



(10) 授权公告号 CN 116323632 B

(45) 授权公告日 2024.12.31

(21) 申请号 202180066848.2

(22) 申请日 2021.08.09

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 116323632 A

(43) 申请公布日 2023.06.23

(30) 优先权数据
63/063655 2020.08.10 US
63/175771 2021.04.16 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2023.03.29

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2021/045205 2021.08.09

(87) PCT国际申请的公布数据
W02022/035752 EN 2022.02.17

(73) 专利权人 伊利诺伊大学评议会
地址 美国伊利诺伊州

(72) 发明人 M·D·伯克 A·马吉

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
专利代理师 童春媛 彭昶

(51) Int.Cl.
C07H 17/08 (2006.01)
A61K 31/7048 (2006.01)
A61P 31/10 (2006.01)

(56) 对比文件
US 2003040493 A1, 2003.02.27
US 2019135847 A1, 2019.05.09

审查员 王少华

权利要求书3页 说明书41页 附图41页

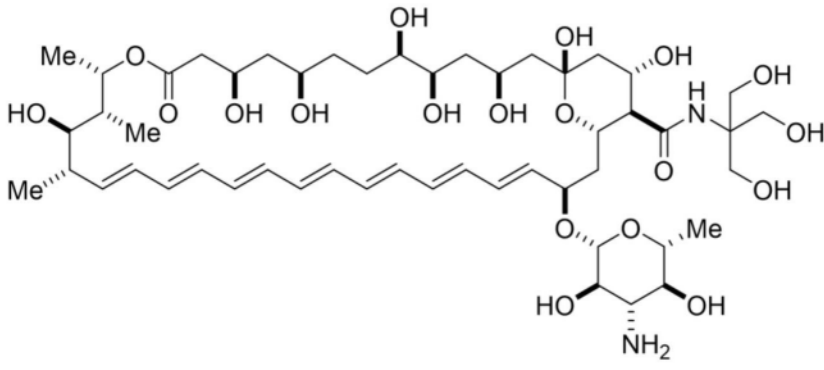
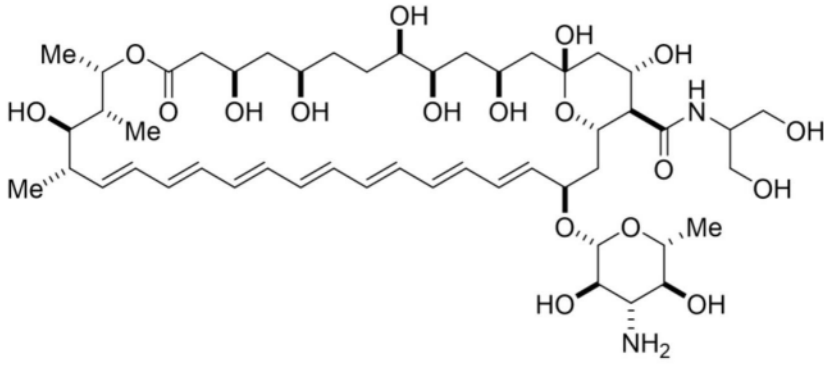
(54) 发明名称

两性霉素B的杂交酰胺衍生物

(57) 摘要

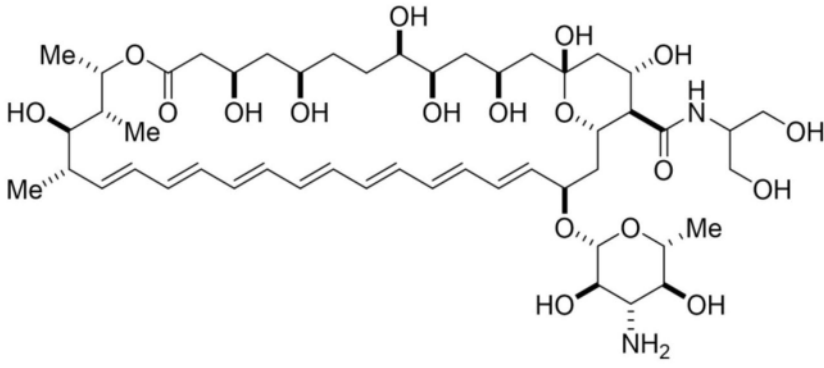
公开了C2'-表-两性霉素B(C2'epiAmB)的C16酰胺衍生物和其盐,其特征在于与AmB相比提高了临床功效并降低了毒性。还公开了包含所公开的化合物或其盐中的任一种的药物组合物,以及所述药物组合物的治疗方法和治疗用途。

1. 一种化合物,其选自由以下组成的组:



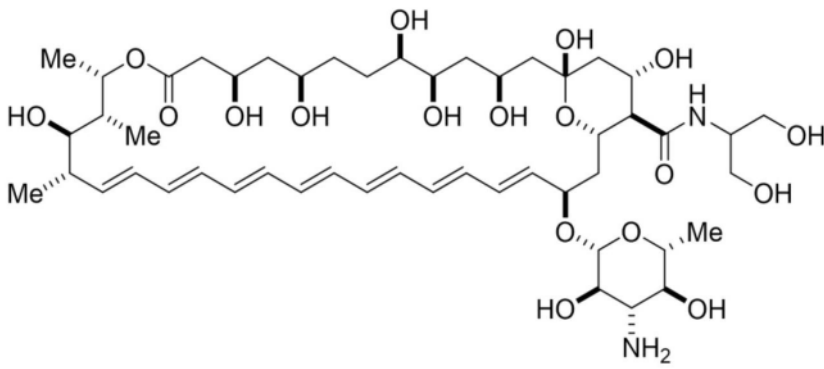
或其药学上可接受的盐。

2. 如权利要求1所述的化合物,其中所述化合物为:

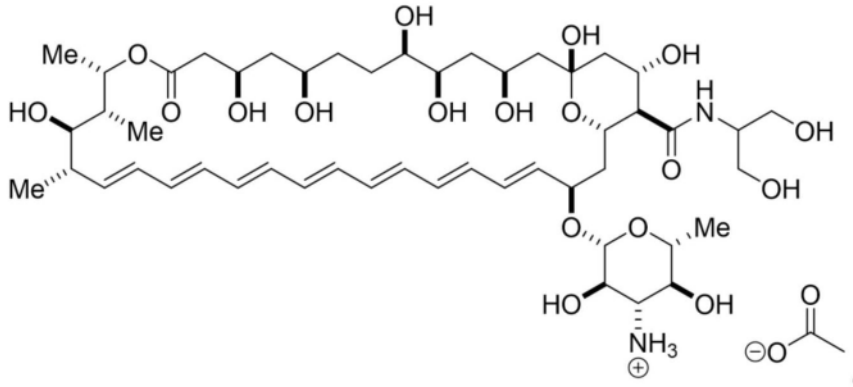


或其药学上可接受的盐。

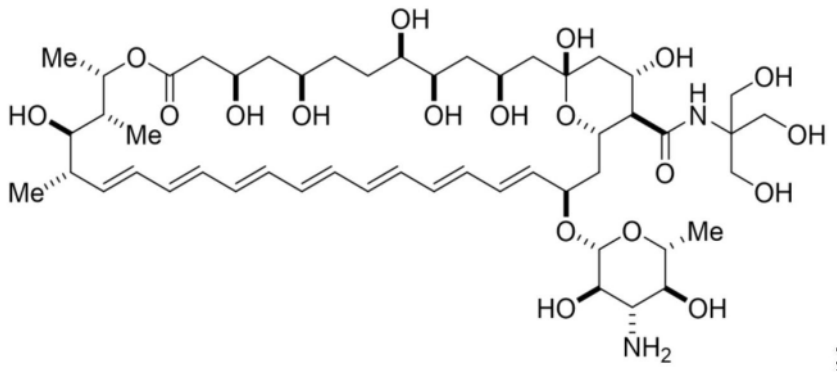
3. 如权利要求1所述的化合物,其中所述化合物为:



4. 如权利要求1所述的化合物,其中所述化合物为:

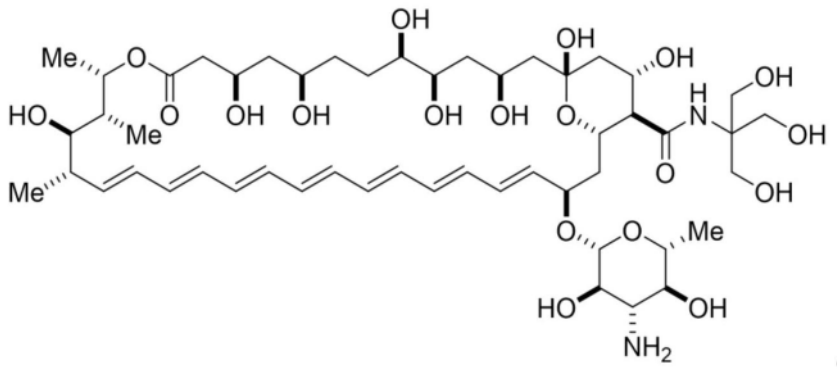


5. 如权利要求1所述的化合物,其中所述化合物为:

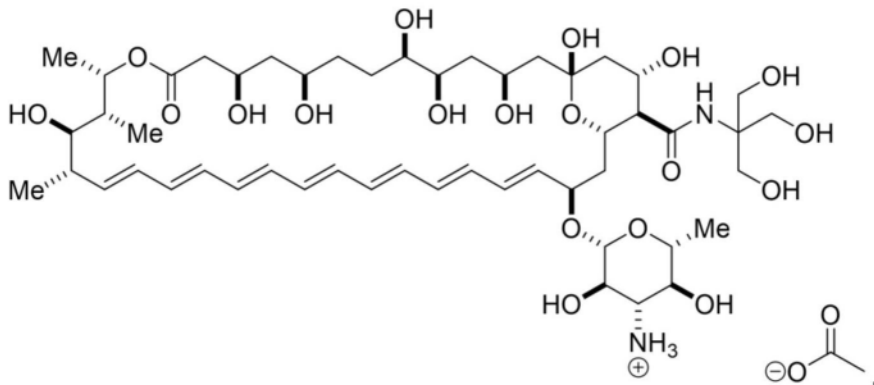


或其药学上可接受的盐。

6. 如权利要求1所述的化合物,其中所述化合物为:



7. 如权利要求1所述的化合物,其中所述化合物为:



8. 一种药物组合物,其包含如权利要求1-7中任一项所述的化合物;以及药学上可接受

的载体。

9. 如权利要求8所述的药物组合物,其中所述药物组合物是静脉内注射剂型。

10. 如权利要求8所述的药物组合物,其中所述药物组合物是口服剂型。

11. 如权利要求1-7中任一项所述的化合物在制造用于治疗真菌感染的药剂中的用途,所述治疗包括向有需要的受试者施用治疗有效量的如权利要求1-7中任一项所述的化合物。

12. 如权利要求11所述的用途,其中所述化合物是静脉内施用的。

13. 如权利要求11所述的用途,其中所述化合物是口服施用的。

两性霉素B的杂交酰胺衍生物

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2020年8月10日提交的美国临时专利申请号63/063,655和2021年4月16日提交的美国临时专利申请号63/175,771的优先权益。

[0003] 政府支持

[0004] 本发明是在美国国家卫生研究所(National Institutes of Health)授予的授权号AI135812的政府支持下产生的。政府对本发明享有一定的权利。

[0005] 发明背景

[0006] 侵袭性真菌感染的发病率和死亡率都是显著的,并且主要由两个真菌病原体属引起:念珠菌属(*Candida*)和曲霉属(*Aspergillus*)。念珠菌属物种是所有血流感染中分离的第4大最常见的病原体。用于侵袭性念珠菌病的治疗具有有限的成功率(50%-70%),并且这通常仅在最健康的患者中。侵袭性念珠菌病的归因死亡率显著(20%-30%)。由烟曲霉(*A.fumigatus*)引起的侵袭性曲霉病的发生率在过去十年中增加了三倍,并且其死亡率增加了300%以上。此外,目前对侵袭性曲霉病的治疗具有较低(40%-50%)的治疗成功率。侵袭性曲霉病一直是免疫缺陷患者的主要杀手。此外,侵袭性霉菌感染(镰刀菌病、赛多孢子菌病和毛霉菌病)具有甚至更高的死亡率并且没有有效的治疗选择。目前指南推荐的针对侵袭性曲霉病以及大多数其他侵袭性霉菌感染的一线治疗是三唑抗真菌伏立康唑。然而,在一些地区和某些高危患者组中,曲霉菌属中对三唑的抗性高达30%。认识到这种缺乏有效的治疗,美国传染病协会(Infectious Diseases Society of America)强调了烟曲霉是仅有的六种“迫切需要取得实质性突破”的病原体之一。

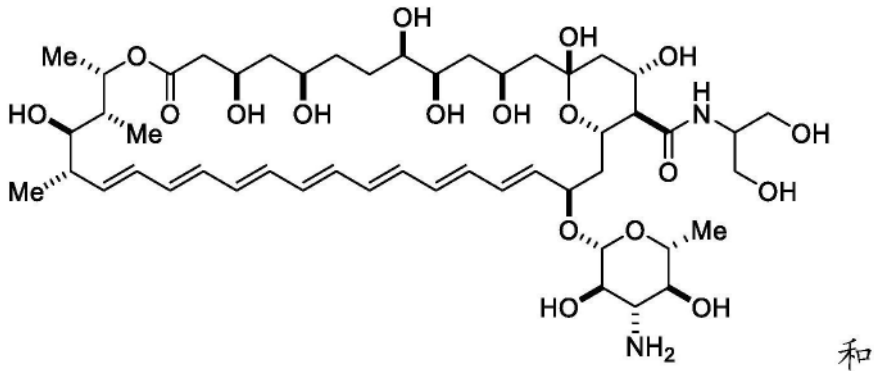
[0007] 两性霉素B(AmB)是一个非常具有前途的起点,因为这种药物对广泛范围的真菌病原体具有强大且剂量依赖性杀真菌活性,并且在半个多世纪以来都没有出现抗性。与抑真菌活性相反,AmB的杀真菌活性对缺乏帮助清除感染的稳健的免疫系统的免疫缺陷患者至关重要。当病原体身份未知并且需要进行立即经验性疗法时,广泛的抗真菌活性对危重患者尤为重要。一个国际专家小组最近授权,需要以AmB为中心的,而没有抗性问题的新型治疗方法。问题是AmB的毒性特别大,这限制了它只能用于通常无法根除疾病的低剂量方案。

[0008] 半个世纪以来,这个领域都没有实现对AmB的新范式转换的机制理解。先前的研究报告了AmB与固醇的结合,所述结合被认为主要是驱动膜透化孔的形成以杀死真菌和人细胞两者。经过10年的密集成,能够对这种天然产物进行原子性的审问,并进行前沿SSNMR实验,也有人发现AmB主要通过形成杀细胞膜外固醇海绵来杀死真菌和人细胞两者。这种大聚集体位于脂质双层的表面上并迅速提取膜固醇,从而导致细胞死亡。不需要膜透化。基于这种新机制和日益精炼的结构信息,有人提出基于小分子的配体选择性别构效应可优于胆固醇选择性结合麦角固醇。在所述模型的指导下,以新衍生物C2'epiAmB的形式消除了胆固醇结合,并从而实现了哺乳动物的毒性的消除。

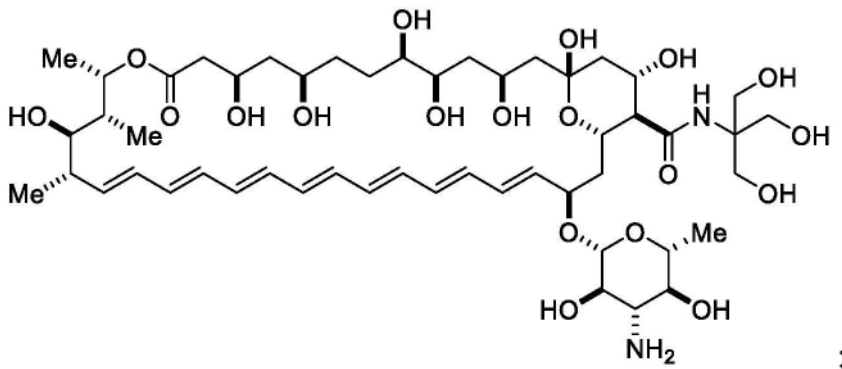
[0009] 然而,C2'epiAmB的一个局限性是相对缺乏对许多临床相关酵母菌和霉菌的效力。一种保留有效、广谱和回避抗性的杀真菌活性但缺乏剂量限制性毒性的AmB衍生物将使新的高剂量治疗范式成为可能,并提高临床功效。

[0010] 发明概述

[0011] 在某些方面,本文提供了一种选自由以下组成的组的化合物:



[0012]



[0013] 或其药学上可接受的盐。

[0014] 在其他方面,本文提供了包含所公开的化合物或其药学上可接受的盐中的一种;以及药学上可接受的载剂的药物组合物。

[0015] 在又其他方面,本文提供了治疗真菌感染的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的所公开的化合物或其药学上可接受的盐,从而治疗真菌感染。

[0016] 在再其他方面,本文提供了所公开的化合物或其药学上可接受的盐在制造用于治疗真菌感染的药剂中的用途。

[0017] 在某些方面,本文提供了用作药剂并用于治疗真菌感染的化合物和药物组合物。

[0018] 附图简述

[0019] 图1A-1B描绘了使用化合物1进行的体外安全性研究的结果。

[0020] 图2描绘了化合物1的体内小鼠药代动力学数据。

[0021] 图3描绘了高剂量施用后化合物1的血清浓度。

[0022] 图4A-4C描绘了化合物1的表征数据;¹H NMR参数:500MHz,吡啶-d₅:CD₃OD(1:1)。

[0023] 图5A-5B描绘了化合物2的表征数据。

[0024] 图6描绘了使用DMSO、AmB、EpiAmB(C2' epiAmB)和化合物1对白色念珠菌(*Candida albican*)进行杀伤动力学测定的结果。

[0025] 图7描绘了与盐水和AmB相比,用不同剂量的化合物1治疗的小鼠的白色念珠菌的CFU差异;*= $p < 0.05$;****= $p < 0.001$ 。

[0026] 图8描绘了与盐水和AmB相比,用不同剂量的化合物3治疗的小鼠的白色念珠菌的CFU差异;NS=不显著($p > 0.05$);****= $p < 0.001$ 。

[0027] 图9描绘了与盐水和AmB相比,用不同剂量的化合物3治疗的小鼠的侵袭性念珠菌病的CFU差异;除非另外说明,否则直接相对于媒介物进行Kruskal-Wallis检验24h:NS=不显著($p>0.05$);** $p<0.01$ *** $p<0.005$,**** $p<0.001$ 。

[0028] 图10描绘了与盐水和AmB相比,用不同剂量的化合物3治疗的小鼠的耳念珠菌CFU的差异;NS=不显著($p>0.05$);**= $p<0.01$;***= $p<0.005$ 。

[0029] 图11描绘了与盐水和AmB相比,用不同剂量的化合物3治疗的小鼠的烟曲霉CFU的差异;除非另外说明,否则直接相对于媒介物进行Kruskal-Wallis检验24h:NS=不显著($p>0.05$);** $p<0.01$ *** $p<0.005$,**** $p<0.001$ 。

[0030] 图12A描绘了化合物3在小鼠体内的血浆浓度。

[0031] 图12B描绘了化合物3在大鼠体内的血浆浓度。

[0032] 图12C描绘了化合物3在狗体内的血浆浓度。

[0033] 图12D描绘了化合物3在灵长类动物体内的血浆浓度。

[0034] 图13描绘了Wajima叠加以预测化合物3的人浓度-时间曲线。

[0035] 图14描绘了化合物1和化合物3的溶血百分比。

[0036] 图15A描绘了施用化合物3后的BUN水平。

[0037] 图15B描绘了施用化合物3后的胆固醇水平。

[0038] 图15C描绘了施用化合物3后的肌酐水平。

[0039] 图16描绘了施用化合物3后的基因表达变化。

[0040] 图17A描绘了接种烟曲霉并用盐水、化合物3或AmB治疗的小鼠的组平均每日体重。

[0041] 图17B描绘了接种烟曲霉并用盐水、化合物3或AmB治疗的小鼠相对于感染日的组平均每日体重。

[0042] 图18A描绘了接种白色念珠菌并用盐水、化合物3或AmB治疗的小鼠的组平均每日体重。

[0043] 图18B描绘了接种白色念珠菌并用盐水、化合物3或AmB治疗的小鼠相对于感染日的组平均每日体重。

[0044] 图19A-19D描绘了化合物3的表征数据; ^1H NMR参数:500MHz,吡啶- d_5 : $\text{CD}_3\text{OD}(1:1)$; ^{13}C NMR参数:126MHz,吡啶- d_5 : $\text{CD}_3\text{OD}(1:1)$ 。

[0045] 图20A-20D描绘了使用化合物3的体外耐受性研究的结果。图20A:神经毒性;图20B:肝脏毒性;图20C:心脏毒性;和图20D:血液毒性。

[0046] 图21A-21G描绘了化合物3在小鼠中的体内耐受性研究。

[0047] 图22描绘了化合物3在小鼠中对抗肺曲霉病的体内功效。

[0048] 图23描绘了化合物3在小鼠中对抗肺曲霉病的体内耐受性。

[0049] 图24A-24D描绘了化合物4的表征数据; ^1H NMR参数:500MHz,吡啶- d_5 : $\text{CD}_3\text{OD}(1:1)$; ^{13}C NMR参数:126MHz,吡啶- d_5 : $\text{CD}_3\text{OD}(1:1)$ 。

[0050] 发明详述

[0051] 两性霉素B(AmB)是一种带有海藻糖胺附属物的多烯大环内酯,所述化合物具有以下结构:

[0058] 酵母菌是属于真菌界的真核生物体。真菌包括酵母菌、霉菌和更大的生物体,包括菇类。酵母菌和霉菌作为病原体具有临床相关性。酵母菌通常描述为真菌的萌芽形式。与本发明相关的特别重要的是可在哺乳动物宿主中引起感染的酵母菌物种。此类感染最常发生在免疫缺陷宿主中,包括感染屏障受损的宿主(例如烧伤受害者)和免疫系统受损的宿主(例如正在接受化疗或免疫抑制治疗的宿主,以及感染HIV的宿主)。致病酵母菌包括但不限于念珠菌属以及隐球菌属的各种物种。在念珠菌属的致病酵母菌中,特别值得注意的是白色念珠菌、热带念珠菌(*C.tropicalis*)、类星形念珠菌(*C.stellatoidea*)、光滑念珠菌(*C.glabrata*)、克鲁斯念珠菌(*C.krusei*)、近平滑念珠菌(*C.parapsilosis*)、高里念珠菌(*C.guilliermondii*)、维斯念珠菌(*C.viswanathii*)和葡萄牙念珠菌(*C.lusitaniae*)。隐球菌属具体包括新型隐球菌(*Cryptococcus neoformans*)。酵母菌可引起粘膜感染,例如人的口腔、食道和阴道感染,以及骨骼、血液、泌尿生殖道和中枢神经系统的感染。所述清单是示例性的并且不以任何方式进行限制。

[0059] 许多真菌(酵母菌除外)可引起哺乳动物宿主感染。此类感染最常发生在免疫缺陷宿主中,包括感染屏障受损的宿主(例如烧伤受害者)和免疫系统受损的宿主(例如正在接受化疗或免疫抑制治疗的宿主,以及感染HIV的宿主)。致病真菌(酵母菌除外)包括但不限于曲霉属、根霉属(*Rhizopus*)、毛霉属、组织胞浆菌属、球孢子菌属、芽生菌属、发癣菌属、小孢子菌属和表皮癣菌属的物种。上述中特别值得注意的是烟曲霉、黄曲霉(*A.flavus*)、黑曲霉(*A.niger*)、荚膜组织胞浆菌(*H.capsulatum*)、粗球孢子菌(*C.immitis*)和皮炎芽生菌(*B.dermatitidis*)。真菌可引起肺、骨、血液、泌尿生殖道和中枢神经系统(仅举几例)的全身和深部组织感染。一些真菌会导致皮肤和指甲感染。

[0060] 定义

[0061] 下文更详细地描述了特定官能团和化学术语的定义。根据CAS版本的元素周期表, *Handbook of Chemistry and Physics*, 第75版, 内封面, 来鉴别化学元素, 并且通常如其中所述来定义特定的官能团。另外, 有机化学的一般原理, 以及特定官能部分和反应性在 Thomas Sorrell, *Organic Chemistry*, University Science Books, Sausalito, 1999; Smith和March, *March's Advanced Organic Chemistry*, 第5版, John Wiley& Sons, Inc., New York, 2001; Larock, *Comprehensive Organic Transformations*, VCH Publishers, Inc., New York, 1989; 以及 Carruthers, *Some Modern Methods of Organic Synthesis*, 第3版, Cambridge University Press, Cambridge, 1987中进行描述。

[0062] 本文所描述的化合物可包含一个或多个不对称中心, 并因此可以各种异构体形式(例如对映异构体和/或非对映异构体)存在。举例来说, 本文所描述的化合物可呈个别对映异构体、非对映异构体或几何异构体的形式, 或可呈立体异构体混合物, 包括外消旋混合物和富含一种或多种立体异构体的混合物的形式。异构体可通过本领域技术人员已知的方法, 包括手性高压液相色谱(HPFC)以及手性盐的形成和结晶而从混合物中分离; 或优选的异构体可通过不对称合成来制备。参见例如 Jacques等人, *Enantiomers, Racemates and Resolutions* (Wiley Interscience, New York, 1981); Wilen等人, *Tetrahedron* 33:2725 (1977); Eliel, *Stereochemistry of Carbon Compounds* (McGraw-Hill, NY, 1962); 以及 Wilen, *Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions* 第268页 (E.F. Eliel, 编, Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN 1972)。

[0063] 本发明另外涵盖呈基本上不含其他异构体的个别异构体和替代地,呈各种异构体的混合物的本文所描述的化合物。

[0064] 以下术语意图具有以下所呈现的含义并且有助于理解本发明的描述和预期范围。当描述可能包括化合物、含有此类化合物的药物组合物以及使用此类化合物和组合物的方法的本发明时,除非另外说明,否则以下术语(如果存在)具有以下含义。还应理解,当在本文中描述时,下文所定义的部分中的任一个可被多种取代基取代,并且各别定义意图将此类似取代的部分包括在如下所列的它们的范围内。除非另外说明,否则术语“取代的”如下定义。还应理解,术语“基团”和“自由基”在本文中使用时可认为是可互换的。冠词“一个(种)(a/an)”在本文中可用来是指冠词的一个或多个(即至少一个)语法对象。举例来说,“一种类似物”意指一种类似物或多于一种类似物。

[0065] “药学上可接受的”意指由联邦监管机构或州政府或美国以外国家的对应机构批准或可批准的,或者在美国药典(U.S.Pharmacopoeia)或其他通常认可的药典上列出,以用于动物并且更具体地用于人。

[0066] “药学上可接受的盐”是指本发明化合物的盐,其为药学上可接受的并且具有母体化合物所需的药理学活性。特别地,此类盐是无毒的,可以是无机盐或有机酸加成盐和碱加成盐。特别地,此类盐包括:(1)用无机酸形成的酸加成盐,所述无机酸诸如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等;或用有机酸形成的酸加成盐,所述有机酸诸如乙酸、丙酸、己酸、环戊烷丙酸、乙醇酸、丙酮酸、乳酸、丙二酸、丁二酸、苹果酸、顺丁烯二酸、延胡索酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、3-(4-羟基苯甲酰基)苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、甲磺酸、乙磺酸、1,2-乙二磺酸、2-羟基乙磺酸、苯磺酸、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-甲酸、葡庚糖酸、3-苯基丙酸、三甲基乙酸、叔丁基乙酸、月桂基硫酸、葡萄糖酸、谷氨酸、羟基萘甲酸、水杨酸、硬脂酸、粘康酸等;或(2)当母体化合物中存在的酸性质子被金属离子(例如碱金属离子、碱土离子或铝离子)替换时形成的盐;或与有机碱(乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、N-甲基葡萄糖胺等)络合形成的盐。盐还包括,仅举例来说,钠钾盐、钙盐、镁盐、铵盐、四烷基铵盐等;当化合物含有碱性官能团时,无毒的有机或无机酸盐,诸如盐酸盐、氢溴酸盐、酒石酸盐、甲磺酸盐、乙酸盐、顺丁烯二酸盐、草酸盐等。

[0067] “药学上可接受的阳离子”是指酸性官能团的可接受的阳离子抗衡离子。此类阳离子的例子有钠、钾、钙、镁、铵、四烷基铵阳离子等(参见,例如,Berge等人,J.Pharm.Sci.66(1):1-79(Jan.77))。

[0068] “药学上可接受的媒介物”是指与本发明的化合物一起施用的稀释剂、佐剂、赋形剂或载剂。

[0069] 考虑施用的“受试者”包括但不限于人(即任何年龄组的男性或女性,例如儿科受试者(例如婴儿、儿童、青少年)或成人受试者(例如青年人、中年人或老年人)和/或非人类动物,例如哺乳动物,诸如灵长类动物(例如食蟹猴、恒河猴)、牛、猪、马、绵羊、山羊、啮齿动物、猫和/或狗。在某些实施方案中,受试者是人。在某些实施方案中,受试者是非人动物。术语“人”、“患者”和“受试者”在本文中可互换地使用。

[0070] “有效量”意指当向受试者施用以治疗或预防疾病时足以实现此类治疗或预防的化合物的量。“有效量”可根据化合物、疾病和其严重程度以及待治疗受试者的年龄、体重等而变化。“治疗有效量”意指用于治疗性治疗的有效量。“防治有效量”意指防治性治疗的有

效量。

[0071] “预防 (preventing/prevention)”或“防治性治疗”是指降低获得或罹患疾病或病症的风险(即,在尚未接触致病原或在发病前易感疾病的受试者中导致未发生的疾病的至少一种临床症状)。

[0072] “防治”与“预防”相关,并且是指以预防而非治疗或治愈疾病为目的的措施或程序。防治措施的非限制性实例可包括施用疫苗;向例如由于不动而有血栓形成风险的医院患者施用低分子量肝素,以及在访问疟疾流行或感染疟疾风险高的地理区域之前,施用抗疟疾剂,诸如氯喹。

[0073] 在一个实施方案中,任何疾病或病症的“治疗 (treating/treatment)”或“治疗性治疗”是指改善疾病或病症(即,遏制疾病或减轻其至少一种临床症状的表现、范围或严重程度)。在另一个实施方案中,“治疗 (treating/treatment)”是指改善至少一个身体参数,这可能不会被受试者察觉。在又一个实施方案中,“治疗 (treating/treatment)”是指在身体上(例如可察觉症状的稳定)、生理学上(例如身体参数的稳定)或两种程度上调节疾病或病症。在另一个实施方案中,“治疗 (treating/treatment)”是指减缓疾病的进展。

[0074] 如本文所用,术语“同位素变体”是指在构成所述化合物的一个或多个原子处含有非天然比例的同位素的化合物。举例来说,化合物的“同位素变体”可含有一种或多种非放射性同位素,诸如氘(^2H 或D)、碳-13(^{13}C)、氮-15(^{15}N)等。应理解,在进行所述同位素取代的化合物中,以下原子(如果存在)可变化,因此例如任何氢可为 $^2\text{H}/\text{D}$,任何碳可为 ^{13}C ,或任何氮可为 ^{15}N ,并且这些原子的存在和位置可以在本领域的技术范围内确定。同样,本发明可包括用放射性同位素制备同位素变体,例如在这种情况下,所得化合物可用于药物和/或底物组织分布研究。放射性同位素氚,即 ^3H ,和碳-14,即 ^{14}C ,鉴于它们易于掺入和现成的检测手段,特别适用于此目的。此外,可制备用正电子发射同位素(诸如 ^{11}C 、 ^{18}F 、 ^{15}O 和 ^{13}N)取代的化合物,并且可用于正电子发射断层成像(PET)研究,以检查底物受体的占有率。本文提供的化合物的所有同位素变体(无论是否具有放射性)都意图涵盖在本发明的范围内。

[0075] “互变异构体”是指特定化合物结构的可互换形式的化合物,并且在氢原子和电子的置换方面有所不同。因此,两种结构可能通过电子和原子(通常是H)的运动而处于平衡状态。举例来说,烯醇和酮是互变异构体,因为它们在用酸或碱处理后会迅速相互转化。互变异构的另一个实例是苯基硝基甲烷的酸式和硝基形式,它们同样通过用酸或碱处理来形成。互变异构形式可能与目标化合物的最佳化学反应性和生物活性的实现有关。

[0076] 如本文所用,纯对映异构化合物基本上不含所述化合物的其他对映异构体或立体异构体(即,对映异构体过量)。换言之,化合物的“S”形式基本上不含化合物的“R”形式,因此是“R”形式的对映异构体过量。术语“对映异构体纯”或“纯对映异构体”表示所述化合物包含超过95重量%、超过96重量%、超过97重量%、超过98重量%、超过98.5重量%、超过99重量%、超过99.2重量%、超过99.5重量%、超过99.6重量%、超过99.7重量%、超过99.8重量%或超过99.9重量%的对映异构体。在某些实施方案中,重量是基于化合物的所有对映异构体或立体异构体的总重量。

[0077] 如本文所用且除非另外说明,术语“对映异构体纯的R-化合物”是指至少约95重量%的R-化合物和至多约5重量%的S-化合物、至少约99重量%的R-化合物和至多约1重量%的S-化合物或至少约99.9重量%的R-化合物和至多约0.1重量%的S-化合物。在某些

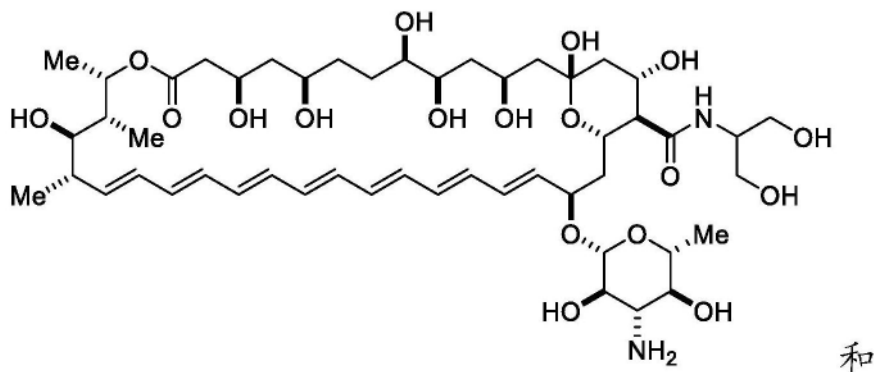
实施方案中,重量是基于化合物的总重量。

[0078] 如本文所用且除非另外说明,术语“对映异构体纯的S-化合物”或“S-化合物”是指至少约95重量%的S-化合物和至多约5重量%的R-化合物、至少约99重量%的S-化合物和至多约1重量%的R-化合物或至少约99.9重量%的S-化合物和至多约0.1重量%的R-化合物。在某些实施方案中,重量是基于化合物的总重量。

