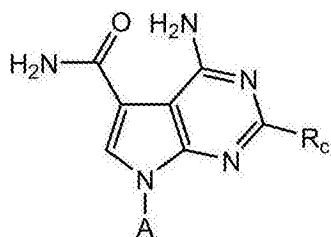


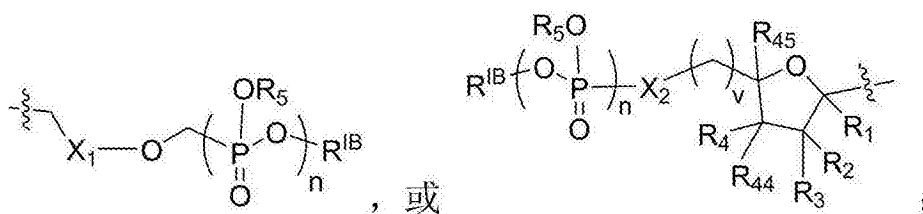
1. 式IB的化合物



(式 IB),

或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物,其中:

A是:

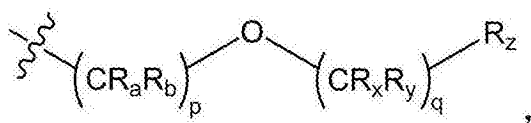


X₁是- $\text{CR}_{11}\text{R}_{12}$ 或- OCH_2CH_2 -,其中氧原子远离A中的 R^{IB} 部分;

R_{11} 和 R_{12} 独立为氢或 C_1 - C_4 烷基,其中所述烷基任选地被一个或多个卤素、-OH、-SH或- NH_2 取代;

X₂为不存在、-O-、- $\text{C}(\text{O})\text{O}$ -或- OCH_2 -,其中氧原子远离A中 R^{IB} 部分;

每个 R^{IB} 独立为氢、- C_1 - C_6 烷基,



或 R^{IB} 为通过羰基基团结合的氨基酸残基,其中所述烷基任选地被一个或多个卤素、-OH、-SH或- NH_2 取代;

v为0或1;

n为0、1、2或3并且当X₂为- $\text{C}(\text{O})\text{O}$ -时,n为0;

p为2、3、4、5、6、7、8、9、10或11;

q为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17或18;

R_z 为氢、卤素、- C_1 - C_4 烷硫基、- C_1 - C_4 烷氧基、- C_1 - C_4 烷基、- C_2 - C_4 烯基、- C_2 - C_4 炔基、芳基、杂芳基、- C_3 - C_8 环烷基、- C_4 - C_8 环烯基或3-至5-元非芳族杂环,其中每个烷硫基、烷氧基、烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、环烷基、环烯基或杂环任选地被一个或多个卤素、-OH、-SH或- NH_2 取代;

R_a 、 R_b 、 R_x 和 R_y 各自独立选自氢、卤素、-OH、-SH、- C_1 - C_6 烷氧基、芳氧基、- C_1 - C_6 烷硫基、芳硫基、- $\text{OC}(\text{O})\text{C}_1$ - C_6 烷基、- $\text{OC}(\text{O})$ 芳基、- C_1 - C_6 烷基、- C_2 - C_6 烯基、- C_2 - C_6 炔基、芳基、杂芳基、- C_3 - C_8 环烷基和- C_4 - C_8 环烯基,其中每个烷氧基、芳氧基、烷硫基、芳硫基、烷基、芳基、烯基、炔基、杂芳基、环烷基或环烯基任选地被一个或多个卤素、-OH、-SH或- NH_2 取代;

或任意两个 R_a 或 R_b ,与它们两个所连接的原子一起可以结合形成 C_3 - C_8 螺环烷基或3-至8-元螺杂环;

或任意两个 R_a 或 R_b ,当在两个相邻的原子上时,可以结合形成顺式-或反式-碳-碳双键

或碳-碳三键；

或任意两个 R_a 或 R_b ，当在两个相邻的原子上时，可以结合形成芳基、杂芳基、-C₃-C₁₀环烷基、-C₄-C₁₀环烯基或5-至10-元环杂环；

或任意 CR_aR_b 可以被-O-、-S-、-S(O)-或-SO₂-替换；

或任意两个 R_x 或 R_y 与它们两个所连接的原子一起可以结合形成C₃-C₈螺环烷基或3-至8-元螺杂环；

或任意两个 R_x 或 R_y ，当在两个相邻的原子上时，可以结合形成顺式-或反式-碳-碳双键或碳-碳三键；

或任意两个 R_x 或 R_y ，当在两个相邻的原子上时，可以结合形成芳基、杂芳基、-C₃-C₁₀环烷基、-C₄-C₁₀环烯基或5-至10-元环杂环；

或任意的 CR_xR_y 可以被-O-、-S-、-S(O)-或-SO₂-替换；

R_1 和 R_{45} 各自独立为氢、卤素、-N₃、-OH、-NH₂、-SH、-C₁-C₆烷基、-C₃-C₆环烷基、-C₂-C₆烯基、-C₄-C₈环烯基、-C₂-C₆炔基、-C₈-C₁₂环炔基、-C₁-C₆烷氧基或-C₁-C₆烷硫基，其中每个烷基、环烷基、烯基、环烯基、炔基、环炔基、烷氧基或烷硫基独立被一个或多个卤素、-N₃、-OH、-NH₂或-SH取代；

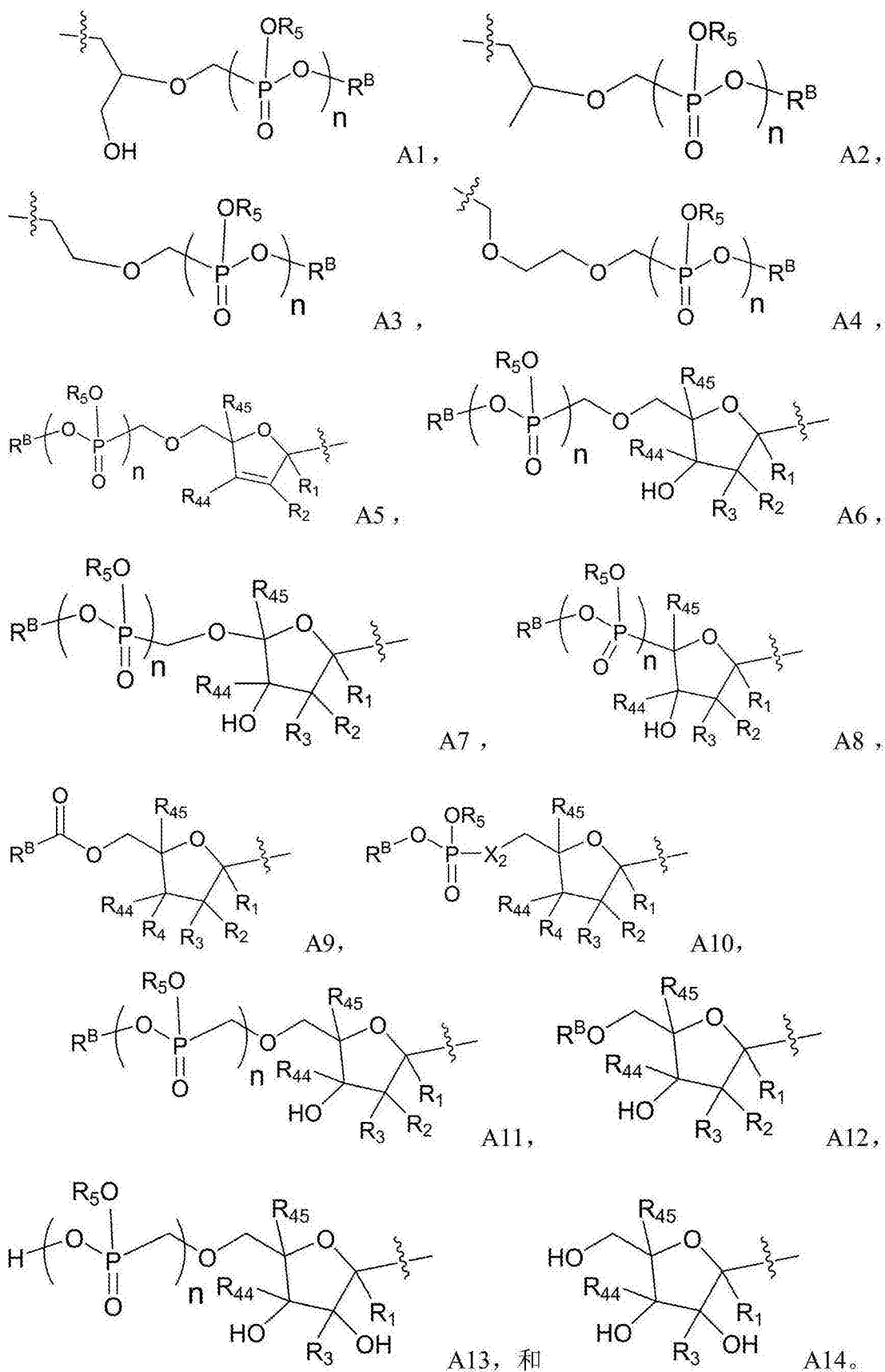
R_2 、 R_3 、 R_4 和 R_{44} 各自独立为氢、卤素、-N₃、-OH、-NH₂、-SH、-C₁-C₆烷基、-C₁-C₆烷氧基或-C₁-C₆烷硫基，其中每个烷基、烷氧基或烷硫基任选地被一个或多个卤素、-N₃、-OH、-NH₂或-SH取代；

或 R_3 与 R_4 和 R_{44} 中的一个，与它们所连接的原子一起形成碳-碳双键；

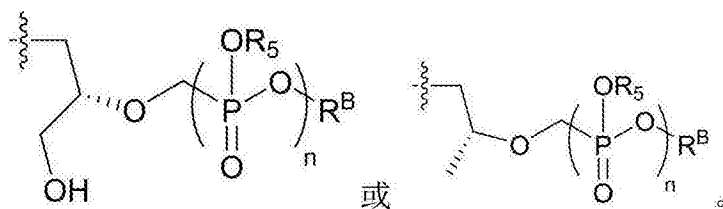
R_5 独立为氢、-R^{IB}、M⁺、芳基、芳烷基、-C₁-C₆烷基、-C₁-C₆杂烷基、环烷基、非-芳族杂环或杂芳基，其中M⁺为阳离子，并且其中每个芳基、芳烷基、烷基、杂烷基、环烷基、杂环或杂芳基任选地被一个或多个卤素、N₃、-OH、-NH₂或-SH取代，其中， R_5 不为氨基酸；以及

R_c 为-C₁-C₆烷基、-C₃-C₆环烷基、-C₂-C₆烯基、-C₄-C₈环烯基、-C₂-C₆炔基、-C₈-C₁₂环炔基或芳基，其中每个烷基、环烷基、烯基、环烯基或芳基任选地被一个或多个卤素、-N₃、-OH、-NH₂或-SH取代。

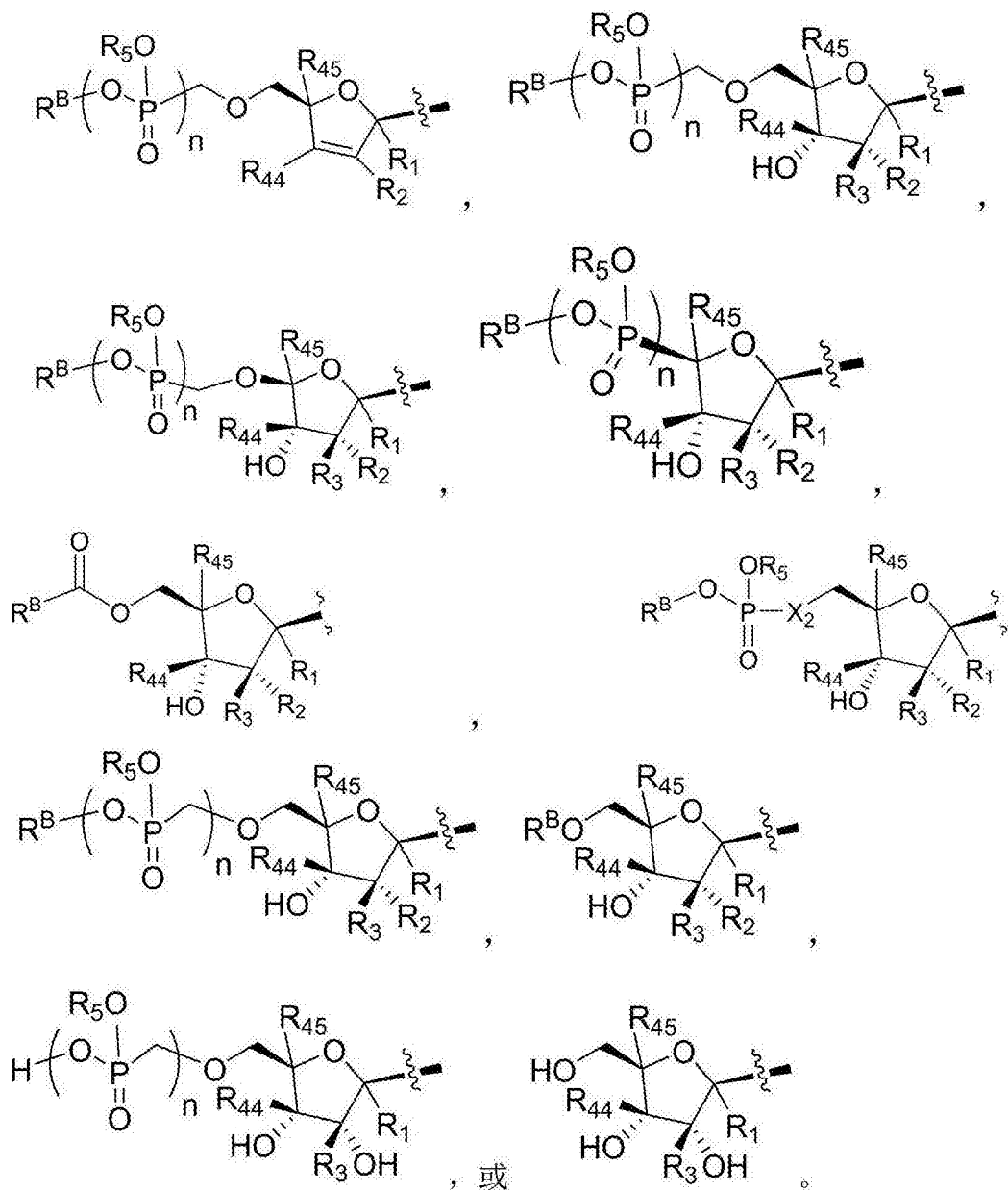
2. 权利要求1所述的化合物，其中A选自A1至A14：



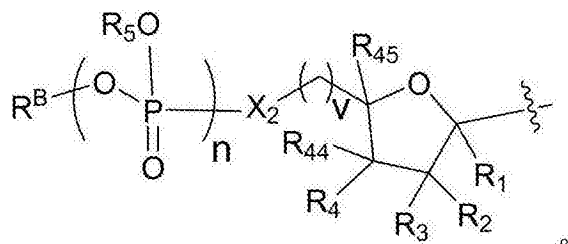
3. 权利要求1所述的化合物,其中A是



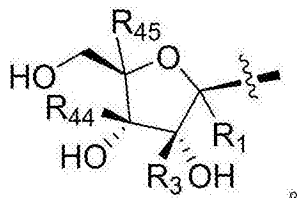
4. 权利要求1或2所述的化合物, 其中A是



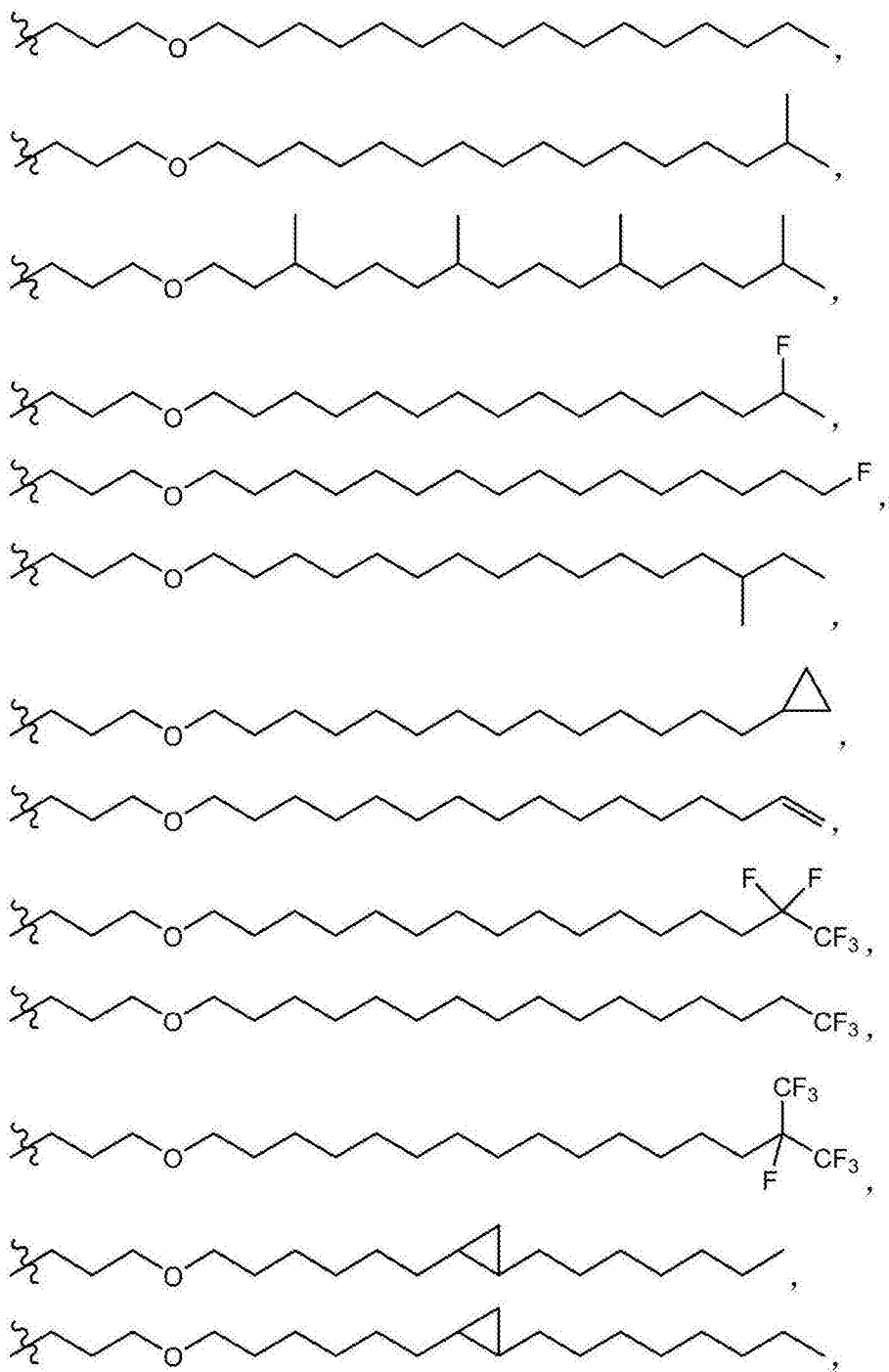
5. 权利要求1或2所述的化合物, 其中A是

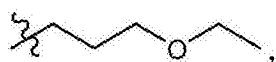
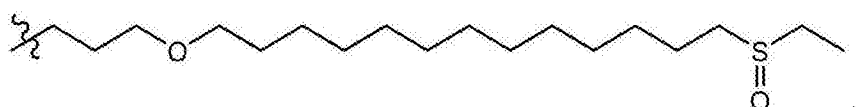
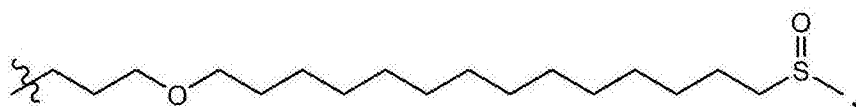
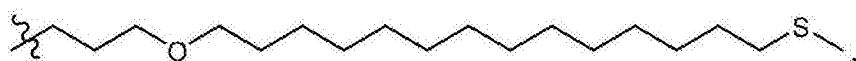
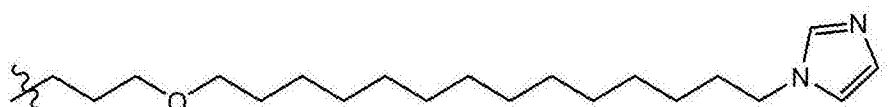
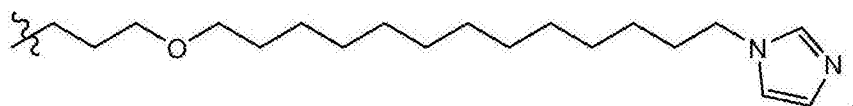
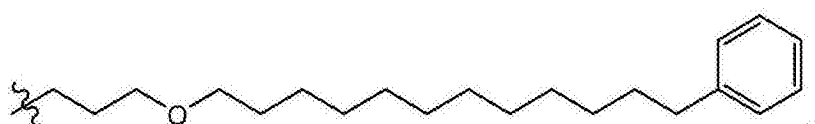
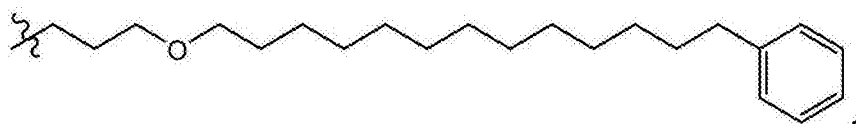
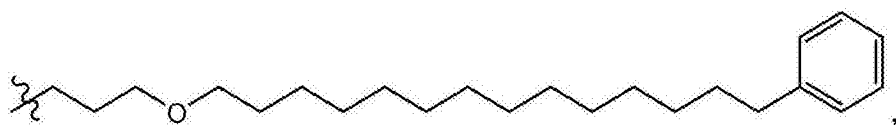
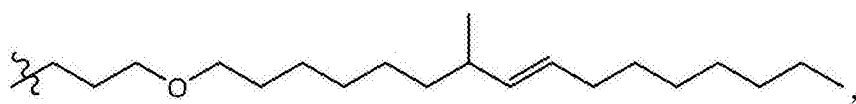


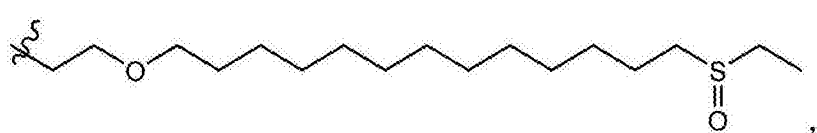
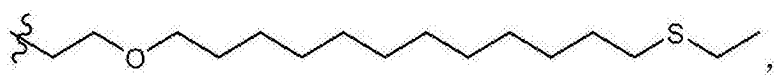
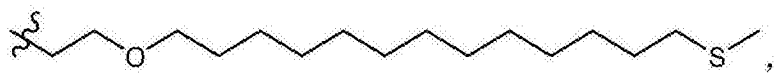
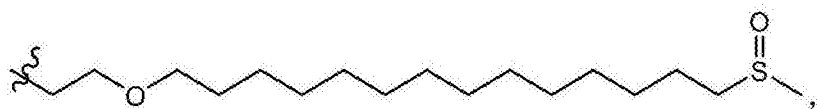
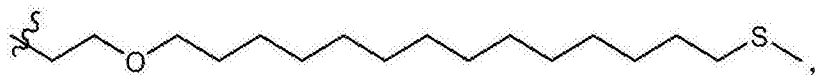
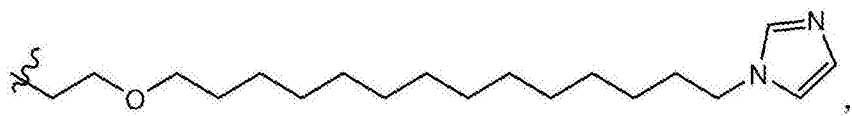
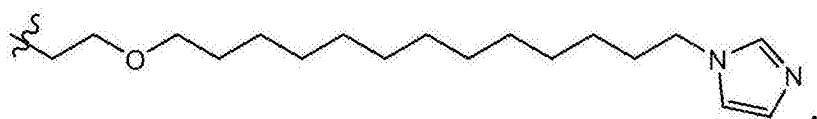
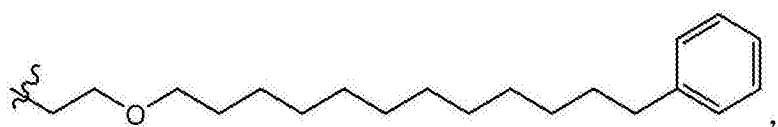
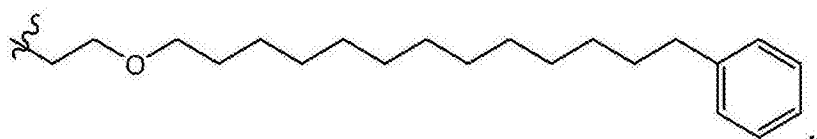
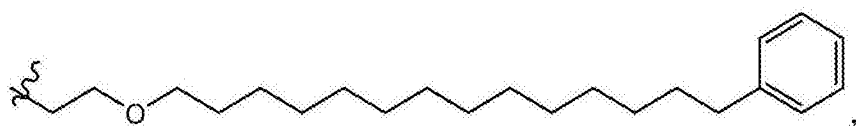
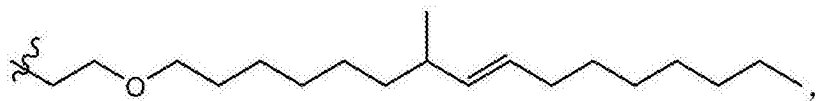
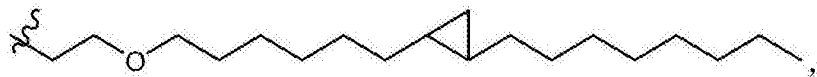
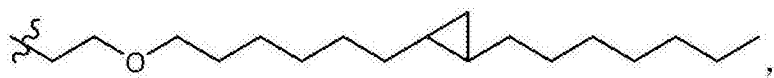
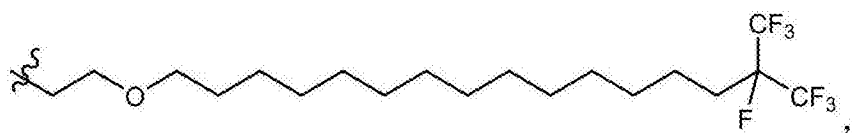
6. 权利要求1、2或4所述的化合物, 其中A是

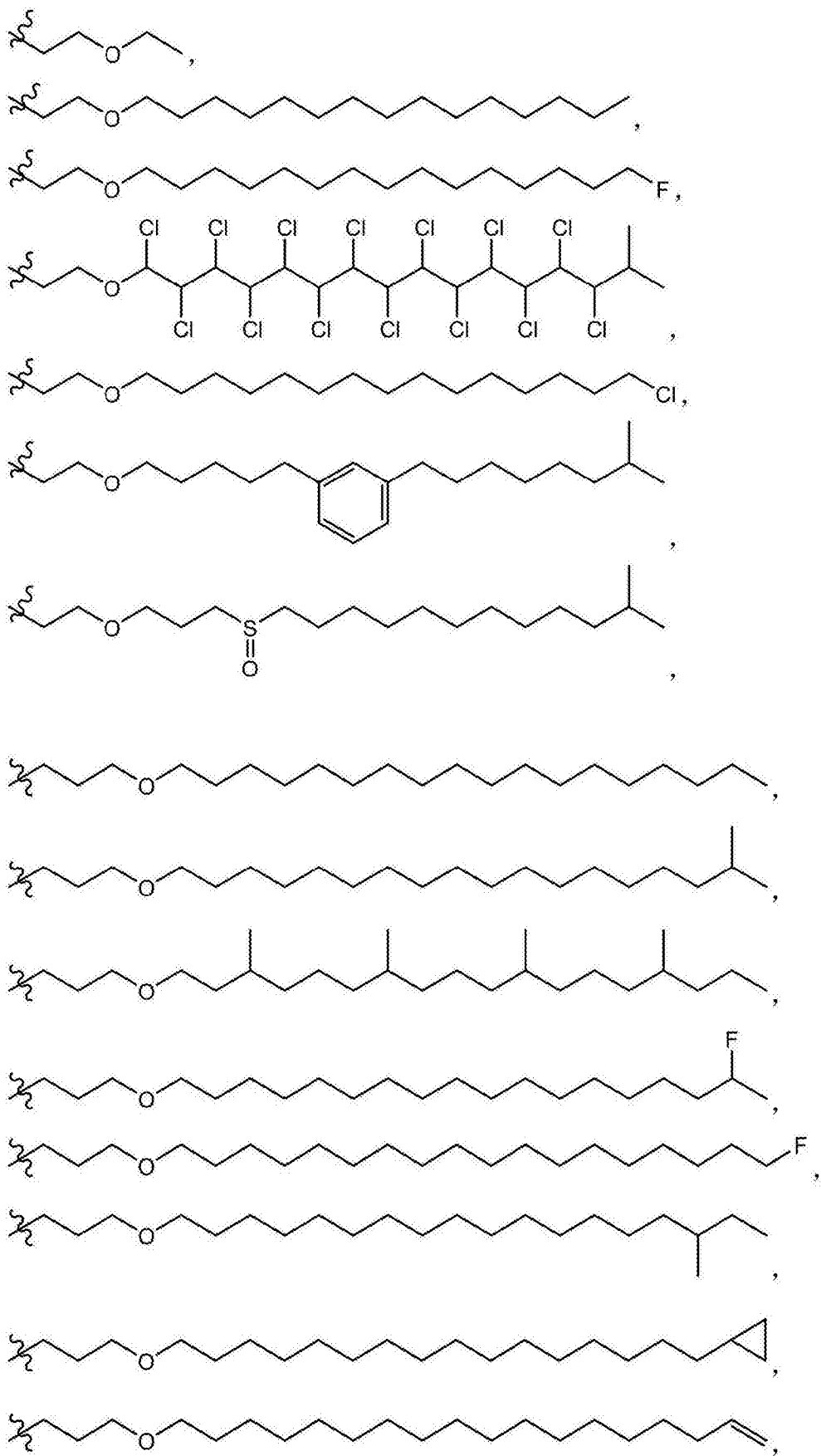


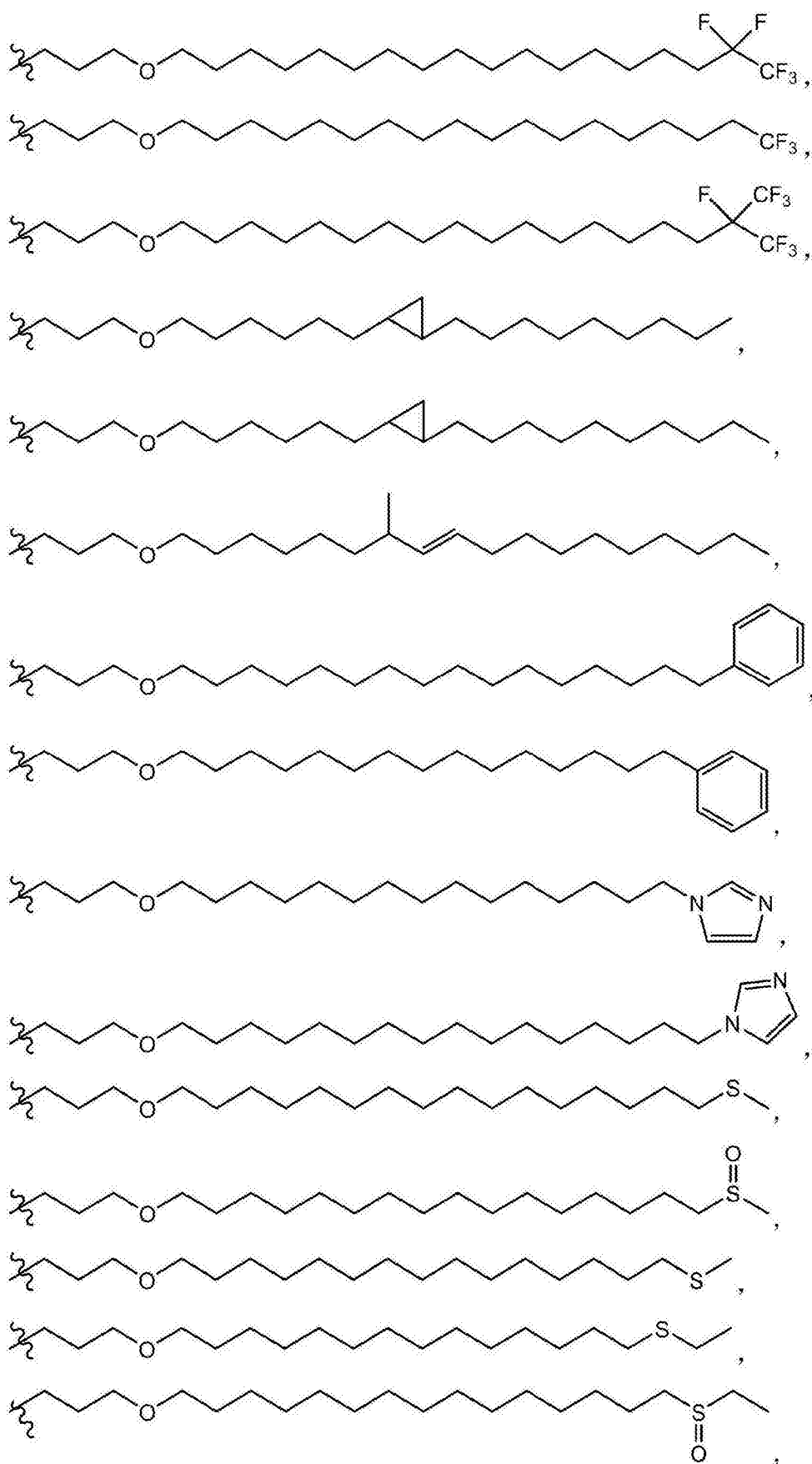
7. 上述任一项权利要求所述的化合物, 其中 R_1 为-H。
8. 上述任一项权利要求所述的化合物, 其中 R_2 为-OH。
9. 上述任一项权利要求所述的化合物, 其中 R_4 为-OH。
10. 上述任一项权利要求所述的化合物, 其中 R_2 和 R_4 都为-OH。
11. 上述任一项权利要求所述的化合物, 其中 R_3 为-H。
12. 上述任一项权利要求所述的化合物, 其中 R_{44} 为-H。
13. 上述任一项权利要求所述的化合物, 其中 R_3 和 R_{44} 都为-H。
14. 上述任一项权利要求所述的化合物, 其中 R 为-H。
15. 上述任一项权利要求所述的化合物, 其中 R_c 为-CH₃。
16. 上述任一项权利要求所述的化合物, 其中 v 为1, X_2 为-O-, n 为0, R 为-H。
17. 上述任一项权利要求所述的化合物, 其中 R_5 为-H, 或 M^+ , 其中 M^+ 为 Na^+ , Li^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , 或 $NR_gR_dR_eR_f^+$, 其中 R_g , R_d , R_e 和 R_f 各自独立为氢或-C₁-C₅烷基。
18. 上述任一项权利要求所述的化合物, 其中 R^B 为:
-H;

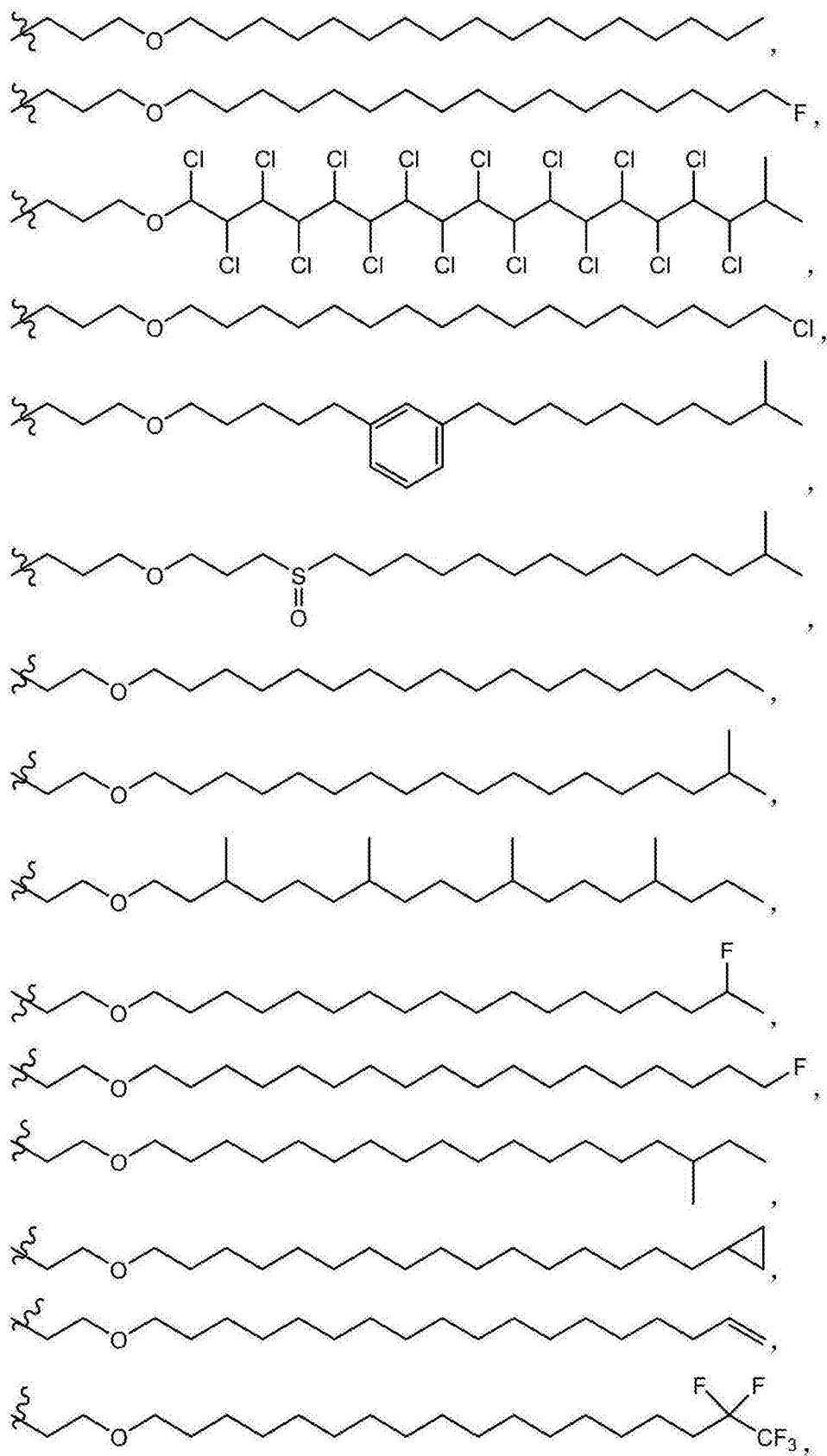


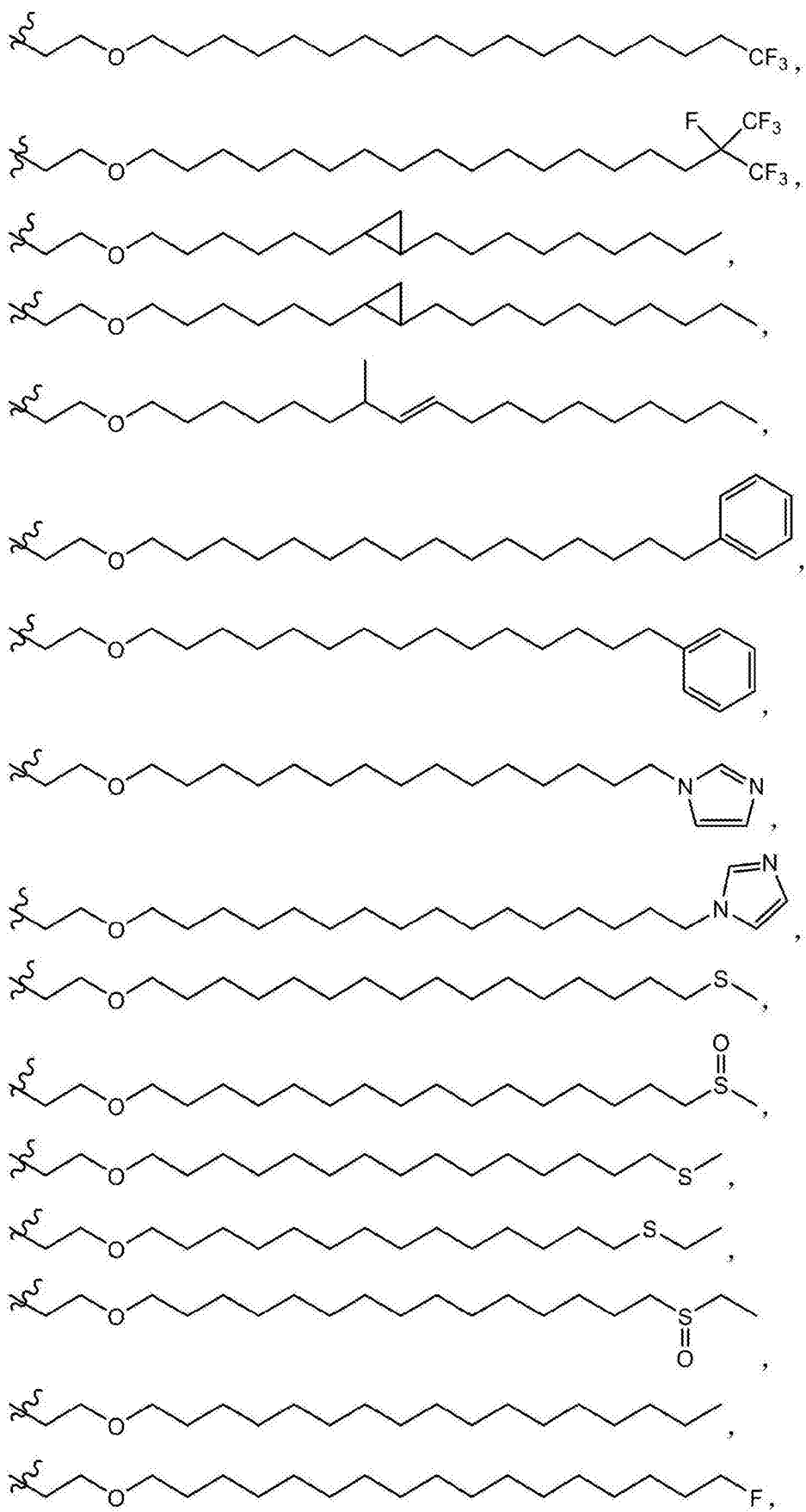


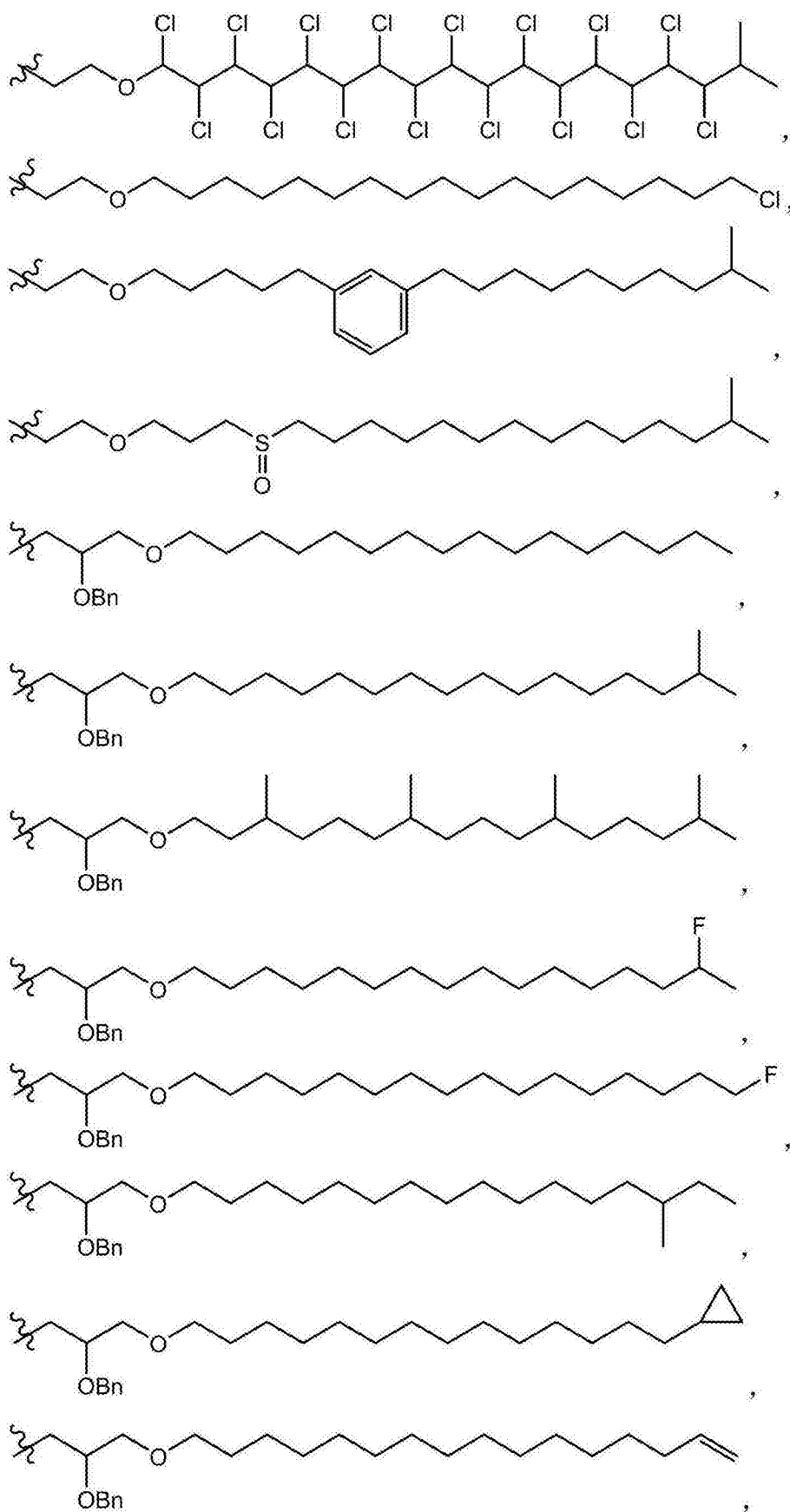


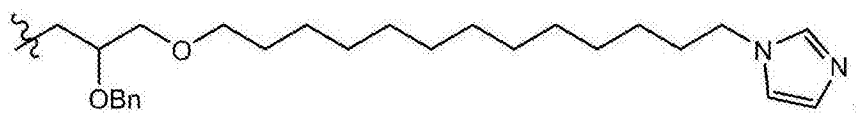
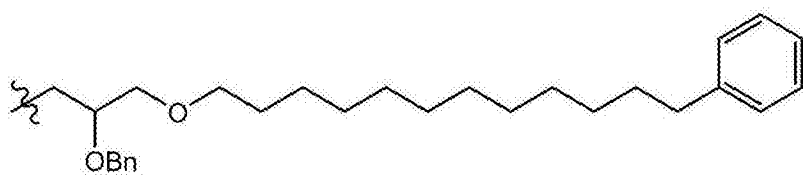
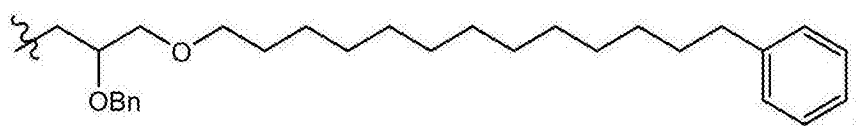
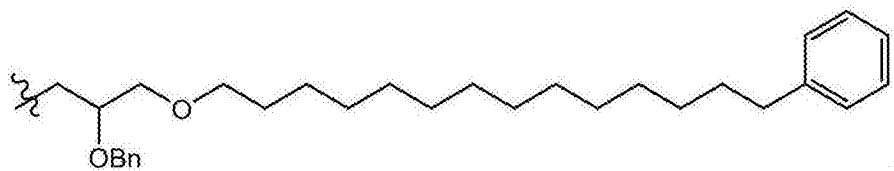
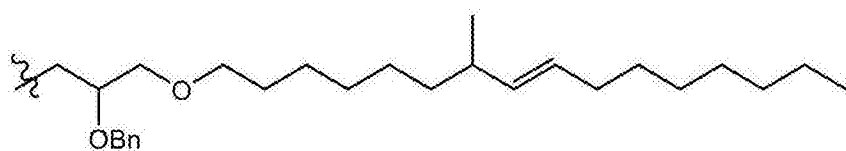
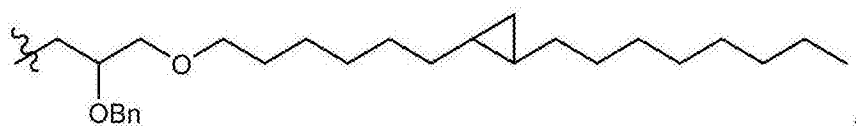
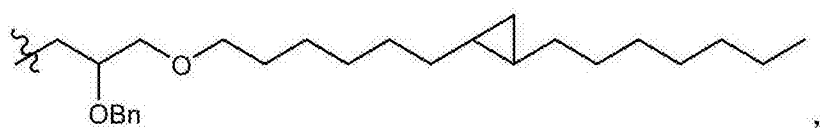
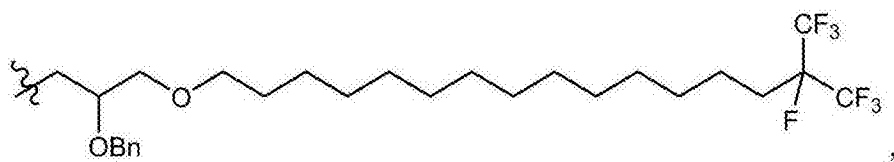
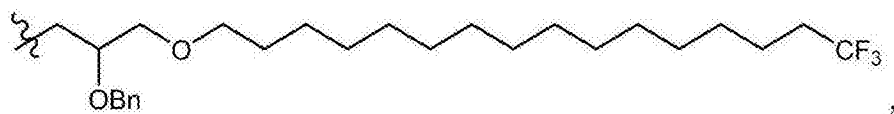
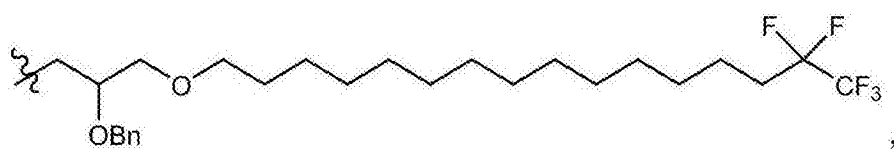


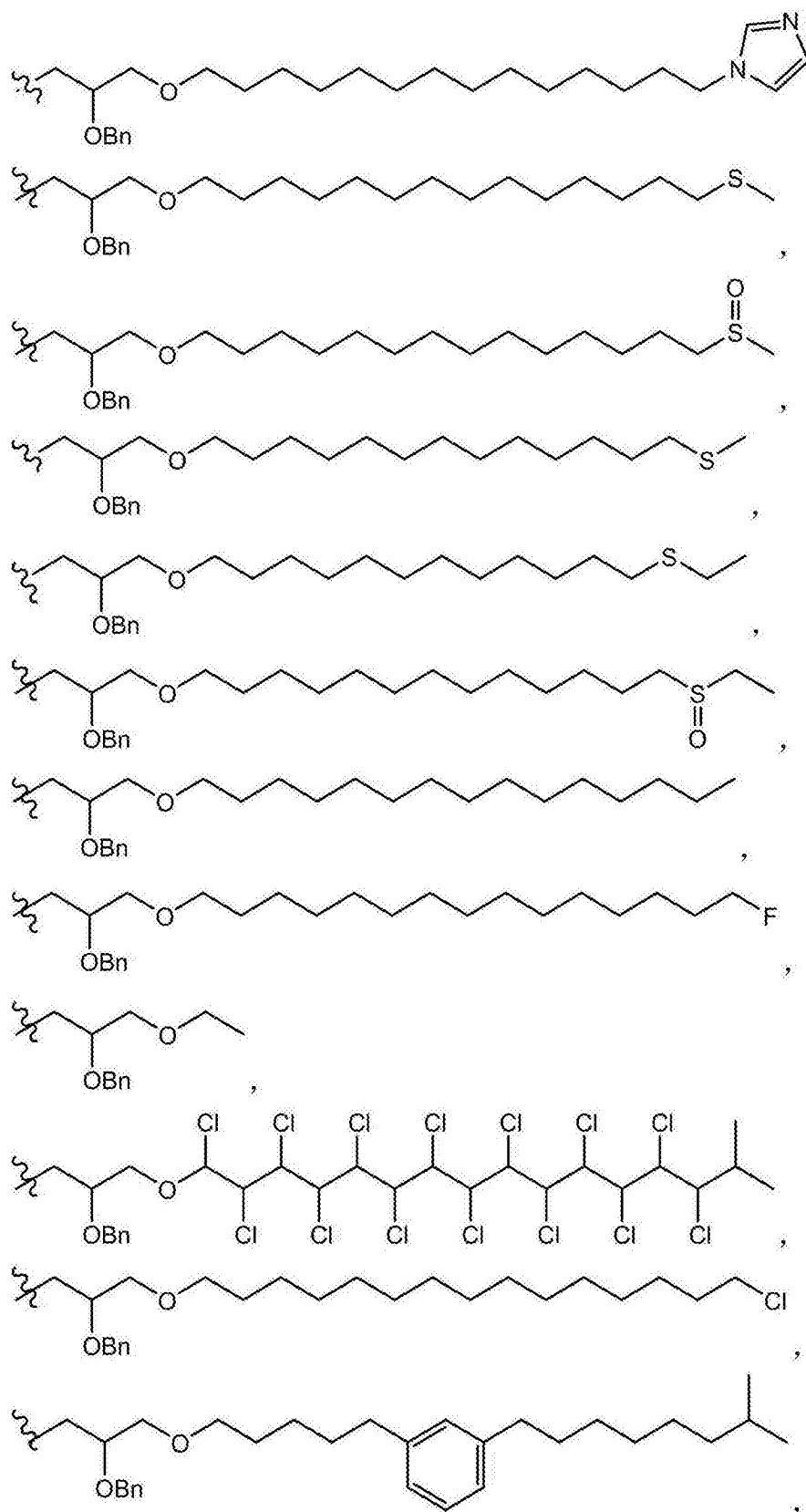


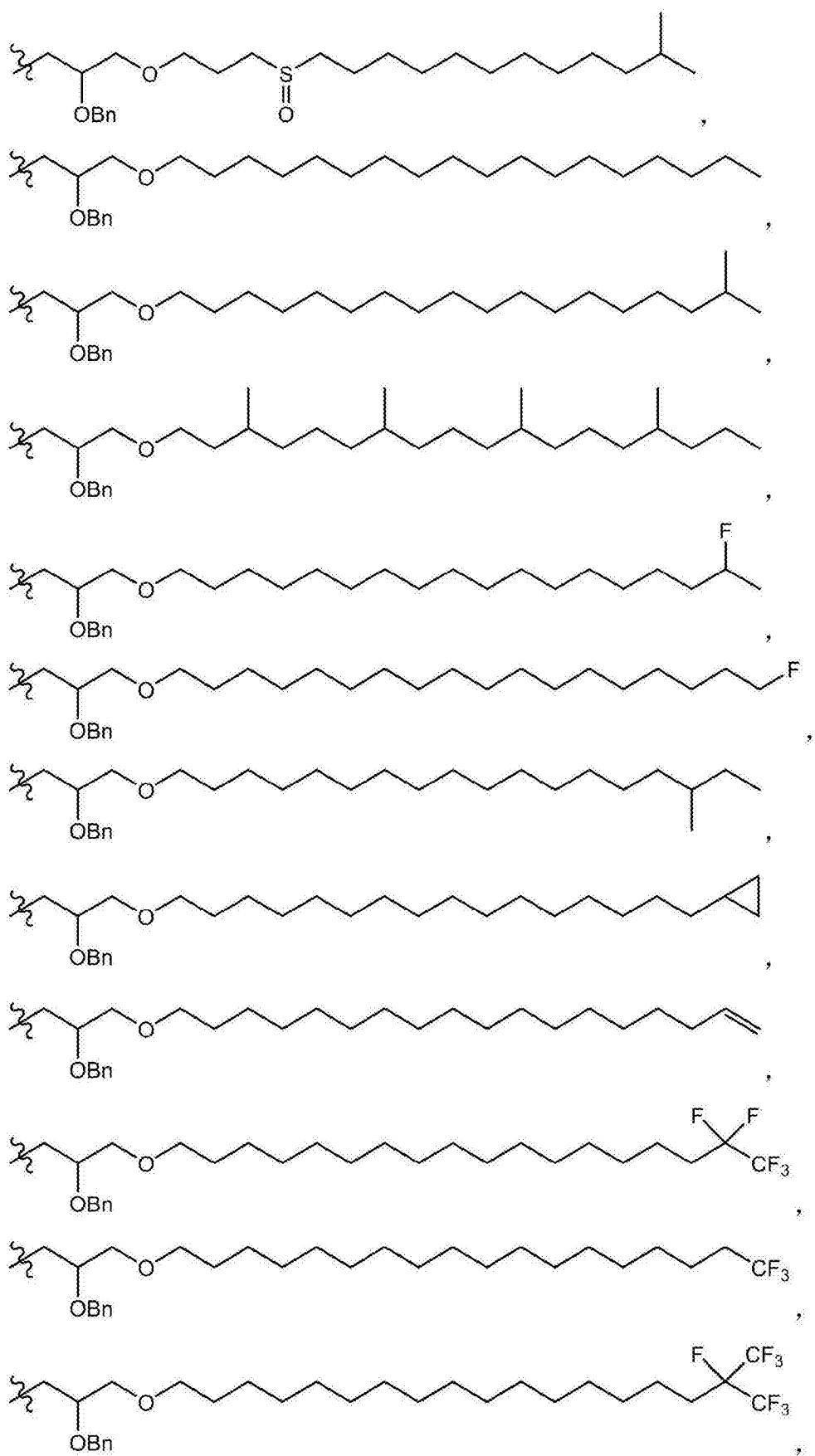


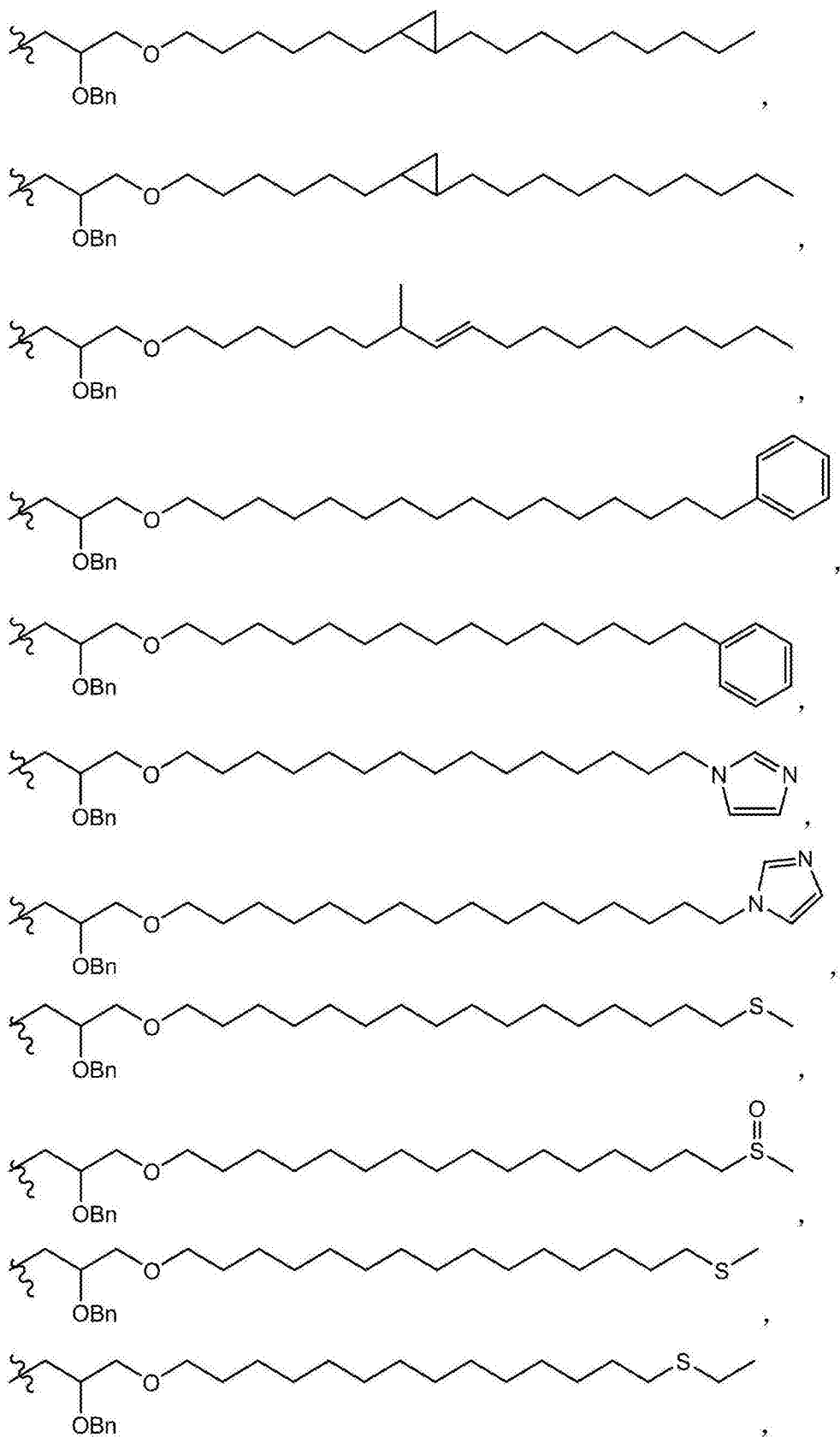


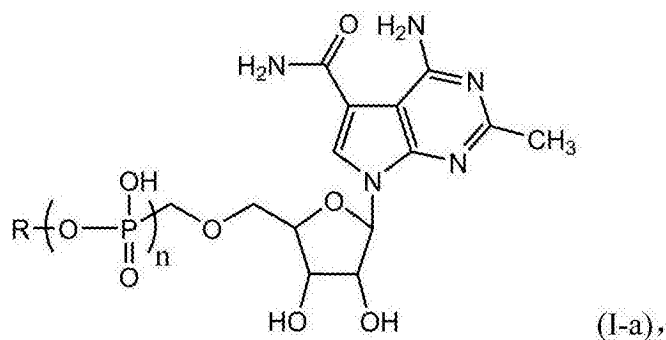
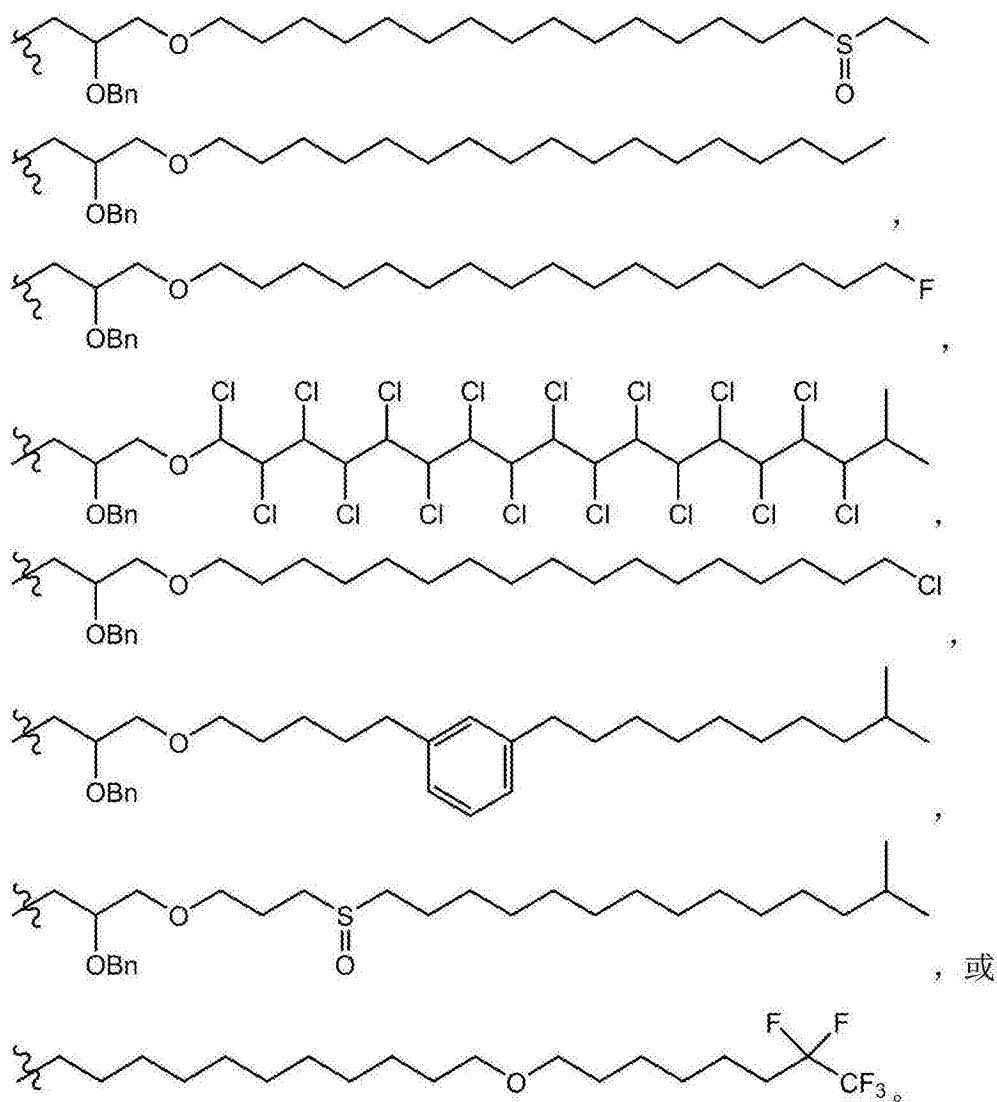






