



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102307892 A

(43) 申请公布日 2012. 01. 04

(21) 申请号 200980156322. 2

代理人 陶贻丰 郑霞

(22) 申请日 2009. 12. 30

(51) Int. Cl.

(30) 优先权数据

C07K 7/64 (2006. 01)

61/142, 068 2008. 12. 31 US

A61K 38/13 (2006. 01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

2011. 08. 08

(86) PCT申请的申请数据

PCT/EP2009/068017 2009. 12. 30

(87) PCT申请的公布数据

W02010/076329 EN 2010. 07. 08

(71) 申请人 西尼克斯公司

地址 美国北卡罗来纳州

(72) 发明人 李克强 大卫·兰威克·霍克

西普里安·奥夸拉·奥布

迈克尔·罗伯特·佩尔

安德鲁·威廉·斯克莱布诺

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理

有限公司 11262

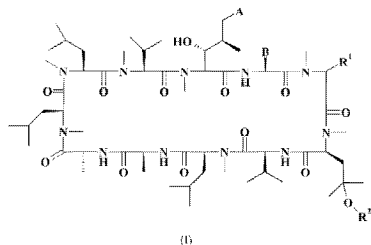
权利要求书 10 页 说明书 48 页

(54) 发明名称

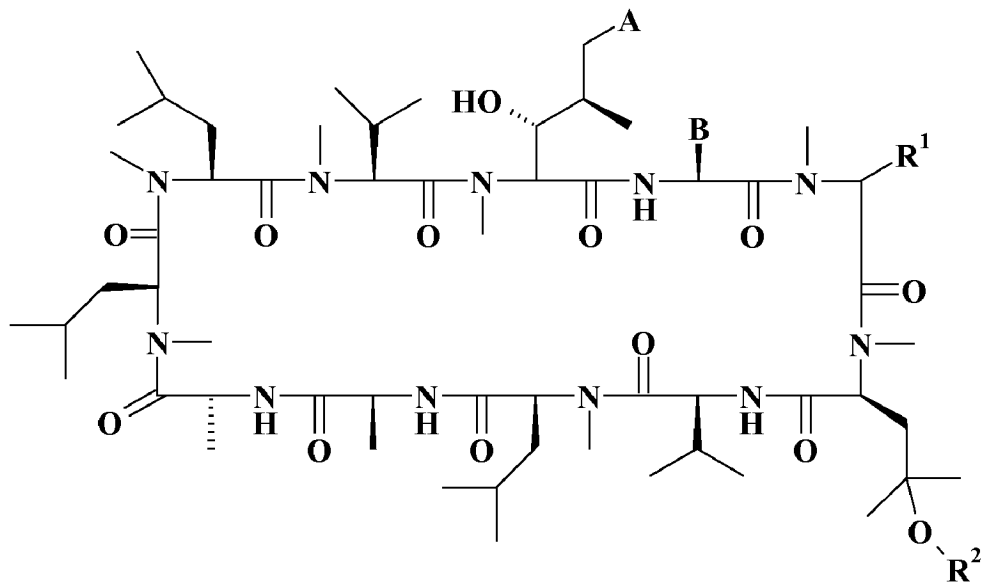
环孢菌素 A 的衍生物

(57) 摘要

本文公开的是通式 (I) 的化合物及其作为药物的用途, 其中 A、B、R<sup>1</sup>和 R<sup>2</sup>如说明书中所定义。



## 1. 通式 (I) 的化合物：



(I);

其中：

A 是 (E)-CH=CHR 或 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>R, 其中 R 代表甲基、-CH<sub>2</sub>SH、-CH<sub>2</sub>(硫代烷基)、-CH<sub>2</sub>(羧基)、-CH<sub>2</sub>烷氧羰基、羧基或烷氧羰基；

B 代表乙基、1-羟乙基、异丙基或正丙基；

R<sup>1</sup> 代表氢、低级烷基、烯丙基或 -XR<sup>10</sup>；R<sup>2</sup> 代表 -C(=O)R<sup>21</sup>；

X 代表 -S(=O)<sub>n</sub>- 或氧, 其中 n 是 0、1 或 2；

R<sup>10</sup> 代表：

具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基, 其任选地由可以是相同或不同的一个或多个基团 R<sup>3</sup> 取代；

具有两个至六个碳原子的直链或支链烯基, 其任选地由选自由卤素、羟基、氨基、N-单烷基氨基和 N,N-二烷基氨基所组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

具有两个至六个碳原子的直链或支链炔基, 其任选地由选自由卤素、羟基、氨基、N-单烷基氨基和 N,N-二烷基氨基所组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

包含从三个至六个碳原子的环烷基, 其任选地由选自由卤素、羟基、氨基、N-单烷基氨基和 N,N-二烷基氨基所组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

或者具有两个至六个碳原子的直链或支链烷氧羰基；

R<sup>3</sup> 选自由下列组成的组：卤素；羟基；烷氧基；羧基；烷氧羰基；-NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>、-NR<sup>6</sup>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>；由选自由卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、氰基、氨基、N-烷基氨基和 N,N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基任选地取代的苯基；以及包含五个或六个环原子和选自由氮、硫和氧组成的组的可以是相同或不同的一个至三个杂原子的饱和或不饱和的杂环, 其中所述杂环经由环碳原子与烷基连接；

R<sup>4</sup> 和 R<sup>5</sup>, 其可以是相同或不同的, 每一个代表：

氢；

具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基, 其任选地由可以是相同或不同的一个或多个

个基团 R<sup>7</sup> 取代；

具有两个至四个碳原子的直链或支链烯基或炔基；

包含三个至六个碳原子的环烷基，其任选地由包含一个至六个碳原子的直链或支链烷基取代；

苯基，其任选地由选自由卤素、烷氧基、氰基、烷氧羰基、氨基、烷基氨基和二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个至五个取代基取代；

包含五个或六个环原子和选自由氮、硫和氧组成的组的可以是相同或不同的一个至三个杂原子的饱和或不饱和的杂环，所述杂环可任选地由选自由卤素、烷氧基、氰基、烷氧羰基、氨基、烷基氨基和二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

或 R<sup>4</sup> 和 R<sup>5</sup> 与它们所连接的氮原子一起形成包含四个至六个环原子的饱和或不饱和的杂环，所述环可任选地包含选自由氮、氧和硫组成的组的另一个杂原子并且可任选地由选自由烷基、苯基和苄基组成的组的可以是相同或不同的一个至四个取代基取代；

R<sup>6</sup> 代表氢或具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基；

R<sup>7</sup> 代表卤素、羟基、羧基、烷氧羰基或 -NR<sup>8</sup>R<sup>9</sup>；

R<sup>8</sup> 和 R<sup>9</sup>，其可以是相同或不同的，每一个代表氢或具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基；

R<sup>21</sup> 代表：

氢，或具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基，其任选地由可以是相同或不同的一个或多个基团 R<sup>22</sup> 取代；

具有两个至六个碳原子的直链或支链烯基，其任选地由选自由卤素、羟基、羧基、氨基、N-单烷基氨基和 N,N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

具有两个至六个碳原子的直链或支链炔基，其任选地由选自由卤素、羟基、羧基、氨基、N-单烷基氨基和 N,N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

包含三个至六个碳原子的环烷基，其任选地由选自由卤素、羟基、羧基、氨基、N-单烷基氨基和 N,N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

-OR<sup>11</sup>、-SR<sup>11</sup>、-NR<sup>12</sup>R<sup>13</sup>；

氨基羰基、N-单（低级烷基）氨基羰基或 N,N-二（低级烷基）氨基羰基；

苯基，其任选地由选自由卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、氰基、硝基、氨基、N-烷基氨基和 N,N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

或包含四个至六个环原子和选自由氮、硫和氧组成的组的可以是相同或不同的一个至三个杂原子的饱和或不饱和的杂环，所述杂环可任选地由选自由卤素、烷氧基、氰基、烷氧羰基、氨基、烷基氨基和二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

R<sup>11</sup> 代表：

具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基，其任选地由可以是相同或不同的一个或多个基团 R<sup>23</sup> 取代；或者

苯基,其任选地由选自自由卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、氰基、硝基、氨基、N-烷基氨基和N,N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代;

$R^{12}$  和  $R^{13}$ ,其可以是相同或不同的,每一个代表:

氢;

具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基,其任选地由选自自由氨基、N-单烷基氨基、N,N-二烷基氨基、羟基、烷氧基、硫代烷基、羧基和烷氧羰基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代;

具有两个至六个碳原子的直链或支链烯基,其任选地由选自自由氨基、N-单烷基氨基、N,N-二烷基氨基、羟基、烷氧基、硫代烷基、羧基和烷氧羰基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代;

具有两个至六个碳原子的直链或支链炔基,其任选地由选自自由氨基、N-单烷基氨基、N,N-二烷基氨基、羟基、烷氧基、硫代烷基、羧基和烷氧羰基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代;

苯基,其任选地由选自自由卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、氰基、硝基、氨基、N-烷基氨基和N,N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代;或者

苄基,其中苯环任选地由选自自由卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、氰基、硝基、氨基、N-烷基氨基和N,N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代;

或 $R^{12}$ 和 $R^{13}$ 与它们所连接的氮原子一起形成包含四个至六个环原子的饱和或不饱和的杂环,所述环可任选地包含选自自由氮、氧和硫组成的组的另一个杂原子并且可任选地由选自自由烷基、苯基和苄基组成的组的可以是相同或不同的一个至四个取代基取代;

$R^{22}$ 和 $R^{23}$ ,其可以是相同或不同的,每一个代表:卤素;羟基;烷氧基;羧基;烷氧羰基;氨基;N-单烷基氨基;N,N-二烷基氨基; $-S(=O)_p$ 烷基; $-S(=O)_p$ 芳基;包含三个至六个碳原子的环烷基,其任选地由选自自由卤素、羟基、氨基、N-单烷基氨基和N,N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代;苯基,其任选地由选自自由卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、氰基、氨基、N-烷基氨基和N,N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代;或杂环,其可以是饱和或不饱和的,包含四个、五个或六个环原子和选自自由氮、硫和氧组成的组的可以是相同或不同的一个至三个杂原子,所述杂环可任选地由选自自由卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、氰基、氨基、N-烷基氨基和N,N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代;

p 是 0、1 或 2;

m 是从 2 到 4 的整数;

或其药学上可接受的盐或溶剂化物。

2. 如权利要求 1 中所述的通式 (I) 的化合物,其中:

A 是 (E)-CH=CHR 或  $-CH_2CH_2R$ ,其中 R 代表甲基、 $-CH_2SH$ 、 $-CH_2$ (硫代烷基)、 $-CH_2$ (羧基)或 $-CH_2$ 烷氧羰基;

B 代表乙基、1-羟乙基、异丙基或正丙基;

$R^1$  代表氢、低级烷基、烯丙基或  $-XR^{10}$ ;

$R^2$  代表  $-C(=O)R^{21}$ ;

X 代表  $-S(=O)_n-$  或氧,其中 n 是 0、1 或 2;

R<sup>10</sup> 代表：

具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基，其任选地由可以是相同或不同的一个或多个基团 R<sup>3</sup> 取代；

具有两个至六个碳原子的直链或支链烯基，其任选地由选自由卤素、羟基、氨基、N-单烷基氨基和 N,N-二烷基氨基所组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

具有两个至六个碳原子的直链或支链炔基，其任选地由选自由卤素、羟基、氨基、N-单烷基氨基和 N,N-二烷基氨基所组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

包含从三个至六个碳原子的环烷基，其任选地由选自由卤素、羟基、氨基、N-单烷基氨基和 N,N-二烷基氨基所组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

或者具有两个至六个碳原子的直链或支链烷氧羰基；

R<sup>3</sup> 选自由下列组成的组：卤素；羟基；烷氧基；羧基；烷氧羰基；-NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>、-NR<sup>6</sup>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>；由选自由卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、氰基、氨基、N-烷基氨基和 N,N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基任选地取代的苯基；以及包含五个或六个环原子和选自由氮、硫和氧组成的组的可以是相同或不同的一个至三个杂原子的饱和或不饱和的杂环，其中所述杂环经由环碳原子与烷基连接；

R<sup>4</sup> 和 R<sup>5</sup>，其可以是相同或不同的，每一个代表：

氢；

具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基，其任选地由可以是相同或不同的一个或多个基团 R<sup>7</sup> 取代；

具有两个至四个碳原子的直链或支链烯基或炔基；

包含三个至六个碳原子的环烷基，其任选地由包含一个至六个碳原子的直链或支链烷基取代；

苯基，其任选地由选自由卤素、烷氧基、氰基、烷氧羰基、氨基、烷基氨基和二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个至五个取代基取代；

包含五个或六个环原子和选自由氮、硫和氧组成的组的可以是相同或不同的一个至三个杂原子的饱和或不饱和的杂环，所述杂环可任选地由选自由卤素、烷氧基、氰基、烷氧羰基、氨基、烷基氨基和二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

或 R<sup>4</sup> 和 R<sup>5</sup> 与它们所连接的氮原子一起形成包含四个至六个环原子的饱和或不饱和的杂环，所述环可任选地包含选自由氮、氧和硫组成的组的另一个杂原子并且可任选地由选自由烷基、苯基和苄基组成的组的可以是相同或不同的一个至四个取代基取代；

R<sup>6</sup> 代表氢或具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基；

R<sup>7</sup> 代表卤素、羟基、羧基、烷氧羰基或 -NR<sup>8</sup>R<sup>9</sup>；

R<sup>8</sup> 和 R<sup>9</sup>，其可以是相同或不同的，每一个代表氢或具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基；

R<sup>21</sup> 代表：

氢，或具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基，其任选地由可以是相同或不同的一个或多个基团 R<sup>22</sup> 取代；

具有两个至六个碳原子的直链或支链烯基，其任选地由选自由卤素、羟基、羧基、氨基、

N- 单烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

具有两个至六个碳原子的直链或支链炔基,其任选地由选自由卤素、羟基、羧基、氨基、N- 单烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

包含三个至六个碳原子的环烷基,其任选地由选自由卤素、羟基、羧基、氨基、N- 单烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

氨基羰基、N- 单(低级烷基)氨基羰基或 N, N- 二(低级烷基)氨基羰基；

苯基,其任选地由选自由卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、氰基、氨基、N- 烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

或包含四个至六个环原子和选自由氮、硫和氧组成的组的可以是相同或不同的一个至三个杂原子的饱和或不饱和的杂环,所述杂环可任选地由选自由卤素、烷氧基、氰基、烷氧羰基、氨基、烷基氨基和二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

$R^{22}$  代表:卤素;羟基;烷氧基;羧基;烷氧羰基;氨基;N- 单烷基氨基;N, N- 二烷基氨基; $-S(=O)_p$  烷基; $-S(=O)_p$  芳基;包含三个至六个碳原子的环烷基,其任选地由选自由卤素、羟基、氨基、N- 单烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代;苯基,其任选地由选自由卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、氰基、氨基、N- 烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代;或杂环,其可以是饱和或不饱和的,包含四个、五个或六个环原子和选自由氮、硫和氧组成的组的可以是相同或不同的一个至三个杂原子,所述杂环可任选地由选自由卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、氰基、氨基、N- 烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

p 是 0、1 或 2；

m 是从 2 到 4 的整数；

或其药学上可接受的盐或溶剂化物。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物,其中  $R^1$  代表氢或  $-XR^{10}$ 。

4. 如权利要求 1、2 或 3 所述的化合物,其中 A 代表 (E)- $CH=CHR$ , R 代表甲基并且 B 代表乙基。

5. 如权利要求 1 至 4 中任一项所述的化合物,其中  $R^{21}$  代表具有一个至四个碳原子的直链或支链烷基,其任选地由可以是相同或不同的一个或多个基团  $R^{22}$  取代。

6. 如权利要求 1 至 4 中任一项所述的化合物,其中  $R^{21}$  代表：

具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基,其任选地由可以是相同或不同的一个或多个基团  $R^{22}$  取代；

具有三个至六个碳原子的直链或支链烯基；或者

$-OR^{11}$ 、 $-SR^{11}$  或  $-NR^{12}R^{13}$ 。

7. 如权利要求 6 所述的化合物,其中

(a)  $R^{11}$  代表：

具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基,其任选地由基团  $R^{23}$  取代；或苯基,其任选

地由选自自由卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、氰基、硝基、氨基、N-烷基氨基和 N, N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

(b) R<sup>12</sup> 和 R<sup>13</sup>, 其可以是相同或不同的, 每一个代表：

氢；

具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基；

具有二个至六个碳原子的直链或支链烯基；

苄基, 其中苯环任选地由选自自由卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、氰基、硝基、氨基、N-烷基氨基和 N, N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

或 R<sup>12</sup> 和 R<sup>13</sup> 与它们所连接的氮原子一起形成包含四个至六个环原子的饱和的杂环, 所述环可任选地包含选自自由氮、氧和硫组成的组的另一个杂原子并且可任选地由可以是相同或不同的一个或多个烷基基团取代。

8. 如权利要求 1 所述的化合物, 其选自自由下列组成组：

[(R)-甲氧基-Sar]<sup>3</sup>[4'-乙酰氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A；

[(R)-甲硫基-Sar]<sup>3</sup>[4'-N, N'-二甲基氨基乙酰氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>-环孢菌素 A；

[4'-N, N'-二甲基氨基乙酰氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A；

[4'-N, N'-二乙基氨基乙酰氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A；

[4'-乙酰氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A；

[4'-三甲基乙酰氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A；

[4'-丙酰氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A；

[4'-丁酰氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A；

[4'-异丁酰氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A；

[4'-(反式-2-甲基-2-丁烯酰基)氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A；

[4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A 对硝基苯基-4'-碳酸酯；

[4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A N, N-二甲基-4'-氨基甲酸酯；

[4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A N, N-二乙基-4'-氨基甲酸酯；

[4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A N-甲基-4'-氨基甲酸酯；

[4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A N-乙基-4'-氨基甲酸酯；

[4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 AN-烯丙基-4'-氨基甲酸酯；

[4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A N-(正丁基)-4'-氨基甲酸酯；

[4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A N-(正己基)-4'-氨基甲酸酯；

[4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A N-苄基-4'-氨基甲酸酯；

[4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A N-(对甲氧基苄基)-4'-氨基甲酸酯；

[4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A 氮杂环丁烷-4'-氨基甲酸酯；

[4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A 吡咯烷-4'-氨基甲酸酯；

[4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A 哌啶-4'-氨基甲酸酯；

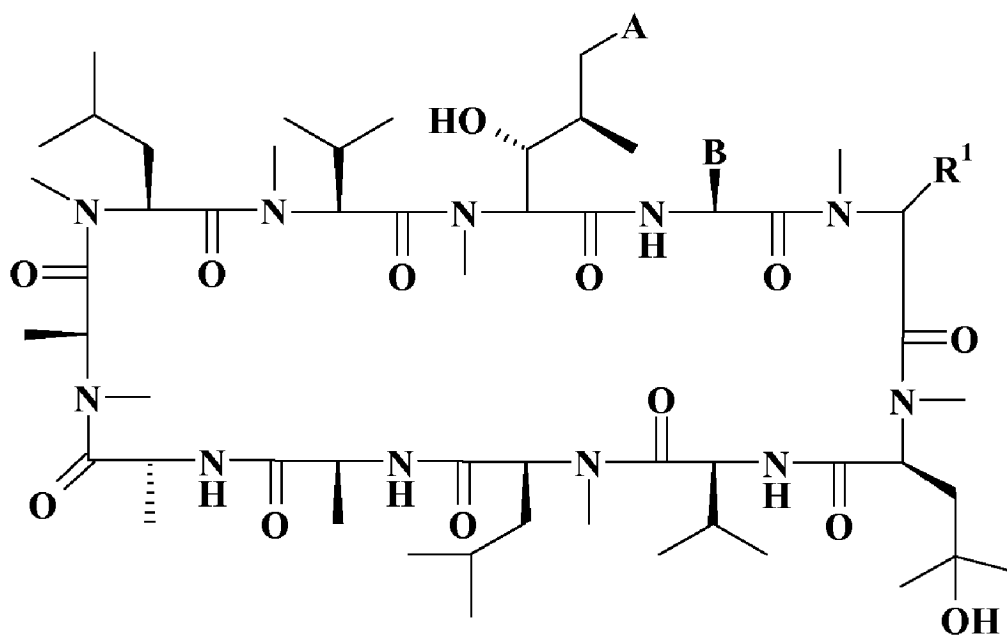
[4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A S-苄基-4'-硫代碳酸酯；

[4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A 4-甲基-1-哌嗪-4'-氨基甲酸酯；和

[4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A N, N-二甲基乙二胺-4'-氨基甲酸酯。



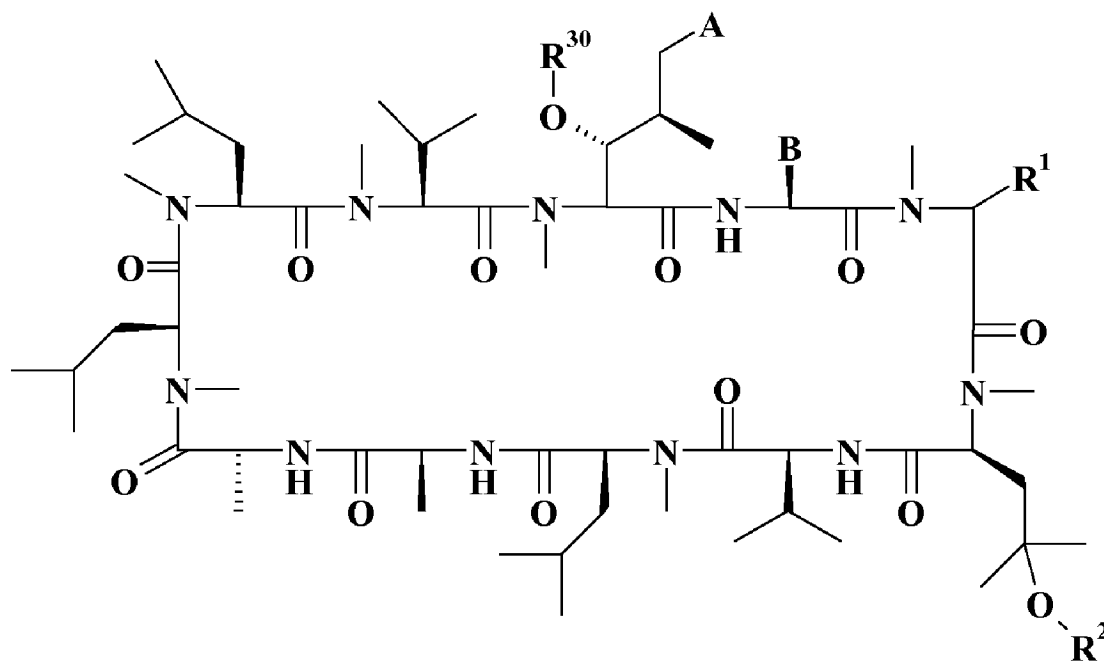




(VI)

其中 A、B 和 R<sup>1</sup> 如权利要求 1 中所定义。

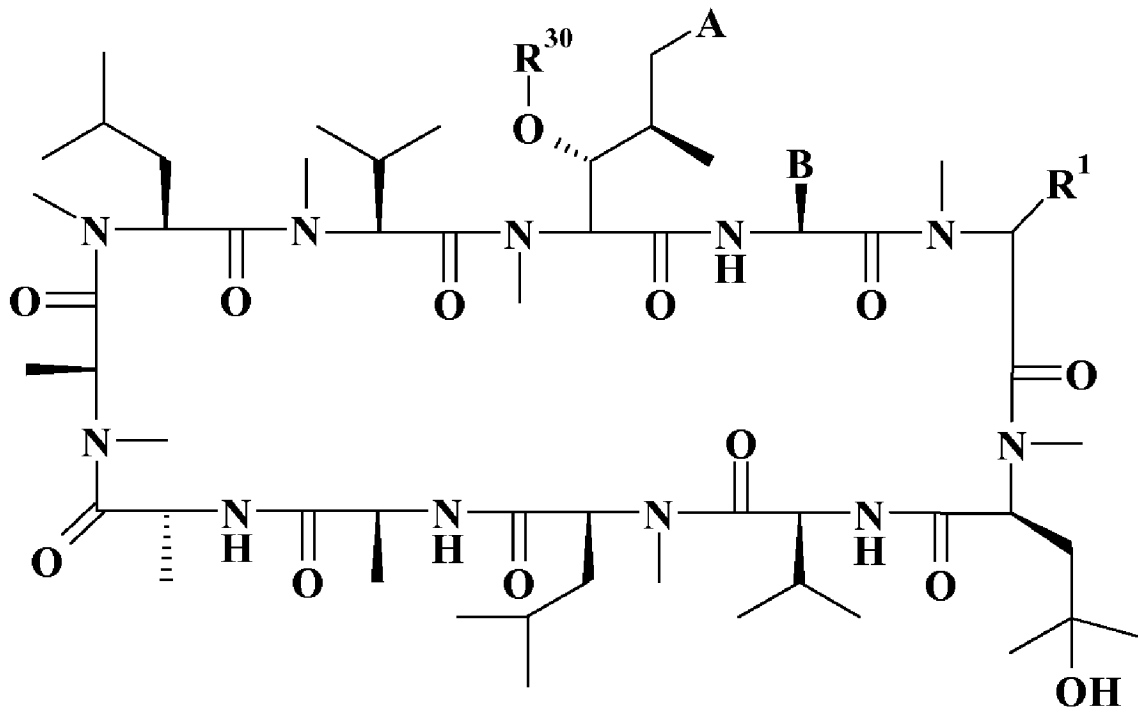
12. 一种式 (II) 的化合物：



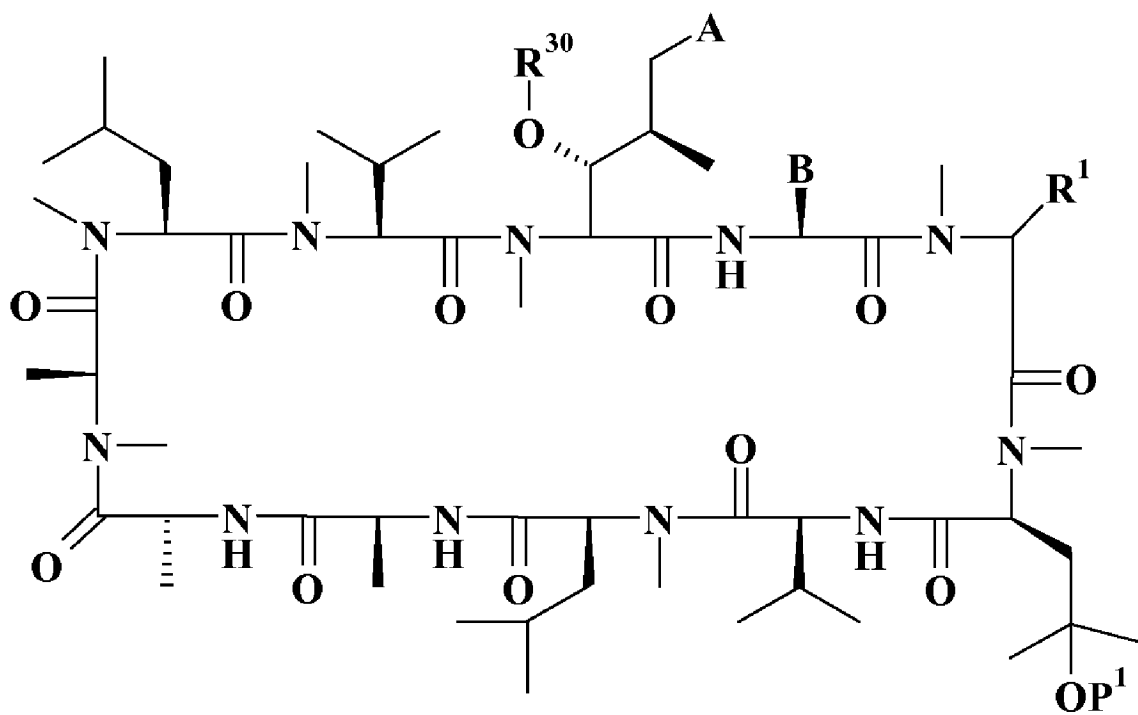
(II)