[0079] 在本文所提供的组合物中,对映异构体纯的化合物或其药学上可接受的盐可与其他活性或非活性成分一起存在。举例来说,包含对映异构体纯的R-化合物的药物组合物可包含例如约90%的赋形剂和约10%的对映异构体纯的R-化合物。在某些实施方案中,此类组合物中的对映异构体纯的R-化合物可例如包含按化合物的总重量计至少约95重量%的R-化合物和至多约5重量%的S-化合物。举例来说,包含对映异构体纯的S-化合物的药物组合物可包含例如约90%的赋形剂和约10%的对映异构体纯的S-化合物。在某些实施方案中,此类组合物中的对映异构体纯的S-化合物可例如包含按化合物的总重量计至少约95重量%的S-化合物和至多约5重量%的R-化合物。在某些实施方案中,活性成分可与极少或不与赋形剂或载剂一起配制。

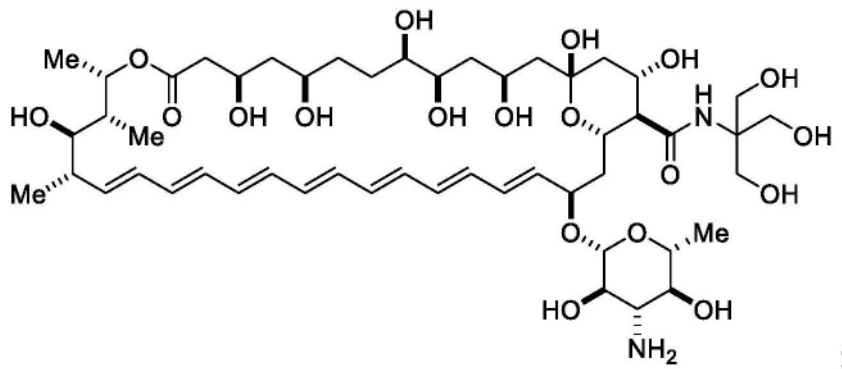
[0080] 本发明的化合物

[0081] 在某些方面,本文提供了一种选自由以下组成的组的化合物:



和

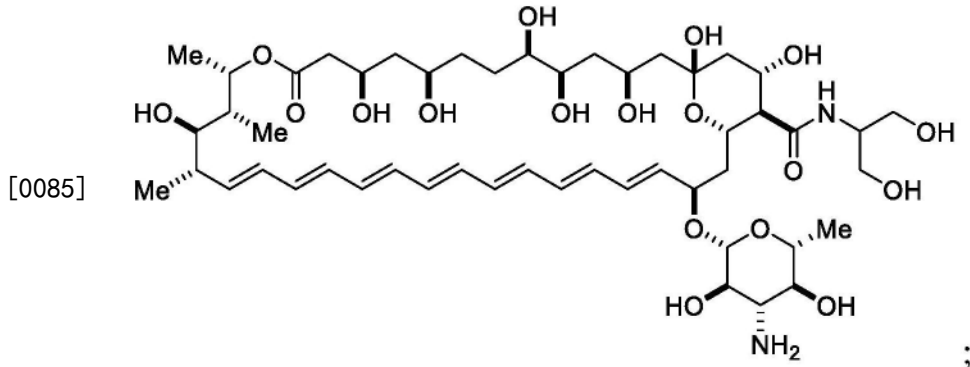
[0082]



;

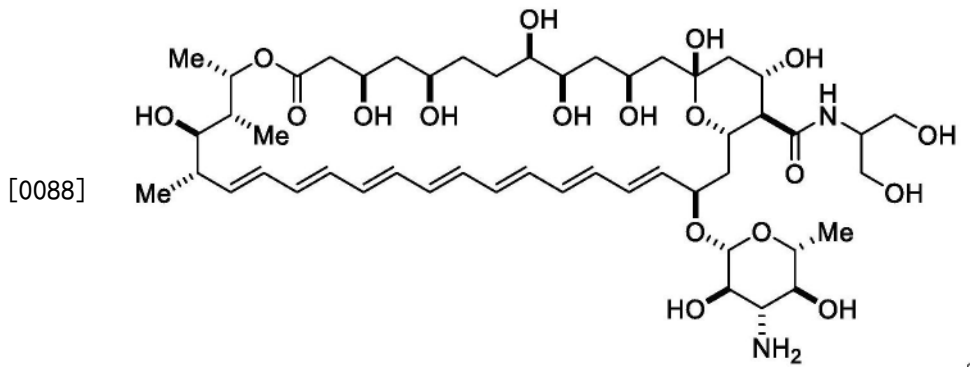
[0083] 或其药学上可接受的盐。

[0084] 在某些实施方案中,所述化合物为:

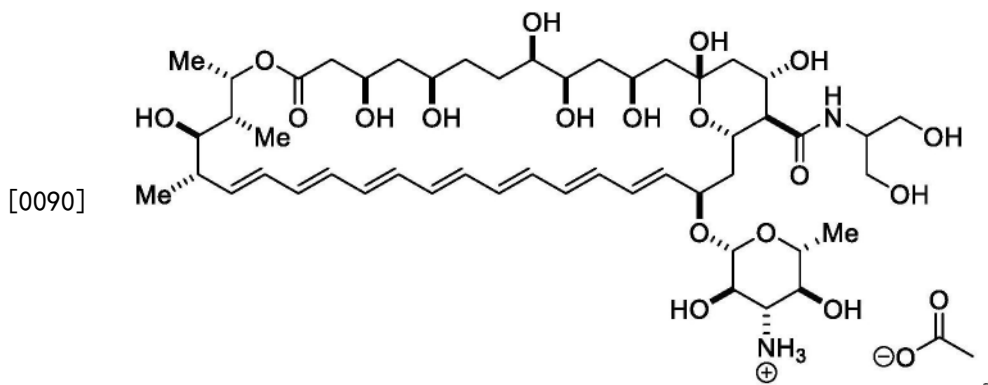


[0086] 或其药学上可接受的盐。

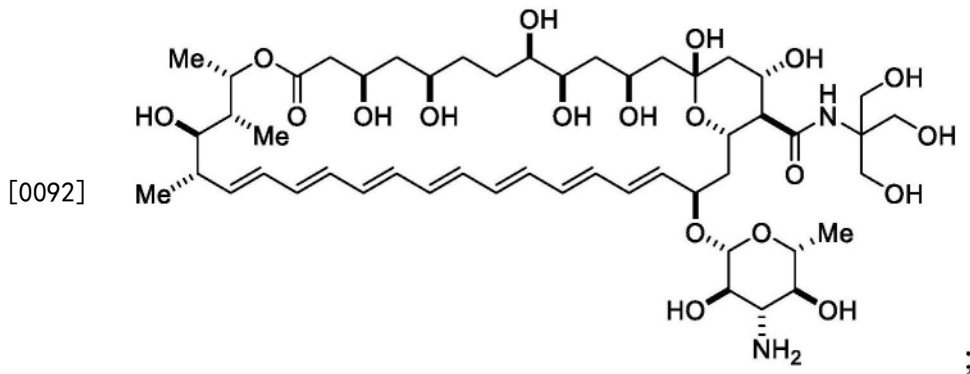
[0087] 在其他实施方案中,所述化合物为:



[0089] 在其他实施方案中,所述化合物为:

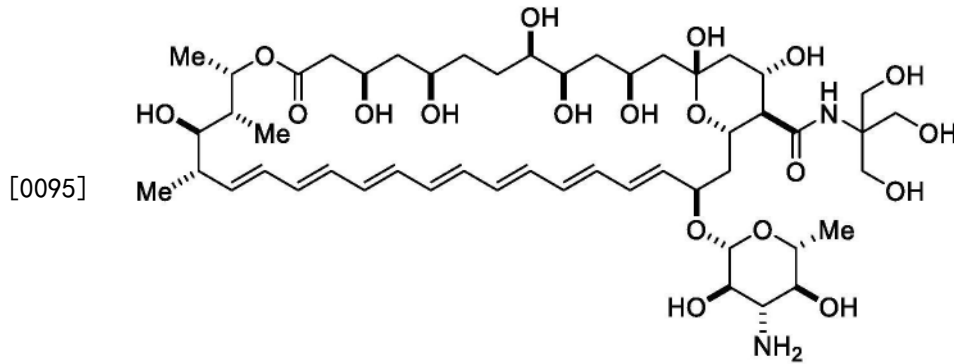


[0091] 在又其他实施方案中,所述化合物为:

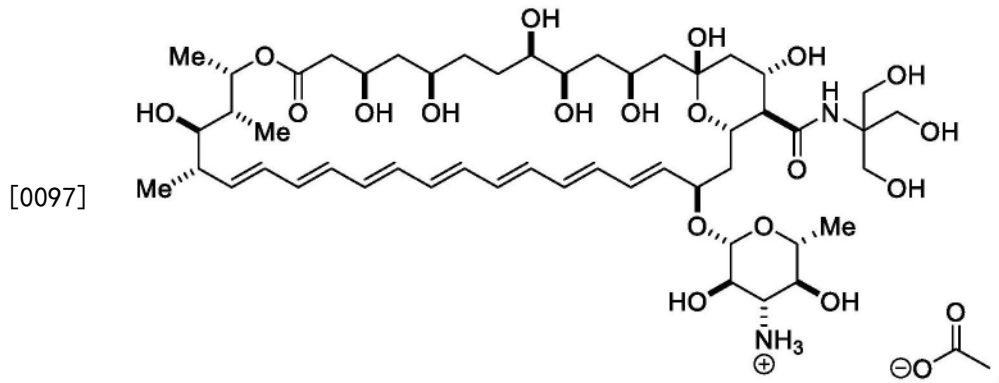


[0093] 或其药学上可接受的盐。

[0094] 在再其他实施方案中,所述化合物为:



[0096] 在其他实施方案中,所述化合物为:



[0098] 在其他方面,本文提供了包含所公开的化合物或其药学上可接受的盐;以及药学上可接受的载剂的药物组合物。在某些实施方案中,药物组合物是静脉内剂型。在其他实施方案中,药物组合物是口服剂型。

[0099] 在又其他方面,本文提供了一种治疗真菌感染的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的所公开的化合物或其药学上可接受的盐,从而治疗真菌感染。在某些实施方案中,化合物是静脉内施用的。在其他实施方案中,化合物是口服施用的。

[0100] 在再其他方面,本文提供了所公开的化合物或其药学上可接受的盐在制造用于治疗真菌感染的药剂中的用途。

[0101] 在某些方面,本文提供了用作药剂并用于治疗真菌感染的化合物和其药学上可接受的盐。

[0102] 药物组合物

[0103] 本发明还提供了所公开的化合物或其盐的药物组合物,以及制备此类组合物的方法。

[0104] 本发明的一个方面是包含本发明的化合物;和药学上可接受的载剂的药物组合物。在某些实施方案中,本发明是药物组合物,所述药物组合物包含本发明的化合物或其药学上可接受的盐;以及药学上可接受的载剂。术语“药学上可接受的载剂”意指一种或多种相容的固体或液体填充剂、稀释剂或封装物质,所述固体或液体填充剂、稀释剂或封装物质适合向人或其他脊椎动物施用。术语“载剂”表示天然或合成的有机或无机成分,活性成分与所述有机或无机成分结合以促进施加。药物组合物的组分也能够与本发明的化合物混合,并且彼此混合,其方式使得不存在会实质上损害所需药效的相互作用。

[0105] 在某些实施方案中,药物组合物是静脉内剂型。

- [0106] 在某些实施方案中,药物组合物是口服剂型。
- [0107] 在某些实施方案中,药物组合物是脂质体嵌入或脂质体封装的活性化合物的冻干制剂。
- [0108] 在某些实施方案中,药物组合物是化合物在水性混悬液中的脂质复合物。
- [0109] 本发明的药物组合物的前述实施方案是示例性的而非限制性的。
- [0110] 还提供了一种制备此类药物组合物的方法。所述方法包括将本发明的化合物或其药学上可接受的盐和药学上可接受的载剂混合。
- [0111] 本发明的方法
- [0112] 本发明的化合物可用于抑制真菌和酵母菌,特别包括作为病原体具有临床意义的真菌和酵母菌的生长。有利地,本发明的化合物与AmB相比具有提高的治疗指数,从而提供与AmB相比具有提高的功效率和降低的毒性的剂。本发明的化合物可用于治疗真菌和酵母菌感染,特别包括全身性真菌和酵母菌感染的方法。本发明的化合物也可用于制造用于治疗真菌和酵母菌感染,特别包括全身性真菌和酵母菌感染的药剂。本发明还提供了本发明的化合物用于治疗真菌和酵母菌感染,特别包括全身性真菌和酵母菌感染的用途。
- [0113] 本发明的一个方面是治疗真菌感染的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的本发明化合物或其盐,从而治疗真菌感染。
- [0114] 如本文所用,“抑制(inhibit/inhibiting)”意指与对照相比减少客观可测量的量或程度。在一个实施方案中,抑制(inhibit/inhibiting)意指与对照相比减少至少统计上显著的量。在一个实施方案中,抑制(inhibit/inhibiting)意指与对照相比减少至少5%。在各种个别实施方案中,抑制(inhibit/inhibiting)意指与对照相比减少至少10%、15%、20%、25%、30%、33%、40%、50%、60%、67%、70%、75%、80%、90%或95%。
- [0115] 如本文所用,术语“治疗(treat/treating)”是指进行干预,所述干预导致(a)防止可能处于罹患或倾向于患有病状或疾病的风险下但尚未被诊断为患有所述病状或疾病的受试者中发生所述病症或疾病; (b) 抑制病状或疾病,例如减缓或遏制所述病状或疾病发展;或(c) 缓解或改善病状或疾病,例如导致病状或疾病消退。在一个实施方案中,术语“治疗(treat/treating)”是指进行干预,所述干预导致(a) 抑制病状或疾病,例如减缓或遏制所述病状或疾病发展;或(b) 缓解或改善病状或疾病,例如导致病状或疾病消退。举例来说,在一个实施方案中,术语“治疗(treat/treating)”是指进行干预,所述干预导致(a) 抑制真菌感染,例如减缓或遏制所述真菌感染发展;或(b) 缓解或改善真菌感染,例如导致真菌感染消退。
- [0116] 如本文所用的“真菌感染”是指具有如本文所定义的真菌的受试者体内或受试者的感染。在一个实施方案中,术语“真菌感染”包括酵母菌感染。如本文所用的“酵母菌感染”是指具有如本文所定义的酵母菌的受试者体内或受试者的感染。
- [0117] 如本文所用,“受试者”是指活的哺乳动物。在各种实施方案中,受试者是非人哺乳动物,包括但不限于小鼠、大鼠、仓鼠、豚鼠、兔、绵羊、山羊、猫、狗、猪、马、牛或非人灵长类动物。在一个实施方案中,受试者是人。
- [0118] 如本文所用,“患有真菌感染的受试者”是指表现出真菌感染的至少一种客观表现的受试者。在一个实施方案中,患有真菌感染的受试者是已经被诊断为患有真菌感染并且需要其治疗的受试者。诊断真菌感染的方法是众所周知的,并且无需在此详细描述。

[0119] 如本文所用,“患有酵母菌感染的受试者”是指表现出酵母菌感染的至少一种客观表现的受试者。在一个实施方案中,患有酵母菌感染的受试者是已经被诊断为患有酵母菌感染并且需要其治疗的受试者。诊断酵母菌感染的方法是众所周知的,并且无需在此详细描述。

[0120] 在某些实施方案中,化合物是静脉内施用的。

[0121] 在某些实施方案中,化合物是口服施用的。

[0122] 在某些实施方案中,化合物是全身性施用的。

[0123] 在某些实施方案中,化合物是肠道外施用的。

[0124] 在某些实施方案中,化合物是腹膜内施用的。

[0125] 在某些实施方案中,化合物是肠内施用的。

[0126] 在某些实施方案中,化合物是眼内施用的。

[0127] 在某些实施方案中,化合物是局部施用的。

[0128] 本发明考虑了本发明化合物的其他施用途径,包括但不限于囊内(膀胱)、肺和鞘内。

[0129] 如本文所用,短语“有效量”是指足以实现所需生物效应的任何量。

[0130] 如本文所用,短语“治疗有效量”是指足以实现所需治疗效果,例如治疗真菌或酵母菌感染的量。

[0131] 对于本文所描述的任何化合物,治疗有效量一般可最初由体外研究、动物模型或体外研究和动物模型两者来确定。体外方法是众所周知的,并且可包括确定最低抑制浓度(MIC)、最低杀真菌浓度(MFC)、生长被抑制50%的浓度(IC₅₀)、生长被抑制90%的浓度(IC₉₀)等。治疗有效量也可根据已经在人体中测试过的本发明化合物和已知表现出类似药理学活性的化合物(诸如其他相关活性剂(例如AmB))的人体数据来确定。肠胃外施用可能需要更高的剂量。施加的剂量可基于所施用化合物的相对生物利用度和效力进行调整。基于本文所描述的方法和本领域公知的其他方法来调整剂量以实现最大功效完全在本领域普通技术人员的能力范围内。

[0132] 对于本文所描述的任何化合物,用于人受试者的治疗有效量可最初由体外研究、动物模型或体外研究和动物模型两者来确定。用于人受试者的治疗有效量也可根据已经在人体中测试过的本发明化合物和已知表现出类似药理学活性的化合物(诸如其他相关活性剂(例如AmB))的人体数据来确定。肠胃外施用可能需要更高的剂量。施加的剂量可基于所施用化合物的相对生物利用度和效力进行调整。基于上文所描述的方法和本领域公知的其他方法来调整剂量以实现最大功效完全在本领域普通技术人员的能力范围内。

[0133] 给药和配制物

[0134] 本发明的化合物可与其他治疗剂组合。本发明的化合物和其他治疗剂可同时或依序施用。当同时施用其他治疗剂时,它们可以相同或分开的配制物施用,但它们基本上同时施用。当其他治疗剂和本发明化合物的施用在时间上分开时,其他治疗剂与另一种治疗剂以及与本发明的化合物依序施用。施用这些化合物之间的时间间隔可能只有几分钟,也可能更长。

[0135] 其他治疗剂的实例包括其他抗真菌剂,包括AmB,以及其他抗生素、抗病毒剂、抗炎剂、免疫抑制剂和抗癌剂。

[0136] 如上所述,“有效量”是指足以实现所需生物效应的任何量。结合本文所提供的教导,通过在各种活性化合物和权衡因素(例如效力、相对生物利用度、患者体重、不良副作用的严重程度和优选的施用模式)之间进行选择,可规划有效的防治性或治疗性治疗方案,所述方案不会引起实质性的非所要毒性,但仍可有效治疗特定受试者。任何特定施加的有效量可视诸如所治疗的疾病或病状、所施用的本发明的特定化合物、受试者的大小或疾病或病状的严重程度等因素而变化。本领域的普通技术人员可凭经验确定本发明的特定化合物和/或其他治疗剂的有效量,而无需过多的实验。通常优选使用最大剂量,即根据一些医学诊断的最高安全剂量。可考虑每天多次剂量以达到化合物的适当全身水平。适当全身水平可通过例如测量患者的药物峰值或持续血浆水平来确定。“剂量(dose/dosage)”在本文可互换地使用。

[0137] 通常,对于人受试者,活性化合物的每日口服剂量将为每天约0.01毫克/千克至每天1000毫克/千克。预期口服剂量在0.5至50毫克/千克范围内,每天一次或多次施用,将产生所需结果。可适当调整剂量以达到所需的局部或全身药物水平,这取决于施用模式。举例来说,预计静脉内施用每天的剂量会降低一个数量级到几个数量级。如果受试者在这种剂量下的反应不足,则可在患者耐受性允许的范围内使用更高剂量(或通过不同的、更局部化的递送途径的有效更高剂量)。考虑每天多次剂量以达到化合物的适当全身水平。

[0138] 在一个实施方案中,本发明化合物的静脉内施用典型地可为0.1mg/kg/天至20mg/kg/天。因此,静脉内给药可能类似于或有利地可能超过AmB的最大耐受剂量。静脉内给药也可能类似于或有利地可能超过AmB的最大耐受日剂量。静脉内给药也可能类似于或有利地可能超过AmB的最大耐受累积剂量。

[0139] 静脉内给药也可能类似于或有利地可能超过AmB的最大推荐剂量。静脉内给药也可能类似于或有利地可能超过AmB的最大推荐日剂量。静脉内给药也可能类似于或有利地可能超过AmB的最大推荐累积剂量。

[0140] 对于本文所描述的任何化合物,可由动物模型来初始确定治疗有效量。治疗有效剂量也可根据已经在人体中测试过的本发明化合物和已知表现出类似药理学活性的化合物(诸如其他相关活性剂)的人体数据来确定。肠胃外施用可能需要更高的剂量。施加的剂量可基于所施用化合物的相对生物利用度和效力进行调整。基于上文所描述的方法和本领域公知的其他方法来调整剂量以实现最大功效完全在本领域普通技术人员的能力范围内。

[0141] 以药学上可接受的溶液形式施用本发明的配制物,所述溶液常规地可含有药学上可接受的浓度的盐、缓冲剂、防腐剂、相容的载剂、佐剂和任选的其他治疗成分。

[0142] 两性霉素B以多种配制物,包括基于脱氧胆酸盐(deoxycholate)(有时称为基于脱氧胆酸盐(desoxycholate))的配制物和基于脂质(包括脂质体)的配制物形式市售。本发明的两性霉素B衍生化合物可类似地配制为例如但不限于基于脱氧胆酸盐的配制物和基于脂质(包括脂质体)的配制物。

[0143] 为了在治疗中使用,有效量的本发明化合物可通过将本发明化合物递送至所需表面的任何模式向受试者施用。施用本发明的药物组合物可通过本领域技术人员已知的任何方式来完成。施用途径包括但不限于口服、静脉内、肌肉内、腹膜内、皮下、直接注射(例如进入肿瘤或脓肿)、粘膜、肺部(例如吸入)和局部。

[0144] 对于静脉内和其他肠胃外施用途径,本发明的化合物通常可与AmB类似地配制。举

例来说,本发明的化合物可配制成具有脱氧胆酸的冻干制剂、脂质体嵌入或封装的活性化合物的冻干制剂、水性混悬液中的脂质复合物或胆固醇硫酸酯复合物。冻干配制物通常在施用前不久在适合的水溶液中,例如在无菌水或盐水中重构。

[0145] 对于口服施用,可通过将活性化合物与本领域熟知的药学上可接受的载剂组合来容易地配制化合物(即,本发明的化合物和其他治疗剂)。此类载剂使本发明的化合物能够配制成片剂、丸剂、糖衣丸、胶囊、液体、凝胶、糖浆、浆剂、混悬剂等,以供待治疗的受试者口服摄取。口服药物制剂可作为固体赋形剂获得,任选地研磨所得混合物,并且如果需要,在添加适合的助剂之后加工颗粒混合物以获得片剂或糖衣丸核。适合的赋形剂尤其是填充剂,诸如糖,包括乳糖、蔗糖、甘露糖醇或山梨糖醇;纤维素制剂,诸如玉米淀粉、小麦淀粉、大米淀粉、马铃薯淀粉、明胶、黄芩胶、甲基纤维素、羟丙基甲基-纤维素、羧甲基纤维素钠和/或聚乙烯吡咯烷酮(PVP)。如果需要的话,可添加崩解剂,诸如交联聚乙烯吡咯烷酮、琼脂或海藻酸或其盐,诸如海藻酸钠。任选地,口服配制物也可以在盐水或缓冲液(例如用于中和和内部酸性条件的EDTA)中配制,或可在没有任何载剂的情况下施用。

[0146] 还特别考虑的是上述一种或多种组分的口服剂型。可对一种或多种组分进行化学改性,以使衍生物的口服递送有效。通常,考虑的化学改性是将至少一个部分连接至组分分子本身,其中所述部分允许(a)抑制酸水解;(b)从胃或肠吸收至血流中。还希望增加一种或多种组分的整体稳定性和增加体内循环时间。此类部分的实例包括:聚乙二醇、乙二醇和丙二醇的共聚物、羧甲基纤维素、葡聚糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮和聚脯氨酸。Abuchowski和Davis,“Soluble Polymer-Enzyme Adducts”,在Enzymes as Drugs,Hocenberg and Roberts,编,Wiley-Interscience,New York,N.Y.,第367-383页(1981);Newmark等人,J Appl Biochem 4:185-9(1982)。可使用的其他聚合物是聚-1,3-二氧戊环和聚-1,3,6-三噁环辛烷。如上所述,优选用于药物用途的是聚乙二醇部分。

[0147] 对于成分(或衍生物),释放位置可以是胃、小肠(十二指肠、空肠或回肠)或大肠。本领域技术人员可获得不会在胃中溶解但会在十二指肠或肠的其他地方释放物质的配制物。优选地,通过保护本发明化合物(或衍生物)或通过生物活性物质释放到胃环境之外,诸如在肠中,释放将避免胃环境的有害作用。

[0148] 为确保完全的胃液耐受性,至少pH 5.0不可渗透的包衣是必不可少的。用作肠溶包衣的更常见的惰性成分的实例是偏苯三酸乙酸纤维素(CAT)、羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯(HPMCP)、HPMCP 50、HPMCP 55、聚乙酸乙烯邻苯二甲酸酯(PVAP)、Eudragit L30D、Aquateric、邻苯二甲酸乙酸纤维素(CAP)、Eudragit L、Eudragit S和虫胶。这些包衣可用作混合膜。

[0149] 包衣或包衣混合物也可用在片剂上,其目的不是为了保护胃。所述包衣可包括糖衣,或使片剂更容易吞咽的包衣。胶囊可能由硬壳(诸如明胶)组成,以用于输送干燥的治疗剂(诸如粉末);对于液体形式,可使用软明胶壳。扁囊剂的外壳材料可为厚淀粉或其他食用纸。对于丸剂、口含锭、模压片或模印片,可使用湿润聚结(moist massing)技术。

[0150] 治疗剂可以作为粒度为约1mm的颗粒或球团形式的精细多颗粒包括在配制物中。用于胶囊施用的材料的配制物也可以是粉末、轻微压缩的塞子或甚至是片剂。治疗剂可以通过压制来制备。

[0151] 着色剂和调味剂都可以包括在内。举例来说,可配制(诸如通过脂质体或微球封

装)本发明的化合物(或衍生物)并且然后进一步包含在可食用产品,诸如含有着色剂和调味剂的冷藏饮料中。

[0152] 可以用惰性材料稀释或增加治疗剂的体积。这些稀释剂可能包括碳水化合物,尤其是甘露糖醇、 α -乳糖、无水乳糖、纤维素、蔗糖、改性葡聚糖和淀粉。某些无机盐也可用作包括三磷酸钙、碳酸镁和氯化钠的填充剂。一些市售稀释剂是Fast-Flo、Emdex、STA-Rx 1500、Emcompress和Avicell。

[0153] 崩解剂可包括在治疗剂的配制物中,形成固体剂型。用作崩解剂的材料包括但不限于淀粉,包括基于淀粉的商业崩解剂Explotab。羟基乙酸淀粉钠、安伯来特(Amberlite)、羧甲基纤维素钠、超支链淀粉、海藻酸钠、明胶、橘皮、酸性羧甲基纤维素、天然海绵和膨润土都可以使用。另一种形式的崩解剂是不溶性阳离子交换树脂。粉末胶可用作崩解剂和粘合剂,并且这些崩解剂和粘合剂可包括粉末胶,诸如琼脂、刺梧桐树胶或黄芪胶。海藻酸和其钠盐也可用作崩解剂。

[0154] 粘合剂可用于将治疗剂保持在一起以形成硬片剂并且包括来自天然产物,诸如阿拉伯树胶、黄芪胶、淀粉和明胶的材料。其他包括甲基纤维素(MC)、乙基纤维素(EC)和羧甲基纤维素(CMC)。聚乙烯吡咯烷酮(PVP)和羟丙基甲基纤维素(HPMC)都可以在酒精溶液中用于使治疗剂粒化。

[0155] 抗摩擦剂可以包括在治疗剂的配制物中以防止在配制过程中粘连。润滑剂可用作治疗剂壁和模具壁之间的一层,并且这些润滑剂可包括但不限于:硬脂酸,包括其镁盐和钙盐、聚四氟乙烯(PTFE)、液体石蜡、植物油和蜡。也可以使用可溶性润滑剂,诸如月桂基硫酸钠、月桂基硫酸镁、各种分子量的聚乙二醇、Carbowax 4000和6000。

[0156] 可能会添加助滑剂,所述助滑剂可能会在配制过期间改良药物的流动特性并有助于压缩期间的重排。助滑剂可包括淀粉、滑石、热解二氧化硅和水合硅铝酸盐。

[0157] 为了帮助治疗剂溶解到水性环境中,可添加表面活性剂作为润湿剂。表面活性剂可包括阴离子洗涤剂,诸如月桂基硫酸钠、磺基丁二酸钠二辛酯和二辛基磺酸钠。可用的阳离子洗涤剂可包括苯扎氯铵和苄索氯铵。可作为表面活性剂包括在配制物中的潜在非离子洗涤剂包括聚桂醇400、聚乙二醇40硬脂酸酯、聚氧乙烯氢化蓖麻油10、50和60、甘油单硬脂酸酯、聚山梨醇酯40、60、65和80、蔗糖脂肪酸酯、甲基纤维素和羧甲基纤维素。这些表面活性剂可单独或作为不同比例的混合物存在于本发明的化合物或衍生物的配制物中。

[0158] 可口服的药物制剂包括由明胶制成的推入式胶囊,以及由明胶和增塑剂(诸如甘油或山梨糖醇)制成的软密封胶囊。推入式胶囊可含有与填充剂(诸如乳糖)、粘合剂(诸如淀粉)和/或润滑剂(诸如滑石或硬脂酸镁)以及任选的稳定剂混合的活性成分。在软胶囊中,活性化合物可溶解或混悬于适合的液体,诸如脂肪油、液体石蜡或液体聚乙二醇中。另外,可添加稳定剂。也可使用配制用于口服施用的微球。此类微球在本领域中已经被很好地定义。所有用于口服施用的配制物都应呈适合于此类施用的剂量。

[0159] 对于口腔施用,组合物可采取以常规方式配制的片剂或口含锭的形式。

[0160] 对于通过吸入施用,根据本发明使用的化合物可在使用适合的推进剂(例如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其他适合的气体)的情况下通过加压包装或雾化器以气溶胶喷雾的形式方便地递送。在加压气溶胶的情况下,剂量单位可通过提供阀以递送定量的量来确定。可配制含有化合物与适合的粉末基质(诸如乳糖或淀粉)的粉

未混合物的用于在吸入器或吹入器中使用的例如明胶的胶囊和药筒。

[0161] 本文还考虑了本发明化合物(或其衍生物)的肺部递送。本发明化合物(或衍生物)在吸入时被递送至哺乳动物的肺部并穿过肺上皮内层进入血流。吸入分子的其他报告包括 Adjei等人, Pharm Res 7:565-569(1990); Adjei等人, Int J Pharmaceutics 63:135-144(1990)(乙酸亮丙瑞林); Braquet等人, J Cardiovasc Pharmacol 13(增刊5):143-146(1989)(内皮素-1); Hubbard等人, Annal Int Med 3:206-212(1989)(α 1-抗胰蛋白酶); Smith等人, 1989, J Clin Invest 84:1145-1146(a-1-蛋白酶); Oswein等人, 1990, "Aerosolization of Proteins", Proceedings of Symposium on Respiratory Drug Delivery II, Keystone, Colorado, 3月, (重组人生长激素); Debs等人, 1988, J Immunol 140:3482-3488(干扰素 γ 和肿瘤坏死因子 α)和 Platz等人, 美国专利号5,284,656(粒细胞集落刺激因子)。在1995年9月19日发布给Wong等人的美国专利号5,451,569中描述了用于肺部递送药物以获得全身效应的方法和组合物。

[0162] 考虑用于实施本发明的是广泛范围的设计用于治疗产品的肺递送的机械装置,包括但不限于雾化器、定量吸入器和粉末吸入器,所有这些装置都是本领域技术人员熟悉的。

[0163] 适用于实施本发明的市售装置的一些具体实例是由 Mallinckrodt, Inc., St. Louis, Mo. 制造的 Ultravent 雾化器; 由 Marquest Medical Products, Englewood, Colo. 制造的 Acorn II 雾化器; 由 Glaxo Inc., Research Triangle Park, North Carolina 制造的 Ventolin 定量吸入器; 以及由 Fisons Corp., Bedford, Mass 制造的 Spinhaler 粉末吸入器。

[0164] 所有此类装置都需要使用适合于分配本发明化合物(或衍生物)的配制物。通常,每种配制物都与所用装置的类型有关,并且除了用于治疗的常用稀释剂、佐剂和/或载剂之外,还可能涉及使用适当的推进剂材料。此外,考虑使用脂质体、微胶囊或微球、包合物或其他类型的载剂。本发明的化学改性化合物也可以根据化学改性的类型或所用装置的类型以不同的配制物形式制备。

[0165] 适用于喷射或超声的雾化器的配制物通常包含以每毫升溶液约0.1mg至25mg本发明的生物活性化合物的浓度溶解于水中的本发明化合物(或衍生物)。配制物还可以包括缓冲剂和单糖(例如用于稳定和调节渗透压的本发明的化合物)。雾化器配制物还可以含有表面活性剂,以减少或防止在形成气溶胶时由溶液雾化引起的本发明化合物的表面诱导聚集。

[0166] 与定量吸入器装置一起使用的配制物通常包含含有在表面活性剂的帮助下混悬于推进剂中的本发明的化合物(或衍生物)的细粉。推进剂可以是用于此目的的任何常规材料,诸如氯氟烃、氢氯氟烃、氢氟烃或烃,包括三氯氟甲烷、二氯二氟甲烷、二氯四氟乙醇和1,1,1,2-四氟乙烷,或其组合。适合的表面活性剂包括脱水山梨糖醇三油酸酯和大豆卵磷脂。油酸也可用作表面活性剂。

[0167] 用于从粉末吸入器装置分配的配制物将包含含有本发明的化合物(或衍生物)的细干粉,并且还可以促进粉末从装置分散的量(例如配制物的50重量%至90重量%)包括膨胀剂,例如乳糖、山梨糖醇、蔗糖或甘露糖醇。本发明的化合物(或衍生物)应有利地制备成平均粒度小于10微米(μ m),最优选0.5至5 μ m的颗粒形式,以最有效地递送至深肺。

[0168] 还考虑了本发明的药物组合物的鼻腔递送。鼻腔递送允许本发明的药物组合物在向鼻施用治疗产品后直接进入血流,而无需产品沉积在肺中。用于鼻腔递送的配制物包括

