

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁶

C07D498/18

A61K 31/395

[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 94194522.7

[45]授权公告日 1999年12月1日

[11]授权公告号 CN 1046944C

[22]申请日 94.12.16 [24]颁证日 99.8.28

[21]申请号 94194522.7

[30]优先权

[32]93.12.17 [33]GB [31]9325802.8

[32]93.12.17 [33]GB [31]9325800.2

[32]94.4.11 [33]GB [31]9407138.8

[32]94.11.1 [33]GB [31]9421982.1

[86]国际申请 PCT/EP94/04191 94.12.16

[87]国际公布 WO95/16691 英 95.6.22

[85]进入国家阶段日期 96.6.17

[73]专利权人 山道士有限公司

地址 瑞士巴塞尔

[72]发明人 S.科藤斯 R.塞德兰尼

[56]参考文献

US5118677 1992. 6. 2 A6K31/395

US5118678 1992. 6. 2 A6K31/395

US5120842 1992. 6. 9 A6K31/395

US5258389 1993.11. 2 A6K31/395

US5310901 1994. 5.10 A6K31/395

US5310903 1994. 5.10 A6K31/395

WO94/09010 1994. 4.28 C07D498/18

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 唐爱军 谭明胜

审查员 田欣

权利要求书 2 页 说明书 25 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 雷帕霉素类衍生物

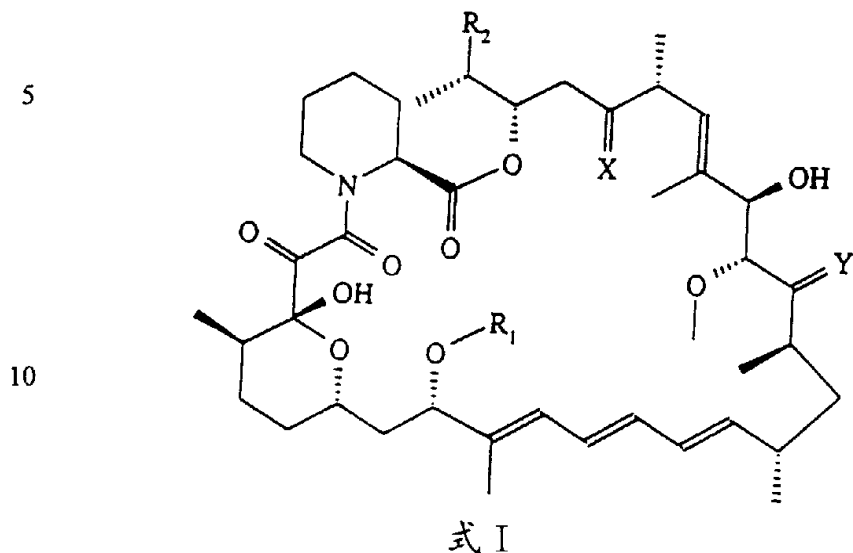
[57]摘要

本申请人发现雷帕霉素的新的脱甲氧基衍生物具有药学用途,尤其可用作免疫抑制剂。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

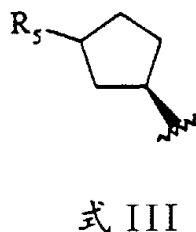
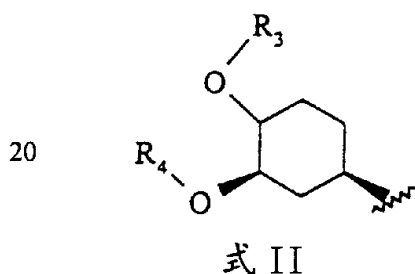
权 利 要 求 书

1. 式 I 的化合物:



15 其中, R_1 为炔基或羟基炔基;

R_2 选自式 II 或式 III:



其中, R_3 为羟基烷基;

25 R_4 为甲基;

R_5 为 (i) R_6O-CH_2- , 其中 R_6 为 H; (ii) R_7CO- , 其中 R_7 选自 H、羟基或 N,N-二取代氨基, 其中取代基 (a) 选自烷基或 (b) 形成杂环结构;

(iii) R_8NCH- , 其中 R_8 为芳基磺酰氨基; 并且

30 X 和 Y 均为 O; 其中“烷基”是指任选地被氧键插入的支链、直链或环状的 C_{1-10} 脂肪族取代基, “芳基”是指单环的, 任选杂环的, C_{4-14} 芳香族取代基。

2. 根据权利要求 1 的式 I 化合物, 其中 R_2 为式 II。

3. 根据权利要求 1 的式 I 化合物, 其中 R_2 为式 III。

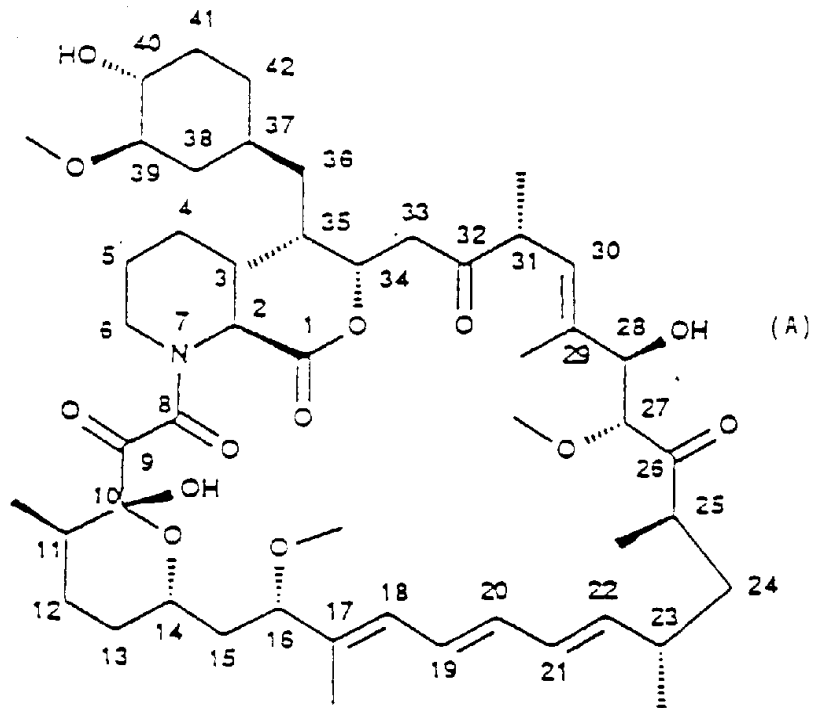
4. 根据权利要求 1 的化合物, 选自
- i. 16-脱甲氧基-16-(戊-2-炔基)氧基-雷帕霉素
 - ii. 16-脱甲氧基-16-(丁-2-炔基)氧基-雷帕霉素
 - iii. 16-脱甲氧基-16-(炔丙基)氧基-雷帕霉素
- 5 iv. 16-脱甲氧基-16-(4-羟基-丁-2-炔基)氧基-雷帕霉素
- v. 16-脱甲氧基-40-0-(2-甲氧基乙基)-16-(戊-2-炔基)氧基-雷帕霉素。
5. 含有权利要求 1-4 中任一项的化合物和可药用稀释剂或载体的药物组合物。
- 10 6. 权利要求 1-4 中任一项的化合物在制备用于治疗或预防下述任何一种疾病的药物中的应用:
- (i) 自身免疫疾病,
 - (ii) 器官或组织移植的急性排斥反应,
 - (iii) 器官或组织移植的超急性排斥反应,
 - 15 (iv) 器官或组织移植的慢性排斥反应,
 - (v) 移植物抗宿主疾病,
 - (vi) 哮喘,
 - (vii) 多药物抗性,
 - (viii) 肿瘤或过度增生疾病, 或
 - 20 (ix) 真菌感染,
 - (x) 炎症, 或
 - (xi) 具有 Mip 或 Mip 样因子的病原体感染。

