



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101873797 A

(43) 申请公布日 2010. 10. 27

(21) 申请号 200880117716. 2

A61K 31/14 (2006. 01)

(22) 申请日 2008. 10. 17

G01N 33/53 (2006. 01)

(30) 优先权数据

60/999, 571 2007. 10. 19 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010. 05. 25

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2008/011878 2008. 10. 17

(87) PCT申请的公布数据

W02009/054914 EN 2009. 04. 30

(71) 申请人 萨可德公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 J·伯涅尔 T·加德克 C·塞姆巴

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

代理人 陈文平 尚继栋

(51) Int. Cl.

A01N 33/02 (2006. 01)

权利要求书 35 页 说明书 88 页 序列表 4 页

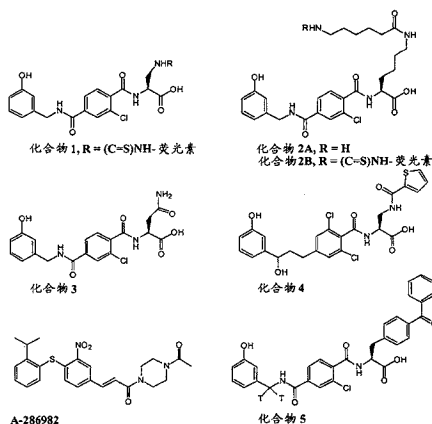
附图 12 页

(54) 发明名称

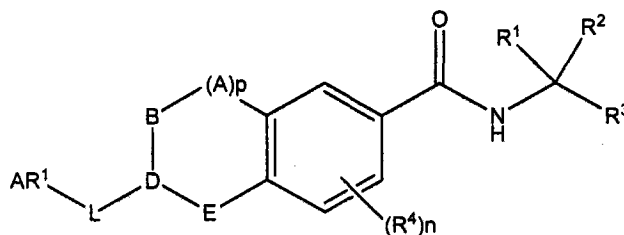
用于治疗糖尿病性视网膜病的组合物和方法

(57) 摘要

本发明提供了用于治疗糖尿病性视网膜病的化合物和方法。具体地,在此描述了用来治疗糖尿病性视网膜病的 LFA-I 拮抗剂。本发明的一方面提供了糖尿病性视网膜病的诊断和患者在被诊断为糖尿病性视网膜病之后 LFA-I 拮抗剂的施用。



1. 一种治疗患糖尿病性视网膜病的受试者的方法,其包括向需要的所述受试者施用治疗有效量的能够抑制 LFA-1 和 ICAM 之间相互作用的治疗剂。
2. 根据权利要求 1 所述的方法,其中糖尿病性视网膜病引起的损伤为黄斑水肿、视网膜新生血管形成、视网膜上的纤维血管生长、失明、基底膜增厚、视网膜水肿或视网膜缺血。
3. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述 ICAM 为 ICAM-1、ICAM-2 或 ICAM-3。
4. 根据权利要求 3 所述的方法,其中所述 ICAM 为 ICAM-1。
5. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述治疗剂为 LFA-1 拮抗剂。
6. 根据权利要求 5 所述的方法,其中所述 LFA-1 拮抗剂结合与 ICAM-1 结合位点重叠的 LFA-1 α L 亚单元中的高亲和力结合位点。
7. 根据权利要求 5 所述的方法,其中所述 LFA-1 拮抗剂直接与 LFA-1 α L 亚单元上的 ICAM-1 的结合相竞争。
8. 根据权利要求 5 所述的方法,其中所述 LFA-1 拮抗剂为 LFA-1 α L 亚单元上的 ICAM-1 的结合的变构拮抗剂。
9. 根据权利要求 5 所述的方法,其中所述 LFA-1 拮抗剂为抗体。
10. 根据权利要求 5 所述的方法,其中所述 LFA-1 拮抗剂为式 I 的化合物或其药学上可接受的盐或酯,其中



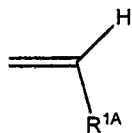
式 I

R^1 和 R^2 各独立地为氢、氨基酸侧链、 $-(CH_2)_mOH$ 、 $-(CH_2)_m$ 芳基、 $-(CH_2)_m$ 杂芳基 - 其中 m 为 0-6、 $-CH(R^{1A})(OR^{1B})$ 、 $-CH(R^{1A})(NHR^{1B})$ 、U-T-Q 或任选地被 U-T-Q 取代的脂肪族、脂环族、杂脂肪族或杂脂环族部分；

其中 U 为不存在、 $-O-$ 、 $-S(O)_{0-2}-$ 、 $-SO_2N(R^{1A})-$ 、 $-N(R^{1A})-$ 、 $-N(R^{1A})C(=O)-$ 、 $-N(R^{1A})C(=O)-O-$ 、 $-N(R^{1A})C(=O)-N(R^{1B})-$ 、 $-N(R^{1A})-SO_2-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=O)-O-$ 、 $-O-C(=O)-$ 、芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、 $-C(=O)-N(R^{1A})-$ 、 $-OC(=O)N(R^{1A})-$ 、 $-C(=N-R^{1E})-$ 、 $-C(=N-R^{1E})-O-$ 、 $-C(=N-R^{1E})-N(R^{1A})-$ 、 $-O-C(=N-R^{1E})-N(R^{1A})-$ 、 $-N(R^{1A})C(=N-R^{1E})-$ 、 $-N(R^{1A})C(=N-R^{1E})-O-$ 、 $-N(R^{1A})C(=N-R^{1E})-N(R^{1B})-$ 、 $-P(=O)(OR^{1A})-O-$ 或 $-P(=O)(R^{1A})-O-$ ；

T 为不存在、脂肪族、杂脂肪族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分；且

Q 为氢、卤素、氰基、异氰酸基、 $-OR^{1B}$ 、 $-SR^{1B}$ 、 $-N(R^{1B})_2$ 、 $-NHC(=O)OR^{1B}$ 、 $-NHC(=O)N(R^{1B})_2$ 、 $-NHC(=O)R^{1B}$ 、 $-NHSO_2R^{1B}$ 、 $NHSO_2N(R^{1B})_2$ 、 $-NHSO_2NHC(=O)OR^{1B}$ 、 $-NHC(=O)NHSO_2R^{1B}$ 、 $-C(=O)NHC(=O)OR^{1B}$ 、 $C(=O)NHC(=O)R^{1B}$ 、 $-C(=O)NHC(=O)N(R^{1B})_2$ 、 $-C(=O)NHSO_2R^{1B}$ 、 $-C(=O)NHSO_2N(R^{1B})_2$ 、 $C(=S)N(R^{1B})_2$ 、 $-SO_2R^{1B}$ 、 $-SO_2OR^{1B}$ 、 $-SO_2N(R^{1B})_2$ 、 $-SO_2-NHC(=O)OR^{1B}$ 、 $-OC(=O)-N(R^{1B})_2$ 、 $-OC(=O)R^{1B}$ 、 $-OC(=O)NHC(=O)R^{1B}$ 、 $-OC(=O)NHSO_2R^{1B}$ 、 $-OSO_2R^{1B}$ ，或脂肪族、杂脂肪族、芳基或杂芳基部分，或其中 R^1 和 R^2 一起为脂环族或杂环部分，或一起为



其中每次出现的 R^{1A} 和 R^{1B} 独立地为氢、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分、 $-C(=O)R^{1C}$ 、或 $-C(=O)NR^{1C}R^{1D}$ ；其中每次出现的 R^{1C} 和 R^{1D} 独立地为氢、羟基或脂肪族、杂脂肪族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分； R^{1E} 为氢、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分、 $-CN$ 、 $-OR^{1C}$ 、 $-NR^{1C}R^{1D}$ 或 $-SO_2R^{1C}$ ；

R^3 为 $-C(=O)OR^{3A}$ 、 $-C(=O)H$ 、 $-CH_2OR^{3A}$ 、 $-CH_2OC(=O)-$ 烷基、 $-C(=O)NH(R^{3A})$ 、 $-CH_2X^0$ ；其中每次出现的 R^{3A} 独立地为氢、保护基、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂烷基芳基、杂烷基杂芳基部分或药学上可接受的盐或酯，或 R^{3A} 与 R^1 和 R^2 一起形成杂环部分；其中 X^0 为选自 F、Br 或 I 的卤素；

每次出现的 R^4 独立地为氢、卤素、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分，或为 GR^{G1} ，其中 G 为 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $NR^{G2}-$ 、 $-CO-$ 、 $-SO-$ 、 $-SO_2-$ 、 $C(=O)O-$ 、 $-C(=O)NR^{G2}-$ 、 $C(=O)-$ 、 $-NR^{G2}C(=O)-$ 或 $-SO_2NR^{G2}-$ ，且 R^{G1} 和 R^{G2} 独立地为氢、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分；

n 为 0-4 的整数；

AR^1 为单环或多环芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、脂环族或杂环部分；

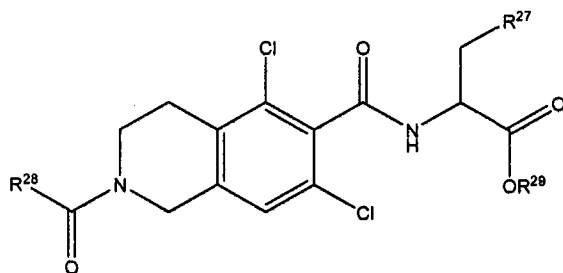
A、B、D 和 E 当化合价允许时经单键或双键连接；其中每次出现的 A、B、D 和 E 独立地为 $C=O$ 、 CR^iR^{i1} 、 NR^i 、 CR^i 、N、O、S、 $-S(=O)$ 或 SO_2 ；其中每次出现的 R^i 和 R^{i1} 独立地为氢、卤素、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分，或为 $-GR^{G1}$ 其中 G 为 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NR^{G2}$ 、 $-CO-$ 、 $-SO-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-C(=O)NR^{G2}-$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-NR^{G2}C(=O)-$ 或 $-SO_2NR^{G2}-$ ，且 R^{G1} 和 R^{G2} 独立地为氢、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分；或任何两个相邻的出现一起代表脂环族、杂脂环族、芳基或杂芳基部分；

p 为 0-4 的整数；且

L 不存在或为 $V-W-X-Y-Z$ ，其中每次出现的 V、W、X、Y 和 Z 独立地为不存在、 $C=O$ 、 NR^{L1} 、 $-O-$ 、 $-C(R^{L1})=$ 、 $=C(R^{L1})-$ 、 $-C(R^{L1})(R^{L2})$ 、 $C(=N-OR^{L1})$ 、 $C(=NR^{L1})$ 、 $-N=$ 、 $S(O)_{0-2}$ ；取代或未取代的 C_{1-6} 亚烯基或 C_{2-6} alkenylidene 链，其中最多达两个非相邻的亚甲基单元独立地任选地被 $-C(=O)-$ 、 $-CO_2-$ 、 $-C(=O)C(=O)-$ 、 $-C(C=O)NR^{L3}-$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-OC(=O)NR^{L3}-$ 、 $-NR^{L3}NR^{L4}-$ 、 $-NR^{L3}NR^{L4}C(=O)-$ 、 $-NR^{L3}C(=O)-$ 、 $NR^{L3}CO_2-$ 、 $NR^{L3}C(=O)NR^{L4}-$ 、 $-S(=O)-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-NR^{L3}SO_2-$ 、 $-SO_2NR^{L3}$ 、 $-NR^{L3}SO_2NR^{L4}$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 或 $-NR^{L3}-$ 代替；其中每次出现的 R^{L3} 和 R^{L4} 独立地为氢、烷基、杂烷基、芳基、杂芳基或酰基；或脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分；且每次出现的 R^{L1} 和 R^{L2} 独立地为氢、羟基、保护的羟基、氨基、保护的氨基、硫代、保护的硫代、卤素、氰基、异氰酸基、羧基、羧基烷基、甲酰基、甲酰氧基、叠氮基、硝基、脲基、硫脲基、氰硫基、烷氧基、芳氧基、巯基、磺酰氨基、苄酰氨基、甲苯磺酰基或脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分，或其中一次或多次出现的 R^{L1} 和 R^{L2} 一起或者还与 V、W、X、Y 或 Z 中的一个一起形成脂

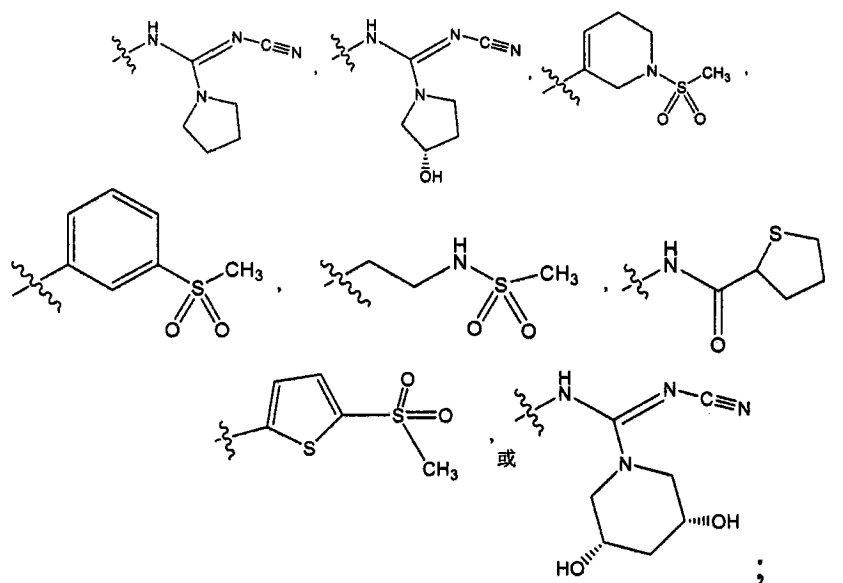
环族或杂环部分或形成芳基或杂芳基部分。

11. 根据权利要求 10 所述的方法,其中所述式 I 的化合物为式 II 的化合物:

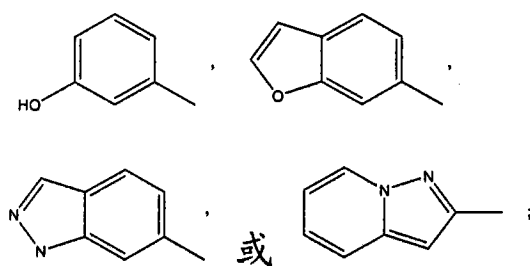


式 II

其中 R²⁷ 为:

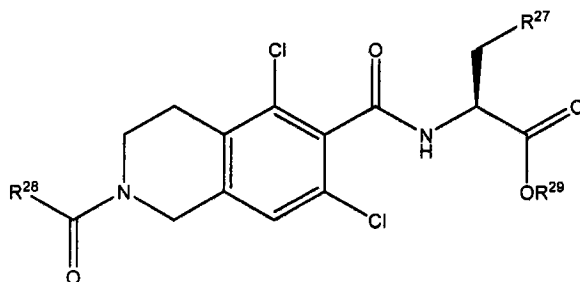


R²⁸ 为:



且 R²⁹ 为氢, 药学上可接受的盐或酯。

12. 根据权利要求 11 所述的方法,其中所述式 II 的化合物进一步包括式 II' 中的立体化学:



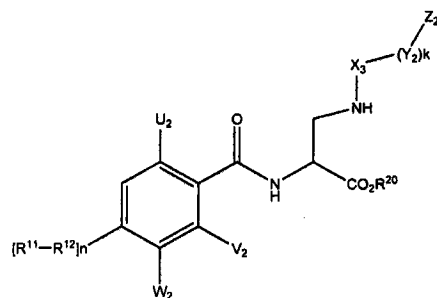
式 II'。

受的盐或酯；

R^{6-9} 独立地为 H、羟基、巯基、卤素、氰基、氨基、脞、胍、硝基或烷氧基；

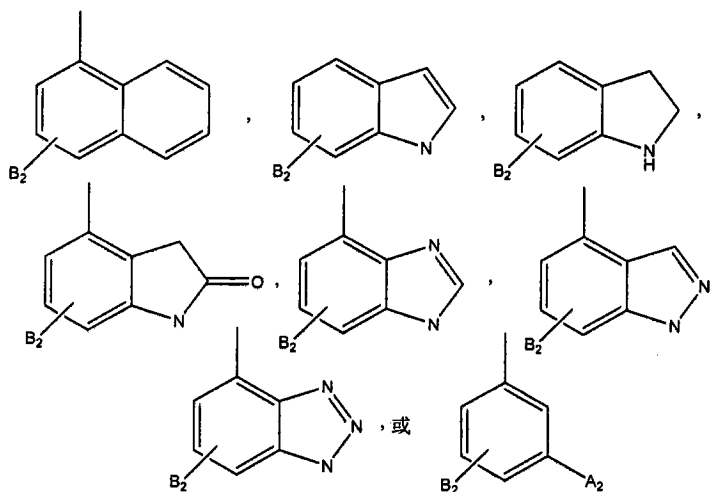
R^{10} 为 H 或任选地被碳环或杂环取代的烃链；及其盐、溶剂化物和水合物。

15. 根据权利要求 5 所述的方法，其中所述 LFA-1 拮抗剂为式 IV 的化合物



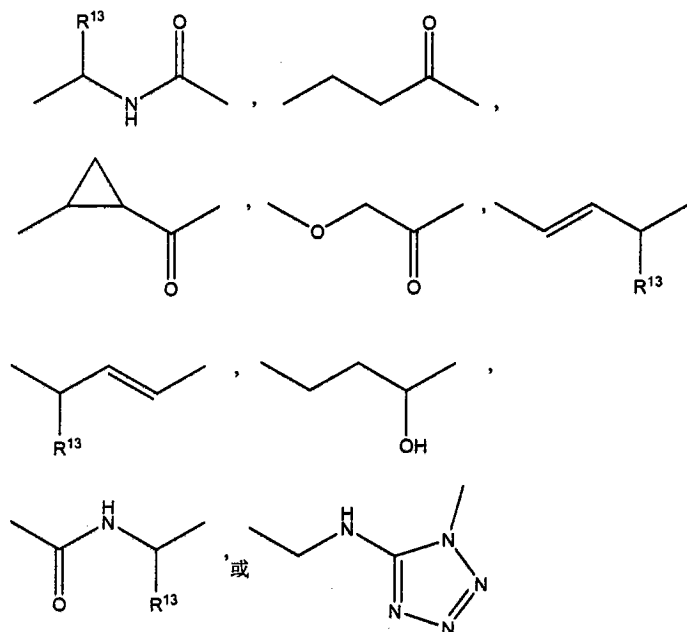
式 IV

其中 R^{11} 为下式基团



其中 A 为氢、羟基、氨基或卤素，B 为氨基、羧基、氢、羟基、氰基、三氟甲基、卤素、低级烷基或低级烷氧基；

R^{12} 为下式基团



其中 R^{13} 为氢、羧基或低级烷基；

n 为 0 或 1；

U_2 、 V_2 和 W_2 独立地为氢、卤素或低级烷基，条件是 U_2 和 V_2 不均为氢；

X_3 为羰基、苯基取代的低级亚烷基、亚氨基、取代的亚氨基或磺酰基；

Y_2 为低级亚烷基，其可被一个或多个氨基、取代的氨基、低级烷基或环状低级烷基取代，或 Y_2 为低级亚烯基或低级亚烷基硫基；

k 为 0 或 1；

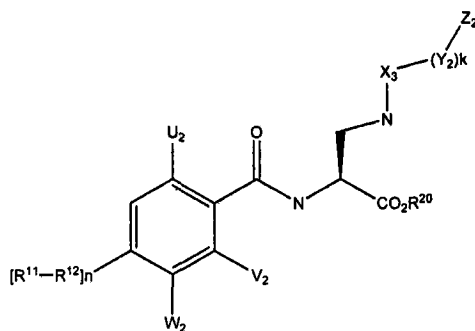
当 k 为 1 时， Z_2 为氢、低级烷基硫基、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、氨基；

当 k 为 0 或 1 时， Z_2 为 1-金刚烷基、二苯基甲基、3-[[[(5-氯吡啶-2-基)氨基]羰基]吡嗪-2-基、羟基、苯基甲氧基、2-氯-4-[[[(3-羟基苯基)甲基]氨基]羰基]苯基、[2,6-二氯苯基]甲氧基]苯基；

当 k 为 0 或 1 时， Z_2 为含 0 至 3 个相同或不同杂原子的环烷基或芳基，或为含 2 个或 3 个环的稠环系统，这些环独立地为含 0 至 3 个相同或不同杂原子的环烷基或芳基，任何环均可以是未取代的或被卤素、氰基、氨基、取代的氨基、氨基磺酰基、硝基、氧代、羟基、芳基、芳氧基、未取代的低级烷基、卤素取代的低级烷基、低级烷氧基取代的低级烷基、低级烷氧基、低级烷基磺酰基、低级烷基硫基、乙酰基、氨基羰基、肼基、羧基、烷氧羰基、乙酰氧基中的至少一个取代，或另外还被氨基低级烷基取代；且

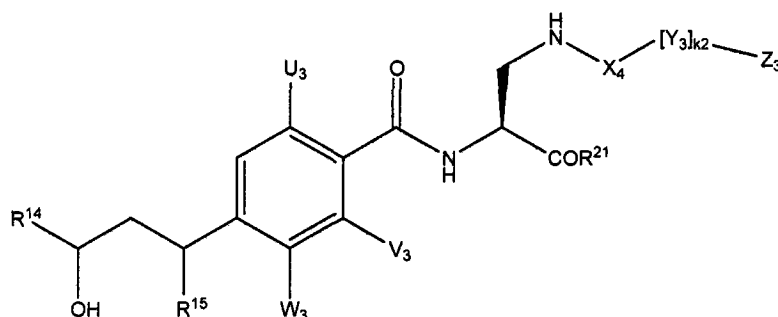
R^{20} 为氢、药学上可接受的盐或酯。

16. 根据权利要求 15 所述的方法，其中所述式 III 的化合物进一步包括式 III' 中的立体化学。



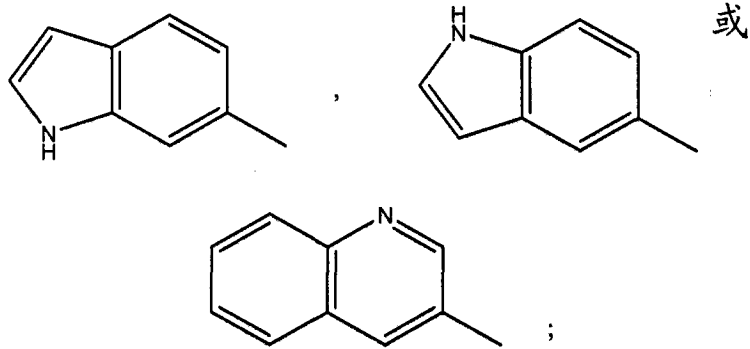
式 III'。

17. 根据权利要求 5 所述的方法，其中所述 LFA-1 拮抗剂为式 V 的化合物，其中：



式 V

R^{14} 为下式基团



R^{15} 为氢、羧基或低级烷基；

U_3 、 V_3 和 W_3 独立地为氢、卤素；

U_3 、 V_3 和 W_3 为低级烷基，条件是 U_3 和 V_3 不均为氢；

X_4 为羰基、苯基取代的低级亚烷基、亚氨基、取代的亚氨基或磺酰基；

Y_3 为低级亚烯基、低级亚烷基硫基，或为低级亚烷基，其可被氨基、乙酰氨基或环状低级烷基取代；

k_2 为 0 或 1；

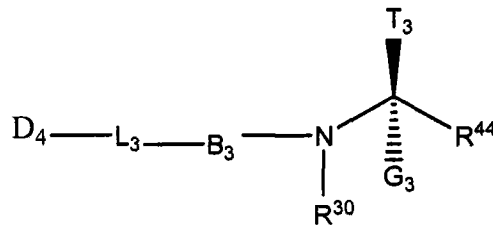
当 k_2 为 1 时， Z 氢、低级烷基硫基、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 或氨基；

当 k_2 为 0 或 1 时， Z_3 为 1-金刚烷基、二苯基甲基、3-[[(5-氯吡啶-2-基) 氨基] 羰基] 吡啶-2-基；

当 k_2 为 0 或 1 时， Z 为含 0 至 3 个相同或不同杂原子的环烷基或芳基，或为含 2 个或 3 个环的稠环系统，这些环独立地为含 0 至 3 个相同或不同杂原子的环烷基或芳基，任何环均可以是未取代的或被卤素、氰基、氨基、取代的氨基、氨基磺酰基、硝基、氧代、羟基、芳基、芳氧基、未取代的低级烷基、卤素取代的低级烷基、低级烷氧基取代的低级烷基、低级烷氧基、羧基、烷氧羰基或乙酰氧基中的至少一个取代；且

R^{21} 为氢、药学上可接受的盐或酯。

18. 根据权利要求 5 所述的方法，其中所述 LFA-1 拮抗剂为式 VI 的化合物：



式 VI

其中

D_4 为单环、双环或三环饱和、不饱和或芳香族环，各环在环中具有 5、6 或 7 个原子，其中环中的原子为碳或选自氮、氧和硫的 1 至 4 个杂原子，其中任何碳或硫环原子任选地被氧化，各环被 0-3 个 R^{31} 取代；

L_3 为选自下面的二价连接基团

$-L^3-L^2-L^1-$ ，

$-L^4-L^3-L^2-L^1-$ 和

$-L^5-L^4-L^3-L^2-L^1-$ ，

其中

L^1 选自氧 (-O-)、S(O)_s、C(=O)、CR³²、R³²、CR³²het、NR³⁰ 和 N,

L^2 选自氧 (-O-)、S(O)_s、C(=O)、C(=N-O-R³³)、CR³⁴R^{34'}、CR³⁴、het NR³⁰ 和 N,

L^3 选自氧 (-O-)、S(O)_s、C(=O)、C(=N-O-R³³)、CR³⁵R^{35'}、CR³⁵、het NR³⁰ 和 N,

L^4 不存在或选自氧 (-O-)、S(O)_s、C(=O)、C(=N-O-R³³)、CR³⁶R^{36'}、CR³⁶、NR³⁰ 和 N,

L^5 不存在或选自氧 (-O-)、S(O)_s、C(=O)、CR³⁷R^{37'}、CR³⁷、NR³⁰ 和 N, 条件是 L^1 - L^3 中仅有一个可为 het, 且当 L^1 至 L^3 中的一个为 het 时, 其他的 L^1 - L^5 可以不存在,

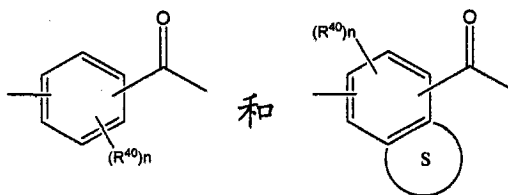
其中

R³²、R^{32'}、R³⁴、R^{34'}、R³⁵、R^{35'}、R³⁶、R^{36'}、R³⁷ 和 R^{37'} 各独立地选自 R³⁸、R³⁹ 和 U-Q-V-W,

任选地, R²⁴ 和 R^{34'} 分别或一起与 B₃ 通过 B 上的取代基 RP 可形成饱和、不饱和或芳香族稠环, 该稠环的环中含有 5、6 或 7 个原子且任选地含有 1-3 个选自 O、S 和 N 的杂原子, 其中任何 S 或 N 可任选地被氧化;

任选地, R³⁵ 和 R^{35'} 分别或一起以及 R³⁶ 和 R^{36'} 分别或一起与 D₃ 通过 D₃ 上的取代基 R³¹ 可形成饱和、不饱和或芳香族稠环, 该稠环的环中含有 5、6 或 7 个原子且任选地含有 1-3 个选自 O、S 和 N 的杂原子, 其中任何 S 或 N 任选地可被氧化;

还任选地, L^1 - L^5 中的各 R³²-R³⁷、NR³⁰ 或 N 与 L^1 - L^5 中的其他任何 R³²-R³⁷、NR³⁰ 或 N 一起可形成 5、6 或 7 元碳环或杂环, 其可为饱和、不饱和或芳香族的, 任选地含有选自 N、O 和 S 的 1-3 个另外的杂原子, 其中任何碳或硫环原子任选地可被氧化, 各环被 0-3 个 R³¹ 取代; 并且其中 s 为 0-2; B 选自以下基团



其中 \textcircled{s} 为含 5、6 或 7 个原子的稠合的杂环或碳环, 该环为不饱和的、部分饱和或芳香族的, 杂原子选自 1-3 个 O、S 和 N,

Y_3 选自 CH 和 NR³⁰; n 为 0-3;

G_3 选自氢和 C₁-C₆ 烷基, 任选地 G 与 T 一起可形成任选地被 -V-W 取代的 C₃-C₆ 环烷基;

T_3 选自以下基团

天然存在的 α -氨基酸侧链,

和 U₄-Q₄-V₄-W₄;

U₄ 为任选地被取代的选自 C₁-C₆ 烷基、C₀-C₆ 烷基 -Q、C₂-C₆ 烯基 -Q, 和 C₂-C₆ 炔基 -Q 的二价基团:

其中任何烷基、烯基或炔基上的取代基为 1-3 个 R³⁸;

Q₄ 不存在或选自基团

-O-, -S(O)_s-, -SO₂-N(R³⁰)-, -N(R³⁰)-, -N(R³⁰)-C(=O)-, -N(R³⁰)-C(=O)-N(R³⁰)-, -N(R³⁰)-C(=O)-O-, -N(R³⁰)-SO₂-, -C(=O)-, -C(=O)-O-, -het-, -C(=O)-N(R³⁰)-, -O-C(=O)-N(R³⁰)-, -PO(OR³⁰)O- 和 -P(O)O-;

其中

s 为 0-2 且

het 为单环或双环的 5、6、7、9 或 10 元杂环,各环含有选自 N、O 和 S 的 1-4 个杂原子,其中杂环可以是饱和的、部分饱和或芳香族的,且任何 N 或 S 任选地可被氧化,杂环被 0-3 个 R^{41} 取代;

V_4 不存在或为任选地被取代的选自 C_1-C_6 烷基、 C_3-C_8 环烷基、 C_0-C_6 烷基- C_6-C_{10} 芳基和 C_0-C_6 烷基-het 的二价基团;

其中任何烷基上的取代基为 1-3 个 R^{38} ,且任何芳基或 het 上的取代基为 1-3 个 R^{31} ;

W_4 选自以下基团

氢、 OR^{33} 、 SR^{42} 、 $NR^{30}R^{30}$ 、 $NH-C(=O)-O-R^{43}$ 、 $NH-C(=O)-NR^nR^n$ 、 $NH-C(=O)-R^{43}$ 、 $NH-SO_2-R^{37}$ 、 $NH-SO_2-NR^{30}R^{30}$ 、 $NH-SO_2-NH-C(=O)-R^{43}$ 、 $NH-C(=O)-NH-SO_2-R^{37}$ 、 $C(=O)-NH-C(=O)-O-R^{43}$ 、 $C(=O)-NH-C(=O)-R^{43}$ 、 $C(=O)-NH-C(=O)-NR^{30}R^{30}$ 、 $C(=O)-NH-SO_2-R^{37}$ 、 $C(=O)-NH-SO_2-NR^{30}R^{30}$ 、 $C(=S)-NR^{30}R^{30}$ 、 SO_2-R^{37} 、 SO_2-O-R^{37} 、 $SO_2-NR^{37}R^{37}$ 、 $SO_2-NH-C(=O)-O-R^{43}$ 、 $SO_2-NH-C(=O)-NR^{30}R^{30}$ 、 $SO_2-NH-C(=O)-R^{43}$ 、 $O-C(=O)-NR^{30}R^{30}$ 、 $O-C(=O)-R^{43}$ 、 $O-C(=O)-NH-C(=O)-R^{43}$ 、 $O-C(=O)-NH-SO_2R^{46}$ 和 $O-SO_2-R^{37}$;

R^{44} 选自 $C(=O)-R^{45}$ 、 $C(=O)-H$ 、 $CH_2(OH)$ 和 $CH_2O-C(=O)-C_1-C_6$ 烷基;

R^{38} 为 $R^{38'}$ 或被 1-3 个 $R^{38'}$ 取代的 $R^{38''}$;其中

$R^{38'}$ 选自以下基团

氢、卤素 (F、Cl、Br、I)、氰基、异氰酸基、羧基、羧基- C_1-C_{11} 烷基、氨基、氨基- C_1-C_8 烷基、氨基羰基、甲酰胺基、氨基甲酰基、氨基甲酰氧基、甲酰基、甲酰氧基、叠氮基、硝基、咪唑基、脲基、硫脲基、氰硫基、羟基、 C_1-C_6 烷氧基、巯基、磺酰胺基、het、苯氧基、苯基、苄酰氨基、甲苯磺酰基、吗啉代、吗啉基、哌嗪基、哌啶基、吡咯啉基、咪唑基和吡啶基;

$R^{38''}$ 选自以下基团

C_0-C_{10} 烷基-Q- C_0-C_6 烷基、 C_0-C_{10} 烯基-Q- C_0-C_6 烷基、 C_0-C_{10} 炔基-Q- C_0-C_6 烷基、 C_3-C_{11} 环烷基-Q- C_0-C_6 烷基、 C_3-C_{10} 环烯基-Q- C_0-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷基- C_6-C_{12} 芳基-Q- C_0-C_6 烷基、 C_6-C_{10} 芳基- C_1-C_6 烷基-Q- C_0-C_6 烷基、 C_0-C_6 烷基-het-Q- C_0-C_6 烷基、 C_0-C_6 烷基-Q-het- C_0-C_6 烷基、het- C_0-C_6 烷基-Q- C_0-C_6 烷基、 C_0-C_6 烷基-Q- C_6-C_{12} 芳基,和-Q- C_1-C_6 烷基;

R^{43} 选自氢和取代或未取代的 C_1-C_{10} 烷基、 C_2-C_{10} 烯基、 C_2-C_{10} 炔基、 C_3-C_{11} 环烷基、 C_3-C_{10} 环烯基、 C_1-C_6 烷基- C_6-C_{12} 芳基、 C_6-C_{10} 芳基- C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷基-het、het- C_1-C_6 烷基、 C_6-C_{12} 芳基和 het,

其中任何烷基、烯基或炔基上的取代基为 1-3 个 R^{38} ,且任何芳基或 het 上的取代基为 1-3 个 R^{31} ;

R^{31} 选自 R^{40} 和 R^{41} ;

R^{41} 选自以下基团

OH、 OCF_3 、 OR^{43} 、 SR^{42} 、卤素 (F、Cl、Br、I)、CN、异氰酸基、 NO_2 、 CF_3 、 C_0-C_6 烷基- $NR^{30}R^{30}$ 、 C_0-C_6 烷基- $C(=O)-NR^{30}R^{30}$ 、 C_0-C_6 烷基- $C(=O)-R^{38}$ 、 C_1-C_8 烷基、 C_1-C_8 烷氧基、 C_2-C_8 烯基、 C_2-C_8 炔基、 C_3-C_6 环烷基、 C_3-C_6 环烯基、 C_1-C_6 烷基-苯基、苯基- C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基羰基、苯基- C_0-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷基-het、het- C_1-C_6 烷基、 SO_2 -het、- $O-C_6-C_{12}$ 芳基、- $SO_2-C_6-C_{12}$ 芳基、- $SO_2-C_1-C_6$ 烷基和 het,

其中任何烷基、烯基或炔基任选地可被选自 OH、卤素 (F、Cl、Br、I)、硝基、氨基和氨基羰基的 1-3 个基团取代,且任何芳基或 het 上的取代基为 1-2 个羟基、卤素 (F、Cl、Br、I)、

CF₃、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烷氧基、硝基和氨基；

R⁴² 选自 S-C₁-C₆ 烷基、C(=O)-C₁-C₆ 烷基、C(=O)-NR³⁰R^{30'}、C₁-C₆ 烷基、卤素 (F、Cl、Br、I)-C₁-C₆ 烷基、苄基和苯基；

R³⁰ 选自 R⁴³、NH-C(=O)-O-R⁴³、NH-C(=O)-R⁴³、NH-C(=O)-NHR⁴³、NH-SO₂-R⁴⁶、NH-SO₂-NH-C(=O)-R⁴³、NH-C(=O)-NH-SO₂-R³⁷、C(=O)-O-R⁴³、C(=O)-R⁴³、C(=O)-NHR⁴³、C(=O)-NH-C(=O)-O-R⁴³、C(=O)-NH-C(=O)-R⁴³、C(=O)-NH-SO₂-R⁴⁶、C(=O)-NH-SO₂-NHR³⁷、SO₂-R³⁷、SO₂-O-R³⁷、SO₂-N(R⁴³)₂、SO₂-NH-C(=O)-O-R⁴³、SO₂-NH-C(=O)-O-R⁴³ 和 SO₂-NH-C(=O)-R⁴³；

R^{30'} 选自氢、羟基和取代或未取代的 C₁-C₁₁ 烷基、C₁-C₁₁ 烷氧基、C₂-C₁₀ 烯基、C₂-C₁₀ 炔基、C₃-C₁₁ 环烷基、C₃-C₁₀ 环烯基、C₁-C₆ 烷基-C₆-C₁₂ 芳基、C₆-C₁₀ 芳基-C₁-C₆ 烷基、C₆-C₁₀ 芳基-C₀-C₆ 烷氧基、C₁-C₆ 烷基-het、het-C₁-C₆ 烷基、C₆-C₁₂ 芳基、het、C₁-C₆ 烷基羰基、C₁-C₈ 烷氧羰基、C₃-C₈ 环烷基羰基、C₃-C₈ 环烷氧羰基、C₆-C₁₁ 芳氧羰基、C₇-C₁₁ 芳基烷氧羰基、杂芳基烷氧羰基、杂芳基烷基羰基、杂芳基羰基、杂芳基烷基磺酰基、杂芳基磺酰基、C₁-C₆ 烷基磺酰基和 C₆-C₁₀ 芳基磺酰基，其中任何烷基、烯基或炔基上的取代基为 1-3 个 R³⁸，且任何芳基、het 或杂芳基上的取代基为 1-3 个 R³¹；

R³⁰ 和 R^{30'} 与它们所连接的共同的氮一起可形成任选地被取代的选自吗啉基、哌嗪基、硫代吗啉基、吡咯烷基、咪唑烷基、二氢吡啶基、异二氢吡啶基、1,2,3,4-四氢-喹啉基、1,2,3,4-四氢-异喹啉基、噻唑烷基和氮杂二环壬基的杂环，其中取代基为 1-3 个 R³⁸；

R³³ 选自氢和取代或未取代的 C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烷基羰基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基、C₃-C₈ 环烷基和苯甲酰基，其中任何烷基上的取代基为 1-3 个 R³⁸，且任何芳基上的取代基为 1-3 个 R⁴⁰；

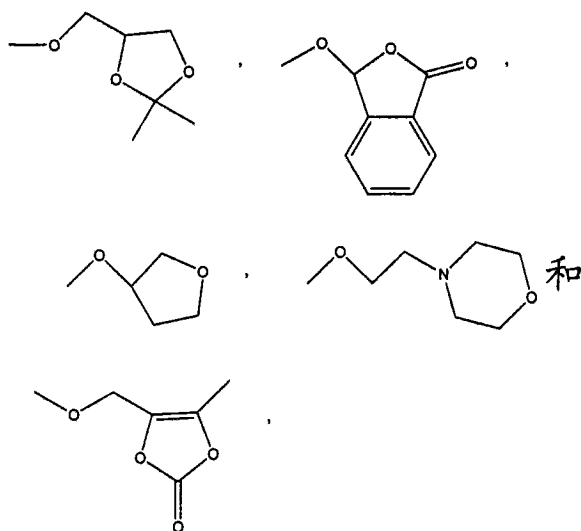
R⁴⁰ 选自 OH、卤素 (F、Cl、Br、I)、CN、异氰酸基、OR⁴³、SR⁴²、SOR⁴³、NO₂、CF₃、R⁴³、NR³⁰R^{30'}、NR³⁰C(=O)-O-R⁴³、NRC(=O)-R⁴³、C₀-C₆ 烷基-SO₂-R⁴³、C₀-C₆ 烷基-SO₂-NR³⁰R^{30'}、C(=O)-R⁴³、O-C(=O)-R⁴³、C(=O)-O-R⁴³ 和 C(=O)-NR³⁰R^{30'}，其中任何烷基、烯基或炔基上的取代基为 1-3 个 R³⁸，且任何芳基或 het 上的取代基为 1-3 个 R³¹；

R⁴⁶ 为取代或未取代的选自以下的基团

C₁-C₈ 烷基、C₂-C₈ 烯基、C₂-C₈ 炔基、C₃-C₈ 环烷基、C₃-C₆ 环烯基、C₀-C₆ 烷基-苯基、苯基-C₀-C₆ 烷基、C₀-C₆ 烷基-het 和 het-C₀-C₆ 烷基，

其中任何烷基、烯基或炔基上的取代基为 1-3 个 R³⁸，且任何芳基或 het 上的取代基为 1-3 个 R³¹；

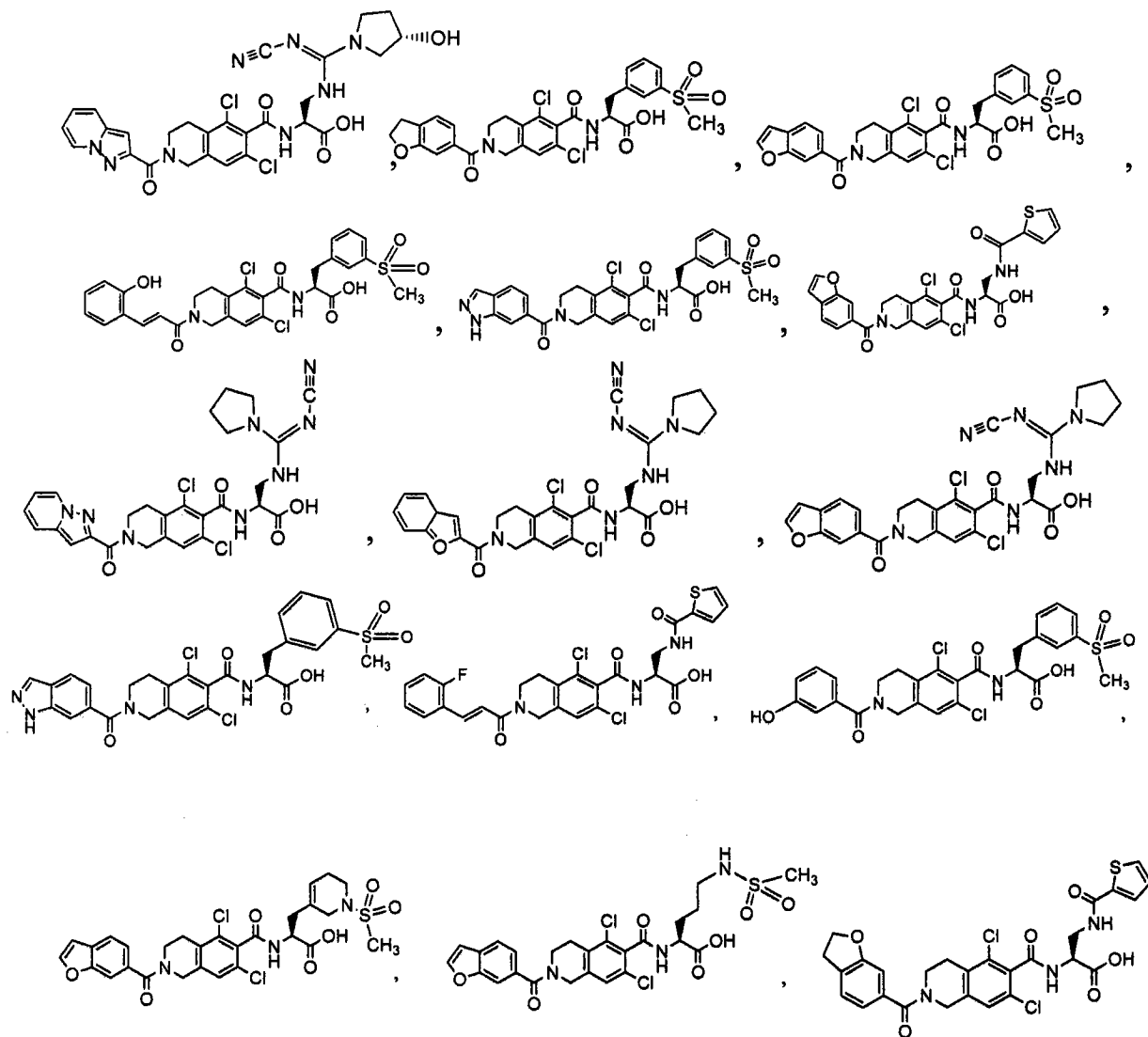
R⁴⁵ 为取代或未取代的选自以下的基团：羟基、C₁-C₁₁ 烷氧基、C₃-C₁₂ 环烷氧基、C₈-C₁₂ 芳烷氧基、C₈-C₁₂ 芳环烷氧基、C₆-C₁₀ 芳氧基、C₃-C₁₀ 烷基羰氧基烷氧基、C₃-C₁₀ 烷氧羰氧基烷氧基、C₃-C₁₀ 烷氧羰基烷氧基、C₅-C₁₀ 环烷基羰氧基烷氧基、C₅-C₁₀ 环烷氧基羰氧基烷氧基、C₅-C₁₀ 环烷氧羰基烷氧基、C₈-C₁₂ 芳氧基羰基烷氧基、C₈-C₁₂ 芳氧基羰氧基烷氧基、C₈-C₁₂ 芳基羰氧基烷氧基、C₅-C₁₀ 烷氧基烷基羰氧基烷氧基、(R³⁰)(R³⁰)N(C₁-C₁₀ 烷氧基)-、



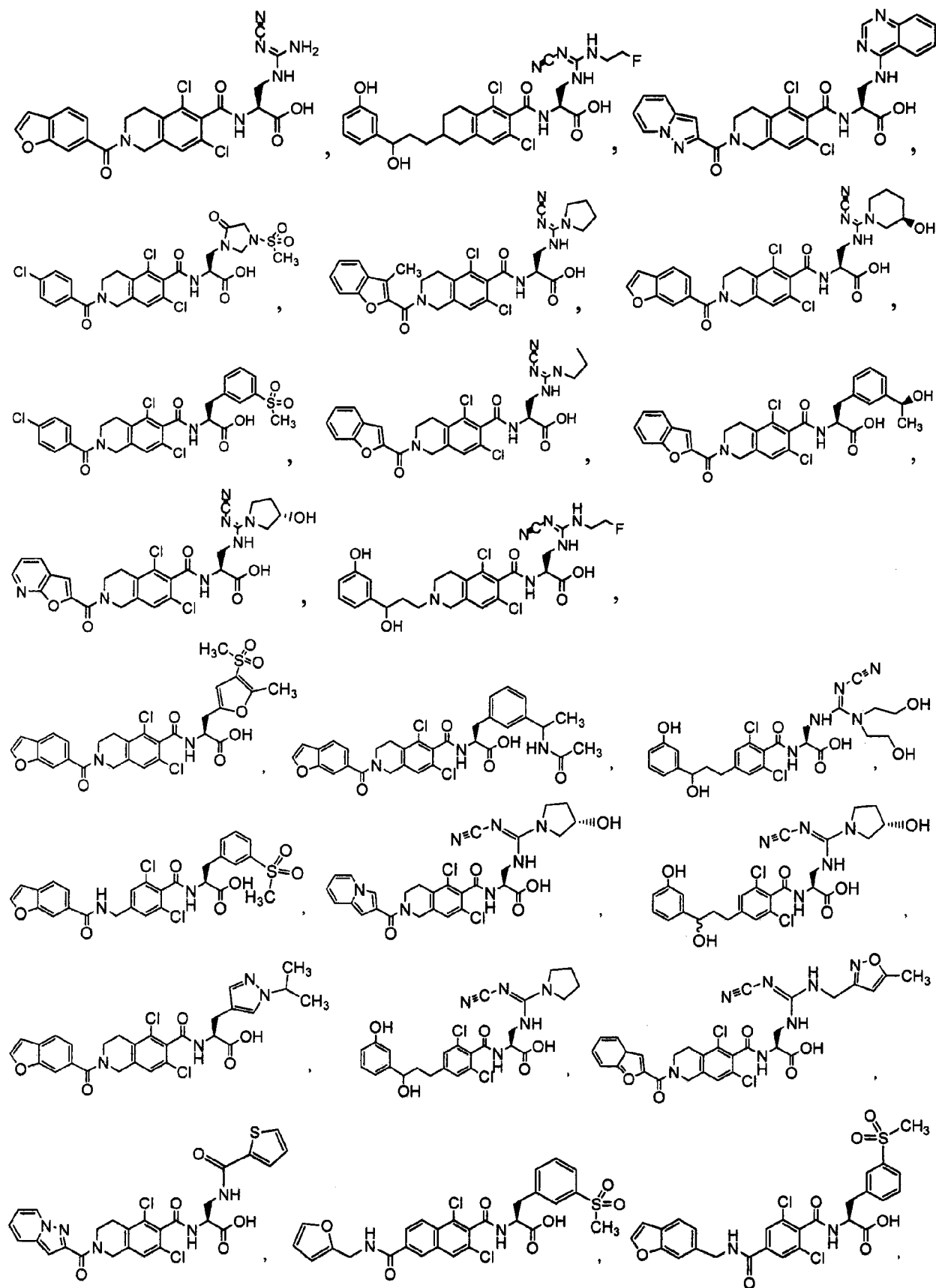
其中任何烷基、烯基或炔基上的取代基为 1-3 个 R³⁸，且任何芳基或 het 上的取代基为 1-3 个 R³¹

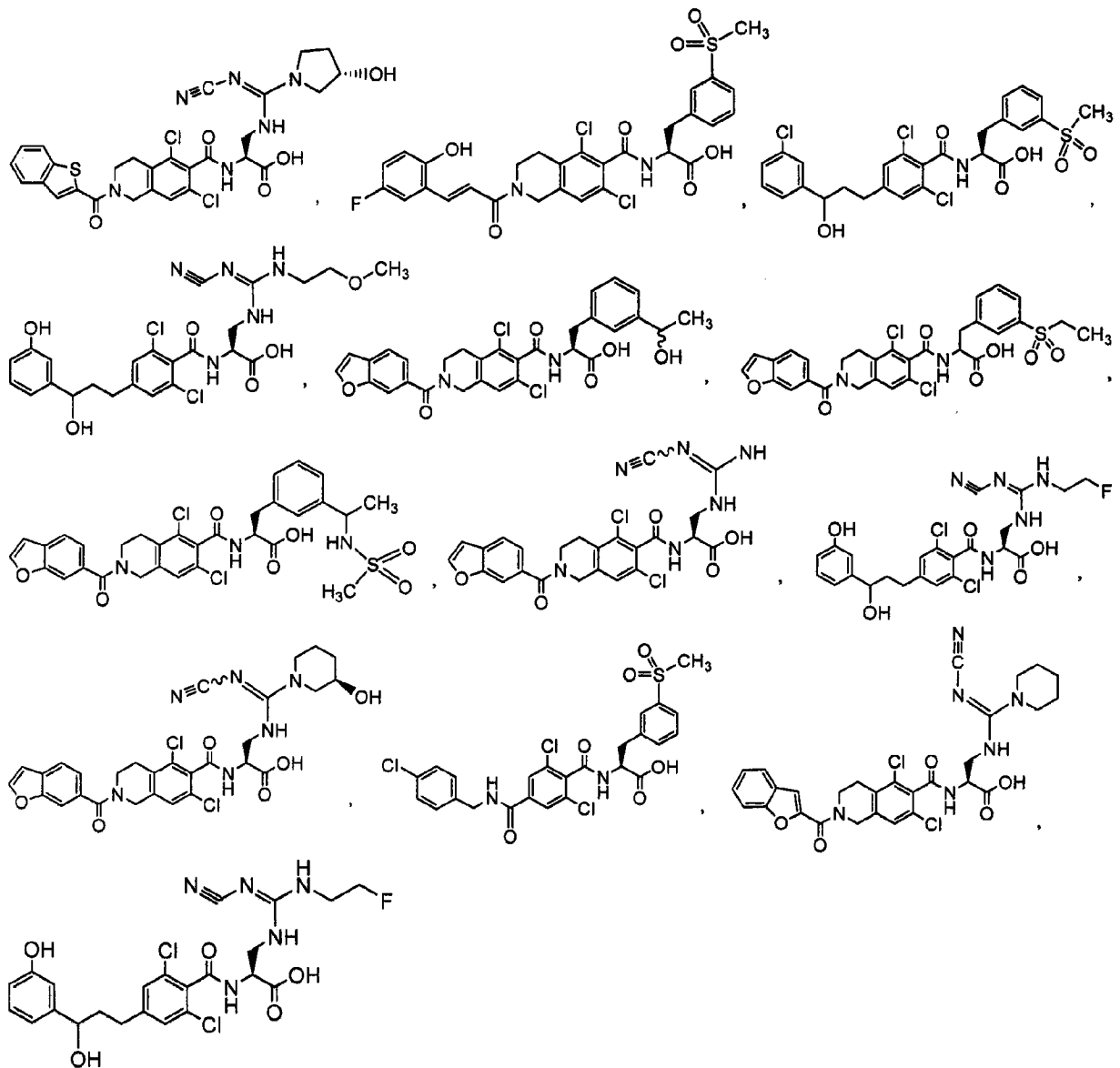
及其药学上可接受的盐。

19. 根据权利要求 5 所述的方法，其中所述 LFA-1 拮抗剂为以下化合物之一：



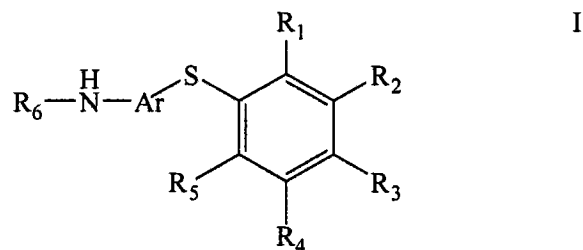
及其药学上可接受的盐和酯。





或其药学上可接受的盐和酯。

21. 根据权利要求 5 所述的方法,其中所述 LFA-1 拮抗剂为式 VII 的化合物:



式 VII

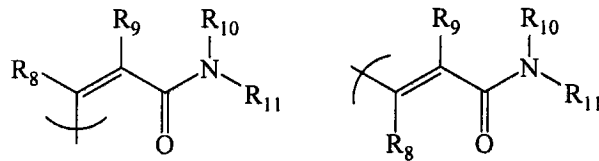
及其药学上可接受的盐和前药:

其中 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 和 R_5 各独立地为氢、烷基、烯基、烯氧基、炔基、醛、烷酰基、烷氧基、酰氨基、氨基、芳基、芳氧基、羧基、氰基、环烷基、醚、酯、卤素、杂环基、羟基、酮、硝基、氧代、全氟烷基、磺酰基、磺酸酯、硫代或其他含羰基的基团, R_6 为未取代的烷基、未取代的饱和的环烷基、未取代的羧基烷基或未取代的杂环基烷基,其中未取代的饱和环烷基、未取代的羧基烷基和未取代的杂环基烷基通过烷基与式 VII 的 NH 键合,其中未取代的羧基烷基包括分支

的烷基链，

条件是 R_1 和 R_3 中的至少一个选自：

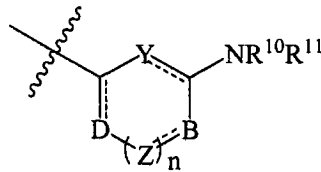
A. 选自如下定义的顺-肉桂酰胺或反-肉桂酰胺的肉桂酰胺



“顺-肉桂酰胺” “反-肉桂酰胺”

其中 R_8 和 R_9 各独立地为氢、醛、烷基、烯基、炔基、烷氧基、酰氨基、氨基、芳基、羧基、氰基、环烷基、酯、醚、卤素、羟基、酮、硝基、磺酸酯、磺酰基硫代或其他含羰基的基团；

B. 式 VII-a 的取代基：

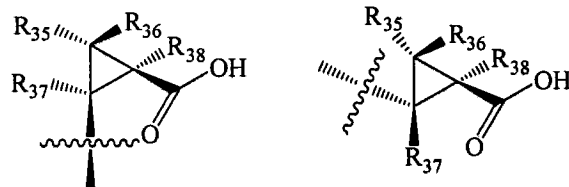


式 VII-a

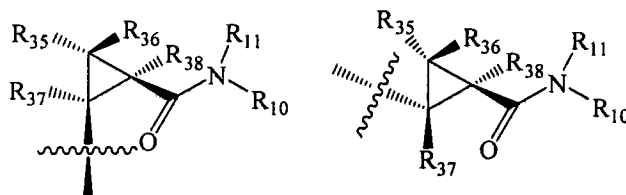
其中 D、B、Y 和 Z 各独立地为 $-CR^{31} =$ 、 $-CR^{32}R^{33}-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-O-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-S-$ 、 $-N =$ 、或 $-NR^{34}-$ ；

n 为 0-3 的整数；且 R^{31} 、 R^{32} 、 R^{33} 和 R^{34} 各独立地为氢、烷基、羧基、羟基烷基、单烷基氨基羰基烷基、二烷基氨基羰基烷基或羧基烷基；

C. 选自如下定义的顺-环丙酸、反-环丙酸、顺-环丙酰胺和反-环丙酰胺的环丙基衍生物



“顺-环丙酸” “反-环丙酸”

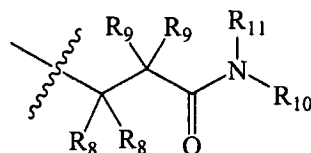


“顺-环丙酰胺” “反-环丙酰胺”

其中 R_{35} 和 R_{36} 各独立地为氢、烷基、羧基、羟基烷基或羧基烷基，且

其中 R_{37} 和 R_{38} 各独立地为氢、烷基、羧基烷基、单烷基氨基羰基烷基或二烷基氨基羰基烷基；

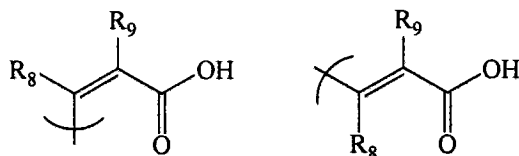
D. 式 VII-b 的取代基：



式 VII-b

其中 R_8 和 R_9 如上定义；

E. 式 VII-c 的肉桂酸：



“顺 - 肉桂酸” “反 - 肉桂酸”

式 VII-c

其中 R_8 和 R_9 如上定义；

其中：

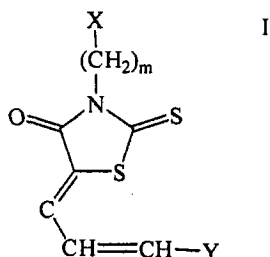
R_{10} 和 R_{11} 各独立地为氢、烷酰基、烷基、烯基、炔基、烷氧基、酰氨基、芳基、芳烷基、羧基、氰基、环烷基、酯、醚、杂环基、羟基、酮、硝基、磺酰基硫代或其他含羰基的基团，或

R_{10} 和 R_{11} 与 N 一起形成杂环基，其包含独立地为氢、烷基、烯基、烯氧基、炔基、醛、烷酰基、烷氧基、酰氨基、氨基、芳基、芳氧基、羧基、氰基、环烷基、醚、酯、卤素、杂环基、羟基、酮、硝基、氧代、全氟烷基、磺酰基、磺酸酯、硫代或其他含羰基的基团的至少一个取代基，或

当 R_3 为肉桂酰胺、式 VII-a 的取代基、式 VII-b 的取代基或如上定义环丙基衍生物时， R_1 和 R_2 ，和 / 或 R_4 和 R_5 连接在一起形成 5 至 7 元环烷基、芳基或杂环基环；或当 R_1 选自肉桂酰胺、式 VII-a 的取代基、式 VII-b 的取代基和如上定义环丙基衍生物时， R_2 和 R_3 和 / 或 R_3 和 R_4 和 / 或 R_4 和 R_5 连接在一起形成 5 至 7 元环烷基、芳基或杂环基环；且

其中 Ar 为具有至少一个取代基的取代的芳基或取代的杂芳基，该取代基独立地为氢、烷基、烯基、烯氧基、炔基、醛、烷酰基、烷氧基、酰氨基、氨基、芳基、芳氧基、羧基、氰基、环烷基、醚、酯、卤素、杂环基、羟基、酮、硝基、氧代、全氟烷基、磺酰基、磺酸酯、硫代或其他含羰基的基团。

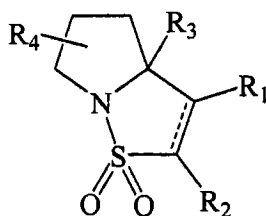
22. 根据权利要求 5 所述的方法，其中所述 LFA-1 拮抗剂为式 VIII 的化合物：



