

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200880018991.9

[51] Int. Cl.

C07D 217/26 (2006.01)

C07D 401/12 (2006.01)

C07D 417/14 (2006.01)

A61K 31/16 (2006.01)

A61P 31/14 (2006.01)

[43] 公开日 2010年3月24日

[11] 公开号 CN 101679277A

[22] 申请日 2008.5.9

[21] 申请号 200880018991.9

[30] 优先权

[32] 2007.5.10 [33] US [31] 60/917,300

[32] 2008.1.23 [33] US [31] 61/023,041

[86] 国际申请 PCT/US2008/063304 2008.5.9

[87] 国际公布 WO2008/141227 英 2008.11.20

[85] 进入国家阶段日期 2009.12.4

[71] 申请人 因特蒙公司

地址 美国加利福尼亚州

共同申请人 亚雷生物制药股份有限公司

[72] 发明人 史蒂文·W·安德鲁斯

斯科特·塞韦特

利奥尼德·拜格尔曼

劳伦斯·布拉特 布拉德·巴克曼

凯文·R·孔德罗斯基 江育童

罗伯特·J·考斯

阿普里尔·L·肯尼迪

蒂莫西·S·克尔彻

迈克尔·A·莱昂 王彬

[74] 专利代理机构 北京律盟知识产权代理有限责
任公司

代理人 沈锦华

权利要求书 10 页 说明书 132 页

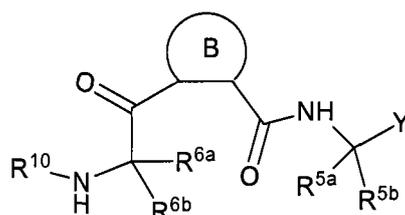
[54] 发明名称

丙型肝炎病毒复制的新颖肽抑制剂

[57] 摘要

实施例提供通式(I)化合物, 以及包含本发明化合物的组合物, 包括医药组合物。实施例提供通式(II)化合物, 以及包含本发明化合物的组合物, 包括医药组合物。实施例另外提供治疗方法, 包括治疗丙型肝炎病毒感染的方法和/或治疗肝纤维化的方法, 所述方法一般涉及向有需要的个体投与有效量的本发明化合物或组合物。

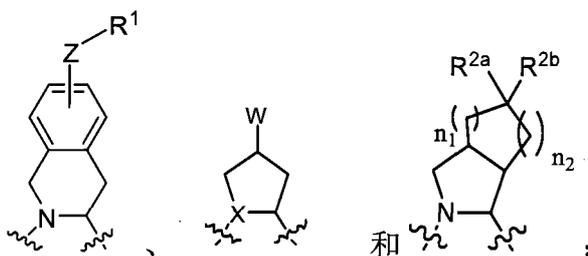
1. 一种式 I 化合物:



(I)

或其医药学上可接受的盐、前药或酯, 其中:

B 是选自由以下组成的群组的环:



Z 是键、O、CH₂、NH 或 S;

X 是 N 或 CH;

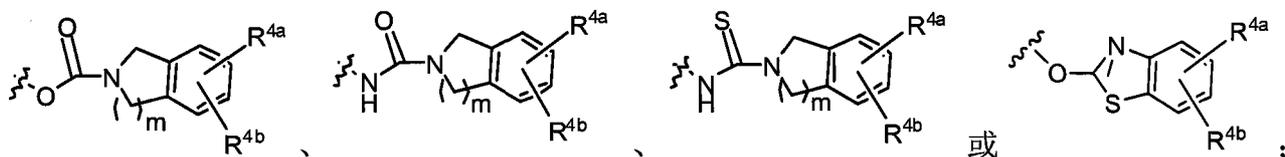
n₁ 是 0、1、2 或 3;

n₂ 是 0 或 1;

R¹ 是 H、C₁₋₇ 烷基、C₃₋₇ 环烷基、任选经取代的杂环、任选经取代的苯基、苯甲氧基或经取代的苯甲基;

R^{2a} 和 R^{2b} 独立地是氢或任选经取代的 C₁₋₃ 烷基;

W 是氢、OR^{3a}、O(CO)R^{3a}、O(CO)NR^{3a}R^{3b}、SR^{3a}、NHR^{3a}、NH(CO)R^{3a}、CHR^{3a}R^{3b}、NH(CS)R^{3a}、任选经取代的杂环、任选经取代的苯基、



R^{3a} 和 R^{3b} 独立地是氢、C₁₋₈ 烷基、C₃₋₇ 环烷基、C₄₋₁₀ 环烷基-烷基、任选经取代的 C₆₋₁₀ 芳基、任选经取代的 C₅₋₁₀ 杂芳基、任选经取代的 C₇₋₁₀ 芳烷基、任选经取代的 C₆₋₁₂ 杂芳基-烷基、任选经取代的杂环、任选经取代的苯基、任选经取代的双环系统或任选经取代的苯甲基;

m 是 1 或 2;

R^{4a} 和 R^{4b} 独立地是氢、卤素、羟基、硝基、氨基、氰基、 $C(O)R^7$ 、 $C(O)OR^7$ 、 $C(O)NR^7R^8$ 、 $C(S)NR^7R^8$ 、 $S(O)R^7$ 、 $S(O)_2R^7$ 、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷氧基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷硫基或任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷基氨基；

R^7 和 R^8 独立地是任选经取代的烷基、任选经取代的芳基或任选经取代的杂芳基；

R^{5a} 和 R^{5b} 独立地是氢、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 环烷基-烷基、 C_{2-8} 烯基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{3-7} 环烷基、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、任选经取代的 C_{7-10} 芳烷基或任选经取代的 C_{6-12} 杂芳基-烷基；或者 R^{5a} 和 R^{5b} 一起形成任选经 1-3 个选自由以下组成的群组的取代基取代的 3 到 6 元碳环或杂环系统： C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基和任选经取代的 C_{3-7} 环烷基；

R^{6a} 和 R^{6b} 独立地是氢、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷基、 C_{2-8} 烯基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{3-7} 环烷基、 C_{4-7} 环烷基-烷基、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、任选经取代的 C_{7-10} 芳烷基或任选经取代的 C_{6-12} 杂芳基-烷基；或者 R^{6a} 和 R^{6b} 一起形成任选经取代的 3 到 6 元碳环或杂环系统；

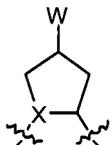
R^{8a} 和 R^{8b} 独立地是氢、任选经取代的烷基、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基或任选经取代的 C_{3-8} 杂环；

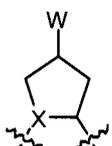
Y 选自由以下组成的群组： $-C(O)NHS(O)_2R^{9a}$ 、 $-C(O)NHS(O)_2NR^{9a}R^{9b}$ 、 $-C(O)NHS(O)R^{9a}$ 、 $-C(O)NHS(O)NR^{9a}R^{9b}$ 、 $-C(O)C(O)OH$ 、 $-C(O)NHR^{9a}$ 、 $-C(O)R^{9a}$ 、 $-C(O)OR^{9a}$ 、 $-C(O)NHC(O)R^{9a}$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)C(O)NR^{9a}R^{9b}$ 和 $-C(O)NHOR^{9a}$ ；且

R^{9a} 和 R^{9b} 独立地是氢、任选经取代的 C_{1-6} 烷基、任选经取代的 C_{3-7} 环烷基、任选经取代的 C_{4-9} 环烷基-烷基、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、 C_{7-9} 芳烷基或任选经取代的 C_{6-12} 杂芳基-烷基，或 $NR^{9a}R^{9b}$ 形成经取代或未经取代的 3 到 6 元杂环；

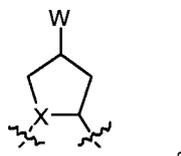
R^{10} 是任选经 1-3 个选自由以下组成的群组的取代基取代的芳基或杂芳基：卤素、羟基、硝基、氨基、氰基、 $C(O)R^{8a}$ 、 $C(O)OR^{8a}$ 、 $C(O)NR^{8a}R^{8b}$ 、 $C(S)NR^{8a}R^{8b}$ 、 OR^{8a} 、 $S(O)_2R^{8a}$ 、 C_{3-8} 杂环、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷氧基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷硫基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷基氨基和任选经至多 5 个氟或氰基取代的 C_{1-8} 烷基；

限制条件是：

如果 B 是  , X 是 N 且 W 是 OR^{3a}, 则 R^{3a} 不是任选经取代的喹唑啉基、任选经取代的喹啉基、任选经取代的萘基、或萘基甲基; 且

如果 B 是  , X 是 N, W 是 H, 且 Y 是 -C(O)OH, 则 R⁷ 不是任选经取代的吡啶基或任选经取代的 1,3,5-三嗪基。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其中 B 是:

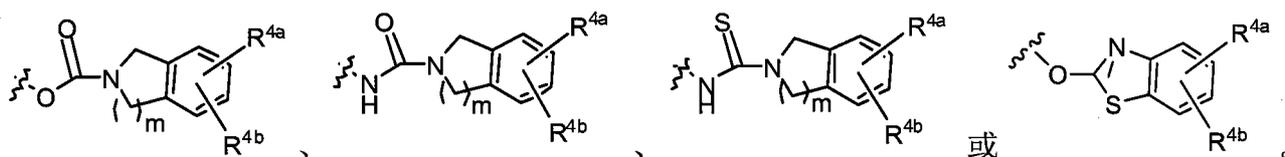


3. 根据权利要求 2 所述的化合物, 其中 X 是 N。

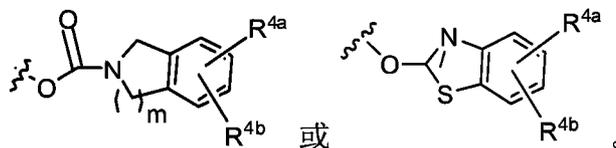
4. 根据权利要求 2 或 3 所述的化合物, 其中 W 是 OR^{3a}、O(CO)R^{3a}、O(CO)NR^{3a}R^{3b} 或 SR^{3a}。

5. 根据权利要求 2 或 3 所述的化合物, 其中 W 是 O(CO)R^{3a} 或 O(CO)NR^{3a}R^{3b}。

6. 根据权利要求 2 或 3 所述的化合物, 其中 W 是



7. 根据权利要求 2 或 3 所述的化合物, 其中 W 是

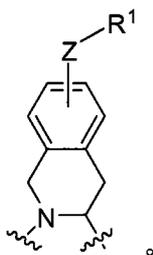


8. 根据权利要求 6 或 7 所述的化合物, 其中 m 是 1。

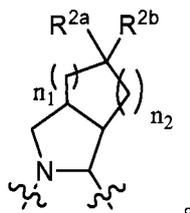
9. 根据权利要求 6 至 8 中任一权利要求所述的化合物, 其中 R^{4a} 和 R^{4b} 独立地是氢或卤素。

10. 根据权利要求 2 或 3 所述的化合物, 其中 W 是 O(CO)R^{3a}、O(CO)NR^{3a}R^{3b}、NH(CO)R^{3a} 或 NH(CS)R^{3a}。

11. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其中 B 是:



12. 根据权利要求 11 所述的化合物，其中 Z 是 O、NH 或 S。
13. 根据权利要求 11 或 12 所述的化合物，其中 R¹ 选自由任选经取代的杂环、任选经取代的苯基、苯甲氧基和经取代的苯甲基组成的群组。
14. 根据权利要求 13 所述的化合物，其中 R¹ 是任选经取代的苯基。
15. 根据权利要求 11 至 14 中任一权利要求所述的化合物，其中 Z 是 O。
16. 根据权利要求 1 所述的化合物，其中 B 是：



17. 根据权利要求 16 所述的化合物，其中 R^{2a} 和 R^{2b} 是 C₁₋₃ 烷基。
18. 根据权利要求 17 所述的化合物，其中 R^{2a} 和 R^{2b} 是甲基。
19. 根据权利要求 16 至 18 中任一权利要求所述的化合物，其中 n₁ 是 0 且 n₂ 是 0。
20. 根据权利要求 16 至 19 中任一权利要求所述的化合物，其中 Y 是 -C(O)C(O)OH 或 -C(O)C(O)NR^{9a}R^{9b}。
21. 根据权利要求 20 所述的化合物，其中 Y 是 -C(O)C(O)NH₂。
22. 根据权利要求 16 至 21 中任一权利要求所述的化合物，其中 R^{5a} 和 R^{5b} 中至少一者是 C₁₋₈ 环烷基-烷基。
23. 根据权利要求 22 所述的化合物，其中 R^{5a} 和 R^{5b} 中至少一者是环丁基-甲基。
24. 根据权利要求 16 至 23 中任一权利要求所述的化合物，其中 R⁷ 是任选经 1-3 个选自由以下组成的群组的取代基取代的芳基：卤素、羟基、硝基、氨基、氰基、C(O)R^{8a}、C(O)OR^{8a}、C(O)NR^{8a}R^{8b}、C(S)NR^{8a}R^{8b}、S(O)₂R^{8a}、任选经至多 5 个氟取代的 C₁₋₈ 烷基、任选经至多 5 个氟取代的 C₁₋₈ 烷氧基、任选经至多 5 个氟取代的 C₁₋₈ 烷硫基和任选经至多 5 个氟取代的 C₁₋₈ 烷基氨基。
25. 根据权利要求 1 至 24 中任一权利要求所述的化合物，其中 Y 选自由以下组成的群组：
 -C(O)NHS(O)₂R^{9a}、-C(O)NHS(O)₂NR^{9a}R^{9b}、-C(O)NHS(O)R^{9a}、

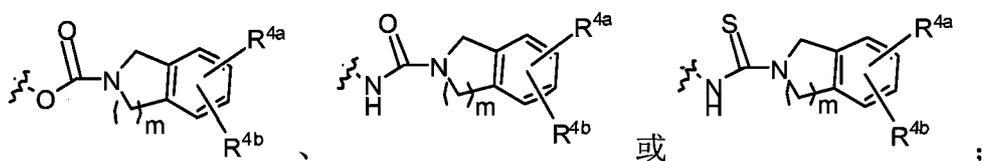
$-C(O)NHS(O)NR^{9a}R^{9b}$ 、 $-C(O)C(O)OH$ 、 $-C(O)NHR^{9a}$ 、 $-C(O)R^{9a}$ 、 $-C(O)NHC(O)R^{9a}$ 、 $-C(O)C(O)NR^{9a}R^{9b}$ 和 $-C(O)NHOR^{9a}$ 。

26. 根据权利要求 1 至 25 中任一权利要求所述的化合物，其中 Y 选自由以下组成的群组： $-C(O)NHS(O)_2R^{9a}$ 、 $-C(O)NHS(O)_2NR^{9a}R^{9b}$ 、 $-C(O)NHS(O)R^{9a}$ 和 $-C(O)NHS(O)NR^{9a}R^{9b}$ 。
27. 根据权利要求 1 至 26 中任一权利要求所述的化合物，其中 Y 选自由以下组成的群组： $-C(O)NHS(O)_2R^{9a}$ 和 $-C(O)NHS(O)NR^{9a}R^{9b}$ 。
28. 根据权利要求 1 至 27 中任一权利要求所述的化合物，其中 Y 是 $-C(O)NHS(O)_2R^{9a}$ 。
29. 根据权利要求 25 至 28 中任一权利要求所述的化合物，其中 R^{9a} 选自由以下组成的群组：任选经取代的 C_{3-7} 环烷基、任选经取代的 C_{4-9} 环烷基-烷基、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、任选经取代的 C_{7-9} 芳烷基和任选经取代的 C_{6-12} 杂芳基-烷基。
30. 根据权利要求 29 所述的化合物，其中 R^{9a} 是 C_{3-7} 环烷基。
31. 根据权利要求 30 所述的化合物，其中 R^{9a} 是环丙基。
32. 根据权利要求 1 至 31 中任一权利要求所述的化合物，其中 R^{5a} 和 R^{5b} 一起形成任选经 1-3 个选自由以下组成的群组的取代基取代的 3 到 6 元碳环或杂环系统： C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基和任选经取代的 C_{3-7} 环烷基。
33. 根据权利要求 32 所述的化合物，其中 R^{5a} 和 R^{5b} 一起形成经 C_{1-6} 烷基或 C_{2-6} 烯基取代的环丙基环系统。
34. 根据权利要求 33 所述的化合物，其中 R^{5a} 和 R^{5b} 一起形成经 C_{2-6} 烯基取代的环丙基环系统。
35. 根据权利要求 1 所述的化合物，其中：

n_1 是 0、1 或 2；

n_2 是 0；

W 是氢、 OR^{3a} 、 $O(CO)R^{3a}$ 、 $O(CO)NR^{3a}R^{3b}$ 、 SR^{3a} 、 NHR^{3a} 、 $NH(CO)R^{3a}$ 、 $CHR^{3a}R^{3b}$ 、 $NH(CS)R^{3a}$ 、任选经取代的杂环、任选经取代的苯基、



R^{8a} 和 R^{8b} 独立地是氢、任选经取代的烷基、任选经取代的芳基或任选经取代的杂芳基；且

R^{10} 是任选经 1-3 个选自以下组成的群组的取代基取代的芳基或杂芳基：卤素、羟基、硝基、氨基、氰基、 $C(O)R^{8a}$ 、 $C(O)OR^{8a}$ 、 $C(O)NR^{8a}R^{8b}$ 、 $C(S)NR^{8a}R^{8b}$ 、 $S(O)_2R^{8a}$ 、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷氧基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷硫基和任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷基氨基。

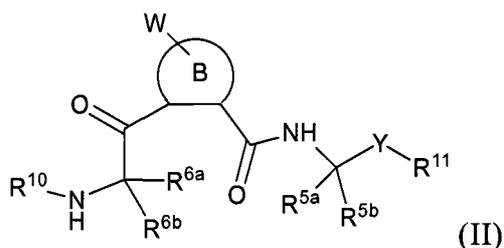
36. 根据权利要求 1 所述的化合物，其式选自如说明书中所述表 1 中化合物的式组成的群组。
37. 一种医药组合物，其包含医药学上可接受的赋形剂和根据权利要求 1 至 36 中任一权利要求所述的化合物。
38. 一种抑制 NS3/NS4 蛋白酶活性的方法，其包含使 NS3/NS4 蛋白酶与根据权利要求 1 至 36 中任一权利要求所述的化合物或根据权利要求 37 所述的组合物接触。
39. 根据权利要求 38 所述的方法，其中所述接触是在体内(in vivo)进行。
40. 根据权利要求 39 所述的方法，其另外包含鉴别感染丙型肝炎的受试者和向所述受试者投与有效治疗所述感染的量的所述化合物。
41. 根据权利要求 40 所述的方法，其中所述方法另外包含向所述个体投与有效量的核苷类似物。
42. 根据权利要求 41 所述的方法，其中所述核苷类似物选自利巴韦林(ribavirin)、左旋韦林(levovirin)、韦拉米啉(viramidine)、L-核苷和艾沙托立宾(isatoribine)。
43. 根据权利要求 40 所述的方法，其中所述方法另外包含向所述个体投与有效量的人免疫缺陷病毒 1 蛋白酶抑制剂。
44. 根据权利要求 43 所述的方法，其中所述蛋白酶抑制剂是利托那韦(ritonavir)。
45. 根据权利要求 40 所述的方法，其中所述方法另外包含向所述个体投与有效量的 NS5B RNA 依赖性 RNA 聚合酶抑制剂。
46. 根据权利要求 40 所述的方法，其中所述方法另外包含向所述个体投与有效量的干扰素- γ (IFN- γ)。
47. 根据权利要求 46 所述的方法，其中所述 IFN- γ 经皮下投与约 10 μ g 到约 300 μ g 的量。
48. 根据权利要求 39 所述的方法，其中所述方法另外包含向所述个体投与有效量的干扰素- α (IFN- α)。
49. 根据权利要求 48 所述的方法，其中所述 IFN- α 是以每 8 天 1 次到每 14 天 1 次的给药间隔投与的单聚乙二醇化复合 IFN- α 。
50. 根据权利要求 48 所述的方法，其中所述 IFN- α 是以每 7 天 1 次的给药间隔投与的

单聚乙二醇化复合 IFN- α 。

51. 根据权利要求 48 所述的方法, 其中所述 IFN- α 是干复津(INFERGEN)复合 IFN- α 。
52. 根据权利要求 40 所述的方法, 其另外包含投与有效量的选自以下的药剂: 3'-叠氮胸苷、2',3'-双脱氧肌苷、2',3'-双脱氧胞苷、2',3'-双脱氢-2',3'-双脱氧胸苷、可比韦(combivir)、阿巴卡韦(abacavir)、阿德福韦酯(adefovir dipoxil)、西多福韦(cidofovir)和肌苷单磷酸脱氢酶抑制剂。
53. 根据权利要求 40 所述的方法, 其中实现持续病毒应答。
54. 根据权利要求 38 所述的方法, 其中所述接触是离体(ex vivo)进行。
55. 一种治疗个体肝纤维化的方法, 所述方法包含对所述个体投与有效量的根据权利要求 1 至 36 中任一权利要求所述的化合物或根据权利要求 37 所述的组合物。
56. 根据权利要求 55 所述的方法, 其中所述方法另外包含对所述个体投与有效量的核苷类似物。
57. 根据权利要求 56 所述的方法, 其中所述核苷类似物选自利巴韦林、左旋韦林、韦拉米啉、L-核苷和艾沙托立宾。
58. 根据权利要求 55 所述的方法, 其中所述方法另外包含对所述个体投与有效量的人免疫缺陷病毒 1 蛋白酶抑制剂。
59. 根据权利要求 58 所述的方法, 其中所述蛋白酶抑制剂是利托那韦。
60. 根据权利要求 55 所述的方法, 其中所述方法另外包含对所述个体投与有效量的 NS5B RNA 依赖性 RNA 聚合酶抑制剂。
61. 根据权利要求 55 所述的方法, 其中所述方法另外包含对所述个体投与有效量的干扰素- γ (IFN- γ)。
62. 根据权利要求 61 所述的方法, 其中所述 IFN- γ 经皮下投与约 10 μg 到约 300 μg 的量。
63. 根据权利要求 55 所述的方法, 其中所述方法另外包含对所述个体投与有效量的干扰素- α (IFN- α)。
64. 根据权利要求 63 所述的方法, 其中所述 IFN- α 是以每 8 天 1 次到每 14 天 1 次的给药间隔投与的单聚乙二醇化复合 IFN- α 。
65. 根据权利要求 63 所述的方法, 其中所述 IFN- α 是以每 7 天 1 次的给药间隔投与的单聚乙二醇化复合 IFN- α 。
66. 根据权利要求 63 所述的方法, 其中所述 IFN- α 是干复津复合 IFN- α 。
67. 根据权利要求 55 所述的方法, 其另外包含投与有效量的选自以下的药剂: 3'-叠氮

胸苷、2',3'-双脱氧肌苷、2',3'-双脱氧胞苷、2-,3-双脱氢-2',3'-双脱氧胸苷、可比韦、阿巴卡韦、阿德福韦酯、西多福韦和肌苷单磷酸脱氢酶抑制剂。

68. 一种增强感染丙型肝炎病毒的个体肝功能的方法,所述方法包含对所述个体投与有效量的根据权利要求1至36中任一权利要求所述的化合物或根据权利要求37所述的组合物。
69. 根据权利要求68所述的方法,其中所述方法另外包含对所述个体投与有效量的核苷类似物。
70. 根据权利要求69所述的方法,其中所述核苷类似物选自利巴韦林、左旋韦林、韦拉米啉、L-核苷和艾沙托立宾。
71. 根据权利要求68所述的方法,其中所述方法另外包含对所述个体投与有效量的人免疫缺陷病毒1蛋白酶抑制剂。
72. 根据权利要求71所述的方法,其中所述蛋白酶抑制剂是利托那韦。
73. 根据权利要求68所述的方法,其中所述方法另外包含对所述个体投与有效量的NS5B RNA 依赖性 RNA 聚合酶抑制剂。
74. 根据权利要求68所述的方法,其中所述方法另外包含对所述个体投与有效量的干扰素- γ (IFN- γ)。
75. 根据权利要求74所述的方法,其中所述IFN- γ 经皮下投与约10 μg 到约300 μg 的量。
76. 根据权利要求68所述的方法,其中所述方法另外包含对所述个体投与有效量的干扰素- α (IFN- α)。
77. 根据权利要求76所述的方法,其中所述IFN- α 是以每8天1次到每14天1次的给药间隔投与的单聚乙二醇化复合IFN- α 。
78. 根据权利要求76所述的方法,其中所述IFN- α 是以每7天1次的给药间隔投与的单聚乙二醇化复合IFN- α 。
79. 根据权利要求76所述的方法,其中所述IFN- α 是干复津复合IFN- α 。
80. 根据权利要求68所述的方法,其另外包含投与有效量的选自以下的药剂:3'-叠氮胸苷、2',3'-双脱氧肌苷、2',3'-双脱氧胞苷、2',3'-双脱氢-2',3'-双脱氧胸苷、可比韦、阿巴卡韦、阿德福韦酯、西多福韦和肌苷单磷酸脱氢酶抑制剂。
81. 一种式(II)化合物:



或其医药学上可接受的盐、前药或酯，其中：

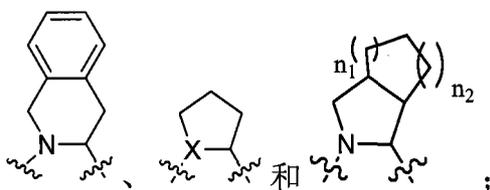
R^{5a} 和 R^{5b} 独立地是氢、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 环烷基-烷基、 C_{2-8} 烯基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{3-7} 环烷基、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、任选经取代的 C_{7-10} 芳烷基或任选经取代的 C_{6-12} 杂芳基-烷基；或者 R^{5a} 和 R^{5b} 一起形成任选经 1-3 个选自由以下组成的群组的取代基取代的 3 到 6 元碳环或杂环系统： C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基和任选经取代的 C_{3-7} 环烷基；

R^{6a} 和 R^{6b} 独立地是氢、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷基、 C_{2-8} 烯基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{3-7} 环烷基、 C_{4-7} 环烷基-烷基、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、任选经取代的 C_{7-10} 芳烷基或任选经取代的 C_{6-12} 杂芳基-烷基；或者 R^{6a} 和 R^{6b} 一起形成任选经取代的 3 到 6 元碳环或杂环系统；

R^{10} 是任选经 1-3 个选自由以下组成的群组的取代基取代的芳基或杂芳基：卤素、羟基、硝基、氨基、氰基、任选经至多 5 个氟或氰基取代的 C_{1-8} 烷基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷氧基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷硫基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷基氨基、 C_{3-8} 杂环、 $C(O)R^{8a}$ 、 $C(O)OR^{8a}$ 、 $C(O)NR^{8a}R^{8b}$ 、 $C(S)NR^{8a}R^{8b}$ 、 OR^{8a} 和 $S(O)_2R^{8a}$ ；

R^{8a} 和 R^{8b} 独立地是氢、任选经取代的烷基、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基或任选经取代的 C_{3-8} 杂环；

B 是选自由以下组成的群组的环系统：



n_1 是 0、1、2 或 3；

n_2 是 0 或 1；

X 是 N 或 CH；

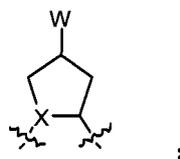
Y 是经构造与 NS3 蛋白酶 His57 咪唑部分形成氢键和与 NS3 蛋白酶 Gly137 氮原子形成氢键的基团；

R^{11} 是经构造与至少一个选自由以下组成的群组的 NS3 蛋白酶 S1'口袋部分形成非极性相互作用的基团：Lys136、Gly137、Ser138、His57、Gly58、Gln41、Gly42 和 Phe43；且

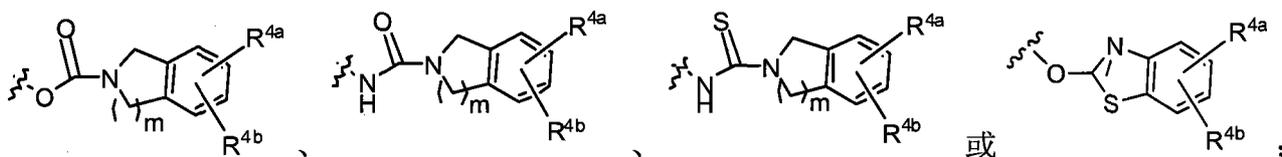
W 是经构造与至少一个选自由以下组成的群组的 NS3 蛋白酶 S2 口袋部分形成非极性相互作用的基团：His57、Arg155、Val78、Asp79 和 Gln80。

82. 根据权利要求 81 所述的化合物，其中：

B 和 W 一起形成具有以下结构的环：



W 是



m 是 1 或 2；

R^{4a} 和 R^{4b} 独立地是氢、卤素、羟基、硝基、氨基、氰基、 $C(O)R^7$ 、 $C(O)OR^7$ 、 $C(O)NR^7R^8$ 、 $C(S)NR^7R^8$ 、 $S(O)R^7$ 、 $S(O)_2R^7$ 、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷氧基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷硫基或任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷基氨基；且

R^7 和 R^8 独立地是任选经取代的烷基、任选经取代的芳基或任选经取代的杂芳基。

丙型肝炎病毒复制的新颖肽抑制剂

技术领域

本发明涉及化合物，其合成方法，组合物和治疗丙型肝炎病毒(HCV)感染的方法。

背景技术

在美国，丙型肝炎病毒(HCV)感染是最常见的慢性血源性感染。尽管新感染的数量已有所下降，但慢性感染的负荷仍相当大，据疾病控制中心(Centers for Disease Control)估计，在美国有 390 万人(1.8%)受感染。在美国，慢性肝病是成人死亡的第十大主导原因，并且每年会引起约 25,000 人死亡，或占全部死亡人数的约 1%。研究表明，40%的慢性肝病与 HCV 相关，每年导致近 8,000-10,000 人死亡。HCV 相关的末期肝病是成人肝移植最常见的病症。

在过去十年里，针对慢性丙型肝炎的抗病毒疗法已迅速发展，而且治疗功效也得到明显改进。然而，即使利用使用聚乙二醇化干扰素- α (pegylated IFN- α)与利巴韦林(ribavirin)的组合疗法，仍有 40%到 50%的患者治疗失败，即为无应答者或复发者。目前，对这些患者尚无有效的替代治疗方案。具体来说，经肝活检患有晚期肝纤维化或晚期肝硬化的患者发展包括腹水、黄疸、静脉曲张出血、脑病和进行性肝衰竭在内的晚期肝病并发症的风险很大，并且肝细胞癌的风险显著增加。

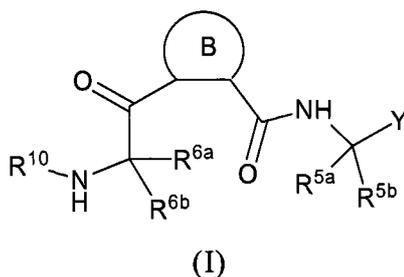
在美国，慢性 HCV 感染的高流行性对于慢性肝病的未来负荷具有重要的公共健康影响。美国国家健康和营养调查(National Health and Nutrition Examination Survey, NHANES III)的数据表明，从 20 世纪 60 年代后期到 20 世纪 80 年代早期，新 HCV 感染的比率出现极大增加，尤其见于年龄在 20 到 40 岁的人。据估计，从 1990 年到 2015 年，长期感染 HCV 达 20 年或更长时间的人数可能增加到 4 倍多，即从 750,000 增加到超过 3,000,000。感染 30 或 40 年的人增加的比例甚至会更高。由于 HCV 相关慢性肝病的风险与感染持续时间相关，并且感染超过 20 年的人肝硬化的风险进行性增加，因此这导致在 1965 年-1985 年间受感染患者的肝硬化相关发病率和死亡率实质性增加。

HCV 是有包膜的黄病毒(Flaviviridae)科正链 RNA 病毒。单链 HCV RNA 基因组长度为约 9500 个核苷酸并且具有编码约 3000 个氨基酸的单一大多聚蛋白的单一开放阅读框(ORF)。在感染细胞中，这一多聚蛋白在多个位点处经细胞和病毒蛋白酶裂解，而产生病毒的结构和非结构(NS)蛋白。在 HCV 的情况下，成熟非结构蛋白(NS2、NS3、NS4、NS4A、

NS4B、NS5A 和 NS5B)的产生受两种病毒蛋白酶的影响。第一种病毒蛋白酶在多聚蛋白的 NS2-NS3 接合处裂解。第二种病毒蛋白酶为 NS3 的 N 末端区内所含的丝氨酸蛋白酶(在本文中称为“NS3 蛋白酶”)。NS3 蛋白酶介导多聚蛋白中处于 NS3 位置下游的位点(即在 NS3 的 C 末端与多聚蛋白 C 末端之间的位点)的所有后续裂解事件。NS3 蛋白酶在 NS3-NS4 裂解位点展现顺式活性,而对于剩余 NS4A-NS4B、NS4B-NS5A 和 NS5A-NS5B 位点展现反式活性。人们认为 NS4A 蛋白起多种作用,即充当 NS3 蛋白酶的辅因子,和可能辅助 NS3 和其它病毒复制酶组件的膜定位。显然,NS3 介导的加工事件需要 NS3 与 NS4A 之间复合物的形成,并且这一形成将增强由 NS3 识别的所有位点的蛋白水解效率。NS3 蛋白酶还展现核苷三磷酸酶和 RNA 解旋酶活性。NS5B 为涉及 HCV RNA 复制的 RNA 依赖性 RNA 聚合酶。

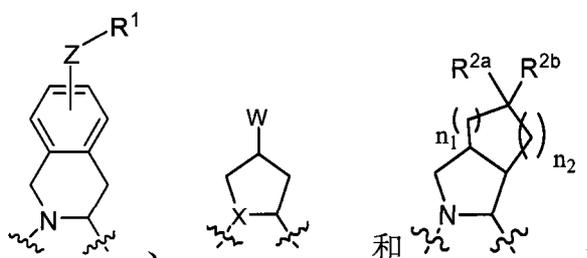
发明内容

本发明实施例提供通式 I 化合物:



其中:

B 是选自由以下组成的群组的环:



Z 是键、O、CH₂、NH 或 S;

X 是 N 或 CH;

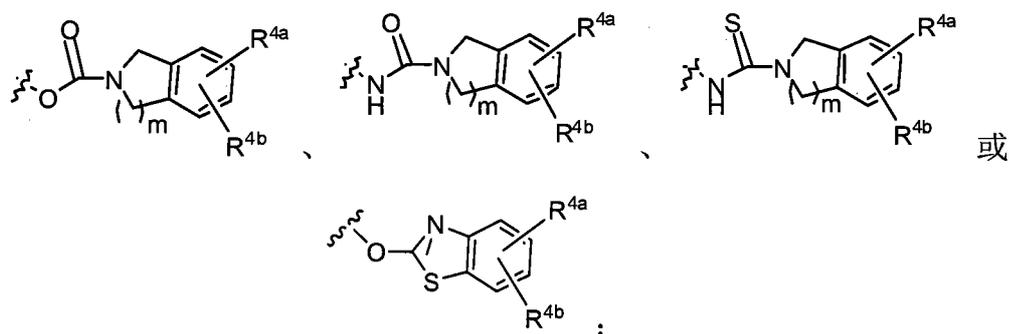
n₁ 是 0、1、2 或 3,

n_2 是 0 或 1;

R^1 是 H、 C_{1-7} 烷基、 C_{3-7} 环烷基、任选经取代的杂环、任选经取代的苯基、苯甲氧基或经取代的苯甲基;

R^{2a} 和 R^{2b} 独立地是氢或任选经取代的 C_{1-3} 烷基;

W 是氢、 OR^{3a} 、 $O(CO)R^{3a}$ 、 $O(CO)NR^{3a}R^{3b}$ 、 SR^{3a} 、 NHR^{3a} 、 $NH(CO)R^{3a}$ 、 $CHR^{3a}R^{3b}$ 、 $NH(CS)R^{3a}$ 、任选经取代的杂环、任选经取代的苯基、



R^{3a} 和 R^{3b} 独立地是氢、 C_{1-8} 烷基、 C_{3-7} 环烷基、 C_{4-10} 环烷基-烷基、任选经取代的 C_{6-10} 芳基、任选经取代的 C_{5-10} 杂芳基、任选经取代的 C_{7-10} 芳烷基、任选经取代的 C_{6-12} 杂芳基-烷基、任选经取代的杂环、任选经取代的苯基、任选经取代的双环系统或任选经取代的苯甲基;

m 是 1 或 2;

R^{4a} 和 R^{4b} 独立地是氢、卤素、羟基、硝基、氨基、氰基、 $C(O)R^7$ 、 $C(O)OR^7$ 、 $C(O)NR^7R^8$ 、 $C(S)NR^7R^8$ 、 $S(O)R^7$ 、 $S(O)_2R^7$ 、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷氧基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷硫基或任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷基氨基;

R^7 和 R^8 独立地是任选经取代的烷基、任选经取代的芳基或任选经取代的杂芳基;

R^{5a} 和 R^{5b} 独立地是氢、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 环烷基-烷基、 C_{2-8} 烯基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{3-7} 环烷基、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、任选经取代的 C_{7-10} 芳烷基或任选经取代的 C_{6-12} 杂芳基-烷基; 或者 R^{5a} 和 R^{5b} 一起形成任选经 1-3 个选自由以下组成的群组的取代基取代的 3 到 6 元碳环或杂环系统: C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基和任选经取代的 C_{3-7} 环烷基;

R^{6a} 和 R^{6b} 独立地是氢、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷基、 C_{2-8} 烯基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{3-7} 环烷基、 C_{4-7} 环烷基-烷基、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、

任选经取代的 C₇₋₁₀ 芳烷基或任选经取代的 C₆₋₁₂ 杂芳基-烷基；或者 R^{6a} 和 R^{6b} 一起形成任选经取代的 3 到 6 元碳环或杂环系统；

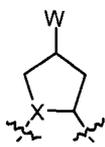
R^{8a} 和 R^{8b} 独立地是氢、任选经取代的烷基、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基或任选经取代的 C₃₋₈ 杂环；

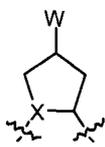
Y 选自由以下组成的群组：-C(O)NHS(O)₂R^{9a}、-C(O)NHS(O)₂NR^{9a}R^{9b}、-C(O)NHS(O)R^{9a}、-C(O)NHS(O)NR^{9a}R^{9b}、-C(O)C(O)OH、-C(O)NHR^{9a}、-C(O)R^{9a}、-C(O)OR^{9a}、-C(O)NHC(O)R^{9a}、-C(O)OH、-C(O)C(O)NR^{9a}R^{9b} 和 -C(O)NHOR^{9a}；且

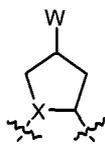
R^{9a} 和 R^{9b} 独立地是氢、任选经取代的 C₁₋₆ 烷基、任选经取代的 C₃₋₇ 环烷基、任选经取代的 C₄₋₉ 环烷基-烷基、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、C₇₋₉ 芳烷基或任选经取代的 C₆₋₁₂ 杂芳基-烷基，或 NR^{9a}R^{9b} 形成经取代或未经取代的 3 到 6 元杂环；

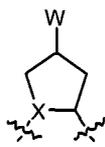
R¹⁰ 是任选经 1-3 个选自由以下组成的群组的取代基取代的芳基或杂芳基：卤素、羟基、硝基、氨基、氰基、C(O)R^{8a}、C(O)OR^{8a}、C(O)NR^{8a}R^{8b}、C(S)NR^{8a}R^{8b}、OR^{8a} 和 S(O)₂R^{8a}、C₃₋₈ 杂环、任选经至多 5 个氟或氰基取代的 C₁₋₈ 烷基、任选经至多 5 个氟取代的 C₁₋₈ 烷氧基、任选经至多 5 个氟取代的 C₁₋₈ 烷硫基和任选经至多 5 个氟取代的 C₁₋₈ 烷基氨基；

限制条件是：

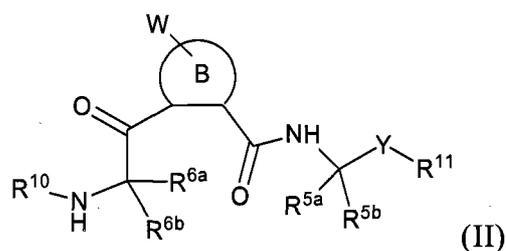


如果 B 是 ，X 是 N 且 W 是 OR^{3a}，则 R^{3a} 不是任选经取代的喹啉基、任选经取代的喹啉基、任选经取代的萘基、或萘基甲基；且



如果 B 是 ，X 是 N，W 是 H，且 Y 是 -C(O)OH，则 R⁷ 不是任选经取代的吡啶基或任选经取代的 1,3,5-三嗪基。

本发明实施例还提供通式 II 化合物：



或其医药学上可接受的盐、前药或酯，其中：

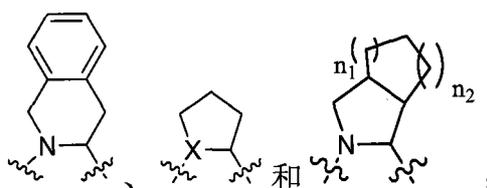
R^{5a} 和 R^{5b} 独立地是氢、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 环烷基-烷基、 C_{2-8} 烯基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{3-7} 环烷基、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、任选经取代的 C_{7-10} 芳烷基或任选经取代的 C_{6-12} 杂芳基-烷基；或者 R^{5a} 和 R^{5b} 一起形成任选经 1-3 个选自由以下组成的群组的取代基取代的 3 到 6 元碳环或杂环系统： C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基和任选经取代的 C_{3-7} 环烷基；

R^{6a} 和 R^{6b} 独立地是氢、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷基、 C_{2-8} 烯基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{3-7} 环烷基、 C_{4-7} 环烷基-烷基、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、任选经取代的 C_{7-10} 芳烷基或任选经取代的 C_{6-12} 杂芳基-烷基；或者 R^{6a} 和 R^{6b} 一起形成任选经取代的 3 到 6 元碳环或杂环系统；

R^{10} 是任选经 1-3 个选自由以下组成的群组的取代基取代的芳基或杂芳基：卤素、羟基、硝基、氨基、氰基、 $C(O)R^{8a}$ 、 $C(O)OR^{8a}$ 、 $C(O)NR^{8a}R^{8b}$ 、 $C(S)NR^{8a}R^{8b}$ 、 OR^{8a} 、 $S(O)_2R^{8a}$ 、 C_{3-8} 杂环、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷氧基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷硫基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷基氨基和任选经至多 5 个氟或氰基取代的 C_{1-8} 烷基；

R^{8a} 和 R^{8b} 独立地是氢、任选经取代的烷基、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基或任选经取代的 C_{3-8} 杂环；

B 是选自由以下组成的群组的环系统：



n_1 是 0、1、2 或 3；

n_2 是 0 或 1；

X 是 N 或 CH；

Y 是经构造与 NS3 蛋白酶 His57 咪唑部分形成氢键和与 NS3 蛋白酶 Gly137 氮原子形成氢键的基团；

R^{11} 是经构造与至少一个选自由以下组成的群组的 NS3 蛋白酶 S1' 口袋部分形成非极性相互作用的基团：Lys136、Gly137、Ser138、His57、Gly58、Gln41、Gly42 和 Phe43；
且

W 是经构造与至少一个选自由以下组成的群组的 NS3 蛋白酶 S2 口袋部分形成非极

性相互作用的基团：His57、Arg155、Val78、Asp79 和 Gln80。

本发明实施例提供抑制 NS3/NS4 蛋白酶活性的方法，其包含使 NS3/NS4 蛋白酶与本文所揭示的化合物接触。

本发明实施例提供通过调节 NS3/NS4 蛋白酶来治疗肝炎的方法，其包含使 NS3/NS4 蛋白酶与本文所揭示的化合物接触。

优选实施例提供医药组合物，其包含：a) 优选化合物；和 b) 医药学上可接受的载剂。

优选实施例提供治疗个体丙型肝炎病毒感染的方法，所述方法包含向个体投与有效量的包含优选化合物的组合物。

优选实施例提供治疗个体肝纤维化的方法，所述方法包含向个体投与有效量的包含优选化合物的组合物。

优选实施例提供增强感染丙型肝炎病毒的个体肝功能的方法，所述方法包含向个体投与有效量的包含优选化合物的组合物。

具体实施方式

定义

如本文所使用，术语“肝脏纤维化(hepatic fibrosis)”在本文中可与“肝纤维化(liver fibrosis)”互换使用，指的是可在慢性肝炎感染情况下发生的肝中瘢痕组织生长。

术语“个体”、“宿主”、“受试者”和“患者”在本文中可互换使用，并且指哺乳动物，包括(但不限于)灵长类动物，包括猿和人类。

如本文所使用，术语“肝功能”是指正常肝功能，包括(但不限于)合成功能，包括(但不限于)合成蛋白质(例如血清蛋白，例如白蛋白、凝血因子、碱性磷酸酶、氨基转移酶(例如丙氨酸转氨酶、天冬氨酸转氨酶)、5'-核苷酶、 γ -谷氨酰转肽酶等)、合成胆红素、合成胆固醇和合成胆汁酸；肝代谢功能，包括(但不限于)碳水化合物代谢、氨基酸和氮代谢、激素代谢和脂质代谢；外来药物的解毒；血液动力学功能，包括内脏和门脉血液动力学；等。

如本文所使用，术语“持续病毒应答”(SVR，也称为“持续应答”或“持久应答”)是指就血清 HCV 滴度来说，个体对 HCV 感染的治疗方案的应答。一般来说，“持续病毒应答”是指在治疗停止后至少约 1 个月、至少约 2 个月、至少约 3 个月、至少约 4 个月、至少约 5 个月或至少约 6 个月的时间内在患者的血清中未发现可检测的 HCV RNA(例如，每毫升血清小于约 500、小于约 200 或小于约 100 个基因组拷贝)。

如本文中使用的，“治疗失败患者”通常是指对先前 HCV 疗法不产生应答的感染 HCV

的患者(称为“无应答者”),或最初对先前疗法产生应答、但治疗应答在其中未得到保持的感染 HCV 的患者(称为“复发者”)。先前疗法通常可包括用 IFN- α 单药疗法或 IFN- α 组合疗法进行的治疗,其中所述组合疗法可包括投与 IFN- α 和抗病毒剂(例如利巴韦林)。

如本文所使用,术语“治疗”等是指获得所需药理学和/或生理学作用。所述作用就完全或部分防止疾病或其症状来说可为预防性的,和/或就部分或完全治愈疾病和/或由所述疾病引起的不利影响来说可为治疗性的。如本文所使用,“治疗”涵盖对于哺乳动物、尤其是人类的疾病的任何治疗,并且包括:(a)防止易患疾病但尚未诊断出患有所述疾病的受试者出现疾病;(b)抑制疾病,即阻滞其发展;和(c)减轻疾病,即使疾病消退。

术语“个体”、“宿主”、“受试者”和“患者”在本文中可互换使用,并且指哺乳动物,包括(但不限于)鼠类、猿、人类、哺乳动物型农场动物、哺乳动物型运动动物和哺乳动物型宠物。

如本文所使用,术语“I 型干扰素受体激动剂”是指人类 I 型干扰素受体的任何天然存在或非天然存在的配体,其与受体结合并经由受体引起信号转导。I 型干扰素受体激动剂包括干扰素,包括天然存在的干扰素、经修饰干扰素、合成干扰素、聚乙二醇化干扰素、包含干扰素和外源蛋白的融合蛋白、经改组干扰素;对干扰素受体具特异性的抗体;非肽化学激动剂等。

如本文所使用,术语“II 型干扰素受体激动剂”是指人类 II 型干扰素受体的任何天然存在或非天然存在的配体,其与受体结合并经由受体引起信号转导。II 型干扰素受体激动剂包括天然人类干扰素- γ 、重组 IFN- γ 种类、糖基化 IFN- γ 种类、聚乙二醇化 IFN- γ 种类、经修饰或变异 IFN- γ 种类、IFN- γ 融合蛋白、对所述受体具特异性的抗体激动剂、非肽激动剂等。

如本文所使用,术语“III 型干扰素受体激动剂”是指人类白细胞介素-28(IL-28)受体 α (“IL-28R”)的任何天然存在或非天然存在的配体,所述 IL-28R 的氨基酸序列描述于谢帕德(Sheppard)等人(见下文)中,所述配体与受体结合并经由受体引起信号转导。

如本文所使用,术语“干扰素受体激动剂”是指任何 I 型干扰素受体激动剂、II 型干扰素受体激动剂或 III 型干扰素受体激动剂。

如本文所使用,术语“给药事件”是指对有需要的患者投与抗病毒剂,所述事件可涵盖药物配发装置中抗病毒剂的一次或多次释放。因此,如本文所使用,术语“给药事件”包括(但不限于)安装连续传递装置(例如泵或其它控释注射系统);和单次皮下注射后安装连续传递系统。

如本文所使用,“连续传递”(例如在“对组织连续传递物质”的情形中)意思是指以使所需量的物质在所选时间段内传递到组织中的方式,使药物移动到传递部位(例如组织中),其中患者在所选时间段内每分钟接受大约相同量的药物。

如本文所使用,“控释”(例如在“受控药物释放”的情形中)意思涵盖以所选或另外可控制的速率、间隔和/或量释放物质(例如 I 型或 III 型干扰素受体激动剂,例如 IFN- α),其实质上不受使用环境的影响。因此,“控释”涵盖(但不必限于)实质上连续的传递和模式化传递(例如在以规律或不规律时间间隔中断的时间内间歇传递)。

如在药物传递的情形中所使用,“模式化”或“暂时性”意思是在预先选择的时间段内(例如除与(例如)团注(bolus injection)相关的时间外),以一定模式、通常实质上规律的模式传递药物。“模式化”或“暂时性”药物传递意思涵盖以增加、降低、实质上恒定或脉动的速率或速率范围(例如每单位时间的药物量,或在单位时间内药物调配物的体积)传递药物,并且另外涵盖连续或实质上连续或者长程的传递。

术语“受控药物传递装置”意思涵盖装置中所含的药物或其它所需物质的释放(例如释放速率、时机)由装置本身控制或由装置本身决定并且实质上不受使用环境影响,或者以在使用环境内可重现的速率释放的任何装置。

如例如“实质上连续输注”或“实质上连续传递”的情形中所使用,“实质上连续”意思是指在预先选择的药物传递时间内以实质上不中断的方式传递药物,其中在预先选择的时间内任何 8 小时时间间隔期间患者所接受的药物量从未降到零。此外,“实质上连续”药物传递还可涵盖在预先选择的药物传递时间内实质上不中断的以实质上恒定的预先选择的速率或速率范围(例如每单位时间的药物量,或在单位时间内药物调配物的体积)传递药物。

