(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110312531 A
(43)申请公布日 2019.10.08

(21)申请号 201880012429.9

(22)申请日 2018.02.22

(30)优先权数据
62/461983 2017.02.22 US
62/488151 2017.04.21 US
62/591823 2017.11.29 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2019.08.16

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2018/054420 2018.02.22

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2018/154004 EN 2018.08.30

(71)申请人 阿斯利康(瑞典)有限公司
地址 瑞典南泰利耶

(72)发明人 W.麦库尔 M.B.阿什福德 I.格兰特 E.J.亨尼西 J.P.塞克里斯特 D.欧文 B.凯莉 M.吉亚尼斯

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
代理人 梁谋 黄登高

(51)Int.Cl.
A61K 47/60(2006.01)
C08G 69/10(2006.01)
C08G 69/40(2006.01)
C08G 83/00(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)

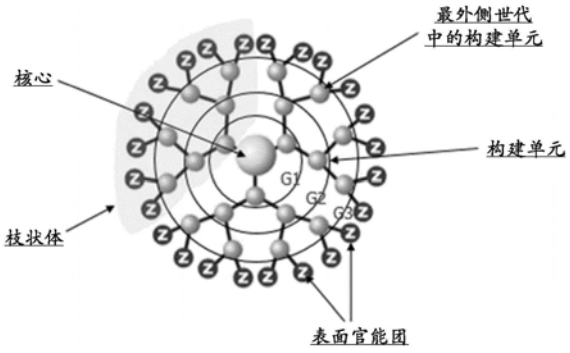
权利要求书10页 说明书88页 附图20页

(54)发明名称

治疗性树枝状体

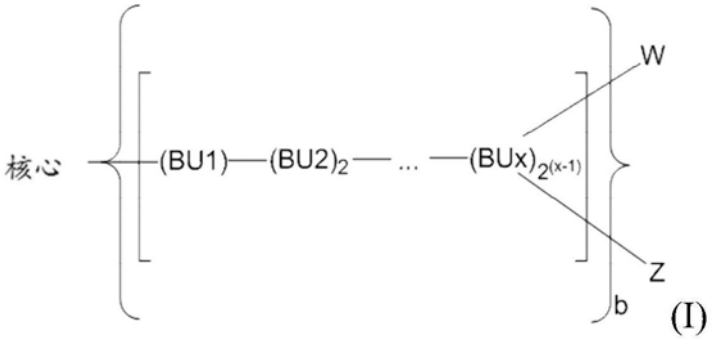
(57)摘要

披露了具有化学式(I)的树枝状体:及其药学上可接受的盐。还披露了包含具有化学式(I)的树枝状体的药物组合物及其用于治疗癌症的方法。



CN 110312531 A

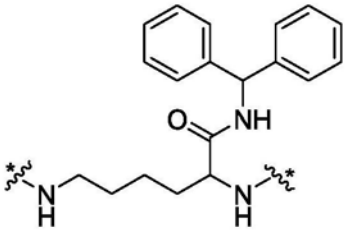
1.一种具有化学式(I)的树枝状体



(I)

或其药学上可接受的盐,其中:

核心是

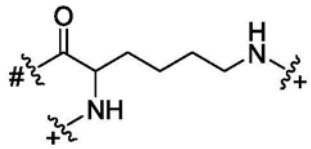


*指示至(BU1)的羰基部分的共价附接;

b是2;

BU是构建单元;

BU_x是世代x的构建单元,其中该具有化学式(I)的树枝状体的世代x中的构建单元的总数量等于$2^{(x)}$,且该具有化学式(I)的树枝状体中的BU的总数量等于$(2^x-1)b$;其中BU具有以下结构:



#指示至核心的胺部分或BU的氨基部分的共价附接;

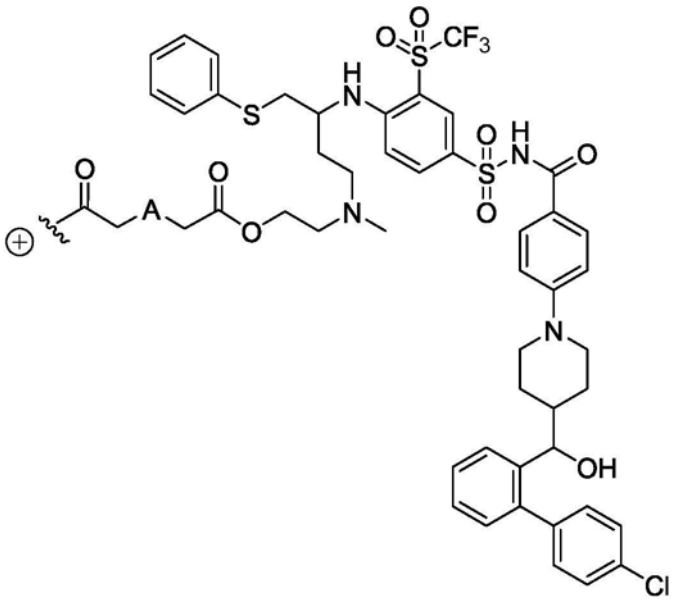
+指示至BU的羰基部分的共价附接或至W或Z的共价附接;

W独立地是$(PM)_c$或$(H)_e$;

Z独立地是$(L\text{-}AA)_d$或$(H)_e$;

PM是$PEG_{900\text{-}1200}$或$PEG_{1800\text{-}2400}$;

L-AA是共价附接至活性剂的接头;其中L-AA具有以下化学式:



其中

A是-N(CH3)、-O-、-S-或-CH2-；

⊕是至BUx的胺部分的附接点；

条件是(c+d)≤(2^x)b，且d≥1；且

条件是如果(c+d)<(2^x)b，那么剩下的任何W和Z基团都是(H)e，其中e是[(2^x)b]-(c+d)。

2.如权利要求1所述的树枝状体，其中b是2，且x是5。

3.如权利要求1或2所述的树枝状体，其中PM是PEG900-1200。

4.如权利要求1-3中任一项所述的树枝状体，其中A是-O-。

5.如权利要求2所述的树枝状体，其中PM是PEG1800-2400。

6.如权利要求5所述的树枝状体，其中A是-O-。

7.如权利要求5所述的树枝状体，其中A是-(CH2)-。

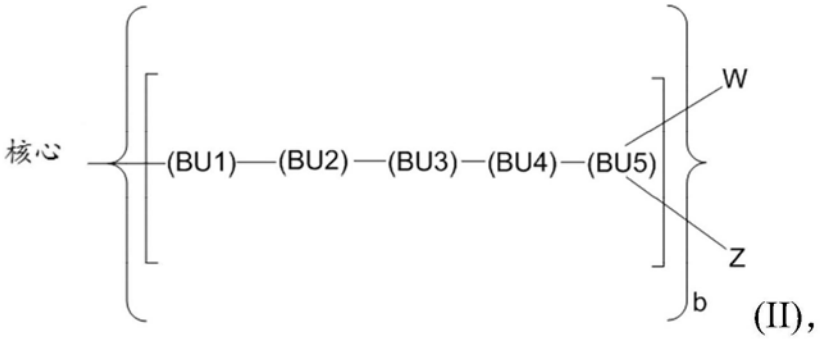
8.如权利要求5所述的树枝状体，其中A是-S-。

9.如权利要求5所述的树枝状体，其中A是-N(CH3)。

10.如权利要求5-9中任一项所述的树枝状体，其中该PEG具有约2000与约2200Da之间的平均分子量。

11.如权利要求10中任一项所述的树枝状体，其中该PEG具有约2150Da的平均分子量。

12.一种具有化学式(II)的树枝状体：

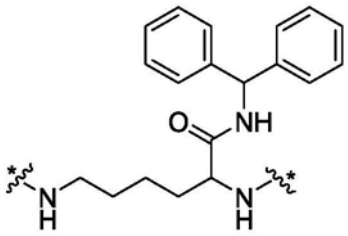


(II)，

或其药学上可接受的盐，其中

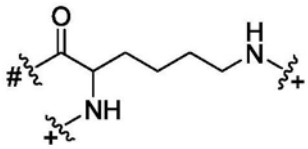
b是2；

核心是



*指示至(BU1)的羰基部分的共价附接；

BU是构建单元，且BU的数量等于62；其中BU具有以下结构：



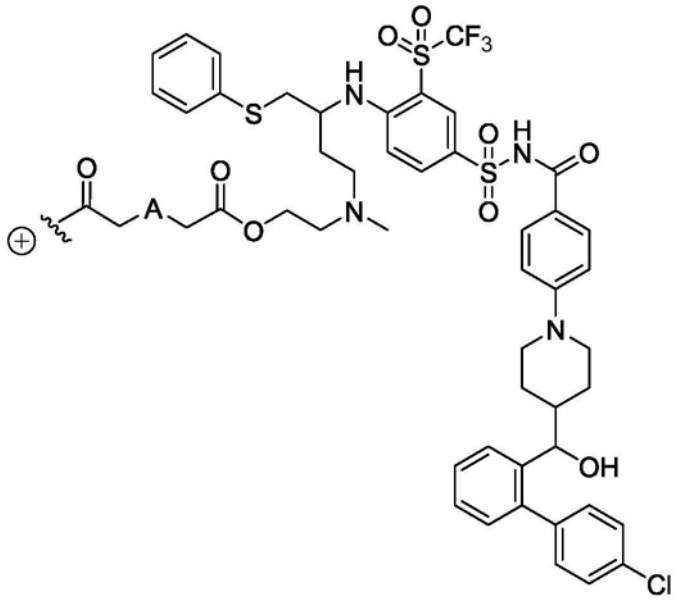
#指示至核心的胺部分或BU的氨基部分的共价附接，且+指示至BU的羰基部分的共价附接或至W或Z的共价附接；

W独立地是$(PM)_c$或$(H)_e$；

Z独立地是$(L\text{-}AA)_d$或$(H)_e$；

PM是$PEG_{900\text{-}1200}$或$PEG_{1800\text{-}2400}$；

L-AA是共价附接至活性剂的接头；其中L-AA具有以下化学式：



其中

A是$-N(CH_3)-$、-O-、-S-或$-CH_2-$；

⊕指示至BU5的胺部分的共价附接；

条件是$(c+d)\leq 64$，且$d\geq 1$；且

条件是如果$(c+d)<64$，那么剩下的任何W和Z基团都是$(H)_e$，其中e是$64-(c+d)$。

13.如权利要求12所述的树枝状体，其中PM是$PEG_{900\text{-}1200}$。

14.如权利要求12或13所述的树枝状体，其中A是-O-。

15.如权利要求12所述的树枝状体,其中PM是$PEG_{1800-2400}$。

16.如权利要求15所述的树枝状体,其中A是-O-。

17.如权利要求15所述的树枝状体,其中A是-(CH_2)-。

18.如权利要求15所述的树枝状体,其中A是-S-。

19.如权利要求15所述的树枝状体,其中A是-N(CH_3)。

20.如权利要求15-19中任一项所述的树枝状体,其中该PEG具有约2000与约2200Da之间的平均分子量。

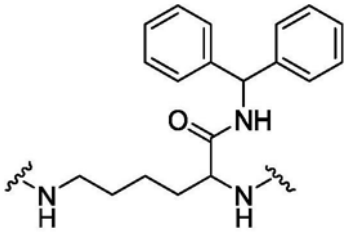
21.如权利要求20所述的树枝状体,其中该PEG具有约2150Da的平均分子量。

22.一种具有化学式(III)的树枝状体:

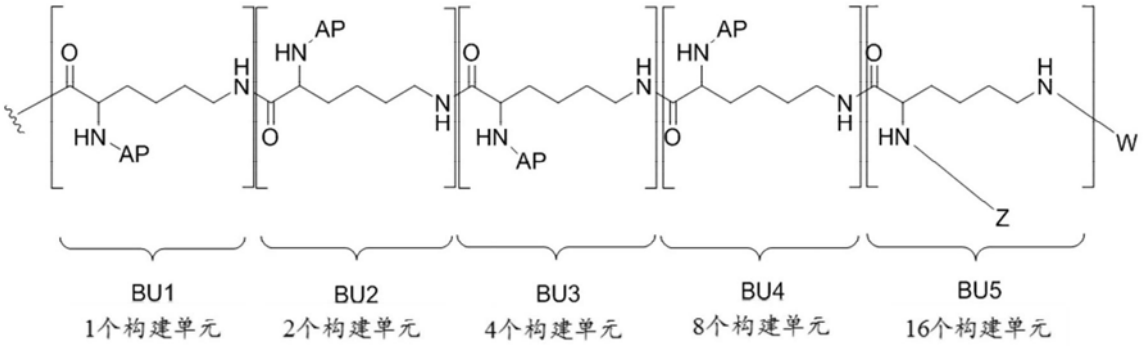
D-核心-D　(III)

或其药学上可接受的盐,其中

核心是



D是



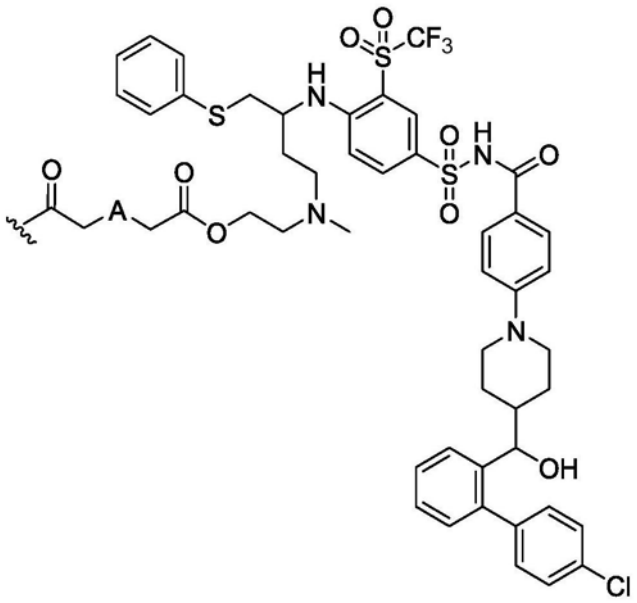
AP是至另一个构建单元的附接点;

W独立地是$(PM)_c$或$(H)_e$;

Z独立地是$(L-AA)_d$或$(H)_e$;

PM是$PEG_{900-1200}$或$PEG_{1800-2400}$;

L-AA是共价附接至活性剂的接头;其中L-AA具有以下化学式:



其中

A是-N(CH3)、-O-、-S-或-CH2-；

条件是如果(c+d)<64，那么剩下的任何W和Z基团都是(H)e，其中e是64-(c+d)；且d≥1。

23.如权利要求22所述的树枝状体，其中PM是PEG900-1200。

24.如权利要求23所述的树枝状体，其中A是-O-。

25.如权利要求22所述的树枝状体，其中PM是PEG1800-2400。

26.如权利要求25所述的树枝状体，其中A是-O-。

27.如权利要求25所述的树枝状体，其中A是-(CH2)-。

28.如权利要求25所述的树枝状体，其中A是-S-。

29.如权利要求25所述的树枝状体，其中A是-N(CH3)。

30.如权利要求25-29中任一项所述的树枝状体，其中该PEG具有约2000与约2200Da之间的平均分子量。

31.如权利要求30所述的树枝状体，其中该PEG具有约2150Da的平均分子量。

32.如权利要求1-31中任一项所述的树枝状体，其中c是25与约32之间的整数。

33.如权利要求32所述的树枝状体，其中c是29与32之间的整数。

34.如权利要求33所述的树枝状体，其中c是29或30。

35.如权利要求1-34中任一项所述的树枝状体，其中d是25与32之间的整数。

36.如权利要求35所述的树枝状体，其中d是29与32之间的整数。

37.如权利要求36所述的树枝状体，其中d是32。

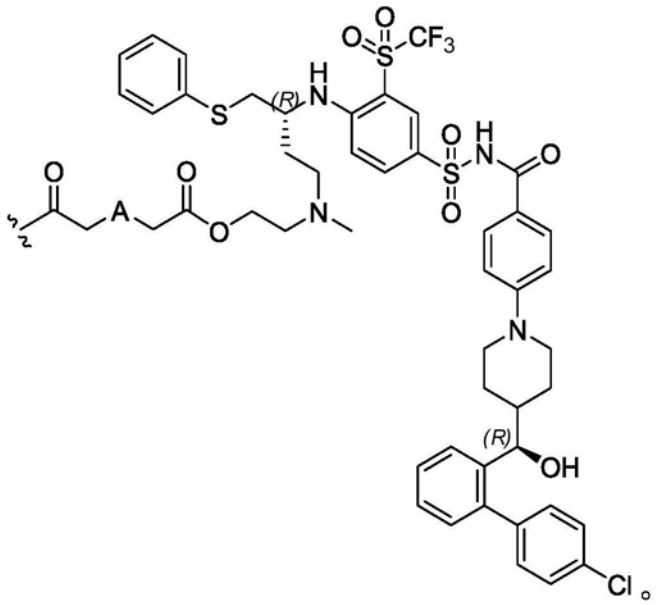
38.如权利要求1-37中任一项所述的树枝状体，其中(c+d)等于50与64之间的整数。

39.如权利要求38所述的树枝状体，其中(c+d)等于58与64之间的整数。

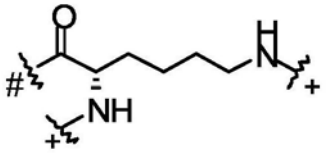
40.如权利要求1-39中任一项所述的树枝状体，其中e是0与14之间的整数。

41.如权利要求40所述的树枝状体，其中e是0与6之间的整数。

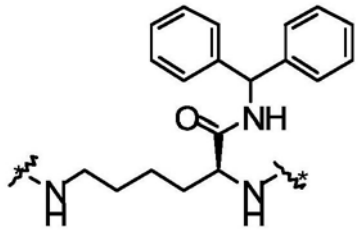
42.如权利要求1-41中任一项所述的树枝状体，其中L-AA是



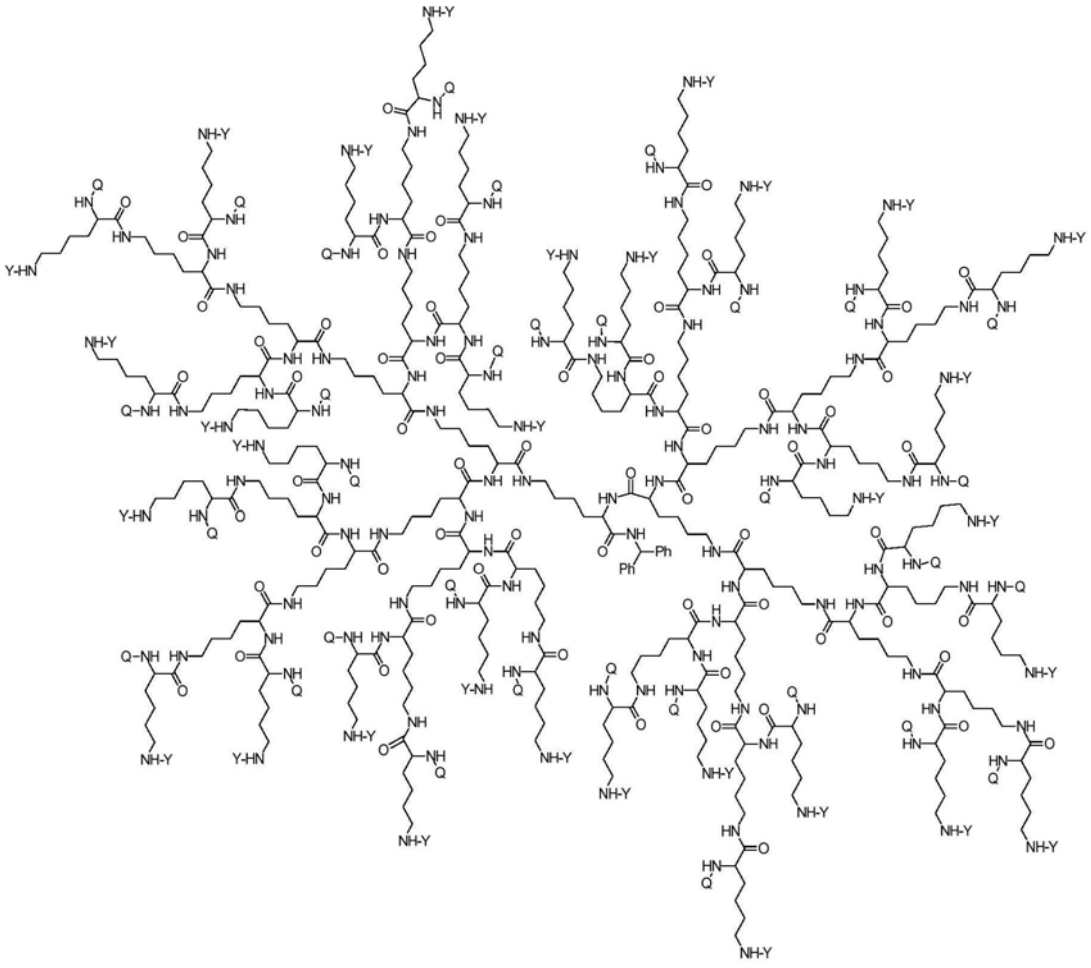
43.如权利要求1-42中任一项所述的树枝状体,其中BU是



44.如权利要求1-43中任一项所述的树枝状体,其中核心是

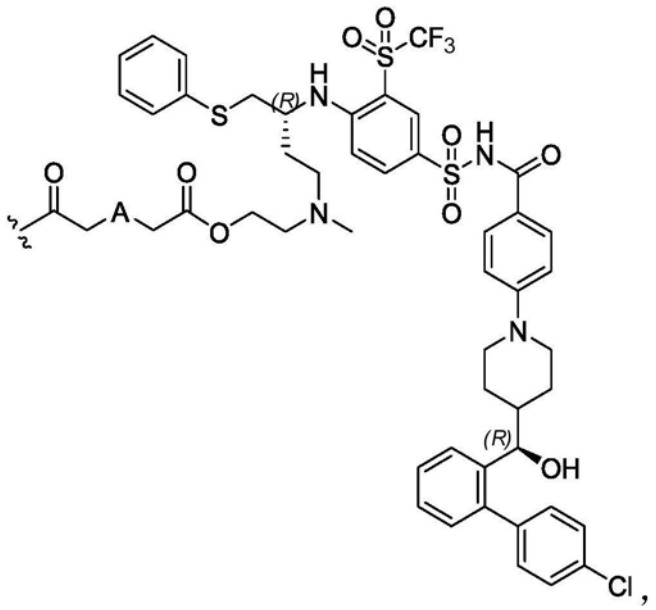


45.一种具有化学式(IV)的树枝状体:



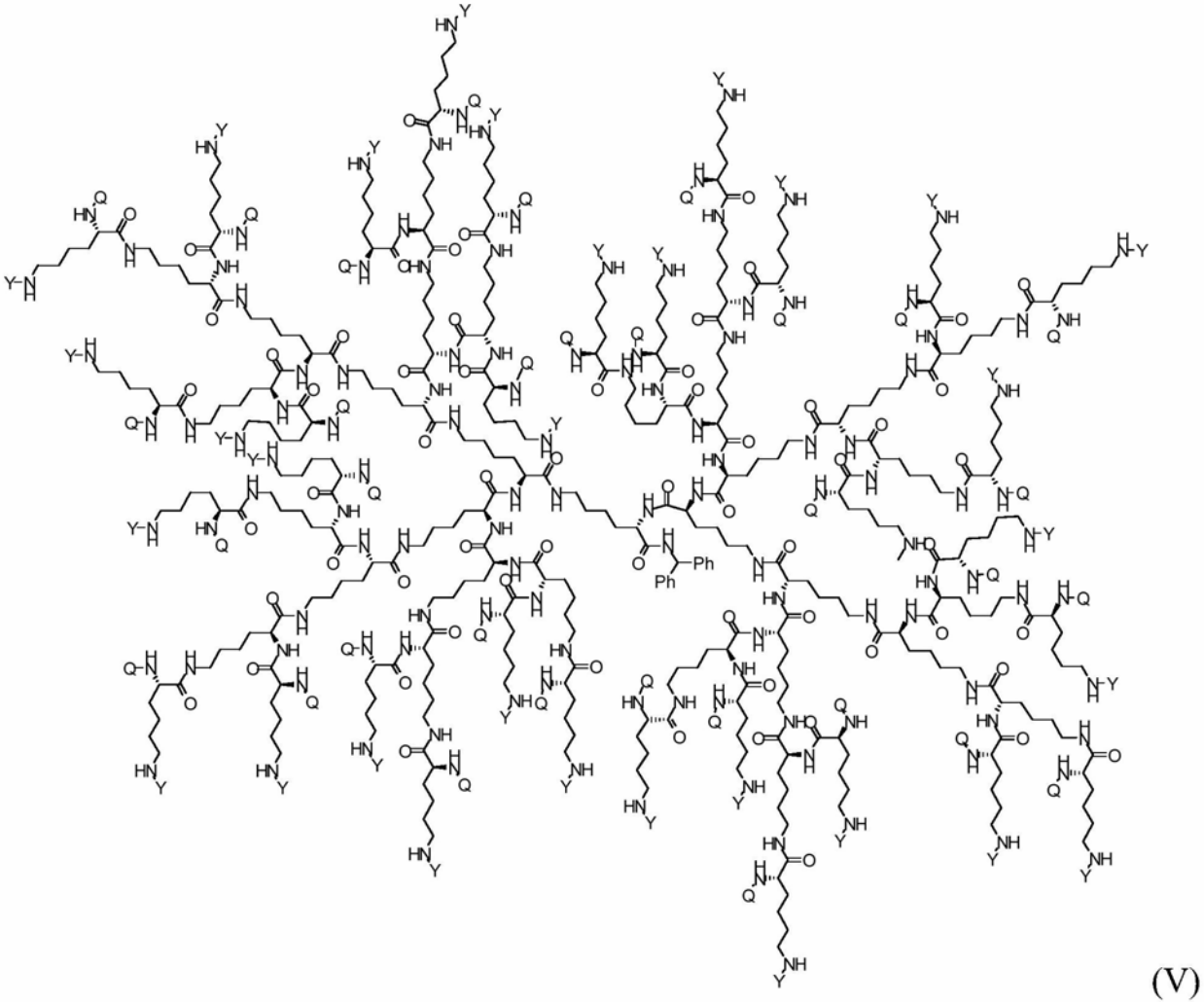
(IV),

或其药学上可接受的盐，其中Y是$PEG_{1800-2400}$或H；Q是H或L-AA，其中L-AA具有以下结构：



A是-S-或-N(CH_3)，条件是如果$PEG_{1800-2400}$和L-AA的总数小于64，那么剩下的Q和Y部分是H，且条件是至少一个Q是L-AA。

46.一种具有化学式(V)的树枝状体：

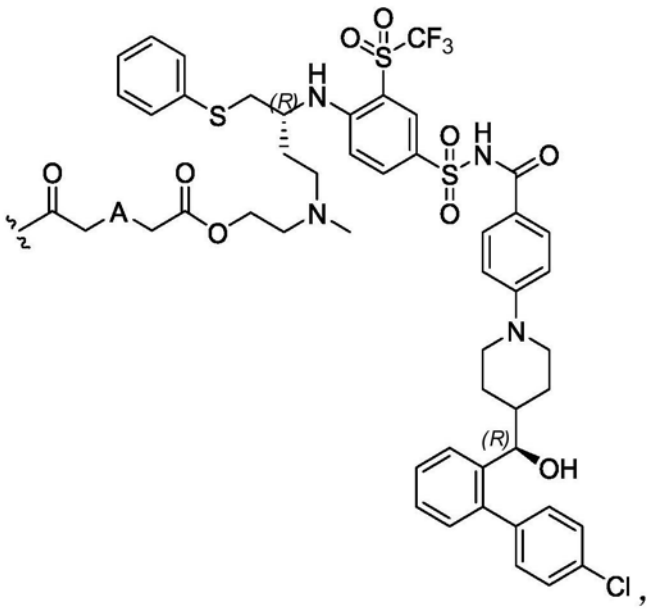


(V)

或其药学上可接受的盐,其中

Y是$PEG_{1800-2400}$或H;

Q是H或L-AA,其中L-AA具有以下结构:



A是-S-或-N(CH_3),条件是如果$PEG_{1800-2400}$和L-AA的总数小于64,那么剩下的Q和Y部分是

H,且条件是至少一个Q是L-AA。

47.如权利要求45或46所述的树枝状体,其中A是-S-。

48.如权利要求45或46所述的树枝状体,其中A是-N(CH_3)。

49.如权利要求45-48所述的树枝状体,其中$PEG_{1800-2400}$和L-AA的总数是50与64之间的整数。

50.如权利要求49所述的树枝状体,其中$PEG_{1800-2400}$和L-AA的总数是58与64之间的整数。

51.如权利要求45-50中任一项所述的树枝状体,其中该树枝状体具有25与32个之间的$PEG_{1800-2400}$。

52.如权利要求51所述的树枝状体,其中该树枝状体具有29与32个之间的$PEG_{1800-2400}$。

53.如权利要求45-52中任一项所述的树枝状体,其中该树枝状体具有25与32个之间的L-AA。

54.如权利要求53所述的树枝状体,其中该树枝状体具有29与32个之间的L-AA。

55.如权利要求45-54中任一项所述的树枝状体,其中该树枝状体在Q和/或Y位置具有0与14个之间的氢。

56.如权利要求55所述的树枝状体,其中该树枝状体在Q和/或Y位置具有0与6个之间的氢。

57.如权利要求45-56中任一项所述的树枝状体,其中该PEG具有约2000与2200Da之间的平均分子量。

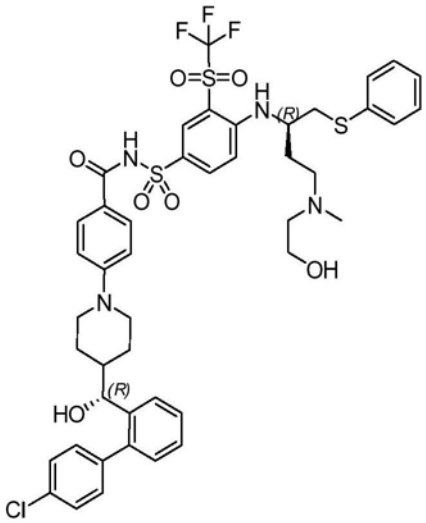
58.如权利要求1-57中任一项所述的树枝状体,其中该PEG具有约1.00与1.10之间的PDI。

59.如权利要求58所述的树枝状体,其中该PEG具有约1.05的PDI。

60.如权利要求1-59中任一项所述的树枝状体,其中该树枝状体具有约90与120kDa之间的分子量。

61.如权利要求60所述的树枝状体,其中该树枝状体具有约103与107kDa之间的分子量。

62.如权利要求1-61中任一项所述的树枝状体,其中AA是化合物A:



(化合物A)。

63.一种药物组合物,该药物组合物包含如权利要求1-62中任一项所述的树枝状体或

其药学上可接受的盐以及药学上可接受的赋形剂、载体或稀释剂。

64.一种治疗癌症的方法，该方法包括向有需要的受试者给予有效量的如权利要求1-62中任一项所述的树枝状体或其药学上可接受的盐。

65.如权利要求1-62中任一项所述的树枝状体或其药学上可接受的盐，用于在治疗癌症中使用。

66.如权利要求1-62中任一项所述的树枝状体或其药学上可接受的盐用于在制造治疗癌症用的药剂中使用的用途。

67.一种药物组合物，该药物组合物包含如权利要求1-62中任一项所述的树枝状体或其药学上可接受的盐，用于治疗癌症。

治疗性树枝状体

背景技术

[0001] Bcl-2和Bcl-XL是BCL-2蛋白家族的重要抗凋亡成员和细胞存活的主调节剂(Chipuk JE等人,The BCL-2 family reunion[BCL-2家族集合],Mol.Cell[分子细胞]2010年2月12日;37(3):299-310)。已经在多种癌症类型中观察到这些关键存活因子的基因易位、扩增和/或过度表达,并广泛参与癌症发展和进展(Yip等人,Bcl-2 family proteins and cancer[Bcl-2家族蛋白和癌症],Oncogene[致癌基因]200827,6398-6406;和Beroukhim R.等人,The landscape of somatic copy-number alteration across human cancers[人类癌症的体细胞拷贝数变化概览],Nature[自然]2010年2月18日;463(7283):899-905)。在许多恶性肿瘤中,还已经显示,BCL-2和/或BCL-XL介导耐药性和复发,且与不良预后强烈相关(Robertson LE等人Bcl-2 expression in chronic lymphocytic leukemia and its correlation with the induction of apoptosis and clinical outcome[慢性淋巴细胞性白血病中的Bcl-2表达以及其与诱导细胞凋亡和临床结果的关联],Leukemia[白血病]1996年3月;10(3):456-459;和Ilievska Poposka B.等人,Bcl-2as a prognostic factor for survival in small-cell lung cancer[Bcl-2作为幸免于小细胞肺癌的预后因子],Makedonska Akademija na Naukite i Umetnostite Oddelenie Za Bioloshki i Meditsinski Nauki Prilozi[马其顿科学院和人文生物学和医学科学处]2008年12月;29(2):281-293)。

[0002] 抗凋亡BCL2家族蛋白通过结合促凋亡蛋白(如BIM、PUMA、BAK和BAX)和中和它们的细胞死亡诱导活性而促进癌细胞存活(Chipuk JE等人,下文;和Yip等人,下文)。因此,单独地或与其他影响BCL-2蛋白家族轴的疗法(诸如细胞毒性化疗剂、蛋白酶体抑制剂或激酶抑制剂)组合地在治疗上靶向BCL-2和BCL-XL是一种引人注目的策略,可以治疗癌症,且可以克服许多人类癌症的耐药性(Delbridge,ARD等人,The BCL-2 protein family,BH3-mimetics and cancer therapy[BCL-2蛋白家族、BH3-模拟物和癌症治疗],Cell Death& Differentiation[细胞死亡和分化]201522,1071-1080)。

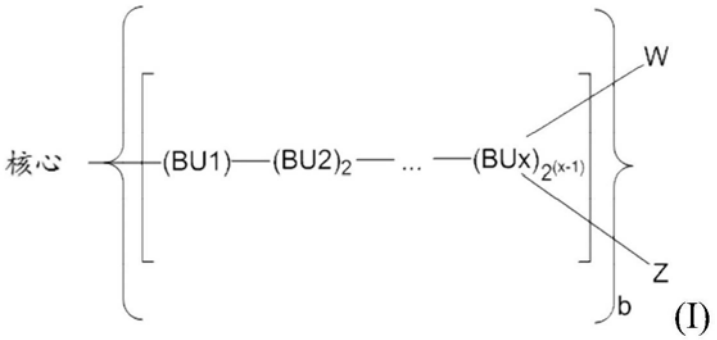
[0003] 除了细胞效力,为了将候选化合物研发成适当可接受的药品,需要处理化合物并呈现许多另外的性质。这些性质包括适合允许配制成合适的剂型的物理化学性质(例如,溶解性、稳定性、可制造性),合适的生物医药性质(例如,渗透性、溶解性、吸收性、生物利用率、生物条件下的稳定性、药代动力学和药效动力学行为)和适合提供可接受治疗指数的安全特性。化合物(例如抑制这些性质中的一些或全部的Bcl-2和/或Bcl-XL抑制剂)的鉴定具有挑战性。

[0004] 美国专利号9,018,381中披露了Bcl-2和/或Bcl-XL的特定N-酰基磺酰胺基抑制剂及其制备方法。美国专利号9,018,381中还通过体外结合和细胞分析披露了结合细胞中Bcl-2并抑制其功能的化合物的活性和特异性。然而,已经证实,Bcl-2和/或Bcl-XL的这些N-酰基磺酰胺基抑制剂的递送是困难的,原因是例如溶解度低和靶相关副作用。因此,申请人已经研发出连接至某些Bcl抑制剂的树枝状体,这可以克服未共轭Bcl抑制剂面临的递送挑战。

发明内容

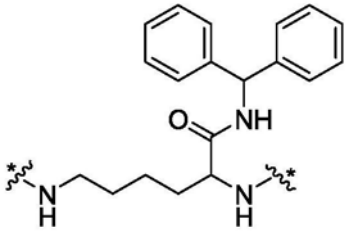
[0005] 在此披露了共价附接(例如,共轭或连接)至Bcl抑制剂的树枝状体。共轭树枝状体相比于未共轭Bcl抑制剂表现出高溶解性,并且临床前数据表明,与Bcl抑制剂共轭的树枝状体具有提高体内耐受性的潜力,这可以提高治疗指数和减少副作用。树枝状体被设计成具有特定释放速率(例如,Bcl抑制剂从树枝状体裂解的速率)。

[0006] 在一些实施例中,披露了具有化学式(I)的树枝状体:

[0007] 

[0008] 或其药学上可接受的盐,其中:

[0009] 核心是

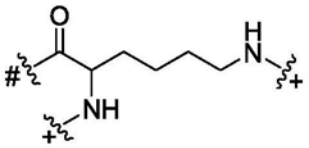
[0010] 

[0011] *指示至(BU1)的羰基部分的共价附接;

[0012] b是2;

[0013] BU是构建单元;

[0014] BU_x是世代x的构建单元,其中具有化学式(I)的树枝状体的世代x中的构建单元的总数量等于$2^{(x)}$,且具有化学式(I)的树枝状体中的BU的总数量等于$(2^x-1)b$;其中BU具有以下结构:

[0015] 

[0016] #指示至核心的胺部分或BU的氨基部分的共价附接;

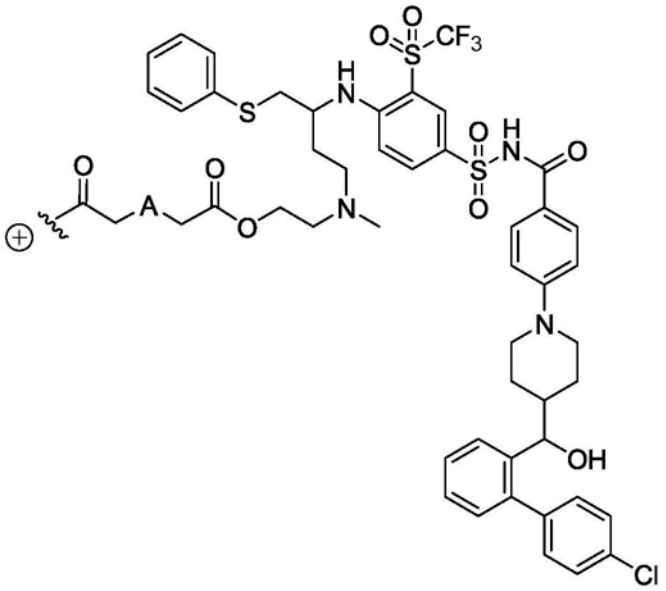
[0017] +指示至BU的羰基部分的共价附接或至W或Z的共价附接;

[0018] W独立地是$(PM)_c$或$(H)_e$;

[0019] Z独立地是$(L\text{-}AA)_d$或$(H)_e$;

[0020] PM是$PEG_{900\text{-}1200}$或$PEG_{1800\text{-}2400}$;

[0021] L-AA是共价附接至活性剂的接头;其中L-AA具有以下化学式:

[0022] 

[0023] 其中

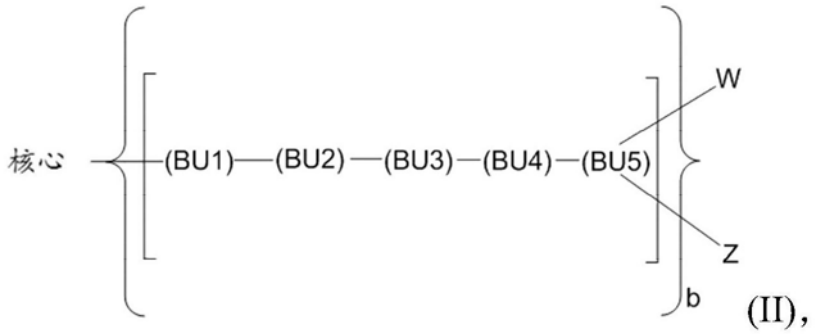
[0024] A是-N(CH3)、-O-、-S-或-CH2-；

[0025] ⊕是至BUx的胺部分的附接点；

[0026] 条件是(c+d)≤(2x)b，且d≥1；且

[0027] 条件是如果(c+d)<(2x)b，那么剩下的任何W和Z基团都是(H)e，其中e是[(2x)b]-(c+d)。

[0028] 在一些实施例中，披露了具有化学式(II)的树枝状体：

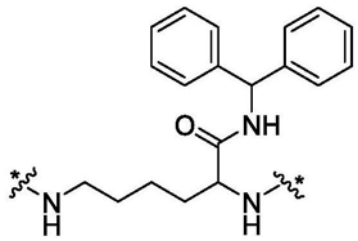
[0029] 

(II)，

[0030] 或其药学上可接受的盐，其中

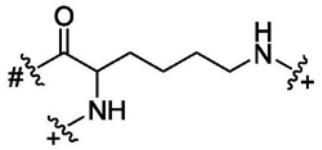
[0031] b是2；

[0032] 核心是

[0033] 

[0034] *指示至(BU1)的羰基部分的共价附接；

[0035] BU是构建单元，且BU的数量等于62；其中BU具有以下结构：

[0036] 

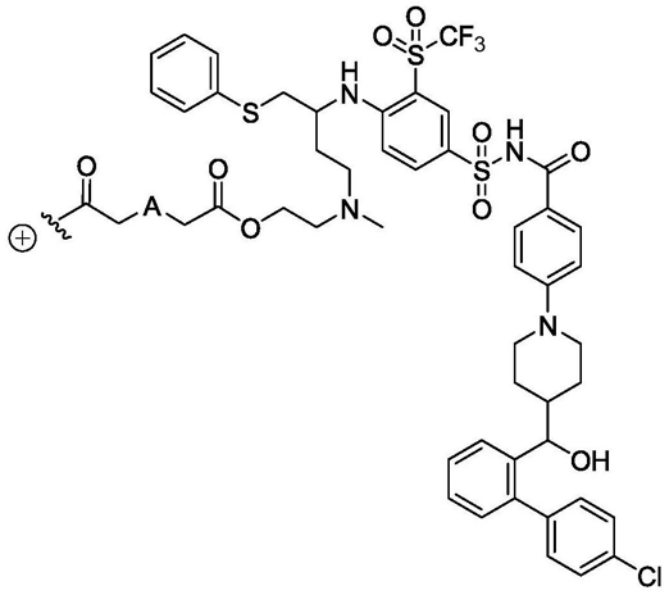
[0037] #指示至核心的胺部分或BU的氨基部分的共价附接，且+指示至BU的羰基部分的共价附接或至W或Z的共价附接；

[0038] W独立地是$(PM)_c$或$(H)_e$；

[0039] Z独立地是$(L\text{-}AA)_d$或$(H)_e$；

[0040] PM是$PEG_{900\text{-}1200}$或$PEG_{1800\text{-}2400}$；

[0041] L-AA是共价附接至活性剂的接头；其中L-AA具有以下化学式：

[0042] 

[0043] 其中

[0044] A是$-N(CH_3)-$、-O-、-S-或$-CH_2-$；

[0045] ⊕指示至BU5的胺部分的共价附接；

[0046] 条件是$(c+d)\leq 64$，且$d\geq 1$；且

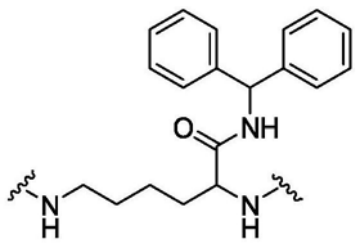
[0047] 条件是如果$(c+d)<64$，那么剩下的任何W和Z基团都是$(H)_e$，其中e是$64-(c+d)$。

[0048] 在一些实施例中，披露了具有化学式(III)的树枝状体：

[0049] D-核心-D (III)

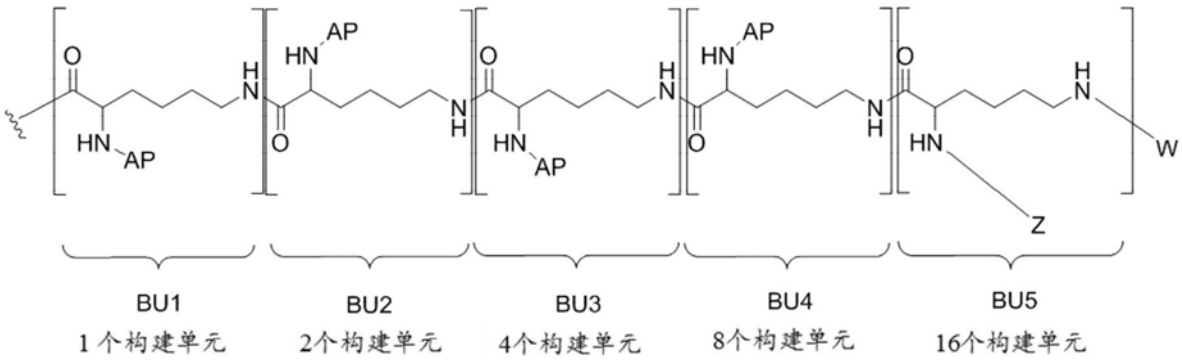
[0050] 或其药学上可接受的盐，其中

[0051] 核心是

[0052] 

[0053] D是

[0054]



[0055] AP是至另一个构建单元的附接点；

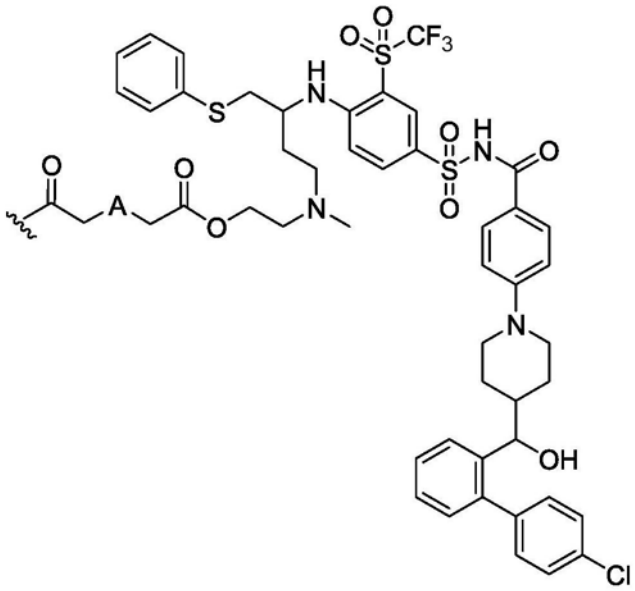
[0056] W独立地是$(PM)_c$或$(H)_e$；

[0057] Z独立地是$(L\text{-}AA)_d$或$(H)_e$；

[0058] PM是$PEG_{900\text{-}1200}$或$PEG_{1800\text{-}2400}$；

[0059] L-AA是共价附接至活性剂的接头；其中L-AA具有以下化学式：

[0060]