其中 A、B、R<sup>1</sup> 和 R<sup>2</sup> 如权利要求 1 中所定义并且 R<sup>30</sup> 代表保护基团,其中当 R<sup>2</sup> 和 R<sup>30</sup> 同时代表乙酰基时,则 R<sup>1</sup> 不是氢、硫代甲基、甲氧基,乙酰氧基或亚乙基-(2,2)-二乙基氨基。

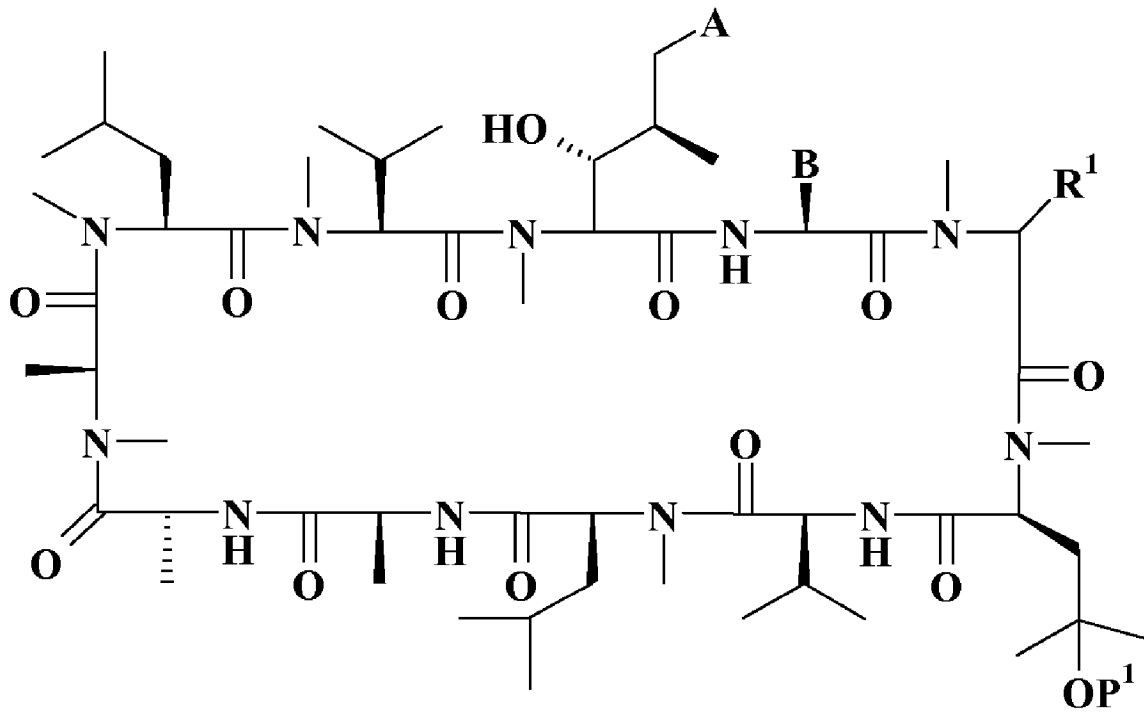
13. 一种通式 (III)、(IV) 或 (V) 的化合物：



(III)



(IV)



(V)

其中 A、B、R<sup>1</sup> 和 R<sup>2</sup> 如权利要求 1 中所定义，R<sup>30</sup> 代表保护基团并且 P<sup>1</sup> 代表甲硅烷基。

## 环孢菌素 A 的衍生物

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本发明要求 2008 年 12 月 31 日提交的美国临时申请第 61/142,068 号的优先权的权益,其内容通过引用全文并入本文。

### 发明领域

[0003] 本文所公开的是新的化合物,包含它们的组合物,用于它们的制备的方法、它们的合成中的中间体以及它们作为治疗剂例如作为抗病毒剂的用途。

[0004] 发明背景

[0005] 环孢菌素 A 由于其免疫抑制活性和一系列治疗用途而闻名,包括抗真菌活性、抗寄生虫活性和抗炎活性以及抗 HIV 活性。环孢菌素 A 和某些衍生物已经被报道为具有抗 HCV 活性,参见 Watashi 等人, *Hepatology*, 2003, 38 :1282-1288, Nakagawa 等人, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004, 313 :42-7 以及 Shimotohno 和 K. Watashi, 2004, American Transplant Congress(美国移植大会),摘要第 648 号 (*American Journal of Transplantation* 2004,第 4 卷,第 8 期,第 1-653 页)。

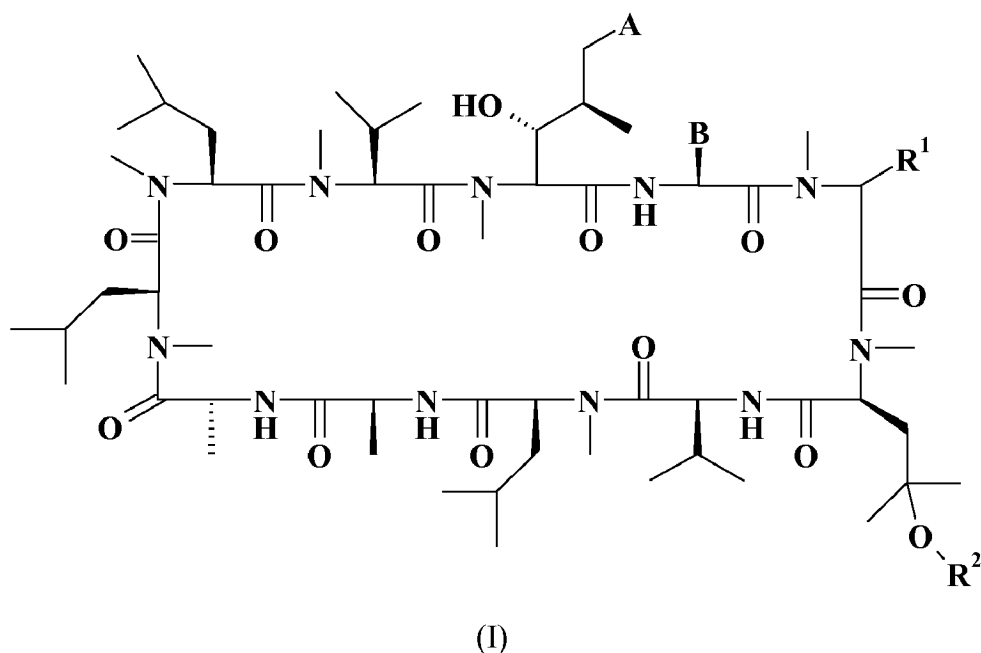
[0006] 在 4 位修饰以引入羟基的环孢菌素 A(环孢菌素)衍生物是文献中已知的。例如 [4' -羟基 -N- 甲基亮氨酸]<sup>4</sup> 环孢菌素 A 公开于欧洲专利第 484,281 号中并被说明为具有抗 HIV-1 复制活性。3- 醚 / 硫醚 -[4' -羟基 -N- 甲基亮氨酸]<sup>4</sup> 环孢菌素 A 衍生物描述于美国专利第 5,948,755、5,994,299、5,948,884 和 6,583,265 号以及国际专利公开第 W02006/039668 和 W007/041631 号中。某些具有在 4 位的 (4- 乙酰氧基 -N- 甲基亮氨酸) 和在 1 位的 (3' - 乙酰氧基 -N- 甲基 -Bmt) 的环孢菌素 A 衍生物被描述于国际专利公开第 W02006/039668 号、美国专利第 7,196,161B2 号和 Carry 等人, *Synlett* (2004), 第 2 期,第 316-320 页。

[0007] 具有 4 位上的 (4- 乙酰氧基 -N- 甲基亮氨酸) 的环孢菌素 A 衍生物描述于国际专利公开第 W0 98/49193 号、美国专利第 5,977,067 号和 Carry 等人, *Synlett* (2004), 第 2 期,第 316-320 页。这些化合物没有被公开为具有生物活性。

[0008] 发明概述

[0009] 在一个方面,本文提供了通式 (I) 的化合物:

[0010]



[0011] 其中：

[0012] A 是 (E)-CH=CHR 或 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>R, 其中 R 代表甲基、-CH<sub>2</sub>SH、-CH<sub>2</sub>(硫代烷基)、-CH<sub>2</sub>(羧基)、-CH<sub>2</sub> 烷氧羰基、羧基或烷氧羰基；

[0013] B 代表乙基、1- 羟乙基、异丙基或正丙基；

[0014] R<sup>1</sup> 代表氢、低级烷基、烯丙基或 -XR<sup>10</sup>；

[0015] R<sup>2</sup> 代表 -C(=O)R<sup>21</sup>；

[0016] X 代表 -S(=O)<sub>n</sub>- 或氧, 其中 n 是 0、1 或 2；

[0017] R<sup>10</sup> 代表：

[0018] 具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基, 其任选地由可以是相同或不同的一个或多个基团 R<sup>3</sup> 取代；

[0019] 具有两个至六个碳原子的直链或支链烯基, 其任选地由选自由卤素、羟基、氨基、N- 单烷基氨基和 N,N- 二烷基氨基所组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

[0020] 具有两个至六个碳原子的直链或支链炔基, 其任选地由选自由卤素、羟基、氨基、N- 单烷基氨基和 N,N- 二烷基氨基所组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

[0021] 包含从三个至六个碳原子的环烷基, 其任选地由选自由卤素、羟基、氨基、N- 单烷基氨基和 N,N- 二烷基氨基所组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

[0022] 或者具有两个至六个碳原子的直链或支链烷氧羰基；

[0023] R<sup>3</sup> 选自由下列组成的组：卤素；羟基；烷氧基；羧基；烷氧羰基；-NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>、-NR<sup>6</sup>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>；由选自由卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、氰基、氨基、N- 烷基氨基和 N,N- 二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基任选地取代的苯基；以及包含五个或六个环原子和选自由氮、硫和氧组成的组的可以是相同或不同的一个至三个杂原子的饱和或不饱和的杂环, 其中所述杂环经由环碳原子与烷基连接；

[0024] R<sup>4</sup> 和 R<sup>5</sup>, 其可以是相同或不同的, 每一个代表：

- [0025] 氢；
- [0026] 具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基，其任选地由可以是相同或不同的一个或多个基团  $R^7$  取代；
- [0027] 具有两个至四个碳原子的直链或支链烯基或炔基；
- [0028] 包含三个至六个碳原子的环烷基，其任选地由包含一个至六个碳原子的直链或支链烷基取代；
- [0029] 苯基，其任选地由选自由卤素、烷氧基、氰基、烷氧羰基、氨基、烷基氨基和二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个至五个取代基取代；包含五个或六个环原子和选自由氮、硫和氧组成的组的可以是相同或不同的一个至三个杂原子的饱和或不饱和的杂环，所述杂环可任选地由选自由卤素、烷氧基、氰基、烷氧羰基、氨基、烷基氨基和二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；
- [0030] 或  $R^4$  和  $R^5$  与它们所连接的氮原子一起形成包含四个至六个环原子的饱和或不饱和的杂环，所述环可任选地包含选自由氮、氧和硫组成的组的另一个杂原子并且可任选地由选自由烷基、苯基和苄基组成的组的可以是相同或不同的一个至四个取代基取代；
- [0031]  $R^6$  代表氢或具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基；
- [0032]  $R^7$  代表卤素、羟基、羧基、烷氧羰基或  $-NR^8R^9$ ；
- [0033]  $R^8$  和  $R^9$ ，其可以是相同或不同的，每一个代表氢或具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基；
- [0034]  $R^{21}$  代表：
- [0035] 氢，或具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基，其任选地由可以是相同或不同的一个或多个基团  $R^{22}$  取代；
- [0036] 具有两个至六个碳原子的直链或支链烯基，其任选地由选自由卤素、羟基、羧基、氨基、N-单烷基氨基和 N,N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；
- [0037] 具有两个至六个碳原子的直链或支链炔基，其任选地由选自由卤素、羟基、羧基、氨基、N-单烷基氨基和 N,N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；
- [0038] 包含三个至六个碳原子的环烷基，其任选地由选自由卤素、羟基、羧基、氨基、N-单烷基氨基和 N,N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；
- [0039]  $-OR^{11}$ 、 $-SR^{11}$ 、 $-NR^{12}R^{13}$ ；
- [0040] 氨基羰基、N-单（低级烷基）氨基羰基或 N,N-二（低级烷基）氨基羰基；
- [0041] 苯基，其任选地由选自由卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、氰基、硝基、氨基、N-烷基氨基和 N,N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；
- [0042] 或包含四个至六个环原子和选自由氮、硫和氧组成的组的可以是相同或不同的一个至三个杂原子的饱和或不饱和的杂环，所述杂环可任选地由选自由卤素、烷氧基、氰基、烷氧羰基、氨基、烷基氨基和二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；
- [0043]  $R^{11}$  代表：
- [0044] 具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基，其任选地由可以是相同或不同的一个

或多个基团  $R^{23}$  取代；

[0045] 苯基,其任选地由选自由卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、氰基、硝基、氨基、N-烷基氨基和 N,N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

[0046]  $R^{12}$  和  $R^{13}$ ,其可以是相同或不同的,每一个代表；

[0047] 氢；

[0048] 具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基,其任选地由选自由氨基、N-单烷基氨基、N,N-二烷基氨基、羟基、烷氧基、硫代烷基、羧基和烷氧羰基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

[0049] 具有两个至六个碳原子的直链或支链烯基,其任选地由选自由氨基、N-单烷基氨基、N,N-二烷基氨基、羟基、烷氧基、硫代烷基、羧基和烷氧羰基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

[0050] 具有两个至六个碳原子的直链或支链炔基,其任选地由选自由氨基、N-单烷基氨基、N,N-二烷基氨基、羟基、烷氧基、硫代烷基、羧基和烷氧羰基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

[0051] 苄基,其任选地由选自由卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、氰基、硝基、氨基、N-烷基氨基和 N,N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

[0052] 苜基,其中苯环任选地由选自由卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、氰基、硝基、氨基、N-烷基氨基和 N,N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

[0053] 或  $R^{12}$  和  $R^{13}$  与它们所连接的氮原子一起形成包含四个至六个环原子的饱和或不饱和的杂环,所述环可任选地包含选自由氮、氧和硫组成的组的另一个杂原子并且可任选地由选自由烷基、苄基和苜基组成的组的可以是相同或不同的一个至四个取代基取代；

[0054]  $R^{22}$  和  $R^{23}$ ,其可以是相同或不同的,每一个代表；

[0055] 卤素；羟基；烷氧基；羧基；烷氧羰基；氨基；N-单烷基氨基；N,N-二烷基氨基； $-S(=O)_p$  烷基； $-S(=O)_p$  芳基；包含三个至六个碳原子的环烷基,其任选地由选自由卤素、羟基、氨基、N-单烷基氨基和 N,N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；苯基,其任选地由选自由卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、氰基、氨基、N-烷基氨基和 N,N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；或杂环,其可以是饱和或不饱和的,包含四个、五个或六个环原子和选自由氮、硫和氧组成的组的可以是相同或不同的一个至三个杂原子,所述杂环可任选地由选自由卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、氰基、氨基、N-烷基氨基和 N,N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

[0056] p 是 0、1 或 2；

[0057] m 是从 2 到 4 的整数；

[0058] 或其药学上可接受的盐或溶剂化物。

[0059] 在某些实例中,取代基 A、B、 $R^1$  和  $R^2$  可造成旋光和 / 或立体异构。所有这些形式涵盖在本发明中。

[0060] 在另一个方面,提供的是包含式 (I) 的化合物以及药学上可接受的赋形剂、载体或稀释剂的组合物。

[0061] 在另一个方面,提供的是式 (I) 的化合物的药学上可接受的盐。药学上可接受的

盐的实例包括碱金属例如钠、钾或锂或者碱土金属例如镁或钙的盐、铵盐或含氮碱类例如乙醇胺、二乙醇胺、三甲胺、三乙胺、甲胺、丙胺、二异丙胺、N,N-二甲基乙醇胺、苄胺、二环己胺、N-苄基苯乙胺、N,N'-二苄基乙二胺、二苯二胺、二苯甲胺、奎宁、胆碱、精氨酸、赖氨酸、亮氨酸或二苄胺的盐。

[0062] 在另一个方面,本文提供的是使用式(I)的化合物或包含式(I)的化合物的组合物治疗或预防感染、神经变性疾病、缺血/再灌注损伤、炎性疾病或自身免疫性疾病的方法。所述方法大体上包括向患有所述病况或疾病的受治疗者施用有效治疗或预防所述疾病或病况的量的化合物或组合物。示例性的感染包括HCV或HIV感染和本文详细描述的其他感染。

[0063] 在另一个方面,本文提供的是式(I)的化合物或包含式(I)的化合物的组合物,其用于治疗。

[0064] 在另一个方面,本文提供的是式(I)的化合物或包含式(I)的化合物的组合物,其用于感染、神经变性疾病、缺血/再灌注损伤、炎性疾病或自身免疫性疾病的治疗和预防。

[0065] 在另一个方面,本文提供的是在药物的制备中的式(I)的化合物或包含式(I)的化合物的组合物。

[0066] 在另一个方面,提供的是式(I)的化合物或包含式(I)的化合物的组合物,其用于感染、神经变性疾病、缺血/再灌注损伤、炎性疾病或自身免疫性疾病的治疗和预防的药物的制备。

[0067] 详细描述

[0068] 定义

[0069] 当涉及本文公开的化合物和络合物时,除非另外说明,否则下列术语具有下列含义。

[0070] “环孢菌素”是指本领域的那些技术人员已知的任何环孢菌素化合物或其衍生物,参见例如Ruegger等人,1976,Helv. Chim. Acta. 59:1075-92;Borel等人,1977,Immunology 32:1017-25;其内容通过引用全文并入本文。示例性的式(I)的化合物是环孢菌素衍生物。除非另外注明,否则本文所描述的环孢菌素是环孢菌素A,并且本文所描述的环孢菌素衍生物是环孢菌素A的衍生物。

[0071] 下文所使用的环孢菌素命名和编号系统是J.Kallen等人,“Cyclosporins: Recent Developments in Biosynthesis, Pharmacology and Biology, and Clinical Applications(环孢菌素:在生物合成、药理学和生物学以及临床应用上的最新进展)”,Biotechnology,第二版,H.-J. Rehm和G. Reed编辑,1997,第535-591页所使用的那些并且如下文所示:

[0072]

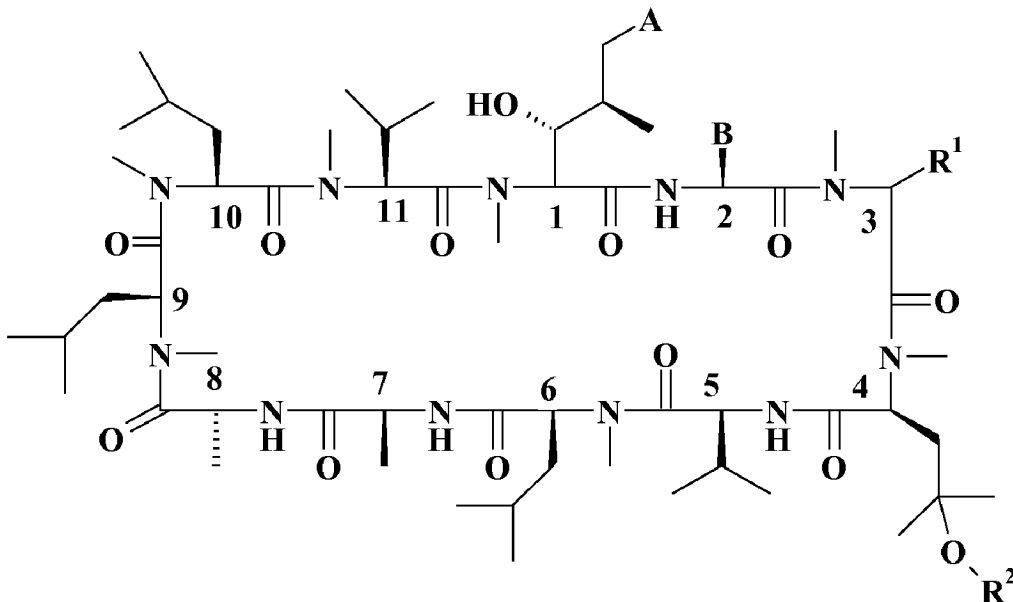


位置 环孢菌素 A 中的氨基酸

- 1 N-甲基-丁烯基-苏氨酸
- 2 [α]-氨基丁酸 (Abu)
- 3 肌氨酸(Sar)
- 4 N-甲基-亮氨酸(MeLeu)
- 5 缬氨酸(Val)
- 6 N-甲基-亮氨酸(MeLeu)
- 7 丙氨酸(Ala)
- 8 (D)-丙氨酸((D)-Ala)
- 9 N-甲基-亮氨酸(Me-Leu)
- 10 N-甲基-亮氨酸(MeLeu)
- 11 N-甲基缬氨酸(Me Val)

[0073] 其对应于如下所示的式 (I) 的化合物中的饱和的环碳原子：

[0074]



[0075] “烷基”是指单价饱和脂肪族烃基基团，特别地具有多达 11 个碳原子，更特别地为低级烷基，1 个至 8 个碳原子，以及更加特别地 1 至 6 个碳原子。烃链可以是直链的或者支链的。这一术语由基团例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、正己基、正辛基、叔辛基以及类似基团来例示。

[0076] “亚烷基”是指二价饱和脂肪族烃基基团，特别地具有多达 11 个碳原子，且更特别地 1 至 6 个碳原子，其可以是直链的或者支链的。这一术语由基团例如亚甲基 (-CH<sub>2</sub>-)、亚

乙基 (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-)、亚丁基异构体 (诸如 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- 和 -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-) 以及类似基团来例示。

[0077] “烯基”是指单价烯属不饱和烃基基团,在一个实施方案中,具有多达 11 个碳原子,在其他的实施方案中,2 至 8 个碳原子,且在另一个实施方案中,2 至 6 个碳原子,其可以是直链的或支链的,并且具有至少 1 个或 1 至 2 个位置的烯属不饱和。在一些实施方案中,烯基基团包括乙烯基 (-CH = CH<sub>2</sub>)、正丙烯基 (-CH<sub>2</sub>CH = CH<sub>2</sub>)、异丙烯基 (-C(CH<sub>3</sub>) = CH<sub>2</sub>)、乙烯基和取代的乙烯基以及类似基团。

[0078] “烯基”是指二价的烯属不饱和烃基基团,特别地具有多达 11 个碳原子并且更特别地 2 至 6 个碳原子,其可以是直链的或者支链的,并且具有至少 1 个以及特别地 1 至 2 个位置的烯属不饱和。这一术语由基团例如亚乙烯基 (-CH = CH-)、亚丙烯基异构体 (诸如 -CH = CHCH<sub>2</sub>- 和 -C(CH<sub>3</sub>) = CH- 和 -CH = C(CH<sub>3</sub>)-) 以及类似基团来例示。

[0079] “炔基”是指炔属不饱和烃基基团,特别地具有多达 11 个碳原子并且更特别地 2 至 6 个碳原子,其可以是直链的或者支链的,并且具有至少 1 个以及特别地 1 至 2 个位置的炔属不饱和。炔基基团的特别的非限制性实例包括乙炔 (acetylenic)、乙炔 (-C ≡ CH)、丙炔 (-CH<sub>2</sub>C = CH) 以及类似基团。

[0080] “烷氧基”是指基团 -OR,其中 R 是烷基。烷基基团具有多达 11 个碳原子,更特别地为低级烷基,1 个至 8 个碳原子并且还更特别地 1 个至 6 个碳原子。特别的烷氧基基团示例性地包括甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、叔丁氧基、仲丁氧基、正戊氧基、正己氧基、1,2-二甲基丁氧基以及类似基团。

[0081] “N-烷基氨基”是指基团 H-NR'-,其中 R' 选自氢和烷基。所述烷基基团具有多达 11 个碳原子,更特别地为低级烷基,1 个至 8 个碳原子并且还更特别地 1 个至 6 个碳原子。

[0082] “烷氧羰基”是指基团 -C(=O)-烷氧基,其中烷氧基如本文所定义。

[0083] “烯丙基”是指基团 H<sub>2</sub>C = C(H)-C(H<sub>2</sub>)-。

[0084] “氨基”是指基团 -NH<sub>2</sub>。

[0085] “芳基”是指任选地取代的芳族烃基基团,例如苯基。

[0086] “芳基氨基”是指基团芳基 -NR'-,其中 R' 选自氢、芳基和杂芳基。

[0087] “Bmt”是指 2(S)-氨基 -3(R)-羟基 -4(R)-甲基 -6(E)-辛烯酸。

[0088] “Cpd”意指化合物。

[0089] “羧基”是指基团 -C(=O)OH。

[0090] “N, N-二烷基氨基”意指基团 -NRR',其中 R 和 R' 独立地代表如本文所定义的烷基、取代的烷基、芳基、取代的芳基、环烷基、取代的环烷基、环杂烷基、取代的环杂烷基、杂芳基或取代的杂芳基基团。

[0091] “卤素”或“卤代”是指氯、溴、氟或碘。

[0092] “杂芳基”是指任选地取代的饱和或不饱和的杂环基团。通常所述杂环包含 4 至 7 个环原子,例如 5 个或 6 个环原子。杂芳基的实例包括噻吩基、呋喃基、吡咯基、噁唑基、噻唑基、吡嗪基、嘧啶基、哒嗪基、噻唑基、噁唑基、咪唑基、吗啉基、吡唑基、四氢呋喃基、噁二唑基、噻二唑基和异噁唑基。

[0093] “羟基”是指基团 -OH。

[0094] “硫代烷基”是指基团 -SR,其中 R 是烷基。所述烷基基团具有多达 11 个碳原子,更特别地为低级烷基,1 个至 8 个碳原子并且还更特别地 1 个至 6 个碳原子。实例包括但不

限于甲硫基、乙硫基、丙硫基、丁硫基以及类似基团。

[0095] “药学上可接受的盐”是指保留其生物学特性并且对药物用途来说是无毒的或不是其它所不期望的本文公开的化合物的任何盐。这些盐可以衍生自本领域中已知的各种有机和无机的平衡离子。这些盐包括：(1) 与有机或无机酸形成的酸加成盐，所述酸例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸、氨基磺酸、乙酸、三氟乙酸、三氯乙酸、丙酸、己酸、环戊基丙酸、乙醇酸、戊二酸、丙酮酸、乳酸、丙二酸、琥珀酸、山梨酸、抗坏血酸、苹果酸、马来酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、3-(4-羟基苯甲酰)苯甲酸、苦味酸、肉桂酸、扁桃酸、邻苯二甲酸、月桂酸、甲磺酸、乙磺酸、1,2-乙烷-二磺酸、2-羟基乙磺酸、苯磺酸、4-氯苯磺酸、2-萘磺酸、4-甲苯磺酸、樟脑酸、樟脑磺酸、4-甲基双环[2.2.2]-辛-2-烯-1-羧酸、葡庚糖酸、3-苯基丙酸、三甲基乙酸、叔丁基乙酸、十二烷基硫酸、葡萄糖酸、苯甲酸、谷氨酸、羧基萘甲酸、水杨酸、硬脂酸、环己氨磺酸、奎宁酸、己二烯二酸以及类似酸或(2) 当母体化合物中存在的酸性质子(a) 由金属离子(例如碱金属离子、碱土金属离子或铵离子)或者碱金属或碱土金属氢氧化物(例如氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化钙、氢氧化镁、氢氧化铝、氢氧化锂、氢氧化锌和氢氧化钡)、氮替代或(b) 与有机碱,例如脂肪有机胺、脂环有机胺或芳族有机胺,诸如铵、甲胺、二甲胺、二乙胺、甲基吡啶、乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、乙二胺、赖氨酸、精氨酸、鸟氨酸、胆碱、N,N'-二苄基乙二胺、氯普鲁卡因、二乙醇胺、普鲁卡因、N-苄基苯乙胺、N-甲基葡萄糖胺哌嗪、三(羟甲基)-甲胺、四甲基氢氧化铵以及类似物配位时形成的盐。

