



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103889953 B

(45) 授权公告日 2016.06.08

(21) 申请号 201280039363.5

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2012.06.29

C07D 211/06(2006.01)

(30) 优先权数据

61/503,830 2011.07.01 US

(56) 对比文件

US 5607929 A, 1997.03.04,

CN 102015638 A, 2011.04.13,

US 5939423 A, 1999.08.17,

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2014.02.12

审查员 王沙沙

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2012/044775 2012.06.29

(87) PCT国际申请的公布数据

W02013/006394 EN 2013.01.10

(73) 专利权人 巴鲁·S·布隆伯格研究所

地址 美国宾夕法尼亚州道尔敦市

专利权人 德雷塞尔大学

(72) 发明人 巨涛·郭 晓东·徐

蒂莫西·M·布洛克

(74) 专利代理机构 北京纽乐康知识产权代理事

务所(普通合伙) 11210

代理人 田磊

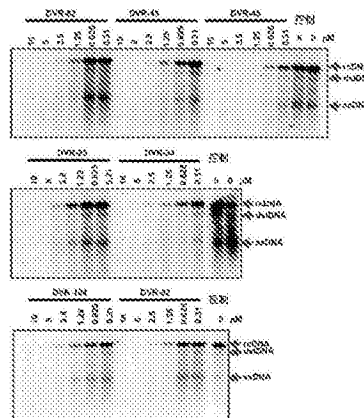
权利要求书7页 说明书38页 附图2页

(54) 发明名称

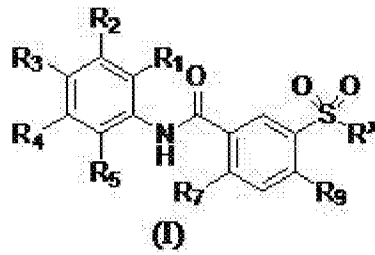
作为防乙型肝炎病毒感染的抗病毒剂的氨磺酰苯甲酰胺衍生物

(57) 摘要

本发明涉及一种药物组合物,包括用作前基因组 RNA 衣壳化抑制剂的氨磺酰苯甲酰胺衍生物,用于治疗乙型肝炎病毒(HBV)感染。



1. 一种用于治疗乙型肝炎病毒(HBV)感染和相关病症的组合物,所述组合物包括至少一种有效剂量的具有式(I)结构的化合物:



R¹ 是氢;

R²选自氢、甲基、三氟甲基、氟和氯组成的群组;

R³选自氢、甲基、氟和氯组成的群组;

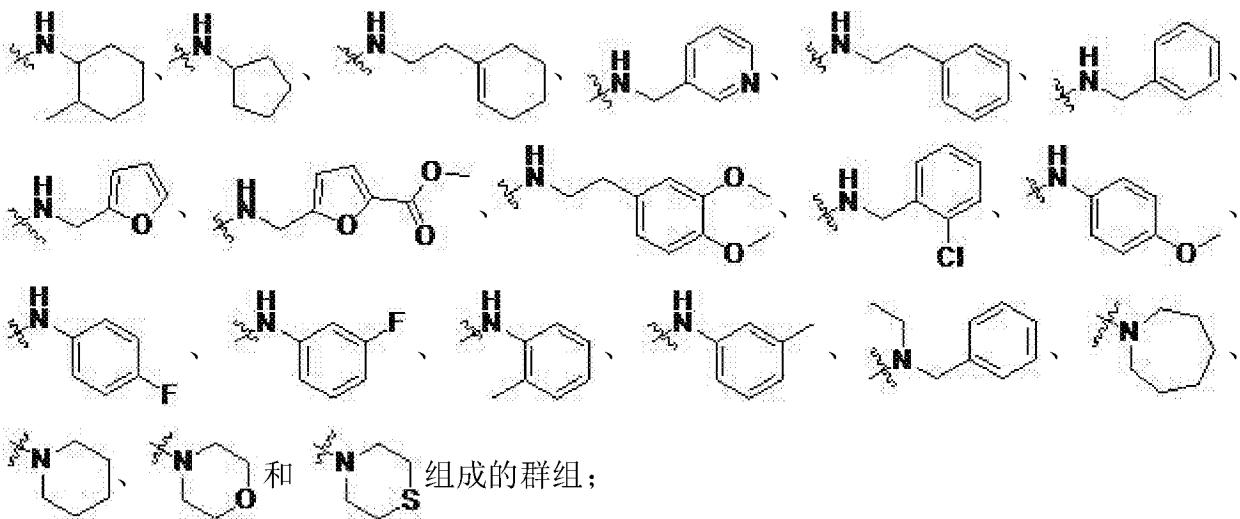
R⁴选自氢、氟、氯和甲基组成的群组;

R⁵选自氢和氯组成的群组;

R⁷选自氢、氯、氟和溴组成的群组;

R⁹选自氢、甲基、氟和氯组成的群组;

R^x选自NH₂、组成的群组;



或其药学上可接受盐。

2. 根据权利要求1所述的组合物,其中所述的至少一种化合物为下述化合物中的至少一种:

- 2-氯-5-氨磺酰-N-(3-甲苯基-苯甲酰胺);
- 4-氟-3-氨磺酰-N-3-三氟甲基-苯基)-苯甲酰胺;
- N-(2-氯-5-三氟甲基-苯基)-4-氟-3-氨磺酰-苯甲酰胺;
- N-苯基-3-氨磺酰-苯甲酰胺;
- 5-仲丁基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺;
- 3-二乙基氨磺酰-N-苯基-苯甲酰胺;
- 5-二乙基氨磺酰-N-(3,4-二氟-苯基)-2-氟-苯甲酰胺;

2-氯-5-二乙基氨磺酰-N-间-甲苯基-苯甲酰胺；
N-(4-氯苯基)-3-二乙基氨磺酰-苯甲酰胺；
5-烯丙基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
N-(3,4-二氟苯基)-5-二丙基氨磺酰-2-氟-苯甲酰胺；
5-环庚基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
5-环庚基氨磺酰-2-氟-N-对甲苯基-苯甲酰胺；
5-环庚基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
2-溴-5-环庚基氨磺酰-N-苯基-苯甲酰胺；
4-氯-3-环庚基氨磺酰-N-(4-氟苯基)-苯甲酰胺；
3-环庚基氨磺酰-4-甲基-N-苯基-苯甲酰胺；
N-(3,4-二氟苯基)-4-氟-3-(2-甲基环庚基氨磺酰)-苯甲酰胺；
3-环戊基氨磺酰-N-苯基-苯甲酰胺；
5-环戊基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
5-环戊基氨磺酰-2-氟-N-(4-氟苯基)-苯甲酰胺；
5-环戊基氨磺酰-N-(3,5-二甲基苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
3-环戊基氨磺酰-4-氟-N-3-甲苯基-苯甲酰胺；
5-环戊基氨磺酰-N-(3,5-二氯苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
3-[(呋喃-2-甲基)-氨磺酰]-N-苯基-苯甲酰胺；
N-(3-氯-4-氟苯基)-5-[(呋喃-2-甲基)-氨磺酰]-2-甲基-苯甲酰胺；
2-氟-N-(3-氟苯基)-5-[(呋喃-2-甲基)-氨磺酰]-苯甲酰胺；
N-(3,5-二氯苯基)-2-氟-5-[(呋喃-2-甲基)-氨磺酰]-苯甲酰胺；
4-氯-3-[(呋喃-2-甲基)-氨磺酰]-N-3-甲苯基-苯甲酰胺；
5-[(4-氯-3-苯基氨基)-苯磺酰]-甲基-呋喃-2-羧酸甲酯；
N-(3-氯苯基)-5-(2-环己-1-烯基-乙基氨磺酰)-2-氟-苯甲酰胺；
5-(2-环己-1-烯基-乙基氨磺酰)-N-(3,5-二甲苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
5-(2-环己-1-烯基-乙基氨磺酰)-N-(3,5-二甲苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
N-(3-氯苯基)-4-氟-3-[(吡啶-3-甲基)-氨磺酰]-苯甲酰胺；
N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-5-苄基氨磺酰-苯甲酰胺；
N-(3-氯苯基)-2-氟-5-苄基氨磺酰-苯甲酰胺；
5-苄基氨磺酰-N-(3-氯-4-氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
5-苄基氨磺酰-2-氯-N-苯基-苯甲酰胺；
N-(4-氯苯基)-5-[2-(3,4-二甲氧基苯基)-乙基氨磺酰]-2-氟-苯甲酰胺；
5-(2-氯-苄基氨磺酰)-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
3-(2-氯-苄基氨磺酰)-N-(4-氯苯基)-4-氟-苯甲酰胺；
2-氟-5-(4-甲氧基苯基氨磺酰)-N-3-甲苯基-苯甲酰胺；
2-氟-5-(4-氟苯基氨磺酰)-N-3-甲苯基-苯甲酰胺；
N-(4-氯苯基)-3-(3-氟苯基氨磺酰)-苯甲酰胺；
N-(4-氯苯基)-3-2-甲基苯磺酰胺-苯甲酰胺；
N-苯基-3-间甲苯基氨磺酰-苯甲酰胺；

N-苯基-3-邻甲苯氨磺酰-苯甲酰胺；
3-(苄基-乙基-氨磺酰)-N-(3,4-二氟苯基)-4-氟-苯甲酰胺；
5-(氮杂环庚烷-1-磺酰)-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
4-甲基-N-苯基-3-(哌啶-1-磺酰)-苯甲酰胺；
4-甲基-N-苯基-3-(哌啶-1-磺酰)-苯甲酰胺；
4-氯-N-(3-氟苯基)-3-(吗啉-4-磺酰)-苯甲酰胺；
4-氯-N-苯基-3-(硫代吗啉-4-磺酰)-苯甲酰胺；
5-仲丁基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
5-二乙基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
5-烯丙基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
N-(3,4-二氟苯基)-5-二丙基氨磺酰-2-氟-苯甲酰胺；
5-环庚基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
5-(氮杂环庚烷-1-磺酰)-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
5-环己基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
5-环戊基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-5-苯乙基氨磺酰-苯甲酰胺；
5-(2-氯苄基氨磺酰)-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
和它们的药学上可接受形式。

3. 根据权利要求1所述的组合物，其中所述的组合物还包含至少一种赋形剂。

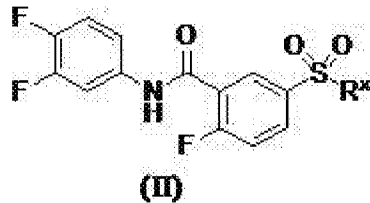
4. 根据权利要求3所述的组合物，其中所述的至少一种化合物为下述化合物中的至少一种：

2-氯-5-氨磺酰-N-3-甲苯基-苯甲酰胺；
4-氟-3-氨磺酰-N-(3-三氟甲基-苯基)-苯甲酰胺；
N-(2-氯-5-三氟甲基-苯基)-4-氟-3-氨磺酰-苯甲酰胺；
N-苯基-3-氨磺酰-苯甲酰胺；
5-仲丁基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
3-二乙基氨磺酰-N-苯基-苯甲酰胺；
5-二乙基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
2-氯-5-二乙基氨磺酰-N-间甲苯基-苯甲酰胺；
N-(4-氯苯基)-3-二乙基氨磺酰-苯甲酰胺；
5-烯丙基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
N-(3,4-二氟苯基)-5-二丙基氨磺酰-2-氟-苯甲酰胺；
5-环庚基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
5-环庚基氨磺酰-2-氟-N-对甲苯基-苯甲酰胺；
5-环庚基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
2-溴-5-环庚基氨磺酰-N-苯基-苯甲酰胺；
4-氯-3-环庚基氨磺酰-N-(4-氟苯基)-苯甲酰胺；
3-环庚基氨磺酰-4-甲基-N-苯基-苯甲酰胺；
N-(3,4-二氟苯基)-4-氟-3-(2-甲基环庚基氨磺酰)-苯甲酰胺；

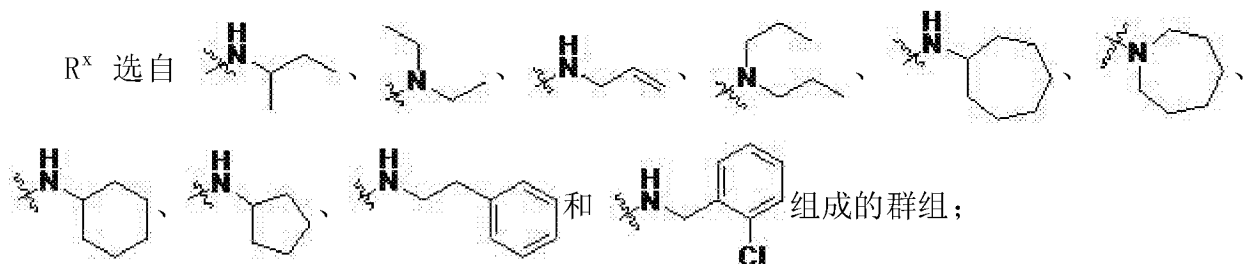
3-环戊基氨磺酰-N-苯基-苯甲酰胺；
5-环戊基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
5-环戊基氨磺酰-2-氟-N-(4-氟苯基)-苯甲酰胺；
5-环戊基氨磺酰-N-(3,5-二甲基苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
3-环戊基氨磺酰-4-氟-N-3-甲苯基-苯甲酰胺；
5-环戊基氨磺酰-N-(3,5-二氯苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
3-[(呋喃-2-甲基)-氨磺酰]-N-苯基-苯甲酰胺；
N-(3-氯-4-氟苯基)-5-[(呋喃-2-甲基)-氨磺酰]-2-甲基-苯甲酰胺；
2-氟-N-(3-氟苯基)-5-[(呋喃-2-甲基)-氨磺酰]-苯甲酰胺；
N-(3,5-二氯苯基)-2-氟-5-[(呋喃-2-甲基)-氨磺酰]-苯甲酰胺；
4-氯-3-[(呋喃-2-甲基)-氨磺酰]-N-3-甲苯基-苯甲酰胺；
5-[(4-氯-3-苯氨基羰基-苯磺酰)-甲基]-呋喃-2-羧酸甲酯；
N-(3-氯苯基)-5-(2-环己-1-烯基-乙基氨磺酰)-2-氟-苯甲酰胺；
5-(2-环己-1-烯基-乙基氨磺酰)-N-(3,5-二甲苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
5-(2-环己-1-烯基-乙基氨磺酰)-N-(3,5-二甲苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
N-(3-氯苯基)-4-氟-3-[(吡啶-3-甲基)-氨磺酰]-苯甲酰胺；
N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-5-苯乙基氨磺酰-苯甲酰胺；
N-(3-氯苯基)-2-氟-5-苯乙基氨磺酰-苯甲酰胺；
5-苄基氨磺酰-N-(3-氯-4-氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
5-苄基氨磺酰-2-氯-N-苯基-苯甲酰胺；
N-(4-氯苯基)-5-[2-(3,4-二甲氧基苯基)-乙基氨磺酰]-2-氟-苯甲酰胺；
5-(2-氯-苄基氨磺酰)-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
3-(2-氯-苄基氨磺酰)-N-(4-氯苯基)-4-氟-苯甲酰胺；
2-氟-5-(4-甲氧基苯基氨磺酰)-N-3-甲苯基-苯甲酰胺；
2-氟-5-(4-氟苯基氨磺酰)-N-3-甲苯基-苯甲酰胺；
N-(4-氯苯基)-3-(3-氟苯基氨磺酰)-苯甲酰胺；
N-(4-氯苯基)-3-2-甲基苯磺酰胺-苯甲酰胺；
N-苯基-3-间甲苯基氨磺酰-苯甲酰胺；
N-苯基-3-邻甲苯基氨磺酰-苯甲酰胺；
3-(苄基-乙基-氨磺酰)-N-(3,4-二氟苯基)-4-氟-苯甲酰胺；
5-(氮杂环庚烷-1-磺酰)-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
4-甲基-N-苯基-3-(哌啶-1-磺酰)-苯甲酰胺；
4-甲基-N-苯基-3-(哌啶-1-磺酰)-苯甲酰胺；
4-氯-N-(3-氟苯基)-3-(吗啉-4-磺酰)-苯甲酰胺；
4-氯-N-苯基-3-(硫代吗啉-4-磺酰)-苯甲酰胺；
5-仲丁基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
5-二乙基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
5-烯丙基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
N-(3,4-二氟苯基)-5-二丙基氨磺酰-2-氟-苯甲酰胺；