式 VIII

其中 m 为 0、1 或 2； X 为 H、环烷基或苯基，其为未取代的或被一个或多个低级烷基、羟基或卤素取代基取代； n 为 0 或 1； Y 为苯基、呋喃基、吡啶或吡咯，其全部可被一个或多个独立地为低级烷基、低级烷氧基、卤素、(3,5-二甲基苯氧基)丙氧基或苯基的取代基取代，其中苯基可进一步被一个或多个卤素原子、硝基、氨基或羧基取代。

23. 根据权利要求 5 所述的方法，其中所述 LFA-1 拮抗剂为式 IX 的化合物：



式 IX

其中虚线是键或不是键, R_1 为氢、任选地取代的烷基、烯基、炔基、环烷基、烷氧基、芳基、杂环基、羟基、SH、 SR_5 、氰基、卤素或氨基;或

虚线不是键,且 R_1 通过双键连接到环系统上并且为氧代;

R_2 为氢,或 R_2 为任选地取代的环烷基、芳基或杂环基;

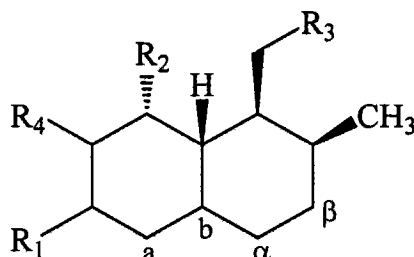
R_3 为氢、 $COOR_6$ 或氨基羰基,或 R_3 为任选地取代的烷基、烯基、炔基、芳烷基、烷氧基、环烷氧基、芳氧基或杂环氧基;

R_4 为氢、卤素、羟基、SH、任选地取代的烷基、烯基、炔基、烷氧基或烷硫基,或 R_4 为三烷基甲硅烷基或三烷基甲硅烷氧基、 N_3 或氨基,或

R_4 为杂环基,其包含至少一个作为杂原子的氮原子并通过该氮原子结合到式 IX 的化合物上,或 R_4 为氧代;且

R_5 和 R_6 独立地为烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基或杂环基。

24. 根据权利要求 5 所述的方法,其中所述 LFA-1 拮抗剂为式 X 的化合物:



式 X

其中 a---b 和 α --- β 各独立地为单键或双键; R_1 为

.....H, C_{1-4} 烷基或 $\blacktriangleleft OR_a$

R_a 为 H、任选地被 OH 或 C_{1-4} 烷氧基取代的 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基或芳基- C_{1-4} 烷基;

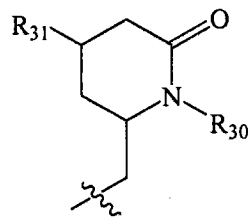
R_2 为 OH; -O-CO- R_5 ;

R_4 为 H 或 OR_{19} , 其中 R_{19} 为 C_{1-6} 烷基、羟基- C_{1-6} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基- C_{1-6} 烷基、芳基- C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 烷氧羰基- C_{1-4} 烷基;

R_5 为 C_{1-8} 烷基、 C_{3-7} 环烷基、 C_{3-7} 环烷基- C_{1-4} 烷基、芳基或芳基- C_{1-4} 烷基;或 R_5 为 -O- R_6 , 其中 R_6 为通过其羰基连接到 O 上的 α -氨基酸的残基;或 R_5 为 -CHR₇-COR₈, 其中 R_7 为 H、 C_{1-4} 烷基、杂 C_{1-4} 烷基、 C_{3-7} 环烷基、 C_{3-7} 环烷基- C_{1-4} 烷基、芳基或芳基- C_{1-4} 烷基,且 R_8 为 OH、 C_{1-4} 烷氧基或 NR_9R_{10} ;

R_9 和 R_{10} 各独立地为 H 或 C_{1-4} 烷基,或 R_9 和 R_{10} 与它们连接的氮一起形成杂芳基;

R_3 为式 X-a 的内酰胺;

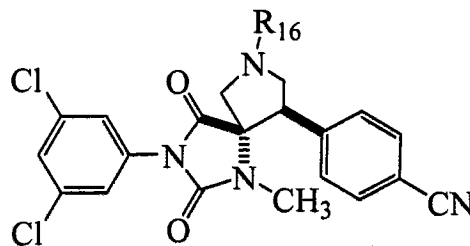


X-a

其中 R_{30} 为 C_{1-8} 烷基、 C_{3-7} 环烷基、芳基、 C_{3-7} 环烷基- C_{1-4} 烷基、芳基- C_{1-4} 烷基、杂芳基或杂芳基- C_{1-4} ；且

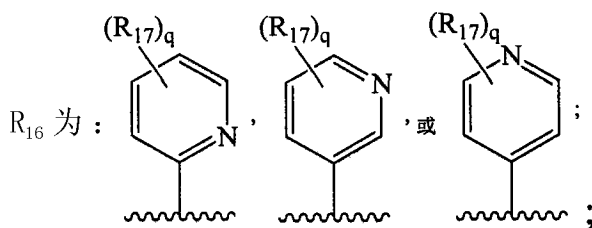
R_{31} 为 OH、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基-羰基- C_{1-4} 烷基、羟基- C_{1-5} 烷氧基、 C_{1-4} 烷氧基- C_{1-5} 烷氧基、 C_{1-4} 烷氧基-羰基- C_{1-4} 烷基、氨基- C_{1-4} 烷氧基、 $HOO-C_{1-4}$ 烷氧基、 $HOO-C_{1-4}$ 烷基、 R_{9a} R_{10a} N- C_{1-5} 烷氧基，其中 R_{9a} 和 R_{10a} 独立地为 R_9 或 R_{10} 。

25. 根据权利要求 5 所述的方法，其中所述 LFA-1 拮抗剂为式 XI 的化合物：



式 XI

及其对映异构体、药学上可接受的盐或溶剂化物，其中：



各 R_{17} 独立地为 $-OR_{18}$ 、 $-NR_{18}R_{19}$ 、 $-C(=O)R_{18}$ 、 $-CO_2R_{18}$ 、

$-C(=O)NR_{18}R_{19}$ 、 $-NR_{18}C(=O)R_{19}$ 、 $-NR_{18}C(=O)OR_{19}$ 、 $-S(O)_pR_{19}$ 、 $-NR_{18}SO_2R_{19}$

或 $-SO_2NR_{18}R_{19}$ ；

R_{18} 和 R_{19} 独立地为氢、烷基、取代的烷基、环烷基或取代的环烷基；

q 为 1、2 或 3；

且 p 为 1 或 2。

26. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述治疗剂经局部、口服、眼周、眼内、注射、鼻、气溶胶、插入物、植入装置或点滴施用。

27. 根据权利要求 26 所述的方法，其中所述治疗剂在运载体中施用，该运载体为液滴、液体洗液、喷雾液、凝胶、软膏、气溶胶、喷雾、聚合物微粒和纳米颗粒、溶液、悬浮液、固体、生物可降解基质、粉末、晶体、泡沫或脂质体。

28. 根据权利要求 26 所述的方法，其中所述治疗剂经局部施用，并且所述局部施用包括使用装置将所述化合物输注到所述眼中，该装置选自泵-导管系统、插入物、连续或选择性释放装置、生物可吸收植入物、连续或缓释制剂和隐形眼镜。

29. 根据权利要求 1 所述的方法，其中治疗有效量的所述治疗剂经局部或系统施用递

送到所述受试者的眼中。

30. 根据权利要求 26 所述的方法,其中所述治疗剂经注射施用,并且所述注射是经眼内、玻璃体内、眼周、皮下、结膜下、眼球后或眼房内进行的。

31. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述施用是通过施用所述化合物的凝胶、乳膏、粉末、泡沫、晶体、脂质体、喷雾、聚合物微粒或纳米颗粒或液体悬浮液形式的眼内滴注实现的。

32. 根据权利要求 1 所述的方法,其中以足以达到约 1×10^{-8} 至约 1×10^{-1} 摩尔 / 升的眼内或视网膜浓度的量向所述受试者施用所述化合物。

33. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述化合物每年至少施用一次。

34. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述化合物每天至少施用一次。

35. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述化合物每周至少施用一次。

36. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述化合物每月至少施用一次。

37. 根据权利要求 1 所述的方法,其进一步包括确定所述受试者需要治疗糖尿病性视网膜病的步骤。

38. 根据权利要求 1 所述的方法,其进一步包括在施用所述 LFA-1 拮抗剂之前、一起、同时或之后施用第二治疗剂。

39. 根据权利要求 38 所述的方法,其中所述第二治疗剂选自抗氧化剂、抗炎剂、抗微生物剂、类固醇、蛋白激酶 C 抑制剂、血管紧张素转化酶抑制剂、抗血管生成剂、补体抑制剂和抗细胞凋亡剂。

40. 根据权利要求 38 所述的方法,其中所述第二治疗剂为具有 LFA-1 上的变构竞争性结合位点的抗粘附治疗剂。

41. 根据权利要求 38 所述的方法,其中所述第二治疗剂为抗粘附治疗抗体或抗体片段。

42. 一种治疗患黄斑水肿的受试者的方法,包括向需要的受试者施用治疗有效量的抑制 LFA-1 和 ICAM 之间相互作用的治疗剂,从而降低和 / 或预防所述受试者眼睛的黄斑水肿。

43. 根据权利要求 42 所述的方法,其中所述 ICAM 为 ICAM-1、ICAM-2 或 ICAM-3。

44. 根据权利要求 43 所述的方法,其中所述 ICAM 为 ICAM-1。

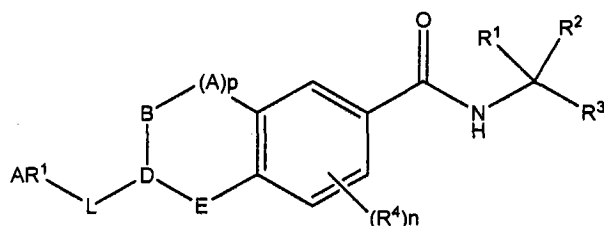
45. 根据权利要求 42 所述的方法,其中所述治疗剂为 LFA-1 拮抗剂。

46. 根据权利要求 45 所述的方法,其中所述 LFA-1 拮抗剂能结合与 ICAM-1 结合位点重叠的 LFA-1 α L 亚单元中的高亲和力结合位点。

47. 根据权利要求 46 所述的方法,其中所述 LFA-1 拮抗剂直接与 LFA-1 α L 亚单元上的 ICAM-1 的结合相竞争。

48. 根据权利要求 45 所述的方法,其中所述 LFA-1 拮抗剂为抗体。

49. 根据权利要求 45 所述的方法,其中所述 LFA-1 拮抗剂包括具有以下结构的式 I、III、IV 或 VI 的化合物及其药学上可接受的盐或酯:



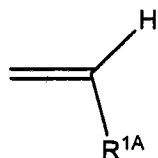
式 I

R^1 和 R^2 各独立地为氢、氨基酸侧链、 $-(CH_2)_m OH$ 、 $-(CH_2)_m$ 芳基、 $-(CH_2)_m$ 杂芳基 - 其中 m 为 0-6、 $-CH(R^{1A})(OR^{1B})$ 、 $-CH(R^{1A})(NHR^{1B})$ 、U-T-Q, 或任选地被 U-T-Q 取代的脂肪族、脂环族、杂脂肪族或杂脂环族部分;

其中 U 为不存在、 $-O-$ 、 $-S(O)_{0-2}-$ 、 $-SO_2N(R^{1A})-$ 、 $-N(R^{1A})-$ 、 $-N(R^{1A})C(=O)-$ 、 $-N(R^{1A})C(=O)-O-$ 、 $-N(R^{1A})C(=O)-N(R^{1B})-$ 、 $-N(R^{1A})-SO_2-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=O)-O-$ 、 $-O-C(=O)-$ 、芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、 $-C(=O)-N(R^{1A})-$ 、 $-OC(=O)N(R^{1A})-$ 、 $-C(=N-R^{1E})-$ 、 $-C(=N-R^{1E})-O-$ 、 $-C(=N-R^{1E})-N(R^{1A})-$ 、 $-O-C(=N-R^{1E})-N(R^{1A})-$ 、 $-N(R^{1A})C(=N-R^{1E})-$ 、 $-N(R^{1A})C(=N-R^{1E})-O-$ 、 $-N(R^{1A})C(=N-R^{1E})-N(R^{1B})-$ 、 $-P(=O)(OR^{1A})-O-$ 或 $-P(=O)(R^{1A})-O-$;

T 为不存在、脂肪族、杂脂肪族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分;且

Q 为氢、卤素、氰基、异氰酸基、 $-OR^{1B}$ 、 $-SR^{1B}$ 、 $-N(R^{1B})_2$ 、 $-NHC(=O)OR^{1B}$ 、 $-NHC(=O)N(R^{1B})_2$ 、 $-NHC(=O)R^{1B}$ 、 $-NHSO_2R^{1B}$ 、 $NHSO_2N(R^{1B})_2$ 、 $-NHSO_2NHC(=O)OR^{1B}$ 、 $-NHC(=O)NHSO_2R^{1B}$ 、 $-C(=O)NHC(=O)OR^{1B}$ 、 $C(=O)NHC(=O)R^{1B}$ 、 $-C(=O)NHC(=O)N(R^{1B})_2$ 、 $-C(=O)NHSO_2R^{1B}$ 、 $-C(=O)NHSO_2N(R^{1B})_2$ 、 $C(=S)N(R^{1B})_2$ 、 $-SO_2R^{1B}$ 、 $-SO_2OR^{1B}$ 、 $-SO_2N(R^{1B})_2$ 、 $-SO_2-NHC(=O)OR^{1B}$ 、 $-OC(=O)-N(R^{1B})_2$ 、 $-OC(=O)R^{1B}$ 、 $-OC(=O)NHC(=O)R^{1B}$ 、 $-OC(=O)NHSO_2R^{1B}$ 、 $-OSO_2R^{1B}$ 或脂肪族、杂脂肪族、芳基或杂芳基部分, 或其中 R^1 和 R^2 一起为脂环族或杂环部分, 或一起为



其中每次出现的 R^{1A} 和 R^{1B} 独立地为氢、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分、 $-C(=O)R^{1C}$ 或 $-C(=O)NR^{1C}R^{1D}$; 其中每次出现的 R^{1C} 和 R^{1D} 独立地为氢、羟基或脂肪族、杂脂肪族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分; 且 R^{1E} 为氢、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分、 $-CN$ 、 $-OR^{1C}$ 、 $-NR^{1C}R^{1D}$ 或 $-SO_2R^{1C}$;

R^3 为 $-C(=O)OR^{3A}$ 、 $-C(=O)H$ 、 $-CH_2OR^{3A}$ 、 $-CH_2OC(=O)-$ 烷基、 $-C(=O)NH(R^{3A})$ 、 $-CH_2X^0$; 其中每次出现的 R^{3A} 独立地为氢、保护基、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂烷基芳基、杂烷基杂芳基部分, 或药理学上可接受的盐或酯, 或者 R^{3A} 与 R^1 和 R^2 一起形成杂环部分; 其中 X^0 为卤素, 选自 F、Br 或 I;

每次出现的 R^4 独立地为氢、卤素、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分, 或为 GR^{G1} 其中 G 为 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $NR^{G2}-$ 、 $-CO-$ 、 $-SO-$ 、 $-SO_2-$ 、 $C(=O)O-$ 、 $-C(=O)NR^{G2}-$ 、 $C(=O)-$ 、 $-NR^{G2}C(=O)-$ 或 $-SO_2NR^{G2}-$, 且 R^{G1} 和 R^{G2} 独立地为氢、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分;

n 为 0-4 的整数；

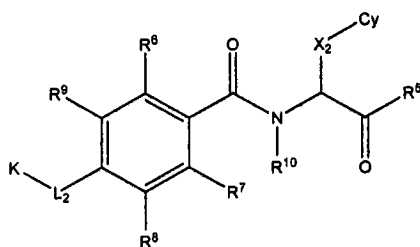
AR¹ 为单环或多环芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、脂环族或杂环部分；

A、B、D 和 E 当化合价允许时经单键或双键连接；其中每次出现的 A、B、D 和 E 独立地为 C = O、CRⁱRⁱ¹、NRⁱ、CRⁱ、N、O、S、-S(=O) 或 SO₂；其中每次出现的 Rⁱ 和 Rⁱ¹ 独立地为氢、卤素、-CN、-NO₂、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分，或为 -GR^{G1} 其中 G 为 -O-、-S-、-NR^{G2}、-CO-、-SO-、-C(=O)O-、-C(=O)NR^{G2}、-OC(=O)-、-NR^{G2}C(=O)- 或 -SO₂NR^{G2}-，且 R^{G1} 和 R^{G2} 独立地为氢、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分，或任何两个相邻的出现一起代表脂环族、杂脂环族、芳基或杂芳基部分；

p 为 0-4 的整数；且

L 不存在或为 V-W-X-Y-Z，其中每次出现的 V、W、X、Y 和 Z 独立地为不存在、C = O、NR^{L1}、-O-、-C(R^{L1}) =、= C(R^{L1})-、-C(R^{L1})(R^{L2})、C(=N-OR^{L1})、C(=NR^{L1})、-N =、S(O)₀₋₂；取代或未取代的 C₁₋₆ 亚烯基或 C₂₋₆alkenylidene 链，其中最多达两个非相邻的亚甲基单元独立地任选地被 -C(=O)-、-CO₂-、-C(=O)C(=O)-、-C(C=O)NR^{L3}-、-OC(=O)-、-OC(=O)NR^{L3}-、-NR^{L3}NR^{L4}-、-NR^{L3}NR^{L4}C(=O)-、-NR^{L3}C(=O)-、NR^{L3}CO₂-、NR^{L3}C(=O)NR^{L4}-、-S(=O)-、-SO₂-、-NR^{L3}SO₂-、-SO₂NR^{L3}-、-NR^{L3}SO₂NR^{L4}-、-O-、-S- 或 -NR^{L3}- 代替；其中每次出现的 R^{L3} 和 R^{L4} 独立地为氢、烷基、杂烷基、芳基、杂芳基或酰基；或脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分；且每次出现的 R^{L1} 和 R^{L2} 独立地为氢、羟基、保护的羟基、氨基、保护的氨基、硫代、保护的硫代、卤素、氰基、异氰酸基、羧基、羧基烷基、甲酰基、甲酰氧基、叠氮基、硝基、脲基、硫脲基、氰硫基、烷氧基、芳氧基、巯基、磺酰氨基、苄酰氨基、甲苯磺酰基、或脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分，或其中一次或多次出现的 R^{L1} 和 R^{L2} 一起或者与 V、W、X、Y 或 Z 中的一个一起形成脂环族或杂环部分或形成芳基或杂芳基部分；

或



式 III

其中 Cy 为任选地被羟基、巯基、烷硫基、卤素、氧代、硫代、氨基、氨基烷基、脒、胍、硝基、烷基、烷氧基或酰基取代的芳香族碳环、芳香族杂环或非芳香族杂环；

X₂ 为 -CH₂-NR¹⁰-[二价烃链]- 其中所述二价烃链任选地被羟基、巯基、卤素、氨基、氨基烷基、硝基、氧代或硫代取代；

K 为任选地被羟基、巯基、卤素、氧代、硫代、烷硫基、氨基、氨基烷基、碳环或杂环、烃、卤素取代的烃、氨基、脒、胍、氰基、硝基、烷氧基或酰基取代的杂环；

L₂ 为 -[二价烃链]-NR¹⁰-CH₂- 其中所述二价烃链任选地被羟基、卤素、氧代或硫代取代，且 R¹⁰ 为 H 或烷基；

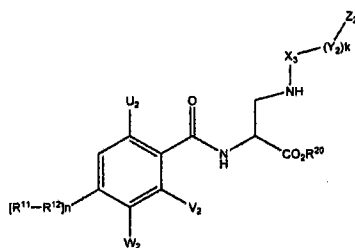
R⁵ 为 H、OH、氨基、O- 碳环或任选地被氨基、碳环、杂环取代的烷氧基，或为药学上可接

受的盐或酯；

R^{6-9} 独立地为 H、羟基、巯基、卤素、氰基、氨基、脞、胍、硝基或烷氧基；

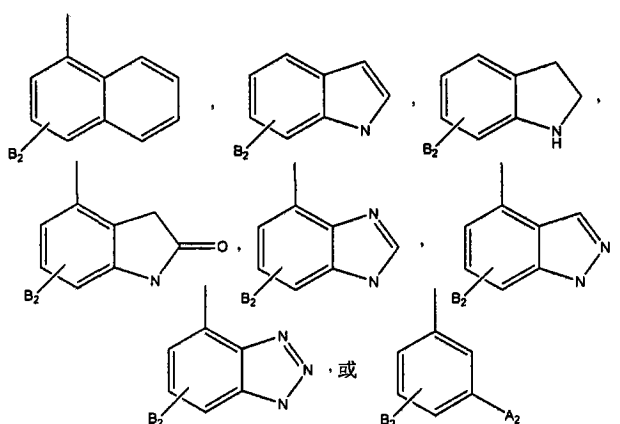
R^{10} 为 H 或任选地被碳环或杂环取代的烃链；及其盐、溶剂化物和水合物；

或



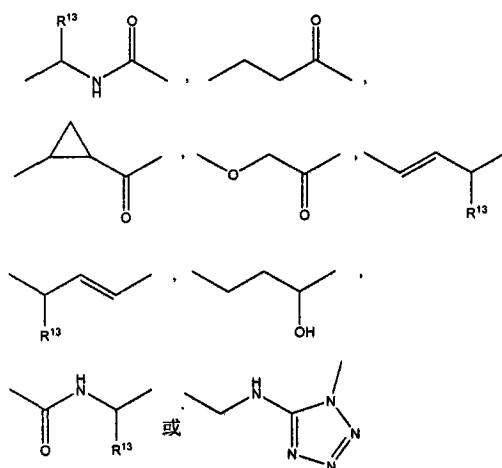
式 IV

其中 R^{11} 为下式的基团



其中 A 为氢、羟基、氨基或卤素，且 B 为氨基、羧基、氢、羟基、氰基、三氟甲基、卤素、低级烷基或低级烷氧基；

R^{12} 为下式的基团



其中 R^{13} 为氢、羧基或低级烷基；

n 为 0 或 1；

U_2 、 V_2 和 W_2 独立地为氢、卤素或低级烷基，条件是 U_2 和 V_2 不均为氢；

X_3 为羰基、苯基取代的低级亚烷基、亚氨基、取代的亚氨基或磺酰基；

Y_2 为低级亚烷基，其可被氨基、取代的氨基、低级烷基或环状低级烷基中的一个或多个取代，或 Y_2 为低级亚烯基或低级亚烷基巯基；

k 为 0 或 1；

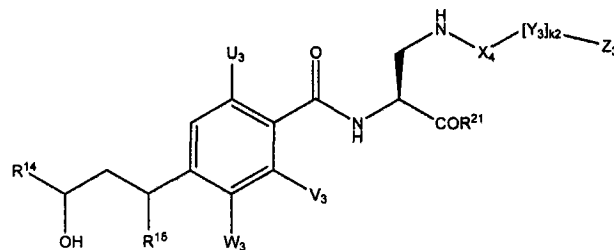
当 k 为 1 时, Z_2 为氢、低级烷基、-COOH、-CONH₂、氨基；

当 k 为 0 或 1 时, Z_2 为 1-金刚烷基、二苯基甲基、3-[[[(5-氯吡啶-2-基)氨基]羰基]吡嗪-2-基、羟基、苯基甲氧基、2-氯-4-[[[(3-羟基苯基)甲基]氨基]羰基]苯基、[2,6-二氯苯基]甲氧基]苯基；

当 k 为 0 或 1 时, Z_2 为含 0 至 3 个相同或不同杂原子的环烷基或芳基, 或为含 2 个或 3 个环的稠环系统, 这些环独立地为含 0 至 3 个相同或不同杂原子的环烷基或芳基, 任何环均可以是未取代的, 或被卤素、氰基、氨基、取代的氨基、氨基磺酰基、硝基、氧代、羟基、芳基、芳氧基、未取代的低级烷基、卤素取代的低级烷基、低级烷氧基取代的低级烷基、低级烷氧基、低级烷基磺酰基、低级烷基硫基、乙酰基、氨基羰基、胍基、羧基、烷氧羰基、乙酰氧基中的至少一个取代, 或另外还被氨基低级烷基取代；且

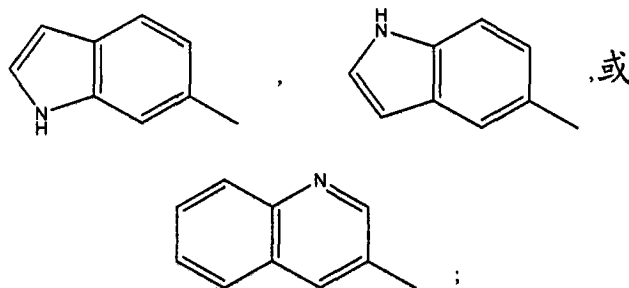
R^{20} 为氢、药学上可接受的盐或酯；

或



式 V

R^{14} 为下式的基团



R^{15} 为氢、羧基或低级烷基；

U_3 、 V_3 和 W_3 独立地为氢、卤素；

U_3 、 V_3 和 W_3 为低级烷基, 条件是 U_3 和 V_3 不均为氢；

X_4 为羰基、苯基取代的低级亚烷基、亚氨基、取代的亚氨基或磺酰基；

Y_3 为低级亚烯基、低级亚烷基硫基, 或为低级亚烷基, 其可被氨基、乙酰氨基或环状低级烷基取代；

k_2 为 0 或 1；

当 k_2 为 1 时, Z 氢、低级烷基、-COOH、-CONH₂ 或氨基；

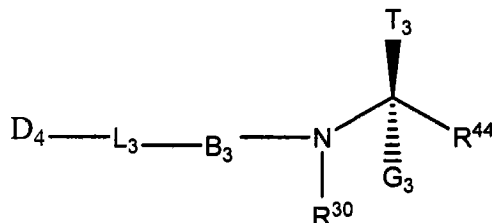
当 k_2 为 0 或 1 时, Z_3 为 1-金刚烷基、二苯基甲基、3-[[[(5-氯吡啶-2-基)氨基]羰基]吡嗪-2-基；

当 k_2 为 0 或 1 时, Z 为含 0 至 3 个相同或不同杂原子的环烷基或芳基, 或为含 2 个或 3 个环的稠环系统, 这些环独立地为含 0 至 3 个相同或不同杂原子的环烷基或芳基, 任何环可

为未取代的,或被卤素、氰基、氨基、取代的氨基、氨基磺酰基、硝基、氧代、羟基、芳基、芳氧基、未取代的低级烷基、卤素取代的低级烷基、低级烷氧基取代的低级烷基、低级烷氧基、羧基、烷氧羰基或乙酰氧基中的至少一个取代;且

R^{21} 为氢、药学上可接受的盐或酯

或



式 VI

其中

D_4 为单环、双环或三环饱和、不饱和或芳香族环,各环在环中具有 5、6 或 7 个原子,其中环中的原子为碳或选自氮、氧和硫的 1 至 4 个杂原子,其中任何碳或硫环原子任选地可被氧化,各环由 0-3 个 R^{31} 取代;

L_3 为选自下面的二价连接基团

$-L^3-L^2-L^1-$,

$-L^4-L^3-L^2-L^1-$ 和

$-L^5-L^4-L^3-L^2-L^1-$,

其中

L^1 选自氧 ($-O-$)、 $S(O)_s$ 、 $C(=O)$ 、 CR^{32} 、 R^{32} 、 $CR^{32}het$ 、 NR^{30} 和 N,

L^2 选自氧 ($-O-$)、 $S(O)_s$ 、 $C(=O)$ 、 $C(=N-O-R^{33})$ 、 $CR^{34}R^{34'}$ 、 CR^{34} 、 het 、 NR^{30} 和 N,

L^3 选自氧 ($-O-$)、 $S(O)_s$ 、 $C(=O)$ 、 $C(=N-O-R^{33})$ 、 $CR^{35}R^{35'}$ 、 CR^{35} 、 het 、 NR^{30} 和 N,

L^4 不存在或选自氧 ($-O-$)、 $S(O)_s$ 、 $C(=O)$ 、 $C(=N-O-R^{33})$ 、 $CR^{36}R^{36'}$ 、 CR^{36} 、 NR^{30} 和 N,

L^5 不存在或选自氧 ($-O-$)、 $S(O)_s$ 、 $C(=O)$ 、 $CR^{37}R^{37'}$ 、 CR^{37} 、 NR^{30} 和 N,条件是 L^1 至 L^3 中仅有一个可为 het,且当 L^1-L^3 中的一个为 het 时,其他的 L^1-L^5 可以不存在,

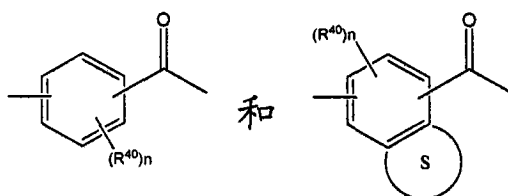
其中

R^{32} 、 $R^{32'}$ 、 R^{34} 、 $R^{34'}$ 、 R^{35} 、 $R^{35'}$ 、 R^{36} 、 $R^{36'}$ 、 R^{37} 和 $R^{37'}$ 各独立地选自 R^{38} 、 R^{39} 和 U-Q-V-W,

任选地, R^{24} 和 $R^{34'}$ 分别或一起与 B_3 通过 B 上的取代基 RP 可形成饱和、不饱和或芳香族稠环,该稠环的环中含有 5、6 或 7 个原子且任选地含有选自 O、S 和 N 的 1-3 个杂原子,其中任何 S 或 N 任选地可被氧化;

任选地, R^{35} 和 $R^{35'}$ 分别或一起以及 R^{36} 和 $R^{36'}$ 分别或一起与 D_3 通过 D_3 上的取代基 R^{31} 可形成饱和、不饱和或芳香族稠环,该稠环的环中含有 5、6 或 7 个原子且任选地含有选自 O、S 和 N 的 1-3 个杂原子,其中任何 S 或 N 任选地可被氧化;

另外任选地, L^1-L^5 中的各 $R^{32}-R^{37}$ 、 NR^{30} 或 N 与 L^1-L^5 中的其他任何 $R^{32}-R^{37}$ 、 NR^{30} 或 N 一起可形成饱和、不饱和或芳香族的 5、6 或 7 元碳环或杂环,其任选地含有选自 N、O 和 S 的 1-3 个另外的杂原子,其中任何碳或硫环原子任选地可被氧化,各环由 0-3 个 R^{31} 取代;且其中 s 为 0-2; B 选自:



其中 \textcircled{s} 为含 5、6 或 7 个原子的稠合的杂环或碳环, 该环为不饱和的、部分饱和或芳香族的, 杂原子选自 1-3 个 O、S 和 N,

Y_3 选自 CH 和 NR^{30} ; n 为 0-3:

G_3 选自氢和 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基, 任选地 G 与 T 一起可形成任选地被 $-V-W$ 取代的 $\text{C}_3\text{-C}_6$ 环烷基;

T_3 选自基团:

天然存在的 α -氨基酸侧链,

和 $U_4\text{-Q}_4\text{-V}_4\text{-W}_4$;

U_4 为任选地取代的选自 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、 $\text{C}_0\text{-C}_6$ 烷基 $-\text{Q}$ 、 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 烯基 $-\text{Q}$ 和 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 炔基 $-\text{Q}$ 的二价基团;

其中任何烷基、烯基或炔基上的取代基为 1-3 个 R^{38} ;

Q_4 不存在或选自:

$-\text{O}-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_s-$ 、 $-\text{SO}_2\text{-N}(\text{R}^{30})-$ 、 $-\text{N}(\text{R}^{30})-$ 、 $-\text{N}(\text{R}^{30})\text{-C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{N}(\text{R}^{30})\text{-C}(=\text{O})\text{-N}(\text{R}^{30})-$ 、 $-\text{N}(\text{R}^{30})\text{-C}(=\text{O})\text{-O}-$ 、 $-\text{N}(\text{R}^{30})\text{-SO}_2-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{-O}-$ 、 $-\text{het}-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{-N}(\text{R}^{30})-$ 、 $-\text{O}-\text{C}(=\text{O})\text{-N}(\text{R}^{30})-$ 、 $-\text{PO}(\text{OR}^{30})\text{O}-$ 和 $-\text{P}(\text{O})\text{O}-$;

其中

s 为 0-2 且

het 为单环或双环的 5、6、7、9 或 10 元杂环, 各环含有选自 N、O 和 S 的 1-4 个杂原子, 其中杂环可以是饱和的、部分饱和或芳香族的, 且任何 N 或 S 任选地可被氧化, 杂环被 0-3 个 R^{41} 取代;

V_4 不存在或为任选地取代的选自 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、 $\text{C}_3\text{-C}_8$ 环烷基、 $\text{C}_0\text{-C}_6$ 烷基 $-\text{C}_6\text{-C}_{10}$ 芳基和 $\text{C}_0\text{-C}_6$ 烷基 $-\text{het}$ 的二价基团;

其中任何烷基上的取代基为 1-3 个 R^{38} , 且任何芳基或 het 上的取代基为 1-3 个 R^{31} ;

W_4 选自以下基团:

氢、 OR^{33} 、 SR^{42} 、 $\text{NR}^{30}\text{R}^{30}$ 、 $\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{R}^{43}$ 、 $\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{NR}^n\text{R}^n$ 、 $\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{R}^{43}$ 、 $\text{NH}-\text{SO}_2-\text{R}^{37}$ 、 $\text{NH}-\text{SO}_2-\text{NR}^{30}\text{R}^{30}$ 、 $\text{NH}-\text{SO}_2-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{R}^{43}$ 、 $\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{SO}_2-\text{R}^{37}$ 、 $\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{R}^{43}$ 、 $\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{R}^{43}$ 、 $\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{NR}^{30}\text{R}^{30}$ 、 $\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{SO}_2-\text{R}^{37}$ 、 $\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{SO}_2-\text{NR}^{30}\text{R}^{30}$ 、 $\text{C}(=\text{S})-\text{NR}^{30}\text{R}^{30}$ 、 $\text{SO}_2-\text{R}^{37}$ 、 $\text{SO}_2-\text{O}-\text{R}^{37}$ 、 $\text{SO}_2-\text{NR}^{37}\text{R}^{37}$ 、 $\text{SO}_2-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{R}^{43}$ 、 $\text{SO}_2-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{NR}^{30}\text{R}^{30}$ 、 $\text{SO}_2-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{R}^{43}$ 、 $\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{NR}^{30}\text{R}^{30}$ 、 $\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{R}^{43}$ 、 $\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{R}^{43}$ 、 $\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{SO}_2\text{R}^{46}$ 和 $\text{O}-\text{SO}_2-\text{R}^{37}$;

R^{44} 选自 $\text{C}(=\text{O})-\text{R}^{45}$ 、 $\text{C}(=\text{O})-\text{H}$ 、 $\text{CH}_2(\text{OH})$ 和 $\text{CH}_2\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基;

R^{38} 为 $\text{R}^{38'}$ 或被 1-3 个 $\text{R}^{38''}$ 取代的 $\text{R}^{38''}$; 其中

$\text{R}^{38'}$ 选自以下基团:

氢、卤素 (F、Cl、Br、I)、氰基、异氰酸基、羧基、羧基 $-\text{C}_1\text{-C}_{11}$ 烷基、氨基、氨基 $-\text{C}_1\text{-C}_8$ 烷基、氨基羰基、甲酰氨基、氨基甲酰基、氨基甲酰氧基、甲酰基、甲酰氧基、叠氮基、硝基、咪唑

基、脲基、硫脲基、氰硫基、羟基、 C_1 - C_6 烷氧基、巯基、磺酰氨基、het、苯氧基、苯基、苄酰氨基、甲苯磺酰基、吗啉代、吗啉基、哌嗪基、哌啶基、吡咯啉基、咪唑基和吡啶基；

R^{38} 选自以下基团：

C_0 - C_{10} 烷基 - Q - C_0 - C_6 烷基、 C_0 - C_{10} 烯基 - Q - C_0 - C_6 烷基、 C_0 - C_{10} 炔基 - Q - C_0 - C_6 烷基、 C_3 - C_{11} 环烷基 - Q - C_0 - C_6 烷基、 C_3 - C_{10} 环烯基 - Q - C_0 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷基 - C_6 - C_{12} 芳基 - Q - C_0 - C_6 烷基、 C_6 - C_{10} 芳基 - C_1 - C_6 烷基 - Q - C_0 - C_6 烷基、 C_0 - C_6 烷基 -het- Q - C_0 - C_6 烷基、 C_0 - C_6 烷基 - Q -het- C_0 - C_6 烷基、het- C_0 - C_6 烷基 - Q - C_0 - C_6 烷基、 C_0 - C_6 烷基 - Q - C_6 - C_{12} 芳基和 - Q - C_1 - C_6 烷基；

R^{43} 选自氢和取代或未取代的 C_1 - C_{10} 烷基、 C_2 - C_{10} 烯基、 C_2 - C_{10} 炔基、 C_3 - C_{11} 环烷基、 C_3 - C_{10} 环烯基、 C_1 - C_6 烷基 - C_6 - C_{12} 芳基、 C_6 - C_{10} 芳基 - C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷基 -het、het- C_1 - C_6 烷基、 C_6 - C_{12} 芳基和 het，

其中任何烷基、烯基或炔基上的取代基为 1-3 个 R^{38} 且任何芳基或 het 上的取代基为 1-3 个 R^{31} ；

R^{31} 选自 R^{40} 和 R^{41} ；

R^{41} 选自以下基团：

OH、 OCF_3 、 OR^{43} 、 SR^{42} 、卤素 (F、Cl、Br、I)、CN、异氰酸基、 NO_2 、 CF_3 、 C_0 - C_6 烷基 - $NR^{30}R^{30'}$ 、 C_0 - C_6 烷基 - $C(=O)$ - $NR^{30}R^{30'}$ 、 C_0 - C_6 烷基 - $C(=O)$ - R^{38} 、 C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_8 烷氧基、 C_2 - C_8 烯基、 C_2 - C_8 炔基、 C_3 - C_6 环烷基、 C_3 - C_6 环烯基、 C_1 - C_6 烷基 - 苯基、苯基 - C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧羰基、苯基 - C_0 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 烷基 -het、het- C_1 - C_6 烷基、 SO_2 -het、- O - C_6 - C_{12} 芳基、- SO_2 - C_6 - C_{12} 芳基、- SO_2 - C_1 - C_6 烷基和 het，

其中任何烷基、烯基或炔基任选地被选自 OH、卤素 (F、Cl、Br、I)、硝基、氨基和氨基羰基的 1-3 个基团取代，且任何芳基或 het 上的取代基为 1-2 个羟基、卤素 (F、Cl、Br、I)、 CF_3 、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、硝基和氨基；

R^m 选自 S - C_1 - C_6 烷基、 $C(=O)$ - C_1 - C_6 烷基、 $C(=O)$ - $NR^{30}R^{30'}$ 、 C_1 - C_6 烷基、卤素 (F、Cl、Br、I)- C_1 - C_6 烷基、苄基和苯基；

R^{30} 选自以下基团： R^{43} 、 $NH-C(=O)-O-R^{43}$ 、 $NH-C(=O)-R^{43}$ 、 $NH-C(=O)-NHR^{43}$ 、 $NH-SO_2-R^{46}$ 、 $NH-SO_2NH-C(=O)-R^{43}$ 、 $NH-C(=O)-NH-SO_2-R^{37}$ 、 $C(=O)-O-R^{43}$ 、 $C(=O)-R^{43}$ 、 $C(=O)-NHR^{43}$ 、

$C(=O)-NH-C(=O)-O-R^{43}$ 、 $C(=O)-NH-C(=O)-R^{43}$ 、 $C(=O)-NH-SO_2-R^{46}$ 、

$C(=O)-NH-SO_2-NHR^{37}$ 、 SO_2-R^{37} 、 SO_2-O-R^{37} 、 $SO_2-N(R^{43})_2$ 、 $SO_2-NH-C(=O)-O-R^{43}$ 、 $SO_2-NH-C(=O)-O-R^{43}$ 和 $SO_2-NH-C(=O)-R^{43}$ ；

$R^{30'}$ 选自氢、羟基和取代或未取代的 C_1 - C_{11} 烷基、 C_1 - C_{11} 烷氧基、 C_2 - C_{10} 烯基、 C_2 - C_{10} 炔基、 C_3 - C_{11} 环烷基、 C_3 - C_{10} 环烯基、 C_1 - C_6 烷基 - C_6 - C_{12} 芳基、 C_6 - C_{10} 芳基 - C_1 - C_6 烷基、 C_6 - C_{10} 芳基 - C_0 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 烷基 -het、het- C_1 - C_6 烷基、 C_6 - C_{12} 芳基、het、 C_1 - C_6 烷基羰基、 C_1 - C_8 烷氧羰基、 C_3 - C_8 环烷基羰基、 C_3 - C_8 环烷氧羰基、 C_6 - C_{11} 芳氧羰基、 C_7 - C_{11} 芳基烷氧羰基、杂芳基烷氧羰基、杂芳基烷基羰基、杂芳基羰基、杂芳基烷基磺酰基、杂芳基磺酰基、 C_1 - C_6 烷基磺酰基和 C_6 - C_{10} 芳基磺酰基，其中任何烷基、烯基或炔基上的取代基为 1-3 个 R^{38} ，且任何芳基、het 或杂芳基上的取代基为 1-3 个 R^{31} ；

R^{30} 和 $R^{30'}$ 与它们所连接的共同的氮一起可形成任选地被取代的选自吗啉基、哌嗪基、硫代吗啉基、吡咯烷基、咪唑烷基、二氢吡啶基、异二氢吡啶基、1,2,3,4-四氢-喹啉基、1,

2,3,4-四氢-异喹啉基、噻唑烷基和氮杂二环壬基的杂环,其中取代基为1-3个 R^{38} ;

R^{33} 选自氢和取代或未取代的 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷基羰基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 C_3-C_8 环烷基和苯甲酰基,其中任何烷基上的取代基为1-3个 R^{38} ,且任何芳基上的取代基为1-3个 R^{40} ;

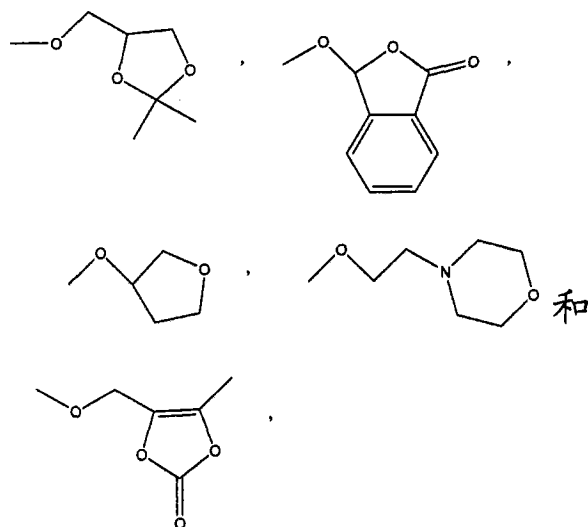
R^{40} 选自OH、卤素(F、Cl、Br、I)、CN、异氰酸基、 OR^{43} 、 SR^{42} 、 SOR^{43} 、 NO_2 、 CF_3 、 R^{43} 、 $NR^{30}R^{30'}$ 、 $NR^{30}C(=O)-O-R^{43}$ 、 $NRC(=O)-R^{43}$ 、 C_0-C_6 烷基- SO_2-R^{43} 、 C_0-C_6 烷基- $SO_2-NR^{30}R^{30'}$ 、 $C(=O)-R^{43}$ 、 $O-C(=O)-R^{43}$ 、 $C(=O)-O-R^{43}$ 和 $C(=O)-NR^{30}R^{30'}$,其中任何烷基、烯基或炔基上的取代基为1-3个 R^{38} ,且任何芳基或het上的取代基为1-3个 R^{31} ;

R^{46} 为取代或未取代的选自以下的基团:

C_1-C_8 烷基、 C_2-C_8 烯基、 C_2-C_8 炔基、 C_3-C_8 环烷基、 C_3-C_6 环烯基、 C_0-C_6 烷基-苯基、苯基- C_0-C_6 烷基、 C_0-C_6 烷基-het和het- C_0-C_6 烷基,

其中任何烷基、烯基或炔基上的取代基为1-3个 R^{38} ,且任何芳基或het上的取代基为1-3个 R^{31} ;

R^{45} 为取代或未取代的选自以下的基团:羟基、 C_1-C_{11} 烷氧基、 C_3-C_{12} 环烷氧基、 C_8-C_{12} 芳烷氧基、 C_8-C_{12} 芳环烷氧基、 C_6-C_{10} 芳氧基、 C_3-C_{10} 烷基羰氧基烷氧基、 C_3-C_{10} 烷氧羰氧基烷氧基、 C_3-C_{10} 烷氧羰基烷氧基、 C_5-C_{10} 环烷基羰氧基烷氧基、 C_5-C_{10} 环烷氧羰氧基烷氧基、 C_5-C_{10} 环烷氧羰基烷氧基、 C_8-C_{12} 芳氧基羰基烷氧基、 C_8-C_{12} 芳氧基羰氧基烷氧基、 C_8-C_{12} 芳基羰氧基烷氧基、 C_5-C_{10} 烷氧基烷基羰氧基烷氧基、 $(R^{30})(R^{30'})N(C_1-C_{10}$ 烷氧基)-、



其中任何烷基、烯基或炔基上的取代基为1-3个 R^{38} ,且任何芳基或het上的取代基为1-3个 R^{31}

及其药学上可接受的盐。

50. 根据权利要求42所述的方法,其中所述LFA-1拮抗剂在治疗上可接受的制剂中经滴注、眼内植入、眼周植入、注射、口服、鼻内、局部或离子透入施用。

51. 根据权利要求50所述的方法,其中所述注射施用是经眼内、玻璃体内、眼周、皮下、结膜下、眼球后或眼房内进行的。

52. 根据权利要求42所述的方法,其中所述药学上可接受的制剂包括凝胶、乳膏、粉末、泡沫、晶体、脂质体、喷雾、聚合物微粒或纳米颗粒、生物可降解基质、液体悬浮液、溶液、悬浮液、软膏、包、生物可吸收植入物或眼插入物。

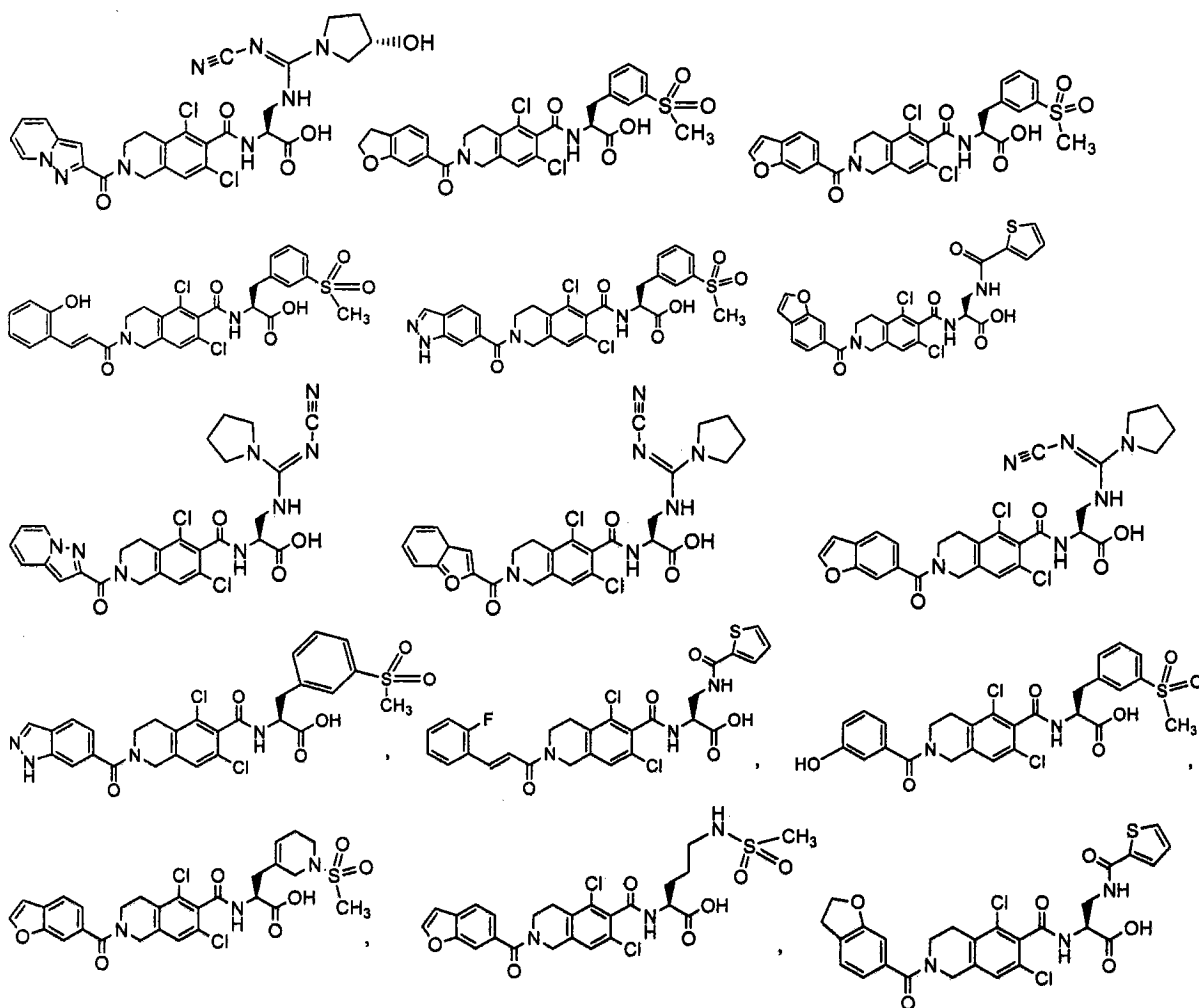
53. 一种治疗受试者的糖尿病性视网膜病的方法,包括对所述受试者进行糖尿病性视网膜病的诊断测试;基于所述诊断测试的结果来确定所述受试者是否患有糖尿病性视网膜病;以及在诊断为所述糖尿病性视网膜病之后,向所述受试者施用在药学上可接受的制剂中的有效量的淋巴细胞功能相关抗原-1 (LFA-1) 拮抗剂。

54. 根据权利要求 53 所述的方法,其中所述诊断测试是通过使所述受试者的眼睛成像或分析所述受试者的眼睛的生物样品进行的。

55. 一种降低和 / 或预防患糖尿病的受试者的术后眼部炎症的方法,包括向需要的所述受试者施用治疗有效量的 LFA-1 拮抗剂,从而降低和 / 或预防所述受试者眼睛的术后炎症。

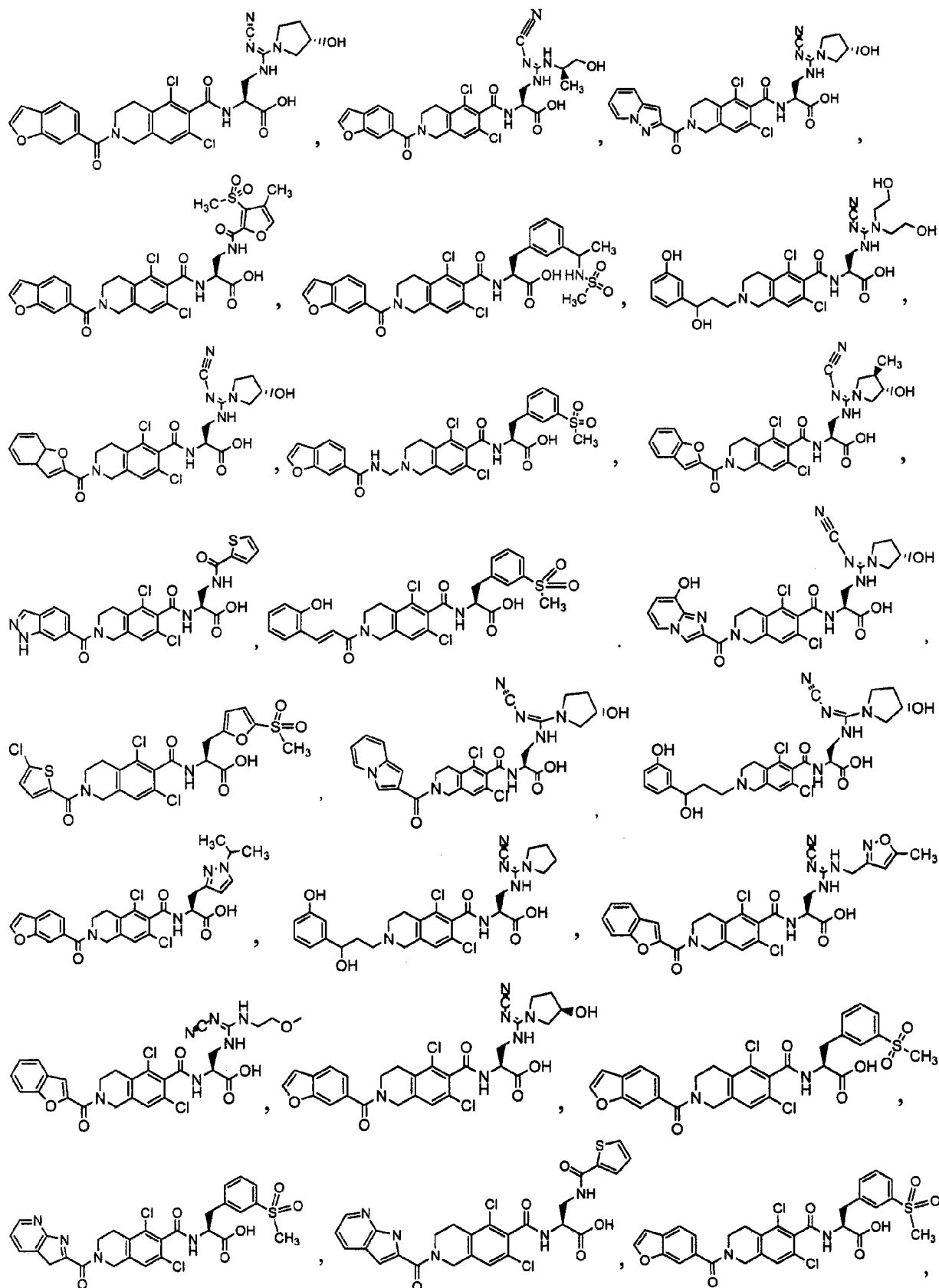
56. 根据权利要求 55 所述的方法,其中所述术后炎症是由于玻璃体切割术、激光凝固疗法、光动力疗法或 LASIK 导致的。

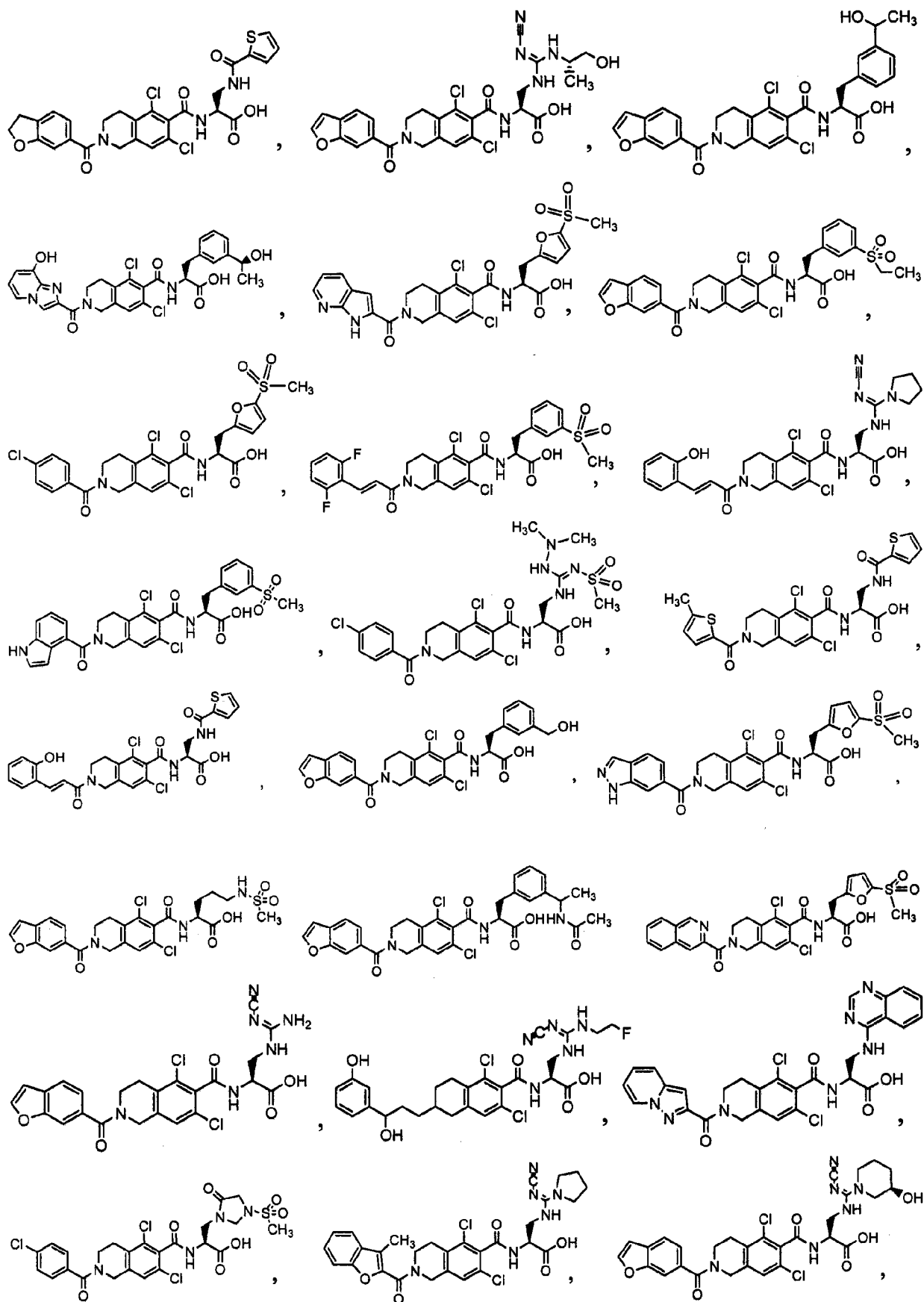
57. 根据权利要求 42、53 或 55 所述的方法,其中所述 LFA-1 拮抗剂选自:

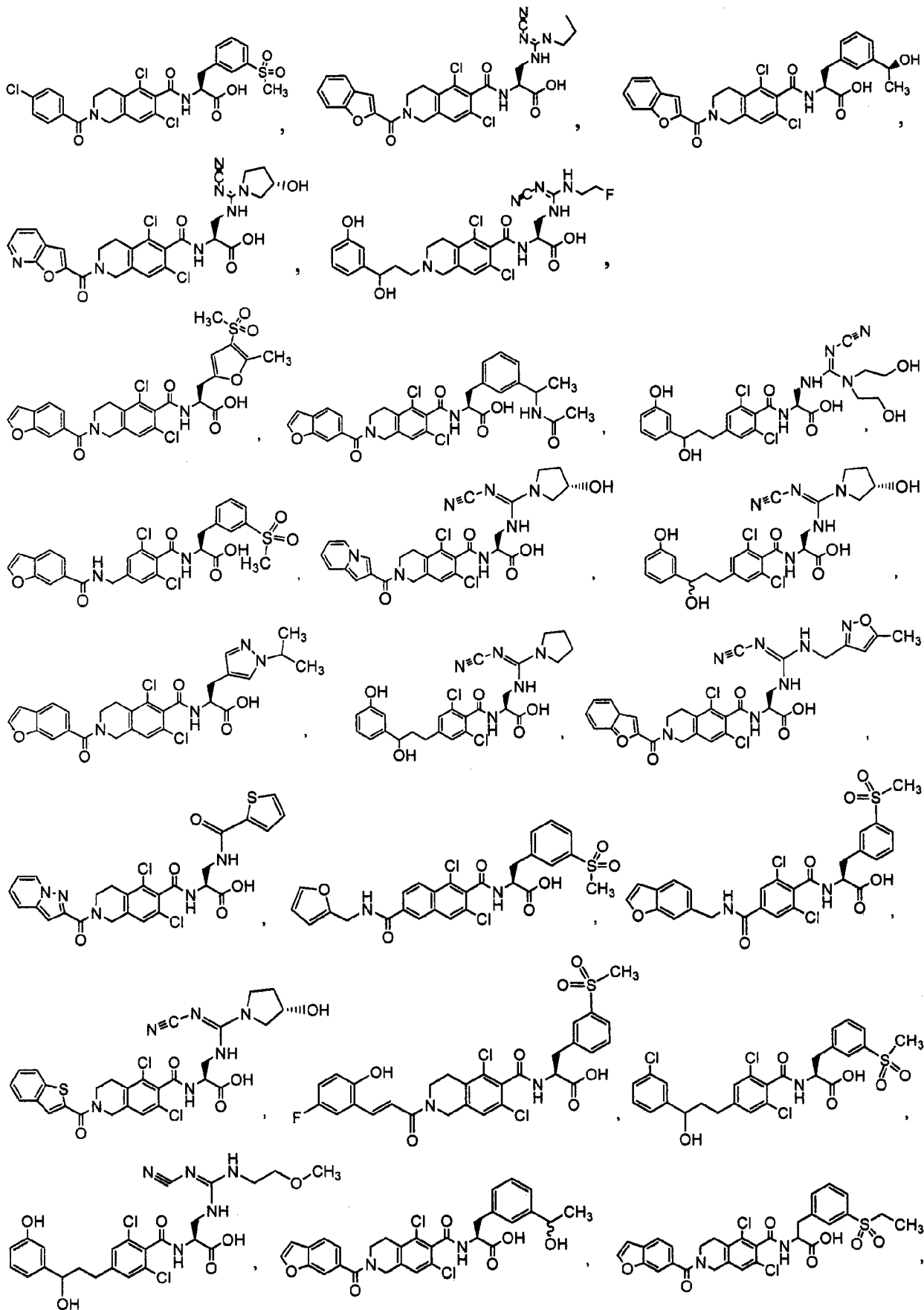


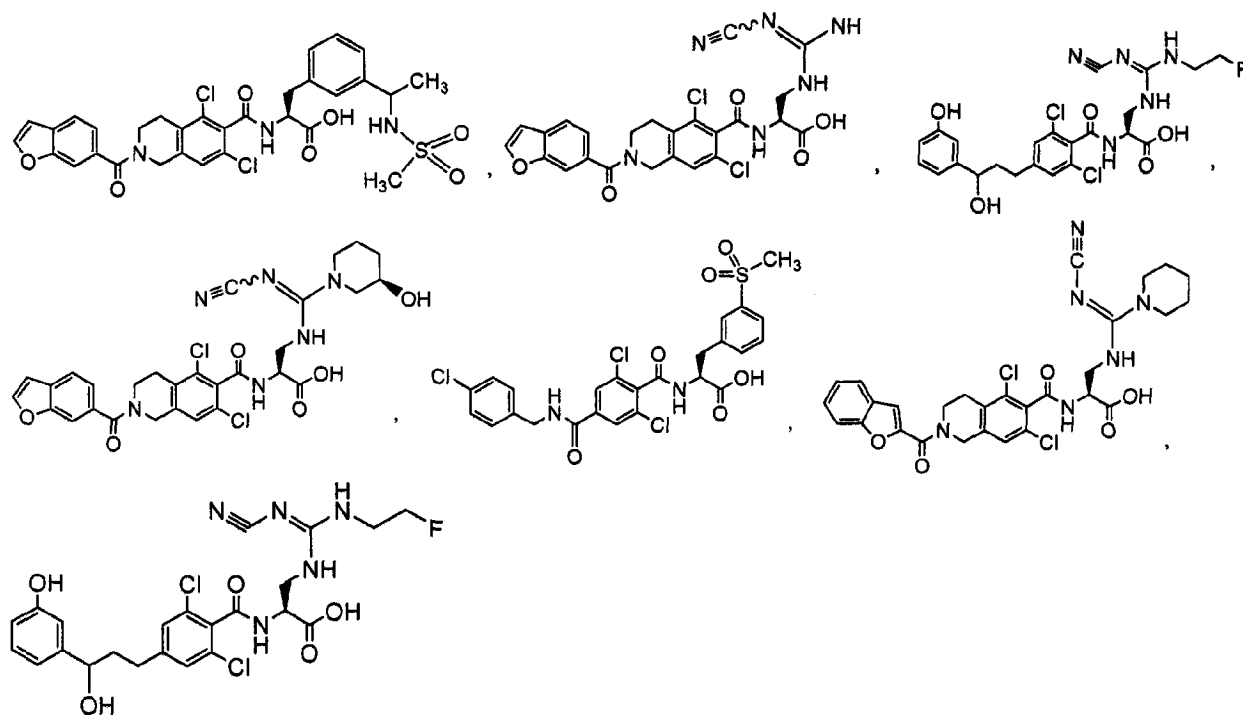
及其药学上可接受的盐和酯。

58. 根据权利要求 42、53 或 55 所述的方法,其中所述 LFA-1 拮抗剂为以下化合物之一:









或其药学上可接受的盐和酯。

59. 一种配制为用于眼部递送的药物组合物, 包含权利要求 1 所述的化合物和药学上可接受的载体。

60. 根据权利要求 59 所述的药物组合物, 其中所述权利要求 1 的化合物为式 I、II、III、IV、V、VI、VII、VIII、IX、X 或 XI 的化合物。

61. 根据权利要求 59 所述的药物组合物, 其中所述药物组合物适于局部施用。

62. 根据权利要求 59 所述的药物组合物, 其中所述药物组合物适于经注射施用。

63. 根据权利要求 59 所述的药物组合物, 其中药物组合物适于作为植入物施用。

用于治疗糖尿病性视网膜病的组合物和方法

[0001] 本申请要求于 2007 年 10 月 19 日提交的美国临时申请 60/999571 的优先权,其整个公开通过引用全部并入本文。

背景技术

[0002] 在世界范围内,引起失明的最重要原因之一是糖尿病性视网膜病 (DR),其通常包括相关的病症 - 糖尿病黄斑水肿 (DME),黄斑水肿是造成微血管系统损伤、身体特别是眼部的损伤和退化的糖尿病并发症之一。该视觉功能丧失之后工作及个人功能的丧失对个体以及个体周围社会整体具有严重的影响。几乎所有的糖尿病患者都显示出一定程度的糖尿病性视网膜病,并且糖尿病患者数量逐渐增加,因此需要更有效的治疗视力丧失以及 DR 和相关黄斑水肿的症状的方法。

发明内容

[0003] 一方面,本发明提供了治疗患糖尿病性视网膜病的受试者的方法,包括向需要的所述受试者施用治疗有效量的能够抑制 LFA-1 和 ICAM 之间相互作用的治疗剂。

[0004] 第二方面,本发明提供了治疗患黄斑水肿的受试者的方法,包括向需要的所述受试者施用治疗有效量的能够抑制 LFA-1 和 ICAM 之间相互作用的治疗剂,从而降低和 / 或预防所述受试者眼睛的黄斑水肿。

[0005] 在本发明的第三方面,提供了治疗受试者的糖尿病性视网膜病的方法,包括对所述受试者进行糖尿病性视网膜病的诊断测试;基于所述诊断测试的结果来确定所述受试者是否患糖尿病性视网膜病;以及在诊断为所述糖尿病性视网膜病之后,向所述受试者施用在药学上可接受的制剂中的有效量的 (LFA-1) 拮抗剂。

[0006] 在本发明的第四方面,提供了一种降低和 / 或预防患糖尿病的受试者术后眼部炎症的方法,包括向需要的所述受试者施用治疗有效量的 LFA-1 拮抗剂,从而降低和 / 或预防所述受试者眼睛的术后炎症。

[0007] 在一些实施方案中,术后炎症是由于玻璃体切割术、激光凝固疗法、光动力疗法或 LASIK 导致的。在其他的实施方案中,所述诊断步骤是通过使所述受试者的眼睛成像或分析所述受试者的眼睛的生物样品进行的。

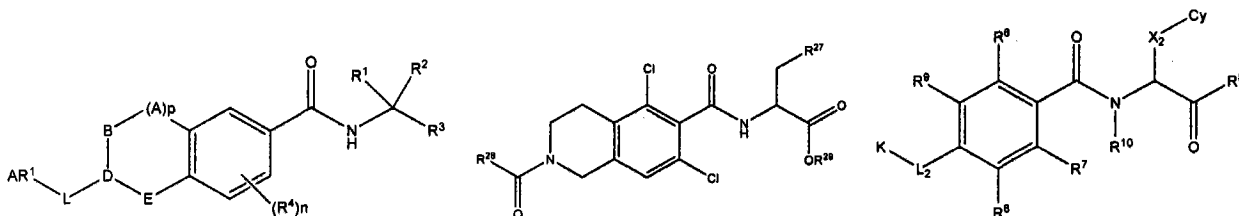
[0008] 在本发明的一些实施方案中,ICAM 为 ICAM-1、ICAM-2 或 ICAM-3。在一些实施方案中,ICAM 为 ICAM-1。在本发明的一些实施方案中,治疗剂为 LFA-1 拮抗剂。在本发明的一些实施方案中,LFA-1 拮抗剂能结合与 ICAM-1 结合位点重叠的 LFA-1 α L 亚单元中的高亲和力结合位点。在本发明的其他实施方案中,LFA-1 拮抗剂直接与 LFA-1 α L 亚单元上的 ICAM-1 的结合相竞争。在本发明的一些实施方案中,LFA-1 拮抗剂为 LFA-1 与 ICAM-1 之间相互作用的竞争性抑制剂。在本发明的一些实施方案中,所述 LFA-1 拮抗剂为 LFA-1 α L 亚单元上的 ICAM-1 的结合的变构拮抗剂。

[0009] 在本发明的一些实施方案中,糖尿病性视网膜病是非增生性的。在本发明的一些实施方案中,糖尿病性视网膜病是增生性的。在本发明的一些实施方案中,糖尿病性视网膜

病引起的损伤为黄斑水肿、视网膜新生血管形成、视网膜上的纤维血管生长、失明、基底膜增厚、视网膜水肿或视网膜缺血。

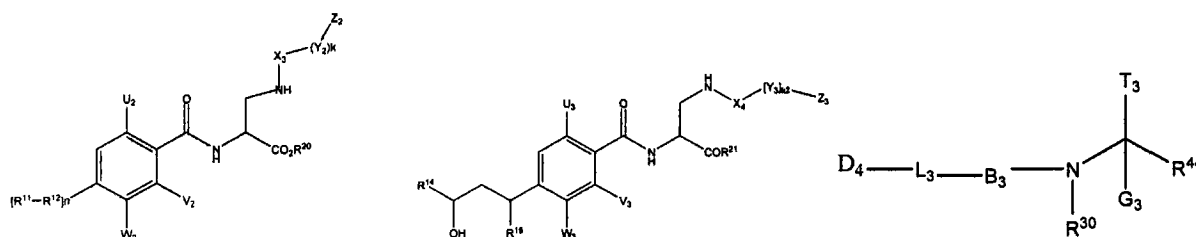
[0010] 在本发明的一些实施方案中,提供的 LFA 拮抗剂为抗体。在本发明的一些实施方案中,提供的 LFA 拮抗剂为式 I、II、III、IV、V 或 VI 的化合物。

[0011]



[0012] 式 I 式 II 式 III

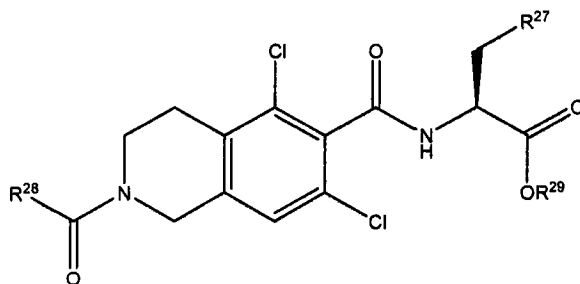
[0013]



[0014] 式 IV 式 V 式 VI

[0015] 在一些实施方案中,式 II 的化合物包含式 II' 的立体化学。

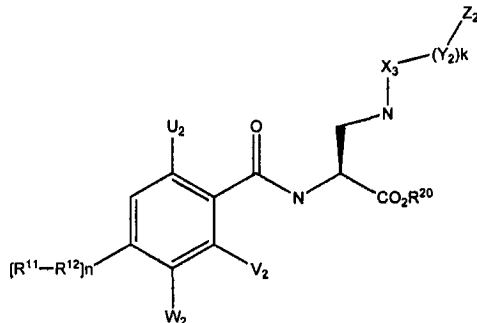
[0016]



[0017] 式 II'

[0018] 在本发明的一些实施方案中,式 III 的化合物包含式 III' 的立体化学。

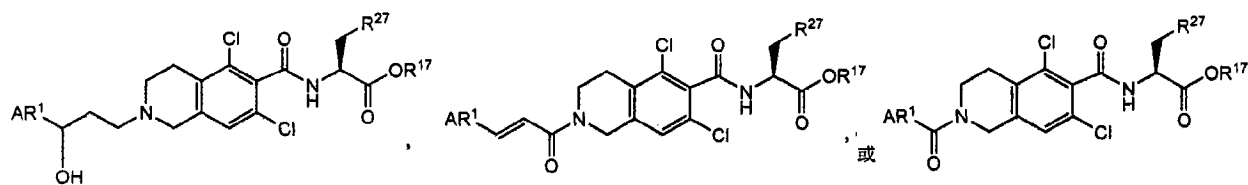
[0019]



[0020] 式 III'

[0021] 在本发明的一些实施方案中,提供的 LFA 拮抗剂为式 IA、IIA 或 IIB 的化合物。

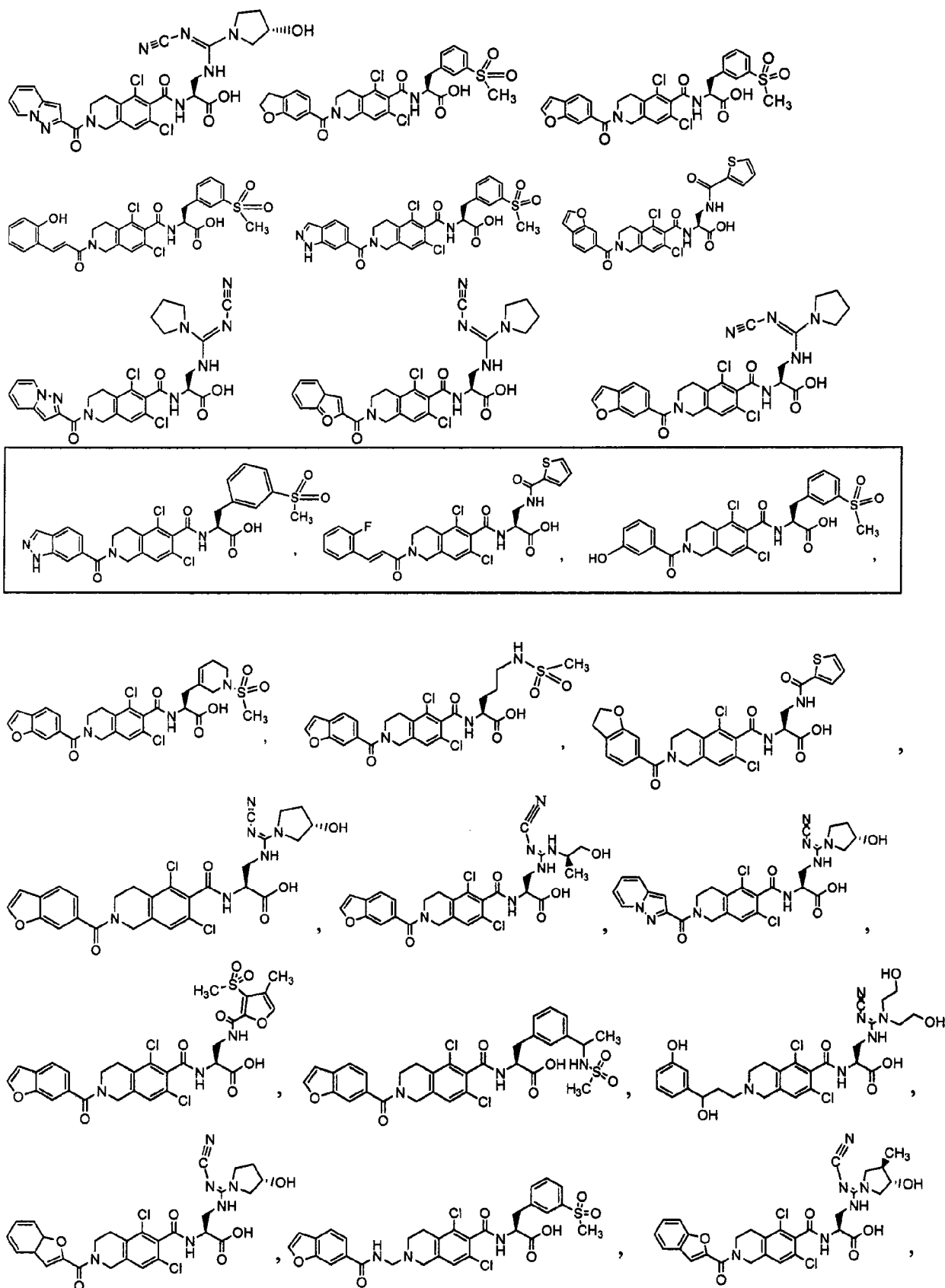
[0022]



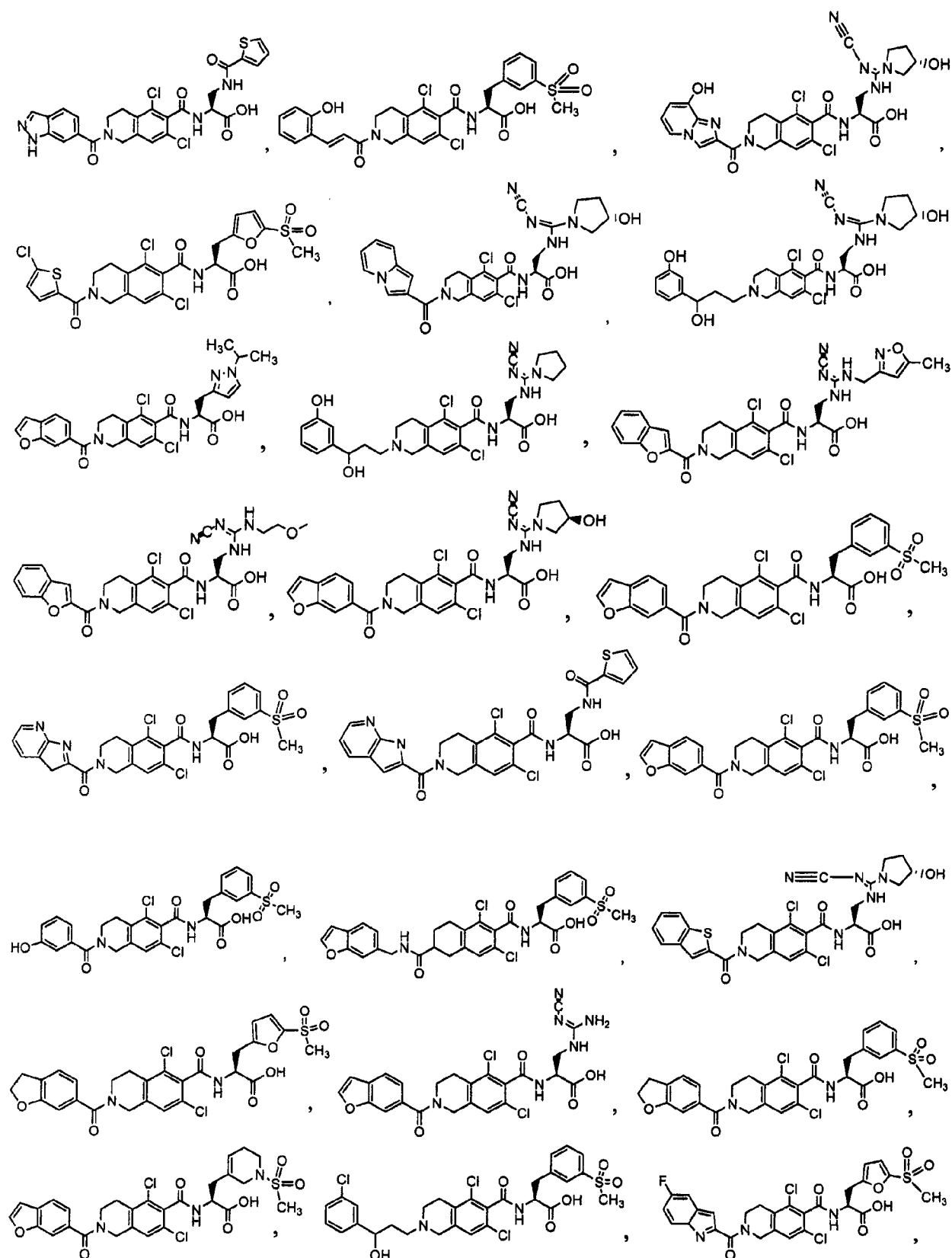
[0023] 式 IA 式 IIA 式 IIB

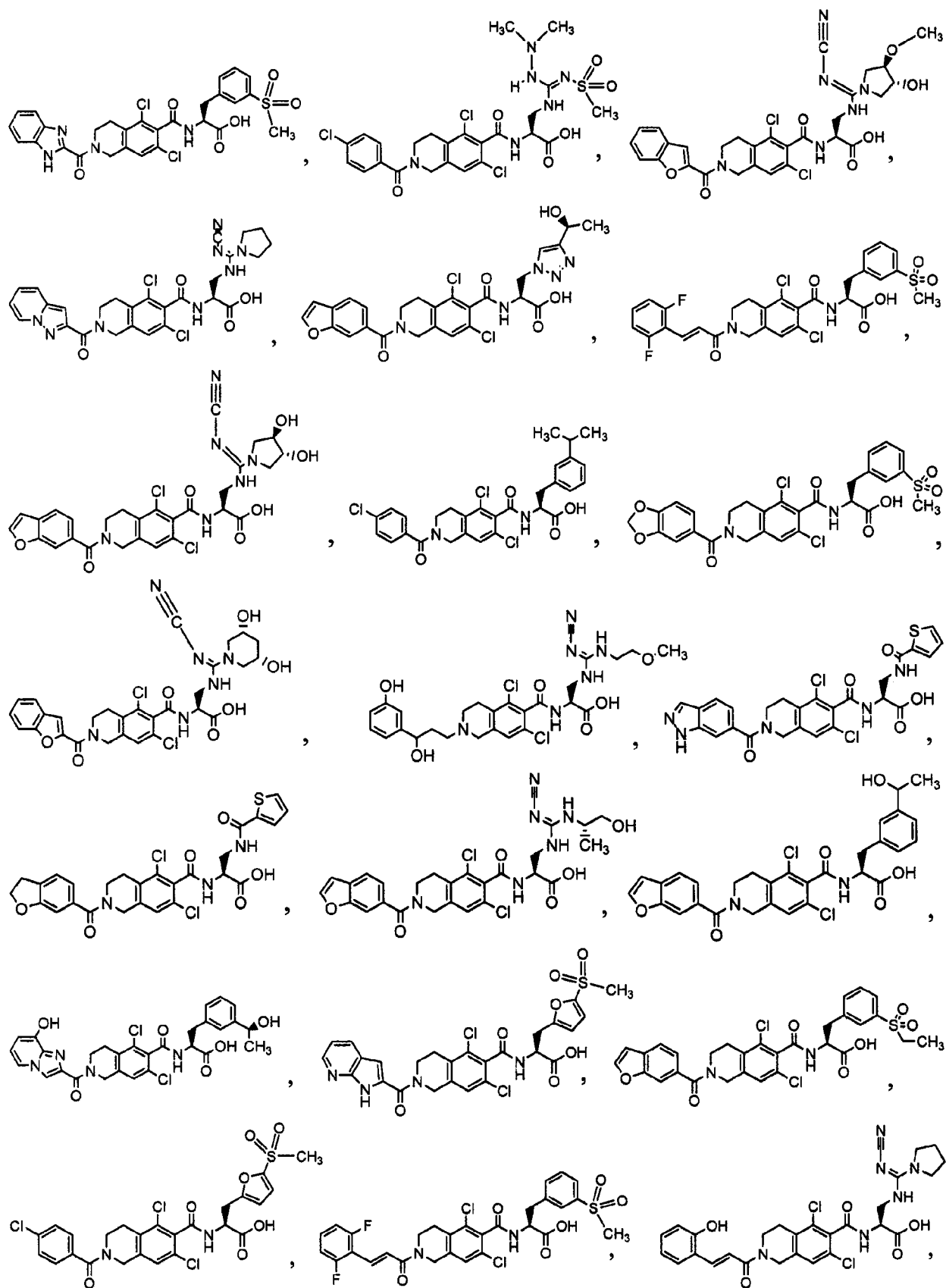
[0024] 在本发明的一些实施方案中, LFA-1 拮抗剂为具有以下结构之一的化合物:

[0025]

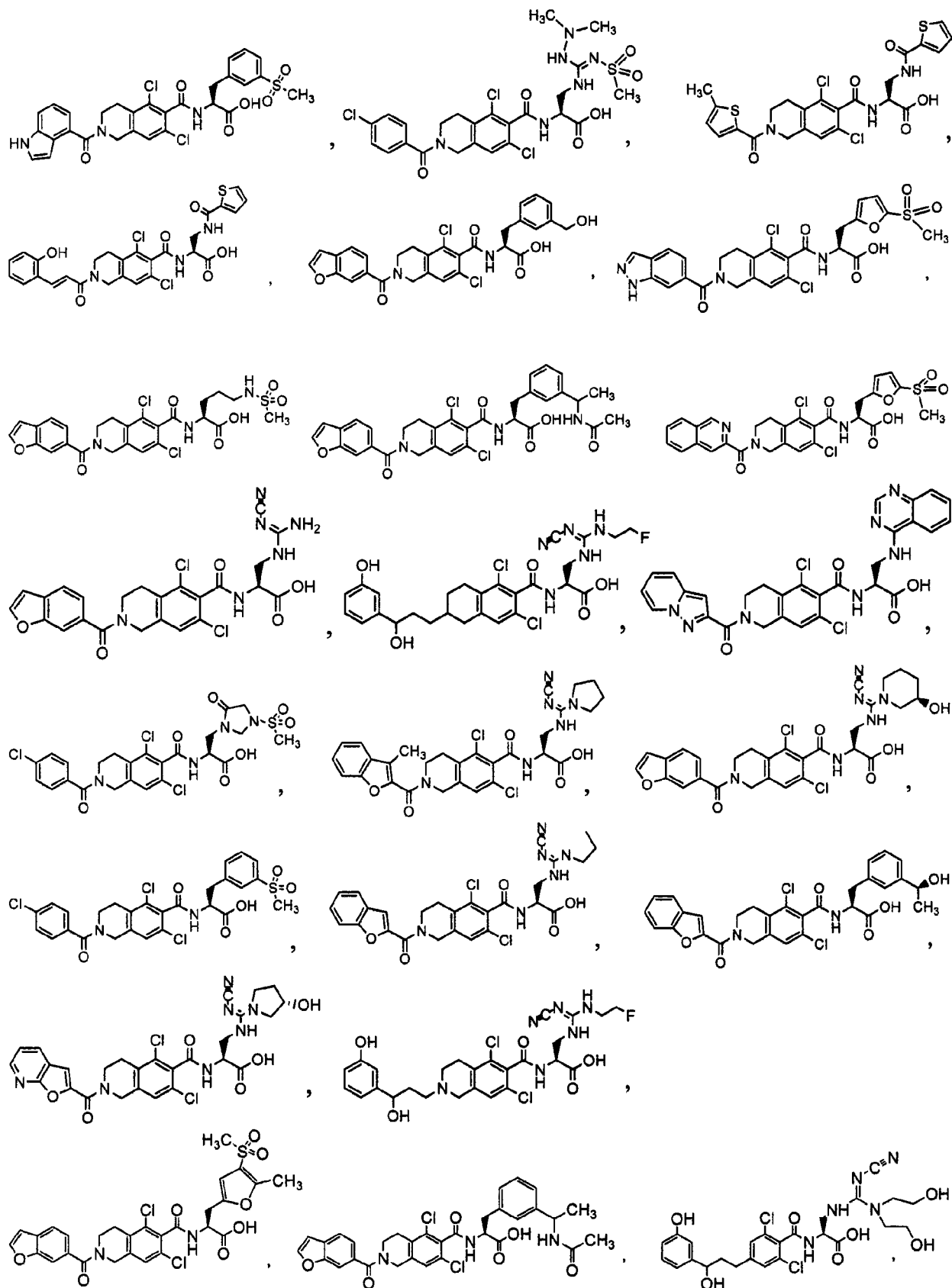


[0026]

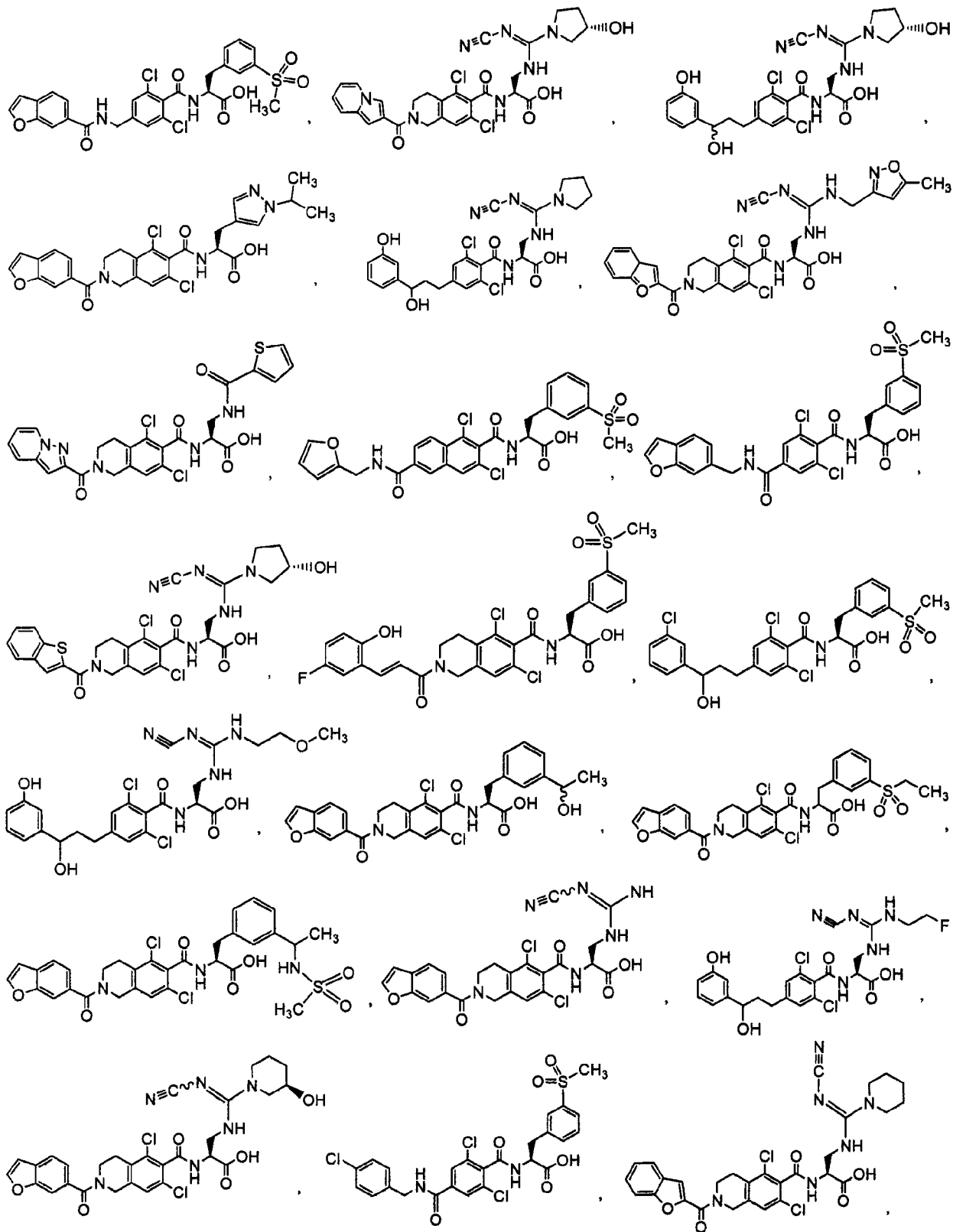




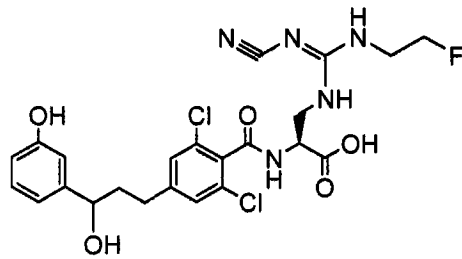
[0028]



[0029]



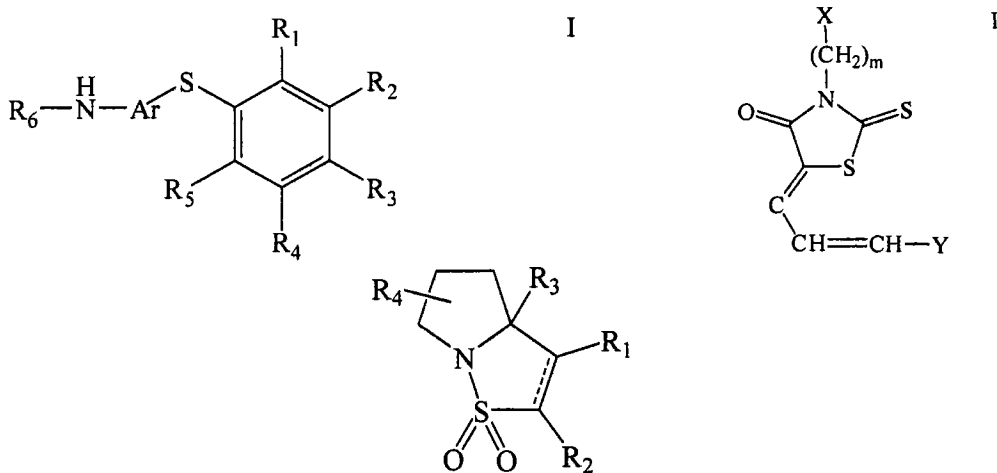
[0030]



[0031] 及其药学上可接受的盐和酯。

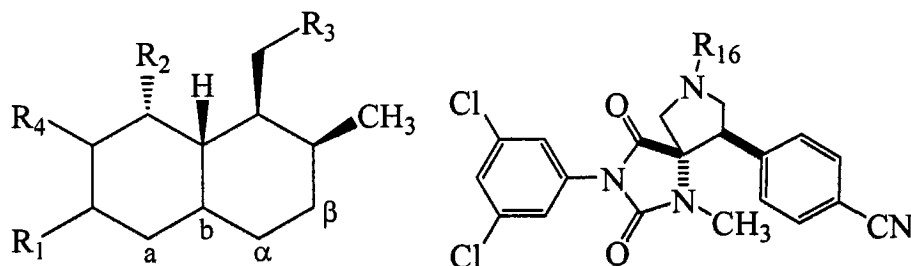
[0032] 在本发明的一些实施方案中, LFA-1 拮抗剂为式 VII、VIII、IX、X 或 XI 的化合物或其对映体、药学上可接受的盐或溶剂化物。

[0033]



[0034] 式 VIII 式 VII 式 IX

[0035]



[0036] 式 XI 式 X

[0037] 在本发明的一些实施方案中, 治疗剂经局部、口服、眼周、眼内、注射、经鼻、气溶胶、经插入物、经植入装置或点滴施用。在本发明的其他实施方案中, 治疗剂在运载体中施用, 该运载体为液滴、液体洗液、喷雾液、凝胶、软膏、气溶胶、喷雾、聚合物微粒和纳米颗粒、溶液、悬浮液、固体、生物可降解基质、粉末、晶体、泡沫或脂质体。在本发明的一些实施方案中, 治疗有效量的所述治疗剂经局部或系统施用被递送到所述受试者的眼中。在本发明的一些实施方案中, 可注射的施用是经眼内或眼周进行的。在本发明的一些实施方案中, 施用是通过施用所述化合物的凝胶、乳膏、粉末、泡沫、晶体、脂质体、喷雾、聚合物微球或纳米球或液体悬浮液形式的眼内滴注实现的。在一些实施方案中, 聚合物微球或纳米球用于经眼周或眼内注射或植入来递送治疗剂。

[0038] 在一些实施方案中, 治疗有效量的治疗剂经局部或系统施用被递送至受试者的眼睛。

[0039] 在本发明的一些实施方案中,治疗剂是在运载体中施用的,该运载体为液滴、液体洗液、喷雾液、凝胶、软膏、气溶胶、喷雾、聚合物微粒和纳米颗粒、溶液、悬浮液、固体、生物可降解基质、粉末、晶体、泡沫或脂质体。在本发明的一些实施方案中,局部施用包括使用装置将所述化合物输注到所述眼中,该装置选自泵-导管系统、插入物、连续或选择性释放装置、生物可吸收植入物、连续或缓释制剂和隐形眼镜。在本发明的一些实施方案中,可注射的施用是在眼内、玻璃体内、眼周、皮下、结膜下、眼球后或眼房内进行的。本发明的一些实施方案中还提供了控释制剂。在本发明的一些实施方案中,本发明的化合物被配制为前药。在本发明的一些实施方案中,治疗剂的制剂中不含防腐剂。在本发明的一些实施方案中,治疗剂的制剂中包含至少一种防腐剂。在本发明的一些实施方案中,治疗剂的制剂中包含增稠剂。在本发明的其他实施方案中,治疗剂的制剂中使用 PLGA 微粒或纳米颗粒。

[0040] 在本发明的一些实施方案中,以足以达到约 1×10^{-8} 至约 1×10^{-1} 摩尔/升的眼内或视网膜浓度的量向受试者施用所述化合物。在本发明的一些实施方案中,化合物每年至少施用一次。在本发明的其他实施方案中,化合物每天至少施用一次。在本发明的其他实施方案中,化合物每周至少施用一次。在本发明的一些实施方案中,化合物每月至少施用一次。

[0041] 在本发明的一些实施方案中,在施用所述 LFA-1 拮抗剂之前、一起、同时或之后施用第二治疗剂。在一些实施方案中,第二治疗剂选自抗氧化剂、抗炎剂、抗微生物剂、类固醇、蛋白激酶 C 抑制剂、血管紧张素转化酶抑制剂、抗血管生成剂、补体抑制剂和抗细胞凋亡剂。在本发明的一些实施方案中,该第二治疗剂为结合在 LFA-1 上的变构结合位点的抗粘附治疗剂。在本发明的一些实施方案中,第二治疗剂为抗粘附治疗抗体或抗体片段。

[0042] 在本发明的一些实施方案中,诊断测试包括在使用 LFA-1 拮抗剂的治疗方法中。在一些实施方案中,进行糖尿病性视网膜病的诊断测试,且在做出疾病的诊断之后,向受试者使用在此描述的 LFA-1 拮抗剂。在本发明的一些实施方案中,诊断测试是通过使受试者的眼睛成像或分析受试者的眼睛的生物样品进行的。

[0043] 在另一方面,本发明提供了为眼部递送而配制的药物组合物,其包含抑制 LFA-1 和 ICAM 之间相互作用的治疗剂和药学上可接受的载体。在一些实施方案中,药物组合物包含抑制 LFA-1 和 ICAM 之间相互作用的治疗剂,该治疗剂为式 I、II、III、IV、V、VI、VII、VIII、IX、X 或 XI 的化合物。在一些实施方案中,药物组合物适于局部施用。在一些实施方案中,药物组合物适于经注射施用。在一些实施方案中,药物组合物适于作为植入物施用。

[0044] 另一方面,提供了在本发明方法中使用的化合物。可用于本发明方法中的化合物包括抗体、抗体片段、多肽、肽、聚合物和有机小分子。在本发明方法的另一个实施方案中,在治疗糖尿病性视网膜病的眼睛制剂中使用抗体 Raptiva。

[0045] 援引说明

[0046] 本说明书中提到的所有出版物和专利申请均全部通过引用在此并入本文,就如同各出版物或专利申请均具体和独立地通过引用完整地并入本文。

附图说明

[0047] 所附权利要求具体阐述了本发明的新特征。参考以下发明详述和附图可以更好地理解本发明的特征和优点,所述发明详述中阐述了应用本发明原理的说明性实施方案,在附图中:

[0048] 图 1 描述了由 LFA-1 :ICAM-1 之间的相互作用引起的白细胞的翻滚、粘附和穿过内皮的迁移。

[0049] 图 2 描述了 LFA-1 :ICAM-1 之间的相互作用的抗原活化。

[0050] 图 3 描述了 LFA-1 :ICAM-1 之间的相互作用的共刺激功能。

[0051] 图 4 描述了可用于识别方法中的小分子拮抗剂。

[0052] 图 5 描述了化合物 5 交联的 LFA-1 的 SDS-PAGE 分析。

[0053] 图 6 描述了化合物 2B 和 ICAM-I-Ig 与表达野生型 LFA-1 或缺少结构域 I 的 LFA-1 的 293 细胞的结合。

[0054] 图 7 描述了 LFA-1/ICAM-1 和 LFA-1/ 小分子 ELISA 中,化合物 2A、3、A-286982 和 sICAM-1 的拮抗剂竞争作用。

[0055] 图 8 描述了 LFA-1/ICAM-1 和 LFA-1/ 小分子 ELISA 中由拮抗剂竞争得到的 IC₅₀ 值的相关性。

[0056] 图 9 描述了 LFA-1/ICAM-1 和 LFA-1/ 小分子 ELISA 中,拮抗剂对配体结合的影响。

[0057] 图 10 描述了 sICAM-1 和化合物 3 的拮抗作用的 Schild 回归。

[0058] 图 11 是与环孢菌素 (CsA) 的作用相比较,本发明的直接竞争性 LFA-1 拮抗剂对葡萄球菌肠毒素 B(SEB) 刺激的人单核细胞 (PBMC) 中炎性细胞因子释放的影响的图示。

[0059] 图 12 为通过局部施用 ¹⁴C 标记的本发明的直接竞争性 LFA-1 拮抗剂,在施用后 30 分钟时间点和 4 小时时间点经检测放射性标记确定的眼中分布的图示。

[0060] 发明详述

[0061] I. 生物学和疾病 :糖尿病性视网膜病 (DR) 以及 LFA-1 拮抗剂在治疗 DR 中的用途

[0062] 糖尿病通常被描述为一种全身疾病,在患有该病的个体的全身均可观察到有害作用,且随着年龄的增加逐渐恶化。在世界范围内,糖尿病的眼部并发症是导致视力丧失和失明的主要原因。

[0063] 一个总的作用是发生导致微毛细血管自身调节丧失的视网膜微血管系统的改变,这种状况被称为糖尿病性视网膜病 (DR)。

[0064] 为了临床疾病的管理,糖尿病性视网膜病通常被分为两类 :非增生性的 (或背景期) 和晚期增生期。

[0065] 已证实非增生性糖尿病性视网膜病 (NPDR) 在发作时有正常微血管系统的异常,该异常是以视网膜毛细血管退化、囊状毛细血管小动脉瘤形成、周皮细胞毛细血管缺陷和毛细血管闭塞和闭合为特征的。作用机理包括糖尿病诱导的血管炎症,导致白细胞和血小板堵塞血管腔,随后周皮细胞和内皮细胞最终死亡。炎症过程引起的白细胞对血管壁的吸引和粘附导致白细胞临时地粘附在内皮上 (白细胞停滞)、释放毒性因子和损伤或杀死内皮细胞。受损的内皮表面启动血小板粘附、聚积、微血栓形成、血管闭塞和局部缺血。内皮损伤的另一后果是血液 - 视网膜屏障 (BRB) 中的改变,其导致了血管通透性的增加。这可由在荧光素血管造影术中的荧光素渗漏或通过光学相干断层摄影术 (OCT) 评估的视网膜增厚来进行证明。该渗漏的后果可能是临床上显著的黄斑水肿和导致视网膜增厚的视网膜内脂蛋白的沉积 (硬性渗出物)。随着进程的发展,视网膜的神经节细胞损失,导致了视力丧失或失明。由内皮细胞血管系统改变、周皮细胞死亡和毛细血管闭塞导致的自动调整破坏和视网膜血流降低是 DR 进展的标志,并导致了视网膜缺血的发展,其使得 DR 发展到更严重的增生期。

[0066] 增生性 DR 包括由视网膜的视盘或其他位置的视网膜缺血诱发的新生血管形成或血管生成。该新的血管系统会导致玻璃体液的出血和从收缩纤维组织上的视网膜脱落。

[0067] 在糖尿病性视网膜病这一进展中的任何时间均可发生黄斑水肿或糖尿病黄斑水肿 (DME), 对视觉功能具有严重的影响。该相关病症的进展通过视网膜血管的渗漏进行预测, 并且导致激光凝固治疗, 以降低视力丧失的风险。由于大部分糖尿病性视网膜病患者同时也患有该病症, 因此它是相关的临床干预目标。所有的这些损伤或退行性损伤可导致视力的损害或甚至于完全丧失, 并为治疗干预提供了目标。目前还没有有效的治疗选择。激光凝固术包括使用激光烧灼眼睛的不同位置, 并用于治疗许多新生血管形成相关病症。具体地, 新生血管形成通常使用散射或全视网膜激光凝固术进行治疗。但是, 激光治疗可引起对应于治疗区域的永久性盲点。激光治疗还可引起持久或复发性的出血, 增加视网膜脱落的风险或诱发新生血管形成或纤维化。用于眼部相关病症的其他治疗选择包括温热疗法、玻璃体切割术、光动力疗法、放射疗法、手术 (例如去除过多的眼组织) 等。但是, 在绝大多数情况下, 所有可获得的治疗选择均有有限的治疗效果、需要重复的、昂贵的操作, 和 / 或与危险的副作用相关。

[0068] 高血糖控制经证明并不能有效地终止该进展。包括小血栓形成、凋亡和促炎性改变的许多过程被确定为可引起 DR 中的视网膜毛细管闭塞和毛细管闭合, 其可作为防止 DR 进展和 / 或逆转已经发生的损伤的有用的干预点。此外, BRB 破坏和毛细管无灌注开始的早期事件似乎是白细胞粘附到糖尿病视网膜血管系统上。

[0069] 在使用链脲霉素在大鼠中诱导试验性糖尿病 1 周内, 粘附性白细胞与视网膜内皮细胞损伤和死亡在时间和空间上相关。基于抗体的 ICAM-1 和 CD18 中和显示能够防止白细胞粘附和视网膜内皮细胞损伤和死亡。(A. M. Jousseaume, T. Murata, A. Tsujikawa, B. Kirchoff, S-E. Bursell, A. P. Adamis "Leukocyte-Mediated Endothelial Cell Injury and Death in the Diabetic Retina" (2001) A, J. Pathol. 158(1) :147-162)。

[0070] 抑制粘附事件、破坏促炎症反应循环以及防止缺血性组织中形成非细胞毛细血管 (均在该疾病状态中发生) 均是有利的治疗策略。淋巴细胞功能相关抗原 -1 (LFA-1) / 细胞内粘附分子 -1 (ICAM-1) 的相互作用介导这些分子事件中的每一个。因此, 本发明的 LFA-1 拮抗剂可用于治疗该疾病中观察到的一种或多种病理症状。

[0071] 并不希望局限于作用机理, 本发明的方法包括通过抑制 LFA-1 与 ICAM-1 之间的相互作用来抑制糖尿病性视网膜病 (DR) 的发生和进展。LFA-1 和 ICAM-1 为具有参与淋巴细胞 / 白细胞粘附、迁移和增殖过程的细胞外受体结构域分子, 导致炎症反应的级联。在优选的实施方案中, 该方法提供了如以下详细描述体外和体内抗炎作用, 并且可用于治疗 DR。

[0072] 人体血液包含白血细胞 (白细胞), 其进一步被分为嗜中性粒细胞、淋巴细胞 (B 和 T 亚型)、单核细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞。白细胞中的一些类型 - 嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞和淋巴细胞 - 参与炎症病症。LFA-1 是在大多数白细胞上表达的一组白整联蛋白中的一种, 并被认为是与作为配体的多种 ICAM 相作用的淋巴整联蛋白。破坏这些相互作用, 因此破坏免疫 / 炎症反应, 降低了炎症, 特别是眼睛的炎症。

[0073] 例如, ICAM-1 (CD54) 是免疫球蛋白超家族中粘附受体 ICAM 家族 (ICAM-1、ICAM-2、ICAM-3、ICAM-4) 的一个成员, 在激活的白细胞、皮肤成纤维细胞和内皮细胞上表达。它通常

在衬于血管系统内层的内皮细胞上表达,且在免疫 / 炎症起始中接触细胞因子如 IL-1、LPS 和 TNF 后被上调。

[0074] 过去的几十年里进行的研究帮助阐明了在免疫系统中细胞的移动和激活所涉及的分子事件,集中在级联中细胞与细胞触发的相互作用。细胞间粘附分子 (ICAM) 与白整联蛋白之间的相互作用在免疫系统的功能中起作用。免疫过程例如抗原递呈、白细胞介导的细胞毒性、T 细胞介导的细胞毒性和白细胞跨内皮迁移 (血细胞渗出) 可能需要由 ICAM 与白整联蛋白之间相互作用介导的细胞粘附。

[0075] 已证明 ICAM-1 与 LFA-1 之间的相互作用 (LFA-1 也称为 $\alpha L\beta 2$ 和 CD11a/CD18) 涉及粘附、白细胞跨内皮迁移、向受损部位迁移和淋巴细胞在激活目标部位增殖等过程,如图 1 所示。例如,目前认为,在白细胞粘附和跨内皮迁移之前,炎症反应的要件 - 存在细胞因子 / 趋化因子 - 激活了在白细胞上组成型表达的整联蛋白。血管内皮细胞还响应于相同细胞因子 / 趋化因子的存在上调 ICAM-1。当翻滚的白细胞接近激活的内皮细胞时,它们的进程首先被这些上调的 ICAM-1 受体减缓。这之后是 LFA-1 与在血管内皮细胞表面表达的 ICAM-1 之间的配体 / 受体作用,其进一步阻止了淋巴细胞的翻滚。然后淋巴细胞变平,并发生游出。该过程对于通过血管内皮的淋巴细胞游出以及淋巴细胞从外周血向淋巴结的运输都是重要的。但是,在糖尿病性视网膜病 (DR) 中,如上所述,白细胞停滞是损害和 / 或杀死局部区域内皮细胞的细胞毒性因子释放的最初触发事件。该损伤导致血管渗漏和炎症,其持续和 / 或扩大有害的反应。

[0076] LFA-1 在创建和维持免疫突触中起作用,免疫突触可定义为 T 细胞与抗原递呈细胞 (APC) 的相互作用表面的物理结构,如图 2 所示。LFA-1 稳定 T 细胞与 APC 的啮合,因此导致了 T 细胞的激活。LFA-1 与 ICAM-1 之间的相互作用似乎还向静息 T 细胞提供了共刺激信号,如图 3 所示。CD4⁺ 细胞增殖和细胞因子合成是由该相互作用介导的,作为炎症反应的一部分。

[0077] 考虑到 ICAM-1 与 LFA-1 之间的相互作用在免疫 / 炎症反应中起作用,希望能够调控这些相互作用以实现理想的治疗结果 (例如,在过度活跃的炎症反应的事件中抑制该相互作用)。同时,由于 LFA-1 在涉及许多信号传导途经的 ICAM 家族 (ICAM-1、ICAM-2 和 ICAM-3) 内具有几种配体,在本发明的一些实施方案中,希望选择性地调控这些相互作用。在本发明的一些实施方案中,提供了干扰 LFA-1 与 ICAM-1、ICAM-2 和 / 或 ICAM-3 结合的治疗剂,从而调控每对相互作用的各自的信号传导途经。

[0078] 在此描述的方法和组合物可以调控在此描述的途经的一个或多个成分。除了抑制 LFA-1 与 ICAM-1 之间的相互作用以外,本发明的方法和组合物还可干预炎症过程的早期或晚期阶段。例如,在圈合和跨内皮迁移之前,内皮细胞或白细胞上的 ICAM-1 或 LFA-1 的上调 (激活) 可用在此描述的方法和组合物进行调控。本发明可用于调控在白细胞运输过程中激活 ICAM-1 和 LFA-1 的细胞因子或趋化因子的表达、调控细胞因子或趋化因子的转运、阻止捕获的白细胞的游出、通过涉及损伤或炎症部位白细胞增殖的其他机理调控信号传导等。

[0079] 本发明提供了干扰 LFA-1 与 ICAM-1 结合的治疗剂,其可阻断免疫系统细胞的粘附、迁移、增殖和向周围组织释放炎症信号。在一些实施方案中,本发明提供了施用能抑制 LFA-1 与 ICAM 之间相互作用的治疗剂的方法。在一个例子中,治疗剂结合 LFA-1 或结合

ICAM。更特别地,本发明提供了结合 LFA-1 的治疗剂,以抑制 LFA-1 与 ICAM-1、ICAM-2 和 / 或 ICAM-3 的结合,因此作为 LFA-1 拮抗剂。在一些实施方案中,本发明提供的治疗剂在与 ICAM-1 结合位点重叠的 α L 亚单元中的高亲和力结合位点处结合,ICAM-1 为 LFA-1 的直接竞争性拮抗剂。在一些实施方案中,本发明提供的治疗剂抑制 LFA-1 与 ICAM-1 之间的相互作用,但是不完全阻断与 ICAM-1 结合位点重叠的 α L 亚单元中的高亲和力结合位点,并且是 LFA-1 的竞争性的但不是直接竞争性的拮抗剂。在一些实施方案中,本发明提供的治疗剂在与 ICAM-1 结合位点重叠的 α L 亚单元中的高亲和力位点以外的位点处结合,并且是变构拮抗剂。在一些实施方案中,本发明提供的治疗剂为变构拮抗剂,并且是 LFA-1 的竞争性的但不是直接竞争性的拮抗剂。在本发明的一些实施方案中,所述治疗剂可用于治疗糖尿病性视网膜病和与该疾病相关的病症。

[0080] II. 本发明方法中有用的化合物

[0081] 如本文中所述的术语“脂肪族的”包括饱和的和不饱和的直链(非支链)或支链脂肪族烃,其任选地被一个或多个官能团取代。本领域普通技术人员应该理解,本文中的“脂肪族的”包括但不限于烷基、烯基、炔基部分。因此,本文使用的术语“烷基”包括直链和支链烷基。类似的规则适用于其他通用术语,例如“烯基”、“炔基”等。

[0082] 此外,如本文中所述的术语“烷基”、“烯基”、“炔基”等包括取代的和未取代的基团。在某些实施方案中,如本文中所述的“低级烷基”用于指具有约 1-6 个碳原子的那些烷基(取代的、未取代的、支链的或非支链的)。

[0083] 在某些实施方案中,本发明中使用的烷基、烯基和炔基包含约 1-20 个脂肪族碳原子。在某些其他的实施方案中,本发明中使用的烷基、烯基和炔基包含约 1-10 个脂肪族碳原子。在另外其他的实施方案中,本发明中使用的烷基、烯基和炔基包含约 1-8 个脂肪族碳原子。在另外其他的实施方案中,本发明中使用的烷基、烯基和炔基包含约 1-6 个脂肪族碳原子。在另外其他的实施方案中,本发明中使用的烷基、烯基和炔基含约 1-4 个碳原子。因此示例性的脂肪族基团包括但不限于例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、烯丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、仲戊基、异戊基、叔戊基、正己基、仲己基部分等,同时这些基团可具有一个或多个取代基。

[0084] 烯基包括但不限于例如乙烯基、丙烯基、丁烯基等。代表的炔基包括但不限于乙炔基、2-丙炔基等。

[0085] 如本文中所述的术语“低级亚烷基”是指将另外两个基团连接在一起的烃链,即在两末端各与另一基团键合,例如亚甲基、亚乙基、亚丁基等。这种取代基优选地具有 1-10 个碳原子,更优选地具有 1-5 个碳原子。这种基团可为被取代的,优选地被氨基、乙酰氨基(经由氮原子键合的低级烷基羰基)或环状低级烷基取代。后者是指饱和烃环、优选地具有总共 3-10 个亚甲基(包括连接碳),更优选 3-6 个亚甲基。

[0086] 如本文中所述的术语“脂环的”是指结合了脂肪族和环状化合物的特性的化合物,包括但不限于单环或多环脂肪族烃和桥连环烷基化合物,其任选地被一个或多个官能团取代。

[0087] 本领域普通技术人员应该理解,本文中的“脂环的”意图包括但不限于环烷基、环烯基和环炔基部分,其任选地被一个或多个官能团取代。

[0088] 因此,示例性的脂环基包括但不限于例如环丙基、 $-\text{CH}_2-$ 环丙基、环丁基、 $-\text{CH}_2-$ 环

丁基、环戊基、 $-\text{CH}_2-$ 环戊基、环己基、 $-\text{CH}_2-$ 环己基、环己烯基乙基、环己烷基乙基、降冰片基部分等,同时其可包含一个或多个取代基。

[0089] 如本文中所述的术语“烷氧基”或“烷基氧基”是指通过氧原子的饱和或不饱和和母体分子部分。在某些实施方案中,烷基包含约 1-20 个脂肪族碳原子。在某些其他的实施方案中,烷基包含约 1-10 个脂肪族碳原子。在另外其他的实施方案中,本发明中使用的烷基包含约 1-8 个脂肪族碳原子。在另外其他的实施方案中,烷基包含约 1-6 个脂肪族碳原子。在另外其他的实施方案中,烷基包含约 1-4 个脂肪族碳原子。烷氧基的例子包括但不限于甲氧基、乙氧基、异丙氧基、正丁氧基、异丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基、新戊氧基、正己氧基等。

[0090] 如本文中所述的术语“低级烷氧基”是指通过氧与另一基团键合的(即烷基醚)、可为如上定义的支链或非支链的上述定义的低级烷基。

[0091] 如本文中所述的术语“烷硫基(thioalkyl)”是指通过硫原子连到母体分子部分的饱和或不饱和(即 S-烯基和 S-炔基)基团。在某些实施方案中,烷基包含约 1-20 个脂肪族碳原子。在某些其他的实施方案中,烷基包含约 1-10 个脂肪族碳原子。在另外其他的实施方案中,本发明中使用的烷基包含约 1-8 个脂肪族碳原子。在另外其他的实施方案中,烷基包含约 1-6 个脂肪族碳原子。在另外其他的实施方案中,烷基包含约 1-4 个脂肪族碳原子。烷硫基的例子包括但不限于甲基硫基、乙基硫基、丙基硫基、异丙基硫基、正丁基硫基等。

[0092] 如本文中所述的术语“低级烷基硫基”是指通过二价硫原子键合的低级烷基,例如甲基硫基或异丙基硫基。低级亚烷基硫基是指在各末端键合的这种基团。

[0093] 术语“烷基氨基”是指具有结构 $-\text{NHR}'$ 的基团,其中 R' 为如上定义的烷基。术语“氨基烷基”是指具有结构 $\text{NH}_2\text{R}'$ 的基团,如此处所定义。在某些实施方案中,烷基含有约 1-20 个脂肪族碳原子。在其他的某些实施方案中,烷基含有约 1-10 个脂肪族碳原子。在另外其他的实施方案中,本发明中使用的烷基包含约脂肪族碳原子。在另外其他的实施方案中,烷基包含约 1-6 个脂肪族碳原子。在另外其他的实施方案中,烷基包含约 1-4 个脂肪族碳原子。烷基氨基的例子包括但不限于甲基氨基等。

[0094] 本发明化合物的上述脂肪族(和其他)部分的取代基的一些例子包括但不限于脂肪族;脂环族;杂脂肪族;杂环;芳香族;杂芳香族;芳基;杂芳基;烷基芳基;杂烷基芳基;烷基杂芳基;杂烷基杂芳基;烷氧基;芳氧基;杂烷氧基;杂芳氧基;烷基硫基;芳基硫基;杂烷基硫基; R_x 独立地包括但不限于脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂烷基芳基或杂烷基杂芳基,其中上述和此处的任何脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、烷基芳基或烷基杂芳基取代基可为取代或未取代的、支链或非支链的、饱和或不饱和的,并且其中上述和此处的任何芳基或杂芳基取代基可为取代或未取代的。常用取代基的其他例子通过此处描述的实施例中所示的具体实施方案来阐明。

[0095] 通常,如本文中所述的术语“芳香族部分”是指优选地具有 3-14 个碳原子的稳定的单环或多环不饱和部分,其中每一个可为取代或未取代的。在某些实施方案中,术语“芳香族部分”是指在各环原子处具有与环的平面垂直的 p-轨道且满足休克尔规则(环中 π 电子的数目为 $(4n+2)$,其中 n 为整数)的平面环。不满足一个或所有这些芳香族性标准的单环或多环不饱和部分在此被定义为“非芳香族的”并包括在术语“脂环族”中。

