



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115089722 A

(43) 申请公布日 2022. 09. 23

(21) 申请号 202210430597.8

(22) 申请日 2016.06.17

(30) 优先权数据

62/182,219 2015.06.19 US

62/261,213 2015.11.30 US

62/261,563 2015.12.01 US

(62) 分案原申请数据

201680041045.0 2016.06.17

(71) 申请人 森托瑞恩生物制药公司

地址 美国加利福尼亚

(72) 发明人 F·克拉特兹 K·阿布阿吉阿吉

A·瓦内克 S·D·寇斯特

F·I·诺尔曼 S·瓦尔泽

O·福斯 J·加西亚费尔南德斯

(74) 专利代理机构 中国贸促会专利商标事务所

有限公司 11038

专利代理人 于巧玲

(51) Int. Cl.

A61K 47/54 (2017.01)

A61K 47/64 (2017.01)

A61K 47/68 (2017.01)

A61K 31/475 (2006.01)

A61K 31/704 (2006.01)

A61K 31/706 (2006.01)

A61K 31/7068 (2006.01)

A61K 38/07 (2006.01)

A61K 45/00 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

A61P 31/10 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 37/02 (2006.01)

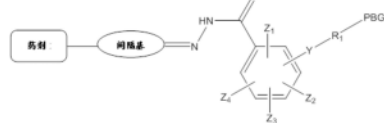
权利要求书9页 说明书93页 附图8页

(54) 发明名称

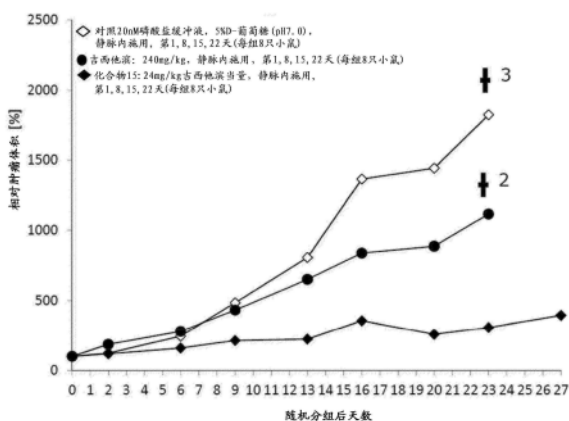
用于控制药物释放的递送系统

(57) 摘要

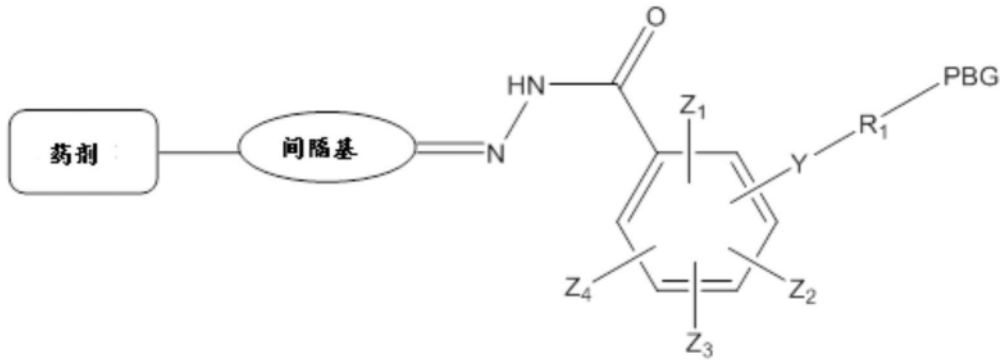
本发明提供了具有式(I)的结构的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体,用于药剂的控制的递送和释放。



式(I)



1. 具有式 (I) 的结构化合物:

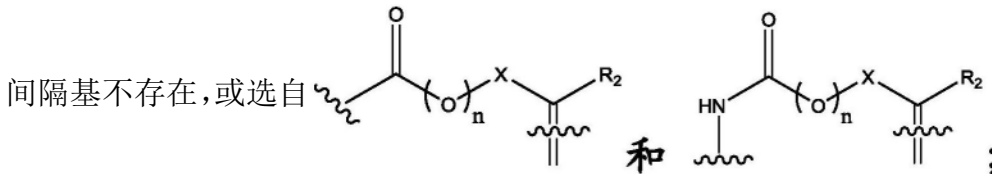


式 (I)

或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体;

其中:

药剂选自细胞抑制剂、细胞毒剂、细胞因子、免疫抑制剂、抗风湿剂、消炎药、抗生素、止痛药、抗病毒剂、抗炎剂、抗霉菌剂、转录因子抑制剂、细胞周期调节剂、MDR调节剂、蛋白酶体或蛋白酶抑制剂、细胞凋亡调节剂、酶抑制剂、信号转导抑制剂、蛋白酶抑制剂、血管生成抑制剂、激素或激素衍生物、抗体或其片段、治疗或诊断活性肽、放射性物质、发光物质、吸光物质及前述任一种的衍生物;



n是0或1;

X选自任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基,其中任选地所述 C_1-C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基 $-NH-C(O)-R_5-$,其中任选地所述 C_1-C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基 $-C(O)-NH-R_5-$,其中任选地所述 C_1-C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;任选地取代的芳基;任选地取代的杂芳基;和任选地取代的环烷基;

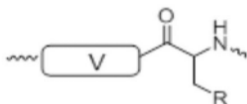
R_5 选自任选地取代的芳基、任选地取代的杂芳基和任选地取代的环烷基;

Y不存在或选自任选地取代的 C_1-C_6 烷基、 $-NH-C(O)-$ 、 $-C(O)-NH-$ 、 $-C(O)-O-$ 和 $-O-C(O)-$;

R_1 不存在或选自任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基,其中任选地所述 C_1-C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基 $-NH-C(O)-R_5-$,其中任选地所述 C_1-C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;和任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基 $-C(O)-NH-R_5-$,其中任选地所述 C_1-C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代,

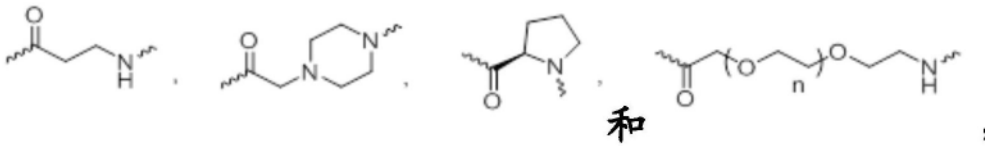
或 R_1 是天然或非天然存在的氨基酸,

或 R_1 具有下式:



其中：

\boxed{V} 为不存在,或选自：



R是： $\sim\text{OPO}_3\text{M}_1$ ，其中 $\text{M}_1 = \text{Mg}^{2+}, 2\text{Na}^+, 2\text{K}^+, 2\text{J}^+, 2\text{NH}_4^+$ ，

或 $\sim\text{SO}_3\text{M}_2$ ，其中 $\text{M}_2 = \text{Na}^+, \text{K}^+, \text{H}^+, \text{NH}_4^+$ ；

R_2 选自-H、任选地取代的 C_1 - C_{12} 烷基、任选地取代的芳基和任选地取代的杂芳基；

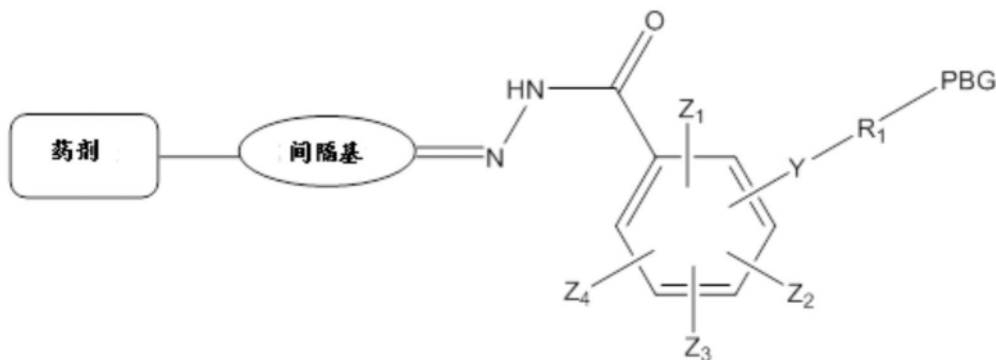
Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地是-H、吸电子基团和/或水溶性基团；

PBG是蛋白质结合基团,其选自任选地被取代的马来酰亚胺基、任选地被取代的卤代乙酰胺基、任选地被取代的卤代乙酸酯基、任选地被取代的吡啶硫基、任选地被取代的异硫氰酸酯基、任选地被取代的乙烯基羰基、任选地被取代的氮丙啶基、任选地被取代的二硫基、任选地被取代的乙炔基、任选地被取代的N-羟基琥珀酰亚胺酯基、抗体或其片段和衍生化抗体或其衍生化片段；

其中当间隔基不存在时,通过双键将药剂连接到与间隔基相邻的氮;且

其中 Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 中至少一个是吸电子基团。

2. 具有式(I)的结构化合物：

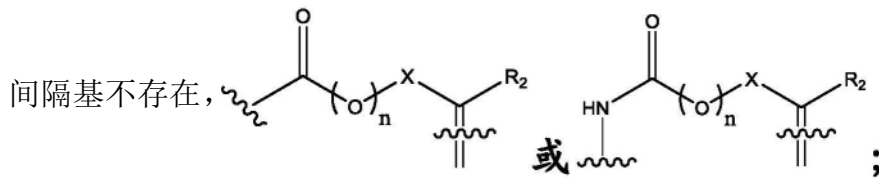


式(I)

或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体；

其中

药剂选自细胞抑制剂、细胞毒剂、细胞因子、免疫抑制剂、抗风湿剂、消炎药、抗生素、止痛药、抗病毒剂、抗炎剂、抗霉菌剂、转录因子抑制剂、细胞周期调节剂、MDR调节剂、蛋白酶体或蛋白酶抑制剂、细胞凋亡调节剂、酶抑制剂、信号转导抑制剂、蛋白酶抑制剂、血管生成抑制剂、激素或激素衍生物、抗体或其片段、治疗或诊断活性肽、放射性物质、发光物质、吸光物质及前述任一种的衍生物；



n是0或1;

X选自任选地取代的C₁-C₁₈烷基,其中任选地所述C₁-C₁₈烷基中至多6个碳原子各自独立地被-OCH₂CH₂-替代;任选地取代的C₁-C₁₈烷基-NH-C(O)-R₅-,其中任选地所述C₁-C₁₈烷基中至多6个碳原子各自独立地被-OCH₂CH₂-替代;任选地取代的C₁-C₁₈烷基-C(O)-NH-R₅-,其中任选地所述C₁-C₁₈烷基中至多6个碳原子各自独立地被-OCH₂CH₂-替代;任选地取代的芳基;任选地取代的杂芳基;和任选地取代的环烷基;

R₅选自任选地取代的芳基、任选地取代的杂芳基和任选地取代的环烷基;

Y不存在或选自任选地取代的C₁-C₆烷基、-NH-C(O)-、-C(O)-NH-、-C(O)-O-和-O-C(O)-;

R₁不存在或选自任选地取代的C₁-C₁₈烷基,其中任选地所述C₁-C₁₈烷基中至多6个碳原子各自独立地被-OCH₂CH₂-替代;任选地取代的C₁-C₁₈烷基-NH-C(O)-R₅-,其中任选地所述C₁-C₁₈烷基中至多6个碳原子各自独立地被-OCH₂CH₂-替代;和任选地取代的C₁-C₁₈烷基-C(O)-NH-R₅-,其中任选地所述C₁-C₁₈烷基中至多6个碳原子各自独立地被-OCH₂CH₂-替代;

R₂选自-H、任选地取代的C₁-C₁₂烷基、任选地取代的芳基和任选地取代的杂芳基;

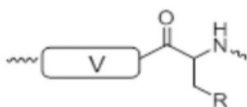
Z₁、Z₂、Z₃和Z₄各自独立地选自-H和吸电子基团;

PBG是蛋白质结合基团,其选自任选地被取代的马来酰亚胺基、任选地被取代的卤代乙酰胺基、任选地被取代的卤代乙酸酯基、任选地被取代的吡啶硫基、任选地被取代的异硫氰酸酯基、任选地被取代的乙烯基羰基、任选地被取代的氮丙啶基、任选地被取代的二硫基、任选地被取代的乙炔基、任选地被取代的N-羟基琥珀酰亚胺酯基;和抗体或其片段;

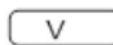
其中当间隔基不存在时,通过双键将药剂连接到与间隔基相邻的氮;且

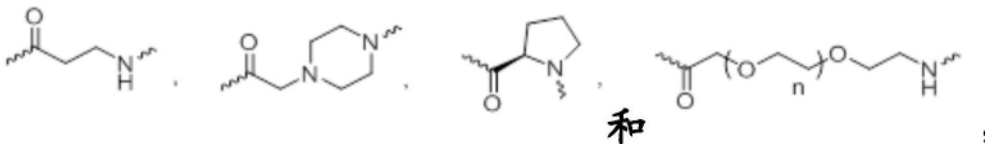
Z₁、Z₂、Z₃和Z₄中至少一个是吸电子基团。

3. 根据权利要求1-2中任意一项的化合物,其中R₁是:



其中:

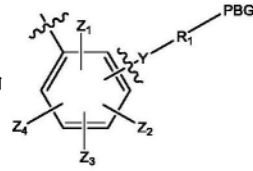
 为不存在,或选自:



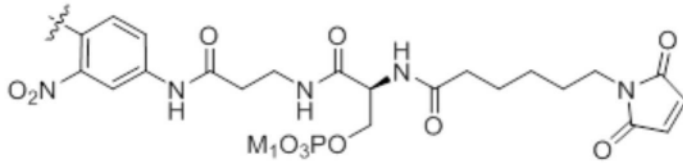
R是: $\sim\text{OPO}_3\text{M}_1$, 其中M₁=Mg²⁺, 2Na⁺, 2K⁺, 2H⁺, 2NH₄⁺,

或 $\sim\text{SO}_3\text{M}_2$, 其中M₂=Na⁺, K⁺, H⁺, NH₄⁺。

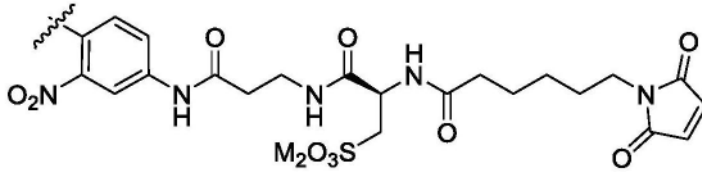
4. 根据权利要求1-3中任意一项的化合物,其中



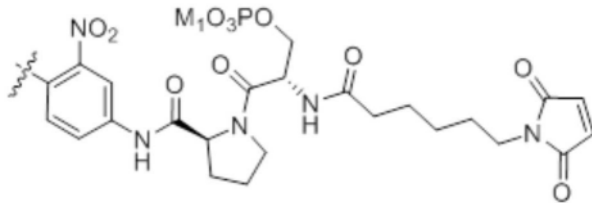
选自:



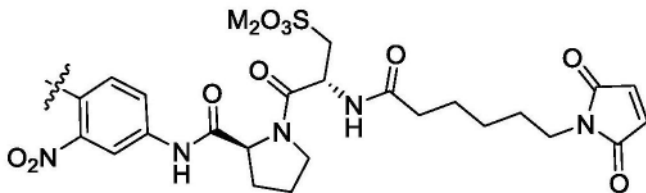
$M_1 = Mg^{2+}, 2Na^+, 2K^+, 2H^+, 2NH_4^+, Na^+, K^+, NH_4^+$ 和/或 H^+ ,



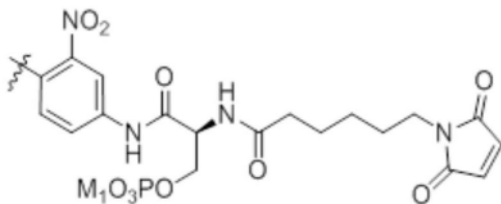
$M_2 = Na^+, K^+, H^+, NH_4^+$,



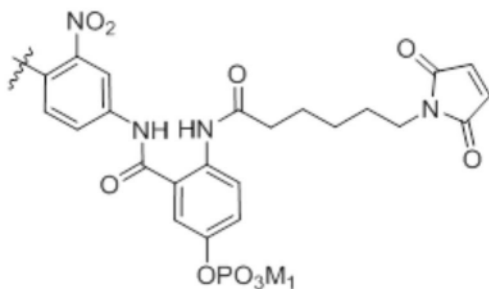
$M_1 = Mg^{2+}, 2Na^+, 2K^+, 2H^+, 2NH_4^+, Na^+, K^+, NH_4^+$ 和/或 H^+ ,



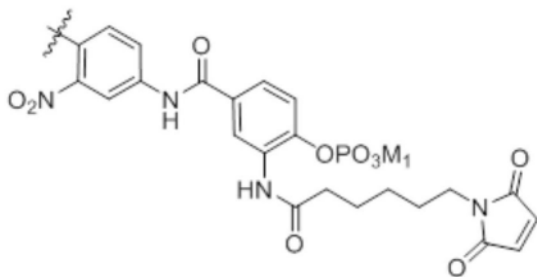
$M_2 = Na^+, K^+, H^+, NH_4^+$,



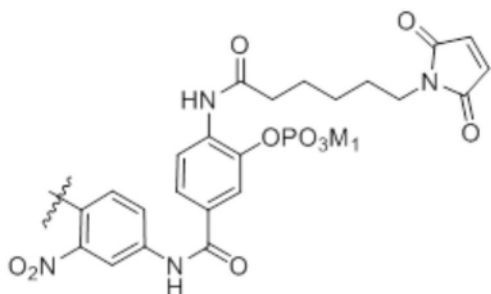
$M_1 = Mg^{2+}, 2Na^+, 2K^+, 2H^+, 2NH_4^+, Na^+, K^+, NH_4^+$ 和/或 H^+ ,



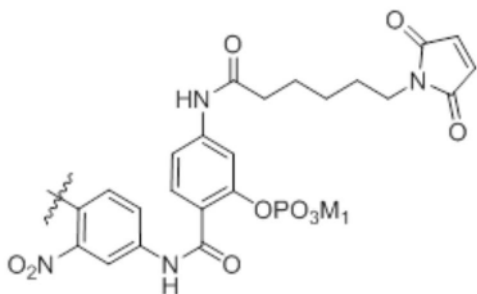
$M_1 = Mg^{2+}, 2Na^+, 2K^+, 2H^+, 2NH_4^+, Na^+, K^+, NH_4^+$ 和/或 H^+ ,



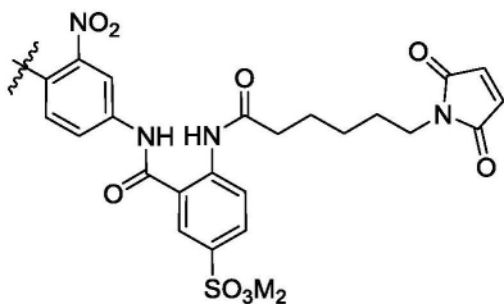
$M_1 = \text{Mg}^{2+}, 2\text{Na}^+, 2\text{K}^+, 2\text{H}^+, 2\text{NH}_4^+, \text{Na}^+, \text{K}^+, \text{NH}_4^+$ 和/或 H^+ ,



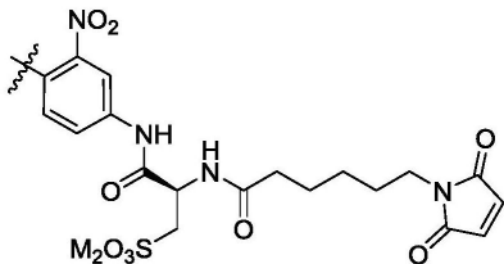
$M_1 = \text{Mg}^{2+}, 2\text{Na}^+, 2\text{K}^+, 2\text{H}^+, 2\text{NH}_4^+, \text{Na}^+, \text{K}^+, \text{NH}_4^+$ 和/或 H^+ ,



$M_1 = \text{Mg}^{2+}, 2\text{Na}^+, 2\text{K}^+, 2\text{H}^+, 2\text{NH}_4^+, \text{Na}^+, \text{K}^+, \text{NH}_4^+$ 和/或 H^+ ,

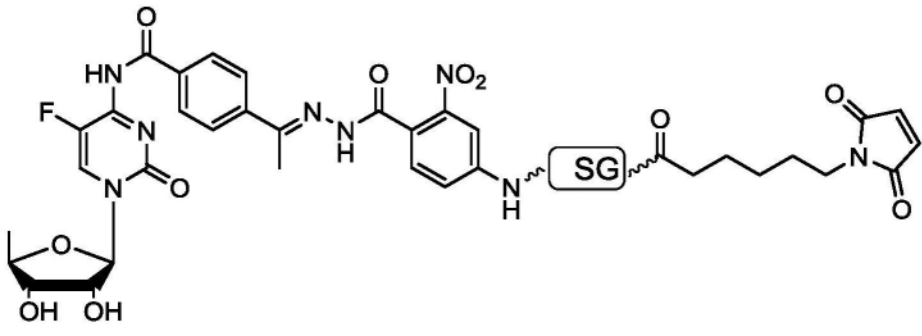


$M_2 = \text{Na}^+, \text{K}^+, \text{H}^+, \text{NH}_4^+$, 和

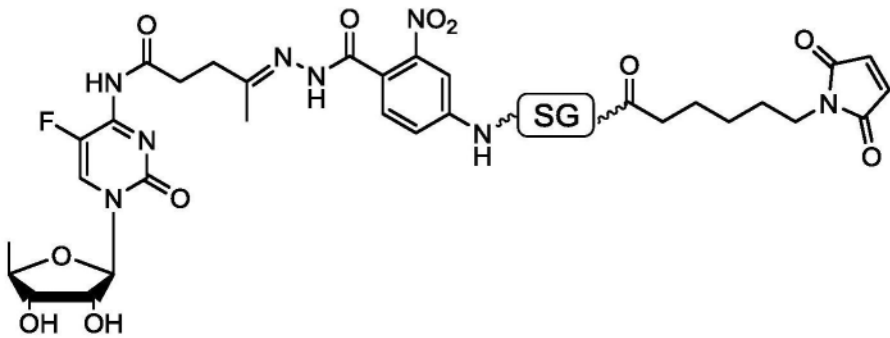


$M_2 = \text{Na}^+, \text{K}^+, \text{H}^+, \text{NH}_4^+$ 。

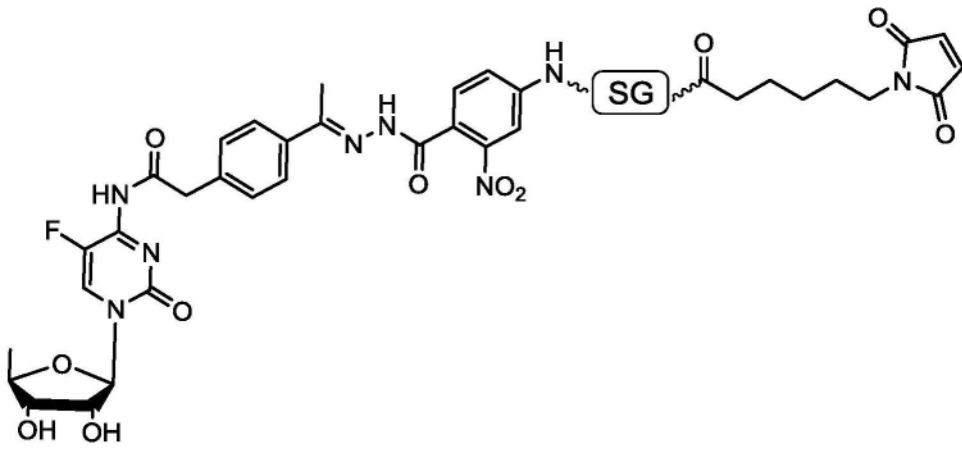
5. 根据权利要求1的化合物, 其中化合物选自:



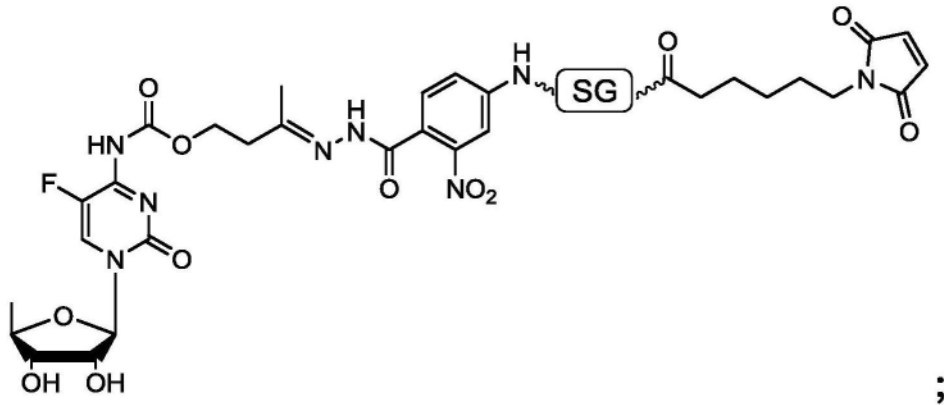
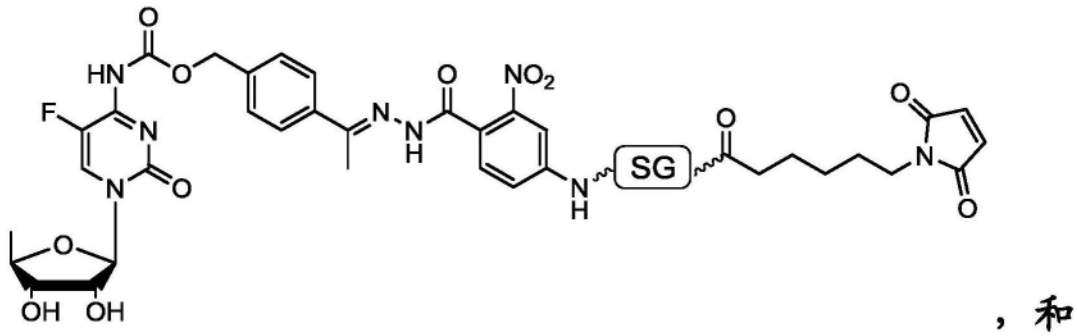
,



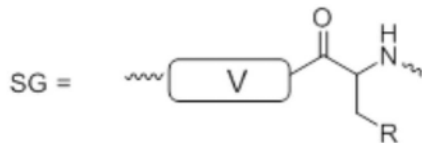
,



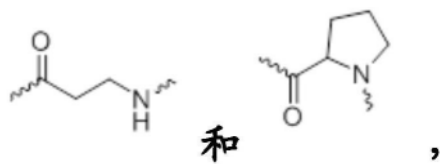
,



或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体，
其中：



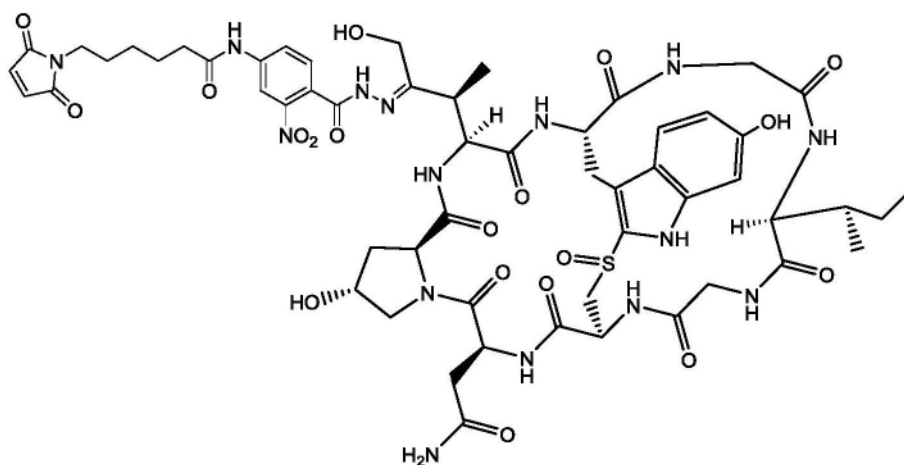
为不存在,或选自:



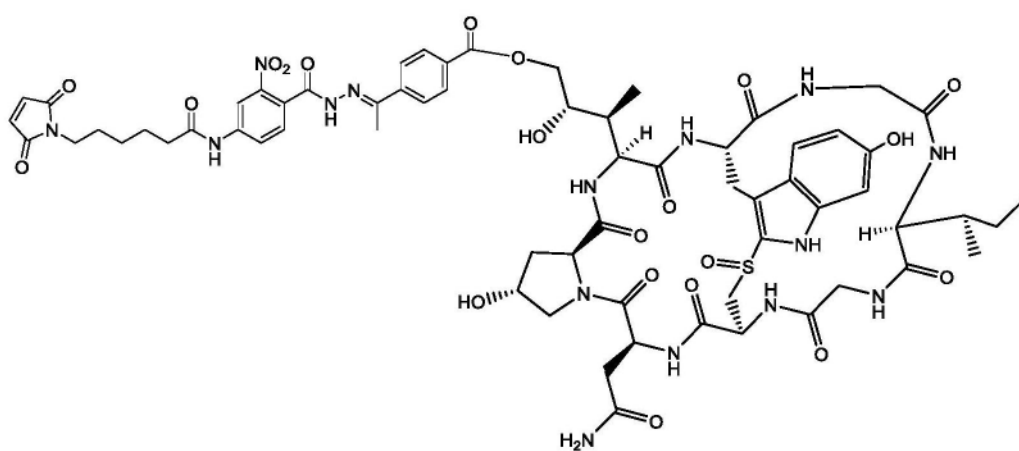
R是： $\text{~}^{\text{O}}\text{PO}_3\text{M}_1$ ，其中 $\text{M}_1 = \text{Mg}^{2+}, 2\text{Na}^+, 2\text{K}^+, 2\text{H}^+, 2\text{NH}_4^+, \text{Na}^+, \text{K}^+, \text{NH}_4^+$ 和/或 H^+

或 $\text{~}^{\text{O}}\text{SO}_3\text{M}_2$ ，其中 $\text{M}_2 = \text{Na}^+, \text{K}^+, \text{H}^+$ 和/或 NH_4^+ 。

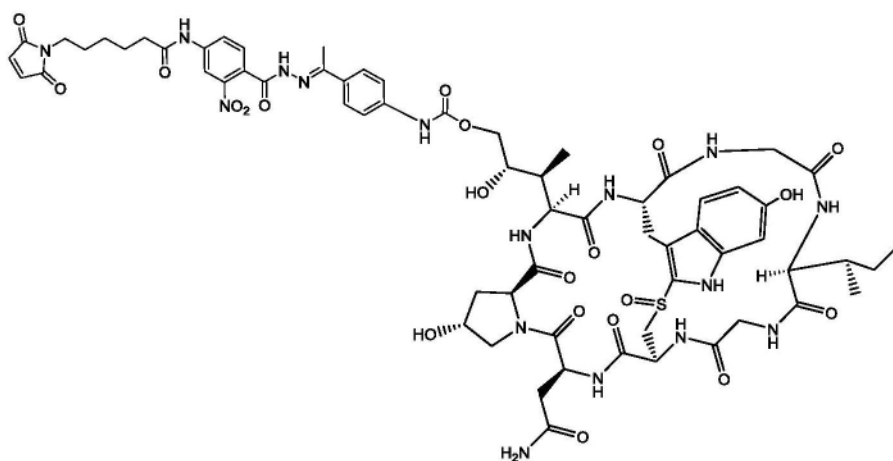
6. 根据权利要求1的化合物，其中化合物选自：



,



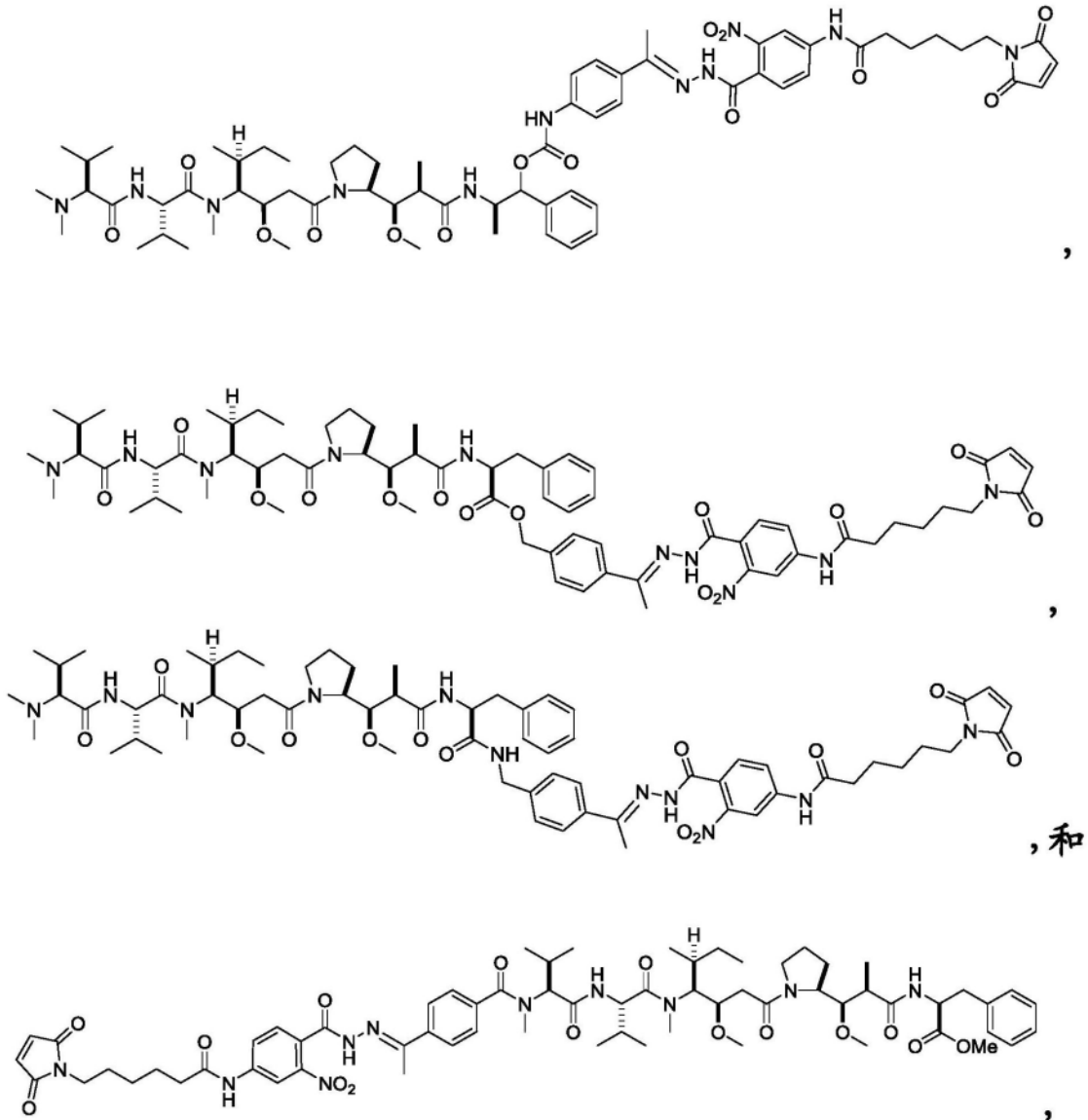
, 和



,

或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体。

7. 根据权利要求1的化合物,其中化合物选自:



或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体。

8. 药物组合物,其包含根据权利要求1-7中任意一项的化合物和药学上可接受的载体。

9. 根据权利要求1-7中任意一项的化合物,其用作药物。

10. 根据权利要求1-9中任意一项的化合物或根据权利要求8的组合物在制备药物中的用途,所述药物用于治疗选自以下的疾病或病症:癌症、病毒疾病、自身免疫疾病、急性或慢性炎症性疾病和由细菌、真菌或其他微生物引起的疾病。

用于控制药物释放的递送系统

[0001] 本申请是中国专利申请号201680041045.0 (PCT/US2016/038223), 申请日2016年06月17日, 发明名称为“用于控制药物释放的递送系统”的分案申请。

[0002] 相关申请

[0003] 本申请要求2015年6月19日提交的美国临时专利申请62/182,219、2015年11月30日提交的美国临时专利申请62/261,213和2015年12月1日提交的美国临时专利申请62/261,563的权益和优先权。将各项前述申请通过引用整体并入本文。

[0004] 发明背景

[0005] 许多药物,特别是癌症治疗剂,具有狭窄的治疗窗,其副作用限制了其有益效果。这些药物的全身性施用通常导致有限的治疗效果,因为引起更强效的作用所需的剂量会对患者产生不可接受的副作用。在具有高细胞毒性潜力的那些药物如细胞抑制剂、病毒抑制剂或免疫抑制剂的情况下,这是特别重要的。许多研究工作都考虑在特定的作用位置递送特定的药物。通常,这种方法导致作用部位的高于全身施用会达到的药物浓度,同时限制副作用。

[0006] 由于用于这种适应症的药剂的治疗窗狭窄,因此肿瘤学中的药物递送特别令人感兴趣。许多研究工作集中于将抗癌药与多种低分子量和高分子量载体(包括糖、生长因子、维生素、肽、抗体、多糖、凝集素、血清蛋白和合成聚合物)缀合。在大多数这样的药物递送系统中,药物通过间隔基与载体结合,所述间隔基包含允许结合的药物在细胞靶位点释放的预定断裂点。(Kratz等,ChemMedChem,3:20-53(2008))。

[0007] 已知偶联物中的细胞抑制剂与血清蛋白结合,主要与特定的载体分子如人血清白蛋白和人血清转铁蛋白结合,然后施用。在一些情况下,偶联物包含治疗有效物质,并且在施用导致治疗有效物质转运至其释放的靶位点(US 7,387,771)。在其它情况下,包含治疗有效物质、间隔基分子和蛋白质结合分子的偶联物在施用与循环血清白蛋白共价结合,这导致治疗有效物质转运至其释放的靶位点(US 7,387,771)。在又一些情况下,抗体药物偶联物(ADC)可以将药物转运至靶位点用于局部释放(Kratz等人,ChemMedChem,3:20-53(2008);Panowski等人,mAbs,6,34-45(2014);Chari等人,Angewandte Chem.Int.Ed.,53,3796-3827(2014))。

[0008] 然而,在设计药物递送系统时,应当在保持药物载体的靶向性质与同时实现药物的受控释放之间达成适当的平衡。药物递送构建体应当在血流中具有足够的稳定性,并且还允许通过酶裂解、还原或以pH依赖性方式在肿瘤位点有效释放药物(Kratz等人,ChemMedChem,3:20-53(2008))。例如,吉西他滨(**Gemzar®**)是广泛用于治疗实体瘤的抗癌核苷化疗剂。不幸的是,在其~1000mg/m²的推荐剂量下,约90%被胞苷脱氨酶失活成无活性的尿苷代谢物,并排泄到尿液中。导致化学抗性的另一个缺点是人类平衡核苷转运蛋白1(hENT1)在癌细胞的细胞表面上的低表达水平,因此阻止了吉西他滨的大量摄取。

[0009] 因此,仍然需要有效的药物递送和释放系统以实现药物的更有效和可控的递送和释放。

[0010] 发明概述

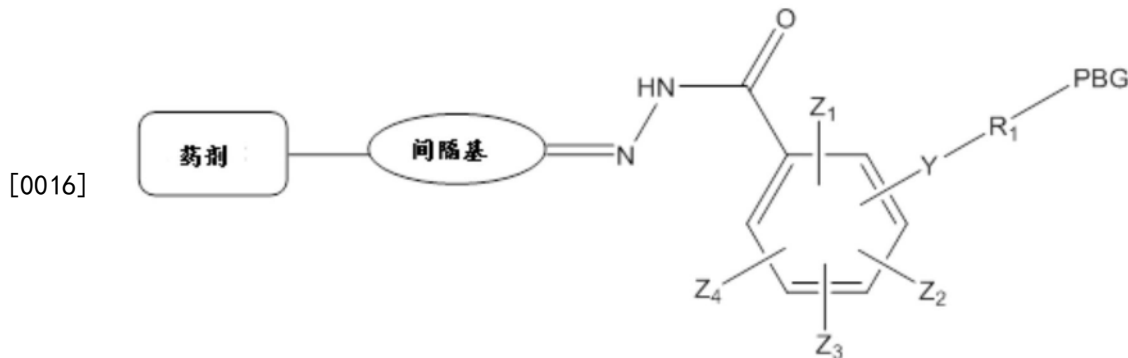
[0011] 本发明提供了用于治疗剂的有效和受控递送和释放的递送系统。

[0012] 本发明涉及一种药物递送系统,该系统包括以受控的方式在酸性环境中被裂解的脞部分,以提供治疗剂的控制释放。本发明涉及包含酰胺键、氨基甲酸酯键和/或酯键(例如通过酯酶或酰胺酶酶促裂解和/或水解地裂解)以提供治疗剂的控制释放的药物递送系统。在一些实施方案中,本发明涉及包含酰胺键的药物递送系统,所述酰胺键例如通过酯酶或酰胺酶进行酶促裂解和/或水解地裂解,以提供治疗剂的控制释放。在其它实施方案中,本发明涉及包含酶促裂解和/或水解裂解的氨基甲酸酯键的药物递送系统。在其他实施方案中,本发明涉及包含酶促裂解和/或水解裂解的酯键的药物递送系统。

[0013] 本发明涉及药物递送系统,其包含(i)以受控方式在酸性环境中被裂解的脞部分,和任选地(ii)例如通过酯酶或酰胺酶酶促裂解和/或水解裂解从而提供治疗剂的控制释放的酰胺键、氨基甲酸酯键和/或酯键。在一些实施方案中,本发明涉及药物递送系统,其包含(i)以受控方式在酸性环境中被裂解的脞部分,以及任选地(ii)例如通过酯酶或酰胺酶酶促裂解和/或水解裂解从而提供治疗剂的控制释放的酰胺键。在一些实施方案中,本发明涉及药物递送系统,其包含(i)以受控方式在酸性环境中被裂解的脞部分,和任选地(ii)酶促裂解和/或水解裂解从而提供治疗剂的控制释放的氨基甲酸酯键。在一些实施方案中,本发明涉及药物递送系统,其包含(i)以受控方式在酸性环境中被裂解的脞部分,和任选地(ii)酶促裂解和/或水解裂解从而提供治疗剂的控制释放的酯键。在一些实施方案中,本发明涉及药物递送系统,其包含(i)以受控方式在酸性环境中被裂解的脞部分,以及任选地(ii)被羧酸酯酶1和/或2选择性裂解以提供治疗剂的控制释放的酰胺键。

[0014] 在一些实施方案中,本发明涉及药物递送系统,其包含(i)以受控方式在酸性环境中被裂解的脞部分,和(ii)被羧酸酯酶2选择性裂解以提供治疗剂的控制释放的酰胺键。

[0015] 本发明提供具有由式(I)表示的结构的化合物:

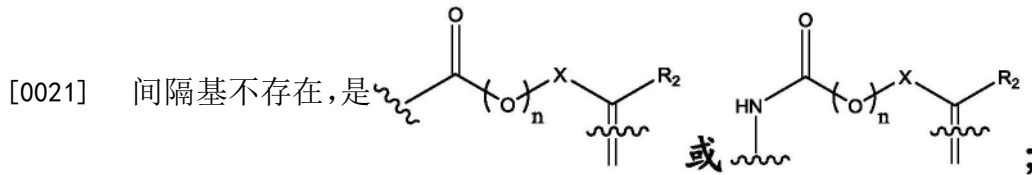


[0017]

[0018] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体;

[0019] 其中:

[0020] 药剂选自细胞抑制剂、细胞毒剂、细胞因子、免疫抑制剂、抗风湿剂、消炎药、抗生素、止痛药、抗病毒剂、抗炎剂、抗霉菌剂、转录因子抑制剂、细胞周期调节剂、MDR调节剂、蛋白酶体或蛋白酶抑制剂、细胞凋亡调节剂、酶抑制剂、信号转导抑制剂、蛋白酶抑制剂、血管生成抑制剂、激素或激素衍生物、抗体或其片段、治疗或诊断活性肽、放射性物质、发光物质、吸光物质及前述任一种的衍生物;



[0022] n是0或1;

[0023] X选自:任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基,其中任选地所述 C_1-C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基-NH-C(O)- R_5- ,其中任选地所述 C_1-C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基-C(O)-NH- R_5- ,其中任选地所述 C_1-C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;任选地取代的芳基;任选地取代的杂芳基;和任选地取代的环烷基;

[0024] R_5 选自任选地取代的芳基、任选地取代的杂芳基和任选地取代的环烷基;

[0025] Y不存在或选自任选地取代的 C_1-C_6 烷基、-NH-C(O)-、-C(O)-NH-、-C(O)-O-和-O-C(O)-;

[0026] R_1 不存在或选自任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基,其中任选地所述 C_1-C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基-NH-C(O)- R_5- ,其中任选地所述 C_1-C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;和任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基-C(O)-NH- R_5- ,其中任选地所述 C_1-C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代,

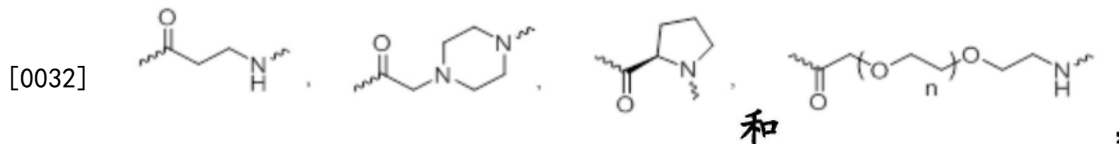
[0027] 或 R_1 是天然或非天然存在的氨基酸,

[0028] 或 R_1 具有下式:



[0030] 其中:

[0031]  为不存在,或选自:



[0033] R是: $\sim OPO_3M_1$, 其中 $M_1=Mg^{2+}, 2Na^+, 2K^+, 2H^+, 2NH_4^+$

[0034] 或 $\sim SO_3M_2$, 其中 $M_2=Na^+, K^+, H^+, NH_4^+$;

[0035] R_2 选自-H、任选地取代的 C_1-C_{12} 烷基、任选地取代的芳基和任选地取代的杂芳基;

[0036] Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自-H、吸电子基团和水溶性基团;

[0037] PBG是蛋白质结合基团,其选自任选地被取代的马来酰亚胺基、任选地被取代的卤代乙酰胺基、任选地被取代的卤代乙酸酯基、任选地被取代的吡啶硫基、任选地被取代的异硫氰酸酯基、任选地被取代的乙烯基羰基、任选地被取代的氮丙啶基、任选地被取代的二硫基、任选地被取代的乙炔基、任选地被取代的N-羟基琥珀酰亚胺酯基、抗体或其片段和衍生化抗体或其衍生化片段;

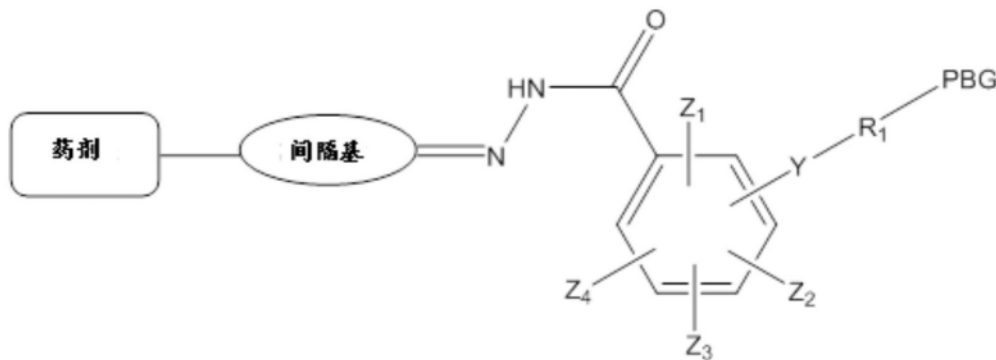
[0038] 其中当间隔基不存在时,通过双键将药剂连接到与间隔基相邻的氮;且

[0039] 其中 Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 中至少一个是吸电子基团。

[0040] 在一些实施方案中,PBG是蛋白质结合基团,其选自任选地被取代的马来酰亚胺基、任选地被取代的卤代乙酰胺基、任选地被取代的卤代乙酸酯基、任选地被取代的吡啶硫基、任选地被取代的异硫氰酸酯基、任选地被取代的乙烯基羰基、任选地被取代的氮丙啶基、任选地被取代的二硫基、任选地被取代的乙炔基和任选地被取代的N-羟基琥珀酰亚胺酯基。

[0041] 在一些实施方案中,PBG与抗体或其片段结合。在一些实施方案中,PBG与抗体或其片段共价结合。在一些实施方案中,PBG与白蛋白结合。在其他实施方案中,PBG与内源性或外源性白蛋白共价结合。在其他实施方案中,PBG与内源性或外源性白蛋白的半胱氨酸-34共价结合。

[0042] 本发明提供具有由式(I)表示的结构的化合物:

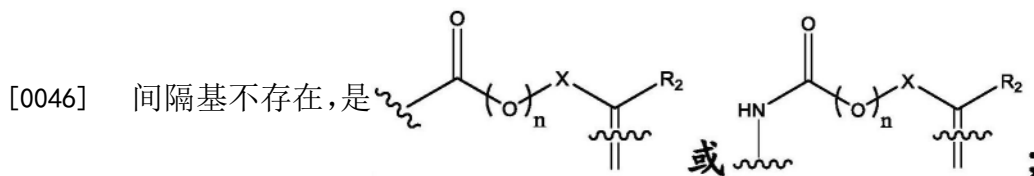


[0043]

式(I)

[0044] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体;其中

[0045] 药剂选自细胞抑制剂、细胞毒剂、细胞因子、免疫抑制剂、抗风湿剂、消炎药、抗生素、止痛药、抗病毒剂、抗炎剂、抗霉菌剂、转录因子抑制剂、细胞周期调节剂、MDR调节剂、蛋白酶体或蛋白酶抑制剂、细胞凋亡调节剂、酶抑制剂、信号转导抑制剂、蛋白酶抑制剂、血管生成抑制剂、激素或激素衍生物、抗体或其片段、治疗或诊断活性肽、放射性物质、发光物质、吸光物质及前述任一种的衍生物;



[0047] n 是0或1;

[0048] X 选自任选地取代的 C_1 - C_{18} 烷基,其中任选地所述 C_1 - C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;任选地取代的 C_1 - C_{18} 烷基-NH-C(O)- R_5- ,其中任选地所述 C_1 - C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;任选地取代的 C_1 - C_{18} 烷基-C(O)-NH- R_5- ,其中任选地所述 C_1 - C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;任选地取代的芳基;任选地取代的杂芳基;和任选地取代的环烷基;

[0049] R_5 选自任选地取代的芳基、任选地取代的杂芳基和任选地取代的环烷基;

[0050] Y 不存在或选自任选地取代的 C_1 - C_6 烷基、-NH-C(O)-、-C(O)-NH-、-C(O)-O-和-O-C

(O) -;

[0051] R_1 不存在或选自任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基,其中任选地所述 C_1-C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基 $-NH-C(O)R_5-$,其中任选地所述 C_1-C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;和任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基 $-C(O)-NH-R_5-$,其中任选地所述 C_1-C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;

[0052] R_2 选自 $-H$ 、任选地取代的 C_1-C_{12} 烷基、任选地取代的芳基和任选地取代的杂芳基;

[0053] Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自 $-H$ 或吸电子基团;

[0054] PBG是蛋白质结合基团,其选自任选地被取代的马来酰亚胺基、任选地被取代的卤代乙酰胺基、任选地被取代的卤代乙酸酯基、任选地被取代的吡啶硫基、任选地被取代的异硫氰酸酯基、任选地被取代的乙烯基羰基、任选地被取代的氮丙啶基、任选地被取代的二硫基、任选地被取代的乙炔基、任选地被取代的N-羟基琥珀酰亚胺酯基和抗体或其片段;

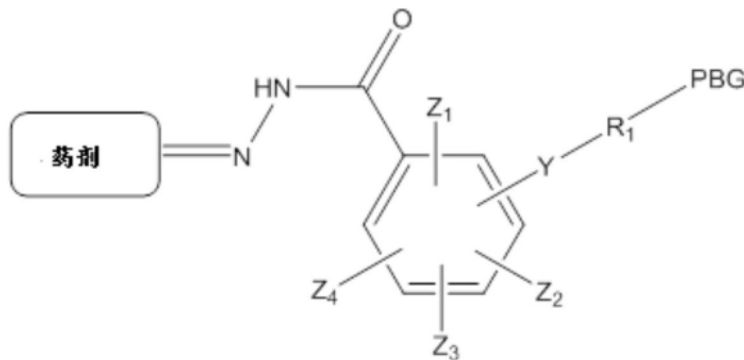
[0055] 其中当间隔基不存在时,通过双键将药剂连接到与间隔基相邻的氮;且

[0056] 其中 Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 中至少一个是吸电子基团。

[0057] 在一些实施方案中,PBG是蛋白质结合基团,其选自任选地被取代的马来酰亚胺基、任选地被取代的卤代乙酰胺基、任选地被取代的卤代乙酸酯基、任选地被取代的吡啶硫基、任选地被取代的异硫氰酸酯基、任选地被取代的乙烯基羰基、任选地被取代的氮丙啶基、任选地被取代的二硫基、任选地被取代的乙炔基和任选地被取代的N-羟基琥珀酰亚胺酯基。

[0058] 在一些实施方案中,PBG与抗体或其片段结合。在一些实施方案中,PBG与抗体或其片段共价结合。在一些实施方案中,PBG与白蛋白结合。在其它实施方案中,PBG与内源性或外源性白蛋白共价结合。在其它实施方案中,PBG与内源性或外源性白蛋白的半胱氨酸-34共价结合。

