的化合物在治疗特征在于不需要的炎症免疫反应或与之相关的炎性疾病、失调和病症中的应用, 尤其是 TNF- α 和 IL-1 过度分泌诱导或与之相关的所有疾病和病症(抗癌、抗病毒)。

可以通过本领域中公知的方法测定本发明化合物的治疗有效量。由于可以将本发明的化合物比相应单独的药物更有效地转运至所需部位, 所以可以给予比抗炎、抗肿瘤和抗病毒药物摩尔量更少量的化合物而仍然可以获得相同的治疗作用。此外, 由于本发明的活性组分被靶物摄入, 所以本发明的活性组分不再接触其它组织, 预计其给药会产生较少的副作用, 这使得允许增加最大耐受的抗炎、抗肿瘤和抗病毒用量。因此, 下表仅用作指导。以摩尔为基准, 化合物、其药学上可接受的盐、其溶剂化物或其前体药物的治疗有效量阈值一般等于或小于抗炎、抗肿瘤和抗病毒药物的治疗有效量。化合物、其药学上可接受的盐、其溶剂化物或其前体药物的宽和优选有效量如下表中所示。

	化合物、其药学上可接受的盐、其溶剂化物或其前体药物的用量	
	mg/kg 体重/天的药物 (单独给药)	$\mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重/天的杂化物 或药物
宽	约 0.001 - 约 1000	约 0.004 - 约 4000
优选	约 0.01 - 约 100	约 0.04 - 约 400
更优选	约 1 - 约 100	约 4 - 约 400
最优选	约 3 - 约 30	约 12 - 约 120

因此, 例如, 吲哚美辛的优选剂量范围为 50-200 mg/天, 相当于 140-560 $\mu\text{mol}/\text{天}$ 的范围。相同的基于摩尔的范围 140-560 mol 的本发明杂化化合物为测定优选剂量范围的起点。对该手段的精化也属于本领域技术人员的范围。

此外，本发明涉及药物组合物，它含有有效量的本发明化合物和药学上可接受的赋形剂、诸如载体或稀释剂。

本发明药物组合物的制备包括混合、成粒、压片和溶解组分的步骤。化学载体可以是固体或液体形式。固体载体可以为乳糖、蔗糖、滑石、明胶、琼脂、果胶、硬脂酸镁、脂肪酸，并不限于此。液体载体可以为：糖浆；油，诸如橄榄油、向日葵籽油或大豆油；水；或生理盐水，并不限于此。类似地，载体还可以含有使活性成分缓释的成分，诸如硬脂酸甘油酯或甘油二硬脂酸酯。可以制备几种剂型的药物组合物。如果使用固体载体，那么这些剂型可以包括可以口服给药的片剂、胶囊形片剂、硬胶囊、粉剂或颗粒，并不限于此。固体载体的量可以改变，但主要在 25 mg - 1 g 的范围。如果使用液体载体，那么制剂可以为糖浆剂、乳剂、软胶囊或无菌可注射液体或非水液体混悬剂形式。

可以通过局部或全身给予本发明的化合物，例如口服、非肠道、皮下粘膜，例如口服、鼻内、直肠内和阴道内。"非肠道"指的是通过静脉内、肌内或皮下途经。本发明化合物的相应制剂可以用于预防和治疗(预防、延缓、抑制或减轻)因异常或不需(过度、未调节或调节不良)的炎性免疫反应导致或与之相关的几种失调(疾病和其它病理性炎症情况)，所述的异常或不需炎性免疫反应包括炎症细胞因子或其它炎症介体产生，包括但不限于 TNF- α 和 IL-1 β 。这些疾病包括：自身免疫疾病，诸如类风湿性关节炎、胰岛素依赖性糖尿病、自身免疫性甲状腺炎、多发性硬化、眼色素层视网膜炎、红斑狼疮、硬皮病；其它具有炎性成分的关节炎病，诸如类风湿性脊椎炎、骨关节炎、脓毒性关节炎和多关节炎；其它炎性脑病，诸如脑膜炎、阿尔茨海默病、AIDS 痴呆性脑炎；其它炎性眼部炎症，诸如视网膜炎；炎性皮肤病，诸如湿疹、其它皮炎(例如特异性皮炎、接触性皮炎)、牛皮癣、UV 照射诱发的灼伤(日光射线和类似的 UV 源)；炎症性肠病，诸如克罗恩病、溃疡性结肠炎；哮喘；其它过敏性疾病，诸如过敏性鼻炎；与急性哮喘相关的疾病，诸如中风后的大脑损伤；因心肌缺血导致的心脏组织

损伤；肺损伤，诸如发生成人呼吸窘迫综合征的肺损伤；伴有感染的炎症，诸如脓毒症、脓毒性休克、中毒性休克综合征；其它与特定器官或组织相关的炎性疾病，诸如肾炎(例如肾小球肾炎)；附件炎；痛风；胆囊炎；慢性阻塞性肺病；充血性心力衰竭；II型糖尿病；肺纤维化；血管疾病，诸如动脉粥样硬化和再狭窄；和导致移植物排斥的同种异体免疫。

在下列体外和体内实验中测定本发明化合物的生物活性：

2. 结合人糖皮质激素受体的试验

通过反向聚合酶链反应克隆用于人糖皮质激素受体 α 同种型的基因(EMBL Acc. No. M10901)。按照制造商(Qiagen)的说明从人外周血淋巴细胞中获得总RNA、在50℃时用AMV逆转录酶(Roche)经45分钟转录成cDNA，并使用特异性引物：

1) 5' ATATGGATCCCTGATGGACTCCAAAGAATCATTA ACTCC3'；和

2) 5' ATATCTCGAGGGCAGTCACTTTTGATGAAACAGAAG3'

和 pfx 聚合酶(Invitrogen)扩增基因，

PCR 条件为：94℃下变性 30 秒，55℃下退火 30 秒，68℃下 3 分钟，总计 36 个循环；最终的延伸步骤在 68℃下进行 7 分钟。将得到的反应产物克隆入 Bluescript KS 质粒(Stratagene)的 XhoI/BamHI、通过双脱氧荧光法与 M13 和 M13rev 引物(Microsynth)进行测序，然后将其克隆入 pcDNA3.1 hygro (+) 质粒(Invitrogen Life Technologies)的 XhoI/BamHI 位点。将 1×10^5 个 COS-1 细胞接种在 12-孔平板(Falcon)内含有 10% FBS(Biowhitaker)的 DMEM 培养基(Invitrogen Life Technologies)中，并在 37℃下和含有 5%CO₂的气体环境中培养至 70% 融合。除去培养基且每孔加入在 500 μ l DMEM 中的 1 μ g 的 DNA、7 μ l 的 PLUS 试剂和 2 μ l 的 Lipofectamine(Life Technologies)。在 37℃下和含有 5%CO₂的气体环境中保温细胞并在 5 小时后加入相同体积的 20% FBS/DMEM。24 小时后，完全改变培养基。转染后 48 小时，加入不同浓度的测试化合物和在 DMEM 培养基中的 24 nM [³H]地塞米松(Pharmacia)。将细胞在 37℃下和含有 5%CO₂的气体环境中保温 90 分

钟、用 PBS 缓冲液 (Sigma) 洗涤 3 次、冷却至 4℃ (pH=7.4) 且然后在 Tris 缓冲液 (pH=8.0) (Sigma) 中用 0.2% SDS (Sigma) 裂解。在加入 UltimaGold XR (Packard) 闪烁液后, 用 Tricarb (Packard) β -闪烁计数器读取残余的放射性。