说明书

雷帕霉素类衍生物

本发明包括雷帕霉素的新的脱甲氧基衍生物，该类衍生物具有药
学用途，尤其是作为免疫抑制剂。

雷帕霉素是由吸水链霉素产生的已知的大环内酯类抗菌素，它具
有下面式 A 所示的结构：



例如参见McAlpine, J. B. 等, J. Antibiotics (1991) 44: 688;
Schreiber, S. L. 等, J. Am. Chem. Soc. (1991) 113: 7433; US
专利3929992 (雷帕霉素有不同的编号方法。为避免混乱, 当本发明

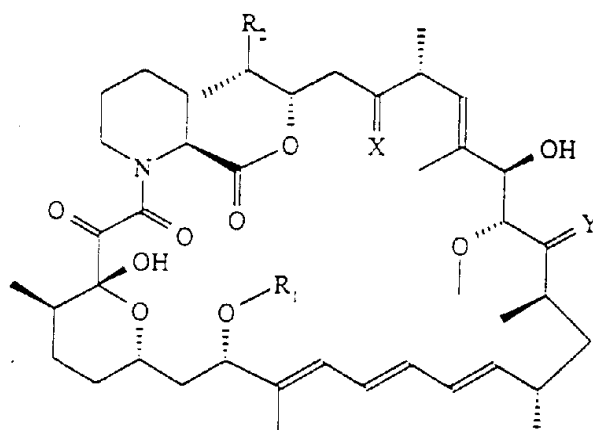
命名具体的雷帕霉素衍生物时，参照式 A 的编号方法进行命名）。雷帕霉素是十分有效的免疫抑制剂，并且也具有抗肿瘤和抗真菌的作用。然而它作为药物应用，受其很低的和变化的生物利用度及其高的毒性所限制。此外，雷帕霉素是十分难溶的，因此使得它难于配制成稳定的盖仑制剂。许多雷帕霉素的衍生物是已知的。在 WO 94/02136 中公开了某些 16-O-取代的雷帕霉素，将该专利的内容在本申请中引用作为参考。40-O-取代的雷帕霉素在例如 US 5 258 389 和 PCT/EP 93/02604（O-芳基和 O-烷基雷帕霉素）；WO 92/05179（羧酸酯），US 5118677（酰胺酯），US 5118678（氨基甲酸酯），US 5100883（氟化酯），US 5151413（醛缩醇）和 US 5120842（甲硅烷基醚）中已有叙述，将这些专利在本申请中引用作为参考。32-O-二氢或取代的雷帕霉素在例如 US 5256790 中已有叙述，将其在本申请中引用作为参考。

现在我们令人惊奇地发现，与雷帕霉素相比，雷帕霉素的某些新的脱甲氧基衍生物（新的化合物）具有改进的药理学特性，它们具有更大的稳定性和生物利用度，制备盖仑制剂更容易，并且是更有效的免疫抑制剂。所述新的化合物包括其中在雷帕霉素的 16 位和/或 39 位上的甲氧基被除去，并且由经选择的取代基取代的雷帕霉素。在不受任何具体理论约束的条件下，我们假定在雷帕霉素上的这些特定的甲氧基是代谢攻击的目标，因此它们能够用特定的经选择的取代基取代，任选地结合分子的某些另外的变化，结果保持了活性，甚至在一些情况下提高了活性，并且同时降低了代谢攻击的感受性。

本发明的新化合物尤其包括下述雷帕霉素：(i) 其中在 16 位上的甲氧基由另一取代基、最好是（任选被羟基取代的）炔氧基取代，和/或(ii) 其中在 39 位上的甲氧基与 39 位上的碳一起被除去，结

果雷帕霉素的环己基环变成没有3,9位甲氧基的环戊基环（即39-脱甲氧基-40-脱氧-39-取代的-42-去甲-雷帕霉素，本申请往往简单地称为环戊基雷帕霉素）。分子的其余部分与雷帕霉素或其免疫抑制衍生物和类似物一样（例如上面所述）。所述新化合物分子还可任选地进一步改变，例如使雷帕霉素40位上的羟基进行烷基化，和/或使32-羰基还原。

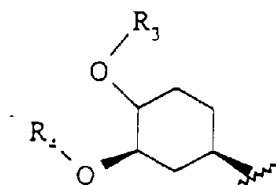
新的化合物最好具有下面式 I 结构：



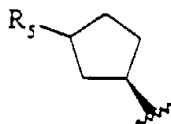
式 I

其中 R₁ 选自烷基、链烯基、炔基、羟基链烯基、羟基烷基、羟基炔基、芳基、烷硫基、芳基烷基、羟基芳基烷基、羟基芳基、二羟基烷基、羟基烷氧基烷基、羟基烷基芳基烷基、二羟基烷基芳基烷基、烷氧基烷基、烷氧基芳基烷基、卤代烷基、卤代芳基、卤代芳基烷基、酰氧基烷基、氨基烷基、烷氨基烷基、烷氧羰基氨基烷基、酰氨基烷基、芳基磺酰氨基烷基、烯丙基、二羟基烷基烯丙基、二氧戊环基烯丙基、烷氧羰基烷基和烷基甲硅烷基；优选不饱和的取代基；更优选芳香或炔基取代基；更优选炔基、羟基炔基、苄基、烷氧基苄基或氯代苄基（其中取代的苄基为邻位取代的）；最优选为炔基或羟基炔基；

R₂ 选自下面式 II 或式 III:



式 II



式 III

这里 R₃ 选自氢、烷基、链烯基、炔基、芳基、烷硫基、芳基烷基、羟基芳基烷基、羟基芳基、羟基烷基、二羟基烷基、羟基烷氧基烷基、羟基烷基芳基烷基、二羟基烷基芳基烷基、烷氧基烷基、酰氧基烷基、氨基烷基、烷氨基烷基、烷氧羰基氨基烷基、酰氨基烷基、芳基磺酰氨基烷基、烯丙基、二羟基烷基烯丙基、二氧戊环基烯丙基、烷氧羰基烷基和烷基甲硅烷基；优选羟基烷基、羟基烷氧基烷基、酰氨基烷基、烷氧基烷基和氨基烷基；特别是羟基乙基、羟基丙基、羟基乙氧基乙基、甲氧基乙基和乙酰氨基乙基；

R₄ 为氢、甲基、或者与 R₃ 一起形成 C₂₋₆ 亚烷基；

R₅ 为取代或未取代的酰基（例如甲酰基、羧基、酰胺或酯）、氧甲基、亚氨基甲基或二氧次甲基（例如 -O-CH-O-）；优选 (i) 氧甲基，例如羟甲基，通常为例如 R₆ -O-CH₂-，这里 R₆ 选自氢、烷基、链烯基、炔基、芳基、氨基、酰基（例如烷基羰基、芳基羰基、杂芳基羰基、羟烷基羰基、氨基烷基羰基或甲酰基）、烷硫基、芳基烷基、羟基芳基烷基、羟基芳基、羟基烷基、二羟基烷基、羟基烷氧基烷基、羟基烷基芳基烷基、二羟基烷基芳基烷基、烷氧基烷基、酰氧基烷基、氨基烷基、烷氨基烷基、烷氧羰基氨基烷基、酰氨基烷基、芳基磺酰氨基、烯丙基、二羟基烷基烯丙基、二氧戊环烯丙基、

