

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 02804715. X

[51] Int. Cl.

C07J 43/00 (2006.01)

A61K 31/58 (2006.01)

A61P 5/44 (2006.01)

[45] 授权公告日 2006 年 8 月 16 日

[11] 授权公告号 CN 1269836C

[22] 申请日 2002.1.3 [21] 申请号 02804715. X

[30] 优先权

[32] 2001. 1. 9 [33] HR [31] P20010018A

[86] 国际申请 PCT/HR2002/000001 2002. 1. 3

[87] 国际公布 WO2002/055531 英 2002. 7. 18

[85] 进入国家阶段日期 2003. 8. 8

[71] 专利权人 普利瓦研究院有限公司

地址 克罗地亚萨格勒布

[72] 发明人 M·莫斯普 M·梅西克

L·托马斯科维克 M·科麦克

B·赫瓦西克 S·马科维克

审查员 夏凤娟

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

代理人 唐伟杰

权利要求书 30 页 说明书 37 页

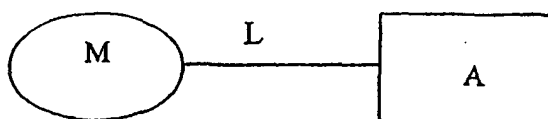
[54] 发明名称

用于改进抗炎治疗的细胞靶向的免疫细胞特
异性大环内酯化合物与抗炎化合物的共轭物

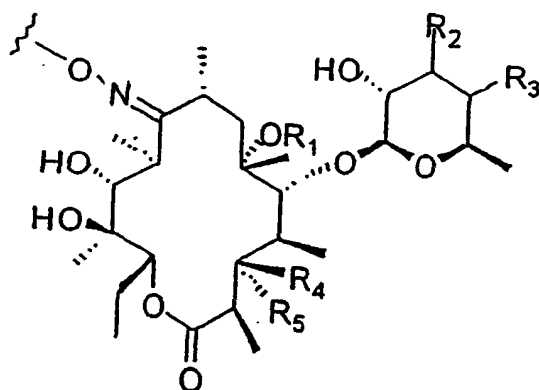
[57] 摘要

本发明涉及结构 I 所示新化合物及其用于治疗
人类和动物的炎症疾病的药物制剂。

1. 结构 I 所示化合物、其盐和溶剂化物



特征在于 M 代表具有在炎症细胞中积累性质的大环内酯亚单元，
A 代表抗炎亚单元，为甾族或非甾族的，L 代表连接 M 和 A 的链，
其中 M 代表下式所示大环内酯亚单元



M1

其中

R_1 为氢或甲基,

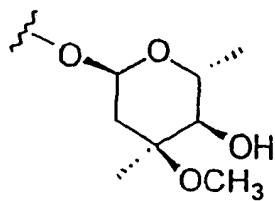
R_2 和 R_3 均为氢或一起形成键, 或者

R_2 为以下亚结构所示氨基

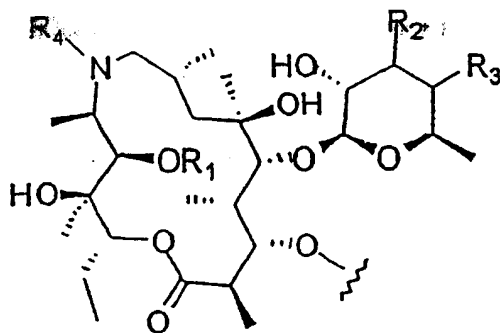


其中 R'和 R''独立地为氢或有 1-6 个碳原子的任何烷基或环烷基, 条件是 R₃ 则为氢,

R_4 为羟基或以下结构所示克拉定糖基



或者, R_4 和 R_5 一起形成羰基, 条件是 R_1 则为甲基;



M2

其中

R_1 为氢或甲基,

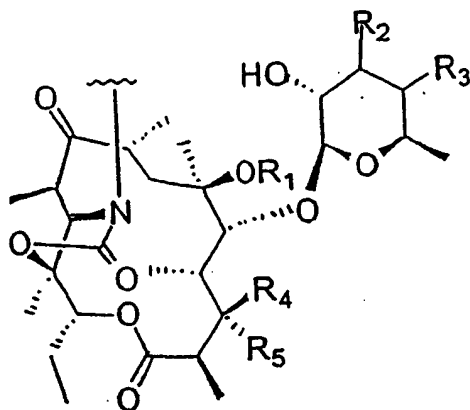
R_2 和 R_3 均为氢或一起形成键, 或者

R_2 为以下亚结构所示氨基



其中 R' 和 R'' 独立地为氢或有 1-6 个碳原子的任何烷基或环烷基, 条件是 R_3 则为氢,

R_4 可为有 1-4 个碳原子的烷基;



M3

其中

R_1 为氢或甲基,

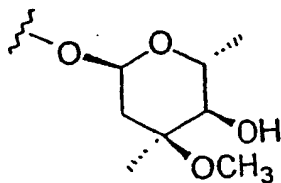
R_2 和 R_3 均为氢或一起形成键, 或者

R_2 为以下亚结构所示氨基

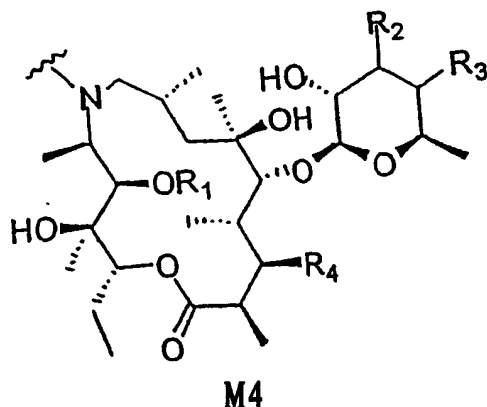


其中 R' 和 R'' 独立地为氢或有 1-6 个碳原子的任何烷基或环烷基, 条件是 R_3 则为氢,

R_4 为羟基或以下结构所示克拉定糖基



或者, R_4 和 R_5 一起形成羧基, 条件是 R_1 则为甲基;



其中

R_1 为氢或甲基,

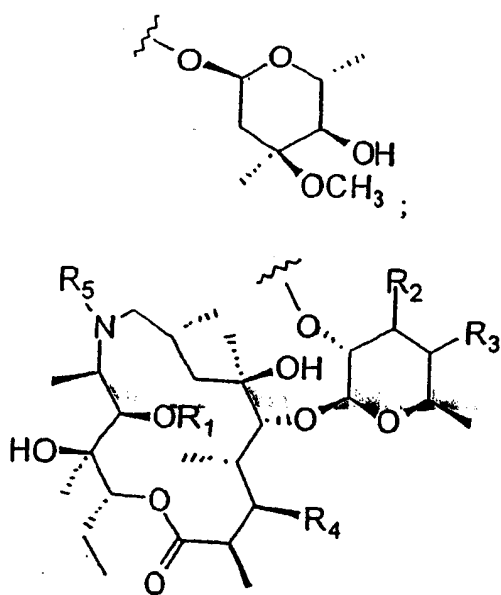
R_2 和 R_3 均为氢或一起形成键, 或者

R_2 为以下亚结构所示氨基



其中 R' 和 R'' 独立地为氢或有 1-6 个碳原子的任何烷基或环烷基, 条件是 R_3 则为氢,

R_4 为羟基或以下结构所示克拉定糖基



M5

其中

R_1 为氢或甲基,

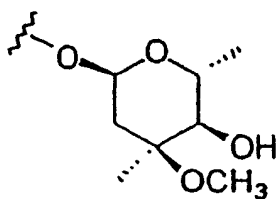
R_2 和 R_3 均为氢或一起形成键, 或者

R_2 为以下亚结构所示氨基

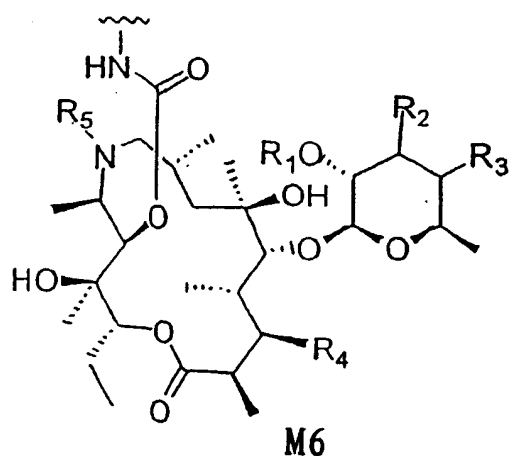


其中 R' 和 R'' 独立地为氢或有 1-6 个碳原子的任何烷基或环烷基, 条件是 R_3 则为氢,

R_4 为羟基或以下结构所示克拉定糖基



R_5 为有 1-4 个碳原子的任何烷基;



其中

R_1 为氢或乙酰基,

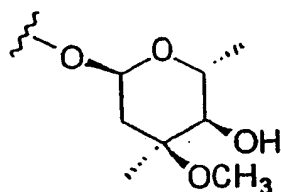
R_2 和 R_3 均为氢或一起形成键, 或者

R_2 为以下亚结构所示氨基



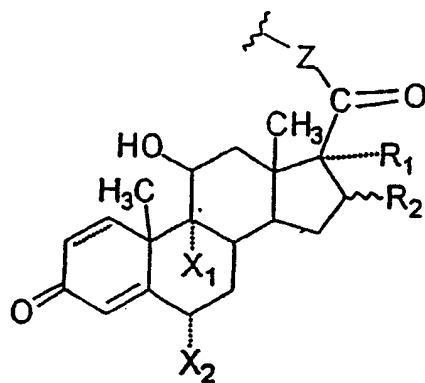
其中 R' 和 R'' 独立地为氢或有 1-6 个碳原子的任何烷基或环烷基, 条件是 R_3 则为氢,

R_4 为羟基或以下结构所示克拉定糖基



R_5 为有 1-4 个碳原子的任何烷基;

A 为下式所示抗炎亚单元:



A1

其中 Z 代表氧或 NH 基, R_1 为氢或羟基或 O-酰基或 O-烷基, 其中, 所述烷基和酰基中的烷基部分为直链或支链的 C_1 - C_4 烷基或 C_5 - C_6 环烷基,

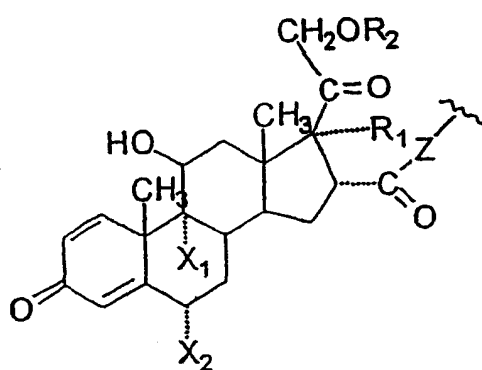
R_2 代表氢或甲基, 定位在 α -或 β -位,

X_1 为氢或卤素,

X_2 为氢或卤素,

其中卤素指氟、氯或溴,

1, 2-位代表双或单碳-碳键;



A2

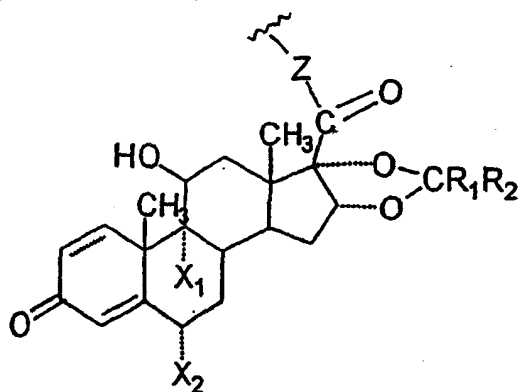
其中 Z 代表氧或 NH 基, R_1 为氢或羟基或 O-酰基或 O-烷基, 其中所述的烷基和酰基的定义同上,

R_2 代表氢或酰基,

X_1 为氢或卤素,

X_2 为氢或卤素,

其中卤素指氟、氯或溴;



A3

或其立体异构形式，其中所述 1,2-位代表饱和或不饱和双键，其中 Z 代表氧或 NH 基，

R_1 为氢、有 1-4 个碳原子的直链或支链烃链，

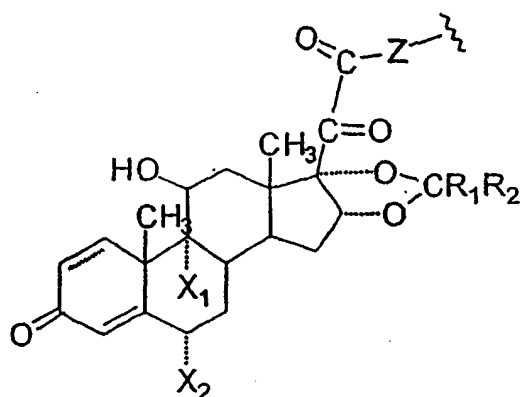
R_2 为氢、有 1-10 个碳原子的直链或支链烃链，

条件是 R_1 和 R_2 不同时为氢，

X_1 为氢或卤素，

X_2 为氢或卤素，

其中卤素指氟、氯或溴；



A4

或其立体异构形式，其中所述 1,2-位代表饱和或不饱和双键，其中 Z 为氧或 NH 基，

R_1 为氢、有 1-4 个碳原子的直链或支链烃链，

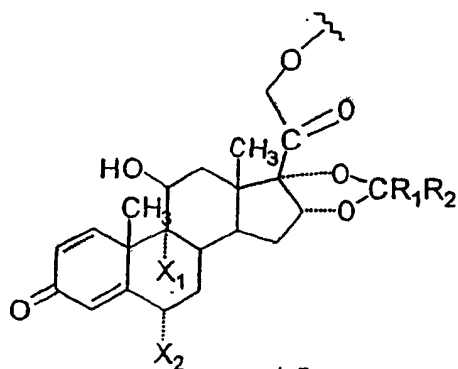
R_2 为氢、有 1-10 个碳原子的直链或支链烃链，

条件是 R_1 和 R_2 不同时为氢，

X_1 为氢或卤素，

X_2 为氢或卤素，

其中卤素指氟、氯或溴；



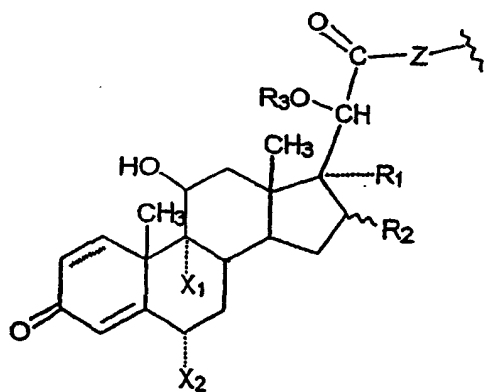
A5

或其立体异构形式，其中所述 1, 2-位代表饱和或不饱和双键，
 R_1 为氢、有 1-4 个碳原子的直链或支链烃链，
 R_2 为氢、有 1-10 个碳原子的直链或支链烃链，
 条件是 R_1 和 R_2 不同时为氢，

X_1 为氢或卤素，

X_2 为氢或卤素，

其中卤素指氟、氯或溴；



A6

其中 Z 为氧或 NH 基， R_1 为氢或有自由氢的羟基或羟基或 O-酰基或 O-烷基，其中所述的烷基和酰基的定义同上，

R_2 为氢或甲基，定位在 α -或 β -位，

R_3 为氢或有 1-4 个碳原子的酸基，

X_1 为氢或卤素，

X_2 为氢或卤素，

其中卤素指氟、氯或溴，

1, 2-位代表双或单碳-碳键；

并且 L 为具有下式的链： $-\text{CR}_1\text{R}_2(\text{CR}_3\text{R}_4)_n\text{CR}_5\text{R}_6-$,

其中 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 为氢、 C_1 - C_4 -烷基、芳基、甲氧基、卤素、羟基或巯基，其中 n 为 1-10，并且，

一或多个 $-\text{CR}_3\text{R}_4-$ 基任选被另外带有氢或 C_1 - C_4 烷基或芳基的氧、硫、芳基或氨基取代，

或者 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 也可一起形成链中的一或多个双或三键，从而形成链烯基或炔基，条件是至少一个亚甲基位于 L 连接基的端部；

所述的“芳基”指含有至少 6 个碳原子的至少一个环或共有 10 个碳原子的两个环，其中的环任选被一或两个取代基取代，所述取代基为卤素、羟基、 C_1 - C_7 烷基、 C_1 - C_7 烷氧基或芳氧基、 C_1 - C_7 烷硫基或芳硫基、烷基磺酰基、氰基或氨基。

2. 权利要求 1 的化合物，其中的 L 为具有下式的链：



其中 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 为氢、 C_1 - C_4 -烷基、芳基、甲氧基、卤素、羟基或巯基，其中 n 为 1-10，并且一或多个 $-\text{CR}_3\text{R}_4-$ 基任选被另外带有氢或 C_1 - C_4 烷基或芳基的氧、硫、芳基或氨基取代，条件是至少一个亚甲基位于 L 连接基的端部，