3. 作为编程性细胞死亡诱导结果的小鼠 T-细胞杂交瘤 13 增殖抑制的试验

在 96-孔平板中, 使用 10% FBS 制备一式三份的测试当类在 RPMI 培养基 (Instituted of Immunology, Zagreb) 中的稀释液。向该化合物溶液中加入 20000 个细胞/孔并在 37℃ 下和含有 5%CO₂ 的气体环境中保温过夜, 然后加入 1 μ Ci [³H] 胸苷 (Pharmacia) 并将该混合物再保温 3 小时。通过施加真空用 GF/C 滤器 (Packard) 收集细胞。在每孔上加入 30 μ l Microscynt 0 闪烁液 (Packard) 并用 β -闪烁计数器 (Packard) 测定引入的放射性。通过使用米非司酮 (Sigma) 拮抗增殖抑制作用证实糖皮质激素诱导编程性细胞死亡的特异性。

小鼠肺嗜曙红细胞增多模型

将体重为 20-25 g 的雄性 Balb/C 小鼠随机分组并在第 0 天和第 14 天通过腹膜内注射卵清蛋白 (OVA, Sigma) 致敏。在第 20 天时, 通过 i. n. (鼻内) 施用 OVA (阳性对照或试验组) 或 PBS (阴性对照) 对小鼠进行攻击测试。鼻内施用 OVA 后 48 小时, 麻醉动物并用 1 mL 的 PBS 冲洗肺。将细胞在 Cytospin 3 细胞离心机 (Shandon) 中分离。用 Diff-Quick (Dade) 给细胞染色并通过至少 100 个细胞进行微分计数测定嗜酸性细胞的百分比。

将氟替卡松和倍氯米松用作标准抗炎物质。

每天通过鼻内或腹膜内给予不同剂量的化合物, 2 天后进行激发性试验并直到该试验完成。将化合物作为在羧甲基纤维素或在乳糖溶液中的混悬液形式给药。

大鼠皮质酮抑制和胸腺体积减小的模型

将体重为 200-250 g 的雄性 Wistar 大鼠随机分组。通过皮下途径施用测试化合物和标准糖皮质激素, 每天一次, 持续 3 天。在第 3

天时，对大鼠施加寒冷压力(4℃, 1小时)、用硫喷妥(Thiopental)(Pliva Inc.)麻醉并用肝素取血。从每只动物体内摘除完整的胸腺并立即称重。将血浆储存在-70℃下至检测为止。用氯仿(5 mL)从1 mL血浆或从在PBS中的皮质酮标准稀释液中提取皮质酮，用0.1 M NaOH洗涤干扰化合物并加入硫酸： $H_2O : C_2H_5OH = 8 : 2 : 1$ 。60分钟后测定荧光，激发/发射波长为470/530。

b) TNF- α 和 IL-1 β 在体外人外周血单核细胞中分泌的测定

由用Ficoll-Paque™Plus (Amersham-Pharmacia)分离PBMC后的肝素化全血制备外周血单核细胞(PBMC)。为了测定TNF- α 水平，在具有平底微量滴定板(96孔, Falcon)中的RPMI 1640培养基内将总体积为200 μ l的 $3.5-5 \times 10^4$ 个细胞培养18-24小时，所述的培养基中补充了10%加热失活的人AB血清(Croatian Centre For Transfusion Medicine, Zagreb)、100个单位/ml的青霉素、100 mg/ml链霉素和20 mM HEPES (Invitrogen Life Technologies)。在37℃和含有5%CO₂的气体环境以及90%湿度下保温细胞。在阴性对照中，仅在培养基(NC)中培养细胞，而在阳性对照中，通过添加1 μ g/ml脂多糖(LPS, 大肠杆菌血清型0111 : B4, SIGMA)(PC)刺激TNF- α 分泌并在将它们加入到用LPS(TS)刺激的细胞培养物后测定测试物质对TNF- α 分泌的作用。通过ELISA、按照制造商(R & D Systems)的建议测定细胞上清液中TNF- α 的水平。测试灵敏度< 3pg/ml TNF- α 。如对TNF- α 测定所述进行IL-1 β 水平的测定，仅使用 1×10^5 个细胞/孔和0.1ng/ml的LPS。通过ELISA(R & D Systems)测定IL-1 β 水平。通过下列等式计算TNF- α 或IL-1 β 产生的抑制百分比：

$$\text{抑制}\% = [1 - (\text{TS} - \text{NC}) / (\text{PC} - \text{NC})] \times 100.$$

将IC₅₀值定义为抑制50% TNF- α 产生的物质浓度。将表现出20 μ M或20 μ M以下浓度的IC-50的化合物视为具有活性。使用Graph Pad Prism软件计算IC-50。

c) RAW 264.7 细胞 TNF- α 分泌的测定

使细胞生长在37℃下含有5%CO₂的气体环境以及90%湿度下在

DMEM培养基中的 (Invitrogen Life Technologies) 10%胎牛血清 (FBS) 中。将 20 000 个细胞/孔平板固定在 96 孔平板 (Falcon) 中。在阴性对照中, 仅在培养基 (NC) 中培养细胞, 而在阳性对照中, 通过添加 500 pg/ml 脂多糖 (LPS, 大肠杆菌血清型 0111 : B4, SIGMA) (PC) 刺激 TNF- α 分泌, 并在将它们加入到用 LPS (TS) 刺激的细胞培养物后测定测试物质对 TNF- α 分泌的作用。通过 ELISA、按照制造商 (R & D Systems) 的建议测定细胞上清液中 TNF- α 的水平。通过下列等式计算 TNF- α 产生的抑制百分比:

$$\text{抑制}\% = [1 - (\text{TS} - \text{NC}) / (\text{PC} - \text{NC})] \times 100。$$

将 IC-50 值定义为抑制 50% TNF- α 产生的物质浓度。将表现出 10 μ M 或 10 μ M 以下浓度的 IC-50 的化合物视为具有活性。

人前列腺素-H 合酶-1 (hPGH-1) 和人前列腺素-H 合酶-2 (hPGH-2) 抑制试验

使用 PCR、应用来自人胎盘 cDNA 文库 (Stratagene) 的 Platinum pfx DNA 聚合酶 (Invitrogen Life Technologies) 扩增编码 hPGH-1 和 hPGH-2 的基因。用于 PGH-1 的引物序列为: 5' ATATAAGCTTGCGCCATGAGCCGGAGTCTTC 3' 和 5' ATATGGATCCTCAGAGCTCTGTGGATGGTCGC 3'; 用于 hPGH-2 的引物序列为: 5' ATATAAGCTTGCTGCGATGCTCGCCCGC 3' 和 5' ATATGGATCCCTACAGTTCAGTTCAGTCGAACGTTC 3'。将 PCR 产物克隆入 pcDNA3.1 Hygro (+) 质粒 (Invitrogen Life Technologies) 的 HindIII 和 BamHI 限制位点, 通过测序证实序列。