烷氧羰基烷基以及烷基甲硅烷基；(ii) 酰基，例如(4-甲基-哌嗪-1-基)-羰基、(吗啉-4-基)-羰基、或N-甲基-N-(2-吡啶-2-基-乙基)-氨基甲酰基，例如通常为 R_7CO- ，这里 R_7 选自氢、烷基、羟基、烷氧基、芳氧基、酰氨基、烷基酰氨基、氨基酸的残基、或N,N-二取代的酰氨基，这里取代基(a)选自烷基、芳基、芳基烷基或烷基芳基，或(b)形成杂环结构(例如吗啉代或哌嗪子基)；(iii) 亚氨基甲基，例如对甲苯磺酰基亚胍基甲基，例如通常为 R_8NCH- ，这里 R_8 为烷基、芳基、氨基、烷氨基、芳基氨基、或芳基磺酰氨基；或(iv) 二氧取代的二氧次甲基类化合物，例如O,O-(亚烷基)-二氧次甲基(即这里二个氧通过亚烷基连接)；并且

X和Y独立地选自O、(H, OH)和(H, OR₉)，这里R₉选自烷基(优选C₁₋₄烷基)、酰基(例如烷基羰基、芳基羰基、杂芳基羰基、羟基烷基羰基、氨基烷基羰基或甲酰基)，或芳基；

这里“烷基(alk或alkyl)”是指任选地被氧(-O-)键插入的C₁₋₁₀(优选C₁₋₆)脂肪族取代基(支链、直链或环状的)；

“芳基(ar或aryl)”是指单环(任选杂环，可任选取代)C₄₋₁₄芳香族取代基(例如甲苯基、苯基、苄基、吡啶基等)；

条件是当R₂为式II时，R₁不是甲基，并且(i) R₃选自羟基烷基、烷氧基烷基、羟基烷氧基烷基、酰氨基烷基和氨基烷基；和/或(ii) X不是氧；和/或(iii) R₁为(任选羟基取代的)炔基，优选(任选羟基取代的)烷-2-炔基，例如丙-2-炔基、丁-2-炔基、戊-2-炔基或4-羟基-丁-2-炔基；以及另外的条件是当R₁为甲基时，R₂为式(III)。

式I的脱甲氧基雷帕霉素还包括：

(a) 16-O-取代的雷帕霉素，其中R₁选自(i)苄基、邻-烷氧基苄基和氯苄基(尤其是苄基或邻-甲氧基苄基)，或(ii)(任选羟基取代的)炔基，优选(任选羟基取代的)烷-2-炔基，尤其是(i)丙-2-炔基、丁-2-炔基、戊-2-炔基和4-羟基-丁-2-炔基；R₂为式II；R₃选自氢、羟基烷基、烷氧基烷基、羟基烷氧基烷基、酰氨基烷基和氨基烷基；R₄为甲基；X和Y独立地选自O、(H, OH)和(H, C₁₋₄烷氧基)；并且

最优选下述16-O取代的雷帕霉素，其中R₁为炔基或羟基炔基，尤其是(任选羟基取代的)(C₃₋₆炔-2-基；R₂为式II；R₃选自氢、羟基烷基、烷氧基烷基、羟基烷氧基烷基；R₄为甲基；并且X和Y为O；

(b) 16-O-取代的雷帕霉素，其中R₁选自烷基、链烯基、炔基、芳基、烷硫基、芳基烷基、羟基芳基烷基、羟基芳基、羟基烷基、二羟基烷基、羟基烷氧基烷基、羟基烷基芳基烷基、二羟基烷基芳基烷基、烷氧基烷基、酰氧基烷基、氨基烷基、烷氨基烷基、烷氧羰基氨基烷基、酰氨基烷基、芳基磺酰氨基烷基、烯丙基、二羟基烷基烯丙基、二氧戊环基烯丙基、烷氧羰基烷基和烷基甲硅烷基(尤其是炔基)，这里“烷基”是指任选地被氧(-O-)键插入的C₁₋₁₀脂肪族取代基(支链、直链或环状的)，并且芳基是指单环芳香族取代基；条件是如果R₁为甲基，那么该化合物为16-表-雷帕霉素；R₂为式II；R₃为氢；R₄为甲基；并且X和Y为氧；以及

(c) 环戊基雷帕霉素，其中R₂为式III，并且R₁、R₅、X和Y的定义同上；例如其中R₁为甲基，X和Y为氧，R₅为取代或未取代的酰基(例如甲酰基、羧基、酰氨或酯)、氧甲基、亚氨基甲基或二氧次甲基如(-O-CH-O-)；例如(i)氧甲基，如R₅ O-CH₂-，

这里 R₆ 选自氢、烷基、链烯基、炔基、芳基、烷硫基、芳基烷基、羟基芳基烷基、羟基芳基、羟基烷基、二羟基烷基、羟基烷氧基烷基、羟基烷基芳基烷基、二羟基烷基芳基烷基、烷氧基烷基、酰氧基烷基、氨基烷基、烷氨基烷基、烷氧羰基氨基烷基、酰氨基烷基、芳基磺酰氨基烷基、烯丙基、二羟基烷基烯丙基、二氧戊环基烯丙基、烷氧羰基烷基和烷基甲硅烷基；(ii) 酰基，例如 R₇CO，这里 R₇ 选自氢、烷基、羟基、烷氧基、芳氧基、酰氨基、烷基酰氨基、氨基酸的残基或 N，N-取代的酰氨基，这里取代基形成杂环结构（例如吗啉代或哌嗪子基）；(iii) 亚氨基甲基，例如烷基亚氨基甲基、芳基亚氨基甲基或亚胍基甲基；或(iv) 二氧取代的二氧次甲基类化合物，例如 O，O-(亚烷基)二氧次甲基（即其中二个氧通过亚烷基基团连接）；这里“烷基”是指 C₁₋₆ 脂肪族基团（直链、支链或环状的），优选 C₁₋₃，其中碳链可任选被醚键（-O-）插入；“芳基”是指芳香族基团，优选单环芳香族基团。

尤其优选的式 I 化合物包括：

1. 16-脱甲氧基-16-(戊-2-炔基)氧基-雷帕霉素
2. 16-脱甲氧基-16-(丁-2-炔基)氧基-雷帕霉素
3. 16-脱甲氧基-16-(炔丙基)氧基-雷帕霉素
4. 16-脱甲氧基-16-(4-羟基-丁-2-炔基)氧基-雷帕霉素
5. 16-脱甲氧基-16-苄氧基-40-O-(2-羟乙基)-雷帕霉素
6. 16-脱甲氧基-16-苄氧基-雷帕霉素
7. 16-脱甲氧基-16-邻-甲氧基苄基-雷帕霉素
8. 16-脱甲氧基-40-O-(2-甲氧基乙基)-16-(戊-