[0096] 盐还仅示例性地包括钠、钾、钙、镁、铵、四烷基铵和类似物以及当化合物包含碱性官能团时,无毒性的有机或无机酸的盐例如氢卤酸盐(诸如盐酸盐和氢溴酸盐)、硫酸盐、磷酸盐、氨基磺酸盐、硝酸盐、乙酸盐、三氟乙酸盐、三氯乙酸盐、丙酸盐、己酸盐、环戊丙酸盐、乙醇酸盐、戊二酸盐、丙酮酸盐、乳酸盐、丙二酸盐、琥珀酸盐、山梨酸盐、抗坏血酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、富马酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、苯甲酸盐、3-(4-羟基苯甲酰)苯甲酸盐、苦味酸盐、肉桂盐、扁桃酸盐、邻苯二甲酸盐、月桂酸盐、甲磺酸盐(methanesulfonate)(甲磺酸盐(mesylate))、乙磺酸盐、1,2-乙烷-二磺酸盐、2-羟基乙磺酸盐、苯磺酸盐(benzenesulfonate)(苯磺酸盐(besylate))、4-氯苯磺酸盐、2-萘磺酸盐、4-甲苯磺酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、4-甲基双环[2.2.2]-辛-2-烯-1-羧酸盐、葡庚糖酸盐、3-苯基丙酸盐、三甲基乙酸盐、叔丁基乙酸、十二烷基硫酸盐、葡萄糖酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、羧基萘甲酸盐、水杨酸盐、硬脂酸盐、环己氨磺酸盐、奎宁酸盐、己二烯二酸盐及类似的盐。

[0097] 术语“药学上可接受的阳离子”是指酸性官能团的无毒的、生理上可接受的阳离子的平衡离子。这些阳离子由钠、钾、钙、镁、铵和四烷基铵阳离子以及类似阳离子来例示。

[0098] “溶剂化物”是指进一步包含由非共价分子间力结合的化学计量或非化学计量的量的溶剂的本文所描述的化合物或其盐。当所述溶剂是水时,溶剂化物是水合物。

[0099] 应当理解的是具有相同分子式但是在它们的原子的键合性质或顺序上或者它们的原子的空间排列上不同的化合物被称为“异构体”。它们的原子在空间排列上不同的异构体被称为“立体异构体”。

[0100] 不是互为镜像的立体异构体被称为“非对映体”而互相为非重叠镜像的那些成为“对映体”。当化合物具有不对称中心时,例如当其与四个不同的基团键合时,一对对映体是可能的。对映体可由其不对称中心的绝对构型来表征并且根据 Cahn 和 Prelog 的规则

(Cahn 等人, 1966, *Angew. Chem.* 78 :413-447, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 5 :385-414 (勘误: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 5 :511); Prelog 和 Helmchen, 1982, *Angew. Chem.* 94 :614-631, *Angew. Chem. Internal. Ed. Engl.* 21 :567-583; Mata 和 Lobo, 1993, *Tetrahedron :Asymmetry* 4 :657-668) 被指定为 (R) 或 (S) 或可通过以分子将偏振光平面旋转的方式来表征, 并且被指定为右旋或左旋 (即, 分别为 (+)- 或 (-)- 异构体)。手性化合物可作为单独的对映体或作为其混合物存在。包含相等比例的对映体的混合物被称为“外消旋混合物”。

[0101] 在某些实施方案中, 本文公开的化合物可具有一个或多个不对称中心; 这些化合物可因此被生产为单独的 (R)- 或 (S)- 对映体或其混合物。除非另外说明, 例如通过在式的任何位置指定立体化学, 说明书和权利要求中的特定的化合物的描述或命名意指包括单独的对映体和其混合物 (外消旋的或其他的)。用于确定立体化学和分离立体异构体的方法是本领域熟知的。在特定的实施方案中, 本发明在用碱处理的基础上提供本文所描绘的化合物的立体异构体。

[0102] 在某些实施方案中, 本文公开的化合物是“立体化学纯的”。立体化学纯的化合物具有本领域的那些技术人员公认为“纯的”立体化学纯度水平。当然, 这一水平的纯度将小于 100%。在某些实施方案中, “立体化学纯的”表明基本上不含可选择的异构体 (alternate isomer) 的化合物。在特定的实施方案中, 化合物是 85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5% 或 99.9% 不含其它异构体。

[0103] “肌氨酸”或“Sar”是指具有结构  $-N(\text{Me})\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})-$  的本领域技术人员已知的氨基酸残基。本领域技术人员可将肌氨酸识别为 N- 甲基甘氨酸。

[0104] 如本文所使用的, 术语“受治疗者”和“患者”在本文被互换使用。术语“一名受治疗者”和“多名受治疗者”是指动物, 在某些实施方案中, 是包含非灵长类 (例如奶牛、猪、马、猫、狗、大鼠和小鼠) 和灵长类 (例如猴类诸如短尾猴、黑猩猩和人类) 和人类的哺乳动物。在另一个实施方案中, 受治疗者是家畜 (例如马、奶牛、猪等) 或宠物 (例如狗或猫)。在一个实施方案中, 受治疗者是人类。

[0105] 如本文所使用的, 术语“一种治疗剂”和“多种治疗剂”是指可被用于治疗、控制或改善病症或其一种或多种症状的任何的剂。在某些实施方案中, 术语“治疗剂”是指本文公开的化合物。在某些其他的实施方案中, 术语“治疗剂”不是指本文公开的化合物。在一个实施方案中, 治疗剂是已知对治疗、控制、预防或改善病症或其一种或多种症状有用或已经被或正被用于治疗、控制、预防或改善病症或其一种或多种症状的剂。

[0106] “治疗上有效的量”意指当被施用于受治疗者以治疗疾病时, 足以影响对疾病的这一治疗的化合物或络合物或组合物的量。“治疗上有效的量”可取决于, 尤其是, 化合物、疾病及其严重程度以及待治疗的受治疗者的年龄、体重等而变化。

[0107] “THF”意指四氢呋喃。

[0108] 在一个实施方案中, 任何疾病或病症的“治疗 (treating)”或“治疗 (treatment)”是指改善存在于受治疗者的疾病或病症。在另一个实施方案中, “治疗 (treating)”或“治疗 (treatment)”是指改善至少一项身体参数, 其可以是受治疗者难以辨别的。在又一个实施方案中, “治疗 (treating)”或“治疗 (treatment)”是指调节身体上 (例如可辨别的症状的稳定) 或生理上 (例如身体参数的稳定) 或两者的疾病或病症。在又一个实施方案中, “治疗 (treating)”或“治疗 (treatment)”是指延迟疾病或病症的发作。

[0109] 如本文所使用的,所用的术语“一种预防剂”和“多种预防剂”是指可被用于病症或其一种或多种症状的预防的任何剂。在某些实施方案中,术语“预防剂”是指本文公开的化合物。在某些实施方案中,术语“预防剂”不是指本文公开的化合物。在一个实施方案中,预防剂是已知对预防或阻止病症的发作、发展、进行和 / 或严重度有用或已经被或正被用于预防或阻止病症的发作、发展、进行和 / 或严重度的剂。

[0110] 如本文所使用的,术语“预防 (prevent)”、“预防 (preventing)”或“预防 (prevention)”是指由施用一种治疗 (例如预防剂或治疗剂) 或施用治疗的组合 (例如预防剂或治疗剂的组合) 产生的受治疗者中病症的一个或多个症状的复发、发作或发展的预防。

[0111] 如本文所使用的,短语“预防上有效的量”意指足以引起与病症相关的一个或多个症状的发展、复发或发作的预防或者增强或增进另一种治疗 (例如另一种预防剂) 的预防效果的治疗 (例如预防剂) 的量。

[0112] 术语“标签”是指在制品的直接容器上的手写、打印或图解内容 (例如在含有药学上活性剂的管瓶上显示的手写资料) 的显示。

[0113] 术语“标志 (labeling)”是指在任何制品或其任何容器或包装纸上或伴随这种制品的所有标签和其他手写、打印或图解内容,例如与药学上活性剂的容器相伴随或有关的包装说明书或指导录像带或 DVD。

[0114] 化合物

[0115] 在一个实施方案中,提供了以上的式 (I) 的化合物,其中:

[0116] A 是 (E)-CH=CHR 或 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>R, 其中 R 代表甲基、-CH<sub>2</sub>SH、-CH<sub>2</sub>(硫代烷基)、-CH<sub>2</sub>(羧基)、-CH<sub>2</sub> 烷氧羰基;

[0117] B 代表乙基、1-羟乙基、异丙基或正丙基;

[0118] R<sup>1</sup> 代表氢、低级烷基、烯丙基或 -XR<sup>10</sup>;

[0119] R<sup>2</sup> 代表 -C(=O)R<sup>21</sup>;

[0120] X 代表 -S(=O)<sub>n</sub>- 或氧,其中 n 是 0、1 或 2;

[0121] R<sup>10</sup> 代表:

[0122] 具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基,其任选地由可以是相同或不同的一个或多个基团 R<sup>3</sup> 取代;

[0123] 具有两个至六个碳原子的直链或支链烯基,其任选地由选自由卤素、羟基、氨基、N-单烷基氨基和 N,N-二烷基氨基所组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代;

[0124] 具有两个至六个碳原子的直链或支链炔基,其任选地由选自由卤素、羟基、氨基、N-单烷基氨基和 N,N-二烷基氨基所组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代;

[0125] 包含从三个至六个碳原子的环烷基,其任选地由选自由卤素、羟基、氨基、N-单烷基氨基和 N,N-二烷基氨基所组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代;

[0126] 或者具有两个至六个碳原子的直链或支链烷氧羰基;

[0127] R<sup>3</sup> 选自由下列组成的组: 卤素; 羟基; 烷氧基; 羧基; 烷氧羰基; -NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>、-NR<sup>6</sup>(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>; 由选自由卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、氰基、氨基、N-烷基氨基和 N,N-二烷基氨基

组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基任选地取代的苯基；以及包含五个或六个环原子和选自由氮、硫和氧组成的组的可以是相同或不同的一个至三个杂原子的饱和或不饱和的杂环，其中所述杂环经由环碳原子与烷基连接；

[0128]  $R^4$  和  $R^5$ ，其可以是相同或不同的，每一个代表：

[0129] 氢；

[0130] 具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基，其任选地由可以是相同或不同的一个或多个基团  $R^7$  取代；

[0131] 具有两个至四个碳原子的直链或支链烯基或炔基；

[0132] 包含三个至六个碳原子的环烷基，其任选地由包含一个至六个碳原子的直链或支链烷基取代；

[0133] 苯基，其任选地由选自由卤素、烷氧基、氰基、烷氧羰基、氨基、烷基氨基和二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个至五个取代基取代的；

[0134] 包含五个或六个环原子和选自由氮、硫和氧组成的组的可以是相同或不同的一个至三个杂原子的饱和或不饱和的杂环，所述杂环可任选地由选自由卤素、烷氧基、氰基、烷氧羰基、氨基、烷基氨基和二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

[0135] 或  $R^4$  和  $R^5$  与它们所连接的氮原子一起形成包含四个至六个环原子的饱和或不饱和的杂环，所述环可任选地包含选自由氮、氧和硫组成的组的另一个杂原子并且可任选地由选自由烷基、苯基和苄基组成的组的可以是相同或不同的一个至四个取代基取代；

[0136]  $R^6$  代表氢或具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基；

[0137]  $R^7$  代表卤素、羟基、羧基、烷氧羰基或  $-NR^8R^9$ ；

[0138]  $R^8$  和  $R^9$ ，其可以是相同或不同的，每一个代表氢或具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基；

[0139]  $R^{21}$  代表：

[0140] 氢，或具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基，其任选地由可以是相同或不同的一个或多个基团  $R^{22}$  取代；

[0141] 具有两个至六个碳原子的直链或支链烯基，其任选地由选自由卤素、羟基、羧基、氨基、N-单烷基氨基和 N, N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

[0142] 具有两个至六个碳原子的直链或支链炔基，其任选地由选自由卤素、羟基、羧基、氨基、N-单烷基氨基和 N, N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

[0143] 包含三个至六个碳原子的环烷基，其任选地由选自由卤素、羟基、羧基、氨基、N-单烷基氨基和 N, N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

[0144] 氨基羰基、N-单（低级烷基）氨基羰基或 N, N-二（低级烷基）氨基羰基；苯基，其任选地由选自由卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、氰基、硝基、氨基、N-烷基氨基和 N, N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

[0145] 或包含四个至六个环原子和选自由氮、硫和氧组成的组的可以是相同或不同的一个至三个杂原子的饱和或不饱和的杂环，所述杂环可任选地由选自由卤素、烷氧基、氰基、

烷氧羰基、氨基、烷基氨基和二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

[0146]  $R^{22}$  代表：

[0147] 卤素；羟基；烷氧基；羧基；烷氧羰基；氨基；N-单烷基氨基；N,N-二烷基氨基； $-S(=O)_p$  烷基； $-S(=O)_p$  芳基；包含三个至六个碳原子的环烷基，其任选地由选自由卤素、羟基、氨基、N-单烷基氨基和 N,N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；苯基，其任选地由选自由卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、氰基、氨基、N-烷基氨基和 N,N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；或杂环，其可以是饱和或不饱和的，包含四个、五个或六个环原子和选自由氮、硫和氧组成的组的可以是相同或不同的一个至三个杂原子，所述杂环可任选地由选自由卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、氰基、氨基、N-烷基氨基和 N,N-二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代；

[0148] p 是 0、1 或 2；

[0149] m 是从 2 到 4 的整数；

[0150] 或其药学上可接受的盐或溶剂化物。

[0151] 在某些实施方案中，A 代表  $(E)-CH=CHR$ 。在一个另外的实施方案中，A 代表  $-CH_2CH_2R$ 。在一个实施方案中，A 代表  $(E)-CH=CHR$ 。

[0152] 在一个实施方案中，A 是  $(E)-CH=CHR$  或  $-CH_2CH_2R$ ，其中 R 代表甲基， $-CH_2SH$ 、 $-CH_2$ （硫代烷基）、 $-CH_2$ （羧基）或  $-CH_2$ （烷氧羰基）。

[0153] 在一个实施方案中，R 代表甲基。

[0154] 在一个实施方案中，B 代表乙基。

[0155] 在一个实施方案中， $R^1$  代表氢或  $-XR^{10}$ 。在另一个实施方案中， $R^1$  代表甲基。

[0156] 在某些实施方案中， $R^{10}$  代表具有一个至四个碳原子的直链或支链烷基，其任选地由基团  $R^3$  取代。在一个另外的实施方案中， $R^{10}$  代表甲基或乙基，其任选地由基团  $R^3$  取代。在一个另外的实施方案中， $R^{10}$  代表由基团  $R^3$  取代的乙基。在另一个实施方案中， $R^{10}$  代表甲基。

[0157] 在某些实施方案中， $R^3$  代表  $-NR^4R^5$ ，其中  $R^4$  和  $R^5$  可以是相同或不同的，每一个代表氢或具有一个至四个碳原子的直链或支链烷基。在另外的实施方案中， $R^3$  代表  $-NR^4R^5$ ，其中  $R^4$  和  $R^5$  每一个代表甲基或乙基。在又一个另外的实施方案中， $R^3$  代表  $-NR^4R^5$ ，其中  $R^4$  和  $R^5$  每一个代表甲基。

[0158] 在一些实施方案中，X 是氧或硫或氮。在某些实施方案中，X 是氧或硫。在另外的实施方案中，X 是氧。在还有另外的实施方案中，X 是硫。

[0159] 在某些实施方案中， $R^{21}$  代表具有一个至四个碳原子的直链或支链烷基，其任选地由一个或多个基团  $R^{22}$  取代。在一个另外的实施方案中， $R^{21}$  代表甲基，其任选地由基团  $R^{22}$  取代。在又一个另外的实施方案中， $R^{21}$  代表甲基。

[0160] 在一个另外的实施方案中， $R^{21}$  代表：

[0161] 具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基，其任选地由可以是相同或不同的一个或多个基团  $R^{22}$  取代；

[0162] 具有三个至六个碳原子的直链或支链烯基；

[0163]  $-OR^{11}$ 、 $-SR^{11}$  或  $-NR^{12}R^{13}$ 。

[0164] 在一个实施方案中,  $R^{22}$  代表烷氧基、氨基、N- 单烷基氨基或 N, N- 二烷基氨基。在另外的实施方案中,  $R^{22}$  代表氨基、N- 单烷基氨基或 N, N- 二烷基氨基。在又一个另外的实施方案中,  $R^{22}$  代表 N, N- 二烷基氨基。在又一个另外的实施方案中,  $R^{22}$  代表 N, N- 二甲基氨基或 N, N- 二乙基氨基。

[0165] 在一个实施方案中,  $R^{11}$  代表:

[0166] 具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基, 其任选地由基团  $R^{23}$  取代; 或苯基, 其任选地由选自由卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、氰基、硝基、氨基、N- 烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代。

[0167] 在一个实施方案中,  $R^{23}$  代表苯基, 其任选地由选自由卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、氰基、氨基、N- 烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代。在另一个实施方案中,  $R^{23}$  代表 N, N- 二烷基氨基, 或任选地由 N, N- 二烷基氨基取代的苯基。

[0168] 在某些实施方案中,  $R^{12}$  和  $R^{13}$  可以是相同或不同的, 每一个代表:

[0169] 氢;

[0170] 具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基;

[0171] 具有二个至六个碳原子的直链或支链烯基;

[0172] 苄基, 其中苯环任选地由选自由卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、氰基、硝基、氨基、N- 烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代。

[0173] 或  $R^{12}$  和  $R^{13}$  与它们所连接的氮原子一起形成包含四个至六个环原子的饱和杂环, 所述环可任选地包含选自由氮、氧和硫组成的组的另一个杂原子并且可任选地由可以是相同或不同的一个或多个基团烷基取代;

[0174] 在另一个实施方案中,  $R^{12}$  和  $R^{13}$  可以是相同或不同的, 每一个代表: 氢; 具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基; 具有三个至六个碳原子的直链或支链烯基; 苄基, 其中苯环任选地由选自由卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、氰基、硝基、氨基、N- 烷基氨基和 N, N- 二烷基氨基组成的组的可以是相同或不同的一个或两个取代基取代; 或  $R^{12}$  和  $R^{13}$  与它们所连接的氮原子一起形成包含四个至六个环原子的饱和杂环, 所述环可任选地包含另一个氮原子并且任选地由可以是相同或不同的一个或多个基团烷基取代。

[0175] 在又一个实施方案中,  $R^{12}$  和  $R^{13}$  可以是相同或不同的, 每一个代表: 氢; 具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基, 其任选地由选自由氨基、N- 单烷基氨基、N, N- 二烷基氨基、羟基、烷氧基、硫代烷基、羧基和烷氧羰基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代; 具有三个至六个碳原子的直链或支链烯基; 苄基, 其中苯环任选地由烷氧基取代; 或  $R^{12}$  和  $R^{13}$  与它们所连接的氮原子一起形成包含四个至六个环原子的饱和杂环, 所述环可任选地包含另一个氮原子并且任选地由可以是相同或不同的一个或多个基团烷基取代。

[0176] 在某些实施方案中, 提供式 (I) 的化合物, 其中 A 代表  $(E)-CH=CHCH_3$ ; B 代表乙基;  $R^1$  代表氢或  $-XR^{10}$ ; X 代表氧或硫;  $R^{10}$  代表烷基 (例如甲基); 并且  $R^{21}$  代表具有一个至四个碳原子的直链或支链烷基, 其任选地由一个或多个基团  $R^{22}$  取代。在一个另外的实施方案中,  $R^{21}$  代表甲基, 其任选地由基团  $R^{22}$  取代。在又一个实施方案中,  $R^{21}$  代表甲基。



[0177] 在某些实施方案中,提供式 (I) 的化合物,其中 A 代表 (E)-CH = CHCH<sub>3</sub>;B 代表乙基;R<sup>1</sup> 代表氢或 -XR<sup>10</sup>;X 代表氧或硫;R<sup>10</sup> 代表烷基(例如甲基);R<sup>21</sup> 代表具有一个至四个碳原子的直链或支链烷基,其任选地由一个或多个基团 R<sup>22</sup> 取代;并且 R<sup>22</sup> 代表烷氧基、氨基、N-单烷基氨基或 N,N-二烷基氨基。在另外的实施方案中,R<sup>22</sup> 代表氨基、N-单烷基氨基或 N,N-二烷基氨基。在又一个另外的实施方案中,R<sup>22</sup> 代表 N,N-二烷基氨基。在又一个另外的实施方案中,R<sup>22</sup> 代表 N,N-二甲基氨基或 N,N-二乙基氨基。

[0178] 在某些实施方案中,提供式 (I) 的化合物,其中 A 代表 (E)-CH = CHCH<sub>3</sub>;B 代表乙基;R<sup>1</sup> 代表氢或 -XR<sup>10</sup>;X 代表氧或硫;R<sup>10</sup> 代表烷基(例如甲基);R<sup>21</sup> 代表低级烷基,其任选地由基团 R<sup>22</sup> 取代;并且 R<sup>22</sup> 代表 N,N-二烷基氨基(例如 N,N-二甲基氨基或 N,N-二乙基氨基)。

[0179] 在某些实施方案中,有提供式 (I) 的化合物,其中:

[0180] A 代表 (E)-CH = CHCH<sub>3</sub>;

[0181] B 代表乙基;

[0182] R<sup>1</sup> 代表氢或 -XR<sup>10</sup>;

[0183] X 代表氧或硫;

[0184] R<sup>10</sup> 代表烷基(例如甲基);

[0185] R<sup>21</sup> 代表:

[0186] 具有一个至四个碳原子的直链或支链烷基,其任选地由基团 R<sup>22</sup> 取代;

[0187] -OR<sup>11</sup>、-SR<sup>11</sup> 或 -NR<sup>12</sup>R<sup>13</sup>;

[0188] R<sup>11</sup> 代表由硝基取代的苯基;或苄基;

[0189] R<sup>12</sup> 和 R<sup>13</sup> 可以是相同或不同的,每一个代表:

[0190] 氢;具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基,其任选地由选自由氨基、N-单烷基氨基、N,N-二烷基氨基、羟基、烷氧基、硫代烷基、羧基和烷氧羰基组成的组的可以是相同或不同的一个或多个取代基取代;

[0191] 具有两个至四个碳原子的直链或支链烯基;

[0192] 或 R<sup>12</sup> 和 R<sup>13</sup> 与它们所连接的氮原子一起形成包含四个至六个环原子的饱和杂环,所述环可任选地包含另一个氮原子并且可任选地由烷基(例如甲基)取代。

[0193] R<sup>22</sup> 代表 N,N-二烷基氨基(例如 N,N-二甲基氨基);以及

[0194] R<sup>23</sup> 代表任选地由烷氧基(例如甲氧基)取代的苯基;或 R<sup>23</sup> 代表 N,N-二烷基氨基(例如 N,N-二甲基氨基)。

[0195] 在一个实施方案中,本文提供的式 (I) 的化合物选自下列:

[0196]

| Cpd | 名称  |
|-----|---|
| A   | [(R)-甲氧基-Sar] <sup>3</sup> [4'-乙酰氧基-N-甲基亮氨酸] <sup>4</sup> 环孢菌素 A            |
| B   | [(R)-甲硫基-Sar] <sup>3</sup> [4'-N,N'-二甲基氨基乙酰氧基-N-甲基亮氨酸] <sup>4</sup> -环孢菌素 A |
| C   | [4'-N,N'-二甲基氨基乙酰氧基-N-甲基亮氨酸] <sup>4</sup> 环孢菌素 A                             |
| D   | [4'-N,N'-二乙基氨基乙酰氧基-N-甲基亮氨酸] <sup>4</sup> 环孢菌素 A                             |
| E   | [4'-乙酰氧基-N-甲基亮氨酸] <sup>4</sup> 环孢菌素 A                                       |
| F   | [4'-三甲基乙酰氧基-N-甲基亮氨酸] <sup>4</sup> 环孢菌素 A                                    |
| G   | [4'-丙酰氧基-N-甲基亮氨酸] <sup>4</sup> 环孢菌素 A                                       |
| H   | [4'-丁酰氧基-N-甲基亮氨酸] <sup>4</sup> 环孢菌素 A                                       |
| I   | [4'-异丁酰氧基-N-甲基亮氨酸] <sup>4</sup> 环孢菌素 A                                      |
| J   | [4'-(反式-2-甲基-2-丁烯酰基)氧基-N-甲基亮氨酸] <sup>4</sup> 环孢菌素 A                         |
| K   | [4'-羟基-N-甲基亮氨酸] <sup>4</sup> 环孢菌素 A 对硝基苯基-4'-碳酸酯                            |
| L   | [4'-羟基-N-甲基亮氨酸] <sup>4</sup> 环孢菌素 A N,N-二甲基-4'-氨基甲酸酯                        |
| M   | [4'-羟基-N-甲基亮氨酸] <sup>4</sup> 环孢菌素 A N,N-二乙基-4'-氨基甲酸酯                        |
| N   | [4'-羟基-N-甲基亮氨酸] <sup>4</sup> 环孢菌素 A N-甲基-4'-氨基甲酸酯                           |
| O   | [4'-羟基-N-甲基亮氨酸] <sup>4</sup> 环孢菌素 A N-乙基-4'-氨基甲酸酯                           |
| P   | [4'-羟基-N-甲基亮氨酸] <sup>4</sup> 环孢菌素 A N-烯丙基-4'-氨基甲酸酯                          |

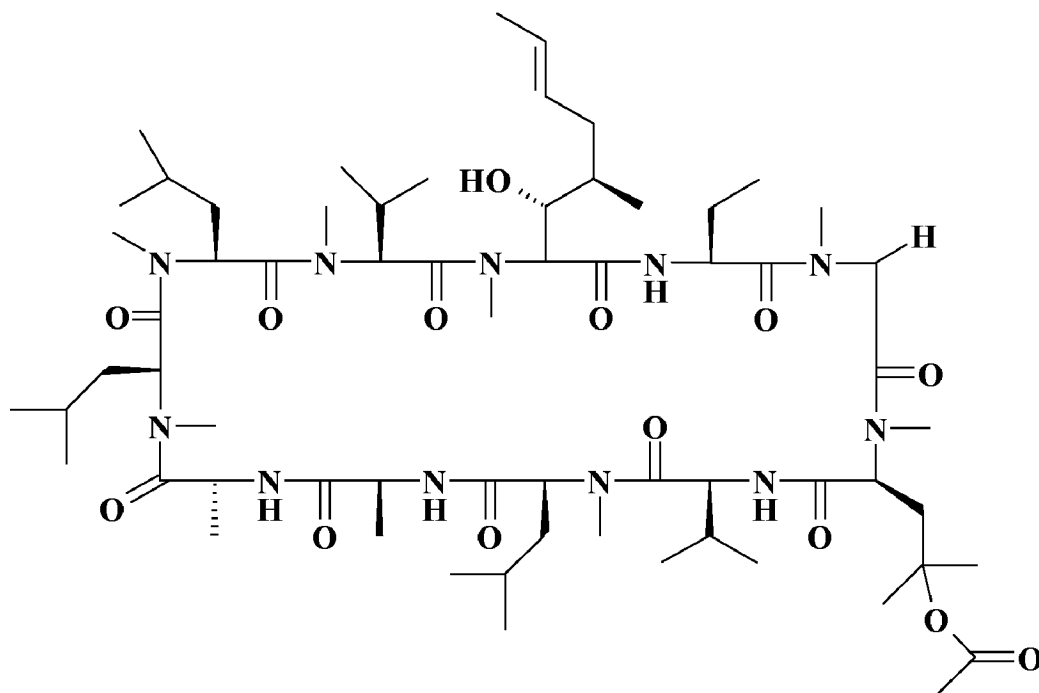
[0197]

