



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102083852 A

(43) 申请公布日 2011. 06. 01

(21) 申请号 200980126190. 9

A61K 38/13 (2006. 01)

(22) 申请日 2009. 06. 05

(30) 优先权数据

61/059, 649 2008. 06. 06 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2011. 01. 05

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2009/003411 2009. 06. 05

(87) PCT申请的公布数据

W02010/002428 EN 2010. 01. 07

(71) 申请人 西尼克斯公司

地址 美国北卡罗莱纳州

(72) 发明人 李科强 艾哈迈德·玛麦

迈克尔·罗伯特·佩尔

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理
有限公司 11262

代理人 武晶晶 郑霞

(51) Int. Cl.

C07K 7/64 (2006. 01)

权利要求书 7 页 说明书 41 页

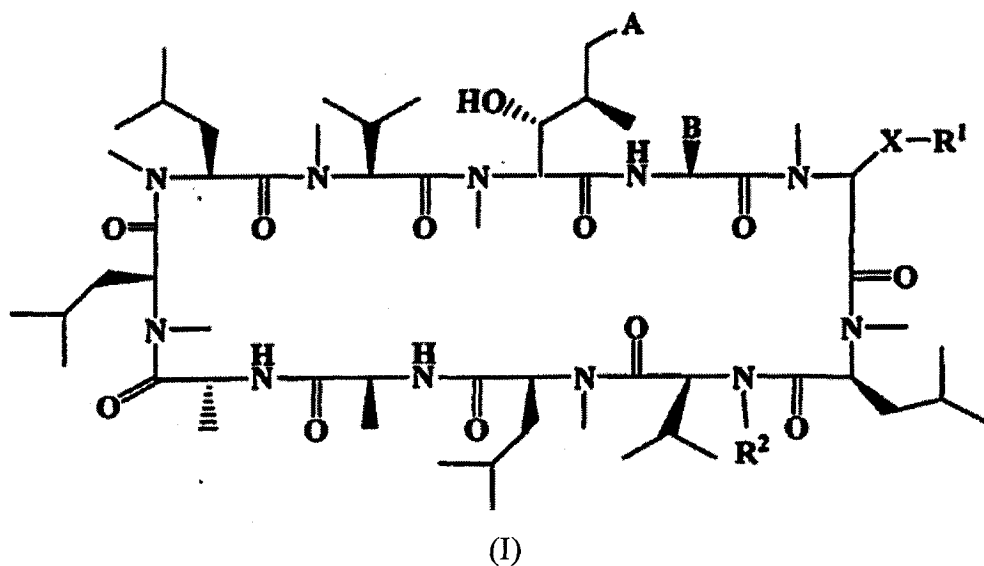
(54) 发明名称

环孢菌素类似物及其在治疗 HCV 感染中的应用

(57) 摘要

本发明公开了环孢菌素衍生物, 其中 3- 肌氨酸碳和 5- 缬氨酸氮分别被非氢取代基取代, 本发明还公开了所述衍生物作为药物的应用, 特别是用来治疗丙型肝炎病毒的应用。

1. 具有通式 (I) 的环孢菌素衍生物, 或其药学上可接受的盐或溶剂化物:



其中

A 代表 (E)-CH=CHR 或 -CH₂CH₂R, 其中 R 代表甲基、-CH₂SH、-CH₂(硫代烷基)、-CH₂(羰基)、-CH₂(烷氧羰基)、羰基、或烷氧羰基;

B 代表甲基、乙基、1-羟基乙基、异丙基或正丙基;

R¹ 代表:

包含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基, 任选地被一个或多个相同或不同的 R³ 基团取代;

含 2-6 个碳原子的直链或支链烯基, 任选地被一个或多个选自卤素、羟基、氨基、N-单烷基氨基和 N,N-双烷基氨基的相同或不同基团取代;

含 2-6 个碳原子的直链或支链炔基, 任选地被一个或多个选自卤素、羟基、氨基、N-单烷基氨基和 N,N-双烷基氨基的相同或不同基团取代;

含 3-6 个碳原子的环烷基, 任选地被一个或多个选自卤素、羟基、氨基、N-单烷基氨基和 N,N-双烷基氨基的相同或不同基团取代; 或

含 2-6 个碳原子直链或支链的烷氧羰基;

R² 代表:

含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基, 任选地被或多个相同或不同的 R⁴¹ 基团取代;

含 2-6 个碳原子的直链或支链烯基, 任选地被一个或多个相同或不同的 R⁴² 基团取代;

含 2-6 个碳原子的直链或支链炔基, 任选地被一个或多个选自卤素、羟基、氨基、N-单烷基氨基和 N,N-二烷基氨基的相同或不同的基团取代;

含 3-6 个碳原子的环烷基, 任选地被一个或多个选自卤素、羟基、氨基、N-单烷基氨基和 N,N-二烷基氨基的相同或不同的基团取代; 或

含 2-6 个碳原子的直链或支链烷氧羰基;

X 代表 -S(=O)_n- 或氧, 其中 n 是 0、1 或 2;

R³ 选自卤素、羟基、烷氧基、羰基、烷氧羰基、-NR⁵R⁶、-NR⁷(CH₂)_mNR⁵R⁶、环烷基和苯基, 其中苯基任选地被 1-5 个选自烷基、卤代烷基、卤素、羟基、烷氧基、氨基、N-烷基氨基、N,N-二烷基氨基、羰基和烷氧羰基的相同或不同的基团取代; 或 R³ 是含 4-6 个环原子的碳链接的

饱和或不饱和杂环,该环可以含有一个或二个选自氮、氧和硫的相同或不同的杂原子,该环可任选地被 1-4 个选自烷基、卤素、烷氧基、氨基、羰基和烷基的相同或不同基团取代,所述烷基被氨基、N- 烷基氨基或 N, N- 二烷基氨基取代;

R^{41} 代表:

卤素、羟基、烷氧基、 $-OR^8$ 、羰基、烷氧羰基、 $-NR^5R^6$ 、 $-NR^7(CH_2)_mNR^5R^6$ 、甲酰基、 $-C(=O)R^8$ 、 $-S(O)_pR^8$, 其中 p 是 0、1 或 2; 苯基, 其任选地被 1-5 个选自烷基、卤代烷基、卤素、羟基、烷氧基、氨基、N- 烷基氨基、N, N- 二烷基氨基、羰基和烷氧羰基的相同或不同基团取代; 或

含 3-6 个碳原子的环烷基, 其任选地被一个或多个选自卤素、羟基、氨基、N- 单烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基的相同或不同基团取代;

或 R^{41} 代表碳链接的含 4-6 个环原子的饱和或不饱和杂环, 该环含有 1-3 个选自氮、氧和硫的相同或不同的杂原子, 该环可以任选地被 1-4 个选自烷基、卤素、烷氧基、氨基、羰基和烷基的相同或不同基团取代, 所述烷基被氨基、N- 烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基取代;

R^{42} 代表:

卤素、羟基、 $-NR^5R^6$ 、 $-OR^8$ 、羰基、烷氧羰基、 $-C(=O)NR^5R^6$ 、甲酰基、 $-C(=O)R^8$ 、 $-S(O)_pR^8$ 、 $-NR^7(CH_2)_mNR^5R^6$;

苯基, 其任选地被 1-5 个选自烷基、卤代烷基、卤素、羟基、烷氧基、氨基、N- 烷基氨基、N, N- 二烷基氨基、羰基和烷氧羰基的相同或不同基团取代;

或含 3-6 个碳原子的环烷基, 其任选地被一个或多个选自卤素、羟基、氨基、N- 单烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基的相同或不同基团取代;

或 R^{42} 是碳链接的含 4-6 个环原子的饱和或不饱和杂环, 该环含有 1-3 个选自氮、氧和硫的相同或不同杂原子, 该环任可以选地被 1-4 个选自烷基、卤素、烷氧基、氨基、羰基和烷基的相同或不同基团取代, 所述烷基被氨基、N- 烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基取代;

R^5 和 R^6 , 它们可以相同或不同, 分别代表:

氢;

含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基;

含 2-4 个碳原子的直链或支链烯基或炔基;

含 3-6 个碳原子的环烷基, 其任选地被含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基取代;

或 R^5 和 R^6 与它们连接的氮原子一起形成含 4-6 个环原子的饱和或不饱和杂环, 该环可以任选地含有另一个选自氮、氧和硫的杂原子, 该环可以任选地被 1-4 个选自烷基、苯基和苄基的相同或不同基团取代;

R^7 代表氢、含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基、氰基或烷基磺酰基;

R^8 代表:

含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基;

芳基, 任选地被 1-5 个选自烷基、卤代烷基、卤素、羟基、烷氧基、氨基、N- 烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基的相同或不同基团取代;

杂芳基, 任选地被 1-5 个选自烷基、卤代烷基、卤素、羟基、烷氧基、氨基、N- 烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基的相同或不同基团取代;

芳烷基, 其中所述芳基环任选地被 1-5 个选自卤素、氨基、N- 烷基氨基、N, N- 二烷基氨基、烷氧基和卤代烷基的相同或不同基团取代, 其中所述烷基含 1-3 个碳原子; 或

杂芳烷基,其中所述杂芳基环任选地被卤素、氨基、N-烷基氨基、N,N-二烷基氨基、烷氧基和卤代烷基取代,其中所述烷基含 1-3 个碳原子;

m 是 1-4 的整数。

2. 权利要求 1 所述的化合物,其中:

A 代表 (E)-CH=CHR 或 -CH₂CH₂R,其中 R 代表甲基、-CH₂SH、-CH₂(硫代烷基)、-CH₂(羰基)或 -CH₂(烷氧羰基);

R² 代表:

含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基,任选地被一个或多个相同或不同的 R⁴¹ 基团取代;

含 2-6 个碳原子的直链或支链烯基,任选地被一个或多个相同或不同的 R⁴² 基团取代;

含 2-6 个碳原子的直链或支链炔基,任选地被一个或多个选自卤素、羟基、氨基、N-单烷基氨基和 N,N-二烷基氨基的相同或不同基团取代;

含 3-6 个碳原子的环烷基,任选地被一个或多个选自卤素、羟基、氨基、N-单烷基氨基和 N,N-二烷基氨基的相同或不同基团取代;或

含 2-6 个碳原子的直链或支链烷氧羰基;

X 代表 -S(=O)_n- 或氧,其中 n 是 0、1 或 2;

R⁴¹ 代表:

卤素、羟基、烷氧基、羰基、烷氧羰基、-NR⁵R⁶、-NR⁷(CH₂)_mNR⁵R⁶;或

苯基,其任选地被 1-5 个选自烷基、卤代烷基、卤素、羟基、烷氧基、氨基、N-烷基氨基、N,N-二烷基氨基、羰基和烷氧羰基的相同或不同基团取代;

或 R⁴¹ 代表碳链接的含 4-6 个环原子的饱和或不饱和杂环,该环含有一个或二个选自氮、氧和硫的相同或不同杂原子,该环可以任选地被 1-4 个选自烷基、卤素、烷氧基、氨基、羰基和烷基的相同或不同基团取代,所述烷基被氨基 N-烷基氨基和 N,N-二烷基氨基取代;

R⁴² 代表卤素、羟基、氨基、N-单烷基氨基或 N,N-二烷基氨基;

R³ 和 R⁶ 可以相同或不同,分别代表:

氢;

含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基;

含 2-4 个碳原子的直链或支链烯基或炔基;

含 3-6 个碳原子的环烷基,任选地被含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基取代;

或 R⁵ 和 R⁶ 与它们连接的氮原子一起形成含 4-6 个环原子的饱和或不饱和杂环,该环可以任选地含有另一个选自氮、氧和硫的杂原子,该环可以任选地被 1-4 个选自烷基、苯基和苄基的相同或不同基团取代;

R⁷ 代表氢、含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基、氰基或烷基磺酰基;和

m 是 1-4 的整数。

3. 权利要求 1 或 2 所述的化合物,其中 X 代表氧或硫。

4. 权利要求 1、2 或 3 所述的化合物,其中 R¹ 是任选地被一个或多个相同或不同的 R³ 基团取代的含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基。

5. 权利要求 4 所述的化合物,其中 R³ 代表氨基、N-烷基氨基、N,N-二烷基氨基或环烷基。

6. 权利要求 1-5 任一项所述的化合物,其中 R^2 代表含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基,任选地被一个或多个相同或不同的 R^{41} 基团取代;或 R^2 代表含 3-6 个碳原子直链或支链烯基,任选地被一个 R^{42} 基团取代。

7. 权利要求 1 所述的化合物,其中 R^{41} 代表羟基、 $-NR^5R^6$ 、 $-OR^8$ 、羰基、烷氧羰基、 $-C(=O)NR^5R^6$ 、甲酰基或 $-C(=O)R^8$;和 R^{42} 代表羟基、 $-NR^5R^6$ 、 $-OR^8$ 、羰基、烷氧羰基、 $-C(=O)NR^5R^6$ 、甲酰基或 $-C(=O)R^8$ 。

8. 权利要求 1 所述化合物,该化合物选自:

- [(R)-2-(N, N-二甲基氨基)乙基硫代-Sar]³-(N-苄基)-Val⁵-环孢菌素 A;
 - [(R)-(1-N, N-二甲基氨基-环丁基甲基硫代)-Sar]³-(N-苄基)-Val⁵-环孢菌素 A;
 - [(R)-2-(N, N-二甲基氨基)乙基硫代-Sar]³-(4-异丙基苄基)-Val⁵-环孢菌素 A;
 - [甲基硫代-Sar]³-(N-苄基)-Val⁵-环孢菌素 A;
 - [正丙基硫代-Sar]³-(N-苄基)-Val⁵-环孢菌素 A;
 - [甲氧基-Sar]³-(N-苄基)-Val⁵-环孢菌素 A;
 - [甲氧基-Sar]³-(3-三氟甲基苄基)-Val⁵-环孢菌素 A;
 - [甲氧基-Sar]³-(N-烯丙基)-Val⁵-环孢菌素 A;
 - [甲氧基-Sar]³-(N-丁-2-烯基)-Val⁵-环孢菌素 A;
 - [甲氧基-Sar]³-(N-3-甲基-丁-2-烯基)-Val⁵-环孢菌素 A;
 - [甲氧基-Sar]³-N-(反式-4-苄氧基-丁-2-烯基)-Val⁵-环孢菌素 A;
 - [甲基硫代-Sar]³-N-[反式-4-(3', 4'-二甲氧基)苄氧基-丁-2-烯基]-Val⁵-环孢菌素 A;
 - [甲氧基-Sar]³-N-[反式-4-(3', 4'-二甲氧基)苄氧基-丁-2-烯基]-Val⁵-环孢菌素 A;
 - [甲基硫代-Sar]³-N-[反式-4-羟基-丁-2-烯基]-Val⁵-环孢菌素 A;
 - [甲氧基-Sar]³-N-[反式-4-羟基-丁-2-烯基]-Val⁵-环孢菌素 A;
 - [甲基硫代-Sar]³-N-[反式-4-二甲基氨基-丁-2-烯基]-Val⁵-环孢菌素 A;
 - [甲氧基-Sar]³-N-[反式-4-二甲基氨基-丁-2-烯基]-Val⁵-环孢菌素 A;
 - [甲氧基-Sar]³-N-[4-羟基丁基]-Val⁵-环孢菌素 A;
 - [甲氧基-Sar]³-N-[4-二甲基氨基丁基]-Val⁵-环孢菌素 A;
 - [甲基硫代-Sar]³-(N-烯丙基)-Val⁵-环孢菌素 A;和
 - [乙基硫代-Sar]³-(N-苄基)-Val⁵-环孢菌素 A;或
- 其药学上可接受的盐或溶剂化物。

9. 组合物,其包含如权利要求 1 所述具有通式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物,和药学上可接受的赋形剂、载体或稀释剂。

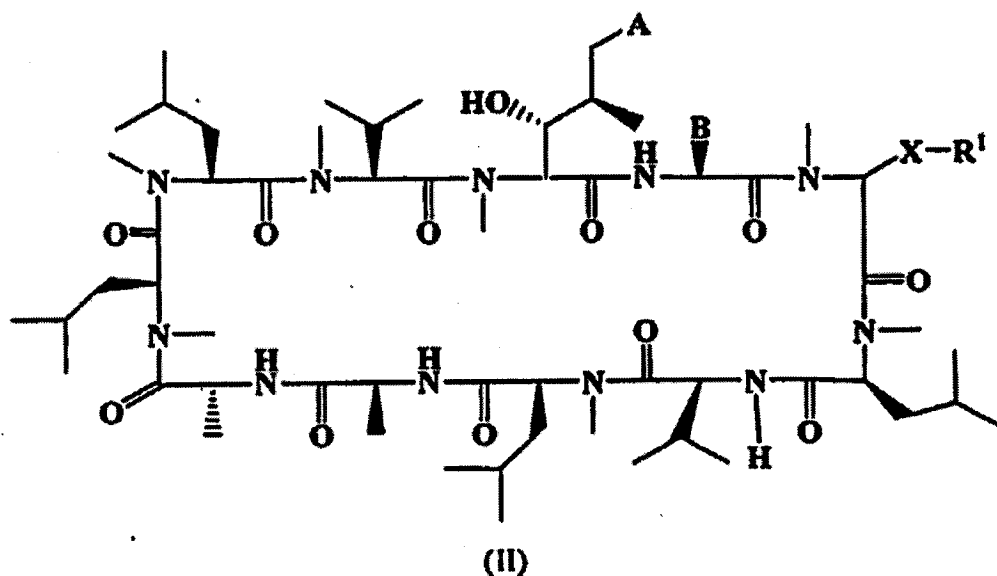
10. 作为药物应用的如权利要求 1 所述的具有通式 (I) 的化合物,或其药学上可接受的盐或溶剂化物。

11. 治疗有效量的如权利要求 1 所述的具有通式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物在治疗或预防个体丙型肝炎病毒感染的应用。

12. 如权利要求 1 所述的具有通式 (I) 的化合物在制备用于治疗或预防丙型肝炎病毒感染的药物中的应用。

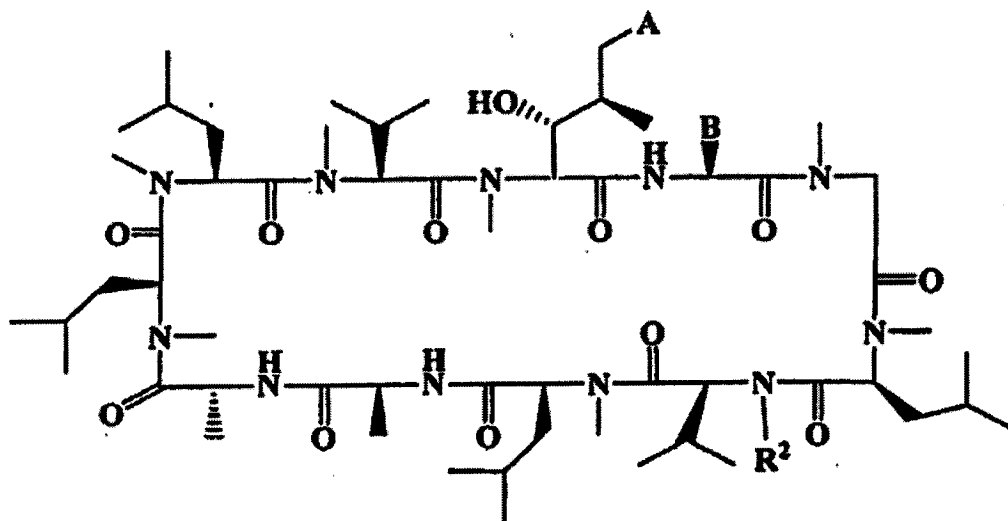
13. 一种制备如权利要求 1 所述的具有通式 (I) 的化合物的方法, 该方法包括:

(a) 用碱处理具有式 (II) 的化合物:



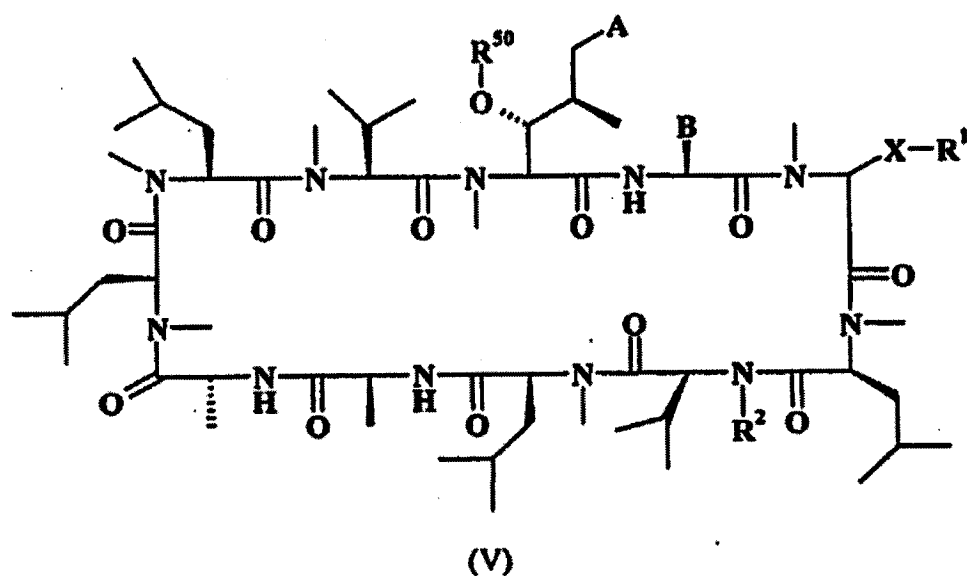
其中 A、B、X 和 R¹ 如权利要求 1 所述, 然后将所得阴离子化合物与式 R²-Y 化合物反应, 其中 R² 如权利要求 1 所述, Y 是离去基团; 或者

(b) 用合适溶剂中的碱处理具有式 (III) 的化合物:



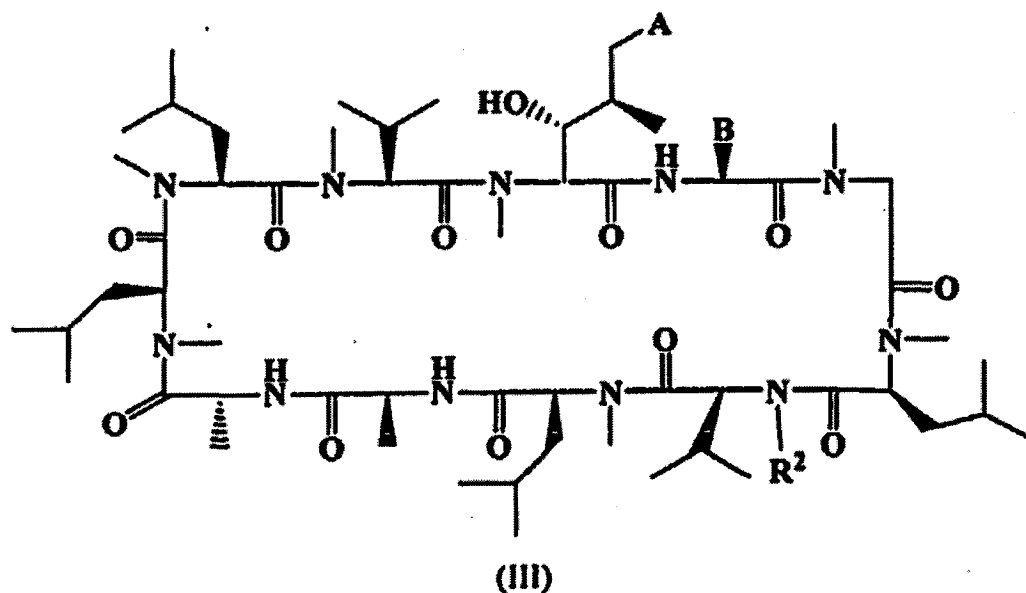
其中 A、B 和 R² 如权利要求 1 所述, 生成聚阴离子产物, 将这样获得的阴离子物与式 R¹X-L 的亲电子试剂反应, 其中 R¹ 和 X 如权利要求 1 所述, L 是离去基团;

(c) 式 (V) 化合物去保护:



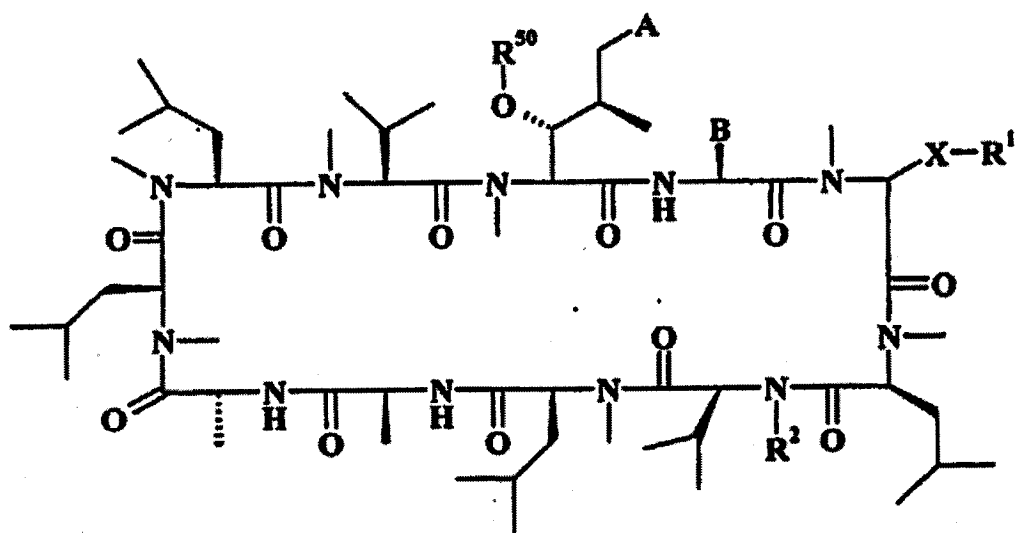
其中 A、B、X、 R^1 和 R^2 如权利要求 1 所述, R^{50} 代表保护基团;
然后任选地将这样获得的式 (I) 化合物转化成其药学上可接受的盐或溶剂化物。

