

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.



[12] 发明专利申请公布说明书

C07D 498/18 (2006.01)

A61K 31/436 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

[21] 申请号 200780017917.0

[43] 公开日 2009年6月3日

[11] 公开号 CN 101448841A

[22] 申请日 2007.5.18

[21] 申请号 200780017917.0

[30] 优先权

[32] 2006.5.19 [33] GB [31] 0609963.4

[86] 国际申请 PCT/GB2007/001875 2007.5.18

[87] 国际公布 WO2007/135411 英 2007.11.29

[85] 进入国家阶段日期 2008.11.17

[71] 申请人 生物技术有限公司

地址 英国艾塞克斯郡

[72] 发明人 巴里·威尔金森 明强·张

罗丝·玛丽·谢里登

[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 孟锐

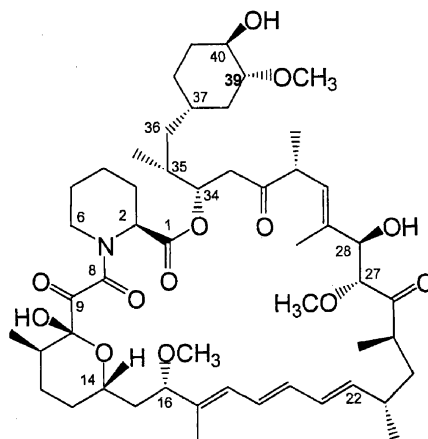
权利要求书6页 说明书40页 附图1页

[54] 发明名称

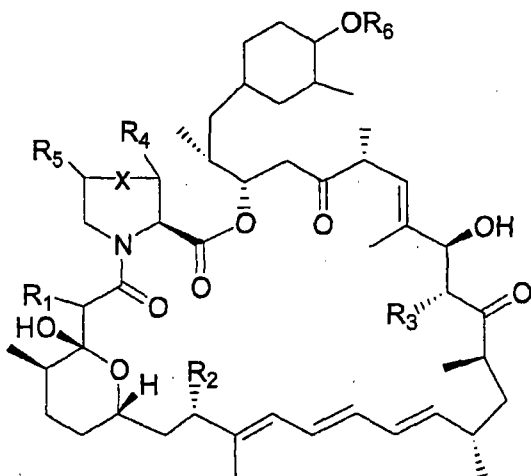
雷帕霉素 (RAPAMYCIN) 的 39 - 去甲氧基 -
39 - 甲基衍生物

[57] 摘要

本发明涉及新颖的 39 - 去甲氧基 - 39 - 甲基雷帕霉素衍生物、其制备方法以及其用途。另一方面, 本发明提供所述 39 - 去甲氧基 - 39 - 甲基雷帕霉素衍生物在治疗癌症和/或 B 细胞恶性肿瘤, 诱导或维持免疫抑制, 治疗移植排斥、移植物抗宿主疾病、自体免疫病症、发炎疾病、血管疾病和纤维化疾病, 刺激神经元再生或治疗真菌感染中的用途。



1. 一种雷帕霉素的 39-去甲氧基-39-甲基衍生物，其特征在于 40-羟基位置衍生为羧酸酯、醚、亚膦酸酯、缩醛或糖基。
2. 一种根据下式 (I) 的化合物：



(I),

其中：

X 表示键或 CH_2 ；

R_1 表示酮基或(H,H)；

R_2 表示 OH 或 OMe；

R_3 表示 H、OH 或 OMe；

R_4 和 R_5 各自独立地表示 H 或 OH；

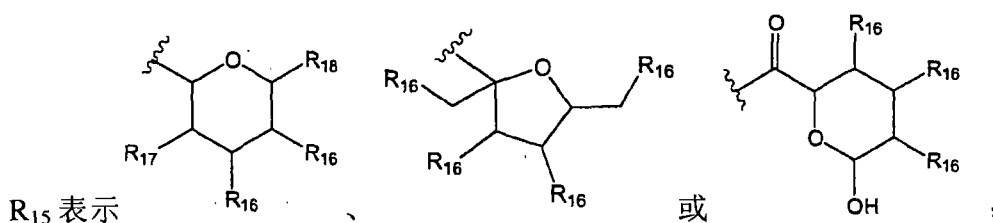
R_6 表示 $-\text{R}_7$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}_7$ 、 $-\text{POR}_{19}\text{R}_{20}$ 或 $\text{Y}-\text{R}_{15}$ ；

R_7 表示 $-(\text{CR}_8\text{R}_9)_m(\text{CR}_{10}\text{R}_{11})_p\text{CR}_{12}\text{R}_{13}\text{R}_{14}$ ；

R_8 和 R_9 各自独立地表示 C1-C4 烷基、C2-C4 烯基或 C2-C4 炔基，任何所述基团都可视情况经 $-\text{PO}(\text{OH})_2$ 、 $-\text{CF}_2\text{PO}(\text{OH})_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 或 $-\text{NH}_2$ 取代；或 R_8 和 R_9 各自独立地表示 H、三氟甲基或 F；

R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} 和 R_{14} 各自独立地表示 C1-C4 烷基、C2-C4 烯基或 C2-C4 炔基，任何所述基团都可视情况经 $-\text{PO}(\text{OH})_2$ 、 $-\text{CF}_2\text{PO}(\text{OH})_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 或 $-\text{NH}_2$ 取代；或 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} 和 R_{14} 可独立地选自 H、 $-(\text{CR}_8\text{R}_9)_q\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CR}_8\text{R}_9)_q\text{OH}$ 、 CF_3 、F、 COOH ；或 R_{10} 和 R_{11} 或 R_{12} 和 R_{13} 或 R_{13} 和 R_{14} 可与其所连接的碳一起形成 C3-C6 环烷基或含有一个或多个选自 N、O 和 S 的杂原子且视情况经至多 5 个 $-(\text{CR}_8\text{R}_9)_q\text{OH}$ 、 $-(\text{CR}_8\text{R}_9)_q\text{NH}_2$ 或 COOH 基团取代的 3 到 6 元杂烷基环；

Y = 键、 $-\text{C}(\text{O})-\text{O}-$ 、 $-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-$;



R₁₆ 各自独立地为 H 或 OH;

R₁₇ 独立地选自 H、OH 和 NH₂;

R₁₈ 独立地选自 H、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 和 $-\text{COOH}$;

然而，条件是不超过 2 个选自 R₁₆、R₁₇ 和 R₁₈ 的基团表示 H 或 CH₃;

R₁₉ 和 R₂₀ 各自独立地表示 H 或 C1-C4 烷基，或 R₁₉ 和 R₂₀ 一起表示 $=\text{CH}_2$;

m、p 和 q 各自独立地表示 0-4 之间的整数;

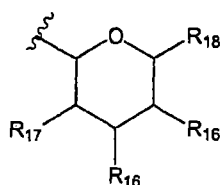
然而，条件是 R₇ 部分含有不超过 12 个碳原子且含有至少一个选自 $-\text{PO}(\text{OH})_2$ 、 $-\text{CF}_2\text{PO}(\text{OH})_2$ 、 $-\text{COOH}$ 、OH 或 NH₂ 的官能团;

或其医药学上可接受的盐。

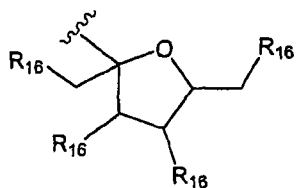
3. 根据权利要求 2 所述的化合物，其中 R₆ 表示 -R₇。
4. 根据权利要求 2 所述的化合物，其中 R₆ 表示 $-\text{C}(\text{O})\text{R}_7$ 。
5. 根据权利要求 2-4 所述的化合物，其中 R₇ 含有 7 个或 7 个以下碳原子。
6. 根据权利要求 5 所述的化合物，其中 R₇ 含有 5 个或 5 个以下碳原子。
7. 根据权利要求 2 至 6 中任一权利要求所述的化合物，其中 R₇ 含有两个选自 $-\text{PO}(\text{OH})_2$ 、 $-\text{CF}_2\text{PO}(\text{OH})_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 和 $-\text{NH}_2$ 的基团。
8. 根据权利要求 2 至 7 中任一权利要求所述的化合物，其中 R₇ 含有至少一个选自 $-\text{COOH}$ 、OH 和 NH₂ 的官能团。
9. 根据权利要求 2 至 8 中任一权利要求所述的化合物，其中 p 表示 0 或 1。
10. 根据权利要求 2 至 9 中任一权利要求所述的化合物，其中 m 表示 0 或 1。
11. 根据权利要求 2 至 10 中任一权利要求所述的化合物，其中 q 表示 0、1 或 2。
12. 根据权利要求 2 至 11 中任一权利要求所述的化合物，其中 R₁₁ 表示 H。
13. 根据权利要求 2 至 12 中任一权利要求所述的化合物，其中 R₁₂ 表示 H。
14. 根据权利要求 2 至 13 中任一权利要求所述的化合物，其中 R₁₃ 表示 H 或 OH。
15. 根据权利要求 2 至 14 中任一权利要求所述的化合物，其中 p 表示 1，且 R₁₀ 表示 Me、OH 或 CH₂OH。
16. 根据权利要求 2 至 15 中任一权利要求所述的化合物，其中 p 表示 1，且 R₁₁ 表示

Me、H 或 CH₂OH。

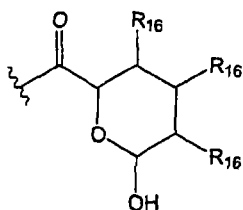
17. 根据权利要求 2 所述的化合物，其中 m 和 p 都表示 0，R₁₂ 和 R₁₃ 都表示 H，且 R₁₄ 表示 -(CR₈R₉)_q-OH，其中 q = 0 或 1，且 R₈ 和 R₉ 都表示 H。
18. 根据权利要求 2 所述的化合物，其中 p 表示 1 且 m 表示 0，R₁₀ 和 R₁₁ 都表示 H，R₁₂ 表示 H，R₁₃ 表示 H、OH 或 NH₂，且 R₁₄ 表示 -(CR₈R₉)_q-OH，其中 q = 0 或 1，且 R₈ 和 R₉ 都表示 H。
19. 根据权利要求 2 所述的化合物，其中 R₆ 表示通过与羟基乙酸、3-羟基-2,2-二甲基丙酸、2,3-二羟基丙酸、3-羟基-2-羟基甲基丙酸或 2,2-双(羟基甲基)丙酸形成酯而衍生的残基。
20. 根据权利要求 2 所述的化合物，其中 R₆ 表示通过与羟基乙酸、3-羟基-2,2-二甲基丙酸、2,3-二羟基丙酸、3-羟基-2-羟基甲基丙酸或 2,2-双(羟基甲基)丙酸形成醚而衍生的残基。
21. 根据权利要求 2 所述的化合物，其为 39-去甲氧基-39-甲基-40-O-[2,2-双(羟基甲基)丙酰基]雷帕霉素或其医药学上可接受的盐。
22. 根据权利要求 2 所述的化合物，其中 R₆ 表示 -POR₁₉R₂₀。
23. 根据权利要求 22 所述的化合物，其中 R₁₉ 和 R₂₀ 都表示 CH₃ 或都表示 CH₂CH₃。
24. 根据权利要求 2 所述的化合物，其中 R₆ 表示 Y-R₁₅。
25. 根据权利要求 24 所述的化合物，其中 R₁₅ 基团表示



26. 根据权利要求 25 所述的化合物，其中 R₁₅ 为通过与葡萄糖、葡糖胺、葡糖醛酸或阿拉伯糖形成缩醛而形成的部分。
27. 根据权利要求 26 所述的化合物，其中 R₁₅ 为通过与 D-葡萄糖形成缩醛而形成的部分。
28. 根据权利要求 26 所述的化合物，其中 R₁₅ 为通过与 D-葡糖胺形成缩醛而形成的部分。
29. 根据权利要求 26 所述的化合物，其中 R₁₅ 为通过与 D-葡糖醛酸形成缩醛而形成的部分。
30. 根据权利要求 24 所述的化合物，其中 R₁₅ 表示：



31. 根据权利要求 30 所述的化合物，其中 R_{15} 为通过与果糖形成缩醛而形成的部分。
32. 根据权利要求 24 所述的化合物，其中 R_{15} 表示：



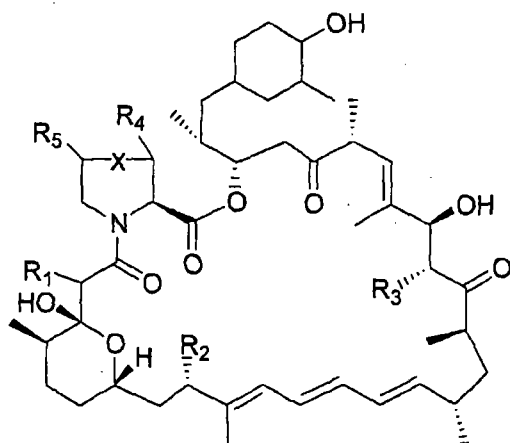
33. 根据权利要求 32 所述的化合物，其中 R_{15} 为通过与葡萄糖醛酸形成酯而形成的部分。
34. 根据权利要求 24 至 33 中任一权利要求所述的化合物，其中 Y 表示键。
35. 根据权利要求 24 至 33 中任一权利要求所述的化合物，其中 Y 表示 $-(CH_2)_2-O-C(O)-O-$ 。
36. 根据权利要求 24 至 33 中任一权利要求所述的化合物，其中 Y 表示 $-C(O)-O-$ 。
37. 根据权利要求 1 至 36 中任一权利要求所述的化合物，其用作作为药剂。
38. 根据权利要求 1 至 36 中任一权利要求所述的化合物，其用于治疗癌症和/或 B 细胞恶性肿瘤，诱导或维持免疫抑制，治疗移植排斥、移植物抗宿主疾病、自体免疫病症、发炎疾病、血管疾病和纤维化疾病，刺激神经元再生或治疗真菌感染。
39. 根据权利要求 1 至 36 中任一权利要求所述的化合物，其在癌症或 B 细胞恶性肿瘤的治疗中用作作为药剂。
40. 一种医药组合物，其包含根据权利要求 1 至 36 中任一权利要求所述的化合物以及一种或多种医药学上可接受的稀释剂或载剂。
41. 一种用于治疗癌症和/或 B 细胞恶性肿瘤，诱导或维持免疫抑制，治疗移植排斥、移植物抗宿主疾病、自体免疫病症、发炎疾病、血管疾病和纤维化疾病，刺激神经元再生或治疗真菌感染的方法，所述方法包含向患者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。
42. 一种治疗癌症或 B 细胞恶性肿瘤的方法，所述方法包含向患者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。
43. 一种根据权利要求 1 至 36 中任一权利要求所述的化合物的用途，其用于制备供治疗癌症和/或 B 细胞恶性肿瘤，诱导或维持免疫抑制，治疗移植排斥、移植物抗宿

主疾病、自体免疫病症、发炎疾病、血管疾病和纤维化疾病，刺激神经元再生或治疗真菌感染用的药物。

44. 根据权利要求 43 所述的用途，其中所述药物用于治疗癌症或 B 细胞恶性肿瘤。

45. 一种制备根据权利要求 2 至 36 中任一权利要求所述的式 (I) 化合物的方法，其包含：

(a) 使式 (II) 化合物：



或其经保护衍生物

与式 (III) 化合物：

HO-R₆ (III)

或其活化衍生物，

其中基团 R₆ 如以上关于式 (I) 化合物所定义，

或其经保护衍生物反应；或

(b) 使式 (I) 化合物或其盐转化为式 (I) 另一化合物或其另一医药学上可接受的盐；或

(c) 使经保护式 (I) 化合物去保护。

46. 一种组合物或成套试剂盒，其包含 (i) 根据权利要求 1 至 36 中任一权利要求所述的化合物和 (ii) 一种或多种其它治疗上有效的药剂。

47. 根据权利要求 46 所述的组合物或成套试剂盒，其中所述一种或多种其它治疗上有效的药剂是选自如下群组：甲氨喋呤 (methotrexate)、醛氢叶酸 (leukovorin)、阿霉素 (adriamycin)、泼尼松 (prednisone)、博莱霉素 (bleomycin)、环磷酰胺 (cyclophosphamide)、5-氟尿嘧啶 (5-fluorouracil)、太平洋紫杉醇 (paclitaxel)、多西紫杉醇 (docetaxel)、长春新碱 (vincristine)、长春碱 (vinblastine)、长春瑞宾

(vinorelbine)、多柔比星 (doxorubicin)、他莫昔芬 (tamoxifen)、托瑞米芬 (toremifene)、乙酸甲地孕酮 (megestrol acetate)、阿那曲唑 (anastrozole)、戈舍瑞林 (goserelin)、抗 HER2 单克隆抗体 (例如赫赛汀 (Herceptin™))、卡培他滨 (capecitabine)、盐酸雷洛西芬 (raloxifene hydrochloride)、EGFR 抑制剂、VEGF 抑制剂、蛋白酶体抑制剂、hsp90 抑制剂、硫唑嘌呤 (azathioprine)、皮质类固醇 (corticosteroid)、环磷酰胺、环孢菌素 A (cyclosporin A)、FK506、霉酚酸吗啉乙酯 (Mycophenolate Mofetil)、OKT-3、ATG、两性霉素 B (amphotericin B)、氟胞嘧啶 (flucytosine)、棘白菌素 (echinocandin)、灰黄霉素 (griseofulvin)、咪唑和三唑抗真菌剂。

