

## [12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 95197475.0

[45] 授权公告日 2002 年 5 月 22 日

[11] 授权公告号 CN 1085212C

[22] 申请日 1995. 12. 6

[21] 申请号 95197475.0

[30] 优先权

[32] 1994. 12. 7 [33] US [31] 08/350,557

[86] 国际申请 PCT/US95/15901 1995. 12. 6

[87] 国际公布 WO96/17845 英 1996. 6. 13

[85] 进入国家阶段日期 1997. 7. 25

[73] 专利权人 美国家用产品公司

地址 美国新泽西州

[72] 发明人 A·A·费利 G·A·希尔沙

O·I·伯莱曼

[56] 参考文献

US5023263 1991. 6. 11

US5385910 1995. 1. 31

WO9402137 1994. 2. 3

WO9405300 1994. 3. 17

WO9514696 1995. 6. 1

审查员 田 欣

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

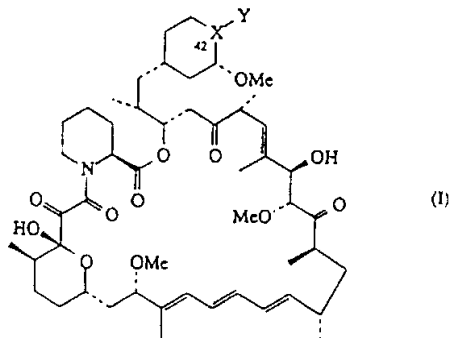
代理人 吴玉和 温宏艳

权利要求书 3 页 说明书 17 页 附图页数 0 页

[54] 发明名称 雷帕霉素 42 - 脲类化合物和羟胺类化合物

[57] 摘要

式(I)化合物或其药物上可接受的盐,其中 X-Y 是 C=NOR<sup>1</sup> 或 CHNHOR<sup>2</sup>; R<sup>1</sup> 和 R<sup>2</sup> 各自独立地是氢、烷基、链烯基、链炔基、氨基烷基、烷基氨基烷基、二烷基氨基烷基、环烷基、烷氧基、烷氧基烷基、环烷基氨基烷基、氰基烷基、氟烷基、三氟甲基烷基、三氟甲基、ArO-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>Ar 或 -COR<sup>3</sup>; R<sup>3</sup> 是 1-6 个碳原子的烷基、-NH<sub>2</sub>、-NHR<sup>4</sup>、-NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup> 或 -OR<sup>4</sup>; R<sup>4</sup> 和 R<sup>5</sup> 各自独立地是烷基、Ar 或者当两者同时存在时,可以一起形成 4-7 元环; Ar 是可被任意取代的芳基或杂芳基; 和 m=0-6, 其可用作免疫抑制剂、抗炎剂、抗菌剂、抗增生剂和抗癌剂。

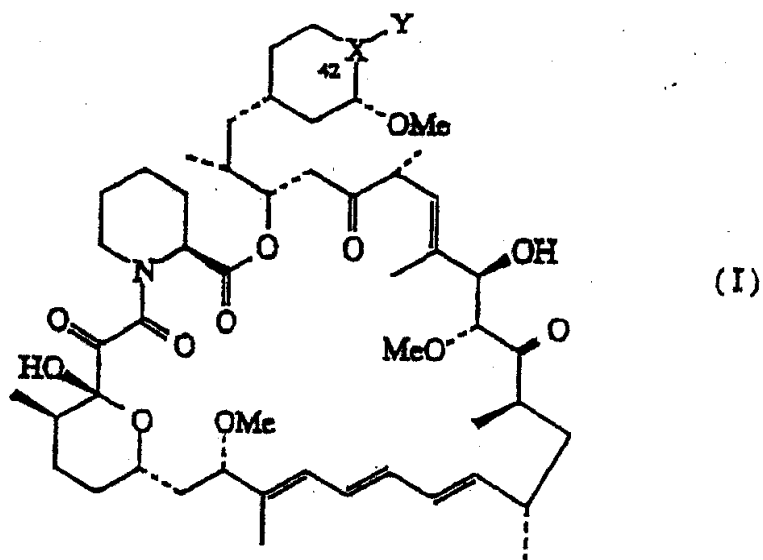


(I)

ISSN 1008-4274

## 权 利 要 求 书

1. 下式化合物或其药物上可接受的盐,



其中X-Y是C=NOR<sup>1</sup>或CHNHOR<sup>2</sup>;

15 R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>各自独立地是氢、1-6个碳原子的烷基、2-7个碳原子的链烯基、

2-7个碳原子的链炔基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>Ar或-COR<sup>3</sup>;

R<sup>3</sup>是1-6个碳原子的烷基、-NH<sub>2</sub>、-NHR<sup>4</sup>、-NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>;

R<sup>4</sup>和R<sup>5</sup>各自独立地是1-6个碳原子的烷基;

Ar是苯基、吡啶基;

20 m=0-6.

2. 权利要求1所述化合物或其药物上可接受的盐, 其中X-Y是C = NOR<sup>1</sup>, 其中R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、Ar和m如权利要求1中所定义.

3. 权利要求2所述化合物或其药物上可接受的盐, 其中R<sup>1</sup>是氢、1-6个碳原子的烷基、2-7个碳原子的链烯基、2-7个碳原子的链炔基、1-6个碳原子的烷氧基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>Ar或者-COR<sup>3</sup>, 其中R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、Ar和m如权利要求1中所定义.

25

4. 权利要求1所述化合物或其药物上可接受的盐, 其中X-Y是CHNHOR<sup>2</sup>, 其中R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、Ar和m如权利要求1中所定义.

5. 权利要求4所述化合物或其药物上可接受的盐, 其中R<sup>2</sup>是氢或者-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>Ar, 其中R<sup>1</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、Ar和m如权利要求1中所定义.

30

6.权利要求1所述化合物或其药物上可接受的盐, 所述化合物是42-脱氧-42-(羟基亚氨基)雷帕霉素。

7. 权利要求1所述化合物或其药物上可接受的盐, 所述化合物是42-脱氧-42-(羟基氨基)雷帕霉素。

5 8. 权利要求1所述化合物或其药物上可接受的盐, 所述化合物是42-脱氧-42-氧代雷帕霉素-42-O-氨基甲酰基肟。

9. 权利要求1所述化合物或其药物上可接受的盐, 所述化合物是42-脱氧-42-氧代雷帕霉素 42-[O-(吡啶-2-基甲基)]-肟。

10 10. 权利要求1所述化合物或其药物上可接受的盐, 所述化合物是42-脱氧-42-氧代雷帕霉素 42-[O-(吡啶-4-基甲基)]-肟。

11. 权利要求1所述化合物或其药物上可接受的盐, 所述化合物是42-脱氧-42-氧代雷帕霉素 42-[O-(叔丁基)]-肟。

12. 权利要求1所述化合物或其药物上可接受的盐, 所述化合物是42-脱氧-42-氧代雷帕霉素 42-[O-(苯基甲基)]-肟。

15 13. 权利要求1所述化合物或其药物上可接受的盐, 所述化合物是42-脱氧-42-氧代雷帕霉素 42-(O-烯丙基)-肟。

14. 权利要求1所述化合物或其药物上可接受的盐, 所述化合物是42-脱氧-42-氧代雷帕霉素 42-[O-(丙-2-炔基)]-肟。

20 15. 权利要求1所述化合物或其药物上可接受的盐, 所述化合物是2-脱氧-42-[O-(吡啶-4-基甲基)]-羟基氨基雷帕霉素。

16. 权利要求1的化合物在制备用于治疗移植排斥反应或移植物抗宿主病、真菌感染、类风湿性关节炎、再狭窄或肺炎的药物方面的应用。

17. 一种药物组合物, 所述药物组合物包含权利要求1的化合物、或其可药用盐, 以及药物载体。

25 18. 一种权利要求1所述式I化合物的制备方法, 所述方法包括下述之一:

a) 将42-氧代雷帕霉素(所述31-羟基功能基可任意地被如下定义的式R<sup>6</sup>甲硅烷基基团保护)与下式羟胺反应,

30



其中 $R^1$ 如上述定义, 但含羰基基团除外, 得到相应的式I肟, 其中X-Y是 $C=NOR^1$ , 并除去所述 $R^6$ 保护基,

或者

5 b) 将式I肟(所述31-羟基功能基可任意地被如下定义的式 $R^6$ 基团保护)(其中X-Y是 $C=NOR^1$ , 其中 $R^1$ 如上述定义, 但含羰基基团除外)还原, 得到其中X-Y是 $CHNHOR^2$ 的式I羟胺,