5-环庚基氨磺酰- N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
 5-(氮杂环庚烷-1-磺酰)- N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
 5-环己基氨磺酰- N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
 5-环戊基氨磺酰- N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
 N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-5-苯乙基氨磺酰-苯甲酰胺；
 5-(2-氯苄基氨磺酰)-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
 和它们的药学上可接受形式。

5. 一种用于治疗乙型肝炎病毒(HBV)感染和相关病症的组合物,所述组合物包括至少一种有效剂量的具有式(II)结构的化合物或任何其药学上可接受盐:



其中:



或它的药学上可接受盐形式。

6. 根据权利要求5所述的组合物,其中所述的至少一种化合物为下述化合物中的至少一种:

5-仲丁基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
 5-二乙基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
 5-烯丙基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
 N-(3,4-二氟苯基)-5-二丙基氨磺酰-2-氟-苯甲酰胺；
 5-环庚基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
 5-(氮杂环庚烷-1-磺酰)- N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
 5-环己基氨磺酰- N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
 5-环戊基氨磺酰- N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
 N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-5-苯乙基氨磺酰-苯甲酰胺；
 5-(2-氯-苄基氨磺酰)-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
 和它们的药学上可接受形式。

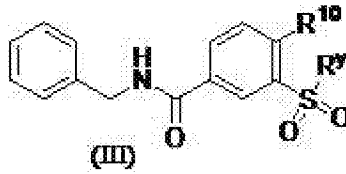
7. 根据权利要求5所述的组合物,其中所述的组合物还包含至少一种赋形剂。

8. 根据权利要求7所述的组合物,其中所述的至少一种化合物为下述化合物中的至少一种:

5-仲丁基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
 5-二乙基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；

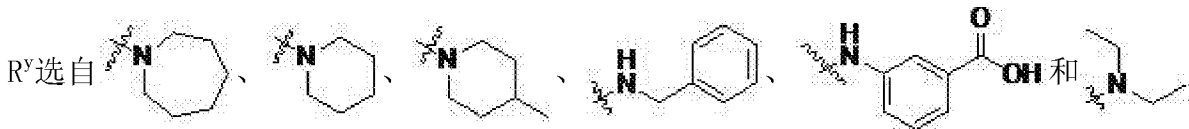
5-烯丙基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
 N-(3,4-二氟苯基)-5-二丙基氨磺酰-2-氟-苯甲酰胺；
 5-环庚基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
 5-(氮杂环庚烷-1-磺酰)-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
 5-环己基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
 5-环戊基氨磺酰-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
 N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-5-苄基氨磺酰-苯甲酰胺；
 5-(2-氯-苄基氨磺酰)-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺；
 和它们的药学上可接受形式。

9. 一种用于治疗乙型肝炎病毒(HBV)感染和相关病症的组合物,所述组合物包括至少一种有效剂量的具有式(III)结构的化合物:



其中:

R¹⁰ 选自氢、甲基、氯和溴组成的群组;



组成的群组;

或其药学上可接受盐形式。

10. 根据权利要求9所述的组合物,其中至少一种化合物为下述化合物中的至少一种

3-(氮杂环庚烷-1-磺酰)-N-苄基-4-氯-苯甲酰胺;
 N-苄基-4-氯-3-(哌啶-1-磺酰)-苯甲酰胺;
 N-苄基-4-甲基-3-(4-甲基-哌啶-1-磺酰)-苯甲酰胺;
 N-苄基-3-苄基氨磺酰-4-甲基-苯甲酰胺;
 3-(3-苄基氨甲酰-苯磺酰)-苯甲酸;
 N-苄基-4-溴-3-二乙基氨磺酰-苯甲酰胺;
 和它的药学可接受形式。

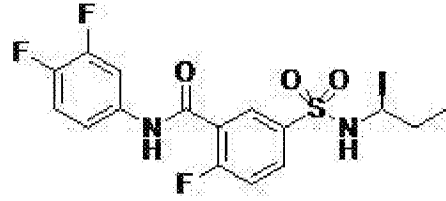
11. 根据权利要求9所述的组合物,其中所述的组合物还包含至少一种赋形剂。

12. 根据权利要求11所述的组合物,其中所述的至少一种化合物为下述化合物中的至少一种:

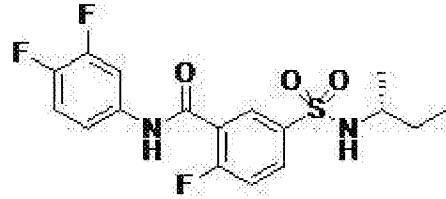
3-(氮杂环庚烷-1-磺酰)-N-苄基-4-氯-苯甲酰胺;
 N-苄基-4-氯-3-(哌啶-1-磺酰)-苯甲酰胺;
 N-苄基-4-甲基-3-(4-甲基-哌啶-1-磺酰)-苯甲酰胺;
 N-苄基-3-苄基氨磺酰-4-甲基-苯甲酰胺;
 3-(3-苄基氨甲酰-苯磺酰)-苯甲酸;
 N-苄基-4-溴-3-二乙基氨磺酰-苯甲酰胺;

和其药学上可接受形式。

13. 一种用于治疗乙型肝炎病毒(HBV)感染和相关病症的组合物,所述组合物包括至少一种有效剂量的具有下式结构的化合物:



或式:



或其药学上可接受盐形式。

14. 根据权利要求13所述的组合物,其中所述的组合物还包含至少一种赋形剂。

作为防乙型肝炎病毒感染的抗病毒剂的氨磺酰苯甲酰胺衍生物

[0001] 交叉引用相关申请

[0002] 本申请要求2011年7月1日递交的美国临时申请号为61/503830的申请的优先权，该申请的内容通过参考被整体引用到本申请中。

发明领域

[0003] 本发明描述了作为前基因组RNA衣壳化抑制剂和用于治疗乙型肝炎病毒(HBV)感染和相关病症的化合物和制备方法。

背景技术

[0004] 乙型肝炎病毒(HBV)感染依然是一个主要的公共卫生问题。当前，全世界估计有3.5亿人，其中美国有140万人患有慢性HBV(麦克马洪,2005)。如果不进行治疗，这些人中大约将会有三分之一的人死于严重的肝脏疾病，比如肝硬化和肝癌(李,1997;洛克,2004)。

[0005] 目前，有七种药物可以用于慢性乙型肝炎的治疗，包括两个 α -干扰素配方(标准的和peg修饰的)和五个抑制HBV DNA聚合酶的核苷类似物(拉米夫定、阿德福韦、恩替卡韦、替比夫定和替诺福韦)(基夫等,2008)。目前，首选的一线治疗选择是恩替卡韦、替诺福韦或聚乙二醇化干扰素 α -2a。然而，即使使用一线治疗选择，聚乙二醇化干扰素 α -2a也仅可以在三分之一的接受治疗的病人中有效的取得血清学的里程碑，并经常伴有严重的副作用(詹森等,2005;刘等,2005;佩列洛,2009)。恩替卡韦和替诺福韦是高效的HBV抑制剂，但长期的或可能终身的治疗需要连续不断的抑制HBV复制，最终可能会由于耐药病毒的出现而导致失败(戴斯塔,2009)。因此，迫切需要引入一种新的、安全的和有效的治疗慢性乙型肝炎的方法，这已被美国国家过敏与传染性疾病研究院列为最优先级评定区。

[0006] HBV为肝脱氧核糖核酸病毒科家系的非细胞病的、肝脏泛嗜性的DNA病毒。前基因组(pg)RNA是HBV DNA和衣壳化HBV DNA的反转录复制的模板，与病毒DNA聚合酶一起进入到核衣壳，这对后续的病毒DNA合成是必不可少的。前基因组(pg)RNA衣壳化的抑制将阻止HBV复制并为HBV的治疗提供一种新的治疗方法。

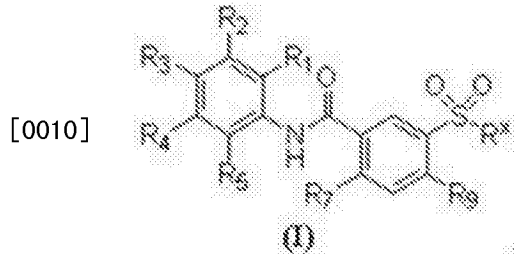
[0007] 临床上，前基因组(pg)衣壳化的抑制提供的治疗优势如下：第一，前基因组(pg)衣壳化的抑制将为那些不能忍受或不能得益于现有药物疗法的病人提供一种额外的选择以完善现有的药物疗法(阿克巴等,2009;廖,2009;彼得斯,2009;维甘德,范博梅尔和博格)。第二，基于不同的抗病毒机制，前基因组(pg)衣壳化的抑制将会有效的预防对现有的有效的DNA聚合酶抑制剂有反抗作用的HBV变体(徐亮和洛克尼尼,2009)。第三，如人体免疫缺损病毒(HIV)传染的高效抗逆转录病毒治疗(HAART)(艾斯特和Cihlar)，前基因组(pg)衣壳化的抑制剂和DNA聚合酶抑制剂的联合治疗会协同的抑制HBV复制并阻止抗药性的出现，因此为慢性乙型肝炎提供一种更安全和更有效的治疗方法。

[0008] 需要一种用于治疗感染乙型肝炎病毒的病人的疾病缓解和有效的新的抗病毒药物。需要一种用于治疗感染抗药性乙型肝炎病毒的病人的疾病缓解和有效的新的抗病毒药

物。本发明满足了对治疗感染乙型肝炎病毒的病人疾病缓解和有效的抗病毒药物的需要。

发明内容

[0009] 本发明针对使用如式(I)所示的氨磺酰苯甲酰胺衍生物的新方法,作为治疗乙型肝炎病毒(HBV)感染和相关病症的HBV的前基因组RNA衣壳化抑制剂。



[0011] 包括水合物、溶剂合物、药学上可接受的盐、前药和它们的复合物,其中:

[0012] R¹是氢;

[0013] R²选自氢、甲基、三氟甲基和氟和氯组成的群组;

[0014] R³选自氢、甲基、氟和氯组成的群组;

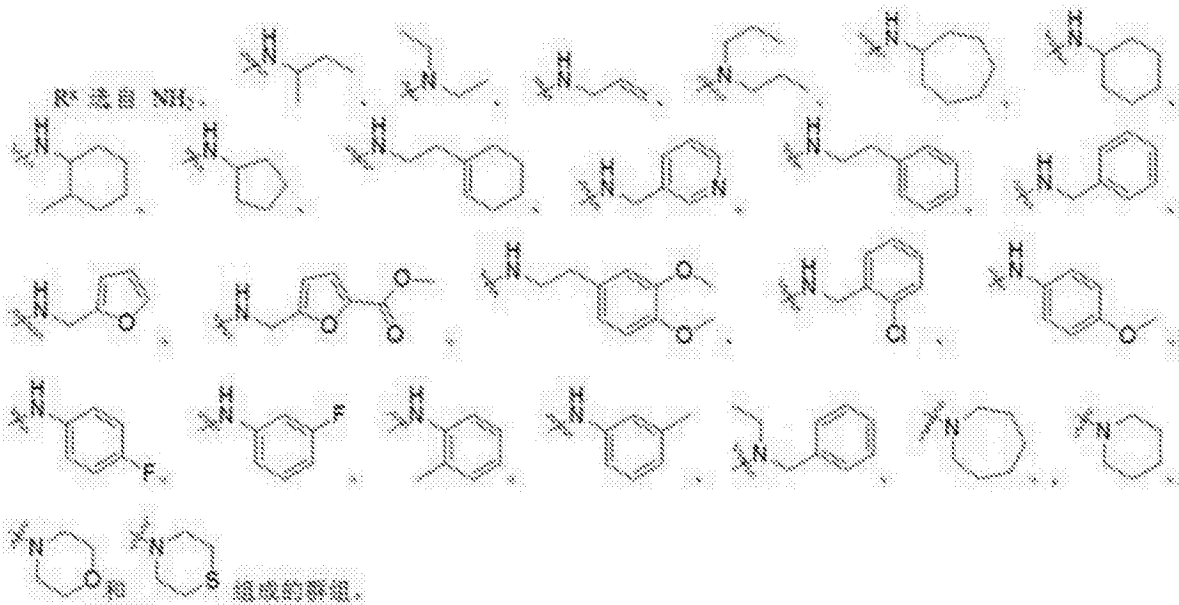
[0015] R⁴选自氢、氟、氯和甲基组成的群组;

[0016] R⁵选自氢和氯组成的群组;

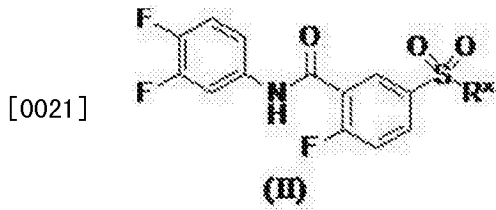
[0017] R⁷选自氢、氯、氟和溴组成的群组;

[0018] R⁹选自氢、甲基、氟和氯组成的群组;

[0019]

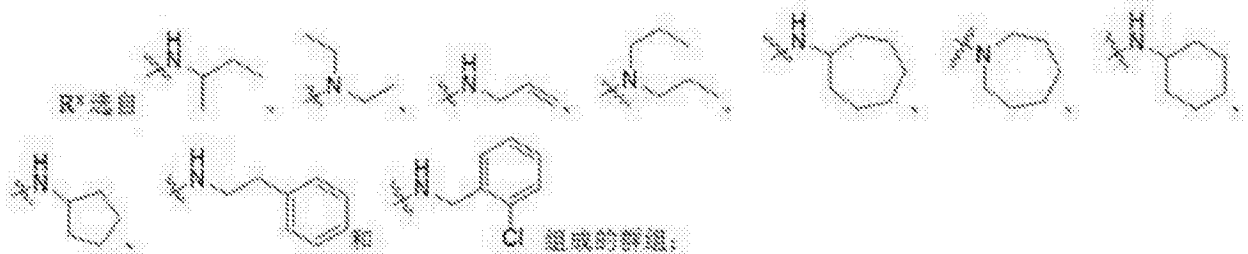


[0020] 本发明进一步针对使用如式(II)所示的氨磺酰苯甲酰胺衍生物的新方法,作为治疗乙型肝炎病毒(HBV)感染和相关病症的HBV的前基因组RNA衣壳化抑制剂。

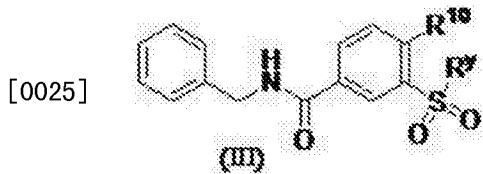


[0022] 包括水合物、溶剂合物、药学上可接受的盐、前药和它们的复合物,其中:

[0023]



[0024] 本发明进一步针对使用如式(III)所示的氨磺酰苯甲酰胺衍生物的新方法,作为治疗乙型肝炎病毒(HBV)感染和相关病症的HBV的前基因组RNA衣壳化抑制剂。

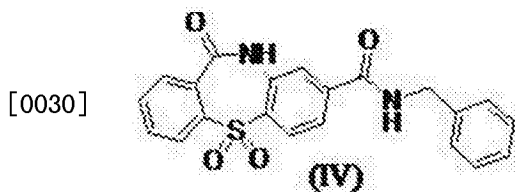


[0026] 包括水合物、溶剂合物、药学上可接受的盐、前药和它们的复合物,其中:

[0027] R¹⁰选自氢、甲基、氯和溴;



[0029] 本发明进一步针对使用如式(IV)所示的氨磺酰苯甲酰胺衍生物的新方法,作为治疗乙型肝炎病毒(HBV)感染和相关病症的HBV的前基因组RNA衣壳化抑制剂。



[0031] 包括水合物、溶剂合物、药学上可接受的盐、前药和它们的复合物。

[0032] 本发明进一步涉及组合物,包括:

[0033] 有效剂量的本发明所述的一种或多种化合物和赋形剂。

[0034] 本发明也涉及一种治疗或预防涉及前基因组RNA衣壳化的疾病的方法,包括,比如,HBV感染,所述方法包括施用本发明所述的有效剂量的化合物或组合物。

[0035] 本发明还进一步涉及治疗或预防涉及前基因组RNA衣壳化的疾病的方法,包括,比如,HBV感染,其中,所述方法包括施用本发明所述的包含有效剂量的一个或多个化合物的组合物和赋形剂。

[0036] 本发明还涉及治疗或预防涉及前基因组RNA衣壳化的疾病或与HBV感染相关病症

的方法。所述方法包括施用本发明所述的有效剂量的化合物或组合物。

[0037] 本发明也涉及治疗或预防涉及前基因组RNA衣壳化的疾病或与HBV感染相关病症的方法,其中,所述方法包括施用本发明所述的包含有效剂量的一个或多个化合物的组合物和赋形剂。

[0038] 通过阅读下述具体实施方式和权利要求,这些以及其他目的、特征和优势对于本领域技术人员是显而易见的。除非另有说明,在此所有的百分比、比率和比率均按重量计算。除非另有说明,在此所有的温度均为摄氏度(°C)。所有引用的文件均通过引用的方式纳入到相关部分,任何文件的引用都不解释为本发明的现有技术。

附图说明

[0039] 图1:本发明中所选化合物对于HepDES19细胞中HBV DNA复制的效果。HepDES19细胞未经处理(控制)或在本公开中化合物的指定浓度下处理6天。提取与HBV DNA相关的细胞内病毒粒子并通过电泳在1.5%琼脂糖胶下分解,通过印记杂交确定含量。缩写:rcDNA:松环DNA;dsDNA:双链线状DNA;ssDNA:单链DNA。

[0040] 图2:使用拉米夫定和Bay 41-4109的DVR-23的抗病毒活性比较。HepDES19细胞未经处理(NT)或在指定浓度(μM)的DVR-23、拉米夫定或Bay 41-4109下处理4天。提取与HBV DNA复制有关的胞浆核心的中间体并通过印记杂交确定含量。RC、L和SS分别表示松环、双链线性和单链HBV DNA。

[0041] 图3:本发明中化合物的抗病毒机理。AML12HBV10细胞未经处理(NT)或分别在指定浓度下的DVR-1、DVR-56和DVR-23中处理2天。Bay-4109($5\mu\text{M}$)或AT-61($25\mu\text{M}$)为正控制。(A)通过印迹杂交确定细胞内病毒RNA含量。(B)通过粒子凝胶分析确定病毒粒子的总量。(C)提取衣壳化pgRNA并通过印记杂交测定含量。(D)在粒子凝胶分析后与HBV DNA相关的病毒粒子在薄膜上通过病毒粒子的碱处理被定量并与HBV特异性核糖核酸探针杂交。(E)提取HBV DNA复制中间体并通过印迹杂交确定含量。

具体实施方式

[0042] 本发明的前基因组RNA衣壳化抑制剂可以治疗和预防与前基因组RNA衣壳化相关的疾病,比如HBV感染。前基因组(pg)RNA是HBV DNA的反向转录复制的模板,并且pgRNA的衣壳化与病毒DNA聚合酶一起进入到病毒粒子对于后续病毒DNA合成是必不可少的。不受限于理论,前基因组RNA衣壳化的抑制可以改善、减轻或控制于前基因组RNA衣壳化相关的疾病,比如HBV感染。为治疗HBV感染,本发明的前基因组RNA衣壳化抑制剂满足了对新颖且安全的抗病毒药的清晰且未满足的需求,在化学和机械上不同于现在临床上应用的HBV抗病毒药物。

[0043] 临床上,本发明的前基因组(pg)衣壳化的抑制剂为那些不能忍受或不能得益于现有药物疗法的病人提供一种额外的选择以完善现有的药物疗法(阿克巴等,2009;廖,2009;彼得斯,2009;维甘德,范博梅尔和博格)。另外,本发明的前基因组(pg)衣壳化的抑制剂对对现有的有效DNA聚合酶抑制剂有反抗作用的HBV变异体有作用(徐亮和洛克尼尼,2009)。进一步的,本发明的前基因组RAN衣壳化抑制剂和DNA聚合酶抑制剂的联合治疗会协同的抑制HBV复制并阻止抗药性的出现,因此为慢性乙型肝炎提供一种更安全和更有效的治疗方

法(毕游塞等,2011)。

[0044] 贯穿整个说明书,描述了具有、包括或包含特殊成分的组分或描述了具有、包括或包含特殊工序的过程,可以预期本发明的组分也主要含有或含有所描述的成分,并且本发明的过程也主要包含或包含所描述的工序。

[0045] 在本申请中,所述的要素或成分被包含在和/或选自所描述的要素或成分清单中,应该理解为该要素或成分可以是所描述的要素或组分中的任意一个并且可以是选自所描述的要素或成分中的两个或更多个。

[0046] 在此,除非另有特别说明,单数的使用包括复数(反过来亦然)。另外,除非另有特别说明,在一数值前词语“大约”的使用,在本发明中也包括该具体数值本身。

[0047] 应该理解为只要能够保持本发明的操作性,步骤的顺序或执行某些操作的顺序是不重要的。此外,可以同时两个或多个步骤。

[0048] 这里使用的术语“卤素”应指氯、溴、氟和碘。

[0049] 在此,除非另有说明,“烷基”和/或“脂肪族的”不管是单独使用还是作为取代基团的一部分都为具有1到20个碳原子或这个范围内任意数量碳原子,比如1到6个碳原子或1-4个碳原子的直碳链和支碳链。指定的碳原子数(比如, C_{1-6})应该单独参考烷基部分的碳原子数或参考含有烷基的更大的取代基的烷基部分。烷基的非限定性例子包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基等等。烷基可以被随意地取代。取代烷基的非限定性例子包括羟甲基、氯甲基、三氟甲基、氨基、1-氯乙基,2-羟乙基,1,2-二氟甲基,3-羧丙基等等。在具有多个烷基的取代基团中,比如, $(C_{1-6}\text{烷基})_2$ 氨基,烷基可以相同也可以不同。

[0050] 在此,术语“烯基”和“炔基”不管是单独使用还是作为取代基的一部分都为具有2个或更多个碳原子,优选2-20个,的直链碳链或支链碳链,其中,一烯基链中至少有一个双键并且一炔基链中至少有一个三键。烯基和炔基可以被随意取代。烯基的非限定性例子包括乙烯基、1,3-丙烯基、1-丙烯基(也为2-甲基乙烯基)、异丙烯基(也为2-甲基-乙烯-2-基)、丁烯-4-基等等。取代烯基的非限定性例子包括2-氯乙烯基(也为2-氯代乙烯基)、4-羟基丁烯-1-基、7-羟基-7-甲基辛-4-烯-2-基、7-羟基-7-甲基辛-3,5-二烯-2-基等等。炔基的非限定性例子包括乙炔基、2-丙炔基(也为炔丙基),1-丙炔基和2-甲基-己-4-炔-1-基。取代炔基的非限定性例子包括5-羟基-5-甲基己-3-炔基、6-羟基-6-甲基庚-3-炔-2-基、5-羟基-5-乙基庚-3-炔等等。

[0051] 在此,“环烷基”不管是单独使用还是作为其他基团的一部分都为非芳香性的含碳环,包括环烷基、环烯基和环炔基,比如,具有3-14个碳原子的环,优选3-7或3-6个碳原子的环,或甚至3-4个碳原子的环,并且随意地含有一个或多个(比如,1,2或3个)双键或三键。环烷基可以是单环的(比如,环己基)或多环的(比如,稠环系、桥环系和/或螺环系),其中碳原子位于环系的内部或外部。可以在环烷基合适的环位置处以共价键相连接成设定的化学结构。环烷基环可以被随意取代。环烷基的非限定性例子包括:环丙基、2-甲基-环丙基、环丙烯基、环己基、环己烯基、环庚基、环辛基、十氢萘基、2,5-二甲基环戊基、3,5-二氯环己基、4-羟基环己基、3,3,5-三甲基环己-1-基、八氢环戊二烯基、八氢-1H-茛基、3a,,45,6,,7,7a-六氢-3H-茛-4-基、十氢萘基、双环[6.2.0]癸基、十氢化萘基和十二氢-1H-茛基。术语“环烷基”还包括二环烃环的碳环,二环烃环的非限定性例子包括:二环-[2.1.1]己基、

二环[2.2.1]庚基、二环[3.1.1]庚基、1,3-二甲基[2.2.1]庚-2-基、二环[2.2.2]辛烷基和二环[3.3.3]十一烷基。

[0052] 术语“烷氧基”为-O-烷基基团,其中烷基如上述所定义。烷氧基基团可以被随意取代。术语C₃-C₆环烷氧基为包含3-6个碳原子和至少一个氧原子的环(比如,四氢呋喃、四氢-2H-呋喃)。C₃-C₆环烷氧基基团可以被随意取代。

[0053] 术语“芳基”,其中单独使用或作为其他基团的一部分,在此被定义为6碳的不饱和芳香单环或10-14个碳的不饱和芳香多环。比如,芳环可以为被一个或多个可以置换一个或多个氢原子的基团随意取代的苯基或萘基环。芳基的非限定性例子包括:苯基、1-萘基、2-萘基、4-氟苯基、2-羟苯基、3-甲苯基、2-氨基-4-氟苯基、2-(N,N-二乙胺基)苯基、2-苯腈基、2,6-二叔丁基苯基、3-甲氧基苯基、8-羟基萘-2-基、4,5-二甲氧基萘-1-基和6-氰基-萘-1-基。芳基也包括,比如,与一个或多个饱和或部分饱和的碳环稠合的苯环或萘环(比如,二环[4.2.0]庚基-1,3,5-三烯基、茛满基),这些碳环可以在芳香和/或饱和或部分饱和环的一个或多个碳原子上被取代。

[0054] 术语“烃基芳香基”或“芳烷基”为-烷基-芳基基团,这里烷基和芳基如上述所定义。本发明中芳烷基可以被随意取代。芳烷基的例子包括,比如,苄基、1-苯乙基、2-苯乙基、3-苯丙基、2-苯丙基、苄甲基等等。

[0055] 术语“杂环的”和/或“杂环”和/或“杂环基”,不管是单独使用还是作为其他基团的一部分,被定义为具有3-20个原子的单环或多环,其中至少一个环中的至少一个原子为选自氮(N)、氧(O)或硫(S)的杂原子,并且进一步的,其中含有杂原子的环为非芳香族的。在包含两个或多个稠合的杂环基团中,该非杂环可能为芳基(比如,二氢吡啶基、四氢喹啉基、苯并二氢呋喃基)。典型的杂环基团具有3-14环原子,其中1-5个原子为独立的选自氮(N)、氧(O)或硫(S)的杂原子。杂环基团中的一个或多个N原子或S原子可以被氧化。杂环基团可以被随意取代。

[0056] 单环杂环单元的非限定性例子包括:二吡丙啶基、吡丙啶基、尿唑基、氮杂环丁烷基、吡唑烷基、咪唑烷基、噁唑烷基、异噁唑啉基、异噁唑基、噻唑啉基、异噻唑基、异噻唑啉基、噁唑烷酮基、乙内酰脲基、四氢呋喃基、哌啶-2-酮基(戊内酰胺)、2,3,4,5-四氢-1H-氮杂基、2,3-二氢-1H-吡啶和1,2,3,4-四氢喹啉。具有两个或更多个环的杂环单元的非限定性例子包括:六氢-1H-吡咯烷基、3a,4,5,6,7,7a_六氢-1H-苯并[d]咪唑基、3a,4,5,6,7,7a-六氢-1H-吡啶基、1,2,3,4-四氢喹啉基、苯并二氢呋喃基、异苯并二氢呋喃基、二氢吡啶基、异二氢吡啶基和1,2,3,4-四氢喹啉基。

[0057] 术语“杂芳基”,不管是单独使用还是作为其他基团的一部分,在此被定义为具有5-20个原子的一个或多个环,其中至少一个环内的至少一个原子是选自氮(N)、氧(O)或硫(S)的杂原子,并且其中至少一个包含杂原子的环是芳香族环。在包含两个或多个稠合的杂芳基中,该非杂原子环可以是碳环(比如,6,7-二氢-5H-环戊二烯嘧啶)或芳基(比如,苯并呋喃基、苯并噻吩基、吡啶基)。典型的杂芳基具有5-14环原子并且包含1-5个单独的选自氮(N)、氧(O)或硫(S)的杂原子。杂芳基内的一个或多个N或S原子可以被氧化。杂芳基可以被取代。含有单环的杂芳环的非限定性例子包括:1,2,3,4-四唑基、[1,2,3]三唑基、[1,2,4]三唑基、三嗪基、噻唑基、1H-咪唑基、噁唑基、呋喃基、噻吩基、嘧啶基、2-苯基嘧啶基、吡啶基、3-甲基吡啶基和4-二甲基氨基吡啶基。含有两个或多个稠合的杂芳环的非限定性例

子包括：苯并呋喃基、苯并苯硫基、苯并噁唑基、苯并噻唑基、苯并三唑基、噌啉基、萘啶基、菲啶基、7H-嘌呤基、9H-嘌呤基、6-氨基-9H-嘌呤基、5H-吡咯并[3,2-d]嘧啶基、7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶基、吡啶并[2,3-d]嘧啶基、2-苯基苯并[d]噻唑基、1H-吡啶基、4,5,6,7-四氢-1H-吡啶基、喹啉基、5-甲基喹啉基、喹唑啉基、喹啉基、8-羟基-喹啉基和异喹啉基。

[0058] 上述描述的杂芳基的一个非限制性例子是C₁-C₅杂芳基，C₁-C₅杂芳基有1-5个环原子并至少有一个附加的环原子为独立地选自氮(N)、氧(O)或硫(S)的杂原子(优选1到4个附加环原子为杂原子)。C₁-C₅杂芳基的事例包括但不限于：三嗪基、2-噻唑基、4-噻唑基、1-咪唑基、1H-咪唑-2-基、1H-咪唑-4-基、5-异噁唑啉基、2-呋喃基、3-呋喃基、2-噁吩基、4-噁吩基、2-嘧啶基、4-嘧啶基、5-嘧啶基、2-吡啶基、3-吡啶基和4-吡啶基。

[0059] 除非另有说明，当两个取代基共同形成一个具有一具体数量环原子的环时(比如，R²和R³与氮(N)形成一个具有3-7个环原子的环)，该环可以有碳原子和一个或多个(比如，1到3个)随意独立的选自氮(N)、氧(O)或硫(S)的附加杂原子。该环可以是饱和的或部分饱和的并且可以被随意取代。

[0060] 为了达到本发明的目的，包含一个杂原子的稠环单元、螺环单元、二环单元等等都被认为属于含对应杂原子的环的环状家族。比如，下式所示的1,2,3,4-四氢喹啉：



[0062] 为达到本发明的目的，被认为是杂环单元。下式所示的6,7-二氢-5H-环戊嘧啶：



[0064] 为达到本发明的目的，被认为是杂芳单元。当稠环单元在饱和环和芳香环上均有杂原子时，该芳香环将占优势并且决定所述环的种类。比如，下式所示的1,2,3,4-四氢-[1,8]萘啶：