[0096] 通常,如本文中所述的术语“杂芳香族部分”是指优选地具有 3-14 个碳原子的稳定的单环或多环不饱和部分,其中每一个可为取代或未取代的;并且在环内包含至少一个选自 O、S 和 N 的杂原子代替环碳原子。在某些实施方案中,术语“杂芳香族部分”指包含至少一个杂原子、在每个环原子上具有垂直于环平面的 p- 轨道并且满足休克尔规则(环中的 π 电子数为 $(4n+2)$,其中 n 为整数)的平面环。

[0097] 应该理解,此处定义的芳香族和杂芳香族部分可通过烷基或杂烷基部分连接,因此还包括-(烷基)芳香族、-(杂烷基)芳香族、-(杂烷基)杂芳香族和-(杂烷基)杂芳香族部分。因此,如本文中所述的短语“芳香族或杂芳香族部分”和“芳香族、(杂烷基)芳香族、-(杂烷基)杂芳香族和(杂烷基)杂芳香族的”可互换。取代基包括但不限于任何前述取代基,例如描述的用于脂肪族部分或用于在此公开的其他部分的取代基,造成形成稳定的化合物。

[0098] 此处使用的术语“芳基”与本领域对该术语的常规理解并无显著差别,是指含有至少一个芳香族环的不饱和环状部分。在某些实施方案中,“芳基”是指含有 1 个或 2 个芳香族环的单环或双环碳环系统,包括但不限于苯基、萘基、四氢萘基、茚满基、茚基等。

[0099] 此处使用的术语“杂芳基”与本领域对该术语的常规理解并无显著差别,是指含有 5-10 个环原子、其中一个环原子选自 S 和 N 的环状芳香族基团;0、1 或 2 个环原子为独立地选自 S 和 N 的其他杂原子;其余的环原子为碳,该基团通过任何环原子连接到分子的其它部分上,例如,如吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、吡咯基、吡唑基、咪唑基、噻唑基、噁唑基、异噁唑基、噻二唑基、噁二唑基、噻吩基(thiophenyl)、呋喃基、喹啉基、异喹啉基等。

[0100] 应该理解,芳基和杂芳基(包括双环芳基)可为未取代的或取代的,其中取代包括独立地使用任何一个或多个以下部分来取代其上的一个或多个氢原子,该部分包括但不限于:脂肪族;脂环族;杂脂肪族;杂环;芳香族;杂芳香族;芳基;杂芳基;烷基芳基;杂烷基芳基;烷基杂芳基;杂烷基杂芳基;烷氧基;芳氧基;杂烷氧基;杂芳氧基;烷基硫基;芳基硫基;杂烷基硫基;杂芳基硫基;F;Cl;Br;I;-OH;-NO₂;-CN;-CF₃;-CH₂CF₃;-CHCl₂;-CH₂OH;-CH₂CH₂OH;-CH₂NH₂;-CH₂SO₂CH₃;-C(=O)R_x;-C(=O)N(R_x)₂;-OC(=O)R_x;-OCO₂R_x;-OC(=O)N(R_x)₂;-N(R_x)₂;-S(O)₂R_x;-NR_x(CO)R_x,其中每次出现的 R_x 独立地包括但不限于脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、芳香族、杂芳香族、芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂烷基芳基或杂烷基杂芳基,其中上述和在此描述的任何脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、烷基芳基或烷基杂芳基取代基可为取代或未取代的、支链或非支链的、饱和或不饱和的,且其中上述和在此描述的任何芳香族、杂芳香族、芳基、杂芳基、-(烷基)芳基或-(烷基)杂芳基取代基可为取代或未取代的。此外,还应该理解,任何两个相邻的基团连接在一起可以代表 4、5、6 或 7 元取代或未取代的脂环族或杂环部分。常用取代基的其它例子在本文所述实施例所示的具体实施方案中说明。

[0101] 如本文中所述的术语“环烷基”具体指具有 3-7 个,优选 3-10 个碳原子的基团。合适的环烷基包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基等,它们如在脂肪族、脂环族、杂脂肪族或杂环部分的情况下可以任选地被取代基取代,所述取代基包括但不限于脂肪族;脂环族;杂脂肪族;杂环;芳香族;杂芳香族;芳基;杂芳基;烷基芳基;杂烷基芳基;烷基杂芳基;杂烷基杂芳基;烷氧基;芳氧基;杂烷氧基;杂芳氧基;烷基硫基;杂芳基硫基;F;Cl;Br;I;-OH;-NO₂;-CN;-CF₃;-CH₂CF₃;-CHCl₂;-CH₂OH;-CH₂CH₂OH;-CH₂NH₂;-CH₂SO

${}_2\text{CH}_3$; $-\text{C}(=\text{O})\text{R}_x$; $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}_x)_2$; $-\text{OC}(\text{O})\text{R}_x$; $-\text{OCO}_2\text{R}_x$; $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}_x)_2$; $-\text{N}(\text{R}_x)_2$; $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}_x$; $-\text{NR}_x(\text{CO})\text{R}_x$, 其中每次出现的 R_x 独立地包括但不限于脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、芳香族、杂芳香族、芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂烷基芳基或杂烷基杂芳基, 其中上述和此处描述的任何脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、烷基芳基或烷基杂芳基取代基可以为取代或未取代的、支链或非支链的、饱和或不饱和的, 而且其中上述和此处描述的任何芳香族、杂芳香族、芳基或杂芳基取代基可以为取代或未取代的。常用取代基的其它例子在本文所述实施例所示的具体实施方案中说明。

[0102] 如本文中所述的术语“杂脂肪族”指主链上的一个或多个碳原子已被杂原子取代的脂肪族部分。因此, 杂脂肪族基团指含有一个或多个代替碳原子的氧、硫、氮、磷或硅原子的脂肪族链。杂脂肪族部分可以为直链或支链、饱和或不饱和的。在某些实施方案中, 杂脂肪族部分通过其上的一个或多个氢原子独立地被一个或多个包括但不限于下述基团的部分代替而被取代: 脂肪族; 脂环族; 杂脂肪族; 杂环; 芳香族; 杂芳香族; 芳基; 杂芳基; 烷基芳基; 烷基杂芳基; 烷氧基; 芳氧基; 杂烷氧基; 杂芳氧基; 烷基硫基; 芳基硫基; 杂芳基硫基; F; Cl; Br; I; $-\text{OH}$; $-\text{NO}_2$; $-\text{CN}$; $-\text{CF}_3$; $-\text{CH}_2\text{CF}_3$; $-\text{CHCl}_2$; $-\text{CH}_2\text{OH}$; $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$; $-\text{CH}_2\text{NH}_2$; $-\text{CH}_2\text{SO}_2\text{CH}_3$; $-\text{C}(=\text{O})\text{R}_x$; $-\text{C}(\text{C}=\text{O})\text{N}(\text{R}_x)_2$; $-\text{OC}(=\text{O})\text{R}_x$; $-\text{OCO}_2\text{R}_x$; $-\text{OC}(=\text{O})\text{N}(\text{R}_x)_2$; $-\text{N}(\text{R}_x)_2$; $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}_x$; $-\text{NR}_x(\text{CO})\text{R}_x$, 其中每次出现的 R_x 独立地包括但不限于脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、芳香族、杂芳香族、芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂烷基芳基或杂烷基杂芳基, 其中上述和此处描述的任何脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、烷基芳基或烷基杂芳基取代基可以为取代或未取代的、支链或非支链的、饱和或不饱和的, 而且上述和此处描述的任何芳香族、杂芳香族、芳基或杂芳基取代基可以为取代或未取代的。常用取代基的其它例子在本文所述实施例所示的具体实施方案中说明。

[0103] 如本文中所述的术语“杂环烷基”、“杂环”或“杂环的”指结合了杂脂肪族和环状化合物的性质的化合物, 其包括但不限于具有 5-16 个原子的饱和和不饱和单环或多环体系, 其中至少一个环原子为选自 S 和 N 的杂原子 (其中氮和硫杂原子可以任选地被氧化), 其中环体系任选地被一个或多个本文中定义的官能团取代。在某些实施方案中, 术语“杂环烷基”、“杂环”或“杂环的”指其中至少一个环杂原子选自 S 和 N (其中氮和硫杂原子可以任选地被氧化) 的非芳香族 5、6 或 7 元环或多环基团, 其包括但不限于双环或三环基团, 包括具有 1-3 个独立地选自氧、硫和氮的杂原子的稠合六元环, 其中 (i) 各 5 元环具有 0-2 个双键, 各 6 元环具有 0-2 个双键, 各 7 元环具有 0-3 个双键, (ii) 氮和硫杂原子可以任选地被氧化, (iii) 氮杂原子可以任选地被季铵化, 且 (iv) 上述任何杂环可以与芳环或杂芳环稠合。代表性的杂环包括但不限于杂环, 例如咪唑基、吡唑基、吡咯基、噻吩基、吡咯烷基、吡唑啉基、吡唑啉烷基、咪唑啉基、咪唑啉烷基、哌啶基、哌嗪基、噁唑基、噁唑烷基、异噁唑基、异噁唑烷基、二噁唑基、噻二唑基、噁二唑基、四唑基、三唑基、噻三唑基、噻二唑基、噁二唑基、吗啉基、噻唑基、噻唑烷基、异噻唑基、异噻唑烷基、二噻唑基、二噻唑烷基、四氢咪唑基, 及其苯并稠合的衍生物。在某些实施方案中, 使用“取代的杂环或杂环烷基或杂环”基团, 且如本文中所述的, 其指上述定义的杂环或杂环烷基或杂环基, 其上的一个、两个或三个氢原子独立地被下述但并不限于此的基团取代: 脂肪族; 脂环族; 杂脂肪族; 杂环; 芳香族; 杂芳香族; 芳基; 杂芳基; 烷基芳基; 杂烷基芳基; 烷基杂芳基; 杂烷基杂芳基; 烷氧基; 芳基氧; 杂烷氧基; 杂芳基氧; 烷基硫基; 芳基硫基; 杂烷基硫基; 杂芳基硫基; F; Cl; Br; I; $-\text{OH}$

; -NO₂; -CN; -CF₃; -CH₂CF₃; -CHCl₂; -CH₂OH; -CH₂CH₂OH; -CH₂NH₂; -CH₂SO₂CH₃; -C(C=O)R_x; -CC(=O)N(R_x)₂; -OC(O)R_x; -OCO₂R_x; -OC(=O)N(R_x)₂; -N(R_x)₂; -S(O)₂R_x; -NR_x(CO)R_x, 其中每次出现的 R_x 独立地包括但不限于脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、芳香族、杂芳香族、芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂烷基芳基或杂烷基杂芳基, 其中上述和此处所述的任何脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、烷基芳基或烷基杂芳基取代基可以为取代或未取代的、支链或非支链的、饱和或不饱和的, 而且其中上述和此处所述的任何芳香族、杂芳香族、芳基或杂芳基可以为取代或未取代的。此外, 应该理解, 上述和此处所述的任何脂环族或杂环部分可以包括与之稠合的芳基或杂芳基部分。

[0104] 本文中所述的术语“卤代”和“卤素”是指选自氟、氯、溴和碘的原子。

[0105] 术语“卤代烷基”意指连接有一个、两个或三个卤素原子的如上定义的烷基, 其例子为氯甲基、溴乙基、三氟甲基等基团。

[0106] 如本文中所述的术语“氨基”指伯胺 (-NH₂)、仲胺 (-NHR_y)、叔胺 (-NR_xR_y) 或季胺 (-N⁺R_xR_yR_z), 其中 R_y 和 R_z 独立地为本文中定义的脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、芳香族或杂芳香族部分。氨基的例子包括但不限于甲基氨基、二甲基氨基、乙基氨基、二乙基氨基、二乙基氨基羰基、异丙基氨基、哌啶子基、三甲基氨基和丙基氨基。

[0107] 如本文中所述的术语“酰基”指具有通式 -C(=O)R 的基团, 其中 R 为本文中定义的脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、芳香族或杂芳香族部分。

[0108] 如本文中所述的术语“磺酰氨基”指通式 -SO₂NR_xR_y 的基团, 其中 R_x 和 R_y 独立地为氢, 或本文中定义的脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、芳香族、杂芳香族或酰基部分。

[0109] 如本文中所述的术语“苯甲酰氨基”指通式 PhNR_x 的基团, 其中 R_x 为氢, 或本文中定义的脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、芳香族、杂芳香族或酰基部分。

[0110] 如本文中所述的术语“C₁₋₆ 亚烷基”指具有 1-6 个碳原子、在基团的两端都具有自由价“-”、仅由碳和氢原子组成的取代或未取代的、直链或支链的饱和和二价基团。

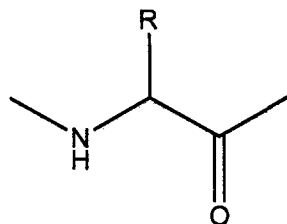
[0111] 如本文中所述的术语“C₂₋₆ 亚烷基”指具有 2-6 个碳原子、在基团的两端都具有自由价“-”、仅由碳和氢原子组成的取代或未取代的、直链或支链的不饱和和二价基团, 而且其中的不饱和状态仅以双键形式存在, 且双键可以存在于链的第一个碳原子和其余分子之间。

[0112] 如本文中所述的术语“脂肪族”、“杂脂肪族”、“烷基”、“烯基”、“炔基”、“杂烷基”、“杂烯基”、“杂炔基”等包括取代和未取代的、饱和和不饱和的、直链和支链基团。类似地, 术语“脂环族”、“杂环”、“杂环烷基”、“杂环”等包括取代和未取代的、饱和和不饱和的基团。此外, 术语“环烷基”、“环烯基”、“环炔基”、“杂环烷基”、“杂环烯基”、“杂环炔基”、“芳香族”、“杂芳香族”、“芳基”、“杂芳基”等包括被取代和未被取代的基团。

[0113] 如本文中所述的术语“天然氨基酸”是指在天然存在的蛋白质中发现的任何一种常见的、天然存在的 L-氨基酸: 甘氨酸 (Gly)、丙氨酸 (Ala)、缬氨酸 (Val)、亮氨酸 (Leu)、异亮氨酸 (Ile)、赖氨酸 (Lys)、精氨酸 (Arg)、组氨酸 (His)、脯氨酸 (Pro)、丝氨酸 (Ser)、苏氨酸 (Thr)、苯丙氨酸 (Phe)、酪氨酸 (Tyr)、色氨酸 (Trp)、天冬氨酸 (Asp)、谷氨酸 (Glu)、天冬酰胺 (Asn)、谷氨酰胺 (Gln)、半胱氨酸 (Cys) 和甲硫氨酸 (Met)。

[0114] 如本文中所述的术语“非天然氨基酸”是指不是天然氨基酸的所有氨基酸。其包括, 例如 α-、β-、D-、L-氨基酸残基, 和下列通式的化合物:

[0115]



[0116] 其中,侧链 R 不同于天然存在的氨基酸侧链。

[0117] 更通常地,如本文中所述的术语“氨基酸”包括天然氨基酸和非天然氨基酸。

[0118] 如本文中所述的术语“生物电子等排体”通常指具有类似的分子形状和 / 或体积的两个或多个化合物或部分。在某些实施方案中,生物电子等排体具有大约相同的电子分布。在另外的某些实施方案中,生物电子等排体显示类似的生物学性质。在优选的实施方案中,生物电子等排体具有类似的分子形状和体积;具有大约相同的电子分布;并且显示类似的生物学性质。

[0119] 如本文中所述的术语“药学上可接受的衍生物”意指该化合物的任何药学上可接受的盐、酯或这种酯的盐,或施用于受试者后能够提供(直接或间接地)如本文中另外描述的化合物的任何其他加合物或衍生物,或其代谢物或残余物。因此,药学上可接受的衍生物尤其包括前药。前药是通常具有显著降低的药理活性的化合物衍生物,其含有在体内易于除去而产生作为药理活性物质的母体分子的另外部分。前药的一个例子是酯,其在体内裂解产生目标化合物。各种化合物和物质的前药以及衍生母体化合物产生前药的方法是已知的,而且可以用于本发明。下文中将详细讨论某些示例性药物组合物和药学上可接受的衍生物。

[0120] 如本文中所述的术语“药学上可接受的盐”指适于药物用途,优选地适用于人和低等动物组织且没有不适当的刺激、过敏反应等的那些盐。胺、羧酸和其它类型化合物的药学上可接受的盐是本领域已知的。例如,S. M. Berge 等人在 *J Pharmaceutical Sciences*, 66: 1-19 (1977) 中详细描述了药学上可接受的盐,其在此引入作为参考。该盐可以在本发明化合物的最后分离和纯化过程中就地制备,或者如下文中一般性描述的,通过使游离碱或游离酸的官能团与适当的试剂反应而单独制备。例如,游离碱官能团可以与适当的酸反应。此外,当本发明的化合物带有酸性部分时,其适当的药学上可接受的盐可以包括金属盐,例如碱金属盐,如钠或钾盐;和碱土金属盐,如钙或镁盐。药学上可接受的无毒酸加成盐的例子为氨基与无机酸形成的盐,所述无机酸例如为盐酸、氢溴酸、磷酸、硫酸和高氯酸,或与有机酸形成的盐,所述有机酸例如为醋酸、草酸、马来酸、酒石酸、柠檬酸、琥珀酸、或丙二酸,或利用本领域采用的其它方法,例如离子交换法制备的盐。其它药学上可接受的盐包括己二酸盐、藻酸盐、抗坏血酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、硫酸氢盐、硼酸盐、丁酸盐、樟脑磺酸盐、樟脑磺酸盐、柠檬酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、甲酸盐、富马酸盐、葡萄糖庚酸盐、甘油磷酸盐、葡萄糖酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、氢碘酸盐、2-羟基-乙磺酸盐、乳糖酸盐、乳酸盐、月桂酸盐、月桂基硫酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、栲酸盐 (pectinate)、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、磷酸盐、苦味酸盐、三甲基乙酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、对甲苯磺酸盐、十一烷酸盐、戊酸盐等。代表性的碱金属或碱土金属盐包括钠、锂、钾、

钙、镁盐等。如果适当,其它药学上可接受的盐包括:无毒铵盐、季铵盐,和使用抗衡离子形成的胺阳离子,所述抗衡离子例如为卤素离子、氢氧根、羧酸根、硫酸根、磷酸根、硝酸根、磺酸根和芳基磺酸根。

[0121] 如本文中所述的术语“药学上可接受的酯”是指在体内发生水解的酯,包括那些在人体内容易分解释放出母体化合物或其盐的酯。适当的酯基团包括例如衍生自药学上可接受的脂肪族醇化合物的那些酯基团,尤其是烷、烯、乙二醇、环烷等,其中各烷基或烯基部分有利地具有不多于 6 个碳原子。这些只是示例,绝不是限制本领域已知的酯的可能性。

[0122] 如本文中所述的术语“药学上可接受的前药”指适于药物用途的本发明化合物的那些前药,优选地用于人和低等动物的身体组织并且没有不当的毒性、刺激、过敏反应等,而且对于预期的用途而言是有效的,以及如果可能的话指本发明化合物的两性离子形式。术语“前药”指在体内迅速转化得到上式的母体化合物的化合物,例如通过在血液中水解进行转化。T. Higuchi 和 V. Stella, *Pro-drugs as Novel Delivery Systems*, A. C. S. 专题论文集系列 14 卷,和 Edward B. Roche, ed., *Bioreversible Carriers in Drug Design*, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987 中提供了详尽的论述,该两篇文献在此引入作为参考。

[0123] C. 可用于本发明的化合物,其为 LFA-1 与 ICAM-1 之间相互作用的直接竞争性拮抗剂或变构拮抗剂

[0124] 在与 ICAM-1 结合位点重叠的 LFA-1 α L 亚单元中的高亲和力结合位点上,作为 LFA-1 与 ICAM-1 之间相互作用的直接竞争性拮抗剂的拮抗剂,可以通过例如进行竞争性结合试验进行识别,该竞争性结合试验如 S. M. Keating, K. R. Clark, L. D. Stepanich, F. Arellano, C. P. Edwards, S. C. Bodary, S. A. Spencer, T. R. Gadek, J. C. Marsters Jr., M. H. Beresini, “Competition between intercellular adhesion molecule-1 and a small molecule antagonist for a common binding site on the α l subunit of lymphocyte function-associated antigen-1.” (2006) *Protein Science*, 15 :290-303 所述。与 ICAM-1 结合位点重叠的 LFA-1 上的该高亲和力位点已显示包含 LFA-1 α L 亚单元的结构域 I 的 MIDAS 基序。使用该试验设计还能识别变构拮抗作用,该作用可以是竞争性的但不是直接竞争性的。

[0125] 1. LFA-1 与 ICAM 之间相互作用的直接竞争性拮抗剂的结合位点的识别

[0126] a. 化合物 5 与 LFA-1 α L 亚单元的交联

[0127] 该类型的小分子拮抗剂的结合位点是通过使化合物 5 结合到 LFA-1 上、然后再进行光致交联进行识别的,其中化合物 5 是氚标记的化合物 3 的光活化类似物(图 4)。为了最大化特异性的高亲和力交联,需要在辐射之前通过凝胶过滤样品来去除未结合的或结合弱的化合物 5(图 5,泳道 e 与 f,和 g 与 h)。在不进行凝胶过滤的情况下,化合物 5 与 LFA-1 α 亚单元、 β 亚单元和异二聚体显著交联(条带在大约 200000),而在进行凝胶过滤的样品中未观察到非特异性的交联(数据未显示)。在进行凝胶过滤的情况下,化合物 5 仅与 α L 亚单元特异性交联(图 5,泳道 c 和 g)。此外,在温育过程中化合物 3 的存在显著减少了氚向 α L 亚单元中的引入(图 5,泳道 e 与 g)。类似地,在化合物 3 存在的情况下,在不进行凝胶过滤的情况下,氚向 α L 亚单元、 β 2 亚单元和异二聚体中的引入略有减少(图 5,泳道 f 与 h)。当使用凝胶过滤的分离的、结构完整的 α L 或 β 2 亚单元的样品时,化合物 5 不发生

交联（数据未显示）。因此，凝胶过滤以后交联所需的高亲和力结合位点是由完整的 LFA-1 异二聚体提供的。

[0128] 通过使用羟胺破碎亲和力标记的 α L 亚单元、电泳分离片段、然后对放射性标记的片段进行 N 末端测序以确定它们在蛋白质序列中的位置来进一步确定交联位点。识别出两个序列，第一个开始于残基 1（序列为 YNLDVARGARSFS (SEQ ID NO 1)），第二个开始于残基 30（序列为 GVIVGAPGEGNST (SEQ ID NO 2)）。通过它们在 SDS-PAGE 上的大小判断出这两个肽的长度为约 500 个氨基酸（50–60kDa）；该片段大小与紧挨的两个预测的羟胺切割位点（N-G）N507 和 N530 一致。亚单元的 C 末端部分未引入标记。

[0129] b. 化合物 2B 不能结合缺少结构域 I 的 LFA-1

[0130] 结构域 I 在化合物 2B 和相关类似物与 LFA-1 结合中的作用通过制备缺少结构域 I 的 α L 亚单元构建体进行阐明。 β 2 构建体单独（假）或与缺少结构域 I 的构建体或野生型 α L 一起转染到 293 细胞中，并且检测化合物 2B 与转染的细胞的结合（图 6）。化合物 2B 显示出与野生型 α L 转染的细胞具有显著结合，但是相对于与假（ β 2）转染的细胞的结合，化合物 2B 与用缺少结构域 I 的 α L 转染的细胞无显著结合。还检测了转染子粘附 ICAM-1-Ig 的能力，正如预期的，缺少结构域 I 的 LFA-1 转染的细胞和假转染子显示出不能辨别的背景结合水平，而野生型 α L 转染的细胞显示出强的粘附（图 6B）。通过评估一组 LFA-1 抗体与转染的细胞之间的结合表明，除了丧失定位（mapped）到结构域 I 的抗体的结合以外，LFA-1 异二聚体看起来在缺少 α L 结构域 I 的转染的细胞中是完整的（数据未显示）。

[0131] 该数据支持以下结论：化合物 3 和相关分子结合到与 ICAM-1 结合位点重叠的 LFA-1 的高亲和力位点上，上文已显示该高亲和力位点包括 LFA-1 α L 亚单元中结构域 I 的 MIDAS 基序。

[0132] 通过删除结构域 I 对 ICAM-1-Ig 和化合物 2B 结合的共同影响可以得出在 LFA-1 上 ICAM-1 结合位点和小分子拮抗剂结合位点非常邻近的确证证据。化合物 2B 和 ICAM-1 均不能结合缺少结构域 I 的 LFA-1，其中 ICAM-1 结合位点位于该结构域中。此外，A-286982 变构修饰 ICAM-1-Ig 和化合物 2B 的结合的能力同它们的结合位点与 LFA-1 α 亚单元的结构域 I 的 IDAS 基序中的 A-286982 结合位点紧密靠近相一致。化合物 5 与 LFA-1 α 链的选择性光化学交联将其结合位点定位在该亚单元的残基 30–507 内。上述所有发现与位于 LFA-1 α 链的结构域 I 中的单个高亲和力小分子结合位点相一致。

[0133] 使用相对高浓度的化合物 5（4.1 μ M，图 5）仔细研究光化学交联，提供了 LFA-1 上其他低亲和力小分子结合位点的直接证据。在进行或不进行凝胶过滤时，观察到显著不同的蛋白质和交联模式。当样品在辐射之前被凝胶过滤以去除未结合或结合弱的分子时，仅观察到 α 亚单元的高亲和力标记。但是，当不进行凝胶过滤步骤时，对化合物 5 与 LFA-1 的复合物的辐射造成了与 α 亚单元的高强度的交联，以及与 β 亚单元中低亲和力位点的低强度的交联，其中 β 亚单元与化合物 5 的复合物太弱以致于在凝胶过滤后不能存留。在这两种情况下，观察到的交联被大量过量（290 μ M）的化合物 3 部分抑制（图 5，泳道 e 和 g, f 和 h），表明与这两个位点的结合具有特异性的特性。使化合物 5 与分离的 α 或 β 亚单元交联的尝试不能产生能够在凝胶过滤过程后存留的高亲和力复合物。因此，看起来由化合物 3 代表的该类化合物的高亲和力竞争性结合需要完整的全长 LFA-1 异二聚体的存在。在

LFA-1 亚单元或分离的结构域 I 的构建体中捕获该结合位点的尝试使得 LFA-1 对 ICAM-1 和化合物 3 的小分子类似物（例如 XVA143）的亲合力减弱。特别值得关注的是，存在次要的 LFA-1 异二聚体条带，该条带在不进行凝胶过滤时才出现（图 5，条带 > 200000 道尔顿）。由考马斯蓝染色和放射自显影法鉴定的 LFA-1 条带的强度与稳定异二聚体的 β 链上的第二位点的低亲合力结合相一致。

[0134] 用于稳定 LFA-1 与 SDS-PAGE 的结合位点可以位于 β 亚单元的 I 样结构域中。如上所示，该 β 亚单元结合位点与 α 亚单元上的高亲合力结合位点无关，后者负责 ICAM-1 结合的直接竞争性抑制。但是，负责化合物 3 稳定 LFA-1 的 β 亚单元结合位点可以与低亲合力 β 亚单元交联位点相同。

[0135] 对于本文中使用的 LFA-1 小分子拮抗剂探针类型，存在两个截然不同的结合位点。第一个位点是 LFA-1 的 α L 亚单元中的高亲合力结合位点，小分子和 LFA-1 通过该结合位点形成足以在凝胶过滤过程后存留的稳定（例如 $K_d < 25\text{nM}$ ）的复合物。在本文报告的结合试验中已经表征该小分子结合位点与 ICAM-1 结合位点重叠，并且与以下特性相关：化合物 3 和 4 对 LFA-1/ICAM-1 结合的强烈抑制（化合物 4 $IC_{50} = 1.4\text{nM}$ ）；对体外 LFA-1 诱导的淋巴细胞增殖的强烈抑制（化合物 4 $IC_{50} = 3\text{nM}$ ）；和对体内免疫系统应答的抑制。第二个位点是参与在 SDS-PAGE 下稳定 LFA-1 异二聚体的 β 亚单元中的较低亲合力结合位点（例如 $K_d > 1\ \mu\text{M}$ ）。该位点的动力学性质更强（即较快的解离速率），且在凝胶过滤 / 光分解过程后不能存留。该第二低亲合力位点的特征与 β 亚单元的 I 样结构域中 α/β I 样变构拮抗剂结合位点的特征相同。本文描述的 ICAM-1 模拟物与 LFA-1 β 亚单元的低亲合力结合（假定与 I 样结构域结合）可能是由于结构域 I 和 I 样结构域之间的序列同源性，特别是 MIDAS 基序的相似性和它们对于该类拮抗剂共有的羧酸部分的亲合力。考虑到整联蛋白 $\beta 2$ 家族（包括 MAC-1）共有该亚单元，化合物对于 $\beta 2$ 亚单元中 I 样结构域的亲合力必需减弱，以选择 LFA-1 特异性拮抗剂。

[0136] 上述试验证明了化合物 3 和 4 与 LFA-1 的高亲合力结合，该结合的方式同 ICAM-1 与 LFA-1 的结合类似，且该结合的位点与包括 LFA-1 α 亚单元结构域 I 内的 MIDAS 基序的 ICAM-1 结合位点重叠。这与提出的对 ICAM-1 表位的模拟一致，但是与它们作为 LFA-1/ICAM-1 的 $\alpha\beta$ I 样变构拮抗剂的任何结论不一致。这些 ICAM-1 模拟物与 $\beta 2$ 整联蛋白亚单元的结合虽然亲合力较低，但是提出了 ICAM-1 自身是否结合在 I 样结构域的第二位点上作为反馈机理的一部分的问题。

[0137] 上文已经显示小分子能够以高亲合力结合 α -L 亚单元，该 α -L 亚单元是 LFA-1 特有的。因此，这些化合物对于 LFA-1 ($\alpha L\beta 2$) 比对于 Mac-1 ($\alpha M\beta 2$) 具有更强的选择性。本发明的一个优选实施方案是使用 LFA-1 的选择性抑制剂，其可提供治疗安全性的优点。

[0138] 2. 竞争性结合试验

[0139] a. LFA-1/ICAM-1 和 LFA-1/ 小分子 ELISA 中的拮抗剂竞争

[0140] 通过滴定到 LFA-1/ICAM-1 ELISA 中，利用化合物 2A 和 3、A-286982 和 sICAM-1 表明 ICAM-1-Ig 与 LFA-1 的结合的竞争性抑制。该形式的 LFA-1/ICAM-1 测定的形式和结果更可靠，这是由于 LFA-1 被抗体捕获而不是直接包被在 ELISA 板上。该试验是通过添加 1/5 系列稀释的化合物 3 (-●-)、化合物 2A (-▲-)、A-286982 (-◆-) 和 sICAM-1 (-▼-)、然后再与 ICAM-1-Ig(A) 或化合物 2B(B) 在含捕获的 LFA-1 的板上温育而进行的。显示的数

据为一次试验中两个板的平均值,且是几个独立测量的代表。实线为数据的拟合。 IC_{50} 值 (nM) 在图例中提供。

[0141] ELISA 中这些抑制剂的典型竞争曲线示于图 7A 中。化合物 3 强烈抑制 ICAM-1-Ig 与 LFA-1 的结合, IC_{50} 为 2nM。化合物 2A 为化合物 3 的类似物,其抑制结合,但是具有大约高 10 倍的 IC_{50} 值。A-286982 和 sICAM-1 抑制 ICAM-1-Ig 与 LFA-1 的结合,但是其 IC_{50} 值比化合物 3 的 IC_{50} 值高 100 倍以上。

[0142] 还证明了这些相同的化合物抑制 FITC 标记的小分子拮抗剂—化合物 2B 与 LFA-1 的结合的能力(图 7B)。作为化合物 2B 结合的抑制剂的化合物 2A 和 3 和可溶性 ICAM-1 的效力与 ICAM-1-Ig 结合的抑制剂的效力类似。化合物 3、化合物 2A 和 sICAM-1 抑制化合物 2B 与 LFA-1 的结合,其 IC_{50} 值分别为 3、56 和 1200nM。A-286982 不是抑制而是增强化合物 2B 与 LFA-1 的结合,其证据是吸光度值暂时增加,在下降之前达到约 $4 \mu M$ 的最大效果。

[0143] 在 LFA-1/小分子和 LFA-1/ICAM-1ELISA 中进行的 IC_{50} 值的评估扩展到更多的化合物,包括一组蝮蛇毒素衍生的肽和代表该类 LFA-1 小分子拮抗剂进化的小分子。如图 8 所示(在 LFA-1 与 ICAM-1 的 ELISA 和 LFA-1 与小分子的 ELISA 中拮抗剂竞争的 IC_{50} 值的相关性)。一组不同的化合物(4 个肽、5 个小分子和 sICAM-1)与化合物 2B 相竞争的 IC_{50} 值相对于在与 ICAM-1-Ig 竞争结合 LFA-1 中确定的 IC_{50} 值作图。斜率为 0.964, y-截距为 0.237, $R = 0.940$ 。每个数据点为两个板的 IC_{50} 值的平均值,在对于该不同组的化合物(包括 sICAM-1、化合物 2A 和 3)的两个配体结合测定中的每一个中,在 5 个 log 单位的效力中,在竞争 IC_{50} 值之间存在良好的相关性($R = 0.94$)。在使用 ICAM-1-Ig 和化合物 2B 作为配体的两个拮抗剂竞争性 ELISA 之间的共同的效力趋势表明:各化合物以机理上类似的方式破坏了 ICAM-1 和小分子配体的结合。这种抑制效力的相似性表明:ICAM-1-Ig 和化合物 2B 与 LFA-1 上的相同的位点结合。因此,本发明的化合物为 LFA-1 的竞争性拮抗剂。

[0144] b. LFA-1/ICAM-1ELISA 和 LFA-1/小分子 ELISA 中配体结合的拮抗剂调控

[0145] 通过与目的配体直接竞争来进行抑制的拮抗剂显示出:随着拮抗剂浓度增加,配体结合曲线向较高表观 EC_{50} 值非饱和性右向偏移,且配体的最大结合没有下降。抑制是可以消除的,但是需要在存在浓度增加的直接竞争性抑制剂的情况下增加配体的量。直接竞争性化合物 3、变构拮抗剂 A-286982 和 sICAM-1 对 ICAM-1-Ig 和化合物 2B 与 LFA-1 的结合曲线的影响示于图 9 中,作为显示直接竞争的拮抗剂的例子。在 LFA-1/ICAM-1ELISA 和 LFA-1/小分子 ELISA 中,在不存在(-◇-)或存在拮抗剂的情况下滴定 ICAM-1-Ig(A、C、E)或化合物 2B(B、D、F)。以两倍稀释添加拮抗剂,起始为 $2.4 \mu M$ (A) 和 $2.7 \mu M$ (B) 的 sICAM-1、 $0.040 \mu M$ (C) 和 $0.10 \mu M$ (D) 的化合物 3 和 $20 \mu M$ (E) 和 $50 \mu M$ (F) 的 A-286982。拮抗剂浓度的顺序为 -□-(添加的最低拮抗剂浓度)、-△-、-○-、-◆-、-■-、-▲-至 -●-(最高的拮抗剂浓度)。该数据的拟合如实线所示。显示的数据来自一个板中,并代表至少两个试验。(注释:A-286982(F) 导致化合物与 LFA-1 的结合增加)。相反,变构抑制剂通过降低曲线向右偏移的最大结合或饱和可以改变配体结合曲线。如图 9A 所示,当存在浓度增加的 sICAM-1 时,ICAM-1-Ig 结合曲线明显会向右偏移至较高的 EC_{50} 值。此外,正如所预期的,当同一天然配体的两种分子形式直接竞争与受体上一个位点的结合时,在存在和不存在 sICAM-1 时观察到相同最大程度的 ICAM-1-Ig 与 LFA-1 的结合。类似地,增加化合物 3 的浓度还使 ICAM-1-Ig 的结合偏移至较高的 EC_{50} 值,最大 ICAM-1-Ig 结合具有最小的变化

(图 9C)。尽管在存在竞争性拮抗剂时配体结合曲线的向右偏移通常是平行的,但也不总是这样。在存在或不存在化合物 3 的情况下, LFA-1/ICAM-1-Ig 结合曲线的不平行的斜率可能是由于在使用该化合物的异源配体结合 ELISA 条件下不能够实现完全平衡。在配体结合 ELISA 的 LFA-1/ 化合物 2B 形式中,增加化合物 3 的浓度还明显地使化合物 2B 结合曲线偏移至较高的 EC_{50} 值,且最大结合没有降低(图 9D)。增加 sICAM-1 的浓度也显示出类似的效果(图 9B),尽管曲线的偏移程度受限于可达到的最大 sICAM-1 浓度 $2.7 \mu M$ 。因此, sICAM-1 和化合物 3 对 ICAM-1-Ig 和化合物 2 与 LFA-1 结合的影响是上述直接竞争的特征。

[0146] A-286982 对 ICAM-1-Ig 和化合物 2B 与受体结合的影响是明显不同的(图 9E 和 9F)。在 LFA-1/ICAM-1-ELISA 中, ICAM-1-Ig 曲线向右偏移至较高的 EC_{50} 值;但是 ICAM-1-Ig 与 LFA-1 的最大结合随着 A-286982 浓度的增加而显著降低。随着 A-286982 浓度的增加,最大结合的降低和配体结合曲线的向右偏移反映了如上所述的变构抑制。A-286982 导致配体亲和力和结合能力都降低;这表明 A-286982 为 ICAM-1-Ig 结合的不可克服的拮抗剂。相反,在 LFA/ 小分子 ELISA 中,微摩尔浓度 A-286982 的存在使得化合物 2B 结合曲线向较低的 EC_{50} 值偏移,且看起来提高了化合物 2B 与 LFA-1 的结合(图 9F)。A-286982 对化合物 2B 和 ICAM-1-Ig 结合的相反影响可能是由于与 LFA-1 上的 IDAS 位点结合的化合物的已知变构效应。A-286982 结合数据用于表明在该方法中证明的结合试验中对小分子和蛋白质配体结合 LFA-1 的变构抑制。

[0147] 还可利用 Schild 分析研究化合物是否通过单个结合位点的直接竞争来抑制配体的结合。该模型是基于以下假设:测定中等活性的(equiactive)响应是配体对受体的等同占有的结果,且最大的结合在存在拮抗剂时未改变。在 Schild 分析中,剂量比为存在拮抗剂与不存在拮抗剂时的 EC_{50} 值比,且是导致等活性响应的配体浓度的量度。确定拮抗剂各浓度的该剂量比, Schild 回归的作图示于图 10 中。Schild 回归中斜率为 1 的线性响应表明拮抗剂的抑制是直接竞争性的和可逆的。在不导致最大结合降低的变构抑制剂的情况下, Schild 分析将产生非线性关系和 / 或显著偏离 1 的斜率。sICAM-1 和化合物 3 的 Schild 回归示于图 10 中,分别具有相当的斜率 1.26 和 1.24。LFA-1/ICAM-1 配体结合 ELISA 中 s-ICAM-1(-▲-) 和化合物 3(-●-) 拮抗作用的 Schild 回归分别根据图 5(A) 和 (C) 中的数据进行作图。化合物 3 的图线的斜率为 1.24, y-截距为 10.9, $R = 0.99832$ 。sICAM-1 的图线的斜率为 1.26, y-截距为 8.51, $R = 0.99131$ 。尽管 Schild 分析要求斜率接近 1 的线性回归以表明直接竞争性抑制,但是在大量的文献中没有关于什么范围的 Schild 值是可接受的教导。1.24 和 1.26 的斜率落于用于支持竞争性结合结论的许多发表的 Schild 值的范围内,因此,并不认为这些斜率值显著不同于 1。回归作图的线性以及相关斜率的相似性与配体(ICAM-1-Ig) 和两个拮抗剂(sICAM-1 和化合物 3) 以相似方式结合相同位点是一致的。

[0148] A. 抗体

[0149] 几种合适的抗体是本领域已知的。针对这些分子中的一种或两种的抗体对 ICAM(例如 ICAM-1) 或白整联蛋白(例如 LFA-1) 的阻断能够抑制炎症反应。早先研究已经研究了抗 CD11a MAb 对体外的许多 T 细胞依赖性免疫功能和体内的多种免疫应答的影响。抗 CD11aMAb 在体外抑制 T 细胞活化(参见 Kuypers T. W., Roos D. 1989 "Leukocyte membrane adhesion proteins LFA-1, CR3 and p150,95: a review of functional and

regulatory aspects " Res. Immunol., 140 :461-465 ;Fischer A, Durandy A, Sterkers G, Griscelli C. 1986 "Role of the LFA-1 molecule in cellular interactions required for antibody production in humans" J. Immunol., 136, 3198)、细胞毒性 T 淋巴细胞对靶细胞的裂解 (Krensky et al., 同上)、免疫偶联物的形成 (Sanders VM, Snyder JM, Uhr JW, Vitetta ES., "Characterization of the physical interaction between antigen-specific B and T cells". J. Immunol., 137 :2395 (1986) ;Mentzer SJ, Gromkowski SH, Krensky AM, Burakoff SJ, Martz E. 1985 "LFA-1 membrane molecule in the regulation of homotypic adhesions of human B lymphocytes" J. Immunol., 135 :9)) 和 T 细胞与血管内皮的粘附 (Lo SK, Van Seventer GA, Levin SM, Wright SD., Two leukocyte receptors (CD11a/CD18 and CD11b/CD18) mediate transient adhesion to endothelium by binding to different ligands., J. Immunol., 143 :3325 (1989)). 两种抗 CD11a MAbs-HI11 和 G43-25B 可从 Pharmingen/BD Biosciences 购得。此外, 包括 F8. 8、CBR LFA 1/9、BL5、May. 035、TS1/11、TS1/12、TS1/22、TS2/14、25-3-1、MHM2 和依法珠单抗的研究评价了这些抗体占据的 LFA-1 上的结合位点的范围。参见 Lu, C; Shimaoka, M.; Salas, A.; Springer, T. A. 2004, "The Binding Sites for Competitive Antagonistic, Allosteric Antagonistic, and Agonistic Antibodies to the I Domain of Integrin LFA-1" J. Immun. 173 :3972-3978 及其中引用的文献。已显示在抗 LFA-1 抗体中, 依法珠单抗为 LFA-1 的直接竞争性拮抗剂。

[0150] 因此, 多种抗 LFA-1 抗体, 包括依法珠单抗 (Raptiva), 可以用于治疗糖尿病性视网膜病。

[0151] B. 小分子

[0152] 1. 肽

[0153] 已经研究了肽在降低 LFA-1 与 ICAM-1 之间的相互作用中的应用。不含 IgG 的 Fc 域的多肽在美国专利 No. 5, 747, 035 中有所描述, 其可用于治疗 LFA-1 介导的病症, 特别是糖尿病性视网膜病。美国专利 No. 5, 843, 885 描述了使用双肽降低 LFA-1 与 ICAM-1 之间的相互作用, 第一个是 ICAM-1 的调节剂, 第二个是具有来自 LFA-1 的序列的阻断肽。美国专利 No. 6, 630, 447 中描述了环肽作为 LFA-1 与 ICAM-1 之间相互作用的抑制剂。

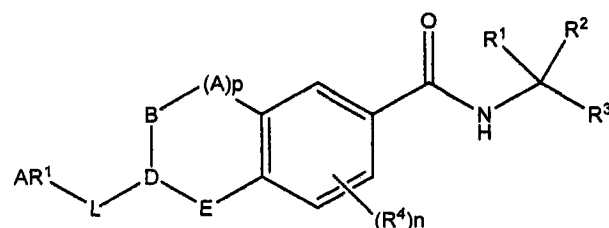
[0154] 2. 有机小分子

[0155] a. 作为 LFA-1 的直接竞争性抑制剂的示例性化合物

[0156] "有机小分子" 通常是指与药品中常用的那些有机分子具有可比较的大小的有机分子。该术语通常不包括有机生物高分子 (例如蛋白质、核酸等)。有机小分子通常为最高约 5000Da, 在一些实施方案中最高约 2000Da, 在其他的实施方案中, 最高约 1000Da。

[0157] i. 在一个实施方案中, 在本发明的方法中有用的化合物包括式 I 的化合物:

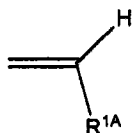
[0158]



[0159] 式 1

[0160] R^1 和 R^2 各独立地为氢、氨基酸侧链、 $-(CH_2)_mOH$ 、 $-(CH_2)_m$ 芳基、 $-(CH_2)_m$ 杂芳基 (其中 m 为 0-6)、 $-CH(R^{1A})(OR^{1B})$ 、 $-CH(R^{1A})(NHR^{1B})$ 、U-T-Q 或任选地被 U-T-Q 取代的脂肪族、脂环族、杂脂肪族或杂脂环族部分;其中 U 可不存在或为下述之一: $-O-$ 、 $-S(O)_{0-2}-$ 、 $-SO_2N(R^{1A})-$ 、 $-N(R^{1A})-$ 、 $-N(R^{1A})C(=O)-$ 、 $-N(R^{1A})C(=O)-O-$ 、 $-N(R^{1A})C(=O)-N(R^{1B})-$ 、 $-N(R^{1A})-SO_2-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=O)-O-$ 、 $-O-C(=O)-$ 、芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、 $-C(=O)-N(R^{1A})-$ 、 $-OC(=O)N(R^{1A})-$ 、 $-C(=N-R^{1E})-$ 、 $-C(=N-R^{1E})-O-$ 、 $-C(=N-R^{1E})-N(R^{1A})-$ 、 $-O-C(=N-R^{1E})-N(R^{1A})-$ 、 $-N(R^{1A})C(=N-R^{1E})-$ 、 $-N(R^{1A})C(=N-R^{1E})-O-$ 、 $-N(R^{1A})C(=N-R^{1E})-N(R^{1B})-$ 、 $-P(=O)(OR^{1A})-O-$ 或 $-P(=O)(R^{1A})-O-$;其中 T 不存在或为脂肪族、杂脂肪族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分;Q 为氢、卤素、氰基、异氰酸基 (isocyanate)、 $-OR^{1B}$ 、 $-SR^{1B}$ 、 $-N(R^{1B})_2$ 、 $-NHC(=O)OR^{1B}$ 、 $-NHC(=O)N(R^{1B})_2$ 、 $-NHC(=O)R^{1B}$ 、 $-NHSO_2R^{1B}$ 、 $NHSO_2N(R^{1B})_2$ 、 $-NHSO_2NHC(=O)OR^{1B}$ 、 $-NHC(=O)NHSO_2R^{1B}$ 、 $-C(=O)NHC(=O)OR^{1B}$ 、 $C(=O)NHC(=O)R^{1B}$ 、 $-C(=O)NHC(=O)N(R^{1B})_2$ 、 $-C(=O)NHSO_2R^{1B}$ 、 $-C(=O)NHSO_2N(R^{1B})_2$ 、 $C(=S)N(R^{1B})_2$ 、 $-SO_2R^{1B}$ 、 $-SO_2OR^{1B}$ 、 $-SO_2N(R^{1B})_2$ 、 $-SO_2-NHC(=O)OR^{1B}$ 、 $-OC(=O)-N(R^{1B})_2$ 、 $-OC(=O)R^{1B}$ 、 $-OC(=O)NHC(=O)R^{1B}$ 、 $-OC(=O)NHSO_2R^{1B}$ 、 $-OSO_2R^{1B}$ 、或脂肪族、杂脂肪族、芳基或杂芳基部分,或其中 R^1 和 R^2 一起为脂环族或杂环部分,或一起为

[0161]



[0162] 其中每次出现的 R^{1A} 和 R^{1B} 独立地为氢、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分、 $-C(=O)R^{1C}$ 、或 $-C(=O)NR^{1C}R^{1D}$;其中每次出现的 R^{1C} 和 R^{1D} 独立地为氢、羟基或脂肪族、杂脂肪族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分;且 R^{1E} 为氢、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分、 $-CN$ 、 $-OR^{1C}$ 、 $-NR^{1C}R^{1D}$ 或 $-SO_2R^{1C}$;

[0163] 其中 R^3 为 $-C(=O)OR^{3A}$ 、 $-C(=O)H$ 、 $-CH_2OR^{3A}$ 、 $-CH_2OC(=O)-$ 烷基、 $-C(=O)NH(R^{3A})$ 、 $-CH_2X^0$;其中每次出现的 R^{3A} 独立地为氢、保护基、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂烷基芳基、杂烷基杂芳基部分,或药学上可接受的盐或酯,或 R^{3A} 与 R^1 和 R^2 一起形成杂环部分;其中 X^0 为选自 F、Br 或 I 的卤素;

[0164] 每次出现的 R^4 独立地为氢、卤素、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分,或为 GR^{G1} ,其中 G 为 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $NR^{G2}-$ 、 $-CO-$ 、 $-SO-$ 、 $-SO_2-$ 、 $C(=O)O-$ 、 $-C(=O)NR^{G2}-$ 、 $C(=O)-$ 、 $-NR^{G2}C(=O)-$ 或 $-SO_2NR^{G2}-$,且 R^{G1} 和 R^{G2} 独立地为氢、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分;

[0165] n 为 0-4 的整数;

[0166] AR^1 为单环或多环芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、脂环族或杂环部分;

[0167] A、B、D 和 E 当化合价允许时经单键或双键连接;其中每次出现的 A、B、D 和 E 独立地为 $C=O$ 、 CR^iR^{i1} 、 NR^i 、 CR^i 、N、O、S、 $-S(=O)$ 或 SO_2 ;其中每次出现的 R^i 和 R^{i1} 独立地为氢、卤素、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基

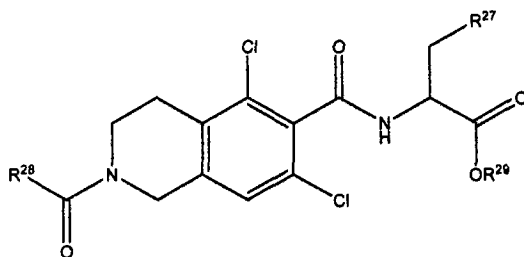
部分,或为 $-GR^{G1}$ 其中 G 为 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NR^{G2}$ 、 $-CO-$ 、 $-SO-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-C(=O)NR^{G2}$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-NR^{G2}C(=O)-$ 或 $-SO_2NR^{G2}$, 且 R^{G1} 和 R^{G2} 独立地为氢、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分; 或任何两个相邻的出现一起代表脂环族、杂脂环族、芳基或杂芳基部分;

[0168] p 为 0-4 的整数; 且

[0169] L 不存在或为 $V-W-X-Y-Z$, 其中每次出现的 V、W、X、Y 和 Z 独立地为不存在、 $C=O$ 、 NR^{L1} 、 $-O-$ 、 $-C(R^{L1})=$ 、 $=C(R^{L1})-$ 、 $-C(R^{L1})(R^{L2})$ 、 $C(=N-OR^{L1})$ 、 $C(=NR^{L1})$ 、 $-N=$ 、 $S(O)_{0-2}$; 取代或未取代的 C_{1-6} 亚烯基或 C_{2-6} alkenylidene 链, 其中最多两个非相邻的亚甲基单元独立地任选地被 $-C(=O)-$ 、 $-CO_2-$ 、 $-C(=O)C(=O)-$ 、 $-C(C(=O)NR^{L3})-$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-OC(=O)NR^{L3}-$ 、 $-NR^{L3}NR^{L4}-$ 、 $-NR^{L3}NR^{L4}C(=O)-$ 、 $-NR^{L3}C(=O)-$ 、 $NR^{L3}CO_2-$ 、 $NR^{L3}C(=O)NR^{L4}-$ 、 $-S(=O)-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-NR^{L3}SO_2-$ 、 $-SO_2NR^{L3}$ 、 $-NR^{L3}SO_2NR^{L4}$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 或 $-NR^{L3}$ 代替; 其中每次出现的 R^{L3} 和 R^{L4} 独立地为氢、烷基、杂烷基、芳基、杂芳基或酰基; 或脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分; 且每次出现的 R^{L1} 和 R^{L2} 独立地为氢、羟基、保护的羟基、氨基、保护的氨基、硫代、保护的硫代、卤素、氰基、异氰酸基、羧基、羧基烷基、甲酰基、甲酰氧基、叠氮基、硝基、脲基、硫脲基、氰硫基、烷氧基、芳氧基、巯基、磺酰氨基、苄酰氨基、甲苯磺酰基, 或脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分, 或其中一次或多次出现的 R^{L1} 和 R^{L2} 一起或者与 V、W、X、Y 或 Z 中的一个一起形成脂环族或杂环部分或形成芳基或杂芳基部分。

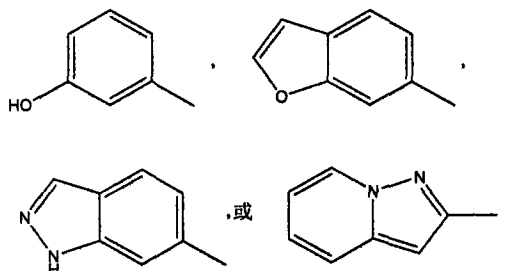
[0170] 本发明方法的一些优选实施方案为式 II 的化合物:

[0171]



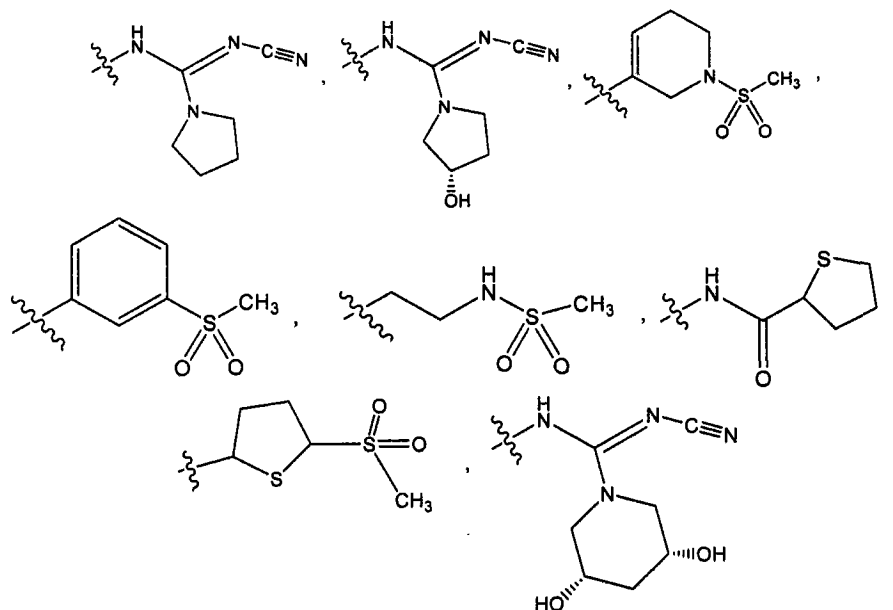
[0172] 其中 R^{28} 为以下基团之一:

[0173]



[0174] 且 R^{27} 为以下基团之一:

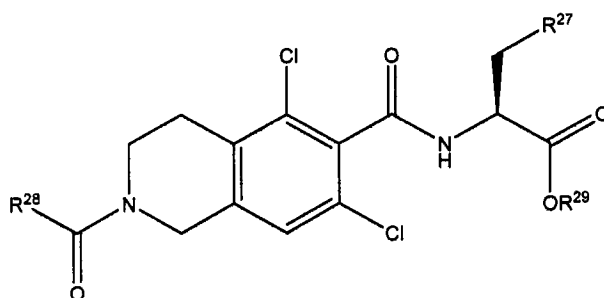
[0175]



[0176] 且 R^{29} 为氢、药学上可接受的盐或酯。

[0177] 本发明的一些优选实施方案为式 II' 的化合物：

[0178]

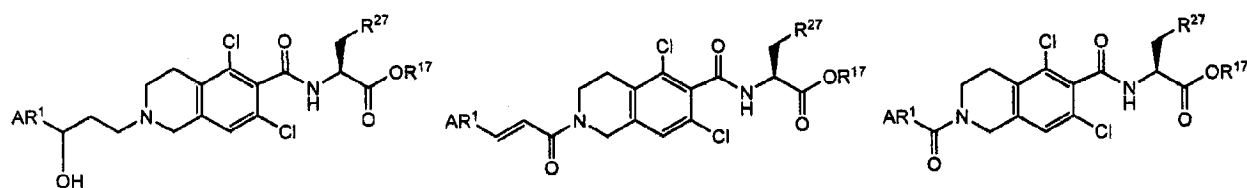


[0179] 式 II'

[0180] 其中取代基如式 II 的取代基。

[0181] 本发明方法的化合物的一些特别优选的实施方案为式 IA、IIA 和 IIB 的化合物：

[0182]

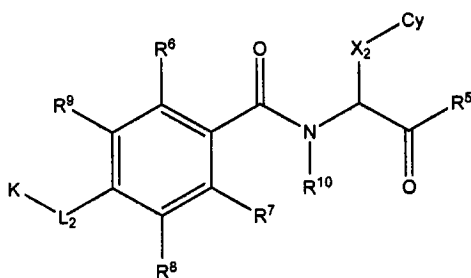


[0183] 式 IA 式 IIA 式 IIB

[0184] 其中 R^{17} 为氢、药学上可接受的盐或酯，且 R^{27} 为式 II 中的 R^{27} 。该类化合物在美国专利 No. 7314938 中公开。

[0185] ii. 本发明方法的化合物的另一类优选实施方案为式 III 的化合物：

[0186]



[0187] 式 III

[0188] 其中 Cy 为任选地被羟基 (-OH)、巯基 (-SH)、烷硫基、卤素 (例如 F、Cl、Br、I)、氧代 (=O)、硫代 (=S)、氨基、氨基烷基、脒 (-C(NH)-NH₂)、胍 (-NH₂-C(NH)-NH₂)、硝基、烷基或烷氧基取代的芳香族碳环、芳香族杂环或非芳香族碳环或杂环。在一个特别的实施方案中, Cy 为 3-5 元环。在优选的实施方案中, Cy 为任选地被羟基、巯基、卤素 (优选 F 或 Cl)、氧代 (=O)、硫代 (=S)、氨基、脒、胍、硝基、烷基或烷氧基取代的 5 或 6 元非芳香族杂环。在更优选的实施方案中, Cy 为任选地被羟基、氧代、硫代、Cl、C₁₋₄ 烷基 (优选甲基) 或 C₁₋₄ 烷酰基 (优选乙酰基、丙酰基或丁酰基) 取代的 5 元非芳香族杂环。更优选地, 非芳香族杂环包括一个或多个杂原子 (N、O 或 S), 且任选地被羟基、氧、巯基、硫、甲基、乙酰基、丙酰基或丁基取代。在特别的实施方案中, 非芳香族杂环包括至少一个氮原子, 且任选地被甲基或乙酰基取代。在特别优选的实施方案中, 非芳香族杂环选自任选地被羟基、氧代、巯基、硫代、烷基或烷酰基取代的哌啶、哌嗪、吗啉、四氢呋喃、四氢噻吩、噁唑烷、噻唑烷。在最优选的实施方案中, Cy 为选自四氢呋喃 -2- 基、噁唑烷 -5- 基、噻唑烷 -2- 基和噻唑烷 -2- 基硫酮 -5- 基和吡咯烷的非芳香族杂环。在优选的实施方案中, Cy 为任选地被羟基、巯基、卤素 (优选 F 或 Cl)、氧代 (=O)、硫代 (=S)、氨基、脒、胍、硝基、烷基或烷氧基取代的 5 或 6 元芳香族碳环或杂环。在更优选的实施方案中, Cy 为任选地被羟基、氧代、硫代、Cl、C₁₋₄ 烷基 (优选甲基) 或 C₁₋₄ 烷酰基 (优选乙酰基、丙酰基或丁酰基) 取代的 5 元芳香族碳环或杂环。更优选地, 芳香族或杂环包含一个或多个杂原子 (N、O 或 S), 且任选地被羟基、氧代、巯基、硫代、甲基、乙酰基、丙酰基或丁基取代。

[0189] 在另一优选的实施方案中, Cy 为任选地被羟基、巯基、卤素、氧、硫、氨基、脒、胍、烷基、烷氧基或酰基取代的 3-6 元碳环。在特定的实施方案中, 碳环为饱和或部分不饱和的。在特定的实施方案中, Cy 为选自环丙基、环丙烯基、环丁基、环丁烯基、环戊基、环戊烯基、环己基或环己烯基的碳环。

[0190] X₂ 为任选地具有被 N、O、S、SO 或 SO₂ 替代的一个或多个碳原子并且任选地被羟基、巯基、卤素、氨基、氨基烷基、硝基、氧代或硫代取代的 C₁₋₅ 二价烃连接基。在优选的实施方案中, X₂ 具有至少一个碳原子。替代和取代可在烃链内或一端或两端形成酰胺部分 (-NRC(=O)- 或 -C(=O)NR-)。X 还是磺酰胺 (-NRSO₂- 或 -SO₂NR)、酰基、醚、硫醚或胺。在特别优选的实施方案中, X₂ 为 -CH₂-NR¹⁰-C(O)-, 其中其羰基 -C(O)- 部分邻近 (即共价结合) Cy, 且 R¹⁰ 为烷基, 如甲基, 或更优选地为 H。