14. 具有通式 (III) 的化合物的聚阴离子物:



其中 A、B 和 R^2 如权利要求 1 所述, 条件是 R^2 不是甲基。

15. 具有通式 (V) 的化合物:



(V)

其中 A、B、X、 R^1 、和 R^2 如权利要求 1 所述， R^{50} 代表保护基团。

环孢菌素类似物及其在治疗 HCV 感染中的应用

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求 2008 年 6 月 6 日递交的题目为“Novel Macrocyclic Peptides”的美国临时申请号 61/059,649 的优先权,其全部内容以引用的方式纳入本文。

发明领域

[0003] 本发明披露了新的环孢菌素衍生物、含有所述衍生物的组合物、制备它们的方法、它们的合成中的中间体,以及它们作为治疗剂例如抗病毒制剂的应用。

[0004] 发明背景

[0005] 在 1989 年,发现了一种主要导致非甲型和非乙型输血后肝炎的主要致病病毒,将其命名为丙型肝炎病毒 (HCV)。从那以后,除甲型、乙型和丙型肝炎病毒外,又发现了几种肝炎病毒类型,其中由 HCV 引起的肝炎称为丙型肝炎。认为感染有 HCV 的个体涉及世界人口的百分之几,HCV 感染的特征为慢性病。

[0006] HCV 是包膜 RNA 病毒,其中基因组是单股正链 RNA,属于黄病毒科肝炎病毒属 (来自 The International Committee on Taxonomy of Viruses, International Union of Microbiological Societies)。其它肝炎病毒,例如乙型肝炎病毒 (HBV),这是一种 DNA 病毒,通过免疫系统消除,除了免疫能力还不成熟的婴幼儿,感染这种病毒会导致急性感染。相反,由于未知的机理,HCV 总能躲过宿主的免疫系统。一旦感染上这种病毒,即使具有成熟免疫系统的成年人也经常会发展成持久的感染。

[0007] 当慢性肝炎与持久的 HCV 感染相关时,它会快速发展成肝硬化或肝癌。通过手术摘除肿瘤并没有多大帮助,因为由于非癌部分的后遗症,个体经常会发生复发性肝癌。

[0008] 因此,需要用于治疗丙型肝炎感染的有效治疗方法。除了使用抗炎药进行症状性治疗以抑制炎症外,迫切需要开发能将 HCV 减少至无炎症的低水平、和根除 HCV 的治疗性制剂。最佳的治疗性制剂应提供称为“持续病毒学响应”的病毒学响应,这种响应定义为在完成丙型肝炎治疗后六个月或更长的时间内,在血液中检测不到病毒的水平。

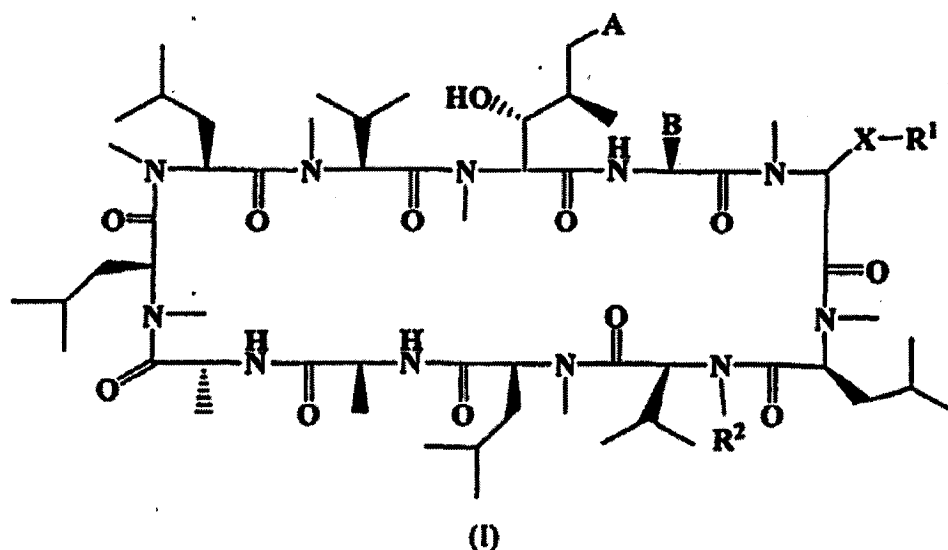
[0009] 如今,用干扰素作为单一药物治疗或与病毒唑组合治疗是已知能根除 HCV 的唯一有效方法。但是,干扰素仅能在约三分之一的个体人群中根除病毒。对于剩下的个体,它没有效果,或者仅提供临时的效果。因此,极为需要抗 HCV 药物来代替干扰素或与干扰素同时使用。

[0010] 环孢菌素 A 由于其免疫抑制活性和多种治疗用途而为人熟知,其治疗用途包括抗真菌、抗寄生虫、抗炎症以及抗 HIV 活性。已经报道环孢菌素 A 和某些衍生物具有抗 HCV 活性,参见 Watashi 等人,2003, *Hepatology* 38:1282-1288、Nakagawa 等人,2004, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 313:42-7、以及 Shimotohno 和 Watashi,2004, *American Transplant Congress, Abstract No. 648* (*American Journal of Transplantation*, 2004, 4(s8): 1-653)。根据国际申请公开号 W02005/021028、W02006/039668 和 W02006/038088,环孢菌素衍生物具有 HCV 活性。Papageorgiou 等人,1997, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 5(I):187-192 披露了 5- 缬氨酸氮被非氢取代基取代的环孢菌素。

[0011] 发明概述

[0012] 一方面,本发明提供了具有通式(I)的环孢菌素衍生物,或其药学上可接受的盐或溶剂化物:

[0013]



[0014] 其中:

[0015] A 代表 (E)-CH=CHR 或 -CH₂CH₂R, 其中 R 代表 甲基、-CH₂SH、-CH₂(硫代烷基)、-CH₂(羰基)、-CH₂(烷氧羰基)、羰基、或烷氧羰基;

[0016] B 代表甲基、乙基、1- 羟基乙基、异丙基或正丙基;

[0017] R¹ 代表:

[0018] 包含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基,任选地被一个或多个相同或不同的 R³ 基团取代;

[0019] 含 2-6 个碳原子的直链或支链烯基,任选地被一个或多个选自卤素、羟基、氨基、N- 单烷基氨基和 N, N- 双烷基氨基的相同或不同基团取代;

[0020] 含 2-6 个碳原子的直链或支链炔基,任选地被一个或多个选自卤素、羟基、氨基、N- 单烷基氨基和 N, N- 双烷基氨基的相同或不同基团取代;

[0021] 含 3-6 个碳原子的环烷基,任选地被一个或多个选自卤素、羟基、氨基、N- 单烷基氨基和 N, N- 双烷基氨基的相同或不同基团取代;或

[0022] 含 2-6 个碳原子直链或支链的烷氧羰基;

[0023] R² 代表:

[0024] 含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基,任选地被或多个相同或不同的 R⁴¹ 基团取代;

[0025] 含 2-6 个碳原子的直链或支链烯基,任选地被一个或多个相同或不同的 R⁴² 基团取代;

[0026] 含 2-6 个碳原子的直链或支链炔基,任选地被一个或多个选自卤素、羟基、氨基、N- 单烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基的相同或不同的基团取代;

[0027] 含 3-6 个碳原子的环烷基,任选地被一个或多个选自卤素、羟基、氨基、N- 单烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基的相同或不同的基团取代;或

[0028] 含 2-6 个碳原子的直链或支链烷氧羰基;

[0029] X 代表 $-S(=O)_n-$ 或氧, 其中 n 是 0、1 或 2;

[0030] R^3 选自卤素、羟基、烷氧基、羰基、烷氧羰基、 $-NR^5R^6$ 、 $-NR^7(CH_2)_mNR^5R^6$ 、环烷基和苯基, 其中苯基任选地被 1-5 个选自烷基、卤代烷基、卤素、羟基、烷氧基、氨基、N-烷基氨基、N,N-二烷基氨基、羰基和烷氧羰基的相同或不同的基团取代; 或 R^3 是含 4-6 个环原子的碳链接的饱和或不饱和杂环, 该环可以含有一个或二个选自氮、氧和硫的相同或不同的杂原子, 该环可任选地被 1-4 个选自烷基、卤素、烷氧基、氨基、羰基和烷基的相同或不同基团取代, 所述烷基被氨基、N-烷基氨基或 N,N-二烷基氨基取代;

[0031] R^{41} 代表:

[0032] 卤素、羟基、烷氧基、 $-OR^8$ 、羰基、烷氧羰基、 $-NR^5R^6$ 、 $-NR^7(CH_2)_mNR^5R^6$ 、甲酰基、 $-C(=O)R^8$ 、 $-S(O)_pR^8$, 其中 p 是 0、1 或 2; 苯基, 其任选地被 1-5 个选自烷基、卤代烷基、卤素、羟基、烷氧基、氨基、N-烷基氨基、N,N-二烷基氨基、羰基和烷氧羰基的相同或不同基团取代; 或

[0033] 含 3-6 个碳原子的环烷基, 其任选地被一个或多个选自卤素、羟基、氨基、N-单烷基氨基和 N,N-二烷基氨基的相同或不同基团取代;

[0034] 或 R^{41} 代表碳链接的含 4-6 个环原子的饱和或不饱和杂环, 该环含有 1-3 个选自氮、氧和硫的相同或不同的杂原子, 该环可以任选地被 1-4 个选自烷基、卤素、烷氧基、氨基、羰基和烷基的相同或不同基团取代, 所述烷基被氨基、N-烷基氨基和 N,N-二烷基氨基取代;

[0035] R^{42} 代表:

[0036] 卤素、羟基、 $-NR^5R^6$ 、 $-OR^8$ 、羰基、烷氧羰基、 $-C(=O)NR^5R^6$ 、甲酰基、 $-C(=O)R^8$ 、 $-S(O)_pR^8$ 、 $-NR^7(CH_2)_mNR^5R^6$;

[0037] 苯基, 其任选地被 1-5 个选自烷基、卤代烷基、卤素、羟基、烷氧基、氨基、N-烷基氨基、N,N-二烷基氨基、羰基和烷氧羰基的相同或不同基团取代; 或

[0038] 含 3-6 个碳原子的环烷基, 其任选地被一个或多个选自卤素、羟基、氨基、N-单烷基氨基和 N,N-二烷基氨基的相同或不同基团取代;

[0039] 或 R^{42} 是碳链接的含 4-6 个环原子的饱和或不饱和杂环, 该环含有 1-3 个选自氮、氧和硫的相同或不同杂原子, 该环任可以选地被 1-4 个选自烷基、卤素、烷氧基、氨基、羰基和烷基的相同或不同基团取代, 所述烷基被氨基、N-烷基氨基和 N,N-二烷基氨基取代;

[0040] R^5 和 R^6 , 它们可以相同或不同, 分别代表:

[0041] 氢;

[0042] 含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基;

[0043] 含 2-4 个碳原子的直链或支链烯基或炔基;

[0044] 含 3-6 个碳原子的环烷基, 其任选地被含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基取代;

[0045] 或 R^5 和 R^6 , 一起与它们连接的氮原子形成含 4-6 个环原子的饱和或不饱和杂环, 该环可以任选地含有另一个选自氮、氧和硫的杂原子, 该环可以任选地被 1-4 个选自烷基、苯基和苄基的相同或不同基团取代;

[0046] R^7 代表氢、含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基、氰基或烷基磺酰基;

[0047] R^8 代表:

[0048] 含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基;

[0049] 芳基, 任选地被 1-5 个选自烷基、卤代烷基、卤素、羟基、烷氧基、氨基、N-烷基氨基

和 N, N- 二烷基氨基的相同或不同基团取代 ;

[0050] 杂芳基, 任选地被 1-5 个选自烷基、卤代烷基、卤素、羟基、烷氧基、氨基、N- 烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基的相同或不同基团取代 ;

[0051] 芳烷基, 其中所述芳基环任选地被 1-5 个选自卤素、氨基、N- 烷基氨基、N, N- 二烷基氨基、烷氧基和卤代烷基的相同或不同基团取代, 其中所述烷基含 1-3 个碳原子 ; 或

[0052] 杂芳烷基, 其中所述杂芳基环任选地被卤素、氨基、N- 烷基氨基、N, N- 二烷基氨基、烷氧基和卤代烷基取代, 其中所述烷基含 1-3 个碳原子 ;

[0053] m 是 1-4 的整数。

[0054] 另一方面, 本发明提供了具有通式 (I) 的化合物, 其中 :

[0055] A 代表 (E)-CH=CHR 或 -CH₂CH₂R, 其中 R 代表甲基、-CH₂SH、-CH₂(硫代烷基)、-CH₂(羰基) 或 -CH₂(烷氧羰基) ;

[0056] B 代表甲基、乙基、1- 羟基乙基、异丙基或正丙基 ;

[0057] R¹ 代表 :

[0058] 包含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基, 任选地被一个或多个相同或不同的 R³ 基团取代 ;

[0059] 含 2-6 个碳原子的直链或支链烯基, 任选地被一个或多个选自卤素、羟基、氨基、N- 单烷基氨基和 N, N- 双烷基氨基的相同或不同基团取代 ;

[0060] 含 2-6 个碳原子的直链或支链炔基, 任选地被一个或多个选自卤素、羟基、氨基、N- 单烷基氨基和 N, N- 双烷基氨基的相同或不同基团取代 ;

[0061] 含 3-6 个碳原子的环烷基, 任选地被一个或多个选自卤素、羟基、氨基、N- 单烷基氨基和 N, N- 双烷基氨基的相同或不同基团取代 ; 或

[0062] 含 2-6 个碳原子直链或支链的烷氧羰基 ;

[0063] R² 代表 :

[0064] 含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基, 任选地被或多个相同或不同的 R⁴ 基团取代 ;

[0065] 含 2-6 个碳原子的直链或支链烯基, 任选地被一个或多个选自卤素、羟基、氨基、N- 单烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基的相同或不同的基团取代 ;

[0066] 含 2-6 个碳原子的直链或支链炔基, 任选地被一个或多个选自卤素、羟基、氨基、N- 单烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基的相同或不同的基团取代 ;

[0067] 含 3-6 个碳原子的环烷基, 任选地被一个或多个选自卤素、羟基、氨基、N- 单烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基的相同或不同的基团取代 ; 或

[0068] 含 2-6 个碳原子的直链或支链烷氧羰基 ;

[0069] X 代表 -S(=O)_n- 或氧, 其中 n 是 0、1 或 2 ;

[0070] R³ 选自卤素、羟基、烷氧基、羰基、烷氧羰基、-NR⁵R⁶、-NR⁷(CH₂)_mNR⁵R⁶、环烷基和苯基, 其中苯基任选地被 1-5 个选自烷基、卤代烷基、卤素、羟基、烷氧基、氨基、N- 烷基氨基、N, N- 二烷基氨基、羰基和烷氧羰基的相同或不同的基团取代 ; 或 R³ 是含 4-6 个环原子的碳链接的饱和或不饱和杂环, 该环可以含有另一个选自氮、氧和硫的杂原子, 该环可任选地被 1-4 个选自烷基、卤素、烷氧基、氨基、羰基和烷基的相同或不同基团取代, 所述烷基被氨基、N- 烷基氨基或 N, N- 二烷基氨基取代 ;

[0071] R⁴ 选自卤素、羟基、烷氧基、羰基、烷氧羰基、-NR⁵R⁶、-NR⁷(CH₂)_mNR⁵R⁶ 和苯基, 其任

选地被 1-5 个选自烷基、卤代烷基、卤素、羟基、烷氧基、氨基、N- 烷基氨基、N, N- 二烷基氨基、羰基和烷氧羰基的相同或不同基团取代；或 R^4 是含 4-6 个环原子的饱和或不饱和杂环，该环可以任选地含有另一个选自氮、氧和硫的相同或不同的杂原子，该环可以任选地被 1-4 个选自烷基、卤素、烷氧基、氨基、羰基和烷基的相同或不同基团取代，所述烷基被氨基、N- 烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基取代；

[0072] R^5 和 R^6 ，它们可以相同或不同，分别代表：

[0073] 氢；

[0074] 含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基；

[0075] 含 2-4 个碳原子的直链或支链烯基或炔基；

[0076] 含 3-6 个碳原子的环烷基，其任选地被含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基取代；

[0077] 或 R^5 和 R^6 与它们连接的氮原子一起形成含 4-6 个环原子的饱和或不饱和杂环，该环可以任选地含有另一个选自氮、氧和硫的杂原子，该环可以任选地被 1-4 个选自烷基、苯基和苄基的相同或不同基团取代；

[0078] R^7 代表氢、含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基、氰基或烷基磺酰基；

[0079] m 是 1-4 的整数。

[0080] 在另一方面，本发明提供了具有式 (I) 的化合物的制备方法。

[0081] 在一些情况下，A、B、 R^1 和 R^2 可以导致形成光学的和 / 或立体的异构体。所有这些形式都包括在本发明范围内。

[0082] 以下盐可以作为药理学上可接受的盐的实例，碱金属盐，例如钠、钾或锂；或碱土金属盐，例如镁或钙；胺盐或氮碱盐，例如，乙醇胺、二乙醇胺、三甲基胺、三乙基胺、甲基胺、丙基胺、二异丙基胺、N, N- 二乙基乙醇胺、苄基胺、二环己胺、N- 苄基苄胺、N, N'- 二苄基乙二胺、二苯二胺、二苯甲基胺、奎宁、胆碱、精氨酸、赖氨酸、亮氨酸或二苄胺。

[0083] 优选实施方案描述

[0084] 定义

[0085] 当提到本发明的化合物和复合物时，除非另外说明，否则以下术语具有以下含义。

[0086] “环孢菌素”指任何本领域技术人员已知的环境素化合物，或其衍生物。参见例如 Ruegger 等人 1976, *Helv. Chim. Acta.* 59:1075-92; Borel 等, 1977, *Immunology* 32: 1017-25; 其全部内容以引用的方式纳入本文。这里披露的实例性化合物是环境素衍生物。除非另外说明，这里描述的环境素是环境素 A，和这里描述的环境素衍生物是环境素 A 衍生物。

[0087] 这里使用的环境素命名法和编号系统是 J. Kallen 等人在“Cyclosporins: Recent Developments in Biosynthesis, Pharmacology and Biology, and Clinical Applications,” *Biotechnology*, 第二版, H. -J. Rehm 和 G. Reed 编辑, 1997, 第 535-591 页所用的环境素命名法和编号系统，如下所述：

[0088] 位置 环境素 A 中的氨基酸

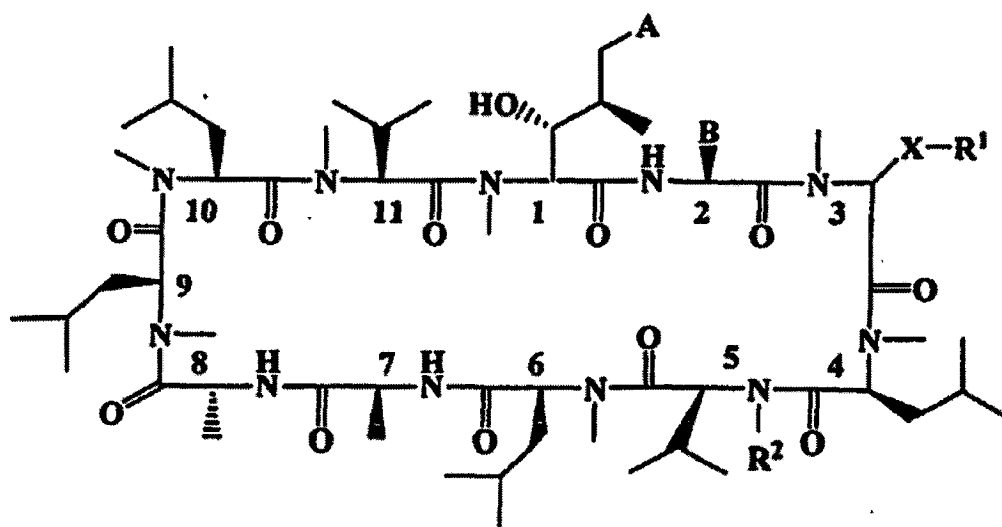
[0089] 1 N- 甲基 - 丁烯基 - 苏氨酸 (MeBmt)

[0090] 2 [alpha]- 氨基丁酸 (Abu)

[0091] 3 肌氨酸 (Sar)

[0092] 4 N- 甲基 - 亮氨酸 (MeLeu)

- [0093] 5 缬氨酸 (Val)
 [0094] 6 N- 甲基 - 亮氨酸 (MeLeu)
 [0095] 7 丙氨酸 (Ala)
 [0096] 8 (D) - 丙氨酸 [(D) -Ala]
 [0097] 9 N- 甲基 - 亮氨酸 (MeLeu)
 [0098] 10 N- 甲基 - 亮氨酸 (MeLeu)
 [0099] 11 N- 甲基 - 缬氨酸 (MeVal)
 [0100] 如下所述,这对应于式 (I) 化合物中的饱和环碳原子:
 [0101]



[0102] “烷基”指一价的饱和脂肪族烃基,特别是具有最多约 11 个碳原子,更特别是 1 至 8 个碳原子、还更特别是 1 至 6 个碳原子的低级烷基。烃链可以是真链或支链的。该术语的示例性基团如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、正己基、正辛基、叔辛基等。术语“低级烷基”指具有 1 至 6 个碳原子的烷基。

[0103] “亚烷基”指二价的饱和脂肪族烃基,特别是具有最多约 11 个碳原子、更特别是 1 至 6 个碳原子的二价的饱和脂肪族烃基,亚烷基可以是直链或支链的。该术语的示例性基团如亚甲基 ($-\text{CH}_2-$)、亚乙基 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2-$)、亚丙基异构体 (例如 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 和 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$) 等。

[0104] “烯基”指一价的烯键式不饱和烃基,优选具有最多约 11 个碳原子,特别地为 2 至 8 个碳原子,更特别地为 2 至 6 个碳原子,烯基可以是直链或支链的,具有至少 1 个、特别是 1 至 2 个烯键式不饱和位置。具体的烯基包括乙烯基 ($-\text{CH}=\text{CH}_2$)、正丙烯基 ($-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$)、异丙烯基 ($-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$)、乙烯基和取代的乙烯基等。

[0105] “亚烯基”指二价的烯键式不饱和烃基,特别地具有最多约 11 个碳原子,更特别地为 2 至 6 个碳原子,亚烯基可以是直链或支链的,具有至少 1 个、特别是 1 至 2 个烯键式不饱和位置。该术语的例子为基团如亚乙烯基 ($-\text{CH}=\text{CH}-$)、亚丙烯基异构体 (例如 $-\text{CH}=\text{CHCH}_2-$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-$ 和 $-\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)-$) 等。

[0106] “炔基”指炔式不饱和烃基,特别地具有最多约 11 个碳原子,更特别地为 2 至 6 个碳原子,炔基可以是直链或支链的,具有至少 1 个、特别是 1 至 2 个炔式不饱和位置。炔基

的具体非限制性例子包括乙炔、乙炔基 ($-\text{C} \equiv \text{CH}$)、丙炔基 ($-\text{CH}_2\text{C} \equiv \text{CH}$) 等。

[0107] “烷氧基”指基团 $-\text{OR}$ ，其中 R 为烷基。作为例子，具体的烷氧基包括甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、叔丁氧基、仲丁氧基、正戊氧基、正己氧基、1,2-二甲基丁氧基等。

[0108] “N-烷基氨基”指基团烷基 $-\text{N R}'$ ，其中 R' 选自氢和烷基。

[0109] “烷基磺酰基”指基团 $-\text{S}(=\text{O})_2$ 烷基，其中烷基如本文所定义。

[0110] “烷氧羰基”指基团 $-\text{C}(\text{O})-$ 烷氧基，其中烷氧基如本文所定义。

[0111] “氨基”指基团 $-\text{NH}_2$ 。

[0112] “芳烷基”指被芳基取代的烷基，其中烷基和芳基如本为所定义。具体的非限制性芳烷基基团包括苄基 ($-\text{CH}_2\text{Ph}$)、苯乙基 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$) 等。