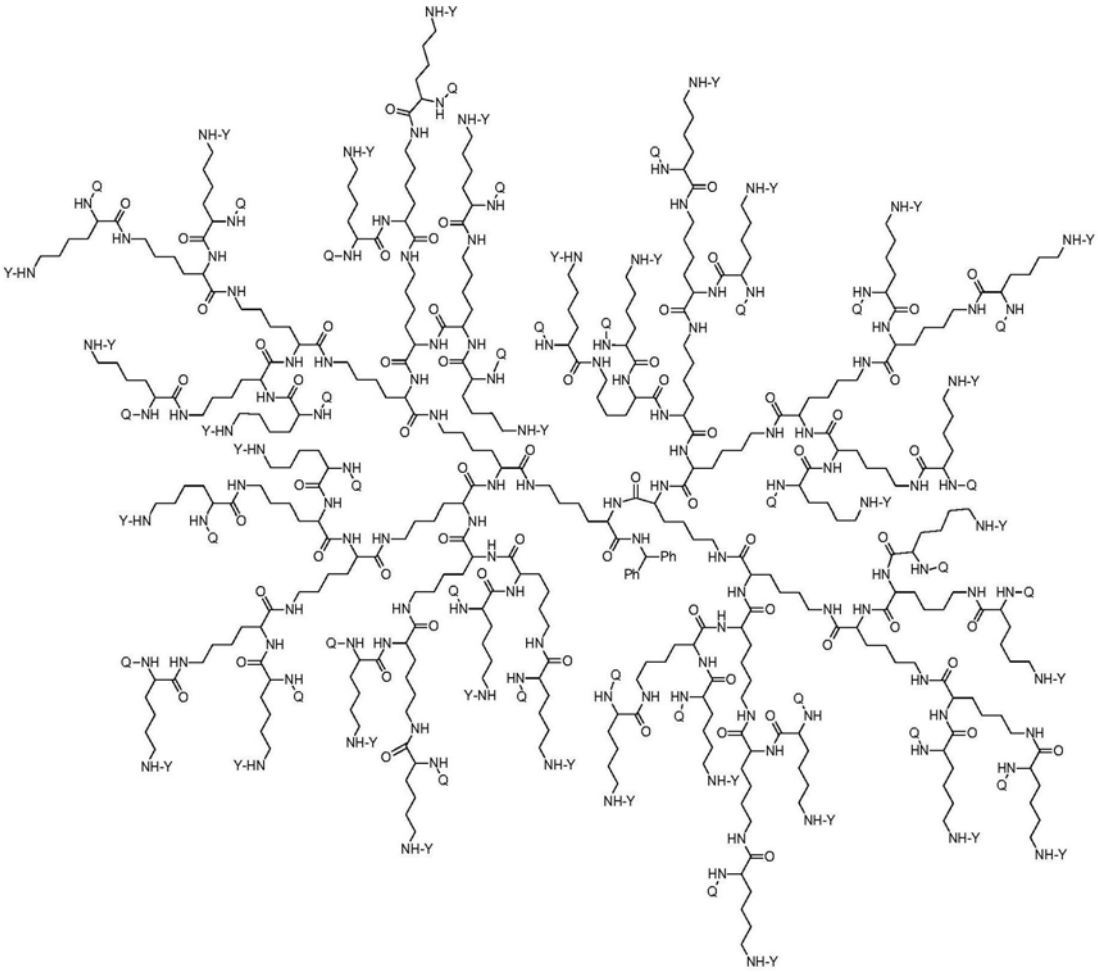
[0061] 其中

[0062] A是$-N(CH_3)-$、-O-、-S-或$-CH_2-$；

[0063] 条件是如果$(c+d)<64$，那么剩下的任何W和Z基团都是$(H)_e$，其中e是$64-(c+d)$；且$d\geq 1$。

[0064] 在一些实施例中，披露了具有化学式(IV)的树枝状体：

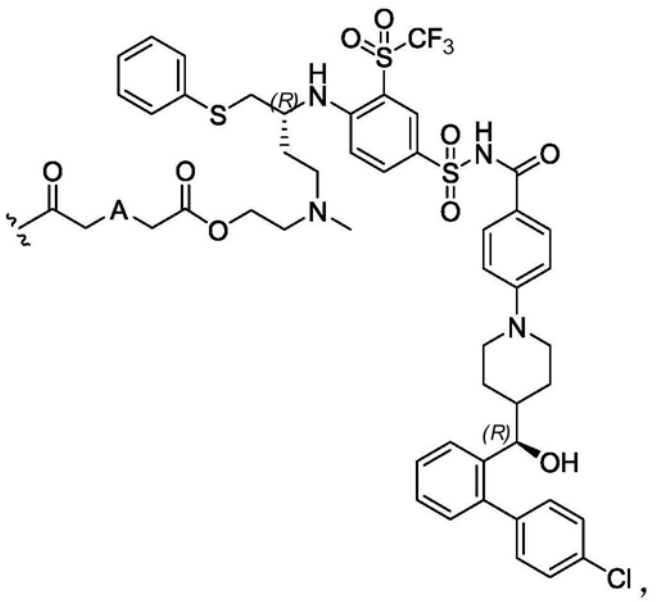
[0065]



(IV),

或其药学上可接受的盐，其中Y是$PEG_{1800-2400}$或H；Q是H或L-AA，其中L-AA具有以下结构：

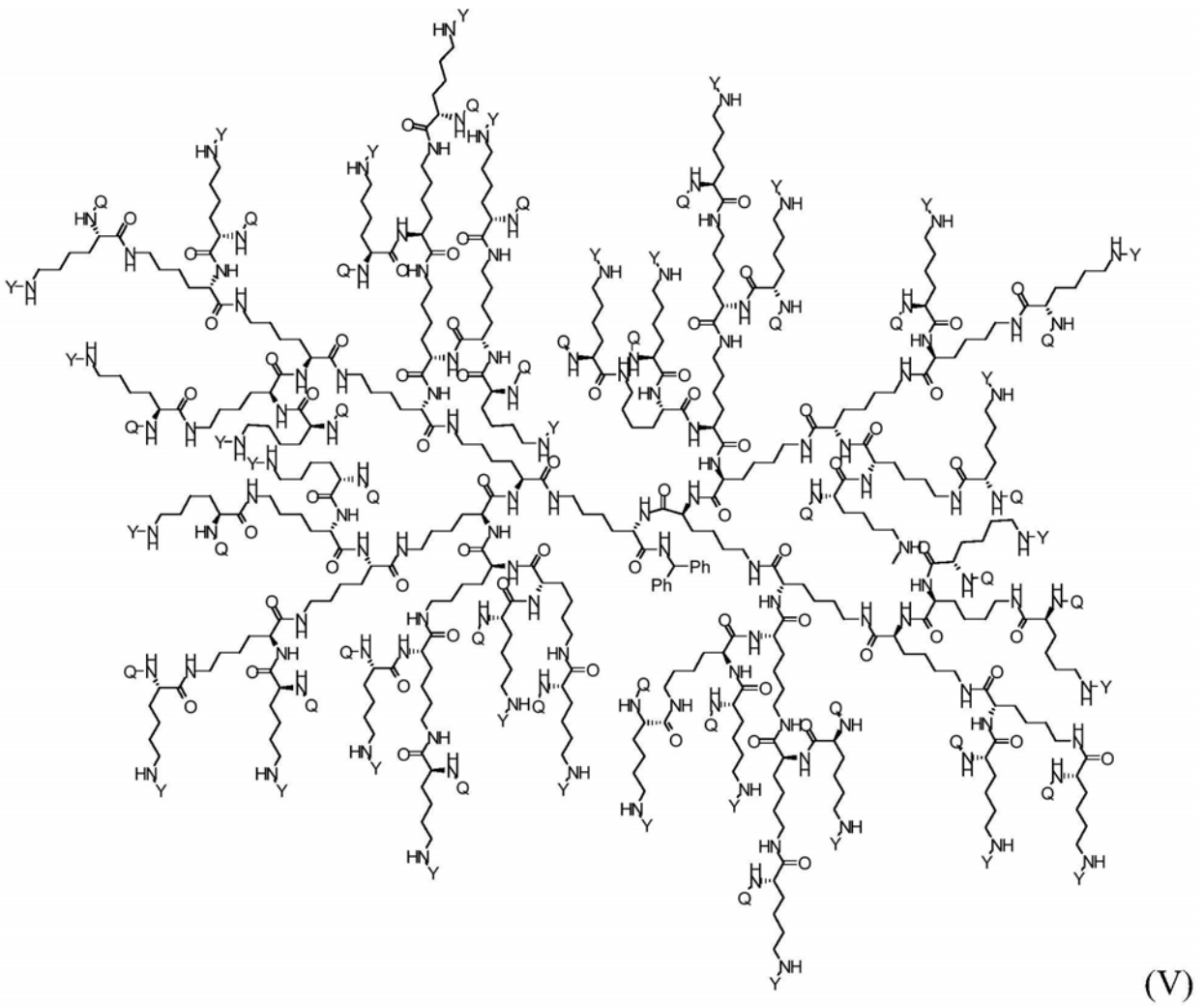
[0066]



[0067] A是-S-或-$N(CH_3)$，条件是如果$PEG_{1800-2400}$和L-AA的总数小于64，那么剩下的Q和Y部分是H，且条件是至少一个Q是L-AA。

[0068] 在一些实施例中，披露了具有化学式(V)的树枝状体：

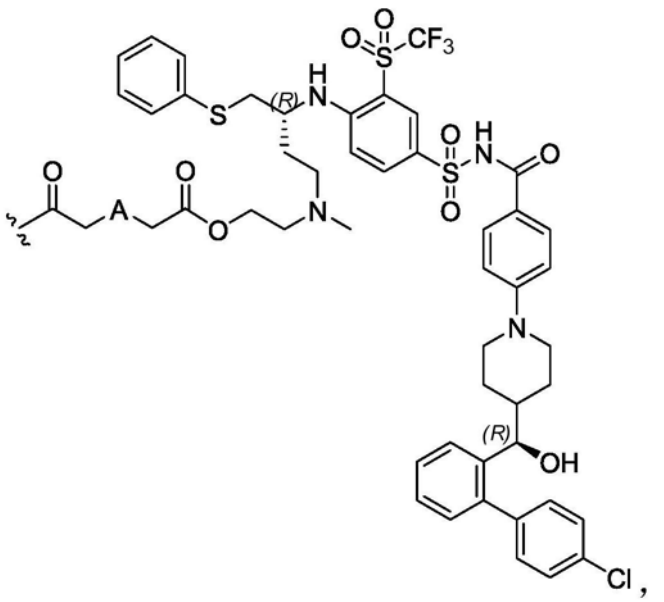
[0069]



(V)

[0070] 或其药学上可接受的盐，其中Y是$PEG_{1800-2400}$或H；Q是H或L-AA，其中L-AA具有以下结构：

[0071]



[0072] A是-S-或-N(CH_3)，条件是如果$PEG_{1800-2400}$和L-AA的总数小于64，那么剩下的Q和Y

部分是H,且条件是至少一个Q是L-AA。

[0073] 在一些实施例中,披露了包含具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的赋形剂、载体或稀释剂的药物组合物。

[0074] 在一些实施例中,披露了治疗癌症的方法,所述方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。

[0075] 在一些实施例中,披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,用于在治疗癌症中使用。

[0076] 在一些实施例中,披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐用于在制造治疗癌症用的药剂中使用的用途。

[0077] 在一些实施例中,披露了包含具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐的药物组合物,用于治疗癌症。

附图说明

[0078] 图1是3代树枝状体的表示。

[0079] 图2是化合物A的形式B的XRPD衍射图。

[0080] 图3A展示了针对实例2中所列化合物A的配制品的利用人类急性成淋巴细胞白血病细胞(RS4:11)的SCID小鼠中的急性成淋巴细胞白血病(ALL)异种移植模型。示出了与HP-β-CD(V1)、Captisol(V2)和Tween(V3)中每一个配制的化合物A与对应媒介物:媒介物1(V1,30%HP-β-CD,pH 4)、媒介物2(V2,10.6%Captisol,pH 9)和媒介物3(V3,0.5%Tween,pH 9)相比的功效评估。

[0081] 图3B展示了针对化合物A与Cremophor的配制品的利用人类急性成淋巴细胞白血病细胞(RS4:11)的SCID小鼠中的急性成淋巴细胞白血病(ALL)异种移植模型。示出了与Cremophor(V4)配制的化合物A与对应媒介物:媒介物4(V4,5%w/v Cremophor EL,pH 4)相比的功效评估。参见实例2。

[0082] 图4展示了在HP-β-CD(V1)、Captisol(V2)和Tween(V3)中的每一个中配制的化合物A与对应媒介物:媒介物1(V1,30%HP-β-CD,pH 4)、媒介物2(V2,10.6%Captisol,pH 9)和媒介物3(V3,0.5%Tween,pH 9)相比的单剂量后6h和24h的细胞死亡(凋亡)。利用经裂解半胱天冬酶3(CC3)反应作为细胞死亡的量度,并利用Cell Signaling Pathscan ELISA试剂盒测定。参见实例2。

[0083] 图5展示了在HP-β-CD(V1)、Captisol(V2)和Tween(V3)中的每一个中配制的化合物A的单剂量肿瘤暴露。利用LC-MS/MS测定单剂量后6h和24hr后肿瘤中化合物A的浓度。参见实例2。

[0084] 图6展示了利用人类急性成淋巴细胞白血病细胞(RS4:11)的Rag2-/-大鼠中的急性成淋巴细胞白血病(ALL)异种移植模型。当肿瘤长到大约4500-6000mm^3时,将大鼠随机分到输注一次媒介物1(30%HP-β-CD,pH 4)或化合物A5mg/kg,IV 30min。示出了与30%HP-β-CD(V1)配制的化合物A与对应媒介物(V1)相比的功效评估。参见实例2。

[0085] 图7展示了利用人类急性成淋巴细胞白血病细胞(RS4:11)的Rag2-/-大鼠中的急性成淋巴细胞白血病(ALL)异种移植模型。当肿瘤长到大约4500-6000mm^3时,将大鼠随机分到输注一次媒介物1(30%HP-β-CD,pH 4)或化合物A5mg/kg、化合物A 3mg/kg和化合物A

1mg/kg,IV 30min。示出了与30％HP-β-CD(V1)配制的化合物A在5mg/kg、3mg/kg和1mg/kg下与对应媒介物(V1)相比的剂量反应功效评估。参见实例2。

[0086] 图8是实例6和9在一系列pH值范围内的初始释放速率比较。参见实例13。

[0087] 图9展示了针对本发明的不同大分子的利用人类急性成淋巴细胞白血病细胞(RS4:11)的SCID小鼠中的急性成淋巴细胞白血病(ALL)异种移植模型。示出了媒介物(磷酸盐缓冲盐水)、化合物A(在30％HP-β-CD,pH 4中配制)、在PBS中的实例6(相当于10mg/kg和30mg/kg化合物A)、在PBS中的实例9(相当于10mg/kg化合物A)的功效评估。参见实例18。

[0088] 图10展示了在单剂量的媒介物(磷酸盐缓冲盐水)或在PBS中的实例6(相当于10和30mg/kg化合物A)后不同时间点下的细胞死亡(凋亡)。利用经裂解半胱天冬酶3(CC3)反应作为细胞死亡的量度,并利用Cell Signaling Pathscan ELISA试剂盒测定。参见实例18。

[0089] 图11展示了针对各种披露的树枝状体的利用人类急性成淋巴细胞白血病细胞(RS4:11)的SCID小鼠中的急性成淋巴细胞白血病(ALL)异种移植模型。示出了媒介物(磷酸盐缓冲盐水,PBS)、化合物A在媒介物1(30％HP-β-CD)中的配制品、在PBS中的实例6(相当于20mg/kg化合物A)和在PBS中的实例9(相当于20mg/kg化合物A)的功效评估。参见实例18。

[0090] 图12展示了单剂量的媒介物(磷酸盐缓冲盐水)、化合物A在媒介物1(30％HP-β-CD)中的配制品(5mg/kg和10mg/kg)和在PBS中的实例9的树枝状体(10mg/kg化合物A当量)后不同时间点下的细胞死亡(凋亡)。使用经裂解聚ADP核糖聚合酶(PARP)反应作为细胞死亡的量度。参见实例18。

[0091] 图13展示了在RS4;11异种移植小鼠模型中的以10mg/kg化合物A当量给予的实例5、7和8的数据。数据说明,以10mg/kg化合物A当量给予的实例7诱导肿瘤消退,而以10mg/kg化合物A当量给予的实例5和8未示出显著抗肿瘤活性。参见实例18。

[0092] 图14展示了针对实例6和媒介物的利用人类急性成淋巴细胞白血病细胞(RS4:11)的Rag2-/-大鼠中的急性成淋巴细胞白血病(ALL)异种移植模型。示出了媒介物(磷酸盐缓冲盐水,PBS)和在PBS中的实例6(相当于10mg/kg和30mg/kg化合物A)的功效评估。参见实例18。

[0093] 图15展示了针对媒介物(磷酸盐缓冲盐水,PBS)、在PBS中的实例6(相当于50mg/kg化合物A)、在PBS中的实例9(相当于50mg/kg化合物A)、利妥昔单抗(10mg/kg)、实例6(10mg/kg、30mg/kg和50mg/kg化合物A当量)与利妥昔单抗(10mg/kg)的组合以及实例9(10mg/kg、30mg/kg和50mg/kg化合物A当量)与利妥昔单抗(10mg/kg)的组合的SCID小鼠中的SuDHL-4异种移植模型。参见实例18。

[0094] 图16展示了具有化学式(IV)的树枝状体。

[0095] 图17展示了具有化学式(V)的树枝状体。

[0096] 图18说明了人类小细胞肺癌肿瘤模型中由实例9与mTOR抑制剂AZD2014的组合所展现的体内抗肿瘤活性。

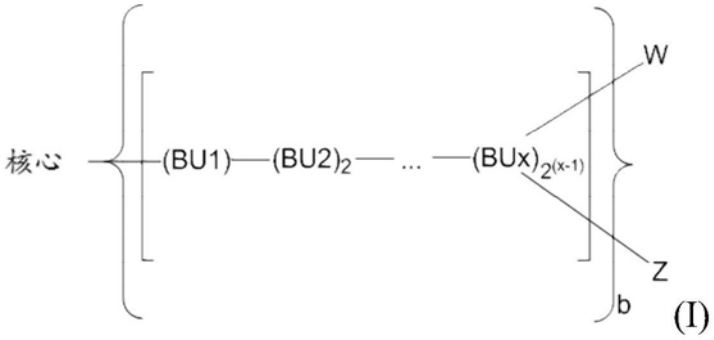
[0097] 图19说明了人类DLBCL肿瘤模型中由实例9与阿卡拉布替尼(acalabrutinib)的组合所展现的体内抗肿瘤活性。

具体实施方式

[0098] 在一个实施例中,披露了包含二价二苯甲基己酰胺-赖氨酸核心、赖氨酸构建单元

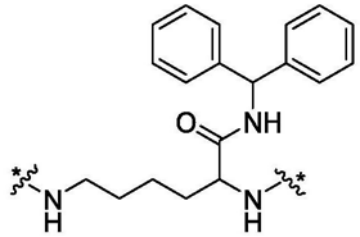
的树枝状体，并且其中表面官能团被Bcl抑制剂和PEG取代。

[0099] 在一个实施例中，披露了具有化学式(I)的树枝状体：

[0100] 

[0101] 或其药学上可接受的盐，其中：

[0102] 核心是

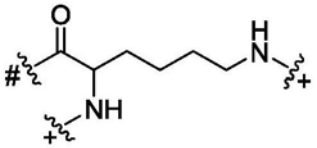
[0103] 

[0104] *指示至(BU1)的羰基部分的共价附接；

[0105] b是2；

[0106] BU是构建单元；

[0107] BU_x是世代x的构建单元，其中具有化学式(I)的树枝状体的世代x中的构建单元的总数量等于2^x，且具有化学式(I)的树枝状体中的BU的总数量等于$(2^x-1)b$；其中BU具有以下结构：

[0108] 

[0109] #指示至核心的胺部分或BU的氨基部分的共价附接；

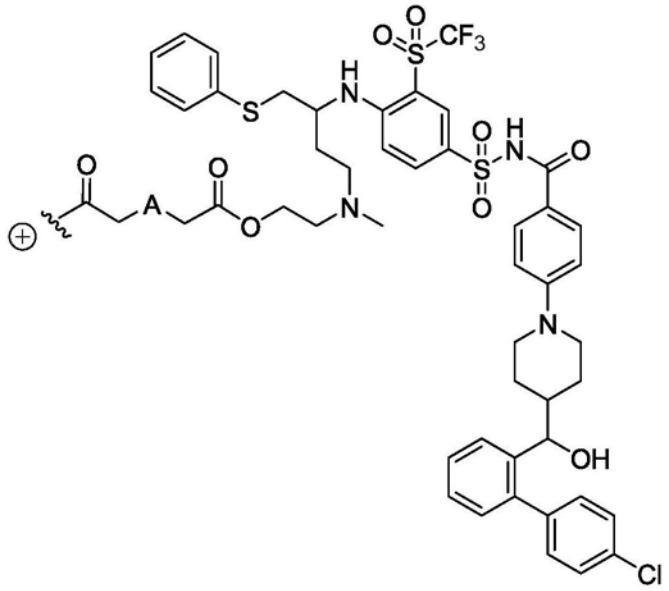
[0110] +指示至BU的羰基部分的共价附接或至W或Z的共价附接；

[0111] W独立地是$(PM)_c$或$(H)_e$；

[0112] Z独立地是$(L\text{-}AA)_d$或$(H)_e$；

[0113] PM是$PEG_{900\text{-}1200}$或$PEG_{1800\text{-}2400}$；

[0114] L-AA是共价附接至活性剂的接头；其中L-AA具有以下化学式：

[0115] 

[0116] 其中

[0117] A是-N(CH3)、-O-、-S-或-CH2-；

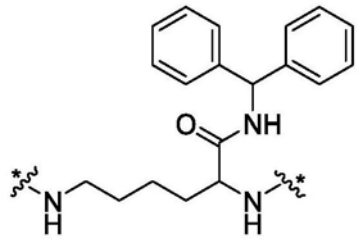
[0118] ⊕是至BUx的胺部分的附接点；

[0119] 条件是(c+d)≤(2x)b，且d≥1；且

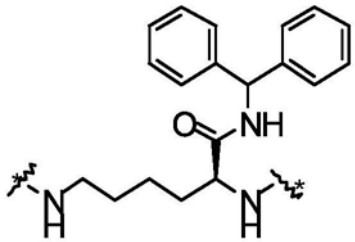
[0120] 条件是如果(c+d)<(2x)b，那么剩下的任何W和Z基团都是(H)e，其中e是[(2(x))b]-(c+d)。

[0121] 仅用于说明目的，图1是三代树枝状体的表示，包含核心、3个世代的构建单元(BU)和24个表面官能团。

[0122] 应当理解，树枝状体的核心是构建树枝状体的中心单元。就这一点而言，该核心是第一和后续世代的构建单元‘增长’的中心单元。在一个实施例中，具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体中任一个中的核心是

[0123] 

[0124] 其中*指示至树枝状体的构建单元的共价附接。在一些实施例中，具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体中任一个中的核心是

[0125] 

[0126] 其中*指示至树枝状体的构建单元的共价附接。

[0127] 术语“构建单元”或“BU”包括具有至少三个官能团的分子，一个附接至核心或先前

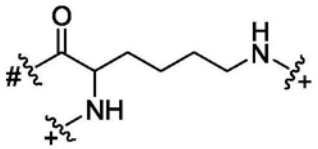
世代(或层)的构建单元中的构建单元,且两个或更多个官能团附接至下一世代(或层)的构建单元中的构建单元。使用构建单元,通过添加至核心或先前层的构建单元来构建树枝状体层。在一些实施例中,构建单元有三个官能团。

