



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102149402 B

(45) 授权公告日 2014. 07. 09

(21) 申请号 200980135354. 4

(22) 申请日 2009. 07. 09

(30) 优先权数据

61/134, 510 2008. 07. 10 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2011. 03. 09

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2009/050038 2009. 07. 09

(87) PCT国际申请的公布数据

W02010/006117 EN 2010. 01. 14

(73) 专利权人 阿勒根公司

地址 美国加利福尼亚

(72) 发明人 M·E·加斯特

(74) 专利代理机构 北京北翔知识产权代理有限公司 11285

代理人 张广育 姜建成

(51) Int. Cl.

A61K 38/12(2006. 01)

A61P 27/02(2006. 01)

A61P 31/00(2006. 01)

A61P 17/06(2006. 01)

A61P 17/00(2006. 01)

C07K 7/64(2006. 01)

(56) 对比文件

WO 00/61168 A1, 2000. 10. 19, 全文.

CN 1625391 A, 2005. 06. 08, 全文.

审查员 刘芳

权利要求书2页 说明书11页

(54) 发明名称

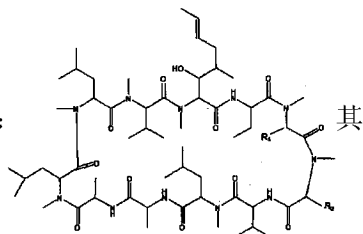
用于治疗眼睛和皮肤的疾病和病症的环孢菌素衍生物

(57) 摘要

本发明提供了一种治疗眼睛或皮肤的疾病和 / 或病症的方法, 所述疾病和 / 或病症例如水液缺乏性干眼状态、眼睛的葡萄膜炎或晶状体过敏性眼内炎, 或阴茎头炎、银屑病或皮肤的特异性皮炎, 所述方法包括局部给予眼睛或皮肤治疗有效量的选自由下式表示的化合物的新环

R<sub>5</sub>、或 R<sub>5</sub>和 R<sub>7</sub>、或 R<sub>3</sub>和 R<sub>7</sub>、或 R<sub>9</sub>和 R<sub>10</sub>一起可以是 -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>- 或 -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, 并且 R<sub>2</sub>选自羟基、低级烷基和羟基取代的低级烷基, 和 R<sub>2</sub>选自羟基和低级烷基。

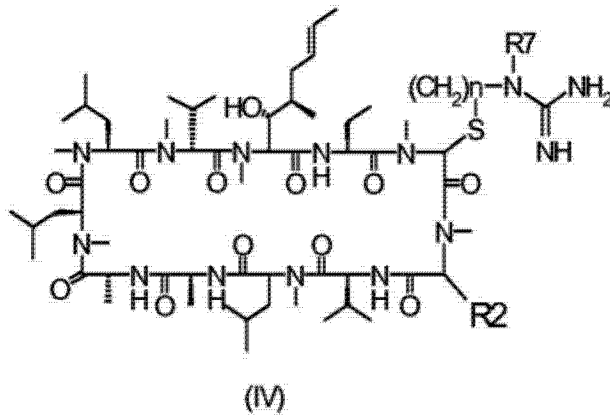
孢菌素 A 衍生物:



其

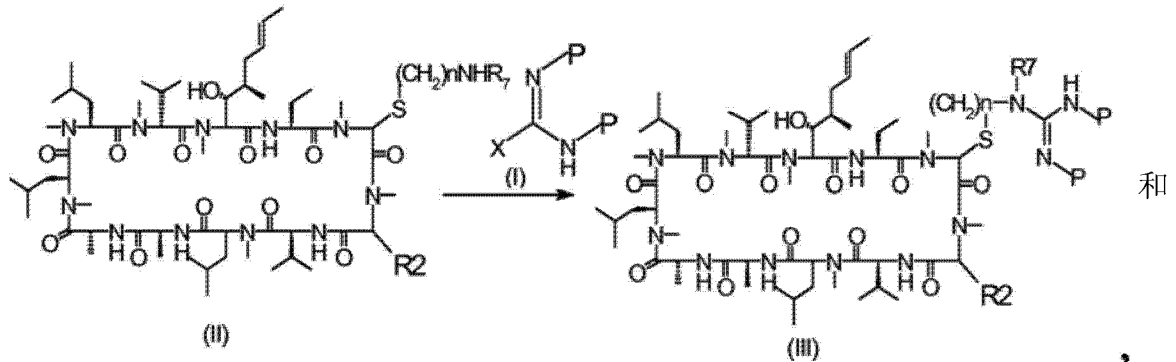
B  
CN 102149402 B  
中 R<sub>1</sub>是 S-Alk-R, 其中 Alk 是亚烷基链, 优选亚甲基或多亚甲基链, 例如 C<sub>2</sub>至 C<sub>6</sub>多亚甲基链, 或者是多亚烯基链, 例如 C<sub>3</sub>至 C<sub>6</sub>亚烯基链, R 是 -N = C(NR<sub>3</sub>R<sub>4</sub>)(NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>) 或 -NR<sub>7</sub>[(NR<sub>3</sub>R<sub>4</sub>)C = NR<sub>5</sub>](即胍) 或 -N = C(R<sub>8</sub>)(NR<sub>9</sub>R<sub>10</sub>)(即脒), 其中 R<sub>3</sub>-R<sub>10</sub> 是 H、Alk、Ar 或 (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>Ar, 其中 Ar 是芳基基团且 n 是从 1 至 13 的整数, 或者 R<sub>3</sub>和 R<sub>4</sub>、或 R<sub>4</sub>和

1. 一种制备以下式 (IV) 化合物的方法,



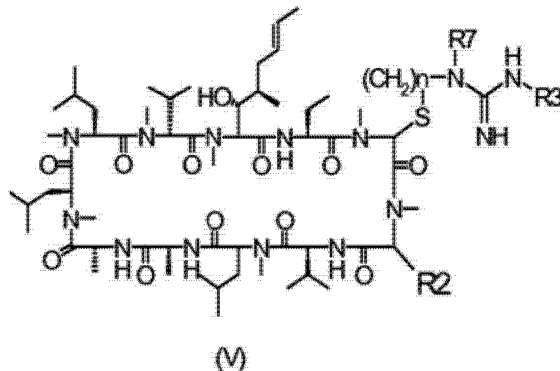
包括:

使下式 (I) 化合物和下式 (II) 化合物在合适的溶剂中进行反应得到式 (III) 化合物, 其中 X 是离去基团; P 是保护基团; R<sub>7</sub> 是氢、烷基、取代的烷基或芳基; R<sub>2</sub> 选自羟基、低级烷基和羟基取代的低级烷基; n 是从 1 至 13 的整数,