其中的芳基如权利要求 1 所定义。

3. 权利要求 1 的化合物，特征在于结构 I 的大环内酯亚单元 M 由通用结构 M1 表示，

其中

R_1 为甲基，

R_2 为二甲氨基，

条件是 R_3 则为氢，

R_4 为克拉定糖，

或者， R_4 和 R_5 一起形成羰基，

结构 I 的甾族亚单元由结构 A1 至 A4 和 A6 之一表示,

其中 A1 如权利要求 1 和 2 中所定义,

其中 Z 代表氧或 NH 基,

R₁ 为羟基, 任选含有自由氢或者另外被有 1-4 个碳原子的烷基 R'
烷基化,

R₂ 为氢或甲基,

X₁ 为氢或氟,

X₂ 为氢,

其中 A2 如权利要求 1 和 2 中所定义,

其中 Z 代表氧或 NH 基,

R₁ 为氢,

R₂ 为氢,

X₁ 为氟,

X₂ 为氢,

其中 A3 如权利要求 1 和 2 中所定义,

其中 Z 代表氧或 NH 基,

1, 2-位是不饱和的,

R₁ 和 R₂ 为甲基,

X₁ 为氟,

X₂ 为氟,

其中 A4 如权利要求 1 和 2 中所定义,

其中 Z 代表氧或 NH 基,

1, 2-位是不饱和的,

R₁ 和 R₂ 为甲基,

X₁ 为氟,

X₂ 为氟,

其中 A6 如权利要求 1 和 2 中所定义，

其中 Z 代表氧或 NH 基，

1, 2-位是碳-碳双键，

R₁ 为羟基，

R₂ 为在 α -或 β -位的氢或甲基，

R₃ 为氢，

X₁ 为氢、氟或氯，

X₂ 为氢或氟，

其中链 L 如权利要求 2 中所定义，

其中 R₁ 至 R₄ 为氢，n 为 1-10。

4. 权利要求 1 的化合物，特征在于结构 I 的大环内酯亚单元 M 由通用结构 M2 表示，

其中

R₁ 为氢，

R₂ 为二甲氨基，

条件是 R₃ 则为氢，

R₄ 为甲基，

结构 I 的甾族亚单元由结构 A1 至 A4 和 A6 之一表示，

其中 A1 如权利要求 1 和 2 中所定义，

其中 Z 代表氧或 NH 基，

R₁ 为羟基，可有自由氢或者还被有 1-4 个碳原子的烷基 R' 烷基化，

R₂ 为氢或甲基，

X₁ 为氢或氟，

X₂ 为氢，

其中 A2 如权利要求 1 和 2 中所定义,

其中 Z 代表氧或 NH 基,

R₁ 为氢,

R₂ 为氢,

X₁ 为氟,

X₂ 为氢,

其中 A3 如权利要求 1 和 2 中所定义,

其中 Z 代表氧或 NH 基,

1, 2-位是不饱和的,

R₁ 和 R₂ 为甲基,

X₁ 为氟,

X₂ 为氟,

其中 A4 如权利要求 1 和 2 中所定义,

其中 Z 代表氧或 NH 基,

1, 2-位是不饱和的,

R₁ 和 R₂ 为甲基,

X₁ 为氟,

X₂ 为氟,

其中 A6 如权利要求 1 和 2 中所定义,

其中 Z 代表氧或 NH 基,

1, 2-位是碳-碳双键,

R₁ 为羟基,

R₂ 为在 α -或 β -位的氢或甲基,

R₃ 为氢,

X₁ 为氢、氟或氯,

X₂ 为氢或氟,

其中链 L 如权利要求 2 中所定义，
其中 R_1 至 R_4 为氢， n 为 1-10。

5. 权利要求 1 的化合物，特征在于结构 I 的大环内酯亚单元 M 由通用结构 M3 表示，

其中

R_1 为氢，

R_2 为二甲氨基，

条件是 R_3 则为氢，

R_4 和 R_5 可一起形成羰基，

结构 I 的甾族亚单元由结构 A1 至 A4 和 A6 之一表示，

其中 A1 如权利要求 1 和 2 中所定义，

其中 Z 代表氧或 NH 基，

R_1 为羟基，可有自由氢或者还被有 1-4 个碳原子的烷基 R' 烷基化，

R_2 为氢或甲基，

X_1 为氢或氟，

X_2 为氢，

其中 A2 如权利要求 1 和 2 中所定义，

其中 Z 代表氧或 NH 基，

R_1 为氢，

R_2 为氢，

X_1 为氟，

X_2 为氢，

其中 A3 如权利要求 1 和 2 中所定义，

其中 Z 代表氧或 NH 基，

1, 2-位是不饱和的,

R_1 和 R_2 为甲基,

X_1 为氟,

X_2 为氟,

其中 A4 如权利要求 1 和 2 中所定义,

其中 Z 代表氧或 NH 基,

1, 2-位是不饱和的,

R_1 和 R_2 为甲基,

X_1 为氟,

X_2 为氟,

其中 A6 如权利要求 1 和 2 中所定义,

其中 Z 代表氧或 NH 基,

1, 2-位是碳-碳双键,

R_1 为羟基,

R_2 为在 α -或 β -位的氢或甲基,

R_3 为氢,

X_1 为氢、氟或氯,

X_2 为氢或氟,

其中链 L 如权利要求 2 中所定义,

其中 R_1 至 R_4 为氢, n 为 1-10.

6. 权利要求 1 的化合物, 特征在于结构 I 的大环内酯亚单元 M 由通用结构 M4 表示,

其中

R_1 为氢,

R_2 为二甲氨基,

条件是 R_3 则为氢，
 R_4 为克拉定糖或羟基，
结构 I 的甾族亚单元由结构 A1 至 A4 和 A6 之一表示，
其中 A1 如权利要求 1 和 2 中所定义，
其中 Z 代表氧或 NH 基，
 R_1 为羟基，可有自由氢或者还被有 1-4 个碳原子的烷基 R' 烷基化，

R_2 为氢或甲基，
 X_1 为氢或氟，
 X_2 为氢，

其中 A2 如权利要求 1 和 2 中所定义，
其中 Z 代表氧或 NH 基，
 R_1 为氢，
 R_2 为氢，
 X_1 为氟，
 X_2 为氢，

其中 A3 如权利要求 1 和 2 中所定义，
其中 Z 代表氧或 NH 基，
1, 2-位是不饱和的，
 R_1 和 R_2 为甲基，
 X_1 为氟，
 X_2 为氟，

其中 A4 如权利要求 1 和 2 中所定义，
其中 Z 代表氧或 NH 基，
1, 2-位是不饱和的，
 R_1 和 R_2 为甲基，

X_1 为氟,

X_2 为氟,

其中 A6 如权利要求 1 和 2 中所定义,

其中 Z 代表氧或 NH 基,

1, 2-位是碳-碳双键,

R_1 为羟基,

R_2 为在 α -或 β -位的氢或甲基,

R_3 为氢,

X_1 为氢、氟或氯,

X_2 为氢或氟,

其中链 L 如权利要求 2 中所定义,

其中 R_1 至 R_4 为氢, n 为 2-10.

7. 权利要求 1 的化合物, 特征在于结构 I 的大环内酯亚单元 M 由通用结构 M5 表示,

其中

R_1 为氢,

R_2 为二甲氨基,

条件是 R_3 则为氢,

R_4 为克拉定糖或羟基,

R_5 为甲基,

结构 I 的甾族亚单元由结构 A1 至 A4 和 A6 之一表示,

其中 A1 如权利要求 1 和 2 中所定义,

其中 Z 代表氧或 NH 基,

R_1 为羟基, 可有自由氢或者还被有 1-4 个碳原子的烷基 R' 烷基化,

R_2 为氢或甲基,

X_1 为氢或氟,

X_2 为氢,

其中 A2 如权利要求 1 和 2 中所定义,

其中 Z 代表氧或 NH 基,

R_1 为氢,

R_2 为氢,

X_1 为氟,

X_2 为氢,

其中 A3 如权利要求 1 和 2 中所定义,

其中 Z 代表氧或 NH 基,

1, 2-位是不饱和的,

R_1 和 R_2 为甲基,

X_1 为氟,

X_2 为氟,

其中 A4 如权利要求 1 和 2 中所定义,

其中 Z 代表氧或 NH 基,

1, 2-位是不饱和的,

R_1 和 R_2 为甲基,

X_1 为氟,

X_2 为氟,

其中 A6 如权利要求 1 和 2 中所定义,

其中 Z 代表氧或 NH 基,

1, 2-位是碳-碳双键,

R_1 为羟基,

R_2 为在 α -或 β -位的氢或甲基,

R_3 为氢,

X_1 为氢、氟或氯,

X_2 为氢或氟,

其中链 L 如权利要求 2 中所定义,

其中 R_1 至 R_4 为氢, n 为 2-10。

8. 权利要求 1 的化合物, 特征在于结构 I 的大环内酯亚单元 M 由通用结构 M6 表示,

其中

R_1 为氢,

R_2 为二甲氨基,

条件是 R_3 则为氢,

R_4 为克拉定糖或羟基,

R_5 为甲基,

结构 I 的甾族亚单元由结构 A1 至 A4 和 A6 之一表示,

其中 A1 如权利要求 1 和 2 中所定义,

其中 Z 代表氧或 NH 基,

R_1 为羟基, 可有自由氢或者还被有 1-4 个碳原子的烷基 R' 烷基化,

R_2 为氢或甲基,

X_1 为氢或氟,

X_2 为氢,

其中 A2 如权利要求 1 和 2 中所定义,

其中 Z 代表氧或 NH 基,

R_1 为氢,

R_2 为氢,

X_1 为氟,

X_2 为氢,

其中 A3 如权利要求 1 和 2 中所定义,

其中 Z 代表氧或 NH 基,

1, 2-位是不饱和的,

R_1 和 R_2 为甲基,

X_1 为氟,

X_2 为氟,

其中 A4 如权利要求 1 和 2 中所定义,

其中 Z 代表氧或 NH 基,

1, 2-位是不饱和的,

R_1 和 R_2 为甲基,

X_1 为氟,

X_2 为氟,

其中 A6 如权利要求 1 和 2 中所定义,

其中 Z 代表氧或 NH 基,

1, 2-位是碳-碳双键,

R_1 为羟基,

R_2 为在 α -或 β -位的氢或甲基,

R_3 为氢,

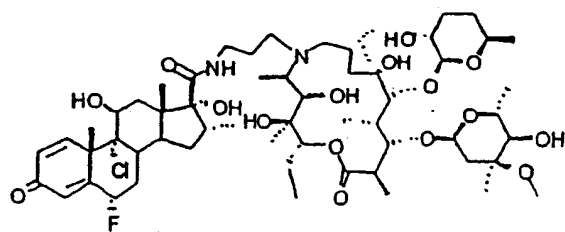
X_1 为氢、氟或氯,

X_2 为氢或氟,

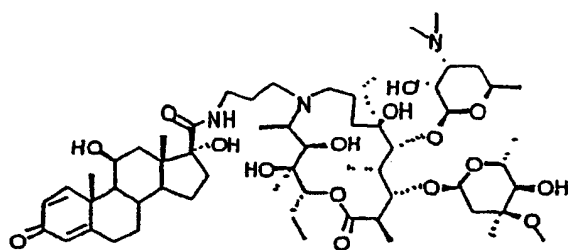
其中链 L 如权利要求 2 中所定义,

其中 R_1 至 R_n 为氢, n 为 2-10.