[0066] 为达到本发明的目的，被认为是杂芳单元。

[0067] 无论何时当一个取代基的名称中或是它的前缀词根中出现一个术语，该名称也被认为包括本文中所做的那些限制。比如，无论何时术语“烷基”或“芳基”或出现在一个取代基名称的前缀词根中(比如，烃基芳香烃、烷基氨基)，该名称应该被认为包括上述对“烷基”和“芳基”的限制。

[0068] 术语“取代的”被用于整个说明书。该术语“取代的”在此被定义为有一个或多个被一个或一些(1到10)下述定义的取代基取代的氢原子的烃基，不管是非环还是环。取代基可以同时取代烃基的一个或两个氢原子。另外，这些取代基可以取代两个相邻碳上的两个氢原子从而形成所述取代基、新烃基或单元、比如，需要单个氢原子取代的被取代单元包括卤素、羟基等等。两个氢原子取代包括羰基、肟基等。从相邻碳原子上取代两个氢原子包括环氧等等。该术语“取代的”应用于整个说明书以表示烃基可以有一个或多个可以被取代基取代的氢原子。当某个部分被描述为“取代的”时，任意数目的氢原子均可被取代。比如，二氟

甲基是被取代的C₁烷基；三氟甲基是被取代的C₁烷基；4-羟苯基是被取代的芳环；(N,N-二甲基-5-氨基)辛烷基是被取代的C₈烷基；3-胍基丙基是被取代的C₃烷基和2-羧基吡啶基是被取代的杂芳基。

[0069] 此处所定义的可变基团,比如,此处定义的烷基、烯基、炔基、环烷基、烷氧基、芳氧基、芳基、杂环基和杂芳基,不管是单独时候或是作为其他基团的一部分,都可以被随意取代。随意被取代的基团将被如此表示。

[0070] 为达到本说明的目的,术语“化合物”、“类似物”和“混合物”对于此处描述的前基因组RNA衣壳化抑制剂是形同的,包括所有的对映体形式、非对映体形式、盐等,并且术语“化合物”、“类似物”和“混合物”在整个说明书中可互换使用。

[0071] 此处描述的化合物可以包含一不对称原子(也成为手性中心),并且某些化合物可以包含一个或多个不对称原子或中心,这样可以产生光学异构体(对映体)和非对映体。在此公开的本教导和化合物包括这些对映体和非对映体、外消旋的拆分的、纯R和S对映异构体、R和S立体异构体和它们的药学上可接受的盐的混合物。纯光学异构体可以通过本领域技术人员所知道的标准程序获得,包括但不限于,非对映的盐转化、动力学拆分和不对称合成。本教导也包含含有烯基的化合物的顺式异构体和反式异构体(比如,烯属烃和亚胺)。被教导还应该理解为包含所有可能的区域异构体和它们的混合物,可以通过本领域技术人员知道的标准分离程序获得纯区域异构体,标准分离程序包括但不限于柱色谱法、薄层色谱法和高效液相色谱法。

[0072] 本教导中具有一酸性部分的化合物的药学上可接受的盐,可以使用有机碱或无机碱形成。单阴离子盐和聚阴离子盐的形成取决于可以用于去质子化酸性氢的数目。由碱形成的相配的盐包括金属盐,比如碱金属盐或碱土金属盐,例如钠盐、钾盐或镁盐;铵盐和有机胺盐,比如由吗啉、硫代吗啉、哌啶、吡咯烷、一、二或三低级烷基胺(比如,乙基-叔丁基、二乙基、二异丙基、三乙基、三丁基或二甲基丙胺),或一、二、或三羟基低级烷基胺(比如,一、二或三乙醇胺)。无机盐的具体非限定性实例包括NaHCO₃, Na₂CO₃, KHCO₃, K₂CO₃, Cs₂CO₃, LiOH, NaOH, KOH, NaH₂PO₄, Na₂HPO₄和Na₃PO₄。也可以形成内盐。同样的,当此处公开的化合物包括一碱性部分,可以通过有机酸或无机酸形成盐。比如,可以通过下述酸形成盐,乙酸、丙酸、乳酸、苯磺酸、苯甲酸、樟脑磺酸、柠檬酸、酒石酸、琥珀酸、二氯乙酸、乙基磺酸、甲酸、反丁烯二酸、葡萄糖酸、谷氨酸、马尿酸、氢溴酸、盐酸、羟乙基磺酸、马来酸、苹果酸、丙二酸、扁桃酸、甲基磺酸、黏酸、萘磺酸、硝酸、草酸、双羟萘酸、泛酸、磷酸、邻苯二甲酸、丙酸、琥珀酸、硫酸、酒石酸、甲苯磺酸、樟脑磺酸和其他知道的药学上可接受的酸。

[0073] 此处应用的“治疗”或“治疗处理”或“处理”指部分或完全缓解、抑制、改善和/或减轻病人可能遭受的病状。

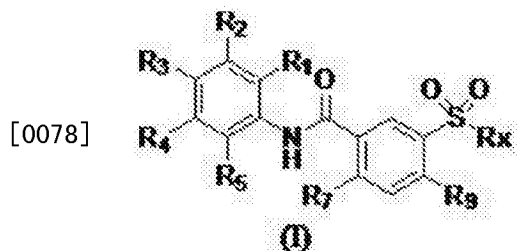
[0074] 此处应用的“良好的疗效”和“有效剂量”指能够到达令人满意的物理活性或效果的物质或剂量。

[0075] 除非另有说明,术语“主体”或“患者”可以交换使用并且指哺乳动物,如人或非人灵长类动物,和实验动物,如兔子、大鼠、小鼠等其他动物。相应的,在此应用的术语“主体”或“患者”指任何哺乳动物患者或主体,用于本发明的化合物的实验。在本发明的一例示性实施例中,根据本发明的方法鉴定主体患者的治疗,采用筛选方法确定主体中目标或疑似疾病或病症的风险因素或确定主体中现有疾病或病症的状态。这些筛选方法包括,比如,用

传统的病情检查确定可能与目标或疑似疾病或病症相关的风险因素。这些和其他常规方法允许临床医生选择需要使用本发明的方法和化合物的治疗的患者。

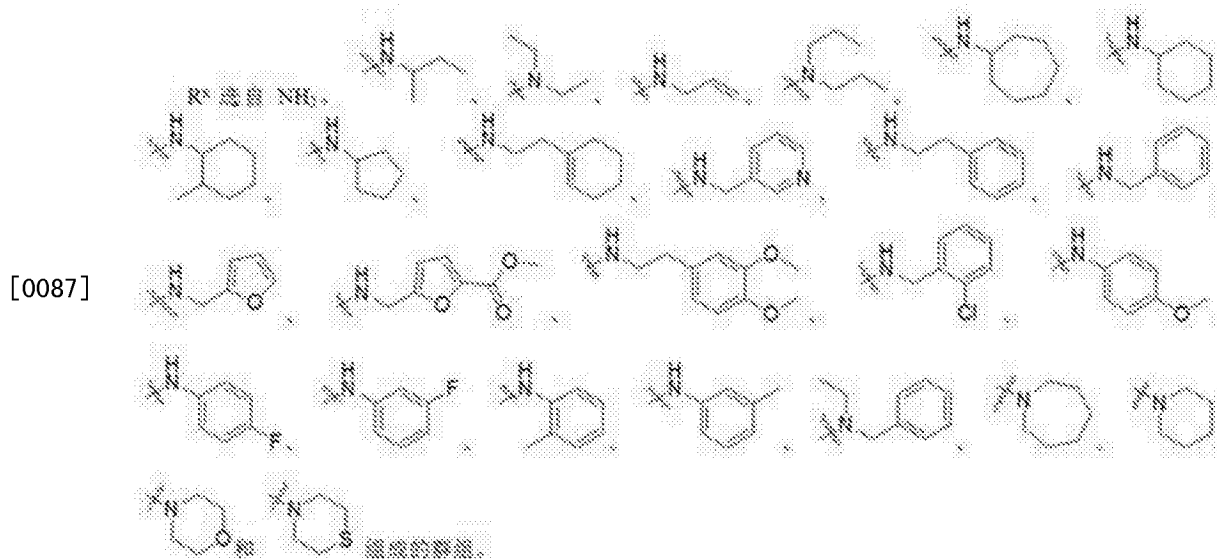
[0076] 前基因组RNA衣壳化抑制剂

[0077] 本发明中用于治疗乙型肝炎病毒感染和相关病症的前基因组RNA衣壳化抑制剂是氨磺酰苯甲酰胺衍生物,且包括所有式(I)的对映体和非对映体形式和它们的药学上可接受的盐:

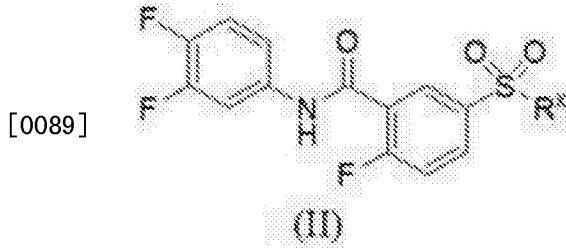


[0079] 包括水合物、溶剂合物、药学上可接受盐、前药和它们的复合物,其中:

- [0080] R¹是氢;
- [0081] R²选自氢、甲基、三氟甲基、氟和氯组成的群组;
- [0082] R³选自氢、甲基、氟和氯组成的群组;
- [0083] R⁴选自氢、氟、氯和甲基组成的群组;
- [0084] R⁵选自氢和氯组成的群组;
- [0085] R⁷选自氢、氯、氟和溴组成的群组;
- [0086] R⁹选自氢、甲基、氟和氯组成的群组;

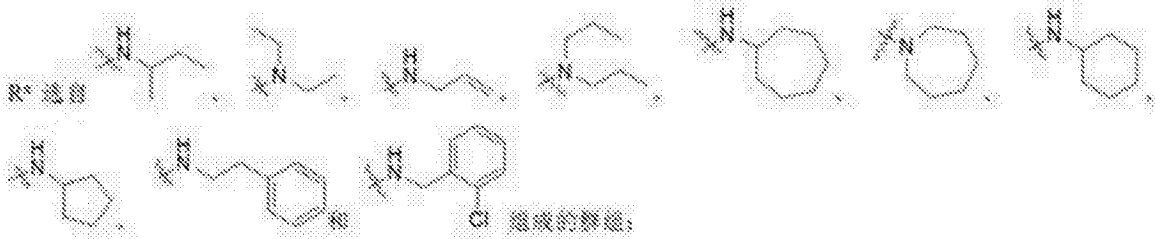


[0088] 本发明进一步针对使用如式(II)所示的氨磺酰苯甲酰胺衍生物的新方法,该式所述化合物作为治疗乙型肝炎病毒(HBV)感染和相关病症的HBV的前基因组RNA衣壳化抑制剂。

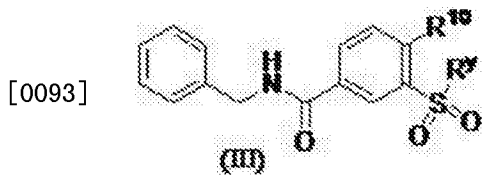


[0090] 包括水合物、溶剂合物、药学上可接受的盐、前药和它们的复合物,其中:

[0091]



[0092] 本发明进一步针对使用如式(III)所示的氨磺酰苯甲酰胺衍生物的新方法,该式所述化合物作为治疗乙型肝炎病毒(HBV)感染和相关病症的HBV的前基因组RNA衣壳化抑制剂。



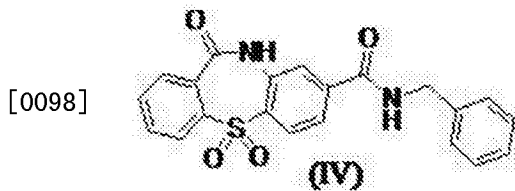
[0094] 包括水合物、溶剂合物、药学上可接受的盐、前药和它们的复合物,其中:

[0095] R¹⁰选自氢、甲基、氯和溴;

[0096]



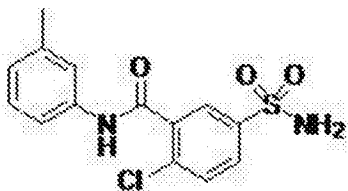
[0097] 本发明进一步针对使用如式(IV)所示的氨磺酰苯甲酰胺衍生物的新方法,该式所述化合物作为治疗乙型肝炎病毒(HBV)感染和相关病症的HBV的前基因组RNA衣壳化抑制剂。



[0099] 包括水合物、溶剂合物、药学上可接受的盐、前药和它们的复合物。

[0100] 为了证明这种方式目的,本发明中的化合物以这种方式被命名或被提及,有下式的化合物:

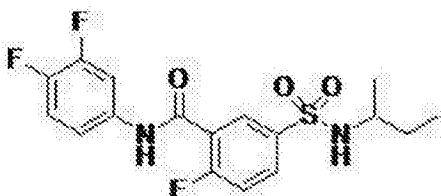
[0101]



[0102] 化学名称为2-氯-5-氨磺酰-N-3-甲基-苯甲酰胺。

[0103] 为了证明这种方式目的,本发明中的化合物以这种方式被命名或被提及,有下式的化合物:

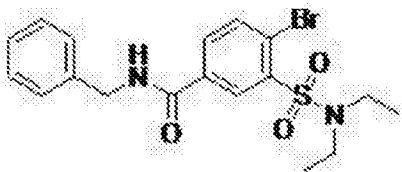
[0104]



[0105] 化学名称为5-(2-丁基氨磺酰)-N-(3,4-二氟苯基)-2-氟-苯甲酰胺。

[0106] 为了证明这种方式目的,本发明中的化合物以这种方式被命名或被提及,有下式的化合物:

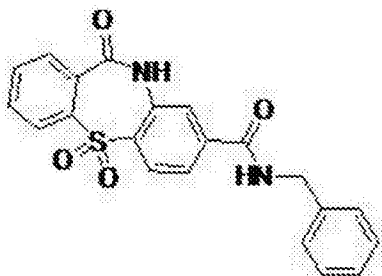
[0107]



[0108] 化学名称为N-苄基-4-溴-3-二乙基氨磺酰-苯甲酰胺。

[0109] 为了证明这种方式目的,本发明中的化合物以这种方式被命名或被提及,有下式的化合物:

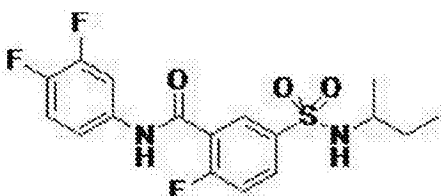
[0110]



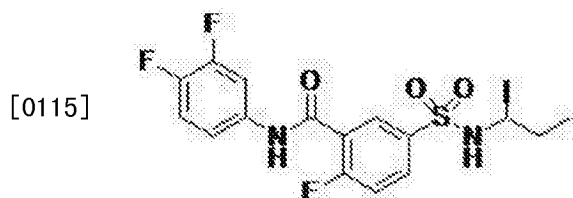
[0111] 化学名称为5,5,11-三氧-10,11-二氢-5H-516-二苯并[b,f][1,4]三吡庚因-8-羧酸苯甲酰胺。

[0112] 为了达到本发明的目的,外消旋分子式所示的化合物,比如:

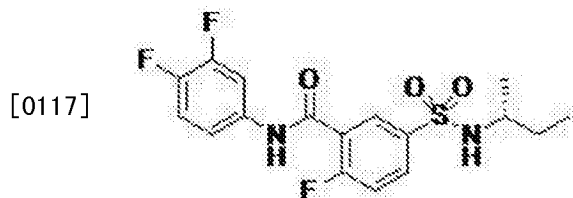
[0113]



[0114] 将同样表示具有下式结构的两个对映异构体的任何一个:



[0116] 或式:



[0118] 或它们的混合物,或在两个手性中心的情况下,表示所有的非对映体。

[0119] 在一些实施例中, R^1 是氢。

[0120] 在一些实施例中, R^2 是氢。

[0121] 在一些实施例中, R^2 是甲基。

[0122] 在一些实施例中, R^2 是三氟甲基。

[0123] 在一些实施例中, R^2 是氟。

[0124] 在一些实施例中, R^2 是氯。

[0125] 在一些实施例中, R^3 是氢。

[0126] 在一些实施例中, R^3 是甲基。

[0127] 在一些实施例中, R^3 是氟。

[0128] 在一些实施例中, R^3 是氯。

[0129] 在一些实施例中, R^4 是氢。

[0130] 在一些实施例中, R^4 是甲基。

[0131] 在一些实施例中, R^4 是氟。

[0132] 在一些实施例中, R^4 是氯。

[0133] 在一些实施例中, R^5 是氢。

[0134] 在一些实施例中, R^5 是氯。

[0135] 在一些实施例中, R^7 是氢。

[0136] 在一些实施例中, R^7 是氯。

[0137] 在一些实施例中, R^7 是氟。

[0138] 在一些实施例中, R^7 是溴。

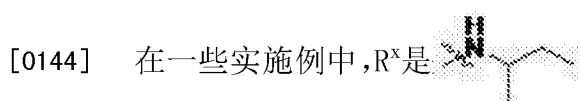
[0139] 在一些实施例中, R^9 是氢。

[0140] 在一些实施例中, R^9 是甲基。

[0141] 在一些实施例中, R^9 是氟。

[0142] 在一些实施例中, R^9 是氯。

[0143] 在一些实施例中, R^x 是 NH_2 。



[0145] 在一些实施例中, R^x 是



[0146] 在一些实施例中, R^x 是



[0147] 在一些实施例中, R^x 是



[0148] 在一些实施例中, R^x 是



[0149] 在一些实施例中, R^x 是



[0150] 在一些实施例中, R^x 是



[0151] 在一些实施例中, R^x 是



[0152] 在一些实施例中, R^x 是



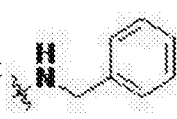
[0153] 在一些实施例中, R^x 是



[0154] 在一些实施例中, R^x 是



[0155] 在一些实施例中, R^x 是



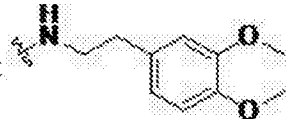
[0156] 在一些实施例中, R^x 是

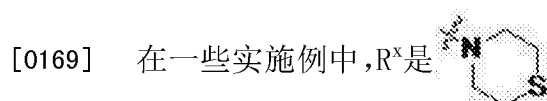
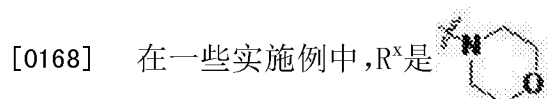
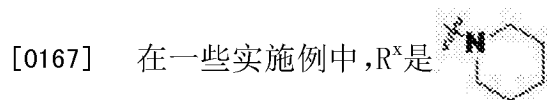
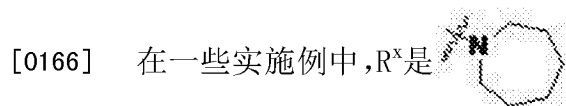
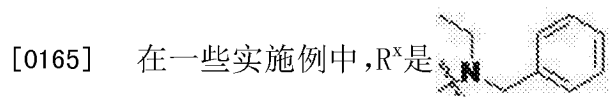
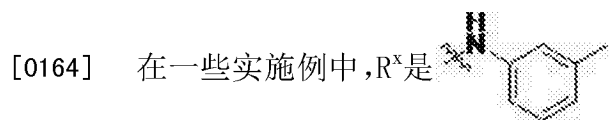
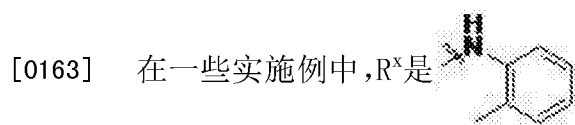
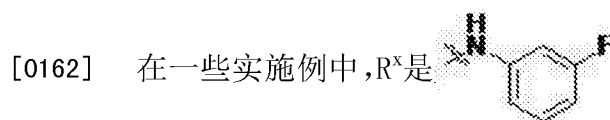
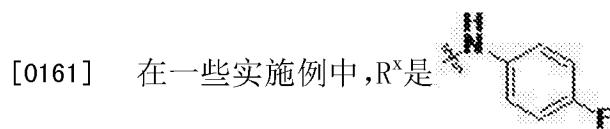
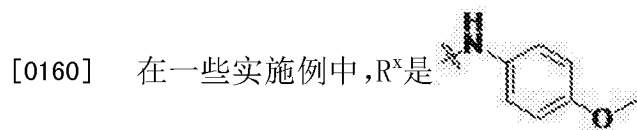
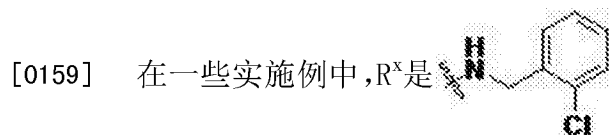


[0157] 在一些实施例中, R^x 是



[0158] 在一些实施例中, R^x 是



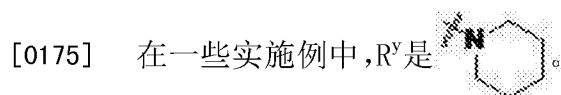
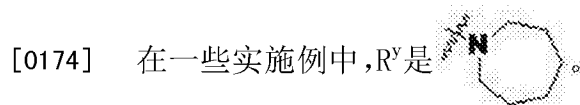



[0170] 在一些实施例中, R^{10} 是氢。

[0171] 在一些实施例中, R^{10} 是甲基。

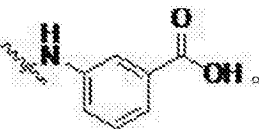
[0172] 在一些实施例中, R^{10} 是氯。


[0173] 在一些实施例中, R^{10} 是溴。



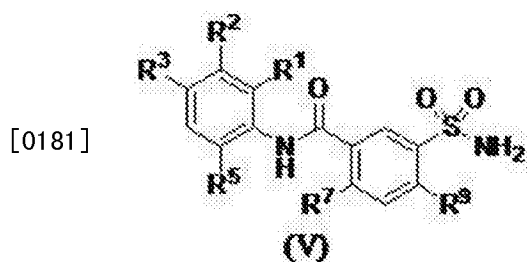
[0176] 在一些实施例中, R^y 是 

[0177] 在一些实施例中, R^y 是 

[0178] 在一些实施例中, R^y 是 

[0179] 在一些实施例中, R^y 是 

[0180] 具有式(V)或它的药学上可接受盐结构的化合物的典型实施例:

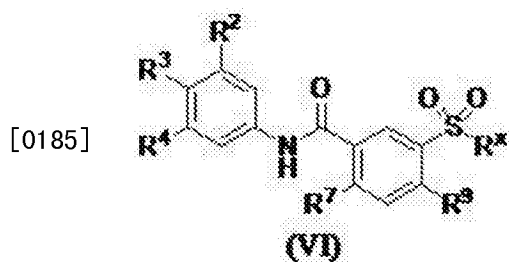


[0182] 其中, R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^5 、 R^7 和 R^9 的非限制性实例如表1所定义。

[0183] 表1: 式(V)化合物的典型实施例:

化合物名称	R_1	R_2	R_3	R_5	R_7	R_9
DVR-16	H	CH ₃	H	H	Cl	H
DVR-19	H	CF ₃	H	H	H	F
DVR-21	H	CF ₃	H	Cl	H	F
DVR-22	H	H	H	H	H	H








[0184] 具有式(VI)或它的药学上可接受盐结构的化合物的典型实施例:



[0186] 其中, R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^7 、 R^9 和 R^* 的非限制性实例如表2所定义。

[0187] 表2: 式(VI)化合物的典型实施例:

[0188]

化合物	R ²	R ³	R ⁴	R ⁷	R ⁸	R ⁹
DVR-23	F	F	H	F	H	
DVR-24	H	H	H	H	H	
DVR-25	F	F	H	F	H	
DVR-26	CH ₃	H	H	Cl	H	
DVR-27	H	Cl	H	H	H	
DVR-34	F	F	H	F	H	
DVR-42	F	F	H	F	H	

[0189]

DVR-43	F	F	H	F	H	
DVR-44	H	CH ₃	H	F	H	
DVR-45	F	F	H	F	H	
DVR-47	H	H	H	Br	H	
DVR-51	H	F	H	H	Cl	
DVR-52	H	H	H	H	CH ₃	
DVR-53	F	F	H	H	F	

[0190]

DVR-55	H	H	H	H	H	
DVR-56	F	F	H	F	H	
DVR-57	H	F	H	F	H	
DVR-61	CH ₃	H	CH ₃	F	H	
DVR-62	CH ₃	H	H	H	F	

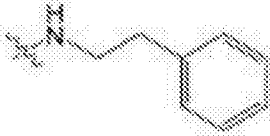


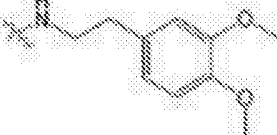

[0191]

DVR-63	Cl	H	Cl	F	H	
DVR-64	H	H	H	H	H	
DVR-65	Cl	F	H	F	H	
DVR-66	F	H	H	F	H	
DVR-68	Cl	H	Cl	F	H	
DVR-69	CH ₃	H	H	H	F	
DVR-70	H	H	H	Cl	H	



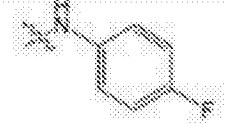
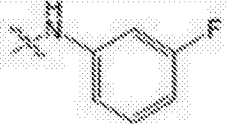

[0192]

DVR-73	Cl	H	H	F	H	
DVR-74	CH ₃	H	CH ₃	F	H	
DVR-75	H	H	H	H	H	
DVR-77	Cl	H	H	H	F	
DVR-82	F	F	H	F	H	

[0193]

DVR-83	Cl	H	H	F	H	
DVR-87	Cl	F	H	F	H	
DVR-89	H	H	H	Cl	H	
DVR-91	H	Cl	H	F	H	
DVR-92	F	F	H	F	H	

[0194]

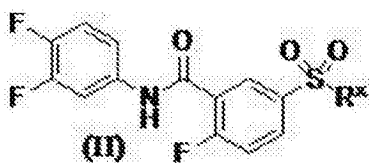
DVR-93	H	Cl	H	H	F	
DVR-94	CH ₃	H	H	F	H	
DVR-96	CH ₃	H	H	F	H	
DVR-98	H	Cl	H	H	H	
DVR-100	H	Cl	H	H	H	

[0195]

DVR-101	H	H	H	H	H	
DVR-102	H	H	H	H	H	
DVR-103	F	F	H	H	F	
DVR-104	F	F	H	F	H	
DVR-107	H	H	H	H	CH ₃	
DVR-108	H	F	H	H	Cl	
DVR-115	F	H	H	H	Cl	
DVR-117	H	H	H	H	Cl	

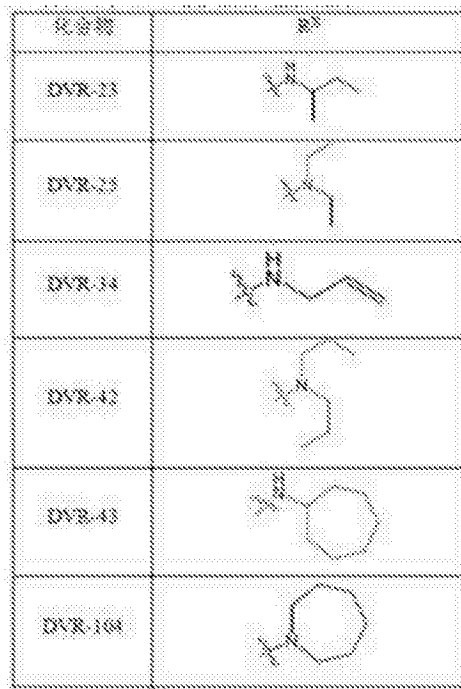
[0196] 具有式(II)或它的药学上可接受盐结构的化合物的典型实施例:

[0197]

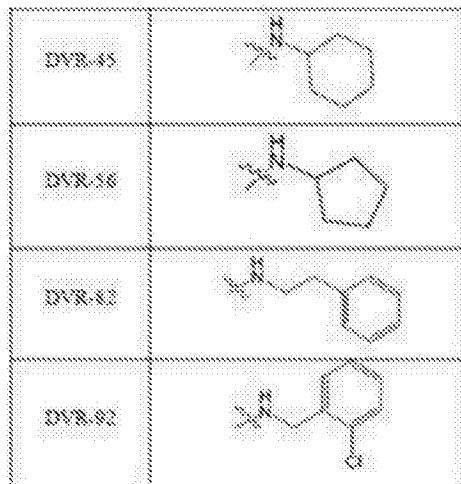
[0198] 其中, R^x的非限制性实例如表3所定义。

[0199] 表3: 式(II)化合物的类型实施例:

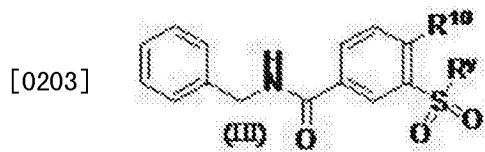
[0200]








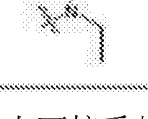
[0201]



[0202] 具有式(III)或它的药学上可接受盐结构的化合物的典型实施例:

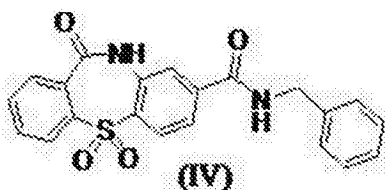
[0204] 其中, R⁹的非限制性实例如表3所定义。

[0205]

化合物	R ¹	R ²
DVR-01	Cl	
DVR-02	Cl	
DVR-08	CH ₃	
DVR-09	CH ₃	
DVR-10	H	
DVR-11	Et	

[0206] 具有式(IV)或它的药学上可接受盐形式的化合物的典型实施例:

[0207]



[0208] 此处所提供的所有实施例中,合适的可选择的取代基的实例并不限制本发明的范围。本发明的化合物可以包含此处提供的任何取代基或取代基的组合。

[0209] 本教导中的化合物可以根据此处描述的程序,从市面上可以买到的起始原料、本领域所知的化合物或容易制备的中间体,通过使用本领域技术人员所知道的标准的合成方法和程序来制备。可以通过相关科学文献或本领域标准教科书来获得有机分子的制备和官能团的转化和处理的标准合成方法和工艺。给出典型的或优选的工艺条件(如,反应温度、时间、反应物的摩尔比、溶剂、压力等等)是最好的,但除非另有说明,其他的工艺条件也是可以使用的。最优的反应条件根据使用的具体反应物或溶剂的不同而不同,但是这些条件都是本领域的技术人员根据常规的优化程序可以确定的。有机合成领域的技术人员将会认识到为了优化此处描述的化合物的结构,所提出的合成步骤的性质和顺序可以是多种多样的。

[0210] 可以根据本领域所知的合适的方法检测此处所描述的工艺。比如,通过光谱学的方法检测产品组成,比如核磁共振光谱法(例如,¹H或¹³C)、红外光谱法、分光光度法(例如,紫外-可见分光光度法),质谱分析法或通过色谱分析法,如,高效液相色谱法(HPLC)、气相色谱分析法(GC)、凝胶渗透层析法(GPC)或薄层色谱法(TLC)。

[0211] 化合物的制备可以涉及多种化学基团的保护和去保护。本领域技术人员可以很容易的确定是否需要保护或是去保护和选择合适的保护基团。保护基团的化学性质被发现,例如Greene等人在有机合成中发现的保护基团,2d.Ed(Wiley&Sons出版,1991),其全部公开的内容均作为本文的参考内容。