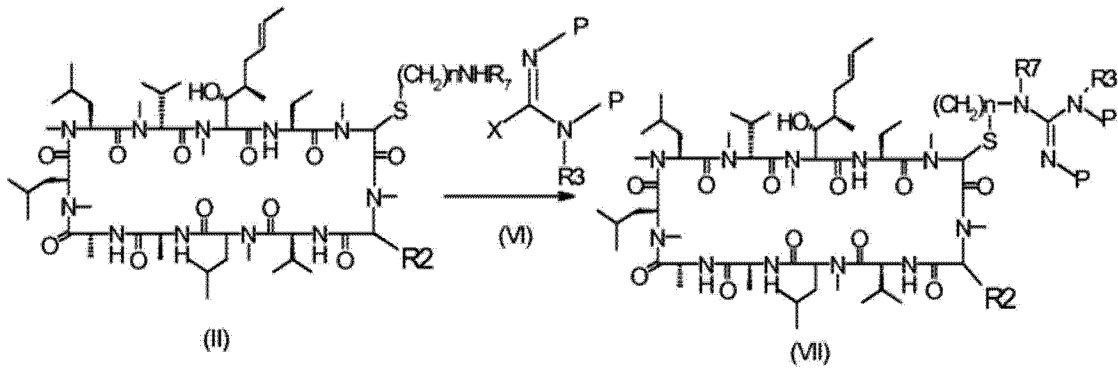
使式 (III) 化合物去保护。

2. 权利要求 1 的方法, 其中 X 为氯、MeS、MeSO<sub>2</sub>、1-咪唑基或 1-吡唑基。
3. 权利要求 1 的方法, 其中 P 为叔丁氧基羰基。
4. 一种制备以下式 (V) 化合物的方法,



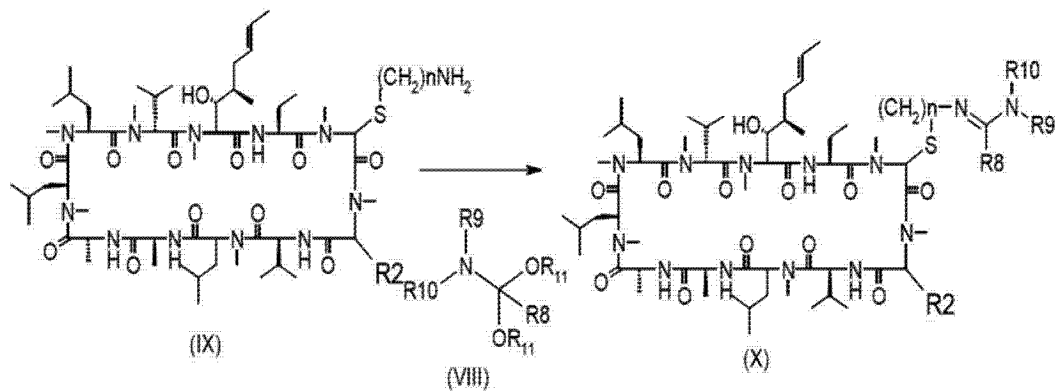
包括:

使下式 (VI) 化合物与下式 (II) 化合物在适宜溶剂中反应以生成下式 (VII) 化合物, 其中 X 是离去基团而 P 是保护基团; R<sub>7</sub> 是氢、烷基、取代的烷基或芳基; R<sub>3</sub> 是烷基、取代的烷基或芳基; R<sub>2</sub> 选自羟基、低级烷基和羟基取代的低级烷基; n 是从 1 至 13 的整数, 和



使式(VII)的化合物去保护。

5. 权利要求4的方法,其中X为氯、MeS、MeSO<sub>2</sub>、1-咪唑或1-吡唑基。
6. 权利要求4的方法,其中P为叔丁氧基羰基。
7. 一种制备下式(X)的化合物的方法,包括使下式(VIII)化合物和下式(IX)化合物反应,



其中R<sub>8</sub>是氢、烷基、取代的烷基或芳基;R<sub>9</sub>和R<sub>10</sub>是烷基、取代的烷基或芳基,或者R<sub>9</sub>和R<sub>10</sub>可形成环;R<sub>11</sub>为低级烷基;R<sub>2</sub>选自羟基、低级烷基和羟基取代的低级烷基;n是从1至13的整数。

## 用于治疗眼睛和皮肤的疾病和病症的环孢菌素衍生物

[0001] 相关申请的相互参引

[0002] 本申请要求享有 2008 年 7 月 10 日提交的序列号为 61/134,510 的美国临时专利申请的优先权,该申请以这种具体引用的方式全文纳入本说明书。

### 技术领域

[0003] 本发明涉及一种用新环孢菌素衍生物治疗眼睛和 / 或皮肤的疾病和病症的方法。本发明具体涉及使用某些新环孢菌素衍生物治疗水液缺乏性干眼状态 (aqueous deficient dry eye state)、晶状体过敏性眼内炎和眼葡萄膜炎。

### 背景技术

[0004] 正常眼睛的外露部分被一薄层泪膜覆盖。连续泪膜的存在对于角膜和结膜上皮组织的健康很重要并为角膜提供视觉上的高质量表面。此外,泪膜的水性部分在眨眼时对眼睑起到润滑剂的作用。此外,已知泪液中包含的某些酶,例如免疫球蛋白 A、溶菌酶和  $\beta$ -溶菌素 (beta lysin) 有抑菌特性。

[0005] 完好的泪系统能形成并保持正常结构的连续泪膜。泪器由分泌系统 (源头)、分配系统和排出系统 (漏点 (the sink))。在分泌系统中,泪水由主泪腺和副泪腺提供。

[0006] 泪膜的主体是由这样的泪水构成的。泪水的持续产生和排出对于保持角膜和结膜上皮组织处于湿润状态、为上皮呼吸提供营养、提供抑菌物质和通过泪水流动清洁眼睛表面是很重要的。

[0007] 泪膜异常包括泪水产生的完全的或部分的缺陷 (干燥性角膜结膜炎或 KCS)。

[0008] 在相对较轻的情况下,KCS 的主要症状是对外源物质敏感或轻微的搔痒感。这可能会发展为持续而强烈的灼烧感或刺激感,这会使患者虚弱。

[0009] 更严重的形式可发展至罹患丝状角膜炎,这是一种疼痛的病症,其特征是出现许多细线和细丝附着在角膜表面。证据表明这些细丝表示正常角膜上皮细胞的连续性被打破。眼睑运动产生的剪切力拉动这些细丝,产生疼痛。治疗这个阶段的 KCS 非常困难。

[0010] KCS 常见的并发症是继发性感染。眼睛正常防御机制可能会受到一些破坏,据推测是由于患有 KCS 的患者泪水中的抗菌性溶菌酶浓度的降低造成的。

[0011] 尽管 KCS 可以在没有任何其他明显系统异常性的情况下形成,但是 KCS 常常与全身性疾病相关。KCS 可能作为被称作斯耶格伦综合征 (Sjogren's syndrome) 的巨大的全身牵连性疾病的一部分出现。该疾病一般包括干眼、口干燥和关节炎。

[0012] 在 KCS (作为斯耶格伦综合征的一部分或作为单独的病症) 中,在泪腺中可见的最初的组织上的变化是与腺组织退化相关的局灶性淋巴细胞或浆细胞的浸润。这些变化类似于在其他组织的自身免疫疾病中所见的变化,据此推测 KCS 有自身免疫基础。