[0128] 术语“世代(generation)”包括构成枝状体或树枝状体的层的数量。例如,一世代树枝状体将有一层附接至核心的构建单元,例如,核心-[[构建单元]b,其中b是附接至该核心的枝状体数量以及该核心的化合价。二世代树枝状体在每个枝状体中有两层附接至核心的构建单元。例如,当该构建单元有一个二价分支点,树枝状体可以是:核心[[构建单元][构建单元]2]b,三世代树枝状体在每个枝状体中有三层附接至核心的构建单元,例如核心-[[构建单元][构建单元]2[构建单元]4]b,五世代树枝状体在每个枝状体中有五层附接至核心的构建单元,例如,核心-[[构建单元][构建单元]2[构建单元]4[构建单元]8[构建单元]16]b,6世代树枝状体有六层附接至核心的构建单元,例如,核心-[[构建单元][构建单元]2[构建单元]4[构建单元]8[构建单元]16[构建单元]32]b,以此类推。最后世代的构建单元(最外侧世代)提供树枝状体的表面官能化以及可用于结合药代动力学修饰基团(PM)和/或接头和活性剂(L-AA)的表面官能团的数量。

[0129] 术语“表面官能团”是指在最后世代的构建单元中发现的未反应的官能团。在一些实施例中,表面官能团的数量等于$(2^x)b$,其中x是树枝状体中的世代数,且b是枝状体的数量。在一些实施例中,表面官能团是伯氨基官能团。

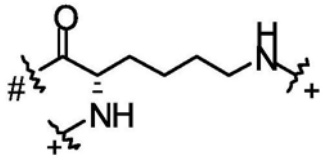
[0130] 具有有3个官能团(例如,一个分支点)的构建单元的树枝状体中构建单元的总数量等于$(2^x-1)b$,其中x等于世代数,而b等于枝状体的数量。例如,在具有附接两个枝状体的树枝状体(b=2)中,如果每个构建单元具有一个分支点,且有5个世代,将有62个构建单元,且最外侧世代将有16个构建单元,64个表面官能团。在一些实施例中,表面官能团是氨基部分,例如,伯胺或仲胺。在一些实施例中,树枝状体是五代树枝状体,具有二价核心、62个构建单元和64个伯氨基官能团。

[0131] 在一些实施例中,具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体中任一个中的构建单元具有以下结构:

[0132] 

[0133] 其中#指示至核心的胺部分或构建单元的氨基部分的共价附接,且+指示至构建单元的羰基部分的共价附接,或至药代动力学修饰基团、附接至活性剂的接头或氢的共价附接。在一些实施例中,树枝状体具有62个构建单元,64个伯氨基官能团。

[0134] 在一些实施例中,具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体中任一个中的构建单元具有以下结构:

[0135] 

[0136] 其中#指示至核心的胺部分或构建单元的氨基部分的共价附接,且+指示至构建单元的羰基部分的共价附接,或至药代动力学修饰基团、附接至活性剂的接头或氢的共价附

接。

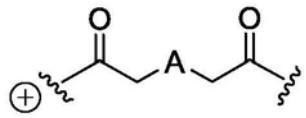
[0137] 术语“药代动力学修饰基团”或“PM”包括可以修饰或调节树枝状体或所递送的活性剂的药代动力学特性的部分。在一些实施例中,PM可以调节树枝状体或活性剂的分布、代谢和/或排泄。在一些实施例中,PM可以通过化学(例如,水解)或酶降解途径减慢或增加活性剂从树枝状体释放的速率而影响活性剂的释放速率。在一些实施例中,PM可以影响树枝状体的溶解特性,增加或降低在药学上可接受的载体中的溶解度。在一些实施例中,PM可以帮助树枝状体将活性剂递送至特定组织(例如,肿瘤)。

[0138] 在一些实施例中,在具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)和(V)的树枝状体中的任一个中,PM是聚乙二醇(PEG)。在一些实施例中,聚乙二醇(PEG)具有在约220与约5500Da之间的平均分子量。在一些实施例中,PEG具有在约500与约5000Da之间的平均分子量。在一些实施例中,PEG具有在约1000与2500Da之间的平均分子量。在一些实施例中,PEG具有在约1500与约2400Da之间的平均分子量。在一些实施例中,PEG具有在约900与约1200Da之间的分子量。在一些实施例中,PEG具有在约1800与约2400Da之间的分子量。在一些实施例中,PEG具有约2150的平均分子量。本领域的技术人员将轻易理解,术语“$PEG_{900-1200}$”包括平均分子量在约900与约1200Da之间的PEG,且术语“$PEG_{1800-2400}$”包括平均分子量在约1800与约2400Da之间的PEG。

[0139] 在一些实施例中,PEG的多分散指数(PDI)在约1.00与约2.00之间、在约1.00与1.50之间,例如在约1.00与约1.25之间、在约1.00与约1.10之间或在约1.00与约1.10之间。在一些实施例中,PEG的PDI是约1.05。术语“多分散指数”是指分子质量在给定聚合物样品中的分布量度。PDI等于重均分子量(M_w)除以数均分子量(M_n),且是指单个分子质量在一批聚合物中的分布。PDI的值等于或大于1,但当聚合物接近均匀链长和平均分子量,PD1将更接近1。

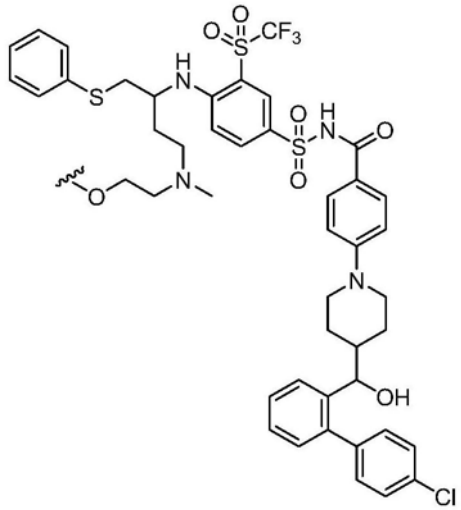
[0140] 在一些实施例中,树枝状体有少于$(2^x)b$个PEG基团,其中x是树枝状体的世代数,且b是枝状体的数量。在一些实施例中,所有的表面官能团共价附接至PEG基团。在一些实施例中,当x是5,树枝状体有约25与约60个之间的PEG基团。在一些实施例中,树枝状体有不超过2^x个PEG基团。在一些实施例中,树枝状体有2^x个PEG基团。例如,当树枝状体的构建单元有一个二价分支点,二世代树枝状体将有不超过4个PEG基团,三世代树枝状体将有不超过8个PEG基团,四世代树枝状体将有不超过16个PEG基团,五世代树枝状体将有不超过32个PEG基团。在一些实施例中,树枝状体具有少于2^x个PEG基团。在一些实施例中,树枝状体有约25与约64个之间的PEG基团。在一些实施例中,树枝状体有约25与约40个之间的PEG基团。在一些实施例中,树枝状体有不超过32个PEG基团。在一些实施例中,树枝状体有约25与约32个之间的PEG基团。在一些实施例中,树枝状体有约28与约32个之间的PEG基团。在一些实施例中,树枝状体有29个PEG基团、30个PEG基团、31个PEG基团或32个PEG基团。

[0141] 所披露的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)和(V)的树枝状体包括共价附接至活性剂的接头(L-AA),其中接头(L)的一端共价附接至最后世代的构建单元上的表面官能团,而接头的另一端共价附接至活性剂(AA)。在一些实施例中,具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体中任一个中的接头具有以下结构:

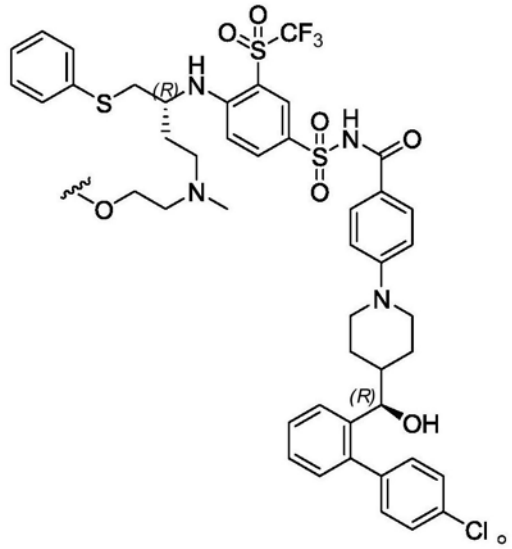
[0142] 

[0143] 其中⊕共价附接至最后世代的构建单元上的氨基官能团，～是至活性剂(AA)的共价附接点，且A是-N(CH3)、-O-、-S-或-CH2-。在一些实施例中，A是-CH2-。在一些实施例中，A是-O-。在一些实施例中，A是-S-。在一些实施例中，A是-N(CH3)。

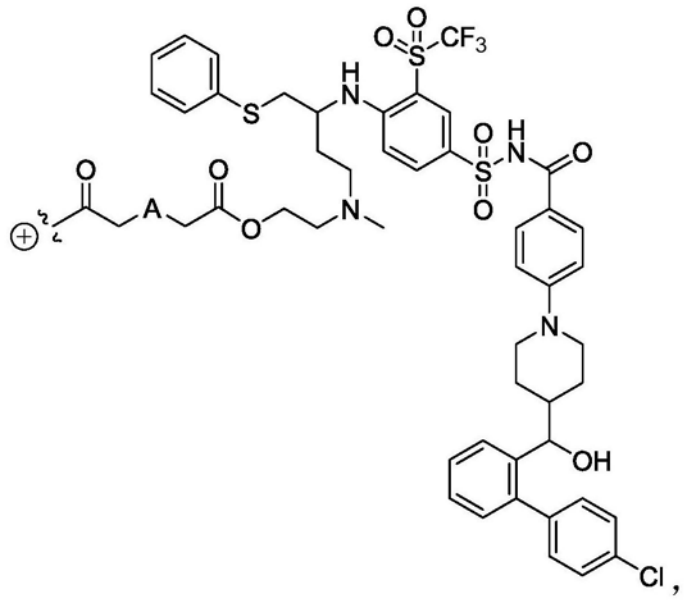
[0144] 在一些实施例中，AA是Bcl抑制剂。在一些实施例中，AA是Bcl-2和/或Bcl-XL抑制剂。在一些实施例中，AA是美国专利号9,018,381中披露的Bcl-2和/或Bcl-XL抑制剂。在一些实施例中，具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体中任一个中的AA具有以下结构：

[0145] 

[0146] 其中～是至接头的共价附接点。在一些实施例中，具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体中任一个中的AA具有以下结构：

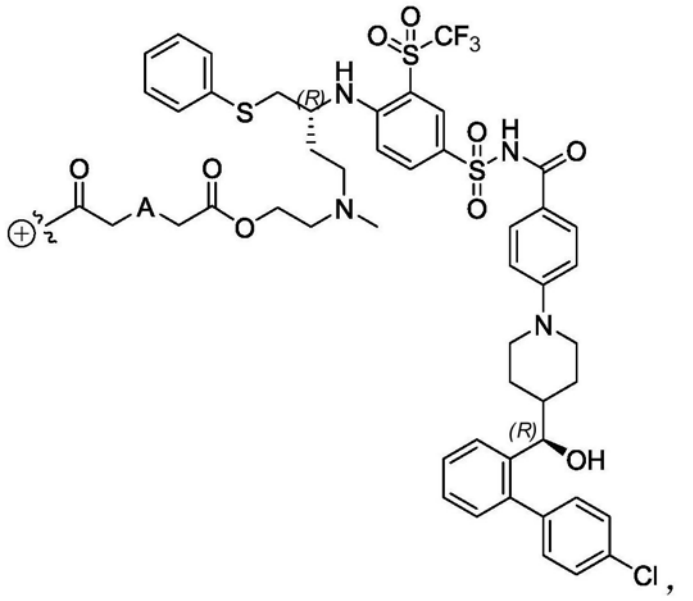
[0147] 

[0148] 在一些实施例中，具有(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体中任一个中的L-AA的结构是：

[0149] 

[0150] 其中⊕共价附接至最后世代的构建单元上的氨基官能团，且A是-N(CH3)、-O-、-S-或-CH2-。在一些实施例中，A是-CH2-。在一些实施例中，A是-O-。在一些实施例中，A是-S-。在一些实施例中，A是-N(CH3)。

[0151] 在一些实施例中，具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体中任一个中的L-AA的结构是：

[0152] 

[0153] 其中⊕共价附接至最后世代的构建单元上的氨基官能团，且A是-N(CH3)、-O-、-S-或-CH2-。在一些实施例中，A是-CH2-。在一些实施例中，A是-O-。在一些实施例中，A是-S-。在一些实施例中，A是-N(CH3)。

[0154] 在一些实施例中，具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)和(V)中任一个的树枝状体有少于$(2^x)b$个L-AA基团，其中x是树枝状体的世代数，且b是枝状体的数量。在一些实施例中，所有的表面官能团共价附接至L-AA基团。在一些实施例中，当x是5，树枝状体有约25与约64个之间的L-AA基团。在一些实施例中，树枝状体有不超过2^x个L-AA基团。在一些实施例中，树枝状体有2^x个L-AA基团。例如，当树枝状体的构建单元有一个双官能分支点，二世代树枝

状体将有不超过4个L-AA基团，三世代树枝状体将有不超过8个L-AA基团，四世代树枝状体将有不超过16个L-AA基团，五世代树枝状体将有不超过32个L-AA基团。在一些实施例中，树枝状体具有少于2^x个L-AA基团。在一些实施例中，树枝状体有约25与约64个之间的L-AA基团。在一些实施例中，树枝状体有约25与约40个之间的L-AA基团。在一些实施例中，树枝状体有不超过32个L-AA基团。在一些实施例中，树枝状体有约25与约32个之间的L-AA基团。在一些实施例中，树枝状体有约28与约32个之间的L-AA基团。在一些实施例中，树枝状体具有29个L-AA基团、30个L-AA基团、31个L-AA基团或32个L-AA基团。

[0155] 在一些实施例中，在具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)和(V)的树枝状体中的任一个中，L-AA基团和PEG基团的总数可以等于不超过64。在一些实施例中，L-AA基团和PEG基团的总数可以小于64，条件是树枝状体具有至少一个L-AA基团。在一些实施例中，L-AA基团和PEG基团的总数可以在约50与约64之间。在L-AA基团和PEG基团的总数小于64的情况下，最后世代的构建单元的未反应表面官能单位仍为伯氨基基团，条件是树枝状体有至少一个L-AA基团。例如，最后世代的构建单元上的伯氨基基团的数量等于64减去L-AA和PEG基团的总数(例如，64-(L-AA+PEG)，条件是树枝状体具有至少一个L-AA基团。例如，如果L-AA基团和PEG基团的总数是50，那么14个表面官能团将仍为伯氨基部分，如果L-AA基团和PEG基团的总数是51，那么13个表面官能团将仍为伯氨基部分，如果L-AA基团和PEG基团的总数是52，那么12个表面官能团将仍为伯氨基部分，如果L-AA基团和PEG基团的总数是53，那么11个表面官能团将认为伯氨基部分，等等。在一些实施例中，树枝状体上伯氨基部分的数量在约0与约14之间。在一些实施例中，如果PEG基团的数量和L-AA基团的数量的总数小于$(2^x)b$，其中x是树枝状体的世代数，且b是枝状体的数量，那么剩余的表面官能团等于64减去PEG基团和L-AA基团的总数，条件是树枝状体具有至少一个L-AA基团。

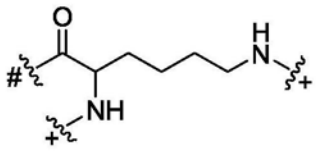
[0156] 在一些实施例中，W是$(PM)_c$或$(H)_e$；Z是$(L-AA)_d$或$(H)_e$；条件是$(c+d)\leqslant(2^x)b$，且条件是$d\geqslant1$；其中x是世代数，且b是枝状体数量，且条件是如果$(c+d)<(2^x)b$，那么剩下的任何W和Z基团都是$(H)_e$，其中e是$[2^{(x+1)}]-(c+d)$。例如，当b是2，且x是5，那么$(c+d)\leqslant64$。在一些实施例中，$(c+d)=64$；即$(PM)_c$和$(L-AA)_d$的总数等于64。在一些实施例中，当b是2，且x是5，那么$(c+d)<64$；即$(PM)_c$和$(L-AA)_d$的总数小于64，条件是$d\geqslant1$。在一些实施例中，(c+d)是50与64之间的整数。在一些实施例中，(c+d)是58与64之间的整数。

[0157] 在一些实施例中，$(c+d)=(2^x)b$，在这种情况下，没有$(H)_e$，且e是0。例如，如果b是2，且x是5，且$(PM)_c$和$(L-AA)_d$的总数等于64，那么树枝状体中五世代的构建单元上没有未取代的表面官能团，且因此e是0。然而，$(c+d)<(2^x)b$，那么$(H)_e$等于$(2^x)b-(c+d)$。例如，如果b是2，x是5，且$(PM)_c$和$(L-AA)_d$的总数小于64，那么五世代的构建块上的未取代表面官能团的数量等于64减去$(PM)_c$和$(L-AA)_d$的总数。在这种情况下，e等于64减去$(PM)_c$和$(L-AA)_d$的总数。在一些实施例中，当(c+d)的总数是50与64之间的整数，e是0与14之间的整数。在一些实施例中，当(c+d)是58与64之间的整数，e是0与6之间的整数。在一些实施例中，(c+d)是58，且e是6。在一些实施例中，(c+d)是59，且e是5。在一些实施例中，(c+d)是60，且e是4。在一些实施例中，(c+d)是61，且e是3。在一些实施例中，(c+d)是62，且e是2。在一些实施例中，(c+d)是63，且e是1。在一些实施例中，(c+d)是60，且e是0。

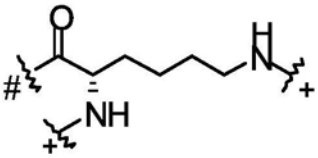
[0158] 在一些实施例中，具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)和(V)的树枝状体中的任一个具有约90至约120KDa的分子量。在一些实施例中，树枝状体具有约100与115kDa的分子量。

在一些实施例中，树枝状体具有约100至约110kDa的分子量。在一些实施例中，树枝状体具有约100至约105kDa的分子量。在一些实施例中，树枝状体的分子量是约100kDa、约101kDa、约102kDa、约103KDa、约104kDa、约105kDa、约106KDa、约107kDa、约108kDa、约109kDa或约110kDa。

[0159] 在一些实施例中，当BU是

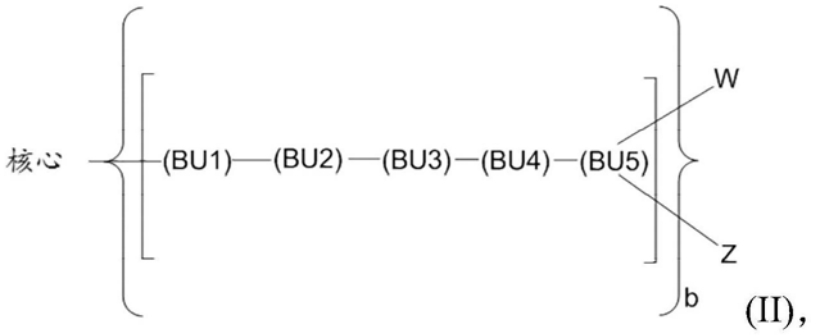


[0160] 或



[0161] PEG共价附接至BU的ε-位置的氨基官能度，且L-AA共价附接至BU的α-位置的氨基官能度。

[0162] 在一些实施例中，披露了具有化学式(II)的树枝状体：

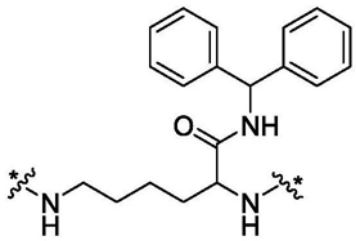
[0163] 

(II)，

[0164] 或其药学上可接受的盐，其中

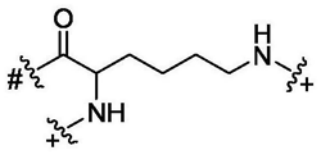
[0165] b是2；

[0166] 核心是

[0167] 

[0168] *指示至(BU1)的羰基部分的共价附接；

[0169] BU是构建单元，且BU的数量等于62；其中BU具有以下结构：

[0170] 

[0171] #指示至核心的胺部分或BU的氨基部分的共价附接，且+指示至BU的羰基部分的共

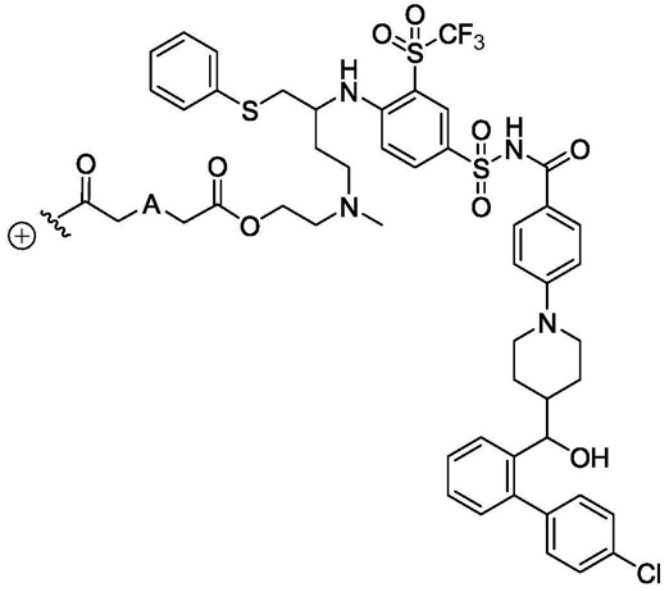
价附接或至W或Z的共价附接；

[0172] W独立地是$(PM)_c$或$(H)_e$；

[0173] Z独立地是$(L\text{-}AA)_d$或$(H)_e$；

[0174] PM是$PEG_{900\text{-}1200}$或$PEG_{1800\text{-}2400}$；

[0175] L-AA是共价附接至活性剂的接头；其中L-AA具有以下化学式：

[0176] 

[0177] 其中

[0178] A是$-N(CH_3)-$、-O-、-S-或$-CH_2-$；

[0179] ⊕指示至BU5的胺部分的共价附接；

[0180] 条件是$(c+d)\leq 64$，且$d\geq 1$；且

[0181] 条件是如果$(c+d)<64$，那么剩下的任何W和Z基团都是$(H)_e$，其中e是$64-(c+d)$。

[0182] 在具有化学式(II)的树枝状体的一些实施例中，$(PM)_c$是$PEG_{900\text{-}1200}$，且A是-O-。在一些实施例中，$(PM)_c$是$PEG_{1800\text{-}2400}$，且A是-O-。在具有化学式(II)的树枝状体的一些实施例中，$(PM)_c$是$PEG_{1800\text{-}2400}$，且A是$-N(CH_3)-$。在具有化学式(II)的树枝状体的一些实施例中，$(PM)_c$是$PEG_{1800\text{-}2400}$，且A是-S-。在具有化学式(II)的树枝状体的一些实施例中，$(PM)_c$是$PEG_{1800\text{-}2400}$，且A是$-CH_2-$。

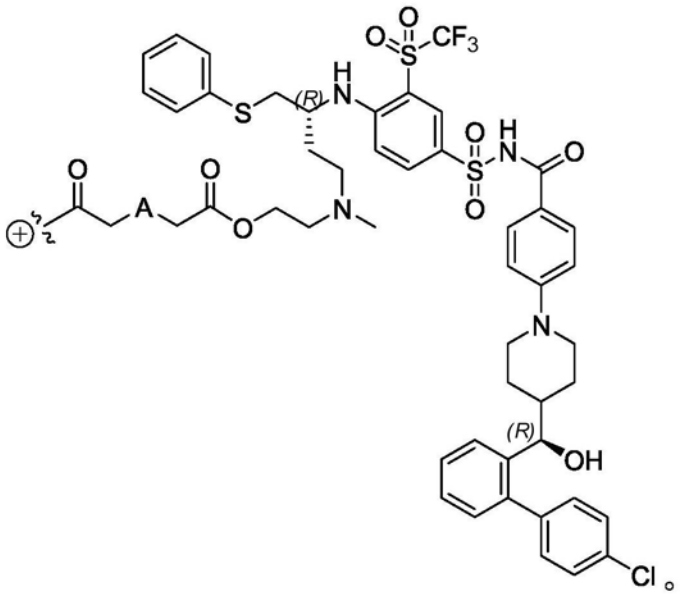
[0183] 在具有化学式(II)的树枝状体的一些实施例中，c是25与32之间的整数。在具有化学式(II)的树枝状体的一些实施例中，c是29与32之间的整数。在具有化学式(II)的树枝状体的一些实施例中，c是29。在具有化学式(II)的树枝状体的一些实施例中，c是30。在具有化学式(II)的树枝状体的一些实施例中，c是31。在具有化学式(II)的树枝状体的一些实施例中，c是32。