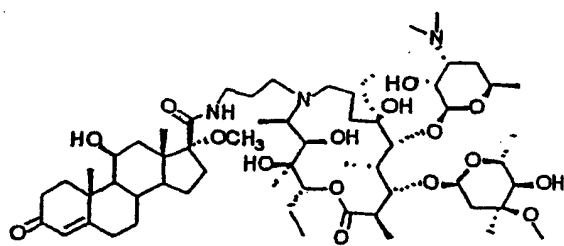
9. 权利要求 1 或 2 的化合物, 其具有下式



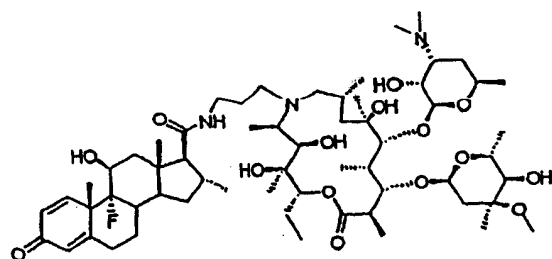
10. 权利要求 1 或 2 的化合物，其具有下式



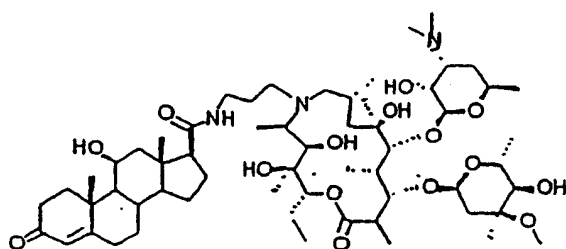
11. 权利要求 1 或 2 的化合物，其具有下式



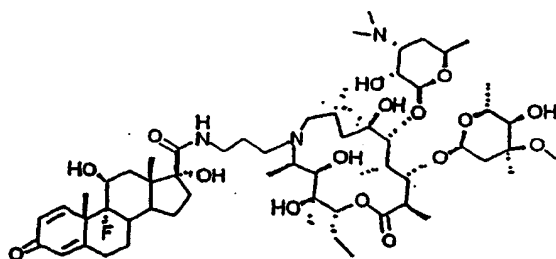
12. 权利要求 1 或 2 的化合物，其具有下式



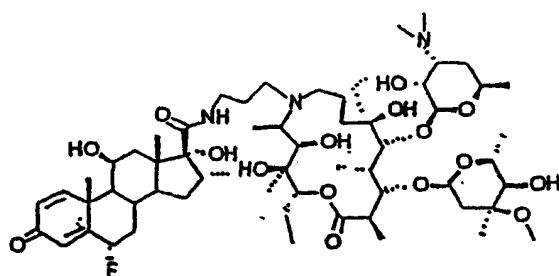
13. 权利要求 1 或 2 的化合物，其具有下式



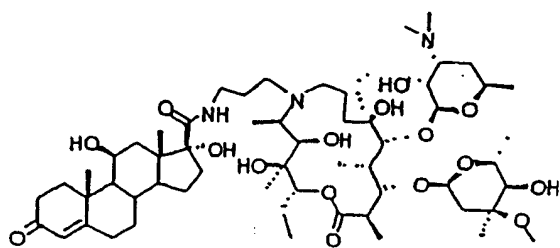
14. 权利要求 1 或 2 的化合物，其具有下式



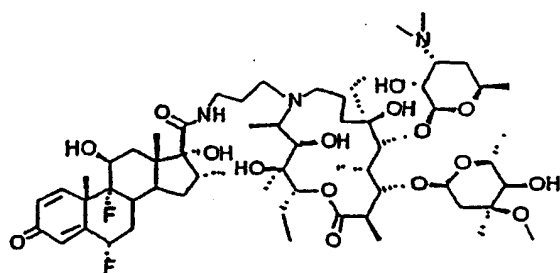
15. 权利要求 1 或 2 的化合物，其具有下式



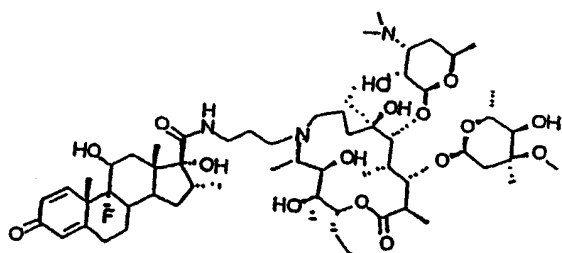
16. 权利要求 1 或 2 的化合物，其具有下式



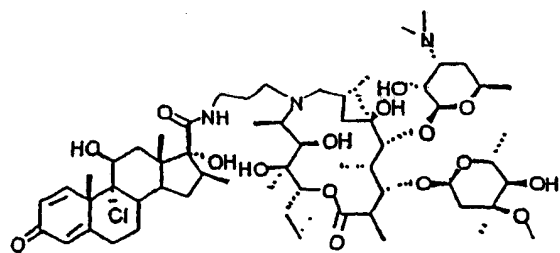
17. 权利要求 1 或 2 的化合物，其具有下式



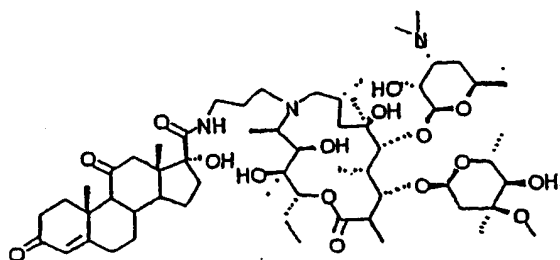
18. 权利要求 1 或 2 的化合物，其具有下式



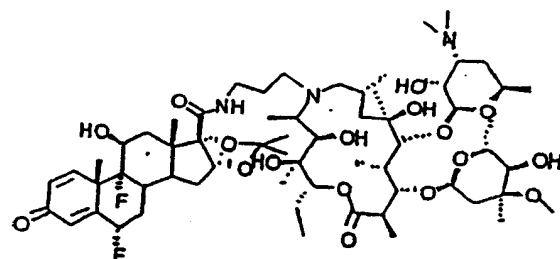
19. 权利要求 1 或 2 的化合物，其具有下式



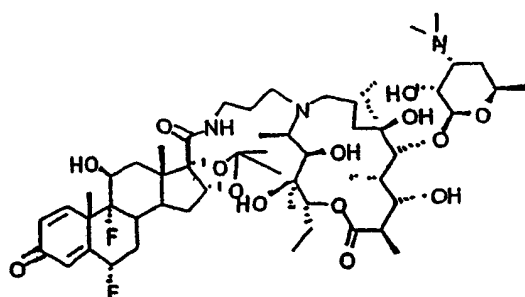
20. 权利要求 1 或 2 的化合物，其具有下式



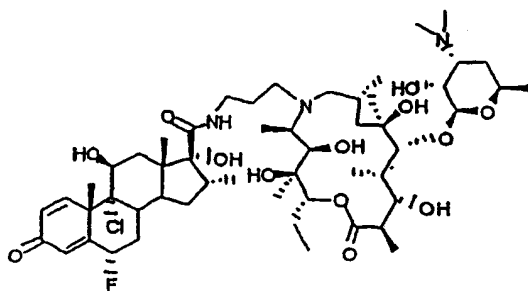
21. 权利要求 1 或 2 的化合物，其具有下式



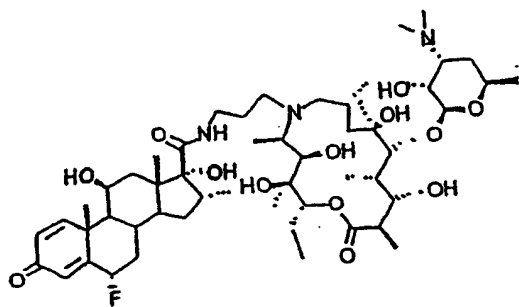
22. 权利要求 1 或 2 的化合物，其具有下式



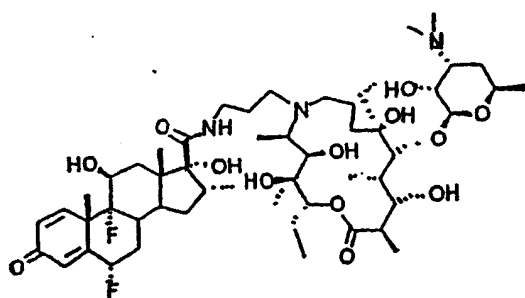
23. 权利要求 1 或 2 的化合物，其具有下式



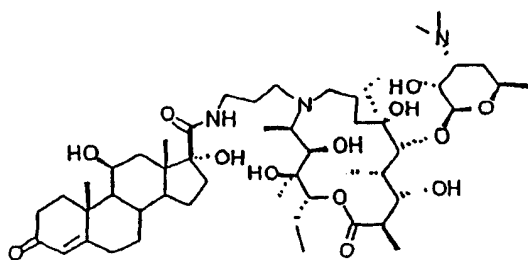
24. 权利要求 1 或 2 的化合物，其具有下式



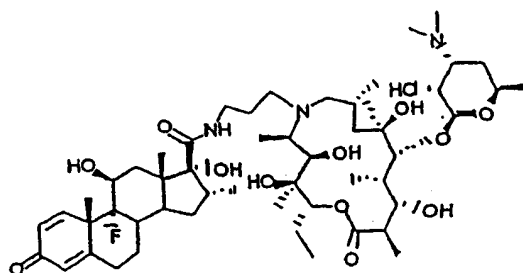
25. 权利要求 1 或 2 的化合物，其具有下式



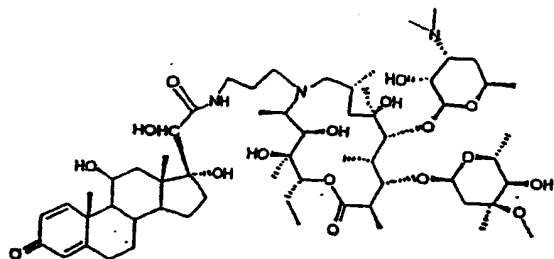
26. 权利要求 1 或 2 的化合物，其具有下式



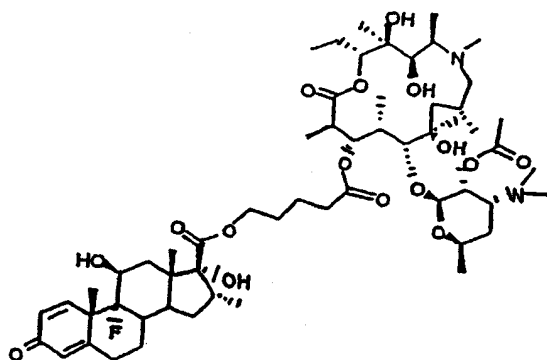
27. 权利要求 1 或 2 的化合物，其具有下式



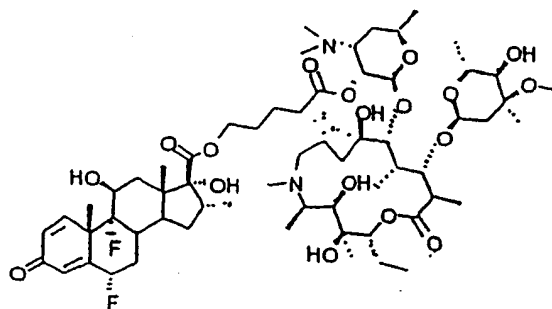
28. 权利要求 1 或 2 的化合物，其具有下式



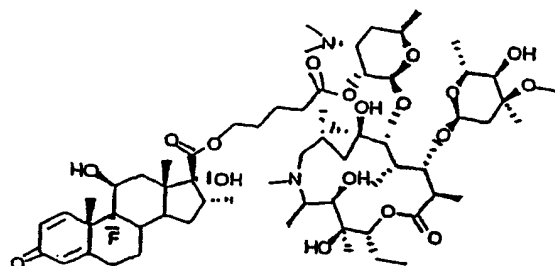
29. 权利要求 1 或 2 的化合物，其具有下式



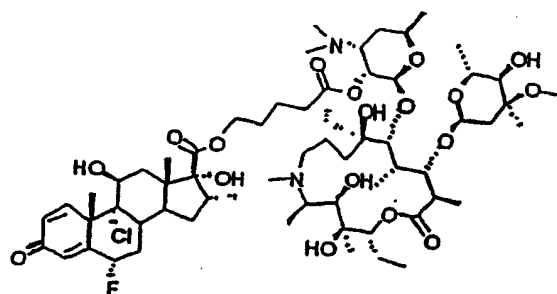
30. 权利要求 1 或 2 的化合物, 其具有下式



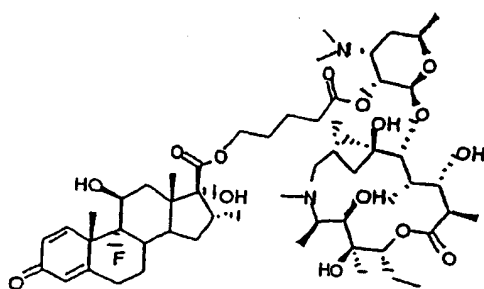
31. 权利要求 1 或 2 的化合物, 其具有下式



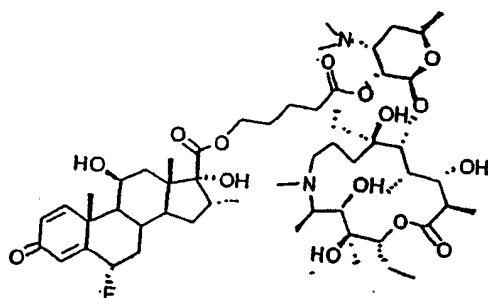
32. 权利要求 1 或 2 的化合物, 其具有下式



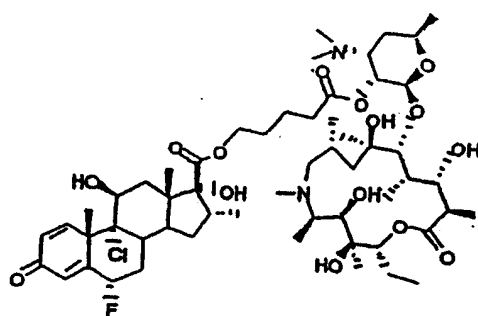
33. 权利要求 1 或 2 的化合物, 其具有下式



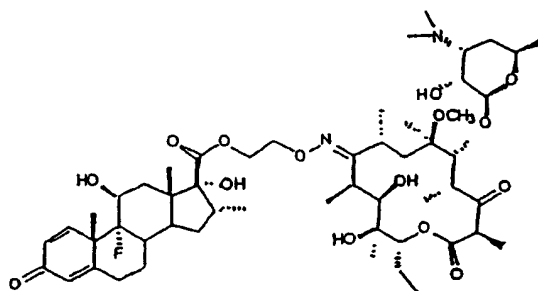
34. 权利要求 1 或 2 的化合物，其具有下式



35. 权利要求 1 或 2 的化合物，其具有下式



36. 权利要求 1 或 2 的化合物，其具有下式



37. 权利要求 1 的化合物, 其中的 R_4 为甲基。

38. 权利要求 1 的化合物, 其中的 R_5 为甲基。

39. 权利要求 1 的化合物, 其中的卤素为氟。

40. 权利要求 3-8 任一项的化合物, 其中的烷基 R' 为甲基。

41. 权利要求 3-8 任一项的化合物, 其中的 R_2 为在 α -位的氢或甲基。

42. 通用结构 I 所示化合物的制备方法, 其中所有符号和基团都有如权利要求 1 和 2 中所定义的意义, 特征在于所述化合物由其中所有基团和符号都有针对结构 A1 至 A4 和 A6 所定义的意义结构 A1 至 A4 和 A6 所示相应甾族部分和结构 M11 所示大环内酯中间体通过结构 L 所示相应链的连接制备, 其中为从式 A1 至 A4 和 A6 所示甾族亚单元的羧酸形成酰胺键, 利用在无水二氯甲烷中在碱存在下在室温惰性气体流下用碳二亚胺和苯并三唑 (HOBt) 活化。

43. 通用结构 I 所示化合物的制备方法, 其中所有符号和基团都有如权利要求 1 和 2 中所定义的意义, 特征在于所述化合物由其中所有基团和符号都有针对结构 A1 至 A4 和 A6 所定义的意义结构 A1 至 A4 和 A6 所示相应甾族部分和结构 M7 所示大环内酯中间体通过结构 L 所示相应链的连接制备, 其中为从式 A1 至 A4 和 A6 所示甾族亚单元的羧酸形成酯键, 利用在无水二甲基甲酰胺中在惰性气流中与 K_2CO_3 反应。

44. 通用结构 I 所示化合物的制备方法, 其中所有符号和基团都有如权利要求 1 和 2 中所定义的意义, 特征在于所述化合物由其中所有基团和符号都有针对结构 A1 至 A4 和 A6 所定义的意义结构 A1 至 A4 和 A6 所示相应甾族部分和结构 M9 所示大环内酯中间体通过结构 L 所示相应链的连接制备, 其中为从式 A1 至 A4 和 A6 所示甾族亚单元的羧酸形成酯键, 利用在无水二甲基甲酰胺中在惰性气流中与 K_2CO_3 反应。

45. 通用结构 I 所示化合物的制备方法, 其中所有符号和基团都有如权利要求 1 和 2 中所定义的意义, 特征在于所述化合物由其中所有基团和符号都有针对结构 A1 至 A4 和 A6 所定义的意义结构 A1 至 A4 和 A6 所示相应甾族部分和结构 M10 所示大环内酯中间体通过结构 L 所示相应链的连接制备, 其中为从式 A1 至 A4 和 A6 所示甾族亚单元的羧酸形成酯键, 利用在无水二甲基甲酰胺中在惰性气流中与 K_2CO_3 反应。

46. 通用结构 I 所示化合物的制备方法, 其中所有符号和基团都有如权利要求 1 和 2 中所定义的意义, 特征在于所述化合物由其中所有基团和符号都有针对结构 A1 至 A4 和 A6 所定义的意义结构 A1 至 A4 和 A6 所示相应甾族部分制备, 所述合成通过甾族中间体 A8 与结构 M12 所示大环内酯中间体在乙腈中于 20 至 60℃ 的温度下在惰性气

体流中混合进行。

47. 通用结构 I 所示化合物的制备方法，其中所有符号和基团都有如权利要求 1 和 2 中所定义的意义，特征在于所述化合物由其中所有基团和符号都有针对结构 A1 至 A4 和 A6 所定义的意义结构 A1 至 A4 和 A6 所示相应甾族部分制备，所述酯化合成用甾族中间体 A9 和带有自由反应性羟基的大环内酯并使它们与作为活化剂的新戊酰氯在室温下在碱存在下在惰性气体流中混合进行。

48. 权利要求 42 或 47 的方法，其中的碱为三乙胺。

49. 权利要求 1 的化合物用于制备人用或兽用药物的用途。

50. 权利要求 1 的化合物用于制备治疗炎症病症和疾病的药物的用途。

51. 权利要求 50 的用途，所述的病症和疾病为哮喘、过敏性鼻炎、鼻息肉、肠道疾病如克罗恩氏病、结肠炎、溃疡性结肠炎、皮炎如湿疹、牛皮癣、过敏性皮炎、神经性皮炎、瘙痒症、结膜炎和风湿性关节炎。

52. 权利要求 1 的化合物用于制备治疗和预防因细胞因子和炎症介导物的过度非调节性产生所诱导的炎症病症和疾病的药物的用途。

53. 权利要求 49 至 52 之任一项的用途，所述的药物是用于口服、直肠、肠道外、经皮和吸入法的药物。

用于改进抗炎治疗的细胞靶向的免疫细胞特异性大环内酯化合物与抗炎化合物的共轭物

技术问题

本发明涉及通用结构 I 所示新的抗炎化合物、其盐和溶剂化物、其制备方法以及这些化合物在治疗人类和动物的炎症疾病和病症中的应用。

现有技术

抗炎药物分为甾族和非甾族的。甾族抗炎化合物仍是治疗炎症疾病和病症如哮喘、慢性阻塞性肺病、炎症鼻病如过敏性鼻炎、鼻息肉、肠道疾病如克罗恩氏病、结肠炎、溃疡性结肠炎、皮炎如湿疹、牛皮癣、过敏性皮炎、神经性皮炎、瘙痒症、结膜炎和风湿性关节炎中最有效的。除优异的效力和疗效之外，此类药物对例如对碳水化合物代谢、钙吸收、内生皮质甾族化合物的分泌以及对脑垂体、肾上腺皮质和胸腺的生理机能也有许多不利的影响。迄今开发的甾族化合物对炎症病症和过程很有效，因为它们抑制许多炎症介导体而其全身不利效应减小。专利申请 W094/13690、W094/14834、W092/13873 和 W092/13872 公开了设计用于在发炎部位局部施用的所谓“软”甾族化合物或可水解的皮质甾族化合物，而因“软”甾族化合物在血清中的不稳定性使其全身不利效应减小，所述活性甾族化合物在血清中极快地水解成非活性形式。但还需寻找在如控制哮喘或克罗恩氏病等疾病所需的长期连续治疗中没有不利效应的理想的甾族化合物，一直在深入地寻找和开发具有改善的治疗性能的甾族化合物。

不同机理的非甾族抗炎药物对特殊的炎症介导体起作用，从而提供治疗作用。由于作用机理不同和对特殊炎症介导物的抑制作用不同，甾族和非甾族药物有不同的抗炎效果特征，因而在特定的病情中可择一或择优地使用。不幸的是非甾族抗炎药物不是绝对特异性的，

而且以较大浓度或长期使用显示出不利效应。已知许多非甾族抗炎药物作为内生 COX-1 酶的抑制剂, 该酶在保持胃粘膜的完整性方面极为重要。因此, 使用这些药物导致许多患者胃粘膜损伤和出血。对于某些抗炎药物(茶碱)而言, 已知其治疗指数极窄, 限制了它们的使用。

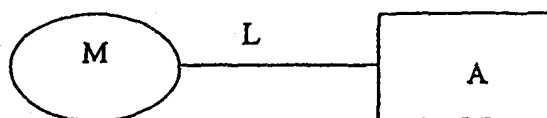
大环内酯抗生素在不同机体细胞内、尤其是吞噬细胞如单核外周血细胞、腹膜和肺泡巨噬细胞内以及围绕支气管肺泡上皮的液体中积累 (Glaude R.P. et al, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 33 1989, 277-282; Olsen K. M. et al, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 40 1996, 2582-2585)。此外, 该文献中还描述了某些大环内酯的较弱抗炎作用。因此, 近来已描述了红霉素衍生物 (*J. Antimicrob. Chemother.*, 41, 1998, 37-46; WO 00/42055) 和阿齐霉素衍生物 (EP 0283055) 的抗炎作用。从实验动物的体外和体内研究如小鼠中 zimosane 诱导的腹膜炎 (*J. Antimicrob. Chemother.* 30, 1992, 339-348) 和小鼠气管中内毒素诱导的中性白细胞的聚集 (*J. Immunol.* 159, 1997, 3395-4005) 也知道了某些大环内酯的抗炎作用。大环内酯对细胞因子如白细胞间介素 8 (IL-8) (*Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* 156, 1997, 266-271) 或白细胞间介素 5 (IL-5) (EP0775489 和 EP0771564) 的调节作用也是已知的。

技术方案

结构 I 的化合物在其作用机理方面不同于迄今已知的化合物, 特征在于选择性在上述炎症病症和疾病的靶器官和细胞中积累。结构 I 所示新化合物的此作用因所述特异性药物动力学性质由大环内酯部分 M 而产生。此药物动力学性质使结构 I 所示化合物能通过抑制炎症介导物的产生而仅在炎症细胞本身内专门在发炎部位起作用。以此方式避免皮质甾族和非甾族抗炎化合物的不利的全身效应。局部施用后, 所述分子迅速积聚在炎症细胞内, 在其中通过抑制细胞因子和趋化因子 (chemokines) 以及其它炎症介导物的产生从而抑制炎症。根据已知和确定的现有技术, 迄今尚未描述作为本发明目的的结构 I 所示化合