[0013] 斯耶格伦综合征被认为是外分泌腺功能失调。特征性地,泪腺被单核细胞浸润,最终导致腺结构的破坏。

[0014] 对 KCS 的常规治疗是针对症状。一般通过用人工泪水替代物补充泪水来治疗水液

缺乏性干眼状态。但是,症状的缓解受到所给予的人工泪溶液在眼内的停留时间的限制。给予眼睛的人工泪溶液的作用一般在约 30 至 45 分钟内消失。因此,虽然在最初起到缓解效果,但是此类产品的作用不能持续足够长的时间。由于需要按补充正常泪水的需要来反复对眼睛给予人工泪溶液,这对患者来说不方便。此外,这样的治疗仅能减轻干眼状态的症状而不能治愈干眼状态的任何根本病症或起因。

[0015] 对斯耶格伦综合征患者的泪腺的组织学研究发现了一些泪腺发炎的迹象。这样的炎症可能仅仅是由患者的正常变老造成的。已经提出使用抗炎剂可能会减轻腺体炎症。已提倡在这些病症中全身性地使用皮质类固醇。但是,还没有确定在干眼状态下全身性使用类固醇的优点。在大部分的干眼病例中,长期使用抗炎剂的危害似乎超过了它们的潜在优点。

[0016] 在干眼状态的治疗中还建议手术方法。在有明显的结膜破坏的情况下,提倡粘膜移植。还建议可在治疗干眼时使用腮腺(唾液)管移植。但是,治疗干眼病症的手术变更疗法是一种明显的补救措施,而对这些改变带来的任何益处还不确定。

[0017] 还建议经口腔给药毛果芸香碱的稀释溶液以刺激自主神经系统发挥功能来增加泪水的产生。这种治疗方法没有得到普遍支持,因为摄取毛果芸香碱产生很多令人不适的副作用。

[0018] 斯耶格伦综合征的动物模型已成为基础眼科研究的手段。已经在患有全身性红斑狼疮(systematic luperythematosus)的狗中发现了斯耶格伦样疾病。这种可被称作犬科 KCS 的疾病是一种普通的慢性进行性并且潜在地致盲的疾病。接着干眼状态发生的是角膜和结膜连续区(continuum)的损伤。通常无法确定犬科 KCS 的起因。通常犬科 KCS 不是一种独立的眼病。在 Kaswan 等人的 Am. J. Vet. Res. 46, 376-383 (1985) 中认为大部分犬科 KCS 病例通过自身免疫机制产生。

[0019] 其他眼病包括晶状体过敏性眼内炎和眼葡萄膜炎。这些疾病可位于全眼,在眼睛的前房和后房以及玻璃体中。

[0020] 眼葡萄膜炎——葡萄膜上的炎症,是美国约 10% 的视觉缺陷的成因。晶状体过敏性眼内炎是人自身免疫性疾病。

[0021] 全葡萄膜炎是指眼睛的整个葡萄膜(脉管)层的炎症。后葡萄膜炎一般指脉络膜视网膜炎(chorioentinitis),而前葡萄膜炎是指虹膜睫状体炎。这些炎症的炎性产物(即,细胞、纤维素和过量蛋白质)一般在眼内的液体腔内,即前房、后房和玻璃体腔中发现,并且浸润与炎性反应密切相关的组织。眼葡萄膜炎可在眼睛受到手术性或创伤性损伤后出现;可作为自身免疫性疾病(即类风湿性关节炎、贝切特氏病(Behcet's disease)、强直性脊柱炎和结节病)中的一种出现;可作为独立的免疫介导的与已知病因学不相关的眼病(即扁平部睫状体炎和虹膜睫状体炎等)出现;还可以在某些导致抗体抗原复合物沉积于葡萄膜组织中的全身性疾病后出现。所有这些疾病均代表非感染性眼葡萄膜炎。

[0022] 正常眼睛受血液屏障保护不受免疫监视,所述血液屏障可阻止细胞或蛋白质自由进入眼睛。当眼睛受伤或者当出现脉管炎病时,内部眼睛结构就暴露于全身免疫系统和通常不正常的自身免疫应答。

[0023] 本发明的化合物还可以用于治疗皮肤疾病和病症。已经发现本发明的化合物可用于治疗阴茎头炎,例如非特异性炎性复发性阴茎头炎。参见 S. Georgala 等人的

“Pimecrolimus 1 % Cream in Non-Specific Inflammatory Recurrent Balanitis”, *Dermatology* 2007 ;215 :209-212。本发明的化合物可用于治疗银屑病和特应性皮炎（分别参见 MS Salek 等人的“Cyclosporin Greatly Improves the Quality of Life of Adults with Severe Atopic Dermatitis. A Randomized, Double-Blind, Placebo Controlled Trial”, *Br J Dermatol* 1993 ;129 :422-430, 及医师的案头参考 :PDR-Gengraf Capsules (Abbot)）。

[0024] 晶体过敏症是眼葡萄膜炎的一种严重形式,晶状体在其中是致病抗原。正常情况下,在出生前晶状体蛋白就被晶状体囊所隔离。当由于损伤或手术或在白内障形成过程中偶然地将这些蛋白质释放进入眼睛时,它们变得极具抗原性并且引起自身免疫反应。如果所述反应较缓和,则它可被看作慢性眼葡萄膜炎。如果它进展非常迅速,则眼睛的所有部分会严重发炎。后面的这种反应被称为晶体过敏症。

[0025] 在 PCT 申请 No. 98-379455、98-379456 和 98-379457 中描述了甲硫基取代的环孢菌素 A 和其他烷硫基取代的环孢菌素 A 衍生物,并且发现当经口腔给药、肠胃外给药、直肠给药或吸入给药时它们可有效对抗某些逆转录病毒,特别是 AIDS(获得性免疫缺陷综合征)和 ARC(AIDS 相关综合征)。此外,通常还发现它们仅有非常微弱的免疫抑制剂作用,并且它们在非细胞毒性和非细胞抑制性的浓度下显示出抗逆转录病毒活性。据称这些化合物与其他对逆转录病毒具有活性的试剂(例如逆转录酶、蛋白酶、整合酶、HIV 复制和核衣壳的抑制剂)具有协同作用。