[0191] K 为任选地被羟基、巯基、卤素、氧代、硫代、炔、卤素取代的炔、氨基、脒、胍、氰基、硝基、烷氧基或酰基取代的碳环或杂环。在特别的实施方案中, K 为任选地被卤素或羟基取代的芳基或杂芳基。在特别优选的实施方案中, K 为被卤素 (优选 Cl) 或羟基、优选在间位取代的苯基、呋喃 -2- 基、噻吩 -2- 基、苯基。

[0192] L_2 为任选地具有被 N、O、S、SO 或 SO_2 替代的一个或多个碳原子并且任选地被羟基、卤素、氧代或硫代取代的二价烃；或烃的三个碳原子被氨基酸残基代替。 L_2 的长度优选小于 10 个原子，更优选 5 个或更少，最优选 5 或 3 个原子。在特别的实施方案中， L_2 为 $-CH=CH-C(O)-NR^{10}-CH_2-$ 、 $-CH_2-NR^{10}-C(O)-$ 、 $-C(O)-NR^{10}-CH_2-$ 、 $-CH(OH)-(CH_2)_2-$ 、 $-(CH_2)_2-CH(OH)-$ 、 $-(CH_2)_3-$ 、 $-C(O)-NR^{10}-CH(R_7)-C(O)-NR^{10}-$ 、 $-NR^{10}-C(O)-CH(R^{16})-NR^{10}-C(O)-$ 、 $-CH(OH)-CH_2-O-$ 或 $-CH(OH)-CF_2-CH_2-$ ，其中各 R^{10} 独立地为 H 或烷基，且 R^{16} 为氨基酸侧链。优选的氨基酸侧链包括非天然存在的侧链，例如苯基，或天然存在的侧链。优选的侧链为 Phe、Tyr、Ala、Gln 和 Asn 的侧链。在优选的实施方案中， L_2 为 $-CH=CH-C(O)-NR^{10}-CH_2-$ ，其中其 $-CH=CH-$ 部分邻近（即共价结合）K。在其他优选实施方案中， L_2 为 $-CH_2-NR^{10}-C(O)-$ ，其中其亚甲基部分（ $-CH_2-$ ）邻近 K。

[0193] R^5 为 H、OH、氨基、O- 碳环或任选地被氨基、碳环、杂环取代的烷氧基，或药学上可接受的盐或酯。在优选的实施方案中， R^5 为 H、苯基或任选地被碳环（例如苯基）取代的 C_{1-4} 烷氧基。在特定的实施方案中， R^5 为 H。在另一特定的实施方案中， R^5 为甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、异丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基、苯氧基或苄氧基。在又另一特定的实施方案中， R^5 为 NH_2 。在特别优选的实施方案中， R^5 为乙氧基。在另一特别优选的实施方案中， R^5 为异丁氧基。在另一特别优选的实施方案中， R^5 为被氨基取代的烷氧基，例如 2-氨基乙氧基、N-吗啉代乙氧基、N,N-二烷基氨基乙氧基、季铵羟基烷氧基（例如三甲基铵羟基乙氧基）。

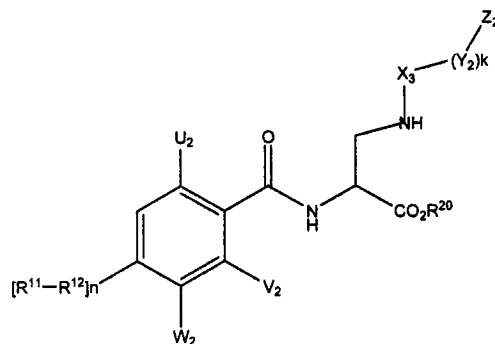
[0194] R^{6-9} 独立地为 H、羟基、巯基、卤素、氰基、氨基、脘、胍、硝基或烷氧基；或 R^7 和 R^8 一起形成任选地被羟基、卤素、氧代、硫代、氨基、脘、胍或烷氧基取代的稠合的碳环或杂环。在特别的实施方案中， R^6 和 R^7 独立地为 H、F、Cl、Br 或 I。在另一特别的实施方案中， R^8 和 R^9 均为 H。在另一特别的实施方案中， R^6 和 R^7 中的一个为卤素，而另一个为氢或卤素。在特别优选的实施方案中， R^7 是 Cl 而 R^6 、 R^8 和 R^9 各为 H。在另一特别优选的实施方案中， R^6 和 R^7 均为 Cl 而 R^8 和 R^9 均为 H。

[0195] R^{10} 为 H 或任选地被碳环或杂环取代的烃链。在优选的实施方案中， R^{10} 为 H 或烷基，如甲基、乙基、丙基、丁基、异丁基、仲丁基或叔丁基。在特别的实施方案中， R^{10} 为 H。

[0196] 美国专利 No. 6667318、No. 6872735 和 No. 6803384 公开了式 III 类型的化合物。

[0197] iii. 本发明方法的进一步优选的实施方案是式 IV 的化合物：

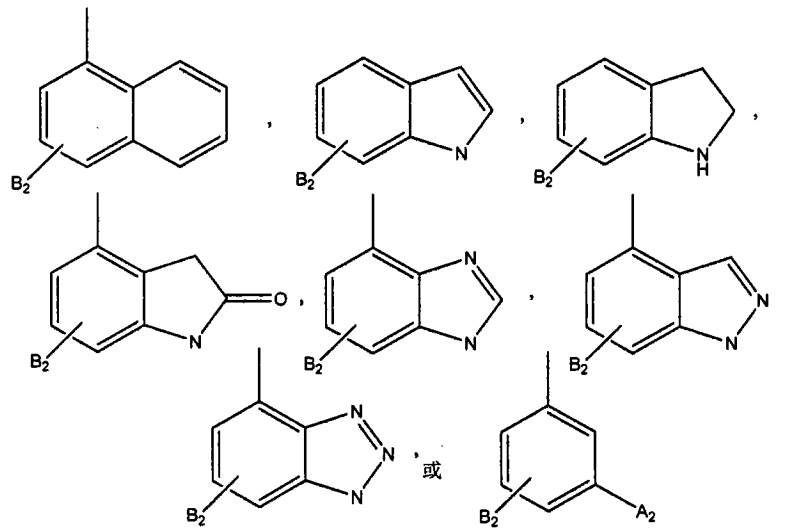
[0198]



[0199] 式 IV

[0200] 其中 R^{11} 为下式的基团

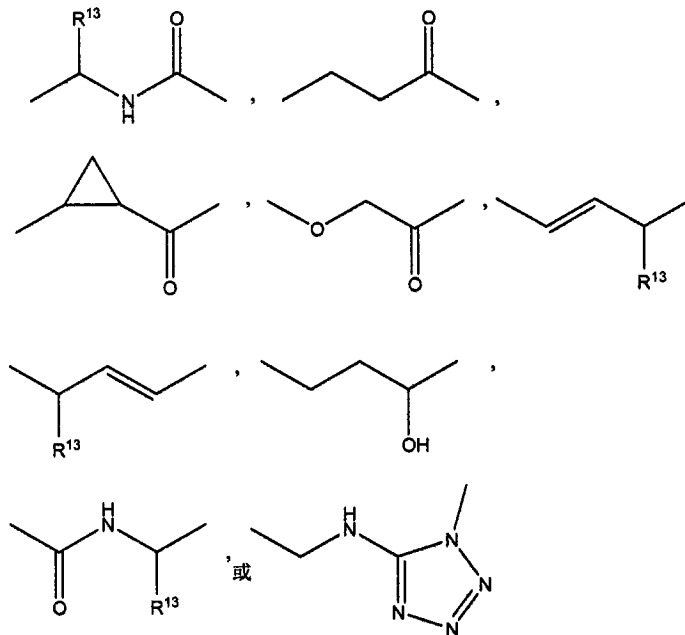
[0201]



[0202] 其中A为氢、羟基、氨基或卤素,且B为氨基、羧基、氢、羟基、氰基、三氟甲基、卤素、低级烷基或低级烷氧基;

[0203] R^{12} 为下式的基团:

[0204]



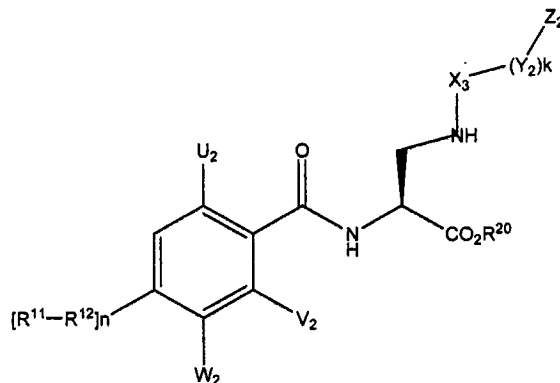
[0205] 其中 R^{13} 为氢、羧基或低级烷基; n 为 0 或 1; U_2 、 V_2 和 W_2 独立地为氢、卤素或低级烷基,条件是 U_2 和 V_2 不均为氢; X_3 为羰基、苯基取代的低级亚烷基、亚氨基、取代的亚氨基或磺酰基; Y_2 为低级亚烷基,其可被一个或多个氨基、取代的氨基、低级烷基或环状低级烷基取代,或 Y_2 为低级亚烯基或低级亚烷基硫基;

[0206] k 为 0 或 1; 当 k 为 1 时, Z_2 为氢、低级烷基硫基、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、氨基; 当 k 为 0 或 1 时, Z_2 为 1-金刚烷基、二苯基甲基、3-[[(5-氯吡啶-2-基) 氨基] 羰基] 吡嗪-2-基、羟基、苯基甲氧基、2-氯-4-[[[(3-羟基苯基) 甲基] 氨基] 羰基] 苯基、[2,6-二氯苯基] 甲氧基] 苯基; 此外,当 k 为 0 或 1 时, Z_2 可以为含 0 至 3 个相同或不同杂原子的环烷基或芳基,或为含 2 个或 3 个环的稠环系统,这些环独立地为含 0 至 3 个相同或不同杂原子的环烷基或芳基,任何环均可以是未取代的,或被卤素、氰基、氨基、取代的氨基、氨基磺酰基、硝

基、氧代、羟基、芳基、芳氧基、未取代的低级烷基、卤素取代的低级烷基、低级烷氧基取代的低级烷基、低级烷氧基、低级烷基磺酰基、低级烷硫基、乙酰基、氨基羰基、胍基、羧基、烷氧羰基、乙酰氧基中的至少一个取代,或还被氨基低级烷基取代;且 R^{20} 为氢、药学上可接受的盐或酯。

[0207] 式 IV 的化合物的一个实施方案具有式 IV' 中所示的立体化学:

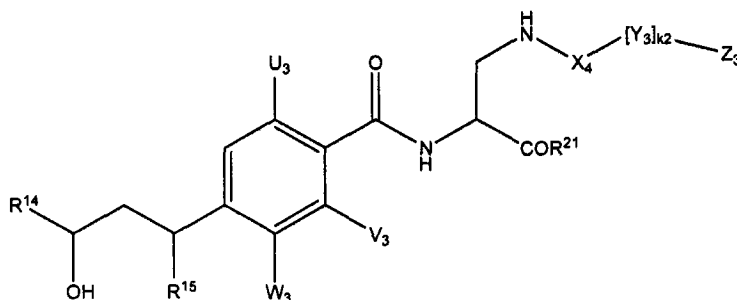
[0208]



[0209] 式 IV'

[0210] iv. 本发明方法的化合物的另一组优选实施方案为式 V 的化合物:

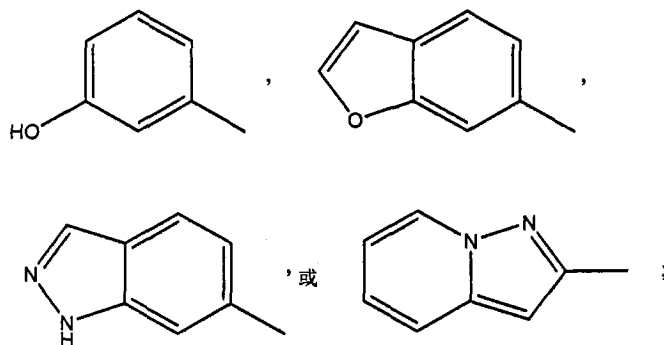
[0211]



[0212] 式 V

[0213] 其中 R^{14} 为下式的基团:

[0214]



[0215] 其中 R^{15} 为氢、羧基或低级烷基; U_3 、 V_3 和 W_3 独立地为氢、卤素;或者 U_3 、 V_3 和 W_3 为低级烷基,条件是 U_3 和 V_3 不均为氢; X_4 为羰基、苯基取代的低级亚烷基、亚氨基、取代的亚氨基(包括氰基)或磺酰基; Y_3 为低级亚烯基、低级亚烷基硫基,或为低级亚烷基,其可被氨基、乙酰氨基或环状低级烷基取代;

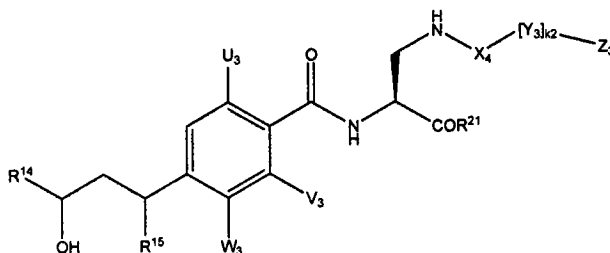
[0216] k_2 为 0 或 1;当 k_2 为 1 时, Z 氢、低级烷硫基、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 或氨基;当 k_2 为 0 或

1 时, Z_3 为 1-金刚烷基、二苯基甲基、3-[[[5-氯吡啶-2-基)氨基]羰基]吡嗪-2-基; 当 k_2 为 0 或 1 时, Z 可以为含 0 至 3 个相同或不同杂原子的环烷基或芳基, 或为含 2 个或 3 个环的稠环系统, 这些环独立地为含 0 至 3 个相同或不同杂原子的环烷基或芳基, 任何环均可以是未取代的, 或被卤素、氰基、氨基、取代的氨基、氨基磺酰基、硝基、氧代、羟基、芳基、芳氧基、未取代的低级烷基、卤素取代的低级烷基、低级烷氧基取代的低级烷基、低级烷氧基、羧基、烷氧羰基或乙酰氧基中的至少一个取代; 且

[0217] R^{21} 为氢、其药学上可接受的盐或酯。

[0218] 式 V 的化合物的一个优选实施方案具有式 V' 所示的立体化学:

[0219]

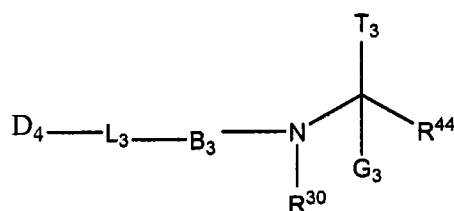


[0220] 式 V'

[0221] 美国专利 No. 7217728、No. 6331640、No. 6515124 和 No. 6803384 中公开了式 IV 和 V 类型的其他化合物。

[0222] v. 本发明方法的另一类优选化合物由式 VI 表示

[0223]



[0224] 式 VI

[0225] 其中 D_4 为单环、双环或三环饱和、不饱和或芳香族环, 各环在环中具有 5、6 或 7 个原子, 其中环中的原子为碳或选自氮、氧和硫的 1 至 4 个杂原子, 其中任何碳或硫环原子任选地可被氧化, 各环被 0-3 个 R^{31} 取代;

[0226] L_3 为具有下面结构之一的二价连接基团

[0227] $-L^3-L^2-L^1-$,

[0228] $-L^4-L^3-L^2-L^1-$ 和

[0229] $-L^5-L^4-L^3-L^2-L^1-$,

[0230] 其中

[0231] L^1 为氧 (-O-), $S(O)_s$, $C(=O)$, CR^{32} , R^{32} , $CR^{32}het$, NR^{30} 或 N,

[0232] L^2 为氧 (-O-), $S(O)_s$, $C(=O)$, $C(=N-O-R^{33})$, $CR^{34}R^{34'}$, CR^{34} , $het NR^{30}$ 或 N,

[0233] L^3 为氧 (-O-), $S(O)_s$, $C(=O)$, $C(=N-O-R^{33})$, $CR^{35}R^{35'}$, CR^{35} , $het NR^{30}$ 或 N,

[0234] L^4 不存在或为氧 (-O-), $S(O)_s$, $C(=O)$, $C(=N-O-R^{33})$, $CR^{36}R^{36'}$, CR^{36} , NR^{30} 或 N,

[0235] L^5 不存在或为氧 (-O-), $S(O)_s$, $C(=O)$, $CR^{37}R^{37'}$, CR^{37} , NR^{30} 或 N, 条件是 L^1-L^3 中仅有一个可为 het, 且当 L^1-L^3 中的一个为 het 时, 其他的 L^1-L^5 可以不存在,

[0236] 其中

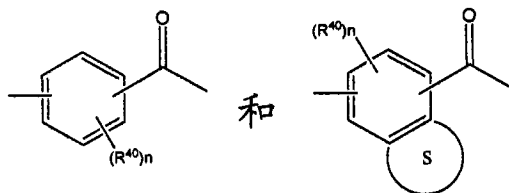
[0237] R^{32} 、 $R^{32'}$ 、 R^{34} 、 $R^{34'}$ 、 R^{35} 、 $R^{35'}$ 、 R^{36} 、 $R^{36'}$ 、 R^{37} 和 $R^{37'}$ 各独立地为 R^{38} 、 R^{39} 或 U-Q-V-W,

[0238] 任选地, R^{24} 和 $R^{34'}$ 分别或一起与 B_3 通过 B 上的取代基 RP 可形成饱和、不饱和或芳香族稠环, 该稠环的环中含 5、6 或 7 个原子且任选地含有选自 O、S 和 N 的 1-3 个杂原子, 其中任何 S 或 N 任选地可被氧化;

[0239] 任选地, R^{35} 和 $R^{35'}$ 分别或一起以及 R^{36} 和 $R^{36'}$ 分别或一起与 D_3 通过 D_3 上的取代基 R^{31} 可形成饱和、不饱和或芳香族稠环, 该稠环的环中含有 5、6 或 7 个原子且任选地含有选自 O、S 和 N 的 1-3 个杂原子, 其中任何 S 或 N 任选地可被氧化;

[0240] 还任选地, L^1-L^5 中的各 $R^{32}-R^{37}$ 、 NR^{30} 或 N 与 L^1-L^5 中的其他任何 $R^{32}-R^{37}$ 、 NR^{30} 或 N 一起可形成 5、6 或 7 元碳环或杂环, 其为饱和、不饱和或芳香族的, 任选地含有选自 N、O 和 S 的 1-3 个另外的杂原子, 其中任何碳或硫环原子任选地可被氧化, 各环被 0-3 个 R^{31} 取代; 且其中 s 为 0-2; B 选自以下基团:

[0241]



[0242] 其中 \textcircled{s} 为含有 5、6 或 7 个原子的稠合杂环或碳环, 该环为不饱和的、部分饱和的或芳香族的, 杂原子选自 1-3 个 O、S 和 N,

[0243] Y_3 为 CH 和 NR^{30} ; n 为 0、1、3 或 3;

[0244] G_3 为氢或 C_1-C_6 烷基, 任选地 G 与 T 一起可形成任选地被 -V-W 取代的 C_3-C_6 环烷基;

[0245] T_3 以下基团之一:

[0246] 天然存在的 α -氨基酸侧链,

[0247] 和 $U_4-Q_4-V_4-W_4$;

[0248] U_4 为任选地被取代的具有以下结构之一的二价基团:

[0249] C_1-C_6 烷基、 C_0-C_6 烷基 -Q、 C_2-C_6 烯基 -Q 和 C_2-C_6 炔基 -Q, 其中任何烷基、烯基或炔基上的取代基为 1-3 个 R^{38} ;

[0250] Q_4 不存在或为

[0251] $-O-$ 、 $-S(O)_s-$ 、 $-SO_2-N(R^{30})-$ 、 $-N(R^{30})-$ 、 $-N(R^{30})-C(=O)-$ 、 $-N(R^{30})-C(=O)-N(R^{30})-$ 、

[0252] $-N(R^{30})-C(=O)-O-$ 、 $-N(R^{30})-SO_2-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=O)-O-$ 、 $-het-$ 、 $-C(=O)-N(R^{30})-$ 、

[0253] $-O-C(=O)-N(R^{30})-$ 、 $-PO(OR^{30})O-$ 或 $-P(O)O-$;

[0254] 其中

[0255] s 为 0-2 且

[0256] het 为单环或双环的 5、6、7、9 或 10 元杂环, 各环含有选自 N、O 和 S 的 1-4 个杂原子, 其中杂环可以是饱和的、部分饱和或芳香族的, 且任何 N 或 S 任选地可被氧化, 杂环被 0-3 个 R^{41} 取代;

[0257] V_4 不存在或为任选地被取代的具有以下结构之一的二价基团： C_1-C_6 烷基、 C_3-C_8 环烷基、 C_0-C_6 烷基- C_6-C_{10} 芳基和 C_0-C_6 烷基-het；

[0258] 其中任何烷基上的取代基为 1-3 个 R^{38} ，且任何芳基或 het 上的取代基为 1-3 个 R^{31} ；

[0259] W_4 为 氢、 OR^{33} 、 SR^{42} 、 $NR^{30}R^{30}$ 、 $NH-C(=O)-O-R^{43}$ 、 $NH-C(=O)-NR^nR^n$ 、 $NH-C(=O)-R^{43}$ 、 $NH-SO_2-R^{37}$ 、 $NH-SO_2-NR^{30}R^{30}$ 、 $NH-SO_2-NH-C(=O)-R^{43}$ 、 $NH-C(=O)-NH-SO_2-R^{37}$ 、 $C(=O)-NH-C(=O)-O-R^{43}$ 、 $C(=O)-NH-C(=O)-R^{43}$ 、 $C(=O)-NH-C(=O)-NR^{30}R^{30}$ 、 $C(=O)-NH-SO_2-R^{37}$ 、 $C(=O)-NH-SO_2-NR^{30}R^{30}$ 、 $C(=S)-NR^{30}R^{30}$ 、 SO_2-R^{37} 、 SO_2-O-R^{37} 、 $SO_2-NR^{37}R^{37}$ 、 $SO_2-NH-C(=O)-O-R^{43}$ 、 $SO_2-NH-C(=O)-NR^{30}R^{30}$ 、 $SO_2NH-C(=O)-R^{43}$ 、 $O-C(=O)-NR^{30}R^{30}$ 、 $O-C(=O)-R^{43}$ 、 $O-C(=O)-NH-C(=O)-R^{43}$ 、 $O-C(=O)-NH-SO_2R^{46}$ 或 $O-SO_2-R^{37}$ 、

[0260] R^{44} 为 $C(=O)-R^{45}$ 、 $C(=O)-H$ 、 $CH_2(OH)$ 或 $CH_2O-C(=O)-C_1-C_6$ 烷基；

[0261] R^{38} 为 $R^{38'}$ 或被 1-3 个 $R^{38'}$ 取代的 $R^{38''}$ ；其中

[0262] $R^{38'}$ 为氢、卤素 (F、Cl、Br、I)、氰基、异氰酸基、羧基、羧基- C_1-C_{11} 烷基、氨基、氨基- C_1-C_8 烷基、氨基羰基、甲酰氨基、氨基甲酰基、氨基甲酰氧基、甲酰基、甲酰氧基、叠氮基、硝基、咪唑基、脲基、硫脲基、氰硫基、羟基、 C_1-C_6 烷氧基、巯基、磺酰氨基、het、苯氧基、苯基、苄酰氨基、甲苯磺酰基、吗啉代、吗啉基、哌嗪基、哌啶基、吡咯啉基、咪唑基或吡啶基；

[0263] $R^{38''}$ 为 C_0-C_{10} 烷基-Q- C_0-C_6 烷基、 C_0-C_{10} 烯基-Q- C_0-C_6 烷基、 C_0-C_{10} 炔基-Q- C_0-C_6 烷基、 C_3-C_{11} 环烷基-Q- C_0-C_6 烷基、 C_3-C_{10} 环烯基-Q- C_0-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷基- C_6-C_{12} 芳基-Q- C_0-C_6 烷基、 C_6-C_{10} 芳基- C_1-C_6 烷基-Q- C_0-C_6 烷基、 C_0-C_6 烷基-het-Q- C_0-C_6 烷基、 C_0-C_6 烷基-Q-het- C_0-C_6 烷基、het- C_0-C_6 烷基-Q- C_0-C_6 烷基、 C_0-C_6 烷基-Q- C_6-C_{12} 芳基或-Q- C_1-C_6 烷基；

[0264] R^{43} 为氢和取代或未取代的 C_1-C_{10} 烷基、 C_2-C_{10} 烯基、 C_2-C_{10} 炔基、 C_3-C_{11} 环烷基、 C_3-C_{10} 环烯基、 C_1-C_6 烷基- C_6-C_{12} 芳基、 C_6-C_{10} 芳基- C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷基-het、het- C_1-C_6 烷基、 C_6-C_{12} 芳基或 het，

[0265] 其中任何烷基、烯基或炔基上的取代基为 1-3 个 R^{38} ，且任何芳基或 het 上的取代基为 1-3 个 R^{31} ；

[0266] R^{31} 为 R^{40} 或 R^{41} ；

[0267] R^{41} 为 OH、 OCF_3 、 OR^{43} 、 SR^{42} 、卤素 (F、Cl、Br、I)、CN、异氰酸基、 NO_2 、 CF_3 、 C_0-C_6 烷基- $NR^{30}R^{30}$ 、 C_0-C_6 烷基- $C(=O)-NR^{30}R^{30}$ 、 C_0-C_6 烷基- $C(=O)-R^{38}$ 、 C_1-C_8 烷基、 C_1-C_8 烷氧基、 C_2-C_8 烯基、 C_2-C_8 炔基、 C_3-C_6 环烷基、 C_3-C_6 环烯基、 C_1-C_6 烷基-苯基、苯基- C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷基氧羰基、苯基- C_0-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷基-het、het- C_1-C_6 烷基、 SO_2 -het、- $O-C_6-C_{12}$ 芳基、- $SO_2-C_6-C_{12}$ 芳基、- $SO_2-C_1-C_6$ 烷基或 het，

[0268] 其中任何烷基、烯基或炔基任选地可被选自 OH、卤素 (F、Cl、Br、I)、硝基、氨基和氨基羰基的 1-3 个基团取代，且任何芳基或 het 上的取代基为 1-2 个羟基、卤素 (F、Cl、Br、I)、 CF_3 、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、硝基和氨基；

[0269] R^{42} 为 S- C_1-C_6 烷基、 $C(=O)-C_1-C_6$ 烷基、 $C(=O)-NR^{30}R^{30}$ 、 C_1-C_6 烷基、卤素 (F、Cl、Br、I)- C_1-C_6 烷基、苄基或苯基；

[0270] R^{30} 为 R^{43} 、 $NH-C(=O)-O-R^{43}$ 、 $NH-C(=O)-R^{43}$ 、 $NH-C(=O)-NHR^{43}$ 、 $NH-SO_2-R^{46}$ 、 $NH-SO_2NH-C(=O)-R^{43}$ 、 $NH-C(=O)-NH-SO_2-R^{37}$ 、 $C(=O)-O-R^{43}$ 、 $C(=O)-R^{43}$ 、 $C(=$

$O)-NHR^{43}$ 、 $C(=O)-NH-C(=O)-O-R^{43}$ 、 $C(=O)-NH-C(=O)-R^{43}$ 、 $C(=O)-NH-SO_2-R^{46}$ 、 $C(=O)-NH-SO_2NHR^{37}$ 、 SO_2-R^{37} 、 SO_2-O-R^{37} 、 $SO_2-N(R^{43})_2$ 、 $SO_2NH-C(=O)-O-R^{43}$ 、 $SO_2NH-C(=O)-O-R^{43}$ 或 $SO_2NH-C(=O)-R^{43}$;

[0271] $R^{30'}$ 为氢、羟基和取代或未取代的 C_1-C_{11} 烷基、 C_1-C_{11} 烷氧基、 C_2-C_{10} 烯基、 C_2-C_{10} 炔基、 C_3-C_{11} 环烷基、 C_3-C_{10} 环烯基、 C_1-C_6 烷基- C_6-C_{12} 芳基、 C_6-C_{10} 芳基- C_1-C_6 烷基、 C_6-C_{10} 芳基- C_0-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷基-het、het- C_1-C_6 烷基、 C_6-C_{12} 芳基、het、 C_1-C_6 烷基羰基、 C_1-C_8 烷氧羰基、 C_3-C_8 环烷基羰基、 C_3-C_8 环烷氧羰基、 C_6-C_{11} 芳氧基羰基、 C_7-C_{11} 芳基烷氧羰基、杂芳基烷氧羰基、杂芳基烷基羰基、杂芳基羰基、杂芳基烷基磺酰基、杂芳基磺酰基、 C_1-C_6 烷基磺酰基或 C_6-C_{10} 芳基磺酰基, 其中任何烷基、烯基或炔基上的取代基为 1-3 个 R^{38} , 且任何芳基、het 或杂芳基上的取代基为 1-3 个 R^{31} ;

[0272] R^{30} 和 $R^{30'}$ 与它们所连接的共同的氮一起可形成任选地被取代的具有以下结构之一的杂环: 吗啉基、哌嗪基、硫代吗啉基、吡咯烷基、咪唑烷基、二氢吡啶基、异二氢吡啶基、1,2,3,4-四氢-喹啉基, 1,2,3,4-四氢-异喹啉基、噻唑烷基或氮杂二环壬基, 其中取代基为 1-3 个 R^{38} ;

[0273] R^{33} 为氢和取代或未取代的 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷基羰基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 C_3-C_8 环烷基或苯甲酰基, 其中任何烷基上的取代基为 1-3 个 R^{38} , 且任何芳基上的取代基为 1-3 个 R^{40} ;

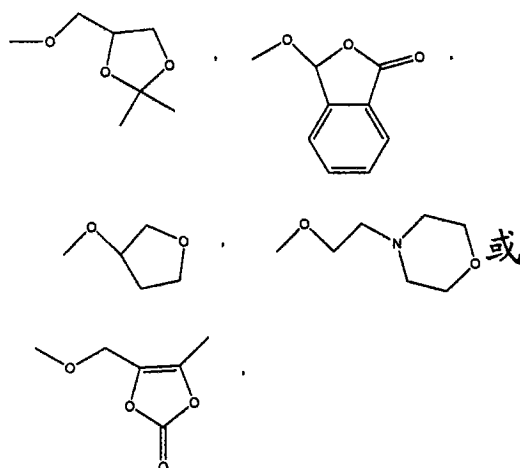
[0274] R^{40} 为 OH、卤素 (F、Cl、Br、I)、CN、异氰酸基、 OR^{43} 、 SR^{42} 、 SOR^{43} 、 NO_2 、 CF_3 、 R^{43} 、 $NR^{30}R^{30'}$ 、 $NR^{30}C(=O)-O-R^{43}$ 、 $NRC(=O)-R^{43}$ 、 C_0-C_6 烷基- SO_2-R^{43} 、 C_0-C_6 烷基- $SO_2NR^{30}R^{30'}$ 、 $C(=O)-R^{43}$ 、 $O-C(=O)-R^{43}$ 、 $C(=O)-O-R^{43}$ 或 $C(=O)-NR^{30}R^{30'}$, 其中任何烷基、烯基或炔基上的取代基为 1-3 个 R^{38} , 且任何芳基或 het 上的取代基为 1-3 个 R^{31} ;

[0275] R^{46} 为取代或未取代的 C_1-C_8 烷基、 C_2-C_8 烯基、 C_2-C_8 炔基、 C_3-C_8 环烷基、 C_3-C_6 环烯基、 C_0-C_6 烷基-苯基、苯基- C_0-C_6 烷基、 C_0-C_6 烷基-het 或 het- C_0-C_6 烷基,

[0276] 其中任何烷基、烯基或炔基上的取代基为 1-3 个 R^{38} , 且任何芳基或 het 上的取代基为 1-3 个 R^{31} ;

[0277] R^{45} 为取代或未取代的羟基、 C_1-C_{11} 烷氧基、 C_3-C_{12} 环烷氧基、 C_8-C_{12} 芳烷氧基、 C_8-C_{12} 芳环烷氧基、 C_6-C_{10} 芳氧基、 C_3-C_{10} 烷基羰氧基烷氧基、 C_3-C_{10} 烷氧羰氧基烷氧基、 C_3-C_{10} 烷氧羰基烷氧基、 C_5-C_{10} 环烷基羰氧基烷氧基、 C_5-C_{10} 环烷氧羰氧基烷氧基、 C_5-C_{10} 环烷氧羰基烷氧基、 C_8-C_{12} 芳氧基羰基烷氧基、 C_8-C_{12} 芳基羰氧基烷氧基、 C_8-C_{12} 芳基羰氧基烷氧基、 C_5-C_{10} 烷氧基烷基羰氧基烷氧基、 $(R^{30})(R^{30})N(C_1-C_{10} \text{ 烷氧基})-$,

[0278]

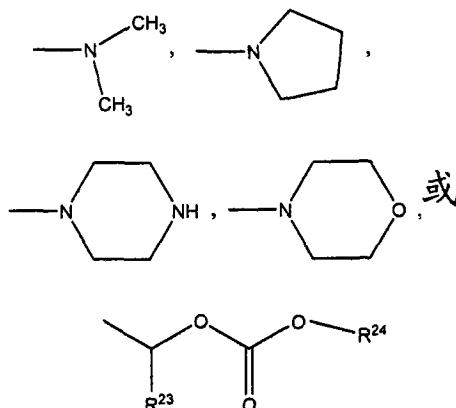


[0279] 其中任何烷基、烯基或炔基上的取代基为 1-3 个 R^{38} ，且任何芳基或 het 上的取代基为 1-3 个 R^{31} 和

[0280] 其药学上可接受的盐。

[0281] 式 I-VI 的化合物还包括药学上可接受的盐和酯，包括式 I-VI 的前药化合物，其中 R^{3A} 、 R^5 、 R^{10} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、 R^{20} 、 R^{21} 、 R^{29} 和在 R^{44} 上的羧酸酯可为低级烷基或 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{R}^{22}$ ，其中 R^{22} 为以下之一：

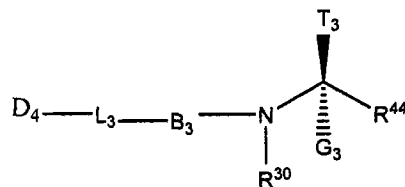
[0282]



[0283] 其中 R^{23} 为氢或甲基，且 R^{24} 为低级烷基或低级环烷基。

[0284] 式 VI 的化合物的优选实施方案具有式 VI' 所示的立体化学。

[0285]



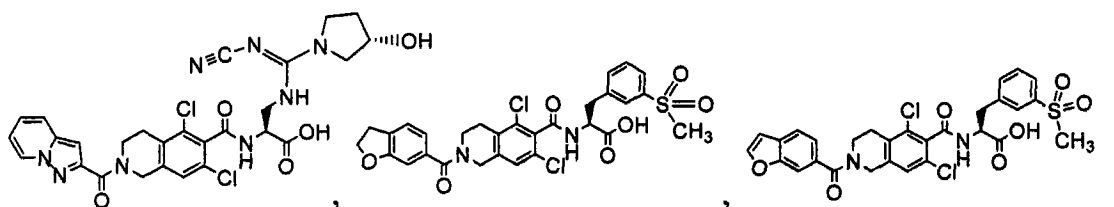
[0286] 式 VI'

[0287] 美国专利申请公布 No. 20050203135 中公开了式 VI 类型的化合物。

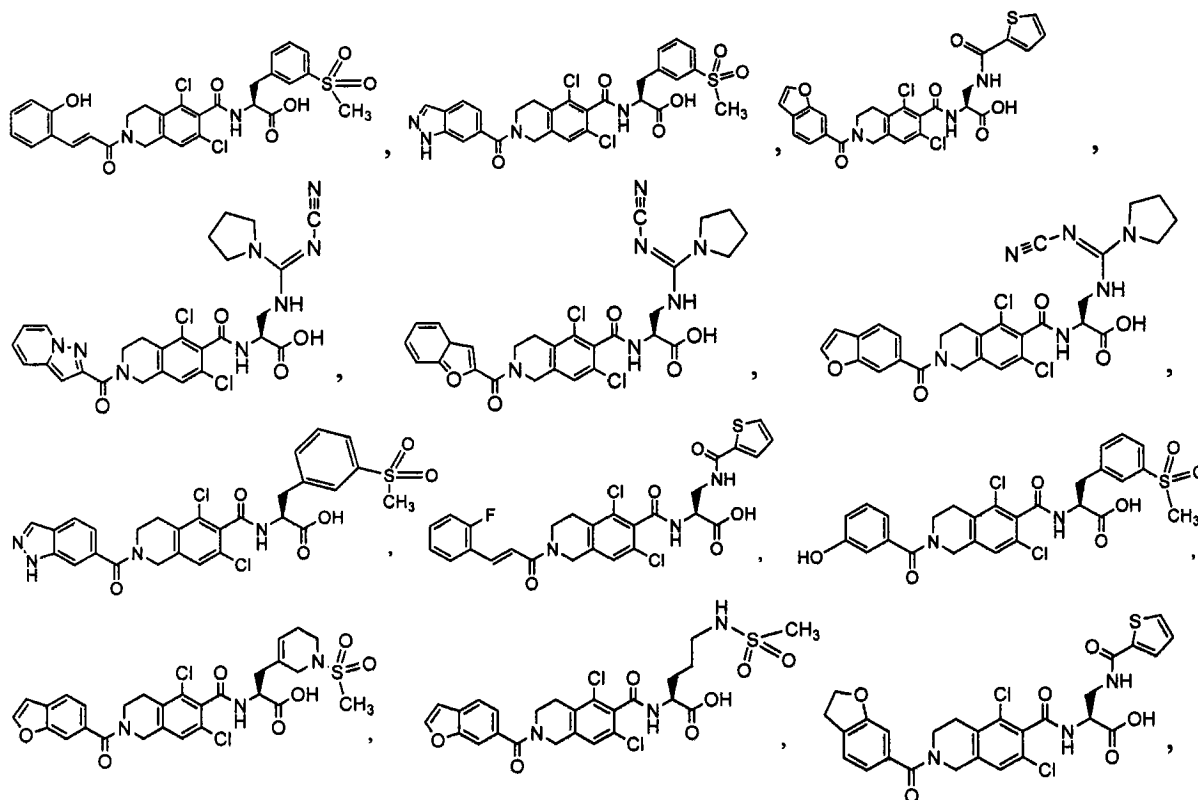
[0288] 本文描述的一些化合物可以包含一个或多个不对称中心，因此可包含各立体异构体、各非对映异构体及其任意混合物。此外，本发明的化合物可以包含双键的几何异构体，包括 Z 和 E 异构体，且可以以纯的几何异构体或其混合物存在。

[0289] 在一些优选的实施方案中，本发明的方法是使用以下化合物进行的：

[0290]



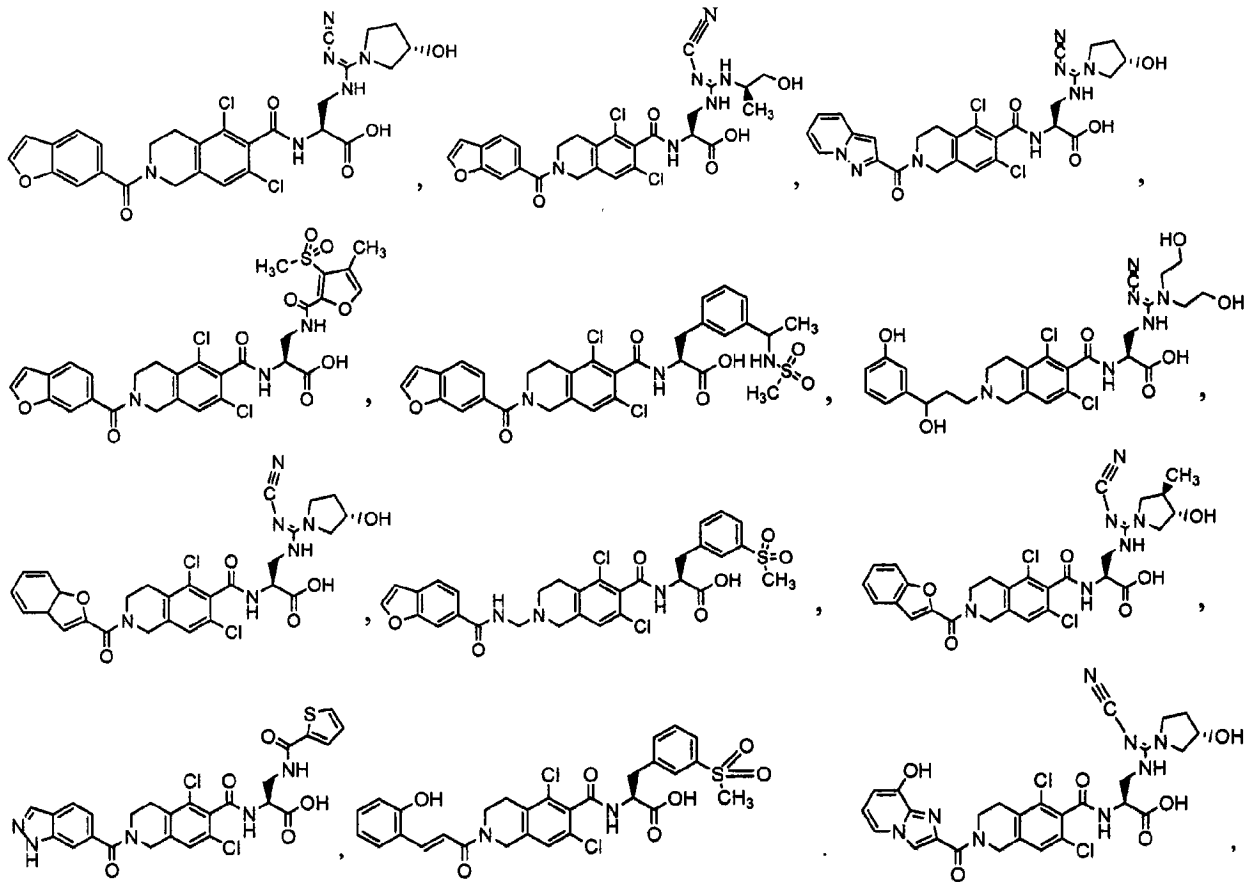
[0291]

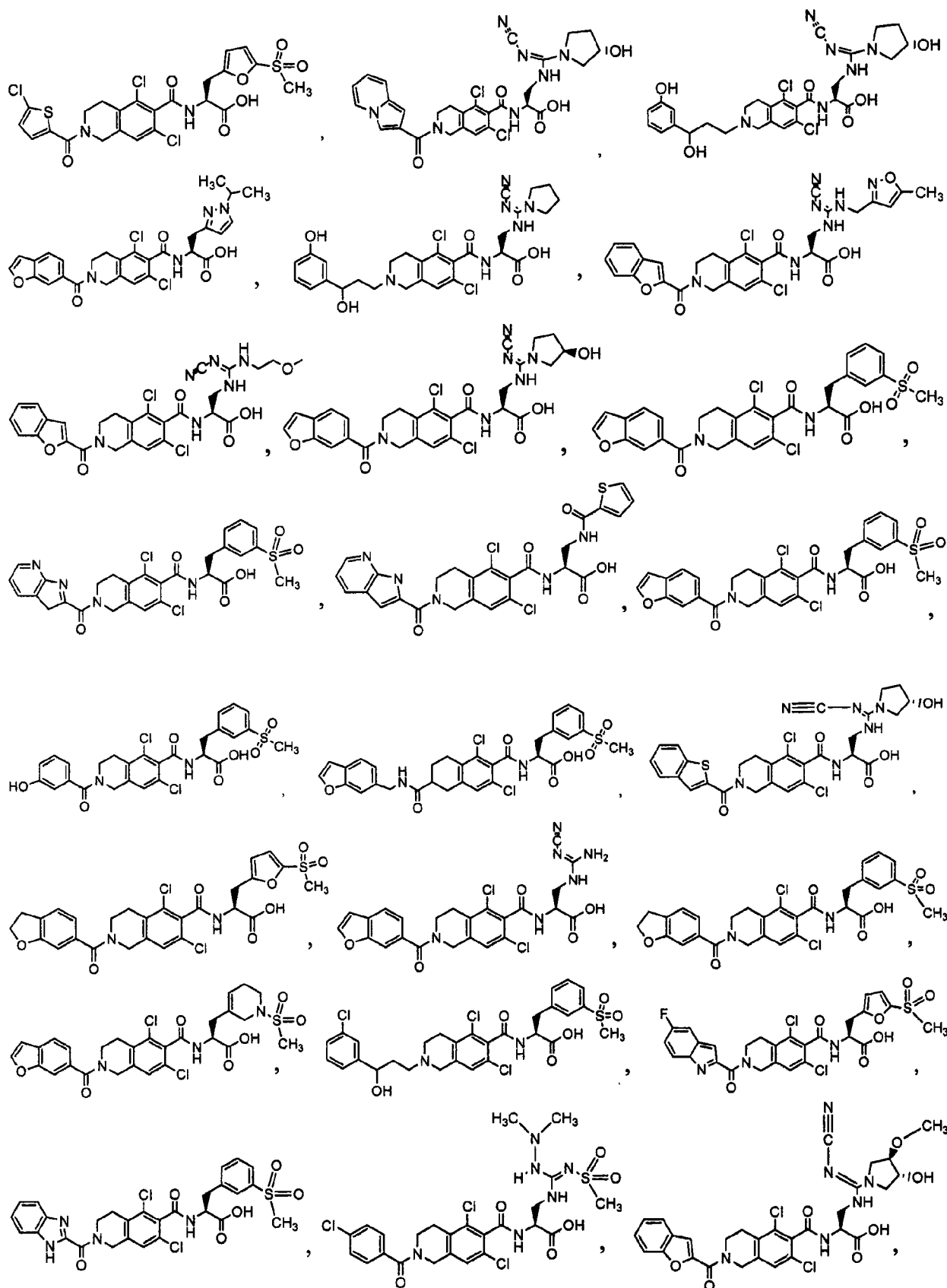


[0292] 及其药学上可接受的盐和酯。

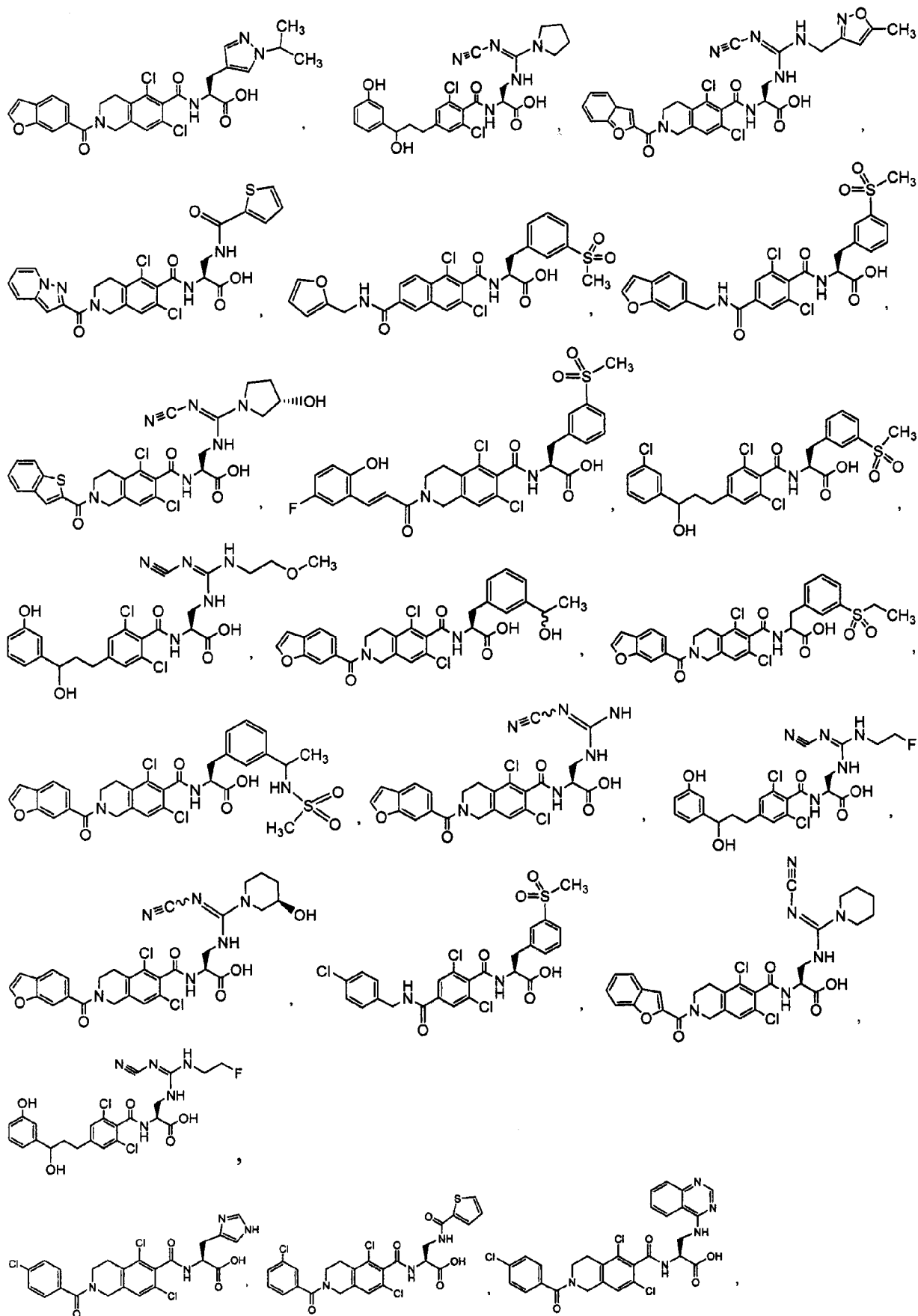
[0293] 本发明的化合物包括以下化合物：

[0294]

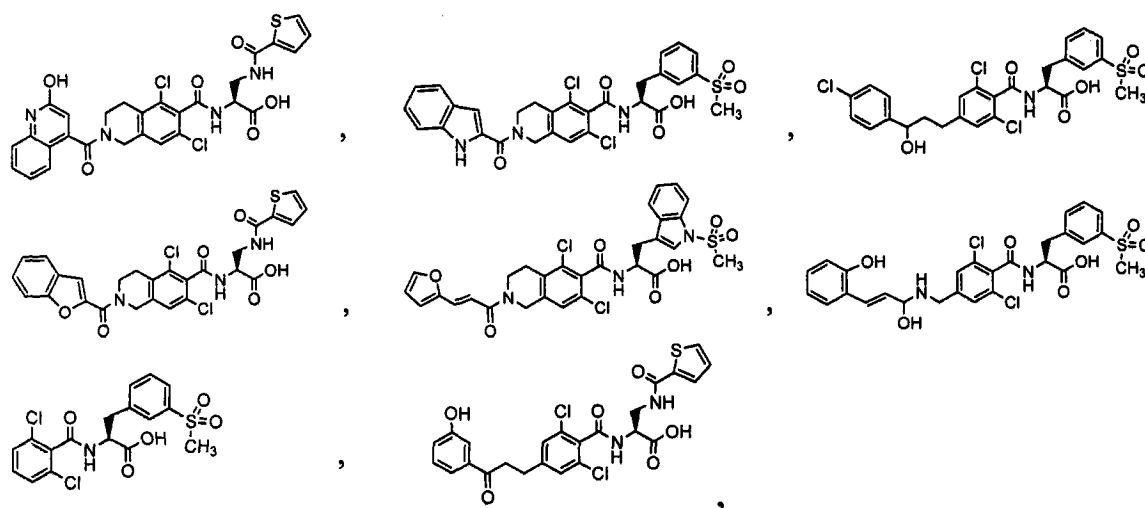




[0296]



[0299]



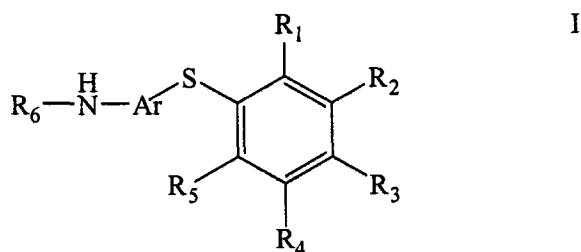
[0301] 及其药学上可接受的盐和酯。

[0302] b. 作为 LFA-1 的变构拮抗剂的示例性化合物

[0303] i. 新型对芳硫基肉桂酰胺家族可作为 LFA-1 的变构拮抗剂。参见 Liu, G. ;Link, J. T. ;Pei, Z. ;Reilly, E. B. ;Nguyen, B. ;Marsh, K. C. ;Okasinski, G. F. ;von Geldern, T. W. ;Ormes, M. ;Fowler, K. ;Gallatin, M. 2000 “Discovery of novel p-arylthio cinnamides as antagonists of leukocyte function-associated antigen-1/ intracellular adhesion molecule-1 interaction. 1. Identification of an additional binding pocket based on an anilino diaryl sulfide lead.” J. Med. Chem. 43, 4015-4030.