[0059] 在某些实施方案中,本发明提供了由式(II)表示的化合物:



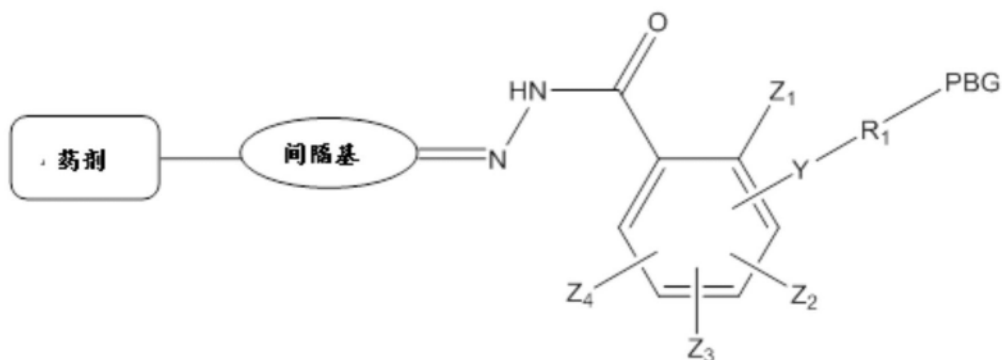
[0060]

式(II)

[0061] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体;

[0062] 其中药剂、PBG、Y、 R_1 、 Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 如对式(I)化合物所定义。

[0063] 在某些实施方案中,本发明提供了具有由式(III)表示的结构化合物:



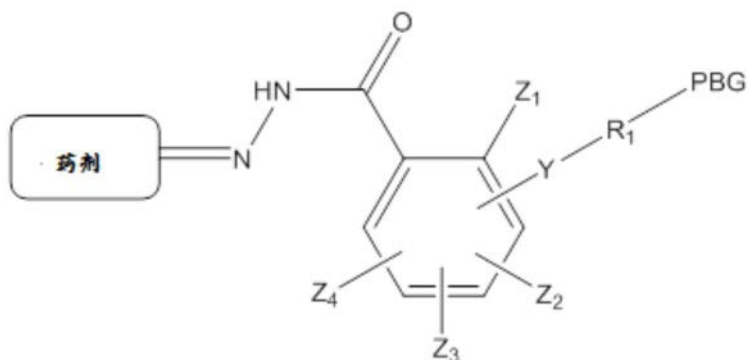
式 (III)

[0065] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体；

[0066] 其中药剂、间隔基、PBG、Y、R₁、Z₂、Z₃和Z₄如对式 (I) 化合物所定义；且

[0067] 其中Z₁是吸电子基团。

[0068] 在某些实施方案中，本发明提供了具有由式 (IV) 表示的结构化合物：



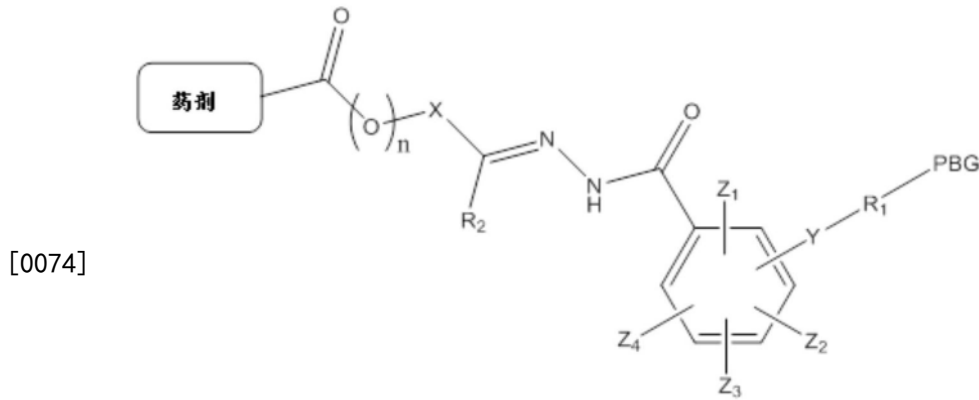
式 (IV)

[0070] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体；

[0071] 其中药剂、PBG、Y、R₁、Z₂、Z₃和Z₄如对式 (I) 化合物所定义；且

[0072] 其中Z₁是吸电子基团。

[0073] 在某些实施方案中，本发明提供了具有由式 (V) 表示的结构化合物：

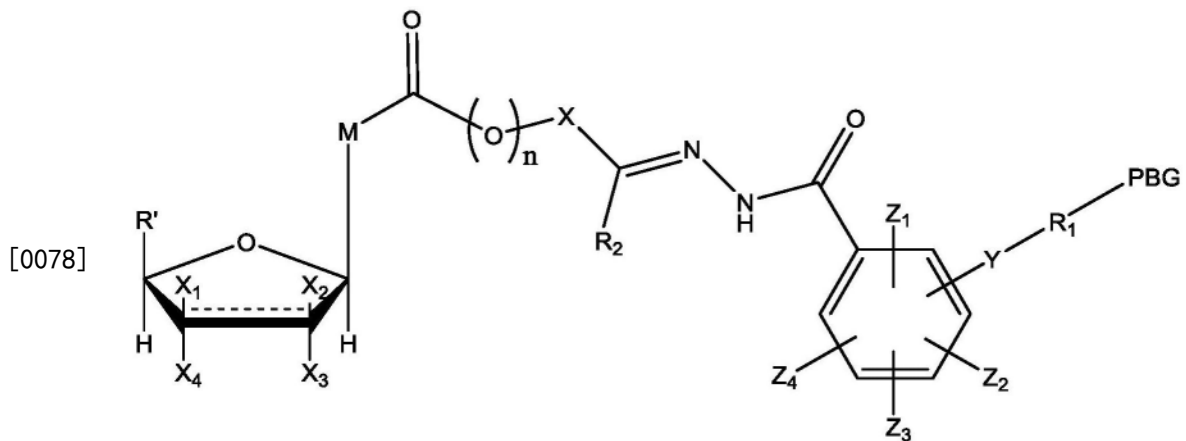


式 (V)

[0075] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体；

[0076] 其中药剂、PBG、 n 、 Y 、 R_1 、 R_2 、 Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 如对式 (I) 化合物所定义。

[0077] 在某些实施方案中，本发明提供了具有由式 (VI) 表示的结构化合物：



式 (VI)

[0079] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体；

[0080] 其中：

[0081] M 是嘧啶或嘌呤基，其包含至少一个伯氨基或仲氨基，并任选含有一个或多个选自卤素的取代基。

[0082] X_1 和 X_2 各自独立地选自 $-H$ 、 $-OH$ 、 C_1 - C_6 烷基、卤素和 $-N_3$ 。

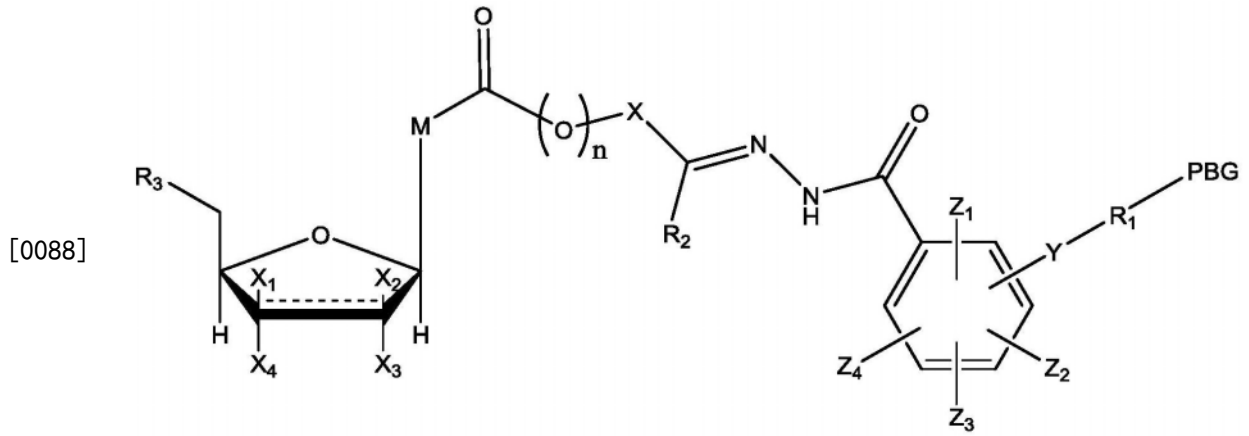
[0083] 价键允许的话， X_3 和 X_4 各自独立地为不存在或选自 $-H$ 、 $-OH$ 、 C_1 - C_6 烷基、卤素和 $-N_3$ 。

[0084] R' 是 $-R_3$ 或 $-CH_2R_3$ ；

[0085] 其中 R_3 每次出现独立地选自 $-OH$ 、 $-CH_3$ 、 $-OP(O)(OH)_2$ 、 $-P(O)(OH)OP(O)(OH)_2$ 、 $-OP(O)(OH)OP(O)(OH)OP(O)(OH)_2$ 、 $-OP(O)(OH)(NH_2)$ 、氨基酸、酰基，及其药学上可接受的盐，其中所述盐含有碱金属离子、碱土金属离子、铵或烷基取代的铵离子；且

[0086] 其中 X 、 n 、 Z_1 、 Z_2 、 Z_3 、 Z_4 、 Y 、 R_1 、 R_2 和PBG如对式 (V) 的化合物所定义。

[0087] 在某些实施方案中，本发明提供了具有由式 (VI) 表示的结构化合物：



式 (VI)

[0089] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体；其中

[0090] M是包含至少一个伯氨基或仲氨基的嘧啶或嘌呤基团。

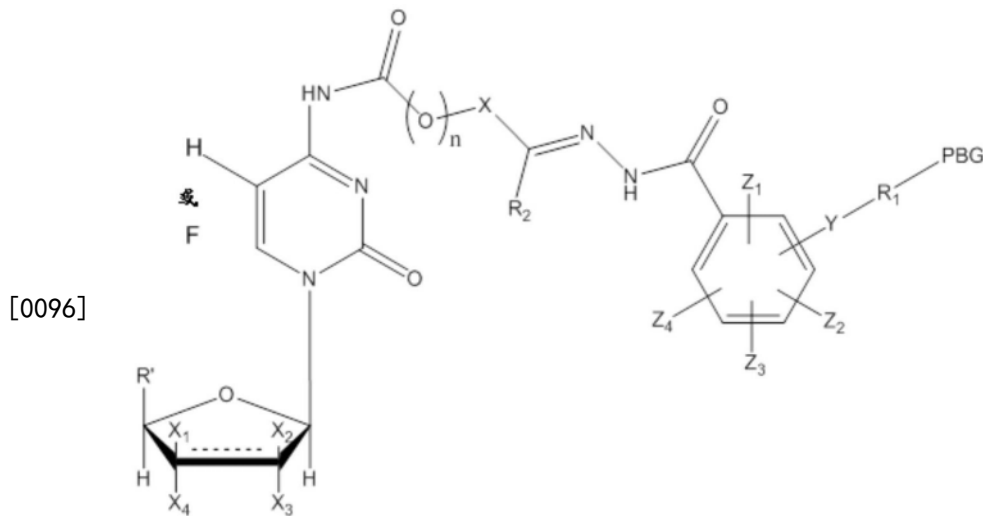
[0091] X_1 和 X_2 各自独立地选自-H、-OH、 C_1 - C_6 烷基、卤素和 $-N_3$ 。

[0092] 价键允许的话， X_3 和 X_4 各自独立地为不存在或选自-H、-OH、 C_1 - C_6 烷基、卤素和 $-N_3$ 。

[0093] R_3 选自-OH、-OP(O)(OH)₂、-P(O)(OH)OP(O)(OH)₂、-OP(O)(OH)OP(O)(OH)OP(O)(OH)₂、-OP(O)(OH)(NH₂)、氨基酸、酰基，及其药学上可接受的盐，其中所述盐含有碱金属离子、碱土金属离子、铵或烷基取代的铵离子；且

[0094] 其中X、n、 Z_1 、 Z_2 、 Z_3 、 Z_4 、Y、 R_1 、 R_2 和PBG如对式(V)的化合物所定义。

[0095] 在某些实施方案中，本发明提供了具有由式(VII)表示的结构化合物：

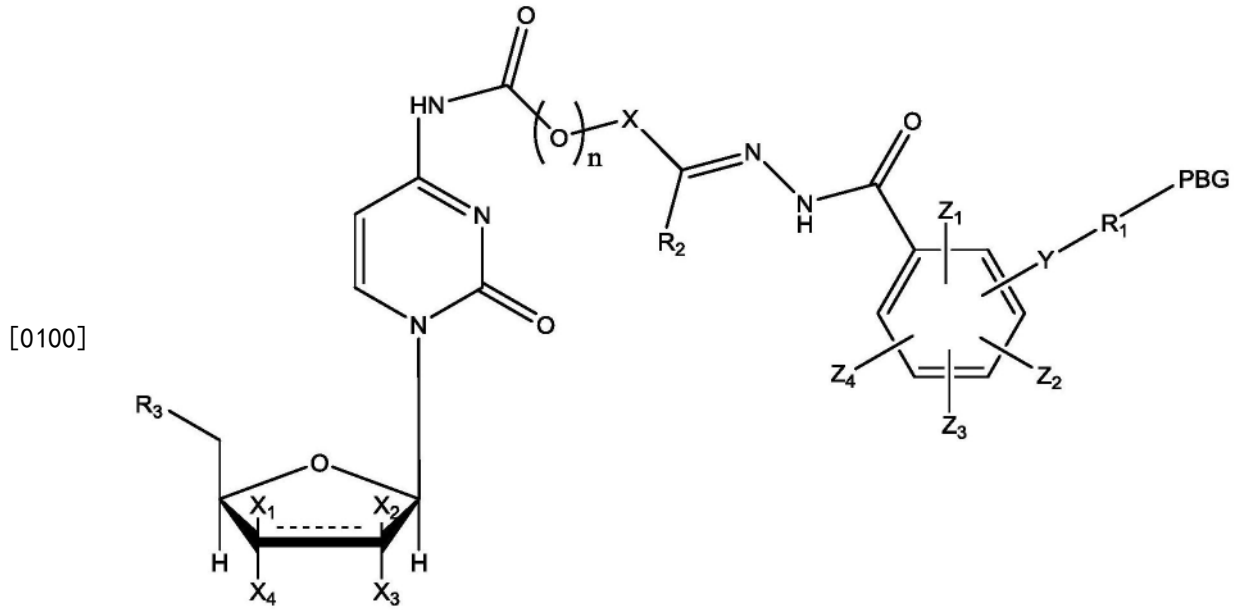


式 (VII)

[0097] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体；

[0098] 其中 R' 是 $-R_3$ 或 $-CH_2R_3$ ；且X、 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、n、Y、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 Z_1 、 Z_2 、 Z_3 、 Z_4 和PBG如对式(VI)的化合物所定义。

[0099] 在某些实施方案中，本发明提供了具有由式(VII)表示的结构化合物：

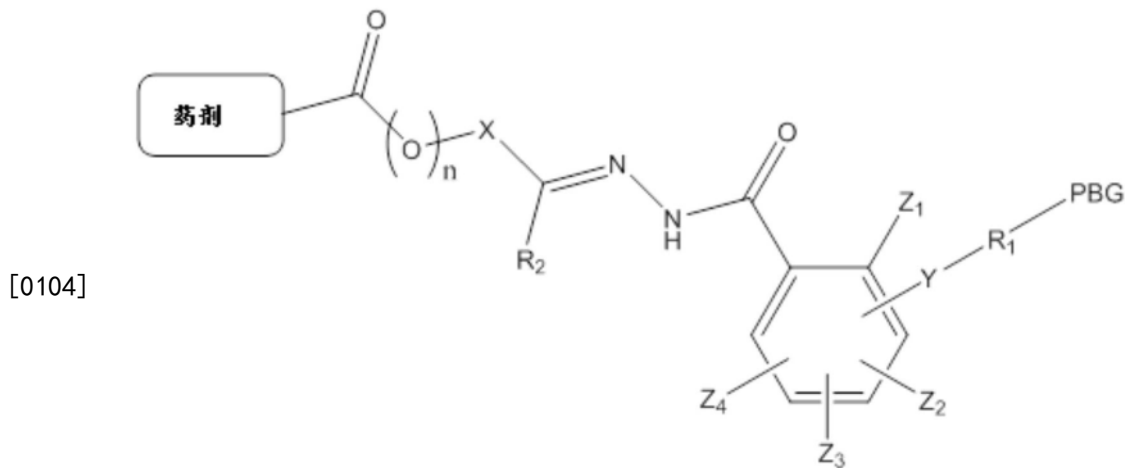


式 (VII)

[0101] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体；

[0102] 其中X、X₁、X₂、X₃、X₄、n、Y、R₁、R₂、R₃、Z₁、Z₂、Z₃、Z₄和PBG如对式(V)的化合物所定义。

[0103] 在某些实施方案中,本发明提供了具有由式(VIII)表示的结构化合物:



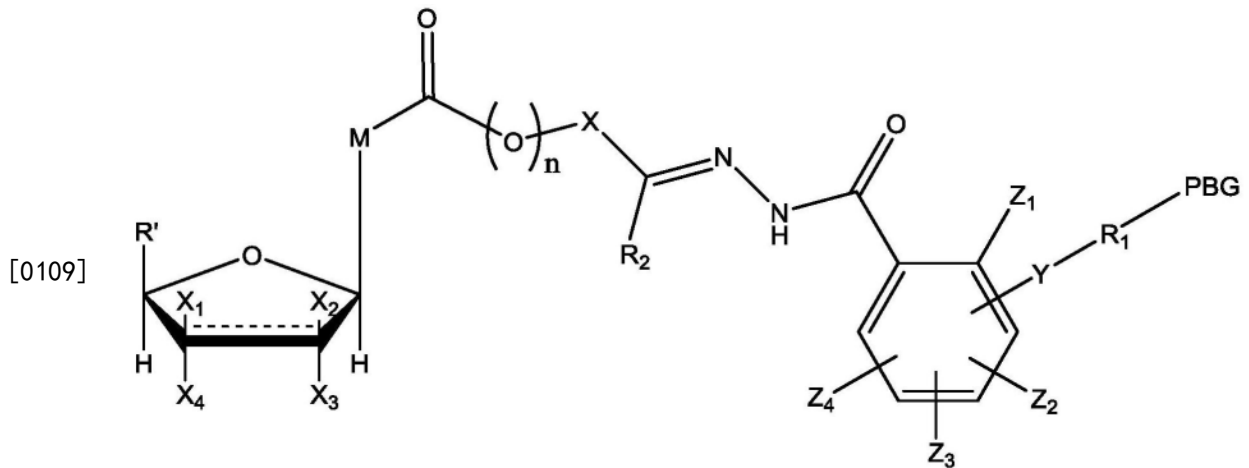
式 (VIII)

[0105] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体;其中

[0106] Z₁是吸电子基团;且

[0107] 其中药剂、X、n、R₂、PBG、Y、R₁、Z₂、Z₃和Z₄如对式(V)的化合物所定义。

[0108] 在某些实施方案中,本发明提供了具有由式(IX)表示的结构化合物:



式 (IX)

[0110] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体；

[0111] 其中：

[0112] M是嘧啶或嘌呤基，其包含至少一个伯氨基或仲氨基，且任选地含有一个或多个选自卤素的取代基；

[0113] X_1 和 X_2 各自独立地选自-H、-OH、 C_1 - C_6 烷基、卤素和 $-N_3$ ；

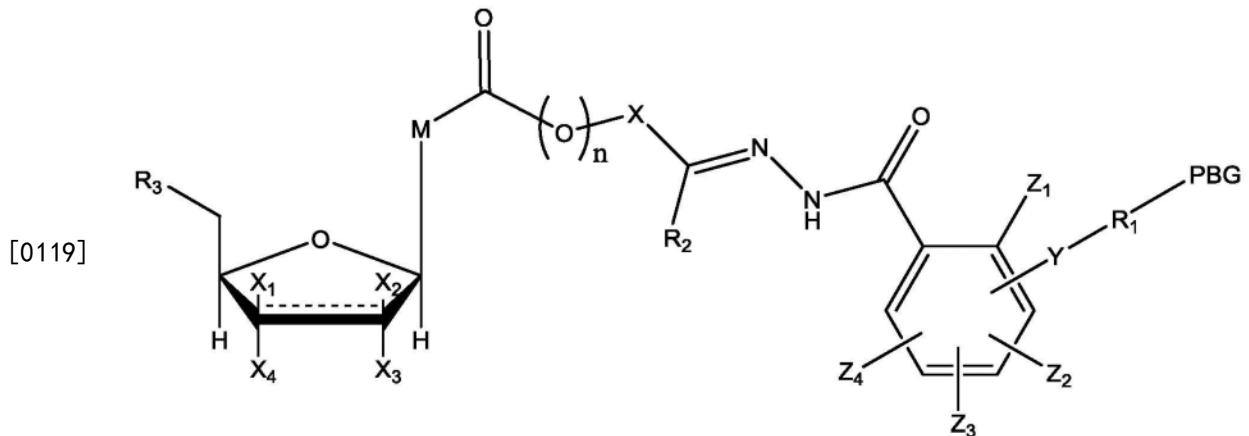
[0114] 价键允许的话， X_3 和 X_4 各自独立地为不存在或选自-H、-OH、 C_1 - C_6 烷基、卤素和 $-N_3$ ；

[0115] R' 是 $-R_3$ 或 $-CH_2R_3$ ；

[0116] 其中 R_3 每次出现时独立地选自-OH、 $-CH_3$ 、 $-OP(O)(OH)_2$ 、 $-P(O)(OH)OP(O)(OH)_2$ 、 $-OP(O)(OH)OP(O)(OH)OP(O)(OH)_2$ 、 $-OP(O)(OH)(NH_2)$ 、氨基酸、酰基，及其药学上可接受的盐，其中所述盐含有碱金属离子、碱土金属离子、铵或烷基取代的铵离子；且

[0117] 其中 X 、 n 、 Y 、 Z_1 、 Z_2 、 Z_3 、 Z_4 、 R_1 、 R_2 和PBG如对式(VIII)的化合物所定义。

[0118] 在某些实施方案中，本发明提供具有由式(IX)表示的结构化合物：



式 (IX)

[0120] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体；其中

[0121] M是嘧啶或嘌呤基，其包含至少一个伯氨基或仲氨基；

[0122] X_1 和 X_2 各自独立地选自-H、-OH、 C_1 - C_6 烷基、卤素和 $-N_3$ ；

[0123] 价键允许的话， X_3 和 X_4 各自独立地为不存在或选自-H、-OH、 C_1 - C_6 烷基、卤素和 $-N_3$ ；

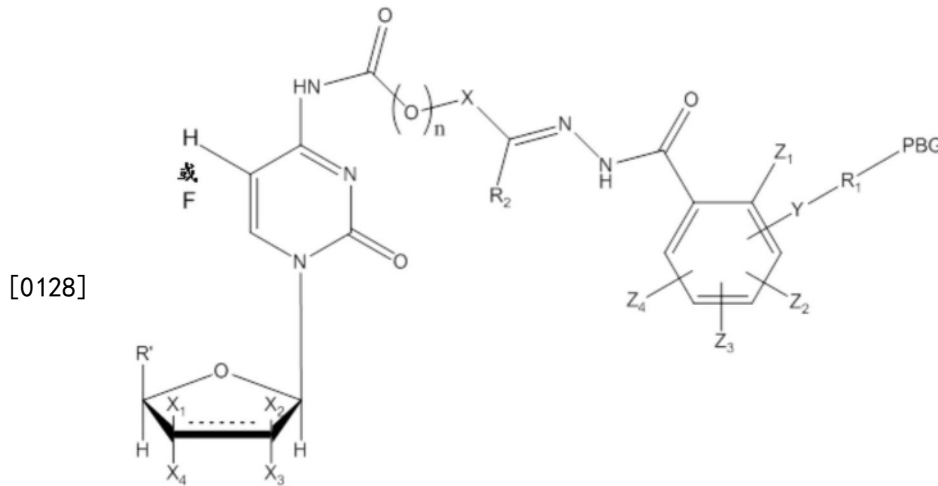
[0124] R_3 选自-OH、 $-OP(O)(OH)_2$ 、 $-P(O)(OH)OP(O)(OH)_2$ 、 $-OP(O)(OH)OP(O)(OH)OP(O)(OH)_2$ 、 $-OP(O)(OH)(NH_2)$ 、氨基酸、酰基，及其药学上可接受的盐，其中所述盐含有碱金属离子、碱土金属离子、铵或烷基取代的铵离子；且

(OH)₂、-OP(O)(OH)(NH₂)、氨基酸、酰基,及其药学上可接受的盐,其中所述盐含有碱金属离子、碱土金属离子、铵或烷基取代的铵离子;且

[0125] 其中X、n、Y、Z₁、Z₂、Z₃、Z₄、R₁、R₂和PBG如对式(VIII)的化合物所定义。

[0126] 在一些实施方案中,X₁、X₂、X₃和X₄各自独立地选自-H、-OH、-CH₃、-F、-Cl、-Br、-I和-N₃。

[0127] 在某些实施方案中,本发明提供了具有由式(X)表示的结构化合物:

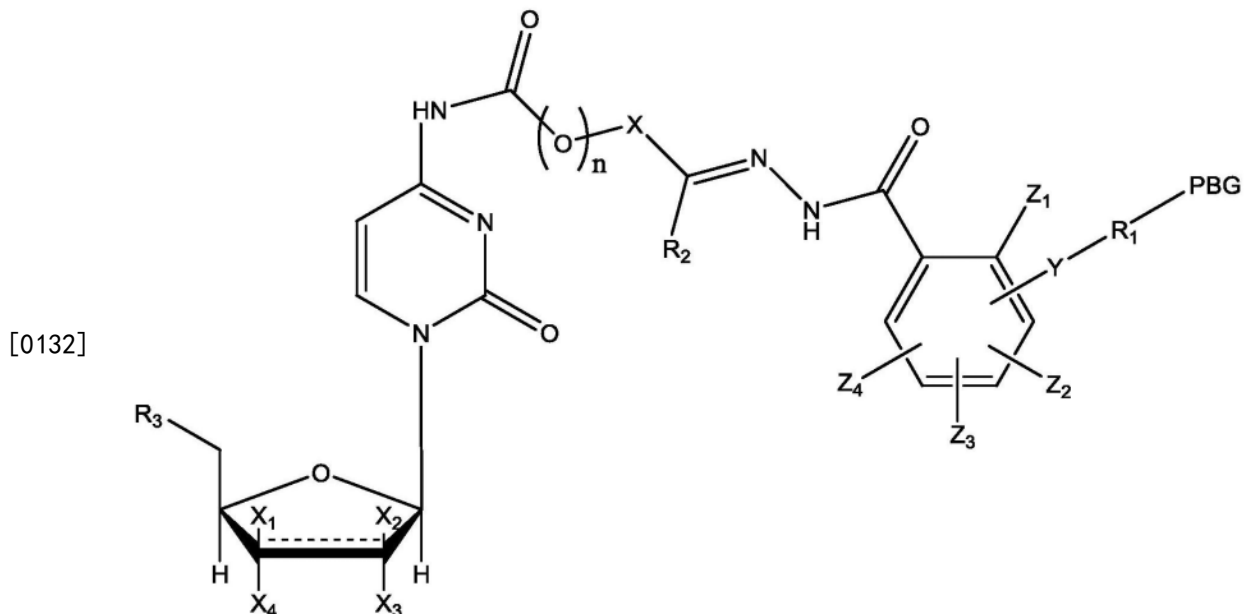


式(X)

[0129] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体;

[0130] 其中R' 是-R₃或-CH₂R₃;且X₁、X₂、X₃、X₄、R₃、X、n、Y、Z₁、Z₂、Z₃、Z₄、R₁和R₂如对式(IX)的化合物所定义。

[0131] 在某些实施方案中,本发明提供了具有由式(X)表示的结构化合物:



式(X)

[0133] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体;

[0134] 其中X₁、X₂、X₃、X₄、R₃、X、n、Y、Z₁、Z₂、Z₃、Z₄、R₁和R₂如对式(IX)的化合物所定义。

[0135] 在一些实施方案中, 药剂选自N-亚硝基脲类; 多柔比星、2-pyrrolypyrrolino 葱环霉素、吗啉代葱环霉素、二乙酰氧基(diacetatoxy) 烷基葱环霉素、柔红霉素、表柔比星、伊达比星、奈莫柔比星、PNU-159682、米托葱醌; 阿美葱醌; 苯丁酸氮芥、苯达莫司汀、美法仑、oxazaphosphorines; 5-氟尿嘧啶、5'-脱氧-5-氟胞苷、2'-脱氧-5-fluoridine、阿糖胞苷、克拉屈滨、氟达拉滨、喷托他丁、吉西他滨、4-氨基-1-(((2S,3R,4S,5R)-3,4-二羟基-5-甲基四氢呋喃-2-基)甲基)-5-氟嘧啶-2(1H)-酮、硫鸟嘌呤; 甲氨蝶呤、雷替曲塞、培美曲塞、普来曲塞; 紫杉醇、多西他赛; 拓扑替康、伊立替康、SN-38、10-羟基喜树碱、GG211、勒托替康、9-氨基喜树碱、喜树碱、7-甲酰基喜树碱、7-乙酰基喜树碱、9-甲酰基喜树碱、9-乙酰基喜树碱、9-甲酰基-10-羟基喜树碱、10-甲酰基喜树碱、10-乙酰基喜树碱、7-丁基-10-氨基喜树碱、7-丁基-9-氨基-10,11,-亚甲二氧基喜树碱; 长春碱、长春新碱、长春地辛、长春瑞滨; 加利车霉素; 美登素、美登醇; 澳瑞他汀(auristatin) (包括但不限于澳瑞他汀D、澳瑞他汀E、澳瑞他汀F、一甲基澳瑞他汀D、一甲基澳瑞他汀E、一甲基澳瑞他汀F、一甲基澳瑞他汀F甲酯、澳瑞他汀PYE澳瑞他汀PHE、相关的天然产物多拉司他汀10及其衍生物); 蝇蕈毒素(包括但不限于 α -鹅膏蕈碱、 β -鹅膏蕈碱、 γ -鹅膏蕈碱、 ϵ -鹅膏蕈碱、鹅膏素、鹅膏素酰胺、鹅膏无毒环肽和鹅膏无毒环肽羧酸及其衍生物); 倍癌霉素(duocarmycin) A、倍癌霉素B1、倍癌霉素B2、倍癌霉素C、倍癌霉素SA、CC1065、阿多来新、比折来新、卡折来新; 艾立布林; 曲贝替定; 吡咯并苯并二氮杂卓、安曲霉素、富山霉素、西伯里亚霉素、DC-81、DSB-120; 埃坡霉素; 博来霉素; 更生霉素; 普卡霉素、观霉素C和顺式构型铂(II)络合物; 或前述任何的衍生物。

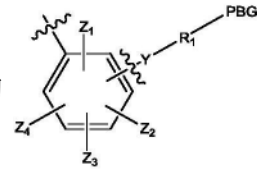
[0136] 在一些实施方案中, 药剂选自N-亚硝基脲类; 多柔比星、2-pyrrolypyrrolino 葱环霉素、吗啉代葱环霉素、二乙酰氧基烷基葱环霉素、柔红霉素、表柔比星、伊达比星、奈莫柔比星、PNU-159682、米托葱醌; 阿美葱醌; 苯丁酸氮芥、苯达莫司汀、美法仑、oxazaphosphorines; 5-氟尿嘧啶、2'-脱氧-5-fluoridine、阿糖胞苷、克拉屈滨、氟达拉滨、喷托他丁、吉西他滨、4-氨基-1-(((2S,3R,4S,5R)-3,4-二羟基-5-甲基四氢呋喃-2-基)甲基)-5-氟嘧啶-2(1H)-酮、硫鸟嘌呤; 甲氨蝶呤、雷替曲塞、培美曲塞、普来曲塞; 紫杉醇、多西他赛; 拓扑替康、伊立替康、SN-38、10-羟基喜树碱、GG211、勒托替康、9-氨基喜树碱、喜树碱、7-甲酰基喜树碱、9-甲酰基喜树碱、9-甲酰基-10-羟基喜树碱、7-丁基-10-氨基喜树碱、7-丁基-9-氨基-10,11,-亚甲二氧基喜树碱; 长春碱、长春新碱、长春地辛、长春瑞滨; 加利车霉素; 美坦生类化合物; 澳瑞他汀类; 埃坡霉素; 博来霉素、更生霉素、普卡霉素、观霉素C和顺式构型铂(II)络合物; 或前述任何的衍生物。

[0137] 在一些实施方案中, Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自-H、卤素、-C(O)OH、-C(O)O-C₁-C₆烷基、-NO₂、卤代烷基、-S(O)₂-C₁-C₆烷基和-CN。在一些实施方案中, Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自-H、-Cl、-Br、-I、-F、-C(O)OH、-NO₂、-CF₃和-CN。在一些实施方案中, Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自-H、-Cl、-F、-NO₂和-CF₃。在一些实施方案中, Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自-OP(O)(OH)₂、-P(O)(OH)OP(O)(OH)₂、-OP(O)(OH)OP(O)(OH)OP(O)(OH)₂、-OP(O)(OH)(NH₂)、-P(O)(OH)₂、-SO₃H及其药学上可接受的盐。在一些实施方案中, Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 中至少一个不是-H。

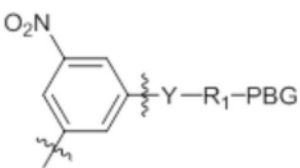
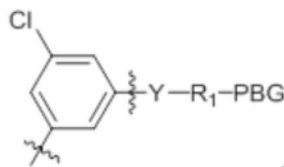
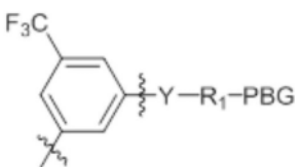
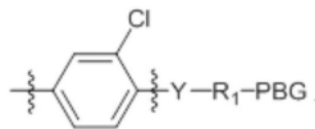
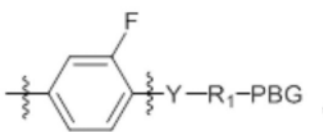
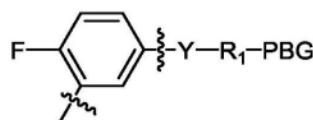
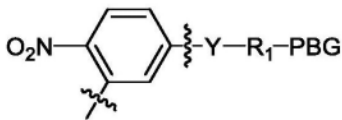
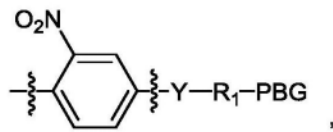
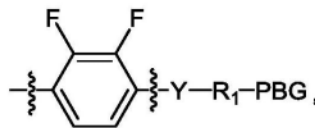
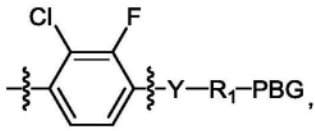
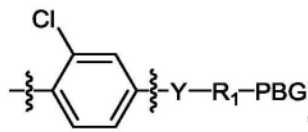
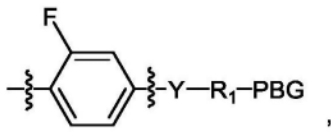
[0138] 在一些实施方案中, Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自-H、卤素、-C(O)OH、-C(O)O-C₁-C₆烷基、-NO₂、卤代烷基、-S(O)₂-C₁-C₆烷基和-CN。在一些实施方案中, Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自-H、-Cl、-Br、-I、-F、-C(O)OH、-NO₂、-CF₃和-CN。在一些实施方案中, Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自-H、-Cl、-F、-NO₂和-CF₃。在一些实施方案中, Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 中至少一个不是-H。

[0139] 在一些实施方案中, Z_1 选自卤素、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)O-C_1-C_6$ 烷基、 $-NO_2$ 、卤代烷基、 $-S(O)_2-C_1-C_6$ 烷基和 $-CN$; 且 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自 $-H$ 、卤素、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)O-C_1-C_6$ 烷基、 $-NO_2$ 、卤代烷基、 $-S(O)_2-C_1-C_6$ 烷基和 $-CN$ 。在一些实施方案中, Z_1 选自 $-Cl$ 、 $-Br$ 、 $-I$ 、 $-F$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-NO_2$ 、 $-CF_3$ 和 $-CN$; 且 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自 $-H$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 、 $-I$ 、 $-F$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-NO_2$ 、 $-CF_3$ 和 $-CN$ 。在一些实施方案中, Z_1 选自 $-Cl$ 、 $-F$ 和 $-NO_2$; 且 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自 $-H$ 、 $-Cl$ 、 $-F$ 、 $-NO_2$ 和 $-CF_3$ 。

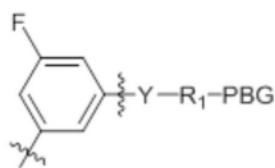
[0140] 在一些实施方案中, 本发明的化合物的



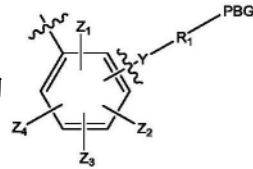
部分选自:



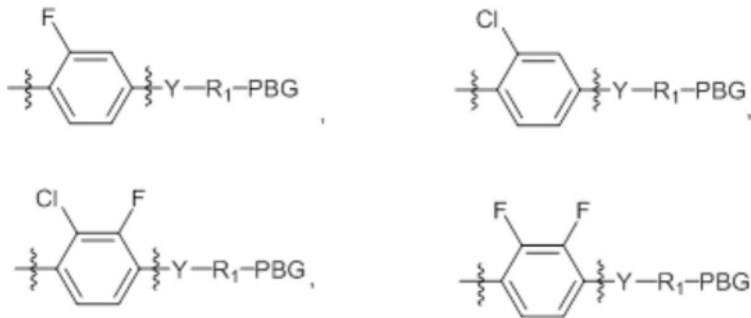
和



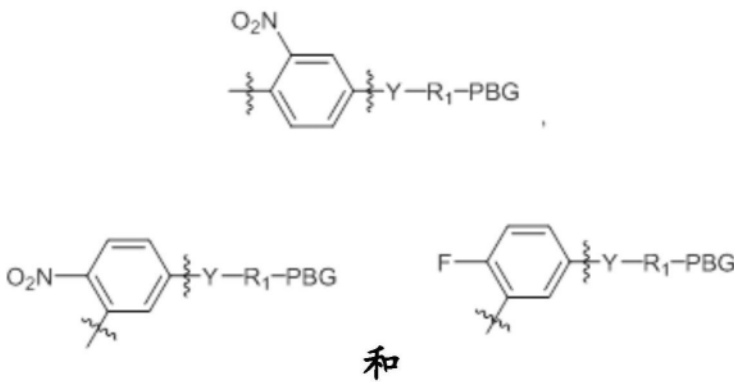
[0141] 在一些实施方案中,本发明的化合物的



部分选自:



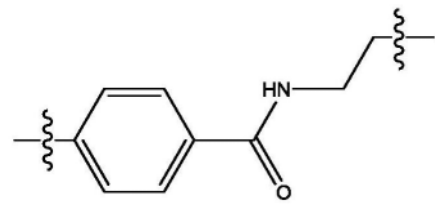
[0142]



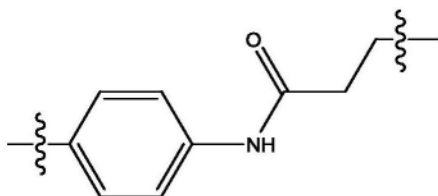
[0143] 在一些实施方案中,Y是-C(O)-NH-。在一些实施方案中,Y是-C(O)-O-。在一些实施方案中,Y不存在。

[0144] 在一些实施方案中,R₁选自任选地取代的C₁-C₁₈烷基,其中任选地所述C₁-C₁₈烷基中至多6个碳原子各自独立地被-OCH₂CH₂-替代;任选地取代的C₁-C₁₈烷基-NH-C(O)-R₅-,其中任选地所述C₁-C₁₈烷基中至多6个碳原子各自独立地被-OCH₂CH₂-替代;和任选地取代的C₁-C₁₈烷基-C(O)-NH-R₅-,其中任选地所述C₁-C₁₈烷基中至多6个碳原子各自独立地被-OCH₂CH₂-替代。

[0145] 在一些实施方案中,R₁选自

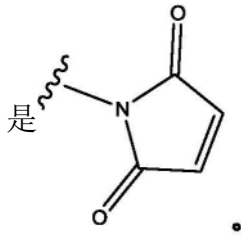


和

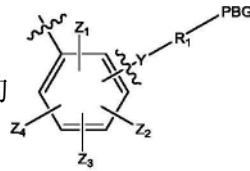


[0146] 在一些实施方案中,R₁不存在。

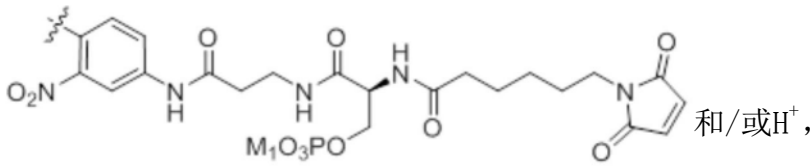
[0147] 在一些实施方案中,PBG是任选地被取代的马来酰亚胺基。在一些实施方案中,PBG



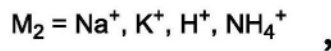
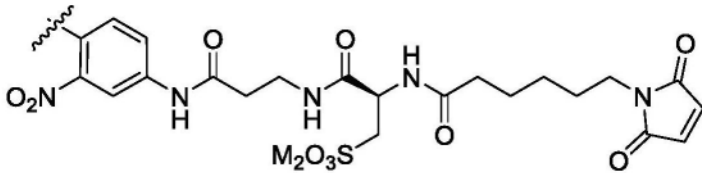
[0148] 在一些实施方案中,本发明的化合物的部分选自:



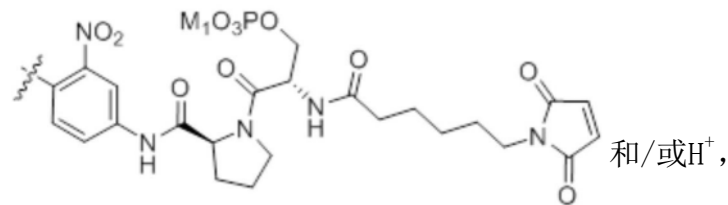
[0149] 和/或H⁺,



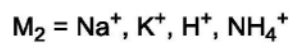
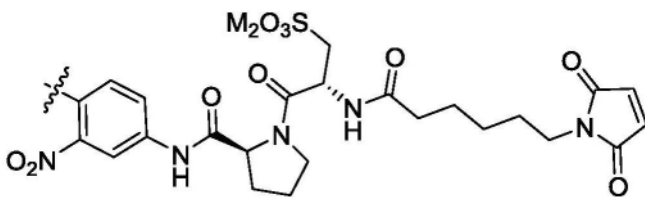
[0150]



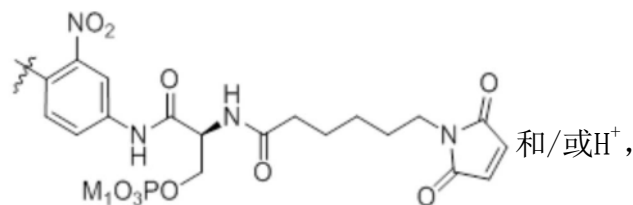
[0151]



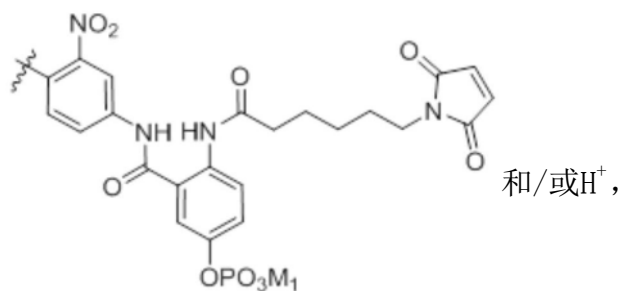
[0152]



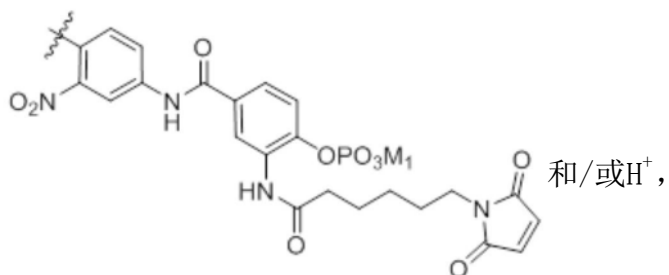
[0153]



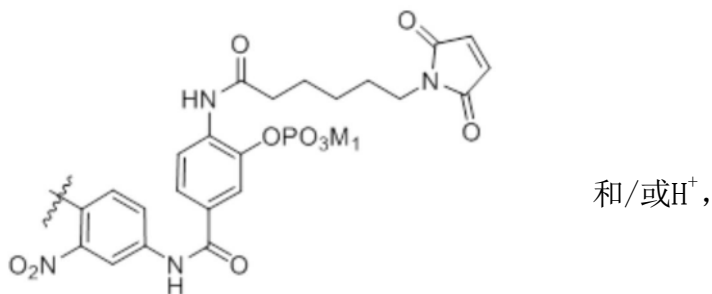
[0154]



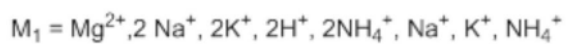
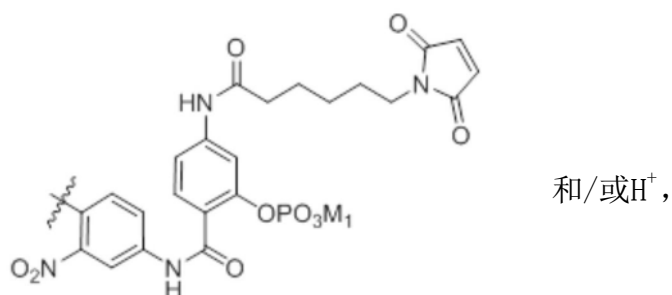
[0155]

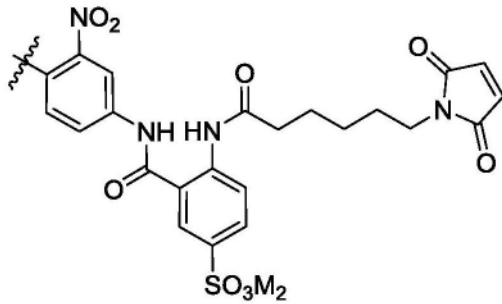


[0156]



[0157]

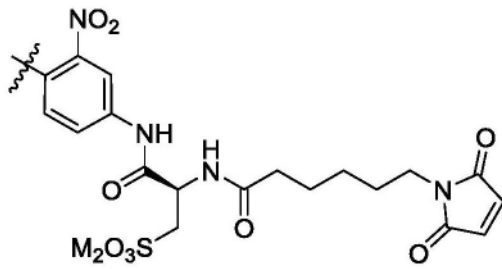




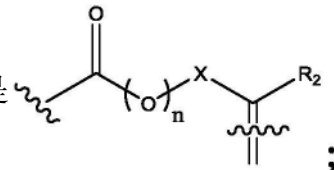
$M_2 = Na^+, K^+, H^+, NH_4^+$

， 和

[0158]

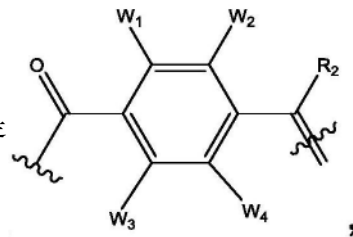


$M_2 = Na^+, K^+, H^+, NH_4^+$

[0159] 在一些实施方案中,间隔基是  n是0或1;且X选自任选地取

代的 C_1 - C_{18} 烷基,其中任选地所述 C_1 - C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;任选地取代的芳基;任选地取代的杂芳基;和任选地取代的环烷基;且 R_2 如对式I所定义。

[0160] 在一些实施方案中,间隔基是

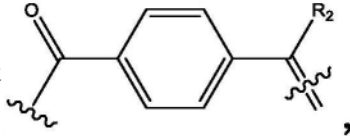


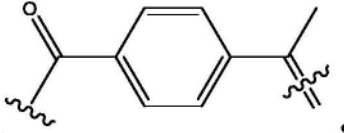
其中 R_2 选自: $-H$ 、任选地取

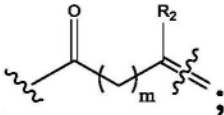
代的 C_1 - C_{12} 烷基、任选地取代的芳基和任选地取代的杂芳基; W_1 、 W_2 、 W_3 和 W_4 各自独立地选自: $-H$ 、卤素、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)O-C_1-C_6$ 烷基、 $-NO_2$ 、卤代烷基、 $-S(O)_2-C_1-C_6$ 烷基和 $-CN$ 。在一些实施方案中, W_1 、 W_2 、 W_3 和 W_4 各自独立地选自: $-H$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 、 $-I$ 、 $-F$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-NO_2$ 、 $-CF_3$ 和 $-CN$ 。在一些实施方案中, W_1 、 W_2 、 W_3 和 W_4 各自独立地选自: $-H$ 、 $-Cl$ 、 $-F$ 、 $-NO_2$ 和 $-CF_3$ 。在一些实施方案中, W_1 、 W_2 、 W_3 和 W_4 各自独立地选自:苯氧基、伯、仲或叔胺基、醚基、酚基、酰胺基、酯基、烷基、取代的烷基、苯基和乙烯基。在一些实施方案中, W_1 、 W_2 、 W_3 和 W_4 各自独立地选自: $-OP(O)(OH)_2$ 、 $-P(O)(OH)OP(O)(OH)_2$ 、 $-OP(O)(OH)OP(O)(OH)OP(O)(OH)_2$ 、 $-OP(O)(OH)(NH_2)$ 、 $-P(O)(OH)_2$ 、 $-SO_3H$ 及其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,至少 W_1 、 W_2 、 W_3 和 W_4 之一不是 $-H$ 。

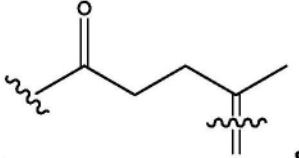
[0161] 在一些实施方案中, W_1 选自:卤素、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)O-C_1-C_6$ 烷基、 $-NO_2$ 、卤代烷基、 $-S(O)_2-C_1-C_6$ 烷基和 $-CN$;且 W_2 、 W_3 和 W_4 各自独立地选自: $-H$ 、卤素、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)O-C_1-C_6$ 烷基、-

NO_2 、卤代烷基、 $-\text{S}(\text{O})_2-\text{C}_1-\text{C}_6$ 烷基和 $-\text{CN}$ 。在一些实施方案中, W_1 选自: $-\text{Cl}$ 、 $-\text{Br}$ 、 $-\text{I}$ 、 $-\text{F}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CF}_3$ 和 $-\text{CN}$;且 W_2 、 W_3 和 W_4 各自独立地选自: $-\text{H}$ 、 $-\text{Cl}$ 、 $-\text{Br}$ 、 $-\text{I}$ 、 $-\text{F}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CF}_3$ 和 $-\text{CN}$ 。在一些实施方案中, W_1 选自: $-\text{Cl}$ 、 $-\text{F}$ 和 $-\text{NO}_2$;且 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自: $-\text{H}$ 、 $-\text{Cl}$ 、 $-\text{F}$ 、 $-\text{NO}_2$ 和 $-\text{CF}_3$ 。

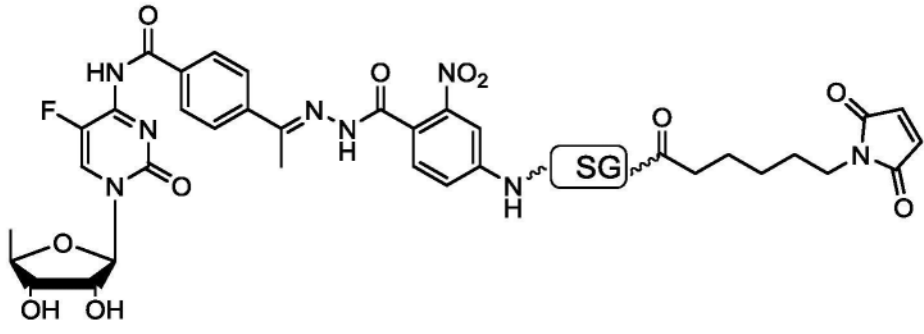
[0162] 在一些实施方案中,间隔基是  其中 R_2 选自 $-\text{H}$ 、任选地取代的 C_1-C_{12} 烷基、任选地取代的芳基和任选地取代的杂芳基。

[0163] 在一些实施方案中,间隔基是 

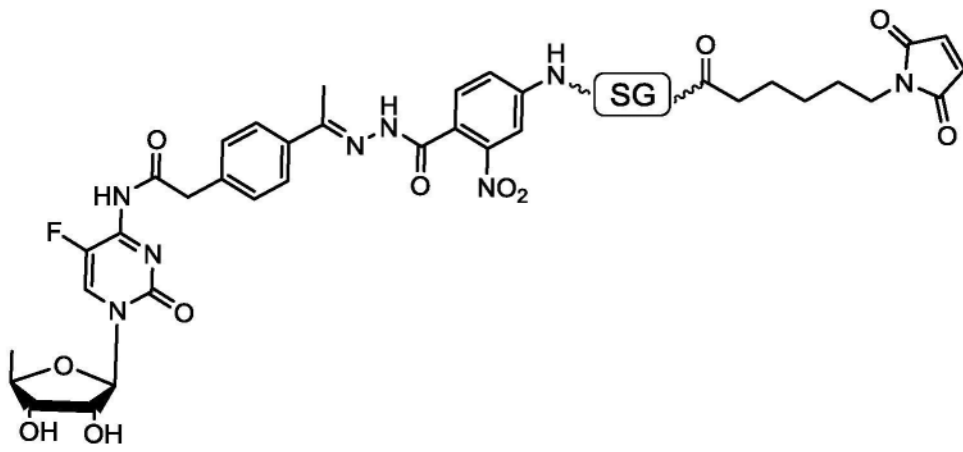
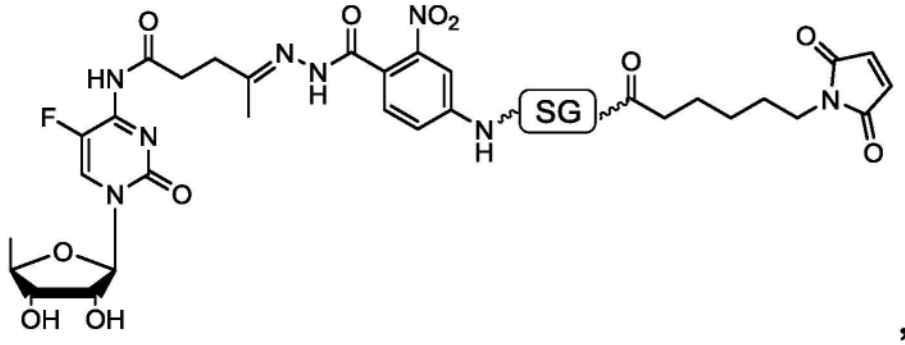
[0164] 在一些实施方案中,间隔基是  且 m 是1、2、3、4、5或6。