雷帕霉素 (RAPAMYCIN) 的 39-去甲氧基-39-甲基衍生物

技术领域

本发明涉及新颖的 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生物、其制备方法以及其用途。另一方面, 本发明提供所述 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生物在治疗癌症和/或 B 细胞恶性肿瘤, 诱导或维持免疫抑制, 治疗移植排斥、移植物抗宿主疾病、自体免疫病症、发炎疾病、血管疾病和纤维化疾病, 刺激神经元再生或治疗真菌感染中的用途。

背景技术

雷帕霉素 (西罗莫司 (sirolimus)) (图 1) 是由吸水链霉菌 (*Streptomyces hygroscopicus*) NRRL 5491 (舍盖尔 (Sehgal) 等人, 1975; 维兹娜 (Vézina) 等人, 1975; 美国专利第 3,929,992 号; 美国专利第 3,993,749 号) 产生的具有与哌啶酸内酯键联的 1,2,3-三羰基部分 (派瓦 (Paiva) 等人, 1991) 的亲脂性大环内酯。出于本发明的目的, 根据麦卡尔平 (McAlpine) 等人 (1991) 的编号规定来描述雷帕霉素, 优先于芬德利 (Findlay) 等人 (1980) 或化学文摘 (第 11 卷累积索引 (11th Cumulative Index), 1982-1986 p60719CS) 的编号规定。

因为雷帕霉素展现广谱活性, 所以所述化合物具有重要的药理学价值。雷帕霉素展示主要针对假丝酵母属 (*Candida*) 物种以及针对丝状真菌的中等抗真菌活性 (贝克 (Baker) 等人, 1978; 舍盖尔 (Sehgal) 等人, 1975; 维兹娜 (Vézina) 等人, 1975; 美国专利第 3,929,992 号; 美国专利第 3,993,749 号)。雷帕霉素在多种细胞类型中通过靶向信号转导途径, 例如通过抑制使细胞周期 G₁ 期进展为 S 期的信号转导途径来抑制细胞增殖 (郭 (Kuo) 等人, 1992)。在 T 细胞中, 雷帕霉素抑制 IL-2 受体的信号转导和随后的 T 细胞自体增殖, 从而产生免疫抑制。雷帕霉素的抑制效应不限于 T 细胞, 因为雷帕霉素抑制许多哺乳动物细胞类型的增殖 (布阮 (Brunn) 等人, 1996)。因此, 雷帕霉素是在预防器官同种异体移植排斥和治疗自体免疫疾病中具有确定或预测的治疗应用的有效免疫抑制剂 (卡汉 (Kahan) 等人, 1991)。40-O-(2-羟基)乙基-雷帕霉素 (SDZ RAD, RAD 001, Certican, 依维莫司 (everolimus)) 是展示免疫抑制药理学效应的雷帕霉素的半合成类似物且同时处于作为抗癌剂的研究中 (瑟曲尼·里 (Sedrani, R.) 等人, 1998; 基尔希纳 (Kirchner) 等人, 2000; 美国专利第 5,665,772 号, 鲍雷 (Boulay) 等人, 2004)。在欧洲, 2003 年获得批准将这一药物用作免疫抑制剂。雷帕霉素酯衍生物

CCI-779 (惠氏 (Wyeth-Ayerst)) 活体外抑制细胞生长且活体内抑制肿瘤生长 (余 (Yu) 等人, 2001)。CCI-779 作为潜在抗癌剂目前正处于第 III 阶段临床试验中。雷帕霉素在治疗慢性斑块型银屑病中的价值 (科尔比 (Kirby) 和格里菲斯 (Griffiths), 2001), 诸如刺激 PC12 细胞中的神经突外生长的效应的潜在用途 (里昂 (Lyons) 等人, 1994), 阻断机械性损伤后血管和平滑肌细胞对细胞激素的增殖性反应 (格雷戈里 (Gregory) 等人, 1993) 和其在预防同种异体移植物纤维化中的作用 (沃勒 (Waller) 和尼克尔森 (Nicholson), 2001) 是热门研究领域 (卡汗 (Kahan) 和坎玛都 (Camardo), 2001)。最近报导揭露, 雷帕霉素与处于长期免疫抑制疗法中的器官同种异体移植患者的较低的癌症发病率 (与处于其它免疫抑制方案中的患者相比) 相关, 且所述癌症发病率的降低是由血管生成的抑制作用所致 (古巴 (Guba) 等人, 2002)。已报导免疫亲和素配体的神经营养活性与其免疫抑制活性无关 (斯坦因 (Steiner) 等人, 1997) 且如专利申请案 WO 01/03692 中所概述, 通过破坏成熟类固醇受体复合物来促进神经生长刺激。已报导诸如高脂血症和血小板减少症的副作用以及潜在致畸效应 (亨特盖斯 (Hentges) 等人, 2001; 卡汗 (Kahan) 和坎玛都 (Camardo), 2001)。

雷帕霉素的聚酮主链是通过总计七个丙酸酯单元和七个乙酸酯单元与莽草酸酯 (shikimate) 衍生的环己烷羧酸启动子单元 (starter unit) 经由包含 I 型聚酮合成酶 (rap PKS, 派瓦 (Paiva) 等人, 1991) 的极大多官能蛋白进行的头-尾缩合来合成。L-赖氨酸衍生的氨基酸 (哌啶酸) 经由酰胺键缩合到聚酮主链的最后一个乙酸酯上 (派瓦 (Paiva) 等人, 1993) 且接着内酯化形成大环。

三个雷帕霉素 PKS 基因、NRPS 编码基因和侧接后期基因序列和相应多肽中的每一个的核苷酸序列都是由阿帕里可 (Aparicio) 等人, 1996 和施维克 (Schwecke) 等人, 1995 来鉴别且以登录号 X86780 寄存在 NCBI 中, 且这一序列的修正最近已公布在 WO 04/007709 中。

雷帕霉素生物合成簇的第一无酶产物已被指定为前雷帕霉素 (pre-rapamycin) (WO 04/007709, 格雷戈里 (Gregory) 等人, 2004)。制造完全经加工的雷帕霉素需要由雷帕霉素后期基因 RapJ、RapN、RapO、RapM、RapQ 和 RapI 所编码的酶进一步加工聚酮/NRPS 核心。

认为迄今所表征的雷帕霉素的药理学作用是由与称为 FKBP 的胞浆受体的相互作用所介导。真核 T-细胞中的主要细胞内雷帕霉素受体是 FKBP12 (迪莱拉 (DiLella) 和克雷格 (Craig), 1991) 且所得复合物与靶蛋白特异性相互作用以抑制细胞的信号转导级联。

雷帕霉素-FKBP12复合物的靶在酵母中已被鉴别为雷帕霉素靶(target of rapamycin, TOR) (阿拉康(Alarcon)等人, 1999)且哺乳动物蛋白是称为FKBP-雷帕霉素相关蛋白(FRAP)或哺乳动物雷帕霉素靶(mammalian target of rapamycin, mTOR) (布朗(Brown)等人, 1994)。

已描述mTOR信号转导与位于神经元中的蛋白合成之间的联系;其对参与翻译控制的蛋白的磷酸化状态的影响;在转录和翻译水平下翻译机构的组分的丰富程度;氨基酸通透酶活性的控制和许多参与代谢途径的酶的转录的协调作用(雷奥特(Raught)等人, 2001)。雷帕霉素敏感信号转导途径似乎在胚胎脑发育、学习和记忆形成中也发挥重要作用(唐(Tang)等人, 2002)。对酵母中TOR蛋白的研究也揭露其在调节营养物敏感信号转导途径中的作用(哈德威奇(Hardwick)等人, 1999)。类似地,已鉴别mTOR为蛋白激酶B(akt)作用的直接靶且在胰岛素信号转导中起关键作用(舍菲德(Shepherd)等人, 1998;纳维(Navé)等人, 1999)。哺乳动物TOR也涉及肌动蛋白细胞骨架的极化和翻译起始的调控(阿拉康(Alarcon)等人, 1999)。诸如mTOR的磷脂酰肌醇3-激酶在诸如细胞周期进展、粘附、细胞存活和血管生成的肿瘤发病机理的数个方面起作用(罗曼斯(Roymans)和斯莱格斯(Siegers), 2001)。

雷帕霉素和雷帕霉素类似物的药物动力学研究已证明,需要开发在溶液中可能更稳定、更具代谢抗性抗性和/或具有改进的细胞膜渗透性和减少的流出且因此可展现改进的口服生物可用性的新颖雷帕霉素化合物。

已报导使用分子的化学可用位点所合成的多种雷帕霉素类似物。以下化合物的说明适于图1中所述的雷帕霉素分子的编号系统。分子的衍生或置换的化学可用位点包括C40和C28羟基(例如美国专利第5,665,772号;美国专利第5,362,718号)、C39和C16甲氧基(例如,WO 96/41807;美国专利第5,728,710号)、C32、C26和C9酮基(例如美国专利第5,378,836号;美国专利第5,138,051号;美国专利第5,665,772号)。C17、C19和/或C21处靶向三烯的氢化导致保留抗真菌活性,但免疫抑制存在相对损失(例如,美国专利第5,391,730号;美国专利第5,023,262号)。分子稳定性(例如,在C32、C40和/或C28处形成脒,美国专利第5,563,145号;美国专利第5,446,048号)、代谢抗性(例如,美国专利第5,912,253号)、生物可用性(例如,美国专利第5,221,670号;美国专利第5,955,457号;WO 98/04279)和前药制造(例如,美国专利第6,015,815号;美国专利第5,432,183号)的显著改进已通过衍生来实现。

发明内容

然而，仍需要更多雷帕霉素衍生物。所述雷帕霉素衍生物应在多种病状的治疗中具有重要效用。本发明提供多种新颖的 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生物。所述化合物适用于医学领域，尤其适用于治疗癌症和/或 B 细胞恶性肿瘤，诱导或维持免疫抑制，治疗移植排斥、移植物抗宿主疾病、自体免疫病症、发炎疾病、血管疾病和纤维化疾病，刺激神经元再生或治疗真菌感染。

本发明提供雷帕霉素的 39-去甲氧基-39-甲基衍生物、这些化合物的制备方法、其中间体以及这些化合物在医学领域中的使用方法。

在最广义方面，本发明提供雷帕霉素的 39-去甲氧基-39-甲基衍生物，其特征在于 40-羟基位置衍生为羧酸酯、醚、亚磷酸酯、缩醛或糖基。

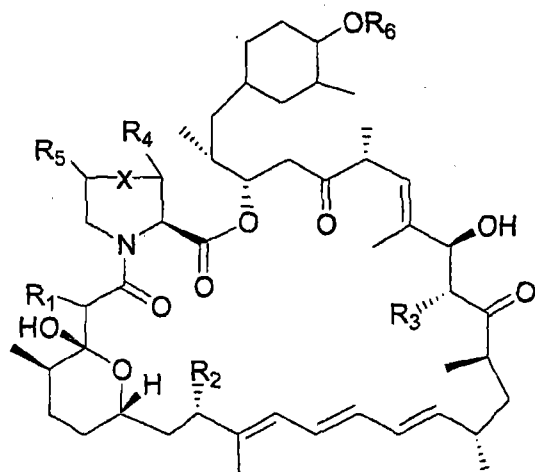
当 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生为羧酸酯、醚或缩醛时，衍生化基团优选含有不超过 12 个碳原子（尤其 7 个或 7 个以下碳原子，尤其 5 个或 5 个以下碳原子）。其优选含有至少一个选自 $-\text{CF}_2\text{PO}(\text{OH})_2$ 、 $-\text{PO}(\text{OH})_2$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{OH}$ 和 $-\text{NH}_2$ ，尤其选自 $-\text{COOH}$ 和 $-\text{OH}$ ，更尤其为 $-\text{OH}$ 的官能团（尤其至少两个官能团）。

当 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生为由糖基衍生的缩醛时，各糖基优选由优选含有不超过 12 个碳原子（尤其 7 个或 7 个以下、尤其 6 个或 6 个以下碳原子）的糖或糖苷形成。实例包括单糖和双糖，尤其形成 5 和 6 元环的单糖。其优选含有至少一个选自 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{OH}$ 和 $-\text{NH}_2$ ，尤其选自 $-\text{NH}_2$ 和 $-\text{OH}$ ，更尤其为 $-\text{OH}$ 的官能团（尤其至少两个官能团）。

当 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生为亚磷酸酯时，优选地，烷基优选含有不超过 4 个碳原子，实例为由次磷酸（phosphinic acid）形成的酯。

下文给出衍生化部分的特定实例。

在一更特定方面，本发明提供根据下式 (I) 的 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生物或其医药学上可接受的盐：



(I),

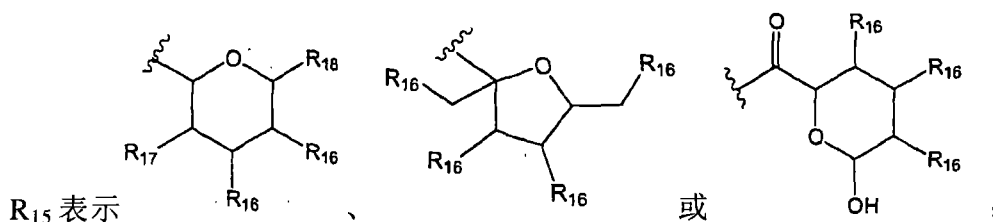
其中:

X 表示键或 CH_2 ; R_1 表示酮基或(H,H); R_2 表示 OH 或 OMe; R_3 表示 H、OH 或 OMe; R_4 和 R_5 各自独立地表示 H 或 OH; R_6 表示 $-\text{R}_7$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}_7$ 、 $-\text{POR}_{19}\text{R}_{20}$ 或 $\text{Y}-\text{R}_{15}$; R_7 表示 $-(\text{CR}_8\text{R}_9)_m(\text{CR}_{10}\text{R}_{11})_p\text{CR}_{12}\text{R}_{13}\text{R}_{14}$;

R_8 和 R_9 各自独立地表示 C1-C4 烷基、C2-C4 烯基或 C2-C4 炔基, 任何所述基团都可视情况经 $-\text{PO}(\text{OH})_2$ 、 $-\text{CF}_2\text{PO}(\text{OH})_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 或 $-\text{NH}_2$ 取代; 或 R_8 和 R_9 各自独立地表示 H、三氟甲基或 F;

R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} 和 R_{14} 各自独立地表示 C1-C4 烷基、C2-C4 烯基或 C2-C4 炔基, 任何所述基团都可视情况经 $-\text{PO}(\text{OH})_2$ 、 $-\text{CF}_2\text{PO}(\text{OH})_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 或 $-\text{NH}_2$ 取代; 或 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} 和 R_{14} 可独立地选自 H、 $-(\text{CR}_8\text{R}_9)_q\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CR}_8\text{R}_9)_q\text{OH}$ 、 CF_3 、F、 COOH ; 或 R_{10} 和 R_{11} 或 R_{12} 和 R_{13} 或 R_{13} 和 R_{14} 可与其所连接的碳一起形成 C3-C6 环烷基或含有一个或多个选自 N、O 和 S 的杂原子且视情况经至多 5 个 $-(\text{CR}_8\text{R}_9)_q\text{OH}$ 、 $-(\text{CR}_8\text{R}_9)_q\text{NH}_2$ 或 COOH 基团取代的 3 到 6 元杂烷基环;

Y = 键、 $-\text{C}(\text{O})-\text{O}-$ 、 $-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-$;



化合物。

详言之，术语“**39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生物**”是指通过半合成改变 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素类似物所产生的根据上式 (I) 的 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生物或其医药学上可接受的盐。这些化合物也称为“**本发明化合物**”或“**雷帕霉素的 39-去甲氧基-39-甲基衍生物**”且这些术语在本申请案中可互换使用。

如本文中所使用，术语“**自体免疫病症**”涉及其中针对自体抗原引发适应性免疫反应的病状，其通常以组织的慢性发炎性损伤为特征。本发明范畴内所包括（但不限于）的自体免疫病症为：全身性红斑狼疮（systemic lupus erythematosis, SLE）、类风湿性关节炎（rheumatoid arthritis）、重症肌无力（myasthenia gravis）、胰岛素依赖性糖尿病和多发性硬化。

如本文中所使用，术语“**发炎疾病**”包括其中发炎性系统反应过度而引起组织损伤和/或不必要的副作用的病状。反应过度可针对非自体抗原、自体抗原或可自发发生。发炎疾病包括过敏（也称为过敏性反应）。发炎疾病的实例包括（但不限于）：银屑病、皮炎、湿疹、皮脂溢（seborrhoea）、发炎性肠病（包括但不限于溃疡性结肠炎和克罗恩氏病（Crohn's disease））、肺炎（包括哮喘、慢性阻塞性肺病、肺气肿、急性呼吸窘迫综合征和支气管炎）、类风湿性关节炎和眼睛葡萄膜炎。