[0026] 美国专利 6, 350, 442 和 6, 254, 860 中称这些化合物可用于治疗眼睛的疾病和病症。

[0027] 本发明的一个目的是提供新的环孢菌素 A 衍生物以治疗眼睛的疾病和病症,例如干眼。

[0028] 本发明的另一个目的是提供新的环孢菌素 A 衍生物。

[0029] 本发明的另一个目的是治疗皮肤疾病和 / 或病症,例如阴茎头炎。

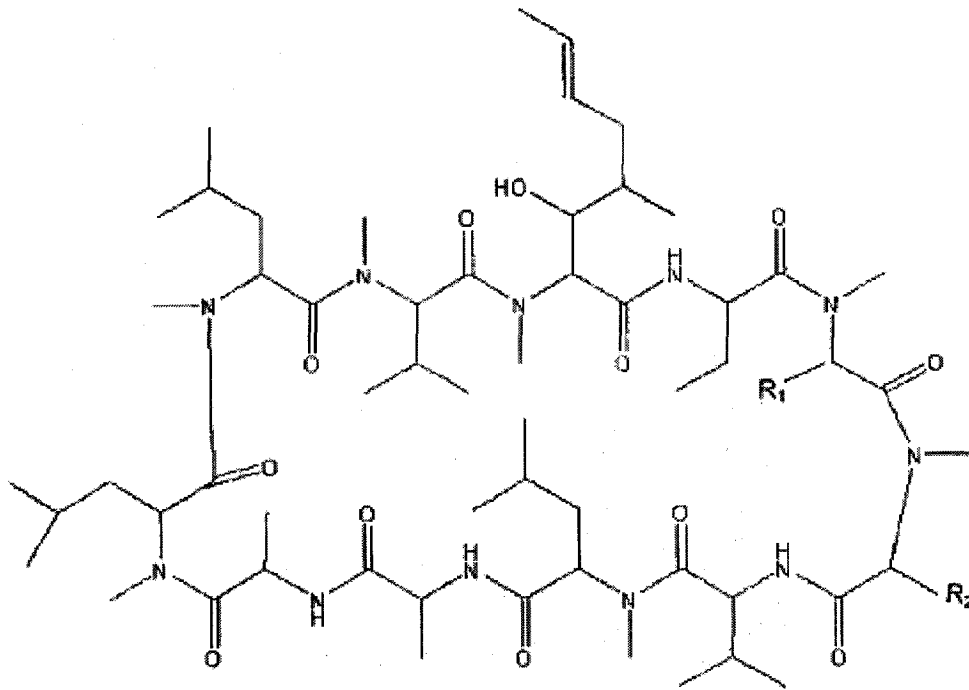
[0030] 本发明的另一个目的是治疗皮肤病症,例如银屑病和特应性皮炎。

[0031] 通过阅读本说明书可清楚地了解本发明的其他目的。

## 发明内容

[0032] 本发明提供一种治疗眼睛的疾病或病症,例如水液缺乏性干眼状态、眼葡萄膜炎或晶状体过敏性眼内炎的方法,该方法包括对眼睛给予治疗有效量这样的化合物的步骤,所述化合物选自具有下述化学式的环孢菌素 A 衍生物。本发明提供一种治疗皮肤的疾病或病症,例如阴茎头炎或银屑病或特应性皮炎的方法,该方法包括对眼睛给予治疗有效量这样的化合物的步骤,所述化合物选自环孢菌素 A 衍生物。用于本发明的(一种或多种)方法的环孢菌素 A 衍生物由下式表示

[0033]

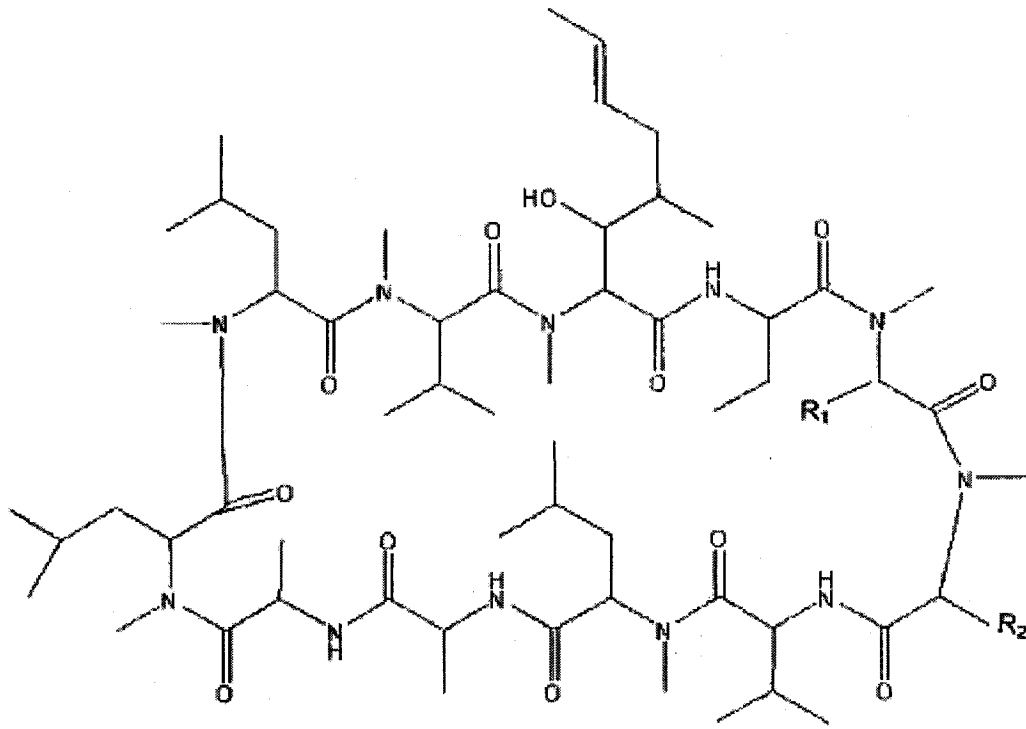


[0034] 其中  $R_1$  是  $S-Alk-R$ , 其中  $Alk$  是亚烷基链 (alkylene linkage), 优选亚甲基或多亚甲基链, 例如  $C_2$  至  $C_6$  多亚甲基链, 或者是多亚烯基链, 例如  $C_3$  至  $C_6$  亚烯基链 (alkylenyl linkage), 并且  $R$  是  $-N = C(NR_3R_4)(NR_5R_6)$  或  $-NR_7[(NR_3R_4)C = NR_5]$  (即胍) 或  $-N = C(R_8)(NR_9R_{10})$  (即脒), 其中  $R_3-R_{10}$  是  $H$ 、 $Alk$ 、 $Ar$  或  $(CH_2)_nAr$ , 其中  $Ar$  是芳基基团, 且  $n$  是从 1 至 13 的整数, 或者  $R_3$  和  $R_4$ 、或  $R_4$  和  $R_5$ 、或  $R_5$  和  $R_7$ 、或  $R_3$  和  $R_7$ 、或  $R_9$  和  $R_{10}$ 、或  $R_8$  和  $R_9$  一起可以是  $-(CH_2)_x-$ , 其中  $x$  是从 2 至 5 的整数, 例如  $-CH_2-CH_2-$  或  $-CH_2-CH_2-CH_2-$ , 并且  $R_2$  选自羟基、低级烷基和羟基取代的低级烷基。例如,  $R_1$  可以是  $-S(CH_2)_2N = C(NH_2)_2$  并且  $R_2$  可以是  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 、 $-CH_2C(OH)(CH_3)_2$ 、 $-CH(CH_3)_2$  或  $-CH(CH_3)CH_2CH_3$ 。

### 具体实施方式

[0035] 本发明提供一种通过局部给予患病眼睛由以下式表示的环孢菌素衍生物来治疗患有眼葡萄膜炎、晶状体过敏性眼内炎和水液缺乏性干眼状态的患者的所述疾病的方法

[0036]