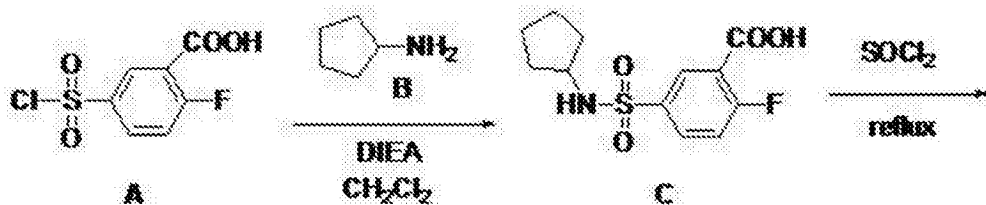
[0212] 此处描述的反应或工艺可以在合适的溶剂中发生,这些对于有机合成领域的技术人员来说是很容易选择的。在发生反应的温度下,典型的合适的溶剂实质上是不与反应物、中间体和/或产物发生反应的,比如,温度范围是溶剂的冰点到溶剂的沸点。所给出的反应可以在一种溶剂或多种混合溶剂下发生。可以根据具体的反应步骤选择合适的溶剂。

[0213] 可以根据有机化学领域所公知的方法来制备本教导中的化合物。制备这些教导中的化合物的试剂可以是市售的或是通过文献中描述的标准工艺制备得到的。

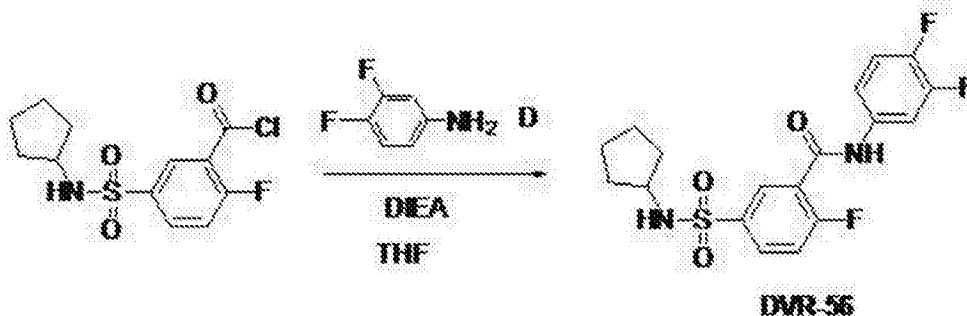
[0214] 实施例

[0215] 下面的实施例中,提供了用于制备式(II)的代表性的化合物的方法。本技术领域的技术人员将了解到如何替换已知的适当的试剂、原始原料和纯化方法来制备本发明中的化合物。

[0216] 实施例1:合成5-环戊基氨磺酰-N-(3,4-二氟-苯基)-2-氟-苯甲酰胺(DVR-56):

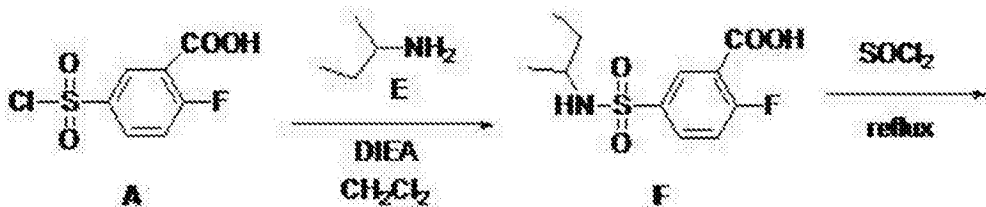


[0217]

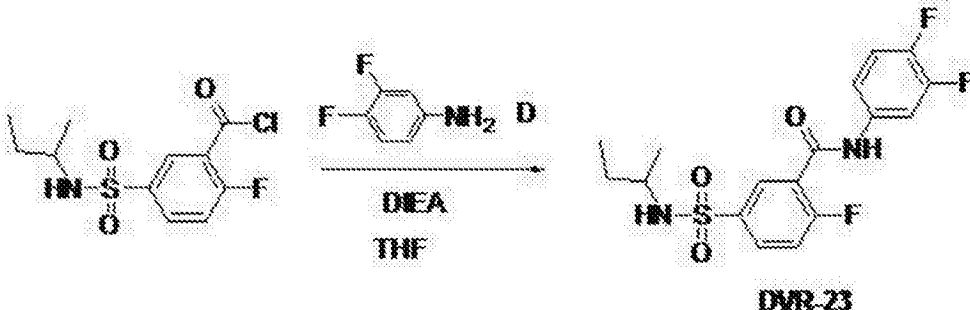


[0218] 在 CH_2Cl_2 中加入5-氯磺酰-2-氟-苯甲酸(A, 0.506g, 0.0021mol), 环戊胺(B, 0.1806g, 0.00212mol)和二异丙基乙胺(DIEA, 1.1mL, 0.00636mol), 室温下搅拌过夜。蒸发除去溶剂,通过硅胶层析(含有10%AcOH的 $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$)提纯粗产品,得到5-环戊基氨磺酰-2-氟-苯甲酸(C, 0.55g, 90%)。真空下干燥过夜, 80°C 下加热 SOCl_2 (5mL)中的C(0.48g, 0.0016mol)3小时,然后蒸发除去 SOCl_2 并将残余物干燥过夜。然后将残余物溶解于四氢呋喃(5mL),然后在加入二异丙基乙胺(0.5mL)后加入3,4-二氟-苯胺(D, 0.216g, 0.00167mol)。混合物被加热至 70°C 过夜。用乙酸乙酯萃取后蒸发除去溶剂。硅胶层析法(乙酸乙酯/己烷)提纯后,获得5-环戊基氨磺酰-N-(3,4-二氟-苯基)-2-氟-苯甲酰胺(DVR-56) 0.3g(45%)。

[0219] 实施例2:合成5-仲丁基氨磺酰-N-(3,4-二氟-苯基)-2-氟-苯甲酰胺(DVR-23)

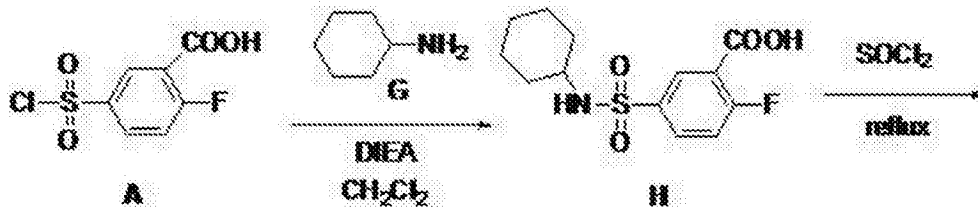


[0220]

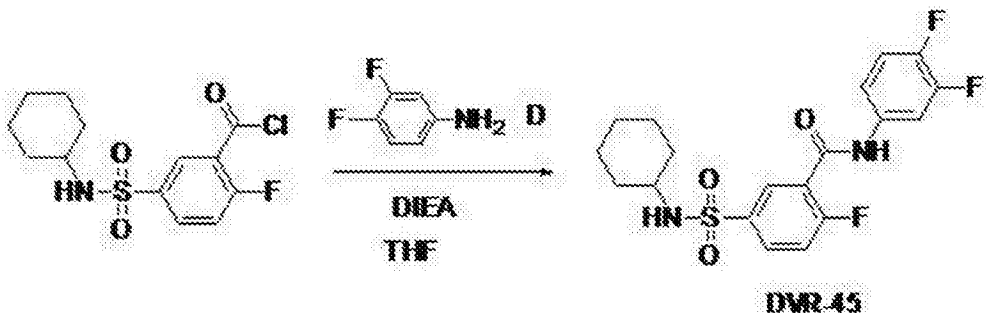


[0221] 在 CH_2Cl_2 中加入5-氯磺酰-2-氟-苯甲酸(A, 0.506g, 0.0021mol), 仲丁胺(E, 0.155g, 0.00212mol)和DIEA(1.1mL, 0.00636mol), 室温下搅拌过夜。蒸发除去溶剂, 通过硅胶层析法(含有10%AcOH的MeOH/ CH_2Cl_2)提纯粗产品, 得到5-叔丁基氨磺酰-2-氟-苯甲酸(F, 0.56g, 96%)。真空下干燥过夜, 80°C 下加热 SOCl_2 (5mL)中的F(0.56g, 0.0020mol)3小时, 然后蒸发除去 SOCl_2 并将残余物干燥过夜。然后将残余物溶解于四氢呋喃(5mL), 然后在加入DIEA(0.8mL)后加入3,4-二氟-苯胺(D, 0.26g, 0.0020mol)。混合物被加热至 70°C 过夜。用乙酸乙酯萃取后蒸发除去溶剂。硅胶层析法(乙酸乙酯/己烷)提纯后, 获得5-仲丁基氨磺酰-N-(3,4-二氟-苯基)-2-氟-苯甲酰胺(DVR-23)0.45g(57%)。

[0222] 实施例3: 合成5-环己基氨磺酰-N-(3,4-二氟-苯基)-2-氟-苯甲酰胺(DVR-45)



[0223]



[0224] 在 CH_2Cl_2 中加入5-氯磺酰-2-氟-苯甲酸(A, 0.508g, 0.0021mol), 环己胺(G, 0.211g, 0.00212mol)和DIEA(1.1mL, 0.00636mol), 室温下搅拌过夜。蒸发除去溶剂, 通过硅胶层析法(含有10%AcOH的MeOH/ CH_2Cl_2)提纯粗产品, 得到5-环己基氨磺酰-2-氟-苯甲酸(H, 0.6g, 95%)。真空下干燥过夜, 80°C 下加热 SOCl_2 (5mL)中的H(0.22g, 0.737mmol)2小时, 然后蒸发除去 SOCl_2 并将残余物干燥过夜。然后将残余物溶解于四氢呋喃(5mL), 然后在加入DIEA(0.8mL)后加入3,4-二氟-苯胺(D, 95mg, 0.737mmol)。混合物被加热至 70°C 过夜。用

乙酸乙酯萃取后蒸发除去溶剂。硅胶层析法(乙酸乙酯/己烷)提纯后,获得5-环己基氨磺酰-N-(3,4-二氟-苯基)-2-氟-苯甲酰胺(DVR-45)0.192g(63%)。

[0225] 配方

[0226] 本发明也涉及组合物或包含依据本发明的前基因组RNA衣壳化抑制剂的配方。通常,本发明的组合物包含有效量的一个或多个对治疗乙型肝炎感染或相关病症治疗有效的氨磺酰苯甲酰胺衍生物及其盐;以及一种或多种赋形剂。

[0227] 为达到本发明的目的,术语“赋形剂”和“载体”在整个说明书中可以交互使用,并且在此定义所述术语,“在形成一种安全且有效的药物组合物过程中使用的成分。”

[0228] 配方设计师将会理解赋形剂主要用于递送一种安全、稳定和功能化的药物,不仅仅是作为有输送作用的整个载体的一部分,而且是作为使有效成分的吸收者得到有效的吸收的手段。赋形剂可能简单且直接的起到惰性填料的作用,或此处应用的赋形剂可能是pH稳定系统的一部分或包覆住材料以保证能够安全的递送到胃部。配方设计师也可以利用本发明中已经提高了细胞潜能、药代动力学性质和提高了口服生物利用度的化合物。

[0229] 本教导也提供了包含至少一个在此描述的化合物和一个或多个医药上可接受载体、赋形剂或填充剂的药物组合物。这些载体的实例被本领域技术人员所熟知且可以通过可接受的制药过程制备,比如,Remington的药物科学,第17版,编辑Alfonso R. Gennaro, Mack出版社, Easton, PA(1985),为了各种目的,公开的全部内容以引用的方式纳入到本说明书中。这里所使用的“药学上可接受的”指从毒物学角度来看,可以用于制药应用且不与活性成分有不利的相互影响的物质。相应的,药学上可接受的载体是指在配方中与其他在成分相一致且生物学上可接受物质。另外,活性成分也可以是药学组合物的一部分。

[0230] 本教导中的化合物可以以单独使用或与传统药物载体结合使用的方式通过口服或肠道外给药。合适的固体载体可以包括一种或多种可以作为调味剂、润滑剂、增溶剂、悬浮剂、填充剂、助流剂、压缩助剂、粘结剂、或片剂崩解剂的物质或封装材料。这些化合物可以用传统的方式制备,比如,用与制备已知的抗病毒制剂相似的方法。包含此处公开的化合物的口服剂型可以包括任何常规使用的口服形式,包括,片剂、胶囊、经颊形式、含片、锭剂和口服液、悬浮液或溶液。在冲剂中,载体可以是细粉状的固体,其为与细粉状活性化合物的混合物。在片剂中,此处公开的化合物可以与具有必要的压缩特性的载体以合适的比例相混合且可以被压缩成期望的形状和大小。冲剂和片剂可以包含高达99%的化合物。

[0231] 胶囊可以包含此处公开的一种或多种化合物的混合物和惰性填料和/或稀释剂比如药学上可接受的淀粉(比如,玉米、土豆或木薯粉)、糖、人造食品甜味剂、纤维素粉(比如,结晶纤维素和微晶纤维素)、面粉、凝胶、树胶等等。

[0232] 有用的片剂可以通过传统的压缩、湿法颗粒或干法制粒等方法制备且可以利用药学上可接受的稀释剂、结合剂、润滑剂、崩解剂、表面改性剂(包括表面活性剂)、悬浮剂或稳定剂,包括但不限于,硬脂酸镁、硬脂酸、十二醇硫酸钠、滑石粉、糖、乳糖、糊精、淀粉、凝胶、纤维素、甲基纤维素、微晶纤维素、纤维素钠、羧甲基纤维素钙、聚维酮、海藻酸、阿拉伯树胶、黄原胶、柠檬酸钠、复合硅酸盐、碳酸钙、甘氨酸、蔗糖、山梨醇、磷酸氢钙、硫酸硅、乳糖、高岭土、甘露醇、氯化钠、低熔点蜡和离子交换树脂。表面改性剂包括非离子表面改性剂和离子表面改性剂。表面改性剂的典型实例包括但不限于,泊洛沙姆188、氯化苯甲烃铵、硬脂酸钙、十八十六醇、聚西托醇乳化腊、脱水山梨糖醇酯、胶状二氧化硅、磷酸盐、十二烷

基硫酸钠、硅酸镁铝和三乙醇胺。本文的口服配方可利用标准延迟配方或延时释放配方来改变活性化合物的吸收。口服配方还可包含于水或果汁中的如本文中所述的化合物,需要时含有适当的增溶剂或乳化剂。

[0233] 在制备溶液、悬浮液、乳液、糖浆、酏剂和用于吸入传递时可使用液体载剂。可将本文中所述的化合物溶解或悬浮于医药学上可接受的液体载剂中,诸如水、有机溶剂或两者的混合物或医药学上可接受的油或脂肪。液体载剂可含有其它合适的医药添加剂,诸如增溶剂、乳化剂、缓冲剂、防腐剂、甜味剂、调味剂、悬浮剂、增稠剂、着色剂、粘度调节剂、稳定剂和渗透压调节剂。用于经口和肠外投与的液体载剂的实例包括但不限于水(尤其含有以上所述的添加剂,例如纤维素衍生物,诸如羧甲基纤维素钠溶液)、醇(包括一元醇和多元醇,例如乙二醇)和其衍生物以及油(例如分馏椰子油和花生油)。就肠外投与来说,载剂可为油性酯,诸如油酸乙酯和肉豆蔻酸异丙酯。在用于肠外投与的无菌液体形式的组合物中使用无菌液体载剂。用于加压组合物的液体载剂可为卤化烃或其它医药学上可接受的推进剂。

[0234] 作为无菌溶液或悬浮液的液体医药组合物可通过(例如)肌肉内、腹膜内或皮下注射使用。无菌溶液也可经静脉内投与。用于经口投与的组合物可为液体形式或固体形式。