物、其药理上可接受的盐及包含其的药物制剂。此外，作为本发明目的的化合物均未描述作为抗炎物质或发炎组织中嗜酸粒细胞积累的抑制剂。

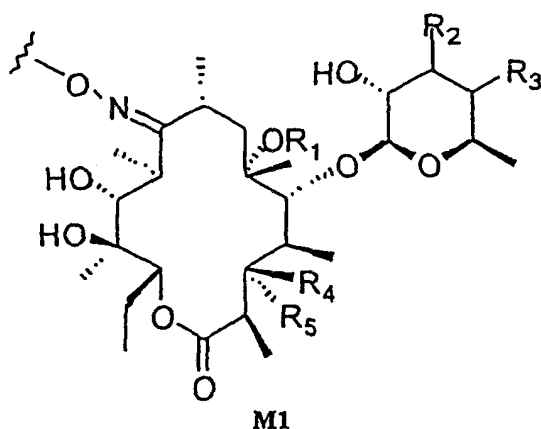
本发明的目的是结构 I 所示新化合物、其盐和溶剂化物



其中 M 代表具有在炎症细胞中积累的性质的性质的大环内酯亚单元, A 代表抗炎亚单元, 其可以是甾族或非甾族的, L 代表连接 M 和 A 的链,

以及这些化合物在治疗炎症疾病和病症中改进的疗效。

更具体地，本发明涉及结构 I 所示化合物、其盐和溶剂化物，其中 M 代表下式所示大环内酯亚单元



其中

R_1 为氢或甲基,

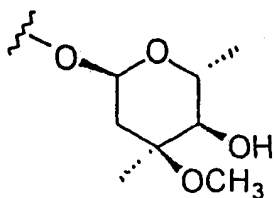
R_2 和 R_3 均为氢或一起形成键, 或者

R₂为以下亚结构所示氨基

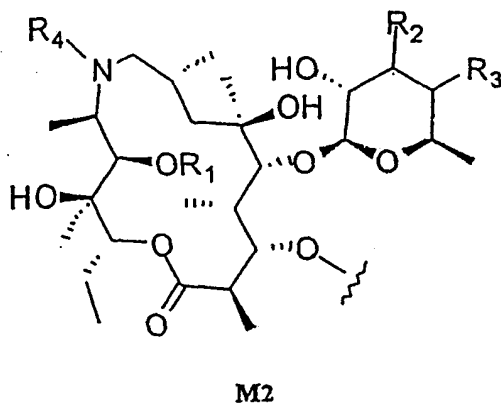


其中 R' 和 R'' 可独立地为氢或有 1-6 个碳原子的任何烷基或环烷基, 条件是 R_3 则为氢,

R_4 为羟基或以下结构所示克拉定糖基



R_4 和 R_5 也可一起形成羰基, 条件是 R_1 则为甲基;



其中

R_1 为氢或甲基,

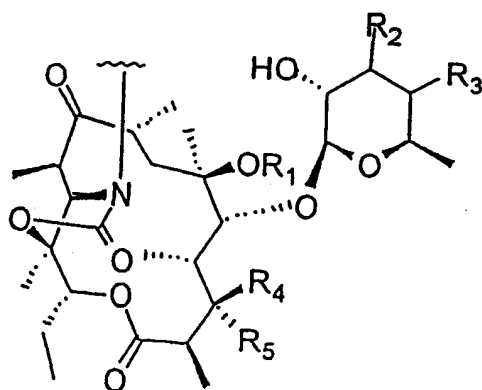
R_2 和 R_3 均为氢或一起形成键, 或者

R_2 为以下亚结构所示氨基



其中 R' 和 R'' 可独立地为氢或有 1-6 个碳原子的任何烷基或环烷基, 条件是 R_3 则为氢,

R_4 可为有 1-4 个碳原子的烷基, 优选甲基;



M3

其中

R_1 为氢或甲基,

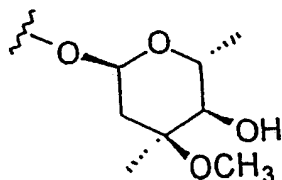
R_2 和 R_3 均为氢或一起形成键, 或者

R_2 为以下亚结构所示的氨基

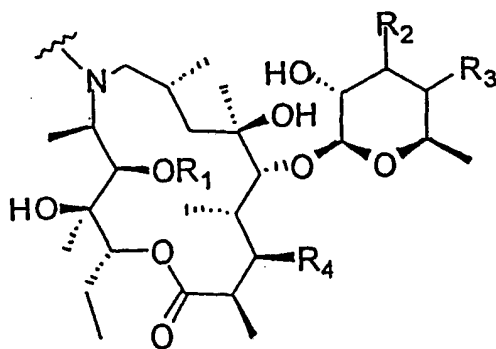


其中 R' 和 R'' 可独立地为氢或有 1-6 个碳原子的任何烷基或环烷基, 条件是 R_3 则为氢,

R_4 为羟基或以下结构所示克拉定糖基



R_4 和 R_5 也可一起形成羰基, 条件是 R_1 则为甲基;



M4

其中

R_1 为氢或甲基,

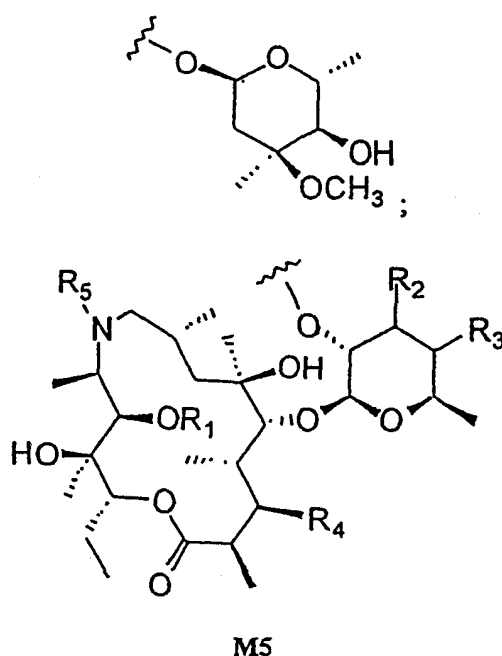
R_2 和 R_3 均为氢或一起形成键, 或者

R_2 为以下亚结构所示的氨基



其中 R' 和 R'' 可独立地为氢或有 1-6 个碳原子的任何烷基或环烷基, 条件是 R_3 则为氢,

R_4 为羟基或以下结构所示克拉定糖基



其中

R_1 为氢或甲基,

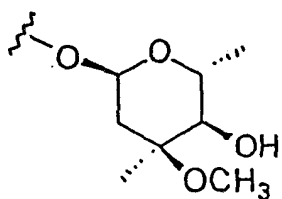
R_2 和 R_3 均为氢或一起形成键, 或者

R_2 为以下亚结构所示氨基

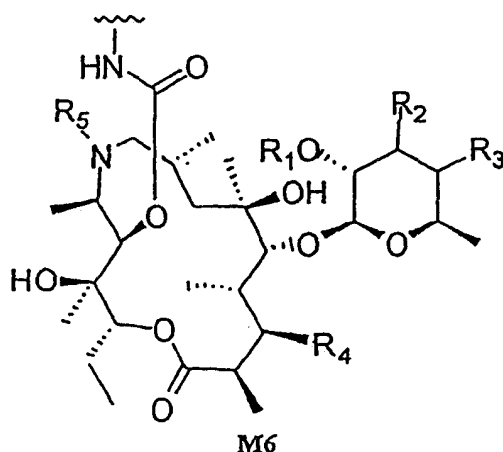


其中 R' 和 R'' 可独立地为氢或有 1-6 个碳原子的任何烷基或环烷基, 条件是 R_3 则为氢,

R_4 为羟基或以下结构所示克拉定糖基



R_5 可为有 1-4 个碳原子的任何烷基, 优选甲基;



其中

R_1 为氢或乙酰基,

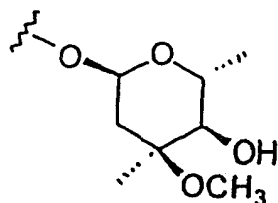
R_2 和 R_3 均为氢或一起形成键, 或者

R_2 为以下亚结构所示氨基



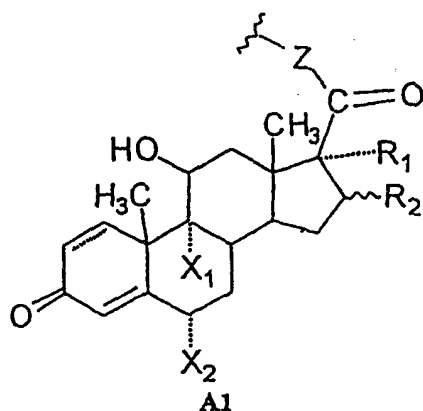
其中 R' 和 R'' 可独立地为氢或有 1-6 个碳原子的任何烷基或环烷基, 条件是 R_3 则为氢,

R_4 为羟基或以下结构所示克拉定糖基



R_5 可为有 1-4 个碳原子的任何烷基, 优选甲基,

A 为下式所示抗炎亚单元:



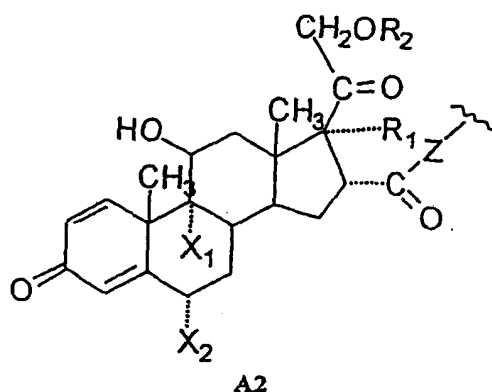
其中 Z 代表氧或 NH 基, R_1 为氢或羟基或 O-酰基或 O-烷基,
 R_2 代表氢或甲基, 可定位在 α -或 β -位,

X_1 为氢或卤素,

X_2 为氢或卤素,

其中卤素指氟、氯或溴,

1, 2-位可代表双或单碳-碳键;

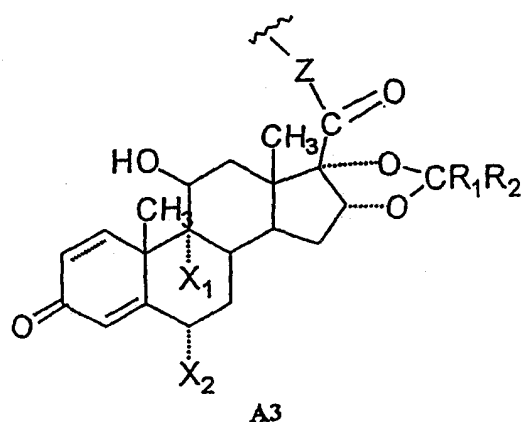


其中 Z 代表氧或 NH 基, R_1 为氢或羟基或 O-酰基或 O-烷基,
 R_2 代表氢或酰基,

X_1 为氢或卤素,

X_2 为氢或卤素,

其中卤素指氟、氯或溴；



或其立体异构形式，其中所述 1,2-位代表饱和或不饱和双键，其中 Z 代表氧或 NH 基，

R_1 为氢、有 1-4 个碳原子的直链或支链烃链，

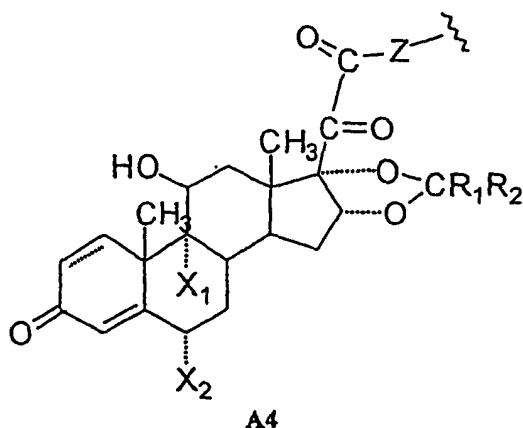
R_2 为氢、有 1-10 个碳原子的直链或支链烃链，

条件是 R_1 和 R_2 不同时为氢，

X_1 为氢或卤素，

X_2 为氢或卤素，

其中卤素指氟、氯或溴；



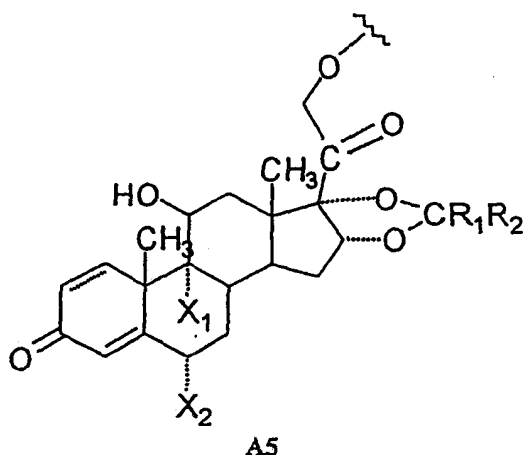
或其立体异构形式，其中所述 1,2-位代表饱和或不饱和双键，其中 Z 为氧或 NH 基，

R_1 为氢、有 1-4 个碳原子的直链或支链烃链,
 R_2 为氢、有 1-10 个碳原子的直链或支链烃链,
 条件是 R_1 和 R_2 不同时为氢,

X_1 为氢或卤素,

X_2 为氢或卤素,

其中卤素指氟、氯或溴;

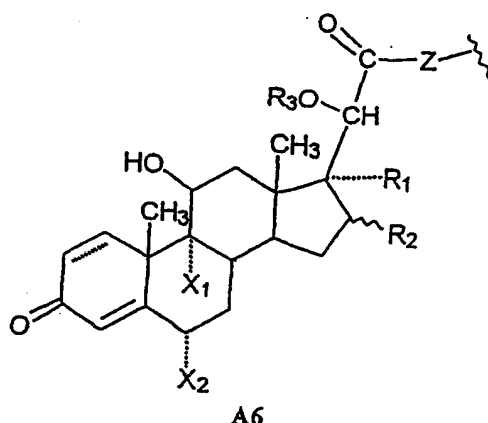


或其立体异构形式, 其中所述 1, 2-位代表饱和或不饱和双键,
 R_1 为氢、有 1-4 个碳原子的直链或支链烃链,
 R_2 为氢、有 1-10 个碳原子的直链或支链烃链,
 条件是 R_1 和 R_2 不同时为氢,

X_1 为氢或卤素,

X_2 为氢或卤素,

其中卤素指氟、氯或溴, 优选氟;



其中 Z 为氧或 NH 基, R_1 为氢或有自由氢的羟基或羟基或 O-酰基或 O-烷基,

R_2 为氢或甲基, 可定位在 α -或 β -位,

R_3 为氢或有 1-4 个碳原子的酸基,

X_1 为氢或卤素,

X_2 为氢或卤素,

其中卤素指氟、氯或溴, 优选氟,

1, 2-位可代表双或单碳-碳键,

并且 L 为下式的链: $-\text{CR}_1\text{R}_2(\text{CR}_3\text{R}_4)_n\text{CR}_5\text{R}_6-$,

其中 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 可为氢、 C_1 - C_4 -烷基、芳基、甲氧基、卤素、羟基或巯基, 其中 n 为 1-10, 和

一或多个 $-\text{CR}_3\text{R}_4-$ 基可被另外带有氢或 C_1 - C_4 烷基或芳基的氧、硫、芳环或氨基取代,

或者 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 也可一起形成链中的一或多个双或三键, 从而形成链烯基或链炔基, 条件是至少一个亚甲基位于 L 连接基的端部。

所述链通过官能团如酰胺、尿酸酯 (ureates)、氨基甲酸酯、

醚、酯或通过烷基-烷基或碳-碳键共价地连接亚单元 M 和 A。

如果没有其它规定，本发明中所用术语如下定义。

“烷基”指由其衍生出基团的一价烷烃(烃)，其可以是直链、支链、环状或直链和环状烃和支链和环状烃的组合。优选的直链或支链烷基包括甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、仲丁基和叔丁基。优选的环烷基包括环戊基和环己基。烷基还代表包括或被环烷基部分间断的直链或支链烷基。

“烯基”指包含至少一个碳-碳双键的烃基，为直链、支链、环状或直链和环状烃和支链和环状烃的组合。主要指乙烯基、丙烯基、丁烯基和环己烯基。如前面针对“烷基”所述，烯基也可以是直链、支链或环状的，其中所述烯基的一部分可包括双键，讨论取代烯基时也可被取代。烯基还代表包括或被环烯基部分间断的直链或支链烯基。