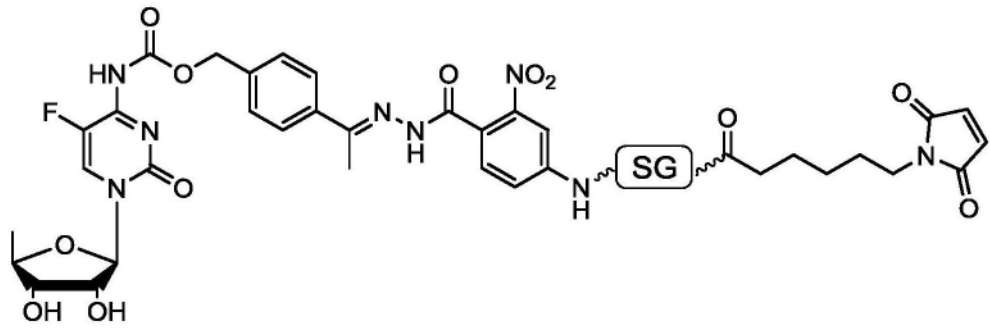
[0165] 在一些实施方案中,间隔基是 

[0166] 在一些实施方案中,本发明的化合物选自:

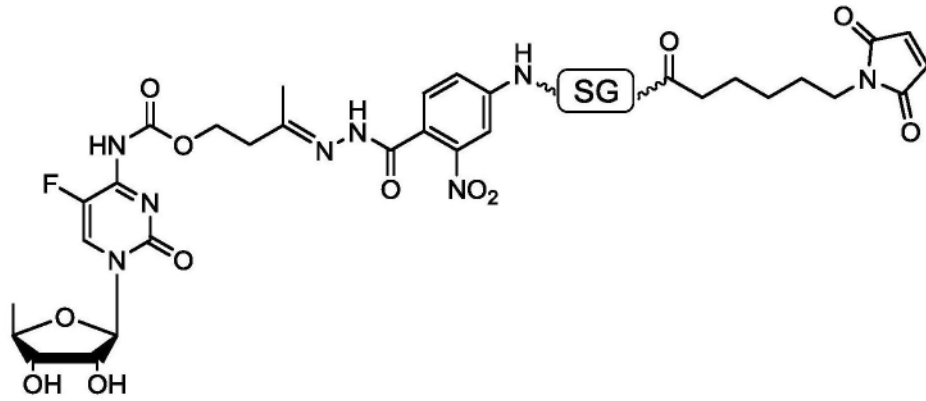


[0167]





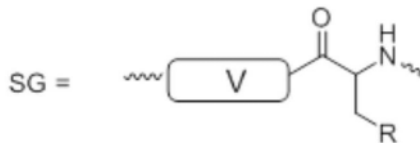
[0168]



[0169] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体,

[0170] 其中:

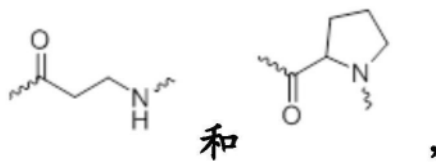
[0171]



[0172]

为不存在,或选自:

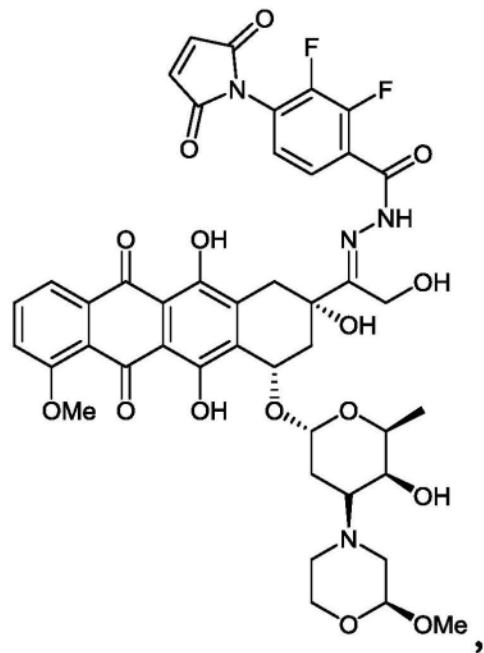
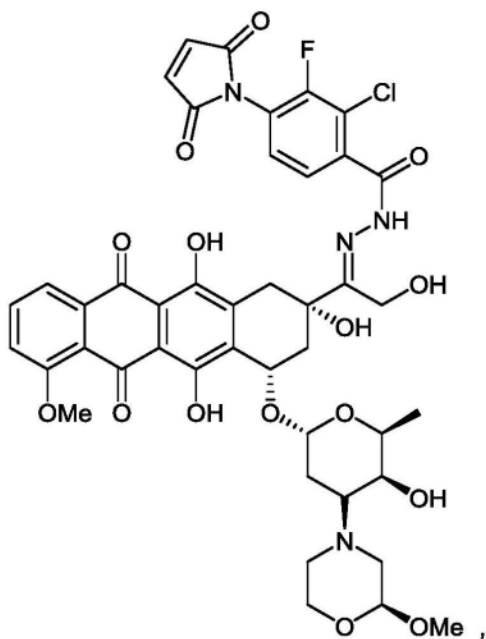
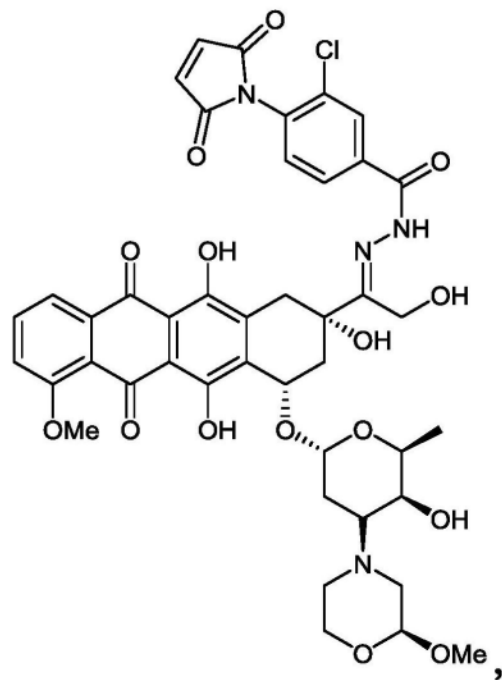
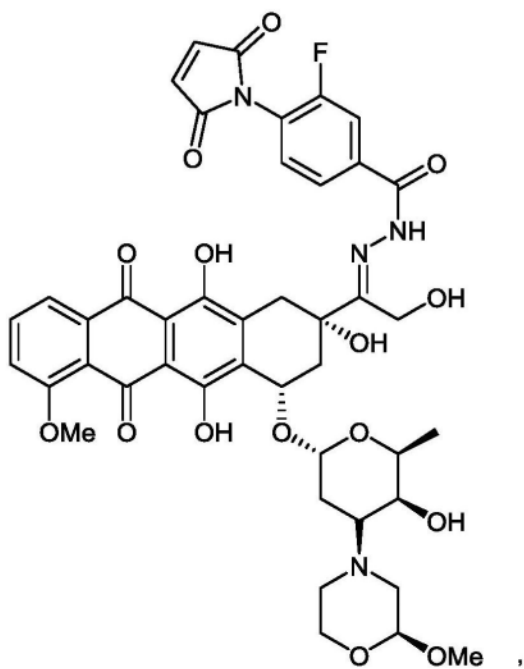
[0173]

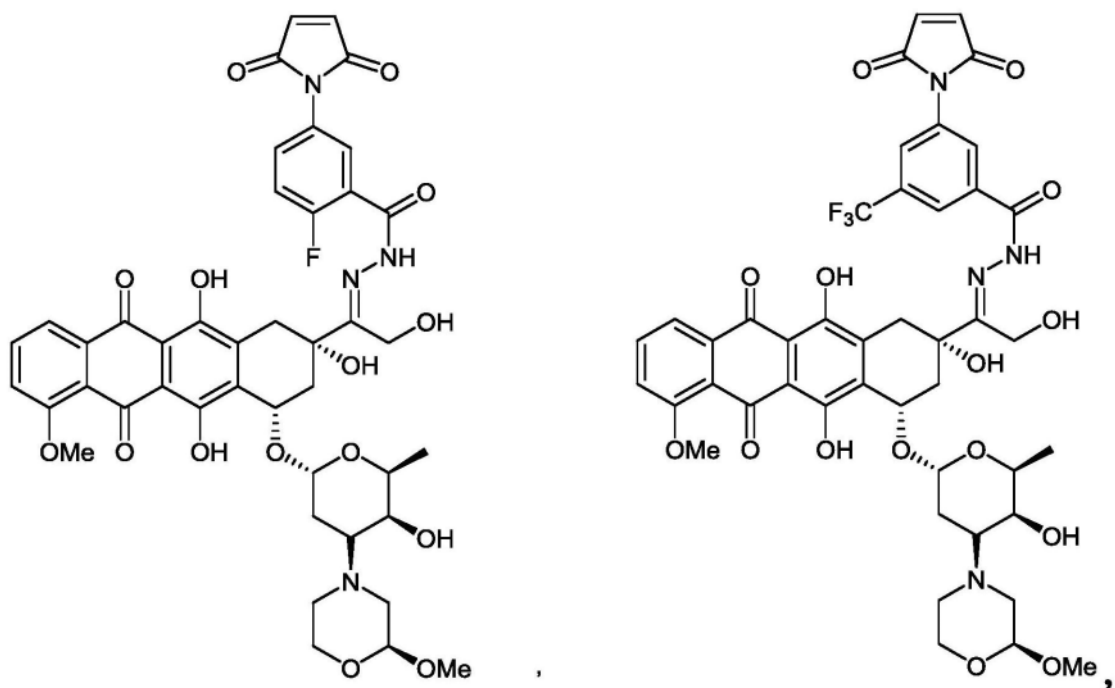


[0174] R是: ${}^{\sim}\text{OPO}_3\text{M}_1$, 其中 $\text{M}_1 = \text{Mg}^{2+}, 2\text{Na}^+, 2\text{K}^+, 2\text{H}^+, 2\text{NH}_4^+, \text{Na}^+, \text{K}^+, \text{NH}_4^+$ 和/或 H^+ ,

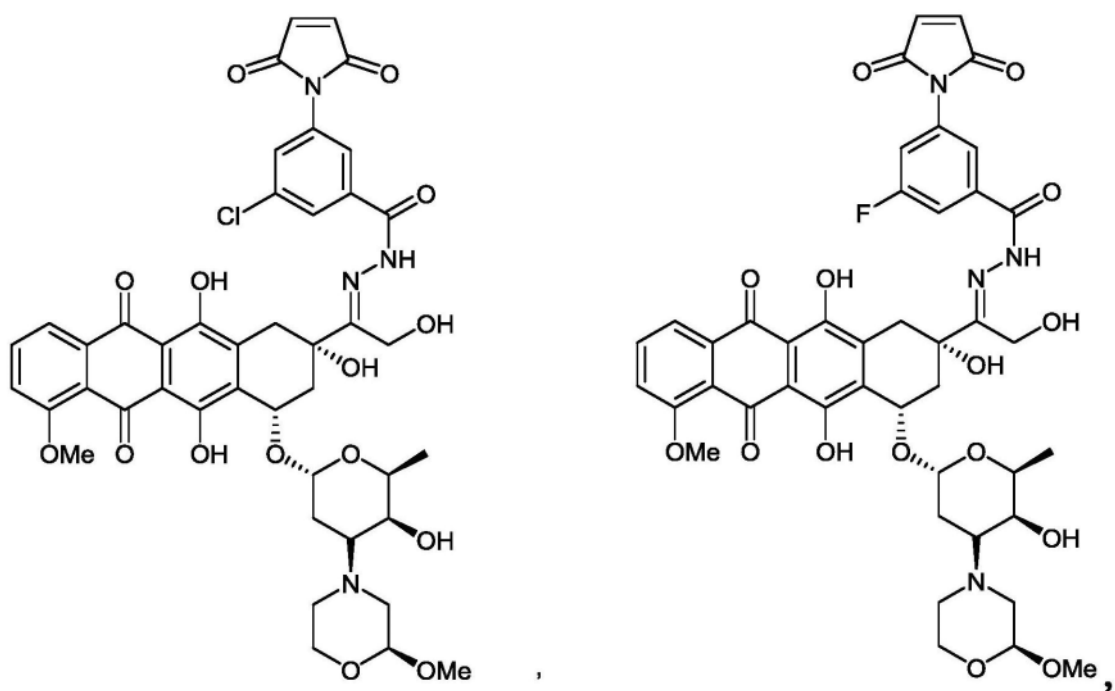
[0175] 或 ${}^{\sim}\text{SO}_3\text{M}_2$, 其中 $\text{M}_2 = \text{Na}^+, \text{K}^+, \text{H}^+$, 和/或 NH_4^+ 。

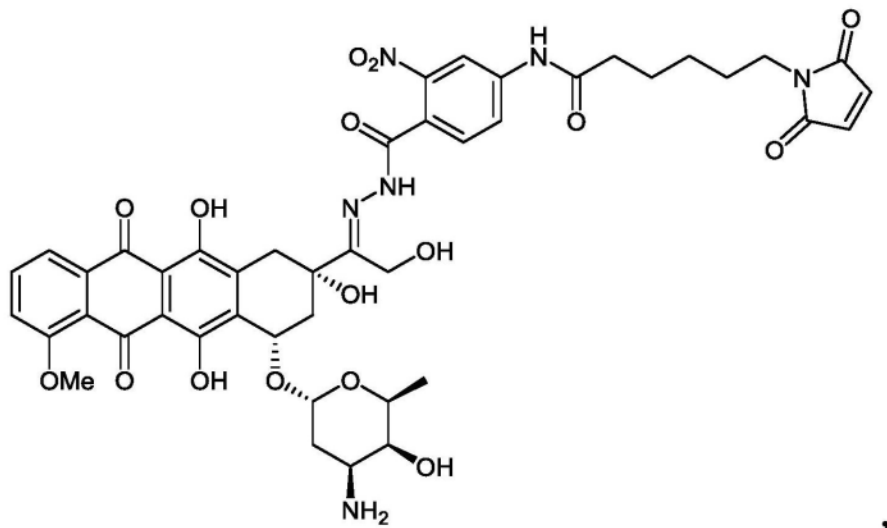
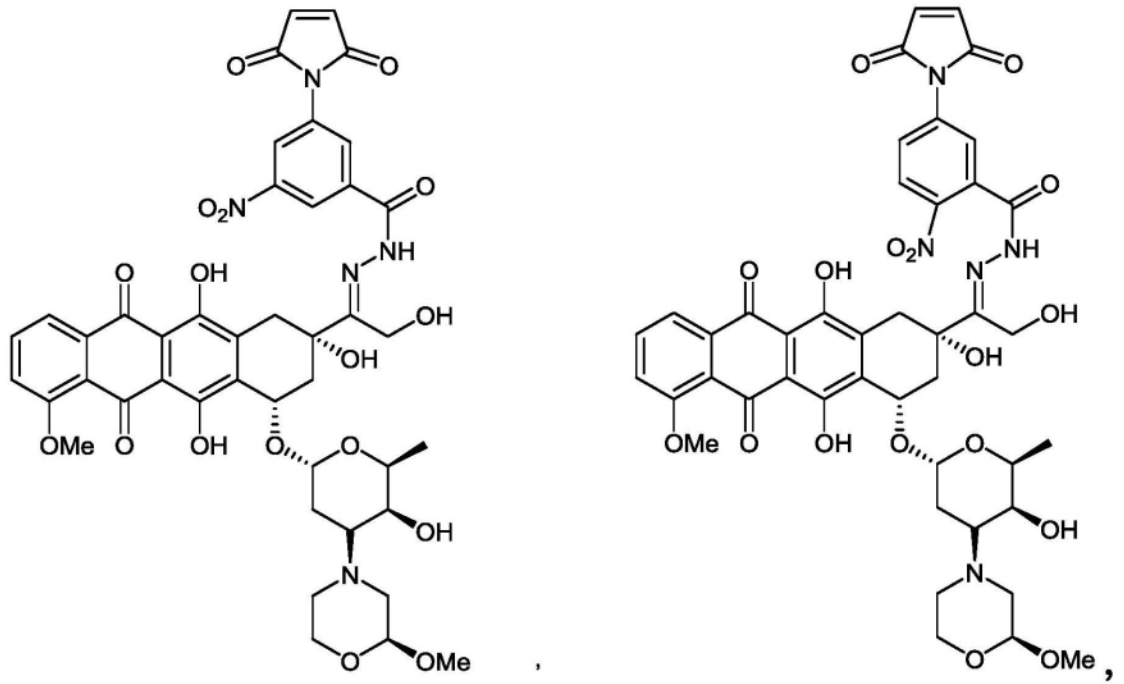
[0176] 在一些实施方案中,本发明的化合物选自:

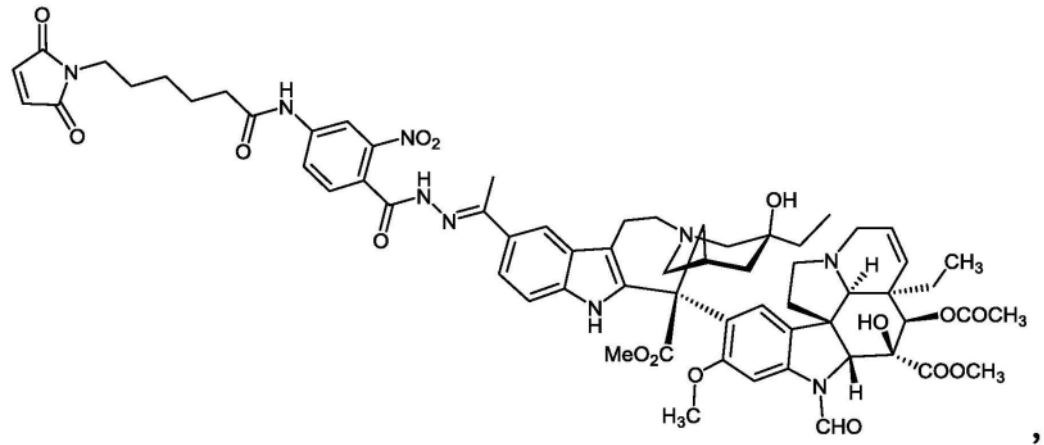




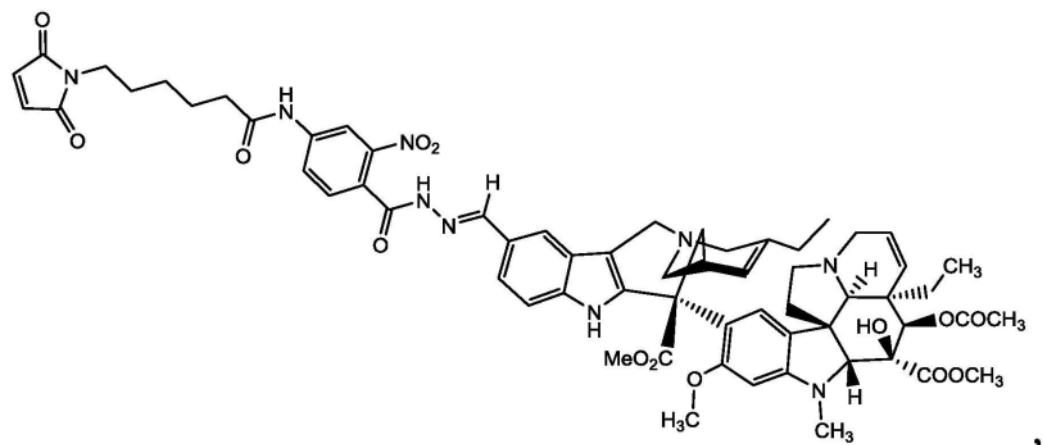
[0179]



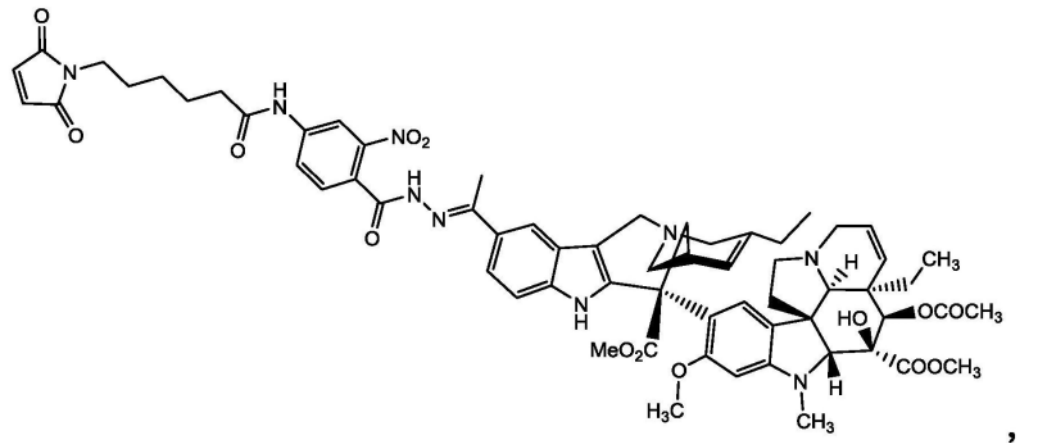




[0182]

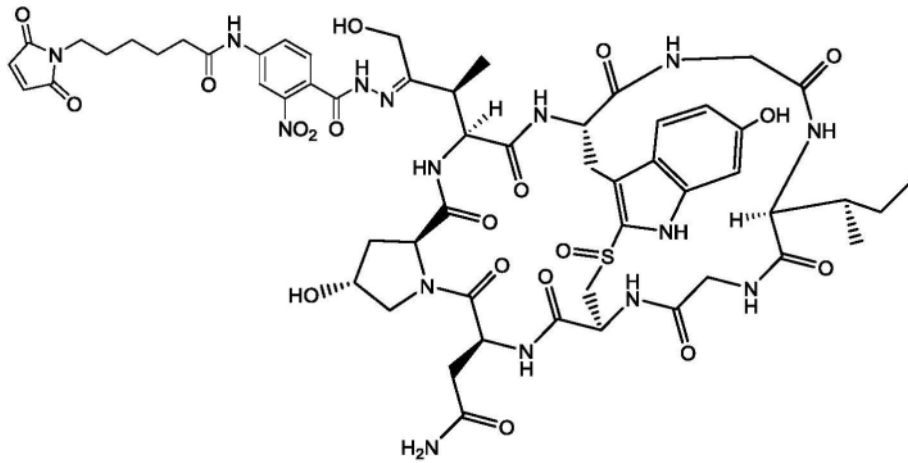


和

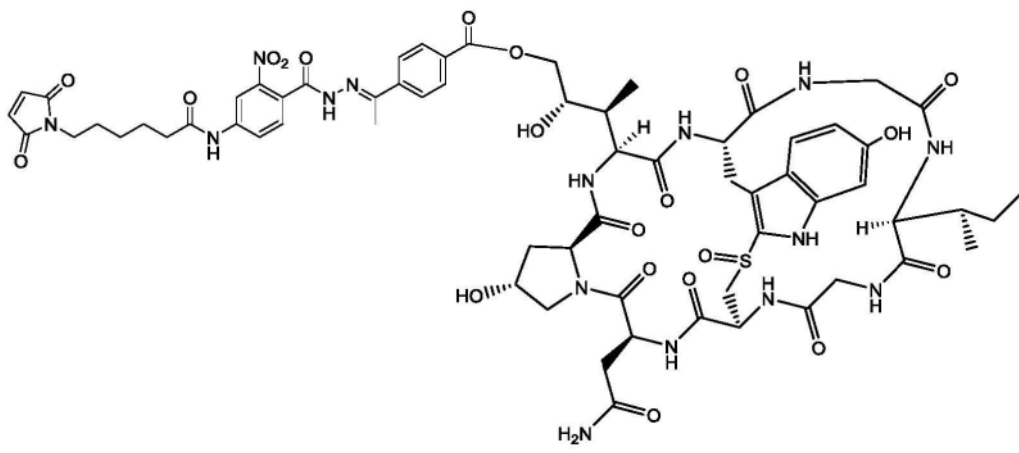


[0183] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体。

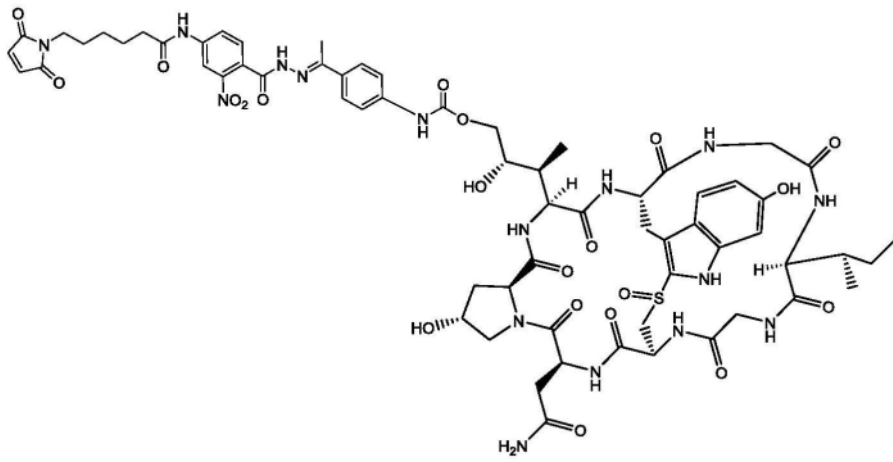
[0184] 在一些实施方案中, 药剂是 α -鹅膏蕈碱, 且本发明的化合物选自:



[0185]

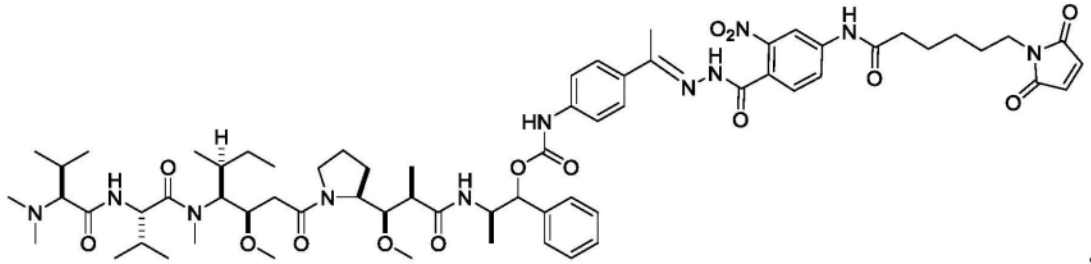


, 和

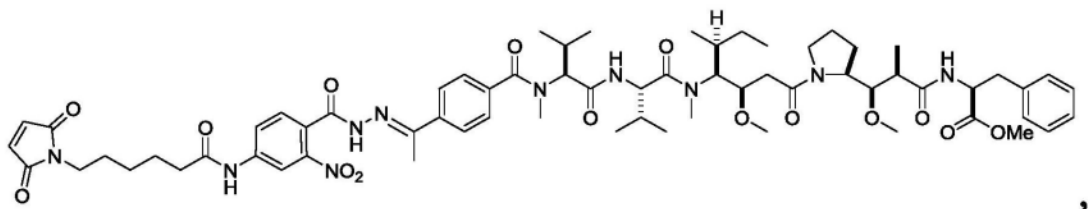
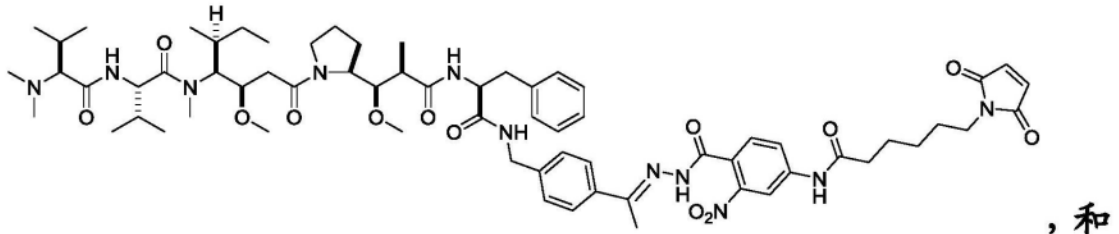
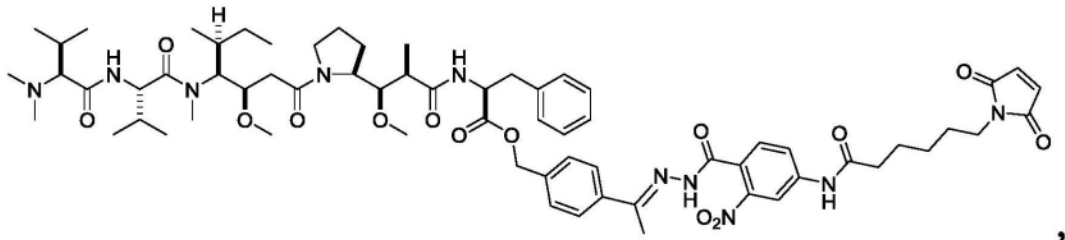


[0186] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体。

[0187] 在一些实施方案中, 药剂是澳瑞他汀或其衍生物, 且本发明的化合物选自:



[0188]



[0189] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体。

[0190] 在某些实施方案中,本发明提供了药物组合物,其包含本文公开的化合物和药学上可接受的载体。

[0191] 在某些实施方案中,本发明提供了治疗选自癌症、病毒疾病、自身免疫疾病、急性或慢性炎症疾病和由细菌、真菌或其他微生物引起的疾病的疾病或病症的方法,其包括向有需要的患者施用治疗有效量的本文所述的化合物或本文所述的药物组合物。

[0192] 在一些实施方案中,本发明提供了用作药物的化合物和组合物。在一些实施方案中,本发明提供了用于治疗选自以下的疾病或病症的化合物和组合物:癌症、病毒疾病、自身免疫疾病、急性或慢性炎症疾病和由细菌、真菌或其他微生物引起的疾病。

[0193] 在一些实施方案中,本文公开的化合物可用于制造或制备用于治疗选自以下的疾病或病症的药物:癌症、病毒疾病、自身免疫疾病、急性或慢性炎症疾病和由细菌、真菌或其他微生物引起的疾病。

[0194] 附图简述

- [0195] 图1显示化合物15和吉西他滨对NSLC异种移植模型LXFE 397中肿瘤生长的作用。
- [0196] 图2显示化合物15和吉西他滨对NSLC异种移植模型LXFE 397中肿瘤生长的作用。
- [0197] 图3显示化合物15和吉西他滨对人非小细胞癌异种移植模型LXFE 937中体重变化的影响。
- [0198] 图4显示化合物15和吉西他滨对卵巢癌OVXF 899异种移植模型中肿瘤生长的作用。
- [0199] 图5显示化合物15和吉西他滨对人卵巢癌OVXF 899异种移植模型中体重变化的影响。
- [0200] 图6 (A) 和6 (B) 显示了用化合物15或吉西他滨处理后在卵巢癌OVXF 899异种移植模型中各个肿瘤体积的散布图。图6 (A) 显示第0天的绝对肿瘤体积；图6 (B) 显示第67天的绝对肿瘤体积。
- [0201] 图7显示化合物15和吉西他滨对胰腺癌Panc11159异种移植模型中肿瘤生长的影响。
- [0202] 图8显示化合物15和吉西他滨对胰腺癌Panc11159异种移植模型中体重变化的影响。
- [0203] 发明详述
- [0204] 除非本文另有定义，否则本申请中使用的科学和技术术语应具有普通技术人员通常理解的含义。通常，本文中所述的与化学、分子生物学、细胞和癌症生物学、免疫学、微生物学、药理学以及蛋白和核酸化学结合使用的命名法及其技术是本领域中众所周知且常用的命名法和技术。
- [0205] 本申请中提及的所有出版物、专利和公开的专利申请通过引用具体并入本文。在冲突的情况下，以本说明书(包括其具体定义)为准。除非另有指明，否则应理解本发明的各实施方案可单独使用或与本发明的任一个或多个其它实施方案组合使用。
- [0206] 在本说明书通篇中，词语“包含(comprise)”或变型诸如“包含(comprises)”或“包含(comprising)”应理解为暗示包括所述整体(或组成)或整体(或组成)的组，但不排除任何其它整体(或组成)或整体(或组成)的组。
- [0207] 在整个申请中，在化合物或组合物被描述为具有、包括或包含特定组分的情况下，预期此类化合物或组合物也可以基本上由所述组分组成，或由所述组分组成。类似地，在方法或过程被描述为具有、包括或包含特定过程步骤的情况下，过程也可以基本上由所述过程步骤组成，或由所述过程步骤组成。此外，应该理解，只要本文所述的化合物、组合物和方法保持可操作，步骤的顺序或执行某些动作的顺序就不重要。此外，可以同时进行两个或更多个步骤或动作。
- [0208] 除非上下文另有明确指示，否则单数形式“一(a)”、“一(an)”和“该”包括复数。
- [0209] 术语“包括(including)”用于意指“包括但不限于”。“包括(including)”和“包括(including)、但不限于”可互换使用。
- [0210] 除非上下文另外明确指出，否则如本文所使用的术语“或”应被理解为是指“和/或”。
- [0211] 术语“药物”、“药剂”、“治疗剂”或“治疗有效物质”用于指任何自身或在其转化后在所述生物体中产生药理学作用的化合物，因此还包括这些转换的衍生物。根据本发明的

组合物的药物的药理学作用可以仅是单一作用,例如,抑制细胞生长的作用,或广泛的药理作用谱,例如同时具有免疫抑制和消炎作用。

[0212] 术语“蒽环霉素”是指一类具有蒽二酮(也称为蒽醌或二氧代蒽)结构单元的抗肿瘤抗生素。例如,术语“蒽环霉素”具体用于包括多柔比星、柔红霉素、表柔比星、伊达比星、奈莫柔比星、戊柔比星、吡柔比星、佐柔比星、阿柔比星、2-pyrrolpyrrolino蒽环霉素、吗啉代蒽环霉素、二乙酰氧基烷基蒽环霉素、PNU-159682、洋红霉素、米托蒽醌和阿美蒽醌。

[0213] 术语“患者”、“受试者”或“个体”可互换使用,且是指人类或非人类的动物。这些术语包括哺乳动物如人、灵长类、家畜(例如牛、猪)、伴侣动物(例如犬、猫)和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)。在某些实施方案中,患者或受试者是人类患者或受试者,例如患有需要治疗的病症的人类患者。

[0214] 术语“药物组合物”是指适用于在包括人和哺乳动物的个体动物的药物用途中的组合物,例如与一种或多种药学上可接受的载体、赋形剂或溶剂组合。这样的组合物还可以包含稀释剂、填料、盐、缓冲剂、稳定剂、增溶剂和本领域公知的其它材料。在某些实施方案中,药物组合物包括组合物,其包含活性成分,和构成赋形剂、载体或稀释剂的惰性成分,以及直接或间接来自任何两种或更多种成分的组合、络合或聚集的任何产物,或者来自一种或多种成分的解离的任何产物,或者来自一种或多种成分的任何类型的反应或相互作用的任何产物。因此,本公开的药物组合物涵盖通过混合本公开的化合物和一种或多种药学上可接受的赋形剂、载体和/或稀释剂而制成的任何组合物。

[0215] 术语“药学上可接受的载体”是指可以与本发明的治疗有效物质一起施用于患者且不破坏该药剂的药理学活性的无毒载体。术语“赋形剂”是指不是药物活性成分的制剂或组合物中的添加剂。在某些实施方案中,“药学上可接受的”物质适合用于与动物或人类的细胞、组织或器官接触,而没有过度的毒性、刺激性、变应性反应、免疫原性或其它不良反应,其在剂型中使用的量根据施用时间表,并与合理的利益/风险比成比例。在某些实施方案中,作为药物组合物的组分的“药学上可接受的”物质还与组合物的其他成分相容。在某些实施方案中,术语“药学上可接受的赋形剂”、“药学上可接受的载体”和“药学上可接受的稀释剂”包括但不限于药学上可接受的非活性成分、材料、组合物和载体、诸如液体填充剂、固体填充剂、稀释剂、赋形剂、载体、溶剂和包封材料。载体、稀释剂和赋形剂还包括所有药学上可接受的分散介质、包衣、缓冲剂、等渗剂、稳定剂、吸收延迟剂、抗微生物剂、抗菌剂、抗真菌剂、辅助剂等。除非任何常规赋形剂、载体或稀释剂与活性成分不相容,本公开内容涵盖在药物组合物中使用常规赋形剂、载体和稀释剂。参见例如Remington: The Science and Practice of Pharmacy,第21版,Lippincott Williams&Wilkins (Philadelphia, Pennsylvania,2005); Handbook of Pharmaceutical Excipients,5th Ed.,Rowe等人编撰,The Pharmaceutical Press and the American Pharmaceutical Association (2005); Handbook of Pharmaceutical Additives,第3版,Ash和Ash编撰,Gower Publishing Co.(2007);和Pharmaceutical Preformulation and Formulation,Gibson编撰,CRC Press LLC (Boca Raton,Florida,2004)

[0216] 术语“药学有效量”、“治疗有效量”或“治疗有效剂量”是指有效治疗患者疾病的量,例如在患有疾病(例如癌症)的患者的一般健康、生理反应或病症的治疗、愈合、抑制或改善等中实现有益和/或希望的改变的量。全部治疗效果不一定通过施用一次剂量而发生,

且可以仅在施用一系列剂量后发生。因此,治疗有效量的施用可以分一次或多次施用。受试者所需的精确有效量将取决于例如受试者的尺寸、健康和年龄、疾病的性质和程度、选择用于施用的治疗剂或治疗剂的组合、以及施用模式。技术人员可以通过常规实验容易地确定给定情况的有效量。本领域技术人员将认识到,治疗癌症包括但不限于杀死癌细胞、防止新癌细胞的生长、引起肿瘤消退(肿瘤大小减小)、引起转移减少、改善患者的生活机能、改善患者的健康、减轻疼痛、改善食欲、改善患者的体重、及其任何组合。术语“药学有效量”、“治疗有效量”或“治疗有效剂量”也指改善患者临床症状所需的量。本文所述的治疗癌症的治疗方法或方法不能被解释为或另外限于“治愈”癌症。

[0217] 如本文所用,术语“治疗(treating)”或“治疗(treatment)”包括以改善或稳定受试者病症的方式逆转、减少或停滞病症的症状、临床体征和潜在病理学。如本文所使用和如本领域中所充分理解,“治疗”是获得有利或期望结果(包括临床结果)的方法。有利或期望的临床结果可包括但不限于缓解、改善或减缓一种或多种与病症(例如癌症)相关的症状或病症的进展,减轻疾病程度,稳定(即,不恶化)疾病状态,延迟或减缓疾病进展,改善或缓和疾病状态和缓解(部分或全部),无论是可检测或不可检测的。“治疗”也可意指与不接受治疗的预期存活相比存活延长。本文描述了示例性的有益的临床结果。

[0218] 可以使用本领域技术人员已知的多种方法中的一种向受试者“施用”物质、化合物或试剂。例如,化合物或试剂可以静脉内、动脉内、皮内、肌肉内、腹膜内、皮下、眼部、舌下、口服(通过摄入)、鼻内(通过吸入)、脊髓内、大脑内和透皮(通过吸收,例如通过皮肤导管)施用。化合物或试剂也可以通过可再充装或可生物降解的聚合物装置或其他装置(例如贴剂和泵)或配制剂适当地引入,其提供化合物或试剂的延时释放、缓释或控制释放。还可以例如一次、多次和/或在一个或多个延长的时段内进行施用。在一些方面,施用包括直接施用(包括自我施用)和间接施用(包括开药的行为)。例如,如本文中所使用的,指导患者自我施用药物或者由另一个人施用药物和/或向患者提供药物处方的医师向患者施用药物。当方法是涉及多于一种药剂或治疗方式的治疗方案的一部分时,本公开认定药剂可以在相同或不同时间并经由相同或不同的施用途径施用。向受试者施用物质、化合物或试剂的适当方法也将取决于例如受试者的年龄、受试者在施用时是否活动或静止、受试者在施用时是否认知受损、损伤的程度以及化合物或药剂的化学和生物学性质(例如溶解度、消化率、生物利用度、稳定性和毒性)。

[0219] 术语“取代的”是指具有替换化合物骨架的一个或多个碳上的氢的取代基的部分。应理解,“取代(substitution)”或(被…取代(substituted with))包括以下隐含条件:此类取代与被取代的原子和取代基的允许化学价一致,和取代产生稳定化合物,例如其不会自发地经历转换,诸如通过重排、环化、消除等。如本文所使用,术语“被取代”考虑包括有机化合物的所有可容许取代基。在一个广泛方面,所述可容许取代基包括有机化合物的非环状和环状、分支和未分支、碳环和杂环、芳族和非芳族取代基。对于适当有机化合物,所述可容许取代基可以是一个或多个和相同或不同的。出于本发明的目的,杂原子诸如氮可具有氢取代基和/或满足杂原子化学价的本文所述有机化合物的任何可容许取代基。取代基可包括本文所述的任何取代基,例如卤素、羟基、羰基(诸如羧基、烷氧基羰基、甲酰基或酰基)、硫代羰基(诸如硫酯、硫代乙酸酯或硫代甲酸酯)、烷氧基、烷硫基、酰氧基、磷酰基、磷酸酯、膦酸酯、氨基、酰胺基、脒、亚胺、氰基、硝基、叠氨基、巯基、烷硫基、硫酸酯、磺酸酯、氨

磺酰基、磺酰氨基、磺酰基、杂环基、芳烷基或芳族或杂芳族部分。

[0220] “任选的”或“任选地”意味着随后描述的情况可能发生或可能不发生,使得应用包括情况发生的实例和情况不发生的实例。例如,短语“任选取代的”是指非氢取代基可以存在或不存在于给定的原子上,因此,本申请包括其中存在非氢取代基的结构和其中非氢取代基不存在的结构。

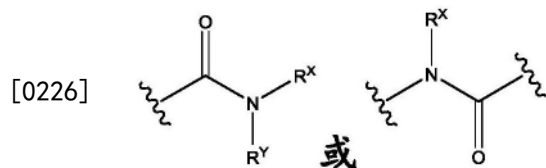
[0221] 除非特别说明为“未取代的”,否则提及本文化学部分时被理解为包括取代的变体。例如,提到“烷基”基团或部分隐含地包括取代的和未取代的变体。化学部分上的取代基的实例包括但不限于卤素、羟基、羰基(如羧基、烷氧羰基、甲酰基或酰基)、硫代羰基(如硫代酸酯、硫代乙酸酯或硫代甲酸酯)、烷氧基、烷硫基、酰氧基、磷酰基、磷酸酯、膦酸酯、氨基、酰氨基、脒、亚胺、氰基、硝基、叠氮基、巯基、烷硫基、硫酸酯、磺酸酯、氨磺酰基、磺酰氨基、磺酰基、杂环基、芳烷基或芳基或杂芳基部分。

[0222] 术语“酰基”是本领域公认的并且是指由通式烃基-C(O)-表示的基团,优选烷基-C(O)-所表示的基团。

[0223] 术语“烷基”是指饱和脂族基的基团,包括直链烷基和支链烷基。在优选的实施方案中,直链或支链烷基在其骨架中具有30个或更少的碳原子(例如,对于直链 C_1-C_{30} ,对于支链 C_3-C_{30}),且更优选20或更少的碳原子。在某些实施方案中,烷基是低级烷基,例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基和正戊基。此外,整个说明书、实施例和权利要求中使用的术语“烷基”旨在包括“未取代的烷基”和“取代的烷基”两者,后者是指具有取代烃主链的一个或多个碳上的氢的取代基的烷基部分。在某些实施方案中,直链或支链烷基在其骨架中具有30个或更少的碳原子(例如,对于直链 C_1-C_{30} ,对于支链 C_3-C_{30})。在优选的实施方案中,该链在其骨架中具有10个或更少的碳(C_1-C_{10})原子。在其他实施方案中,该链在其骨架中具有六个或更少的碳(C_1-C_6)原子。

[0224] 这样的取代基可以包括例如卤素、羟基、羰基(例如羧基、烷氧基羰基、甲酰基或酰基)、硫代羰基(例如硫代酸酯、硫代乙酸酯或硫代甲酸酯)、烷氧基、烷硫基、酰氧基、磷酰基、磷酸酯、膦酸酯、氨基、酰氨基、脒、亚胺、氰基、硝基、叠氮基、巯基、烷硫基、硫酸酯、磺酸酯、氨磺酰基、磺酰氨基、磺酰基、杂环基、芳烷基或芳基或杂芳基部分。

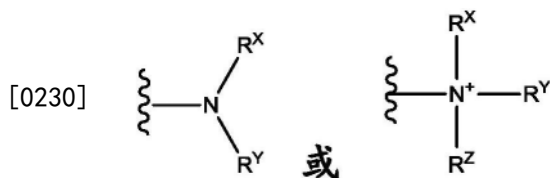
[0225] 如本文所用的术语“酰胺”是指由下式表示的基团



[0227] 其中 R^X 和 R^Y 各自独立地表示氢或烃基,或 R^X 和 R^Y 与它们所连接的N原子一起形成在环结构中具有4-8个原子的杂环。

[0228] 在一些实施方案中,酰胺是-NH-C(O)-或-C(O)-NH-。

[0229] 术语“胺”和“氨基”是本领域公认的并且是指未取代的和取代的胺及其盐,例如可以由下式表示的部分:



[0231] 其中 R^X 、 R^Y 和 R^Z 各自独立地表示氢或烃基，或 R^X 和 R^Y 与它们所连接的N原子一起形成在环结构中具有4-8个原子的杂环。

[0232] 如本文所用，术语“芳基”包括取代或未取代的单环芳族基团，其中环的每个原子是碳。该环优选为5至7元环，更优选为6元环。芳基包括苯基、苯酚、苯胺等。术语“芳基”还包括具有两个或更多个环的“多环基”、“多环”和“多环的”环体系，其中两个或更多个原子是两个相邻环共有的，例如环是“稠环”，其中至少一个环是芳族的，例如其他环可以是环烷基、环烯基、环炔基、芳基。在一些优选的实施方案中，多环具有2-3个环。在某些优选的实施方案中，多环环系统具有两个环，其中两个环都是芳族的。多环的每个环可以是取代或未取代的。在某些实施方案中，多环的每个环在环中含有3-10个原子，优选5-7个。例如，芳基包括但不限于苯基、甲苯基、萘基、茚基、茚基、萘基和萘基、以及苯并稠合的碳环部分如5,6,7,8-四氢萘基等。

[0233] 在一些实施方案中，芳基是单环芳族基团。在一些实施方案中，芳基是双环芳族基团。在一些实施方案中，芳基是三环芳族基团。

[0234] 如本文所用，术语“环烷基”是指饱和的脂肪族环的基团。在优选的实施方案中，环烷基环结构中具有3-10个碳原子，更优选环结构中具有5-7个碳原子。在一些实施方案中，两个环可以具有两个或更多个共同的原子，例如环是“稠环”。合适的环烷基包括环庚基、环己基、环戊基、环丁基和环丙基。

[0235] 在一些实施方案中，所述环烷基是单环基团。在一些实施方案中，环烷基是双环基团。在一些实施方案中，环烷基是三环基团。

[0236] 如本文所用，术语“卤代烷基”是指被一个或多个卤素取代的烷基。当存在多于一种卤素时，卤素可以相同或不同。例如，卤代烷基包括但不限于氟甲基、二氟甲基、三氟甲基、氯二氟甲基、2,2,2-三氟乙基、五氟乙基等。

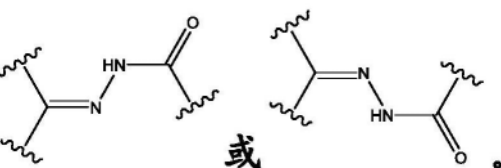
[0237] 如本文所用，术语“卤代”和“卤素”是指卤素并且包括氯、氟、溴和碘。

[0238] 术语“杂芳基”包括取代或未取代的芳族单环结构，优选5至7元环，更优选5至6元环，其环结构包括至少一个杂原子（例如O、N或S），优选1至4或1至3个杂原子，更优选1或2个杂原子。当杂芳基环中存在两个或更多个杂原子时，它们可以相同或不同。术语“杂芳基”还包括具有两个或更多个环的“多环基”、“多环”和“多环的”环系统，其中两个相邻环共有两个或更多个碳，例如环是“稠环”，其中至少一个环是杂芳族的，例如其它环可以是环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基和/或杂环基。在一些优选的实施方案中，优选的多环具有2-3个环。在某些实施方案中，优选的多环环系统具有两个环，其中两个环都是芳族的。在某些实施方案中，多环的每个环在环中含有3-10个原子，优选5-7个。例如，杂芳基包括但不限于吡咯、呋喃、噻吩、咪唑、噁唑、噻唑、吡唑、吡啶、吡嗪、哒嗪、喹啉、嘧啶、中氮茚、吲哚、吲唑、苯并咪唑、苯并噻唑、苯并呋喃、苯并噻吩、噌啉、酞嗪、喹啉、咪唑、吩噻嗪、喹啉、嘌呤等。

[0239] 在一些实施方案中，所述杂芳基是单环芳族基团。在一些实施方案中，杂芳基是双环芳族基团。在一些实施方案中，杂芳基是三环芳族基团。

[0240] 术语“杂环基”、“杂环”和“杂环的”是指取代或未取代的非芳族环结构,优选3-至10-元环,更优选3-至7-元环,其环结构包括至少一个杂原子,优选1-4个杂原子,更优选1或2个杂原子。在某些实施方案中,环结构可以具有两个环。在一些实施方案中,两个环可以具有两个或更多个共同的原子,例如环是“稠环”。杂环基包括例如哌啶、哌嗪、吡咯烷、吗啉、内酯、内酰胺等。

[0241] 如本文所用,术语“烃基”是指通过不具有=O或=S取代基的通过碳原子键合的基团,且通常具有至少一个碳-氢键和主要的碳主链,但可以任选地包含杂原子。因此,为了本申请的目的,诸如甲基、乙氧基乙基、2-吡啶基和三氟甲基的基团被认为是烃基,但是取代基如乙酰基(其在连接碳上具有=O取代基)和乙氧基(通过氧而不是碳连接)不是。烃基包括但不限于芳基、杂芳基、碳环、杂环、烷基、烯基、炔基及其组合。

[0242] 术语“脞部分”或“脞”是指  脞部分的立体化学可以是E或Z。本文使用的术语脞包括E和Z异构体。

[0243] 在本说明书的各个地方,本公开化合物的取代基以组或范围公开。本公开特别意图包括这样的组和范围的成员的各个及每个单独的子组合。例如,术语“C₁-C₆烷基”特别意图单独公开甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基等

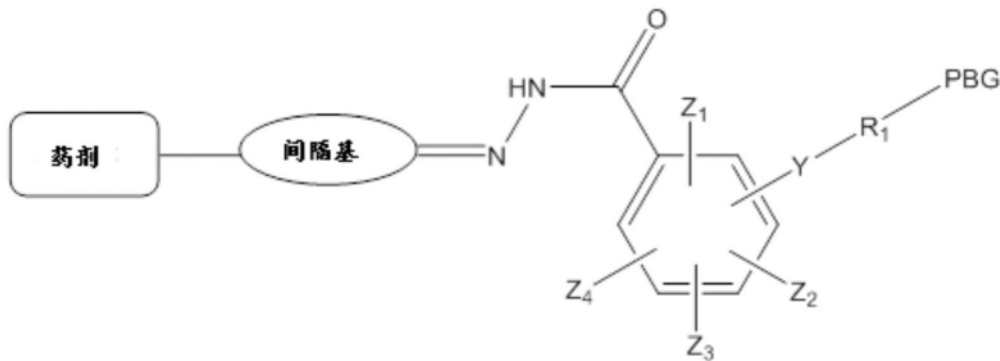
[0244] “药学上可接受的盐”是适于药用的化合物的盐,包括但不限于金属盐(例如钠盐、钾盐、镁盐、钙盐等)、酸加成盐(例如、无机酸、羧酸等)和碱加成盐(例如氨、有机胺等)。以其游离形式存在的作为碱的化合物的酸加成盐形式可以通过用合适的酸处理所述游离碱形式来获得,所述合适的酸为如无机酸,例如氢卤酸,如盐酸或氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等;或有机酸,如乙酸、羟基乙酸、丙酸、乳酸、丙酮酸、丙二酸、琥珀酸、马来酸、富马酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、甲磺酸、乙磺酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、环状酸、水杨酸、对氨基水杨酸、双羟萘酸等。参见例如W0 01/062726。Berge等人在Journal of Pharmaceutical Sciences,66:1-19(1977)中列出的一些药学上可接受的盐,通过引用将其全部内容并入本文。通过用合适的有机和无机碱处理,含有酸性质子的化合物可以转化成其治疗活性的、无毒的碱加成盐形式,例如金属或胺盐。适当的碱盐形式包括例如铵盐、碱金属和碱土金属盐或离子、例如锂、钠、钾、镁、钙盐等,与有机碱形成的盐,例如N-甲基-D-葡萄糖胺、哈胺盐、以及与氨基酸例如精氨酸、赖氨酸等的盐。相反,所述盐形式可以通过用适当的碱或酸处理而转化为游离形式。化合物及其盐可以是溶剂化物的形式,其包括在本公开的范围内。这样的溶剂化物包括例如水合物、醇化物等。参见例如W0 01/062726。