[0113] “芳基”指任选取代的芳香烃基团，例如苯基。

[0114] “芳基氨基”指基团芳基 $-\text{NR}'$ ，其中 R' 选自氢、芳基和杂芳基。

[0115] “Bmt”指 2(S)-氨基-3(R)-羟基-4(R)-甲基-6(E)-辛酸。

[0116] “羰基”指基团 $-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ 。

[0117] “N, N-二烷基氨基”指基团 $-\text{NRR}'$ ，其中 R 和 R' 独立地代表如本文所述的烷基、取代烷基、芳基、取代芳基、环烷基、取代环烷基、环杂烷基、取代环杂烷基、杂芳基、或取代杂芳基。

[0118] “甲酰基”指基团 $-\text{C}(=\text{O})\text{H}$ 。

[0119] “卤素”或“卤”指氯、溴、氟或碘。

[0120] “杂芳基”指任选地取代的饱和的或不饱和的杂环基团。通常杂环含有 4-7 个环原子，例如 5 或 6 个环原子。杂芳基的实例包括噻吩基、呋喃基、吡咯基、恶嗪基、噻嗪基、吡嗪基、嘧啶基、哒嗪基、噻唑基、恶唑基、咪唑基、吗啉基、吡唑基和四氢呋喃。

[0121] “羟基”指基团 $-\text{OH}$ 。

[0122] “硫代烷基”指 $-\text{SR}$ 基团，其中是烷基。实例包括但不限于甲基硫代、乙基硫代、丙基硫代、丁基硫代等。

[0123] “药学上可接受的盐”指本发明化合物的任何盐，该盐保持了化合物的生物学性质，无毒，且不会因为其它原因而不适于药学应用。这些盐可以源自本领域公知的各种有机或无机反离子。这些盐包括：(1) 与有机酸或无机酸形成的酸加成盐，这些酸例如：氢氯酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸、氨基磺酸、乙酸、三氟乙酸、三氯乙酸、丙酸、己酸、环戊基丙酸、乙醇酸、戊二酸、丙酮酸、乳酸、丙二酸、琥珀酸、山梨酸、抗坏血酸、苹果酸、马来酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、3-(4-羟基苯甲酰基) 苯甲酸、苦味酸、肉桂酸、扁桃酸、苯二甲酸、月桂酸、甲磺酸、乙磺酸、1,2-乙烷-二磺酸、2-羟基乙磺酸、苯磺酸、4-氯代苯磺酸、2-萘磺酸、4-甲苯磺酸、樟脑酸、樟脑磺酸、4-甲基双环 [2.2.2]-辛-2-烯-1-羧酸、葡庚糖酸、3-苯基丙酸、三甲基乙酸、叔丁基乙酸、月桂基硫酸、葡萄糖酸、苯甲酸、谷氨酸、羟基萘酸、水杨酸、硬脂酸、环己基氨基磺酸、奎宁酸、粘酸和类似的酸；或 (2) 当母体化合物中存在的酸性质子发生如下反应时形成的盐：(a) 被金属离子取代，例如碱金属离子、碱土金属离子或铵离子，或者被碱金属或碱土金属氢氧化物代替，例如氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化钙、氢氧化镁、氢氧化铝、氢氧化锂、氢氧化锌、和氢氧化钡、氨，或者 (b) 与有机碱配位，有机碱例如脂肪族有机胺、脂肪环有机胺、或芳族有机胺，例如：氨、甲胺、二甲胺、二乙胺、皮

考琳、乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、乙二胺、赖氨酸、精氨酸、鸟氨酸、胆碱、N, N' - 二苄基乙二胺、氯普鲁卡因、二乙醇胺、普鲁卡因、N- 苯甲基苯乙胺、N- 甲基葡萄糖胺、哌嗪、三(羟基甲基)- 氨基甲烷、四甲基氢氧化铵等。

[0124] 仅仅作作为示例, 盐还包括钠盐、钾盐、钙盐、镁盐、铵盐、四烷基铵盐等, 当化合物包含碱性官能团时, 所述盐包括无毒有机酸或无机酸的盐, 例如氢卤化物, 如氯化物和氢溴化物、硫酸盐、磷酸盐、氨基磺酸盐、硝酸盐、乙酸盐、三氟乙酸盐、三氯乙酸盐、丙酸盐、己酸盐、环戊基丙酸盐、乙醇酸盐、戊二酸盐、丙酮酸盐、乳酸盐、丙二酸盐、琥珀酸盐、山梨酸盐、抗坏血酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、富马酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、苯甲酸盐、3-(4- 羟基苯甲酰基) 苯甲酸盐、苦味酸盐、肉桂酸盐、扁桃酸盐、苯二甲酸盐、月桂酸盐、甲磺酸盐(甲磺酰盐)、乙磺酸盐、1,2- 乙烷- 二磺酸盐、2- 羟基乙磺酸盐、苯磺酸盐(苯磺酰盐)、4- 氯代苯磺酸盐、2- 萘磺酸盐、4- 甲苯磺酸盐、樟脑磺酸盐、樟脑磺酸盐、4- 甲基双环[2.2.2]- 辛-2- 烯-1- 羧酸盐、葡庚糖酸盐、3- 苯基丙酸盐、三甲基乙酸盐、叔丁基乙酸盐、月桂基硫酸盐、葡萄糖酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、羟基萘酸盐、水杨酸盐、硬脂酸盐、环己基氨基磺酸盐、奎宁酸盐、粘酸盐等。

[0125] 术语“生理学可接受的阳离子”指无毒、生理学可接受的酸性官能团的阳性反离子。这些阳离子的例子为钠阳离子、钾阳离子、钙阳离子、镁阳离子、铵阳离子和四烷基铵阳离子等。

[0126] “溶剂化物”指还包括通过分子间非共价力结合的化学计量或非化学计量的溶剂的本发明的化合物或其盐。当溶剂为水时, 溶剂化物为水合物。

[0127] 可以理解, 具有相同分子式但具有不同性质或不同原子结合顺序、或不同原子空间排列的化合物被称为“异构体”。原子空间排列不同的异构体被称为“立体异构体”。

[0128] 彼此不互为镜像的立体异构体被称为“非对映异构体”, 互为不能重叠的镜像的立体异构体被称为“对映异构体”。当化合物具有不对称中心时, 例如当它与四个不同的基团结合时, 可能具有一对对映异构体。可以根据 Cahn 和 Prelog 规则 (Cahn 等人, 1966, Angew. Chem. 78 :413-447, Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 5 :385-414 (errata :Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 5 :511) ;Prelog 和 Helmchen, 1982, Angew. Chem. 94 :614-631, Angew. Chem. Internat. Ed. Eng. 21 :567-583 ;Mata 和 Lobo, 1993, Tetrahedron :Asymmetry4 :657-668), 通过不对称中心的绝对构型来表征对映异构体, 将其称为 (R) 或 (S), 或者可通过分子旋转偏振光平面的方式来表征, 将其称为右旋体或左旋体 (即 (+)- 或 (-)- 异构体)。手性化合物可作为单独的对映异构体或对映异构体混合物存在。包含相等比例的对映异构体的混合物被称为“外消旋混合物”。

[0129] 在某些实施方案中, 本发明的化合物可具有一个或多个不对称中心 ; 因此可将这些化合物制备成单独的 (R)- 或 (S)- 对映异构体或其混合物。除非另有说明, 例如在结构式的任意位置处指定立体化学, 否则说明书和权利要求书中对具体化合物的描述或命名包括单独的对映异构体和其混合物、外消旋体或其它形式。用于确定立体化学和分离立体异构体的方法在本领域中是熟知的。在具体的实施方案中, 通过用碱处理, 本发明提供了本文所示化合物的立体异构体。

[0130] 在某些实施方案中, 本发明的化合物是“立体化学纯的”。立体化学纯的化合物具有一定水平的立体化学纯度, 该水平会被本领域技术人员认为是“纯”的。当然, 该纯度水平

将小于 100%。在某些实施方案中,“立体化学纯”指化合物基本上不含其它异构体。在具体的实施方案中,化合物为 85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或 99.9%地不包含其它异构体。

[0131] “肌氨酸”或“Sar”指本领域技术人员已知的氨基酸残基,其结构为 $-N(Me)CH_2C(O)-$ 。本领域技术人员可以将肌氨酸认为是 N- 甲基甘氨酸。

[0132] 用于本文时,术语“个体”和“患者”在本文中是互换使用的。术语“个体”和“患者”指动物,优选哺乳动物,包括非灵长类动物(例如牛、猪、马、猫、狗、大鼠、和小鼠)和灵长类动物(例如猴子,例如猕猴、黑猩猩和人),更优选人。在一个实施方案中,个体是用现有的丙型肝炎感染治疗难以控制的,或者对现有的丙型肝炎感染治疗没有响应。在另一个实施方案中,个体是农场动物(例如马、牛、猪等)或宠物(例如狗或猫)。在优选实施方案中,个体是人。

[0133] 用于本文时,“治疗性制剂”和“多种治疗性制剂”指能用于治疗、控制、或改善病症或其一个或多个症状的任何制剂。在某些实施方案中,术语“治疗性制剂”指本发明的化合物。在某些其它实施方案中,术语“治疗性制剂”并非指本发明的化合物。优选地,治疗性制剂为已知可用于、或现有正用于治疗、控制、预防、或改善病症或其一个或多个症状的药物。

[0134] “治疗有效量”指当施用于个体治疗疾病时,化合物、络合物或组合物足以实现对疾病的这种治疗的量。“治疗有效量”可根据例如化合物、疾病及其严重性、和要治疗个体的年龄、体重等而改变。

[0135] 在一个实施方案中,对任何疾病或病症“进行治疗”或“治疗”指改善个体存在的疾病或病症。在另一个实施方案中,“进行治疗”或“治疗”指改善至少一个生理参数,该参数可能是个体难以识别的。在另一个实施方案中,“进行治疗”或“治疗”指或者在生理上(例如稳定不可识别的症状)或者在心理上(例如稳定生理参数)或者同时在心理和生理上调节疾病或病症。在另一个实施方案中,“进行治疗”或“治疗”指延迟疾病或病症的发生。

[0136] 用于本文时,术语“预防性制剂”指能用于预防病症或其一个或多个症状的任何制剂。在某些实施方案中,术语“预防性制剂”指本发明的化合物。在某些其它实施方案中,术语“预防性制剂”并非指本发明的化合物。优选地,预防性制剂为已知可用于、或现有正用于预防或阻止病症的发生、发展、进展和 / 或严重性的药物。

[0137] 用于本文时,术语“预防”、“进行预防”和“预防”指通过施用治疗(例如预防性制剂或治疗性制剂)、或施用治疗的组合(例如预防性制剂或治疗性制剂的组合),来预防病症的一个或多个症状在患者体内复发、发生、或发展。

[0138] 用于本文时,短语“预防有效的量”指治疗(例如预防性制剂)的量足以预防与病症相关的一个或多个症状的发展、复发或发生,或者足够增加或改善另一种治疗(例如另一种预防性制剂)的预防效果。

[0139] 术语“标记”指将手写、印刷或绘制的东西展示在商品的直观容器上,例如将手写的材料展示在含有药用活性制剂的小瓶上。

[0140] 术语“标记物”指在任何物品、其任何容器或包装材料上的或该物品随附的所有标记和其它手写、印刷或绘制的东西,例如药用活性制剂容器上随附或相关的包装插入物或说明性的录像带或 DVD。

[0141] 在某些实施方案,本发明提供具有通式 (I) 的化合物,其中 A 代表 $(E)-CH=CHR$

或 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{R}$, 其中 R 代表甲基、 $-\text{CH}_2\text{SH}$ 、 $-\text{CH}_2$ (硫代烷基)、 $-\text{CH}_2$ (羰基)、 $-\text{CH}_2$ (烷氧羰基)、羰基或烷氧基羰基。在一个实施方案中, A 代表 $(\text{E})-\text{CH}=\text{CHR}$ 或 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{R}$, 其中 R 代表甲基、 $-\text{CH}_2\text{SH}$ 、 $-\text{CH}_2$ (硫代烷基)、 $-\text{CH}_2$ (羰基) 或 $-\text{CH}_2$ (烷氧羰基)。在进一步的实施方案中, A 代表 $(\text{E})-\text{CH}=\text{CHR}$ 。在另一个进一步实施方案中, A 代表 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{R}$ 。在一个优选的实施方案中, A 代表 $(\text{E})-\text{CH}=\text{CHR}$ 。

[0142] 在一个实施方案中, R 代表甲基。

[0143] 在某些实施方案中, B 代表甲基、乙基、1-羟基乙基、异丙基或正丙基。在一个实施方案中, B 代表乙基、1-羟基乙基、异丙基或正丙基。在另一个实施方案中, B 代表乙基。

[0144] 在一个实施方案中, R^1 代表含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基, 任选被一个或多个相同或不同的 R^3 基团取代。在另一个实施方案中, R^1 代表含 1-4 个碳原子的直链或支链烷基, 任选地被 1 或 2 个相同或不同的 R^3 取代基团。在一个进一步的实施方案中, R^1 代表含 1-3 个碳原子的直链烷基, 任选地被 1 或 2 个相同或不同的 R^3 基团取代。在另一个进一步的实施方案中, R^1 代表烷基, 任选地被 1 或 2 个 R^3 基团取代。在另一个实施方案中, R^1 代表含 1-3 个碳原子的直链烷基, 任选地被 1 或 2 个 R^3 基团取代。在另一个进一步的实施方案中, R^1 代表含 1-3 个碳原子的直链烷基, 任选地被 R^3 基团取代。

[0145] 在某些实施方案中, X 代表 $-\text{S}(=\text{O})_n-$ 或氧, 其中 n 是 0、1 或 2。在一个实施方案中, X 代表氧或硫。在一个进一步的实施方案中, X 代表氧。在另一个进一步的实施方案中, X 代表硫。

[0146] 在一个实施方案中, R^2 代表含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基, 任选地被一个或多个相同或不同的 R^{41} 基团取代。在另一个实施方案中, R^2 代表含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基, 任选地被 R^{41} 基团取代。在一个进一步的实施方案中, R^2 代表被取代 R^{41} 基团取代的含 1-4 个碳原子的直链烷基。在另一个进一步的实施方案中, R^2 代表被 R^{41} 基团取代的甲基。

[0147] 在一个实施方案中, R^2 代表含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基, 任选地被一个或多个相同或不同的 R^{41} 基团取代。在另一个实施方案中, R^2 代表含 3-6 个碳原子的直链或支链烯基, 任选地被 R^{42} 基团取代。在另一个实施方案中, R^2 代表被 R^{42} 基团取代的含 3-6 个碳原子的直链或支链烯基。在一个进一步的实施方案中, R^2 代表含 3-5 个碳原子的直链或支链烯基, 任选地被 R^{42} 基团取代。在一个进一步的实施方案中, R^2 代表被 R^{42} 基团取代的含 3-5 个碳原子的直链烯基。在另一个进一步的实施方案中, R^2 代表被 R^{42} 基团取代的丁-2-烯基。在另一个进一步的实施方案中, R^2 代表被 R^{42} 基团取代的反式丁-2-烯基。在另一个进一步的实施方案中, R^2 代表在第 4 位被 R^{42} 基团取代的丁-2-烯基 (即, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{R}^{42}$)。

[0148] 在一个实施方案中, R^3 代表氨基、N-烷基氨基、N,N-二烷基氨基或环烷基。在另一个实施方案中, R^3 代表 N,N-二甲基氨基乙基、N,N-二乙基氨基乙基、N-甲基-N-叔丁基氨基乙基、N-乙基-N-叔丁基氨基乙基、或环丁基。在一个进一步的实施方案中, R^3 代表 N,N-二甲基氨基或环丁基。

[0149] 在一个实施方案中, R^{41} 代表卤素、羟基、烷氧基、羰基、烷氧羰基、 $-\text{NR}^{56}$ 、 $-\text{NR}^7(\text{CH}_2)_m\text{NR}^{56}$; 或苯基, 任选地被 1-5 个选自烷基、卤代烷基、卤素、羟基、烷氧基、氨基、N-烷基氨基、N,N-二烷基氨基、羰基和烷氧羰基的相同或不同基团取代; 或 R^{41} 是碳链接的含 4-6 个环原子的饱和或不饱和的杂环, 该环含有 1 或 2 个选自氮、氧和硫的相同或不同杂原子, 该环可以任选地被 1-4 个选自烷基、卤素、烷氧基、氨基、羰基和烷基的相同或不同基团取代,

所述烷基被氨基、N- 烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基取代。

[0150] 在一个实施方案中, R^{41} 代表苯基, 任选地被 1-5 个选自烷基、卤代烷基、卤素、羟基、氨基、N- 烷基氨基、N, N- 二烷基氨基、羰基和烷氧羰基的相同或不同基团取代。在一个进一步的实施方案中, R^{41} 代表苯基, 任选地被选自烷基、卤代烷基、卤素和烷氧基的基团取代。在另一个进一步的实施方案中, R^{41} 代表苯基, 任选地被选自烷基和卤代烷基的基团取代。在另一个进一步的实施方案中, R^{41} 代表 $-NR^5R^6$, 其中 R^5 和 R^6 可以相同或不同, 分别代表烷基。

[0151] 在一个实施方案中, R^{41} 代表羟基、 $-NR^5R^6$ 、 $-OR^8$ 、羰基、烷氧羰基、 $-C(=O)NR^5R^6$ 、甲酰基或 $-C(=O)R^8$ 。在另一个实施方案中, R^{41} 代表羟基、 $-NR^5R^6$ 或 $-OR^8$ 。在一个进一步的实施方案中, R^{41} 代表羟基、 $-NR^5R^6$ 、 $-OR^8$ 或苯基, 所述苯基任选地被 1-5 个选自烷基、卤代烷基、卤素、羟基、烷氧基、氨基、N- 烷基氨基、N, N- 二烷基氨基、羰基和烷氧羰基的相同或不同基团取代; 或含 3-6 个碳原子的环烷基, 任选地被一个或多个选自卤素、羟基、氨基、N- 单烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基的相同或不同基团取代。

[0152] 在一个实施方案中, R^{42} 代表卤素、羟基、氨基、N- 单烷基氨基或 N, N- 二烷基氨基。在另一个实施方案中, R^{42} 代表羟基、 $-NR^5R^6$ 、 $-OR^8$ 、羰基、烷氧羰基、 $-C(=O)NR^5R^6$ 、甲酰基或 $-C(=O)R^8$ 。在一个进一步的实施方案中, R^{42} 代表羟基、 $-NR^5R^6$ 或 $-OR^8$ 。

[0153] 在一个实施方案中, R^5 和 R^6 可以相同或不同, 分别代表氢; 或含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基; 或 R^5 和 R^6 与它们连接的氮原子一起形成含 4-6 个环原子的饱和或不饱和杂环, 该环可以任选地含有另一个选自氮、氧和硫的杂原子, 该环可以任选地被 1-4 个选自烷基、苯基和苄基的相同或不同基团取代。在另一个实施方案中, R^5 和 R^6 可以相同或不同, 分别代表含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基。在一个进一步的实施方案中, R^5 和 R^6 分别代表甲基。

[0154] 在一个实施方案中, R^8 代表芳基, 任选地被 1 或 2 个选自烷基、卤代烷基、卤素、羟基、烷氧基、氨基、N- 烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基的相同或不同基团取代; 或 R^8 代表芳烷基, 其中所述芳基环任选地被 1 或 2 个选自卤素、氨基、N- 烷基氨基、N, N- 二烷基氨基、烷氧基和卤代烷基的相同或不同基团取代, 其中芳烷基的烷基含有 1 或 2 个碳原子。在一个进一步的实施方案中, R^8 代表苄基, 其中苯环任选地被 1 或 2 个选自烷基、卤代烷基、卤素、羟基和烷氧基的相同或不同基团取代。在一个进一步的实施方案中, R 代表苄基, 其中苯环任选地被 1 或 2 个相同或不同的烷氧基团取代。

[0155] 在某些实施方案中, 本发明提供了具有通式 (I) 的化合物, 其中:

[0156] A 代表 (E)- $CH=CHR$ 或 $-CH_2CH_2R$, 其中 R 代表甲基、 $-CH_2SH$ 、 $-CH_2$ (硫代烷基)、 $-CH_2$ (羰基) 或 $-CH_2$ (烷氧羰基);

[0157] R^2 代表含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基, 任选地被一个或多个相同或不同的 R^{41} 基团取代; 含 2-6 个碳原子的直链或支链烯基, 任选地被一个或多个相同或不同的 R^{42} 基团取代; 含 2-6 个碳原子的直链或支链炔基, 任选地被一个或多个选自卤素、羟基、氨基、N- 单烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基的相同或不同基团取代; 含 3-6 个碳原子的环烷基, 任选地被一个或多个选自卤素、羟基、氨基、N- 单烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基的相同或不同基团取代; 或含 2-6 个碳原子的直链或支链烷氧羰基;

[0158] X 代表 $-S(=O)_n-$ 或氧, 其中 n 是 0、1 或 2;

[0159] R^{41} 代表卤素、羟基、烷氧基、羰基、烷氧羰基、 $-NR^3R^6$ 、 $-NR^7(CH_2)_mNR^5R^6$ ；苯基，任选地被 1-5 个选自烷基、卤代烷基、卤素、羟基、烷氧基、氨基、N- 烷基氨基、N, N- 二烷基氨基、羰基和烷氧羰基的相同或不同基团取代；或 R^{41} 是碳链接的含 4-6 个环原子的饱和或不饱和杂环，该环含有 1 或 2 个选自氮、氧和硫的相同或不同杂原子，该环可以任选地被 1-4 个选自烷基、卤素、烷氧基、氨基、羰基和烷基的相同或不同基团取代，其中烷基被氨基、N- 烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基取代；

[0160] R^{42} 代表卤素、羟基、氨基、N- 单烷基氨基或 N, N- 二烷基氨基；

[0161] R^5 和 R^6 可以相同或不同，分别代表：

[0162] 氢；

[0163] 含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基；

[0164] 含 2-4 个碳原子的直链或支链烯基或炔基；

[0165] 含 3-6 个碳原子的环烷基，任选地被含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基取代；

[0166] 或 R^5 和 R^6 与它们连接的氮原子一起形成含 4-6 个环原子的饱和或不饱和杂环，该环可以任选地含有另一个选自氮、氧和硫的杂原子，该环可以任选地被 1-4 个选自烷基、苯基和苄基的相同或不同基团取代；

[0167] R^7 代表氢、含 1-6 个碳原子的直链或支链烷基、氰基或烷基磺酰基；

[0168] 并且 m 是 1-4 的整数。

[0169] 特别优选的本发明化合物包括以下化合物：

[0170] 1. $[(R)-2-(N, N-二甲基氨基)乙基硫代-Sar]^3-(N-苄基)-Val^5-$ 环孢菌素 A；

[0171] 2. $[(R)-(1-N, N-二甲基氨基-环丁基甲基硫代)-Sar]^3-(N-苄基)-Val^5-$ 环孢菌素 A；

[0172] 3. $[(R)-2-(N, N-二甲基氨基)乙基硫代-Sar]^3-(4-异丙基苄基)-Val^5-$ 环孢菌素 A；

[0173] 4. $[甲基硫代-Sar]^3-(N-苄基)-Val^5-$ 环孢菌素 A；

[0174] 5. $[正丙基硫代-Sar]^3-(N-苄基)-Val^5-$ 环孢菌素 A；

[0175] 6. $[甲氧基-Sar]^3-(N-苄基)-Val^5-$ 环孢菌素 A；

[0176] 7. $[甲氧基-Sar]^3-(3-三氟甲基苄基)-Val^5-$ 环孢菌素 A；

[0177] 8. $[甲氧基-Sar]^3-(N-烯丙基)-Val^5-$ 环孢菌素 A；

[0178] 9. $[甲氧基-Sar]^3-(N-丁-2-烯基)-Val^5-$ 环孢菌素 A；

[0179] 10. $[甲氧基-Sar]^3-(N-3-甲基-丁-2-烯基)-Val^5-$ 环孢菌素 A；

[0180] 11. $[甲氧基-Sar]^3-N-(反式-4-苄氧基-丁-2-烯基)-Val^5-$ 环孢菌素 A；

[0181] 12. $[甲基硫代-Sar]^3-N-[反式-4-(3', 4'-二甲氧基)苄氧基-丁-2-烯基]-Val^5-$ 环孢菌素 A；

[0182] 13. $[甲氧基-Sar]^3-N-[反式-4-(3', 4'-二甲氧基)苄氧基-丁-2-烯基]-Val^5-$ 环孢菌素 A；

[0183] 14. $[甲基硫代-Sar]^3-N-[反式-4-羟基-丁-2-烯基]-Val^5-$ 环孢菌素 A；

[0184] 15. $[甲氧基-Sar]^3-N-[反式-4-羟基-丁-2-烯基]-Val^5-$ 环孢菌素 A；

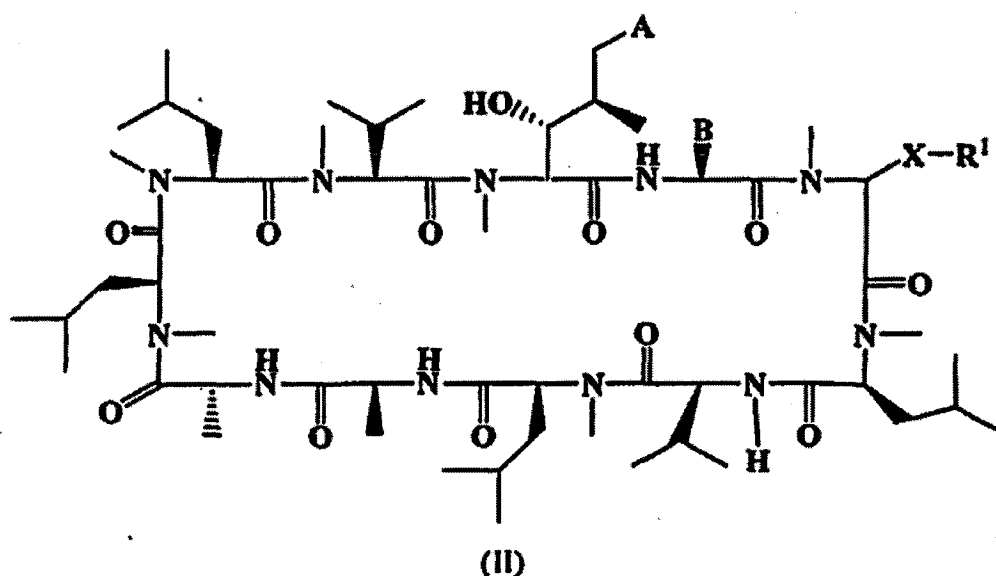
[0185] 16. $[甲基硫代-Sar]^3-N-[反式-4-二甲基氨基-丁-2-烯基]-Val^5-$ 环孢菌素 A；