- Q [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A N-(正丁基)-4'-氨基甲酸酯
- R [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A N-(正己基)-4'-氨基甲酸酯
- S [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A N-苄基-4'-氨基甲酸酯
- T [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A N-(对甲氧基苄基)-4'-氨基甲酸酯
- U [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A 氮杂环丁烷-4'-氨基甲酸酯
- V [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A 吡咯烷-4'-氨基甲酸酯
- W [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A 哌啶-4'-氨基甲酸酯
- X [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A S-苄基-4'-硫代碳酸酯
- Y [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A 4-甲基-1-哌嗪-4'-氨基甲酸酯
- Z [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A N,N-二甲基乙二胺-4'-氨基甲酸酯

[0198] 字母 A 至 Z 被用来在下文中表明上文的化合物。

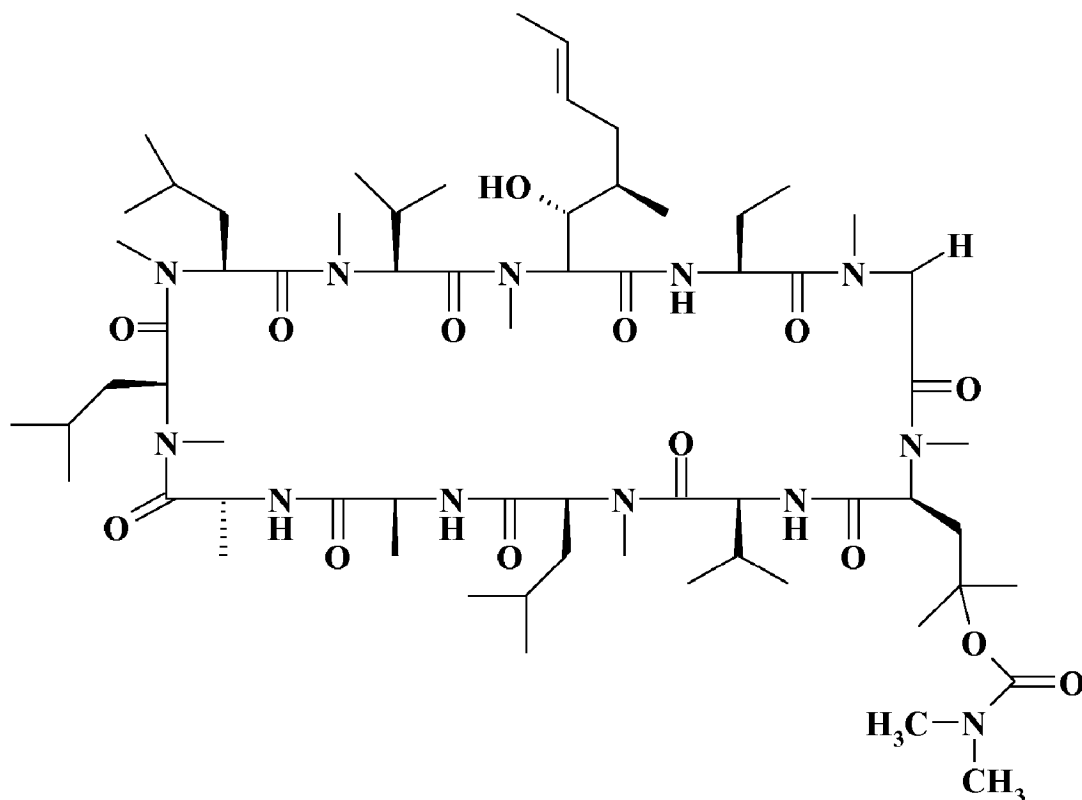
[0199] 上文描述的化合物 A 至 J 称为母体结构的环孢菌素的 A 的衍生物,且化合物 K 至 Z 称为碳酸盐和氨基甲酸盐衍生物。应当理解的是这些化合物可根据使用不同母体结构的可选择的命名法来命名。例如,化合物 E,命名为 [4'-乙酰氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A 也可被命名为 [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A 4'-乙酸酯并且是下式的化合物:

[0200]



[0201] 而化合物 L, 命名为 [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup> 环孢菌素 A N,N-二甲基-4'-氨基甲酸酯, 也可被命名为 [4'-(N,N-二甲基氨基羰基)氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup> 环孢菌素 A 并且是下式的化合物。

[0202]

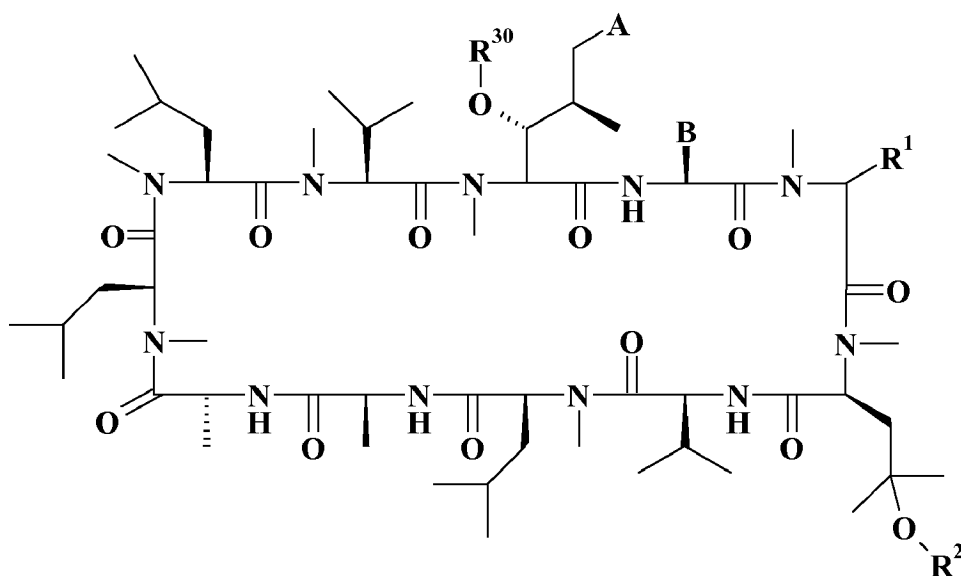


[0203] 式 (I) 的化合物可通过对本领域技术人员来说显然的任何方法来制备、分离或获得。在下文的实施例中详细描述了制备的示例性方法。

[0204] 根据本发明的一个特征, 式 (I) 的化合物可通过式 (II) 的化合物的脱保护以用氢

替代保护基团来制备：

[0205]



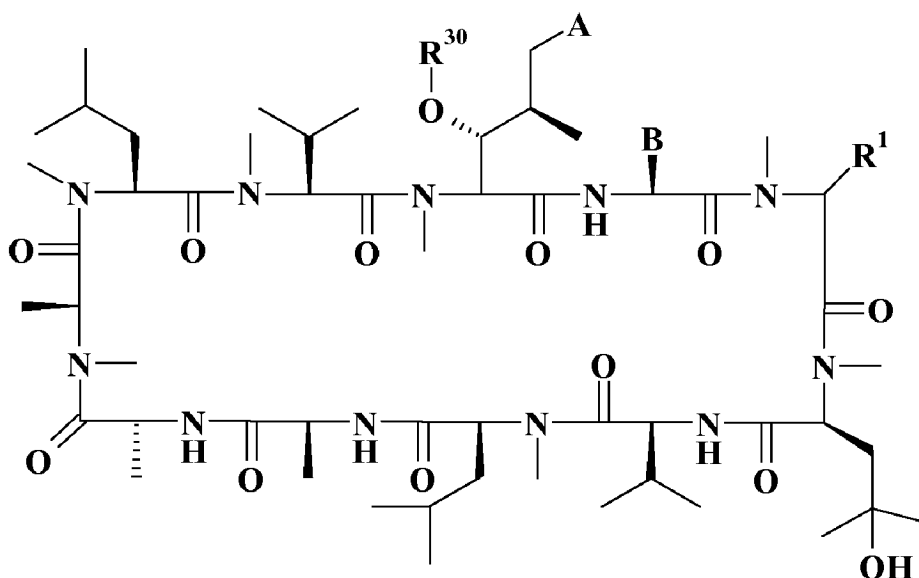
(II)

[0206] 其中  $R^{30}$  代表保护基团。保护基团可以是可被选择性地去除的任何基团，例如酰基保护基团（诸如乙酰基、三氯乙酰基）或苯甲酰基基团。反应在允许去除保护基团而同时具有对其他基团的最小影响的条件下发生。例如，当保护基团是乙酰基时，保护基团可通过与金属醇盐例如甲氧基钠的反应来去除。当  $R^2$  和  $R^{30}$  每一个代表酰基时，则  $R^{30}$  可用氢替代而不影响  $R^2$ 。产品可通过结晶或按照使用硅胶或反相介质的色谱程序直接分离。

[0207] 在某些实施方案中，本文提供了式 (II) 的化合物，其中当  $R^2$  和  $R^{30}$  同时代表乙酰基时，则  $R^1$  不是氢、硫代甲基、甲氧基、乙酰氧基或亚乙基-(2,2-二乙基氨基)。

[0208] 上文的式 (II) 的化合物可通过将式 (III) 的化合物：

[0209]



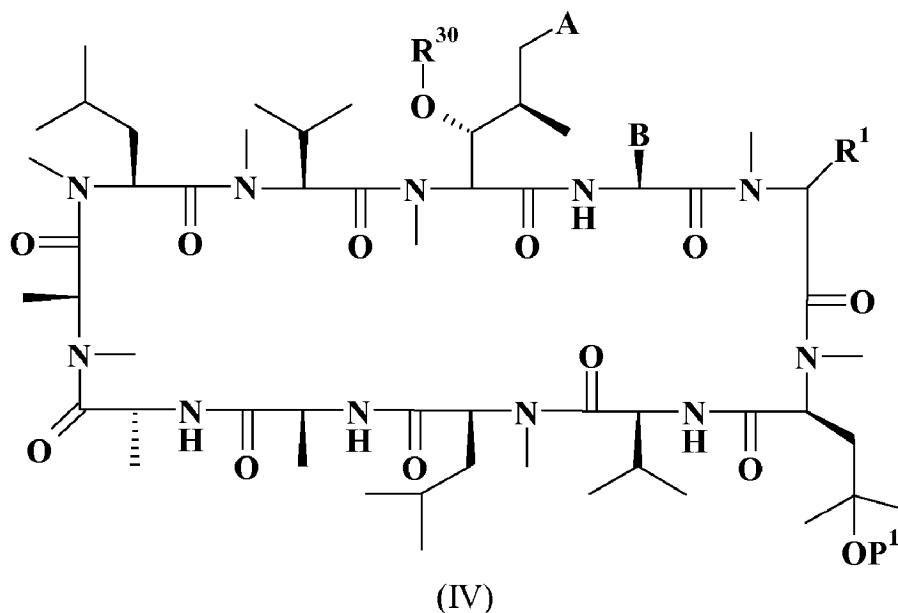
(III)

[0210] 在碱（例如吡啶）和亲核催化剂例如 N,N-二甲基氨基吡啶存在下，在溶剂诸如二氯甲烷中，于约  $0^{\circ}\text{C}$  和约  $25^{\circ}\text{C}$  之间的温度下与式  $(R^{21}\text{CO})_2\text{O}$  的酸酐反应来制备。可选择地，

式 (III) 的化合物可在碱例如三乙基胺存在下, 在溶剂诸如二氯甲烷中, 于约 0°C 和约 25°C 之间的温度与酰卤 ( $R^{21}COCl$ ) 反应。用于任一种酰化方法的其他溶剂包括甲苯、四氢呋喃、乙酸乙酯和甲基叔丁基醚。在某些实施方案中, 本文提供的是式 (III) 的化合物。

[0211] 上文的式 (III) 的化合物, 其中  $R^{30}$  代表保护基团 (例如乙酰基、三氯乙酰基) 或苯甲酰基, 可通过将式 (IV) 的化合物:

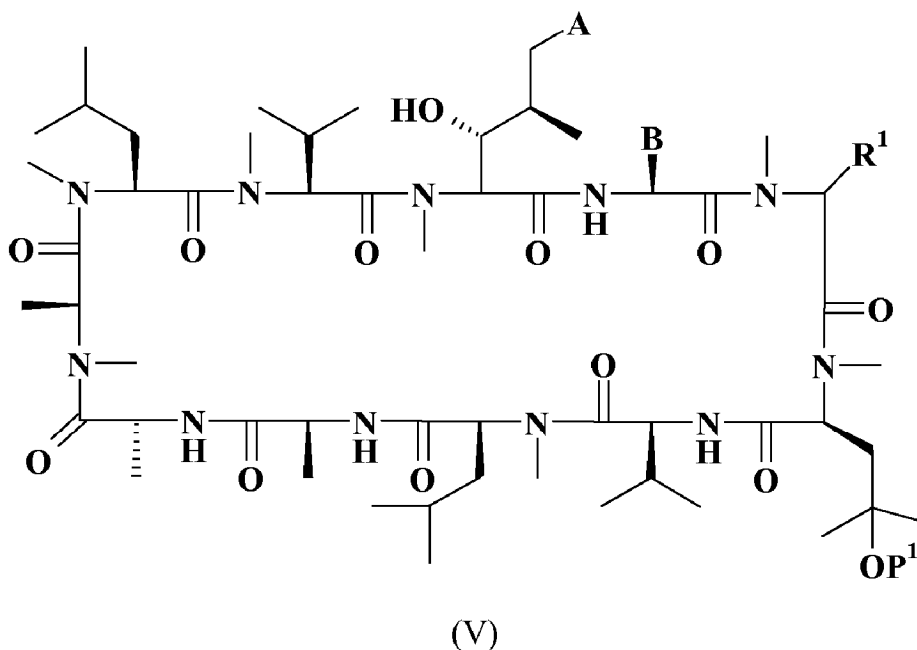
[0212]



[0213] 其中  $P^1$  代表保护基团, 例如甲硅烷基 (诸如三甲基甲硅烷基、三乙基甲硅烷基、三异丙基甲硅烷基或叔丁基二甲基甲硅烷基), 用四烷基卤化铵例如四丁基氟化铵或在酸性条件下脱保护来制备。在某些实施方案中, 本文提供的是式 (IV) 的化合物。

[0214] 上文的式 (IV) 的化合物可通过将式 (V) 的化合物:

[0215]

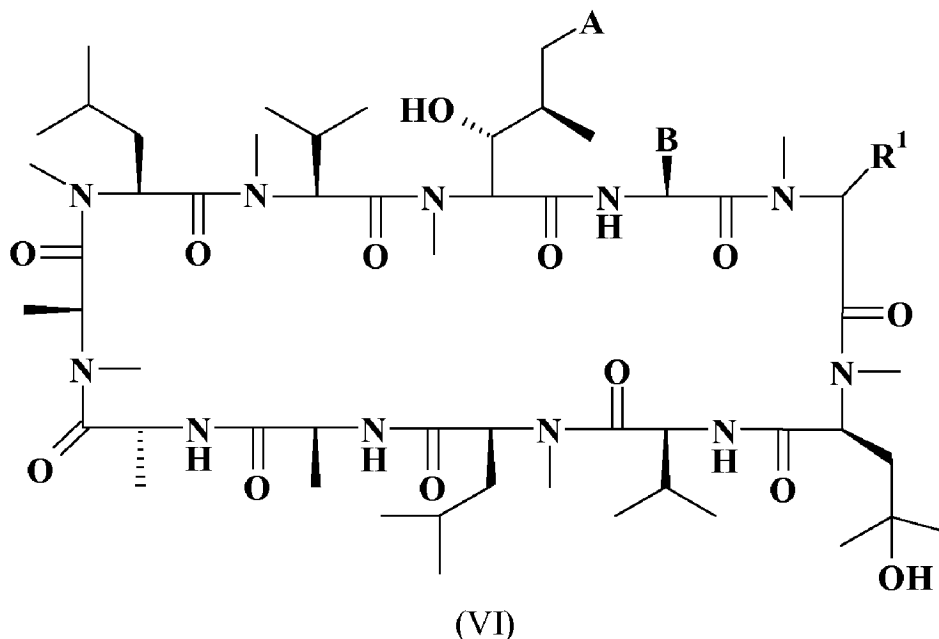


[0216] 其中  $P^1$  代表保护基团, 例如甲硅烷基基团 (诸如三甲基甲硅烷基、三异丙基甲硅烷基或叔丁基二甲基甲硅烷基) 在碱 (例如吡啶) 和亲核催化剂例如  $N,N$ -二甲基氨基吡啶

存在下,在溶剂诸如二氯甲烷中,于约 0°C 和约 25°C 之间的温度用式  $(R^{21}CO)_2O$  的酸酐处理来制备。可选择地,式 (V) 的化合物可在碱例如三乙基胺存在下,在溶剂诸如二氯甲烷中,于约 0°C 和约 25°C 之间的温度与酰卤  $(R^{21}COCl)$  反应。用于任一种酰化方法的其他溶剂包括甲苯、四氢呋喃、乙酸乙酯和甲基叔丁基醚。在某些实施方案中,本文提供的是式 (V) 的化合物。

[0217] 上文的式 (V) 的化合物可通过使式 (VI) 的化合物:

[0218]



[0219] 与甲硅烷基氯化物(诸如三甲基甲硅烷基氯化物)或甲硅烷基三氟甲磺酸酯(例如三异丙基甲硅烷基三氟甲磺酸酯或叔丁基二甲基甲硅烷基三氟甲磺酸酯)在碱(例如吡啶、2,6-二甲基吡啶或三乙胺)和亲核催化剂例如 N,N-二甲基氨基吡啶存在下,在溶剂诸如二氯甲烷中,于约 0°C 和约 25°C 之间的温度下反应来制备。所述反应通常伴随高水平的区域选择性而发生。

[0220] 根据本发明的一个另外的特征,式 (I) 的化合物可通过将上文的式 (VI) 的化合物与式  $(R^{21}CO)_2O$  的酸酐在金属催化剂存在下反应来制备。金属催化剂的实例包括铋(III)化合物,例如三氟甲磺酸铋(III);钪(III)化合物,例如三氟甲磺酸钪;镱(III)化合物,例如三氟甲磺酸镱;甲硅烷基化合物,例如三甲基甲硅烷基三氟甲磺酸酯;有机锡催化剂(通常在对于选择性酰化反应来说温和的温和条件下);卤化锌(II),例如氯化锌。优选地使用铋(III)化合物,例如三氟甲磺酸铋(III)来进行反应。通常使用式  $(R^{21}CO)_2O$  的酸酐本身作为溶剂或在非质子溶剂中进行反应。溶剂的实例包括二氯甲烷、甲苯、乙腈和四氢呋喃(THF)。通常在约 -20°C 至 80°C,优选地约 0°C 至约 25°C 的温度来进行反应。

[0221] 式 (VI) 的化合物可根据本领域技术人员已知的方法来制备,例如在美国专利第 5,948,884、5,994,299 和 6,583,265 号和国际专利公开第 W099/32512 和 W099/67280 号中描述的方法。这些参考文献的内容通过引用全文并入本文。

[0222] 根据本发明的一个另外的特征,通式 (I)、(II)、(III)、(IV) 或 (V) 的化合物(其中 X 是硫)可通过用强碱处理通式 (I)、(II)、(III)、(IV) 或 (V) 的相应的化合物(其中  $XR^{10}$  被氢替代)以形成聚阴离子并且之后用硫亲电子试剂处理聚阴离子以引入基团  $-SR^{10}$

来制备。这种硫亲电子试剂的实例包括式  $R^{10}-S-S-R^{10}$  的二硫化物或式  $R^{10}-S-Hal$  的硫基卤，其中  $Hal$  是卤素。通常反应在惰性气氛（例如氮或氩）中于低温（例如约  $-80^{\circ}C$  至约  $-35^{\circ}C$ ）并且在惰性溶剂尤其是非质子溶剂例如四氢呋喃、二氧六环、叔丁基甲基醚和乙醚中进行。有效的碱的实例包括二异丙酰胺锂（LDA）、LDA/正丁基锂、氨基化钠/氨和  $N,N$ -三甲基甲硅烷胺锂/氯化铯。加入硫亲电子试剂之后，在后处理之前温度逐渐被提高至环境温度。

[0223] 根据本发明的一个另外的特征，通式 (I)、(II)、(III)、(IV) 或 (V) 的化合物（其中  $X$  是氧）可通过 1) 用过量的式  $Ar-(\text{亚烷基})-OH$  的适当的醇在适合的溶剂中处理式 (I)、(II)、(III)、(IV) 或 (V) 的相应的化合物（其中  $X$  是硫）或 2) 用乙酸汞在乙酸中处理式 (I)、(II)、(III)、(IV) 或 (V) 的相应的化合物（其中  $X$  是硫），之后加入过量的式  $R^{10}-OH$  的醇来制备。反应通常由 Bronsted 酸实施，并且于升高的温度（例如  $50^{\circ}C$  至  $60^{\circ}C$ ）在惰性试剂例如四氢呋喃和二氧六环存在下来进行。供质子酸的实例包括硫酸、盐酸、甲苯磺酸和樟脑磺酸。在一个实施方案中，在乙酸中的乙酸汞被用来产生基本上对映体纯的  $R$  异构体。

[0224] 根据本发明的一个另外的特征，通式 (I)、(II)、(III)、(IV) 或 (V) 的化合物（其中  $X$  是  $-S(O)_n$  并且  $n$  是 1 或 2，或者  $R^{22}$  是  $-S(=O)_p$  烷基或  $1-S(=O)_p$  芳基并且  $p$  是 1 或 2），使用氧化剂在惰性溶剂中并且于  $0^{\circ}C$  至溶剂的回流温度的温度下氧化式 (I)、(II)、(III)、(IV) 或 (V) 的相应的化合物（其中  $X$  是硫或者  $R^{22}$  是硫代烷基或硫芳基）。可使用有机或无机氧化剂将有机硫化物氧化为亚砷或砷。用于这一转化的重要的氧化剂包括过氧化氢、铬酸、硝酸、二氧化锰、臭氧、过酸、二氧化硒、高碘酸钠、间氯过氧苯甲酸、高碘试剂、高硼酸纳和四氧化二氮。通常使用卤化的溶剂，例如氯仿或二氯甲烷，或者卤化的溶剂和醇的溶剂混合物。金属催化剂例如  $Sc(OTf)_3$ 、钨酸钠和  $VO(acac)_2$  可被用来促进氧化。脲过氧化氢可被用来替代过氧化氢。亚砷还可通过在使用相转移催化剂的非均质条件下用高碘酸钠氧化硫化物来制得。

[0225] 式 (II) 的化合物（其中  $R^1$  代表  $-XR^{10}$  且  $R^{10}$  代表由可以是相同或不同的一个或多个基团  $R^3$  取代的具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基且  $R^3$  是  $-NR^4R^5$  和  $-NR^6(CH_2)_mNR^4R^5$ ）通过进行羟基的选择性氧化以及之后的用式  $NR^4R^5$  和  $-NR^6(CH_2)_mNR^4R^5$  的化合物的还原氨化来从相应的式 (II) 的化合物（其中  $R^{10}$  代表由一个或多个羟基取代的具有一个至六个碳原子的直链或支链烷基）制备。选择性氧化可使用例如戴斯-马丁氧化剂、氯铬酸吡啶鎓、二铬酸吡啶鎓、2,2,6,6-四甲基哌啶基氧（Tetramethylpiperidinyloxy）、四丙基高钷酸铵或  $N$ -甲基吗啉  $N$  氧化物来进行。

[0226] 如上文所讨论的，本文公开的化合物为中性形式或盐形式。盐形式可以是本领域的那些技术人员已知的任何盐形式。尤其有用的盐形式是与磷酸盐、柠檬酸盐、乙酸盐、氯化物、甲磺酸盐或丙酸盐配位的那些。

[0227] 当用碱性部分取代本文公开的化合物时，可形成酸加成盐。可被用于制备酸加成盐的酸是如下的酸：包括当与游离碱结合时产生药学上可接受的盐即在药学剂量的盐中的阴离子对受治疗者无毒的盐。本发明范围内的药学上可接受的盐是来自于下列酸的那些盐：无机酸例如盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸、氨基磺酸和硝酸；和有机酸例如乙酸、三氟乙酸、三氯乙酸、丙酸、己酸、环戊基丙酸、乙醇酸、戊二酸、丙酮酸、乳酸、丙二酸、琥珀酸、山梨酸、抗坏血酸、苹果酸、马来酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、3-(4-羟基苯甲酰)苯甲酸、



苦味酸、肉桂酸、扁桃酸、邻苯二甲酸、月桂酸、甲磺酸、乙磺酸、1,2-乙烷-二磺酸、2-羟基乙磺酸、苯磺酸、4-氯苯磺酸、2-萘磺酸、4-甲苯磺酸、樟脑酸、樟脑磺酸、4-甲基双环[2.2.2]-辛-2-烯-1-羧酸、葡庚糖酸、3-苯基丙酸、三甲基乙酸、叔丁基乙酸、十二烷基硫酸、葡萄糖酸、苯甲酸、谷氨酸、羟基萘甲酸、水杨酸、硬脂酸、环己氨磺酸、奎宁酸、己二烯二酸以及类似酸。

[0228] 相应的酸加成盐包括氢卤酸盐(诸如盐酸盐和氢溴酸盐)、硫酸盐、磷酸盐、氨基磺酸盐、硝酸盐、乙酸盐、三氟乙酸盐、三氯乙酸盐、丙酸盐、己酸盐、环戊丙酸盐、乙醇酸盐、戊二酸盐、丙酮酸盐、乳酸盐、丙二酸盐、琥珀酸盐、山梨酸盐、抗坏血酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、富马酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、苯甲酸盐、3-(4-羟基苯甲酰)苯甲酸盐、苦味酸盐、肉桂盐、扁桃酸盐、邻苯二甲酸盐、月桂酸盐、甲磺酸盐(methanesulfonate)(甲磺酸盐(mesylate))、乙磺酸盐、1,2-乙烷-二磺酸盐、2-羟基乙磺酸盐、苯磺酸盐(benzenesulfonate)(苯磺酸盐(besylate))、4-氯苯磺酸盐、2-萘磺酸盐、4-甲苯磺酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、4-甲基双环[2.2.2]-辛-2-烯-1-羧酸盐、葡庚糖酸盐、3-苯基丙酸盐、三甲基乙酸盐、叔丁基乙酸、十二烷基硫酸盐、葡萄糖酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、羟基萘甲酸盐、水杨酸盐、硬脂酸盐、环己氨磺酸盐、奎宁酸盐、己二烯二酸盐及类似物。

[0229] 根据本发明的一个另外的特征,本文公开的化合物例如式(I)的化合物的酸加成盐可通过应用或适用已知的方法通过用适当的酸与游离碱反应来制备。例如本发明的化合物的酸加成盐的制备可通过将游离碱溶解于含有适当的酸的水溶液或水-醇溶液或其它适合的溶剂中并且通过蒸发溶液分离盐,或通过将游离碱和酸在有机溶剂中反应,这一实例中盐直接分离或可通过溶液的浓缩获得。

[0230] 本文公开的化合物例如式(I)的化合物的酸加成盐可通过应用或适用已知的方法从盐再生。例如制备式(I)的化合物的母体化合物可通过用碱诸如碳酸氢钠水溶液或氨水溶液处理而从它们的酸加成盐再生。

[0231] 当用酸性部分取代本文公开的化合物例如式(I)的化合物时,可形成碱加成盐。本发明范围内的药学上可接受的盐包括例如碱金属和碱土金属盐是从下列碱衍生的那些:氯化钠、氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化钙、氢氧化镁、氢氧化铝、氢氧化锂、氢氧化锌、氢氧化钡和有机胺例如脂肪族有机胺、脂环族有机胺或芳族有机胺,诸如氨、甲胺、二甲胺、二乙胺、甲基吡啶、乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、乙二胺、赖氨酸、精氨酸、鸟氨酸、胆碱、N,N'-二苄基乙二胺、氯普鲁卡因、二乙醇胺、普鲁卡因、N-苄基苯乙胺、N-甲基葡萄糖胺、哌嗪、三(羟甲基)-氨基甲烷、四甲基氢氧化铵和类似物。