“炔基”指包括至少一个和至多三个碳-碳三键的直链或支链的烃基。主要指乙炔基、丙炔基和丁炔基。

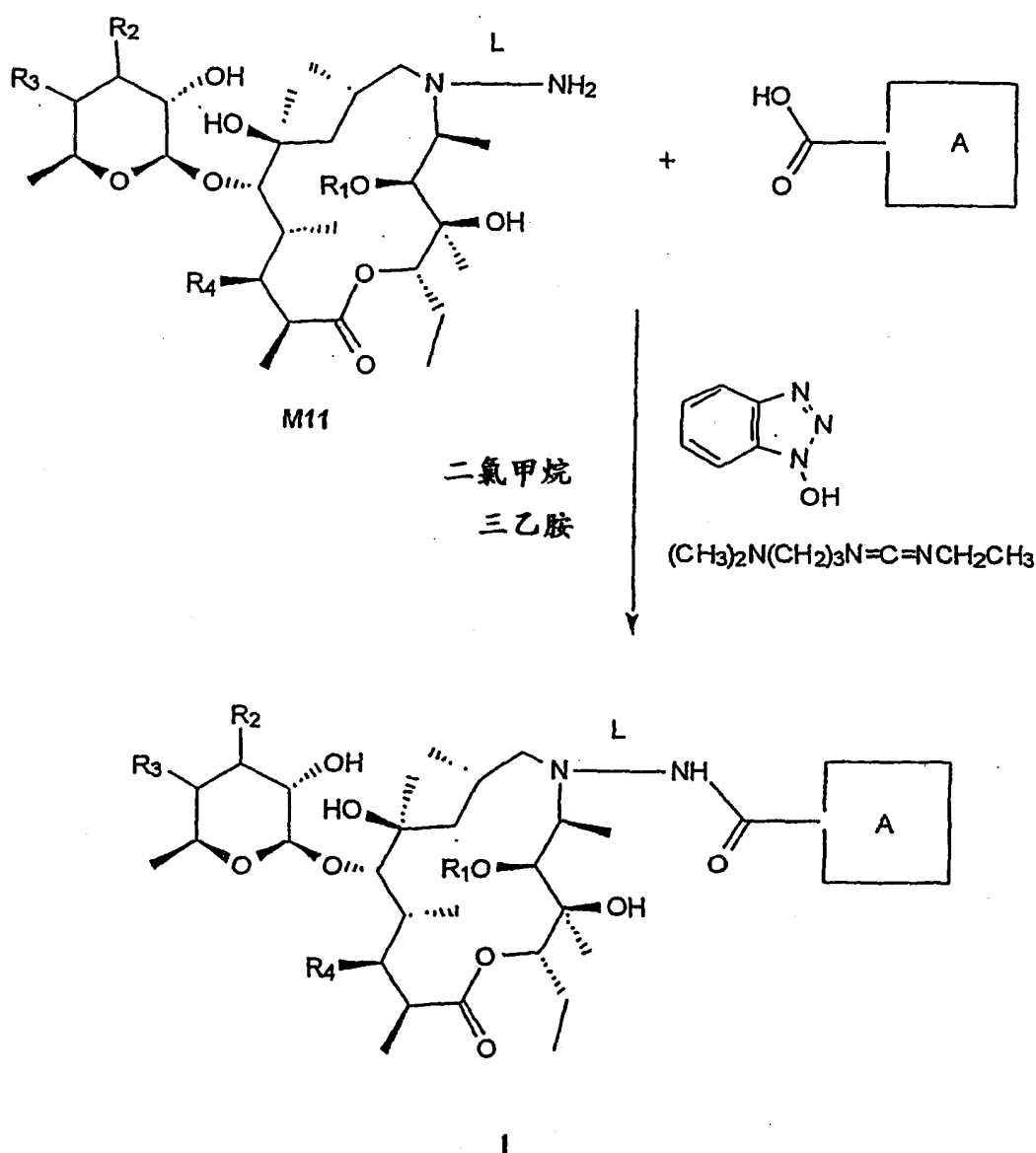
“芳基”指芳环如苯基、取代苯基或类似基团以及稠环如萘基等。芳基包括碳原子之间有交替的双键(共振)的含有至少 6 个碳原子的至少一个环或共有 10 个碳原子的两个环(主要为苯基和萘基环)。芳基还可被一或两个取代基取代，所述取代基可以是卤素(氟、氯或溴)和羟基、C₁-C₇ 烷基、C₁-C₇ 烷氧基或芳氧基、C₁-C₇ 烷硫基或芳硫基、烷基磺酰基、氰基或氨基。

本发明另一目的涉及结构 I 所示化合物的制备方法。

这些化合物可由通用结构 A1 至 A6 所示相应的甾族部分(其中所有基团和符号都有针对亚结构 A1 至 A6 所定义的意义)和通用结构 M1 至 M6 所示大环内酯中间体通过适当的 L 官能基团使它们连接而制备。以类似方式也可用非甾族抗炎亚单元通过它们适于键合的自由官能团制备结构 I 所示化合物。

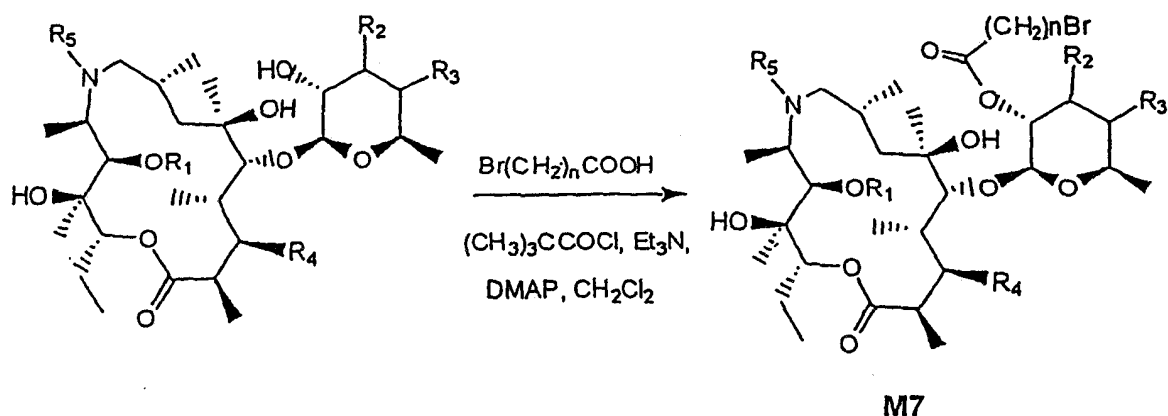
由结构 A1 至 A4 和 A6 所示甾族亚单元的羧酸，其如文献中所述制备(Suzuki, T. et al, Chem. Soc., Perkin Trans. 1 1998, 3831-3836)、(McLean, H. M. et al, J. Pharm. Sci. 1994, 83,

476-480)、(Little, R. J. et al, Pharm. Res. 1999, 16, 961-967)、(Kertesz D. J. et al, J. Org. Chem. 1986, 51, 2315-2328)、(Bodor N. S. US4,710 495, 1987), 可制备通式 I 的化合物, 其中利用在无水二氯甲烷中在碱如三乙胺存在下在室温下氨气流中用碳二亚胺(carboxydiimide)和苯并三唑(HOBT)活化形成酰胺键(方案 1)。



方案 1

大环内酯亚单元与甾族亚单元的连接通过酯键发生时, 所述合成通过大环内酯中间体 M7 进行。

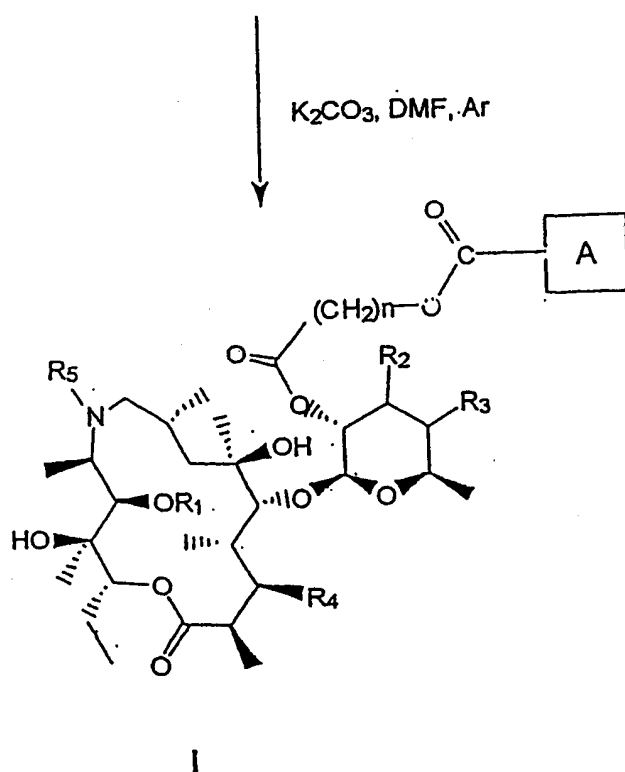
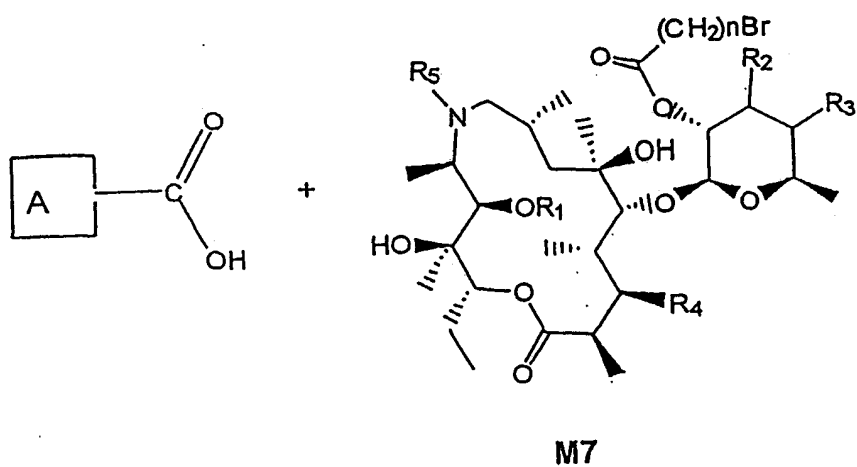


方案 2

所述大环内酯 2'位的酯化可通过在无水二氯甲烷中在新戊酰氯、三乙胺和二甲氨基吡啶(DMAP)存在下与卤素取代的酸反应完成, 从而形成中间体 M7 用于与亚单元 A 的羧酸连接(方案 2)。

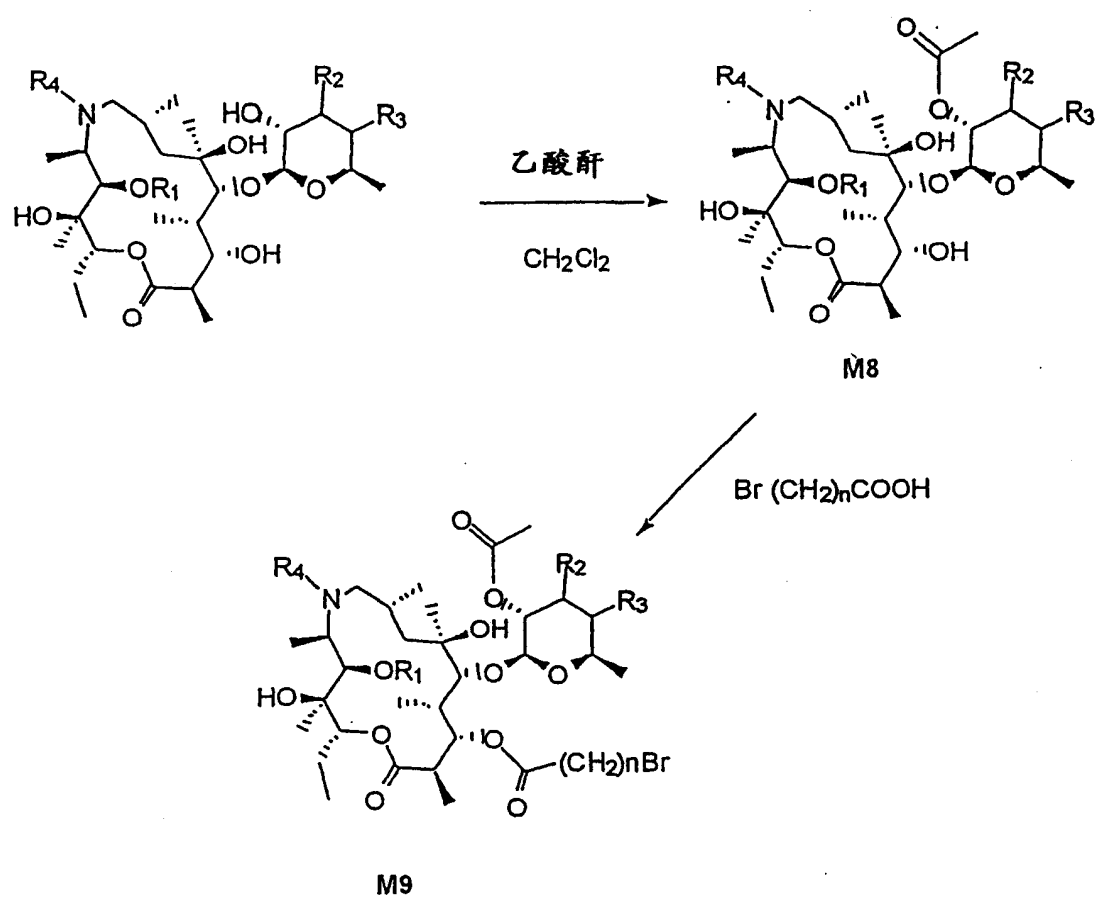
在如结构 A1 至 A4 和 A6 所示甾族亚单元的情况下, 该中间体可进一步与亚单元 A 的羧基官能团反应。