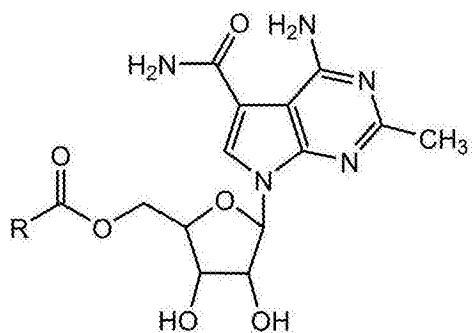






或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

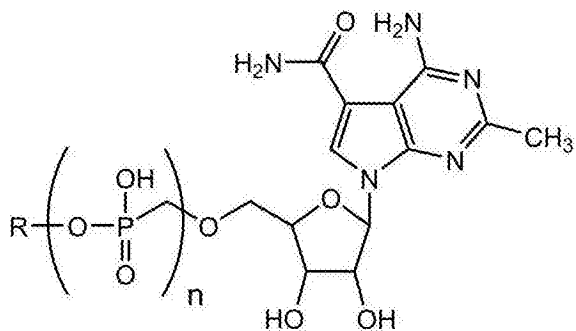
20. 上述任一项权利要求所述的化合物, 其中所述化合物为式I-b:



(I-b),

或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

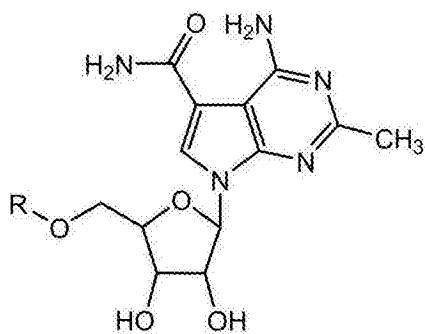
21. 上述任一项权利要求所述的化合物, 其中所述化合物为式I-c:



(I-c),

或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

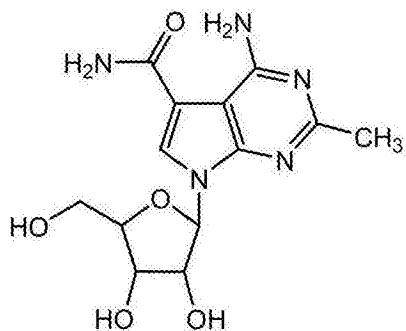
22. 上述任一项权利要求所述的化合物, 其中所述化合物为式I-d:



(I-d),

或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

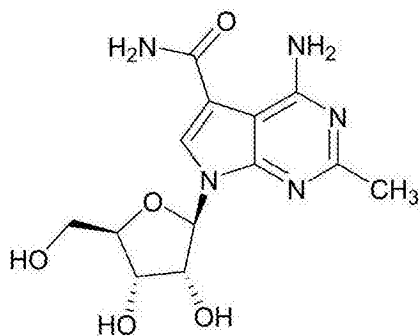
23. 上述任一项权利要求所述的化合物, 其中所述化合物为:



,

或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

24. 上述任一项权利要求所述的化合物, 其中所述化合物为:



或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

25. 一种药物组合物, 其包括上述权利要求中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物, 以及药学上可接受的载体。

26. 一种治疗病毒感染或病毒感染相关的疾病或病症的方法, 其包括向有需要的受试者施用治疗有效量的上述权利要求中的任一项的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

27. 权利要求26所述的方法, 其中所述病毒感染为诺如病毒感染。

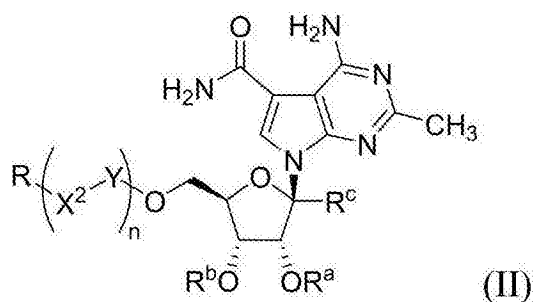
28. 上述权利要求中的任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物在用于治疗病毒感染或病毒感染相关的疾病或病症的药物的制备中的用途。

29. 权利要求28所述的化合物, 其中所述病毒感染或病毒感染相关的疾病或病症是诺如病毒。

30. 上述权利要求中的任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物, 其用于治疗病毒感染或病毒感染相关的疾病或病症。

31. 权利要求30所述的化合物, 其中所述病毒感染或病毒感染相关的疾病或病毒为诺如病毒。

32. 式II的化合物:



或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物, 其中:

Y为 $-\text{C}(\text{O})-$ 或 $-\text{P}(\text{X}^1)(\text{X}^2)(\text{X}^3)-$ 其中 X^1 独立为O、NH或S, X^2 独立为键、-O-、-S-或-NH-, X^3 独立为-OR、-NHR^{II}或-SR^{II};

每个 R^{II} 独立为-H、-C₁-C₂₀烷基、-C₂-C₂₀烯基、-C₂-C₂₀炔基、-C₃-C₈环烷基、-C₄-C₈环烯基、芳基、杂芳基或杂环基,其中每个烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基或杂环基任选地被一个或多个卤素、氧代、 R^1 、-OR¹、-NR¹R²、-SR¹、-OC(O)R¹、-C(O)OR¹、-NHC(O)OR¹或-NHC(O)R¹取代;

R^a 和 R^b 各自独立的,在每种情况下,为-H、-C₁-C₂₀为烷基、-C₂-C₂₀烯基、-C₂-C₂₀炔基、-C₃-C₈环烷基、-C₄-C₈环烯基、芳基、杂芳基或杂环基,其中每个烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基或杂环基任选地被一个或多个卤素、氧代、-OR¹、-NR¹R²、-SR¹、-OC(O)R¹、-C(O)OR¹、-NHC(O)OR¹或-NHC(O)R¹取代;

R^1 和 R^2 各自独立的,在每种情况下,为-H、-C₁-C₂₀为烷基、-C₂-C₂₀烯基、-C₂-C₂₀炔基、-C₃-C₈环烷基、-C₄-C₈环烯基、芳基、杂芳基或杂环基,其中每个烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基或杂环基任选地被一个或多个卤素、氧代、-R³、-R⁴、-OR³、-NR³R⁴、-SR³、-OC(O)R³、-C(O)OR³、-NHC(O)OR³或-NHC(O)R³取代;

R^3 和 R^4 各自独立的,在每种情况下,为-H、-C₁-C₂₀为烷基、-C₂-C₂₀烯基、-C₂-C₂₀炔基、-C₃-C₈环烷基、-C₄-C₈环烯基、芳基、杂芳基或杂环基,其中每个烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基或杂环基任选地被一个或多个卤素、氧代、芳基、杂芳基、-OH、-NH₂、-SH、-OC(O)H、-C(O)OH、-NHC(O)OH或-NHC(O)H取代;

R^d 独立为-H或-D;以及

n独立为0、1、2或3。

33. 权利要求32所述的化合物,其中 R^a 为-H。

34. 权利要求32-33任一项所述的化合物,其中 R^b 为-H。

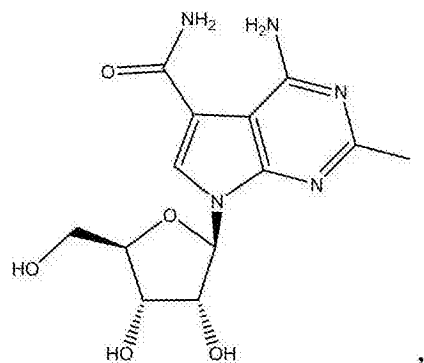
35. 权利要求32-34任一项所述的化合物,其中 R^c 为-H。

36. 权利要求32-35任一项所述的化合物,其中n为0。

37. 权利要求32-36任一项所述的化合物,其中 R^a 、 R^b 和 R^c 为-H。

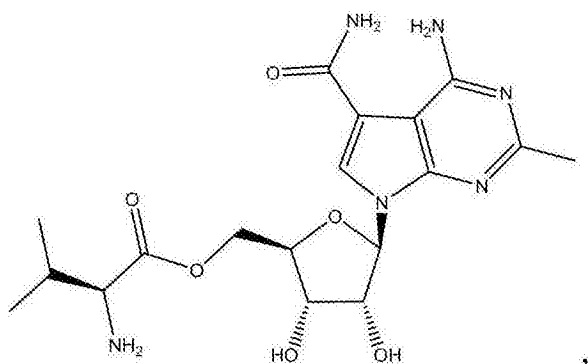
38. 权利要求32-37任一项所述的化合物,其中 R^a 、 R^b 和 R^c 为-H以及n为0。

39. 权利要求32-38任一项所述的化合物,其中所述化合物为:



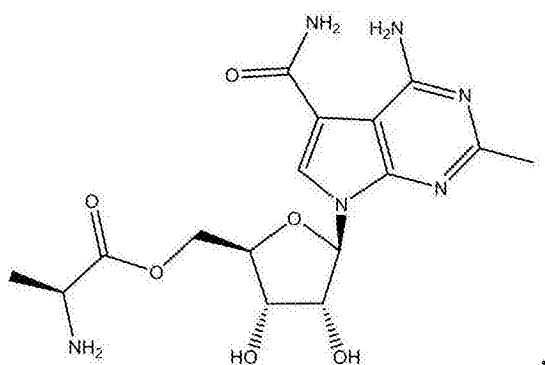
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

40. 权利要求32-38任一项所述的化合物,其中所述化合物为:



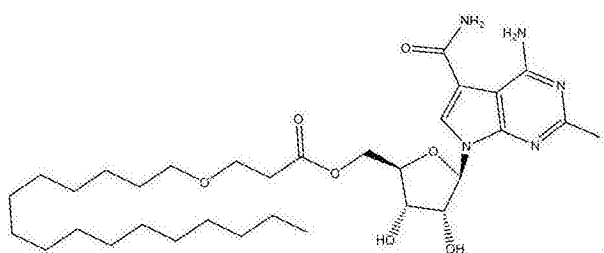
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

41. 权利要求32-38任一项所述的化合物,其中所述化合物为:



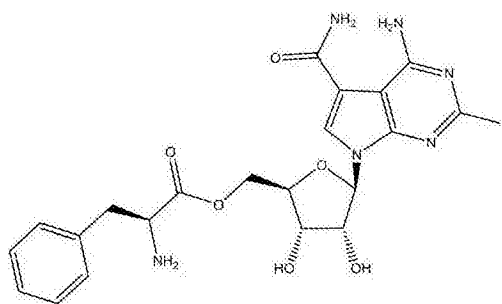
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

42. 权利要求32-38任一项所述的化合物,其中所述化合物为:



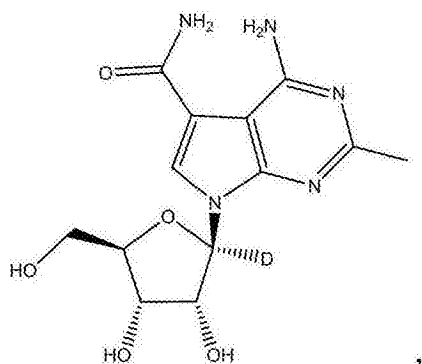
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

43. 权利要求32-38任一项所述的化合物,其中所述化合物为:



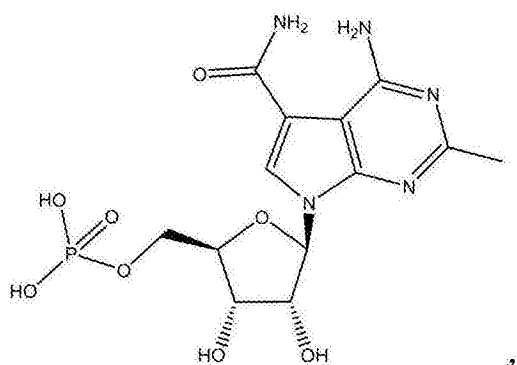
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

44. 权利要求32-38任一项所述的化合物,其中所述化合物为:



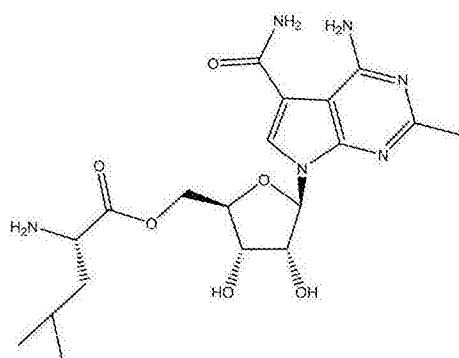
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

45. 权利要求32-38任一项所述的化合物,其中所述化合物为:



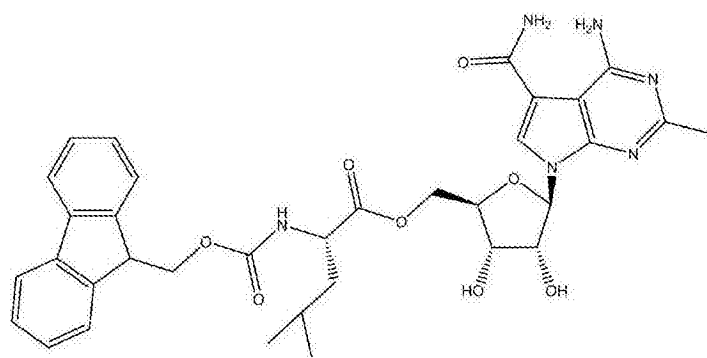
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

46. 权利要求32-38任一项所述的化合物,其中所述化合物为:



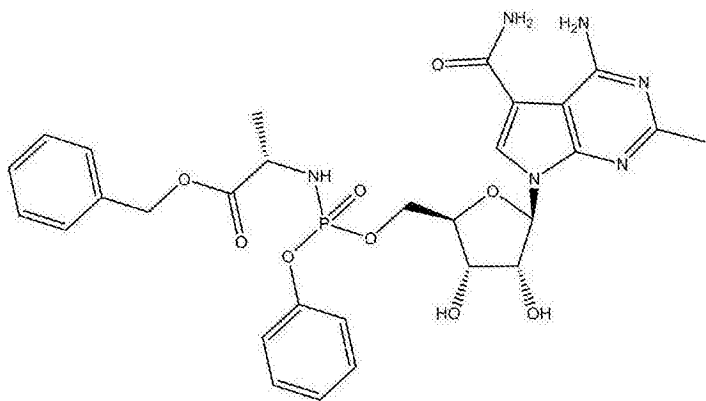
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

47. 权利要求32-38任一项所述的化合物,其中所述化合物为:



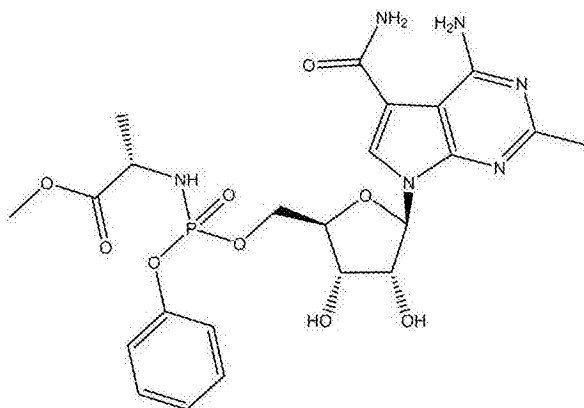
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

48. 权利要求32-38任一项所述的化合物,其中所述化合物为:



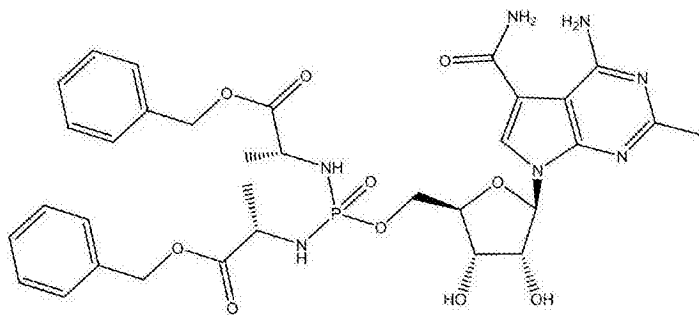
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

49. 权利要求32-38任一项所述的化合物,其中所述化合物为:



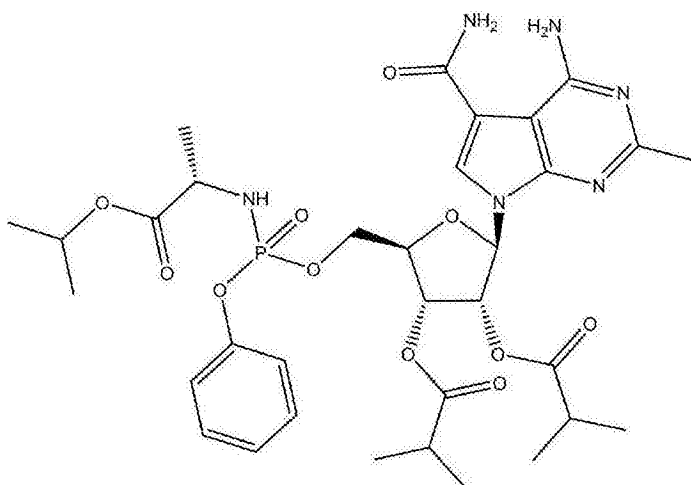
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

50. 权利要求32-38任一项所述的化合物,其中所述化合物为:



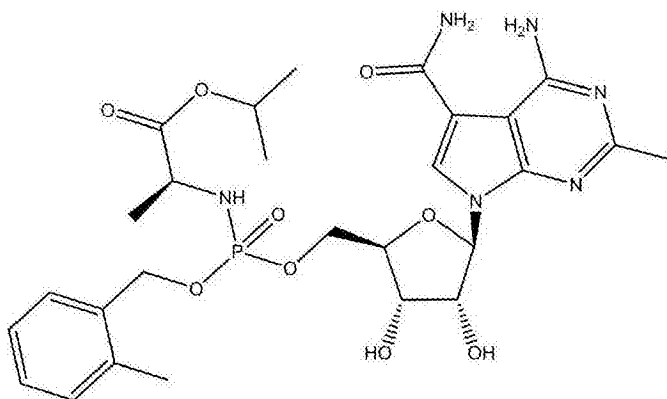
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

51. 权利要求32-38任一项所述的化合物,其中所述化合物为:



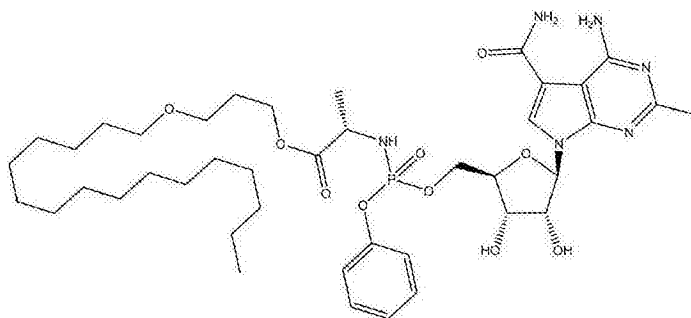
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

52. 权利要求32-38任一项所述的化合物,其中所述化合物为:



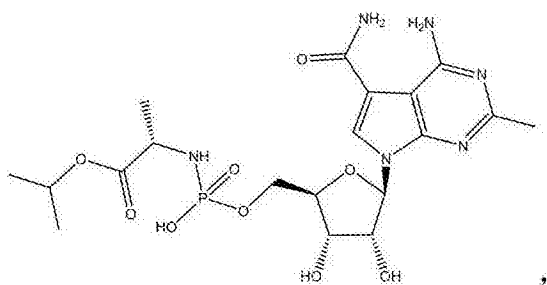
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

53. 权利要求32-38任一项所述的化合物,其中所述化合物为:



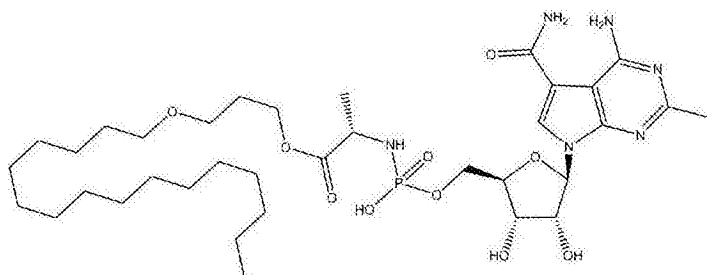
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

54. 权利要求32-38任一项所述的化合物,其中所述化合物为:



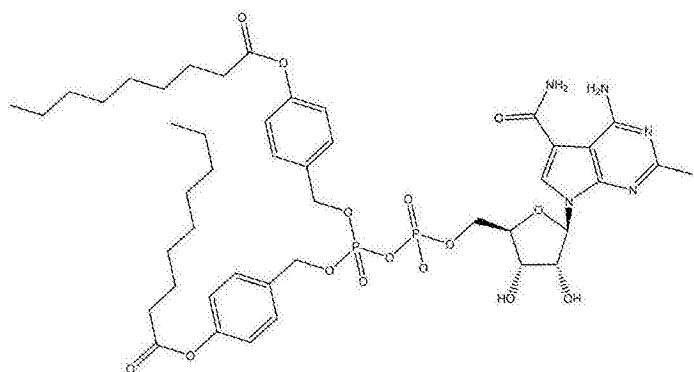
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

55. 权利要求32-38任一项所述的化合物,其中所述化合物为:



或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

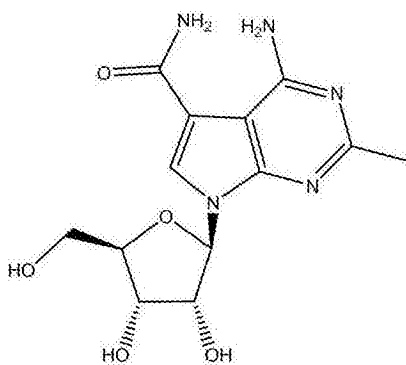
56. 权利要求32-38任一项所述的化合物,其中所述化合物为:



或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

57. 一种药物组合物,包括权利要求32-56任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物,以及药学上可接受的载体。

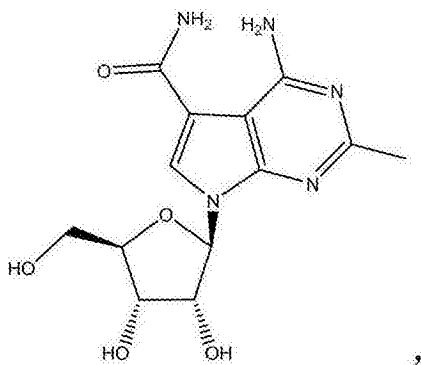
58. 一种药物组合物,包括化合物:



或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物以及药学上可接受的载体。

59. 一种治疗病毒感染或病毒感染相关的疾病或病症的方法,其包括向有需要的受试者施用治疗有效量的权利要求32-56任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

60. 一种治疗病毒感染或病毒感染相关的疾病或病症的方法,其包括向有需要的受试者施用治疗有效量的化合物:

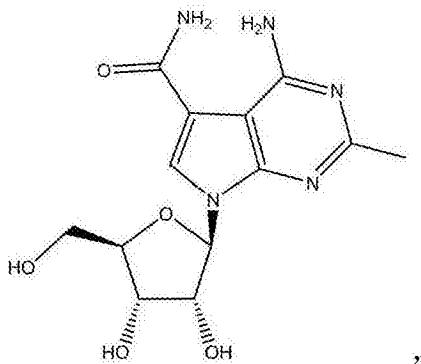


或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

61. 权利要求29所述的方法, 其中所述病毒感染是诺如病毒。

62. 权利要求32-56中任一项的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物在用于治疗疾病的药物的制备中的用途。

63. 化合物



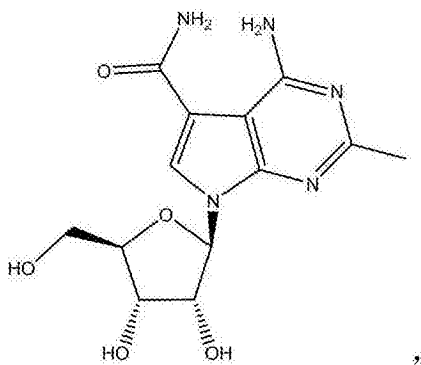
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物在用于治疗疾病的药物的制备中的用途。

64. 权利要求62或63所述的用途, 其中所述疾病为病毒感染。

65. 权利要求64所述的用途, 其中病毒感染为诺如病毒。

66. 权利要求32-56中任一项所述的化合物在治疗疾病中的用途。

67. 化合物



或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物用于治疗疾病的用途。

68. 权利要求66或67所述的用途, 其中所述疾病为病毒感染。

69. 权利要求68所述的用途, 其中所述病毒感染为诺如病毒感染。

作为有用的抗病毒剂的吡咯并嘧啶核苷及其类似物

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求2015年8月6日提交的美国临时申请号为62/202010,以及2016年4月15日提交的英国申请号为1606645.8的优先权和权益,其内容通过引用整体并入本文。

技术领域

[0003] 本申请涉及吡咯并嘧啶核苷类似物及其磷脂缀合物及其合成方法。吡咯并嘧啶核苷类似物及其磷脂缀合物可以用作治疗病毒感染的抗病毒剂。本申请还涉及包含吡咯并嘧啶核苷类似物及其磷脂缀合物的药物组合物。

背景技术

[0004] 病毒感染会对个人和整个社会造成严重的不良影响。除了致命的病毒感染(如埃博拉病毒)之外,即使是非致命性感染也会造成严重的社会和经济后果。例如,人类诺如病毒(NV)是世界范围内流行性急性胃肠炎的最常见原因,在美国每年估计有1900-2100万个病例,包括56000-71000人住院和570-800死亡(Hall等,Emerg. Infect. Dis. 2013Aug;19(8):1198-205)。

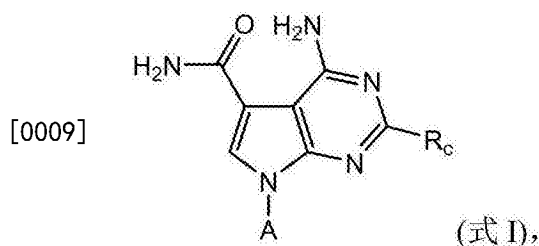
[0005] 因此,开发对病毒有效的有效抗病毒治疗对于改善感染者的健康以及作为预防其他致病病毒爆发的公共健康措施是重要的。

发明内容

[0006] 本公开提供了吡咯并嘧啶核苷类似物及其磷脂缀合物。还包括包含相同物质的药物组合物及其合成方法。

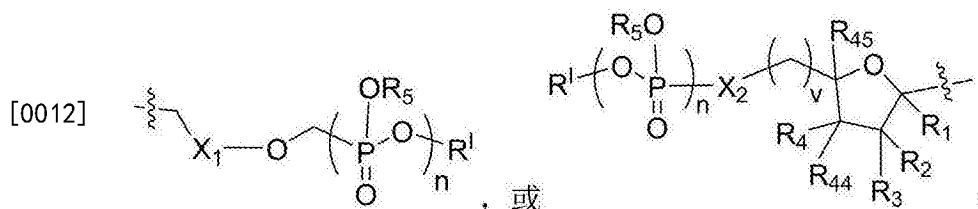
[0007] 本公开还提供了用一种或多种本发明实施方式的化合物来治疗和/或预防病毒感染和/或病毒感染相关的疾病或病症的方法。本公开满足了使用新型抗病毒剂和递送载体治疗和/或预防病毒诱发的疾病的新疗法的需求。

[0008] 一方面,本公开涉及式I的化合物:



[0010] 及其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体和混合物,其中:

[0011] A是:



[0013] X_1 为 $CR_{11}R_{12}$ 或 OCH_2CH_2 ,其中氧原子远离A中 R^I 部分,其中 R_{11} 和 R_{12} 独立为氢或取代或未取代的 C_1 - C_4 烷基;

[0014] X_2 为不存在、 $-O-$ 、 $-C(O)O-$ 、或 $-OCH_2-$,其中氧原子在A中 R^I 部分的远端;

[0015] 每个 R^I 独立为氢,取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基,

[0016] 或 R^I 是通过 X_2 的羰基基团结合的氨基酸残基;

[0017] v 为0或1;

[0018] n 为0、1、2或3并且当 X_2 为 $-C(O)O-$ 时, n 为0;

[0019] p 为2、3、4、5、6、7、8、9、10或11;

[0020] q 为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17或18;

[0021] R_z 为氢、卤素、 C_1 - C_4 烷硫基、 C_1 - C_4 烷氧基、取代或未取代的 C_1 - C_4 烷基、取代或未取代的 C_2 - C_4 烯基、取代或未取代的 C_2 - C_4 炔基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的杂芳基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的环烯基、或取代或未取代的非-芳族杂环;

[0022] R_a 、 R_b 、 R_x 和 R_y 各自独立选自氢、卤素、 OH 、 SH 、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷氧基、取代或未取代的芳氧基、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷硫基、取代或未取代的芳硫基、取代或未取代的- O -羰基烷基、取代或未取代的- O -羰基芳基、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基、取代或未取代的 C_2 - C_6 烯基、取代或未取代的 C_2 - C_6 炔基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的杂芳基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的环烯基;

[0023] 或者,任何 R_a 或 R_b 在 $(CR_aR_b)_p$ 中与另一个 R_a 或 R_b 与其所连接的原子以及任何介于它们之间的原子一起形成 $C-C$ 双键或三键、 C_6 - C_{10} 芳基、5-到10-元杂芳基、 C_3 - C_{10} 环烷基、 C_4 - C_{10} 环烯基,或5-至10-元非芳族杂环结构;或任意 R_x 或 R_y 在 $(CR_xR_y)_q$ 中与另一个 R_x 或 R_y 与其所连接的原子以及任何介于它们之间的原子一起形成 $C-C$ 双键或三键、 C_6 - C_{10} 芳基、5-到10-元杂芳基、 C_3 - C_{10} 环烷基、 C_4 - C_{10} 环烯基,或5-至10-元非-芳族杂环结构;或任何 CR_aR_b 或 CR_xR_y 被氧、硫、亚磺酰基(SO)或磺酰基(SO_2)替代;

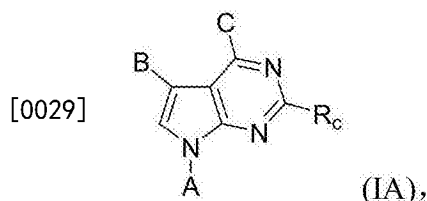
[0024] R_1 和 R_{45} 各自独立为氢、卤素、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基、取代或未取代的 C_3 - C_6 环烷基、取代或未取代的 C_2 - C_6 烯基、取代或未取代的 C_4 - C_8 环烯基、取代或未取代的 C_2 - C_6 炔基、取代或未取代的 C_8 - C_{12} 环炔基、叠氮基、 $-OH$ 、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷氧基、取代或未取代的氨基、 $-SH$ 、或取代或未取代的 C_1 - C_6 烷硫基;

[0025] 每个 R_2 、 R_3 、 R_4 和 R_{44} 独立为氢、卤素、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基、 N_3 、 OH 、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷氧基、取代或未取代的氨基、 SH 、或取代或未取代的 C_1 - C_6 烷硫基;或者, R_3 以及 R_4 和 R_{44} 中的一个与它们所连接的原子一起形成碳-碳双键;

[0026] R_5 为氢、 R^I 、 M^+ 、取代或未取代的芳基、取代或未取代的芳烷基、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基、取代或未取代的 C_1 - C_6 杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的非-芳族杂环、或取代或未取代的杂芳基;其中 M^+ 为阳离子,以及 R_5 不为氨基酸;以及

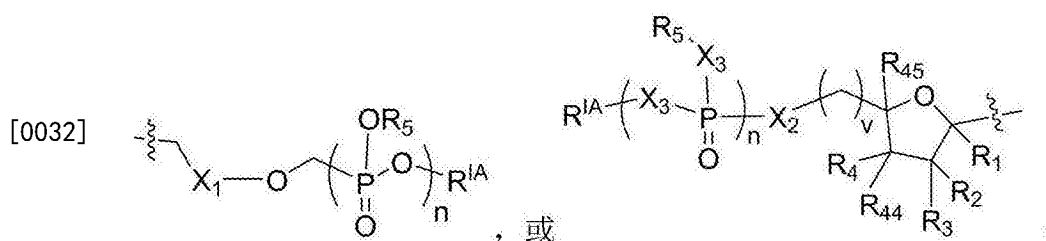
[0027] R_c 为取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基、取代或未取代的 C_3 - C_6 环烷基、取代或未取代的 C_2 - C_6 烯基、取代或未取代的 C_4 - C_8 环烯基、取代或未取代的 C_2 - C_6 炔基、取代或未取代的 C_8 - C_{12} 环炔基、或取代或未取代的芳基。

[0028] 另一方面,本公开涉及式IA的化合物:



[0030] 及其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体和混合物,其中:

[0031] A是:



[0033] X_1 为 $-CR_{11}R_{12}-$ 或 $-OCH_2CH_2-$,其中氧原子远离A中 R^{IA} 部分;

[0034] R_{11} 和 R_{12} 独立为氢或 C_1 - C_4 烷基,其中烷基任选地被一个或多个卤素、 $-OH$ 、 $-SH$ 或 $-NH_2$ 取代;

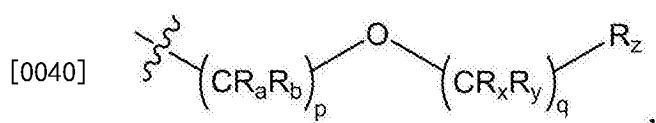
[0035] X_2 为不存在、 $-O-$ 、 $-C(O)O-$ 、或 $-OCH_2-$,其中氧原子远离A中 R^{IA} 部分;

[0036] X_3 独立为 $-O-$ 或 $-NH-$;

[0037] B独立为 $-C(O)NH_2$ 、芳基或杂芳基;

[0038] C独立为 $-OR$ 、 $-NHR$ 或 $-N=CHN(R)_2$;

[0039] 每个 R^{IA} 独立为氢或 $-C_1$ - C_6 烷基,其中所述烷基任选地被一个或多个 $-OH$ 、 $-SH$ 、或 $-NH_2$ 、氧代或 $-OR_a$ 取代;



[0041] 或 R^{IA} 是通过羰基基团结合的氨基酸残基;

[0042] v 为0或1;

[0043] n 为0、1、2或3并且当 X_2 为 $-C(O)O-$ 时, n 为0;

[0044] p 为2、3、4、5、6、7、8、9、10或11;

[0045] q 为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17或18;

[0046] R_z 为氢、卤素、 $-C_1$ - C_4 烷硫基、 $-C_1$ - C_4 烷氧基、 $-C_1$ - C_4 烷基、 $-C_2$ - C_4 烯基、 $-C_2$ - C_4 炔基、芳基、杂芳基、 $-C_3$ - C_8 环烷基、 $-C_4$ - C_8 环烯基或3-至5-元非芳族杂环,其中每个烷硫基、烷氧基、烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、环烷基、环烯基或杂环任选地被一个或多个卤素、 $-OH$ 、 $-SH$ 或 $-NH_2$ 取代;

[0047] R_a 、 R_b 、 R_x 和 R_y 各自独立选自氢、卤素、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-C_1$ - C_6 烷氧基、芳氧基、 $-C_1$ - C_6 烷硫

基、芳硫基、-OC(O) C₁-C₆烷基、-OC(O) 芳基、-C₁-C₆烷基、-C₂-C₆烯基、-C₂-C₆炔基、芳基、杂芳基、-C₃-C₈环烷基和-C₄-C₈环烯基,其中每个烷氧基、芳氧基、烷硫基、芳硫基、烷基、芳基、烯基、炔基、杂芳基、环烷基或环烯基任选地被一个或多个卤素、-OR₁₁、-SR₁₁或-NR₁₁R₁₂取代;

[0048] 或任意两个R_a或R_b,与它们两个所连接的原子一起可以结合形成C₃-C₈螺环烷基或3-至8-元螺杂环;

[0049] 或任意两个R_a或R_b,当在两个相邻的原子上时,可以结合形成顺式-或反式-碳-碳双键或碳-碳三键;

[0050] 或任意两个R_a或R_b,当在两个相邻的原子上时,可以结合形成氧代、芳基、杂芳基、-C₃-C₁₀环烷基、-C₄-C₁₀环烯基或5-至10-元环杂环;

[0051] 或任意CR_aR_b可以被-O-、-S-、-S(O)-或-SO₂-替换;

[0052] 或任意两个R_x或R_y与它们两个所连接的原子一起可以结合形成C₃-C₈螺环烷基或3-至8-元螺杂环;

[0053] 或任意两个R_x或R_y,当在两个相邻的原子上时,可以结合形成顺式-或反式-碳-碳双键或碳-碳三键;

[0054] 或任意两个R_x或R_y,当在两个相邻的原子上时,可以结合形成氧代、芳基、杂芳基、-C₃-C₁₀环烷基、-C₄-C₁₀环烯基或5-至10-元环杂环;

[0055] 或任意CR_xR_y可以被-O-、-S-、-S(O)-或-SO₂-替换;

[0056] R₁和R₄₅各自独立为氢、卤素、-N₃、-OH、-NH₂、-SH、-C₁-C₆烷基、-C₃-C₆环烷基、-C₂-C₆烯基、-C₄-C₈环烯基、-C₂-C₆炔基、-C₈-C₁₂环炔基、-C₁-C₆烷氧基或-C₁-C₆烷硫基,其中每个烷基、环烷基、烯基、环烯基、炔基、环炔基、烷氧基或烷硫基独立被一个或多个卤素、-N₃、-OH、-NH₂或-SH取代;

[0057] R₂、R₃、R₄和R₄₄各自独立为氢、卤素、-N₃、-OH、-NH₂、-SH、-C₁-C₆烷基、-C₁-C₆烷氧基或-C₁-C₆烷硫基,其中每个烷基、烷氧基或烷硫基任选地被一个或多个卤素、氧代、-OH、-NH₂或-SH取代;

[0058] 或R₃以及R₄和R₄₄中的一个,可以与它们所连接的原子一起形成碳-碳双键;

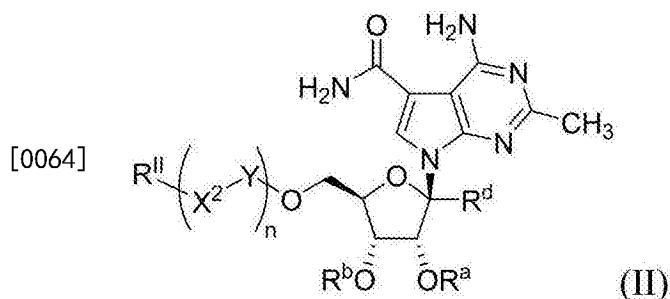
[0059] 或R₃以及R₄和R₄₄中的一个,与它们所连接的原子一起,可以结合形成任选地被C₁-C₆烷基取代的4-至8-元环烷基或杂环;

[0060] R₅独立为氢、R^{1A}、M⁺、芳基、芳烷基、-C₁-C₆烷基、-C₁-C₆杂烷基、环烷基、非-芳族杂环或杂芳基,其中M⁺为阳离子,并且其中每个芳基、芳烷基、烷基、杂烷基、环烷基、杂环或杂芳基任选地被一个或多个卤素、N₃、-OH、-NH₂或-SH取代,其中,R₅不为氨基酸;以及

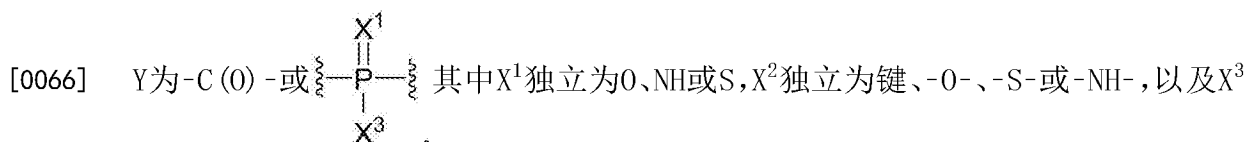
[0061] R₁₁和R₁₂各自独立的,在每种情况下,为氢、卤素、-OH、-SH、-C₁-C₆烷氧基、芳氧基、-C₁-C₆烷硫基、芳硫基、-OC(O) C₁-C₆烷基、-OC(O) 芳基、-C₁-C₆烷基、-C₂-C₆烯基、-C₂-C₆炔基、芳基、杂芳基、-C₃-C₈环烷基和-C₄-C₈环烯基,其中每个烷基、芳基、烯基、炔基、杂芳基、环烷基和环烯基任选地被一个或多个卤素、-N₃、-OH、-NH₂或-SH取代;

[0062] R_c为-C₁-C₆烷基、-C₃-C₆环烷基、-C₂-C₆烯基、-C₄-C₈环烯基、-C₂-C₆炔基、-C₈-C₁₂环炔基或芳基,其中每个烷基、环烷基、烯基、环烯基或芳基任选地被一个或多个卤素、-N₃、-OH、-NH₂或-SH取代;

[0063] 另一方面,本公开涉及式II的化合物:



[0065] 及其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体和混合物,其中:



独立为-OR、-NHR^{II}或-SR^{II};

[0067] 每个R^{II}独立为-H、-C₁-C₂₀烷基、-C₂-C₂₀烯基、-C₂-C₂₀炔基、-C₃-C₈环烷基、-C₄-C₈环烯基、芳基、杂芳基或杂环基,其中每个烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基或杂环基任选地被一个或多个卤素、氧代、R¹、-OR¹、-NR¹R²、-SR¹、-OC(O)R¹、-C(O)OR¹、-NHC(O)OR¹或-NHC(O)R¹取代;

[0068] R^a和R^b各自独立的,在每种情况下,为-H、-C₁-C₂₀为烷基、-C₂-C₂₀烯基、-C₂-C₂₀炔基、-C₃-C₈环烷基、-C₄-C₈环烯基、芳基、杂芳基或杂环基,其中每个烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基或杂环基任选地被一个或多个卤素、氧代、R¹、-OR¹、-NR¹R²、-SR¹、-OC(O)R¹、-C(O)OR¹-NHC(O)OR¹或-NHC(O)R¹取代;

[0069] R¹和R²各自独立的,在每种情况下,为-H、-C₁-C₂₀为烷基、-C₂-C₂₀烯基、-C₂-C₂₀炔基、-C₃-C₈环烷基、-C₄-C₈环烯基、芳基、杂芳基或杂环基,其中每个烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基或杂环基任选地被一个或多个卤素、氧代、-R³、-R⁴、-OR³、-NR³R⁴、-SR³、-OC(O)R³、-C(O)OR³、-NHC(O)OR³或-NHC(O)R³取代;

[0070] R³和R⁴各自独立的,在每种情况下,为-H、-C₁-C₂₀为烷基、-C₂-C₂₀烯基、-C₂-C₂₀炔基、-C₃-C₈环烷基、-C₄-C₈环烯基、芳基、杂芳基或杂环基,其中每个烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基或杂环基任选地被一个或多个卤素、氧代、芳基、杂芳基、-OH、-NH₂、-SH、-OC(O)H、-C(O)OH、-NHC(O)OH或-NHC(O)H取代;

[0071] R^d独立为-H或-D;以及

[0072] n独立为0、1、2或3。

[0073] 另一方面,本公开涉及一种药物组合物,其包含式I、式IA、式IB或式II的化合物,或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物,以及药学上可接受的载体。在一些实施方式中,本公开涉及一种药物组合物,其包含化合物1,或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或它们的混合物,以及药学上可接受的载体。在一些实施方式中,所述药物组合物可以用于治疗病毒感染(例如,诸如病毒)。

[0074] 另一方面,本公开提供了一种治疗病毒感染或病毒感染相关的疾病或病症的方法,其中所述方法包括向有需要的受试者施用有效量的本文所述的化合物(例如式I、式IA、

式IB或式II的化合物),或其药学上可接受的盐、溶剂化物,对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。在一些实施方式中,所述化合物为化合物1或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。在一些实施方式中,所述病毒是诺如病毒。

[0075] 另一方面,本公开还涉及一种所述的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物的药物制剂,其在用于治疗或预防病毒感染或病毒感染相关的疾病或病症(例如双链DNA(dsDNA)或单链RNA(ssRNA)病毒感染)的方法中使用。在一些实施方式中,所述化合物是化合物1。在一些实施方式中,所述病毒是诺如病毒。

[0076] 另一方面,本公开还涉及本文公开的化合物或药物制剂,或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物在用于治疗或预防病毒感染和/或病毒感染相关的疾病或病症(例如ssRNA病毒感染)的药物的制备中的应用。所述药物制剂可以包含式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或其混合物。在一些实施方式中,所述化合物是化合物1或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体,外消旋体或混合物。在一些实施方式中,所述病毒是诺如病毒。

[0077] 本公开还涉及用于治疗或预防病毒感染和/或病毒感染相关疾病或病症(例如,ssRNA病毒感染)的方法。该方法可以包括向有需要的受试者施用式I、式IA、式IB或式II的化合物。在一些实施方式中,所述化合物是化合物1。在一些实施方式中,所述病毒是诺如病毒。

[0078] 本公开还涉及本文所述的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物,其用于治疗或预防病毒感染或病毒感染相关疾病或病症。该化合物可以是式I、式IA、式IB或式II的化合物。在一些实施方式中,所述化合物是化合物1或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。在一些实施方式中,所述病毒是诺如病毒。

[0079] 除非另外定义,否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本公开所属领域的普通技术人员通常理解的相同的含义。在冲突的情况下,本说明书(包括定义)将限制。在说明书中,除非上下文另有明确规定,否则单数形式也包括复数形式。尽管与本文所述相似或等同的方法和材料可以用于本公开的实践或测试,但是下面描述了合适的方法和材料。本文提及的所有出版物、专利申请、专利和其他参考文献通过引用并入本文。本文引用的参考文献不被认为是要求保护的公开内容的现有技术。另外,这些材料、方法和实施例仅是说明性的,并不意在限制。

[0080] 根据下面的详细描述和权利要求,本公开的其它特征和优点将变得显而易见。

附图说明

[0081] 图1A显示了作为1号研究的一部分的在感染3天后收获的组织 and 粪便中的小鼠诺如病毒滴度(每mL的噬菌斑形成单位数)。

[0082] 图1B显示了作为1号研究的一部分的在感染3天后收获的组织 and 粪便中的小鼠诺如病毒滴度(每mg的组织噬菌斑形成单位数)。

[0083] 图2A显示了作为2号研究的一部分的在感染3天后收获的组织 and 粪便中的小鼠诺如病毒滴度(每mL的噬菌斑形成单位数)。

[0084] 图2B显示了作为2号研究的一部分的在感染3天后收获的组织 and 粪便中的小鼠诺如病毒滴度(每mg组织的噬菌斑形成单位数)。

[0085] 图3A以线性标度显示了来自1号研究的每克盲肠的噬菌斑形成单位数的数目。

[0086] 图3B以线性标度显示了来自1号研究的每克粪便的噬菌斑形成单位数的数目。

[0087] 图4显示了与2'-C-甲基胞苷三磷酸酯和化合物2相比,显示化合物1抑制人类诺如病毒的体外功效的结果的第一副本。

[0088] 图5显示了与2'-C-甲基胞苷三磷酸酯和化合物2相比,显示化合物1抑制人类诺如病毒的体外功效的结果的第二副本。

[0089] 图6显示了与2'-C-甲基胞苷三磷酸酯和化合物2相比,显示化合物1抑制人类诺如病毒的体外功效的结果的第一副本和第二副本的叠加。

[0090] 图7a显示了化合物1的HPLC曲线。

[0091] 图7b显示了化合物1在室温浆化3小时后的HPLC曲线。

[0092] 图7c显示了化合物1在50℃浆化3小时后的HPLC曲线。

[0093] 图7d显示了化合物1在室温左右浆化24小时后的HPLC曲线。

[0094] 图8a显示了化合物1的从约-2到约14ppm的¹HNMR谱图。

[0095] 图8b显示了化合物1的从约2到约9ppm的¹HNMR谱图。

[0096] 图8c显示了化合物1的从约0到约9ppm的¹HNMR谱图。

[0097] 详细描述

[0098] 核苷磷酸酯(例如,核糖核苷衍生物)代表抑制病毒的目标类型的抗病毒药物,所述病毒依赖于使用核糖核苷酸或脱氧核糖核苷酸作为底物的病毒编码酶,如一些用于多种RNA病毒的病毒聚合酶和/或用于RNA(例如ssRNA)或DNA病毒的病毒解旋酶。然而,不希望受到理论的束缚,对这类抗病毒药物的功效的一个阻碍是要求对靶细胞内施用的药剂进行生物化学修饰以形成活性抗病毒核苷三磷酸酯。在一些实施方式中,如果输送核苷,则需要三个磷酸化步骤来形成三磷酸酯。核苷磷酸酯的输送有效地避开了第一次磷酸化,但是可能加剧在临床上有效量的带电药物穿过脂质双层周围细胞的问题。

[0099] 不希望受理论的束缚,脂质结合可以用于将口服药物,包括核苷磷酸酯,伪装为容易被人体吸收的天然化合物。具体地,在一些实施方式中,核苷磷酸酯可以被修饰成部分类似于代谢(单酰基)磷脂。在一些实施方式中,与正常的二酰基磷脂不同,单酰基脂质修饰的核苷可以容易地穿过排在肠内腔中的肠细胞,进入循环血液和/或淋巴,并且与标准药物不同的是,其保持完好。因此,脂质部分不仅可以将核苷传输至血浆中,它可以有效地促进靶细胞的吸收。所述脂质可以在靶细胞的细胞质中裂解,并且在核苷类似物共轭的情况中可以产生相应的单磷酸酯。总的来说,这种方案可大大提高在病毒复制的位点上活性抗病毒药物的水平。

[0100] 本公开提供了化合物、药物组合物以及合成和使用所述化合物治疗或预防病毒感染和病毒感染相关的疾病或病症(例如,单链RNA病毒感染)的方法。

[0101] 在一些实施方式中,与本领域使用的类似化合物相比,本公开的化合物具有改善的功效/毒性比。

[0102] 定义

[0103] 本公开的一些化合物和特定官能团的定义也在下文中更详细的描述。

[0104] 可以理解所述化合物,如本文所描述的,可以被任何数目的取代基或功能部分取代。一般地,术语“取代的”无论前面是否有术语“任选”,以及本公开通式中所含的取代基,是指给定的结构中的氢基被特定取代基替代。当在任意给定结构中不只一个位置可被不只一个选自特定组的取代基取代时,在每个位置上的取代基可以相同或不同。如本文所述,术语“取代的”意在保护有机化合物的所有的可允许的取代基。广泛来讲,所述可允许的取代基包括有机化合物的非环的和环状的,支链的和非支链的,碳环的和杂环的,芳香性的和非芳香性的取代基。为了本发明的目的,例如氮的杂原子可具有氢取代基和/或本文所述的满足杂原子价态的有机化合物的任何可允许的取代基。氮和硫杂原子可以任选地被氧化,并且氮杂原子可以任选被季铵化。本文公开部分(例如烷基,烯基,炔基,烷氧基,芳基,杂芳基,环烷基,环烯基,非芳族杂环基团)上的取代基的例子包括,但不限于,烯基,炔基,卤素,卤代烷基,烷氧基,烷硫基,烷基亚磺酰基,烷基磺酰基,杂芳基,芳基,环烷基,环烯基,非芳族杂环,羟基,氨基甲酰基,氧代,氨基,硝基,叠氮基,-SH和-CN。

[0105] 本公开意在包括在本发明化合物中出现的原子的所有同位素。同位素包括具有相同原子序数但不同质量数的那些原子。特别地,一个、多个或全部氢可以是氘。可以使用放射性同位素,例如用于结构分析或便于追踪给药后化合物或其代谢产物的命运。作为一般实例而非限制,氢的同位素包括氕和氘,碳的同位素包括C-13和C-14。式I的化合物包括其中R₁是H或D;R₂和R₃独立地为H,D,OH,OD,CH₃或CD₃和/或R₄是H,D,CH₃或CD₃的那些。

[0106] 在本文中,术语“独立地”表示独立应用的变量,如原子或官能团,其随着应用独立地变化。例如,当不只一个取代基或原子(碳或杂原子,如氧(O),硫(S),或氮(N))出现时,每个取代基或原子独立于另一个取代基或原子,并且该取代基或原子也可以交替。

[0107] 本文中,术语“烷基”,是指饱和的直链或支链烃基,在一些实施方式中,含有1到20个,包括1到10个,或1到6个碳原子。支链是指一个或多个低级C₁-C₆烷基如甲基、乙基或丙基连接到直链烷基链上。示例性的烷基包括甲基,乙基,正丙基,异丙基,正丁基,叔丁基,正戊基和3-戊基。C₁-C₆烷基的实例包括但不限于甲基,乙基,丙基,异丙基,丁基,叔丁基,新戊基,正己基;C₁-C₈烷基的实例包括但不限于甲基,乙基,丙基,异丙基,正丁基,叔丁基,新戊基,正己基,庚基,辛基。C₁-C₂₀烷基的实例包括但不限于十六甲基,十六烷基乙基,十六烷基丙基,十八烷基甲基,十八烷基乙基,十八烷基丙基等。

[0108] 本文中,术语“烯基”表示衍生自烃部分的一价直链或支链基团,所述烃部分含有,在某些实施方式中,2至6个,或2至8个,或2至20个具有至少一个碳-碳双键的碳原子。所述双键可以是也可以不是其与另一个基团的连接点。C₂-C₈烯基的实例包括但不限于例如乙烯基,丙烯基,丁烯基,1-甲基-2-丁烯-1-基,庚烯基,辛烯基等。如本文所定义,“烯基”基团包括顺式和反式异构体。

[0109] 本文中,术语“炔基”表示衍生自烃部分的一价直链或支链基团,所述烃部分含有,在某些实施方案中,2至6个,或2至8个,或2至20个具有至少一个碳-碳三键的碳原子。所述三键可以是也可以不是其与另一个基团的连接点。C₂-C₈炔基的实例包括但不限于,例如,乙炔基,丙炔基,丁炔基等。

[0110] 术语“烷氧基”是指-O-烷基。

[0111] 术语“硫代烷基”或“烷硫基”是指-S-烷基。在一些实施方式中,硫代基团可以被亚磺酰基(SO)或磺酰基(SO₂)代替。

[0112] 本文中使用的术语“卤”、“卤代”或“卤素”是指选自氟、氯、溴和碘的原子。

[0113] 本文使用的术语“卤代烷基”,“卤代烯基”或“卤代炔基”是指被一个或多个卤素或卤代基团取代的烷基、烯基或炔基。卤代烷基的实例包括但不限于CF₃、CH₂CF₃、CCl₃。

[0114] 本文使用的术语“芳基”是指具有一个或多个稠合或未稠合的芳环的单环或多环碳环系统,包括但不限于苯基,萘基,四氢萘基,二氢茚基,idenyl等。术语芳基包括二氢吡啶。

[0115] 本文中使用的术语“环烷基”表示衍生自单环或多环饱和碳环化合物的一价基团。C₃-C₈-环烷基(3-至8-元环烷基)的实例包括但不限于,环丙基,环丁基,环戊基,环己基,环戊基和环辛基;C₃-C₁₂-环烷基包括但不限于环丙基,环丁基,环戊基,环己基,双环[2.2.1]庚基和双环[2.2.2]辛基等。

[0116] 本文使用的术语“环烯基”表示衍生自单环或多环部分不饱和(即,非芳族)碳环化合物的单价基团。换句话说,它是指衍生自具有至少一个碳-碳双键的单环或多环碳环化合物的一价基团。这样的基团的实例包括但不限于,环丙烯基,环丁烯基,环戊烯基,环己烯基,环庚烯基,环辛烯基等。

[0117] 本文使用的术语“环炔基”表示衍生自具有至少一个碳-碳三键的单环或多环部分不饱和(即,非芳族)的碳环化合物的单价基团。例子包括环辛炔。

[0118] 本文使用的术语“杂芳基”是指具有至少一个芳环的单环或多环(例如,二环或三环或更多)稠合或非稠合的基团或环体系,其具有5至10个环原子,其中至少一个环原子选自S,O,P和N。换句话说,杂芳基是其中含有至少一个杂原子的芳基。杂芳基的实例包括但不限于吡啶基,呋喃基,噻唑基,咪唑基,吡啶基,苯并呋喃基等。

[0119] 术语“5-或6-元杂芳基”,是指具有5至12个环原子的环,其中至少一个环原子选自S,O,P和N。杂芳基包括但不限于,吡啶基,哌嗪基、嘧啶基、吡咯基、吡唑基、咪唑基、噻唑基、恶唑基、异恶唑基、噻二唑基、恶二唑基、噻吩基、呋喃基、喹啉基、异喹啉基、苯并咪唑基、苯并恶唑基、喹喔啉基等。

[0120] 本文中使用的术语“非芳族杂”环或“非芳香族杂环”,是指饱和或不饱和的,非芳族单环或多环,稠合或非稠合体系,其中,例如,至少一个环含有1至4个独立选自氧,硫,磷和氮的杂原子。氮和硫杂原子可以任选被氧化,并且氮杂原子可以任选被季铵化。代表性的非芳族杂环基团包括但不限于[1,3]二氧戊环,吡咯烷基,吡唑啉基,吡唑烷基,咪唑啉基,咪唑烷基,哌啶基,哌嗪基,恶唑烷基,异恶唑烷基,吗啉基,噻唑烷基,异噻唑烷基和四氢呋喃基。

[0121] 本文中使用的术语“氧代”理解为描述羰基(即,C(O))。

[0122] 如本文所述,本公开的化合物可以任选地被一个或多个取代基取代,例如如上一级说明的取代基,或如本公开的具体类别,亚类和种类所列举的取代基。可以理解,短语“任选地取代”与短语“取代或未取代的”可互换使用。通常,术语“取代的”,无论前面是否有术语“任选地”,指的是特定取代基的基团替换给定结构中的氢基。除非另有说明,否则任选取代的基团可以在基团的每个可取代位置上具有取代基,并且当任何给定结构中的不止一个位置可以被选自特定基团的不止一个取代基取代时,在每个位置的取代基可以相同或不