如在可随时间变化的生物参数的情形中所使用,“实质上稳定的状态”意思是,生物参数在一段时程内展现实质上恒定的值,以致在所述时程内的任何 8 小时时间中由随时间变化的所述生物参数值所界定的曲线下面积(AUC_{8hr})不超过在所述时程内 8 小时时间中生物参数的平均曲线下面积(AUC_{8hr} 平均值)的约 20%以上或约 20%以下,并且优选不超过约 15%以上或约 15%以下,并且更优选不超过约 10%以上或约 10%以下。AUC_{8hr} 平均值定义为整个时程内生物参数的曲线下面积(AUC 总)除以所述时程内 8 小时时间间隔的数量(总天数/3 天)的商(q),即 $q = (\text{AUC 总}) / (\text{总天数} / 3 \text{ 天})$ 。举例来说,在药物血清浓度的情形中,当时程内任何 8 小时时间中药物的血清浓度曲线下面积(AUC_{8hr})不超过所述时程内 8 小时时间中药物血清浓度平均曲线下面积(AUC_{8hr} 平均)的约 20%以上或约 20%

以下，即时程内药物血清浓度的 AUC_{8hr} 不超过 AUC_{8hr} 平均值的 20%以上或 20%以下时，药物的血清浓度在所述时程中保持实质上稳定的状态。

本文使用的术语“烷基”是指具有 1 至 20 个碳原子的单价直链或支链基团，包括(但不限于)甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、正己基等。

本文使用的术语“卤基”是指氟基、氯基、溴基或碘基。

本文使用的术语“烷氧基”是指通过--O--键联与母体分子共价键结的直链或支链烷基。烷氧基的实例包括(但不限于)甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、丁氧基、正丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基等。

本文所使用的术语“烯基”是指含有碳双键的具有 2 到 20 个碳原子的单价直链或支链基团，包括(但不限于)1-丙烯基、2-丙烯基、2-甲基-1-丙烯基、1-丁烯基、2-丁烯基等。

本文使用的术语“炔基”是指含有碳三键的具有 2 到 20 个碳原子的单价直链或支链基团，包括(但不限于)1-丙炔基、1-丁炔基、2-丁炔基等。

本文使用的术语“芳基”是指稠合或非稠合的同素环芳香族基团。芳基的实例包括(但不限于)苯基、萘基、联苯基、菲基、并四苯基(naphthacenyl)等。

本文使用的术语“环烷基”是指具有 3 到 20 个碳原子的饱和脂肪族环系统基团，包括(但不限于)环丙基、环戊基、环己基、环庚基等。

本文使用的术语“环烯基”是指具有 3 到 20 个碳原子并且在环中具有至少一个碳碳双键的脂肪族环系统基团。环烯基的实例包括(但不限于)环丙烯基、环戊烯基、环己烯基、环庚烯基等。

本文使用的术语“多环烷基”是指具有至少两个以桥头碳稠合或不以桥头碳稠合的环的饱和脂肪族环系统基团。多环烷基的实例包括(但不限于)双环[4.4.0]癸基、双环[2.2.1]庚基、金刚烷基(adamantyl)、降冰片基(norbornyl)等。

本文使用的术语“多环烯基”是指具有至少两个以桥头碳稠合或不以桥头碳稠合的环并且其中至少一个环具有碳碳双键的脂肪族环系统基团。多环烯基的实例包括(但不限于)降冰片烯基(norbornylenyl)、1,1'-双环戊烯基等。

本文使用的术语“多环烃”是指所有环成员都为碳原子的环系统基团。多环烃可为芳香族或可含有小于最大数量的非累积双键。多环烃的实例包括(但不限于)萘基、二氢萘基、茚基、芴基等。

本文使用的术语“杂环”或“杂环基”是指具有至少一个非芳香族环并且其中一个或多个环原子不为碳(即为杂原子)的环状环系统基团。单环“杂环”或“杂环基”部分是非芳香

族。双环”杂环”或”杂环基”部分包括一个非芳香族环，其中至少一个杂原子存在于所述非芳香族环中。杂环基的实例包括(但不限于)吗啉基、四氢呋喃基、二氧戊环基、吡咯烷基、噁唑基、吡喃基、吡咯基、异吲哚啉等。

本文使用的术语“杂芳基”是指一个或多个环原子不为碳(即为杂原子)的具有一个环或多个稠合环的芳香族环系统基团。在稠环系统中，一个或多个杂原子可能只存在于一个环中。杂芳基的实例包括(但不限于)苯并噁唑基、苯并噁唑基、喹啉基、喹啉基、异喹啉基、喹啉基、吡啶基、吡咯基、噁唑基、吲哚基等。

本文使用的术语“杂原子”是指例如氧、硫和氮。

本文使用的术语“芳烷基”是指一个或多个芳基附接至烷基。芳烷基的实例包括(但不限于)苯甲基、苯乙基、苯丙基、苯丁基等。

本文使用的术语“环烷基烷基”是指一个或多个环烷基附接至烷基。环烷基烷基的实例包括(但不限于)环己基甲基、环己基乙基、环戊基甲基、环戊基乙基等。

本文使用的术语“杂芳烷基”是指一个或多个杂芳基附接至烷基。杂芳烷基的实例包括(但不限于)吡啶基甲基、呋喃基甲基、噻吩基乙基等。

本文使用的术语“杂环烷基”是指一个或多个杂环基附接至烷基。杂环烷基的实例包括(但不限于)吗啉基甲基、吗啉基乙基、吗啉基丙基、四氢呋喃基甲基、吡咯烷基丙基等。

本文使用的术语“芳氧基”是指通过--O--键联与母体分子共价键结的芳基。

本文使用的术语“烷硫基”是指通过--S--键联与母体分子共价键结的直链或支链烷基。烷氧基的实例包括(但不限于)甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、丁氧基、正丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基等。

本文使用的术语“芳硫基”是指通过--S--键联与母体分子共价键结的芳基。

本文使用的术语“烷基氨基”是指连接有一个或多个烷基的氨基。因此，单烷基氨基是指连接有一个烷基的氨基，而二烷基氨基是指连接有两个烷基的氨基。

本文使用的术语“氰基氨基”是指连接有腈基的氨基。

本文使用的术语“氨甲酰基”是指 RNHCOO-- 。

本文使用的术语“酮基”和”羰基”是指 C=O 。

本文使用的术语“羧基”是指 -COOH 。

本文使用的术语“氨磺酰基”是指 $\text{-SO}_2\text{NH}_2$ 。

本文使用的术语“磺酰基”是指 -SO_2- 。

本文使用的术语“亚磺酰基”是指 -SO- 。

本文使用的术语“硫羰基”是指 C=S。

本文使用的术语“硫羧基”是指 CSOH。

如本文所使用，基团表示具有单个未配对电子的物质，以致含有所述基团的物质可与另一物质共价键结。因此，在本文中，基团不必为游离基团。相反，基团表示一个较大分子的特定部分。术语“基团”可与术语“基团(group)”互换使用。

如本文所使用，经取代基团是由未经取代的母体结构得到，其中一个或多个氢原子已交换为另一原子或基团。当经取代时，取代基为一个或多个个别且独立地选自以下基团的基团：C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烯基、C₁-C₆ 炔基、C₃-C₆ 环烷基、C₃-C₆ 杂环烷基(例如四氢呋喃基)、芳基、杂芳基、卤基(例如氯基、溴基、碘基和氟基)、氰基、羟基、C₁-C₆ 烷氧基、芳氧基、硫氢基(巯基)、C₁-C₆ 烷硫基、芳硫基、单-和二-(C₁-C₆)烷基氨基、季铵盐、氨基(C₁-C₆)烷氧基、羟基(C₁-C₆)烷基氨基、氨基(C₁-C₆)烷硫基、氰基氨基、硝基、氨甲酰基、酮基(氧代基)、羰基、羧基、羟乙酰基、甘氨酸基、胍基、脒基、氨磺酰基、磺酰基、亚磺酰基、硫羰基、硫羧基和其组合。所属领域技术人员已知可形成上述取代基的保护性衍生物的保护基，并且可见于例如格林斯(Greene)和伍兹(Wuts), 有机合成中的保护基(*Protective Groups in Organic Synthesis*); 约翰威立出版公司(John Wiley and Sons): 纽约(New York), 1999 等参考文献中。在将取代基描述为“任选取代”之处，所述取代基可经上述取代基取代。

如本文所用，“氢键”是指负电性原子(例如氧、氮、硫或卤素)与共价连接至另一负电性原子(例如氧、氮、硫或卤素)的氢原子之间的吸引力。例如，参见斯特赖尔(Stryer)等人，“生物化学(Biochemistry)”，第 5 版 2002，纽约弗里曼公司(Freeman & Co. N.Y)。通常，氢键是在一个氢原子与另一原子的两个未共享电子之间。当一个氢原子与未共价结合至这一氢的负电性原子相距约 2.5 Å 至约 3.8 Å 且由三个原子(与氢共价结合的负电性原子、氢和未与负电性原子共价结合的负电性原子)形成的角从 180 度偏离约 45 度或更少时，氢与未共价结合至这一氢的负电性原子之间可存在氢键。氢原子与未共价结合的负电性原子之间的距离在本文中可称为“氢键长度”，且由三个原子(与氢共价结合的负电性原子、氢和未与负电性原子共价结合的负电性原子)形成的角在本文中可称为“氢键角”。在一些情形中，当氢键长度较短时，形成较强氢键；因此一些情形中，氢键长度可在约 2.7 Å 至约 3.6 Å，或在约 2.9 Å 至约 3.4 Å 的范围内。在一些情形中，当氢键角接近线性时，形成较强氢键；因此一些情形中，氢键角可从 180 度偏离约 25 度或更少，或约 10 度或更少。

如本文所用,NS3蛋白酶S1'口袋部分是指与某氨基酸相互作用的NS3蛋白酶部分(例如,与氨基酸S在多肽底物DLEVVT-STWVLV中相互作用的NS3蛋白酶部分),所述氨基酸将一个残基安置于由NS3蛋白酶裂解的底物多肽的裂解位点的C-末端。示范性部分包括(但不限于)氨基酸Lys136、Gly137、Ser139、His57、Gly58、Gln41、Ser42和Phe43的肽主链或侧链的原子,参见姚(Yao)等人,结构(Structure)1999,7,1353。

如本文所用,NS3蛋白酶S2口袋部分是指与某氨基酸相互作用的NS3蛋白酶部分(例如,与氨基酸V在多肽底物DLEVVT-STWVLV中相互作用的NS3蛋白酶部分),所述氨基酸将两个残基安置于由NS3蛋白酶裂解的底物多肽的裂解位点的N-末端。示范性部分包括(但不限于)氨基酸His57、Arg155、Val78、Asp79、Gln80和Asp81的肽主链或侧链的原子,参见姚(Yao)等人,结构(Structure)1999,7,1353。

所述化合物中可存在不对称碳原子。所有所述异构体(包括非对映异构体和对映异构体)以及其混合物都打算包括在所述化合物的范围内。在某些情况下,化合物可以互变异构形式存在。所有互变异构形式都打算包括在所述范围内。同样,当化合物含有烯基或亚烯基时,有可能存在化合物的顺式和反式异构形式。涵盖顺式和反式异构体以及顺式与反式异构体的混合物。因此,除非本文另作明确规定,否则本文中提及的化合物包括所有上述异构形式。

多种形式都包括在实施例,包括多晶型物、溶剂化物、水合物、构象体(conformer)、盐和前药衍生物。多晶型物是化学式相同、但结构不同的组合物。溶剂化物是由溶剂化(溶剂分子与溶质分子或离子相结合)形成的组合物。水合物是通过并入水而形成的化合物。构象体是为构象异构体的结构。构象异构是分子具有相同结构式但关于旋转键的原子构象不同(构象体)的现象。化合物的盐可利用所属领域技术人员已知的方法制备。举例来说,可通过使适当碱或酸与化学计量当量的化合物反应来制备化合物的盐。前药为在展现其药理学作用之前经历生物转化(化学变换)的化合物。举例来说,可由此将前药视作含有专用保护基的药物,所述专用保护基以临时方式使用以改变或消除母体分子中不合需要的特性。因此,除非本文另作清楚规定,否则本文中提及的化合物包括所有上述形式。

当提供一个值范围时,应了解介于所述范围的上限与下限之间的每一居中值(除非上下文另外明确规定,否则精确到下限单位的十分之一)和所述范围内的任何其它所述值或居中值都涵盖在实施例内。这些较小范围的上限和下限可独立地包括在所述较小范围中,且也涵盖于本发明内,这要看规定范围中任何被特别排除的界限。当规定范围包括其中一个界限或两个界限都包括时,排除所包括的任一界限或两个界限的范围也包括在实施

例中。

除非另作定义，否则本文使用的所有科技术语都具有与实施例所属领域技术人员通常所了解相同的含义。尽管也可将与本文所述的方法和材料类似或相同的任何方法和材料用于实施例的实践或测试中，但现仅对优选方法和材料进行描述。本文所提及的所有公开案都是以引用的方式并入本文中，以揭示和描述与所引用的公开案相关的方法和/或材料。

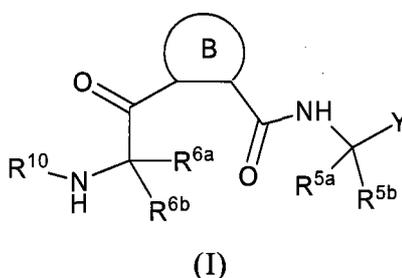
必须注意，除非本文另作清楚规定，否则如本文和随附权利要求书中所使用，单数形式“一”和“所述”包括多个参考物。因此，例如提及“一方法”包括多种所述方法，并且提及“一剂量”包括提及一个或多个所属领域技术人员已知的剂量和其等效量等。

本发明实施例提供式 I 化合物，以及包含任一式 I 化合物的医药组合物和调配物。如下文所论述，本发明化合物可用于治疗 HCV 感染和其它病症。

本发明实施例提供式 II 化合物，以及包含任何式 II 化合物的医药组合物和调配物。如下文所述，本发明化合物适用于治疗 HCV 感染和其它病症。

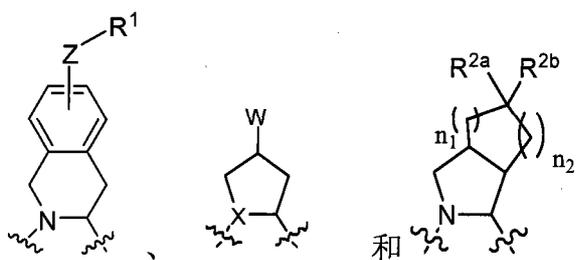
组合物

本发明实施例提供通式 I 化合物：



其中：

B 是选自由以下组成的群组的环：



Z 是键、O、CH₂、NH 或 S；

X 是 N 或 CH;

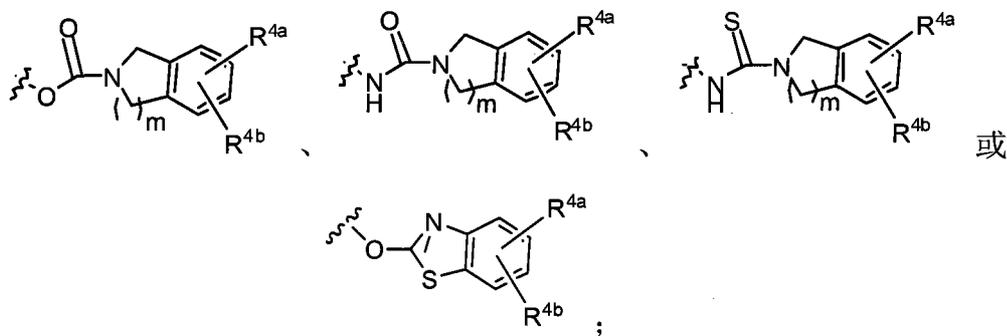
n_1 是 0、1、2 或 3;

n_2 是 0 或 1;

R^1 是 H、 C_{1-7} 烷基、 C_{3-7} 环烷基、任选经取代的杂环、任选经取代的苯基、苯甲氧基或经取代的苯甲基;

R^{2a} 和 R^{2b} 独立地是氢或任选经取代的 C_{1-3} 烷基;

W 是氢、 OR^{3a} 、 $O(CO)R^{3a}$ 、 $O(CO)NR^{3a}R^{3b}$ 、 SR^{3a} 、 NHR^{3a} 、 $NH(CO)R^{3a}$ 、 $CHR^{3a}R^{3b}$ 、 $NH(CS)R^{3a}$ 、任选经取代的杂环、任选经取代的苯基、



R^{3a} 和 R^{3b} 独立地是氢、 C_{1-8} 烷基、 C_{3-7} 环烷基、 C_{4-10} 环烷基-烷基、任选经取代的 C_{6-10} 芳基、任选经取代的 C_{5-10} 杂芳基、任选经取代的 C_{7-10} 芳烷基、任选经取代的 C_{6-12} 杂芳基-烷基、任选经取代的杂环、任选经取代的苯基、任选经取代的双环系统或任选经取代的苯甲基;

m 是 1 或 2;

R^{4a} 和 R^{4b} 独立地是氢、卤素、羟基、硝基、氨基、氰基、 $C(O)R^7$ 、 $C(O)OR^7$ 、 $C(O)NR^7R^8$ 、 $C(S)NR^7R^8$ 、 $S(O)R^7$ 、 $S(O)_2R^7$ 、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷氧基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷硫基或任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷基氨基;

R^7 和 R^8 独立地是任选经取代的烷基、任选经取代的芳基或任选经取代的杂芳基;

R^{5a} 和 R^{5b} 独立地是氢、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 环烷基-烷基、 C_{2-8} 烯基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{3-7} 环烷基、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、任选经取代的 C_{7-10} 芳烷基或任选经取代的 C_{6-12} 杂芳基-烷基; 或者 R^{5a} 和 R^{5b} 一起形成任选经 1-3 个选自由以下组成的群组的取代基取代的 3 到 6 元碳环或杂环系统: C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基和任选经取代的 C_{3-7} 环烷基;

R^{6a} 和 R^{6b} 独立地是氢、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷基、 C_{2-8} 烯基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{3-7} 环烷基、 C_{4-7} 环烷基-烷基、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、任选经取代的 C_{7-10} 芳烷基或任选经取代的 C_{6-12} 杂芳基-烷基；或者 R^{6a} 和 R^{6b} 一起形成任选经取代的 3 到 6 元碳环或杂环系统；

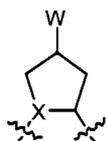
R^{8a} 和 R^{8b} 独立地是氢、任选经取代的烷基、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基或任选经取代的 C_{3-8} 杂环；

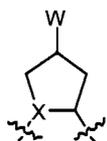
Y 选自由以下组成的群组： $-C(O)NHS(O)_2R^{9a}$ 、 $-C(O)NHS(O)_2NR^{9a}R^{9b}$ 、 $-C(O)NHS(O)R^{9a}$ 、 $-C(O)NHS(O)NR^{9a}R^{9b}$ 、 $-C(O)C(O)OH$ 、 $-C(O)NHR^{9a}$ 、 $-C(O)R^{9a}$ 、 $-C(O)OR^{9a}$ 、 $-C(O)NHC(O)R^{9a}$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)C(O)NR^{9a}R^{9b}$ 和 $-C(O)NHOR^{9a}$ ；且

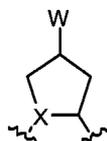
R^{9a} 和 R^{9b} 独立地是氢、任选经取代的 C_{1-6} 烷基、任选经取代的 C_{3-7} 环烷基、任选经取代的 C_{4-9} 环烷基-烷基、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、 C_{7-9} 芳烷基或任选经取代的 C_{6-12} 杂芳基-烷基，或 $NR^{9a}R^{9b}$ 形成经取代或未经取代的 3 到 6 元杂环；

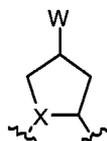
R^{10} 是任选经 1-3 个选自由以下组成的群组的取代基取代的芳基或杂芳基：卤素、羟基、硝基、氨基、氰基、 $C(O)R^{8a}$ 、 $C(O)OR^{8a}$ 、 $C(O)NR^{8a}R^{8b}$ 、 $C(S)NR^{8a}R^{8b}$ 、 OR^{8a} 、 $S(O)_2R^{8a}$ 、 C_{3-8} 杂环、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷氧基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷硫基和任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷基氨基，和任选经至多 5 个氟或氰基取代的 C_{1-8} 烷基；

限制条件是：



如果 B 是 ，X 是 N 且 W 是 OR^{3a} ，则 R^{3a} 不是任选经取代的喹啉基、任选经取代的喹啉基或任选经取代的萘基，或萘基甲基；且

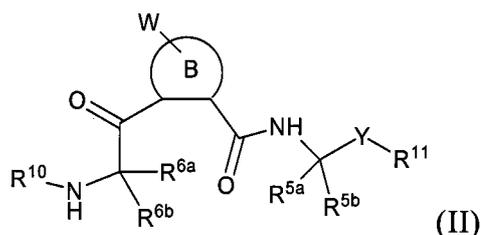


如果 B 是 ，X 是 N，W 是 H，且 Y 是 $-C(O)OH$ ，则 R^7 不是任选经取代的吡啶基或任选经取代的 1,3,5-三嗪基。

本发明实施例提供抑制 NS3/NS4 蛋白酶活性的方法，其包含使 NS3/NS4 蛋白酶与本文所揭示的化合物接触。

本发明实施例提供通过调节 NS3/NS4 蛋白酶治疗肝炎的方法，其包含使 NS3/NS4 蛋白酶与本文所揭示的化合物接触。

实施例提供通式 II 化合物：



或其医药学上可接受的盐、前药或酯，其中：

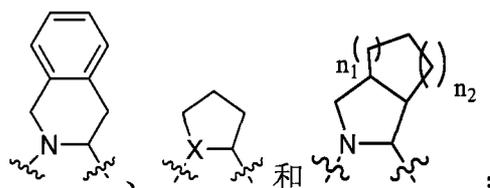
R^{5a} 和 R^{5b} 独立地是氢、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 环烷基-烷基、 C_{2-8} 烯基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{3-7} 环烷基、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、任选经取代的 C_{7-10} 芳烷基或任选经取代的 C_{6-12} 杂芳基-烷基；或者 R^{5a} 和 R^{5b} 一起形成任选经 1-3 个选自由以下组成的群组的取代基取代的 3 到 6 元碳环或杂环系统： C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基和任选经取代的 C_{3-7} 环烷基；

R^{6a} 和 R^{6b} 独立地是氢、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷基、 C_{2-8} 烯基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{3-7} 环烷基、 C_{4-7} 环烷基-烷基、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、任选经取代的 C_{7-10} 芳烷基或任选经取代的 C_{6-12} 杂芳基-烷基；或者 R^{6a} 和 R^{6b} 一起形成任选经取代的 3 到 6 元碳环或杂环系统；

R^{10} 是任选经 1-3 个选自由以下组成的群组的取代基取代的芳基或杂芳基：卤素、羟基、硝基、氨基、氰基、 $C(O)R^{8a}$ 、 $C(O)OR^{8a}$ 、 $C(O)NR^{8a}R^{8b}$ 、 $C(S)NR^{8a}R^{8b}$ 、 OR^{8a} 、 $S(O)_2R^{8a}$ 、 C_{3-8} 杂环、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷氧基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷硫基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷基氨基和任选经至多 5 个氟或氰基取代的 C_{1-8} 烷基；

R^{8a} 和 R^{8b} 独立地是氢、任选经取代的烷基、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基或任选经取代的 C_{3-8} 杂环；

B 是选自由以下组成的群组的环系统：



n_1 是 0、1、2 或 3；

n_2 是 0 或 1；

X 是 N 或 CH；

Y 是经构造与 NS3 蛋白酶 His57 咪唑部分形成氢键和与 NS3 蛋白酶 Gly137 氮原子形成氢键的基团；

R¹¹ 是经构造与至少一个选自以下组成的群组的 NS3 蛋白酶 S1'口袋部分形成非极性相互作用的基团：Lys136、Gly137、Ser138、His57、Gly58、Gln41、Gly42 和 Phe43；且

W 是经构造与至少一个选自以下组成的群组的 NS3 蛋白酶 S2 口袋部分形成非极性相互作用的基团：His57、Arg155、Val78、Asp79 和 Gln80。

本文还提供含有经构造以与 NS3 蛋白酶的特定区域、特定氨基酸残基或特定原子相互作用的部分的化合物。本文提供的一些化合物含有一个或多个经构造以与 NS3 蛋白酶在特定区域、氨基酸残基或原子处形成氢键的部分。本文提供的一些化合物含有一个或多个经构造以与 NS3 蛋白酶在特定区域、氨基酸残基或原子处形成非极性相互作用的部分。举例来说，通式 II 化合物可含有一个或多个与位于 NS3 蛋白酶的底物结合口袋中的肽主链原子或侧链部分形成氢键的部分。在另一实例中，通式 II 化合物可含有一个或多个与位于 NS3 蛋白酶的底物结合口袋中的肽主链或侧链原子形成非极性相互作用的部分。

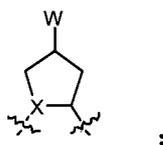
如通式 II 化合物中所提供，Y 可经构造以与位于 NS3 蛋白酶的底物结合口袋中的肽主链原子或侧链部分(包括(但不限于)NS3 蛋白酶 His57 咪唑部分和 NS3 蛋白酶 Gly137 氮原子)形成氢键。在一些情形中，Y 可经构造以与 NS3 蛋白酶 His57 咪唑部分和 NS3 蛋白酶 Gly137 氮原子均形成氢键。

通式 II 化合物的 R¹¹ 基团可经构造以与位于 NS3 蛋白酶的底物结合口袋中肽主链或侧链原子(包括(但不限于)形成 NS3 蛋白酶 S1'口袋的氨基酸残基)形成非极性相互作用。举例来说，R¹¹ 基团可与至少一个选自 Lys136、Gly137、Ser139、His57、Gly58、Gln41、Ser42 和 Phe43 的氨基酸形成非极性相互作用。

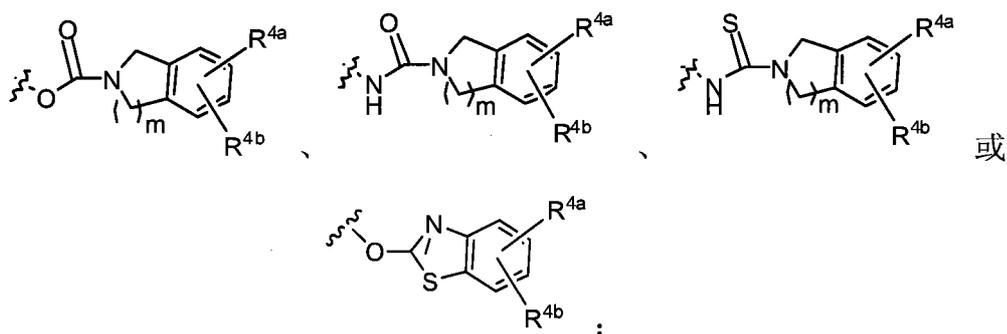
通式 II 化合物的 W 基团可经构造以与位于 NS3 蛋白酶的底物结合口袋中肽主链或侧链原子(包括(但不限于)形成 NS3 蛋白酶 S2 口袋的氨基酸残基)形成非极性相互作用。举例来说，W 基团可与至少一个选自 His57、Arg155、Val78、Asp79、Gln80 和 Asp81 的氨基酸形成非极性相互作用。W 基团还可经构造以与位于 NS3 蛋白酶的底物结合口袋中的肽主链或侧链原子(包括(但不限于)形成 NS3 蛋白酶 S2 口袋的氨基酸残基)形成氢键。举例来说，W 基团可与至少一个选自 His57、Arg155、Val78、Asp79、Gln80 和 Asp81 的氨基酸形成氢键。在一些情形中，W 可与位于 NS3 蛋白酶的底物结合口袋中的肽主链

或侧链部分或原子(例如选自 His57、Arg155、Val78、Asp79、Gln80 和 Asp81 的氨基酸)形成非极性相互作用和氢键两者。所述氢键和所述非极性相互作用可与 NS3 蛋白酶 S2 口袋中的同一氨基酸残基或不同氨基酸残基发生。在一些实施例中, W 可选自由未经取代的芳基、经取代的芳基、未经取代的杂芳基、经取代的杂芳基、未经取代的杂环和经取代的杂环组成的群组。

在式(II)化合物的一些实施例中, B 与 W 一起形成具有以下结构的环:



其中 W 是



或

R^{4a} 和 R^{4b} 独立地是氢、卤素、羟基、硝基、氨基、氰基、 $C(O)R^7$ 、 $C(O)OR^7$ 、 $C(O)NR^7R^8$ 、 $C(S)NR^7R^8$ 、 $S(O)R^7$ 、 $S(O)_2R^7$ 、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷氧基、任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷硫基或任选经至多 5 个氟取代的 C_{1-8} 烷基氨基; 且

R^7 和 R^8 独立地是任选经取代的烷基、任选经取代的芳基或任选经取代的杂芳基。

在一些实施例中, 式 II 化合物的若干原子可具有特定手性。

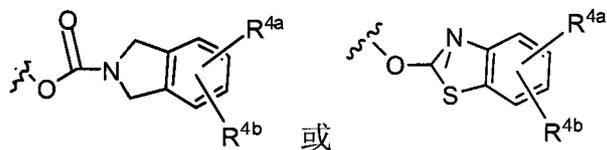
示范性式 I 化合物描述于表 1 中和其下的化合物。

优选实施例提供治疗个体丙型肝炎病毒感染的方法, 所述方法包含向个体投与有效量的包含优选化合物的组合物。

优选实施例提供治疗个体肝纤维化的方法, 所述方法包含向个体投与有效量的包含优选化合物的组合物。

优选实施例提供增强感染丙型肝炎病毒的个体肝功能的方法，所述方法包含向个体投与有效量的包含优选化合物的组合物。

式 II 化合物的优选实施例提供如下化合物：其中 W 具有结构



，其经定位与至少一个选自 His57、Arg155、Val78、Asp79、Gln80 和 Asp81 组成的群组的 NS3 蛋白酶 S2 口袋部分形成氢键相互作用。

本发明实施例另外提供包括医药组合物在内的组合物，其包含通式 I 化合物，包括其盐、酯或其它衍生物。本发明实施例另外提供包括医药组合物在内的组合物，其包含通式 II 化合物，包括其盐、酯或其它衍生物。本发明医药组合物包含本发明化合物；和医药学上可接受的赋形剂。所属领域中已知多种医药学上可接受的赋形剂且无需在本文中详述。多个出版物中已详尽描述医药学上可接受的赋形剂，包括(例如) A.杰纳罗(A. Gennaro) (2000) “雷明顿：药学科学与实践(Remington: The Science and Practice of Pharmacy)”，第 20 版，利平科特□威廉斯与威尔金斯出版社(Lippincott, Williams, & Wilkins)；医药剂型与药物传递系统(Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems) (1999), H.C.安塞尔(H.C. Ansel)等人编，第 7 版，利平科特□威廉斯与威尔金斯出版社；和医药赋形剂手册(Handbook of Pharmaceutical Excipients)(2000) A.H.肯博(A.H. Kibbe)等人编，第 3 版，美国医药协会(Amer. Pharmaceutical Assoc.)。

医药学上可接受的赋形剂(例如媒剂、佐剂、载剂或稀释剂)易于为公众所用。而且，医药学上可接受的辅助物质(例如 pH 值调节剂和缓冲剂、张力调节剂、稳定剂、润湿剂等)也易于为公众所用。

在许多实施例中，本发明化合物抑制丙型肝炎病毒(HCV)NS3 蛋白酶的酶活性。使用任何已知的方法可容易确定本发明化合物是否抑制 HCV NS3 蛋白酶。典型方法涉及在所述药剂存在下，确定 HCV 多聚蛋白或包含 NS3 识别位点的其它多肽是否被 NS3 裂解。在许多实施例中，与不存在本发明化合物时 NS3 的酶活性相比，所述化合物将 NS3 的酶活性抑制至少约 10%、至少约 15%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 40%、至少约 50%、至少约 60%、至少约 70%、至少约 80%或至少约 90%或更高。

在许多实施例中，本发明化合物以小于约 50 μM 的 IC_{50} 抑制 HCV NS3 蛋白酶的酶活性，例如，本发明化合物以小于约 40 μM 、小于约 25 μM 、小于约 10 μM 、小于约 1 μM 、小于约 100 nM、小于约 80 nM、小于约 60 nM、小于约 50 nM、小于约 25 nM、小于约

10 nM 或小于约 1 nM 或更低的 IC₅₀ 抑制 HCV NS3 蛋白酶。

在许多实施例中，本发明化合物抑制丙型肝炎病毒(HCV)NS3 解旋酶的酶活性。使用任何已知的方法可容易确定本发明化合物是否抑制 HCV NS3 解旋酶。在许多实施例中，与不存在本发明化合物时 NS3 的酶活性相比，所述化合物将 NS3 的酶活性抑制至少约 10%、至少约 15%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 40%、至少约 50%、至少约 60%、至少约 70%、至少约 80%或至少约 90%或更高。

在许多实施例中，本发明化合物抑制 HCV 病毒复制。举例来说，与不存在本发明化合物时的 HCV 病毒复制相比，所述化合物将 HCV 病毒复制抑制至少约 10%、至少约 15%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 40%、至少约 50%、至少约 60%、至少约 70%、至少约 80%或至少约 90%或更高。可使用所属领域已知的方法(包括体外(in vitro)病毒复制检定)确定本发明化合物是否抑制 HCV 病毒复制。

治疗肝炎病毒感染

本文所述的方法和组合物通常可用于治疗 HCV 感染。

可通过病毒载量的减少、血清转化(在患者血清中无法检测到病毒)时间的减少、对疗法的持续病毒应答的比率的增加、临床结果中发病率或死亡率的降低或者疾病应答的其它指标来确定本发明方法是否对治疗 HCV 感染有效。

一般来说，式 I 或式 II 化合物和任选使用的一种或多种额外抗病毒剂的有效量是有效减少病毒载量或实现对疗法的持续病毒应答的量。

可通过测量病毒载量或通过测量与 HCV 感染相关的参数(包括但不限于)肝纤维化、血清转氨酶含量升高和肝的坏死性炎症活动)来确定本发明方法是否对治疗 HCV 感染有效。将于下文中详细论述肝纤维化的指标。

所述方法涉及投与有效量的式 I 或式 II 化合物，且任选与有效量的一种或多种额外抗病毒剂组合。在一些实施例中，式 I 或式 II 化合物和任选使用的一种或多种额外抗病毒剂的有效量是使病毒滴度有效降低到不可检测的水平(例如降低到每毫升血清约 1000 到约 5000 个基因组拷贝、约 500 到约 1000 个基因组拷贝或约 100 到约 500 个基因组拷贝)的量。在一些实施例中，式 I 或式 II 化合物和任选使用的一种或多种额外抗病毒剂的有效量是使病毒载量有效降低到每毫升血清少于 100 个基因组拷贝的量。

在一些实施例中，式 I 或式 II 化合物和任选使用的一种或多种额外抗病毒剂的有效量是有效实现个体血清中 1.5-log、2-log、2.5-log、3-log、3.5-log、4-log、4.5-log 或 5-log 的病毒滴度降低的量。

在许多实施例中，式 I 或式 II 化合物和任选使用的一种或多种额外抗病毒剂的有效量是有效实现持续病毒应答(例如在疗法停止后至少约 1 个月、至少约 2 个月、至少约 3 个月、至少约 4 个月、至少约 5 个月或至少约 6 个月的时间内在患者的血清中未发现可检测的 HCV RNA 或发现实质上不可检测的 HCV RNA，例如每毫升血清小于约 500、小于约 400、小于约 200 或小于约 100 个基因组拷贝)的量。

如上文所述，可通过测量与 HCV 感染相关的参数(例如肝纤维化)来确定本发明方法是否对治疗 HCV 感染有效。将于下文中详细论述确定肝纤维化的程度的方法。在一些实施例中，肝纤维化的血清标志物含量指示肝纤维化的程度。

作为一个非限制性实例，使用标准检定来测量血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)的含量。通常，认为小于约 45 个国际单位的 ALT 含量是正常的。在一些实施例中，式 I 或式 II 化合物和任选使用的一种或多种额外抗病毒剂的有效量是将 ALT 含量有效降低到每毫升血清小于约 45 个国际单位(IU)的量。

式 I 或式 II 化合物和任选使用的一种或多种额外抗病毒剂的治疗有效量是与未经治疗的个体或经安慰剂治疗的个体的标志物含量相比，使肝纤维化的标志物血清含量有效降低至少约 10%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%、至少约 50%、至少约 55%、至少约 60%、至少约 65%、至少约 70%、至少约 75%或至少约 80%或更高的量。测量血清标志物的方法包括使用对指定血清标志物具特异性的抗体进行的基于免疫学的方法，例如酶联免疫吸附检定(ELISA)、放射免疫检定等。

在许多实施例中，式 I 或式 II 化合物和额外抗病毒剂的有效量为协同量。如本文所使用，式 I 或式 II 化合物与额外抗病毒剂的“协同组合”或“协同量”是一种组合剂量，其对于治疗性或预防性治疗 HCV 感染的有效性高于可由以下两项的简单相加性组合而预计或预期的治疗结果的增量性改进：(i)当投与与单药疗法相同的剂量时式 I 或式 II 化合物的治疗或预防益处，和(ii)当投与与单药疗法相同的剂量时额外抗病毒剂的治疗或预防益处。

在一些实施例中，所选量的式 I 或式 II 化合物与所选量的额外抗病毒剂当以组合疗法用于疾病时有效，但所选量的式 I 或式 II 化合物和/或所选量的额外抗病毒剂当以单药疗法用于疾病时无效。因此，实施例涵盖(1)所选量的额外抗病毒剂当与所选量的式 I 或式 II 化合物以组合疗法用于疾病时增强所述化合物的治疗益处的方案，其中所选量的额外抗病毒剂当以单药疗法用于疾病时不提供治疗益处；(2)所选量的式 I 或式 II 化合物当

与所选量的额外抗病毒剂以组合疗法用于疾病时增强所述抗病毒剂的治疗益处的方案，其中所选量的式 I 或式 II 化合物当以单药疗法用于疾病时不提供治疗益处；和(3)所选量的式 I 或式 II 化合物与所选量的额外抗病毒剂当以组合疗法用于疾病时提供治疗益处的方案，其中所选量的式 I 或式 II 化合物与所选量的额外抗病毒剂中每一者当分别以单药疗法用于疾病时不提供治疗益处。如本文所述，式 I 或式 II 化合物和额外抗病毒剂的“协同有效量”和其语法等效的词应理解为包括上述(1)-(3)中任一者所涵盖的任何方案。

纤维化

实施例提供治疗肝纤维化(包括由 HCV 感染引起或与 HCV 感染相关的肝纤维化形式)的方法，其一般涉及投与治疗量的式 I 或式 II 化合物和任选使用的一种或多种额外抗病毒剂。在存在和不存在一种或多种额外抗病毒剂的情况下，式 I 或式 II 化合物的有效量以及给药方案将如下文所论述。

通过多种用于测量肝纤维化和肝功能的公认技术中的任一种来确定用式 I 或式 II 化合物和任选使用的一种或多种额外抗病毒剂治疗是否能有效减少肝纤维化。通过分析肝活检样品来测定肝纤维化的减少。肝活检的分析包含评定两个主要组成部分：坏死性炎症，由作为严重性和正在进行的疾病活动的量度的“等级”评定；和纤维化和实质或血管重塑的病变，由反映长期疾病进展的“时期”评定。例如参看布伦特(Brunt) (2000) 肝脏病学杂志 (Hepatology) 31:241-246；和麦特韦尔 (METAVIR), (1994) 肝脏病学杂志 (Hepatology) 20:15-20。根据肝活检的分析赋予得分。存在多种标准化评分系统，其提供对于纤维化程度和严重性的定量评定。这些系统包括麦特韦尔、科诺德(Knodell)、斯凯悦(Scheuer)、路德维格(Ludwig)和伊萨克(Ishak)评分系统。

麦特韦尔评分系统是建立在分析肝活检的各种特征的基础之上，包括纤维化(门脉纤维化、小叶中央纤维化和肝硬化)、坏死(碎屑样坏死和小叶坏死、嗜酸性收缩(acidophilic retraction)和气球样变性 (ballooning degeneration))、炎症(汇管区炎症(portal tract inflammation)、门脉淋巴样聚集(portal lymphoid aggregate)和门脉炎症分布)、胆管改变和科诺德指数(门脉周坏死(periportal necrosis)、小叶坏死、门脉炎症、纤维化和整体疾病活动的评分)。麦特韦尔系统中各时期的定义如下：得分：0，无纤维化；得分：1，汇管区星状扩大但不形成隔膜；得分：2，汇管区扩大并形成极少隔膜；得分：3，多个隔膜但未肝硬化；和得分：4，肝硬化。

科诺德评分系统(也称为肝炎活动指数)基于组织学特征得分将试样分为四类：I.门脉周和/或桥接坏死；II.小叶内变性和局灶性坏死；III.门脉炎症；和 IV.纤维化。在科诺德

分期系统中，得分如下：得分：0，无纤维化；得分：1，轻度纤维化(纤维性门脉扩张)；得分：2，中度纤维化；得分：3，重度纤维化(桥接纤维化)；和得分：4，肝硬化。得分越高，则肝组织损伤越严重。科诺德 (1981) 肝脏病学杂志 1:431。

在斯凯悦评分系统中，得分如下：得分：0，无纤维化；得分：1，扩大的纤维化汇管区；得分：2，门脉周或门脉-门脉隔膜，但结构完整；得分：3，伴随结构扭曲的纤维化，但无明显肝硬化；得分：4，可能或确定的肝硬化。斯凯悦 (1991) 肝脏病学杂志 13:372。

伊萨克评分系统描述于伊萨克 (1995)肝脏病学杂志 22:696-699 中。0 期，无纤维化；1 期，一些门脉区纤维性扩张，出现或未出现短的纤维性隔膜；2 期，大部分门脉区纤维性扩张，出现或未出现短的纤维性隔膜；3 期，大部分门脉区纤维性扩张，伴随偶发的门脉到门脉(P-P)桥接；4 期，门脉区纤维性扩张，伴随明显的桥接(P-P)以及门脉-中心(P-C)桥接；5 期，明显的桥接(P-P 和/或 P-C)，伴随偶发的结节(不完全肝硬化)；6 期，可能或确定的肝硬化。

可通过使用乔德-普格(Child-Pugh)评分系统来测量和评定抗纤维化疗法的益处，所述评分系统包含建立在血清胆红素含量、血清白蛋白含量、凝血酶原时间异常、腹水的存在和严重程度以及脑病的存在和严重程度的基础上的多组分点系统(multicomponent point system)。根据这些参数异常的存在和严重程度，可将患者归为严重程度递增的三类临床疾病中的一类：A、B 或 C。

在一些实施例中，式 I 或式 II 化合物和任选使用的一种或多种额外抗病毒剂的治疗有效量是实现基于疗法前和疗法后肝活检的纤维化阶段的一个单位或多个单位改变的量。在特定实施例中，式 I 或式 II 化合物和任选使用的一种或多种额外抗病毒剂的治疗有效量在麦特韦尔、科诺德、斯凯悦、路德维格和伊萨克评分系统中使肝纤维化降低至少一个单位。

也可使用肝功能的二级或间接指数来评估用式 I 或式 II 化合物治疗的功效。还可以测量基于肝纤维化的胶原和/或血清标志物的特异性染色的肝纤维化量化程度的计算机辅助式半自动形态评定(morphometric computerized semi-automated assessment)来指示本发明治疗方法的功效。肝功能的二级指数包括(但不限于)血清转氨酶含量、凝血酶原时间、胆红素、血小板计数、门脉压力、白蛋白含量和乔德-普格得分的评定。

式 I 或式 II 化合物和任选使用的一种或多种额外抗病毒剂的有效量是与未经治疗的个体或经安慰剂治疗的个体的肝功能指数相比，使肝功能指数有效增加至少约 10%、至

少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%、至少约 50%、至少约 55%、至少约 60%、至少约 65%、至少约 70%、至少约 75%或至少约 80%或更高的量。所属领域技术人员使用标准检定方法可容易测量所述肝功能指数，所述检定方法中有许多在市面有售并且通常用于临床环境中。

还可测量肝纤维化的血清标志物以指示本发明治疗方法的功效。肝纤维化的血清标志物包括(但不限于)透明质酸盐、III型前胶原 N 末端肽、IV型胶原的 7S 域、I型前胶原 C 末端肽和层粘连蛋白(laminin)。肝纤维化的其它生化标志物包括 α 2-巨球蛋白、结合珠蛋白、 γ 球蛋白、载脂蛋白 A 和 γ 谷氨酰转肽酶。

式 I 或式 II 化合物和任选使用的一种或多种额外抗病毒剂的治疗有效量是与未经治疗的个体或经安慰剂治疗的个体的标志物含量相比，使肝纤维化的标志物血清含量有效降低至少约 10%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%、至少约 50%、至少约 55%、至少约 60%、至少约 65%、至少约 70%、至少约 75%或至少约 80%或更高的量。所属领域技术人员使用标准检定方法可容易测量所述肝纤维化血清标志物，所述检定方法中有许多在市面有售并且通常用于临床环境中。测量血清标志物的方法包括使用对指定血清标志物具特异性的抗体进行的基于免疫学的方法，例如酶联免疫吸附检定(ELISA)、放射免疫检定等。

也可使用肝功能储备的定量测试来评定用干扰素受体激动剂和吡非尼酮(pirfenidone)(或吡非尼酮类似物)治疗的功效。这些测试包括：吲哚菁绿清除率(indocyanine green clearance, ICG)、半乳糖消除能力(galactose elimination capacity, GEC)、氨基比林呼气试验(aminopyrine breath test, ABT)、安替比林清除率(antipyrine clearance)、单乙基甘氨酸二甲苯胺(monoethylglycine-xylylidide, MEG-X)清除率和咖啡因清除率(caffeine clearance)。

如本文所使用，“与肝硬化相关的并发症”是指为失代偿性肝病的后遗症(即在肝纤维化出现后发生并且由肝纤维化出现引起)的病症，并且其包括(但不限于)出现腹水、静脉曲张出血、门脉高压症、黄疸、进行性肝功能不全、脑病、肝细胞癌、需要肝移植的肝衰竭和与肝相关的死亡率。

式 I 或式 II 化合物和任选使用的一种或多种额外抗病毒剂的治疗有效量是与未经治疗的个体或经安慰剂治疗的个体相比，使与肝硬化相关的病症的发病率(例如个体将发展疾病的可能性)有效降低至少约 10%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%、至少约 50%、至少约 55%、至少约 60%、至少约 65%、

至少约 70%、至少约 75%或至少约 80%或更高的量。

所属领域技术人员可容易确定用式 I 或式 II 化合物和任选使用的一种或多种额外抗病毒剂治疗是否能有效降低与肝硬化相关的病症的发病率。

肝纤维化的减少将使肝功能增强。因此，实施例提供增强肝功能的方法，其一般涉及投与治疗有效量的式 I 或式 II 化合物和任选使用的一种或多种额外抗病毒剂。肝功能包括(但不限于)合成例如血清蛋白的蛋白质(例如白蛋白、凝血因子、碱性磷酸酶、氨基转移酶(例如丙氨酸转氨酶、天冬氨酸转氨酶)、5'-核苷酶、 γ -谷氨酰转肽酶等)、合成胆红素、合成胆固醇和合成胆汁酸；肝代谢功能，包括(但不限于)碳水化合物代谢、氨基酸和氮代谢、激素代谢和脂质代谢；外来药物的解毒；血液动力学功能，包括内脏和门脉血液动力学；等。

所属领域技术人员使用公认的肝功能测试可容易确定肝功能是否增强。因此，可通过使用标准免疫学和酶检定测量血清中例如白蛋白、碱性磷酸酶、丙氨酸转氨酶、天冬氨酸转氨酶、胆红素等肝功能标志物的含量来评定这些标志物的合成。可使用标准方法通过门脉楔压(portal wedge pressure)和/或阻力来测量内脏循环和门脉血液动力学。可通过测量血清中的氮含量来测量代谢功能。

通常由肝分泌的血清蛋白是否在正常范围内可通过使用标准免疫学和酶检定测量所述蛋白质的含量来确定。所属领域技术人员已知所述血清蛋白的正常范围。以下为非限制性实例。丙氨酸转氨酶的正常含量为每毫升血清约 45 个国际单位。天冬氨酸转氨酶的正常范围为每升血清约 5 到约 40 个单位。胆红素是使用标准检定测量。正常胆红素含量通常小于约 1.2 mg/dL。血清白蛋白含量是使用标准检定测量。血清白蛋白的正常含量在约 35 到约 55 g/L 的范围内。凝血酶原时间的延长是使用标准检定测量。正常的凝血酶原时间比对照时间长不到约 4 秒。

式 I 或式 II 化合物和任选使用的一种或多种额外抗病毒剂的治疗有效量是使肝功能有效增强至少约 10%、至少约 20%、至少约 30%、至少约 40%、至少约 50%、至少约 60%、至少约 70%、至少约 80%或更高的量。举例来说，式 I 或式 II 化合物和任选使用的一种或多种额外抗病毒剂的治疗有效量是使肝功能血清标志物的较高含量有效降低至少约 10%、至少约 20%、至少约 30%、至少约 40%、至少约 50%、至少约 60%、至少约 70%、至少约 80%或更高或者使肝功能血清标志物的含量降低到正常范围内的量。式 I 或式 II 化合物和任选使用的一种或多种额外抗病毒剂的治疗有效量也为使肝功能血清标志物的较低含量有效增加至少约 10%、至少约 20%、至少约 30%、至少约 40%、至少约 50%、

至少约 60%、至少约 70%、至少约 80%或更高或者使肝功能血清标志物的含量增加到正常范围内的量。

剂量、调配物和投药途径

在本发明方法中，可使用能够产生所需治疗作用的任何常规方式，将活性剂(例如式 I 或式 II 化合物和任选使用的一种或多种额外抗病毒剂)投与宿主。因此，所述药剂可并入多种调配物中以供治疗性投药。更具体地说，可通过与适当的医药学上可接受的载剂或稀释剂组合将实施例的药剂调配成医药组合物，并且可将其调配成固体、半固体、液体或气体形式的制剂，例如片剂、胶囊、散剂、颗粒剂、油膏、溶液、栓剂、注射液、吸入剂和气雾剂。

调配物

可使用众所周知的试剂和方法调配上述活性剂。组合物是以与医药学上可接受的赋形剂的调配物形式提供。所属领域中已知多种医药学上可接受的赋形剂，而无需在本文中详细论述。多种出版物中曾详细描述医药学上可接受的赋形剂，包括例如 A.杰纳罗(A. Gennaro) (2000) “雷明顿：药学科学与实践(Remington: The Science and Practice of Pharmacy)”，第 20 版，利平科特□威廉斯与威尔金斯出版社(Lippincott, Williams, & Wilkins)；医药剂型与药物传递系统(Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems) (1999), H.C.安塞尔(H.C. Ansel)等人编，第 7 版，利平科特□威廉斯与威尔金斯出版社；和医药赋形剂手册(Handbook of Pharmaceutical Excipients)(2000) A.H.肯博(A.H. Kibbe)等人编，第 3 版，美国医药协会(Amer. Pharmaceutical Assoc.)。