具有葡聚糖或环糊精的那些配制物。

[0169] 对于鼻腔施用,一个有用的装置是一个小而硬的瓶子,上面装有一个定量喷雾器。在一个实施方案中,通过将本发明的药物组合物溶液吸入限定体积的腔室中来递送定量的剂量,所述腔室具有尺寸设计成当腔室中的液体被压缩时通过形成喷雾来雾化和气溶胶配制物的孔。腔室被压缩以施用本发明的药物组合物。在一个特定实施方案中,腔室是活塞布置的。此类装置是可商购的。

[0170] 可选地,使用具有孔或开口的塑料挤压瓶,其尺寸设计成在挤压时通过形成喷雾来雾化气溶胶配制物。开口通常位于瓶子的顶部,并且顶部通常是锥形的以部分适合鼻道以有效地施用气溶胶配制物。优选地,鼻腔吸入器将提供计量量的气溶胶配制物,用于施用所测量剂量的药物。

[0171] 当需要全身性递送时,可将化合物配制成通过注射,例如通过弹丸注射或连续输注来肠胃外施用。注射用配制物可以单位剂型呈现,例如在安瓿中或在多剂量容器中,并添加有防腐剂。组合物可采用诸如在油性或水性媒介物中的混悬液、溶液或乳液的形式,且可含有诸如混悬剂、稳定剂和/或分散剂的配制剂。

[0172] 用于肠胃外施用的药物配制物包括呈水溶性形式的活性化合物的水溶液。另外,活性化合物的混悬液可制备为适当的油性注射混悬液。适合的亲脂性溶剂或媒介物包括脂肪油(诸如芝麻油)或合成脂肪酸酯(诸如油酸乙酯或三酸甘油酯)或脂质体。水性注射混悬液可含有增加混悬液粘度的物质,诸如羧甲基纤维素钠、山梨糖醇或葡聚糖。任选地,混悬液还可含有适合的稳定剂,或增加化合物的溶解度以便允许制备高度浓缩溶液的剂。

[0173] 可选地,活性化合物可呈在使用前用适合的媒介物(例如无菌无热原水)复原的粉末形式。

[0174] 化合物还可被配制在直肠组合物中,如(例如)含有常规栓剂基质(例如可可脂或其他甘油酯)的栓剂或保留灌肠剂。

[0175] 除了前述配制物之外,化合物还可配制为储存制剂。此类长效配制物可用适合的聚合或疏水材料(例如配制为在可接受的油中的乳液)或离子交换树脂配制,或配制为微溶性衍生物,例如配制为微溶性盐。

[0176] 药物组合物还可包含适合的固相或凝胶相载剂或赋形剂。此类载剂或赋形剂的实例包括但不限于碳酸钙、磷酸钙、各种糖、淀粉、纤维素衍生物、明胶和聚合物,诸如聚乙二醇。

[0177] 适合的液体或固体药物制剂形式是例如用于吸入的水溶液或盐水溶液,其被微囊化、嵌入、包衣到微小金颗粒上、包含在脂质体中、雾化,用于植入皮肤的气溶胶、球团或干燥到尖锐物体上以刮入皮肤。药物组合物还包括颗粒、散剂、片剂、包衣片剂、(微)胶囊、栓剂、糖浆、乳剂、混悬剂、乳膏、滴剂或缓释活性化合物的制剂,在所述药物组合物的制备中通常如上文所描述的使用赋形剂和添加剂和/或助剂,诸如崩解剂、粘合剂、包衣剂、溶胀剂、润滑剂、调味剂、甜味剂或增溶剂。药物组合物适用于多种药物递送系统。对于用于药物递送的方法的简要综述参见Langer R, Science 249:1527-33(1990),所述文献以引用的方式并入本文。

[0178] 本发明的化合物和任选的其他治疗剂可以本身(纯的)或以药学上可接受的盐的形式施用。当用于药物中时,盐应是药学上可接受的,但非药学上可接受的盐可方便地用于

制备其药学上可接受的盐。此类盐包括但不限于由下列酸制备的盐：盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸、顺丁烯二酸、乙酸、水杨酸、对甲苯磺酸、酒石酸、柠檬酸、甲磺酸、甲酸、丙二酸、丁二酸、萘-2-磺酸和苯磺酸。此外，此类盐可制备为碱金属或碱土金属盐，诸如羧酸基团的钠盐、钾盐或钙盐。

[0179] 适合的缓冲剂包括：乙酸和盐(1-2% w/v)；柠檬酸和盐(1-3% w/v)；硼酸和盐(0.5-2.5% w/v)；以及磷酸和盐(0.8-2% w/v)。适合的防腐剂包括苯扎氯铵(0.003-0.03% w/v)；氯丁醇(0.3-0.9% w/v)；对羟基苯甲酸酯(0.01-0.25% w/v)和硫柳汞(0.004-0.02% w/v)。

[0180] 本发明的药物组合物含有有效量的本发明的化合物和任选包括于药学上可接受的载剂中的至少一种另外的治疗剂。

[0181] 可以颗粒形式提供具体包括但不限于本发明的化合物的治疗剂。本文所用的颗粒意指纳米颗粒或微粒(或在一些情况下较大的颗粒)，它们可以全部或部分由本发明的化合物或如本文所描述的其他治疗剂组成。颗粒可以在被包衣(包括但不限于肠溶包衣)包围的核中含有治疗剂。治疗剂也可以分散在整个颗粒中。治疗剂也可以被吸附到颗粒中。颗粒可具有任何级的释放动力学，包括零级释放、一级释放、二级释放、延迟释放、持续释放、立即释放和其任意组合等。除了治疗剂之外，颗粒可包括药学和医学领域常规使用的那些材料(包括但不限于可腐蚀的、不可腐蚀的、可生物降解的或不可生物降解的材料或其组合)中的任一种。颗粒可以是含有呈溶液或半固体状态的本发明的化合物的微胶囊。颗粒实际上可以是任何形状。

[0182] 不可生物降解和可生物降解的聚合物都可用于制造用于递送治疗剂的颗粒。此类聚合物可以是天然聚合物或合成聚合物。基于所需释放的时间段来选择聚合物。特别感兴趣的生物粘附聚合物包括Sawhney H S等人。(1993) *Macromolecules* 26:581-7中所描述的生物可蚀性水凝胶，所述文献的教导并入本文。这些聚合物包括聚透明质酸、酪蛋白、明胶、明胶蛋白、聚酸酐、聚丙烯酸、藻酸盐、壳聚糖、聚(甲基丙烯酸甲酯)、聚(甲基丙烯酸乙酯)、聚(甲基丙烯酸丁酯)、聚(甲基丙烯酸异丁酯)、聚(甲基丙烯酸己酯)、聚(甲基丙烯酸异癸酯)、聚(甲基丙烯酸月桂酯)、聚(甲基丙烯酸苯酯)、聚(丙烯酸甲酯)、聚(丙烯酸异丙酯)、聚(丙烯酸异丁酯)和聚(丙烯酸十八烷基酯)。

[0183] 治疗剂可包含在控释系统中。术语“控制释放”意指任何含药配制物，其中药物从配制物中释放的方式和分布受到控制。这是指立即释放和非立即释放配制物，其中非立即释放配制物包括但不限于持续释放和延迟释放配制物。术语“持续释放”(也称为“延长释放”)以其常规意义使用是指一种药物配制物，所述药物配制物提供药物在延长的时间段内逐渐释放，并且优选地，但不是必须的，导致在延长的时间段内药物的血液水平基本恒定。术语“延迟释放”以其常规意义使用是指一种药物配制物，其中在配制物的施用和药物从中释放之间存在时间延迟。“延迟释放”可能涉及也可能不涉及药物在延长的时间段内逐渐释放，因此可能是也可能不是“持续释放”。

[0184] 使用长期持续释放植入物可能特别适用于治疗慢性病状。如本文所用，“长期”释放是指植入物被构建和布置以递送治疗水平的活性成分至少7天，并且优选30-60天。长期持续释放植入物是本领域普通技术人员所熟知的并且包括上文所描述的释放系统中的一些。

[0185] 以引用的方式并入

[0186] 本文中提及的所有美国专利申请公开和美国专利都特此以引用的方式整体并入,如同每个个别公开或专利具体地和个别地被指示为以引用的方式并入。在有冲突的情况下,将以本申请(包括本文中的任何定义)为准。

[0187] 其他实施方案

[0188] 在权利要求中,除非有相反的指示或从上下文中明显看出,否则诸如“一(a/an)”和“所述”的冠词可意指一个或多个。如果一个、多于一个或所有组成员存在于、用于给定产品或过程或以其他方式与给定产品或过程相关,除非另有相反的指示或从上下文中明显看出,否则组的一个或多个成员之间包括“或”的声明或描述被视为满足。本发明包括这样的实施方案,其中所述组中恰好有一个成员存在于、用于给定的产品或过程,或以其他方式与给定的产品或过程相关。本发明包括这样的实施方案,其中所述组成员中多余一个或所有成员都存在于、用于给定的产品或过程,或以其他方式与给定的产品或过程相关。

[0189] 此外,本发明涵盖所有变化、组合和排列,其中一个或多个所列权利要求中的一个或多个限制、要素、条款和描述性术语被引入到另一权利要求中。举例来说,可修改从属于另一权利要求的任何权利要求,以包括在从属于同一基础权利要求的任何其他权利要求中发现的一个或多个限制。在要素以列表形式呈现的情况下,例如以Markush组格式,还公开了要素的每个子组,并且可以从组中除去任何要素。应理解,一般而言,在本发明或本发明的方面被称为包含特定要素和/或特征的情况下,本发明的某些实施方案或本发明的方面由此类要素和/或特征组成或基本上由此类要素和/或特征组成。为了简单起见,那些实施方案在本文中没有具体阐述。还应注意,术语“包含”和“含有”意图是开放的并且允许包括额外要素或步骤。在给出范围的情况下,端点也包括在内。此外,除非另有说明或从上下文和本领域普通技术人员的理解中可以明显看出,表示为范围的值可以采用本发明的不同实施方案中所陈述范围内的任何特定值或子范围,至范围下限单位的十分之一,除非上下文另外明确规定。

[0190] 本申请指的是各种颁发的专利、公布的专利申请、杂志文章和其他出版物,所有这些都以引用的方式整体并入本文。如果任何并入的参考文献与本说明书之间存在冲突,则以本说明书为准。另外,落入现有技术范围内的本发明的任何特定实施方案可被明确排除在任何一项或多项权利要求之外。因为此类实施方案被认为是本领域的普通技术人员已知的,所以即使排除没有在本文中明确阐述,它们也可以被排除。出于任何原因,无论是否与现有技术存在相关,都可以将本发明的任何特定实施方案排除在任何权利要求之外。

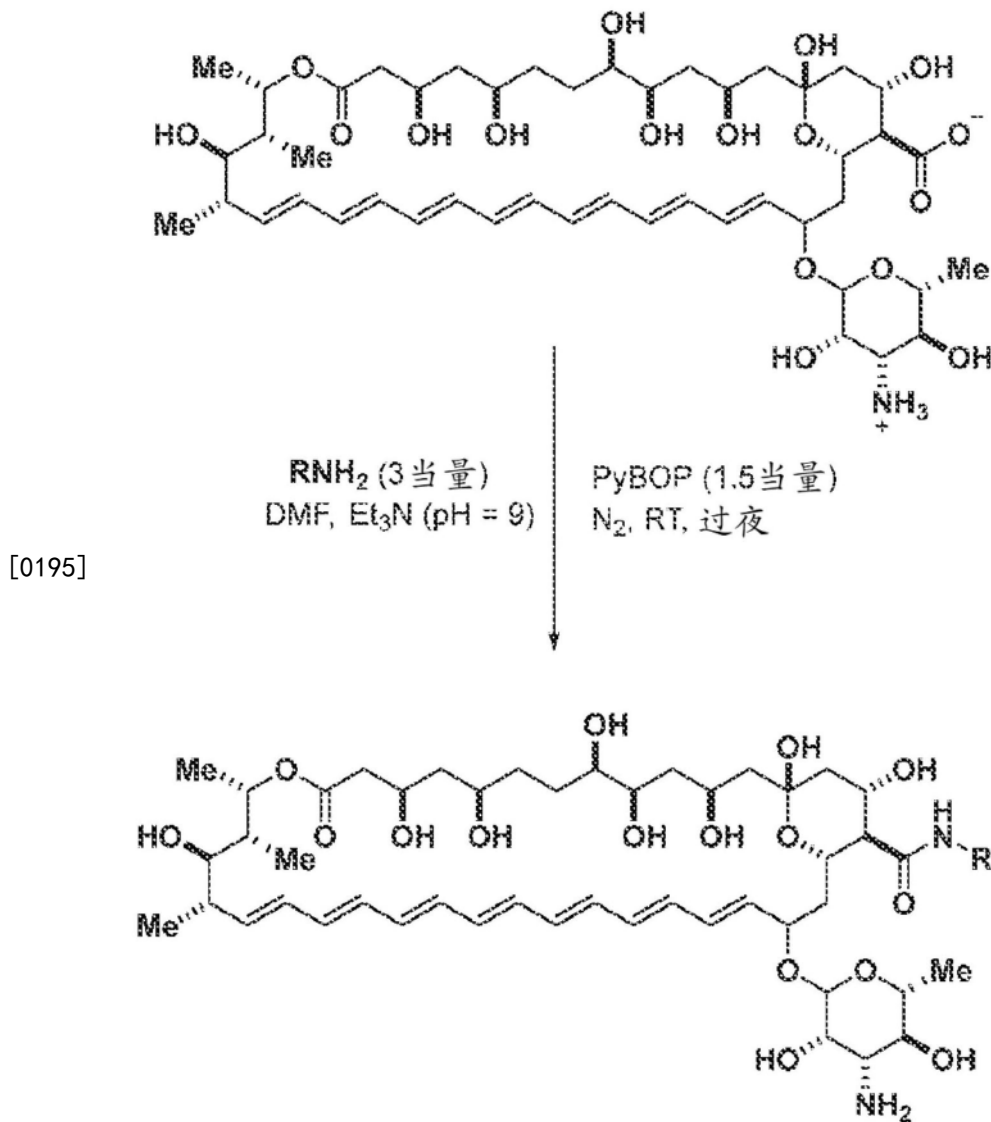
[0191] 本领域技术人员仅仅使用常规实验将认识到或能够确定本文所描述的发明的具体实施方案的许多等效方案。本文描述的实施方案的范围并不旨在限于以上描述,而是如所附权利要求中所阐述的那样。本领域的普通技术人员将理解,在不脱离如以下权利要求中所定义的本发明的精神或范围的情况下,可以对本描述进行各种改变和修改。

实施例

[0192] 为了可以更充分地理解本文所描述的本发明,阐述以下实施例。提供本申请中所描述的实施例用于说明本文所提供的化合物、药物组合物和方法,并且不应以任何方式解释为限制其范围。

[0193] 实施例1.所公开化合物的合成程序和HPLC方法

[0194] AmB的酰胺的一般合成程序:



[0196] 将新蒸馏的 Et_3N 逐滴添加到两性霉素B(10mg;0.01mmol)和胺(3当量)于DMF(500 μL)中的溶液中,直到达到pH=9(通过pH试纸)。将反应混合物在室温下搅拌15分钟。在氮气气氛下添加固体PyBOP(1.5当量;8.4mg),并将密封的小瓶在室温下搅拌过夜。通过分析HPLC痕迹监测反应的进展。

[0197] 一旦完成,将产物沉淀并用无水二乙醚(10mL)洗涤。将混悬液以3000g离心5分钟。倾析出溶剂并将球团溶解于DMSO中,并通过0.2微米注射器过滤器过滤,以在C18制备型HPLC系统上进行纯化。将纯产物在冻干机上干燥为淡黄色粉末,并在氮气气氛和-80 $^{\circ}\text{C}$ 下储存。

[0198] 所述方法适用于从C2'-epi-AmB开始来制备所公开的C2'-epi-AmB的酰胺。

[0199] HPLC法:

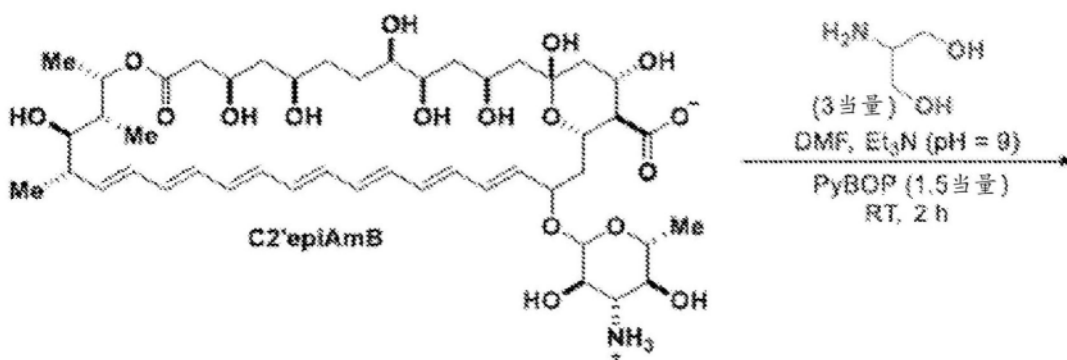
[0200] 分析柱:C18 Agilent柱(目录号:993967-902)

时间(min)	乙腈	10 mM NH ₄ OAc/ 0.1 % 甲酸缓冲液	流速(mL/min)
0	5	95	1.2
8	95	5	1.2
8.5	95	5	1.2
9.5	5	95	1.2
10.5	5	95	1.2

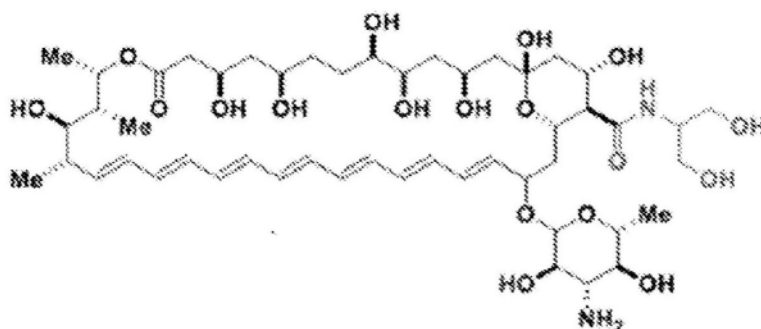
[0202] 制备柱:C18 Agilent柱(目录号:410910-502)

时间(min)	乙腈	10mM NH ₄ OAc缓冲液	流速 (mL/min)
0	5	95	30
1	5	95	50
15	95	5	50
16	95	5	50
17	5	95	50
18	5	95	30

[0204] 化合物1的合成:



[0205]



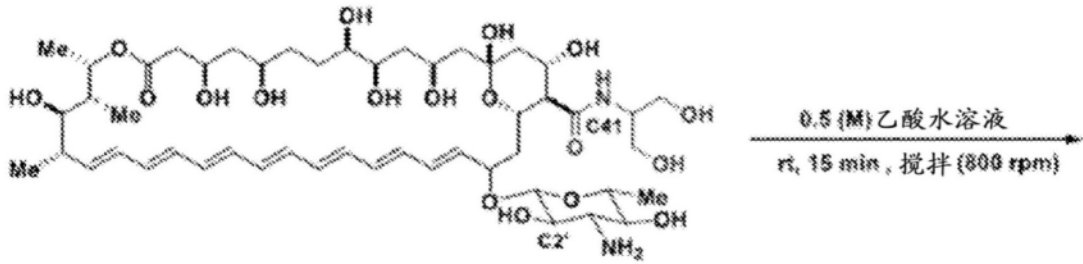
[0206] 将新鲜的Et₃N(直接从瓶中)(12μL)添加到C2' epiAmB(10mg;0.01mmol)和2-氨基-1,3-丙二醇(3当量;3mg)于DMF(400μL)中的溶液中。将反应混合物在室温下搅拌15分钟。将固体PyBOP(1.5当量;8.4mg)添加到混合物中,并将密封的小瓶在室温下搅拌2小时。通过分析HPLC痕迹监测反应的进展。

[0207] 一旦完成,即将反应物用DMSO稀释以形成澄清溶液并通过0.2微米注射器过滤器过滤,然后在C18制备型HPLC系统上纯化。将纯产物在冻干机上干燥为淡黄色粉末,并在惰性气氛和-80℃下储存。

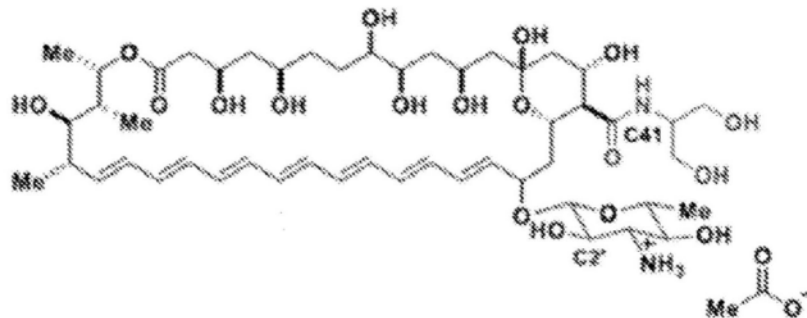
[0208] 产量5.6mg (52%)

[0209] 产物分子量:997.1860

[0210] 由化合物1合成化合物3:

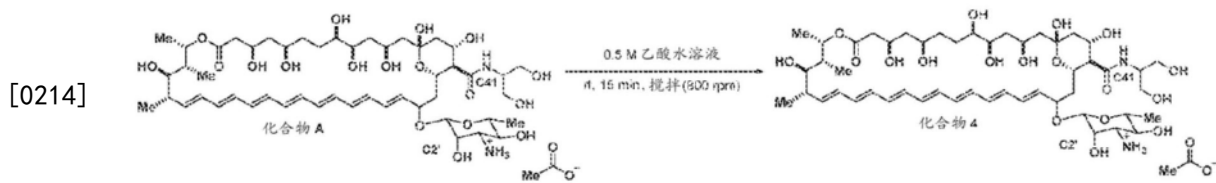


[0211]



[0212] 在一个含有50mg (X mg) 的HPLC纯化的化合物1的干净的烘箱干燥的40mL玻璃小瓶中添加2.5mL (0.05X mL) 的超纯水,然后添加200mL (4X mL) 的0.5 (M) 乙酸。添加酸后,溶液开始澄清。根据需要涡旋溶液以完全溶解溶质。在室温下将溶液超声处理1-2分钟后,向溶液中添加干净的搅拌珠并以800rpm搅拌15分钟。检查是否有任何固体残留物粘附在玻璃小瓶的顶部上。搅拌完成后,目视检查溶液是否有不溶部分或混悬液的任何迹象。现在从溶液中取出搅拌珠,将其冷冻在液氮中并放在冻干机上过夜干燥。

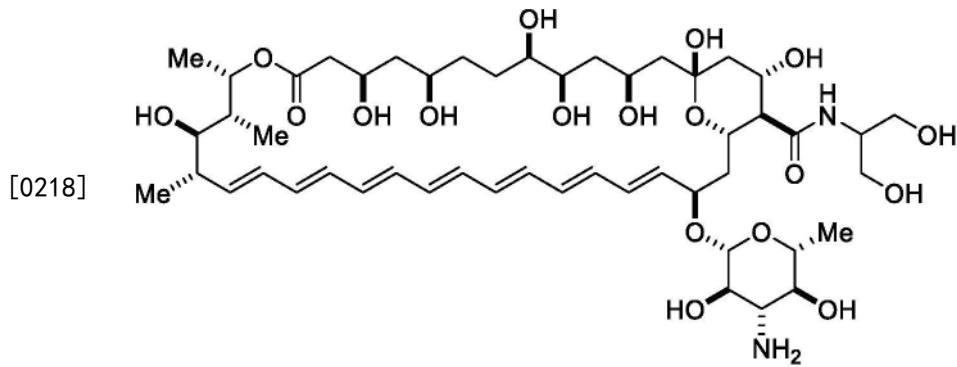
[0213] 化合物4的合成:



[0215] 在一个含有50mg (X mg) 的HPLC纯化的化合物A的干净的烘箱干燥的40mL玻璃小瓶中添加2.5mL (0.05X mL) 的超纯水,然后添加200mL (4X mL) 的0.5 (M) 乙酸。添加酸后,溶液开始澄清。根据必需涡旋溶液以完全溶解溶质。在室温下将溶液超声处理1-2分钟后,向溶液中添加干净的搅拌珠并以800rpm搅拌15分钟。检查是否有任何固体残留物粘附在玻璃小瓶的顶部。搅拌完成后,目视检查溶液是否有不溶部分或混悬液的任何迹象。现在从溶液中取出搅拌珠,将其冷冻在液氮中并放在冻干机上过夜干燥。

[0216] 实施例2.所公开化合物的表征数据

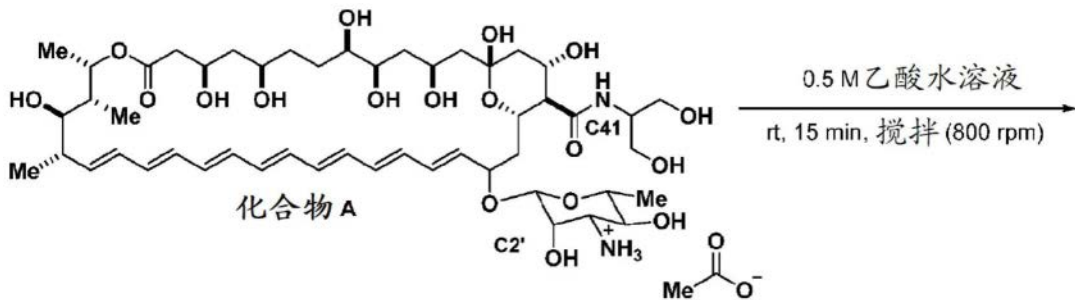
[0217] 化合物1



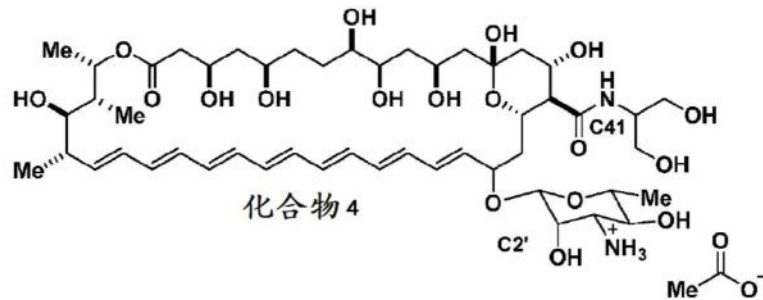
[0219] 化合物1的NMR谱显示于图4C中。

[0220] LCMS: $[M+H]^+ = 998.1935$ 。化合物1的色谱和质谱显示于图4A和图4B中。

[0221] 化合物4的合成:



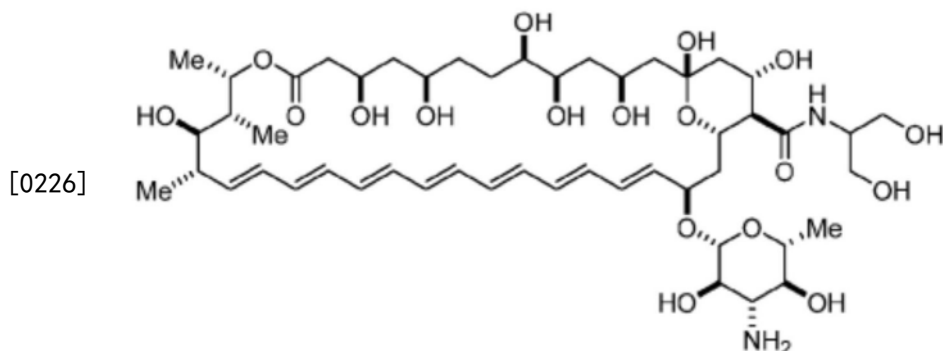
[0222]



[0223] 在一个含有50mg (X mg)的HPLC纯化的化合物A的干净的烘箱干燥的40mL玻璃小瓶中添加2.5mL (0.05X mL)的超纯水,然后添加200mL (4X mL)的0.5 (M) 乙酸。添加酸后,溶液开始澄清。根据必需涡旋溶液以完全溶解溶质。在室温下将溶液超声处理1-2分钟后,向溶液中添加干净的搅拌珠并以800rpm搅拌15分钟。检查是否有任何固体残留物粘附在玻璃小瓶的顶部。搅拌完成后,目视检查溶液是否有不溶部分或混悬液的任何迹象。现在从溶液中取出搅拌珠,将其冷冻在液氮中并放在冻干机上过夜干燥。

[0224] 实施例2.所公开的化合物的表征数据

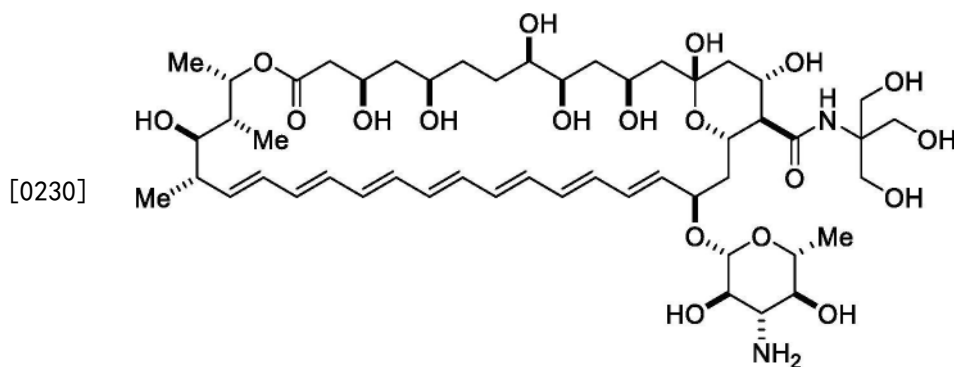
[0225] 化合物1



[0227] 化合物1的NMR谱显示于图4C中。

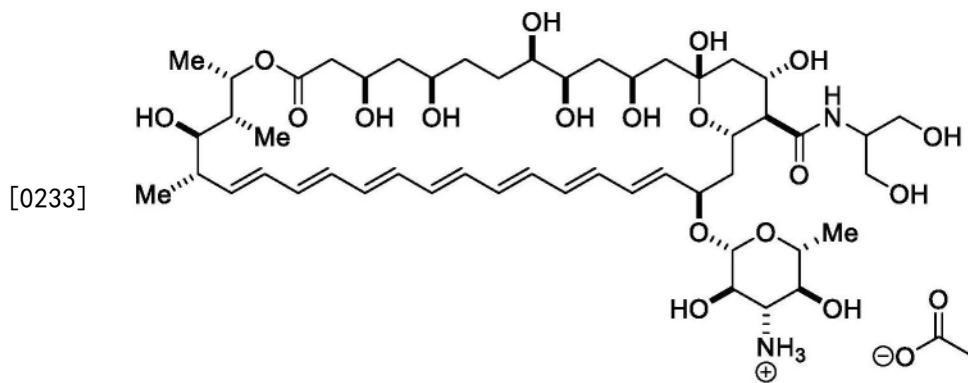
[0228] LCMS: $[M+H]^+ = 998.1935$ 。化合物1的色谱和质谱显示于图4A和图4B中。

[0229] 化合物2



[0231] LCMS: $[M+H]^+ = 1028.2195$ 。化合物2的色谱和质谱显示于图5A和图5B中。

[0232] 化合物3

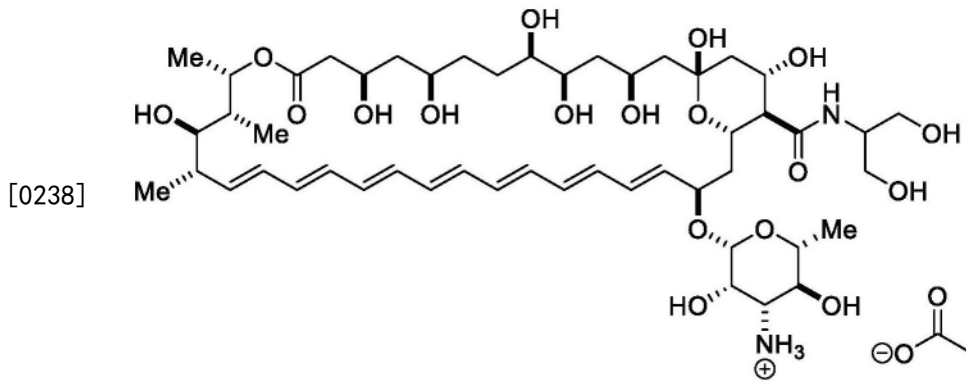


[0234] 化合物3的 1H NMR谱显示于图19A中。

[0235] 化合物3的 ^{13}C NMR谱显示于图19B中。

[0236] LCMS: $[M+H]^+ = 998.0192$ 。化合物3的色谱和质谱显示于图19C和图19D中。

[0237] 化合物4



[0239] 化合物3的¹H NMR谱显示于图24A中。

[0240] 化合物3的¹³C NMR谱显示于图24B中。

[0241] LCMS: [M+H]⁺ = 997.4949。化合物4的色谱和质谱显示于图24C和图24D中。

[0242] 实施例3. 所公开的化合物展示出与AmB相当的功效和DMPK, 但具有改进的安全性。

[0243] 表1. 所公开的化合物和AmB的功效、安全性和DMPK数据。

	AmB	化合物 1	化合物 2
功效			
<i>MIC_{avg}</i> 酵母菌(5 株)	0.23	0.53	0.41
<i>MIC_{avg}</i> 霉菌(3 株)	0.92	1.6	1
<i>MIC_{avg}</i> 酵母菌(46 株)	0.9	2.1	2.3
<i>MIC_{avg}</i> 霉菌(159 株)	0.9	1.4	2.6
小鼠念珠菌病模型	5.2	4.8	ND
5 mpk; Log (CFU/mL)			
安全性			
结合胆固醇	是	否	否
MHC	8.4	>100	>60
小鼠单次 IV 注射: 死亡率(40 mpk)	0/3	0/4	ND
肾毒性生物标志物	升高的	ND	ND
KIM1、LCN2、TIMP1、SPPI			
DMPK			
肝微粒体(<i>T</i> _{1/2} , min)	>145 所有物种	>145 所有物种	>145 所有物种
小鼠、大鼠、狗、猴、人			
血浆稳定性(<i>T</i> _{1/2} , min)	>289; >289	>289; >289	265.1; >289
小鼠; 人			
P450 抑制(%)	23.1; 4.1;	8.7; 26.9;	0.0; 0.0; 1.1;
1A2; 2C9; 2C19; 2D6; 3A4	7.3; 2.3; 8.1	0.0; 0.0; 14.5	0.0; 14.5
体内 PK: [1 mg/kg]; 5 mg/kg		[8.37; 0.891;	
<i>T</i> _{1/2} , (h), Cl (mL/min/kg),	ND	18785]	ND
<i>AUC</i> _{0-inf} (ng*hr/mL)		9.6; 1.05;	
		79575	