- [0186] 17. [甲氧基 -Sar]³-N-[反式 -4- 二甲基氨基 - 丁 -2- 烯基]-Val⁵- 环孢菌素 A ;
 [0187] 18. [甲氧基 -Sar]³-N-[4- 羟基丁基]-Val⁵- 环孢菌素 A ;
 [0188] 19. [甲氧基 -Sar]³-N-[4- 二甲基氨基丁基]-Val⁵- 环孢菌素 A ;
 [0189] 20. [甲基硫代 -Sar]³-(N- 烯丙基)-Val⁵- 环孢菌素 A ;和
 [0190] 21. [乙基硫代 -Sar]³-(N- 苄基)-Val⁵- 环孢菌素 A。

[0191] 本文披露的化合物可以通过本领域技术人员已知的方法制备、分离或获得。示例性的制备方法在以下实施例中详细描述。

[0192] 在某些实施方案中,具有通式 (I) 的化合物可以通过用碱处理具有式 (II) 的化合物来制备:

[0193]

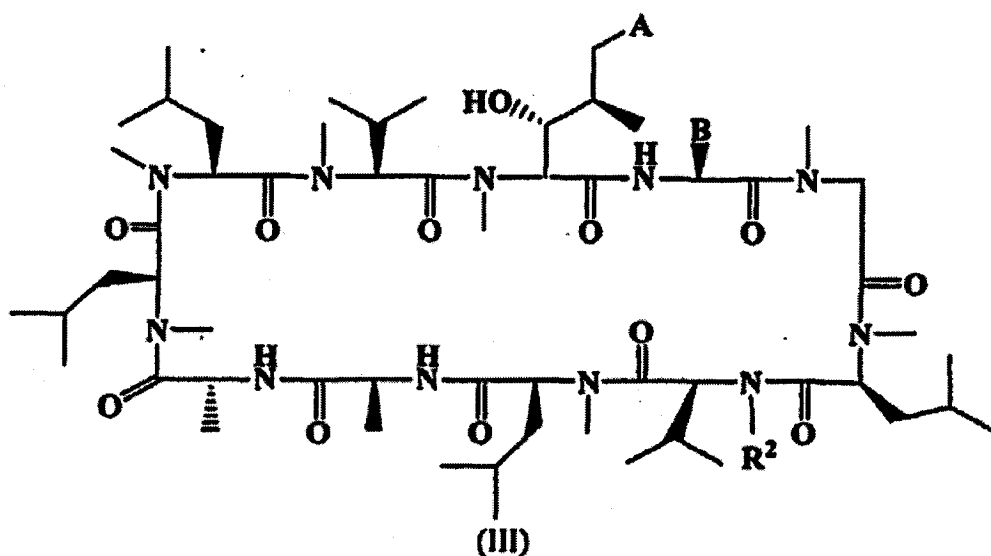


[0194] 其中 A、B、X 和 R¹ 如上文所述,然后将所得阴离子化合物与式 R²-Y 化合物反应,其中 R² 如上文所述,Y 是离去基团,例如溴、氯、碘;或磺酸酯,例如甲磺酸酯、对甲苯磺酯或三氟甲磺酸酯。优选将具有式 (II) 的化合物溶于合适的溶剂中,冷却至 -70℃。加入碱,然后加入亲电子剂 R²-Y,加热反应混合物到室温。优选的溶剂包括四氢呋喃、二乙基酯、二甲醚、二恶烷等。用于反应的合适的碱包括但不限于膦碱、氢化钠、叔丁醇钾、二异丙基氨基锂,等等。特别优选的碱包括膦型碱,本领域已知是非亲核碱,例如叔丁基 -4,4,4-三(二甲基氨基)-2,2-二(三(二甲基氨基)-正膦亚基氨基)-2⁵,4⁵-连二(磷氮基化合物)(P₄-t-丁基),等等。已知与阴离子氨基团反应的合适的亲电子试剂包括烷基卤化物或磺酸化物;苄基卤化物或磺酸化物;杂芳烷基卤化物或磺酸化物;烯丙基卤化物或磺酸化物。优选的式 R²-Y 化合物包括进一步被醚、硫醚和酯基团取代(例如氯甲基甲基醚、氯甲基甲基醚硫醚和叔丁基溴乙酸乙酯)的烷基卤化物。

[0195] 具有式 (II) 的化合物被披露于文献中,或可以通过应用或修改已知的方法制备。

[0196] 在某些实施方案中,具有式 (I) 的化合物可以通过用合适溶剂中的碱处理具有式 (III) 的化合物生成聚阴离子产物来制备:

[0197]

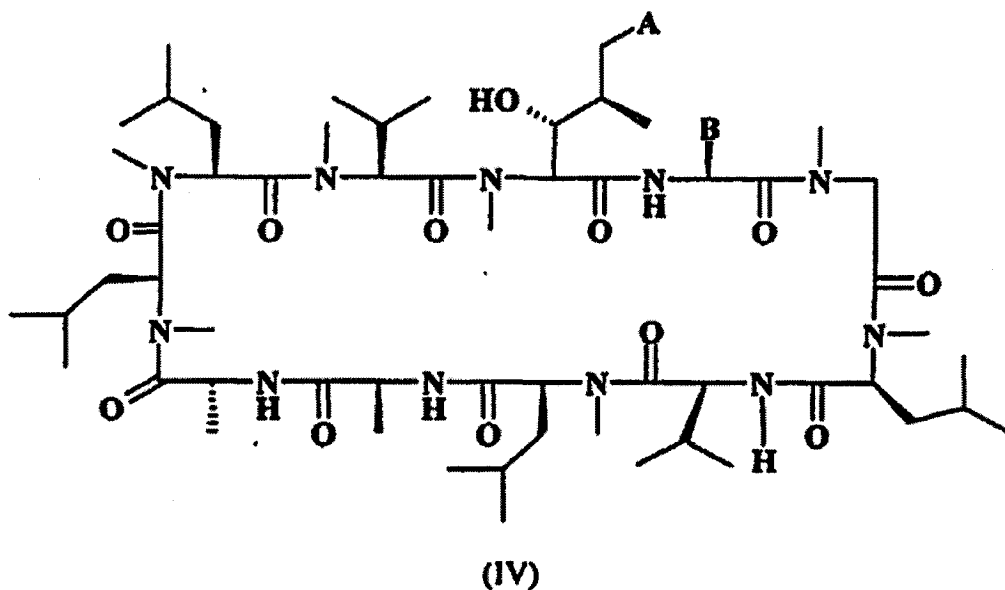


[0198] 其中A、B和R²如上文所述,将这样获得的阴离子物与式R¹X-L的亲电子试剂反应,其中R¹和X如上文所述,L是离去基团。通常将具有式(II)的化合物溶于合适的溶剂中,冷却至-70℃。溶剂包括四氢呋喃、二甲氧基乙烷、甲基叔丁基醚、二恶烷,等等。将碱加入混合物中后,通常使所得混合物反应约1小时,任选地使温度升高至-20℃。反应混合物通常被冷却至大约-70℃,加入合适的亲电子试剂。优选的用于该反应的碱包括正丁基锂、二异丙基氨基锂、二异丙基氨基锂,以及氯化锂和氨基钠。合适的亲电子试剂包括但不限于活化的烷基和烯基卤化物或磺酸化物、二硫化物、硫代磺酸化物、三烷基硅卤化物或磺酸化物,等等。

[0199] 式(III)化合物的多聚阴离子(其中A、B和R²如上文所述,不包括甲基)是新的,从而构成本发明的另一方面。

[0200] 式(II)的化合物可以通过用碱处理式(IV)化合物来制备:

[0201]



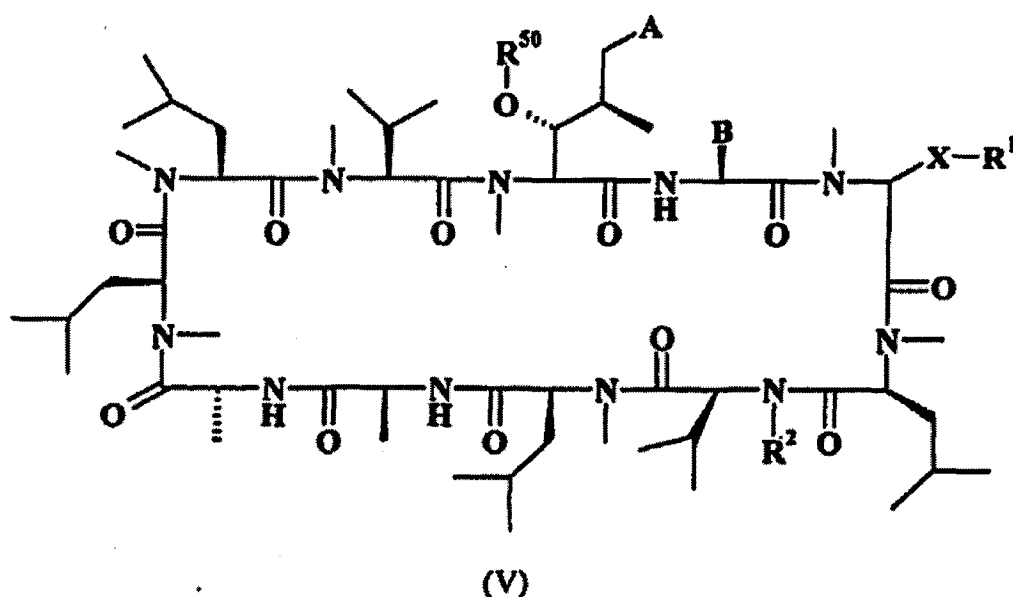
[0202] 其中A和B如上文所述,然后将所得阴离子化合物与式R¹X-Y化合物反应,其中R¹和X如上文所述,Y是离去基团如卤素,例如溴、氯、碘;或磺酸酯,例如甲磺酸酯、对甲苯磺

酯或三氟甲磺酸酯。优选地,式(IV)化合物溶于合适的溶剂中,冷却至大约 -70°C 。先后加入碱和式 R^1Y 的亲电子试剂,使反应混合物温度升至大约室温。优选的溶剂包括四氢呋喃、二乙基酯、二甲醚、二恶烷,等等。用于反应的合适的碱包括但不限于膦碱、氢化钠、叔丁醇钾、二异丙基氨基锂,等等。特别优选的碱包括膦型碱,本领域已知其为非亲核碱,例如叔丁基-4,4,4-三(二甲基氨基)-2,2-二(三(二甲基氨基)-正膦亚基氨基)-2⁵,4⁵-连二(磷氮基化合物)($\text{P}_4\text{-t-丁基}$),等等。已知与阴离子氮基团反应的合适的亲电子试剂包括烷基卤化物或磺酸化物;苄基卤化物或磺酸化物;杂芳烷基卤化物或磺酸化物;烯丙基卤化物或磺酸化物。优选的式 $\text{R}^1\text{-Y}$ 化合物包括进一步被醚、硫醚和酯基团取代的烷基卤化物,例如氯甲基甲基醚、氯甲基甲基硫化物和叔丁基溴乙酸乙酯。

[0203] 式(IV)化合物是已知的,或可以通过应用或修改已知的方法制备。

[0204] 在某些实施方案中,式(I)化合物可以通过式(V)化合物去保护来制备:

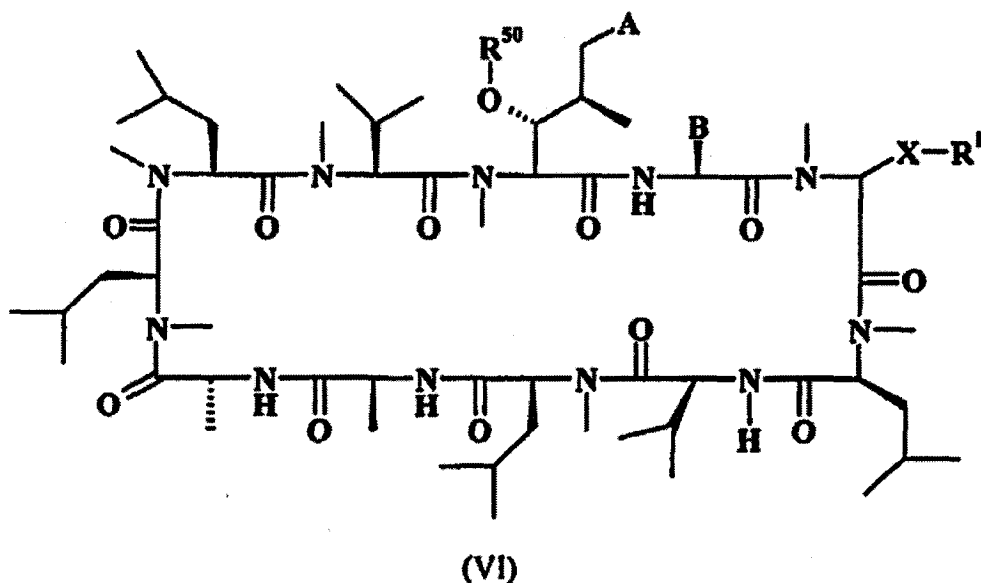
[0205]



[0206] 其中A、B、X、 R^1 和 R^2 如上文所述, R^{50} 代表保护基团。优选的 R^{50} 基团包括三烷基硅基,例如叔丁基二甲基硅氧基、三乙基硅氧基、叔丁基二苯基硅氧基和三甲基硅氧基。所述反应通常用非质子溶剂(例如,THF)中的氟源进行(例如,四丁基氟化铵、氟化氢/吡啶、氟化铯),在大约 -20 至大约 50°C 温度下进行。式(V)的化合物是新的,从而构成本发明的另一方面。

[0207] 式(V)的化合物可以通过用碱处理式(VI)化合物来制备:

[0208]



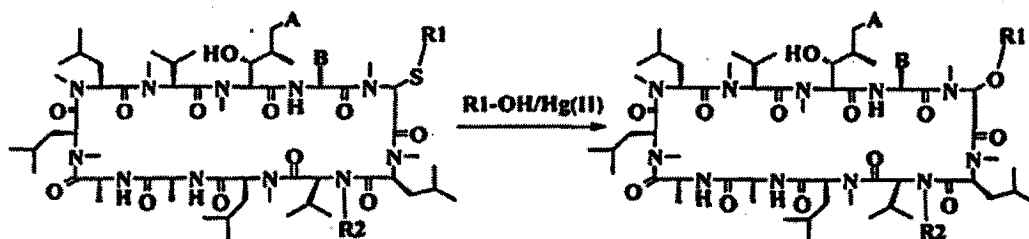
[0209] 其中A、B、X、 R^1 和 R^{50} 如上文所述,然后将所得阴离子化合物与式 R^2 -Y化合物反应,其中 R^2 和Y如上所述。反应条件大致如同上述从式(II)化合物制备式(I)化合物的条件。式(VI)化合物已经在文献中披露,或可以通过应用或修改已知的方法制备。

[0210] 式(V)或(VI)化合物可以通过用合适溶剂中的已知影响所述保护的制剂处理相应的式(I)或(II)化合物来制备,任选是否存在碱。优选地制剂是三烷基硅衍生物、活化的羧酸或异氰酸酯,碱是三烷基胺或碱土碳酸碱,溶剂是二氯甲烷、二氯乙烷、二乙基酯、THF,等等。更优选地,制剂是叔丁基二甲基硅三氟乙酸乙酯,碱是三乙基胺,反应在二氯乙烷中进行。

[0211] 通过应用或修改已知的方法,例如下述方法,式(I)化合物可以转化成其它式(I)化合物。

[0212] 式(I)、(II)或(V)的化合物,其中X是硫 R^1 是芳香基例如苯基,在存在催化剂例如汞盐的条件下用合适的醇处理上述含硫衍生物,可以将其转化成X是氧和 R^1 是烷基或芳基的式(I)、(II)或(V)的化合物,例如下述反应方案实例:

[0213]



[0214] 式(I)、(II)或(V)的化合物,其中 R^1 是被苯基或杂环取代的烷基,所述苯基或杂环被卤素(例如,溴)取代,通过钯-介导的反应,例如Stille反应、Suzuki反应、或Buchwald-Hartwig交叉偶联反应,可以被转化为响应的式(I)、(II)或(V)的化合物,其中 R^1 是被苯基或杂环取代的烷基,所述苯基或杂环被烷基、芳基或氨基取代。

[0215] R^1 代表未取代的烯基的式(I)、(II)或(V)的化合物,通过文献中已知的方法,可以被选择性地转化成 R^1 是取代的烷基的其它式(I)、(II)或(V)的化合物。例如这样的化

合物的选择性硼氢化反应,可以制备相应的 R^1 是被羟基取代的烷基的式 (I)、(II) 或 (V) 的化合物,选择性复分解反应可以形成新的烯烃衍生物,选择性二羟基化反应可以形成 R^1 代表被两个羟基取代的烷的式 (I)、(II) 或 (V) 的化合物。

[0216] 式 (I)、(II) 或 (V) 的化合物,其中 R^1 代表被烷氧羰基取代的烷基,通过例如使用四氢呋喃中的氢化锂或乙醇中的氢氧化钠将所述烷氧羰基选择性水解,可以被转化成相应的式 (I)、(II) 或 (V) 化合物,其中 R^1 代表被羰基取代的烷基。可以通过应用或修改已知的方法将含有羰基的式 (I)、(II) 或 (V) 的化合物转化为相应的式 (I)、(II) 或 (V) 化合物,其中羰基被氨基、烷氧羰基和羟基取代。

[0217] R^2 代表被烷氧羰基取代的烷基的式 (I) 或 (V) 的化合物,通过使用例如四氢呋喃中的氢化锂或乙醇中的氢氧化钠,将所述烷氧羰基选择性水解,其可以被转化成相应的式 (I) 或 (V) 化合物,其中 R^2 代表被羰基取代的烷基。通过应用或修改已知的方法,含有羰基的式 (I) 或 (V) 化合物可以被转化成相应的式 (I) 或 (V) 化合物,其中羰基被氨基、烷氧羰基和羟基取代。

[0218] 可以通过选择性去醚基团保护,将 R^2 代表被醚取代的亚烷基的式 (I) 或 (V) 化合物,转化成相应的 R^2 是羟基的式 (I) 或 (V) 化合物。在该方法中优选的醚包括 4- 甲氧基苄基、3,4- 二甲氧基苄基、烷基硫代甲基、四氢吡喃基,等等。

[0219] R^2 代表被羟基取代的烯基的式 (I) 或 (V) 化合物,通过一系列涉及氧化所述羟基得到 1,4- 未饱和羰基衍生物的反应,被转化为相应的烷基衍生物;然后,通过选择性还原所述烯基、还原所述羰基得到羟基化合物。选择性还原所述烯基可以被已知导致 1,4 还原的制剂影响,包括铜的氢化物、锂 / 氨、氢氧化钠 / 五羰基铁、硼氢化钠 / 氯化镍,等等。

[0220] 如上所述,本文披露的化合物可以是中性形式或酸性形式。

[0221] 当本发明的化合物,例如本文所述化合物被碱部分取代时,可形成酸加成的盐。可用于制备酸加成盐的酸优选包括以下的酸:当与游离碱结合时,该酸能够产生药学上可接受的盐,即该盐的阴离子在盐的药用剂量下对个体是无毒的。本发明范围内的药学上可接受的盐是源自下列酸的盐:无机酸如氢氯酸、氢溴酸、硫酸、磷酸、氨基磺酸和硝酸;和有机酸如乙酸、三氟乙酸、三氯乙酸、丙酸、己酸、环戊基丙酸、乙醇酸、戊二酸、丙酮酸、乳酸、丙二酸、琥珀酸、山梨酸、抗坏血酸、苹果酸、马来酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、3-(4- 羟基苯甲酰基) 苯甲酸、苦味酸、肉桂酸、扁桃酸、苯二甲酸、月桂酸、甲磺酸、乙磺酸、1,2- 乙烷 - 二磺酸、2- 羟基乙磺酸、苯磺酸、4- 氯苯磺酸、2- 萘磺酸、4- 甲苯磺酸、樟脑酸、樟脑磺酸、4- 甲基双环 [2.2.2]- 辛 -2- 烯 -1- 羧酸、葡庚糖酸、3- 苯基丙酸、三甲基乙酸、叔丁基乙酸、月桂基硫酸、葡糖酸、苯甲酸、谷氨酸、羟基萘酸、水杨酸、硬脂酸、环己基氨基磺酸、奎宁酸、粘酸和类似的酸。

[0222] 相应的酸加成盐包括:氢卤化物,例如氢氯化物和氢溴化物、硫酸盐、磷酸盐、氨基磺酸盐、硝酸盐、乙酸盐、三氟乙酸盐、三氯乙酸盐、丙酸盐、己酸盐、环戊基丙酸盐、乙醇酸盐、戊二酸盐、丙酮酸盐、乳酸盐、丙二酸盐、琥珀酸盐、山梨酸盐、抗坏血酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、富马酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、苯甲酸盐、3-(4- 羟基苯甲酰基) 苯甲酸盐、苦味酸盐、肉桂酸盐、扁桃酸盐、苯二甲酸盐、月桂酸盐、甲磺酸盐 (甲磺酸盐)、乙磺酸盐、1,2- 乙烷 - 二磺酸盐、2- 羟基乙磺酸盐、苯磺酸盐 (苯磺酸盐)、4- 氯代苯磺酸盐、2- 萘磺酸盐、4- 甲苯磺酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、4- 甲基双环 [2.2.2]- 辛 -2- 烯 -1- 羧酸盐、葡庚糖

酸盐、3- 苯基丙酸盐、三甲基乙酸盐、叔丁基乙酸盐、月桂基硫酸盐、葡糖酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、羟基萘酸盐、水杨酸盐、硬脂酸盐、环己基氨基磺酸盐、奎宁酸盐、粘酸盐等。

[0223] 根据本发明的其它方面,通过应用或修改已知的方法,使游离碱与适当的酸反应,可制备本发明化合物的酸加成盐。例如,可如下制备本发明化合物的酸加成盐:将游离碱溶解在含适当酸的水溶液、或水-醇溶液或其它合适的溶剂中,通过蒸发溶剂来分离盐,或者使游离碱和酸在有机溶剂中反应,在这种情况下,直接分离盐,或者可通过浓缩溶液来获得盐。

[0224] 通过应用或修改已知的方法,可以从盐中再生本发明化合物的酸加成盐,例如本文所述化合物。例如,通过用碱如碳酸氢钠水溶液或氨水溶液处理,可从本发明母体化合物的酸加成盐中再生本发明的母体化合物。

[0225] 当本发明的化合物,例如本文所述化合物被酸部分取代时,可形成碱加成盐。本发明范围内的药学上可接受的盐,包括例如碱金属盐和碱土金属盐,是源自下列碱的盐:氢化钠、氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化钙、氢氧化镁、氢氧化铝、氢氧化锂、氢氧化锌、氢氧化钡,和有机胺,例如脂肪族有机胺、脂肪环有机胺、或芳族有机胺,例如氨、甲胺、二甲胺、二乙胺、皮考啉、乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、乙二胺、赖氨酸、精氨酸、鸟氨酸、胆碱、N, N' - 二苄基乙二胺、氯普鲁卡因、二乙醇胺、普鲁卡因、N- 苄基苯乙胺、N- 甲基葡糖胺哌嗪哌嗪、三(羟基甲基)氨基甲烷、四甲基氢氧化铵,等等。

[0226] 在水溶剂或有机溶剂中,通过使所选择金属的氢化物、氢氧化物、碳酸盐或类似的反应性化合物与本发明化合物的游离酸形式接触,可获得本发明化合物,例如本文所述化合物的金属盐。所用的水溶剂可以是水,或者可以是水与有机溶剂的混合物,有机溶剂优选醇如甲醇或乙醇、酮如丙酮、脂肪族醚如四氢呋喃、或酯如乙酸乙酯。所述反应通常在环境温度下进行,但如果需要,它们可以在加热下进行。