医药学上可接受的赋形剂(例如媒剂、佐剂、载剂或稀释剂)易于为公众所用。而且，医药学上可接受的辅助物质(例如 pH 值调节剂和缓冲剂、张力调节剂、稳定剂、润湿剂等)也易于为公众所用。

在一些实施例中，于水性缓冲液中调配药剂。适当的水性缓冲液包括(但不限于)乙酸盐、琥珀酸盐、柠檬酸盐和磷酸盐缓冲液，其浓度在约 5 mM 到约 100 mM 内变化。在一些实施例中，水性缓冲液包括提供等渗溶液的试剂。所述试剂包括(但不限于)氯化钠和糖(例如甘露醇、右旋糖、蔗糖等)。在一些实施例中，水性缓冲液另外包括非离子表面活性剂，例如聚山梨醇酯 20 或 80。调配物可任选另外包括防腐剂。适当的防腐剂包括(但不限于)苯甲醇、苯酚、氯丁醇、苯扎氯铵(benzalkonium chloride)等。在许多情况下，调配物是在约 4℃下储存。还可将调配物冻干，在此情况下，其通常包括冷冻保护剂，例如蔗糖、海藻糖、乳糖、麦芽糖、甘露醇等。冻干的调配物可储存较长的时间，甚至在环

境温度下也如此。

因此，药剂的投与可以各种方式实现，包括经口、口腔、直肠、不经肠、腹膜内、皮内、皮下、肌内、经皮、气管内等投与。在许多实施例中，投药是通过团注进行，例如皮下团注、肌内团注等。

实施例的医药组合物可经口、不经肠或经植入的储器投与。优选经口投药或经注射投药。

使用标准方法和装置(例如针和注射器、皮下注射口传递系统等)实现实施例医药组合物的皮下投与。例如参看美国专利第 3,547,119 号、第 4,755,173 号、第 4,531,937 号、第 4,311,137 号和第 6,017,328 号。皮下注射口与通过所述口对患者投与实施例医药组合物的装置的组合在本文中称为“皮下注射口传递系统”。在许多实施例中，皮下注射是通过用针和注射器进行的团注传递来实现。

在医药剂型中，所述药剂可以其医药学上可接受的盐形式投与，或者还可将其单独使用或与其它医药学活性化合物适当联合以及组合而使用。以下方法和赋形剂仅是示范性的而决不是限制性的。

对于口服制剂，可将所述药剂单独使用或与适当添加剂组合使用以制得片剂、散剂、颗粒剂或胶囊，所述添加剂例如为常规添加剂，例如乳糖、甘露醇、玉米淀粉或马铃薯淀粉；粘合剂，例如结晶纤维素、纤维素衍生物、阿拉伯胶、玉米淀粉或明胶；崩解剂，例如玉米淀粉、马铃薯淀粉或羧甲基纤维素钠；润滑剂，例如滑石粉或硬脂酸镁；和在必要时使用的稀释剂、缓冲剂、润湿剂、防腐剂和调味剂。

可通过在水性或非水性溶剂(例如植物油或其它类似油、合成脂肪酸甘油酯、高级脂肪酸酯或丙二醇酯)中溶解、悬浮或乳化所述药剂来将其调配成供注射用的制剂，并且在必要时，使用常规添加剂，例如增溶剂、等渗剂、悬浮剂、乳化剂、稳定剂和防腐剂。

另外，可通过将所述药剂与多种基质(例如乳化基质或水溶性基质)混合来将其制成栓剂。实施例的化合物可经由栓剂以经直肠方式投与。栓剂可包括媒剂，例如可可脂、碳蜡(carbowax)和聚乙二醇，其在体温下熔化但在室温下凝固。

可提供经口或直肠投药的单位剂型，例如糖浆、酏剂和悬浮液，其中各剂量单位(例如满茶匙、满汤匙、片剂或栓剂)含有预定量的含有一种或多种抑制剂的组合物。类似地，供注射用或静脉内投药的单位剂型可包含无菌水、生理盐水或另一医药学上可接受的载剂中的溶液形式的组合物中的抑制剂。

如本文所使用，术语“单位剂型”是指适于作为单剂量(unitary dosage)用于人类和动物

受试者的物理上不连续的单位，各单位含有经计算足以产生所需作用的量的预定量的实施例化合物与医药学上可接受的稀释剂、载剂或媒剂。实施例中新颖单位剂型的规格视所用特定化合物和待实现的作用以及与各化合物在宿主体内相关的药物动力学而定。

医药学上可接受的赋形剂(例如媒剂、佐剂、载剂或稀释剂)易于为公众所用。而且，医药学上可接受的辅助物质(例如 pH 值调节剂和缓冲剂、张力调节剂、稳定剂、润湿剂等)也易于为公众所用。

其它抗病毒剂或抗纤维化剂

如上文所论述，在一些实施例中，本发明方法将通过投与 NS3 抑制剂(其为式 I 或式 II 化合物)和任选使用的一种或多种额外抗病毒剂来执行。

在一些实施例中，所述方法另外包括投与一种或多种干扰素受体激动剂。干扰素受体激动剂于本文中描述。

在其它实施例中，所述方法另外包括投与吡非尼酮或吡非尼酮类似物。吡非尼酮和吡非尼酮类似物于本文中描述。

适用于组合疗法中的额外抗病毒剂包括(但不限于)核苷酸和核苷类似物。非限制性实例包括叠氮胸苷(AZT)(齐多夫定(zidovudine))及其类似物和衍生物；2',3'-双脱氧肌苷(DDI)(地丹诺辛(didanosine))及其类似物和衍生物；2',3'-双脱氧胞苷(DDC)(双脱氧胞苷(dideoxycytidine))及其类似物和衍生物；2',3'-双脱氢-2',3'-双脱氧胸苷(D4T)(司他夫定(stavudine))及其类似物和衍生物；可比韦(combivir)；阿巴卡韦(abacavir)；阿德福韦酯(adefovir dipoxil)；西多福韦(cidofovir)；利巴韦林(ribavirin)；利巴韦林类似物等。

在一些实施例中，所述方法另外包括投与利巴韦林。利巴韦林(1-β-D-呋喃核糖基-1H-1,2,4-三唑-3-甲酰胺)是购自美国加利福尼亚州哥斯大米萨 ICN 医药公司(ICN Pharmaceuticals, Inc., Costa Mesa, Calif.)，其描述于默克索引(Merck Index)，化合物第 8199 号，第 19 版中。其制备和调配描述于美国专利第 4,211,771 中。一些实施例还涉及使用利巴韦林的衍生物(例如参看美国专利第 6,277,830 号)。利巴韦林可以胶囊或片剂形式经口投与，或者以与 NS-3 抑制剂化合物相同或不同的投药形式和相同或不同的途径投与。当然，也涵盖使这两种药物可利用的其它投药类型，例如通过鼻喷雾、经皮、静脉内、通过栓剂、通过持续释放剂型投与等。只要能够在不损害活性成分的情况下传递适当剂量，任何投药形式都将起作用。

在一些实施例中，所述方法另外包括投与利托那韦(ritonavir)。利托那韦(10-羟基-2-甲基-5-(1-甲基乙基)-1-[2-(1-甲基乙基)-4-噻唑基]-3,6-二氧代-8,11-双(苯甲基)-2,4,7,12-四

氮杂十三-13-酸, 5-噻唑基甲酯[5S-(5R*,8R*,10R*,11R*)])购自雅培制药有限公司(Abbott Laboratories), 是人免疫缺陷病毒蛋白酶以及人体内治疗性分子的肝代谢通常所涉及的细胞色素 P450 3A 和 P450 2D6 肝酶的抑制剂。由于利托那韦对细胞色素 P450 3A 具有强抑制作用并且对细胞色素 P450 2D6 具有抑制作用, 故可将其以低于正常治疗剂量的剂量与其它蛋白酶抑制剂组合, 以在降低所需剂量单位数量、给药频率或二者的同时, 达到第二蛋白酶抑制剂的治疗水平。

低剂量利托那韦的共投药还可用于补偿倾向于降低由 CYP3A 所代谢的蛋白酶抑制剂的含量的药物相互作用。利托那韦的结构、合成、制备和调配描述于美国专利第 5,541,206 号、美国专利第 5,635,523 号、美国专利第 5,648,497 号、美国专利第 5,846,987 号和美国专利第 6,232,333 号中。利托那韦可以胶囊或片剂或口服溶液形式经口投与, 或者以与 NS-3 抑制剂化合物相同或不同的投药形式和相同或不同的途径投与。当然, 也涵盖使这两种药物可利用的其它投药类型, 例如通过鼻喷雾、经皮、静脉内、通过栓剂、通过持续释放剂型投与等。只要能够在不损害活性成分的情况下传递适当剂量, 任何投药形式都将起作用。

在一些实施例中, 在 NS3 抑制剂化合物治疗的整个过程中投与额外抗病毒剂。在其它实施例中, 将额外抗病毒剂投与一段与 NS3 抑制剂化合物治疗重叠的时间, 例如额外抗病毒剂治疗可在 NS3 抑制剂化合物治疗开始前开始并且在 NS3 抑制剂化合物治疗结束前结束; 额外抗病毒剂治疗可在 NS3 抑制剂化合物治疗之后开始并且在 NS3 抑制剂化合物治疗结束后结束; 额外抗病毒剂治疗可在 NS3 抑制剂化合物治疗开始后开始并且在 NS3 抑制剂化合物治疗结束前结束; 或者额外抗病毒剂治疗可在 NS3 抑制剂化合物治疗开始前开始并且在 NS3 抑制剂化合物治疗结束后结束。

治疗方法

单药疗法

本文所述的 NS3 抑制剂化合物可用于 HCV 疾病的短程或长程疗法中。在许多实施例中, 投与 NS3 抑制剂化合物持续约 1 天到约 7 天, 或约 1 周到约 2 周, 或约 2 周到约 3 周, 或约 3 周到约 4 周, 或约 1 个月到约 2 个月, 或约 3 个月到约 4 个月, 或约 4 个月到约 6 个月, 或约 6 个月到约 8 个月, 或约 8 个月到约 12 个月, 或至少一年的时间, 并且可投与更长时间段。可将 NS3 抑制剂化合物每天投与 5 次、每天 4 次、每天 3 次(tid)、每天 2 次(bid)、每天 1 次(qd)、每隔一天 1 次(qod)、每周 2 次(biw)、每周 3 次(tiw)、每周 1 次(qw)、每隔一周 1 次(qow)、每月 3 次或每月 1 次。在其它实施例中, NS3 抑制剂

化合物是以连续输注的方式投与。

在许多实施例中，实施例的 NS3 抑制剂化合物是经口投与。

对于治疗患者的 HCV 疾病的上述方法，可以每天 1 到 5 次分剂量对患者投与每天每千克患者体重约 0.01 毫克到约 100 毫克剂量的如本文所述的 NS3 抑制剂化合物。在一些实施例中，以每天 1 到 5 次分剂量投与每天每千克患者体重约 0.5 毫克到约 75 毫克剂量的 NS3 抑制剂化合物。

可与载剂材料组合产生剂型的活性成分的量可视为治疗的宿主和特定投药模式而变化。典型的医药制剂可含有约 5%到约 95%活性成分(w/w)。在其它实施例中，医药制剂可含有约 20%到约 80%活性成分。

所属领域技术人员将容易了解，剂量水平可随具体 NS3 抑制剂化合物、症状的严重程度和受试者对副作用的易感性而变化。所属领域技术人员通过多种方式可容易测定给定 NS3 抑制剂化合物的优选剂量。优选方式是测量给定干扰素受体激动剂的生理效力。

在许多实施例中，投与多剂 NS3 抑制剂化合物。举例来说，将 NS3 抑制剂化合物每月投与 1 次、每月 2 次、每月 3 次、每隔一周 1 次(qow)、每周 1 次(qw)、每周 2 次(biw)、每周 3 次(tiw)、每周 4 次、每周 5 次、每周 6 次、每隔一天 1 次(qod)、每天 1 次(qd)、每天 2 次(qid)或每天 3 次(tid)，持续在约 1 天到约 1 周、约 2 周到约 4 周、约 1 个月到约 2 个月、约 2 个月到约 4 个月、约 4 个月到约 6 个月、约 6 个月到约 8 个月、约 8 个月到约 1 年、约 1 年到约 2 年或约 2 年到约 4 年范围内或更长的时间。

与利巴韦林的组合疗法

在一些实施例中，所述方法提供组合疗法，其包含投与如上文所述的 NS3 抑制剂化合物和有效量的利巴韦林。利巴韦林可以每天约 400 毫克、约 800 毫克、约 1000 毫克或约 1200 毫克的剂量投与。

一个实施例提供经修改成包括对患者共投与治疗有效量的利巴韦林持续 NS3 抑制剂化合物治疗的所需疗程的持续时间的上述方法中的任一种。

另一实施例提供经修改成包括每天经口对患者共投与约 800 毫克到约 1200 毫克利巴韦林持续 NS3 抑制剂化合物治疗的所需疗程的持续时间的上述方法中的任一种。在另一实施例中，上述方法中的任一种可经修改成包括对患者(a)每天经口共投与 1000 毫克利巴韦林(如果患者的体重不到 75 千克)；或(b)每天经口共投与 1200 毫克利巴韦林(如果患者的体重大于或等于 75 千克)，其中任选将利巴韦林的每日剂量分成 2 剂，持续 NS3 抑制剂化合物治疗的所需疗程的持续时间。

与左旋韦林(levovirin)的组合疗法

在一些实施例中，所述方法提供组合疗法，其包含投与如上文所述的 NS3 抑制剂化合物和有效量的左旋韦林。左旋韦林通常是以在每天约 30 毫克到约 60 毫克、约 60 毫克到约 125 毫克、约 125 毫克到约 200 毫克、约 200 毫克到约 300 毫克、约 300 毫克到约 400 毫克、约 400 毫克到约 1200 毫克、约 600 毫克到约 1000 毫克或约 700 到约 900 毫克范围内或者每天每千克体重约 10 毫克的量投与。在一些实施例中，左旋韦林是以每天约 400、约 800、约 1000 或约 1200 毫克的剂量经口投与，持续 NS3 抑制剂化合物治疗的所需疗程。

与韦拉米啉(viramidine)的组合疗法

在一些实施例中，所述方法提供组合疗法，其包含投与如上文所述的 NS3 抑制剂化合物和有效量的韦拉米啉。韦拉米啉通常是以在每天约 30 毫克到约 60 毫克、约 60 毫克到约 125 毫克、约 125 毫克到约 200 毫克、约 200 毫克到约 300 毫克、约 300 毫克到约 400 毫克、约 400 毫克到约 1200 毫克、约 600 毫克到约 1000 毫克或约 700 到约 900 毫克范围内或者每天每千克体重约 10 毫克的量投与。在一些实施例中，韦拉米啉是以每天约 800 或约 1600 毫克的剂量经口投与，持续 NS3 抑制剂化合物治疗的所需疗程。

与利托那韦的组合疗法

在一些实施例中，所述方法提供组合疗法，其包含投与如上文所述的 NS3 抑制剂化合物和有效量的利托那韦。利托那韦通常是以每天 2 次在约 50 毫克到约 100 毫克、约 100 毫克到约 200 毫克、约 200 毫克到约 300 毫克、约 300 毫克到约 400 毫克、约 400 毫克到约 500 毫克或约 500 到约 600 毫克范围内的量投与。在一些实施例中，利托那韦是以每天 2 次约 300 毫克或约 400 毫克或约 600 毫克的剂量经口投与，持续 NS3 抑制剂化合物治疗的所需疗程。

与 α -葡糖苷酶抑制剂的组合疗法

适当的 α -葡糖苷酶抑制剂包括上述亚氨基糖中的任一种，包括如美国专利公开案第 2004/0110795 号中所揭示的亚氨基糖的长烷基链衍生物；内质网缔合的 α -葡糖苷酶的抑制剂；膜结合的 α -葡糖苷酶的抑制剂；米格列醇(miglitol)(格莱斯特(Glyset®))，以及其活性衍生物和类似物；和阿卡波糖(acarbose)(普雷克斯(Precose®))，以及其活性衍生物和类似物。

在许多实施例中，所述方法提供组合疗法，其包含投与如上文所述的 NS3 抑制剂化合物和有效量的 α -葡糖苷酶抑制剂，所述 α -葡糖苷酶抑制剂投与约 1 天到约 7 天，或约

1周到约2周,或约2周到约3周,或约3周到约4周,或约1个月到约2个月,或约3个月到约4个月,或约4个月到约6个月,或约6个月到约8个月,或约8个月到约12个月,或至少一年的时间,并且可投与更长时间段。

可将 α -葡糖苷酶抑制剂每天投与5次、每天4次、每天3次、每天2次、每天1次、每隔一天1次、每周2次、每周3次、每周1次、每隔一周1次、每月3次或每月1次。在其它实施例中, α -葡糖苷酶抑制剂是以连续输注的方式投与。

在许多实施例中, α -葡糖苷酶抑制剂是经口投与。

对于上述治疗黄病毒感染、治疗HCV感染和治疗由HCV感染所引起的肝纤维化的方法,所述方法提供组合疗法,其包含投与如上文所述的NS3抑制剂化合物和有效量的 α -葡糖苷酶抑制剂,所述 α -葡糖苷酶抑制剂是以分次剂量以每天约10毫克到每天约600毫克的剂量投与患者,例如每天约10毫克到每天约30毫克、每天约30毫克到每天约60毫克、每天约60毫克到每天约75毫克、每天约75毫克到每天约90毫克、每天约90毫克到每天约120毫克、每天约120毫克到每天约150毫克、每天约150毫克到每天约180毫克、每天约180毫克到每天约210毫克、每天约210毫克到每天约240毫克、每天约240毫克到每天约270毫克、每天约270毫克到每天约300毫克、每天约300毫克到每天约360毫克、每天约360毫克到每天约420毫克、每天约420毫克到每天约480毫克或每天约480毫克到每天约600毫克。

在一些实施例中,所述方法提供组合疗法,其包含投与如上文所述的NS3抑制剂化合物和有效量的 α -葡糖苷酶抑制剂,所述 α -葡糖苷酶抑制剂是每天三次以约10毫克的剂量投与。在一些实施例中, α -葡糖苷酶抑制剂是每天3次以约15毫克的剂量投与。在一些实施例中, α -葡糖苷酶抑制剂是每天3次以约20毫克的剂量投与。在一些实施例中, α -葡糖苷酶抑制剂是每天3次以约25毫克的剂量投与。在一些实施例中, α -葡糖苷酶抑制剂是每天3次以约30毫克的剂量投与。在一些实施例中, α -葡糖苷酶抑制剂是每天3次以约40毫克的剂量投与。在一些实施例中, α -葡糖苷酶抑制剂是每天3次以约50毫克的剂量投与。在一些实施例中, α -葡糖苷酶抑制剂是每天3次以约100毫克的剂量投与。在一些实施例中, α -葡糖苷酶抑制剂是以两次或三次分剂量以每天约75毫克到每天约150毫克的剂量投与,其中所述个体重60千克或更少。在一些实施例中, α -葡糖苷酶抑制剂是以两次或三次分剂量以每天约75毫克到每天约300毫克的剂量投与,其中所述个体重60千克或更多。

可与载剂材料组合产生剂型的活性成分(例如 α -葡糖苷酶抑制剂)的量可视待治疗的

宿主和特定投药模式而变化。典型的医药制剂可含有约 5%到约 95%活性成分(w/w)。在其它实施例中，医药制剂可含有约 20%到约 80%活性成分。

所属领域技术人员将容易了解，剂量水平可随具体 α -葡糖苷酶抑制剂、症状的严重程度和受试者对副作用的易感性而变化。所属领域技术人员通过多种方式可容易测定给定 α -葡糖苷酶抑制剂的优选剂量。典型方式是测量给定活性剂的生理效力。

在许多实施例中，投与多剂 α -葡糖苷酶抑制剂。举例来说，所述方法提供组合疗法，其包含投与如上文所述的 NS3 抑制剂化合物和有效量的 α -葡糖苷酶抑制剂，所述 α -葡糖苷酶抑制剂是每月投与 1 次、每月 2 次、每月 3 次、每隔一周 1 次(qow)、每周 1 次(qw)、每周 2 次(biw)、每周 3 次(tiw)、每周 4 次、每周 5 次、每周 6 次、每隔一天 1 次(qod)、每天 1 次(qd)、每天 2 次(qid)或每天 3 次(tid)，持续在约 1 天到约 1 周、约 2 周到约 4 周、约 1 个月到约 2 个月、约 2 个月到约 4 个月、约 4 个月到约 6 个月、约 6 个月到约 8 个月、约 8 个月到约 1 年、约 1 年到约 2 年或约 2 年到约 4 年范围内或更长的时间。

与胸腺肽- α (thymosin- α)的组合疗法

在一些实施例中，所述方法提供组合疗法，其包含投与如上文所述的 NS3 抑制剂化合物和有效量的胸腺肽- α 。胸腺肽- α (日达仙(Zadaxin™))通常是通过皮下注射投与。胸腺肽- α 可每天 3 次、每天 2 次、每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 2 次、每周 3 次、每周 1 次、每隔一周 1 次、每月 3 次、每月 1 次、实质上连续或连续投与，持续 NS3 抑制剂化合物治疗的所需疗程。在许多实施例中，胸腺肽- α 是每周投与 2 次，持续 NS3 抑制剂化合物治疗的所需疗程。胸腺肽- α 的有效剂量在约 0.5 毫克到约 5 毫克的范围内，例如约 0.5 毫克到约 1.0 毫克、约 1.0 毫克到约 1.5 毫克、约 1.5 毫克到约 2.0 毫克、约 2.0 毫克到约 2.5 毫克、约 2.5 毫克到约 3.0 毫克、约 3.0 毫克到约 3.5 毫克、约 3.5 毫克到约 4.0 毫克、约 4.0 毫克到约 4.5 毫克或约 4.5 毫克到约 5.0 毫克。在特定实施例中，胸腺肽- α 是以含有 1.0 毫克或 1.6 毫克量的剂量投与。

胸腺肽- α 可投与在约 1 天到约 1 周、约 2 周到约 4 周、约 1 个月到约 2 个月、约 2 个月到约 4 个月、约 4 个月到约 6 个月、约 6 个月到约 8 个月、约 8 个月到约 1 年、约 1 年到约 2 年或约 2 年到约 4 年的范围内或更长的时间。在一个实施例中，将胸腺肽- α 投与持续 NS3 抑制剂化合物治疗的所需疗程。

与干扰素的组合疗法

在许多实施例中，所述方法提供组合疗法，其包含投与如上文所述的 NS3 抑制剂化合物和有效量的干扰素受体激动剂。在一些实施例中，在本文所述的治疗方法中，将式

I 或式 II 化合物与 I 型或 III 型干扰素受体激动剂共投与。适用于本文中的 I 型干扰素受体激动剂包括任何干扰素- α (IFN- α)。在某些实施例中，干扰素- α 为聚乙二醇化干扰素- α 。在某些其它实施例中，干扰素- α 为复合干扰素，例如干复津复合干扰素(INFERGEN® interferon alfacon-1)。在其它实施例中，干扰素- α 为单聚乙二醇化(30 kD, 线性)复合干扰素。

IFN- α 的有效剂量在约 3 微克到约 27 微克、约 3 个百万单位(MU)到约 10 MU、约 90 微克到约 180 微克或约 18 微克到约 90 微克的范围内。干复津复合干扰素- α 的有效剂量包括每剂约 3 微克、约 6 微克、约 9 微克、约 12 微克、约 15 微克、约 18 微克、约 21 微克、约 24 微克、约 27 微克或约 30 微克药物。IFN- α 2a 和 IFN- α 2b 的有效剂量在每剂 3 个百万单位(MU)到 10 MU 的范围内。派罗欣(PEGASYS®)聚乙二醇化 IFN- α 2a 的有效剂量含有每剂约 90 微克到 270 微克或为约 180 微克药物的量。佩乐能(PEG-INTRON®)聚乙二醇化 IFN- α 2b 的有效剂量含有每剂每千克体重约 0.5 微克到 3.0 微克药物的量。聚乙二醇化复合干扰素(PEG-CIFN)的有效剂量含有每剂 PEG-CIFN 约 18 微克到约 90 微克或约 27 微克到约 60 微克或为约 45 微克 CIFN 氨基酸重量的量。单聚乙二醇化(30 kD, 线性)CIFN 的有效剂量含有每剂约 45 微克到约 270 微克或约 60 微克到约 180 微克或约 90 微克到约 120 微克药物的量。IFN- α 可每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 1 次、每周 3 次、每隔一周 1 次、每月 3 次、每月 1 次、实质上连续或连续投与。

在许多实施例中，将 I 型或 III 型干扰素受体激动剂和/或 II 型干扰素受体激动剂投与约 1 天到约 7 天，或约 1 周到约 2 周，或约 2 周到约 3 周，或约 3 周到约 4 周，或约 1 个月到约 2 个月，或约 3 个月到约 4 个月，或约 4 个月到约 6 个月，或约 6 个月到约 8 个月，或约 8 个月到约 12 个月，或至少一年的时间，并且可投与更长时间段。剂量方案可包括每天 3 次、每天 2 次、每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 2 次、每周 3 次、每周 1 次、每隔一周 1 次、每月 3 次或每月 1 次投与。一些实施例提供上述方法中的任一种，其中所需剂量的 IFN- α 是每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次、每周 2 次、每周 1 次、每隔一周 1 次、每月 3 次或每月 1 次通过团注传递经皮下投与患者，或者每天通过实质上连续或连续传递经皮下投与患者，持续所需的治疗持续时间。在其它实施例中，可实践上述方法中的任一种，其中所需剂量的聚乙二醇化 IFN- α (PEG-IFN- α)是每周 1 次、每隔一周 1 次、每月 3 次或每月 1 次通过团注传递经皮下投与患者，持续所需的治疗持续时间。

在其它实施例中，在实施例的治疗方法中，将 NS3 抑制剂化合物与 II 型干扰素受体

激动剂共投与。适用于本文中的 II 型干扰素受体激动剂包括任何干扰素- γ (IFN- γ)。

视患者的体格而定, IFN- γ 的有效剂量可在约 0.5 微克/平方米到约 500 微克/平方米、通常约 1.5 微克/平方米到 200 微克/平方米的范围内。此活性是以每 50 微克蛋白质 10^6 个国际单位(U)计。IFN- γ 可每日 1 次、每隔一日 1 次、每周 3 次或者实质上连续或连续投与。

在相关具体实施例中, IFN- γ 是以约 25 微克到约 500 微克、约 50 微克到约 400 微克或约 100 微克到约 300 微克的单位剂型投与个体。在相关特定实施例中, 剂量为约 200 微克 IFN- γ 。在许多相关实施例中, 投与 IFN- γ 1b。

当剂量为每剂 200 微克 IFN- γ 时, 每单位体重 IFN- γ 的量(假定体重在约 45 千克到约 135 千克的范围内)在每千克体重约 4.4 微克 IFN- γ 到每千克体重约 1.48 微克 IFN- γ 的范围内。

受试个体的体表面积通常在约 1.33 平方米到约 2.50 平方米的范围内。因此, 在许多实施例中, IFN- γ 剂量在约 150 微克/平方米到约 20 微克/平方米的范围内。举例来说, IFN- γ 剂量在约 20 微克/平方米到约 30 微克/平方米、约 30 微克/平方米到约 40 微克/平方米、约 40 微克/平方米到约 50 微克/平方米、约 50 微克/平方米到约 60 微克/平方米、约 60 微克/平方米到约 70 微克/平方米、约 70 微克/平方米到约 80 微克/平方米、约 80 微克/平方米到约 90 微克/平方米、约 90 微克/平方米到约 100 微克/平方米、约 100 微克/平方米到约 110 微克/平方米、约 110 微克/平方米到约 120 微克/平方米、约 120 微克/平方米到约 130 微克/平方米、约 130 微克/平方米到约 140 微克/平方米或约 140 微克/平方米到约 150 微克/平方米的范围内。在一些实施例中, 剂量组在约 25 微克/平方米到约 100 微克/平方米的范围内。在其它实施例中, 剂量组在约 25 微克/平方米到约 50 微克/平方米的范围内。

在一些实施例中, I 型或 III 型干扰素受体激动剂是以第一给药方案继之以第二给药方案投与。I 型或 III 型干扰素受体激动剂的第一给药方案(也称为“诱导方案”)通常涉及投与较高剂量的 I 型或 III 型干扰素受体激动剂。举例来说, 在干复津复合 IFN- α (CIFN)的情况下, 第一给药方案包含投与约 9 微克、约 15 微克、约 18 微克或约 27 微克 CIFN。第一给药方案可涵盖单次给药事件或者至少两次或两次以上给药事件。I 型或 III 型干扰素受体激动剂的第一给药方案可每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次、每隔一周 1 次、每月 3 次、每月 1 次、实质上连续或连续投与。

将 I 型或 III 型干扰素受体激动剂的第一给药方案投与第一时间段, 所述时间段可为

至少约 4 周、至少约 8 周或至少约 12 周。

I 型或 III 型干扰素受体激动剂的第二给药方案(也称为“维持方案”)通常涉及投与少量的 I 型或 III 型干扰素受体激动剂。举例来说, 在 CIFN 的情况下, 第二给药方案包含投与至少约 3 微克、至少约 9 微克、至少约 15 微克或至少约 18 微克剂量的 CIFN。第二给药方案可涵盖单次给药事件或者至少两次或两次以上给药事件。

I 型或 III 型干扰素受体激动剂的第二给药方案可每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次、每隔一周 1 次、每月 3 次、每月 1 次、实质上连续或连续投与。

在一些实施例中, 当投与 I 型或 III 型干扰素受体激动剂的“诱导”/“维持”给药方案时, 包括 II 型干扰素受体激动剂(例如, IFN- γ)的“启动(priming)”剂量。在这些实施例中, 在开始用 I 型或 III 型干扰素受体激动剂治疗之前, 投与 IFN- γ 持续约 1 天到约 14 天、约 2 天到约 10 天或约 3 天到约 7 天的时间。此时间段称为“启动”期。

在一些所述实施例中, 在用 I 型或 III 型干扰素受体激动剂治疗的整个时期, 持续 II 型干扰素受体激动剂治疗。在其它实施例中, 在用 I 型或 III 型干扰素受体激动剂治疗结束之前, 停止 II 型干扰素受体激动剂治疗。在这些实施例中, 用 II 型干扰素受体激动剂治疗的总时间(包括“启动”期)为约 2 天到约 30 天、约 4 天到约 25 天、约 8 天到约 20 天、约 10 天到约 18 天或约 12 天到约 16 天。在其它实施例中, 在 I 型或 III 型干扰素受体激动剂治疗开始之后, 即停止 II 型干扰素受体激动剂治疗。

在其它实施例中, I 型或 III 型干扰素受体激动剂是以单一给药方案投与。举例来说, 在 CIFN 的情况下, CIFN 的剂量通常在约 3 微克到约 15 微克或约 9 微克到约 15 微克的范围内。I 型或 III 型干扰素受体激动剂的剂量通常是每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次、每隔一周 1 次、每月 3 次、每月 1 次、或实质上连续投与。将 I 型或 III 型干扰素受体激动剂的剂量投与一段时间, 所述时间段可为例如至少约 24 周到至少约 48 周或更长时间。

在一些实施例中, 当投与 I 型或 III 型干扰素受体激动剂的单一给药方案时, 包括 II 型干扰素受体激动剂(例如 IFN- γ)的“启动”剂量。在这些实施例中, 在开始用 I 型或 III 型干扰素受体激动剂治疗之前, 投与 IFN- γ 持续约 1 天到约 14 天、约 2 天到约 10 天或约 3 天到约 7 天的时间。此时间段称为“启动”期。在一些所述实施例中, 在用 I 型或 III 型干扰素受体激动剂治疗的整个时期, 持续 II 型干扰素受体激动剂治疗。在其它实施例中, 在用 I 型或 III 型干扰素受体激动剂治疗结束之前, 停止 II 型干扰素受体激动剂治疗。在这些实施例中, 用 II 型干扰素受体激动剂治疗的总时间(包括“启动”期)为约 2 天到约

30天、约4天到约25天、约8天到约20天、约10天到约18天或约12天到约16天。在其它实施例中，在I型或III型干扰素受体激动剂治疗开始之后，即停止II型干扰素受体激动剂治疗。

在其它实施例中，将NS3抑制剂化合物、I型或III型干扰素受体激动剂和II型干扰素受体激动共投与持续本文所述方法中治疗所需的持续时间。在一些实施例中，将NS3抑制剂化合物、干扰素- α 和干扰素- γ 共投与持续本文所述方法中治疗所需的持续时间。

在一些实施例中，本发明提供使用有效治疗患者HCV感染的量的I型或III型干扰素受体激动剂、II型干扰素受体激动剂和NS3抑制剂化合物的方法。一些实施例提供使用有效量的IFN- α 、IFN- γ 和NS3抑制剂化合物治疗患者HCV感染的方法。一个实施例提供使用有效量的复合IFN- α 、IFN- γ 和NS3抑制剂化合物治疗患者HCV感染的方法。

一般来说，适用于实施例方法中的复合干扰素(CIFN)和IFN- γ 的有效量是以1微克CIFN:10微克IFN- γ 的剂量比提供，其中CIFN与IFN- γ 都是未聚乙二醇化并且未糖基化的物质。

在一个实施例中，本发明提供经修改成使用有效量的干复津复合IFN- α 和IFN- γ 治疗患者HCV感染的上述方法中的任一种，其包含对患者每天1次、每隔一天1次、每周3次、每周2次、每周1次、每隔一周1次、每月3次、每月1次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂干复津约1微克到约30微克药物的量的干复津剂量，并且每天1次、每隔一天1次、每周3次、每周2次、每周1次、每隔一周1次、每月3次、每月1次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂IFN- γ 约10微克到约300微克药物的量的IFN- γ 剂量，持续用NS3抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

另一实施例提供经修改成使用有效量的干复津复合IFN- α 和IFN- γ 治疗患者病毒感染的上述方法中的任一种，其包含对患者每天1次、每隔一天1次、每周3次、每周2次、每周1次、每隔一周1次、每月3次、每月1次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂干复津约1微克到约9微克药物的量的干复津剂量，并且每天1次、每隔一天1次、每周3次、每周2次、每周1次、每隔一周1次、每月3次、每月1次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂IFN- γ 约10微克到约100微克药物的量的IFN- γ 剂量，持续用NS3抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

另一实施例提供经修改成使用有效量的干复津复合IFN- α 和IFN- γ 治疗患者病毒感染的上述方法中的任一种，其包含对患者每天1次、每隔一天1次、每周3次、每周2次、每周1次、每隔一周1次、每月3次、每月1次或每天实质上连续或连续经皮下投

与含有每剂干复津约 1 微克药物的量的干复津剂量，并且每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次、每周 2 次、每周 1 次、每隔一周 1 次、每月 3 次、每月 1 次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂 IFN- γ 约 10 微克到约 50 微克药物的量的 IFN- γ 剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

另一实施例提供经修改成使用有效量的干复津复合 IFN- α 和 IFN- γ 治疗患者病毒感染的上述方法中的任一种，其包含对患者每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次、每周 2 次、每周 1 次、每隔一周 1 次、每月 3 次、每月 1 次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂干复津约 9 微克药物的量的干复津剂量，并且每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次、每周 2 次、每周 1 次、每隔一周 1 次、每月 3 次、每月 1 次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂 IFN- γ 约 90 微克到约 100 微克药物的量的 IFN- γ 剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

另一实施例提供经修改成使用有效量的干复津复合 IFN- α 和 IFN- γ 治疗患者病毒感染的上述方法中的任一种，其包含对患者每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次、每周 2 次、每周 1 次、每隔一周 1 次、每月 3 次、每月 1 次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂干复津约 30 微克药物的量的干复津剂量，并且每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次、每周 2 次、每周 1 次、每隔一周 1 次、每月 3 次、每月 1 次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂 IFN- γ 约 200 微克到约 300 微克药物的量的 IFN- γ 剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

另一实施例提供经修改成使用有效量的聚乙二醇化复合 IFN- α 和 IFN- γ 治疗患者病毒感染的上述方法中的任一种，其包含对患者每周 1 次、每隔一周 1 次、每月 3 次或每月 1 次经皮下投与含有每剂聚乙二醇化复合 IFN- α (PEG-CIFN)约 4 微克到约 60 微克 CIFN 氨基酸重量的量的 PEG-CIFN 剂量，并且以分剂量每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次、每周 2 次经皮下投与或者实质上连续或连续投与含有每周约 30 微克到约 1,000 微克药物的量的 IFN- γ 每周总剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

另一实施例提供经修改成使用有效量的聚乙二醇化复合 IFN- α 和 IFN- γ 治疗患者病毒感染的上述方法中的任一种，其包含对患者每周 1 次、每隔一周 1 次、每月 3 次或每月 1 次经皮下投与含有每剂聚乙二醇化复合 IFN- α (PEG-CIFN)约 18 微克到约 24 微克 CIFN 氨基酸重量的量的 PEG-CIFN 剂量，并且以分剂量每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次、每周 2 次经皮下投与或者实质上连续或连续投与含有每周约 100 微克到约 300 微克药物的量的 IFN- γ 每周总剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

一般来说, 适用于实施例方法中的 IFN- α 2a 或 2b 或 2c 和 IFN- γ 的有效量是以 1 个百万单位(MU)IFN- α 2a 或 2b 或 2c :30 微克 IFN- γ 的剂量比提供, 其中 IFN- α 2a 或 2b 或 2c 和 IFN- γ 都是未聚乙二醇化并且未糖基化的物质。

另一实施例提供经修改成使用有效量的 IFN- α 2a 或 2b 或 2c 和 IFN- γ 治疗患者病毒感染的上述方法中的任一种, 其包含对患者每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次、每周 2 次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂 IFN- α 2a、2b 或 2c 约 1 MU 到约 20 MU 药物的量的 IFN- α 2a、2b 或 2c 剂量, 并且每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次、每周 2 次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂 IFN- γ 约 30 微克到约 600 微克药物的量的 IFN- γ 剂量, 持续用 NS3 抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

另一实施例提供经修改成使用有效量的 IFN- α 2a 或 2b 或 2c 和 IFN- γ 治疗患者病毒感染的上述方法中的任一种, 其包含对患者每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次、每周 2 次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂 IFN- α 2a、2b 或 2c 约 3 MU 药物的量的 IFN- α 2a、2b 或 2c 剂量, 并且每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次、每周 2 次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂 IFN- γ 约 100 微克药物的量的 IFN- γ 剂量, 持续用 NS3 抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

另一实施例提供经修改成使用有效量的 IFN- α 2a 或 2b 或 2c 和 IFN- γ 治疗患者病毒感染的上述方法中的任一种, 其包含对患者每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次、每周 2 次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂 IFN- α 2a、2b 或 2c 约 10 MU 药物的量的 IFN- α 2a、2b 或 2c 剂量, 并且每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次、每周 2 次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂 IFN- γ 约 300 微克药物的量的 IFN- γ 剂量, 持续用 NS3 抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

另一实施例提供经修改成使用有效量的派罗欣聚乙二醇化 IFN- α 2a 和 IFN- γ 治疗患者病毒感染的上述方法中的任一种, 其包含对患者每周 1 次、每隔一周 1 次、每月 3 次或每月 1 次经皮下投与含有每剂派罗欣约 90 微克到约 360 微克药物的量的派罗欣剂量, 并且以分剂量每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次或每周 2 次经皮下投与或者实质上连续或连续投与含有每周约 30 微克到约 1,000 微克药物的量的 IFN- γ 每周总剂量, 持续用 NS3 抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

另一实施例提供经修改成使用有效量的派罗欣聚乙二醇化 IFN- α 2a 和 IFN- γ 治疗患者病毒感染的上述方法中的任一种, 其包含对患者每周 1 次、每隔一周 1 次、每月 3 次或每月 1 次经皮下投与含有每剂派罗欣约 180 微克药物的量的派罗欣剂量, 并且以分剂

量每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次或每周 2 次经皮下投与或者实质上连续或连续投与含有每周约 100 微克到约 300 微克药物的量的 IFN- γ 每周总剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

另一实施例提供经修改成使用有效量的佩乐能聚乙二醇化 IFN- α 2b 和 IFN- γ 治疗患者病毒感染的上述方法中的任一种，其包含对患者每周 1 次、每隔一周 1 次、每月 3 次或每月 1 次经皮下投与含有每剂佩乐能每千克体重约 0.75 微克到约 3.0 微克药物的量的佩乐能剂量，并且以分剂量每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次或每周 2 次经皮下投与或者实质上连续或连续投与含有每周约 30 微克到约 1000 微克药物的量的 IFN- γ 每周总剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

另一实施例提供经修改成使用有效量的佩乐能聚乙二醇化 IFN- α 2b 和 IFN- γ 治疗患者病毒感染的上述方法中的任一种，其包含对患者每周 1 次、每隔一周 1 次、每月 3 次或每月 1 次经皮下投与含有每剂佩乐能每千克体重约 1.5 微克药物的量的佩乐能剂量，并且以分剂量每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次或每周 2 次经皮下投与或者实质上连续或连续投与含有每周约 100 微克到约 300 微克药物的量的 IFN- γ 每周总剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

一个实施例提供经修改成包含对感染 HCV 的个体投与有效量的 NS3 抑制剂；和每天 1 次或每周 3 次经皮下投与的 9 微克干复津复合 IFN- α 方案；和每天 1 次经口投与的利巴韦林的上述方法中的任一种，其中疗法持续时间为 48 周。在本实施例中，对于体重不到 75 千克的个体，利巴韦林是以 1000 毫克的量投与，而对于重 75 千克或更重的个体，则是以 1200 毫克的量投与。

一个实施例提供经修改成包含对感染 HCV 的个体投与有效量的 NS3 抑制剂；和每天 1 次或每周 3 次经皮下投与的 9 微克干复津复合 IFN- α 方案；每周 3 次经皮下投与的 50 微克埃克提蒙(Actimmune®)人 IFN- γ 1b；和每天 1 次经口投与的利巴韦林的上述方法中的任一种，其中疗法持续时间为 48 周。在本实施例中，对于体重不到 75 千克的个体，利巴韦林是以 1000 毫克的量投与，而对于重 75 千克或更重的个体，则是以 1200 毫克的量投与。

一个实施例提供经修改成包含对感染 HCV 的个体投与有效量的 NS3 抑制剂；和每天 1 次或每周 3 次经皮下投与的 9 微克干复津复合 IFN- α 方案；每周 3 次经皮下投与的 100 微克埃克提蒙人 IFN- γ 1b；和每天 1 次经口投与的利巴韦林的上述方法中的任一种，其中疗法持续时间为 48 周。在本实施例中，对于体重不到 75 千克的个体，利巴韦林是

以 1000 毫克的量投与，而对于重 75 千克或更重的个体，则是以 1200 毫克的量投与。

一个实施例提供经修改成包含对感染 HCV 的个体投与有效量的 NS3 抑制剂；和每天 1 次或每周 3 次经皮下投与的 9 微克干复津复合 IFN- α 方案；以及每周 3 次经皮下投与的 50 微克埃克提蒙人 IFN- γ 1b 的上述方法中的任一种，其中疗法持续时间为 48 周。

一个实施例提供经修改成包含对感染 HCV 的个体投与有效量的 NS3 抑制剂；和每天 1 次或每周 3 次经皮下投与的 9 微克干复津复合 IFN- α 方案；以及每周 3 次经皮下投与的 100 微克埃克提蒙人 IFN- γ 1b 的上述方法中的任一种，其中疗法持续时间为 48 周。

一个实施例提供经修改成包含对感染 HCV 的个体投与有效量的 NS3 抑制剂；和每天 1 次或每周 3 次经皮下投与的 9 微克干复津复合 IFN- α 方案；每周 3 次经皮下投与的 25 微克埃克提蒙人 IFN- γ 1b；和每天 1 次经口投与的利巴韦林的上述方法中的任一种，其中疗法持续时间为 48 周。在本实施例中，对于体重不到 75 千克的个体，利巴韦林是以 1000 毫克的量投与，而对于重 75 千克或更重的个体，则是以 1200 毫克的量投与。

一个实施例提供经修改成包含对感染 HCV 的个体投与有效量的 NS3 抑制剂；和每天 1 次或每周 3 次经皮下投与的 9 微克干复津复合 IFN- α 方案；每周 3 次经皮下投与的 200 微克埃克提蒙人 IFN- γ 1b；和每天 1 次经口投与的利巴韦林的上述方法中的任一种，其中疗法持续时间为 48 周。在本实施例中，对于体重不到 75 千克的个体，利巴韦林是以 1000 毫克的量投与，而对于重 75 千克或更重的个体，则是以 1200 毫克的量投与。

一个实施例提供经修改成包含对感染 HCV 的个体投与有效量的 NS3 抑制剂；和每天 1 次或每周 3 次经皮下投与的 9 微克干复津复合 IFN- α 方案；以及每周 3 次经皮下投与的 25 微克埃克提蒙人 IFN- γ 1b 的上述方法中的任一种，其中疗法持续时间为 48 周。

一个实施例提供经修改成包含对感染 HCV 的个体投与有效量的 NS3 抑制剂；和每天 1 次或每周 3 次经皮下投与的 9 微克干复津复合 IFN- α 方案；以及每周 3 次经皮下投与的 200 微克埃克提蒙人 IFN- γ 1b 的上述方法中的任一种，其中疗法持续时间为 48 周。

一个实施例提供经修改成包含对感染 HCV 的个体投与有效量的 NS3 抑制剂；和每 10 天 1 次或每周 1 次经皮下投与的 100 微克单聚乙二醇化(30 kD, 线性)复合 IFN- α 方案；以及每天 1 次经口投与的利巴韦林的上述方法中的任一种，其中疗法持续时间为 48 周。在本实施例中，对于体重不到 75 千克的个体，利巴韦林是以 1000 毫克的量投与，而对于重 75 千克或更重的个体，则是以 1200 毫克的量投与。

一个实施例提供经修改成包含对感染 HCV 的个体投与有效量的 NS3 抑制剂；和每 10 天 1 次或每周 1 次经皮下投与的 100 微克单聚乙二醇化(30 kD, 线性)复合 IFN- α 方案；

每周3次经皮下投与的50微克埃克提蒙人IFN- γ 1b;和每天1次经口投与的利巴韦林的上述方法中的任一种,其中疗法持续时间为48周。在本实施例中,对于体重不到75千克的个体,利巴韦林是以1000毫克的量投与,而对于重75千克或更重的个体,则是以1200毫克的量投与。

一个实施例提供经修改成包含对感染HCV的个体投与有效量的NS3抑制剂;和每10天1次或每周1次经皮下投与的100微克单聚乙二醇化(30 kD,线性)复合IFN- α 方案;每周3次经皮下投与的100微克埃克提蒙人IFN- γ 1b;和每天1次经口投与的利巴韦林的上述方法中的任一种,其中疗法持续时间为48周。在本实施例中,对于体重不到75千克的个体,利巴韦林是以1000毫克的量投与,而对于重75千克或更重的个体,则是以1200毫克的量投与。

一个实施例提供经修改成包含对感染HCV的个体投与有效量的NS3抑制剂;和每10天1次或每周1次经皮下投与的100微克单聚乙二醇化(30 kD,线性)复合IFN- α 方案;以及每周3次经皮下投与的50微克埃克提蒙人IFN- γ 1b的上述方法中的任一种,其中疗法持续时间为48周。

一个实施例提供经修改成包含对感染HCV的个体投与有效量的NS3抑制剂;和每10天1次或每周1次经皮下投与的100微克单聚乙二醇化(30 kD,线性)复合IFN- α 方案;以及每周3次经皮下投与的100微克埃克提蒙人IFN- γ 1b的上述方法中的任一种,其中疗法持续时间为48周。

一个实施例提供经修改成包含对感染HCV的个体投与有效量的NS3抑制剂;和每10天1次或每周1次经皮下投与的150微克单聚乙二醇化(30 kD,线性)复合IFN- α 方案;以及每天1次经口投与的利巴韦林的上述方法中的任一种,其中疗法持续时间为48周。在本实施例中,对于体重不到75千克的个体,利巴韦林是以1000毫克的量投与,而对于重75千克或更重的个体,则是以1200毫克的量投与。

一个实施例提供经修改成包含对感染HCV的个体投与有效量的NS3抑制剂;和每10天1次或每周1次经皮下投与的150微克单聚乙二醇化(30 kD,线性)复合IFN- α 方案;每周3次经皮下投与的50微克埃克提蒙人IFN- γ 1b;和每天1次经口投与的利巴韦林的上述方法中的任一种,其中疗法持续时间为48周。在本实施例中,对于体重不到75千克的个体,利巴韦林是以1000毫克的量投与,而对于重75千克或更重的个体,则是以1200毫克的量投与。

一个实施例提供经修改成包含对感染HCV的个体投与有效量的NS3抑制剂;和每

10天1次或每周1次经皮下投与的150微克单聚乙二醇化(30 kD,线性)复合IFN- α 方案;每周3次经皮下投与的100微克埃克提蒙人IFN- γ 1b;和每天1次经口投与的利巴韦林的上述方法中的任一种,其中疗法持续时间为48周。在本实施例中,对于体重不到75千克的个体,利巴韦林是以1000毫克的量投与,而对于重75千克或更重的个体,则是以1200毫克的量投与。

一个实施例提供经修改成包含对感染HCV的个体投与有效量的NS3抑制剂;和每10天1次或每周1次经皮下投与的150微克单聚乙二醇化(30 kD,线性)复合IFN- α 方案;以及每周3次经皮下投与的50微克埃克提蒙人IFN- γ 1b的上述方法中的任一种,其中疗法持续时间为48周。

一个实施例提供经修改成包含对感染HCV的个体投与有效量的NS3抑制剂;和每10天1次或每周1次经皮下投与的150微克单聚乙二醇化(30 kD,线性)复合IFN- α 方案;以及每周3次经皮下投与的100微克埃克提蒙人IFN- γ 1b的上述方法中的任一种,其中疗法持续时间为48周。

一个实施例提供经修改成包含对感染HCV的个体投与有效量的NS3抑制剂;和每10天1次或每周1次经皮下投与的200微克单聚乙二醇化(30 kD,线性)复合IFN- α 方案;以及每天1次经口投与的利巴韦林的上述方法中的任一种,其中疗法持续时间为48周。在本实施例中,对于体重不到75千克的个体,利巴韦林是以1000毫克的量投与,而对于重75千克或更重的个体,则是以1200毫克的量投与。

一个实施例提供经修改成包含对感染HCV的个体投与有效量的NS3抑制剂;和每10天1次或每周1次经皮下投与的200微克单聚乙二醇化(30 kD,线性)复合IFN- α 方案;每周3次经皮下投与的50微克埃克提蒙人IFN- γ 1b;和每天1次经口投与的利巴韦林的上述方法中的任一种,其中疗法持续时间为48周。在本实施例中,对于体重不到75千克的个体,利巴韦林是以1000毫克的量投与,而对于重75千克或更重的个体,则是以1200毫克的量投与。