或者

10 c) 将式I化合物(所述31-羟基功能基可任意地被如下定义的式 $R^6$ 甲硅烷基基团保护)(其中X-Y是 $C=NOR^1$ , 其中 $R^1$ 是氢)与氰酸盐例如碱金属氰酸盐如氰酸钠反应, 得到其中X-Y是 $C=NOR^1$ , 而其中 $R^1$ 是 $-CONH_2$ 的式I化合物,

或者

15 d) 将其中X-Y是 $C=NOR^1$ 或 $CHNHOR^2$ (其中 $R^1$ 和 $R^2$ 是氢)的式I化合物(当X-Y是 $C=NOR^1$ 时, 所述31-羟基功能基可任意地被如下定义的式 $R^6$ 甲硅烷基基团保护)与下式异氰酸盐或氨基酰卤反应



20 其中 $R^3$ 是hal, hal代表卤素例如氯, 得到其中 $R^1$ 或 $R^2$ 是 $COR^3$ 而 $R^3$ 是 $NHR^4$ 或 $NR^4R^5$ 的相应的式I化合物,

或者

25 e) 将其中X-Y是 $C=NOH$ 或 $CHNHOR^2$ 的式I化合物(当X-Y是 $C=NOH$ 时, 所述31-羟基功能基可任意地被如下定义的式 $R^6$ 甲硅烷基基团保护)与氯代甲酸烷基酯或芳基酯反应, 得到其中 $R^1$ 或 $R^2$ 是 $COR^3$ 而 $R^3$ 是烷基或芳基的式I碳酸酯化合物.

# 说明书

## 雷怕霉素42-脲类化合物和羟胺类化合物

### 发明背景

5 本发明涉及雷怕霉素42-脲类化合物和羟胺类化合物以及用它们诱导免疫抑制的方法以及用于治疗移植排斥、移植物抗宿主病、自身免疫疾病、炎性疾病、成人T-细胞白血病/淋巴瘤、实体瘤、真菌感染和增生性血管病。

雷怕霉素是一种由吸水链霉菌(*Streptomyces hygroscopicus*)产生的大  
10 环三烯抗生素, 已知其具有体外和体内抗真菌活性, 特别是抗白色假丝酵母(*Candida albicans*)活性[C. Vezina等人, *J. Antibiot.* 31,539(1978); 美国专利3,929,992和美国专利3,993,749]。

单独的雷怕霉素(美国专利4,885,171)或与溶链菌的结合物(美国专利4,401,653)已显示出抗肿瘤活性。R.Martel等人[*Can. J. Physiol. Pharmacol.*  
15 55, 48(1977)]曾指出, 在变态反应脑脊髓炎试验模型、多发性硬化模型、佐剂诱导性关节炎模型、类风湿性关节炎模型中雷怕霉素是有效的并且其可有效地抑制IgE-样抗体的形成。

在FASEB 3, 3411(1989)中已公开了雷怕霉素的免疫抑制作用。环链霉素A和FK-506, 其他大环分子, 也已表现出免疫抑制剂作用, 因此可用  
20 于预防移植排斥[FASEB 3,3411(1989); FASEB 3,5256(1989); R. Y. Calne等人, *Lancet* 1183(1978)和美国专利5,100,899]。

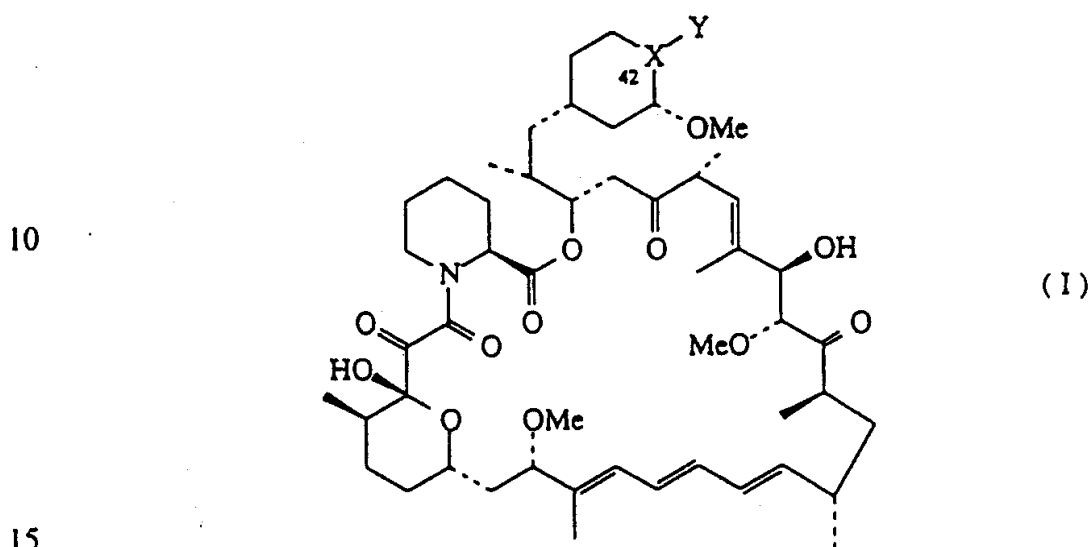
雷怕霉素也已表现出可用于预防或治疗全身性红斑狼疮[美国专利5,078,999]、肺炎[美国专利5, 080, 899]、胰岛素依赖性糖尿病[Fifth Int. Conf. Inflamm. Res. Assoc.121(摘要),(1990)]、平滑肌细胞增生以及血管损伤继发的内膜增厚[Morris, R. J. *Heart Lung Transplant* 11 (pt.2): 197  
25 (1992)]、成人T-细胞白血病/淋巴瘤[欧洲专利申请525,960A1]和眼部炎症[欧洲专利申请532,862A1]。

雷怕霉素一和二酰化衍生物(28和43位被酯化)可用作抗真菌剂(美国专利4,316,885)并可用于制备雷怕霉素水溶性氨酰基前药(美国专利  
30 4,650,803)。最近, 雷怕霉素的排序惯例已发生了变化, 根据化学文摘命名法, 上述酯应是31-和42-位上的酯。美国专利5,023,264公开了42-氧代

雷帕霉素的制备方法和应用，而美国专利5,023,264公开了雷帕霉素27-肟类化合物的制备方法和应用。

### 发明描述

本发明提供了用作免疫抑制剂、抗炎剂、抗真菌剂、抗增生剂和抗肿瘤剂的下式衍生物或其药物上可接受的盐，



其中X-Y是 $C=NOR^1$ 或 $CHNHOR^2$ ;