[0227] 在水溶剂或有机溶剂中,通过使胺与本发明化合物的游离酸形式接触,可获得本发明化合物,例如本为所述化合物的胺盐。合适的水溶剂包括水以及水与醇如甲醇或乙醇、醚如四氢呋喃、腈如乙腈、或酮如丙酮的混合物。氨基酸盐也可以被类似地制备。

[0228] 通过应用或修改已知的方法,可以从盐中再生本发明化合物,例如本发明化合物的碱加成盐。例如,通过用酸如氢氯酸处理,可从它们的碱加成盐中再生本发明的母体化合物。

[0229] 药物组合物和给药方法

[0230] 优选使用包含至少一种通式(I)的化合物(如果合适,为盐的形式)的药物组合物来提供本发明方法中所用的环孢菌素衍生物,该化合物是单独使用的,或者与一种或多种相容的且药学上可接受的载体如稀释剂或佐剂组合使用,或者与另一种治疗剂(例如,抗 HCV) 制剂组合使用。在临床实践中,可通过任何常规的途径,特别是口服、肠胃外、直肠或通过吸入(例如以气雾剂的形式)施用本发明的环孢菌素衍生物。优选通过口服施用本发明的环孢菌素衍生物。

[0231] 可以使用片剂、丸剂、硬明胶胶囊、散剂或颗粒剂作为固体组合物用于口服施用。在这些组合物中,将本发明的活性产物与一种或多种惰性稀释剂或佐剂如蔗糖、乳糖或淀粉混合。

[0232] 这些组合物可包含稀释剂以外的物质,例如润滑剂如硬脂酸镁、或用于控释的包

衣。

[0233] 可以使用包含惰性稀释剂如水或液体石蜡的药理学上可接受的溶液剂、悬浮剂、乳剂、糖浆和酞剂作为液体组合物用于口服。除了稀释剂,这些组合物还可包含其它物质,例如润湿剂、甜味剂或调味剂。

[0234] 用于肠胃外施用的组合物可以是乳剂或无菌溶液。可以使用丙二醇、聚乙二醇、植物油特别是橄榄油、或可注射的有机酯如油酸乙酯作为溶剂或运载体。这些组合物还可包含佐剂,特别是润湿剂、等张剂、乳化剂、分散剂和稳定剂。可通过几种方式进行灭菌,例如使用细菌过滤器、通过辐射或通过加热。也可以将它们制成无菌固体组合物的形式,在使用时将固体组合物溶解在无菌水或任何其它可注射的无菌介质中。

[0235] 用于直肠施用的组合物是栓剂或直肠胶囊,除了活性成分外,其中还包含赋形剂如可可脂、半合成甘油酯或聚乙二醇。

[0236] 组合物也可以是气雾剂。对于以液体气雾剂形式使用,组合物可以是稳定的无菌溶液剂,或者是在使用时溶于无热原的无菌水、盐水或任何其它药理学上可接受的运载体中的固体组合物。对于以干燥气雾剂的形式用于直接吸入的用途,将活性成分细微地分散,与水溶性固体稀释剂或运载体例如右旋糖、甘露醇或乳糖组合。

[0237] 在优选的实施方案中,本发明的组合物是药物组合物或单一单位剂型。本发明的药物组合物和单一单位剂型包含预防或治疗有效量的一种或多种预防性制剂或治疗性制剂(例如本发明的化合物,或其它预防性制剂或治疗性制剂)、和通常的一种或多种药理学上可接受的载体或赋形剂。在具体的实施方案和本文中,术语“药理学上可接受的”指由联邦政府或州政府管理部门批准或列入美国药典或其它公认的药典,可用于动物,更特别地用于人的。术语“载体”指稀释剂、佐剂(例如 Freund 佐剂(完全的和不完全的))、赋形剂、或用于施用治疗的运载体。这些药理学上可接受的载体可以是无菌液体如水和油,包括石油、动物油、植物油或合成油,例如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。当静脉内施用药物组合物时,水是优选的载体。盐水溶液、右旋糖水溶液和甘油溶液也可用作液体载体,特别是用于可注射的溶液剂。合适药用载体的例子由 E. W. Martin 描述于“Remington's Pharmaceutical Sciences”。

[0238] 典型的药物组合物和剂型包含一种或多种赋形剂。合适的赋形剂对药物领域的技术人员是熟知的,合适赋形剂的非限制性例子包括淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、稻谷、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石、氯化钠、干燥脱脂奶、甘油、丙烯、二醇、水、乙醇等。具体的赋形剂是否适合掺入药物组合物或剂型中,这取决于本领域熟知的各种因素,这些因素包括但不限于将剂型施用于个体的方式和剂型中的具体活性成分。如果需要,组合物或单一单位剂型还可包含少量润湿剂或乳化剂、或 pH 缓冲剂。

[0239] 不含乳糖的本发明组合物可包括本领域熟知的赋形剂,这些赋形剂列于例如美国药典 (USP) SP (XXI) /NF (XVI) 中。通常,不含乳糖的组合物包含活性成分、药学相容且药理学上可接受的量的粘合剂/填充剂、和润滑剂。不含乳糖的示例性剂型包含活性成分、微晶纤维素、预胶化淀粉、和硬脂酸镁。

[0240] 本发明还包括含有活性成分的无水药物组合物和剂型,因为水能促进一些化合物的降解。例如,为了确定特性如贮存期或剂型随时间的稳定性,在药学领域中广泛接受用添加水(例如 5%)作为模拟长期贮存的方式。参见例如 Jens T. Carstensen, Drug

Stability :Principles & Practice, 2d. Ed. , Marcel Dekker, NY, NY, 1995, 第 379-80 页。结果是,水和热会加速一些化合物的分解。因此,水对剂型的效果可能特别重要,因为在剂型的制造、加工、包装、贮存、运输和使用过程中经常会接触水分和 / 或湿度。

[0241] 用无水或低水分含量的成分和低水分或低湿度条件,可制备本发明的无水药物组合物和剂型。如果在制造、包装、和 / 或贮存过程中可能会与水分和 / 或湿度充分接触,则包含乳糖和至少一种包含伯胺或仲胺的活性成分的药物组合物和剂型优选是无水的。

[0242] 应该制备无水药物组合物并以保持其无水性质的方式来贮存。因此,优选使用已知能防止暴露于水的材料包装无水组合物,以使它们能够被包装在合适的剂型盒中。合适包装的例子包括但不限于密封的封箔、塑料、单位剂量容器(例如小瓶)、泡罩、和条状包装。

[0243] 本发明还包括如下药物组合物和剂型,其包含能减少活性成分分解速率的一种或多种化合物。在本文中被称为“稳定剂”的这些化合物包括但不限于抗氧化剂如抗坏血酸、pH 缓冲剂、或盐缓冲剂。

[0244] 药物组合物和单一单位剂型可以采用溶液剂、悬浮剂、乳剂、片剂、丸剂、胶囊剂、粉剂、缓释剂型等的形式。口服剂型可包括标准的载体,例如药用级别的甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、纤维素、碳酸镁等。这些组合物和剂型将包含预防或治疗有效量的、优选为纯化形式的预防性制剂或治疗性制剂,以及合适量的载体,从而提供用于正确施用于个体的形式。剂型应适合施用的模式。在优选实施方案中,药物组合物或单一单位剂型是无菌的,并且适合施用于个体的形式,所述个体优选为动物,更优选哺乳动物,最优选人。

[0245] 将本发明的药物组合物配制成与其预期施用途径是相容的。施用途径的例子包括但不限于:肠胃外施用,例如静脉内、皮内、皮下、肌肉内、皮下、口服、口腔、舌下、吸入、鼻腔、透皮、局部、透粘膜、肿瘤内、滑囊内和直肠施用。在具体的实施方案中,根据常规程序将组合物配制成药物组合物,用于静脉内、皮下、肌肉内、口服、鼻腔或表面施用于人类。在一个实施方案中,根据常规程序配制药组合物,用于皮下施用于人类。典型地,用于静脉内施用的组合物是在无菌等张水性缓冲溶液中的溶液。当必要时,组合物还可包含增溶剂和局麻药如利多卡因,以缓解注射位置的疼痛。

[0246] 剂型的例子包括但不限于:片剂;囊片;胶囊,例如软弹性明胶胶囊;囊片;药片;锭剂;分散剂;栓剂;油膏;糊剂(膏药);贴剂;粉剂;敷料;乳膏;橡皮膏;溶液剂;贴片;气雾剂(例如鼻腔喷雾或吸入剂);凝胶;适合口服或鼻腔施用于个体的液体剂型,包括悬浮剂(例如水性或非水性液体悬浮剂、水包油乳剂、或油包水液体乳剂)、溶液剂、和酏剂;适合肠胃外施用于个体的液体剂型;和无菌固体(例如晶体或无定形固体),其能够被重新配制以提供适合肠胃外施用于个体的液体剂型。

[0247] 通常本发明剂型的组成、形状、和类型将根据它们的用途而改变。例如,用于初始治疗病毒感染的剂型所含的一种或多种活性成分的量可大于用于维持治疗同一感染的剂型所含的量。类似地,肠胃外剂型所含的一种或多种活性成分的量可小于用于治疗同一疾病或病症的口服剂型所含的量。本发明所采用的具体剂型的这些和其它方式各不相同,这对于本领域技术人员将是显而易见的。参见例如 Remington' s Pharmaceutical Sciences, 18th ed. , Mack Publishing, Easton PA(1990)。

[0248] 通常,本发明组合物的成分或者分别提供,或者将它们混合成单位剂型,例如在说

明了活性制剂量的密封容器如安瓿或小袋中的冻干粉或无水浓缩物。当通过输液施用，可以将组合物分散在含无菌药用级别的水或盐水的输液瓶中。当通过注射施用组合物时，可提供无菌注射用水安瓿或盐水安瓿，从而可以在施用前混合各成分。

[0249] 本发明的典型剂型包含本发明的化合物、或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物，其范围为约 0.1mg 至约 1000mg/天，在早晨作为每日一次单一剂量服用，但优选在全天以分开剂量随食物服用。本发明的具体剂型含有约 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1.0、2.0、2.5、5.0、10.0、15.0、20.0、25.0、50.0、100、200、250、500 或 1000mg 活性环孢菌素。

[0250] 口服剂型

[0251] 适合口服施用的本发明药物组合物可作为离散的剂型存在，例如但不限于片剂（例如咀嚼片）、囊片、胶囊、和液体（例如调味糖浆）。这些剂型包含预定量的活性成分，可以通过本领域技术人员熟知的药学方法来制备。通常参见 Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing, Easton PA (1990)。

[0252] 在优选实施方案中，口服剂型是固体，并在无水条件下用无水成分制备，如上面部分中的详细描述。但是，本发明的范围不限于无水固体口服剂型。同样，本文还描述了其它形式。

[0253] 根据常规配药技术，通过将活性成分与至少一种赋形剂掺混，来制备本发明的典型口服剂型。取决于施用所需的制剂形式，赋形剂可采用广泛不同的形式。例如，适用于口服液体剂型或气雾剂剂型的赋形剂包括但不限于水、二醇、油、醇、调味剂、防腐剂和着色剂。适用于固体口服剂型（例如粉剂、片剂、胶囊和囊片）的赋形剂例子包括但不限于淀粉、糖、微晶纤维素、稀释剂、成粒剂、润滑剂、粘合剂、和崩解剂。

[0254] 因为易于施用，片剂和胶囊是最有益的口服剂量单位形式，其中使用固体赋形剂。如果需要，可通过标准水性或非水技术将片剂包衣。可通过任何药学方法制备这些剂型。通常，通过将活性成分与液体载体、细微分散的固体载体、或两者均匀和密切地掺合，来制备药物组合物和剂型，如果必需，然后将产物成型为所需的外观。

[0255] 例如，可通过压制或模制来制备片剂。可如下制备压制片：将自由流动形式如粉末或颗粒的活性成分任选地与赋形剂混合，在合适的机器中压片。可如下制备模制片：在合适的机器中将用惰性液体稀释剂润湿的粉状化合物的混合物制模。

[0256] 可用于本发明口服剂型的赋形剂的例子包括但不限于粘合剂、填充剂、崩解剂、和润滑剂。适用于药物组合物和剂型的粘合剂包括但不限于：玉米淀粉、马铃薯淀粉或其它淀粉、明胶、天然和合成胶如阿拉伯胶、藻酸钠、海藻酸、其它藻酸盐、粉状黄芪胶、瓜尔胶、纤维素及其衍生物（例如乙基纤维素、醋酸纤维素、羧甲基纤维素钙、羧甲基纤维素钠）、聚乙烯吡咯烷酮、甲基纤维素、预胶化淀粉、羧丙基甲基纤维素（例如 2208 号、2906 号、2910 号）、微晶纤维素、及其混合物。

[0257] 适用于本文公开的药物组合物和剂型的填充剂的例子包括但不限于：滑石、碳酸钙（例如颗粒或粉末）、微晶纤维素、粉状纤维素、右旋糖、高岭土、甘露醇、硅酸、山梨醇、淀粉、预胶化淀粉、及其混合物。本发明药物组合物中的粘合剂或填充剂通常占药物组合物或剂型的约 50% 至约 99% 重量。

[0258] 合适的微晶纤维素形式包括但不限于作为 AVICEL PH 101、AVICEL PH103、AVICEL RC 581、AVICEL PH 105（购自 FMC Corporation, American Viscose Division, Avicel

Sales, Marcus Hook, PA) 出售的材料、及其混合物。具体的粘合剂是作为 AVICEL RC 581 出售的微晶纤维素与羧甲基纤维素钠的混合物。合适的无水或低水分赋形剂或添加剂包括 AVICEL PH 103 和 Starch 1500LM。

[0259] 在本发明的组合物中,使用崩解剂以使片剂在暴露于水性环境时崩解。包含太多崩解剂的片剂会在贮存时崩解,而包含太少崩解剂的片剂不能以所需速率崩解,或者不能在所需环境下崩解。因此,应该使用足够量的崩解剂来形成本发明的固体口服剂型,该量既不会太多也不会太少以致不利地改变活性成分的释放。所使用的崩解剂量基于剂型的类型而改变,本领域普通技术人员可容易地识别该量。典型的药物组合物包含约 0.5% 至约 15% 重量的崩解剂,特别是约 1% 至约 5% 重量崩解剂。

[0260] 可用于本发明药物组合物和剂型的崩解剂包括但不限于:琼脂、海藻酸、碳酸钙、微晶纤维素、交联羧甲基纤维素钠、交联聚维酮、波拉克林钾、淀粉羟乙酸钠、马铃薯淀粉或木薯淀粉、预胶化淀粉、其它淀粉、粘土、其它海藻酸、其它纤维素、胶,及其混合物。

[0261] 可用于本发明药物组合物和剂型的润滑剂包括但不限于:硬脂酸钙、硬脂酸镁、矿物油、轻质矿物油、甘油、山梨醇、甘露醇、聚乙二醇、其它二醇、硬脂酸、十二烷基硫酸钠、滑石、氢化植物油(例如花生油、棉籽油、葵花油、芝麻油、橄榄油、玉米油、和大豆油)、硬脂酸锌、油酸乙酯、月桂酸乙酯、琼脂、及其混合物。其它润滑剂包括例如硅酸盐硅胶(AEROSIL 200, 由 W. R. Grace Co. of Baltimore, MD 制造)、合成二氧化硅的凝结气雾剂(由 Degussa Co. of Plano, TX 出售)、CAB O SIL(由 Cabot Co. of Boston, MA 出售的热源二氧化硅产品)、及其混合物。如果使用了,润滑剂的通常用量为小于所掺入药物组合物或剂型的约 1% 重量。

[0262] 延迟释放剂型

[0263] 可通过本领域普通技术人员熟知的控释方式或通过递药装置来施用活性成分如本发明的化合物。例子包括但不限于美国专利号 3,845,770、3,916,899、3,536,809、3,598,123 和 4,008,719、5,674,533、5,059,595、5,591,767、5,120,548、5,073,543、5,639,476、5,354,556 和 5,733,566 中描述的那些,所述每个专利均被纳入本文作为参考。通过使用不同比例的例如羟丙基甲基纤维素、其它聚合物材料、凝胶、可渗透的膜、渗透体系、多层衣料、微粒、脂质体、微球、或其组合来提供所需的释放特性,这些剂型可用于缓慢释放或控制释放一种或多种活性成分。可方便地选择本领域普通技术人员已知的合适控释剂型,包括本文所述的剂型,以用于本发明的活性成分。因此,本发明包括适合口服施用的单一单位剂型,例如但不限于用于适于控释的片剂、胶囊、软胶囊和囊片。

[0264] 控释药物产品的普遍目标是:与其非控释的对应药所获得的治疗相比,改善药物的治疗。理想地,最佳设计的控释制剂在医学治疗中的用途特征是:在最短的时间内,使用最少量的药物来治疗或控制病症。控释剂型的优点包括延长药物的活性、减少给药频率、和增加个体依从性。此外,控释剂型可用于影响作用发生的时间或其它特征,例如药物的血液水平,因此能够影响副作用(例如不利作用)的发生。

[0265] 大多数控释剂型被设计成最初释放一定量的药物(活性成分),以迅速产生所需的治疗效果,然后逐渐持续释放其余药物量,以在延长的时间内保持这种水平的治疗或预防效果。为了在体内保持这种稳定的药物水平,药物从剂型中的释放速率必须能够补偿被代谢和排泄出体外的药物量。可通过各种条件,包括但不限于 pH、温度、酶、水或其它生理条

件或化合物来激发活性成分的控制释放。

[0266] 肠胃外剂型

[0267] 虽然无水的固体口服剂型是优选的,但本发明还提供了肠胃外剂型。肠胃外剂型可通过各种途径施用于个体,这些途径包括但不限于:皮下、静脉内(包括大丸推注)、肌肉内和动脉内。因为肠胃外剂型的施用通常绕开了个体对抗污染物的天然屏障,所以它们优选是无菌的,或者在施用于个体前被灭菌。肠胃外剂型的例子包括但不限于:可以注射的溶液剂、可以溶于或悬浮于药学上可接受的注射运载体中的干燥产物、可以注射的悬浮剂和乳剂。

[0268] 可用于提供本发明肠胃外剂型的合适运载体对本领域技术人员是熟知的。例子包括但不限于:USP 注射用水;水性运载体,例如但不限于氯化钠注射液、林格氏注射液、葡萄糖注射液、葡萄糖和氯化钠注射液、和乳酸化的林格氏注射液;与水混溶的运载体,例如但不限于乙醇、聚乙二醇和聚丙二醇;和非水性运载体,例如但不限于玉米油、棉籽油、花生油、芝麻油、油醇乙酯、肉豆蔻酸异丙酯和苯甲酸苯甲酯。

[0269] 还可以将能增加本文公开的一种或多种活性成分的溶解度的化合物掺入本发明的肠胃外剂型中。

[0270] 透皮、表面和粘膜剂型

[0271] 尽管无水口服固体剂型是优选的,但本发明还提供了透皮、表面和粘膜剂型。本发明的透皮、表面和粘膜剂型包括但不限于:眼用溶液、喷雾、气雾剂、乳膏、洗剂、油膏、凝胶、溶液、乳剂、悬浮剂或本领域技术人员已知的其它形式。参见例如 Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th and 18th eds, Mack Publishing, Easton PA (1980 & 1990); 和 Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, 第4版, Lea & Febiger, Philadelphia (1985)。可以将适合用于治疗口腔内粘膜组织的剂型配制成嗽口水或口腔凝胶。此外,透皮剂型包括"贮库型"或"基质型"贴片,可将它们应用到皮肤上,佩戴特定一定时间,以允许渗透所需量的活性成分。

[0272] 可用于提供本发明透皮、表面和粘膜剂型的合适赋形剂(例如载体和稀释剂)和其它材料对药学领域的技术人员是熟知的,它们取决于给定药物组合物或剂型将要施用的具体组织。因此,典型的赋形剂包括但不限于:水、丙酮、乙醇、乙二醇、丙二醇、1,3-丁二醇、肉豆蔻酸异丙酯、棕榈酸异丙酯、矿物油、及其混合物,用于形成洗剂、酊剂、乳膏、乳剂、凝胶或油膏,这些赋形剂是无毒和药学上可接受的。如果需要,也可以将润湿剂或保湿剂添加到药物组合物和剂型中。这些额外成分的例子在本领域中是熟知的。参见例如 Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th and 18th eds., Mack Publishing, Easton PA (1980 & 1990)。

[0273] 根据待治疗的具体组织,可以在用本发明的活性成分治疗前、治疗过程中、或治疗后使用附加的组分。例如,可以使用促渗剂协助将活性成分递送到组织中。合适的促渗剂包括但不限于:丙酮;各种醇如乙醇、油醇、和四氢呋喃;烷基亚砷,例如二甲亚砷;二甲基乙酰胺;二甲基甲酰胺;聚乙二醇;吡咯烷酮,例如聚乙烯吡咯烷酮;Kollidon 级别(Povidone、Polyvidone);尿素;和各种水溶性或水不溶性糖酯,例如 Tween 80(聚山梨酯 80) 和 Span60(硬脂酸山梨坦)。

[0274] 也可以调整药物组合物或剂型的 pH、或要应用药物组合物或剂型的组织的 pH,以

改善一种或多种活性成分的递送。类似地,可调整溶剂载体的极性、其离子强度或张力,以改善递送。还可以将化合物如硬脂酸脂添加到药物组合物或剂型中,以有益地改变一种或多种活性成分的亲水性或疏水性,从而改善递送。在这点上,硬脂酸脂可作为剂型的脂质运载体、乳化剂或表面活性剂、和作为递送增强剂或促渗剂。可利用活性成分的不同盐、水合物或溶剂化物,进一步调整所得组合物的性质。

[0275] 治疗或预防个体疾病的方法

[0276] 本发明化合物作用于被称作亲环蛋白的酶,抑制其酶活性。亲环蛋白存在于广泛的有机体中,包括人、酵母、细菌、单细胞动物、多细胞动物、昆虫、植物或病毒。在感染的有机体中,本发明化合物对亲环蛋白酶活性的抑制通常导致对机体的抑制效果。此外,在人类中,亲环蛋白的酶活性参与许多不同疾病状况。对该酶活性的抑制通常与治疗效果相关。因此,某些本发明化合物可以被用来治疗感染,包括 HCV 和 HIV(见下文详述),以及真菌病原体、单细胞生物和后生动物寄生虫导致的感染。此外,某些本发明化合物可以被用来治疗神经退行性疾病,例如阿尔茨海默氏病、帕金森氏症,和神经性疾病。本发明化合物的另一种用途是保护组织免于受到缺血再灌注损伤,例如脊髓损伤后的麻痹性损伤、心梗后的心肌损伤。此外,本发明化合物导致再生过程,例如由于损伤或其它相关疾病引起的头发、肝脏、牙龈,或神经组织受损后的再生过程,例如青光眼的视神经损害。

[0277] 某些本发明化合物可以影响被诊断患有例如面肩肱型营养不良(Landouzy-Dejerine),包括杜兴氏和贝克肌营养不良、乌尔里希先天性肌营养不良和 Bethlem 肌病在内的肢带肌营养不良患者的线粒体功能和肌肉细胞的凋亡速度。

[0278] 某些本发明化合物可以被用来治疗慢性炎症和自身免疫性疾病。本文披露的所述化合物对免疫反应的调节也可以用于治疗自身免疫性疾病,例如类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、高免疫球蛋白 E 综合征、桥本氏甲状腺炎、多发性硬化、进展性系统性硬化、重症肌无力、I 型糖尿病、葡萄膜炎、过敏性脑脊髓炎、肾小球肾炎。其它应用包括治疗和预防炎症性和过度增生型皮肤疾病,以及免疫介导疾病的皮肤表现,例如牛皮癣、过敏性皮炎、接触性皮炎、和湿疹性皮炎、脂溢性皮炎、扁平苔藓、天疱疮、大疱性类天疱疮、大疱性表皮松解、荨麻疹、血管瘤、血管炎、红斑、皮肤嗜酸细胞增多症、红斑狼疮、痤疮和斑秃;各种眼部疾病(自身免疫或其它原因造成),例如角结膜炎、春季结膜炎、角膜炎、疱疹性角膜炎、圆锥形角膜、角膜上皮营养不良、角膜白斑、眼部天疱疮、蚕蚀性角膜溃疡、巩膜炎、Graves 眼病、Vogt-Koyanagi-Harada 综合征、结节病、多发性骨髓瘤、等;阻塞性气道疾病,包括病症如:慢性阻塞性肺病、哮喘(例如,支气管哮喘、过敏性哮喘、内源性哮喘、外源性哮喘粉尘哮喘),特别是慢性或顽固性哮喘(例如,晚期哮喘和气道高反应)、支气管炎、过敏性鼻炎,等等;粘膜和血管发炎,例如:缺血性疾病和血栓形成导致的胃溃疡、血管损伤。此外,过度增生性血管疾病,例如内膜平滑肌细胞增生、再狭窄及血管闭塞,特别是在生物或机械介导的血管损伤后发生的,可以由本文化合物治疗或预防。其它的可治疗病症包括但不限于缺血性肠道疾病;与热烧伤和白三烯 B4 介导的疾病相关的炎症性肠病、坏死性小肠结肠炎、肠道病变;肠道炎症/过敏,如腹腔疾病、直肠炎、嗜酸性胃肠炎、肥大细胞增多症、克罗恩氏病和溃疡性结肠炎;与食物有关的过敏性疾病,其具有非胃肠道症状表现(例如,偏头痛、鼻炎和湿疹);肾脏疾病,例如间质性肾炎、古德帕斯蒂尔综合征、溶血性尿毒症综合征和糖尿病肾病;神经性疾病,例如多发性肌炎、格林巴利综合征、美尼尔氏病、多神经炎、多