[0232] 本文公开的化合物例如式(I)的化合物的金属盐可通过将所选择的金属的氢化物、氢氧化物、碳酸盐或类似的活性化合物在水溶剂或有机溶剂中与游离酸形式的化合物接触来获得。所使用的含水溶剂可以是水或其可以是水和有机溶剂(在某些实施方案中,醇例如甲醇或者乙醇、酮例如丙酮、脂肪族醚例如四氢呋喃或酯例如乙酸乙酯)的混合物。这些反应通常在环境温度下进行,但是如果需要,它们可以加热进行。

[0233] 本文公开的化合物例如式(I)的化合物的胺盐可通过将胺在水溶剂或有机溶剂中与游离酸形式的化合物接触来获得。适合的水溶剂包括水和水与醇例如甲醇或乙醇、醚例如四氢呋喃、腈例如乙腈或酮例如丙酮的混合物。可类似地制备氨基酸盐。

[0234] 本文公开的化合物例如式(I)的化合物的碱加成盐可通过应用或适用已知的方法

法从盐再生。例如式 (I) 的化合物的母体化合物可通过用酸诸如盐酸处理而从它们的碱加成盐再生。

[0235] 药物组合物和施用方法

[0236] 在某些实施方案中可使用含有单独使用的或以与一种或多种相容的并且药学上可接受的载体例如稀释剂或佐剂或与其他抗 HCV 剂一起组合的形式使用的至少一种通式 (I) 的化合物 (如果适合, 以盐形式) 的药物组合物来施用本文公开的方法中所使用的式 (I) 的化合物。在临床实践中, 本发明的环孢菌素化合物可通过任何常规的途径来施用, 尤其是口服、肠胃外、直肠或通过吸入 (例如以气溶胶的形式)。在一个实施方案中, 本发明的化合物被口服施用。

[0237] 作为口服施用的固体组合物使用的可以是片剂、丸剂、硬明胶胶囊、粉末或颗粒。在这些组合物中, 根据本发明的活性产品与一种或多种惰性稀释剂或佐剂例如蔗糖、乳糖或淀粉混合。

[0238] 这些组合物可包含除了稀释剂以外的物质, 例如润滑剂诸如硬脂酸镁或预期用于控制释放的包衣。

[0239] 作为口服施用的液体组合物使用的可以是含有惰性稀释剂例如水或液体石蜡的药学上可接受的溶液、悬浮液、乳剂、糖浆和酞剂。这些组合物还可包含稀释剂以外的物质例如增湿、增甜或调味的产品。

[0240] 用于肠胃外施用的组合物可以是乳剂或灭菌溶液。作为溶剂或载体使用的可以是丙二醇、聚乙二醇、植物油尤其是橄榄油或可注射有机酯例如油酸乙酯。这些组合物还可含有佐剂, 尤其是增湿剂、等渗剂、乳化剂、分散剂和稳定剂。灭菌可以几种方式进行, 例如使用细菌过滤器、通过辐射或通过加热。它们还可被制备为可在使用时溶解于无菌水或任何其他可注射的无菌介质中的无菌的固体组合物的形式。

[0241] 用于直肠施用的组合物是除了活性有效成分外含有赋形剂例如可可脂、半合成甘油酯或聚乙二醇的栓剂或直肠胶囊。

[0242] 组合物可以是气溶胶。对于以液体气溶胶形式使用来说, 组合物可以是稳定的无菌溶液或使用时溶于无热源无菌水, 溶于盐水或任何其他药学上可接受的媒介物中的固体组合物。对于以预期被直接吸入的无水气溶胶形式使用来说, 活性有效成分被精细分离并且与可水溶的固体稀释剂或载体例如葡聚糖、甘露醇或乳糖组合。

[0243] 在一个实施方案中, 本文公开的组合物是药物组合物或单一单位剂型。本发明的药物组合物和单一单位剂型包含预防或治疗上有效的量的一种或多种治疗或治疗剂 (例如式 (I) 的化合物或其它预防或治疗剂) 以及典型的一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂。在一个特定的实施方案以及在这一背景下, 术语“药学上可接受的”意指由联邦或州政府的管理机构批准的或者列在美国药典或用于动物以及更特别地用于人类的其他一般公认的药典中的。术语“载体”是指治疗剂与其一起施用的稀释剂、佐剂 (例如弗氏佐剂 (完全和不完全))、赋形剂或媒介物。这些药载体可以是无菌液体, 例如水和油, 包括石油、动物、蔬菜和合成来源的那些, 诸如花生油、豆油、矿物油、芝麻油以及类似物。在某些实施方案中, 当药物组合物被静脉内施用时, 水是载体。盐水溶液和含水葡聚糖和甘油溶液也可被用作液体载体, 尤其是用于可注射溶液。适合的药学载体的实例描述于 Remington's Pharmaceutical Sciences (雷明顿药学), 第 16、18 和 20 版, Mack Publishing, Easton

PA(1980,1990&2000) 中。

[0244] 典型的药物组合物和剂型包含一种或多种赋形剂。适合的赋形剂是药剂学领域技术人员熟知的,并且适合的赋形剂的非限制性示例包括淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、大米、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、硬脂酸甘油酯、滑石、氯化钠、无水脱脂乳、甘油、丙二醇、水、乙醇以及类似物。特定的赋形剂是否适合掺入药物组合物或剂型中取决于本领域中熟知的多种因素,包括但不限于剂型将被施用于受治疗者的方式和剂型中特定的活性成分。组合物或单一单位剂型,如果需要的话,还可包含少量的增湿剂或乳化剂或者 pH 缓冲剂。

[0245] 本发明的不含乳糖的组合物可包含本领域中熟知并且列于例如美国药典 (USP) SP(XXI)/NF(XVI) 中的那些赋形剂。通常,不含乳糖的组合物包含药学上相容并且药学上可接受的量的活性成分、粘合剂/填充剂和润滑剂。示例性的不含乳糖的剂型包含活性成分、微晶纤维素、预糊化淀粉和硬脂酸镁。

[0246] 由于水可促进一些化合物的降解,因此本发明还涵盖含有活性成分的无水药物组合物和剂型。例如,加入水(诸如 5%)是制药领域中广泛接受的模拟长期储存以便确定例如储存期限或制剂随时间的稳定性的特征的方法。参见例如 Jens T. Carstensen, *Drug Stability: Principles & Practice* (药物稳定性:原理和实用),第二版,Marcel Dekker, NY, NY, 1995,第 379-80 页。实际上,水和热加速了一些化合物的分解。因此由于在制剂的制造、处理、包装、储存、装运和使用期间通常会遇到潮湿和/或湿气,水对制剂的作用可以具有很大的影响。

[0247] 本发明的无水药物组合物和剂型可使用无水或含水量低的成分和低水分或低湿度条件来制备。在某些实施方案中,包含乳糖和至少一种活性成分(其包含伯胺或仲胺)的药物组合物和剂型是无水的,即使预期在制造、包装和/或储存过程中与水分和/或潮湿基本接触。

[0248] 应当制备和保存无水药物组合物以使保留其无水性质。相应地,可使用已知防止暴露于水的材料来包装无水组合物以使它们可被包含在适当的配方药盒中。适当的包装的实例包括但不限于气封的箔、塑料、单位剂量容器(例如管瓶)、吸塑包装和条形包装。

[0249] 本发明还涵盖包含减少活性成分分解速度的一种或多种化合物的药物组合物和剂型。这些化合物,本文被称为“稳定剂”,包括但不限于抗氧化剂例如抗坏血酸、pH 缓冲剂或盐缓冲剂。

[0250] 药物组合物和单一单位剂型可采取溶液、悬浮液、乳剂、片剂、丸剂、胶囊、粉末、持续释放制剂及类似剂型的形式。口服制剂可包括标准载体例如药品级的甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、纤维素、碳酸镁碳酸等。在一个实施方案中,这些组合物和剂型将含有纯化形式的与适量的载体一起的预防或治疗有效量的预防剂或治疗剂,以提供对受治疗者适合的施用形式。制剂应当适合施用方式。在一个实施方案中,药物组合物和单一单位剂型是无菌的并且以适合施用于受治疗者例如动物受治疗者(在一个实施方案中哺乳动物受治疗者诸如人类受治疗者)的形式。

[0251] 本发明的药物组合物可被配制为与其预期的施用途径相容的。施用途径的实例包括但不限于肠胃外的,例如静脉内的、皮内的、皮下的、肌内的、皮下的、口服的、颊面的、舌下的、吸入的、鼻内的、经皮的、局部的、经粘膜的、肿瘤内的、滑液内的和直肠的施用。在

一个特定的实施方案中,根据常规程序将组合物配制为适于静脉内、皮下、肌内、口服、鼻内或局部施用于人类的药物组合物。在一个实施方案中,根据常规程序将药物组合物配制用于皮下施用于人类。通常,用于静脉内施用的组合物是无菌等渗含水缓冲液的溶液。必要时,组合物还可包括增溶剂和局部麻醉剂例如利诺卡因(lignocaine)以缓解注射部位的疼痛。

[0252] 剂型的实例包括但不限于:片剂、锭剂、胶囊例如软弹性明胶胶囊、扁囊剂、含片、锭剂、分散剂、栓剂、软膏、泥敷剂(泥罨剂)、糊剂、粉末、敷料、霜剂、硬膏剂、溶液、贴剂(patch)、气溶胶(如鼻喷雾剂或吸入剂)、凝胶、适用于口服或粘膜施用于受治疗者的液体剂型(包括悬浮液(例如含水或不含水的液体悬浮液、水包油乳化液或油包水液体乳化剂))溶液和酞剂、适用于肠胃外施用于受治疗者的液体剂型;和可被重构以提供适于肠胃外施用于受治疗者的液体剂型的无菌固体(例如晶体或无定形固体)。

[0253] 本发明的剂型的组分、形状和类型将通常取决于它们的用途而变化。例如,用于病毒感染的最初治疗的剂型可含有比用于相同感染的维持治疗的剂型包含的量更多的一种或多种活性成分。相似地,胃肠外剂型可含有比用于治疗相同疾病或病症的口服剂型包含的量更少的量的一种或多种活性成分。本发明所涵盖的特定剂型将彼此不同的这些和其他方式对于本领域技术人员来说是显而易见的。参见,例如 Remington's Pharmaceutical Sciences(雷明顿药学),第20版, Mack Publishing, Easton PA(2000)。

[0254] 通常,本发明的组合物的成分在单位剂型中是分别地提供或混合在一起提供,例如作为在气封容器例如指示活性剂的量的安瓿瓶或小药囊中的无水冻干粉末或无水浓缩物。当组合物通过输注施用,其可以用含有无菌药品级水或盐水的输注瓶来分散。当组合物通过注射施用,可提供一安瓿瓶的注射用无菌水或盐水,以便在施用之前将成分混合。

[0255] 本发明的典型剂型包含每天约 0.1mg 至约 1000mg 的范围内的本文公开的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水化物,作为在早晨单独的一天一次的剂量给予,或在一个方面中,作为通过全天随食物摄入的分剂量给予。在某些实施方案中,本发明的剂型有约 0.1mg、0.2mg、0.3mg、0.4mg、0.5mg、1.0mg、2.0mg、2.5mg、5.0mg、10.0mg、15.0mg、20.0mg、25.0mg、50.0mg、100mg、200mg、250mg、500mg 或 1000mg 的活性环孢菌素。

[0256] 口服剂型

[0257] 适用于口服施用的本文公开的药物组合物可作为分离的剂型存在,例如但不限于片剂(诸如咀嚼片)、锭剂、胶囊和液体(诸如调味的糖浆)。这些剂型含有预定的量的活性成分并且可通过本领域技术人员已知的药剂学的方法来制备。通常参见 Remington's Pharmaceutical Sciences(雷明顿药学),第20版, Mack Publishing, Easton PA(2000)。

[0258] 如上文章节中详细描述,在某些实施方案中,口服剂型是固体并且在无水条件下用无水成分来制备。然而,本发明的范围延伸超过无水的固体口服剂型。因此,本文描述了另外的形式。

[0259] 本发明的典型的口服剂型是根据常规药物合成技术通过将一种或多种有效成分与至少一种赋形剂充分混合来组合而制备。赋形剂可取决于施用所期望的制品的形式而采用多种形式。例如,适于在口服液体或气溶胶剂型中使用的赋形剂包括但不限于水、二醇、油、醇、调味剂、防腐剂 and 着色剂。适于在固体口服剂型(例如粉末、片剂、胶囊和锭剂)中使用的赋形剂的实例包括但不限于淀粉、糖、微晶纤维素、稀释剂、粒化剂、润滑剂、粘合剂

## 和崩解剂

[0260] 为了它们施用方便,片剂和胶囊代表最有利的口服单位剂型,该实例中使用了固体赋形剂。如果需要,片剂可通过标准的含水或无水技术来包衣。这些剂型可通过药剂学方法中的任一种来制备。通常,药物组合物和剂型通过将活性成分与液体载体、精分的固体载体或两者均匀并且完全地混合并且之后如果需要将产品成型为所需要的外观来制备。

[0261] 例如,片剂可通过压制或塑型来制备。压制的片剂可通过在适合的机器中将活性成分压制为自流形式例如粉末或粒料(任选地与赋形剂混合)来制备。塑型的片剂可通过在适合的机器中将用惰性液体稀释剂湿润的粉末化的化合物的混合物塑型来制备。

[0262] 可被用于本发明的口服剂型的赋形剂的实例包括但不限于粘合剂、填充剂、崩解剂和润滑剂。适用于药物组合物和剂型的粘合剂包括但不限于玉米淀粉、马铃薯淀粉或其他淀粉、明胶,天然和合成的树胶例如阿拉伯胶、藻酸钠、藻酸、其他藻酸盐、西黄蓍胶粉、瓜尔胶、纤维素及其衍生物(诸如乙基纤维素、醋酸纤维素、羧甲基纤维素钙、羧甲基纤维素钠)、聚乙烯吡咯烷酮、甲基纤维素、预糊化淀粉、羟丙基甲基纤维素(诸如第 2208、2906、2910 号)、微晶纤维素及其混合物。

[0263] 适用于本文公开的药物组合物和剂型的填充剂的实例包括但不限于滑石、碳酸钙(例如颗粒或粉末)、微晶纤维素、粉末化纤维素、葡聚糖结合剂、高岭土、甘露醇、硅酸、山梨糖醇、淀粉、预糊化淀粉及其混合物。本发明的药物组合物中的粘合剂或填充剂通常以药物组合物或剂型的约 50 至约 99 重量百分比存在。

[0264] 微晶纤维素的适合的形式包括但不限于作为 AVICEL PH 101, AVICEL PH 103 AVICEL RC 581, AVICEL PH 105(可从 FMC Corporation, American Viscose Division, Avicel Sales, Marcus Hook, PA 获得)出售的材料及其混合物。特定的粘合剂是作为 AVICEL RC 581 出售的微晶纤维素和羧甲基纤维素钠的混合物。适合的无水或低水分赋形剂或添加剂包括 AVICEL PH 103 和 Starch 1500 LM。

[0265] 崩解剂被用于本发明的组合物以提供在暴露于含水环境时崩解的片剂。含有过多崩解剂的片剂可能在储存中崩解,而含有太少崩解剂的那些可能不以所期望的速度或在所期望的条件下崩解。因此,不会过多或过少以致不利地改变活性成分的释放的足量的崩解剂可被用于形成本发明的固体口服剂型。所使用的崩解剂的量以制剂的类型为基础而变化,并且容易由本领域技术人员辨别。典型的药物组合物包含约 0.5 至约 15 重量百分比的崩解剂,尤其是约 1 至约 5 重量百分比的崩解剂。

[0266] 可被用于本发明的药物组合物和剂型的崩解剂包括但不限于琼脂、藻酸、碳酸钙、微晶纤维素、交联甲羧纤维素钠、交聚维酮、波拉克林钾、乙醇酸淀粉钠、马铃薯淀粉或木薯淀粉、预糊化淀粉、其他淀粉、粘土、其他藻胶、其他纤维素、树胶及其混合物。

[0267] 可被用于本发明的药物组合物和剂型的润滑剂包括但不限于硬脂酸钙、硬脂酸镁、矿物油、轻质矿物油、甘油、山梨糖醇、甘露醇、聚乙二醇、其他乙二醇、硬脂酸、十二烷基硫酸钠、滑石、氢化植物油(如花生油、棉籽油、葵花籽油、芝麻油、橄榄油、玉米油和豆油)、硬脂酸锌、油酸乙酯、十二酸乙酯(ethyl laurate)、琼脂及其混合物。另外的润滑剂包括例如 syloid 硅胶(EROSIL 200,由 Baltimore, MD 的 W. R. Grace Co. 制造)、合成二氧化硅的凝固气溶胶(由 Plano, TX 的 Degussa Co. 出售)、CAB O SIL(由 Boston, MA 的 Cabot Co. 出售的火成二氧化硅)及其混合物。如果真的使用,润滑剂通常以小于其掺入的药物组

合物或剂型的约 1 重量百分比的量被使用。

[0268] 延迟释放剂型

[0269] 活性成分例如式 (I) 的化合物可通过控制释放的方式或通过本领域技术人员熟知的递送装置来施用。实例包括但不限于美国专利第 3,845,770、3,916,899、3,536,809、3,598,123、4,008,719、5,674,533、5,059,595、5,591,767、5,120,548、5,073,543、5,639,476、5,354,556、5,639,480、5,733,566、5,739,108、5,891,474、5,922,356、5,972,891、5,980,945、5,993,855、6,045,830、6,087,324、6,113,943、6,197,350、6,248,363、6,264,970、6,267,981、6,376,461、6,419,961、6,589,548、6,613,358 和 6,699,500 号中描述的那些,其每一个通过引用全文并入本文。使用例如羟丙基甲基纤维素、其他聚合物基质、凝胶、渗透膜、渗透系统、多层包衣、微粒、脂质体、微球或其组合以提供不同比例的所期望的释放曲线,这些剂型可被用于提供一种或多种活性成分的缓释或控释。本领域技术人员已知适合的控制释放制剂,包括本文描述的那些,可被容易地选择用于与本发明的活性成分一起使用。本发明由此涵盖适于口服施用的单一单位剂型,包括但不限于适合控制释放的片剂、胶囊、软胶囊和锭剂。

[0270] 所有控制释放的药物产品具有促进药物治疗超过它们的非控制的相应物所达到的药物治疗的共同目的。理想地,药物治疗中最优化设计的控制释放制品的使用的特征是以最少的时间量治愈或控制病况所使用的药物物质的最小量。控制释放制剂的益处包括药物的延长的活性、减少的给药频率和增加的受治疗者顺应性。此外,控制释放制剂可被用于影响作用开始的时间或其他表征例如药物的血液水平并且可因此影响副(例如不利)作用的发生。

[0271] 设计最大控制释放制剂以初始释放迅速产生所期望的治疗效果的一定量的药物(活性成分)并且逐渐且连续地释放其他量的药物以维持这一水平的治疗效果或预防效果整个延长的时间段。为了维持体内药物的这一恒定水平,药物必须以将代替被身体代谢并且从身体排泄的药物的量的速度从剂型释放。活性成分的控制释放可由不同的条件促进,包括但不限于 pH、温度、酶、水或其他生理条件或化合物。

[0272] 在某些实施方案中,可使用静脉输注、可植入渗透泵、透皮贴剂、脂质体或其他施用方式来施用药物。在一个实施方案中,可使用泵(参见 Sefton,1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14 :201 ;Buchwald 等人,1980, Surgery 88 :507 ;Saudek 等人,1989, N. Engl. J. Med. 321 :574)。在另一个实施方案中,可使用聚合材料。在又一个实施方案中,控制释放系统可在由熟练的执业医师确定的适合的部位放置在受治疗者中,也就是说由此仅需要全身剂量的一部分(参见例如 Goodson, Medical Applications of Controlled Release(控制释放的药物应用),第 2 卷,第 115-138 页(1984))。其他的控制释放系统在 Langer(Langer,1990, Science 249 :1527-1533)的综述中讨论。活性成分可被分散在固体内部基质例如聚甲基丙烯酸甲酯、聚甲基丙烯酸丁酯、增塑或未增塑的聚氯乙烯、增塑尼龙、增塑聚对苯二甲酸乙酯、天然橡胶、聚异戊二烯、聚异丁烯、聚丁二烯、聚乙烯、亚乙基-乙酸乙烯酯共聚物、硅橡胶、聚二甲基硅氧烷、硅酮碳酸酯共聚物、亲水性聚合物例如丙烯酸和甲基丙烯酸的酯的水凝胶、胶原蛋白、交联聚乙烯醇和交联的部分水解的聚乙酸乙烯酯中,其由外层聚合物膜包围,聚合物膜例如聚乙烯、聚丙烯、乙烯/丙烯共聚物、乙烯/丙烯酸乙酯共聚物、乙烯/乙酸乙烯酯共聚物、硅酮橡胶、聚二甲基硅氧烷、氯丁橡胶、氯

化聚乙烯、聚氯乙烯、氯乙烯与乙酸乙烯酯、偏二氯乙烯、乙烯和丙烯的共聚物、离子交联聚合物聚对苯二甲酸乙二醇酯、丁基橡胶表氯醇橡胶、乙烯 / 乙烯醇共聚物、乙烯 / 乙酸乙烯酯 / 乙烯醇三聚物和乙烯 / 乙烯氧基乙醇,其在体液中不溶。之后活性成分在释放速度控制步骤中扩散通过外部的聚合物膜。在这些肠胃外组合中,活性成分的百分比很大程度上取决于其特定的性质以及受治疗者的需要。

#### [0273] 肠胃外剂型

[0274] 尽管可使用固体无水口服剂型,本发明还提供肠胃外剂型。胃肠外剂型可通过各种途径施用于受治疗者,包括但不限于皮下、静脉内(包括弹丸注射)、肌内和动脉内。因为它们的施用通常绕开受治疗者对污染物的自然防御,肠胃外剂型,在一个实施方案中,是无菌的或能够在施用于受治疗者之前被灭菌的。肠胃外剂型的实例包括但不限于为注射准备好的溶液、为溶解或悬浮在药学上可接受的媒介物中准备好以用于注射的无水产品、为注射准备好的悬浮液、以及乳剂。

[0275] 可被使用以提供本发明的肠胃外剂型的适合的媒介物是本领域技术人员所熟知的。实例包括但不限于:注射水 USP;含水媒介物,例如但不限于氯化钠注射液、林格氏注射液、右旋糖注射液、右旋糖和氯化钠注射液以及乳酸林格氏注射液;水可混合的媒介物,例如但不限于乙醇、聚乙二醇和聚丙二醇;和不含水的媒介物,例如但不限于玉米油、棉籽油、花生油、芝麻油、油酸乙酯、肉豆蔻酸异丙酯和苯甲酸苄酯。

[0276] 增加本文公开的活性成分中的一种或多种的稳定性的化合物也可被掺入本发明的肠胃外剂型中。

#### [0277] 经皮的、局部的和粘膜的剂型

[0278] 在一个实施方案中,可使用固体无水口服剂型。在另一个方面,本文提供了经皮的、局部的和粘膜的剂型。本发明的经皮的、局部的和粘膜的剂型包括但不限于眼用溶液、喷雾剂、气溶胶、霜剂、洗剂、软膏、凝胶、溶液、乳剂、悬浮液和本领域技术人员所知的其他形式。参见例如 Remington's Pharmaceutical Sciences(雷明顿药学),第 16、18 和 20 版, Mack Publishing, Easton PA(1980, 1990&2000) 以及 Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms(药物剂型介绍),第四版, Lea&Febiger, Philadelphia(1985)。适于治疗口腔中的粘膜组织的剂型可被配制为漱口剂或口服凝胶。另外,经皮的剂型包括“储库型”或“基质型”贴剂,其可被应用于皮肤并留存特定的时间段以允许所期望的量的活性成分渗入。

[0279] 本发明涵盖的可被用于提供经皮的、局部的和粘膜的剂型的适合的赋形剂(例如载体和稀释剂)和其他材料是药学领域技术人员熟知的并且取决于给定的药物组合物或剂型将被应用的特定的组织。考虑到这些因素,典型的赋形剂包括但不限于水、丙酮、乙醇、乙二醇、丙二醇、丁 1,3 二醇、肉豆蔻酸异丙酯、棕榈酸异丙酯、矿物油及其混合物以形成洗液、酊剂、霜剂、乳剂、凝胶或软膏,其是无毒的并且是药学上可接受的。如果需要,增湿剂或湿润剂也可被加入药物组合物和剂型中。这些另外的成分的实例是本领域中熟知的。参见例如 Remington's Pharmaceutical Sciences(雷明顿药学),第 16、18 和 20 版, Mack Publishing, Easton PA(1980, 1990&2000)

[0280] 取决于待治疗的特定的组织,可在使用本发明的活性成分的治疗之前、同时或之后使用另外的成分。例如渗入增强剂可被用于帮助将活性成分递送至组织。适合的渗入

增强剂包括但不限于：丙酮；各种醇例如乙醇、油醇和四氢呋喃醇；烷基亚砷例如二甲基亚砷；二甲基乙酰胺；二甲基甲酰胺；聚乙二醇；吡咯烷酮例如聚乙烯吡咯烷酮；Kollidon 类（聚维酮 (Povidone)，聚维酮 (Polyvidone)）；脲；和各种可水溶或不水溶的糖酯例如吐温 80（聚山梨糖醇酯 80）和司盘 60（失水山梨糖醇单硬脂酸酯）。

[0281] 还可调整药物组合物或剂型或者药物组合物或剂型被应用的组织的 pH 以增强一种或多种活性成分的递送。相似地，可调整溶剂载体的极性，其离子强度或张度以增强递送。化合物例如硬脂酸酯也可被加至药物组合物或剂型以有利地改变一种或多种活性成分的亲水性或亲油性，以便增强递送。在这一考虑中，硬脂酸酯可作为用于制剂的液体载体、作为乳化剂或表面活性剂以及作为递送增强剂或渗入增强剂。活性成分的不同盐、氯化物和溶剂化物可被用于进一步调整所获的组合物的特性。

[0282] 在受治疗者中治疗或预防疾病的方法

[0283] 本文公开的化合物例如式 (I) 的化合物可对成为亲环蛋白的酶起作用并且抑制其催化活性。相应地，在另一个方面，本文提供的是抑制亲环蛋白的方法，包括将本文公开的化合物或组合物例如式 (I) 的化合物或包含式 (I) 的化合物的组合物施用于需要其的受治疗者。亲环蛋白存在于许多种不同的生物体中，包括人类、酵母、细菌、原生动物、后生动物、昆虫、植物或病毒。在感染性生物体的实例中，由本发明的化合物抑制亲环蛋白催化活性常常导致对生物体的抑制作用。而且，在人类中，亲环蛋白的催化活性在很多不同的疾病状况中都起作用。这一催化活性的抑制常常与治疗作用有关。因此，本文描述的某些化合物可被用于包括由 HCV 和 HIV 导致的感染（下文进一步描述）以及由真菌病原体、原生动物和后生动物寄生虫导致的感染的感染的治疗。另外，本文公开的某些化合物可被用于治疗神经变性疾病例如阿尔茨海默氏病、帕金森病和神经病。本文公开的化合物的另一种用途是防止与缺血和再灌注有关的组织损害，例如脊髓或头部损伤之后的麻痹损害或心肌梗塞之后的心肌损害。而且，本文公开的化合物可诱导再生过程，例如归因于损伤或其它潜在病理诸如青光眼中视神经的损害而损害或失去的头发、肝脏、牙龈或神经系统的再生。