一个实施例提供经修改成包含对感染HCV的个体投与有效量的NS3抑制剂;和每10天1次或每周1次经皮下投与的200微克单聚乙二醇化(30 kD,线性)复合IFN- α 方案;每周3次经皮下投与的100微克埃克提蒙人IFN- γ 1b;和每天1次经口投与的利巴韦林的上述方法中的任一种,其中疗法持续时间为48周。在本实施例中,对于体重不到75千克的个体,利巴韦林是以1000毫克的量投与,而对于重75千克或更重的个体,则是以1200毫克的量投与。

一个实施例提供经修改成包含对感染 HCV 的个体投与有效量的 NS3 抑制剂；和每 10 天 1 次或每周 1 次经皮下投与的 200 微克单聚乙二醇化(30 kD, 线性)复合 IFN- α 方案；以及每周 3 次经皮下投与的 50 微克埃克提蒙人 IFN- γ 1b 的上述方法中的任一种，其中疗法持续时间为 48 周。

一个实施例提供经修改成包含对感染 HCV 的个体投与有效量的 NS3 抑制剂；和每 10 天 1 次或每周 1 次经皮下投与的 200 微克单聚乙二醇化(30 kD, 线性)复合 IFN- α 方案；以及每周 3 次经皮下投与的 100 微克埃克提蒙人 IFN- γ 1b 的上述方法中的任一种，其中疗法持续时间为 48 周。

可通过投与有效量的 TNF- α 拮抗剂(例如除吡非尼酮或吡非尼酮类似物外的其它 TNF- α 拮抗剂)来加强涉及投与 NS3 抑制剂、I 型干扰素受体激动剂(例如 IFN- α)和 II 型干扰素受体激动剂(例如 IFN- γ)的上文所述方法中的任一种。适用于所述组合疗法中的示范性非限制性 TNF- α 拮抗剂包括恩博(ENBREL®)、瑞米凯德(REMICADE®)和复迈(HUMIRA™)。

一个实施例提供一种使用有效量的恩博、有效量的 IFN- α 、有效量的 IFN- γ 和有效量的 NS3 抑制剂治疗患者 HCV 感染的方法，其包含对患者每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次、每周 2 次、每周 1 次、每隔一周 1 次、每月 3 次、每月 1 次或每隔一月 1 次或者每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂恩博约 0.1 微克到约 23 毫克、约 0.1 微克到约 1 微克、约 1 微克到约 10 微克、约 10 微克到约 100 微克、约 100 微克到约 1 毫克、约 1 毫克到约 5 毫克、约 5 毫克到约 10 毫克、约 10 毫克到约 15 毫克、约 15 毫克到约 20 毫克或约 20 毫克到约 23 毫克的量的恩博剂量，持续所需的治疗持续时间。

一个实施例提供一种使用有效量的瑞米凯德、有效量的 IFN- α 、有效量的 IFN- γ 和有效量的 NS3 抑制剂治疗患者 HCV 感染的方法，其包含对患者每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次、每周 2 次、每周 1 次、每隔一周 1 次、每月 3 次、每月 1 次或每隔一月 1 次或者每天实质上连续或连续经静脉内投与含有每剂瑞米凯德约 0.1 毫克/千克到约 4.5 毫克/千克、约 0.1 毫克/千克到约 0.5 毫克/千克、约 0.5 毫克/千克到约 1.0 毫克/千克、约 1.0 毫克/千克到约 1.5 毫克/千克、约 1.5 毫克/千克到约 2.0 毫克/千克、约 2.0 毫克/千克到约 2.5 毫克/千克、约 2.5 毫克/千克到约 3.0 毫克/千克、约 3.0 毫克/千克到约 3.5 毫克/千克、约 3.5 毫克/千克到约 4.0 毫克/千克或约 4.0 毫克/千克到约 4.5 毫克/千克的量的瑞米凯德剂量，持续所需的治疗持续时间。

一个实施例提供一种使用有效量的复迈、有效量的 IFN- α 、有效量的 IFN- γ 和有效量

的 NS3 抑制剂治疗患者 HCV 感染的方法，其包含对患者每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次、每周 2 次、每周 1 次、每隔一周 1 次、每月 3 次、每月 1 次或每隔一月 1 次或者每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂复迈约 0.1 微克到约 35 毫克、约 0.1 微克到约 1 微克、约 1 微克到约 10 微克、约 10 微克到约 100 微克、约 100 微克到约 1 毫克、约 1 毫克到约 5 毫克、约 5 毫克到约 10 毫克、约 10 毫克到约 15 毫克、约 15 毫克到约 20 毫克、约 20 毫克到约 25 毫克、约 25 毫克到约 30 毫克或约 30 毫克到约 35 毫克的量的复迈剂量，持续所需的治疗持续时间。

与吡非尼酮的组合疗法

在许多实施例中，所述方法提供组合疗法，其包含投与如上文所述的 NS3 抑制剂化合物和有效量的吡非尼酮或吡非尼酮类似物。在一些实施例中，在实施例的治疗方法中，将 NS3 抑制剂化合物、一种或多种干扰素受体激动剂和吡非尼酮或吡非尼酮类似物共投与。在某些实施例中，将 NS3 抑制剂化合物、I 型干扰素受体激动剂和吡非尼酮(或吡非尼酮类似物)共投与。在其它实施例中，将 NS3 抑制剂化合物、I 型干扰素受体激动剂、II 型干扰素受体激动剂和吡非尼酮(或吡非尼酮类似物)共投与。适用于本文中的 I 型干扰素受体激动剂包括任何 IFN- α ，例如干扰素 α -2a、干扰素 α -2b、干复津复合干扰素和聚乙二醇化 IFN- α (例如聚乙二醇化干扰素 α -2a、聚乙二醇化干扰素 α -2b，和聚乙二醇化复合干扰素，例如单聚乙二醇化(30 kD，线性)复合干扰素)。适用于本文中的 II 型干扰素受体激动剂包括任何干扰素- γ 。

吡非尼酮或吡非尼酮类似物可每月投与 1 次、每月 2 次、每月 3 次、每周 1 次、每周 2 次、每周 3 次、每周 4 次、每周 5 次、每周 6 次、每天 1 次，或者以在每日 1 次到每日 5 次范围内的每日分次剂量投与，持续在约 1 天到约 1 周、约 2 周到约 4 周、约 1 个月到约 2 个月、约 2 个月到约 4 个月、约 4 个月到约 6 个月、约 6 个月到约 8 个月、约 8 个月到约 1 年、约 1 年到约 2 年或约 2 年到约 4 年的范围内或更长的时间。

吡非尼酮或具体吡非尼酮类似物的有效剂量包括以每天 1 到 5 次分次剂量经口投与的在约 5 毫克/千克/天到约 125 毫克/千克/天范围内的基于体重的剂量，或者每天约 400 毫克到约 3600 毫克，或每天 800 毫克到约 2400 毫克，或每天约 1000 毫克到约 1800 毫克，或每天约 1200 毫克到约 1600 毫克的固定剂量。适用于治疗纤维化疾病的吡非尼酮和具体吡非尼酮类似物的其它剂量和调配物描述于美国专利第 5,310,562 号、第 5,518,729 号、第 5,716,632 号和第 6,090,822 号中。

一个实施例提供经修改成包括对患者共投与治疗有效量的吡非尼酮或吡非尼酮类似

物持续 NS3 抑制剂化合物治疗的所需疗程持续时间的上述方法中的任一种。

与 TNF- α 拮抗剂的组合疗法

在许多实施例中，所述方法提供组合疗法，其包含投与有效量的如上文所述的 NS3 抑制剂化合物与有效量的 TNF- α 拮抗剂的组合疗法以治疗 HCV 感染。

TNF- α 拮抗剂的有效剂量在每剂 0.1 微克到 40 毫克，例如每剂约 0.1 微克到约 0.5 微克、每剂约 0.5 微克到约 1.0 微克、每剂约 1.0 微克到每剂约 5.0 微克、每剂约 5.0 微克到每剂约 10 微克、每剂约 10 微克到每剂约 20 微克、每剂约 20 微克到每剂约 30 微克、每剂约 30 微克到每剂约 40 微克、每剂约 40 微克到每剂约 50 微克、每剂约 50 微克到每剂约 60 微克、每剂约 60 微克到每剂约 70 微克、每剂约 70 微克到每剂约 80 微克、每剂约 80 微克到每剂约 100 微克、每剂约 100 微克到每剂约 150 微克、每剂约 150 微克到每剂约 200 微克、每剂约 200 微克到每剂约 250 微克、每剂约 250 微克到每剂约 300 微克、每剂约 300 微克到每剂约 400 微克、每剂约 400 微克到每剂约 500 微克、每剂约 500 微克到约 600 微克、每剂约 600 微克到约 700 微克、每剂约 700 微克到约 800 微克、约 800 微克到约 900 微克、每剂约 900 微克到约 1000 微克、每剂约 1 毫克到约 10 毫克、每剂约 10 毫克到约 15 毫克、每剂约 15 毫克到约 20 毫克、每剂约 20 毫克到约 25 毫克、每剂约 25 毫克到约 30 毫克、每剂约 30 毫克到约 35 毫克或约每剂约 35 毫克到约 40 毫克的范围内。

在一些实施例中，TNF- α 拮抗剂的有效剂量是以毫克/千克体重表示。在这些实施例中，TNF- α 拮抗剂的有效剂量为约 0.1 毫克/千克体重到约 10 毫克/千克体重，例如约 0.1 毫克/千克体重到约 0.5 毫克/千克体重、约 0.5 毫克/千克体重到约 1.0 毫克/千克体重、约 1.0 毫克/千克体重到约 2.5 毫克/千克体重、约 2.5 毫克/千克体重到约 5.0 毫克/千克体重、约 5.0 毫克/千克体重到约 7.5 毫克/千克体重或者约 7.5 毫克/千克体重到约 10 毫克/千克体重。

在许多实施例中，将 TNF- α 拮抗剂投与约 1 天到约 7 天，或约 1 周到约 2 周，或约 2 周到约 3 周，或约 3 周到约 4 周，或约 1 个月到约 2 个月，或约 3 个月到约 4 个月，或约 4 个月到约 6 个月，或约 6 个月到约 8 个月，或约 8 个月到约 12 个月，或至少一年，并且可投与更长时间段。TNF- α 拮抗剂可每天 3 次、每天 2 次、每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 2 次、每周 3 次、每周 1 次、每隔一周 1 次、每月 3 次、每月 1 次、实质上连续或连续投与。

在许多实施例中，投与多剂 TNF- α 拮抗剂。举例来说，将 TNF- α 拮抗剂每月 1 次、

每月2次、每月3次、每隔一周1次(qow)、每周1次(qw)、每周2次(biw)、每周3次(tiw)、每周4次、每周5次、每周6次、每隔一天1次(qod)、每天1次(qd)、每天2次(bid)或每天3次(tid)、实质上连续或连续投与，持续约1天到约1周、约2周到约4周、约1个月到约2个月、约2个月到约4个月、约4个月到约6个月、约6个月到约8个月、约8个月到约1年、约1年到约2年或约2年到约4年，或更长的时间。

通常将 TNF- α 拮抗剂和 NS3 抑制剂以单独调配物投与。TNF- α 拮抗剂和 NS3 抑制剂可实质上同时投与，或彼此间隔在约30分钟内、约1小时内、约2小时内、约4小时内、约8小时内、约16小时内、约24小时内、约36小时内、约72小时内、约4天内、约7天内或约2周内投与。

一个实施例提供一种使用有效量的 TNF- α 拮抗剂和有效量的 NS3 抑制剂治疗患者 HCV 感染的方法，其包含对患者每天1次、每隔一天1次、每周3次或每周2次或者每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂 TNF- α 拮抗剂约0.1微克到约40毫克的量的 TNF- α 拮抗剂剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

一个实施例提供一种使用有效量的恩博和有效量的 NS3 抑制剂治疗患者 HCV 感染的方法，其包含对患者每天1次、每隔一天1次、每周3次、每周2次、每周1次、每隔一周1次、每月3次、每月1次或每隔一月1次或者每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂恩博约0.1微克到约23毫克、约0.1微克到约1微克、约1微克到约10微克、约10微克到约100微克、约100微克到约1毫克、约1毫克到约5毫克、约5毫克到约10毫克、约10毫克到约15毫克、约15毫克到约20毫克或约20毫克到约23毫克的量的恩博剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

一个实施例提供一种使用有效量的瑞米凯德和有效量的 NS3 抑制剂治疗患者 HCV 感染的方法，其包含对患者每天1次、每隔一天1次、每周3次、每周2次、每周1次、每隔一周1次、每月3次、每月1次或每隔一月1次或者每天实质上连续或连续经静脉内投与含有每剂瑞米凯德约0.1毫克/千克到约4.5毫克/千克、约0.1毫克/千克到约0.5毫克/千克、约0.5毫克/千克到约1.0毫克/千克、约1.0毫克/千克到约1.5毫克/千克、约1.5毫克/千克到约2.0毫克/千克、约2.0毫克/千克到约2.5毫克/千克、约2.5毫克/千克到约3.0毫克/千克、约3.0毫克/千克到约3.5毫克/千克、约3.5毫克/千克到约4.0毫克/千克或约4.0毫克/千克到约4.5毫克/千克的量的瑞米凯德剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

一个实施例提供一种使用有效量的复迈和有效量的 NS3 抑制剂治疗患者 HCV 感染

的方法，其包含对患者每天1次、每隔一天1次、每周3次、每周2次、每周1次、每隔一周1次、每月3次、每月1次或每隔一月1次或者每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂复迈约0.1微克到约35毫克、约0.1微克到约1微克、约1微克到约10微克、约10微克到约100微克、约100微克到约1毫克、约1毫克到约5毫克、约5毫克到约10毫克、约10毫克到约15毫克、约15毫克到约20毫克、约20毫克到约25毫克、约25毫克到约30毫克或约30毫克到约35毫克的量的复迈剂量，持续用NS3抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

与胸腺肽- α 的组合疗法

在许多实施例中，所述方法提供组合疗法，其包含投与有效量的如上文所述的NS3抑制剂化合物与有效量的胸腺肽- α 的组合疗法以治疗HCV感染。

胸腺肽- α 的有效剂量在约0.5毫克到约5毫克，例如约0.5毫克到约1.0毫克、约1.0毫克到约1.5毫克、约1.5毫克到约2.0毫克、约2.0毫克到约2.5毫克、约2.5毫克到约3.0毫克、约3.0毫克到约3.5毫克、约3.5毫克到约4.0毫克、约4.0毫克到约4.5毫克或约4.5毫克到约5.0毫克的范围内。在特定实施例中，胸腺肽- α 是以含有1.0毫克或1.6毫克量的剂量投与。

一个实施例提供一种使用有效量的日达仙(ZADAXIN™)胸腺肽- α 和有效量的NS3抑制剂治疗患者HCV感染的方法，其包含对患者每周2次经皮下投与含有每剂约1.0毫克到约1.6毫克的量的日达仙剂量，持续用NS3抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

与TNF- α 拮抗剂和干扰素的组合疗法

一些实施例提供一种治疗感染HCV的个体的HCV感染的方法，所述方法包含投与有效量的NS3抑制剂和有效量的TNF- α 拮抗剂以及有效量的一种或多种干扰素。

一个实施例提供经修改成使用有效量的IFN- γ 和有效量的TNF- α 拮抗剂治疗患者HCV感染的上述方法中的任一种，其包含对患者每天1次、每隔一天1次、每周3次、每周2次、每周1次、每隔一周1次、每月3次、每月1次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂IFN- γ 约10微克到约300微克药物的量的IFN- γ 剂量，并且每天1次、每隔一天1次、每周3次或每周2次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂TNF- α 拮抗剂约0.1微克到约40毫克的量的TNF- α 拮抗剂剂量，持续用NS3抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

一个实施例提供经修改成使用有效量的IFN- γ 和有效量的TNF- α 拮抗剂治疗患者HCV感染的上述方法中的任一种，其包含对患者每天1次、每隔一天1次、每周3次、

每周 2 次、每周 1 次、每隔一周 1 次、每月 3 次、每月 1 次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂 IFN- γ 约 10 微克到约 100 微克药物的量的 IFN- γ 剂量,并且每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次或每周 2 次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂 TNF- α 拮抗剂约 0.1 微克到约 40 毫克的量的 TNF- α 拮抗剂剂量,持续用 NS3 抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

另一实施例提供经修改成使用有效量的 IFN- γ 和有效量的 TNF- α 拮抗剂治疗患者病毒感染的上述方法中的任一种,其包含对患者以分次剂量每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次、每周 2 次经皮下投与或实质上连续或连续投与含有每周约 30 微克到约 1,000 微克药物的量的 IFN- γ 每周总剂量,并且每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次或每周 2 次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂 TNF- α 拮抗剂约 0.1 微克到约 40 毫克的量的 TNF- α 拮抗剂剂量,持续用 NS3 抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

另一实施例提供经修改成使用有效量的 IFN- γ 和有效量的 TNF- α 拮抗剂治疗患者病毒感染的上述方法中的任一种,其包含对患者以分次剂量每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次、每周 2 次经皮下投与或实质上连续或连续投与含有每周约 100 微克到约 300 微克药物的量的 IFN- γ 每周总剂量,并且每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次或每周 2 次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂 TNF- α 拮抗剂约 0.1 微克到约 40 毫克的量的 TNF- α 拮抗剂剂量,持续用 NS3 抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

一个实施例提供经修改成使用有效量的干复津复合 IFN- α 和 TNF- α 拮抗剂治疗患者 HCV 感染的上述方法中的任一种,其包含对患者每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次、每周 2 次、每周 1 次、每隔一周 1 次、每月 3 次、每月 1 次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂干复津约 1 微克到约 30 微克药物的量的干复津剂量,并且每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次或每周 2 次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂 TNF- α 拮抗剂约 0.1 微克到约 40 毫克的量的 TNF- α 拮抗剂剂量,持续用 NS3 抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

一个实施例提供经修改成使用有效量的干复津复合 IFN- α 和 TNF- α 拮抗剂治疗患者 HCV 感染的上述方法中的任一种,其包含对患者每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次、每周 2 次、每周 1 次、每隔一周 1 次、每月 3 次、每月 1 次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂干复津约 1 微克到约 9 微克药物的量的干复津剂量,并且每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次或每周 2 次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂 TNF- α 拮抗剂约 0.1 微克到约 40 毫克的量的 TNF- α 拮抗剂剂量,持续用 NS3 抑制剂化合物治

疗所需的持续时间。

另一实施例提供经修改成使用有效量的聚乙二醇化复合 IFN- α 和有效量的 TNF- α 拮抗剂治疗患者病毒感染的上述方法中的任一种，其包含对患者每周 1 次、每隔一周 1 次、每月 3 次或每月 1 次经皮下投与含有每剂聚乙二醇化复合 IFN- α (PEG-CIFN)约 4 微克到约 60 微克 CIFN 氨基酸重量的量的 PEG-CIFN 剂量，并且每天 1 次、每隔一天、每周 3 次或每周 2 次或者每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂 TNF- α 拮抗剂约 0.1 微克到约 40 毫克的量的 TNF- α 拮抗剂剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

另一实施例提供经修改成使用有效量的聚乙二醇化复合 IFN- α 和有效量的 TNF- α 拮抗剂治疗患者病毒感染的上述方法中的任一种，其包含对患者每周 1 次、每隔一周 1 次、每月 3 次或每月 1 次经皮下投与含有每剂聚乙二醇化复合 IFN- α (PEG-CIFN)约 18 微克到约 24 微克 CIFN 氨基酸重量的量的 PEG-CIFN 剂量，并且每天 1 次、每隔一天、每周 3 次或每周 2 次或者每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂 TNF- α 拮抗剂约 0.1 微克到约 40 毫克的量的 TNF- α 拮抗剂剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

另一实施例提供经修改成使用有效量的 IFN- α 2a 或 2b 或 2c 和有效量的 TNF- α 拮抗剂治疗患者病毒感染的上述方法中的任一种，其包含对患者每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次、每周 2 次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂 IFN- α 2a、2b 或 2c 约 1 MU 到约 20 MU 药物的量的 IFN- α 2a、2b 或 2c 剂量，并且每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次或每周 2 次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂 TNF- α 拮抗剂约 0.1 微克到约 40 毫克的量的 TNF- α 拮抗剂剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

另一实施例提供经修改成使用有效量的 IFN- α 2a 或 2b 或 2c 和有效量的 TNF- α 拮抗剂治疗患者病毒感染的上述方法中的任一种，其包含对患者每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次、每周 2 次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂 IFN- α 2a、2b 或 2c 约 3 MU 药物的量的 IFN- α 2a、2b 或 2c 剂量，并且每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次或每周 2 次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂 TNF- α 拮抗剂约 0.1 微克到约 40 毫克的量的 TNF- α 拮抗剂剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

另一实施例提供经修改成使用有效量的 IFN- α 2a 或 2b 或 2c 和有效量的 TNF- α 拮抗剂治疗患者病毒感染的上述方法中的任一种，其包含对患者每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次、每周 2 次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂 IFN- α 2a、2b 或 2c 约 10 MU 药物的量的 IFN- α 2a、2b 或 2c 剂量，并且每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3

次或每周 2 次或每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂 TNF- α 拮抗剂约 0.1 微克到约 40 毫克的量的 TNF- α 拮抗剂剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

另一实施例提供经修改成使用有效量的派罗欣聚乙二醇化 IFN- α 2a 和有效量的 TNF- α 拮抗剂治疗患者病毒感染的上述方法中的任一种，其包含对患者每周 1 次、每隔一周 1 次、每月 3 次或每月 1 次经皮下投与含有每剂派罗欣约 90 微克到约 360 微克药物的量的派罗欣剂量，并且每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次或每周 2 次或者每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂 TNF- α 拮抗剂约 0.1 微克到约 40 毫克的量的 TNF- α 拮抗剂剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

另一实施例提供经修改成使用有效量的派罗欣聚乙二醇化 IFN- α 2a 和有效量的 TNF- α 拮抗剂治疗患者病毒感染的上述方法中的任一种，其包含对患者每周 1 次、每隔一周 1 次、每月 3 次或每月 1 次经皮下投与含有每剂派罗欣约 180 微克药物的量的派罗欣剂量，并且每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次或每周 2 次或者每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂 TNF- α 拮抗剂约 0.1 微克到约 40 毫克的量的 TNF- α 拮抗剂剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

另一实施例提供经修改成使用有效量的佩乐能聚乙二醇化 IFN- α 2b 和有效量的 TNF- α 拮抗剂治疗患者病毒感染的上述方法中的任一种，其包含对患者每周 1 次、每隔一周 1 次、每月 3 次或每月 1 次经皮下投与含有每剂佩乐能每千克体重约 0.75 微克到约 3.0 微克药物的量的佩乐能剂量，并且每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次或每周 2 次或者每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂 TNF- α 拮抗剂约 0.1 微克到约 40 毫克的量的 TNF- α 拮抗剂剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

另一实施例提供经修改成使用有效量的佩乐能聚乙二醇化 IFN- α 2b 和有效量的 TNF- α 拮抗剂治疗患者病毒感染的上述方法中的任一种，其包含对患者每周 1 次、每隔一周 1 次、每月 3 次或每月 1 次经皮下投与含有每剂佩乐能每千克体重约 1.5 微克药物的量的佩乐能剂量，并且每天 1 次、每隔一天 1 次、每周 3 次或每周 2 次或者每天实质上连续或连续经皮下投与含有每剂 TNF- α 拮抗剂约 0.1 微克到约 40 毫克的量的 TNF- α 拮抗剂剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物治疗所需的持续时间。

与其它抗病毒剂的组合疗法

其它药剂(例如 HCV NS3 解旋酶抑制剂)也是有吸引力的组合疗法药物，并且预期可用于本文所述的组合疗法中。与 HCV 蛋白质序列互补并且抑制病毒核心蛋白表达的核酶(例如 Heptazyme™)和硫代磷酸寡核苷酸也适用于本文所述的组合疗法中。

在一些实施例中，在用本文所述的 NS3 抑制剂化合物治疗的整个过程中投与额外抗病毒剂，并且治疗时期的开始和结束同时发生。在其它实施例中，将额外抗病毒剂投与一段与 NS3 抑制剂化合物治疗重叠的时间，例如，额外抗病毒剂的治疗在 NS3 抑制剂化合物治疗开始前开始并且在 NS3 抑制剂化合物治疗结束前结束；额外抗病毒剂的治疗在 NS3 抑制剂化合物治疗后开始并且在 NS3 抑制剂化合物治疗结束后结束；额外抗病毒剂的治疗在 NS3 抑制剂化合物治疗开始后开始并且在 NS3 抑制剂化合物治疗结束前结束；或者额外抗病毒剂的治疗在 NS3 抑制剂化合物治疗开始前开始并且在 NS3 抑制剂化合物治疗结束后结束。

可将 NS3 抑制剂化合物与一种或多种额外抗病毒剂一起投与(即，以单独调配物同时；以同一调配物同时；以单独调配物并且在约 48 小时内、约 36 小时内、约 24 小时内、约 16 小时内、约 12 小时内、约 8 小时内、约 4 小时内、约 2 小时内、约 1 小时内、约 30 分钟内或约 15 分钟内或更短时间内投与)。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 方案的上述方法中的任一种可修改成用单聚乙二醇化(30 kD，线性)复合 IFN- α 方案替代本发明的 IFN- α 方案，所述单聚乙二醇化(30 kD，线性)复合 IFN- α 方案包含每周 1 次、每 8 天 1 次或每 10 天 1 次经皮下投与含有每剂 100 微克药物的量的单聚乙二醇化(30 kD，线性)复合 IFN- α 剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 方案的上述方法中的任一种可修改成用单聚乙二醇化(30 kD，线性)复合 IFN- α 方案替代本发明的 IFN- α 方案，所述单聚乙二醇化(30 kD，线性)复合 IFN- α 方案包含每周 1 次、每 8 天 1 次或每 10 天 1 次经皮下投与含有每剂 150 微克药物的量的单聚乙二醇化(30 kD，线性)复合 IFN- α 剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 方案的上述方法中的任一种可修改成用单聚乙二醇化(30 kD，线性)复合 IFN- α 方案替代本发明的 IFN- α 方案，所述单聚乙二醇化(30 kD，线性)复合 IFN- α 方案包含每周 1 次、每 8 天 1 次或每 10 天 1 次经皮下投与含有每剂 200 微克药物的量的单聚乙二醇化(30 kD，线性)复合 IFN- α 剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 方案的上述方法中的任一种可修改成用干复津复合干扰素方案替代本发明的 IFN- α 方案，所述干复津复合干扰素方案包含每天 1 次或每周 3 次经皮下投与含有每剂 9 微克药物的量的干复津复合干扰素剂量，持续用 NS3 抑制剂化

合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 方案的上述方法中的任一种可修改成用于复津复合干扰素方案替代本发明的 IFN- α 方案，所述干复津复合干扰素方案包含每天 1 次或每周 3 次经皮下投与含有每剂 15 微克药物的量的干复津复合干扰素剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- γ 方案的上述方法中的任一种可修改成用一种 IFN- γ 方案替代本发明的 IFN- γ 方案，所述 IFN- γ 方案包含每周 3 次经皮下投与含有每剂 25 微克药物的量的 IFN- γ 剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- γ 方案的上述方法中的任一种可修改成用一种 IFN- γ 方案替代本发明的 IFN- γ 方案，所述 IFN- γ 方案包含每周 3 次经皮下投与含有每剂 50 微克药物的量的 IFN- γ 剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- γ 方案的上述方法中的任一种可修改成用一种 IFN- γ 方案替代本发明的 IFN- γ 方案，所述 IFN- γ 方案包含每周 3 次经皮下投与含有每剂 100 微克药物的量的 IFN- γ 剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案的上述方法中的任一种可修改成用一种 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案替代本发明的 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案，所述 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案包含：(a)每周 1 次、每 8 天 1 次或每 10 天 1 次经皮下投与含有每剂 100 微克药物的量的单聚乙二醇化(30 kD，线性)复合 IFN- α 剂量；和(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 50 微克药物的量的 IFN- γ 剂量；持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 TNF 拮抗剂方案的上述方法中的任一种可修改成用一种 TNF 拮抗剂方案替代本发明的 TNF 拮抗剂方案，所述 TNF 拮抗剂方案包含投与选自由以下组成的群组的 TNF 拮抗剂剂量：(a)每周 2 次经皮下投与的每剂 25 毫克药物的量的依那西普(etanercept)；(b)第 0、2 和 6 周且此后每 8 周一次经静脉内投与的每剂每千克体重 3 毫克药物的量的因福利美(infliximab)；或(c)每周 1 次或每 2 周 1 次经皮下投与的每剂 40 毫克药物的量的阿达木单抗(adalimumab)；持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案的上述方法中的任一种可修改成用一种 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案替代本发明的 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案，所述 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案包含：(a)每周 1 次、每 8 天 1 次或每 10 天 1 次经皮下投与含有每剂 100 微克药物的量的单聚乙二醇化(30 kD，线性)复合 IFN- α 剂量；和(b)每周 3 次经皮下投与

含有每剂 100 微克药物的量的 IFN- γ 剂量；持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案的上述方法中的任一种可修改成用一种 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案替代本发明的 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案，所述 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案包含：(a)每周 1 次、每 8 天 1 次或每 10 天 1 次经皮下投与含有每剂 150 微克药物的量的单聚乙二醇化(30 kD，线性)复合 IFN- α 剂量；和(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 50 微克药物的量的 IFN- γ 剂量；持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案的上述方法中的任一种可修改成用一种 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案替代本发明的 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案，所述 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案包含：(a)每周 1 次、每 8 天 1 次或每 10 天 1 次经皮下投与含有每剂 150 微克药物的量的单聚乙二醇化(30 kD，线性)复合 IFN- α 剂量；和(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 100 微克药物的量的 IFN- γ 剂量；持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案的上述方法中的任一种可修改成用一种 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案替代本发明的 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案，所述 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案包含：(a)每周 1 次、每 8 天 1 次或每 10 天 1 次经皮下投与含有每剂 200 微克药物的量的单聚乙二醇化(30 kD，线性)复合 IFN- α 剂量；和(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 50 微克药物的量的 IFN- γ 剂量；持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案的上述方法中的任一种可修改成用一种 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案替代本发明的 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案，所述 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案包含：(a)每周 1 次、每 8 天 1 次或每 10 天 1 次经皮下投与含有每剂 200 微克药物的量的单聚乙二醇化(30 kD，线性)复合 IFN- α 剂量；和(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 100 微克药物的量的 IFN- γ 剂量；持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案的上述方法中的任一种可修改成用一种 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案替代本发明的 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案，所述 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案包含：(a)每周 3 次经皮下投与含有每剂 9 微克药物的量的干复津复合干扰素剂量；和(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 25 微克药物的量的 IFN- γ 剂量；持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案的上述方法中的任一种可修改成

用一种 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案替代本发明的 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案，所述 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案包含：(a)每周 3 次经皮下投与含有每剂 9 微克药物的量的干复津复合干扰素剂量；和(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 50 微克药物的量的 IFN- γ 剂量；持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案的上述方法中的任一种可修改成用一种 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案替代本发明的 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案，所述 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案包含：(a)每周 3 次经皮下投与含有每剂 9 微克药物的量的干复津复合干扰素剂量；和(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 100 微克药物的量的 IFN- γ 剂量；持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案的上述方法中的任一种可修改成用一种 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案替代本发明的 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案，所述 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案包含：(a)每天 1 次经皮下投与含有每剂 9 微克药物的量的干复津复合干扰素剂量；和(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 25 微克药物的量的 IFN- γ 剂量；持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案的上述方法中的任一种可修改成用一种 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案替代本发明的 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案，所述 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案包含：(a)每天 1 次经皮下投与含有每剂 9 微克药物的量的干复津复合干扰素剂量；和(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 50 微克药物的量的 IFN- γ 剂量；持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案的上述方法中的任一种可修改成用一种 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案替代本发明的 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案，所述 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案包含：(a)每天 1 次经皮下投与含有每剂 9 微克药物的量的干复津复合干扰素剂量；和(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 100 微克药物的量的 IFN- γ 剂量；持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案的上述方法中的任一种可修改成用一种 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案替代本发明的 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案，所述 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案包含：(a)每周 3 次经皮下投与含有每剂 15 微克药物的量的干复津复合干扰素剂量；和(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 25 微克药物的量的 IFN- γ 剂量；持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案的上述方法中的任一种可修改成

用一种 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案替代本发明的 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案, 所述 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案包含: (a)每周 3 次经皮下投与含有每剂 15 微克药物的量的干复津复合干扰素剂量; 和(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 50 微克药物的量的 IFN- γ 剂量; 持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例, 包括 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案的上述方法中的任一种可修改成用一种 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案替代本发明的 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案, 所述 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案包含: (a)每周 3 次经皮下投与含有每剂 15 微克药物的量的干复津复合干扰素剂量; 和(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 100 微克药物的量的 IFN- γ 剂量; 持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例, 包括 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案的上述方法中的任一种可修改成用一种 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案替代本发明的 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案, 所述 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案包含: (a)每天 1 次经皮下投与含有每剂 15 微克药物的量的干复津复合干扰素剂量; 和(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 25 微克药物的量的 IFN- γ 剂量; 持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例, 包括 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案的上述方法中的任一种可修改成用一种 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案替代本发明的 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案, 所述 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案包含: (a)每天 1 次经皮下投与含有每剂 15 微克药物的量的干复津复合干扰素剂量; 和(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 50 微克药物的量的 IFN- γ 剂量; 持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例, 包括 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案的上述方法中的任一种可修改成用一种 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案替代本发明的 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案, 所述 IFN- α 和 IFN- γ 组合方案包含: (a)每天 1 次经皮下投与含有每剂 15 微克药物的量的干复津复合干扰素剂量; 和(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 100 微克药物的量的 IFN- γ 剂量; 持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例, 包括 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案的上述方法中的任一种可修改成用一种 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案替代本发明的 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案, 所述 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案包含: (a)每周 1 次、每 8 天 1 次或每 10 天 1 次经皮下投与含有每剂 100 微克药物的量的单聚乙二醇化(30 kD, 线性)复合 IFN- α 剂量; (b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 100 微克药物的量的 IFN- γ 剂量; 和(c)投与选自以下的 TNF 拮抗剂剂量: (i)每周 2 次经皮下投与的 25 毫克量的依那西普,

(ii)第 0、2 和 6 周且此后每 8 周一次经静脉内投与的每千克体重 3 毫克药物的量的因福利美,或(iii)每周 1 次或每隔一周 1 次经皮下投与的 40 毫克量的阿达木单抗;持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例,包括 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案的上述方法中的任何一种可修改成用一种 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案替代本发明的 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案,所述 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案包含:(a)每周 1 次、每 8 天 1 次或每 10 天 1 次经皮下投与含有每剂 100 微克药物的量的单聚乙二醇化(30 kD, 线性)复合 IFN- α 剂量;(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 50 微克药物的量的 IFN- γ 剂量;和(c)投与选自以下的 TNF 拮抗剂剂量:(i)每周 2 次经皮下投与的 25 毫克量的依那西普,(ii)第 0、2 和 6 周且此后每 8 周一次经静脉内投与的每千克体重 3 毫克药物的量的因福利美,或(iii)每周 1 次或每隔一周 1 次经皮下投与的 40 毫克量的阿达木单抗;持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例,包括 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案的上述方法中的任何一种可修改成用一种 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案替代本发明的 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案,所述 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案包含:(a)每周 1 次、每 8 天 1 次或每 10 天 1 次经皮下投与含有每剂 150 微克药物的量的单聚乙二醇化(30 kD, 线性)复合 IFN- α 剂量;(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 50 微克药物的量的 IFN- γ 剂量;和(c)投与选自以下的 TNF 拮抗剂剂量:(i)每周 2 次经皮下投与的 25 毫克量的依那西普,(ii)第 0、2 和 6 周且此后每 8 周一次经静脉内投与的每千克体重 3 毫克药物的量的因福利美,或(iii)每周 1 次或每隔一周 1 次经皮下投与的 40 毫克量的阿达木单抗;持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例,包括 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案的上述方法中的任何一种可修改成用一种 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案替代本发明的 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案,所述 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案包含:(a)每周 1 次、每 8 天 1 次或每 10 天 1 次经皮下投与含有每剂 150 微克药物的量的单聚乙二醇化(30 kD, 线性)复合 IFN- α 剂量;(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 100 微克药物的量的 IFN- γ 剂量;和(c)投与选自以下的 TNF 拮抗剂剂量:(i)每周 2 次经皮下投与的 25 毫克量的依那西普,(ii)第 0、2 和 6 周且此后每 8 周一次经静脉内投与的每千克体重 3 毫克药物的量的因福利美,或(iii)每周 1 次或每隔一周 1 次经皮下投与的 40 毫克量的阿达木单抗;持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案的上述方法中的任何一种可修改成用一种 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案替代本发明的 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案，所述 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案包含：(a)每周 1 次、每 8 天 1 次或每 10 天 1 次经皮下投与含有每剂 200 微克药物的量的单聚乙二醇化(30 kD，线性)复合 IFN- α 剂量；(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 50 微克药物的量的 IFN- γ 剂量；和(c)投与选自以下的 TNF 拮抗剂剂量：(i)每周 2 次经皮下投与的 25 毫克量的依那西普，(ii)第 0、2 和 6 周且此后每 8 周一次经静脉内投与的每千克体重 3 毫克药物的量的因福利美，或(iii)每周 1 次或每隔一周 1 次经皮下投与的 40 毫克量的阿达木单抗；持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案的上述方法中的任何一种可修改成用一种 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案替代本发明的 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案，所述 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案包含：(a)每周 1 次、每 8 天 1 次或每 10 天 1 次经皮下投与含有每剂 200 微克药物的量的单聚乙二醇化(30 kD，线性)复合 IFN- α 剂量；(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 100 微克药物的量的 IFN- γ 剂量；和(c)投与选自以下的 TNF 拮抗剂剂量：(i)每周 2 次经皮下投与的 25 毫克量的依那西普，(ii)第 0、2 和 6 周且此后每 8 周一次经静脉内投与的每千克体重 3 毫克药物的量的因福利美，或(iii)每周 1 次或每隔一周 1 次经皮下投与的 40 毫克量的阿达木单抗；持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案的上述方法中的任何一种可修改成用一种 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案替代本发明的 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案，所述 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案包含：(a)每周 3 次经皮下投与含有每剂 9 微克药物的量的干复津复合干扰素剂量；(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 25 微克药物的量的 IFN- γ 剂量；和(c)投与选自以下的 TNF 拮抗剂剂量：(i)每周 2 次经皮下投与的 25 毫克量的依那西普，(ii)第 0、2 和 6 周且此后每 8 周一次经静脉内投与的每千克体重 3 毫克药物的量的因福利美，或(iii)每周 1 次或每隔一周 1 次经皮下投与的 40 毫克量的阿达木单抗；持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案的上述方法中的任何一种可修改成用一种 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案替代本发明的 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案，所述 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案包含：(a)每周 3 次经皮下投与含有每剂 9 微克药物的量的干复津复合干扰素剂量；(b)每周 3 次经皮下投与含

有每剂 50 微克药物的量的 IFN- γ 剂量；和(c)投与选自以下的 TNF 拮抗剂剂量：(i)每周 2 次经皮下投与的 25 毫克量的依那西普，(ii)第 0、2 和 6 周且此后每 8 周一次经静脉内投与的每千克体重 3 毫克药物的量的因福利美，或(iii)每周 1 次或每隔一周 1 次经皮下投与的 40 毫克量的阿达木单抗；持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案的上述方法中的任何一种可修改成用一种 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案替代本发明的 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案，所述 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案包含：(a)每周 3 次经皮下投与含有每剂 9 微克药物的量的干复津复合干扰素剂量；(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 100 微克药物的量的 IFN- γ 剂量；和(c)投与选自以下的 TNF 拮抗剂剂量：(i)每周 2 次经皮下投与的 25 毫克量的依那西普，(ii)第 0、2 和 6 周且此后每 8 周一次经静脉内投与的每千克体重 3 毫克药物的量的因福利美，或(iii)每周 1 次或每隔一周 1 次经皮下投与的 40 毫克量的阿达木单抗；持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案的上述方法中的任何一种可修改成用一种 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案替代本发明的 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案，所述 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案包含：(a)每天 1 次经皮下投与含有每剂 9 微克药物的量的干复津复合干扰素剂量；(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 25 微克药物的量的 IFN- γ 剂量；和(c)投与选自以下的 TNF 拮抗剂剂量：(i)每周 2 次经皮下投与的 25 毫克量的依那西普，(ii)第 0、2 和 6 周且此后每 8 周一次经静脉内投与的每千克体重 3 毫克药物的量的因福利美，或(iii)每周 1 次或每隔一周 1 次经皮下投与的 40 毫克量的阿达木单抗；持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案的上述方法中的任何一种可修改成用一种 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案替代本发明的 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案，所述 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案包含：(a)每天 1 次经皮下投与含有每剂 9 微克药物的量的干复津复合干扰素剂量；(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 50 微克药物的量的 IFN- γ 剂量；和(c)投与选自以下的 TNF 拮抗剂剂量：(i)每周 2 次经皮下投与的 25 毫克量的依那西普，(ii)第 0、2 和 6 周且此后每 8 周一次经静脉内投与的每千克体重 3 毫克药物的量的因福利美，或(iii)每周 1 次或每隔一周 1 次经皮下投与的 40 毫克量的阿达木单抗；持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案的上述方法中的任何一种可修改成用一种 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案替代本发明的 IFN- α 、IFN- γ 和

TNF 拮抗剂组合方案，所述 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案包含：(a)每天 1 次经皮下投与含有每剂 9 微克药物的量的干复津复合干扰素剂量；(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 100 微克药物的量的 IFN- γ 剂量；和(c)投与选自以下的 TNF 拮抗剂剂量：(i)每周 2 次经皮下投与的 25 毫克量的依那西普，(ii)第 0、2 和 6 周且此后每 8 周一次经静脉内投与的每千克体重 3 毫克药物的量的因福利美，或(iii)每周 1 次或每隔一周 1 次经皮下投与的 40 毫克量的阿达木单抗；持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案的上述方法中的任何一种可修改成用一种 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案替代本发明的 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案，所述 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案包含：(a)每周 3 次经皮下投与含有每剂 15 微克药物的量的干复津复合干扰素剂量；(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 25 微克药物的量的 IFN- γ 剂量；和(c)投与选自以下的 TNF 拮抗剂剂量：(i)每周 2 次经皮下投与的 25 毫克量的依那西普，(ii)第 0、2 和 6 周且此后每 8 周一次经静脉内投与的每千克体重 3 毫克药物的量的因福利美，或(iii)每周 1 次或每隔一周 1 次经皮下投与的 40 毫克量的阿达木单抗；持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案的上述方法中的任何一种可修改成用一种 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案替代本发明的 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案，所述 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案包含：(a)每周 3 次经皮下投与含有每剂 15 微克药物的量的干复津复合干扰素剂量；(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 50 微克药物的量的 IFN- γ 剂量；和(c)投与选自以下的 TNF 拮抗剂剂量：(i)每周 2 次经皮下投与的 25 毫克量的依那西普，(ii)第 0、2 和 6 周且此后每 8 周一次经静脉内投与的每千克体重 3 毫克药物的量的因福利美，或(iii)每周 1 次或每隔一周 1 次经皮下投与的 40 毫克量的阿达木单抗；持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案的上述方法中的任何一种可修改成用一种 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案替代本发明的 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案，所述 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案包含：(a)每周 3 次经皮下投与含有每剂 15 微克药物的量的干复津复合干扰素剂量；(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 100 微克药物的量的 IFN- γ 剂量；和(c)投与选自以下的 TNF 拮抗剂剂量：(i)每周 2 次经皮下投与的 25 毫克量的依那西普，(ii)第 0、2 和 6 周且此后每 8 周一次经静脉内投与的每千克体重 3 毫克药物的量的因福利美，或(iii)每周 1 次或每隔一周 1 次经皮下投与的 40 毫克量的阿达木单抗；持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案的上述方法中的任何一种可修改成用一种 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案替代本发明的 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案，所述 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案包含：(a)每天 1 次经皮下投与含有每剂 15 微克药物的量的干复津复合干扰素剂量；(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 25 微克药物的量的 IFN- γ 剂量；和(c)投与选自以下的 TNF 拮抗剂剂量：(i)每周 2 次经皮下投与的 25 毫克量的依那西普，(ii)第 0、2 和 6 周且此后每 8 周一次经静脉内投与的每千克体重 3 毫克药物的量的因福利美，或(iii)每周 1 次或每隔一周 1 次经皮下投与的 40 毫克量的阿达木单抗；持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案的上述方法中的任何一种可修改成用一种 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案替代本发明的 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案，所述 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案包含：(a)每天 1 次经皮下投与含有每剂 15 微克药物的量的干复津复合干扰素剂量；(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 50 微克药物的量的 IFN- γ 剂量；和(c)投与选自以下的 TNF 拮抗剂剂量：(i)每周 2 次经皮下投与的 25 毫克量的依那西普，(ii)第 0、2 和 6 周且此后每 8 周一次经静脉内投与的每千克体重 3 毫克药物的量的因福利美，或(iii)每周 1 次或每隔一周 1 次经皮下投与的 40 毫克量的阿达木单抗；持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案的上述方法中的任何一种可修改成用一种 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案替代本发明的 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案，所述 IFN- α 、IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案包含：(a)每天 1 次经皮下投与含有每剂 15 微克药物的量的干复津复合干扰素剂量；(b)每周 3 次经皮下投与含有每剂 100 微克药物的量的 IFN- γ 剂量；和(c)投与选自以下的 TNF 拮抗剂剂量：(i)每周 2 次经皮下投与的 25 毫克量的依那西普，(ii)第 0、2 和 6 周且此后每 8 周一次经静脉内投与的每千克体重 3 毫克药物的量的因福利美，或(iii)每周 1 次或每隔一周 1 次经皮下投与的 40 毫克量的阿达木单抗；持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 IFN- α 和 TNF 拮抗剂组合方案的上述方法中的任何一种可修改成用一种 IFN- α 和 TNF 拮抗剂组合方案替代本发明的 IFN- α 和 TNF 拮抗剂组合方案，所述 IFN- α 和 TNF 拮抗剂组合方案包含：(a)每周 1 次、每 8 天 1 次或每 10 天 1 次经皮下投与含有每剂 100 微克药物的量的单聚乙二醇化(30 kD，线性)复合 IFN- α 剂量；和(b)投与选自以下的 TNF 拮抗剂剂量：(i)每周 2 次经皮下投与的 25 毫克量的依那西普，(ii)第 0、2 和 6 周且此后每 8 周一次经静脉内投与的每千克体重 3 毫克药物的量的因福利美，

或(iii)每周1次或每隔一周1次经皮下投与的40毫克量的阿达木单抗；持续用NS3抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括IFN- α 和TNF拮抗剂组合方案的上述方法中的任一种可修改成用一种IFN- α 和TNF拮抗剂组合方案替代本发明的IFN- α 和TNF拮抗剂组合方案，所述IFN- α 和TNF拮抗剂组合方案包含：(a)每周1次、每8天1次或每10天1次经皮下投与含有每剂150微克药物的量的单聚乙二醇化(30 kD，线性)复合IFN- α 剂量；(b)投与选自以下的TNF拮抗剂剂量：(i)每周2次经皮下投与的25毫克量的依那西普，(ii)第0、2和6周且此后每8周一次经静脉内投与的每千克体重3毫克药物的量的因福利美，或(iii)每周1次或每隔一周1次经皮下投与的40毫克量的阿达木单抗；持续用NS3抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括IFN- α 和TNF拮抗剂组合方案的上述方法中的任一种可修改成用一种IFN- α 和TNF拮抗剂组合方案替代本发明的IFN- α 和TNF拮抗剂组合方案，所述IFN- α 和TNF拮抗剂组合方案包含：(a)每周1次、每8天1次或每10天1次经皮下投与含有每剂200微克药物的量的单聚乙二醇化(30 kD，线性)复合IFN- α 剂量；和(b)投与选自以下的TNF拮抗剂剂量：(i)每周2次经皮下投与的25毫克量的依那西普，(ii)第0、2和6周且此后每8周一次经静脉内投与的每千克体重3毫克药物的量的因福利美，或(iii)每周1次或每隔一周1次经静脉内投与的40毫克剂量的阿达木单抗；持续达用NS3抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括IFN- α 和TNF拮抗剂组合方案的上述方法中的任一种可修改成用一种IFN- α 和TNF拮抗剂组合方案替代本发明的IFN- α 和TNF拮抗剂组合方案，所述IFN- α 和TNF拮抗剂组合方案包含：(a)每天1次或每周3次经皮下投与含有每剂9微克药物的量的干复津复合干扰素剂量；和(b)投与选自以下的TNF拮抗剂剂量：(i)每周2次经皮下投与的25毫克量的依那西普，(ii)第0、2和6周且此后每8周一次经静脉内投与的每千克体重3毫克药物的量的因福利美，或(iii)每周1次或每隔一周1次经皮下投与的40毫克量的阿达木单抗；持续用NS3抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括IFN- α 和TNF拮抗剂组合方案的上述方法中的任一种可修改成用一种IFN- α 和TNF拮抗剂组合方案替代本发明的IFN- α 和TNF拮抗剂组合方案，所述IFN- α 和TNF拮抗剂组合方案包含：(a)每天1次或每周3次经皮下投与含有每剂15微克药物的量的干复津复合干扰素剂量；和(b)投与选自以下的TNF拮抗剂剂量：(i)每周2次经皮下投与的25毫克量的依那西普，(ii)第0、2和6周且此后每8周一次经静脉内

投与的每千克体重 3 毫克药物的量的因福利美, 或(iii)每周 1 次或每隔一周 1 次经皮下投与的 40 毫克量的阿达木单抗; 持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例, 包括 IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案的上述方法中的任一种可修改成用一种 IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案替代本发明的 IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案, 所述 IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案包含: (a)每周 3 次经皮下投与含有每剂 25 微克药物的量的 IFN- γ 剂量; 和(b)投与选自以下的 TNF 拮抗剂剂量: (i)每周 2 次经皮下投与的 25 毫克量的依那西普, (ii)第 0、2 和 6 周且此后每 8 周一次经静脉内投与的每千克体重 3 毫克药物的量的因福利美, 或(iii)每周 1 次或每隔一周 1 次经皮下投与的 40 毫克量的阿达木单抗; 持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例, 包括 IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案的上述方法中的任一种可修改成用一种 IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案替代本发明的 IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案, 所述 IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案包含: (a)每周 3 次经皮下投与含有每剂 50 微克药物的量的 IFN- γ 剂量; 和(b)投与选自以下的 TNF 拮抗剂剂量: (i)每周 2 次经皮下投与的 25 毫克量的依那西普, (ii)第 0、2 和 6 周且此后每 8 周一次经静脉内投与的每千克体重 3 毫克药物的量的因福利美, 或(iii)每周 1 次或每隔一周 1 次经皮下投与的 40 毫克量的阿达木单抗; 持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例, 包括 IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案的上述方法中的任一种可修改成用一种 IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案替代本发明的 IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案, 所述 IFN- γ 和 TNF 拮抗剂组合方案包含: (a)每周 3 次经皮下投与含有每剂 100 微克药物的量的 IFN- γ 剂量; 和(b)投与选自以下的 TNF 拮抗剂剂量: (i)每周 2 次经皮下投与的 25 毫克量的依那西普, (ii)第 0、2 和 6 周且此后每 8 周一次经静脉内投与的每千克体重 3 毫克药物的量的因福利美, 或(iii)每周 1 次或每隔一周 1 次经皮下投与的 40 毫克量的阿达木单抗; 持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例, 包括单聚乙二醇化(30 kD, 线性)复合 IFN- α 方案的上述方法中的任一种可修改成用聚乙二醇化干扰素 α -2a 方案替代单聚乙二醇化(30 kD, 线性)复合 IFN- α 方案, 所述聚乙二醇化干扰素 α -2a 方案包含每周 1 次经皮下投与含有每剂 180 微克药物的量的聚乙二醇化干扰素 α -2a 剂量, 持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例, 包括单聚乙二醇化(30 kD, 线性)复合 IFN- α 方案的上述方法中的任一种可修改成用聚乙二醇化干扰素 α -2b 方案替代单聚乙二醇化(30 kD, 线性)复合