[0304] 本发明提供了在本发明方法中有用的式 VII 的化合物, 其在美国专利公布 No. 20080234271 中公开, 其中:

[0305]



[0306] 式 VII

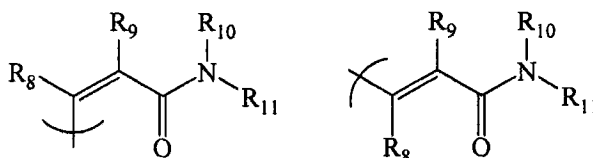
[0307] 及其药学上可接受的盐和前药,

[0308] 其中 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 和 R_5 各独立地为氢、烷基、烯基、烯氧基、炔基、醛、烷酰基、烷氧基、酰氨基、氨基、芳基、芳氧基、羧基、氰基、环烷基、醚、酯、卤素、杂环基、羟基、酮、硝基、氧代、全氟烷基、磺酰基、磺酸酯 (sulfonate)、硫代或其他含羰基的基团, R_6 为未取代的烷基、未取代的饱和环烷基、未取代的羧基烷基或未取代的杂环基烷基, 其中未取代的饱和环烷基、未取代的羧基烷基和未取代的杂环基烷基通过烷基键合到式 VII 的 NH 上, 其中未取代的羧基烷基包括支链烷基链,

[0309] 条件是 R_1 和 R_3 中的至少一个选自:

[0310] A. 选自如下定义的顺-肉桂酰胺或反-肉桂酰胺的肉桂酰胺

[0311]

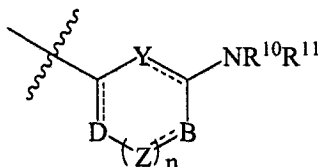


[0312] “顺-肉桂酰胺” “反-肉桂酰胺”

[0313] 其中 R_8 和 R_9 各独立地为氢、醛、烷基、烯基、炔基、烷氧基、酰氨基、氨基、芳基、羧基、氰基、环烷基、酯、醚、卤素、羟基、酮、硝基、磺酸酯、磺酰基、硫代或其他含羰基的基团；

[0314] B. 式 VII-a 的取代基：

[0315]



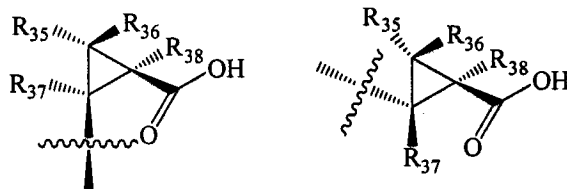
[0316] 式 VII-a

[0317] 其中 D、B、Y 和 Z 各独立地为 $-CR^{31} =$ 、 $-CR^{32}R^{33}-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-O-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-S-$ 、 $-N =$ 、或 $-NR^{34}-$ ；

[0318] n 为 0-3 的整数；且 R^{31} 、 R^{32} 、 R^{33} 和 R^{34} 各独立地为氢、烷基、羧基、羟基烷基、单烷基氨基羰基烷基、二烷基氨基羰基烷基或羧基烷基；

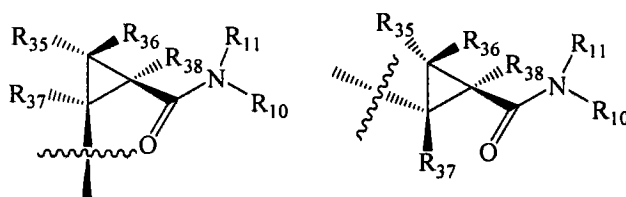
[0319] C. 选自如下定义的顺-环丙酸、反-环丙酸、顺-环丙酰胺和反-环丙酰胺的环丙基衍生物

[0320]



[0321] “顺-环丙酸” “反-环丙酸”

[0322]



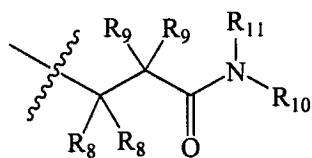
[0323] “顺-环丙酰胺” “反-环丙酰胺”

[0324] 其中 R_{35} 和 R_{36} 各独立地为氢、烷基、羧基、羟基烷基或羧基烷基，且

[0325] 其中 R_{37} 和 R_{38} 各独立地为氢、烷基、羧基烷基、单烷基氨基羰基烷基或二烷基氨基羰基烷基；

[0326] D. 式 VII-b 的取代基：

[0327]

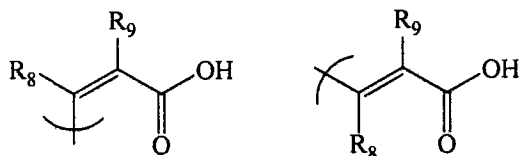


[0328] 式 VII-b

[0329] 其中 R_8 和 R_9 如上定义；

[0330] E. 式 VII-c 的肉桂酸：

[0331]



[0332] “顺 - 肉桂酸” “反 - 肉桂酸”

[0333] 式 VII-c

[0334] 其中 R_8 和 R_9 如上定义；

[0335] 其中：

[0336] R_{10} 和 R_{11} 各独立地为氢、烷酰基、烷基、烯基、炔基、烷氧基、酰氨基、芳基、芳烷基、羧基、氰基、环烷基、酯、醚、杂环基、羟基、酮、硝基、磺酰基、硫代或其他含羰基的基团，或

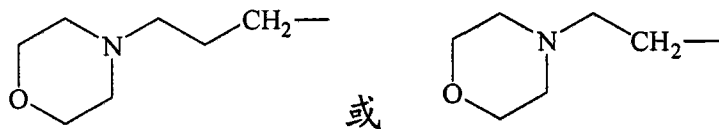
[0337] R_{10} 和 R_{11} 与 N 一起形成杂环基，其包含独立地为氢、烷基、烯基、烯氧基、炔基、醛、烷酰基、烷氧基、酰氨基、氨基、芳基、芳氧基、羧基、氰基、环烷基、醚、酯、卤素、杂环基、羟基、酮、硝基、氧代、全氟烷基、磺酰基、磺酸酯、硫代或其他含羰基的基团的至少一个取代基，或

[0338] 当 R_3 为肉桂酰胺、式 VII-a 的取代基、式 VII-b 的取代基或如上定义的环丙基衍生物时， R_1 和 R_2 和 / 或 R_4 和 R_5 连接在一起形成 5-7 元环烷基、芳基或杂环基环；或当 R_1 选自肉桂酰胺、式 VII-a 的取代基、式 VII-b 的取代基或如上定义的环丙基衍生物时， R_2 和 R_3 和 / 或 R_3 和 R_4 和 / 或 R_4 和 R_5 连接在一起形成 5-7 元环烷基、芳基或杂环基环；且

[0339] 其中 Ar 为取代的芳基或取代的杂芳基，其包含至少一个独立地为氢、烷基、烯基、烯氧基、炔基、醛、烷酰基、烷氧基、酰氨基、氨基、芳基、芳氧基、羧基、氰基、环烷基、醚、酯、卤素、杂环基、羟基、酮、硝基、氧代、全氟烷基、磺酰基、磺酸酯、硫代或其他含羰基的基团的取代基。

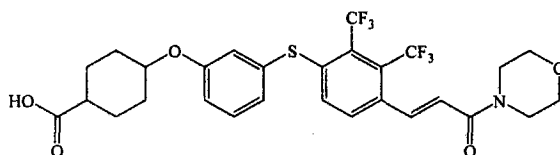
[0340] 在式 VII 的化合物的一些实施方案中， R_6 不是以下结构的未取代的杂环基烷基：

[0341]



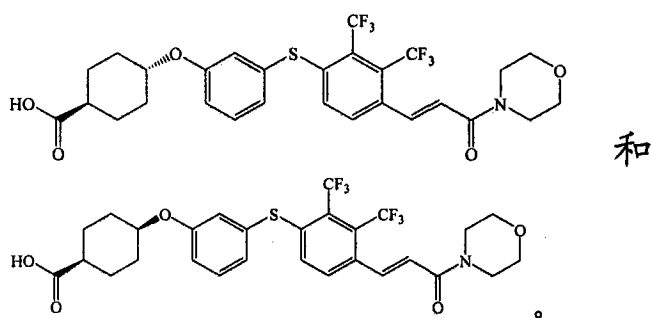
[0342] 式 VII 的一些示例性化合物包括：

[0343]



[0344] 包括它的立体异构体,例如

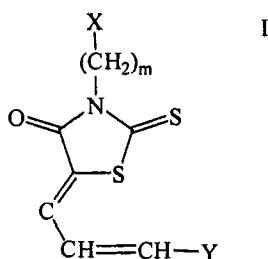
[0345]



[0346] 美国专利申请公布 No. 20040116518、20050014746、20020156314、20020132807、20080249157 和 20070066585 中公开了该类型的其他化合物。

[0347] ii. 美国专利申请公布 No. 20080108677 中公开了 LFA-1 的小分子变构拮抗剂的另一家族。本发明提供了式 VIII 的化合物及其药学上可接受的盐,其在本文描述的本发明方法中是有用的。

[0348]

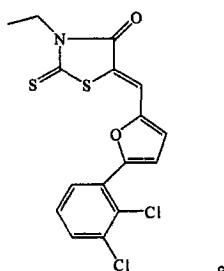


[0349] 式 VIII

[0350] 式 VIII 的化合物,其中 m 为 0、1 或 2 ;X 为 H、环烷基或苯基,其为未取代的或被一个或多个低级烷基、羟基或卤素取代基取代 ;n 为 0 或 1 ;Y 为苯基、呋喃基、吡啶或吡咯,其全部可被一个或多个独立地为低级烷基、低级烷氧基、卤素、(3,5-二甲基苯氧基)丙氧基或苯基的取代基取代,其中苯基可进一步被一个或多个卤素原子、硝基、氨基或羧基取代。

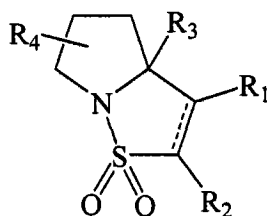
[0351] 式 VIII 的一个示例性化合物为

[0352]



[0353] iii. 美国专利申请公布 No. 2008/0242710 中公开了 LFA-1 的小分子变构拮抗剂的另一家族。另一方面,本发明提供了 3a,4,5,6-四氢-吡咯并[1,2-b]-异噻唑及其药学上可接受的盐,其中硫是二氧化物的形式,其为式 IX 的化合物,在本发明的方法中是有用的。

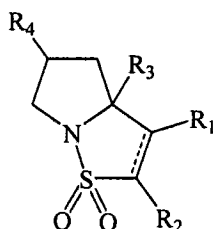
[0354]



[0355] 式 IX

[0356] 例如式 IX-a 的化合物：

[0357]



[0358] 式 IX-a

[0359] 其中虚线是键或不是键， R_1 为氢、任选地取代的烷基、烯基、炔基、环烷基、烷氧基、芳基、杂环基、羟基、SH、 SR_5 、氰基、卤素或氨基；或

[0360] 虚线不是键，且 R_1 通过双键连接到环系统上，且为氧代；

[0361] R_2 为氢，或任选地取代的环烷基、芳基或杂环基；

[0362] R_3 为氢、 $COOR_6$ 或氨基羰基，或任选地取代的烷基、烯基、炔基、芳烷基、烷氧基、环烷氧基、芳氧基或杂环氧基；

[0363] R_4 为氢、卤素、羟基、SH、任选地取代的烷基、烯基、炔基、烷氧基或烷硫基，或 R_4 为甲硅烷基例如三烷基甲硅烷基或三烷基甲硅烷氧基，例如三 (C_{1-6}) 烷基甲硅烷基（氧基）、 N_3 或氨基，或

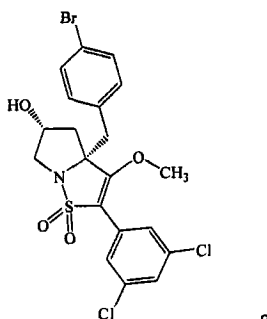
[0364] R_4 为杂环基，其包含至少一个作为杂原子的氮原子并通过该氮原子结合到式 IX 的化合物上，或

[0365] R_4 通过双键连接到环系统上并且为氧代；且

[0366] R_5 和 R_6 独立地为烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基或杂环基。

[0367] 在一些实施方案中，式 IX 的化合物为：

[0368]



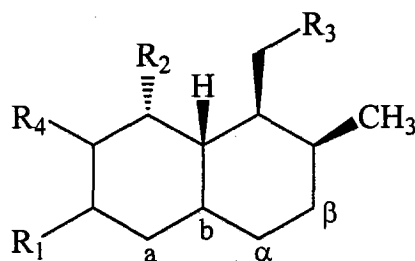
[0369] iv. 变构小分子拮抗剂包括可与 LFA-1 的 CD11a 结构域结合的抑制素 (statins)。参见 Kallen, J., Welzenbach, K., Ramage, P., Geyl, D., Kriwacki, R., Legge, G., Cottens, S., Weitz-Schmidt, G., and Hommel, U. 1999. "Structural basis for LFA-1 inhibition upon lovastatin binding to the CD11a I-domain", J. Mol. Biol., 292:1-9; 和 Weitz-Schmidt,

G., Welzenbach, K., Brinkmann, V., Kamata, T., Kallen, J., Bruns, C., Cottens, S., Takada, Y., 和 Hommel, U. 2001. Statins selectively inhibit leukocyte function antigen-1 by binding to a novel regulatory integrin site, *Nature Med.*, 7:687-692; 和 Frenette, P. S. 2001. "Locking a leukocyte integrin with statins", *N. Engl. J. Med.*, 345:1419-1421. 来自莫维诺林 (mevinolin)/ 康帕定 (compactin) 基序的分子也显示具有抗 LFA-1 的活性。参见 Welzenbach, K., Hommel, U., 和 Weitz-Schmidt, G. 2002. "Small molecule inhibitors induce conformational changes in the I domain and the I-like domain of Lymphocyte Function-Associated Antigen-1", *J. Biol. Chem.*, 277:10590-10598, 和美国专利 No. 6, 630, 492。

[0370] 公开了在本发明方法中有用的式 X 的变构 LFA-1 拮抗剂家族。参见美国专利 6818638。

[0371] 提供了可用于本发明的方法中的式 X 的化合物, 其中

[0372]



[0373] 式 X

[0374] 各 a---b 和 α --- β 独立地为单键或双键; R_1 为

[0375] H , C_{1-4} 烷基或 OR_a

[0376] R_a 为 H、任选地被 OH 或 C_{1-4} 烷氧基取代的 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基或芳基- C_{1-4} 烷基;

[0377] R_2 为 OH; $-\text{O}-\text{CO}-R_5$;

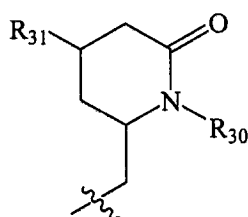
[0378] R_4 为 H 或 OR_{19} , 其中 R_{19} 为 C_{1-6} 烷基、羟基- C_{1-6} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基- C_{1-6} 烷基、芳基- C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 烷氧羰基- C_{1-4} 烷基;

[0379] R_5 为 C_{1-8} 烷基、 C_{3-7} 环烷基、 C_{3-7} 环烷基- C_{1-4} 烷基、芳基或芳基- C_{1-4} 烷基; 或 R_5 为 $-\text{O}-R_6$, 其中 R_6 为通过其羰基连接到 O 上的 α -氨基酸残基; 或 R_5 为 $-\text{CHR}_7-\text{COR}_8$, 其中 R_7 为 H、 C_{1-4} 烷基、杂 C_{1-4} 烷基、 C_{3-7} 环烷基、 C_{3-7} 环烷基- C_{1-4} 烷基、芳基或芳基- C_{1-4} 烷基, 且 R_8 为 OH、 C_{1-4} 烷氧基或 NR_9R_{10} ;

[0380] 各 R_9 和 R_{10} 独立地为 H 或 C_{1-4} 烷基, 或 R_9 和 R_{10} 与它们所连接的氮一起形成杂芳基;

[0381] R_3 为式 X-a 的内酰胺;

[0382]



X-a

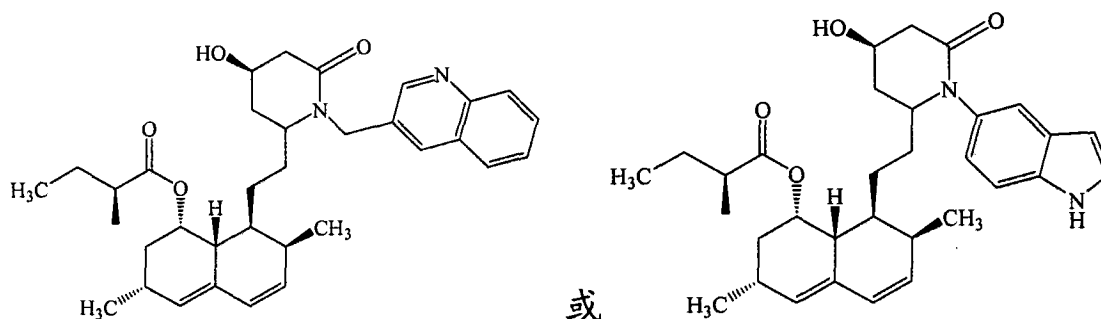
[0383] 其中 R_{30} 为 C_{1-8} 烷基、 C_{3-7} 环烷基、芳基、 C_{3-7} 环烷基- C_{1-4} 烷基、芳基- C_{1-4} 烷基、杂芳基或杂芳基- C_{1-4} ；且

[0384] R_{31} 为 OH、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基-羰基- C_{1-4} 烷基、羟基- C_{1-5} 烷氧基、 C_{1-4} 烷氧基- C_{1-5} 烷氧基、 C_{1-4} 烷氧基-羰基- C_{1-4} 烷基、氨基- C_{1-4} 烷氧基、 $HOOC-C_{1-4}$ 烷氧基、 $HOOC-C_{1-4}$ 烷基、 $R_{9a}R_{10a}N-C_{1-5}$ 烷氧基，其中 R_{9a} 和 R_{10a} 独立地为 R_9 或 R_{10} 。

[0385] 在一些实施方案中，无论“芳基”或“芳基- C_{1-4} 烷基”出现在上述定义中的何处，均为任选地被卤素、OH、 $NR_{11}R_{12}$ 、COOH、 CF_3 、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{1-4} 烷基、羟基- C_{1-4} 烷基、羟基- C_1 烷氧基、 C_{1-4} 烷氧基-羰基、氰基或 $CONR_{11}R_{12}$ 取代的“苯基”或“萘基”，各 R_{11} 和 R_{12} 独立地为 H、 C_{1-4} 烷基、苯基、萘基、苯基- C_{1-4} 烷基或萘基- C_{1-4} 烷基，或 R_{11} 和 R_{12} 与它们连接的 N 一起形成杂芳基；并且无论“杂芳基”出现在何处，均为任选地与苯环稠合的 5 或 6 元杂芳基；其为游离形式或盐的形式。

[0386] 在一些实施方案中，式 X 的化合物为以下化合物之一：

[0387]

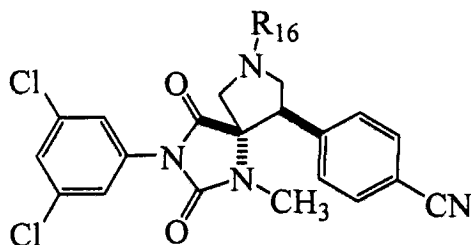


[0388] v. 基于乙内酰脲的抑制剂家族也可以用作拮抗剂。参见 Kelly, T. A., Jeanfavre, D. D., McNeil, D. W., Woska, J. R. Jr., Reilly, P. L., Mainolfi, E. A., Kishimoto, K. M., Nabozny, G. H., Zinter, R., Bormann, B.-J., 和 Rothlein, R. 1999. “Cutting edge: a small molecule antagonist of LFA-1-mediated cell adhesion”, *J. Immunol.*, 163:5173-5177. 这些化合物被认为是 LFA-1 的变构抑制剂。

[0389] 式 XI 的基于乙内酰脲的抑制剂家族在美国专利申请公布 No. 2006/0148836 中公开，并且在本发明的方法中是有用的。

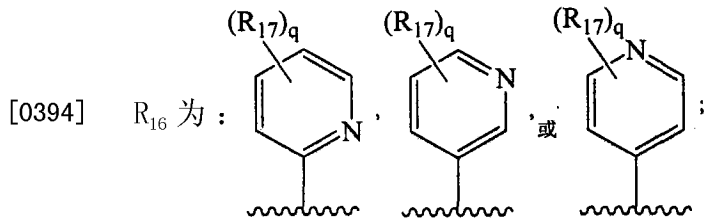
[0390] 提供了可用于本发明的方法中的式 XI 的化合物，

[0391]



[0392] 式 XI

[0393] 及其对映体、药学上可接受的盐或溶剂化物，其中：



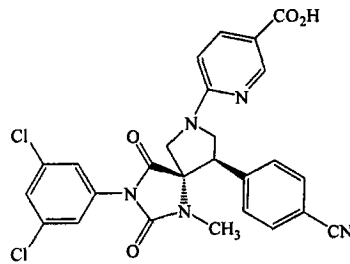
[0395] 各 R_{17} 独立地为 $-OR_{18}$ 、 $-NR_{18}R_{19}$ 、 $-C(=O)R_{18}$ 、 $-CO_2R_{18}$ 、

[0396] $-C(=O)NR_{18}R_{19}$ 、 $-NR_{18}C(=O)R_{19}$ 、 $-NR_{18}C(=O)OR_{19}$ 、 $-S(O)_pR_{19}$ 、 $-NR_{18}SO_2R_{19}$ 或 $-SO_2NR_{18}R_{19}$ ；

[0397] R_{18} 和 R_{19} 独立地为氢、烷基、取代的烷基、环烷基或取代的环烷基； q 为 1、2 或 3； p 为 1 或 2。

[0398] 在一个实施方案中，式 XI 的化合物为：

[0399]



[0400] 可用作本发明方法的 LFA-1 的变构拮抗剂的螺-乙内酰脲化合物的普通类型的其他化合物为美国申请公布 No. 20060142319、20060074099、20060052434、20050119279、20050004153、20040259897、20040248920、20040009998 和 20020143035。

[0401] c. 其他的小分子拮抗剂

[0402] 其他家族的小分子抑制剂公开在出版物（参见 Gadek, T. R., Burdick, D. J., McDowell, R. S., Stanley, M. S., Marsters, J. C. Jr., Paris, K. J., Oare, D. A., Reynolds, M. E., Ladner, C., Zioncheck, K. A., Lee, W. P., Gribbling, P., Dennis, M. S., Skelton, N. J., Tumas, D. B., Clark, K. R., Keating, S. M., Beresini, M. H., Tilley, J. W., Presta, L. G., 和 Bodary, S. C. 2002. “Generation of an LFA-1 antagonist by the transfer of the ICAM-1 immunoregulatory epitope to a small molecule” *Science*, 295:1086-1089 以及在线补充材料）和专利（包括美国专利 No. 6, 872, 735、美国专利 No. 6, 667, 318、美国专利 No. 6803384、美国专利 No. 6, 515, 124、美国专利 No. 6331640）和专利申请（包括 U. S. 20020119994、U. S. 20040058968、U. S. 20050080119、W099/49856、W000/21920、W001/58853、W002/59114、W005/044817）等中。所有引用文献的内容通过引用完整并入本文。

[0403] 本发明的化合物可通过本领域技术人员公知的方法或本文引用的参考文献中公开的方法进行制备，并可通过多种方法进行纯化，包括在不同的条件下通过结晶或沉淀产生一种或多种多晶型物。因此，本发明包括上述本发明化合物、它们的多晶型物、它们的药学上可接受的盐、它们的药学上可接受的溶剂化物和包含它们的药学上可接受的组合物。

[0404] 优选的实施方案的以上例子意在说明一些可能的治疗剂，而绝非限制本发明。本发明的方法可使用抗体、抗体片段、肽或其他合成分子（它们是 LFA-1 与 ICAM-1 之间相互作用的选择性、有效的和直接的竞争性抑制剂）实施，以治疗糖尿病性视网膜病的症状。

[0405] II. 治疗方法

[0406] 如本文所用的术语“受试者”包括动物,特别是人类和其他哺乳动物。

[0407] 如本文所用的术语“治疗”和其语法等同物包括获得治疗性有益效果和 / 或预防性有益效果。治疗性有益效果是指所治疗的根本病症的根除或改善。而且,通过根除或改善一种或多种与根本病症有关的生理症状来实现治疗性有益效果,从而在受试者身上观察到改善,尽管受试者可能仍旧经受该根本病症的折磨。对于预防性有益效果而言,即使可能还未作出该疾病的诊断,也可以将组合物施用于具有发生特定疾病的危险的受试者,或者施用于据称具有该疾病的一种或多种生理症状的受试者。可以将组合物施用于受试者,以预防生理症状或根本病症的发展。

[0408] 在本发明的一些实施方案中,提供了给受试者施用治疗剂以治疗糖尿病性视网膜病的方法。在本发明的一些实施方案中,治疗剂为 LFA-1 拮抗剂。在一些实施方案中,LFA-1 拮抗剂为 LFA-1 的直接竞争性拮抗剂。在一些实施方案中,LFA-1 拮抗剂为 LFA-1 的竞争性拮抗剂。在一些实施方案中,LFA-1 拮抗剂为 LFA-1 的变构拮抗剂。在本发明的一些实施方案中,LFA-1 拮抗剂可以调控白细胞介导的炎症。本发明的另一实施方案通过施用治疗有效量的 LFA-1 拮抗剂以调节与眼部炎症相关的炎症来治疗受试者。本发明的一个实施方案通过施用治疗有效量的 LFA-1 拮抗剂来治疗具有糖尿病性视网膜病症状的受试者。在本发明的一些实施方案中,提供了通过施用治疗有效量的 LFA-1 拮抗剂来治疗具有 II 型糖尿病症状的受试者的方法。在本发明的一些实施方案中,提供了通过施用治疗有效量的 LFA-1 拮抗剂来治疗具有 I 型糖尿病症状的受试者的方法。在本发明的一些实施方案中,提供了通过施用治疗有效量的 LFA-1 拮抗剂以降低受试者眼中的视网膜水肿来治疗受试者的方法。在本发明的其他实施方案中,提供了通过施用治疗有效量的 LFA-1 拮抗剂以减少黄斑水肿来治疗受试者的方法。在其他实施方案中,提供了通过施用治疗有效量的 LFA-1 拮抗剂以降低受试者眼中的基底膜增厚来治疗受试者的方法。在本发明的其他实施方案中,提供了通过施用治疗有效量的 LFA-1 拮抗剂以降低受试者眼中的视网膜新生血管形成来治疗受试者的方法。在本发明的一些实施方案中,提供了通过施用治疗有效量的 LFA-1 拮抗剂以延缓由于糖尿病性视网膜病导致的视力丧失来治疗受试者的方法。在一些实施方案中,提供了通过施用治疗有效量的 LFA-1 拮抗剂以降低受试者眼中的视网膜缺血来治疗受试者的方法。在其他实施方案中,提供了通过施用治疗有效量的 LFA-1 拮抗剂以降低糖尿病性视网膜病患者眼中视网膜上纤维血管生长的方法。在一些实施方案中,提供了通过施用治疗有效量的 LFA-1 拮抗剂以降低患有糖尿病性视网膜病的受试者眼中由于糖尿病性视网膜病导致的视网膜损伤或退化的方法。在其他实施方案中,提供了通过施用治疗有效量的 LFA-1 拮抗剂限制患有糖尿病性视网膜病的受试者眼中视网膜的非增生性损伤的方法。在其他实施方案中,提供了通过施用治疗有效量的 LFA-1 拮抗剂来减缓患有糖尿病性视网膜病的受试者眼中视网膜的增生性损伤的方法。在其他实施方案中,提供了通过施用治疗有效量的 LFA-1 拮抗剂以降低或预防需要的受试者眼中白细胞与毛细管上皮细胞的粘附的方法。在其他一些实施方案中,提供了通过施用治疗有效量的 LFA-1 拮抗剂以降低或防止需要的受试者眼中由缺血再灌注引起的损伤的方法。在本发明的一些实施方案中,提供了一种方法,其中向患有糖尿病性视网膜病的受试者施用的 LFA-1 拮抗剂在与 ICAM-1 结合位点重叠的 LFA-1 α L 亚单元的高亲和力结合位点上结合。本发明的一些实施方案利

用了作为 LFA-1/ICAM-1 之间相互作用的直接竞争性抑制剂的化合物。本发明的一些实施方案利用了直接竞争 LFA-1 上的共同 ICAM-1 高亲和力结合位点的化合物。在一些实施方案中,提供了向需要治疗的受试者施用治疗有效量的 LFA-1 拮抗剂的方法,该 LFA-1 拮抗剂为式 I、II、II'、III、III'、IV、IV'、V 或 VI 的化合物。在一些实施方案中,提供了向需要治疗的受试者施用治疗有效量的 LFA-1 拮抗剂的方法,该 LFA-1 拮抗剂为式 VII、VIII、IX、X 或 XI 的化合物。

[0409] 在与眼中糖尿病并发症相关的其他治疗干预中,可以使用玻璃体切割术。已经证明地塞米松(一种糖皮质激素类固醇)能够降低术后的炎症,该炎症在糖尿病患者中比非糖尿病患者中严重。因此,可能理想的是使用本发明的 LFA-1 拮抗剂来减轻炎症。在本发明的一些实施方案中,提供了通过向需要的受试者施用 LFA-1 拮抗剂来减轻经历玻璃体切割术的糖尿病受试者中的术后炎症的方法。此外,在一些实施方案中,本发明的 LFA-1 拮抗剂可以在玻璃体切割术之前施用给受试者,以预防性地减轻术后炎症。

[0410] 在与眼中糖尿病并发症相关的其他预防干预中,光动力疗法可以用于纠正闭塞或泄露,并可能导致糖尿病受试者中过度的炎症。因此,可能理想的是使用本发明的 LFA-1 拮抗剂来减轻炎症。在本发明的一些实施方案中,提供了通过向需要的受试者施用 LFA-1 拮抗剂来减轻正在经历光力学治疗(PDT)过程的糖尿病受试者中的术后炎症的方法。此外,在一些实施方案中,本发明的 LFA-1 拮抗剂可在 PDT 过程之前施用给受试者,以预防性地减轻术后炎症。

[0411] 在与眼中糖尿病并发症相关的其他治疗干预中,激光凝固术可以用于纠正闭塞或渗漏,并可能导致糖尿病受试者中过度的炎症。因此,可能理想的是使用本发明的 LFA-1 拮抗剂来减轻炎症。在本发明的一些实施方案中,提供了通过向需要的受试者施用 LFA-1 拮抗剂来减轻正在经历激光凝固术治疗过程的糖尿病受试者中的术后炎症的方法。此外,在一些实施方案中,本发明的 LFA-1 拮抗剂可在激光凝固术治疗过程之前施用给受试者,以预防性地减轻术后炎症。

[0412] 在视力缺损的 LASIK 治疗中,糖尿病患者比非糖尿病患者具有更高的角膜上皮炎症和缺陷引起术后并发症的风险,因此可能需要抗炎治疗。在本发明的一些实施方案中,提供了通过施用 LFA-1 拮抗剂来减轻受试者眼中由于 LASIK 治疗的糖尿病并发症导致的炎症、从而减轻该炎症的方法。施用是在术后或术前进行的,以预防性地预防或减轻该炎症。

[0413] 患有 DME 的个体具有更高的发展为白内障的风险,白内障是视力丧失的一个常见的原因。糖尿病患者在白内障手术后具有较高的前段和后段并发症的风险。最严重的一种并发症是当其进展为新生血管性青光眼时虹膜的新生血管形成。其他的前房并发症包括在新植入的眼内透镜(IOL)表面上具有沉淀物的色素分散、纤维素性渗出物或前房中的膜形成(由炎症引起)。在本发明的一些实施方案中,提供了通过向需要的受试者施用 LFA-1 拮抗剂来减轻患有 DME 的受试者眼中白内障术后前段或后段并发症的方法。在一些实施方案中,提供了向患有 DME 的受试者预防性地施用 LFA-1 拮抗剂以减轻或预防形成白内障的方法,患有 DME 的受试者比健康的受试者具有更高的发展为白内障的风险。

[0414] 该方法通常包括施用一种或多种用于治疗糖尿病性视网膜病的药物,其中该药物被递送到眼部的视网膜或眼内区域或在递送之后进行分布。药物的组合可用于治疗糖尿病性视网膜病或调控组合中一种或多种药物的副作用。由于该疾病状态中的病理事件的特点

是减弱的自动调节、凋亡、局部缺血、再灌注组织、新生血管形成和炎症刺激的组合,可能理想的是与其他治疗剂联合施用本发明的 LFA-1 拮抗剂,以加成地或协同地进行干预。在一些实施方案中,第二治疗剂为抗氧化剂、抗炎剂、抗微生物剂、抗血管生成剂和 / 或抗细胞凋亡剂。在本发明的一些实施方案中,除了施用直接竞争结合 LFA-1 的化合物以外,还可以施用其他治疗剂,该治疗剂是如上所述的 LFA-1 的变构拮抗剂,但是不是直接竞争性拮抗剂,可能导致协同效果。该变构拮抗剂的例子为 LFA-1 的乙内酰脲抑制剂类型。变构拮抗剂的其他例子包括式 VII、VIII、IX、X 或 XI 的化合物。

[0415] 可用于与本发明的 LFA-1 拮抗剂联合、之前、之后或同时施用的另一类治疗剂为抗粘附治疗抗体或抗体片段。

[0416] 可用于与本发明的 LFA-1 拮抗剂联合、之前、之后或同时施用的另一类治疗剂为抑制血管内皮生长因子,并因此可以针对新生血管形成的另一开始途径的一组药物。任何 VEGF 抑制剂可用于本发明的组合物中,其包括但不限于 1) VEGF 或其受体的中和性单克隆抗体、2) VEGF 受体的小分子酪氨酸激酶抑制剂、3) 作为 VEGF 的诱饵受体的可溶性 VEGF 受体、4) 特异性地靶向 VEGF 的核酶,和 5) 特异性地靶向 VEGF 信号传导蛋白质的 siRNA。具有抗 VEGF 活性的抗体的一些例子为,例如, Lucentis(兰尼单抗)和 Avastin(贝伐单抗)。寡核苷酸药物的例子为,例如, Macugen(哌加他尼钠注射液)。小分子酪氨酸激酶抑制剂包括,例如,帕唑帕尼、索拉非尼、舒尼替尼等。

[0417] 炎症是由 DR 和白细胞粘附和新生血管形成过程导致的血管渗透性诱发的。因此,其他的抗炎剂可与本发明的 LFA-1 拮抗剂联合、之前、之后或同时施用。抗炎剂可选自皮质类固醇相关的药物,包括但不限于地塞米松、氟米龙、甲羟松、倍他米松、去炎松、去炎松缩酮、强的松、强的松龙、氢化可的松、利美索龙及其药学上可接受的盐、泼尼卡酯、地夫可特、卤米松、疏氢可的松、泼尼立定、强的松龙戊酸酯、帕拉米松、甲基氢化泼尼松、甲泼尼松、马泼尼酮、异氟泼尼龙、醋酸卤泼尼松、氯氟舒松、氟甲酰龙、氟氢缩松、氟泼尼龙、醋酸氟甲叉龙、醋酸甲氟龙、氟可龙、氟考丁酯、氟轻松、氟轻松醋酸酯、氟尼缩松、氟米松、氟氢可的松、氟氯奈德、甘草次酸、醋丁二氟龙、二氟可龙、双醋二氟拉松、去羟米松(去氧米松)、地奈德、地西龙、可的伐唑、皮质酮、可的松、氯泼尼醇、氯可托龙、氯倍他松、氯倍他索、氯泼尼松、咖啡醇、布地奈德、倍氯米松、安西奈德、丙酮别孕烷、阿氯米松、21-乙酰氧基孕烯醇酮、曲奈德、醋酸二氟拉松、脱酰可的发唑、RU-26988、布地奈德、脱酰可的发唑、脱酰可的发唑等。或者,抗炎剂可选自 NSAID 组,包括但不限于扑热息痛、醋炎痛、醋氯芬酸、阿明洛芬、氨芬酸、苄达赖氨酸、苯噁洛芬、溴芬酸、氯环己苯酰丙酸、布替布芬、卡布洛芬、塞来考昔、桂美辛、氯苯吡咯酸、双氯芬酸、依托度酸、艾托考昔、联苯乙酸、芬克洛酸、非诺洛芬、芬替酸、氟诺洛芬、氟吡洛芬、异丁芬酸、布洛芬、消炎痛、三苯唑酸、伊索昔康、氧卓乙酸、吲哚布洛芬、酮洛芬、氯那唑酸、氯索洛芬、甲芬那酸、甲氯灭酸、美洛昔康、甲噻吩嗪乙酸、莫苯唑酸、咪洛芬、萘普生、尼氟灭酸、噁丙嗪、吡拉唑酸(pirozolac)、吡洛芬、普拉洛芬、吩噻嗪丙酸、罗非考昔、水杨酸及其衍生物(即例如阿司匹林)、舒林酸、舒洛芬、琥丁唑酮、苯噻丙酸(triaprofenic acid)、托美汀、伐地考昔、联苯丁酸、肼环苯丙酸、扎托洛芬、苯酰吡酸钠、阿司匹林、醋炎痛、丁丙二苯肼、carprofenac、环氯茛酸、二氟尼柳、苯乙氨茴酸、苯吲柳酸、氟芬那酸、氟胺烟酸、龙胆酸、酮咯酸、5-氨基水杨酸及其前药等。

[0418] 可用于与本发明的 LFA-1 拮抗剂联合、之前、之后或同时施用的另一类治疗剂为

已知通过抑制 NFK β 来抑制视网膜病的一组药物。这些类型的一些治疗剂包括 PARP 抑制剂、苯磷硫胺或干预 AGE 的阻断的其他药物（晚期糖化终产物）、醛糖还原酶抑制剂、iNOS 抑制剂、FasL 抑制剂或血管生成素 -1。

[0419] 可以使用 DR 诱发的减弱的自身调节和局部缺血过程在细胞中诱发氧化应激。因此，抗氧化剂可以用于与本发明的 LFA-1 拮抗剂联合、之前、之后或同时施用。本发明方法中有用的合适的抗氧化剂的例子包括但不限于抗坏血酸、维生素 E、生育三烯酚、类胡萝卜素、谷胱甘肽、 α -硫辛酸、泛醇、生物黄酮素、卡尼汀和超氧化物歧化酶模拟物，例如 2,2,6,6-四甲基-1-哌啶氧 (TEMPO)、DOXYL、PROXYL 硝基氧化合物；4-羟基-2,2,6,6-四甲基-1-哌啶氧 (Tempol)、M-40401、M-40403、M-40407、M-40419、M-40484、M-40587、M-40588 等。

[0420] 在糖尿病性视网膜病的一定阶段中，视网膜缺血是进一步引起细胞死亡的结果。在本发明的一些实施方案中，提供了一种方法，其中抗细胞凋亡治疗剂可与本发明的 LFA-1 拮抗剂联合、之前、之后或同时施用。合适的抗细胞凋亡剂的例子包括，例如，胱天蛋白酶、组织蛋白酶和 TNF- α 的抑制剂。

[0421] 可用于与本发明的 LFA-1 拮抗剂联合、之前、之后或同时施用的另一类治疗剂为补体抑制剂。LFA-1/ICAM 结合事件是组织中和血管/毛细血管上皮细胞上 ICAM 上调的补体激活的下游事件。施用补体抑制剂和 LFA-1 拮抗剂可以更完全地调节表达 LFA-1 的白细胞。补体抑制剂的一个例子是艾库组单抗 (eculizumab)。其他的补体抑制剂包括但不限于美国专利 No. 7166568、6319897、5843884、5135916 和 5624837 中所述。

[0422] 可用于与本发明的 LFA-1 拮抗剂联合、之前、之后或同时施用的另一类治疗剂为用于在患背景 DM 的患者中控制青光眼的药物，该背景 DM 包括原发性、开角型、闭角型和新生血管性青光眼。用于青光眼的一些治疗剂包括但不限于前列腺素类似物，例如拉坦前列素、比马前列素和曲伏前列素；局部 β -肾上腺素受体拮抗剂，例如噻吗洛尔、左布诺洛尔和倍他洛尔； α 2-肾上腺素能激动剂，例如溴莫尼定；拟交感神经药，例如肾上腺素或肾上腺异戊酯；缩瞳剂，例如匹鲁卡品；碳酸酐酶抑制剂，例如多佐胺、布林唑胺和乙酰醋氨；或毒扁豆碱。

[0423] 可用于与本发明的 LFA-1 拮抗剂联合、之前、之后或同时施用的另一类治疗剂为抗微生物剂。合适的抗微生物剂化合物包括但不限于青霉素类，例如阿莫西林、氨苄青霉素、氧苄青霉素、羧苄青霉素、邻氯青霉素、双氯青霉素、氟氯青霉素、磺唑氨苄青霉素、乙氧萘胺青霉素、青霉素、哌拉西林、替卡西林等； β -内酰胺酶抑制剂；碳青霉烯类，例如厄他培南、亚胺培南、倍能等；头孢菌素类，例如头孢克洛、头孢羟唑、头孢西丁、头孢罗齐、头孢呋辛、头孢克肟、头孢地尼、头孢托仑、头孢哌酮、头孢噻肟、头孢泊肟、头孢羟氨苄、头孢他定、头孢布坦、头孢唑肟、头孢曲松 (ceffirioxone)、头孢唑啉、头孢克肟、头孢氨苄、头孢吡肟等；喹诺酮类，例如环丙沙星、依诺沙星、加替沙星、左氧氟沙星、乙吗噻嗪、诺氟沙星、氧氟沙星、曲伐沙星等；大环内酯类，例如阿奇霉素、克拉霉素、地红霉素、乙琥红霉素、米尔倍霉素、醋竹桃霉素等；单环内酰胺类，例如氨基曲南等；四环素类，例如地美环素、多西环素、米诺环素、地霉素、四环素等；氨基糖苷类，例如阿米卡星、庆大霉素、卡那霉素、新霉素、奈替米星、巴龙霉素、链霉素、妥布霉素等；碳头孢烯，例如氯拉卡比等；链阳性菌素；磺胺类，例如甲磺灭脓、偶氮磺胺、磺胺醋酰、磺胺甲噁唑、氨苯磺胺、柳氮磺胺吡啶、磺胺乙酰异

噁唑、三甲氧苄氨嘧啶、三甲氧苄氨嘧啶一磺胺甲基异恶唑等；和组合药物，例如磺胺甲噁唑和三甲氧苄氨嘧啶等；多肽，例如杆菌肽、粘菌素、多粘菌素 B 等。

[0424] 可用于与本发明的 LFA-1 拮抗剂联合、之前、之后或同时施用的另一类治疗剂的例子包括但不限于：(a) 抗糖尿病剂，例如胰岛素和胰岛素模拟物，磺酰脲类（例如格列本脲、meglinatide），双胍类，例如二甲双胍（Glucophage™）， α -葡萄糖苷酶抑制剂（阿卡波糖），胰岛素增敏剂，例如噻唑酮化合物、罗西格列酮（Avandia™）、曲格列酮（Rezulin™）、环格列酮、匹格列酮（Actos™）和恩格列酮；(b) 降低胆固醇药物，例如 HMG-CoA 还原酶抑制剂（例如洛伐他汀、辛伐他汀、帕伐他汀、氟伐地汀、阿伐他汀和其他他汀类药物）、胆汁酸螯合剂（例如消胆胺和考来替泊）、维生素 B₃（也被称为烟酸或尼克酸）、维生素 B₆（吡哆醇）、维生素 B₁₂（氰钴胺）、纤维酸衍生物（例如吉非贝齐、氯贝特、非诺贝特和苯扎贝特）、普罗布考、硝酸甘油和胆固醇吸收抑制剂（例如 β -谷甾醇和乙酰 CoA-胆固醇乙酰转移酶（ACAT）抑制剂，例如甲亚油酰胺）、HMG-CoA 合酶抑制剂、鲨烯环氧酶抑制剂和鲨烯合成酶抑制剂；和 (c) 抗血栓形成剂，如溶栓剂（例如链激酶、阿替普酶、阿尼普酶和瑞替普酶）、肝素、水蛭素和华法林衍生物、 β -阻断剂（例如阿替洛尔）、 β -肾上腺素能拮抗剂（例如异丙肾上腺素）、ACE 抑制剂和血管扩张剂（例如硝普钠、盐酸尼卡地平、硝化甘油和依那普利拉（enaloprilat））。

[0425] 在一些实施方案中，LFA-1 拮抗剂的量足以发挥治疗效果以使糖尿病性视网膜病的症状平均降低至少约 5、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90% 或基本上消除糖尿病性视网膜病的症状。

[0426] 在其他实施方案中，LFA-1 拮抗剂的量足以使受试者的视网膜退化平均降低至少约 5、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、多于 90% 或基本上消除视网膜退化。

[0427] 在一些实施方案中，LFA-1 拮抗剂的量足以使治疗的受试者眼中的视网膜水肿平均降低至少约 5、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、多于 90% 或基本上消除视网膜水肿。

[0428] 在另外其他的实施方案中，LFA-1 拮抗剂的量足以使治疗的受试者眼中的基底膜增厚平均降低至少约 5、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、多于 90% 或基本上消除基底膜增厚。

[0429] 在一些实施方案中，LFA-1 拮抗剂的量足以使治疗的受试者眼中的视网膜新生血管形成平均降低至少约 5、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、多于 90% 或基本上消除视网膜新生血管形成。

[0430] 在一些实施方案中，LFA-1 拮抗剂的量足以使治疗的受试者眼中的视网膜上的纤维血管生长平均降低至少约 5、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、多于 90% 或基本上消除视网膜上的纤维血管生长。

[0431] 在一些实施方案中，LFA-1 拮抗剂的量足以使治疗的受试者眼的视力丧失平均延缓至少约 5、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、多于 90% 或基本上消除视力的进一步丧失。

[0432] 在一些实施方案中，LFA-1 拮抗剂的量足以限制受试者视网膜的非增生性损伤平均至少约 5、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、多于 90% 或基本上消除视网膜的非增生性损伤。

[0433] 在一些实施方案中, LFA-1 拮抗剂的量足以使受试者视网膜的增生性损伤平均延缓至少约 5、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、多于 90% 或基本上消除视网膜的进一步增生性损伤。

[0434] 在一些实施方案中, LFA-1 拮抗剂的有效量为约 1×10^{-11} 、 1×10^{-10} 、 1×10^{-9} 、 1×10^{-8} 、 1×10^{-7} 、 1×10^{-6} 、 1×10^{-5} 、 1×10^{-4} 、 1×10^{-3} 、 1×10^{-2} 、 1×10^{-1} 、1、 1×10^1 、 1×10^2 克的日剂量。

[0435] 可以以任何适当的方式施用治疗剂。在一些实施方案中, 通过口服给药方式施用治疗剂。在一些实施方案中, 通过透皮施用方式施用治疗剂。在一些实施方案中, 通过滴注方式施用治疗剂。在一些实施方案中, 通过注射方式施用治疗剂。在一些实施方案中, 通过玻璃体内缓释注射施用治疗剂。在一些实施方案中, 通过眼内缓释植入施用治疗剂。在一些实施方案中, 通过眼周植入施用治疗剂。在一些实施方案中, 局部施用治疗剂。在一些实施方案中, 通过滴眼剂局部施用治疗剂。如果将药物组合作为独立的组合物施用, 则它们可以以相同途径或不同途径施用。如果药物组合在一种组合物中施用, 则它们可以以任何适当的途径施用。在一些实施方案中, 将药物组合作为单一组合物经口服给药方式施用。在一些实施方案中, 将药物组合作为单一组合物以透皮给药方式施用。在一些实施方案中, 将药物组合作为单一组合物经注射方式施用。在一些实施方案中, 将药物组合作为单一组合物局部施用。

[0436] 在本发明的一些实施方案中, 使用诊断方法来确定需要用本发明的方法治疗的受试者。可用于诊断糖尿病性视网膜病症状的方法的示例性列表包括, 例如, 全面的眼科检查 (其可包括阿姆斯勒方格表检查和裂隙灯检查)、眼底照相术、荧光素血管造影术、光学相干断层摄影术、非近视性照相术和 β 扫描超声法, 单独的常规眼部检查、光学相干断层摄影术、 β 扫描超声, 全面的眼科检查及眼底照相术和荧光素血管造影术。

[0437] 本发明方法的拮抗剂可以是抗体、抗体片段、肽或小分子。在一些实施方案中, 使用的 LFA-1 拮抗剂为不是抗体的肽。在其他实施方案中, 使用的 LFA-1 拮抗剂为小分子。

[0438] 在本发明的一些实施方案中, 通过使用 LFA-1 拮抗剂来治疗或预防糖尿病性视网膜病的症状需要慢性疗法; 因此, 可以使用 LFA-1/ICAM-1 之间相互作用的小分子抑制剂, 因为它们具有作为低成本的滴眼剂局部使用的潜力。类似地, 口服施用提供了低成本产品的优势。可植入装置可以是植入或注射到眼中或靠近眼部的眼周组织中的生物可降解的或生物可吸收的或生物可降解的缓释或持续释放制剂, 其可用于慢性疗法。

[0439] 另一实施方案为使用适于作为眼用治疗剂配制和施用的治疗剂来治疗糖尿病性视网膜病的症状的方法。

[0440] 本发明化合物的乳膏制剂可用于将 LFA-1 拮抗剂局部递送到皮肤上。在这方面有用的化合物包括 LFA-1 拮抗剂和它们的前药, 该前药一旦位于皮肤内部就转变为活性药物。应用到眼睑外表面的皮肤乳膏因此将 LFA-1 拮抗剂透过眼睑递送至眼睑的内衬和中间的结膜组织和附属泪腺, 并且出现在眼泪中, 并因此被眼睛吸收。该种递送形式对于治疗 LFA-1 介导的眼睛炎症、特别是治疗糖尿病性视网膜病是理想的。

[0441] III. 施用

[0442] 本发明的方法可采取多种合适的施用方式来递送本文方法的 LFA-1 拮抗剂。向身体患处的这种递送可以通过局部或系统施用实现。合适的制剂和另外的载体在 Remington "The Science and Practice of Pharmacy" (20th Ed., Lippincott

Williams&Wilkins, Baltimore MD) 中描述,其全部在此引入作为参考。

[0443] 在一些实施方案中,本发明提供了用于向受试者施用的药物组合物,其包含:(i)有效量的治疗剂;和(ii)适于口服施用的药物赋形剂。在一些实施方案中,该组合物进一步包含:(iii)有效量的第二治疗剂。本发明的药物组合物可以包含本文公开的任何分子。

[0444] 为了减轻眼部病症的炎症,本发明的药物组合物优选地被递送到视网膜、眼内区域、眼睛表面、相互连接的神经分布、结膜、泪腺或睑板腺。可以想到,有效的治疗包括经口服、局部施用、注射、鼻内、直肠、透皮、通过浸渍或涂覆的装置(例如眼内插入物或植入物)或离子透入来施用本发明的治疗剂。

[0445] 对于注射施用而言,药物组合物可以眼内、眼周、肌肉内、动脉内、皮下或静脉内注射。可以使用泵机构在预先选择的时间内施用药物组合物。对于本发明的一些实施方案而言,理想的是局部递送药物,因此可进行眼周、眼内、玻璃体内、结膜下、眼球后、巩膜内或眼房间注射。对于本发明的一些实施方案而言,系统递送是优选的。

[0446] 对于系统施用而言,本发明的化合物可以为了口服而配制并且口服施用。对于可造成治疗剂的区域或系统分布的施用,本发明的组合物可以鼻内、透皮或通过一些口服形式(例如使用掺入了胃肠道吸收较差的本发明化合物的漱口水或锭剂)来施用。对于可造成本发明组合物的区域或局部递送的施用,可以使用离子透入或局部施用。

[0447] 而且,本发明的药物组合物可以经过泵-导管系统施用到眼部表面或从连续或选择性释放装置内释放,该装置例如是膜,例如但不限于 Ocuser™ 系统 (Alza Corp, Palo Alto, CA) 中使用的那些。药物组合物可以掺入、携带或连接到隐形眼镜上,受试者然后佩戴该隐形眼镜。药物组合物可被喷洒到眼睛表面。

[0448] 或者,本发明的药物组合物可以经过泵-导管系统眼内或眼周施用或从连续或选择性释放装置内释放。药物组合物也可以包含生物可降解的持续释放的、缓释的和/或延长释放的制剂,例如 PLGA 微球、微粒或纳米颗粒,它们可以通过如上所述的装置递送或者眼内或眼周注射。

[0449] 在一些实施方案中,LFA-1 拮抗剂以单一剂量施用。当与用于治疗急性病症的其它物质(例如止痛剂)共施用,也可以使用单一剂量的 LFA-1 拮抗剂。

[0450] 在一些实施方案中,LFA-1 拮抗剂(其自身或与其它药物联合施用)以多剂量施用。给药可以是每日约 1 次、2 次、3 次、4 次、5 次、6 次、7 次、8 次、9 次、10 次或多于 10 次。给药可以是大约每年 1 次、每年 2 次、每隔 6 个月、每隔 4 个月、每隔 3 个月、每隔 60 天、每月 1 次、每两周 1 次、每周 1 次或每隔一天 1 次。在一个实施方案中,药物为止痛剂。在另一实施方案中,LFA-1 拮抗剂和其它治疗物质同时施用每日约 1 次至每日约 10 次。在另一实施方案中,LFA-1 拮抗剂和其它治疗物质的施用持续短于约 7 天。在另一实施方案中,共同施用持续多于约 6 天、10 天、14 天、28 天、2 个月、6 个月或 1 年。在一些情况中,只要需要就维持共同施用,例如对于慢性炎症的给药。

[0451] 只要需要就可以持续本发明组合物的施用。在一些实施方案中,本发明的组合物被施用多于 1 天、2 天、3 天、4 天、5 天、6 天、7 天、14 天或 28 天。在一些实施方案中,本发明的组合物被施用短于 28 天、14 天、7 天、6 天、5 天、4 天、3 天、2 天或 1 天。在一些实施方案中,本发明的组合物持续地长期施用,例如用于治疗慢性疼痛。

[0452] 本发明的方法中 LFA-1 拮抗剂的剂量可以通过常规试验确定。日剂量可以为约

$1 \times 10^{-8} \text{g}$ -5000mg。如上所述,日剂量范围可以取决于使用的 LFA-1 拮抗剂的形式,例如酯或盐,和 / 或施用途经。例如,对于系统施用而言,典型的日剂量范围为例如约 1-5000mg、或约 1-3000mg、或约 1-2000mg、或约 1-1000mg、或约 1-500mg、或约 1-100mg、或约 10-5000mg、或约 10-3000mg、或约 10-2000mg、或约 10-1000mg、或约 10-500mg、或约 10-200mg、或约 10-100mg、或约 20-2000mg、或约 20-1500mg、或约 20-1000mg、或约 20-500mg、或约 20-100mg、或约 50-5000mg、或约 50-4000mg、或约 50-3000mg、或约 50-2000mg、或约 50-1000mg、或约 50-500mg、或约 50-100mg、或约 100-5000mg、或约 100-4000mg、或约 100-3000mg、或约 100-2000mg、或约 100-1000mg、或约 100-500mg。在一些实施方案中,LFA-1 拮抗剂的日剂量为约 100、200、300、400、500、600、700、800、900 或 1000mg。在一些实施方案中,LFA-1 拮抗剂的日剂量为 10mg。在一些实施方案中,LFA-1 拮抗剂的日剂量为 100mg。在一些实施方案中,LFA-1 拮抗剂的日剂量为 500mg。在一些实施方案中,LFA-1 拮抗剂的日剂量为 1000mg。

[0453] 对于眼部表面的局部递送而言,典型的日剂量范围为例如约 $1 \times 10^{-8} \text{g}$ -5.0g、或约 $1 \times 10^{-8} \text{g}$ -2.5g、或约 $1 \times 10^{-8} \text{g}$ -1.00g、或约 $1 \times 10^{-8} \text{g}$ -0.5g、或约 $1 \times 10^{-8} \text{g}$ -0.25g、或约 $1 \times 10^{-8} \text{g}$ -0.1g、或约 $1 \times 10^{-8} \text{g}$ -0.05g、或约 $1 \times 10^{-8} \text{g}$ -0.025g、或约 $1 \times 10^{-8} \text{g}$ - $1 \times 10^{-2} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-8} \text{g}$ - $5 \times 10^{-3} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-8} \text{g}$ - $2.5 \times 10^{-3} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-8} \text{g}$ - $1 \times 10^{-3} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-8} \text{g}$ - $5 \times 10^{-4} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-7} \text{g}$ -5.0g、或约 $1 \times 10^{-7} \text{g}$ -2.5g、或约 $1 \times 10^{-7} \text{g}$ -1.00g、或约 $1 \times 10^{-7} \text{g}$ -0.5g、或约 $1 \times 10^{-7} \text{g}$ -0.25g、或约 $1 \times 10^{-7} \text{g}$ -0.1g、或约 $1 \times 10^{-7} \text{g}$ -0.05g、或约 $1 \times 10^{-7} \text{g}$ -0.025g、或约 $1 \times 10^{-7} \text{g}$ - $1 \times 10^{-2} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-7} \text{g}$ - $5 \times 10^{-3} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-7} \text{g}$ - $2.5 \times 10^{-3} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-7} \text{g}$ - $1 \times 10^{-3} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-7} \text{g}$ - $5 \times 10^{-4} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-6} \text{g}$ -5.0g、或约 $1 \times 10^{-6} \text{g}$ -2.5g、或约 $1 \times 10^{-6} \text{g}$ -1g、或约 $1 \times 10^{-6} \text{g}$ -0.5g、或约 $1 \times 10^{-6} \text{g}$ -0.25g、或约 $1 \times 10^{-6} \text{g}$ -0.1g、或约 $1 \times 10^{-6} \text{g}$ - $5 \times 10^{-2} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-6} \text{g}$ - $5 \times 10^{-2} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-6} \text{g}$ - $2.5 \times 10^{-2} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-6} \text{g}$ - $1 \times 10^{-2} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-6} \text{g}$ - $5 \times 10^{-3} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-6} \text{g}$ - $2.5 \times 10^{-3} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-6} \text{g}$ - $1 \times 10^{-3} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-6} \text{g}$ - $5 \times 10^{-4} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-5} \text{g}$ -5g、或约 $1 \times 10^{-5} \text{g}$ -2.5g、或约 $1 \times 10^{-5} \text{g}$ -1g、或约 $1 \times 10^{-5} \text{g}$ -0.5g、或约 $1 \times 10^{-5} \text{g}$ -0.25g、或约 $1 \times 10^{-5} \text{g}$ -0.1g、或约 $1 \times 10^{-5} \text{g}$ -0.05g、或约 $1 \times 10^{-5} \text{g}$ - $2.5 \times 10^{-2} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-5} \text{g}$ - $1 \times 10^{-2} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-5} \text{g}$ - $5 \times 10^{-3} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-5} \text{g}$ - $2.5 \times 10^{-3} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-5} \text{g}$ - $1 \times 10^{-3} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-5} \text{g}$ - $5 \times 10^{-4} \text{g}$ 。在一些实施方案中,LFA-1 拮抗剂的日剂量为约 1×10^{-7} 、 1×10^{-6} 、 1×10^{-5} 、 1×10^{-4} 、 1×10^{-3} 、 1×10^{-2} 、 $1 \times 10^1 \text{g}$ 或 1g。在一些实施方案中,LFA-1 拮抗剂的日剂量为 $1 \times 10^{-7} \text{g}$ 。在一些实施方案中,LFA-1 拮抗剂的日剂量为 $1 \times 10^{-5} \text{g}$ 。在一些实施方案中,LFA-1 拮抗剂的日剂量为 $1 \times 10^{-3} \text{g}$ 。在一些实施方案中,LFA-1 拮抗剂的日剂量为 $1 \times 10^{-2} \text{g}$ 。在一些实施方案中,受试者的剂量为约 $1 \times 10^{-8} \text{g}$ -5.0g、或约 $1 \times 10^{-8} \text{g}$ -2.5g、或约 $1 \times 10^{-8} \text{g}$ -1.00g、或约 $1 \times 10^{-8} \text{g}$ -0.5g、或约 $1 \times 10^{-8} \text{g}$ -0.25g、或约 $1 \times 10^{-8} \text{g}$ -0.1g、或约 $1 \times 10^{-8} \text{g}$ -0.05g、或约 $1 \times 10^{-8} \text{g}$ -0.025g、或约 $1 \times 10^{-8} \text{g}$ - $1 \times 10^{-2} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-8} \text{g}$ - $5 \times 10^{-3} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-8} \text{g}$ - $2.5 \times 10^{-3} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-8} \text{g}$ - $1 \times 10^{-3} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-8} \text{g}$ - $5 \times 10^{-4} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-7} \text{g}$ -5.0g、或约 $1 \times 10^{-7} \text{g}$ -2.5g、或约 $1 \times 10^{-7} \text{g}$ -1.00g、或约 $1 \times 10^{-7} \text{g}$ -0.5g、或约 $1 \times 10^{-7} \text{g}$ -0.25g、或约 $1 \times 10^{-7} \text{g}$ -0.1g、或约 $1 \times 10^{-7} \text{g}$ -0.05g、或约 $1 \times 10^{-7} \text{g}$ -0.025g、或约 $1 \times 10^{-7} \text{g}$ - $1 \times 10^{-2} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-7} \text{g}$ - $5 \times 10^{-3} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-7} \text{g}$ - $2.5 \times 10^{-3} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-7} \text{g}$ - $1 \times 10^{-3} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-7} \text{g}$ - $5 \times 10^{-4} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-6} \text{g}$ -5.0g、或约 $1 \times 10^{-6} \text{g}$ -2.5g、或约 $1 \times 10^{-6} \text{g}$ -1g、或约 $1 \times 10^{-6} \text{g}$ -0.5g、或约 $1 \times 10^{-6} \text{g}$ -0.25g、或约 $1 \times 10^{-6} \text{g}$ -0.1g、或约 $1 \times 10^{-6} \text{g}$ - $5 \times 10^{-2} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-6} \text{g}$ - $5 \times 10^{-2} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-6} \text{g}$ - $2.5 \times 10^{-2} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-6} \text{g}$ - $1 \times 10^{-2} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-6} \text{g}$ - $5 \times 10^{-3} \text{g}$ 、或

约 $1 \times 10^{-6} \text{g}$ - $2.5 \times 10^{-3} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-6} \text{g}$ - $1 \times 10^{-3} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-6} \text{g}$ - $5 \times 10^{-4} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-5} \text{g}$ - 5g 、或约 $1 \times 10^{-5} \text{g}$ - 2.5g 、或约 $1 \times 10^{-5} \text{g}$ - 1g 、或约 $1 \times 10^{-5} \text{g}$ - 0.5g 、或约 $1 \times 10^{-5} \text{g}$ - 0.25g 、或约 $1 \times 10^{-5} \text{g}$ - 0.1g 、或约 $1 \times 10^{-5} \text{g}$ - 0.05g 、或约 $1 \times 10^{-5} \text{g}$ - $2.5 \times 10^{-2} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-5} \text{g}$ - $1 \times 10^{-2} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-5} \text{g}$ - $5 \times 10^{-3} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-5} \text{g}$ - $2.5 \times 10^{-3} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-5} \text{g}$ - $1 \times 10^{-3} \text{g}$ 、或约 $1 \times 10^{-5} \text{g}$ - $5 \times 10^{-4} \text{g}$ 。在一些实施方案中,如上所述的个体的剂量每日重复 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 次。

[0454] 在本发明的一些实施方案中,本发明的滴眼剂、乳膏、洗液或其它局部制剂向眼内或眼周释放的治疗剂足以使 LFA-1 拮抗剂的水平维持在至少约 10nM、约 50nM、约 100nM、约 150nM、约 200nM、约 250nM、约 300nM、约 350nM、约 500nM、约 600nM、约 700nM、约 800nM、约 900nM、约 1mM、约 2mM、约 3mM、约 5mM、约 6mM、约 7mM、约 8mM、约 9mM、约 10mM、约 15mM、约 20mM 或约 25mM,从剂量至剂量。

[0455] 在本发明的一些实施方案中,本发明的滴眼剂制剂向眼内或眼周释放的治疗剂足以使视网膜中的 LFA-1 拮抗剂的水平达到至少约 10nM、约 50nM、约 100nM、约 150nM、约 200nM、约 250nM、约 300nM、约 350nM、约 500nM、约 600nM、约 700nM、约 800nM、约 900nM、约 1mM、约 2mM、约 3mM、约 5mM、约 6mM、约 7mM、约 8mM、约 9mM、约 10mM、约 15mM、约 20mM 或约 25mM,从剂量至剂量。

[0456] 对于其他形式的施用而言,日剂量可以在上述的系统施用的范围附近,或可以在上述的局部施用的范围附近。

[0457] 对于缓释或持续释放的眼内或眼周装置和制剂而言,在一些实施方案中,典型的剂量范围为在给药期内释放约 0.1mg-约 100mg 的 LFA-1 拮抗剂。在其他实施方案中,在给药期内释放约 1mg-约 50mg、约 1-约 25mg、约 5mg-约 100mg、约 5-约 50mg、约 5-约 25mg、约 10mg-约 100mg、约 10mg-约 50mg、约 10mg-约 25mg 或约 15mg-约 50mg。缓释眼内或眼周装置和制剂的给药期通常为约 10 天-约 1 年、约 30 天-约 1 年、约 60 天-约 1 年、约 3 个月-约 1 年、约 4 个月-约 1 年、约 5 个月-约 1 年、或约 6 个月-约 1 年。在一些实施方案中,缓释眼内或眼周装置和制剂在约 1 个月-约 9 个月、约 1 个月-约 8 个月、约 1 个月-约 7 个月、约 1 个月-约 6 个月、约 1 个月-约 5 个月、约 1 个月-约 4 个月、或约 1 个月-约 3 个月的期限内释放治疗剂。在其他实施方案中,缓释制剂和装置释放治疗剂长达 1 个月、2 个月、3 个月、4 个月、5 个月、6 个月、7 个月、8 个月、9 个月、10 个月、12 个月、18 个月、2 年、30 个月或 3 年。

[0458] 在本发明的一些实施方案中,缓释制剂和 / 或植入物在眼内或眼周释放的治疗剂足以使 LFA-1 拮抗剂的水平在 1 年内维持在至少约 10nM、约 50nM、约 100nM、约 150nM、约 200nM、约 250nM、约 300nM、约 350nM、约 500nM、约 600nM、约 700nM、约 800nM、约 900nM、约 1mM、约 2mM、约 3mM、约 5mM、约 6mM、约 7mM、约 8mM、约 9mM、约 10mM、约 15mM、约 20mM 或约 25mM。在本发明的一些实施方案中,缓释制剂和 / 或植入物在眼内或眼周释放的治疗剂足以使 LFA-1 拮抗剂的水平在 6 个月内维持在至少约 10nM、约 50nM、约 100nM、约 150nM、约 200nM、约 250nM、约 300nM、约 350nM、约 500nM、约 600nM、约 700nM、约 800nM、约 900nM、约 1mM、约 2mM、约 3mM、约 5mM、约 6mM、约 7mM、约 8mM、约 9mM、约 10mM、约 15mM、约 20mM 或约 25mM。

[0459] IV. 制剂

[0460] 本发明的组合物可在本领域已知的合适的载体中被配制为无菌溶液或悬浮

液。Remington “The Science and Practice of Pharmacy” (20thEd., Lippincott Williams&Wilkins, Baltimore MD) 描述了合适的制剂和另外的载体,其全部内容在此通过引用并入本文。

[0461] 对于可注射制剂而言,载体可选自本领域已知的合适的载体,包括水溶液或油状悬浮液或乳剂,和芝麻油、玉米油、棉籽油或花生油、和酞剂、甘露醇、葡萄糖,或无菌水溶液和类似的药物载体。制剂还可以包含生物兼容的、生物可降解的聚合物组合物,例如聚乳酸-乙醇酸共聚物。这些材料可被制成微粒或纳米颗粒,它们携带药物,并且进一步涂覆或衍生化以提供较好的持续释放性能。适于眼周或眼内注射的载体包括例如治疗剂在注射级水、脂质体和适于亲脂性物质的载体中的悬浮液。用于眼周或眼内注射的其他载体是本领域已知的。