[0284] 本文公开的某些化合物可被用于治疗慢性炎症性疾病和自身免疫性疾病。作为免疫抑制剂，本文公开的某些化合物在施用用于免疫介导的组织或器官移植排异时是有用的。还将发现本文公开的某些化合物的免疫响应在自身免疫性疾病的治疗中的用途，所述自身免疫性疾病例如类风湿关节炎、系统性红斑狼疮、超免疫球蛋白 E、桥本甲状腺炎、多发性硬化症、进行性全身性硬化症、重症肌无力、I 型糖尿病、葡萄膜炎、变应性脑脊髓炎、肾小球肾炎。另外的用途包括治疗和预防炎性和过度增殖皮肤疾病以及免疫介导的病的皮肤表现，例如银屑病、特应性皮炎、接触性皮炎和另外的湿疹性皮炎、脂溢性皮炎、扁平苔藓、天疱疮、大疱性类天疱疮、大疱性表皮松解、荨麻疹、血管性水肿、血管炎、红斑、皮肤嗜酸性粒细胞增多 (cutaneous eosinophilia)、红斑狼疮、痤疮和斑秃；多种眼部疾病（自身免疫的和其他的）例如角结膜炎、春季结膜炎、角膜炎、疱疹性角膜炎、圆锥形角膜、角膜上皮营养不良、角膜白斑、眼天疱疮、莫伦氏溃疡、巩膜炎、葛瑞夫兹氏眼病、伏格特-小柳-原田三氏综合征、结节病、多发性骨髓瘤等；阻塞性气道疾病，其包括病况例如 COPD、哮喘（例如，支气管哮喘、变应性哮喘、内源性哮喘、外源性哮喘和尘埃性哮喘），特别是慢性或长期的哮喘（例如晚期哮喘和气道高反应性）、支气管炎、变应性鼻炎以及类似疾病；粘膜和血管的炎症，例如胃溃疡、缺血性疾病和血栓引起的血管损伤。而且，过度增殖血管疾病例如内膜



平滑肌细胞增殖,再狭窄和血管闭塞(尤其是生物学或机械介导的血管损伤之后的)可由本文公开的某些化合物治疗或预防。其他可治疗的病况将包括但不限于缺血性肠病;炎性肠病、坏死性小肠结肠炎、与热烧伤有关肠道损伤和白三烯 B4 介导的疾病;肠炎/变态反应例如腹部疾病、直肠炎、嗜酸性细胞性胃肠炎、肥大细胞增多症、克罗恩病和溃疡性结肠炎;具有远离胃肠道的症状表现(例如偏头痛、鼻炎和湿疹)的与食物有关的变应性疾病;肾病,例如间质性肾炎,肺出血肾炎综合征,溶血性尿毒性综合征和糖尿病肾病;神经疾病例如多发性肌炎、格-巴二氏综合征、美尼尔氏病、多发性神经炎、多神经炎、单神经炎和神经根病;内分泌障碍性疾病,例如甲状腺机能亢进和巴塞多氏病;血液疾病例如单纯红细胞再生障碍、再生障碍性贫血、发育不良性贫血、特发性血小板减少性紫癜、自身免疫性溶血性贫血、粒细胞缺乏症、恶性贫血、巨幼细胞性贫血和红细胞发生不能;骨疾病例如骨质疏松;呼吸系统疾病例如结节病、纤维化肺和特发性间质性肺炎;皮肤病,例如皮炎、寻常性白斑病、寻常性鱼鳞病、光变应性敏感和表皮 T 细胞淋巴瘤;循环系统疾病例如动脉硬化、动脉粥样硬化、主动脉炎综合征、结节性多动脉炎和心肌病;胶原性疾病例如胶原沉着病、韦格纳氏坏死性肉芽肿和斯耶格伦氏综合征;肥胖症;嗜酸性细胞性筋膜炎;牙周病例如牙龈、牙周组织、牙槽骨和牙骨质的损害;肾病综合症例如肾小球肾炎;男性型秃发或老年性脱发,通过防止脱发或提供头发萌发和/或促进头发再生和头发生长;肌肉萎缩症;脓皮病和赛杂瑞氏综合征;阿狄森氏病;活性氧介导的疾病,例如器官损伤,诸如当保存或移植时发生的器官(例如心脏、肝脏、肾脏和消化道)的缺血-再灌注损伤,或缺血疾病(如血栓形成和心肌梗塞);肠病,例如由药物或放射导致的内毒素休克、假膜性结肠炎和结肠炎;肾病,例如缺血性急性肾功能不全和慢性肾功能不全;肺部疾病,例如由肺-氧或药物(例如泼尼松和博来霉素)引起的中毒症、肺癌和肺气肿;眼部疾病例如白内障、铁质沉着、视网膜炎、眼点、老年性黄斑变性,玻璃体瘢痕形成和角膜碱烧伤;皮炎例如多形性红斑,线性 IgA 大疱性皮炎和水泥皮炎(cement dermatitis);以及其他疾病例如牙龈炎、牙周炎、败血症、胰腺炎,由环境污染(诸如空气污染)、老化、致癌作用、癌转移和低气压病导致的疾病;由组胺或白三烯-C4 释放导致的疾病;贝切特氏病例如肠-贝切特氏病、血管-贝切特氏病或神经-贝切特氏病以及影响口腔、皮肤、眼、外阴、关节,附睾,肺,肾等的贝切特氏病。此外,本文所公开的某些化合物被用于治疗或预防肝病,例如致免疫性疾病(诸如慢性自身免疫性肝病例如由下列组成的组:自身免疫性肝炎、原发性胆汁性肝硬化和硬化性胆管炎)、部分肝切除、急性肝坏死,肝硬化(诸如酒精性肝硬化)和慢性肝疾病的肝衰竭例如暴发性肝功能衰竭、迟发性肝衰竭和急性肝功能衰竭。

[0285] 在一个实施方案中,本发明提供了治疗或预防受治疗者的炎症病症或免疫病症的方法,包括向受治疗者施用上文通式(I)的化合物或其药物上可接受的盐或溶剂化物,其中 A 和 B 如上文所定义,  $R^1$  代表氢,  $R^2$  代表  $-C(=O)R^{21}$ , 且  $R^{21}$  代表具有一个至三个碳原子的直链或支链烷基或正丁基。在这一实施方案的一个方面,  $R^2$  代表  $-C(=O)R^{21}$ , 且  $R^{21}$  代表具有一个至三个碳原子的直链或支链烷基(例如甲基)。在这一实施方案的另一个方面, A 代表  $(E)-CH=CHCH_3$ , B 代表乙基,  $R^1$  代表氢,  $R^2$  代表  $-C(=O)R^{21}$ , 且  $R^{21}$  代表具有一个至四个碳原子的直链烷基。这一方法的化合物是新的并且构成本发明的一个另外的实施方案。

[0286] 应当理解的是具有免疫抑制特性的上文式(I)的化合物可能不适于免疫妥协患者(例如患有 HIV 或 AIDS 的患者)的治疗。

[0287] 治疗或预防受治疗者的 HCV 和 / 或 HIV 感染的方法

[0288] 本发明提供了将本文公开的化合物或组合物例如式 (I) 的化合物或包含式 (I) 的化合物的组合物用于在需要其的受治疗者中治疗或预防病毒感染的方法。所述方法通常包括向受治疗者施用有效量的化合物或组合物以治疗或预防病毒感染的步骤。在某些实施方案中,病毒感染是 HCV 感染或 HIV 感染或 HCV 和 HIV 共感染。

[0289] 在某些实施方案中,受治疗者可以是受 HCV 感染或处于受 HCV 感染的风险中的任何受治疗者。感染或感染的风险可根据由本领域的开业医生认为适合的任何技术来确定。在某些实施方案中,受治疗者是受 HCV 感染的人类。

[0290] HCV 可以是本领域技术人员已知的任何 HCV。现在本领域技术人员已知有 HCV 的至少六种基因型或至少 50 种亚型。HCV 可以是本领域技术人员已知的任何基因型或亚型。在某些实施方案中,HCV 是尚未表征的基因型或亚型。在某些实施方案中,受治疗者受单一基因型的 HCV 感染。在某些实施方案中,受治疗者受多亚型或多基因型的 HCV 感染。

[0291] 在某些实施方案中, HCV 是基因型 1 并且可以是任何亚型。例如在某些实施方案中, HCV 是亚型 1a、1b 或 1c。据信基因型 1 的 HCV 感染对现有的干扰素治疗的响应差。本发明的方法可对于具有基因型 1 的 HCV 感染的治疗有利。

[0292] 在某些实施方案中,HCV 不是基因型 1。在某些实施方案中,HCV 是基因型 2 并且可以是任何亚型。例如在某些实施方案中, HCV 是亚型 2a、2b 或 2c。在某些实施方案中, HCV 是基因型 3 并且可以是任何亚型。例如在某些实施方案中, HCV 是亚型 3a、3b 或 10a。在某些实施方案中, HCV 是基因型 4 并且可以是任何亚型。例如在某些实施方案中, HCV 是亚型 4a。在某些实施方案中, HCV 是基因型 5 并且可以是任何亚型。例如在某些实施方案中, HCV 是亚型 5a。在某些实施方案中, HCV 是基因型 6 并且可以是任何亚型。例如在某些实施方案中, HCV 是亚型 6a、6b、7b、8b、9a 或 11a。参见例如 Simmonds, 2004, J Gen Virol. 85 : 3173-88 ; Simmonds, 2001, J. Gen. Virol. 82 : 693-712, 其内容通过引用全文并入本文。

[0293] 在某些实施方案中,受治疗者从未接受过对 HCV 感染的治疗或预防。在另外的实施方案中,受治疗者之前接受过对 HCV 的治疗或预防。例如在某些实施方案中,受治疗者对 HCV 治疗没有响应。事实上,在现有的干扰素治疗中,高达 50% 或更多的 HCV 受治疗者对治疗没有响应。在某些实施方案中,受治疗者可以是接受治疗但是继续遭受病毒感染或其一种或多种症状困扰的受治疗者。在某些实施方案中,受治疗者可以是接受治疗但是未能实现持续的病毒响应的受治疗者。在某些实施方案中,受治疗者已经接受了 HCV 感染的治疗但是在治疗 12 周后未能显示 HCV RNA 水平的  $2\log_{10}$  下降。据信 12 周的治疗之后没有显示高于  $2\log_{10}$  的血清 HCV RNA 的减少的受治疗者具有 97% -100% 的几率不响应。由于本文公开的化合物通过除了现有 HCV 治疗之外的机制起作用,据信这些化合物应当在治疗这样的未响应者中有效。

[0294] 在某些实施方案中,受治疗者是因为与治疗有关的一种或多种不利事件中中止 HCV 治疗的受治疗者。在某些实施方案中,受治疗者是不需要现有治疗的受治疗者。例如 HCV 的某些治疗是与神经精神事件有关的。干扰素 (IFN)- $\alpha$  加上利巴韦林与高比率的抑郁有关。已经将抑郁的症状与大量医学病症中的坏结果相联系。在 HCV 治疗过程中,危机生命或致命的神经精神事件包括自杀、自杀和杀人观念构成、抑郁、药物成瘾或过量的复发以及攻击性行为已经在之前患有或不患有精神病病症的患者中存在。干扰素诱导的抑郁是慢性

丙型肝炎的治疗的一个限制,尤其是对于患有精神病病症的患者来说。精神病副作用对于干扰素治疗来说很常见,并且引起约 10%至 20%的对 HCV 感染的现有治疗的中止。

[0295] 因此,本发明提供在神经精神事件例如抑郁的风险禁止使用现有的 HCV 疗法的治疗的受治疗者中治疗或预防 HCV 感染的方法。本发明也提供了在神经精神事件例如抑郁或这些的风险指示中止使用现有的 HCV 疗法的治疗的受治疗者中治疗或预防 HCV 感染的方法。本发明还提供了在神经精神事件例如抑郁或这些的风险指示现有的 HCV 疗法的剂量减少的受治疗者中治疗或预防 HCV 感染的方法。

[0296] 现有治疗在对干扰素或利巴韦林或两者或用于施用干扰素或利巴韦林的药物产品的任何其他成分高度敏感的受治疗者中同样是禁止的。在患有血红蛋白病(例如重型地中海贫血、镰状细胞性贫血)的患者和处于来自现有治疗的血液副作用的风险中的患者中不需要现有的治疗。常见的血液副作用包括骨髓抑制、嗜中性白血球减少症和血小板减少。而且,利巴韦林对血红细胞有毒并且与溶血有关。因此,本发明还提供了在对干扰素或利巴韦林或两者高度敏感的受治疗者、患有血红蛋白病的受治疗者例如重型地中海贫血受治疗者和镰状细胞性贫血受治疗者和处于来自现有治疗的血液副作用的风险中的其他受治疗者中治疗或预防 HCV 感染的方法。

[0297] 在某些实施方案中,受治疗者已经接受了 HCV 治疗并且在施用本发明的方法之前中止了所述治疗。在另外的实施方案中,受治疗者已经接受了治疗并且随本发明的方法的施用一起继续接受该治疗。本发明的方法可根据本领域技术人员的判断与用于 HCV 的其他治疗共施用。在有利的实施方案中,本发明的方法或组合物可以与减少剂量的 HCV 的其他治疗共施用。

[0298] 在某些实施方案中,本发明提供治疗对使用干扰素治疗不应的受治疗者的方法。例如,在一些实施方案中,受治疗者可以是未能对使用选自下列组成的组的一种或多种剂的治疗响应的受治疗者:干扰素、干扰素  $\alpha$ 、聚乙二醇化干扰素  $\alpha$ 、干扰素加上利巴韦林、干扰素  $\alpha$  加上利巴韦林和聚乙二醇化干扰素  $\alpha$  加上利巴韦林。在一些实施方案中,受治疗者可以是对使用选自下列组成的组的一种或多种剂的治疗很难响应的受治疗者:干扰素、干扰素  $\alpha$ 、聚乙二醇化干扰素  $\alpha$ 、干扰素加上利巴韦林、干扰素  $\alpha$  加上利巴韦林和聚乙二醇化干扰素  $\alpha$  加上利巴韦林。

[0299] 在另外的实施方案中,由于现有治疗在妊娠的女性中同样是禁止的,本发明提供在妊娠或可能妊娠的受治疗者中治疗 HCV 感染的方法。

[0300] 在某些实施方案中,本发明的方法或组合物在肝脏移植之后被施用于受治疗者。丙型肝炎是美国肝脏移植的主要致因,并且经历肝脏移植的许多受治疗者在移植之后依旧是 HCV 阳性。本发明提供治疗用本文公开的化合物或组合物治疗这些复发的 HCV 受治疗者的方法。在某些实施方案中,本发明提供在肝脏移植之前、期间或之后治疗受治疗者以防止 HCV 感染复发的方法。

[0301] 通式 (I) 的环孢菌素化合物在逆转录病毒疾病和更特别地 AIDS 以及与 AIDS 相关的综合征的预防和治疗中是特别有用的。预防被理解为尤其是意指已经暴露于 HIV 病毒的,尤其是存在在最初感染后的几个月或几年之内发展疾病的风险的无症状血清阳性的受治疗者的治疗。在这一方面,根据本发明的通式 (I) 的环孢菌素化合物可在避免任何细胞毒性或抑制细胞作用的浓度显示抗逆转录病毒活性。

[0302] 在本发明的某些实施方案中,受治疗者可以是受 HIV 感染的或处于受 HIV 感染的风险中的任何受治疗者。感染或感染的风险可根据由本领域的开业医生认为适合的任何技术来确定。在某些实施方案中,受治疗者是受 HIV 感染的人类。HIV 可以是本领域技术人员已知的任何 HIV。

[0303] 在本发明的某些实施方案中,受治疗者从未接受过对 HIV 感染的治疗或预防。在本发明的另外的实施方案中,受治疗者之前接受过对 HIV 感染的治疗或预防。例如在某些实施方案中,受治疗者对 HIV 治疗没有响应。在某些实施方案中,受治疗者可以是接受治疗但是继续遭受病毒感染或其一种或多种症状困扰的受治疗者。在某些实施方案中,受治疗者可以是接受治疗但是未能实现持续的病毒响应的受治疗者。

[0304] 在某些实施方案中,受治疗者是因为与治疗有关的一种或多种不利事件中中止 HIV 治疗的受治疗者。在某些实施方案中,受治疗者是不需要现有治疗的受治疗者。在某些实施方案中,受治疗者已经接受了 HIV 治疗并且在施用本发明的方法之前中止了所述治疗。在另外的实施方案中,受治疗者已经接受了治疗并且随本发明的方法的施用一起继续接受所述治疗。本发明的方法可根据本领域技术人员的判断与用于 HIV 的其他治疗共施用。在有利的实施方案中,本发明的方法或组合物可以与减少剂量的其他 HIV 治疗共施用。

[0305] 在某些实施方案中,本发明提供治疗对 HIV 的治疗不应有的受治疗者的方法。例如,在一些实施方案中,受治疗者可以是对使用 HIV 的一种或多种治疗剂的治疗未能响应的受治疗者。在一些实施方案中,受治疗者可以是对使用 HIV 的一种或多种治疗剂的治疗很难响应的受治疗者。

[0306] 在某些实施方案中,受治疗者患有 HCV 和 HIV 的共感染或者处于 HCV 和 HIV 的共感染的风险中。例如,在美国,30% 的 HIV 受治疗者是与 HCV 共感染的,并且证据表明受 HIV 感染的人具有迅速得多的他们的丙型肝炎感染的过程。Maier 和 Wu, 2002, *World J Gastroenterol* 8 :577-57。本发明的方法可被用于治疗或预防这些受治疗者中的 HCV 感染。据信,在这些受治疗者中消除 HCV 将降低由于末期肝病的死亡率。事实上,患有严重的 ADIS 限定的免疫缺陷的受治疗者中进行性肝病的风险比未患有的那些受治疗者高。参见例如 Lesens 等人, 1999, *J. Infect. Dis.* 179 :1254-1258。有利地,本发明的化合物已经被显示在 HIV 受治疗者中抑制 HIV。参见例如美国专利第 5, 977, 067、5, 994, 299、5, 948, 884 和 6, 583, 265 号以及国际申请公开号第 W099/32512 和 W099/67280 号,其内容通过引用全文并入本文。因此,在某些实施方案中,本发明提供在需要其的受治疗者中治疗或预防 HIV 感染和 HCV 感染的方法。

[0307] 剂量和单位剂型

[0308] 在人类治疗中,医生将根据预防性或治愈性治疗并根据年龄、体重、感染的阶段和对待治疗的受治疗者特定的其他因素来确定他认为的最适剂量。通常,剂量是对成人每天约 1mg 至约 1500mg,对成人每天约 50mg 至约 1300mg,或每天约 100mg 至 1100mg。在一个实施方案中,剂量率每天是约 250mg 至约 1000mg。

[0309] 在另外的方面,本发明提供通过向需要其的受治疗者施用有效量的本文公开的化合物或其药学上可接受的盐在受治疗者中治疗或预防 HIV 和 / 或 HCV 感染的具有高抗 HIV 和 / 或 HCV 治疗指数的方法。治疗指数可根据本领域技术人员已知的任何方法来测量,例如在下文的实施例中描述的方法。在某些实施方案中,治疗指数是化合物有毒的浓度与有

效抗 HIV 和 / 或 HCV 的浓度的比。毒性可通过本领域技术人员已知的任何技术来测量,包括细胞毒性(例如  $IC_{50}$  或  $IC_{90}$ )和致死剂量(例如  $LD_{50}$  或  $LD_{90}$ )。同样,有效浓度可通过本领域技术人员已知的任何技术来测量,包括有效浓度(例如  $EC_{50}$  或  $EC_{90}$ )和活性剂量(例如  $ED_{50}$  或  $ED_{90}$ )。在某些实施方案中,对比相似测量的比(例如  $IC_{50}/EC_{50}$ 、 $IC_{90}/EC_{90}$ 、 $LD_{50}/ED_{50}$  或  $LD_{90}/ED_{90}$ )。在某些实施方案中,治疗指数可高达 2.0、5.0、10.0、15.0、20.0、25.0、50.0、75.0、100.0、125.0、150.0 或更高。

[0310] 在病症或其一种或多种症状的预防或治疗中有效的本发明的化合物或组合物的量将随着疾病或病况的性质和严重度以及施用有效成分的途径而变化。频率和剂量也将根据每个受治疗者的特定因素,取决于所施用的特定的治疗(例如治疗剂或预防剂),病症、疾病或病况的严重度,施用途径以及受治疗者的年龄、体重、响应和医疗史而变化。活性剂量可从获得自体外或动物模型检测系统的剂量响应曲线来推断。

[0311] 组合物的示例性剂量包括毫克或微克量的活性化合物 / 千克受治疗者或样品重量(例如约 10 微克 / 千克至约 50 毫克 / 千克、约 100 微克 / 千克至约 25 毫克 / 千克,或约 100 微克 / 千克至约 10 毫 / 每千克)。对于本文公开的某些组合物,施用于受治疗者的剂量通常是以活性化合物的重量为基础的约 0.140mg/kg 至约 3mg/kg 受治疗者体重。在某些方面,施用于受治疗者的剂量是约 0.20mg/kg 和约 2.00mg/kg 受治疗者体重或约 0.30mg/kg 和约 1.50mg/kg 受治疗者体重之间

[0312] 通常,用于本文所描述的病况的本文所公开的组合物的推荐日剂量范围在每天约 0.1mg 至约 1500mg 的范围内,作为单独的一天一次的剂量或作为全天的分剂量给予。在一个实施方案中,日剂量以平均分开的剂量每天两次施用。特别地,日剂量范围应为每天约 50mg 至约 1300mg,更特别地在每天约 100mg 和约 1100mg 之间,或甚至更加特别地在每天约 250mg 和约 1000mg 之间。如对本领域技术人员显然的,在某些实例中,可能必须使用超过本文公开的范围的活性成分的剂量。此外,应当注意的是临床医师或治疗医师将知道如何或何时结合受治疗者的响应中断、调整或终止治疗。

[0313] 如本领域技术人员容易知道的,不同的治疗有效的量可以可适用于不同的疾病和病况。相似地,足以抑制、控制、治疗或改善这样的病症但是不足以引起与本发明的组合物有关的副作用或足以减少与本发明的组合物有关的副作用的量可由上文描述的剂量的量和给药频率方案所涵盖。另外,当受治疗者被施用多种剂量的本文公开的组合物时,所有剂量不必相同。例如,向受治疗者施用的剂量可增加以提高组合物的预防或治疗作用或者其可降低以减少特定受治疗者所经历的一种或多种副作用。

[0314] 在一个特定的实施方案中,以活性化合物的重量为基础,施用以在受治疗者中预防、治疗、控制或改善一种病症或其一种或多种症状的本文所公开的一种组合物,或本文所公开的一种组合物,的剂量是受治疗者体重的约 0.1mg/kg、约 1mg/kg、约 2mg/kg、约 3mg/kg、约 4mg/kg、约 5mg/kg、约 6mg/kg、约 10mg/kg 或约 15mg/kg 或更多。在另一个实施方案中,被施用以在受治疗者中预防、治疗、控制或改善一种病症或其一种或多种症状的本文公开的一种组合物,或本文公开的一种组合物,的剂量是约 0.1mg 至约 200mg、约 0.1mg 至约 100mg、约 0.1mg 至约 50mg、约 0.1mg 至约 25mg、约 0.1mg 至约 20mg、约 0.1mg 至约 15mg、约 0.1mg 至约 10mg、约 0.1mg 至约 7.5mg、约 0.1mg 至约 5mg、约 0.1mg 至约 2.5mg、约 0.25mg 至约 20mg、约 0.25mg 至约 15mg、约 0.25mg 至约 12mg、约 0.25mg 至约 10mg、约 0.25mg 至约 7.5mg、

约 0.25mg 至约 5mg、约 0.5mg 至约 2.5mg、约 1mg 至约 20mg、约 1mg 至约 15mg、约 1mg 至约 12mg、约 1mg 至约 10mg、约 1mg 至约 7.5mg、约 1mg 至约 5mg 或约 1mg 至约 2.5mg 的单位剂量。

[0315] 在某些实施方案中,治疗或预防可由本文所公开的化合物或组物的一个或多个负荷剂量起始,之后是一个或多个维持剂量。在这些实施方案中,负荷剂量可以是例如每天约 60mg 至约 400mg 或每天约 100mg 至约 200mg,持续一天至四十八周或一天至五周。负荷剂量之后可以是一个或多个维持剂量。每个维持剂量可以是独立地每天约 5mg 至约 1500mg 或每天约 10mg 至约 200mg,更特别地每天约 25mg 和约 150mg 之间或甚至更特别地每天约 25mg 和约 80mg 之间。在某些实施方案中,维持剂量每天施用,并且可以作为单一剂量或作为分剂量施用。

[0316] 在某些实施方案中,可施用一剂本文公开的化合物或组物以获得有效成分在受治疗者的血液或血清中的稳态浓度。稳态浓度可通过根据技术人员可获得的技术的测量来确定,或可以受治疗者的身体特征,例如身高、体重和年龄为基础。在某些实施方案中,施用足量的本文公开的化合物和组物以获得受治疗者血液或血清中约 300ng/mL 至约 4000ng/mL、约 400ng/mL 至约 1600ng/mL 或约 600ng/mL 至约 1200ng/mL 的稳态浓度。可施用负荷剂量以获得约 1200ng/mL 至约 8000ng/mL 或约 2000ng/mL 至约 4000ng/mL 稳态血液或血清浓度,持续一至五天。可施用维持剂量以获得受治疗者的血液或血清中约 300ng/mL 至约 4000ng/mL、约 400ng/mL 至约 1600ng/mL 或约 600ng/mL 至约 1200ng/mL 的稳态浓度。

[0317] 在某些实施方案中,本发明的相同的组物的施用可被重复并且施用可以间隔至少 1 天、2 天、3 天、5 天、10 天、15 天、30 天、45 天、2 个月、75 天、3 个月或 6 个月。在其他实施方案,相同的预防剂或治疗剂的施用可被重复,并且施用可以间隔至少 1 天、2 天、3 天、5 天、10 天、15 天、30 天、45 天、2 个月、75 天、3 个月或 6 个月。

[0318] 在某些实施方案中,本发明提供适于施用的形式的包含本文公开的化合物或其药学上可接受的盐的单位剂量。这些形式在上文中详细讨论。在某些实施方案中,单位剂量包含约 1mg 至约 1500mg、约 5mg 至约 250mg 或约 10mg 至约 50mg 活性成分。在特定的实施方案,单位剂量包含约 1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、100mg、125mg、250mg、500mg 或 1000mg 活性成分。这些单位剂量可根据本领域技术人员熟悉的技术来制备。

[0319] 组合治疗

[0320] 本发明提供治疗或预防的方法,包括在需要其的受治疗者中施用有效治疗或预防 HIV 和 / 或 HCV 感染的第二剂。第二剂可以是对 HIV 和 / 或 HCV 感染的治疗或预防有效的本领域技术人员已知的任何剂。第二剂可以是本领域技术人员目前已知的第二剂,或者第二剂可以是为了治疗或防止 HIV 和 / 或 HCV 以后开发的第二剂。在某些实施方案中,第二剂目前被批准用于 HIV 和 / 或 HCV 的治疗或预防。

[0321] 在某些实施方案中,本文公开的化合物与一种第二剂组合施用。在另外的实施方案中,第二剂与两种第二剂组合施用。在还有另外的实施方案,第二剂与两种或更多种第二剂组合施用。

[0322] 适合的第二剂包括小分子、HCV 酶的口服生物可利用的抑制剂、攻击病毒 RNA 的基于核酸的剂,可调节主体免疫响应的剂。示例性的第二剂包括 (i) 现已批准的治疗 (peg-干扰素加上利巴韦林), (ii) HCV-酶靶向化合物, (iii) 病毒基因组靶向治疗 (例如 RNA 干扰

或 RNAi) 和 (iv) 免疫调节剂, 例如利巴韦林、干扰素 (INF) 和 Toll 受体激动剂

[0323] 在某些实施方案中, 第二剂是 NS3-4A 蛋白酶的调节剂。NS3-4A 蛋白酶是异二聚体蛋白酶, 包含 NS3 蛋白的氨基末端结构域和小 NS4A 辅因子。其活性是病毒 RNA 复制复合体的成分产生的关键。