[0184] 在具有化学式(II)的树枝状体的一些实施例中，d是25与32之间的整数。在具有化学式(II)的树枝状体的一些实施例中，d是29与32之间的整数。在具有化学式(II)的树枝状体的一些实施例中，d是29。在具有化学式(II)的树枝状体的一些实施例中，d是30。在具有化学式(II)的树枝状体的一些实施例中，d是31。在具有化学式(II)的树枝状体的一些实施例中，d是32。

[0185] 在具有化学式(II)的树枝状体的一些实施例中，e是0与14之间的整数。在具有化

学式(II)的树枝状体的一些实施例中，e是0与6之间的整数。在具有化学式(II)的树枝状体的一些实施例中，e是0。在具有化学式(II)的树枝状体的一些实施例中，e是1。在具有化学式(II)的树枝状体的一些实施例中，e是2。在具有化学式(II)的树枝状体的一些实施例中，e是3。在具有化学式(II)的树枝状体的一些实施例中，e是4。在具有化学式(II)的树枝状体的一些实施例中，e是5。在具有化学式(II)的树枝状体的一些实施例中，e是6。

[0186] 在具有化学式(II)的树枝状体的一些实施例中，L-AA是：

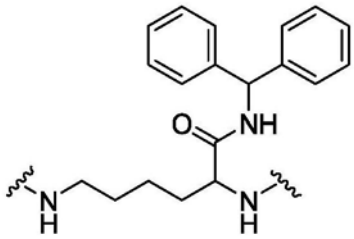
[0187] 

[0188] 在一些实施例中，披露了具有化学式(III)的树枝状体：

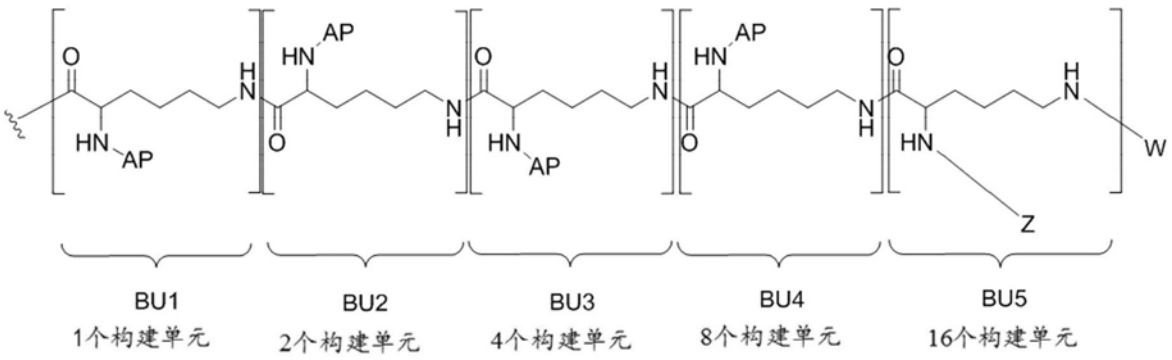
[0189] D-核心-D (III)

[0190] 或其药学上可接受的盐，其中

[0191] 核心是

[0192] 

[0193] D是

[0194] 

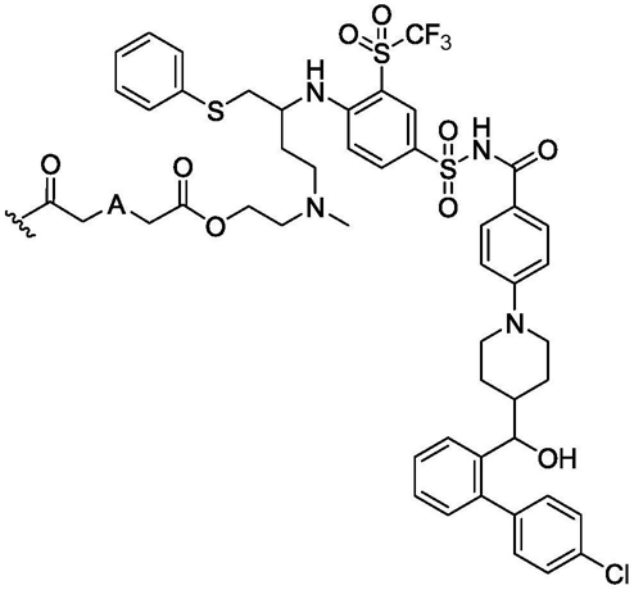
[0195] AP是至另一个构建单元的附接点；

[0196] W独立地是(PM)$_c$或(H)$_e$；

[0197] Z独立地是(L-AA)$_d$或(H)$_e$；

[0198] PM是$PEG_{900-1200}$或$PEG_{1800-2400}$；

[0199] L-AA是共价附接至活性剂的接头；其中L-AA具有以下化学式：

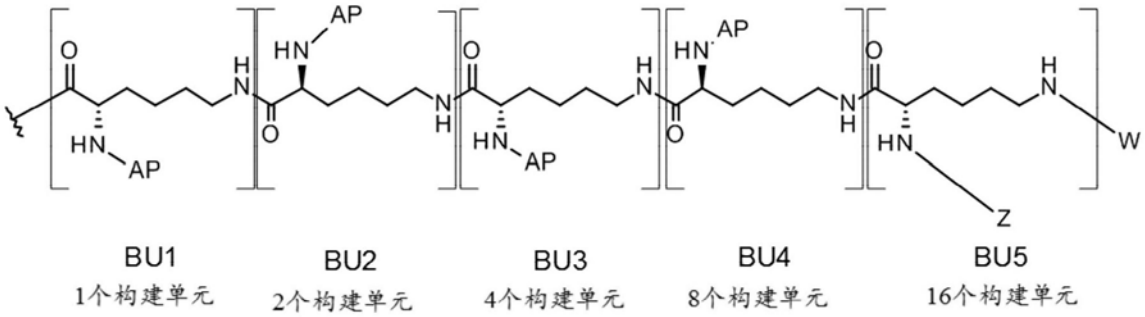
[0200] 

[0201] 其中

[0202] A是-N(CH_3)、-O-、-S-或-CH_2-；

[0203] 条件是如果(c+d)<64，那么剩下的任何W和Z基团都是(H)$_e$，其中e是64-(c+d)；且d≥1。

[0204] 在一些实施例中，D是

[0205] 

[0206] 在具有化学式(III)的树枝状体的一些实施例中，(PM)$_c$是$PEG_{900-1200}$，且A是-O-。在具有化学式(III)的树枝状体的一些实施例中，(PM)$_c$是$PEG_{1800-2400}$，且A是-O-。在具有化学式(III)的树枝状体的一些实施例中，(PM)$_c$是$PEG_{1800-2400}$，且A是-N(CH_3)。在具有化学式(III)的树枝状体的一些实施例中，(PM)$_c$是$PEG_{1800-2400}$，且A是-S-。在具有化学式(III)的树枝状体的一些实施例中，(PM)$_c$是$PEG_{1800-2400}$，且A是-CH_2-。

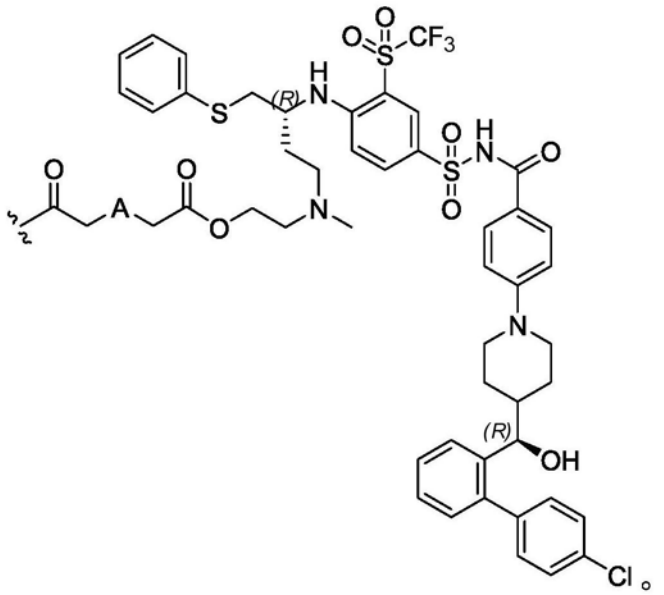
[0207] 在具有化学式(III)的树枝状体的一些实施例中，c是25与32之间的整数。在具有化学式(III)的树枝状体的一些实施例中，c是29与32之间的整数。在具有化学式(III)的树枝状体的一些实施例中，c是29。在具有化学式(III)的树枝状体的一些实施例中，c是30。在具有化学式(III)的树枝状体的一些实施例中，c是31。在具有化学式(III)的树枝状体的一

些实施例中，c是32。

[0208] 在具有化学式(III)的树枝状体的一些实施例中，d是25与32之间的整数。在具有化学式(III)的树枝状体的一些实施例中，d是29与32之间的整数。在具有化学式(III)的树枝状体的一些实施例中，d是29。在具有化学式(III)的树枝状体的一些实施例中，d是30。在具有化学式(III)的树枝状体的一些实施例中，d是31。在具有化学式(III)的树枝状体的一些实施例中，d是32。

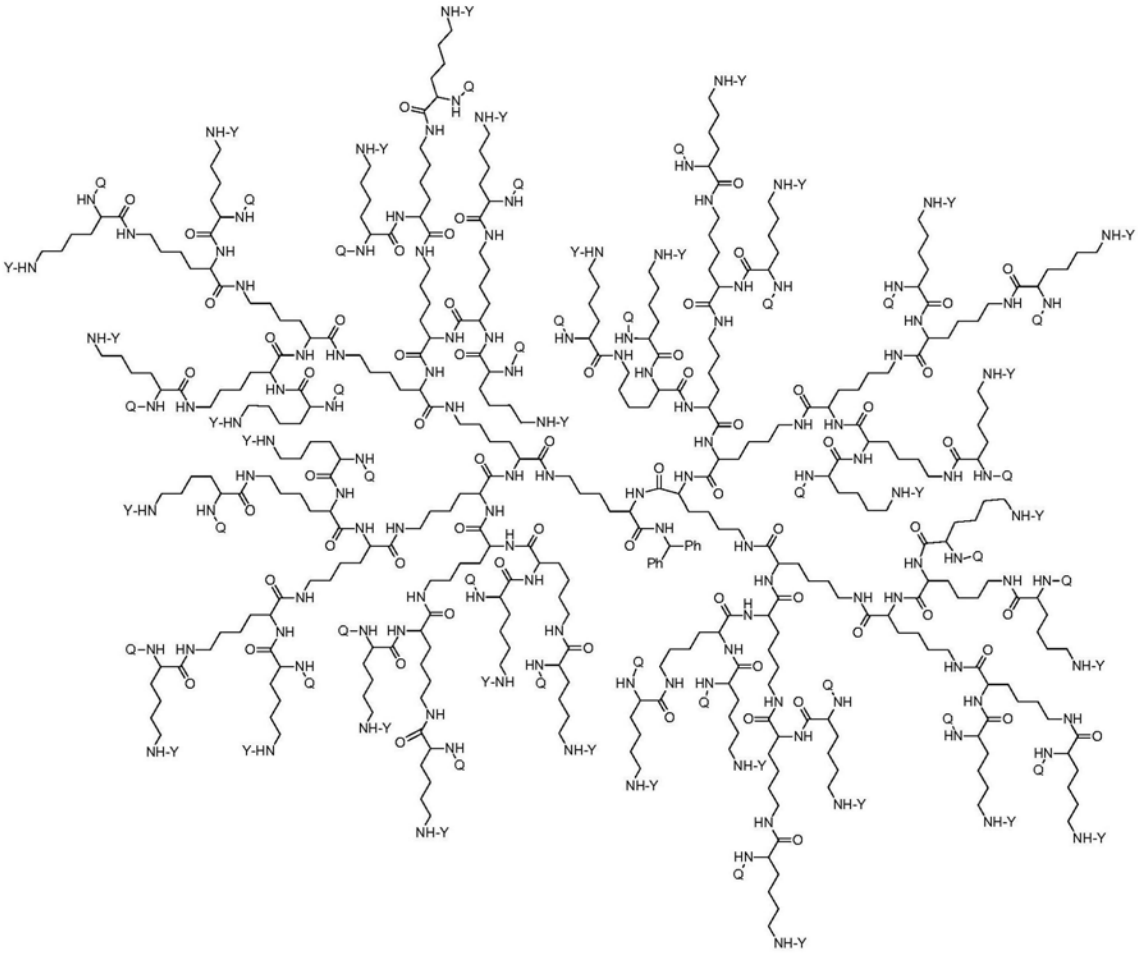
[0209] 在具有化学式(III)的树枝状体的一些实施例中，e是0与14之间的整数。在具有化学式(III)的树枝状体的一些实施例中，e是0与6之间的整数。在具有化学式(III)的树枝状体的一些实施例中，e是0。在具有化学式(III)的树枝状体的一些实施例中，e是1。在具有化学式(III)的树枝状体的一些实施例中，e是2。在具有化学式(III)的树枝状体的一些实施例中，e是3。在具有化学式(III)的树枝状体的一些实施例中，e是4。在具有化学式(III)的树枝状体的一些实施例中，e是5。在具有化学式(III)的树枝状体的一些实施例中，e是6。

[0210] 在具有化学式(III)的树枝状体的一些实施例中，具有化学式(III)的树枝状体的L-AA是：

[0211] 

[0212] 在一些实施例中，披露了具有化学式(IV)的树枝状体：

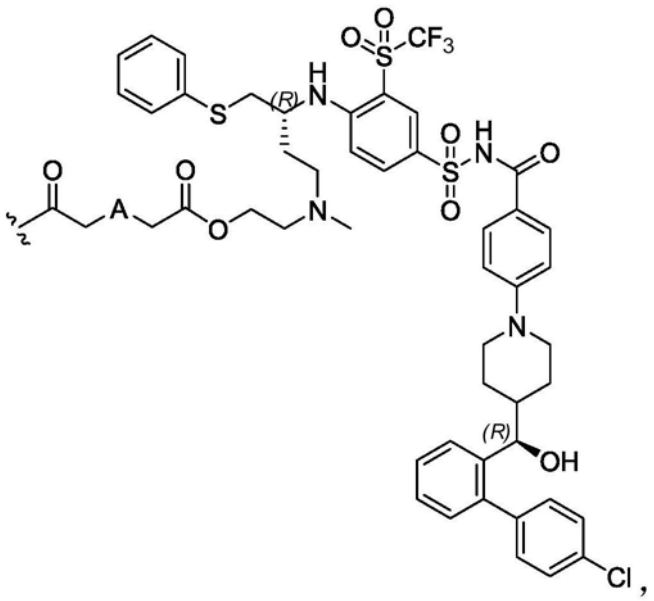
[0213]



(IV),

或其药学上可接受的盐，其中Y是$PEG_{1800-2400}$或H；Q是H或L-AA，其中L-AA具有以下结构：

[0214]



[0215] A是-S-或-N(CH_3)，条件是如果$PEG_{1800-2400}$和L-AA的总数小于64，那么剩下的Q和Y部分是H，且条件是至少一个Q是L-AA。

[0216] 在具有化学式(IV)的树枝状体的一些实施例中，A是-N(CH_3)。在具有化学式(IV)

的树枝状体的一些实施例中，A是-S-。

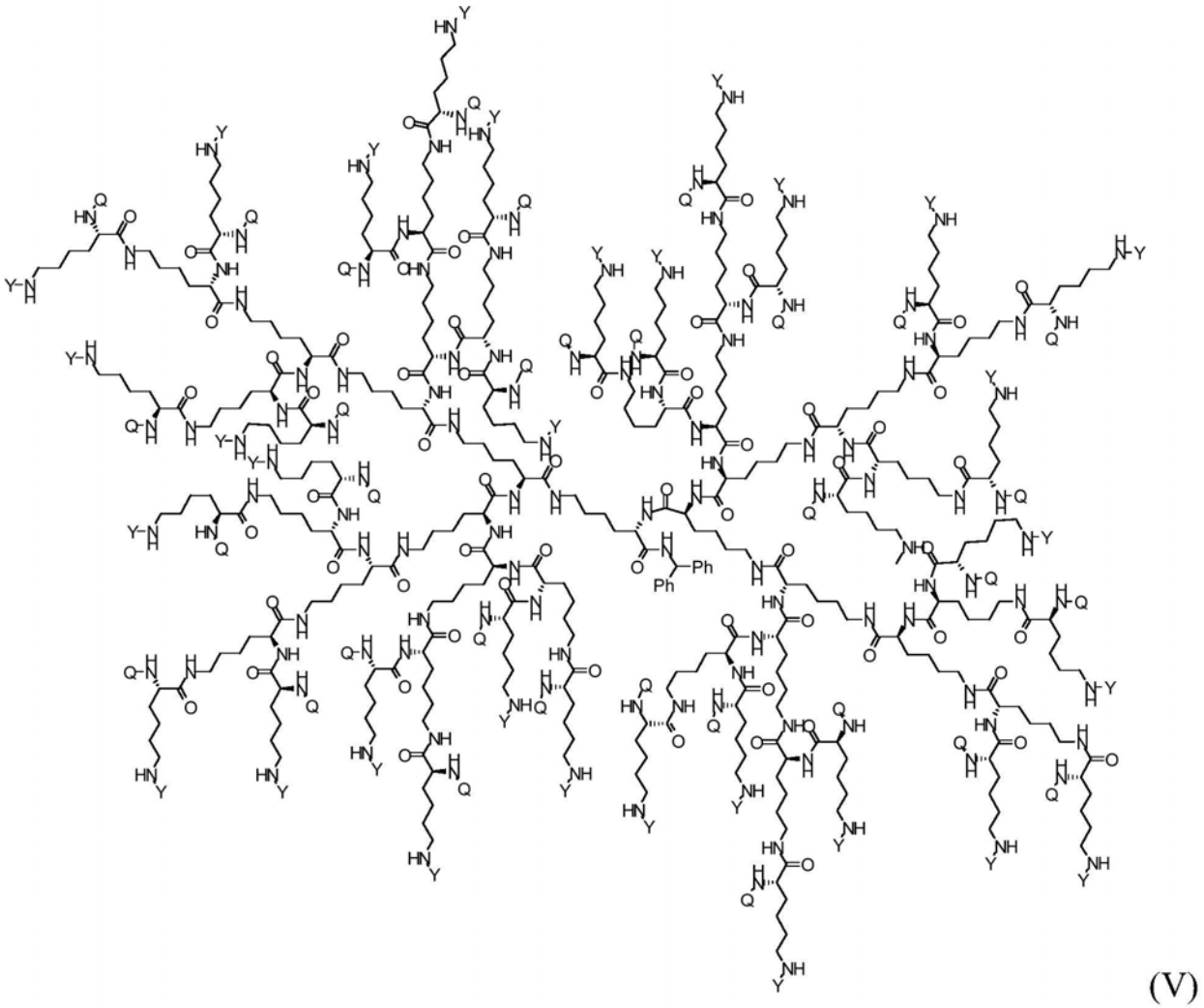
[0217] 在一些实施例中，具有化学式(IV)的树枝状体有25与32个之间的$PEG_{1800-2400}$。在一些实施例中，具有化学式(IV)的树枝状体有29与32个之间的$PEG_{1800-2400}$。在一些实施例中，具有化学式(IV)的树枝状体有29个$PEG_{1800-2400}$。在一些实施例中，具有化学式(IV)的树枝状体有30个$PEG_{1800-2400}$。在一些实施例中，具有化学式(IV)的树枝状体有31个$PEG_{1800-2400}$。在一些实施例中，具有化学式(IV)的树枝状体有32个$PEG_{1800-2400}$。

[0218] 在一些实施例中，具有化学式(IV)的树枝状体有25与32个之间的L-AA。在一些实施例中，具有化学式(IV)的树枝状体有29与32个之间的L-AA。在一些实施例中，具有化学式(IV)的树枝状体有29个L-AA。在一些实施例中，具有化学式(IV)的树枝状体有30个L-AA。在一些实施例中，具有化学式(IV)的树枝状体有31个L-AA。在一些实施例中，具有化学式(IV)的树枝状体有32个L-AA。

[0219] 在一些实施例中，具有化学式(IV)的树枝状体在Q和/或Y位置有0与14个之间的氢。在一些实施例中，具有化学式(IV)的树枝状体在Q和/或Y位置有0与6个之间的氢。在一些实施例中，具有化学式(IV)的树枝状体在Q和/或Y位置有1个氢。在一些实施例中，具有化学式(IV)的树枝状体在Q和/或Y位置有2个氢。在一些实施例中，具有化学式(IV)的树枝状体在Q和/或Y位置有3个氢。在一些实施例中，具有化学式(IV)的树枝状体在Q和/或Y位置有4个氢。在一些实施例中，具有化学式(IV)的树枝状体在Q和/或Y位置有5个氢。在一些实施例中，具有化学式(IV)的树枝状体在Q和/或Y位置有6个氢。

[0220] 在一些实施例中，披露了具有化学式(V)的树枝状体：

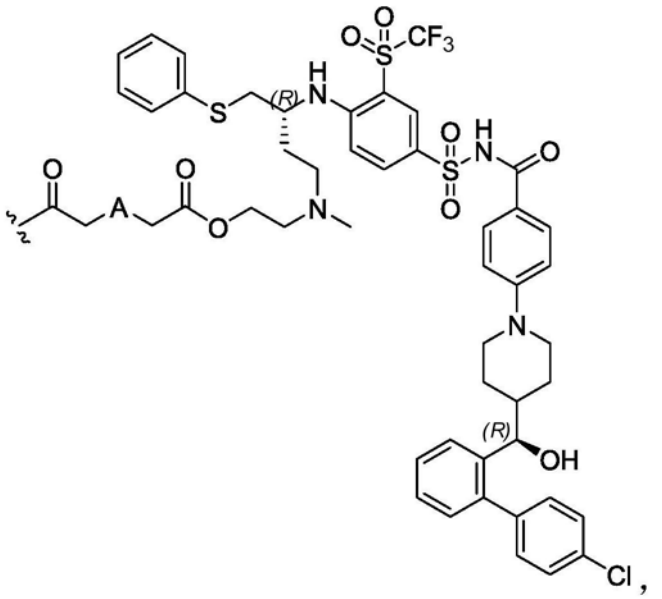
[0221]



(V)

[0222] 或其药学上可接受的盐，其中Y是$PEG_{1800-2400}$或H；Q是H或L-AA，其中L-AA具有以下结构：

[0223]