2-炔基)氧基-雷帕霉素

9. 39-脱甲氧基-40-脱氧-39-甲酰基-42-去甲-雷帕霉素

10. 39-脱甲氧基-40-脱氧-39-羟甲基-42-去甲-雷帕霉素

11. 39-脱甲氧基-40-脱氧-39-羧基-42-去甲-雷帕霉素

12. 39-脱甲氧基-40-脱氧-39-(4-甲基哌嗪-1-基)羧基-42-去甲-雷帕霉素

13. 39-脱甲氧基-40-脱氧-39-(吗啉-4-基)羧基-42-去甲-雷帕霉素

14. 39-脱甲氧基-40-脱氧-39-[N-甲基, N-(2-吡啶-2-基-乙基)]氨基甲酰基-42-去甲-雷帕霉素

15. 39-脱甲氧基-40-脱氧-39-(对甲苯磺酰基亚胍基甲基)-42-去甲-雷帕霉素。

所述化合物通常可由雷帕霉素或雷帕霉素衍生物按下述方法进行制备:

1. 如果所需的化合物为其中 R_1 不是甲基的式I化合物,那么16-O的修饰可按下述方法进行:(i)使雷帕霉素或雷帕霉素衍生物与 SeO_2 和式 R_1-OH 化合物于合适的反应条件(如升高的温度)下反应,这里 R_1 的定义同上;或者最好(ii)使雷帕霉素或雷帕霉素衍生物与酸(如对甲苯磺酸)和亲核试剂(如 R_1-OH)于室温下在合适的非质子传递溶剂(如二氯甲烷、乙腈或THF)中反应。

2. 如果需要的化合物为其中 R_2 为式II,并且 R_3 不是氢的式I化合物,那么 C_{40} 羟基的O-烷基化可以用下法完成:例如与同离去基团相连的有机基团(如 R_3-Z ,这里 R_3 为以上定义的有机基

团，例如烷基、烯丙基或苄基，它们是所需要的O-取代基，Z为离去基团如 CCl_3 、 $\text{C}(\text{NH})\text{O}$ 或 CF_3SO_3 ）于合适的反应条件（如在酸例如三氟甲磺酸、樟脑磺酸、对甲苯磺酸存在下，或如果Z为 CCl_3 、 $\text{C}(\text{NH})\text{O}$ 则在它们各自的吡啶鎓或取代的吡啶鎓盐存在下，或如果Z为 CF_3SO_3 ，则在碱如吡啶、取代的吡啶、二异丙基乙胺或五甲基哌啶存在下）下进行反应，或按类似于US 5258389或PCT/EP 93/02604所述雷帕霉素的40-O烷基化的方法进行。

3. 如果需要的化合物为其中 R_2 为式III的式I化合物，那么将式II的环己基环转变为式III的环戊基环可以用下法完成：与吗啉代三氟化硫反应，得到醛类化合物（例如其中 R_2 为甲酰基）。然后使得到的化合物由醛氧化为羧酸（例如其中 R_2 为羧基），或者由醛还原为醇（例如其中 R_2 为羟甲基）。进一步O-取代或修饰以制备本发明其它化合物可以按熟悉本技术领域的专业人员已知的方法进行，例如可按下述的一般方法进行：(i) 对于氧甲基衍生物，使醇化合物按类似于上述40-O-取代反应的方法进行反应；(ii) 对于酰基衍生物，使羧酸化合物与所需胺或醇于活化剂或偶合剂如草酰氯或二环己基碳二亚胺存在下进行反应，结果分别得到所需的酰胺或酯类化合物；以及(iii) 对于亚氨基甲基或二氧次甲基类化合物，可使所述醛类化合物分别与所需的胺或亚烷基二醇于酸性条件下进行缩合。

4. 如果所需的化合物为其中X不是氧的式I化合物，那么32-O-二氢化合物（其中X为H, OH）可以用下法制备：例如可按类似于US 5256790所述从雷帕霉素制备32-O-二氢-雷帕霉素的方法，将雷帕霉素28和40位上羟基的氧进行保护（如用三乙基甲硅烷基醚保护基），还原该被保护的化合物（例如用L-selectride），任选脱保护（例如在温和的酸性条件下）。如果需要在32位羟基上进行取代，

那么可使28, 40-O, O-被保护的化合物进行烷基化。(例如按以上所述40-O烷基化的方法进行), 酰化, 或进行其他O-取代, 例如按类似于US 5256790所述方法进行。

上述方法可以按任一顺序进行, 最好用雷帕霉素作为基本的起始原料。如果需要, 可以在进行上述各个反应之前将起始原料和中间体进行保护(例如按方法4所述进行O-保护), 然后再脱去保护, 得到所需的最终产物。

本发明的新化合物尤其可用于下述疾病:

a) 治疗和预防器官或组织移植排异反应, 例如治疗如心脏、肺、合并的心脏-肺、肝脏、肾、胰、皮肤或角膜移植受体的排异反应; 包括治疗和预防急性排异反应; 治疗和预防超急性的排异反应, 例如与异种移植有关的排异反应; 治疗和预防慢性排异反应, 例如与脉管移植物有关的疾病。本发明的新化合物还显示有治疗和预防如骨髓移植后的移植物抗宿主疾病。

b) 治疗和预防自身免疫疾病以及炎症, 尤其是与病原学有关的炎症, 包括自身免疫成分例如关节炎(如风湿性关节炎、慢性进行型关节炎和变形性关节炎)以及风湿性疾病。可以应用本发明化合物治疗的具体的自身免疫疾病包括自身免疫血液学疾病(包括例如溶血性贫血、再生障碍性贫血、纯红细胞贫血以及自发的血小板减少症)、全身性红斑狼疮、多软骨炎、硬化病、韦格内氏肉芽肿病、皮肤肌炎、慢性活动性肝炎、重症肌无力、牛皮癣、史蒂文斯-约翰逊综合征、自发的口炎性腹泻、自身免疫炎性肠疾病(例如包括溃疡性结肠炎和节段性回肠炎)、内分泌的眼病、格雷夫斯病、肉样瘤病、多发性硬化、原发性胆汁性肝硬变, 青少年糖尿病(I型糖尿病)、眼色素层炎(前眼色素层炎和后眼色素层炎)、干性角膜结膜炎和春季角膜结

膜炎、间质的肺纤维变性、牛皮癣患者关节炎、肾小球性肾炎（有或无肾变病综合征，例如包括自发的肾变病综合征或最小改变的肾病）以及幼年皮肤肌炎。

c) 治疗和预防哮喘。

d) 治疗多药抗药性（MDR）。本发明的新化合物可抑制 P - 糖蛋白（Pgp），Pgp是与MDR 有关的膜输送分子。在癌患者和AIDS患者中MDR 尤其成问题，由于药物被Pgp 从细胞中排出，因此一般的化学疗法对患者不起作用。在治疗和控制多药抗药性（如多药物抗性的癌和多药物抗性的AIDS）中，本发明的新化合物可用于提高其他化学治疗药物的效力。

e) 治疗增生性疾病，例如肿瘤、过度增生的皮肤疾病等。

f) 治疗真菌感染。

g) 治疗和预防炎症，尤其可加强类固醇的作用。

h) 治疗和预防感染，尤其是具有Mip 或Mip 样因子的病原体的感染。

因此，本发明提供了用作新的中间体或药物的新的化合物，通过给需要治疗的患者施用有效剂量的新化合物治疗或预防上述疾病的方法，新化合物在制备用于治疗或预防上述疾病的药物中的应用，以及含有新化合物和药学上可接受的载体或稀释剂的药物组合物。