$R^1$ 和 $R^2$ 各自独立地是氢、1-6个碳原子的烷基、2-7个碳原子的链烯基、2-7个碳原子的链炔基、1-6个碳原子的氨基烷基、每个烷基含有1-6个碳原子的烷基氨基烷基、每个烷基含有1-6个碳原子的二烷基氨基烷基、3-8个碳原子的环烷基、1-6个碳原子的烷氧基、每个烷基含有1-6个碳原子的烷氧基烷基、4-14个碳原子的环烷基氨基烷基、2-7个碳原子的氟基烷基、1-6个碳原子的氟烷基、2-7个碳原子的三氟甲基烷基、三氟甲基、 $ArO-$ 、 $-(CH_2)_mAr$ 或 $-COR^3$ ;

25  $R^3$ 是1-6个碳原子的烷基、 $-NH_2$ 、 $-NHR^4$ 、 $-NR^4R^5$ 、 $-OR^4$ 或 $Ar$ ;

$R^4$ 和 $R^5$ 各自独立地是1-6个碳原子的烷基、 $Ar$ 或者当两者同时存在时，可以一起形成4-7元环;

$Ar$ 是可任意地被选自下列的基团一、二或三-取代的芳基或杂芳基，所述基团选自1-6个碳原子的烷基、2-7个碳原子的链烯基、2-7个碳原子的链炔基、7-10个碳原子的芳烷基、1-6个碳原子的烷氧基、氟基、卤素、羟基、硝基、2-7个碳原子的烷酯基、三氟甲基、三氟甲氧基、氨基、每个烷基含有1-6个碳原子的二烷基氨基、3-12个碳原子

30

的二烷基氨基烷基、1-6个碳原子的羟基烷基、2-12个碳原子的烷氧基烷基、1-6个碳原子的烷硫基、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 和 $-\text{CO}_2\text{H}$ ；和  
 $m=0-6$ 。

5 所述药物上可接受的盐是由下列物质衍生的盐，所述物质包括无机阳离子例如钠、钾等；有机碱例如：每个烷基含有1-6个碳原子的一、二和三烷基胺类化合物和每个烷基含有1-6个碳原子的一、二和三羟基烷基胺类化合物等；以及有机和无机酸例如：乙酸、乳酸、柠檬酸、酒石酸、琥珀酸、马来酸、丙二酸、葡糖酸、盐酸、氢溴酸、磷酸、硝酸、硫酸、甲磺酸和类似的公知可接受的酸。

10 术语含有1-6个碳原子的烷基、2-7个碳原子的链烯基和2-7个碳原子的链炔基包括直链和支链碳链。作为基团或例如芳烷基、烷氧基或烷酯基基团中的一部分的烷基的实例可以是含有1-6个碳原子，优选1-4个碳原子的直链或支链烷基，例如甲基、乙基、丙基、异丙基和正丁基。由于含有双键，本发明所述肟类化合物具有顺-反异构体。因此，本发明不仅  
15 包括几何异构体混合物，而且还包括单一的E和Z异构体，它们可以通过本领域技术人员公知的方法分离出来。同样，本发明羟胺类化合物由C-42差向异构体混合物构成，因此本发明不仅包括所述异构体混合物，而且还包括单一的异构体，它们可以通过本领域技术人员公知的方法分离出来。作为基团或者例如芳烷基基团中的一部分的术语“芳基”包括任何  
20 含有6-10个碳原子的单或双碳环芳族基团。术语“杂芳基”包括任何含有5-10个环原子的单或双环杂环芳基，其中最多有3个相同或不同的环原子是选自氧、氮和硫的杂原子。

优选的是，Ar中的芳基和杂芳基基团是可任意地被选自下列基团一、二或三取代的苯基、吡啶基、呋喃基、吡咯基、噻吩基、咪唑基、  
25 噁唑基或噻唑基，所述基团选自1-6个碳原子的烷基、2-7个碳原子的链烯基、2-7个碳原子的链炔基、7-10个碳原子的芳烷基、1-6个碳原子的烷氧基、氟基、卤素、羟基、硝基、2-7个碳原子的烷酯基、三氟甲基、三氟甲氧基、氨基、每个烷基含有1-6个碳原子的二烷基氨基、3-12个碳原子的二烷基氨基烷基、1-6个碳原子的羟基烷基、2-12个碳原子的烷氧基烷基、1-  
30 6个碳原子的烷硫基、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 和 $-\text{CO}_2\text{H}$ 。

当 $\text{R}^3$ 是 $-\text{NR}^4\text{R}^5$ 时，所述 $\text{R}^4$ 和 $\text{R}^5$ 基团可以相同或不同(如上述定义)或者可以一起形成一个含有4-7个原子的饱和杂环，其中所述环中1个原

子是氮并且0-2个其他环原子可以是氮、氧或硫。在R<sup>4</sup>和R<sup>5</sup>一起成环的情况下，优选的是，R<sup>4</sup>R<sup>5</sup>是可形成氮杂环丁烷、吡咯烷、哌啶或高哌啶环的碳链。

5 本发明优选的化合物是其中X-Y是C=NOR<sup>1</sup>的化合物；其中X-Y是C=NOR<sup>1</sup>和R<sup>1</sup>是氢、1-6个碳原子的烷基、2-7个碳原子的链烯基、2-7个碳原子的链炔基、1-6个碳原子的烷氧基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>Ar或-COR<sup>3</sup>的化合物；其中X-Y是CHNHOR<sup>2</sup>的化合物；其中CHNHOR<sup>2</sup>以及R<sup>2</sup>是氢或-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>Ar的化合物。

10 本发明还提供了本发明雷怕霉素化合物的制备方法。特别是，本发明提供了雷怕霉素42-肟类化合物和羟胺衍生物的制备方法，所述方法包括下列之一：

a) 将42-氧代雷怕霉素(所述31-羟基功能基可任意地被如下定义的式R<sup>6</sup>甲硅烷基基团保护)与下式羟胺反应，



其中R<sup>1</sup>如上述定义但含羰基的基团除外，得到相应的式I肟(其中X-Y是C=NOR<sup>1</sup>)并除去所述R<sup>6</sup>保护基，

或者

20 b)将式I肟(所述31-羟基功能基可任意地被如下定义的式R<sup>6</sup>基团保护)(其中X-Y是C=NOR<sup>1</sup>，其中R<sup>1</sup>如上述定义，但含羰基基团除外)还原，得到其中X-Y是CHNHOR<sup>2</sup>的式I羟胺，

或者

25 c)将式I化合物(所述31-羟基功能基可任意地被如下定义的式R<sup>6</sup>甲硅烷基基团保护)(其中X-Y是C=NOR<sup>1</sup>，其中R<sup>1</sup>是氢)与氰酸盐例如碱金属氰酸盐如氰酸钠反应，得到其中X-Y是C=NOR<sup>1</sup>，而其中R<sup>1</sup>是-CONH<sub>2</sub>的式I化合物，

或者

30 d)将其中X-Y是C=NOR<sup>1</sup>或CHNHOR<sup>2</sup>(其中R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>是氢)的式I化合物(当X-Y是C=NOR<sup>1</sup>时，所述31-羟基功能基可任意地被如下定义的式R<sup>6</sup>甲硅烷基基团保护)与下式异氰酸盐或氨基酰卤反应



其中 $R^3$ 是hal, hal代表卤素例如氯, 得到其中 $R^1$ 或 $R^2$ 是 $COR^3$ 而 $R^3$ 是 $NHR^4$ 或 $NR^4R^5$ 的相应的式I化合物,