如本文中所使用，术语“**癌症**”是指皮肤或身体器官中细胞的恶性或良性生长，所述器官例如（但不限于）乳房、前列腺、肺、肾、胰腺、胃或肠。癌症倾向于渗透到相邻组织中且扩散（转移）到远处器官，例如扩散到骨、肝、肺或脑中。如本文中所使用，术语癌症包括转移性肿瘤细胞类型，诸如（但不限于）黑色素瘤、淋巴瘤、白血病、纤维肉瘤、横纹肌肉瘤和肥大细胞瘤；与组织癌瘤类型，诸如（但不限于）结肠直肠癌、前列腺癌、小细胞肺癌和非小细胞肺癌、乳癌、胰腺癌、膀胱癌、肾癌、胃癌、胶质母细胞瘤、原发性肝癌和卵巢癌。

如本文中所使用，术语“**B 细胞恶性肿瘤**”包括一组病症，其包括慢性淋巴细胞白血病（chronic lymphocytic leukaemia, CLL）、多发性骨髓瘤和非霍奇金氏淋巴瘤（non-Hodgkin's lymphoma, NHL）。其为血液和造血器官（blood forming organ）的赘生性疾病。其引起骨髓和免疫系统功能异常，从而使宿主变得极易感染和出血。

如本文中所使用，术语“**血管疾病**”包括（不限于）：过度增生性血管病症（例如，再狭窄和血管堵塞）、移植血管动脉粥样硬化、心血管疾病、脑血管疾病和周围血管疾病（例如，冠状动脉疾病、动脉硬化、动脉粥样硬化、非动脉粥样化动脉硬化或血管壁损坏）。

如本文中所使用，术语“**神经元再生**”是指刺激神经元细胞生长且包括神经元细胞的神经突外生长和功能恢复。神经元再生可具有明显治疗益处的疾病和病症包括（但不限于）阿尔茨海默病（Alzheimer's disease）、帕金森病（Parkinson's disease）、亨廷顿氏舞蹈病（Huntington's chorea）、肌肉萎缩侧索硬化（amyotrophic lateral sclerosis）、三叉神经痛（trigeminal neuralgia）、舌咽神经痛（glossopharyngeal neuralgia）、贝尔麻痹（Bell's palsy）、肌肉萎缩症（muscular dystrophy）、中风、进行性肌肉萎缩、进行性延髓遗传性肌肉萎缩、颈椎病、格林-巴利综合征（Gullain-Barre syndrome）、痴呆、周围神经病和由物理损伤（例如脊髓损伤或外伤、坐骨神经或面神经病变或损伤）或疾病状态（例如，糖尿病）引起的周围神经损坏。

如本文中所使用，术语“**纤维化疾病**”是指与过度产生细胞外基质相关的疾病且包括（但不限于）肉状瘤病、瘢痕疙瘩、肾小球肾炎、末期肾病、肝纤维化（包括但不限于肝硬化、酒精肝病和脂肪性肝炎）、慢性移植肾病、手术粘附、血管病变、心脏纤维化、肺纤维化（包括但不限于特发性肺纤维化和隐源性纤维化肺肺炎）、黄斑退化、视网膜和玻璃体视网膜病和化学疗法或放射诱发的纤维化。

如本文中所使用，术语“**移植物抗宿主疾病**”是指在异基因干细胞/骨髓移植后所观察到的并发症。其在来自供体的抗感染细胞认为患者的身体不同或为外来身体时发生。然后，这些抗感染细胞攻击患者身体内的组织，就如同其攻击感染。当移植物抗宿主疾病在移植后的第一个 100 天内发生时，将所述疾病分类为急性的，且如果其在移植后超过 100 天发生，那么将其分类为慢性的。通常涉及的组织包括肝、胃肠道和皮肤。在干细胞/骨髓移植后，约 10-40% 的患者发生慢性移植物抗宿主疾病。

如本文中所使用，术语“**生物可用性**”是指药物或其它物质在投与后在生物活性位点处被吸收或变得可用的程度或比率。这一性质取决于若干因素，包括化合物的溶解性、在肠管中的吸收速率、蛋白结合和代谢的程度等。本文中描述多种应为所属领域的技术人员所熟悉的生物可用性测试（也参见曲盼尼尔（Trepanier）等人，1998，戛兰特-海德纳（Gallant-Haidner）等人，2000）。

如本申请案中所使用，术语“**水溶性**”是指在水性介质（例如，pH 值为 7.4 的磷酸盐缓冲生理食盐水（phosphate buffered saline, PBS））中的溶解性。

诸如式 (I) 化合物的本发明化合物的医药学上可接受的盐包括由医药学上可接受的无机或有机酸或碱形成的常规盐以及季铵酸加成盐。合适的酸式盐的更特定实例包括盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐、磷酸盐、硝酸盐、高氯酸盐、富马酸盐、乙酸盐、丙酸盐、丁二酸盐、乙醇酸盐、甲酸盐、乳酸盐、马来酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、棕榈酸盐、

丙二酸盐、羟基马来酸盐、苯乙酸盐、谷氨酸盐、苯甲酸盐、水杨酸盐、富马酸盐、甲磺酸盐、甲磺酸盐、萘-2-磺酸盐、苯磺酸盐、羟基萘甲酸盐、氢碘酸盐、苹果酸盐、硬脂酸盐 (steroid)、丹宁酸盐等。诸如草酸的其它酸虽然本身不为医药学上所接受，但可适用于制备适用作获得本发明化合物和其医药学上可接受的盐的中间体的盐。合适的碱性盐的更特定实例包括钠盐、锂盐、钾盐、镁盐、铝盐、钙盐、锌盐、N,N'-二苯甲基乙二胺盐、氯普鲁卡因盐、胆碱盐、二乙醇胺盐、乙二胺盐、N-甲基葡糖胺盐和普鲁卡因盐。下文提及根据本发明的化合物包括式 (I) 化合物与其医药学上可接受的盐。

烷基、烯基和炔基可为直链或支链。

C1-C4 烷基的实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基和正丁基。

C2-C4 烯基的实例包括乙烯基和 2-丙烯基。

C2-4 炔基的实例包括乙炔基。

C3-C6 环烷基是指可视情况具有支链的包括 3-6 个碳原子的环烷基环。实例包括环丙基、环丁基、甲基-环丁基、环戊基和环己基。

含有一个或多个选自 N、O 和 S 的杂原子的 3 到 6 元杂烷基环包括含有一或两个杂原子，尤其一个杂原子的环。实例包括咪唑、吡唑、环氧丙烷、环氧乙烷 (oxirane)、哌啶、吡咯烷、吡丁啶、氮丙啶、环硫乙烷、硫代乙烷 (thiethane)、噻吩、硫代吡唑和吗啉。

3 到 6 元杂烷基环的例示性可取代基包括 -OH、-CH₂OH、NH₂、CH₂NH₂ 和 COOH。3 到 6 元杂烷基环通常可未经取代或经 1 或 2 个 (例如 1 个) 取代基取代。

本发明提供如上所述的 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生物、这些化合物的制备方法、其中间体以及这些化合物在医学领域中的使用方法。

R₇ 优选含有 7 个或 7 个以下碳原子，尤其 5 个或 5 个以下碳原子。

R₇ 优选含有至少一个选自 -PO(OH)₂、-OH、-COOH 和 -NH₂，更优选选自 -OH、-COOH 或 -NH₂，尤其选自 -COOH 和 OH，最尤其为 OH 的官能团。R₇ 优选含有 2 个或 2 个以上取代基，例如 2 个 -OH 基团。

X 合适地表示 CH₂。

p 合适地表示 0 或 1。

m 合适地表示 0 或 1。

q 合适地表示 0、1 或 2。

R₁₁ 合适地表示 H。R₁₂ 合适地表示 H。

R₁₃ 合适地表示 H 或 OH。

当 p 表示 1 时, R_{10} 合适地表示 Me、OH 或 CH_2OH 。

当 p 表示 1 时, R_{11} 合适地表示 Me、H 或 CH_2OH 。

当 m 和 p 都表示 0 时, 合适地, R_{12} 和 R_{13} 都表示 H, R_{14} 表示 $-(CR_8R_9)_q-OH$, 其中 $q = 0$ 或 1, 且 R_8 和 R_9 都表示 H。

当 p 表示 1 且 m 表示 0 时, 合适地, R_{10} 和 R_{11} 都表示 H, R_{12} 表示 H, R_{13} 表示 H、OH 或 NH_2 , R_{14} 表示 $-(CR_8R_9)_q-OH$, 其中 $q = 0$ 或 1, 且 R_8 和 R_9 都表示 H。

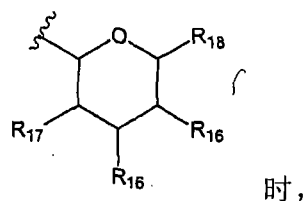
当 R_6 表示 $-POR_{15}R_{16}$ 时, 合适地, R_{15} 和 R_{16} 都表示 CH_3 或都表示 CH_2CH_3 。

R_6 合适地表示通过与羟基乙酸、3-羟基-2,2-二甲基丙酸、2,3-二羟基丙酸、3-羟基-2-羟基甲基丙酸或 2,2-双(羟基甲基)丙酸形成酯而衍生的残基。

在一组例示性化合物中, R_6 表示 $C(O)R_7$ 。

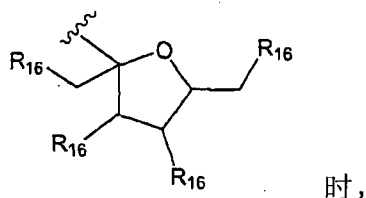
R_7 优选为通过大环醇与选自羟基乙酸、3-羟基-2,2-二甲基丙酸、2,3-二羟基丙酸、3-羟基-2-羟基甲基丙酸和 2,2-双(羟基甲基)丙酸组成的清单的酸、尤其 2,2-双(羟基甲基)丙酸的缩合所形成的部分。

当 R_{15} 表示:



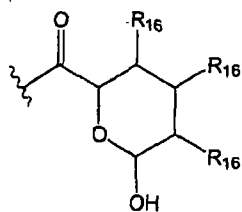
这一部分的实例包括通过与以下物质形成缩醛所形成的部分: (i) 葡萄糖 (即, R_{18} 表示 CH_2OH 且 R_{16} 和 R_{17} 各自表示 OH), 例如 D-葡萄糖; (ii) 葡糖胺 (即, R_{18} 表示 CH_2OH , R_{16} 各自表示 OH, 且 R_{17} 表示 NH_2), 例如 D-葡糖胺; (iii) 葡糖醛酸 (即, R_{18} 表示 $COOH$, 且 R_{16} 和 R_{17} 各自表示 OH), 例如 D-葡糖醛酸; 以及 (iv) 阿拉伯糖 (即, R_{18} 表示 H, 且 R_{16} 和 R_{17} 各自表示 OH), 例如 D-阿拉伯糖。

当 R_{15} 表示:



这一部分的实例包括通过与果糖 (即, R_{16} 各自表示 OH) (例如 D-果糖的残基) 形成缩醛所形成的部分。

当 R_{15} 表示:



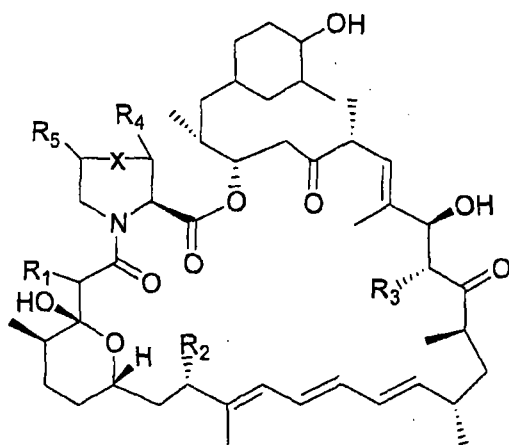
时，

这一部分的实例包括通过与葡萄糖醛酸（即， R_{16} 各自表示OH）（例如D-葡萄糖醛酸的残基）形成酯所形成的部分。

本发明化合物通常通过式（II）的39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素类似物的半合成衍生化来制备。

因此，制备式（I）化合物或其医药学上可接受的盐的方法包含：

（a）使式（II）的39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素类似物：



（II）

或其经保护衍生物与式（III）化合物：

$HO-R_6$ （III）

或 R_6 的活化衍生物反应；

（b）使式（I）化合物或其盐转化为另一式（I）化合物或另一其医药学上可接受的盐；或

（c）使经保护式（I）化合物去保护。

如以上所使用，术语“活化衍生物”是指（例如但不限于）：在酯的情况下，羧酸、酰基卤、混合酸酐、对称酸酐或羧酸酯；在醚的情况下，烷基卤、甲磺酸烷基酯、三氟甲磺酸烷基酯、甲苯磺酸烷基酯或其它合适地活化的烷基衍生物；在磷酸酯和磷酯的情况下，氯磷酸酯、氰基磷酸二烷基酯、二烷基氨基磷酸二烷基酯或氯亚磷酸酯；或在

由糖基衍生的缩醛的情况下，使用糖基供体，例如糖基卤、硫苷、1-O-酰基糖苷、原酸酯 (ortho ester)、1-O 或 1-S 碳酸酯、三氯亚氨酸酯 (trichloroimidate)、4-戊烯基糖苷、糖基磷酸酯、1-O-磺酰或 1-O-硅烷化糖苷。

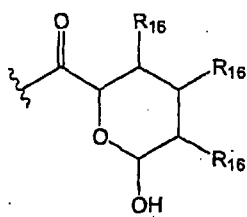
在过程(a)中，式(II)的 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素类似物可如 WO 2004/007709 中所述来制备。

除本文中所提供的特定方法和参考文献外，所属领域的技术人员也可查阅关于合成方法的标准教程参考，包括（但不限于）伏格尔实用有机化学教程 (Vogel's textbook of practical organic chemistry) (弗尼斯 (Furniss) 等人, 1989) 和玛曲先进有机化学 (March's advanced organic chemistry) (史密斯 (Smith) 和玛曲 (March), 2001)。

另外，可通过所属领域的技术人员可利用的许多标准羟基保护策略中的一种来保护所存在的羟基。羟基可通过形成醚而受到保护，所述醚包括（但不限于）经取代烷基醚、经取代苄醚和硅醚 (silyl ether)。包括（但不限于）三甲基硅醚、三乙基硅醚、叔丁基二甲基硅醚和叔丁基二苯基硅醚的硅醚优选通过在合适的碱存在下使硅烷的活化形式（包括但不限于氯硅烷或三氟甲磺酸硅烷酯）与 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素反应而形成。然后，可通过酸水解或氟化物辅助裂解来去除保护基。1,2-二醇可基于丙酮衍生物的缩合而被保护为丙酮化物。其可通过酸催化去除。

式(II)的 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素类似物可用作进一步半合成（即，过程(a)）的模板。C-40 处的侧接羟基可通过例如酰基化、烷基化、糖基化或磷酸化经由所属领域的技术人员已知的若干合成转化而官能化。

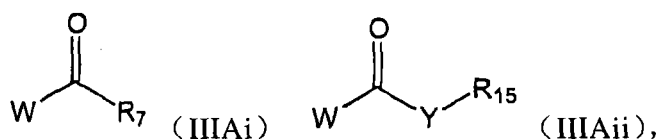
在过程(a)中，当 R_6 表示式 $-C(O)R_7$ 或 $Y-R_{15}$ 部分时，



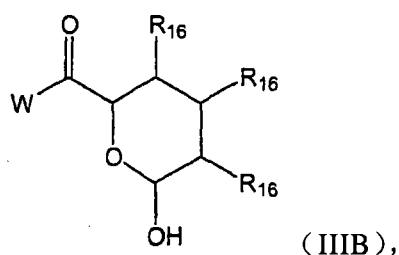
其中 R_{15} 表示

且 $Y =$ 键，羟基酯的形成或 O-酰基化可通过使式(II)

化合物的羟基与相应羧酸(优选活化形式)反应来介导，所述羧酸例如式(III Ai)或(III Aii)化合物：



或通过与式 (IIIB) 化合物反应来介导:

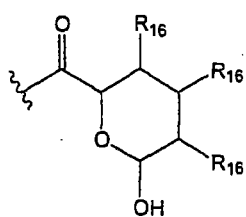


其中 W 为活化羧酸以进行亲核进攻的基团。可通过形成例如 (但不限于) 酰基卤 (例如, $W = Cl$)、混合酸酐 (即, $W = OC(O)R'$)、对称酸酐 ($W = OC(O)R_7$) 或羧酸酯 (即, $W = OR'$) 来活化羧酸。

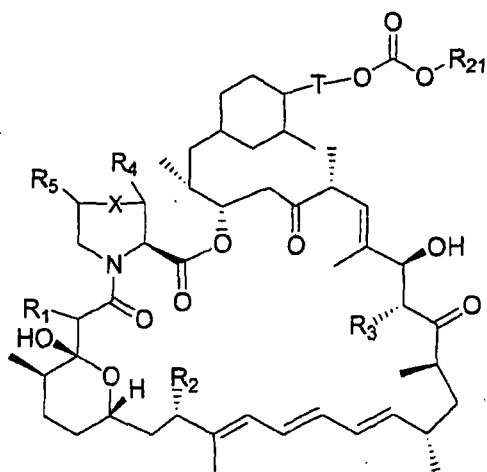
式 (IIIAi)、(IIIAii) 或 (IIIB) 化合物可由其可购得的羧酸使用所属领域的技术人员已知的标准方法来制备, 且在一特定方面, 根据式 (IIIAi) 的化合物 (其中 R_7 为 $-(CR_8R_9)_m(CR_{10}R_{11})_pCR_{12}R_{13}R_{14}$) 可使用如美国专利第 5,362,718 号、美国专利第 5,665,772 号或欧洲专利第 0 663 916 号中所述的方法来制备。