[0235] 医药组合物优选为单位剂型,例如呈片剂、胶囊、散剂、溶液、悬浮液、乳液、颗粒剂或栓剂形式。在所述形式中,医药组合物可再分为含有适当量的活性化合物的单位剂量。单位剂型可为包装组合物,例如含有液体的小包装散剂、小瓶、安瓿、预填充注射器或药囊。或者,单位剂型本身可为胶囊或片剂,或其可为适当数目的呈包装形式的任何所述组合物。所述单位剂型可含有约1mg/kg活性化合物至约500mg/kg活性化合物,且可以单次剂量或两次或两次以上剂量给予。所述剂量可以任何适用于将活性化合物引入到接受者的血流中的方式投与,包括经口、经由植入物、肠外(包括静脉内、腹膜内和皮下注射)、经直肠、经阴道和经皮。

[0236] 当针对治疗或抑制特定疾病状态或病症而投与时,应了解有效剂量可视许多因素而变化,诸如所利用的特定化合物、投药模式和所治疗的病状的严重程度以及与所治疗的个体有关的多种身体因素。在治疗应用中,可向已受困于疾病的患者提供本发明的化合物,其量足以治愈或至少部分改善疾病和其并发症的症状。治疗特定个体欲使用的剂量通常必须由主治医师主观确定。所涉及的变量包括特定病状和其状态以及患者的体型、年龄和反应模式。

[0237] 在一些状况下,可能希望使用装置直接向患者的气管投与化合物,所述装置诸如但不限于,定剂量吸入器、呼吸操作吸入器、多剂量干粉吸入器、泵、挤压致动雾化喷雾剂分配器、气雾剂分配器和气雾剂喷雾器。就通过鼻内或支气管内吸入投药来说,本发明的化合物可调配为液体组合物、固体组合物或气雾剂组合物。液体组合物可包括(以说明方式)一种或一种以上溶解、部分溶解或悬浮于一种或一种以上医药学上可接受的溶剂中的本发明化合物,且可通过(例如)泵或挤压致动雾化喷雾剂分配器投与。溶剂可为(例如)生理食盐水或抑菌水。固体组合物可为(以说明方式)粉末制剂,其包括一种或一种以上与乳糖或其它惰性粉末混合的本发明化合物,所述粉末制剂可为支气管内使用所接受且可通过(例如)气雾剂分配器或破坏或刺破包裹固体组合物的胶囊且传递固体组合物以便吸入的装置投与。气雾剂组合物可包括(以说明方式)一种或一种以上本发明的化合物、推进剂、表

面活性剂和共溶剂,且其可通过(例如)计量装置投与。推进剂可为氯氟碳化合物(chlorofluorocarbon,CFC)、氢氟烧烃(hydrofluoroalkane,HFA)或生理学和环境中可接受的其它推进剂。

[0238] 本文中所述的化合物可肠外或腹膜内施与。这些活性化合物或其医药学上可接受的盐、水合物或酯的溶液或悬浮液可通过在水中适当地与诸如羟基丙基纤维素的表面活性剂混合来制备。也可在甘油、液体聚乙二醇和其在油中的混合物中制备分散液。在普通储藏和使用条件下,这些制剂通常含有防腐剂以抑制微生物生长。

[0239] 适于注射的医药形式可包括无菌水性溶液或分散液和用于临时制备无菌注射液或分散液的无菌散剂。在优选实施例中,所述形式为无菌形式且其粘度允许其流经注射器。所述形式在制造和储藏条件下优选是稳定的,且可针对诸如细菌和真菌的微生物的污染作用进行防腐。载剂可为含有(例如)水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇和液体聚乙二醇)、其合适混合物和植物油的溶剂或分散介质。

[0240] 本文中所述的化合物可经皮投与,即穿过身体表面和身体通道的内层(包括上皮组织和粘膜组织)施与。所述投药可使用本发明的化合物(包括其医药学上可接受的盐、水合物和酯)以洗剂、乳膏、泡沫、贴片、悬浮液、溶液和栓剂(直肠和阴道)形式进行。

[0241] 经皮施药可通过使用含有活性化合物和载剂的经皮贴片实现,所述载剂对活性化合物可呈惰性、对皮肤可无毒且可使活性化合物经由皮肤传递到血流中以便全身性吸收。载剂可采用多种形式,诸如乳膏和软膏、糊剂、凝胶剂和封堵装置。乳膏和软膏可为粘性液体或水包油型或油包水型半固体乳液。包含分散于石油或亲水性石油中且含有活性化合物的吸收性粉末的糊剂也可能是合适的。多种封堵装置可用于将活性化合物释放到血流中,诸如覆盖含有活性化合物且含有或不含载剂的储集器或含有活性化合物的基质的半透膜。其它封堵装置已在文献中知晓。

[0242] 本文中所述的化合物可以常规栓剂形式经直肠或阴道投与。栓剂配方可由包括可可脂、添加或不添加改变栓剂熔点的蜡和甘油的传统物质制备。也可使用水溶性栓剂基质,诸如各种分子量的聚乙二醇。

[0243] 脂质配方或纳米胶囊可用于活体外或活体内将本发明的化合物引入宿主细胞中。脂质配方和纳米胶囊可通过所属领域中已知的方法制备。

[0244] 为增加本发明的化合物的效力,可能希望使化合物与可有效治疗目标疾病的其它药剂组合。对于炎症性疾病,可与本发明的活性化合物一起投与可有效治疗炎症性疾病且尤其可有效治疗哮喘和关节炎的其它活性化合物(即,其它活性成分或药剂)。所述其它药剂可与本文中所揭示的化合物同时或不同时投与。

[0245] 本发明中的化合物可以用于治疗或抑制哺乳动物的病理状态或失调,如,受试人。本发明通过向哺乳动物提供本发明中的化合物而相应的提供了治疗或抑制病理状态或失调的方法,该化合物包括它的药学上可接受盐或药物组合物,该药物组合物包括与药学上可接受载剂相结合的一种或多种本发明的化合物。为治疗或抑制病理状态或失调,本发明化合物可以单独使用也可以与其他治疗上有效的化合物或治疗方法一起使用。

[0246] 根据本发明,化合物的非限制性实例包括大约0.001mg到大约1000mg的一种或多种本发明中前基因组RNA衣壳化抑制剂和一种或多种赋形剂;大约0.01mg到大约100mg的一种或多种本发明中前基因组RNA衣壳化抑制剂和一种或多种赋形剂;大约0.1mg到大约10mg

的一种或多种本发明中前基因组RNA衣壳化抑制剂和一种或多种赋形剂。

[0247] 工艺

[0248] 可以根据下述工艺评估和选择作为HBV的前基因组RNA衣壳化抑制剂的化合物。

[0249] 本发明中HBV复制抑制剂可以治疗或预防与HBV感染相关的疾病。表5到表9中的结果表明本发明中化合物抑制了永生化小鼠肝细胞(AML12)派生稳定细胞系(AML12HBV10)内的HBV复制,通过使用标准MTT比色法(普洛麦格)可以观测到,在可测量细胞毒性没有达到50 μ M的四环素诱导的方式下AML12HBV10支持HBV的大量复制。

[0250] 如表5、6、7、8和9所示,本发明中化合物的抗病毒功效在AML12HBV10细胞中被确定。AML12HBV10是一永生化小鼠肝细胞(AML12)派生稳定细胞系,它在四环素诱导的方式下支持HBV的大量复制(Xu等)。该细胞被以 2×10^4 个/孔的密度接种在96孔板内,并在缺少四环素的情况下用含有10%牛胎儿血清的DMEM/F12中培养以使pgRNA转录和HBV DNA复制。接种一天后,细胞不进行处理或用测试化合物的范围为50 μ M到0.39 μ M的连续稀释液处理48小时。然后再每个孔中加入包含10mM Tris-HCl(pH 7.6),1mM EDTA,100mM NaCl和1%NP-40的裂解缓冲液100 μ l将细胞溶解并在37 $^{\circ}$ C下培养30分钟。将每个孔中的细胞溶解产物的一半的量((50 μ l)与等量的包含0.5N NaOH和0.5M NaCl的变性液混合。保温5分钟后,在每个孔中加入100 μ l的中和液(1M Tris-HCl, pH 7.4, 1.5M NaCl)。用96孔圆点印迹歧管(Biorad)将变性的细胞溶解产物(共200 μ l)应用于尼龙膜上。细胞溶解产物内的HBV DNA通过用针对HBV负链DNA的 α - 32 P-UTP-标记探针进行斑点杂交来确定。本发明中化合物的抗病毒功效被表示为降低HBV DNA总量50%的浓度(EC₅₀)。

[0251] 测定AML12HBV10细胞中本发明化合物的细胞毒性:为确定化合物的细胞毒性,将AML12HBV10细胞以 2×10^4 个/孔的密度接种在96孔板内,并在缺少四环素的情况下用含有10%牛胎儿血清的DMEM/F12中培养以使pgRNA转录和HBV DNA复制。接种一天后,细胞不进行处理或用测试化合物的范围为50 μ M到0.39 μ M的连续稀释液处理48小时。通过MTT比色法测量细胞活性,该工艺由制造商(Promega)提供。化合物的细胞毒性被表示为减少细胞活性50%的化合物浓度(CC₅₀)。

[0252] 确定本发明中化合物的抗病毒活性,如图1、图2和表10所示,在人肝癌衍生细胞系中:为进一步巩固本发明中抵抗人肝癌衍生细胞中的HBV的化合物的抗病毒活性,HepDES19细胞,一种在四环素诱导方式下支持HBV复制的人肝癌细胞系(Guo等,2007)被以 5×10^5 个/孔的密度接种在12孔板内,并用含有10%牛胎儿血清和1 μ g/ml四环素的DMEM/F12中培养。接种两天后,在缺少四环素的情况下,细胞被模拟处理或用测试化合物的范围为0 μ M to 0.018 μ M的连续稀释液处理6天。处理完成后,然后在12孔板的每个孔中加入包含10mM Tris-HCl(pH 8.0),1mM EDTA,1%NP-40和2%的蔗糖的裂解缓冲液0.5ml,并在37 $^{\circ}$ C下培养10分钟。通过离心分离将细胞碎片和细胞核除去并将上层清液与130 μ l的35%的聚乙二醇(PEG)8000混合,该与乙二醇8000含有1.5M NaCl。在冰中培育1小时后,滤过性毒菌的病毒粒子在6,000X g,4 $^{\circ}$ C条件下离心5min成丸,紧接着在37 $^{\circ}$ C下,在含有0.5mg/ml链酶蛋白酶(抗体),0.5%SDS,150mM NaCl,25mM Tris-HCl(pH 8.0)and 10mM EDTA的400 μ l消化缓冲液中进行1小时的消化。消化混合液用苯酚萃取两次,DNA用乙醇沉淀,溶解在在TE缓冲液(10mM Tris-HCl, pH 8.0;0.1mM EDTA)中。每个孔中的一半的DNA样本被电泳分解在1.5%的琼脂凝胶中。然后该凝胶在含有0.5M NaOH和1.5M NaCl的溶液中改性,接着在含有1M

Tris-HCl(pH7.4)和1.5MNaCl的缓冲液中中和。然后DNA在被涂在20X SSC缓冲液中的尼龙膜-XL膜(GE医疗保健)上。与HBV DNA相关的胞浆HBV核心的数量由印迹杂交和被表示为降低HBV DNA数量50%(EC₅₀)或90%(EC₉₀)的浓度的化合物的抗病毒功效决定。

[0253] 确定本公开中在人肝癌衍生细胞系中化合物的细胞毒性,将HepDES19细胞以 6×10^4 个/孔的密度接种在96孔板内,并在缺少四环素的情况下用含有10%牛胎儿血清的DMEM/F12中培养。接种一天后,细胞不进行处理或用测试化合物的范围为50 μ M到0.39 μ M的连续稀释液处理6天。通过MTT比色法测量细胞活性,该工艺由制造商(Promega)提供。化合物的细胞毒性被表示为减少细胞活性50%的化合物浓度(CC₅₀)。

[0254] 本公开中HepDES19细胞中的选择性化合物的抗病毒活性如图1所示。DVR23和两个已知抗-HBV化合物(拉米夫定和Bay-41-4109)的抗病毒功效的平行对照如图2所示。本公开中AML12HBV10和HepDES19细胞中的典型化合物的抗病毒功效和细胞毒性的总结如表10所示。这些结果清楚的表明本公开的化合物不仅在鼠科肝细胞衍生细胞系(AML12HBV10)中选择性的抑制HBV复制,在人肝细胞衍生细胞系(HepDES19)中也选择性的抑制HBV复制。该结果也表明了DVR-24与拉米夫定和Bay 41-4109在抑制HBV DNA复制方面有相似的效果。

[0255] 获取本发明中化合物抗HBV的机理。在12孔板中培育的AML12HBV10细胞在不存在四环素的条件下用一系列浓度的DVR-1,DVR-56或DVR-23处理两天(郭等,2007)。同正控制一样,该细胞也用Bay41-4109(5 μ M)、AT-61(25 μ M)或已知的与HBV核心蛋白二聚体捆绑的HBV病毒粒子组装蛋白处理,以误导相互作用和预防衣壳形成(Bay41-4109)(Deres等,2003;Stray and Zlotnick,2006),或与核心组装中间体相互作用及空衣壳(AT-61)的形成(Feld等,2007;Katen等;King等,1998)。用下述的方法分析细胞内的滤过性毒菌的mRNA、衣壳化pgRNA、衣壳和与HBV DNA相关的病毒粒子的数量。

[0256] 分析HBV mRNA的步骤:处理完成后,用TRIzol试剂(Invitrogen)萃取全部的细胞RNA。取5微克的RNA溶解在包含2.2M甲醛的1.5%琼脂凝胶中并传输到20X SSC缓冲液中的尼龙膜-XL膜上。用针对HBV基因正链的 α -³²P-UTP标记探针通过印迹杂交确定HBV mRNA数量。

[0257] 衣壳化pgRNA的测定:通过在12孔板的每个孔中加入600 μ l的裂解缓冲液(50mM Tris-HCl[pH 7.5],1mM EDTA,150mM NaCl,1%NP-40)溶解AML12HBV10细胞。在5,000g条件下离心分离10分钟除去细胞核。样本的一半与6U的微球菌核酸酶(Pharmacia)和15 μ l的100mM CaCl₂混合并在37 $^{\circ}$ C下培养15分钟以消化游离核酸。用6 μ l的0.5M EDTA停止该反应,且通过向反应中加入含有125 μ l 35%的聚乙二醇8000的1.75M NaCl来沉淀衣壳,在冰中培养30分钟,接下来在4 $^{\circ}$ C,6,000g条件下离心分离10分钟。微丸重新悬浮在50 μ l的TNE缓冲液(10mM Tris-HCl[pH 8],100mM NaCl,1mM EDTA)中。通过加入1ml的Trizol试剂萃取pgRNA。衣壳化pgRNA用2.2M甲醛-1%琼脂糖浆凝胶电泳,转移到尼龙膜并通过紫外交联(Stratagene)固定。用针对HBV基因正链的 α -³²P-UTP标记探针杂交。

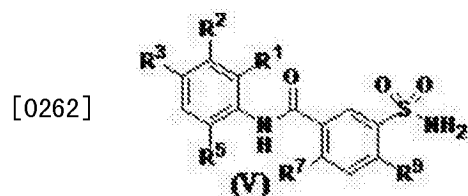
[0258] 病毒衣壳和与DNA相关的病毒粒子的分析步骤:通过在12孔板的每个孔中加入300 μ l包括10mM Tris-HCl(pH7.6),100mM NaCl,1mM EDTA和0.1%NP-40的缓冲液来溶解HepDES19细胞。在5000g条件下离心分离10分钟以除去细胞碎片。通过非变性1%琼脂凝胶用电泳法分离10微升的澄清细胞溶解溶液并通过TNE缓冲液(10mM Tris-HCl,pH7.6;150mM NaCl和1mM EDTA)印迹法转移到消化纤维素滤器。通过用HBV核心蛋白(DAKO)抗体探测薄膜