5 或者

e)将其中X-Y是 $C=NOH$ 或 $CHNHOH$ 的式I化合物(当X-Y是 $C=NOH$ 时, 所述31-羟基功能基可任意地被如下定义的式 $R^6$ 甲硅烷基基团保护)与氯代甲酸烷基酯或芳基酯反应, 得到其中 $R^1$ 或 $R^2$ 是 $COR^3$ 而 $R^3$ 是烷基或芳基的式I碳酸酯化合物。

10

本发明所述化合物可由42-氧代雷怕霉素制得。42-氧代雷怕霉素可按本文参考文献美国专利5,023,263中所述方法经钌催化的氧化反应通过将雷怕霉素的42-位选择性氧化以适宜的产率制得。另外, 如Holt在PCT公开文本U.S.93/0668中所述, 42-氧代雷怕霉素可以以约50%的产率用四丙基过钌酸铵/N-甲基吗啉N-氧化物制得。然后, 42-氧代雷怕霉素可以用适宜取代的羟胺处理, 得到42-(E)和(Z)肟类化合物(X-Y是 $C=NOR^1$ )的混合物, 其可以用常规方法分离。所述42-肟类化合物可以进一步与适宜的还原剂例如氰基硼氢化钠/THF/二噁烷/pH3.5反应, 得到本发明羟胺类化合物(X-Y是 $CHNHOR^2$ )。

15

其中X-Y是 $C=NOR^1$ 而 $R^1$ 是含羰基的基团的本发明化合物可以由雷怕霉素42-肟(X-Y是 $C=NOR^1$ 而 $R^1$ 是氢)制得。例如雷怕霉素42-肟可与氰酸钠反应, 生成其中 $R^1$ 是 $-COR^3$ 而 $R^3$ 是 $NH_2$ 的化合物。同样, 雷怕霉素42-肟可以用适宜取代的异氰酸盐或氨基酰卤[即 $R^4R^5NC(O)Cl$ ]处理, 得到其中 $R$ 是 $-COR^3$ 而 $R^3$ 是 $-NR^4R^5$ 的化合物。同样可以制得其中 $R^1$ 是 $-COR^3$ 而 $R^3$ 是 $-NHR^4$ 的化合物。另外, 在吡啶和例如二氯甲烷溶剂中, 用适宜的氯代甲酸烷基酯或芳基酯处理雷怕霉素42-肟可得到其中 $R^1$ 是 $-COR^3$ 而 $R^3$ 是烷基或Ar的肟碳酸酯。

25

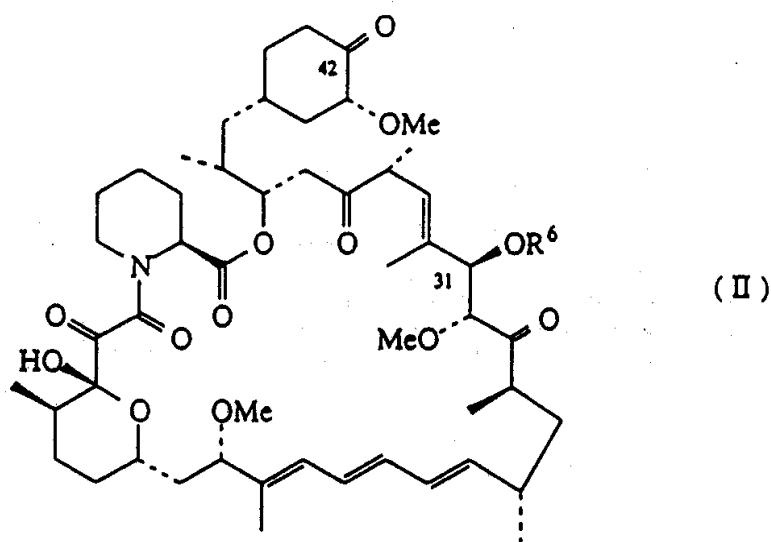
当X-Y是 $CHNHOR^2$ 时, 由其中 $R^2$ 是氢的化合物(经雷怕霉素42-肟的氰基硼氢化钠还原反应获得)开始可获得类似的官能化作用。

30

与钌氧化制备42-氧代雷怕霉素不同, 本发明还提供了一种经31-O-保护的雷怕霉素的Dess-Martin高碘试剂(periodinane)氧化反应合成本发明肟类化合物和羟胺类化合物的方法。对雷怕霉素31-位的保护可如并入本文作为参考的美国专利5,120,842中所述进行。例如, 用适宜的保护试

剂如三乙基甲硅烷基三氟甲磺酸酯/2,6-二甲基吡啶/二氯甲烷处理雷帕霉素, 随后用乙酸/THF/水处理, 以定量的产率得到31-O-三乙基甲硅烷基雷帕霉素。用Dess-Martin高碘试剂氧化, 以约65%的产率得到31-O-三乙基甲硅烷基-42-氧代雷帕霉素, 然后如上所述, 将其用适宜的羟胺(随后被衍生)处理。对于本发明肟类化合物, 所述三乙基甲硅烷基保护基可以如美国专利5,120,842中所述在弱酸性条件下(乙酸/THF/水)脱除。利用这种方法, 经在酸性条件下氟基硼氢化钠的还原反应, 伴随脱除所述三乙基甲硅烷基保护基, 由相应的肟类化合物也可制得本发明羟胺类化合物。

基于上述Dess-Martin高碘试剂法, 用于制备本发明肟类化合物的中间体是下列化合物。



其中 $R^6$ 是 $-\text{Si}R^7R^8R^9$ ;

并且 $R^7$ 、 $R^8$ 和 $R^9$ 各自独立地是1-8个碳原子的烷基、1-8个碳原子的链烯基、7-10个碳原子的苯基烷基、三苯甲基或苯基。

在上述中间体中, 优选的中间体是实施例1化合物。因此, 本发明提供了一种制备如上定义的式II中间体化合物的方法, 所述方法包括在适于进行Dess-Martin高碘试剂氧化反应(periodinane oxidation)的条件下, 将31-O-被保护的雷帕霉素(其中所述保护基是如上定义的 $R^6$ )氧化, 并且如果需要, 脱除所述保护基。

用于制备本发明化合物的试剂可以由市售获得或者可以用文献中所述常规方法制得。

本发明有代表性的化合物的免疫抑制活性可在用以测定淋巴细胞增生(LAF)抑制作用的体外常规药理学试验方法中以及两个体内常规药理学试验方法中得到评价。表皮(pinch skin)移植试验方法中对所试验化合物的免疫抑制活性以及所试验化合物抑制或治疗移植排斥的能力进行了测定。佐剂诱发的关节炎常规药理学试验方法对所试验化合物抑制免疫介导的炎症的能力进行了测定。所述佐剂诱发的关节炎试验方法是一种类风湿性关节炎的常规药理学试验方法。这些常规药理学试验方法如下文所述。

促细胞分裂剂(comitogen)诱导的胸腺细胞增生法(LAF)用于体外测定有代表性化合物的免疫抑制作用。简言之,将源于正常NALB/c小鼠的胸腺的细胞与PHA和IL-1一起培养72小时并在最后6小时脉冲地加入用氘标记的胸苷。将细胞与和不与各种浓度的雷帕霉素、环链菌素A或试验化合物一起进行培养。收集并合并细胞,测定放射性。用与无药物处理的每分钟计数相比较而言的百分变化来评价对淋巴组织增生的抑制作用。