优选在碱存在下使 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素类似物在有机介质中与酰基氯或混合酸酐反应。可使用的碱包括 (但不限于) 吡啶、4,4-二甲基氨基吡啶 (DMAP)、2,6-二甲基吡啶、2,6-二-叔丁基吡啶、三乙胺、二异丙基乙胺、其它三烷基胺、1,8-二氮杂二环[5.4.0]十一-7-烯 (DBU) 或 1,5-二氮杂二环[4.3.0]壬-5-烯 (DBN)。

在过程 (a) 中, 当 R_6 表示式 $-C(O)R_7$ 或 $Y-R_{15}$ 部分时,



其中 R_{15} 表示 $Y = -C(O)O-$ 或 $-(CH_2)_2-OC(O)O-$, 这些羟基酯的形成需要使式 (II) 化合物的羟基与将形成活化碳酸酯的试剂反应, 所述试剂诸如式 IV 化合物:



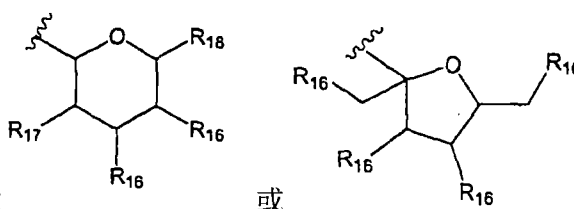
(IV), 其中 T = 键或 $-\text{O}(\text{CH}_2)_2-$, 且 R_{21} 为烷基或芳基, 优选芳基, 尤其对硝基苯基。

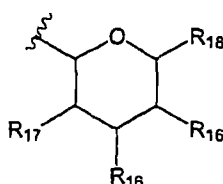
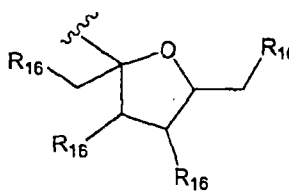
然后, 可使式 IV 化合物与式 III 化合物反应以生成 R_6 经由碳酸酯基连接子与 40-羟基连接的化合物 (WO 2004/101583)。

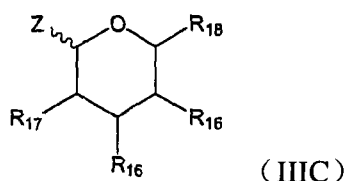
同样地, 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素类似物可通过使 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素类似物与所选择的经合适活化的烷基衍生物反应形成 39-去甲氧基-39-甲基-40-O-烷基雷帕霉素衍生物而在 C-40 处经不同羟基醚衍生化。活化烷基是指已经许多方法中的一种活化的烷基, 所述方法包括 (但不限于) 形成烷基卤 (RCl 、 RI 、 RBr)、甲磺酸烷基酯 ($\text{ROS}(\text{O})_2\text{CH}_3$)、三氟甲磺酸烷基酯 ($\text{ROS}(\text{O})_2\text{CF}_3$)、甲苯磺酸烷基酯 ($\text{ROS}(\text{O})_2\text{PhMe}$)。然后, 应在合适的碱存在下使活化烷基与 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素类似物在有机介质中反应。所属领域的技术人员可采用标准方法来优化反应条件以避免在其它反应性位置发生烷基化。

同样地, 可使 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素类似物磷酸化, 且在使磷酸酯去保护后可得到 40-O-磷酸基-39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生物或 40-O-二烷基磷酸基-39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生物和通过所属领域的技术人员已知的方法制得的这些衍生物的盐。磷酸酯可直接形成或经由 O-亚磷酸酯 (即, $(\text{R}'\text{O})_2\text{POR}$) 间接形成, 其中将三价亚磷酸酯 (优选在过酸的作用下, 所述过酸诸如但不限于 mCPBA) 氧化成五价磷酸酯。直接磷酸化方法包括 (但不限于) 使 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素类似物与经保护的氯磷酸酯 (例如 $(\text{BnO})_2\text{P}(\text{O})\text{Cl}$ 、 $(\text{烷基 O})_2\text{P}(\text{O})\text{Cl}$) 优选在 DMAP 存在下在有机介质中反应, 或使 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素类似物与磷酰氯 (POCl_3) 在诸如三乙胺的碱存在下反应, 接着酸水解所得的 O-二氯磷酸酯 (即, $\text{ROP}(\text{O})\text{Cl}_2$) 或与氰基磷酸二烷基酯偶合 (WO 01/81355)。氯磷酸二烷基酯或氯磷酸二芳基酯可在碱存在下通过使亚磷酸

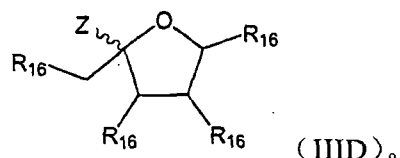
二烷基酯或亚磷酸二芳基酯（即 $(RO)_2P(O)H$ ）与四氯化碳反应而当场生成。形成 O-亚磷酸酯（用于氧化成 O-磷酸酯）的方法包括（但不限于）在碱（优选四唑）存在下使 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素类似物与二烷基氨基磷酸二烷基酯（优选二异丙基氨基磷酸二烷基酯）偶合，或在碱存在下使用氯亚磷酸酯进行偶合（埃文斯（Evans）等人，1992）。保护基的选择很重要，磷酸乙酯和磷酸甲酯在酸性或碱性条件下不易水解。保护基优选包括（但不限于）苄酯（经由碘化钠/三甲基氯硅烷促进的水解来裂解，（WO 01/81355））或 2-氰基乙基酯（经由弱碱催化的裂解来裂解）。类似地，40-O-二烷基磷酸基-39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生物可通过使 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素类似物与经合适活化（如上所述）的二烷基磷酸酯或二烷基亚磷酸酯反应而生成。



在过程（a）中，当 R_{15} 表示式  或  的部分时，糖苷键的形成或 O-糖基化可通过使羟基与相应的糖基供体（优选活化形式）（参见丰岛（Toshima）和龙田（Tatsuta）（1993））反应来介导，所述糖基供体例如式（IIIC）化合物：



或式（IIID）化合物：



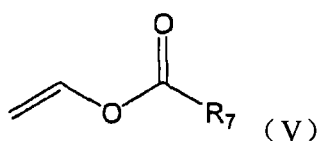
使用‘糖基供体’可使 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素类似物在有机介质中优选在活化剂（诸如路易斯酸（Lewis acid）或重金属盐，参见丰岛（Toshima）和龙田（Tatsuta），1993）存在下糖基化，所述‘糖基供体’包括（但不限于）糖基卤（ $Z = F, Cl, Br$ ）、

硫苷 ($Z = \text{SMe}$ 、 Set 、 SPh 、 SPy 、 SCN)、1-O-酰基糖苷 ($Z = \text{OC(O)R}$)、原酸酯 ($Z =$ 式 (IIC/IID) 的 OC(Me)(R)(O-C2))、1-O 或 1-S 碳酸酯 ($Z = \text{OC(S)SMe}$, $Z = \text{OC(O)}$ 咪唑, $Z = \text{OC(S)}$ 咪唑, $Z = \text{SC(S)OEt}$)、三氯亚氨酸酯 ($Z = \text{OC(=NH)CCl}_3$)、4-戊烯基糖苷 ($Z = \text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$)、磷酸酯 (例如, $Z = \text{OP(O)(OPh)}_2$)、1-O-磺酰 (Z = 甲苯磺酰基) 或 1-O-硅烷化糖苷 ($Z = \text{OTMS}$ 或 OTBS)。所使用的特定糖基供体和反应条件将决定形成 α 糖苷还是 β 糖苷。如先前关于酰基化所述, 可保护或掩蔽母体化合物中所存在的任何羟基以致使用 1 当量糖基供体将产生 4-O-酰基化。因为应将糖基供体上的剩余羟基保护为例如 O-乙酸酯、O-苯甲酸酯、1,2-丙酮化物, 所以将有必要进行进一步去保护。此外, 可使用诸如烯糖的 2-脱氧糖基供体 (也需要还原步骤) 来制备 2'-脱氧-39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素糖苷, 且可使用诸如 2,6-脱水-2-硫糖的 2,6-二脱氧糖基供体来制备 2',6'-二脱氧-39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素糖苷。

在过程 (b) 中, 盐的形成和交换可通过所属领域的技术人员已知的常规方法进行。式 (I) 化合物的互变可通过已知方法进行, 例如羟基和酮基可如本文其它地方所述通过氧化/还原互变。 R_6 表示 $-\text{PO(OH)}_2$ 的式 (I) 化合物可通过磷酸化 R_6 表示 OH 的相应式 (I) 化合物来制备。合适条件提供在本文的其它地方。

在过程 (a) 和 (c) 中, 保护基的实例和其去除方法可见于特·沃·格林 (T W Greene) 的“有机合成中的保护基” (“Protective Groups in Organic Synthesis”) (约翰威立父子出版社, 1991)。合适的羟基保护基包括可通过水解去除的烷基 (例如, 甲基)、缩醛 (例如, 丙酮化物) 和酰基 (例如, 乙酰基或苯甲酰基), 和可通过催化水解去除的芳基烷基 (例如, 苯甲基), 或可通过酸性水解或氟离子辅助裂解去除的硅醚。

除过程 (a) 外, R_6 表示 R_7 的式 (I) 的 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素类似物也可通过脂肪酶催化的酯基转移来合成。例如 (但不限于), 可在古 (Gu) 等人 (2005) 所述且如本文实例中进一步所述的反应条件下在脂肪酶 PS-C “天野 (Amano)” II 存在下使式 (II) 的 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素类似物与式 (V) 的乙烯酯反应。这一方法不限于使用乙烯酯, 且酯基转移可由其它脂肪酶或酯酶催化。



本发明的其它化合物可由本身已知的方法或类似于上述方法的方法来制备。

新颖的 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生物适合直接和作为模板用于进一步半合成或生物转化以产生适用作免疫抑制剂、抗真菌剂、抗癌剂、消炎剂、神经再生剂 (neuroregenerative agent) 或用于治疗移植排斥、移植物抗宿主疾病、自体免疫病症、血管疾病和/或纤维化疾病的药剂的化合物。用于雷帕霉素和其类似物的半合成衍生物的方法在所属领域中为熟知的且包括 (但不限于) 以下专利中所述的修改: 例如美国专利第 5,665,772 号、美国专利第 5,362,718 号、WO 96/41807、美国专利第 5,728,710 号、美国专利第 5,378,836 号、美国专利第 5,138,051 号、美国专利第 5,665,772 号、美国专利第 5,391,730 号、美国专利第 5,023,262 号、美国专利第 5,563,145 号、美国专利第 5,446,048 号、美国专利第 5,912,253 号、美国专利第 5,221,670 号、美国专利第 5,955,457 号、WO 98/04279、美国专利第 6,015,815 号和美国专利第 5,432,183 号。

可使中间体的以上结构 (例如式 (II) 化合物) 经受互变异构化, 且当说明代表性互变异构体时, 应理解打算提及所有互变异构体, 例如当说明烯醇化合物时, 也打算提及酮化合物, 且反之亦然。

另一方面, 本发明提供本发明的 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生物在医学领域中的用途。另一方面, 本发明提供本发明的 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生物在制备用于诱导或维持免疫抑制, 刺激神经元再生或治疗癌症、B 细胞恶性肿瘤、真菌感染、移植排斥、移植物抗宿主疾病、自体免疫病症、发炎疾病、血管疾病和纤维化疾病的药物或用于调控创伤愈合的药剂中的用途。

所属领域的技术人员应能够通过常规实验来确定这些化合物抑制真菌生长的能力 (例如贝克·赫 (Baker, H.) 等人, 1978; 酵母的肉汤稀释抗真菌敏感性测试的 NCCLS 参考方法: 获批的标准 M27-A (NCCLS Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing for yeasts: Approved standard M27-A), 17(9), 1997)。另外, 所属领域的技术人员也应能够通过常规实验来确定这些化合物抑制肿瘤细胞生长的能力 (参见杜德金 (Dudkin, L.) 等人, 2001; 余 (Yu) 等人, 2001)。另一方面, 本发明化合物适用于诱导免疫抑制, 用于确定化合物在这些领域中的功效的测定为所属领域的技术人员所熟知, 例如 (但不限于): 免疫抑制剂活性—华纳·力·曼 (Warner, L.M.) 等人, 1992, 卡汉 (Kahan) 等人 (1991) 和卡汉 (Kahan) 和坎玛都 (Camardo) (2001); 同种异体移植物—费什本因·特·曼 (Fishbein, T.M.) 等人, 2002, 基尔希纳 (Kirchner) 等人, 2000; 自体免疫/发炎/哮喘—卡尔森·里·皮 (Carlson, R.P.) 等人, 1993, 鲍威尔·尼 (Powell, N.) 等人, 2001; I 型糖尿病—雷比诺维奇·阿 (Rabinovitch, A.) 等人, 2002; 银屑病—莱塔莫·司 (Reitamo, S.) 等人, 2001; 类风湿性关节炎—福伊·阿 (Foey, A.) 等人, 2002;

纤维化—朱·杰 (Zhu, J.) 等人, 1999, 杰尼·司 (Jain, S.) 等人, 2001, 格雷戈里 (Gregory) 等人, 1993。

本发明的 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生物诱导免疫抑制的能力可在用于这一目的的标准测试中得到证明。另一方面, 本发明的 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生物适于与抗纤维化、神经再生和抗血管生成机理相关, 所属领域的技术人员应能够通过常规实验来确定这些化合物防止血管生成的能力 (例如古巴·曼 (Guba M.) 等人, 2002)。所属领域的技术人员应能够通过常规实验来确定这些化合物治疗血管过度增生疾病 (例如, 在药物洗脱支架中) 的效用 (例如莫里斯·曼·希 (Morice, M.C.) 等人, 2002)。另外, 所属领域的技术人员也应能够通过常规实验来确定这些化合物的神经再生能力 (例如麦克卡汀·特·曼 (Myckatyn, T.M.) 等人, 2002, 史德乐 (Steiner) 等人, 1997)。

本发明也提供一种医药组合物, 其包含本发明的 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生物以及医药学上可接受的载剂。

所属领域的技术人员应能够使用所属领域的技术人员已知的活体内和活体外方法来确定本发明化合物的药物动力学和生物可用性, 所述方法包括 (但不限于) 下文和实例中所述的方法, 所属领域的技术人员熟知替代性测定, 包括 (但不限于) 下文和戛兰特·海德纳 (Gallant-Haidner) 等人, 2000 和曲盼尼尔 (Trepanier) 等人, 1998 以及其中的参考文献中所述的测定。化合物的生物可用性由若干因素 (例如水溶性、肠管中的吸收速率、蛋白结合和代谢的程度) 决定, 所述因素各自可由如下文所述的活体外测试来确定, 所属领域的技术人员应了解这些因素中的一个或多个因素的改进将使得化合物的生物可用性得到改进。或者, 化合物的生物可用性可使用如下文更详细描述活体内方法来测量。

Caco-2 渗透测定

可使用于 24 孔康宁科思达群斯威尔 (Corning Costar Transwell) 格式中的汇合 Caco-2 细胞 (李·阿·皮 (Li, A.P.) 1992; 格拉斯·吉·曼 (Grass, G.M.) 等人, 1992; 沃尔皮·德·阿 (Volpe, D.A.) 等人, 2001), 例如, 由活体外技术公司 (In Vitro Technologies Inc., IVT Inc., 巴尔的摩 (Baltimore), 马里兰州 (Maryland), 美国 (USA)) 所提供。顶室含有 0.15 mL pH 值为 7.4 的汉克氏平衡缓冲溶液 (Hank's balanced buffer solution, HBBS)、1% DMSO、0.1 mM 荧光黄。底室含有 0.6 mL pH 值为 7.4 的 HBBS、1% DMSO。然后, 将对照物和测试物在 37°C 下在加湿培育箱中培育且在 130 rpm 下震荡 1 h。荧光黄仅经由细胞旁路 (紧密接头之间) 路径渗透, 荧光黄的高表观渗透率 (P_{app}) 指示测定期间存在细胞损坏且排除所有这种孔。使用普萘洛尔 (propranolol) (被动渗透良好而无已知

的转运体效应)和醋丁洛尔(acebutalol)(被动渗透不良,由于P-糖蛋白的活性流出而减弱)作为参考化合物。可通过向顶室或底室施加化合物(0.01 mM)而以单向和双向格式测试化合物。由HPLC-MS来分析顶室或底室中的化合物。结果以表观渗透率 P_{app} (nm/s)和通量比(A到B比B到A)表示。

$$P_{app}(\text{nm/s}) = \frac{\text{受体体积}}{\text{面积} \times [\text{供体}]} \times \frac{\Delta[\text{受体}]}{\Delta\text{时间}}$$

受体体积: 0.6 mL (A>B) 和 0.15 mL (B>A)。

单层面积: 0.33 cm²。

Δ时间: 60 min。

通量比的正值指示细胞顶部表面的活性流出。

人类肝微粒体 (Human Liver Microsomal, HLM) 稳定性测定

肝匀浆提供化合物对I期(氧化)酶的固有易损性的量度,所述酶包括CYP450(例如CYP2C8、CYP2D6、CYP1A、CYP3A4、CYP2E1)、酯酶、酰胺酶和黄素单氧化酶(flavin monooxygenase, FMO)。