[0037] 其中 R<sub>1</sub> 是 S-Alk-R, 其中 Alk 是亚烷基链, 优选亚甲基或多亚甲基链, 例如 C<sub>2</sub> 至 C<sub>6</sub> 多亚甲基链, 或者是多亚烯基链, 例如 C<sub>3</sub> 至 C<sub>6</sub> 亚烯基链, 并且 R 是 -N = C(NR<sub>3</sub>R<sub>4</sub>)(NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>) 或 -NR<sub>7</sub>[(NR<sub>3</sub>R<sub>4</sub>)C = NR<sub>5</sub>] (即胍) 或 -N = C(R<sub>8</sub>)(NR<sub>9</sub>R<sub>10</sub>) (即脒), 其中 R<sub>3</sub>-R<sub>10</sub> 是 H、Alk、Ar 或 (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>Ar, 其中 Ar 是芳基基团且 n 是从 1 至 13 的整数, 或者 R<sub>3</sub> 和 R<sub>4</sub>、或 R<sub>4</sub> 和 R<sub>5</sub>、或 R<sub>5</sub> 和 R<sub>7</sub>、或 R<sub>3</sub> 和 R<sub>7</sub>、或 R<sub>9</sub> 和 R<sub>10</sub> 一起可以是 -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>- 或 -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, 并且 R<sub>2</sub> 选自羟基、低级烷基和羟基取代的低级烷基。R 是 -N = C(NR<sub>3</sub>R<sub>4</sub>)(NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>) 或 -NR<sub>7</sub>C(NR<sub>3</sub>)(C = NR<sub>5</sub>), 其中 R<sub>3</sub>-R<sub>7</sub> 是 H、Alk、Ar 或 (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>Ar, 其中 Ar 是芳基基团, 例如碳环芳基或杂环芳基, 并且 n 是从 1 至 13 的整数, 例如从 1 至 4 的整数, 或者 R<sub>3</sub> 和 R<sub>4</sub>、或 R<sub>4</sub> 和 R<sub>5</sub>、或 R<sub>5</sub> 和 R<sub>7</sub>、或 R<sub>3</sub> 和 R<sub>7</sub>、或 R<sub>9</sub> 和 R<sub>10</sub>、或 R<sub>8</sub> 和 R<sub>9</sub> 一起可以是 -(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>-, 其中 x 是从 2 至 5 的整数, 例如 -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>- 或 -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, 并且 R<sub>2</sub> 选自羟基和低级烷基。

[0038] 为描述和保护本发明起见, 以下术语将具有以下含义:

[0039] “烷基”是指直链、支链或环状的饱和脂肪族烃。所述烷基基团优选具有 1 至 12 个碳原子。所述烷基更优选为具有 1 至 7 个碳原子的低级烷基, 最优选具有 1 至 4 个碳原子。通常的烷基基团包括甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、戊基、己基等。所述烷基基团可任选地被一个或多个取代基取代, 所述取代基选自羟基、氰基、烷氧基、= O、= S、NO<sub>2</sub>、卤素、二甲基氨基和 SH。

[0040] “环烯基”是指直链、支链或环状的包含至少一个碳-碳双键的不饱和烃基基团。所述烯基基团优选具有 2 至 12 个碳原子。更优选其为具有 2 至 7 个碳原子的低级烯基, 最优选具有 2 至 4 个碳原子。上述烯基基团可任选地被一个或多个取代基取代, 所述取代基选自羟基、氰基、烷氧基、O、S、NO<sub>2</sub>、卤素、二甲基氨基和 SH。

[0041] “芳基”是指具有至少一个有共轭 π 电子体系的环的芳香族基团并且包括碳环芳基、杂环芳基和联芳基基团。所述芳基基团可任选地被一个或多个取代基取代, 所述取代基选自卤素、三卤甲基、羟基、SH、OH、NO<sub>2</sub>、胺、硫醚、氰基、烷氧基、烷基和氨基。

[0042] “烷芳基”是指与芳基基团共价连接的烷基。所述烷基优选为低级烷基。

[0043] “烷氧基”是指“O-烷基”基团。

[0044] “tBoc”是指叔丁氧基羰基保护基团。

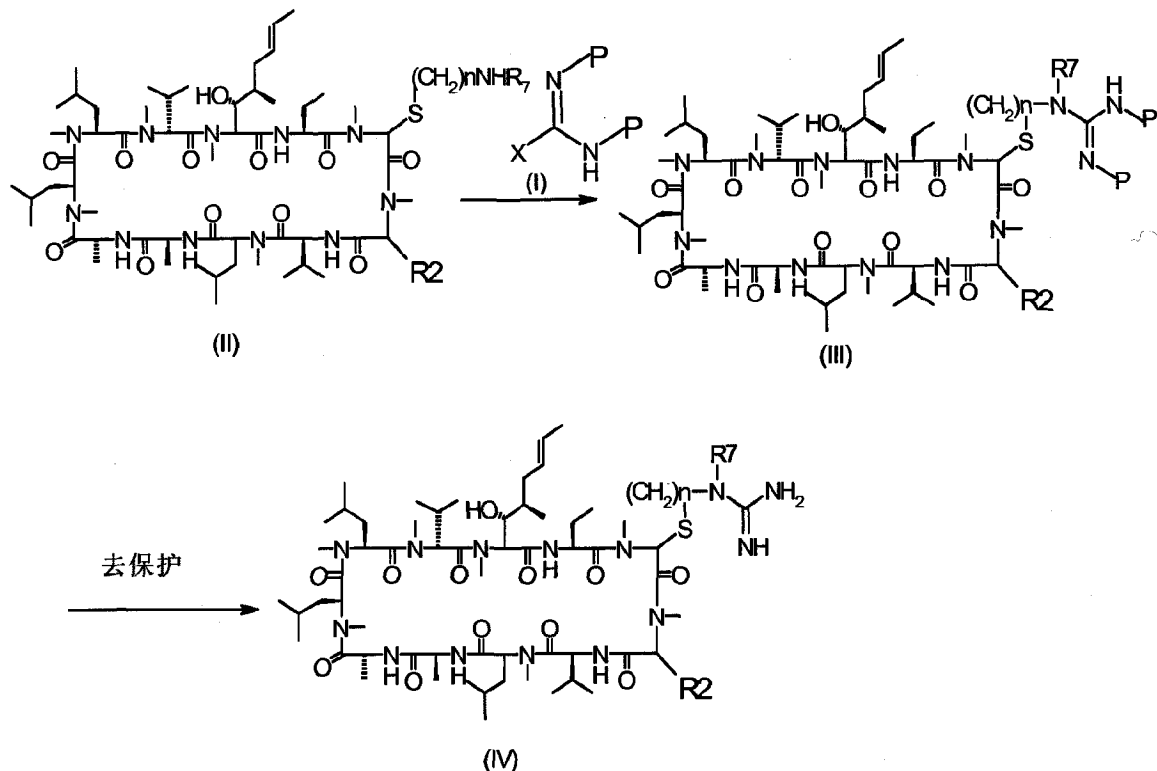
[0045] “碳环芳基”是指其中的环原子为碳的芳基。

[0046] “杂环芳基”是指具有 1 至 3 个杂原子作为环原子的芳基,其余的环原子是碳。杂原子包括氧、硫和氮。

[0047] 通过以下方法制备用于本发明方法的环孢菌素 A 衍生物:

[0048] 通过式 (I) 化合物 (其中 X 是离去基团且 P 是保护基团) 和式 (II) 化合物在合适的溶剂 (例如甲醇) 中进行反应得到式 (III) 化合物来制备其中  $R_4$ 、 $R_5$  和  $R_6$  是氢且  $R_7$  是氢、烷基、取代的烷基或芳基的化合物。对于式 I 化合物,通常的保护基团实例是其中 X = 氯、MeS、MeSO<sub>2</sub>、1-咪唑基且特别是 1-吡啶基的保护基团。保护基团 P 优选为叔丁氧基羰基基团 (tBoc) 基团。

[0049]

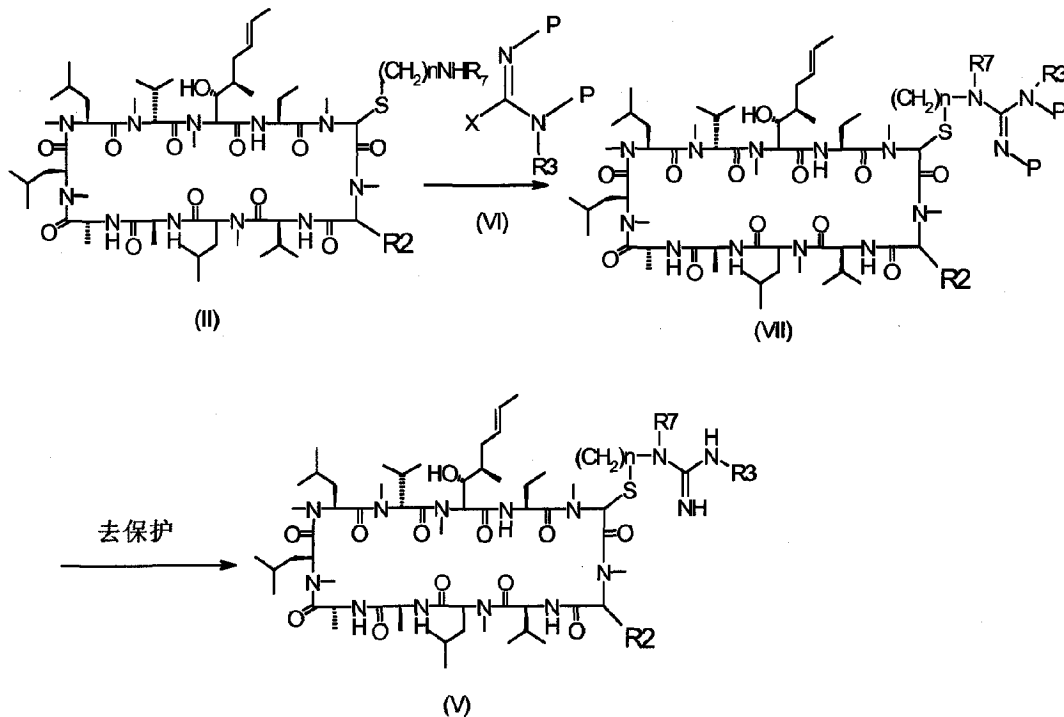


[0050] 可在多种条件下将式 (III) 化合物去保护以提供式 (IV) 化合物。例如,当 P = 叔丁氧基羰基基团 (tBoc) 时,这可以通过使用例如甲磺酸等酸在酸性条件下除去。

[0051] 通过式 (VI) 化合物 (其中 X 是离去基团而 P 是保护基团) 与式 (II) 化合物在例如甲醇的适宜溶剂中反应以生成式 (VII) 化合物来制备其中  $R_7$  是氢、烷基、取代的烷基或芳基,  $R_3$  是烷基、取代的烷基或芳基的式 (V) 化合物。

[0052] 对于式 (VI) 化合物,通常的保护基团实例是其中 X = 氯、MeS、MeSO<sub>2</sub>、1-咪唑基且特别是 1-吡啶基的保护基团。保护基团 P 优选为叔丁氧基羰基 (tBoc) 基团。

[0053]

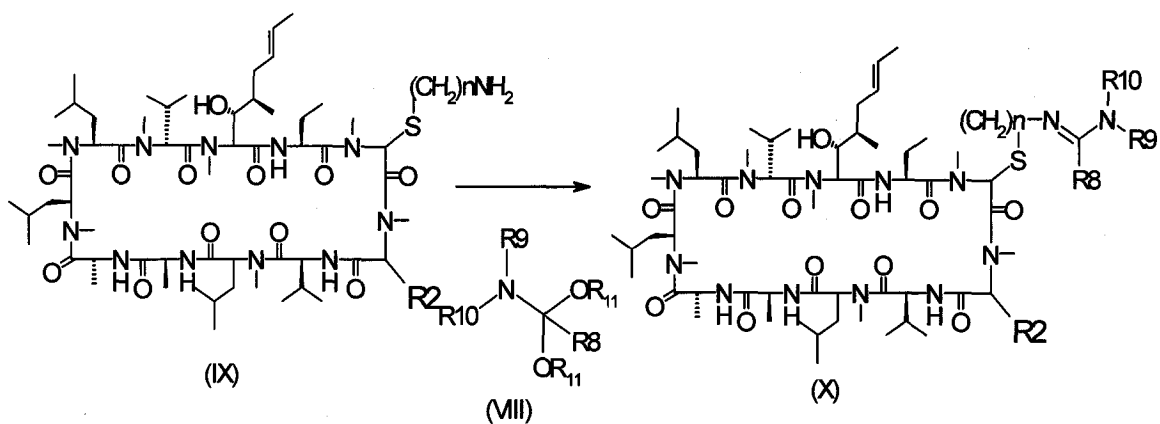


[0054] 例如,在 WO/2003/051797 中 N, N' -二 -tBoc-N- 甲基 -1H- 吡唑 -1- 羧酸脒 (N, N' -Di-tBoc-N-methyl-1H-pyrazole-1-carboxamidine) 被用于制备无关的化学族中的 N- 甲基胍。

[0055] 可使用相关的合成方法和 (如果适当) 与所述合成方法相容的合适的保护基团以类似的方法制备本发明的其他化合物。

[0056] 通过式 (VIII) 化合物和式 (IX) 化合物反应以生成式 (X) 化合物来制备式 (X) 化合物,所述 (X) 中 R 是  $-N=C(R_8)-NR_9R_{10}$  (脒),其中  $R_8$  是氢、烷基、取代的烷基或芳基,并且  $R_9$  和  $R_{10}$  可以是烷基、取代的烷基或芳基,或者  $R_9$  和  $R_{10}$  可形成环。 $R_{11}$  优选为低级烷基并且化合物 (VIII) 的常用实例为二甲基甲酰胺二甲基乙缩醛 (DMF. DMA) 和二甲基乙酰胺二甲基乙缩醛 (DMA. DMA)。

[0057]