[0246] 实施例4. 所公开的化合物和AmB的抗真菌效力

[0247] 将来自SDA板的真菌或霉菌菌落混悬于RPMI培养基中,并将接种密度保持在 10^5 CFU/mL。将稀释细胞混悬液的990 μ L等分试样添加到无菌1.7mL eppendorf管中,然后添加10 μ L的400 μ M化合物溶液(在DMSO中)。每个eppendorf管中的DMSO浓度为1%,并且还进行了仅使用1% DMSO确认存活力的对照样品。在预定时间点(0、0.5、1、2、3、4、5、6、8、10和24h),从每个管中取出10 μ L样品,并用RPMI连续稀释10倍,并且将10 μ L等分试样涂铺到SDA板上以用于菌落计数测定。当预期菌落计数低于1,000CFU/mL时,直接从测试溶液中取出50 μ L等分试样并且无需稀释即可涂铺到SDA板上。检查前将板在37 $^{\circ}$ C下孵育24h。所有实验一式两份地进行。

[0248] 表2. AmB(安必素)和所公开的化合物对不同霉菌的最低抑制浓度。

	MIC (μ M)	分离株的数量	AmB	化合物 1	化合物 2
	烟曲霉	5	0.71	1.33	2.33
	黄曲霉	6	1.16	1.67	1.67
[0249]	黑曲霉	6	0.21	0.5	0.75
	土曲霉	6	3	2	2.3
	焦曲霉	6	1.5	2.17	2.33
	缓慢曲霉	6	3.75	2.33	4.33
	温变曲霉	6	0.6	1.45	2.1

	MIC (μM)	分离株的数量	AmB	化合物 1	化合物 2
	塔宾曲霉	6	0.125	0.83	0.92
	卷枝毛霉	6	0.125	0.58	0.92
	詹森毛霉	6	0.06	0.5	0.92
	毡毛毛霉	6	0.08	0.67	1.17
	荚膜组织胞浆菌	6	0.06	0.06	0.08
	粗球孢子菌	6	0.125	0.27	0.27
	球孢子菌	6	0.06	0.25	0.5
	尖孢镰刀菌	6	1.5	6	13.3
	腐皮镰刀菌	6	1.33	5.67	14
	宛氏拟青霉	5	1	2	2.67
[0250]	MYA-3630 (QC)				
	小克银汉霉属某种	6	2	4	5.33
	伞枝横梗霉	6	0.23	0.5	1
	多枝横梗霉	6	0.15	0.58	0.75
	共头霉属某种	6	0.06	0.5	1
	斑替枝孢霉	6	0.375	1.17	1.83
	皮炎芽生菌	5	<0.03	0.25	0.6
	产色芽生菌属某种	6	<0.03	<0.03	<0.03
	马尔尼篮状菌	6	0.09	0.12	0.21
	囊托霉属某种	3	0.75	6.8	8.3
	瓶霉属某种	4	0.06	0.23	0.36
	平均 MIC	157	0.9	1.4	2.6

[0251] 表2A. AmB(安必素) 和所公开的化合物对不同霉菌的最低抑制浓度。

	MIC (μM)	分离株的数量	AmB	化合物 3
	烟曲霉	16	2.1	3.3
[0252]	土曲霉	5	7	3.2
	黄曲霉	3	4	3.3

[0253] 表3. AmB(安必素) 和所公开的化合物对不同酵母菌的最低抑制浓度。

	MIC (μM)	分离株的数量	AmB	化合物 1	化合物 2
[0254]	耳念珠菌	10	1.2	2.6	2.6
	克鲁斯念珠菌	2	1	2	3
	近平滑念珠菌	8	1.1	1.8	1.6
	新型隐球菌	10	0.55	2	2
	格特隐球菌	10	0.75	1.6	2
	红酵母属某种	6	1	2.8	3.7
	平均 MIC	46	0.9	2.1	2.3

[0255] 表3A. AmB(安必素)和所公开的化合物对不同酵母菌的最低抑制浓度。

	MIC (μM)	分离株的数量	AmB	化合物 3
[0256]	白色念珠菌	15	0.61	2.1
	热带念珠菌	10	0.8	1.6
	近平滑念珠菌	6	0.5	1.8
	光滑念珠菌	5	1.4	1.8
	耳念珠菌	15	2.9	2.3
	克鲁斯念珠菌	4	2.5	4
	新型隐球菌	3	1.17	2.33
	格特隐球菌	1	1	2
	红色发癣菌	3	1.1	2.6
	须发癣菌	3	4	3.3
	糠秕马拉色菌	3	>16	>16
	腐皮镰刀菌	2	3	6
	犬小孢子菌	2	0.56	0.75
	尖端赛多孢子菌	2	>16	>16
	多育赛多孢子菌	2	>16	>16
絮状表皮癣菌	2	0.38	1.5	

[0257] 表4. AmB(安必素)和所公开的化合物对不同的耐AmB稀有霉菌的最低抑制浓度。

	MIC (μM)	分离株的数量	AmB	化合物 1	化合物 2
	申克孢子丝菌	6	4	6	>5.2
	淡紫紫孢菌	6	>16	>16	>16
[0258]	桔黄赛多孢子菌	4	>16	>16	>16
	波氏赛多孢子菌	6	>16	>16	>16
	多育结荚孢	6	>16	>16	>16
	平均 MIC	28			

[0259] 实施例5. 所公开化合物的体外和体内安全性

[0260] UV-Vis结合测定(图1A): 用于固醇结合测定(UV-Vis)的方案是在我们的实验室中开发的。将化合物以1mM的终浓度溶解于DMSO中。固醇首先溶解于CHCl₃(>200mM)中, 然后用DMSO稀释至1mM浓度。为合成复合物, 将1 μl 化合物溶液放入干净的ependorf管(2ml)中, 并向其中添加固醇溶液(体积取决于化学计量), 并将体积用DMSO补足至20 μl 。向Eppendorf管中添加0.98ml的PBS缓冲液并适当地混合。孵育30分钟后测量溶液的吸光度。

[0261] MHC(图1B和图10): 用于溶血测定的方案改编自Paquet和其同事的报告(Chem. Eur. J. 2008, 14, 2465-2481)。全人血(肝素钠)是购自Bioreclamation LLC(Westbury, NY)的并且在4°C下储存, 并在收到的两天内使用。向2.0mL eppendorf管中添加1mL全人血并以10,000g离心2分钟。去除上清液, 并用1mL无菌盐水洗涤红细胞球团, 并以10,000g离心2分钟。重复盐水洗涤总共三次。将红细胞球团混悬于1mL的RBC缓冲液(10mM NaH₂PO₄、150mM NaCl、1mM MgCl₂, pH 7.4)中以形成红细胞储备混悬液。

[0262] 化合物在DMSO中制备为>15mM的储备溶液, 并用DMSO连续稀释至以下浓度: 7689、5126、2563、2050、1538、1025、769、513、384、256、205、154、103、77、51、26 μM 。向0.2mL PCR管中添加24 μL RBC缓冲液和1 μL 化合物储备溶液, 最终浓度为500、300、200、100、80、60、40、30、20、15、10、8、6、4、3、2、1 μM 。通过将1 μL DMSO添加到超纯水或RBC缓冲液中, 分别添加到0.2mL PCR管中来制备阳性和阴性对照。向每个PCR管中添加0.63 μL 的红细胞储备混悬液并通过倒置来混合。将样品在37°C下孵育2小时。通过倒置混合样品并以10,000g离心2分钟。将来自每种样品的15 μL 上清液添加到384孔位置。使用Biotek H1 Synergy Hybrid Reader(Winooski, VT)在540nm处读取吸光度。实验一式三份地进行, 并且报告的MHC代表三次实验的平均值。

[0263] 实施例6. 所公开化合物的体内小鼠药代动力学实验

[0264] 小鼠PK(图2): 使用在实验室中合成并通过制备型HPLC纯化(>91%)的化合物进行实验。将所有化合物溶解于D5W(5%葡萄糖水溶液)中以用于IV注射。雌性CD-1小鼠(每组3只; 每只体重大约30g)用化合物(按照计划剂量)注射, 并在不同时间点收集血液样品, 并且使用以下程序分析化合物含量。

[0265] 仪器: Triple Quad 6500+

[0266] 基质: 雄性CD-1小鼠血浆(EDTA-K2)

[0267] 分析物: 化合物1

- [0268] 内标物:ACN中的100ng/mL拉贝洛尔和100ng/mL甲苯磺丁脲
 [0269] MS条件ESI:阳性
 [0270] SRM检测
 [0271] 化合物1: [M+H]⁺m/z 979.8>798.4
 [0272] 拉贝洛尔 (IS) : [M+H]⁺m/z 329.2>162.1
 [0273] UPLC条件
 [0274] 流动相A:水中的0.1% FA
 [0275] 流动相B:ACN中的0.1% FA

	时间(min)	移动相 B (%)
	1.10	98
[0276]	1.50	98
	1.51	15
	2.10	停止

- [0277] 柱:Waters ACQUITY UPLC HSS T3 1.8 μ m 2.1 \times 50mm
 [0278] 流速:0.6000mL/min
 [0279] 保留时间:拉贝洛尔 (IS) :0.998min
 [0280] 样品制备:

[0281] 用120 μ L IS溶液(含100ng/mL拉贝洛尔和100ng/mL甲苯磺丁脲的ACN溶液)对24 μ L样品等分试样进行蛋白质沉淀,将混合物充分涡旋混合并在4 $^{\circ}$ C下以3900rpm离心10分钟。将90 μ L上清液的等分试样转移到样品板并与60 μ L水混合,然后将板以800rpm摇动10分钟。注入15.0 μ L上清液用于LC-MS/MS分析。

[0282] 校准曲线:

[0283] 雌性CD-1小鼠血浆(EDTA-K2)中的化合物1为1.00-3000ng/mL

[0284] 额外的小鼠PK实验(图3):在24h后,从用化合物治疗的小鼠中收集血液样品用于体内毒性实验(参见上文)。向50 μ L小鼠血清中添加300 μ L的HPLC级甲醇。混合物通过涡旋30s来充分混合。为了允许完全提取AmB(或衍生物)和沉淀蛋白质,将混合物在室温下静置0.5h。然后将混合物以16000g离心10分钟,并将未过滤的上清液用于HPLC分析。(注意——AmB与预过滤器结合)。通过预先建立的标准曲线计算AmB(或衍生物)的浓度。

[0285] 标准曲线按如下步骤制备:

[0286] 1:在甲醇中制备一系列不同浓度(10、20、40、80、100、200、400、1000 μ M,通过UV-vis测定,406nm处的消光系数:164mM⁻¹)的AmB(或衍生物)溶液,

[0287] 2:取10 μ L标准溶液注入HPLC中,使用曲线下面积和其对应的浓度建立标准曲线。

[0288] HPLC法:

[0289] C18 SiO₂柱:Sunfire柱,5 μ M,15cm;

[0290] 水性缓冲液(A):在MQ水中过滤的0.1%甲酸

[0291] 有机溶剂(B):过滤的HPLC级乙腈

[0292] 流速:1mL/min,DAD:406.4nm,电离法:AJS ESI,正模式

[0293] 梯度变化:在8分钟内95:5(0.1%甲酸水溶液:MeCN)至5:95(0.1%甲酸水溶液:MeCN),梯度变化时间表如下

- [0294] 0min 95% A,5% B
 [0295] 0.5min 95% A,5% B
 [0296] 8.5min 5% A,95% B
 [0297] 9.5min 5% A,95% B
 [0298] 10.5min 95% A,5% B
 [0299] 实施例7.所公开化合物的溶解度
 [0300] 测试品1:在实验室中合成(纯度>95%)
 [0301] D5W: Braun USA(产品号L5101)
 [0302] 仪器详情:
 [0303] 超声波仪: Branson Ultrasonics 2800; Vortex-Genie 2实验室混合器
 [0304] UV-Vis: Thermo Fisher Nanodrop oneC
 [0305] 步骤:*
- [0306] ■将6mg样品(通过UV-Vis测量)放入干净的烘箱干燥的7mL小瓶中
 - [0307] ■添加1.65mL无菌D5W(在室温下)
 - [0308] ■将其涡旋2分钟。
 - [0309] ■水浴超声处理:2min X 2
 - [0310] ■重复步骤3和步骤4直到溶液澄清
 - [0311] ■转移到2mL Eppendorf管中并离心(3000g X 2min)以确保化合物完全溶解并且没有不溶部分。(任选步骤)
 - [0312] ■通过UV测量的浓度(406nm处的绝对值)(任选步骤)
 - [0313] *量是基于为50mg/kg剂量体内毒性实验制备的溶液
 - [0314] 表5.所公开化合物和AmB在D5W中的溶解度。

[0315]

	AmB	化合物1	化合物2
溶解度(mM)	0.023	>7.22	0.366
相对于AmB增加的倍数	--	>314	15.9

- [0316] 实施例8.白色念珠菌的杀伤动力学测定:(图6)
 [0317] 杀伤动力学测定的方案改编自用于MIC测量的CLSI方案。从库存中,将真菌菌落混悬于0.9%无菌盐水溶液中,并稀释至 $\approx 10^3$ 接种密度。使用L-涂布器将10 μ l等分试样涂铺在沙氏葡萄糖琼脂(SDA)板上,并在35°C下孵育24-48h,并监测菌落生长。在实验期间,将2-3个单菌落混悬于10mL RPMI 1640培养基(按照CLSI方案制备)中,并使用血细胞计数器测量细胞密度。然后将接种密度调整为 $\approx 10^5$ cfu/mL。在无菌Eppendorf管(1.7mL-2mL)中,将990 μ L接种等分试样与10 μ L 100X化合物溶液混合(在DMSO中制备溶液,并且每个测试溶液中DMSO含量为1%)。在RPMI 1640培养基中仅使用1%DMSO制备对照样品以确认存活力。在预定时间点(0、0.25、0.5、0.75、1、2、3、4、5、6、8、10、16和24h),从每个管中取出10 μ L样品,并用RPMI 1640培养基连续稀释10倍,并且将10 μ L等分试样涂铺到SDA板上以用于菌落计数测定。当预期菌落计数低于1,000CFU/mL时,取出50 μ L等分试样并在RPMI 1640培养基中半稀释,并将50 μ L涂铺到SDA板上。检查前将板在35°C下孵育24至48小时。所有实验一式三份地进行。
 [0318] 实施例9.在鼠类念珠菌病模型(白色念珠菌SN250)中的体内功效:(图7和8)

[0319] 图7:基于不同测试候选者的数量和不同的剂量,将雌性CD-1小鼠(平均体重=27g)分组,其中每组由4只小鼠组成。

[0320] 治疗前所有组都经由尾静脉接种白色念珠菌SN250(≈ 105 CFU/mL)。接种2小时后,用测试品(在盐水中)的单剂量IV配制物治疗各组。孵育24小时后,对动物实施安乐死,并收集肾脏并立即均质化。为了测量治疗后24小时的真菌负荷,涂铺血清并计算菌落密度(CFU/mL)。在本实验中,安必素和C2'epiAmB用作对照,并且与对照相似,以5mg/kg的剂量施用测试品化合物1。

[0321] 图8:为了测试较高剂量的化合物1的功效,我们开发了药物的乙酸盐版本,发现它高度可溶于水溶液中,尤其可溶于D5W盐水媒介物中。因此,我们继续并重复上述体内研究,并测试了药物候选物化合物3在四种不同的单一剂量下的功效:1.5mg/kg;5mg/kg;15mg/kg和45mg/kg。实验后使用以上提及的程序测量真菌负荷。在本研究中,我们能够证明使用无毒化合物3可以高剂量根除真菌感染。

[0322] 实施例10.在鼠类念珠菌病模型(白色念珠菌SC5314)中的体内功效:(图9)

[0323] 在本研究中,研究了化合物3在多剂量方案中针对雄性ICR小鼠中的白色念珠菌SC5314的功效和耐受性。在7天内测试了作为每日单一剂量的三种不同剂量的化合物3:1mg/kg;5mg/kg和15mg/kg。每天还记录体重。使用两种不同剂量的安必素作为对照。每组由6只小鼠组成。治疗前所有组都经由尾静脉接种白色念珠菌SC5314($\approx 1.9 \times 10^5$ CFU/mL)。接种5小时后,给予各组第一IV剂量(在D5W中)。完成7天治疗后,处死所有小鼠,并使用涂铺技术测量肾脏中的真菌负荷。雄性体重显示于图22A和22B中。

[0324] 实施例11.在鼠类念珠菌病模型(耳念珠菌)中的体内功效:(图10)

[0325] 基于不同测试候选者的数量和不同的剂量,将雌性CD-1小鼠(平均体重=27g)分组,其中每组由4只小鼠组成。治疗前所有组都经由尾静脉接种耳念珠菌(≈ 105 CFU/mL)。接种2小时后,给予各组化合物3的第一IP剂量(在盐水中)。在接下来的四天内,在接种后24h、48h和72h给予多次剂量。治疗4天后,对所有动物实施安乐死,并且收集肾脏并立即均质化。为了测量治疗后24h的真菌负荷,涂铺血清并计算菌落密度(CFU/mL)。在本实验中,两种不同剂量的安必素用作对照,并且测试品化合物3以1.5、5、15和45mg/kg的剂量施用。

[0326] 实施例12.在鼠类曲霉病模型中的体内功效:(图11)

[0327] 在本研究中,研究了化合物3在多剂量方案中针对雄性ICR小鼠中的烟曲霉1163的功效和耐受性。在4天内测试了作为每日单一剂量的两种不同剂量的化合物3:5mg/kg和15mg/kg。每天还记录体重。安必素(10mg/kg)在本实验中用作对照。每组由6只小鼠组成。在研究前三天,所有小鼠都用环磷酰胺(200mg/kg)作为免疫抑制剂进行治疗。在研究当天,所有组都经由尾静脉接种烟曲霉1163($\approx 2.9 \times 10^5$ CFU/mL)。接种5小时后,给予各组第一次IV剂量(在D5W中)。完成4天治疗后,处死所有小鼠,并使用涂铺技术测量肾脏中的真菌负荷。体重可在载玻片17上找到。

[0328] 实施例13.Wajima叠加:(图12和13)

[0329] 使用Wajima叠加预测人DMPK是使用标准方案完成的。

[0330]

PK参数	大鼠	狗	猴	人
CL _p (mL/min/kg)	1.56	0.365	0.169	NA
V _{ss} (L/kg)	0.873	0.615	0.249	NA

血浆蛋白结合 ($f_{u,p}$)	0.0406	0.0364	0.0273	0.0445
血液:血浆	0.757	0.753	0.751	0.597

[0331]	NCA参数	值
	CL_p (mL/min/kg)	0.11
	V_{ss} (L/kg)	0.39
	$t_{1/2}(\alpha)$ (h)	3.8
	$t_{1/2}(\beta)$ (h)	44
	AUC_{0-t} ($\mu\text{g h/mL}$)	139.3
	AUC_{0-24} ($\mu\text{g h/mL}$)	60.8
	C_0 ($\mu\text{g/mL}$)	3.85

[0332] 人PK:

[0333]	PK 参数(血浆)	观察到的参数 安必素, 2 mg/kg*	预测参数 AM-2-19, 2 mg/kg**
	Cmax 或 C0 ($\mu\text{g/mL}$)	Cmax=22.9 (2 小时输注)	C0=7.70 (团注)

	AUC0-24 ($\mu\text{g h/mL}$)	171 \pm 126		122	
	PK 参数	安必素		化合物 3	
	剂量(mg/kg)	1	5	1	5
[0334]	CL_p (mL/min/kg)	1.6	0.71	1.4	1.4
	V_{ss} (L/kg)	0.78	0.37	1.1	1.5
	$t_{1/2}$ (h)	5.7	5.7	9.3	13.7
	C_0 ($\mu\text{g/mL}$)	5.6	14.7	3.0	14.2
	AUC_{0-24} ($\mu\text{g h/mL}$)	20.5	114	9.7	42.2

[0335] *来自Antimicrobial Agents Chemother.2002,46(3):828-833

[0336] **假设剂量成比例

[0337] 小鼠PK, IV团注(雌性CD-1):

	PK 参数	安必素		化合物 3	
	剂量(mg/kg)	1	5	1	5
[0338]	CL_p (mL/min/kg)	1.6	0.71	1.4	1.4
	V_{ss} (L/kg)	0.78	0.37	1.1	1.5
	$t_{1/2}$ (h)	5.7	5.7	9.3	13.7
	C_0 ($\mu\text{g/mL}$)	5.6	14.7	3.0	14.2
	AUC_{0-24} ($\mu\text{g h/mL}$)	20.5	114	9.7	42.2

[0339] 实施例14. 鼠类模型中的体内毒性:(图15和16)

[0340] 在本研究中,使用肾毒性生物标志物基因的表达研究了化合物3的体内毒性。基于不同测试候选者的数量和不同的剂量,将雌性CD-1小鼠(平均体重=27g)分组,其中每组由4只小鼠组成。在实验当天,通过IV施用不同剂量的化合物3。用安必素和C2'epi AmB治疗的组用作参考。24h后,处死所有小鼠并且收获肾脏中的真菌负荷,并在-80℃下储存在RNAlater中。随后将肾脏均质化并提取RNA。使用RT-PCR技术参考GAPDH测量KIM1、LCN2、TIMP1和SPP1基因的表达。

	化合物 3				安必素	C2'epiAmB
	1.5 mg/kg	5 mg/kg	15 mg/kg	45 mg/kg	45 mg/kg	45 mg/kg
[0341]	存活小鼠 的数量	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
[0342]	无痛苦小鼠 的数量	4/4	4/4	4/4	2/4	4/4

[0343] 实施例15. 化合物3的耐受性以及施用化合物1或3后肾生物标志物和基因表达的变化(图11A-11C和12)

[0344] hERG抑制、血浆相容性和Ames测定是使用工业标准方案进行的。

[0345] hERG抑制研究:hERG钾电流达到100uM(所测试的最高浓度)时无抑制作用。

[0346] 血浆相容性:在1:1稀释的所有3个浓度下均观察到ppt;仅在1:0.1稀释时以5mg/mL观察到。正在进行配制物优化。

[0347] Ames研究:在任何测试剂量水平下均未观察到遗传毒性响应

[0348] 实施例16. 化合物3的体外耐受性(图20A-20D)

[0349] 程序:从ATCC获得了四种不同的细胞系,并且按照ATCC的建议,与AmB、C2'epiAmB和化合物4一起测试了化合物3的耐受性。

[0350] 神经毒性:SH-SY5Y(CRL-2266;人神经母细胞瘤;图20A)。将细胞在完全MEM培养基中生长,并在96孔板中一式三份地测试耐受性。DMSO和嘌呤霉素(100μM)用作阳性和阴性对照。在实验期间,接种密度保持在 10^4 个细胞/孔(5×10^5 CFU/mL)。所有测试化合物储备溶液均在DMSO中制备,并且最终培养物中的DMSO浓度保持在1%。将化合物添加到培养物中后,将其在5% CO₂气氛和35°C下孵育24小时,并使用阿尔玛蓝荧光染料(激发555nm和荧光585nm)测量细胞存活力。

[0351] 肝毒性:Hep-G2(HB-8065;人肝细胞;图20B)。细胞在完全MEM培养基中生长,并在96孔板中一式三份地测试耐受性。DMSO和嘌呤霉素(100μM)用作阳性和阴性对照。在实验期间,接种密度保持在 10^4 个细胞/孔(5×10^5 CFU/mL)。所有测试化合物储备溶液均在DMSO中制备,并且最终培养物中的DMSO浓度保持在1%。将化合物添加到培养物中后,将其在5% CO₂气氛和35°C下孵育24h,并使用阿尔玛蓝荧光染料(激发555nm和荧光585nm)测量细胞存活力。

[0352] 心脏毒性:H9C2(CRL-1446;大鼠心肌细胞;图20C)。将细胞在完全DMEM培养基中生长,并在96孔板中一式三份地测试耐受性。DMSO和嘌呤霉素(100μM)用作阳性和阴性对照。在实验期间,将接种密度保持在 10^4 个细胞/孔(5×10^5 CFU/mL)。所有测试化合物储备溶液均在DMSO中制备,并且最终培养物中的DMSO浓度保持在1%。将化合物添加到培养物中后,将其在5% CO₂气氛下于35°C孵育24小时,并使用Alamar蓝色荧光染料(激发555nm和荧光585nm)测量细胞存活力。

[0353] 血液毒性:K562(CCL-243;人淋巴母细胞;图20D)。将细胞在完全IMDM培养基中生长,并在96孔板中一式三份地测试耐受性。DMSO和嘌呤霉素(100μM)用作阳性和阴性对照。在实验期间,将接种密度保持在 10^5 个细胞/孔(5×10^6 CFU/mL)。所有测试化合物储备溶液均在DMSO中制备,并且最终培养物中的DMSO浓度保持在1%。将化合物添加到培养物中后,将

其在5% CO₂气氛下于35℃下孵育24小时,并使用Alamar蓝色荧光染料(激发555nm和荧光585nm)测量细胞存活力。

[0354] 实施例17. 化合物3在小鼠中的体内耐受性(图21A-21G)

[0355] 将健康雌性CD-1小鼠分为4只/组。将测试化合物溶解于经临床批准的无菌D5W(5%葡萄糖)中,并在研究期间通过尾静脉输注。相应地调整化合物的浓度以获得0.3mL注射液的目标剂量。孵育24小时后,对动物实施安乐死,采集血液样品用于临床分析物的定量分析,并且采集器官用于组织病理学分析。

[0356]	化合物	剂量	存活	痛苦的
--------	-----	----	----	-----

		(mg/kg) (活的/总数)		
AmB-脱氧胆酸盐(1:2) (二性霉素)*		1	4/4	0/4
		2	4/4	0/4
		4*	4/4	4/4
C2'epiAmB-脱氧胆酸盐(1:2)		1	4/4	0/4
		4	4/4	0/4
		45	4/4	0/4
[0357]	化合物 4	1	4/4	0/4
		2	4/7	2/4
		4	0/6	-
化合物 3		1	4/4	0/4
		4	4/4	0/4
		45	4/4	0/4
脱氧胆酸盐**		1	4/4	0/4
		4	4/4	0/4
		45	4/4	0/4

* 在 4 mg/kg 下历史上不耐受

**基于表脱氧剂量方案中存在的量

[0358] 0=组织学上不明显;1=最小;2=轻度;3=中度;4=显著;5=严重

[0359] D=漫射;F=局灶;M=多灶性;P=存在

[0360]

		二性霉素(AmB:脱氧胆酸盐 1:2)											
		1 mg/kg				2 mg/kg				4 mg/kg			
异物		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
出血, 肺泡	肺	0	3F	0	2F	0	0	0	0	0	0	0	0
浸润, 肺泡巨噬细胞		0	2F	0	1F	0	0	0	0	0	0	0	0
浸润, 混合细胞		0	0	0	1F	0	0	0	0	0	0	0	0
水肿, 间质		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
浸润, 混合细胞	心脏	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
肌变性		0	0	0	0	0	0	0	M	0	0	0	0
浸润, 混合细胞		1M	1M	1M	0	0	2M	0	M	1F	0	1M	1M
坏死	肝	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
中性白细胞浸润		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
收缩		0	0	0	0	0	P	0	0	0	0	0	0
中性白细胞增多, 红髓	脾	0	0	0	0	0	1M	1M	2M	2M	2M	2M	2M
淋巴细胞溶解		0	0	0	0	0	0	0	0	2M	2M	0	0
间质组织细胞增多		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2M
间质水肿, 皮层		0	0	0	0	0	1M	0	0	1M	1M	0	1M
间质混合细胞浸润		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
中性白细胞浸润, 肾盂		0	0	0	0	0	0	0	0	2M	0	0	0
管状嗜碱细胞, 皮层		0	0	1F	0	0	0	0	0	0	0	0	2M
管状细胞管型, 皮层		0	0	0	0	2M	2M	0	0	2M	2M	2M	1M
管状细胞管型, 髓质		0	0	0	0	4M	4M	3M	3M	4M	4M	4M	3M
管状囊肿, 皮层	肾	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
管状变性和坏死, 皮层		0	0	0	0	2M	2M	0	0	2M	2M	2M	2M
管状变性和坏死, 髓质		0	0	0	0	4M	4M	3M	3M	5M	4M	4M	4M
管状扩张, 皮层		0	0	0	0	3M	3M	2M	2M	3M	3M	3M	2M
管状蛋白管型, 皮层		0	0	0	0	3M	3M	2M	2M	3M	3M	3M	2M
管状蛋白管型, 髓质		0	0	0	0	4M	4M	2M	2M	4M	4M	4M	3M
管状再生, 髓质		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3M
血管充血, 髓质		0	0	0	0	4M	4M	0	3M	5D	4M	4M	4M

		C2'epiAmB:脱氧胆酸盐 1:2											
		1 mg/kg				4 mg/kg				45 mg/kg			
异物		0	0	0	0	0	0	0	p	0	0	0	p
出血, 肺泡	肺	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
浸润, 肺泡巨噬细胞		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
浸润, 混合细胞		0	0	0	0	0	0	1F	2F	0	0	0	2M
水肿, 间质		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
浸润, 混合细胞	心脏	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
肌变性		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
浸润, 混合细胞		1M	2M	1M	1M	1F	0	0	1F	1M	1M	1M	2M
坏死	肝	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
中性白细胞浸润		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
收缩		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
中性白细胞增多, 红髓	脾	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
淋巴细胞溶解		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

间质组织细胞增多		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
间质水肿, 皮层		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
间质混合细胞浸润		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
中性白细胞浸润, 肾盂		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
管状嗜碱细胞, 皮层		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
管状细胞管型, 皮层		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
管状细胞管型, 髓质		0	0	0	0	0	0	0	2M	2M	0
管状囊肿, 皮层	肾	0	p	0	0	0	0	0	0	0	0
管状变性和坏死, 皮层		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
管状变性和坏死, 髓质		0	0	0	0	0	0	0	2M	2M	0
管状扩张, 皮层		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
管状蛋白管型, 皮层		0	0	1F	0	0	1M	0	0	0	0
管状蛋白管型, 髓质		0	0	1M	0	0	1M	0	0	1M	0
管状再生, 髓质		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
血管充血, 髓质		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

[0361]

		化合物 4							
		1 mg/kg				2 mg/kg			
异物		0	0	0	0	0	0	0	0
出血, 肺泡	肺	0	1F	0	0	0	0	1F	0
浸润, 肺泡巨噬细胞		0	0	0	0	0	0	0	0
浸润, 混合细胞		0	0	0	0	0	0	0	0
水肿, 间质		0	0	1F	0	0	1F	0	0
浸润, 混合细胞	心脏	0	0	2M	0	0	2F	0	0
肌变性		0	0	1F	0	0	0	0	0
浸润, 混合细胞		1M	0	1M	1M	1F	0	0	1M
坏死	肝	0	2M	0	0	0	0	0	0
中性白细胞浸润		0	2M	0	0	0	0	0	0
收缩		0	0	0	0	0	0	0	0
中性白细胞增多, 红髓	脾	0	0	0	0	0	0	0	0
淋巴细胞溶解		0	0	0	0	0	0	0	0
间质组织细胞增多		0	0	0	0	0	0	0	0
间质水肿, 皮层		0	0	0	0	0	0	0	0
间质混合细胞浸润		1M	2F	0	1M	1M	0	0	0
中性白细胞浸润, 肾盂		0	0	0	0	0	0	0	0
管状嗜碱细胞, 皮层		0	2F	1F	0	0	0	0	0
管状细胞管型, 皮层		0	0	0	0	0	0	2M	0
管状细胞管型, 髓质		0	3M	0	0	2M	1M	2M	0
管状囊肿, 皮层	肾	0	0	0	0	0	0	0	0
管状变性和坏死, 皮层		0	0	0	0	0	0	2M	0
管状变性和坏死, 髓质		0	3M	0	0	3M	2M	3M	0
管状扩张, 皮层		1M	2M	0	0	0	0	3M	0
管状蛋白管型, 皮层		0	2M	0	0	0	0	3M	0
管状蛋白管型, 髓质		0	3M	0	0	0	1M	3M	0
管状再生, 髓质		0	0	0	0	0	0	0	0
血管充血, 髓质		0	3M	0	0	0	0	3M	0

		化合物 3										
		1 mg/kg				4 mg/kg			45 mg/kg			
[0362]	异物	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	出血, 肺泡	肺	0	0	0	0	0	0	2M	2M	0	0
	浸润, 肺泡巨噬细胞		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	浸润, 混合细胞		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	水肿, 间质	心脏	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	浸润, 混合细胞		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	肌变性		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	浸润, 混合细胞		1M	0	0	1M	1M	1M	1F	0	2M	0
[0362]	坏死	肝	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	中性白细胞浸润		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	收缩		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	中性白细胞增多, 红髓	脾	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	淋巴细胞溶解		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	间质组织细胞增多		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	间质水肿, 皮层		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	间质混合细胞浸润		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	中性白细胞浸润, 肾盂		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	管状嗜碱细胞, 皮层		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	管状细胞管型, 皮层		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	管状细胞管型, 髓质		0	0	0	0	0	0	0	2M	0	0
	管状囊肿, 皮层	肾	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	管状变性和坏死, 皮层		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	管状变性和坏死, 髓质		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	管状扩张, 皮层		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
管状蛋白管型, 皮层		0	0	0	0	1F	1F	0	1M	0	0	
管状蛋白管型, 髓质		0	0	0	0	1F	1F	1F	0	0	0	
管状再生, 髓质		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
血管充血, 髓质		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

[0363] 实施例18:化合物3对唑类和棘白菌素抗性真菌菌株的体外功效

[0364] 本实验是按照标准的CLSI方案进行的。

		MIC (mM)					
菌株	菌株信息	化合物 3	安必素	伏立康唑	卡泊芬净	泊沙康唑	
[0365]	CEA10	临床分离株	1.00	0.54	1.43	0.41	0.18
	Af 3626	ATCC 菌株	1.00	0.54	0.72	0.41	
	Af F12776	耐唑类(Y431C)	0.50	0.54	>11.46	0.41	
	Af F14946	耐唑类(G138C)	1.00	0.54	>11.46	0.41	
	Af F16134	耐唑类(M220K)	1.00	1.08	>11.46	0.21	
[0366]		耐唑类					
	Af F16216	(L98H+TR)	0.50	0.54	>11.46	0.41	1.43
	Af F7075	耐唑类(G54E)	1.00	0.54	5.73	0.82	
	EMFR-S678P	耐棘白菌素	2.01	0.54	1.43	>3.3	