为了对每一个化合物作出评价,为了比较目的,也可对雷帕霉素进行评价,得到每一试验化合物以及雷帕霉素的IC<sub>50</sub>值。当作为本发明有代表性化合物的对照物进行评价时,雷帕霉素的IC<sub>50</sub>在0.5-3.3nM范围内。所得结果以IC<sub>50</sub>和0.1 μM下对T-细胞增生的抑制百分比来表示。所得本发明有代表性化合物的试验结果也可以表示为与雷帕霉素的比值。正比值表示有免疫抑制活性,比值大于1表示所试验化合物对胸腺增生的抑制作用大于雷帕霉素。所述比值如式所述计算。

IC<sub>50</sub>雷帕霉素

-----

IC<sub>50</sub>试验化合物

本发明有代表性化合物也可以在用于测定由雄性BALB/c供者表皮移植物移植到雄性C<sub>3</sub>H(H-2K)受者的存活时间的体内试验方法中进行评价。所述方法改编于Billingham R.E.和Medawar P.B.,J.Exp.Biol. 28:385-402,(1951)。简言之,将源于所述供者表皮移植物作为同种移植物移植到所述受者背上,并在相同部位用同系移植物作对照。将受者经腹膜内或口服施用各种浓度的试验化合物进行处理,雷帕霉素作为试验对照。未

经处理的受者用作排斥对照。每天对移植物进行检测并记录观测结果，直至所述移植物变干并形成黑色痂，此时被认为是排斥日。将药物处理组的移植物平均存活时间(天数 $\pm$ S.D.)与对照组进行比较，结果用以天为单位的平均存活时间来表示。未经处理的(对照)表皮移植物通常在6-7天被排斥。用4mg/kg,i.p.剂量对化合物进行试验。4mg/kg,i.p.下对于雷怕霉素所得存活时间为 $11.67 \pm 0.63$ 天。

所述佐剂诱导的关节炎常规药理学试验方法用于测定所试验化合物防治免疫介导的炎症以及抑制或治疗类风湿性关节炎的能力。所用试验方法简述如下。将一组大鼠(雄性近亲繁殖的(inbroad) Wistar Lewis大鼠)用所试验化合物预处理(加入抗原前1小时)，然后在右后爪上注射Freud完全佐剂(FCA)以引起关节炎。然后将小鼠按星期一、三、五在0-14天内口服7个剂量，在第16、23和30天对两只后爪进行测定。测定第16-0天爪的体积(ml)变化并得到相对于对照的百分比变化。左后爪(未注射药物的爪)炎症是由T-细胞介导的炎症引起的，记录其相对于对照的百分变化。

另一方面，右后爪炎症是非特异性炎症引起的。以2mg/kg的剂量对化合物进行试验。结果以第16天未经处理的爪相对对照的百分变化来表示；百分变化值越负，所述化合物越有效。雷怕霉素相对对照的变化为-70%，表示经雷怕霉素处理的大鼠的免疫诱导的炎症比对照大鼠免疫诱导的炎症低70%。

在这些常规药理学试验方法中所得结果是在制备了所试验化合物之后获得的。

这些常规药理学试验方法中所得结果说明了本发明化合物的体外和体内免疫抑制活性。所述LAF试验方法中所得试验结果说明了对T-细胞增生的抑制作用，因而阐明了本发明化合物的免疫抑制活性。表皮移植物和佐剂诱导的关节炎常规药理学试验方法中所得结果进一步说明了本发明化合物的免疫抑制剂活性。另外，所述表皮移植物试验方法中所得结果还表明本发明化合物可抑制或治疗移植物排斥的能力。所述佐剂诱导的关节炎常规药理学试验方法中所得结果还表明本发明化合物可治疗或抑制类风湿性关节炎的能力。

基于这些常规药理学试验方法中所得结果，所述化合物可用于治疗或抑制移植排斥反应例如肾脏、心脏、肝脏、肺、骨髓、胰脏(胰岛细胞)、角膜、小肠和皮肤同种移植物以及心瓣膜异种移植物；用于治疗或抑制

移植物抗宿主病；用于治疗或抑制自身免疫病例如狼疮、类风湿性关节炎、糖尿病、重症肌无力和多发性硬化；以及炎性疾病例如牛皮癣、皮炎、湿疹、皮脂溢性皮炎、肠炎、肺炎(包括气喘、慢性阻塞性肺病、肺气肿、急性呼吸窘迫综合症、支气管炎等)以及眼色素层炎。

5        由于所得活性结果，本发明化合物还被认为具有抗肿瘤活性、抗真菌活性以及抗增生活性。因此，本发明化合物还可用于治疗实体瘤、成人T-细胞白血病/淋巴瘤、真菌感染以及增生性血管病例如再狭窄和动脉粥样硬化。当用于治疗再狭窄时，优选的是，本发明化合物可用于治疗血管成形术后产生的再狭窄，当用于此目的时，可在血管成形术前、术中、术后或者上述任何几个阶段中施用本发明化合物。

10        当用于治疗或抑制上述疾病时，可给哺乳动物经口服、非肠道、鼻内、支气管内、经皮肤、局部、阴道内或直肠内施用本发明化合物。

15        可以理解的是，当本发明化合物用作免疫抑制剂或抗炎剂时，它们可以与一种或多种其他免疫调节剂一起结合施用。此类免疫调节剂包括，但不限于，硫唑嘌呤、肾上腺皮质类固醇例如强的松和甲基强的松、环磷酰胺、雷帕霉素、环链菌素A、FK-506、OKT-3和ATG。通过将本发明化合物与此类其他药物或药剂结合引起免疫抑制或治疗炎性疾病，只需较少量的每种药剂，而达到所需效果。这种结合治疗是由Stepkowski创立的，他的试验结果表明使用低于治疗剂量的雷帕霉素和环链菌素A的结合物可显著地延长心脏同种移植物的存活时间

20        [Transplantation Proc. 23: 507(1991)]。

25        本发明化合物可以直接配制或与药物载体一起配制成制剂，供需要治疗的哺乳动物使用。所述药物载体可以是固体或液体。当配制成口服制剂时，发现由0.01%吐温80/PHOSAL PG-50(含1,2-丙二醇的磷脂浓缩物)可得到可接受的口服制剂。

30        固体载体可以包括一种或多种物质，其可作为调味剂、润滑剂、增溶剂、悬浮剂、填充剂、滑动剂(glidant)、压缩辅助剂、粘合剂或片剂崩解剂；其可以是包覆胶囊的材料。粉剂中，所述载体是可与精细活性成分混合的精细固体。片剂中，所述活性成分以适宜的比例与具有必要压缩特性的载体混合并压制成所需形状和尺寸。所述粉剂和片剂优选含有至多99%的活性成分。适宜的固体载体包括例如磷酸钙、硬脂酸镁、滑

石、蔗糖、乳糖、糊精、淀粉、明胶、纤维素、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、聚乙烯吡咯烷、低熔点蜡和离子交换树脂。

液体载体用于制备溶液、悬浮液、乳剂、糖浆、酏剂和加压组合物，所述活性成分可溶于或悬浮于药物上可接受的液体载体中，所述载体是例如水、有机溶剂、两者的混合物或者药物上可接受的油或脂肪。所述液体载体可含有其他适宜的药物添加剂例如增溶剂、乳化剂、缓冲剂、防腐剂、甜味剂、调味剂、悬浮剂、增稠剂、调色剂、粘度调节剂、稳定剂或渗透调节剂。适于口服或非肠道施用的适宜的液体载体的实例包括水(特别是含有上述添加剂，例如纤维素衍生物，优选羧甲基纤维素钠溶液)、醇(包括一元醇和多元醇，例如乙二醇)及其衍生物、lecithin和油(例如分级椰子油和花生油)。当非肠道用药时，所述载体也可以是油状酯例如油酸乙酯和肉豆蔻酸异丙酯。无菌液体载体可用于适于非肠道施用的无菌液体组合物。适用于加压组合物中的液体载体可以是卤代烃或其它药物上可接受的推进剂。