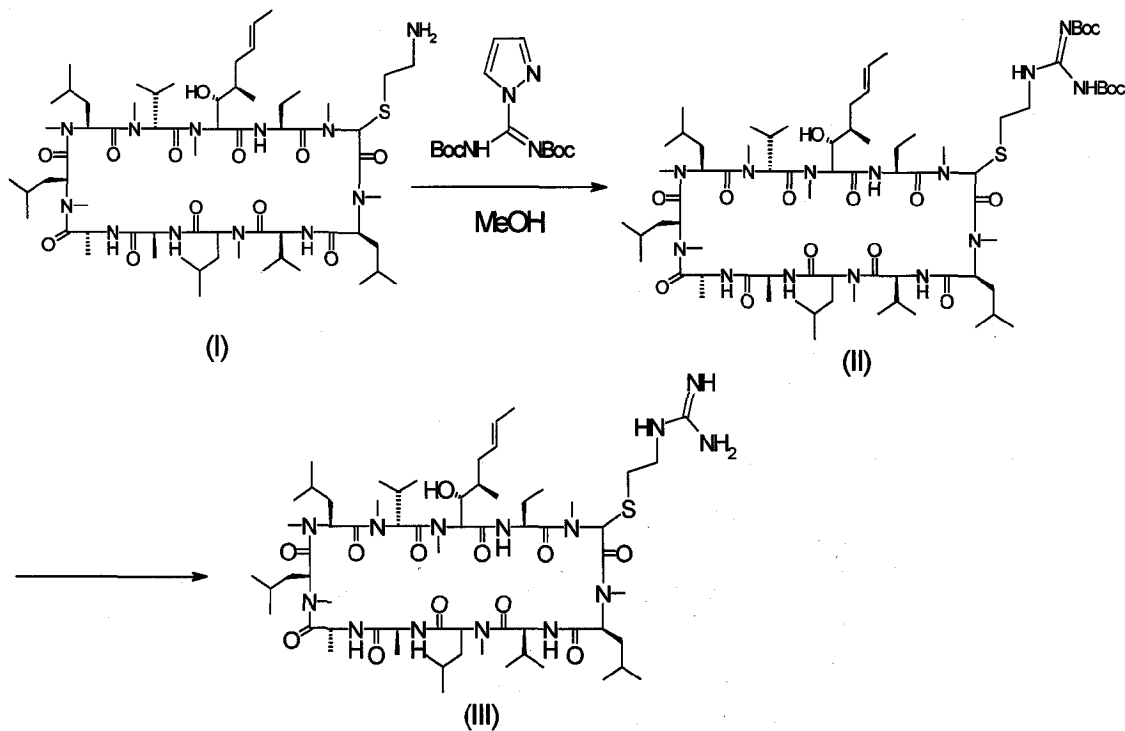
[0058] 以下是由上述一般方法制备本发明的某些化合物的具体实例。

[0059] 3-[(2-氨基乙硫基)-环孢菌素 A 的胍和脒类似物

[0060] 实施例 1

[0061] 3-[(2-胍基)-乙硫基]-环孢菌素 A(III)

[0062]



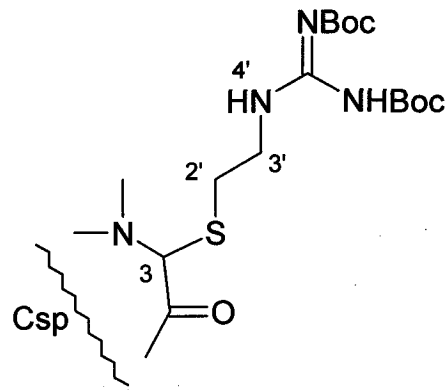
[0063] 向溶于甲醇 (20mL) 的 3-[(2-氨基乙硫基)-环孢菌素 A\*(I) (200mg, 0.16mmol) 溶液中加入二-*t*Boc-吡唑甲脒 (di-*t*Boc-pyrazole carboxamide) (250mg, 0.8mmol), 并且将各反应物一起搅拌 18h。之后加入另外一部分二-*t*Boc-吡唑甲脒 (100mg, 0.32mmol) 并将该反应再搅拌 3h。在真空中减少该反应物, 并将其重新溶于二氯甲烷, 用 0.5M 柠檬酸洗涤, 用  $MgSO_4$  干燥有机层并在真空中减少。然后在 10g SPE 小柱上通过色谱柱纯化所述产物, 用乙醚洗脱分离出 90mg (40%) 的所需产物 (II)。

[0064] 作为合成的胍和脒实例的首个成员并且由于在表征终产物 (III) 方面的预期困难, 决定在此阶段全面而详尽地表征所述二-*t*Boc 保护的胍 (II) 并且随后将此物质通过酸解得到游离的胍 (III)。然后主要通过 MS 来表征之后由 3-[(2-氨基乙硫基)-环孢菌素 A 制备的所述胍和脒亚类中的类似物。

[0065] 通过  $^1H$ 、 $^{13}C$ 、DEPT NMR 并随后通过一系列 2-D NMR 试验、HMQC、HMBC 和 DEPT-HMQC 来分析化合物 (II)。

[0066] 通过 1D & 2D NMR 来确认 3-[(2-胍基)-乙硫基] 侧链的存在。在 Bruker DRX500 分光计上和 300K 下在  $CDCl_3$  溶液进行分析。

[0067]



[0068]  $^1\text{H}$  NMR 主要共振：

[0069]  $\delta = 1.50, 1.51\text{ppm}$  (2 个单峰,  $2 \times \text{Boc}$ ,  $18\text{H}$ ,  $6 \times \text{CH}_3$ )

[0070]  $\delta = 5.89\text{ppm}$ , (单峰, 肌氨酸,  $1\text{H}$ )

[0071] 2D 光谱

[0072] 使用  $^1\text{H}$  检测的异核多级量子相干 (HMQC)、异核多键相关 (Heteronuclear Multiple Bond Correlation) (HMBC) 和校正的异核单量子相干 (DEPT-HSQC) 实验可测定连结和排布, 确认 3-[(2-胍基)-乙硫基] 侧链的存在。

[0073] H(3) 至 2' (多重峰,  $^1\text{H}$   $2.84\text{ppm}$ ,  $2\text{H}$ )。

[0074] 2' 至 3' (多重峰,  $^1\text{H}$   $3.67\text{ppm}$ ,  $2\text{H}$ )。

[0075] 3' 至 NH 4' (三重峰  $J_{\text{HH}}$   $5.8\text{Hz}$ ,  $^1\text{H}$   $8.67\text{ppm}$ ,  $1\text{H}$ )。