该反应在无水 DMF 中在碱如碳酸钾(K_2CO_3)存在下在氩气流中进行, 产生所述酸的钾盐, 在其与大环内酯中间体的反应中得到本发明化合物 I(方案 3)。

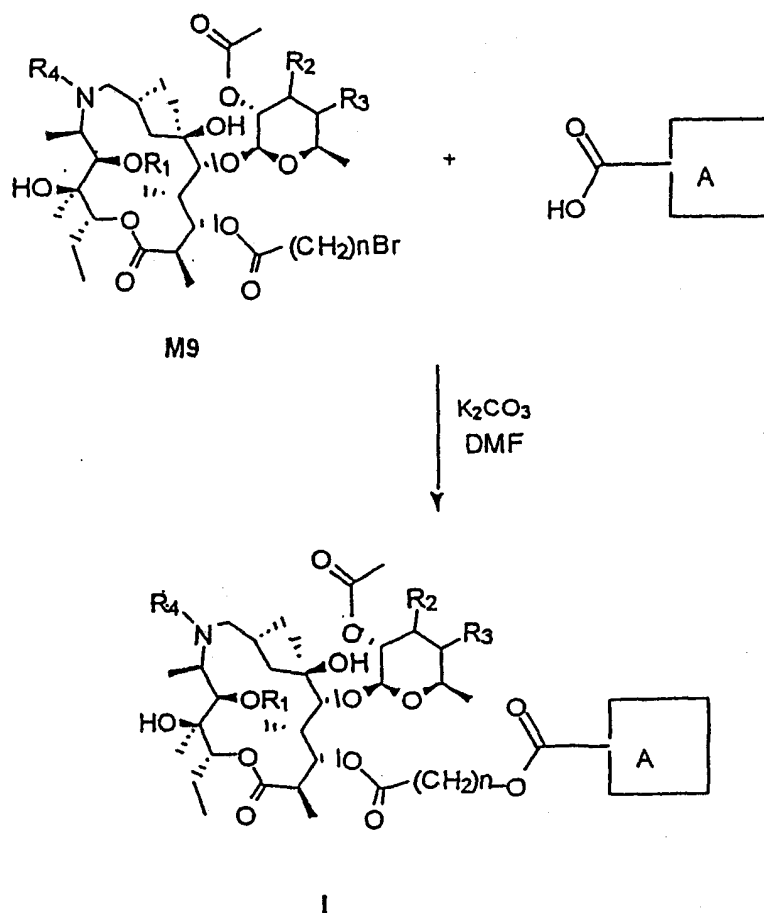


方案 3

所述大环内酯亚单元指 M2 (3 位不含克拉定糖的大环内酯) 时, 也可通过酯键与抗炎亚单元 A 偶联, 此时需制备中间体 M8 和 M9 (方案 4)。

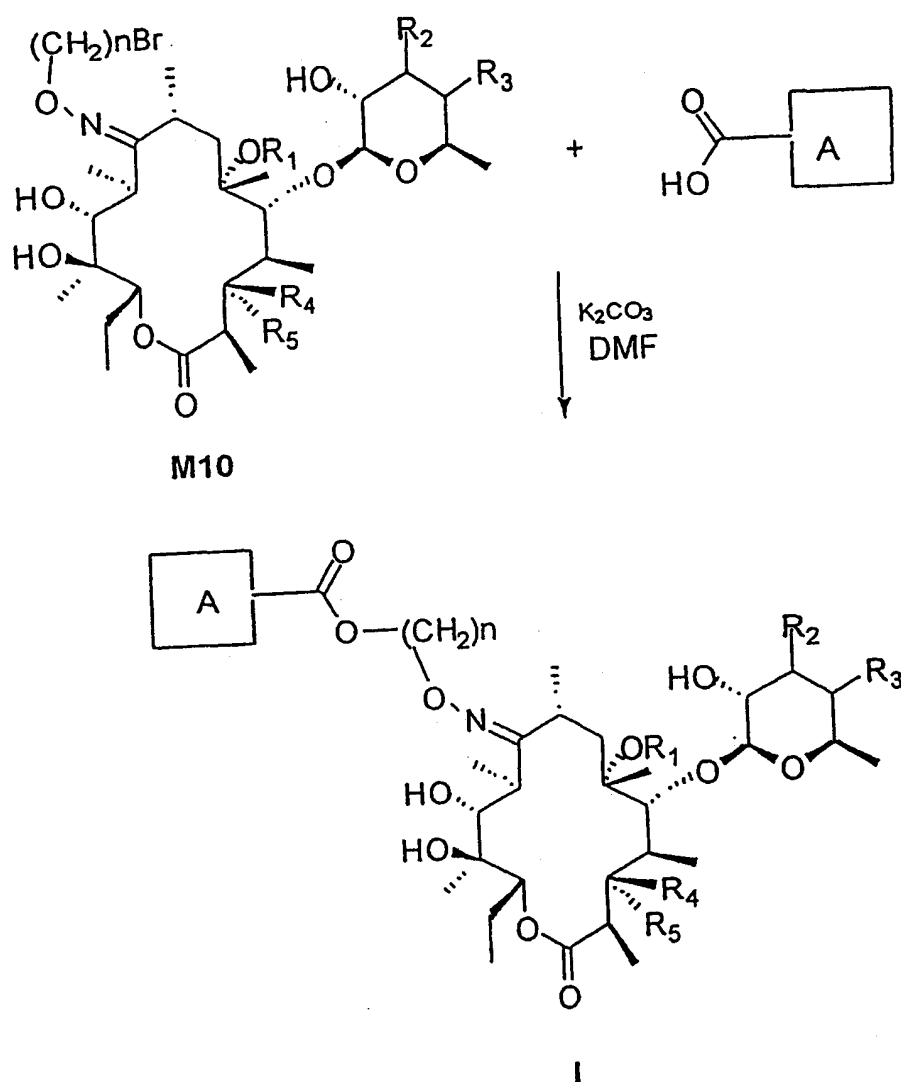
**方案 4**

与亚单元 A 的羧基的酯化作用因大环内酯 M9(也是反应性的)的被保护的 2'羟基而选择性地发生。



方案 5

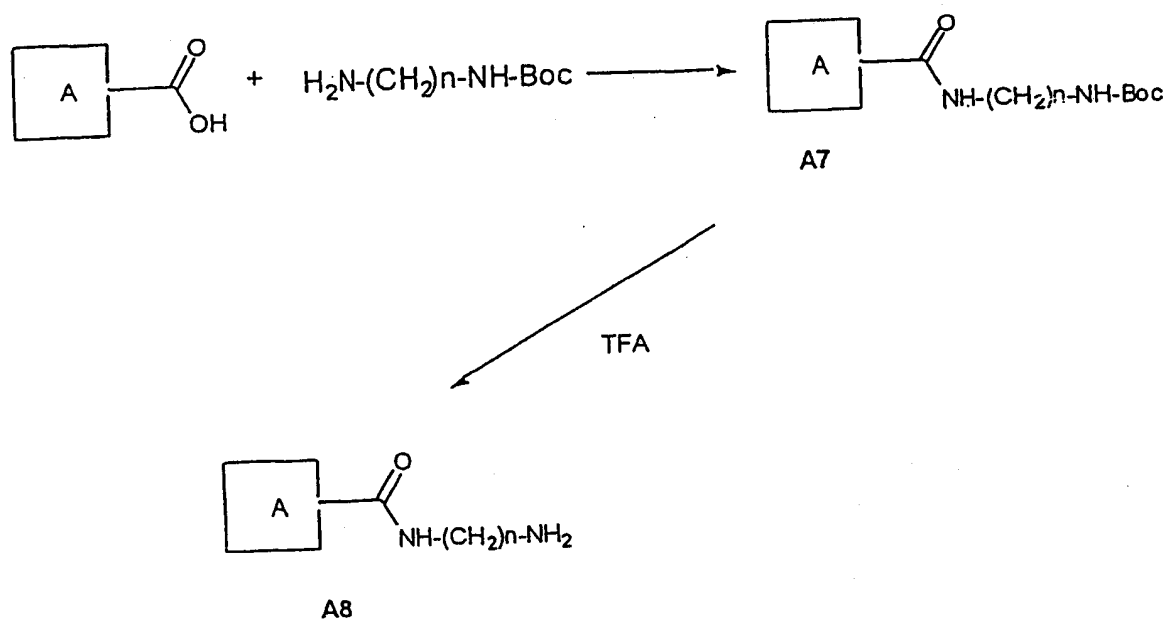
来自 M1 所示大环内酯亚单元的结构 I 的化合物的合成由中间体进行, 所述中间体的合成描述在 Agouridas C., J. Med. Chem. 1998, 41, 4080-4100 中, 以其中所述方式并用其中所述试剂合成。由所述中间体 M10, 利用碳酸钾在无水 DMF 中于室温下与带有羧基官能团的抗炎亚单元 A 反应合成结构 I 的化合物(方案 6)。



方案 6

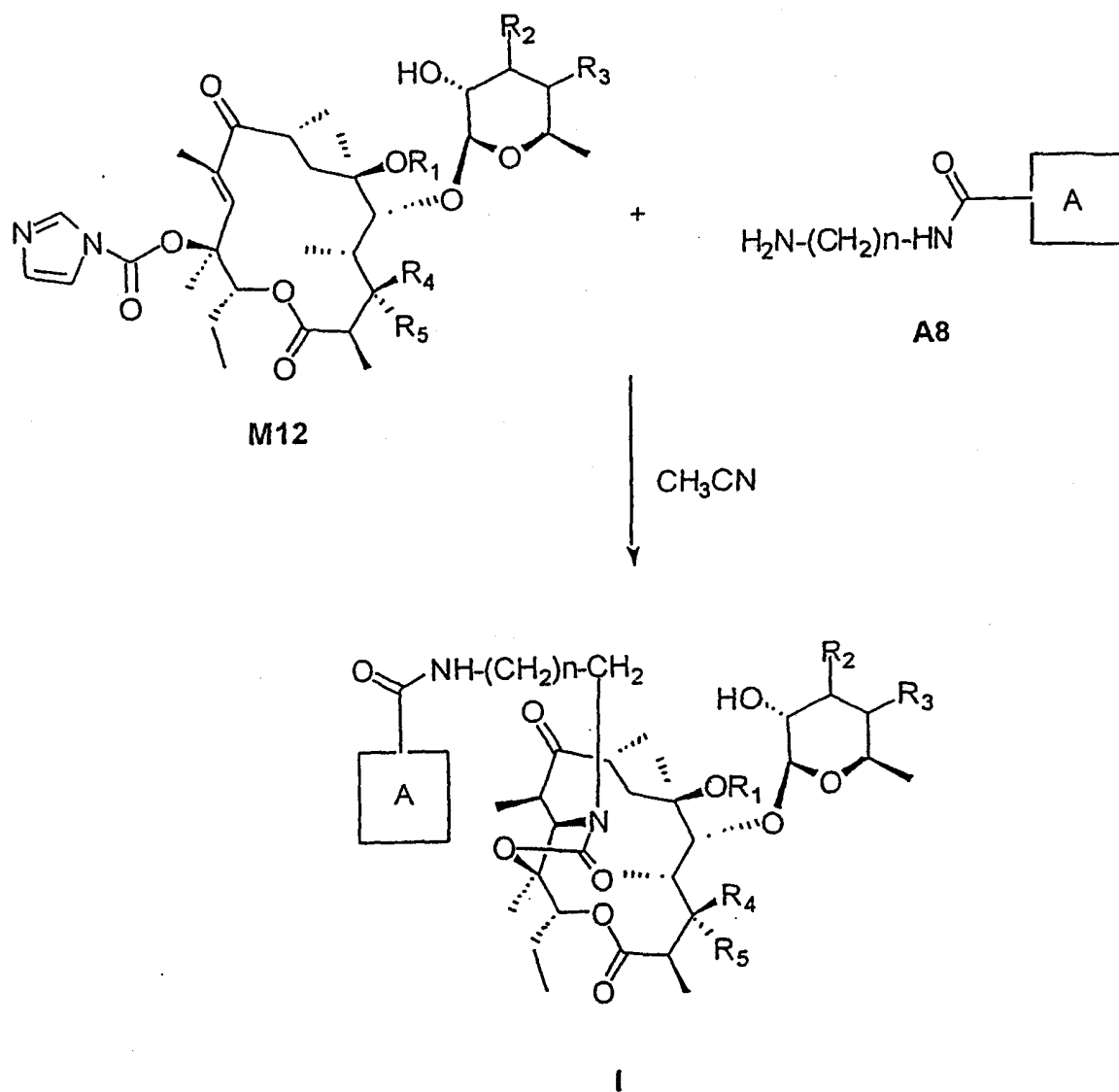
包含化合物 M3 作为大环内酯单元的通用结构 I 的化合物通过使改性的抗炎单元 A8 与大环内酯 M3 连接合成，大环内酯 M3 按已经提及的方法 (Agouridas C., J. Med. Chem. 1998, 41, 4080-4100) 制备。所述抗炎中间体 A8 由抗炎化合物的酸和相应被保护的二胺 (仅从一侧进行 Boc-保护) 在羟基苯并三唑和 EDC 存在下在适合的溶剂优选二氯甲烷或 DMF 中制备。获得相应的酰胺 A7 之后，末端氨基的脱保

用 TFA 在二氯甲烷中于室温下进行(方案 7)。



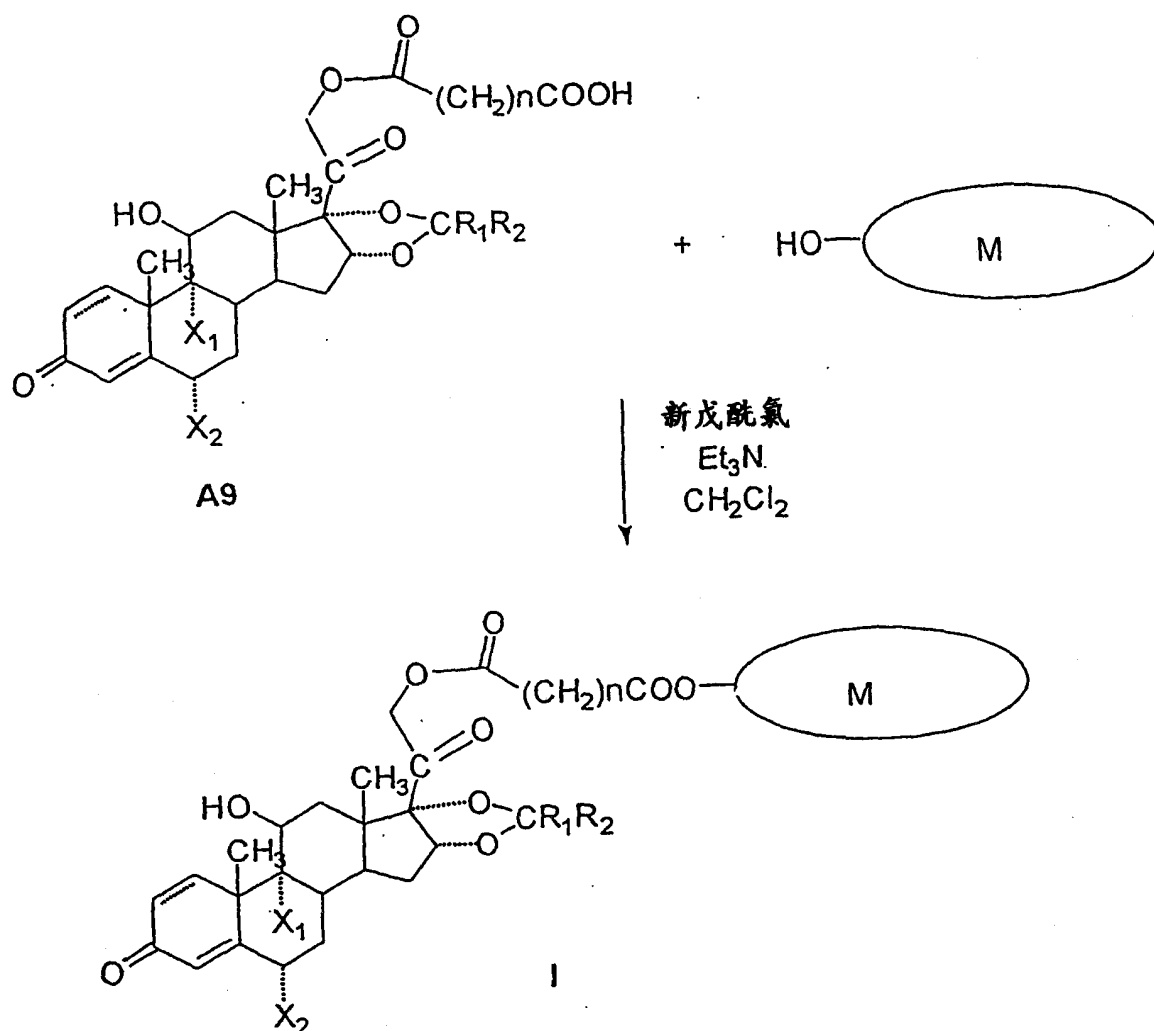
方案 7

使按方案 7 得到的中间体在乙腈中于氮气流下与用碳二亚胺活化并在 2', 4'' 位包含被保护羟基的大环内酯亚单元 M12 反应(方案 8)。



方案 8

如果所述甾族亚单元如通用结构 A5 所示，其中所有基团和基团都有上述定义中所述意义，则与大环内酯基团的偶联反应通过按文献 (HU 55409) 得到的中间体 A9 和大环内酯羟基的酯化进行(方案 9)。



方案 9

本发明另一目的涉及通用结构 I 的化合物作为抗炎、抗过敏和免疫调节剂的用途，取决于发炎部位其可以不同方式给药，例如经皮、口服、面颊、直肠、肠道外或需要在呼吸道内局部施用时通过吸入法给药。

本发明另一目的涉及此药物形式的化合物的制剂以实现所述活性化合物 I 的最佳生物利用率。对于经皮给药而言，可以软膏或霜剂、

凝胶或洗剂形式制备化合物 I。软膏、霜剂和凝胶可用水或油基在添加适当乳化剂或胶凝剂(配制凝胶形式时)的情况下配制。剂型对于呼吸吸入尤为重要,其中化合物 I 在加压下可为气溶胶形式。对于所有气雾剂形式而言,建议使预先在乳糖、葡萄糖、高级脂肪酸、琥珀酸二辛酯磺酸钠盐中或最优选在羧甲基纤维素中均化的化合物 I 微粉化以达到大多数粒子的粒径为 5 μ m。对于吸入剂型而言,可使所述气溶胶与用于喷射活性物质的推进剂混合。

吸入法施用的化合物 I 可以微粉化颗粒的干粉形式使用。

所述化合物也可掺入用于治疗克罗恩氏病的制剂中,可口服或直肠给药。用于口服使用的制剂必须这样配制以使所述化合物能在肠的发炎部分被生物利用。这可通过缓释制剂的不同组合实现。如果化合物 I 以灌肠剂形式使用,该化合物还可用于治疗克罗恩氏病和炎症肠道疾病,对其可使用适合的制剂。

作为本发明目的的所述化合物的适合制剂可用于预防或治疗不同的疾病和炎症病症包括哮喘、慢性阻塞性肺病、炎症鼻病如过敏性鼻炎、鼻息肉、肠道疾病如克罗恩氏病、结肠炎、肠炎、溃疡性结肠炎、皮炎如湿疹、牛皮癣、过敏性皮炎、神经性皮炎、瘙痒症、结膜炎和风湿性关节炎。

本发明化合物的疗效在以下体外和体内实验中测定。

与人类糖皮质激素受体结合的试验

通过逆聚合酶链式反应克隆 α -异构形式的人糖皮质激素受体的基因。按制造商(Qiagen)的说明书从人外周血淋巴细胞中分离全部 RNA,用 AMV 逆转录酶(Roche)转录至 cDNA 中,通过特异性引物繁殖所述基因

1) 5' ATATGGATCCCTGATGGACTCCAAAGAATCATTA ACTCC3'

2) 5' ATATCTCGAGGGCAGTCACTTTTGATGAAACAGAAG3'

将所得反应产物克隆至 Bluescript KS 质粒(Stratagene)的 XhoI/BamHI 位点,用 M13 和 M13rev 引物(Mycrosynth)通过双脱氧荧光法测序,然后克隆至 pcDNA3.1 hygro (+)质粒(Invitrogen)的

XhoI/BamHI 位点。将 1×10^5 COS-1 细胞接种至 12 孔平板(Falcon)的具有 10%FBS(Biowhitaker)的 DMEM 培养基(Life Technologies)中,在有 5%CO₂的气氛中于 37℃下培养至 70%汇合。除去培养基,每个孔中加入在 500μl DMEM 中的 1μg DNA、7μl PLUS 试剂和 2μl Lipofectamine(Life Technologies)。使细胞在有 5%CO₂的气氛中于 37℃下孵育,5 小时后加入相同体积的 20% FBS/DMEM。24 小时后所述培养基完全改变。转染后 48 小时,加入在 DMEM 培养基中的不同浓度的测试化合物和 24nM[³H]地塞米松(Pharmacia)。使细胞在有 5%CO₂的气氛中于 37℃下孵育 90 分钟,用 PBS 缓冲液(Sigma)洗三遍,冷却至 4℃(pH=7.4),然后溶于有 0.2%SDS(Sigma)的 Tris 缓冲液(Sigma)中。加入 UltimaGold XR(Packard)闪烁液之后,在 Tricarb(Packard) β-闪烁计数器中读取残余放射性。

化合物 9、10 和 27 能在糖皮质激素受体上的结合部位与放射性地塞米松竞争。

在细胞中引入甾族化合物的试验

在 75cm² 烧瓶中在有 10% FBS(CHO)的 Hamm F 12 培养基(Life Technologies)或有 10% FBS(COS-1)的 DMEM 培养基中培养至汇合。将 1μM 的总计 2μCi 活性的放射性化合物 10 加至所述细胞之上,在有 5%CO₂的气氛中于 37℃下孵育 90 分钟。收集细胞上清液,使细胞溶解,然后读取细胞溶解产物以及细胞上清液中的放射性。化合物 10 能以比上清液中更大的浓度聚积在细胞中。