对 COS-7 细胞 (ATCC) 进行转染, 在 37 $^{\circ}$ C 下含有 5%CO₂ 的气体环境以及 90%湿度下, 使细胞在 24 孔平板 (Falcon) 内的 DMEM 培养基中的 (Invitrogen Life Technologies) 中的 10%胎牛血清 (FBS) 中生长至中完全融合。按照制造商的建议将 1 μ g 质粒 DNA (含有 PGH-1 或 PGH-2 基因或 pcDNA Hygro 3.1 (+) 的 pcDNA Hygro 3.1 (+) 作为阴性对照样品) 与 1,5 μ l Lipofectamine 2000 (Invitrogen Life Technologies) 合并。转染后 24-48 小时, 将在 DMEM 中的测试化合物加入到细胞中, 但

不除去培养基并在 40 分钟后, 加入花生四烯酸(Sigma)至终浓度为 20 μ M。30 分钟后, 取出上清液并用 PGE-2 试验试剂盒(Cayman)按照制造商的说明测定 PGE-2。在阴性对照中没有检测到 PGE-2 产生。

通过下列等式计算抑制%:

$$\text{抑制}\% = (1 - \text{样品 PGE-2 浓度} / \text{阳性对照 PGE-2 浓度}) * 100$$

d) 小鼠体内 LPS-诱导的 TNF- α 过度分泌的体内模型

按照已经上述方法诱导小鼠体内 TNF- α 分泌(Badger AM 等, J. Pharmac. And Env. Therap., 1996, 279 : 1453-1461)。在本试验中, 使用 8 - 12 周龄的分成 6 - 10 只动物一组的雄性 Balb/C 小鼠。仅用溶剂口服给药治疗动物(阴性对照和阳性对照中)或在用 LPS(大肠杆菌血清型 0111: B4, Sigma)处理前 30 分钟给予物质溶液, 剂量为 1-25 μ g/动物。2 小时后通过腹膜内注射 Roumpun(Bayer)和盐酸氯胺酮(Parke-Davis)对动物实施安乐死。将每只动物的血样取入“vacutainer”管(Becton Dickinson)并按照制造商的建议分离血浆。通过 ELISA (Biosource, R & D Systems)、按照制造商所述的方法测定血浆中的 TNF- α 水平。测试灵敏度 < 3pg/ml TNF- α 。通过下列等式计算 TNF- α 产生的抑制百分比:

$$\text{抑制}\% = [1 - (\text{TS-NC}) / (\text{PC-NC})] * 100。$$

将在 10 mg/kg 剂量下表现出 30%或 30%以上 TNF- α 产生抑制的化合物视为具有活性。

e) 用于止痛活性的扭体试验

在本试验中, 通过将刺激剂、最常见的是乙酸注入小鼠腹腔诱发疼痛。动物具有指定试验名称的特征扭体反应(Collier HOJ 等, 《药物与化疗》(Pharmac. Chemother.), 1968, 32: 295-310; Fukawa K 等, 《药理学方法杂志》(J. Pharmacol. Meth.), 1980, 4 : 251-259; Schweizer A 等, 《活性剂的作用》(Agents Actions), 1988, 23 : 29-31)。本试验适合于测定化合物的止痛活性。方法: 使用 8 - 12 周龄的雄性 Balb/C 小鼠(Charles River, Italy)。对对照组在腹膜内给予 0.6%浓度的乙酸前 30 分钟口服给予甲基纤维素, 而对验

组在腹膜内给予 0.6%乙酸(体积 0.1 ml/10 g)前 30 分钟口服给予标准品(乙酰水杨酸)或在甲基纤维素中的测试物质。将小鼠各自置于玻璃漏斗中并在 20 分钟期限内记录每只动物扭体的次数。按照下列等式计算扭体抑制的百分比:

抑制% = (对照组中扭体次数 - 试验组中扭体次数的平均值) / 对照组中扭体的次数 × 100。

将表现出与乙酰水杨酸相同活性或优于其活性的化合物视为具有活性。

LPS-诱发的小鼠休克的体内模型

使用 8 - 12 周龄的雄性 Balb/C 小鼠(Charles River, Italy)。用无菌盐水稀释分离自粘质沙雷氏菌(*Serratia marcescens*) (Sigma, 1-6136)的 LPS。首先真皮内给予剂量为 4 μ g/小鼠的 LPS 注射。18 - 24 小时后,通过静脉内给予 200 μ g/小鼠剂量的 LPS。按照上述方式对对照组给予两次 LPS 注射。对试验组在各自给予 LPS 前半小时口服所述物质。24 小时后观察存活率。

将在 30mg/kg 剂量下产生存活率为 40%或更好存活率的化合物视为具有活性。

如果化合物在上述试验中的至少两种中表现出具有统计学显著性(通过 Student 氏 t-检验, $p < 0.05$), 那么认为这些化合物具有活性。所用化合物的摩尔量低于发挥如文献中报导的轻度抗炎作用的大环内酯的阈值量(大约 30 μ m)。

(ii) 用于筛选对 HIV 复制的抑制作用的体外试验

HIV-1 转染 T4-细胞系。预先证实 MT-4 (Koyanagi 等《国际癌症杂志》(Int. J. Cancer), 36, 445-451, 1985)对用作靶细胞系的 HIV 高度敏感。将抑制 HIV-诱导的致细胞病变作用作为终点。使用分光光度法、通过 MTT 的原位减少估计 HIV-和模拟-感染细胞的存活率。将 50%细胞毒性浓度定义为将模拟-感染的对照样品的吸收度降低 50%的化合物浓度。将化合物在 HIV-感染细胞中实现的保护百分比计算为使用指定浓度测试化合物在 HIV-感染细胞中测定的光密度。测定细胞毒

性作用和保护作用之比。

(iii) 用于筛选对 HCV 复制的抑制作用的体外试验

使用 Lohmann 等报导的方法的改进方法测定新化合物的活性 [V. Lohmann 等《科学》(Science), 1999, 285, 110-113]。

将含有 HCV 复制子的细胞系用于证实新化合物抑制 HCV 复制子 RNA 在细胞中复制的能力。抑制 HCV 复制子 RNA 复制使细胞中复制子 RNA 减少, 可以使用对这种 RNA 进行特异性定量的方法测定这种减少。

本试验基于使用报道基因作为胞内 HCV 复制子 RNA 水平的单纯示值读数的构思。为了这一目的, 将 Renilla 荧光素酶基因导入紧随内部核糖体进入位点 (IRES) 序列后的复制子构建体 NK5.1 的第一开放可读框 (Krieger 等, 《病毒学杂志》(J. Virol.) 75: 4614), 并通过来自口蹄疫病毒的自切割肽 2A 与新霉素磷酸转移酶 (NPTII) 基因融合 (Ryan & Drew, EMBO Vol 13: 928-933)。在体外转录后, 将 RNA 电穿孔入人肝细胞瘤 Huh7 细胞并分离和平展 G418-抗性菌落。证实稳定选择的细胞系含有复制 HCV 次基因组 RNA, 且复制子表达的 Renilla 荧光素酶活性反映了其在细胞中在 RNA 水平。

就试验过程而言, 将在含有 5%胎牛血清 (FCS) (Invitrogen cat no. 10106-169) 的 Dulbecco's MEM (Invitrogen cat no. 31966-021) 中培养的 Renilla 荧光素酶 HCV 复制子细胞以 5000 个细胞/孔平板固定在 96-孔平板上并保温过夜。24 小时后, 向细胞中加入在生长培养基中不同稀释的化学化合物, 然后在 37°C 下进一步保温 3 天。将平板试验一式两份进行, 一份为不透明的白色且一份为透明的, 目的是平行测定化合物的活性和细胞毒性, 从而确保观察到的活性并非因对细胞增殖的减少作用所致。