测试化合物的半衰期(T_{1/2})可在暴露于人类肝微粒体后通过由LC-MS监测其随时间的消失来确定。将0.001 mM化合物在37°C下在具有蛋白为0.25 mg/mL的人类肝微粒体亚细胞组分和饱和含量的作为辅因子的NADPH的0.1 M Tris-HCl(pH 7.4)中培育40 min。以定时间隔向测试样品中添加乙腈以使蛋白沉淀且使代谢停止。离心样品并由HPLC-MS分析母体化合物。

活体内生物可用性测定

也可使用活体内测定来测量化合物的生物可用性(参见例如克劳(Crowe)等人,1999)。通常,腹膜内(i.p.)或静脉内(i.v.)和经口(p.o.)向测试动物(例如,小鼠或大鼠)投与化合物,且以规则间隔采集血液样品来检查药物的血浆浓度随时间如何变化。血浆浓度随时间的时程可用于使用标准模式以百分率形式计算化合物的绝对生物可用性。典型方案的实例描述如下。

静脉内给小鼠服用3 mg/kg本发明化合物或母体化合物,或经口给小鼠服用10 mg/kg本发明化合物或母体化合物。以5分钟、15分钟、1小时、4小时和24小时间隔采集血液样品,且经由HPLC确定样品中本发明化合物或母体化合物的浓度。然后可使用血浆浓度时程来推导关键参数,诸如血浆浓度-时间曲线下的面积(AUC,其与到达

体循环的未变化的药物的总量成正比)、最大(峰值)血浆药物浓度、出现最大血浆药物浓度的时间(峰值时间),用于精确确定生物可用性的其它因素包括:化合物的最终半衰期、总体清除率、分布的稳态体积和 $F\%$ 。然后,由非隔室或隔室法分析这些参数以给出生物可用性的计算百分率,关于这类方法的一个实例参见夏兰特-海德纳(Gallant-Haidner)等人,2000和曲盼尼尔(Trepanier)等人,1998和其中的参考文献,和其中的参考文献。

本发明的前述 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生物或其调配物可由任何常规方法投与,例如(但不限于)其可肠外、经口、局部(包括经颊、舌下或经皮)、经由医学装置(例如支架)、吸入或经由注射(皮下或肌肉内)投与。治疗可由单个剂量或一段时间内的多个剂量组成。

虽然有可能单独投与本发明的化合物,但优选使其与一种或多种可接受的载剂一起呈医药调配物形式。载剂须为“可接受的”,意即可与本发明化合物相容且不对其接受者有害。合适载剂的实例更详细地描述于下文中。

本发明的 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生物可单独投与或与其它治疗剂组合投与,共投与两种(或两种以上)药剂需要明显比各自使用的剂量低的剂量,从而减小可见的副作用。

在一个实施例中,将 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生物与用于诱导或维持免疫抑制,治疗移植排斥、移植物抗宿主疾病、自体免疫病症或发炎疾病的另一治疗剂共投与,优选药剂包括(但不限于)免疫调节剂,例如硫唑嘌呤、皮质类固醇、环磷酰胺、环孢菌素 A、FK506、霉酚酸吗啉乙酯、OKT-3 和 ATG。

在替代实施例中,将 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生物与用于治疗癌症或 B 细胞恶性肿瘤的另一治疗剂共投与,优选药剂包括(但不限于)甲氨喋呤、醛氢叶酸、阿霉素、泼尼松、博莱霉素、环磷酰胺、5-氟尿嘧啶、太平洋紫杉醇、多西紫杉醇、长春新碱、长春碱、长春瑞宾、多柔比星、他莫昔芬、托瑞米芬、乙酸甲地孕酮、阿那曲唑、戈舍瑞林、抗 HER2 单克隆抗体(例如赫赛汀(Herceptin™))、卡培他滨、盐酸雷洛西芬、EGFR 抑制剂(例如爱诺沙(Iressa™)、它赛瓦(Tarceva™)、艾比特思(Erbitux™))、VEGF 抑制剂(例如阿伐斯汀(Avastin™))、蛋白酶体抑制剂(例如万珂(Velcade™))、格列卫(Glivec®)或 hsp90 抑制剂(例如 17-AAG 或 17-DMAG)。另外,39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生物也可与其它疗法组合投与,所述疗法包括(但不限于)放射疗法或手术。

在一个实施例中,将 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生物与用于治疗血管疾病的另

一治疗剂共投与，优选药剂包括（但不限于）ACE 抑制剂、血管收缩素 II 受体拮抗剂、纤维酸衍生物、HMG-CoA 还原酶抑制剂、 β 肾上腺素阻断剂、钙通道阻断剂、抗氧化剂、抗凝剂和血小板抑制剂（例如玻立维（Plavix™））。

在一个实施例中，将 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生物与用于刺激神经元再生的另一治疗剂共投与，优选药剂包括（但不限于）神经营养因子，例如神经生长因子、神经胶质源性生长因子、脑源性生长因子、睫状神经营养因子和神经营养素-3。

在一个实施例中，将 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生物与用于治疗真菌感染的另一治疗剂共投与；优选药剂包括（但不限于）两性霉素 B、氟胞嘧啶、棘白菌素（例如卡泊芬净（caspofungin）、阿尼芬净（anidulafungin）或米卡芬净（micafungin））、灰黄霉素、咪唑或三唑抗真菌剂（例如克霉唑（clotrimazole）、咪康唑（miconazole）、酮康唑（ketoconazole）、益康唑（econazole）、布康唑（butoconazole）、奥昔康唑（oxiconazole）、特康唑（terconazole）、伊曲康唑（itraconazole）、氟康唑（fluconazole）或伏立康唑（voriconazole））。

如对技术人员来说将显而易见，共投与包括作为同一治疗方案的一部分向患者传递两种或两种以上治疗剂的任何方式。虽然所述两种或两种以上药剂可在单个调配物中同时投与，但这并非必需的。药剂可在不同调配物中和在不同时间投与。

调配物可方便地以单位剂型存在且可由药剂学领域熟知的任何方法来制备。所述方法包括使活性成分（本发明化合物）与构成一种或多种配合成分的载剂缔合的步骤。通常，通过使活性成分与液体载剂或细粉状固体载剂或两者均匀且精细缔合且接着在必要时使产物成形来制备调配物。

本发明的 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生物通常将经口或经由任何肠外途径以呈医药学上可接受的剂型的医药调配物（包含视情况呈无毒有机或无机酸或碱加成盐形式的活性成分）形式投与。视欲治疗的病症和患者以及投药途径而定，可以不同剂量投与组合物。

举例来说，对于速释、缓释或控释应用来说，本发明化合物可以可含有调味剂或着色剂的片剂、胶囊、胚珠、酏剂、溶液或悬浮液形式经口、经颊或舌下投与。

适于经口投与的 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生物的溶液或悬浮液也可含有赋形剂，例如 N,N-二甲基乙酰胺；分散剂，例如聚山梨酸酯 80；表面活性剂；和增溶剂，例如聚乙二醇、Phosal 50 PG（其由磷脂酰胆碱、大豆脂肪酸、乙醇、单/二酸甘油酯、丙二醇和抗坏血酸棕榈酸酯组成）。

所述片剂可含有赋形剂，诸如微晶纤维素、乳糖（例如单水合乳糖或无水乳糖）、

柠檬酸钠、碳酸钙、磷酸二钙和甘氨酸；崩解剂，诸如淀粉（优选玉米、马铃薯或木薯淀粉）、淀粉乙醇酸钠、交联羧甲基纤维素钠和某些复合硅酸盐；和造粒粘合剂，诸如聚乙烯吡咯烷酮、羟基丙基甲基纤维素（hydroxypropylmethylcellulose, HPMC）、羟基丙基纤维素（HPC）、聚乙二醇（macrogol）8000、蔗糖、明胶和阿拉伯胶（acacia）。另外，也可包括润滑剂，诸如硬脂酸镁、硬脂酸、山嵛酸甘油酯和滑石粉。

类似类型的固体组合物也可用作明胶胶囊中的填充剂。就此来说，优选赋形剂包括乳糖、淀粉、纤维素、乳糖或高分子量聚乙二醇。对于水性悬浮液和/或酞剂，可将本发明化合物与多种甜味剂或调味剂、色素或染料、乳化剂和/或悬浮剂以及稀释剂（诸如水、乙醇、丙二醇和甘油）和其组合进行组合。

片剂可通过视情况与一种或多种配合成分一起压缩或模制来制造。压缩片剂可通过在合适机器中压缩视情况与粘合剂（例如聚维酮、明胶、羟基丙基甲基纤维素）、润滑剂、惰性稀释剂、防腐剂、崩解剂（例如淀粉乙醇酸钠、交联聚维酮、交联羧甲基纤维素钠）、表面活性剂或分散剂混合的呈自由流动形式的活性成分（诸如粉剂或颗粒剂）来制备。模制片剂可通过在合适机器中模制经惰性液体稀释剂湿润的粉状化合物的混合物来制造。所述片剂可视情况包衣或刻痕且可使用例如不同比例的羟基丙基甲基纤维素来进行调配以提供其中的活性成分的缓释或控释，从而提供想要的释放曲线。

适于经口投与的根据本发明的调配物可以如下形式呈现：离散单元，诸如胶囊、扁囊剂或片剂，各含有预定量的活性成分；粉剂或颗粒剂；水性液体或非水性液体中的溶液或悬浮液；或水包油型液体乳液或油包水型液体乳液。活性成分也可以丸剂、冲剂（electuary）或糊剂形式呈现。

适于局部投与口中的调配物包括下列各物：含片，包含通常为蔗糖和阿拉伯胶或黄芪胶的调味基质中的活性成分；药片，包含诸如明胶和甘油或蔗糖和阿拉伯胶的惰性基质中的活性成分；和漱口水，包含合适液体载剂中的活性成分。

应理解，除尤其以上所提及的成分外，本发明的调配物考虑到所讨论的调配物的类型还可包括所属领域中的其它常规药剂，例如适于经口投与的调配物可包括调味剂。

适合局部投与的医药组合物可调配为软膏、乳膏、悬浮液、洗剂、粉剂、溶液、糊剂、凝胶剂、浸渗性敷料、喷雾剂、气雾剂或油类、经皮装置、爽身粉等。这些含有活性剂的组合物可经由常规方法制备。因此，其也可包含相容性常规载剂和添加剂，诸如防腐剂、辅助药物渗透的溶剂、乳膏或软膏中的润肤剂和用于洗剂的乙醇或油醇。所述载剂可以组合物的约1%到约98%存在。其更通常将构成组合物的多达约80%。仅为说明，乳膏或软膏是通过混合足量亲水物质和足以产生具有想要稠度的乳膏或软膏的量的

水（含有约 5-10 重量%化合物）来制备。

适于经皮投与的医药组合物可以打算与接受者的表皮保持一段较长时间的亲密接触的离散贴片形式呈现。举例来说，可通过电离子透入自贴片传递活性剂。

关于对外部组织（例如口和皮肤）的施用，优选以局部软膏或乳膏形式施用组合物。当在软膏中调配时，活性剂可与石蜡或水可混溶软膏基质一起使用。

或者，可将活性剂与水包油型乳膏基质或油包水型基质一起调配到乳膏中。

关于肠外投药，利用活性成分和无菌媒剂来制备流体单位剂型，所述无菌媒剂例如（但不限于）水、醇、多元醇、甘油和植物油，水为优选的。视所使用的媒剂和浓度而定，活性成分可悬浮或溶解于媒剂中。在制备溶液时，可将活性成分溶解于注射用水中并进行无菌过滤，接着填充到合适小瓶或安瓿中并密封。

有利地，可将诸如局部麻醉剂、防腐剂和缓冲剂的药剂溶解于媒剂中。为增强稳定性，可在填充于小瓶之后冷冻组合物且在真空下去除水。然后，将干燥冻干粉剂密封于小瓶中，且可随附提供一小瓶注射用水以在使用之前复原液体。

肠外悬浮液是以大体上与溶液相同的方式制备，其中例外为将活性成分悬浮而不是溶解于媒剂中，且杀菌不能通过过滤来实现。活性成分可在悬浮于无菌媒剂之前通过暴露于氧化乙烯中来杀菌。有利地，组合物中包括表面活性剂或润湿剂以有利于均匀分布活性成分。

本发明化合物也可使用所属领域中已知的医学装置来投与。举例来说，在一个实施例中，本发明的医药组合物可用无针皮下注射装置投与，诸如美国专利第 5,399,163 号；美国专利第 5,383,851 号；美国专利第 5,312,335 号；美国专利第 5,064,413 号；美国专利第 4,941,880 号；美国专利第 4,790,824 号或美国专利第 4,596,556 中所揭示的装置。适用于本发明的熟知植入物和模块的实例包括：美国专利第 4,487,603 号，其揭示一种以受控速率分配药物的可植入式微输注泵；美国专利第 4,486,194 号，其揭示一种通过皮肤投与药物的治疗装置；美国专利第 4,447,233 号，其揭示一种以精确输注速率传递药物的药物输注泵；美国专利第 4,447,224 号，其揭示一种用于连续药物传递的可变流速可植入式输注设备；美国专利第 4,439,196 号，其揭示一种具有多室隔室的渗透性药物传递系统；以及美国专利第 4,475,196 号，其揭示一种渗透性药物传递系统。在特定实施例中，可使用药物洗脱支架来投与 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生物，例如对应于 WO 01/87263 和相关公开案中所述的支架或培因（Perin）（培因（Perin），2005）所述的支架。所属领域的技术人员已知许多其它所述植入物、传递系统和模块。

本发明的 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素衍生物的待投与剂量将根据特定化合物、所

涉及的疾病、个体和疾病的性质和严重程度和个体的身体条件以及所选择的投药途径而变化。适当的剂量可由所属领域的技术人员容易地确定。

视投药方法而定，组合物可含有 0.1 重量%、优选 5-60 重量%、更优选 10-30 重量%的本发明化合物。

所属领域的技术人员应认识到，本发明化合物的最佳量和个别剂量的间隔应由所治疗病状的性质和程度、投药形式、途径和位点以及所治疗的特定个体的年龄和病状来确定且医师将最终确定待使用的适当剂量。这一剂量可适当频繁地重复。如果显现副作用，那么可根据正常临床实践改变或减小剂量的量和/或频率。

附图说明

图 1 展示雷帕霉素的结构。

具体实施方式

实例

一般方法和材料

材料

所有试剂都获自商业来源，且除非另有说明，否则不经进一步纯化即使用。

培养

在 28°C 下，将吸水链霉菌 (*S. hygroscopicus*) MG2-10 [JMNOQLhis] 维持在培养基 1 琼脂板（参见下文）上。在培养基 1 上生长后制备孢子储备液，将其保存在蒸馏水中的 20% w/v 甘油:10% w/v 乳糖中并存储在 -80°C 下。通过将 0.1 mL 冷冻储备液接种到 250 mL 烧瓶中的 50 mL 培养基 2（参见下文）中来制备营养培养物。将培养物在 28°C 下以 300 rpm 培育 36 到 48 小时。

制备方法:

将营养培养物以 2.5-5% v/v 接种到培养基 3 中。在 26°C 下，以 300 rpm 进行 6-7 天培养。

馈给程序:

在接种后 24-48 小时，进行馈给/添加所选择的羧酸，且除非另有说明，否则以 1-2 mM 馈给。

培养基 1:

组分	来源	目录号	每升
玉米浆粉末	西格玛 (Sigma)	C-8160	2.5 g

酵母提取物	迪弗可 (Difco)	0127-17	3 g
碳酸钙	西格玛 (Sigma)	C5929	3 g
硫酸铁	西格玛 (Sigma)	F8633	0.3 g
BACTO 琼脂	迪弗可 (Difco)	2140-10	20 g
小麦淀粉	西格玛 (Sigma)	S2760	10 g
水到			1 L

然后, 通过在 121°C 下高压消毒 20 min 对培养基杀菌。

培养基 2: *RapV7* 种子培养基

组分	每升
烤劳康 (Toasted Nutrisoy) (ADM 成分有限公司 (ADM Ingredients Ltd))	5 g
Avedex W80 糊精 (戴默成分有限公司 (Deymer Ingredients Ltd))	35 g
玉米浆固体 (西格玛 (Sigma))	4 g
葡萄糖	10 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	2 g
乳酸 (80%)	1.6 mL
CaCO ₃ (卡尔泰克 (Caltec))	7 g
用 1 M NaOH 调节 pH 值到 7.5	

然后, 通过在 121°C 下高压消毒 20 min 对培养基杀菌。

杀菌后, 向每 7 mL 培养基中添加 0.16 mL 40% 葡萄糖。

培养基 3: *MD6* 培养基 (发酵培养基)

组分	每升
烤劳康 (Toasted Nutrisoy) (ADM 成分有限公司 (ADM Ingredients Ltd))	30 g
玉米淀粉 (西格玛 (Sigma))	30 g
Avedex W80 糊精 (戴默成分有限公司 (Deymer Ingredients Ltd))	19 g
酵母 (阿林森 (Allinson))	3 g
玉米浆固体 (西格玛 (Sigma))	1 g
KH ₂ PO ₄	2.5 g
K ₂ HPO ₄	2.5 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	10 g
NaCl	5 g
CaCO ₃ (卡尔泰克 (Caltec))	10 g
MnCl ₂ ·4H ₂ O	10 mg
MgSO ₄ ·7H ₂ O	2.5 mg
FeSO ₄ ·7H ₂ O	120 mg
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	50 mg
MES (单水合 2-吗啉基乙烷硫酸)	21.2 g
用 1 M NaOH 校正 pH 值为 6.0	