[0324] 一种有用的 NS3-4A 蛋白酶抑制剂是 BILN 2061 (Ciluprevir; Boehringer Ingelheim), 肽产物抑制剂的一种大环拟物。尽管停止了使用 BILN 2061 的临床试验 (临床前的心脏毒性), 但其是在人类中被检测的第一种 NS3 抑制剂。参见 Lamarre 等人, 2003, *Nature* 426 :186-189, 其内容通过引用全文并入本文。

[0325] 另一种有用的 NS3-4A 蛋白酶抑制剂是 VX-950 (Vertex/Mitsubishi), NS3-4A 蛋白酶的一种蛋白酶裂解产品来源的拟肽类抑制剂。据信其通过酮酰胺被稳定到酶活性位点。参见例如 Lin 等人, 2005, *J Biol Chem.* 手稿 M506462200 (电子出版); Summa, 2005, *Curr Opin Investig Drugs.* 6 :831-7, 其内容通过引用全文并入本文。

[0326] 在某些实施方案中, 第二剂是 RNA 依赖性 RNA 聚合酶 (RdRp) HCVNS5B 的调节剂。包含在 NS5B 蛋白质中, RdRp 使用 RNA 模板合成 RNA。这一生物化学活性在哺乳动物中不存在。

[0327] RdRp 的一种有用的调节剂是 NM283 (Valopicitabine; Idenix/Novartis)。NM283 是处于 HCV 感染的治疗或预防的 II 期试验中的 NM107 (2'-C-甲基-胞嘧啶) 的一种口服前药 (缬氨酸酯)。参见例如美国专利申请公开第 20040077587 号, 其内容通过引用全文并入本文。

[0328] RdRp 的其他有用的调节剂包括 7-去氮核苷类似物。例如, 7-去氮-2'-C-甲基-腺苷是具有良好的药物代谢动力学特性的丙型肝炎病毒复制的强效的并且选择性的抑制剂。Olsen 等人, 2004, *Antimicrob. Agents Chemother.* 48 :3944-3953, 其内容通过引用全文并入本文。

[0329] 在另外的实施方案中, 第二剂是 NS5B 的非核苷调节剂。临床中正在评估 NS5B 抑制剂的至少三种不同类型的非核苷调节剂 (NNI)。

[0330] NS5B 的有用的非核苷调节剂包括 JTK-003 和 JTK-009。JTK-003 已经进入 II 期。NS5B 的有用的非核苷调节剂包括以苯并咪唑核或咪唑核为基础的 6,5-稠合杂环化合物。参见例如 Hashimoto 等人, WO 00147883, 其内容通过引用全文并入本文。

[0331] 另外的有用的聚合酶 NNI 包括 R803 (Rigel) 和 HCV-371、HCV-086 和 HCV-796 (ViroPharma/Wyeth)。此外有用的 NNI 包括为 NS5B 聚合酶的可逆变构抑制剂并且与由基于苯并咪唑的抑制剂占据的位点接近但是不同的位点结合的噻吩衍生物。参见例如 Biswal, 等人, 2005, *J. Biol. Chem.* 280 :18202-18210。

[0332] 用于本发明的方法的另外有用的 NNI 包括苯并噻二嗪类, 例如苯-1,2,4-噻二嗪类。苯-1,2,4-噻二嗪的衍生物已经显示是 HCV RNA 聚合酶的高度选择性抑制剂。Dhanak, 等人, 2002, *J. Biol. Chem.* 277 :38322-38327, 其内容通过引用全文并入本文。

[0333] 用于本发明的方法的另外有用的 NNI 和它们的机制描述于 LaPlante 等人, 2004 *Angew Chem. Int. Ed. Engl.* 43 :4306-4311; Tomei 等人, 2003, *J. Virol.* 77 :13225-13231; Di Marco 等人, 2005, *J. Biol. Chem.* 280 :297' 65-70; Lu, H., WO 2005/000308; Chan 等人, 2004, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 14 :797-800; Chan 等人, 2004, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 14 :

793-796 ;Wang 等人,2003, J. Biol. Chem. 278 :9489-9495 ;Love 等人,2003, J. Virol. 11 : 7575-7581 ;Gu 等人,2003, J. Biol. Chem. 278 :16602-16607 ;Tomei 等人,2004, J. Virol. 78 : 938-946 ;和 Nguyen 等人,2003, Antimicrob. Agents Chemother. 47 :3525-3530 ;其内容通过引用全文并入本文。

[0334] 在一个另外的实施方案中,第二剂是能够干扰 HCV RNA 的剂,例如定向于 HCV 多核苷酸的小抑制 RNA (siRNA) 或小发夹 RNA (shRNA)。在组织培养中,定向针对病毒基因组的 siRNA 和编码载体的小发夹 RNA shRNA 有效阻止 HCV 复制子的复制。参见例如 Randall 等人,2003, Proc. Natl Acad. Sci. USA 100 :235-240,其内容通过引用全文并入本文。

[0335] 在一个另外的实施方案中,第二剂是调节受治疗者的免疫响应的剂。例如在某些实施方案中,第二剂是目前批准用于 HCV 感染的治疗例如干扰素 (IFN)、聚乙二醇化 IFN、IFN 加上利巴韦林或聚乙二醇化 IFN 加上利巴韦林。在某些实施方案中,干扰素包括 IFN  $\alpha$ 、IFN  $\alpha$  2a 和 IFN  $\alpha$  2b,以及尤其是聚乙二醇化 IFN  $\alpha$  2a ( PEGASYS® )或聚乙二醇化 IFN  $\alpha$  2b ( PEG-INTRON® )。

[0336] 在一个另外的实施方案中,第二剂是 Toll 样受体 (TLR) 的调节剂。据信 TLR 是刺激先天抗病毒响应的靶。适合的 TLR 包括但不限于 TLR3、TLR7、TLR8 和 TLR9。据信 Toll 样受体感测侵入微生物例如细菌、病毒和寄生虫的存在。它们由免疫细胞包括巨噬细胞、单核细胞、树状突细胞和 B 细胞表达。TLR 的刺激或活化可通过引入抗微生物基因和致炎细胞因子和趋化因子启动急性炎症性响应。

[0337] 在某些实施方案中,第二剂是包含 CpG 基序的多核苷酸。包含未甲基化的 CpG 基序的合成寡核苷酸是 TLR-9 的强效激动剂。具有这些寡核苷酸的树状突细胞的刺激导致肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、白介素-12 和 IFN- $\alpha$  的产生。TLR-9 配体同样是 B 细胞增殖和抗体分泌的强效刺激剂。一种有用的含有 CpG 的寡核苷酸是 CPG-10101 (Actilon ;Coley Pharmaceutical Group),其已经在临床中评估。

[0338] TLR 的另一种有用的调节剂是 ANA975 (Anadys)。ANA975 据信通过 TLR-7 起作用,并且已知通过引入并释放炎症性细胞因子例如 IFN- $\alpha$  引起强力的抗病毒响应。

[0339] 在另一个实施方案中,第二剂是西戈斯韦。西戈斯韦是  $\alpha$ -葡萄糖苷酶 I 抑制剂并且通过主体定向的糖基化起作用。在临床前研究中,西戈斯韦已经被证实与 IFN  $\alpha$  加上利巴韦林的强力协同作用。参见例如 Whitby 等人,2004, Antivir Chem Chemother. 15(3) : 141-51。在加拿大,西戈斯韦现在正在慢性 HCV 患者的 II 期单一疗法研究中评估。

[0340] 另外的免疫调节剂和它们的机制或靶描述于 Schetter&Vollmer,2004, Curr. Opin. Drug Discov. Dev. 7 :204-210 ;Takeda 等人,2003, Annu. Rev. Immunol. 21 :335-376 ; Lee 等人,2003, Proc. Natl Acad. Sci. USA 100 :6646-6651 ;Hosmans 等人,2004, Hepatology 40( 增补 1), 282A 和美国专利第 6,924,271 号 ;其内容通过引用全文并入本文。

[0341] 在某些实施方案中,本发明提供式 (I) 的化合物与对 HIV 感染的治疗或预防有效的第二剂组合施用的方法。第二剂可以是本领域技术人员已知的对 HIV 感染的治疗有效的任何剂。第二剂可以是目前已知的或之后开发的。

[0342] 在某些实施方案中,本发明的第二剂可以与式 (I) 的化合物一起配制或包装。当然,第二剂将仅在当根据本领域技术人员判断这种共制剂应当不干扰施用的剂或方法的活



性时,才与式(I)的化合物一起配制。在某些实施方案中,式(I)的化合物或第二剂被分别配制。为了本领域的开业医生的方便,它们可被包装在一起或分别包装。

[0343] 第二剂的剂量将用于本发明的组合治疗中。在某些实施方案中,低于已经或目前正在用于预防或治疗 HCV 感染的那些剂量的剂量被用于本发明的组合治疗中。第二剂的建议剂量可从本领域技术人员的常识获得。对于批准用于临床使用的那些第二剂,建议的剂量被描述于例如 Goodman&Gilman 的 *The Pharmacological Basis Of Basis Of Therapeutics*(治疗基础的药理学基础)第 9 版,Hardman 等人编辑,McGraw-Hill, New York(1996);*Physician's Desk Reference(PDR)*(医师案头参考)第 57 版,Medical Economics Co., Inc., Montvale, NJ(2003),其内容通过引用全文并入本文。

[0344] 在不同的实施方案中,治疗(例如式(I)的化合物和第二剂)以小于 5 分钟的间隔、小于 30 分钟的间隔、1 小时的间隔、约 1 小时的间隔、约 1 至约 2 小时的间隔、约 2 小时至约 3 小时的间隔、约 3 小时至约 4 小时的间隔、约 4 小时至约 5 小时的间隔、约 5 小时至约 6 小时的间隔、约 6 小时至约 7 小时的间隔、约 7 小时至约 8 小时的间隔、约 8 小时至约 9 小时的间隔、约 9 小时至约 10 小时的间隔、约 10 小时至约 11 小时的间隔、约 11 小时至约 12 小时的间隔、约 12 小时至约 18 小时的间隔、约 18 小时至约 24 小时的间隔、约 24 小时至约 36 小时的间隔、约 36 小时至约 48 小时的间隔、约 48 小时至约 52 小时的间隔、约 52 小时至约 60 小时的间隔、约 60 小时至约 72 小时的间隔、约 72 小时至约 84 小时的间隔、约 84 小时至约 96 小时的间隔或约 96 小时至约 120 小时的间隔施用。在某些实施方案中,两种或更多种治疗在同一次患者就诊中施用。

[0345] 在某些实施方案中,式(I)的化合物和第二剂被循环施用。循环治疗包括施用第一种治疗(例如第一预防剂或治疗剂)一段时间,之后施用第二种治疗(例如第二预防剂或治疗剂)一段时间,之后施用第三种治疗(例如第三预防剂或治疗剂)一段时间等等,并且重复这一顺序施用,即循环以便减少对剂中的一种的抗性的发展,以避免或减少剂中的一种的副作用和/或增加治疗的效力。

[0346] 在某些实施方案中,相同的剂的施用可被重复并且施用可以间隔至少 1 天、2 天、3 天、5 天、10 天、15 天、30 天、45 天、2 个月、75 天、3 个月或 6 个月。在其他实施方案中,相同的剂的施用可被重复,并且施用可以间隔至少 1 天、2 天、3 天、5 天、10 天、15 天、30 天、45 天、2 个月、75 天、3 个月或 6 个月。

[0347] 在某些实施方案中,式(I)的化合物和第二剂按顺序并在一定时间间隔内施用于患者例如哺乳动物诸如人类,以使式(I)的化合物可与其他剂一起起作用,以提供比它们以另外的方式施用增加的益处。例如,第二活性剂可在相同时间或在时间上不同的点以任何顺序施用;然而,如果没有在相同时间施用,它们应当在足够接近的时间内施用,以便提供所期望的治疗或预防作用。在一个实施方案中,式(I)的化合物和第二活性剂在它们重叠的时间发挥它们的作用。每种第二活性剂可以任何的形式并且通过任何适当的途径分开地施用。在其他实施方案中,式(I)的化合物在第二活性剂的施用之前,同时或之后施用。

[0348] 在不同的实施方案中,式(I)的化合物和第二剂以小于约 1 小时的间隔、约 1 小时的间隔、约 1 小时至约 2 小时的间隔、约 2 小时至约 3 小时的间隔、约 3 小时至约 4 小时的间隔、约 4 小时至约 5 小时的间隔、约 5 小时至约 6 小时的间隔、约 6 小时至约 7 小时的间隔、约 7 小时至约 8 小时的间隔、约 8 小时至约 9 小时的间隔、约 9 小时至约 10 小时的间隔、

约 10 小时至约 11 小时的间隔、约 11 小时至约 12 小时的间隔、不超过 24 小时的间隔或不超过 48 小时的间隔施用。在其他实施方案中，式 (I) 的化合物和第二剂同时施用。

[0349] 在其他实施方案中，式 (I) 的化合物和第二剂以约 2 天至 4 天的间隔、4 天至 6 天的间隔、约 1 星期的间隔、约 1 星期至 2 星期的间隔或多于 2 星期的间隔施用。

[0350] 在某些实施方案中，式 (I) 的化合物和第二剂被循环施用于患者。循环治疗包括施用第一剂一段时间，之后施用第二剂和 / 或第三剂一段时间并且重复这一顺序的施用。循环治疗可减少治疗中的一种或多种的抗性的发展，避免或减少治疗中的一种的副作用和 / 或增加治疗的效力。

[0351] 在某些实施方案中，式 (I) 的化合物和第二剂以小于约 3 周的循环、约每两周一次、约每 10 天一次或约每周一次的循环施用。一个循环可包含通过约 90 分钟的每个循环、约 1 小时的每个循环、约 45 分钟的每个循环内输注来施用式 (I) 的化合物和第二剂。每个循环可包括至少 1 个星期的休息、至少 2 个星期的休息、至少 3 个星期的休息。所施用的循环的数目是约 1 至约 12 个循环、更典型地约 2 至约 10 个循环和更典型地约 2 至约 8 个循环。

[0352] 在其他实施方案中，治疗的过程被同时施用于患者，即在一定时间间隔分开地施用单独剂量的第二剂，以便式 (I) 的化合物可与第二活性剂一起起作用。例如，可将一种组分每星期一次与可每两星期一次或每三星期一次施用的其他组分组合施用。换句话说，给药方案可同时进行，即使治疗未同时或在同一天期间施用。

[0353] 第二剂可与式 (I) 的化合物加合或协同地起作用。在一个实施方案中，式 (I) 的化合物与一种或多种第二剂在相同的药物组合物中同时施用。在另一个实施方案中，式 (I) 的化合物与一种或多种第二剂在不同的药物组合物中同时施用。在又一个实施方案中，式 (I) 的化合物在第二剂施用之前或之后施用。本发明涵盖通过相同或不同的施用途径（例如口服或肠胃外）施用式 (I) 的化合物和第二剂。在某些实施方案中，当式 (I) 的化合物与可能产生包括但不限于毒性的副作用的第二剂同时施用，第二活性剂可有利地以下降至引起副作用的阈值之下的剂量施用。

#### [0354] 药盒

[0355] 本发明还提供了在治疗或预防 HIV 和 / 或 HCV 感染的方法中使用的药盒。药盒可包括本文公开的化合物或组合物和向保健提供者提供关于治疗或预防细菌感染的使用的信息的说明书。说明书可以打印的形式或以电子介质例如软盘、CD 或 DVD 形式或以可获得这些说明书的网站地址的形式提供。单位剂量的本文公开的化合物或组合物可包括一个剂量，以使施用于受治疗者时化合物或组合物的治疗或预防上有效的血浆水平可在受治疗者中被维持至少一天。在一些实施方案中，包括作为无菌液体药物组合物或无水粉末（例如冷冻干燥的）组合物的本文公开的化合物或组合物。在一个实施方案中，化合物是根据式 (I) 的化合物。

[0356] 在一些实施方案中，提供了适合的包装。如本文所用的，“包装”是指通常在系统中使用并能够在固定的范围内保存适于对受治疗者施用的本文公开的化合物或组合物的固体基质或材料。这些材料包括玻璃和塑料（例如聚乙烯、聚丙烯和聚碳酸酯）瓶、管瓶、纸、塑料和塑料-箔层压的封套及类似物。如果使用电子束灭菌技术，包装应当具有足够低的密度以允许内含物的灭菌。

[0357] 除了本文公开的化合物或组合物之外,本发明的药盒还可包括在如上文的方法中所描述的与所述化合物或组合物一起使用的第二剂或包含第二剂的组合物。

[0358] 下列实施例说明本发明中所用的代表性的式 (I) 的化合物的合成,且下列参考实施例说明在它们的制备中的中间体的合成。这些实施例不意为或它们不被认为是对本发明的范围的限制。应当清楚的是本发明可以除了本文特别描述的之外的其它方式实行。依据本文教导,本发明的许多修改和变化是可能的,并且因此在本发明的范围内。

[0359] 实施例 1

[0360] 将在甲醇中的甲醇钠(按重量 25%, 2.5 摩尔当量)加至 [3'-乙酰氧基-N-甲基-Bmt]<sup>1</sup>[2'-甲氧基-Sar]<sup>3</sup>[4'-乙酰氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A (275mg) 的甲醇溶液并且将所获得混合物于室温搅拌 24 小时。之后加入乙酸以中和过量的甲醇钠。在减压下除去甲醇,并且使用制备型色谱法纯化残余物以产生 [(R)-甲氧基-Sar]<sup>3</sup>[4'-乙酰氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A (化合物 A)。<sup>1</sup>H NMR 峰位于 5.83、7.13、7.74 和 7.89ppm。

[0361] 通过以相似的方式进行,制备下列化合物:

[0362]

| Cpd | 名称  | <sup>1</sup> H NMR<br>(ppm, NH)   | LC-MS               |
|-----|---|-----------------------------------|---------------------|
| B   | [(R)-甲硫基-Sar] <sup>3</sup> [4'-N,N'-二甲基氨基乙酰氧基-N-甲基亮氨酸] <sup>4</sup> -环孢菌素 A | 5.75, 7.15, 7.45,<br>7.63, 8.02.= | 1350.8 (M+2)        |
| C   | [4'-N,N'-二甲基氨基乙酰氧基-N-甲基亮氨酸] <sup>4</sup> 环孢菌素 A                             | 7.13, 7.56, 7.59,<br>7.90         | 1304.8<br>(M+2)     |
| D   | [4'-N,N'-二乙基氨基乙酰氧基-N-甲基亮氨酸] <sup>4</sup> 环孢菌素 A                             | 7.14, 7.54, 7.61,<br>7.92         | 677.5<br>(M+1+Na)/2 |

[0363] 实施例 2

[0364] 将 [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A (200mg) 和乙酸酐 (0.035mL) 的混合物的二氯甲烷溶液用三氟甲磺酸铋 (III) 四水合物 (5.2mg) 处理,并将所得的混合物于室温搅拌超过 2.5 天。粗产物通过使用硅胶柱的色谱法纯化以产生 [4'-乙酰氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A (化合物 E)。<sup>1</sup>H NMR 峰位于 7.14, 7.51, 7.61 和 7.89ppm; LC MS 631.0 (M+2)/2。

[0365] 通过以相似的方式进行,制备下列化合物:

[0366] [4'-三甲基乙酰氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A (化合物 F)。相关峰的 <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 0.71 (d, J = 5.91Hz, 3H), 1.12 (s, 9H), 2.70 (s, 3H), 2.71 (s, 3H), 3.11 (s, 3H), 3.17 (s, 3H), 3.26 (s, 3H), 3.39 (s, 3H), 3.51 (s, 3H), 3.78 (m, 1H), 4.00 (m, 1H), 4.54 (m, 1H), 4.66 (m, 2H), 4.83 (m, 1H), 4.97 (m, 1H), 5.06 (m, 2H), 5.14 (d, J = 10.84Hz, 1H), 5.34 (m, 2H), 5.44 (m, 1H), 5.50 (d, 5.95Hz, 1H), 5.70 (dd, J = 10.81, 4.08Hz, 1H), 7.14 (d, J = 7.91Hz, 1H), 7.53 (d, J = 8.25Hz, 1H), 7.58 (d, J = 7.57Hz, 1H), 7.94 (d, J =

9.76Hz, 1H); LCMS-MS (ESI+) 663.0 (M+Na+H)/2。

[0367] [4'-丙酰氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素A(化合物G)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 0.71(d, J = 5.76Hz, 3H), 2.70(s, 3H), 2.71(s, 3H), 3.11(s, 3H), 3.14(s, 3H), 3.26(s, 3H), 3.40(s, 3H), 3.51(s, 3H), 3.78(m, 1H), 4.03(m, 1H), 4.54(m, 1H), 4.66(m, 2H), 4.83(m, 1H), 4.96(dd, J = 9.18, 6.49Hz, 1H), 5.06(m, 2H), 5.14(d, J = 10.88Hz, 1H), 5.34(m, 2H), 5.49(m, 2H), 5.70(dd, J = 10.93, 4.07Hz, 1H), 7.13(d, J = 7.91Hz, 1H), 7.50(d, J = 8.25Hz, 1H), 7.58(d, J = 7.52Hz, 1H), 7.90(d, J = 9.71Hz, 1H); LCMS-MS (ESI+) 1275.0 (M+H)。

[0368] [4'-丁酰氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素A(化合物H)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 0.71(d, J = 5.76Hz, 3H), 2.70(s, 3H), 2.71(s, 3H), 3.13(s, 3H), 3.15(s, 3H), 3.26(s, 3H), 3.40(s, 3H), 3.51(s, 3H), 3.78(m, 1H), 4.03(m, 1H), 4.54(m, 1H), 4.66(m, 2H), 4.83(m, 1H), 4.96(dd, J = 9.22, 6.39Hz, 1H), 5.06(m, 2H), 5.14(d, J = 10.83Hz, 1H), 5.34(m, 2H), 5.49(m, 2H), 5.70(dd, J = 10.69, 3.95Hz, 1H), 7.14(d, J = 7.86Hz, 1H), 7.51(d, J = 8.30Hz, 1H), 7.59(d, J = 7.52Hz, 1H), 7.91(d, J = 9.66Hz, 1H); LCMS-MS (ESI+) 1289.0 (M+H)。

[0369] [4'-异丁酰氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素A(化合物I)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 0.71(d, J = 5.71Hz, 3H), 2.70(s, 3H), 2.71(s, 3H), 3.11(s, 3H), 3.16(s, 3H), 3.26(s, 3H), 3.39(s, 3H), 3.51(s, 3H), 3.78(m, 1H), 4.02(m, 1H), 4.54(m, 1H), 4.66(m, 2H), 4.83(m, 1H), 4.96(dd, J = 9.22, 6.44Hz, 1H), 5.06(m, 2H), 5.14(d, J = 10.83Hz, 1H), 5.34(m, 2H), 5.49(m, 2H), 5.70(dd, J = 10.64, 3.90Hz, 1H), 7.13(d, J = 7.91Hz, 1H), 7.52(d, J = 8.44Hz, 1H), 7.59(d, J = 7.47Hz, 1H), 7.92(d, J = 9.71Hz, 1H); LCMS-MS (ESI+) 1288.7 (M+H)。

[0370] [4'-(反式-2-甲基-2-丁烯酰基)氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素A(化合物J)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 0.70(d, J = 5.95Hz, 3H), 2.70(s, 3H), 2.71(s, 3H), 3.08(s, 3H), 3.10(s, 3H), 3.26(s, 3H), 3.36(s, 3H), 3.51(s, 3H), 3.76(m, 1H), 4.19(m, 1H), 4.57(m, 2H), 4.66(m, 1H), 4.83(m, 1H), 4.96(dd, J = 9.03, 6.54Hz, 1H), 5.06(m, 2H), 5.14(d, J = 10.83Hz, 1H), 5.34(m, 2H), 5.50(m, 2H), 5.70(dd, J = 10.64, 3.90Hz, 1H), 6.70(m, 1H), 7.12(d, J = 7.86Hz, 1H), 7.47(d, J = 8.30Hz, 1H), 7.56(d, J = 7.52Hz, 1H), 7.85(d, J = 9.76Hz, 1H); LCMS-MS (ESI+) 1300.7 (M+H)。

[0371] 实施例3

[0372] 将[4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素A(210mg, 0.172mmol)、三乙胺(0.144mL, 1.03mmol)和4-二甲基氨基吡啶(126mg, 1.03mmol)于0℃溶解于无水二氯甲烷中。加入双(4-硝基苯基)碳酸酯(157mg, 0.52mmol)并且将混合物搅拌30分钟。移走冷水浴,并且将反应物于室温搅拌36小时。将混合物用水稀释,并且用二氯甲烷萃取。将有机层用盐水洗涤、干燥(硫酸钠)、过滤并用硅胶浓缩。通过使用溶于庚烷的10%甲醇/乙酸乙酯的0-100%的梯度混合物洗脱的快速柱色谱的纯化获得为橙色固体的[4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素A对硝基苯基-4'-碳酸酯(化合物K)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 0.72(d, J = 5.71Hz, 3H), 2.70(s, 3H), 2.71(s, 3H), 3.12(s, 3H), 3.18(s, 3H), 3.26(s, 3H), 3.39(s, 3H), 3.51(s, 3H), 3.80(m, 1H), 4.54(m, 1H), 4.70(m, 2H), 4.84(m, 1H), 4.98(dd, J = 9.27,

6.35Hz, 1H), 5.07 (m, 2H), 5.13 (d,  $J = 10.88\text{Hz}$ , 1H), 5.34 (m, 2H), 5.49 (m, 1H), 5.59 (m, 1H), 5.70 (dd,  $J = 10.74, 4.00\text{Hz}$ , 1H), 7.15 (d,  $J = 7.86\text{Hz}$ , 1H), 7.34 (d,  $J = 9.08\text{Hz}$ , 2H), 7.59 (d,  $J = 8.44\text{Hz}$ , 1H), 7.64 (d,  $J = 7.52\text{Hz}$ , 1H), 7.96 (d,  $J = 9.66\text{Hz}$ , 1H) 8.27 (d,  $J = 9.08\text{Hz}$ , 2H); LCMS-MS (ESI+) 1383.9 (M+H)。

[0373] 实施例 4

[0374] 将 [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup> 环孢菌素 A 对硝基苯基-4'-碳酸酯 (化合物 K) (80mg, 0.059mmol) 溶于无水 TFH。将容器抽真空并用氩气再充满, 之后加入三乙胺 (0.040mL, 0.289mmol), 然后加入二甲胺 (0.145mL, 0.289mmol)。将立即变成黄色的反应混合物于室温搅拌 30 分钟。加入硅胶并且蒸发溶剂。通过使用溶于庚烷的 5% 甲醇 / 乙酸乙酯的 0-100% 的梯度混合物洗脱的快速柱色谱的纯化获得白色固体 [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup> 环孢菌素 AN, N-二甲基-4'-氨基甲酸酯 (化合物 L)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm 0.70 (d,  $J = 5.91\text{Hz}$ , 3H), 2.70 (s, 3H), 2.71 (s, 3H), 2.78 (s, 3H), 2.82 (s, 3H), 3.10 (s, 3H), 3.14 (s, 3H), 3.26 (s, 3H), 3.39 (s, 3H), 3.51 (s, 3H), 3.77 (m, 1H), 4.28 (d, 6.39Hz, 1H), 4.55 (m, 1H), 4.66 (m, 2H), 4.83 (m, 1H), 4.93 (dd,  $J = 8.93, 6.64\text{Hz}$ , 1H), 5.06 (m, 2H), 5.14 (d,  $J = 10.83\text{Hz}$ , 1H), 5.34 (m, 2H), 5.47 (d,  $J = 8.88\text{Hz}$ , 1H), 5.52 (d,  $J = 5.76\text{Hz}$ , 1H), 5.70 (dd,  $J = 10.64, 3.90\text{Hz}$ , 1H), 7.12 (d,  $J = 7.91\text{Hz}$ , 1H), 7.48 (d,  $J = 8.20\text{Hz}$ , 1H), 7.55 (d,  $J = 7.56\text{Hz}$ , 1H), 7.86 (d,  $J = 9.71\text{Hz}$ , 1H); LCMS-MS (ESI+) 1289.7 (M+H)。