15 无菌溶液或悬浮液形式的液体药物组合物可以经例如肌肉、腹膜内或皮下注射用药。无菌溶液也可以经静脉内用药。所述化合物也可以以液体或固体组合物形式口服。

本发明化合物可以以常规栓剂形式直肠内用药。当鼻内或支气管内吸入或吹入用药时，本发明化合物可配制成水溶液或部分水溶液，然后其可以以气雾剂形式使用。本发明化合物还可以用含有所述活性化合物和对所述活性化合物呈惰性的载体的透皮贴剂经皮用药，所述载体对皮肤无毒，并可使药物经皮肤系统地吸附到血流中。所述载体可以是任何载体形式例如乳剂、软膏、糊剂、凝胶和吸留装置。所述乳剂和软膏可以是粘稠液体或水包油或者油包水的半固体乳剂。由分散于含有所述活性成分的石油醚或亲水性石油醚中的吸附性粉末构成的糊剂也是适宜的。各种吸留装置也可用于将所述活性成分释放到血流中，例如，包覆含所述活性成分并带有或不带有载体的储存容器的半渗透性膜或者含有所述活性成分的基质。其它封闭装置在文献中是已知的。

25 另外，本发明化合物可通过与含有0.1-5%，优选2%活性化合物的药物上可接受的载体配制成制剂以溶液、乳液或洗剂形式使用，其可以施用到真菌感染的部位。

所需剂量可根据所用特定组合物、用药方式、所出现病症的严重程度以及所治疗的特定目的而变化。根据在常规药理学试验方法中所获得的试验结果，活性化合物的设计日剂量为 $0.1 \mu\text{g/kg}$ - $100\text{mg/kg}$ ，优选 $0.001$ - $25\text{mg/kg}$ ，并且更优选是 $0.01$ - $5\text{mg/kg}$ 。治疗通常是以低于所述化合物最佳剂量的小剂量开始，然后再增大剂量，直至达到所述条件下的最佳效果；口服、非肠道、鼻内或支气管内施用的确切剂量可由用药医生根据每一治疗患者的情况而定。优选的是，所述药物组合物是单剂量形式例如片剂或胶囊剂。此时，所述组合物可再细分成含适量活性成分的单剂；所述单剂形式可以是被包装的组合物，例如包装的粉剂、含液体的管形瓶、安瓿、预先装药的注射器或药包。所述单剂形式可以是例如胶囊剂或片剂本身，或者其可以是任何被包装形式的此类组合物。

下列实施例说明了本发明有代表性化合物的制备方法和生物活性。

#### 实施例1

##### 31-O-(三乙基甲硅烷基)-42-氧代雷帕霉素

##### 15 步骤A. 31-O-(三乙基甲硅烷基)雷帕霉素

于 $0^\circ\text{C}$  30分钟内，向雷帕霉素( $15.39\text{g}$ ,  $16.84\text{mmol}$ )和2,6-二甲基吡啶( $7.65\text{g}$ ,  $75.76\text{ml}$ )的二氯甲烷( $100\text{ml}$ )溶液中滴加三乙基甲硅烷基三氟甲磺酸酯( $10\text{g}$ ,  $37.88\text{mmol}$ )。将混合物于 $0^\circ\text{C}$ 下再搅拌90分钟并过滤。滤液用乙酸乙酯( $500\text{ml}$ )稀释，用水( $3 \times 250\text{ml}$ )和盐水( $1 \times 100\text{ml}$ )洗涤，干燥( $\text{MgSO}_4$ )并蒸发至干。将产物再溶于无水THF( $40\text{ml}$ )中，冷却至 $0^\circ\text{C}$ 并在冰冷却下用冰醋酸( $150\text{ml}$ )和水( $80\text{ml}$ )处理。将混合物于 $0^\circ\text{C}$ 下搅拌3小时，用乙酸乙酯( $500\text{ml}$ )稀释并于 $0^\circ\text{C}$ 下小心地用 $\text{NaHCO}_3$ 将pH调至7-8。有机层用水( $2 \times 250\text{ml}$ )、盐水( $1 \times 100\text{ml}$ )洗涤，干燥( $\text{MgSO}_4$ )并蒸发至干，以定量的产率得到所述标题产物。

25  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ,  $400 \text{ MHz}$ ):  $\delta$  1.66 (3H, 6- $\text{CH}_3\text{C}=\text{C}$ ), 1.75 (3H, 30- $\text{CH}_3\text{C}=\text{C}$ ), 3.14 (3H, 41- $\text{OCH}_3$ ), 3.27 (3H, 7- $\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.40 (3H, 32- $\text{CH}_3\text{O}$ ), 4.12 (m, 1H, 31-CH)

MS (负离子FAB,  $m/z$ ): 1027.4 $[\text{M}]^-$ , 589.3.

##### 步骤B. 31-O-(三乙基甲硅烷基)-42-氧代雷帕霉素

30 于氮气氛围下，将31-O-(三乙基甲硅烷基)雷帕霉素( $17.32\text{g}$ ,  $16.84\text{mmol}$ )和Dess-Martin高碘化剂(periodinane)( $8.65\text{g}$ ,  $20.35\text{mmol}$ )于无水二氯甲烷( $150\text{ml}$ )中的混合物搅拌5小时。将所述混合物过滤，滤液用乙酸乙酯

(500ml)稀释并用水(3 × 250ml)和盐水(1 × 100ml)洗涤,干燥(MgSO<sub>4</sub>)并蒸发至干。将粗产物预先吸附于硅胶Merck-60柱上并用己烷-乙酸乙酯95:5和7:2进行闪式色谱,得到纯的所述标题产物,产率为64.9%。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 0.42-0.48 (m, 9H), 0.80-0.83 (m, 6H), 1.61 (3H, 6-CH<sub>3</sub>C=C), 1.77 (3H, 30-CH<sub>3</sub>C=C), 3.04 (3H, 41-OCH<sub>3</sub>), 3.16 (3H, 7-OCH<sub>3</sub>), 3.28 (3H, 32-CH<sub>3</sub>O), 3.90 (m, 1H, 41-CH).

MS (负离子FAB, m/z): 1025.3[M]<sup>-</sup>,

## 实施例2

### 10 42-脱氧-42-(羟基亚氨基)雷怕霉素 制备方法A

于氮气氛围下,将42-脱氧雷怕霉素(0.183g,0.22mmol;经美国专利5,023,263中所述方法制得)、羟胺盐酸盐(0.0143g,0.22mmol)和乙酸钠(0.025g,0.3mmol)于甲醇(5ml)中的混合物搅拌15分钟。将所述混合物蒸发至干并将残余物经闪式色谱法纯化(Merck-60硅胶,用50%YHF的己烷溶液洗脱)。将纯化的流份合并,蒸发并将所得油状物于异丙醇/环己烷20:80中重结晶,得到E/Z异构体混合物形式的所述标题产物(0.075g,产率40%)。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 1.65 (3H, 6-CH<sub>3</sub>C=C), 1.75 (3H, 30-CH<sub>3</sub>C=C), 3.13 (3H, 41-OCH<sub>3</sub>), 3.34 (3H, 7-OCH<sub>3</sub>), 3.41 (3H, 32-OCH<sub>3</sub>)  
<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 215.28, 208.17, 169.26, 166.72, 158.83, 140.60, 140.07, 135.95, 135.67, 133.56, 130.18, 129.47, 126.62, 126.43, 98.48, 86.33, 84.73, 84.30, 78.90, 67.17, 59.29, 59.13, 57.51, 55.93, 55.88, 51.234, 46.58, 46.04, 44.19, 41.47, 40.65, 40.19, 38.93, 38.41, 37.71, 35.08, 33.78, 33.24, 32.05, 32.00, 31.82, 31.21, 30.92, 27.21, 27.05, 26.89, 25.27, 22.84, 21.97, 21.62, 21.46, 20.64, 16.32, 16.22, 16.09, 15.99, 14.74, 13.60, 13.18, 13.10, 10.33, 10.15