在保温结束时, 收集白色平板上的细胞并通过使用双重-荧光素酶报道基因检测系统 (Promega cat no. E1960) 测定荧光素酶的活性。下面段落中所述的所有试剂均包括在制造商的试剂盒中且附带的制造商的说明用于制备试剂。简单的说, 每孔用 20 μ L PBS (磷酸缓冲盐水; pH 7.0) 洗涤细胞并用 25 μ L 1 x 被动溶解缓冲液溶解, 此后在室温

下保温 20 分钟。向每个孔中加入 100 微升的 LAR II 试剂。然后将平板插入微平板发光计 (Packard) 并将 100 μ L Stop & Glo 试剂注入每孔并测定发光。可以根据荧光素酶活性降低百分比与药物浓度的关系图计算将复制子水平相对于未处理的细胞的对照值减少 50% 所需的药物浓度 IC50。

抗肿瘤活性的体外试验

将 EL-4 细胞系用于体外筛选抗肿瘤活性。使细胞生长在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 和 90% 相对湿度下补充了 10% FBS (Invitrogen) 的 DMEM 培养基 (Invitrogen) 中。试验在 96 孔平板上进行, 化合物的稀释度为 10⁻⁵ 至 10⁻¹⁰ M 且使用 30000 个细胞/孔。24 小时处理后, 加入 ³H 标记的胸苷 (Amersham), 持续 4 小时。用应用 GF/C 滤器 (Packard) 的细胞收集仪 (Packard) 收集细胞。加入闪烁液 (Microscint 20, Packard) 并对闪烁进行计数。

如下计算抑制作用: 抑制% = (1 - CPM 样品 / CPM 阳性对照) * 100。

L1210 腹膜内肿瘤模型

在第 0 天给 DBA2 小鼠 (雄性 9-12 周, 20-30 g) 腹膜内注射 10⁶ 个存活细胞。随后在第 1、2 和 3 天用单剂量或多剂量通过腹膜内给予顺铂或杂化化合物治疗动物。每天给单位称重且每天观察 2 次肿瘤生长的征候。如果体重降为低于原始体重的 80% 或如果观察到其它严重的毒理学问题, 则处死动物。在实验结束时注意到了总体解剖学的改变。

B16 黑素瘤腹膜内模型

给雄性 C57BL/6J 小鼠经腹膜内 (i. p) 接种 10⁶ 个存活 B16F10 细胞。在第 0 天注射细胞并在随后的 1 天经腹膜内注射作为单剂量或多剂量的游离顺铂或杂化化合物。如上所述监测动物。

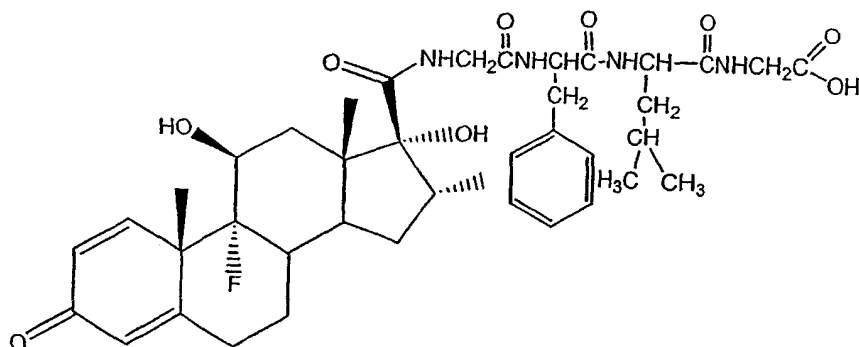
B16 黑素瘤皮下模型

给雄性 C57BL/6J 小鼠经皮下 (s. c.) 接种 10⁵ 个存活 B16F10 细胞。使肿瘤建立至面积约为 50-70mm², 根据二正交直径的产物测定。通过腹膜内或静脉内注射 2、5、10、15 mg Pt/kg 的游离顺铂或杂化化合物 19-21 来治疗带有皮下肿瘤的动物。

合成方法和实施例

中间体的制备

中间体 A



将 2-氯三苯甲基氯树脂 (1 eq = 0,5 mmol, 600 mg) 放入安装了粗玻璃料过滤器的玻璃柱上并在 DCM 中溶胀 10 分钟。然后过滤树脂并用 DCM 洗涤 3 次。在用 DMF 洗涤后, 通过添加 2.0 mL 0.6 M 氨基酸在 DMF 中的溶液和 0,630 ml N,N-二异丙基乙胺 (DIPEA) 给树脂加载 N-R-Fmoc-甘氨酸并混合。5 分钟后, 加入 0,315 ml DIPEA。在混合 50 分钟后, 加入 0,5 ml 量的甲醇。10 分钟后, 过滤树脂并用 DCM、DMF 和甲醇洗涤 10 次。

脱保护

制备哌啶在 DMF 中的不同溶液并如下倾倒在珠上:

5 % 哌啶/DMF 10 分钟 (大约 10 ml)

30 % 哌啶/DMF 15 分钟 (大约 10 ml)

50 % 哌啶/DMF 30 分钟 (大约 10 ml)

脱保护后, 用 DMF 洗涤树脂。

将第二种氨基酸 Fmoc-亮氨酸 (1060 mg, 3 mmol) 和 2-(1 H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基糖醛酸铀 (uronium) 六氟磷酸盐 (tetramethyluronium hexafluorophosphate) (HBTU) 溶于 3mL DMF 并快速加入 0.216 mL (5 mmol) DIPEA, 并且同时加入到反应管内的到单体/树脂混合物中。

封端:

制备 10 eq (2,04 ml) 乙酸酐和 10 eq (3,48 ml) DIPEA 在 5 ml DMF 中的溶液。将 2,5 ml 该溶液加入到反应混合物中 5 分钟。另起一段如下用哌啶在 DMF 中的溶液使第二种氨基酸脱保护:

30 % 哌啶/DMF 2 分钟(大约 10 ml)

30 % 哌啶/DMF 2 分钟(大约 10 ml)

30 % 哌啶/DMF 5 分钟(大约 10 ml)

30 % 哌啶/DMF 5 分钟(大约 10 ml)

并用大量 DMF 洗涤。

对下列氨基酸重复相同的偶联脱保护步骤:

第三种氨基酸 Fmoc-苯丙氨酸 1162 mg, 3 mmol

HBTU, 1081 mg/3 ml DMF

DIPEA, 0,87 ml;

和第四种氨基酸 Fmoc-甘氨酸, 892 mg, 3 mmol

HBTU, 1081 mg/3 ml DMF

DIPEA, 0,87 ml;

随后过滤并用 DMF 洗涤。

向反应管内的四肽/树脂混合物中加入地塞米松酸(567 mg, 3 eq)、HBTU(540 mg, 3,8 eq)和 0,435 ml DIPEA 在 3 ml DMF 中的混合物、混合并保持过夜。

封端:

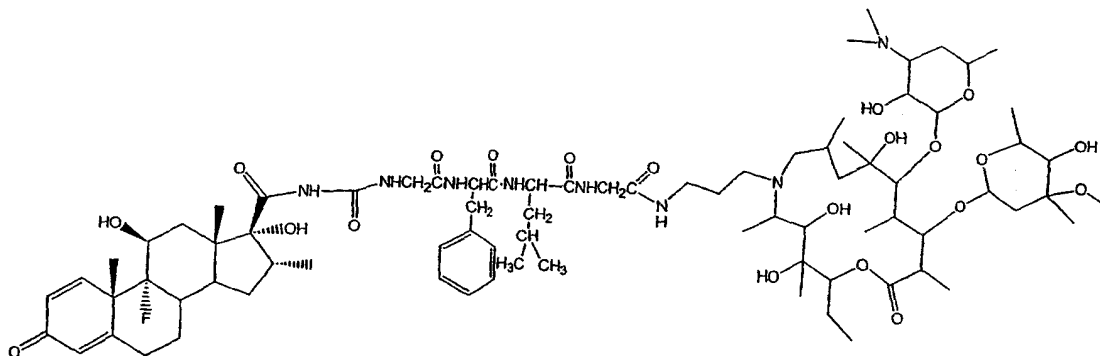
将 0,5 ml 乙酸酐和 0,5 ml DIPEA 在 3 ml DMF 中的溶液加入到反应混合物中 5 分钟,随后用 DCM、DMF 和 MeOH 洗涤并在真空下干燥。

从树脂中裂解

将 10 ml 50%三氟乙酸在 DCM 中的溶液倾倒在珠上并混合 15 分钟。通过过滤除去试剂并用 DCM 洗涤珠 2x。再使用 10 ml 酸重复相同步骤。蒸发收集的溶剂以除去过量的 TFA 并加入一定量的乙醚。分离到 60,1 mg 中间体 A。MS (m/z): 753.3 [MH]⁺

实施例 I

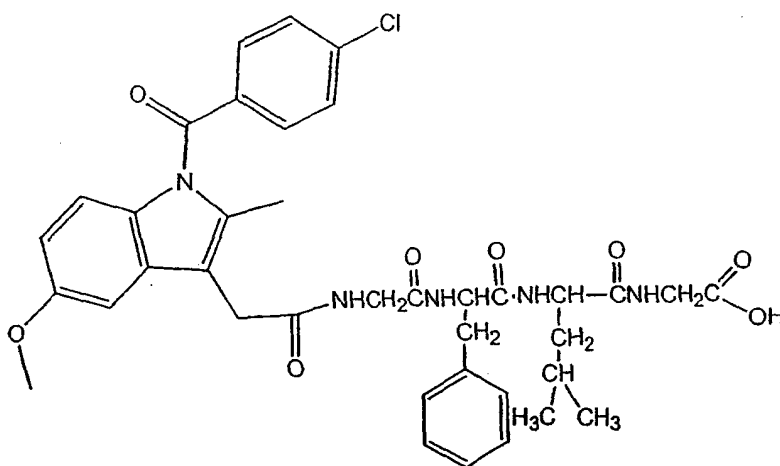
化合物 1 (地塞米松-Gly-Phe-Leu-Gly-阿奇霉素)



在惰性气体环境中将中间体 A (57 mg; 0.076 mmole) 溶于干燥 CH_2Cl_2 (5 mL) 并在 0°C 下冷却。加入 0.115 mL N,N -二异丙基乙胺和 20,5 mg 1-羟基苯并三唑, 随后添加化合物 9-脱氧-9a-氮杂-9a-(γ -氨基丙基)-9a-高红霉素 A (60 mg; 0.076 mmole) 和 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基-碳化二亚胺盐酸盐 (57,6 mg, 0,30 mmol)。将该反应混合物在室温下和氩气流中搅拌 24 小时, 然后在减压条件下蒸发至小体积且用硅胶柱纯化 (洗脱剂: CHCl_3 : CH_3OH : NH_4OH = 6 : 1 : 0.1)。得到 14 mg 化合物 1;

MS (m/z): 1527,3 $[\text{MH}]^+$. IR(cm^{-1})/KBr: 3415, 2969, 2939, 2874, 1664, 1528, 1458, 1378, 1262, 1168, 1107, 1054, 1013, 959, 894, 803, 702.

中间体 B



将 2-氯三苯甲基氯树脂 (1 eq = 0,5 mmol, 600 mg) 放入安装了粗玻璃料过滤器的玻璃柱上并在 DCM 中溶胀 10 分钟。然后过滤树脂并用 DCM 洗涤 3 次。在用 DMF 洗涤后, 通过添加 2.0 mL 0.6 M 氨基酸在 DMF 中的溶液和 0,630 ml N,N-二异丙基乙胺 (DIPEA) 给树脂加载 N-R-Fmoc-甘氨酸并混合。5 分钟后, 加入 0,315 ml DIPEA。在混合 50 分钟后, 加入 0,5 ml 量的甲醇。10 分钟后, 过滤树脂并用 DCM、DMF 和甲醇洗涤 10 次。

脱保护

制备哌啶在 DMF 中的不同溶液并如下倾倒在珠上:

5 % 哌啶/DMF 10 分钟 (大约 10 ml)

30 % 哌啶/DMF 15 分钟 (大约 10 ml)

50 % 哌啶/DMF 30 分钟 (大约 10 ml)

脱保护后, 用 DMF 洗涤树脂。

将第二种氨基酸 Fmoc-亮氨酸 (1060 mg, 3 mmol) 和 2-(1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基糖醛酸铕六氟磷酸盐 (tetramethyluronium hexafluorophosphate) (HBTU) 溶于 3mL DMF 并快速加入 0.216 mL (5 mmol) DIPEA, 同时加入到反应管内的单体/树脂混合物中。

封端:

制备 10 eq (2,04 ml) 乙酸酐和 10 eq (3,48 ml) DIPEA 在 5 ml DMF 中的溶液。将 2,5 ml 该溶液加入到反应混合物中 5 分钟。

如下用哌啶在 DMF 中的溶液使第二种氨基酸脱保护:

30 % 哌啶/DMF 2 分钟 (大约 10 ml)

30 % 哌啶/DMF 2 分钟 (大约 10 ml)

30 % 哌啶/DMF 5 分钟 (大约 10 ml)

30 % 哌啶/DMF 5 分钟 (大约 10 ml)

并用大量 DMF 洗涤。

对下列氨基酸重复相同的偶联脱保护步骤:

第三种氨基酸 Fmoc-苯丙氨酸 1162 mg, 3 mmol

HBTU, 1081 mg/3 ml DMF

DIPEA, 0,87 ml;

和第四种氨基酸

Fmoc-甘氨酸, 892 mg, 3 mmol

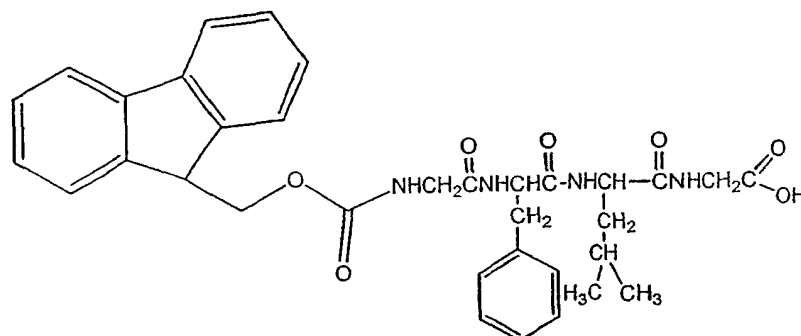
HBTU, 1081 mg/3 ml DMF

DIPEA, 0,87 ml;