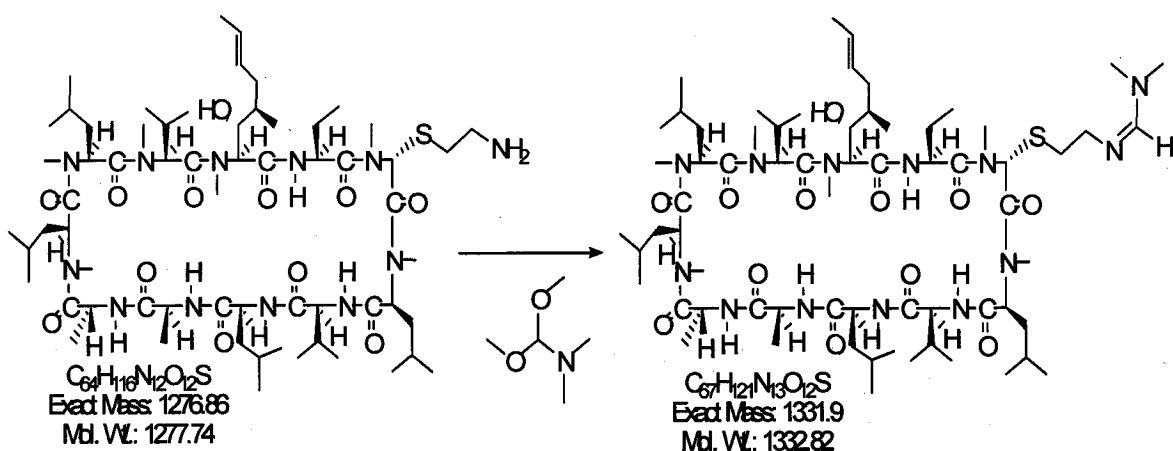
[0076] 向溶于二氯甲烷 ( $0.3\text{mL}$ ) 的二- $t\text{Boc}$  保护的 3-[(2-胍基)-乙硫基]-环孢菌素 A (II) ( $21\text{mg}$ ,  $0.0138\text{mmol}$ ) 溶液加入三氟乙酸 ( $0.3\text{mL}$ ), 然后将所得溶液在室温下搅拌 1 小时。将所得溶液浓缩得到白色固体状的产物 (III) ( $20\text{mg}$ ;  $100\%$ )。

[0077] 通过 MS ( $\text{E}^+$ ) 的分析显示与预期结构一致的质量  $1320.2 (\text{M}+\text{H})$ 。

[0078] 实施例 2

[0079] 3-[(2-N,N-二甲基甲脒基)-1-硫代乙基]-环孢菌素 A (3-[(2-N,N-dimethylformamidinyl)-1-thioethyl]-cyclosporin A) (III)

[0080]



[0081] 将溶于  $20\text{mL}$  THF 的 3-(1-硫代乙基胺) 环孢菌素 A ( $0.64\text{g}$ ,  $0.5\text{mmol}$ ) 和 N,N-二甲基甲酰胺二甲基乙缩醛的混合溶液回流 2 小时。真空除去溶剂后, 用亚甲基/甲醇 ( $10:1$ ) 作为洗脱液在硅胶柱上洗脱剩余物, 得到  $300\text{mg}$  纯产物 (产率:  $45.0\%$ )。

[0082] MS(E+) 显示与预期结构一致的质量 1332.82 (M+H<sup>+</sup>)。

[0083] 其他方法和制备原料及中间产物等的方法对于本领域的化学技术人员来说将会是显而易见的。

[0084] 依照本发明,所述环孢菌素 A 衍生物可以在可药用赋形剂中以任意有效浓度,例如 0.01 至饱和(例如大于 20 重量%),给予患病的眼。可使用在可药用赋形剂中的量为 0.01-50 重量%,优选 0.1-20 重量%的环孢菌素 A 衍生物。所述可药用赋形剂是,例如,动物油、植物油、合适的有机溶剂或水性溶剂、人工泪溶液、天然或合成的聚合物,或者是合适的可包裹环孢菌素 A 衍生物的膜。

[0085] 这些可药用赋形剂的具体实例是橄榄油、花生油、蓖麻油、矿物油、凡士林、二甲基亚砷、chremophor、Miglyol 182(商购于 Dynamit Nobel Kay-Fries Chemical Company, Mont Vale, N. J.)、醇(例如乙醇、正丙醇或异丙醇)、脂质体或脂质体类产品或者硅树脂液(silicone fluid)。优选的赋形剂是二甲基亚砷和橄榄油。可使用至少两种任意合适赋形剂的混合物。

[0086] 可有利地用于实施本发明的人工泪赋形剂的实例是等渗氯化钠、纤维素醚(例如羟丙基甲基纤维素和羟乙基纤维素)、聚乙烯醇和可得到的人工泪溶液。

[0087] 一个可用的聚合物赋形剂的实例是聚氧乙基化蓖麻油。

[0088] 可有利地用于实施本发明的可药用膜的实例是 microdone、人工脂质膜、聚乙烯醇或甲基纤维素。

[0089] 有利地将所述环孢菌素 A 衍生物以含有有效量所述衍生物的眼用滴剂(溶液或悬浮液)或眼用软膏剂进行局部给药。在本发明的实施中使用浓度为 0.01-50 重量%、优选 0.1-20 重量%的环孢菌素 A 衍生物。

[0090] 根据本发明的方法,将至少一种所述环孢菌素 A 衍生物以用于提供所需治疗程度的任意所需量进行局部给药。例如,有利地使用含有有效量所述环孢菌素 A 衍生物(例如 0.01-50 重量%、优选 0.1-20 重量%的环孢菌素 A 衍生物)的 5 微升至 1 毫升溶液、悬浮液或软膏剂。

[0091] 本发明的实施可获得多种优点。本发明方法的用处在于,它可以局部地防止前全身性应答(presystemic response)的激活。将所述环孢菌素 A 衍生物局部给予患者的泪水缺乏眼可增加眼中泪水的产生。因此,这样的治疗还能够用于改善因泪水缺乏和 KCS 而加剧的角膜和结膜病症,例如角膜瘢痕化、角膜溃疡、角膜或结膜炎、丝状角膜炎、角膜脓性粘液排出和角膜血管化。此外,所述环孢菌素 A 衍生物能直接减少免疫应答、肉芽发生和新血管形成。

[0092] 本发明的其他目的,连同有助于所述目的的其他特征以及由此产生的益处从本发明的实施例中显而易见。

[0093] 上述说明详细描述了可用于实施本发明的具体方法和组合物,并代表考虑到的最好模式。因此,无论文中的前述内容看起来多么详尽,都不应将其解释为限制其所有范围;而本发明的范围仅由所附权利要求的法律诠释来确定。具体地,尽管已使用具有上式的具体环孢菌素 A 衍生物描述了本发明的方法,但可用于本发明方法的新的环孢菌素衍生物还包括 3-取代的亚氨基烷硫基环孢菌素 A 衍生物,优选 3-取代的二氨基亚氨基烷硫基环孢菌素 A 衍生物(3-substituted diaminoiminoalkylthio cyclosporine A derivative),

例如 ((R)-(二氨基)亚氨基烷硫基 -Sar)<sup>3</sup>-(4' - 羟基 -MeLeu)<sup>4</sup> 环孢菌素 A、((R)-(烷基)(二烷基氨基)亚氨基烷硫基 -Sar)<sup>3</sup>-(4' - 羟基 -MeLeu)<sup>4</sup>- 环孢菌素 A、((R)-(烷基)(二烷基氨基)亚氨基烷硫基 -Sar)<sup>3</sup>- 环孢菌素 A 衍生物和 ((R)-(二氨基)亚氨基烷硫基 -Sar)<sup>3</sup>- 环孢菌素 A 衍生物。