IFN- α 方案，所述聚乙二醇化干扰素 α -2b 方案包含每周 1 次或 2 次经皮下投与含有每剂每千克体重 1.0 微克到 1.5 微克药物的量的聚乙二醇化干扰素 α -2b 剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，上述方法中的任一种可修改成包括任选每天以两次或两次以上分剂量，每天经口投与含有 400 毫克、800 毫克、1000 毫克或 1200 毫克药物的量的利巴韦林剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，上述方法中的任一种可修改成包括任选每天以两次或两次以上分剂量，投与含有以下量的利巴韦林剂量：(i)对于体重不到 75 千克的患者，每天经口投与的 1000 毫克药物量；或(ii)对于体重大于或等于 75 千克的患者，每天经口投与的 1200 毫克药物量，持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，上述方法中的任一种可修改成用一种 NS3 抑制剂方案替代本发明的 NS3 抑制剂方案，所述 NS3 抑制剂方案包含任选每天以两次或两次以上分剂量，每天经口投与每千克体重 0.01 毫克到 0.1 毫克药物的剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，上述方法中的任一种可修改成用一种 NS3 抑制剂方案替代本发明的 NS3 抑制剂方案，所述 NS3 抑制剂方案包含任选每天以两次或两次以上分剂量，每天经口投与每千克体重 0.1 毫克到 1 毫克药物的剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，上述方法中的任一种可修改成用一种 NS3 抑制剂方案替代本发明的 NS3 抑制剂方案，所述 NS3 抑制剂方案包含任选每天以两次或两次以上分剂量，每天经口投与每千克体重 1 毫克到 10 毫克药物的剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，上述方法中的任一种可修改成用一种 NS3 抑制剂方案替代本发明的 NS3 抑制剂方案，所述 NS3 抑制剂方案包含任选每天以两次或两次以上分剂量，每天经口投与每千克体重 10 毫克到 100 毫克药物的剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 NS5B 抑制剂方案的上述方法中的任一种可修改成用一种 NS5B 抑制剂方案替代本发明的 NS5B 抑制剂方案，所述 NS5B 抑制剂方案包含任选每天以两次或两次以上分剂量，每天经口投与每千克体重 0.01 毫克到 0.1 毫克药物的剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 NS5B 抑制剂方案的上述方法中的任一种可修改成用一种 NS5B 抑制剂方案替代本发明的 NS5B 抑制剂方案，所述 NS5B 抑制剂方案包含任选每天以两次或两次以上分剂量，每天经口投与每千克体重 0.1 毫克到 1 毫克药物的剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 NS5B 抑制剂方案的上述方法中的任一种可修改成用一种 NS5B 抑制剂方案替代本发明的 NS5B 抑制剂方案，所述 NS5B 抑制剂方案包含任选每天以两次或两次以上分剂量，每天经口投与每千克体重 1 毫克到 10 毫克药物的剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

作为非限制性实例，包括 NS5B 抑制剂方案的上述方法中的任一种可修改成用一种 NS5B 抑制剂方案替代本发明的 NS5B 抑制剂方案，所述 NS5B 抑制剂方案包含任选每天以两次或两次以上分剂量，每天经口投与每千克体重 10 毫克到 100 毫克药物的剂量，持续用 NS3 抑制剂化合物所需的治疗持续时间。

患者鉴别

在某些实施例中，用于治疗 HCV 患者的药物疗法的具体方案是根据患者所显现的某些疾病参数选择，例如初始病毒载量、患者 HCV 感染的基因型、患者的肝组织学和/或肝纤维化的阶段。

因此，一些实施例提供治疗 HCV 感染的上述方法中的任一种，其中本发明方法修改成对治疗失败患者进行达 48 周持续时间的治疗。

其它实施例提供用于 HCV 的上述方法中的任一种，其中本发明方法修改成治疗无应答患者，其中所述患者接受 48 周的疗程。

其它实施例提供治疗 HCV 感染的上述方法中的任一种，其中本发明方法修改成治疗复发患者，其中所述患者接受 48 周的疗程。

其它实施例提供治疗 HCV 感染的上述方法中的任一种，其中本发明方法修改成治疗感染 HCV 基因型 1 的未治疗患者，其中所述患者接受 48 周的疗程。

其它实施例提供治疗 HCV 感染的上述方法中的任一种，其中本发明方法修改成治疗感染 HCV 基因型 4 的未治疗患者，其中所述患者接受 48 周的疗程。

其它实施例提供治疗 HCV 感染的上述方法中的任一种，其中本发明方法修改成治疗感染 HCV 基因型 1 的未治疗患者，其中所述患者具有高病毒载量(HVL)，其中“HVL”是指每毫升血清大于 2×10^6 个 HCV 基因组拷贝的 HCV 病毒载量，并且其中所述患者接受 48 周的疗程。

一个实施例提供治疗 HCV 感染的上述方法中的任一种，其中本发明方法修改成包括以下步骤：(1)鉴别如由 3 分或 4 分的科诺德得分所测量的患有晚期或重度肝纤维化的患者；和随后(2)对患者投与本发明方法的药物治疗法达约 24 周到约 60 周，或约 30 周到约 1 年，或约 36 周到约 50 周，或约 40 周到约 48 周，或至少约 24 周，或至少约 30 周，或至少约 36 周，或至少约 40 周，或至少约 48 周，或至少约 60 周的时间。

另一实施例提供治疗 HCV 感染的上述方法中的任一种，其中本发明方法修改成包括以下步骤：(1)鉴别由 3 分或 4 分的科诺德得分所测量的患有晚期或重度肝纤维化的患者，和随后(2)对患者投与本发明方法的药物治疗法达约 40 周到约 50 周或者约 48 周的时间。

另一实施例提供治疗 HCV 感染的上述方法中的任一种，其中本发明方法修改成包括以下步骤：(1)鉴别感染 HCV 基因型 1 并且初始病毒载量大于每毫升患者血清两百万个病毒基因组拷贝的患者；和随后(2)对患者投与本发明方法的药物治疗法达约 24 周到约 60 周，或约 30 周到约 1 年，或约 36 周到约 50 周，或约 40 周到约 48 周，或至少约 24 周，或至少约 30 周，或至少约 36 周，或至少约 40 周，或至少约 48 周，或至少约 60 周的时间。

另一实施例提供治疗 HCV 感染的上述方法中的任一种，其中本发明方法修改成包括以下步骤：(1)鉴别感染 HCV 基因型 1 并且初始病毒载量大于每毫升患者血清两百万个病毒基因组拷贝的患者，和随后(2)对患者投与本发明方法的药物治疗法达约 40 周到约 50 周或者约 48 周的时间。

另一实施例提供治疗 HCV 感染的上述方法中的任一种，其中本发明方法经修改成包括以下步骤：(1)鉴别感染 HCV 基因型 1 并且初始病毒载量大于每毫升患者血清两百万个病毒基因组拷贝并且如由 0、1 分或 2 分的科诺德得分所测量的无肝纤维化或患有早期肝纤维化的患者；和随后(2)对患者投与本发明方法的药物治疗法达约 24 周到约 60 周，或约 30 周到约 1 年，或约 36 周到约 50 周，或约 40 周到约 48 周，或至少约 24 周，或至少约 30 周，或至少约 36 周，或至少约 40 周，或至少约 48 周，或至少约 60 周的时间。

另一实施例提供治疗 HCV 感染的上述方法中的任一种，其中本发明方法修改成包括以下步骤：(1)鉴别感染 HCV 基因型 1 并且初始病毒载量大于每毫升患者血清两百万个病毒基因组拷贝并且如由 0、1 分或 2 分的科诺德得分所测量的无肝纤维化或患有早期肝纤维化的患者，和随后(2)对患者投与本发明方法的药物治疗法达约 40 周到约 50 周或者约 48 周的时间。

另一实施例提供治疗 HCV 感染的上述方法中的任一种，其中本发明方法修改成包括

以下步骤：(1)鉴别感染 HCV 基因型 1 并且初始病毒载量小于或等于每毫升患者血清两百万个病毒基因组拷贝的患者；和随后(2)对患者投与本发明方法的药物疗法达约 20 周到约 50 周，或约 24 周到约 48 周，或约 30 周到约 40 周，或长达约 20 周，或长达约 24 周，或长达约 30 周，或长达约 36 周，或长达约 48 周的时间。

另一实施例提供治疗 HCV 感染的上述方法中的任一种，其中本发明方法修改成包括以下步骤：(1)鉴别感染 HCV 基因型 1 并且初始病毒载量小于或等于每毫升患者血清两百万个病毒基因组拷贝的患者，和随后(2)对患者投与本发明方法的药物疗法达约 20 周到约 24 周的时间。

另一实施例提供治疗 HCV 感染的上述方法中的任一种，其中本发明方法修改成包括以下步骤：(1)鉴别感染 HCV 基因型 1 并且初始病毒载量小于或等于每毫升患者血清两百万个病毒基因组拷贝的患者，和随后(2)对患者投与本发明方法的药物疗法达约 24 周到约 48 周的时间。

另一实施例提供治疗 HCV 感染的上述方法中的任一种，其中本发明方法修改成包括以下步骤：(1)鉴别感染 HCV 基因型 2 或 3 的患者；和随后(2)对患者投与本发明方法的药物疗法达约 24 周到约 60 周，或约 30 周到约 1 年，或约 36 周到约 50 周，或约 40 周到约 48 周，或至少约 24 周，或至少约 30 周，或至少约 36 周，或至少约 40 周，或至少约 48 周，或至少约 60 周的时间。

另一实施例提供治疗 HCV 感染的上述方法中的任一种，其中本发明方法修改成包括以下步骤：(1)鉴别感染 HCV 基因型 2 或 3 的患者；和随后(2)对患者投与本发明方法的药物疗法达约 20 周到约 50 周，或约 24 周到约 48 周，或约 30 周到约 40 周，或长达约 20 周，或长达约 24 周，或长达约 30 周，或长达约 36 周，或长达约 48 周的时间。

另一实施例提供治疗 HCV 感染的上述方法中的任一种，其中本发明方法修改成包括以下步骤：(1)鉴别感染 HCV 基因型 2 或 3 的患者，和随后(2)对患者投与本发明方法的药物疗法达约 20 周到约 24 周的时间。

另一实施例提供治疗 HCV 感染的上述方法中的任一种，其中本发明方法修改成包括以下步骤：(1)鉴别感染 HCV 基因型 2 或 3 的患者，和随后(2)对患者投与本发明方法的药物疗法达至少约 24 周的时间。

另一实施例提供治疗 HCV 感染的上述方法中的任一种，其中本发明方法修改成包括以下步骤：(1)鉴别感染 HCV 基因型 1 或 4 的患者；和随后(2)对患者投与本发明方法的药物疗法达约 24 周到约 60 周，或约 30 周到约 1 年，或约 36 周到约 50 周，或约 40 周

到约 48 周，或至少约 24 周，或至少约 30 周，或至少约 36 周，或至少约 40 周，或至少约 48 周，或至少约 60 周的时间。

另一实施例提供治疗 HCV 感染的上述方法中的任一种，其中本发明方法修改成包括以下步骤：(1)鉴别感染以 HCV 基因型 5、6、7、8 和 9 中任一种为特征的 HCV 的患者，和随后(2)对患者投与本发明方法的药物治疗达约 20 周到约 50 周的时间。

另一实施例提供治疗 HCV 感染的上述方法中的任一种，其中本发明方法修改成包括以下步骤：(1)鉴别感染以 HCV 基因型 5、6、7、8 和 9 中任一种为特征的 HCV 的患者，和随后(2)对患者投与本发明方法的药物治疗达至少约 24 周且长达约 48 周的时间。

适于治疗的受试者

上述治疗方案中的任一种可投与已诊断出感染 HCV 的个体。可将上述治疗方案中的任一种投与先前的 HCV 感染治疗已失败的个体(“治疗失败患者”，包括无应答者和复发者)。

在许多实施例中，临床上诊断为感染 HCV 的个体特别值得关注。感染 HCV 的个体是鉴别为其血液中具有 HCV RNA 和/或其血清中具有抗 HCV 抗体。所述个体包括抗 HCV ELISA 阳性个体和具有阳性重组免疫印迹检定(RIBA)的个体。所述个体还可能(但非必需)具有高血清 ALT 含量。

临床上诊断为感染 HCV 的个体包括未治疗个体(例如先前未治疗 HCV 的个体，尤其先前未接受基于 IFN- α 和/或基于利巴韦林的疗法的个体)和先前的 HCV 治疗失败的个体(“治疗失败”患者)。治疗失败患者包括无应答者(即，先前的 HCV 治疗未显著或未充分降低 HCV 滴度的个体，所述先前治疗例如为先前 IFN- α 单药疗法、先前 IFN- α 与利巴韦林组合疗法或先前聚乙二醇化 IFN- α 与利巴韦林组合疗法);和复发者(即，先前治疗过 HCV 的个体，例如接受先前 IFN- α 单药疗法、先前 IFN- α 与利巴韦林组合疗法或者先前聚乙二醇化 IFN- α 与利巴韦林组合疗法的个体，其 HCV 滴度已降低而随后增加)。

在相关的特定实施例中，个体具有每毫升血清至少约 10^5 、至少约 5×10^5 或至少约 10^6 或者至少约 2×10^6 个 HCV 基因组拷贝的 HCV 滴度。患者可能感染任何 HCV 基因型(基因型 1(包括 1a 和 1b)、2、3、4、6 等，和亚型(例如 2a、2b、3a 等))，尤其是难以治疗的基因型，例如 HCV 基因型 1 和特定 HCV 亚型和准种(quasispecies)。

还值得关注的是因慢性 HCV 感染而展现重度纤维化或早期肝硬化(非失代偿性，乔德-普格(Child's-Pugh)A 类或更低)或更晚期的肝硬化(失代偿性，乔德-普格 B 类或 C 类)的 HCV 阳性个体(如上文所述)，和尽管之前用基于 IFN- α 的疗法进行抗病毒治疗但仍患

病毒血症的个体，或者不能耐受基于 IFN- α 的疗法的个体，或者对所述疗法具有禁忌的个体。在相关的特定实施例 中，根据麦特韦尔评分系统患有 3 期或 4 期肝纤维化的 HCV 阳性个体适于用本文所述的方法治疗。在其它实施例中，适于用实施例方法治疗的个体是患有具有临床表现的失代偿性肝硬化的患者，包括患有深度晚期肝硬化的患者，包括等待肝移植的患者。在其它实施例中，适于用本文所述的方法治疗的个体包括患有较轻程度纤维化的患者，包括患有早期纤维化(在麦特韦尔、路德维格和斯凯悦评分系统中为 1 期和 2 期；或者在伊萨克评分系统中为 1 期、2 期或 3 期)的患者。

NS3 抑制剂的制备

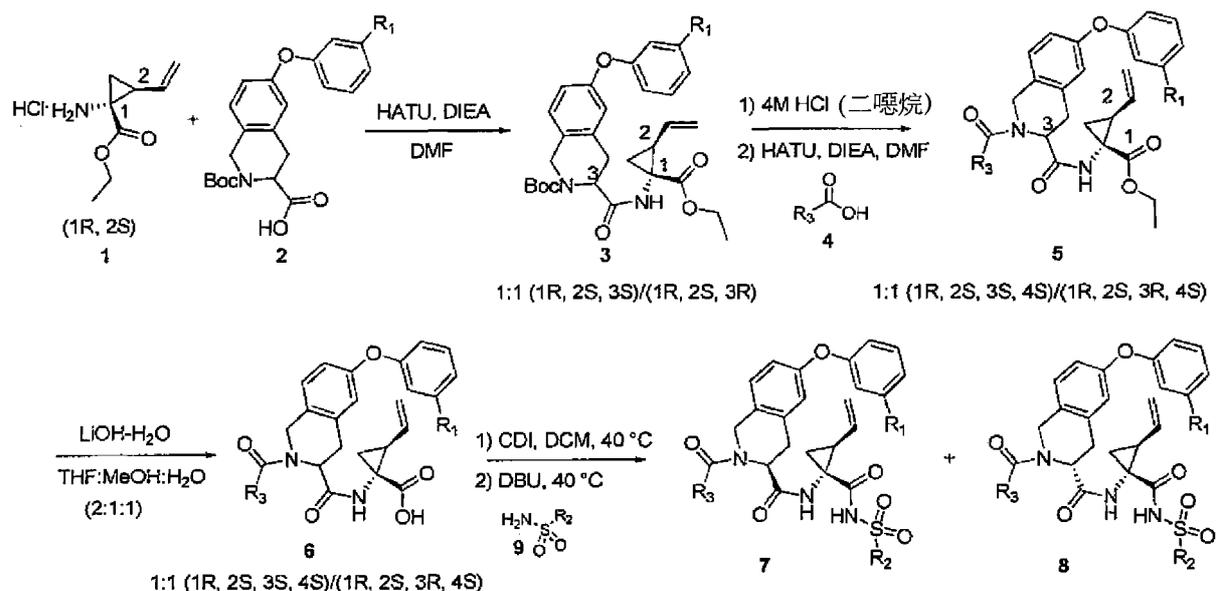
方法

以下部分中的 HCV 蛋白酶抑制剂可根据各部分中所示的程序和流程来制备。以下各 NS3 抑制剂制备部分中的编号仅指那一特定部分，而不应解释为其它部分中的相同编号或与其混淆。

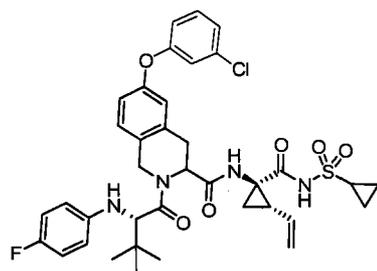
NS3 抑制剂的制备：第 I 部分

一种用于制备通式 I 化合物的方法利用中间物 **1**、**2**、**4** 和 **9**。中间物 **1** 是根据国际申请案 PCT/CA00/00353(公开案第 WO 00/59929 号)中所揭示的程序来制备，所述文献以引用的方式全部并入本文中。中间物 **4** 是使用以下程序(马(Ma, D.); 张(Zhang, Y.); 姚(Yao, J.); 吴(Wu, S.); 陶(Tao, F). 美国化学会志(*J. Am. Chem. Soc.*) **1998**, *120*, 12459-12467, 其以引用的方式全部并入本文中)合成。中间物 **9** 是根据(1.可汗(Khan)等人, 生物有机化学与医药化学通讯(*Bioorg. & Med. Chem. Lett.*), **1997**, *7* (23), 3017-3022。2.国际申请案 PCT/US02/39926, WO 03/053349)中所揭示的程序来制备，所述文献均以引用的方式全部并入本文中。中间物 **2** 是使用以下程序合成：麦肯纳(McKenna, J. M.) 四面体通讯(*Tetrahedron Letters*) **2001** *42*, 5795-5800 和乌尔曼化学(Ullman Chemistry)合成，其均以引用的方式全部并入本文中并将在以下程序中描述。

方法：

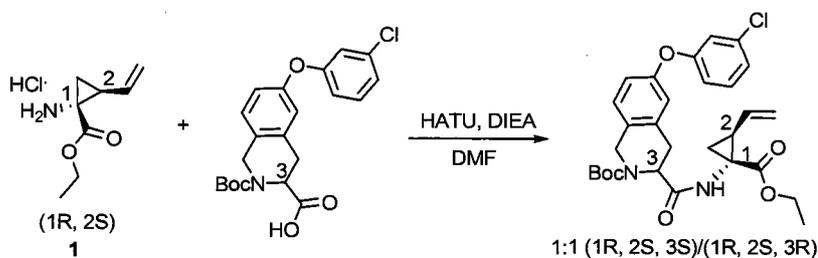


实例 1-1:



化合物 10

6-(3-氯苯氧基)-N-((1R,2S)-1-(环丙基磺酰基氨基甲酰基)-2-乙烯基环丙基)-2-((S)-2-(4-氟苯基氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-甲酰胺。

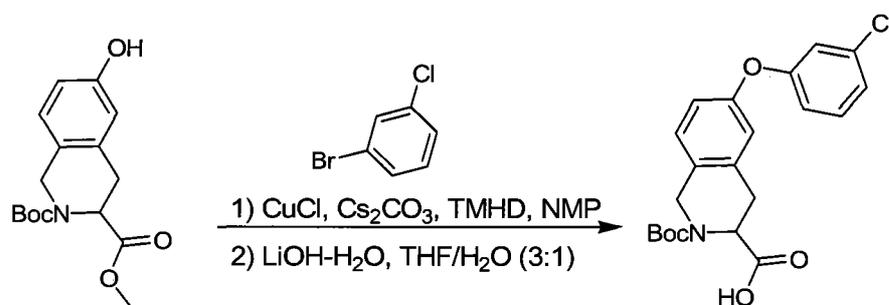


步骤 1: 3-(((1R,2S)-1-(乙氧羰基)-2-乙烯基环丙基)氨基甲酰基)-6-(3-氯苯氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-甲酸叔丁酯的合成。

向装有甲酸乙基-(1R,2S)-1-氨基-2-乙烯基环丙酯(1, 1.0 g, 5.2 mmol)、2-(叔丁氧羰

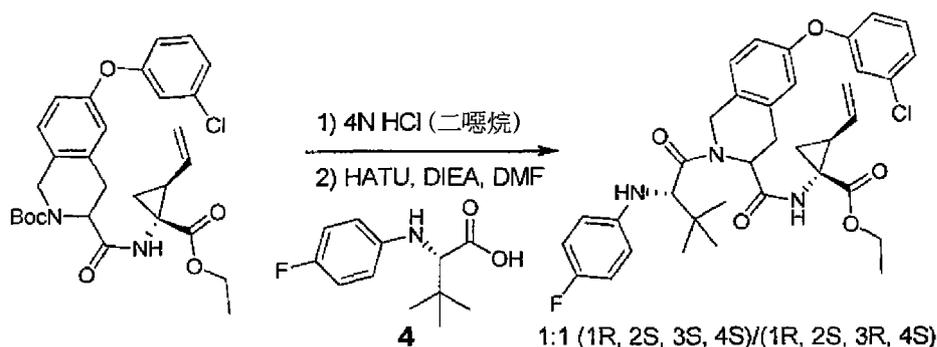
基)-6-(3-氯苯氧基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-甲酸(2.31 g, 1.1 当量)和六氟磷酸 O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲(HATU)(2.7 g, 1.1 当量)的烧瓶中添加 30 mL DMF 以制成溶液。将其在冰水浴中冷却到 0℃, 随后在搅拌下缓慢添加 N,N-二异丙基乙胺(DIEA)(4.4 mL, 4 当量)于 DMF(15 mL)中的溶液。将反应物升温到室温并搅拌过夜。

16 小时后, 如 HPLC 所监测, 反应完成。将其以 EtOAc(100 mL)稀释, 以水(3×40 mL)、饱和 NaHCO₃(2×40 mL)和盐水(2×40 mL)洗涤, 接着经 Na₂SO₄ 干燥并浓缩产生深铜色油状物。将粗产物在使用 C-18 柱的地平线百特吉(Horizon Biotage)仪器(洗脱剂: 乙腈/水; 经 168-6 mL 洗脱份的 20%乙腈至 80%乙腈的梯度)上纯化, 产生呈非对映异构体混合物的纯 3(647 mg, 23%)。MS m/e 442.1 (M⁺-Boc)。



步骤 1a: 2-(叔丁氧羰基)-6-(3-氯苯氧基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-甲酸的合成。

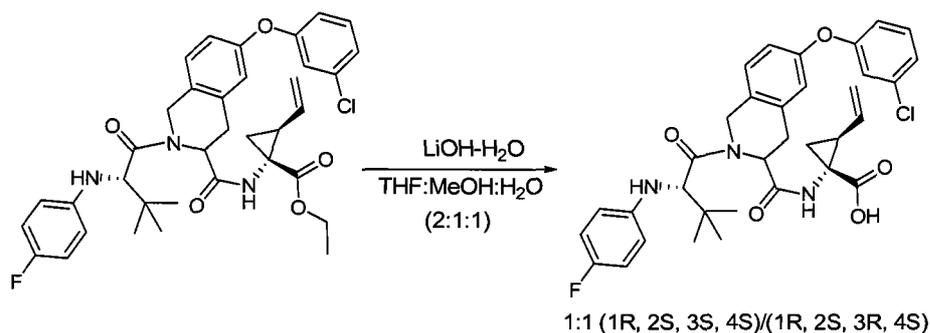
将 6-羟基-3,4-二氢异喹啉-2,3(1H)-二甲酸 2-叔丁酯 3-甲酯(200 mg, 0.65 mmol)、间氯苯基溴(103 mg, 0.54 mmol)、2,2,6,6-四甲基-3,5-庚二酮(TMHD, 10 mg, 0.054 mmol)、Cs₂CO₃(326 mg, 1.00 mmol)和 CuCl(27 mg, 0.27 mmol)在 NMP(1 mL)中一起混合并加热到 120℃持续 6 小时。接着用甲基叔丁醚(MTBE)稀释反应物并经硅藻土(celite)过滤。用 1 N HCl、1 N NaOH 和盐水洗涤滤液。有机相经 Na₂SO₄ 干燥并浓缩, 随后加载到百特吉(Biotage)二氧化硅柱(12m)上并用 10%丙酮/己烷洗脱, 产生浅黄色油状的 6-(3-氯苯氧基)-3,4-二氢异喹啉-2,3(1H)-二甲酸 2-叔丁酯 3-甲酯(113 mg, 50%)。接着将此物质溶解于 THF/H₂O(3:1)的 1 mL 混合物中并添加 LiOH(70 mg, 1.62 mmol)。在室温下将反应物搅拌过夜, 随后将其浓缩并用 1 N HCl 中止反应。接着用 EtOAc(3 次)萃取产物。合并的萃取液经 Na₂SO₄ 干燥并浓缩产生浅黄色泡沫状物(100 mg, 92%)。MS m/e 402.9 (M⁻H)。



步骤 2：(1R,2S)-1-(6-(3-氯苯氧基)-2-((S)-2-(4-氟苯基氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-甲酰胺基)-2-乙炔基环丙烷甲酸乙酯的合成。

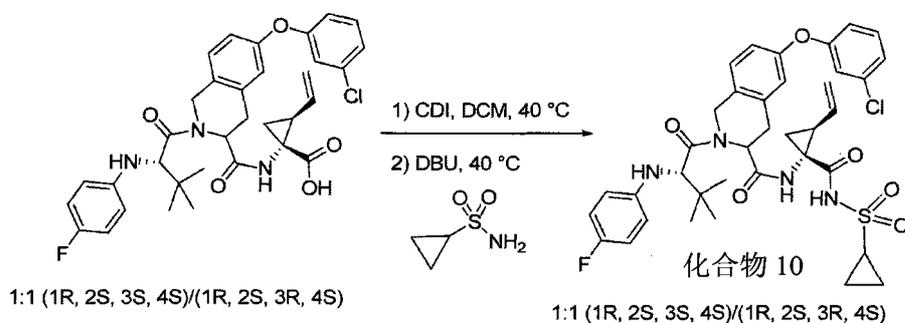
将 3-(((1R,2S)-1-(乙氧羰基)-2-乙炔基环丙基)氨基甲酰基)-6-(3-氯苯氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-甲酸叔丁酯(647 mg, 1.20 mmol)溶解于 4 N HCl(二噁烷, 8 mL)中并在室温下放置 90 分钟以去除叔丁氧羰基(Boc)保护基。接着将其浓缩, 溶解于乙腈中并再浓缩两次。向此黄色油状物中添加 **4**(297 mg, 1.1 当量)和 HATU(502 mg, 1.1 当量), 随后添加 DMF(5 mL)。将反应物在冰水浴上冷却 15 分钟, 随后在搅拌下向反应中缓慢添加 DIEA(0.84 mL, 4 当量)。使冰浴缓慢升至室温并将反应物搅拌过夜。24 小时后, 反应物具有深褐色并且其等分试样 TLC 显示产物形成。用 EtOAc(100 mL)稀释反应混合物并用水(3×120 mL)、饱和 NaHCO₃(2×120 mL)、盐水(120 mL)洗涤, 干燥(Na₂SO₄)并浓缩, 产生橙色油状的 (1R,2S)-1-(6-(3-氯苯氧基)-2-((S)-2-(4-氟苯基氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-甲酰胺基)-2-乙炔基环丙烷甲酸乙酯(500 mg)。将粗产物在使用 C-18 柱(洗脱剂: 乙腈/水; 经 40-6 mL 洗脱份的 0%乙腈至 100%乙腈的梯度)的地平线百特吉(Horizon Biotage)仪器上纯化, 产生呈白色泡沫状的纯(1R,2S)-1-(6-(3-氯苯氧基)-2-((S)-2-(4-氟苯基氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-甲酰胺基)-2-乙炔基环丙烷甲酸乙酯(622 mg, 80%)。

MS m/e 649.2 (M⁺+H)。



步骤 3: (1*R*,2*S*)-1-(6-(3-氯苯氧基)-2-((*S*)-2-(4-氟苯基氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-甲酰胺基)-2-乙烯基环丙烷甲酸的合成。

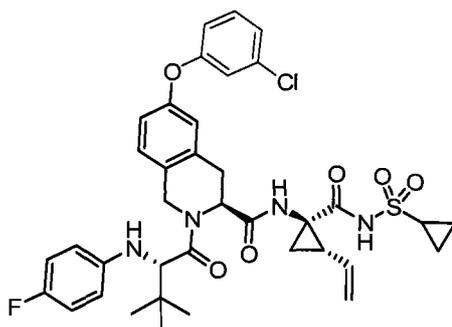
将粗(1*R*,2*S*)-1-(6-(3-氯苯氧基)-2-((*S*)-2-(4-氟苯基氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-甲酰胺基)-2-乙烯基环丙烷甲酸乙酯(130 mg, 0.20 mmol)溶解于 THF:MeOH:H₂O(2:1:1)的 1.0 mL 混合物中。添加单水合氢氧化锂(0.050 g, 1.2 mmol)并将反应物在室温下搅拌过夜。接着真空浓缩反应物并用 5 mL 1 N HCl 中止反应。沉淀出产物并且可滤出得到灰白色粉末(110 mg)。其未经进一步纯化即直接用于下一步骤。MS m/e 619 (M⁻H)。



步骤 4: 6-(3-氯苯氧基)-N-((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨基甲酰基)-2-乙烯基环丙基)-2-((*S*)-2-(4-氟苯基氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-甲酰胺的合成。

将粗(1*R*,2*S*)-1-(6-(3-氯苯氧基)-2-((*S*)-2-(4-氟苯基氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-甲酰胺基)-2-乙烯基环丙烷甲酸(112 mg, 0.180 mmol)溶解于 1.0 mL 1,2-二氯乙烷(DCE)中并添加 1,1'-羰基二咪唑(CDI, 88 mg, 0.54 mmol)。将反应物加热到 40 °C 持续 4 小时。在 10% MeOH/CHCl₃中进行的 TLC 显示转化到较高 R_f 斑点。添加环丙基磺酰胺(65 mg, 0.54 mmol)和 1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一-7-烯(DBU, 81 μL, 0.54 mmol)并将反应物加热到 50 °C 并搅拌过夜。将反应物浓缩到 400 μL 体积并加载到百特吉 12 号, C-18 加样器(Biotage size 12, C-18 samplet)上使用地平线 LC(Horizon LC) (12 m, C-18 柱)(以经 40-6 mL 洗脱份的 0%乙腈/水至 100%乙腈/水的梯度洗脱)纯化。浓缩后产物是白色固体。化合物 10(26 mg, 20%)¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 9.72 (br s, 1H), 7.32-7.22 (m, 1H), 7.20-7.07 (m, 2H), 7.02-6.68 (m, 7H), 6.58 (br s, 1H), 5.85-5.49 (m, 2H), 5.31-5.03 (m, 2H), 4.83-4.67 (m, 2H), 4.54-4.42 (m, 1H), 4.32 (br s, 1H), 4.18 (br s, 1H), 3.24-2.76 (m, 3H), 1.94 (br s, 1H), 1.86-1.18 (m, 5H), 1.17-0.95 (m, 10H); MS m/e 722 (M⁻H)。

实例 1-2:



化合物 11

(S)-6-(3-氯苯氧基)-N-((1R,2S)-1-(环丙基磺酰基氨基甲酰基)-2-乙烯基环丙基)-2-((S)-2-(4-氟苯基氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-甲酰胺

根据实例 1-1 中所述的程序合成化合物 11 并使用以下制备型 HPLC 条件(使用 SPX 软件的百特吉(Biotage)SP4 系统; 第 2 版)分离为非对映异构体(2.3 mg, 4%) MS m/e 722 (M⁻H):

柱: 百特吉, KP-C18-HS, 12+M1296-1, 35-70 μm 粒度, 90 Å 孔径

流动相梯度: 以 40-6 mL 洗脱份的 0-95% B

A: 水

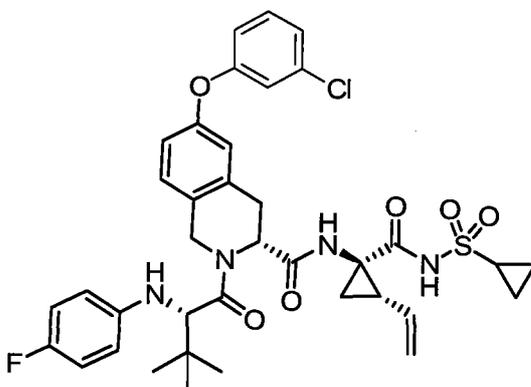
B: MeCN

流速: 15 mL/min

温度: 25 C

波长: 220 nm

实例 1-3:



化合物 12

(R)-6-(3-氯苯氧基)-N-((1R,2S)-1-(环丙基磺酰基氨基甲酰基)-2-乙烯基环丙基)-2-((S)-2-(4-氟苯基氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-甲酰胺

基)-2-((S)-2-(4-氟苯基氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-甲酰胺

根据实例 1-1 中所述的程序合成化合物 12 并使用以下制备型 HPLC 条件(使用 SPX 软件的百特吉(Biotage)SP4 系统; 第 2 版)分离为非对映异构体, (3.2 mg, 6%)MS m/e 722 (M⁻H):

柱: 百特吉, KP-C18-HS, 12+M1296-1, 35-70 μm 粒度, 90 Å 孔径

流动相梯度: 以 40-6 mL 洗脱份的 0-95% B

A: 水

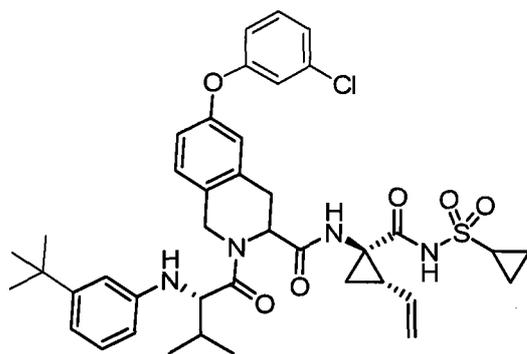
B: MeCN

流速: 15 mL/min

温度: 25 C

波长: 220 nm

实例 1-4:

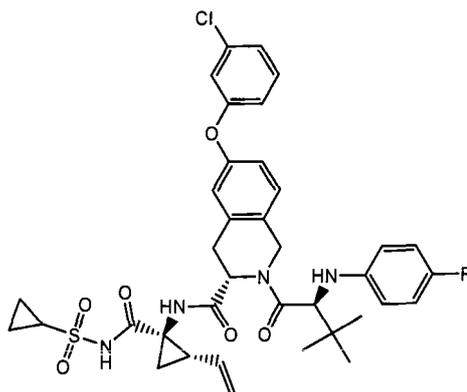


化合物 13

2-((S)-2-(3-叔丁基苯基氨基)-3-甲基丁酰基)-6-(3-氯苯氧基)-N-((1R,2S)-1-(环丙基磺酰基氨基甲酰基)-2-乙烯基环丙基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-甲酰胺

根据实例 1-1 中所述的程序合成化合物 13。通过将粗材料加载到使用 12 号, C-18 加样器(size 12, C-18 samplet)和柱以供纯化的百特吉(Biotage)SP4 上进行纯化。以经 40-6 mL 洗脱份的 5%乙腈/水至 100%乙腈/水的梯度洗脱。浓缩后产物是白色固体。MS m/e 747 (M⁺)。

实例 1-5:



化合物 14

(S)-6-(3-氯苯氧基)-N-((1R,2S)-1-(环丙基磺酰基氨基甲酰基)-2-乙烯基环丙基)-2-((S)-2-(4-氟苯基氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-甲酰胺

根据实例 1-1 中所述的程序合成化合物 14 并使用以下制备型 HPLC 条件(使用 SPX 软件的百特吉(Biotage)SP4 系统;第 2 版)分离为非对映异构体, (2.5 mg, 5%)MS m/e 729 (M):

柱: 百特吉, KP-C18-HS, 12+M1296-1, 35-70 μm 粒度, 90 \AA 孔径

流动相梯度: 以 40-6 mL 洗脱份的 0-95% B

A: 水

B: MeCN

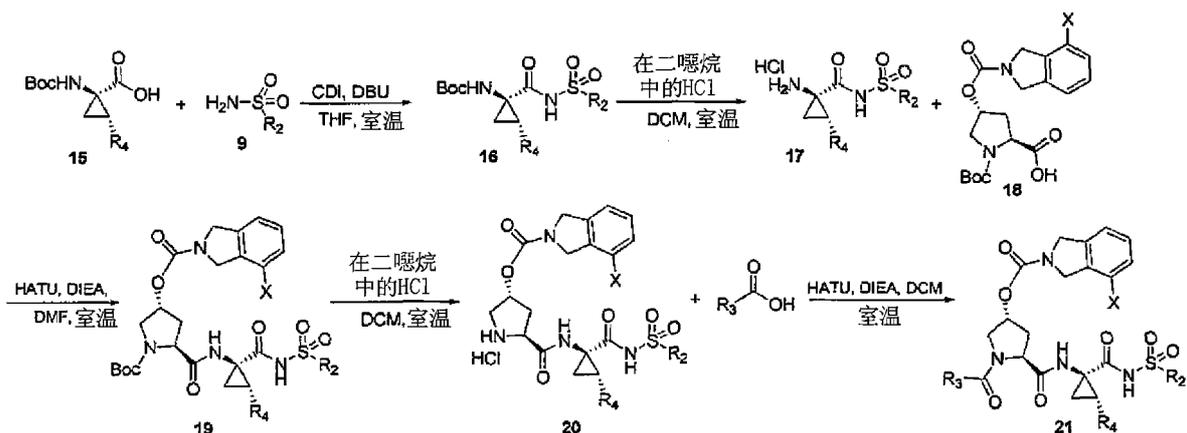
流速: 15 mL/min

温度: 25 C

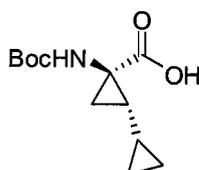
波长: 220 nm

用于制备通式 I 化合物的另一方法如下所示。

方法:



以下中间物如本文所述来制备：

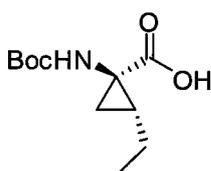


化合物 22

(1R,2S)-1-(叔丁氧羰基氨基)-2-环丙基环丙烷甲酸

将装备有搅拌棒的 500 mL 圆底烧瓶中的(1R,2S)-1-(叔丁氧羰基氨基)-2-乙烯基环丙烷甲酸乙酯(1.0 g, 3.9 mmol, 如 WO 2005037214 中所述来制备)的 30 mL 乙醚溶液首先在丙酮-冰浴中冷却到约-15℃, 接着向以上溶液中一次性添加重氮甲烷(33 mL, 20 mmol)的乙醚溶液。在剧烈搅拌下并保持反应对空气开放, 在-15℃下向反应中一次性添加 Pd(OAc)₂(0.088 g, 0.39 mmol)。在活跃的起泡平息后, 在-15℃下再搅拌反应物 5 分钟, 并浓缩成十分干净的粗产物。粗产物可通过二氧化硅快速色谱法(洗脱剂=己烷/EtOAc 5:1)进一步纯化, 产生无色粘稠油状的标题化合物(1.0 g, 95%产率)。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.10 (br s, 1H), 4.18-4.24 (m, 2H), 1.60-1.64 (m, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.27 (t, 3H), 1.05-1.11 (m, 1H), 0.83-0.89 (m, 1H), 0.47-0.58 (m, 2H), 0.30-0.34 (m, 2H)。LCMS (APCI+) 170.0 (MH⁺-Boc)。

将(1R,2S)-1-(叔丁氧羰基氨基)-2-环丙基环丙烷甲酸乙酯(0.578 g, 2.15 mmol)溶解于 THF:MeOH:水(2:2:1 v/v)的 10 mL 混合溶剂中, 随后在室温下一次性添加 LiOH·H₂O(0.270 g, 6.44 mmol)。将其在室温下搅拌 2 天。去除大部分溶剂之后, 将白色固体反应残余物溶解于水(30 mL)中并用乙醚(30 mL)洗涤。接着将水层以 1N HCl 酸化直到 pH 值达到 2。接着将其以 EtOAc(50 mL)萃取 2 次, 并且合并的有机萃取液用盐水洗涤并经 Na₂SO₄ 干燥, 产生白色蓬松固体状的酸, (1R,2S)-1-(叔丁氧羰基氨基)-2-环丙基环丙烷甲酸(0.48 g, 93%)。

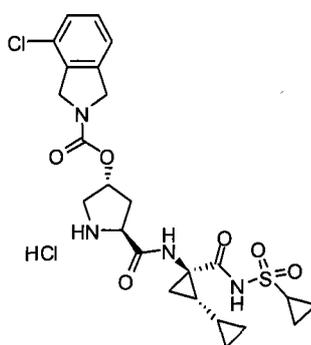


化合物 23

(1R,2R)-1-(叔丁氧羰基氨基)-2-乙基环丙烷甲酸

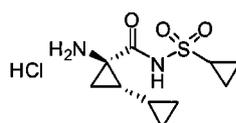
将(1*R*,2*S*)-1-(叔丁氧羰基)-2-乙烯基环丙烷甲酸(10.0 g, 44.0 mmol, 如 WO 2005037214 中所述来制备)溶解于 MTBE(250 mL)中并在室温下在 Pd(OH)₂/C(1.24 g, 8.80 mmol)上氢化(1 atm H₂)5 小时。接着停止反应, 过滤并浓缩到 30 mL, 随后在剧烈搅拌下添加 300 mL 己烷。60 分钟后, 将精细白色沉淀物过滤, 产生精细灰白色粉末状的标题化合物(4.2 g, 42%产率)。¹H-NMR (400 MHz, d⁶-DMSO) δ 12.2 (s, 1H), 7.41(s, 1H), 1.29-1.54 (m, 3H), 1.36 (s, 9H), 1.18-1.21 (m, 1H), 0.96-0.98 (m, 1H), 0.90 (t, 3H)。

实例 2-1:



化合物 24

4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-环丙基环丙基氨甲酰基)吡咯烷-3-基]酯盐酸盐



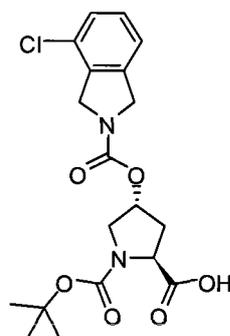
化合物 25

步骤 1: (1*R*,2*S*)-1-氨基-N-(环丙基磺酰基)-2-环丙基环丙烷甲酰胺盐酸盐(化合物 25)的合成

将(1*R*,2*S*)-1-(叔丁氧羰基氨基)-2-环丙基环丙烷甲酸(484 mg, 2.01 mmol)溶解于 20 mL THF 中, 随后在室温下一次性添加 CDI(390 mg, 2.41 mmol)。将反应物在 60°C 砂浴中搅拌 4 小时, 冷却到室温并添加环丙烷磺酰胺(292 mg, 2.41 mmol)和 DBU(366 mg, 2.41 mmol)。在室温下将反应物搅拌过夜。接着用 300 mL EtOAc 稀释反应物并用 1 N HCl(2×15 mL)、水、盐水(各 10 mL)洗涤并干燥(Na₂SO₄), 在去除溶剂后得到白色固体(0.63 g, 91%产率)。通过 ¹H-NMR 和 LCMS(APCI+, 245.0, MH⁺-Boc)测得, 此粗产物十分干

净，因此未经进一步纯化即直接用于随后的脱保护步骤中。

将来自先前步骤的 N 受保护的酰基磺酰胺产物(1*R*,2*S*)-1-(叔丁氧羰基氨基)-2-环丙基环丙烷甲酸(0.63 g, 1.8 mmol)溶解于 20 mL 4 N HCl(二噁烷)中并在室温下搅拌 150 分钟。去除溶剂得到白色泡沫固体状产物。其未经进一步纯化即直接用于随后的偶合步骤中。

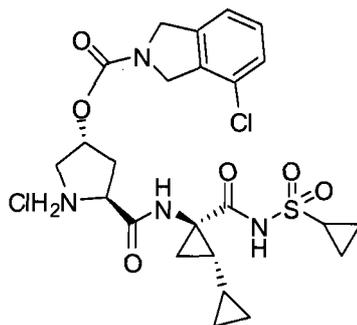


化合物 26

步骤 2: (2*S*,4*R*)-1-(叔丁氧羰基)-4-(4-氯异吲哚啉-2-羰氧基)吡咯烷-2-甲酸的合成

向(2*S*,4*R*)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸 1-叔丁酯 2-甲酯(500 mg, 2.04 mmol)于无水 THF(6 mL)中的溶液中一次性添加 CDI(430 mg, 2.65 mmol)并将混合物在室温下搅拌 6 小时。接着分数份添加胺、4-氯异吲哚啉盐酸盐(0.89 g, 4.7 mmol)，随后缓慢添加 DIEA(1.07 mL, 6.12 mmol)。在室温下将反应物搅拌过夜。用 120 mL EtOAc 稀释反应物，用 1N HCl(2×50 mL)、水和盐水(各 50 mL)洗涤并经 Na₂SO₄ 干燥并浓缩为粘稠微褐色油状物。粗产物通过二氧化硅色谱法(洗脱剂=己烷/EtOAc 2:1)纯化，得到淡粉色泡沫固体状的酯产物，(2*S*,4*R*)-4-(4-氯异吲哚啉-2-羰氧基)吡咯烷-1,2-二甲酸 1-叔丁酯 2-甲酯(0.79 g, 91%产率)。

接着将此酯产物(2*S*,4*R*)-4-(4-氯异吲哚啉-2-羰氧基)吡咯烷-1,2-二甲酸 1-叔丁酯 2-甲酯(0.78 g, 1.8 mmol)溶解于溶剂 THF:MeOH:水 2:2:1(v/v)(5.4 mL)的混合物中，随后添加 LiOH·H₂O (0.15 g, 3.7 mmol)。在室温下搅拌过夜后，将反应物几乎浓缩至干。所得固体残余物再溶解于水(40 mL)中并用乙醚(30 mL)洗涤 2 次。水层用 1N HCl 酸化到 pH 值约为 2 并且合并的 EtOAc 萃取液(3×30 mL)以盐水洗涤并干燥(Na₂SO₄)，蒸发溶剂后得到白色泡沫固体状的标题产物。



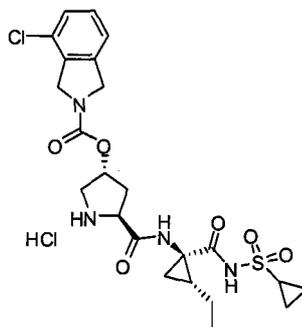
化合物 27

步骤 3: 4-氯异吲哚啉-2-甲酸(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-环丙基环丙基氨甲酰基)吡咯烷-3-基]酯盐酸盐的合成

将(2*S*,4*R*)-1-(叔丁氧羰基)-4-(4-氯异吲哚啉-2-羰基)吡咯烷-2-甲酸 **26**(0.35 g, 0.852 mmol)、(1*R*,2*S*)-1-氨基-2-环丙基-*N*-(环丙基磺酰基)环丙烷甲酰胺盐酸盐 **25**(0.287 g, 1.02 mmol)和 HATU(0.389 g, 1.02 mmol)溶解于 DriSolve DMF(8.5 mL)中, 并在冰浴中冷却。接着向反应中逐滴添加 DIEA(*d* 0.742)(0.445 ml, 2.56 mmol)。使反应物缓慢升温到室温并搅拌过夜。达到完成后, 用水(120 mL)稀释反应物并用 EtOAc(150 mL)萃取 3 次。合并的有机萃取液用 0.5 N HCl(200 mL)、盐水(150 mL)洗涤并经 Na₂SO₄ 干燥。去除溶剂得到淡黄色泡沫固体状的粗产物, 通过反相色谱法(洗脱剂: 5 至 95% MeCN/水)纯化, 得到白色固体状的纯的所要产物(0.40 g, 70%产率)。LCMS (APCI⁺): 537.2 (MH⁺-Boc)。

接着在室温下用 4N HCl(二噁烷)将此产物处理 6 小时以去除 Boc 保护基并得到标题化合物 4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-环丙基环丙基氨甲酰基)吡咯烷-3-基]酯的 HCl 盐。

实例 2-2:



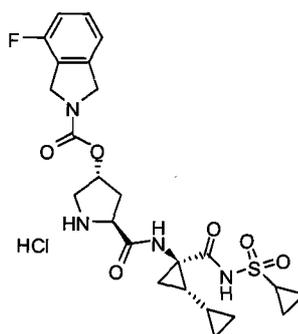
化合物 28

4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙基环丙基

氨甲酰基)吡咯烷-3-基]酯盐酸盐

以与在本申请案其它部分中针对化合物 4-氯异吲哚啉-2-甲酸 [(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*S*)-2-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-环丙基环丙基氨甲酰基)吡咯烷-3-基]酯盐酸盐 27 所述类似的方式制备化合物 28，但是使用(1*R*,2*R*)-1-(叔丁氧羰基氨基)-2-乙基环丙烷甲酸 P1 中间物替代(1*R*,2*S*)-1-(叔丁氧羰基氨基)-2-环丙基环丙烷甲酸。