[0224] A是-S-或-N(CH_3)，条件是如果$PEG_{1800-2400}$和L-AA的总数小于64，那么剩下的Q和Y

部分是H,且条件是至少一个Q是L-AA。

[0225] 在具有化学式(V)的树枝状体的一些实施例中,A是-N(CH3)。在具有化学式(V)的树枝状体的一些实施例中,A是-S-。

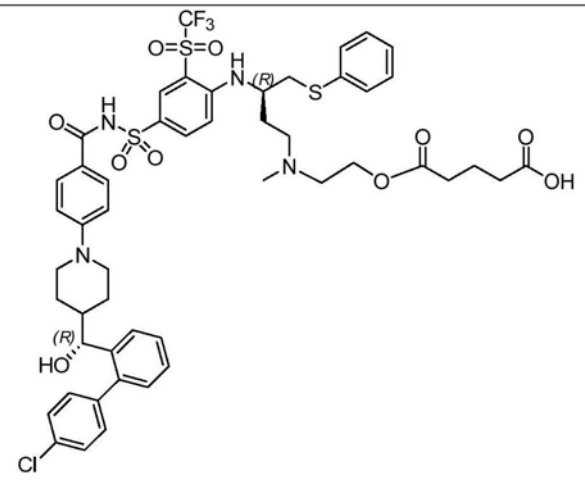
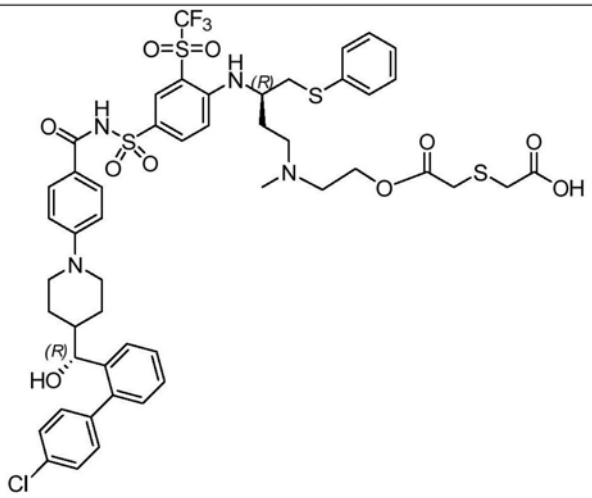
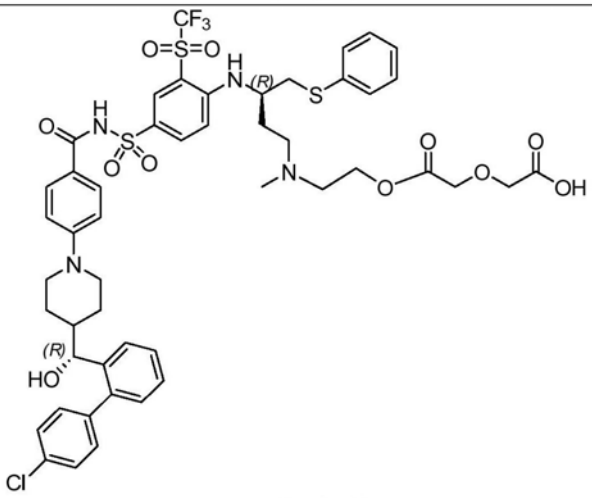
[0226] 在一些实施例中,具有化学式(V)的树枝状体有25与32个之间的$PEG_{1800-2400}$。在一些实施例中,具有化学式(V)的树枝状体有29与32个之间的$PEG_{1800-2400}$。在一些实施例中,具有化学式(V)的树枝状体有29个$PEG_{1800-2400}$。在一些实施例中,具有化学式(V)的树枝状体有30个$PEG_{1800-2400}$。在一些实施例中,具有化学式(V)的树枝状体有31个$PEG_{1800-2400}$。在一些实施例中,具有化学式(V)的树枝状体有32个$PEG_{1800-2400}$。

[0227] 在一些实施例中,具有化学式(V)的树枝状体有25与32个之间的L-AA。在一些实施例中,具有化学式(V)的树枝状体有29与32个之间的L-AA。在一些实施例中,具有化学式(V)的树枝状体有29个L-AA。在一些实施例中,具有化学式(V)的树枝状体有30个L-AA。在一些实施例中,具有化学式(V)的树枝状体有31个L-AA。在一些实施例中,具有化学式(V)的树枝状体有32个L-AA。

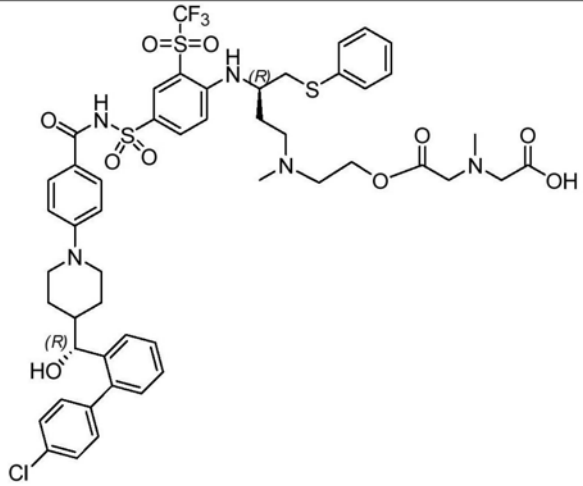
[0228] 在一些实施例中,具有化学式(V)的树枝状体在Q和/或Y位置有0与14个之间的氢。在一些实施例中,具有化学式(V)的树枝状体在Q和/或Y位置有0与6个之间的氢。在一些实施例中,具有化学式(V)的树枝状体在Q和/或Y位置有1个氢。在一些实施例中,具有化学式(V)的树枝状体在Q和/或Y位置有2个氢。在一些实施例中,具有化学式(V)的树枝状体在Q和/或Y位置有3个氢。在一些实施例中,具有化学式(V)的树枝状体在Q和/或Y位置有4个氢。在一些实施例中,具有化学式(V)的树枝状体在Q和/或Y位置有5个氢。在一些实施例中,具有化学式(V)的树枝状体在Q和/或Y位置有6个氢。

[0229] 在一些实施例中,还披露了具有以下结构的化合物:

[0230]

 Glu-化合物 A	5-(2-(((R)-3-(4-(N-(4-(4-((R)-(4'-氯联苯-2-基)(羟基)甲基)哌啶-1-基)苯甲酰基)氨磺酰基)-2-(三氟甲基磺酰基)苯基氨基)-4-(苯硫基)丁基)(甲基)氨基)乙氧基)-5-氧代戊酸
 TDA-化合物 A	2-(2-(2-(((R)-3-(4-(N-(4-(4-((R)-(4'-氯联苯-2-基)(羟基)甲基)哌啶-1-基)苯甲酰基)氨磺酰基)-2-(三氟甲基磺酰基)苯基氨基)-4-(苯硫基)丁基)(甲基)氨基)乙氧基)-2-氧代乙硫基)乙酸
 DGA-化合物 A	2-(2-(2-(((R)-3-(4-(N-(4-(4-((R)-(4'-氯联苯-2-基)(羟基)甲基)哌啶-1-基)苯甲酰基)氨磺酰基)-2-(三氟甲基磺酰基)苯基氨基)-4-(苯硫基)丁基)(甲基)氨基)乙氧基)-2-氧代乙氧基)乙酸

[0231]

 MIDA-化合物 A	2-((2-(2-(((R)-3-(4-(N-(4-(4-((R)-(4'-氯联苯-2-基)(羟基)甲基)哌啶-1-基)苯甲酰基)氨磺酰基)-2-(三氟甲基磺酰基)苯基氨基)-4-(苯硫基)丁基)(甲基)氨基)乙氧基)-2-氧代乙基)(甲基)氨基)乙酸

[0232] 语言“药学上可接受的盐”包括保留了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)和(V)的树枝状体的生物有效性和特性，并且典型地不是生物学上或其他不希望的酸加成盐或碱盐。在许多情况下，由于存在碱性和/或羧基基团或与其类似的基团，具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)和(V)的树枝状体能够形成酸盐和/或碱盐。

[0233] 药学上可接受的酸加成盐可以用无机酸和有机酸来形成，例如，乙酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、溴化物/氢溴酸盐、碳酸氢盐/碳酸盐、硫酸氢盐/硫酸盐、樟脑磺酸盐、氯化物/盐酸盐、chlortheophyllonate、柠檬酸盐、乙二磺酸盐(ethanedisulfonate)、延胡索酸盐、葡庚糖酸盐、葡糖酸盐、葡糖醛酸盐、马尿酸盐、氢碘酸盐/碘化物、羟乙基磺酸盐、乳酸盐、乳糖酸盐、月桂基硫酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、扁桃酸盐、甲磺酸盐、甲基硫酸盐、萘甲酸盐、萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、十八酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、palmoate、磷酸盐/磷酸氢盐/磷酸二氢盐、聚半乳糖醛酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、次水杨酸盐、硫酸盐/硫酸氢盐、酒石酸盐、甲苯磺酸盐和三氟乙酸盐。可以从中衍生盐的无机酸包括例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等。可以从中衍生盐的有机酸包括例如乙酸、丙酸、乙醇酸、草酸、马来酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、扁桃酸、甲磺酸、乙磺酸、甲苯磺酸、三氟乙酸、磺基水杨酸等。

[0234] 药学上可接受的碱加成盐可以用无机碱和有机碱来形成。可以从中衍生盐的无机碱包括例如氨以及铵和来自周期表第I至XII列的金属的盐。在某些实施例中，盐衍生自钠、钾、铵、钙、镁、铁、银、锌和铜;特别合适的盐包括铵盐、钾盐、钠盐、钙盐和镁盐。可以从中衍生盐的有机碱包括例如伯胺、仲胺和叔胺，经取代的胺(包括天然存在的经取代胺)，环胺，碱性离子交换树脂等。某些有机胺包括异丙基胺、苄星青霉素、胆碱盐(cholinate)、二乙醇胺、二乙胺、赖氨酸、葡甲胺、哌嗪和氨丁三醇。

[0235] 具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)和(V)的树枝状体的药学上可接受的盐可以通过常规化学方法从碱性或酸性部分来合成。通常，此类盐可以通过将这些化合物的游离酸形式与化学计算量的适当的碱(如Na^+、Ca^{2+}、Mg^{2+}、或K^+的氢氧化物、碳酸盐、碳酸氢盐等)反应，或通过将这些化合物的游离碱形式与化学计算量的适当的酸反应来制备。典型地，此类反应在水中或在有机溶剂中或在这两者的混合物中进行。通常，在可行的情况下，使用非水

介质如醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇、或乙腈是可取的。其他合适的盐的列表可以在例如“Remington's Pharmaceutical Sciences[雷明顿药物科学],”第20版,Mack Publishing Company[马克出版公司],伊斯顿,宾夕法尼亚州(1985);Berge等人,"J.Pharm.Sci.[药学科学杂志],1977,66,1-19和Stahl和Wermuth的“Handbook ofPharmaceutical Salts:Properties,Selection,andUse[药用盐手册:性质、选择和用途]”(Wiley-VCH出版社,魏因海姆(Weinheim),德国,2002)中发现。

[0236] 在此给出的任何化学式还表示具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)和(V)的树枝状体的未标记的形式连同同位素标记形式。除了一个或多个原子是由相同元素但具有不同质量数的原子替换之外,同位素标记的化合物具有由在此给出的化学式所描绘的结构。可掺入到具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)和(V)的树枝状体及其盐中的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、氟和氯的同位素,如^{2}H、^{3}H、^{11}C、^{13}C、^{14}C、^{15}N、^{35}S和^{125}I。具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)和(V)的树枝状体可以包括各种同位素标记的化合物,其中存在放射性同位素,如^{3}H、^{11}C、^{14}C、^{35}S和^{36}Cl。具有化学式(I)、(II)、(III)和(IV)的同位素标记的树枝状体通常可以通过本领域技术人员已知的常规技术或通过与在附随的实例中所描述的那些类似的过程使用适当的同位素标记的试剂替代以前采用的非标记的试剂来制备。

[0237] 具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)和(V)的树枝状体可以具有不同的异构体形式。语言“光学异构体”或“立体异构体”是指针对给定的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)和(V)的树枝状体可能存在的任何各种立体异构构型。具体地,具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)和(V)的树枝状体具有手性,且因此可以作为对映体混合物,以约0%与>98%e.e之间的对映体过量存在。当化合物是纯对映体时,每个对映中心的立体化学可通过R或S指定。此类名称也可以用于富含一种对映体的混合物。绝对构型未知的拆分化合物可以取决于它们在钠D线的波长处旋转平面偏振光的方向(右旋或左旋)来指定(+)或(-)。本披露意在包括所有这些可能的异构体,包括外消旋混合物、光学上纯的形式和中间体混合物。光学活性的(R)-和(S)-异构体可以使用手性合成子、手性试剂或手性催化剂来制备,或使用本领域熟知的常规技术如手性HPLC来拆分。

[0238] 药物组合物

[0239] 在一些实施例中,披露了包含具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的赋形剂、载体或稀释剂的药物组合物。

[0240] 语言“药学上可接受的赋形剂、载体或稀释剂”包括如由本领域技术人员所确定的,在合理医学判断的范围内适用于与人类和动物的组织接触而无过度的毒性、刺激性、过敏反应或其他问题或并发症的化合物、材料、组合物和/或剂型。

[0241] 所披露的组合物可以处于适于口服使用的形式(例如作为片剂、锭剂、硬或软胶囊、水性或油性悬浮液、乳液、可分散的粉剂或颗粒剂、糖浆或酏剂),适用于局部使用的形式(例如作为乳膏、软膏、凝胶、或水性或油性溶液或悬浮液),适用于通过吸入给予的形式(例如作为精细分散粉末或液体气雾剂),适用于通过吹入给予的形式(例如作为精细分散粉末)或适用于肠胃外给予的形式(例如作为无菌水性或油性溶液用于静脉内、皮下、肌内或肌内给药或作为栓剂用于直肠给药)。

[0242] 所披露的组合物可以通过常规程序使用本领域熟知的常规药用赋形剂获得。因此,旨在用于口服使用的组合物可以含有例如一种或多种着色剂、甜味剂、调味剂和/或防

腐剂。

[0243] 适于片剂配制品的药学上可接受的赋形剂可以包括例如惰性稀释剂，如乳糖、碳酸钠、磷酸钙或碳酸钙；造粒剂和崩解剂，如玉米淀粉或海藻酸；粘合剂，如淀粉；润滑剂，如硬脂酸镁、硬脂酸或滑石；防腐剂，如乙基或丙基对羟基苯甲酸酯；和抗氧化剂，如抗坏血酸。片剂配制品可以是未包衣的或包衣的，以改变其在胃肠道中的分解和随后的活性成分的吸收，或使用常规包衣剂以及本领域熟知的程序以改进它们的稳定性和/或外观。

[0244] 用于口服使用的组合物可以处于以下形式：硬明胶胶囊，其中活性成分是与惰性的固体稀释剂(例如，碳酸钙、磷酸钙或高岭土)混合的，或软明胶胶囊，其中活性成分是与水或油(如花生油、液体石蜡、或橄榄油)混合的。

[0245] 水性悬浮液可以含有呈精细粉末形式或呈纳米或微粉化颗粒形式的活性成分，连同一种或多种悬浮剂，如羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、海藻酸钠、聚乙烯-吡咯烷酮、黄蓍胶和阿拉伯胶；分散剂或湿润剂，如卵磷脂或环氧烷与脂肪酸的缩合产物(例如聚氧乙烯硬脂酸酯)、或环氧乙烷与长链脂肪醇的缩合产物(例如十七亚乙基氧基鲸蜡醇)、或环氧乙烷与衍生自脂肪酸和己糖醇的偏酯的缩合产物(如聚氧乙烯山梨醇单油酸酯)、或环氧乙烷与长链脂肪醇的缩合产物(例如十七亚乙基氧基鲸蜡醇)、或环氧乙烷与衍生自脂肪酸和己糖醇的偏酯的缩合产物(如聚氧乙烯山梨醇单油酸酯)、或环氧乙烷与衍生自脂肪酸和己糖醇酐的偏酯的缩合产物(例如聚乙烯失水山梨醇单油酸酯)。水性悬浮液还可以含有一种或多种防腐剂，如乙基或丙基对羟基苯甲酸酯；抗氧化剂，如抗坏血酸；着色剂；调味剂；和/或甜味剂，如蔗糖、糖精或阿斯巴甜。

[0246] 油性悬浮液可以通过将活性成分悬浮于植物油如落花生油、橄榄油、芝麻油或椰子油或在矿物油如液体石蜡中来配制。油性悬浮液还可以含有增稠剂，如蜂蜡、硬石蜡或鲸蜡醇。可以添加甜味剂和调味剂以提供适口的口服制剂。这些组合物可以通过添加抗氧化剂(如抗坏血酸)来保存。

[0247] 适合于通过添加水制备水性悬浮液的可分散的粉剂和颗粒剂可以含有活性成分连同分散剂或润湿剂、悬浮剂以及一种或多种防腐剂。适合的分散剂或湿润剂和悬浮剂通过以上已经提及的那些示例。另外的赋形剂(如甜味剂、调味剂和着色剂)也可以存在。

[0248] 药物组合物还可以处于水包油乳剂的形式。油相可以是植物油(如橄榄油或落花生油)或矿物油(例如像液体石蜡)或这些中任意者的混合物。适合的乳化剂可以是例如天然存在的树胶(如阿拉伯胶或黄蓍胶)、天然存在的磷脂(如大豆、卵磷脂)、衍生自脂肪酸和己糖醇酐的酯或偏酯(例如失水山梨醇单油酸酯)和所述偏酯与环氧乙烷的缩合产物(如聚氧乙烯失水山梨醇单油酸酯)。乳剂也可以含有甜味剂、调味剂和防腐剂。

[0249] 糖浆和酏剂可以用甜味剂如甘油、丙二醇、山梨醇、阿斯巴甜或蔗糖配制，并且还可以含有缓和剂、防腐剂、调味剂和/或着色剂。

[0250] 药物组合物也可以呈在一种或多种水性或非水性无毒肠胃外可接受的缓冲剂体系、稀释剂、增溶剂、共溶剂或载体(如乙醇、Solutol HS15、PEG400、Tween 80、苄醇、NN-二甲基乙酰胺、丙二醇、Cremophor、HP-β-CD、SBE-β-1865环糊精)中的无菌注射液形式。无菌可注射制剂也可以是在非水性稀释剂、载体或共溶剂中的无菌可注射水性或油性悬浮液或悬浮液，其可以根据已知程序利用一种或多种合适的分散剂或润湿剂和悬浮剂配制。

[0251] 药物组合物可以是静脉推注/输注溶液、用缓冲剂体系重构的无菌树枝状体或用

缓冲剂体系用或不用其他赋形剂重构的冻干体系(只有树枝状体或与赋形剂一起)。冻干的冷冻干燥材料可以由非水性溶剂(例如,叔丁醇或乙酸)或水性溶剂制备。剂型也可以是进一步稀释用于后续输注的浓缩物。

[0252] 用于通过吸入给予的组合物可以是处于常规加压气溶胶的形式,被安排为作为含有精细分散固体或液体液滴的气溶胶分配活性成分。可以使用常规气溶胶喷射剂如挥发性氟化烃或烃并且将气溶胶装置方便地安排为分配计量的量的活性成分。

[0253] 可结合一种或多种赋形剂以产生单一剂型的活性成分的量将必然变化,这取决于治疗的主体和具体给药途径。对于给药途径和给药方案的进一步的信息,读者可参考培格曼出版社(Pergamon Press)1990的综合药物化学数据库(Comprehensive Medicinal Chemistry)(Corwin Hansch;编辑部主席),第5卷第25.3章。

[0254] 具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)和(V)的树枝状体可以一天一次、两次、三次或在24小时时段内根据医学上必需的多次被给予。本领域的技术人员将容易地能够基于受试者来确定每个个体剂量的量。在一些实施例中,具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)和(V)的树枝状体是以一个剂型给予的。在一些实施例中,具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)和(V)的树枝状体是以多个剂型给予的。

[0255] 使用方法

[0256] 在一个方面中,披露了用于治疗有需要的受试者的癌症的方法,所述方法包括向该受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。

[0257] 在一个方面中,披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,用于在治疗癌症中使用。

[0258] 在一个方面中,披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐在制造用于治疗癌症的药剂中的用途。

[0259] 在一个方面中,披露了药物组合物,所述药物组合物包含具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,用于在治疗癌症中使用。

[0260] 术语“癌症”包括但不限于血液恶性肿瘤(例如,淋巴瘤、白血病)和实体恶性肿瘤。术语“癌症”包括例如T细胞白血病、T细胞淋巴瘤、急性成淋巴细胞淋巴瘤(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、小淋巴细胞性淋巴瘤(SLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、急性单核细胞白血病(AML)、多发性骨髓瘤、套细胞淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、伯基特淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤和实体肿瘤,例如,非小细胞肺癌(NSCLC,例如,EGF突变型NSCLC、KRAS突变型NSCLC)、小细胞肺癌(SCLC)、乳腺癌、成神经细胞瘤、卵巢癌、前列腺癌、黑色素瘤(例如,BRAF突变型黑色素瘤、KRAS突变型黑色素瘤)、胰腺癌、子宫癌、子宫内膜癌和结肠癌(例如,KRAS突变型结肠癌、BRAF突变型结肠癌)。

[0261] 在一个方面中,披露了用于治疗有需要的受试者的癌症的方法,所述方法包括向该受试者给予与有效量的第二抗癌剂或其药学上可接受的盐组合的有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。

[0262] 在一个方面中,披露了与有效量的第二抗癌剂或其药学上可接受的盐组合的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,用于在治疗癌症中使用。

[0263] 在一个方面中，披露了与有效量的抗癌剂或其药学上可接受的盐组合的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐在制造用于治疗癌症的药剂中的用途。

[0264] 在一个方面中，披露了药物组合物，所述药物组合物包含与有效量的第二抗癌剂或其药学上可接受的盐组合的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，用于在治疗癌症中使用。

[0265] 语言“与……组合”包括顺序地、分开地或同时地给予具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐和抗癌剂或其药学上可接受的盐。在一些方面中，具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐和抗癌剂或其药学上可接受的盐能以相同的配制品(例如，以固定剂量的配制品)给予。在一些实施例中，具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐和第二抗癌剂或其药学上可接受的盐能以分开的配制品给予并且是在基本上相同的时间、顺序地或分开地给予的。

[0266] 语言“抗癌剂”包括但不限于辐射、烷化剂、血管生成抑制剂、抗体、抗体-药物偶联物、抗代谢药、抗有丝分裂剂、抗增生剂、抗病毒剂、极光激酶抑制剂、其他细胞死亡活化剂(例如，Bcl-2、Bcl-xL、Bcl-w、Bfl-1的其他抑制剂或Mcl抑制剂)、死亡受体途径的活化剂(例如FAS或TRAIL激动剂)、Bcr-Abl激酶抑制剂、BET(溴结构域蛋白)抑制剂、BiTE(双特异性T细胞接合器)抗体、生物应答调节剂、细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂、细胞周期抑制剂、环氧合酶-2抑制剂、DVD(双重可变结构域抗体)、白血病病毒癌基因同系物(ErbB2)受体抑制剂、生长因子抑制剂、EGFR抑制剂、热休克蛋白(HSP)抑制剂、组蛋白脱乙酰基酶(HDAC)抑制剂、激素疗法、免疫药、凋亡蛋白的抑制剂(IAP)、嵌入抗生素、激酶抑制剂、驱动蛋白抑制剂、Jak2抑制剂、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)抑制剂、AKT抑制剂、微小RNA、丝裂原激活胞外信号调节的激酶(MEK)抑制剂、BRAF抑制剂、多价结合蛋白、非甾体抗炎药(NSAID)、聚ADP(腺苷二磷酸)-核糖聚合酶(PARP)抑制剂、铂化疗剂、polo样激酶(Plk)抑制剂、磷酸肌醇-3激酶抑制剂、蛋白体抑制剂、嘌呤类似物、嘧啶类似物、受体酪氨酸激酶抑制剂、etinoids/deltoids植物生物碱、小抑制核糖核酸(siRNA)、抗CD20化合物、拓扑异构酶抑制剂、以及泛素连接酶抑制剂。