MS (负离子FAB, m/z): 926[M]<sup>-</sup>, 590, 334

元素分析C<sub>51</sub>H<sub>78</sub>N<sub>2</sub>O<sub>13</sub>:

计算值: C, 66.07; H, 8.48; N, 3.02;

30 实测值: C, 66.25; H, 8.67; N, 3.03

制备方法B

步骤A.31-O-(三乙基甲硅烷基)-42-脱氧-42-(羟基亚氨基)雷怕霉素

于无水条件下, 将实施例1中31-O-(三乙基甲硅烷基)-42-氧代雷怕霉素(0.105g, 0.102mmol)、羟胺盐酸盐(7.6mg, 0.109mmol)和乙酸钠(12.5mg, 0.153mmol)于无水甲醇(5ml)中的混合物搅拌30分钟。将所述混合物过滤并将滤液蒸发至干。残余物再溶于乙酸乙酯(50ml), 用水(2 × 50ml)和盐水(1 × 50ml)洗涤, 干燥(MgSO<sub>4</sub>)并蒸发至干, 得到E/Z异构体混合物形式的所述标题产物(0.114g, 产率94%)。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 0.47-0.55 (m, 9H), 0.84-0.88 (m, 6H), 1.65 (3H, 6-CH<sub>3</sub>C=C), 1.75 (3H, 30-CH<sub>3</sub>C=C), 3.14 (3H, 41-OCH<sub>3</sub>), 3.26 (3H, 7-OCH<sub>3</sub>), 3.44 (3H, 32-OCH<sub>3</sub>)

10 MS (负离子FAB, m/z): 1040.7[M]<sup>-</sup>.

步骤B.42-脱氧-42-(羟基亚氨基)雷怕霉素

于0℃氮气氛下, 将31-O-(三乙基甲硅烷基)-42-脱氧-42-(羟基亚氨基)雷怕霉素(1g, 0.974mmol)的20ml 10%对甲苯磺酸甲醇溶液的溶液搅拌1小时。所述溶液用乙酸乙酯稀释并用5%NaHCO<sub>3</sub>水溶液使其骤冷。有机层用水和盐水洗涤, 干燥(MgSO<sub>4</sub>)并蒸发至干, 得到与制备方法A中所述产物相同的所述标题产物(0.812g, 产率89.9%)。

在常规药理学试验方法中所得试验结果如下:

LAF IC<sub>50</sub>: 3.88 nM

LAF比: 0.85

20 皮肤移植物存活时间: 10.8±0.4

### 实施例3

42-脱氧-42-(羟基氨基)雷怕霉素

于0℃氮气氛下30分钟内, 向实施例2制备方法B步骤A中的31-O-(三乙基甲硅烷基)-42-脱氧-42-(羟基亚氨基)雷怕霉素(2.08g, 2mmol)的无水甲醇(75ml)溶液中同时加入1N氟基硼氢化钠的四氢呋喃溶液(2ml)和4N HCl二噁烷溶液, 维持pH在3.5。将混合物搅拌30分钟, 用EtOAc稀释并用2.5%NaHCO<sub>3</sub>(100ml)、水(2 × 250ml)和盐水(1 × 250ml)洗涤, 干燥(MgSO<sub>4</sub>)并蒸发至干, 得到异构体混合物形式的所述标题产物(0.763g, 产率41%)。

30 <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 1.60 和 1.63 (3H, 6-CH<sub>3</sub>C=C), 1.72 和 1.74 (3H, 30-CH<sub>3</sub>C=C), 3.09 and 3.11 (3H, 41-OCH<sub>3</sub>), 3.28, 3.32, 3.34 和 3.36 (6H, 7- 和 32-OCH<sub>3</sub>)

MS (负离子FAB, m/z): 928.4[M]<sup>-</sup>, 590.3, 336.6

元素分析C<sub>51</sub>H<sub>80</sub>N<sub>2</sub>O<sub>13</sub>:

计算值: C, 65.92; H, 8.68; N, 3.01;

实测值: C, 65.36; H, 8.53; N, 2.82.

5 在常规药理学试验方法中所得试验结果如下:

LAF IC<sub>50</sub>: 5.60 nM

LAF比: 0.18

皮肤移植物存活时间: 9.6±0.0

在佐剂诱导的关节炎试验中相对于对照的百分变化为: -84%

10

#### 实施例4

42-脱氧-42-氧代雷怕霉素-42-O-氨基甲酰基肟

15 氮气氛下, 将实施例2中的42-脱氧-42-(羟基亚氨基)雷怕霉素(0.813g, 0.876mmol)、氰酸钠(0.228g, 3.5)、冰醋酸(8ml)和水(8ml)的混合物搅拌1.5小时。所述混合物用乙酸乙酯(100ml)稀释并用NaHCO<sub>3</sub>使其骤冷。有机层用水和盐水洗涤, 干燥(MgSO<sub>4</sub>)并蒸发至干。将粗产物溶于二氯甲烷, 预先吸附于硅胶Merck-60上并经闪式色谱法纯化(梯度液为50%乙酸乙酯的己烷溶液至纯乙酸乙酯), 得到E/Z异构体混合物形式的所述标题产物(0.289g, 产率34%)。

20

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 1.66 (3H, 6-CH<sub>3</sub>C=C), 1.75 (3H, 30-CH<sub>3</sub>C=C), 3.14 (3H, 41-OCH<sub>3</sub>), 3.33 (3H, 7-OCH<sub>3</sub>), 3.43 (3H, 32-OCH<sub>3</sub>)

25

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 215.17, 208.11, 169.67, 169.30, 166.73, 164.31, 164.25, 156.37, 156.33, 140.05, 138.34, 137.28, 136.07, 135.78, 135.09, 133.51, 133.25, 132.17, 130.61, 130.22, 130.05, 129.40, 127.33, 126.81, 126.66, 126.57, 126.44, 125.76, 125.50, 125.22, 98.70, 98.50, 84.73, 84.34, 84.28, 82.70, 78.92, 68.91, 67.21, 59.29, 57.93, 57.82, 56.34, 56.31, 56.16, 56.09, 55.85, 55.56, 52.00, 51.25, 46.55, 46.06, 45.68, 44.54, 44.18, 41.92, 41.83, 41.48, 41.40, 41.26, 41.14, 41.01, 40.88, 40.57, 40.42, 40.35, 40.19, 39.77, 39.30, 39.17, 38.97, 38.83, 38.66, 38.59, 37.98, 37.45, 37.26, 35.53, 35.13, 34.88, 34.79, 34.72, 34.57, 33.83, 33.49, 33.37, 33.31, 33.24, 32.19, 32.03, 31.98, 31.85, 31.70, 31.64, 31.20, 27.35, 27.21, 27.03, 26.80, 25.23, 25.04, 24.45, 24.31, 21.62, 21.51, 21.37, 20.99, 20.74, 20.63, 16.69, 16.30, 16.18, 15.95, 15.80, 15.71, 15.03, 14.57, 13.88, 13.64, 13.18, 13.13, 13.07, 10.16

30

MS (负离子FAB, m/z): 969.8[M]<sup>-</sup>, 925.8[M-CONH<sub>2</sub>]<sup>1</sup>, 590.6.