实例 2-3:

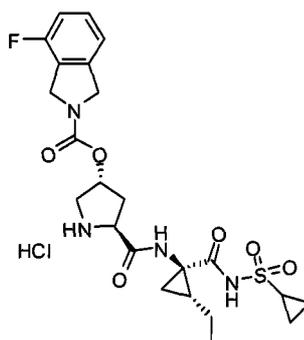


化合物 29

4-氟异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-环丙基环丙基氨甲酰基)吡咯烷-3-基]酯盐酸盐

以与在本申请案其它部分中针对化合物 4-氯异吲哚啉-2-甲酸 [(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-环丙基环丙基氨甲酰基)吡咯烷-3-基]酯盐酸盐 27 所述的类似方式制备化合物 29，但是在与(2*S*,4*R*)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸 1-叔丁酯 2-甲酯的偶合步骤中使用 4-氟异吲哚啉盐酸盐 P2 中间物替代 4-氯异吲哚啉盐酸盐。

实例 2-4:

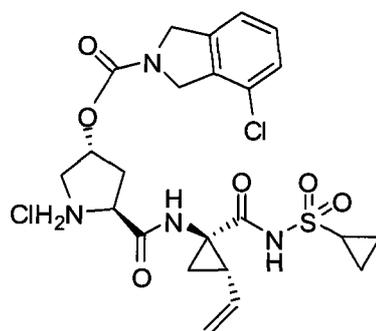


化合物 30

4-氟异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙基环丙基氨甲酰基)吡咯烷-3-基]酯盐酸盐

以与在本申请案其它部分中针对化合物 4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙基环丙基氨甲酰基)吡咯烷-3-基]酯盐酸盐 **28** 所述的类似方式制备化合物 **30**，但是在与(2*S*,4*R*)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸 1-叔丁酯 2-甲酯的偶合步骤中使用 4-氟异吲哚啉盐酸盐 P2 中间物替代 4-氯异吲哚啉盐酸盐。

实例 2-5:

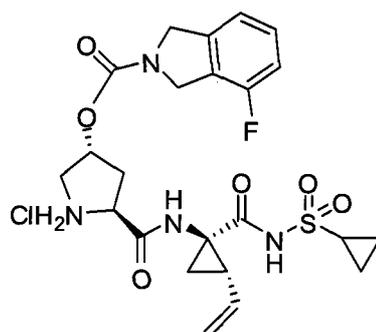


化合物 31

4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙炔基环丙基氨甲酰基)吡咯烷-3-基]酯盐酸盐

以与在本申请案其它部分中针对化合物 4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-环丙基环丙基氨甲酰基)吡咯烷-3-基]酯盐酸盐 **27** 所述的类似方式制备化合物 **31**，但是使用(1*R*,2*S*)-1-(叔丁氧羰基氨基)-2-乙炔基环丙烷甲酸 P1 中间物替代(1*R*,2*S*)-1-(叔丁氧羰基氨基)-2-环丙基环丙烷甲酸。

实例 2-6:



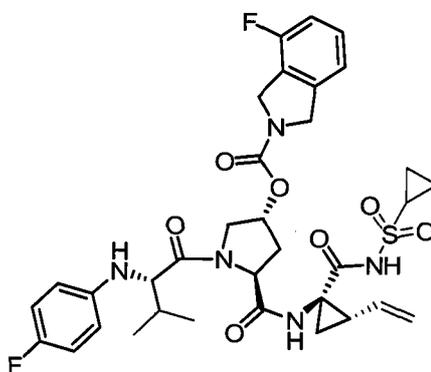
化合物 32

4-氟异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙炔基环丙基氨甲酰基)吡咯烷-3-基]酯盐酸盐

基氨甲酰基)吡咯烷-3-基]酯盐酸盐

以与在本申请案其它部分中针对化合物 4-氟异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙烯基环丙基氨甲酰基)吡咯烷-3-基]酯盐酸盐 31 所述的类似方式制备化合物 32，但是在与(2*S*,4*R*)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸 1-叔丁酯 2-甲酯的偶合步骤中使用 4-氟异吲哚啉盐酸盐 P2 中间物替代 4-氟异吲哚啉盐酸盐。

实例 2-7:



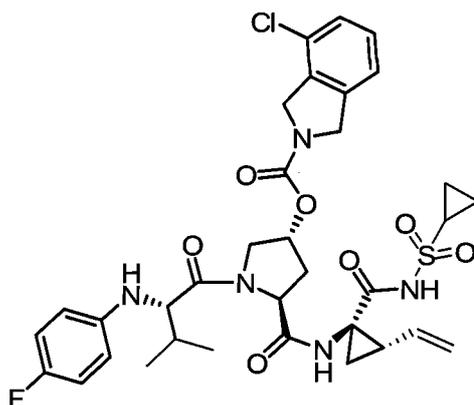
化合物 33

4-氟异吲哚啉-2-甲酸(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙烯基环丙基氨甲酰基)-1-((*S*)-2-(4-氟苯基氨基)-3-甲基丁酰基)吡咯烷-3-基酯

向 DCM(3 mL)中的 4-氟异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙烯基环丙基氨甲酰基)吡咯烷-3-基]酯盐酸盐(0.050 g, 0.092 mmol)、(*S*)-2-(4-氟苯基氨基)-3-甲基丁酸(0.021 g, 0.10 mmol)和 HATU(0.042 g, 0.11 mmol)中添加 DIEA(0.048 mL, 0.28 mmol)并将反应物在室温下搅拌 5 小时。添加 H₂O(5 mL)和饱和 KHSO₄ 溶液(3 mL)。用乙醚(15 mL)萃取混合物,用盐水(10 mL)洗涤并经硫酸钠干燥。去除溶剂后,残余物通过色谱法(己烷:乙酸乙酯=1:2)纯化,得到白色固体状 4-氟异吲哚啉-2-甲酸(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙烯基环丙基氨甲酰基)-1-((*S*)-2-(4-氟苯基氨基)-3-甲基丁酰基)吡咯烷-3-基酯(0.042 g, 65%)。MS:计算值: 699; 实验值: [M+H]⁺ 700。¹H NMR (400 MHz, *d*⁶-DMSO) δ 10.91, 10.85 & 10.58 (s, 1H), 9.16, 9.05 & 8.84 (s, 1H), 7.40 (m, 1H), 7.04-7.21 (m, 2H), 6.71 (m, 2H), 6.60 (m, 2H), 5.62 (m, 1H), 5.10-5.17 (m, 4H), 4.68 (s, 2H), 4.41-4.60 (m, 2H), 4.32 (m, 1H), 4.09 (m, 1H), 3.97 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 2.94 (m, 1H), 2.22 (m, 1H), 2.00-2.18 (m, 3H), 1.71 (m, 1H), 1.20-1.31 (m, 2H), 0.87-1.10 (m, 9H)。

实例 2-8:

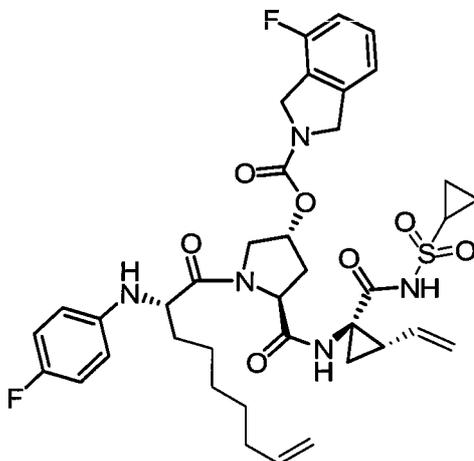
以与在本申请案其它部分中针对 4-氟异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙烯基环丙基氨甲酰基)-1-((*S*)-2-(4-氟苯基氨基)-3-甲基丁酰基)吡咯烷-3-基]酯 33 所述类似的方式制备化合物 34-60。



化合物 34

4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙烯基环丙基氨甲酰基)-1-((*S*)-2-(4-氟苯基氨基)-3-甲基丁酰基)吡咯烷-3-基]酯

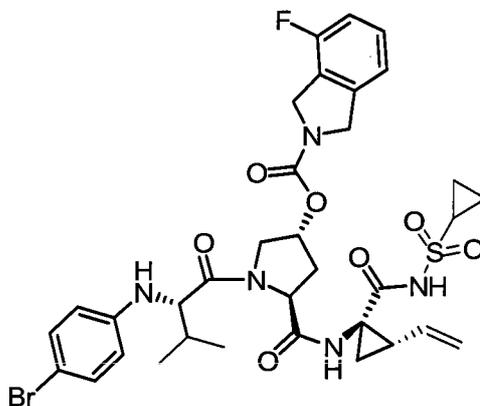
39%产率；MS:计算值：715；实验值：[M+H]⁺ 716。¹H NMR (400 MHz, *d*⁶-DMSO) δ 10.88, 10.83 & 10.58 (s, 1H), 9.17, 9.08 & 8.83 (s, 1H), 7.21-7.40 (m, 3H), 6.72 (m, 2H), 6.61 (m, 2H), 5.60 (m, 1H), 5.35 (m, 1H), 5.20-5.28 (m, 2H), 5.12 (m, 1H), 4.68 (s, 1H), 4.41-4.62 (m, 3H), 4.30 (m, 1H), 4.12 (m, 1H), 3.98 (m, 1H), 3.81 (m, 1H), 2.93 (m, 1H), 2.25 (m, 1H), 2.00-2.20 (m, 3H), 1.68 (m, 1H), 1.20-1.35 (m, 2H), 0.87-1.10 (m, 9H)。



化合物 35

4-氟异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙烯基环丙基氨甲酰基)-1-((*S*)-2-(4-氟苯基氨基)壬-8-烯酰基)吡咯烷-3-基]酯

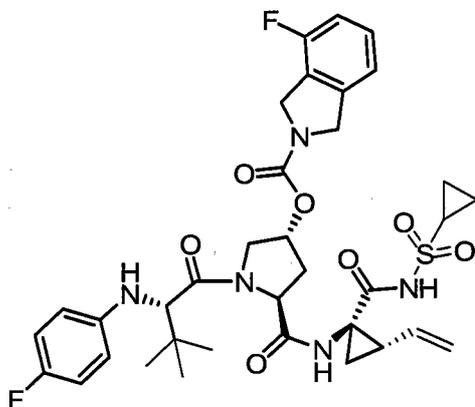
39%产率；MS:计算值：753;实验值：[M+H]⁺ 754。



化合物 36

4-氟异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙烯基环丙基氨甲酰基)-1-((*S*)-2-(4-溴苯基氨基)-3-甲基丁酰基)吡咯烷-3-基]酯

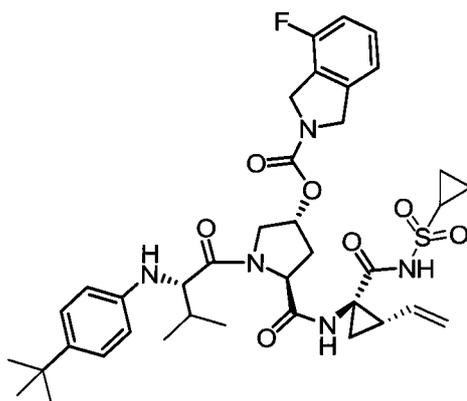
72%产率；MS:计算值：761;实验值：[M+H]⁺ 762。¹H NMR (400 MHz, *d*⁶-DMSO) δ 10.83, 10.80 & 10.52 (s, 1H), 9.04, 9.00 & 8.80 (s, 1H), 7.38 (m, 1H), 7.16-7.20 (m, 2H), 6.98 (m, 2H), 6.52 (m, 2H), 5.60 (m, 2H), 5.28 (m, 1H), 5.22 (m, 1H), 5.08 (m, 1H), 4.63 (s, 2H), 4.40-4.60 (m, 2H), 4.32 (m, 1H), 4.09 (m, 1H), 3.95 (m, 1H), 3.78 (m, 1H), 2.96 (m, 1H), 2.23 (m 1H), 2.00-2.18 (m, 3H), 1.67 (m, 1H), 1.21-1.31 (m, 2H), 0.93-1.10 (m, 9H)。



化合物 37

4-氟异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙烯基环丙基氨甲酰基)-1-((*S*)-2-(4-氟苯基氨基)-3,3-甲基丁酰基)吡咯烷-3-基]酯

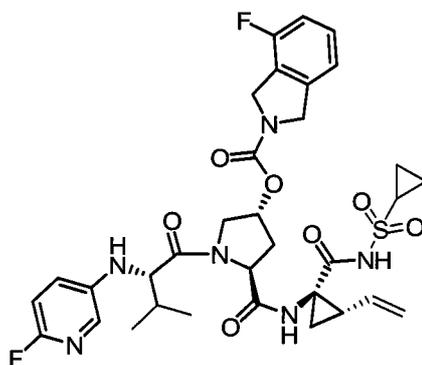
38%产率; MS:计算值:713;实验值: $[M+H]^+$ 714。 1H NMR (400 MHz, d^6 -DMSO) δ 10.98, 10.96 & 10.57 (s, 1H), 8.94, 8.85 & 8.75 (s, 1H), 7.38 (m, 1H), 7.04-7.21 (m, 2H), 6.71 (m, 2H), 6.63 (m, 2H), 5.60 (m, 1H), 5.20-5.33 (m, 2H), 5.11 (m, 1H), 5.04 (m, 1H), 4.64 (m, 2H), 4.2-4.36 (m, 1H), 4.29 (m, 2H), 4.10 (m, 1H), 4.01 (m, 1H), 3.79 (m, 1H), 2.92 (m, 1H), 2.25 (m, 1H), 2.17 (m, 1H), 2.04 (m, 1H), 1.70 (m, 1H), 1.27 (m, 1H), 1.22 (m, 1H), 0.98-1.08 (m, 12H)。



化合物 38

4-氟异吲哚啉-2-甲酸 [(3*R*,5*S*)-1-((*S*)-2-(4-叔丁基苯基氨基)-3-甲基丁酰基)-5-((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨基)-2-乙烯基环丙基氨基甲酰基)吡咯烷-3-基]酯

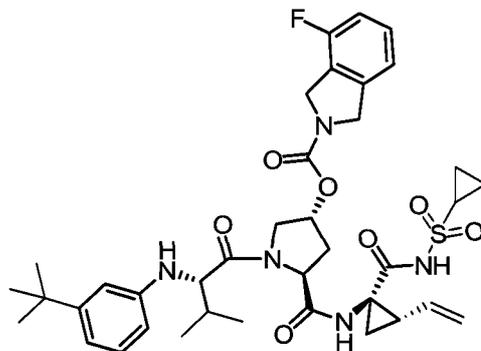
46%产率; MS:计算值:737;实验值: $[M+H]^+$ 738。 1H NMR (400 MHz, d^6 -DMSO) δ 10.92, 10.84 & 10.58 (s, 1H), 9.17, 9.08 & 8.86 (s, 1H), 7.38 (m, 1H), 7.16-7.22 (m, 2H), 6.90 (m, 2H), 6.45 (m, 2H), 5.62 (m, 1H), 5.36 (m, 1H), 5.08-5.27 (m, 3H), 4.62-4.67 (m, 3H), 4.47 (m, 1H), 4.36 (m, 1H), 4.17 (m, 1H), 3.80-3.93 (m, 2H), 2.94 (m, 1H), 2.25 (m, 1H), 1.96-2.18 (m, 3H), 1.74 (m, 1H), 1.23 (m, 1H), 0.98-1.13 (m, 19H)。



化合物 39

4-氟异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨基甲酰基)-2-乙烯基环丙基氨基甲酰基)-1-((*S*)-2-(6-氟吡啶-3-基氨基)-3-甲基丁酰基)吡咯烷-3-基]酯

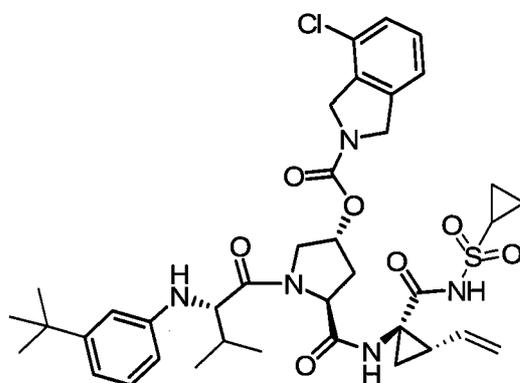
49%产率；MS:计算值：700；实验值：[M+H]⁺ 701。



化合物 40

4-氟异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-1-((*S*)-2-(3-叔丁基苯基氨基)-3-甲基丁酰基)-5-((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨基甲酰基)-2-乙烯基环丙基氨基甲酰基)吡咯烷-3-基]酯

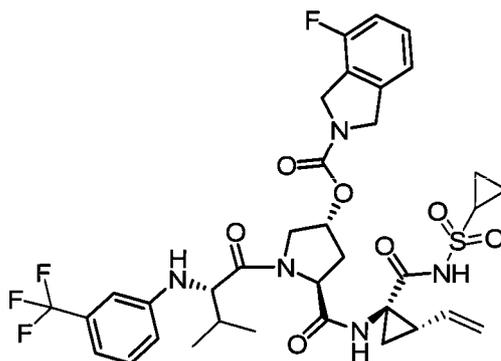
61%产率；MS:计算值：737;实验值：[M+H]⁺ 738。 ¹H NMR (400 MHz, *d*⁶-DMSO) δ 10.94, 10.85 & 10.60 (s, 1H), 9.18, 9.09 & 8.88 (s, 1H), 7.39 (m, 1H), 7.08-7.24 (m, 2H), 6.92 (m, 1H), 6.72 (s, 1H), 6.33-6.46 (m, 2H), 5.64 (m, 1H), 5.37 (s, 1H), 5.23 (m, 1H), 5.12 (m, 2H), 4.71 (s, 2H), 4.60 (m, 1H), 4.44 (m, 1H), 4.35 (m, 1H), 4.02-4.16 (m, 2H), 3.85 (m, 1H), 2.94 (m, 1H), 2.24 (m 1H), 2.02-2.17 (m, 3H), 1.74 (m, 1H), 1.34 (m, 1H), 0.95-1.15 (m, 19H)。



化合物 41

4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-1-((*S*)-2-(3-叔丁基苯基氨基)-3-甲基丁酰基)-5-((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨基甲酰基)-2-乙烯基环丙基氨基甲酰基)吡咯烷-3-基]酯

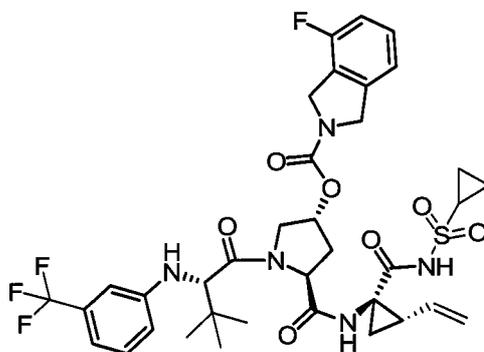
55%产率；MS:计算值：753;实验值：[M+H]⁺ 754。¹H NMR (400 MHz, *d*⁶-DMSO) δ 10.92, 10.84 & 10.60 (s, 1H), 9.18, 9.10 & 8.90 (s, 1H), 7.22-7.38 (m, 3H), 6.80 (m, 1H), 6.73 (m, 1H), 6.29-6.46 (m, 2H), 5.62 (m, 1H), 5.38 (s, 1H), 5.24 (m, 1H), 5.15 (m, 2H), 4.72 (s, 1H), 4.40-4.62 (m, 3H), 4.33 (m, 1H), 4.13 (m, 1H), 4.05 (m, 1H), 3.86 (m, 1H), 2.93 (m, 1H), 2.22 (m, 1H), 2.00-2.19 (m, 3H), 1.72 (m, 1H), 1.20-1.36 (m, 2H), 0.93-1.18 (m, 18H)。



化合物 42

4-氟异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙烯基环丙基氨甲酰基)-1-((*S*)-3-甲基-2-(3-(三氟甲基)苯基氨基)丁酰基)吡咯烷-3-基]酯

58%产率；MS: 计算值：749；实验值：[M+H]⁺ 750。¹H NMR (400 MHz, *d*⁶-DMSO) δ 10.94, 10.88 & 10.58 (s, 1H), 9.09, 9.04 & 8.83 (s, 1H), 7.38 (m, 1H), 7.06-7.23 (m, 3H), 6.97 (s, 1H), 6.82 (m, 1H), 6.60-6.68 (m, 1H), 5.83 (m, 1H), 5.60 (m, 1H), 5.38 (s, 1H), 5.24 (m, 1H), 5.14 (m, 1H), 4.68 (s, 2H), 4.40-4.62 (m, 2H), 4.35 (m, 1H), 4.16 (m, 2H), 3.83 (m, 1H), 2.93 (m, 1H), 2.25 (m, 1H), 2.03-2.18 (m, 3H), 1.70 (m, 1H), 1.28 (m, 1H), 0.93-1.18 (m, 10H)。

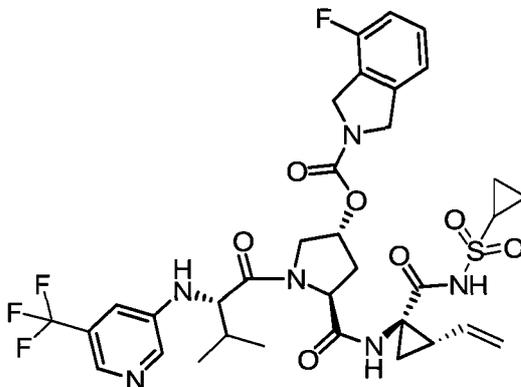


化合物 43

4-氟异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙烯基环丙基氨甲酰基)-1-((*S*)-3-甲基-2-(3-(三氟甲基)苯基氨基)丁酰基)吡咯烷-3-基]酯

基氨甲酰基)-1-((*S*)-3,3-二甲基-2-(3-(三氟甲基)苯基氨基)丁酰基)吡咯烷-3-基]酯

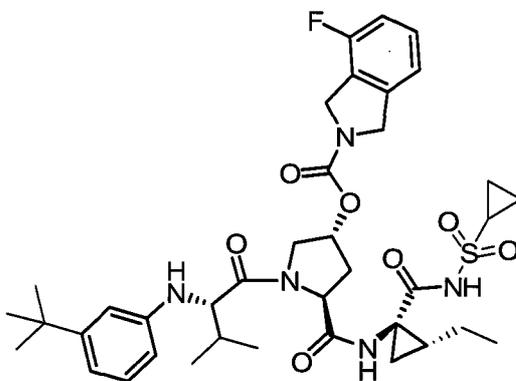
33%产率; MS:计算值: 763;实验值: $[M+H]^+$ 764。



化合物 44

4-氟异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙烯基环丙基氨甲酰基)-1-((*S*)-3-甲基-2-(5-(三氟甲基)吡啶-3-基氨基)丁酰基)吡咯烷-3-基]酯

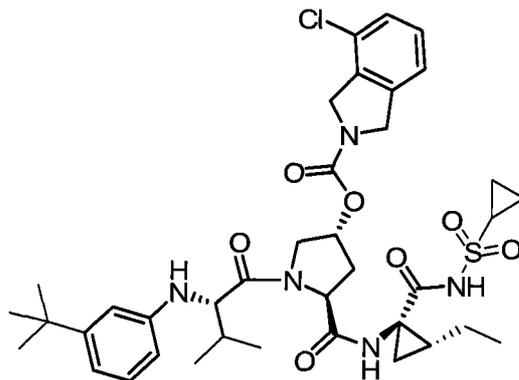
66%产率; MS:计算值: 750;实验值: $[M+H]^+$ 751。



化合物 45

4-氟异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-1-((*S*)-2-(3-叔丁基苯基氨基)-3-甲基丁酰基)-5-((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙基环丙基氨甲酰基)吡咯烷-3-基]酯

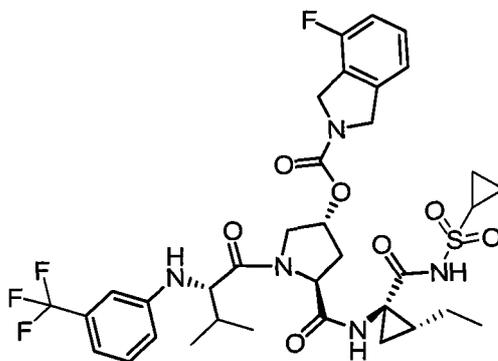
66%产率; MS:计算值: 739;实验值: $[M+H]^+$ 740。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, d^6 -DMSO) δ 10.55 (s, 1H), 9.08 & 9.00 (s, 1H), 7.38 (m, 1H), 7.06-7.23 (m, 2H), 6.79 (m, 1H), 6.73 (s, 1H), 6.30-6.44 (m, 2H), 5.38 (s, 1H), 5.06 (m, 1H), 4.69 (s, 2H), 4.57 (m, 1H), 4.44 (m, 1H), 4.33 (m, 1H), 4.12 (m, 1H), 4.06 (m, 1H), 3.85 (m, 1H), 2.96 (m, 1H), 2.22 (m, 1H), 2.07 (m, 2H), 1.57 (m, 1H), 0.96-1.40 (m, 26H)。



化合物 46

4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-1-((*S*)-2-(3-叔丁基苯基氨基)-3-甲基丁酰基)-5-((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙基环丙基氨甲酰基)吡咯烷-3-基]酯

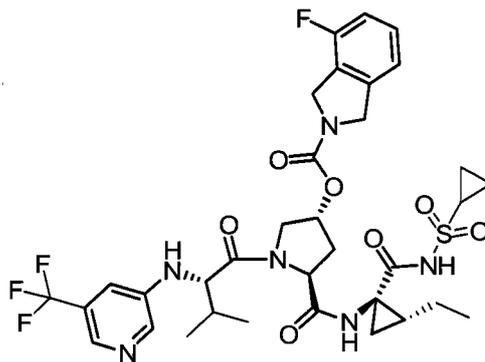
61%产率; MS:计算值: 755;实验值: $[M+H]^+$ 756。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, d^6 -DMSO) δ 10.57 (s, 1H), 9.08 & 9.01 (s, 1H), 7.21-7.38 (m, 3H), 6.80 (m, 1H), 6.72 (m, 1H), 6.34-6.44 (m, 2H), 5.36 (s, 1H), 5.04 (m, 1H), 4.73 (s, 1H), 4.38-4.62 (m, 3H), 4.31 (m, 1H), 4.10 (m, 1H), 4.05 (m, 1H), 3.84 (m, 1H), 2.96 (m, 1H), 2.22 (m, 1H), 2.08 (m, 2H), 1.58 (m, 1H), 0.94-1.42 (m, 26H)。



化合物 47

4-氟异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙基环丙基氨甲酰基)-1-((*S*)-3-甲基-2-(3-(三氟甲基)苯基氨基)丁酰基)吡咯烷-3-基]酯

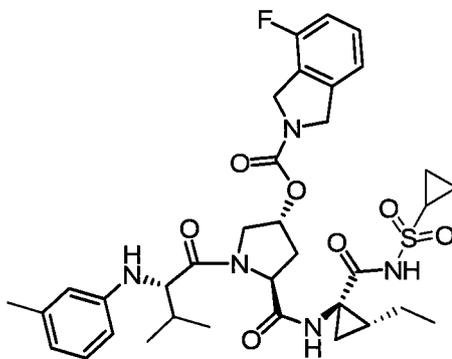
50%产率; MS:计算值: 751;实验值: $[M+H]^+$ 752。



化合物 48

4-氟异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨基甲酰基)-2-乙基环丙基氨基甲酰基)-1-((*S*)-3-甲基-2-(5-(三氟甲基)吡咯烷-3-基氨基)丁酰基)吡咯烷-3-基]酯

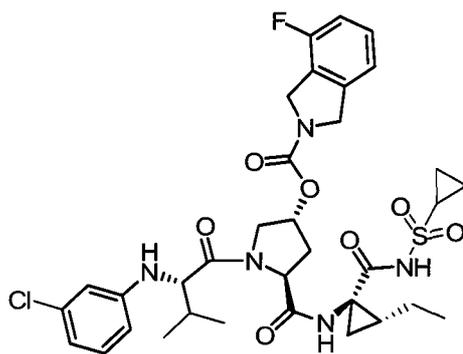
66%产率; MS:计算值:752;实验值:[M+H]⁺ 753。 ¹H NMR (400 MHz, *d*⁶-DMSO) δ 10.42 (s, 1H), 8.99 & 8.96 (s, 1H), 8.20 (m, 1H), 7.82 & 7.92 (s, 1H), 7.38 (m, 2H), 7.12-7.21 (m, 2H), 6.15 (m, 1H), 5.36 (m, 1H), 4.68 (m, 2H), 4.48-4.60 (m, 2H), 4.22-4.37 (m, 3H), 3.82 (m, 1H), 2.95 (m, 1H), 2.24 (m, 1H), 2.10 (m, 2H), 0.94-1.55 (m, 18H)。



化合物 49

4-氟异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨基甲酰基)-2-乙基环丙基氨基甲酰基)-1-((*S*)-3-甲基-2-(间甲苯基氨基)丁酰基)吡咯烷-3-基]酯

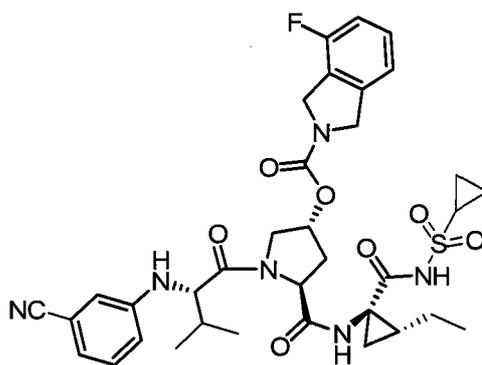
52%产率; MS:计算值: 697;实验值: [M+H]⁺ 698。



化合物 50

4-氟异吲哚啉-2-甲酸 [(3*R*,5*S*)-1-((*S*)-2-(3-氯苯基氨基)-3-甲基丁酰基)-5-((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙基环丙基氨甲酰基)吡咯烷-3-基]酯

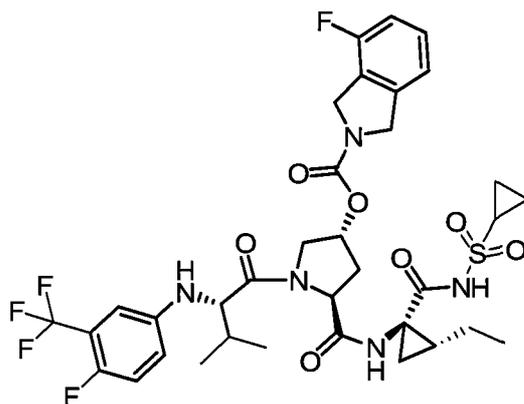
56%产率; MS:计算值: 717;实验值: $[M+H]^+$ 718。



化合物 51

4-氟异吲哚啉-2-甲酸 [(3*R*,5*S*)-1-((*S*)-2-(3-氰基苯基氨基)-3-甲基丁酰基)-5-((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙基环丙基氨甲酰基)吡咯烷-3-基]酯

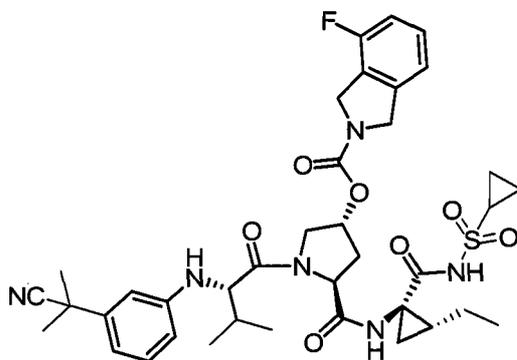
59%产率; MS:计算值: 708;实验值: $[M+H]^+$ 709。



化合物 52

4-氟异吲哚啉-2-甲酸[(3R,5S)-5-((1R,2R)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙基环丙基氨甲酰基)-1-((S)-2-(4-氟-3-(三氟甲基)苯基氨基)-3-甲基丁酰基)吡咯烷-3-基]酯

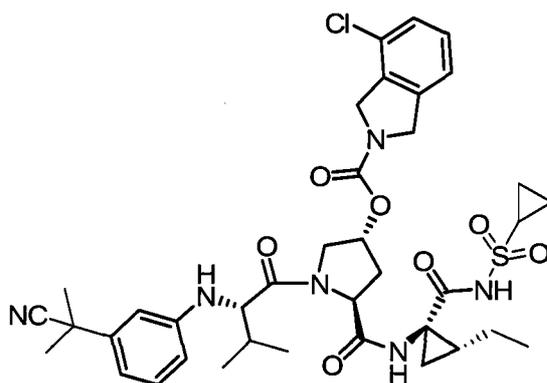
64%产率；MS:计算值：769;实验值：[M+H]⁺ 770。¹H NMR (400 MHz, *d*⁶-DMSO) δ 10.49 (s, 1H), 8.99 & 8.95 (s, 1H), 7.41 (m, 1H), 7.07-7.37 (m, 2H), 7.04 (m, 2H), 6.89 (m, 1H), 5.73 (m, 1H), 5.36 (s, 1H), 4.68 (s, 2H), 4.58 (m, 1H), 4.45 (m, 1H), 4.31 (m, 1H), 4.12 (m, 2H), 3.83 (m, 1H), 2.94 (m, 1H), 2.24 (m, 1H), 2.08 (m, 2H), 1.54 (m, 1H), 0.82-1.42 (m, 17H)。



化合物 53

4-氟异吲哚啉-2-甲酸[(3R,5S)-1-((S)-2-(3-(2-氰基丙-2-基)苯基氨基)-3-甲基丁酰基)-5-((1R,2R)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙基环丙基氨甲酰基)-吡咯烷-3-基]酯

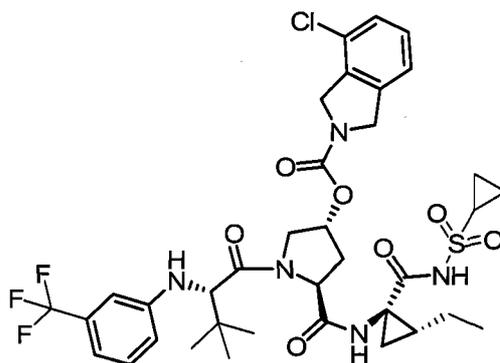
65%产率；MS:计算值：750;实验值：[M+H]⁺ 751。¹H NMR (400 MHz, *d*⁶-DMSO) δ 10.51 (s, 1H), 9.02 & 8.98 (s, 1H), 7.39 (m, 1H), 7.10-7.24 (m, 2H), 6.87-6.93 (m, 2H), 6.46-6.56 (m, 2H), 5.47 (m, 1H), 5.36 (s, 1H), 4.69 (m, 2H), 4.59 (m, 1H), 4.46 (m, 1H), 4.32 (m, 1H), 4.05-4.15 (m, 2H), 3.86 (m, 1H), 2.96 (m, 1H), 2.24 (m, 1H), 2.08 (m, 2H), 0.82-1.56 (m, 24H)。



化合物 54

4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-1-((*S*)-2-(3-(2-氰基丙-2-基)苯基氨基)-3-甲基丁酰基)-5-((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙基环丙基氨甲酰基)-吡咯烷-3-基]酯

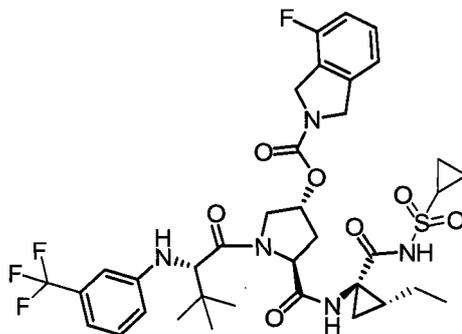
61%产率; MS:计算值: 766;实验值: $[M+H]^+$ 767。 1H NMR (400 MHz, d^6 -DMSO) δ 10.51 (s, 1H), 9.04 & 8.98 (s, 1H), 7.38 & 6.98 (m, 3H), 6.56-6.91 (m, 2H), 6.47-6.56 (m, 2H), 5.49 (m, 1H), 5.37 (s, 1H), 4.73 (m, 1H), 4.41-4.63 (m, 3H), 4.32 (m, 1H), 4.03-4.15 (m, 2H), 3.87 (m, 1H), 2.96 (m, 1H), 2.23 (m, 1H), 2.09 (m, 2H), 0.83-1.55 (m, 24H)。



化合物 55

4-氟异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙基环丙基氨甲酰基)-1-((*S*)-3,3-二甲基-2-(3-(三氟甲基)苯基氨基)丁酰基)吡咯烷-3-基]酯

59%产率; MS:计算值: 781;实验值: $[M+H]^+$ 782。 1H NMR (400 MHz, d^6 -DMSO) δ 10.43 (s, 1H), 8.84 & 8.77 (s, 1H), 7.37 (m, 3H), 7.14 (m, 1H), 7.04 (m, 1H), 6.85 (m, 1H), 6.56 & 6.45 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 5.71 (m, 1H), 5.34 (s, 1H), 4.71 (m, 1H), 4.46-4.60 (m, 2H), 4.32 (m, 1H), 4.10-4.22 (m, 3H), 3.83 (m, 1H), 2.96 (m, 1H), 2.25 (m, 1H), 2.05 (m, 1H), 0.88-1.53 (m, 21H)。

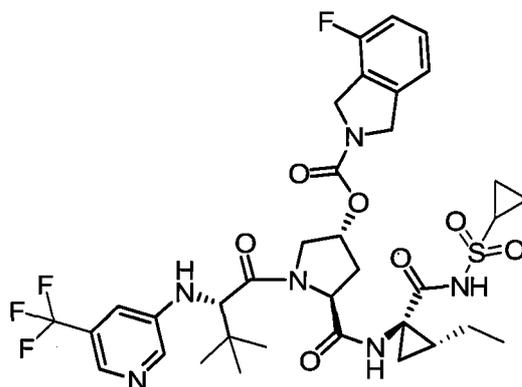


化合物 56

4-氟异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙基环丙基

氨甲酰基)-1-((S)-3,3-二甲基-2-(3-(三氟甲基)苯基氨基)丁酰基)吡咯烷-3-基]酯

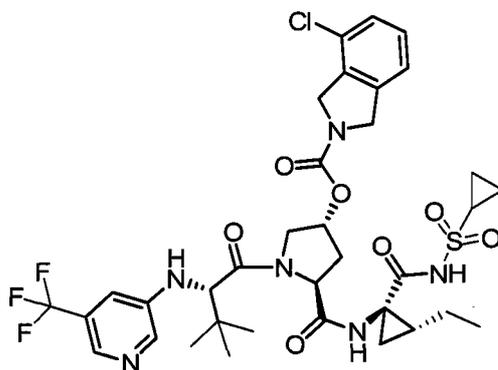
62%产率; MS:计算值: 765;实验值: $[M+H]^+$ 766。 1H NMR (400 MHz, d^6 -DMSO) δ 10.43 (s, 1H), 8.82 & 8.78 (s, 1H), 7.37 (m, 1H), 7.00-7.23 (m, 4H), 6.86 (m, 1H), 6.56 & 6.45 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 5.69 (m, 1H), 5.33 (s, 1H), 4.66 (m, 2H), 4.49 (m, 1H), 4.29 (m, 1H), 4.13-4.26 (m, 3H), 3.83 (m, 1H), 2.96 (m, 1H), 2.24 (m, 1H), 2.04 (m, 1H), 0.88-1.52 (m, 21H)。



化合物 57

4-氟异吲哚啉-2-甲酸[(3R,5S)-5-((1R,2R)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙基环丙基氨甲酰基)-1-((S)-3,3-二甲基-2-(5-(三氟甲基)吡啶-3-基氨基)丁酰基)吡咯烷-3-基]酯

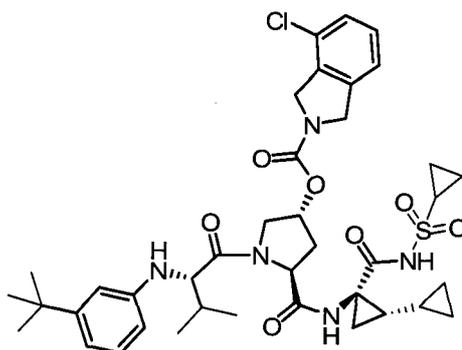
59%产率; MS:计算值: 766;实验值: $[M+H]^+$ 767。



化合物 58

4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3R,5S)-5-((1R,2R)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙基环丙基氨甲酰基)-1-((S)-3,3-二甲基-2-(5-(三氟甲基)吡啶-3-基氨基)丁酰基)吡咯烷-3-基]酯

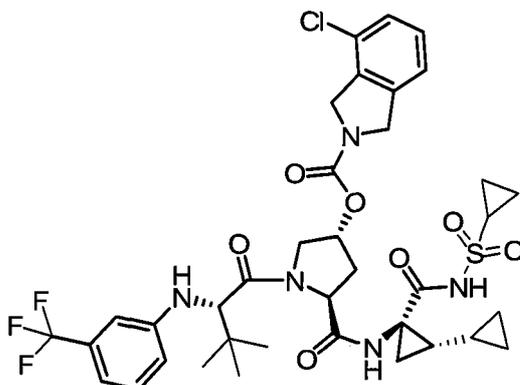
50%产率; MS:计算值: 782;实验值: $[M+H]^+$ 783。



化合物 59

4-氯异吲哚啉-2-甲酸 [(3*R*,5*S*)-1-((*S*)-2-(3-叔丁基苯基氨基)-3-甲基丁酰基)-5-((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-环丙基环丙基氨甲酰基)吡咯烷-3-基]酯

75%产率; MS:计算值: 767;实验值: $[M+H]^+$ 768。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, d^6 -DMSO) δ 10.57 (s, 1H), 8.96 及 8.90 (s, 1H), 7.37 & 7.24 (m, 3H), 6.79 (m, 1H), 6.71 (m, 1H), 6.33-6.46 (m, 2H), 5.36 (m, 1H), 5.09 (m, 1H), 4.73 (s, 1H), 4.37-4.62 (m, 3H), 4.28 (m, 1H), 4.10 (m, 1H), 4.01 (m, 1H), 3.87 (m, 1H), 2.96 (m, 1H), 2.22 (m, 1H), 2.08 (m, 2H), 1.59 (m, 1H), 0.83-1.26 (m, 21H), 0.71 (m, 1H), 0.45-0.52 (m, 2H), 0.26 (m, 2H)。



化合物 60

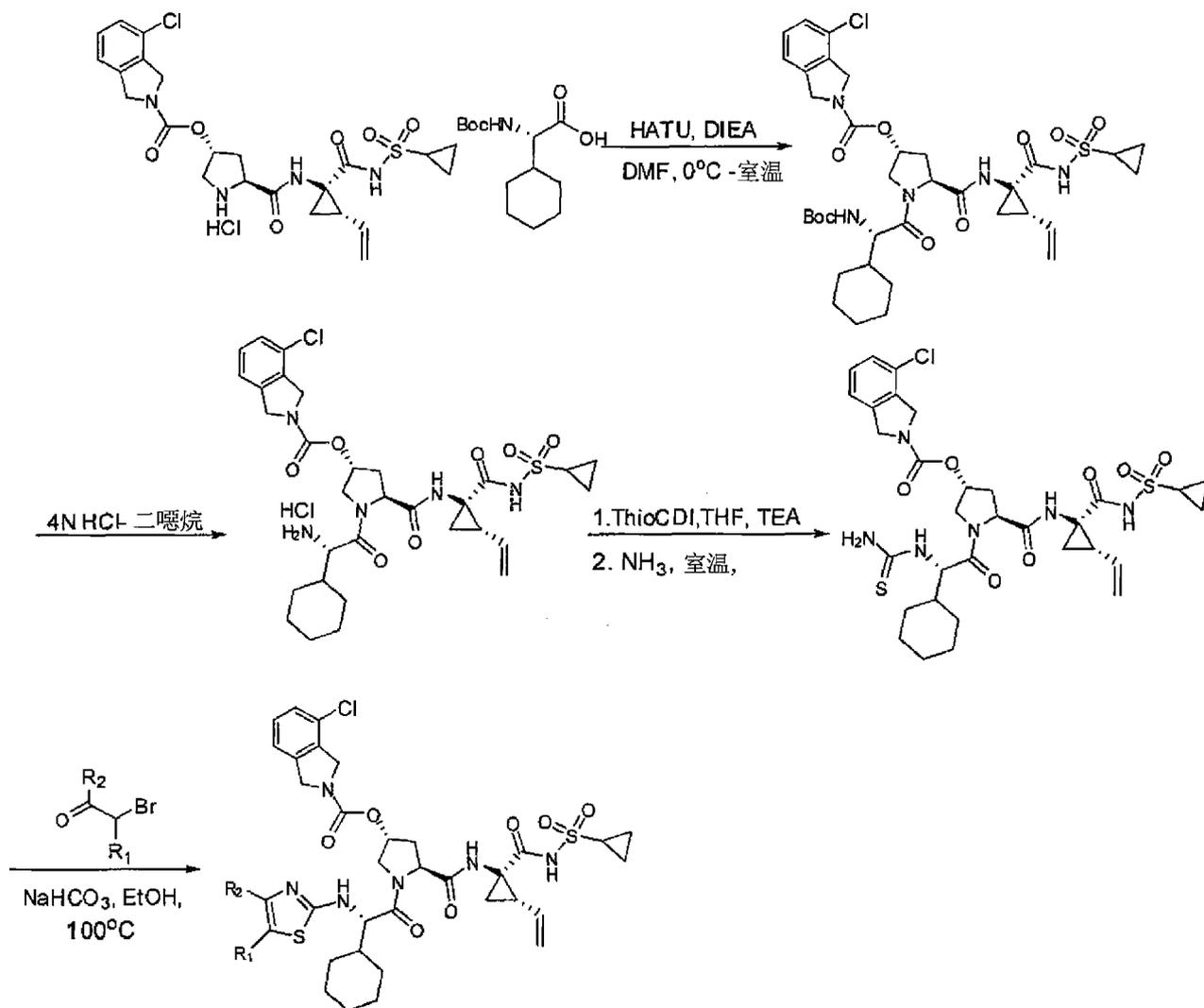
4-氯异吲哚啉-2-甲酸 [(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-环丙基环丙基氨甲酰基)-1-((*S*)-3,3-二甲基-2-(3-(三氟甲基)苯基氨基)-丁酰基)吡咯烷-3-基]酯

43%产率; MS:计算值: 793;实验值: $[M+H]^+$ 794。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, d^6 -DMSO) δ 10.53 (s, 1H), 8.79 及 8.73 (s, 1H), 7.37 (m, 3H), 7.14 (m, 1H), 7.03 (m, 1H), 6.85 (m, 1H), 6.54 & 6.44 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 5.72 (m, 1H), 5.34 (m, 1H), 4.71 (s, 2H), 4.45-4.60 (m, 2H), 4.27 (m, 1H), 4.10-4.20 (m, 2H), 3.83 (m, 1H), 2.97 (m, 1H), 2.27 (m, 1H), 2.04 (m, 1H), 1.56

(m, 1H), 1.01-1.13 (m, 15H), 0.74 (m, 1H), 0.49 (m, 2H), 0.29 (m, 2H)。

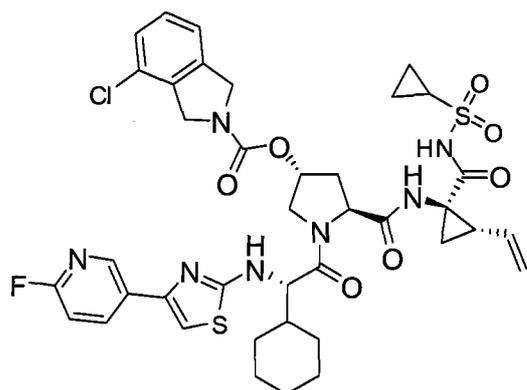
用于制备通式 I 化合物的另一方法如下文所示。

方法：



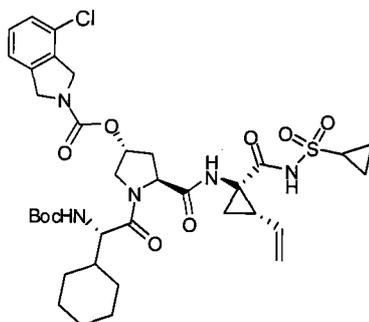
使用上述方法制备以下三肽：

实例 3-1：



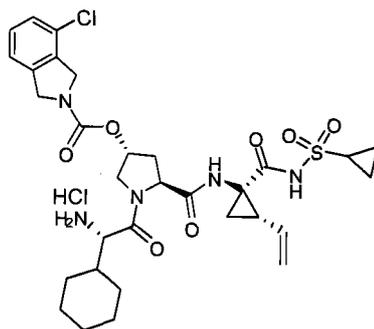
化合物 61

4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3R,5S)-5-(((1R,2S)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙烯基环丙基)氨甲酰基)-1-((S)-2-环己基-2-(4-(6-氟吡啶-3-基)噻唑-2-基氨基)乙酰基)吡咯烷-3-基]酯



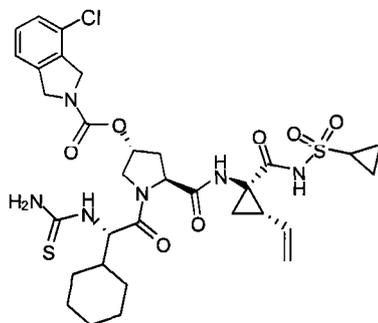
步骤 1: 4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3R,5S)-5-(((1R,2S)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙烯基环丙基)氨甲酰基)-1-((S)-2-(叔丁氧羰基)-2-环己基乙酰基)吡咯烷-3-基]酯的合成

向 25 mL 圆底烧瓶中装入于无水 DMF(9 mL)中的 4-氯异吲哚啉-2-甲酸(3R,5S)-5-(((1R,2S)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙烯基环丙基)氨甲酰基)吡咯烷-3-基酯盐酸盐(0.500 g, 0.894 mmol)、(S)-2-(叔丁氧羰基)-2-环己基乙酸(276 mg, 1.07 mmol)和 HATU(408 mg, 1.07 mmol)。将溶液在冰水浴中冷却并通过逐滴添加用 DIEA(0.467 mL, 2.68 mmol)来处理。在 0℃下将混合物搅拌 1 小时,接着使其升温并在室温下搅拌 16 小时。用水(50 mL)稀释混合物并用 1N HCl 将 pH 值调整到 3,用 Et₂O(20 mL)萃取混合物 3 次。接着用 1N HCl(3×20 mL)、水(3×20 mL)和盐水(3×20 mL)洗涤合并的有机萃取液。接着将有机萃取液经 MgSO₄ 干燥,过滤并浓缩。粗材料通过用 1-3% MeOH-CH₂Cl₂ 洗脱的色谱法(百特吉(Biotage))纯化,得到呈白色泡沫状的产物(394 mg, 59%)。MS m/e 662 (M⁺-Boc)。



步骤 2: 4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-(((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙烯基环丙基)氨甲酰基)-1-((*S*)-2-氨基-2-环己基乙酰基)吡咯烷-3-基]酯盐酸盐的合成