[0267] 烷化剂包括六甲蜜胺、AMD-473、AP-5280、阿帕齐醌(apaziquone)、苯达莫司汀、brostallicin、白消安、顺铂、卡铂、卡波醌、卡莫司汀(BCNU)、苯丁酸氮芥、CLORETAZINE®(拉莫司汀(laromustine)、VNP 40101M)、环磷酰胺、达卡巴嗪(decarbazine)、雌莫司汀、福莫司汀、葡膦酰胺、异环磷酰胺、KW-2170、洛莫司汀(CCNU)、马磷酰胺(mafosfamide)、美法仑、二溴甘露醇、二溴卫矛醇、尼莫司汀、氮芥氮氧化物、亚硝基脲、奥沙利铂、雷莫司汀、替莫唑胺、塞替派、TREANDA®(苯达莫司汀)、曲奥舒凡、rofosfamide等。

[0268] 血管生成抑制剂包括内皮特异性受体、(Tie-2)抑制剂、表皮生长因子受体(EGFR)抑制剂、胰岛素生长因子-2受体(IGFR-2)抑制剂、基质金属蛋白-2(MMP-2)抑制剂、基质金属蛋白-9(MMP-9)抑制剂、血小板衍生的生长因子受体(PDGFR)抑制剂、血小板反应蛋白类似物、血管内皮生长因子受体酪氨酸激酶(VEGFR)抑制剂、ALK抑制剂等。

[0269] 抗代谢药包括ALIMTA®(培美曲塞二钠、LY231514、MTA)、5-阿扎胞苷、

XELODA®(卡培他滨)、卡莫氟、LEUSTAT®(克拉屈滨)、氯法拉滨、阿糖胞苷、阿糖胞苷十八烷基磷酸盐、阿糖胞嘧啶、地西他滨、去铁胺、去氧氟尿苷、依氟鸟氨酸、EICAR(5-乙炔基-1-β-D-呋喃核糖基咪唑-4-甲酰胺)、依诺他滨、乙炔基胞苷、氟达拉滨、单独地或与亚叶酸组合的5-氟尿嘧啶、GEMZAR®(吉西他滨)、羟基脲、ALKERAN®(美法仑)、巯基嘌呤、6-巯基嘌呤核苷、甲氨蝶呤、麦考酚酸、奈拉滨、诺拉曲塞、十八烷基磷酸盐(ocfosfate)、吡利曲索(pelitrexol)、喷司他丁、培美曲塞(pemextred)、雷替曲塞、利巴韦林、三安平(triapine)、三甲曲沙、S-1、噻唑呋林(tiazofurin)、替加氟、TS-1、阿糖腺苷、UFT等。

[0270] Bcl-2蛋白抑制剂包括ABT-199、AT-101((-)棉子酚)、GENASENSE®(G3139或奥利默森(oblimersen)(靶向Bcl-2的反义寡核苷酸))、IPI-194、IPI-565、ABT-737、ABT-263、GX-070(奥巴克拉(obatoclax))、AMG-176、S63645等。

[0271] 抗CD20化合物包括利妥昔单抗和奥比妥珠单抗(obinutuzumab)。

[0272] Btk抑制剂包括依鲁替尼和阿卡拉布替尼。

[0273] 溴结构域蛋白抑制剂包括I-BET 762、OTX-015、CPI-203、LY294002等。

[0274] CDK抑制剂包括BMI-1040、BMS-032、BMS-387、CVT-2584、黄酮吡多(flavopiridol)、GPC-286199、MCS-5A、PD0332991、PHA-690509、塞利西利(seliciclib)(CYC-202、R-核抑制剂(roscovitine))、ZK-304709、AZD4573等。

[0275] EGFR抑制剂包括EGFR抗体、ABX-EGF、抗EGFR免疫脂质体、EGF-疫苗、EMD-7200、ERBITUX®(西妥昔单抗)、HR3、IgA抗体、IRESSA®(吉非替尼)、TARCEVA®(埃罗替尼或OSI-774)、TP-38、EGFR融合蛋白、TYKERB®(拉帕替尼)、TAGRISSO(AZD9291、奥斯替尼(osimertinib))等。

[0276] ALK抑制剂包括克唑替尼、色瑞替尼等。

[0277] ErbB2受体抑制剂包括CP-724-714、CI-1033(卡奈替尼)、HERCEPTIN®(曲妥珠单抗)、TYKERB®(拉帕替尼)、OMNITARG®(2C4、帕妥珠单抗(petuzumab))、TAK-165、GW-572016(ionafarnib)、GW-282974、EKB-569、PI-166、dHER2(HER2疫苗)、APC-8024(HER-2疫苗)、抗HER/2neu双特异性抗体、B7.her2IgG3、AS HER2双官能的双特异性抗体、mAB AR-209、mAB2B-1等。

[0278] 抗体药物偶联物包括抗CD22-MC-MMAF、抗CD22-MC-MMAE、抗CD22-MCC-DM1、CR-011-vcMMAE、PSMA-ADC(例如,MEDI3726)、MEDI-547、SGN-19Am SGN-35、SGN-75等。

[0279] 驱动蛋白抑制剂包括Eg5抑制剂,如AZD4877、ARRY-520;CENPE抑制剂,如GSK923295A等。

[0280] MEK抑制剂包括曲美替尼(GSK1120212)、比马替尼(binimetinib)(MEK162)、司美替尼(AZD6244)、考比替尼(cobimetinib)(XL518)、ARRY-142886、ARRY-438162、PD-325901、PD-98059等。

[0281] BRAF抑制剂包括索拉非尼、威罗菲尼、达拉菲尼、GDC-0879、LGX818等。

[0282] 铂化疗剂包括顺铂、ELOXATIN®(奥沙利铂)、依铂、洛铂、奈达铂、PARAPLATIN®(卡铂)、沙铂(satraplatin)、吡铂等。

[0283] VEGFR抑制剂包括AVASTIN(贝伐单抗)、ABT-869、AEE-788、ANGIOZYME™(抑制血管生成的核酶(核酶制药公司(Ribozyme Pharmaceuticals)(博尔德,科罗拉多州)和奇隆公司(Chiron)(埃默里维尔,加利福尼亚州)、阿西替尼(AG-13736)、AZD-2171、CP-547,632、IM-862、MACUGEN(培加他尼(pegaptamib))、NEXAVAR®(索拉非尼、BAY43-9006)、帕唑帕尼(GW-786034)、瓦他拉尼(PTK-787、ZK-222584)、SUTENT®(舒尼替尼、SU-11248)、阿柏西普(VEGF-trap)、ZACTIMA™(凡德他尼、ZD-6474)、GA101、奥法木单抗、ABT-806(mAb-806)、ErbB3特异性抗体、BSG2特异性抗体、DLL4特异性抗体(例如,MEDI0629)和C-met特异性抗体等。

[0284] WEE1抑制剂包括AZD1775等。

[0285] 抗肿瘤抗生素包括嵌入抗生素阿柔比星、放线菌素D、氨柔比星、安那霉素(annamycin)、阿霉素、BLENOXANE®(博来霉素)、柔红霉素、CAELYX®或MYOCET®(脂质体阿霉素)、依沙芦星、表柔比星、glarbuicin、ZAVEDOS®(伊达比星)、丝裂霉素C、奈莫柔比星、新制癌菌素、培洛霉素、吡柔比星、蝴蝶霉素、stimalamer、链佐星、VALSTAR®(戊柔比星)、净司他丁等。

[0286] DNA修复机制的抑制剂,如CHK激酶;DNA依赖性蛋白激酶抑制剂;聚(ADP-核糖)聚合酶的抑制剂(PARP抑制剂),包括ABT-888(veliparib)、奥拉帕尼、KU-59436、AZD-2281、AG-014699、BSI-201、BGP-15、INO-1001、ONO-2231等;和Hsp90抑制剂,如坦螺旋霉素(tanespimycin)和瑞他霉素。

[0287] 蛋白酶体抑制剂包括VELCADE®(硼替佐米)、KYPROLIS(卡非佐米)、NINLARO(埃沙佐米(ixazomib))、MG132、NPI-0052、PR-171等。

[0288] 免疫药的实例包括干扰素和其他免疫增强剂。干扰素包括干扰素α、干扰素α-2a、干扰素α-2b、干扰素β、干扰素γ-1a、ACTIMMUNE®(干扰素γ-1b)或干扰素γ-n1、其组合等。其他药剂包括ALFAFERONE®、(IFN-α)、BAM-002(氧化的谷胱甘肽)、BEROMUN®(他索纳明)、BEXXAR®(托西莫单抗)、CAMPATH®(阿仑单抗)、达卡巴嗪、地尼白介(denileukin)、依帕珠单抗、GRANOCYTE®(来格司亭)、香菇多糖、白细胞α干扰素、咪喹莫特、MDX-010(抗CTLA-4)、黑色素瘤疫苗、米妥莫单抗(mitumomab)、莫拉司亭、MYLOTARG™(吉妥珠单抗奥佐米星)、NEUPOGEN®(非格司亭)、OncoVAC-CL、OVAREX®(奥戈伏单抗)、帕木单抗(pemtumomab)(Y-muHMFG1)、PROVENGE®(西普鲁塞(sipuleucel)-T)、沙格司亭(sargaramostim)、西佐喃(sizofilan)、替西白介素、THERACYS®(卡介苗)、乌苯美司、VIRULIZIN®(免疫治疗药,洛斯制药公司(Lorus Pharmaceuticals))、Z-100(Maruyama的特异物质(SSM))、WF-10(四氯十氧化物(TCDO))、PROLEUKIN®(阿地白介素)、ZADAXIN®(胸腺法新)、ZENAPAX®(达利珠单抗)、ZEVALIN®(90Y-替伊莫单抗)等。

[0289] 嘧啶类似物包括阿糖胞苷(ara C或阿拉伯糖苷C)、胞嘧啶阿拉伯糖苷、去氧氟尿苷、FLUDARA®(氟达拉滨)、5-FU(5-氟尿嘧啶)、氟尿苷、GEMZAR®(吉西他滨)、TOMUDEX®(雷替曲塞)、TROXATYL™(三乙酰尿苷曲沙他滨)等。

[0290] 抗有丝分裂剂包括巴他布林(batabulin)、埃坡霉素D(KOS-862)、N-(2-((4-羟基苯基)氨基)吡啶-3-基)-4-甲氧基苯磺酰胺、伊沙匹隆(BMS 247550)、紫杉醇、TAXOTERE®(多西紫杉醇)、PNU100940(109881)、帕妥匹隆(patupilone)、XRP-9881(拉罗他赛(larotaxel))、长春氟宁、ZK-EPO(合成埃博霉素)等。

[0291] 此外,可以将具有(I)、(II)、(III)和(IV)的树枝状体与其他化疗剂组合,如ABRAXANE™(ABI-007)、ABT-100(法尼基转移酶抑制剂)、ADVEXIN®(Ad5CMV-p53疫苗)、ALTOCOR®或MEVACOR®(洛伐他汀)、AMPLIGEN®(聚I:聚C12U,合成的RNA)、APTOSYN®(依昔舒林)、AREDIA®(帕米膦酸)、阿格拉滨(arglabin)、L-天冬酰胺酶、阿他美坦(1-甲基-3,17-二酮-雄甾-1,4-二烯)、AVAGE®(他扎罗汀)、AVE-8062(风车子抑碱(combreastatin)衍生物)BEC2(米托莫单抗(mitumomab))、恶液质素或cachexin(肿瘤坏死因子)、康维辛(canvaxin)(疫苗)、CEAVAC®(癌症疫苗)、CELEUK®(西莫白介素(celmoleukin))、CEPLENE®(二盐酸组胺)、CERVARIX®(人类乳头状瘤病毒疫苗)、CHOP®(C:CYTOXAN®(环磷酰胺);H:ADRIAMYCIN®(羟基阿霉素);O:长春新碱(ONCOVIN®);P:泼尼松)、CYPAT™(醋酸环丙孕酮)、风车子抑碱A4P、DAB(389)EGF(通过His-Ala接头与人表皮生长因子融合的白喉毒素的催化域和转运域)或TransMID-107R™(白喉毒素)、达卡巴嗪、更生霉素、5,6-二甲基呫吨酮-4-乙酸(DMXAA)、恩尿嘧啶、EVIZON™(角鲨胺乳酸盐)、DIMERICINE®(T4N5脂质体洗剂)、圆皮海绵内酯、DX-8951f(依沙替康甲磺酸盐)、enzastaurin、EPO906(埃坡霉素B)、GARDASIL®(四价人乳头状瘤病毒(类型6、11、16、18)重组疫苗)、GASTRIMMUNE®、GENASENSE®、GMK(神经节苷脂结合疫苗)、GVAX®(前列腺癌疫苗)、常山酮、组氨瑞林、羟基脲、伊班膦酸、IGN-101、IL-13-PE38、IL-13-PE38QQR(贝辛白介素(cintredekin besudotox))、IL-13-假单胞菌外毒素、干扰素-α、干扰素-γ、JUNOVAN™或MEPACT™(米伐木肽)、洛那法尼(lonafarnib)、5,10-亚甲基四氢叶酸酯、米替福新(十六烷基胆碱磷酸)、NEOVASTAT®(AE-941)、NEUTREXIN®(葡糖醛三甲曲沙)、NIPENT®(喷司他丁)、ONCONASE®(核糖核酸酶)、ONCOPHAGE®(黑色素瘤疫苗治疗)、ONCOVAX®(IL-2疫苗)、ORATHECIN™(鲁比替康)、OSIDEM®(抗体基细胞药物)、OVAREX®MAb(鼠单克隆抗体)、紫杉醇、PANDIMEX™(包含20(S)原人参二醇(aPPD)和20(S)原人参三醇(aPPT)的来自人参的苷元皂苷)、帕尼单抗、PANVAC®-VF(研究中的癌症疫苗)、培门冬酶、PEG干扰素A、苯妥帝尔、丙卡巴肼、瑞马司他(rebimastat)、REMOVAB®(卡妥索单抗)、REVLIMID®(来那度胺)、RSR13(乙丙昔罗(efaproxiral))、SOMATULINE®LA(兰瑞肽)、SORIATANE®(阿维A)、星形孢菌素(Streptomyces staurospores)、他波司他(talabostat)(PT100)、TARGRETIN®(贝沙罗汀)、TAXOPREXIN®(DHA紫杉醇)、TELCYTA®(坎磷酰胺(canfosfamide、TLK286)、temilifene、TEMODAR®(替莫唑胺)、替米利芬、沙利度胺、THERATOPE®(STn-KLH)、thymitaq(2-氨基-3,4-二氢-6-甲基-4-氧代-5-(4-吡啶硫

基)喹唑啉二盐酸盐)、TNFERADE™(腺病毒载体:含有肿瘤坏死因子-α的基因的DNA载体)、TRACLEER®或ZAVESCA®(波生坦)、维甲酸(全反维A酸)、粉防己碱、TRISENOX®(三氧化二砷)、VIRULIZIN®、ukrain(来自较大的白屈菜植物的生物碱衍生物)、vitaxin(抗αVβ3抗体)、XCYTRIN®(莫特沙芬钆)、XINLAY™(阿曲生坦)、XYOTAX™(聚谷氨酸紫杉醇)、YONDELIS®(曲贝替定)、ZD-6126、ZINECARD®(右雷佐生)、ZOMETA®(唑来膦酸(zolendronic acid))、佐柔比星等。

[0292] 在一个实施例中,披露了治疗癌症的方法,该方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的奥斯替尼或其药学上可接受的盐的组合。在一些实施例中,披露了治疗肺癌的方法,该方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的奥斯替尼或其药学上可接受的盐的组合。在一些实施例中,披露了治疗EGFR T790M+NSCLC的方法,该方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的奥斯替尼或其药学上可接受的盐的组合。在一些实施例中,披露了治疗PTENNSCLC的方法,该方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的奥斯替尼或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中,披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,用于治疗受试者的癌症,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,和ii)奥斯替尼或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,用于治疗受试者的肺癌,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,和ii)奥斯替尼或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,用于治疗受试者的EGFR T790M+NSCLC,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,和ii)奥斯替尼或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,用于治疗受试者的PTEN NSCLC,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,和ii)奥斯替尼或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,披露了用于治疗受试者的癌症的奥斯替尼或其药学上可接受的盐,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)奥斯替尼或其药学上可接受的盐,和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,披露了用于治疗受试者的肺癌的奥斯替尼或其药学上可接受的盐,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)奥斯替尼或其药学上可接受的盐,和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,披露了用于治疗受试者的EGFR T790M+NSCLC的奥斯替尼或其药学上可接受的盐,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)奥斯替尼或其药学上可接受的盐,和ii)具

有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。在一个实施例中，披露了用于治疗受试者的PTEN NSCLC的奥斯替尼或其药学上可接受的盐，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)奥斯替尼或其药学上可接受的盐，和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。

[0293] 在一个实施例中，披露了治疗癌症的方法，该方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的阿卡拉布替尼或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了治疗淋巴瘤的方法，该方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的阿卡拉布替尼或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了治疗非霍奇金氏淋巴瘤的方法，该方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的阿卡拉布替尼或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了治疗DLBCL的方法，该方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的阿卡拉布替尼或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了治疗活化B细胞DLBCL(ABC-DLBCL)的方法，该方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的阿卡拉布替尼或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了治疗BTK敏感和BTK不敏感DLBCL的方法，该方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的阿卡拉布替尼或其药学上可接受的盐的组合。在一些实施例中，披露了治疗OCI-LY10DLBCL的方法，该方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的阿卡拉布替尼或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了治疗MCL的方法，该方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的阿卡拉布替尼或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了治疗白血病的方法，该方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的阿卡拉布替尼或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了治疗CLL的方法，该方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的阿卡拉布替尼或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了治疗AML的方法，该方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的阿卡拉布替尼或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，用于治疗受试者的癌症，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，和ii)阿卡拉布替尼。在一个实施例中，披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，用于治疗受试者的非霍奇金氏淋巴瘤，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，和ii)阿卡拉布替尼。在一个实施例中，披露了具有化学式

(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,用于治疗受试者的DLBCL,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,和ii)阿卡拉布替尼。在一个实施例中,披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,用于治疗受试者的活化B细胞DLBCL(ABC-DLBCL),其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,和ii)阿卡拉布替尼。在一个实施例中,披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,用于治疗受试者的BTK敏感和BTK不敏感DLBCL,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,和ii)阿卡拉布替尼。在一个实施例中,披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,用于治疗受试者的OCI-LY10DLBCL,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,和ii)阿卡拉布替尼。在一个实施例中,披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,用于治疗受试者的MCL,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,和ii)阿卡拉布替尼。在一个实施例中,披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,用于治疗受试者的白血病,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,和ii)阿卡拉布替尼。在一个实施例中,披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,用于治疗受试者的CLL,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,和ii)阿卡拉布替尼。在一个实施例中,披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,用于治疗受试者的AML,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,和ii)阿卡拉布替尼。在一个实施例中,披露了用于治疗受试者的癌症的阿卡拉布替尼,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)阿卡拉布替尼,和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,披露了用于治疗受试者的DLBCL的阿卡拉布替尼,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)阿卡拉布替尼,和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,披露了用于治疗受试者的活化B细胞DLBCL(ABC-DLBCL)的阿卡拉布替尼,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)阿卡拉布替尼,和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,披露了用于治疗受试者的BTK敏感和BTK不敏感DLBCL的阿卡拉布替尼,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)阿卡拉布替尼,和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,披露了用于治疗受试者的OCI-LY10DLBCL的阿卡拉布替尼,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)阿卡拉布替尼,和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的

树枝状体或其药学上可接受的盐。在一个实施例中，披露了用于治疗受试者的MCL的阿卡拉布替尼，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)阿卡拉布替尼，和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。在一个实施例中，披露了用于治疗受试者的白血病的阿卡拉布替尼，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)阿卡拉布替尼，和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。在一个实施例中，披露了用于治疗受试者的CLL的阿卡拉布替尼，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)阿卡拉布替尼，和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。在一个实施例中，披露了用于治疗受试者的AML的阿卡拉布替尼，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)阿卡拉布替尼，和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。

[0294] 在一个实施例中，披露了治疗癌症的方法，该方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的利妥昔单抗或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了治疗淋巴瘤的方法，该方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的利妥昔单抗或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了治疗非霍奇金氏淋巴瘤的方法，该方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的利妥昔单抗或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了治疗DLBCL的方法，该方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的利妥昔单抗或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了治疗活化生发中心B细胞DLBCL(GCB-DLBCL)的方法，该方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的利妥昔单抗或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了治疗白血病的方法，该方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的利妥昔单抗或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了治疗CLL的方法，该方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的利妥昔单抗或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了治疗AML的方法，该方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的利妥昔单抗或其药学上可接受的盐的组合。

[0295] 在一个实施例中，披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，用于治疗受试者的癌症，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，和ii)利妥昔单抗。在一个实施例中，披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，用于治疗受试者的淋巴瘤，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，和ii)利妥昔单抗。在一个实施例中，披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，用于治疗受试者的非霍奇金氏淋巴

瘤,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,和ii)利妥昔单抗。在一个实施例中,披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,用于治疗受试者的DLBCL,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,和ii)利妥昔单抗。在一个实施例中,披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,用于治疗受试者的生发细胞B细胞DLBCL(GCB-DLBCL),其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,和ii)利妥昔单抗。在一个实施例中,披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,用于治疗受试者的白血病,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,和ii)利妥昔单抗。在一个实施例中,披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,用于治疗受试者的CLL,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,和ii)利妥昔单抗。在一个实施例中,披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,用于治疗受试者的AML,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,和ii)利妥昔单抗。在一个实施例中,披露了用于治疗受试者的癌症的利妥昔单抗,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)利妥昔单抗,和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体。在一个实施例中,披露了用于治疗受试者的淋巴瘤的利妥昔单抗,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)利妥昔单抗,和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体。在一个实施例中,披露了用于治疗受试者的非霍奇金氏淋巴瘤的利妥昔单抗,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)利妥昔单抗,和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体。在一个实施例中,披露了用于治疗受试者的DLBCL的利妥昔单抗,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)利妥昔单抗,和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体。在一个实施例中,披露了用于治疗受试者的生发细胞B细胞DLBCL(GBC-DLBCL)的利妥昔单抗,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)利妥昔单抗,和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体。在一个实施例中,披露了用于治疗受试者的白血病的利妥昔单抗,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)利妥昔单抗,和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体。在一个实施例中,披露了用于治疗受试者的CLL的利妥昔单抗,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)利妥昔单抗,和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体。在一个实施例中,披露了用于治疗受试者的AML的利妥昔单抗,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)利妥昔单抗,和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体。

[0296] 在一个实施例中,披露了治疗癌症的方法,所述方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有

效量的吉非替尼或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了治疗实体肿瘤的方法，所述方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的吉非替尼或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了治疗NSCLC的方法，该方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的吉非替尼或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了治疗EGFR突变阳性NSCLC的方法，该方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的吉非替尼或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了治疗EGFR突变阳性非小细胞肺癌(其肿瘤具有外显子19缺失或外显子21(L858R)取代突变)的方法，该方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的吉非替尼或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，用于治疗受试者的癌症，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，和ii)吉非替尼。在一个实施例中，披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，用于治疗受试者的实体肿瘤，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，和ii)吉非替尼。在一个实施例中，披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，用于治疗受试者的EGFR突变阳性NSCLC，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，和ii)吉非替尼。在一个实施例中，披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，用于治疗受试者的EGFR突变阳性非小细胞肺癌(其肿瘤具有外显子19缺失或外显子21(L858R)取代突变)，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，和ii)吉非替尼。在一个实施例中，披露了用于治疗受试者的癌症的吉非替尼，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)吉非替尼，和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。在一个实施例中，披露了用于治疗受试者的实体肿瘤的吉非替尼，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)吉非替尼，和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。在一个实施例中，披露了用于治疗受试者的NSCLC的吉非替尼，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)吉非替尼，和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。在一个实施例中，披露了用于治疗受试者的EGFR突变阳性NSCLC的吉非替尼，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)吉非替尼，和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。在一个实施例中，披露了用于治疗受试者的s的吉非替尼，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)吉非替尼，和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。