抑制细胞凋亡(apoptose)诱导所致的小鼠 T-细胞杂交瘤 13 增生的试验

在 96 孔的平板中对在有 10%PBS 的 RPMI 培养基(Imunoloski zavod)中的测试的甾族化合物稀释液的三份样品进行实验。向所述化合物的溶液中加入每孔 20 000 个细胞,并在有 5%CO₂的气氛中于 37℃下孵育过夜,然后加入 1μCi 的 [³H]胸苷(Pharmacia),再孵育 3 小时。通过在 GF/C 过滤器(Packard)上吸取收获所述细胞。在每个孔上加入 30μl Microscynt 0 闪烁液(Packard),在 β-闪烁计数器

(Packard) 上测量掺入的放射性。通过拮抗米非司酮(mifepristone) (Sigma)对增生的抑制作用证明糖皮质激素对细胞凋亡诱导作用的特异性。

化合物 8、9、10 和 27 显示出对细胞杂交瘤 13 增生的抑制作用。

抑制白细胞间介素-2 生成的试验

在 96 孔的平板上, 每孔加入 15ng 2C11 抗体(Pharminen), 在 4℃ 下使之吸附在 PBS 缓冲液(pH=7.4)中过夜。除去 PBS, 将所述平板用 RPMI 培养基洗涤, 然后每孔加入 50 000 个细胞, 在有和没有测试化合物稀释液的情况下在所述培养基中孵育。通过专用于小鼠 IL-2 的 ELISA (R&D Systems)测量上清液中 IL-2 的浓度。

化合物 9、10 和 27 显示出对因 CD3 受体刺激诱导白细胞间介素-2 生成的抑制作用。

表 2

化合物	与糖皮质激素受体结合	H13 细胞凋亡的诱导作用	IL-2 合成的抑制作用
5	ND	-	-
8	+	+	+
9	+	+	+
10	+	+	+
11	ND	-	-
27	+	+	+
地塞米松	+	+	+

ND-未测定

巴豆油诱导的耳水肿模型

将体重为 200-250g 的雄性 Sprague Dawley 大鼠任意分成几组, 做标记, 用数字式卡尺测量初始耳厚。

对照组每耳施用 50μl 溶剂(丙酮, Kemika)。也以相同的方式施用溶于丙酮中的 1mg/耳剂量的测试化合物或标样(1mg/耳的地塞米松, Krka)。30 分钟后, 用 20%巴豆油(Sigma)诱导耳水肿。施用巴豆

油后 5 小时达到最大炎症强度。通过对比接受治疗动物和对照动物的耳部确定耳水肿抑制率。此模型中, 对化合物 10 进行测试, 其显示出与测试标样类似的活性。

小鼠嗜酸粒细胞增多的模型

将体重为 20-25g 的雄性 Balb/C 小鼠任意分成几组。在第 0 天和第 14 天通过 i. p. 注射卵白蛋白 (OVA, Sigma) 使之增敏。在第 20 天, 使小鼠经受 i. n. 施用 OVA (阳性对照或测试组) 或 PBS (阴性对照) 的诱发试验。i. n. 施用 OVA 后 48 小时, 使动物麻醉, 用 1ml PBS 洗肺。在 Cytospin 3 细胞离心机 (Shandon) 上分离细胞。使细胞在 Diff-Quick (Dade) 中染色, 通过至少 100 个细胞的微分计数法确定嗜酸粒细胞的百分率。

在阳性和阴性对照中用氟替松和倍氯米松作为标准物质。

在诱发试验前 2 天直至试验结束时以不同的剂量每天 i. n. 或 i. p. 施用所述化合物。

相对于阳性对照而言, 化合物 8、9 和 10 在统计学上显著地 (t-试验, $p < 0.05$) 减少肺洗液中嗜酸粒细胞的数量。

化合物对胸腺重量的影响

将体重为 200g 的雄性 Sprague Dawley 大鼠任意分成六组。给麻醉的动物 s. c. 背部植入已灭菌和称重的滤纸片。对照组中所述滤纸片用丙酮浸渍, 而测试组中用标样 (泼尼松龙, Sigma) 或化合物 10 浸渍。7 天后, 使动物睡觉, 分离其胸腺并称重。通过对比测试和对照组的胸腺重量评价全身效应。

相对于对照而言, 所述标样在统计学上显著地使胸腺重量减轻, 而化合物 10 不影响胸腺重量。

制备方法与实施例

通过以下实施例举例说明但决不限本发明。

实施例 1

中间体 M11, 其中 R_1 代表克拉定糖基 (9-脱氧-9a-氯杂-9a-(γ -氯丙基)-9a-高红霉素 A (homoerythromycin A))

向 9-脱氧-9a-氮杂-9a-(β -氰乙基)-9a-高红霉素 A (3g; 3.8mmol) 的乙醇(100ml)溶液中加入 500mg PtO_2 。在高压釜中在 2 天的时间内于 40bar 的压力下进行反应。然后将反应混合物过滤, 在旋转蒸发器上使乙醇蒸发。残留物在硅胶柱上纯化(洗脱剂: $\text{CH}_3\text{OH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{NH}_4\text{OH} = 50:30:2$)。得到 700mg 纯产品。MS(ES^+): 793(MH^+)

中间体 M11, 其中 R_4 代表羟基

按实施例 1 中所述方法由 3-脱克拉定糖基-9-脱氧-9a-氮杂-9a-(β -氰乙基)-9a-高红霉素 A (3.5g; 5.55mmol) 制备中间体 M11。得到 985 mg 产品。MS(ES^+): 635(MH^+)

实施例 2

中间体 M7, 其中 R_4 代表克拉定糖基

向 5-溴戊酸(1.282g; 7.07mmol)的无水 CH_2Cl_2 (10ml)溶液中加入 1ml(7.23mmol)三乙胺、868mg(7.10mmol) 4-二甲氨基吡啶和 0.940ml(7.63mmol)新戊酰氯。将该溶液在室温下氮气流中搅拌 2 小时, 然后加入阿齐霉素(2g; 2.67mmol)的无水 CH_2Cl_2 (10ml)溶液。将该反应混合物在室温下搅拌 3 天。然后向反应混合物中加入 60ml 饱和 NaHCO_3 溶液, 使层分离。水层用 40ml CH_2Cl_2 萃取两遍。混合的有机萃取物用饱和 NaCl 溶液洗涤, 经 K_2CO_3 干燥, 在旋转蒸发器中蒸发。所得油状产品在硅胶柱上纯化(洗脱剂: $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}:\text{NH}_4\text{OH} = 90:9:1.5$)。得到 511mg 纯产品。MS(ES^+): 912(MH^+)

按实施例 2 中所述方法制备中间体 M7 和 M9。

中间体 M7, 其中 R_4 代表羟基

由 3-脱克拉定糖基(decladynosyl)阿齐霉素(1g; 1.71mmol)和 5-溴戊酸(929mg; 5.13mmol)制备中间体 M7。得到 400mg 产品。MS(ES^+): 754(MH^+)

中间体 M9

由 2'-乙酰基-3-脱克拉定糖基阿齐霉素(1.1g; 1.70mmol)和 5-溴戊酸(921mg; 5.09mmol)制备中间体 M9。得到 329mg 产品。MS(ES^+): 795(MH^+)

实施例 3

化合物 1

向在氢气下冷却至 0℃ 的 9 α -氟-6 α -氟-11 β , 17 α -二羟基-16 α -甲基-3-氧代雄甾-1, 4-二烯-17 β -甲酸 (100mg; 0.29mmol) 的无水 CH₂Cl₂ (5ml) 悬浮液中加入 0.380ml (2.73mmol) 三乙胺、80mg (0.59mmol) 1-羟基苯并三唑、230mg (0.29mmol) 9-脱氧-9a-氮杂-9a-(γ -氨基丙基)-9a-高红霉素 A 和 235mg (1.23mmol) 1-(3-二甲氨基丙基)3-乙基-碳二亚胺盐酸盐。将该反应混合物在室温下氢气流中搅拌 24 小时, 然后在旋转蒸发器上蒸至较小体积, 在硅胶柱上纯化 (洗脱剂: CHCl₃:CH₃OH: NH₄OH = 6:1:0.1)。得到 224mg 白色晶体 (表 1)。

按实施例 3 中所述方法由 9-脱氧-9a-氮杂-9a-(γ -氨基丙基)-9a-高红霉素 A 和相应的甾族酸制备化合物 2-12, 示于表 1 中。

化合物 2

通过 9-脱氧-9a-氮杂-9a-(γ -氨基丙基)-9a-高红霉素 A (230mg; 0.29mmol) 与 11 β , 17 α -二羟基雄甾-1, 4-二烯-3-酮-17 β -甲酸 (100mg; 0.29mmol) 反应, 得到白色晶体 (285mg)。

化合物 3

通过 9-脱氧-9a-氮杂-9a-(γ -氨基丙基)-9a-高红霉素 A (197mg; 0.25mmol) 与 11 β -羟基-17 α -甲氧基雄甾-4-烯-3-酮-17 β -甲酸 (90mg; 0.25mmol) 反应, 得到白色晶体 (115mg)。

化合物 4

通过 9-脱氧-9a-氮杂-9a-(γ -氨基丙基)-9a-高红霉素 A (174mg; 0.22mmol) 与 9 α -氟-11 β -羟基 16 α -甲基-雄甾-1, 4-二烯-3-酮-17 β -甲酸 (80mg; 0.22mmol) 反应, 得到白色晶体 (224mg)。

化合物 5

通过 9-脱氧-9a-氮杂-9a-(γ -氨基丙基)-9a-高红霉素 A (230mg; 0.29mmol) 与 11 β -羟基雄甾-4-烯-3-酮-17 β -甲酸 (96mg; 0.29mmol) 反应, 得到白色晶体 (238mg)。

化合物 6

通过 9-脱氧-9a-氮杂-9a-(γ -氨基丙基)-9a-高红霉素 A(230mg; 0.29mmol)与 9 α -氟-11 β , 17 α -二羟基雄甾-1, 4-二烯-3-酮-17 β -甲酸(106mg; 0.29mmol)反应, 得到白色晶体(225mg)。

化合物 7

通过 9-脱氧-9a-氮杂-9a-(γ -氨基丙基)-9a-高红霉素 A(230mg; 0.29mmol)与 6 α -氟-11 β , 17 α -二羟基-16 α -甲基-雄甾-1, 4-二烯-3-酮-17 β -甲酸(110mg; 0.29mmol)反应, 得到白色晶体(107mg)。

化合物 8

通过 9-脱氧-9a-氮杂-9a-(γ -氨基丙基)-9a-高红霉素 A(230mg; 0.29mmol)与 11 β , 17 α -二羟基雄甾-4-烯-3-酮-17 β -甲酸(100mg; 0.29mmol)反应, 得到白色晶体(75mg)。

化合物 9

通过 9-脱氧-9a-氮杂-9a-(γ -氨基丙基)-9a-高红霉素 A(230mg; 0.29mmol)与 6 α , 9 α -二氟-11 β , 17 α -二羟基-16 α -甲基雄甾-1, 4-二烯-3-酮-17 β -甲酸(115mg; 0.29mmol)反应, 得到白色晶体(258mg)。

化合物 10

通过 9-脱氧-9a-氮杂-9a-(γ -氨基丙基)-9a-高红霉素 A(230mg; 0.29mmol)与 9 α -氟-11 β , 17 α -二羟基-16 α -甲基雄甾-1, 4-二烯-3-酮-17 β -甲酸(110mg; 0.29mmol)反应, 得到白色晶体(224mg)。

化合物 11

通过 9-脱氧-9a-氮杂-9a-(γ -氨基丙基)-9a-高红霉素 A(197mg; 0.24mmol)与 9 α -氟-11 β , 17 α -二羟基-16 α -甲基雄甾-1, 4-二烯-3-酮-17 β -甲酸(96mg; 0.24mmol)反应, 得到白色晶体(170mg)。

化合物 12

通过 9-脱氧-9a-氮杂-9a-(γ -氨基丙基)-9a-高红霉素 A(230mg; 0.29mmol)与 17 α -羟基雄甾-4-烯-3, 11-二酮-17 β -甲酸(100mg; 0.29mmol)反应, 得到白色晶体(247mg)。

实施例 4

化合物 13

将 6 α , 9 α -二氟-11 β , 17 α -三羟基-3-氧代雄甾-1, 4-二烯-17 β -甲酸-16, 17-丙酮化物 (104mg; 0.24mmol)、二异丙基乙胺 (45ml; 0.26mmol)、1-羟基苯并三唑 (65mg; 0.48mmol)、9-脱氧-9 α -氮杂-9 α -(γ -氨基丙基)-9 α -高红霉素 A (190mg; 0.24mmol) 和 1-(3-二甲氨基丙基)3-乙基-碳二亚胺盐酸盐 (184mg; 0.96mmol) 在无水 DMF (10ml) 中的混合物在搅拌下于 100℃ 在氨气氛中加热回流。然后使反应混合物冷却, 在旋转蒸发器上蒸发。残留物在硅胶柱上纯化 (洗脱剂: CHCl₃:CH₃OH: NH₄OH = 6:1:0.1)。得到 31mg 纯产品 (表 1)。

化合物 14

按实施例 4 中所述方法由 6 α , 9 α -二氟-11 β , 16 α , 17 α -三羟基-3-氧代雄甾-1, 4-二烯-17 β -甲酸-16, 17-丙酮化物 (104mg; 0.24mmol) 和 3-脱克拉定糖基-9-脱氧-9 α -氮杂-9 α -(γ -氨基丙基)-9 α -高红霉素 A (150mg; 0.24mmol) 制备化合物 14。得到 60mg 产品 (表 1)。

实施例 5

化合物 15

向在氨气流中冷却至 0℃ 的 9 α -氟-6 α -氟-11 β , 17 α -二羟基-16 α -甲基-3-氧代雄甾-1, 4-二烯-17 β -甲酸 (110mg; 0.27mmol) 的无水 CH₂Cl₂ (5ml) 悬浮液中加入 0.348ml (2.5mmol) 三乙胺、73mg (0.54mmol) 1-羟基苯并三唑、169mg (0.27mmol) 3-脱克拉定糖基-9-脱氧-9 α -氮杂-9 α -(γ -氨基丙基)-9 α -高红霉素 A 和 215mg (1.12mmol) 1-(3-二甲氨基丙基)3-乙基-碳二亚胺盐酸盐。将该反应混合物在室温下搅拌 24 小时, 在旋转蒸发器上蒸至较小体积, 在硅胶柱上纯化 (洗脱剂: CHCl₃:CH₃OH: NH₄OH = 6:1:0.1)。得到 235mg 白色晶体 (表 1)。

按实施例 5 中所述方法制备化合物 16-19, 示于表 1 中。

化合物 16

通过 6 α -氟-11 β , 17 α -二羟基-16 α -甲基-3-氧代雄甾-1, 4-二烯-17 β -甲酸 (90mg; 0.24mmol) 与 3-脱克拉定糖基-9-脱氧-9 α -氮杂-9 α -

(γ -氨基丙基)-9 α -高红霉素 A(150mg; 0.24mmol)反应, 得到白色晶体(138mg)。

化合物 17

通过 6 α , 9 α -二氟-11 β , 17 α -二羟基-16 α -甲基-3-氧代雄甾-1, 4-二烯-17 β -甲酸(94mg; 0.24mmol)与 3-脱克拉定糖基-9-脱氧-9 α -氮杂-9 α -(γ -氨基丙基)-9 α -高红霉素 A(150mg; 0.24mmol)反应, 得到白色晶体(163mg)。

化合物 18

通过 11 β , 17 α -二羟基雄甾-4-烯-3-酮-17 β -甲酸(84mg; 0.24mmol)与 3-脱克拉定糖基-9-脱氧-9 α -氮杂-9 α -(γ -氨基丙基)-9 α -高红霉素 A(150mg; 0.24mmol)反应, 得到白色晶体(112mg)。

化合物 19

通过 9 α -氟-11 β , 17 α -二羟基-16 α -甲基-3-氧代雄甾-1, 4-二烯-17 β -甲酸(110mg; 0.29mmol)与 3-脱克拉定糖基-9-脱氧-9 α -氮杂-9 α -(γ -氨基丙基)-9 α -高红霉素 A(185mg; 0.29mmol)反应, 得到白色晶体(155mg)。

实施例 6

化合物 20

向氢气下的 (20R, S)-11 β , 17, 20-三羟基-3-氧代雄甾-1, 4-二烯-21-甲酸(200mg; 0.53mmol)的无水 CH_2Cl_2 (5ml)悬浮液中加入 0.760ml 三乙胺、160mg(1.2mmol) 1-羟基苯并三唑、460mg(0.58mmol) 9-脱氧-9 α -氮杂-9 α -(γ -氨基丙基)-9 α -高红霉素 A 和 470mg(2.45mmol) 1-(3-二甲氨基丙基)3-乙基-碳二亚胺盐酸盐。将该反应混合物在室温下搅拌 24 小时, 然后在旋转蒸发器上蒸至较小体积, 在硅胶柱上纯化(洗脱剂: $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}:\text{NH}_4\text{OH} = 6:1:0.1$)。得到 405mg 产品(表 1)。

实施例 7

化合物 21

向 9 α -氟-11 β , 17 α -二羟基-16 α -甲基-3-氧代雄甾-1, 4-二烯-

17 β -甲酸(135mg; 0.35mmol) 的无水 DMF(3ml) 溶液中加入碳酸钾(49mg; 0.35mmol)。将该反应混合物在氩气流中于 0℃下搅拌, 然后加入中间体 M9(311mg; 0.39mmol)的无水 DMF(4ml)溶液。在室温下搅拌 5 天后, 在旋转蒸发器上使 DMF 蒸发, 残留物在硅胶柱上纯化(洗脱剂: CHCl₃:CH₃OH: NH₄OH = 10:1:0.1)。得到 53mg 纯产品(表 1)。