[0375] 通过以相似的方式进行, 制备下列化合物:

[0376] [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup> 环孢菌素 AN, N-二乙基-4'-氨基甲酸酯 (化合物 M)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm 2.63 (s, 3H), 2.63 (s, 3H), 3.03 (s, 3H), 3.08 (s, 3H), 3.19 (s, 3H), 3.31 (s, 3H), 3.44 (s, 3H), 7.05 (d, 1H), 7.42 (d, 1H), 7.48 (d, 1H), 7.81 (d, 1H); LCMS-MS (ESI+) 1317.4 (M+H), 1339.4 (M+Na)。

[0377] [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup> 环孢菌素 A N-甲基-4'-氨基甲酸酯 (化合物 N)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm 2.61 (d, 3H), 2.63 (s, 3H), 2.63 (s, 3H), 3.03 (s, 3H), 3.08 (s, 3H), 3.19 (s, 3H), 3.33 (s, 3H), 3.44 (s, 3H), 7.06 (d, 1H), 7.42 (d, 1H), 7.49 (d, 1H), 7.81 (d, 1H); LCMS-MS (ESI+) 1275.4 (M+H), 1297.4 (M+Na)。

[0378] [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup> 环孢菌素 A N-乙基-4'-氨基甲酸酯 (化合物 O)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm 2.62 (s, 3H), 2.63 (s, 3H), 3.03 (s, 3H), 3.07 (s, 3H), 3.18 (s, 3H), 3.32 (s, 3H), 3.44 (s, 3H), 7.06 (d, 1H), 7.42 (d, 1H), 7.50 (d, 1H), 7.82 (d, 1H); LCMS-MS (ESI+) 1289.4 (M+H), 1311.4 (M+Na)。

[0379] [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup> 环孢菌素 AN-烯丙基-4'-氨基甲酸酯 (化合物 P)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm 2.63 (s, 3H), 2.63 (s, 3H), 3.03 (s, 3H), 3.07 (s, 3H), 3.18 (s, 3H), 3.32 (s, 3H), 3.44 (s, 3H), 5.68-5.77 (m, 1H), 7.06 (d, 1H), 7.43 (d, 1H), 7.52 (d, 1H), 7.81 (d, 1H); LCMS-MS (ESI+) 1301.4 (M+H), 1323.4 (M+Na)。

[0380] [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup> 环孢菌素 AN-(正丁基)-4'-氨基甲酸酯 (化合物 Q)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm 2.63 (s, 3H), 2.63 (s, 3H), 3.03 (s, 3H), 3.08 (s, 3H), 3.18 (s, 3H), 3.32 (s, 3H), 3.44 (s, 3H), 7.06 (d, 1H), 7.42 (d, 1H), 7.52 (d, 1H), 7.82 (d, 1H); LCMS-MS (ESI+) 1317.4 (M+H), 1339.4 (M+Na)。

[0381] [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup> 环孢菌素 AN-(正己基)-4'-氨基甲酸酯 (化合

物 R)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 2.63(s, 3H), 2.63(s, 3H), 3.03(s, 3H), 3.07(s, 3H), 3.18(s, 3H), 3.32(s, 3H), 3.44(s, 3H), 7.06(d, 1H), 7.42(d, 1H), 7.51(d, 1H), 7.82(d, 1H); LCMS-MS(ESI+) 1345.4(M+H), 1367.4(M+Na)。

[0382] [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A N-苄基-4'-氨基甲酸酯(化合物 S)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 2.62(s, 3H), 2.63(s, 3H), 3.01(s, 3H), 3.03(s, 3H), 3.17(s, 3H), 3.20(s, 3H), 3.43(s, 3H), 7.05(d, 1H), 7.18-7.28(m, 5H), 7.41(d, 1H), 7.49(d, 1H), 7.78(d, 1H); LCMS-MS(ESI+) 1351.4(M+H), 1373.4(M+Na)。

[0383] [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 AN-(对甲氧基苄基)-4'-氨基甲酸酯(化合物 T)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 2.62(s, 3H), 2.63(s, 3H), 3.02(s, 3H), 3.03(s, 3H), 3.17(s, 3H), 3.21(s, 3H), 3.43(s, 3H), 3.72(s, 3H), 6.77-6.81(m, 2H), 7.05(d, 1H), 7.11-7.13(m, 2H), 7.42(d, 1H), 7.49(d, 1H), 7.78(d, 1H); LCMS-MS(ESI+) 1381.4(M+H), 1403.5(M+Na)。

[0384] [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A 氮杂环丁烷-4'-氨基甲酸酯(化合物 U)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 2.63(s, 3H), 2.63(s, 3H), 3.03(s, 3H), 3.07(s, 3H), 3.18(s, 3H), 3.34(s, 3H), 3.44(s, 3H), 7.05(d, 1H), 7.41(d, 1H), 7.48(d, 1H), 7.81(d, 1H); LCMS-MS(ESI+) 1301.4(M+H), 1323.4(M+Na)。

[0385] [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A 吡咯烷-4'-氨基甲酸酯(化合物 V)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 2.63(s, 3H), 2.64(s, 3H), 3.03(s, 3H), 3.08(s, 3H), 3.19(s, 3H), 3.31(s, 3H), 3.44(s, 3H), 7.05(d, 1H), 7.40(d, 1H), 7.49(d, 1H), 7.80(d, 1H); LCMS-MS(ESI+) 1315.4(M+H), 1337.4(M+Na)。

[0386] [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A 哌啶-4'-氨基甲酸酯(化合物 W)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 2.63(s, 3H), 2.63(s, 3H), 3.03(s, 3H), 3.06(s, 3H), 3.19(s, 3H), 3.32(s, 3H), 3.44(s, 3H), 7.05(d, 1H), 7.41(d, 1H), 7.49(d, 1H), 7.82(d, 1H); LCMS-MS(ESI+) 1329.4(M+H), 1351.4(M+Na)。

[0387] [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 AS-苄基-4'-硫代碳酸酯(化合物 X)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 2.62(s, 3H), 2.63(s, 3H), 2.90(s, 3H), 3.03(s, 3H), 3.17(s, 3H), 3.25(s, 3H), 3.43(s, 3H), 7.05(d, 1H), 7.17-7.28(m, 5H), 7.45(d, 1H), 7.52(d, 1H), 7.77(d, 1H); LCMS-MS(ESI+) 1368.4(M+H), 1390.4(M+Na)。

[0388] [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A 4-甲基-1-哌嗪-4'-氨基甲酸酯(化合物 Y)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 2.21(s, 3H), 2.62(s, 3H), 2.63(s, 3H), 3.03(s, 3H), 3.06(s, 3H), 3.18(s, 3H), 3.32(s, 3H), 3.44(s, 3H), 7.05(d, 1H), 7.43(d, 1H), 7.49(d, 1H), 7.83(d, 1H); LCMS-MS(ESI+) 1344.4(M+H)。

[0389] [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A N, N-二甲基乙二胺-4'-氨基甲酸酯(化合物 Z)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 2.13(s, 6H), 2.62(s, 3H), 2.63(s, 3H), 3.03(s, 3H), 3.07(s, 3H), 3.18(s, 3H), 3.32(s, 3H), 3.44(s, 3H), 7.06(d, 1H), 7.42(d, 1H), 7.51(d, 1H), 7.83(d, 1H); LCMS-MS(ESI+) 1332.5(M+H)。

[0390] 参考实施例 1

[0391] 将樟脑磺酸加入 [3'-乙酰氧基-N-甲基-Bmt]<sup>1</sup>[2'-乙酰氧基-Sar]<sup>3</sup>-[4'-乙酰氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A(130mg) 的甲醇(2mL) 溶液, 并且将所得的混合物于

50℃搅拌 5 小时。将反应混合物用乙酸乙酯稀释,用饱和碳酸氢钠和盐水洗涤,之后浓缩产生 [3'-乙酰氧基-N-甲基-Bmt]<sup>1</sup>[(R)-甲氧基-Sar]<sup>3</sup>-[4'-乙酰氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup> 环孢菌素 A。<sup>1</sup>H NMR 显示肌氨酸质子位于 5.65ppm。

[0392] 参考实施例 2

[0393] 将乙酸汞 (100mg) 加至 [3'-乙酰氧基-N-甲基-Bmt]<sup>1</sup>[2'-硫代苯基-Sar]<sup>3</sup>-[4'-乙酰氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup> 环孢菌素 A (100mg) 的冰醋酸溶液,并将所得的混合物于 50℃搅拌 5 小时。之后除去溶剂,并且将残余物溶于乙酸乙酯,用碳酸氢钠的饱和溶液和之后的盐水洗涤,并且用硫酸钠干燥。除去溶剂之后,将终产物通过 <sup>1</sup>H NMR 分析并产生 [3'-乙酰氧基-N-甲基-Bmt]<sup>1</sup>[2'-乙酰氧基-Sar]<sup>3</sup>-[4'-乙酰氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup> 环孢菌素 A。

[0394] 参考实施例 3

[0395] 将 N,N-二甲基氨基吡啶 (310mg)、四乙基溴化铵 (0.35mg) 和乙酸酐 (0.16mL) 加至 [2'-硫代苯基-Sar]<sup>3</sup>-[4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup> 环孢菌素 A (550mg) 的无水二氯甲烷溶液。将所得的混合物于室温搅拌约 2.5 天。之后将反应混合物用乙酸乙酯稀释、用水和盐水洗涤并浓缩。将粗产物通过使用硅胶柱的色谱法纯化,用乙酸乙酯和己烷的混合物洗脱以产生 [3'-乙酰氧基-N-甲基-Bmt]<sup>1</sup>[2'-硫代苯基-Sar]<sup>3</sup>-[4'-乙酰氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup> 环孢菌素 A。

[0396] 参考实施例 4

[0397] 将 [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup> 环孢菌素 A (1.22g) 的无水叔丁基甲基醚 (TBME) 溶液于惰性气氛下于 -33℃加至液氨 (30mL) 中的氨基钠 (1.0g) 的悬浮液。将所得的混合物于惰性气氛下于 -33℃搅拌 90 分钟。之后加入二苯二硫醚 (4.4g),并且将反应混合物于惰性气氛下于 -33℃搅拌另外 2 小时。之后将反应混合物用 TBME 和水稀释,充分混合并且分层。将有机层用盐水洗涤,之后浓缩。将残余物通过使用硅胶柱的色谱法纯化,首先用乙酸乙酯和庚烷的混合物之后用甲醇和乙酸乙酯的混合物洗脱,以产生 [2'-硫代苯基-Sar]<sup>3</sup>-[4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup> 环孢菌素 A。

[0398] 参考实施例 5

[0399] 将碘化钾 (20mg, 1.1 当量)、二异丙基乙胺 (0.02mL, 1.1 当量) 和二甲胺 (0.06mL, 2.0M 的 THF 溶液, 1.1 当量) 加至 [3'-乙酰氧基-N-甲基-Bmt]<sup>1</sup>[2'-甲硫基-Sar]<sup>3</sup>[4'-氯乙酰氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup> 环孢菌素 A (100mg) 的无水乙腈溶液,并且将所得的混合物于室温搅拌 40 小时。将反应混合物用水稀释,并用乙酸乙酯萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤,之后浓缩。将粗产物通过使用硅胶柱的色谱法纯化,用溶于庚烷的乙酸乙酯洗脱以产生 [3'-乙酰氧基-N-甲基-Bmt]<sup>1</sup>[2'-甲硫基-Sar]<sup>3</sup>-[4'-N'-N-二甲基氨基乙酰氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup> 环孢菌素 A。

[0400] 以相似的方式进行,还制备了 [3'-乙酰氧基-N-甲基-Bmt]<sup>1</sup>[4'-N'-N-二甲基氨基乙酰氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup> 环孢菌素 A 和 [3'-乙酰氧基-N-甲基-Bmt]<sup>1</sup>[4'-N'-N-二乙基氨基乙酰氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup> 环孢菌素 A。

[0401] 参考实施例 6

[0402] 将氯乙酸酐 (120mg, 10 当量) 和吡啶 (0.06mL, 10 当量) 加至含有 4-二甲基氨基吡啶 (0.01g, 1.0 当量) 的 [3'-乙酰氧基-N-甲基-Bmt]<sup>1</sup>[2'-甲硫基-Sar]<sup>3</sup>-[4'-羟基

基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A(90mg)的二氯甲烷溶液,并将所得混合物于室温搅拌 5 小时。加入第二批氯乙酸酐(0.05g,5.0 当量)和吡啶(0.03mL,5.0 当量),并且将反应混合物搅拌 12 小时。加入第三批氯乙酸酐(0.05g,5.0 当量)和吡啶(0.03mL,5.0 当量),并且将反应混合物搅拌 12 小时,之后加入最后一批氯乙酸酐(0.05g,5.0 当量)和吡啶(0.03mL,5.0 当量)并且将反应混合物搅拌另外的 12 小时。将反应混合物用乙酸乙酯和水稀释,并且分层。将有机层用冷的溶于水的 1.0N 盐酸、溶于水的饱和碳酸氢钠、盐水洗涤并且用无水硫酸钠干燥。除去溶剂之后,将残余物通过使用硅胶柱并且用乙酸乙酯和庚烷洗脱的色谱法纯化以产生 [3'-乙酰氧基-N-甲基-Bmt]<sup>1</sup>[2'-甲硫基-Sar]<sup>3</sup>-[4'-氯乙酰氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A。

[0403] 以相似的方式进行,还制备 [3'-乙酰氧基-N-甲基-Bmt]<sup>1</sup>-[4'-氯乙酰氧基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A。

[0404] 参考实施例 7

[0405] 将三氟甲磺酸铟(11mg,0.33 当量)加至 [3'-乙酰氧基-N-甲基-Bmt]<sup>1</sup>[2'-甲硫基-Sar]<sup>3</sup>[4'-叔丁基二甲基甲硅氧烷基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A(100mg)的二氯甲烷溶液,并将所得的混合物于室温搅拌过夜。将粗的反应混合物直接装载于 12 克硅胶柱上,用溶于庚烷的乙酸乙酯洗脱。将含有所期望的产物的部分汇集,在减压下浓缩,并且在真空中干燥以产生 [3'-乙酰氧基-N-甲基-Bmt]<sup>1</sup>[2'-甲硫基-Sar]<sup>3</sup>[4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A。

[0406] 参考实施例 8

[0407] 将乙酸酐(0.07mL,10 当量)和 4-二甲基氨基吡啶(0.044g,5 当量)加至 [2'-甲硫基-Sar]<sup>3</sup>-[4'-叔丁基二甲基甲硅氧烷基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A(100mg)的吡啶溶液,并将所得混合物于室温搅拌 60 小时。将反应混合物用乙酸乙酯和水稀释并且分层。将有机层用冷的溶于水的 1.0N 盐酸、溶于水的饱和碳酸氢钠、盐水洗涤并且用无水硫酸钠干燥。除去溶剂之后,将残余物通过使用硅胶柱,用乙酸乙酯和庚烷洗脱的色谱法纯化以产生 [3'-乙酰氧基-N-甲基-Bmt]<sup>1</sup>[2'-甲硫基-Sar]<sup>3</sup>-[4'-叔丁基二甲基甲硅氧烷基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A。

[0408] 参考实施例 9

[0409] 将三乙胺(0.06mL,2.2 当量)和叔丁基二甲基甲硅基三氟甲磺酸酯(0.05mL,1.1 当量)加至 [2'-甲硫基-Sar]<sup>3</sup>-[4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A(250mg)的无水二氯甲烷溶液。将所得的混合物于室温搅拌约 2.5 小时。之后将反应混合物浓缩并且将粗产品通过使用硅胶柱,用庚烷和溶于乙酸乙酯的 5%甲醇的混合物洗脱的色谱法纯化以产生 [2'-甲硫基-Sar]<sup>3</sup>-[4'-叔丁基二甲基甲硅氧烷基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A。

[0410] 参考实施例 10

[0411] 将 [4'-羟基-N-甲基亮氨酸]<sup>4</sup>环孢菌素 A(5.0g)的无水叔丁基甲基醚(TBME)溶液于惰性气氛下于 -33°C 加至于液氨(125mL)中的氨基钠(4.0g)的悬浮液。将所得的混合物于惰性气氛下于 -33°C 搅拌 90 分钟。之后加入甲基二硫醚(7.7g),并且将反应混合物于惰性气氛下于 -33°C 搅拌另外 2 小时。之后将反应混合物用 TBME 和水稀释,充分混合并且分层。将有机层用盐水洗涤并且之后浓缩。将残余物通过使用硅胶柱,首先用乙酸乙酯和庚烷的混合物并且之后用甲醇和乙酸乙酯的混合物洗脱的色谱法纯化,以产生 [2'-甲



巯基 -Sar]<sup>3</sup>-[4'-羟基 -N- 甲基亮氨酸]<sup>4</sup> 环孢菌素 A。

[0412] 根据欧洲专利第 484, 281 号中描述的方法制备 [4'-羟基 -N- 甲基亮氨酸]<sup>4</sup> 环孢菌素, 该专利的公开内容通过引用全文并入本文。

[0413] HCV 活性

[0414] 使用由 Kriger 等人, 2001, Journal of Virology 75 :4614-4624, Pietschmann 等人, 2002, Journal of Virology 76 :4008-4021 描述的那些修改的方法并且使用如美国专利第 6, 630, 343 号中描述的 HCV RNA 构建体测试式 (I) 的化合物抗 HCV 的活性。在人类肝癌细胞系 ET(lub ubi neo/ET), 一种含有稳定的荧光素酶 (LUC) 报道基因的 HCV RNA 复制子中检测化合物。HCV RNA 复制子 ET 含有驱使萤火虫荧光素酶 (LUC)、泛素和新霉素磷酸转移酶 (NeoR) 融合蛋白产生的 HCV 的 5' 端 (具有 HCV 内核糖体进入位点 (IRES) 和 HCV 核蛋白的最初几个氨基酸)。泛素裂解释放 LUC 和 NeoR 蛋白。EMCV IRES 元件控制 HCV 结构蛋白 NS3-NS5 的翻译。NS3 蛋白裂解 HCV 多聚蛋白以释放 HCV 复制所需要的成熟的 NS3、NS4A、NS4B、NS5A 和 NS5B 蛋白。复制子的 3' 端是 HCV 的可靠 (authentic) 3' NTR。LUC 报道基因的活性与 HCV 复制水平成比例, 并且阳性对照的抗病毒化合物使用 LUC 终点产生可重复的抗病毒响应。

[0415] 将化合物每个以五个半对数浓度溶解于 DMSO, 浓度范围从 0.03  $\mu$ M 至 3  $\mu$ M 或 1  $\mu$ M 至 100  $\mu$ M。将 ET 系的分汇合培养物移出至细胞数目 (细胞毒性) 或抗病毒活性分析专用的 96 孔板中, 并且在第二天将化合物加至适当的孔中。之后当细胞仍为分汇合时, 将细胞处理 72 小时。抗病毒活性表示为 EC<sub>50</sub> 和 EC<sub>90</sub>, 分别是将病毒复制减少 50% 和 90% 的化合物的有效浓度。化合物 EC<sub>50</sub> 和 EC<sub>90</sub> 值来自评估为 HCV RNA 复制子来源的 LUC 活性的 HCV RNA 水平。细胞毒性表达为 IC<sub>50</sub> 和 IC<sub>90</sub>, 分别是将细胞活性抑制 50% 和 90% 的化合物的浓度。使用作为细胞数目和细胞毒性的指示的比色测定来计算化合物 IC<sub>50</sub> 和 IC<sub>90</sub> 值。在人类细胞系中 LUC 报道基因的活性与 HCV RNA 的水平直接成比例。使用干扰素 - $\alpha$ -2b 作为阳性对照在平行实验中确认 HCV 复制子测定有效。还通过对比的方法测试环孢菌素。在某些实施方案中, 式 (I) 的化合物以比环孢菌素更高的程度强效地抑制人类肝细胞中的 HCV 复制。此外, 当考虑到细胞毒性的水平, 在某些实施方案中, 式 (I) 的化合物表现出比环孢菌素更宽的安全限度 (抗病毒 IC<sub>50</sub> 比细胞毒性 EC<sub>50</sub>)。

[0416] HIV 活性

[0417] 同样利用具有 HIV 毒株 HIV-1IIIB 的人类 T- 类成淋巴细胞系 CEM-SS 的感染, 测试式 (I) 的化合物抗人类免疫缺陷病毒 -1 (HIV) 的抗逆转录病毒活性 (Weislow 等人, 1989, J. Natl. Cancer Inst. 81 :577-586)。在这一 MTS 细胞保护作用测定中, 每个实验包括细胞对照孔 (仅有细胞)、病毒对照孔 (细胞加病毒)、药物毒性孔 (仅有细胞加药物)、药物色度对照孔 (仅有药物) 以及实验孔 (药物加细胞加病毒)。首先将化合物溶解于 DMSO 并且使用由 20  $\mu$ M 或 2  $\mu$ M 的高浓度开始的六个半对数稀释来测试。将 HIV-1RF 以 50  $\mu$ L 的体积, 确定以在感染后 6 天产生大约 90% 细胞杀伤的病毒的量加至每个孔。在测定结束时, 将测定板用可溶的基于四唑盐的染料 MTS (CellTiter 96 试剂, Promega) 染色以确定细胞活性并定量化合物毒性。MTS 由代谢活性细胞的线粒体酶代谢以产生可溶的甲月替 (formazan) 产物, 提供细胞活性和化合物细胞毒性的定量分析。在使用齐多夫定 (3'-叠氨基 -3'-脱氧胸苷或 AZT) 作为阳性对照的平行实验中确定测定有效。测定包括化合物 EC<sub>50</sub> (50% 抑制

病毒复制的浓度)、 $IC_{50}$  (导致细胞生长的 50% 抑制的浓度) 和选择指数 ( $IC_{50}/EC_{50}$ ) 的确定。

[0418] 亲环蛋白结合活性

[0419] 使用由 Quesniaux 等人 (Quesniaux 等人, 1987, Eur. J Immunol. 27 :1359-1365) 描述的方法修改的竞争性 ELISA 确定式 (I) 的化合物的亲环蛋白抑制结合。与 D-Lys<sup>8</sup>-环孢菌素 A (D-Lys<sup>8</sup>-Cs) 结合的琥珀酰基间隔区的活化的酯通过 8 位上的 D-赖氨酸残基与牛血清白蛋白 (BSA) 偶联。将 BSA 溶于 0.1M 硼酸盐缓冲液, pH9.0 中 (4mg 于 1.4ml 中)。将溶解于二甲基甲酰胺 (0.6ml) 的百倍摩尔过量的 D-Lys<sup>8</sup>-Cs 在强力搅拌下逐滴加至 BSA。将偶联反应于室温在温和搅拌下进行 2 至 3 小时, 并且将轭合物对磷酸缓冲盐水 (PBS, pH 7.4) 大量透析。在将等份的轭合的蛋白丙酮沉淀后, 非共价结合的 D-Lys<sup>8</sup>-Cs 留在丙酮溶液中, 并且计算环孢菌素共价结合的程度。

[0420] 将微量滴定板用 D-Lys<sup>8</sup>-Cs-BSA 轭合物 (2pg/ml 在 PBS 中于 4°C 持续 24 小时) 涂布。将板用 Tween® /PBS 和单独用 PBS 洗涤。为了阻断非特异性结合, 将 2% BSA/PBS (pH 7.4) 加至孔并且使其于 37°C 孵育 2 小时。在不同的微量滴定板中在乙醇中制得五倍稀释系列的待测试的化合物。用于人类重组亲环蛋白的测定的起始浓度是 0.1mg/mL。将 198  $\mu$ L 的 0.1  $\mu$ g/mL 的亲环蛋白溶液加至微量滴定板之后, 立即加入 2  $\mu$ L 的稀释的环孢菌素 A (用作参考化合物) 或本文公开的化合物。使涂布的 BSA-Cs 轭合物、游离的环孢菌素 A 和亲环蛋白之间的反应在 4°C 平衡过夜。用含于 PBS 中的 1% BSA 稀释的抗亲环蛋白兔抗血清检测亲环蛋白, 并于 4°C 孵育过夜。将板如上文描述地洗涤。之后通过与在 1% BSA-PBS 中稀释的碱性磷酸酶轭合的山羊抗兔 IgG 检测所结合的兔抗体, 并使其于 37°C 孵育 2 小时。将板如上文描述地洗涤。在用 4-硝基苯基磷酸酯 (1g/l 于二乙醇胺缓冲液, pH 9.8) 于 37°C 孵育 1-2 小时之后, 使用分光光度计于 405nm 测量酶反应的分光光度。结果被表示为亲环蛋白结合比, 其是  $\text{Log}_{10}$  获得 50% 抑制所需的本文公开的化合物和每一种环孢菌素 A 的浓度上的差。

[0421] 结果如下: 化合物 A 至 F 具有 0.35 或更低的亲环蛋白 A 结合率和 0.21 或更低的亲环蛋白 B 结合率, 说明代表性的式 (I) 的化合物抑制亲环蛋白的能力。

[0422] 在 Jurkat 细胞中用抗 CD3 和抗 CD28 共刺激测试式 (I) 的化合物的 T 细胞刺激 (IL-2)。所有的化合物具有开始于 10  $\mu$ M (n = 2) 至 0.0015  $\mu$ M 的 0.5-Log 9-点滴定。环孢菌素 A (对照) 也同样以开始于 500ng/mL 的 0.5-Log9-点滴定进行。待测试的所有化合物溶于二甲基亚砜中。使用平行的 AlamarBlue 板估算细胞毒性。在 96 孔板中在 190  $\mu$ L 生长培养基中以  $2 \times 10^5$  个细胞每孔接种细胞。在 RPMI 1640 培养基、10% 胎牛血清和左旋谷酰胺中培养细胞, 在 5% 二氧化碳和 37°C 下孵育。1 小时孵育后, 将细胞用固定的抗 CD3 (0.4  $\mu$ g/孔)、可溶的抗 CD28 (2  $\mu$ g/mL) 刺激细胞。6 小时之后, 收集样品上清液并且储存于 -80°C。使用 Luminex® 1-plex 测定测试 IL-2 的 50  $\mu$ L 的上清液样品。

[0423] 获得下列 IL-2 活性结果: 化合物 E 的  $EC_{50}$  值低于 0.01  $\mu$ M。化合物 G 和 H 的  $EC_{50}$  值低于 0.1  $\mu$ M。化合物 A 和 I 至 L 的  $EC_{50}$  值在 0.1  $\mu$ M 和 0.9  $\mu$ M 之间。化合物 B、C 和 D 的  $EC_{50}$  值高于 10  $\mu$ M。环孢菌素 A 的  $EC_{50}$  值是 2.7ng/ml。测试的式 (I) 的化合物中无一表现出细胞毒性。

[0424] 线粒体通透性转换

[0425] 线粒体通透性转换 (MPT) 通过测量由  $\text{Ca}^{2+}$  诱导的线粒体的溶胀测量。该程序修改于 Blattner 等人, 2001, *Analytical Biochem.*, 295 :220 描述的方法。使用利用在基于蔗糖的缓冲液中的温和的匀浆化并且之后的差速离心以首先除去细胞碎片并之后使线粒体沉淀的标准程序从大鼠肝脏制备线粒体, 所述大鼠肝脏已经用磷酸缓冲的盐水 (PBS) 灌注以除去血液。通过 150 微摩尔的  $\text{Ca}^{2+}$  诱导溶胀 (由氯化钙的浓溶液加入) 并且通过在 535-540nm 测量散射来监测。在诱导溶胀之前 5 分钟加入代表性化合物。通过对比使用和不使用式 (I) 的化合物的溶胀来测定  $\text{EC}_{50}$ 。

[0426] 在上文测试中, 化合物 A 至 W 产生 10  $\mu\text{M}$  或更低的  $\text{EC}_{50}$  值, 表明式 (I) 的化合物穿透线粒体并且抑制 MPT 的能力。化合物 X 产生超过 30  $\mu\text{M}$  的值。