[0245] 本公开还提供了包含一种或多种本公开化合物以及药学上可接受的载体或赋形剂的药物组合物。本公开的化合物或药物组合物可以在体外或体内使用。

[0246] 本文使用的术语“异构体”包括但不限于互变异构体、顺式和反式异构体(E (entgegen)、Z (zusammen))、R-和S-对映异构体(所述R和S符号与Pure Appl.Chem.(1976),45,11-30中描述的规则相一致使用)、非对映异构体、(D)异构体、(L)-异构体、立体异构体、其外消旋混合物及其其它混合物。所有这些异构体以及它们的混合物旨在被包括在本发明中。虽然本文所述式中没有明确指出,但是互变异构体意图包括在本发明的范围内。

[0247] 本发明的化合物

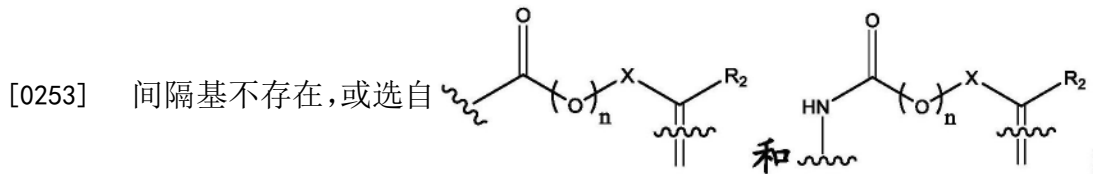
[0248] 本发明提供具有由式 (I) 表示的结构化合物:



[0250] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体;

[0251] 其中:

[0252] 药剂选自:细胞抑制剂、细胞毒剂、细胞因子、免疫抑制剂、抗风湿剂、消炎药、抗生素、止痛药、抗病毒剂、抗炎剂、抗霉菌剂、转录因子抑制剂、细胞周期调节剂、MDR调节剂、蛋白酶体或蛋白酶抑制剂、细胞凋亡调节剂、酶抑制剂、信号转导抑制剂、蛋白酶抑制剂、血管生成抑制剂、激素或激素衍生物、抗体或其片段、治疗或诊断活性肽、放射性物质、发光物质、吸光物质及前述任一种的衍生物;



[0254] n是0或1;

[0255] X选自任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基,其中任选地所述 C_1-C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基-NH-C(O)- R_5- ,其中任选地所述 C_1-C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基-C(O)-NH- R_5- ,其中任选地所述 C_1-C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;任选地取代的芳基;任选地取代的杂芳基;和任选地取代的环烷基;

[0256] R_5 选自任选地取代的芳基、任选地取代的杂芳基和任选地取代的环烷基;

[0257] Y不存在或选自任选地取代的 C_1-C_6 烷基、-NH-C(O)-、-C(O)-NH-、-C(O)-O-和-O-C(O)-;

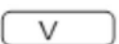
[0258] R_1 不存在或选自任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基,其中任选地所述 C_1-C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基-NH-C(O)- R_5- ,其中任选地所述 C_1-C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;和任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基-C(O)-NH- R_5- ,其中任选地所述 C_1-C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代,

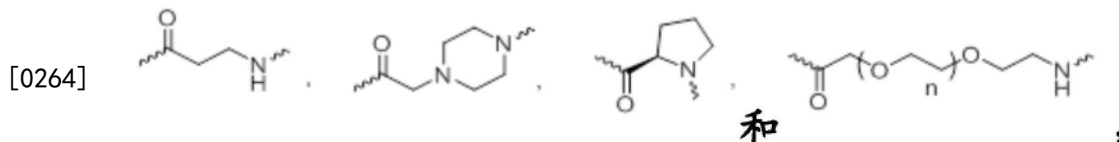
[0259] 或 R_1 是天然或非天然存在的氨基酸,

[0260] 或 R_1 具有下式:



[0262] 其中:

[0263]  为不存在,或选自:



[0265] R是: $\sim\text{OPO}_3\text{M}_1$, 其中 $\text{M}_1 = \text{Mg}^{2+}, 2\text{Na}^+, 2\text{K}^+, 2\text{H}^+, 2\text{NH}_4^+$

[0266] 或 $\sim\text{SO}_3\text{M}_2$, 其中 $\text{M}_2 = \text{Na}^+, \text{K}^+, \text{H}^+, \text{NH}_4^+$;

[0267] R_2 选自-H、任选地取代的 C_1 - C_{12} 烷基、任选地取代的芳基和任选地取代的杂芳基;

[0268] Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自-H、吸电子基团和/或水溶性基团;

[0269] PBG是蛋白质结合基团,其选自任选地被取代的马来酰亚胺基、任选地被取代的卤代乙酰胺基、任选地被取代的卤代乙酸酯基、任选地被取代的吡啶硫基、任选地被取代的异硫氰酸酯基、任选地被取代的乙烯基羰基、任选地被取代的氮丙啶基、任选地被取代的二硫基、任选地被取代的乙炔基、任选地被取代的N-羟基琥珀酰亚胺酯基、抗体或其片段和衍生化抗体或其衍生化片段;

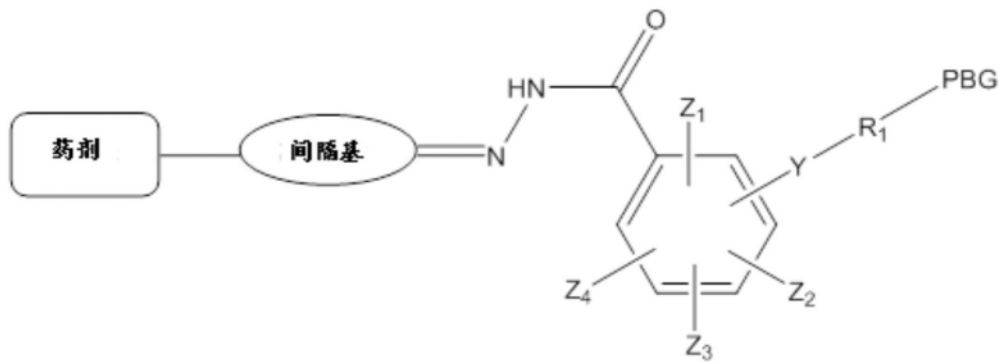
[0270] 其中当间隔基不存在时,通过双键将药剂连接到与间隔基相邻的氮;且

[0271] 其中 Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 中至少一个是吸电子基团。

[0272] 在本文所述化合物的一些实施方案中,PBG是蛋白质结合基团,其选自任选地被取代的马来酰亚胺基、任选地被取代的卤代乙酰胺基、任选地被取代的卤代乙酸酯基、任选地被取代的吡啶硫基、任选地被取代的异硫氰酸酯基、任选地被取代的乙烯基羰基、任选地被取代的氮丙啶基、任选地被取代的二硫基、任选地被取代的乙炔基和任选地被取代的N-羟基琥珀酰亚胺酯基。

[0273] 在一些实施方案中,PBG与抗体或其片段结合。在一些实施方案中,PBG与抗体或其片段共价结合。在一些实施方案中,PBG与白蛋白结合。在其它实施方案中,PBG与内源性或外源性白蛋白共价结合。在其它实施方案中,PBG与内源性或外源性白蛋白的半胱氨酸-34共价结合。

[0274] 在某些实施方案中,本发明提供具有由式(I)表示的结构化合物:

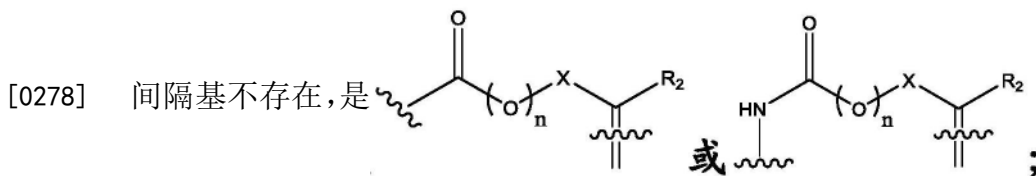


[0275]

式 (I)

[0276] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体；其中

[0277] 药剂选自细胞抑制剂、细胞毒剂、细胞因子、免疫抑制剂、抗风湿剂、消炎药、抗生素、止痛药、抗病毒剂、抗炎剂、抗霉菌剂、转录因子抑制剂、细胞周期调节剂、MDR调节剂、蛋白酶体或蛋白酶抑制剂、细胞凋亡调节剂、酶抑制剂、信号转导抑制剂、蛋白酶抑制剂、血管生成抑制剂、激素或激素衍生物、抗体或其片段、治疗或诊断活性肽、放射性物质、发光物质、吸光物质及前述任一种的衍生物；



[0278] 间隔基不存在,是

[0279] n是0或1；

[0280] X选自任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基,其中任选地所述 C_1-C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基 $-NH-C(O)-R_5-$,其中任选地所述 C_1-C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基 $-C(O)-NH-R_5-$,其中任选地所述 C_1-C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;任选地取代的芳基;任选地取代的杂芳基;和任选地取代的环烷基;

[0281] R_5 选自任选地取代的芳基、任选地取代的杂芳基和任选地取代的环烷基;[0282] Y不存在或选自任选地取代的 C_1-C_6 烷基、 $-NH-C(O)-$ 、 $-C(O)-NH-$ 、 $-C(O)-O-$ 和 $-O-C(O)-$;

[0283] R_1 不存在或选自任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基,其中任选地所述 C_1-C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基 $-NH-C(O)-R_5-$,其中任选地所述 C_1-C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;和任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基 $-C(O)-NH-R_5-$,其中任选地所述 C_1-C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;

[0284] R_2 选自 $-H$ 、任选地取代的 C_1-C_{12} 烷基、任选地取代的芳基和任选地取代的杂芳基;[0285] Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自 $-H$ 和吸电子基团;

[0286] PBG是蛋白质结合基团,其选自任选地被取代的马来酰亚胺基、任选地被取代的卤代乙酰胺基、任选地被取代的卤代乙酸酯基、任选地被取代的吡啶硫基、任选地被取代的异硫氰酸酯基、任选地被取代的乙烯基羰基、任选地被取代的氮丙啶基、任选地被取代的二硫基、任选地被取代的乙炔基、任选地被取代的N-羟基琥珀酰亚胺酯基和抗体或其片段;

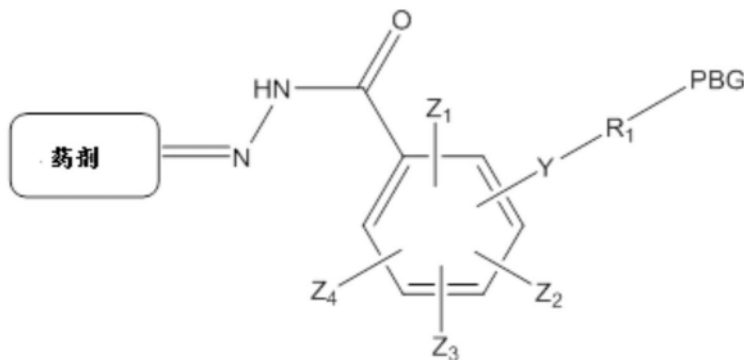
[0287] 其中当间隔基不存在时,通过双键将药剂连接到与间隔基相邻的氮;且

[0288] Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 中至少一个是吸电子基团。

[0289] 在本文所述化合物的一些实施方案中,PBG是蛋白质结合基团,其选自任选地被取代的马来酰亚胺基、任选地被取代的卤代乙酰胺基、任选地被取代的卤代乙酸酯基、任选地被取代的吡啶硫基、任选地被取代的异硫氰酸酯基、任选地被取代的乙烯基羰基、任选地被取代的氮丙啶基、任选地被取代的二硫基、任选地被取代的乙炔基和任选地被取代的N-羟基琥珀酰亚胺酯基。

[0290] 在一些实施方案中,PBG与抗体或其片段结合。在一些实施方案中,PBG与抗体或其片段共价结合。在一些实施方案中,PBG与白蛋白结合。在其它实施方案中,PBG与内源性或外源性白蛋白共价结合。在其它实施方案中,PBG与内源性或外源性白蛋白的半胱氨酸-34共价结合。

[0291] 在某些实施方案中,本发明提供了具有由式(II)表示的结构的化合物:

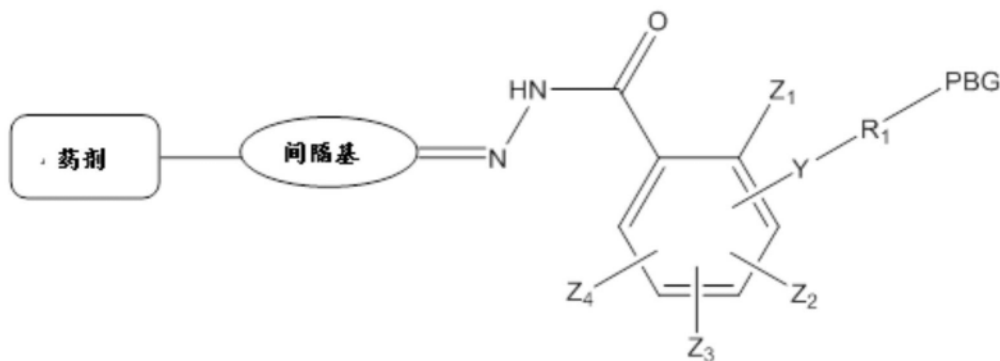


式(II)

[0293] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体;

[0294] 其中药剂、PBG、Y、 R_1 、 Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 如对式(I)化合物所定义。

[0295] 在某些实施方案中,本发明提供了具有由式(III)表示的结构的化合物:



式(III)

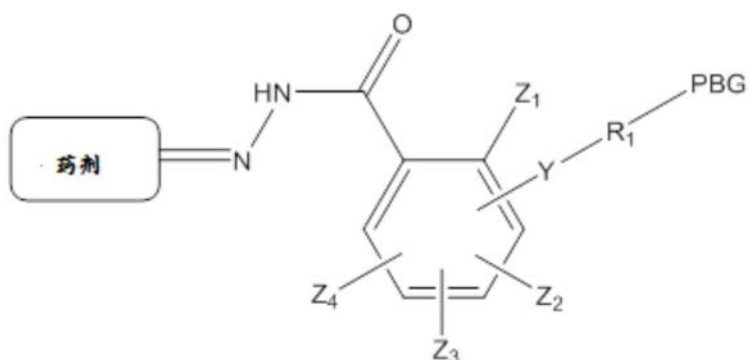
[0297] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体;

[0298] 其中药剂、间隔基、PBG、Y、 R_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 如对式(I)化合物所定义;且

[0299] 其中 Z_1 是吸电子基团。

[0300] 在某些实施方案中,本发明提供了具有由式(IV)表示的结构的化合物:

[0301]



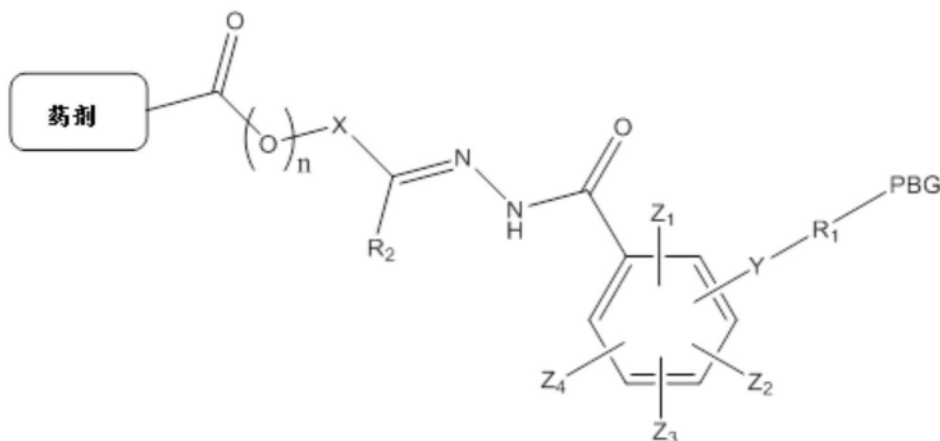
式 (IV)

[0302] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体；

[0303] 其中药剂、PBG、Y、R₁、Z₂、Z₃和Z₄如对式 (I) 化合物所定义；且其中Z₁是吸电子基团。

[0304] 在某些实施方案中，本发明提供了具有由式 (V) 表示的结构化合物：

[0305]

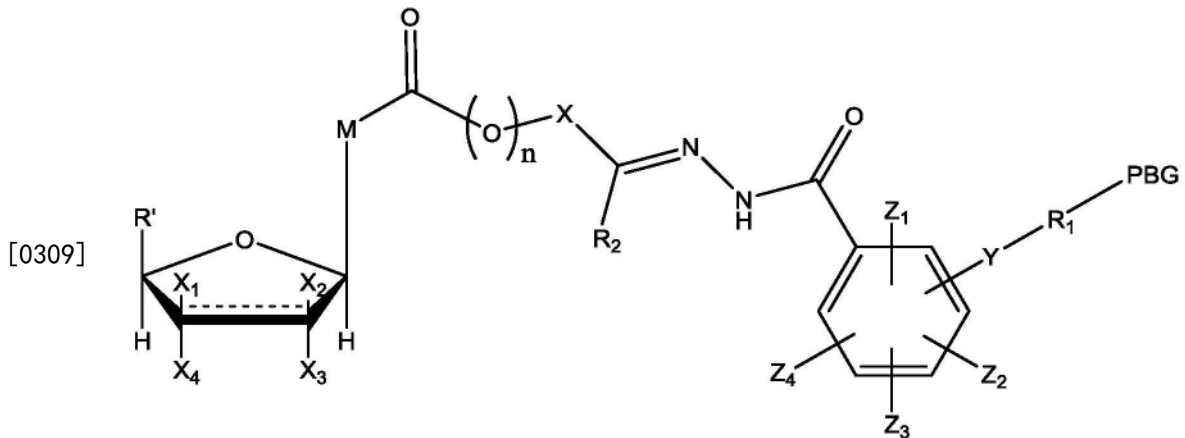


式 (V)

[0306] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体；

[0307] 其中药剂、PBG、n、Y、R₁、R₂、Z₁、Z₂、Z₃和Z₄如对式 (I) 化合物所定义。

[0308] 在某些实施方案中，本发明提供了具有由式 (VI) 表示的结构化合物：



式(VI)

[0310] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体；

[0311] 其中：

[0312] M是嘧啶或嘌呤基，其包含至少一个伯氨基或仲氨基，且任选地含有一个或多个选自卤素的取代基；

[0313] X_1 和 X_2 各自独立地选自-H、-OH、 C_1 - C_6 烷基、卤素和- N_3 ；

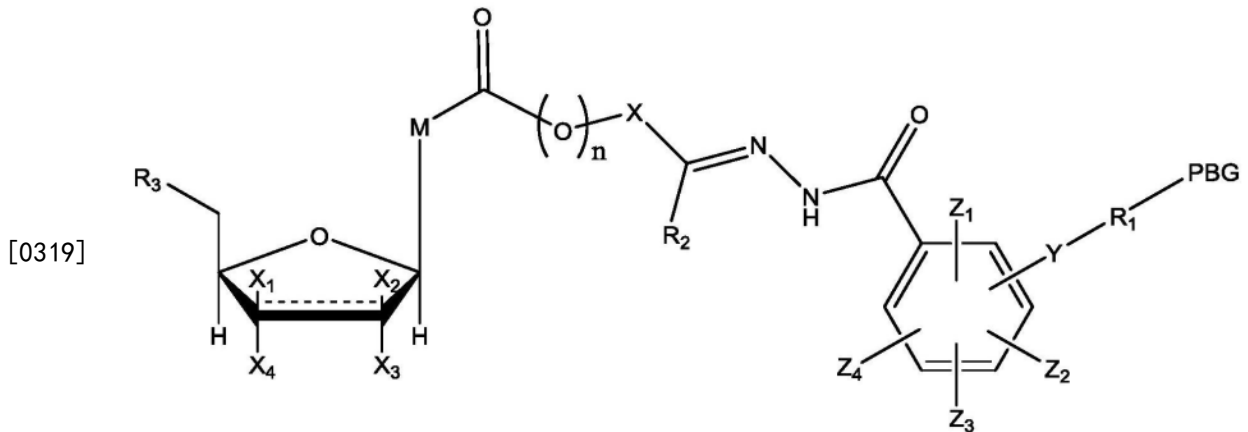
[0314] 价键允许的话， X_3 和 X_4 各自独立地为不存在或选自-H、-OH、 C_1 - C_6 烷基、卤素和- N_3 ；

[0315] R' 是- R_3 或- CH_2R_3 ；

[0316] 其中 R_3 每次出现独立地选自-OH、- CH_3 、-OP(O)(OH) $_2$ 、-P(O)(OH)OP(O)(OH) $_2$ 、-OP(O)(OH)OP(O)(OH)OP(O)(OH) $_2$ 、-OP(O)(OH)(NH $_2$)、氨基酸、酰基，及其药学上可接受的盐，其中所述盐含有碱金属离子、碱土金属离子、铵或烷基取代的铵离子；且

[0317] 其中X、n、 Z_1 、 Z_2 、 Z_3 、 Z_4 、Y、 R_1 、 R_2 和PBG如对式(V)的化合物所定义。

[0318] 在某些实施方案中，本发明提供了具有由式(VI)表示的结构化合物：



式(VI)

[0320] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体；其中

[0321] M是包含至少一个伯氨基或仲氨基的嘧啶或嘌呤基团。

[0322] X_1 和 X_2 各自独立地选自-H、-OH、 C_1 - C_6 烷基、卤素和- N_3 。

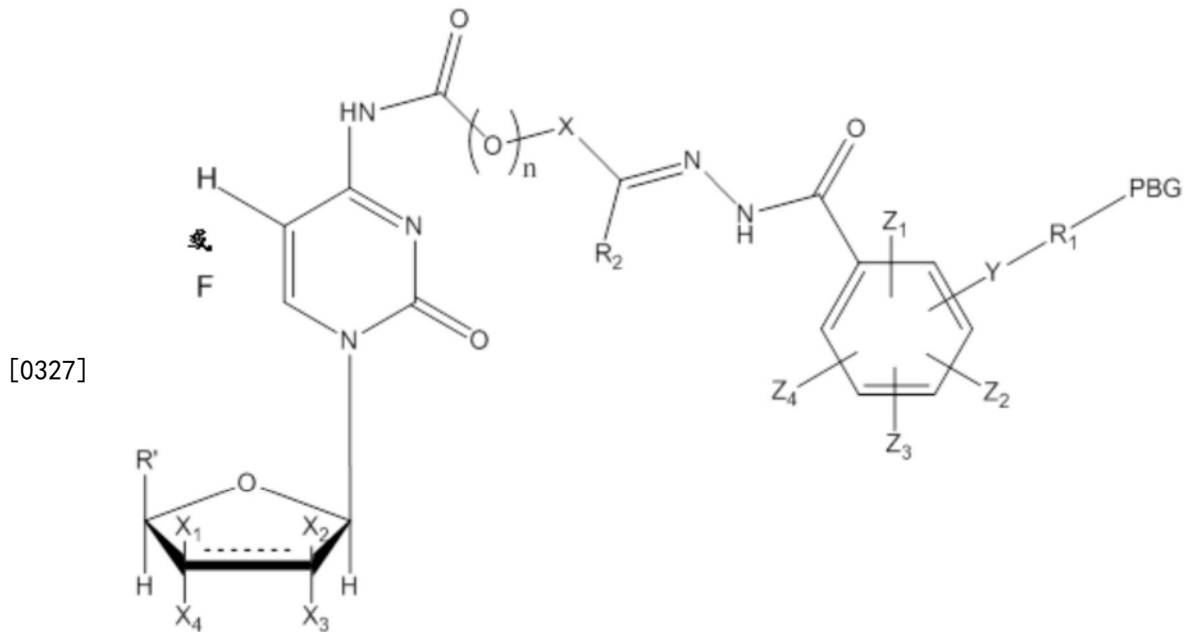
[0323] 价键允许的话， X_3 和 X_4 各自独立地为不存在或选自-H、-OH、 C_1 - C_6 烷基、卤素和- N_3 。

[0324] R_3 选自-OH、-OP(O)(OH) $_2$ 、-P(O)(OH)OP(O)(OH) $_2$ 、-OP(O)(OH)OP(O)(OH)OP(O)(OH) $_2$

(OH)₂、-OP(O)(OH)(NH₂)、氨基酸、酰基,及其药学上可接受的盐,其中所述盐含有碱金属离子、碱土金属离子、铵或烷基取代的铵离子;且

[0325] 其中X、n、Z₁、Z₂、Z₃、Z₄、Y、R₁、R₂和PBG如对式(V)的化合物所定义。

[0326] 在某些实施方案中,本发明提供了具有由式(VII)表示的结构化合物:

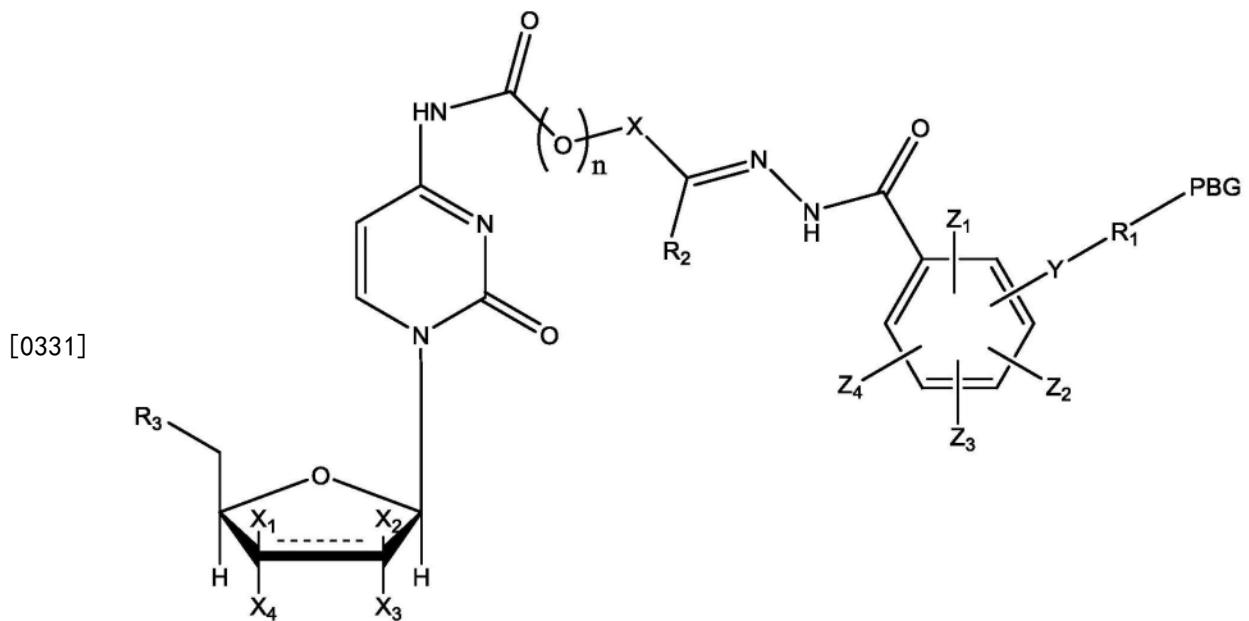


式(VII)

[0328] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体;

[0329] 其中R' 是-R₃或-CH₂R₃;且X、X₁、X₂、X₃、X₄、n、Y、R₁、R₂、R₃、Z₁、Z₂、Z₃、Z₄和PBG如对式(VI)的化合物所定义。

[0330] 在某些实施方案中,本发明提供了具有由式(VII)表示的结构化合物:

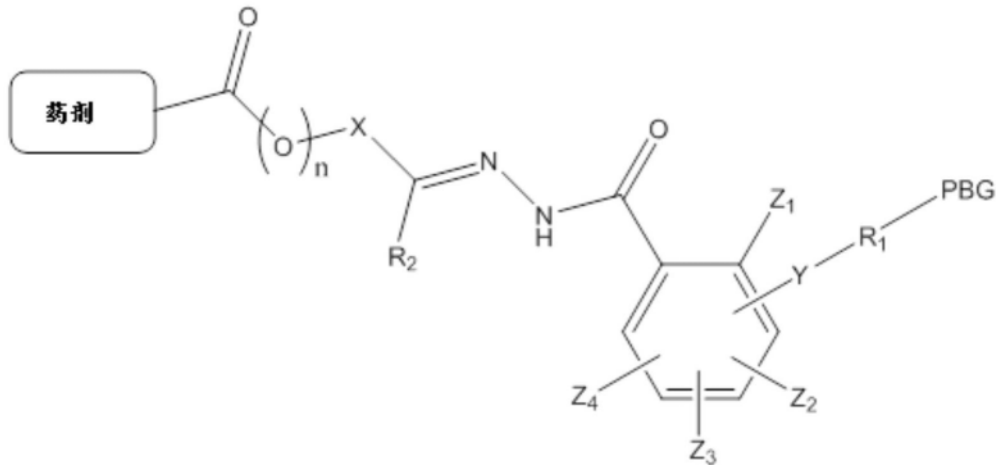


式(VII)

[0332] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体;

[0333] 其中X、X₁、X₂、X₃、X₄、n、Y、R₁、R₂、R₃、Z₁、Z₂、Z₃、Z₄和PBG如对式(V)的化合物所定义。

[0334] 在某些实施方案中,本发明提供了具有由式(VIII)表示的结构的化合物:

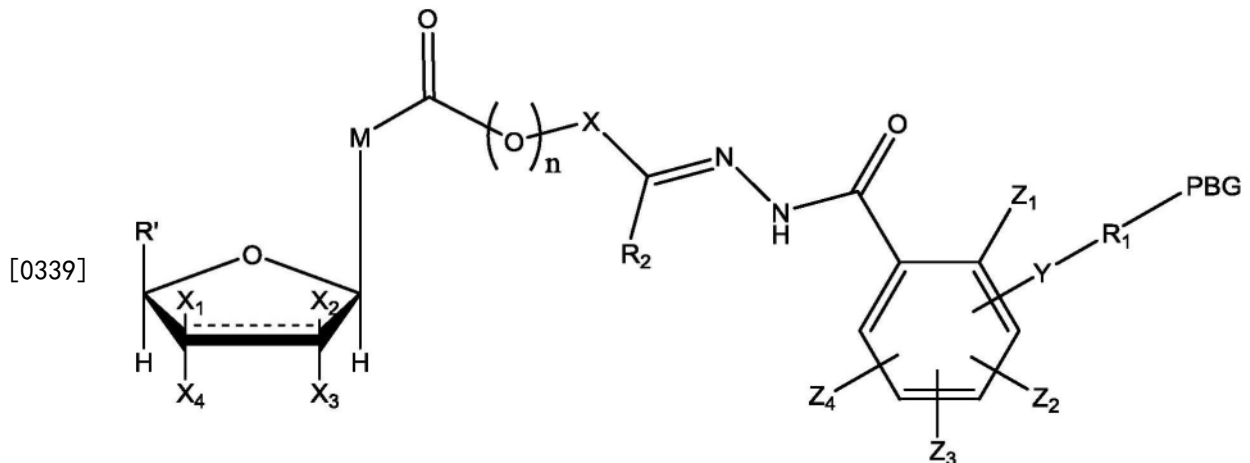


式(VIII)

[0336] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体;其中

[0337] Z₁是吸电子基团;且其中药剂、X、n、R₂、PBG、Y、R₁、Z₂、Z₃和Z₄如对式(V)的化合物所定义。

[0338] 在某些实施方案中,本发明提供了具有由式(IX)表示的结构的化合物:



式(IX)

[0340] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体;

[0341] 其中:

[0342] M是嘧啶或嘌呤基,其包含至少一个伯氨基或仲氨基,且任选地含有一个或多个选自卤素的取代基;

[0343] X₁和X₂各自独立地选自-H、-OH、C₁-C₆烷基、卤素和-N₃;

[0344] 价键允许的话,X₃和X₄各自独立地为不存在或选自-H、-OH、C₁-C₆烷基、卤素和-N₃;

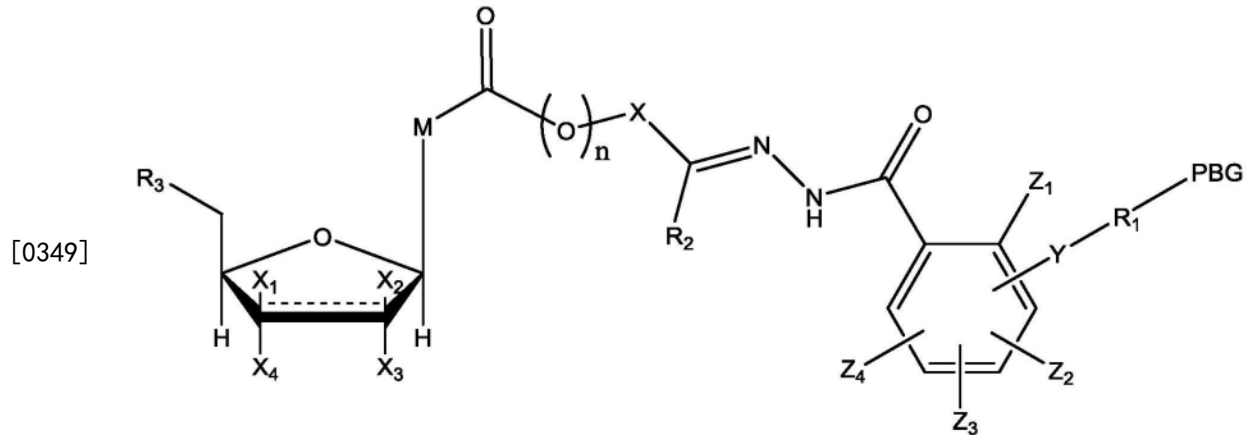
[0345] R'是-R₃或-CH₂R₃;

[0346] 其中R₃每次出现时独立地选自-OH、-CH₃、-OP(O)(OH)₂、-P(O)(OH)OP(O)(OH)₂、-OP(O)(OH)OP(O)(OH)₂、-OP(O)(OH)(NH₂)、氨基酸、酰基,及其药学上可接受的盐,其

中所述盐含有碱金属离子、碱土金属离子、铵或烷基取代的铵离子；且

[0347] 其中X、n、Y、Z₁、Z₂、Z₃、Z₄、R₁、R₂和PBG如对式(VIII)的化合物所定义。

[0348] 在某些实施方案中，本发明提供了具有由式(IX)表示的结构的化合物：



式(IX)

[0350] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体，其中

[0351] M是嘧啶或嘌呤基，其包含至少一个伯氨基或仲氨基；

[0352] X₁和X₂各自独立地选自-H、-OH、C₁-C₆烷基、卤素和-N₃；

[0353] 价键允许的话，X₃和X₄各自独立地为不存在或选自-H、-OH、C₁-C₆烷基、卤素和-N₃；

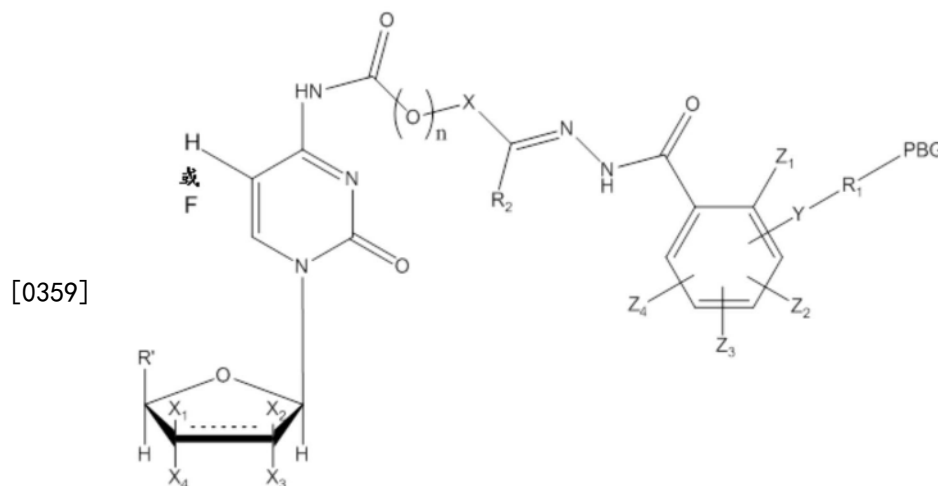
[0354] R₃选自-OH、-OP(O)(OH)₂、-P(O)(OH)OP(O)(OH)₂，

[0355] -OP(O)(OH)OP(O)(OH)OP(O)(OH)₂、-OP(O)(OH)(NH₂)、氨基酸、酰基，及其药学上可接受的盐，其中所述盐含有碱金属离子、碱土金属离子、铵或烷基取代的铵离子；且

[0356] 其中X、n、Y、Z₁、Z₂、Z₃、Z₄、R₁、R₂和PBG如对式(VIII)的化合物所定义。

[0357] 在某些实施方案中，X₁、X₂、X₃和X₄各自独立地选自-H、-OH、-CH₃、-F、-Cl、-Br、-I和-N₃。

[0358] 在某些实施方案中，本发明提供了具有由式(X)表示的结构的化合物：



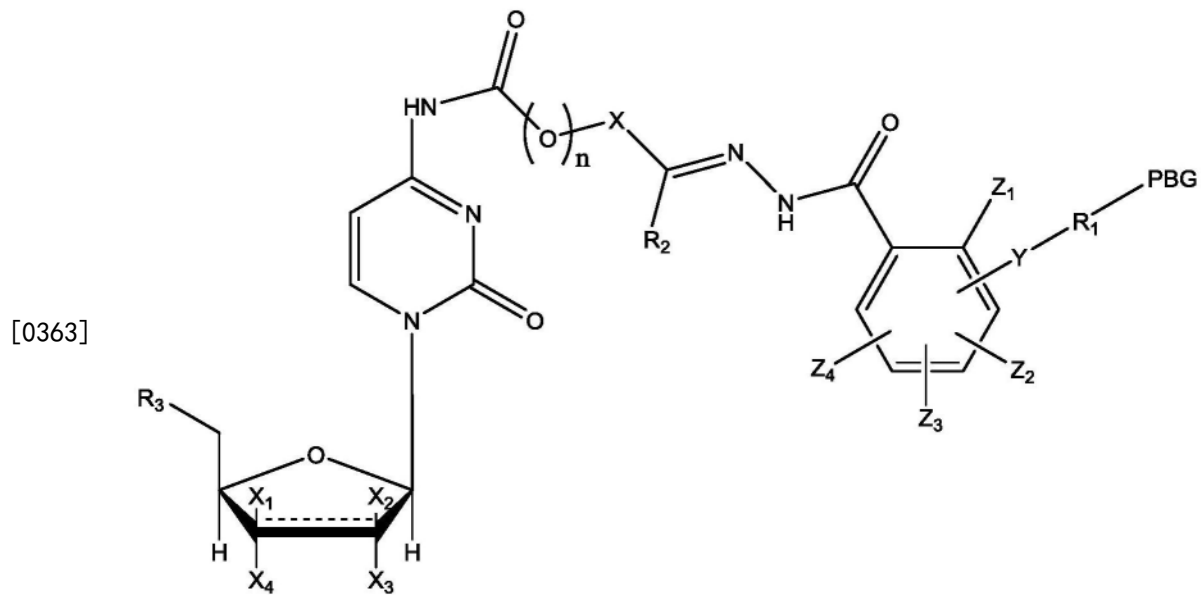
式(X)

[0360] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体；

[0361] 其中R'是-R₃或-CH₂R₃；且X₁、X₂、X₃、X₄、R₃、X、n、Y、Z₁、Z₂、Z₃、Z₄、R₁和R₂如对式(IX)的

化合物所定义。

[0362] 在某些实施方案中,本发明提供了具有由式(X)表示的结构化合物:



式(X)

[0364] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体;其中 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 R_3 、 X 、 n 、 Y 、 Z_1 、 Z_2 、 Z_3 、 Z_4 、 R_1 和 R_2 如对式(IX)的化合物所定义。

[0365] 在一些实施方案中,药剂选自N-亚硝基脒类;多柔比星、2-pyrrolopyrrolino蒽环霉素、吗啉代蒽环霉素、二乙酰氧基烷基蒽环霉素、柔红霉素、表柔比星、伊达比星、奈莫柔比星、PNU-159682、米托蒽醌;阿美蒽醌;苯丁酸氮芥、苯达莫司汀、美法仑、oxazaphosphorines;5-氟尿嘧啶、5'-脱氧-5-氟胞苷、2'-脱氧-5-fluoridine、阿糖胞苷、克拉屈滨、氟达拉滨、喷托他丁、吉西他滨、4-氨基-1-(((2S,3R,4S,5R)-3,4-二羟基-5-甲基四氢呋喃-2-基)甲基)-5-氟嘧啶-2(1H)-酮、硫鸟嘌呤;甲氨蝶呤、雷替曲塞、培美曲塞、普来曲塞;紫杉醇、多西他赛;拓扑替康、伊立替康、SN-38、10-羟基喜树碱、GG211、勒托替康、9-氨基喜树碱、喜树碱、7-甲酰基喜树碱、7-乙酰基喜树碱、9-甲酰基喜树碱、9-乙酰基喜树碱、9-甲酰基-10-羟基喜树碱、10-甲酰基喜树碱、10-乙酰基喜树碱、7-丁基-10-氨基喜树碱、7-丁基-9-氨基-10,11,-亚甲二氧基喜树碱;长春碱、长春新碱、长春地辛、长春瑞滨;加利车霉素;美登素、美登醇;澳瑞他汀(包括但不限于澳瑞他汀D、澳瑞他汀E、澳瑞他汀F、一甲基澳瑞他汀D、一甲基澳瑞他汀E、一甲基澳瑞他汀F、一甲基澳瑞他汀F甲酯、澳瑞他汀PYE澳瑞他汀PHE、相关的天然产物多拉司他汀10及其衍生物);蝇蕈毒素(包括但不限于 α -鹅膏蕈碱、 β -鹅膏蕈碱、 γ -鹅膏蕈碱、 ϵ -鹅膏蕈碱、鹅膏素、鹅膏素酰胺、鹅膏无毒环肽和鹅膏无毒环肽羧酸及其衍生物);倍癌霉素A、倍癌霉素B1、倍癌霉素B2、倍癌霉素C、倍癌霉素SA、CC1065、阿多来新、比折来新、卡折来新;艾立布林;曲贝替定;吡咯并苯并二氮杂卓、安曲霉素、富山霉素、西伯里亚霉素、DC-81、DSB-120;埃坡霉素;博来霉素;更生霉素;普卡霉素、观霉素C和顺式构型铂(II)络合物;或前述任何的衍生物。

[0366] 在一些实施方案中,药剂选自N-亚硝基脒类;多柔比星、2-pyrrolopyrrolino蒽环霉素、吗啉代蒽环霉素、二乙酰氧基烷基蒽环霉素、柔红霉素、表柔比星、伊达比星、奈莫柔比星、米托蒽醌;阿美蒽醌;苯丁酸氮芥、苯达莫司汀、美法仑、oxazaphosphorines;5-氟尿嘧啶、

2'-脱氧-5-fluoridine、阿糖胞苷、克拉屈滨、氟达拉滨、喷托他丁、吉西他滨、硫鸟嘌呤；甲氨蝶呤、雷替曲塞、培美曲塞、普来曲塞；紫杉醇、多西他赛；拓扑替康、伊立替康、SN-38、10-羟基喜树碱、GG211、勒托替康、9-氨基喜树碱、喜树碱；长春碱、长春新碱、长春地辛、长春瑞滨；加利霉素；美坦生类化合物；澳瑞他汀类；埃坡霉素；博来霉素、更生霉素、普卡霉素、观霉素C和顺式构型铂(II)络合物；或前述任何的衍生物。

[0367] 在一些实施方案中， Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自：-H、卤素、-C(O)OH、-C(O)O-C₁-C₆烷基、-NO₂、卤代烷基、-S(O)₂-C₁-C₆烷基和-CN。在一些实施方案中， Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自：-H、-Cl、-Br、-I、-F、-C(O)OH、-NO₂、-CF₃和-CN。在一些实施方案中， Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自：-H、-Cl、-F、-NO₂和-CF₃。在一些实施方案中， Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自：-OP(O)(OH)₂、-P(O)(OH)OP(O)(OH)₂、-OP(O)(OH)OP(O)(OH)OP(O)(OH)₂、-OP(O)(OH)(NH₂)、-P(O)(OH)₂、-SO₃H及其药学上可接受的盐。在一些实施方案中， Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 中至少一个不是-H。

[0368] 在一些实施方案中， Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自-H、卤素、-C(O)OH、-C(O)O-C₁-C₆烷基、-NO₂、卤代烷基、-S(O)₂-C₁-C₆烷基和-CN。在一些实施方案中， Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自-H、-Cl、-Br、-I、-F、-C(O)OH、-NO₂、-CF₃和-CN。在一些实施方案中， Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自-H、-Cl、-F、-NO₂和-CF₃。在一些实施方案中， Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 中至少一个不是-H。

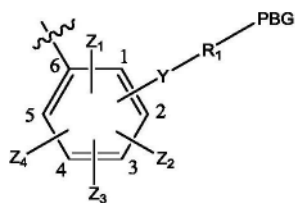
[0369] 在一些实施方案中， Z_1 选自卤素、-C(O)OH、-C(O)O-C₁-C₆烷基、-NO₂、卤代烷基、-S(O)₂-C₁-C₆烷基和-CN；且 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自-H、卤素、-C(O)OH、-C(O)O-C₁-C₆烷基、-NO₂、卤代烷基、-S(O)₂-C₁-C₆烷基和-CN。在一些实施方案中， Z_1 选自-Cl、-Br、-I、-F、-C(O)OH、-NO₂、-CF₃和-CN；且 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自-H、-Cl、-Br、-I、-F、-C(O)OH、-NO₂、-CF₃和-CN。在一些实施方案中， Z_1 选自-Cl、-F和-NO₂；且 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自-H、-Cl、-F、-NO₂和-CF₃。

[0370] 在一些实施方案中， R_2 是甲基。

[0371] 在一些实施方案中， X_1 是-H， X_2 是-F， X_3 是-F，且 X_4 是-OH。

[0372] 腺部分

[0373] 药物递送系统包含酸不稳定的可裂解的腺部分。腺部分的裂解和药物释放的半衰期根据吸电子取代基及其在腺所连接的苯环上的位置而变化。苯环可以被如下被取代



其中PBG、 R_1 、Y、 Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 如本文所定义。

[0374] 在一些实施方案中，苯环包含至少一个吸电子基团。在一些优选的实施方案中，苯环包含一个连接至位置1的吸电子基团。在一些实施方案中，苯环包含连一个接至位置2的吸电子基团。在一些实施方案中，苯环包含一个连接至位置3的吸电子基团。在一些优选的实施方式中，苯环包含连接至位置1和2的两个吸电子基团。在一些实施方式中，苯环包含连接至位置1和3的两个吸电子基团。在一些实施方式中，苯环包含两个连接至位置1和4的吸电子基团。在一些实施方案中，苯环包含连接至位置1和5的两个吸电子基团。在一些实施方式中，苯环包含包含连接至位置2和3的两个吸电子基团。在一些实施方案中，苯环包含连接

至位置2和4的两个吸电子基团。在一些实施方案中,苯环包含连接至位置2和5的两个吸电子基团。在一些实施方案中,苯环包含连接至位置3和4的两个吸电子基团。在一些实施方案中,苯环包含连接至位置3和5的两个吸电子基团。在一些实施方式中,苯环包含连接至位置1、3和5的三个吸电子基团。

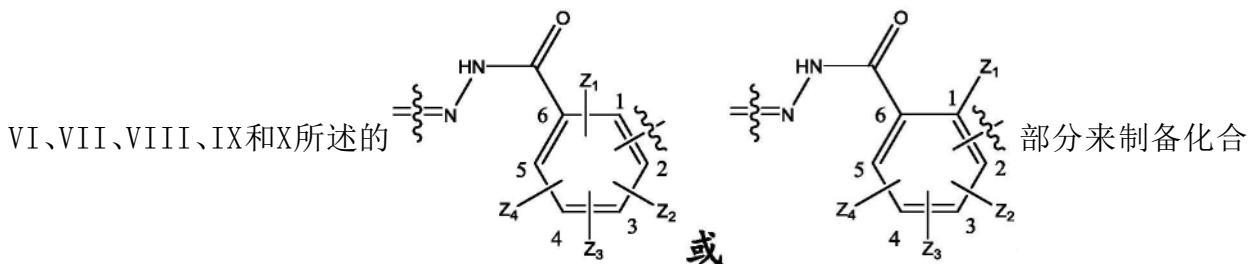
[0375] 在一些实施方案中, Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自:-H、卤素、-C(O)OH、-C(O)O- C_1 - C_6 烷基、-NO₂、卤代烷基、-S(O)₂- C_1 - C_6 烷基和-CN。在一些实施方案中, Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自:-H、-Cl、-Br、-I、-F、-C(O)OH、-NO₂、-CF₃和-CN。在一些实施方案中, Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自:-H、-Cl、-F、-NO₂和-CF₃。在一些实施方案中, Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自:-OP(O)(OH)₂、-P(O)(OH)OP(O)(OH)₂、-OP(O)(OH)OP(O)(OH)OP(O)(OH)₂、-OP(O)(OH)(NH₂)、-P(O)(OH)₂、-SO₃H及其药学上可接受的盐。在一些实施方案中, Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 中至少一个不是-H。

[0376] 在一些实施方案中, Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自-H、-Cl、-Br、-I、-F、-C(O)OH、-NO₂、-CF₃和-CN,其中 Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 中至少一个不是-H。在一些实施方案中, Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自-H、-Cl、-F、-NO₂和-CF₃,其中 Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 中至少一个不是-H。在一些实施方案中, Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 各自独立地选自-H、-F、-NO₂和-CF₃,其中 Z_1 、 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 中至少一个不是-H。

[0377] 在一些实施方案中,药物释放的半衰期为约1.5小时、约2.0小时、约2.5小时、约3.0小时、约3.5小时、约4.0小时、约4.5小时、约5.0小时、约5.5小时、约6.0小时、约6.5小时、约7.0小时、约7.5小时、约8.0小时、约8.5小时、约9.0小时、约9.5小时、约10.0小时、约10.5小时、约11.0小时、约11.5小时、约12.0小时、约12.5小时、约13.0小时、约13.5小时、约14.0小时、约14.5小时、约15.0小时、约15.5小时、约16.0小时、约16.5小时、约17.0小时、约17.5小时、约18.0小时、约18.5小时、约19.0小时、约19.5小时或约20.0小时。

[0378] 不受理论束缚,包含连接至1位的一个吸电子基团的苯环使脞部分稳定,导致在酸性条件下药剂的缓释和延长释放。在一些实施方案中,相对于苯环上脞部分位置的苯环上吸电子基团的位置提供了控制药物释放的方法。

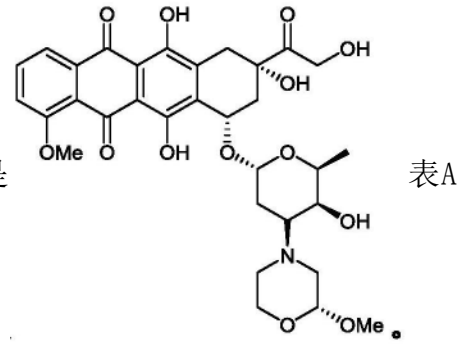
[0379] 在一些实施方案中,本发明提供通过修饰药物以添加如本文对式I、II、III、IV、V、



物以控制药物释放的方法。

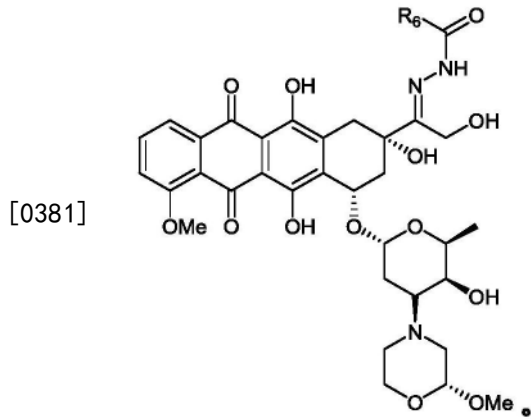
[0380] 本发明的一些实施方案包括具有表A中所示的取代模式和相应的药物释放半衰期

的偶联物 (HSA代表人血清白蛋白)。奈莫柔比星的结构是



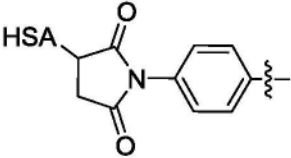
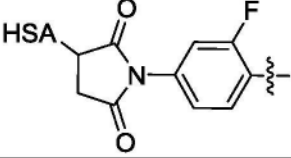
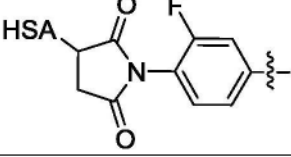
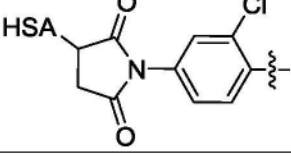
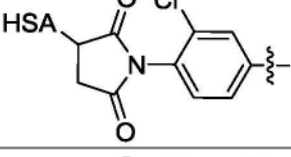
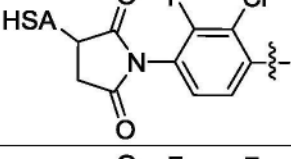
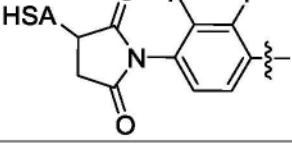
表A