实施例 8

化合物 22

向 6 α , 9 α -二氟-11 β , 17 α -二羟基-16 α -甲基-3-氧代雄甾-1, 4-二烯-17 β -甲酸(100mg; 0.25mmol) 的无水 DMF(3ml)溶液中加入碳酸钾(35mg; 0.25mmol)。将该反应混合物在氩气流中于 0℃下搅拌, 然后加入其中 R₄ 代表克拉定糖的中间体 M7(252mg; 0.28mmol)的无水 DMF(4ml)溶液。在室温下搅拌 2 天后, 在旋转蒸发器上使 DMF 蒸发, 残留物在硅胶柱上纯化(洗脱剂: CHCl₃:CH₃OH: NH₄OH = 12:1:0.1)。得到 42mg 纯产品(表 1)。

按实施例 8 中所述方法制备化合物 23 和 24, 示于表 1 中。

化合物 23

通过 9 α -氟-11 β , 17 α -二羟基-16 α -甲基-3-氧代雄甾-1, 4-二烯-17 β -甲酸(99mg; 0.26mmol)与 285mg(0.31mmol)其中 R₄ 代表克拉定糖的中间体 M7 反应, 得到白色晶体(42mg)。

化合物 24

通过 9 α -氟-6 α -氟-11 β , 17 α -二羟基-16 α -甲基-3-氧代雄甾-1, 4-二烯-17 β -甲酸(81mg; 0.20mmol)与 222mg(0.24mmol)其中 R₄ 代表克拉定糖的中间体 M7 反应, 得到白色晶体(54mg)(表 1)。

实施例 9

化合物 25

向 9 α -氟-11 β , 17 α -二羟基-16 α -甲基-3-氧代雄甾-1, 4-二烯-17 β -甲酸(83mg; 0.22mmol) 的无水 DMF(3ml)溶液中加入碳酸钾(30mg; 0.22mmol)。将该反应混合物在氩气流中于 0℃下搅拌, 然后

加入其中 R_4 代表羟基的中间体 M7 (182mg; 0.24mmol) 的无水 DMF (4ml) 溶液。在室温下搅拌 24 小时后, 在旋转蒸发器上使 DMF 蒸发, 残留物在硅胶柱上纯化 (洗脱剂: $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}:\text{NH}_4\text{OH} = 10:1:0.1$)。得到 57mg 纯产品。

按实施例 9 中所述方法制备化合物 26 和 27, 示于表 1 中。

化合物 26

通过 6 α -氟-11 β , 17 α -二羟基-16 α -甲基-3-氧代雄甾-1, 4-二烯-17 β -甲酸 (85mg; 0.22mmol) 与 225mg (0.25mmol) 其中 R_4 代表羟基的中间体 M7 反应, 得到白色晶体 (20mg)。

化合物 27

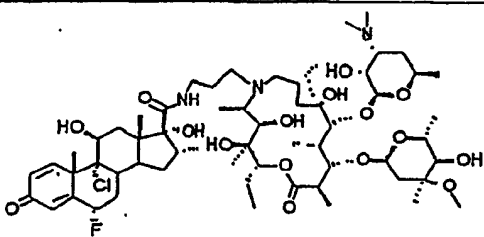
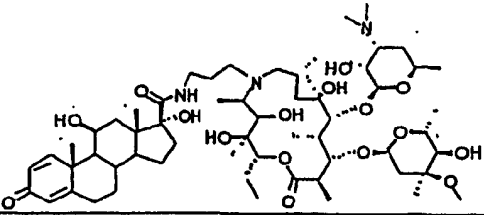
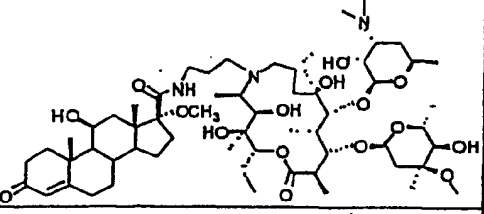
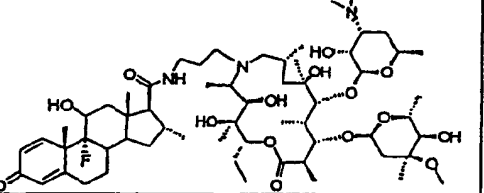
通过 9 α -氟-6 α -氟-11 β , 17 α -二羟基-16 α -甲基-3-氧代雄甾-1, 4-二烯-17 β -甲酸 (100mg; 0.24mmol) 与 200mg (0.26mmol) 其中 R_4 代表羟基的中间体 M7 反应, 得到白色晶体 (59mg)。

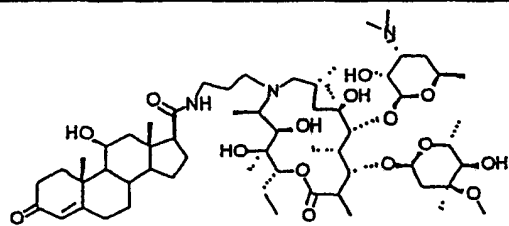
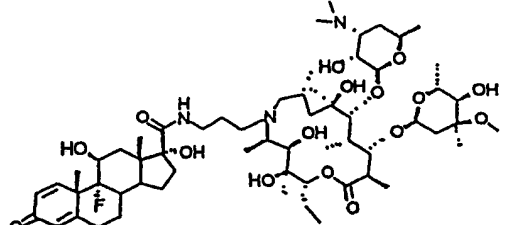
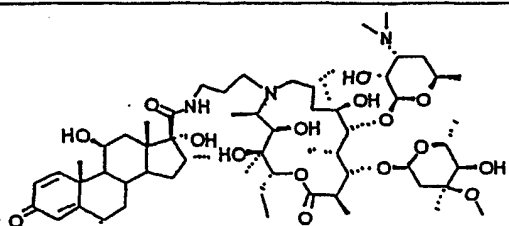
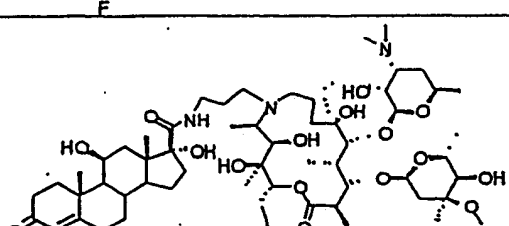
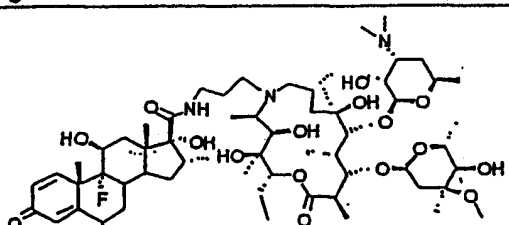
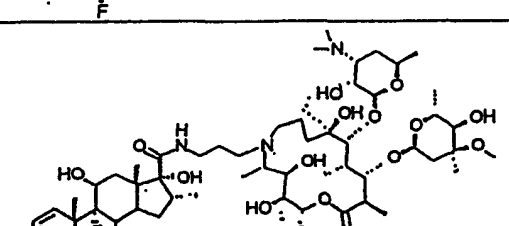
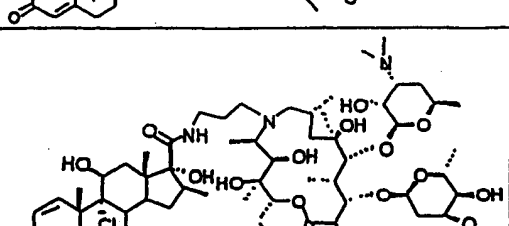
实施例 10

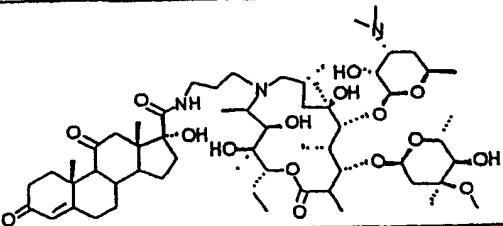
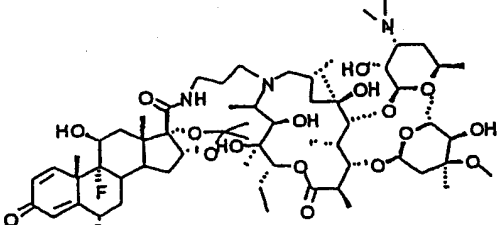
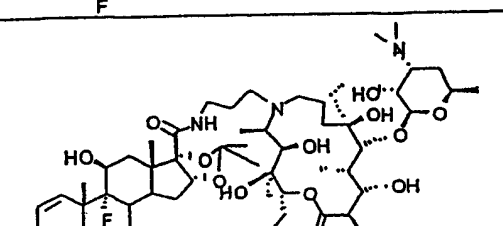
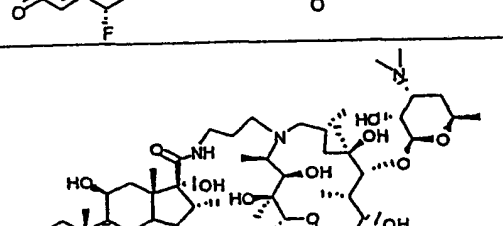
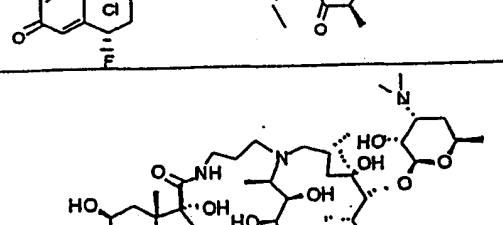
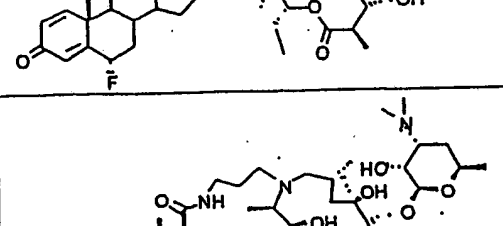
化合物 28

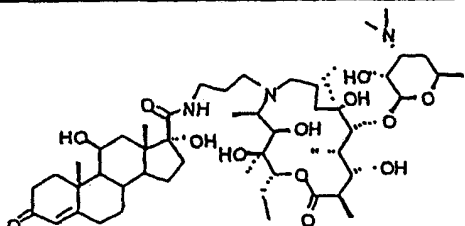
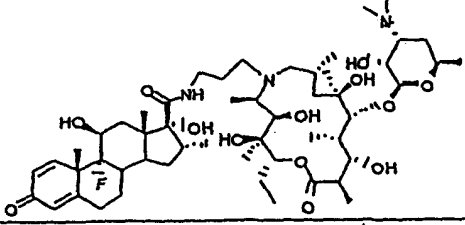
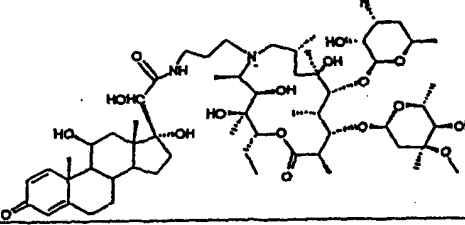
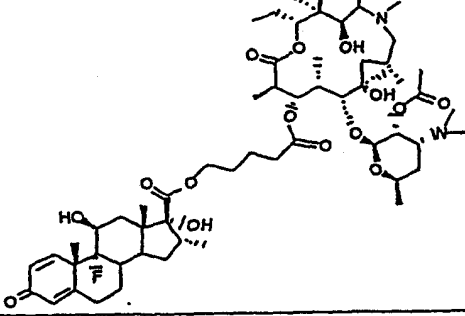
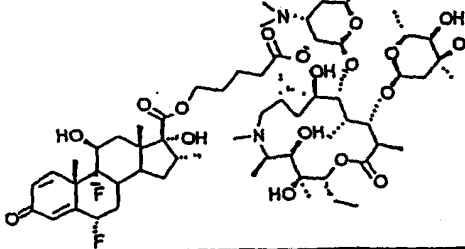
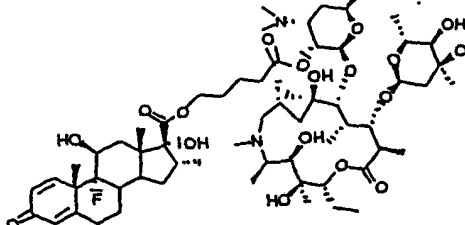
向 9 α -氟-11 β , 17 α -二羟基-16 α -甲基-3-氧代雄甾-1, 4-二烯-17 β -甲酸 (80mg; 0.21mmol) 的无水 DMF (3ml) 溶液中加入碳酸钾 (30mg; 0.21mmol)。将该反应混合物在氩气流中于室温下搅拌 1 小时, 然后加入 3-O-脱克拉定糖基-6-O-甲基-3-氧代红霉素-9-O-(2-溴乙基) 脲 (163mg; 0.23mmol) 的无水 DMF (3ml) 溶液。将该反应混合物在 100℃ 下加热 4 小时。然后使之冷却至室温, 加入 40ml 乙酸乙酯和水 (1: 1)。分离有机层, 水洗, 经无水碳酸钾干燥。残留物在硅胶柱上用溶剂体系氯仿: 甲醇: 氨 = 10:1:0.1 纯化。得到 160mg 白色晶体 (表 1)。

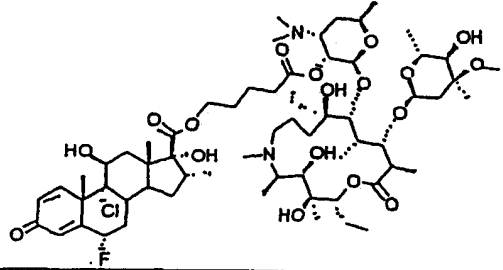
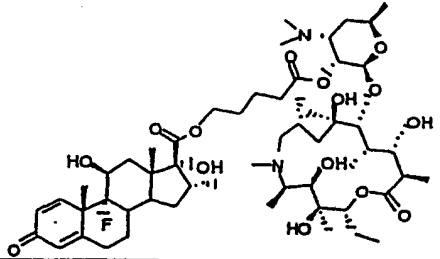
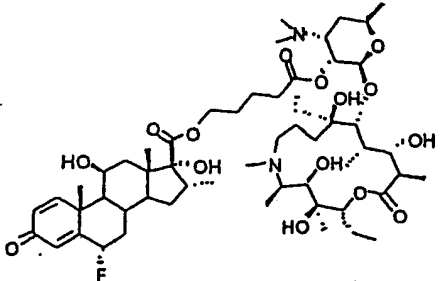
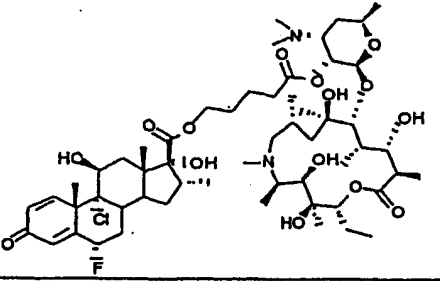
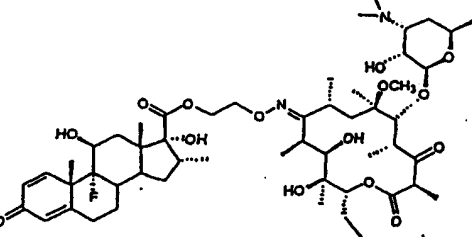
表 1

化合物	结构	分子式	M.p. (°C)	MF ⁺ (ES ⁺)
1		$C_{61}H_{101}ClFN_3O_{16}$	194-202	1187
2		$C_{60}H_{101}N_3O_{16}$		1121
3		$C_{61}H_{105}N_3O_{16}$		1137
4		$C_{61}H_{102}FN_3O_{15}$		1137

5		$C_{60}H_{103}N_3O_{15}$	-	1106
6		$C_{60}H_{100}FN_3O_{16}$	-	1139
7		$C_{61}H_{102}FN_3O_{16}$	175-178	1153
8		$C_{60}H_{103}N_3O_{16}$	144	1123
9		$C_{61}H_{101}F_2N_3O_{16}$	169	1171
10		$C_{61}H_{102}FN_3O_{16}$	170-175	1153
11		$C_{61}H_{102}ClN_3O_{16}$	-	1169

12		$C_{60}H_{101}N_3O_{16}$	-	1121
13		$C_{63}H_{103}F_2N_3O_{17}$	178	1212
14		$C_{55}H_{89}F_2N_3O_{14}$	-	1055
15		$C_{53}H_{87}ClF_2N_3O_{13}$	130-132	1086
16		$C_{53}H_{88}FN_3O_{13}$	202-204	995
17		$C_{53}H_{87}F_2N_3O_{13}$	182	1013

18		$C_{52}H_{89}N_3O_{13}$	160-161	965
19		$C_{53}H_{88}FN_3O_{13}$	260-265	995
20		$C_{61}H_{103}N_3O_{17}$		1151
21		$C_{58}H_{93}FN_2O_{16}$	174-175	1094
22		$C_{64}H_{104}F_2N_2O_{18}$	159-160	1228
23		$C_{64}H_{105}FN_2O_{18}$	161-168	1210

24		$C_{64}H_{104}ClFN_2O_{18}$	91-99	1244
25		$C_{56}H_{91}FN_2O_{15}$	170	1052
26		$C_{56}H_{91}FN_2O_{15}$	145-151	1052
27		$C_{56}H_{90}ClFN_2O_{15}$	130-132	1086
28		$C_{53}H_{83}FN_2O_{15}$	-	1007