以药学上适用的剂型给需要治疗的患者施用药学上有效剂量的本发明新的化合物。当然，本发明新化合物的合适剂量可以变化，例如取决于被治疗患者的病况（例如疾病类型或抗药性的状况）、所希望的作用以及给药的方式。

然而，一般来讲，口服给予剂量0.05~ 5 或直到10mg/kg/天（例如一次给予0.1~ 2 或直到7.5mg/kg/天，或每天分次剂量 2 ~

4次)，或经非肠道给药，例如静脉内给药（如静脉滴注或输注），剂量从0.01~2.5直到5mg/kg/天（例如0.05或0.1直到1.0mg/kg/天），均可得到满意的结果。因此，患者每天合适的口服剂量为500mg（例如5~100mg口服），或静脉内给药0.5~125直到250mg（例如静脉内给药2.5~50mg）。

另外，更好的是根据患者的具体情况给予一定的剂量，以便提供预定的血液中含量（例如根据RIA技术测定）。因此，通过RIA测定血液中含量，即与目前应用于确定免疫抑制剂环孢菌素治疗剂量类似的方法，对给予患者的剂量进行调节，以便得到稳定的剂量50或150直到500或1000ng/ml，即按照类似于Ciclosporin免疫抑制疗法目前所用的剂量方法进行。

新的化合物可以作为单独有效成分给药，或者与其他药物一起给药。例如，在免疫抑制方面的应用如在预防和治疗移植物抗宿主疾病、移植排异反应或自身免疫疾病中，本发明的新化合物可以与环孢菌素类或子囊菌素类或其他类似的免疫抑制剂如环孢菌素A、环孢菌素G、FK-506等以及皮质类甾醇类、环磷酰胺、硫唑嘌呤、甲氨蝶呤、brequinar、来氟米特、咪唑立宾、免疫抑制剂单克隆抗体如白细胞受体的单克隆抗体（例如MHC、CD2、CD3、CD4、CD7、CD25、CD28、CTLA4、B7、CD45或CD58或其配体）或其他的免疫调节剂化合物一起合并应用。作为免疫抑制剂的应用，例如治疗和预防器官或组织移植排异反应，最好是与IL-2转录抑制剂如免疫抑制剂环孢菌素类（例如环孢菌素A）和子囊菌素（例如FK-506）并用。作为抗炎剂应用，本发明的新化合物还可以与抗炎药如皮质类甾醇一起应用。作为抗感染剂应用，本发明的新化合物可以与其他抗感染剂如抗病毒药或抗菌素一起并用。

本发明的新化合物可以按任一常用的途径给药，尤其是经肠给药，

如口服给药，例如以饮用的溶液剂形式、片剂或胶囊剂形式给药，或经非肠道途径给药，例如以可注射的溶液剂或混悬液剂形式给药。口服给药合适的单位剂量形式含有例如 1~50mg、通常为 1~10mg 本发明的化合物。含有本发明新化合物的药物组合物可以按类似于含有雷帕霉素的药物组合物的方法（例如按 EPA 0041795 所述）制备，这对熟悉本技术领域的专业人员来讲是很显然的。

本发明新化合物的药理学活性例如可按下述试验进行测定。

1. 混合淋巴细胞反应 (MLR)

混合淋巴细胞反应检测方法的建立最初与同种移植有关，用于评价器官供者与受者之间的组织相容性，它是业已建立的最好的体外免疫反应模型之一。小鼠 MLR 模型，例如，如 T. Meo 在“免疫学方法”一书（L. Lefkovits and B. Peris, Eds., Academic Press, N. Y. PP. 227-239 (1979)）中所述，被用于证明本发明新化合物的免疫抑制作用。将取自 8-10 周龄的雌性 Balb/c 小鼠的脾细胞 (0.5×10^6) 与取自 8-10 周龄的雌性 CBA 小鼠的并经辐射 (2000 rads) 或丝裂霉素 C 处理过的脾细胞 (0.5×10^6) 一起温育 5 天。这种辐射处理过的同种异基因细胞在 Balb/c 小鼠脾细胞中可诱导增殖反应，后者可借助标记前体与 DNA 结合进行检测。鉴于刺激者细胞经过辐射（或丝裂霉素 C 处理过），它们不能与具有增殖能力的 Balb/c 小鼠细胞反应，但其抗原性仍然保持。检测不同稀释度下本发明新化合物对 Balb/c 小鼠脾细胞的抗增殖效应，并计算出细胞增殖抑制 50% 所需要的受试化合物浓度 (IC_{50})。所有例举的本发明新化合物在本试验中都是有活性的。例举化合物中的炔基衍生物都是格外强效的免疫抑制剂，它们在本测定中的 IC_{50} 只相当于雷帕霉素的 0.3~0.8，即其免疫抑制活性最高可达雷帕霉素的 3 倍。

2. IL-6介导的增殖反应

用白介素-6 (IL-6) 依赖性小鼠杂交细胞株评价本发明新化合物干扰与信号通路有关的生长因子的能力。该测定用96井微量滴定板进行。5000个细胞/井在无血清培养基中进行培养(按M.H.Schreier和R.Tees在“Immunological Method”一书(I. Lefkovits and B. Pernis, eds., Academic Press, 1981, Vol II, pp. 263~275))中所述的方法), 培养基中补充重组IL-6 1 ng/ml。在受试样品不存在或存在的条件下培养66小时后, 加1 μ ci (3-H) 胸苷1井继续培养6小时, 使细胞产生脉冲, 然后收获细胞并用液体闪烁仪计数。与DNA结合的(3-H)胸苷的量随细胞数量的增加而增加, 故可作为判断细胞增殖的指标。由不同稀释度受试样品的检测结果计算出细胞增殖抑制50%所需要的受试样品浓度(IC₅₀)。本测定中所有例举的本发明新化合物都是有活性的。例举化合物中的炔基衍生物都是格外强效的免疫抑制剂, 它们在本测定中的IC₅₀只相当于雷帕霉素的0.2~0.9, 即其免疫抑制活性最高可达雷帕霉素的5倍。

3. Macrophilin 结合测定

已知雷帕霉素和结构上与其相关的免疫抑制剂FK-506 都可在体内与macrophilin-12(也称为FK-506结合蛋白或FKBP-12)结合, 据认为这种结合与这些化合物的免疫抑制活性有关。正如在竞争结合测定中所证明的那样, 新化合物与macrophilin-12的结合能力也很强。在本测定中, 与BSA结合的FK-506用于涂布微滴井。在受试样品存在或不存在的条件下, 将生物素标记的重组人macrophilin-12(biot-MAP)结合到固定化的FK-506上。用如下方法检测结合的biot-MAP量: 冲洗(为了去除非特异结合的macrophilin)后, 加入抗生素蛋白链菌素-碱性磷酸酯酶复合物, 一起温育后冲洗, 随后加入磷酸对硝

基苯酯作为底物。在405nm 波长处读取OD值。受试样品与biot-MAP的结合导致与FK-506结合的biot-MAP量减少, 所以OD 405值随之减少。根据不同稀释度的受试样品的检测结果, 计算出抑制50%biot-MAP 与固定化FK-506 结合所需要的受试样品浓度(IC₅₀)。在本测定中, 所有例举的新化合物都显示与FKBP具有良好的结合能力。