[0462] 如本领域已知的,可以调节药物的浓度、缓冲溶液的 pH 和等渗性,以使其与静脉注射兼容。

[0463] 任何形式的 LFA-1 也可被碾碎以提供更合适的配制性质。碾碎可提供较小的颗粒大小和较大的表面积接触,这可在体内或配制过程中提供更快速的稳定化。或者,碾碎到较小的颗粒大小可提供不需最初的稳定化,直接透过生物屏障(例如皮肤或肠壁)的能力,因而可以作为制剂中的固体使用,这可以提供温度稳定性、储存期、易于运输和受试者易于使用的另外益处。

[0464] 口服制剂可以为片剂、胶囊、药片、药丸、干胶片、口胶、锭剂、水溶液或悬浮液、油状悬浮液、糖浆、酞剂或可分散的粉末或颗粒等,而且可以按照本领域已知的任何方式制备。口服制剂还可以含有甜味剂、调味剂、着色剂和防腐剂。用于片剂形式的药学上可接受的赋形剂可以包含无毒成分,例如惰性稀释剂,如碳酸钙、碳酸钠、乳糖、磷酸钙或磷酸钠等。

[0465] 在用于口服使用的片剂的情况下,常用的载体包括乳糖和玉米淀粉,而且通常加入润滑剂,例如硬脂酸镁。对于胶囊形式的口服施用而言,有用的载体包括乳糖和玉米淀粉。载体和赋形剂的其他非限制性例子包括牛乳、糖、某些类型的粘土、明胶、硬脂酸或其盐、硬脂酸钙、滑石、植物脂肪或油、树胶和二元醇。

[0466] 可用于形成本发明的药物组合物和剂型的表面活性剂包括但不限于亲水性表面活性剂、亲脂性表面活性剂及其混合物。也就是说,可以使用亲水性表面活性剂的混合物,可以使用亲脂性表面活性剂的混合物,或者可以使用至少一种亲水性表面活性剂和至少一种亲脂性表面活性剂的混合物。

[0467] 适当的亲水性表面活性剂通常具有至少为 10 的 HLB 值,而适当的亲脂性表面活性剂通常具有等于或小于约 10 的 HLB 值。用于表征非离子型两性化合物的相对亲水性和疏水性的经验参数是亲水-亲脂平衡(“HLB”值)。具有较低 HLB 值的表面活性剂更加亲脂或疏水,并且在油中的溶解性更大,而具有较高的 HLB 值的表面活性剂更加亲水,并且在水溶液中的溶解性更大。通常认为亲水性表面活性剂为 HLB 值大于约 10 的那些化合物,以及 HLB 量度通常不适用的阴离子、阳离子或两性离子化合物。类似地,亲脂性(即,疏水性)表面活性剂为 HLB 值等于或小于约 10 的化合物。但是,表面活性剂的 HLB 值仅是常用于能够配制工业、药物和化妆品乳液的粗略的指导。

[0468] 亲水性表面活性剂可以为离子型或非离子型。适当的离子型表面活性剂包括但不

限于烷基铵盐;梭链孢酸盐;氨基酸、寡肽和多肽的脂肪酸衍生物;氨基酸、寡肽和多肽的甘油酯衍生物;卵磷脂和氢化卵磷脂;溶血卵磷脂和氢化溶血卵磷脂;磷脂及其衍生物;溶血磷脂及其衍生物;肉碱脂肪酸酯盐;烷基硫酸酯的盐;脂肪酸盐;多库酯钠;酰基乳酸酯;单甘油酯和二甘油酯的单乙酰化和二乙酰化酒石酸酯;琥珀酰化的单甘油酯和二甘油酯;单甘油酯和二甘油酯的柠檬酸酯;及其混合物。

[0469] 在前面提及的组中,优选的离子型表面活性剂包括例如:卵磷脂、溶血卵磷脂、磷脂、溶血磷脂及其衍生物;肉碱脂肪酸酯盐;烷基硫酸酯的盐;脂肪酸盐;多库酯钠;酰基乳酸酯;单甘油酯和二甘油酯的单乙酰化和二乙酰化酒石酸酯;琥珀酰化的单甘油酯和二甘油酯;单甘油酯和二甘油酯的柠檬酸酯;及其混合物。

[0470] 离子型表面活性剂可以为离子化形式的卵磷脂、溶血卵磷脂、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰甘油、磷脂酸、磷脂酰丝氨酸、溶血磷脂酰胆碱、溶血磷脂酰乙醇胺、溶血磷脂酰甘油、溶血磷脂酸、溶血磷脂酰丝氨酸、PEG-磷脂酰乙醇胺、PVP-磷脂酰乙醇胺、脂肪酸的乳酸酯、硬脂酰-2-乳酸酯、硬脂酰乳酸酯、琥珀酸单甘油酯、单/二甘油酯的单/二乙酰化酒石酸酯、单/二甘油酯的柠檬酸酯、胆酰肌氨酸、己酸酯、辛酸酯、癸酸酯、月桂酸酯、十四烷酸酯、棕榈酸酯、油酸酯、蓖麻酸酯、亚油酸酯、亚麻酸酯、硬脂酸酯、月桂基硫酸酯、四乙酰基硫酸酯、多库酯、月桂酰肉碱、棕榈酰肉碱、十四酰肉碱,及其盐和混合物。

[0471] 亲水性非离子型表面活性剂可以包括但不限于烷基糖苷;烷基麦芽糖苷;烷基硫葡糖苷;月桂基聚乙二醇甘油酯;聚氧化烯烷基醚,例如聚乙二醇烷基醚;聚氧化烯烷基酚,例如聚乙二醇烷基酚;聚氧化烯烷基酚脂肪酸酯,例如聚乙二醇脂肪酸单酯和聚乙二醇脂肪酸二酯;聚乙二醇脂肪酸甘油酯;聚甘油脂肪酸酯;聚氧化烯失水山梨醇脂肪酸酯,例如聚乙二醇失水山梨醇脂肪酸酯;多元醇与至少一个下组物质的亲水性酯交换产物:甘油酯、植物油、氢化植物油、脂肪酸和甾醇;聚氧乙烯甾醇,其衍生物和类似物;聚氧乙烯化维生素及其衍生物;聚氧乙烯-聚氧丙烯嵌段共聚物;及其混合物;聚乙二醇失水山梨醇脂肪酸酯,和多元醇与至少一个下组物质的亲水性酯交换产物:甘油三酯、植物油和氢化植物油。多元醇可以为甘油、乙二醇、聚乙二醇、山梨醇、丙二醇、季戊四醇或糖类。

[0472] 其它亲水性非离子型表面活性剂包括但不限于 PEG-10 月桂酸酯、PEG-12 月桂酸酯、PEG-20 月桂酸酯、PEG-32 月桂酸酯、PEG-32 二月桂酸酯、PEG-12 油酸酯、PEG-15 油酸酯、PEG-20 油酸酯、PEG-20 二油酸酯、PEG-32 油酸酯、PEG-200 油酸酯、PEG-400 油酸酯、PEG-15 硬脂酸酯、PEG-32 二硬脂酸酯、PEG-40 硬脂酸酯、PEG-100 硬脂酸酯、PEG-20 二月桂酸酯、PEG-25 甘油基三油酸酯、PEG-32 二油酸酯、PEG-20 甘油基月桂酸酯、PEG-30 甘油基月桂酸酯、PEG-20 甘油基硬脂酸酯、PEG-20 甘油基油酸酯、PEG-30 甘油基油酸酯、PEG-30 甘油基月桂酸酯、PEG-40 甘油基月桂酸酯、PEG-40 棕榈仁油、PEG-50 氢化蓖麻油、PEG-40 蓖麻油、PEG-35 蓖麻油、PEG-60 蓖麻油、PEG-40 氢化蓖麻油、PEG-60 氢化蓖麻油、PEG-60 玉米油、PEG-6 癸酸酯/辛酸酯甘油酯、PEG-8 癸酸酯/辛酸酯甘油酯、聚甘油基-10 月桂酸酯、PEG-30 胆甾醇、PEG-25 植物甾醇、PEG-30 大豆甾醇、PEG-20 三油酸酯、PEG-40 失水山梨醇油酸酯、PEG-80 失水山梨醇月桂酸酯、聚山梨醇酯 20、聚山梨醇酯 80、POE-9 月桂基醚、POE-23 月桂基醚、POE-10 油烯基醚、POE-20 油烯基醚、POE-20 硬脂酰基醚、儿茶酚基 PEG-100 琥珀酸酯、PEG-24 胆甾醇、聚甘油基-10 油酸酯、Tween40、Tween 60、蔗糖单硬脂酸酯、蔗糖单月桂酸酯、蔗糖单棕榈酸酯、PEG 10-100 壬基酚系列、PEG 15-100 辛基酚系列,和泊洛沙姆。

[0473] 仅作为举例,适当的亲脂性表面活性剂包括:脂肪醇;甘油脂肪酸酯;乙酰化甘油脂肪酸酯;低级醇脂肪酸酯;丙二醇脂肪酸酯;失水山梨醇脂肪酸酯;聚乙二醇失水山梨醇脂肪酸酯;甾醇和甾醇衍生物;聚氧乙烯化甾醇和甾醇衍生物;聚乙二醇烷基醚;糖酯;糖醚;单和二甘油酯的乳酸衍生物;多元醇与至少一个下组物质的疏水性酯交换产物:甘油酯、植物油、氢化植物油、脂肪酸和甾醇;油溶性维生素/维生素衍生物;及其混合物。在该组中,优选的亲脂性表面活性剂包括甘油脂肪酸酯、丙二醇脂肪酸酯及其混合物,或者为多元醇与至少一个下组物质的疏水性酯交换产物:植物油、氢化植物油和甘油三酯。

[0474] 表面活性剂可以在本发明的任何制剂中使用,只要其使用不会产生矛盾。在本发明的一些实施方案中,优选不使用或使用有限种类的表面活性剂。

[0475] 其他合适的水性载体包括但不限于 Ringer 溶液和等渗氯化钠。水性悬浮液可以包含悬浮剂,例如纤维素衍生物、藻酸钠、聚乙烯-吡咯烷酮和黄耆胶,以及润湿剂,例如卵磷脂。用于水性悬浮液的合适的防腐剂包括对羟基苯甲酸甲酯和正丙酯。

[0476] 可用于形成本发明的药物组合物和剂型的螯合剂包括但不限于乙二胺四乙酸(EDTA)、EDTA 二钠、依地酸钙钠、EDTA 三钠、白蛋白、转铁蛋白、去铁敏、去铁灵、甲磺酸去铁敏、EDTA 四钠和 EDTA 二钾、偏硅酸钠或上述这些的任意组合。

[0477] 可用于形成本发明的药物组合物和剂型的防腐剂包括但不限于黄铁矿(purite)、过氧化物、过硼酸盐、咪唑烷基脲、双咪唑烷基脲、苯氧基乙醇、包括苯扎氯铵的铵(alkonium)氯化物、尼泊金甲酯、尼泊金乙酯和尼泊金丙酯。

[0478] 可用于形成本发明的药物组合物和剂型的增稠剂包括但不限于肉豆蔻酸异丙酯、棕榈酸异丙酯、新戊酸异癸酯、鲨烯、矿物油、C₁₂-C₁₅ 苯甲酸酯和氢化聚异丁烯。特别优选的是不会破坏终产物的其他化合物的那些试剂,例如非离子型增稠剂。其他增稠剂的选择是本领域普通技术人员公知的。

[0479] 可用于形成本发明的药物组合物和剂型的抗氧化剂包括但不限于没食子酸的丙酯、辛酯和十二烷基酯、丁羟茴醚(BHA,通常可作为邻位和间位异构体的混合物购得)、绿茶提取物、尿酸、半胱氨酸、丙酮酸盐、去甲二氢愈创木酸、抗坏血酸、抗坏血酸的盐(例如抗坏血酸棕榈酸盐和抗坏血酸钠、抗坏血酸葡糖胺)、维生素 E(即生育酚如 α -生育酚)、维生素 E 的衍生物(例如醋酸生育酚)、类维生素 A 类(例如视黄酸、视黄醇、反-视黄醇、顺-视黄醇、反-视黄醇和顺-视黄醇的混合物,3-去氢视黄醇和维生素 A 的衍生物(例如视黄醇乙酸酯、视网膜和视黄醇棕榈酸酯,也被称为棕榈酸维生素 A)、柠檬酸钠、亚硫酸钠、番茄红素、花色素、生物类黄酮(例如橙皮苷、柚皮苷、芦丁和槲皮苷)、超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶、丁羟甲苯(BHT)、吡啶-3-甲醇、碧萝芷、褪黑激素、莱菔硫烷、孕烯醇酮、硫辛酸和 4-羟基-5-甲基-3[2H]-咪喃酮。

[0480] 当配制用于口服施用的本发明的化合物时,理想的是利用胃滞留制剂来提高胃肠道(GI)道的吸收。在胃中滞留几个小时的制剂可以缓慢地释放本发明的化合物,并提供在本发明的一些实施方案中可能是优选的持续释放。该胃滞留制剂公开在 Klausner, E. A.; Lavy, E.; Barta, M.; Cserepes, E.; Friedman, M.; Hoffman, A. 2003 "Novel gastroretentive dosage forms: evaluation of gastroretentivity and its effect on levodopa in humans." Pharm. Res. 20, 1466-73, Hoffman, A.; Stepensky, D.; Lavy, E.; Eyal, S. Klausner, E.; Friedman, M. 2004 "Pharmacokinetic and pharmacodynamic aspects

of gastroretentivedosage forms” Int. J. Pharm. 11, 141-53, Streubel, A. ;Siepmann, J. ;Bodmeier, R. ;2006 “Gastroretentive drug delivery systems” Expert Opin. Drug Deliver. 3, 217-3, 和 Chavanpatil, M. D. ;Jain, P. ;Chaudhari, S. ;Shear, R. ;Vavia, P. R. “Novel sustained release, swellable andbioadhesive gastroretentive drug delivery system for olfoxacin” Int. J. Pharm. 2006 epub 3月24日。可以使用可扩展的、漂浮的和生物粘附技术来最大化本发明化合物的吸收。

[0481] 鼻内施用可以采用包含本发明化合物的可吸入颗粒的气溶胶悬浮液,其被受试者吸入。本发明的化合物以药学上有效的量通过肺部吸收被吸收到血流中或通过鼻泪管接触泪腺组织,然后再被输送到视网膜组织中。可呼吸的颗粒可以是具有适当粒度的固体或液体,如本领域已知对于吸收有效的。吸入或吹入的组合物包括在药学上可接受的水性或有机溶剂中的溶液和悬浮液、或其混合,和粉末。液体或固体组合物可以包含上文描述的合适的药学上可接受的赋形剂。组合物优选地通过口服或鼻内呼吸途径施用,以达到局部或全身效果。可以使用惰性气体对溶于优选的药学上可接受的溶剂中的组合物进行喷雾。可以从喷雾装置直接吸入喷雾溶液,或者可以将喷雾装置连接在面罩或间歇式正压呼吸机上。可以从以适当形式递送制剂的装置中施用溶液、悬浮液或粉末组合物,优选地通过口或鼻施用。

[0482] 对于经皮给药而言,可以采用本领域已知的任何适当的制剂,如溶液、滴液、悬浮液、凝胶、粉末、乳膏、油、固体、基于二甲基亚砜(DMSO)的溶液或用于贴剂的脂质体制剂或本领域已知的其它递送体系。药物组合物还可以包含适当的固体或凝胶相载体或赋形剂,它们是具有下述作用的化合物:能够提高治疗分子透过皮肤角质层渗透障碍的透过或者有助于治疗分子的递送。对于局部制剂领域的熟练技术人员而言,存在许多已知的增强渗透性的分子。这些载体和赋形剂的例子包括但不限于湿润剂(例如尿素)、二醇类(例如丙二醇)、醇类(例如乙醇)、脂肪酸(例如油酸)、表面活性剂(例如肉豆蔻酸异丙酯和月桂基硫酸钠),吡咯烷酮、单月桂酸甘油酯、亚砷,萜烯(例如薄荷醇)、胺类、酰胺类、烷烃、烷醇、水、碳酸钙、磷酸钙、各种糖类、淀粉、纤维素衍生物、明胶和聚合物,例如聚乙二醇。用于递送药剂的透皮贴剂的构造和应用是本领域已知的。参见,例如,美国专利 No. 5, 023, 252、4, 992, 445 和 5, 001, 139。这种贴剂可以制成连续、脉动或按需递送药剂的形式。

[0483] 对于局部施用而言,如本领域中已知的,可以使用眼科领域使用的用于眼局部给药的所有制剂(例如,滴眼剂、插入物、眼罩(eyepack)、浸渍的隐形眼镜、泵送体系、基于二甲基亚砜(DMSO)的溶液悬浮液、脂质体和眼膏)和皮肤科和耳鼻喉科领域使用的用于外部使用的所有制剂(例如,软膏、乳膏、凝胶、粉末、油膏、洗液、晶体形式、泡沫和喷雾)。在一些实施方案中,本发明的一些LFA-1拮抗剂的极好的溶解性使得可以制成浓缩的溶液制剂,这样的制剂可向眼部递送治疗上相关的剂量。此外,可以使用用于局部给药于皮肤和鼻道的粘膜的所有适当制剂来递送本发明的化合物。本发明的药物组合物可以为用于局部或口服给药的脂质体制剂,其中任何一种都是本领域已知适合于本发明目的的。

[0484] 可以用于形成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、轻矿物油、甘油、山梨糖醇、甘露糖醇、聚乙二醇、其它二醇、硬脂酸、月桂基硫酸钠、滑石、氢化植物油(例如,花生油、棉籽油、葵花籽油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油)、硬脂酸锌、油酸乙酯、月桂酸乙酯、琼脂,或其混合物。其他润滑剂包括,例如硅酸盐硅

胶、合成二氧化硅的凝聚型气溶胶,或其混合物。可以任选地以小于药物组合物的约 1 重量%的量加入润滑剂。

[0485] 皮肤保护剂为保护皮肤免于化学刺激和 / 或物理刺激 (例如 UV 光) 的试剂,包括防晒剂、抗痤疮添加剂、抗皱剂和抗皮肤萎缩剂。作为皮肤保护剂的合适的防晒剂包括对 - 甲氧基肉桂酸 2- 乙基己基酯、N, N- 二甲基 - 对 - 氨基苯甲酸 2- 乙基己基酯、对 - 氨基苯甲酸、2- 苯基苯并咪唑 -5- 磺酸、奥克立林、羟苯甲酮、水杨酸三甲环己酯、水杨酸辛酯、4, 4' - 甲氧基 - 叔 - 丁基二苯甲酰基甲烷、4- 异丙基二苯甲酰基甲烷、3- 亚苄基樟脑、3-(4- 甲基亚苄基) 樟脑、氨基苯甲酸酯、超精细二氧化钛、氧化锌、氧化铁、二氧化硅、2, 4- 二羟基二苯甲酮的 4-N, N-(2- 乙基己基) 甲基氨基苯甲酸酯、4- 羟基二苯甲酰基甲烷的 4-N, N-(2- 乙基己基) - 甲基氨基苯甲酸酯、2- 羟基 -4-(2- 羟基乙氧基) 二苯甲酮的 4-N, N-(2- 乙基己基) - 甲基氨基苯甲酸酯、和 4-(2- 羟基乙氧基) 二苯甲酰基甲烷的 4-N, N(2- 乙基己基) - 甲基氨基苯甲酸酯。合适的抗痤疮药物包括水杨酸; 5- 辛酰水杨酸; 间苯二酚; 类维生素 A 类, 例如视黄酸及其衍生物; 半胱氨酸以外的含硫的 D 和 L 氨基酸; 硫辛酸; 抗生素和抗微生物剂, 例如过氧化苯甲酰、羟甲辛吡酮、四环素、2, 4, 4' - 三氯 -2' - 羟基二苯基醚、3, 4, 4' - 三氯甲氧苯、壬二酸、苯氧基乙醇、苯氧基丙醇、苯氧基异丙醇、乙酸乙酯、克林霉素和 melclocycline); 黄酮类化合物; 和胆汁盐, 例如鲨胆甾醇硫酸盐、脱氧胆酸盐和胆酸盐。抗皱剂和抗皮肤萎缩剂的例子为视黄酸及其衍生物、视黄醇、视黄酯、水杨酸及其衍生物、半胱氨酸以外的含硫的 D 和 L 氨基酸、 α - 羟基酸 (例如羟基乙酸和乳酸)、肌醇六磷酸、硫辛酸和溶血磷脂酸。

[0486] 该制剂还可以包含减轻刺激的添加剂, 以减轻或消除由组合物的其他组分导致的皮肤刺激或皮肤损害的可能性。合适的减轻刺激的添加剂包括, 例如: 生育酚; 单胺氧化酶抑制剂, 特别是苯基醇, 如 2- 苯基 -1- 乙醇; 甘油; 水杨酸和水杨酸酯; 抗坏血酸和抗坏血酸酯; 离子载体, 例如莫能菌素; 两性胺; 氯化铵; N- 乙酰半胱氨酸; 顺 - 尿刊酸; 辣椒辣素; 和氯喹。如果存在的话, 可向本发明的制剂中引入减轻刺激的添加剂, 其浓度可有效地减轻刺激或皮肤损害, 通常不多于组合物的约 20 重量%, 更通常不多于组合物的约 5 重量%。

[0487] 干燥感调节剂是当被添加到乳剂后在乳剂干燥时会使得皮肤有“干燥感”的试剂。干燥感调节剂可以包括滑石、高岭土、白垩、氧化锌、硅酮液、无机盐如硫酸钡、表面处理的二氧化硅、沉淀二氧化硅、煅制二氧化硅, 如可从美国纽约的 Degussa Inc. 购得的 Aerosil。另一干燥感调节剂为美国专利 No. 6, 488, 916 中公开的表氯醇交联的甘油基淀粉类型。

[0488] 还可以添加其他的试剂, 例如抗微生物剂, 以防止储存过程中变质, 即抑制例如酵母和霉菌的微生物的生长。合适的抗微生物剂通常选自对羟基苯甲酸的甲酯和丙酯 (即尼泊金甲酯和丙酯)、苯甲酸钠、山梨酸、咪唑烷脒、黄铁矿、过氧化物、过硼酸盐及其组合。

[0489] 制剂还可以含有美学试剂。美学试剂的例子包括芳香剂、染料、着色剂、精油、皮肤感觉剂和收敛剂。合适的美学试剂包括丁香油、薄荷醇、樟脑、桉树油、丁子香酚、乳酸甲酯、没药醇、金缕梅蒸馏物 (优选的) 和绿茶提取物 (优选的)。

[0490] 芳香剂为可以给防晒组合物提供美学愉悦的香气的芳香族物质。典型的芳香剂包括从植物来源 (即玫瑰花瓣、栀子花、茉莉花等) 提取的芳香材料, 其可以单独使用或任意组合使用, 以产生精油。或者, 可以制备酒精提取物用于混合芳香剂。但是, 由于从天然物

质中获得芳香剂的成本相对较高,所以目前的趋势是使用合成制备的芳香剂,特别是大规模的产品。防晒组合物中任选地可包含一种或多种芳香剂,其量为约 0.001-约 5 重量百分比,优选约 0.01-0.5 重量百分比。如果需要的话,还可以使用另外的防腐剂,该防腐剂包括公知的防腐剂组合物,例如苯醇、苯基乙醇和苯甲酸、二咪唑烷基尿素、氯苯甘醚、碘丙炔和氨基甲酸丁酯,等等。

[0491] 此外,预计可以将本发明的化合物可释放地连接在用于持续释放制剂的生物相容聚合物上,其中所述聚合物位于用于局部、眼内、眼周或系统施用的插入物之上、内部或与其连接。可以用水溶性聚合物从生物相容的聚合物上受控释放,以形成可滴注的制剂。在用于持续释放型施用的适于眼内植入或注射的制剂中可以采用从生物相容的聚合物(例如,PLGA 微球、微粒或纳米颗粒)上受控释放。可以使用任何合适的生物可降解的和生物相容的聚合物或基质。

[0492] 滴眼剂可以如下制备:将活性成分溶解在无菌水溶液,例如生理盐水、缓冲溶液等中,或者混合粉末组合物并在使用之前溶解。如本领域中已知的,还可以选择其它载体,包括但不限于:平衡盐溶液、盐水、水溶性聚醚(例如聚乙二醇)、聚乙烯(例如聚乙烯醇和聚乙烯基吡咯烷酮)、纤维素衍生物(例如甲基纤维素和羟丙基甲基纤维素)、石油衍生物(例如矿物油和白凡士林)、动物脂肪(例如羊毛脂)、丙烯酸聚合物(例如羧基聚亚甲基凝胶)、植物脂肪(例如花生油)和多糖(例如葡聚糖)和糖胺聚糖(例如透明质酸钠)。如果希望,还可以加入常用于滴眼剂中的添加剂。该添加剂包括等渗剂(例如氯化钠等)、缓冲剂(例如硼酸、磷酸一氢钠、磷酸二氢钠等)、防腐剂(例如苯扎氯铵、苄索氯铵、三氯叔丁醇等)、增稠剂(例如糖,如乳糖、甘露糖醇、麦芽糖等;例如透明质酸或其盐,如透明质酸钠、透明质酸钾等;例如粘多糖,如硫酸软骨素等;例如聚丙烯酸钠、羧基乙烯基聚合物、交联聚丙烯酸酯、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羟乙基纤维素、羧甲基纤维素、羟丙基纤维素,或本领域普通技术人员已知的其他试剂)。

[0493] 通过在组合物中使用表面活性剂或其他适当的共溶剂可以提高本发明组合物的组分的溶解性。该共溶剂包括聚山梨醇酯 20、60 和 80、Pluronic F68、F-84 和 P-103、环糊精或本领域普通技术人员已知的其他试剂。该共溶剂的用量可以为约 0.01%-2%(重量)。

[0494] 可以将本发明的组合物制成不含防腐剂的无菌单元剂型。

[0495] 可以将本发明的组合物包装为多剂量形式。优选地采用防腐剂来防止使用过程中的微生物污染。合适的防腐剂包括:苯扎氯铵、硫柳汞、三氯叔丁醇、尼泊金甲酯、尼泊金丙酯、苯乙醇、依地酸二钠、山梨酸、过硼酸钠、Onamer M,或本领域普通技术人员已知的其它试剂。在现有技术的眼科产品中,这种防腐剂的用量可以为 0.004%-0.02%。在本申请的组合物中,防腐剂,优选苯扎氯铵的用量可以为 0.001%-小于 0.01%,例如 0.001%-0.008%,优选约 0.005%(重量)。已经发现,0.005%的苯扎氯铵浓度足以使本发明的化合物防止微生物的侵袭。

[0496] 用于本发明中的活性成分的施用量和施用次数根据受试者的性别、年龄和体重、治疗的症状、希望的治疗效果、给药途径和治疗周期而变化。对于成人用滴眼剂而言,含有本发明化合物的制剂的浓度可以为约 0.0001-10.0W/V%、约 0.005-10.0W/V%、约 0.01-10.0W/V%、约 0.05-10.0W/V%、约 0.1-10.0W/V%、约 0.5-10.0W/V%、约 1.0-10.0W/V%

V%、约 20-10.0W/V%、约 3.0-10.0W/V%、约 4.0-10.0W/V%，或约 5.0-10.0W/V%。本发明一个实施方案的制剂具有约 1.0-10.0W/V%的本发明化合物。本发明一个实施方案的制剂具有约 0.01-10.0W/V%的本发明化合物。本发明一个实施方案的制剂具有约 5.0-10.0W/V%的本发明化合物。给药可以为每日每只眼施用若干次，优选 1-10 次，更优选 1-4 次，最优选每日 1 次。施用的液滴大小可以为约 10-100 μ l、约 10-90 μ l、约 10-80 μ l、约 10-70 μ l、约 10-60 μ l、约 10-50 μ l、约 10-40 μ l、约 10-30 μ l、约 20-100 μ l、约 20-90 μ l、约 20-80 μ l、约 20-70 μ l、约 20-60 μ l、约 20-50 μ l、约 20-40 μ l 或约 20-30 μ l。本发明的一个实施方案施用约 10-约 30 μ l 的滴眼剂。本发明的一个实施方案施用约 10-约 100 μ l 的滴眼剂。本发明的一个实施方案施用约 20-约 50 μ l 的滴眼剂。本发明的一个实施方案施用约 10-约 60 μ l 的滴眼剂。

[0497] 本发明的制剂可以每次施用几滴、1-4 滴、优选 1-3 滴、更优选 1-2 滴，最优选每日施用 1 滴。在一个实施方案中，本发明的制剂每次大约施用 1 滴且每日大约施用 1 次。

[0498] 在软膏、乳膏、洗液或喷雾制剂中，制剂中的本发明化合物的浓度可以为约 0.0001-10.0W/V%、约 0.005-10.0W/V%、约 0.01-10.0W/V%、约 0.05-10.0W/V%、约 0.1-10.0W/V%、约 0.5-10.0W/V%、约 1.0-10.0W/V%、约 20-10.0W/V%、约 3.0-10.0W/V%、约 4.0-10.0W/V%，或约 5.0-10.0W/V%。本发明一个实施方案的制剂具有约 1.0-10.0W/V%的本发明化合物。本发明一个实施方案的制剂中含有约 0.01-10.0W/V%的本发明化合物。本发明一个实施方案的制剂中含有约 5.0-10.0W/V%的本发明化合物。这些制剂可以每日施用或喷雾若干次，优选每日 1-6 次，更优选每日 1-4 次，最优选每日 1 次。可以根据炎症或感染的程度适当提高或降低各成分的混合比例。

[0499] 本发明的制剂可以进一步包含其它药物活性成分，只要其不与本发明的目的相矛盾。在多种活性成分组合的情况下，考虑到其效果和安全性可以适当提高或降低其各自的含量。

[0500] V. 试剂盒

[0501] 本发明还提供了试剂盒。该试剂盒包括适当包装的本发明的化合物，和可能包括使用说明、临床研究讨论、副作用列表等的书面材料。试剂盒还可以进一步含有与本发明的 LFA-1 共施用的另一种治疗剂。在一些实施方案中，将该治疗剂和本发明的 LFA-1 拮抗剂在试剂盒的分隔容器内作为分开的组合物来提供。在一些实施方案中，将该治疗剂和本发明的 LFA-1 拮抗剂在试剂盒容器内作为单一组合物来提供。适当的包装和其他使用物件（例如用于液体制剂的量杯、使空气暴露最小化的铝箔包装、分配器等）是本领域已知的，也可以包括在试剂盒中。

[0502] VI. 实施例

[0503] 实施例 1：亲和力测定

[0504] 如以前所述，使用小分子拮抗剂化合物 1（图 2），通过竞争性形式，利用荧光偏振（FP）来测定小分子对 LFA-1 的亲和力。所有的测定都是在含 50mM HEPES, pH 7.2, 150mM NaCl, 0.05% 正辛基葡糖苷和 0.05% 牛丙种球蛋白（BGG）以及 1mM $MnCl_2$ 或 1mM $CaCl_2$ 和 1mM $MgCl_2$ 的缓冲液中进行的。测定化合物 1 对 LFA-1 的亲和力的方法首先是向 LFA-1 的系列稀释液中添加 2mM 的化合物 1，该系列稀释液开始于 1 μ M，在含 $MnCl_2$ 或 $CaCl_2$ 和 $MgCl_2$ 的缓冲液中。通过向 2mM 化合物 1（使用 3nM LFA-1（ $MnCl_2$ 中）或 40mM LFA-1（ $CaCl_2$ 和 $MgCl_2$

中)) 添加拮抗剂的系列稀释液来进行竞争性试验。在 ICAM-1-Ig 竞争性试验中,在两种二价阳离子缓冲液条件下,LFA-1 的浓度降至 2 和 20mM 的 LFA-1,以最大化 ICAM-1-Ig 的抑制。在亲和力计算(见下文)中考虑试验中使用的不同的 LFA-1 的浓度。37°C 下在 96 孔黑色 HE96 板(Molecular Devices,Sunnyvale,CA)中温育溶液 2 小时。在 Analyst 读板器(Molecular Devices,Sunnyvale,CA)上使用 485nm 激发、530nm 发射和 505nm 二色性滤光片进行荧光偏振(FP)测量。通过减去用不含化合物 1 的适当样品测量的强度来针对背景发射校正所有原始强度数据。通过使用 KaleidaGrap 软件(Synergy Software,Reading,PA)进行 4 参数方程的非线性最小二乘方拟合,分析 LFA-1 结合和拮抗剂竞争数据,以获得 LFA-1 滴定的 EC_{50} 值和拮抗剂的 IC_{50} 值。用于拟合数据的方程是 $Y = ((A-D)/(1+(X/C)^B)) + D$,其中 Y 为测定响应,A 是上渐进线的 Y 值,B 是斜率,C 是 IC_{50} 或 EC_{50} ,D 是下渐进线的 Y 值。通常,在如下文所述的均相 FP 和非均相 ELISA 模式中测量的数据包含相对较大的信号:背景比,并且拟合中的误差估计值通常小于拟合参数最终值的 10%。使用 Klotz 和 Hill 分析来计算在含有和不含 A-286982 时,LFA-1 对化合物 1 的平衡解离常数(K_d)。使用 IC_{50} 值、化合物 1/LFA-1 的 K_d 和竞争性试验中化合物 1 和 LFA-1 的浓度来计算拮抗剂对 LFA-1 的亲和力(K_i)。

[0505] 实施例 2:LFA-1/ICAM-1 和 LFA-1/小分子酶联免疫吸附测定(ELISA)

[0506] (A) 拮抗剂竞争:在竞争模式中测定小分子和 sICAM-1 对 ICAM-1-Ig 或荧光素-标记的小分子拮抗剂化合物 2B 与 LFA-1 的结合的破坏能力。化合物 2B 与化合物 1 类似,但是其在小分子和荧光素之间具有更长的连接体,用以使抗-荧光检测抗体的结合最大化。4°C 下,在 96-孔板上包被 $5 \mu\text{g/ml}$ (33.3nM) 溶于磷酸盐缓冲液(PBS)中的小鼠抗-人类 B2 整联蛋白(非功能阻断抗体)过夜。室温下用测定缓冲液(20mM Hepes, pH 7.2, 140mM NaCl, 1mM MnCl_2 , 0.5% 牛血清白蛋白(BSA) 和 0.05% Tween-20) 封闭该板 1 小时。在缓冲液(50mM Tris-HCl, pH 7.5, 100mM NaCl, 1mM MnCl_2 和 0.05% Tween-20) 中洗涤之后,加入 8nM LFA-1(LFA-1/ICAM-1 ELISA) 或 2nM LFA-1(LFA-1/小分子 ELISA),之后在 37°C 下温育 1 小时。洗涤该板,且对于 LFA-1/ICAM-1 ELISA 而言,将小分子拮抗剂或 sICAM-1 的系列稀释液加入到板中并保持 30 分钟,之后加入 0.89nM 的 ICAM-1-Ig(终浓度)并在 37°C 下保持 2 小时。再次洗涤之后,加入山羊抗-huIgG(Fc 特定的)-HRP 并在 37°C 下温育 1 小时。在 LFA-1/小分子 ELISA 中,将稀释的拮抗剂和 25nM 化合物 2B 同时加入到板中,之后在 37°C 下温育 2 小时。洗涤之后加入绵羊抗荧光素-HRP,并在 37°C 下再温育 1 小时。对于两次测定而言,在洗涤之后通过下述方式检测结合的 HRP-偶联抗体:加入四甲基联苯胺(TMB),之后在加入 1M H_3PO_4 终止反应后测量产物在 450nm 处的吸光度。使用 KaleidaGraph 软件拟合上述的 4 参数方程,从而确定每条曲线的 IC_{50} 值。

[0507] (B) 配体结合:按照上述方式进行 LFA-1/ICAM-1 和 LFA-1/小分子 ELISA,不同之处是在存在或不存在拮抗剂的情况下将 ICAM-1-Ig 或化合物 2B 的系列稀释液加入到板中。在所有情况下配体都与拮抗剂同时加入。在加入拮抗剂和配体之后,进行洗涤和加入检测抗体之前,在 37°C 下将板温育 6 小时以达到平衡状态。通过拟合如上所述的 4 参数模型来确定每条曲线的 EC_{50} 值。通过 Schild 回归来分析存在和不存在拮抗剂的情况下所产生的 EC_{50} 值。按照下式计算 $\text{Log}(\text{浓度比}-1)$ 对拮抗剂浓度的 Schild 图: $(\text{浓度比}-1) = ((\text{存在拮抗剂时配体的 } EC_{50}) / (\text{不存在拮抗剂时配体的 } EC_{50})) - 1$ 。通过将线拟合到线性方程 $Y =$

A+BX 来计算 $\text{Log}(\text{浓度比}-1)$ 对拮抗剂浓度的图的斜率。

[0508] 实施例 3:放射性标记的、化合物 3 的光活化类似物与 LFA-1 的交联

[0509] 在存在或不存在 $290 \mu\text{M}$ 化合物 3 的情况下, $4.1 \mu\text{M}$ 化合物 5 (氚标记的化合物 3 的光活化类似物) 与全长人膜结合 LFA-1 或 BSA (0.35mg/mL [分别为 1.4 和 $5.3 \mu\text{M}$]), 溶于 pH 7.2 的 20mM Hepes、 150mM NaCl、 5mM CaCl_2 、 5mM MgCl_2 、 1mM MnCl_2 和 1% 正辛基葡糖苷中) 在 37°C 下温育过夜。化合物 5 与 LFA-1 的摩尔比为 3 : 1。使用 1% BSA 预包被的 96 孔板进行温育。恰在交联之前, 采用以相同缓冲液平衡的 96 孔形式的 G-25 微旋柱, 通过凝胶过滤迅速除去过量的化合物 5。通过暴露在高压汞蒸汽灯下 (450 瓦, 一级玻璃, Vineland, NJ) 使 LFA-1/ 化合物 5 复合物发生交联。在照射过程中, 在冰上冷却样品并用 5mm 厚的硼硅玻璃板进行保护, 以使蛋白质的降解最小化。按照上述方式用凝胶过滤法 (G-25) 除去剩余的未连接的化合物 5。然后在 8M 盐酸胍 (GuHCl) 中使交联复合物变性并还原和烷基化。使处理后的蛋白质进行 SDS-PAGE, 之后进行考马斯蓝染色。通过放射自显影显示放射性标记的蛋白质。

[0510] 为了确定化合物 5 的结合位点, 在 6M GuHCl, 20mM Hepes, 10mM EDTA, pH 6.8 存在下, 用大小排除色谱法分离处理后的 αL 和 B2 亚单元, 然后在 75°C 下用溶于含 7M GuHCl 的 10% 醋酸中的 2.6M 羟胺进行化学裂解。用 SDS-PAGE 分离放射性标记的蛋白质的片段, 并且用放射自显影法显示, 或将其转移至聚偏二氟乙烯膜上, 用考马斯蓝染色, 之后通过 N 末端蛋白质测序进行确定。

[0511] 实施例 4: 缺少结构域 I 的 αL 构建体的产生

[0512] 所用的构建体, pLFA. huID. Δp , 含有从结构域 I 的 5' 的 NarI 限制性位点至结构域 I 的 3' 的第二个 PflMI 限制性位点的 αL 基因序列, 其中删除了结构域 I 的 3' 的第一个 PflMI 限制性位点 (Edwards 等, 1995)。为了产生缺少结构域 I 的突变体, 制备了下列引物: 正向引物 CACTGTGGCGCCCTGGTTTTTCAGGAAGGTAGTGGATCAGGCACAAGCAAACAGGACCTGACTTC (SEQ ID NO 3), 含有从 NarI 位点至结构域 I 的起点的序列、编码 GSGSG 的 DNA 序列 (SEQ ID NO3) 和在结构域 I 末端之后的 23bp 的 αL 序列, 以及反向引物 TCTGAGCCATGTGCTGGTATCGAGGGGC (SEQ ID NO 5), 其在结构域 I 之后的第二个 PflMI 限制性位点处引发。使用这些引物和经 Bgl II 线性化、在结构域 I 内的位点处切割的 pLFA. huID. Δp 进行 PCR。扩增 DNA 片段, 所述片段含有从 Nar I 位点至第二个 PflMI 位点的序列, 而且其中整个结构域 I 从 C125 至 G311 均被编码 GSGSG 的 DNA 序列代替。纯化该段 DNA, 用 NarI 和 PflMI 对其进行消化并将其插入到人 αL 质粒 (pRKLFA αm) 内相应的 NarI 和 PflMI 位点上。通过序列分析确认编码 GSGSG 的 DNA 序列的正确插入。

[0513] 实施例 5: 缺少结构域 I 的 LFA-1 与 ICAM-1 或化合物 2B 的结合

[0514] 用单独的 $\beta 2$ 构建体 (假) 或用野生型 αL 构建体 (wt) 或缺少结构域 I (I 较少的) 的 αL 构建体转染 293 细胞, 并使其恢复 3 天。分离细胞并将其重新悬浮在粘附缓冲液 (0.02M HEPES, pH 7.2, 0.14M NaCl, 0.2% 葡萄糖) 中。按照所述方式 (Edwards 等, 1998) 与结合在板上的 ICAM-1-Ig 进行结合。为了结合化合物 2B, 将处于含有 0.5% BGG, 0.1mM MnCl_2 , $1 \mu\text{g/ml}$ 抗 $\beta 2$ 活化抗体 MEM-48 和 $1 \mu\text{M}$ 化合物 2B 的粘附缓冲液中的 2×10^5 个细胞加入到圆底 96 孔板的每个孔中。在 37°C 下将细胞培养 1 小时, 用冷 PBS 洗涤并用 1% 的甲醛 / PBS 固定。然后在室温下细胞与绵羊抗荧光素 -HRP 的 1 : 500 稀释液温育 1 小时,

用 PBS 洗涤,并与 TMB 温育 15 分钟。用 1M H_3PO_4 终止反应并在 450nm 下读数。平行地,使用一组具有已知的结合表位的抗体,通过 FACS 分析法检测转染子中表面表达的 $\alpha L/\beta 2$ 复合物的结构完整性和是否存在结构域 I。

[0515] 实施例 6:链脲霉素诱导的大鼠糖尿病性视网膜病模型

[0516] 在第一天对 15 只成年实验室大鼠 (Sprague-Dawley) 经腹膜内注射 65mg/kg 的链脲霉素 (SZT),使其血糖增高并诱发糖尿病。另外的 5 只大鼠使用类似体积的盐水进行处理,来建立非糖尿病对照组。之后的总计 6 天内,8 只糖尿病大鼠的每只眼内每天接受溶于适当的运载体的 LFA-1 拮抗剂的滴注。根据相同的给药日程,7 只糖尿病动物接受相同体积的仅有运载体的类似滴注。非糖尿病对照组的动物接受仅有运载体的滴注,并维持血糖正常。

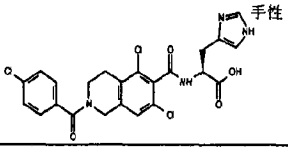
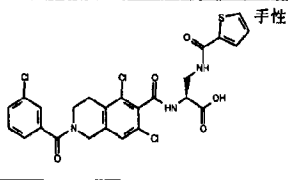
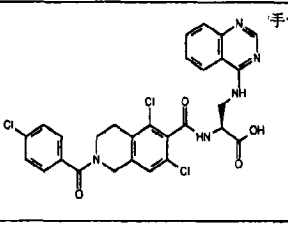
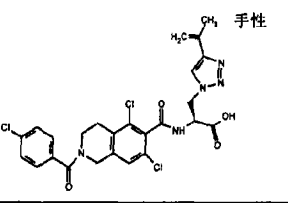
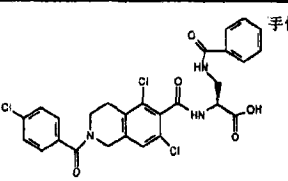
[0517] 在第 14 天,使用荧光素血管造影术来检查所有动物的眼睛。然后杀死所有三组动物,通过手术取出它们的眼睛,并从中分离出视网膜组织。使用显微照相术 (micropictograph) 检查视网膜组织。通过显微照相术的标准化形态分析来量化糖尿病对照的角膜组织中发生微血管系统异常的程度、糖尿病治疗组中施用 LFA-1 拮抗剂对它们的抑制以及与血糖正常对照组的对比。

[0518] 实施例 7:人 T 细胞粘附测定

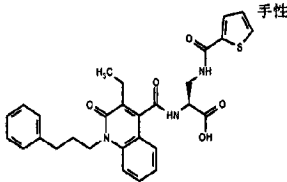
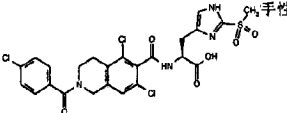
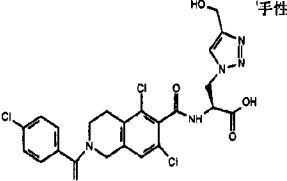
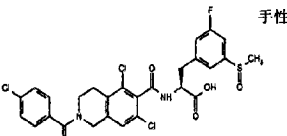
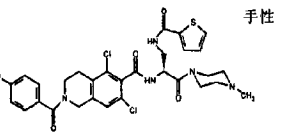
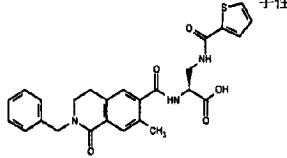
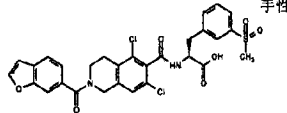
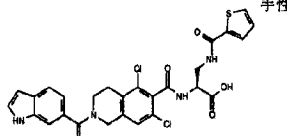
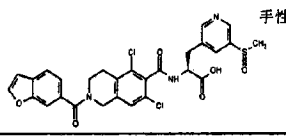
[0519] 使用人 T 淋巴细胞系 HuT 78 (ATCC TIB-161) 进行 T-细胞粘附测定。在 PBS 中将山羊抗-HuIgG (Fc) 稀释至 2mg/ml,并在 37°C 下以 50 μ l/孔包被 96 孔板 1 小时。用 PBS 洗板,并在室温下用溶于 PBS 的 1% BSA 封闭 1 小时。在 PBS 中将结构域 5 的 ICAM-Ig 稀释至 100ng/ml,并在 4°C 下以 50 μ l/孔的量将其加入到板中过夜。HuT 78 细胞以 100g 进行离心,并在 37°C 下于 5% CO_2 培养箱中用 5mM EDTA 处理细胞沉淀 5 分钟。在 0.14M NaCl, 0.02M HEPES, 0.2% 葡萄糖和 0.1mM $MnCl_2$ (测定缓冲液) 中洗涤细胞并离心。将细胞重新悬浮在测定缓冲液中,达到 3.0×10^6 个细胞/ml。在测定缓冲液中将抑制剂稀释至 2 \times 终浓度,并在室温下与 HuT78 细胞预温育 30 分钟。将 100 μ l/孔的细胞和抑制剂加入到板中并在室温下温育 1 小时。加入 100 μ l/孔的 PBS 并将板密封,在 100g 下倒置离心 5 分钟。将未贴附的细胞从板中轻轻弹出,并用纸巾吸收过量的 PBS。将 60 μ l/孔的对硝基苯基 N-乙酰基- β -D-氨基葡萄糖苷 (0.257g, 加至 100ml 柠檬酸盐缓冲液) 加入到板中,并在 37°C 下温育 1.5 小时。用 90 μ l/孔的 50mM 甘氨酸/5mM EDTA 终止酶反应,并在读板器上读取 405nm 处的读数。使用 Langegren, U. (1984). J. Immunol. Methods 57, 379-388 的对硝基苯基正乙酰基 β -D-氨基葡萄糖苷法测定 HUT 78 细胞与 5dICAM-Ig 的粘附。其结果示于表 1 中。

[0520] 表 1. 选择的本发明的直接竞争性 LFA-1 拮抗剂的粘附测定结果和溶解度结果

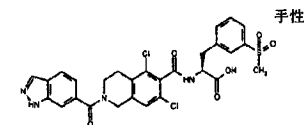
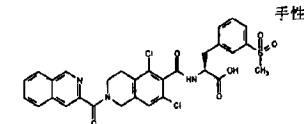
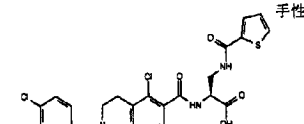
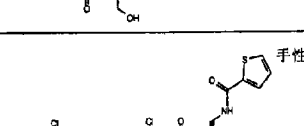
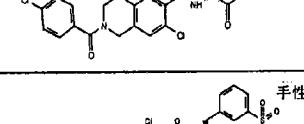
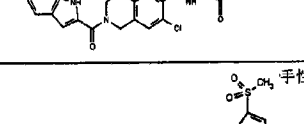
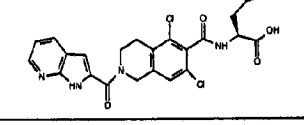
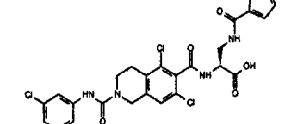
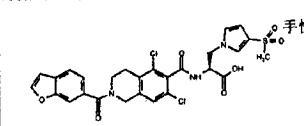
[0521]

化合物编号	结构	Hut78 (EC ₅₀)	溶解度
1		**	
2		****	+++
3		****	
4		***	
5		****	

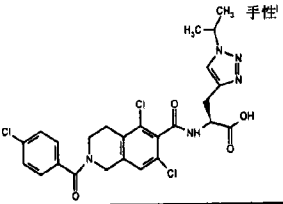
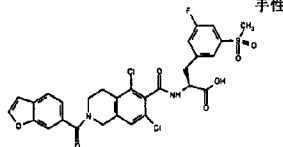
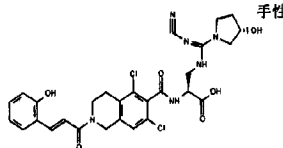
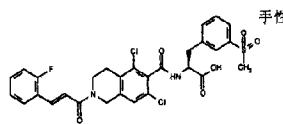
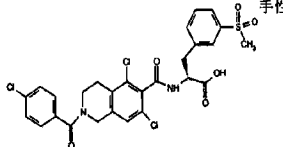
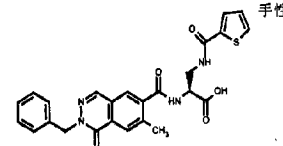
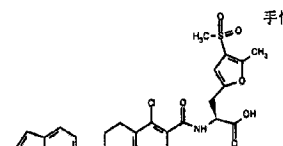
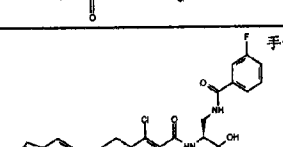
[0522]

化合物编号	结构	Hut78 (EC ₅₀)	溶解度
6		****	+++
7		****	
8		***	
9		****	++
10			+++
11		*	
12		****	+++
13		****	
14		****	

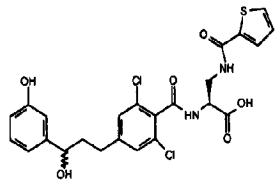
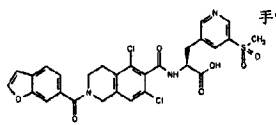
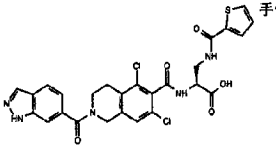
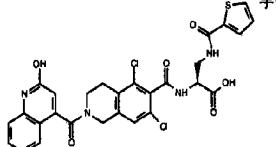
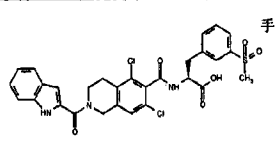
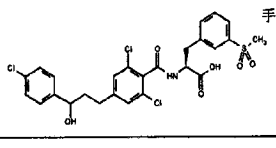
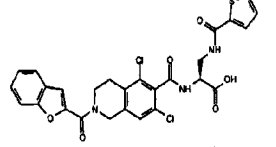
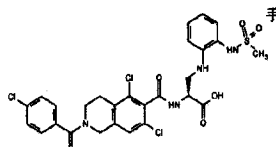
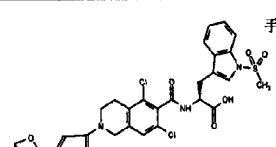
[0523]

化合物编号	结构	Hut78 (EC ₅₀)	溶解度
15	 手性	****	+++
16	 手性	****	+++
17	 手性	****	
18	 手性	****	
19	 手性	****	++
20	 手性	****	+++
21	 手性	****	+++
22	 手性	****	
23	 手性	****	

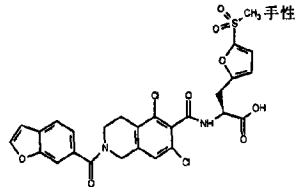
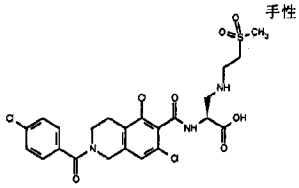
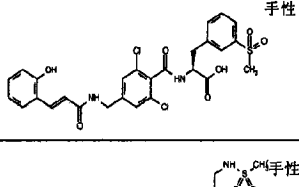
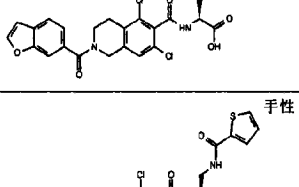
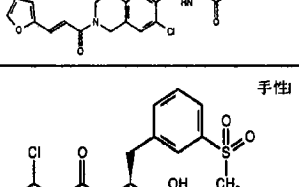
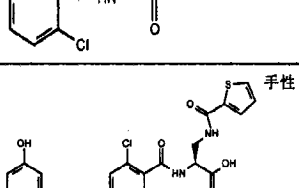
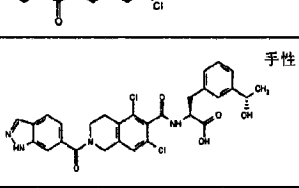
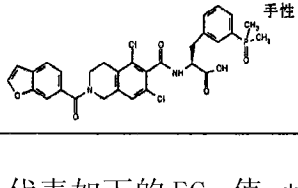
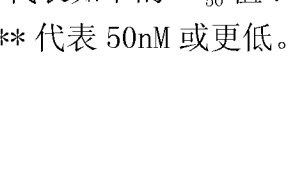
[0524]

化合物编号	结构	Hut78 (EC ₅₀)	溶解度
24		***	
25		****	+++
26		****	
27		****	+++
28		****	
29		*	+++
30		****	
31		****	++

[0525]

化合物编号	结构	Hut78 (EC ₅₀)	溶解度
32		****	++
33		****	
34		****	
35		****	+++
36		****	++
37		***	
38		****	
39		****	
40		**	

[0526]

化合物编号	结构	Hut78 (EC ₅₀)	溶解度
41		****	+++
42		*	+++
43		****	
44		****	+++
45		****	+++
46		***	+++
47		****	
48		****	
49		***	

[0527] 表中的符号代表如下的 EC₅₀ 值 : * 代表 3 μM 或更低, ** 代表 300nM 或更低, *** 代表 100nM 或更低, **** 代表 50nM 或更低。

[0528] 表中的符号代表如下的溶解度值: + 代表大于 10mg/mL, ++ 代表大于 50mg/mL, +++ 代表大于 100mg/mL。

[0529] 实施例 8: 抗原刺激的从人外周血单核细胞 (PBMC) 释放细胞因子的体外抑制

[0530] 在用葡萄球菌肠毒素 B (SEB) 刺激的人单核细胞 (PBMC) 中, 评价本发明的直接竞争性 LFA-1 拮抗剂抑制炎症细胞因子释放的能力。在培养基中制备拮抗剂瑞巴派特 (一种粘膜保护剂) 和环孢菌素 A (CsA) 的母液, 并通过加入培养基达到理想的浓度来制备稀释液。不使用 SEB 刺激制备了阴性对照。SEB 刺激和载体 (0.25% DMSO/ 培养基) 用作阳性对照。

[0531] 使冻存在低温贮存培养基中的人 PBMC 融化, 使用含有溶于生长培养基中的 10% FBS 的 RPMI 培养基洗涤, 并接种在 96 孔板上, 含 180 μ l 培养基的每孔包含 20,000 个细胞。用 SEB 刺激之前, 在拮抗剂瑞巴派特或 CsA 的存在下在 37°C 培养细胞 1 小时。以 1ng/ml 的量添加 SEB, 在第 6、16 和 48 小时收集细胞上清液。用 Luminex 多重测定来确定测定上清液中的细胞因子水平。

[0532] 随着剂量的增加, 拮抗剂显示出对炎症细胞因子释放的强烈抑制, 特别是 T 细胞调控细胞因子 IL-2 和 IL-4。该结果示于表 2、3 和 4 中, 且绘制在图 11 中。直接竞争性 LFA-1 拮抗剂抑制细胞因子释放大于 50%, 该抑制模式与在 CsA 的对比中观察到的类似。这种相似性的例外是, 并未表明 IL-3、IL-6 和 IL-12p40 对 T 细胞介导的炎症是重要的。

[0533] 表 2. IL-2、IFN α 、MIP-1 α 和 TNF- α 抑制的 EC₅₀ 浓度

		EC ₅₀ μ M 细胞因子释放			
		IL-2	IFN	MIP-1 α	TNF- α
[0534]	LFA-拮抗剂	0.0018	0.0016	0.020	0.076
	瑞巴派特	>1000	>1000	>1000	>1000
	环孢菌素 A	0.00094	0.00050	0.0011	0.00049

[0535] 表 3. IL-4、IL-10、IP-10、GM-CSF 和 MCP-1 抑制的 EC₅₀ 浓度

		EC ₅₀ μ M 细胞因子释放				
		IL-4	IL-10	IP-10	GM-CSF	MCP-1
[0536]	LFA-1 拮抗剂	0.143	0.147	1.158	0.545	0.0050
	瑞巴派特	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
	环孢菌素 A	0.0063	0.0292	0.167	0.0202	0.0926

[0537] 表 4. IL-1 α 、IL-1 β 、IL-3、IL-5、IL-6、IL-12p40 和 IL-13 抑制的 EC₅₀ 浓度。

	EC50 μ M 细胞因子释放						
	IL-1 α	IL-1 β	IL-3	IL-5	IL-6	IL-12p40	IL-13
[0538] LFA-1 拮抗剂	0.24	0.36	52.23	0.11	43.51	>1000	0.36
瑞巴派特	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
环孢菌素 A	0.002	0.003	0.002	0.073	0.001	0.002	0.074

[0539] 实施例 9 :LFA-1 拮抗剂的制剂

[0540] 本发明的直接竞争性 LFA-1 拮抗剂被配制在作为凝胶、洗液、油膏和溶液施用的几种组合中,通过不同的途经进行施用,包括但不限于局部、滴注、气溶胶、透皮贴剂、经插入物或口服施用。

[0541] 表 5. LFA-1 拮抗剂的凝胶制剂 1 和 2

	制剂 1 (% w/w)	制剂 2 (% w/w)
	LFA-1 拮抗剂	LFA-1 拮抗剂
	15% 二甲基异山梨醇酯	15% 二甲基异山梨醇酯
	25% 二乙二醇单乙基醚	25% 二乙二醇单乙基醚
	12% 己二醇	12% 己二醇
[0542]	5% 丙二醇	5% 丙二醇
	0.15% 对羟基苯甲酸甲酯	0.15% 对羟基苯甲酸甲酯
	0.05% 对羟基苯甲酸丙酯	0.05% 对羟基苯甲酸丙酯
	0.01% EDTA	0.01% EDTA
	0.5% Penmulen TR-1	1% 羟乙基纤维素
	适量 pH 6.0 25% 三乙醇胺	适量 pH 4.5 25% 三乙醇胺
	适量 100 水	适量 100 水

[0543] 表 6. LFA-1 拮抗剂的洗液制剂 3 和 4

制剂 3 (% w/w)	制剂 4 (% w/w)
1% LFA-1 拮抗剂	1% LFA-1 拮抗剂
13% 二甲基异山梨醇酯	13% 二甲基异山梨醇酯
20% 二乙二醇单乙基醚	20% 二乙二醇单乙基醚
10% 己二醇	10% 己二醇
4% 丙二醇	4% 丙二醇
0.15% 对羟基苯甲酸甲酯	0.15% 对羟基苯甲酸甲酯
0.05% 对羟基苯甲酸丙酯	0.05% 对羟基苯甲酸丙酯
0.01% EDTA	0.01% EDTA
0.5% Carbopol Ultrez 10	0.3% Carbopol Ultrez 10
0.2% Penmulen TR-1	0.2% Penmulen TR-1
3% 肉豆蔻酸异丙酯	2% 十六烷醇
5% 油醇	5.5% 轻矿物油
5% 白凡士林	5% 油酸
0.02% 丁基化羟基甲苯	0.02% 丁基化羟基甲苯
适量 pH 6.0 25% 三乙醇胺	适量 pH 6.0 25% 三乙醇胺
适量 100 水	适量 100 水