同。

[0123] 本文所述的术语“保护的”是指本公开的官能团或化合物,其在合成中具有暂时掩蔽官能团(例如羟基,氨基,羧基等)的化学特征的保护基团,因为它干扰另一个反应。反应完成后,这些保护性基团通过常规方法去除,或者保护性化合物用作前药或用作本公开的化合物。

[0124] 本文使用的术语“前药”或“药学上可接受的前药”是指在体内迅速转化产生母体化合物的化合物,例如,通过血液中水解(T.Higuchi and V.Stella, Pro-drugs as Novel Delivery Systems, Vol.14 of the A.C.S. Symposium Series; Edward B.Roche, ed., Bioreversible Carriers in Drug Design, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987, 这两篇文献在此引入作为参考)。

[0125] 当在本文中用作形容词时,术语“药学上的”或“药学上可接受的”是指对接受者基本上无毒且基本上无害的。本文中,短语“药学上可接受的”是指在合理的医学判断范围内,适用于与人类和动物的组织接触而没有过度的毒性,刺激性,过敏反应或其他问题或并发症,与合理的利益/风险比相称的那些化合物,材料,组合物,载体和/或剂型。

[0126] “药物制剂”还指载体,溶剂,赋形剂和盐必须与制剂的活性成分(例如本公开的化合物)相容。本领域的普通技术人员应该理解,术语“药物制剂”和“药物组合物”通常是可互换的,因此它们用于本申请的目的,并且包括适用于施用哺乳动物(例如人)的制剂。

[0127] 本文使用的“药物组合物”涉及含有适合于施用于受试者形式的本公开化合物的制剂。在一个实施方案中,所述药物组合物为散装或单位剂型。所述单位剂型是各种形式中的任意一种,包括,例如,胶囊,吊针袋,片剂,气雾剂吸入器或药水瓶中的单个泵。单位剂量组合物中活性组分(例如,本公开化合物或其盐,水合物,溶剂化物或异构体的制剂)的量为有效量,并且根据涉及的具体治疗而变化。本领域技术人员会理解,有时需要根据患者的年龄和状况对剂量进行常规调整。剂量也将取决于给药途径。适用于所需的特定剂型,本文使用的“药学上可接受的载体”可以包括任何和所有溶剂,稀释剂或其它液体载体,分散或悬浮助剂,表面活性剂,等渗剂,增稠剂或乳化剂,防腐剂,固体粘合剂,润滑剂等。Remington's Pharmaceutical Sciences, Sixteenth Edition, E.W.Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1980) 公开了配制药物组合物中使用的各种载体以及制备它们的已知技术。除了任何常见的载体介质与化合物不相容,例如通过产生任何不希望的生物学效应或者以有害的方式与药物组合物的任何其他组分相互作用,其使用被认为在本公开的范围内。可用作药学上可接受的载体的材料的一些实例包括但不限于,糖例如乳糖,葡萄糖和蔗糖;淀粉如玉米淀粉和马铃薯淀粉;纤维素及其衍生物如羧甲基纤维素钠,乙基纤维素和乙酸纤维素;粉状黄芪胶;麦芽;明胶;滑石;赋形剂如可可脂和栓剂蜡;油如花生油,棉籽油;红花油,芝麻油;橄榄油;玉米油和大豆油;乙二醇;如丙二醇;酯如油酸乙酯和月桂酸乙酯;琼脂;缓冲剂如氢氧化镁和氢氧化铝;海藻酸;无热原水;等渗盐水;林格溶液;乙醇和磷酸盐缓冲溶液,以及其它非毒性相容的润滑剂如十二醇硫酸钠和硬脂酸镁,以及着色剂,脱模剂,包衣剂,甜味剂,调味剂和芳香剂,防腐剂和抗氧化剂也可以根据配方师的判断,出现在所述组合物中。“药学上可接受的赋形剂或载体”还涉及用于制备通常是安全的,无毒的,并且在生物学上或其它方面无不良的药物组合物中有用的赋形剂或载体,并且包括兽医用途以及人药用途可接受的赋形剂。所用的“药学上可接受的赋形剂”在说明书和权利要求中包括一种

或不止一种这样的赋形剂。

[0128] 本文公开的化合物包括化合物本身以及它们的盐,它们的溶剂化物和它们的前药,如果适用的话。盐,例如,可以在阴离子和本公开化合物的带正电基团(如,质子化的氨基)之间形成。合适的阴离子包括氯离子,溴离子,碘离子,硫酸根,硫酸氢根,氨基磺酸根,硝酸根,磷酸根,柠檬酸根,甲磺酸根,三氟乙酸根,谷氨酸根,葡萄糖醛酸根,戊二酸根,苹果酸根,马来酸根,琥珀酸根,延胡索酸根,酒石酸根,甲苯磺酸根,水杨酸根,乳酸根,萘磺酸根和乙酸根(例如三氟乙酸根)。术语“药学上可接受的阴离子”是指适于形成药学上可接受的盐的阴离子。同样地,盐也可以在阳离子和本公开的化合物上的带负电的基团(例如羧酸根)之间也形成。合适的阳离子包括钠离子,钾离子,镁离子,钙离子和铵阳离子如四甲基铵离子。本公开的化合物还包括含有四价氮原子的那些盐。前药的实例包括酯和其它药学上可接受的衍生物,其在施用给受试者时能够提供本公开的活性化合物。

[0129] 另外,生理上可接受的即药学上相容的盐可以是本公开化合物与无机或有机酸的盐。优选与无机酸例如盐酸,氢溴酸,磷酸或硫酸形成的盐,或者与有机羧酸或磺酸例如乙酸,三氟乙酸,丙酸,马来酸,延胡索酸,苹果酸,柠檬酸,酒石酸,乳酸,苯甲酸或甲磺酸,乙磺酸,苯磺酸,甲苯磺酸或萘二磺酸形成的盐。

[0130] 其它可以提及的药学上相容的盐是与常规碱形成的盐,例如碱金属盐(例如钠盐或钾盐),碱土金属盐(例如钙盐或镁盐)或铵盐,衍生自氨或有机胺,例如二乙胺,三乙胺,乙基二异丙胺,普鲁卡因,二苄胺,N-甲基吗啉,二氢松香胺或甲基哌啶。

[0131] 本文所使用的“药学上可接受的盐”可指本公开化合物的衍生物,其中母体化合物通过制备它们的酸或碱盐而被修饰。药学上可接受的盐的实例包括但不限于,碱性残基如胺的无机或有机酸盐,酸性残基如羧酸的碱或有机盐等。药学上可接受的盐包括,例如由非毒性无机或有机酸形成的母体化合物的常规非毒性盐或季铵盐。

[0132] 例如,这样的常规无毒盐包括但不限于,衍生自选自2-乙酰氧基苯甲酸,2-羟基乙磺酸,乙酸,抗坏血酸,苯磺酸,苯甲酸,氢碳酸,碳酸,柠檬酸,乙底酸,乙二磺酸,1,2-乙磺酸,延胡索酸,葡庚糖酸,葡萄糖酸,谷氨酸,乙醇酸,乙二醇甲硅烷,己基间苯二甲酸,羟氨基甲酸,氢溴酸,盐酸,氢碘酸,羟基马来酸,羟基萘甲酸,羟乙磺酸,乳酸,乳糖酸,月桂基磺酸,马来酸,苹果酸,扁桃酸,甲磺酸,萘磺酸,硝酸,草酸,双羟萘酸,泛酸,苯乙酸,磷酸,聚半乳糖醛酸,丙酸,水杨酸,硬脂酸,乙酸,琥珀酸,胺基磺酸,磺胺酸,硫酸,单宁酸,酒石酸,甲苯磺酸和通常存在的氨基酸,例如,甘氨酸,丙氨酸,苯丙氨酸,精氨酸等。

[0133] 药学上可接受的盐的其他实例可以包括己酸,环戊烷丙酸,丙酮酸,丙二酸,3-(4-羟基苯甲酰基)苯甲酸,肉桂酸,4-氯苯磺酸,2-萘磺酸,4-甲苯磺酸,樟脑磺酸,4-甲基双环-[2.2.2]-辛-2-烯-1-羧酸,3-苯基丙酸,三甲基乙酸,叔丁基乙酸,粘康酸等。本发明还包括当母体化合物中存在的酸质子被金属离子置换或者与有机碱配合形成的盐,所述金属离子为,例如,碱金属离子或碱土金属离子,例如铝离子;所述有机碱为,例如,乙醇胺,二乙醇胺,三乙醇胺,氨丁三醇,N-甲基葡萄糖胺,二乙胺,二乙氨基乙醇,乙二胺,咪唑,赖氨酸,精氨酸,吗啉,2-羟基乙基吗啉,二苄基乙二胺,三甲胺,哌啶,吡咯烷,苄胺,四甲基氢氧化铵等。

[0134] 应该理解,药学上可接受的盐的所有引用包括相同盐的如本文所定义的溶剂加形式(溶剂化物)或晶型(多晶型物)。

[0135] 本公开的化合物也可以制备成前药。在一些实施方式中,将一种或多种本公开的

化合物配制成前药。在一些实施方式中,在体内施用,前药化学转化为生物学,药学或治疗学上更具活性的形式。在一些实施方式中,前药是有用的,因为它们比相应的活性形式更容易施用。例如,在一些情况下,前药可能比相应的活性形式更具生物利用性(例如通过口服给药)。在一些情况下,与相应的活性形式相比,前药可能具有改善的溶解性。在一些实施方式中,前药比相应的活性形式的水溶性差。在一些情况下,这样的前药具有优异的穿细胞膜(在这里水溶液对流动性不利)的能力。在一些实施方式中,前药为酯。在一些这样的实施方式中,所述酯在施用时代谢水解为羧酸。在一些情况下所述含羧酸的化合物为相应的活性形式。在一些实施方式中,前药包含与酸基团结合的短肽(聚氨基酸)。在一些这样的实施方式中,肽在施用时分裂以形成相应的活性形式。

[0136] 在一些实施方式中,前药通过修饰药学上活性化合物制得,使得所述活性化合物在体内施用时可以再生。所述前药可以设计为该改变药物的代谢稳定性或穿透性,掩盖副作用或毒性,改善药物的风味或改变药物的其他特征或性质。借助于体内药效学过程或药物代谢的知识,本领域技术人员,一旦药物活性化合物已知,可以设计该化合物的前药(见,例如,Nogrody (1985) Medicinal Chemistry A Biochemical Approach, Oxford University Press, New York, pages 388-392)。

[0137] 此外,本公开的化合物,例如,所述化合物的盐,可以以水合或非水合(无水)形式或与其他溶剂分子形成溶剂化物而存在。水合物的非限制性实例包括一水合物,二水合物等。溶剂化物的非限制性实例包括乙醇溶剂化物,丙酮溶剂化物等。

[0138] 本公开的一些化合物可以以非溶剂化以及溶剂化形式(例如水合物)存在。

[0139] “溶剂化物”是指溶剂加成形式,其含有化学计量或非化学计量的量的溶剂。一些化合物在结晶固体状态下倾向于捕获固定摩尔比例的溶剂分子,从而形成溶剂化物。如果溶剂是水,则形成的溶剂化物是水合物,当溶剂是醇时,形成的溶剂化物是醇化物。水合物是通过一个或多个水分子与所述物质之一结合而形成的,其中水保持其分子状态 H_2O ,这种结合能够形成一种或多种水合物。在水合物中,水分子通过分子间作用力(特别是氢桥)通过次价键连接。固体水合物含有化学计量比的所谓结晶水,其中水分子在结合状态方面不必相同。水合物的实例是倍半水合物,一水合物,二水合物或三水合物。本发明化合物的盐的水合物也是合适的。

[0140] 本公开还包括本文所述化合物的代谢物。来自化学化合物的代谢物,无论是固有的还是药物的,都是在降解和消除化合物的天然生化过程中形成的。化合物的降解速率是其作用持续时间和作用强度的重要决定因素。分析药物化合物的代谢物,药物代谢,是药物研发的重要部分,会使人们了解任何不希望的副作用。

[0141] 本文使用的术语“治疗(动词)”,“治疗(动名词)”或“治疗(名词)”是指在任何可观测程度上降低当前患有该病症的患者的症状、标记,和/或任何副作用。在一些实施方式中,可以仅向表现出早期症状的受施者施用治疗以降低发展为所述疾病、病症和/或状况的风险。

[0142] 本文使用的术语“预防(动词)”,“预防(名词)”或“预防(动名词)”是指部分或完全预防或延迟疾病、病症和/或状况的一种或多种症状或特征发作的任何方法。预防治疗可以施用于无疾病、病症和/或状况迹象的受试者。

[0143] 本文所用的术语“治疗有效量”是指用于治疗、减轻或预防已确定的疾病或状况,或表现出可检测的治疗或抑制效果的药剂的量。该效果可以通过本领域已知的任何分析方

法来检测。本文中所用的“治疗有效量”也可以指对患者有临床可观察的改善所需要的量。在一些实施方式中,所述组合物按照配方配制,这样,它包含不会引起一种或多种不希望的副作用的量。药剂的有效量也可以是指临床医生或其他有资格的观察者所指出的客观可识别的改善。

[0144] 如本文所用,术语“治疗有效量”是指用于治疗、改善或预防所识别的疾病或病症或表现出可检测的治疗或抑制作用的药剂的量。该效应可以通过本领域已知的任何测定方法来检测。如本文所用,“治疗有效量”还可以意指使临床观察到的患者改善所必需的量。受试者的确切有效量取决于受试者的体重、身材和健康状况;病况的性质和程度;和选择施用的治疗剂或治疗方法的结合。对于给定情况的治疗有效量可以通过临床医师的技能和判断范围内的常规实验确定。

[0145] 本文使用的“受试者”是指人或动物(在动物的情况下,更典型地是哺乳动物)。在一个方面中,所述受试者是人。在一个方面中,所述受试者是男性。一个方面,所述受试者是女性。

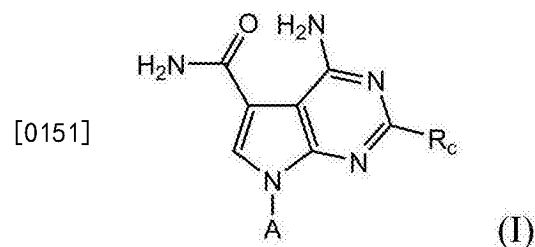
[0146] 本公开的化合物还可以制备为酯,例如,药学上可接受的酯。例如,化合物中的羧酸官能团可以转化为其相应的酯,例如甲基、乙基或其他酯。并且,化合物中的醇或羟基可以转化为其相应的酯,例如乙酸酯、丙酸酯或其它酯。

[0147] 本公开内容包括通常由式I、式IA、式IB或式II表示的新化合物或其药学上可接受的盐,以及其制备方法和用途。

[0148] 在整个说明书中,在组合物被描述为具有、包括或包含特定组分时,被考虑在内的是所述组合物也本质上是由所述组分组成,或所述组合物是由所述组分组成。

[0149] 化合物

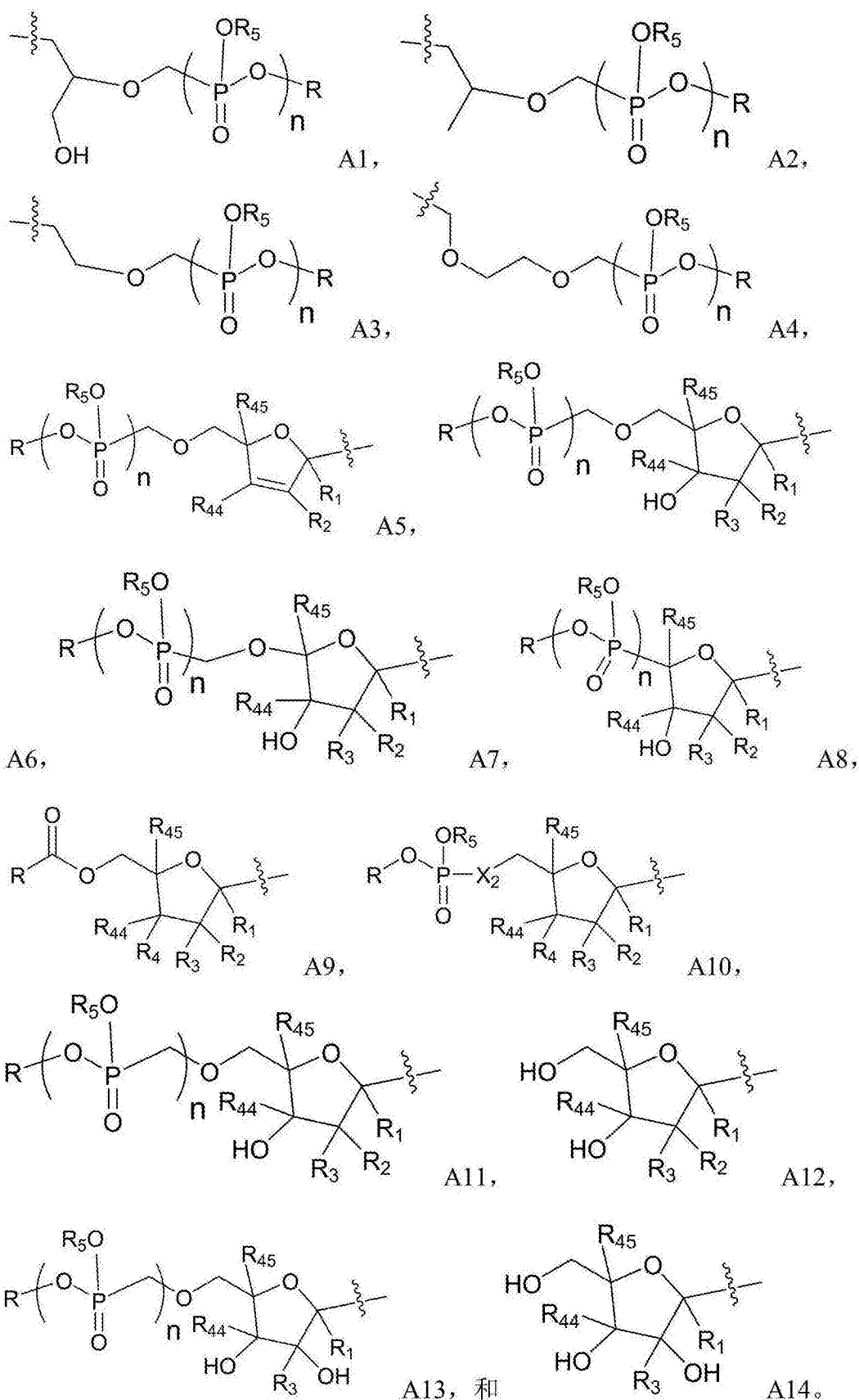
[0150] 在一个方面中,本公开涉及式I的化合物:



[0152] 和其药学上可接受的对映异构体、非对映异构体、外消旋体、混合物、溶剂化物或其盐,其中,Rc和A如上文定义。

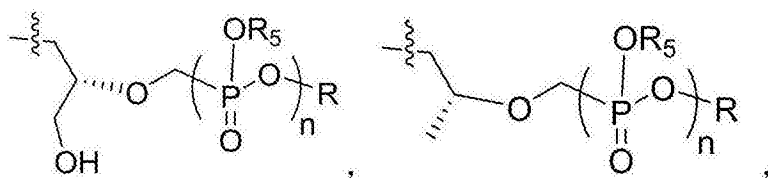
[0153] 在式I、式IA或式IB的一个或多个实施方式中,A选自A1到A14,其中R可以是R^I R^{IA}或R^{IB}:

[0154]

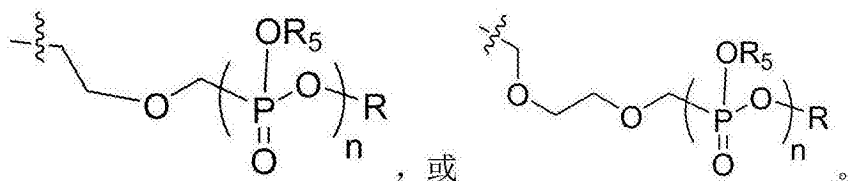


[0155]

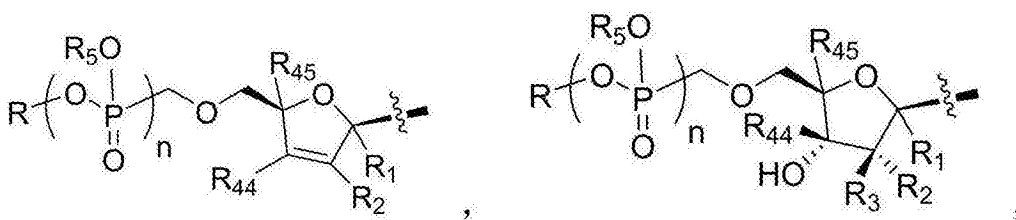
[0156] 在式I、式IA或式IB的一个或多个实施方式中,A选自A1到A14,其中R可以是R^I R^{IA}或R^{IB}:



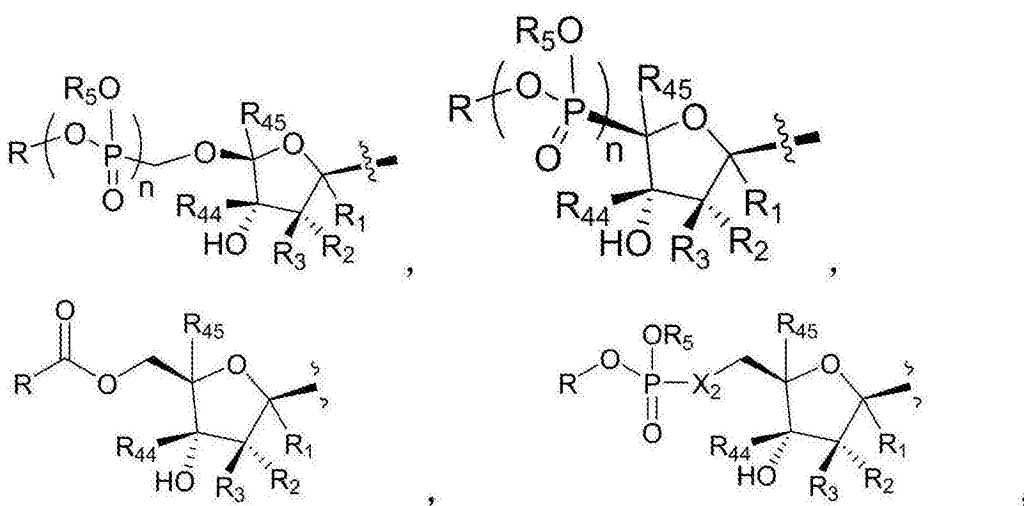
[0157]



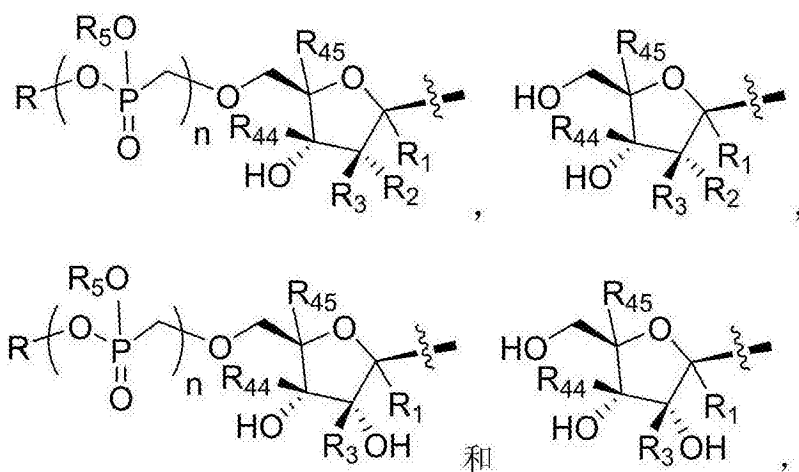
[0158] 在式I、式IA或式IB的一个或多个实施方式中,A选自A1到A14,其中R可以是R^I R^{IA}或R^{IB}:



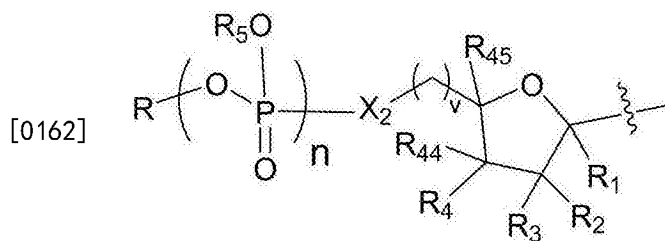
[0159]



[0160]

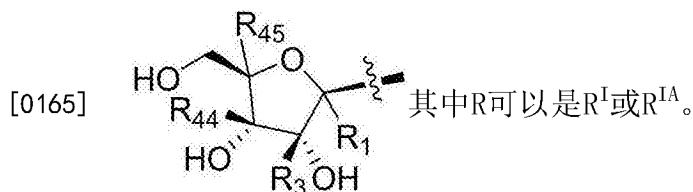


[0161] 在式I、式IA或式IB的一个或多个实施方式中,A为



[0163] 其中R可以是R^I或R^{IA}。

[0164] 在式I、式IA或式IB的一个或多个实施方式中,A为

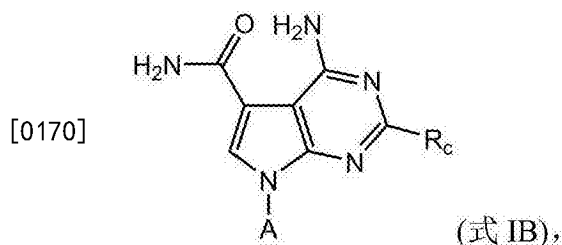


[0166] 在一个或多个实施方式中,式I的化合物可以具有以下特征中的一个或多个。 R_4 为H、取代或未取代的C₁-C₆烷基、NH₂、OH或SH。 R_4 可以是任选地被一个或多个卤素取代的C₁-C₆烷基。 R_4 可以是甲基、CH₂X、CHX₂或CX₃,其中X是卤素。 R_4 可以是戊基。 R_1 可以是氢。 R_2 和 R_3 可以各自独立地为氢、CH₃、CH₂X、CHX₂、CX₃、N₃、OH或NH₂,其中X是卤素, R_5 可以是H、M、C₁-C₆烷基、苯基或苄基。 M^+ 可以是Na⁺、Li⁺、K⁺、Ca²⁺、Mg²⁺或NR_gR_dR_eR_f⁺,其中R_g,R_d,R_e和R_f各自独立地为氢或C₁-5烷基,R^I可以是H。当X₂不存在时,v可以为0。 R_1 可以是氢。 R_{45} 可以是氢。 R_c 可以是C₁-C₆烷基,例如甲基。

[0167] 在式I或式IA的化合物的一个或多个实施方式中, R_1 为-H。在一个或多个实施方式中, R_2 为-OH。在一个或多个实施方式中, R_4 为-OH。在一个或多个实施方式中, R_2 和 R_4 各自为-OH。在一个或多个实施方式中, R_3 为-H。在一个或多个实施方式中, R_{44} 为-H。在一个或多个实施方式中, R_3 和 R_{44} 各自为-OH。在一个或多个实施方式中,R^{IA}为-H。在一个或多个实施方式中, R_c 为-CH₃。在一个或多个实施方式中,v为1,X₂为-O-,n为0,R^I为-H。在一个或多个实施方式中,v为1,X₂为-O-,n为0,R^{IA}为-H。

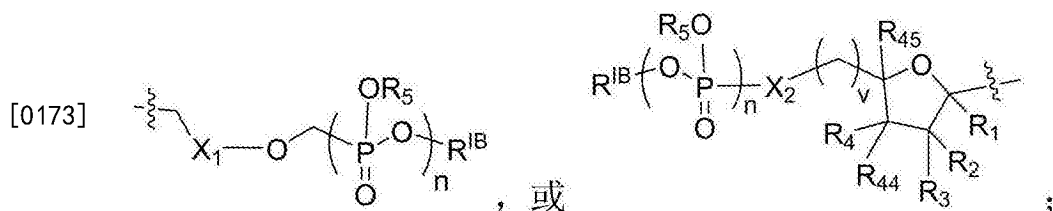
[0168] 在式II的化合物的一个或多个实施方式中, R^a 和 R^b 均为-H。在一个或多个实施方式中, R^c 为-H。在一个或多个实施方式中,n为0。在一个或多个实施方式中,R^{II}为-H。在一个或多个实施方式中, R^a 、 R^b 和 R^c 为-H。在一个或多个实施方式中, R^a 、 R^b 和 R^c 为-H并且n为0。在一个或多个实施方式中, R^a 、 R^b 和 R^c 为-H。在一个或多个实施方式中, R^a 、 R^b 和 R^c 为-H,n为0并且R^{II}为-H。

[0169] 在一个或多个实施方式中,本公开提供了式IB的化合物:



[0171] 和其药学上可接受的盐、溶剂化物,对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物,其中:

[0172] A为:

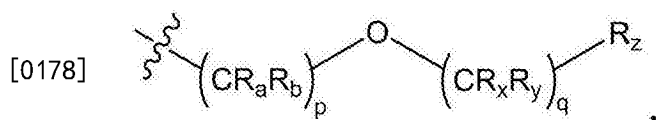


[0174] X_1 为 $-\text{CR}_{11}\text{R}_{12}-$ 或 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$,其中氧原子远离A中的 R^{IB} 部分;

[0175] R_{11} 和 R_{12} 独立为氢或 C_1 - C_4 烷基,其中所述烷基任选地被一个或多个卤素、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 或 $-\text{NH}_2$ 取代;

[0176] X_2 为不存在, $-\text{O}-$, $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$,或 $-\text{OCH}_2-$,其中氧原子远离A中的 R^{IB} 部分;

[0177] 每个 R^{IB} 独立为氢, $-\text{C}_1$ - C_6 烷基,



[0179] 或 R^{IB} 是通过羰基基团结合的氨基酸残基,其中所述烷基任选地一个或多个卤素、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 或 $-\text{NH}_2$ 取代;

[0180] v 为0或1;

[0181] n 为0、1、2或3并且当 X_2 为 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 时, n 为0;

[0182] p 为2、3、4、5、6、7、8、9、10或11;

[0183] q 为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17或18;

[0184] R_z 为氢、卤素、 $-\text{C}_1$ - C_4 烷硫基、 $-\text{C}_1$ - C_4 烷氧基、 $-\text{C}_1$ - C_4 烷基、 $-\text{C}_2$ - C_4 烯基、 $-\text{C}_2$ - C_4 炔基、芳基、杂芳基、 $-\text{C}_3$ - C_8 环烷基、 $-\text{C}_4$ - C_8 环烯基或3-至5-元非芳族杂环,其中每个烷硫基、烷氧基、烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、环烷基、环烯基或杂环任选地被一个或多个卤素、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 或 $-\text{NH}_2$ 取代;

[0185] R_a 、 R_b 、 R_x 和 R_y 各自独立选自氢、卤素、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{C}_1$ - C_6 烷氧基、芳氧基、 $-\text{C}_1$ - C_6 烷硫基、芳硫基、 $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_1$ - C_6 烷基、 $\text{OC}(\text{O})$ 芳基、 $-\text{C}_1$ - C_6 烷基、 $-\text{C}_2$ - C_6 烯基、 $-\text{C}_2$ - C_6 炔基、芳基、杂芳基、 $-\text{C}_3$ - C_8 环烷基和 $-\text{C}_4$ - C_8 环烯基,其中每个烷氧基、芳氧基、烷硫基、芳硫基、烷基、芳基、烯基、炔基、杂芳基、环烷基或环烯基任选地被一个或多个卤素、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 或 $-\text{NH}_2$ 取代;

[0186] 或任意两个 R_a 或 R_b ,与它们两个所连接的原子一起可以结合形成 C_3 - C_8 螺环烷基或3-至8-元螺杂环;

[0187] 或任意两个 R_a 或 R_b ,当在两个相邻的原子上时,可以结合形成顺式-或反式-碳-碳双键或碳-碳三键;

[0188] 或任意两个 R_a 或 R_b ,当在两个相邻的原子上时,可以结合形成芳基、杂芳基、 $-\text{C}_3$ - C_{10} 环烷基、 $-\text{C}_4$ - C_{10} 环烯基或5-至10-元环杂环;

[0189] 或任意 CR_aR_b 可以被 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{S}(\text{O})-$ 或 $-\text{SO}_2-$ 替换;

[0190] 或任意两个 R_x 或 R_y 与它们两个所连接的原子一起可以结合形成 $-\text{C}_3$ - C_8 螺环烷基或3-至8-元螺杂环;

[0191] 或任意两个 R_x 或 R_y ,当在两个相邻的原子上时,可以结合形成顺式-或反式-碳-碳双键或碳-碳三键;

[0192] 或任意两个 R_x 或 R_y ,当在两个相邻的原子上时,可以结合形成芳基、杂芳基、 $-\text{C}_3$ - C_{10}

环烷基、-C₄-C₁₀环烯基或5-至10-元环杂环；

[0193] 或任意CR_xR_y可以被-O-、-S-、-S(O)-或-SO₂-替换；

[0194] R₁和R₄₅各自独立为氢、卤素、-N₃、-OH、-NH₂、-SH、-C₁-C₆烷基、-C₃-C₆环烷基、-C₂-C₆烯基、-C₄-C₈环烯基、-C₂-C₆炔基、-C₈-C₁₂环炔基、-C₁-C₆烷氧基或-C₁-C₆烷硫基，其中每个烷基、环烷基、烯基、环烯基、炔基、环炔基、烷氧基或烷硫基独立被一个或多个卤素、-N₃、-OH、-NH₂或-SH取代；

[0195] R₂、R₃、R₄和R₄₄各自独立为氢、卤素、-N₃、-OH、-NH₂、-SH、-C₁-C₆烷基、-C₁-C₆烷氧基或-C₁-C₆烷硫基，其中每个烷基、烷氧基或烷硫基任选地被一个或多个卤素、-OH、-NH₂或-SH取代；

[0196] 或R₃以及R₄和R₄₄中的一个与它们所连接的原子一起可以形成碳-碳双键；

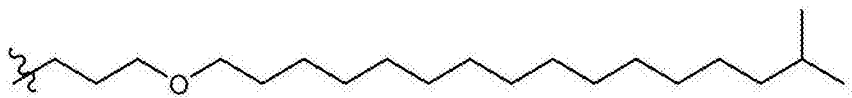
[0197] R₅独立为氢、-R^{IB}、M⁺、芳基、芳烷基、-C₁-C₆烷基、-C₁-C₆杂烷基、环烷基、非-芳族杂环或杂芳基，其中M⁺为阳离子，并且其中每个芳基、芳烷基、烷基、杂烷基、环烷基、杂环或杂芳基任选地被一个或多个卤素、N₃、-OH、-NH₂或-SH取代，其中，R₅不为氨基酸；以及

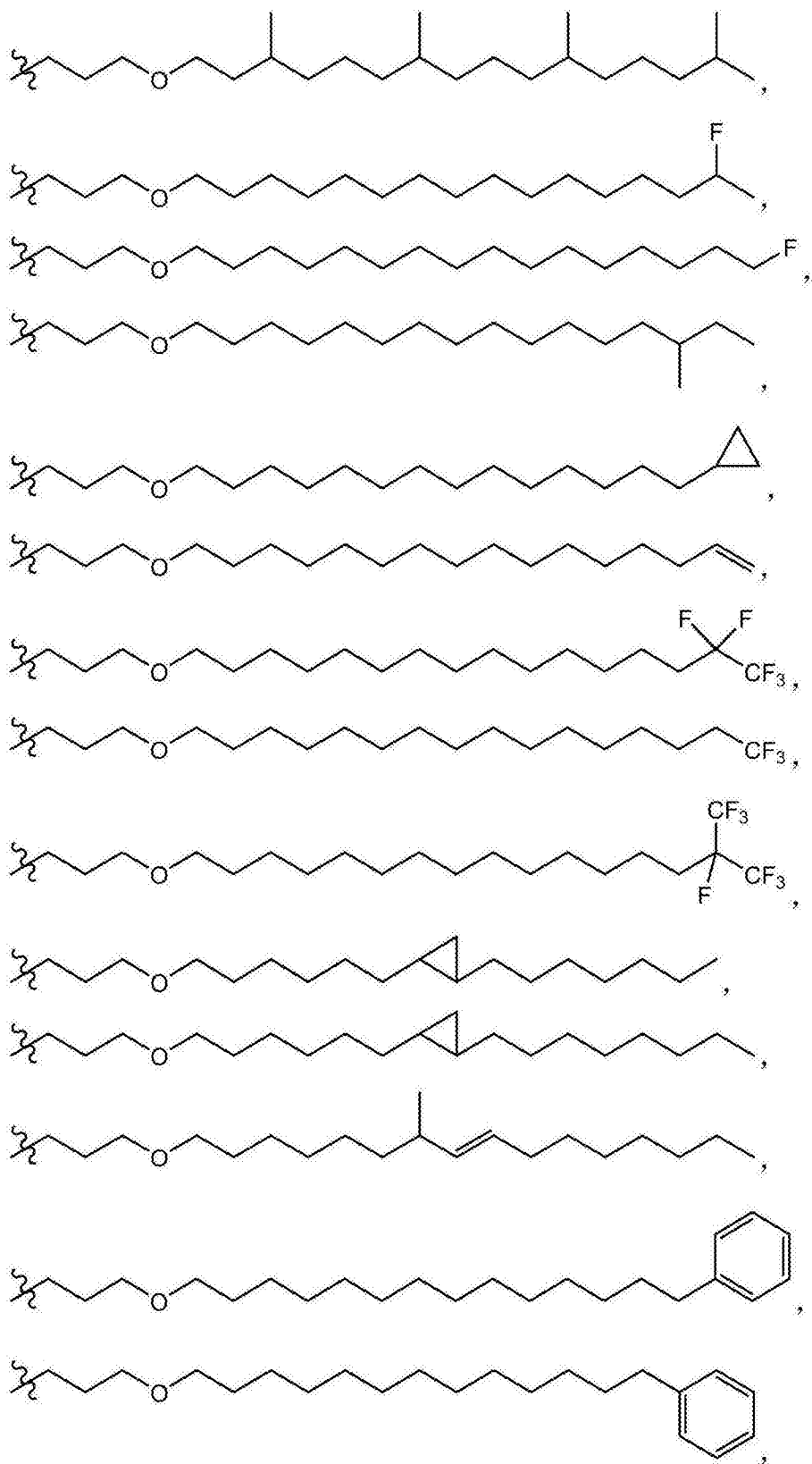
[0198] R_c为-C₁-C₆烷基、-C₃-C₆环烷基、-C₂-C₆烯基、-C₄-C₈环烯基、-C₂-C₆炔基、-C₈-C₁₂环炔基或芳基，其中每个烷基、环烷基、烯基、环烯基或芳基任选地被一个或多个卤素、-N₃、-OH、-NH₂或-SH取代；

[0199] 在一个或多个实施方式中，R^I，R^{IA}，R^B或R^{II}选自-H、

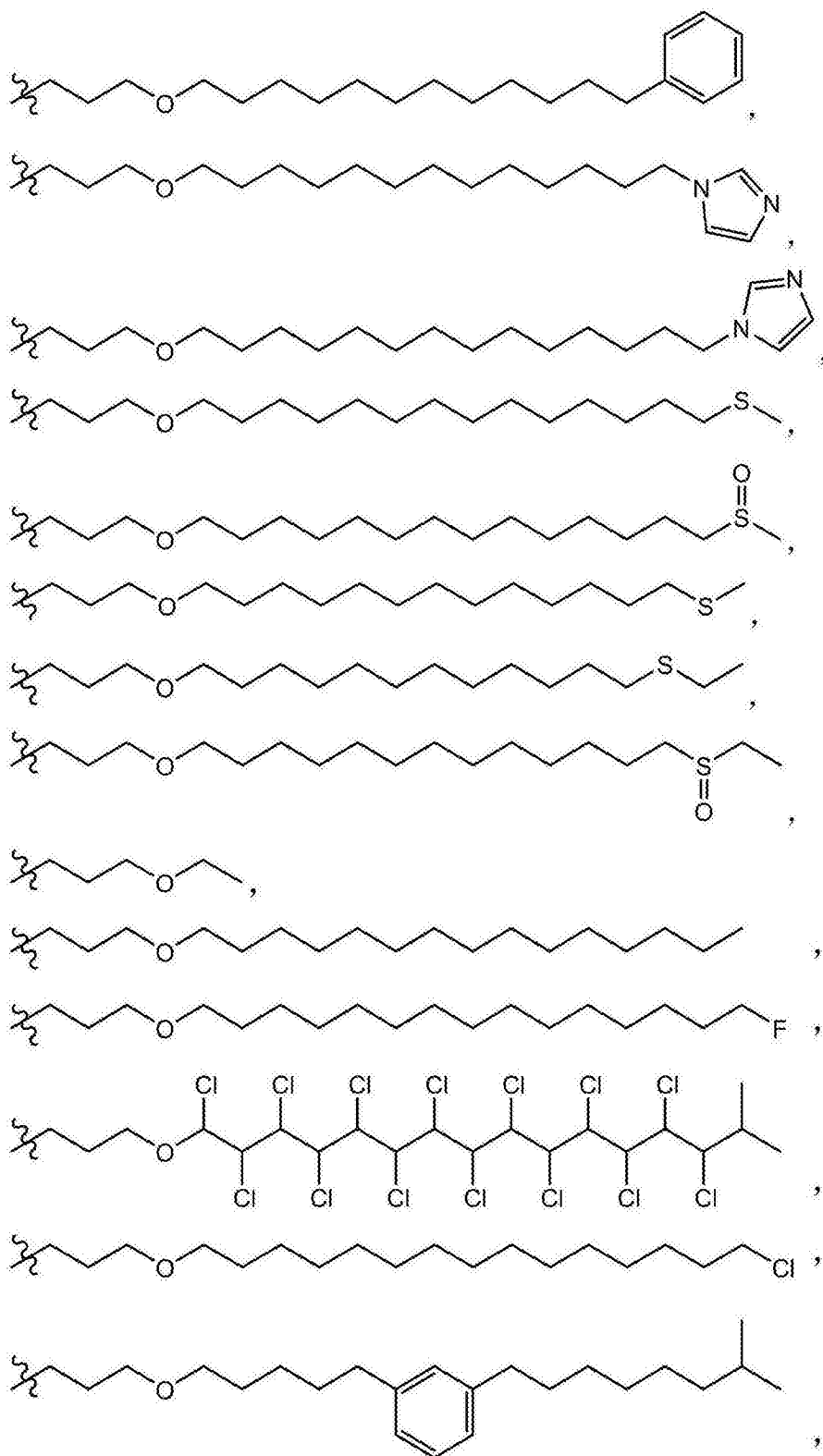


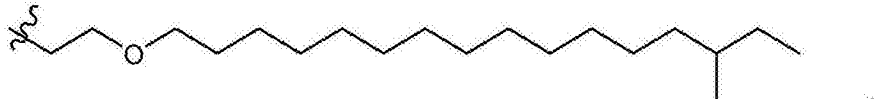
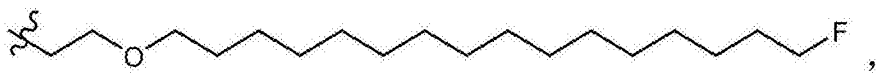
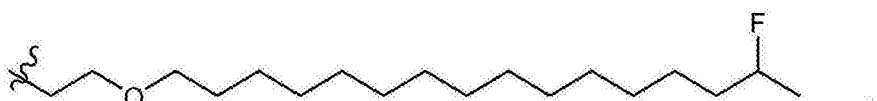
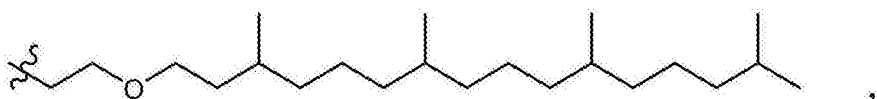
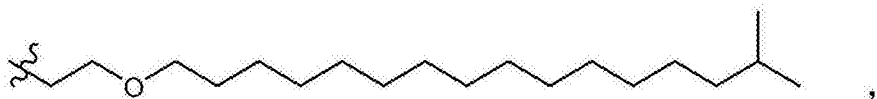
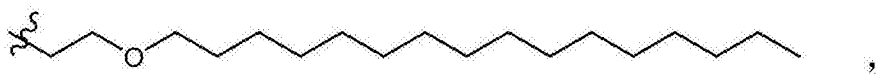
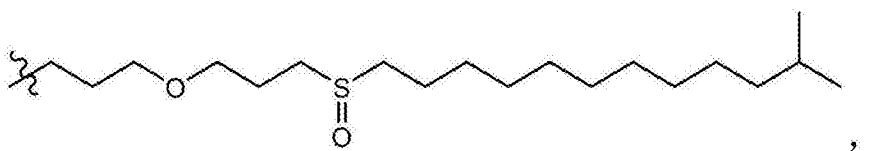
[0200]



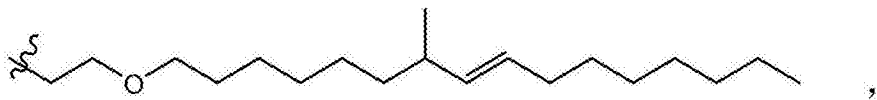
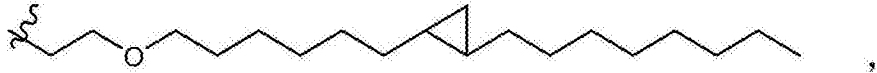
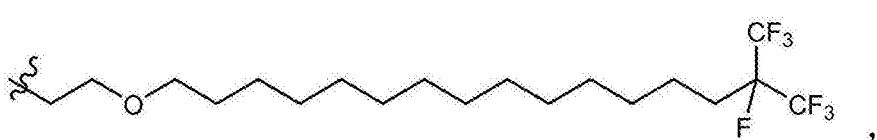
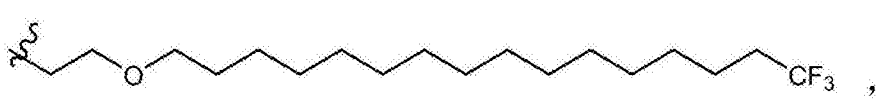
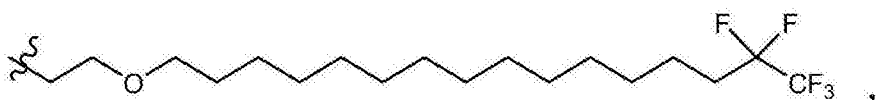
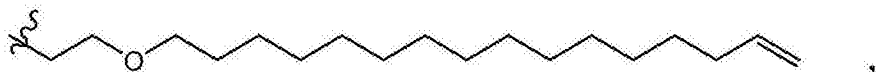
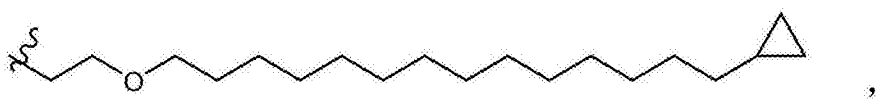


[0202]

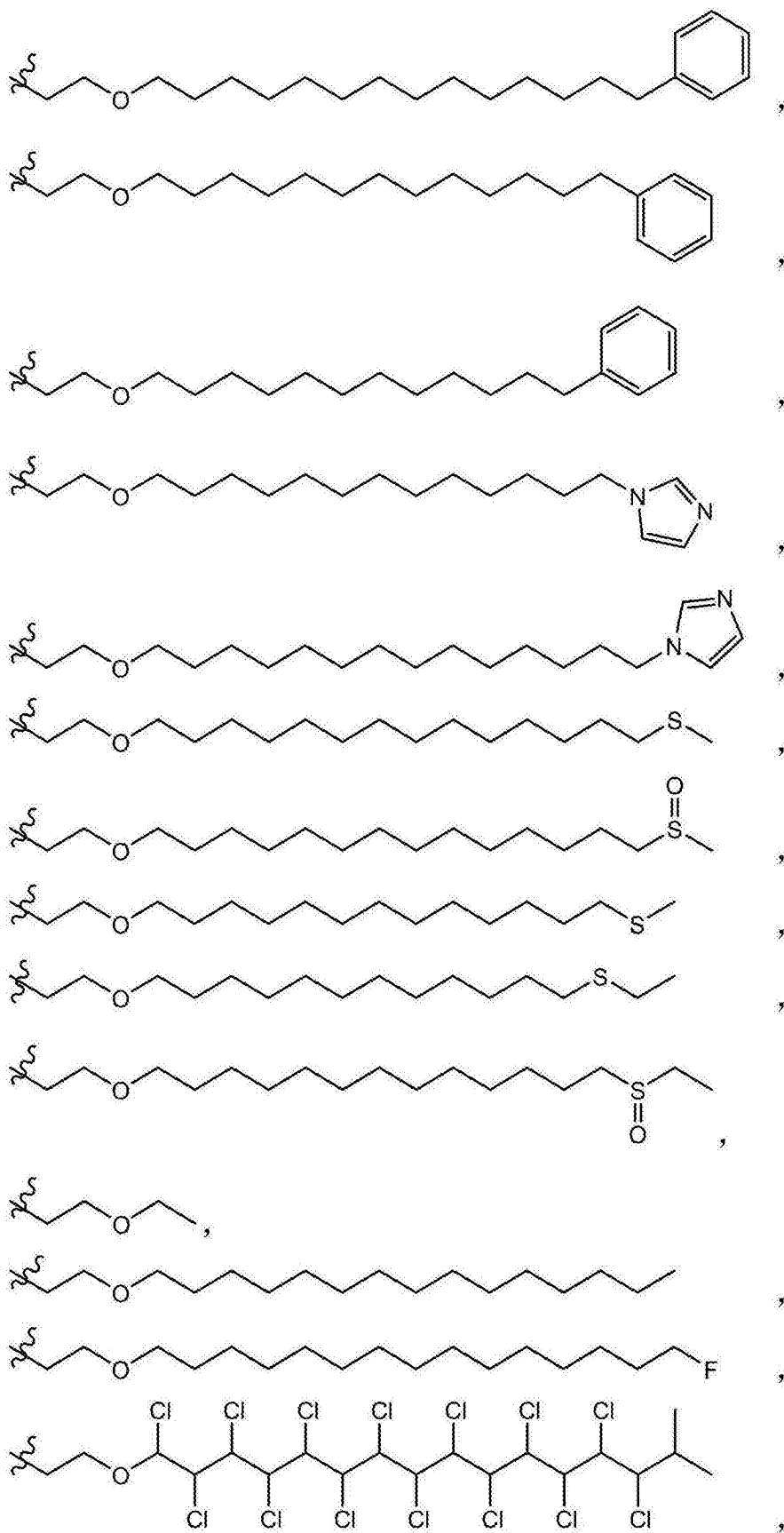


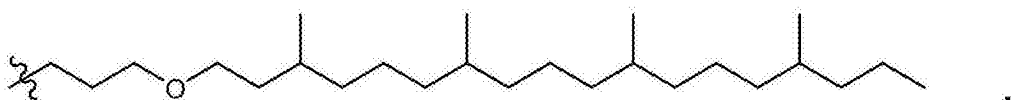
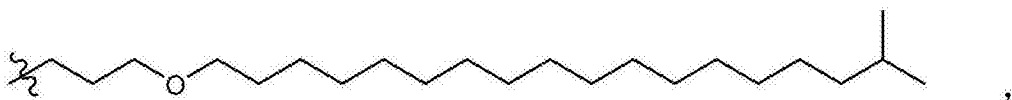
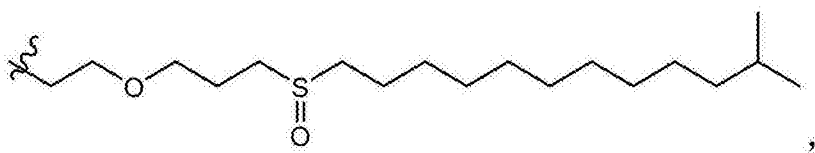
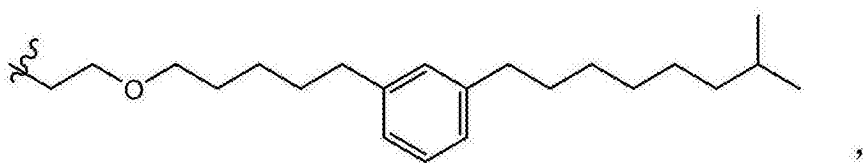


[0203]

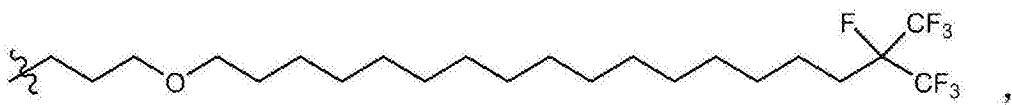
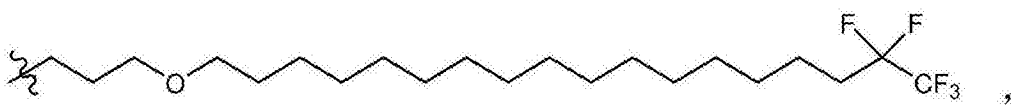
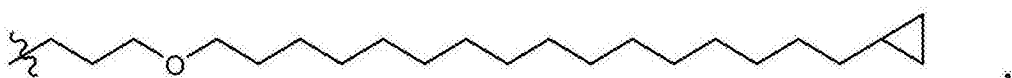
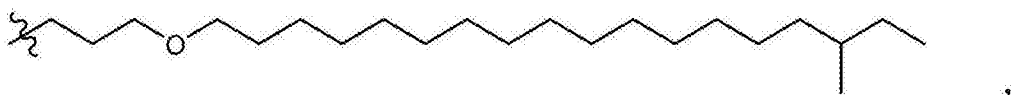
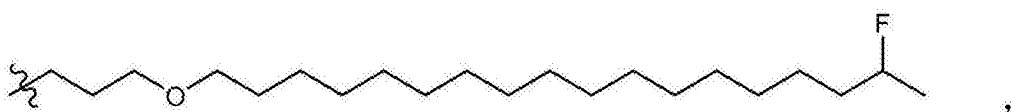


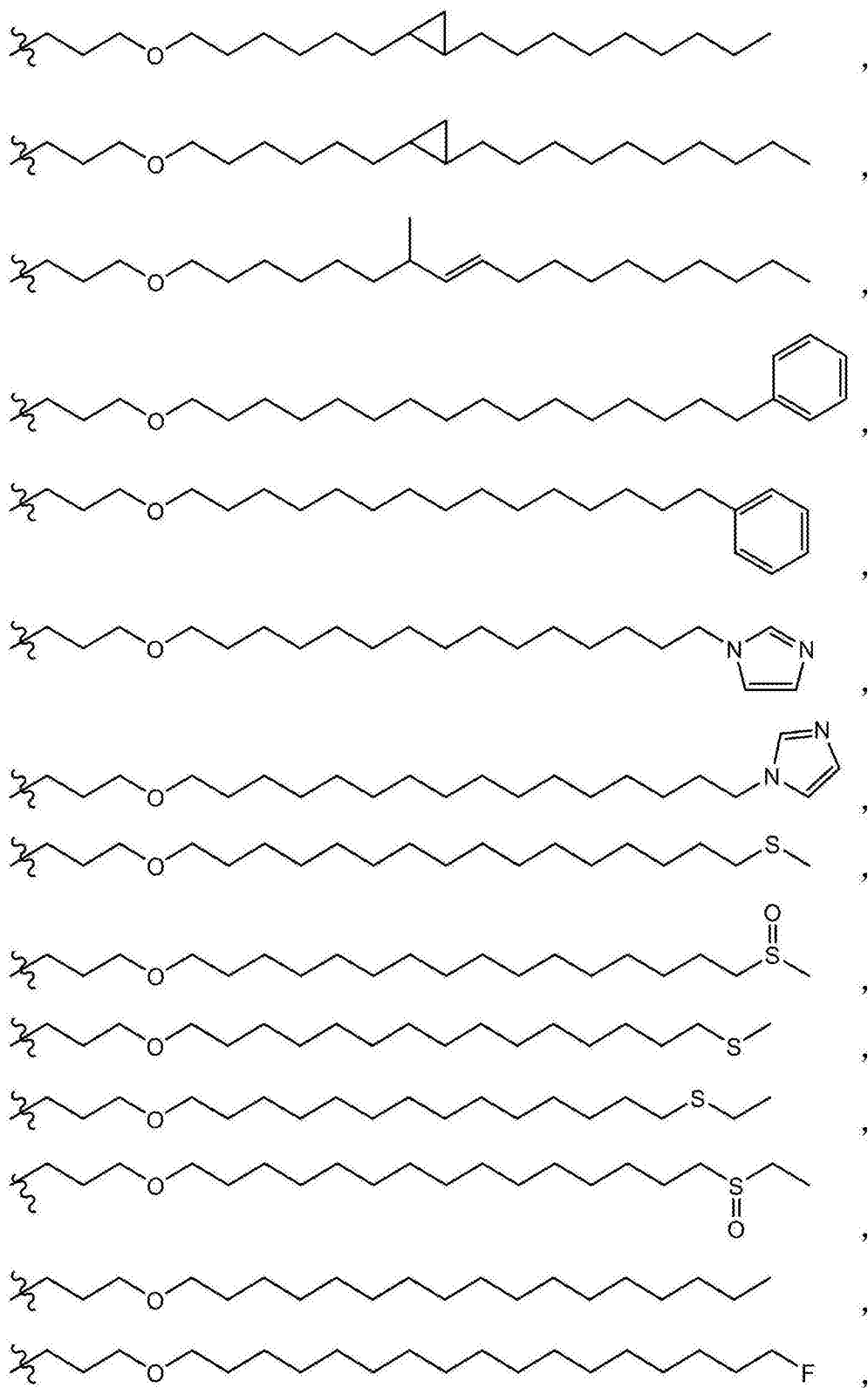
[0204]

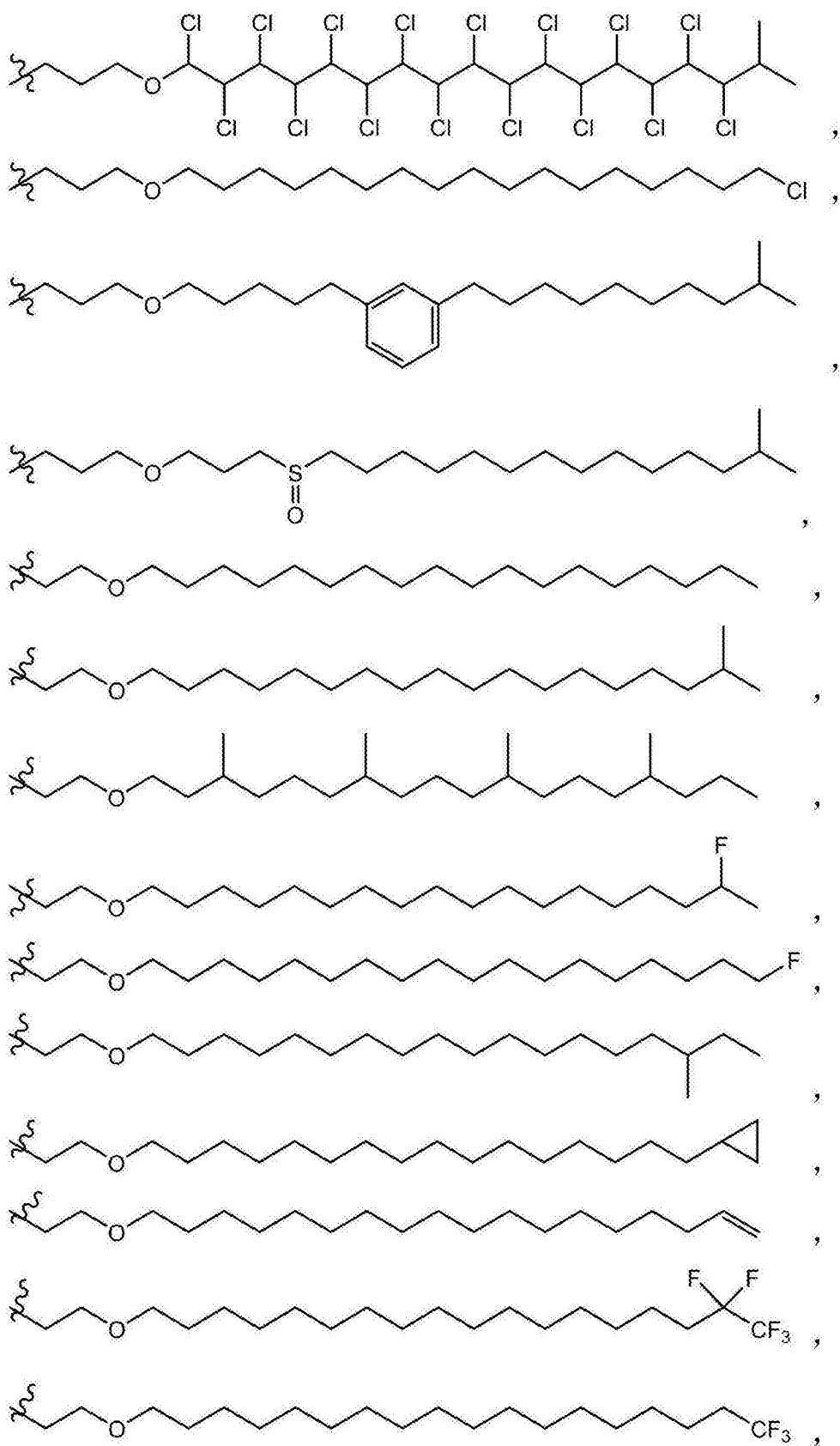




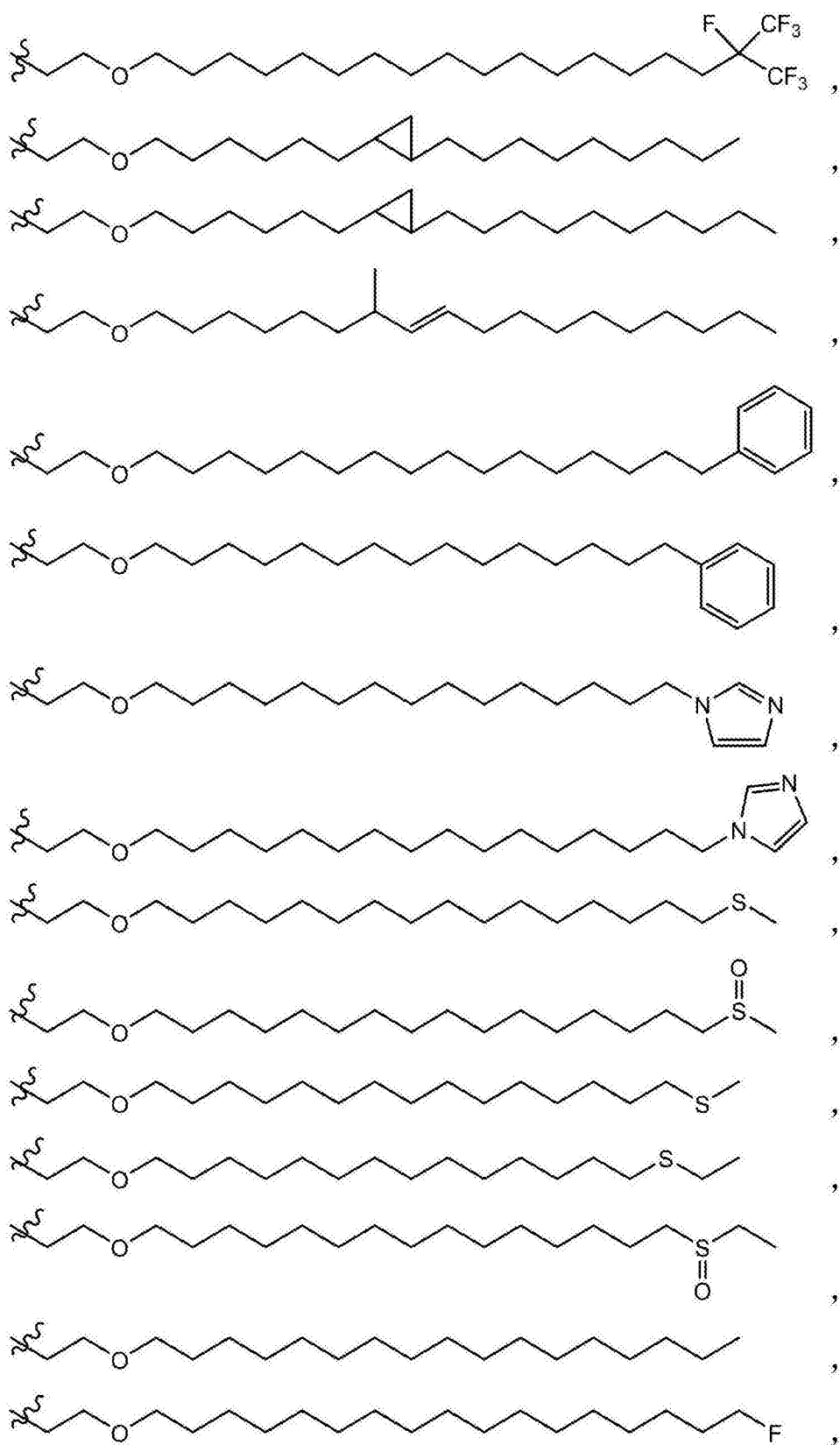
[0205]