发性神经炎、单神经炎和神经根病变；内分泌疾病，例如甲状腺功能亢进症和巴塞多氏病；血液疾病，例如纯红细胞再生障碍性贫血、再生障碍性贫血、发育不良性贫血、特发性血小板减少性紫癜、自身免疫性溶血性贫血、粒细胞缺乏症、恶性贫血、巨幼细胞性贫血和红细胞发生不能；骨骼疾病，例如骨质疏松；呼吸系统疾病，例如结节病、肺纤维瘤和特发性间质性肺炎；皮肤疾病，例如皮炎、白斑病、鱼鳞病、光变应性敏感和皮肤 T 细胞淋巴瘤；循环系统疾病，例如动脉硬化、动脉粥样硬化、大动脉炎综合征、结节性多动脉炎和非炎性心肌病；胶原性疾病，例如硬皮病、韦格纳肉芽肿和干燥综合征；肥胖症；嗜酸性筋膜炎；牙周疾病，例如牙龈、牙周、牙槽骨和牙骨质的病变；肾病综合症，例如肾小球肾炎；通过防止脱发、或者提供头发发芽、和 / 或促进毛发生成和增长来治疗或预防男性型脱发或者老年性脱发；肌营养不良症；脓皮病和 Sezary 综合征；阿狄森氏病；活性氧介导的疾病，例如器官损伤，如缺血再灌注损伤的器官（如心脏、肝、肾脏和消化道），这在保存、移植或缺血性疾病（例如、血栓形成和心肌梗死）的情况下发生；肠道疾病，例如由药物或辐射引起的内毒素休克、伪膜性结肠炎和结肠炎；肾脏疾病，例如缺血性急性肾功能不全和慢性肾功能不全；肺部疾病，例如由肺氧或药物（例如、去氢可的松和丝裂霉素）引起的毒素沉着病、肺癌和肺气肿；眼部疾病，例如白内障、铁质沉着症、色素性视网膜炎、老年性黄斑变性、玻璃体疤痕和角膜碱烧伤；皮炎，例如多形性红斑、线状 IgA、巴洛斯基皮炎和水泥皮炎；以及其它，例如牙龈炎、牙周炎、败血症、胰腺炎、因环境污染（例如、空气污染）引发的疾病、老化、癌变、肿瘤转移和低气压病；组胺或白三烯 -C4 的释放引起的疾病；白塞氏病，例如肠白塞氏病、血管白塞氏病或神经白塞氏病，影响口腔、皮肤、眼、外阴、关节、附睾、肺、肾等等的白塞氏病。此外，本文所披露的化合物是用于治疗 and 预防肝病，例如免疫性疾病（例如、慢性自身免疫性肝病，包括自身免疫性肝炎、原发性胆汁性肝硬化和硬化性胆管炎）、部分肝切除、急性肝坏死、硬化（如酒精性肝硬化），以及肝功能衰竭，例如暴发性肝衰竭、迟发性肝衰竭和慢性肝病中的急性肝功能衰竭。此外本发明的某些化合物也可用于例如预防性治疗新生儿先天性肝纤维化，或移植受者，例如器官或者组织移植，如肝移植。

[0279] 治疗或预防个体 HCV 感染的方法

[0280] 本发明提供使用本发明化合物或组合物治疗或预防有此需要的个体中的反转录病毒感染的方法。所述方法一般性地包括给所述个体施用有效量的所述化合物或组合物以治疗或预防所述反转录病毒感染。在优选的实施方案中，所述反转录病毒感染是 HCV 感染。

[0281] 在本发明的某些实施方案中，所述个体可以是感染了 HCV、或有感染 HCV 风险的任何个体。通过本领域技术人员认为合适的任何技术，能够确认感染或感染的风险。特别优选的个体是感染了 HCV 的人。

[0282] HCV 可以是本领域技术人员已知的任何 HCV。本领域技术人员已知存在至少六种 HCV 基因型和至少 50 种亚型。所述 HCV 可以是本领域技术人员已知的任何基因型或亚型。在某些实施方案中，所述 HCV 是仍然未被表征的基因型或亚型。在某些实施方案中，个体感染了单一基因型的 HCV。在某些实施方案中，个体感染了多种亚型或多种基因型的 HCV。

[0283] 在某些实施方案中，所述 HCV 为基因型 1，并可以是任何亚型。例如，在某些实施方案中，所述 HCV 为亚型 1a、1b 或 1c。认为基因型 1 的 HCV 感染对现有的干扰素治疗响应很小。本发明的方法对治疗基因型 1 的 HCV 感染有益。

[0284] 在某些实施方案中，HCV 不是基因型 1。在某些实施方案中，所述 HCV 为基因型 2，

并可以是任何亚型。例如,在某些实施方案中,所述 HCV 为亚型 2a、2b 或 2c。在某些实施方案中,所述 HCV 为基因型 3,并可以是任何亚型。例如,在某些实施方案中,所述 HCV 为亚型 3a、3b 或 10a。在某些实施方案中,所述 HCV 为基因型 4,并可以是任何亚型。例如,在某些实施方案中,所述 HCV 为亚型 4a。在某些实施方案中,所述 HCV 为基因型 5,并可以是任何亚型。例如,在某些实施方案中,所述 HCV 为亚型 5a。在某些实施方案中,所述 HCV 为基因型 6,并可以是任何亚型。例如,在某些实施方案中,所述 HCV 为亚型 6a、6b、7b、8b、9a 或 11a。参见例如 Simmonds, 2004, J Gen Virol. 85 :3173-88 ;Simmonds, 2001, J Gen. Virol, 82, 693-712, 这些文献的内容被全文纳入本文作为参考。

[0285] 在本发明的某些实施方案中,个体从未接受过 HCV 感染的治疗或预防。在本发明的其它实施方案中,个体曾经接受过 HCV 感染的治疗或预防。例如,在某些实施方案中,个体对现有的 HCV 治疗没有响应。事实上,在现有的干扰素治疗中,多达 50% 或更多的 HCV 个体对治疗没有响应。在某些实施方案中,个体可以是接受了治疗但仍然存在病毒感染或其一个或多个症状的个体。在某些实施方案中,个体可以是接受了治疗但没有获得持续病毒学响应的个体。在某些实施方案中,个体已经接受了 HCV 感染治疗,但是在治疗 12 星期后, HCV RNA 水平显示并没有下降 2 个 Log_{10} 。认为在治疗 12 星期后显示血清 HCV RNA 水平减少不大于 2 个 Log_{10} 的个体有 97-100% 的机会不产生响应。因为本发明的化合物通过与现有 HCV 治疗所不同的机理发挥作用,所以相信本发明的化合物应该能够有效地治疗这些无响应者。

[0286] 在某些实施方案中,所述个体为由于与治疗相关的一个或多个有害事件而中断 HCV 治疗的个体。在某些实施方案中,个体是用现有治疗不能治疗的个体。例如,某些 HCV 治疗伴有神经精神病学事件。干扰素 (IFN)- α 加病毒唑伴有高比率的抑郁。在许多医学病症中,抑郁症状导致更坏的结果。在 HCV 治疗过程中,在具有或不具有精神病学病症史的个体中,都发生过威胁生命或致命的神经精神病学事件,包括自杀、自杀性思维或杀人性思维、抑郁、药物成瘾 / 药物过量的复发、和攻击性行为。干扰素诱导的抑郁是治疗慢性丙型肝炎的限制,尤其是对于具有精神病学病症的个体。精神病学副作用对于干扰素治疗是常见的,它引起约 10% 至 20% 的现有 HCV 感染治疗的中断。

[0287] 因此,本发明提供了用于治疗或预防个体 HCV 感染的方法,在所述个体中,神经精神病学事件例如抑郁的风险使得用现有的 HCV 治疗是不适当的。本发明还提供了用于治疗或预防个体 HCV 感染的方法,在所述个体中,神经精神病学事件例如抑郁、或其风险使得现有的 HCV 治疗被中断。本发明还提供了用于治疗或预防个体 HCV 感染的方法,在所述个体中,神经精神病学事件例如抑郁、或其风险使得现有 HCV 治疗的剂量减少。

[0288] 在对干扰素或病毒唑、或两者、或用于施用干扰素或病毒唑的药物制品的任何其它组分高度敏感的个体中,现有的治疗也是不适当的。在具有血红蛋白病 (例如重型地中海贫血、镰状细胞贫血) 的个体和有现有治疗的血液病副作用风险的其它个体中,也不能进行现有的治疗。常见的血液病副作用包括骨髓抑制、中性白细胞减少和血小板减少。此外,病毒唑对红细胞是有毒的,伴有溶血。因此,本发明还提供了用于治疗或预防如下个体 HCV 感染的方法: 对干扰素或病毒唑或二者高度敏感的个体、具有血红蛋白病的个体,例如重型地中海贫血个体和镰状细胞贫血个体、和对现有治疗有血液病副作用风险的其它个体。

[0289] 在某些实施方案中,个体已经接受了 HCV 治疗,在施用本发明的方法前中断了该治疗。在其它实施方案中,个体已经接受了 HCV 治疗,在施用本发明方法的过程中继续接受该治疗。根据本领域技术人员的判断,本发明的方法可以与其它 HCV 治疗共同施用。在有益的实施方案中,本发明的方法或组合物可与剂量减少的其它 HCV 治疗共同施用。

[0290] 在某些实施方案中,本发明提供了用于治疗个体的方法,所述个体用干扰素治疗是难治的。例如,在一些实施方案中,个体可以是对选自下列的一种或多种制剂治疗没有响应的个体:干扰素、干扰素 α 、聚乙二醇化干扰素 α 、干扰素加病毒唑、干扰素 α 加病毒唑和聚乙二醇化干扰素 α 加病毒唑。在一些实施方案中,个体可以是对选自下列的一种或多种药物治疗响应微弱的个体:干扰素、干扰素 α 、聚乙二醇化干扰素 α 、干扰素加病毒唑、干扰素 α 加病毒唑和聚乙二醇化干扰素 α 加病毒唑。

[0291] 在其它实施方案中,本发明提供了用于治疗已怀孕或可能要怀孕的个体 HCV 感染的方法,因为现有的治疗对怀孕妇女也是不适当的。

[0292] 在某些实施方案中,在肝移植后向个体施用本发明的方法或组合物。在美国,丙型肝炎是肝移植的主导原因,进行肝移植的许多个体在移植后仍保持 HCV 阳性。本发明提供了用本发明的化合物或组合物治疗这些 HCV 复发的个体的方法。在某些实施方案中,本发明提供了在肝移植之前、肝移植过程中或肝移植之后治疗个体以预防 HCV 感染复发的方法。

[0293] 剂量和单位剂型

[0294] 在人的治疗中,医生将根据预防性或医疗性治疗,并根据待治疗个体的具体年龄、体重、感染阶段和其它因素,确定他认为最适当的剂量。通常,对于成人,剂量为约 1 至约 2000mg/天,或者剂量为约 5 至约 250mg/天、或约 10 至 50mg/天。在某些实施中,剂量为每个成人约 5 至约 400mg/天,更优选 25 至 200mg/天。剂量率为约 50 至约 500mg/天也是优选的。

[0295] 在其它方面,通过向有此需要的个体施用有效量的丙型肝炎病毒治疗指数高的本发明化合物、或其药学上可接受的盐,本发明提供了用于治疗个体丙型肝炎病毒感染的方法。可根据本领域技术人员已知的任何方法,例如下面实施例所述的方法,来测量治疗指数。在某些实施方案中,治疗指数是化合物的毒性浓度与有效对抗丙型肝炎病毒的浓度的比值。可通过技术人员已知的任何技术,包括细胞毒性(例如 IC_{50} 或 IC_{90})和致死剂量(例如 LD_{50} 或 LD_{90})来测量毒性。类似地,可通过技术人员已知的任何技术,包括有效浓度(例如 EC_{50} 或 EC_{90})和有效剂量(例如 ED_{50} 或 ED_{90})来测量有效浓度。优选地,用比值来比较类似的测量值(例如 IC_{50}/EC_{50} 、 IC_{90}/EC_{90} 、 LD_{50}/ED_{50} 或 LD_{90}/ED_{90})。在某些实施方案中,治疗指数能高达 2.0、5.0、10.0、15.0、20.0、25.0、50.0、75.0、100.0、125.0、150.0 或更高。

[0296] 可以有效预防、治疗、控制或改善病症或其一种或多种症状的本发明化合物或组合物的量将根据疾病或病症的性质和严重性、以及活性成分的施用途径而变化。频率和剂量还将根据每个个体的特异性因素改变,这取决于所施用的具体治疗(例如治疗性制剂或预防性制剂)、病症、疾病或症状的严重性、施用途径、以及个体的年龄、体重、响应和既往药史。可以用来自体外或动物模型测定体系的剂量-响应曲线推断有效剂量。

[0297] 组合物的示例剂量包括每千克个体或样品重量的活性化合物的毫克或微克量(例如约 10 微克/千克至约 50 毫克/千克、约 100 微克/千克至约 25 毫克/千克、或约

100 微克 / 千克至约 10 毫克 / 千克)。对于本发明的组合物,按活性化合物的重量计,施用于个体的剂量典型地为 0.140mg/kg 至 3mg/kg 个体体重。优选地,施用于个体的剂量为 0.20mg/kg 至 2.00mg/kg 个体体重、或者 0.30mg/kg 至 1.50mg/kg 个体体重。

[0298] 通常,对于本文所述的病症,本发明组合物的每日推荐剂量范围为约 0.1mg 至约 2000mg/天,作为每日一次单一剂量给药,或作为全天的分剂量给药。在一个实施方案中,以相等的分剂量每日两次施用每日剂量。具体地,每日剂量的范围应为约 10mg 至约 200mg/天,更具体地,为约 10mg 至约 150mg/天,甚至更具体地为约 25mg 至约 100mg/天。在一些情况下,可能需要使用本文公开范围以外的活性成分剂量,这对于本领域普通技术人员将是显而易见的。此外,临床医生或治疗医师将知道如何和何时根据个体的响应中断、调整或终止治疗。

[0299] 可以对不同的疾病和病症应用不同的治疗有效量,这对本领域普通技术人员将是容易明白的。类似地,上述剂量和给药频率计划也包括足以预防、控制、治疗或改善这些病症,但不足以引起、或足以减少与本发明组合物相关的不利副作用的量。此外,当向个体施用多个剂量的本发明组合物时,并不需要所有的剂量都相同。例如,可以增加施用于个体的剂量以改善组合物的预防或治疗效果,或者可以降低剂量以减少具体个体正在承受的一种或多种副作用。

[0300] 在具体实施方案中,按活性化合物的重量计,用于预防、治疗、控制、或改善个体的病症、或其一种或多种症状的本发明组合物剂量为 0.1mg/kg、1mg/kg、2mg/kg、3mg/kg、4mg/kg、5mg/kg、6mg/kg、10mg/kg、15mg/kg 或 30mg/kg 个体体重或更多。在另一个实施方案中,用于预防、治疗、控制、或改善个体的病症、或其一种或多种症状的本发明组合物剂量为约 0.1mg 至约 200mg、约 0.1mg 至约 100mg、约 0.1mg 至约 50mg、约 0.1mg 至约 25mg、约 0.1mg 至约 20mg、约 0.1mg 至约 15mg、约 0.1mg 至约 10mg、约 0.1mg 至约 7.5mg、约 0.1mg 至约 5mg、约 0.1 至约 2.5mg、约 0.25mg 至约 20mg、约 0.25 至约 15mg、约 0.25 至约 12mg、约 0.25 至约 10mg、约 0.25mg 至约 7.5mg、约 0.25mg 至约 5mg、约 0.5mg 至约 2.5mg、约 1mg 至约 20mg、约 1mg 至约 15mg、约 1mg 至约 12mg、约 1mg 至约 10mg、约 1mg 至约 7.5mg、约 1mg 至约 5mg、或约 1mg 至约 2.5mg 的单位剂量。

[0301] 在某些实施方案中,可以用本发明化合物或组合物的一个或多个加载剂量开始治疗或预防,然后使用一个或多个维持剂量。在这些实施方案中,加载剂量可以为例如在一天至五周内约 60 至约 2000mg/天,或者约 100 至约 200mg/天。在加载剂量后可以使用一个或多个维持剂量。每个维持剂量可以独立地为约 10mg 至约 200mg/天,更具体地为约 25mg 至约 150mg/天,或者甚至更具体为约 25mg 至约 80mg/天。优选每天施用维持剂量,维持剂量可以作为单个剂量施用,或者作为分剂量施用。

[0302] 在某些实施方案中,可以施用本发明化合物或组合物的剂量以在个体的血液或血清中获得稳态浓度的活性成分。根据技术人员可利用的技术进行测量,或者基于个体的身体特征如高度、体重和年龄,可确定稳态浓度。在某些实施方案中,施用足够量的本发明化合物或组合物,以在个体的血液或血清中获得约 300 至约 4000ng/mL、约 400 至约 1600ng/mL、或约 600 至约 1200ng/mL 的稳态浓度。可以在一至五天内施用加载剂量,以获得约 1200 至约 8000ng/mL、或约 2000 至约 4000ng/mL 的稳态血液或血清浓度。可以施用维持剂量,以在个体的血液或血清中获得约 300 至约 4000ng/mL、约 400 至约 1600ng/mL、或约 600 至约

1200ng/mL 的稳态浓度。

[0303] 在某些实施方案中,可以重复施用相同的本发明组合物,可以相隔至少 1 天、2 天、3 天、5 天、10 天、15 天、30 天、45 天、2 个月、75 天、3 个月或 6 个月施用。在其它实施方案中,可以重复施用相同的预防性制剂或治疗性制剂,可以相隔至少 1 天、2 天、3 天、5 天、10 天、15 天、30 天、45 天、2 个月、75 天、3 个月、或 6 个月施用。

[0304] 在某些方面,本发明以适合施用的形式提供了包含本发明化合物或其药学上可接受的盐的单位剂量。上面详细描述了这些形式。在某些实施方案中,单位剂量包含 1 至 2000mg、5 至 250mg 或 10 至 50mg 活性成分。在具体实施方案中,单位剂量包含约 1、5、10、25、50、100、125、250、500、1000mg 或 2000mg 活性成分。可根据本领域技术人员熟知的技术制备这些单位剂量。

[0305] 联合治疗

[0306] 本发明提供了治疗或预防方法,所述方法包括在有此需要的个体中施用有效治疗或预防 HCV 感染的第二试剂。所述第二试剂可以是本领域的技术人员目前已知的可有效治疗或预防 HCV 感染的任何试剂。所述第二试剂可以是本领域的技术人员目前已知的第二试剂,或者所述第二试剂可以是随后开发的用于治疗或预防 HCV 的第二试剂,在某些实施方案中,所述第二试剂目前已被批准用于治疗或预防 HCV。

[0307] 在某些实施方案中,本发明的化合物与一种第二试剂组合施用。在进一步的实施方案中,第二试剂与两种第二试剂组合施用。再在进一步的实施方案中,第二试剂与两种或多种第二试剂组合施用。

[0308] 合适的第二试剂包括小分子的口服生物可利用的 HCV 酶抑制剂、攻击病毒 RNA 的基于核酸的试剂、可调节宿主免疫应答的试剂。示例性的第二试剂包括:(i) 目前批准的疗法(聚乙二醇化干扰素+利巴韦林),(ii) 靶向 HCV-酶的化合物,(iii) 靶向病毒基因组的疗法(例如, RNA 干扰或 RNAi),和 (iv) 免疫调节剂,如利巴韦林、干扰素 (INF) 和 Toll-受体激动剂。

[0309] 在某些实施方案中,所述第二试剂是 NS3-4A 蛋白酶调节剂。NS3-4A 蛋白酶是异二聚蛋白酶,其包含 NS3 蛋白的氨基末端结构域和小 NS4A 辅因子。其活性是产生病毒 RNA 复制复合体组分所必需的。

[0310] 一种有用的 NS3-4A 蛋白酶抑制剂是 BILN 2061(西鲁瑞韦;Boehringer Ingelheim),这是一种肽产物抑制剂的大环模拟物。尽管 BILN 2061 的临床试验被终止(由于临床前心脏毒性),但它是第一种被用于人类试验的 NS3 抑制剂。参见 Lamarre 等,2003, Nature 426 :186-189,其内容通过引用全文纳入本文。

[0311] 另一种有用的 NS3-4A 蛋白酶抑制剂是 VX-950(Vertex/Mitsubishi),这是 NS3-4A 蛋白酶的蛋白酶切除产物衍生的肽模拟抑制剂。相信通过酮酰胺可将其稳定在酶的活性位点内。参见,例如, Lin 等,2005, J Biol Chem. 草稿 M506462200(电子出版物);Summa, 2005, Curr Opin Investig Drugs. 6 :831-1,其全部内容通过引用纳入本文。

[0312] 在某些实施方案中,所述第二试剂是 HCV NS5B RNA 依赖的 RNA 聚合酶 (RdRp) 的调节剂。包含在 NS5B 蛋白中,RdRp 利用 RNA 模板合成 RNA。哺乳动物细胞内不存在这种生化活性。

[0313] 一种有用的 RdRp 调节剂是 NM283(Valopicitabine;Idenix/Novartis)。NM283 是

已经处于 II 期临床试验用于治疗或预防 HCV 感染的 NM107 (2-C- 甲基 - 胞苷) 的口服前药 (缬氨酸酯)。参见, 例如, 美国专利申请公开号 20040077587, 其内容通过引用全文纳入本文。

[0314] 其它有用的 RdRp 调节剂包括 7- 脱氮杂核苷类似物。例如, 7- 脱氮杂 -2-C- 甲基 - 腺苷是具有极佳药代动力学特性的丙型肝炎病毒复制的有效和选择性的抑制剂。Olsen 等, 2004, *Antimicrob. Agents Chemother.* 48 :3944-3953, 其内容通过引用全文纳入本文。

[0315] 在进一步的实施方案中, 所述第二试剂是 NS5B 的非核苷调节剂。临床上正在评价 NS5B 抑制剂的至少三种不同类型的非核苷抑制剂 (NNI)。

[0316] 有用的 NS5B 的非核苷调节剂包括 JTK-003 和 JTK-009。JTK-003 已经进展到 II 期。有用的 NS5B 的非核苷调节剂包括基于苯并咪唑核心或咪唑核心的 6,5- 稠合杂环化合物。参见, 例如, Hashimoto 等, WO 00147883, 其内容通过引用全文纳入本文。

[0317] 进一步有用的聚合酶 NNI 包括 R803 (Rigel) 和 HCV-371、HCV-086 及 HCV-796 (ViroPharma/Wyeth)。其它的有用的 NNI 包括噻吩衍生物, 它是 NS5B 聚合酶的可逆别构抑制剂且其结合位点靠近但不同于基于苯并咪唑的抑制剂所占据的位点。参见, 例如, Biswal 等, 2005, *J Biol. Chem.* 280, 18202-18210 (2005)。

[0318] 对本发明的方法进一步有用的 NNI 包括苯并噻二嗪, 如苯并 -1,2,4- 噻二嗪。苯并 -1,2,4- 噻二嗪的衍生物已经显示为 HCV RNA 聚合酶的高度选择性抑制剂。Dhanak 等, 2002, *J. Biol. Chem.* 277 :38322-38327, 其内容通过引用全文纳入本文。

[0319] 对本发明的方法进一步有用的 NNI 以及它们的机制描述于 LaPlante 等, 2004 *Angew Chem. Int. Ed. Engl.* 43 :4306-4311 ; Tomei 等, 2003, *J. Virol.* 77 :13225-13231 ; Di Marco 等, 2005, *J Biol. Chem.* 280 :29765-70 ; Lu, H., WO 2005/000308 ; Chan 等, 2004, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 14 :797-800 ; Chan 等, 2004, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 14 :793-796 ; Wang 等, 2003, *J. Biol. Chem.* 278 :9489-9495 ; Love 等, 2003, *J. Virol.* 77 :7575-7581 ; Gu 等, 2003, *J Biol. Chem.* 278 :16602-16607 ; Tomei 等, 2004, *J Virol* 78 :938-946 ; 和 Nguyen 等, 2003, *Antimicrob. Agents Chemother.* 47 :3525-3530 ; 其内容通过引用全文纳入本文。

[0320] 在进一步的实施方案中, 所述第二试剂是能够干扰 HCVRNA 的试剂, 如针对 HCV 多核苷酸的小抑制性 RNA (siRNA) 或短发夹 RNA (shRNA)。在组织培养中, 针对病毒基因组的 siRNA 和载体编码的短发夹 RNA shRNA 有效阻断 HCV 复制子的复制。参见, 例如, Randall 等, 2003, *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 100 :235-240, 其内容通过引用全文纳入本文。