中所示的奈莫柔比星偶联物具有以下结构：

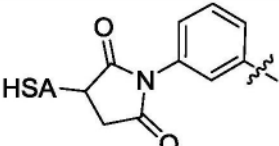
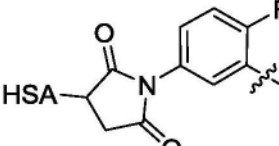
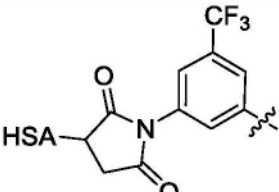
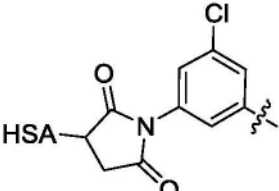
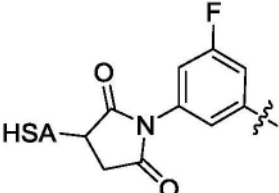
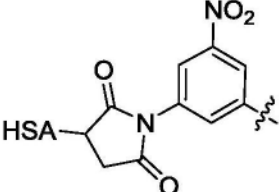
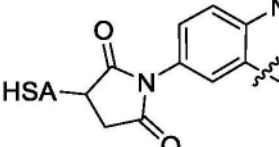


[0382] 表A

[0383]

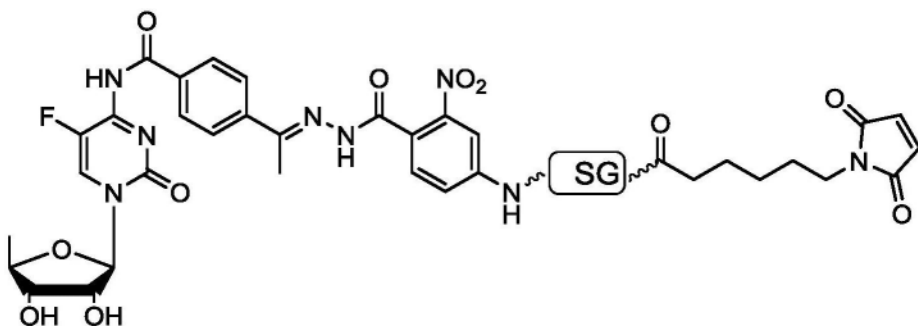
化合物	R ₆	在 pH 5.0 的半衰期 (h)
1		1.35
2		3.05
3		1.45
4		3.45
5		1.45
6		4.40
7		3.00

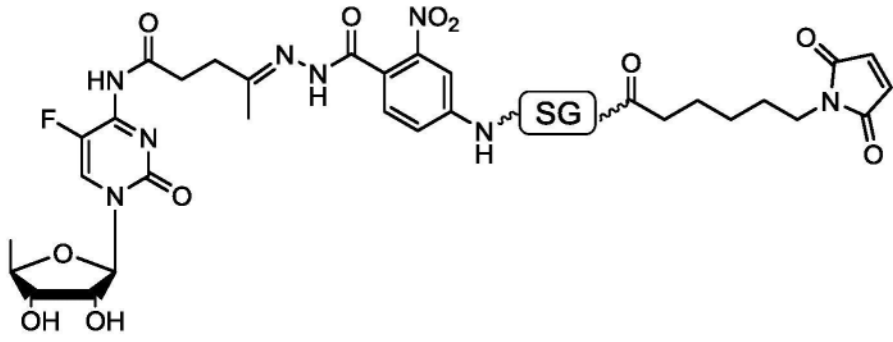
[0384]

8		1.35
9		3.20
10		2.00
11		2.20
12		2.05
13		2.30
14		10.40

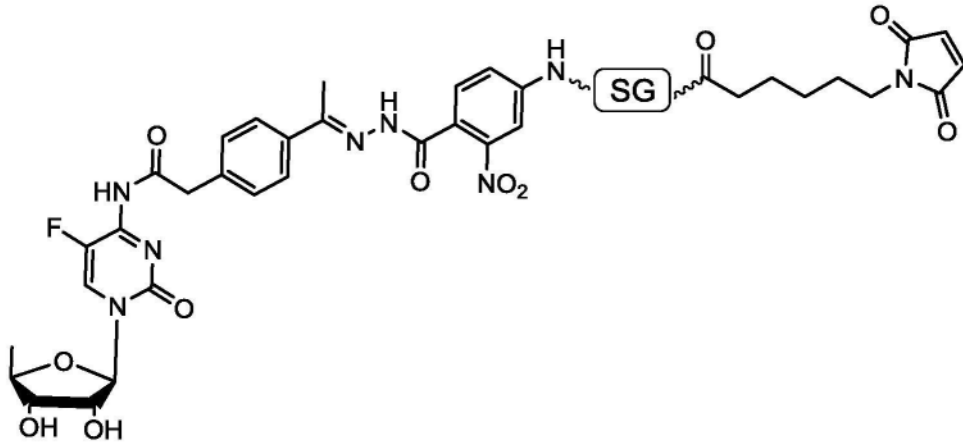
[0385] 在一些实施方案中,本发明的化合物选自:

[0386]



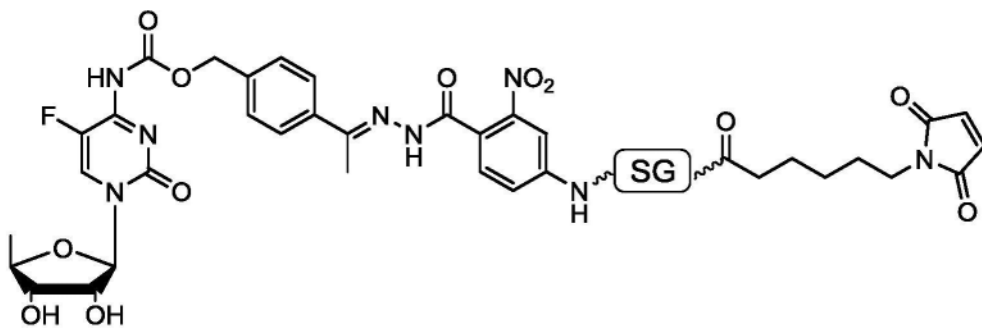


,

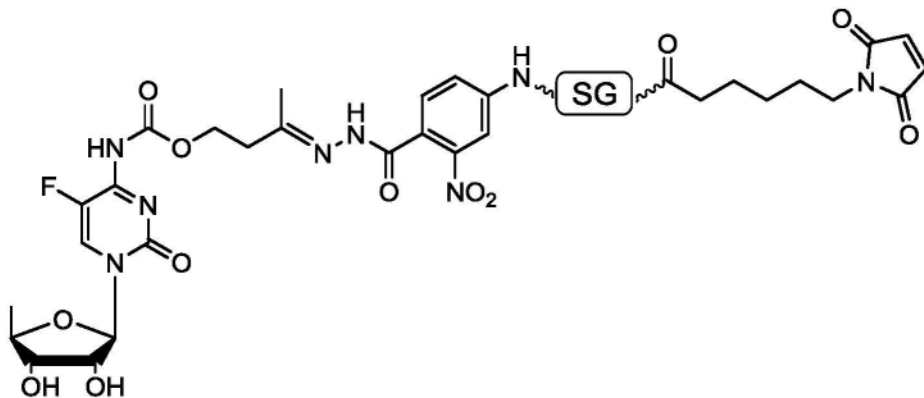


[0387]

,



, 和



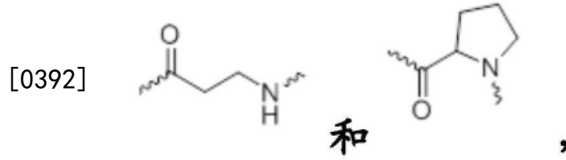
;

[0388] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体,

[0389] 其中:



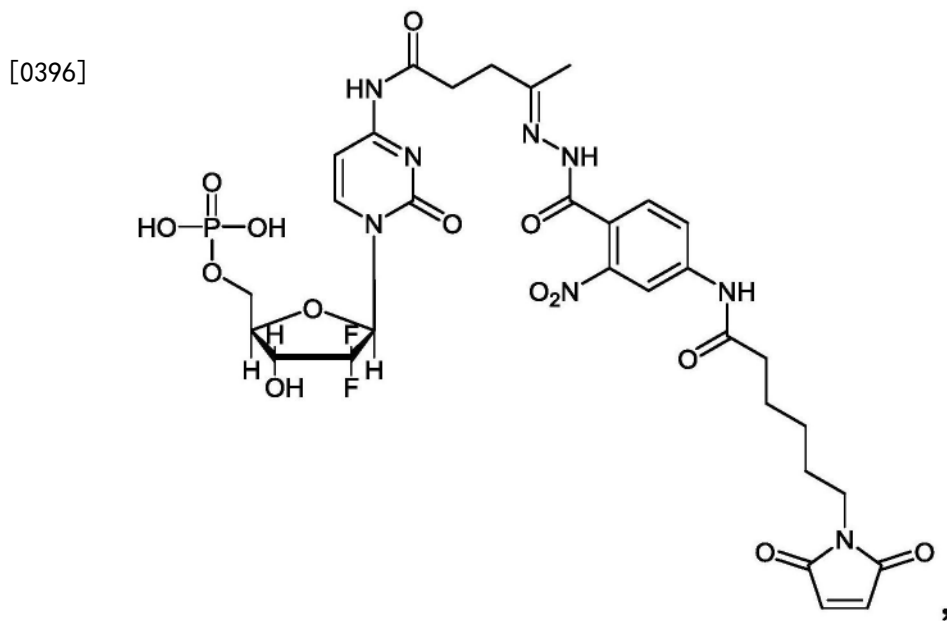
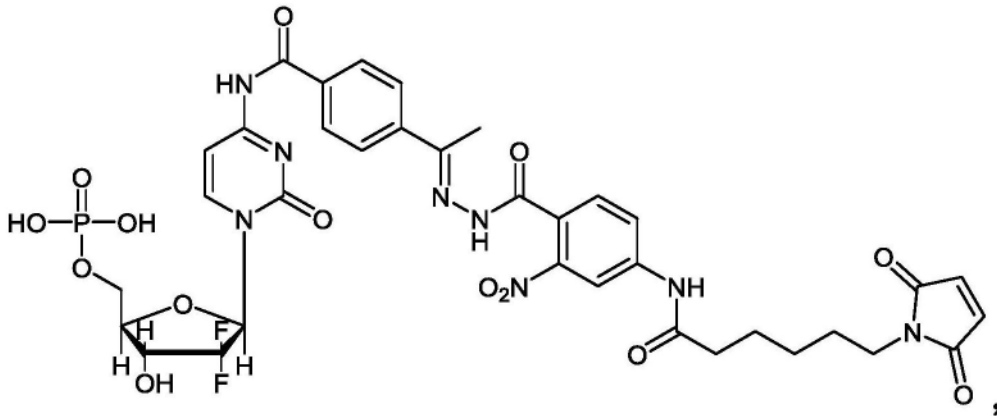
[0391] 为不存在,或选自:

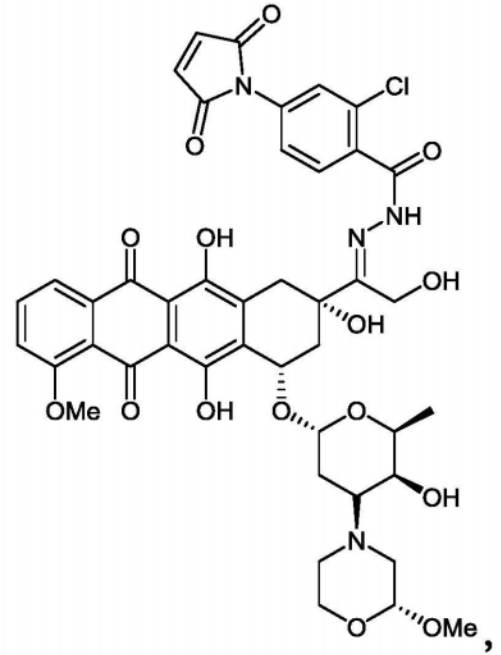
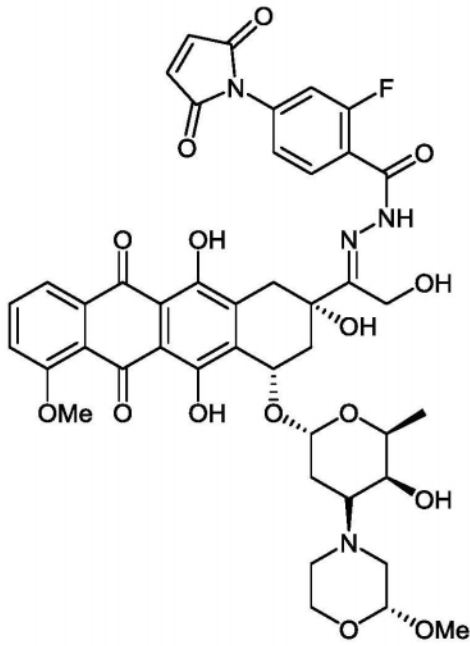


[0393] R是: $\sim\text{OPO}_3\text{M}_1$, 其中 $\text{M}_1 = \text{Mg}^{2+}, 2\text{Na}^+, 2\text{K}^+, 2\text{H}^+, 2\text{NH}_4^+, \text{Na}^+, \text{K}^+, \text{NH}_4^+$ 和/或 H^+

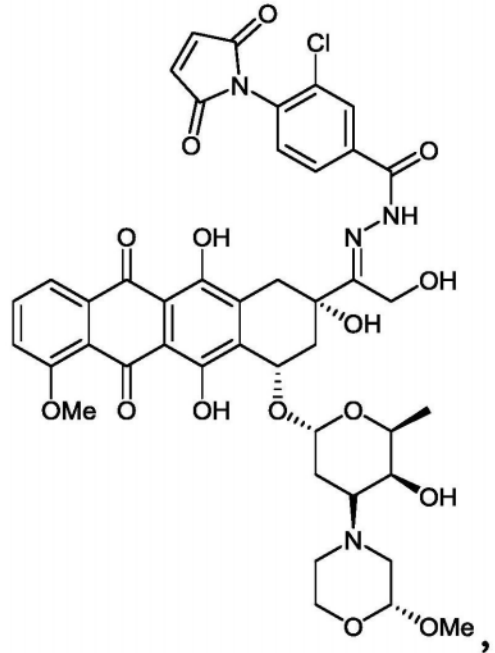
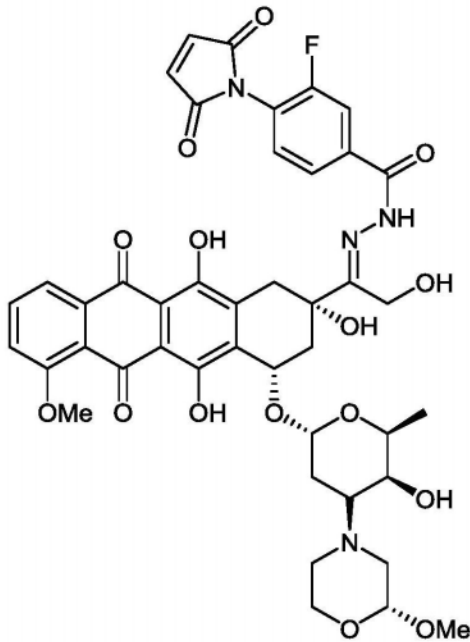
[0394] 或 $\sim\text{SO}_3\text{M}_2$, 其中 $\text{M}_2 = \text{Na}^+, \text{K}^+, \text{H}^+$, 和/或 NH_4^+ 。

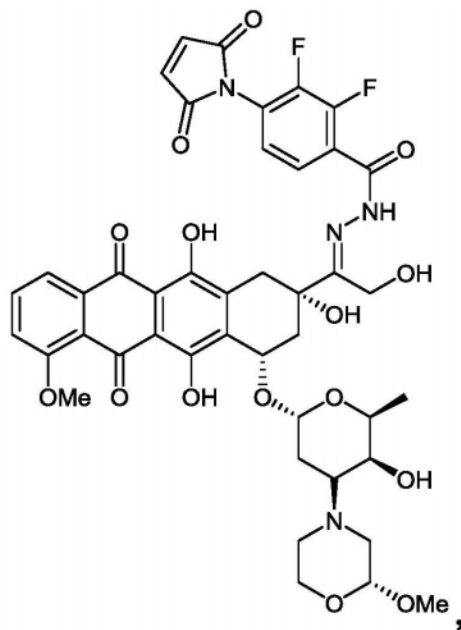
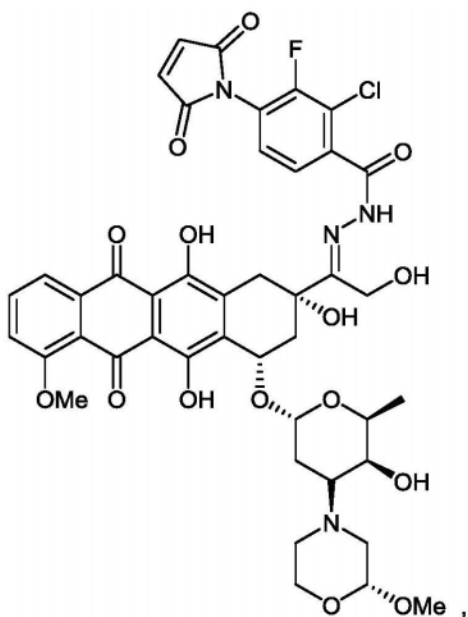
[0395] 在一些实施方案中,化合物选自:



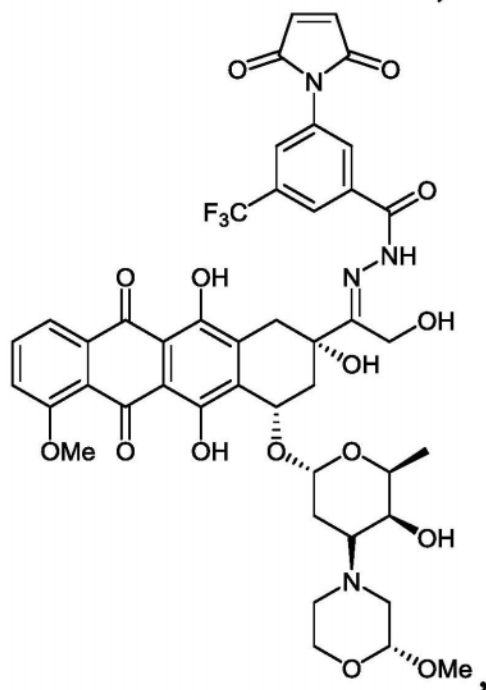
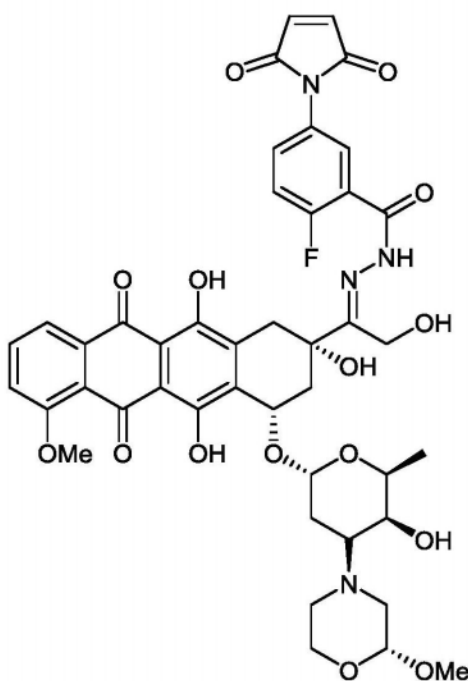


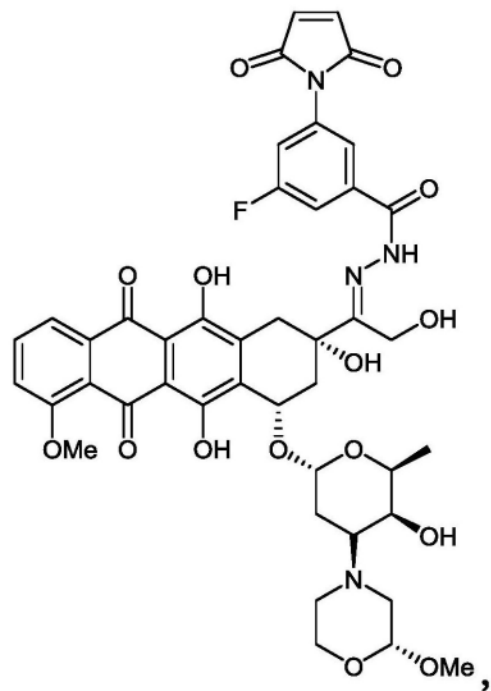
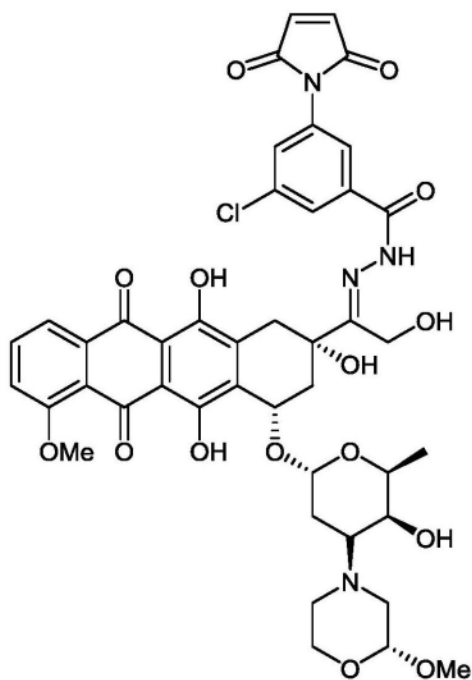
[0397]



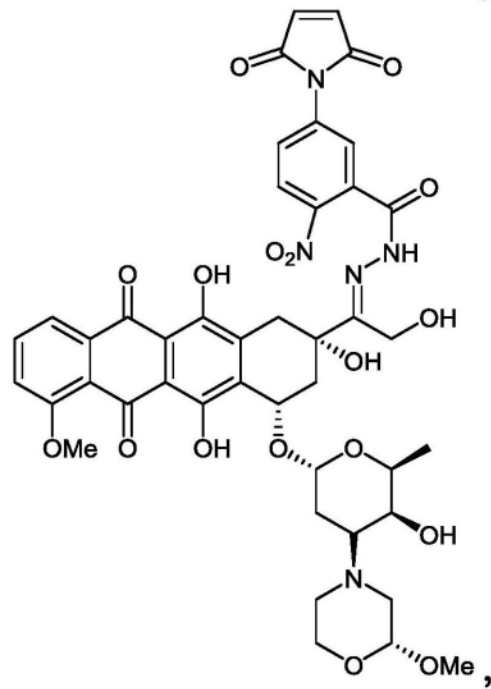
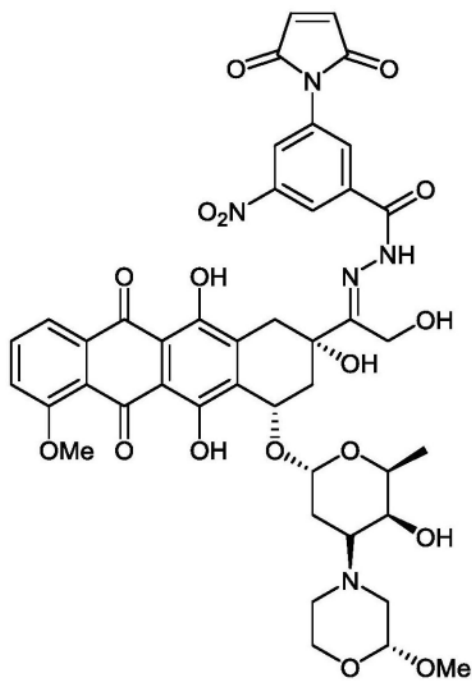


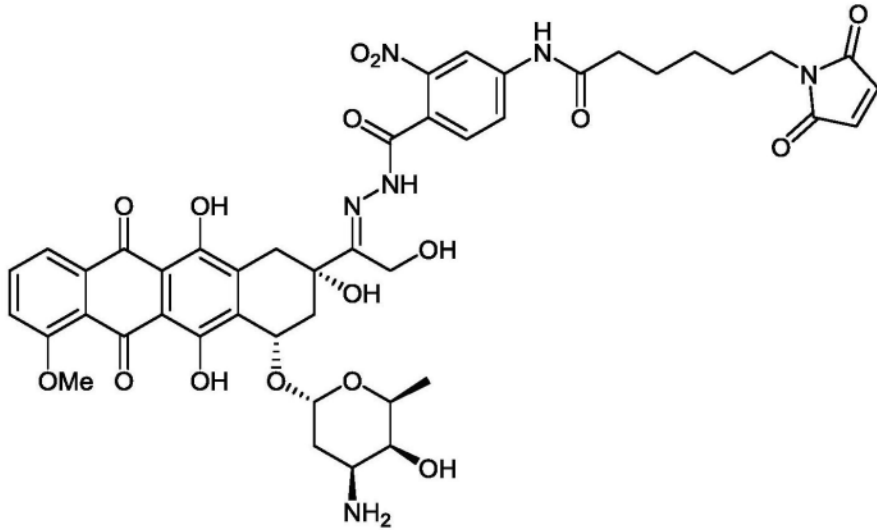
[0398]



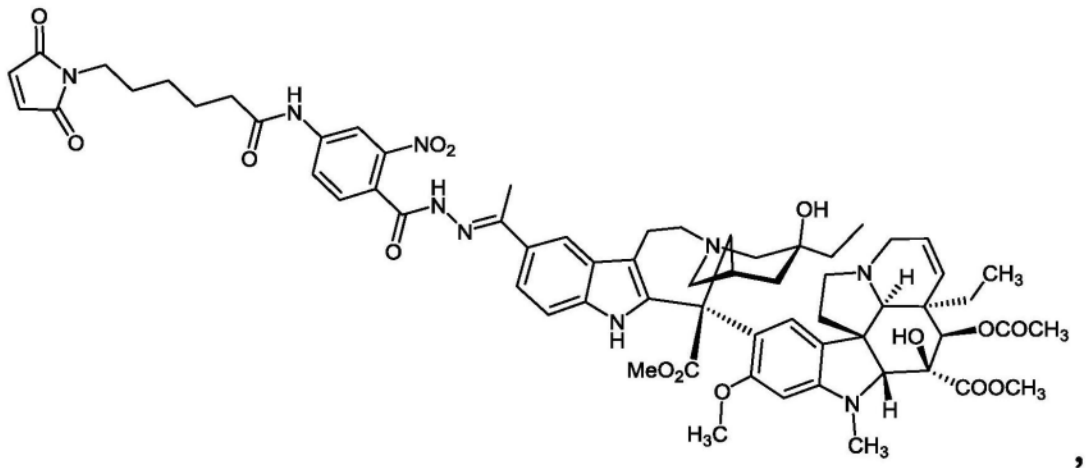
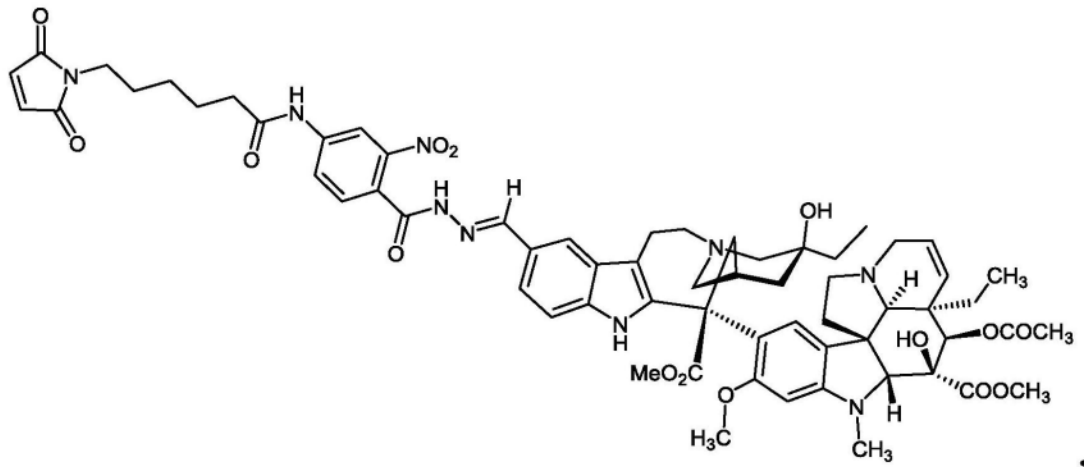


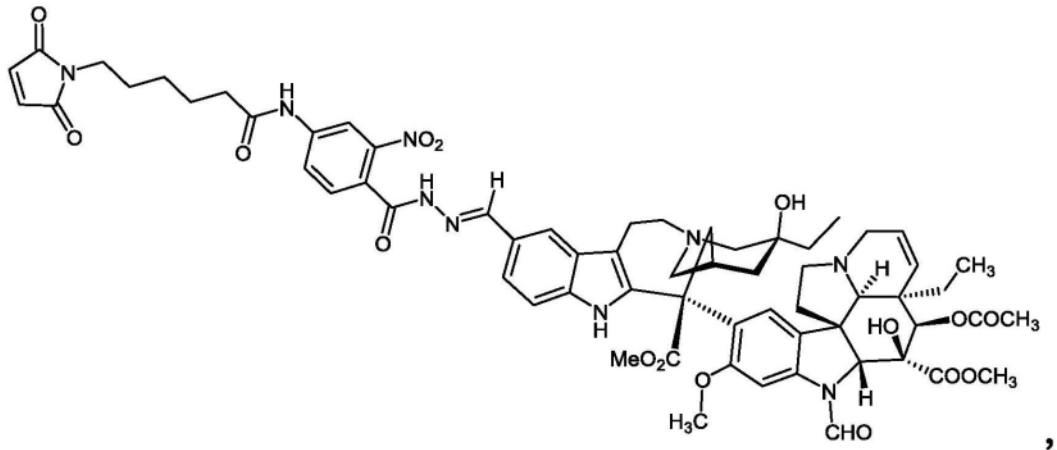
[0399]



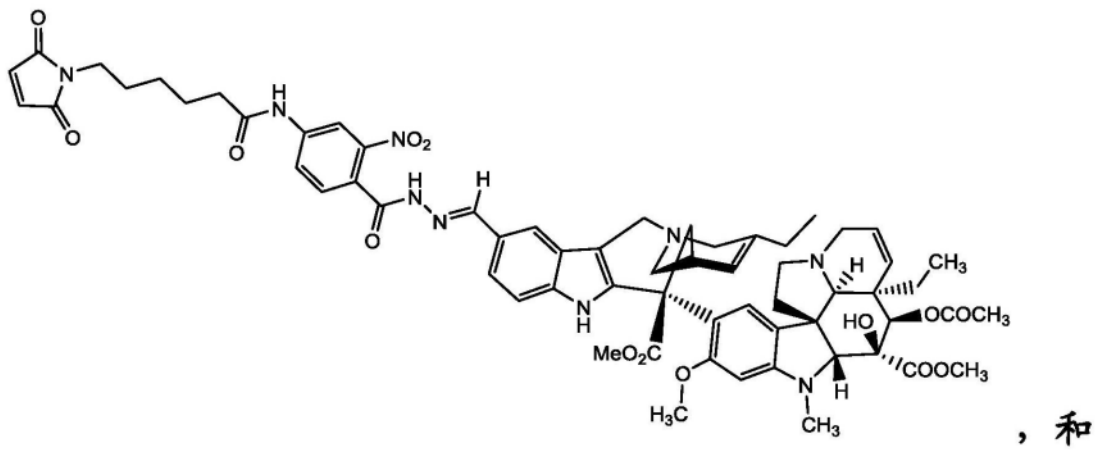
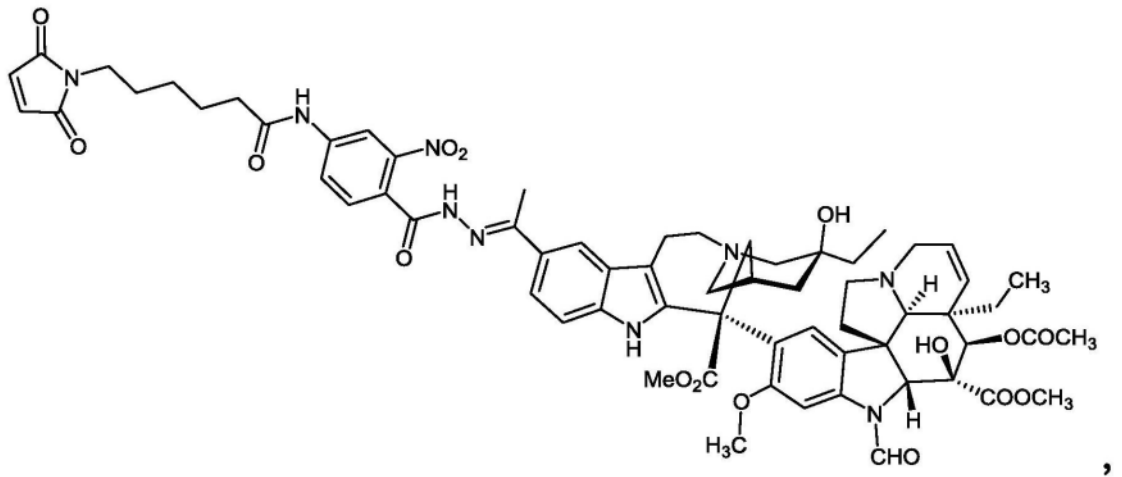


[0400]

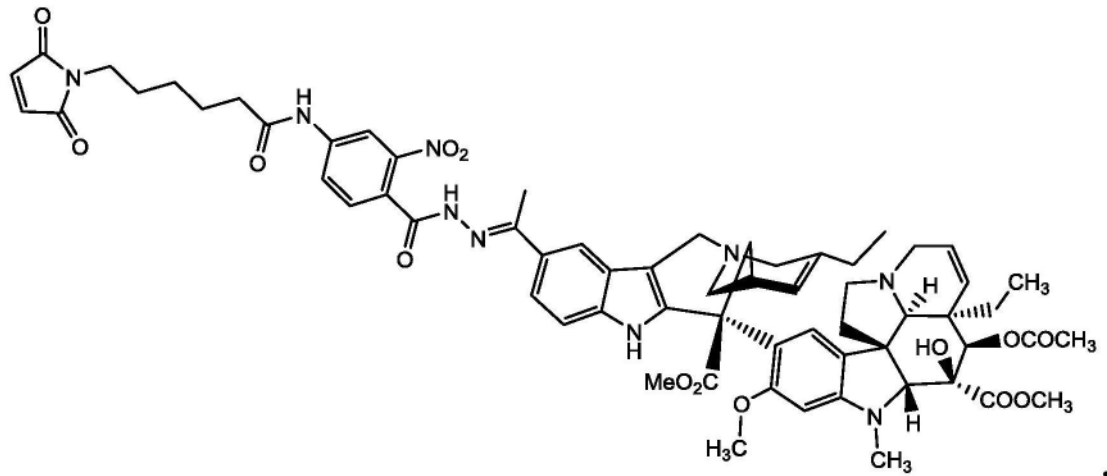




[0401]



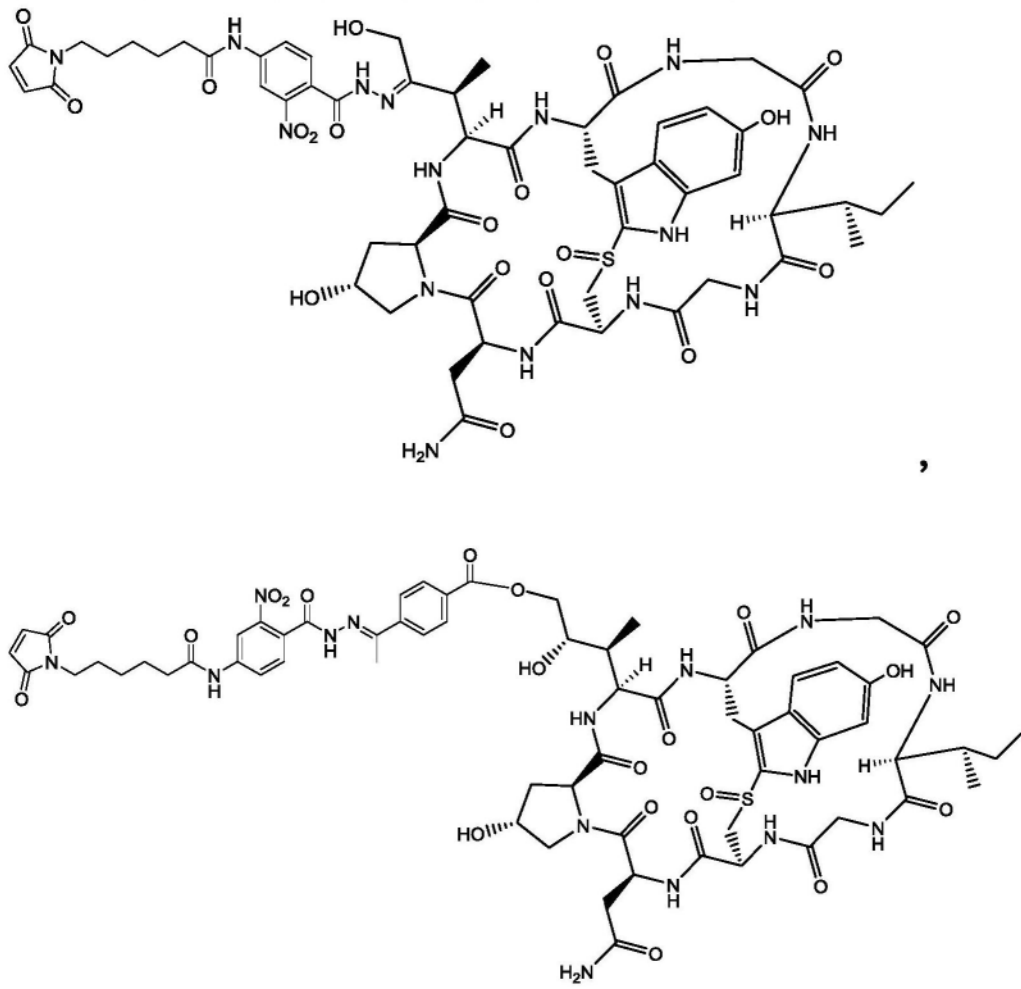
[0402]



[0403] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体。

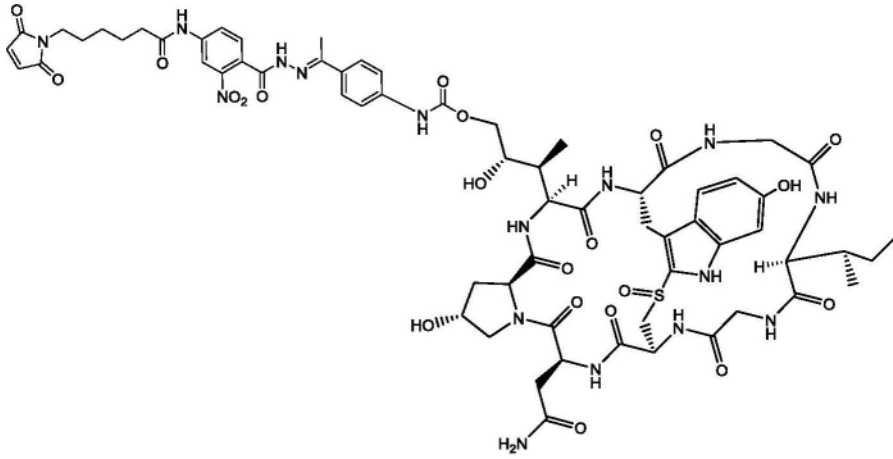
[0404] 在一些实施方案中,本发明的化合物选自:

[0405]



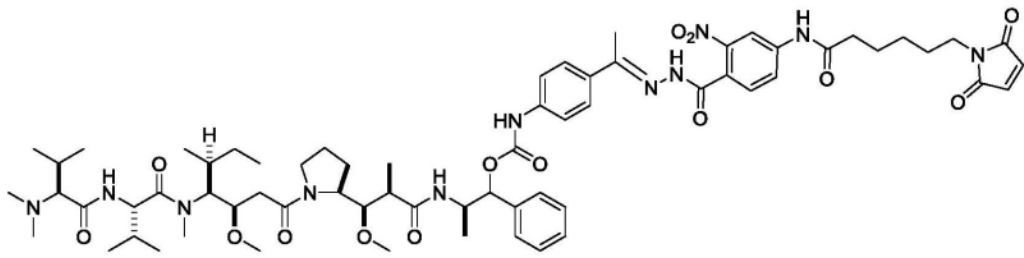
, 和

[0406]

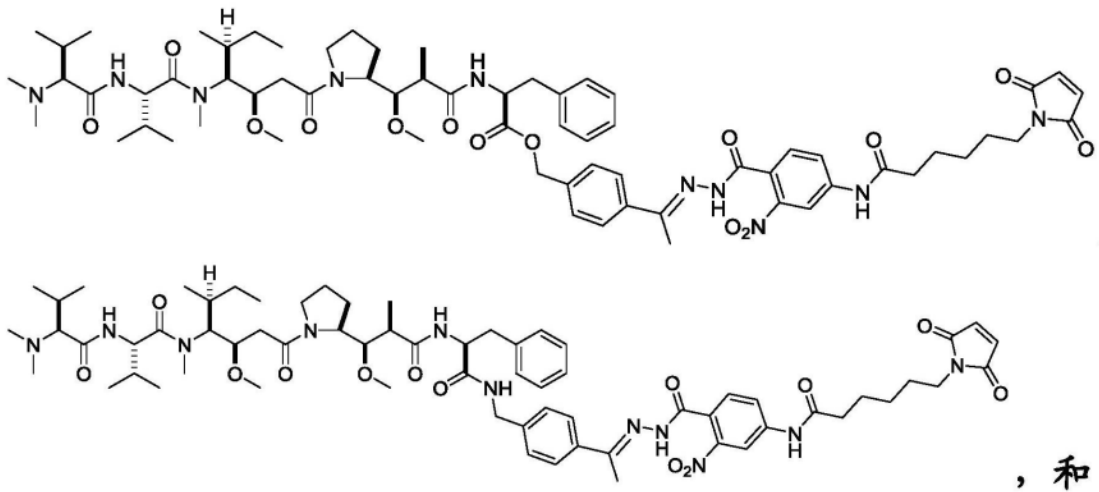


[0407] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体。

[0408] 在一些实施方案中,本发明的化合物选自:

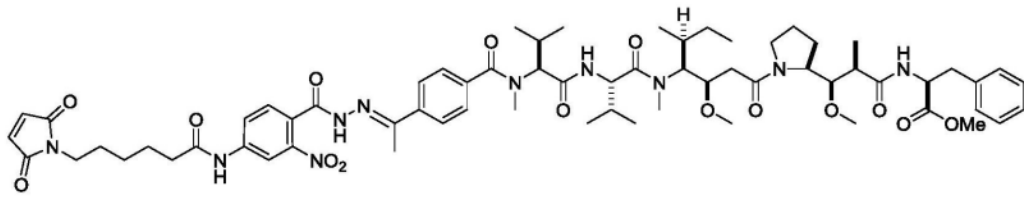


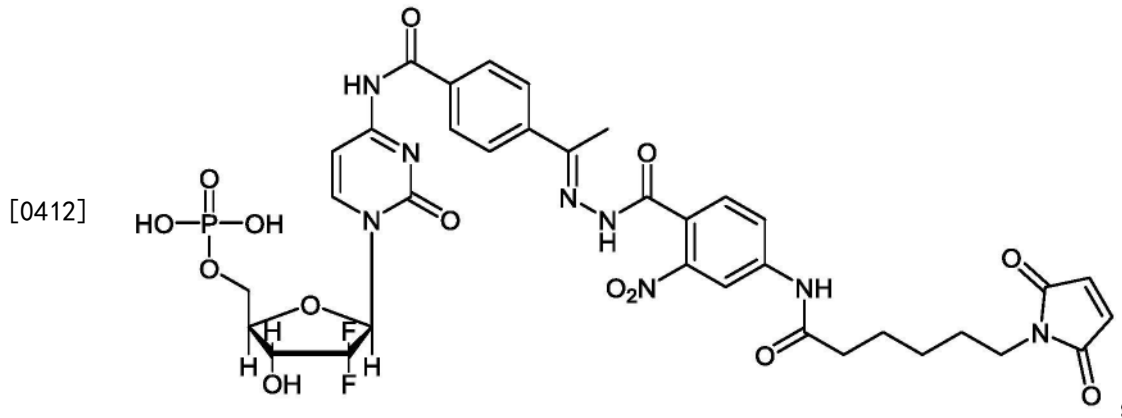
[0409]



[0410] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体。

[0411] 在一些实施方案中,化合物是化合物15,具有以下结构:





[0413] 在一些实施方案中,化合物15防止吉西他滨失活,导致持续的肿瘤暴露。

[0414] 药剂

[0415] 在一些实施方案中,药剂选自细胞抑制剂、细胞毒剂、细胞因子、免疫抑制剂、抗风湿剂、消炎药、抗生素、止痛药、抗炎剂、抗病毒剂、抗霉菌剂、转录因子抑制剂、细胞周期调节剂、MDR调节剂、蛋白酶体或蛋白酶抑制剂、细胞凋亡调节剂、酶抑制剂、血管生成抑制剂、激素或激素衍生物、抗体或其片段、治疗或诊断活性肽、放射性物质、发光物质、吸光物质、前述任一种的衍生物、前述任一种的可药用盐、水合物、溶剂化物或异构体。

[0416] 在一些实施方案中,药剂选自N-亚硝基脲类;多柔比星、2-pyrrolpyrrolino蒽环霉素、吗啉代蒽环霉素、二乙酰氧基烷基蒽环霉素、柔红霉素、表柔比星、伊达比星、奈莫柔比星、PNU-159682、米托蒽醌;阿美蒽醌;苯丁酸氮芥、苯达莫司汀、美法仑、oxazaphosphorines;5-氟尿嘧啶、5'-脱氧-5-氟胞苷、2'-脱氧-5-fluoridine、阿糖胞苷、克拉屈滨、氟达拉滨、喷托他丁、吉西他滨、4-氨基-1-(((2S,3R,4S,5R)-3,4-二羟基-5-甲基四氢呋喃-2-基)甲基)-5-氟嘧啶-2(1H)-酮、硫鸟嘌呤;甲氨蝶呤、雷替曲塞、培美曲塞、普来曲塞;紫杉醇、多西他赛;拓扑替康、伊立替康、SN-38、10-羟基喜树碱、GG211、勒托替康、9-氨基喜树碱、喜树碱、7-甲酰基喜树碱、7-乙酰基喜树碱、9-甲酰基喜树碱、9-乙酰基喜树碱、9-甲酰基-10-羟基喜树碱、10-甲酰基喜树碱、10-乙酰基喜树碱、7-丁基-10-氨基喜树碱、7-丁基-9-氨基-10,11,-亚甲二氧基喜树碱;长春碱、长春新碱、长春地辛、长春瑞滨;加利车霉素;美登素、美登醇;澳瑞他汀(包括但不限于澳瑞他汀D、澳瑞他汀E、澳瑞他汀F、一甲基澳瑞他汀D、一甲基澳瑞他汀E、一甲基澳瑞他汀F、一甲基澳瑞他汀F甲酯、澳瑞他汀PYE澳瑞他汀PHE、相关的天然产物多拉司他汀10及其衍生物);蝇蕈毒素(包括但不限于 α -鹅膏蕈碱、 β -鹅膏蕈碱、 γ -鹅膏蕈碱、 ϵ -鹅膏蕈碱、鹅膏素、鹅膏素酰胺、鹅膏无毒环肽和鹅膏无毒环肽羧酸及其衍生物);倍癌霉素A、倍癌霉素B1、倍癌霉素B2、倍癌霉素C、倍癌霉素SA、CC1065、阿多来新、比折来新、卡折来新;艾立布林;曲贝替定;吡咯并苯并二氮杂卓、安曲霉素、富山霉素、西伯里亚霉素、DC-81、DSB-120;埃坡霉素;博来霉素;更生霉素;普卡霉素、观霉素C和顺式构型铂(II)络合物;或前述任何的衍生物。

[0417] 在一些实施方案中,药剂选自N-亚硝基脲类;多柔比星、2-pyrrolpyrrolino蒽环霉素、吗啉代蒽环霉素、二乙酰氧基烷基蒽环霉素、柔红霉素、表柔比星、伊达比星、奈莫柔比星、PNU-159682、米托蒽醌;阿美蒽醌;苯丁酸氮芥、苯达莫司汀、美法仑、oxazaphosphorines;5-氟尿嘧啶、2'-脱氧-5-fluoridine、阿糖胞苷、克拉屈滨、氟达拉滨、喷托他丁、吉西他滨、4-氨基-1-(((2S,3R,4S,5R)-3,4-二羟基-5-甲基四氢呋喃-2-基)甲

基)-5-氟嘧啶-2(1H)-酮、硫鸟嘌呤;甲氨蝶呤、雷替曲塞、培美曲塞、普来曲塞;紫杉醇、多西他赛;拓扑替康、伊立替康、SN-38、10-羟基喜树碱、GG211、勒托替康、9-氨基喜树碱、喜树碱、7-甲酰基喜树碱、9-甲酰基喜树碱、9-甲酰基-10-羟基喜树碱、7-丁基-10-氨基喜树碱、7-丁基-9-氨基-10,11,-亚甲二氧基喜树碱;长春碱、长春新碱、长春地辛、长春瑞滨;加利车霉素;美坦生类化合物;澳瑞他汀类;埃坡霉素;博来霉素、更生霉素、普卡霉素、观霉素C和顺式构型铂(II)络合物;或前述任何的衍生物。

[0418] 在一些实施方案中,药剂是N-亚硝基脲。

[0419] 在一些实施方案中,药剂是葱环霉素,如但不限于多柔比星、2-pyrrolpyrrolino葱环霉素、吗啉代葱环霉素、二乙酰氧基烷基葱环霉素、柔红霉素、表柔比星、伊达比星、奈莫柔比星、PNU-159682、米托葱醌或阿美葱醌。

[0420] 在一些实施方案中,药剂是烷化剂,如但不限于苯丁酸氮芥、苯达莫司汀、美法仑或oxazaphosphorines。

[0421] 在一些实施方案中,药剂是抗代谢药,如但不限于5-氟尿嘧啶、2'-脱氧-5-fluoridine、阿糖胞苷、克拉屈滨、氟达拉滨、喷托他丁、吉西他滨、4-氨基-1-(((2S,3R,4S,5R)-3,4-二羟基-5-甲基四氢呋喃-2-基)甲基)-5-氟嘧啶-2(1H)-酮或硫鸟嘌呤。在一些实施方案中,抗代谢药是嘧啶或嘌呤类似物,其包含至少一个伯氨基或仲氨基。

[0422] 在一些实施方案中,药剂是叶酸拮抗剂,如但不限于甲氨蝶呤、雷替曲塞、培美曲塞或普来曲塞。

[0423] 在一些实施方案中,药剂是紫杉烷,如但不限于紫杉醇或多西他赛。

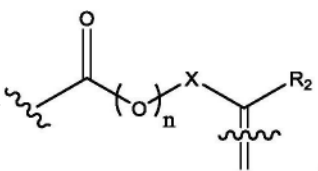
[0424] 在一些实施方案中,药剂是喜树碱,如但不限于拓扑替康、伊立替康、SN-38、10-羟基喜树碱、GG211、勒托替康、9-氨基喜树碱、喜树碱、-甲酰基喜树碱、9-甲酰基喜树碱、9-甲酰基-10-羟基喜树碱、7-丁基-10-氨基喜树碱或7-丁基-9-氨基-10,11,-亚甲二氧基喜树碱。

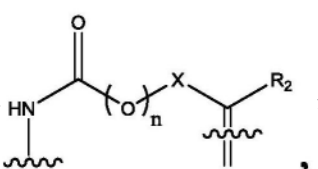
[0425] 在一些实施方案中,药剂是长春花生物碱,如但不限于长春碱、长春新碱、长春地辛、长春瑞滨或加利车霉素。

[0426] 在一些实施方案中,药剂是美坦生类化合物、澳瑞他汀、埃坡霉素、博来霉素、更生霉素、普卡霉素、观霉素C、顺式构型铂(II)络合物或前述任一种的衍生物。

[0427] 间隔基

[0428] 酰胺键

[0429] 在一些实施方案中,间隔基是  其中n、X和R₂如本文所定义。

[0430] 在一些实施方案中,间隔基是  其中n、X和R₂如本文所定义。

[0431] 在一些实施方案中,n是0或1。

[0432] 在一些实施方案中,X选自任选地取代的C₁-C₁₈烷基,其中任选地所述C₁-C₁₈烷基中

至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基-NH-C(O)- R_5- ,其中任选地所述 C_1-C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基-C(O)-NH- R_5- ,其中任选地所述 C_1-C_{18} 烷基中至多6个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 替代;任选地取代的芳基;任选地取代的杂芳基;和任选地取代的环烷基。