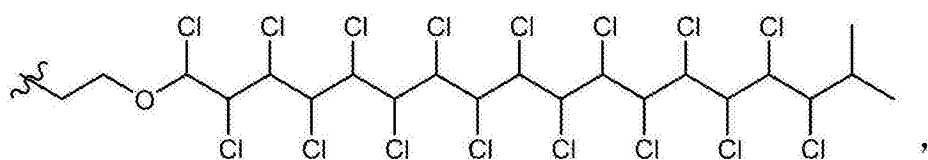


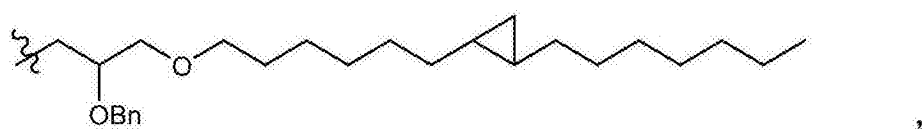
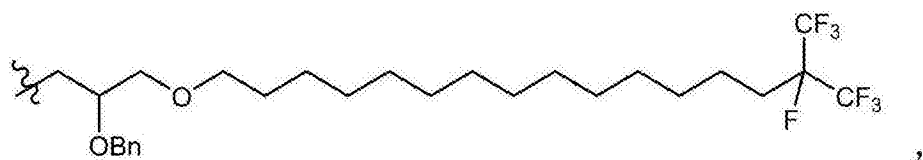
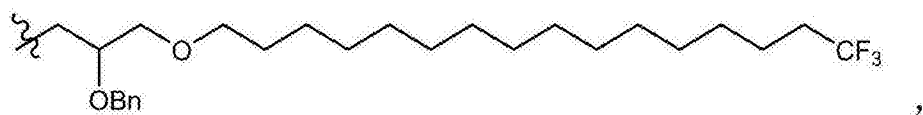
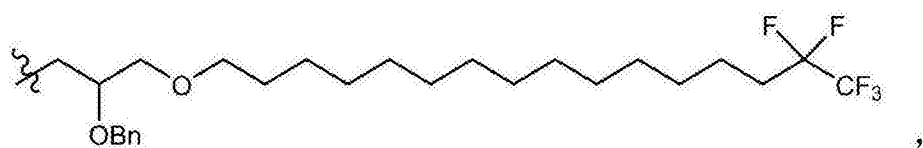
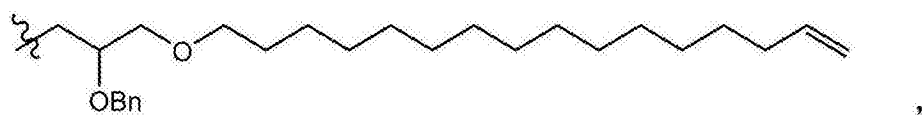


[0207]

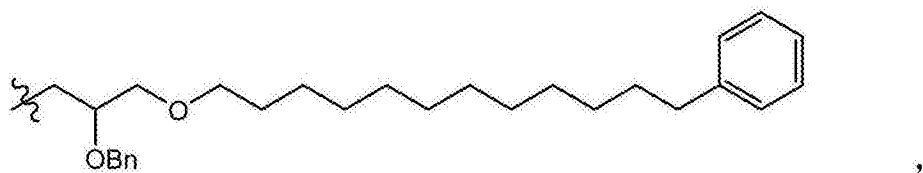
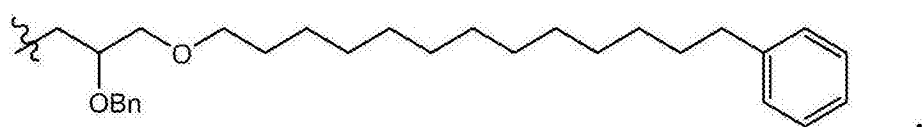
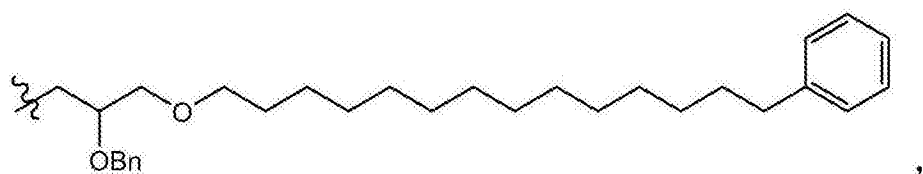
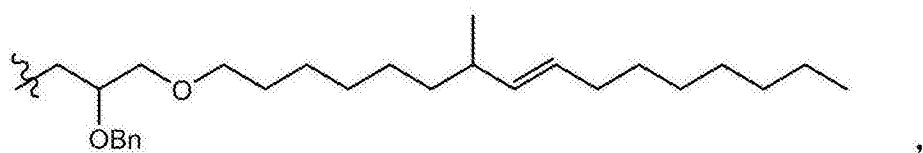
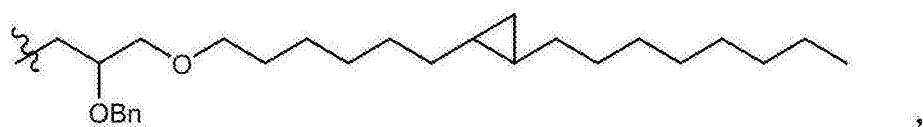


[0208]

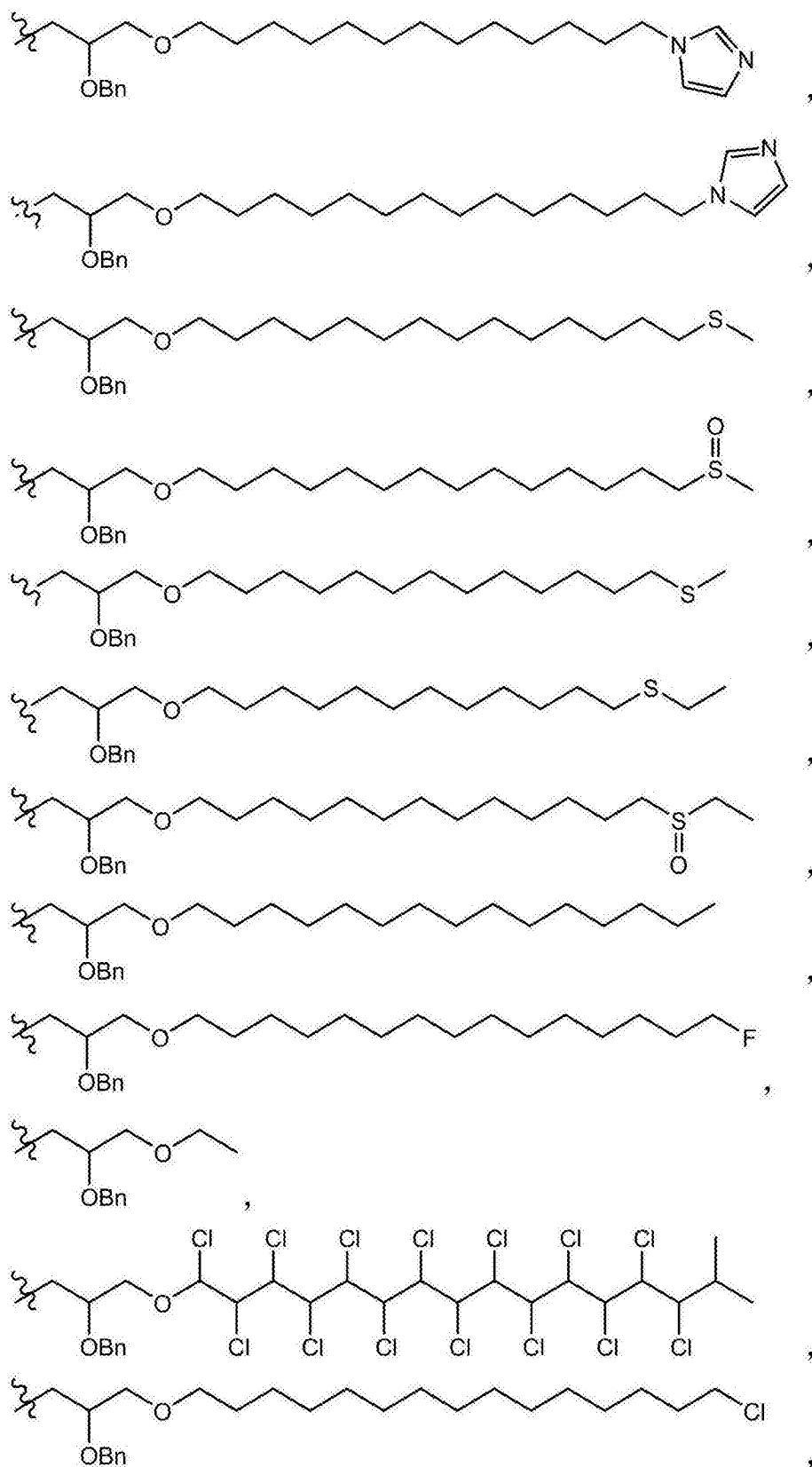


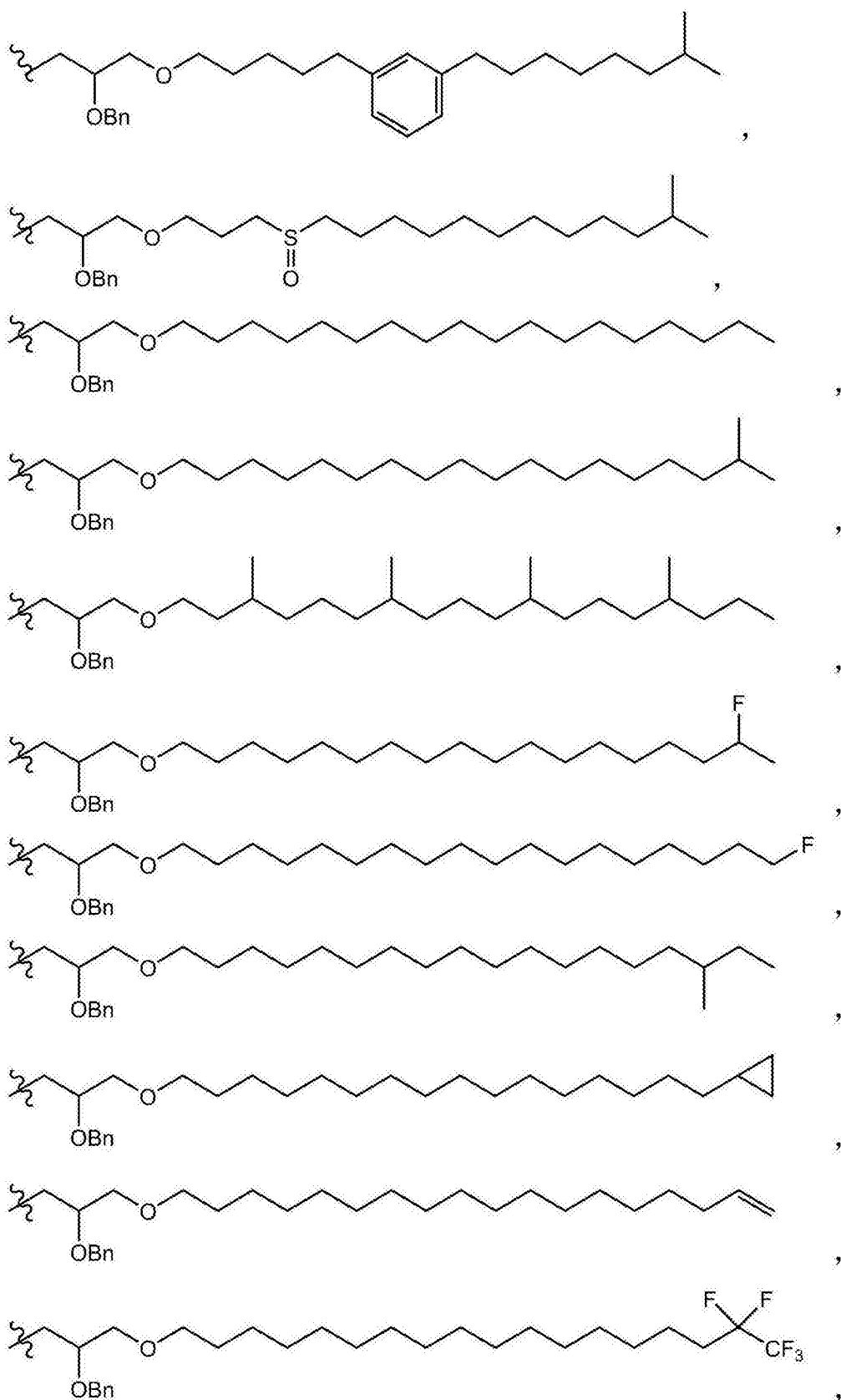


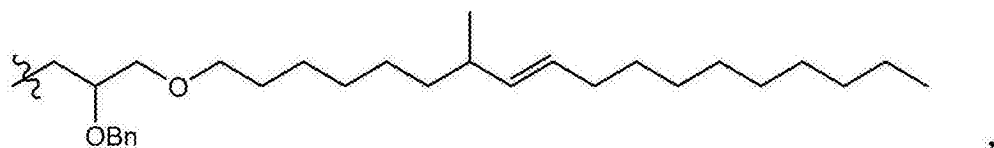
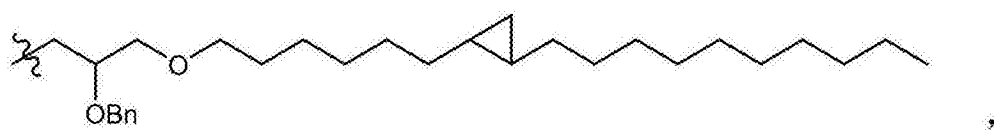
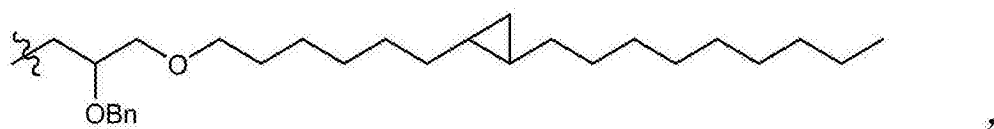
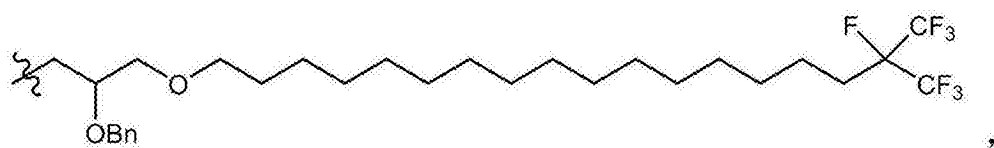
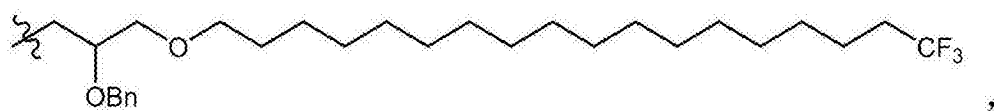
[0210]



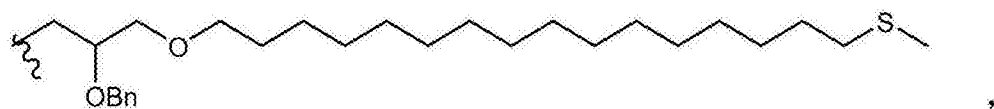
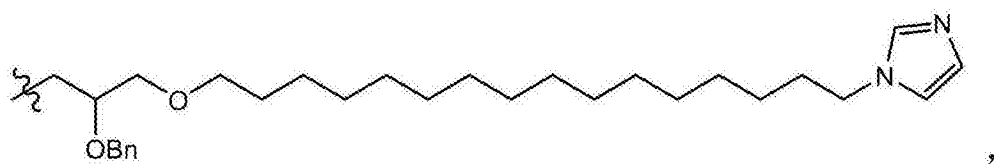
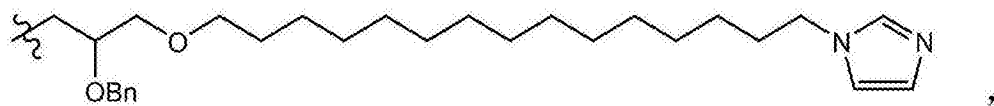
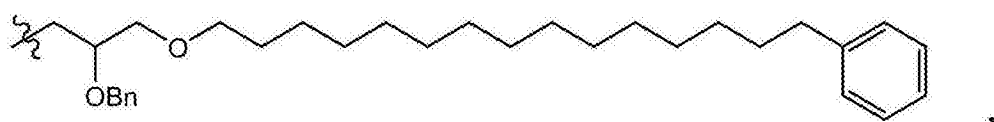
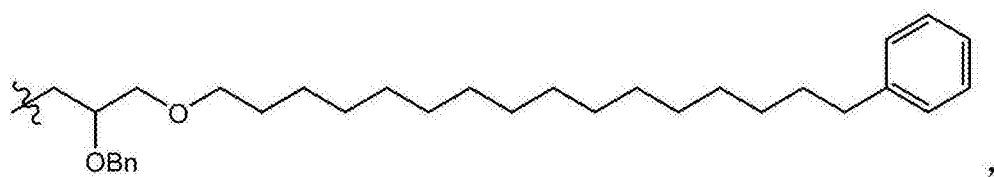
[0211]

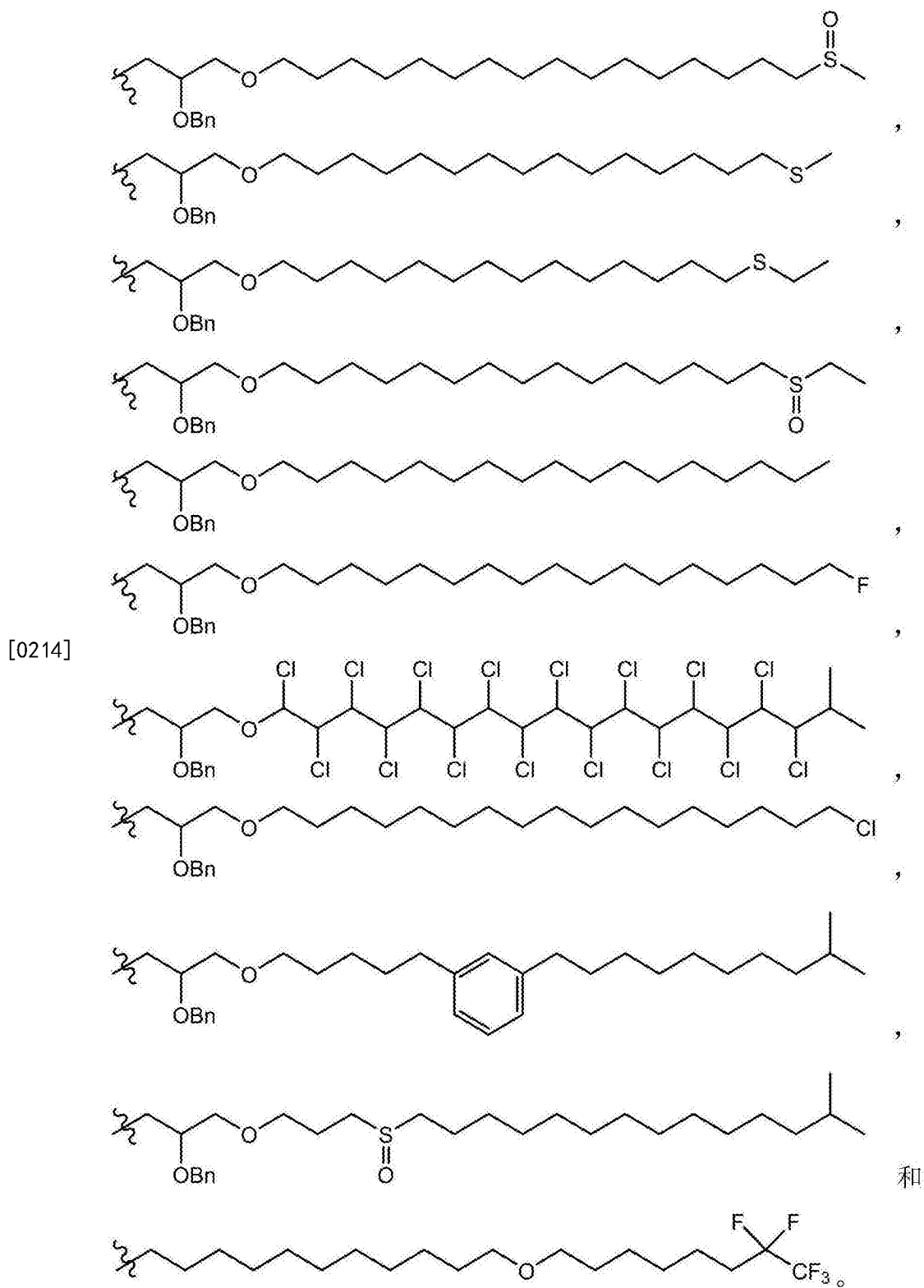




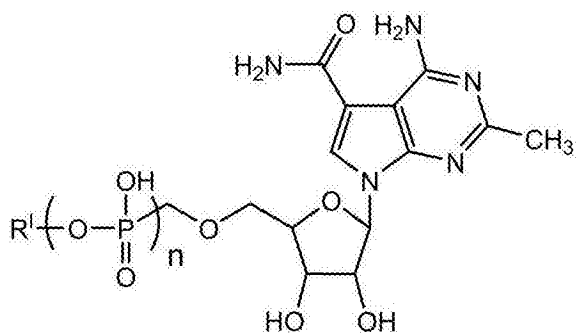


[0213]





[0216]

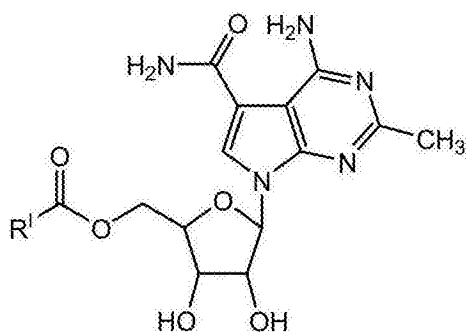


(I-a),

[0217] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

[0218] 在一个或多个实施方式中,所述化合物为式I-b:

[0219]

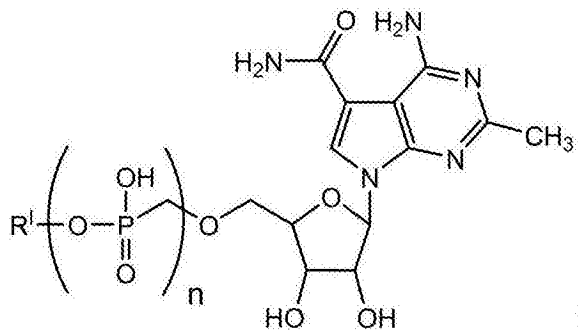


(I-b),

[0220] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

[0221] 在一个或多个实施方式中,所述化合物为式I-c:

[0222]

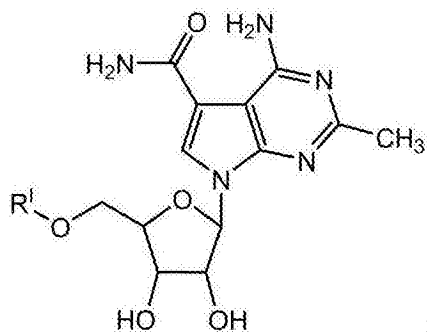


(I-c),

[0223] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

[0224] 在一个或多个实施方式中,所述化合物为式I-d:

[0225]

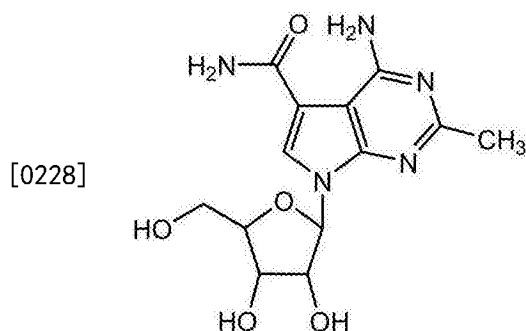


(I-d),

[0226] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

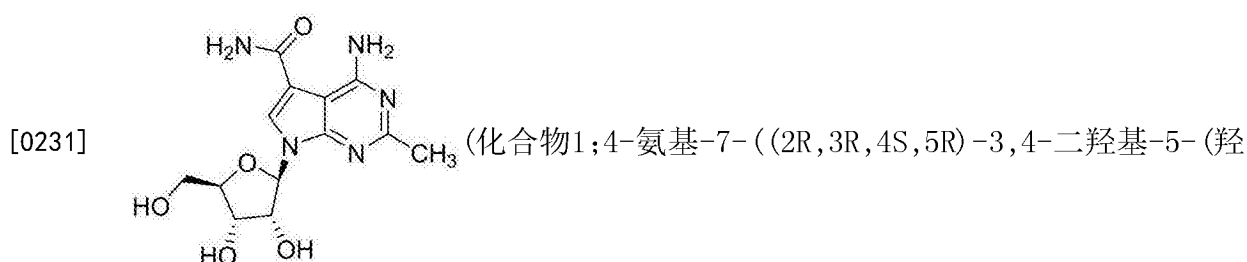
物。

[0227] 在一个或多个实施方式中,本公开的化合物为:



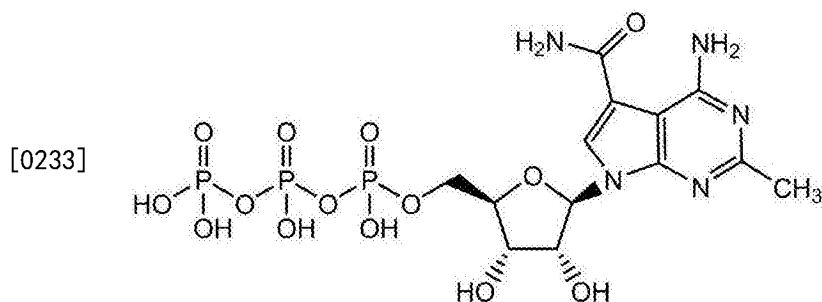
[0229] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

[0230] 在一个或多个实施方式中,本公开的所述化合物为化合物1:

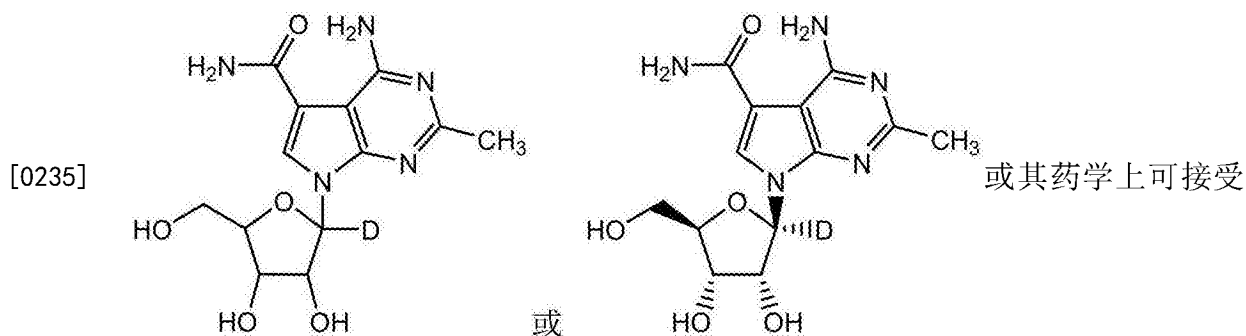


甲基)四氢呋喃-2-基)-2-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲酰胺),或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

[0232] 在一个或多个实施方式中,本公开的所述化合物为化合物1-三磷酸酯(化合物1-TP或化合物1-PPP),或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物:

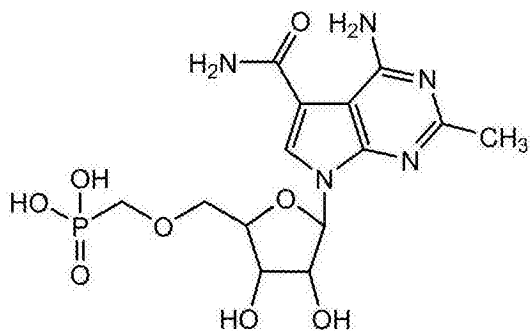


[0234] 在一个或多个实施方式中,本公开的所述化合物选自:

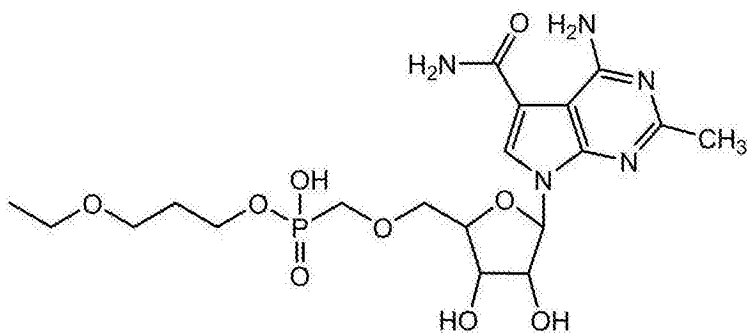


的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

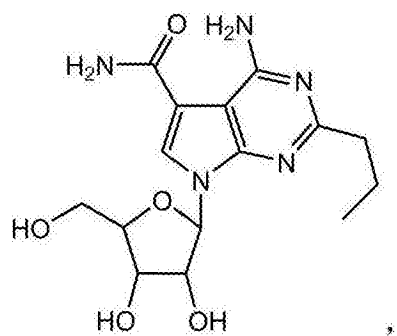
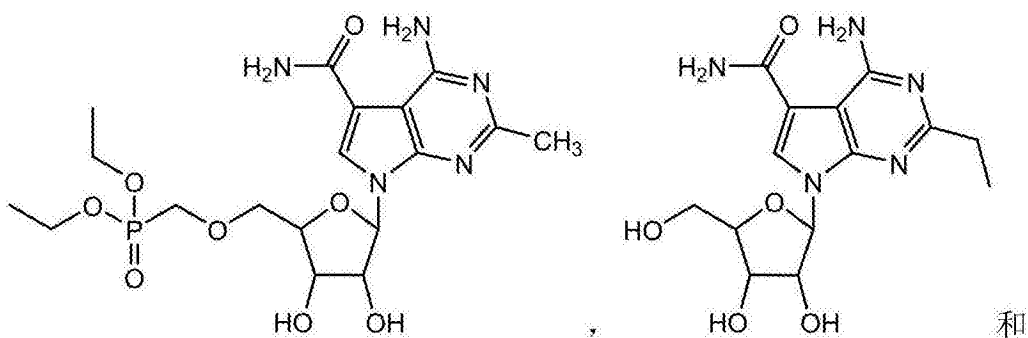
[0236] 在一个或多个实施方式中,本公开的所述化合物选自:



[0237]



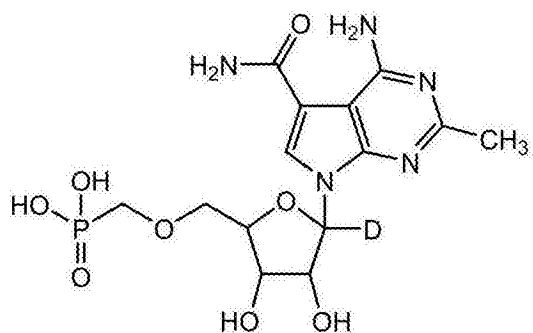
[0238]



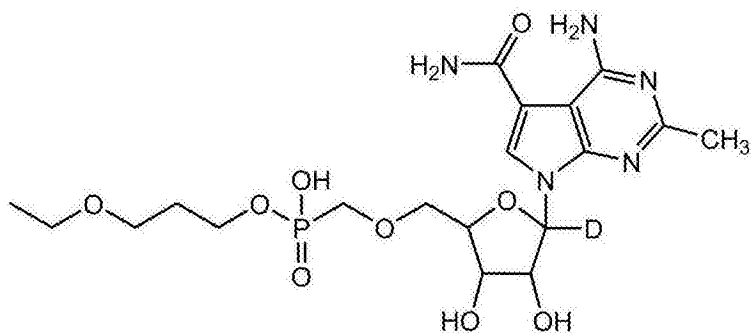
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构

体、外消旋体或混合物。

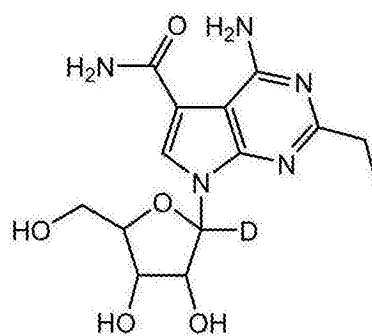
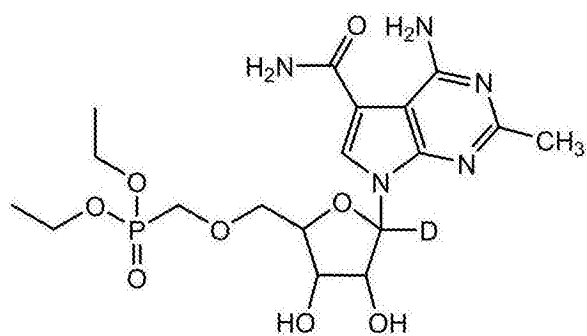
[0239] 在一个或多个实施方式中,本公开的所述化合物选自:



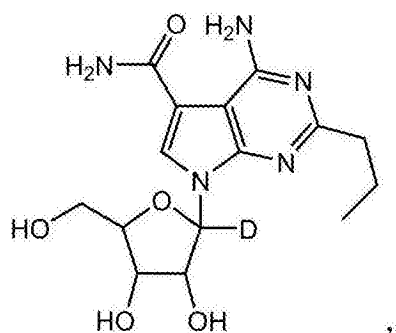
[0240]



[0241]



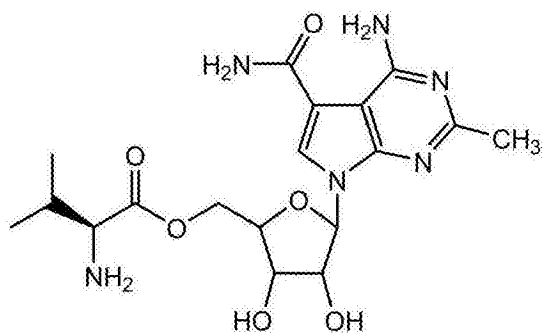
和



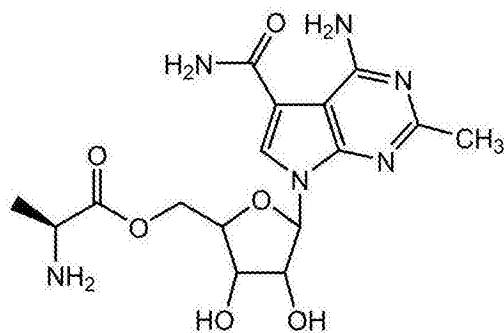
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构

体、外消旋体或混合物。

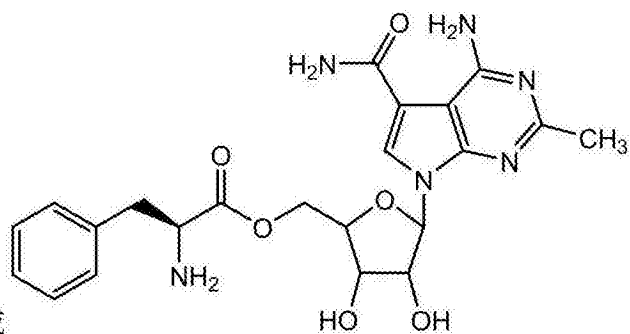
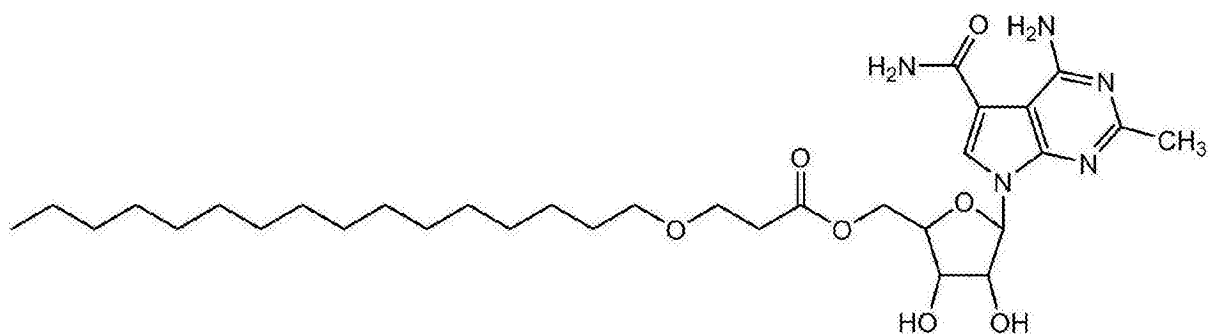
[0242] 在一个或多个实施方式中,本公开的所述化合物选自:



[0243]



[0244]

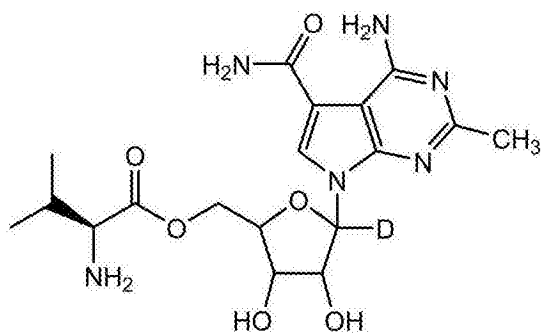


或

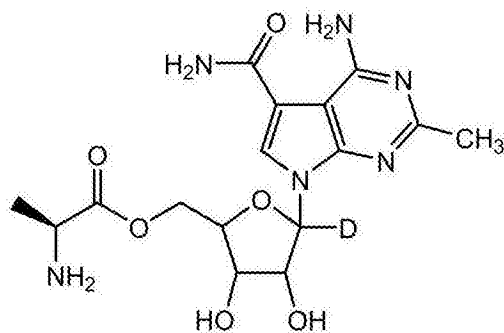
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异

构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

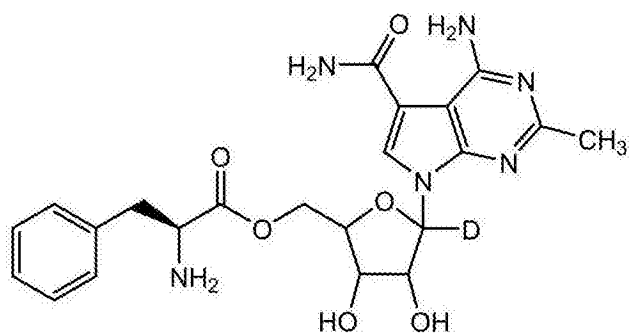
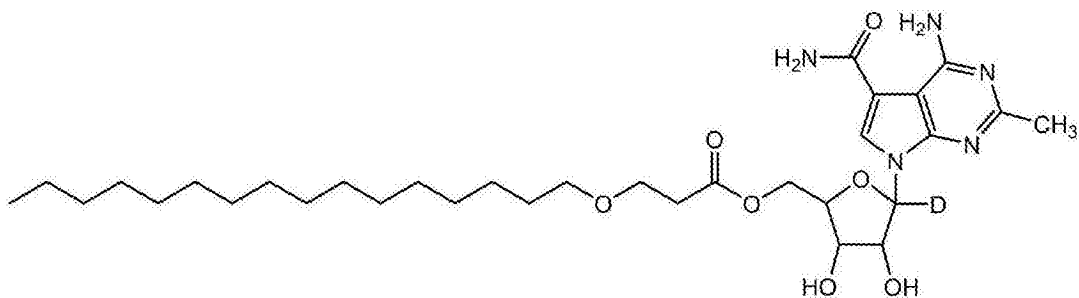
[0245] 在一个或多个实施方式中,本公开的所述化合物选自:



[0246]



[0247]



或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对

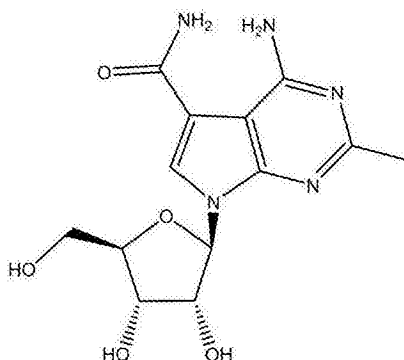
, 或

映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

[0248] 在一些实施方式中,本公开提供了所述化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物在用于治疗疾病的药物的制备中的用途。

[0249] 在一些实施方式中,本公开提供了化合物

[0250]

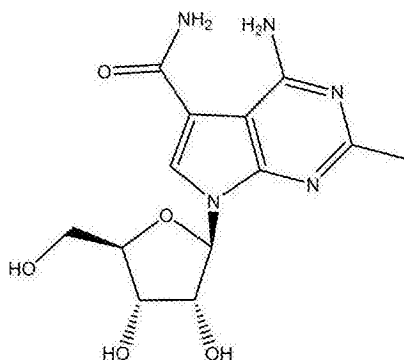


[0251] 在制备用于治疗疾病的药物中的应用。在一些实施方式中,所述疾病是病毒感染。在一些实施方式中,所述病毒感染是诺如病毒。

[0252] 在一些实施方式中,本公开提供了本公开的化合物在治疗疾病中的用途。

[0253] 在一些实施方式中,本公开提供了化合物

[0254]



[0255] 治疗疾病的用途。在一些实施方式中,所述疾病为病毒感染。在一些实施方式中,所述病毒感染是诺如病毒感染。

[0256] 在一些实施方式中,本公开的化合物选自化合物1,2,3,4,5,6,71,77,76,107,111,126,133,137,139,141,143或145,或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物,或它们的组合。

[0257] 合成方法

[0258] 本公开的化合物可以使用各种方法制备,包括标准化学。下面给出的方案中描述了合适的合成路线。

[0259] 本文所述的化合物(例如,式I、式IA、式IB或式II的化合物)可以通过有机合成领域已知的方法制备,如部分可以通过下面的合成方案和实施例来制备。在下面描述的方案中,容易理解的是,根据一般原理或化学,必要时采用对敏感性或反应性基团的保护性基团。根据有机合成的标准方法(T.W.Greene and P.G.M.Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", Third edition, Wiley, New York 1999)处理保护性基团。使用本领域技术人员显而易见的方法,在化合物合成的方便的阶段去除这些基团。选择的过程、以及反应条件和实施顺序,应该与式I、式IA、式IB或式II化合物的制备一致。

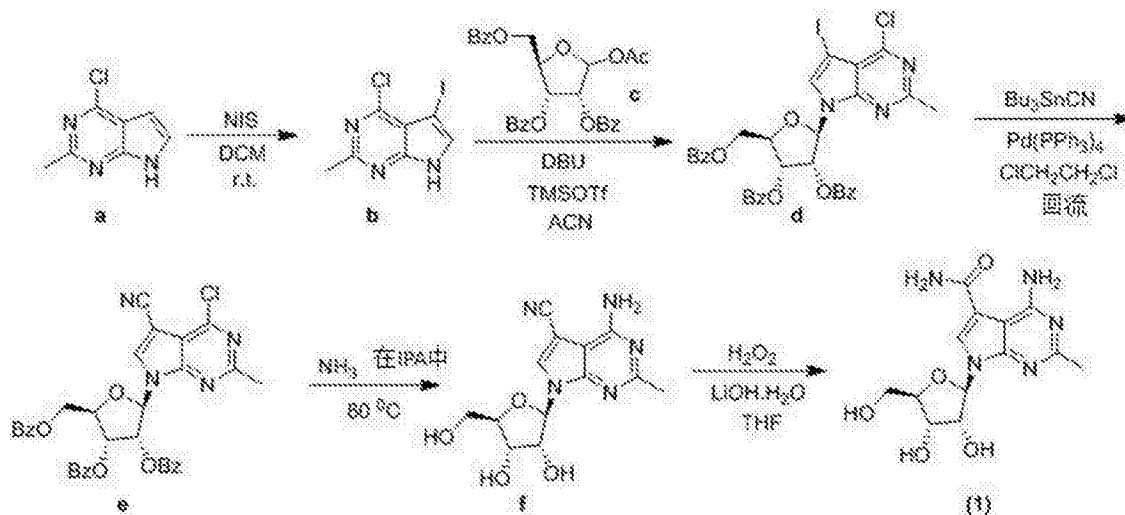
[0260] 本领域技术人员会识别出式I、式IA、式IB或式II的化合物中是否存在立构中心。因此,本公开包括两种可能的立体异构体(除非在合成中有特别说明)并且不仅包括外消旋化合物,而且还包括单独的对映异构体和/或非对映异构体。当需要单一对映异构体或非对映异构体化合物时,可以通过立体特异性合成或通过分离最终产物或任何方便的中间体来

获得。最终产物、中间体或起始原料的分离可能会受到本领域已知的任何合适的方法的影响。参见,例如,“Stereochemistry of Organic Compounds”by E.L.Eliel,S.H.Wilen,and L.N.Mander (Wiley-Interscience,1994)。

[0261] 本文所述的化合物可以通过市售原料制备或通过已知的有机、无机和/或酶促方法合成。

[0262] 方案1:本发明化合物的一般合成

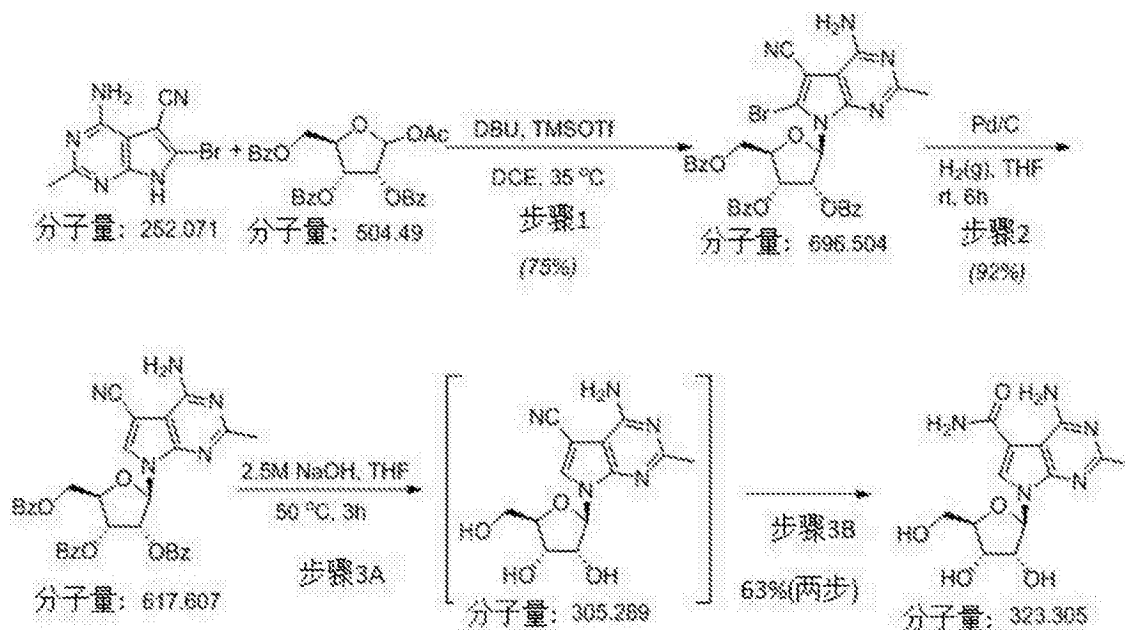
[0263]



[0264] 如上面的方案1所示,4-氯-2-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶(a;方案1编号)可以在N-碘代琥珀酰亚胺(NIS)的存在下碘化。如步骤2所示,所得的4-氯-5-碘-2-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶(b)可以用保护的呋喃(c)处理,得到化合物(d)。(d)的自由基取代产生相应的氰基衍生物(e),其可以在结合氯的碳上进行脱保护和亲核芳族取代,得到胺衍生物(f)。最后,(f)的胍水合得到4-氨基-7-((2R,3R,4S,5R)-3,4-二羟基-5-(羟甲基)四氢呋喃-2-基)-2-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲酰胺(1)。

[0265] 方案2:本发明化合物的一般合成

[0266]



[0267] 步骤1:将4-氨基-6-溴-2-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈, (3R,4R,5R)-2-乙酰氧基-5-((苯甲酰氧基)甲基)四氢呋喃-3,4-二基二苯甲酸酯和DCE装入反应器中。开始搅拌并加入DBU。缓慢加入TMSOTf (8.01kg)。将反应混合物用DCM稀释,在冷却的同时用水缓慢淬灭。用DCM (19.90kg) 萃取反应产物,并用饱和NaHCO₃洗涤。用DCM (19.71kg) 进一步萃取水相,并用盐水洗涤。

[0268] 步骤2:将(2R,3R,4R,5R)-2-(4-氨基-6-溴-5-氰基-2-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-5-((苯甲酰氧基)甲基)四氢呋喃-3,4-二基二苯甲酸酯放入反应器中,10%Pd/C和THF。向反应器供给氢气,并在室温约31psi下搅拌所述混合物约4h。

[0269] 用硅藻土(7.2kg)和抛光过滤器过滤反应混合物,并将滤渣用THF洗涤。借助于THF洗涤将合并的滤液和洗涤液转移到100-L夹套反应器中。将反应器的内容物在最高温度30.0℃条件下进行真空蒸馏约6小时的时间,使最终体积为27L。将IPA装入反应器。将反应器的内容物真空蒸馏。将IPA装入反应器。将反应器的内容物加热至约60℃,搅拌,并缓慢冷却至约5℃。在最低温度约1℃下继续冷却搅拌约9小时。将浆液过滤并用IPA洗涤。在真空干燥残余物,并用氮气流提供0.36%的LOD。收率:(73.9%)。¹H NMR确定了结构。纯度:97.78% (HPLC,AUC)。

[0270] 步骤3:将(2R,3R,4R,5R)-2-(4-氨基-5-氰基-2-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-5-((苯甲酰氧基)甲基)四氢呋喃-3,4-二基二苯甲酸酯和THF的溶液加热,开始加入NaOH。最初的添加产生双相混合物和吸热效应,但是随着加入继续进行,形成了单相、澄清的溶液,并伴随着快速放热;在剩下的添加过程中维持该反应温度约21/2小时。IPC显示没有剩余(2R,3R,4R,5R)-2-(4-氨基-5-氰基-2-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-5-((苯甲酰氧基)甲基)四氢呋喃-3,4-二基二苯甲酸酯。

[0271] 将反应混合物冷却至21℃,并在外部冷却的同时用3N HCl中和至中性pH。继续冷却混合物,将得到的中性混合物进行真空蒸馏,直到观察到固体在锅中出现。将悬浮液冷却并在约2℃下搅拌约2小时。将米黄色悬浮液过滤,得到深色滤液;用冷水将灰白色的残留物洗涤一次。

[0272] 在一些实施方式中,本公开的化合物,例如,式I、式IA、式IB或式II可以制备成对映异构体,非对映异构体和外消旋体。在一些实施方式中,本公开的化合物,例如,式I、式IA、式IB或式II包括所述结构的所有异构(例如对映体,非对映体和几何(或构象))形式;例如,每个不对称中心的R和S构型,(Z)和(E)双键异构体,以及(Z)和(E)构象异构体。因此,本发明化合物的单一立体化学异构体以及对映异构体、非对映异构体和几何(或构象)混合物均在本公开的范围内。除非另有说明,否则本文公开的化合物的所有互变异构形式都在本公开的范围内。

[0273] 本发明的化合物,例如式I、式IA、式IB或式II可以基本上不含杂质的合成。本公开的化合物大于或等于约99%w/w纯度。在某些实施方案中,磷酸酯可以大规模制备,例如以工业生产规模而不是以实验/实验室规模制备。例如,根据本公开的方法的间歇式方法允许制备至少1g,或至少5g,或至少10g,或至少100g,或至少1kg,或至少100kg的磷酸酯产物。此外,该方法允许制备纯度为至少98%,或至少98.5%(如通过HPLC测量)的磷酸酯产物。在优选的实施方式中,这些产物以不涉及任何形式的色谱法(例如,气相色谱法,HPLC,制备型LC,体积排除色谱法等)提纯的反应顺序获得。

[0274] 药物组合物 and 治疗方法

[0275] 如上所述, 本文提供了一种包括本公开的化合物 (例如, 式I、式IA、式IB或式II) 或其药学上可接受的盐的药物组合物。在一些实施方式中, 本公开提供了包括式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的载体和/或稀释剂的药物组合物。在一些实施方式中, 本公开提供了配制为药物组合物的式I、式IA、式IB或式II的化合物。在一些实施方式中, 式I、式IA、式IB或式II的化合物被配制成片剂。在另一个实施方案中, 式I、式IA、式IB或式II的化合物被配制成悬浮液。

[0276] 本公开化合物的配制和施用技术可以在Remington: the Science and Practice of Pharmacy, 22nd edition, Pharmaceutical Press (2012) 中找到。

[0277] 在一个实施方式中, 本文所述的化合物及其药学上可接受的盐, 与其药学上可接受的载体或稀释剂一起用于药物制剂中。合适的药学上可接受的载体包括惰性固体填充剂或稀释剂和无菌水溶液或有机溶液。所述化合物将以足以提供本文所述范围内的所需剂量的量存在于所述药物组合物中。

[0278] 本公开的化合物, 例如, 本文所述的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐可根据常规药物配混技术与药学上可接受的载体组合。此外, 根据给药所需制剂的形式 (例如, 口服, 鼻腔, 直肠, 阴道, 肠胃外 (包括静脉内注射或输注), 载体可以采取多种形式。在制备用于口服剂型的组合物时, 可以使用任何常用的药物介质。对于口服液体剂型 (例如悬浮液, 溶液, 乳剂和酏剂) 来说, 常用药物介质包括, 例如, 水, 乙二醇, 油, 醇, 调味剂, 防腐剂, 着色剂等; 对于口服固体剂型 (例如粉剂, 胶囊和片剂) 来说, 包括, 气雾剂, 或载体如淀粉, 糖, 微晶纤维素, 稀释剂, 制粒剂, 润滑剂, 粘合剂, 崩解剂等。

[0279] 在另一个实施方式中, 本公开提供了一种用于在受试者 (例如免疫缺陷受试者) 中治疗性和/或预防性治疗病毒感染的方法, 所述方法包括施用式I、式IA、式IB或式I化合物或其药学上可接受的盐中的任意一种。在一些实施方式中, 所述盐具有等于或大于91% w/w 的纯度, 例如, 具有小于或等于9% w/w 的杂质, 向受试者。

[0280] 包含本公开的化合物 (例如, 式I、式IA、式IB或式II的化合物) 的药物组合物可以配制成任何期望的浓度。在一些实施方式中, 配制组合物使得其包含至少治疗有效量。

[0281] 药物组合物包括适于口服, 舌下, 鼻腔, 直肠, 阴道, 局部, 口腔和肠胃外 (包括皮下, 肌内和静脉内) 给药的那些, 但是最合适的途径将取决于所治疗病症的性质和严重性。所述组合物可以方便的以单位剂型提供, 并且可以通过药学领域中公知的任何方法制备。在一些实施方式中, 所述药物组合物配制成丸剂, 胶囊, 锭剂或片剂的形式用于口服给药。在其他实施方式中, 所述药物组合物呈悬浮液形式。

[0282] 当本公开的化合物作为药物给药于哺乳动物例如人时, 它们可以本身或作为药物组合物给药, 所述药物组合物包括, 例如, 约0.1%至99.9%, 约0.2至98%, 约0.3%至97%, 约0.4%至96%, 或约0.5至95%的活性成分和药学上可接受的载体。在一些实施方式中, 包含约0.5%至90%活性成分与药学上可接受载体的药物组合物适合施用于哺乳动物, 例如人。本公开的一些实施方式提供了制备包含约0.1%至99.9%, 约0.2至98%, 约0.3%至97%, 约0.4%至96%, 或约0.5至95%的式I、式IA、式IB或式II或其药学上可接受的盐, 例如表7中的任意一种化合物或其药学上可接受的盐, 用于治疗, 预防或预防治疗病毒感染或病毒感染相关的病症。本公开提供了约0.1%至99.9%, 约0.2至98%, 约0.3%至97%, 约

0.4%至96%，或约0.5至95%的式I、式IA、式IB或式II或其药学上可接受的盐用于制备含有有效量所述化合物的药物的用途，所述药物用于治疗，预防或预防治疗病毒感染和病毒感染相关疾病。

[0283] 本公开提供了式I、式IA、式IB或式II的化合物，其用于治疗病毒感染或病毒感染相关的疾病或病症。所述组合物可以为药物制剂，其包括约0.1%至99.9%，约0.2至98%，约0.3%至97%，约0.4%至96%或约0.5至95%的式I、式IA、式IB或式II的化合物。

[0284] 对于任何化合物，化合物或组合物的治疗有效量最初可以在细胞培养测定中（例如肿瘤细胞）或动物模型（通常是大鼠，小鼠，兔，狗或猪）中进行估计。所述动物模型可以用于确定适当的浓度范围或给药途径。然后可以使用这些信息来确定用于人类的有效剂量和途径。治疗/预防功效和毒性可以通过细胞培养或实验动物中的标准药物程序，例如ED₅₀（50%群体治疗有效的剂量）和LD₅₀（50%群体致死剂量）来确定。毒性与治疗效果的剂量比是治疗指数，它可以表示为比值，LD₅₀/ED₅₀。呈现出大的治疗指数的药物组合物是优选的。根据所使用的剂型，患者的敏感性和给药途径，剂量可以在此范围内变化。

[0285] 含有本公开的式I、式IA、式IB或式II的化合物的药物组合物可以以通常知道的方式制造，例如通过常规的混合，溶解，制粒，糖衣丸制作，研磨，乳化，包封，包埋或冻干过程。药物组合物可以以传统方式使用一种或多种药学上可接受的载体来配制，所述载体包含促进将活性化合物加工成可药用制剂的赋形剂和/或助剂。合适的剂型取决于所选的给药途径。