4. 移植物对宿主(GVH)局部反应

在适当的动物模型上, 例如按Ford等所报告的方法(TRANSPLANTATION 10(1970)258), 证明新化合物的体内效应。将6周龄的雌性 Wistar/Furth(WF)大鼠的脾细胞(1×10^7)皮下注入到体重约100克的雌性(F344 x WF)F₁大鼠的左后爪内, 记为0天。连续注射4天, 在7天时, 摘除腭淋巴结, 并称重。左右二淋巴结的重量差别大小作为评价GVH 反应的参数。

5. 大鼠中异种肾移植排异反应

用对端吻合术将雌性Fischer 344大鼠的一只肾移植到单侧(左侧)肾切除的WF大鼠的肾血管上。输尿管也采用对端吻合术。移植当天开始治疗, 连续治疗14天。移植后7天, 作对侧肾切除术, 让受肾鼠靠供者肾的功能得以继续生存。受肾者的存活率作为评价移植有效性的参数。

6. 实验诱导的大鼠变态反应性脑髓鞘炎(EAE)

新化合物在EAE 病中的作用例如按如下文献报告的方法进行评价: Levine & Wenk, AMER J PATH, 47(1965)61; McFarlin et al, J IMMUNOL 113(1974)712; Borel, TRANSPLANT. & CLIN. IMMUNOL 13(1981)3。EAE 是一种得到广泛承认的多发性硬化病动物模型。将牛脊髓和Freund's 氏完全佐剂的混合物注入雄性Wistar大鼠的两后爪内。通常在16天内出现该病的症状(鼠尾和后腿瘫痪)。记录

发病的动物数以及疾病发作开始的时间。

7. 弗氏佐剂关节炎

新化合物对实验性关节炎的治疗作用按如下文献报告的方法进行评价：Winter & Nuss, ARTHRITIS & RHEUMATISM 9(1966)394；Billingham & Davies, HANDBOOK OF EXPERIMENTAL PHARMACOL (Vane & Ferreira Eds, Springer-Verlag, Berlin) 50/II (1979) 108~144。将含有0.6mg冻干的热灭活耻垢分枝杆菌的0.1ml矿物油注入体重150克的雄性或雌性OFA和Wistar大鼠的尾基部或后爪中。在发展中的关节炎模型中，注射佐剂后立即开始治疗（1-18天）；在已形成的关节炎模型中，从注射后14天开始治疗，此时第二阶段的炎症得以很好地形成（14-20天）。实验结束时，用千分尺测量关节肿胀。ED₅₀是指关节肿胀（第一阶段或第二阶段）减少到对照动物的一半时所需要的口服剂量（mg/kg）。

8. 抗肿瘤和MDR活性

用如下方法证实新化合物的抗肿瘤活性以及通过减轻多药耐药性而增强抗肿瘤药的疗效：在体外培养的耐多种药物的肿瘤细胞和对药物敏感的细胞中单独施用抗肿瘤药如秋水仙碱或依托泊甙，或与待试新化合物配伍使用；在整体动物试验中，将抗肿瘤药单独或与待试新化合物一起施予有耐药肿瘤或对药物敏感的肿瘤（或感染）的动物；以及单独用新化合物试验。体外试验按综合了的文献方法，如Ling等（J. Cell. Physiol. 83, 103-106 (1974)）和Bech-Hansen等（J. Cell. Physiol. 88, 23-32 (1976)）所报道的方法进行，采用合适的耐药细胞株和对照（母体的）细胞株。所选用的特殊细胞系有耐多药（如耐秋水仙碱）细胞系CHR（亚细胞系C5S3.2）及其母体，即敏感细胞株AUI B1（亚细胞系AB1 S11）。在整体动物上，例如注

射过耐多药的肿瘤细胞或对药物敏感的肿瘤细胞的小鼠实验中，证实了新化合物的体内抗肿瘤活性和抗MDR活性。按照Stater等（*J. Clin. Invest.*, 70, 1131 (1982)）报道的方法，将Ehrlich腹水癌（EA）细胞株连续传给BALB/C宿主小鼠的后代，培育成耐DR、VC、AM、ET、TE或CC等药物物质的Ehrlich腹水癌亚细胞株。在下述条件下也可得到相同的结果：例如在体外试验中采用可比较的新化合物试验模型设计，或在整体动物试验中，采用感染了下述株的试验动物；耐药的或药物敏感的病毒株，耐抗菌素（如青霉素）的或敏感的细菌株，耐抗霉菌的或敏感的霉菌株，以及耐药原生动物株（如原虫株，例如天然产生的显示获得耐化学治疗药和抗疟药的恶性疟原虫亚株）。

9. 甾类化合物增效作用

新化合物的macrophilin结合活性使其在皮质甾类药理作用的加强或增效方面也是有用的。本发明的化合物与皮质甾类药物如地塞米松结合起来治疗，使得甾醇活性大大增强。这种作用可以在鼠乳房瘤病毒-氯霉素乙酰基转移酶（MMTV-CAT）报道基因试验中得到证实，正如Ning等所报道的（*J. Biol. Chem.* (1993) 268: 6073）。这种协同作用可使皮质甾类的用药量减少，故可降低某些病例中出现的副反应危险。

10. Mip或Mip样因子抑制作用

此外，新化合物可结合和阻断各种巨噬细胞传染性增强剂（Mip）和Mip样因子，后者的结构与macrophilin相似。Mip和Mip样因子是各种病原体产生的毒性因子，这些病原体包括Chlamidia属（如Chlamidia trachomatis）、Neisseria属（如Neisseria meningitidis）和Legionella属（如Legionella pneumophila）；这些毒性因子也可由多种专性寄生的立克次体目产生。这些因子在细胞内感染的建立

方面起着关键性的作用。采用Lundemose等在Mol. Microbiol(1993) 7: 777上发表的方法, 通过比较在macrolides存在和不存在的条件下细胞培养物中病原体的感染性, 可以证实新化合物在降低能产生Mip或Mip样因子的病原体的感染性方面所起的作用。

本发明新化合物也可用于某些检查与macrophilin结合的化合物存在与否或其含量测定的试验中, 例如在以诊断或筛查为目的的竞争性试验中。因此, 在别的具体应用方面, 本发明的新化合物可用作一种筛查工具, 以检查试验溶液(如待筛查的血、血清或实验用肉汤)中与macrophilin结合的化合物的存在。较可取的方法是将本发明新化合物固定到微量滴定板井中, 然后在试验溶液存在或不存在的条件下让其与标记macrophilin-12(FKBP-12)结合。或者, 也可将FKBP-12固定在微量滴定板井中, 并使其在试验溶液存在或不存在的条件下与已进行荧光、酶或放射性标记的新化合物(例如其中R₁含一个标记基团的式I新化合物)结合。洗涤滴定板并测定被结合的标记化合物的量。试验溶液中与macrophilin结合的化合物量与被结合的标记化合物的量大致成反比关系。定量分析时, 要用已知浓度的macrophilin结合化合物制作标准结合曲线。

下面的实施例意图在于说明本发明而不是限制本发明。提供了特征光谱资料以有助于各化合物的鉴别。

实施例 1

16-脱甲氧基-16-(戊-2-炔基)氧基-雷帕霉素

向0.6ml 2-戊炔-1-醇在5ml CH₂Cl₂中的溶液中加入456mg 雷帕霉素, 然后加入5mg对甲苯磺酸。将混合物在室温下搅拌2小时。然后用7ml饱和NaHCO₃水溶液终止反应。分离水相并用乙酸乙酯萃取两次, 每次10ml。合并有机相, 用硫酸钠干燥并蒸发溶剂。

残余物用硅胶色谱法纯化，用乙酸乙酯/己烷（3/2）洗脱。粗产物最后用制备HPLC（RP-18，250×10mm，MeOH/H₂O 80/20，3 ml/分）纯化。

MS (FAB) m/z 972 (M+Li)

H-NMR (CDCl₃) (主要异构体) δ: 0.67 (1H, q); 1.13 (3H, t); 1.67 (3H, s); 1.74 (3H, s); 3.33 (3H, s); 3.40 (3H, s); 3.73 (1H, d); 3.77 (1H, dm); 4.01 (1H, dm); 4.16 (1H, d); 4.66 (1H, s).