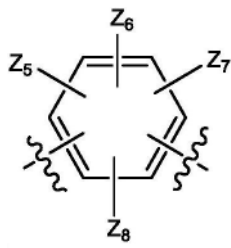
[0433] 在一些实施方案中,X是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基。在一些实施方案中,X是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基,其中所述 C_1-C_{18} 烷基中一个碳原子被 $-OCH_2CH_2-$ 替代。在一些实施方案中, X_1 是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基,其中所述 C_1-C_{18} 烷基中两个碳原子被 $-OCH_2CH_2-$ 替代。在一些实施方案中,X是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基,其中所述 C_1-C_{18} 烷基中三个碳原子被 $-OCH_2CH_2-$ 替代。在一些实施方案中,X是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基,其中所述 C_1-C_{18} 烷基中四个碳原子被 $-OCH_2CH_2-$ 替代。在一些实施方案中,X是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基,其中所述 C_1-C_{18} 烷基中五个碳原子被 $-OCH_2CH_2-$ 替代。在一些实施方案中,X是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基,其中所述 C_1-C_{18} 烷基中六个碳原子被 $-OCH_2CH_2-$ 替代。

[0434] 在一些实施方案中,X是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基-NH-C(O)- R_5- 。

[0435] 在一些实施方案中,X是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基-NH-C(O)- R_5- ,其中所述 C_1-C_{18} 烷基中一个碳原子被 $-OCH_2CH_2-$ 替代。在一些实施方案中,X是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基-NH-C(O)- R_5- ,其中所述 C_1-C_{18} 烷基中两个碳原子被 $-OCH_2CH_2-$ 替代。在一些实施方案中,X是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基-NH-C(O)- R_5- ,其中所述 C_1-C_{18} 烷基中三个碳原子被 $-OCH_2CH_2-$ 替代。在一些实施方案中,X是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基-NH-C(O)- R_5- ,其中所述 C_1-C_{18} 烷基中四个碳原子被 $-OCH_2CH_2-$ 替代。在一些实施方案中,X是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基-NH-C(O)- R_5- ,其中所述 C_1-C_{18} 烷基中五个碳原子被 $-OCH_2CH_2-$ 替代。在一些实施方案中,X是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基-NH-C(O)- R_5- ,其中所述 C_1-C_{18} 烷基中六个碳原子被 $-OCH_2CH_2-$ 替代。

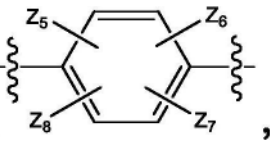
[0436] 在一些实施方案中,X是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基-C(O)-NH- R_5- 。在一些实施方案中,X是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基-C(O)-NH- R_5- ,其中所述 C_1-C_{18} 烷基中一个碳原子被 $-OCH_2CH_2-$ 替代。在一些实施方案中,X是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基-C(O)-NH- R_5- ,其中所述 C_1-C_{18} 烷基中两个碳原子被 $-OCH_2CH_2-$ 替代。在一些实施方案中,X是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基-C(O)-NH- R_5- ,其中所述 C_1-C_{18} 烷基中三个碳原子被 $-OCH_2CH_2-$ 替代。在一些实施方案中,X是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基-C(O)-NH- R_5- ,其中所述 C_1-C_{18} 烷基中四个碳原子被 $-OCH_2CH_2-$ 替代。在一些实施方案中,X是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基-C(O)-NH- R_5- ,其中所述 C_1-C_{18} 烷基中五个碳原子被 $-OCH_2CH_2-$ 替代。在一些实施方案中,X是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基-C(O)-NH- R_5- ,其中所述 C_1-C_{18} 烷基中六个碳原子被 $-OCH_2CH_2-$ 替代。

[0437] 在一些实施方案中,X是任选地取代的芳基。在一些实施方案中,X是



其中 Z_5 、 Z_6 、 Z_7 和 Z_8 各自独立地选自-H、卤素、-OH、-NO₂、-CN、-OC₁-C₆烷基、

任选地取代的 C_1-C_6 烷基、任选地取代的 C_1-C_6 卤代烷基和任选地取代的 C_1-C_6 卤代烷氧基。

[0438] 在一些实施方案中, X是  其中Z₅、Z₆、Z₇和Z₈各自独立地选自-H、

卤素、-OH、-NO₂、-CN、任选地取代的-OC₁-C₆烷基、任选地取代的C₁-C₆烷基、任选地取代的C₁-C₆卤代烷基和任选地取代的C₁-C₆卤代烷氧基。在一些实施方案中, Z₅、Z₆、Z₇和Z₈各自是-H。

[0439] 在一些实施方案中, X是任选地取代的杂芳基。

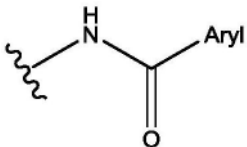
[0440] 在一些实施方案中, X是任选地取代的环烷基。

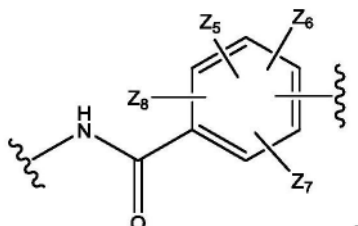
[0441] 在一些实施方案中, R₅选自任选地取代的芳基、任选地取代的杂芳基和任选地取代的环烷基。在一些实施方案中, R₅是任选地取代的芳基。

[0442] 在一些实施方案中, R₂选自-H、任选地取代的C₁-C₁₂烷基、任选地取代的芳基和任选地取代的杂芳基。

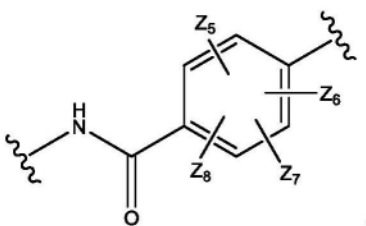
[0443] 在一些实施方案中, 间隔基不存在。

[0444] 在一些实施方案中, 间隔基包含酶裂解的部分或键。在一些实施方案中, 被裂解的键是肽键、二酰亚胺键或酰胺键。在一些实施方案中, 酰胺键可被设计为可被酯酶和/或酰胺酶特异性裂解。在一些实施方案中, 间隔基包含被羧酸酯酶选择性裂解的酰胺键。在优选的实施方案中, 间隔基包含被羧酸酯酶2选择性裂解的酰胺键。在优选的实施方案中, 间隔

基包含如下连接于芳基环的酰胺键:  在一些实施方案中, 间隔基包含连

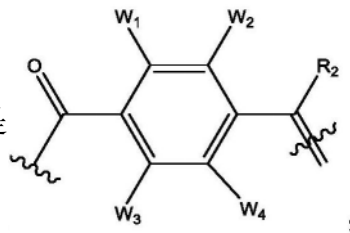
接于如下芳环的酰胺键:  其中Z₅、Z₆、Z₇和Z₈各自独立地选自-H、卤

素、-OH、-NO₂、-CN、-OC₁-C₆烷基、任选地取代的C₁-C₆烷基、任选地取代的C₁-C₆卤代烷基和任选地取代的C₁-C₆卤代烷氧基。在一些实施方案中, 间隔基包含连接于如下芳环的酰胺键:

 其中Z₅、Z₆、Z₇和Z₈各自独立地选自-H、卤素、-OH、-NO₂、-CN、-

OC₁-C₆烷基、任选地取代的C₁-C₆烷基、任选地取代的C₁-C₆卤代烷基和任选地取代的C₁-C₆卤代烷氧基。在一些实施方案中, Z₅、Z₆、Z₇和Z₈各自是-H。

[0445] 在一些实施方案中,间隔基是

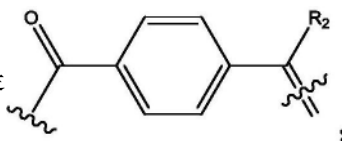


其中R₂选自:-H、任选地取

代的C₁-C₁₂烷基、任选地取代的芳基和任选地取代的杂芳基;且W₁、W₂、W₃和W₄各自独立地选自:-H、卤素、-C(O)OH、-C(O)O-C₁-C₆烷基、-NO₂、卤代烷基、-S(O)₂-C₁-C₆烷基和-CN。在一些实施方案中,W₁、W₂、W₃和W₄各自独立地选自:-H、-Cl、-Br、-I、-F、-C(O)OH、-NO₂、-CF₃和-CN。在一些实施方案中,W₁、W₂、W₃和W₄各自独立地选自:-H、-Cl、-F、-NO₂和-CF₃。在一些实施方案中,W₁、W₂、W₃和W₄各自独立地选自:苯氧基、伯、仲或叔胺基、醚基、酚基、酰胺基、酯基、烷基、取代的烷基、苯基和乙烯基。在一些实施方案中,W₁、W₂、W₃和W₄各自独立地选自:-OP(O)(OH)₂、-P(O)(OH)OP(O)(OH)₂、-OP(O)(OH)OP(O)(OH)OP(O)(OH)₂、-OP(O)(OH)(NH₂)、-P(O)(OH)₂、-SO₃H及其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,W₁、W₂、W₃和W₄中至少之一不是-H。

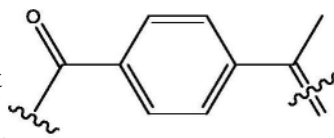
[0446] 在一些上述实施方案中,W₁选自:卤素、-C(O)OH、-C(O)O-C₁-C₆烷基、-NO₂、卤代烷基、-S(O)₂-C₁-C₆烷基和-CN;且W₂、W₃和W₄各自独立地选自:-H、卤素、-C(O)OH、-C(O)O-C₁-C₆烷基、-NO₂、卤代烷基、-S(O)₂-C₁-C₆烷基和-CN。在一些实施方案中,W₁选自:-Cl、-Br、-I、-F、-C(O)OH、-NO₂、-CF₃和-CN;且W₂、W₃和W₄各自独立地选自:-H、-Cl、-Br、-I、-F、-C(O)OH、-NO₂、-CF₃和-CN。在一些实施方案中,W₁选自:-Cl、-F和-NO₂;且Z₂、Z₃和Z₄各自独立地选自:-H、-Cl、-F、-NO₂和-CF₃。

[0447] 在一些实施方案中,间隔基是

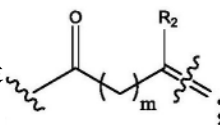


其中R₂如本文所定义。在一

些实施方案中,间隔基是

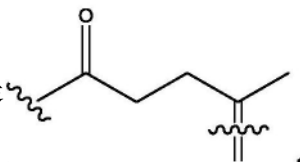


[0448] 在一些实施方案中,间隔基是



且m是1、2、3、4、5或6。

[0449] 在一些实施方案中,间隔基是



[0450] 在一些实施方案中,R₂选自-H、任选地取代的C₁-C₁₂烷基、任选地取代的芳基和任选地取代的杂芳基。

[0451] 在一个方面,间隔基可以作为保护基团起作用,防止药剂的代谢降解,由此允许药剂更高剂量的靶向应用。在一些实施方案中,药剂是吉西他滨。

[0452] 连接基

[0453] 在一些实施方案中,连接基包含Y和R₁。在一些实施方案中,Y不存在。在一些实施

方案中, R_1 不存在。在一些实施方案中, Y 和 R_1 不存在。

[0454] 在一些实施方案中, Y 选自甲基、乙基、 $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-$ 、 $-\text{C}(\text{O})-\text{O}-$ 和 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-$ 。

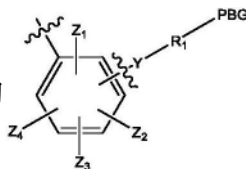
[0455] 在一些实施方案中, R_1 是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基。在一些实施方案中, R_1 是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基, 其中所述 C_1-C_{18} 烷基中一个碳原子被 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$ 替代。在一些实施方案中, R_1 是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基, 其中所述 C_1-C_{18} 烷基中两个碳原子被 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$ 替代。在一些实施方案中, R_1 是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基, 其中所述 C_1-C_{18} 烷基中三个碳原子被 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$ 替代。在一些实施方案中, R_1 是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基, 其中所述 C_1-C_{18} 烷基中四个碳原子被 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$ 替代。在一些实施方案中, R_1 是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基, 其中所述 C_1-C_{18} 烷基中五个碳原子被 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$ 替代。在一些实施方案中, R_1 是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基, 其中所述 C_1-C_{18} 烷基中六个碳原子被 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$ 替代。

[0456] 在一些实施方案中, R_1 是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基- $\text{NH}-\text{C}(\text{O})\text{R}_5-$ 。在一些实施方案中, R_1 是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基- $\text{NH}-\text{C}(\text{O})\text{R}_5-$ 其中所述 C_1-C_{18} 烷基中一个碳原子被 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$ 替代。在一些实施方案中, R_1 是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基- $\text{NH}-\text{C}(\text{O})\text{R}_5-$ 其中所述 C_1-C_{18} 烷基中两个碳原子被 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$ 替代。在一些实施方案中, R_1 是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基- $\text{NH}-\text{C}(\text{O})\text{R}_5-$ 其中所述 C_1-C_{18} 烷基中三个碳原子被 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$ 替代。在一些实施方案中, R_1 是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基- $\text{NH}-\text{C}(\text{O})\text{R}_5-$ 其中所述 C_1-C_{18} 烷基中四个碳原子被 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$ 替代。在一些实施方案中, R_1 是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基- $\text{NH}-\text{C}(\text{O})\text{R}_5-$ 其中所述 C_1-C_{18} 烷基中五个碳原子被 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$ 替代。在一些实施方案中, R_1 是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基- $\text{NH}-\text{C}(\text{O})\text{R}_5-$ 其中所述 C_1-C_{18} 烷基中六个碳原子被 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$ 替代。

[0457] 在一些实施方案中, R_1 是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基- $\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{R}_5-$ 。在一些实施方案中, R_1 是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基- $\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{R}_5-$ 其中所述 C_1-C_{18} 烷基中一个碳原子被 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$ 替代。在一些实施方案中, R_1 是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基- $\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{R}_5-$ 其中所述 C_1-C_{18} 烷基中两个碳原子被 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$ 替代。在一些实施方案中, R_1 是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基- $\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{R}_5-$ 其中所述 C_1-C_{18} 烷基中三个碳原子被 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$ 替代。在一些实施方案中, R_1 是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基- $\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{R}_5-$ 其中所述 C_1-C_{18} 烷基中四个碳原子被 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$ 替代。在一些实施方案中, R_1 是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基- $\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{R}_5-$ 其中所述 C_1-C_{18} 烷基中五个碳原子被 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$ 替代。在一些实施方案中, R_1 是任选地取代的 C_1-C_{18} 烷基- $\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{R}_5-$ 其中所述 C_1-C_{18} 烷基中六个碳原子被 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$ 替代。

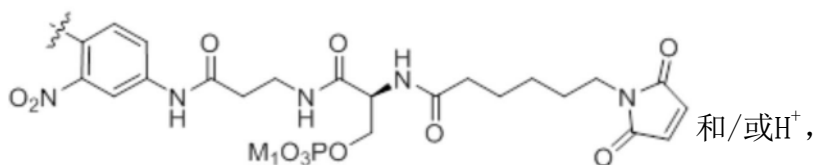
[0458] 在一些实施方案中, R_5 选自任选地取代的芳基、任选地取代的杂芳基和任选地取代的环烷基。

[0459] 在一些实施方案中, 本发明的化合物的

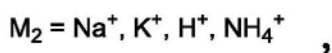
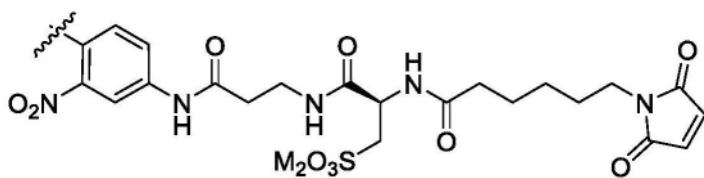


部分选自:

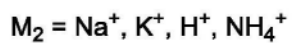
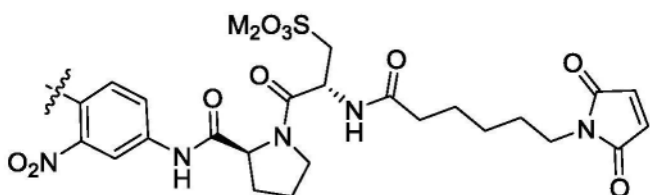
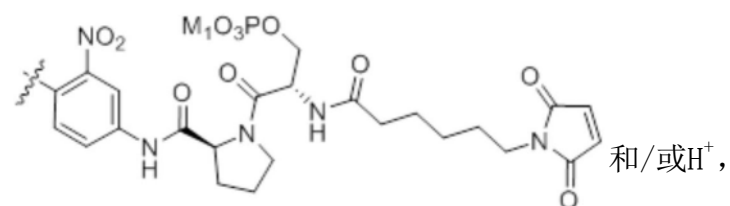
[0460]



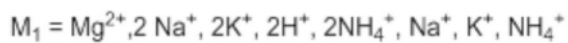
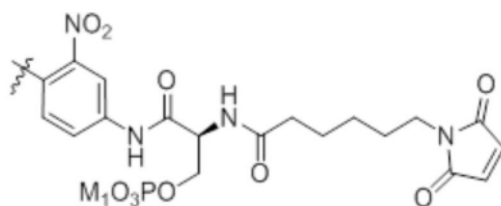
[0461]



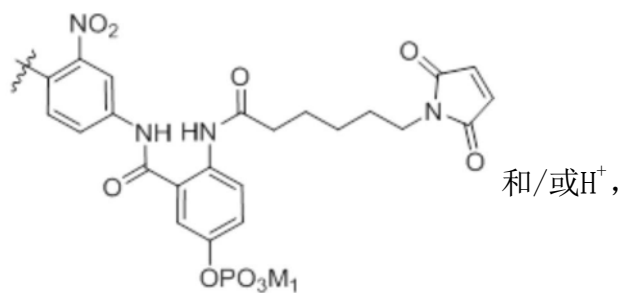
[0462]



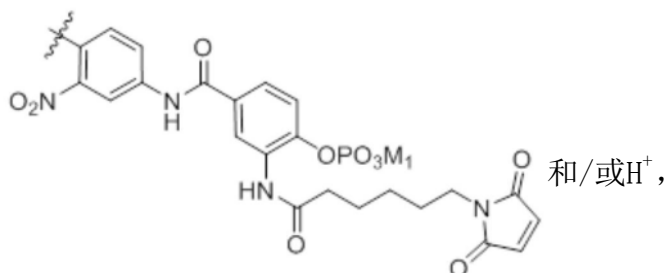
[0463]

和/或H⁺,

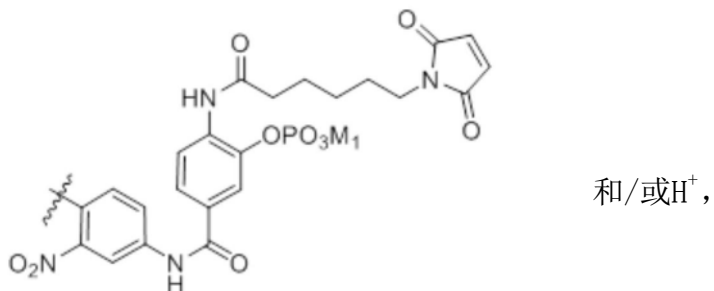
[0464]



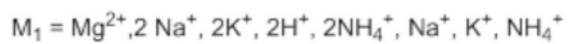
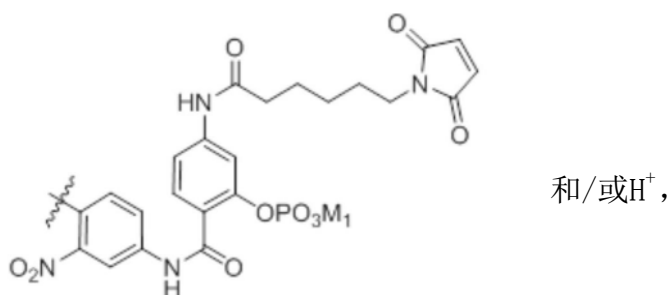
[0465]

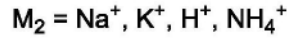
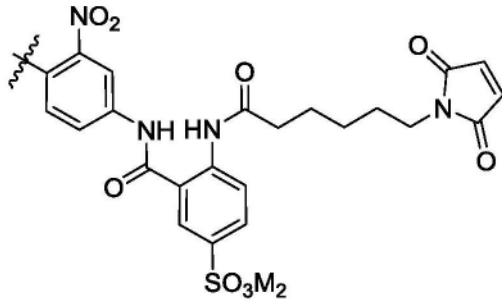


[0466]



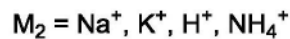
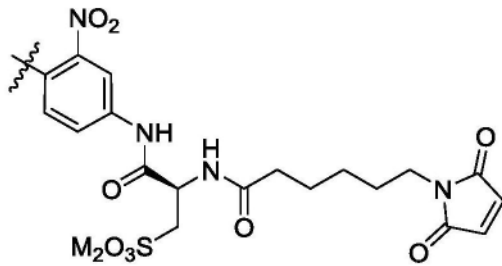
[0467]





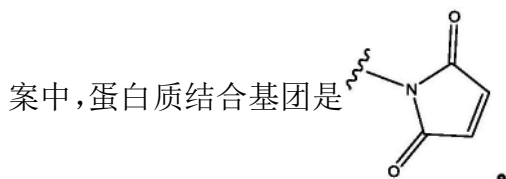
, 和

[0468]



[0469] 蛋白质结合基团

[0470] 蛋白质结合基团 (“PBG”) 包括但不限于取代或未取代的马来酰亚胺基、取代或未取代的卤代乙酰胺基、取代或未取代的卤代乙酸酯基、取代或未取代的吡啶硫基、取代或未取代的异硫氰酸酯基、取代或未取代的乙烯基羰基、取代或未取代的氮丙啶基、取代或未取代的二硫基、取代或未取代的乙炔基、取代或未取代的N-羟基琥珀酰亚胺酯基、抗体或其片段。在一些实施方案中,蛋白质结合基团 (“PBG”) 包括但不限于取代或未取代的马来酰亚胺基、取代或未取代的卤代乙酰胺基、取代或未取代的卤代乙酸酯基、取代或未取代的吡啶硫基、取代或未取代的异硫氰酸酯基、取代或未取代的乙烯基羰基、取代或未取代的氮丙啶基、取代或未取代的二硫基、取代或未取代的乙炔基或取代或未取代的N-羟基琥珀酰亚胺酯基。在一些实施方案中,蛋白质结合基团是取代或未取代的马来酰亚胺基。在一些实施方



[0471] 在一些实施方案中,PBG被C₁-C₆烷基或卤素取代。在一些实施方案中,PBG被甲基、-Cl或-Br取代。在一些实施方案中,PBG包括抗体或其片段。在一些实施方案中,PBG包括对受体具有特异性的配体,例如低分子量或高分子量化合物,如叶酸、维生素、肽、糖、天然或修饰的蛋白质。

[0472] 二硫基可以被作为可交换基团的硫代硝基苯甲酸(例如5'-硫代-2-硝基苯甲酸)活化。马来酰亚胺、吡啶二硫基或N-羟基琥珀酰亚胺酯基在适当的情况下可以被烷基或上述水溶性基团取代。通常,蛋白质结合基团具有蛋白质结合性质,即它在生理环境中共价结合 (“共价蛋白质结合基团”) 或非共价结合 (“非共价蛋白质结合基团”) 蛋白质表面的特定

氨基酸。马来酰亚胺基、卤代乙酰胺基、卤代乙酸酯基、吡啶基二硫基、二硫基、乙烯基羰基、氮丙啶基和/或乙炔基优选与半胱氨酸的硫醇基(-SH)反应,而N-羟基琥珀酰亚胺酯基和/或异硫氰酸酯基优选与蛋白质表面上的赖氨酸的氨基(-NH)反应。例如,蛋白质结合基团如马来酰亚胺基可以与白蛋白的半胱氨酸-34结合。在一些实施方案中,白蛋白未被修饰(例如,其未被修饰,带正电荷或负电荷)。在一些实施方案中,本文所述的PBG可以结合抗体或其片段,如本文所述的那些。

[0473] 用于本发明的化合物包括一种或多种药剂、间隔基、连接基、蛋白质结合基团、可裂解部分、即脞、酰胺键的任何和全部组合。化合物可以包含蒽环霉素和可以以控制蒽环霉素释放的方式被裂解的酸可裂解部分。在某些实施方案中,治疗有效物质包含蒽环霉素、作为酸可裂解部分的脞(其裂解和药物释放的半衰期根据吸电子取代基及它们在脞连接的苯环上的位置而变化)和作为共价蛋白质结合基团的马来酰亚胺基团。在一些其他实施方案中,化合物可以包含吉西他滨及可以以控制吉西他滨释放的方式被裂解的酸可裂解部分。在一些其它实施方案中,化合物可以包含长春花生物碱及可以以控制长春花生物碱释放的方式被裂解的酸可裂解部分。

[0474] 作为载体的抗体

[0475] 癌细胞具有特定的标志物,称为抗原,其在肿瘤生长和发展中起作用。抗原是蛋白质,通常位于肿瘤的表面。抗体的一个重要特征是它们以高特异性结合靶抗原的能力。然而,尽管与抗原特异性结合,抗体常常缺乏治疗活性(Panowski等人,mAbs,6,34-45(2014); Chari等人,Angewandte Chem.Int.Ed.,53,3796-3827(2014))。由于它们对抗原的高度特异性,抗体可以用作药物递送的载体。它们可以与治疗有效物质缀合(形成抗体-药物偶联物(ADC)),将治疗有效物质递送至靶向部位如肿瘤。ADC与抗原结合后,抗原-ADC偶联物通过胞吞作用被内化。一旦进入肿瘤,ADC释放治疗有效物质。为了使ADC成功,治疗有效物质、连接基和抗体的选择是重要的。因为抗原-抗体偶联物内化的效率影响递送多少治疗有效物质,所以抗原以及相应的抗体的选择是重要的。此外,为了使ADC有效,杀死细胞所需的药物分子的数量必须低于可以递送的药物的量。因此,具有皮摩尔范围效力的有效药物是优选的。最后,一旦ADC被内化,连接基应该被裂解以释放治疗有效物质。优选的连接基提供治疗有效物质在肿瘤酸性环境中的有效和控制的释放,同时防止可能导致脱靶毒性的治疗有效物质在血浆中的释放和治疗有效物质应用的窄的治疗窗口。本文公开的连接基可以与针对在恶性细胞上表达的任何抗原或受体的抗体缀合。抗体可以是嵌合的、人源化的、人类的或基因工程化的或化学修饰的抗体、如硫代抗体(THIOMAB),并且允许连接基连接而不显着降低抗体的靶结合能力。

[0476] 在一些实施方案中,本文所述化合物的蛋白质结合基团(PBG)与如本文所述的抗体或其片段结合,从而形成ADC。在一些实施方案中,PBG与抗体或其片段共价结合。在其他实施方案中,PBG与抗体或其片段非共价结合。

[0477] 在某些方面,本申请的PBG可以与载体结合。在一些实施方案中,载体是多肽结合剂。本公开包括多肽结合剂,如抗体、抗体的抗原结合部分和部分可以有效靶向抗原的非免疫球蛋白抗原结合支架。

[0478] 结合存在于肿瘤表面上的抗原的单克隆抗体可用于所公开的方法和组合物中。

[0479] 在一些实施方案中,抗体可以是修饰抗体或其结合抗原胞外结构域的抗原结合片

段。

[0480] 在一些实施方案中,结合抗原的细胞外结构域的去免疫抗体或其抗原结合片段包括重链可变区和轻链可变区,其中每个可变区在框架区内具有2至20个氨基酸取代(与结合抗原胞外结构域的非人或亲本抗体相比较)。

[0481] 在一些实施方案中,去免疫抗体或其抗原结合片段具有来自结合抗原胞外结构域的非人或亲本抗体的一个或多个互补决定区(CDR)。在一个实施方案中,在互补决定区(CDR)中存在1-5个取代。

[0482] 在一些实施方案中,包含来源于不同物种的部分的单链抗体和嵌合、人源化或灵长化(CDR移植)抗体以及嵌合或CDR移植的单链抗体可用作抗体的抗原结合部分。这些抗体的各个部分可以通过常规技术以化学方式连接在一起,或者可以使用基因工程技术制备成连续蛋白质。例如,可以表达编码嵌合或人源化链的核酸以产生连续的蛋白质。参见,例如,Cabilly等人,美国专利号4,816,567;Cabilly等人,欧洲专利号0,125,023B1;Boss等人,美国专利号4,816,397;Boss等人,欧洲专利号0,120,694B1;Neuberger,M.S.等人,W086/01533;Neuberger,M.S.等人,欧洲专利号0,194,276B1;Winter,美国专利号5,225,539;和Winter,欧洲专利号0,239,400B1。还参见Newman,R.等人,BioTechnology,10:1455-1460(1992),关于灵长类化的抗体。参见例如Ladner等人,美国专利号4,946,778;和Bird,R.E.等人,Science,242:423-426(1988)),关于单链抗体。

[0483] 另外,也可以使用抗体的功能性片段,包括嵌合的、人源化的、灵长类化的或单链抗体的片段。主题抗体的功能片段保留了衍生它们的全长抗体的至少一种结合功能和/或调节功能。在某些实施方案中,功能片段保留相应全长抗体的抗原结合功能(例如,对肿瘤的特异性)。

[0484] 例如,本发明包括能够结合抗原受体或其部分的抗体片段,包括但不限于Fv、Fab、Fab'和F(ab')₂片段。该类片段可以通过酶裂解或通过重组技术产生。例如,木瓜蛋白酶或胃蛋白酶裂解可分别产生Fab或F(ab')₂片段。本发明涵盖了使用抗体基因产生的各种截短形式的抗体,其中一个或多个终止密码子已被引入天然终止位点的上游。例如,可以设计编码F(ab')₂重链部分的嵌合基因以包括编码CH₁结构域和重链铰链区的DNA序列。

[0485] 如本文所用,术语“人源化免疫球蛋白”是指包含不同来源的免疫球蛋白的多个部分的免疫球蛋白,其中至少一部分是人来源的。因此,本发明包括对抗原(例如人抗原)具有结合特异性的人源化免疫球蛋白,所述免疫球蛋白包含非人来源的抗原结合区(例如啮齿动物)和人来源的免疫球蛋白的至少一部分(例如,人构架区、人恒定区或其部分)。例如,人源化抗体可以包含源自具有必需特异性的非人源免疫球蛋白(如小鼠)部分和源自人源免疫球蛋白序列(例如嵌合免疫球蛋白)的部分,二者通过常规技术(例如,合成的)或使用基因工程技术(例如可表达编码嵌合抗体的蛋白质部分的DNA以产生连续的多肽链)化学结合在一起。

[0486] 人源化免疫球蛋白的另一个实例是包含一个或多个免疫球蛋白链的免疫球蛋白,所述免疫球蛋白链包含非人来源的CDR(例如,来自非人来源的抗体的一种或多种CDR)和源自人来源的轻链和/或重链的框架区(例如,具有或不具有框架改变的CDR移植的抗体)。

[0487] 在一些实施方案中,抗体是拮抗性抗体。如本文所述,术语“拮抗剂抗体”是指可以抑制靶标的一种或多种功能、如结合活性(例如配体结合)及信号传导活性(例如氨基酸转

运)的抗体。例如,拮抗剂抗体可以抑制(减少或阻止)抗原对谷氨酰胺的转运。

[0488] 在一些实施方案中,抗个体基因型抗体也是有用的。抗个体基因型抗体识别与另一抗体的抗原结合位点相关的抗原决定簇。可以通过免疫相同物种的动物而针对第二抗体制备抗个体基因型抗体,并且可以是与用于产生第二抗体的动物相同的品系。参见例如美国专利号4,699,880。在一个实施方案中,产生针对受体或其一部分的抗体,并且依次使用这些抗体来产生抗个体基因型抗体。这种抗个体基因型抗体也可以是抗原转运蛋白功能的抑制剂,虽然它不结合抗原本身。这样的抗个体基因型抗体也可以称为拮抗性抗体。

[0489] 在一些实施方案中,可以使用常规技术使合适的抗体片段化,并按照与上文对完整抗体所述相同的方式筛选片段的实用性。例如,可以通过用胃蛋白酶处理抗体来产生F(ab)2片段。可以处理得到的F(ab)2片段以还原二硫键桥以产生Fab片段。

[0490] 在一些实施方案中,合适的抗体还旨在包括对由抗体的至少一个CDR区赋予的抗原多肽具有亲和力的双特异性、单链和嵌合以及人源化分子。用于生产单链抗体的技术(美国专利号4,946,778)也可以适用于产生单链抗体。而且,转基因小鼠或包括其他哺乳动物的其它生物可用于表达人源化抗体。生成这些抗体的方法是本领域已知的。参见,例如,Cabilly等人,美国专利号4,816,567;Cabilly等人,欧洲专利号0,125,023B1;Queen等人,欧洲专利号0,451,216B1;Boss等人,美国专利号4,816,397;Boss等人,欧洲专利号0,120,694E1;Neuberger, M.S.等人,WO 86/01533;Neuberger, M.S.等人,欧洲专利号0,194,276B1;Winter,美国专利号5,225,539;winter,欧洲专利号0,239,400B1;Padlan, E.A.等人,欧洲专利申请0,519,596A1。还参见Ladner等人,美国专利号4,946,778;Huston,美国专利号5,476,786;及Bird, R.E.等人,Science, 242:423-426 (1988))。

[0491] 可以使用合成和/或重组核酸来生成这种人源化免疫球蛋白,以制备编码所需人源化链的基因(例如,cDNA)。例如,可以使用PCR诱变方法构建编码人源化可变区的核酸(例如DNA)序列,以改变编码人或人源化链的DNA序列,例如来自先前人源化可变区的DNA模板(参见例如,Kamman, M., 等人,Nucl. Acids Res., 17:5404 (1989)); Sato, K., 等人,Cancer Research, 53:851-856 (1993); Daugherty, B.L. 等人,Nucleic Acids Res., 19(9):2471-2476 (1991); 和Lewis, A.P. 和J.S. Crowe, Gene, 101:297-302 (1991))。使用这些或其他合适的方法,也可以容易地生产变体。在一个实施方案中,可以对克隆的可变区进行诱变,并且可以选择编码具有期望特异性的变体的序列(例如,从噬菌体文库中;参见例如Krebber等人,美国专利号5,514,548;Hoogenboom等人,1993年4月1日公开的WO 93/06213))。

[0492] 在一些实施方案中,抗体是单克隆抗体。例如,产生与抗原多肽特异性结合的单克隆抗体的方法可以包括向小鼠施用一定量的包含有效刺激可检测的免疫应答的抗原多肽的免疫原性组合物,获得产生抗体的细胞(例如来自脾的细胞),并将产生抗体的细胞与骨髓瘤细胞融合以获得产生抗体的杂交瘤,并测试产生抗体的杂交瘤以鉴定产生与抗原多肽特异性结合的单克隆抗体的杂交瘤。一旦获得,杂交瘤可以在细胞培养物中繁殖,任选地在杂交瘤衍生的细胞产生与抗原多肽特异性结合的单克隆抗体的培养条件下进行。单克隆抗体可以从细胞培养物中纯化。

[0493] 另外,用于筛选抗体以鉴定所需抗体的技术可影响所获得抗体的性质。例如,用于某些治疗目的的抗体可能能够靶向特定的细胞类型。因此,为了获得这种类型的抗体,可能需要筛选与表达目的抗原的细胞结合的抗体(例如通过荧光激活的细胞分选)。同样地,如

果将抗体用于在溶液中结合抗原,则可能需要测试溶液结合。多种不同的技术可用于测试抗体:抗原相互作用以鉴定特别期望的抗体。这些技术包括ELISA、表面等离子共振结合测定法(例如,Biacore结合测定法,Biacore AB,Uppsala,瑞典)、夹心测定法(例如,IGEN International公司的顺磁珠系统,Gaithersburg,Maryland)、Western印迹、免疫沉淀测定和免疫组织化学。

[0494] 药物组合物

[0495] 在一些实施方案中,本发明提供了包含本文所述的化合物的药物组合物。

[0496] 施用于患者的组合物中的化合物的总量是适合于该患者的量。本领域技术人员将会理解,不同的个体可能需要不同的总量的治疗有效物质。在一些实施方案中,化合物的量是药学有效量。技术人员将能够基于例如患者的年龄、体重和身体状况的因素来确定治疗患者所需的组合物中化合物的量。化合物的浓度取决于其在静脉内施用溶液中的溶解度和可以施用的流体的体积。例如,在可注射组合物中化合物的浓度可以为约0.1mg/ml至约50mg/ml。在一些实施方案中,化合物的浓度可以为约0.1mg/ml至约25mg/ml、约7mg/ml至约17mg/ml、约0.1mg/ml至约5mg/ml或约0.25mg/ml至约4.5mg/ml。在具体的实施方案中,化合物的浓度可以为约0.1mg/ml、约0.2mg/ml、约0.3mg/ml、约0.4mg/ml、约0.5mg/ml、约0.6mg/ml、约0.7mg/ml、约0.8mg/ml、约0.9mg/ml、约1.0mg/ml、约1.1mg/ml、约1.2mg/ml、约1.3mg/ml、约1.4mg/ml、约1.5mg/ml、约1.6mg/ml、约1.7mg/ml、约1.8mg/ml、约1.9mg/ml、约2.0mg/ml、约2.1mg/ml、约2.2mg/ml、约2.3mg/ml、约2.4mg/ml、约2.5mg/ml、约2.6mg/ml、约2.7mg/ml、约2.8mg/ml、约2.9mg/ml、约3.0mg/ml、约3.1mg/ml、约3.2mg/ml、约3.3mg/ml、约3.4mg/ml、约3.5mg/ml、约3.6mg/ml、约3.7mg/ml、约3.8mg/ml、约3.9mg/ml、约4.0mg/ml、约4.1mg/ml、约4.2mg/ml、约4.3mg/ml、约4.4mg/ml、约4.5mg/ml、约4.6mg/ml、约4.7mg/ml、约4.8mg/ml、约4.9mg/ml、约5.0mg/ml、约5.1mg/ml、约5.2mg/ml、约5.3mg/ml、约5.4mg/ml、约5.5mg/ml、约5.6mg/ml、约5.7mg/ml、约5.8mg/ml、约5.9mg/ml或约6.0mg/ml。在一些实施方案中,化合物的浓度可以为约7mg/ml、约8mg/ml、约9mg/ml、约10mg/ml、约11mg/ml、约12mg/ml、约13mg/ml、约14mg/ml、约15mg/ml、约16mg/ml、约17mg/ml、约18mg/ml、约19mg/ml、约20mg/ml、约21mg/ml、约22mg/ml、约23mg/ml、约24mg/ml、约25mg/ml、约26mg/ml、约27mg/ml、约28mg/ml、约29mg/ml或约30mg/ml。

[0497] 本发明的药物组合物和试剂盒还可以含有稀释剂、填充剂、盐、缓冲剂、稳定剂、增溶剂和本领域公知的其它物质。术语“药学上可接受的”是指不干扰活性成分的生物活性的有效性的无毒材料。载体的特点将取决于施用途径。

[0498] 所述组合物可以多种常规方式施用。可使用的示例性施用途径包括口服、肠胃外、静脉内、动脉内、皮肤、皮下、肌肉内、局部、颅内、眶内、经眼、玻璃体内、心室内、囊内、脊椎内、脑池内、腹膜内、鼻内、气溶胶、中枢神经系统(CNS)施用或通过栓剂施用。在一些实施方案中,所述组合物适用于肠胃外施用。这些组合物可例如腹膜内、静脉内或鞘内施用。在一些实施方案中,所述组合物静脉内注射。在一些实施方案中,重构制剂可通过使冻干蒽环霉素化合物组合物在包含乙醇和水的重构液体中重构来制备。此类重构可包括添加重构液体和例如通过旋转或涡旋混合物混合。然后可通过混合(例如使乳酸化林格氏液与制剂混合)以生成可注射组合物来使重构制剂适用于注射。本领域技术人员将理解施用治疗有效物质制剂或组合物的方法将取决于因素诸如所治疗患者的年龄、体重和身体状况和所治疗疾病

或病症。因此,技术人员将能够基于个例选择对于患者最佳的施用方法。

[0499] 在一些实施方案中,本发明提供了用作药物的化合物和组合物。在一些实施方案中,本发明提供了用于治疗癌症、病毒疾病、自身免疫疾病、急性或慢性炎性疾病和由细菌、真菌或其他微生物引起的疾病的化合物和组合物。

[0500] 在一些实施方案中,本文公开的化合物可用于制造或制备用于治疗选自以下的疾病或病症的药物:癌症、病毒疾病、自身免疫疾病、急性或慢性炎性疾病和由细菌、真菌和其他微生物引起的疾病。

[0501] 在一些实施方案中,癌症是血癌或实体瘤癌症。在一些实施方案中,癌症选自癌、肉瘤、白血病、淋巴瘤、多发性骨髓瘤或黑素瘤。

[0502] 在一些实施方案中,癌症是腺癌、葡萄膜黑素瘤、急性白血病、听神经瘤、壶腹癌、肛门癌、星形细胞瘤、基底细胞瘤、胰腺癌、结缔组织瘤、膀胱癌、支气管癌、非小细胞支气管癌、乳腺癌、伯基特淋巴瘤、子宫体癌、CUP综合征、结肠癌、小肠癌、卵巢癌、子宫内膜癌、胆囊癌、胆囊癌、子宫癌、宫颈癌、颈部、鼻和耳肿瘤、血液系统肿瘤、毛细胞白血病、尿道癌、皮肤癌、神经胶质瘤、睾丸癌、卡波西肉瘤、喉癌、骨癌、结肠直肠癌、头颈部肿瘤、结肠癌、颅咽管瘤、肝癌、白血病、肺癌、非小细胞肺癌、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、胃癌、结肠癌、成神经管细胞瘤、黑素瘤、脑膜瘤、肾癌、肾细胞癌、少突神经胶质瘤、食管癌、溶骨性癌和成骨细胞癌、骨肉瘤、卵巢癌、胰腺癌、阴茎癌、前列腺癌、舌癌、卵巢癌或淋巴腺癌。

[0503] 在一些实施方案中,本发明提供包含如本文所述的化合物和药学上可接受的赋形剂、载体和/或稀释剂的药剂盒。

[0504] 在一些实施方案中,所述组合物中可包括一种或多种赋形剂。本领域技术人员将理解任何一种赋形剂的选择可影响任何其它赋形剂的选择。例如,因为赋形剂的组合将产生不良效应,所以特定赋形剂的选择可排除使用一种或多种额外赋形剂。本领域技术人员将能够凭经验决定哪些赋形剂(如果存在)包括在组合物中。赋形剂可包括但不限于共溶剂、增溶剂、缓冲剂、pH调节剂、填充剂、表面活性剂、囊封剂、张力调节剂、稳定剂、保护剂和粘度调节剂。在一些实施方案中,所述组合物中包括药学上可接受的载体可以是有益的。

[0505] 在一些实施方案中,所述组合物可包括增溶剂。增溶剂可用于增加组合物的任一组分(包括化合物或赋形剂)的溶解度。本文所述的增溶剂并不意欲构成详尽列表,但仅作为可用于组合物中的示例性增溶剂提供。在某些实施方案中,增溶剂包括但不限于乙醇、叔丁醇、聚乙二醇、甘油、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮和其任何药学上可接受的盐和/或组合。

[0506] 所述组合物的pH可以是提供制剂或组合物的所需特性的任何pH。所需特性可包括例如化合物稳定性,与其它pH的组合物相比增加的化合物保留,和改善的过滤效率。在一些实施方案中,所述组合物的pH可以是约3.0至约9.0,例如约5.0至约7.0。在特定的实施方案中,所述组合物的pH可以是 5.5 ± 0.1 、 5.6 ± 0.1 、 5.7 ± 0.1 、 5.8 ± 0.1 、 5.9 ± 0.1 、 6.0 ± 0.1 、 6.1 ± 0.1 、 6.2 ± 0.1 、 6.3 ± 0.1 、 6.4 ± 0.1 或 6.5 ± 0.1 。

[0507] 在一些实施方案中,通过在所述组合物中包括一种或多种缓冲剂缓冲pH可以是有益的。在某些实施方案中,缓冲剂可具有例如约5.5、约6.0或约6.5的pKa。本领域技术人员会理解可基于缓冲剂pKa和其它特性选择适当缓冲剂用于包括在组合物中。缓冲剂是本领域中众所周知的。因此,本文所述的缓冲剂并不意欲构成详尽列表,但仅作为可用于本发明

的制剂或组合物中的示例性缓冲剂提供。在某些实施方案中,缓冲剂包括但不限于Tris、Tris HCl、磷酸钾、磷酸钠、柠檬酸钠、抗坏血酸钠、磷酸钠和磷酸钾的组合、Tris/Tris HCl、碳酸氢钠、精氨酸磷酸盐、精氨酸盐酸盐、组氨酸盐酸盐、二甲基胍酸盐、琥珀酸盐、2-(N-吗啉基)乙磺酸(MES)、马来酸盐、bis-tris、磷酸盐、碳酸盐和其任何药学上可接受的盐和/或组合。

[0508] 在一些实施方案中,所述组合物中可包括pH调节剂。调节组合物的pH可对例如治疗有效物质的稳定性或溶解度具有有利效应或可用于制备适于肠胃外施用的组合物。pH调节剂是本领域中众所周知的。因此,本文所述的pH调节剂并不意欲构成详尽列表,但仅作为可用于组合物中的示例性pH调节剂提供。pH调节剂可包括例如酸和碱。在一些实施方案中,pH调节剂包括但不限于乙酸、盐酸、磷酸、氢氧化钠、碳酸钠及其组合。

[0509] 在一些实施方案中,所述组合物中可包括填充剂。填充剂常用于冻干组合物中以向组合物提供增加的体积且有助于显现组合物,尤其在冻干颗粒以其它方式将难以看见的情况下。填充剂也可帮助防止药物组合物的活性组分喷出和/或有助于对组合物进行冷冻保护。填充剂是本领域中众所周知的。因此,本文所述的填充剂并不意欲构成详尽列表,但仅作为可用于组合物中的示例性填充剂提供。

[0510] 示例性填充剂可包括碳水化合物、单糖、二糖、多糖、糖醇、氨基酸和糖酸及其组合。碳水化合物填充剂包括但不限于单碳水化合物、二碳水化合物或多碳水化合物、淀粉、醛糖、酮糖、氨基糖、甘油醛、阿拉伯糖、来苏糖、戊糖、核糖、木糖、半乳糖、葡萄糖、己糖、艾杜糖、甘露糖、塔罗糖、庚糖、葡萄糖、果糖、甲基 α -D-吡喃葡萄糖苷、麦芽糖、内酯、山梨糖、赤藓糖、苏糖、阿拉伯糖、阿洛糖、阿卓糖、古洛糖、艾杜糖、塔罗糖、赤藓酮糖、核酮糖、木酮糖、阿洛酮糖、塔格糖、葡糖胺、半乳糖胺、阿拉伯聚糖、果聚糖、岩藻聚糖、半乳聚糖、聚半乳糖醛酸、葡聚糖、甘露聚糖、木聚糖、菊糖、左聚糖、岩藻依聚糖、角叉菜胶、半乳卡罗聚糖、果胶、直链淀粉、支链淀粉、糖原、支链淀粉、纤维素、石耳素、几丁质、琼脂糖、角蛋白、软骨素、皮肤素、透明质酸、黄嘌呤胶、蔗糖、海藻糖、葡聚糖和乳糖。糖醇填充剂包括但不限于醛糖醇、肌醇、山梨糖醇和甘露糖醇。氨基酸填充剂包括但不限于甘氨酸、组氨酸和脯氨酸。糖酸填充剂包括但不限于醛糖酸、糖醛酸、醛糖二酸、葡萄糖酸、异抗坏血酸、抗坏血酸、葡糖二酸、葡糖醛酸、葡糖酸、葡糖二酸、半乳糖醛酸、甘露糖醛酸、神经氨酸、果胶酸和海藻酸。

[0511] 在一些实施方案中,所述组合物中可包括表面活性剂。通常,表面活性剂降低液体组合物的表面张力。这可提供有利特性,诸如提高的过滤的容易性。表面活性剂也可充当乳化剂和/或增溶剂。表面活性剂是本领域中众所周知的。因此,本文所述的表面活性剂并不意欲构成详尽列表,但仅作为可用于本发明的制剂或组合物中的示例性表面活性剂提供。可包括的表面活性剂包括但不限于脱水山梨醇酯,诸如聚山梨醇酯(例如聚山梨醇酯20和聚山梨醇酯80)、脂多糖、聚乙二醇(例如PEG 400和PEG 3000)、泊洛沙姆(即,普洛尼克)、环氧乙烷和聚环氧乙烷(例如Triton X-100),皂苷、磷脂(例如卵磷脂)及其组合。

[0512] 在一些实施方案中,所述组合物中可包括囊封剂。囊封剂可隔离分子和帮助使其稳定或溶解。囊封剂是本领域中众所周知的。因此,本文所述的囊封剂并不意欲构成详尽列表,但仅作为可用于组合物中的示例性囊封剂提供。可包括在组合物中的囊封剂包括但不限于二甲基- β -环糊精、羟乙基- β -环糊精、羟丙基- β -环糊精和三甲基- β -环糊精及其组合。

[0513] 在一些实施方案中,所述组合物中可包括张力调节剂。当向患者施用(例如通过肠

胃外施用) 组合物时, 液体组合物的张力是重要考虑因素。因此, 可使用张力调节剂以帮助使组合物适于施用。张力调节剂是本领域中众所周知的。因此, 本文所述的张力调节剂并不意欲构成详尽列表, 但仅作为可用于组合物中的示例性张力调节剂提供。张力调节剂可以是离子型或非离子型的且包括但不限于无机盐、氨基酸、碳水化合物、糖、糖醇和碳水化合物。示例性无机盐可包括氯化钠、氯化钾、硫酸钠和硫酸钾。示例性氨基酸是甘氨酸。示例性糖可包括糖醇, 诸如甘油、丙二醇、葡萄糖、蔗糖、乳糖和甘露糖醇。

[0514] 在一些实施方案中, 所述组合物中可包括稳定剂。稳定剂帮助增加组合物中的化合物的稳定性。这可通过例如减少化合物的降解或防止其聚集来进行。不希望受理论束缚, 增强稳定性的机制可包括从溶剂隔离化合物或抑制治疗有效物质的自由基氧化。稳定剂是本领域中众所周知的。因此, 本文所述的稳定剂并不意欲构成详尽列表, 但仅作为可用于组合物中的示例性稳定剂提供。稳定剂可包括但不限于乳化剂和表面活性剂。

[0515] 在一些实施方案中, 所述组合物中可包括保护剂。保护剂是保护药物活性成分(例如治疗有效物质或化合物) 免于不期望状况(例如由冷冻或冻干或氧化引起的不稳定性) 的试剂。保护剂可包括例如冷冻保护剂、冻干保护剂和抗氧化剂。当组合物暴露于低于其凝固点的温度时, 冷冻保护剂可用于防止活性药物成分(例如蒽环霉素化合物) 的效力损失。例如, 重构冻干制剂中可包括冷冻保护剂, 使得制剂可在稀释用于静脉内(IV) 施用之前进行冷冻。冷冻保护剂是本领域中众所周知的。因此, 本文所述的冷冻保护剂并不意欲构成详尽列表, 但仅作为可用于组合物中的示例性冷冻保护剂提供。冷冻保护剂包括但不限于溶剂、表面活性剂、囊封剂、稳定剂、粘度调节剂及其组合。冷冻保护剂可包括例如二糖(例如蔗糖、乳糖、麦芽糖和海藻糖)、多元醇(例如甘油、甘露糖醇、山梨糖醇和卫矛醇)、二醇(例如乙二醇、聚乙二醇和丙二醇)。

[0516] 冻干保护剂可用于稳定组合物的组分。例如, 治疗有效物质可在重构之前用冻干保护剂冻干。冻干保护剂是本领域中众所周知的。因此, 本文所述的冻干保护剂并不意欲构成详尽列表, 但仅作为可用于组合物中的示例性冻干保护剂提供。冻干保护剂包括但不限于溶剂、表面活性剂、囊封剂、稳定剂、粘度调节剂及其组合。示例性冻干保护剂可以是例如糖和多元醇。海藻糖、蔗糖、葡聚糖和羟丙基- β -环糊精是冻干保护剂的非限制性实例。

[0517] 抗氧化剂可用于防止组合物的组分的氧化。氧化可导致药品聚集或对药品纯度或其效力的其它有害效应。抗氧化剂是本领域中众所周知的。因此, 本文所述的抗氧化剂并不意欲构成详尽列表, 但仅作为可用于组合物中的示例性抗氧化剂提供。抗氧化剂可以是例如抗坏血酸钠、柠檬酸盐、硫醇、偏亚硫酸氢盐及其组合。

[0518] 在一些实施方案中, 所述组合物中可包括粘度调节剂。粘度调节剂改变液体组合物的粘度。这可以是有益的, 因为粘度在过滤液体组合物的容易性中发挥重要作用。组合物可在冻干和重构之前或在重构之后过滤。粘度调节剂是本领域中众所周知的。因此, 本文所述的粘度调节剂并不意欲构成详尽列表, 但仅作为可用于组合物中的示例性粘度调节剂提供。粘度调节剂包括溶剂、增溶剂、表面活性剂和囊封剂。可包括在所述组合物中的示例性粘度调节剂包括、但不限于N-乙酰基-DL-色氨酸和N-乙酰基-半胱氨酸。

[0519] 治疗方法

[0520] 本文所述的化合物和组合物可用于各种临床应用。

[0521] 本发明的化合物和组合物能够诱导肿瘤生长的延长或长期抑制。在某些实施方案

中,对肿瘤生长的长期或长期抑制没有任何体重的损失或骨髓毒性。

[0522] 本公开内容还提供了治疗患者的病症或疾病的方法,所述病症或疾病选自癌症、病毒疾病、自身免疫疾病、急性或慢性炎性疾病和由细菌、真菌或其他微生物引起的疾病,所述方法包括向患者施用本文所述的化合物或药物组合物。