[0286] 适于注射使用的药物组合物包括无菌水溶液（其中水溶性的）或分散体和用于临时制备无菌注射液或分散体的无菌粉末。对于静脉内给药，合适的载体包括生理盐水，抑菌水，Cremophor EL™（BASF, Parsippany, N. J.）或磷酸盐缓冲盐水（PBS）。在所有情况下，所述组合物必须是无菌的并且应该是流动的以便于注射。其在生产和储存条件下必须稳定，并且必须防止其受到微生物如细菌和真菌的污染。载体可以是含有，例如，水，乙醇，多元醇（例如甘油，丙二醇和液体聚乙二醇等）以及合适的它们的混合物的溶剂或分散介质。例如，可以通过使用例如卵磷脂包衣，通过维持分散时所需的粒径以及通过使用表面活性剂来维持合适的流动性。可以通过各种抗菌剂或抗真菌剂来防止微生物的作用，例如，对羟基苯甲酸酯，氯丁醇，苯酚，抗坏血酸，硫柳汞等。在很多情况下，组合物中优选包括等渗剂，例如糖，多元醇如甘露醇，山梨糖醇，氯化钠。可以通过在组合物中包含延迟吸收的试剂，例如单硬脂酸铝和明胶，来实现注射组合物延长吸收。

[0287] 无菌注射溶液可以按照要求，通过在合适的溶剂中将所需量的活性化合物与上面列举的一种成分或成分的组合混合，然后过滤除菌来制备。通常，分散体是通过将活性组合物掺入含有基础分散介质和所需的其他选自上面列举的那些成分的无菌介质中来制备。在用于制备无菌注射液的无菌粉末的情况下，制备方法为真空干燥和冷冻干燥，从其之前的无菌过滤溶液中得到活性组分和任何另外所需组分的粉末。

[0288] 口服组合物通常包括惰性稀释剂或可食用的药学上可接受的载体。它们可以被封入明胶胶囊或压缩成片剂。为了口服治疗给药的目的，活性化合物可以与赋形剂混合并以片剂，锭剂或胶囊的形式使用。口服组合物也可使用液体载体制备以用作漱口剂，其中液体载体中的化合物经口施用并漱口并吐出或吞服。作为组合物的一部分，可以包括药学上相容的结合剂和/或佐剂材料。片剂，丸剂，胶囊剂，锭剂等可含有任何以下成分或有类似性质

的化合物:粘合剂,如微晶纤维素,黄芩胶或明胶;赋形剂如淀粉或乳糖,崩解剂如海藻酸,淀粉,或玉米淀粉,润滑剂如硬脂酸镁或Sterotes;助流剂如胶体二氧化硅;甜味剂如蔗糖或糖精;或调味剂,例如薄荷,水杨酸甲酯或橙味调味剂。

[0289] 活性化合物可以用药学上可接受的载体制备,所述载体保护化合物免于从身体快速消失,例如控释剂,包括植入物和微囊化的递送系统。可以使用可生物降解的生物相容性聚合物,如乙烯乙酸乙烯酯,聚酐,聚乙醇酸,胶原,聚原酸酯和聚乳酸。制备这种制剂的方法对于本领域技术人员是显而易见的。在一些实施方案中,所述材料可以商业获得,如,从Alza Corporation and Nova Pharmaceuticals, Inc.获得,也可以使用脂质体悬浮液(包括用病毒抗原的单克隆抗体靶向感染细胞的脂质体)作为药学上可接受的载体。

[0290] 以单位剂量形式配置口服或注射用药物组合物以便于给药和剂量均匀是非常有利的。本文所用的单位剂量形式是指适合于作为待治疗的受试者的单位剂量的物理上独立的单位;每个单位含有预定量的活性化合物,所述活性化合物经过计算与所需的药物载体结合产生所需的治疗效果。本公开的单位剂量形式的规格取决于并直接取决于活性化合物的特性和待实现的特定治疗效果。

[0291] 式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐被配制成药物组合物或用于制备用于治疗病毒感染和/或病毒感染相关的疾病和/或病症的药物。另外,本公开内容提供了用于治疗病毒感染和/或病毒感染相关的疾病或病症的式I、式IA、式IB或式II的化合物,或包含式I、式IA、式IB或式II的化合物的组合物。所述式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐的组合物和/或药物可以配制成片剂或悬浮液。式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐的片剂制成包含药理学上可接受的缓冲剂,赋形剂,载体,包括乳化剂,增强剂(例如,吸收促进剂),崩解剂(例如,聚维酮(聚乙烯吡咯烷酮, PVPP, 交聚吡咯烷酮或E1202),其是聚乙烯吡咯烷酮(PVP)的高度交联改性),和/或在本公开中公开的以及为本领域所熟知的聚合物。

[0292] 在一个实施方式中,本公开提供了式I、式IA、式IB或式II和化合物或其药学上可接受的盐的片剂制剂,其用于治疗、预防治疗或预防病毒感染和/或病毒感染相关的疾病和病症。本公开提供了式I、式IA、式IB或式II和化合物或其药学上可接受的盐的片剂制剂,其用于治疗有该治疗需要的受试者,包括但不限于,免疫缺陷受试者,器官和/或组织移植前或移植后的受试者。本公开提供了式I、式IA、式IB或式II和化合物或其药学上可接受的盐用于制备药物的用途,所述药物用于治疗有该治疗需要的受试者,包括但不限于,免疫缺陷受试者,器官和/或组织移植前或移植后的受试者。

[0293] 在一个实施方式中,本公开提供了式I、式IA、式IB或式II和化合物或其药学上可接受的盐的悬浮液制剂,其用于预防治疗或预防病毒感染和/或病毒相关的疾病和/或病症。本公开提供了式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐的悬浮液制剂,该悬浮液制剂用于治疗有该治疗需要的受试者,包括但不限于免疫缺陷受试者,器官和/或组织移植前或移植后的受试者。

[0294] 在另一个实施方式中,另外的赋形剂包括但不限于磷酸钠、二元的,柠檬酸(一水合物)(约0.01-5重量%),柠檬酸钠(约0.01-5重量%),黄原胶(约0.01-5重量%),对羟基苯甲酸甲酯(钠盐)(约0.01-5重量%),对羟基苯甲酸丙酯(钠盐)(约0.01-5重量%),三氯蔗糖(约0.01-5重量%),微晶纤维素和羧甲基纤维素钠(VivaPur MCG 591)(约0.5-10重

量%),高果糖玉米糖浆(约10-70重量%),柠檬石灰香料(WONF220J15)(约0.01-5重量%),氢氧化钠丸粒,氢氧化钠/盐酸和纯化水(约68.93重量%)。

[0295] 本公开的制剂用于制备预防治疗和/或预防病毒感染和/或病毒相关疾病和/或病症的药物。

[0296] 在另一个实施方式中,本公开提供了具有理想的药物代谢动力学特征的组合(例如药物组合)。例如,本公开的组合可以提供式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐的血液浓度,其在代谢成治疗活性形式(例如,二磷酸酯等同物)时,生成不引起毒性的代谢物的血液浓度。

[0297] 在一些实施方式中,本公开提供了包含本文所述的化合物(例如,化合物1,2,3,4,5,6,71,77,76,107,111,126,133,137,139,141,143或145,或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物,或其任意组合)的药物组合。

[0298] 疾病适应症

[0299] 在一些实施方式中,本公开提供了一种治疗病毒感染或病毒感染相关的疾病或病症的方法,其包括向有需要的受试者施用本公开的化合物(例如,化合物1,2,3,4,5,6,71,77,76,107,111,126,133,137,139,141,143或145,或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物,或其任意组合)。

[0300] 在一些实施方式中,本公开提供了本公开的化合物(例如,化合物1,2,3,4,5,6,71,77,76,107,111,126,133,137,139,141,143或145,或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物,或其任意组合)在制备用于治疗疾病(例如,病毒感染或病毒感染相关的疾病或病症)的药物中的应用。

[0301] 在一些实施方式中,本公开提供了本公开的化合物(例如,化合物1,2,3,4,5,6,71,77,76,107,111,126,133,137,139,141,143或145,或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物,或其任意组合)治疗疾病(例如,病毒感染或病毒感染相关的疾病或病症)的应用。

[0302] 本公开提供了使用本文公开的化合物或其药学上可接受的盐治疗和/或预防病毒感染。由式I、式IA、式IB或式II表示的化合物用于治疗、预防和/或制备用于治疗 and/或预防选自但不限于ssRNA病毒的至少一种病毒的药物。在一些实施方式中,病毒可以是诸如病毒,人巨细胞病毒(HCMV),BK病毒(BKV),艾普斯登-巴尔病毒(EBV),腺病毒,JC病毒(JCV),SV40,MC病毒(MCV),KI病毒(KIV),WU病毒(WUV),牛痘,单纯疱疹病毒1(HSV-1),单纯疱疹病毒2(HSV-2),人疱疹病毒6(HHV-6),人疱疹病毒8(HHV-8),乙型肝炎病毒,丙型肝炎病毒,水痘带状疱疹病毒(VZV),大天花,小天花,天花,牛痘,骆驼痘,猴痘,脊髓灰质炎病毒,小核糖核酸病毒科(例如鼻病毒),副粘病毒科病毒(例如呼吸道合胞病毒,RSV),埃博拉病毒,马尔堡病毒,艾普斯登-巴尔病毒(EBV),流感病毒,肠道病毒(例如EV68和EV71),乳头瘤病毒,西尼罗病毒,黄热病病毒,口蹄疫病毒,裂谷热病毒和其他黄病毒,沙粒病毒,布尼亚病毒,甲病毒和人类免疫缺陷病毒(HIV)感染及其任意组合。

[0303] 本公开还提供了一种病毒感染或病毒感染相关的疾病或病症(例如,诸如病毒,人巨细胞病毒(HCMV),BK病毒(BKV),艾普斯登-巴尔病毒(EBV),腺病毒,JC病毒(JCV),SV40,MC病毒(MCV),KI病毒(KIV),WU病毒(WUV),牛痘,单纯疱疹病毒1(HSV-1),单纯疱疹病毒2(HSV-2),人疱疹病毒6(HHV-6),人疱疹病毒8(HHV-8),乙型肝炎病毒,丙型肝炎病毒,水痘

带状疱疹病毒 (VZV), 大天花, 小天花, 天花, 牛痘, 骆驼痘, 猴痘, 脊髓灰质炎病毒, 小核糖核酸病毒科 (例如鼻病毒), 副粘病毒科病毒 (例如呼吸道合胞病毒, RSV), 埃博拉病毒, 马尔堡病毒, 艾普斯登-巴尔病毒 (EBV), 流感病毒, 肠道病毒 (例如EV68和EV71, 乳头瘤病毒, 西尼罗病毒, 黄热病病毒, 口蹄疫病毒, 裂谷热病毒和其他黄病毒, 沙粒病毒, 布尼亚病毒, 甲病毒和人类免疫缺陷病毒 (HIV) 感染及其任意组合) 的治疗、预防或延迟发作的方法, 其通过口服施用受试者药物组合物, 所述药物组合物包括治疗有效量的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐与一种或多种选自免疫治疗剂和/或抗病毒剂的化合物或组合物的组合。

[0304] 本公开还提供了式I、式IA、式IB或式II的化合物在用于病毒感染或病毒感染相关的疾病或病症 (例如, 诺如病毒, 人巨细胞病毒 (HCMV), BK病毒 (BKV), 艾普斯登-巴尔病毒 (EBV), 腺病毒, JC病毒 (JCV), SV40, MC病毒 (MCV), KI病毒KIV), WU病毒 (WUV), 牛痘, 单纯疱疹病毒1 (HSV-1), 单纯疱疹病毒2 (HSV-2), 人疱疹病毒6 (HHV-6), 人疱疹病毒8 (HHV-8), 乙型肝炎病毒, 丙型肝炎病毒, 水痘带状疱疹病毒 (VZV), 大天花, 小天花, 天花, 牛痘, 骆驼痘, 猴痘, 脊髓灰质炎病毒, 小核糖核酸病毒科 (例如鼻病毒), 副粘病毒科病毒 (例如呼吸道合胞病毒, RSV), 埃博拉病毒, 马尔堡病毒, 艾普斯登-巴尔病毒 (EBV), 流感病毒, 肠道病毒 (例如EV68和EV71, 乳头瘤病毒, 西尼罗病毒, 黄热病病毒, 口蹄疫病毒, 裂谷热病毒和其他黄病毒, 沙粒病毒, 布尼亚病毒, 甲病毒和人类免疫缺陷病毒 (HIV) 感染及其任意组合) 的治疗、预防或延迟发作的药物的制备中的用途, 其通过口服施用受试者药物组合物, 所述药物组合物包括治疗有效量的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐与一种或多种选自免疫治疗剂和/或抗病毒剂的化合物或组合物的组合。

[0305] 在一些实施方式中, 本公开还提供了用于病毒感染或病毒感染相关的疾病或病症 (例如, 诺如病毒, 人巨细胞病毒 (HCMV), BK病毒 (BKV), 艾普斯登-巴尔病毒 (EBV), 腺病毒, JC病毒 (JCV), SV40, MC病毒 (MCV), KI病毒KIV), WU病毒 (WUV), 牛痘, 单纯疱疹病毒1 (HSV-1), 单纯疱疹病毒2 (HSV-2), 人疱疹病毒6 (HHV-6), 人疱疹病毒8 (HHV-8), 乙型肝炎病毒, 丙型肝炎病毒, 水痘带状疱疹病毒 (VZV), 大天花, 小天花, 天花, 牛痘, 骆驼痘, 猴痘, 脊髓灰质炎病毒, 小核糖核酸病毒科 (例如鼻病毒), 副粘病毒科病毒 (例如呼吸道合胞病毒, RSV), 埃博拉病毒, 马尔堡病毒, 艾普斯登-巴尔病毒 (EBV), 流感病毒, 肠道病毒 (例如EV68和EV71, 乳头瘤病毒, 西尼罗病毒, 黄热病病毒, 口蹄疫病毒, 裂谷热病毒和其他黄病毒, 沙粒病毒, 布尼亚病毒, 甲病毒和人类免疫缺陷病毒 (HIV) 感染及其任意组合) 的治疗、预防或延迟发作的式I、式IA、式IB或式II的化合物, 其通过口服施用受试者药物组合物, 所述药物组合物包括治疗有效量的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐与一种或多种选自免疫治疗剂和/或抗病毒剂的化合物或组合物的组合。

[0306] 在一些实施方式中, 本公开提供了一种马尔堡病毒感染或马尔堡病毒感染相关的疾病或病症的治疗、预防或延迟发作的方法, 通过口服施用有需要的受试者治疗有效量的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物。

[0307] 在一些实施方式中, 本公开提供了式I、式IA、式IB或式II的化合物在用于马尔堡病毒感染或马尔堡病毒感染相关的疾病或病症的治疗、预防或延迟发作的药物的制造中的用途, 通过向有需要的受试者口服给药。

[0308] 在一些实施方式中, 本公开提供了一种用于马尔堡病毒感染或马尔堡病毒感染相

关的疾病或病症的治疗、预防或延迟发作的式I、式IA、式IB或式II的化合物,通过向有需要的受试者口服给药。

[0309] 在一些实施方式中,本公开提供了一种马尔堡病毒感染或马尔堡病毒感染相关的疾病或病症的治疗、预防或延迟发作的方法,通过口服施用有需要的受试者治疗有效量的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物。

[0310] 在一些实施方式中,本公开提供了式I、式IA、式IB或式II的化合物在用于埃博拉病毒感染或埃博拉病毒感染相关的疾病或病症治疗、预防或延迟发作的药物的制造中的用途,通过向有需要的受试者口服给药。

[0311] 在一些实施方式中,本公开提供了一种用于埃博拉病毒感染或埃博拉病毒感染相关的疾病或病症的治疗、预防或延迟发作的式I、式IA、式IB或式II的化合物,通过向有需要的受试者口服给药。

[0312] 在一些实施方式中,本公开提供了一种埃博拉病毒感染或埃博拉病毒感染相关的疾病或病症的治疗、预防或延迟发作的方法,通过口服施用有需要的受试者治疗有效量的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物。

[0313] 在一些实施方式中,本公开提供了式I、式IA、式IB或式II的化合物在用于流感病毒感染或流感病毒感染相关的疾病或病症的治疗、预防或延迟发作的药物的制造中的用途,通过向有需要的受试者口服给药。

[0314] 在一些实施方式中,本公开提供了一种用于流感病毒感染或流感病毒感染相关的疾病或病症的治疗、预防或延迟发作的式I、式IA、式IB或式II的化合物,向有需要的受试者通过口服给药。

[0315] 在一些实施方式中,本公开提供了一种流感病毒感染或流感病毒感染相关的疾病或病症的治疗、预防或延迟发作的方法,通过口服施用有需要的受试者治疗有效量的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物。

[0316] 在一些实施方式中,本公开提供了式I、式IA、式IB或式II的化合物在用于治疗、预防或延迟诸如病毒感染或诸如病毒感染相关的疾病或病症发作的药物的制造中的用途,通过向有需要的受试者口服给药。

[0317] 在一些实施方式中,本公开提供了一种用于诺如病毒感染或诺如病毒感染相关的疾病或病症的治疗、预防或延迟发作的式I、式IA、式IB或式II的化合物,向有需要的受试者通过口服给药。

[0318] 在一些实施方式中,本公开提供了一种诺如病毒感染或诺如病毒感染相关的疾病或病症的治疗、预防或延迟发作的方法,通过口服施用有需要的受试者治疗有效量的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物。

[0319] 在一些实施方式中,本公开提供了式I、式IA、式IB或式II的化合物在用于小核糖核酸病毒科病毒感染或小核糖核酸病毒科病毒感染相关的疾病或病症的治疗、预防或延迟发作的药物的制造中的用途,向有需要的受试者通过口服给药。

[0320] 在一些实施方式中,本公开提供了一种用于小核糖核酸病毒科病毒感染或小核糖核酸病毒科病毒感染相关的疾病或病症的治疗、预防或延迟发作的式I、式IA、式IB或式II的化合物,通过向有需要的受试者口服给药。

[0321] 在一些实施方式中,本公开提供了一种副黏液病毒科病毒感染或副黏液病毒科病

毒感染相关的疾病或病症的治疗、预防或延迟发作的方法,通过口服施用有需要的受试者治疗有效量的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物。

[0322] 在一些实施方式中,本公开提供了式I、式IA、式IB或式II的化合物在用于副黏液病毒科病毒感染或副黏液病毒科病毒感染相关的疾病或病症的治疗、预防或延迟发作的药物的制造中的用途,通过向有需要的受试者口服给药。

[0323] 在一些实施方式中,本公开提供了一种用于副黏液病毒科病毒感染或副黏液病毒科病毒感染相关的疾病或病症的治疗、预防或延迟发作的式I、式IA、式IB或式II的化合物,通过口服向有需要的受试者给药。

[0324] 在一些实施方式中,本公开提供了一种肠道病毒感染或肠道病毒感染相关的疾病或病症的治疗、预防或延迟发作的方法,通过口服施用有需要的受试者治疗有效量的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物。

[0325] 在一些实施方式中,本公开提供了式I、式IA、式IB或式II的化合物在用于肠道病毒感染或肠道病毒感染相关的疾病或病症的治疗、预防或延迟发作的药物的制造中的用途,通过向有需要的受试者口服给药。

[0326] 在上述任一实施方式中,所述化合物可以为化合物1。

[0327] 在一些实施方式中,本公开提供了一种用于肠道病毒感染或肠道病毒感染相关的疾病或病症的治疗、预防或延迟发作的式I、式IA、式IB或式II的化合物,向有需要的受试者通过口服给药。

[0328] 本公开还提供了一种诺如病毒感染或诺如病毒感染相关的疾病或病症的预防性治疗、预防或延迟发作的方法,其通过向受试者口服施用药物组合物,所述药物组合物包括治疗有效量的式I、式IA、式IB或式II (例如,化合物1) 的化合物或其药学上可接受的盐与一种或多种抗病毒剂的结合的药物组合物。在一些实施方式中,所述预防性治疗的方法包括在诺如病毒感染前使用本公开的化合物治疗受试者。

[0329] 本公开还提供了式I、式IA、式IB或式II (例如,化合物1) 的化合物在用于诺如病毒感染或诺如病毒感染相关的疾病或病症的预防性治疗、预防或延迟发作的药物的制造中的用途,通过向受试者口服施用药物组合物,所述药物组合物包括治疗有效量的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐与一种或多种抗病毒剂结合的药物组合物。

[0330] 本公开还提供了用于诺如病毒感染或诺如病毒感染相关的疾病或病症的预防性治疗、预防或延迟发作的式I、式IA、式IB或式II (例如,化合物1) 的化合物,通过向受试者口服施用药物组合物,所述药物组合物包括治疗有效量的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐与一种或多种抗病毒剂结合的药物组合物。本公开还提供了一种诺如病毒感染或诺如病毒感染相关的疾病或病症的预防性治疗、预防或延迟发作的方法,通过向受试者口服施用药物组合物,所述药物组合物包括治疗有效量的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐与一种或多种抗病毒剂结合的药物组合物。

[0331] 本公开还提供了式I、式IA、式IB或式II的化合物在用于肠道病毒感染或肠道病毒感染相关的疾病或病症的预防性治疗、预防或延迟发作的药物的制造中的用途,通过向受试者口服施用药物组合物,所述药物组合物包括治疗有效量的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐与一种或多种抗病毒剂结合的药物组合物。

[0332] 本公开还提供了用于肠道病毒感染或肠道病毒感染相关的疾病或病症的预防性

治疗、预防或延迟发作的式I、式IA、式IB或式II的化合物,通过向受试者口服施用药物组合物,所述药物组合物包括治疗有效量的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐与一种或多种抗病毒剂结合的药物组合物。

[0333] 在一个所述实施方式中,式I、式IA、式IB或式II的化合物用于治疗诺如病毒。在另一个实施方式中,式I、式IA、式IB或式II的化合物用于治疗与特定基因型相关的诺如病毒,例如,感染人类已知的在基因群I,II和IV,VI和VII中的那些(Phan et al., J.Med.Virol.2007Sep;79(9):1388-1400)。

[0334] 给药方案

[0335] 施用方案会影响构成药理学有效量的成分。式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐可以在疾病发作之前或之后施用于受试者。另外,可以每天或顺序的使用几个分开的剂量和交错剂量,或者所述剂量可以连续注入,或者可以静脉注射。另外,根据治疗或预防情况的紧急情况,可以按比例增加或减少剂量。另外,剂量可以与其他抗病毒剂联合给药。

[0336] 使用这些化合物的给药方案可以根据多种因素来选择,包括患者的类型,种族,年龄,体重,性别和医疗状况;待治疗的病症的严重程度;给药途径;患者的肾和肝功能;以及使用的特定的组合物或其盐。普通技术的医生或兽医可以容易地确定和限定预防,对抗或阻止病症进展所需的药物的有效量。

[0337] 在一些实施方式中,每周一次或两次的向受病毒感染的治疗对象施用约40mg, 50mg, 75mg, 100mg, 150mg, 175mg, 200mg或250mg的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐。本公开提供了通过向受试者每周一次(QW)约200mg或每周两次(BIW)约100mg施用式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐来治疗诺如病毒或诺如病毒感染相关的疾病或病症。在一个实施方式中,受试者用约100mg所述化合物每周治疗两次(BIW)。在另一个实施方式中,受试者用约200mg所述化合物每周治疗一次(QW)或用约100mg所述化合物每周治疗两次(BIW)。

[0338] 在一个实施方式中,将纯度等于或大于约91%w/w的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐口服施用于受试者,例如,以约0.01mg/kg至约10mg/kg或更多,例如至多100mg/kg或至多400mg/kg或至多1000mg/kg。

[0339] 在另一个实施方式中,将纯度等于或大于约91%w/w的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐以约0.01mg/kg, 0.05mg/kg, 0.1mg/kg, 0.5mg/kg, 1mg/kg, 1.5mg/kg, 2mg/kg, 2.5mg/kg, 3mg/kg, 3.5mg/kg, 4mg/kg, 4.5mg/kg, 5mg/kg, 5.5mg/kg, 6mg/kg, 6.5mg/kg, 7mg/kg, 7.5mg/kg, 8mg/kg, 8.5mg/kg, 9mg/kg, 9.5mg/kg或10mg/kg或更多或其中的任何范围的剂量口服施用于受试者。

[0340] 在一个优选地方面,待治疗的疾病或病症是病毒感染。

[0341] 调整剂量和用法以提供足够水平的活性剂或维持所需的效果。可以考虑的因素包括疾病状态的严重程度,受试者的一般健康状况,受试者的年龄,体重和性别,饮食,施用的时间和频率,联合用药,反应敏感性和对治疗的耐受性/反应。根据特定制剂的半衰期和清除率,长效药物组合物可以每3至4天,每周,每两周一次或每月一次施用。

[0342] 在一些实施方式中,给药连续10个总剂量。例如,式I、式IA、式IB或式II的化合物可以以约100mg的剂量每周两次给药5周(即,10个总剂量)。或者,式I、式IA、式IB或式II的

化合物可以以约200mg的负载剂量,接着以约100mg剂量每周两次持续施用。在一些实施方式中,给药连续10个总剂量。例如,式I、式IA、式IB或式II的化合物可以以约200mg的负载剂量,接着以9个另外的约100mg剂量每周两次施用,共10次剂量。在一个实施方式中,式I、式IA、式IB或式II的化合物可以以每天20-200mg/天的范围给药或约每周约200mg-3000mg的剂量给药。

[0343] 在一个或多个实施方式中,本公开的化合物在治疗病毒感染如诺如病毒感染或诺如病毒感染相关的疾病或病症中有益。在一些实施方式中,感染,例如,诺如病毒感染的治疗,可以包括每天给药或每天多次给药。在一些实施方式中,只要诺如病毒感染活跃(例如,1-3天),总的治疗方案就会持续。在一些实施方式中,本公开的化合物可以每天多次给药1-3天以治疗诺如病毒感染。

[0344] 在另一个实施方式中,式I、式IA、式IB或式II化合物或其药学上可接受的盐的片剂或悬浮液以约40-3000mg每天,BID,TID,每周一次(QW)或一周两次(BIW)的剂量给药。在另一个实施方式中,式I、式IA、式IB或式II化合物或其药学上可接受的盐的片剂或悬浮液以40-400mg每天,BID,TID,每周一次(QW)或一周两次(BIW)的剂量给药。

[0345] 在治疗应用中,本公开的药物组合物的剂量根据受体患者的药剂,年龄,体重和临床状态,以及实施治疗的临床医师或执业医师的经验和判断,影响选定剂量的其他因素来改变。剂量可以从约0.01mg/kg至约100mg/kg变动。在优选的方面,剂量可以从约0.1mg/kg至约10mg/kg变动。一方面,剂量在约1mg至约1g;约10mg至约500mg;约20mg至约400mg;约40mg至约400mg;或约50mg至约400mg的范围内,以单剂量,分剂量或连续剂量(可针对患者的体重(千克),体表面积(m²)和年龄(岁)调整)。在一些实施方式中,每个剂型的量可以为约0.1mg至约3000mg,例如约0.1mg,约0.5mg,约1mg,约2mg,约3mg,约4mg,约5mg,约6mg,约7mg,约8mg,约9mg,约10mg,约15mg,约20mg,约25mg,约30mg,约35mg,约40mg,约45mg,约50mg,约55mg,约60mg,约65mg,约70mg,约75mg,约80mg,约85mg,约90mg,约95mg,约100mg,约200mg,约300mg,约400mg,约500mg,约600mg,约700mg,约800mg,约900mg,约1000mg,约1250mg,1500mg,约1750mg,约2000mg,约2500mg或约3000mg。在一个实施方式中,该量可以为约20mg。在一个实施方式中,该量可以为约50mg。在另一个实施方式中,剂量可以为约100mg。在另一个实施方式中,剂量可以为约500mg。

[0346] 在另一个实施方案中,式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐以单一剂量施用于受试者。在另一个实施方案中,式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐以多剂量施用于受试者。多剂量可以定期给药,例如,每12小时一次,每天一次,每2天,每3天,每4天,每5天,每6天,每7天,每8天,每9天,每10天,每11天,每12天,每13天,每14天或每15天。例如,剂量可以每周施用两次。并且,每个单独的剂量可以以相同的或不同的剂量给药。

[0347] 例如,可以向受试者施用式I、式IA、式IB或式II的化合物中任意一种或其药学上可接受的盐,其中第一剂量为约1-20mg/kg(例如约1-1.1mg/kg,约1.1-1.2mg/kg,约1.2-1.3mg/kg,约1.3-1.4mg/kg,约1.4-1.5mg/kg,约1.5-1.6mg/kg,约1.6-1.7mg/kg,约1.7-1.8mg/kg,约1.8-1.9mg/kg,约1.9-2.0mg/kg,约2.0-2.1mg/kg,约2.1-2.2mg/kg,约2.2-2.3mg/kg,约2.3-2.4mg/kg,约2.4-2.5mg/kg,约2.5-2.6mg/kg,约2.6-2.7mg/kg,约2.7-2.8mg/kg,约2.8-2.9mg/kg,约2.9-3.0mg/kg,约3.0-3.1mg/kg,约3.1-3.2mg/kg,约3.2-

3.3mg/kg, 约3.3-3.4mg/kg, 约3.4-3.5mg/kg, 约3.5-3.6mg/kg, 约3.6-3.7mg/kg, 约3.7-3.8mg/kg, 约3.8-3.9mg/kg, 约3.9-4.0mg/kg, 约4.0-5.0mg/kg, 约5.0-6.0mg/kg, 约6.0-7.0mg/kg, 约7.0-8.0mg/kg, 约8.0-9.0mg/kg, 约9.0-10.0mg/kg或约10-20mg/kg) 的式I、式IA、式IB或式II的化合物中任意一种(或其药学上可接受的盐), 随后在同一星期或后面的星期以约1-4mg/kg (例如about 1-1.1mg/kg, 约1.1-1.2mg/kg, 约1.2-1.3mg/kg, 约1.3-1.4mg/kg, 约1.4-1.5mg/kg, 约1.5-1.6mg/kg, 约1.6-1.7mg/kg, 约1.7-1.8mg/kg, 约1.8-1.9mg/kg, 约1.9-2.0mg/kg, 约2.0-2.1mg/kg, 约2.1-2.2mg/kg, 约2.2-2.3mg/kg, 约2.3-2.4mg/kg, 约2.4-2.5mg/kg, 约2.5-2.6mg/kg, 约2.6-2.7mg/kg, 约2.7-2.8mg/kg, 约2.8-2.9mg/kg, 约2.9-3.0mg/kg, 约3.0-3.1mg/kg, 约3.1-3.2mg/kg, 约3.2-3.3mg/kg, 约3.3-3.4mg/kg, 约3.4-3.5mg/kg, 约3.5-3.6mg/kg, 约3.6-3.7mg/kg, 约3.7-3.8mg/kg, 约3.8-3.9mg/kg, 或约3.9-4.0mg/kg) 的式I、式IA、式IB或式II的化合物(或其药学上可接受的盐) 施用一次或多次另外的剂量。例如, 受试者可以以约3mg/kg的第一剂量然后以约1mg/kg的一个或多个另外的剂量施用。例如, 受试者可以以约2mg/kg的第一剂量然后以约3mg/kg的一个或多个另外的剂量施用。例如, 受试者可以以约4mg/kg的第一剂量然后以约4mg/kg的一个或多个另外的剂量施用。

[0348] 多剂量可以以变化的时间间隔施用。例如, 可以以6天的间隔施用前2, 3, 4, 5, 6, 7或8或更多的剂量, 然后以7天的间隔施用另外的剂量。例如, 可以以7天的间隔施用前2, 3, 4, 5, 6, 7或8或更多的剂量, 然后以3天的间隔施用另外的剂量。

[0349] 在一个实施方式中, 式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐以约40-3000mg的剂量每周一次或约40-3000mg的剂量每周两次施用给受试者。

[0350] 在一些实施方式中, 式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐以约40-3000mg的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐每天, BID, TID, 每周一次(QW), 或每周两次(BIW) 施用。本公开的药物组合物以约40mg, 50mg, 75mg, 100mg, 150mg, 175mg, 200mg, 250mg, 275mg, 300mg, 325mg, 350mg, 375mg, 400mg, 450mg, 500mg, 500-600mg, 600-700mg, 700-800mg, 800-900mg, 或900-1000mg每天, BID, TID, 每周一次(QW) 或每周两次(BIW) 施用, 或以约40mg, 50mg, 75mg, 100mg, 150mg, 175mg, 200mg, 250mg, 275mg, 300mg, 325mg, 350mg, 375mg, 或400mg, 450mg, 500mg, 500-600mg, 600-700mg, 700-800mg, 800-900mg, 或900-1000mg的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐每周两次(BIW) 施用。

[0351] 本公开提供以约1-100mg/kg (例如10-20mg/kg, 20-50mg/kg, 50-75mg/kg, 75-100mg/kg) 的剂量施用的式I、式IA、式IB或式II的化合物。

[0352] 施用途径

[0353] 本公开的化合物或其药学上可接受的盐, 酯或衍生物可以口服, 鼻, 鼻内, 经皮给药, 肺部, 吸入, 口腔, 舌下, 腹膜内, 皮下, 肌肉内, 静脉内, 直肠, 胸膜内, 鞘内和胃肠外给药。在一个实施方式中, 所述化合物为口服给药。本领域技术人员了解特定给药途径的优点。

[0354] 用于本公开化合物的局部或经皮给药方式的剂型包括粉剂, 喷雾剂, 软膏剂, 糊剂, 乳膏剂, 洗剂, 凝胶剂, 溶液剂, 贴剂和吸入剂。在一个实施方式中, 所述化合物化合物在无菌条件下与药学上可接受的载体, 与所需的任意防腐剂, 缓冲剂或推进剂混合。

[0355] 对于吸入给药,所述化合物以来自压力容器或分配器的气雾喷雾剂的形式递送,该容器或分配器含有合适的推进剂,例如气体如二氧化碳,或喷雾器。

[0356] 全身给药可以通过转化粘液质或经皮给药方式。对于转化粘液质或经皮给药方式,在制剂中使用适用于待穿透屏障的渗透剂。这种渗透剂在本领域通常是已知的,包括,例如,对于转化粘液质给药,洗涤剂,胆汁盐和夫西地酸衍生物。转化粘液质给药可以通过使用鼻腔喷雾剂或栓剂来实现。对于经皮给药,活性化合物配制成本领域通常已知的软膏剂,软膏剂,凝胶剂或乳膏剂。

[0357] 本公开的药物组合配制成本与预期的给药途径相匹配。给药途径的实例包括肠胃外,例如,静脉内,皮内,皮下,口服(例如吸入),经皮给药(局部)和转化粘液质给药。用于肠胃外,皮内或皮下使用的溶液或悬浮液可以包括以下组分:无菌稀释剂,例如注射用水,盐水溶液,固定油,聚乙二醇,甘油,丙二醇或其它合成溶剂;抗菌剂如苯甲醇或对羟基苯甲酸甲酯;抗氧化剂如抗坏血酸或亚硫酸氢钠;螯合剂如乙二胺四乙酸;缓冲剂如乙酸盐,柠檬酸盐或磷酸盐,以及调节张力的试剂如氯化钠或葡萄糖。可以用酸或碱,盐酸或氢氧化钠调节pH值。肠胃外制剂可以封装在安瓿瓶,一次性注射器或由玻璃或塑料制成的多剂量小瓶中。

[0358] 联合治疗

[0359] 本公开提供了预防或治疗受试者病毒感染(例如,诺如病毒感染)的方法。所述方法包括向受试者施用治疗有效量的本公开的化合物。所述化合物可以用于单一疗法或联合疗法方案中。

[0360] 本文中使用的,“单一疗法”意指向有需要的受试者施用单一活性或治疗性化合物(例如,式I、式IA、式IB或式II的化合物)。优选地,单一疗法包括施用治疗有效量的活性化合物。例如,诺如病毒单一疗法采用本公开化合物,或其药学上可接受的盐,前药,代谢物,类似物或衍生物中的一种,给需要治疗诺如病毒的受试者。单一疗法可以与联合疗法对比,在联合疗法中,施用多种活性化合物的组合,优选组合物的每种组分以治疗有效量存在。一方面,在产生期望的生物效应方面,用本公开的化合物或其药学上可接受的盐,前药,代谢物,多晶型物或溶剂化物的单一疗法比联合疗法更有效。

[0361] 本文中所用的“组合疗法”或“协同疗法”包括施用本公开的化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型物或溶剂化物,以及作为特定治疗方案的一部分的第二试剂,旨在提供与这些治疗剂的协同作用的有益效果。组合的有益效果包括但不限于,治疗剂的组合产生的药物代谢动力学或药效学协同作用。组合使用这些治疗剂通常在确定的时间段内进行(根据所选择的组合,通常为分钟,小时,天或星期)。“联合疗法”可以是,但是通常不是,意在包括施用这些作为分开的单一疗法方案中一部分的治疗剂中的两种或多种,其随意地和任意地导致本公开的组合。

[0362] “组合疗法”旨在包括以连续的方式施用这些治疗剂,其中每种治疗剂在不同的时间施用,以及以几乎同时的方式施用这些治疗剂,或至少两种治疗剂。几乎同时施用可以通过,例如,向受试者施用具有固定比率的每种治疗剂的单个胶囊,或者多个每种治疗剂的单个胶囊。连续或几乎同时使用每种治疗剂可以通过任意的合适的途径来实现,包括但不限于,口服途径,静脉注射途径,肌肉注射途径,以及通过粘膜组织的直接吸收。所述治疗剂可以使用相同的途径或者不同的途径施用。例如,所选择的组合的第一治疗剂可以通过静脉

内注射施用,而组合的其他治疗剂可以口服施用。或者,例如,所有的治疗剂都可以口服给药,或者所有的治疗剂都可以通过静脉注射给药。治疗剂的给药顺序不是非常关键的。

[0363] “组合疗法”也包括上述的治疗剂与其他的生物活性成分或非药物疗法的进一步联合给药。当所述组合疗法进一步包括非药物治疗时,所述非药物治疗可以在任意适当的时间进行,只要实现治疗剂组合和非药物治疗的协同作用的有益效果即可。例如,在适当的情况下,当非药物治疗暂时的从治疗剂的施用中移除时(可能是几天甚至几周),仍可实现有益效果。

[0364] 在一些实施方式中,本公开提供了一种病毒感染(例如,诺如病毒感染或诺如病毒感染相关的疾病或病症,流感病毒感染或流感病毒感染相关的疾病或病症)的治疗、预防或延迟发作的方法,通过向有需要的受试者施用治疗有效量的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐与一种或多种抗病毒剂的组合的药物组合物。

[0365] 本公开还提供了式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐与一种或多种抗病毒剂的组合在用于病毒感染(例如,诺如病毒感染或诺如病毒感染相关的疾病或病症,流感病毒感染或流感病毒感染相关的疾病或病症)的治疗、预防或延迟发作的药物的制造中的用途,通过向有需要的受试者施用治疗有效量的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐与一种或多种抗病毒剂的组合的药物组合物。

[0366] 本公开还提供了用于病毒感染(例如,诺如病毒感染或诺如病毒感染相关的疾病或病症,流感病毒感染或流感病毒感染相关的疾病或病症)的治疗、预防或延迟发作的式I、式IA、式IB或式II的化合物,通过向有需要的受试者施用治疗有效量的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐与一种或多种抗病毒剂的组合的药物组合物。

[0367] 在一些实施方式中,本公开提供了一种小核糖核酸病毒感染或小核糖核酸病毒病毒感染相关的疾病或病症的治疗、预防或延迟发作的方法,通过向有需要的受试者口服施用治疗有效量的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐与一种或多种抗病毒剂的组合的药物组合物。

[0368] 本公开还提供了式I、式IA、式IB或式II的化合物在用于小核糖核酸病毒感染或小核糖核酸病毒病毒感染相关的疾病或病症的治疗、预防或延迟发作的药物的制造中的用途,通过向有需要的受试者口服施用治疗有效量的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐与一种或多种抗病毒剂的组合的药物组合物。

[0369] 本公开还提供了用于小核糖核酸病毒感染或小核糖核酸病毒病毒感染相关的疾病或病症的治疗、预防或延迟发作的式I、式IA、式IB或式II的化合物,通过向有需要的受试者口服施用治疗有效量的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐与一种或多种抗病毒剂的组合的药物组合物。

[0370] 在一些实施方式中,本公开提供了一种副黏液病毒科病毒感染或副黏液病毒科病毒感染相关的疾病或病症的治疗、预防或延迟发作的方法,通过向有需要的受试者口服施用治疗有效量的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐与一种或多种抗病毒剂的组合的药物组合物。

[0371] 本公开还提供了式I、式IA、式IB或式II的化合物在用于副黏液病毒科病毒感染或副黏液病毒科病毒感染相关的疾病或病症的治疗、预防或延迟发作的药物的制造中的用途,通过向有需要的受试者口服施用治疗有效量的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药

学上可接受的盐与一种或多种抗病毒剂的组合的药物组合物。

[0372] 本公开还提供了用于副黏液病毒科病毒感染或副黏液病毒科病毒感染相关的疾病或病症的治疗、预防或延迟发作的式I、式IA、式IB或式II的化合物,通过向有需要的受试者口服施用治疗有效量的式I、式IA、式IB或式II的化合物或其药学上可接受的盐与一种或多种抗病毒剂的组合的药物组合物。

[0373] 在一个实施方式中,治疗病毒感染(例如,流感病毒感染或诺如病毒感染)的方法还包括施用至少一种另外的抗病毒剂。在一个实施方式中,式I、式IA、式IB或式II的化合物与另外的抗病毒剂组合使用。在一个或多个实施方式中,式I、式IA、式IB或式II的化合物用于制造与另外的抗病毒剂组合使用的药物。在一个实施方式中,所述一种另外的抗病毒剂为金刚烷。在另一个实施方式中,所述一种另外的抗病毒剂为金刚烷胺或金刚乙烷。在另一个实施方式中,所述一种另外的抗病毒剂为神经氨酸酶抑制剂(例如,奥塞米韦,扎那米韦,拉尼米韦和帕拉米韦)。在另一个实施方式中,所述一种另外的抗病毒剂为奥司他韦或扎那米韦。

[0374] 在一些实施方式中,本公开的药物组合物(式I、式IA、式IB或式II的化合物)与一种或多种选自咪达唑仑,环孢菌素A,他克莫司,更昔洛韦,缬更昔洛韦,膦甲酸钠(foscavir),西多福韦,二线抗CMV药物,二线抗HCV药物,膦甲酸(foscarnet),非格司亭,培非格司亭,皮质类固醇如布地奈德,倍氯米松和广谱CYP抑制剂氨基苯并三唑或其组合的化合物或组合物联合施用。

[0375] 在另外的实施方式中,所述化合物用于与至少一种其他免疫抑制剂联合给药。在一个实施方式中,所述免疫抑制剂同时或顺序施用。所述免疫抑制剂包括但不限于达克珠单抗,巴利昔单抗,他克莫司,西罗莫司,雷帕霉素,麦考酚酸酯,环孢霉素A,糖皮质激素,抗CD3单克隆抗体,抗胸腺细胞球蛋白,抗CD52单克隆抗体,硫唑嘌呤,依维莫司,放线菌素D,环磷酰胺,铂,亚硝基脲(Nitrosurea),甲氨喋呤,巯嘌呤,莫罗单抗(Muromonab),IFN γ ,英夫利昔单抗,依那西普,阿达木单抗,那他珠单抗,芬戈莫德及其组合。

[0376] 本文提供的化合物或组合物可以与增强剂,与其他活性成分或与免疫抑制剂的组合使用。在一些实施方式中,所述化合物可以与另一种治疗剂或增强剂组合或顺序给药。该其他治疗剂包括已知的那些用于治疗、预防或改善与病毒感染相关的一种或多种症状的治疗剂。可以理解,本文提供的化合物与一种或多种上述化合物和任选地一种或多种另外的药理学活性物质的任何合适的组合被认为是在本公开的范围之内。在另一个实施方式中,本文提供的化合物在一种或多种另外的活性成分之前或之后施用。在一个实施方式中,本文公开的两种或多种抗病毒剂连续或组合施用。一些增强剂的量可以使用本领域已知的方法来选择以增强抗病毒剂的生物利用度。可以使用任何量来提供一些增强剂期望的效果。剂量可以改变,在一个非限制性实施例中,从0.001mg至约3000mg化合物每千克体重每天,例如0.01至500mg/kg或例如0.1-20mg/kg。

[0377] 组合物的药物代谢动力学行为在群体内会随着受试者的不同来而不同。上文针对本文公开的组合物所描述的数字是基于群体中的平均行为。本公开旨在涵盖平均落入所公开的范围内的组合物,但是应理解某些对象可能落在该范围之外。

[0378] 所述药物组合物可以与给药说明一起包含在容器、包装或分配器中。本公开提供了一种药盒,其处理本公开的任意一种药物组合物外,还包括容器、包装或分配器以及给药

说明书。

[0379] 本公开的化合物,或其药学上可接受的盐,前药,代谢物,类似物或衍生物,可与第二抗病毒化合物联合施用。例如,如上所述,本公开的组合物可以包括上述化合物以及一种或多种另外的如在本部分所述的活性剂以本领域已知的类似的方式组合。在进行本公开的方法时,可以与本公开的组合物一起使用的其他的抗病毒活性剂包括但不限于,那些靶向A型流感病毒中的M2离子通道的抗病毒活性剂(例如金刚烷,如金刚烷胺和金刚乙胺);那些在进入细胞后抑制病毒脱壳的药物,阻止新形成的病毒颗粒从感染细胞(例如神经氨酸酶抑制剂,如奥司他韦和扎那米韦)表面释放的药剂。

[0380] 预防由病毒再激活引起的疾病或病症的方法

[0381] 本公开还提供了一种预防处于病毒感染再生风险的受试者的疾病或病症的方法,通过向受试者口服施用治疗有效量的式I、式IA、式IB的化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物。在一些实施方式中,具有再生风险的病毒可以是流感病毒,诺如病毒,EBV,埃博拉病毒,小核糖核酸病毒科,副粘病毒科和马尔堡病毒。

[0382] 本公开还提供了通过向受试者口服施用治疗有效剂量的式I、式IA、式IB的化合物的药物组合物来预防处于病毒感染再激活风险的受试者的疾病或病症的方法,或式II或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,处于再激活风险的病毒可以是流感病毒,诺如病毒,EBV,埃博拉病毒,小核糖核酸病毒科病毒,副粘液病毒科病毒和马尔堡病毒。在一些优选的实施方式中,处于再生风险的病毒可以是流感病毒。

[0383] 食物的影响

[0384] 在一些实施方式中,目前实施方式的药物组合物,例如,片剂或悬浮液,可以在受试者禁食或进食条件时提供给受试者。在一个实施方式中,包含式I、式IA、式IB或式II的化合物(或其药学上可接受的盐)的组合物可以提供给空腹的受试者,例如,在禁食少于24小时但是超过12小时,超过11小时,超过10小时,超过8小时或超过5小时。

[0385] 在另一些实施方式中,包含式I、式IA、式IB或式II的化合物(或其药学上可接受的盐)的组合物与食物一起或在进食之后提供给受试者。在一个实施方式中,式I、式IA、式IB或式II的化合物(或其药学上可接受的盐)可由空腹的受试者服用。

[0386] 患者群体

[0387] 在一些实施方式中,式I、式IA、式IB或式II的化合物(或其药学上可接受的盐),包含式I、式IA、式IB或式II的化合物的组合物或包含式I、式IA、式IB或式II的组合物组合疗法施用有需要的哺乳动物(例如人),其为约1至6个月,6至12个月,1至5岁,5至10岁,10至15岁,15至20岁,20至25岁,25至30岁,30至35岁,35至40岁,40至45岁,45岁到50岁,50到55岁,55到60岁,60到65岁,65到70岁,70到75岁,75到80岁,80到85岁,85到90岁,90岁至95岁,或95至100岁。在一些实施方式中,所述哺乳动物患有病毒感染(例如,ssRNA感染如诺如病毒感染)。

[0388] 在一些实施方式中,式I、式IA、式IB或式II的化合物,包含式I、式IA、式IB或式II的化合物的组合物,或包含式I,将式IA,式IB或式II化合物的组合疗法给药于处于发生病毒感染的危险的人。在一些实施方案中,式I、式IA、式IB或式II的化合物,包含式I、式IA、式IB或式II的化合物的组合物,或包含式I,将式IA,式IB或式II化合物的组合疗法施用患有病毒感染的人。在一些实施方案中,患者是约1至6个月,6至12个月,1至5岁,5至10岁,5至12

岁,10至15岁,15至20岁,13至19岁,20至25岁,25至30岁,20至65岁,30至35岁,35至40岁,40至45岁,45至50岁,50至55岁,55至60岁,60至65岁,65至70岁,70至75岁,75至80岁,80至85岁,85至90岁,90至95岁,或95岁至100岁的人。

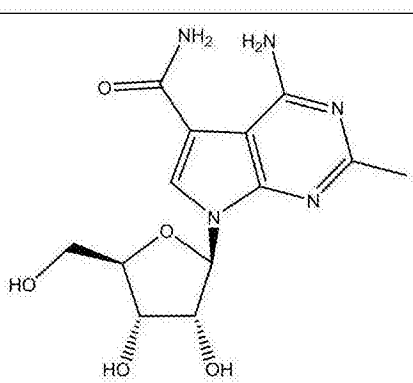
[0389] 在一些实施方式中,式I、式IA、式IB或式II的化合物,包含式I、式IA、式IB或式II的化合物的组合物,或包含式I,将式IA,式IB或式II化合物的组合疗法施用人类婴儿。在另一个实施方式中,将式I、式IA、式IB或式II的化合物或包含式I、式IA、式IB或式II的化合物的组合疗法施用人类儿童。在其他实施方式中,式I、式IA、式IB或式II的化合物,包含式I、式IA、式IB或式II的化合物的组合物,或包含式I,将式IA,式IB或式II化合物的组合疗法施用人类成人。在还有一些实施方式中,式I、式IA、式IB或式II的化合物,包含式I、式IA、式IB或式II的化合物的组合物,或包含式I,将式IA,式IB或式II化合物的组合疗法施用老年人。

[0390] 除非另有说明,否则本文所用的所有百分比和比率均以重量计。本公开的其他特征和优点在不同的示例中很明显。所提供的实施例示出了实施本公开有用的不同的组分和方法。实施例不限制公开的内容。基于本公开,本领域的技术人员可以识别和使用其他有用的组分和方法实施本公开。

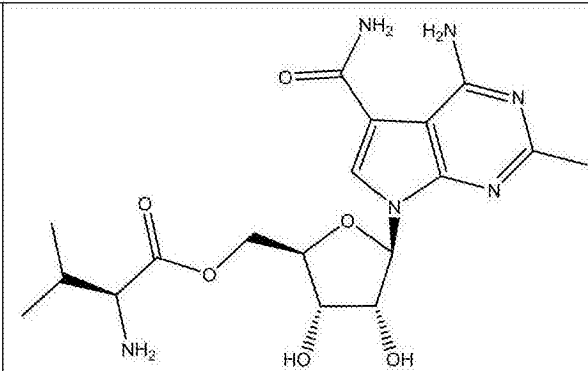
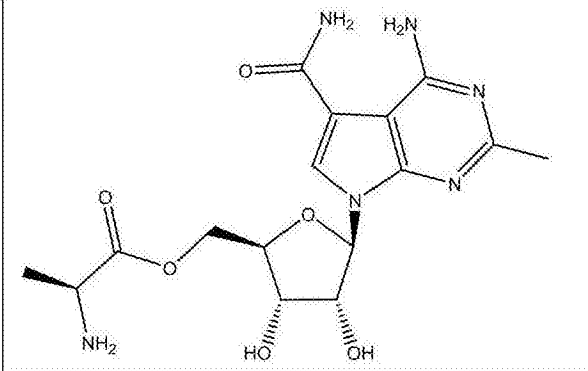
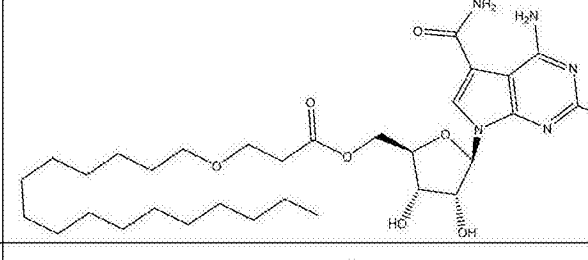
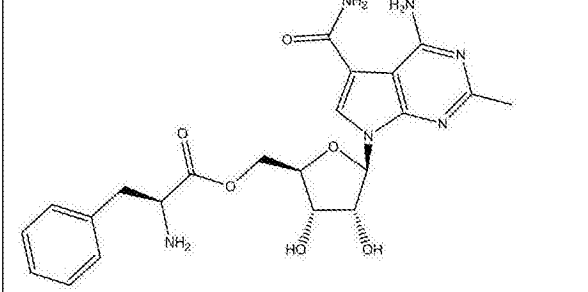
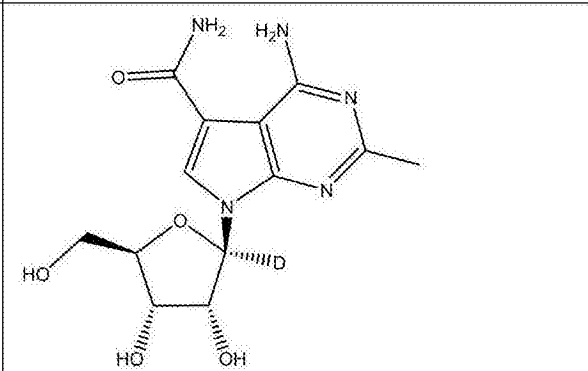
[0391] 所有的专利,专利申请和所述的出版物均通过引用整体并入本文。然而,当含有明确定义的专利,专利申请或出版物通过引用并入本文,那些明确的定义应该理解为适用于在出现它们的那些引用的专利,专利申请或出版物,而不是本申请的其他内容,特别是本申请的权利要求。

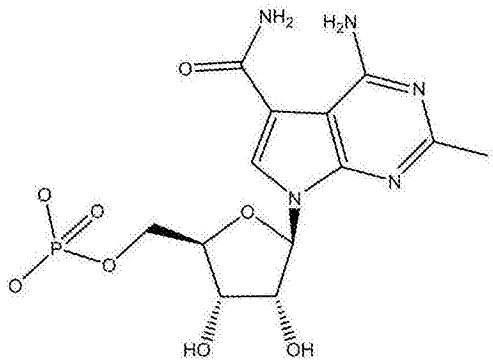
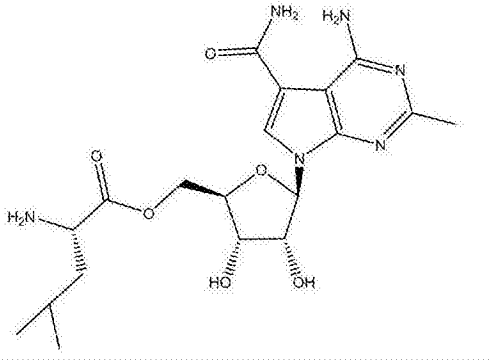
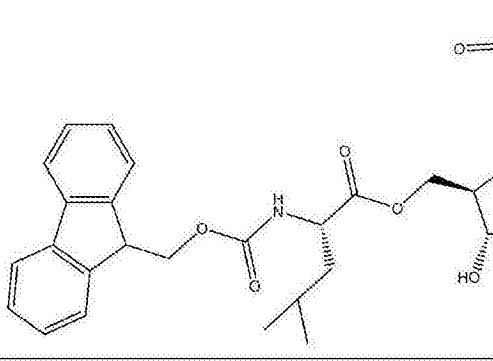
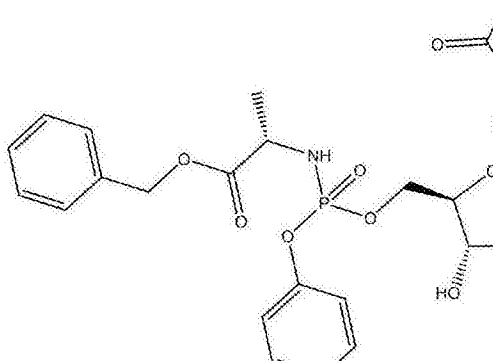
[0392] 在一些实施方式中,式II的化合物是:

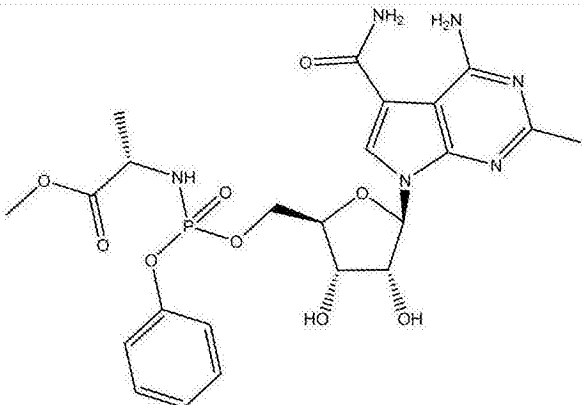
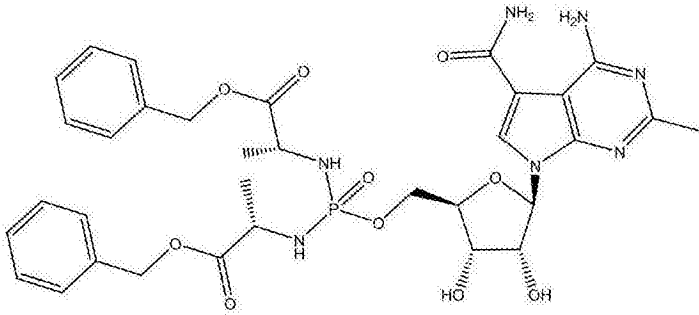
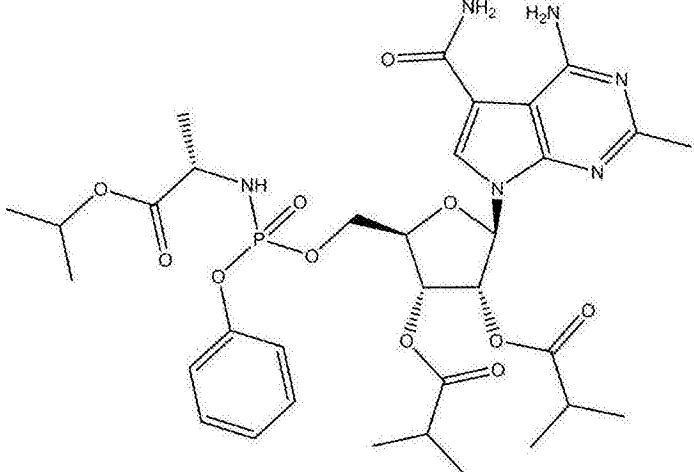
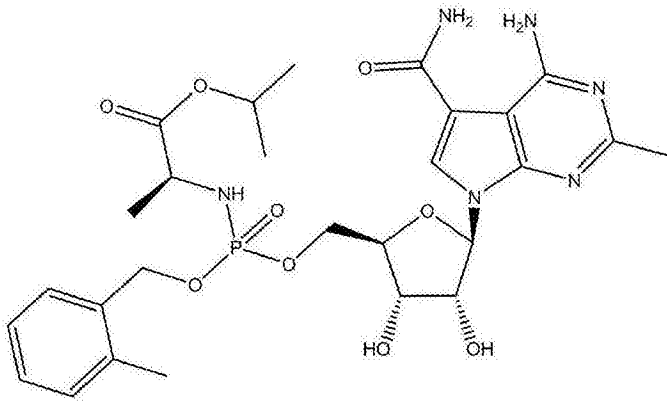
[0393]

化合物编号	结构
1	

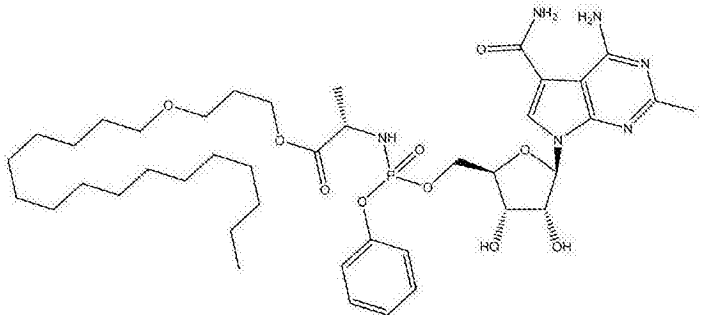
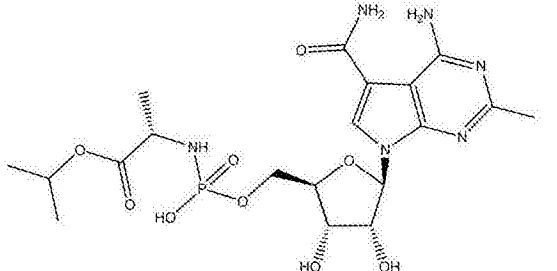
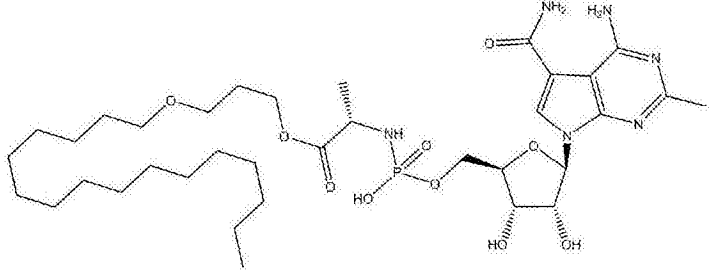
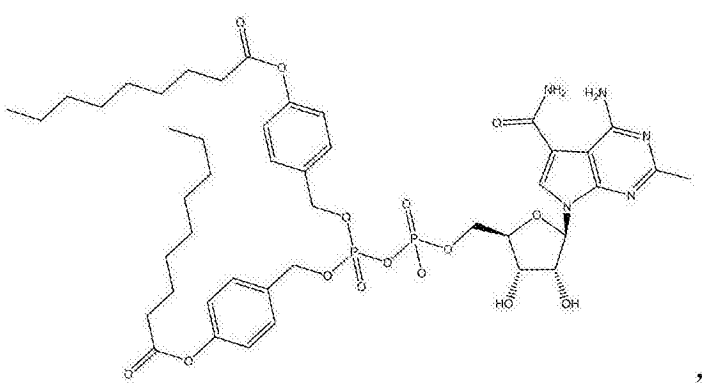
[0394]