仅在偶联第四种氨基酸后不除去 Fmoc 保护基。

过滤并用 DMF 洗涤后, 从树脂中取出产物:

将 10 ml 50%三氟乙酸在 DCM 中的溶液倾倒在珠上并混合 15 分钟。通过过滤除去试剂并用 DCM 洗涤珠 2x。再使用 10 ml 酸重复相同步骤。蒸发收集的溶剂以除去过量的 TFA 并加入一定量的乙醚。分离到 109,1 mg 中间体 B1。MS (m/z): 715, 6 (MH)⁺



中间体 B1

将 2-氯三苯甲基氯树脂 (1 eq = 0,352 mmol, 326 mg) 放入安装了粗玻璃料过滤器的玻璃柱上并在 DCM 中溶胀 10 分钟。然后过滤树脂并用 DCM 洗涤 3 次。在用 DMF 洗涤后, 通过添加溶于 2 mL DMF 中的 259mg (0,422mmol) 和 0,150 ml N,N-二异丙基乙胺 (DIPEA) 给树脂加载化合物 B1 并混合。5 分钟后, 加入 0,230 ml DIPEA。在混合 50 分钟后, 加入 0,355 ml 量的甲醇。10 分钟后, 过滤树脂并用 DCM、DMF 和甲醇洗涤 10 次。

脱保护

制备哌啶在 DMF 中的不同溶液并如下倾倒在珠上:

5 % 哌啶/DMF 10 分钟(大约 10 ml)

30 % 哌啶/DMF 15 分钟(大约 10 ml)

50 % 哌啶/DMF 30 分钟(大约 10 ml)

脱保护后, 用 DMF 洗涤树脂。

将 377 mg (1,055 mmol) 吡啶美辛和 533 mg (1,41 mmol) 2-(1-H-苯并三唑-1 基)-1,1,3,3-四甲基糖醛酸鎓六氟磷酸盐 (tetramethyluronium hexafluorophosphate) (HBTU) 溶于 3 mL DMF 并快速加入 0.602 mL (3,52 mmol) DIPEA, 同时加入到反应管内的聚合物/树脂混合物中。

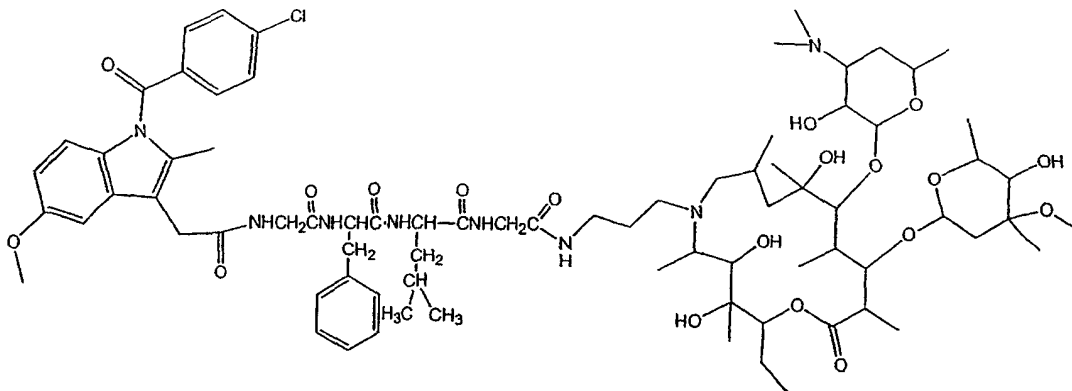
封端: 将 0,5 ml 乙酸酐和 0,5 ml DIPEA 在 3 ml DMF 中的溶液加入到反应混合物中 5 分钟、过滤并用 DCM、DMF 和 MeOH 洗涤。

从树脂中裂解

将 10 ml 50% 三氟乙酸在 DCM 中的溶液倾倒在珠上并混合 15 分钟。通过过滤除去试剂并用 DCM 洗涤珠 2x。再使用 10 ml 酸重复相同步骤。蒸发收集的溶剂以除去过量的 TFA 并加入一定量的乙醚。分离到 210,8 mg 产物、即中间体 B。MS (m/z): 732,66 [MH]⁺

实施例 II

化合物 2 (吡啶美辛-Gly-Phe-Leu-Gly-阿奇霉素)

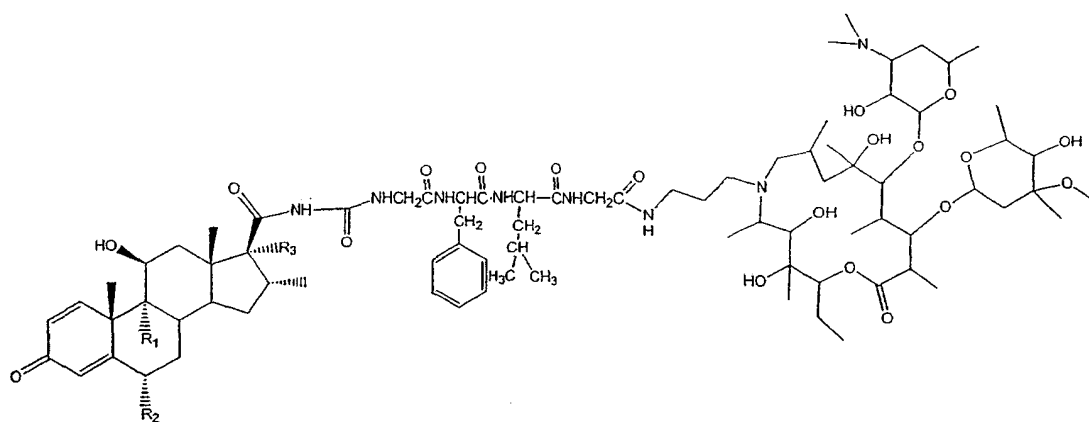


在惰性气体环境中将中间体 B (200 mg; 0,27 mmol) 溶于干燥 CH₂Cl₂,

(5 mL)。加入 0.416 mL (2,14mmol) N,N-二异丙基乙胺和 74 mg (0,55mmol) 1-羟基苯并三唑, 随后添加化合物 9-脱氧-9a-氮杂-9a-(γ -氨基丙基)-9a-高红霉素 A (216,6 mg; 0.27 mmole) 和 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基-碳化二亚胺盐酸盐 (188 mg, 1,09 mmol)。将该反应混合物在室温下和氩气流中搅拌 24 小时, 然后在减压条件下蒸发至小体积并用硅胶柱纯化 (洗脱剂: CHCl_3 : CH_3OH : NH_4OH = 6 : 1 : 0.1)。得到 70 mg 化合物 2; MS (m/z): 1505,8 $[\text{MH}]^+$. IR(cm^{-1})/KBr: 3654, 3633, 3425, 3084, 2970, 2936, 1720, 1652, 1637, 1545, 1439, 1368, 1309, 1230, 1179, 1111, 1089, 1055, 1013, 867, 803, 739, 700, 643.