杀菌之前，向 1 L 培养基中添加 0.4 mL 西格玛 (Sigma) α -淀粉酶 (BAN 250)。

在 121°C 下，对培养基杀菌 20 min。

杀菌后，向每 7 mL 中添加 0.35 mL 无菌 40% 果糖和 0.10 mL L-赖氨酸 (140 mg/mL 在水中，无菌过滤)。

培养基 4: *RapV7a* 种子培养基

组分	每升
烤劳康 (Toasted Nutrisoy) (ADM 成分有限公司 (ADM Ingredients Ltd))	5 g
Avedex W80 糊精 (戴默成分有限公司 (Deymer Ingredients Ltd))	35 g
玉米浆固体 (西格玛 (Sigma))	4 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	2 g
乳酸 (80%)	1.6 mL
CaCO ₃ (卡尔泰克 (Caltec))	7 g
用 1 M NaOH 调节 pH 值到 7.5	

然后，通过在 121°C 下高压消毒 20 min 对培养基杀菌。

培养基 5: *MD6/5-1* 培养基 (发酵培养基)

组分	每升
烤劳康 (Toasted Nutrisoy) (ADM 成分有限公司 (ADM Ingredients Ltd))	15 g
Avedex W80 糊精 (戴默成分有限公司 (Deymer Ingredients Ltd))	50 g
酵母 (阿林森 (Allinson))	3 g
玉米浆固体 (西格玛 (Sigma))	1 g
KH ₂ PO ₄	2.5 g
K ₂ HPO ₄	2.5 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	10 g
NaCl	13 g
CaCO ₃ (卡尔泰克 (Caltec))	10 g
MnCl ₂ ·4H ₂ O	3.5 mg
MgSO ₄ ·7H ₂ O	15 mg
FeSO ₄ ·7H ₂ O	150 mg
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	60 mg
SAG 471	0.1 ml

在 121°C 下，对培养基杀菌 30 min。

杀菌后，每升添加 15 g 果糖。

48 h 后，添加 0.5 g/L 的 L-赖氨酸。

合成方法

除非另有说明，否则所有反应都使用可购得的无水溶剂在无水条件下进行。在与配有电喷雾源的布鲁克道尔顿 (Bruker Daltonics) Esquire 3000+质谱仪耦合的阿格兰特 (Agilent) 1100 HPLC 上，通过 LC-UV-MS 监测反应。经由 Phenomenex Hyperclone 柱 BDS C₁₈ 3u (150×4.6 mm) 以 1 mL/min 实现分离，其中线性梯度为：水:乙腈 (v:v) 30:70 到 100%乙腈，10 min；接着为 5 min 的等强度时期，100%乙腈。

抗癌活性的活体外生物测定

化合物在单层增生测定中在一组 12 种人类肿瘤细胞系中的抗癌活性的活体外评估可在致癌测试设备 (Oncotest Testing Facility)，实验性肿瘤学学会 (Institute for Experimental Oncology)，致癌测试股份有限公司 (Oncotest GmbH)，弗莱堡 (Freiburg) 上进行。12 种所选择的细胞系的特征概述于表 1 中。

表 1: 测试细胞系

编号	细胞系	特征
1	MCF-7	乳腺, NCI 标准
2	MDA-MB-231	乳腺-PTEN 阳性, 抗 17-AAG
3	MDA-MB-468	乳腺-PTEN 阴性, 抗 17-AAG
4	NCI-H460	肺, NCI 标准
5	SF-268	CNS, NCI 标准
6	OVCAR-3	卵巢-p85 突变, AKT 扩增
7	A498	肾, 高 MDR 表达
8	GXF 251L	胃
9	MEXF 394NL	黑色素瘤
10	UXF 1138L	子宫
11	LNCAP	前列腺-PTEN 阴性
12	DU145	前列腺-PTEN 阳性

如罗斯 (Roth) 等人, 1999 所述, 由人类肿瘤异种移植物建立致癌测试细胞系。供体异种移植物的来源由费比格 (Fiebig) 等人, 1999 描述。其它细胞系是获自 NCI (H460、SF-268、OVCAR-3、DU145、MDA-MB-231、MDA-MB-468) 或购自 DSMZ, 不伦瑞克 (Braunschweig), 德国 (Germany) (LNCAP)。

除非另有说明, 否则所有细胞系都是在 37°C 下在加湿气氛 (95%空气, 5% CO₂) 中在含有 RPMI 1640 培养基、10%胎牛血清和 0.1 mg/mL 庆大霉素 (gentamicin) 的 ‘已混合 (ready-mix)’ 培养基 (PAA, 可尔比 (Cölbe), 德国 (Germany)) 中生长。

单层测定-方案的简要说明

可使用修改的碘化丙啶测定来评定测试化合物对 12 种人类肿瘤细胞系的生长的影

响（丹格勒（Dengler）等人，（1995））。

简单来说，通过胰蛋白酶消化从指数生长期培养物收集细胞，计数并以视细胞系而定的细胞密度（5-10,000 个活细胞/孔）将其涂铺于 96 孔平底微量滴定板上。24 h 后，回收以使细胞重新开始指数生长，向各孔中添加 0.01 mL 培养基（每个板 6 个对照孔）或含有测试化合物的培养基。一式三份涂铺各浓度。以两种浓度（0.001 μM 和 0.01 μM ）施加化合物。在连续暴露 4 天后，用 0.2 mL 碘化丙啶（propidium iodide, PI）水溶液（7 mg/L）来替换含或不含测试化合物的细胞培养基。为测量活细胞的比例，通过冷冻各板使细胞渗透。在解冻各板后，使用 Cytofluor 4000 微板读取器（激发 530 nm，发射 620 nm）测量荧光，从而给出与活细胞总数的直接关系。

以经处理组/对照组 $\times 100$ （% T/C）表示生长抑制。关于活性化合物，可通过绘制化合物浓度对细胞活力的曲线来估算 IC_{50} 值和 IC_{70} 值。

实例 1：39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素的发酵和分离

根据 WO 04/007709 中所述的方法来制备 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素。简单来说，用携带有雷帕霉素基因 *rapJ*、*rapM*、*rapN*、*rapO*、*rapQ* 和 *rapL* 的适当表达载体转化吸水链霉菌 MG2-10 的培养物以产生菌株吸水链霉菌 MG2-10 [*rapJMNOQLhis*]。使用 WO 04/007709 中所述的方法，使吸水链霉菌 MG2-10 [*rapJMNOQLhis*] 的培养物生长并馈入 3-甲基环己烷甲酸。培养物萃取物的 LCMS 和 LCMSⁿ 分析展示所制备的雷帕霉素类似物的 m/z 比率比雷帕霉素的 m/z 比率小 16 个原子质量单位且与 C-39 处将甲氧基交换为甲基一致。

实例 2：通过 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素的脂肪酶催化的酯化来合成 39-去甲氧基-39-甲基-40-O-[2,2-双(羟基甲基)丙酰基]雷帕霉素

在氩气氛下，将 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素、2,2,5-三甲基[1,3-二噁烷]-5-甲酸乙烯酯、脂肪酶 PS-C “天野（Amano）” II 和分子筛（0.5 nm）在无水叔丁基甲基醚中的混合物加热到 43°C。48 h 后，LC/MS 监测展示起始物质的转化。添加 THF 且经硅藻土垫过滤混合物。用 THF 洗涤酶两次且在减压下浓缩组合的有机萃取物。将残余物溶解于 THF 中，且添加 H_2SO_4 （0.5 N）。使溶液在室温下静置 5 h，此后，接着通过添加 NaHCO_3 （5%）和盐水来中止反应。用乙酸乙酯萃取水性混合物 3 次，且经 MgSO_4 干燥组合的有机萃取物。去除溶剂产生呈半固体状的产物。由快速色谱（己烷/丙酮 1:1）进行纯化产生呈无色固体状的产物。

实例 3：39-去甲氧基-39-甲基-40-O-(2-羟基)乙基雷帕霉素

3.1：三氟甲磺酸 2-(叔丁基二甲基硅烷基)氧基乙酯

将 2-(叔丁基二甲基硅烷基)-乙二醇 (125 mg, 0.71 mmol) 和 2,6-二甲基吡啶 (0.08 mL, 0.69 mmol) 在 6 mL 二氯甲烷中的溶液冷却到 -78°C。经 5 min 的时期添加三氟甲磺酸酐 (0.11 mL, 0.65 mmol), 且在 -78°C 下再继续搅拌 15 min 以完成三氟甲磺酸酯的形成。当场将三氟甲磺酸酯用于如下文 3.2 中所述的反应中。

3.2: 40-O-[2-(叔丁基二甲基硅烷基)]乙基-39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素

在室温下, 用三氟甲磺酸 2-(叔丁基二甲基硅烷基)氧基乙酯处理 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素和 2,6-二叔丁基吡啶。然后, 用轻微的氮气流将所述溶液浓缩到其原始体积的 1/3, 且在室温下将所得悬浮液再搅拌 72 h。在这段时期后, 添加饱和碳酸氢钠溶液和水, 且将混合物搅拌约 30 min。分离有机层, 且用乙酸乙酯萃取水相两次。经硫酸钠干燥组合的有机萃取物且在减压下浓缩以产生无色油状物。使用己烷到己烷/丙酮 (v:v 1:1) 的梯度, 通过二氧化硅柱色谱法进行纯化产生呈无色固体状的产物。

3.3: 39-去甲氧基-39-甲基-40-O-(2-羟基)乙基雷帕霉素

在室温下, 用 0.5 N 硫酸处理 40-O-[2-(叔丁基二甲基硅烷基)]乙基-39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素在丙酮中的溶液。使溶液在室温下静置约 3 h, 且接着通过添加饱和碳酸氢钠溶液和水使其中止。然后, 用乙酸乙酯萃取水性混合物 3 次, 且经硫酸钠干燥组合的有机萃取物。在减压下浓缩产生无色固体, 其可进一步经 HPLC (水/乙腈 v:v 20/80) 纯化。

实例 4: 39-去甲氧基-39-甲基-40-O-[2,2-双(羟基甲基)丙酰基]雷帕霉素的合成

根据以下程序, 由 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素合成 39-去甲氧基-39-甲基-40-O-[2,2-双(羟基甲基)丙酰基]雷帕霉素。

4.1: 合成 39-去甲氧基-39-甲基-28-O-三甲基硅烷基雷帕霉素

在 0°C 下, 将 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素和咪唑溶解于乙酸乙酯中。经 10 min 的时期, 向这一冷溶液中逐滴添加三甲基氯硅烷。再继续搅拌 60 min 以完成 28,39-双-O-三甲基硅醚的形成。在这段时期后, 添加硫酸水溶液 (0.5 N), 且在 0°C 下搅拌混合物 2.5 h。然后添加乙酸乙酯, 且用盐水、饱和碳酸氢钠溶液和水洗涤有机层。经硫酸钠干燥和在减压下浓缩得到呈无色固体状的 28-O-三甲基硅醚, 其不经进一步纯化即用于随后的反应中。

4.2: 合成 2,4,6-三氯苯甲酸 2',2',5'-三甲基-1',3'-二噁烷-5'甲酸酐

向 2,2-双(羟基甲基)丙酸 (13.5 g, 100 mmol) 在丙酮 (100 mL) 中的溶液中添加 2,2-二甲氧基丙烷 (13.5 g, 130 mmol) 和单水合对甲苯磺酸 (100 mg, 0.53 mmol, 0.4 mol%)。在室温下搅拌反应混合物 2 h。在这段时期后, 添加潮湿碳酸氢钠, 且再搅拌混

合物 5 分钟。倾析除去上清液并在减压下浓缩。用乙醚 (3×50 mL) 处理所得固体, 且在减压下浓缩组合的有机萃取物以得到 16.2 g (93%) 白色固体。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 4.19 (d, 1H, $J=12.0$ Hz) 3.68 (d, 1H, $J=12.0$ Hz) 1.45 (s, 1H) 1.41 (s, 1H) 1.20 (s, 1H)。

然后, 根据美国专利第 5,362,718 号的方法使这一物质转化为活化混合酸酐。因此, 将丙酮化物 (1.04 g, 5.98 mmol) 溶解于冷却到 0°C 的 THF (20 mL) 中, 并通过逐滴添加三乙胺 (0.83 mL, 5.98 mmol) 和 2,4,6-三氯苯甲酰氯 (0.93 mL, 5.98 mmol) 来进行处理。然后, 在室温下搅拌反应 5 小时。过滤所得沉淀物并用 THF (10 mL) 洗涤。使组合滤液在真空下减压为白色非晶形固体, 其不经进一步纯化即使用 (如下)。

4.3: 合成具有 2,2,5-三甲基[1.3-二噁烷]-5-甲酸的 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素 28-O-三甲基硅醚 40-酯

将来自实例 4.1 的粗 28-O-三甲基硅烷基-39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素溶解于二氯甲烷中。将溶液冷却到 0°C 并添加 DMAP。然后, 经 10 min 的时期添加 2,4,6-三氯苯甲酸 2',2',5'-三甲基-1',3'-二噁烷-5'甲酸酐在二氯甲烷中的溶液。在 0°C 下搅拌反应混合物 5 h, 并通过 LC/MS 监测转化。用二氯甲烷稀释反应混合物且通过添加水使其中止。分离有机层, 并依次用硫酸 (0.5 N)、碳酸氢钠溶液和水洗涤。经硫酸钠干燥和在减压下浓缩产生呈无色发泡体状的标题化合物, 其不经进一步纯化直接使用。

4.4: 39-去甲氧基-39-甲基-40-O-[2,2-双(羟基甲基)丙酰基]雷帕霉素

将来自实例 4.3 的具有 2,2,5-三甲基[1.3-二噁烷]-5-甲酸的粗 39-去甲氧基-39-甲基雷帕霉素-28-O-三甲基硅醚 40-酯溶解于丙酮中, 并添加硫酸 (0.5 N)。在室温下搅拌反应混合物 5 h, 且接着通过添加饱和碳酸氢钠溶液和水进行中和。用乙酸乙酯萃取水性混合物, 且经硫酸钠干燥组合的有机萃取物。在减压下浓缩产生无色固体, 使用氯仿/庚烷/乙醇 (v:v:v 10:10:1) 作为洗脱剂通过 Sephadex LH20 尺寸排阻色谱法对所述固体进行纯化。

参考文献:

阿拉康·希·曼 (Alarcon, C.M.), 海特曼·杰 (Heitman, J.) 和卡德纳斯·曼·伊 (Cardenas, M.E.) (1999) 酵母中雷帕霉素靶 TOR 蛋白的毒性效应因子域的蛋白激酶活性和鉴别 (Protein kinase activity and identification of a toxic effector domain of the target of rapamycin TOR proteins in yeast). 细胞分子生物学 (*Molecular Biology of the Cell*) 10: 2531-2546。

阿帕里可·杰·弗 (Aparicio, J.F.), 莫尔纳·艾 (Molnár, I.), 施维克·特 (Schwecke, T.), 康尼格·阿 (König, A.), 海多克·司·弗 (Haydock, S.F.), 克霍·力·伊 (Khaw, L.E.), 斯汤顿·杰 (Staunton, J.) 和利德莱·皮·弗 (Leadlay, P.F.) (1996) 吸水链霉菌中雷帕霉素的生物合成基因簇的结构: 模块化聚酮合成酶的酶促域的分析 (Organization of the biosynthetic gene cluster for rapamycin in *Streptomyces hygroscopicus*: analysis of the enzymatic domains in the modular polyketide synthase). 基因 (*Gene*) **169**: 9-16。

贝克·赫 (Baker, H.), 司多罗维兹·阿 (Sidorowicz, A.), 舍盖尔·司·尼 (Sehgal, S.N.) 和维兹娜·希 (Vézina, C.) (1978) 一种新颖的抗真菌抗生素雷帕霉素 (AY-22,989): III. 活体外和活体内评估 (Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. III. *In vitro* and *in vivo* evaluation). 抗生素杂志 (*Journal of Antibiotics*) **31**: 539-545。

鲍雷·阿 (Boulay, A.), 朱姆斯坦·麦克·司 (Zumstein-Mecker, S.), 斯坦芬·希 (Stephan, C.), 表维克·艾 (Beuvink, I.), 孜尔贝曼·弗 (Zilbermann, F.), 哈勒·里 (Haller, R.), 托伯勒·司 (Tobler, S.), 休瑟·希 (Heusser, C.), 奥莱力·特 (O'Reilly, T.), 斯托尔兹·比 (Stolz, B.), 马丁·阿 (Marti, A.), 托马斯·吉 (Thomas, G.), 兰·赫·阿 (Lane, H.A.), 2004, 雷帕霉素衍生物 RAD001 的间歇治疗时程的抗肿瘤功效与周围血液单核细胞中的核糖体蛋白 S6 激酶 1 的延长失活相关 (Antitumor efficacy of intermittent treatment schedules with the rapamycin derivative RAD001 correlates with prolonged inactivation of ribosomal protein S6 kinase 1 in peripheral blood mononuclear cells). 癌症研究 (*Cancer Res*). **64(1)**, 252-61。

布朗·伊·杰 (Brown, E.J.), 阿尔伯斯·曼·沃 (Albers, M.W.), 什因·特·比 (Shin, T.B.), 市川·肯 (Ichikawa, K.), 基斯·希·特 (Keith, C.T.), 兰·沃·司 (Lane, W.S.) 和施雷伯·司·力 (Schreiber, S.L.) (1994) G1 停滞的雷帕霉素-受体复合物所靶向的哺乳动物蛋白 (A mammalian protein targeted by G1-arresting rapamycin-receptor complex). 自然 (*Nature*) **369**: 756-758。

布阮·吉·杰 (Brunn, G.J.), 威廉姆斯·杰 (Williams, J.), 沙伯斯·希 (Sabers, C.), 威德莱彻·吉 (Wiederrecht, G.), 劳伦斯·杰·希 (Lawrence, J.C.) 和阿伯拉汉里特 (Abraham, R.T.) (1996) 磷酸肌醇 3-激酶抑制剂渥曼青霉素 (wortmannin) 和 LY294002 对哺乳动物雷帕霉素靶的信号转导功能的直接抑制 (Direct inhibition of the signaling functions of the mammalian target of rapamycin by the phosphoinositide 3-kinase inhibitors, wortmannin and LY294002). 欧洲分子生物学杂志 (*EMBO Journal*) **15**: 5256-5267。

卡尔森·里·皮 (Carlson, R.P.), 哈特曼·迪·阿 (Hartman, D.A.), 汤姆彻克·力·阿

(Tomchek, L.A.), 沃特·特·力 (Walter, T.L.), 鲁盖·杰·里 (Lugay, J.R.), 卡尔豪·沃 (Calhoun, W.), 舍盖尔·司·尼 (Sehgal, S.N.), 常·杰·衣 (Chang, J.Y.) (1993). 一种潜在的改善疾病的抗关节炎药—雷帕霉素 (Rapamycin, a potential disease-modifying antiarthritic drug). 药理学与实验治疗学杂志 (*J. Pharmacol. Exp. Ther.*), **266(2)**:1125-38.