[0367] 实施例19:化合物3对小鼠肺曲霉病的功效研究的方案开发(图22和23)。

[0368] 功效研究(图22):将健康小鼠分成10只小鼠/组。所有动物在第-2天和第+3天用环磷酰胺(150mg/kg)治疗,并且在第-1天和第+6天用乙酸可的松(250mg/kg)治疗,以将它们

转化为中性白血球缺乏。将动物在第0天被烟曲霉(CEA10株)(鼻内)感染。所有动物都给予15mg/kg/天(IP)的安必素或化合物3持续7天,并监测直到感染后第14天。在研究过程期间监测动物的可生存性。

[0369] 目的:针对CEA10(野生型)IA测试化合物3和AmB

[0370] 1e8个孢子/mL(40uL)鼻内CEA10

[0371] n=10只小鼠/组

[0372] 环磷酰胺:第-2天和第+3天150mg/kg

[0373] 乙酸可的松:第-1天和第+6天250mg/kg

[0374] 存活:

[0375] 仅D5W:10%

[0376] 化合物3 15mg/kg QD:80%

[0377] AmB 15mg/kg QD:80%

[0378] 对数秩统计数据:

[0379] D5W对比化合物3 15mg/kg QD:p=0.0005

[0380] D5W对比AmB 15mg/kg QD:p=0.0044

[0381] 注释:

[0382] 化合物3和AmB以15mg/kg每天给药,持续7天,感染后IP在14天后同样保护免受CEA10 IA感染。Amb IP剂量为15mg/kg,估计至少至多为5mg/kg IV。由于IP给药对于化合物3和AmB是新的,我们想了解免疫抑制小鼠模型中两者的耐受性。

[0383] 耐受性研究(图23):将健康小鼠分成3只小鼠/组。所有动物在第-2天和第+3天用环磷酰胺(150mg/kg)治疗,并且在第-1天和第+6天用乙酸可的松(250mg/kg)治疗,以将它们转化为中性白血球缺乏。化合物3和安必素的目标剂量以IP每日给药,持续7天,并监测存活率14天。

[0384] 目的:免疫缺陷模型中化合物3和AmB IP给药的耐受性

[0385] 无感染,仅耐受性研究

[0386] n=3只小鼠/组

[0387] 环磷酰胺:第-2天和第+3天150mg/kg

[0388] 乙酸可的松:第-1天和第+6天250mg/kg

[0389] IP给药相应药物持续7天

[0390] 观察小鼠14天

[0391] 存活:

[0392] 化合物3 15mg/kg QD:66%

[0393] 化合物3 25mg/kg QD:100%

[0394] 化合物3 35mg/kg QD:100%

[0395] 化合物3 45mg/kg QD:66%

[0396] AmB 25mg/kg QD:66%

[0397] 注释:

[0398] 临床上,从D3开始到D12,45mg/kg化合物3和25mg/kg AmB IP表现出类似的嗜睡和皮毛起皱迹象。在整个实验过程中,25mg/kg至35mg/kg的化合物3不会影响小鼠进食、保持

清洁的能力,也不会影响它们的活动,但45mg/kg会影响。我们可以在感染模型中使用35mg/kg化合物3IP给药持续7天。

胆固醇结合

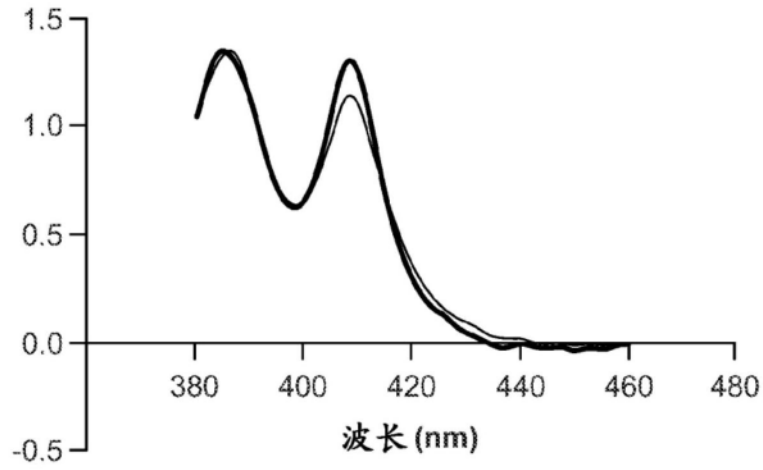


图1A

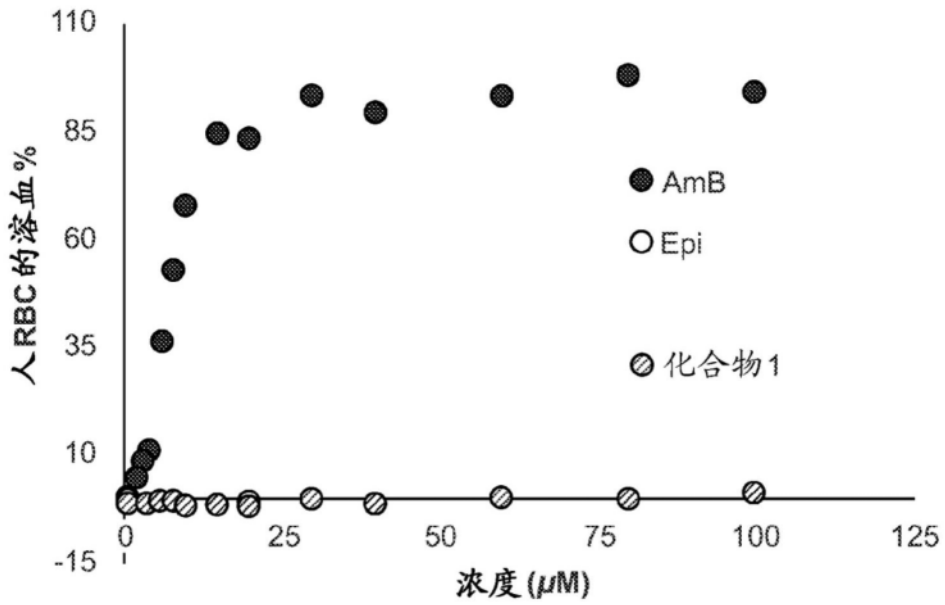


图1B

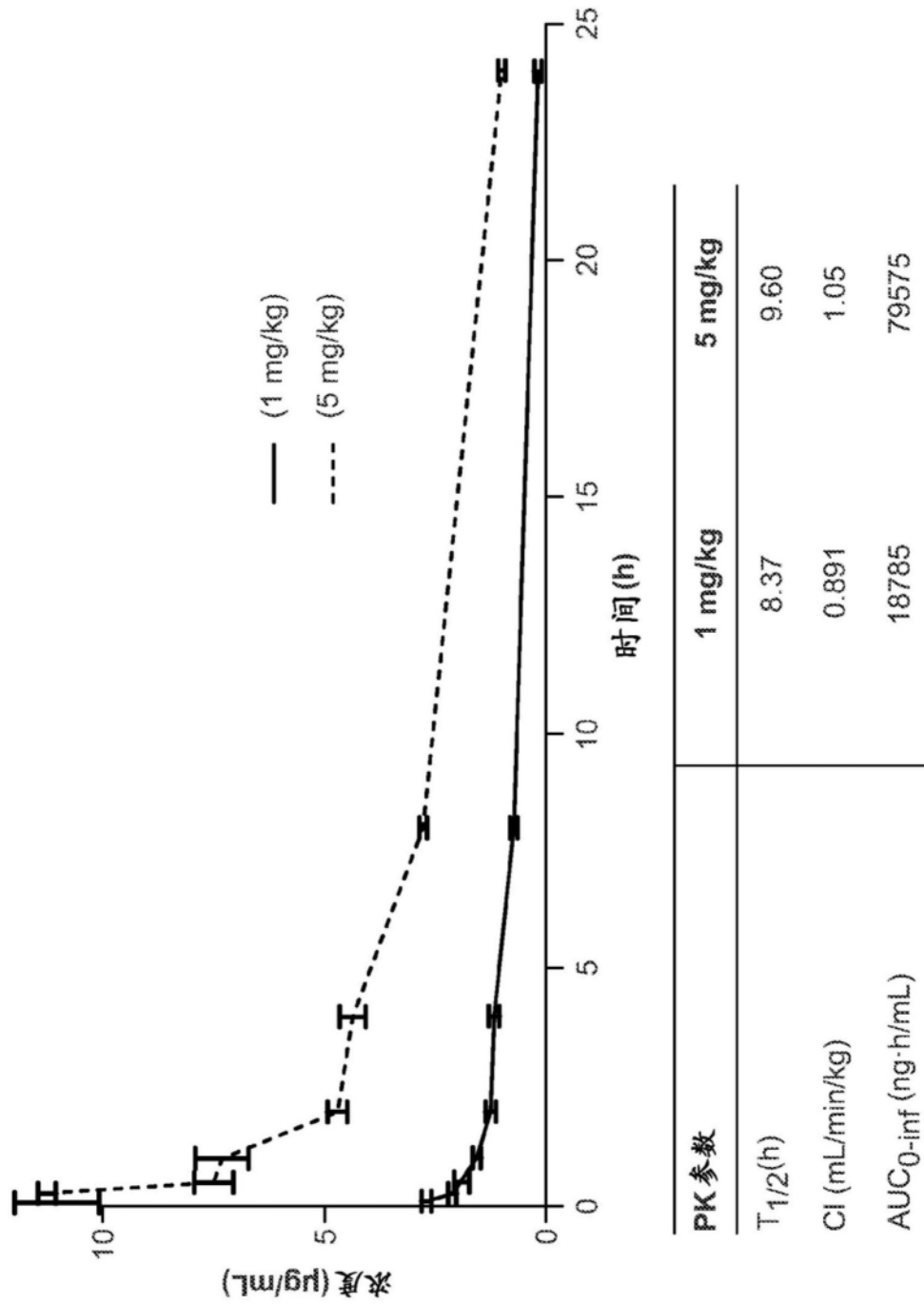


图2

PK 参数	1 mg/kg	5 mg/kg
T _{1/2} (h)	8.37	9.60
Cl (mL/min/kg)	0.891	1.05
AUC _{0-inf} (ng·h/mL)	18785	79575