实施例 2

16-脱甲氧基-16-(丁-2-炔基)氧基-雷帕霉素

向0.4ml 2-丁炔-1-醇在3 ml CH₂Cl₂ 中的溶液中加入251mg 雷帕霉素，然后加入4 mg对甲苯磺酸。将混合物在室温下搅拌2小时。然后用7 ml饱和NaHCO₃ 水溶液终止反应。分离水相并用乙酸乙酯萃取两次，每次10ml。合并有机相，用硫酸镁干燥并蒸发溶剂。残余物用硅胶色谱法纯化，用乙酸乙酯/己烷（3/2）洗脱。粗产物最后用制备HPLC（RP-18，250×10mm，MeOH/H₂O 80/20，3 ml/分）纯化。

MS (FAB) m/z 958 (M+Li)

H-NMR (CDCl₃) (主要异构体) δ: 0.67 (1H, q); 1.67 (3H, s); 1.74 (3H, s); 1.83 (1H, bs); 3.33 (3H, s); 3.40 (3H, s); 3.72 (1H, d); 3.75 (1H, dm); 4.01 (1H, dm); 4.16 (1H, d); 4.73 (1H, s).

实施例 3

16-脱甲氧基-16-(炔丙基)氧基-雷帕霉素

向0.3ml 炔丙醇在3 ml CH₂Cl₂ 中的溶液中加入251mg 雷帕霉素，然后加入4 mg对甲苯磺酸。将混合物在室温下搅拌2小时。然后用7 ml饱和NaHCO₃ 水溶液终止反应。分离水相并用乙酸乙酯萃取

两次，每次10ml。合并有机相，用硫酸钠干燥并蒸发溶剂。残余物用硅胶色谱法纯化，用乙酸乙酯/己烷（3/2）洗脱。粗产物最后用制备HPLC（RP-18，250×10mm，MeOH/H₂O 80/20，3 ml/分）纯化。

MS (FAB) m/z 944 (M+Li)

H-NMR (CDCl₃)(主要异构体) δ: 0.68 (1H, q); 1.66 (3H,s); 1.74 (3H, s); 2.32 (1H, bt); 3.34 (3H, s); 3.41 (3H, s); 3.67 (1H, d); 3.83 (1H, dm); 4.08 (1H, dm); 4.16 (1H, d); 4.84 (1H, s).

实施例 4

16-脱甲氧基-16-(4-羟基-丁-2-炔基)氧基-雷帕霉素

向940mg 2-丁炔-1,4-二醇在6 ml CH₂Cl₂中的混悬液中加入502mg 雷帕霉素，然后加入5 mg对甲苯磺酸。将混合物在室温下搅拌2小时。然后用10ml饱和NaHCO₃水溶液终止反应。分离水相并用乙酸乙酯萃取两次，每次10ml。合并有机相，用硫酸钠干燥并蒸发溶剂。残余物用硅胶色谱法纯化，用乙酸乙酯/己烷（4/1）洗脱。粗产物最后用制备HPLC（RP-18，250×25mm，MeOH/H₂O 75/25，7 ml/分）纯化。

MS (FAB) m/z 974 (M+Li)

H-NMR (CDCl₃)(主要异构体) δ: 0.67 (1H, q); 1.67 (3H,s); 1.75 (3H, s); 3.33 (3H, s); 3.41 (3H, s); 3.73 (1H, d); 3.81 (1H, dm); 4.08 (1H, dm); 4.17 (1H, d); 4.28 (2H, bs); 4.67 (1H, s).

实施例 5

16-脱甲氧基-16-苄氧基-40-O-(2-羟乙基)-雷帕霉素

向0.6ml 苜醇在3 ml CH_2Cl_2 中的溶液中加入264mg 40-O-(2-羟乙基)-雷帕霉素(按WO 94/09010所述方法制备), 然后加入5 mg对甲苯磺酸。将混合物在室温下搅拌1小时。然后用7 ml饱和 NaHCO_3 水溶液终止反应。分离水相并用乙醚萃取两次, 每次10ml。合并有机相, 用硫酸钠干燥并蒸发溶剂。残余物用硅胶色谱法纯化, 用乙基己烷/丙酮(4/1)洗脱, 然后用己烷/丙酮(1/1)洗脱。粗产物最后用制备HPLC(RP-18, 250×25mm, $\text{CH}_3\cdot\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 75/25, 8 ml/分)纯化。

MS (FAB) m/z 1040 (M+Li)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3)(主要异构体) δ : 0.72 (1H, q); 1.73 (6H, s); 3.32 (3H, s); 3.43 (3H, s); 3.7 (4H, m); 4.15 (1H, d); 4.18 (1H, d); 4.47 (1H, d); 4.80 (1H, s); 7.3 (5H, m).

实施例 6

16-脱甲氧基-16-苜氧基-雷帕霉素

将1 mmol雷帕霉素溶于50 ml含3 ml苜醇的二氯甲烷中。加入0.1 mmol对甲苯磺酸, 将反应混合物再在室温下搅拌2-10小时。然后将反应混合物倒入饱和碳酸氢钠溶液中。分离有机层, 用硫酸钠干燥并蒸发溶剂。粗产物再经HPLC纯化, 得到纯的标题化合物, 为白色粉末。

实施例 7

16-脱甲氧基-16-(邻-甲氧基苜基)氧基-雷帕霉素

向0.76g 邻甲氧基-苜醇在3 ml CH_2Cl_2 中的溶液中加入250mg雷帕霉素, 然后加入5 mg对甲苯磺酸。将混合物在室温下搅拌8小时, 并用5 ml饱和 NaHCO_3 水溶液终止反应。分离各层, 水层用乙醚萃取两次, 每次10ml。合并的有机溶液用硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。残余物用硅胶色谱法纯化, 用己烷/丙酮(4/1~3/2)作为洗脱剂。

所得产物再经制备HPLC (RP-18, 250×25mm, CH₃ CN/H₂O 75/25, 8 ml/分) 纯化。

MS (FAB) m/z 1026 (M+Li)

H-NMR (CDCl₃) (主要异构体) δ: 0.67 (1H, q); 1.73 and 1.74 (6H, 2s); 3.33 (3H, s); 3.41 (3H, s); 3.72 (1H, d); 3.81 (3H, s); 4.18 (1H, broad d); 4.26 (1H, d); 4.45 (1H, d); 4.72 (1H, broad s); 6.83 (1H, d); 6.92 (1H, m); 7.23 (1H, m); 7.32 (1H, m).