克劳·阿 (Crowe A), 布立韶·阿 (Bruelisauer A), 杜尔·力 (Duerr L), 古恩兹·皮 (Guntz P), 莱玛里·曼 (Lemaire M.) (1999) 大鼠中 SDZ-RAD 和雷帕霉素的吸收和肠内代谢 (Absorption and intestinal metabolism of SDZ-RAD and rapamycin in rats). 药物代谢与处置 (*Drug Metab Dispos*), **27(5)**, 627-32.

丹格勒·沃·阿 (Dengler W.A.), 斯舒特·杰 (Schulte J.), 伯格·迪·皮 (Berger D.P.), 麦特尔斯曼·里 (Mertelsmann R.) 和菲比格·赫·赫 (Fiebig HH). (1995) 用于增殖和细胞毒性测定的碘化丙啶荧光测定的发展 (Development of a propidium iodide fluorescence assay for proliferation and cytotoxicity assay). 抗癌药物 (*Anti-Cancer Drugs*), **6**:522-532.

迪莱拉·阿·吉 (DiLella, A.G.) 和克雷格·里·杰 (Craig, R.J.) . (1991) 人类 FKBP-12 基因的外显子结构与结构和功能蛋白域的关系 (Exon organization of the human FKBP-12 gene: correlation with structural and functional protein domains). 生物化学 (*Biochemistry*) **30**: 8512-8517.

杜德金·力 (Dudkin, L.), 迪林·曼·布 (Dilling, M.B.), 彻什瑞·皮·杰 (Cheshire, P.J.), 哈沃德·弗·希 (Harwood, F.C.), 霍林舍德·曼 (Hollingshead, M.), 阿布克·司·吉 (Arbuck, S.G.), 曲维斯·里 (Travis, R.), 韶维尔·伊·阿 (Sausville, E.A.), 霍顿·皮·杰 (Houghton, P.J.) . (2001). 雷帕霉素酯 CCI-779 所致的 mTOR 抑制与肿瘤生长抑制的生物化学关系 (Biochemical correlates of mTOR inhibition by the rapamycin ester CCI- 779 and tumor growth inhibition). 临床癌症研究 (*Clin. Cancer Res*) . **7(6)**: 1758-64.

埃文斯·迪·阿 (Evans D.A.), 盖格·杰·里 (Gage J.R.) 和莱顿·杰·力 (Leighton J.L.) . (1992) 花萼海绵诱癌素 A (calyculin A) 的不对称合成: 3.花萼海绵诱癌素构架的装配和新型磷酸单酯合成的引入 (Assymmetric synthesis of calyculin A. 3. Assemblage of the calyculin skeleton and the introduction of a new phosphate monoester synthesis). 有机化学杂志 (*J. Org. Chem.*), **57**:1964-1966.

菲比格·赫·赫 (Fiebig H.H.), 丹格勒·沃·阿 (Dengler W.A.) 和罗斯·特 (Roth T). (1999) 人类肿瘤异种移植: 新型抗癌剂的预测、表征和发现 (Human tumor xenografts: Predictivity, characterization, and discovery of new anticancer agents). 在菲比格·赫·赫 (Fiebig HH), 伯格·阿·曼 (Burger AM (编)的肿瘤模型与抗癌药物发展的关系 (Relevance

of Tumor Models for Anticancer Drug Development) 中. 肿瘤学文稿 (*Contrib. Oncol.*), **54**: 29-50。

芬德利·杰·阿 (Findlay J.A) 和雷迪斯·力 (Radics, L) . (1980) 加拿大化学杂志 (*Canadian Journal of Chemistry*) **58**:579。

费什本因·特·曼 (Fishbein, T.M.), 弗洛曼·司 (Florman, S.), 功多莱斯·吉 (Gondolesi, G.), 斯恰诺·特 (Schiano, T.), 莱雷可·尼 (LeLeiko, N.), 特斯彻尼·阿 (Tschernia, A.), 考夫曼·司 (Kaufman, S) . (2002) 引入西罗莫司 (sirolimus) 之前和之后的肠内移植 (*Intestinal transplantation before and after the introduction of sirolimus*) . 移植 (*Transplantation*) . **73(10)**: 1538-42。

福伊·阿 (Foey, A.), 格林·皮 (Green, P.), 福克斯威尔·比 (Foxwell, B.), 费尔德曼·曼 (Feldmann, M.), 布莱曼·弗 (Brennan, F.) (2002). 细胞激素刺激的 T 细胞诱导依赖于磷脂酰肌醇 3-激酶和 p70S6K 的巨噬细胞 IL-10 产生: 对类风湿性关节炎具有意义 (*Cytokine-stimulated T cells induce macrophage IL-10 production dependent on phosphatidylinositol 3-kinase and p70S6K: implications for rheumatoid arthritis*). 关节炎研究 (*Arthritis Res*) . **4(1)**:64-70. 电子出版: 2001 年 10 月 10 日。

弗尼斯·比·司 (Furniss B.S.), 哈纳福德·阿·杰 (Hannaford A.J.), 史密斯·皮·沃·吉 (Smith P.W.G.) 和塔彻尔·阿·里 (Tatchell A.R) . (1989) 伏格尔实用有机化学教程 (*Vogel's textbook of practical organic chemistry*), 第 5 版, 皮尔森·普林替斯·霍尔出版社 (Pearson, Prentice Hall), 哈洛 (Harlow), 英国 (UK)。

夏兰特·海德纳·赫·力 (Gallant-Haidner HL), 曲盼尼尔·迪·杰 (Trepanier DJ), 弗莱塔格·迪·吉 (Freitag DG), 雅兹考夫·里·沃 (Yatscoff RW) . 2000, 西罗莫司 (sirolimus) 的药物动力学和代谢 ("Pharmacokinetics and metabolism of sirolimus") . 治疗药物监测 (*Ther Drug Monit*) . **22(1)**, 31-5。

格拉斯·吉·曼 (Grass, G.M.), 鲁巴斯·沃 (Rubas, W.), 杰孜克·尼 (Jezyk, N.), (1992) 对 CACO-2 单层作为药物在结肠组织中的渗透性的预测因子的评估 (*Evaluation of CACO-2 monolayers as a predictor of drug permeability in colonic tissues*) . 美国实验生物学联合会会志 (*FASEB Journal*) , **6**, A1002。

乔治·希·里 (Gregory, C.R.), 慧峨·皮 (Huie, P.), 比林汉姆·曼·伊 (Billingham, M.E.) 和莫里斯·里·伊 (Morris, R.E) . (1993). 雷帕霉素抑制由同种免疫与机械损伤所引起的动脉内膜变厚: 对受损血管中细胞生长因子和细胞激素反应具有影响 (*Rapamycin inhibits arterial intimal thickening caused by both alloimmune and mechanical injury. Its effect on*

cellular, growth factor and cytokine response in injured vessels) . 移植 (*Transplantation*) **55(6)**: 1409-1418。

乔治·曼·阿 (Gregory MA), 盖瑟·司 (Gaisser S), 力尔·里·伊 (Lill RE), 洪·赫 (Hong H), 舍里丹·里·曼 (Sheridan RM), 威尔金森·比 (Wilkinson B), 派特可维·赫 (Petkovic H), 维斯顿·阿·杰 (Weston AJ), 卡莱替·艾 (Carletti I), 李·赫·力 (Lee HL), 斯汤顿·杰 (Staunton J), 李德莱·皮·弗 (Leadlay PF) . (2004) 由吸水链霉菌生物合成免疫抑制剂雷帕霉素时第一大环中间体前雷帕霉素的分离和表征 ("Isolation and characterization of pre-rapamycin, the first macrocyclic intermediate in the biosynthesis of the immunosuppressant rapamycin by *S. hygroscopicus*") . 英国应用化学 (*Angew Chem Int Ed Engl*) . **43(19)**, 2551-3。

古·杰 (Gu, J), 鲁盘·曼·伊 (Ruppen ME), 蔡·皮 (Cai P.) (2005), 雷帕霉素的脂肪酶催化的区域选择性酯化: 合成坦西莫司 (Temsirolimus) CCI-779 ("Lipase-Catalyzed Regioselective Esterification of Rapamycin: Synthesis of Temsirolimus (CCI-779)") . 有机快报 (*Org. Lett*) . **7(18)**: 3945-3948。

古巴·曼 (Guba, M.), 凡布瑞坦布·曲 (von Breitenbuch, P.), 斯坦巴·曼 (Steinbauer, M.), 凯尔·吉 (Koehl, G.), 弗莱格尔·斯 (Flegel, S.), 霍努格·曼 (Hornung, M.), 布鲁斯·希·杰 (Bruns, C.J.), 苏尔克·希 (Zuelke, C), 法卡斯·司 (Farkas, S.), 安苏伯·曼 (Anthuber, M.), 嘉曲·肯·沃 (Jauch, K.W.) 和盖斯勒·伊·肯 (Geissler, E.K) . (2002) 雷帕霉素通过抗血管生成抑制原发性和转移性肿瘤生长: 涉及血管内皮生长因子 (Rapamycin inhibits primary and metastatic tumor growth by antiangiogenesis: involvement of vascular endothelial growth factor) . 自然医学 (*Nature Medicine*) **8**: 128-135。

哈德威奇·杰·司 (Hardwick, J.S.), 库鲁维拉·弗·吉 (Kuruville, F.G.), 佟·杰·肯 (Tong, J.K.), 沙姆吉·阿·弗 (Shamji, A.F.) 和施雷伯·司·力 (Schreiber, S.L) . (1999) 雷帕霉素调节的转录界定 Tor 蛋白直接控制的营养物敏感信号转导途径的子集 (Rapamycin-modulated transcription defines the subset of nutrient-sensitive signaling pathways directly controlled by the Tor proteins) . 美国科学院院报 (*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*) **96**: 14866-14870。

亨特盖斯·克·伊 (Hentges, K.E.), 塞瑞·比 (Sirry, B.), 吉格拉斯·阿·希 (Gingeras, A.C.), 沙巴索瓦·迪 (Sarbasov, D.), 索嫩伯格·尼 (Sonenberg, N.), 沙巴替尼·迪 (Sabatini, D.) 和皮特森·阿·司 (Peterson, A.S.) (2001) FRAP/mTOR 为小鼠胚胎发育期间的增殖和模式形成所需 (FRAP/mTOR is required for proliferation and patterning during embryonic

development in the mouse). 美国科学院院报 (*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*) **98**: 13796-13801。

杰尼·司 (Jain, S.), 比克纳尔·吉·里 (Bicknell, G.R.), 怀挺·皮·赫 (Whiting, P.H.), 尼可尔森·曼·力 (Nicholson, M.L.) . (2001). 雷帕霉素降低肾缺血再灌注损伤的实验模型中纤维化相关基因的表达 (Rapamycin reduces expression of fibrosis-associated genes in an experimental model of renal ischaemia reperfusion injury). 移植进展 (*Transplant Proc*). **33(1-2)**:556-8。

卡汉·布·迪 (Kahan, B.D.) 和坎玛都·杰·司 (Camardo, J.S.) (2001) 雷帕霉素: 临床结果和未来机会 (Rapamycin: Clinical results and future opportunities). 移植 (*Transplantation*) **72**:1181-1193。

卡汉·布·迪 (Kahan, B.D.), 常·杰·衣 (Chang, J.Y.) 和舍盖尔·司·尼 (Sehgal, S.N.) (1991) 一种新颖的有效免疫抑制剂雷帕霉素的临床前评估 (Preclinical evaluation of a new potent immunosuppressive agent, rapamycin). 移植 (*Transplantation*) **52**: 185-191。

科尔比·比 (Kirby, B.) 和格里夫艾斯·希·伊·曼 (GrifEths, C.E.M.) . (2001) 银屑病: 未来 (Psoriasis: the future). 英国皮肤病学杂志 (*British Journal of Dermatology*) **144**:37-43。

基尔希纳·吉·艾 (Kirchner, G.I.), 温克勒·曼 (Winkler, M.), 穆勒·力 (Mueller L.), 维达·希 (Vidal, C), 杰考伯森·沃 (Jacobsen, W.), 弗兰兹克·阿 (Franzke, A.), 瓦格纳·司 (Wagner, S.), 布立克·司 (Blick, S.), 曼斯·曼·皮 (Manns M.P.) 和瑟温·肯·弗 (Sewing K.F.) (2000) 在 7 位肾移植患者中, SDZ RAD 和环孢菌素 (包括其代谢物) 在第一剂 SDZ RAD 后的药物动力学 (Pharmacokinetics of SDZ RAD and cyclosporin including their metabolites in seven kidney graft patients after the first dose of SDZ RAD). 英国临床药理学杂志 (*British Journal of Clinical Pharmacology*) **50**:449-454。

郭·希·杰 (Kuo, C.J.), 钟·杰·肯 (Chung, J.K.), 弗兰蒂诺·迪·弗 (Fiorentino, D.F.), 弗拉纳根·沃·曼 (Flanagan, W.M.), 本尼斯·杰 (Blenis, J.) 和克拉伯特里·吉·里 (Crabtree, G.R.) . (1992) 雷帕霉素选择性抑制 p70 S6 激酶的白细胞介素-2 激活 (Rapamycin selectively inhibits interleukin-2 activation of p70 S6 kinase). 自然 (*Nature*) **358**: 70-73。

李·阿·皮 (Li, A.P.) . (1992) 药物发现中人类 ADME/Tox 药物性质的筛选 (Screening for human ADME/Tox drug properties in drug discover). 当今药物发现 (*Drug Discovery Today*), **6**, 357-366。

里昂·沃·伊 (Lyons, W.E.), 乔治·伊·比 (George, E.B.), 道森·特·曼 (Dawson, T.M.),

斯坦因·杰·皮 (Steiner, J.P.) 和辛德·司·赫 (Snyder, S.H) . (1994) 免疫抑制剂 FK506 促进 PC12 细胞和感觉神经节培养物中的神经突外生长 (Immunosuppressant FK506 promotes neurite outgrowth in cultures of PC12 cells and sensory ganglia) . 美国科学院院报 (*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*) **91**:3191-3195。

麦卡尔平·杰·比 (McAlpine, J. B), 斯万森·司·杰 (Swanson S. J.), 杰克逊·曼 (Jackson, M.), 怀特恩·迪·尼 (Whittern, D.N) . (1991). 雷帕霉素的修正 NMR 排布 (Revised NMR assignments for rapamycin) . 抗生素杂志 (*Journal of Antibiotics*) **44**: 688-690。