2	
3	
4	
5	
6	

71	
77	
[0395] 76	
107	

111	
126	
133	
137	

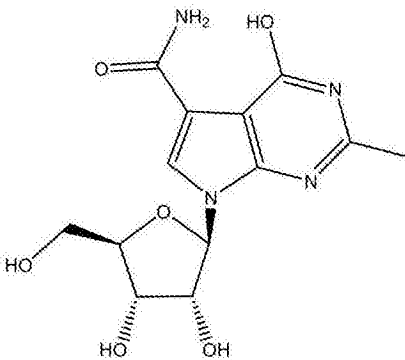
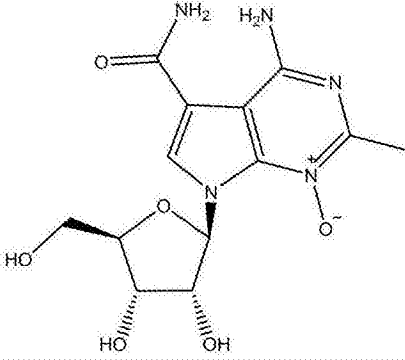
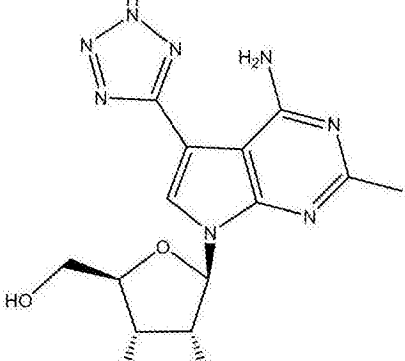
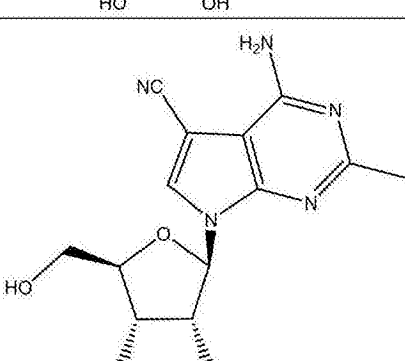
[0396]

139	
141	
[0397] 143	 或
145	

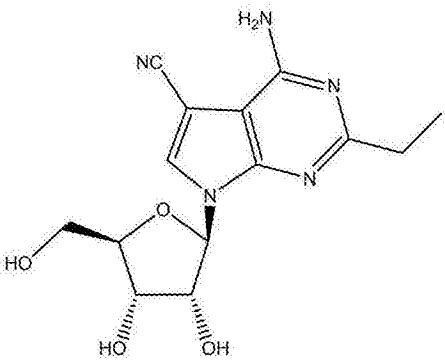
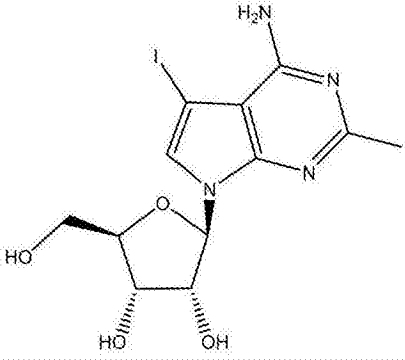
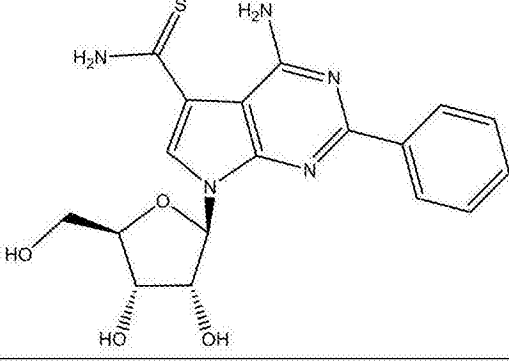
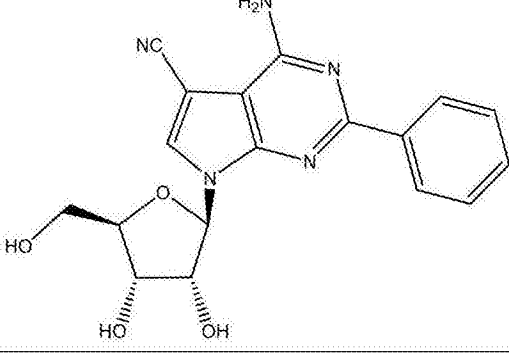
[0398] 或其其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

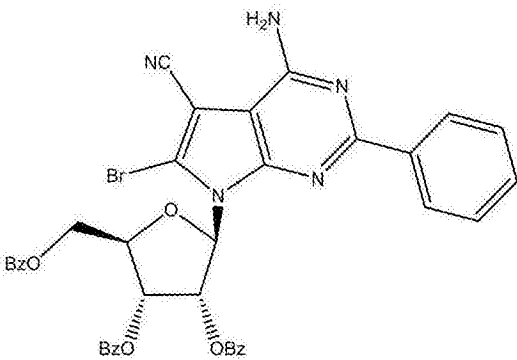
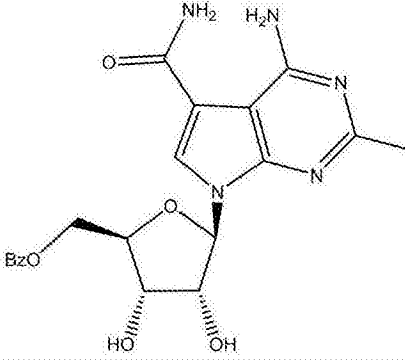
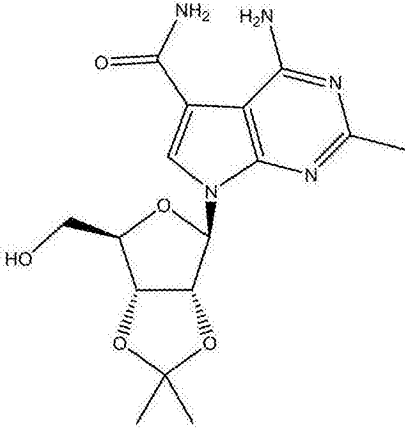
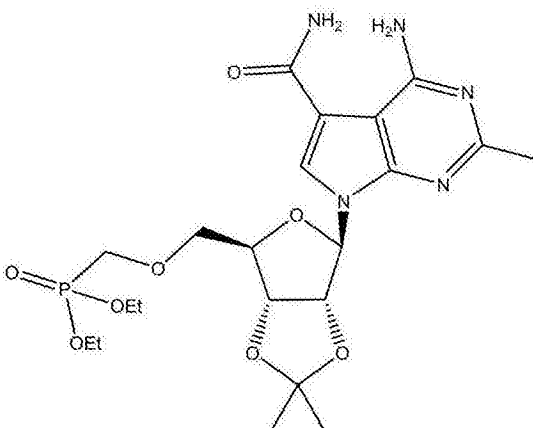
[0399] 在一些实施方式中，式I、II、IA、IB的化合物或其类似物是：

[0400]

7	
8	
10	
11	

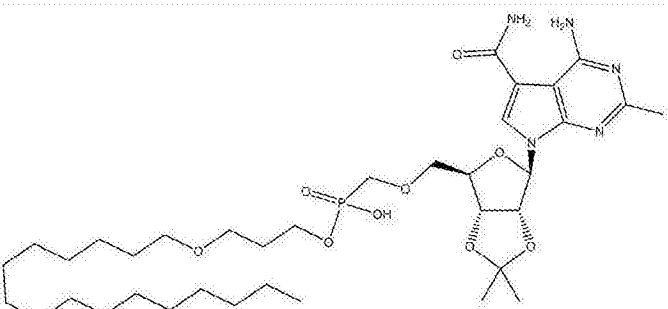
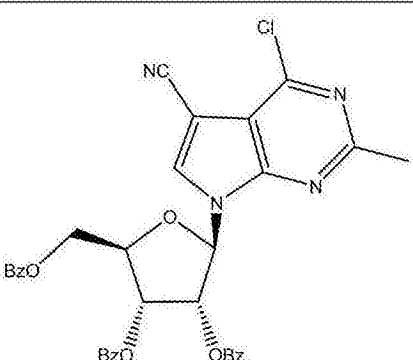
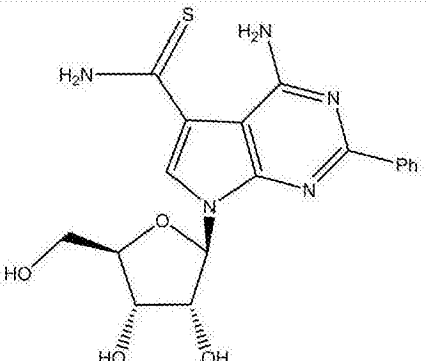
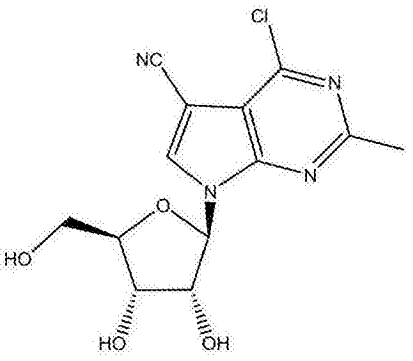
[0401]

12	
14	
16	
17	

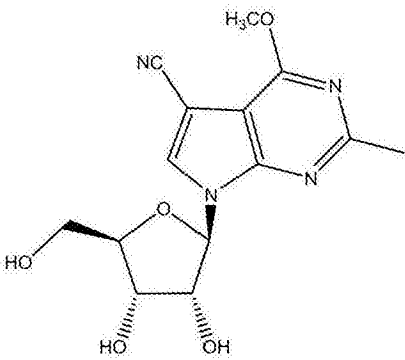
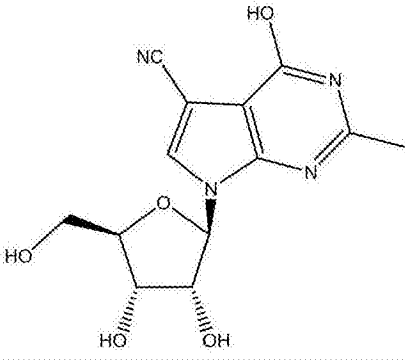
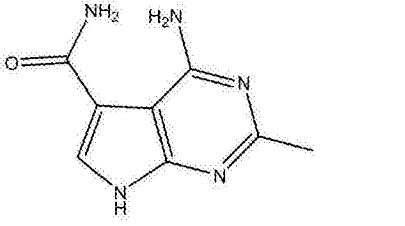
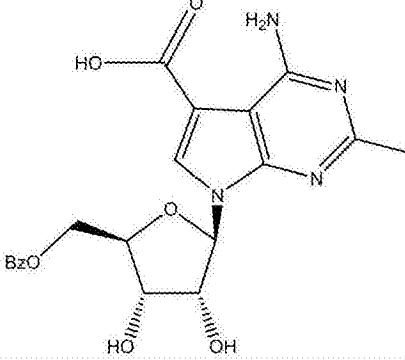
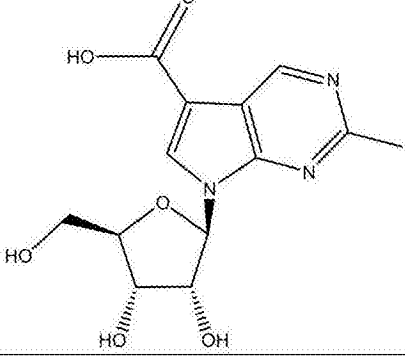
18	
19	
20	
21	

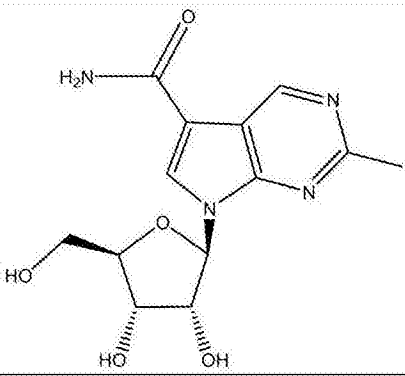
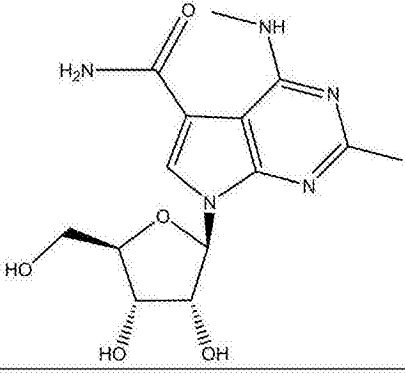
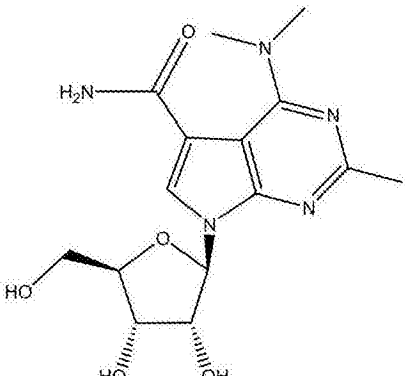
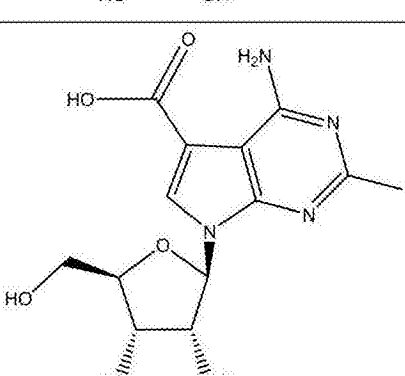
[0402]

[0403]

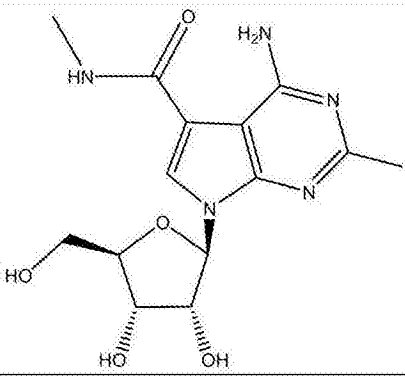
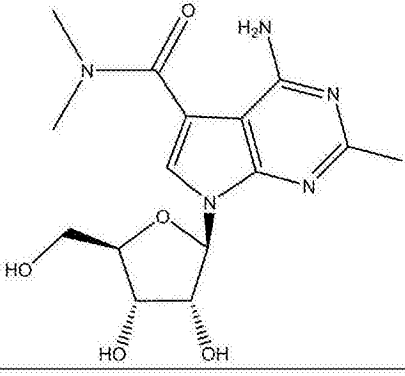
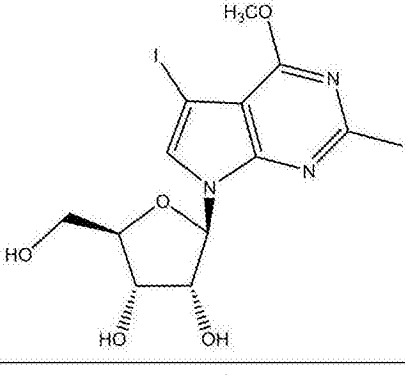
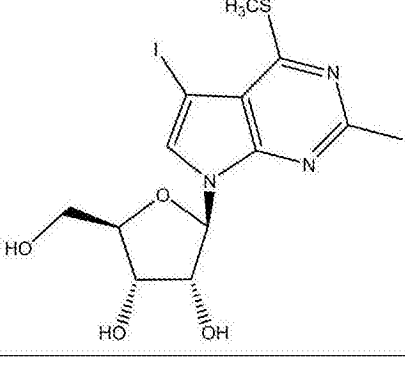
22	
27	
28	
29	

[0404]

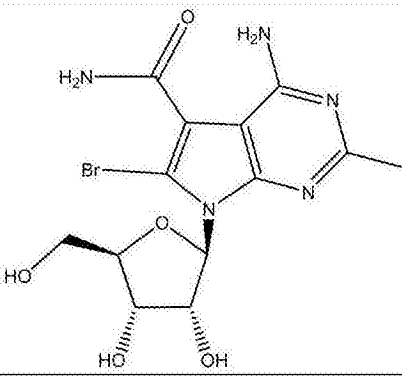
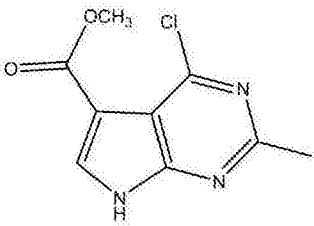
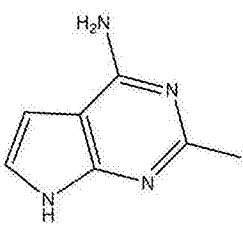
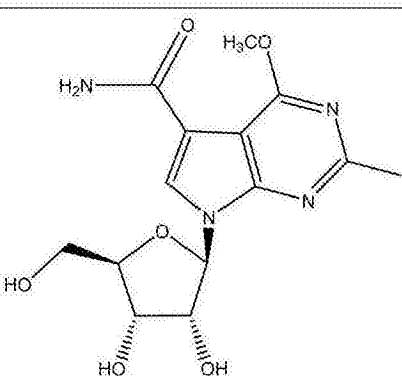
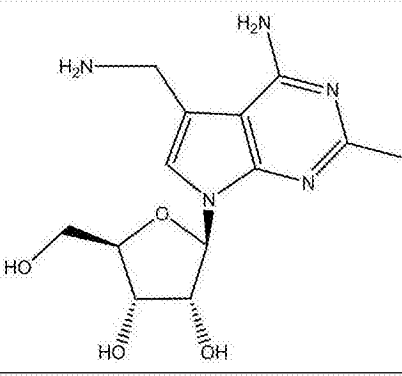
30	
31	
32	
33	
34	

35	
36	
[0405] 37	
38	

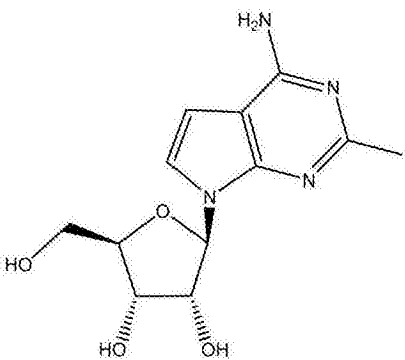
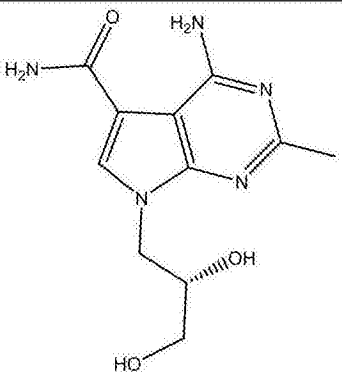
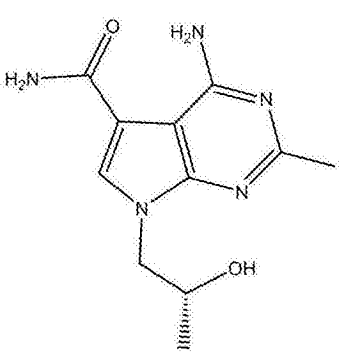
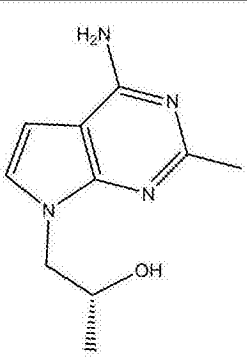
[0406]

39	
41	
42	
43	

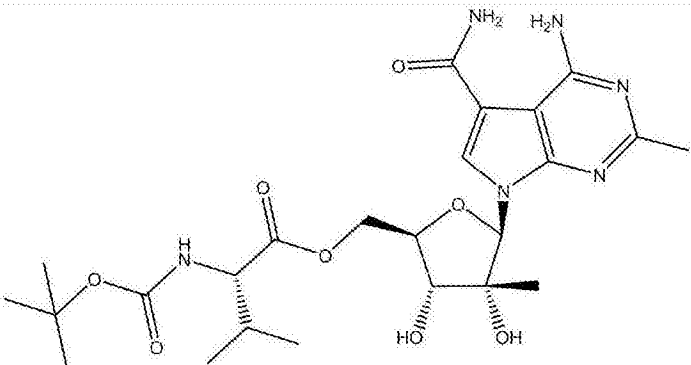
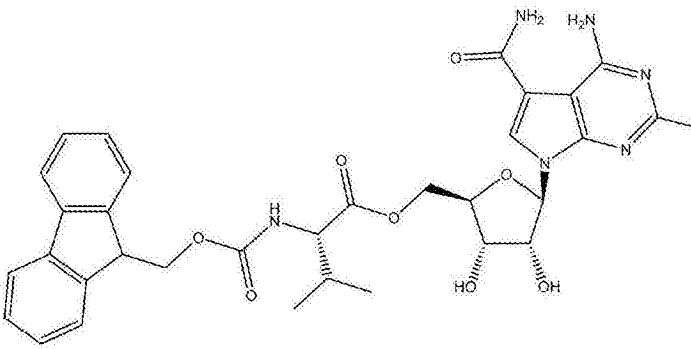
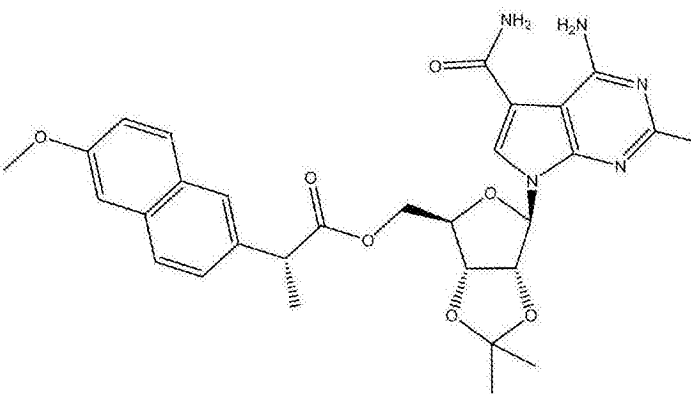
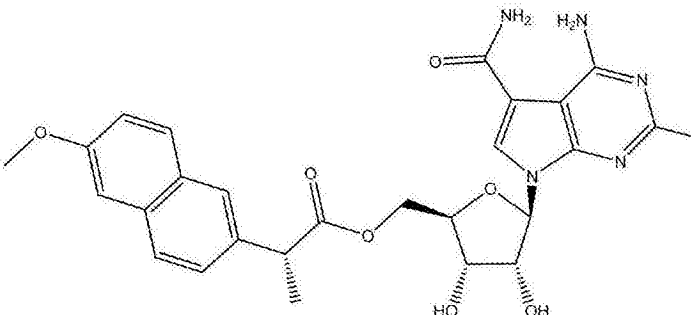
[0407]

44	
45	
46	
47	
48	

[0408]

49	
50	
51	
54	

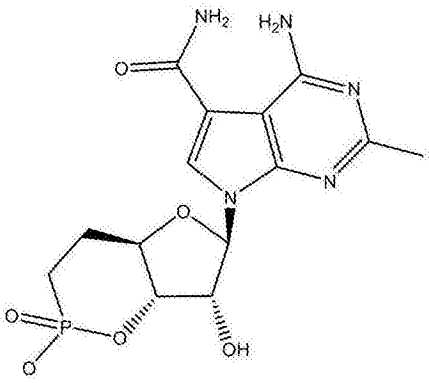
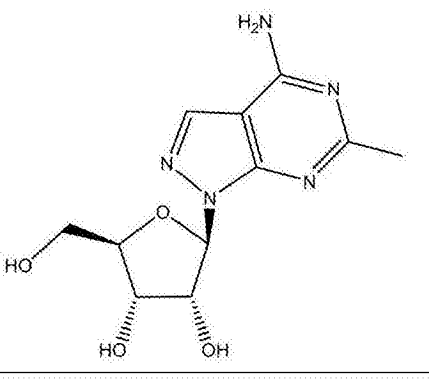
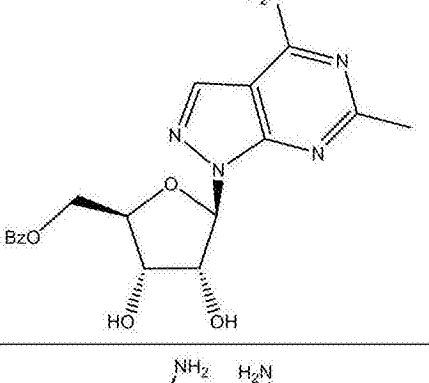
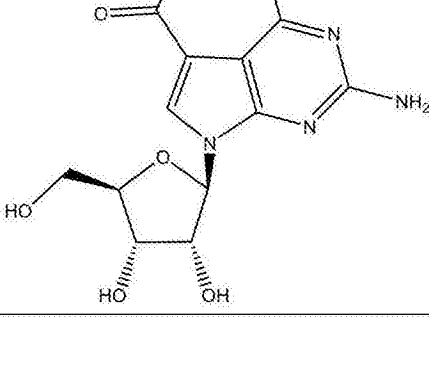
[0409]

61	
63	
65	
66	

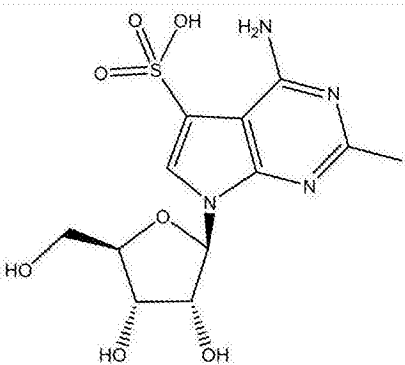
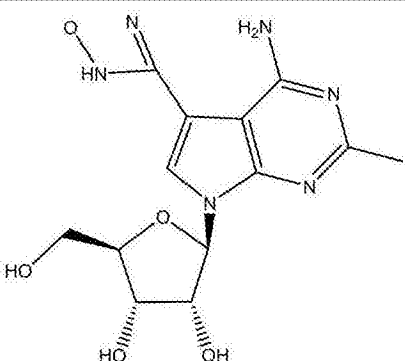
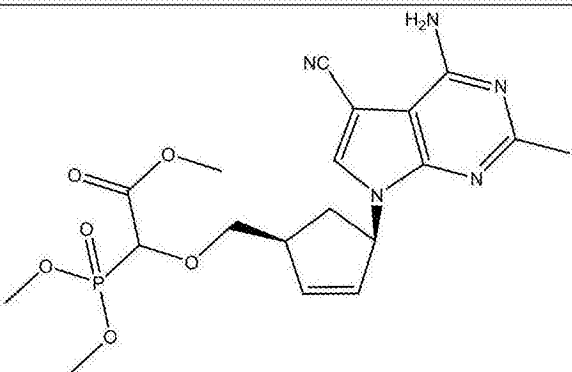
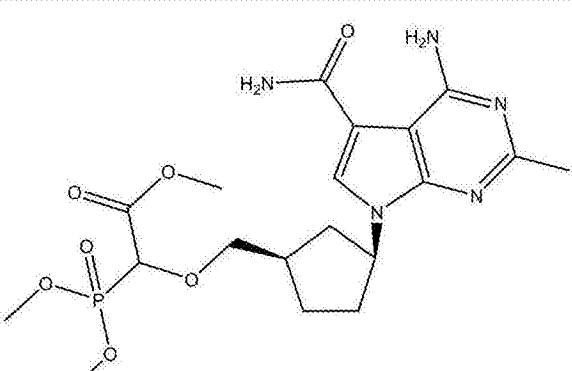
[0410]

68	Chemical structure 68: A nucleoside derivative. The base is a pyrazolo[3,4-b]pyridine system with an amino group (H₂N) at position 6 and a cyano group (N≡C) at position 3. The base is attached to a ribose sugar at position 1. The ribose sugar has hydroxyl groups (OH) at positions 2' and 3' and is linked to a phosphate group at position 5' via an oxygen atom. The phosphate group is further linked to an ethoxy group (OCH₂CH₃).
69	Chemical structure 69: A nucleoside derivative. The base is a pyrazolo[3,4-b]pyridine system with an amino group (H₂N) at position 6 and a cyano group (N≡C) at position 3. The base is attached to a ribose sugar at position 1. The ribose sugar has hydroxyl groups (OH) at positions 2' and 3' and is linked to a phosphate group at position 5' via an oxygen atom. The phosphate group is further linked to an ethoxy group (OCH₂CH₃).
72	Chemical structure 72: A nucleoside derivative. The base is a pyrazolo[3,4-b]pyridine system with an amino group (H₂N) at position 6 and an amino group (NH₂) at position 3. The base is attached to a ribose sugar at position 1. The ribose sugar has hydroxyl groups (OH) at positions 2' and 3' and is linked to a phosphate group at position 5' via an oxygen atom. The phosphate group is further linked to an ethoxy group (OCH₂CH₃).
73	Chemical structure 73: A nucleoside derivative. The base is a pyrazolo[3,4-b]pyridine system with an amino group (H₂N) at position 6 and an amino group (NH₂) at position 3. The base is attached to a ribose sugar at position 1. The ribose sugar has hydroxyl groups (OH) at positions 2' and 3' and is linked to a phosphate group at position 5' via an oxygen atom. The phosphate group is further linked to an ethoxy group (OCH₂CH₃).

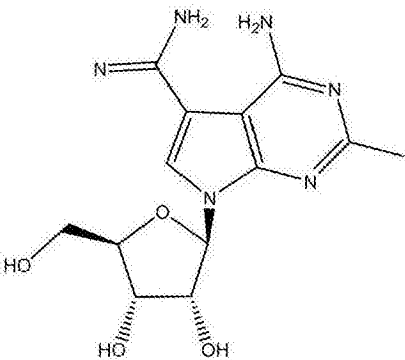
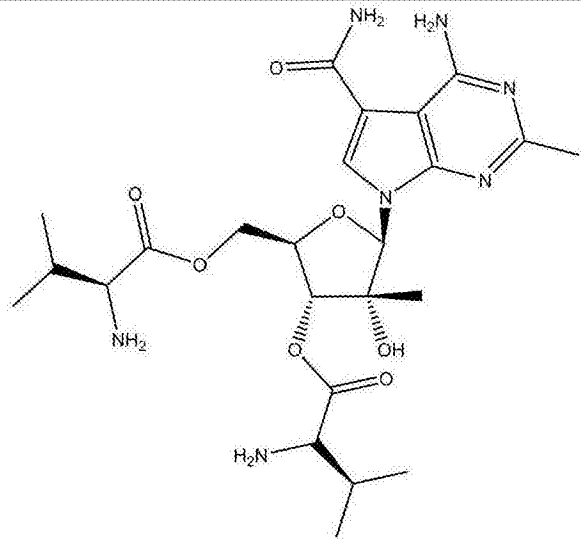
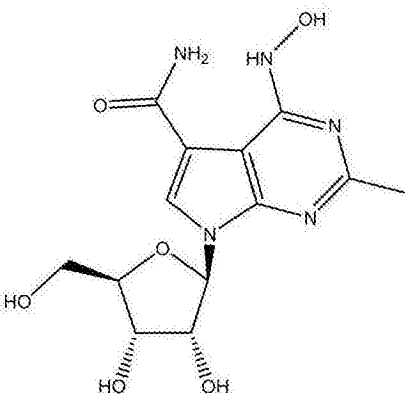
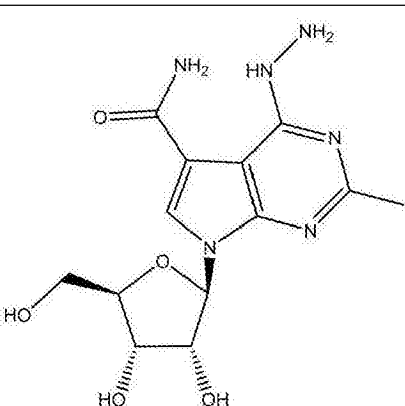
[0411]

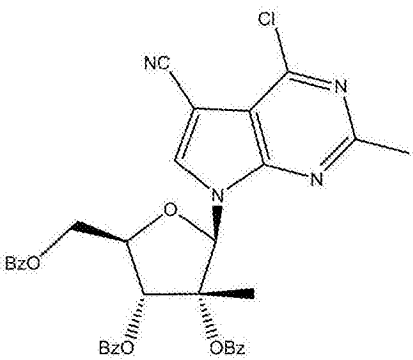
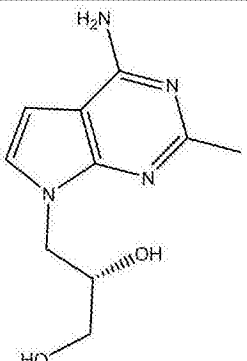
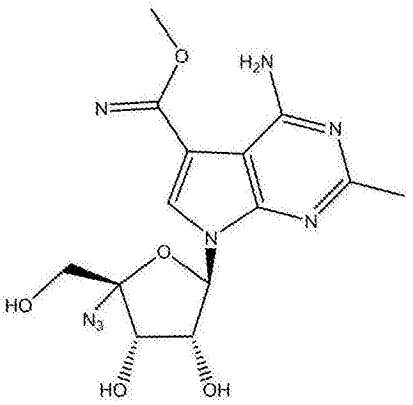
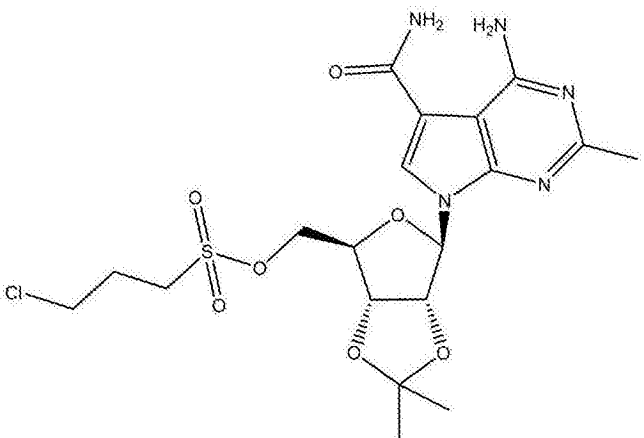
78	
81	
82	
83	

[0412]

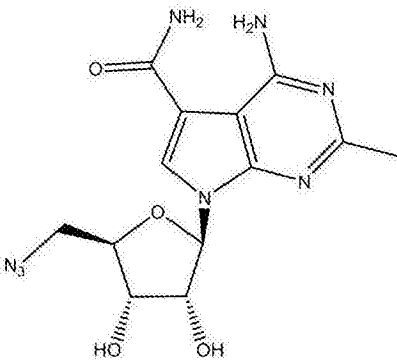
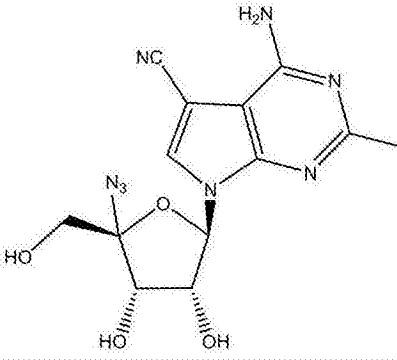
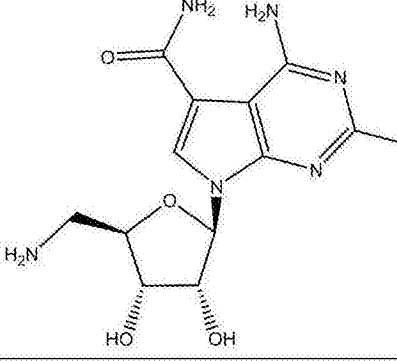
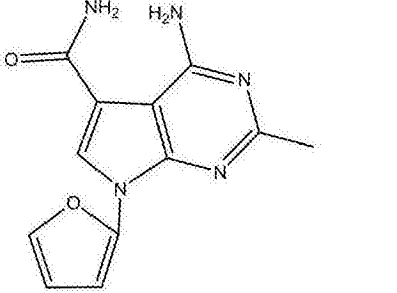
84	
85	
86	
88	

[0413]

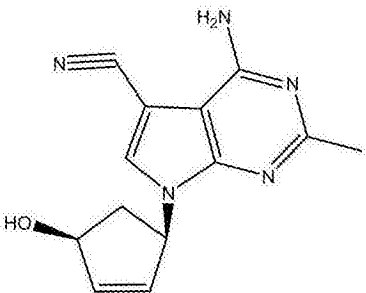
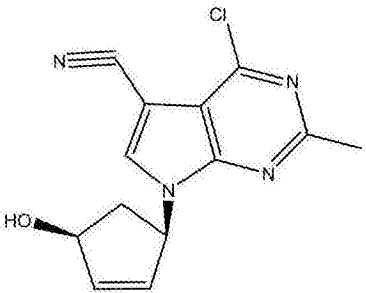
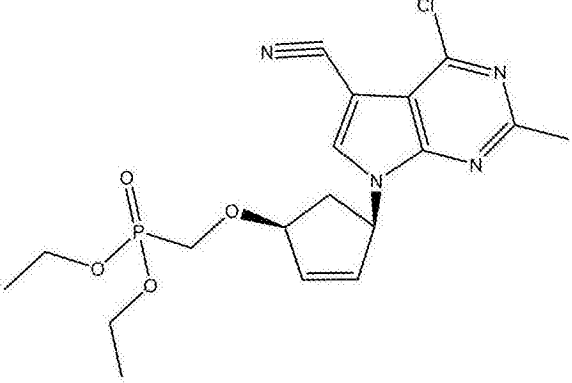
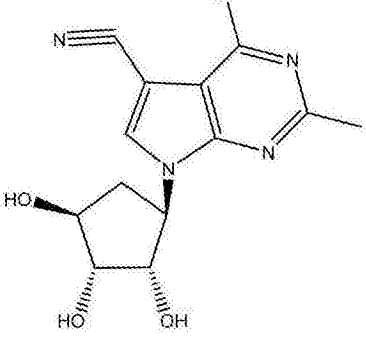
91	
93	
94	
95	

96	
98	
[0414] 100	
103	

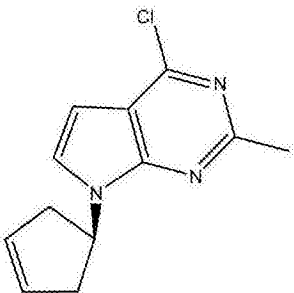
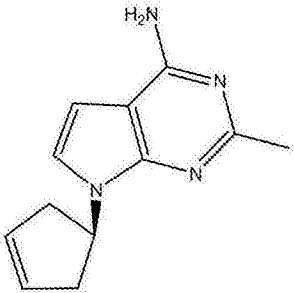
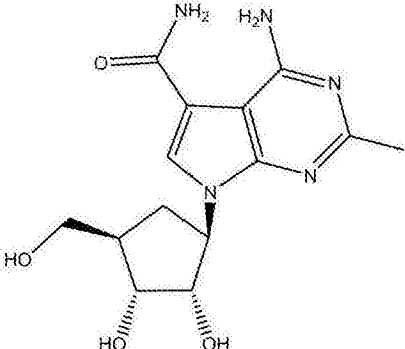
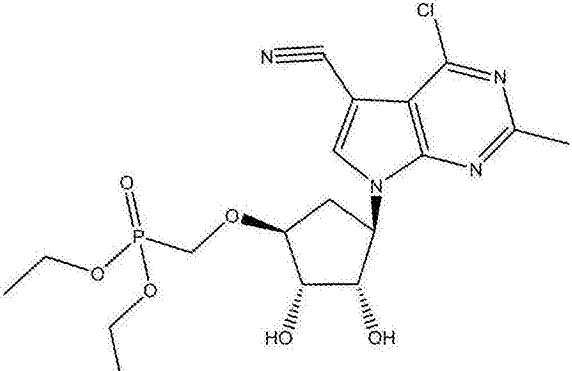
[0415]

104	
106	
108	
110	

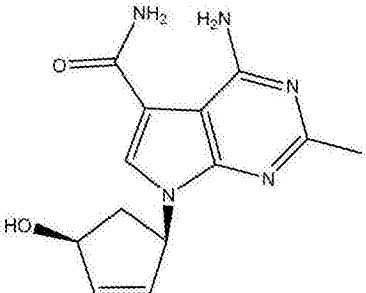
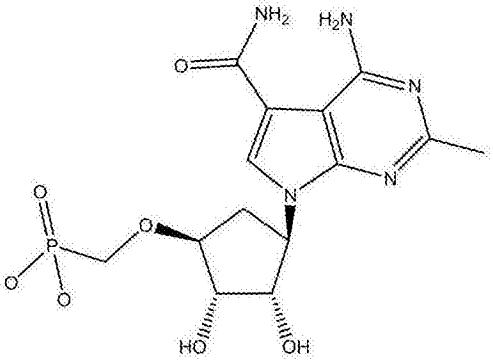
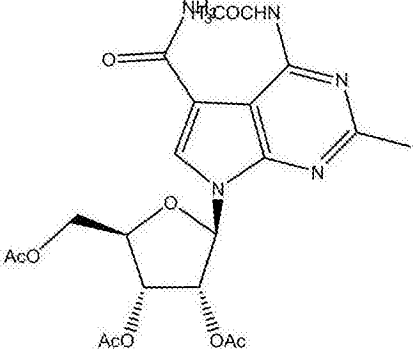
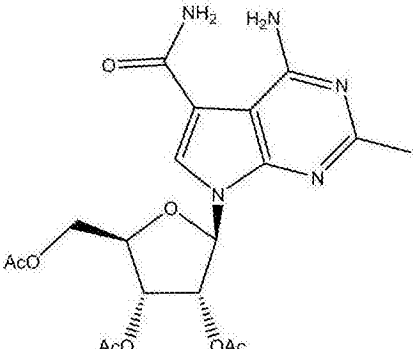
[0416]

114	
115	
116	
117	

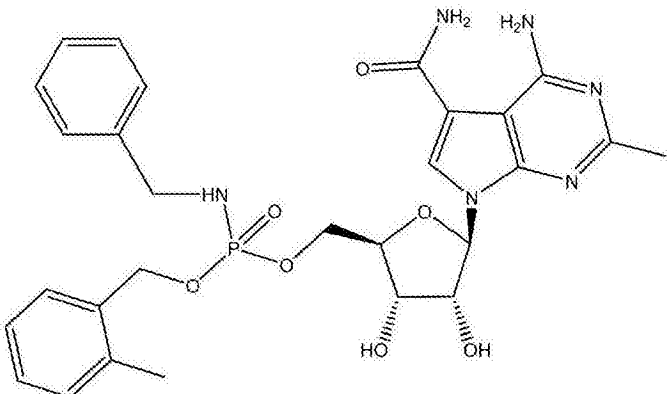
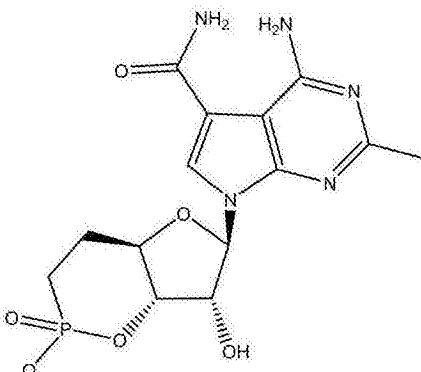
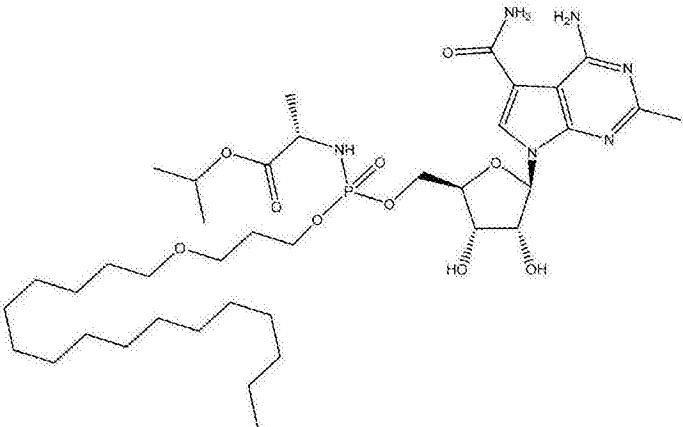
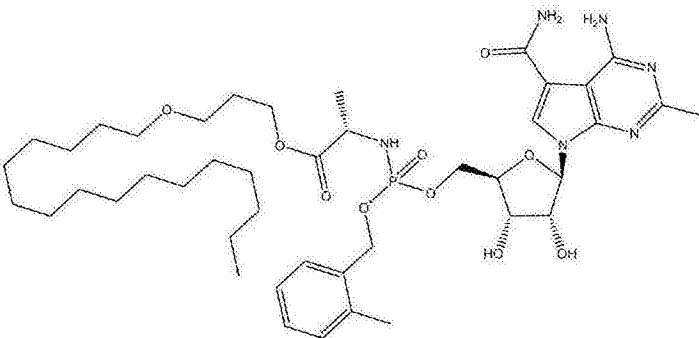
[0417]

120	
121	
122	
123	

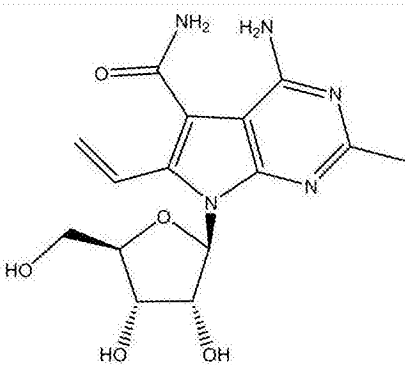
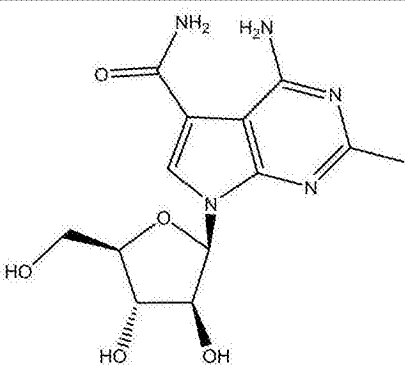
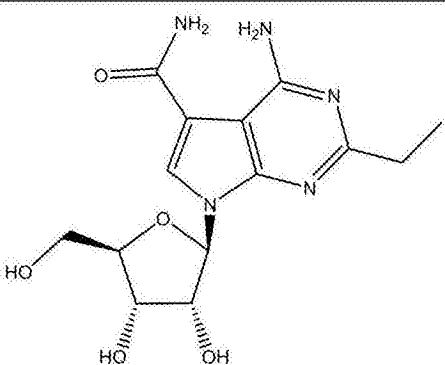
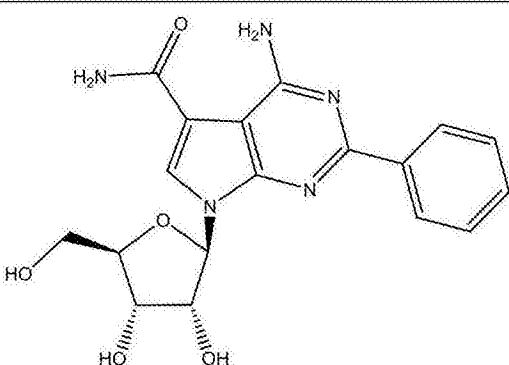
[0418]

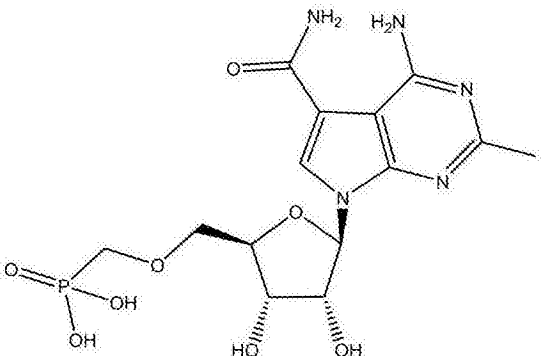
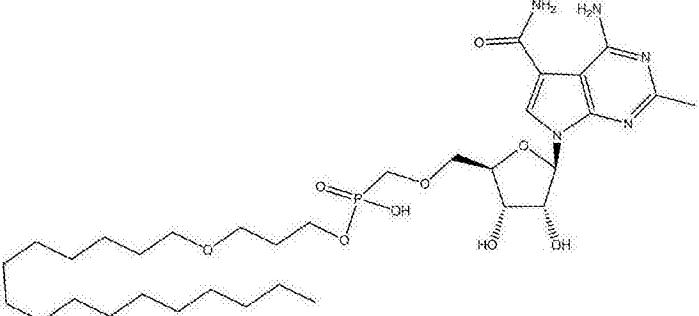
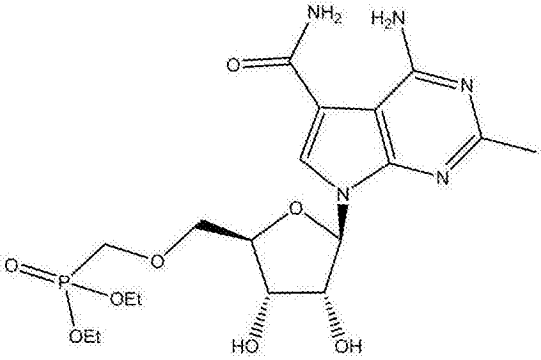
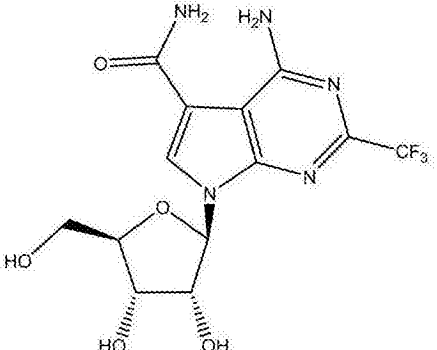
124	
125	
128	
129	

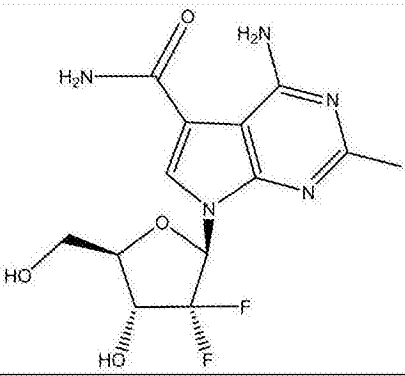
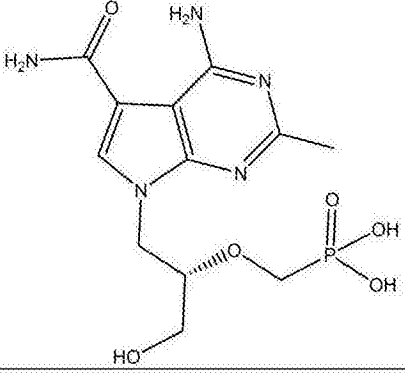
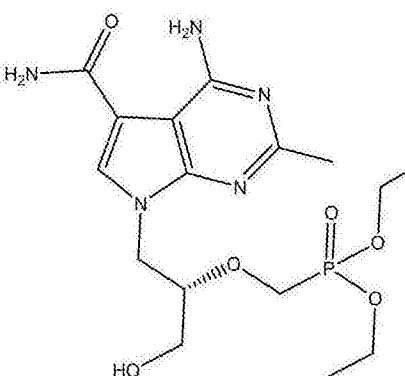
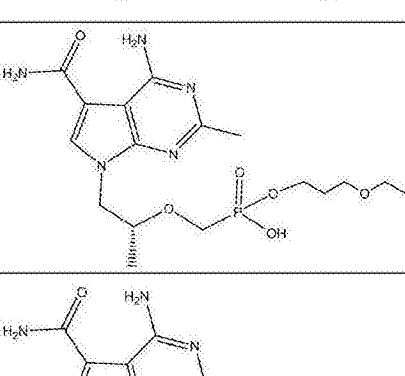
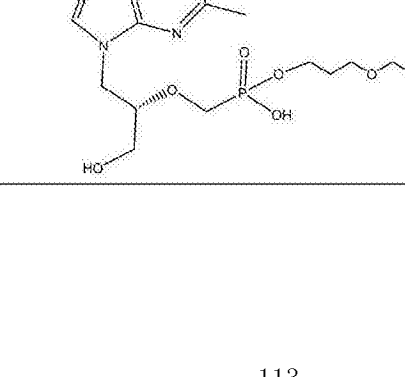
[0420]

136	
138	
140	
142	

[0421]

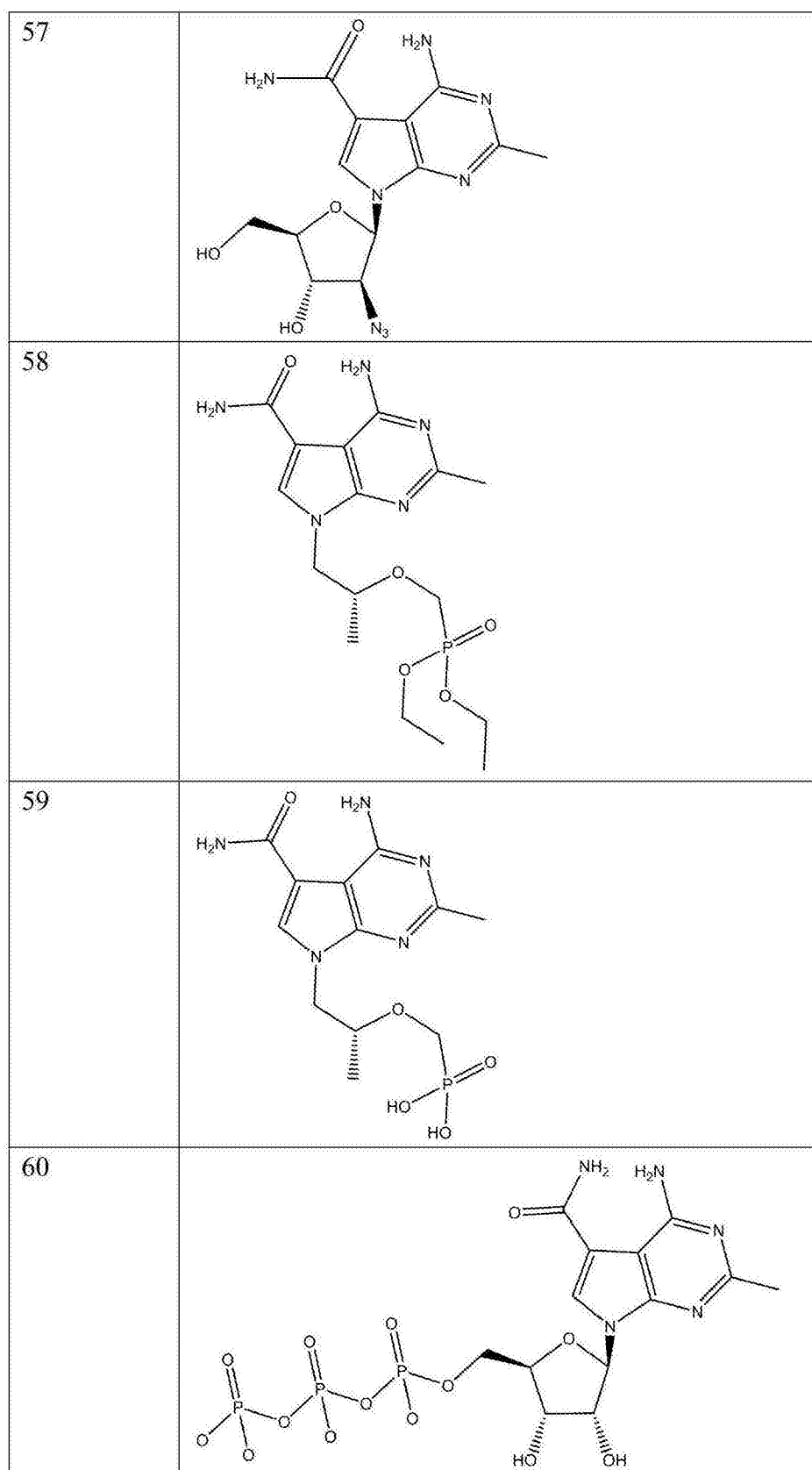
144	
9	
13	
15	

23	 <chem>Cc1nc2nc3c(ncn3C(=O)N)ccn2c1[C@@H]4O[C@H](COP(=O)(O)O)[C@@H](O)[C@H]4O</chem>
24	 <chem>Cc1nc2nc3c(ncn3C(=O)N)ccn2c1[C@@H]4O[C@H](COP(=O)(O)OCCOCCCCCCCCOCCCCCCCCOCCOP(=O)(O)O)[C@@H](O)[C@H]4O</chem>
[0422] 25	 <chem>Cc1nc2nc3c(ncn3C(=O)N)ccn2c1[C@@H]4O[C@H](COP(=O)(OCC)OCC)[C@@H](O)[C@H]4O</chem>
26	 <chem>Cc1nc2nc3c(ncn3C(=O)N)ccn2c1[C@@H]4O[C@H](CO)[C@@H](O)[C@H]4O</chem>

40	
52	
53	
55	
56	

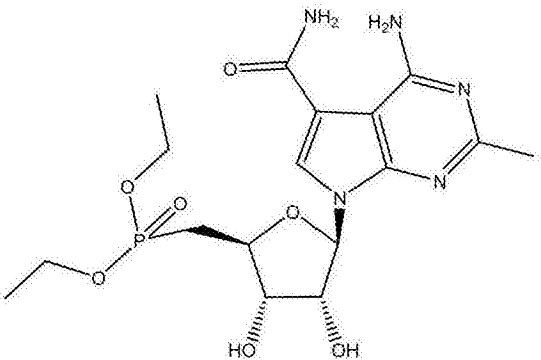
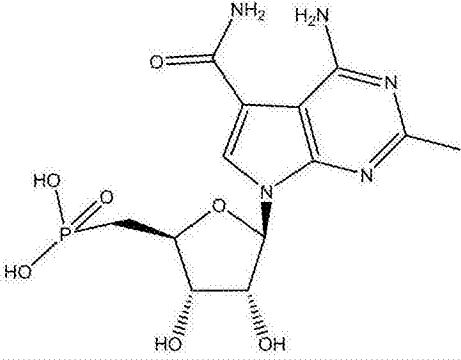
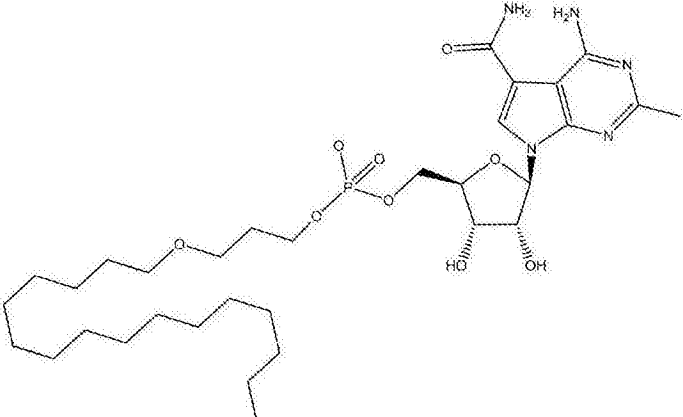
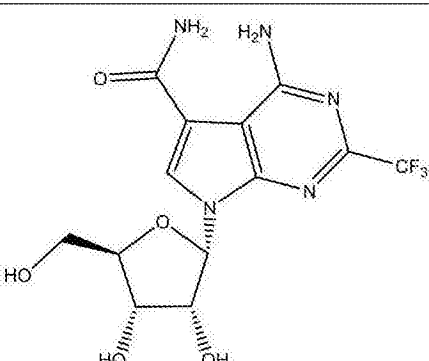
[0423]

[0424]

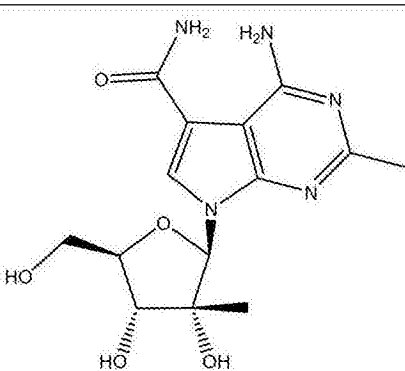
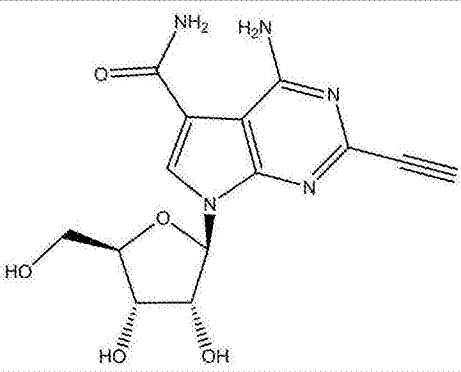
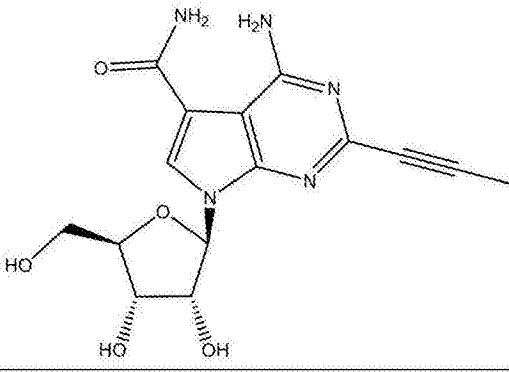
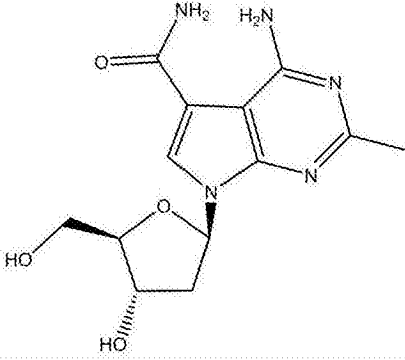