实施例 8

16-脱甲氧基-40-O-(2-甲氧基乙基)-16-(戊-2-炔基)氧基-雷帕霉素

向0.7ml 2-戊炔-1-醇在5ml CH₂Cl₂中的溶液中加入486mg 40-O-(2-甲氧基乙基)-雷帕霉素, 然后加入5mg 对甲苯磺酸。将混合物在室温下搅拌2小时。然后用7ml饱和NaHCO₃水溶液终止反应。分离水相并用乙酸乙酯萃取两次, 每次10ml。合并有机相, 用硫酸钠干燥并蒸发溶剂。残余物用硅胶色谱法纯化, 用乙酸乙酯/己烷(1/1)洗脱。粗产物最后经制备HPLC (RP-18, 250×25mm, MeOH/H₂O 83/17, 7 ml/分) 纯化。

MS (FAB) m/z 1030 (M+Li)

H-NMR (CDCl₃) (主要异构体) δ: 0.72 (1H, q); 1.14 (3H, t); 1.67 (3H, s); 1.74 (3H, s); 3.33 (3H, s); 3.38 (3H, s); 3.45 (3H, s); 3.73 (1H, d); 3.77 (1H, dm); 4.01 (1H, dm); 4.17 (1H, d); 4.65 (1H, s).

实施例 9

39-脱甲氧基-40-脱氧-39-甲酰-42-去甲-雷帕霉素

在-30℃下向1.85g 雷帕霉素在40ml乙腈中的溶液中加入365 μl 吗啉代三氟化硫。将反应混合物在-30℃保持1小时, 在0℃保持1小时, 然后用饱和碳酸氢盐溶液终止反应。水相用乙酸乙酯萃取

三次，每次30ml，合并有机相并用硫酸钠干燥。蒸发溶剂后，粗产物用硅胶柱色谱法纯化，用己烷/丙酮（4/1）洗脱。

MS (FAB, LiI matrix): 888 (M+ Li)

H-NMR (CDCl₃): 3.13 (s, 3H); 3.34 (s, 3H); 9.62 (d, 1H);

在3.0和3.6ppm之间没有其他单峰。在0.6和0.85ppm之间没有信号。

实施例10

39-脱甲氧基-40-脱氧-39-羟甲基-42-去甲-雷帕霉素

在0℃下将44mg 39-脱甲氧基-40-脱氧-39-甲酰-42-去甲雷帕霉素在1.2ml THF/水（5/1）中的溶液用1.5mg 叔丁胺/甲硼烷复合物处理2小时。然后将反应混合物倒入2ml 0.1N HCl中并用乙酸乙酯萃取三次，每次5ml。合并有机相，用2ml饱和碳酸氢钠溶液洗涤并用硫酸钠干燥。真空下蒸发溶剂，粗产物用硅胶柱色谱法纯化，用己烷/乙酸乙酯（1/1）洗脱。

MS (FAB, LiI matrix): 890 (M + Li)

H-NMR (CDCl₃): 3.13 (s, 3H); 3.33 (s, 3H); 4.18 (m, 2H).

在0.5和0.85ppm之间没有信号；在9.62ppm处没有醛质子峰。

实施例11

39-脱甲氧基-40-脱氧-39-羧基-42-去甲-雷帕霉素

向111mg 39-脱甲氧基-40-脱氧-39-甲酰-42-去甲雷帕霉素和0.2ml 2-甲基-2-丁烯在4ml叔丁醇中的溶液中加入85mg NaOCl和113mg NaH₂PO₄在2ml水中的溶液。将混合物在室温下搅拌2小时。然后蒸发溶剂，残余物用乙酸乙酯萃取三次，每次5ml。合并有机相，用无水硫酸钠干燥并蒸发溶剂。产物用制备HPLC（RP-18，250×10mm，乙腈/水 60/40，3ml/分）纯化。

MS (FAB, LiI matrix): 904 (M+Li)

H-NMR(CDCl₃): 1.65(s, 3H); 1.78(s, 3H); 3.13(s, 3H); 3.33(s, 3H); 3.75(d, 1H); 4.18 (d,

1H)。低于0.85ppm 没有信号。在3.0-3.6ppm 区域没有其他单峰。

实施例12

39-脱甲氧基-40-脱氧-39-(4-甲基哌嗪-1-基)羧基-42-去甲-雷帕霉素

于-75℃下向搅拌下的180mg 39-羧基-39-脱甲氧基-40-脱氧-42-去甲雷帕霉素在4 ml THF中的溶液中加入0.08ml吡啶, 然后加入0.04ml草酰氯。将反应混合物于-75℃保持30分钟, 然后加入0.09ml N-甲基哌嗪。将反应液再搅拌1小时, 然后用5 ml饱和碳酸氢钠水溶液和5 ml乙酸乙酯终止反应。分离水相并用乙酸乙酯萃取两次, 每次5 ml。合并有机相, 用硫酸钠干燥并蒸发溶剂。粗产物用制备HPLC (RP-18, 250×10mm, MeOH/H₂O 85/15, 3 ml/分) 纯化。

MS (FAB) m/z 986 (M+Li)

H-NMR (CDCl₃) d= 1.65 (3H, s); 1.78 (3H, s); 2.31 (3H, s); 2.4 (4H, m); 3.13 (3H, s); 3.34 (3H, s); 3.79 (1H, d); 4.21 (1H, d); 4.68 (1H, bs).

实施例13

39-脱甲氧基-40-脱氧-39-(吗啉-4-基)羧基-42-去甲-雷帕霉素

按实施例12的方法, 用吗啉代替N-甲基哌嗪制备该化合物。

MS (FAB) m/z 973 (M+Li)

H-NMR (CDCl₃) d= 1.65 (3H, s); 1.77 (3H, s); 3.13 (3H, s); 3.33 (3H, s); 3.6 (4H, m); 3.77 (1H, d); 4.19 (1H, d); 4.66 (1H, bs).

实施例14

39-脱甲氧基-40-脱氧-39-[N-甲基, N-(2-吡啶-2-基-乙基)]氨基甲酰基-42-去甲-雷帕霉素

按实施例12的方法,用(2-吡啶-2-基-乙基)甲基胺代替N-甲基哌嗪制备该化合物。

MS (FAB) m/z 1022 (M+Li)

H-NMR (CDCl₃) δ = 1.66 (3H, s); 1.78 (3H, s); 2.93 (3H, s); 3.13 (3H, s); 3.33 (3H, s); 4.23 (1H, m); 4.67 (1H, s); 7.1 (2H, m); 7.6 (1H, m); 8.51 (1H, d).

实施例15

39-脱甲氧基-40-脱氧-39-(对甲苯磺酰亚胍基甲基)-42-去甲-雷帕霉素

向523mg 39-脱甲氧基-40-脱氧-39-甲酰-42-去甲-雷帕霉素在10ml乙腈中的混合物中加入156mg 对甲苯磺酰胍。将反应混合物在室温下搅拌30分钟,然后蒸发溶剂。残余物用硅胶色谱法纯化,用己烷/丙酮(5/1)洗脱,得到标题化合物。

MS (FAB) m/z 1056 (M+Li)

H-NMR (CDCl₃) δ = 1.65 (3H, s); 1.76 (3H, s); 2.43 (3H, s); 3.13 (3H, s); 3.34 (3H, s); 3.79 (1H, d); 4.18 (1H, d); 4.69 (1H, bs); 7.13 (1H, d); 7.32 (2H, d); 7.56 (1H, s); 7.80 (2H, d).