[0523] 在一些实施方案中,癌症是血癌或实体瘤癌症。在一些实施方案中,癌症选自癌、肉瘤、白血病、淋巴瘤、多发性骨髓瘤或黑素瘤。

[0524] 在一些实施方案中,癌症是腺癌、葡萄膜黑素瘤、急性白血病、听神经瘤、壶腹癌、肛门癌、星形细胞瘤、基底细胞瘤、胰腺癌、结缔组织瘤、膀胱癌、支气管癌、非小细胞支气管癌、乳腺癌、伯基特淋巴瘤、子宫体癌、CUP综合征、结肠癌、小肠癌、卵巢癌、子宫内膜癌、胆囊癌、胆管癌、子宫癌、宫颈癌、颈部、鼻和耳肿瘤、血液系统肿瘤、毛细胞白血病、尿道癌、皮肤癌、神经胶质瘤、睾丸癌、卡波西肉瘤、喉癌、骨癌、结肠直肠癌、头颈部肿瘤、结肠癌、颅咽管瘤、肝癌、白血病、肺癌、非小细胞肺癌、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、胃癌、结肠癌、成神经管细胞瘤、黑素瘤、脑膜瘤、肾癌、肾细胞癌、少突神经胶质瘤、食管癌、溶骨性癌和成骨细胞癌、骨肉瘤、卵巢癌、胰腺癌、阴茎癌、前列腺癌、舌癌、卵巢癌或淋巴腺癌。

[0525] 变化和修改

[0526] 普通技术人员可想到本文所述内容的变化、修改和其它实施,而不背离本发明的精神和范围。因此,本发明不限于前述说明或以下实施例。

[0527] 例举

[0528] 就现在一般描述的本发明方面而言,参考以下实施例将更容易理解这些,所述实施例仅为了说明本发明的某些特征和实施方案而包括且不意欲限制。

[0529] 等效方案

[0530] 本领域技术人员仅使用常规实验即可认识到或能够确定本文所述的化合物、组合物和其使用方法的许多等效方案。此类等效方案被视为在本发明的范围内。

实施例

[0531] 实施例1

[0532] 在人异种移植非小细胞肺癌模型LXFE 397中评价吉西他滨和白蛋白结合的吉西他滨磷酸酯化合物15

[0533] 使用人LXFE 397(鳞状细胞癌,分化:差)在异氟烷麻醉下,使雌性NMRI裸鼠在左肋腹皮下接受单侧肿瘤植入物,直到肿瘤可触及并且达到50-150mm³的体积。将动物保持在笼内,笼内的温度保持在25±1℃,相对湿度为45-65%,笼内的换气率为每小时60倍(fold)。用来自Harlan Laboratories的高压灭菌的Teklad Global 19%蛋白质挤出饮食(T.2019S.12)喂养动物,并且动物可以获取无菌过滤和酸化的(pH2.5)自来水,每周更换两次。饲料和水是无限提供。在治疗之前,考虑到可比的组肿瘤体积的中位值和平均值,将动物随机分组(每组8只小鼠)。在工作日每天例行监测动物两次,并且在星期六和星期日每天例行监测动物。从第0天开始,每周对动物称重两次。个体动物的相对体重(RBW)通过将第X天的个体绝对体重(BW_x)除以随机分组当天的个体体重来计算。随机分组当天(第0天),然后每周两次,通过用卡尺进行二维测量来确定肿瘤体积。根据以下等式计算肿瘤体积:

[0534] 肿瘤体积[mm³]=a[mm]×b²[mm²]×0.5,其中“a”是最大直径,“b”是代表理想化椭

球体的肿瘤的垂直直径。第X天的单个肿瘤的相对体积 (RTV_x) 是通过将第X天的肿瘤各自的绝对体积 (T_x) [mm³]除以随机分组当天相同肿瘤的绝对体积计算的。计划表的应用在动物保护政策允许的范围内。在肿瘤体积>2000毫米³时, 终结个体小鼠。化合物15的储备溶液如下制备, 用于两个治疗组:

[0535] 1) 8只小鼠, 40g平均重量: 24mg/kg吉西他滨等价物 \equiv 78.48mg/kg \equiv 3.14mg/小鼠。样品制备: 将称取至20mL小瓶中的154mg溶解于14.7mL 20mM磷酸钠缓冲液pH7; 在10mL小瓶中的四个等分式样, 每个3.6mL。在液氮中冷冻, 冻干(>48小时) 并塞上。

[0536] 2) 8只小鼠, 40g平均重量: 36mg/kg吉西他滨等价物 \equiv 117.7mg/kg \equiv 4.71mg/小鼠。样品制备: 将称取至20mL小瓶中的231mg溶于14.7mL 20mM磷酸钠缓冲液pH7; 在10mL小瓶中的四个等分式样, 每个3.6mL。在液氮中冷冻, 冻干(>48小时) 并塞上。

[0537] 在治疗当天, 将冻干的样品溶解在含有5%葡萄糖的20mM磷酸钠缓冲液pH7中并静脉内注射。在第1、8、15和22天静脉内施用介质(20mM磷酸钠缓冲液, 5%D-葡萄糖-pH 7.0), 吉西他滨(溶于5%D-葡萄糖; 剂量240mg/kg) 和化合物15(溶于20mM磷酸钠缓冲液, 5%D-葡萄糖-pH7.0; 24mg/kg吉西他滨等价物)。

[0538] 在第23天, 由于肿瘤体积超过2000mm³, 来自对照组的3只小鼠和吉西他滨处理组的2只小鼠必须被处死。与对照相比的体重变化(BWC): 吉西他滨(第23天)约-6%; 化合物15(第27天)~0.5%。NSLC异种移植模型LXFE 397中的肿瘤生长发展显示, 在等毒性下, 吉西他滨剂量的十分之一的化合物15比吉西他滨具有更优异的抗肿瘤功效(p<0.05), 如可比的并且低的体重损失所示。见图1。

[0539] 图1显示了在NSLC异种移植模型LXFE 397中化合物15和吉西他滨对肿瘤生长的作用。

[0540] 实施例2

[0541] 在人非小细胞癌异种移植模型LXFE 937中评价吉西他滨和白蛋白结合的吉西他滨磷酸酯化合物15。

[0542] 使用人LXFE 937肿瘤块在异氟醚麻醉下, 使雌性NMRI裸鼠在左肋腹皮下接受单侧肿瘤植入物, 直到肿瘤可触及并达到约100mm³的体积。将动物保持在笼内, 笼内的温度保持在25±1℃, 相对湿度为45-65%, 笼内的换气率为每小时60倍(fold)。用来自Harlan Laboratories的高压灭菌的Teklad Global 19%蛋白质挤出饮食(T.2019S.12)喂养动物, 并且动物可以获取无菌过滤和酸化的(pH2.5)自来水, 每周更换两次。饲料和水是无限制提供的。在治疗之前, 考虑到可比的组肿瘤体积的中位值和平均值, 将动物随机分组(每组8只小鼠)。在工作日每天例行监测动物两次, 并且在星期六和星期日每天例行监测动物。从第0天开始, 每周对动物称重两次。个体动物的相对体重(RBW)通过将第X天的个体绝对体重(BW_x)除以随机分组当天的个体体重来计算。随机分组当天(第0天), 然后每周两次, 通过用卡尺进行二维测量来确定肿瘤体积。根据以下等式计算肿瘤体积:

[0543] 肿瘤体积[mm³]=a[mm]×b²[mm²]×0.5, 其中“a”是最大直径, “b”是代表理想化椭球体的肿瘤的垂直直径。第X天的单个肿瘤的相对体积 (RTV_x) 是通过将第X天的肿瘤各自的绝对体积 (T_x) [mm³]除以随机分组当天相同肿瘤的绝对体积计算的。计划表的应用在动物保护政策允许的范围内。在肿瘤体积>2000毫米³时, 终结个体小鼠。化合物15的储备溶液如下制备, 用于两个治疗组:

[0544] 1) 8只小鼠, 40g平均体重: $2 \times 18\text{mg/kg}$ 吉西他滨等价物(每周两次施用; 第0、3、7、10天等, 进行4周) $\equiv 58.4\text{mg/kg} \equiv 2.35\text{mg/小鼠}$ 。样品制备: 将称取至10mL小瓶中的115.5mg溶于7.35mL 20mM磷酸钠缓冲液pH7; 在10mL小瓶中的四个等分式样, 每个含有1.86mL。在液氮中冷冻, 冻干(>48小时) 并塞上。

[0545] 在治疗当天, 将冻干的样品溶解在含有5%葡萄糖的20mM磷酸钠缓冲液pH7中并静脉内注射。在第1、8、15和22天静脉内施用介质(20mM磷酸钠缓冲液, 5%D-葡萄糖-pH7.0)、吉西他滨(溶于5%D-葡萄糖; 剂量240mg/kg), 并在第0、3、7、10、14、17、21和24天施用化合物15(溶于20mM磷酸钠缓冲液, 5%D-葡萄糖-pH7.0; 18mg/kg吉西他滨等价物)。

[0546] 与对照相比, 体重变化(BWC) 是相当的, 吉西他滨治疗组约为+10%, 化合物15治疗组约为+2%。

[0547] 吉西他滨治疗组中的肿瘤在治疗后~20天开始再生长, 在治疗后~50天达到平均肿瘤体积 $\sim 700\text{mm}^3$, 其中吉西他滨治疗组的2只小鼠由于肿瘤体积超过 2000mm^3 而在第78至85天之间必须被处死。相反, 在用15治疗的组中治疗结束后~60天观察到完全的肿瘤消退。因此, 人非小细胞癌异种移植模型LXFE 937中的肿瘤生长发展显示, 在等毒性下, 吉西他滨剂量的约七分之一的化合物15比吉西他滨具有更优异的抗肿瘤功效($p < 0.05$), 如可比的和体重增加所示。参见图2和3。

[0548] 图2显示对照组、吉西他滨治疗组和化合物15治疗组在人非小细胞癌异种移植模型LXFE 937中的肿瘤生长曲线。

[0549] 图3显示对照组、吉西他滨治疗组和化合物15治疗组在人非小细胞癌异种移植模型LXFE 937中的体重变化曲线。

[0550] 实施例3

[0551] 在人卵巢癌异种移植模型OVXF 899中评价吉西他滨和白蛋白结合的吉西他滨磷酸酯化合物15。

[0552] 使用人OVXF899肿瘤块在异氟醚麻醉下, 使雌性NMRI裸鼠在左肋腹皮下接受单侧肿瘤植入物, 直到肿瘤可触及并达到约 200mm^3 的体积。将动物保持在笼内, 笼内的温度保持在 $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 相对湿度为45-65%, 笼内的换气率为每小时60倍(fold)。用来自Harlan Laboratories的高压灭菌的Teklad Global 19%蛋白质挤出饮食(T.2019S.12)喂养动物, 并且动物可以获取无菌过滤和酸化的(pH2.5)自来水, 每周更换两次。饲料和水是无限制提供的。在治疗之前, 考虑到可比的组肿瘤体积的中位值和平均值, 将动物随机分组(每组8只小鼠)。在工作日每天例行监测动物两次, 并且在星期六和星期日每天例行监测动物。从第0天开始, 每周对动物称重两次。个体动物的相对体重(RBW) 通过将第X天的个体绝对体重(BW_x)除以随机分组当天的个体体重来计算。随机分组当天(第0天), 然后每周两次, 通过用卡尺进行二维测量来确定肿瘤体积。根据以下等式计算肿瘤体积:

[0553] 肿瘤体积 $[\text{mm}^3] = a[\text{mm}] \times b^2[\text{mm}^2] \times 0.5$, 其中“a”是最大直径, “b”是代表理想化椭球体的肿瘤的垂直直径。第X天的单个肿瘤的相对体积(RTV_x) 是通过将第X天的肿瘤各自的绝对体积(T_x) $[\text{mm}^3]$ 除以随机分组当天相同肿瘤的绝对体积计算的。计划表的应用在动物保护政策允许的范围内。在肿瘤体积 $> 2000\text{毫米}^3$ 时, 终结个体小鼠。化合物15的储备溶液如下制备, 用于两个治疗组:

[0554] 8只小鼠, 40g平均体重: $2 \times 18\text{mg/kg}$ 吉西他滨等价物(每周两次施用; 第1、4、8天

等,进行4周) $\equiv 58.4\text{mg/kg} \equiv 2.35\text{mg/小鼠}$ 。样品制备:将称取至10mL小瓶中的115.5mg溶于7.35mL 20mM磷酸钠缓冲液pH7;在10mL小瓶中的四个等分式样,每个含有1.86mL。在液氮中冷冻,冻干(>48小时)并塞上。

[0555] 在治疗当天,将冻干的样品溶解在含有5%葡萄糖的20mM磷酸钠缓冲液pH7中并静脉内注射。在第1、8、15和22天静脉内施用介质(20mM磷酸钠缓冲液,5%D-葡萄糖-pH7.0)、吉西他滨(溶于5%D-葡萄糖;剂量为240mg/kg),在第1、4、8、11、15、18、22和25天施用化合物15(溶于20mM磷酸钠缓冲液,5%D-葡萄糖-pH7.0;18mg/kg吉西他滨等价物)。

[0556] 与对照相比,体重变化(BWC)是相当的,吉西他滨治疗组约为+5%,化合物15治疗组约为+10%。

[0557] 吉西他滨治疗组中的肿瘤在治疗后~10天开始再生长,在治疗后50天达到平均肿瘤体积 $\sim 2000\text{mm}^3$,其中吉西他滨治疗组的3只小鼠由于肿瘤体积超过 2000mm^3 而在第74天必须被处死。相反,在用15治疗的组中治疗结束后50天观察到完全的肿瘤消退。因此,卵巢癌异种移植模型OVXF 899中的肿瘤生长发展显示,在等毒性下,吉西他滨剂量的约七分之一的化合物15比吉西他滨具有更优异的抗肿瘤功效($p < 0.05$),如可比的和体重增加所示。见图4、5和6。

[0558] 图4显示对照组、吉西他滨治疗组和化合物15治疗组在人卵巢OVXF癌异种移植模型中的肿瘤生长曲线。

[0559] 图5显示对照组、吉西他滨治疗组和化合物15治疗组在人卵巢OVXF癌异种移植模型中的体重变化曲线。

[0560] 图6显示在卵巢癌OVXF 899异种移植模型中用化合物15或吉西他滨治疗后的各个肿瘤体积的散点图。

[0561] 实施例4

[0562] 在人胰腺癌异种移植模型Panc11159中评价吉西他滨和白蛋白结合的吉西他滨磷酸酯化合物15

[0563] 雌性NMRI裸鼠(nu/nu)接受皮下植入的单侧Panc11159肿瘤块,直到肿瘤可触及并达到约 200mm^3 的体积。将动物保持在笼内(Macrolon II型丝网),笼内温度维持在 $22 \pm 1^\circ\text{C}$,相对湿度为 $50 \pm 10\%$ 。光周期:人工;12小时黑暗/12小时光节奏(光06.00至18.00点)。在实验开始时检查小鼠的健康状况,在实验期间每天检查两次;识别:耳标和笼标签。用Ssniff NM (Soest, Germany) 饲喂动物,动物可以获取高压灭菌和酸化(pH4.0)饮品。饲料和水无限制提供。在治疗之前,考虑到可比的组肿瘤体积的中位值和平均值,将动物随机分组(每组10只小鼠)。

[0564] 每周进行两到三次体重变化。用卡尺每周测量两次或三次肿瘤直径(中位值和中间值)。根据 $V = (\text{长度} \times (\text{宽度})^2) / 2$ 计算肿瘤体积。为了计算相对肿瘤体积(RTV),将每个测量日的肿瘤体积与第一次治疗的当天相关联。

[0565] 化合物15的储备溶液如下制备,用于两个治疗组:

[0566] 10只小鼠,30-40g平均体重: $2 \times 18\text{mg/kg}$ 吉西他滨等价物(每周两次施用,进行4周) $\equiv 58.4\text{mg/kg} \equiv 2.35\text{mg/小鼠}$ 。样品制备:将称取至10mL小瓶中的115.5mg溶于7.35mL 20mM磷酸钠缓冲液pH7;在10mL小瓶中的四个等分式样,每个含有1.86mL。在液氮中冷冻,冻干(>48小时)并塞上。

[0567] 在治疗当天,将冻干的样品溶解在含有5%葡萄糖的20mM磷酸钠缓冲液pH7中并静脉内注射。在第36、43、50、57天静脉内施用介质(20mM磷酸钠缓冲液,5%D-葡萄糖-pH 7.0)、吉西他滨(溶于5%D-葡萄糖;剂量为240mg/kg),在第36、40、43、47、50、54、57和60天施用化合物15(溶于20mM磷酸钠缓冲液,5%D-葡萄糖-pH7.0;18mg/kg吉西他滨等价物)。

[0568] 与对照组相比,体重变化(BWC)是相当的,吉西他滨治疗组和化合物15治疗组均为约+3%。

[0569] 吉西他滨治疗组的肿瘤体积在第85天增加了一倍,而用15治疗组的肿瘤体积表现出轻度退化或疾病稳定。因此,在人胰腺癌异种移植模型Panc11159中的肿瘤生长发展显示,在等毒性下,吉西他滨剂量的约七分之一的化合物15比吉西他滨具有更优异的抗肿瘤功效($p < 0.05$),如可比的和体重增加所示。参见图7和8。

[0570] 图7显示对照组、吉西他滨治疗组和化合物15治疗组在胰腺癌Panc11159异种移植模型中的肿瘤生长曲线。

[0571] 图8显示对照组、吉西他滨治疗组和化合物15治疗组在胰腺癌Panc11159异种移植模型中的体重变化曲线。

[0572] 实施例5

[0573] 用于合成奈莫柔比星的取代的马来酰亚胺苯甲酰脲衍生物的通用方法

[0574] 典型地,在室温(RT)下向奈莫柔比星(1当量)和取代的马来酰亚胺基苯甲酸酰脲三氟乙酸盐(2当量)的混合物中加入无水甲醇,并将该反应混合物在室温下搅拌。反应完成后,如TLC所示,通过用异丙醇和二异丙醚的混合物沉淀或结晶,分离奈莫柔比星的取代马来酰亚胺苯甲酰脲衍生物,为红色固体,并将所得产物在高真空下干燥。

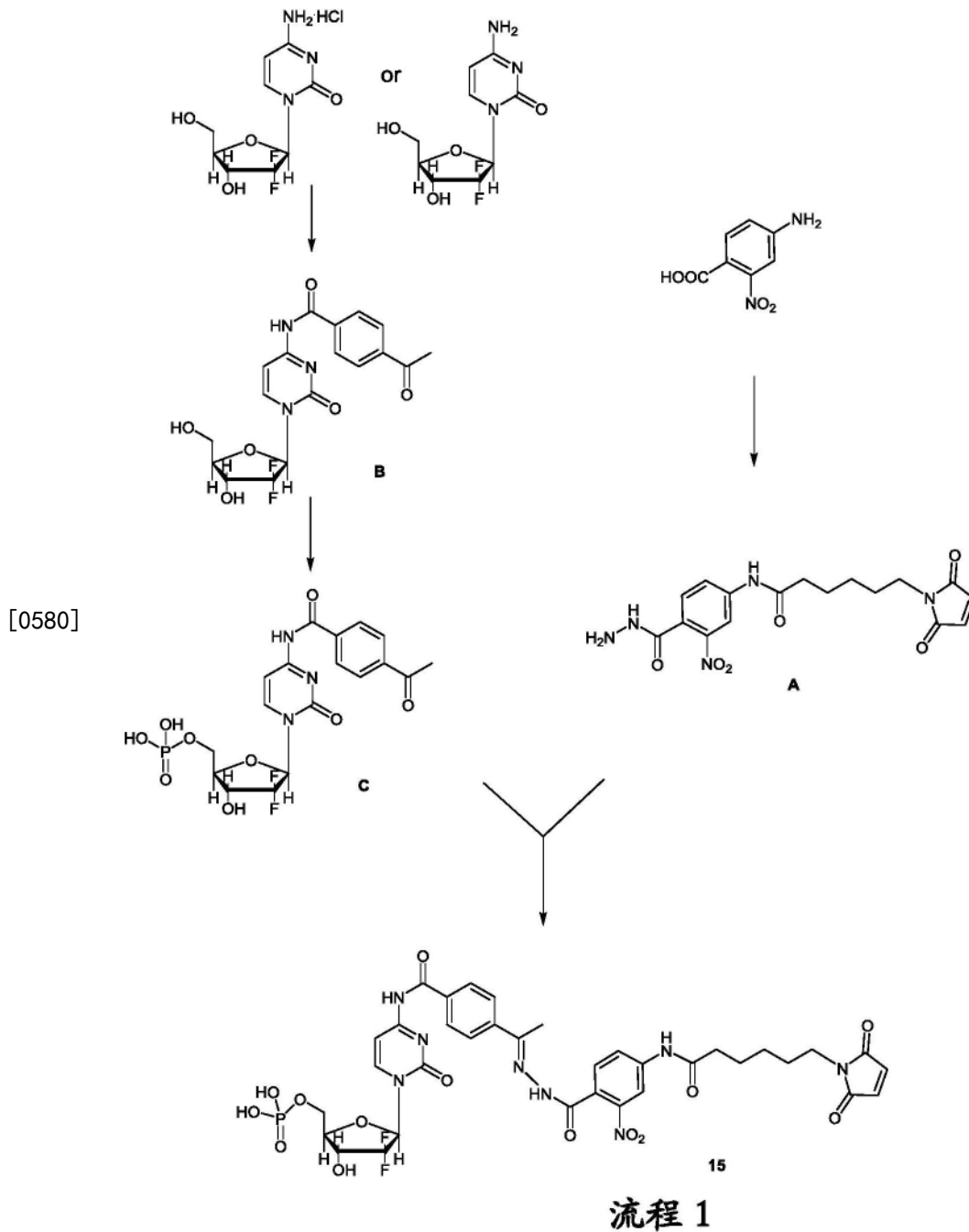
[0575] 白蛋白结合的奈莫柔比星的取代的马来酰亚胺苯甲酰脲衍生物的释放研究的通用方法

[0576] 典型地,将奈莫柔比星的取代的马来酰亚胺苯甲酰脲衍生物溶于20:80EtOH/5%-葡萄糖中,并加入在4mM磷酸盐缓冲液(pH7.4)中的在半胱氨酸-34位完全还原的人血清白蛋白(HSA)中,并在37°C孵育2小时。使用Sephadex G-25分离白蛋白药物缀合物,并用含有150mM NaCl的4mM磷酸盐缓冲液pH7.4洗脱。通过RP-HPLC测定分析奈莫柔比星白蛋白缀合物的纯度,通过分光光度法测定样品中蒽环类抗生素的含量。为了在pH5.0进行的药物释放研究,借助于RP-HPLC监测用50mM乙酸钠缓冲液调节至pH5.0的各个奈莫柔比星人血清白蛋白(HSA)缀合物的200 μ M溶液,并在495nm测定奈莫柔比星的释放。结果列于表A。

[0577] 实施例6

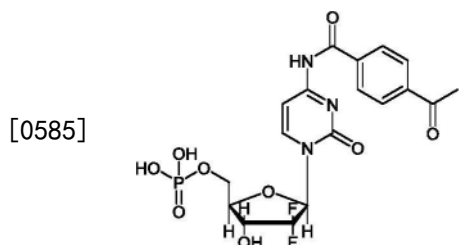
[0578] 方法A:化合物15的制备

[0579] 化合物15可以如下所述制备,如流程1所示



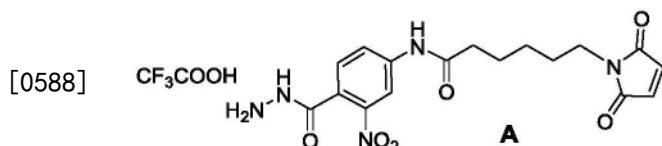
用于下一步而无需进一步纯化。收率:9.15g,99.67%。历经30min在0℃向盐酸吉西他滨(15g,50mmol)在吡啶(150mL)中的搅拌的溶液中滴加[~1.0mL/min]氯代三甲基硅烷(31.6mL,250mmol)。将得到的混合物在室温搅拌2h。历经15min将4-乙酰基苯甲酰氯(9.12g,50mmol)分批加入该反应混合物中(3批,~3.04g/5.0min)。将得到的混合物在45℃搅拌16h。然后将乙醇(150mL)加入以上反应混合物中,并搅拌30min。随后加入脱盐水(75mL),并再搅拌5h。然后将该反应混合物浓缩至干燥,并将残余物用冰水(300mL)淬灭。将得到的固体通过Whatman滤纸(11μm)过滤,并在高真空下干燥5h。将粗制的产物经硅胶快速色谱纯化。将粗物质溶于CH₂Cl₂中,吸附在硅胶(60-120目,60g)上,并经60x12.5cm快速柱使用240g 60-120目硅胶和~20L 60%在石油醚中的乙酸乙酯作为洗脱剂纯化。将得到的固体用甲醇(100mL)洗涤,过滤,并在高真空下干燥5h,得到4-乙酰基-N-(1-((2R,4R,5R)-3,3-二氟-4-羟基-5-(羟基甲基)-四氢咪喃-2-基)-2-氧代-1,2-二氢嘧啶-4-基)苯甲酰胺(B),为白色固体。收率:5.2g,12.71mmol,25.42%。

[0584] 中间体(C)的合成



[0586] 在50ml烧瓶中将1.816mL(19.54mmol)磷酰氯加入12.2mL磷酸三甲酯中。将澄清的无色溶液在冰浴中冷却,随后加入2g(4.89mmol)的(B)。在约15分钟后混悬液澄清,并将得到的淡黄色溶液在冰浴中搅拌。2h后,将5μL该反应混合物小心地加入到1mL乙醚和饱和碳酸氢钠水溶液的1:1混合物中。充分混合后,有机相中的乳状混悬液消散。除去50μL水相,用150μL Millipore水稀释,并通过LC-MS分析。约2.5小时后,将反应混合物在间歇振荡下滴加到在冰浴中冷却的1000mL锥形瓶中的140mL Millipore水、140mL饱和NaHCO₃和600mL乙醚的混合物中。将混合物转移至1000mL分液漏斗并充分摇动。将水相用另外的400mL乙醚洗涤。分离水相(pH 7-8),通过多孔玻璃漏斗(孔径3)过滤至500mL烧瓶中,并用浓盐酸酸化至pH 4。将混合物转移到八个50mL Falcon管(各~40mL)中,然后在4℃在冰箱中储存过夜。将混悬液离心(3220rpm/30min),通过移液管除去上清液,并将残余物冻干。收率:(4.195g/175%,理论值:2.393g)。将固体溶于275mL甲醇中,然后加入75mL四氢咪喃,并将混合物在5℃储存3天。将溶剂在真空下去除至~150mL,然后加入60mL四氢咪喃,形成白色沉淀,将其过滤,并用20ml四氢咪喃/甲醇(1:1)洗涤。从滤液中分离(C),为白色固体。收率:3g。

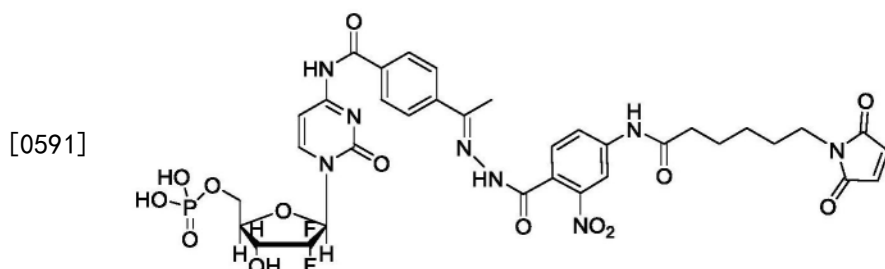
[0587] 连接基(A)的合成



[0589] 将4-氨基-2-硝基苯甲酸(4.62g,25.36mmol)与在120mL 1:2的二甲基甲酰胺/二氯甲烷-混合物中的胍基甲酸叔丁酯(5.04g,38.14mmol)、HOBt水合物(5.297g,34.6mmol)和EDC(4.84g,25.25mmol)一起在冰浴中搅拌15min,然后在室温搅拌过夜。TLC(CHCl₃/甲

醇,9:1)显示26h后反应完成。将粗制的产物经硅胶柱色谱纯化,得到纯化合物,为黄色泡沫状物质(6.2g,82%)。在250mL烧瓶中,将胍基甲酸4-氨基-2-硝基酯(2.827g,9.54mmol)溶于80mL四氢呋喃中。向搅拌的溶液中加入溶解在30mL四氢呋喃中的6-马来酰亚胺基己酰氯(2.41g,10.5mmol)。用滴液漏斗历经1小时向混合物中滴加与40mL THF混合的三乙胺(1.455mL,10.5mmol)。将得到的浅棕色混悬液在室温搅拌15h。TLC(CHCl₃/甲醇,9:1)显示反应完成。将粗制的产物经硅胶快速色谱(CHCl₃/甲醇,9:1)纯化,得到纯产物,为黄色固体(3g,64%)。将产物(3g,6.13mmol)混悬于10mL二氯甲烷中,并在冰浴中冷却。使用滴液漏斗历经30分钟将10mL三氟乙酸滴加到冷却的搅拌混合物中。3h后,黄色溶液的TLC(CHCl₃/甲醇,9:1)显示BOC基团完全裂解。通过减压除去所有溶剂,并将残余物在高真空下干燥过夜。将残余物溶于中最少量的四氢呋喃中,并在二异丙基醚和正己烷的1:1混合物中沉淀,然后在5°C储存过夜。通过离心分离奶油色沉淀物,用乙醚洗涤,并在高真空下干燥,得到2.5g(81%)连接基A,为米黄色固体。

[0590] 化合物15的合成



[0592] 将(C)溶于(2x375mg(1.226mmol)30mL无水甲醇中,分别置于两个50mL Falcon管中),离心(3220rpm,10min),将上清液中加入混悬于250mL烧瓶中的20mL无水甲醇中的连接基(A)(1.235g,2.452mmol)中。再加入40mL甲醇和2mL乙腈,并在室温搅拌淡黄色浑浊溶液。15h后,反应混合物的TLC(RP-18,乙腈/NaH₂PO₄,30:70)显示(C)完全消耗。将该混合物蒸发至~30mL,转移至50mL Falcon管中,并在5°C下储存(1h)。通过离心(3220rpm,10min)收集沉淀,将上清液(3x10mL)加入在三个50mL Falcon管中的冷二异丙基醚/异丙醇(3x30mL)的3:1混合物中,在5°C储存过夜。通过离心(3220rpm,15min)收集沉淀物,用5mL乙醚洗涤,在空气中和高真空下干燥,得到903mg(理论值1.055g的85.6%)化合物15,为黄色固体。将粗制的产物合并在一个50mL Falcon管中,用四氢呋喃(6x10-15mL)洗涤,并在每个洗涤步骤后离心(3220rpm,10min)。最后,将产物用5-10mL乙醚洗涤3次,并在空气中和高真空下干燥,得到694.4mg(66%)化合物15,为淡黄色固体。

[0593] HSA化合物15在pH7.0和5.0的pH依赖性稳定性

[0594] 在pH 7.0(磷酸盐缓冲液4mM,NaCl 150mM)的稳定性:将化合物15加入完全还原的HSA(人血清白蛋白)溶液中,并完全结合于通过HPLC验证的半胱氨酸-34位置。将获得的化合物15的HSA偶联物的200μM溶液在37°C温育,且每小时通过HPLC进行分析。每小时释放约0.18%的(C)。在pH 5.0(磷酸盐缓冲液4mM,NaCl 150mM,用1M HCl调节)的稳定性:在pH 7.0制备化合物15的HSA偶联物(参见上文),并通过加入1M HCl调节至pH 5.0。将获得的化合物15的HSA偶联物的200μM溶液在37°C下温育,且每小时通过HPLC进行分析。(C)释放的半衰期(t_{1/2})为约13小时。

[0595] 方法B:化合物15的制备。化合物15可以通过以下备选方法制备。

[0596] 4-乙酰基-N-(1-((2R,4R,5R)-3,3-二氟-4-羟基-5-(羟基甲基)-四氢呋喃-2-基)-2-氧代-1,2-二氢嘧啶-4-基)苯甲酰胺(B)的合成

[0597] 4-乙酰基苯甲酸2,5-二氧化吡咯烷-1-基酯的合成:在氮气氛下,向4升三颈圆底烧瓶中加入4-乙酰基苯甲酸(1.0当量,487.8mmol,80.00g)、N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)(1.1当量,536.6mmol,61.75g)和无水THF(1.80L)。使用IKA Eurostar数字顶置式搅拌器(功率控制在190rpm)以恒定速度搅拌反应溶液的内容物。将该溶液使用冰浴冷却(60min)。然后在氮气下,在搅拌下滴加N,N'-二环己基碳二亚胺(DCC)(1.1当量,536.6mmol,110.71g)在无水THF(720mL)中的溶液(历经90分钟)(将加料漏斗用无水THF洗涤,2x5mL)。加入DCC约30分钟后,由于形成为白色沉淀的N,N'-二环己基脲(DCU),该反应混合物变混浊。将该反应混合物在0℃再搅拌2小时,同时将冰继续加入到冰浴中。然后将该反应混合物缓慢温至室温而不除去冰浴,反应直至HPLC分析显示25小时30分钟后羧酸完全消耗。抽滤除去固体物质。将固体用干燥的THF(4x100mL)洗涤,并将合并的级分在40℃真空蒸发至干。将残余物溶于干燥的二氯甲烷(400mL)中,并将该溶液在4℃储存15h,然后再次过滤。将固体用预冷的无水二氯甲烷(2x20mL)冲洗。在真空下在30℃除去溶剂,将残余物再溶于干燥的DCM(750mL)中,并将有机层用冷的5%NaOH水溶液(2x400mL)洗涤。将有机层用蒸馏水(400mL)洗涤,然后经硫酸钠(~20g)干燥,抽滤,并在真空下在30℃浓缩,得到标题化合物。将该化合物高真空干燥24h,得到(100.2g,79%),为米白色固体(HPLC_{250nm}>95.9%)。

[0598] (B)的合成:将吉西他滨(1.0当量,76.02mmol,20.00g)加入THF(532mL)中,并一次性加入蒸馏水(45.6mL)以形成精细的混悬液,其在回流(67℃)5min后变为澄清溶液。然后,通过套管历经6min滴加4-乙酰基苯甲酸2,5-二氧化吡咯烷-1-基酯(1.05当量,79.82mmol,20.84g)在THF(229mL)中的溶液。加完后,将该反应混合物在回流(67℃)下搅拌16h。16h后,HPLC(PDA266nm)和LC-MS分析显示约20%未反应的原料吉西他滨。根据HPLC分析(PDA266nm),反应溶液含有53.8%的产物、33.6%总极性杂质和12.6%总非极性杂质。该批次产物的纯化采用粗产物的连续和选择性洗涤步骤以除去任何不需要的极性和非极性杂质。该方法包括使用不同溶剂的浆体洗涤步骤,所述溶剂选择性地溶解极性和非极性杂质,其中产物理想地不溶解或仅微溶。因此,16h后,使淡黄色的反应溶液达到室温,并在40℃真空蒸发溶剂,得到粘性残余物。

[0599] 纯化的第一步是通过用水洗涤除去极性杂质,然后过滤并进一步用水洗涤。因此,将水(300mL)加入到上述粗产物中,并将烧瓶中的内容物在室温(30分钟)研磨直至得到精细的白色混悬液。然后将得到的混悬液在50℃搅拌15分钟,通过过滤漏斗(Por.4)过滤,并用水(2x25mL)洗涤,得到无定形固体(固体1),将其在真空下干燥15小时,得到26.34g。该固体(固体1)的HPLC分析(266nm)显示纯度为91.9%,总计有3.7%的极性杂质和4.4%的非极性杂质。

[0600] 纯化的第二步是通过用水和氯仿的混合物(2:1,v/v)进行浆体洗涤从固体1中除去非极性杂质和剩余的极性杂质。因此,将水(200mL)倾入装有固体1的烧瓶中,将得到的混悬液在50℃下搅拌5分钟,使其冷却至室温(0.5小时),用氯仿(100mL)在室温形成浆体,并搅拌10分钟直至均匀。然后使混合物沉降(约5分钟),通过过滤漏斗(Por.4)过滤出非均相混合物,用冷水(2x15mL)洗涤,得到无定形固体(固体2),然后将其在高真空下干燥24h,得到标题化合物(23.60g,76%),为白色固体(HPLC(266nm)>94.21%)。过滤后的固体2的HPLC

分析(266nm)显示纯度为94.2%，总计有1.7%的极性杂质和4.1%的非极性杂质。

[0601] 化学式: $C_{18}H_{17}F_2N_3O_6$, 计算值 $[M+H]^+$ 410.12, 实测值 $[M+H]^+$ 410.15 中间体 (C) 的合成

[0602] 将磷酰氯(4.2当量, 102.6mmol, 9.59mL)加入冷的(0℃, 冰水浴)磷酸三甲酯(60mL)中, 并将澄清的溶液在0℃保持20分钟。然后分三批(3g、3g和4g)加入固体(B)(1.0当量, 24.42mmol, 10.00g)。约20分钟后, 该反应混合物变均匀并变成浅黄色, 将其保持在0℃下3.5小时。3小时后HPLC和LC-MS分析显示约99%的转换。一旦磷酸化完成(3.5h), 将该混合物通过多孔玻璃漏斗过滤, 然后滴加入冷的(0℃)剧烈搅拌的新鲜制备的饱和碳酸氢钠水溶液($NaHCO_3$)和乙醚(450mL, 300mL)的混合物中达30min。在0℃继续搅拌10分钟, 并在室温下搅拌60分钟, 直到获得澄清的水相(内部温度15℃)。

[0603] 除去有机层, 并将水层用乙醚(1x300mL)洗涤。将水相保持部分乳化, 随后加入更多的饱和 $NaHCO_3$ 以达到反乳条件。加入330mL饱和的 $NaHCO_3$ 有助于破坏乳化液滴并分离各相。在室温下搅拌合并的水性提取物(780mL), 并用浓HCl(约19mL)调节至pH 4.0, 将溶液均匀分成50mL容量的Falcon管(共16个), 并在4℃下储存2.5天。这段时间后, 形成白色固体沉淀, 在分析之前进行以下步骤:

[0604] • 将样品在10℃以4,000rpm离心20分钟。

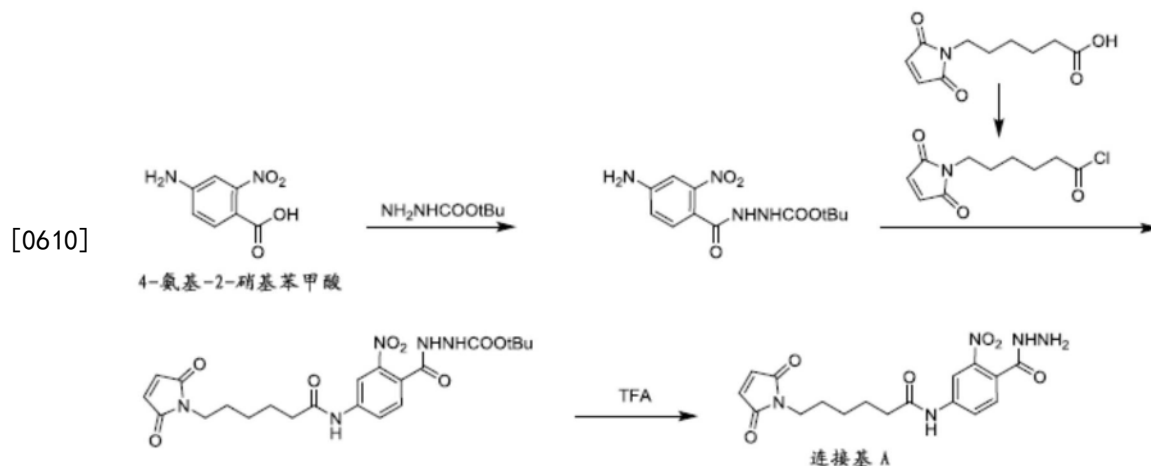
[0605] • 通过倾析除去上清液(水相), 合并, 并在50℃真空干燥, 所得固体在高真空下干燥17小时。

[0606] • 将无定形沉淀物重新溶于甲醇(400ml)中。将溶液转移到1升圆底烧瓶中, 并在40℃下真空蒸发溶剂, 得到白色固体(固体1, 10.96g), 将其进一步在高真空下干燥20小时。

[0607] 固体HPLC分析95.4%(220nm)。

[0608] 化学式: $C_{18}H_{18}F_2N_3O_9P$, 计算值 $[M-H]^+$ 488.07, 实测值 $[M-H]^+$ 488.55

[0609] 连接基(A)的合成



[0611] 2-(4-氨基-2-硝基苯甲酰基)胍-1-甲酸叔丁基酯的合成: 将4-氨基-2-硝基苯甲酸(1.0当量, 164.7mmol, 30.00g)溶于乙腈和四氢呋喃(1:1; 720mL)的混合物中, 并用盐冰浴冷却至6℃, 然后加入胍基甲酸叔丁酯(1.5当量, 247.1mmol, 32.65g)、HOBt(1.1当量, 181.2mmol, 27.93g)和EDC-HCl(1.0当量, 164.7mmol, 31.64g), 并将该反应混合物在冰上搅拌90min, 然后除去冰浴, 并将该溶液在室温搅拌16h。反应混合物中最初的剩余固体在前两个小时搅拌溶解。将反应溶液搅拌16小时后, 减压除去溶剂(水浴: 40℃)。将粗品(粘稠的

深棕色油状物)溶于在二氯甲烷(600mL)中的2%的正丁醇中,用饱和的 NH_4Cl (2x600mL)、饱和的 NaHCO_3 (1x600mL)和蒸馏水(1x600mL)洗涤。将有机层然后经硫酸钠 Na_2SO_4 (200g)干燥。减压除去溶剂(水浴:40℃),得到标题化合物,为棕色泡沫状物质(根据HPLC(220nm)纯度:98.4%;收率:30.42g(62%)。化学式: $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_5$,计算值 $[\text{M}+\text{Na}]^+$:319.10,实测值 $[\text{M}+\text{Na}]^+$:319.08。

[0612] 6-马来酰亚氨基己酰氯的合成:在室温、搅拌下将干燥的二氯甲烷(250mL)一次性地加入到一个装有6-马来酰亚氨基己酸(1.0当量,236.6mmol,49.97g)的1升的单颈圆底烧瓶中,产生黄色溶液。通过滤纸(MN 617¹/₄, ϕ 185 mm)过滤除去少量不溶性杂质,然后用干燥的DCM(25mL)冲洗。在搅拌反应溶液的同时,在室温通过滴液漏斗(历经2小时)向该溶液中滴加草酰氯(1.1当量,259.6mmol,22.50mL)。注意:在加入过程中观察到气体逸出。将反应混合物在室温下搅拌,并使其反应直至HPLC分析显示7h 30min后6-马来酰亚氨基己酸完全消耗。在反应时间内反应溶液的颜色变成深黄色。在草酰氯完全加入5h 30min后,将溶剂在30℃下真空除去。然后将得到的暗黄色油状物在高真空下干燥20小时。将得到的淡棕色固体用刮刀压碎,并在高真空下干燥另外20小时,得到(53.35g,98%)浅棕色固体(HPLC(220nm)>97.6%,为甲酯)。

[0613] Boc-保护的连接基A的合成:在室温将6-马来酰亚氨基己酰氯(1.1当量,216.6mmol,49.70g)在干燥的THF(382mL)中的溶液一次性加入2-(4-氨基-2-硝基苯甲基)胍-1-甲酸叔丁基酯(1.0当量,196.9mmol,58.34g)在干燥的THF(580mL)中的溶液中。将澄清的反应混合物在室温搅拌10min。然后通过滴液漏斗(历经1小时)滴加DIPEA(1.1当量,216.6mmol,37.7mL)在干燥的THF(120mL)中的溶液,同时在室温适度搅拌。如HPLC所示完成反应后,将反应混合物在4℃储存14小时。然后减压除去溶剂,得到深棕色粘稠油状物,然后在室温使用KL 2振荡器(约150rpm;Edmund Bühler GmbH,Hechingen,德国)振荡10min,将其溶于DCM(450mL)中。将该溶液转移到2L分液漏斗中,并用另外的DCM(450mL)冲洗圆底烧瓶,然后将其加入到分液漏斗中。有机相依次用5% HCl (900mL)、饱和 NaHCO_3 水溶液(900mL)和1M NaH_2PO_4 (900mL)洗涤。水处理后,将有机相经 Na_2SO_4 干燥。减压除去溶剂,并将残余物在高真空下干燥16h,得到标题化合物(79.25g),为浅棕色泡沫状物质。将粗制的产物经快速色谱进一步纯化,得到31.21g,HPLC纯度为99.6%(220nm)。化学式: $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_8$,计算值 $[\text{M}+\text{Na}]^+$:512.18,实测值 $[\text{M}+\text{Na}]^+$:512.04。

[0614] 连接基A的合成:将保护的连接基(1.0当量,30.60mmol,15.06g)置于250mL单颈圆底烧瓶中,并在冰浴中预冷10分钟。在用磁力搅拌棒搅拌下(250rpm),一次加入预冷的TFA(26当量,784mmol,60mL)。在冰浴冷却下将混合物进一步搅拌45分钟,直到HPLC分析表明受保护的连接基完全消耗。由于发现在室温或更高温度下除去TFA导致连接基A的二聚化,因此在高真空下在低温(冰浴)下除去TFA。为了便于去除TFA,选择甲苯作为夹带剂。在0℃下将甲苯(30mL)加入到反应溶液中,然后在0℃在高真空下除去TFA-甲苯混合物(注意:1)小心控制高真空,2)不搅拌溶液以避免它的快速转移至阱)。使用液氮冷却的空的颈圆底烧瓶(500mL)作为冷凝的TFA和甲苯的另外的冷阱。在去除TFA的过程中,混合物不时冒出,部分溶液溢出到连接管内。30分钟后,除去大部分TFA-甲苯混合物,得到油状残余物。为了进一步除去TFA,将另外30mL甲苯加入到烧瓶中,如上所述除去TFA。80分钟后,再加入20毫升甲苯后重复该过程。110分钟后,除去另外的冷阱,并将蜡状物质直接连接到高真空系统。3

小时30分钟后,除去冰浴,将油状残余物在室温下再干燥30分钟,得到泡沫状物质。将泡沫状残余物溶于N,N-二甲基甲酰胺DMF (30mL)中,通过在室温在剧烈搅拌下将DMF溶液滴加至二异丙醚/甲醇(45:5,1.5L)中来沉淀产物。再用2毫升DMF冲洗反应烧瓶。通过抽吸经多孔玻璃漏斗(Por.4)过滤沉淀,并将产物(滤饼)用二异丙基醚(3x200mL)洗涤而不使滤饼干燥。在用200mL正戊烷进行最后的洗涤步骤之后,将滤饼吸干。将淡黄色固体收集在烧瓶中,并在高真空下干燥18小时。将产物储存在-20℃。收率:10.94g (91.8%)。纯度(三次测量的平均值):99.0% (220nm),98.7% (247nm)。计算值[M+H]⁺390.14,实测值[M+H]⁺390.12。

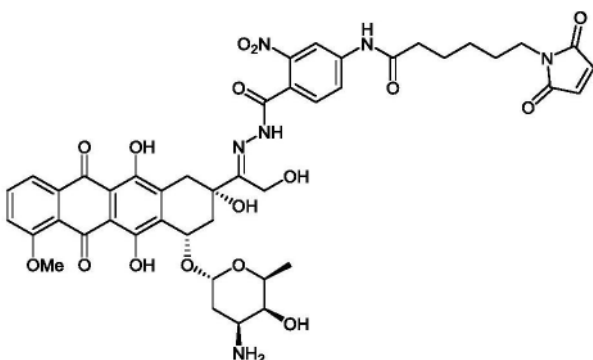
[0615] 化合物15的合成

[0616] 将吉西他滨衍生物(C) (1.0当量,9.29mmol,4.55g)混悬于无水甲醇(68.9mL)中,然后加入无水DMSO(45.9mL),并将澄清的透明溶液在室温搅拌5分钟。此阶段后,分三批加入连接基(A) (1.0当量,9.29mmol,3.62g),然后加入1.0当量的TFA。反应混合物变成浅黄色,并将其在室温搅拌。一旦通过HPLC(220nm)和LC-MS分析证实反应完成(4h),将混合物在2-3分钟内在剧烈搅拌下滴加至冷却的(0℃)新鲜制备的1:3的叔丁基甲醚和异丙醇(600mL)的混合物中。在0℃继续搅拌10分钟(内部温度:5℃)。过滤沉淀物,用冷THF洗涤四次,转移到新的多孔玻璃漏斗中,用冷的叔丁基甲基醚(1x100mL,4℃)浆化。将该最终的无定形沉淀转移至250mL圆底烧瓶中,并在高真空下干燥20小时,得到标题化合物15,为浅色固体(4.52g)。HPLC分析96.2% (220nm),化学式:C₃₅H₃₅F₂N₈O₁₄P,计算值[M-H]⁺859.19,实测值[M-H]⁺859.40。

[0617] 实施例7

[0618] 化合物16的制备

[0619]



[0620] 在剧烈搅拌下,在室温将80mg多柔比星·HCl(138μmol)和139mg连接基A(276μmol;2当量)溶于20mL无水甲醇中。将反应物搅拌4小时。用105mL异丙醇和二异丙基醚的2:1的混合物进行沉淀,将反应物在-20℃保存过夜。将红色沉淀物离心(3200x g,10min),并弃去,将上清液转移到新鲜容器中。用150mL二异丙基醚再次使上清液沉淀并在-20℃贮存过夜。将红色沉淀离心,并用8mL乙腈洗涤两次,并用40mL异丙醇/二异丙基醚的1:3的混合物洗涤一次。然后将所得产物在高真空下干燥,得到化合物16,为红色固体。产量:53.9mg (40%)。

[0621] 化合物16的HAS偶联物在pH7.0和5.0的稳定性

[0622] pH 7时的稳定性(磷酸盐缓冲液4mM NaCl 150mM):

[0623] 将化合物16加入完全还原的HSA(人血清白蛋白)溶液中,并通过HPLC确认与半胱氨酸-34位置完全结合。将获得的化合物16的HSA偶联物的200μM溶液在37℃下温育,并且每

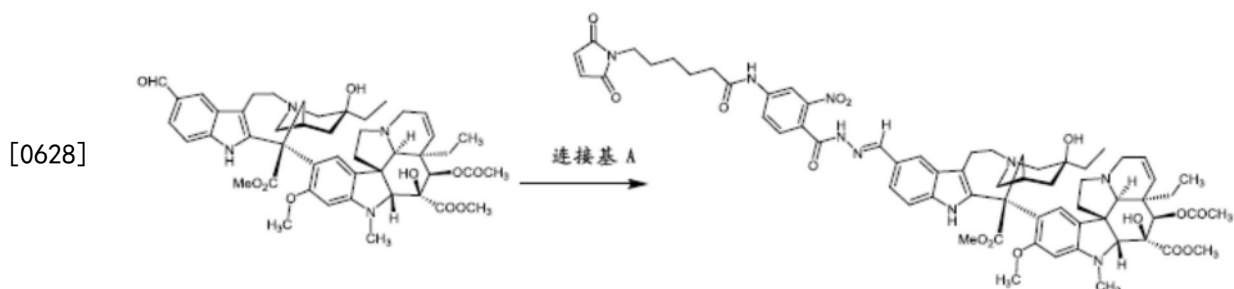
小时用HPLC分析。

[0624] 每小时仅释放0.36%的游离多柔比星。

[0625] pH 5的稳定性(磷酸盐缓冲液4mM、氯化钠150mM和乙酸钠缓冲液50mM):在pH 7制备化合物16的HSA偶联物(参见上文),加入醋酸钠缓冲液(50mM)以调节pH值为5.0。将得到的化合物16的HSA偶联物的200 μ M溶液在pH 5.0在37 $^{\circ}$ C温育,并每小时用HPLC分析。多柔比星释放的半衰期为约9h。

[0626] 实施例8

[0627] 基于连接基A的长春碱前药的合成



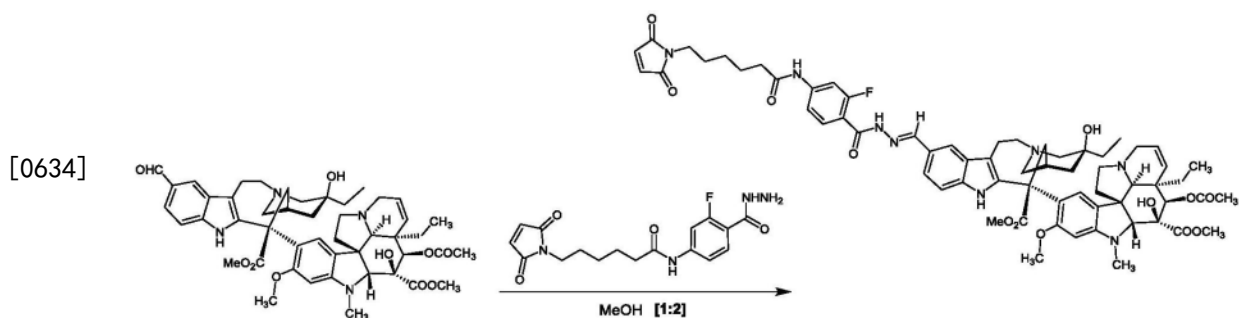
[0629] 按照W0 2005/055939 A2中公开的方法由长春碱和六亚甲基四胺制备12`-甲酰基长春碱。在剧烈搅拌下,将12`-甲酰基长春碱(320mg,336 μ mol)和连接基A(172.3mg,442.5 μ mol;1.31当量)溶于在50mL反应管中的干燥的MeOH(32mL)中。2小时后,加入二异丙醚(34mL)使反应结束,将溶液在-20 $^{\circ}$ C保存2小时。少量杂质沉淀,将其离心并弃去。向上清液中加入正己烷/二异丙基醚的混合物(20mL,50:50),并在-20 $^{\circ}$ C储存16h。将沉淀离心,溶解于1mL CHCl₃/MeOH(90:10)中,并从20mL正己烷/二异丙基醚(50:50)再沉淀,离心,用8mL AcN/乙醚(1:3)洗涤,并再次离心。将产物溶于5mL CHCl₃/MeOH(99:1)中,从20mL正己烷/二异丙基醚(50:50)中再沉淀,并离心。该洗涤步骤重复两次。之后,将产物在高真空下干燥,得到白色固体。