莫里斯·曼·希 (Morice, M.C.), 瑟鲁斯·皮·沃 (Serruys, P.W.), 索莎·杰·伊 (Sousa, J.E.), 法家德·特·杰 (Fajadet, J.), 本林·伊 (Ban Hayashi, E.), 培恩·曼 (Perin, M.), 克洛姆波·阿 (Colombo, A.), 斯初勒·吉 (Schuler, G.), 巴拉根·皮 (Barragan, P.), 瓜格流米·吉 (Guagliumi, G.), 莫尔纳·弗 (Molnar, F.), 法洛替可·里 (Falotico, R) . (2002). RAVEL 研究小组 (RAVEL Study Group) . 涂布西罗莫司的 Bx 速度气球可膨胀支架 (Sirolimus-Coated Bx Velocity Balloon-Expandable Stent) 在患有新生天然冠状动脉病变 (de Novo Native Coronary Artery Lesion) 的患者的治疗中的随机研究。西罗莫司洗脱支架与用于冠状动脉血管再生的标准支架的随机比较 (RAVEL Study Group. Randomized Study with the Sirolimus-Coated Bx Velocity Balloon-Expandable Stent in the Treatment of Patients with de Novo Native Coronary Artery Lesions. A randomized comparison of a sirolimus-eluting stent with a standard stent for coronary revascularization) . 新英格兰医学杂志 (*N. Engl J. Med*) . **346(23)**: 1773-80。

麦克卡汀·特·曼 (Myckatyn, T.M.), 艾力斯·里·阿 (Ellis, R.A.), 格兰德·阿·吉 (Grand, A.G.), 森·司·肯 (Sen, S.K.), 劳威·杰·比三世 (Lowe, J.B. 3rd), 亨特·迪·阿 (Hunter, D.A.), 麦康瑞·司·伊 (Mackinnon, S.E) . (2002). 雷帕霉素在鼠类周围神经同基因移植和同种异体移植中的效应 (The effects of rapamycin in murine peripheral nerve isografts and allografts) . 整形外科 (*Plast. Reconstr. Surg*) . **109(7)**:2405-17。

那维·布·特 (Nave, B.T.), 欧文斯·迪·曼 (Ouwens, D.M.), 威热斯·迪·杰 (Withers, D.J.), 阿莱斯·迪·里 (Alessi, D.R.) 和舍派德·皮·里 (Sheperd, P.R) . (1999) 哺乳动物雷帕霉素靶是蛋白激酶 B 的直接靶: 胰岛素和氨基酸缺失对蛋白翻译的相反效应的汇合点的鉴别 (Mammalian target of rapamycin is a direct target for protein kinase B: identification of a convergence point for opposing effects of insulin and amino-acid deficiency on protein translation) . 生物化学杂志 (*Biochemical Journal*) **344**:427-431。

酵母的肉汤稀释抗真菌敏感性测试的 NCCLS 参考方法: 获批的标准 M27-A (NCCLS Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing for yeasts: Approved standard M27-A), 第 17 卷第 9 期. (1997)。

派维·尼·力 (Paiva, N.L.), 德曼·阿·力 (Demain, A.L.) 和 罗伯兹·曼·弗 (Roberts, M.F.). (1991) 吸水链霉菌所致的乙酸酯、丙酸酯和蛋氨酸在雷帕霉素中的并入 (Incorporation of acetate, propionate, and methionine into rapamycin By *Streptomyces hygroscopicus*). 天然产物杂志 (*Journal of Natural Products*) **54**: 167-177。

派维·尼·力 (Paiva, N.L.), 德曼·阿·力 (Demain, A.L.) 和 罗伯兹·曼·弗 (Roberts, M.F.). (1993) 雷帕霉素的含氮环的直接前驱物不含哌啶酸 (The immediate precursor of the nitrogen-containing ring of rapamycin is free pipercolic acid). 酶和微生物技术 (*Enzyme and Microbial Technology*) **15**: 581-585。

培因·伊·希 (Perin, E C), (2005), 选择药物洗脱支架: CYPHER 与 TAXUS 之间的比较 ("Choosing a Drug-Eluting Stent: A Comparison Between CYPHER and TAXUS"), 心血管医学综述 (*Reviews in Cardiovascular Medicine*), **6** (增刊 1), 第 S13-S21 页。

鲍威尔·尼 (Powell, N.), 替尔·司 (Till, S.), 布格瑞·杰 (Bungre, J.), 考里根·希 (Corrigan, C). (2001). 免疫调节药物环孢菌素 A、霉酚酸吗啉乙酯和西罗莫司 (雷帕霉素) 抑制特异性哮喘患者的 PBMC 所致的过敏原诱发增殖和 IL-5 产生 (The immunomodulatory drugs cyclosporin A, mycophenolate mofetil, and sirolimus (rapamycin) inhibit allergen-induced proliferation and IL-5 production by PBMCs from atopic asthmatic patients). 过敏与临床免疫学杂志 (*J. Allergy Clin. Immunol.*) **108(6)**:915-7

雷比诺维奇·阿 (Rabinovitch, A.), 苏莱兹皮棕·沃·力 (Suarez-Pinzon, W.L.), 夏皮罗·阿·曼 (Shapiro, A.M.), 雷佳特·里·维 (Rajotte, R.V.), 帕沃·里 (Power, R). (2002). 西罗莫司和白细胞介素-2 的组合疗法预防 NOD 小鼠中的自发性和复发性自体免疫糖尿病 (Combination therapy with sirolimus and interleukin-2 prevents spontaneous and recurrent autoimmune diabetes in NOD mice). 糖尿病 (*Diabetes*). **51(3)**:638-45。

雷奥特·比 (Raught, B.), 吉格拉斯·阿·希 (Gingras, A.C.) 和 索嫩伯格·尼 (Sonenberg, N). (2001) 雷帕霉素靶 (TOR) 蛋白 (The target of rapamycin (TOR) proteins). 美国科学院院报 (*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*) **98**: 7037-7044。

瑞热·杰·阿 (Reather, J. A.), (2000), 哲学博士论文, 剑桥大学 (University of Cambridge). (大环内酯生物合成中的后期步骤 ("Late steps in the biosynthesis of

macrocyclic lactones")。

莱塔莫·司 (Reitamo, S.)，斯帕尔斯·皮 (Spuls, P.)，沙索拉斯·比 (Sassolas, B.)，拉法·曼 (Lahfa, M.)，克劳迪·阿 (Claudy, A.)，格里菲斯·希·伊 (Griffiths, C.E.)；西罗莫司欧洲银屑病研究小组 (Sirolimus European Psoriasis Study Group)。(2001). 与亚治疗剂量的环孢菌素共同投与的西罗莫司 (雷帕霉素) 在重度银屑病治疗中的功效：随机控制试验 (Efficacy of sirolimus (rapamycin) administered concomitantly with a subtherapeutic dose of cyclosporin in the treatment of severe psoriasis: a randomized controlled trial). 英国皮肤病杂志 (*Br. J. Dermatol.*) . **145(3)**:438-45。

罗斯·特 (Roth T.)，伯格·阿·曼 (Burger A.M.)，丹格勒·沃 (Dengler W.)，威尔曼·赫 (Willmann H.) 和菲比格·赫·赫 (Fiebig H.H.)。(1999) 证实患者肿瘤的特征为抗癌药物筛选的有效模型的人类肿瘤细胞系 (Human tumor cell lines demonstrating the characteristics of patient tumors as useful models for anticancer drug screening)。在菲比格·赫·赫 (Fiebig HH)，伯格·阿·曼 (Burger AM) (编)和 (肿瘤模型与抗癌药物发展的关系 (Relevance of Tumor Models for Anticancer Drug Development)中。肿瘤学义稿 (*Contrib. Oncol.*) , **54**: 145 - 156。

罗曼斯·迪 (Roymans, D.) 和斯莱格斯·赫 (Siegers, H)。(2001) 肿瘤进展中的磷脂酰肌醇 3-激酶 (Phosphatidylinositol 3-kinases in tumor progression)。欧洲生物化学杂志 (*European Journal of Biochemistry*) **268**:487-498。

施维克·特 (Schwecke, T.)，阿帕里可·杰·弗 (Aparicio, J.F.)，莫尔纳·艾 (Molnar, I.)，康尼格·阿 (König, A.)，卡欧·力·伊 (Khaw, L.E.)，海多克·司·弗 (Haydock, S.F.)，奥力尼克·曼 (Oliynyk, M.)，卡弗瑞·皮 (Caffrey, P.)，考特斯·杰 (Cortés, J.)，莱斯特·杰·比 (Lester, J.B.)，波姆·吉·阿 (Böhm, G.A.)，斯汤顿·杰 (Staunton, J.) 和李德莱·皮·弗 (Leadlay, P.F)。(1995) 聚酮免疫抑制剂雷帕霉素的生物合成基因簇 (The biosynthetic gene cluster for the polyketide immunosuppressant rapamycin)。美国科学院院报 (*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*) **92**: 7839-7843。

瑟曲尼·里 (Sedrani, R.)，考腾·司 (Cottens, S.)，卡伦·杰 (Kallen, J.) 和斯初勒·沃 (Schuler, W)。(1998) 雷帕霉素的化学修饰：SDZ RAD 的发现 (Chemical modifications of rapamycin: the discovery of SDZ RAD)。移植进展 (*Transplantation Proceedings*) **30**: 2192-2194。

舍盖尔·司·尼 (Sehgal, S.N.)，贝克·赫 (Baker, H.) 和维兹娜·希 (Vézina, C)。(1975) 一种新颖的抗真菌抗生素雷帕霉素 (AY-22,989)：II. 发酵、分离和表征 (Rapamycin

(AY-22,989), a new antifungal antibiotic II. Fermentation, isolation and characterization) . 抗生素杂志 (*The Journal of Antibiotics*) **28**: 727-733。

舍菲尔德·皮·里 (Shepherd, P.R.), 威塞尔斯·迪·杰 (Withers, D.J.) 和斯德尔·肯 (Siddle K) . (1998) 磷酸肌醇 3-激酶: 胰岛素信号转导中的关键转换机构 (Phosphoinositide 3-kinase: the key switch mechanism in insulin signalling) . 生物化学杂志 (*Biochemical Journal*) **333**: 471-490。

史密斯·曼·布 (Smith M.B.) 和玛曲·杰 (March J.) (2001) 玛曲先前有机化学 (*March's advanced organic chemistry*), **第5版**, 约翰威立父子出版社 (John Wiley and Sons Inc.), 英国 (UK)。

斯坦尼尔·杰·皮 (Steiner, J.P.), 汉米顿·吉·司 (Hamilton, G.S.), 罗斯·迪·特 (Ross, D. T.), 华伦天·赫·力 (Valentine, H.L.), 郭·赫 (Guo, H.), 康诺莉·曼·阿 (Connolly, M.A.), 梁·司 (Liang, S.), 阮姆塞·希 (Ramsey, C), 李·杰·赫·杰 (Li, J.H.J.), 黄·沃 (Huang, W.), 霍沃斯·皮 (Howorth, P.), 索尼·里 (Soni, R.), 弗勒·曼 (Fuller, M.), 索额·赫 (Sauer, H.), 诺沃尼奇·阿·希 (Nowotnik, A.C.) 和苏达克·皮·迪 (Suzdak, P.D) . (1997) 神经营养免疫亲和素配体在神经退化动物模型中刺激结构和功能恢复 (Neutrophic immunophilin ligands stimulate structural and functional recovery in neurodegenerative animal models) . 美国科学院院报 (*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*) **94**:2019-2024。

唐·司·杰 (Tang, S.J.), 瑞斯·吉 (Reis, G.), 康·赫 (Kang, H.), 吉格拉斯·阿·希 (Gingras, A.C), 索娜柏格·尼 (Sonenberg, N.) 和斯初曼·伊·曼 (Schuman, E.M) . (2002) 雷帕霉素敏感信号转导途径有助于海马状突起的长期突触可塑性 (A rapamycin-sensitive signaling pathway contributes to long-term synaptic plasticity in the hippocampus) . 美国科学院院报 (*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*) **1**:467-472。

丰岛·肯 (Toshima K.) 和龙田·肯 (Tatsuta K.) (1993) O-糖基化方法的最新进展和其在天然产物合成中的应用 (Recent progress in O-glycosylation methods and its application to natural product synthesis) . 化学综述 (*Chem. Rev.*) , **93**:1503-1531。

曲盘尼尔·迪·杰 (Trepanier DJ), 格兰特·赫 (Gallant H), 莱格特·迪·弗 (Legatt DF), 雅特考夫·里·沃 (Yatscoff RW) . (1998), “雷帕霉素: 分布、药物动力学和治疗范围研究: 更新” (“Rapamycin: distribution, pharmacokinetics and therapeutic range investigations: an update”) . 临床生物学 (*Clin Biochem*) . **31(5)**:345-51。

维兹娜·希 (Vézina, C.), 库德斯奇·阿 (Kudelski, A.) 和舍盖尔·司·尼 (Sehgal, S.N.). (1975) 一种新颖的抗真菌抗生素雷帕霉素 (AY-22,989): I. 产生链霉菌的分类和活性成分的分离 (Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. I. Taxonomy of the producing streptomycete and isolation of the active principle). 抗生素杂志 (*The Journal of Antibiotics*) **28**: 721-726。

沃尔皮·迪·阿 (Volpe, D.A.), 伐斯替诺·皮·杰 (Faustino, P.J.), 余·力·西 (Yu, L.X.), (2001) 活体外药物吸收方法的标准化 (Towards standardisation of an in vitro method of drug absorption). 药典论坛报 (*Pharmacopeial Forum*), **27**, 2916-2922。

沃尔·杰·里 (Waller, J.R.) 和尼可森·曼·力 (Nicholson, M.L.). (2001) 肾同种异体移植纤维化的分子机理 (Molecular mechanisms of renal allograft fibrosis). 英国外科杂志 (*British Journal of Surgery*) **88**:1429-1441。

华纳·力·曼 (Warner, L.M.), 阿达姆斯·力·曼 (Adams, L.M.), 常·杰·衣 (Chang, J.Y.), 舍盖尔·司·尼 (Sehgal, S.N.). (1992). 活体内混合淋巴细胞反应的修饰和雷帕霉素在这一模型中的效应 (A modification of the in vivo mixed lymphocyte reaction and rapamycin's effect in this model). 临床免疫学和免疫病理学 (*Clin. Immunol. Immunopathol*). **64(3)**:242-7。

余·肯 (Yu, K.), 多洛·巴扎·力 (Toral-Barza, L.), 迪斯卡范尼·希 (Discafani, C.), 张·沃·吉 (Zhang, W.G.), 斯考尼克奇·杰 (Skotnicki, J.), 弗罗斯特·皮 (Frost, P.), 吉鲍恩斯·杰·杰 (Gibbons, J.J.). (2001) 乳腺癌中的一种新颖靶 mTOR: mTOR 抑制剂 CCI-779 在乳腺癌临床前模型中的效应 (mTOR, a novel target in breast cancer: the effect of CCI-779, an mTOR inhibitor, in preclinical models of breast cancer). 内分泌相关癌症 (*Endocrine-Related Cancer*) **8**:249-258。

朱·杰 (Zhu, J.), 吴·杰 (Wu J.), 佛利塞尔·伊 (Frizell, E.), 刘·司·力 (Liu, S.L.), 巴舍·里 (Bashey, R.), 鲁宾·里 (Rubin, R.), 诺顿·皮 (Norton, P.), 泽恩·曼·阿 (Zern, M.A.). (1999). 雷帕霉素活体外抑制肝星状细胞增殖且在肝纤维化的活体内模型中限制纤维发生 (Rapamycin inhibits hepatic stellate cell proliferation in vitro and limits fibrogenesis in an in vivo model of liver fibrosis), 胃肠病学 (*Gastroenterology*), **117(5)**:1198-204。

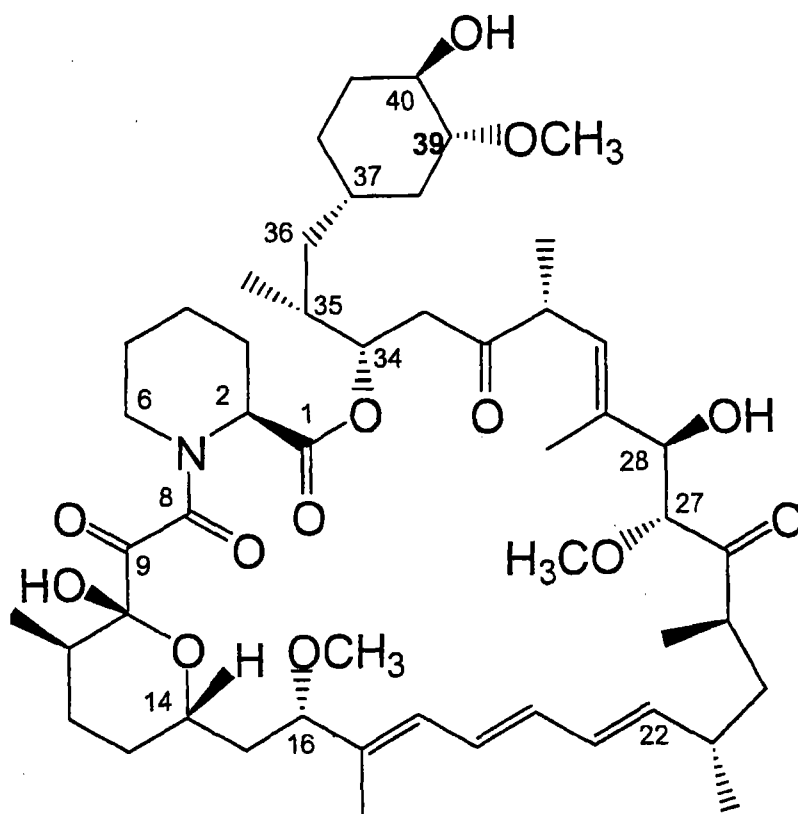


图1