在常规药理学试验方法中所得试验结果如下:

LAF IC<sub>50</sub>: 2.00 nM

LAF比: 0.25

皮肤移植物存活时间: 9.5±1.1

5

#### 实施例5

42-脱氧-42-氧代雷帕霉素 42-[O-(吡啶-2-基甲基)]-𧀂

除了用O-(吡啶-2-基甲基)羟胺二盐酸盐代替羟胺盐酸盐以外, 按照实施例2制备方法B制得所述标题化合物(产率71.1%).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 1.654 (3H, 6-CH<sub>3</sub>C=C), 1.751 (3H, 30-CH<sub>3</sub>C=C), 3.138 (3H, 41-OCH<sub>3</sub>), 3.334 (3H, 7-OCH<sub>3</sub>), 3.338 (3H, 32-OCH<sub>3</sub>), 7.17-8.58 (m, 4H, Harom).

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 158.96 (42-C=NO-)

MS (负离子FAB, m/z): 1017.5[M]<sup>-</sup>, 590.4, 425.3.

在常规药理学试验方法中所得试验结果如下:

15 LAF IC<sub>50</sub>: 1.50 nM

LAF比: 0.40

皮肤移植物存活时间: 7.8±0.8

在佐剂诱导的关节炎试验中相对于对照的百分变化为: -53%

#### 实施例6

20 42-脱氧-42-氧代雷帕霉素 42-[O-(吡啶-4-基甲基)]-𧀂

除了用O-(吡啶-4-基甲基)羟胺二盐酸盐代替羟胺盐酸盐以外, 按照实施例2制备方法B制得所述标题化合物(产率34.5%).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 1.653 (3H, 6-CH<sub>3</sub>C=C), 1.753 (3H, 30-CH<sub>3</sub>C=C), 3.153 (3H, 41-OCH<sub>3</sub>), 3.29 (2x3H, 7-OCH<sub>3</sub> 和 32-OCH<sub>3</sub>), 7.2 (m, 2H, Harom), 8.52 (m, 2H, Harom).

25 MS (负离子FAB, m/z): 1017.2[M]<sup>-</sup>, 590.2, 425.1.

在常规药理学试验方法中所得试验结果如下:

LAF IC<sub>50</sub>: 1.80 nM

LAF比: 0.31

30 皮肤移植物存活时间: 8.0±0.9

#### 实施例7

42-脱氧-42-氧代雷帕霉素 42-[O-(叔丁基)]-𧀂

除了用O-(叔丁基)-羟胺盐酸盐代替羟胺盐酸盐以外, 按照实施例2  
制备方法B制得所述标题化合物(产率25.6%).

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta$  1.28 (9H, tert-butyl), 1.654 (3H, 6- $\text{CH}_3\text{C}=\text{C}$ ),  
1.75 (3H, 30- $\text{CH}_3\text{C}=\text{C}$ ), 3.136 (3H, 41- $\text{OCH}_3$ ), 3.336 (3H, 7- $\text{OCH}_3$ ), 3.37 (3H,  
32- $\text{OCH}_3$ )

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta$  155.89 (42-C=NO-)

MS (负离子FAB, m/z): 982.5[M]<sup>-</sup>, 590.3, 390.2.

在常规药理学试验方法中所得试验结果如下:

LAF: 0.1  $\mu\text{M}$ 时, 抑制率为49%.

#### 实施例8

42-脱氧-42-氧代雷帕霉素 42-[O-(苯基甲基)]-肟

除了用O-(苯基甲基)羟胺盐酸盐代替羟胺盐酸盐以外, 按照实施例2  
制备方法B制得所述标题化合物(产率29.9%).

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta$  1.652 (3H, 6- $\text{CH}_3\text{C}=\text{C}$ ), 1.747 (3H, 30- $\text{CH}_3\text{C}=\text{C}$ ),  
3.136 (3H, 41- $\text{OCH}_3$ ), 3.332 (3H, 7- $\text{OCH}_3$ ), 3.35 (3H, 32- $\text{OCH}_3$ ), 5.134 (2H,  
=NOCH<sub>2</sub>-, at C-42), 7.27-7.37 (m, 5H, Harom)

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta$  158.48 (42-C=NO-)

MS (负离子FAB, m/z): 1016.2[M]<sup>-</sup>, 590.2, 424.1.

在常规药理学试验方法中所得试验结果如下:

LAF IC<sub>50</sub>: 21.67 nM

LAF比: 0.03

#### 实施例9

42-脱氧-42-氧代雷帕霉素 42-(O-烯丙基)-肟

除了用O-(烯丙基)-羟胺盐酸盐代替羟胺盐酸盐以外, 按照实施例2  
制备方法B制得所述标题化合物(产率57.1%).

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta$  1.655 (3H, 6- $\text{CH}_3\text{C}=\text{C}$ ), 1.751 (3H, 30- $\text{CH}_3\text{C}=\text{C}$ ),  
3.139 (3H, 41- $\text{OCH}_3$ ), 3.336 (3H, 7- $\text{OCH}_3$ ), 3.395 (3H, 32- $\text{OCH}_3$ ), 4.60 (m, 2H,  
=NOCH<sub>2</sub>C=, at C-42), 5.17-5.31 (m, 2H, -C=CH<sub>2</sub>, at C-42), 5.94-6.03 (m, 1H,  
-CCH=C-, at C-42).

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta$  158.1 (42-C=N-O-)

MS (负离子FAB, m/z): 966.5[M]<sup>-</sup>, 590.3, 374.2.

在常规药理学试验方法中所得试验结果如下:

LAF: 0.1  $\mu$ M时, 抑制率为43%.

#### 实施例10

42-脱氧-42-氧代雷帕霉素 42-[O-(丙-2-炔基)]-肟

- 5 除了用O-(丙-2-炔基)羟胺盐酸盐代替羟胺盐酸盐以外, 按照实施例2制备方法B制得所述标题化合物(产率35.4%).

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta$  1.66 (3H, 6- $\text{CH}_3\text{C}=\text{C}$ ), 1.75 (3H, 30- $\text{CH}_3\text{C}=\text{C}$ ), 3.13 (3H, 41- $\text{OCH}_3$ ), 3.33 (3H, 7- $\text{OCH}_3$ ), 3.415 (3H, 32- $\text{OCH}_3$ ), 4.69 (2H, = $\text{NOCH}_2\text{C}$  at C-42)

10  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta$  159.5 (42-C= $\text{NO}$ -)

MS (负离子FAB,  $m/z$ ): 964.2 $[\text{M}]^-$ , 590.2, 372.1.

在常规药理学试验方法中所得试验结果如下:

LAF  $\text{IC}_{50}$ : 8.13 nM

LAF比: 0.08

- 15 皮肤移植物存活时间:  $8.0 \pm 1.1$

#### 实施例11

42-脱氧-42-[O-(吡啶-4-基甲基)]-羟氨基雷帕霉素

- 20 除了用实施例6中的42-脱氧-42-氧代雷帕霉素 42-[O-(吡啶-4-基甲基)]-肟代替31-O-(三乙基甲硅烷基)-42-脱氧-42-羟基亚氨基雷帕霉素以外, 按照实施例3制得所述标题化合物.

MS (负离子FAB,  $m/z$ ): 1019.5 $[\text{M}]^-$ .