[0630] 收率:253mg(57%),纯度HPLC:90.1%(220nm)93.0%(310nm)

[0631] 化学式:C₆₄H₇₅N₉O₁₅,计算值[M+H]⁺:1210.55,实测值[M+H]⁺:1210.42

[0632] 实施例9

[0633] 基于连接基B的长春碱前药的合成



[0635] 根据W0 2005/055939 A2中公开的方法由长春碱和六亚甲基四胺制备12`-甲酰基长春碱。

[0636] 将12`-甲酰基长春碱(300mg,315 μ mol)和连接基B(153mg,321 μ mol;1.02当量)溶于干燥的MeOH(25mL)中,并在室温搅拌。1h后,通过加入正己烷/二异丙醚(23mL,50:50)使反应结束,并将该溶液在-20 $^{\circ}$ C储存4h。少量杂质沉淀,离心并弃去。然后向上清液中加入二

异丙醚 (20mL), 并在 -20°C 储存 2h。

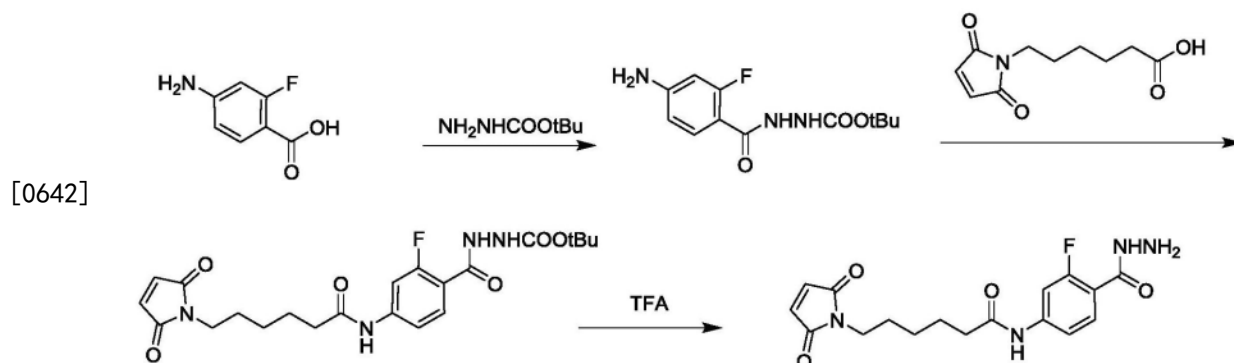
[0637] 将沉淀离心, 溶于 1mL $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (99:1) 中, 并从 20mL 正己烷/二异丙醚 (50:50) 中再沉淀, 离心, 用 10mL $\text{AcN}/\text{乙醚}$ (1:3) 洗涤, 并再次离心。

[0638] 将产物溶于 5mL $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (90:1) 中, 从 20mL 二异丙基醚中再沉淀, 离心, 并在高真空下干燥, 得到白色粉末。

[0639] 收率: 251mg (63%), 纯度 HPLC: 90.1% (220nm) 94.0% (310nm)

[0640] 化学式: $\text{C}_{64}\text{H}_{75}\text{FN}_8\text{O}_{12}$, 计算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$: 1183.55, 实测值 $[\text{M}+\text{H}]^+$: 1183.45

[0641] 连接基 B 的制备



[0643] 向 4-氨基-2-氟苯甲酸 (8.1g, 52.22mmol)、胍基甲酸叔丁酯 (8.28g, 62.66mmol) 和 N-甲基吗啉 (14.35ml, 130.54mmol) 在四氢呋喃 (25ml) 和 EtOAc 7 (5ml) 中的溶液中, 通过漏斗滴加 1.67M T3P (50%, 在乙酸乙酯中, 40.65ml)。将该混合物在室温搅拌 16h。加入水, 并将有机层用饱和的 KHCO_3 和水洗涤, 经 MgSO_4 干燥, 过滤, 并在真空下浓缩。将粗制的产物在 MTBE 中研磨, 过滤, 并在真空下干燥, 得到 9.7g (69%) 2-(4-氨基-2-氟苯甲酰基) 胍甲酸叔丁基酯, 为白色固体。化学式: $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{FN}_3\text{O}_3$, 计算值 $[\text{M}-\text{H}]^+$: 268.11, 实测值 $[\text{M}-\text{H}]^+$: 268.00。

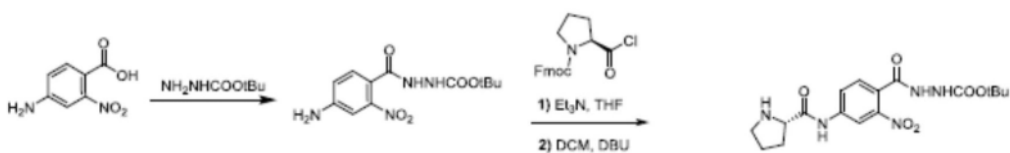
[0644] 向 2-(4-氨基-2-氟苯甲酰基) 胍甲酸叔丁基酯 (9.68g, 35.94mmol)、6-马来酰亚胺氨基己酸 (6.6g, 31.25mmol) 和 N-甲基吗啉 (8.59ml, 0.08mol) 在四氢呋喃 (40ml) 和 EtOAc (120ml) 中的溶液中加入 1.67M T3P (50%, 在乙酸乙酯中, 24.32ml), 并将该混合物在 60°C 搅拌 48h。加入水和 EtOAc, 并将有机层用饱和的 KHCO_3 、水和盐水洗涤, 经 MgSO_4 干燥, 过滤, 并在真空下浓缩。将粗品经柱色谱使用 1:1 至 1:2 的正己烷:EtOAc 作为洗脱剂纯化。将得到的固体在 MTBE 中研磨, 得到 7.5g (51.9%, 纯度 >98%) N-Boc-0-氟连接基, 为白色固体。化学式: $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{FN}_4\text{O}_6$, 计算值 $[\text{M}-\text{H}]^+$: 461.18, 实测值 $[\text{M}-\text{H}]^+$: 461.00。

[0645] 在 0°C 向 N-Boc-0-氟连接基 (7g, 15.14mmol) 在二氯甲烷 (40ml) 中的混悬液加入 TFA (40.54ml, 0.53mol)。将该混合物在 0°C 搅拌 15min, 并在室温搅拌 15 分钟。在真空下在 0°C 除去溶剂。将粗制的产物在 MTBE/DCM 7:1 中研磨。将固体过滤, 并在真空下干燥, 得到 6.5g (90.1%) 0-氟马来酰亚胺连接基, 为白色固体。HPLC 纯度 96.8% (220nm)。化学式: $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{FN}_4\text{O}_4$, 计算值 $[\text{M}-\text{H}]^+$: 361.13, 实测值 $[\text{M}-\text{H}]^+$: 361.10。

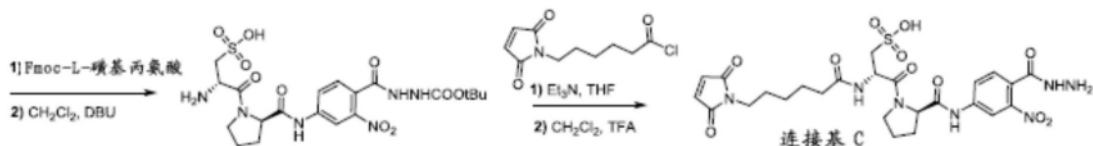
[0646] 实施例 10

[0647] 连接基 C 的制备。

[0648] 本发明的连接基可以通过下面所示的流程中描述的方法制备。



[0649]



[0650] **fmoc-L-脯氨酰氯的合成**:将Fmoc-L-脯氨酸(250mg,0.74mmol)溶于 CH_2Cl_2 (4mL)中。加入亚硫酸氯(800 μL ,10.36mmol),并将溶液在回流下搅拌3小时,在监测下通过用作为稀释剂的甲醇淬灭,随后TLC发现形成甲醇加合物(CH_2Cl_2 :MeOH;9:1)。随后将反应真空干燥,得到250mg粗品,然后将其用于随后的反应中而无需进一步纯化。

[0651] **2-(2-硝基-4-(吡咯烷-2-甲酰氨基)苯甲酰基)胍-1-甲酸叔丁基酯的合成**:向2-(4-氨基-2-硝基苯甲酰基)胍-1-甲酸叔丁基酯(104mg,0.35mmol)在THF(2mL)中的溶液中,加入(S)-2-(羰基)吡咯烷-1-甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(250mg,0.70mmol)在THF(2mL)中的溶液,随后滴加三乙胺(49 μL ,0.35mmol)在THF(200 μL)中的溶液。搅拌12小时后,TLC(CHCl_3 /丙酮,7:3)显示原料完全转化。将该反应混合物过滤,并在真空下通过旋转蒸发干燥。然后经Biotage FCC用甲醇和氯仿梯度洗脱纯化得到的油状物,得到279mg的浅色固体。

[0652] 向前面的固体在无水 CH_2Cl_2 (2mL)中的溶液中加入DBU(10%,200 μL),并将混合物在室温搅拌30分钟。通过LC/MS监测反应直至原料被消耗。通过旋转蒸发将反应混合物真空干燥。然后经Biotage FCC用甲醇和氯仿梯度洗脱纯化得到的油状物,得到标题化合物,为棕色固体(63mg,产率46%,2步骤)。化学式: $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_6$,计算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$:394.17,实测值 $[\text{M}+\text{NH}]^+$:394.14。

[0653] **((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基(磺基)-D-丙氨酸的合成**:将L-磺基丙氨酸(500mg,2.95mmol)混悬于10% Na_2CO_3 水溶液(17.5mL)和1,4-二噁烷(7.5mL)的混合物中,并在冰浴中冷却。通过微热将N-芴基甲氧基羰基琥珀酰亚胺(1.19g,3.54mmol)溶于1,4-二噁烷(12.5mL)中,在有效搅拌下经由滴液漏斗经由30分钟加入该溶液。将该反应混合物搅拌过夜,并在真空下除去有机溶剂。将该混悬液用 H_2O (10mL)稀释,用叔丁基甲醚($2 \times 10\text{mL}$)洗涤,并将水相用浓HCl酸化至pH 3.0。将该溶液冻干,得到1.02g fmoc-磺基丙氨酸,为白色吸湿性固体。将该固体未经进一步纯化而使用。化学式: $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{NO}_7\text{S}$,计算值 $[\text{M}-\text{H}]^+$:390.06,实测值 $[\text{M}-\text{H}]^+$ =390.07。

[0654] **(R)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-((S)-2-((4-(2-(叔丁氧基羰基)胍-1-羰基)-3-硝基苯基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3-氧代丙烷-1-磺酸的合成**:在火焰干燥的烧瓶中,将fmoc-L-磺基丙氨酸(96mg,0.30mmol)溶于无水DMSO: CH_2Cl_2 :DMF的混合物(1:1:1,3mL)中。加入HATU(114mg,0.30mmol),随后加入HOAt(41mg,0.30mmol)。5min后,加入(S)-2-(2-硝基-4-(吡咯烷-2-甲酰氨基)苯甲酰基)胍-1-甲酸叔丁基酯(100mg,0.25mmol)在无水DMF(2mL)中的溶液,随后滴加NMM(55 μL ,0.50mmol),并将得到的溶液在室温搅拌17h。正相快速色谱(CHCl_3 :甲醇梯度)得到标题化合物(152mg,78%)。化学式:

$C_{35}H_{38}N_6O_{12}S$, 计算值 $[M-CO_2^tBu+H]^+$: 667.18 实测值 $[M-CO_2^tBu+H]^+$, 667, 11。

[0655] (R)-2-氨基-3-((S)-2-((4-(2-(叔丁氧基羰基)肼-1-羰基)-3-硝基苯基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3-氧代丙烷-1-磺酸的合成: 在0°C向(S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-((S)-2-((4-(2-(叔丁氧基羰基)肼-1-羰基)-3-硝基苯基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3-氧代丙烷-1-磺酸(152mg, 0.198mmol)在无水 CH_2Cl_2 (2mL)中的溶液中加入DBU(10%, 200 μ L), 并将该混合物在室温搅拌30min。LC-MS(在MeCN中的样品)色谱图显示原料完全转化。将有机溶剂在真空下蒸发, 得到油状残余物。通过快速色谱($CHCl_3$ /甲醇梯度; 2至95%)纯化残余物, 得到标题化合物, 为棕色固体(80.4mg, 75%收率)。化学式:

$C_{20}H_{28}N_6O_{10}S$, 计算值 $[M+Na]^+$ 567.15 实测值 $[M+Na]^+$ 567.19。

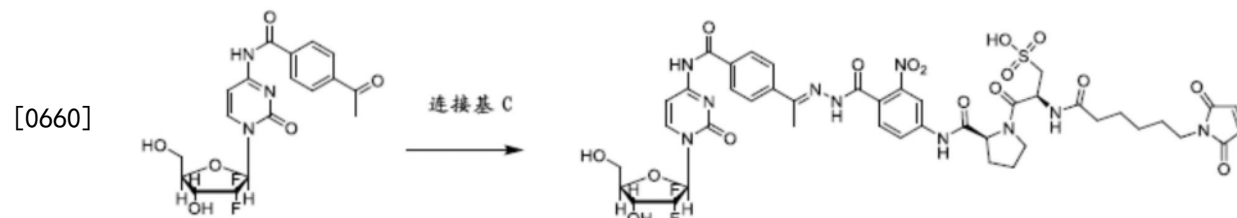
[0656] (R)-3-((S)-2-((4-(2-(叔丁氧基羰基)肼-1-羰基)-3-硝基苯基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-2-(6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰氨基)-3-氧代丙烷-1-磺酸的合成: 向(R)-2-氨基-3-((S)-2-((4-(2-(叔丁氧基羰基)肼-1-羰基)-3-硝基苯基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3-氧代丙烷-1-磺酸(80.4mg, 0.14mmol)在THF(2mL)中的溶液中一次性加入6-马来酰亚氨基己酰氯(41.0mg, 0.14mmol)在THF(1mL)中的溶液。在室温搅拌5分钟后, 历经10min滴加三乙胺(24 μ L, 0.14mmol)在THF(200 μ L)中的溶液。将该棕色溶液在室温再搅拌3h。将该反应混合物过滤, 并真空干燥, 得到棕色油状残余物。经快速色谱($CHCl_3$ /MeOH梯度, 100:0至2:98)纯化该残余物, 得到标题化合物(71mg, 65%)。化学式:

$C_{30}H_{39}N_7O_{13}S$, 计算值 $[M-CO_2^tBu+H]^+$: 638.18, 实测值 $[M-CO_2^tBu+H]^+$: 638, 02。

[0657] (R)-2-(6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰氨基)-3-((S)-2-((4-(肼羰基)-3-硝基苯基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3-氧代丙烷-1-磺酸: 向(R)-3-((S)-2-((4-(2-(叔丁氧基羰基)肼-1-羰基)-3-硝基苯基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-2-(6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰氨基)-3-氧代丙烷-1-磺酸(71mg, 0.09mmol)在 CH_2Cl_2 (1mL)中的冰冷的搅拌的溶液中, 加入TFA(293 μ L, 3.83mmol)。将该反应混合物搅拌2h, 直到LC-MS显示原料消耗。通过蒸发溶剂从反应混合物中获得所需产物, 不经进一步纯化地使用。棕色固体(91mg, 微量TFA)。LRMS(ESI) $C_{25}H_{31}N_7O_{11}S$, 计算值 $[M+H]^+$: 637.18, 实测值 $[M+H]^+$: 638.07 (M+H)。纯度: 96% (HPLC, 220nm)。

[0658] 实施例11

[0659] 吉西他滨肼的合成: (R)-3-((R)-2-((4-(2-((Z)-1-(4-((1-((2R,4R,5R)-3,3-二氟-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧代-1,2-二氢嘧啶-4-基)氨基甲酰基)苯基)亚乙基)肼-1-羰基)-3-硝基苯基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-2-(6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰氨基)-3-氧代丙烷-1-磺酸。



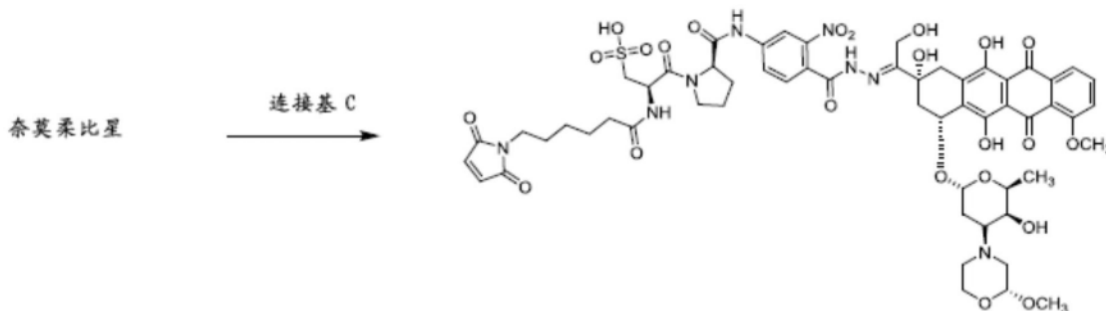
[0661] 向4-乙酰基-N-(1-((2R,4R,5R)-3,3-二氟-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧代-1,2-二氢嘧啶-4-基)苯甲酰胺(3mg, 0.071mmol)和(R)-2-(6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰氨基)-3-((S)-2-((4-(肼羰基)-3-硝基苯基)氨基甲酰基)吡

咯烷-1-基)-3-氧代丙烷-1-磺酸(5mg, 0.078mmol)在甲醇(250 μ L)中的搅拌的混悬液中加入TFA(9 μ L, 0.117mmol)。将该反应混合物搅拌3天,通过LC-MS监测。此后,将该浅色溶液在真空下浓缩。正相快速色谱(CHC13:甲醇梯度)得到标题化合物(5.6mg, 74%)。化学式: $C_{43}H_{46}F_2N_{10}O_{16}S$, 计算值 $[M+H]^+$:1028.27, 实测值 $[M+H]^+$:1029.05。

[0662] 实施例12

[0663] 奈莫柔比星脞的合成

[0664]



[0665] 将奈莫柔比星(3mg, 4.7 μ mol, 1当量)溶于干燥的MeOH(750 μ L)中,并加入在2mL反应管中的连接基C(10.5mg, 14.0 μ mol, 3当量)中。加入TFA(1.1 μ L, 2当量),并将该反应混合物搅拌过夜。在反应过程中可以观察到沉淀。

[0666] 16h后,加入MeOH(800 μ L),并将反应混合物离心(20000x g, 2min)。

[0667] 将上清液分至2个新的2-mL反应管中,并分别用1mL二异丙醚进一步沉淀。将第二沉淀离心,干燥并分析。

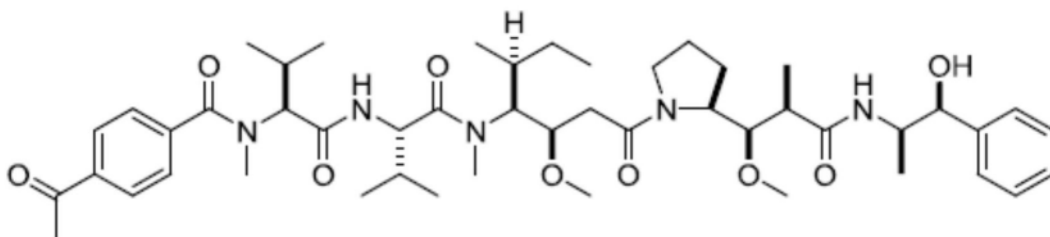
[0668] 纯度:89%(220nm) 80%(495nm)

[0669] 化学式: $C_{57}H_{66}N_8O_2S_3$, 计算值 $[M-H]^+$:1261.39, 实测值 $[M-H]^+$:1261.60

[0670] 实施例13

[0671] N-(4-乙酰基苯甲酰基)-MMAE(化合物17)的合成

[0672]

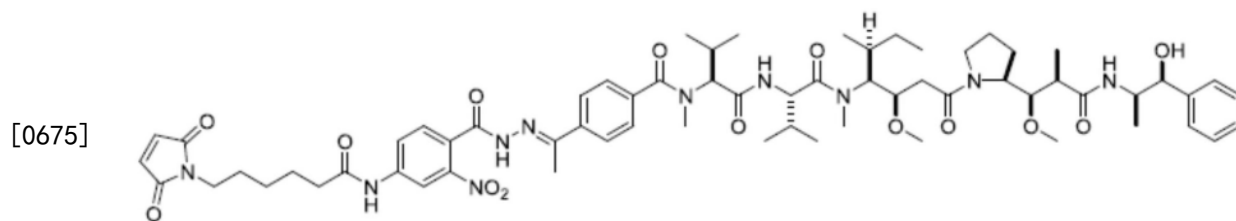


化合物 17

[0673] 将54.9mg 4-乙酰基苯甲酸(334 μ mol, 2当量)、127mg HATU(334 μ mol, 2当量)和45.6mg HOAt(334 μ mol, 2当量)溶于5mL无水DMF中,并加入36.7 μ L NMM(2当量)。将该反应混合物在室温搅拌15分钟。随后,加入120mg MMAE(167 μ mol, 1当量)和36.7 μ L NMM(334 μ mol, 2当量)在5mL无水DMF中的溶液,并在室温继续搅拌72h。将该反应混合物用40mL氯仿稀释,并用10mL 5% HCl溶液洗涤两次,用10mL饱和的碳酸氢钠溶液洗涤三次。将有机层经硫酸钠干燥,过滤,并真空除去溶剂。将残余物溶于2mL $CHCl_3$ 中,并使用快速色谱纯化(溶剂A: $CHCl_3$, 溶剂B:MeOH, 36mL/min, 柱体积(CV)=19mL, 梯度:2CV(0%B), 4CV(0至3%B), 2.4CV(3%B), 2CV(3至5%B), 3CV(5%B), 1.5CV(5至9%B), ZIP® Sphere10g, Biotage® Isolera™One)。真空干燥后,得到化合物17(115mg, 80%),为无色泡沫状物。HPLC纯度:

97.5% (220nm)。

[0674] 用马来酰亚胺连接基A (化合物18) 合成N-(4-乙酰基苯甲酰基)-MMAE的腺



化合物 18

[0676] 在50mL反应管中,向20.6mg化合物17 (23.3 μ mol, 1当量) 在3mL甲醇中的溶液中加入23.5mg马来酰亚胺连接基A (46.6 μ mol, 2当量)。随后,将3.7 μ L TFA (46.6 μ mol, 2当量) 加入稍微浑浊的反应混合物中,溶液立即变澄清。在室温搅拌4小时后,加入4mL正己烷/二异丙基醚 (1:1),随后加入16mL正己烷。将所形成的沉淀物离心 (3,220x g, 10min),溶于1mL氯仿/甲醇 (1:1) 中,并使用重复快速色谱纯化 (1. 色谱: 溶剂A: CHCl₃, 溶剂B: MeOH, 32mL/min, 柱体积 (CV) = 19mL, 梯度: 1CV (1至5%B), 2CV (5%B), 3CV (5至8%B), 4CV (8%B), 1CV (8至9%B), 6CV (9%B), ZIP®Sphere 10g, Biotage®Isolera™One, 2色谱: 溶剂A: 水, 溶剂B: 乙腈, 12mL/min, 柱体积 (CV) = 21mL 梯度: 1CV (10%B), 4CV (10至50%B), 3CV (50%B), 6CV (50至80%B) SNAP®Ultra C18 12g, Biotage®Isolera™One)。真空干燥后得到化合物 18 (17.0mg, 58%), 为无色粉末。HPLC纯度: 99.1% (220nm)。

[0677] 化合物18与曲妥单抗的偶联物 (化合物19) 的合成

[0678] 用WFI重构商购曲妥单抗 (Herceptin®, Roche), 用0.5M Tris缓冲液、25mM EDTA (4%批量体积) 将pH调节至pH 8。将mAb溶液用10mM PBS pH 7.4稀释至10mg/ml。然后, 加入2.25当量的TCEP (三-(2-羧乙基) 膦), 并将该混合物在20°C温育90min。随后, 将该混合物的NMA (N,N-二甲基乙酰胺) 含量调节至5%, 并加入5.5当量的化合物18。将该混合物在20°C温育60min。然后通过加入11当量的NAC (N-乙酰半胱氨酸) 将该反应淬灭。通过正切流动过滤 (10倍体积) 实现未结合药物的去除和缓冲液到10mM PBS pH 7.4中的交换。将该溶液浓缩, 并测定蛋白质浓度。然后用10mM PBS pH 7.4将该溶液稀释至7.2mg/mL。得到的曲妥单抗偶联物 (化合物19) 具有4.0的DAR, 通过HIC测定 (TOSOH Bioscience, 丁基-NPR 4.6mm ID x 3.5cm, 2.5 μ m; 移动相A: 3M硫酸铵, 25mM磷酸二氢钠一水合物, 在纯化水中, pH 6.95; 移动相B: 25% 异丙醇和75% 25mM磷酸二氢钠一水合物, 在纯化水中, pH pH 6.95; 流速: 0.8mL min⁻¹在25°C下18min, 使用系统梯度), 和0.41%的未结合化合物18, 通过HPLC测定 (Waters Xterra MS, C18, 3.5 μ M, 2.1x100mm, 梯度: 移动相A: 20mM醋酸铵, pH 7.0 \pm 0.1, 移动相B: 乙腈, 梯度: 0min: 70%A, 20min: 30%A, 25min: 10%A, 25.1min: 70%A, 35min: 70%A)。

[0679] 化合物19在pH4.0和pH7.4的缓冲溶液中的稳定性和释放动力学

[0680] 为了研究稳定性和释放动力学, 将偶联物化合物19在37°C在缓冲溶液中温育。因此, 使用0.5M乙酸将化合物19在磷酸盐缓冲液 (7.2mg/mL, 在10mM PBS中) 中的溶液的3mL等分试样酸化至pH 4.0, 并与未处理的3mL等分试样 (pH 7.4) 一起放置在37°C的加热块中。在适当的时间间隔后, 在两个pH下抽取样品 (50 μ L等分试样), 并储存在-20°C直到分析。在分析之前, 将样品从冷冻机中取出, 加入7 μ L 5M NaCl以及93 μ L冷却的甲醇。然后将样品在-20

℃储存30分钟,在4℃以200rpm离心60分钟。随后,将75μL上清液用75μL纯化水稀释,并将该混合物涡旋,并使用HPLC分析(Waters Xterra MS,C18,3.5μM,2.1x100mm,梯度:移动相A:20mM醋酸铵,pH 7.0±0.1,移动相B:乙腈,梯度:0min:70%A,20min:30%A,25min:10%A,25.1min:70%A,35min:70%A)。以2.00、1.00、0.50、0.30、0.20、0.10、0.05和0.01μM制备化合物17的标准曲线。在214nm处使用2.00至0.05μM的范围进行UV定量。发现化合物17是唯一的释放产物。24h后,2.7%的化合物17已经在pH 7.4从ADC释放,而在pH 4.0时,观察到39.6%的游离化合物17。

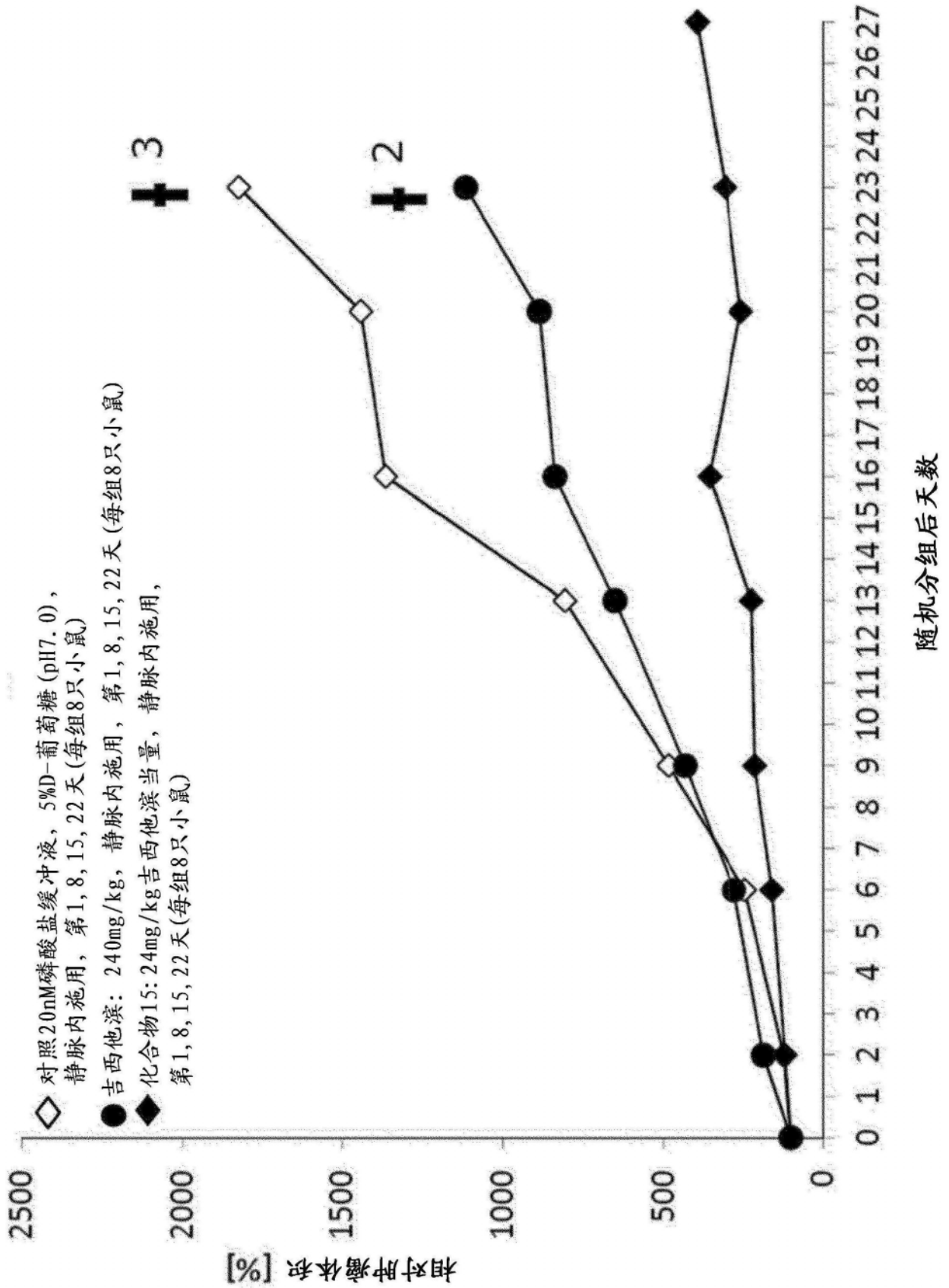


图1

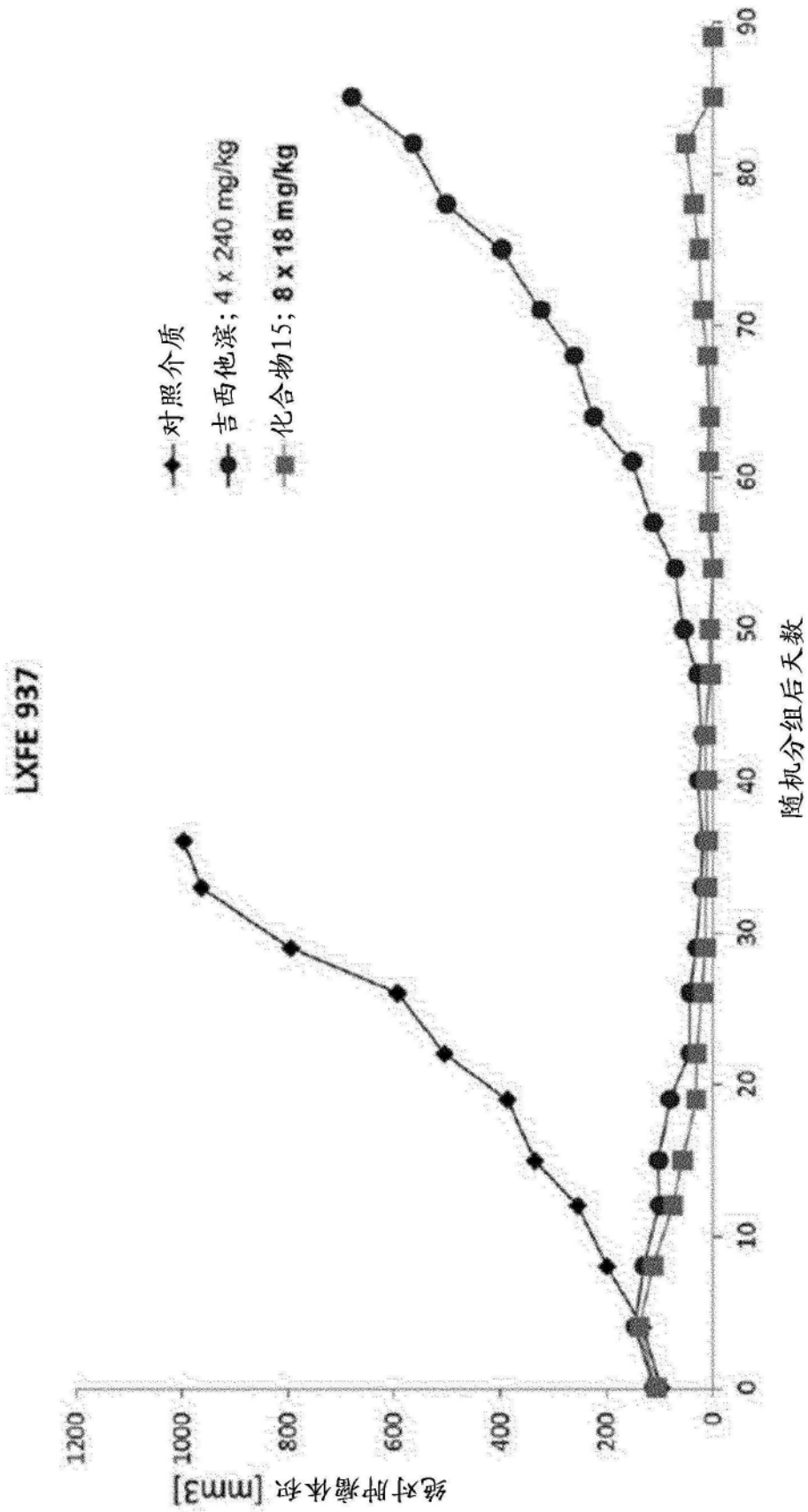


图2

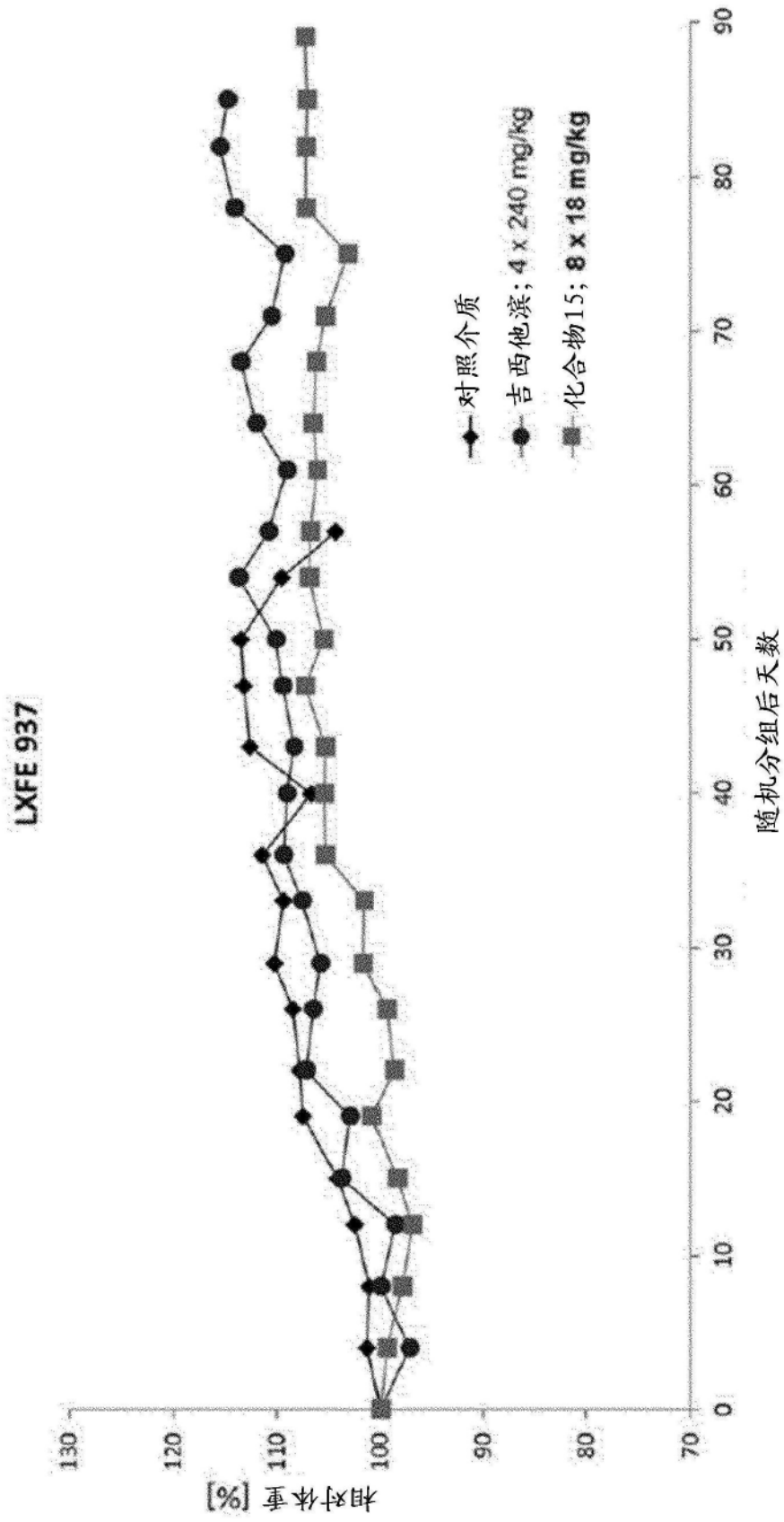


图3

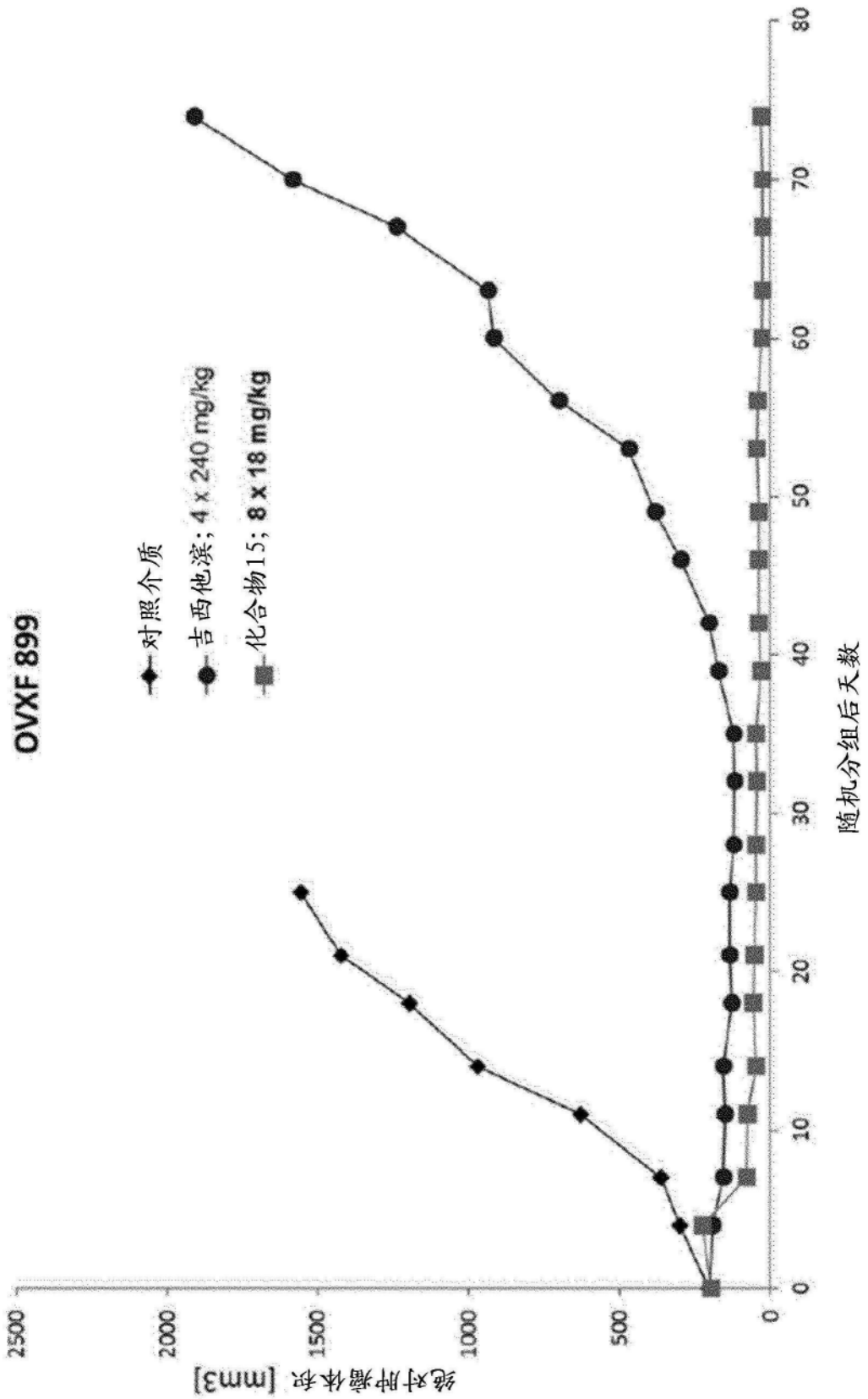


图4

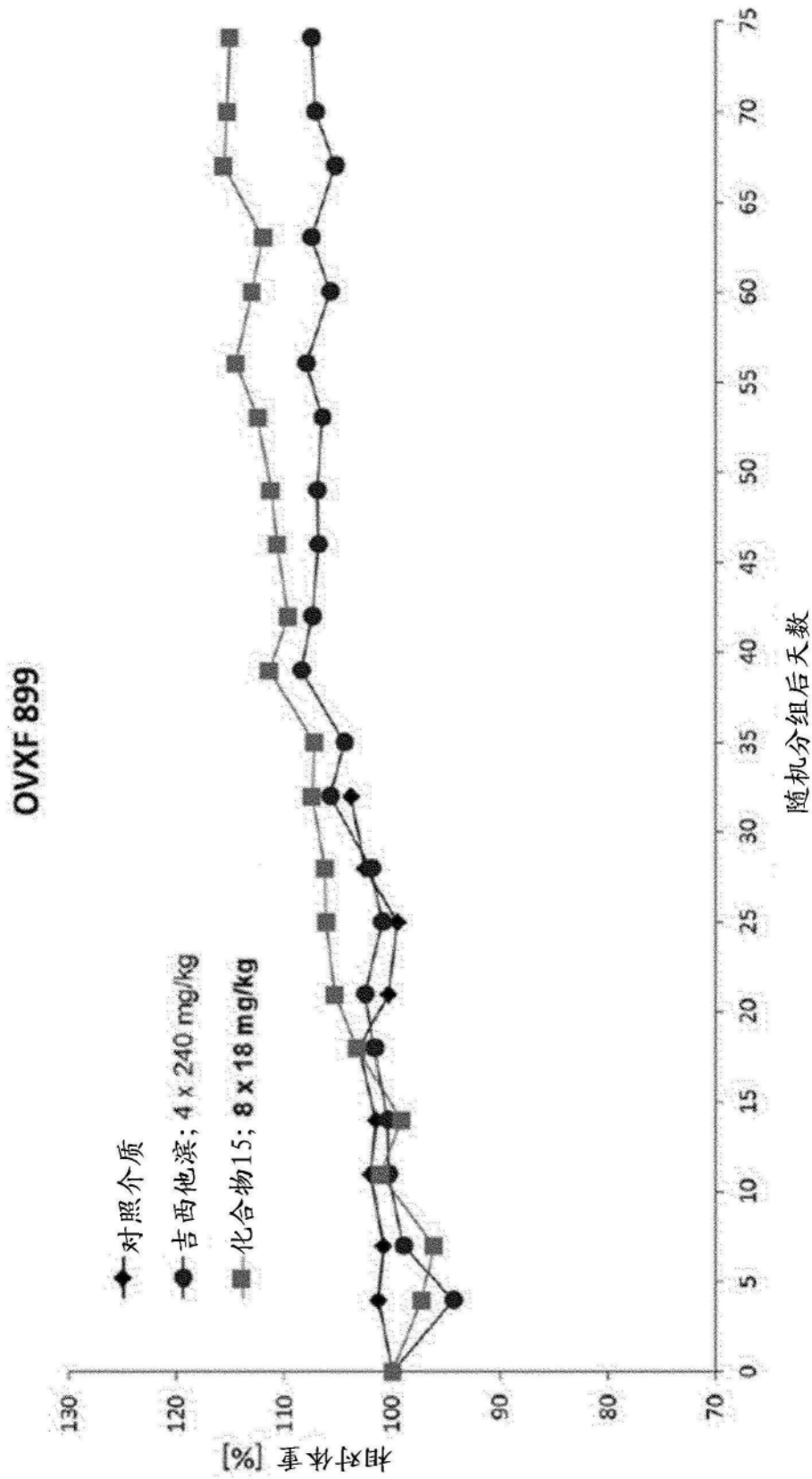


图5

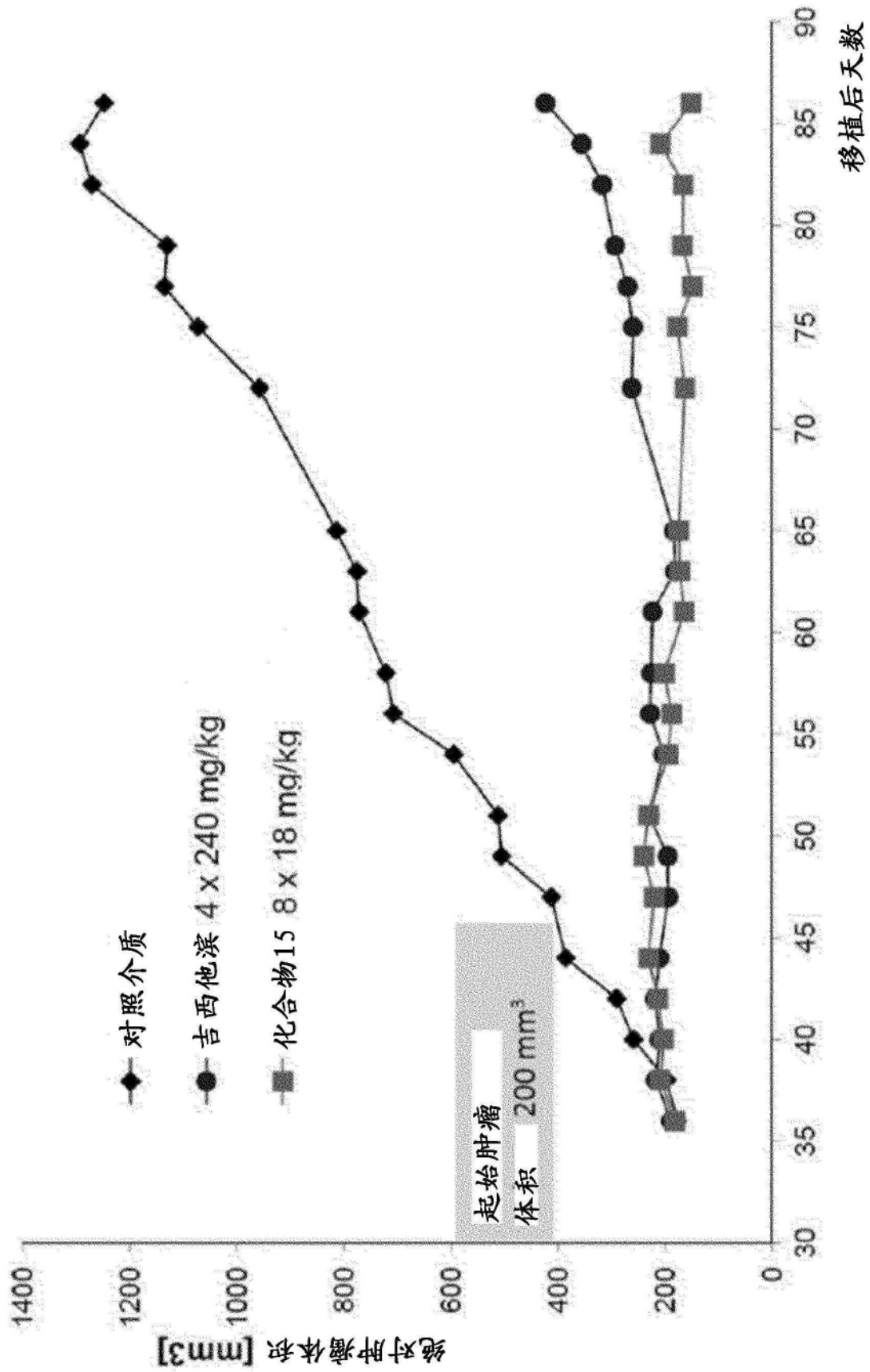


图7

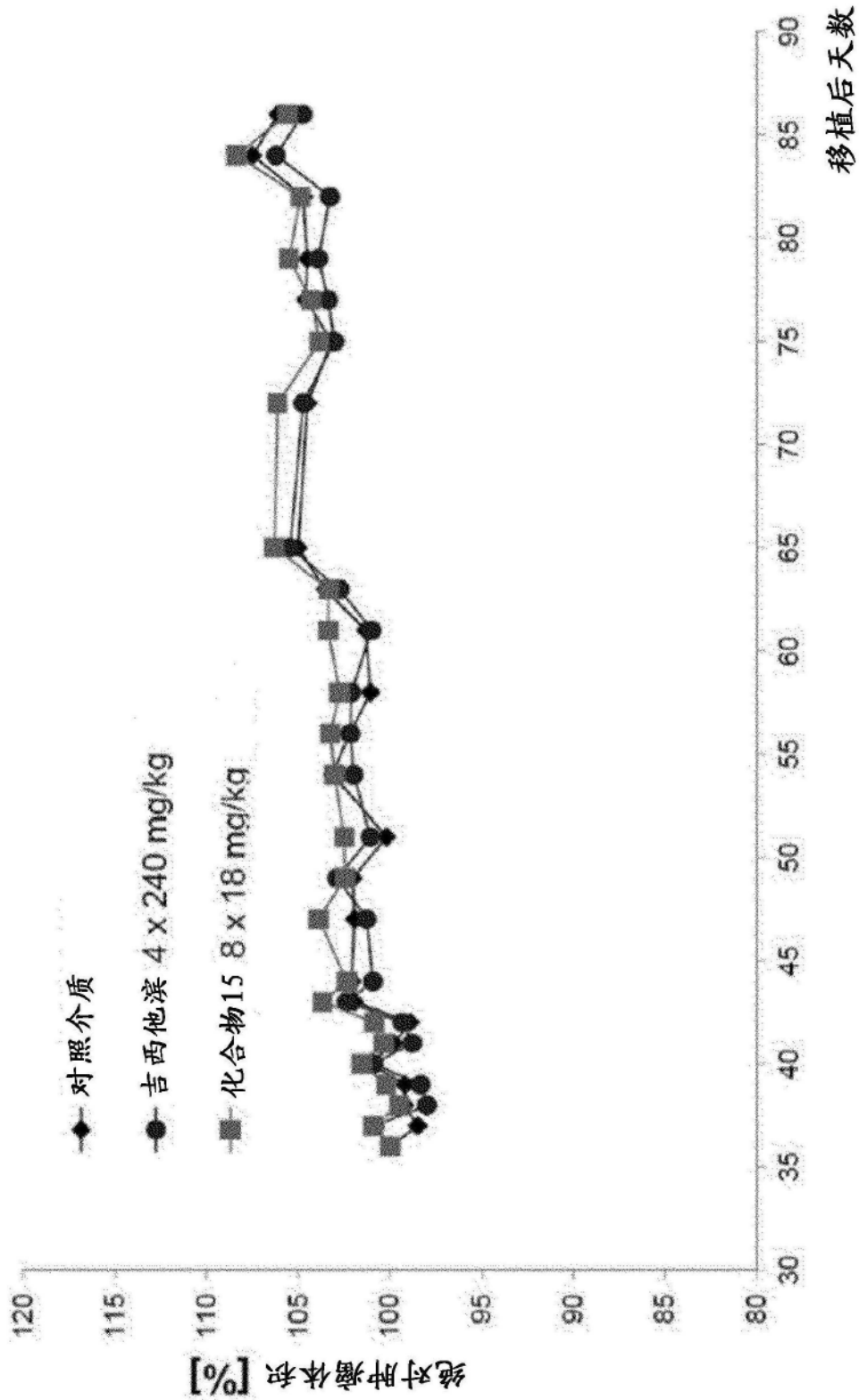


图8