实施例 III

按照实施例 I 的一般步骤并取代其中适宜的反应物得到下列化合物:



化合物 3 : $\text{R}_1=\text{F}$; $\text{R}_2=\text{F}$; $\text{R}_3=\text{OH}$

化合物 4 : $\text{R}_1=\text{F}$; $\text{R}_2=\text{H}$; $\text{R}_3=\text{H}$

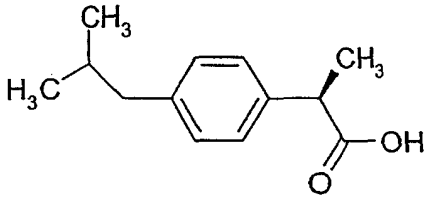
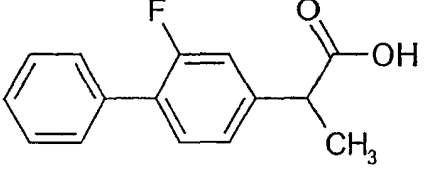
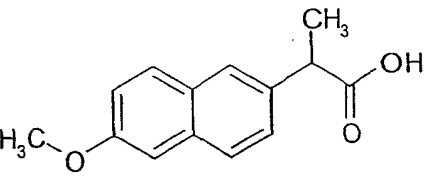
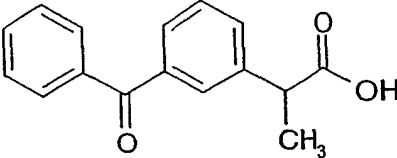
化合物 5 : $\text{R}_1=\text{F}$; $\text{R}_2=\text{F}$; $\text{R}_3=\text{H}$

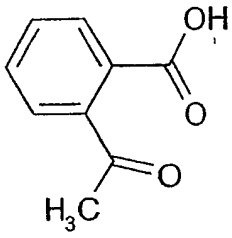
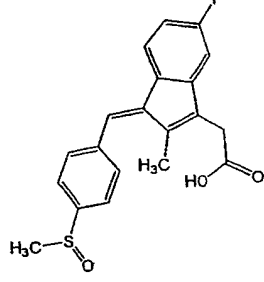
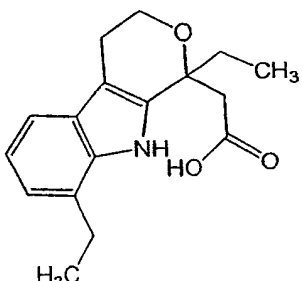
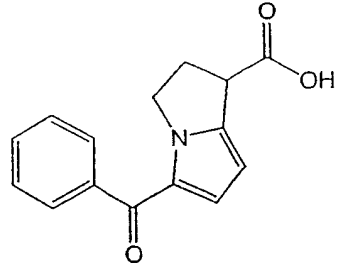
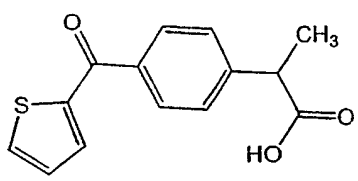
化合物 6 : $\text{R}_1=\text{H}$; $\text{R}_2=\text{F}$; $\text{R}_3=\text{OH}$

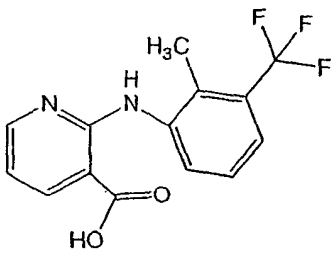
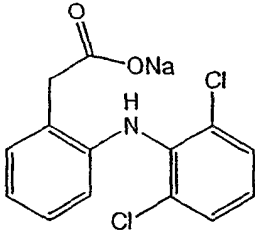
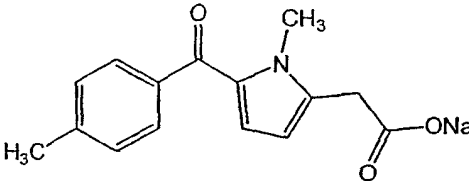
实施例 IV

按照实施例 II 的一般步骤并取代其中适宜的反应物得到下列化合物:

V-Gly-Phe-Leu-Gly-M

化合物	V
7	
8	
9	
10	

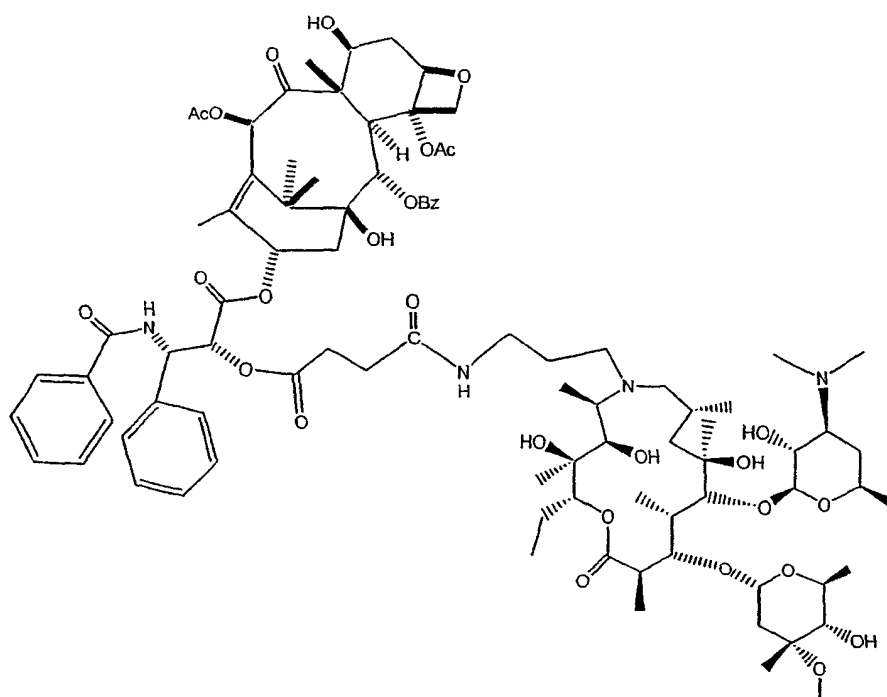
11	 <chem>CC(=O)CCc1ccccc1C(=O)O</chem>
12	 <chem>CC(=O)OCC1=C(C)C(=O)C1C(=O)OCC2=CC=C(C=C2)F</chem>
13	 <chem>CC(=O)OCC1=C(C)C(=O)C1C(=O)OCC2=CC=C(C=C2)C</chem>
14	 <chem>CC(=O)OCC1=C(C)C(=O)C1C(=O)OCC2=CC=C(C=C2)C</chem>
15	 <chem>CC(=O)OCC1=C(C)C(=O)C1C(=O)OCC2=CC=C(C=C2)C</chem>