62	
64	
[0425] 67	
70	

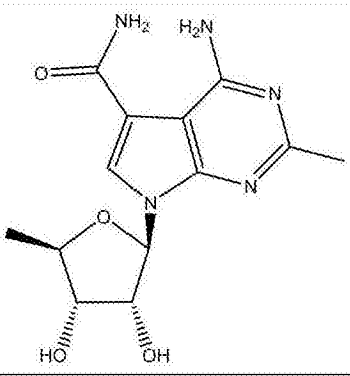
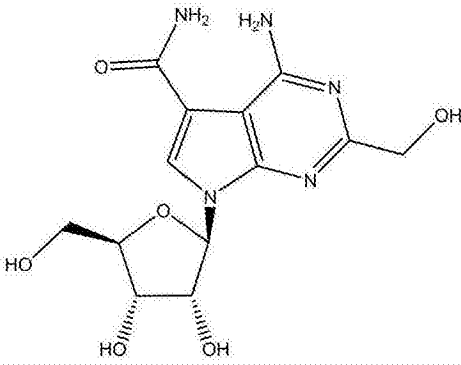
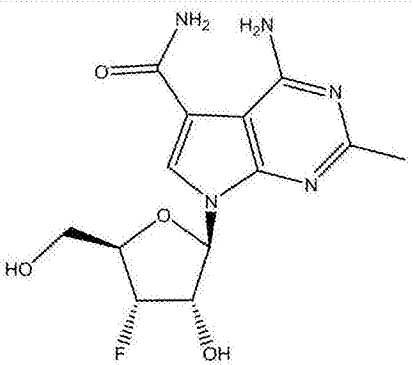
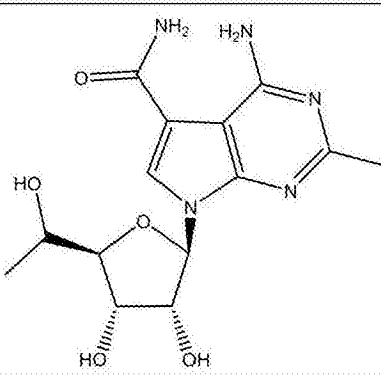
[0426]

74	
75	
79	
80	

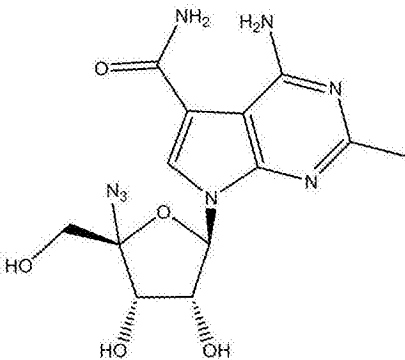
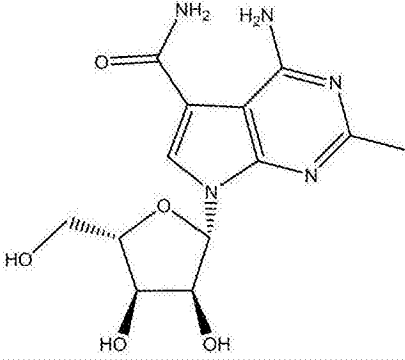
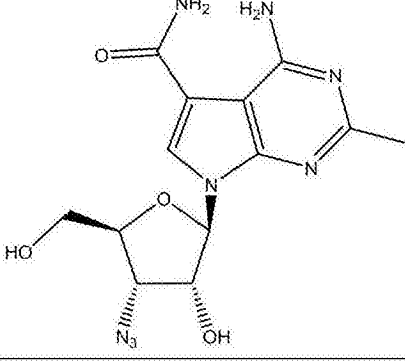
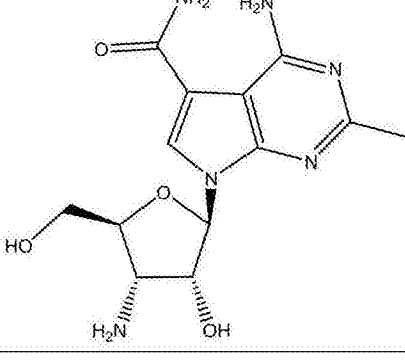
[0427]

87	
89	
90	
92	

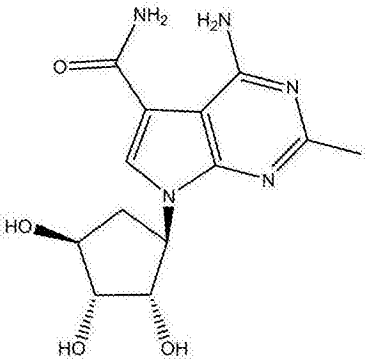
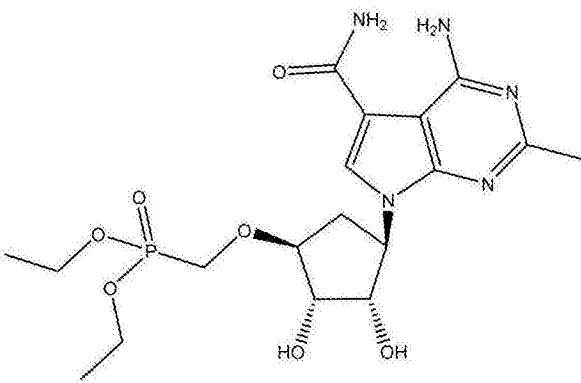
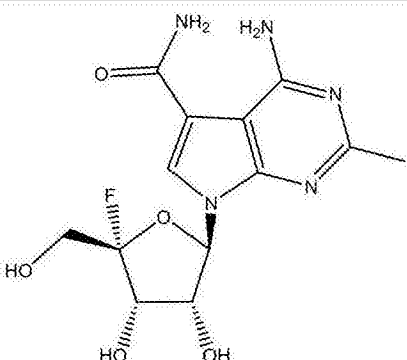
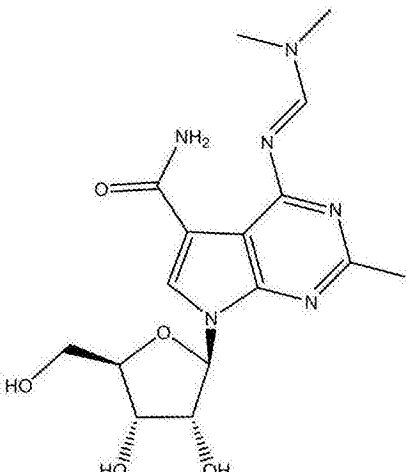
[0428]

97	
99	
101	
102	

[0429]

105	
109	
112	
113	

[0430]

118	
119	
135	
127	

[0431] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或混合物。

[0432] 在Zorbax Eclipse Plus C18柱子(4.6×50mm×1.8μm)上记录HPLC图。第一流动

相为97.5%水:2.5%乙腈:0.05%三氟乙酸。第二流动相是97.5%乙腈:2.5%水:0.05%三氟乙酸。

[0433] 除非另有说明,在300MHz记录¹HNMR。

[0434] 抗病毒和细胞毒性分析

[0435] 细胞培养和病毒株:从人包皮组织制备人包皮成纤维细胞(HFF)细胞。将组织在由最小必需培养基(MEM)与补充有10%胎牛血清(FBS)和标准浓度的L-谷氨酰胺,两性霉素B(fungizone)和万古霉素的厄尔氏(Earle's)盐组成的细胞培养基中温育。然后将组织置于磷酸盐缓冲盐水(PBS)中,切碎,冲洗除去红细胞,并重新悬浮于胰蛋白酶/EDTA溶液中。将组织悬浮液在37℃下温育,并轻轻搅拌以分散细胞,然后通过离心收集细胞。将细胞重新悬浮于培养基中并置于组织培养瓶中,并在37℃下在潮湿的CO₂培养箱中温育。然后用新鲜培养基代替培养基,每天监测细胞生长,直到形成融合的细胞单层。然后将HFF细胞通过连续传代在含有补充有10%FBS,L-谷氨酰胺,青霉素和庆大霉素的Earle's盐的MEM标准生长培养基中进行扩增。将细胞常规传代并用于第10代或以下的分析。

[0436] 流感病毒:将流感病毒在犬肾细胞中传代以产生用于抗病毒分析的工作原料。

[0437] 抗病毒分析:评估化合物的抗病毒活性的每个实验都包括阳性和阴性对照化合物以确保每个分析的性能。如果可能的话,在化合物暴露水平相同条件下进行细胞毒性的同时评估。方法在体外病毒复制下降50%的有效浓度,细胞活力(CC₅₀)和选择性指数(SI,由CC₅₀除以EC₅₀计算)下降50%的浓度下进行。当有足够的材料可用时,对每个化合物评估进行多次分析以获得统计数据。

[0438] 细胞毒性分析:每种抗病毒分析包括使用与每种病毒相同的细胞,相同的细胞数量,相同的药物浓度,和相同的潜伏时间进行并行的细胞毒性分析以提供相同的药物暴露。为了确保所有化合物的细胞毒性可以直接进行比较,对潜伏时间7d的汇合的HFF细胞中的所有化合物进行标准中性红摄取细胞毒性分析。

[0439] 中性红摄取细胞毒性分析:通过标准方法在标准细胞毒性分析测定中评估每种化合物。简而言之,在标准组织培养基中将HFF细胞接种到组织培养板中。温育24小时后,用维持细胞培养基代替培养基,加入化合物,然后用5倍系列稀释液产生一系列的化合物浓度。将测定板温育7天,向每个孔中加入PBS中的中性红溶液,将测定板温育1小时。然后除去污渍,用PBS冲洗平板,用活细胞内化的染料溶于补充有50%乙醇和1%冰醋酸的PBS中。然后确定光密度,并从实验数据中插入CC₅₀值。

[0440] 对于HFF细胞中的所有噬斑减少测定,在含有未感染的HFF细胞的一组平行的6孔平板上进行中性红细胞毒性测定,其接受与用于抗病毒测定相同的化合物浓度。在每次抗病毒测定的同一天从培养箱中取出细胞毒性板,并用PBS中的中性红溶液染色细胞单层。然后除去染料,用PBS从细胞中冲洗残留的染料,视觉检查细胞单层是否有任何毒性迹象。根据制造商的说明使用细胞增殖测定法测定细胞活力。

[0441] 细胞增殖测定:使用HFF细胞增殖的抑制来精确评估一些化合物的细胞毒性,并根据实验室中使用的标准程序操作。使用标准培养基将细胞以低密度接种到平板中。24小时后,吸出培养基,制备生长培养基中的一系列化合物溶液。将平板在37℃下温育72小时,然后用胰蛋白酶将细胞移出并计数。从实验数据中内插了将细胞增殖减少50%的化合物浓度。

[0442] 淋巴细胞毒性测定：用淋巴细胞进行的所有测定中的细胞活力采用发光细胞活力测定来进行评估。简而言之，将测定板在环境温度下温育30分钟，然后将发光试剂加入到每个孔中，将板混合以裂解细胞。然后将平板在环境温度下温育，并在发光计上定量发光。使用标准方法计算抑制细胞增殖50%的药物浓度(CC₅₀)。

[0443] 小鼠诺如病毒(MNV)测定：将RAW细胞在37℃下用5%CO₂在细胞培养基中温育。从野生小鼠中分离用于该测定的小鼠诺如病毒分离株。

[0444] 将试验化合物系列稀释液的DMEM溶液加入到组织培养处理板中。将细胞悬浮液加入板中的化合物稀释液中，并在37℃下用5%CO₂下温育2天。每个测定板包括未感染的细胞对照和未处理的病毒对照孔。温育2天后，将MTS试剂水溶液按制造商的指示加入各孔中，并在37℃温育直至未处理的细胞对照在490nm吸光度达到1.1和1.8之间。读取最终的吸光度读数，并且使用软件来计算与未感染的细胞对照(EC₅₀)相比，保护MNV感染的RAW细胞达50%的浓度。

[0445] 人诺如病毒测定：针对人诺如病毒(NoV)的抗病毒活性使用稳定表达的人诺如病毒复制子细胞系在3天的测定中进行评估，其保持为亚汇合培养物。在一些实施方式中，可以使用一式三份的4个剂量(10倍或3倍步骤)。通过细胞内NoV RNA的印迹杂交分析(标准化为每个培养样品中细胞β-肌动蛋白RNA的水平)确定抗病毒活性。细胞毒性通过保持在平行板上的培养物中的中性红染料吸收来评估(Korba and Gerin,1992,Antivir.Res.19:55)。

[0446] 通过使用从所有处理的培养物组合的数据的线性回归分析计算EC₅₀和CC₅₀值(Korba&Gerin,1992,Antivir.Res.19:55;Okuse,et al.,2005,Antivir.Res.65:23)。由回归分析产生的标准误差计算EC₅₀和EC₉₀值的标准差。EC₅₀和EC₉₀是分别观察到细胞内NoV RNA(相对于未处理的培养物中的平均水平)2倍或10倍抑制的药物浓度。CC₅₀是观察到中性红染料摄取水平(相对于未处理的培养物中的平均水平)低2倍的药物浓度。选择性指数(S.I.)按CC₅₀/EC₅₀计算。使用重组人干扰素2b(PBL laboratories,Inc.)作为测定对照。

[0447] VERO细胞中的BKV EC₅₀：将组织培养板用Vero细胞接种在含有2%Hyclone标准胎牛血清和1%Hyclone青霉素和链霉素的DMEM中。细胞用BKV接种。将测试化合物的系列稀释液加入到细胞中，并将平板在37℃下用5%CO₂下温育10天。温育10天后，将上清液与裂解缓冲液混合。每个平板都温育了C。使用正向和反向BKV PCR引物和FAM标记的探针，通过定量聚合酶链式反应(qPCR)测量上清液BKV DNA。使用含有与扩增片段同源序列的BKV DNA扩增子的稀释物的标准曲线进行病毒拷贝数的绝对定量。

[0448] HSV-1,HSV-2,VZV和HCMV的噬菌斑减少测定：在六孔板中制备单层细胞，并在37℃温育以使细胞达到汇合。然后从孔中吸出培养基，并将病毒加入三个孔的每一个中，每孔中产生20-30个噬菌斑。允许病毒吸附细胞1小时，每隔15分钟轻轻摇动平板以重新分配培养基。将化合物在维持细胞培养基中稀释，所述培养基由MEM和补充有2%FBS,L-谷氨酰胺，青霉素和庆大霉素的Earl's盐组成。将溶液加入复制孔中，根据使用的病毒将板温育不同的时间。以类似的方式进行HSV-1菌株F的噬菌斑减少测定，但在接种后一天感染Vero细胞。对于HSV-1和-2，将单层用1%结晶紫的20%甲醇溶液染色，并通过用dH₂O洗涤除去未结合的染料。对于HCMV和VZV的测定，将细胞单层用1%中性红溶液染色4小时，然后吸出染色，并用PBS洗涤细胞。对于所有测定，使用立体显微镜计数斑块，并从实验数据中插入减少50%斑块形成的化合物浓度(EC₅₀)。

[0449] MCMV的噬斑减少测定:小鼠胚胎成纤维细胞使用与上文针对HFF细胞所概述的程序相似的程序从小鼠胚胎中制备,并按上面的描述悬浮于组织培养基中,并将其接种到平板中并温育。吸出培养基并用MCMV感染细胞单层。然后将感染的细胞在37℃温育1小时,偶尔摇动培养板以确保培养基覆盖整个单层。将化合物在上述组织维持细胞培养基中连续稀释,并将溶液加入到感染的单层中。将感染的单层培养7天,然后按上面的描述用中性红溶液染色。计数噬菌斑,并通过标准方法从实验数据内插EC₅₀值。

[0450] EBV和HHV-6B的DNA定量测定:在Akata细胞中进行EBV的测定,所述Akata细胞通过标准方法诱导经受山羊抗人IgG抗体裂解性感染。实验化合物在平板中稀释。将Akata细胞加入平板并温育。对于HHV-6,将化合物连续稀释,然后将未感染的HSB-2或Mo1t-3细胞加入到每个孔中。通过加入HHV-6A感染的HSB-2细胞或HHV-6B感染的Mo1t-3细胞开始感染,并在37℃温育7天。对于所有测定,将变性缓冲液加入到每个孔中以使DNA变性,并通过尼龙膜吸取等分试样。然后使膜在DIG中平衡之前干燥。按照制造商的方案为每种病毒制备特定的地高辛(digoxigenin) (DIG) 标记的探针。使用制造商的方案,用抗DIG抗体进行特异性结合的DIG探针的检测。捕获并定量照相胶片的图像,并从实验数据中插入足以将病毒DNA的积累减少50%的化合物浓度(EC₅₀)。

[0451] HHV-8的DNA定量测定:将测试化合物在两个孔中稀释。通过添加佛波醇12-肉豆蔻酸酯13-乙酸酯使BCBL-1细胞经受裂解性感染,将细胞加入到板中的每个孔中。将细胞在37℃下在潮湿的CO₂培养箱中温育7天,然后制备总DNA。通过实时PCR定量病毒DNA。从实验数据计算足以将基因组拷贝数减少50%的化合物浓度。

[0452] 流感的基于细胞的测定:为了剂量-反应曲线,将单独的药物加入到96孔微量培养板中的MDCK细胞中。每个测试板包括感染细胞(病毒对照)和未感染细胞(细胞对照)的未处理孔。在感染三天后,病毒对照孔表现出100%细胞病理学。通过检查和通过用中性红(NR)染色来显微确定每个孔中病毒细胞病理学的程度。简而言之,将细胞用在MEM中稀释的NR染色以确定细胞活力。两个小时后,将板进行处理以用于量化活性细胞中的NR摄取。通过分光光度法测定细胞吸收的NR量。

[0453] BKV和JCV的qPCR测定:在含有单层HFF细胞的96孔板中进行BK病毒的初步测定。在含有细胞的平板中制备化合物稀释液,所述细胞随后用BK病毒的加德纳菌株感染。温育7天后,用纯化试剂盒制备总DNA,通过实时PCR定量基因组拷贝数。在该测定中阳性的化合物在96孔板中的其中化合物在感染后1小时添加的类似测定中被确认,以鉴定抑制复制早期阶段(包括吸附和穿透)的化合物。基因组拷贝数通过上述方法确定。

[0454] 化合物对JC病毒的初步评估也通过类似与BK病毒初步测定的那些方法进行。通过类似于BK病毒的那些方法在COS7细胞中进行针对JCV的二次测定以鉴定抑制病毒吸附或穿透的化合物。

[0455] 丙型肝炎病毒分析:萤光素酶报告基因(复制子)/细胞毒素-1(毒性)。在HCV初次测定中使用萤光素酶(Luc)报告基因终点筛选化合物的抗HCV活性。Luc报告基因被用作HCV复制的间接量度,因为其活性与HCV RNA水平成正比。细胞毒性的评估是平行进行的。除非另有说明,药物储备在DMSO中制备,并用组织培养基稀释至所需的高测试浓度。对于每个测定,然后根据需要在组织培养基中进一步稀释化合物。温育后,加工细胞以获得适用的EC₅₀和EC₉₀(分别降低50%和90%的复制子复制的化合物浓度)。测定和报道CC₅₀(降低50%细胞

活力的浓度)和 SI_{50} (CC_{50}/EC_{50}) 值。用复制子(基因型1b或2a)或HCVcc病毒衍生的Luc活性作为读数评估抗HCV活性;而按照制造商的方案通过CytoTox-1细胞增殖试验评估药物减少细胞数的细胞毒性浓度。使用重组干扰素 α 作为阳性对照药物来验证测定性能。

[0456] 流感病毒、RSV和SARS CoV的测定是使用CellTiter-Glo的基于细胞病变效应/毒性的测定。抗病毒细胞保护测定法检查在特定细胞类型中指定剂量-响应浓度的化合物的效果以测试化合物在预防病毒诱发的细胞病变效应中的功效。利巴韦林被作为流感和RSV的阳性对照药物,而钙蛋白酶IV抑制剂用于SARS抗病毒测定。将亚汇合的细胞培养物铺在96孔板中以分析细胞活力(细胞毒性)和抗病毒活性(CPE)。对于标准测定,24小时后将药物加入到细胞中。CPE孔还接受了100次组织培养感染剂量($100TCID_{50}$ s)的滴定病毒。72小时后测定细胞活力。

[0457] 病毒诱导的CPE的测量基于对代谢活性细胞的指示剂ATP的定量。CPE测定使用市售的发光细胞活力试剂盒,并且是用于测定培养物中细胞毒性和细胞增殖的可靠方法。该过程包括将单一试剂直接加入培养基中预先培养的、亚汇合细胞中。这诱导细胞溶解和生物发光信号(半衰期大于5小时,取决于细胞类型)的产生,其与存在的ATP量(其是活力的生物标志物)成比例。

[0458] 登革热(DENV),西尼罗病毒(WNV),黄热病病毒(YFV),裂谷热病毒(RVFX),委内瑞拉马脑炎病毒(VEEV)的测定:原代细胞病变效应(CPE)降低测定。进行四种浓度CPE抑制测定。在微孔板中制备汇合或接近汇合的细胞培养单层。根据每个细胞系的需要将细胞维持在补充有FBS的MEM或DMEM中。对于抗病毒测定,使用相同的培养基,但将FBS降低至2%或更少,并补充庆大霉素。制备不同的浓度的测试化合物,u。病毒对照和细胞对照孔在每个微孔板上。平行地,使用与测试化合物相同的方法,将已知的活性药物作为阳性对照药物进行测试。在每次测试中进行阳性对照测试。通过首先从细胞的96孔板除去生长培养基来建立测定。然后将测试化合物施于孔。将病毒置于指定用于病毒感染的那些孔中。将无病毒的培养基置于毒性对照孔和细胞对照孔中。病毒对照孔用与病毒类似地处理。将平板在37℃下用5%CO₂温育直至在病毒对照孔中观察到最大CPE。然后在37℃,5%CO₂温育箱中用中性红染色约2小时。彻底抽吸除去中性红培养基,并用磷酸盐缓冲溶液(PBS)冲洗细胞以除去残留的染料。将PBS彻底除去,并将掺入的中性红用缓冲液洗脱。每个孔中的染料含量使用分光光度计定量。使用基于Microsoft Excel计算机的电子表格将每组孔中的染料含量转换成存在于未处理对照孔中的染料的百分比。然后通过线性回归分析计算50%有效(EC_{50})浓度和50%细胞毒性(CC_{50})浓度。 CC_{50} 除以 EC_{50} 的商得出选择性指数(SI)值。

[0459] 腺病毒(AdV),麻疹(MEV),脊髓灰质炎病毒(PoV)和肠道病毒(ENTV)的测定:初筛是细胞病变效应(CPE)降低测定。简而言之,在测试化合物的存在下用病毒感染细胞培养物并温育4-7天(取决于具体的病毒/细胞)。每种病毒均预先滴定,使得对照孔由于病毒复制而表现出约95%的细胞活力损失。因此,当化合物阻止病毒复制时,观察到抗病毒作用或细胞保护作用。每个测定板包含细胞对照孔(仅细胞),病毒对照孔(细胞加病毒),化合物毒性对照孔(仅细胞和化合物),化合物比色对照孔(仅化合物,无细胞或病毒)以及实验孔(复合加细胞加病毒)。通过MTS染料还原评估细胞保护和化合物细胞毒性。测定并报道病毒CPE(抗病毒活性)的下降百分比和细胞活力(细胞毒性)百分比。

[0460] 牛痘病毒(VACV)测定:初步测定是细胞病变效应(CPE)降低测定。低通量HFF细胞

进行胰蛋白酶消化,计数并接种到组织培养板中。然后将细胞在37℃温育24小时。然后除去培养基,并将含有2%FBS的MEM添加到除第一行之外的所有培养基中。在第一行中,三孔板中加入含有实验药物(例如化合物1)的培养基。将培养基单独添加到细胞和病毒对照孔中。然后将第一排孔中的药物在剩余的孔中以1:5连续稀释。然后将平板温育60分钟,并将病毒悬浮液加入到每个孔中,除了接受MEM的细胞对照孔。然后将平板在37℃,CO₂培养箱中温育。温育期后,吸出培养基,细胞在福尔马林中用结晶紫染色4小时。然后除去染料,冲洗平板,直到除去所有过量的染料。将平板干燥24小时,测定每一行中CPE的量。通过使用计算机程序比较药物处理和未处理的细胞来测定EC₅₀和CC₅₀值。

[0461] 如下面实施例1所述,化合物1在体外具有抗小鼠诺如病毒活性。在一些实施方式中,化合物1的针对小鼠诺如病毒的EC₅₀值约2.1,CC₅₀值约为114。另外,化合物1具有针对各种DNA和RNA病毒的活性。

[0462] 如下面实施例2所述,化合物1在体内具有抗小鼠罗病毒活性。如实施例2所述,化合物1能够以剂量依赖性方式降低感染了鼠诺如病毒的小鼠的病毒载量。结果如图1A和图1B所示,其分别显示了1号研究中小鼠的粪便和组织中病毒滴度的降低。另外,图2A和2B分别显示了2号研究中小鼠的粪便和组织中病毒滴度的降低。图3A和3B分别显示了1号研究中小鼠的组织 and 粪便中病毒滴度的降低。结果以线性标度显示。在1号研究中,小鼠用30/mg/kg/天或100mg/kg/天或300mg/kg/天的化合物1处理。在2号研究中,小鼠用150/mg/kg/天或300mg/kg/天的化合物1处理。

[0463] 实施例3证明化合物1能够在体外抑制诺如病毒聚合酶。不希望受到理论的束缚,提出化合物1可以通过抑制诺如病毒聚合酶来防止和治疗诺如病毒。

[0464] 如实施例4中所述,化合物1在体外转化为三磷酸酯。如同所示,当细胞与化合物1一起温育时,产生相应的三磷酸酯(即,化合物1-TP)。温育期后,化合物1-TP的水平比化合物1高12至23倍。

[0465] 下面的实施例5证明化合物1比化合物2或2'-C-甲基胞苷三磷酸能更有效地抑制小鼠诺如病毒。给出与作为对照的DMSO比较供参考。实验重复进行,结果如图4(第一个重复)和图5(第二个重复)所示。图6显示了实验的第一个和第二个重复结果的叠加。如图4,5和6所示,“A”是DMSO,“B”是化合物2,“C”是2'-C-甲基胞苷三磷酸(2'CmeC TP),“D”是化合物1。图4-6证明,当仅用DMSO或2'CmeC TP处理时,病毒滴度增加近两个数量级。然而,在存在化合物1时,病毒滴度增加小于一个数量级。

[0466] 实施例6显示了化合物1和式II的其他化合物(表7)及其类似物的比较。不希望受到理论的束缚,在体外,即使与式I的结构略有不同的化合物也具有明显活性下降。例如,化合物7具有芳基胺上的羟基并且EC₅₀值>38μM;化合物35显示化合物1的没有芳基胺基团的类似物,并且EC₅₀值>100μM。另外,化合物11具有芳基酰胺上的氰基,并且EC₅₀值>121μM。类似地,化合物36和37显示甲基取代的胺并且EC₅₀值>100μM。本领域技术人员应当理解其他比较。

[0467] 图7a显示了化合物1的HPLC图。

[0468]

峰编号	保留时间	类型	宽度(min)	面积(mAu*s)	高度(mAU)	面积 %
1	3.649	MM	0.0449	2712.41235	1007.2742	98.2495
2	4.928	MM	0.0511	48.32755	15.75879	1.7505

[0469] 不希望受到理论的束缚,2号峰被确定为苯甲酸。

[0470] 图7b显示化合物1在室温下浆化3小时后的HPLC图。

[0471]

峰值	Ret. 时间	类型	宽度(min)	面积(mAu*s)	高度(mAU)	面积 %
1	3.641	MM	0.0448	2621.76538	975.76003	99.9122
2	4.923	MM	0.0519	2.30431	0.739979	0.0878

[0472] 图7c显示化合物1在50℃浆化3小时后的HPLC图。

[0473]

峰编号	保留时间	类型	宽度(min)	面积(mAu*s)	高度(mAU)	面积 %
1	3.609	MM	0.0446	2541.75464	949.26025	99.9317
2	4.888	MM	0.473	1.737595	0.0612609	0.683

[0474] 图7d显示化合物1在室温下浆化24小时后的HPLC图。

[0475]

峰编号	保留时间	类型	宽度(min)	面积(mAu*s)	高度(mAU)	面积 %
1	3.577	MM	0.0452	2749.37183	1013.14984	99.9256
2	4.888	MM	0.0500	2.04637	0.0682284	0.0744

[0476] 图8a显示了从约-2至约14ppm的化合物1的¹HNMR谱。[0477] 图8b显示了从约2至约9ppm的化合物1的¹HNMR谱。[0478] 图8c显示从约0至约9ppm的化合物1的¹HNMR谱。

实施例

[0479] 一般程序

[0480] HPLC图记录在Zorbax Eclipse Plus C18柱(4.6×50mm×1.8μm)上。第一流动相为97.5%水:2.5%乙腈:0.05%三氟乙酸。第二流动相是97.5%乙腈:2.5%水:0.05%三氟乙酸。

[0481] 除非另有说明,否则在500MHz下记录¹HNMR。

[0482] 实施例1抗病毒和细胞毒性测试

[0483] 细胞培养物和病毒株:经IRB批准,从阿拉巴马大学伯明翰组织采购机构获得的人类包皮组织制备人类包皮成纤维(HFF)细胞。在4℃下将组织在细胞培养基中温育4小时,所述细胞培养基由最小必需培养基(MEM)和补充有10%胎牛血清(FBS)(Hyclone, Inc. Logan UT),标准浓度的L-谷氨酰胺,两性霉素B和万古霉素的Earle's盐组成。然后将组织置于磷酸盐缓冲盐水(PBS)中,切碎,冲洗除去红细胞,并重新悬浮于胰蛋白酶/EDTA溶液中。将组

织悬浮液在37℃下温育,并轻轻搅拌以分散细胞,然后通过离心收集细胞。将细胞重新悬浮于4mL培养基中并置于25cm²组织培养瓶中,并在37℃潮湿的CO₂培养箱中孵育24小时。然后培养基替换为新鲜培养基,每天监测细胞生长直至形成融合的细胞单层。然后通过补充有10%FBS,L-谷氨酰胺,二性霉素B和万古霉素的Earle's盐的标准MEM培养基中进行连续传代将HFF细胞扩增。将细胞常规传代并用于第10代或以下的测定。

[0484] 从John Sixbey (路易斯安那州立大学,巴吞鲁日,LA) 获得EBV潜伏感染的Akata细胞。HHV-6A的GS株通过NIHAIDS研究和参考试剂计划获得。通过NIH AIDS研究和参考试剂计划,AIDS、NIAID、NIH部门获得HSB-2细胞和BCBL-1细胞。从控制和预防中心,亚特兰大,GA的Scott Schmid获取Molt-3细胞。将所有的淋巴细胞培养物常规保存在具有10%FBS,L-谷氨酰胺和抗生素的RPMI 1640 (Mediatech, Inc., Herndon, VA) 中,并每周传代两次。Vero细胞从美国典型培养物保藏中心 (ATCC, Manassas, VA) 获得,并保存在添加了10%FBS,,L-谷氨酰胺,青霉素和链霉素的Earl's盐的MEM标准生长培养基中。

[0485] 流感病毒:控制和预防中心 (亚特兰大,GA) 提供了A/New Caledonia/20/99 (H1N1) 和A/Sydney/05/97 (H3N2) 病毒。将病毒在Madin-Darby犬肾 (MDCK) 细胞 (美国典型培养物保藏中心,马纳萨斯,VA) 中传代以产生用于抗病毒测定的工作原种。

[0486] 使用HSV-1的E-377和DM2.1株以及HSV-2的MS和13078株。HSV-1菌株F从ATCC获得。HCMV毒株,AD169和Merlin从美国典型培养物保藏中心 (ATCC, Manassas, VA) 获取,C8805/37-1-1和759RD100是Karen Biron给的。VZV,埃伦菌株从ATCC获得。HHV-6B的Z29菌株是乔治亚州亚特兰大疾病控制和预防中心的Scott Schmid给的。HHV-8通过NIHAIDS研究和参考试剂程序以潜伏感染的BCBL-1细胞获得。

[0487] 抗病毒测定:评估化合物的抗病毒活性的每个实验都包括阳性和阴性对照化合物,以确保每个测试的性能。如果可能的话,在化合物暴露水平相同的情况下进行细胞毒性的同时评估。根据列表数据,方法在体外病毒复制减少50%的有效浓度 (EC₅₀),细胞存活率 (CC₅₀) 和选择性指数 (SI,以CC₅₀除以EC₅₀计算) 减少50%的浓度下进行。当有足够的材料可用时,对每个化合物评估进行多次测定以获得统计数据。

[0488] 细胞毒性测定:每种抗病毒测试包括使用用于每种病毒的相同细胞,相同的细胞数量,相同的药物浓度和相同的温育时间的平行细胞毒性测定,以提供相同的药物暴露。为了确保所有化合物的细胞毒性可以直接进行比较,进行7天温育期间所有化合物在汇合的HFF细胞中的标准中性红摄取细胞毒性测定。

[0489] 中性红摄取细胞毒性测定:通过标准方法在标准细胞毒性测定中评估每种化合物。简而言之,将HFF细胞以 2.5×10^4 个细胞/孔在标准组织培养基中接种到96孔组织培养板中。温育24小时后,将培养基更换为维持细胞培养基,并将化合物加入第一行,然后使用5倍连续稀释液产生最大浓度为300μM一系列的化合物浓度。将测定板温育7天,并向每个孔中加入100μL 0.66mg/mL中性红PBS溶液,将平板温育1小时。然后除去染料,用PBS冲洗平板,用活细胞内化的染料溶于补充有50%乙醇和1%冰醋酸的PBS中。然后在550nm测定光密度,并从实验数据内插CC₅₀值。

[0490] 对于HFF细胞的所有噬菌斑减少测定,中性红细胞毒性测定在包含未感染HFF细胞的平行组的6孔板上进行,所述平板组接受与用于抗病毒测定相同的化合物浓度。在每个抗病毒测定的同一天从培养箱中取出细胞毒性板,并用在PBS中的浓度为0.165mg/mL的2mL中

性红溶液将细胞单层染色6小时。然后除去染料,用PBS从细胞中漂洗剩余的染料,视觉检查细胞单层是否有任何毒性迹象。用Vero细胞进行细胞毒性测定,药物浓度从1 μ M到1mM。根据制造商的说明使用CellTiter96[®]水溶细胞增殖实验(Promega)测定细胞活力。

[0491] 细胞增殖测定:使用HFF细胞增殖的抑制来精确评估一些化合物的细胞毒性,并根据实验室中使用的标准程序进行。使用 2.5×10^4 个细胞/孔和标准培养基将细胞以低密度接种到六孔板中。24小时后,吸出培养基,从300 μ M开始制备生长培养基中的一系列化合物溶液,并将其加入到复制孔中。将平板在37 $^{\circ}$ C温育72小时,然后用胰蛋白酶将细胞移出并在Beckman Coulter计数器上计数。从实验数据中内插将细胞增殖减少50%的化合物浓度。

[0492] 淋巴细胞的细胞毒性测定:用CellTiter-Glo Luminescent Cell Viability Assay (Promega)评估用淋巴细胞进行的所有测定中的细胞活力。简而言之,将测定板在环境温度下温育30min,然后将50 μ L CellTiter-Glo试剂加入到每个孔中,并将平板在定轨振荡器上混合2分钟以裂解细胞。然后将平板在环境温度下再温育10分钟,并在发光计上定量发光。用标准方法计算抑制Akata, HSB-2, BCLB-1或Molt-3细胞增殖50%的药物浓度(CC₅₀)。

[0493] 表1 RAW细胞中化合物1对小鼠诺如病毒的活性

	化合物	MNV 平均 EC ₅₀ , μ M	RAW细胞 平均 CC ₅₀ , μ M	SI
[0494]	化合物1	2.0 +/- 0.8 (n=21)	114.0 +/- 12.5 (n=4)	57.0
	化合物1	2.1 (n=33)	114	54
[0495]	(2'-C-甲基胞苷)	3.2 +/- 1.5 (n=20)	34.3 +/- 9.3 (n=8)	10.7

[0496] 表2化合物1对各种DNA和RNA病毒的活性

[0497]

病毒	EC ₅₀ (μ M)	CC ₅₀ (μ M)	SI	细胞系
DNA病毒				
AdV	>100	>100	~1	A549
BKV	>60	>60	~1	HFF
EBV	7.15	>60	>8.4	Akata
HCMV	>60	>60	~1	HFF
MCMV	>100	>100	~1	MEF
VZV	>60	>60	~1	HFF
HSV-2	>60	>60	~1	HFF
HHV-6B	39.66	44.71	1.13	MOLT-3
HHV-8	>12.00	46.75	<3.9	BCBL-1
VACV	56.16	>60	~1	HFF

JCV	0.46	>60	>130	293TT
MEV	>100	>100	~1	Vero76
RNA病毒				
DENV-2	>100	>100	~1	Vero76
ENTV-71	>100	>100	~1	Vero76
HCV	18.4	>20	>1.1	Huh7
Flu (H1N1)	>100	>100	~1	MDCK
POV-3	>100	>100	~1	Vero76
RSV	31	33	1.1	MA-104
SARS	37	>100	>2.7	Vero76
RVFV	>100	>100	~1	Vero76
VEEV	>100	>100	~1	Vero76
YFV	>100	>100	~1	Vero
WNV	>100	>100	~1	Vero76

[0498] 小鼠诺如病毒(MNV)测定:RAW细胞(小鼠巨噬细胞,ATCC TIV-71)从美国典型培养物保藏中心(ATCC)获得。细胞在37℃5%CO₂的细胞培养基中温育,所述细胞培养基由补充有10%胎牛血清(FBS)(Hyclone, Inc., Logan UT),100U/mL青霉素和100ug/mL链霉素(Hyclone),1%MEM NEAA(Gibco),1%GlutaMAX(Gibco)和1%HEPES(Hyclone)的Dulbecco's最低必需培养基(DMEM)(ATCC)组成。本实验中使用的鼠诺如病毒分离株是从野生小鼠中分离的,细胞培养适应的,噬菌斑纯化的,以及Chimerix公司确认的遗传序列。

[0499] 将100μL在DMEM中的测试化合物的系列稀释液加入到Costar 96-孔组织培养物处理平板中。向96孔板中的化合物稀释液中加入100μL含有50000个RAW细胞/孔和MNV(MOI=0.0005)的细胞悬浮液,并在37℃含有5%CO₂下温育2天。每个测定板包括未感染的细胞对照和未处理的病毒对照孔。温育2天后,未处理的病毒对照孔显示100% CPE。温育2天后,按照制造商的说明,将40μL Cell Titer 96 Mqueous MTS试剂(Promega, G111)加入到每个孔中的200μL培养基中,并在37℃温育直到未处理细胞对照在490nm吸光度达到1.1和1.8之间。使用BioTek Synergy 2读取最终的吸光度读数,并用Gen 5软件(BioTek Instruments, Inc.)来计算与未感染的细胞对照相比,保护MNV感染的RAW细胞50%的浓度。

[0500] 人诺如病毒测定:使用在96孔板上作为亚汇合培养物保持的稳定表达的人诺如病毒复制子细胞系HG23(基因组I,基因组长度;亲代细胞系,HuH7)(Chang, et al., 2006, Virology 353:463)在3天的测定中评估针对人诺如病毒(NoV)的抗病毒活性。典型地,使用4个剂量(10倍或3倍步骤),一式三份。通过细胞内NoVRNA的印迹杂交分析(标准化为每个培养样品中细胞β-肌动蛋白RNA的水平)确定抗病毒活性细胞毒性通过保持在平行板上的培养物中的中性红染料吸收来评估(Korba and Gerin, 1992, Antivir. Res. 19:55)。

[0501] 使用由所有处理的培养物组合的数据(Korba&Gerin, 1992, Antivir. Res. 19:55; Okuse, et al., 2005, Antivir. Res. 65:23)通过线性回归分析计算EC₅₀和CC₅₀值。由回归分析产生的标准误差计算EC₅₀和EC₉₀值的标准偏差。EC₅₀和EC₉₀分别是观察到细胞内NoVRNA的2倍或10倍抑制(相对于未处理的培养物中的平均水平)的药物浓度。CC₅₀是观察到中性红染料摄取水平(相对于未处理的培养物中的平均水平)低2倍的药物浓度。选择性指数(S.I.)

按CC₅₀/EC₅₀计算。使用重组人干扰素2b (PBLlaboratories, Inc.) 作为测定对照。

[0502] VERO细胞中的BKV EC₅₀:将Costar 96-孔组织培养板以10000个Vero细胞/孔接种在含有2%Hyclone标准胎牛血清 (FBS, Cat SH30088.03) 和1%Hyclone青霉素和链霉素的DMEM中。外部孔不用来最小化延长温育产生的边缘效应。用115个BKVDNA复制/细胞 (ATCC, Gardner菌株) 接种细胞。将测试化合物的连续稀释液加入到细胞中, 并将平板在37℃, 5% CO₂下温育10天。温育10天后, 将50μL上清液与50μL的2X裂解缓冲液混合提供溶于DEPC处理的水中最终浓度为0.5mg/mL终蛋白酶K, 50mM KCl, 10mM Tris-Cl pH 8.0, 2.5mM MgCl₂, 0.45% IGEPAL和0.45% Tween-20。每个平板在55℃温育2小时。使用正向和反向BKVPCR引物和FAM标记的探针, 通过定量聚合酶链式反应 (qPCR) 测量上清液BKV DNA。使用含有与扩增片段同源的序列的BKV DNA扩增子的稀释液的标准曲线进行病毒拷贝数的绝对定量。使用以下qPCR扩增条件: 95℃10分钟1个循环, 接着95℃15秒和60℃60秒45个循环。qPCR反应使用Applied Biosystems 7500实时PCR系统进行。Gen 5软件 (BioTek Instruments, Inc.) 用于计算将BKV感染的Vero细胞的病毒DNA水平抑制50% (EC₅₀) 的浓度。

[0503] HSV-1, HSV-2, VZV和HCMV的噬菌斑减少测定: 在六孔板中制备单层HFF细胞, 并在37℃孵育2天以使细胞达到汇合。然后从孔中吸出培养基, 将0.2mL病毒加入到三个孔的每一个中以在每个孔中产生20-30个噬菌斑。允许病毒吸附细胞1小时, 平板每15分钟轻轻摇动以重新分配培养基。将化合物在维持细胞培养基中稀释, 所述培养基由MEM和补充有2% FBS, L-谷氨酰胺, 青霉素和庆大霉素的Earl盐组成。向复制孔中加入300μM至0.1μM的溶液, 根据使用的病毒将平板温育不同的时间。以类似的方式进行HSV-1菌株F的噬菌斑减少测定, 但在接种后一天感染Vero细胞。该测定中的最终FBS浓度是5%。对于HSV-1和-2, 将单层用20% 甲醇中的1% 结晶紫染色, 并通过用dH₂O洗涤除去未结合的染料。对于HCMV和VZV的测定, 将细胞单层用1% 中性红溶液染色4小时, 然后吸出染色, 并用PBS洗涤细胞。对于所有分析, 使用立体显微镜计数斑块, 并从实验数据中插入减少50% 斑块形成的化合物浓度 (EC₅₀)。

[0504] MCMV的噬菌斑减少测定: 使用与上文针对HFF细胞所述的相似的程序从小鼠胚胎制备小鼠胚胎成纤维细胞, 并如上所述悬浮在组织培养基中, 并将其接种到12孔板中, 并在37℃温育24小时。将培养基吸出, 并以每个三孔板的孔中最终体积为0.2mL用MCMV史密斯 (Smith) 菌株感染细胞单层。然后将感染的细胞在37℃孵育1小时, 偶尔摇动培养板以确保培养基覆盖整个单层。将化合物在上述组织维持细胞培养基中以1:5连续稀释, 并将溶液加入感染的单层中。温育感染的单层细胞7天, 然后如上所述用2mL 1% 中性红溶液染色。计数噬菌斑, 并通过标准方法从实验数据内插EC₅₀值。

[0505] EBV和HHV-6B的DNA定量测定: 在Akata细胞中进行EBV测定, 所述Akata细胞通过标准方法诱导经受50μg/mL的山羊抗人IgG抗体的裂解性感染。实验化合物在圆底96孔板中稀释以产生20至0.016μM的浓度。将Akata细胞以每孔4×10⁴个细胞的浓度加入平板中并温育72小时。对于HHV-6, 将化合物在96孔板中连续稀释, 然后将1×10⁴个未感染的HSB-2或Molt-3细胞加入到每个孔中。分别以每10个未感染的HSB-2细胞或Molt-3细胞约1个感染细胞的比例加入HHV-6A感染的HSB-2细胞或HHV-6B感染的Molt-3细胞来启动感染, 并在37℃温育7天。对于所有测定, 向每个孔中加入100μL变性缓冲液 (1.2MNaOH, 4.5M 80NaCl) 以使DNA变性, 并且使用Biodot仪器 (Bio-Rad, Hercules, CA) 通过Immobilon尼龙膜 (Millipore,

Bedford, MA) 吸取50 μ L等分试样。然后在DIG Easy Hyb (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN) 中于56 $^{\circ}$ C平衡30分钟之前将膜干燥。根据制造商的方案 (Roche Diagnostics) 为每种病毒制备特定的地高辛 (digoxigenin) (DIG) 标记的探针。对于EBV, 引物5'-CCC AGG AGT CCC AGT AGT CA-3'和5'-CAG TTC CTC GCC TTA GGT TG-3'扩增对应于EBV基因组 (AJ507799) 中坐标96802-97234的片段。使用引物5'-CCT TGA TCA TTC GAC CGT TT-3'和5'-TGG GAT TGG GAT TAG AGC TG-3'制备特异性HHV-6DIG标记的探针以扩增ORF2片段 (在X83413中坐标37820-38418)。将具有EBVDNA的膜在56 $^{\circ}$ C下杂交过夜, 随后在相同温度下在具有0.1% SDS的0.2 $\times$ SSC和含有0.1% SDS的0.1 $\times$ SSC中连续洗涤。对于HHV-6A和HHV-6B印迹, 探针在42 $^{\circ}$ C下杂交过夜, 并将印迹在相同温度下用含有0.1% SDS的0.2 $\times$ SSC和含有0.1% SDS的0.1 $\times$ SSC中漂洗。使用制造商的方案 (Roche Diagnostics), 用抗DIG抗体进行特异性结合的DIG探针的检测。用QuantityOne软件 (Bio-Rad) 捕获照相胶片的图像并将其量化, 并从实验数据中插入足以将病毒DNA的积累减少50%的化合物浓度 (EC₅₀)。

[0506] HHV-8的DNA定量测定: 将测试化合物在具有最终浓度最高为20 μ M的96孔板的两个孔中稀释。通过加入最终浓度为100ng/mL的佛波醇12-豆蔻酸酯13-乙酸酯 (Promega, Madison WI) 诱导BCBL-1细胞进行裂解性感染, 并将2 $\times$ 10⁴个细胞加入到板中的每个孔。将细胞在37 $^{\circ}$ C潮湿的CO₂培养箱中温育7天, 然后用Wizard SV 96孔纯化试剂盒 (Promega) 制备总DNA。使用正向引物5'-TTC CCC AGA TAC ACG ACA GAA TC-3', 反向引物5'-CGG AGC GCA GGC TAC CT-3'和探针5'-(FAM) CCT ACG TGT TCG TCG AC (TAMRA) -3'通过实时PCR定量病毒DNA。使用含有对应于核苷酸14120-14182 (AF148805.2) 的DNA序列的质粒pMP218来提供病毒DNA的绝对定量。从实验数据计算足以将基因组拷贝数减少50%的化合物浓度。

[0507] 流感的基于细胞的测定: 对于剂量-效果曲线, 使用每个浓度的三孔板, 将单独的药物加入到96孔微量培养板 (8 $\times$ 104个细胞/孔) 中的MDCK细胞中。以下列浓度加入化合物: 0, 0.000032, 0.0001, 0.00032, 0.001, 0.0032, 0.01, 0.032, 0.1, 1.0, 10.0和100 μ g/mL的奥塞米韦羧酸盐; 0, 0.001, 0.0032, 0.01, 0.032, 0.1, 0.32, 1.3, 2, 10, 32和100 μ g/mL的金刚烷胺和利巴韦林。在每个测试板上包括感染细胞 (病毒对照) 和未感染细胞 (细胞对照) 的未处理孔。感染三天后, 病毒对照孔表现出100%细胞病理学。通过检查以及通过用中性红 (NR) 染色来显微确定每个孔中病毒细胞病理学的程度。简而言之, 将细胞用在MEM中稀释的0.011% NR染色以测定细胞活力。两个小时后, 处理板以用于NR摄取活性细胞的量化。通过分光光度法测定细胞吸收的NR量。

[0508] BKV和JCV的qPCR测定: 在含有单层HFF细胞的96孔板中进行BK病毒的初步测定。在含有细胞的平板中制备化合物稀释液, 所述细胞随后用BK病毒的加德纳菌株感染。温育7天后, 使用Wizard SV96孔纯化试剂盒制备总DNA, 并使用引物5'-AGT GGA TGG GCA GCC TAT GTA-3', 5'-TCA TAT CTG GGT CCC CTG GA-3'和探针5'-6-FAM AGG TAG AAG AGG TTAGGG TGT TTG ATG GCA CAG TAMRA-3'通过实时PCR定量基因组拷贝数。质粒pMP526作为定量目的的DNA标准。在该测定中呈阳性的化合物在96孔板中的类似测定中被证实, 其中化合物在感染后1小时添加以鉴定抑制复制的早期阶段 (包括吸附和穿透) 的化合物。基因组拷贝数通过如上所述方法确定。

[0509] 化合物对JC病毒的初步评估也通过与BK病毒初步测定类似的方法进行, 但在293TT细胞中进行, 并在293TT细胞中使用JCV的1-4株。使用引物5'-CTG GTC ATG TGG ATG

CTG TCA-3'和5'-GCC AGC AGG CTG TTG ATA CTG-3'和探针5'-6-FAM-CCC TTT GTT TGG CTG CT-TAMRA-3与质粒pMP508一起定量病毒DNA以提供绝对定量的标准曲线。通过类似于BK病毒的方法在COS7细胞中进行针对JCV的二次测定以确定抑制病毒吸附或穿透的化合物。

[0510] 丙型肝炎病毒测定: 萤光素酶报告基因(复制子)/细胞毒素-1(毒性)。在HCV初次测定中使用萤光素酶(Luc)报告基因终点筛选化合物的抗HCV活性。Luc报道被用作HCV复制的间接量度, 因为其活性与HCV RNA水平成正比。细胞毒性的评估是平行进行的。除非另有说明, 药物储备在DMSO中制备, 并用组织培养基稀释至所需的高测试浓度。对于每个测定, 然后根据需要在组织培养基中进一步稀释化合物。温育后, 加工细胞以获得适用的EC₅₀和EC₉₀(化合物浓度分别降低50%和90%的复制子复制)。测定和报道CC₅₀(降低50%浓度的细胞活力)和SI₅₀(CC₅₀/EC₅₀)值。用复制子(基因型1b或2a)或HCVcc病毒衍生的Luc活性读数评估抗HCV活性; 而根据制造商的方案通过CytoTox-1细胞增殖测定(Promega, Madison, WI)评估药物减少细胞数的细胞毒性浓度。使用重组干扰素 α 作为阳性对照药物来验证测定性能。

[0511] 流感, 呼吸道合胞病毒(RSV)和SARS CoV的测定: 所用的主要病毒和细胞是MDCK细胞中的甲型流感菌株/加利福尼亚/7/2009(H1N1)。Hep2细胞中的呼吸道合胞病毒株A-2和VeroE6细胞中的SARS CoV菌株Toronto-2。

[0512] 流感病毒, RSV和SARS CoV的测定是使用CellTiter-Glo的基于细胞病变效应/毒性的测定。抗病毒细胞保护测定法检查了在特定细胞类型中在指定剂量-响应浓度的化合物的作用, 以测试化合物在预防病毒诱导的细胞病变效应中的功效。利巴韦林作为流感和RSV的阳性对照药物, 而钙蛋白酶IV抑制剂用于SARS抗病毒测定。将亚汇合的细胞培养物铺在96孔板中以分析细胞活力(细胞毒性)和抗病毒活性(CPE)。对于标准测定, 24小时后将药物加入到细胞中。CPE孔还接受了100次组织培养感染剂量(100TCID₅₀s)的滴定病毒。72小时后测定细胞活力。

[0513] 病毒诱导的CPE的测量基于ATP的定量, 一种代谢活性细胞的指示剂。CPE测定使用市售的CellTiter-GloTM发光细胞活力试剂盒(Promega, Madison, WI), 并且是用于确定培养物中细胞毒性和细胞增殖的可靠方法。该过程包括将单一试剂(CellTiter-GloTM试剂)直接添加到预先培养的、亚汇合细胞的培养基中。这诱导细胞溶解和生物发光信号(半衰期大于5小时, 取决于细胞类型)的产生, 其与存在的ATP量(其是活力的生物标志物)成比例。

[0514] 登革热(DENV), 西尼罗河病毒(WNV), 黄热病病毒(YFV), 裂谷热病毒(RVSV), 委内瑞拉马脑炎病毒(VEEV)的测定: 初始致细胞病变效应(CPE)减少测定。进行四种浓度CPE抑制测定。在96孔一次性微孔板中制备汇合或接近汇合的细胞培养单层。根据每个细胞系的需要将细胞维持在补充有FBS的MEM或DMEM中。对于抗病毒测定, 使用相同的培养基, 但将FBS降低至2%或更低, 并补充50 μ g/mL庆大霉素。以四个log₁₀最终浓度制备测试化合物, 通常为0.1, 1.0, 10和100 μ g/mL或 μ M。在每个微孔板上有病毒对照和细胞对照孔。平行地, 使用与测试化合物相同的方法, 将已知的活性药物作为阳性对照药物进行测试。在每次测试中都进行阳性对照测试。通过首先从细胞的96孔板除去生长培养基来建立测定。然后将测试化合物以0.1mL体积以2X浓度加入到孔中。将病毒通常以0.1mL体积中<10050%细胞培养物感染剂量(CCID₅₀)置于指定用于病毒感染的那些孔中。将无病毒的培养基置于毒性对照孔

和细胞对照孔中。病毒对照孔用与病毒类似地处理。将平板在37℃,5%CO₂下温育直至在病毒对照孔中观察到最大CPE。然后杂37℃,5%CO₂培养箱将板用0.011%中性红染色约2小时。彻底抽吸除去中性红色培养基,并用磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗细胞1X以除去残留的染料。完全除去PBS,并用50%Sorensen's柠檬酸盐缓冲液/50%乙醇(pH 4.2)洗脱掺入的中性红至少30分钟。中性红染料渗透到活细胞中,因此红色越强,存在于孔中的活细胞的数量越大。使用96孔分光光度计在540-nm波长处定量每个孔中的染料含量。使用基于Microsoft Excel计算机的电子表格将每组孔中的染料含量转换成存在于未处理的对照孔中的染料的百分比。然后通过线性回归分析计算50%有效(EC₅₀)浓度和50%细胞毒性(CC₅₀)浓度。CC₅₀除以EC₅₀的商得出选择性指数(SI)值。

[0515] 腺病毒(AdV),麻疹(MEV),脊髓灰质炎病毒(PoV)和肠道病毒(ENTV)的测定:初级筛选是细胞病变效应(CPE)减少测定。简而言之,在测试化合物存在下用病毒感染96孔细胞培养物并温育4-7天(取决于具体的病毒/细胞)。每种病毒均预先滴定,使得对照孔由于病毒复制而表现出约95%的细胞活力损失。因此,当化合物阻止病毒复制时,会观察到抗病毒作用或细胞保护作用。每个测定板包含细胞对照孔(仅细胞),病毒对照孔(细胞加病毒),化合物毒性对照孔(仅细胞加化合物),化合物比色对照孔(仅化合物,无细胞或病毒)以及实验孔(化合物加细胞加病毒)。通过MTS(CellTiter®96Promega, Madison WI)染料还原评估细胞保护和化合物细胞毒性。测定和报道病毒CPE(抗病毒活性)和细胞活力(细胞毒性)的下降百分比。

[0516] 牛痘病毒(VACV)的测定:初步测定是细胞病变效应(CPE)降低测定。低通(3-10)HFF细胞用胰蛋白酶消化,计数,并在0.1mL补充有10%FBS的MEM中接种到96孔组织培养板中。然后将细胞在37℃温育24小时。然后除去培养基,并向除第一排之外的所有培养基中加入100μL含有2%FBS的MEM。在第一行中,一式三份的孔中加入125μL包含实验药物(即化合物1)的培养基。将培养基单独添加到细胞和病毒对照孔中。然后将第一排孔中的药物在剩余的孔中以1:5连续稀释。然后将平板孵育60分钟,并将100μL病毒悬浮液加入到每孔中,除了接受100μLMEM的细胞对照孔。然后将平板在37℃下,在CO₂培养箱中温育3天以用于VACV。温育期后,吸出培养基,细胞在福尔马林中用结晶紫染色4h。然后除去染料,冲洗平板,直到除去所有过量的染料。使平板干燥24小时,并使用BioTek多平台自动判读仪(MultiplateAutoreader)测定每一行中CPE的量。通过使用计算机程序比较药物处理和未处理的细胞来测定EC₅₀和CC₅₀值。

[0517] 实施例2-化合物1对小鼠诺如病毒的功效的测定

[0518] 方法

[0519] 两项研究(1号研究和2号研究)检测了化合物1保护小鼠免受诺如病毒或降低鼠诺如病毒感染的能力:

[0520] 1号研究评估了在用小鼠诺如病毒(MNV)CR3的10⁶噬斑形成单位(PFU)感染小鼠之前开始的用化合物1在30mg/kg至300mg/kg的范围内每天两次给药的功效。也包括用载体处理的对照组的小鼠。所有剂量在感染前2天(39小时)开始。研究组如表3所示。

[0521] 通过口服强饲以指定的剂量每日两次递送化合物。还包括仅用载体处理的对照组的小鼠。首次给药2天后,通过将病毒吸入口中,使小鼠感染诺如病毒。在组5中所用的小鼠为~20克,8-12周龄雌性BALB/c小鼠(研究组如表3所示)。小鼠被安置在金属格栅上,并且

每24小时收集合并的粪便产物。在接种后第3天收获组织(回肠远端和盲肠)和个体粪粒。所有样品均通过空斑测定进行滴定。

[0522] 表3:1号研究:化合物1针对小鼠诺如病毒感染的概念验证功效评估的研究设计

[0523]

组 ⁽¹⁾ (n=25)	测试物质	剂量和递送	诺如病毒感染后的结果
1	化合物 1	30 mg/kg/天 (BID)在第 2 天开始口服 ⁽²⁾	•混合的粪便样品在 24 小时内脱落, 通过空斑测定分析病毒含量 •接种 3 天后通过空斑测定确定组织滴度和个体粪便滴度
2	化合物 1	100 mg/kg/天(BID)在第 2 天开始口服	
3	化合物 1	300 mg/kg/天 (BID) 在第 2 天开始口服	
4	口服载体	N/A	

[0524] (1) 每组5个小鼠

[0525] (2) 在感染前51, 39, 27, 15和3小时施用化合物, 然后每12小时施用一次

[0526] 注: 30mg/kg/天 (15mg/kg/剂量, bid); 100mg/kg/天 (50mg/kg/剂量, bid); 300mg/kg/剂量 (150mg/kg/剂量, bid)。注射前2天开始口服给药; BID口服灌胃药物。

[0527] 2号研究评估了在用10⁴pfu的MNV CR3感染小鼠之前开始的用150mg/kg或300mg/kg化合物1每日两次给药的功效。也包括用载体处理的对照组的小鼠。150mg/kg剂量在接种前2天 (39小时), 接种前1天 (15小时) 或接种前3天 (3小时) 开始; 300mg/kg剂量在感染之前2天 (39小时) 开始。研究组如表4所示。

[0528] 该研究测试了化合物1保护小鼠免受诺如病毒感染或降低鼠诺如病毒感染的能力。在接种前2天, 接种前1天或接种时开始通过口服强饲法以指定剂量每日两次递送化合物。还包括仅用载体处理的对照组的小鼠。在0天剂量后3小时, 通过将病毒吸入口中, 将小鼠用10⁴PFU的鼠诺如病毒感染。在5个组中使用的小鼠是~20克, 8-12周龄雌性BALB/c小鼠 (研究组如表4所示)。所有样品均通过空斑测定进行滴定。

[0529] 表4:2号研究:化合物1针对小鼠诺如病毒感染的功效评估的研究设计

[0530]

组 ⁽¹⁾ (n=25)	测试物质	剂量和递送	诺如病毒感染后的结果
1	化合物 1	150 mg/kg 在第 2 天开始每天两次口服 ⁽²⁾	•混合的粪便样品在 24 小时内脱落, 通过空斑测定分析病毒含量 •接种 3 天后通过空斑测定确定组织滴度和个体粪便滴度
2	化合物 1	150 mg/kg 在第 1 天开始每天两次口服 ⁽³⁾	
3	化合物 1	150 mg/kg 在第 0 天开始每天两次口服 ⁽⁴⁾	
4	化合物 1	300 mg/kg 在第 2 天开始每天两次口服 ⁽²⁾	
5	口服载体	N/A	

[0531] (1) 每组5只小鼠

[0532] (2) 化合物在感染前51, 39, 27, 15和3小时施用, 然后每12小时施用

[0533] (3) 化合物在感染前27, 15和3小时施用, 然后每12小时施用

[0534] (4) 化合物在感染前3小时施用, 然后每12小时施用

[0535] 注: 150mg/kg每日两次=300mg/kg每日总剂量; 300mg/kg每日两次=600mg/kg每日剂量。在感染前2天或1天或0天口服给药。在第0天通过口服强饲法用 10^4 PFUMNV感染小鼠。每12小时每天两次口服强饲法。

[0536] 对于这两项研究, 在感染之前, 以指定的剂量和时间通过口服强饲法递送化合物。在施用化合物1第一天0剂量后3小时, 通过将病毒吸入口中, 使小鼠感染鼠诺如病毒CR3。感染后, 感染后的第3天每天两次施用化合物。