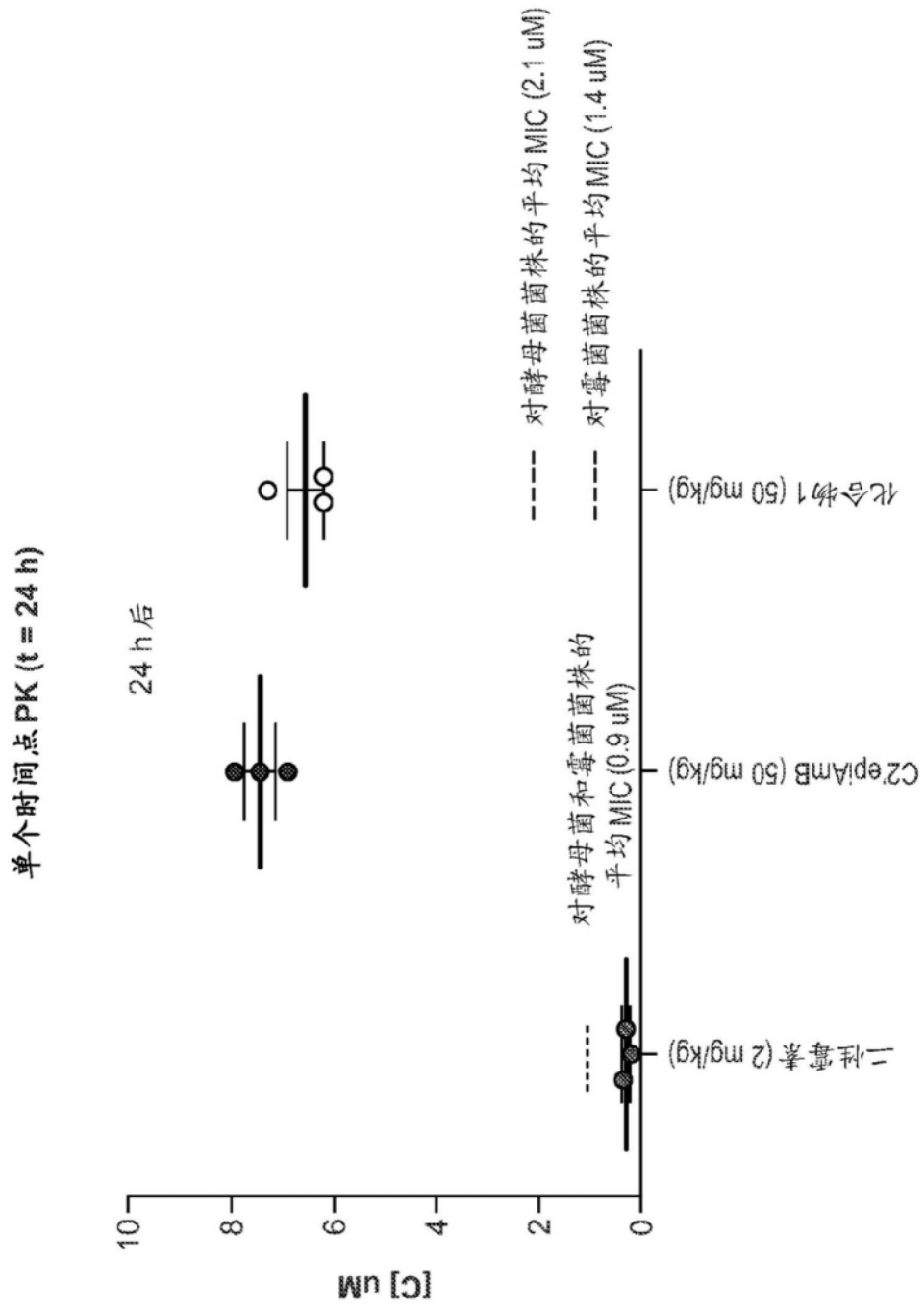


图3

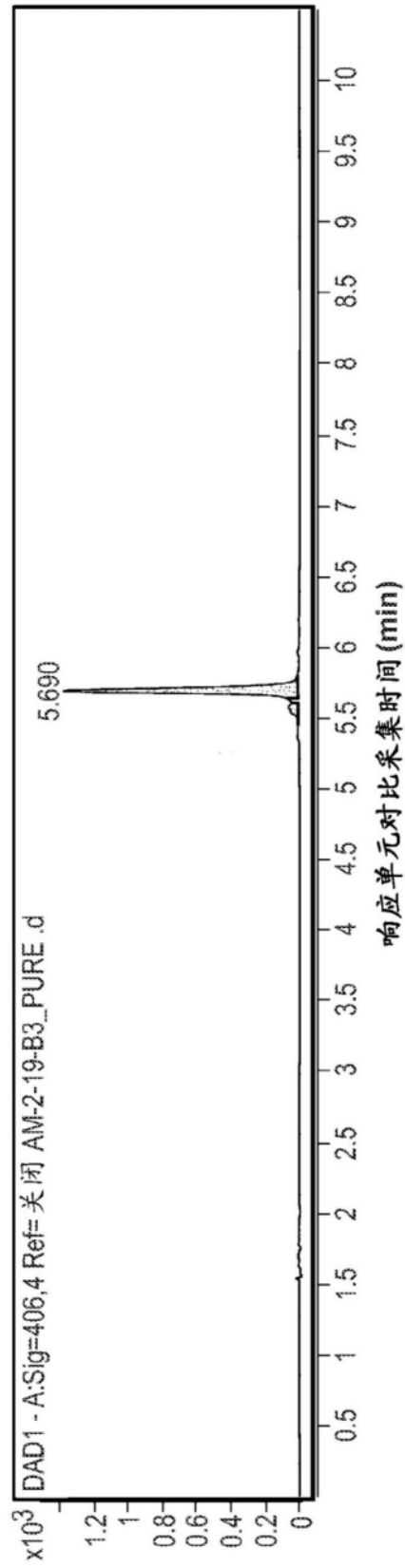


图4A

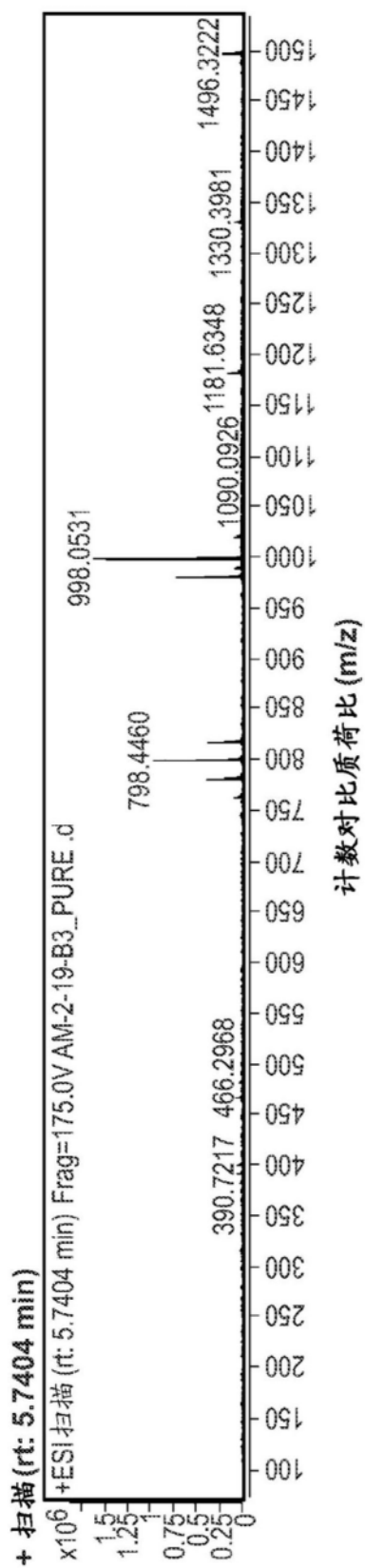


图4B

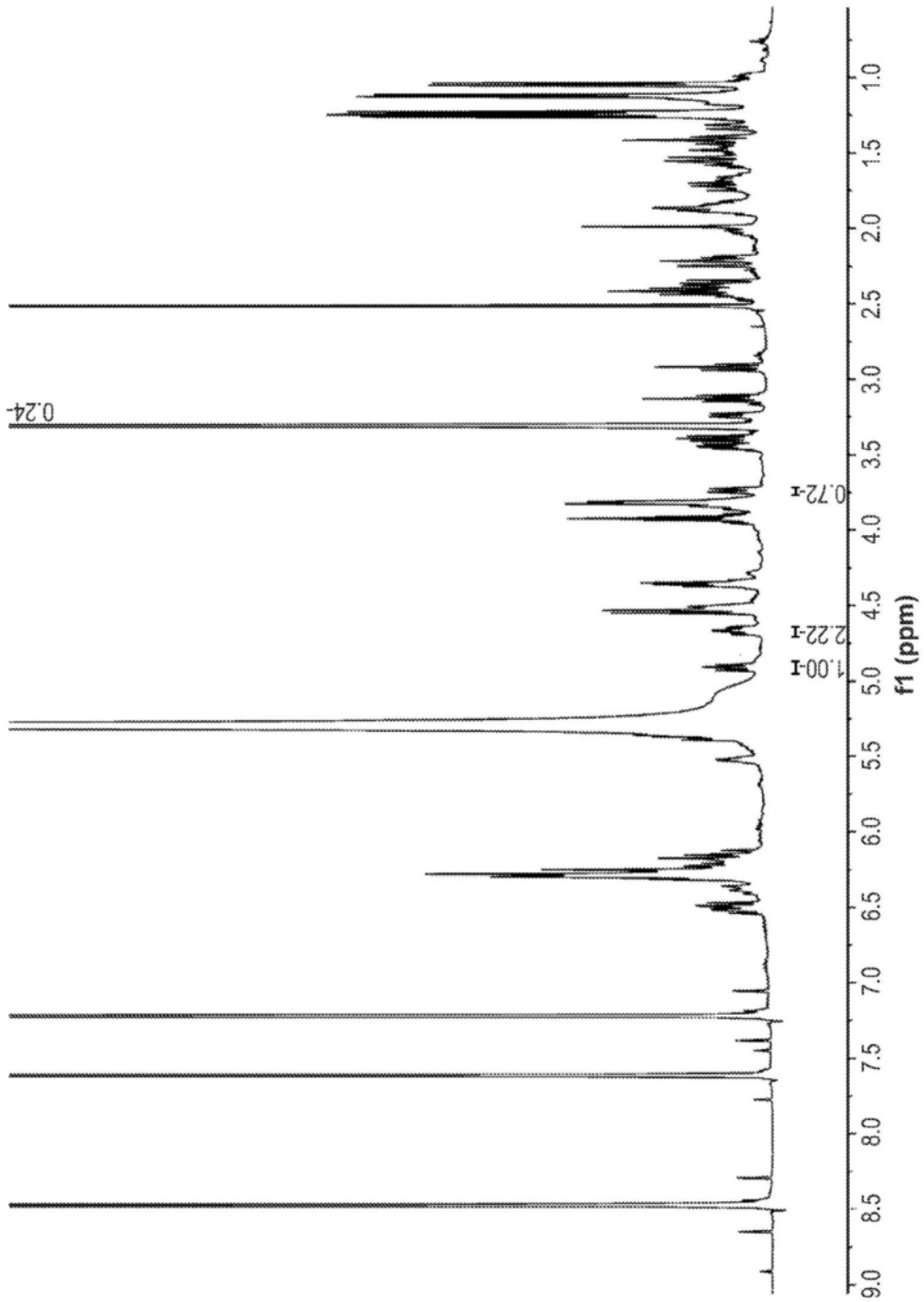


图4C

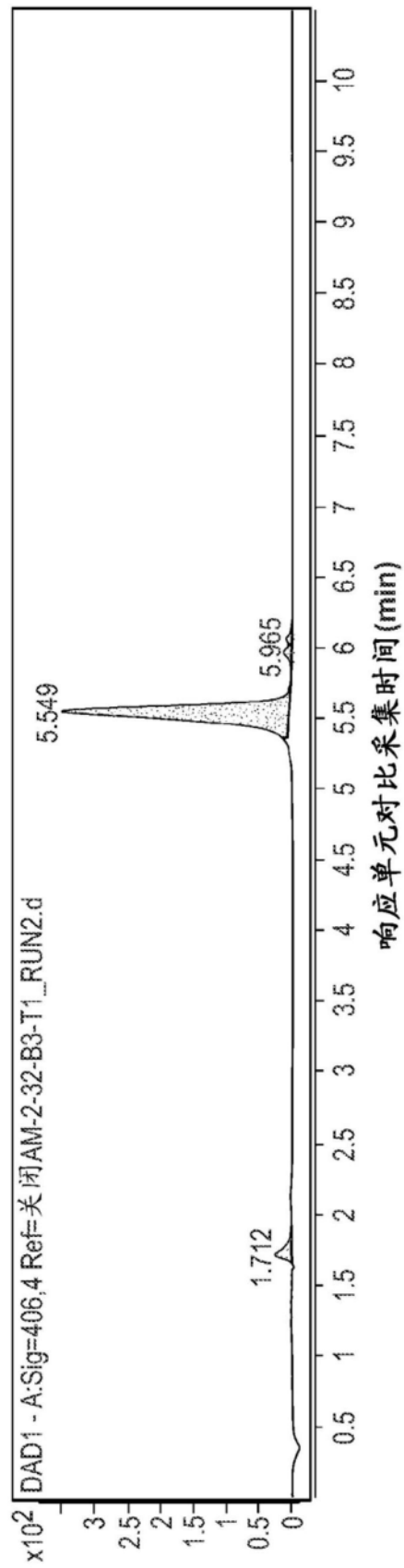


图5A

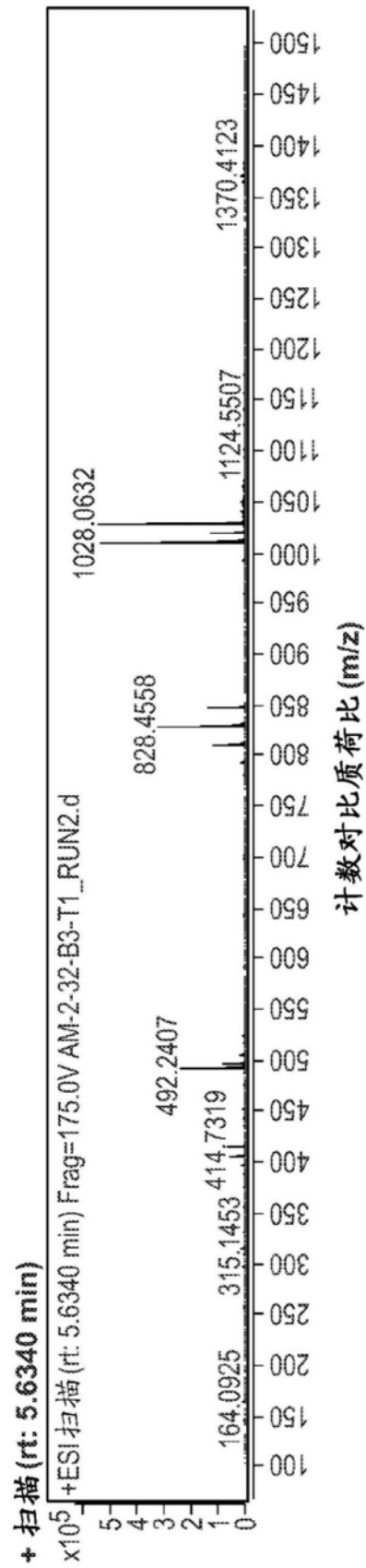


图5B

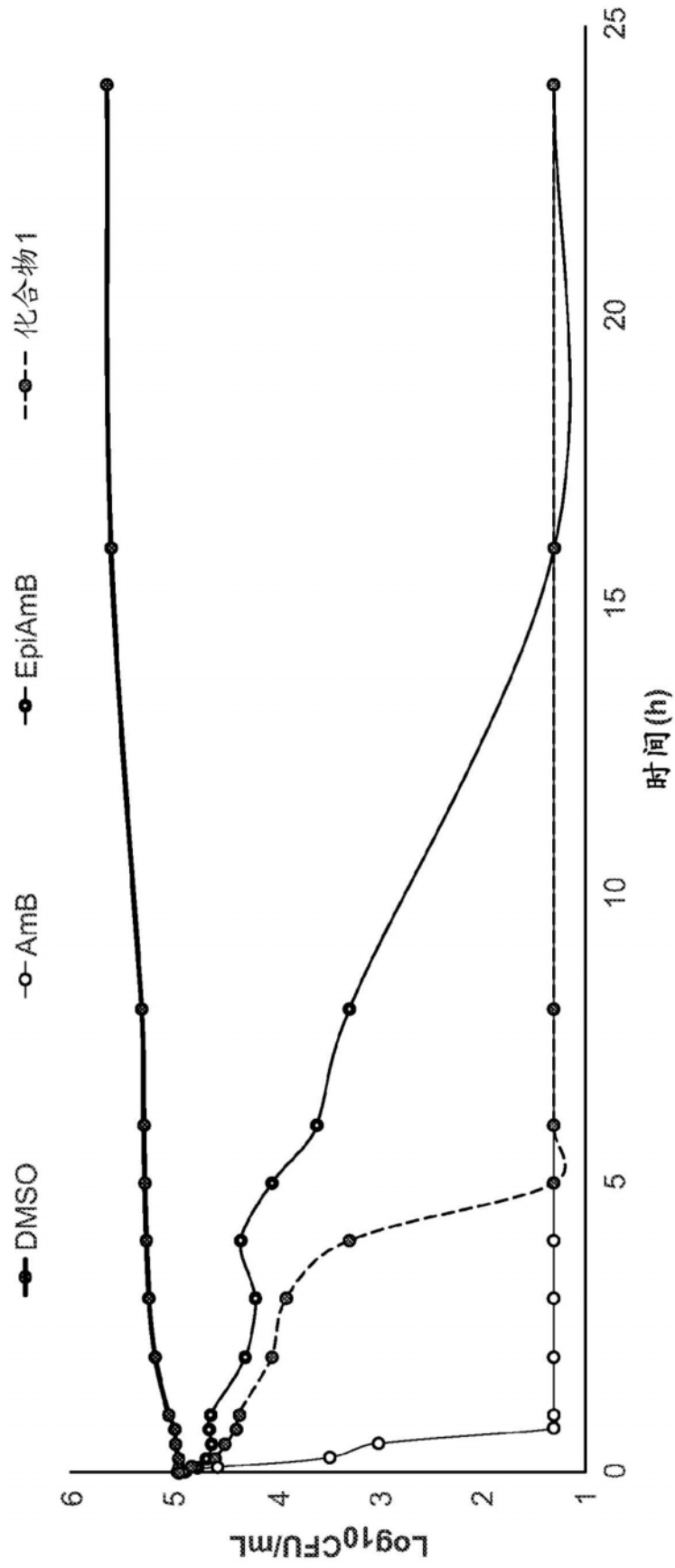


图6

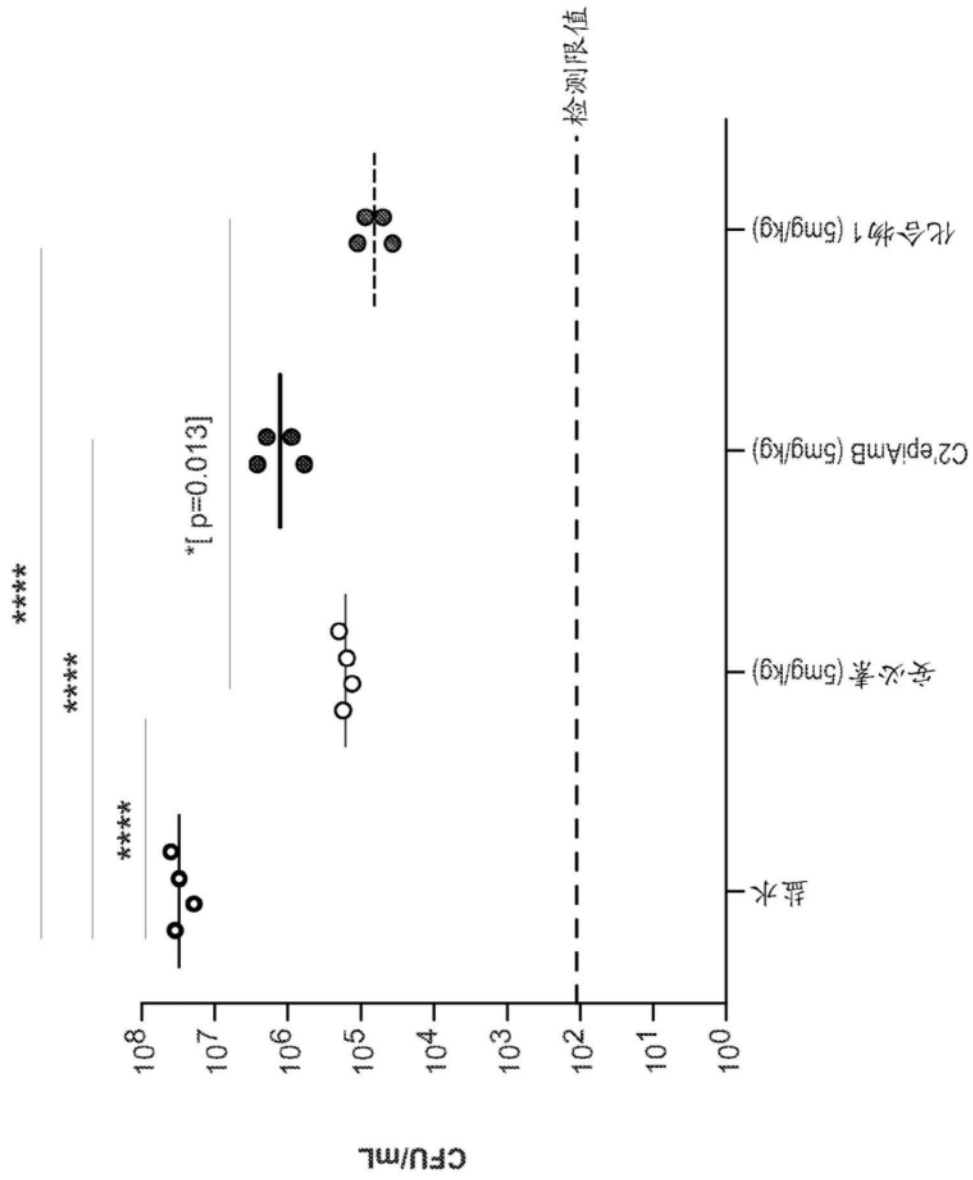


图7

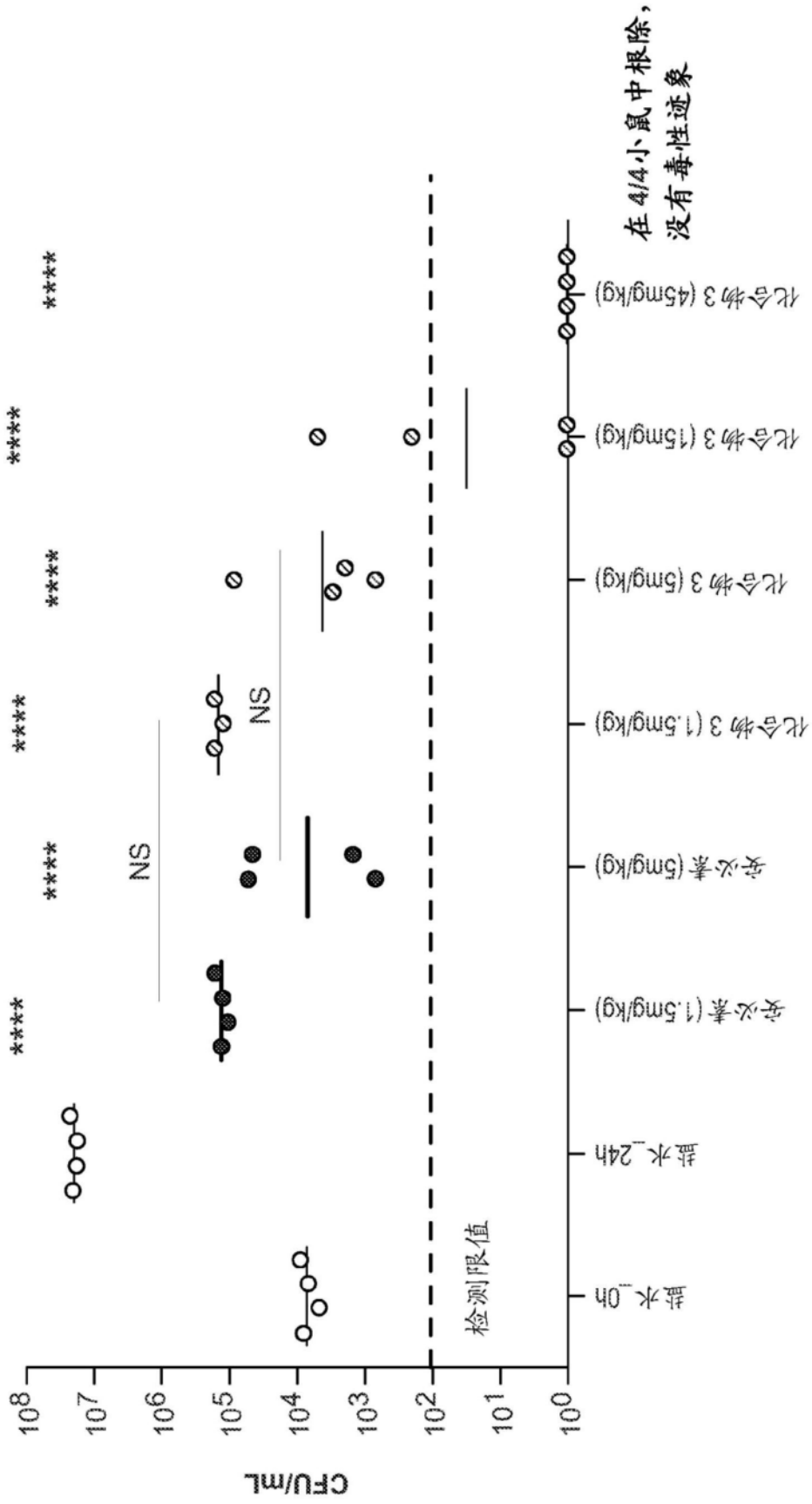


图8

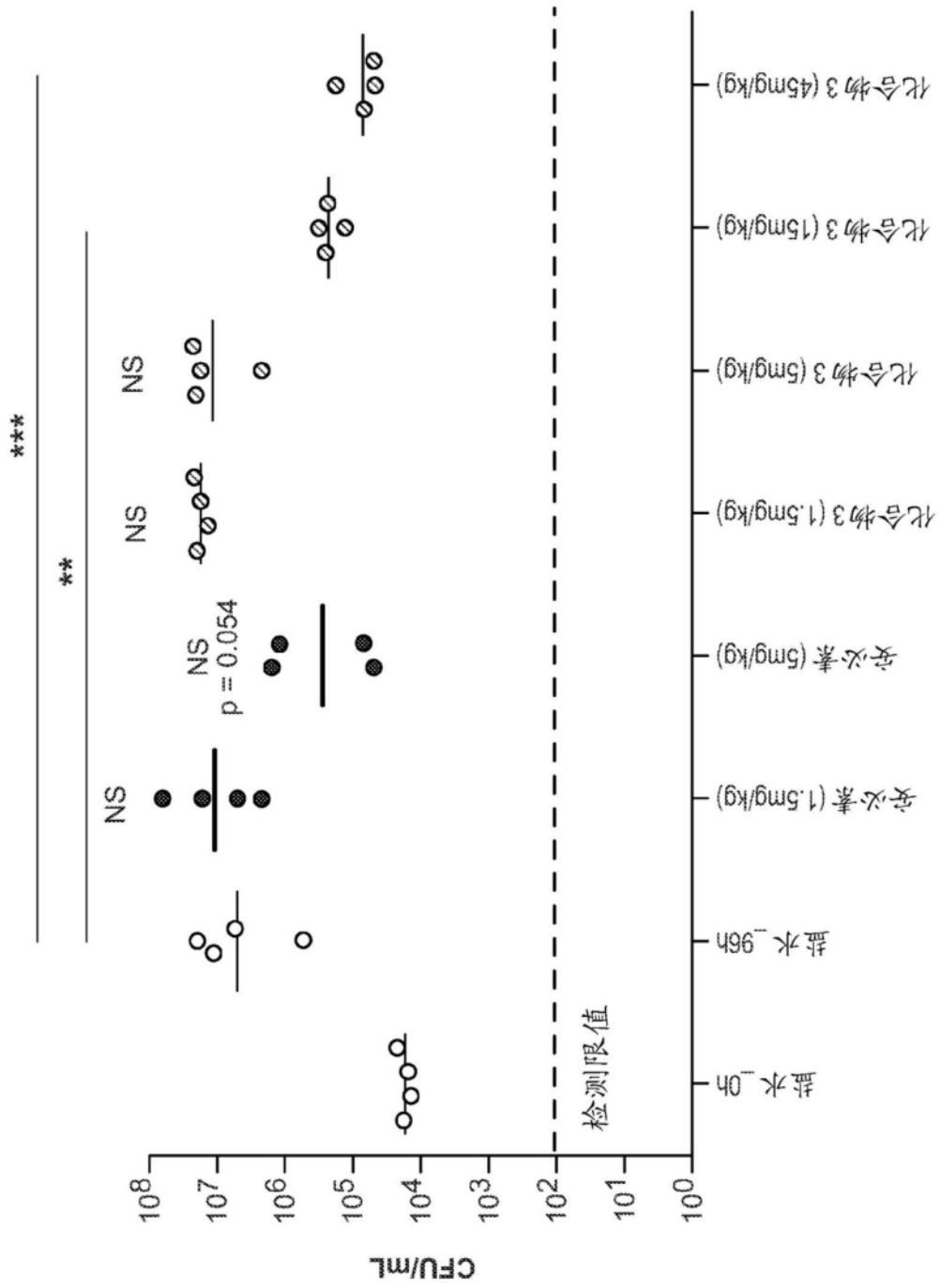


图10

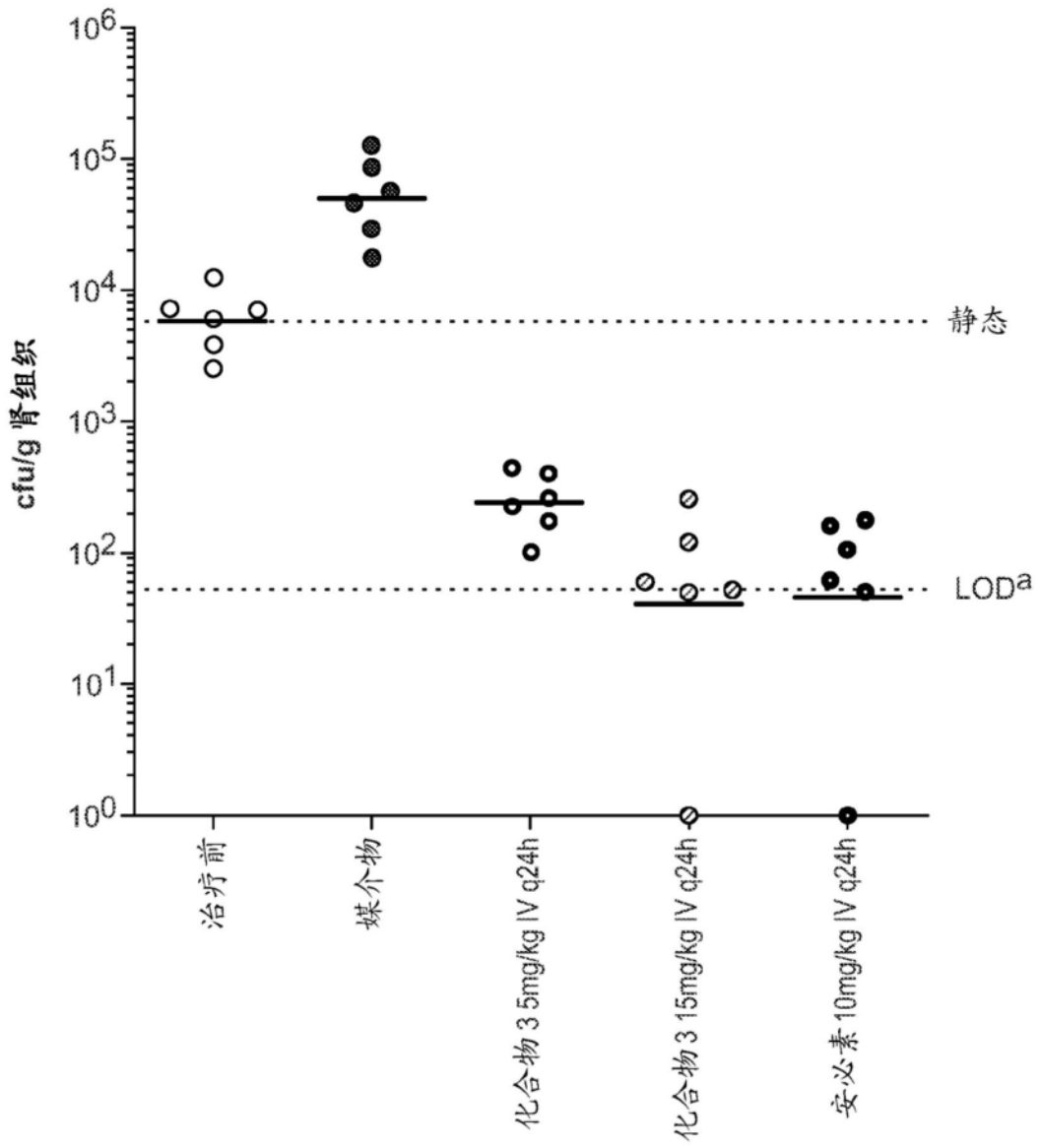


图11

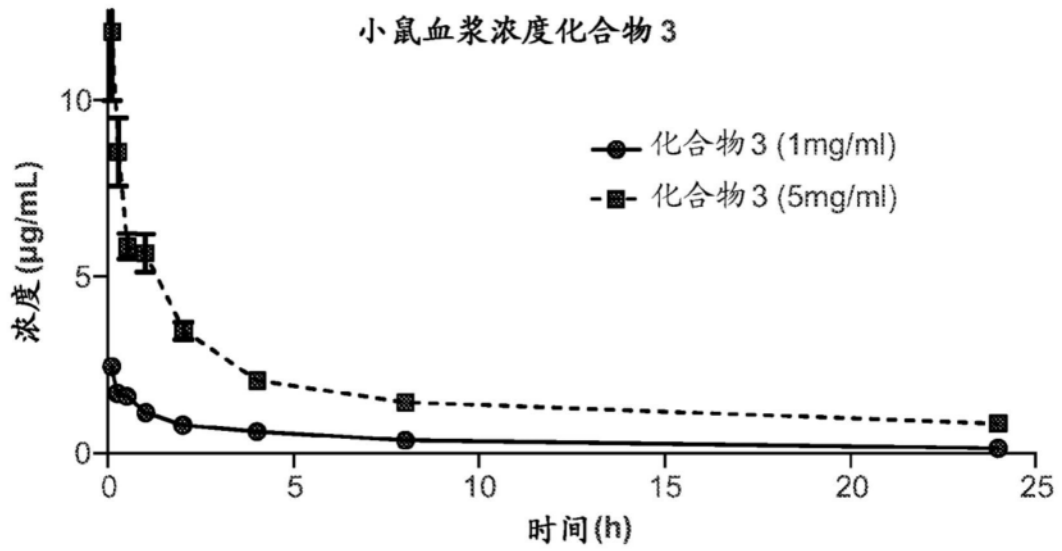


图12A

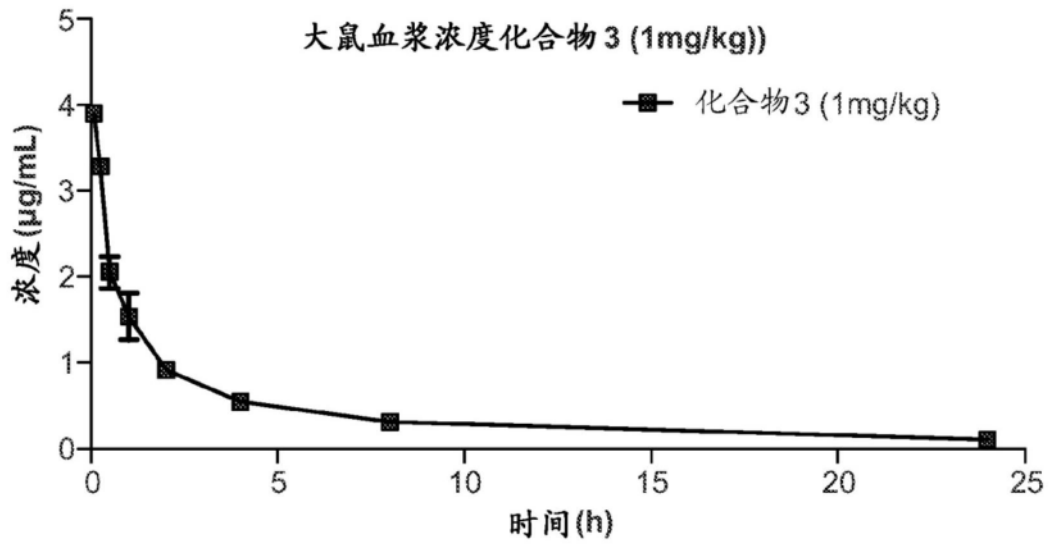


图12B

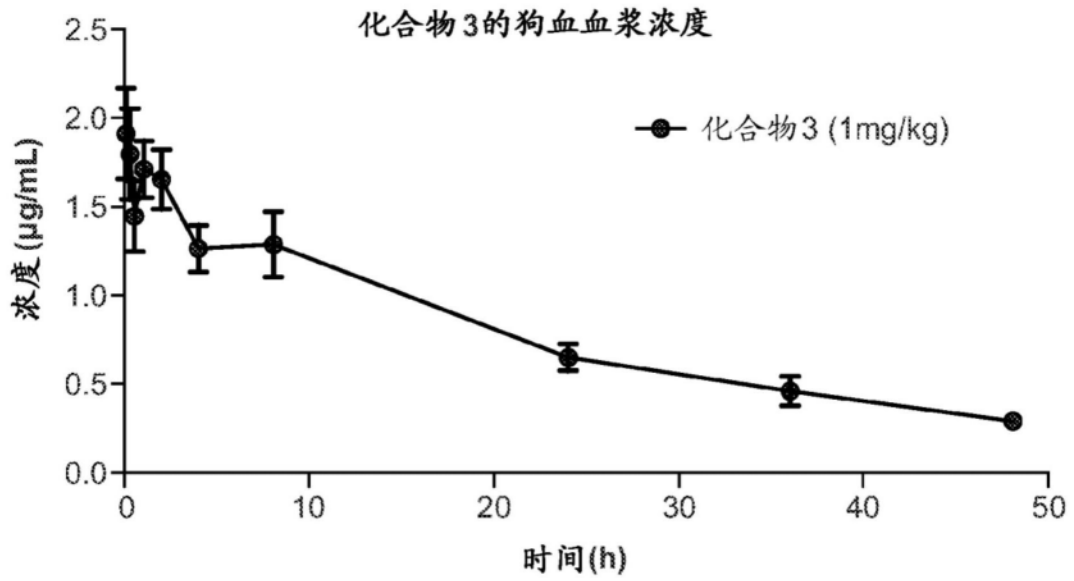


图12C

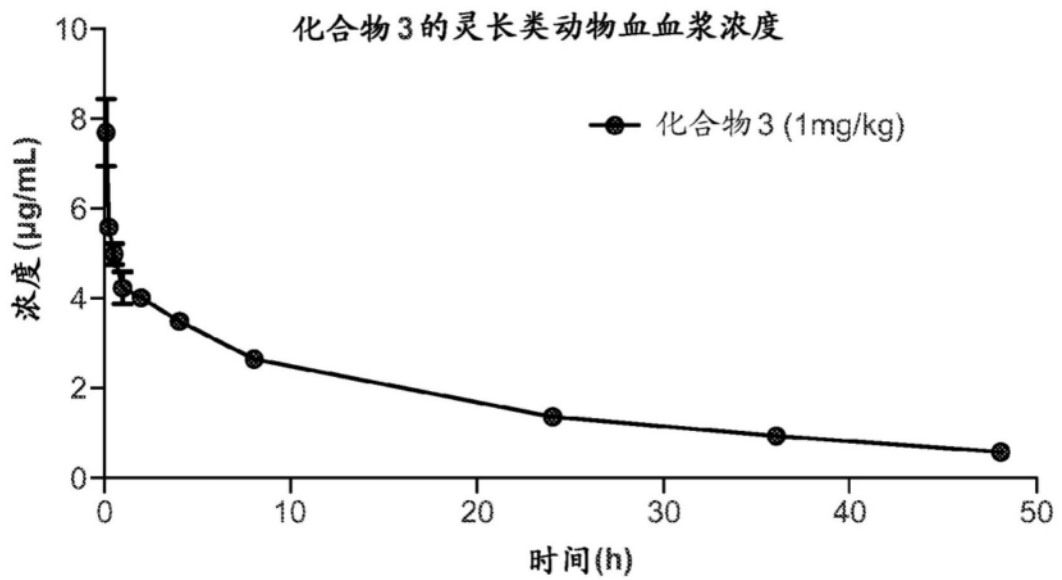


图12D

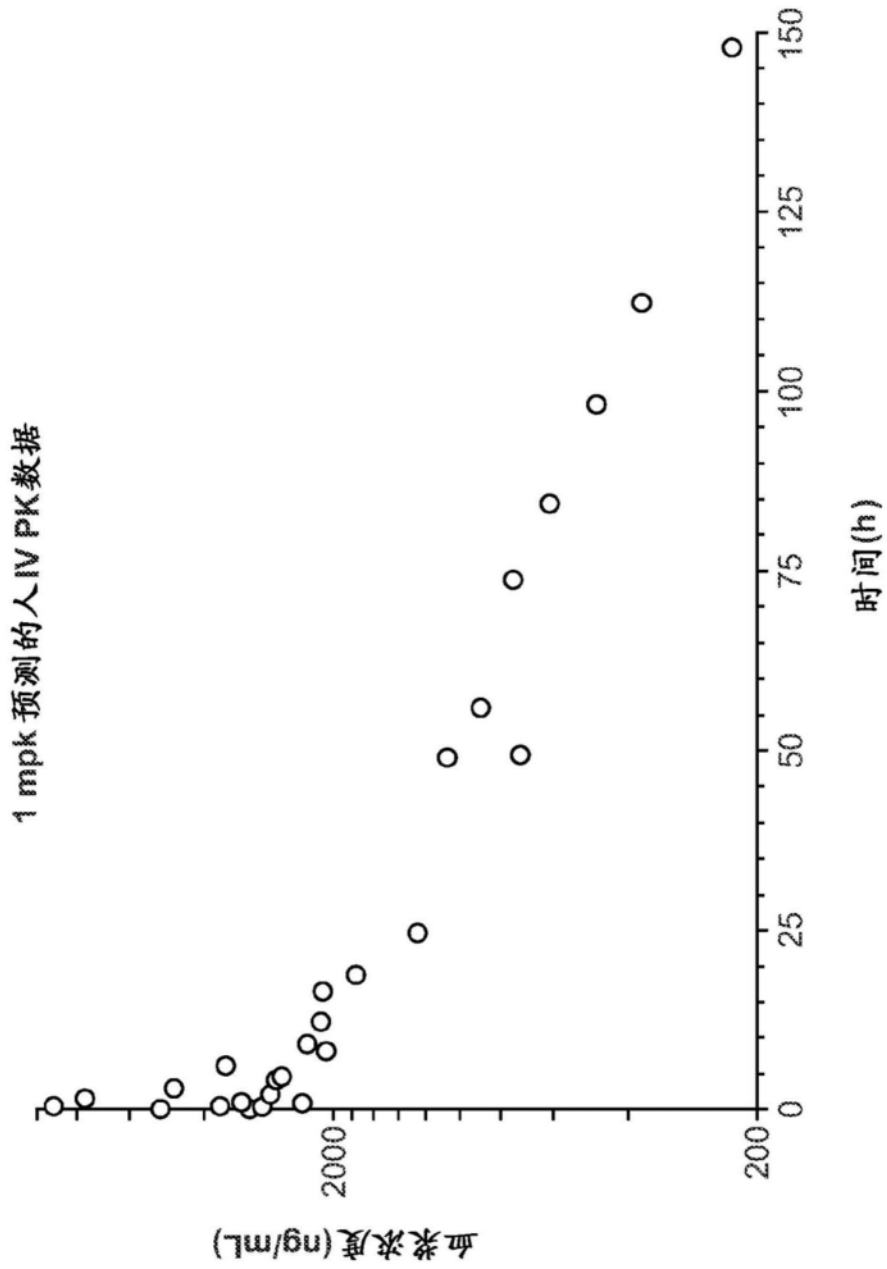


图13

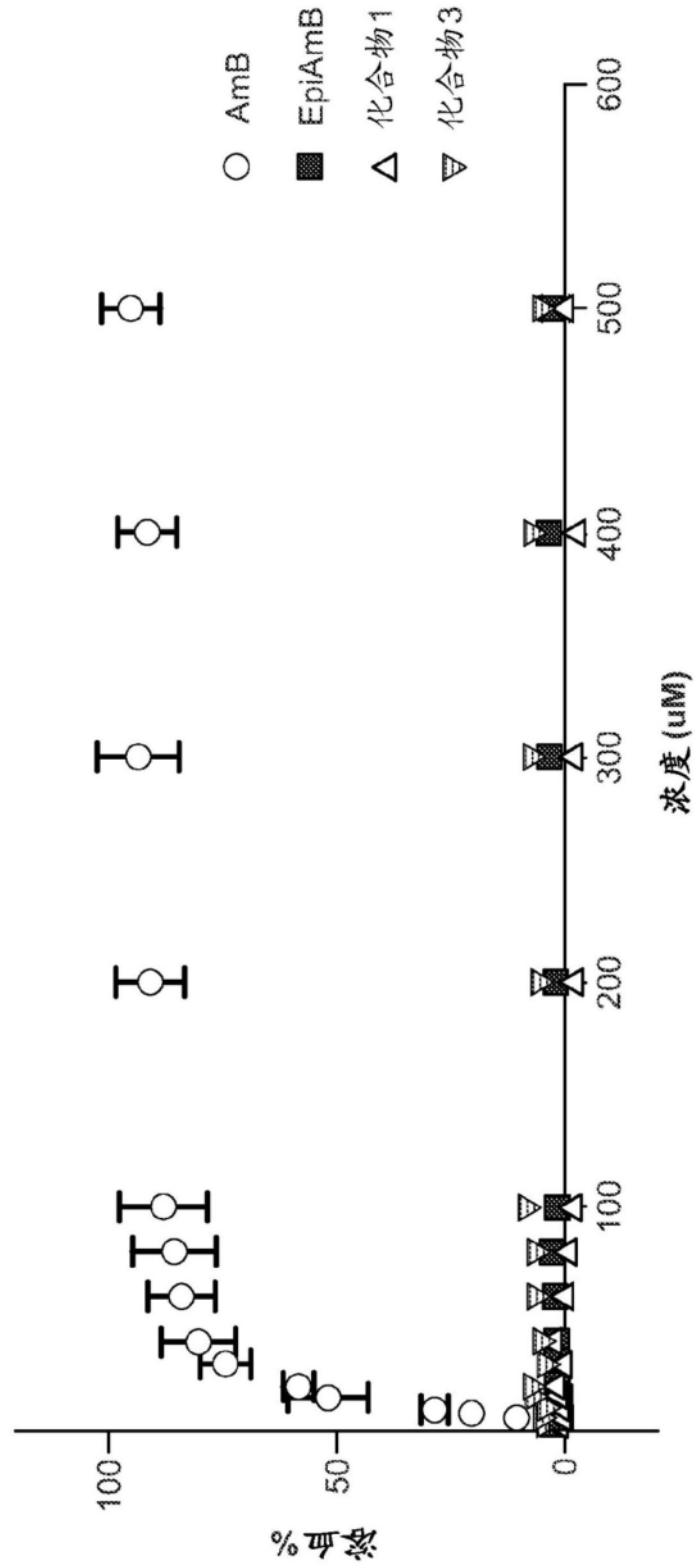


图14

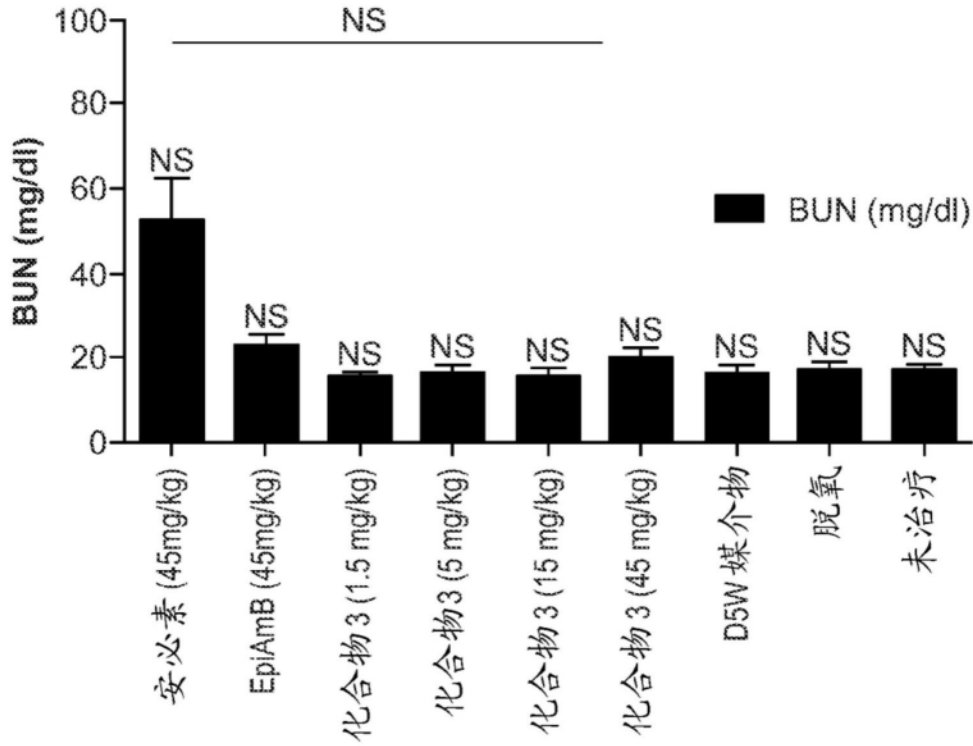


图15A

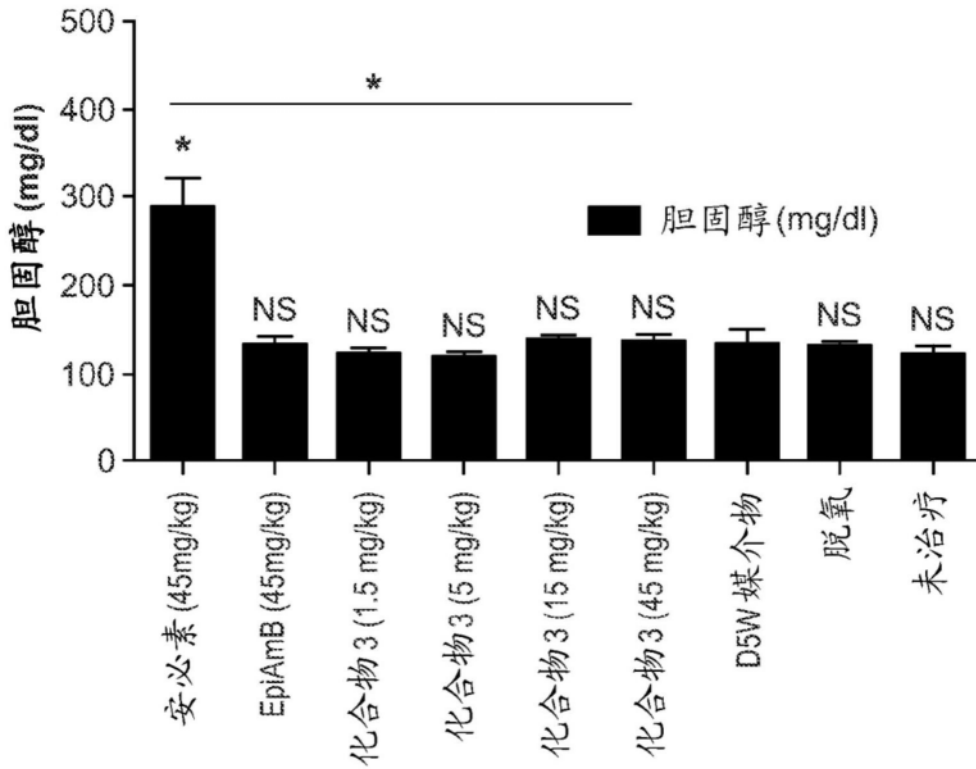


图15B

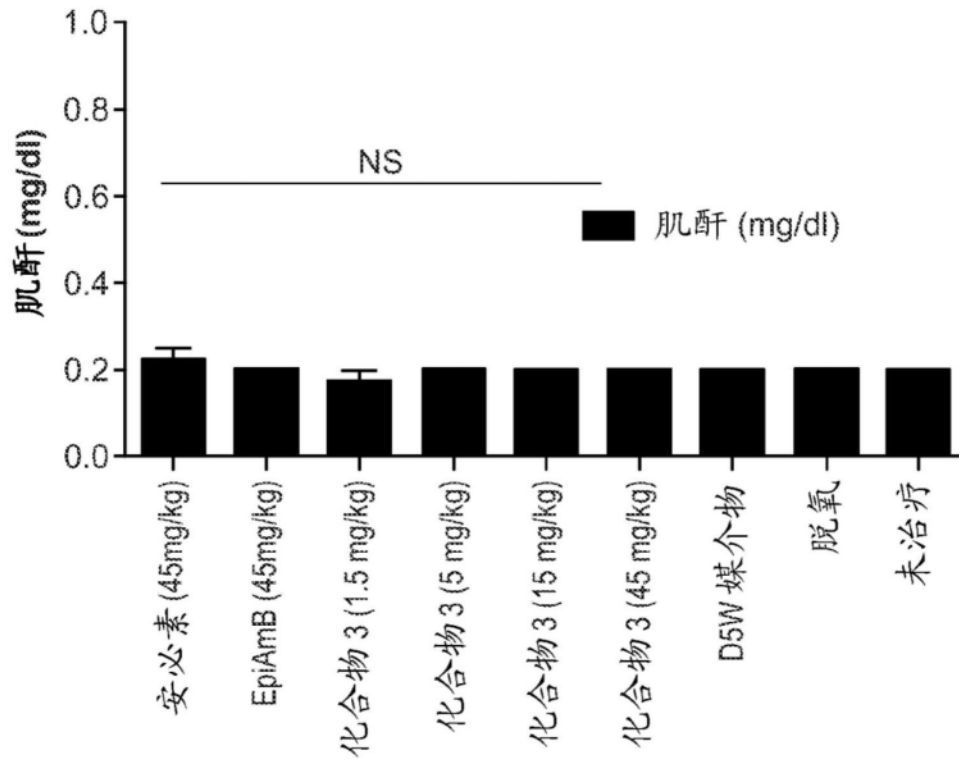


图15C

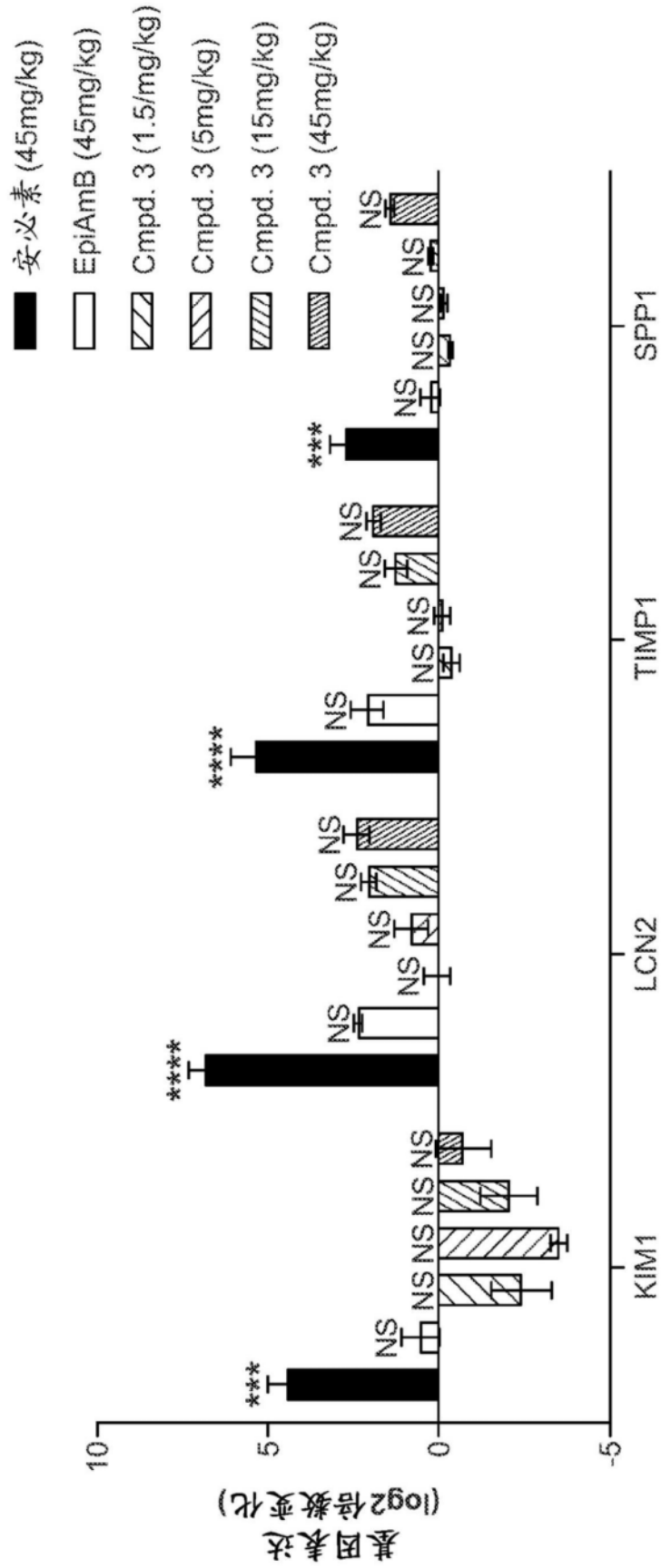


图16

整个研究过程中的组平均日体重 (g) 记录:

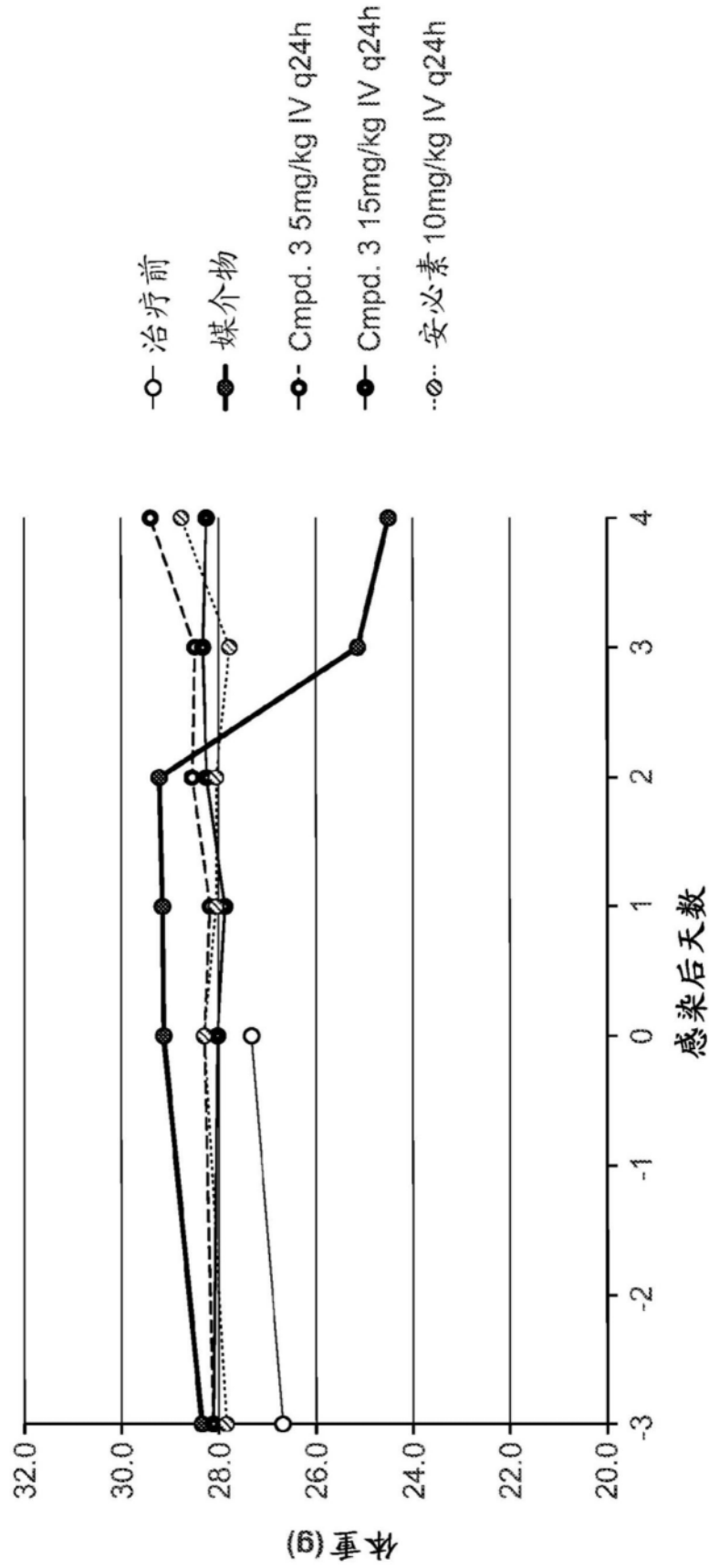


图17A

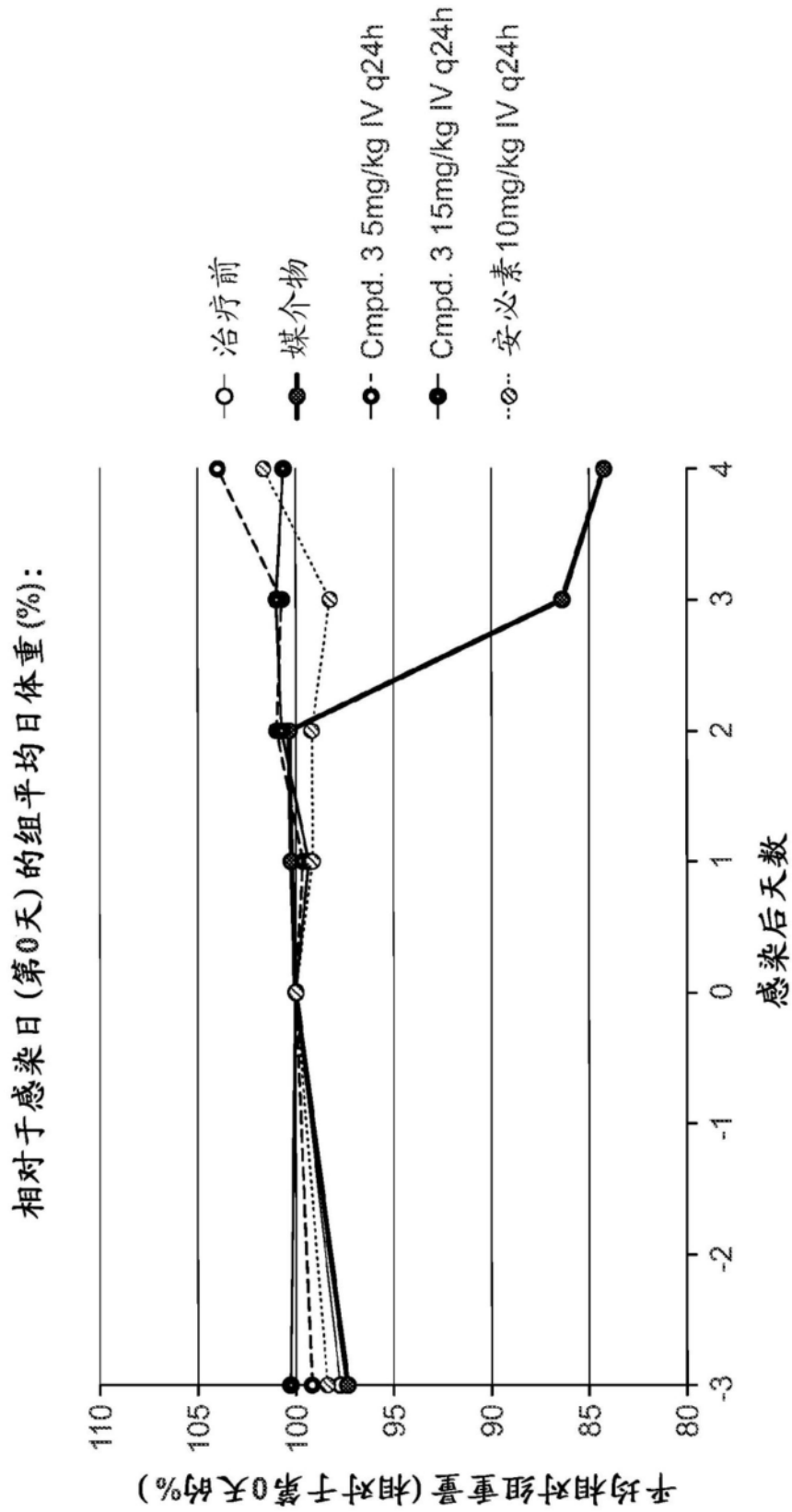


图17B

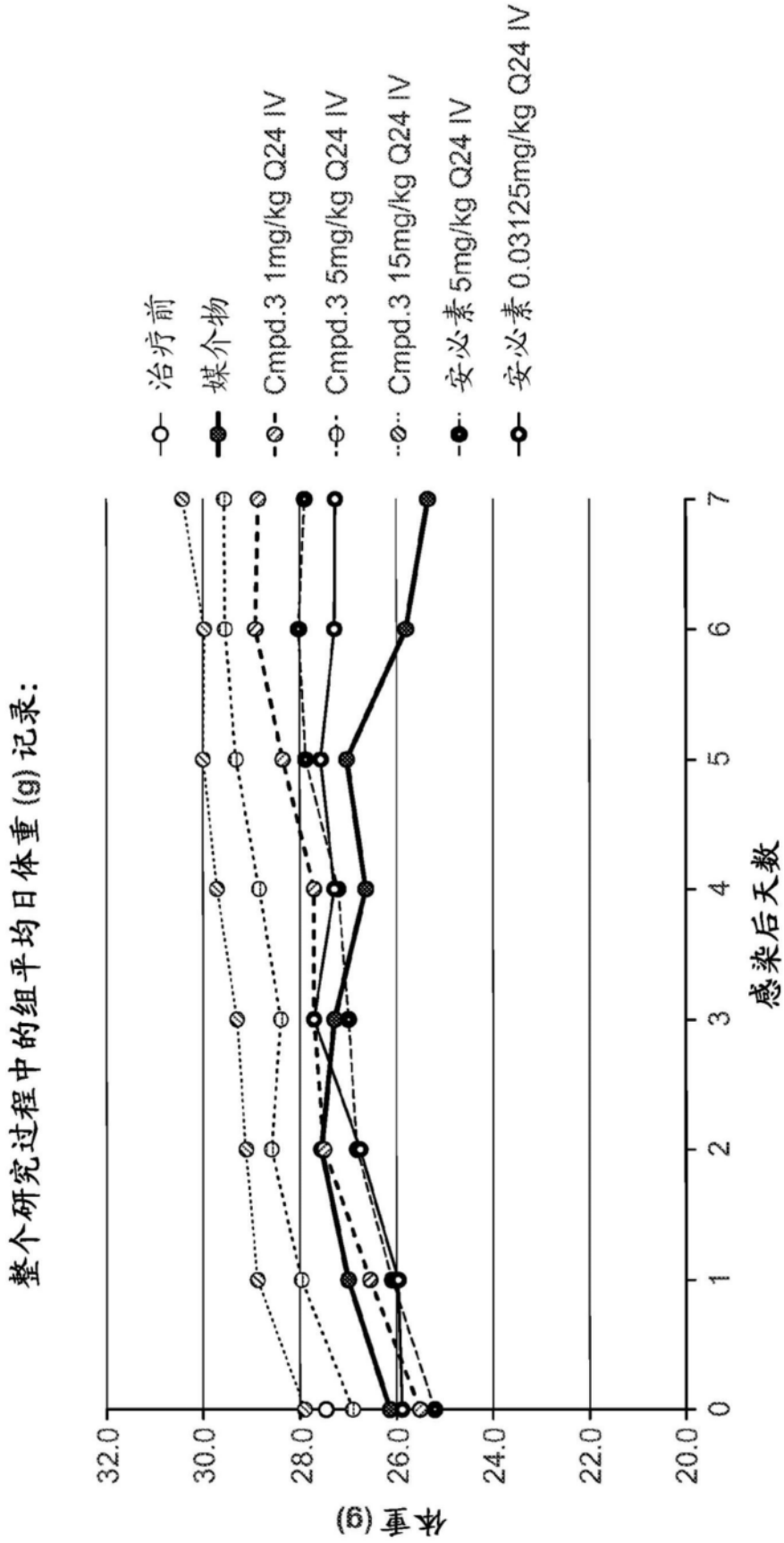


图18A

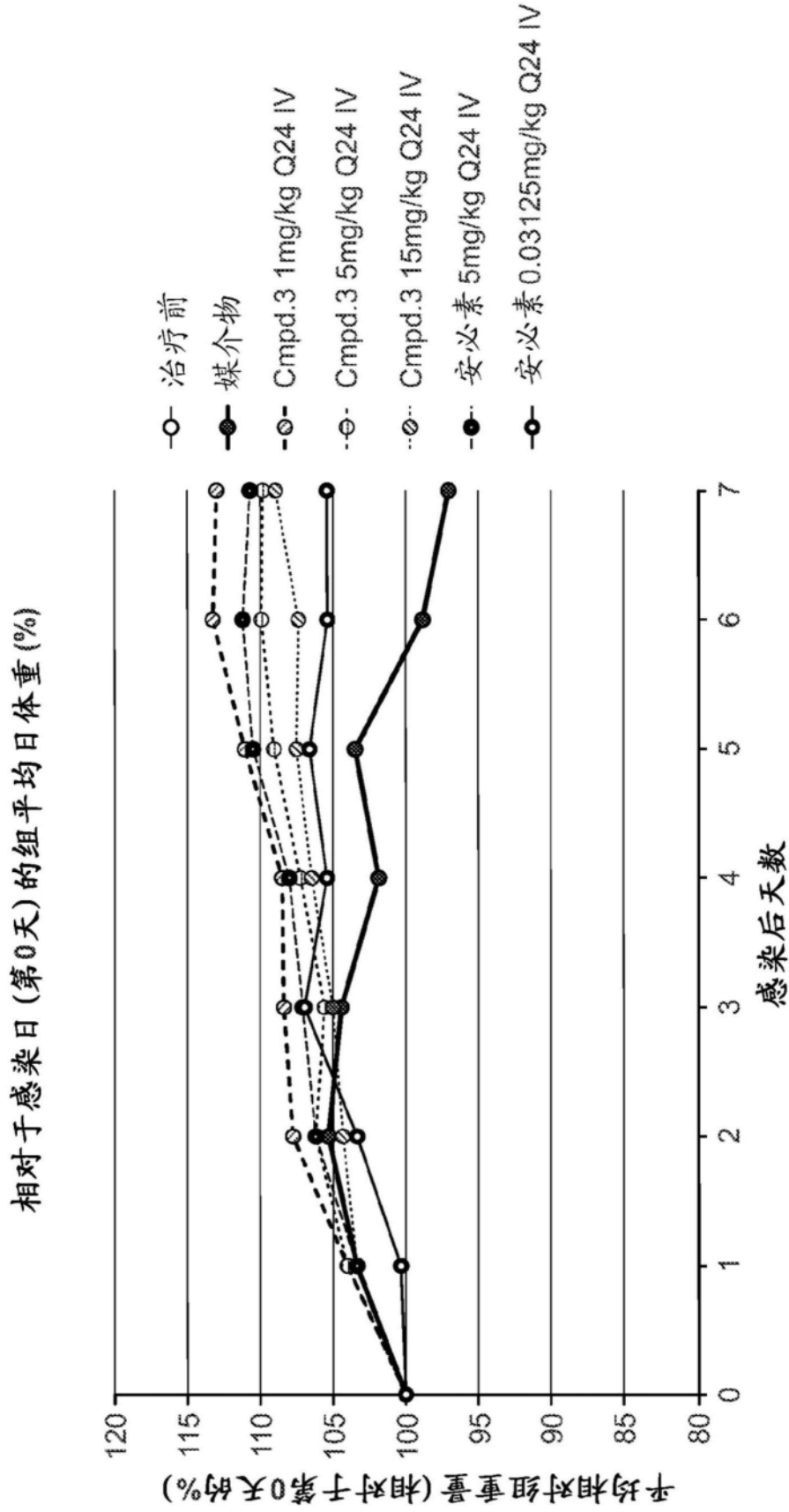


图18B

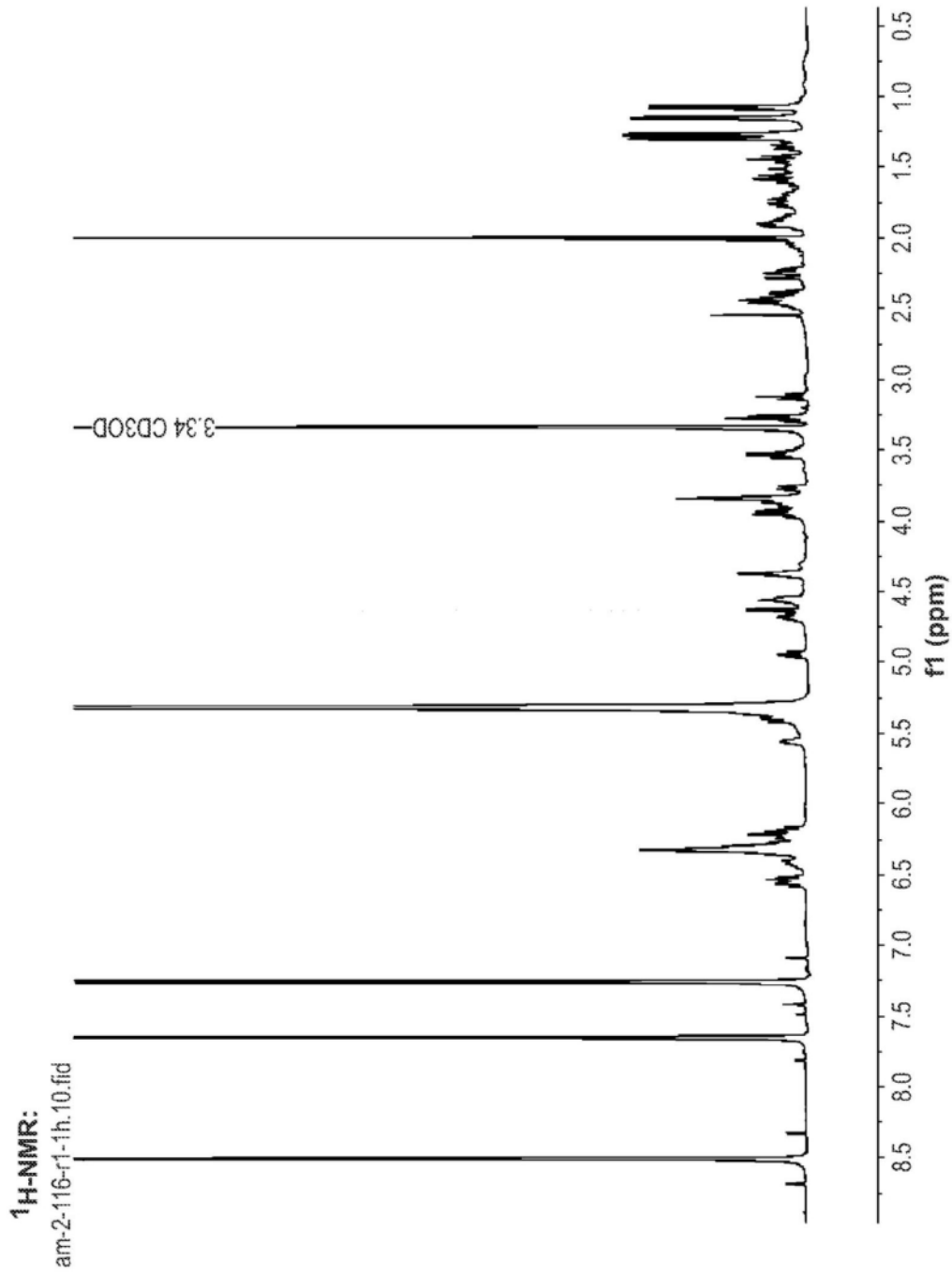


图19A

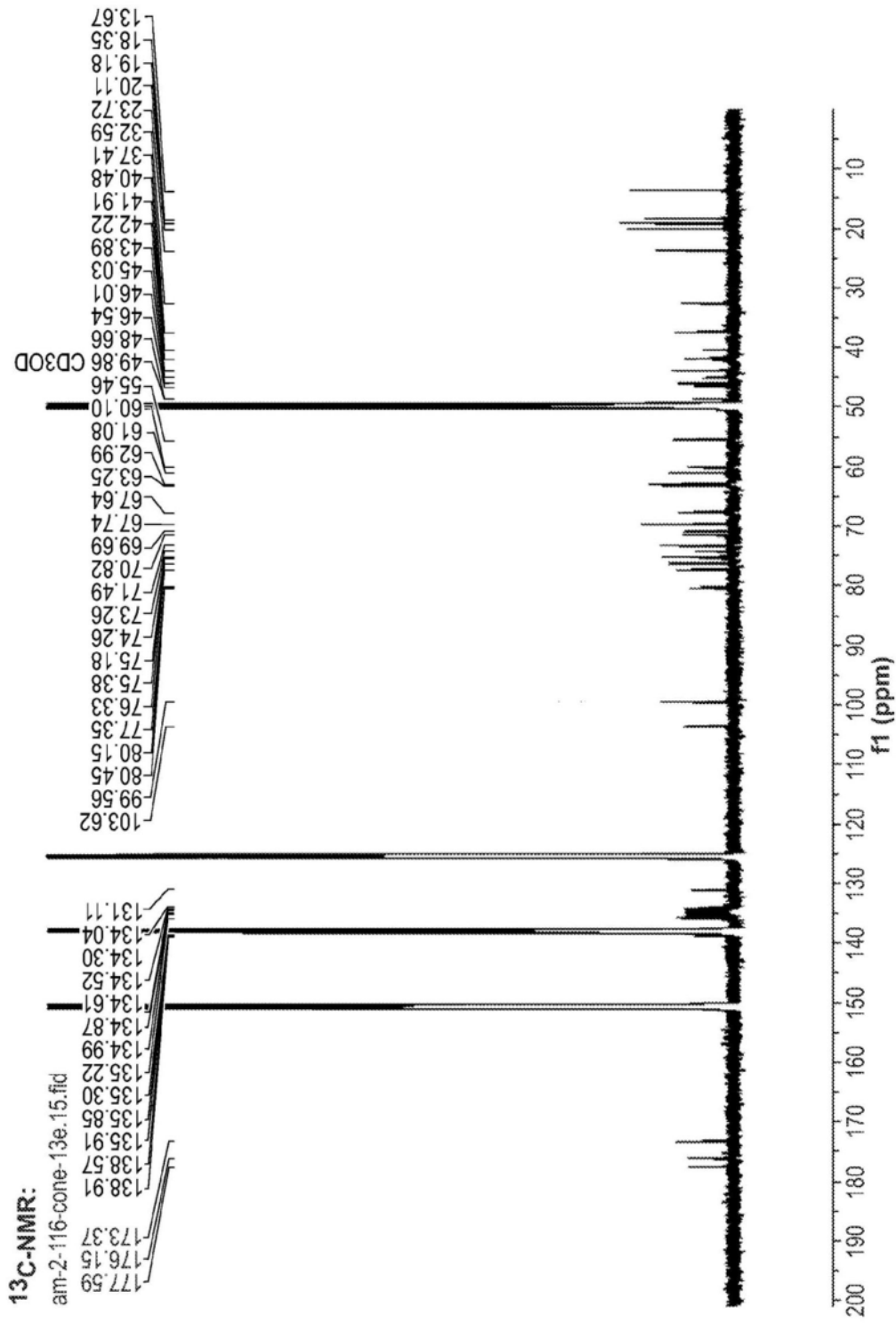


图19B

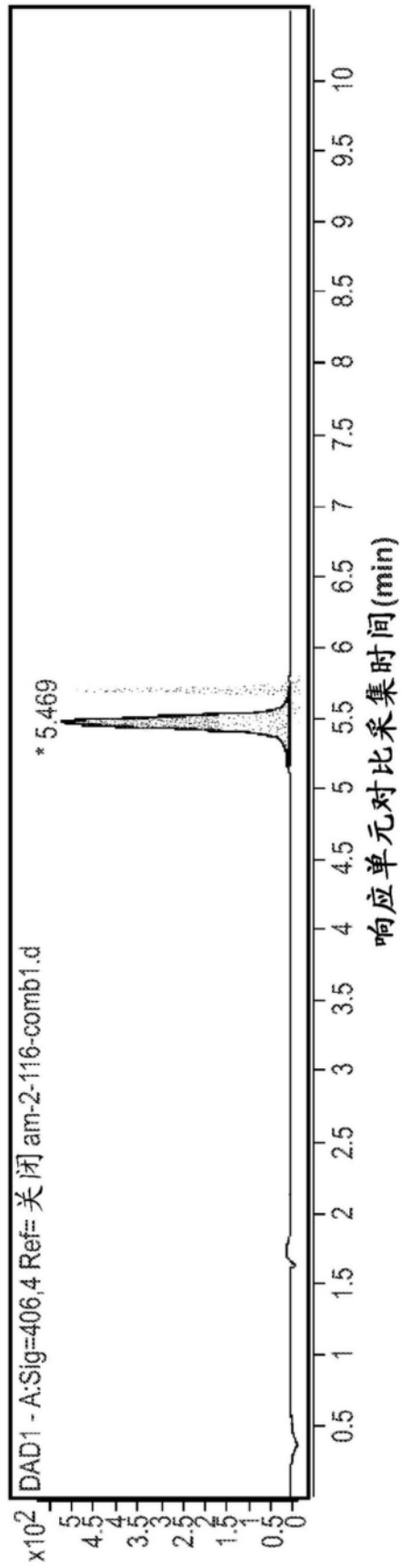


图19C

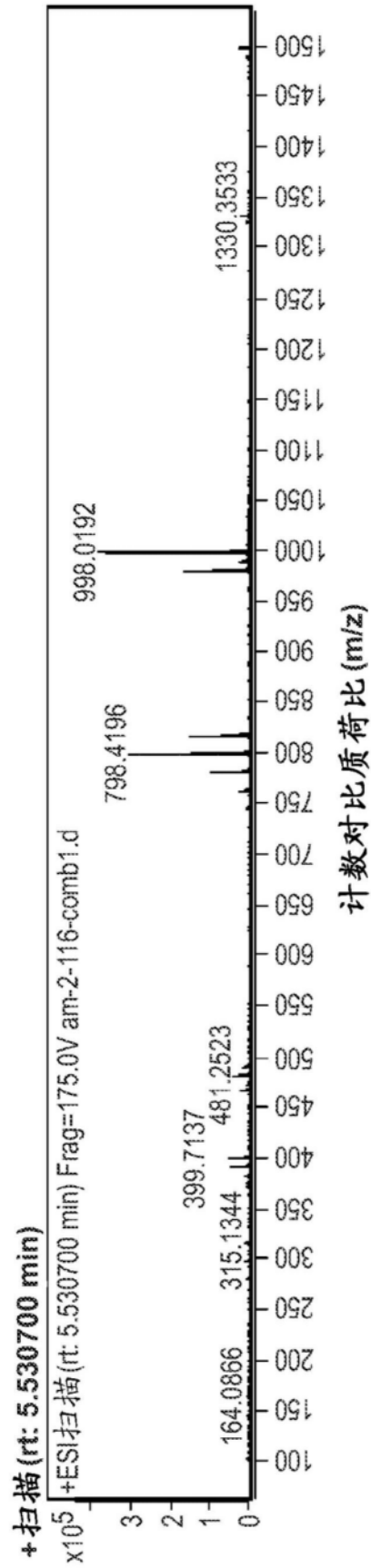


图19D

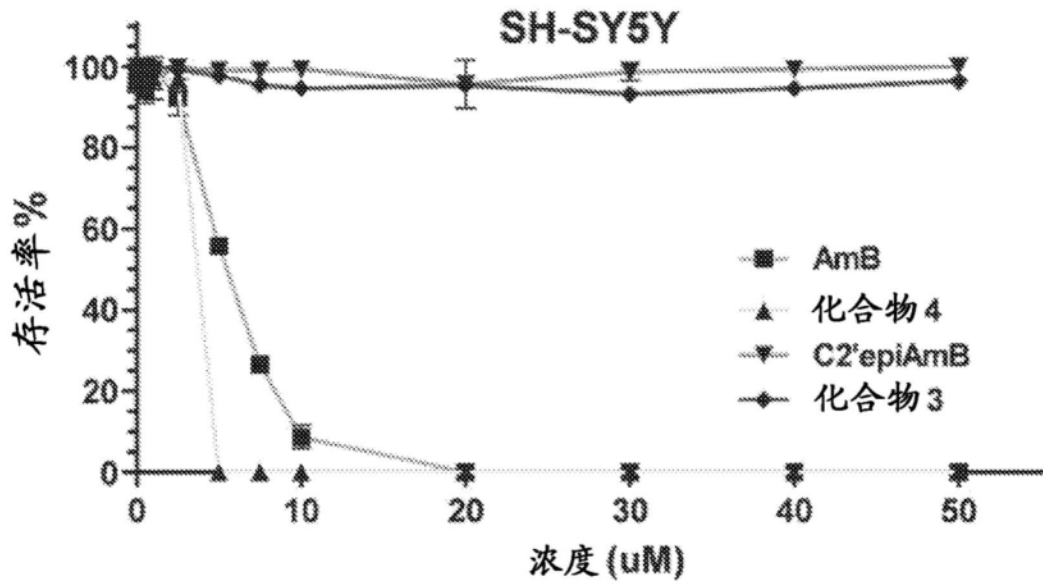


图20A

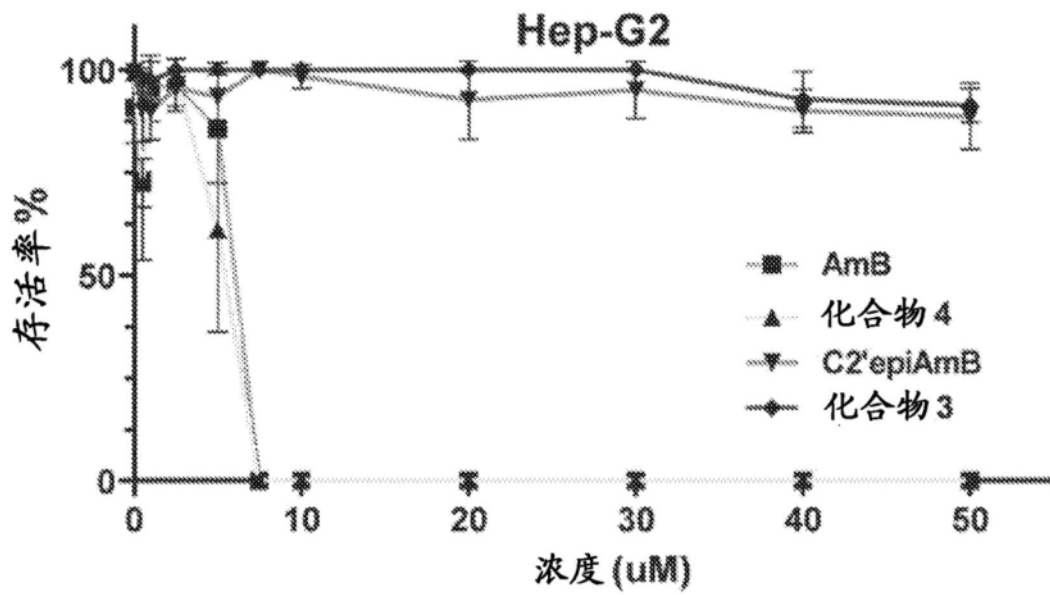


图20B

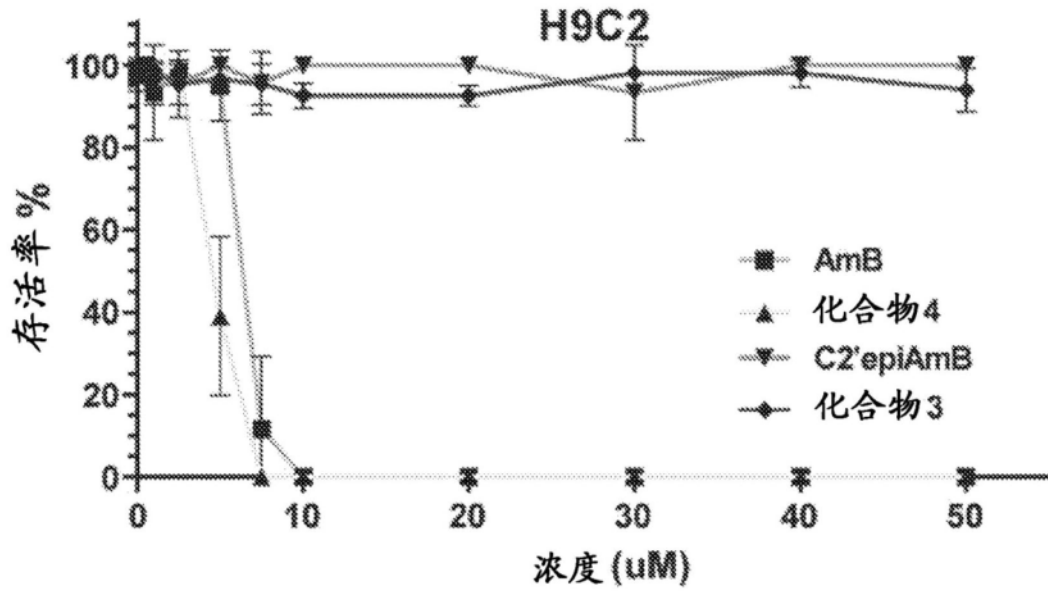


图20C

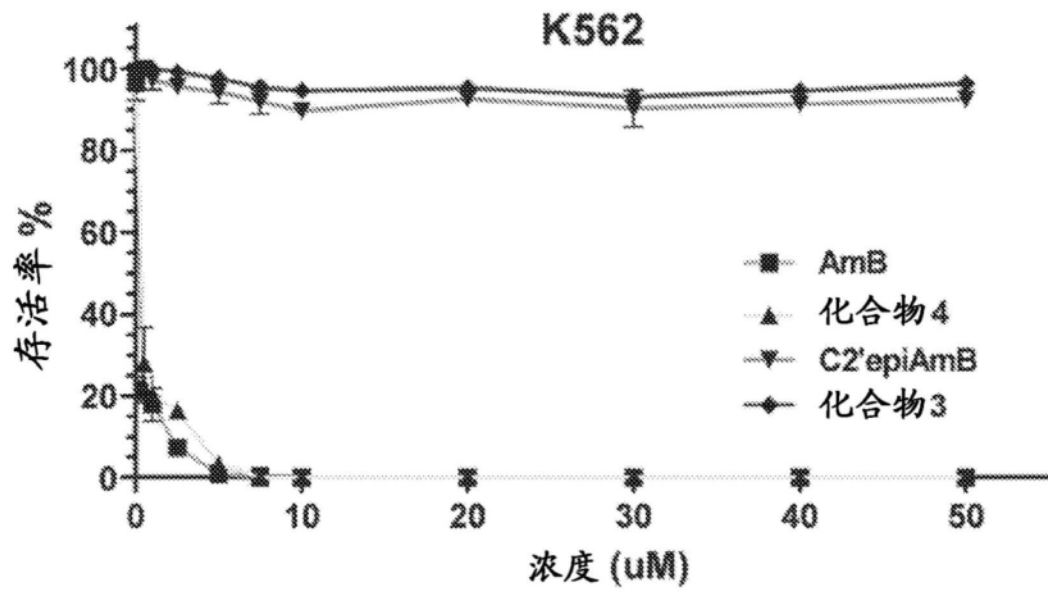


图20D

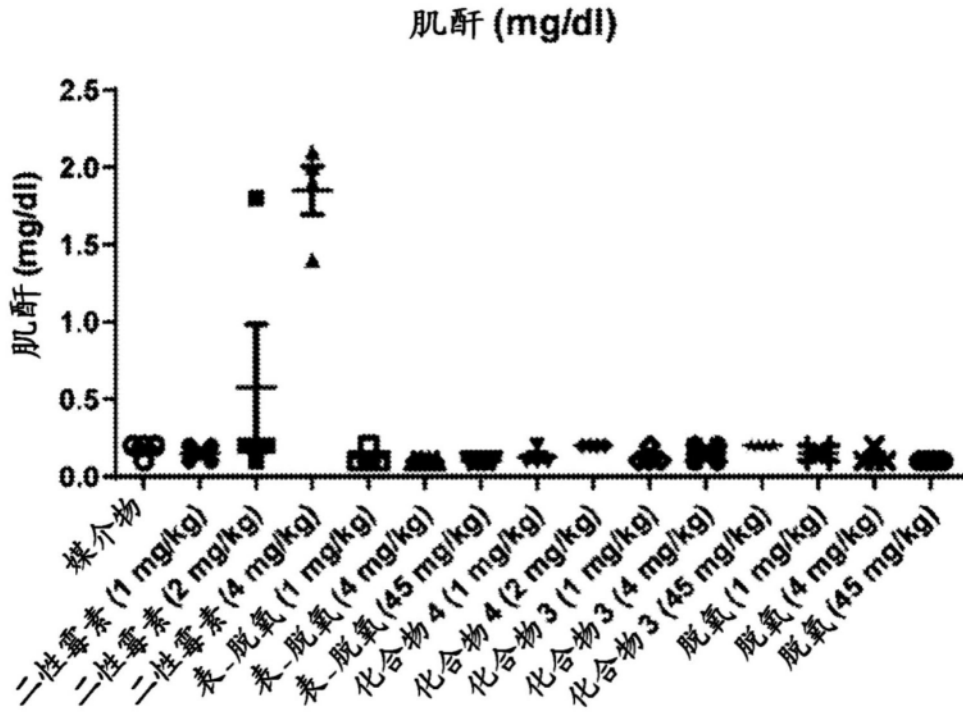