[0321] 在进一步的实施方案中, 所述第二试剂是调节个体免疫应答的试剂。例如, 在某些实施方案中, 所述第二试剂可以是目前批准的治疗 HCV 感染的疗法, 如干扰素 (IFN)、聚乙二醇化 IFN、IFN+ 利巴韦林或聚乙二醇化 IFN+ 利巴韦林。在某些实施方案中, 干扰素包括 IFN α 、IFN α 2a 和 IFN α 2b, 且尤其包括聚乙二醇化 IFN α 2a (PEGASYS®) 或聚乙二醇化 IFN α 2b (PEG-INTRON®)。

[0322] 在进一步的实施方案中, 所述第二试剂是 Toll- 样受体 (TLR) 调节剂。相信 TLR 是刺激天然抗病毒应答的靶点。合适的 TLR 包括但不限于 :TLR3、TLR7、TLR8 和 TLR9。相信 toll- 样受体能感知入侵微生物如细菌、病毒和寄生虫的存在。它们由包括巨噬细胞、单核细胞、树突细胞和 B 细胞在内的免疫细胞表达。TLR 的刺激或活化可通过诱导抗菌基因和

促炎性细胞因子和趋化因子而引发急性炎症性应答。

[0323] 在某些实施方案中,所述第二试剂是包含 CpG 基序的多核苷酸。含有未甲基化 CpG 基序的合成寡核苷酸是 TLR-9 的有效激动剂。用这些寡核苷酸刺激树突细胞导致产生肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-12 和 IFN- α 。TLR-9 配体也是 B-细胞增殖和抗体分泌的有效刺激物。一种有用的含 CpG 的多核苷酸是 CPG-10101(Actilon;Coley Pharmaceutical Group),已对其进行临床评价。

[0324] [00221] 另一种有用的 TLR 调节剂是 ANA975(Anadys)。相信 ANA975 通过 TLR-7 发挥作用,并已知它通过诱导和释放 IFN- α 等炎性细胞因子而引发有力的抗病毒应答。

[0325] 在另一实施方案中,所述第二试剂是西戈斯韦。西戈斯韦是 α -葡萄糖苷酶 I 抑制剂,它通过导向宿主的糖基化而发挥作用。在临床前研究中,已证实西戈斯韦与 IFN α + 利巴韦林有强协同作用。参见,例如,Whitby 等,2004, Antivir Chem Chemother. 15(3): 141-51。在加拿大,西戈斯韦目前正处于慢性 HCV 患者的 II 期单一疗法研究评价中。

[0326] 进一步的免疫调节剂以及它们的作用机制或作用靶点描述于 Schetter&Vollmer, 2004, Curr. Opin. Drug Discov. Dev. 7:204-210;Takeda 等,2003, Annu. Rev. Immunol. 21: 335-376;Lee 等,2003, Proc. Natl Acad. Sci. USA 100:6646-6651;Hosmans 等,2004, Hepatology40(增刊 1),282A;和美国专利号 6,924,271;其内容通过引用全文纳入本文。

[0327] 在某些实施方案中,本发明的第二试剂可与本发明的环孢菌素衍生物配制或包装在一起。当然,只有在根据本领域的技术人员的判断该共同配制(co-formulation)不会影响试剂或给药方法的活性时,才将第二试剂与本发明的环孢菌素衍生物配制在一起。在某些实施方案中,本发明的环孢菌素衍生物和所述第二试剂是单独配制的。为便于本领域的技术人员操作,可将它们包装在一起或单独包装。

[0328] 所述第二试剂的剂量将被用于本发明的组合疗法。在某些实施方案中,用于本发明组合疗法的剂量低于之前或目前用于预防或治疗 HCV 感染的剂量。第二试剂的推荐剂量可由本领域的技术人员已知的知识中获得。对于那些批准用于临床的第二试剂,其推荐剂量描述于,例如,Hardman 等编, Goodman 和 Gilman 的 The Pharmacological Basis Of Basis Of Therapeutics,第 9 版,1996, Mc-Graw-Hill, New York;Physician's Desk Reference(PDR),第 57 版,2003, Medical Economics 公司, Montvale, NJ,其内容通过引用全文纳入本文。

[0329] 在各种实施方案中,这些疗法(例如,本发明的环孢菌素衍生物和第二试剂)间隔不到 5 分钟、间隔不到 30 分钟、间隔 1 小时、间隔约 1 小时、间隔约 1-约 2 小时、间隔约 2 小时-约 3 小时、间隔约 3 小时-约 4 小时、间隔约 4 小时-约 5 小时、间隔约 5 小时-约 6 小时、间隔约 6 小时-约 7 小时、间隔约 7 小时-约 8 小时、间隔约 8 小时-约 9 小时、间隔约 9 小时-约 10 小时、间隔约 10 小时-约 11 小时、间隔约 11 小时-约 12 小时、间隔约 12 小时-18 小时、间隔 18 小时-24 小时、间隔 24 小时-36 小时、间隔 36 小时-48 小时、间隔 48 小时-52 小时、间隔 52 小时-60 小时、间隔 60 小时-72 小时、间隔 72 小时-84 小时、间隔 84 小时-96 小时或间隔 96 小时-120 小时施用。在优选的实施方案中,两种或多种疗法是在患者同一次就诊时施用的。

[0330] 在某些实施方案中,可循环给予本发明的环孢菌素衍生物和第二试剂。循环疗法包括在某段时期给予第一种治疗(例如,第一预防或治疗剂),然后在某段时期给予第二种

治疗（例如，第二预防或治疗剂），然后在某段时期给予第三种治疗（例如，第三预防或治疗剂）等，重复该顺次给药，即进行此循环来降低对一种试剂发生抗性、避免或降低一种试剂的副作用和 / 或提高疗法的效力。

[0331] 在某些实施方案中，可反复给予相同的试剂，给药可间隔至少 1 天、2 天、3 天、5 天、10 天、15 天、30 天、45 天、2 个月、75 天、3 个月或 6 个月。在其它实施方案中，可反复给予相同的试剂，给药可间隔至少 1 天、2 天、3 天、5 天、10 天、15 天、30 天、45 天、2 个月、75 天、3 个月或 6 个月。

[0332] 在某些实施方案中，本发明的环孢菌素衍生物和第二试剂可依次或在一定时间间隔内施用于患者，如哺乳动物，例如人，从而使环孢菌素衍生物可与其它试剂一起发挥作用以提供相比其它给药方式增强的益处。例如，所述第二活性剂可同时给予或在不同时间点以任何顺序相继给予；然而，如果不是同时给予，则应该在足够接近的时间内施用它们以提供所需的治疗或预防效果。在一实施方案中，所述环孢菌素衍生物和第二活性剂在相互重叠的时间发挥它们的作用。各种第二活性剂可采取任何合适的形式并通过任何合适的途径单独施用。在其它实施方案中，环孢菌素衍生物是在施用第二活性剂之前、同时或之后施用的。

[0333] 在各种实施方案中，环孢菌素衍生物和第二试剂间隔不到约 1 小时、间隔约 1 小时、间隔约 1 小时至约 2 小时、间隔约 2 小时至约 3 小时、间隔约 3 小时至约 4 小时、间隔约 4 小时至约 5 小时、间隔约 5 小时至约 6 小时、间隔约 6 小时至约 7 小时、间隔约 7 小时至约 8 小时、间隔约 8 小时至约 9 小时、间隔约 9 小时至约 10 小时、间隔约 10 小时至约 11 小时、间隔约 11 小时至约 12 小时、间隔不超过 24 小时或间隔不超过 48 小时给予。在其它实施方案中，环孢菌素衍生物和第二试剂是同时施用的。

[0334] 在其它实施方案中，环孢菌素衍生物和第二试剂间隔约 2-4 天、间隔约 4-6 天、间隔约 1 周、间隔约 1-2 周、或间隔 2 周以上施用。

[0335] 在某些实施方案中，可循环给予患者本发明的环孢菌素衍生物和第二试剂。循环疗法包括在某段时期给予第一试剂，然后在某段时期给予第二试剂和 / 或第三试剂，并重复该顺次给药。循环疗法可降低对一种或多种治疗剂发生抗性、避免或降低疗法之一的副作用和 / 或提高疗法的效力。

[0336] 在某些实施方案中，环孢菌素衍生物和第二活性剂以不到约 3 周的周期给药，约每 2 周 1 次，约每 10 天 1 次或约每周 1 次。一个周期可包括通过输注给予环孢菌素衍生物和第二试剂，输注时间为每个周期约 90 分钟、每个周期约 1 小时、每个周期约 45 分钟。各个周期可包括至少 1 周、至少 2 周、至少 3 周的停药时间。施用的周期数目为约 1 至约 12 个周期，更通常为约 2 至约 10 个周期，再通常为约 2 至约 8 个周期。

[0337] 在其它实施方案中，同时给患者施用疗程，即在一定时间间隔内单独施用第二试剂的各独立剂量以使环孢菌素衍生物可与第二活性剂一起发挥作用。例如，一种组分可每周给予 1 次，而同时另一种组分可每两周给予 1 次或每三周给予 1 次。换句话说，即便不是同时或在同一天内施用各疗法，给药方案也是同时进行的。

[0338] 所述第二试剂可与环孢菌素衍生物加成或协同发挥作用。在一实施方案中，环孢菌素衍生物与一种或多种第二试剂一起作为相同的药物组合物施用。在另一实施方案中，环孢菌素衍生物与一种或多种第二试剂以分开的药物组合物同时施用。在另一实施方案

中,环孢菌素衍生物在施用第二试剂之前或之后施用。本发明包括通过相同或不同给药途径施用环孢菌素衍生物和第二试剂,例如,口服和肠胃外途径。在某些实施方案中,当与可能产生不良副作用(包括但不限于毒性)的第二试剂同时施用环孢菌素衍生物时,可以有利地以低于能引发这种不良副作用的阈值的剂量施用第二活性剂。

[0339] 试剂盒

[0340] 本发明还提供了治疗或预防 HCV 感染的方法中使用的试剂盒。试剂盒可包括本发明的药用化合物或组合物和说明书,说明书根据治疗或预防细菌感染的用途为健康护理人员提供信息。可以以印刷的形式或以从中可获得这些说明书的电子媒介如移动盘、CD 或 DVD 的形式、或网址的形式提供说明书。本发明化合物或组合物的单位剂量可包括如下剂量,当施用于个体时,该剂量可以将个体化合物或组合物的治疗或预防有效的血浆水平保持至少 1 天。在一些实施方案中,包括的本发明化合物或组合物可以作为无菌含水性药物组合物或干燥粉末(例如冻干)组合物。在一个实施方案中,化合物符合式(I)。

[0341] 在一些实施方案中,提供了合适的包装。用于本文时,“包装”指体系中通常使用的固体基质或材料,它们能够以固定的限度将本发明的化合物或组合物保持为合适施用于个体。这些材料包括玻璃和塑料(例如聚乙烯、聚丙烯、和聚碳酸酯)瓶、小瓶、纸、塑料、和塑料-箔层压的封袋等。如果使用电子束灭菌技术,则包装应该具有足够低的密度,以允许对内容物灭菌。

[0342] 除了本发明的化合物或组合物外,本发明的试剂盒还可以包括其它化合物或组合物,用于在以上方法中与所述化合物或组合物一起使用。

[0343] 下列实施例说明本发明所用的代表性环孢菌素衍生物的合成。这些实施例并非用于、也不应理解为限制本发明的范围。应清楚地理解,可通过本文具体描述以外的方式实施本发明。根据本文的教导对本发明进行的许多修改和改变是可能的,因此,这些修改和改变也在本发明的范围内。

[0344] 实施例 1

[0345] 二异丙基胺(300mg)溶于无水四氢呋喃。所述溶液在氮气氛围下被冷却至 -25°C 。加入正丁基锂(2.5M/己烷,1.2mL),然后将化合物在 -25°C 搅拌 30 分钟。根据例如参考实施例 1 制得 N-苄基-Val⁵-环孢菌素 A(320mg),溶于无水四氢呋喃,然后加入所述溶液中。所述混合物在该温度下保持 90 分钟,然后向溶液中加入无水四氢呋喃中的甲苯-4-硫代磺酸 S-(2-二甲基氨基乙基)酯(390mg)。将溶液在 -25°C 搅拌 2 小时,然后升温至室温过夜。通过加入饱和氯化铵溶液使反应停止,然后用乙酸乙酯萃取两次。硫酸钠干燥并浓缩合并的有机层。HPLC 纯化粗产物,得到 [(R)-2-(N,N-二甲基氨基)乙基硫代-Sar]³-(N-苄基)-Val⁵-环孢菌素 A(化合物 1); ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.70(s, 6H) 2.39(s, 3H) 2.40(s, 3H) 2.41(s, 3H) 2.47(s, 3H) 2.55(s, 3H) 2.66(s, 3H) 2.77(s, 3H) 5.95(s, 1H) 6.13(d, 1H) 6.61(d, 2H) 6.78-6.95(m, 3H) 7.76(d, 1H) 8.07(d, 1H); 质谱: 708.5, (M+Na)/2。

[0346] 通过相似的方法,制备了以下化合物:

[0347] [(R)-(1-N,N-二甲基氨基-环丁基甲基硫代)-Sar]³-(N-苄基)-Val⁵-环孢菌素 A(化合物 2), ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.54(s, 3H) 1.55(s, 3H) 2.70(s, 3H) 2.71(s, 6H) 2.78(s, 3H) 2.86(s, 3H) 2.97(s, 3H) 3.10(s, 3H) 6.25(s, 1H) 6.46(d, 1H) 6.92(d,

2H) 7.10–7.23(m, 3H) 8.08(d, 1H) 8.36(d, 1H) ;质谱 :728.5, (M+Na)/2。

[0348] [(R)-2-(N, N-二甲基氨基)乙基硫代-Sar]³-(4-异丙基苄基)-Val⁵-环孢菌素 A(化合物 3), ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 0.33(d, 3H) 0.41(d, 3H) 1.85(s, 6H) 2.53(s, 3H) 2.54(s, 3H) 2.55(s, 3H) 2.67(s, 3H) 2.71(s, 3H) 2.81(s, 3H) 2.90(s, 3H) 6.14(s, 1H) 6.35(d, 1H) 6.68(d, 2H) 6.88(d, 2H) 7.90(d, 1H) 8.18(d, 1H) ;质谱 :729.5, (M+Na)/2。

[0349] 实施例 2

[0350] 将根据例如参考实施例 2 制备的 [(R)-甲基硫代-Sar]³-环孢菌素 A(150mg) 与苄基溴 (85.5mg) 注入烤箱干燥的烧瓶中。将无水四氢呋喃加入反应器皿中。在氮气流下, 将该溶液冷却至 -78℃。缓慢加入磷腈碱 P₄-ZBu(CAS:[111324-04-0], 1M/己烷, 0.5mL)。反应混合物升温至 -30℃, 然后用柠檬酸 (1N) 停止反应。反应混合物进一步用乙酸乙酯稀释, 然后用乙酸乙酯萃取两次。合并的有机层用碳酸氢钠饱和溶液和盐水洗涤。硫酸钠干燥后, 用快速色谱浓缩和纯化 (40g ISCO 矽胶过滤层析管柱, 梯度乙酸乙酯/己烷), 得到白色固体的 [甲基硫代-Sar]³-(N-苄基)-Val⁵-环孢菌素 A(化合物 4), ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.66(s, 3H) 2.45(s, 3H) 2.47(s, 3H) 2.48(s, 3H) 2.58(s, 3H) 2.58(s, 3H) 2.75(s, 3H) 2.79(s, 3H) 5.98(s, 1H) 6.37(d, 1H) 6.70(d, 2H) 6.86–7.00(m, 3H) 7.84(d, 1H) 8.08(d, 1H) ;质谱 :691.5(M+2Na)/2。

[0351] 通过相似的方法, 制备了以下化合物 :

[0352] [正丙基硫代-Sar]³-(N-苄基)-Val⁵-环孢菌素 A(化合物 5) ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2.41(s, 3H) 2.42(s, 3H) 2.43(s, 3H) 2.49(s, 3H) 2.55(s, 3H) 2.68(s, 3H) 2.77(s, 3H) 5.91(s, 1H) 6.10(s, 1H) 6.16(d, 1H) 6.63(d, 2H) 6.82–6.95(m, 3H) 7.79(d, 1H) 8.07(d, 1H) ;质谱 :705.5, (M+2Na)/2。

[0353] [甲氧基-Sar]³-(N-苄基)-Val⁵-环孢菌素 A(化合物 6) ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2.80(s, 3H) 2.81(s, 3H) 2.84(s, 3H) 2.86(s, 6H) 2.94(s, 3H) 3.06(s, 3H) 3.28(s, 3H) 5.93(s, 1H) 6.52(d, 1H) 7.02(d, 2H) 7.18–7.36(m, 3H) 8.12(d, 1H) 8.49(d, 1H) ;质谱 :683.5, (M+2Na)/2。

[0354] [甲氧基-Sar]³-(3-三氟甲基苄基)-Val⁵-环孢菌素 A(化合物 7) ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2.80(s, 3H) 2.81(s, 3H) 2.82(s, 3H) 2.85(s, 3H) 2.88(s, 3H) 2.93(s, 3H) 3.08(s, 3H) 3.28(s, 3H) 5.95(s, 1H) 6.47(d, 1H) 7.30(d, 1H) 7.41(s, 1H) 7.58(t, 1H) 7.63–7.67(m, 1H) 8.13(d, 1H) 8.49(d, 1H) ;质谱 :717.5, (M+2Na)/2。

[0355] [甲氧基-Sar]³-(N-烯丙基)-Val⁵-环孢菌素 A(化合物 8) ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2.79(s, 3H) 2.81(s, 3H) 2.82(s, 3H) 2.85(s, 3H) 2.89(s, 3H) 2.91(s, 3H) 3.02(s, 3H) 3.32(s, 3H) 5.90(s, 1H) 6.52(d, 1H) 8.09(d, 1H) 8.58(d, 1H) ;质谱 :1273.0, (M+H)。

[0356] [甲氧基-Sar]³-(N-丁-2-烯基)-Val⁵-环孢菌素 A(化合物 9) ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2.79(s, 3H) 2.80(s, 3H) 2.84(s, 6H) 2.88(s, 3H) 2.90(s, 3H) 3.02(s, 3H) 3.31(s, 3H) 5.92(s, 1H) 6.53(d, 1H) 8.09(d, 1H) 8.58(d, 1H) ;质谱 :1287.0, (M+H)。

[0357] [甲氧基-Sar]³-甲基-丁-2-烯基)-Val⁵-环孢菌素 A(化合物 10) ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2.77(s, 3H) 2.79(s, 3H) 2.80(s, 3H) 2.85(s, 3H) 2.88(s, 3H) 2.91(s, 3H) 3.02(s, 3H) 3.24(s, 3H) 6.00(s, 1H) 6.85(d, 1H) 8.12(d, 1H) 8.41(d, 1H) ;质谱 :1301.0,

(M+H)。

[0358] [甲氧基-Sar]³-N-(反式-4-苄氧基-丁-2-烯基)-Val⁵-环孢菌素 A(化合物 11) ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2.79(s, 3H) 2.80(s, 3H) 2.84(s, 6H) 2.90(s, 3H) 2.94(s, 3H) 3.02(s, 3H) 3.31(s, 3H) 5.85-5.89(m, 1H) 5.92(s, 1H) 6.50(d, 1H) 7.22-7.34(m, 5H) 8.08(d, 1H) 8.59(d, 1H); 质谱: 1393.0, (M+H)。

[0359] [甲基硫代-Sar]³-N-[反式-4-(3'-4'-二甲氧基)苄氧基-丁-2-烯基]-Val⁵-环孢菌素 A(化合物 12) ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2.06(s, 3H) 2.78(s, 3H) 2.80(s, 3H) 2.84(s, 3H) 2.86(s, 3H) 2.93(s, 3H) 2.96(s, 3H) 3.24(s, 3H) 3.70(s, 3H) 3.71(s, 3H) 5.83-5.87(m, 1H) 6.20(s, 1H) 6.53(d, 1H) 6.83-6.91(m, 3H) 8.13(d, 1H) 8.56(d, 1H); 质谱: 1469.0, (M+H)。

[0360] [甲氧基-Sar]³-N-[反式-4-(3'-4'-二甲氧基)苄氧基-丁-2-烯基]-Val⁵-环孢菌素 A(化合物 13) ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2.78(s, 3H) 2.80(s, 3H) 2.84(s, 3H) 2.84(s, 3H) 2.90(s, 3H) 2.94(s, 3H) 3.03(s, 3H) 3.31(s, 3H) 3.70(s, 3H) 3.71(s, 3H) 5.85-5.92(m, 1H) 5.92(s, 1H) 6.48(d, 1H) 6.83-6.90(m, 3H) 8.08(d, 1H) 8.60(d, 1H); 质谱: 1453.0, (M+H)。

[0361] [甲基硫代-Sar]³-(N-烯丙基)-Val⁵-环孢菌素 A(化合物 20) ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2.80(s, 3H), 2.81(s, 3H), 2.81(s, 3H), 2.87(s, 3H), 2.94(s, 3H), 3.07(s, 3H), 3.16(s, 3H), 6.32(s, 1H), 6.54(d, J = 7.5Hz, 1H), 7.02(d, J = 7.3Hz, 2H), 7.20-7.34(m, 3H), 8.18(d, J = 7.2Hz, 1H), 8.46(d, J = 7.0Hz, 1H)。

[0362] [乙基硫代-Sar]³-(N-丁基)-Val⁵-环孢菌素 A(化合物 21) ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2.07(s, 3H), 2.79(s, 3H), 2.81(s, 3H), 2.82(s, 3H), 2.86(s, 3H), 2.94(s, 3H), 2.94(s, 3H), 3.24(s, 3H), 6.16(s, 1H), 6.55(d, J = 8.3Hz, 1H), 8.13(d, J = 7.0Hz, 1H) 8.56(d, J = 6.6Hz, 1H)。

[0363] 实施例 3

[0364] 向 [甲基硫代-Sar]³-N-[反式-4-(3'-4'-二甲氧基)苄氧基]-A(化合物 12) (0.25g) 在二氯甲烷和水溶剂混合物中的溶液加入 2,3-二氯-5,6-二氰基-对-苯醌(DDQ) (40mg), 将所得混合物在室温下搅拌 2 小时。用二氯甲烷稀释, 用饱和的碳酸氢钠溶液、饱和的氯化钠溶液洗涤, 然后减压浓缩。用快速硅胶柱层析纯化, 己烷中的 0-100% 乙酸乙酯梯度洗脱, 获得白色固体 [甲基硫代-Sar]³-N-[反式-4-羟基-丁-2-烯基]-Val⁵-环孢菌素 A(化合物 14); ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2.04(s, 3H) 2.79(s, 3H) 2.80(s, 3H) 2.83(s, 3H) 2.84(s, 3H) 2.93(s, 3H) 2.96(s, 3H) 3.21(s, 3H) 5.78-5.82(m, 1H), 6.25(s, 1H) 6.61(d, 1H) 8.14(d, 1H) 8.51(d, 1H); 质谱: 1318.9, (M+H)。

[0365] 通过类似的方法, 从甲氧基-Sar]³-N-[反式-4-(3', 4'-二甲氧基)苄氧基-丁-2-烯基]-Val⁵-环孢菌素 A(化合物 13) 制备 [甲氧基-Sar]³-N-[反式-4-羟基-丁-2-烯基]-Val⁵-环孢菌素 A(化合物 15), ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2.79(s, 3H) 2.80(s, 3H) 2.84(s, 3H) 2.85(s, 3H) 2.87(s, 3H) 2.92(s, 3H) 3.01(s, 3H) 3.30(s, 3H) 5.77-5.82(m, 1H) 5.93(s, 1H) 6.55(d, 1H) 8.09(d, 1H) 8.56(d, 1H); 质谱: 1302.9, (M+H)。

[0366] 实施例 4

[0367] 向氮气气氛下冰浴冷却至 0℃的 [甲基硫代 -Sar]³-N-[反式 -4- 羟基 - 丁 -2- 烯基]-Val⁵- 环孢菌素 A(化合物 14) (200mg, 0.16mmol) 在纯二氯甲烷中的溶液内加入三乙基胺 (0.06mL, 2.4eq) 和甲基磺酰氯 (0.03mL, 2.4eq)。将所得混合物在室温下搅拌 2 小时。用二氯甲烷稀释, 然后依次用水和盐水洗涤。有机层用无水硫酸镁干燥, 减压浓缩。将剩余物溶于 THF, 向该溶液中加入三乙基胺 (0.06mL, 4.0eq) 和二甲基胺 (0.29mL, 5.0eq, 2.0M, THF 溶液)。所得混合物在氮气气氛下在室温下搅拌过夜。减压除去溶剂, 通过制备性 HPLC 纯化剩余物, 冻干后得到白色固体 [甲基硫代 -Sar]³-N-[反式 -4- 二甲基氨基 - 丁 -2- 烯基]-Val⁵- 环孢菌素 A(化合物 16); ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2.08(s, 3H) 2.11(s, 6H) 2.77(s, 3H) 2.81(s, 3H) 2.83(s, 3H) 2.88(s, 3H) 2.92(s, 3H) 2.93(s, 3H) 3.28(s, 3H) 5.75-5.83(m, 1H) 6.13(s, 1H) 6.44(d, 1H) 8.09(d, 1H) 8.61(d, 1H); 质谱: 1345.9(M+H)。