向 25 mL 圆底烧瓶中装入 4-氯异吲哚啉-2-甲酸(3*R*,5*S*)-5-(((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙烯基环丙基)氨甲酰基)-1-((*S*)-2-(叔丁氧羰基)-2-环己基乙酰基)吡咯烷-3-基酯(267 mg, 0.350 mmol), 向其中添加 4N HCl-二噁烷(4 mL)并将所得溶液在室温下搅拌 4 小时。接着将反应混合物浓缩并将产物与 Et₂O 一起湿磨, 产生呈奶油色泡沫状的盐酸盐(245 mg, 100%)。MS *m/e* 662 (M⁺)。



步骤 3: 4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-(((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙烯基环丙基)氨甲酰基)-1-((*S*)-2-环己基-2-硫脲基乙酰基)吡咯烷-3-基]酯的合成

向 10 mL 圆底烧瓶中装入 4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-(((1*R*,2*S*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙烯基环丙基)氨甲酰基)-1-((*S*)-2-氨基-2-环己基乙酰基)吡咯烷-3-基]酯盐酸盐(268 mg, 0.383 mmol)并在无水 THF(2.0 mL)中搅拌。在剧烈搅拌下向此溶液中添加 TEA(0.267 mL, 1.91 mmol)以防止结块。在室温下搅拌 5 分钟后, 添加二(1*H*-咪唑-1-基)甲硫酮(102 mg, 0.574 mmol)并将所得混合物在室温下搅拌 1 小时。反应混合物的 HPLC 表明起始盐酸盐的消耗。接着将氨鼓泡进入反应混合物中持续 8 分钟, 并随后将所得混合物在室温下再搅拌 1 小时。HPLC 表明形成所要硫脲。将反应混合物浓缩为橙色泡沫状物并通过使用以下制备型 HPLC 条件(使用 SPX 软件的百特吉(Biotage)SP4 系统; 第 2

版)来纯化:

柱: 百特吉, KP-C18-HS 25+M2436-1, 35-70 μm 粒度, 90 \AA 孔径

流动相梯度: 以 40-6 mL 洗脱份的 0-95% B

A: 水

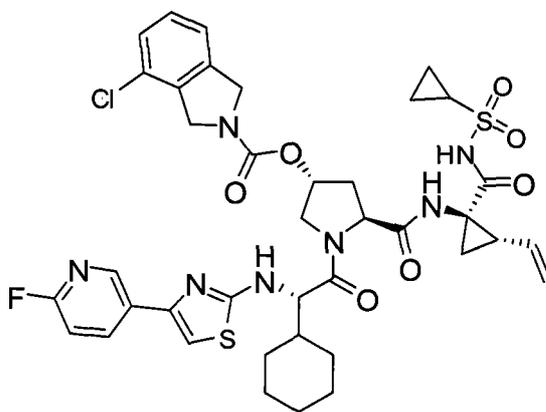
B: MeCN

流速: 15 mL/min

温度: 25 C

波长: 220 nm

产生呈乳白色泡沫状的硫脲, (174 mg, 63%)。MS m/e 719 ($\text{M}^- - 2\text{H}$)。



步骤 4: 4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3R,5S)-5-(((1R,2S)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙烯基环丙基)氨甲酰基)-1-((S)-2-环己基-2-(4-(6-氟吡啶-3-基)噻唑-2-基氨基)乙酰基)吡咯烷-3-基]酯的合成

向 10 mL 圆底烧瓶中装入 4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3R,5S)-5-(((1R,2S)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙烯基环丙基)氨甲酰基)-1-((S)-2-环己基-2-硫脲基乙酰基)吡咯烷-3-基]酯 (56 mg, 0.078 mmol) 并在乙醇 (1.0 mL) 中搅拌。向此溶液中添加 2-溴-1-(6-氟吡啶-3-基)乙酮 (31 mg, 0.14 mmol) 和碳酸氢钠 (66 mg, 0.78 mmol) 并在 100°C 下加热所得混合物。25 分钟后中断加热并使反应混合物冷却到室温并通过制备型 HPLC 条件 (使用 SPX 软件的百特吉 (Biotage) SP4 系统; 第 2 版) 来纯化:

柱: 百特吉, KP-C18-HS, 25+M2436-1, 35-70 μm 粒度, 90 \AA 孔径

流动相梯度: 以 40-6 mL 洗脱份的 0-95% B

A: 水

B: MeCN

流速：15 mL/min

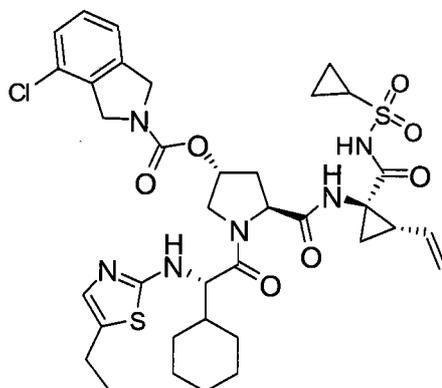
温度：25 C

波长：220 nm

产生乳白色固体状的产物，(14 mg, 21%)。MS m/e 838 (M⁻2H)。

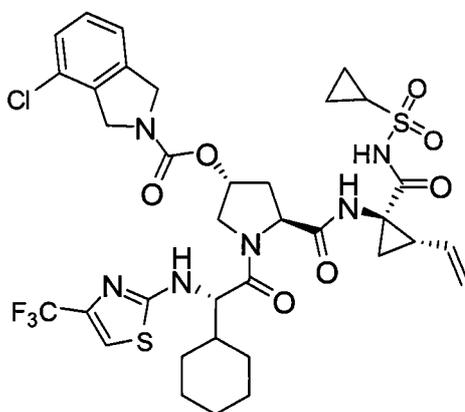
实例 3-2:

可在本申请案其它部分中针对化合物 4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3R,5S)-5-(((1R,2S)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙烯基环丙基)氨甲酰基)-1-((S)-2-环己基-2-(4-(6-氟吡啶-3-基)噻唑-2-基氨基)乙酰基)吡咯烷-3-基]酯 **61** 所述类似的方式制备化合物 **62** 和 **63**。



化合物 62

4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3R,5S)-5-(((1R,2S)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙烯基环丙基)氨甲酰基)-1-((S)-2-环己基-2-(5-乙基噻唑-2-基氨基)乙酰基)吡咯烷-3-基]酯
18%产率。MS m/e 773 (M⁺)。

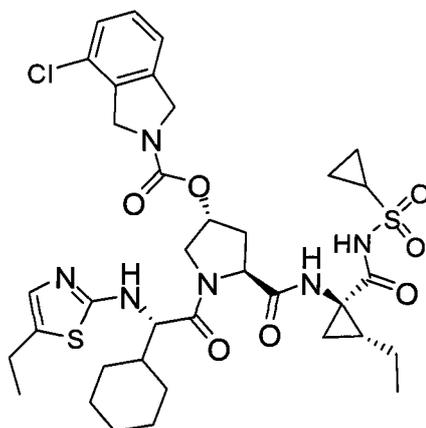


化合物 63

4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3R,5S)-5-(((1R,2S)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙烯基环丙基)氨甲酰基)-1-((S)-2-环己基-2-(4-(三氟甲基)噻唑-2-基氨基)乙酰基)吡咯烷-3-基]酯

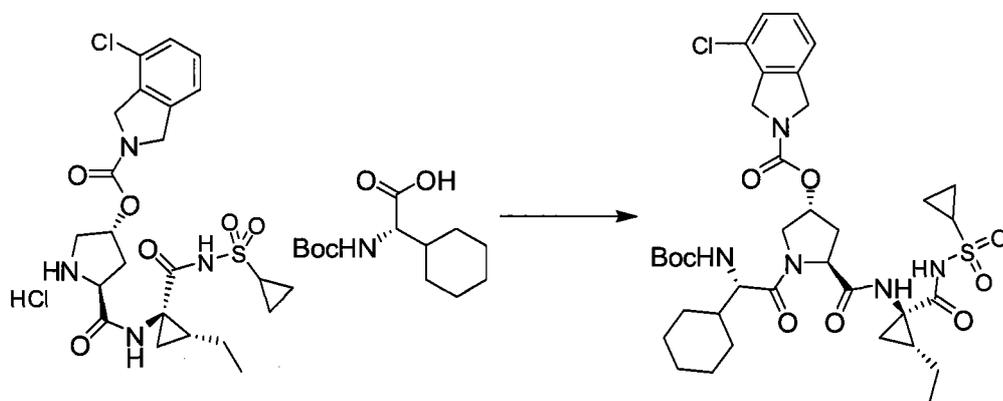
7.5%产率。MS m/e 811 (M⁻-2H)。

实例 3-3:



化合物 64

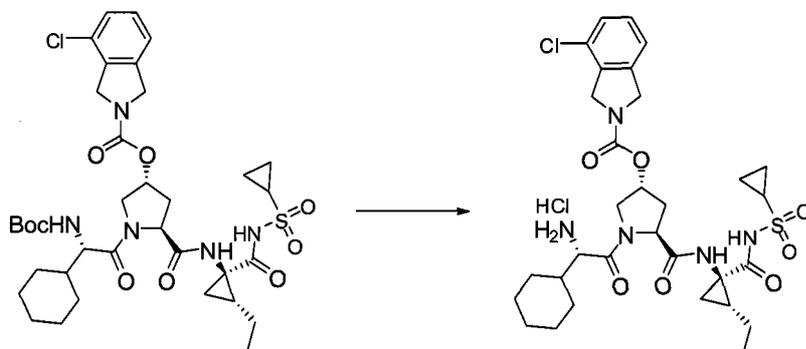
4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3R,5S)-5-(((1R,2R)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙基环丙基)氨甲酰基)-1-((S)-2-环己基-2-(5-乙基噻唑-2-基氨基)乙酰基)吡咯烷-3-基]酯



步骤 1: 4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3R,5S)-5-(((1R,2R)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙基环丙基)氨甲酰基)-1-((S)-2-(叔丁氧羰基)-2-环己基乙酰基)吡咯烷-3-基]酯的合成

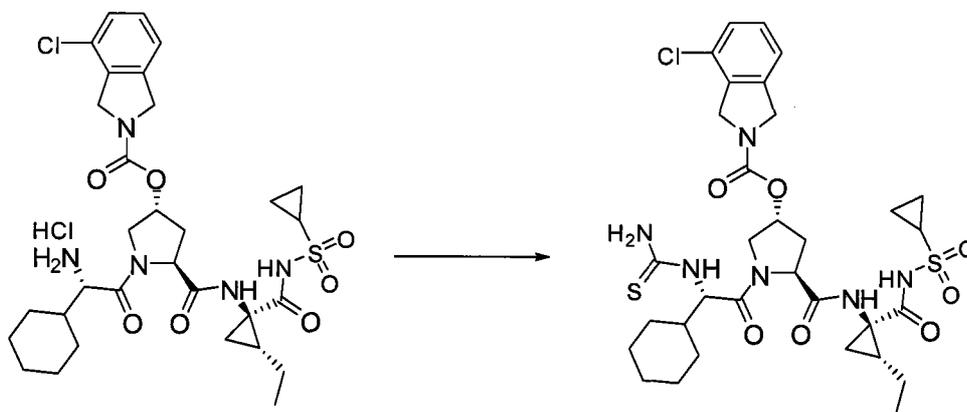
向 10 mL 圆底烧瓶中装入 4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3R,5S)-5-(((1R,2R)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙基环丙基)氨甲酰基)吡咯烷-3-基]酯盐酸盐(0.150 g, 0.267 mmol)、(S)-2-(叔丁氧羰基)-2-环己基乙酸(82 mg, 0.32 mmol)和 HATU(122 mg, 0.321 mmol)并在无水 DMF(1.5 mL)中搅拌。将溶液在冰水浴中冷却并接着通过逐滴添加用 DIEA(0.140 mL, 0.802 mmol)来处理。在 0℃下将混合物搅拌 1 小时,接着使其升温并在室温下搅拌 16 小

时。用水(5.0 mL)稀释反应混合物，导致沉淀物分离。在室温下搅拌约 1 小时后，通过过滤收集沉淀物，用水洗涤并干燥为乳白色固体，(195 mg, 95%)。MS m/e 664 (M^+ -Boc)。



步骤 2: 4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-(((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙基环丙基)氨甲酰基)-1-((*S*)-2-氨基-2-环己基乙酰基)吡咯烷-3-基]酯盐酸盐的合成

在室温下将 4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-(((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙基环丙基)氨甲酰基)-1-((*S*)-2-(叔丁氧羰基)-2-环己基乙酰基)吡咯烷-3-基]酯(205 mg, 0.268 mmol)在 4 M HCl-二噁烷(3 mL)中搅拌 2.5 小时。接着浓缩反应混合物并将产物与 40% Et₂O-己烷一起湿磨，产生乳白色粉末状的盐酸盐，189 mg。MS m/e 664 (M^+)。

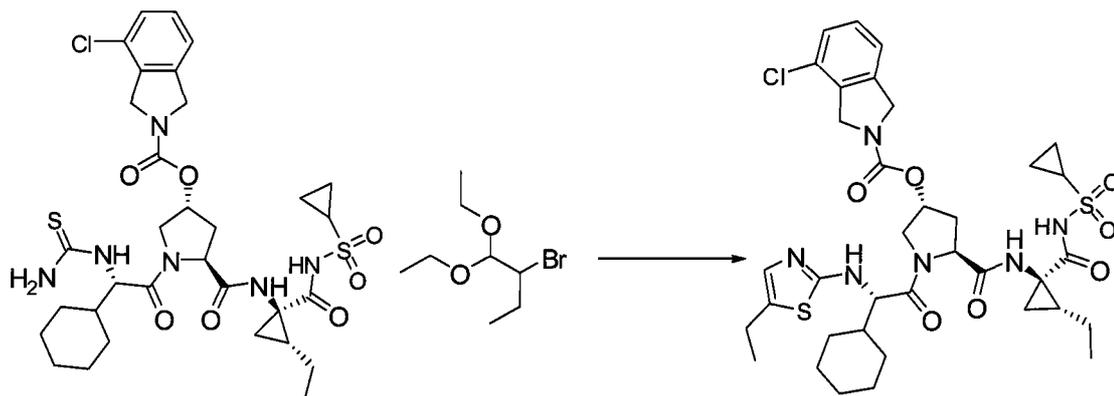


步骤 3: 4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-(((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙基环丙基)氨甲酰基)-1-((*S*)-2-环己基-2-硫脲基乙酰基)吡咯烷-3-基]酯的合成

中间物硫脲是根据国际申请案 PCT/US04/022599(公开案第 WO 05/007601 号)所揭示的程序来制备。

向 10 mL 圆底烧瓶中装入 4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-(((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙基环丙基)氨甲酰基)-1-((*S*)-2-氨基-2-环己基乙酰基)吡咯烷-3-基]酯盐酸盐(189 mg, 0.270 mmol)并在无水 THF(1.0 mL)中搅拌。在剧烈搅拌下向此悬浮液中添加

TEA(0.094 mL, 0.67 mmol)以防止结块。在室温下搅拌 15 分钟后, 添加二(1H-咪唑-1-基)甲硫酮(74 mg, 0.41 mmol)并将所得混合物搅拌 1 小时。接着添加甲醇中的 2M 氨溶液(0.539 mL, 1.08 mmol)并将所得混合物在室温下搅拌 2 小时。接着蒸发溶剂并且粗硫脲通过用 0.5-1.5% MeOH-CH₂Cl₂ 洗脱的色谱法(百特吉(Biotage))纯化, 产生呈淡黄色泡沫状的产物, 52.6 mg, 27%。MS m/e 721 (M⁻-2H)。

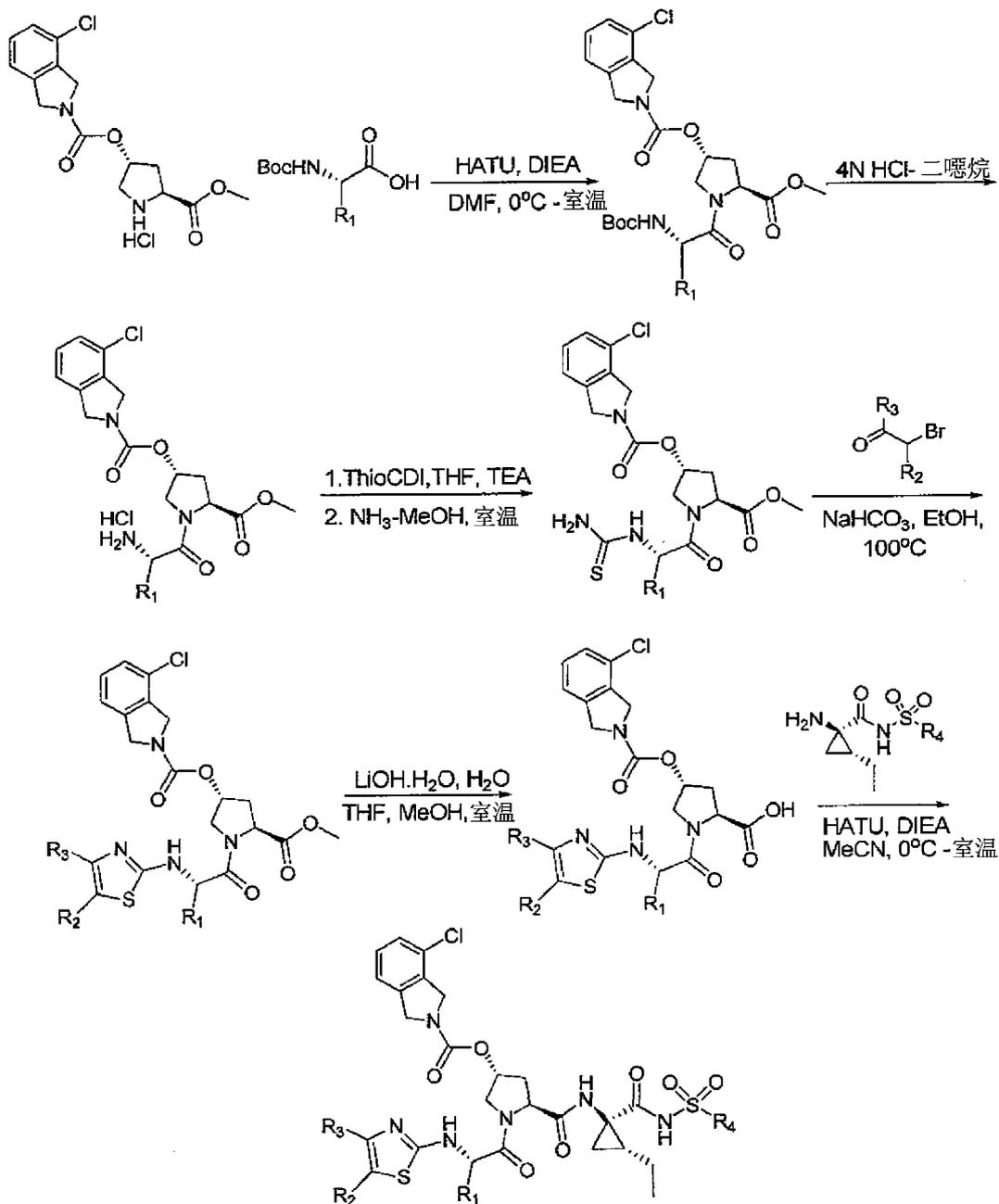


步骤 4: 4-氯异咪唑啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-(((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨基甲酰基)-2-乙基环丙基)氨基甲酰基)-1-((*S*)-2-环己基-2-(5-乙基噻唑-2-基氨基)乙酰基)吡咯烷-3-基]酯的合成

向 10 mL 圆底烧瓶中装入 4-氯异咪唑啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-(((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨基甲酰基)-2-乙基环丙基)氨基甲酰基)-1-((*S*)-2-环己基-2-硫脲基乙酰基)吡咯烷-3-基]酯(41 mg, 0.057 mmol)并在乙醇(1.0 mL)中搅拌。向此溶液中添加 2-溴-1,1-二乙氧基丁烷(0.129 mL, 0.571 mmol)和碳酸氢钠(48 mg, 0.57 mmol)并将所得混合物在 100°C 下加热 16 小时。将混合物冷却到室温并蒸发, 并且将残余物悬浮于 EtOAc(10 mL)中并用水洗涤。用 EtOAc(10 mL)萃取水层并且合并的有机层经 MgSO₄ 干燥, 过滤并浓缩。粗材料通过用 2.5% MeOH-CH₂Cl₂ 洗脱的柱色谱法(硅胶)纯化, 产生乳白色粉末状的产物, 4.6 mg, 10%。MS m/e 775 (M⁺)。

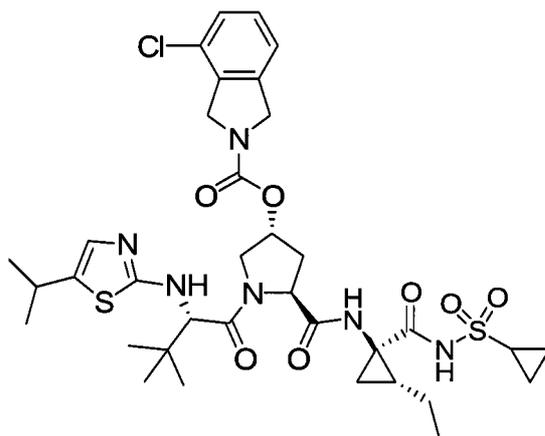
用于制备通式 I 化合物的另一方法如下所示。

方法:



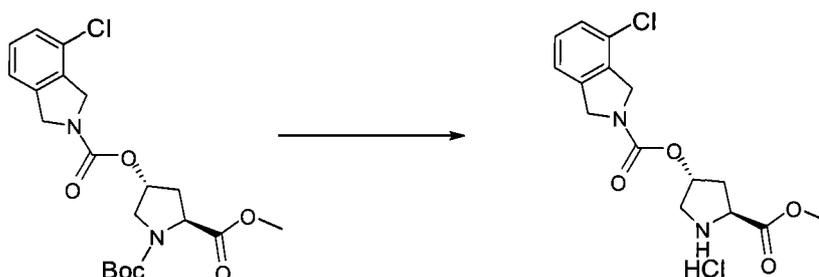
使用上述方法制备以下三肽：

实例 4-1：



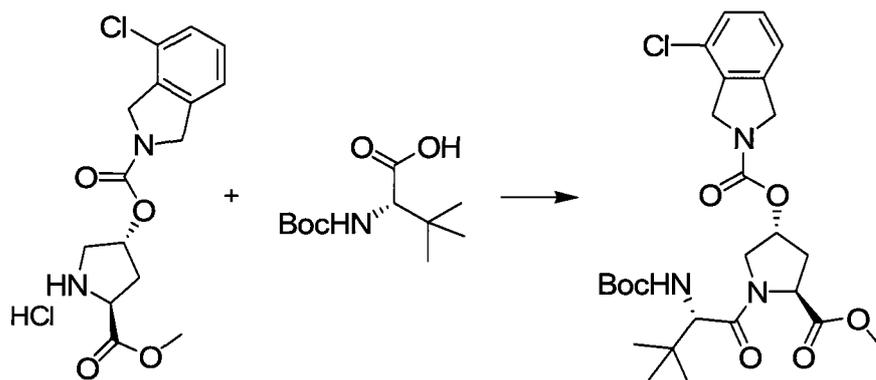
化合物 65

4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3R,5S)-5-(((1R,2R)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙基环丙基)氨甲酰基)-1-((S)-2-(5-异丙基噻唑-2-基氨基)-3,3-二甲基丁酰基)吡咯烷-3-基]酯



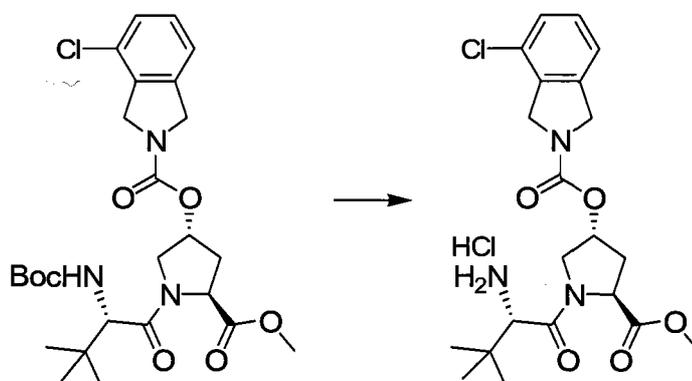
步骤 1: 4-氯异吲哚啉-2-甲酸(3R,5S)-5-(甲氧羰基)吡咯烷-3-基酯盐酸盐的合成

在室温下将(2S,4R)-4-(4-氯异吲哚啉-2-羧氧基)吡咯烷-1,2-二甲酸 1-叔丁酯 2-甲酯 (4.95 g, 11.7 mmol)在 4 M HCl-二噁烷(50 mL)中搅拌 5 小时。接着将反应混合物浓缩至干并将所得粉末与 50% EtOAc-己烷一起湿磨, 产生白色粉末状的盐酸盐 4.2 g, 99%。MS m/e 325 (M^+)。 1H NMR (400 MHz, d^6 -DMSO) δ 7.27-7.42 (m, 3H), 5.30 (m, 1H), 4.8-4.92 (m, 5H), 3.79 (d, 3H), 3.54-3.62 (m, 1H), 3.30-3.45 (m, 2H), 2.43-2.49 (m, 1H), 2.31-2.40 (m, 1H)。



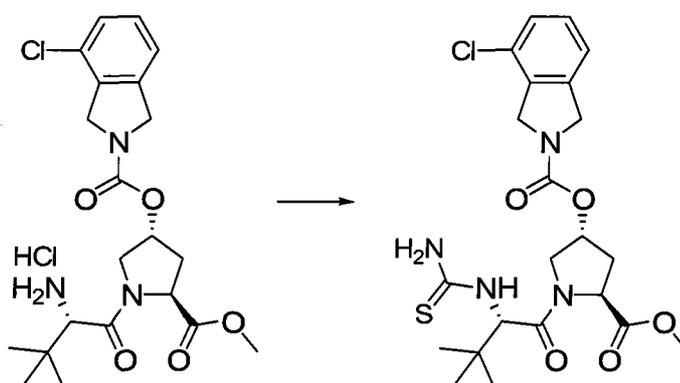
步骤 2: 4-氯异吲哚啉-2-甲酸(3R,5S)-1-((S)-2-(叔丁氧羰基)-3,3-二甲基丁酰基)-5-(甲氧羰基)吡咯烷-3-基酯的合成

向 200 mL 圆底烧瓶中装入在无水 MeCN(30 mL)中的 4-氯异吲哚啉-2-甲酸(3R,5S)-5-(甲氧羰基)吡咯烷-3-基酯盐酸盐(1.20 g, 3.32 mmol)、(S)-2-(叔丁氧羰基)-3,3-二甲基丁酸(807 mg, 3.49 mmol)和 HATU(1.90 g, 4.98 mmol)。接着将溶液在乙醇-冰浴上冷却并通过逐滴添加用 DIEA(1.74 mL, 9.97 mmol)来处理。在 0°C 下将混合物搅拌 1 小时,接着使其升温并在室温下搅拌 16 小时。接着浓缩混合物并将残余物溶解于 EtOAc(100 mL)中并用冰过的 5%柠檬酸(水溶液)(3×30 mL)、1M NaOH(3×30 mL)、水(3×30 mL)和盐水(3×30 mL)洗涤。有机层经 MgSO₄ 干燥,过滤并浓缩为油状物。油状物通过用 35% EtOAc-己烷洗脱的色谱法(百特吉(Biotage))纯化,产生呈白色泡沫状的产物,1.27 g, 71%。MS m/e 438 (M+H)⁺-Boc。 ¹H NMR (400 MHz, d⁶-DMSO) δ 7.3-7.4 (m, 3H), 6.7--6.76 (m, 1H), 5.24 (bs, 1H), 4.4-4.76 (m, 4H), 4.12-4.2 (m, 1H), 3.96-4.3 (m, 1H), 3.7-3.78 (m, 1H), 3.64 (d, 3H), 2.38-2.48 (m, 1H), 2.07-2.16 (m, 1H), 1.14 (d, 9H), 0.98 (s, 9H)。



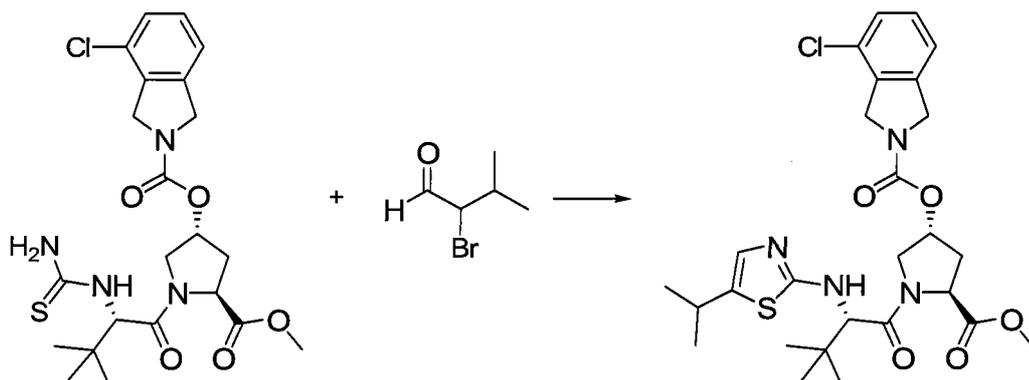
步骤 3: 4-氯异吲哚啉-2-甲酸(3R,5S)-1-((S)-2-氨基-3,3-二甲基丁酰基)-5-(甲氧羰基)吡咯烷-3-基酯盐酸盐的合成

在室温下将 4-氯异吲哚啉-2-甲酸(3*R*,5*S*)-1-((*S*)-2-(叔丁氧羰基)-3,3-二甲基丁酰基)-5-(甲氧羰基)吡咯烷-3-基酯(2.93 g, 5.45 mmol)在 4 M HCl-二噁烷(25 mL)中搅拌 5 小时。接着将反应混合物浓缩至干并将所得固体与 50%EtOAc-己烷一起湿磨, 产生白色粉末状的盐酸盐, 2.43g, 94%。MS *m/e* 438 (M^+)。¹H NMR (400 MHz, *d*⁶-DMSO) δ 8.16 (bs, 2H), 7.28-7.4 (m, 3H), 5.30 (m, 1H), 4.48-4.80 (m, 4H), 3.95-4.12 (m, 2H), 3.76-3.86 (m, 1H), 3.75 (d, 3H), 2.4-2.48 (m, 1H), 2.12-2.24 (m, 1H), 1.04 (d, 9H)。



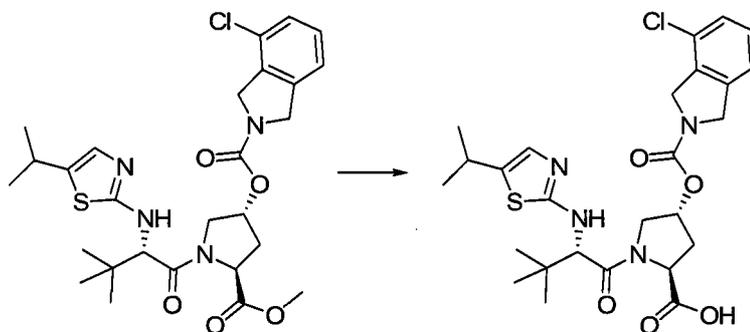
步骤 4: 4-氯异吲哚啉-2-甲酸(3*R*,5*S*)-1-((*S*)-3,3-二甲基-2-硫脲基丁酰基)-5-(甲氧羰基)吡咯烷-3-基酯

向 200 mL 圆底烧瓶中装入 4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-1-((*S*)-2-氨基-3,3-二甲基丁酰基)-5-(甲氧羰基)吡咯烷-3-基]酯盐酸盐(2.43 g, 5.12 mmol)并在无水 THF(25 mL)中搅拌。在剧烈搅拌下向此悬浮液中添加 TEA(1.75 mL, 12.8 mmol)以防止结块。在室温下搅拌 15 分钟后, 添加二(1*H*-咪唑-1-基)甲硫酮(1.41 g, 7.68 mmol)并将所得黄橙色悬浮液搅拌 1 小时。接着添加在甲醇中的 2M 氨溶液(10.2 mL, 20.5 mmol)并将所得混合物在室温下搅拌 2 小时。接着蒸发溶剂并将残余物再悬浮于 EtOAc(50 mL)中并与水(20 mL)一起搅拌。分离各层并用 EtOAc(2×15 mL)萃取水层。合并的有机层经 MgSO₄ 干燥, 过滤并浓缩为黄橙色油状物。粗硫脲通过用 0.5-1.5% MeOH-CH₂Cl₂ 梯度洗脱的色谱法(百特吉(Biotage))纯化, 产生呈淡黄色泡沫状的产物, 2.29 g, 90%。MS *m/e* 495 ($M-2H$)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.16-7.25 (m, 3H), 7.08-7.14 (m, 1H), 6.17 (d, 2H), 5.42 (bs, 1H), 5.12-5.21 (m, 1H), 4.5-4.81 (m, 6H), 3.89-3.91 (m, 1H), 3.75 (d, 3H), 2.51-2.59 (m, 1H), 2.17-2.26 (m, 1H), 1.08 (d, 9H)。



步骤 5: 4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-1-((*S*)-2-(5-异丙基噻唑-2-基氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-5-(甲氧羰基)吡咯烷-3-基]酯的合成

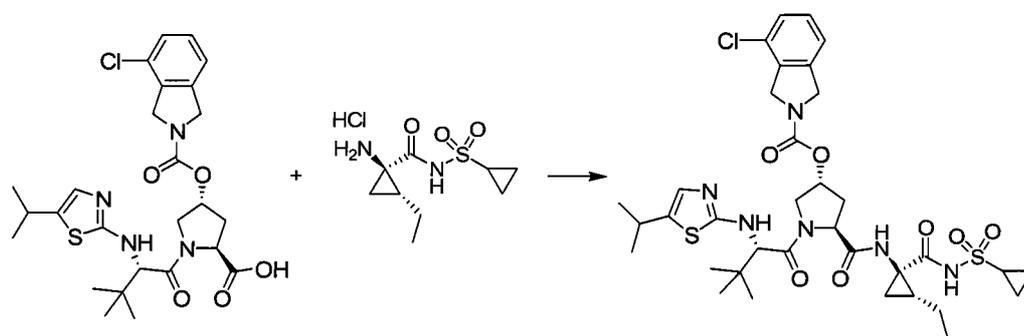
向 4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-1-((*S*)-3,3-二甲基-2-硫脲基丁酰基)-5-(甲氧羰基)吡咯烷-3-基]酯(1.0 g, 2.0 mmol)于乙醇(8 mL)中的溶液中添加 2-溴-3-甲基丁醛(1.66 mL, 10.1 mmol)和碳酸氢钠(1.69 g, 20.1 mmol)并将所得悬浮液在 100°C 下加热。30 分钟后, 反应混合物的 LC-MS 显示硫脲消耗约 50%。再添加 2-溴-3-甲基丁醛(1.66 mL, 10.1 mmol)并继续在搅拌下加热。1.5 小时后停止加热, 冷却混合物并浓缩。将残余物在 EtOAc(25 mL)中搅拌并用水(10 mL)处理。接着分离各层并用 EtOAc(2×10 mL)萃取水层。接着用水(3×15 mL)和盐水(3×15 mL)洗涤合并的有机层, 经 MgSO₄ 干燥, 过滤并浓缩为微红褐色油状物。接着通过用 10-40% EtOAc-己烷洗脱的色谱法(百特吉(Biotage))纯化油状物, 产生呈白色泡沫状的产物, 893 mg, 79%。MS *m/e* 563 (*M*⁺)。¹H NMR (400 MHz, *d*⁶-DMSO) δ 7.44-7.49 (m, 1H), 7.30-7.40 (m, 3H), 6.16 (bs, 1H), 5.30 (m, 1H), 4.24-4.80 (m, 6H), 3.75-3.85 (m, 1H), 3.64 (s, 3H), 2.35-2.48 (m, 2H), 2.05-2.17 (m, 1H), 1.03 (d, 9H), 0.77-0.85 (m, 6H)。



步骤 6: (2*S*,4*R*)-4-(4-氯异吲哚啉-2-羧基)-1-((*S*)-2-(5-异丙基噻唑-2-基氨基)-3,3-二甲基丁酰基)吡咯烷-2-甲酸

向 25 mL 圆底烧瓶中装入 4-氯异吲哚啉-2-甲酸(3*R*,5*S*)-1-((*S*)-2-(5-异丙基噻唑-2-基

氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-5-(甲氧羰基)吡咯烷-3-基酯(0.40 g, 0.71 mmol)并在 THF(3 mL)与 MeOH(2 mL)的混合物中搅拌。向溶液中添加 LiOH-H₂O(91 mg, 2.1 mmol)于水(2 mL)中的溶液。在室温下搅拌所得混合物。75 分钟后, 反应混合物的 LC-MS 显示起始酯完全消耗, 仅有的峰与所要酸一致。在 105 分钟后停止反应, 并用 EtOAc(10 mL)稀释反应混合物并与 1N HCl(5 mL)一起搅拌 20 分钟。接着分离各层并用 EtOAc(10 mL)萃取酸性水层。接着用水(3×15 mL)和盐水(3×15 mL)洗涤合并的有机层, 接着经 MgSO₄ 干燥, 过滤并浓缩为白色泡沫状物, 380 mg, 97%。MS m/e 549 (M⁺)。

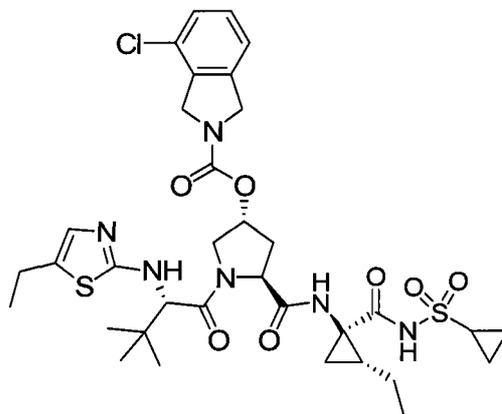


步骤 7: 4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-(((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙基环丙基)氨甲酰基)-1-((*S*)-2-(5-异丙基噻唑-2-基氨基)-3,3-二甲基丁酰基)吡咯烷-3-基]酯

将在氮气下搅拌的(2*S*,4*R*)-4-(4-氯异吲哚啉-2-羰氧基)-1-((*S*)-2-(5-异丙基噻唑-2-基氨基)-3,3-二甲基丁酰基)吡咯烷-2-甲酸(0.080 g, 0.15 mmol)、(1*R*,2*R*)-1-氨基-*N*-(环丙基磺酰基)-2-乙基环丙烷甲酰胺盐酸盐(42.2 mg, 0.157 mmol)和 HATU(85.3 mg, 0.224 mmol)于无水 MeCN(1 mL)中的溶液在乙醇-冰浴上冷却。通过逐滴添加用 DIEA(0.078 mL, 0.449 mmol)处理溶液并将所得混合物在 0°C 下搅拌 1 小时, 接着使其升温到室温并搅拌 16 小时。浓缩混合物并将残余物溶解于 EtOAc(10 mL)中, 用 1N HCl(3×5 mL)、水(3×5 mL)和盐水(3×5 mL)洗涤, 经 MgSO₄ 干燥, 过滤并浓缩为油状物。通过用 0.5-1.5% MeOH-CH₂Cl₂ 洗脱的色谱法(百特吉(Biotage))纯化油状物, 产生白色固体状的产物, 74 mg, 67%。MS m/e 763 (M⁺)。

实例 4-2:

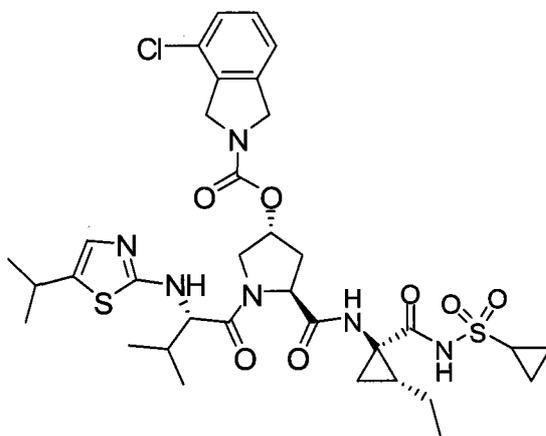
以与在本申请案其它部分中针对化合物 4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-(((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙基环丙基)氨甲酰基)-1-((*S*)-2-(5-异丙基噻唑-2-基氨基)-3,3-二甲基丁酰基)吡咯烷-3-基]酯 **65** 所述类似的方式制备化合物 **66** 和 **67**。



化合物 66

4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-(((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙基环丙基)氨甲酰基)-1-((*S*)-2-(5-乙基噻唑-2-基氨基)-3,3-二甲基丁酰基)吡咯烷-3-基]酯

化合物 66 是根据针对化合物 65 所述的程序合成并通过用 0.5-1.5% MeOH-CH₂Cl₂ 梯度洗脱的色谱法(百特吉(Biotage))纯化而产生白色粉末状的产物, 63 mg, 57%。MS m/e 749 (M⁺)。



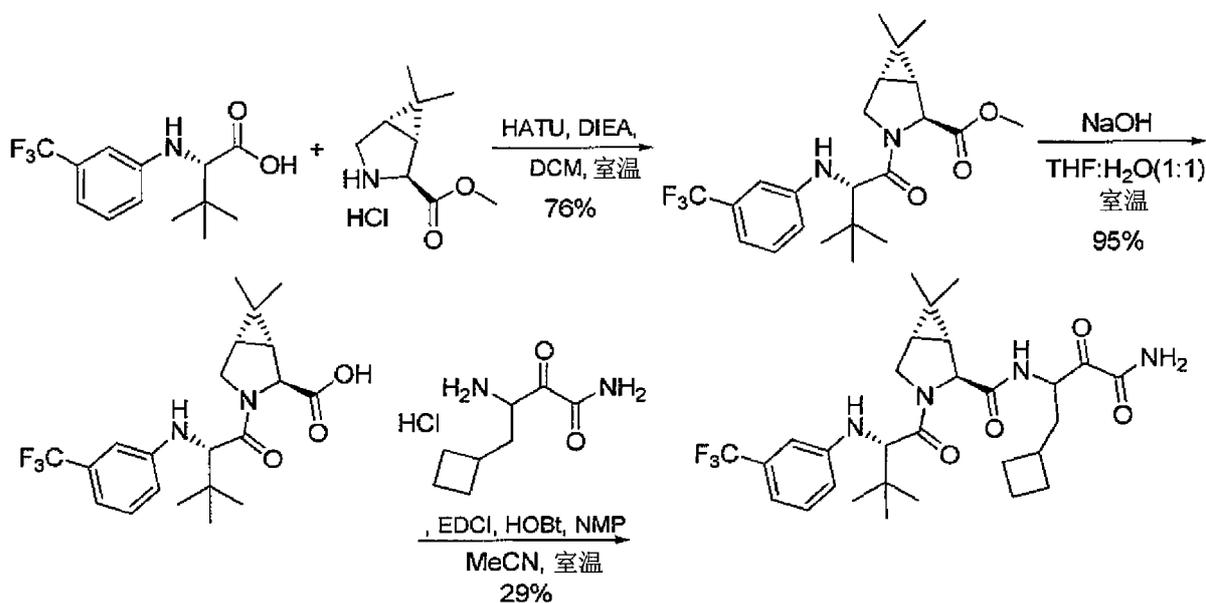
化合物 67

4-氯异吲哚啉-2-甲酸[(3*R*,5*S*)-5-(((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨甲酰基)-2-乙基环丙基)氨甲酰基)-1-((*S*)-2-(5-异丙基噻唑-2-基氨基)-3-甲基丁酰基)吡咯烷-3-基]酯

化合物 67 是根据针对化合物 65 所述的程序合成并通过用 0.5-1.5% MeOH-CH₂Cl₂ 梯度洗脱的色谱法(百特吉(Biotage))纯化而产生白色粉末状的产物, 75 mg, 63%。MS m/e 749 (M⁺)。

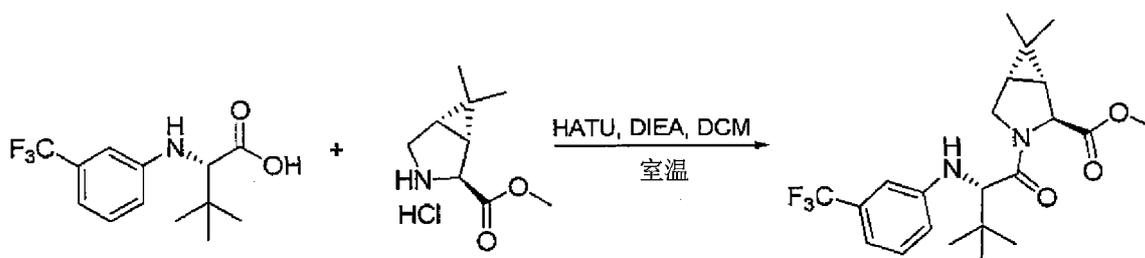
实例 5:

如下所述制备以下三肽：



化合物 68

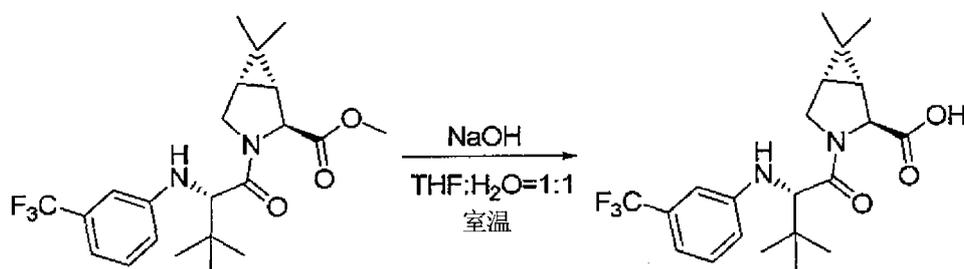
(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-氨基-1-环丁基-3,4-二氧代丁-2-基)-3-((*S*)-3,3-二甲基-2-(3-三氟甲基)苯基氨基)丁酰基)-6,6-二甲基-3-氮杂双环[3.1.0]己烷-2-甲酰胺



步骤 1: (1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-3,3-二甲基-2-(3-三氟甲基)苯基氨基)丁酰基)-6,6-二甲基-3-氮杂双环[3.1.0]己烷-2-甲酸甲酯的合成。

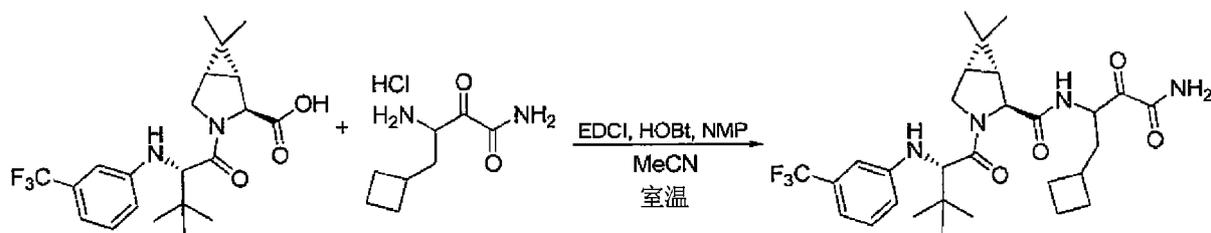
向在 DCM(5 mL)中的(1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-二甲基-3-氮杂双环[3.1.0]己烷-2-甲酸甲酯盐酸盐(0.030 g, 0.15 mmol)、(*S*)-3,3-二甲基-2-(3-(三氟甲基)苯基氨基)丁酸(0.044 g, 0.16 mmol)和 HATU(0.067 g, 0.18 mmol)中添加 DIEA(d 0.742)(0.080 mL, 0.44 mmol)并将反应物在室温下搅拌 18 小时。添加 H₂O(5 mL)并用乙醚(10 mL)萃取混合物,用盐水洗涤并经硫酸钠干燥。去除溶剂后,残余物通过色谱法(己烷:乙酸乙酯=1:5)纯化,产生白色固体状的(1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-3,3-二甲基-2-(3-三氟甲基)苯基氨基)丁酰基)-6,6-二甲基-3-氮杂双环

[3.1.0]己烷-2-甲酸甲酯(0.047 g, 76%)。MS:计算值: 426;实验值: $[M+H]^+$ 427。



步骤 2: (1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(3-三氟甲基)苯基氨基)丁酰基)-6,6-二甲基-3-氮杂双环[3.1.0]己烷-2-甲酸的合成。

向 THF(1 mL)中的(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(3-(三氟甲基)苯基氨基)丁酰基)-6,6-二甲基-3-氮杂双环[3.1.0]己烷-2-甲酸甲酯(0.047 g, 0.11 mmol)中添加 0.4 N NaOH 溶液(0.69 mL, 0.28 mmol)并将反应物在室温下搅拌 3 小时。去除 THF 并用饱和 $KHSO_4$ 酸化直到 $PH=3\sim 4$ 。用乙醚(15 mL)萃取混合物,用盐水洗涤并经硫酸钠干燥。去除溶剂后,产生白色固体状的(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(3-(三氟甲基)苯基氨基)丁酰基)-6,6-二甲基-3-氮杂双环[3.1.0]己烷-2-甲酸(0.043 g, 95%)。MS:计算值:412;实验值: $[M-H]^+$ 411。



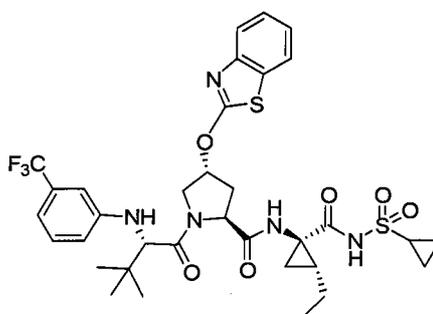
步骤 3: (1R,2S,5S)-N-(4-氨基-1-环丁基-3,4-二氧代丁-2-基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(3-三氟甲基)苯基氨基)丁酰基)-6,6-二甲基-3-氮杂双环[3.1.0]己烷-2-甲酰胺的合成。

经 40 分钟向 MeCN(3 mL)中的(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(3-(三氟甲基)苯基氨基)丁酰基)-6,6-二甲基-3-氮杂双环[3.1.0]己烷-2-甲酸(0.043 g, 0.10 mmol)、3-(氨基)-4-环丁基-2-氧代丁酰胺(0.031 g, 0.14 mmol)、1-乙基-3-[3-二甲基氨基丙基]碳化二亚胺盐酸盐(EDCI, 0.030 g, 0.16 mmol)、1-羟基苯并三唑水合物(HOBt- H_2O , 0.005 g, 0.03 mmol)中逐滴添加 MeCN(1 mL)中的 N-甲基吗啉($d=0.920$)(0.015 mL, 0.14 mmol)。在室温下将混合物搅拌 2 小时并添加饱和 $KHSO_4$ (3 mL),用 EtOAc(2×10 mL)萃取。合并的 EtOAc 萃取液用盐水(10 mL)洗涤,经硫酸钠干燥。去除溶剂后,残余物通过色谱法(己烷:乙酸乙酯