16	
17	
18	

实施例 V

化合物 19

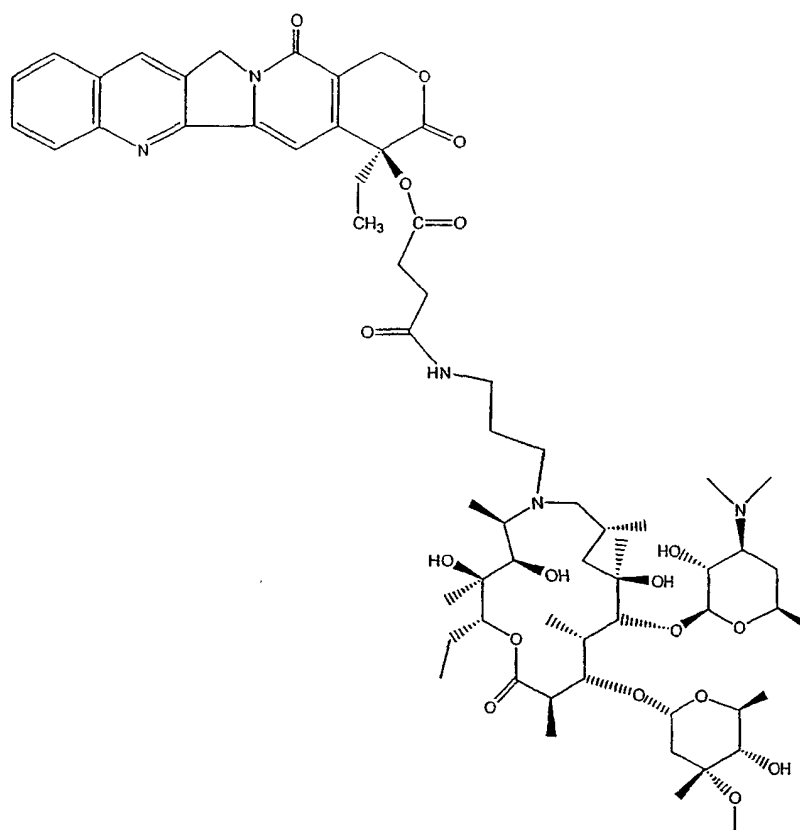
在氩气环境中向琥珀酸紫杉醇(1当量)在干燥 CH_2Cl_2 (5 ml)中的溶液中加入9当量的三乙胺、2当量的1-羟基苯并三唑、1当量的9-脱氧-9a-氮杂-9a-(γ -氨基丙基)-9a-高红霉素A和4当量的1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基-碳化二亚胺盐酸盐。将该反应混合物在室温下和氩气流中搅拌24小时,然后在减压条件下蒸发至小体积且用硅胶柱纯化,使用氯仿、甲醇和氨作为洗脱剂。色谱产物的特征在于具有如下结构式:



实施例 VI

化合物 20

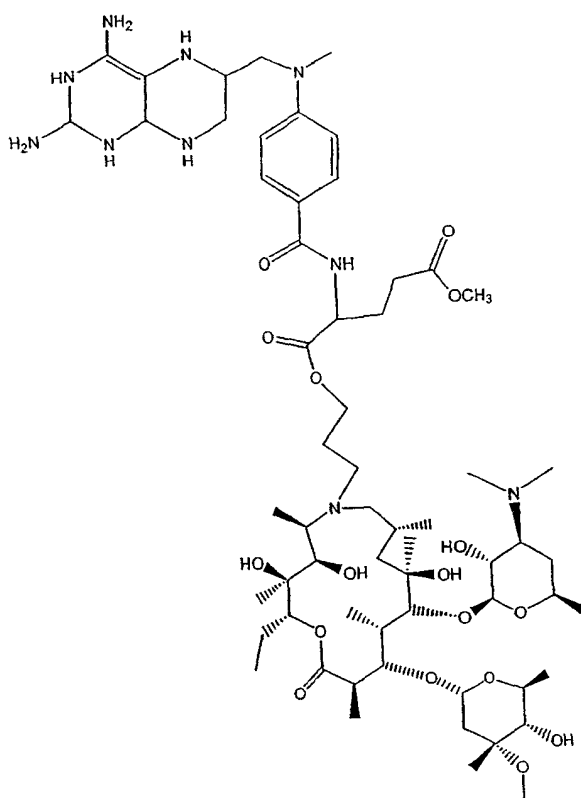
在氩气环境中向琥珀酸喜树碱 (1 当量) 在干燥 CH_2Cl_2 (5 ml) 中的溶液中加入 9 当量的三乙胺、2 当量的 1-羟基苯并三唑、1 当量的 9-脱氧-9a-氮杂-9a-(γ -氨基丙基)-9a-高红霉素 A 和 4 当量的 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基-碳化二亚胺盐酸盐。将该反应混合物在室温下和氩气流中搅拌 24 小时，然后在减压条件下蒸发至小体积且用硅胶柱纯化，使用氯仿、甲醇和氨作为洗脱剂。色谱产物的特征在于具有如下结构式：



实施例 VII

化合物 21

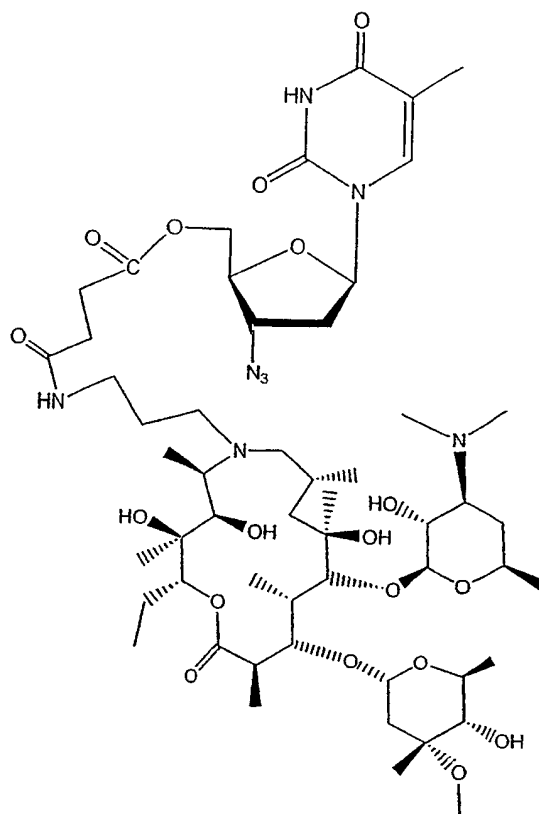
在氩气环境中向 γ -甲基-N'-[4-[N-[(2,4-二氨基-6-蝶啶基)甲基]-N-甲氨基]苯甲酰基]-L-谷氨酸酯(1当量)在干燥DMF中的溶液中加入2当量的1,1-羰基二咪唑(在5 ml DMF中)。将该反应混合物在 -5°C 下搅拌24小时,然后加入1当量的在干燥DMF中的化合物9-脱氧-9a-氮杂-9a-(γ -羟基丙基)-9a-高红霉素A。将该反应混合物在 100°C 下加热48小时,然后蒸发并用硅胶柱纯化,使用氯仿、甲醇和氨作为洗脱剂。色谱产物的特征在于具有如下结构式:



实施例 VIII

化合物 22

在氩气环境中向 5'-O-琥珀酰齐多夫定 (1 当量) 在干燥 CH_2Cl_2 (5 ml) 中的溶液中加入 9 当量的三乙胺、2 当量的 1-羟基苯并三唑、1 当量的 9-脱氧-9a-氮杂-9a-(γ -氨基丙基)-9a-高红霉素 A 和 4 当量的 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基-碳化二亚胺盐酸盐。将该反应混合物在室温下和氩气流中搅拌 24 小时, 然后在减压条件下蒸发至小体积且用硅胶柱纯化, 使用氯仿、甲醇和氨作为洗脱剂。色谱产物的特征在于具有如下结构式:



缩写:

Pyr: 吡啶

NEt₃: 三乙胺

4-PP: 4-吡咯并吡啶

DMAP : 2,6-二甲氨基吡啶

DIPEA: N,N'-二异丙基乙胺

DMF: 二甲基甲酰胺

TFA: 三氟乙酸