的方法测定HBV衣壳。联胞抗体通过IRDye二级抗体显露且通过Li-COR Odyssey系统直观的显示。为探测与HBV DNA相关的衣壳,将薄膜用含有0.5N NaOH和1.5M NaCl的缓冲液处理5分钟并接下来用含有1M TRIS-HCl和1.5M NaCl的缓冲液中和5分钟。通过用标记全长HBV负链的 α - 32 P-UTP(800Ci/mmol, Perkin Elmer)探针的杂交来检测病毒DNA(Xu等)。

[0259] HBV DNA复制中间物的分析,通过在12孔板的每个孔中加入0.5ml包括10mM Tris-HCl(pH8.0),1mM EDTA,1%NP40和2%蔗糖的裂解缓冲液来溶解细胞,并在37°C下培养10分钟。通过离心分离除去细胞碎片和细胞核且上层清液与130 μ l的含有1.5M NaCl的35%的聚乙二醇(PEG)8000相混合。在冰中培养1小时,通过在4°C,6,000Xg条件下离心分离5分钟,使病毒细胞粒子成丸,接下来在37°C条件下,在含有0.5mg/ml链酶蛋白酶(抗体),0.5% SDS,150mM NaCl,25mM Tris-HCl(pH 8.0)和10mM EDTA的400 μ l的消化缓冲液中消化1小时。该消化混合液在苯酚中萃取两次,DNA用乙醇沉淀且在TE缓冲液(10mM Tris-HCl,pH 8.0; 0.1mM EDTA)中溶解。每个孔中的一半的DNA样本被电泳分解在1.5%的琼脂凝胶中。然后该凝胶在含有0.5M NaOH和1.5M NaCl的溶液中改性,接着在含有1M Tris-HCl(pH7.4)和1.5M NaCl的缓冲液中中和。然后DNA在被涂在20X SSC缓冲液中的尼龙膜-XL膜(GE医疗保健)上。用针对HBV基因组负链的 α - 32 P-UTP标记探针探测HBV DNA复制中间物。

[0260] 如图3所示,DVR-1、DVR-56和DVR-23都不影响滤过性毒菌的mRNA(板A),但是剂量依赖性地减少衣壳化pgRNA(板C)的水平。然而,与提到的机理相一致,例子凝胶分析显示Bay41-4109疗法彻底地摧毁了衣壳形成(板B)而pgRNA衣壳化和DNA合成(板C、D和E)、AT-61疗法没有影响衣壳形成(板B),但是剂量依赖性地减少衣壳化pgRNA(板C)的数量和与HBV DNA(板D和E)相关的衣壳。与AT-61相似,DVR化合物没有显著地影响衣壳形成(板B),但剂量依赖性地减少衣壳化pgRNA和与HBV DNA(板C、D 和E)相关的衣壳。上述结果表明,与AT-61表型相似的DVR化合物抑制pgRNA衣壳化为病毒粒子且导致空衣壳的形成。因此,不会发生后续的HBV DNA复制。

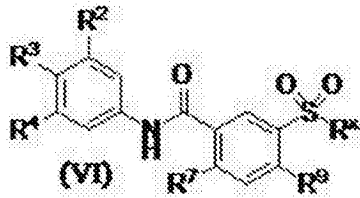
[0261] 表5:式(V)化合物的通过斑点印迹杂交测定的抗病毒活性(EC₅₀)和细胞毒性(CC₅₀):



[0263] 表6:式(VI)化合物的通过斑点印迹杂交测定的抗病毒活性(EC₅₀)和细胞毒性(CC₅₀):

化合物名称	R ₁	R ₂	R ₃	R ₅	R ₇	R ₉	EC ₅₀ (μ M)	CC ₅₀ (μ M)
DVR-16	H	CH ₃	H	H	Cl	H	6	>50
DVR-19	H	CF ₃	H	H	H	F	9	>50
DVR-21	H	CF ₃	H	Cl	H	F	6.8	>50
DVR-22	H	H	H	H	H	H	8	>50

[0264]








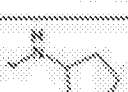

[0265]

化合物	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	EC ₅₀ (μ M)	CC ₅₀ (μ M)
DVR-23	F	F	H	F	H		0.39	>50
DVR-24	H	H	H	H	H		8	>50
DVR-25	F	F	H	F	H		16.5	>50
DVR-26	CH ₃	H	H	Cl	H		3	>50
DVR-27	H	Cl	H	H	H		24	>50
DVR-34	F	F	H	F	H		4	>50
DVR-42	F	F	H	F	H		17.5	>50

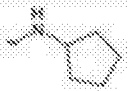




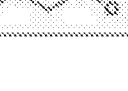
[0266]

DVR-43	F	F	H	F	H		0.39	>50
DVR-44	H	CH ₃	H	F	H		24	>50
DVR-45	F	F	H	F	H		0.8	>50
DVR-47	H	H	H	H	H		3.7	>50
DVR-51	H	F	H	H	Cl		2.1	>50








[0267]

DVR-52	H	H	H	H	CH ₃		4	>50
DVR-53	F	F	H	H	F		27.3	>50
DVR-55	H	H	H	H	H		1	>50
DVR-56	F	F	H	F	H		8.30	>50
DVR-57	H	F	H	F	H		21.3	>50
DVR-61	CH ₃	H	CH ₃	F	H		4.5	>50
DVR-62	CH ₃	H	H	H	F		2.8	>50






[0268]

DVR-63	Cl	H	Cl	F	H		18.2	>50
DVR-64	H	H	H	H	H		3	>50
DVR-65	Cl	F	H	F	H		5	>50
DVR-66	F	H	H	F	H		2.9	>50
DVR-68	Cl	H	Cl	F	H		11.4	>50
DVR-69	CH ₃	H	H	H	F		3.1	>50


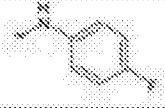





[0269]

DVR-70	H	H	H	Cl	H		11	>50
DVR-73	Cl	H	H	F	H		10.2	>50
DVR-74	CH ₃	H	CH ₃	F	H		25	-
DVR-75	H	H	H	H	H		4.1	-
DVR-77	Cl	H	H	H	F		11.1	-
DVR-82	F	F	H	F	H		2	>50
DVR-83	Cl	H	H	F	H		3	>50





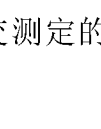
[0270]

DVR-87	Cl	F	H	F	H		3.1	>50
DVR-89	H	H	H	Cl	H		1.2	>50
DVR-91	H	Cl	H	F	H		10.8	>50
DVR-92	F	F	H	F	H		1	>50
DVR-93	H	Cl	H	H	F		4.8	>50

[0271]

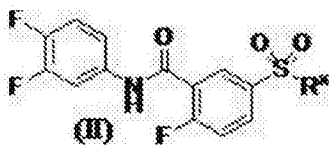
DVR-94	CH ₃	H	H	F	H		46	>50
DVR-96	CH ₃	H	H	F	H		14	>50
DVR-98	H	Cl	H	H	H		45	>50
DVR-100	H	Cl	H	H	H		20	>50
DVR-101	H	H	H	H	H		32	>50
DVR-102	H	H	H	H	H		15	>50
DVR-103	F	F	H	H	F		5	>50

[0272]









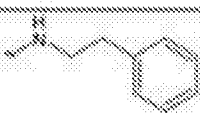

DVR-104	F	F	H	F	H		0.6	>50
DVR-107	H	H	H	H	CH ₃		4	>50
DVR-108	H	F	H	H	Cl		2.1	>50
DVR-115	F	H	H	H	Cl		25	>50
DVR-117	H	H	H	H	Cl		4.5	>50

[0273] 表7:式(II)化合物的通过斑点印迹杂交测定的抗病毒活性(EC₅₀)和细胞毒性(CC₅₀):

[0274]



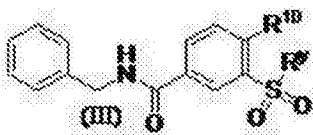
[0275]

化合物	R ^X	EC ₅₀ (μ M)	CC ₅₀ (μ M)
DVR-23		0.39	>50
DVR-25		10.5	>50
DVR-34		4	>50
DVR-42		17.5	>50
DVR-43		0.39	>50
DVR-104		0.6	>50
DVR-45		0.8	>50
DVR-56		0.39	>50
DVR-82		2	>50
DVR-92		1	>50

[0276]

[0277] 表8:式(III)化合物的通过斑点印迹杂交测定的抗病毒活性(EC₅₀)和细胞毒性(CC₅₀):

[0278]

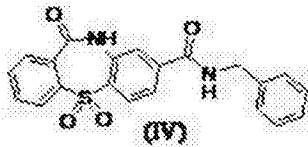


[0279]

化合物	R ^x	R ^y	EC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)
DVR-01	Cl		8	>50
DVR-02	Cl		7	>50
DVR-08	CH ₃		44	>50
DVR-09	CH ₃		33	>50
DVR-10	H		49	>50
DVR-11	Br		13.2	>50

[0280] 表9:式(IV)化合物的通过斑点印迹杂交测定的抗病毒活性(EC₅₀)和细胞毒性(CC₅₀):

[0281]

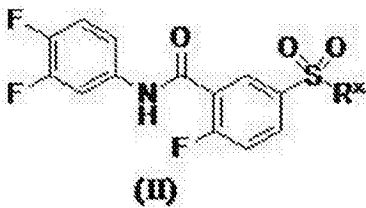


[0282]







化合物	EC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)
	8	>50

[0283] 表10:AML12HBV10和HepDES19细胞中式(II)的典型化合物的抗病毒活性:

[0284]



[0285]

化合物	R ^x	AML12HBV10		HepDES19		
		EC ₅₀	CC ₅₀	EC ₅₀	EC ₂₀	CC ₅₀
DVR-43		0.39	>50	0.72	1.53	45
DVR-45		0.8	>50	0.48	2.11	>50
DVR-92		1	>50	0.98	2.9	>50
DVR-56		0.39	>50	0.42	1.85	>50
DVR-23		0.39	>50	0.28	0.86	>50
DVR-104		0.6	>50	0.97	3.11	>50

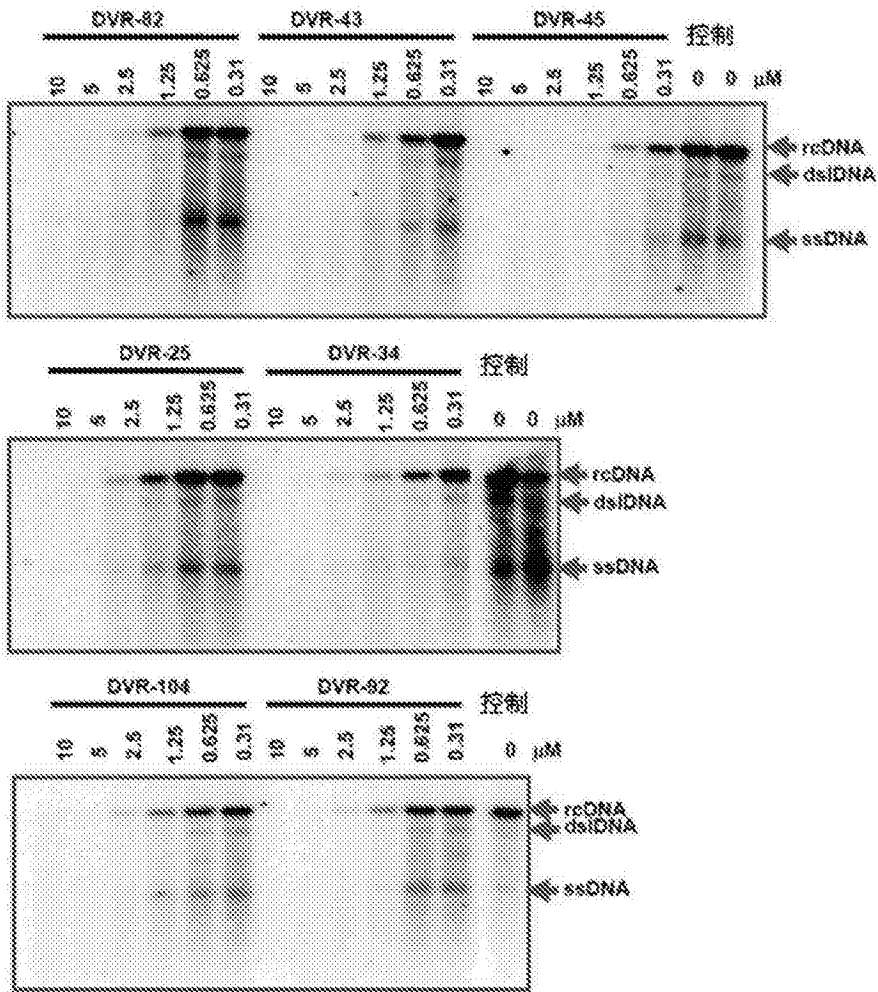


图1

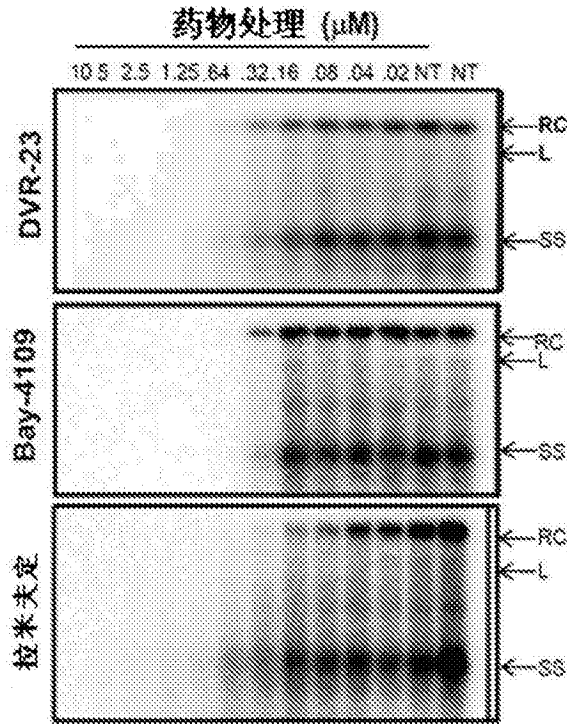


图2

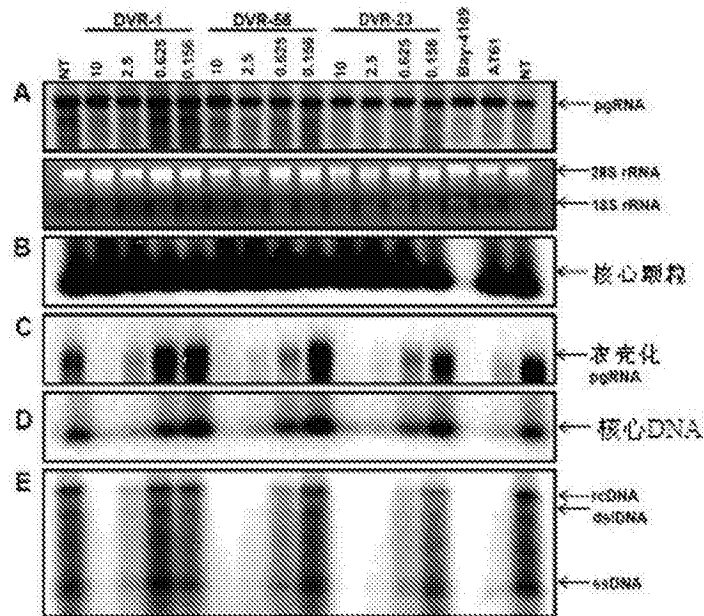


图3