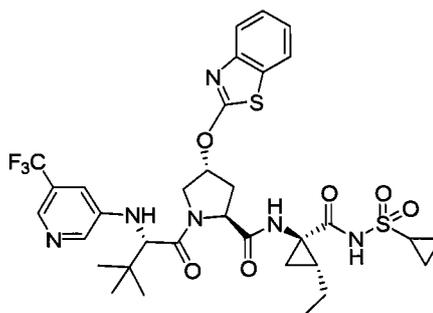
=1:1) 纯化, 产生白色固体状的 (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-氨基-1-环丁基-3,4-二氧代丁-2-基)-3-((*S*)-3,3-二甲基-2-(3-三氟甲基)苯基氨基)丁酰基)-6,6-二甲基-3-氮杂双环[3.1.0]己烷-2-甲酰胺(0.017 g, 29%)。MS:计算值: 564;实验值: $[M+H]^+$ 565。 ^1H NMR (400 MHz, d^6 -DMSO) δ 8.23 (m, 1H), 7.96 & 7.89 (s, 1H), 7.71 & 7.67 (s, 1H), 7.17 (m, 1H), 7.06 (s, 1H), 6.92 (m, 1H), 6.76 (m, 1H), 5.67 (d, $J=10.8$ Hz, 1H), 4.93 & 4.75 (m, 1H), 4.17 (s, 1H), 3.99 (m, 1H), 3.82 (m, 1H), 3.68 (m, 1H), 2.29 (m, 1H), 1.91 (m, 2H), 1.70 (m, 3H), 1.58 (m, 2H), 1.43 (m, 1H), 1.20 (m, 1H), 0.92-1.00 (m, 14H), 0.61 (s, 1H), 0.57 (s, 1H)。

实例 6:

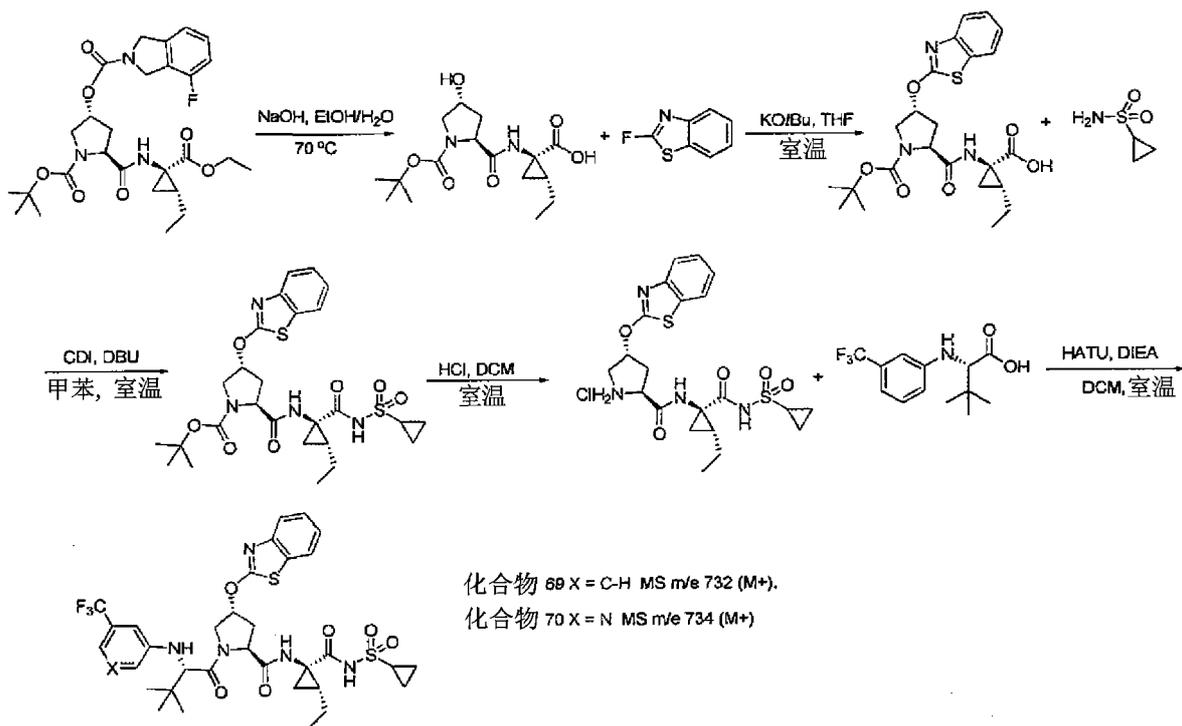
如以下流程中所呈现来制备以下三肽。



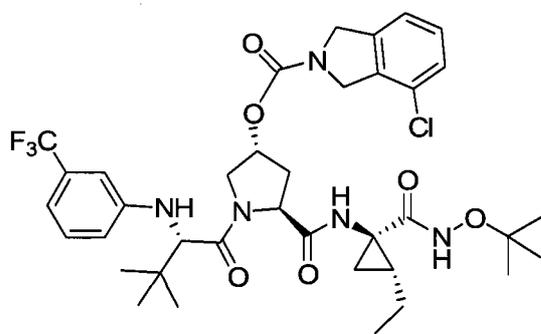
化合物 69



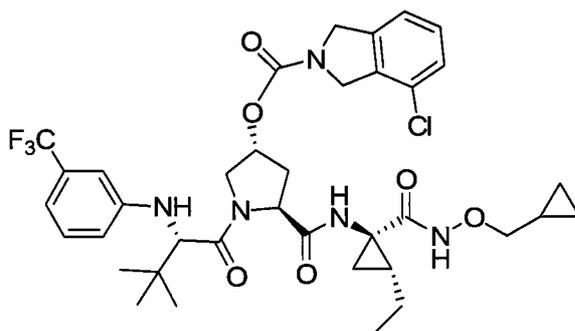
化合物 70

**实例 7:**

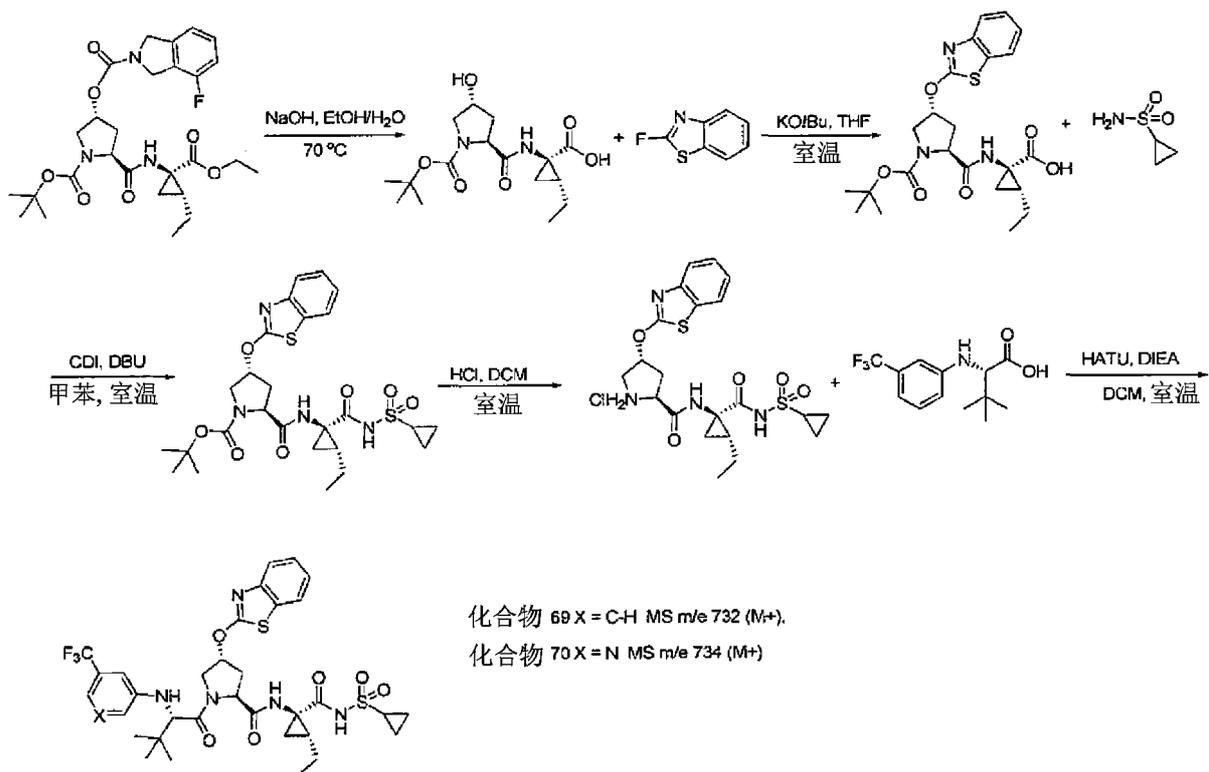
如以下流程中所呈现来制备以下三肽。



化合物 71

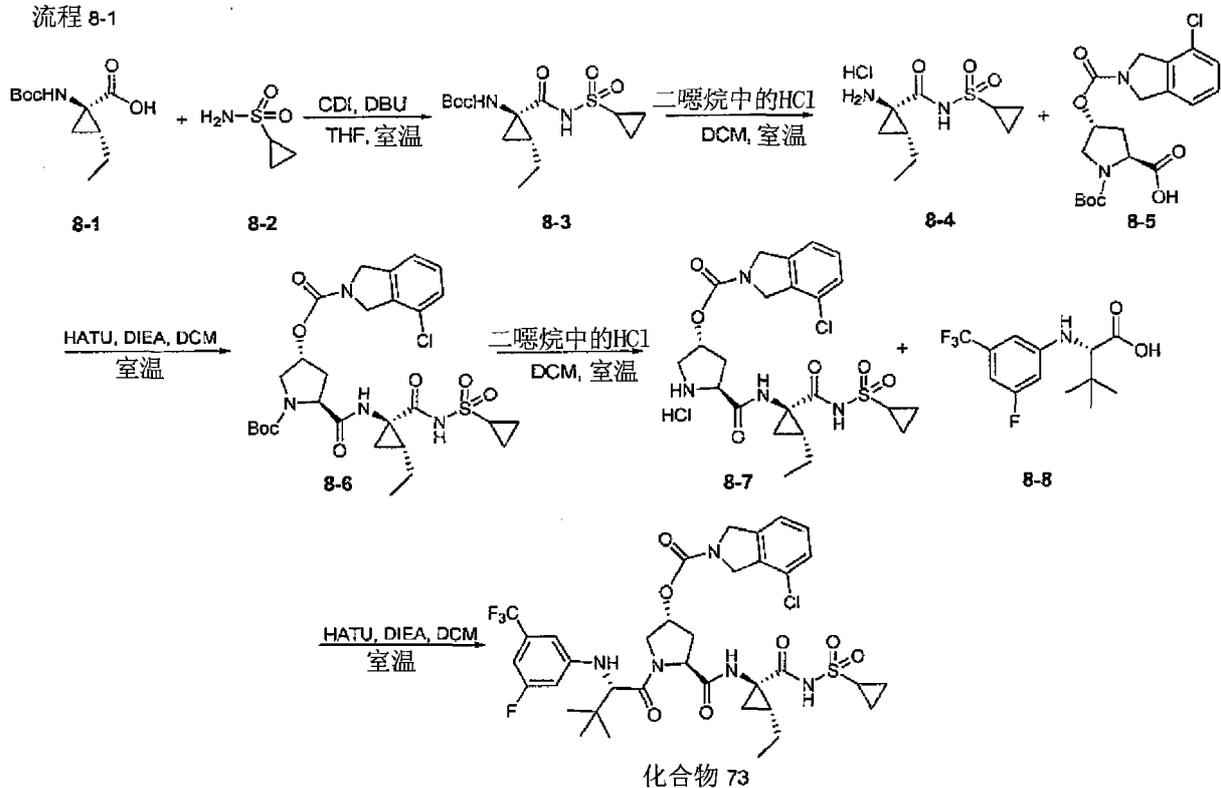


化合物 72

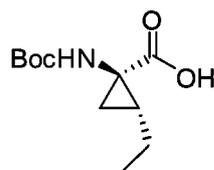


实例 8:

流程 8-1



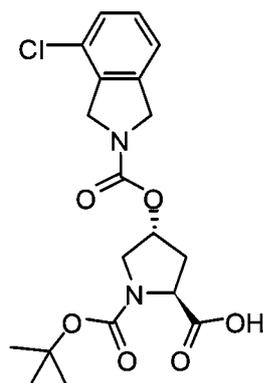
以下中间物如本文所述来制备:



8-1

(1*R*,2*R*)-1-(叔丁氧羰基氨基)-2-乙基环丙烷甲酸

将(1*R*,2*S*)-1-(叔丁氧羰基)-2-乙基环丙烷甲酸(10.0 g, 44.0 mmol, 如 WO 2005037214 中所述来制备)溶解于 MTBE(250 mL)中并在室温下在 Pd(OH)₂/C(1.24 g, 8.80 mmol)上氢化(1 atm H₂)5 小时。接着停止反应, 过滤并浓缩到 30 mL, 随后在剧烈搅拌下添加 300 mL 己烷。60 分钟后, 过滤精细白色沉淀物, 得到精细灰白色粉末状的标题化合物(4.2 g, 42%产率)。¹H-NMR (400 MHz, d⁶-DMSO) δ 12.2 (s, 1H), 7.41(s, 1H), 1.29-1.54 (m, 3H), 1.36 (s, 9H), 1.18-1.21 (m, 1H), 0.96-0.98 (m, 1H), 0.90 (t, 3H)。



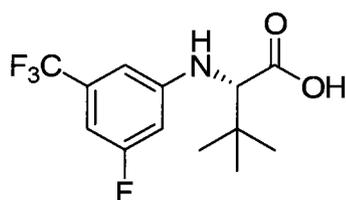
8-5

(2*S*,4*R*)-1-(叔丁氧羰基)-4-(4-氯异吡啶啉-2-羰氧基)吡咯烷-2-甲酸

向(2*S*,4*R*)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸 1-叔丁酯 2-甲酯(0.50 g, 2.04 mmol)于无水 THF(6 mL)中的溶液中一次性添加 CDI(430 mg, 2.65 mmol)并将混合物在室温下搅拌 6 小时。接着分数份添加 4-氯异吡啶啉盐酸盐(0.89 g, 4.69 mmol), 随后缓慢添加 DIEA(1.07 mL, 6.12 mmol)。在室温下将反应物搅拌过夜。用 120 mL EtOAc 稀释反应物, 用 1N HCl(2×50 mL)、水和盐水(各 50 mL)洗涤并经 Na₂SO₄ 干燥并浓缩为粘稠微褐色油状物。粗产物通过二氧化硅色谱法(洗脱剂=己烷/EtOAc 2:1)纯化, 产生淡粉色泡沫固体状的(2*S*,4*R*)-4-(4-氯异吡啶啉-2-羰氧基)吡咯烷-1,2-二甲酸 1-叔丁酯 2-甲酯(0.79 g, 91%产率)。

将(2*S*,4*R*)-4-(4-氯异吡啶啉-2-羰氧基)吡咯烷-1,2-二甲酸 1-叔丁酯 2-甲酯(0.78 g, 1.8 mmol)溶解于溶剂 THF:MeOH:水 2:2:1(v/v)(5.4 mL)的混合物中, 随后添加 LiOH·H₂O(0.15

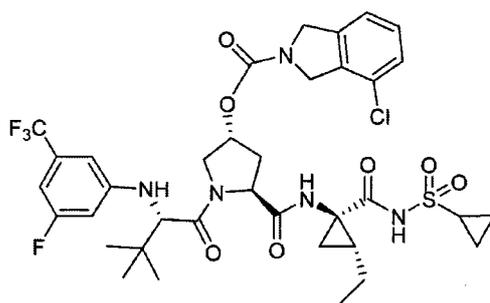
g, 3.7 mmol)。在室温下搅拌过夜后, 将反应物几乎浓缩至干。将所得固体残余物再溶解于水(40 mL)中并用乙醚(2×30 mL)洗涤。水层用 1N HCl 酸化到 pH ~ 2 并且合并的 EtOAc 萃取液(3×30 mL)用盐水洗涤并干燥(Na₂SO₄), 蒸发溶剂后得到白色泡沫固体状的(2*S*,4*R*)-1-(叔丁氧羰基)-4-(4-氯异吲哚啉-2-羰基)吡咯烷-2-甲酸。



8-8

(*S*)-2-(3-氟-5-(三氟甲基)苯基氨基)-3,3-二甲基丁酸

将 DMA(4 mL)中的(*S*)-2-氨基-3,3-二甲基丁酸(0.50 g, 3.81 mmol)、K₂CO₃(1.580 g, 11.44 mmol)、碘化铜(I)(0.073 g, 0.38 mmol)和 1-溴-3-氟-5-(三氟甲基)苯(2.32 g, 9.53 mmol)在 95°C 下加热 32 小时。添加 H₂O(15 mL)和乙醚(20 ml)。分离水相并用饱和 KHSO₄ 溶液酸化, 用乙醚萃取, 经硫酸钠干燥。去除溶剂后, 得到白色固体状的(*S*)-2-(3-氟-5-(三氟甲基)苯基氨基)-3,3-二甲基丁酸(0.78 g, 70%)。LCMS (APCI-): 292.2。¹H NMR (400 MHz, *d*⁶-DMSO) δ 12.63 (s, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.66 (d, *J*=12.4 Hz, 1H), 6.61 (d, *J*=8.8 Hz, 1H), 6.40 (d, *J*=9.2 Hz, 1H), 3.71 (d, *J*=9.6 Hz, 1H), 0.98 (s, 9H)。



化合物 73

化合物 73 如本文所述制备。

步骤 1: (1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨基甲酰基)-2-乙基环丙基氨基甲酸叔丁酯的合成

将(1*R*,2*R*)-1-(叔丁氧羰基)-2-乙基环丙烷甲酸(0.5 g, 2.18 mmol)溶解于 THF(20 mL)中, 随后在室温下一次性添加 CDI(390 mg, 2.41 mmol)。将反应物在 60°C 砂浴中搅拌 4

小时，冷却到室温并添加环丙烷磺酰胺(292 mg, 2.41 mmol)和 DBU(366 mg, 2.41 mmol)。在室温下将反应物搅拌过夜。接着用 EtOAc(30 mL)稀释反应物并用 1 N HCl(2×15 mL)、水(10 mL)、盐水(10 mL)洗涤，并干燥(Na_2SO_4)，去除溶剂后得到白色固体状的(1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨基甲酰基)-2-乙基环丙基氨基甲酸叔丁酯(0.53 g, 73%产率)。此粗产物未经进一步纯化即直接用于下一步骤中。

步骤 2: (1*R*,2*R*)-1-氨基-N-(环丙基磺酰基)-2-乙基环丙烷甲酰胺二盐酸盐的合成

将(1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨基甲酰基)-2-乙基环丙基氨基甲酸叔丁酯(0.53 g, 1.60 mmol)溶解于二噁烷中的 4 N HCl(20 mL)中并在室温下搅拌 5 小时。去除溶剂得到呈白色泡沫固体状的(1*R*,2*R*)-1-氨基-N-(环丙基磺酰基)-2-乙基环丙烷甲酰胺二盐酸盐。其未经进一步纯化即直接用于下一步骤中。

步骤 3: 4-氯异吲哚啉-2-甲酸(3*R*,5*S*)-1-(叔丁氧羰基)-5-((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨基甲酰基)-2-乙基环丙基氨基甲酰基)吡咯烷-3-基酯的合成

向 DCM(20 mL)中的(2*S*,4*R*)-1-(叔丁氧羰基)-4-(4-氯异吲哚啉-2-羰氧基)吡咯烷-2-甲酸(0.93 g, 2.26 mmol)、(1*R*,2*R*)-1-氨基-N-(环丙基磺酰基)-2-乙基环丙烷甲酰胺二盐酸盐(0.64 g, 2.38 mmol)和 HATU(0.79 g, 2.078 mmol)中添加 DIEA(1.18 mL, 6.79 mmol)并将反应物在室温下搅拌 18 小时。添加 H_2O (10 mL)并用饱和 KHSO_4 酸化直到 $\text{pH}=3\sim 4$ 。用乙醚(30 mL)萃取混合物，用盐水洗涤并经硫酸钠干燥。去除溶剂后，得到白色固体状的 4-氯异吲哚啉-2-甲酸(3*R*,5*S*)-1-(叔丁氧羰基)-5-((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨基甲酰基)-2-乙基环丙基氨基甲酰基)吡咯烷-3-基酯(1.36 g, 96%)，其未经进一步纯化即直接用于下一步骤中。LCMS (APCI⁺): 525.1 (MH^+ -Boc)。

步骤 4: 4-氯异吲哚啉-2-甲酸(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨基甲酰基)-2-乙基环丙基氨基甲酰基)吡咯烷-3-基酯二盐酸盐的合成

向 DCM(5 mL)中的 4-氯异吲哚啉-2-甲酸(3*R*,5*S*)-1-(叔丁氧羰基)-5-((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨基甲酰基)-2-乙基环丙基氨基甲酰基)吡咯烷-3-基酯(1.35 g, 2.16 mmol)中添加二噁烷中的 4 N HCl(4.32 mL, 17.3 mmol)。在室温下将反应混合物搅拌 2 小时。去除溶剂并将残余物悬浮于乙醚(30 mL)中并搅拌 30 分钟。过滤收集固体，产生白色固体状的 4-氯异吲哚啉-2-甲酸(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨基甲酰基)-2-乙基环丙基氨基甲酰基)吡咯烷-3-基酯二盐酸盐(1.10 g, 91%)。LCMS (APCI⁺): 525.2。

步骤 5: 4-氯异吲哚啉-2-甲酸(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨基甲酰基)-2-乙基环丙基氨基甲酰基)-1-((*S*)-2-(3-氟-5-(三氟甲基)苯基氨基)-3,3-二甲基丁酰基)吡咯烷-3-基酯

的合成

向 DCM(3 mL)中的 4-氯异吲哚啉-2-甲酸(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨基甲酰基)-2-乙基环丙基氨基甲酰基)吡咯烷-3-基酯二盐酸盐(0.040 g, 0.071 mmol)、(*S*)-2-(3-氟-5-(三氟甲基)苯基氨基)-3,3-二甲基丁酸(0.023 g, 0.079 mmol)和 HATU(0.042 g, 0.11 mmol)中添加 DIEA(0.048 mL, 0.28 mmol)并将反应物在室温下搅拌 5 小时。添加 H₂O(5 mL)和饱和 KHSO₄ 溶液(3 mL)。用乙醚(15 mL)萃取混合物, 用盐水(10 mL)洗涤并经硫酸钠干燥。去除溶剂后, 残余物通过色谱法(己烷:乙酸乙酯=1:2)纯化, 产生白色固体状的 4-氯异吲哚啉-2-甲酸(3*R*,5*S*)-5-((1*R*,2*R*)-1-(环丙基磺酰基氨基甲酰基)-2-乙基环丙基氨基甲酰基)-1-((*S*)-2-(3-氟-5-(三氟甲基)苯基氨基)-3,3-二甲基丁酰基)吡咯烷-3-基酯(0.037 g, 65%)。MS:计算值: 799.2;实验值: [M+H]⁺ 800.1。¹H NMR (400 MHz, *d*⁶-DMSO). 10.44 (s, 1H), 8.80 & 8.74 (s, 1H), 7.34 (m, 3H), 7.14 & 7.02 (m, 1H), 6.73 (m, 1H), 6.35 & 6.26 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 6.15 (m, 1H), 5.35 (m, 1H), 4.50-4.72 (m, 3H), 4.20-4.46 (m, 4H), 3.82 (m, 1H), 2.94 (m, 1H), 2.31 (m, 1H), 2.04 (m, 1H), 0.84-1.49 (m, 21H)。

实例 9

实例 A: NS3-NS4 蛋白酶检定

与 NS4A-2 形成 NS3 复合物

将重组大肠杆菌(*E. coli*)或杆状病毒全长 NS3 以检定缓冲液稀释到 3.33 μM 并将材料转移到艾本德(eppendorf)试管中并置于 4°C 冰箱中的水浴中。添加适当量的 NS4A-2(于检定缓冲液中到 8.3 mM)以等于步骤 2.1.1 中 NS3 的体积(转化因子-3.8 mg/272 μL 检定缓冲液)。将材料转移到艾本德试管中并置于 4°C 冰箱中的水浴中。

平衡到 4°C 后, 将等体积的 NS3 和 NS4A-2 溶液在艾本德试管中合并, 用手动移液器轻柔地混合并将混合物在 4°C 水浴中培育 15 分钟。混合物中最终浓度为 1.67 μM NS3、4.15 mM NS4A-2(2485 倍摩尔过量 NS4A-2)。

在 4°C 下 15 分钟后, 取出 NS3/NS4A-2 艾本德试管并将其置于室温水浴中持续 10 分钟。将 NS3/NS4A-2 等分为适当体积并储存在 -80°C(检定中大肠杆菌 NS3 以 2 nM 进行, 等分为 25 μL。检定中 BV NS3 以 3 nM 进行, 等分为 30 μL)。

实例 B: NS3 抑制检定

将样品化合物溶解于 DMSO(10 mM)中接着于 DMSO 中稀释到 2.5 mM(1:4)。通常, 将化合物以 2.5 mM 浓度添加到检定培养盘, 稀释后产生检定抑制曲线中的 50 μM 起始浓度。将化合物连续稀释于检定缓冲液中以提供低浓度的测试溶液。

将大肠杆菌 NS3/NS4A-2 稀释为 4 nM NS3(1:417.5 的 1.67 μM 储备液-18 μL 1.67 μM

储备液+ 7497 μL 检定缓冲液)。将 BV NS3/NS4A-2 稀释为 6 nM NS3(1:278.3 的 1.67 μM 储备液-24 μL 1.67 μM 储备液+ 6655 μL 检定缓冲液)。使用手动多道移液器, 小心不要在培养盘中引入气泡, 向黑色 Costar 96 孔聚丙烯储存培养盘的孔 A01-H01 中添加 50 μL 检定缓冲液。

使用手动多道移液器, 小心不要在培养盘中引入气泡, 向步骤 2.2.7 中培养盘的孔 A02-H12 中添加来自步骤 2.2.6 的 50 μL 经稀释 NS3/NS4A-2。使用手动多道移液器, 小心不要在培养盘中引入气泡, 将步骤 2.2.5 中 25 μL 培养盘各孔的药物稀释物转移到步骤 2.2.8 中检定培养盘的相应孔中。对于转移的每一行化合物更换多道移液器的头。使用手动多道移液器, 小心不要在培养盘中引入气泡, 通过将各孔 75 μL 中的 35 μL 抽吸并分配 5 次来混合步骤 2.2.9 中检定培养盘的孔内容物。对于混合的各行孔更换多道移液器的头。用聚苯乙烯培养盘盖覆盖培养盘并将来自步骤 2.2.10 的含有 NS3 蛋白酶和样品化合物的培养盘在室温下预培育 10 分钟。当预培育来自步骤 2.2.11 的培养盘时, 将 RETS1 底物于 15 mL 聚丙烯离心试管中稀释。将 RETS1 底物稀释到 8 μM (1:80.75 的 646 μM 储备液-65 μL 646 μM 储备液+ 5184 μL 检定缓冲液)。

在步骤中的培养盘完成预培育后, 使用手动多道, 向培养盘的所有孔中添加 25 μL 底物。如步骤 2.2.10 中迅速混合培养盘, 将各孔 100 μL 中的 65 μL 混合。

在分子装置公司(Molecular Devices)SpectraMax Gemini XS 酶标仪上以动态模式读取培养盘。酶标仪设定: 读取时间: 30 分钟, 时间间隔: 36 秒, 读取次数: 51, 激发 λ : 335 nm, 发射 λ : 495 nm, 截止: 475 nm, Automix: 关, 校准: 一次, PMT: 高, 读取次数/孔: 6, Vmax pts: 视反应线性长度而定为 21 或 28/51

使用 4 参数曲线拟合方程确定 IC_{50} , 并使用以下 K_m 转化为 K_i :

全长大肠杆菌 NS3-2.03 μM

全长 BV NS3-1.74 μM

其中 $K_i = \text{IC}_{50} / (1 + [S] / K_m)$

通过 HCV 亚基因组复制子, GS4.3 中可选标记蛋白, 新霉素磷酸转移酶 II(NPTII) 的 ELISA 来定量

稳定维持在 HuH-7 肝癌细胞中的 HCV 亚基因组复制子(I377/NS3-3', 寄存编号 AJ242652)由罗曼(Lohmann)等人 科学(*Science*) 285: 110-113(1999)制得。命名为 GS4.3 的含复制子细胞培养物是购自宾夕法尼亚州费城福克斯詹士癌症中心(Fox Chase Cancer Center)癌症研究所(Institute for Cancer Research)的克里斯托夫·泽格博士(Dr. Christoph

Seeger)。

在 37°C、5%CO₂ 下将 GS4.3 细胞维持在补充有 L-谷氨酰胺 200 mM(100X)(吉波克(Gibco)25030-081)、非必需氨基酸(NEAA)(拜惠塔克尔(Biowhittaker)13-114E)、热灭活(HI)胎牛血清(FBS)(海克隆(Hyclone)SH3007.03)和 750 µg/mL 遗传霉素(G418)(吉波克(Gibco)10131-035)的 DMEM(吉波克(Gibco) 11965-092)中。每 2-3 天将细胞以 1:3 或 4 细分。

在检定前 24 小时, 收集 GS4.3 细胞, 计数并于 100 µL 标准维持培养基(上述)中以每孔 7500 个细胞涂于 96 孔培养盘(Costar 3585)上并在上述条件下培育。为起始检定, 去除培养基, 将细胞用 PBS(吉波克(Gibco)10010-023)洗涤 1 次并添加 90 µl 检定培养基(DMEM, L-谷氨酰胺, NEAA, 10% HI FBS, 无 G418)。将抑制剂制成检定培养基中的 10×储备液, (从 10 µM 三倍稀释为 56 pM 最终浓度, 最终 DMSO 浓度 1%), 向两重复孔中添加 10 µL, 摇动培养盘进行混合, 并如上文所述培育 72 小时。

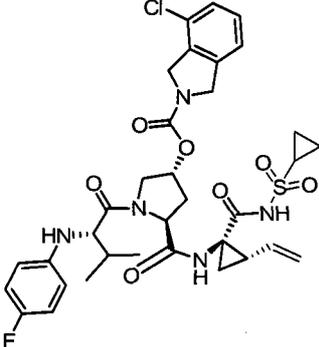
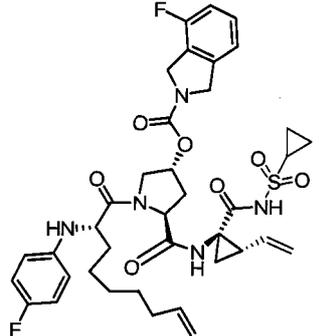
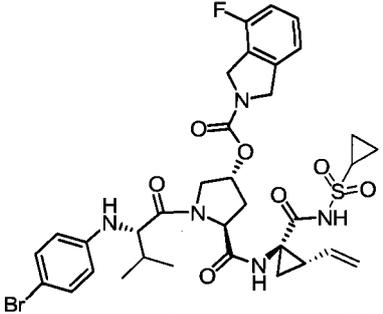
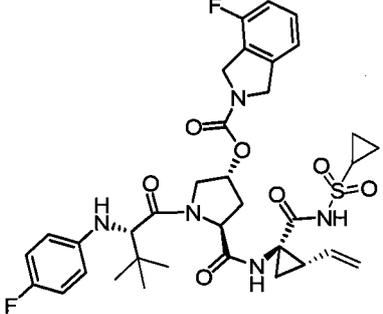
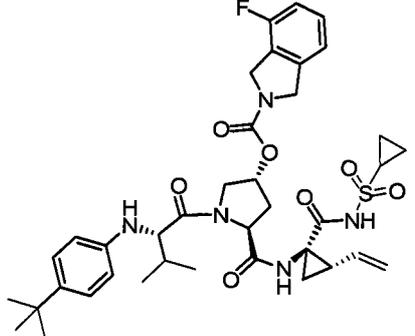
NPTII Elisa 试剂盒是购自 AGDIA 公司(新霉素磷酸转移酶 II 的化合物直接 ELISA 测试系统, PSP 73000/4800)。遵循制造商说明书, 其中有一些修改。制成 10×PEB-1 溶解缓冲液, 包括 500 µM PMSF(西格玛(Sigma)P7626, 异丙醇中的 50 mM 储备液)。72 小时培育后, 将细胞用 PBS 洗涤一次并且每孔添加 150 µL 具有 PMSF 的 PEB-1。将培养盘在室温下剧烈搅拌 15 分钟, 接着在 -70°C 下冷冻。将培养盘解冻, 彻底混合溶菌液并将 100 µl 施加到 NPTII Elisa 培养盘上。制作标准曲线。将来自经 DMSO 处理的对照细胞的溶菌液汇集, 以具有 PMSF 的 PEB-1 连续稀释, 并在 150 µL-2.5 µL 的初始溶菌液量的范围内施加到 ELISA 培养盘的两重复孔中。此外, 将 100 µL 缓冲液单独施加两重复份, 作为空白。密封培养盘并在室温下轻柔地搅拌 2 小时。在捕获培育后, 用 PBS-T(0.5%吐温 20, PBS-T 在 ELISA 试剂盒中提供)洗涤(5×300 µL)培养盘。为了检测, 在 PBS-T 中制成酶结合稀释剂 MRS-2(5×)的 1×稀释液, 根据说明书向其中添加酶结合物 A 与 B 的 1:100 倍稀释液。再密封培养盘, 并在搅拌下、覆盖下、室温下培育 2 小时。接着重复洗涤步骤并添加 100 µL 室温 TMB 底物。培育(室温, 搅拌, 覆盖)约 30 分钟后, 用 50 µL 3M 硫酸中止反应。在分子装置公司(Molecular Devices)Versamax 酶标仪上在 450 nm 下读取培养盘。

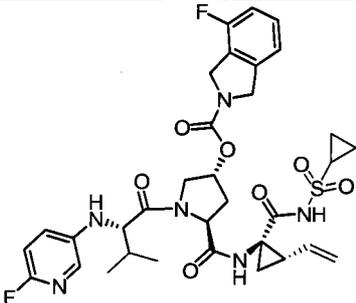
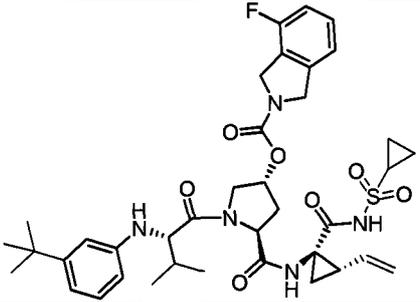
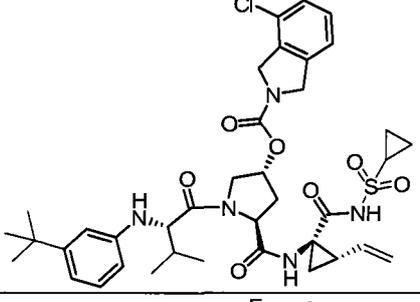
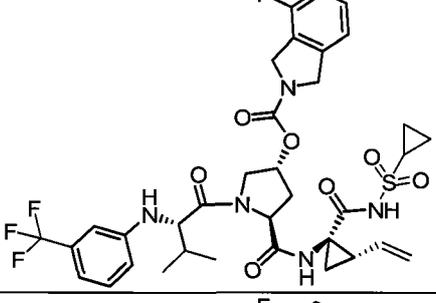
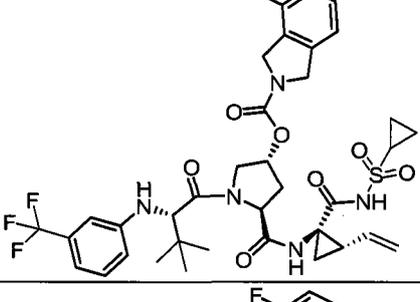
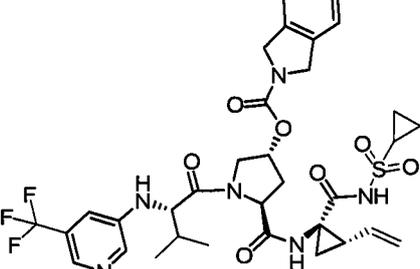
将抑制剂作用表示为经 DMSO 处理的对照信号的百分比, 并使用 4 参数方程计算抑制曲线: $y=A+((B-A)/(1+((C/x)^D)))$, 其中 C 是半最大活性或 EC₅₀。

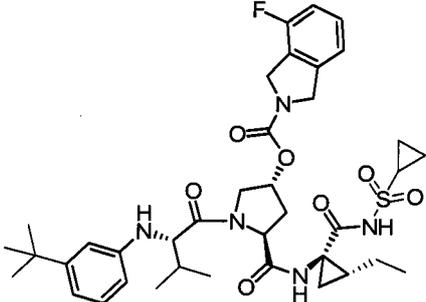
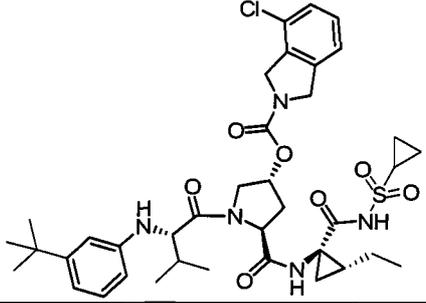
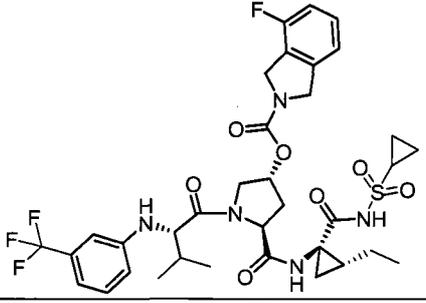
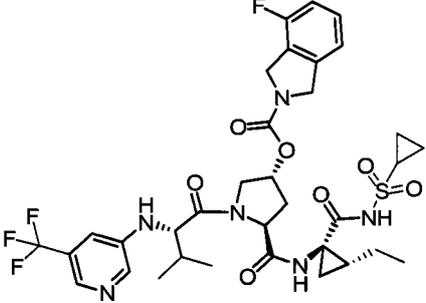
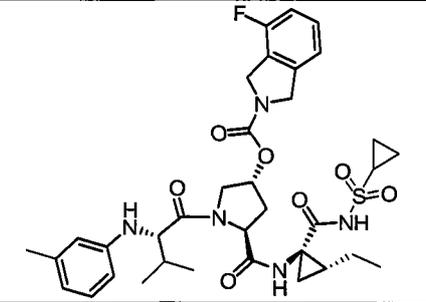
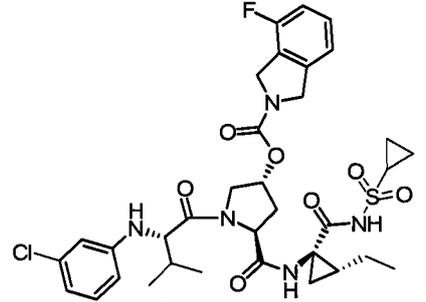
活性的实例

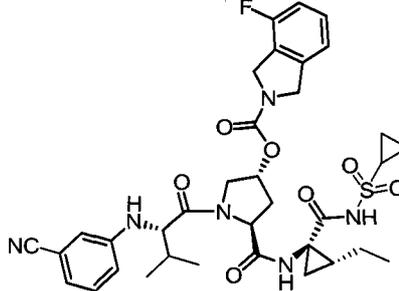
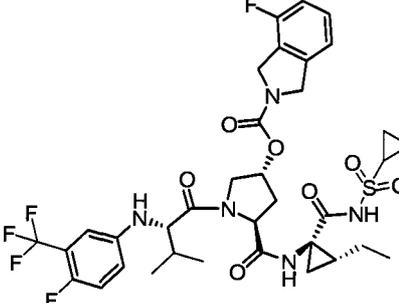
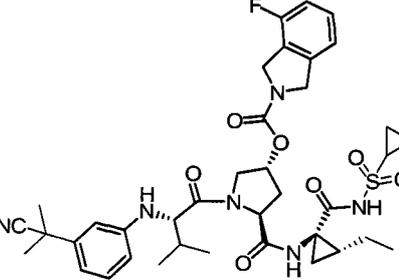
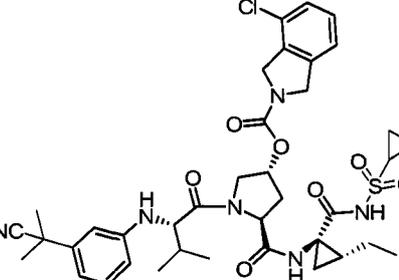
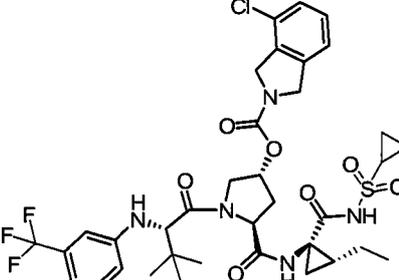
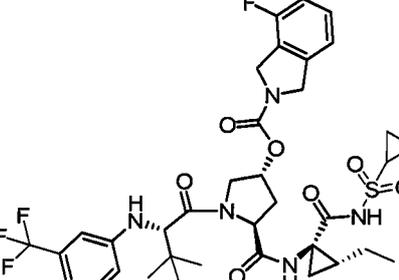
表 1

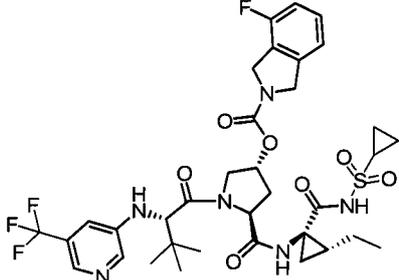
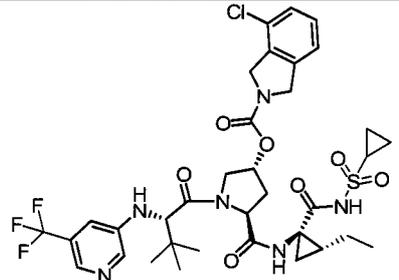
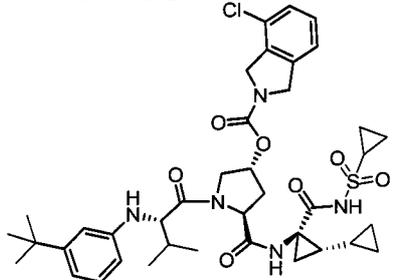
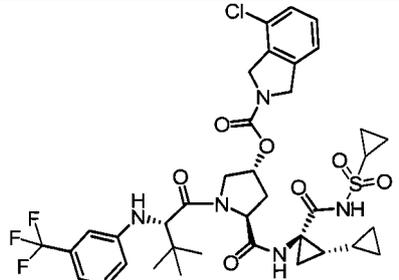
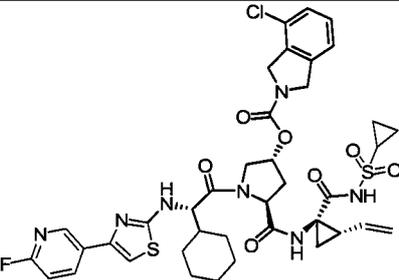
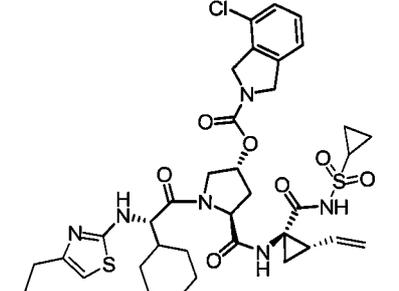
化合物编号	结构	NS3-NS4 IC ₅₀	复制子EC ₅₀
10		D	B
11		D	A
12		C	A
13		D	A
33		D	C

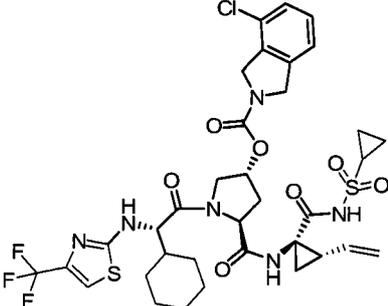
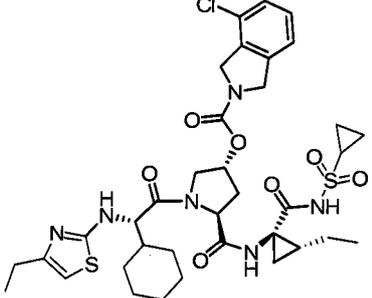
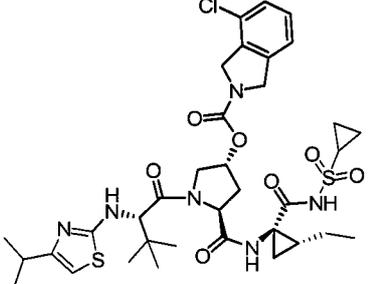
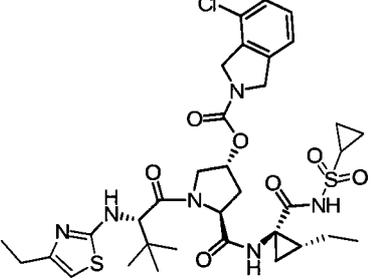
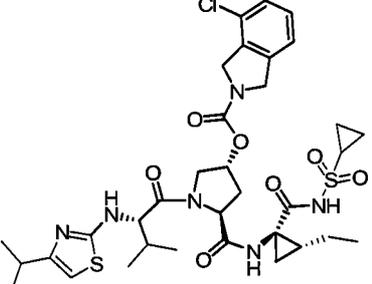
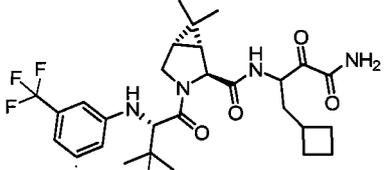
化合物编号	结构	NS3-NS4 IC ₅₀	复制子EC ₅₀
34		D	D
35		D	B
36		D	C
37		D	D
38		D	C

化合物编号	结构	NS3-NS4 IC ₅₀	复制子EC ₅₀
39		D	C
40		D	D
41		D	D
42		D	D
43		D	D
44		D	C

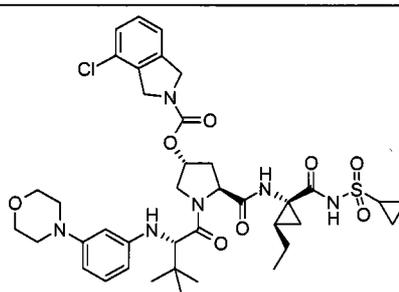
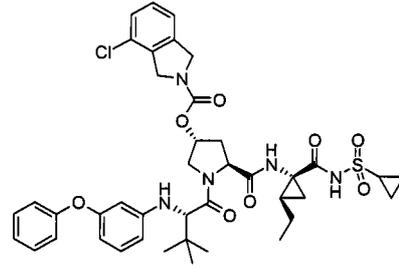
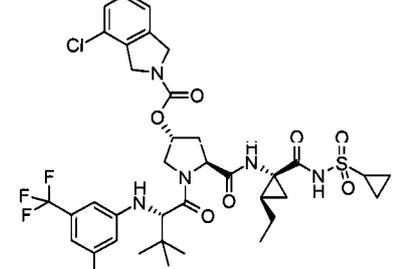
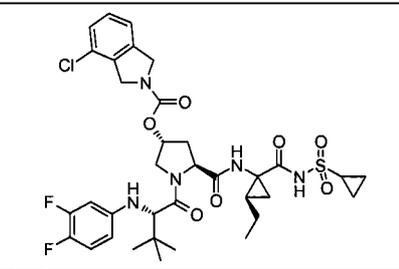
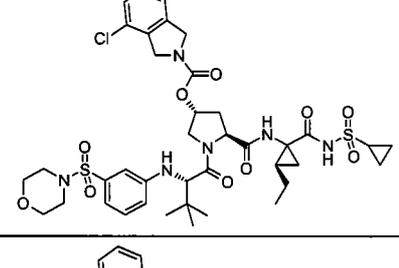
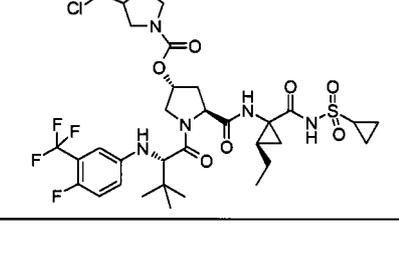
化合物编号	结构	NS3-NS4 IC ₅₀	复制子EC ₅₀
45		D	D
46		D	D
47		D	D
48		D	C
49		D	C
50		D	D

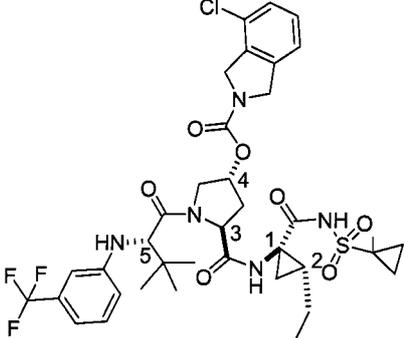
化合物编号	结构	NS3-NS4 IC ₅₀	复制子EC ₅₀
51		D	C
52		D	D
53		D	D
54		D	D
55		D	D
56		D	D

化合物编号	结构	NS3-NS4 IC ₅₀	复制子EC ₅₀
57		D	D
58		D	D
59		D	D
60		D	D
61		D	D
62		D	D

化合物编号	结构	NS3-NS4 IC ₅₀	复制子EC ₅₀
63		D	D
64		D	D
65		D	n.a.
66		D	D
67		D	D
68		C	A

化合物编号	结构	NS3-NS4 IC ₅₀	复制子EC ₅₀
69		D	D
70		D	D
71		C	C
72		C	C
73		D	D
74		D	D

化合物编号	结构	NS3-NS4 IC ₅₀	复制子EC ₅₀
75		D	D
76		D	D
77		n.a.	D
78		n.a.	n.a.
79		n.a.	n.a.
80		n.a.	n.a.

化合物编号	结构	NS3-NS4 IC ₅₀	复制子EC ₅₀
81		D	D

A 表示 EC₅₀ 或 IC₅₀ 介于 10 与 50 μM 之间

B 表示 EC₅₀ 或 IC₅₀ 介于 1 与 10 μM 之间

C 表示 EC₅₀ 或 IC₅₀ 介于 0.1 与 1 μM 之间

D 表示 EC₅₀ 或 IC₅₀ 小于 0.1 μM

结论

已开发出 HCV NS3 蛋白酶的有效小分子抑制剂。

尽管本发明已参考其具体实施例加以描述，但所属领域技术人员应了解在不偏离本发明的真正精神和范围的情况下可进行各种改变并且可用等效物取代。此外，可作出许多修改以使特定情形、材料、物质组合物、方法、方法步骤适用于本发明的目标、精神和范围。所有这些修改均在所附权利要求书的范围内。