[0537] 在5个组中, 所用的小鼠为~20克, 8-12周龄的雌性BALB/c小鼠。将小鼠饲养在金属栅栏上, 并从第1天开始每24小时收集合并的粪便产量。感染后第3天收集组织(~1cm回肠远端和盲肠) 和个体粪粒, 并称重。所有样品通过噬菌斑测定进行滴定(当滴定度太低时, qRT-PCR作为备用); 滴度标准化为克组织或粪便。在第3天, 收集重复的组织样品(~1cm回肠远端和盲肠), 用PBS冲洗, 并速冻; 还在第3天收集血清和重复的粪便样品并速冻; 提交这组样品用于MS分析以评估药物生物利用度。

[0538] 结果

[0539] 1号研究的结果显示, 感染前2天开始的每日两次施用化合物1治疗, 有效降低了组织和粪便中的鼠类诺如病毒滴度, 如图1A和图1B所示增加药物浓度观察到病毒滴度更显著的降低。数据还显示, 与载体相比, 用300mg/kg化合物1每天两次治疗的动物, 在组织和粪便中的病毒滴度显著降低。

[0540] 如图1A和1B所示, 如“1号研究”所述, 在用 10^6 pfu鼠诺如病毒感染之前2天开始通过口服强饲法用指定剂量的化合物1每天两次治疗小鼠。

[0541] 2号研究的结果表明,如图2A和图2B所示,在感染前2天开始的用300mg/kg化合物1每天两次治疗小鼠显著降低组织和粪便中的鼠诺如病毒滴定。这些数据证实了研究#1的发现并证明化合物1对减少鼠类诺如病毒感染有效。

[0542] 如图2A和2B中所示,如“1号研究.”所述,在用 10^4 PFU鼠类诺如病毒感染之前从指定的天开始通过口服强饲法用指定剂量的化合物1每天两次治疗小鼠。

[0543] 图3A和3B以线性标度而不是对数标度显示来自1号研究的每克斑块形成单位的数量。如图3A所示,化合物1在感染前第2天($n=5$ /组)口服BID(每天两次)显示随着剂量增加,PFU/克减少。如图3A和3B所示,化合物1减少了组织和粪便中的小鼠诺如病毒。

[0544] 实施例3-诺如病毒聚合酶抑制测定

[0545] 聚合酶反应(10 μ L)在37℃下进行60分钟。在聚合酶反应体系中加入三磷酸核苷(NTP),每种100 μ M,同时加入0.05 μ Ci α 32P-UTP(800Ci/mmol)。在有或没有病毒蛋白质基因组连接(VPg)的情况下,在没有NTP的反应缓冲液中,在冰上将化合物与聚合酶(Pol)或前聚合酶(ProPol)温育10分钟。加入NTP开始反应,加入等体积的2 $\times$ Tris/硼酸盐/EDTA(TBE)上样染料/缓冲液(Invitrogen, Inc.)终止反应。通过在6%TBE-尿素凝胶(Invitrogen, Inc.)中电泳分离RNA产物(100nt)。RNA产物的半定量分析通过将干凝胶暴露于医疗荧光屏GE(Healthcare Phosphor screen)进行,接着使用GelQuant.NET软件(BiochemLab Solutions, Inc.)测量相对条带强度。使用线性回归获得IC₅₀和IC₉₀计算结果。结果在下表5中给出。与2'-C-甲基胞苷三磷酸(2'CmeC TP)的比较供参考。

[0546] 表5诺如病毒聚合酶测定

[0547]

化合物	聚合酶	IC ₅₀	IC ₉₀
2' CmeC TP	Pol	1.71 $\pm$ 0.05	4.45 $\pm$ 0.28
2' CmeC TP	Pol+VPg	1.70 $\pm$ 0.04	4.07 $\pm$ 0.17
2' CmeC TP	ProPol	1.77 $\pm$ 0.04	4.71 $\pm$ 0.18
2' CmeC TP	ProPol+VPg	1.71 $\pm$ 0.06	4.23 $\pm$ 0.35
化合物1TP	Pol	3.41 $\pm$ 0.14	9.63 $\pm$ 0.78
化合物1TP	Pol+VPg	3.37 $\pm$ 0.10	9.33 $\pm$ 0.72
化合物1TP	ProPol	3.35 $\pm$ 0.12	9.78 $\pm$ 0.60
化合物1TP	ProPol+VPg	3.01 $\pm$ 0.14	9.64 $\pm$ 0.85

[0548] 实施例4-RAW细胞中化合物1向三磷酸的转化

[0549] RAW细胞与表6a (ng/细胞) 和表6b (pmol/细胞) 中所示浓度的化合物1一起温育。

[0550] 表6a. 化合物1以ng/细胞转化为三磷酸酯

[0551]

化合物 1 浓度	浓度 (ng/1 $\times$ 10 ⁶ 细胞)		(化合物 1-TP)/(化合物 d1) (ng)
	化合物 1	化合物 1-TP	
0.5 μ M	0.17	3.74	21.8
1 μ M	0.13	5.13	39.4
5 μ M	0.65	26.77	41.3
10 μ M	1.02	41.78	41.1

[0552] 表6b. 化合物1以pmol/细胞转化为三磷酸酯

[0553]

化合物 1 浓度.	浓度 (pmol/1×10 ⁶ 细胞)		(化合物 1-TP)/(化合物 1) (pmol)
	化合物 1	化合物 1-TP	
0.5 μM	0.53	6.37	12.0
1 μM	0.40	8.74	21.7
5 μM	2.01	45.61	22.7
10 μM	3.15	71.18	22.6

[0554] 将RAW细胞与四种不同浓度的化合物1一起在T75烧瓶中以 1.2×10^7 个细胞/烧瓶的密度温育48小时。温育期后,将细胞用冷PBS冲洗两次并计数。将细胞沉淀悬浮于1000μL冷甲醇:蒸馏水(70:30)中,涡旋,并在-80℃冷冻至分析时间。如表6a和6b所示,化合物1和化合物1-TP可在用化合物1处理的RAW细胞中以0.5μM至10μM的浓度检测。化合物1-TP的浓度比化合物1高12至23倍。

[0555] 实施例5-化合物1抗人诺如病毒的功效

[0556] 将化合物1抑制诺如病毒的功效与DMSO(作为对照),化合物2和2'-C-甲基胞苷三磷酸酯(2'CmeC TP)进行比较。细胞用25μM实验化合物预处理2小时。加入病毒接种物2小时,洗去未结合的病毒,加入新鲜的培养基和新鲜的实验化合物。

[0557] 实验一式两份进行,结果显示于图4(第一重复)和图5(第二重复)中。图6显示了实验的第一个和第二个重复结果的叠加。如图4、5和6所示,“A”是DMSO,“B”是化合物2,“C”是2'-C-甲基胞苷三磷酸(2'CmeC TP),“D”是化合物1。图4-6证明,当仅用DMSO或2'CmeC TP处理时,病毒滴度增加近两个数量级。然而,在化合物1存在的情况下,病毒滴度增加小于一个数量级。

[0558] 实施例6-本公开化合物及其类似物的有效浓度

[0559] 下面的表7显示了本公开的一些化合物及其类似物对鼠类诺如病毒的EC₅₀和CC₅₀值。在测定化合物但不能测定EC₅₀值的情况下,EC₅₀值以N/A表示。

[0560] 表7式II化合物的EC₅₀值

[0561]

化合物编号	EC ₅₀ (μM)
1	1.7-3.6
2	1.9-4.15
3	2.0
4	3.5
5	2.2
6	3.08
71	3.15
77	4.4
76	16.4
107	18.1
111	21
126	33.6 38.9
133	25.7
137	20
139	2.3

[0562]

141	3.2
143	26.3
145	7.4

[0563] 表8本公开化合物及其类似物的EC₅₀值

[0564]

化合物编号	EC ₅₀ (μM)	CC ₅₀
7	53.8/38.4	
8	23.6	
10	61.5	
11	>121	>121
12	N/A	
14	>100	
16	>100	
17	>100	
18	>100	
19	>100	
20	>20	>20
21	>100	
22	>100	
27	>100	
28	>100	
29	>100	
30	>100	
31	>100	
32	>100	
33	>100	
34	>100	
35	>100	
36	>100	
37	>100	
38	>100	
39	>100	
41	>100	
42	>100	
43	>100	
44	>100	
45	>100	
46	>100	
47	>100	
48	>100	
49	>100	
50	>100	

[0565]

51	>100	
54	>100	
61	>100	
63	>100	
65	>100	
66	20.2 71.8	
68	>100	
69	>100	
72	>100	
73	>100	
78	>100	
81	>100	
82	>100	
83	>100	
84	>100	
85	>100	
86	>100	
88	>100	
91	>100	
93	>100	
94	>100	
95	>100	
96	NA	
98	>100	
100	>100	
103	>100	
104	>100	
106	>100	
108	>100	
110	>100	
114	>100	
115	>100	
116	>100	
117	>100	
120	>100	
121	>100	
122	>100	
123	>100	
124	>100	
125	>100	

[0566]

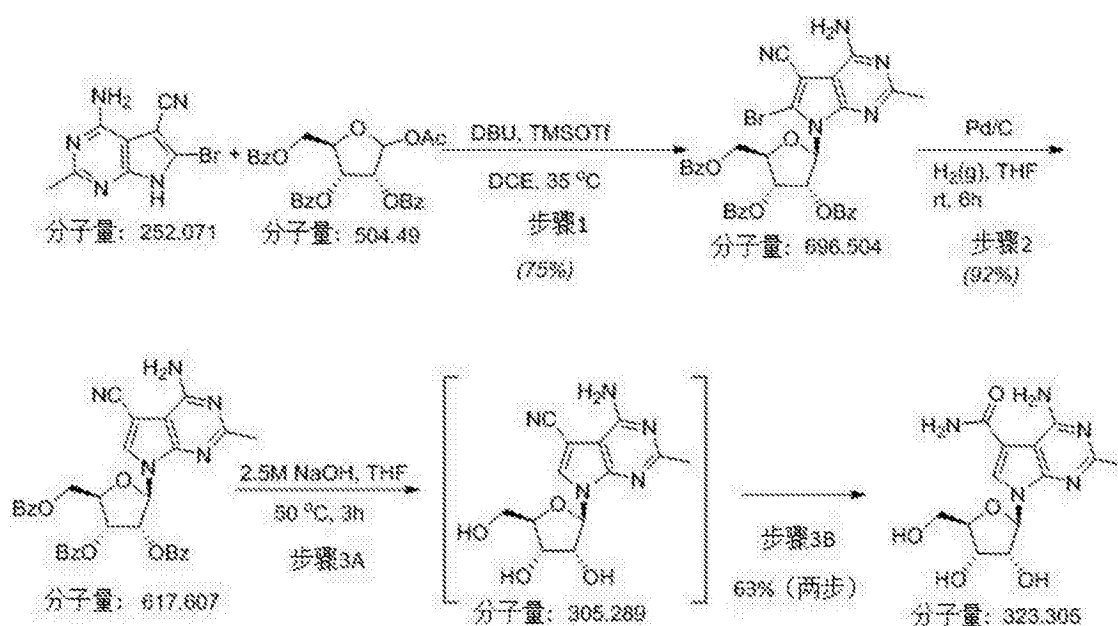
128	>100	
129	88.7	
130	42.7	
131	>100	
132	>100	
134	68.4	
136	64.5	
138	>100	
140	>100	
142	>100	
144	>100	
9	50	
13	>200	>200
15	>100	>100
23	>100	
24	>20	>20
25	>100	
26	>100	
40	>100	
52	>100	
53	>100	
55	N/A	
56	75.3	
57	>100	
58	>100	
59	>100	
60	N/A	
62	>100	
64	>100	
67	>100	
70	>100	
74	>100	
75	>100	
79	>100	
80	>100	
87	>100	
89	>100	
90	>100	
92	>100	
97	>100	
99	>100	

[0567]

101	>100	
102	>100	
105	>100	
109	>100	
112	>100	
113	>100	
118	>100	
119	>100	
135	>100	
127	5.5	

[0568] 实施例7-化合物1的合成

[0569]



[0570] 步骤1 (方案#1): 向100-L夹套反应器中加入4-氨基-6-溴-2-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈 (3.00kg), (3R,4R,5R)-2-乙酰氧基-5-((苯甲酰氧基)甲基)四氢呋喃-3,4-二基二苯甲酸酯 (6.60kg) 和DCE (18.89kg)。开始搅拌并加入DBU (3.61) kg。在03小时14min期间,在30.6℃和37.3℃之间添加TMSOTf (8.01kg)。约01小时30分钟后,32℃IPC显示剩余4%4-氨基-6-溴-2-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈 (3.00kg), (3R,4R,5R)-2-乙酰氧基-5-((苯甲酰氧基)甲基)四氢呋喃-3,4-二基二苯甲酸酯。约03小时16分钟后,32℃IPC显示剩余2%4-氨基-6-溴-2-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈 (3.00kg), (3R,4R,5R)-2-乙酰氧基-5-((苯甲酰氧基)甲基)四氢呋喃-3,4-二基二苯甲酸酯 (规格: ≤3%)。将反应混合物用DCM (39.81kg) 稀释,并在9.5℃和15.6℃之间用饮用水 (15.02kg) 淬灭11分钟。通过用DCM (19.90kg) 反萃取水相,用饱和NaHCO₃ (在14.9kg饮用水中的1.3kg NaHCO₃), 用DCM (19.71kg) 反萃取碳酸氢盐相并用盐水 (14.9kg饮用水中4.5kg NaCl) 洗涤来完成萃取后处理 (在大约22℃)。注意: 反应器在每次清洗/反萃取后用饮用水,丙酮和DCM清洗。

[0571] 将桶装的含有产物的有机相通过在线过滤器加入到100-L夹套反应器中,然后用DCM洗涤桶并用DCM (2.48kg) 过滤。将反应器的内容物在最高温度为50.1℃下真空蒸馏06h

04min至31L。这时,厚厚的悬浮液已经形成。接着,过39分钟,在44.5℃和49.5℃之间加入IPAc (41.88kg),反应器的内容物加热到76.9℃保持01小时25分钟。接下来,将反应器的内容物冷却至9.9℃保持04小时21分钟时间,并在1.6℃的最低温度下搅拌12小时26分钟。

[0572] 步骤1 (方案#2):向100-L夹套反应器中加入4-氨基-6-溴-2-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈(3.00kg), (3R,4R,5R)-2-乙酰氧基-5-((苯甲酰氧基)甲基)四氢呋喃-3,4-二基二苯甲酸酯(6.60k)和DCE (18.80kg)。开始搅拌并加入DBU (3.59) kg。在01小时46分钟期间,在30.4℃和34.2℃之间添加TMSOTf (7.90kg)。IPC大约02小时49分钟后,34℃显示剩余1%的4-氨基-6-溴-2-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-腈(规格:≤3%)。将反应混合物用DCM (40/70kg) 稀释,并在9.9℃至18.0℃之间用可饮用水 (14.97kg) 淬灭04分钟。通过用DCM (20.34kg) 反萃取水相,用饱和NaHCO₃ (在14.90kg可饮用水中的1.30kgNaHCO₃) 洗涤,用DCM (20.65kg) 碳酸氢盐相反萃取并用盐水 (14.96kg可饮用水中4.50kgNaCl) 洗涤来完成萃取后处理(在约22℃)。注意:反应器在每次清洗/反萃取后用饮用水,丙酮和DCM清洗。

[0573] 将桶装的含有产物的有机相通过在线过滤器加入到100-L夹套反应器中,然后用DCM冲洗桶并用DCM (1.49kg) 过滤。反应器内容物在最高温度为45.6℃下真空蒸馏04小时49分钟。这时,厚厚悬浮液已经形成。接着,过27分钟,在45.6℃和48.2℃之间加入IPAc (41.70kg),反应器的内容物加热到75.7℃保持01小时20分钟。接下来,将反应器的内容物冷却至9.4℃保持04小时15分钟,并在2.3℃的最低温度下搅拌过夜。

[0574] 步骤2:向反应器中加入(2R,3R,4R,5R)-2-(4-氨基-6-溴-5-氰基-2-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-5-((苯甲酰氧基)甲基)四氢呋喃-3,4-二基二苯甲酸酯(10.0kg),10%Pd/C (Degussa,型号E101NE/W),三甲胺(7.3kg)和THF (44.5公斤)。将氢气通入反应器中,并将混合物在约24.7℃至19.6℃之间在30.8psig条件下搅拌03小时54分钟。IPC (HPLC) 显示检测不到(2R,3R,4R,5R)-2-(4-氨基-6-溴-5-氰基-2-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-5-((苯甲酰氧基)甲基)四氢呋喃-3,4-二基二苯甲酸酯。

[0575] 用硅藻土(7.2kg)和抛光过滤器过滤反应混合物,并用THF (5.2kg) 洗涤滤渣。借助于THF洗涤(2.12kg)将合并的滤液和洗涤液转移到100-L夹套反应器中。将反应器的内容物用最高批次温度30.0℃在05h38min的时间内真空蒸馏至最终体积为27L。在40分钟内在39.7℃和53.2℃之间将IPA (31.48kg) 加入到反应器中。将反应器的内容物在最高批量温度为53.2℃条件下真空蒸馏03小时02分钟至最终体积为33L。在43分钟内在53.1℃和57.1℃之间向反应器中加入IPA (48.99kg)。将反应器的内容物加热到60.2℃,搅拌12分钟,并冷却04小时28分钟至5.4℃。在最低温度为1.1℃条件下继续冷却搅拌08小时55分钟。将浆液过滤并用IPA (9.41kg,在大约4.5℃) 洗涤。在最高温度44.0℃,氮气流下真空干燥残余物11小时44分钟以提供0.36%的LOD。产量:6.58千克(73.9%)。¹H NMR确定结构。纯度:97.78% (HPLC,AUC)。

[0576] 步骤3:

[0577]

原料	MW	当量/体 积	量	mmoles	Lot#
(2R,3R,4R,5R)-2-(4-氨基-5-氰基-2-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-5-((苯甲酰氧基)甲基)四氢呋喃-3,4-二基二苯甲酸酯	617.607	1	366.9	594.1	
2.5 M NaOH ¹		2.5	910 mL		Sigma Aldrich/221 465/ACS/M KBT1665V

[0578]

水			根 据 需 要		可饮用水
THF		2.5	910 mL		Sigma Aldrich/360 589/ACS/S HBG3052V
3 M HCl ²			根 据 需 要		Sigma Aldrich/258 148/ACS , 37%/SHBG 3175V

[0579] ¹100g NaOH溶于饮用水中至总体积1L;²用饮用水稀释500毫升浓HCl至总体积2L

[0580] (2R,3R,4R,5R)-2-(4-氨基-5-氰基-2-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-5-((苯甲酰氧基)甲基)四氢呋喃-3,4-二基二苯甲酸酯和THF的溶液加热至54℃,开始加入2.5M NaOH。初始加入产生双相混合物和吸热响应(温度降至50℃),但随着加入继续形成单相、清澈的溶液,并伴随着快速放热至61℃;在后面的加料过程中将反应温度保持在60℃至61℃,并再保持2小时半。IPC显示无(2R,3R,4R,5R)-2-(4-氨基-5-氰基-2-甲基-7H-吡咯并

[2,3-d]嘧啶-7-基)-5-((苯甲酰氧基)甲基)四氢呋喃-3,4-二基二苯甲酸酯剩余。

[0581] 将反应混合物冷却至21℃,在外部冷却下用3N HCl中和至pH=7.06(配备Sartorius P-P11pH电极的Denver Instrument UB-10pH计,电极用缓冲溶液在pH=4.00和pH=7.00校正);混合物继续冷却至8℃。将所得中和混合物在45℃至50℃的罐温下真空蒸馏直到在罐中观察到固体的出现。将悬浮液冷却并在2℃下搅拌2小时。过滤米色悬浮液,得到深色滤液;用冷水(500mL,5℃)洗涤灰白色残留物一次。16小时后第一个LOD值为18.73%。干燥材料HPLC的显示存在1.6%的苯甲酸酯。

[0582] 在10体积份水(10mL中1g)中进行化合物1(每AUC含有1.6%苯甲酸,HPLC)的简短再处理研究:

[0583] 室温浆化3小时

[0584] 50℃下浆化3小时

[0585] 室温浆化24小时

[0586] 三个实验都得到含有小于0.1%的苯甲酸(UAC,HPLC)的化合物1。浆液是流动的,容易搅拌,过滤速度快。在过滤器上短时间干燥得到粉末状固体,表明不需要用有机溶剂进行置换洗涤。不希望受理论的束缚,预期NMT损失超过1%(溶解度1mg/mL)。用Zorbax Eclipse Plus C18柱(水/ACN/TFA,97.5/2.5/0.05),使用适用于极性化合物的方法获得化合物1的HPLC数据。这是与用于步骤1和2的柱子相同。

[0587] 过滤冷产物悬浮液,用冷IPAc(约7.5℃,13.16kg和13.62kg)洗涤反应器和残余物,直至获得无色滤液。将残余物在真空下干燥,并且氮气释放≤45℃持续65小时19分钟以达到0%的LOD。收率:5.87kg(70.7%),¹HNMR验证同一性;HPLC纯度98.84%(AUC)。

[0588] 等同

[0589] 在不脱离本发明的精神或基本特征的情况下,可以以其他具体形式来实施本公开。因此,上述实施例在所有方面都被认为是说明性的,而不是限制本文所述的公开内容。本公开的范围因此由所附权利要求而不是由前面的描述来说明,并且落入权利要求的等同物的含义和范围内的所有变化都被包含在其中。

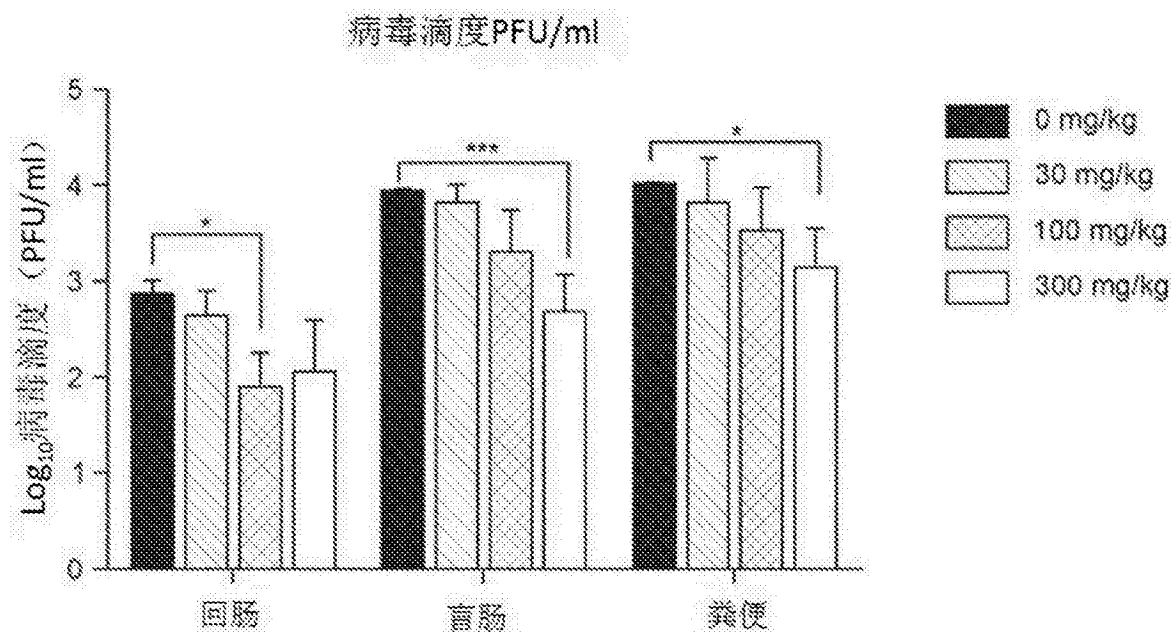


图1A

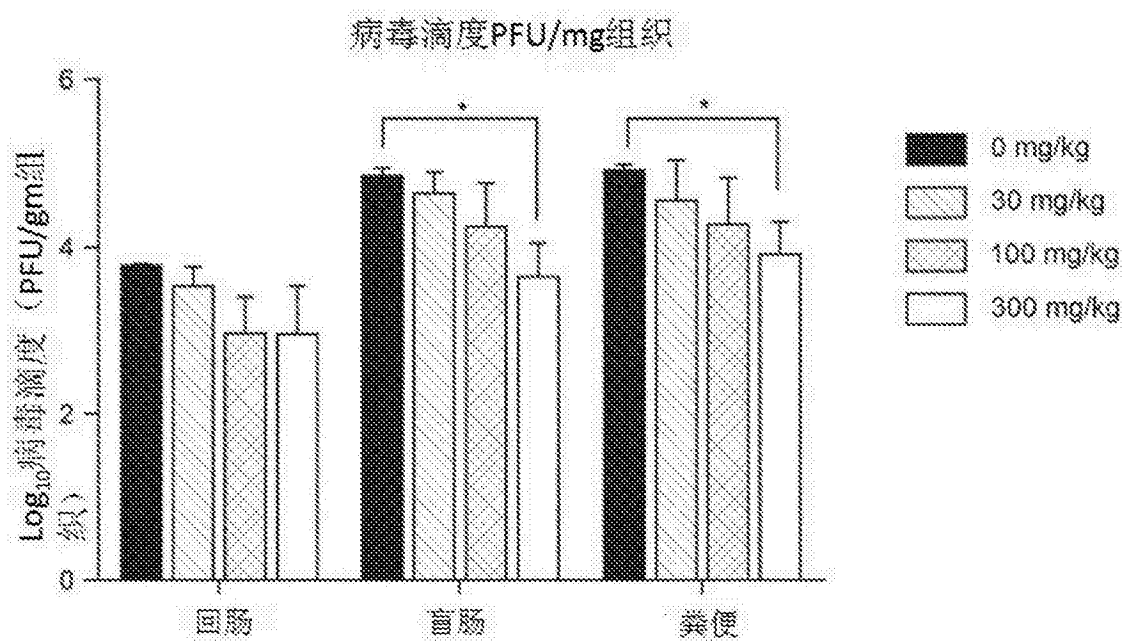


图1B

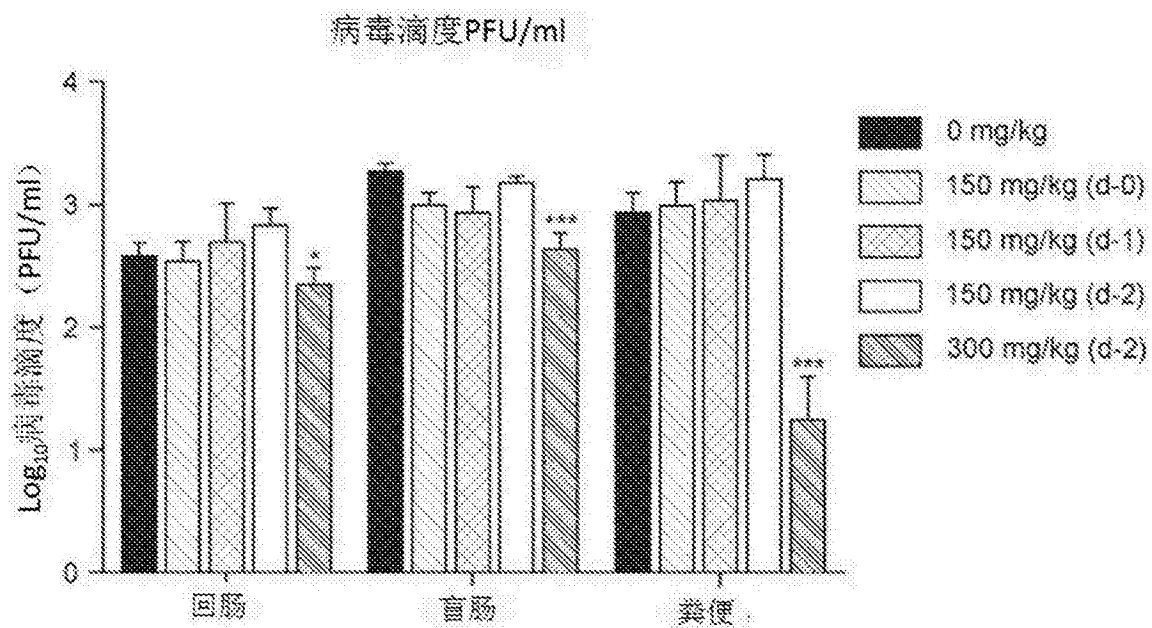


图2A

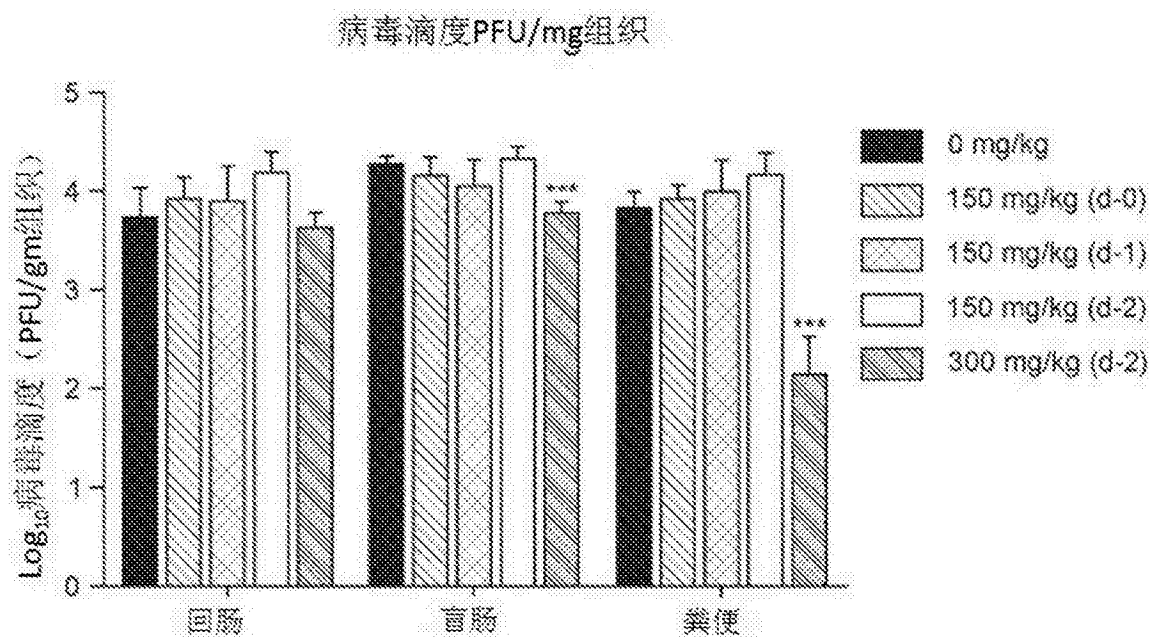


图2B

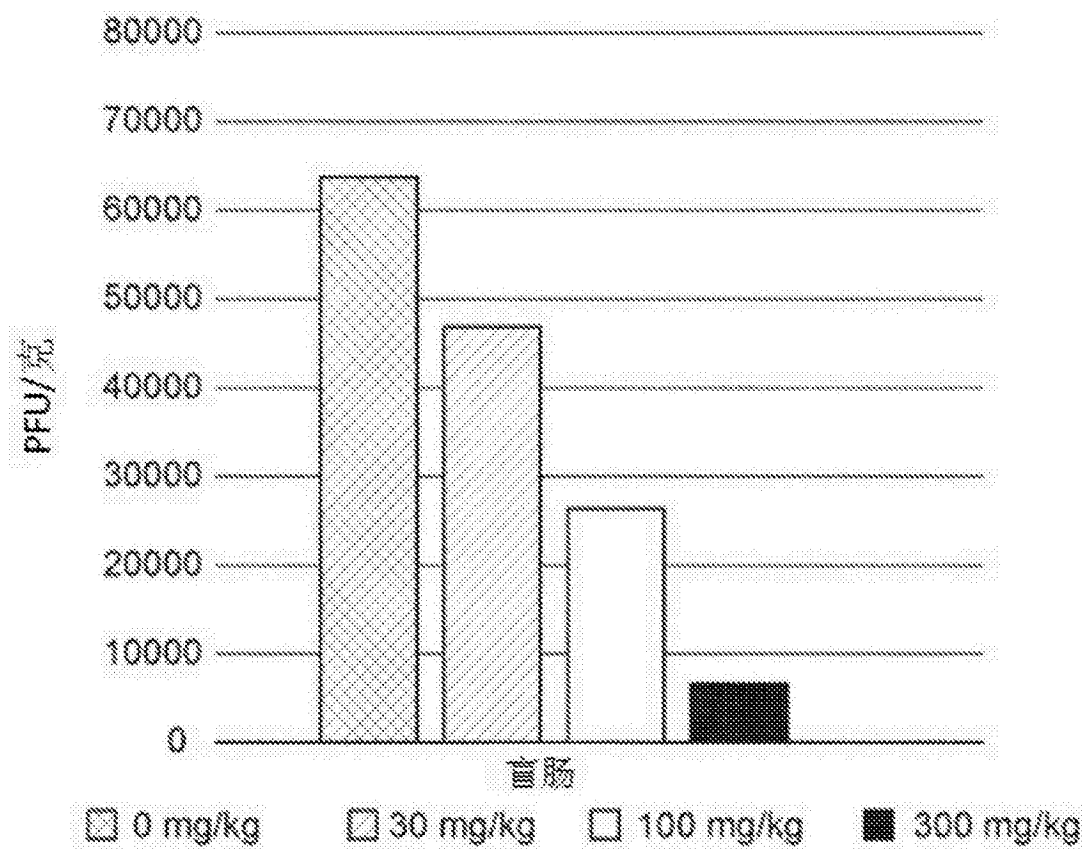


图3A

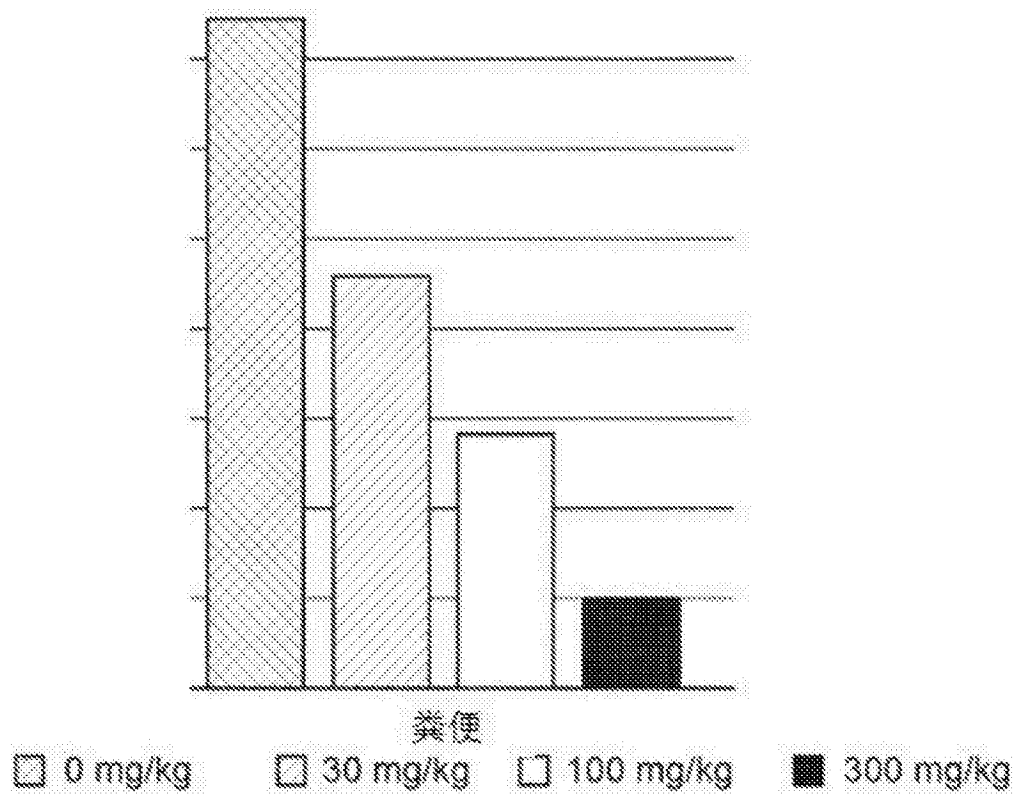


图3B

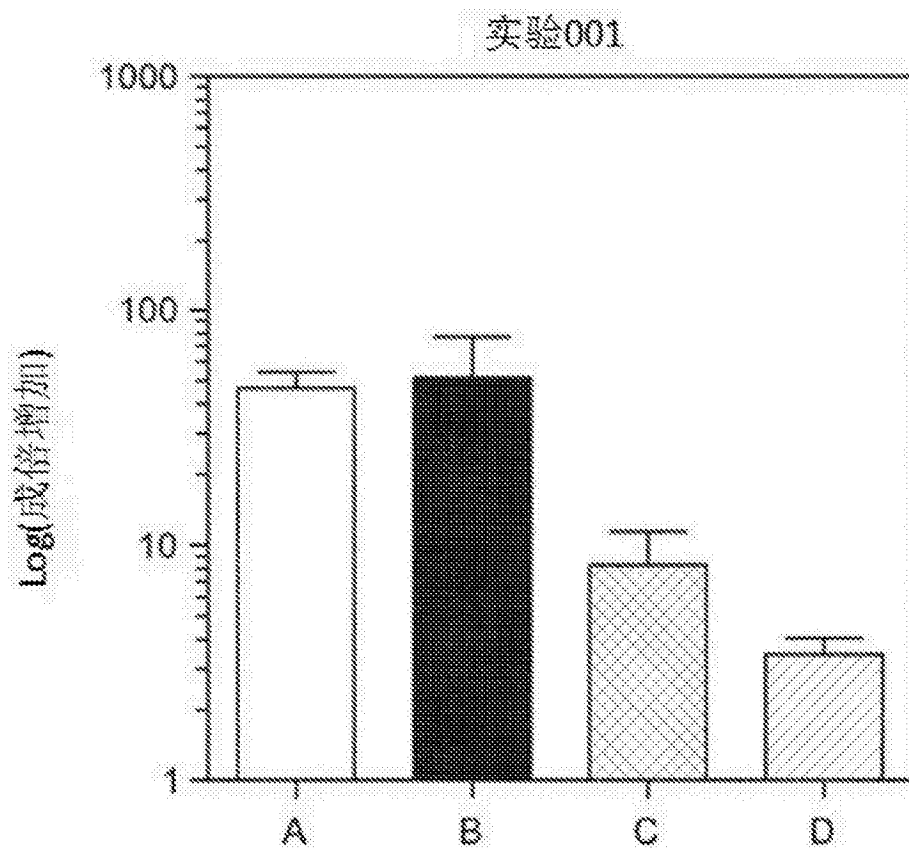


图4

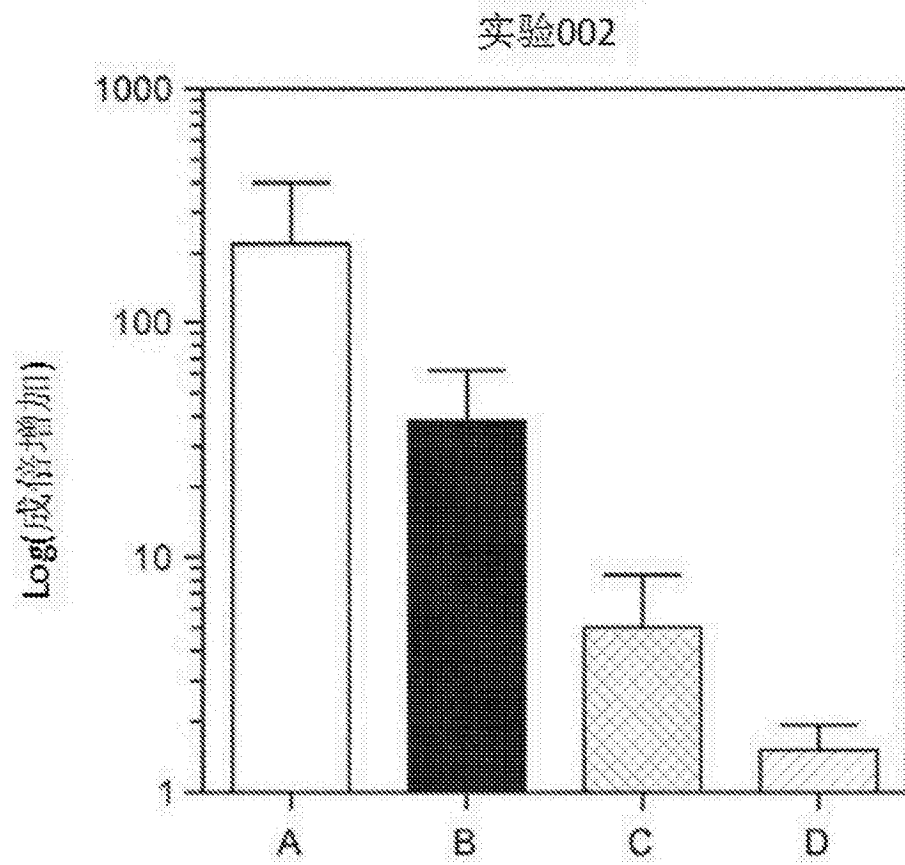


图5

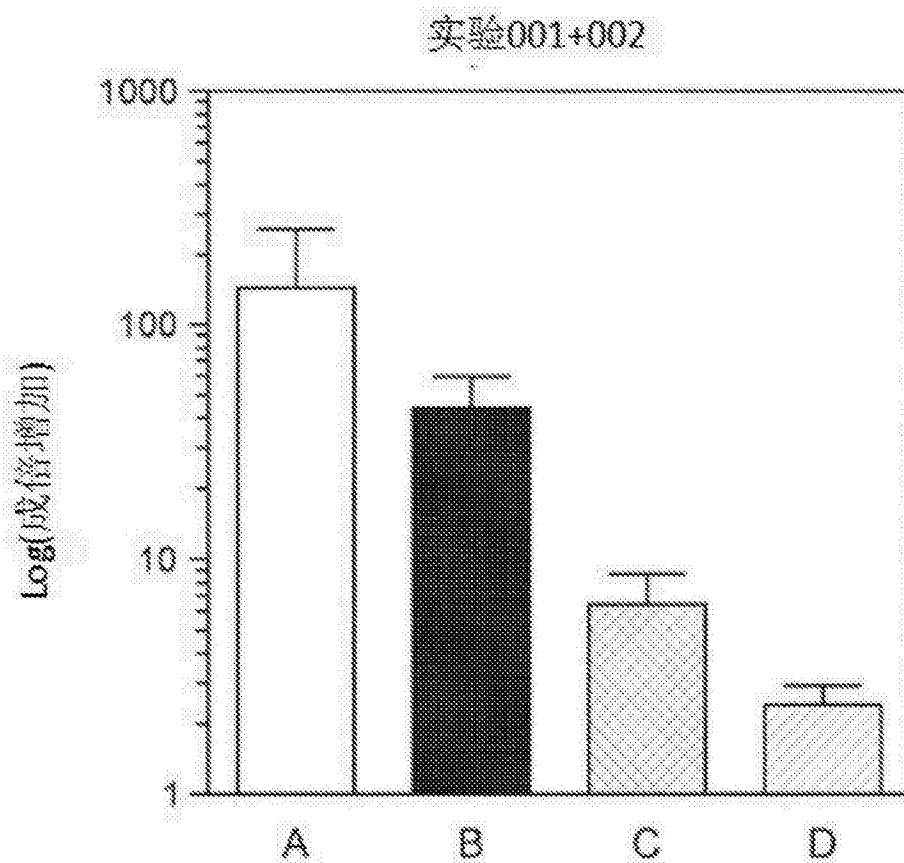


图6

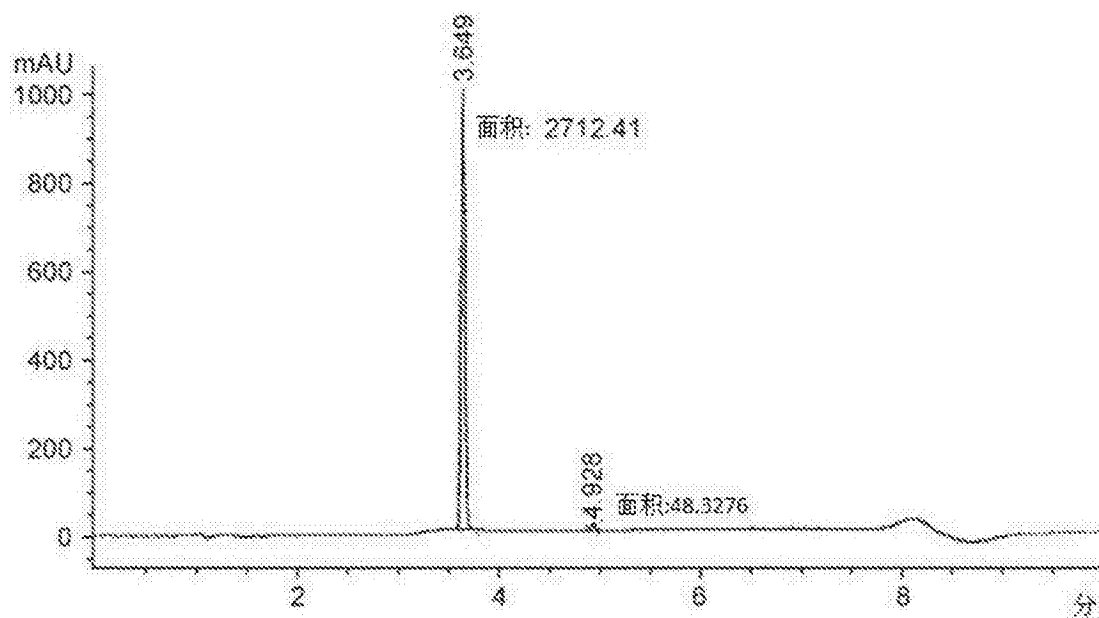


图7A

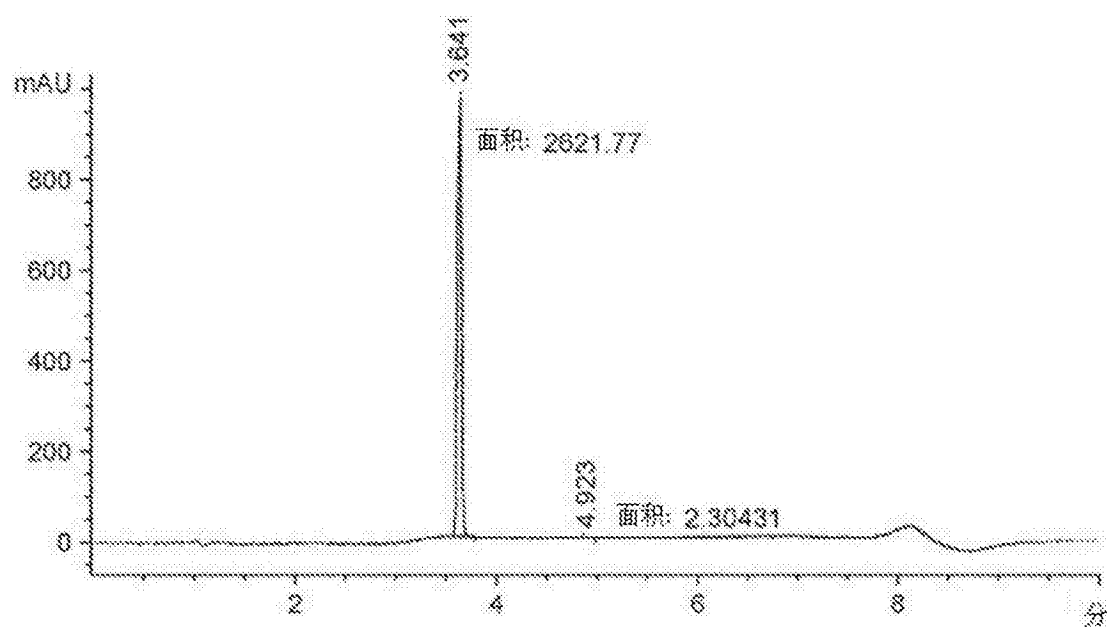


图7B

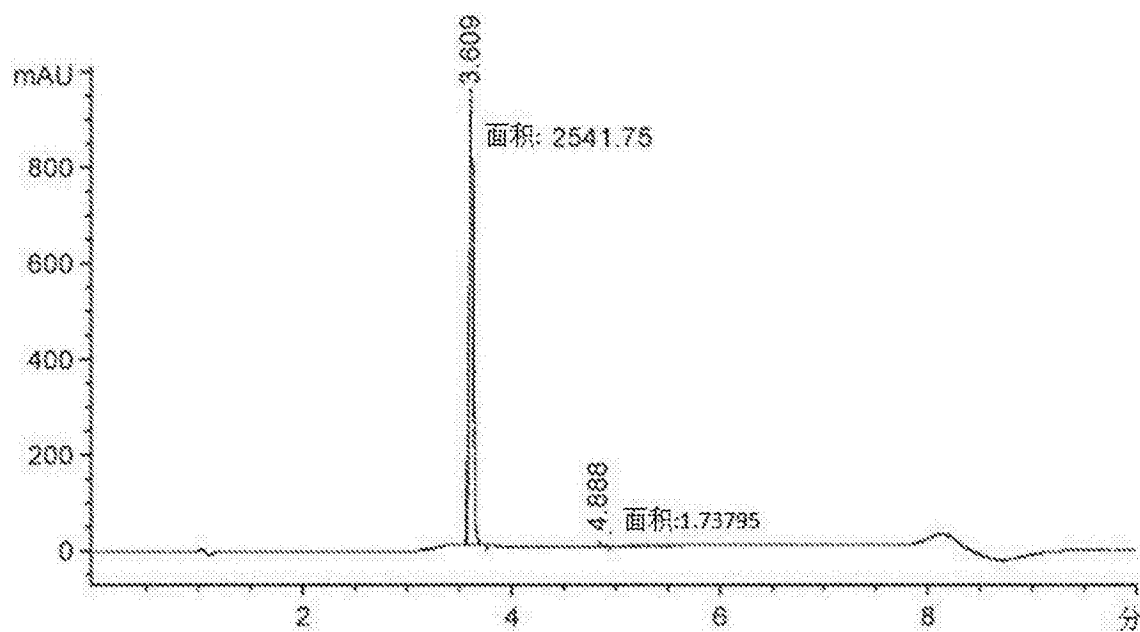


图7C

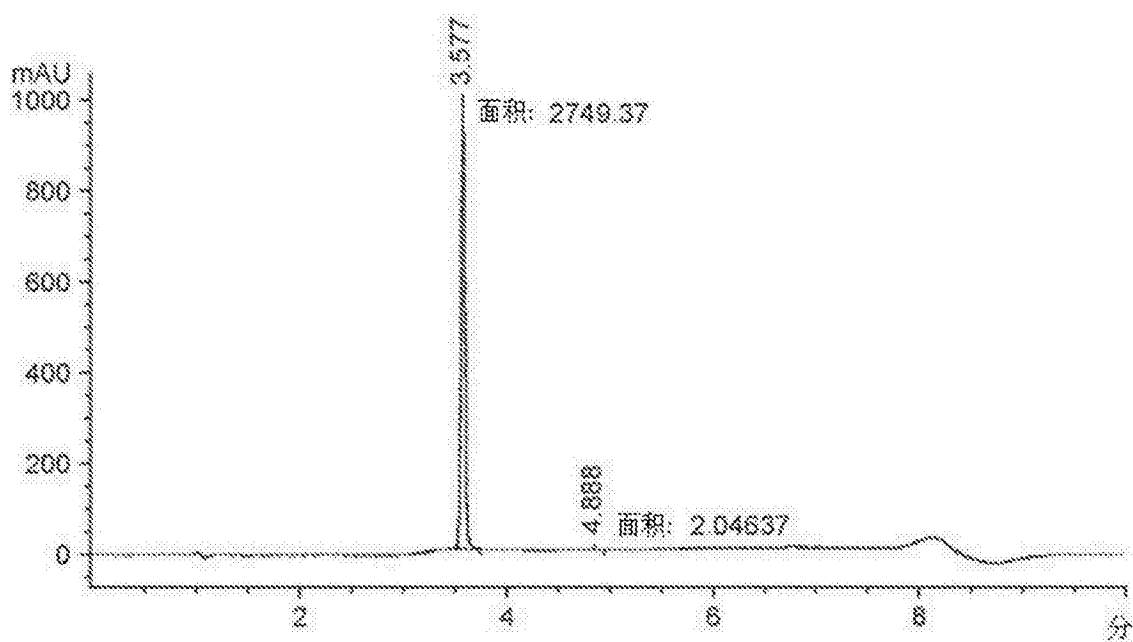


图7D

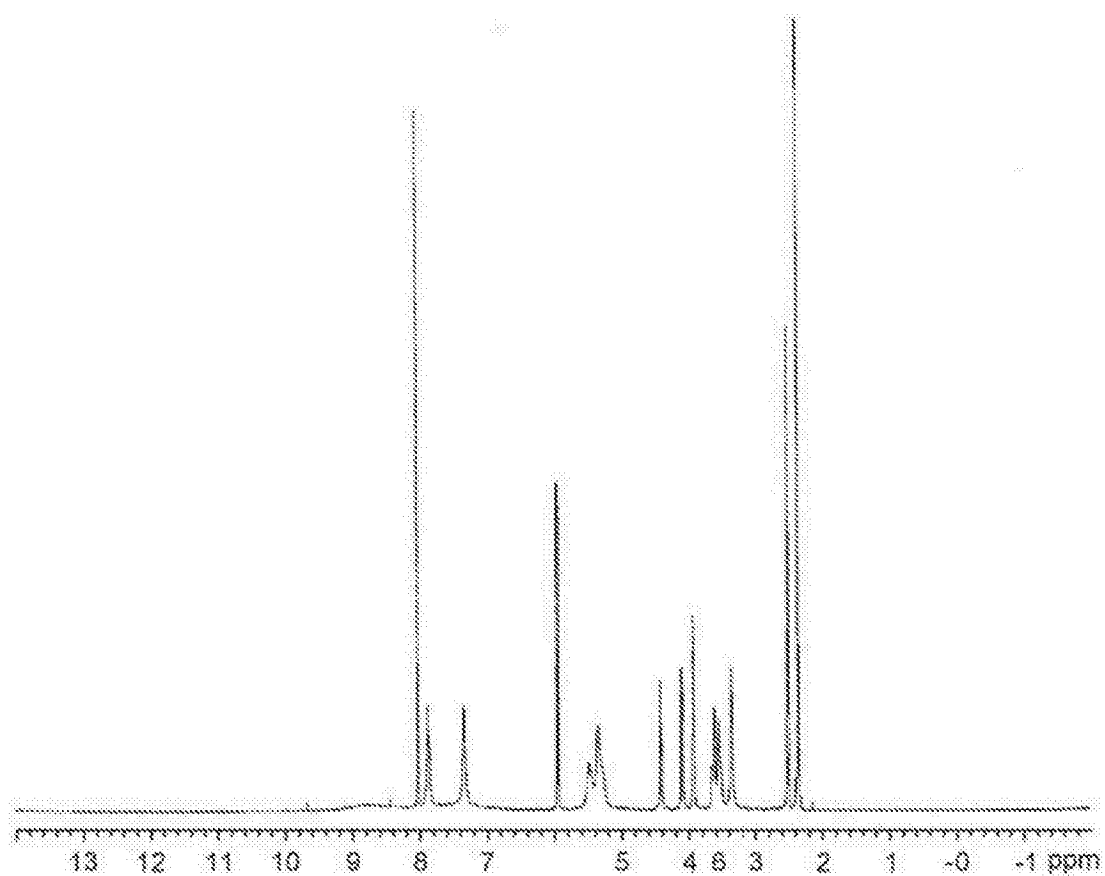


图8A

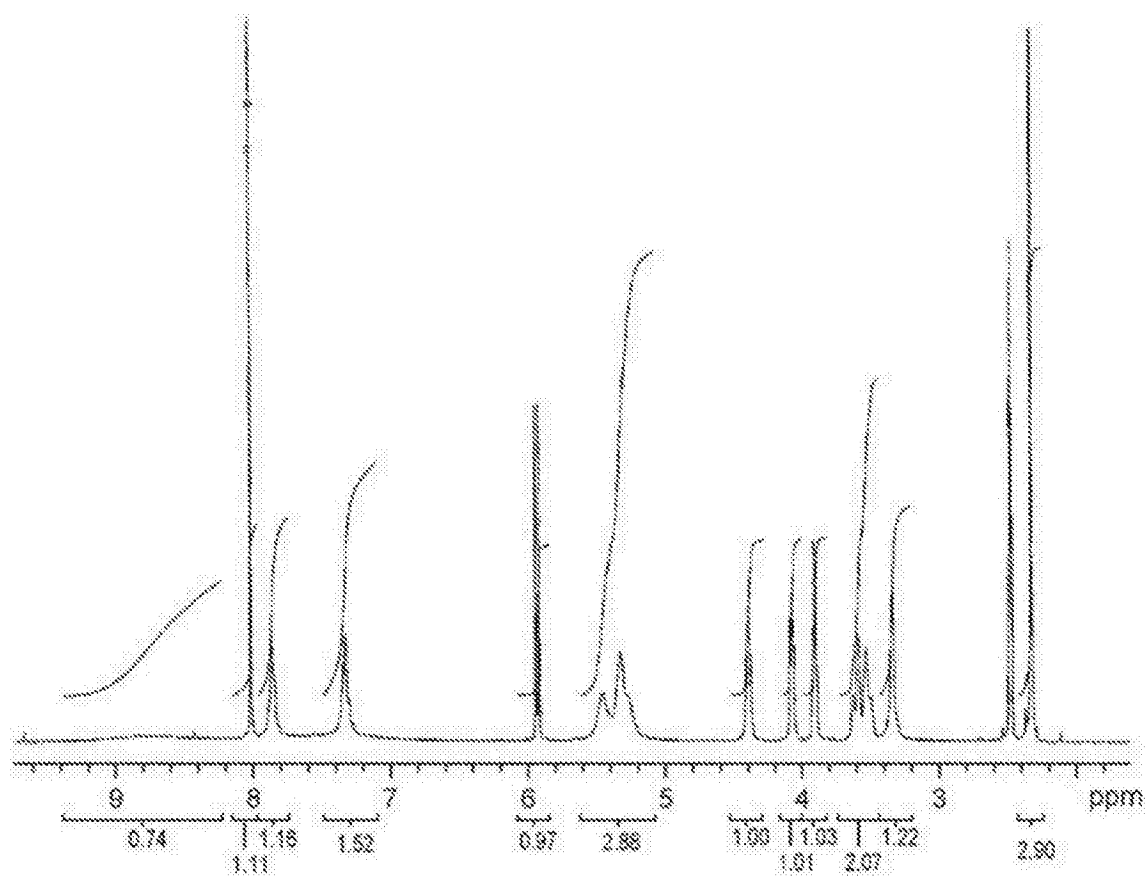


图8B

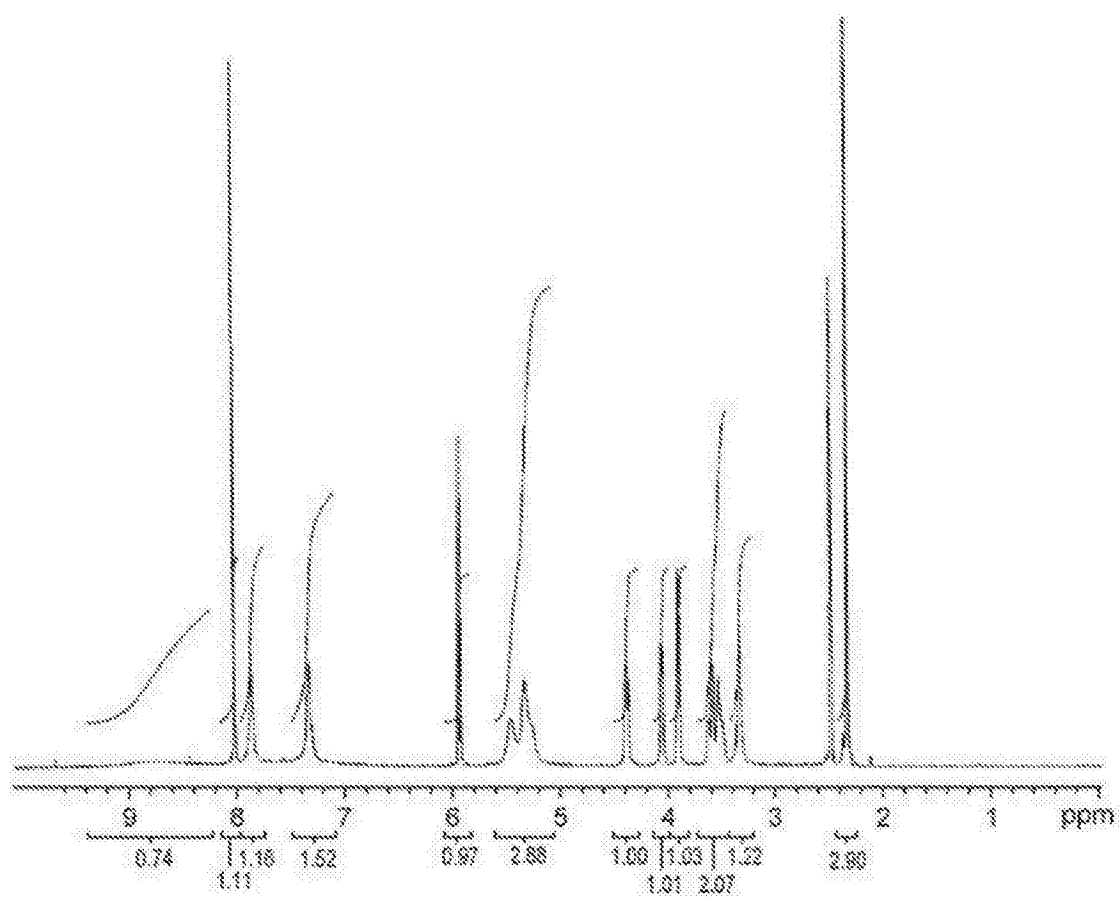


图8C