[0545] 表 7. LFA-1 拮抗剂的油膏制剂 5 和 6

制剂 5 (% w/w)	制剂 6 (% w/w)
1% LFA-1 拮抗剂	1% LFA-1 拮抗剂
15% PEG 400	10% 二甲基异山梨醇酯
0.02% 丁基化羟基甲苯	0.02% 丁基化羟基甲苯
2% Span 80	2% Span 80
10% 白蜡	10% 白蜡
71.98% 白凡士林	76.98% 白凡士林

[0547] 表 8. LFA-1 拮抗剂的溶液制剂 7、8 和 9

[0548]

制剂 7 (% w/w)	制剂 8 (% w/w)	制剂 9 (% w/w)
1% LFA-1 拮抗剂	1% LFA-1 拮抗剂	1% LFA-1 拮抗剂
15% 二甲基异山梨醇酯	15% 二甲基异山梨醇酯	99% 二甲基亚砷
25% 二乙二醇单乙基醚	25% 二乙二醇单乙基醚	
12% 己二醇	12% 己二醇	
5% 丙二醇	5% 丙二醇	
适量 pH 4.5 25% 三乙醇胺	适量 pH 6.0 25% 三乙醇胺	
适量 100 水	适量 100 水	

[0549] 表 9. LFA-1 拮抗剂的溶液制剂 10、11、12、13 和 14

W/W%	制剂 10	制剂 11	制剂 12	制剂 13	制剂 14
LFA-1 拮抗剂	0.1%	0.3%	1%	3%	5%
碳酸氢钠	0.015%	0.046%	0.15%	0.46%	0.77%
	0.1% EDTA				
	0.12% 磷酸二氢钠				
	0.4% 对羟基苯甲酸甲酯				
	0.02% 对羟基苯甲酸丙酯				
	适量的重量渗克分子浓度 270 的氯化钠				
	适量 pH 7.0 1% 氢氧化钠				
	适量 pH 7.0 1% HCl				
	适量水				

[0551] 表 10. LFA-1 拮抗剂的溶液制剂 15

[0552]

制剂 15
1 ml 10%W/W 的 LFA-1 拮抗剂水溶液, 加上 0.158 mmol 碳酸氢钠
使用 9 ml PBS 进行稀释

[0553] 实施例 10. 局部应用后本发明的 LFA-1 直接竞争性拮抗剂的体外透皮吸收

[0554] 使用根据 Skelly 等人, Pharmaceutical Research 19874(3):265-276, "FDA and AAPS Report of the Workshop on Principles and Practices of In-Vitro Percutaneous Penetration Studies: Relevance to Bioavailability and Bioequivalence" 改编的方法, 使用体外透皮吸收试验方法来评价局部应用以后的体内生物利用率。

[0555] 将制剂 1-9 以 $5\text{mg}/\text{cm}^2$ 的单一临床相关剂量 (相当于 $30\text{-}35\ \mu\text{g}$ 的剂量) 应用到用植皮刀从单个供体身上切下的人体皮肤组织上。组织的厚度为 $0.023\text{-}0.039$ 英寸 ($0.584\text{-}0.991\text{mm}$), 厚度的平均值 \pm 标准差为 $0.030\text{-}0.004$ 英寸 ($0.773\text{-}0.111\text{mm}$), 变异系数为 14.4%。将组织样品固定在 Bronaugh 流通扩散池中。用再循环水浴将细胞维持在 32°C 的恒定温度下。该池具有 0.64cm^2 的标称扩散面积。使用含有 0.1% 叠氮钠和 4% 牛血清白蛋白的 pH 7.4 的 PBS 作为固定的组织下的受体相。在组织之下, 以标称 $1.0\text{ml}/\text{hr}$ 的流速持续泵送新鲜的受体相, 并每隔 6 小时进行收集。收集受体相用于分析。

[0556] 将组织样品接触制剂 1-9 持续 24 小时。通过用 CuDermD-Squame 剥离片进行胶带剥离 (tape-stripping), 除去该时间点角质层上残留的过量制剂。然后弃取胶带条。采用钝性分离来分离表皮和真皮。分析表皮、真皮和受体相的 LFA-1 拮抗剂的含量。结果显示于表 11 中。

[0557] 除了制剂 9 (其含有 99% DMSO) 以外, 所有制剂的 LFA-1 拮抗剂的组织透过水平 (受体相) 均低于定量限度, $0.54\text{ng}/\text{ml}$ (相当于所应用剂量的 0.013%)。相反, 制剂 9 提供了所应用剂量的 1.4%, 在 24 小时的接触时间内透过了皮肤组织的所有层。

[0558] 在 24 小时的接触时间内, LFA-1 拮抗剂在表皮的沉积非常多, 这与所应用的剂量中的很大比例留在表皮上层中相一致。表 10 中报告的水平来自小体积的样品, 不能够再次测定, 因此被认为是低估了表皮中存在的药物的量。

[0559] 真皮的分析数据处于为 LFA-1 拮抗剂建立的线性范围内, 并且是定量的。接触 24 小时后 LFA-1 拮抗剂的真皮沉积为所应用剂量的 0.66% (制剂 6, $0.258 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) 至 4.4% (制剂 7, $34.3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$)。对于真皮中的制剂 1-9 而言, 真皮中 LFA-1 拮抗剂的浓度经计算为 $6.7 \mu\text{M}$ (制剂 6) 或更大 (即制剂 7 提供了 $54.1 \mu\text{M}$ 的真皮浓度)。这些浓度均远远高于体外 EC_{50} 浓度, 该浓度是实施例 7 和相应的表 1 所示的 LFA-1 拮抗剂类型抑制炎性细胞因子释放的半数最大效应的浓度。因此这些结果可预测已掺入 1% W/W LFA-1 拮抗剂的多种制剂提供治疗有效水平的细胞因子释放体内抑制的能力。

[0560] 表 11. 局部接触 24 小时后 LFA-1 拮抗剂的累积受体相和组织水平

[0561]

制剂编号		在 24 小时的受体相含量		表皮		真皮		
		$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	应用剂量的%	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	应用剂量的%	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	$\mu\text{g}/\text{ml}$	应用剂量的%
1	平均值	<定量限度		3.93	7.48	1.14	18.8	2.15
	SD ¹	<定量限度		2.92	5.50	0.91	14.9	1.73
	%CV ²	<定量限度		74	74	80	80	80
2	平均值	<定量限度		6.03	11.9	0.750	12.3	1.49
	SD	<定量限度		2.56	5.1	0.304	5.0	0.63
	%CV	<定量限度		43	42	40	40	42
3	平均值	<定量限度		6.03	12.1	1.40	23.0	2.74
	SD	<定量限度		2.97	6.4	0.27	4.4	0.47
	%CV	<定量限度		49	53	19	19	17
4	平均值	<定量限度		7.92	17.0	0.975	16.0	2.10
	SD	<定量限度		3.41	7.2	0.350	5.8	0.75
	%CV	<定量限度		43	42	36	36	36
5	平均值	<定量限度		5.71	14.6	0.670	11.0	1.71
	SD	<定量限度		1.73	4.2	0.351	5.8	0.87
	%CV	<定量限度		30	29	52	52	51

[0562]

制剂编号		在 24 小时的受体相含量		表皮		真皮		
		$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	应用剂量的%	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	应用剂量的%	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	$\mu\text{g}/\text{ml}$	应用剂量的%
6	平均值	<定量限度		6.47	16.8	0.258	4.25	0.657
	SD			1.07	2.7	0.158	2.6	0.394
	%CV			17	16	61	61	60
7	平均值	<定量限度		7.22	15.0	2.08	34.3	4.35
	SD			2.15	4.5	0.84	13.7	1.83
	%CV			30	30	40	40	42
8	平均值	<定量限度		8.58	18.0	1.48	24.3	3.09
	SD			3.53	7.7	0.99	16.2	2.07
	%CV			41	43	67	67	67
9	平均值	0.660	1.43	5.78	13.2	1.19	19.6	2.63
	SD	0.253	0.49	3.18	8.3	0.49	8.1	1.15
	%CV	38	34	55	63	41	41	44

[0563] 1. 标准差。

[0564] 2. 变异系数百分比。

[0565] 实施例 11 :T 细胞增殖测定

[0566] 该测定是由激活作用引起的淋巴细胞增殖的体外模型,该激活作用由在与抗原递呈细胞相互作用后 T 细胞受体与 LFA-1 啮合而诱发的 (Springer, Nature 346 : 425(1990))。

[0567] 在 4°C 下用溶于无菌 PBS 中的 50 μl 的 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 山羊抗人 Fc (目录 H10700) 和 50 μl 的 0.07 $\mu\text{g}/\text{ml}$ CD3 单克隆抗体 (Immunotech 0178) 预包被微量滴定板 (Nunc 96 孔 ELISA 认证) 过夜。第二天吸出包被溶液。然后用 PBS 洗板 2 次,加入 100 μl 的 17ng/ml 5d-ICAM-1-Ig 并在 37°C 下保持 4 小时。在加入 CD4+T 细胞之前用 PBS 洗板 2 次。从取自健康供体的肝素化全血中分离外周血淋巴细胞。一种可选的方法是通过白细胞分离法 (leukopheresis) 从健康供体获得全血。用盐水将血液 1 : 1 稀释、分层并在 LSM 上以 2500 \times g 离心分离 30 分钟 (每 100ml 中使用 6.2g Ficoll 和 9.4g 泛影葡胺钠) (Organon Technica, NJ)。使用骨髓样细胞消耗试剂法消耗单核细胞 (Myeloclear, Labs, Hornby, Ontario, Canada)。将 PBL 重新悬浮在 90% 的热灭活的胎牛血清和 10% 的 DMSO 中,等分试样并贮存在液氮中。融化后,将细胞重新悬浮在 RPMI 1640 培养基中 (Gibco, Grand Island, NY),所述培养基中补充了 10% 的热灭活的胎牛血清 (Intergen, Purchase, NY)、1mM 丙酮酸钠、3mM L-谷氨酰胺、1mM 非必需氨基酸、500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 青霉素、50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 链霉素、50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 庆大霉素 (Gibco)。

[0568] 通过负选择法对 CD4+T 细胞进行纯化 (人 CD4 细胞回收柱试剂盒 #CL1 10⁻⁵ Accurate)。微量滴定板每孔 100,000 个纯化的 CD4+T 细胞 (90% 纯度),在 37°C 和 5% CO₂ 下,在 100ml 培养基 (RPMI1640 (Gibco), 补充了 10% 的热灭活的 FBS (Intergen)、0.1mM 非必需氨基酸、1mM 丙酮酸钠、100 单位 /ml 青霉素、100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 链霉素、50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 庆大霉素、10mM HEPES 和 2mM 谷氨酰胺) 中培养 72 小时。在培养开始时将抑制剂加入到板中。在收集细胞之前的最后 6 小时内加入 1 $\mu\text{Ci}/$ 孔的氚化胸腺嘧啶,用以测定这些培养物的增殖响

应。通过液体闪烁计数来测定放射性标记的掺入 (Packard 96 孔收集器和计数器)。结果用计数 / 分钟 (cpm) 表示。

[0569] 实施例 12 :体外混合淋巴细胞培养模型

[0570] 混合淋巴细胞培养模型为体外移植模型 (A. J. Cunningham, " Understanding Immunology, Transplantation Immunology" 157-159 页 (1978)), 用于检测各种 LFA-1 拮抗剂在人类混合淋巴细胞反应的增殖和效应组中的作用。

[0571] 细胞的分离 :从取自健康供体的肝素化全血中分离出外周血 (PBMC) 单核细胞。用盐水将血液 1 : 1 稀释、分层并在 LSM 上以 $2500 \times g$ 离心 30 分钟 (每 100ml 使用 6.2g Ficoll 和 9.4g 泛影葡胺钠) (Organon Technica, NJ)。一种可选的方法是通过白细胞分离法从健康供体获得全血。如上所述分离 PBMC, 将其重新悬浮在 90% 的热灭活的胎牛血清和 10% 的 DMSO 中, 等分试样并贮存在液氮中。融化后, 将细胞重新悬浮在 RPMI 1640 培养基中 (Gibco, Grand Island, NY), 所述培养基中补充了 10% 的热灭活的胎牛血清 (Intergen, Purchase, NY)、1mM 的丙酮酸钠、3mM 的 L- 谷氨酰胺、1mM 的非必需氨基酸、500 $\mu g/ml$ 青霉素、50 $\mu g/ml$ 链霉素、50 $\mu g/ml$ 庆大霉素 (Gibco)。

[0572] 混合淋巴细胞反应 (MLR) :在 96 孔平底微量滴定板内建立单向人混合淋巴细胞培养。在 200 μl 的完全培养基中, 1.5×10^5 个响应 PBMC 与等量的辐射 (3000 拉德, 3 分 52 秒) 的同种异体刺激 PBMC 共培养。在培养开始时加入 LFA-1 拮抗剂。在 37°C 下, 在 5% 的 CO₂ 中将培养物培养 6 天, 然后用 1 μCi / 孔的 ³H- 胸苷 (6.7Ci/mmol, NEN, Boston, MA) 脉冲 6 小时。在 Packard 细胞收集器 (Packard, Canberra, 加拿大) 中收集培养物。用液体闪烁计数法测定 [³H]TdR 的掺入。结果表示为每分钟的计数 (cpm)。

[0573] 实施例 13 :使用 Jurkat 细胞的 T 细胞粘附测定

[0574] 本研究的目的在于评价在体外接触后 LFA-1 拮抗剂对 Jurkat 细胞粘附 ICAM-1 的抗粘附性质。

[0575] 在 DMSO/ 水 (1 : 1) 中制备 LFA-1 拮抗剂的母液和阳性对照, 并用测定培养基稀释, 并通过添加测定培养基以达到理想的浓度来制备后续的稀释液。报告的 LFA-1 拮抗剂被用作阳性对照。

[0576] 在室温下用溶于生长培养基的 8 μM BCECF-AM (2', 7' - 双 - (2- 羧基乙基) - 5- (和 -6) - 羧基荧光素) 溶液标记 Jurkat 细胞 15 分钟。在 37°C 下, 标记的细胞在 96 孔板的各孔中的 70 μL 测定培养基中, 以每孔 500, 000 个细胞的量, 与 70 μL 溶于测定培养基的 LFA-1 拮抗剂或阳性对照温育 30 分钟。在 LFA-1 拮抗剂或阳性对照的存在下, 在 37°C 下, 使 100 μL 等份的这种荧光标记的 Jurkat 细胞悬浮液静止于 96 孔板中的孔中 1 小时, 该 96 孔板包被有表达为 Fc 嵌合体的重组人 ICAM-1。经洗涤和在 100g 下离心 1 分钟来除去未粘附的细胞。在荧光板读数器上确定粘附细胞的粘附荧光单位。

[0577] 实施例 14. 本发明的直接竞争性 LFA-1 拮抗剂经局部应用向血流的经皮递送

[0578] 进行本研究是为了确定通过在皮肤上局部应用, 本发明的直接竞争性 LFA-1 拮抗剂向血流的递送。在雄性 Sprague 大鼠中评价了凝胶 (如制剂 1 中配制的, 表 5)、洗液 (如制剂 3 中配制的, 表 6)、油膏 (如制剂 5 中配制的, 表 6) 和 1% DMSO 溶液 (对照) 制剂, 如表 12 所示。

[0579] 剂量施用. 用于该研究的动物未禁食。所有的单剂量和多剂量均固定地给予

(200 μ L 制剂 / 动物 / 剂量)。记录了载药和空剂量装置的重量,以确定施用的制剂的实际重量。

[0580] 皮肤. 对于第 1-4 组 (第 1 组 (凝胶);第 2 组 (油膏);第 3 组 (洗液);第 4 组 (DMSO)) 的经皮施用,每只动物均在第一天接受一次背部皮肤的局部应用。对于第 6-9 组 (第 6 组 (凝胶);第 7 组 (油膏);第 8 组 (洗液);第 9 组 (DMSO)) 的经皮施用,每只动物接受每天 3 次背部皮肤的局部应用 (大致间隔 4 小时),连续 7 天。

[0581] 皮内. 对于第 5 组 (DMSO, 皮内) 中的每只动物,在第一天施用 200- μ L 的单一皮内剂量,该剂量是在剃毛的肩胛下区域使用注射器和针头连续注射两个 100- μ L 而完成的。

[0582] 样品采集:血液 (所有组). 对于基于研究组的可行的最终剂量施用,在给药前和给药后 0.25、0.5、1、2 和 4 小时从每只动物采血。

[0583] 样品采集:应用部位 (仅皮肤组). 在为了采集最终血液样品而杀死动物后,切下接触测试物质制剂的皮肤部分。通过胶带剥离来去除皮肤表面上剩余的角质层和任何未吸收的测试物质制剂。该条带合并至每个动物的一个样品小瓶中,将剩余的皮肤部分置于第二个样品小瓶中。记录样品重量。

[0584] 表 12. 向雄性 Sprague Dawley 大鼠施用的剂量给出了不同制剂中本发明的直接竞争性 LFA-1 拮抗剂的皮肤或皮内剂量 (第 5-9 组)

[0585]

动物 数目	拮抗剂 制剂	剂量 途经	剂量 浓度 (mg/g)	目标 剂量水平 (mg/动物)	标称 施用剂量		
					(g/动物) ^a	(mg/动物)	(mg/kg)
B11704	凝胶 1%	皮肤	10	2	0.2088	2.09	6.76
B11705	凝胶 1%	皮肤	10	2	0.2080	2.08	6.69
B11706	凝胶 1%	皮肤	10	2	0.2079	2.08	6.79
B11707	油膏 1%	皮肤	10	2	0.1669	1.67	5.06
B11708	油膏 1%	皮肤	10	2	0.1722	1.72	5.63
B11709	油膏 1%	皮肤	10	2	0.1744	1.74	5.64
B11710	洗液 1%	皮肤	10	2	0.2075	2.08	6.69
B11711	洗液 1%	皮肤	10	2	0.2003	2.00	6.34
B11712	洗液 1%	皮肤	10	2	0.2063	2.06	6.92
B11713	DMSO 1%	皮肤	10	2	0.2195	2.20	7.13
B11714	DMSO 1%	皮肤	10	2	0.2180	2.18	6.96
B11715	DMSO 1%	皮肤	10	2	0.2201	2.20	6.94
B11716	DMSO 1%	皮内	10	2	0.2209	2.21	6.97
B11717	DMSO 1%	皮内	10	2	0.2201	2.20	7.01
B11718	DMSO 1%	皮内	10	2	0.2248	2.25	7.54

[0586] a 施用的制剂重量。

[0587] 结果:表 13 的数据表明测试制剂中有可测到的药物透过皮肤,并且在从真皮和表皮中的毛细血管吸收后可检测到其在血浆中循环。

[0588] 表 13. 7 天 (皮肤) 或 1 天 (皮内) 后,经各种制剂递送,血液中的直接竞争性 LFA-1 拮抗剂的浓度

动物编号	时间点	组	给药途径	浓度 (ng/mL)
	给药前	凝胶 1%	皮肤	<0.500
	4 小时	凝胶 1%	皮肤	<0.500
[0589]	给药前	凝胶 1%	皮肤	<2.00~
	4 小时	凝胶 1%	皮肤	<0.500
	给药前	凝胶 1%	皮肤	NR
	4 小时	凝胶 1%	皮肤	<0.500
	给药前	油膏 1%	皮肤	<0.500
	4 小时	油膏 1%	皮肤	<0.500
	给药前	油膏 1%	皮肤	<0.500
	4 小时	油膏 1%	皮肤	<0.500
	给药前	油膏 1%	皮肤	<0.500
	4 小时	油膏 1%	皮肤	<0.500
	给药前	洗液 1%	皮肤	<2.00~
	4 小时	洗液 1%	皮肤	<0.500
	给药前	洗液 1%	皮肤	<2.00~
	4 小时	洗液 1%	皮肤	<0.500
	给药前	洗液 1%	皮肤	<2.00~
	4 小时	洗液 1%	皮肤	<0.500
[0590]	给药前	DMSO 1%	皮肤	<2.00~
	4 小时	DMSO 1%	皮肤	2.08
	给药前	DMSO 1%	皮肤	<0.500
	4 小时	DMSO 1%	皮肤	2.81
	给药前	DMSO 1%	皮肤	<2.00~
	4 小时	DMSO 1%	皮肤	2.22
	给药前	DMSO 1%	皮内	<2.00~
	4 小时	DMSO 1%	皮内	93.9
	给药前	DMSO 1%	皮内	<2.00~
	4 小时	DMSO 1%	皮内	214
	给药前	DMSO 1%	皮内	<0.500
	4 小时	DMSO 1%	皮内	136

[0591] < 0.500 = 低于定量限度 (BLQ)。

[0592] < 2.00 = 低于定量限度 (BLQ), 由于 4.00 倍的稀释

[0593] NR = 低内标准响应。样品体积不足以再分析

[0594] 实施例 15. 大鼠眼部药物动力学

[0595] 使用大鼠模型来检测直接竞争性 LFA-1 拮抗剂在眼中组织、特别是视网膜中的分布。(参见 S.P.Ayalasomayajula, and U.B.Kompella, European Journal of

Pharmacology, (2003) "Celecoxib, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, inhibits retinal vascular endothelial growth factor expression and vascular leakage in a streptozotocin-induced diabetic rat model", 458 :283-289.) 向大鼠眼睛施用一滴本发明的 ^{14}C 放射性标记的 LFA-1 拮抗剂的 1% 溶液制剂 (制剂 12, 表 9, 或制剂 5, 表 10), 然后随时间观察其放射性。t = 30 分钟和 t = 4 小时的数据绘制在图 12 中。在图 12 中, 每个解剖区域内检测到的放射性标记的拮抗剂的浓度由对应于标记的解剖区域的方框的增加的灰度来表示。该数据的数值示于表 14 中, 以纳克当量放射性标记的 LFA-1 拮抗剂 / 克组织表示。

[0596] 表 14. LFA-1 拮抗剂浓度, ng 当量 [^{14}C]-LFA-1 拮抗剂 / 克组织。

[0597]

身体区域	施用后 0.5 小时	施用后 4.0 小时
房水	1770	116
结膜 (球)	31500	4480
结膜 (睑)	26300	21830
角膜	17150	1346
虹膜-睫状体	17550	500
晶状体	38.8	9.69
视神经	796	0
视网膜和脉络膜 (具有 RPE)	510	46.7
巩膜	2750	387
玻璃体	1330	183

[0598] 结果显示在视网膜中达到了 LFA-1 拮抗剂的治疗水平, 持续到施用之后 4 小时, 此时在视网膜中观察到 50ng/g 浓度的药物。该浓度远远高于抑制白细胞粘附和糖尿病黄斑水肿 / 糖尿病性视网膜病中起作用所需的预期的阈值 10nM, 该阈值对应于在 HuT78 细胞粘附测定中具有约 2-6nM 的 IC_{50} 的拮抗剂。

[0599] 实施例 16 : I 期人体研究

[0600] 健康受试者加入该研究。进行了单次和多次施用 LFA-1 拮抗剂的随机、受控、逐步提高剂量的试验。用制成无菌、中性、等渗、缓冲水溶液的 6-8 个 LFA-1 拮抗剂剂量水平分别对每组 7 名受试者 (5 名治疗, 2 名对照) 进行治疗。受试者在第一天接受一次滴注。在随后的一周内获得样品进行药物代谢动力学和药效学评价。从第 8 天开始, 患者每天接受相同剂量的 LFA-1 拮抗剂, 总共持续 14 天。评价了 PK/PD、安全性试验室研究、眼科研究、角膜染色和荧光素血管造影术。

[0601] 实施例 17 : II 期人体研究

[0602] 两组患有糖尿病性视网膜病的成年受试者加入研究, 这两组被分为根据主要纳入

/ 排除标准定义的患糖尿病黄斑水肿组和未患糖尿病黄斑水肿组。对 LFA-1 拮抗剂进行随机、受控的剂量测定试验。三组受试者接受单独的运载体或者两个 LFA-1 拮抗剂剂量水平之一的滴注,所述拮抗剂被制成中性、缓冲、等渗的水溶液,每日给药,持续 12 周。在三个月的随访期内,通过荧光素血管造影术、眼底照相术和全面视敏度检查观察病人的安全性和改善的证据。

[0603] 虽然本文中描述和显示了本发明的优选实施方案,但是对本领域普通技术人员而言很明显这种实施方案只是作为实例提供的。在不偏离本发明的情况下,本领域普通技术人员可以进行各种变型、改变和替换。应该理解,在本发明的实施中可以采用本文中描述的本发明实施方案的各种替换形式。下列权利要求旨在定义本发明的范围,因此包括这些权利要求的范围内的方法和结构及其等同方案。

<400>3

Cys Gly Phe Asp Met Pro Cys

1

5

<210>4

<211>7

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明 :合成肽

<220>

<221>MOD_RES

<222>(3)

<223> 间 - 酪氨酸

<400>4

Cys Gly Tyr Asp Met Pro Cys

1

5

<210>5

<211>13

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明 :合成肽

<400>5

Cys Arg Ile Pro Arg Gly Asp Met Pro Asp Asp Arg Cys

1

5

10

<210>6

<211>4

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明 :合成肽

<220>

<221>MOD_RES

<222>(2)

<223>N' -3- 苯基丙基天冬酰胺

<400>6

Cys Asn Pro Cys

1

<210>7

<211>64

<212>DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明 :合成引物

<400>7

cactgtggcg ccctggtttt caggaaggta gtggatcagg cacaagcaaa caggacctga 60
cttc 64

<210>8

<211>5

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明 :合成肽

<400>8

Gly Ser Gly Ser Gly

1

5

<210>9

<211>28

<212>DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明 :合成引物

<400>9

tctgagccat gtgctggtat cgaggggc

28

通过血管内皮的白细胞移行

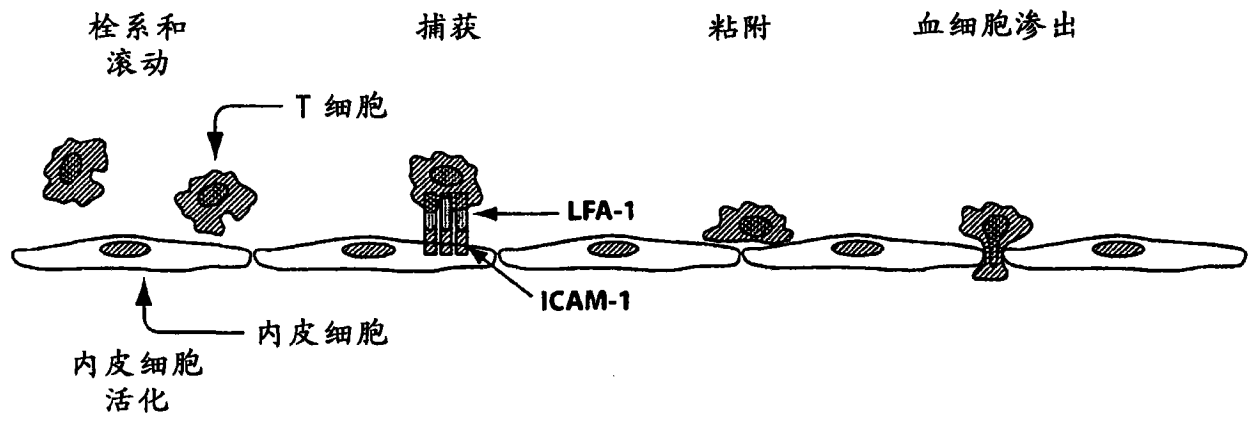
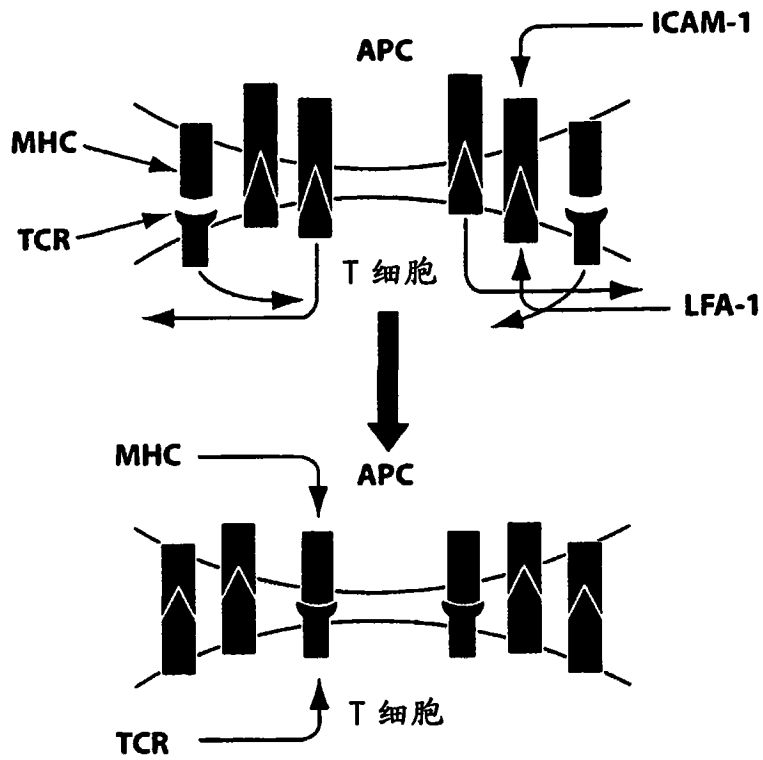
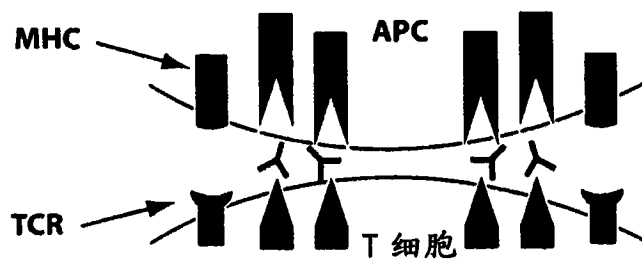


图 1

LFA-1 的相互作用免疫突触形成



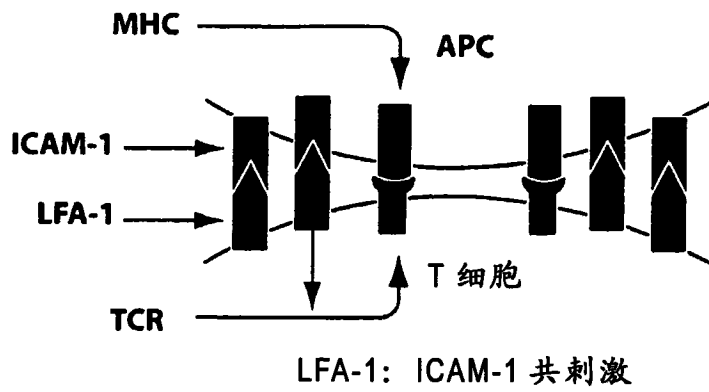
免疫突触形成



通过抑制 LFA-1 对适当的
免疫突触形成的抑制

图 2

LFA-1 与 ICAM-1 之间相互作用的共刺激



共刺激

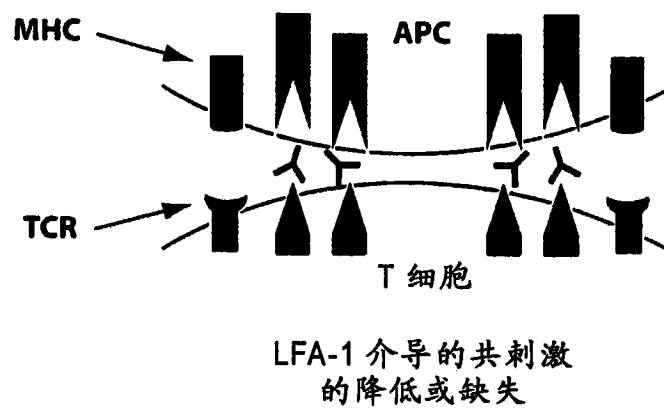


图 3

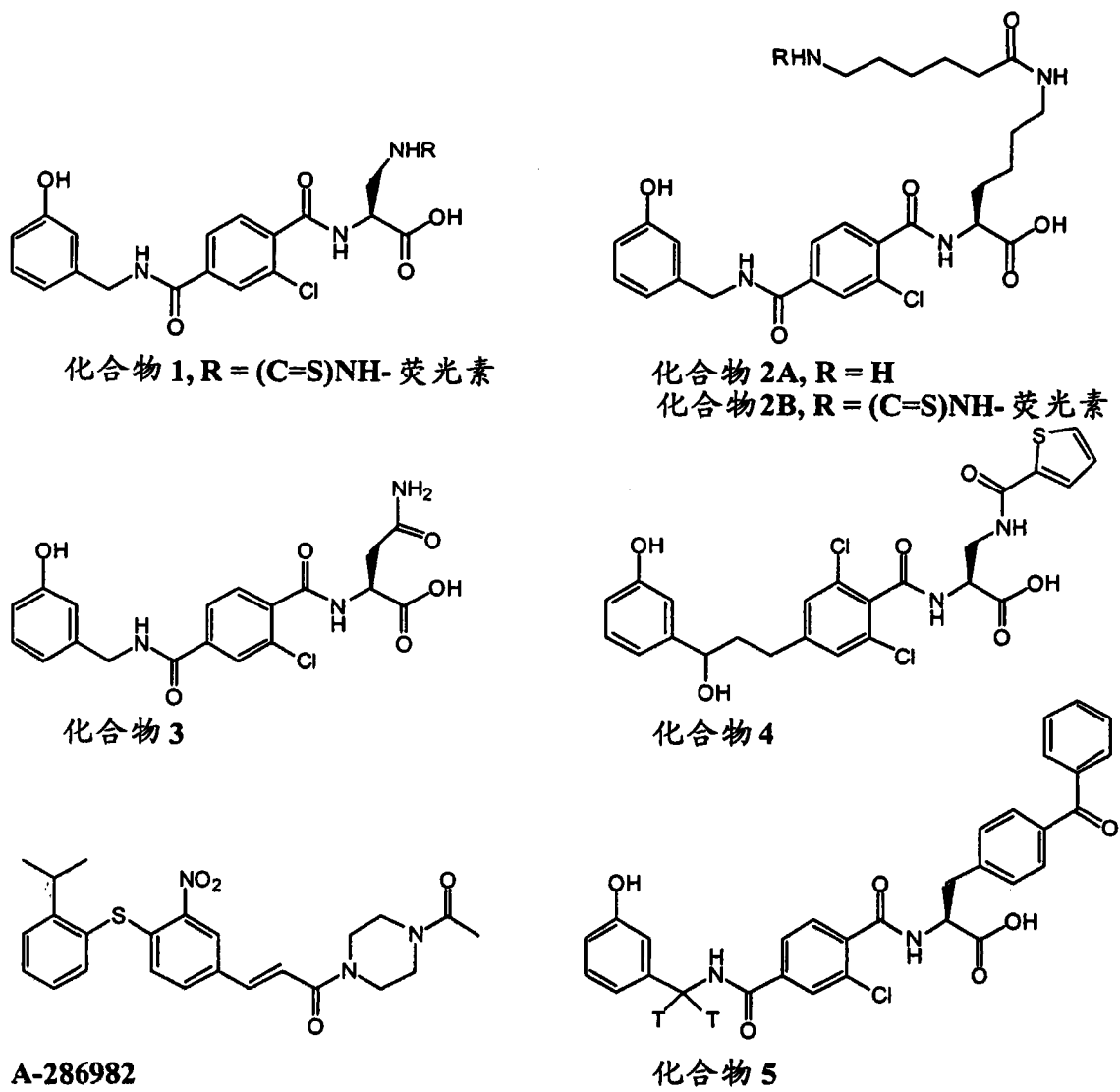


图 4

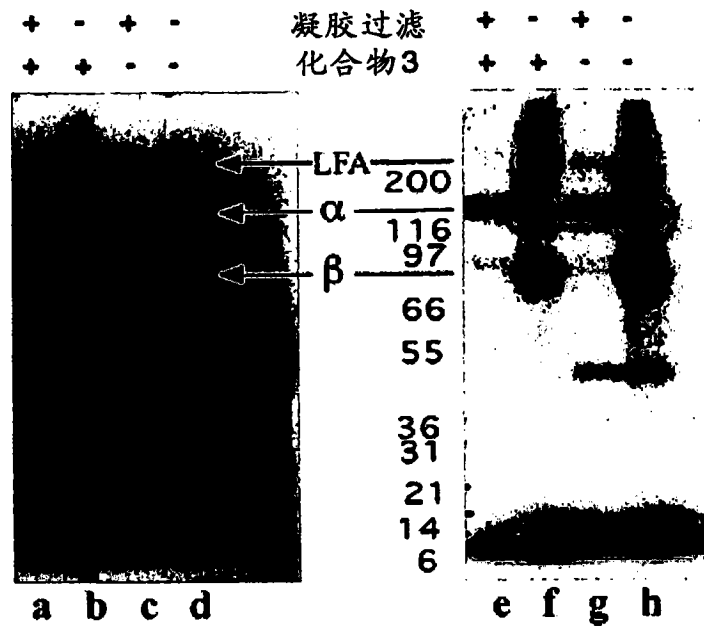


图 5

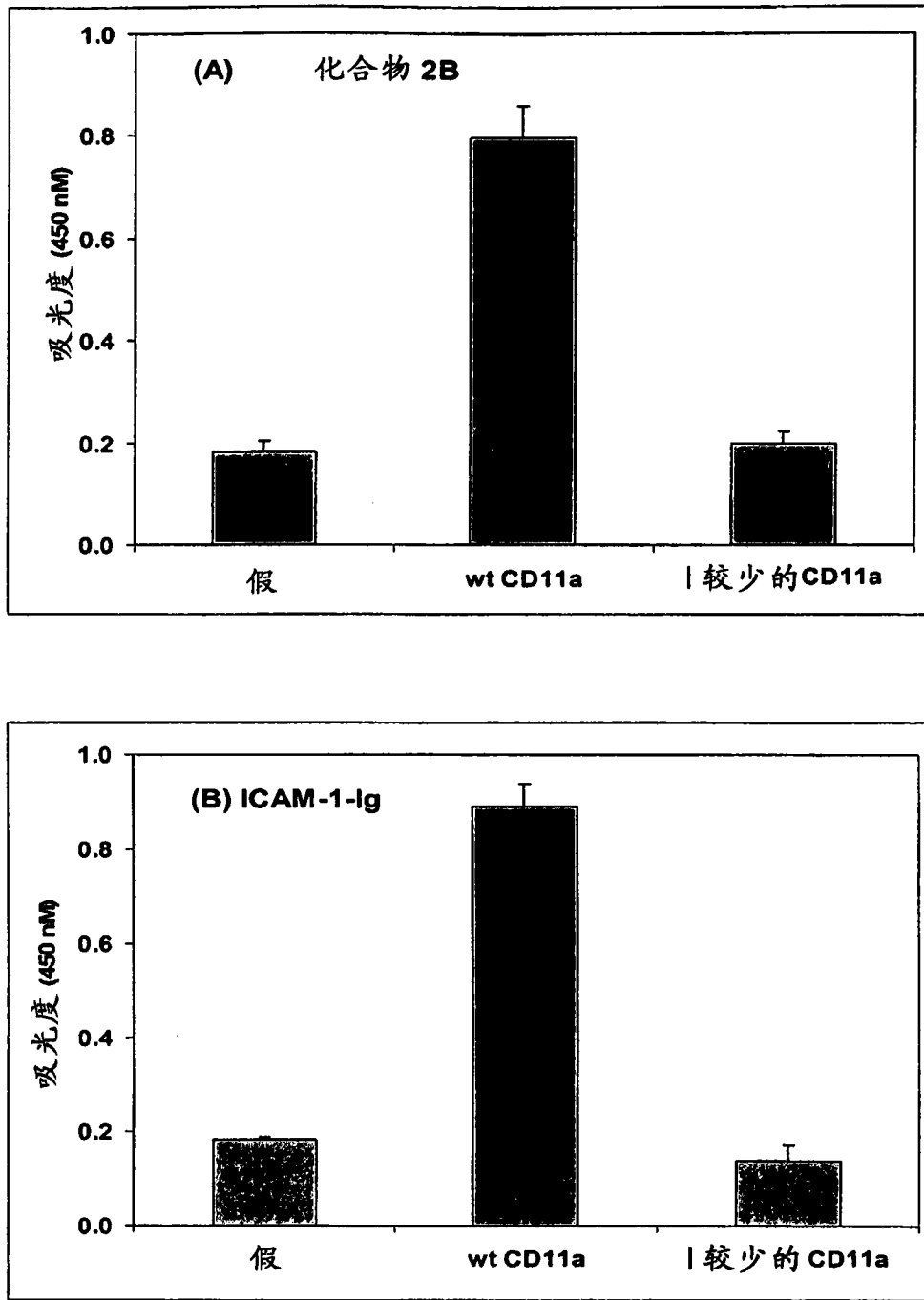


图 6

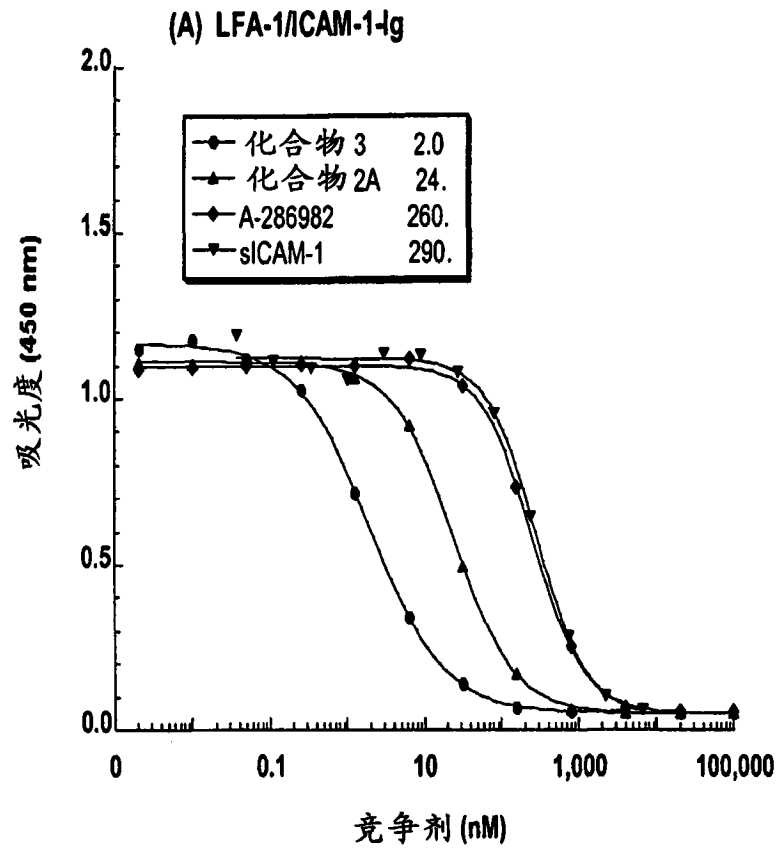


图 7

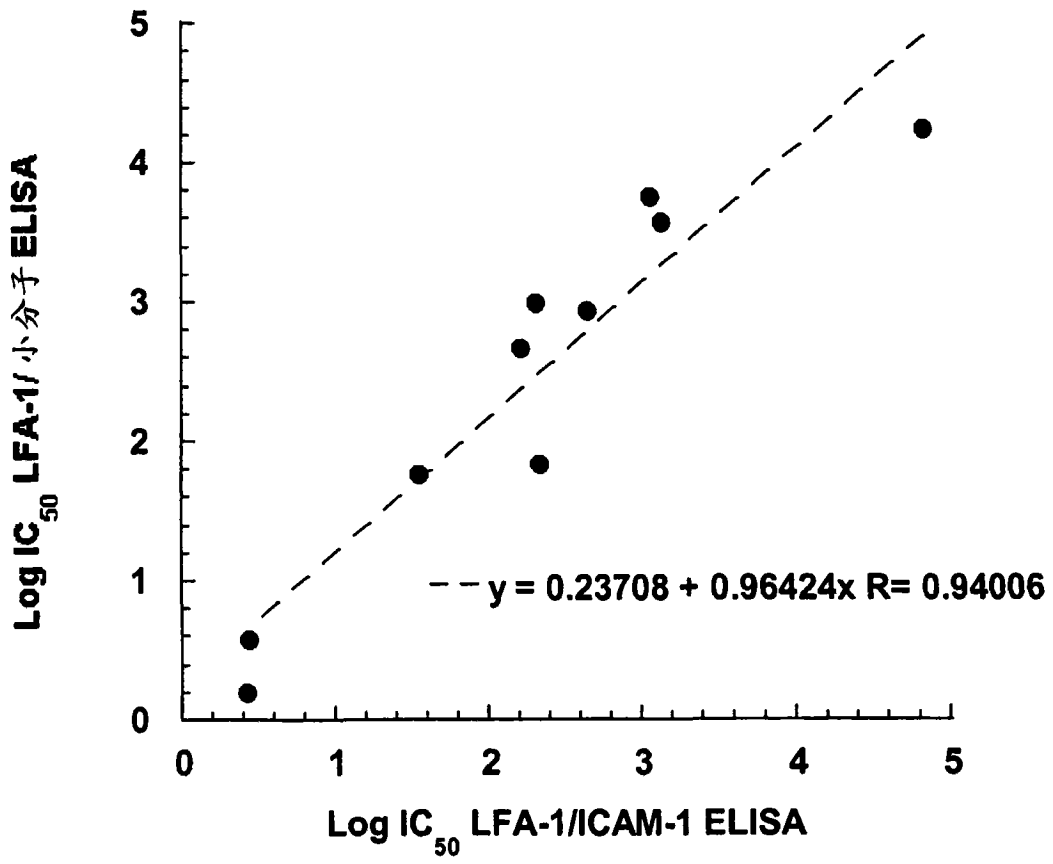


图 8

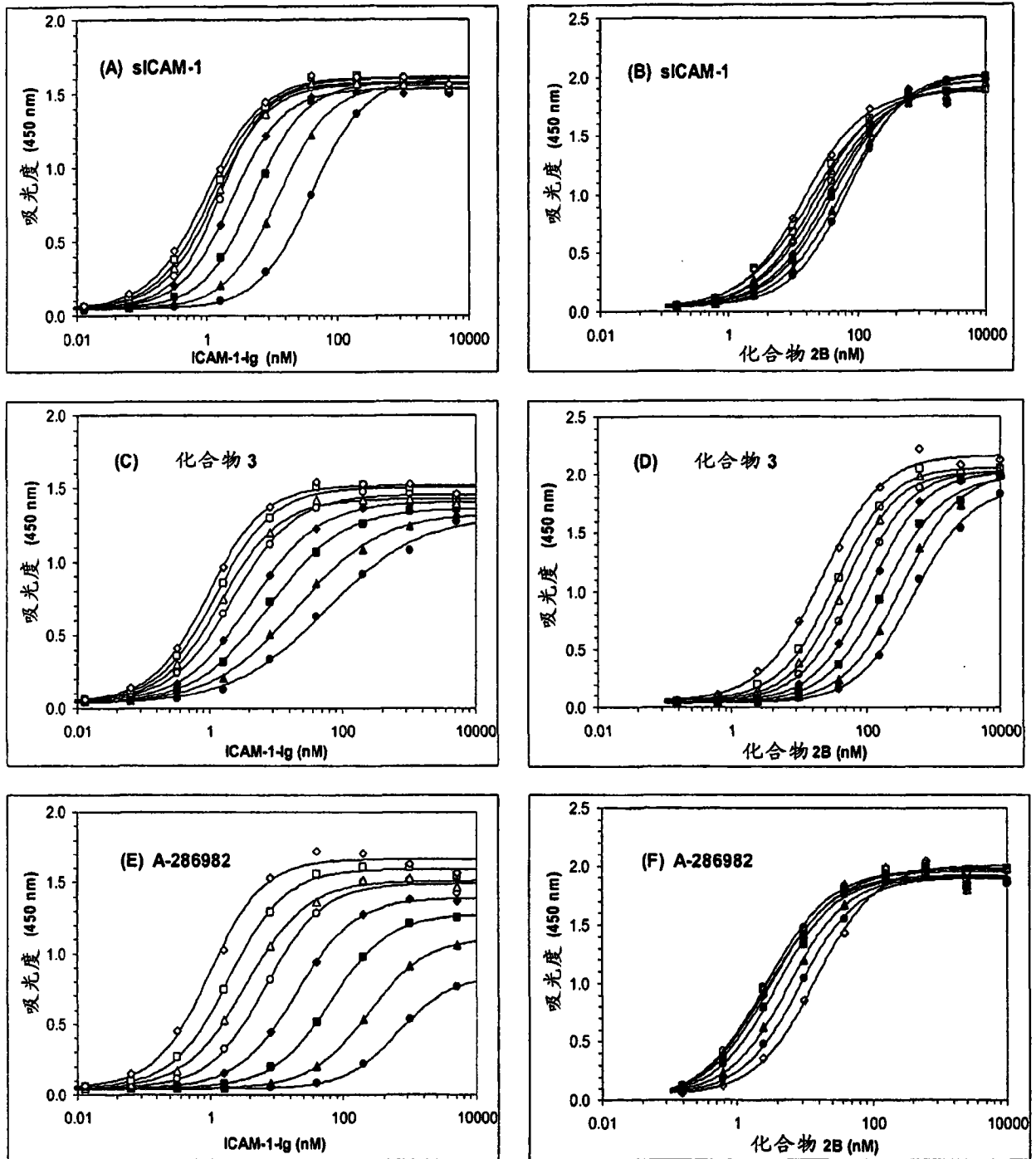


图 9

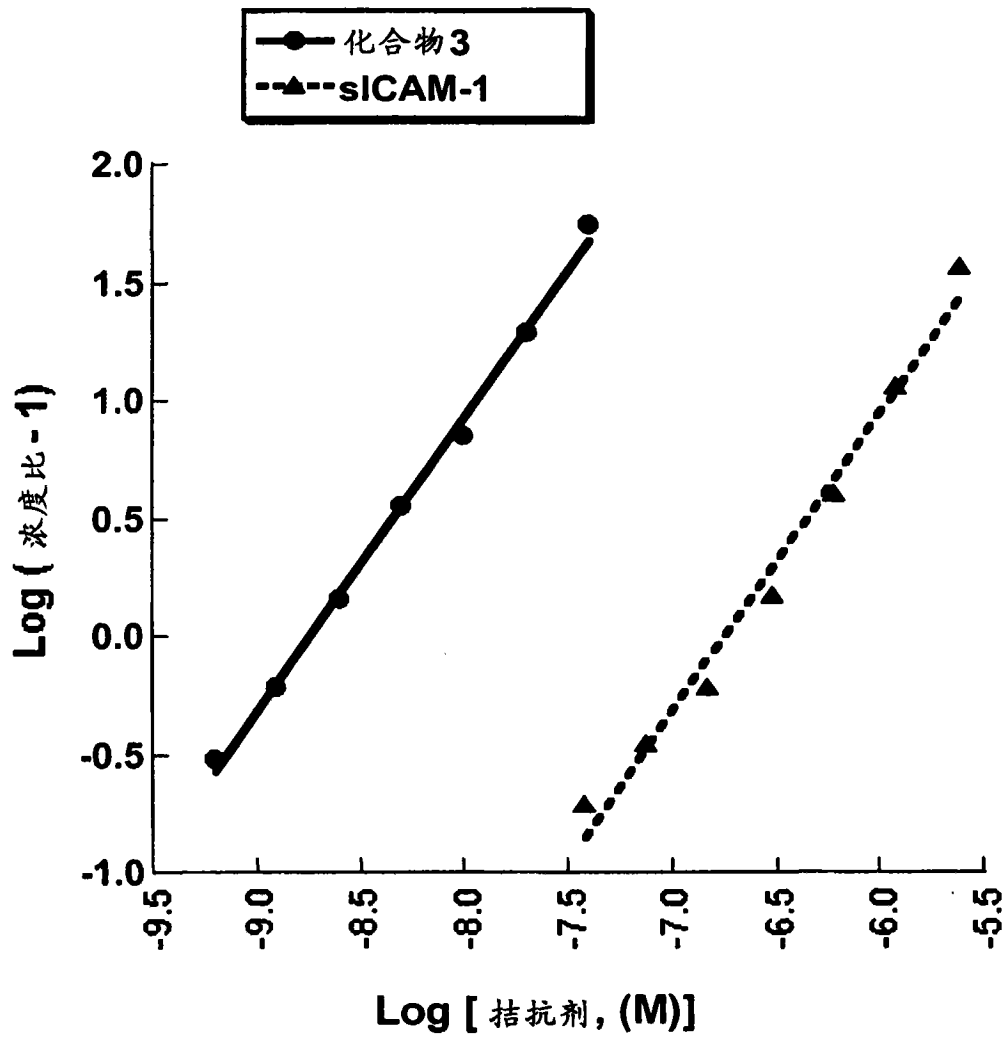


图 10

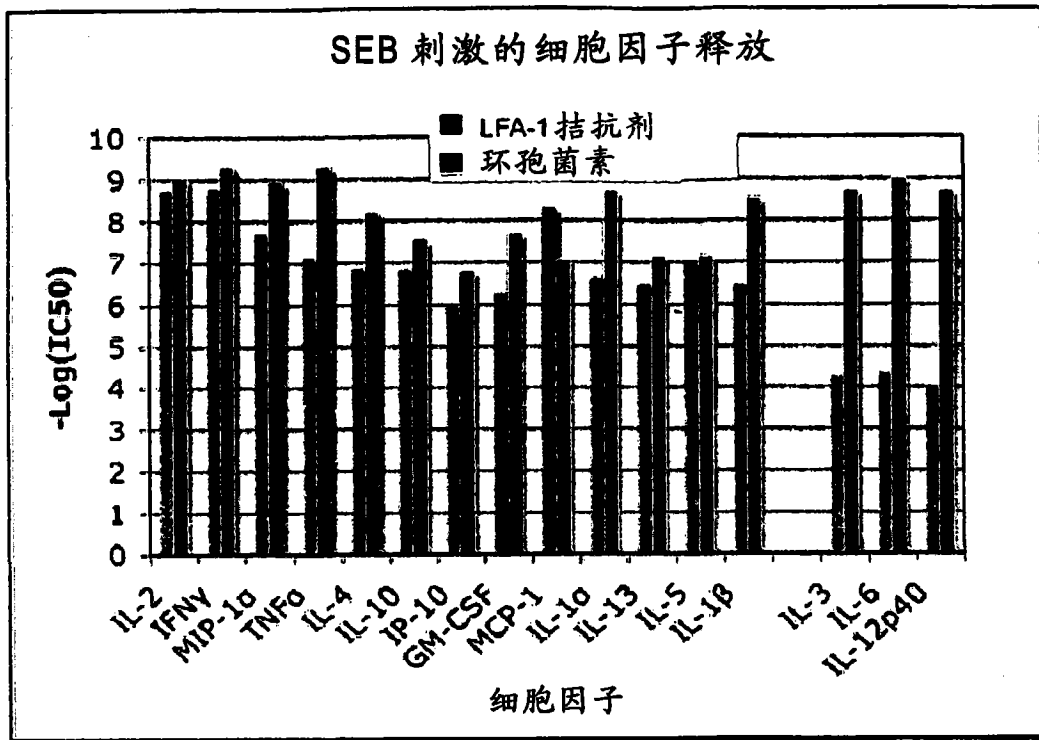
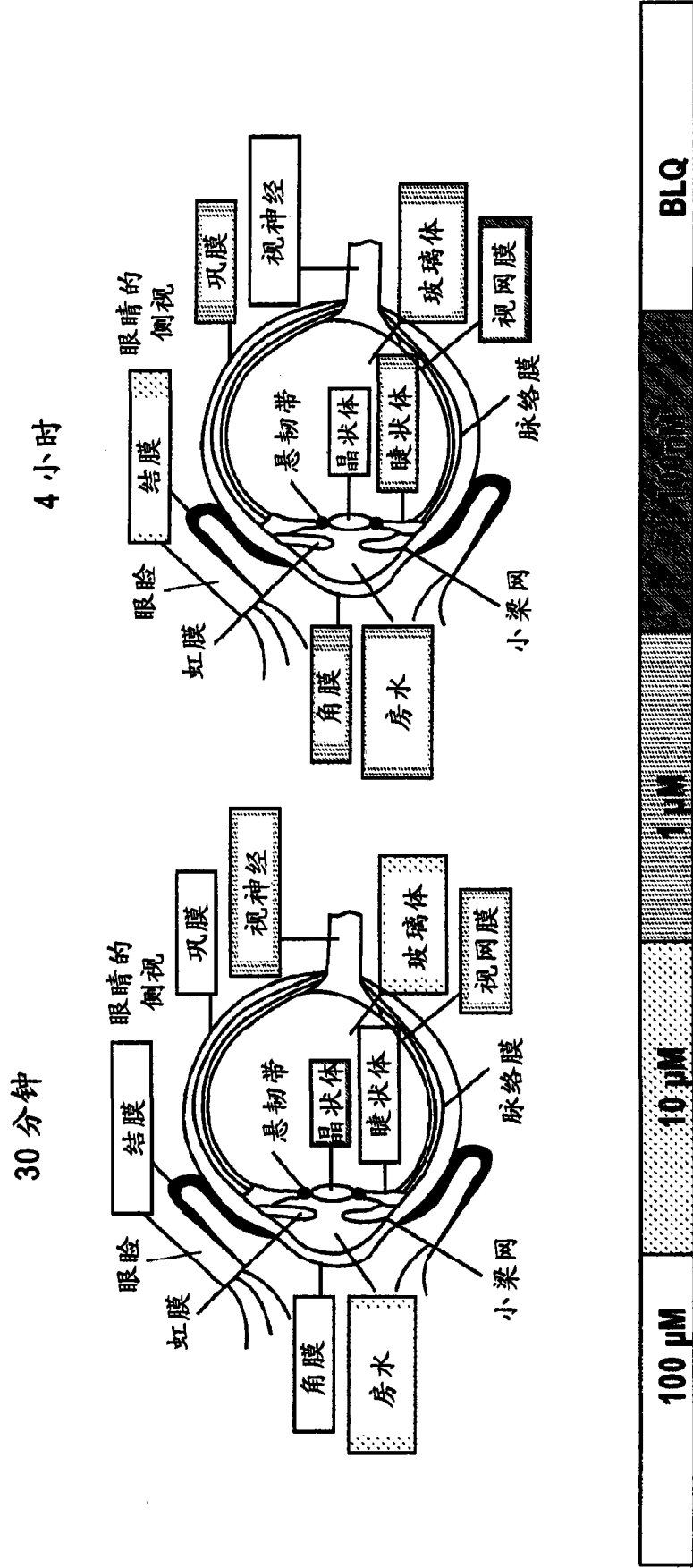


图 11

大鼠的眼睛动力学



[LFA-1 拮抗剂浓度]

图 12

专利名称(译)	用于治疗糖尿病性视网膜病的组合物和方法		
公开(公告)号	CN101873797A	公开(公告)日	2010-10-27
申请号	CN200880117716.2	申请日	2008-10-17
[标]申请(专利权)人(译)	萨可德公司		
申请(专利权)人(译)	萨可德公司		
当前申请(专利权)人(译)	萨可德公司		
[标]发明人	J伯涅尔 T加德克 C塞姆巴		
发明人	J·伯涅尔 T·加德克 C·塞姆巴		
IPC分类号	A01N33/02 A61K31/14 G01N33/53		
CPC分类号	A61K31/381 A61K31/198 A61K31/66 A61K31/496 A61K31/502 A61K9/0014 A61K31/4025 A61K31/4725 A61K45/06 A61K31/472 A61K31/00 A61K31/341 A61K31/14 A61K31/343 A61K31/517 A61K31/277 A61P3/10 A61P9/10 A61P27/02 A61P43/00 A61F9/0017 A61K9/0048 A61K9/06 A61K9/08 A61K39/39533 A61K49/00 A61K2039/505 A61K2039/507 C07K16/2821 C07K2317/92 G01N33/6893 G01N2333/70503 G01N2333/70525 G01N2800/042 G01N2800/164		
代理人(译)	陈文平		
优先权	60/999571 2007-10-19 US		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了用于治疗糖尿病性视网膜病的化合物和方法。具体地，在此描述了用来治疗糖尿病性视网膜病的LFA-I拮抗剂。本发明的一方面提供了糖尿病性视网膜病的诊断和患者在被诊断为糖尿病性视网膜病之后LFA-I拮抗剂的施用。