图21A

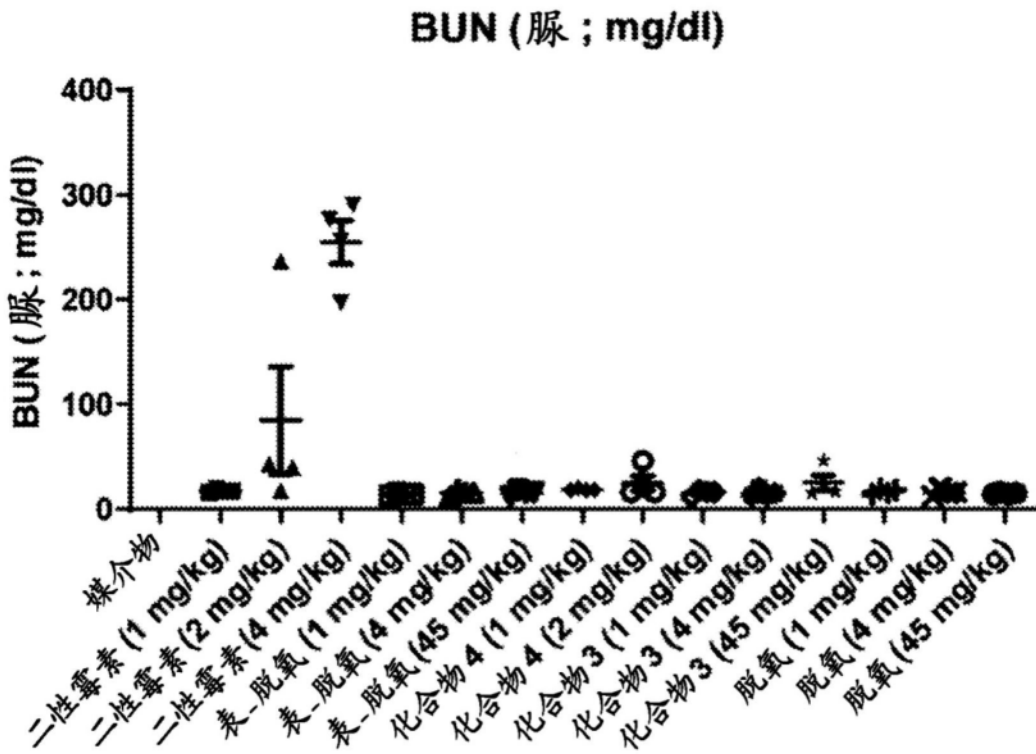


图21B

阴离子隙

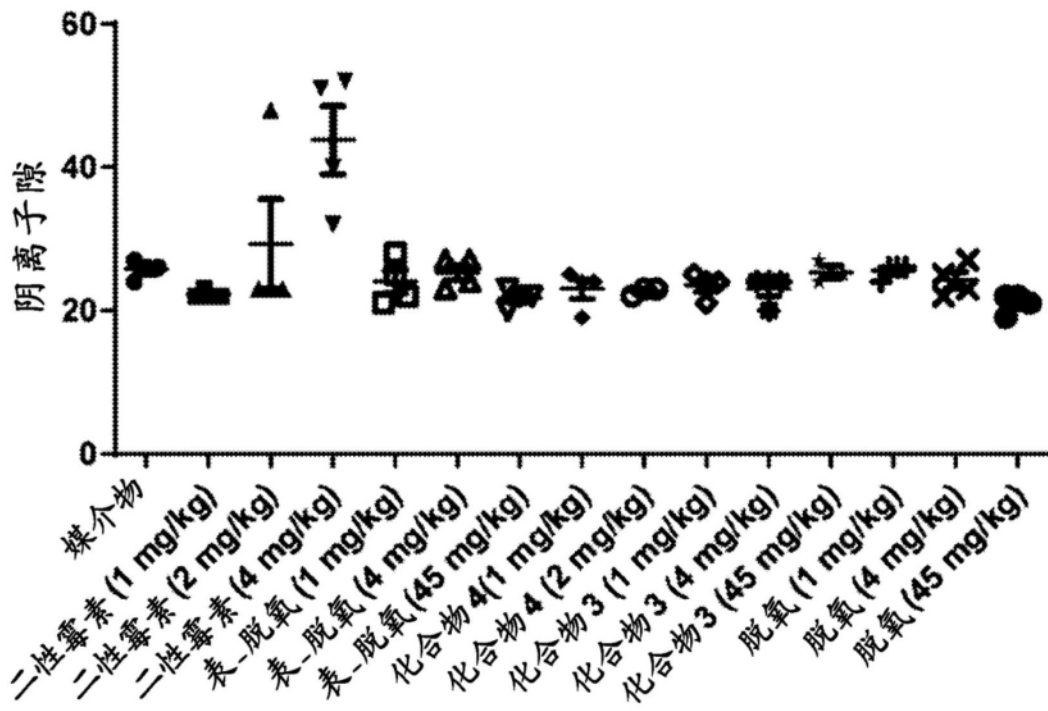


图21C

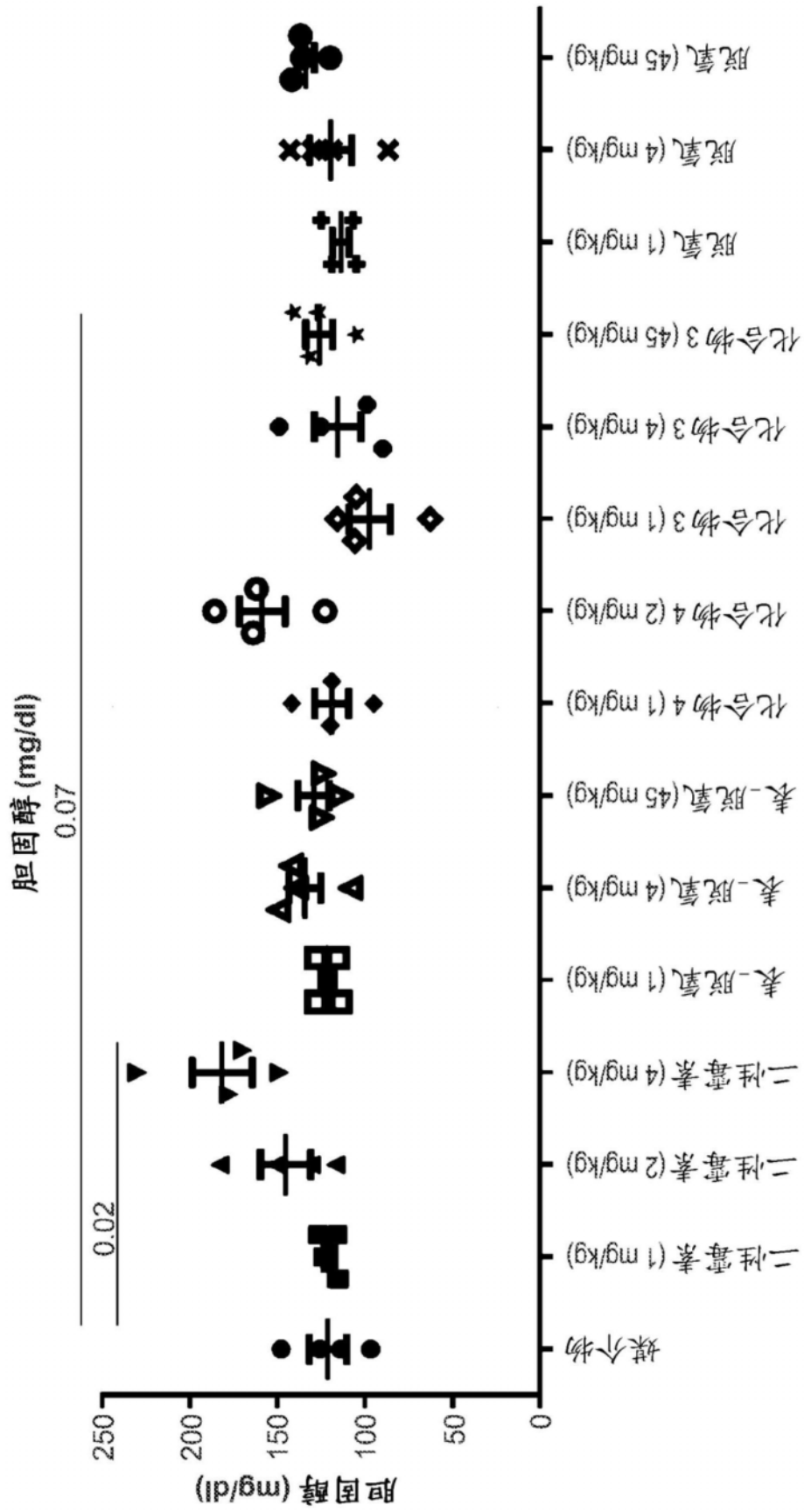


图21D

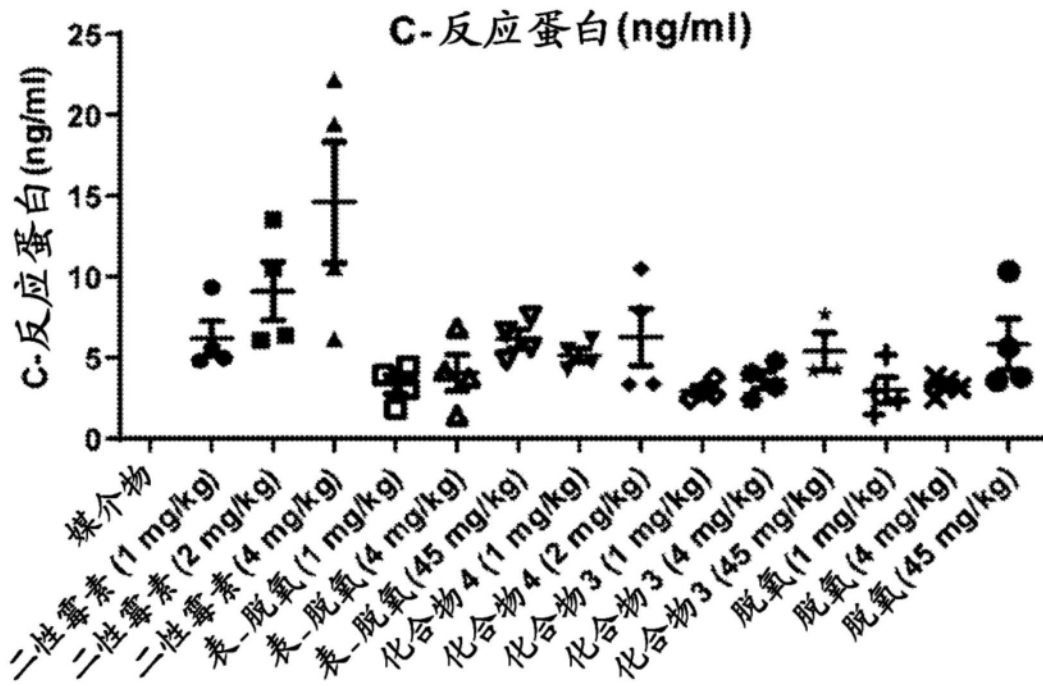


图21E

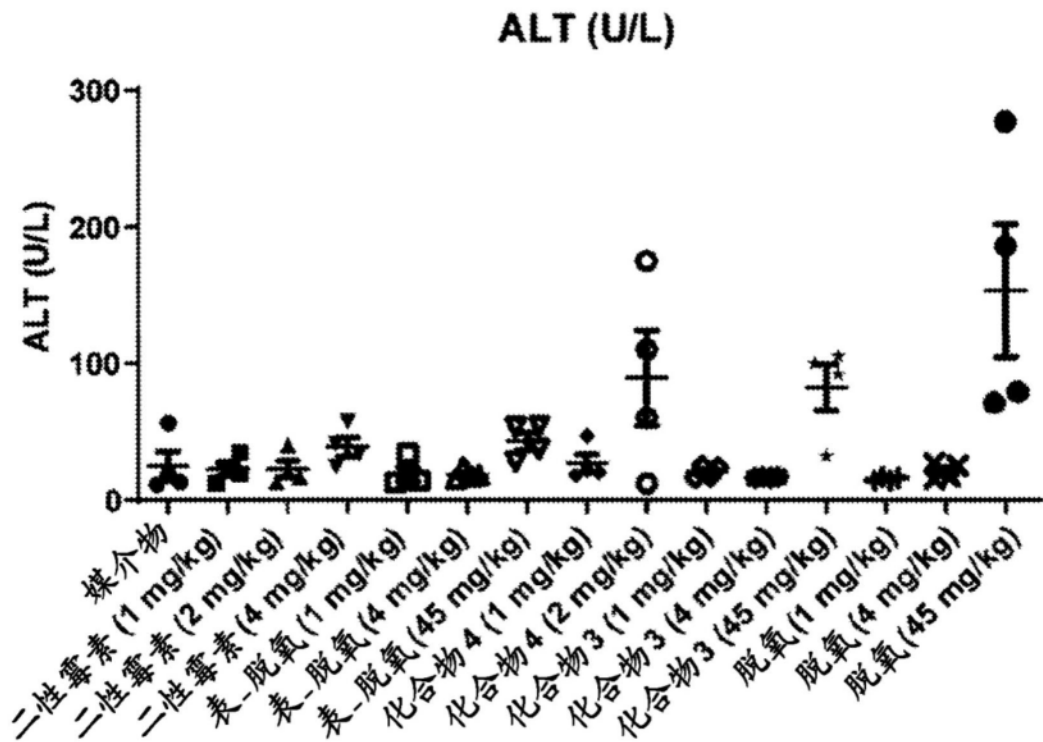


图21F

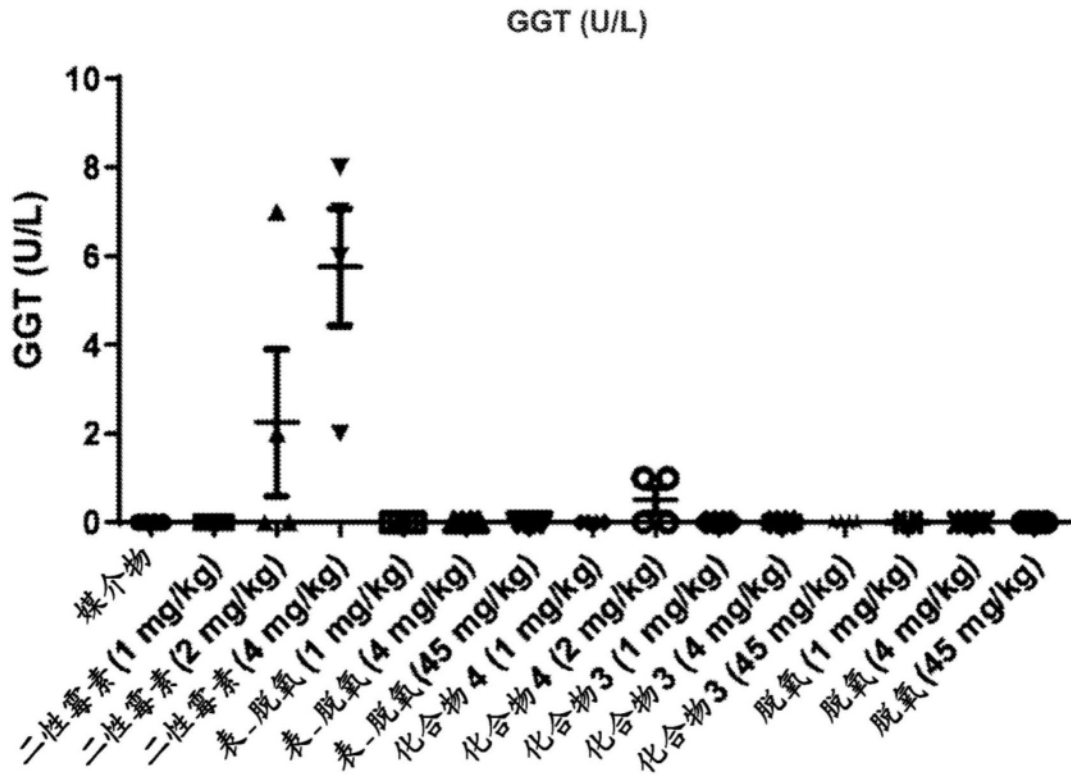


图21G

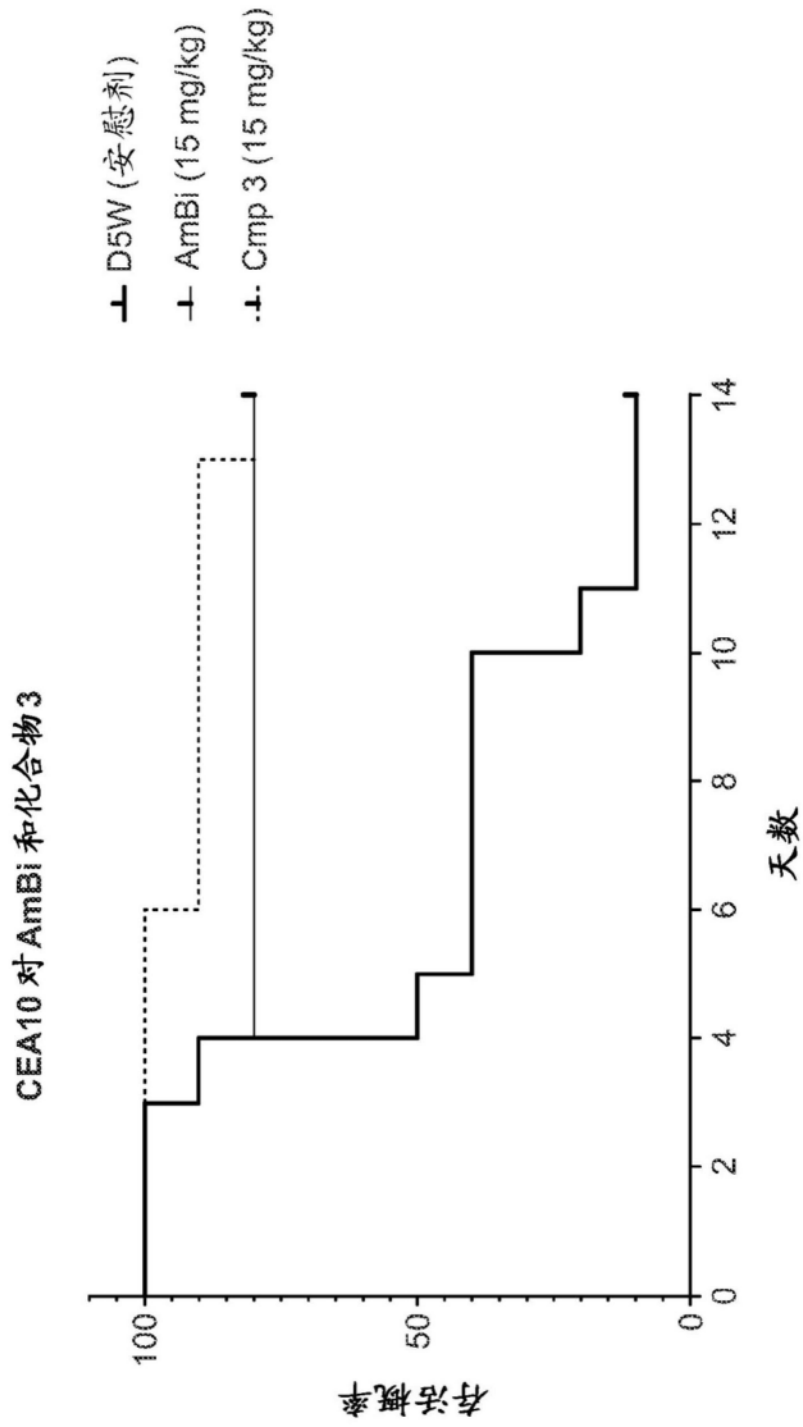


图22

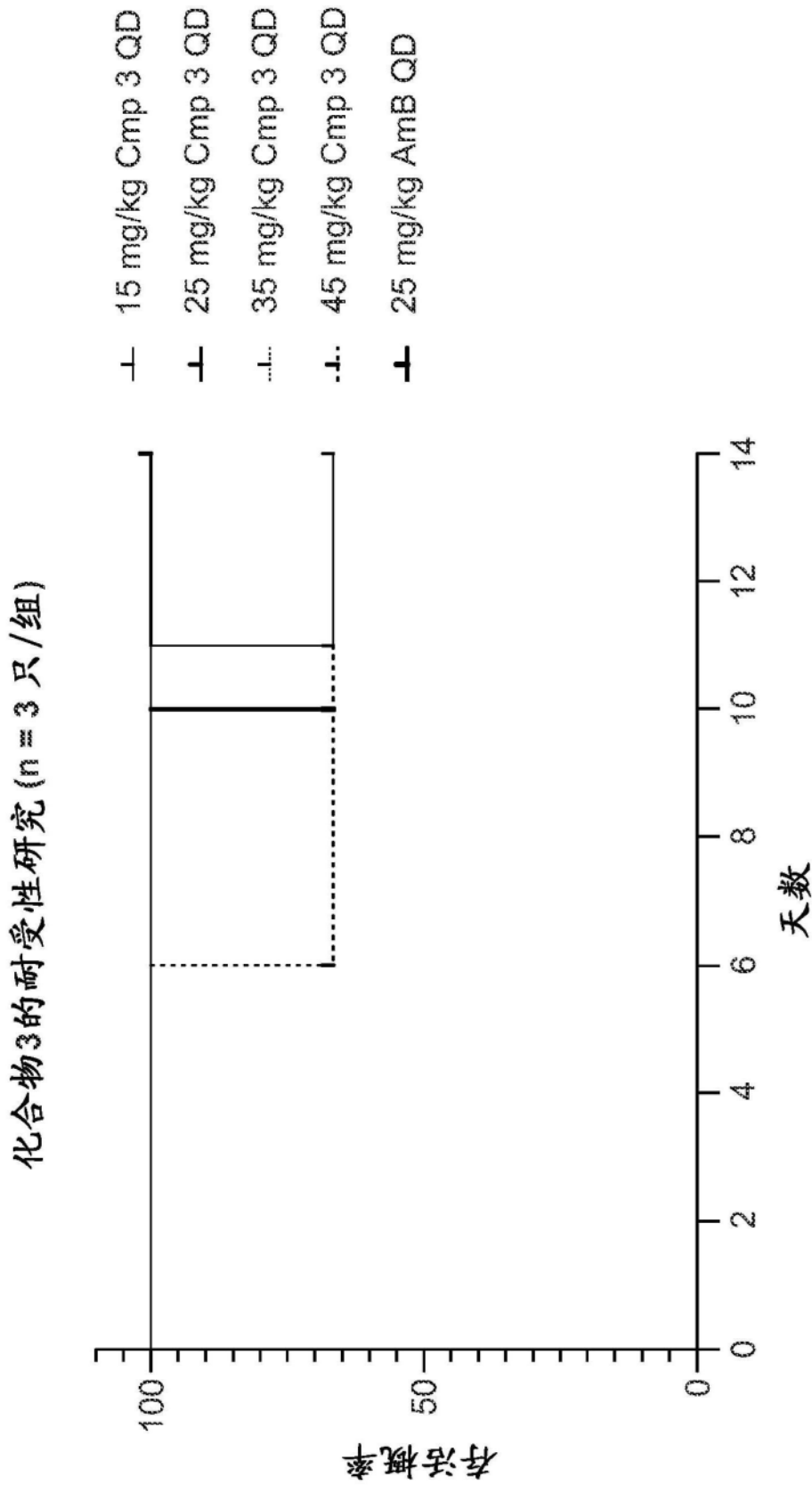


图23

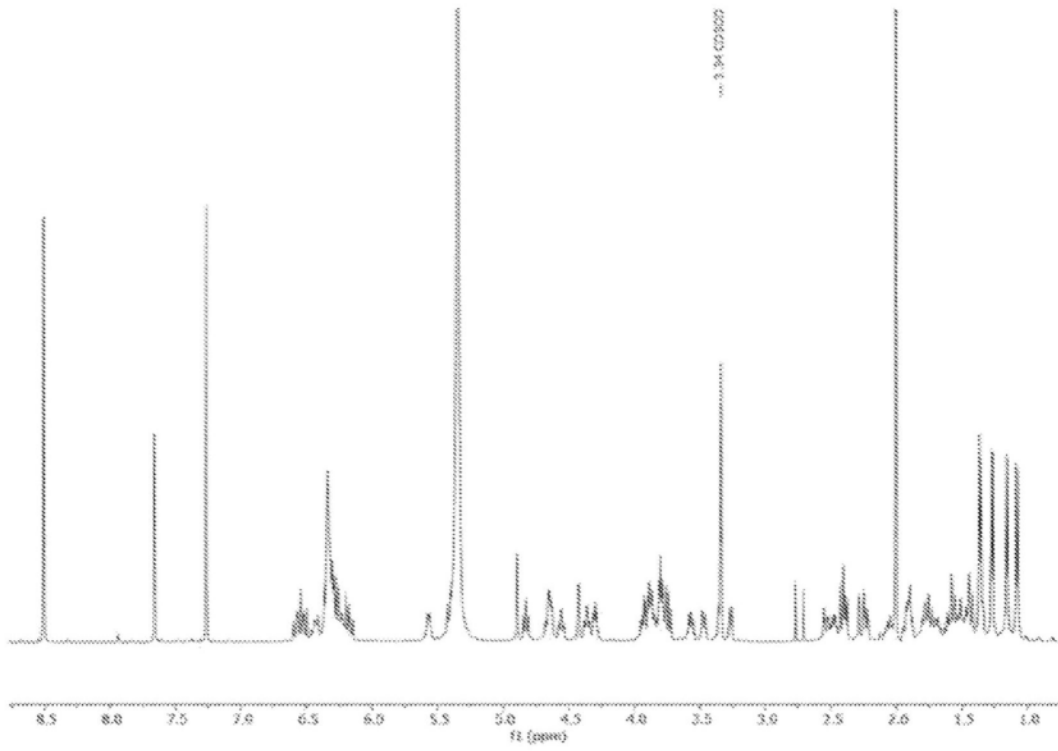


图24A

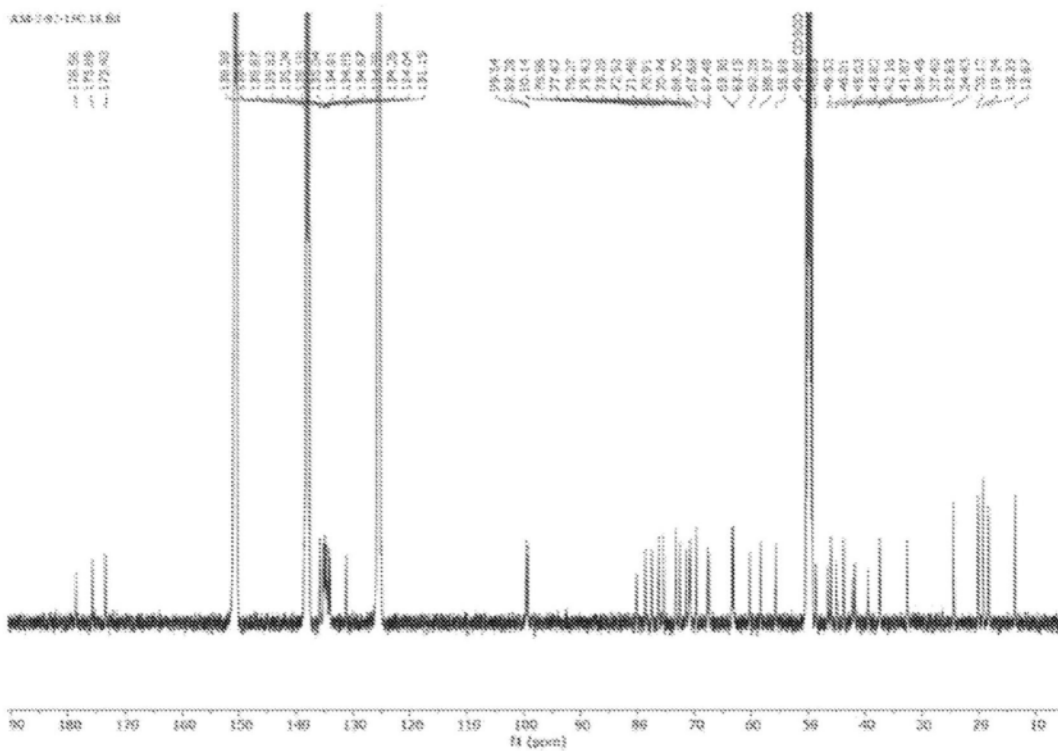


图24B

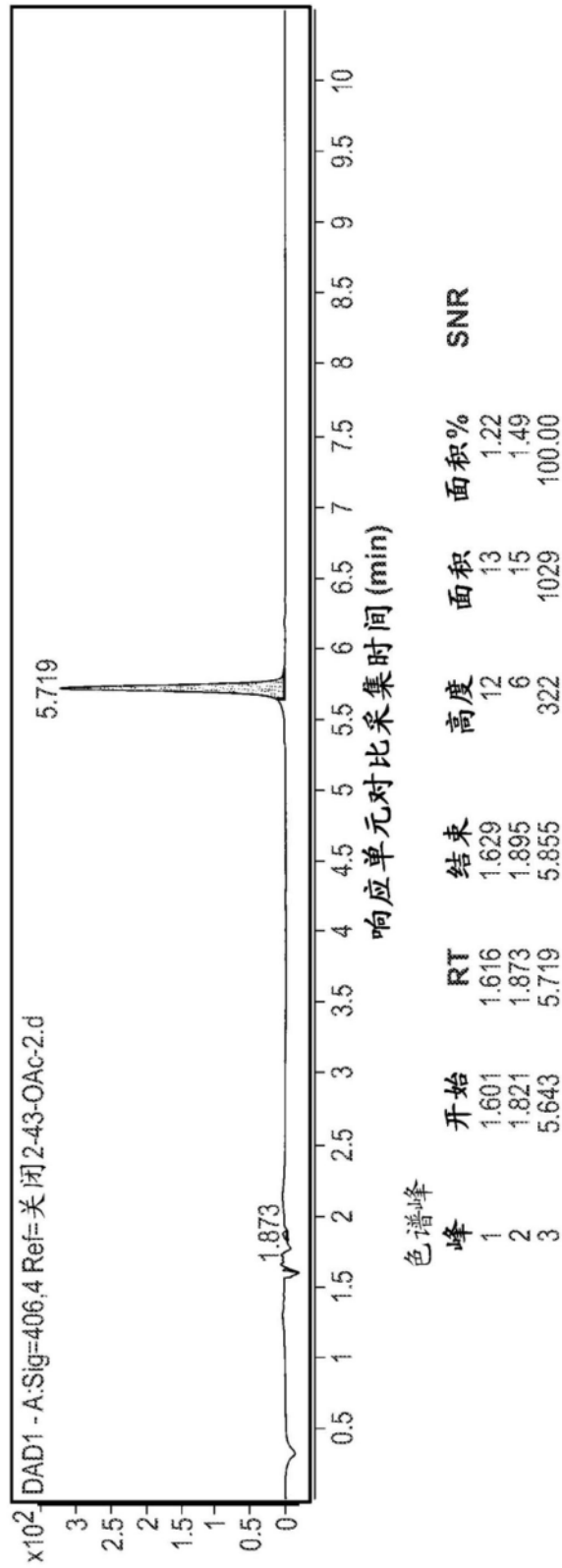


图24C

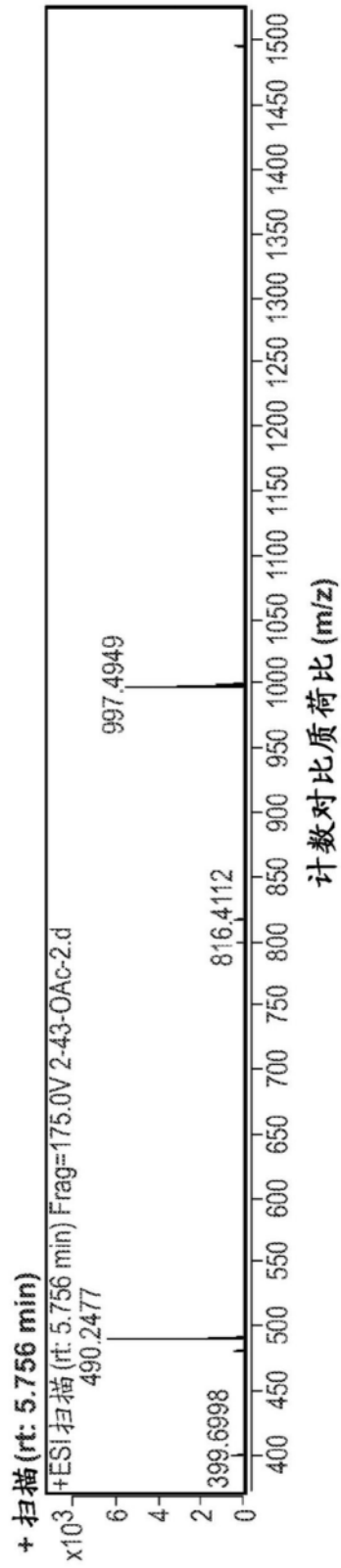


图24D