[0368] 通过类似方法, 由 [甲氧基 -Sar]³-N-[反式 -4- 羟基 - 丁 -2- 烯基]-Val⁵- 环孢菌素 A(化合物 15) 制备了 [甲氧基 -Sar]³-N-[反式 -4- 二甲基氨基 - 丁 -2- 烯基]-Val⁵- 环孢菌素 A(化合物 17); ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2.11(s, 6H) 2.77(s, 3H) 2.81(s, 3H) 2.82(s, 3H) 2.84(s, 3H) 2.90(s, 3H) 3.05(s, 3H) 3.33(s, 3H) 5.80-5.87(m, 1H) 5.90(s, 1H) 6.42(d, 1H) 8.04(d, 1H) 8.63(d, 1H); 质谱: 1329.9, (M+H)。

[0369] 实施例 5

[0370] 向 [3' - 叔丁基二甲基硅氧基 -N- 甲基 -Bmt]¹-[甲氧基 -Sar]³-N-[4- 羟基丁基]-Val⁵- 环孢菌素 A(90mg) 在 THF 中的溶液内加入四丁基氟化铵 (0.1mL, 1.5eq, 1.0M, THF 中的溶液), 所得混合物在室温下搅拌 12 小时。用乙酸乙酯稀释, 依次用水和盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥。减压取出溶剂, 用快速硅胶柱层析纯化剩余物, 用己烷中的 0-100% 乙酸乙酯梯度洗脱, 获得白色固体 [甲氧基 -Sar]³-N-[4- 羟基丁基]-Val⁵- 环孢菌素 A(化合物 18); ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2.80(s, 6H) 2.82(s, 3H) 2.84(s, 3H) 2.86(s, 3H) 2.96(s, 3H) 2.97(s, 3H) 3.28(s, 3H) 5.96(s, 1H), 6.72(d, 1H) 8.10(d, 1H) 8.49(d, 1H); 质谱: 653.1(M+2H)/2。

[0371] 实施例 6

[0372] 向 [3' - 叔丁基二甲基硅氧基 -N- 甲基 -Bmt]¹-[甲氧基 -Sar]³-N-[4- 二甲基氨基丁基]-Val⁵- 环孢菌素 A(90mg) 在 THF 中的溶液内加入四丁基氟化铵 (0.09mL, 1.5eq, 1.0M, THF 中的溶液), 所得混合物在室温下搅拌 12 小时。用乙酸乙酯稀释, 依次用水和盐水 (10mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥。减压去除溶剂, 剩余物用快速硅胶柱层析纯化, 用溶剂 A(A = DCM) 中的 0-70% 溶剂 B(B = DCM/MeOH/NH₄OH(90 : 9 : 1, v/v/v) 梯度洗脱, 得到白色固体 [甲氧基 -Sar]³-N-[4- 二甲基氨基丁基]-Val⁵- 环孢菌素 A; ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2.11(s, 6H) 2.79(s, 6H) 2.80(s, 3H) 2.86(s, 3H) 2.90(s, 3H) 2.97(s, 3H) 3.01(s, 3H) 3.29(s, 3H) 5.94(s, 1H), 6.57(d, 1H) 8.06(d, 1H) 8.57(d, 1H); 质谱: 666.6(M+2H)/2。

[0373] 参考实施例 1

[0374] 将环孢菌素 A(3.0g) 和苄基溴 (1.8g) 注入烤箱干燥的烧瓶中。向反应器皿中加入无水四氢呋喃。在氮气流下, 溶液冷却至 -78℃。缓慢加入磷腈碱 P₄-ZBu(CAS : [111324-04-0], 1M/己烷, 10.5mL)。反应混合物升温至 30℃, 然后用柠檬酸(IN) 终止反应, 用乙酸乙酯稀释, 然后用乙酸乙酯萃取两次。合并的有机层用饱和碳酸氢钠溶液和盐水洗涤。硫酸钠干燥后, 用 Combiflash® 系统 (120g ISCO 矽胶过滤层析管柱, 梯度乙酸乙酯/己

烷) 浓缩并纯化, 得到白色固体 N- 苄基 -Val⁵- 环孢菌素 A; ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2.77 (s, 3H) 2.78 (s, 3H) 2.79 (s, 3H) 2.81 (s, 3H) 2.89 (s, 3H) 3.01 (s, 3H) 3.03 (s, 3H) 6.29 (d, 1H) 6.98 (d, 2H) 7.17-7.34 (m, 3H) 7.92 (d, 1H) 8.55 (d, 1H); 质谱: 669.5 (M+2Na)/2。

[0375] 通过类似方法, 制备了以下式 (III) 化合物, 其中 A 是 (E)-CH=CHCH₃, B 是乙基:

[0376]

R ²	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆ , δ ppm)	质谱 (M+ 2Na)/2
4-异丙基苄基	2.50 (s, 3H) 2.53 (s, 3H) 2.55 (s, 3H) 2.61 (s, 3H) 2.63 (s, 3H) 2.76 (s, 3H) 2.78 (s, 3H) 6.01 (d, 1H) 6.65 (d, 2H) 6.89 (d, 2H) 7.68 (d, 1H) 8.30 (d, 1H)	689.5
3-三氟甲基苄基	2.50 (s, 3H) 2.51 (s, 3H) 2.52 (s, 3H) 2.53 (s, 3H) 2.60 (s, 3H) 2.76 (s, 3H) 2.77 (s, 3H) 5.90 (d, 1H) 6.96 (d, 1H) 7.05 (s, 1H) 7.25-7.40 (m, 2H) 7.64 (d, 1H) 8.29 (d, 1H)	702.5

[0377] 参考实施例 2

[0378] 在 -33℃, 惰性气氛下, 向环孢菌素 A (1.2g) 在纯叔丁基甲基醚 (TBME) 的溶液中加入氨基钠 (1.0g) 在液态氨 (30mL) 中的悬浮液。在惰性气氛下, 所得混合物在 -33℃ 搅拌 90 分钟。然后加入二甲基二醚硫醚 (1.9g), 在惰性气氛下, 反应混合物在 -33℃ 再搅拌 2 小时。加入固体氯化铵 (1.4g), 在 -33℃ 继续搅拌 10 分钟。升温至室温后, 反应混合物用 TBME 和水稀释, 充分混合, 各层分离。用盐水洗涤有机层, 然后浓缩。剩余物通过硅胶柱层析法纯化, 乙酸乙酯和己烷混合物洗脱, 获得 [2' - 甲基硫代 -Sar]³- 环孢菌素 A。

[0379] 通过类似方法, 制备了 [2' - 丙基硫代 -Sar]³- 环孢菌素 A。

[0380] 参考实施例 3

[0381] 向反式 -1,4- 二溴丁 -2- 烯 (20.0g, 93.5mmol)、苄基醇 (10.6mL, 102.9mmol) 和四丁基硫酸氢铵 (3.17g, 9.35mmol) 在二氯甲烷 (80mL) 的溶液中加入氢氧化钠 (33.7g, 841mmol) 水溶液, 所得混合物在室温下搅拌 24 小时。用水稀释, 二乙基酯萃取。合并的有机萃取物用无水硫酸钠干燥, 并减压浓缩。用快速柱层析法纯化粗产物, 得到 10.8g 反式 -4- 苄氧基 -1- 溴 -2- 丁烯; ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ ppm 3.98 (d, 2H, J=7.3Hz) 4.04 (d, 2H, J=4.4Hz) 4.54 (s, 2H) 5.82-6.08 (m, 2H) 7.25-7.45 (m, 5H)。

[0382] 通过类似方法, 制备了反式 -4-(3', 4' - 二甲氧基) 苄氧基 -1- 溴 -2- 丁烯: ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ ppm 3.89 (s, 3H) 3.90 (s, 3H) 3.98 (d, 2H, J=8.0Hz) 4.03 (d, 2H, J=8.0Hz) 4.46 (s, 2H) 6.83-6.91 (m, 3H)。

[0383] 参考实施例 4

[0384] 在 0℃, 向 [甲氧基 -Sar]³-N-[反式 -4-(3', 4' - 二甲氧基) 苄氧基 -丁 -2- 烯基)]-Val⁵- 环孢菌素 A (化合物 13) (0.32g) 在纯二氯甲烷的溶液中加入三乙基胺 (0.31mL,

10eq) 和叔丁基二甲基硅烷基三氟甲磺酸酯 (0.25mL, 5.0eq), 所得混合物在室温下搅拌 5 小时。用二氯甲烷稀释, 水、饱和的氯化钠溶液洗涤, 然后减压浓缩。粗产物用快速硅胶柱层析纯化, 用己烷中的 0-80% 乙酸乙酯梯度洗脱, 得到白色固体 [3' - 叔丁基二甲基硅氧基 -N- 甲基 -Bmt]¹-[甲氧基 -Sar]³-N-[反式 -4-(3', 4' - 二甲氧基) 苄氧基 - 丁 -2- 烯基]-Val⁵- 环孢菌素 A; ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ ppm-0.08(s, 3H) 0.07(s, 3H) 0.82(s, 9H) 2.63(s, 3H) 2.80(s, 3H) 2.81(s, 3H) 2.89(s, 6H) 2.93(s, 3H) 3.10(s, 3H) 3.26(s, 3H) 3.72(s, 3H) 3.73(s, 3H) 5.82-5.89(m, 1H) 5.95(s, 1H) 6.67(d, 1H) 6.78-6.90(m, 3H) 7.66(d, 1H) 8.48(d, 1H); 质谱: 806.2(M+2Na)/2。

[0385] 参考实施例 5

[0386] 向 [3' - 叔 - 丁基二甲基硅氧基 -N- 甲基 -Bmt]¹-[甲氧基 -Sar]³-N-[反式 -4-(3', 4' - 二甲氧基) 苄氧基 - 丁 -2- 烯基]-Val⁵- 环孢菌素 A(0.29g) 在二氯甲烷和水的溶剂混合物中的溶液内, 加入 2,3-二氯 -5,6-二氰基 -对 -苯醌 (DDQ) (50mg), 所得混合物在室温下搅拌 2 小时。用二氯甲烷稀释, 用饱和的碳酸氢钠溶液、饱和的氯化钠溶液洗涤, 然后减压浓缩。粗产物用快速硅胶柱层析纯化, 己烷中的 0-100% 乙酸乙酯梯度洗脱, 得到白色固体 [3' - 叔丁基二甲基硅氧基 -N- 甲基 -Bmt]¹-[甲氧基 -Sar]³-N-[反式 -4- 羟基 - 丁 -2- 烯基]-Val⁵- 环孢菌素 A; ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ ppm-0.09(s, 3H) 0.07(s, 3H) 0.81(s, 9H) 2.61(s, 3H) 2.80(s, 3H) 2.82(s, 3H) 2.88(s, 3H) 2.90(s, 3H) 2.91(s, 3H) 3.10(s, 3H) 3.26(s, 3H) 5.75-5.84(m, 1H) 5.96(s, 1H) 6.73(d, 1H) 7.70(d, 1H) 8.46(d, 1H); 质谱: 730.5(M+2Na)/2。

[0387] 参考实施例 6

[0388] 向 [3' - 叔丁基二甲基硅氧基 -N- 甲基 -Bmt]¹-[甲氧基 -Sar]³-N-[反式 -4- 羟基 - 丁 -2- 烯基]-Val⁵- 环孢菌素 A(0.23g) 在二氯甲烷的溶液中加入 Dess-Martin 五价碘 (140mg), 所得混合物在室温下搅拌 1 小时。用二氯甲烷稀释, 用 10% 硫代硫酸钠溶液、饱和的碳酸氢钠溶液和盐水洗涤。去除溶剂后, 获得 0.23g [3' - 叔丁基二甲基硅氧基 -N- 甲基 -Bmt]¹-[甲氧基 -Sar]³-N-[丁 -2- 烯 -4- 醛]-Val⁵- 环孢菌素 A, 对其无需纯化即可使用; ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ ppm-0.07(s, 3H) 0.08(s, 3H) 0.82(s, 9H) 2.66(s, 3H) 2.82(s, 3H) 2.83(s, 3H) 2.89(s, 3H) 2.92(s, 3H) 2.94(s, 3H) 3.09(s, 3H) 3.28(s, 3H) 5.95(s, 1H) 6.13-6.19(m, 1H) 6.75(d, 1H) 6.86-6.93(m, 1H) 7.57(m, 1H) 8.48(d, 1H) 9.45(d, 1H)。

[0389] 参考实施例 7

[0390] 向 95 : 5v/v 甲醇和水剂溶混合物中的五羰基铁 (0.76g, 3.90mmol) 和氢氧化钠 (80mg, 1.95mmol) 混合物注入惰性气体, 在室温搅拌 20 分钟, 确保完全耗尽氢氧化钠。向该混合物中加入 [3' - 叔丁基二甲基硅氧基 -N- 甲基 -Bmt]¹-[甲氧基 -Sar]³-N-[丁 -2- 烯 -4- 醛]-Val⁵- 环孢菌素 A(0.23g) 在相同溶剂混合物中的溶液, 在惰性气体下, 所得混合物在室温下搅拌 72 小时。反应混合物倒入水中, 加入二乙基酯。混合物冷却至 0℃ 并搅拌, 加入三氯化铁, 直到不再观察到气体逸出。分离各层, 用饱和的碳酸氢钠、盐水洗涤有机层, 无水硫酸钠干燥。去除溶剂后, 用快速硅胶柱层析纯化粗产物, 己烷中的 0-100% 乙酸乙酯梯度洗脱, 获得 185mg 白色固体 [3' - 叔丁基二甲基硅氧基 -N- 甲基 -Bmt]¹-[甲氧基 -Sar]³-N-[丁烯 -4- 醛]-Val⁵- 环孢菌素 A; ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ ppm-0.12(s, 3H) 0.05(s, 3H) 0.80(s, 9H) 2.76(s, 3H) 2.81(s, 3H) 2.83(s, 6H) 2.88(s,

3H) 3.14(s, 3H) 3.20(s, 3H) 6.03(s, 1H) 7.19(d, 1H) 7.89(m, 1H) 8.29(d, 1H) 9.63(m, 1H)。

[0391] 参考实施例 8

[0392] 向 [3'-叔丁基二甲基硅氧基-N-甲基-Bmt]¹-1-甲氧基-Sar]³-N-[丁烯-4-醛]-Val⁵-环孢菌素 A(0.09g) 在纯甲醇的溶液中加入硼氢化钠 (4.8mg, 2.0eq), 所得混合物在室温下搅拌 1 小时。反应混合物用水停止反应, 用乙酸乙酯萃取。有机层用盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥。去除溶剂后, 获得 0.09g [3'-叔丁基二甲基硅氧基-N-甲基-Bmt]¹-[甲氧基-Sar]³-N-[4-羟基丁基]-Val⁵-环孢菌素 A, 其可以被进一步使用而无需纯化; ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ ppm-0.13(s, 3H) 0.05(s, 3H) 0.80(s, 9H) 2.78(s, 3H) 2.81(s, 3H) 2.82(s, 3H) 2.83(s, 3H) 2.89(s, 3H) 3.14(s, 3H) 3.20(s, 3H) 6.03(s, 1H) 7.10(d, 1H) 7.90(d, 1H) 8.31(d, 1H); 质谱: 731.5(M+2Na)/2。

[0393] 参考实施例 9

[0394] 向 [3'-叔丁基二甲基硅氧基-N-甲基-Bmt]¹-[甲氧基-Sar]³-N-[丁烯-4-醛]-Val⁵-环孢菌素 A(0.09g) 在含有 0.01ml 乙酸的纯甲醇溶液中加入二甲基胺 (0.08ml, 0.18mmol, 2.0M, THF 中的溶液) 和氰基硼氢化钠 (10mg, 0.14mmol), 所得混合物在室温下搅拌 12 小时。减压浓缩, 剩余物通过快速硅胶柱层析纯化, 用溶剂 A(A = DCM) 中的 0-70% 溶剂 B(B = DCM/MeOH/NH₄OH(90 : 9 : 1, v/v/v) 梯度洗脱, 得到 85mg 白色固体 [3'-叔丁基二甲基硅氧基-N-甲基-Bmt]¹-[甲氧基-Sar]³-N-[4-二甲基氨基丁基]-Val⁵-环孢菌素 A; ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ ppm-0.12(s, 3H) 0.06(s, 3H) 0.80(s, 9H) 2.07(s, 6H) 2.80(s, 3H) 2.81(s, 3H) 2.82(s, 3H) 2.83(s, 3H) 2.89(s, 3H) 3.13(s, 3H) 3.21(s, 3H) 6.02(s, 1H) 7.06(d, 1H) 7.86(d, 1H) 8.31(d, 1H); 质谱: 723.7(M+2H)/2。

[0395] [(R)-甲氧基-Sar]³环孢菌素 A(也称为 3-甲氧基环孢菌素 A) 在 US 专利号 6,583,265 和 PCT 公布号 W02006/0398668 中有描述, 这些文献的全部内容以引用的方式纳入本文。

[0396] HCV 活性

[0397] 采用从 Kriger 等, 2001, Journal of Virology 75:4614-4624; Pietschmann 等, 2002 Journal of Virology 76:4008-4021 中说明的方法改进的方法并使用美国专利号 6,630,343 中描述的 HCV RNA 构建物检测本发明代表性化合物(按照实施例 1-2 的描述制备)抗 HCV 的活性。在人肝细胞瘤细胞系 ET(lub ubi neo/ET) 中检测化合物, ET 是含有稳定的萤光素酶 (LUC) 报告因子的 HCV RNA 复制子。HCV RNA 复制子 ET 含有 HCV 的 5 末端(具有 HCV 内部核糖体进入位点 (IRES) 和 HCV 核心蛋白的前几个氨基酸), 其能驱动产生萤火虫萤光素酶 (LUC)、泛素和新霉素磷酸转移酶 (NeoR) 融合蛋白。泛素切割释放 LUC 和 NeoR 蛋白。EMCV IRES 元件控制 HCV 结构蛋白 NS3-NS5 的翻译。NS3 蛋白切割 HCV 多蛋白从而释放出 HCV 复制所需的成熟的 NS3、NS4A、NS4B、NS5A 和 NS5B 蛋白。位于复制子 3 末端的是 HCV 的真正 3'NTR。LUC 报告因子的活性与 HCV 复制水平直接成正比, 且阳性对照抗病毒化合物使用 LUC 终点产生可重复的抗病毒反应。

[0398] 各以 5 个半对数浓度将化合物溶于 DMSO, 范围从 0.03-3 μM 或 1-100 μM。将 ET 细胞系的亚汇合培养物铺在用于分析细胞数(细胞毒性)或抗病毒活性的 96 孔平板中, 并在第二天在合适的孔中加入化合物。将细胞处理 72 小时, 期间细胞仍旧为亚汇合。抗病毒

活性用 EC_{50} 和 EC_{90} 表示,即化合物分别以 50%和 90%降低病毒复制的有效浓度。化合物的 EC_{50} 和 EC_{90} 值从 HCV RNA 水平得到,通过 HCV RNA 复制子衍生的 LUC 活性进行评价。细胞毒性用 IC_{50} 和 IC_{90} 表示,即化合物分别以 50%和 90%抑制细胞存活力的浓度。化合物的 IC_{50} 和 IC_{90} 值用比色测定计算,作为细胞数和细胞毒性的指标。LUC 报告因子的活性与人细胞系中的 HCV RNA 水平直接成正比。在平行实验中采用干扰素- α -2b 作为阳性对照验证 HCV-复制子试验。还通过比较测试了环孢菌素。本发明代表性化合物抑制人类肝细胞中 HCV 的复制。具体地,化合物 1-4、6-12、14-17、20 和 21 的 EC_{50} 值小于 1000nM。化合物 5 的 EC_{50} 值大于 1000nM。此外,当考虑细胞毒性水平时,这些化合物显示出安全限度(例如,细胞毒性 IC_{50} 对比抗病毒 EC_{50})。

[0399] 亲环蛋白结合活性

[0400] 利用来自 Quesniaux 等, (Eur. J Immunol., 1987, 17:1359-1365) 中所述方法的竞争性 ELISA 来测定本发明化合物与亲环蛋白的抑制性结合。连接 D-Lys⁸-环孢菌素 A(D-Lys⁸-Cs) 的琥珀酰间隔的活化酯与牛血清白蛋白(BSA)通过 D-lysyl 在第 38 位偶联。BSA 溶于 0.1M 硼酸盐缓冲液, pH 9.0(4mg, 1.4ml) 中。剧烈搅拌下,溶于二甲基甲酰胺的一百倍摩尔过量的 D-Lys⁸-Cs(0.6ml) 滴加到 BSA 中。在温和震荡下,偶联反应在室温下进行 2-3 小时,用磷酸盐缓冲液(PBS, pH7.4) 对偶联物进行充分透析。用丙酮沉淀一份偶联蛋白后,丙酮溶液中不再含有未偶联结合的 D-Lys⁸-Cs,计算环孢菌素偶联结合的程度。

[0401] 用 D-Lys⁸-Cs-BSA 偶联物包被微孔板(4℃下, PBS 中, 2 μ g/ml, 24 小时)。用 Tween® /PBS 以及单独用 PBS 冲洗板。为了阻断非特异性结合,向微孔中加入 2% BSA/PBS(pH 7.4), 37℃ 孵育 2 小时。在分别的微孔板中,用乙醇对所述蛋白质进行五倍连续稀释,以用于检测。对于人重组亲环蛋白实验,起始浓度是 0.1mg/mL。将 198 μ L 的 0.1 μ g/mL 亲环蛋白溶液加入微孔中,随即加入 2 μ L 稀释的环孢菌素 A(作为参照化合物)或本发明化合物。使包被的 BSA-Cs 偶联物、游离环孢菌素 A 和亲环蛋白之间反应在 4℃ 平衡过夜。用含 PBS 的 1% BSA 稀释的抗-亲环蛋白兔抗血清来检测亲环蛋白,在 4℃ 孵育过夜。如上所述洗涤板。然后用 1% BSA-PBS 稀释的偶联了碱性磷酸酶的山羊抗-兔 IgG 检测结合的兔抗体,在 37℃ 孵育 2 小时。如上所述洗涤板。用 4-硝基苯磷酸酯(二乙醇胺缓冲液中 1g/l, pH 9.8) 在 37℃ 孵育 1-2 小时后,用分光光度计在 405nm 测量酶反应。用 EC_{50} 表示结果,该值是实现 50%抑制时所需的本发明化合物的浓度。与亲环蛋白 A 和 B 相比,化合物 1-4、6-17、20 和 21 的 EC_{50} 值小于 600nM;与亲环蛋白 A 和 B 相比,化合物 5 的 EC_{50} 值大于 600nM。与亲环蛋白 D 相比,化合物 1-3、6-12、14-17 和 21 的 EC_{50} 值小于 600nM;与亲环蛋白 D 相比,化合物 4、5 和 20 的 EC_{50} 值大于 600nM。

[0402] 与抗-CD3 和抗-CD28 一起共刺激,在 Jurkat 细胞中检测了本文披露的化合物的 T 细胞刺激(IL-2)。从 10 μ M(n = 2) 开始至 0.0015 μ M,所有化合物进行 0.5-Log 9 点滴定。从 500ng/mL 开始,环孢菌素 A(对照)也进行 0.5-Log 9 点滴定。所有被检测的化合物都溶于二甲基亚砜中。用平行 Alamar Blue 板评估细胞毒性。Jurkat 细胞以 2×10^5 细胞每孔 190 μ L 培养基接种于 96-孔板中。细胞在含 10%小牛血清和 L-谷氨酰胺的 RPMI 1640 培养基中培养,在 37℃, 5%二氧化碳中孵育。孵育 1 小时后,用固定抗的-CD3(0.4 μ g/孔)、溶解的抗-CD28(2 μ g/mL) 刺激细胞。6 小时后,收获样本上清液,并储存于 -80℃。通过 Luminex® 1-plex 实验检测 50 μ L 样本上清液的 IL-2。

[0403] 线粒体通透性转换

[0404] 通过测量 Ca^{2+} 导致的线粒体肿胀来测定线粒体通透性转换 (MPT)。该方法源自 Blattner 等, 2001, *Analytical Biochem*, 295 :220 中描述的方法。用磷酸盐缓冲液 (PBS) 灌注大鼠肝脏去除血液, 在基于蔗糖的缓冲液中轻柔均质化, 然后差速离心先去除细胞碎片, 再使线粒体形成小团, 来制备线粒体。150 微摩尔 Ca^{2+} (来自浓缩的 CaCl_2 溶液) 导致肿胀, 通过测量 535-540nm 处的散射来检测肿胀。在形成肿胀前 5 分钟加入代表性化合物。通过比较存在和不存在本文所述化合物的情况下的肿胀来测定 EC_{50} 。化合物 1、6-11、14、16、20 和 21 的 EC_{50} 值小于 $10 \mu\text{m}$; 化合物 2-5 的 EC_{50} 值大于 $10 \mu\text{m}$; 化合物 12 和 17 的 EC_{50} 值大于 $1.5 \mu\text{m}$ 。

[0405] 本说明书中引用的所有出版物和专利申请均通过引用被纳入本文, 如同特别和单独地说明每一个出版物或专利申请通过引用被纳入本文一样。尽管已经根据各种优选实施方案描述了本发明, 但本领域技术人员将理解, 在不背离本发明精神的条件下, 可以进行各种修改、替代、省略和改变。因此, 本发明的范围仅由下列权利要求书、包括其等同物的范围来限定。