[0297] 在一个实施例中，披露了治疗癌症的方法，所述方法包括向有需要的受试者给予

有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的奥拉帕尼或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了治疗实体肿瘤的方法，所述方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的奥拉帕尼或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了治疗卵巢癌的方法，所述方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的奥拉帕尼或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了治疗BRCA突变的卵巢癌的方法，所述方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的奥拉帕尼或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了治疗上皮性卵巢癌的方法，所述方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的奥拉帕尼或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了治疗输卵管癌的方法，所述方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的奥拉帕尼或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了治疗原发性腹膜癌的方法，所述方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的奥拉帕尼或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，用于治疗受试者的癌症，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，和ii)奥拉帕尼或其药学上可接受的盐。在一个实施例中，披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，用于治疗受试者的实体肿瘤，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，和ii)奥拉帕尼或其药学上可接受的盐。在一个实施例中，披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，用于治疗受试者的卵巢癌，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，和ii)奥拉帕尼或其药学上可接受的盐。在一个实施例中，披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，用于治疗受试者的BRCA突变的卵巢癌，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，和ii)奥拉帕尼或其药学上可接受的盐。在一个实施例中，披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，用于治疗受试者的上皮性卵巢癌，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，和ii)奥拉帕尼或其药学上可接受的盐。在一个实施例中，披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，用于治疗受试者的输卵管癌，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，和ii)奥拉帕尼或其药学上可接受的盐。在一个实施例中，披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，用于治疗受试者的原

发性腹膜癌，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，和ii)奥拉帕尼或其药学上可接受的盐。在一个实施例中，披露了用于治疗受试者的癌症的奥拉帕尼或其药学上可接受的盐，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)奥拉帕尼或其药学上可接受的盐，和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。在一个实施例中，披露了用于治疗受试者的实体肿瘤的奥拉帕尼或其药学上可接受的盐，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)奥拉帕尼或其药学上可接受的盐，和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。在一个实施例中，披露了用于治疗受试者的卵巢癌的奥拉帕尼或其药学上可接受的盐，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)奥拉帕尼或其药学上可接受的盐，和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。在一个实施例中，披露了用于治疗受试者的BRCA突变的卵巢癌的奥拉帕尼或其药学上可接受的盐，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)奥拉帕尼或其药学上可接受的盐，和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。在一个实施例中，披露了用于治疗受试者的上皮性卵巢癌的奥拉帕尼或其药学上可接受的盐，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)奥拉帕尼或其药学上可接受的盐，和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。在一个实施例中，披露了用于治疗受试者的输卵管癌的奥拉帕尼或其药学上可接受的盐，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)奥拉帕尼或其药学上可接受的盐，和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。在一个实施例中，披露了用于治疗受试者的原发性腹膜癌的奥拉帕尼或其药学上可接受的盐，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)奥拉帕尼或其药学上可接受的盐，和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。

[0298] 在一个实施例中，披露了治疗癌症的方法，所述方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的mTOR抑制剂或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了治疗小细胞肺癌的方法，所述方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的mTOR抑制剂或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，用于治疗受试者的癌症，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，和ii)mTOR抑制剂或其药学上可接受的盐。在一个实施例中，披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，用于治疗受试者的小细胞肺癌，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，和ii)mTOR抑制剂或其药学上可接受的盐。在一个实施例中，披露了用于治疗受试者的癌症的mTOR抑制剂或其药学上可接受的盐，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)mTOR抑制剂，和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。在一个实

施例中，披露了用于治疗受试者的小细胞肺癌的mTOR抑制剂或其药学上可接受的盐，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)mTOR抑制剂，和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。在上述任一实施例中，mTOR抑制剂是AZD2014。

[0299] 在一个实施例中，披露了治疗癌症的方法，所述方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的vistusertib或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了治疗小细胞肺癌的方法，所述方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的vistusertib或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施例中，披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，用于治疗受试者的癌症，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，和ii)vistusertib或其药学上可接受的盐。在一个实施例中，披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，用于治疗受试者的小细胞肺癌，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐，和ii)vistusertib或其药学上可接受的盐。在一个实施例中，披露了用于治疗受试者的癌症的vistusertib或其药学上可接受的盐，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)vistusertib或其药学上可接受的盐，和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。在一个实施例中，披露了用于治疗受试者的小细胞肺癌的vistusertib或其药学上可接受的盐，其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)vistusertib或其药学上可接受的盐，和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。

[0300] 在一个实施例中，披露了治疗癌症的方法，所述方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的化疗(例如，拓扑替康、培美曲塞(pemetreved)、紫杉醇、依托泊苷和/或卡铂)的组合。在一个实施例中，披露了治疗实体肿瘤的方法，所述方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的化疗(例如，拓扑替康、培美曲塞、紫杉醇、依托泊苷和/或卡铂)的组合。在一个实施例中，披露了治疗NSCLC的方法，所述方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的化疗(例如，拓扑替康、培美曲塞、紫杉醇、依托泊苷和/或卡铂)的组合。在一个实施例中，披露了治疗SCLC癌的方法，所述方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的化疗(例如，拓扑替康、培美曲塞、紫杉醇、依托泊苷和/或卡铂)的组合。在一个实施例中，披露了治疗乳腺癌的方法，所述方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐与有效量的化疗(例如，拓扑替康、培美曲塞、紫杉醇、依托泊苷和/或卡铂)的组合。在一个实施例中，披露了治疗卵巢癌的方法，所述方法包括向有需要的受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接

受的盐与有效量的化疗(例如,拓扑替康、培美曲塞、紫杉醇、依托泊苷和/或卡铂)的组合。

[0301] 在一个实施例中,披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,用于治疗受试者的癌症,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,和ii)化疗(例如,拓扑替康、培美曲塞、紫杉醇、依托泊苷和/或卡铂)。在一个实施例中,披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,用于治疗受试者的实体肿瘤,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,和ii)化疗(例如,拓扑替康、培美曲塞、紫杉醇、依托泊苷和/或卡铂)。在一个实施例中,披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,用于治疗受试者的NSCLC,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,和ii)化疗(例如,拓扑替康、培美曲塞、紫杉醇、依托泊苷和/或卡铂)。在一个实施例中,披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,用于治疗受试者的SCLC,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,和ii)化疗(例如,拓扑替康、培美曲塞、紫杉醇、依托泊苷和/或卡铂)。在一个实施例中,披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,用于治疗受试者的乳腺癌,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,和ii)化疗(例如,拓扑替康、培美曲塞、紫杉醇、依托泊苷和/或卡铂)。在一个实施例中,披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,用于治疗受试者的卵巢癌,其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,和ii)化疗(例如,拓扑替康、培美曲塞、紫杉醇、依托泊苷和/或卡铂)。在一个实施例中,披露了用于治疗受试者的癌症的化疗(例如,拓扑替康、培美曲塞、紫杉醇、依托泊苷和/或卡铂),其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)化疗(例如,拓扑替康、培美曲塞、紫杉醇、依托泊苷和/或卡铂),和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,披露了用于治疗受试者的实体肿瘤的化疗(例如,拓扑替康、培美曲塞、紫杉醇、依托泊苷和/或卡铂),其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)化疗(例如,拓扑替康、培美曲塞、紫杉醇、依托泊苷和/或卡铂),和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,披露了用于治疗受试者的NSCLC的化疗(例如,拓扑替康、培美曲塞、紫杉醇、依托泊苷和/或卡铂),其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)化疗(例如,拓扑替康、培美曲塞、紫杉醇、依托泊苷和/或卡铂),和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,披露了用于治疗受试者的SCLC的化疗(例如,拓扑替康、培美曲塞、紫杉醇、依托泊苷和/或卡铂),其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)化疗(例如,拓扑替康、培美曲塞、紫杉醇、依托泊苷和/或卡铂),和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,披露了用于治疗受试者的乳腺癌的化疗

(例如,拓扑替康、培美曲塞、紫杉醇、依托泊苷和/或卡铂),其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)化疗(例如,拓扑替康、培美曲塞、紫杉醇、依托泊苷和/或卡铂),和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,披露了用于治疗受试者的卵巢癌的化疗(例如,拓扑替康、培美曲塞、紫杉醇、依托泊苷和/或卡铂),其中所述治疗包括分开地、顺序地或同时地向所述受试者给予i)化疗(例如,拓扑替康、培美曲塞、紫杉醇、依托泊苷和/或卡铂),和ii)具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。

[0302] 在一个方面中,披露了用于抑制有需要的受试者中的Bcl-2和/或Bcl-XL的方法,所述方法包括向该受试者给予有效量的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐。

[0303] 在一个方面中,披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐,用于在抑制Bcl-2和/或Bcl-XL中使用。

[0304] 在一个方面中,披露了具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐在制造用于抑制Bcl-2和/或Bcl-XL的药剂中的用途。

[0305] 在一个方面中,披露了包含具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐的药物组合物,用于在抑制Bcl-2和/或Bcl-XL中使用。

[0306] 术语“Bcl-2”是指B细胞淋巴瘤2,且术语“Bcl-XL”是指超大B细胞淋巴瘤,BCL-2蛋白家族的抗凋亡成员。

[0307] 语言“有效量”包括具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐或第二抗癌剂将在受试者中引发生物或医学反应的量,例如,减少或抑制与Bcl-2和/或Bcl-XL或癌症相关的酶或蛋白活性;改善癌症症状;或减缓或延迟癌症进展。在一些实施例中,语言“有效量”包括当给予受试者时,对于至少部分地在受试者中减轻、抑制、和/或改善癌症或抑制Bcl-2和/或Bcl-XL、和/或减少或抑制肿瘤的生长或癌性细胞的增殖有效的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐或第二抗癌剂的量。

[0308] 在一些实施例中,具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐的有效量可以在约1mg/kg与约500mg/kg之间。在一些实施例中,具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐的有效量可以在约10mg/kg与约300mg/kg之间。在一些实施例中,具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐的有效量可以在约10mg/kg与约100mg/kg之间。在一些实施例中,具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐的有效量可以在约10mg/kg与约60mg/kg之间。在一些实施例中,所披露的具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐的有效量可以在约10mg/kg与约30mg/kg之间。在一些实施例中,具有(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体的有效量可以是约20mg/kg至约100mg/kg。在一些实施例中,具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐的有效量可以是约10mg/kg、约30mg/kg、约40mg/kg、约50mg/kg、约60mg/kg、约70mg/kg、约80mg/kg、约90mg/kg、约100mg/kg、约300mg/kg或约145mg/kg。

[0309] 具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐可以被设计成从树枝状体的表面官能团释放活性剂。在一些实施例中,具有化学式(I)、(II)、

(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐释放有效量的化合物A。在一些实施例中,具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐可以释放约1mg/kg与约150mg/kg之间的化合物A。在一些实施例中,具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐可以释放约1mg/kg与约90mg/kg之间的化合物A。在一些实施例中,具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐可以释放约1mg/kg与约25mg/kg之间的化合物A。在一些实施例中,具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐可以释放约1mg/kg与约15mg/kg之间的化合物A。在一些实施例中,具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐可以释放约1mg与约10mg之间的化合物A。在一些实施例中,具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐可以释放约5mg/kg与约30mg/kg之间的化合物A。在一些实施例中,具有化学式(I)、(II)、(III)、(IV)或(V)的树枝状体或其药学上可接受的盐可以释放约3mg/kg、约4mg/kg、约5mg/kg、约6mg/kg、约7mg/kg、约8mg/kg、约9mg/kg、约10mg/kg、约11mg/kg、约12mg/kg、约13mg/kg、约14mg/kg、约15mg/kg、约16mg/kg、约17mg/kg、约18mg/kg、约19mg/kg、约20mg/kg、约21mg/kg、约22mg/kg、约23mg/kg、约24mg/kg、约25mg/kg、约26mg/kg、约27mg/kg、约28mg/kg、约29mg/kg、约87mg/kg或约145mg/kg的化合物A。

[0310] 在一些实施例中,化合物A可以具有约1小时与约360小时之间的释放半衰期(例如,从树枝状体释放一半化合物A所花的时间)。在一些实施例中,化合物A可以具有约2小时与约72小时之间的释放半衰期。在一些实施例中,化合物A可以具有约5小时与约36小时之间的释放半衰期。在一些实施例中,化合物A可以具有约12小时与约30小时之间的释放半衰期。在一些实施例中,化合物A可以具有约16小时与约30小时之间的释放半衰期。在一些实施例中,在pH 7.4下,在具有10%DMA的PBS缓冲液中,在37℃下测定释放半衰期。在一些实施例中,在pH 4.5下,在0.1M柠檬酸中,在37℃下测定释放半衰期。本领域的技术人员可以按照实例11、12和实例14中所列方案测定化合物A的体外释放速率。

[0311] 在一些实施例中,在pH 7.4下,在具有10%DMA的PBS缓冲液中,在37℃下测定体外释放半衰期,如实例11中所述。在一些实施例中,在pH 7.4下,在具有10%DMA的PBS缓冲液中,在37℃下约6小时后释放约20%与约80%之间的化合物A。在一些实施例中,在pH 7.4下,在具有10%DMA的PBS缓冲液中,在37℃下约6.5小时后释放约80%的化合物A。在一些实施例中,在pH 7.4下,在具有10%DMA的PBS缓冲液中,在37℃下约6.5小时后释放约50%的化合物A。在一些实施例中,在pH 7.4下,在具有10%DMA的PBS缓冲液中,在37℃下约6.5小时后释放约6%的化合物A。在一些实施例中,在pH 7.4下,在具有10%DMA的PBS缓冲液中,在37℃下约6.5小时后释放约4%的化合物A。在一些实施例中,在pH 7.4下,在具有10%DMA的PBS缓冲液中,在37℃下约6小时后释放约24%的化合物A。

[0312] 在一些实施例中,在pH 4.5下,在0.1M柠檬酸中,在37℃下测定体外释放半衰期,如实例12中所述。在一些实施例中,在pH 4.5下,在0.1M柠檬酸中,在37℃下约7天后释放约3%与约80%之间的化合物A。在一些实施例中,在pH 4.5下,在0.1M柠檬酸中,在37℃下约7天后释放约63%的化合物A。在一些实施例中,在pH 4.5下,在0.1M柠檬酸中,在37℃下约7天后释放约30%的化合物A。在一些实施例中,在pH 4.5下,在0.1M柠檬酸中,在37℃下约7天后释放约3.6%的化合物A。在一些实施例中,在pH 4.5下,在0.1M柠檬酸中,在37℃下约7

天后释放约81％的化合物A。

[0313] 在一些实施例中，可以按照实例15和16中所列方案测量树枝状体的溶解度。在一些实施例中，树枝状体在pH 7.4下，在具有10％DMA的PBS缓冲液中的溶解度在约120mg/mL与160mg/mL之间。在一些实施例中，树枝状体在pH 7.4下，在具有10％DMA的PBS缓冲液中的溶解度是约125mg/mL。在一些实施例中，树枝状体在pH 7.4下，在具有10％DMA的PBS缓冲液中的溶解度是约153mg/mL。在一些实施例中，树枝状体在pH 7.4下，在具有10％DMA的PBS缓冲液中的溶解度是约142mg/mL。在一些实施例中，树枝状体在pH 7.4下，在具有10％DMA的PBS缓冲液中的溶解度是约158mg/mL。

[0314] 在一些实施例中，树枝状体在pH 4.5下，在0.1M柠檬酸中的溶解度在约120mg/mL与166mg/mL之间。在一些实施例中，树枝状体在pH 4.5下，在0.1M柠檬酸中的溶解度是约162mg/mL。在一些实施例中，树枝状体在pH 4.5下，在0.1M柠檬酸中的溶解度是约141mg/mL。在一些实施例中，树枝状体在pH 4.5下，在0.1M柠檬酸中的溶解度是约157mg/mL。在一些实施例中，树枝状体在pH 4.5下，在0.1M柠檬酸中的溶解度是约121mg/mL。

[0315] 在一些实施例中，树枝状体在McIlvane缓冲液(pH 4)中的溶解度是约0.189g/g。在一些实施例中，树枝状体在McIlvane缓冲液(pH 5)中的溶解度是约0.224g/g。

[0316] 术语“受试者”包括温血哺乳动物，例如，灵长类、狗、猫、兔、大鼠和小鼠。在一些实施例中，该受试者是灵长类，例如，人。在一些实施例中，该受试者患有癌症或免疫障碍。在一些实施例中，该受试者需要治疗(例如，该受试者将在生物学或医学上从治疗上收益)。在一些实施例中，该受试者患有癌症。在一些实施例中，该受试者患有EGFR-M阳性癌症(例如，非小细胞肺癌)。在一些实施例中，EGFR-M阳性癌症具有大量的T790M阳性突变。在一些实施例中，EGFR-M阳性癌症具有大量的T790M阴性突变。在一些实施例中，该受试者患有血液恶性肿瘤(例如，淋巴瘤、白血病)或实体恶性肿瘤，例如像，急性成淋巴细胞淋巴瘤(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、小淋巴细胞性淋巴瘤(SLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、急性单核细胞白血病(AMoL)、多发性骨髓瘤、套细胞淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、伯基特淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤和实体肿瘤，例如，非小细胞肺癌(NSCLC)、小细胞肺癌(SCLC)、乳腺癌、成神经细胞瘤、前列腺癌、黑色素瘤、胰腺癌、子宫癌、子宫内膜癌和结肠癌。

[0317] 语言“抑制”(“inhibit”、“inhibition”或“inhibiting”)包括生物活性或过程的基线活性的降低。在一些实施例中，具有化学式(I)、(II)、(III)或(IV)的树枝状体抑制Bcl-2和/或Bcl-XL。

[0318] 语言“治疗”(“treat”、“treating”和“treatment”)包括减少或抑制受试者中与Bcl-2和/或Bcl-XL或癌症相关的酶或蛋白活性，改善在受试者中癌症的一种或多种症状，或减缓或推迟在受试者中癌症的进展。语言“治疗”(“treat”、“treating”和“treatment”)还包括减少或抑制在受试者中肿瘤的生长或癌性细胞的增殖。

[0319] 实例

[0320] 本披露的方面可以通过参考以下非限制性实例进一步定义，所述实例详细描述了本披露的某些化合物和中间体的制备以及使用本披露的化合物的方法。本领域普通技术人员应当清楚的是在不背离本披露的范围的情况下，可以对材料和方法二者做出许多修改。

[0321] 除非另行说明：

[0322] (i)除非另行说明,否则在环境温度(即在17℃到25℃范围内)下和在如氮气等的惰性气体的气氛下进行合成;

[0323] (ii)使用Buchi或Heidolph设备通过在减压下旋转蒸发来进行蒸发;

[0324] (iii)使用Labconco FreeZone 6Plus冷冻干燥系统进行冻干;

[0325] (iv)使用装有Sephadex Lh-20珠粒的柱进行尺寸排阻色谱纯化;

[0326] (v)使用Waters XBridge BEH C18(5μM,30x 150mm)柱在具有UV触发收集的Gilson Prep GX-271系统上进行制备型色谱法;

[0327] (vi)使用与膜盒连接的Cole-Parmer齿轮泵驱动系统(Merck Millipore Pellicon 3,0.11m^2,10kDa)进行超滤纯化;

[0328] (vii)在具有PDA检测的Waters Alliance 2695分离模块上进行分析型色谱法;

[0329] (viii)产率(当存在时)不一定为可获得的最大值;

[0330] (ix)一般来说,通过NMR光谱确认树枝状体终产物的结构;^1H和^{19}F NMR化学位移值是以δ级测量的[质子磁共振谱使用Bruker Avance 300(300MHz)仪测定];除非另行说明,否则在环境温度下进行测量;1H NMR使用溶剂残留峰作为内部标准以及以下缩写:s,单峰;d,双重峰;t,三重峰;q,四重峰;m,多重峰;dd,双二重峰;ddd,双二重峰的双重峰;dt,双三重峰;br s,宽单峰;

[0331] (x)一般来说,树枝状体终产物也通过HPLC,使用具有PDA检测、连接至Waters XBridge C8(3.5μm,3x 100mm)或Phenomenex Aeris C8(3.6μm,2.1x 100mm)柱的的Waters Alliance 2695分离模块表征;

[0332] (xi)通过质谱加液相色谱(LC-MS)评估中间体纯度;使用配备有Waters SQ质谱仪的Waters UPLC(柱温40℃,UV＝220-300nm或190-400nm,质谱＝具有阳性/阴性转换的ESI)以1mL/min流速使用97％A+3％B至3％A+97％B的溶剂系统进行1.50min(连同平衡回到起始条件等的总运行时间为1.70min),其中A＝在水中的0.1％甲酸或0.05％三氟乙酸(用于酸工作)或在水中的0.1％氢氧化铵(用于碱工作)并且B＝乙腈。对于酸分析使用的柱是Waters Acquity HSS T3(1.8μm,2.1x 50mm),对于碱分析使用的柱是Waters Acquity BEH C18(1.7μm,2.1x 50mm)。可替代地,如下进行UPLC:使用配备有Waters SQ质谱仪的Waters UPLC(柱温30℃,UV＝210-400nm,质谱＝具有阳性/阴性转换的ESI)以1mL/min流速使用2％至98％B的溶剂梯度进行1.5min(连同平衡回到起始条件的总运行时间为2min),其中A＝在水中的0.1％甲酸并且B＝在乙腈中的0.1％甲酸(用于酸工作)或A＝在水中的0.1％氢氧化铵并且B＝乙腈(用于碱工作)。对于酸分析使用的柱是Waters Acquity HSS T3(1.8μm,2.1x 30mm),对于碱分析使用的柱是Waters Acquity BEH C18(1.7μm,2.1x 30mm);除非另行说明,否则报告的分子离子对应于[M+H]+;除非另行说明,否则对于具有多种同位素模式的分子(Br、Cl等),所报告的值是所获得的具有最高强度的值。

[0333] (xii)已使用以下缩写:

[0334] ACN 乙腈

[0335] BHA 二苯甲胺

[0336] BOC 叔丁氧羰基

[0337] CoA 分析证书

[0338] DGA 二甘醇酸

[0339] DIPEA 二异丙基乙胺

[0340] DMF 二甲基甲酰胺

[0341] DMSO 二甲亚砜

[0342] FBA 4-氟苯甲酸

[0343] Glu 戊二酸

[0344] HP-β-CD 羟丙基-β-环糊精

[0345] MeOH 甲醇

[0346] MIDA 甲基亚氨二乙酸

[0347] MSA 甲磺酸

[0348] MTBE 甲基叔丁醚

[0349] MW 分子量

[0350] NMM N-甲基吗啉

[0351] PBS 磷酸盐缓冲盐水

[0352] PEG 聚乙二醇

[0353] PTFE 聚四氟乙烯

[0354] PyBOP 六氟磷酸苯并三唑-1-基-氧基三吡咯烷基鏻

[0355] Qs/qs 足量(需要的量)

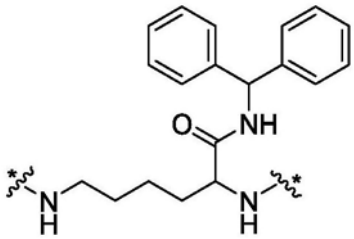
[0356] SBE-β-CD 磺丁基醚β-环糊精(Captisol®)

[0357] TDA 硫代二乙醇酸

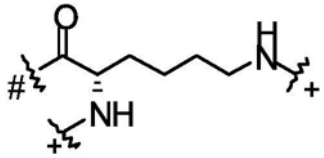
[0358] TFA 三氟乙酸

[0359] WFI 注射用水WFI

[0360] 如实例中所使用,术语“BHALys”是指连接至赖氨酸的2,6-二氨基-N-二苯甲基己酰胺。BHA具有以下结构:

[0361] 

[0362] 其中*指示至赖氨酸构建块的共价附接。术语“Lys”是指树枝状体的构建单元,且具有以下结构:

[0363] 

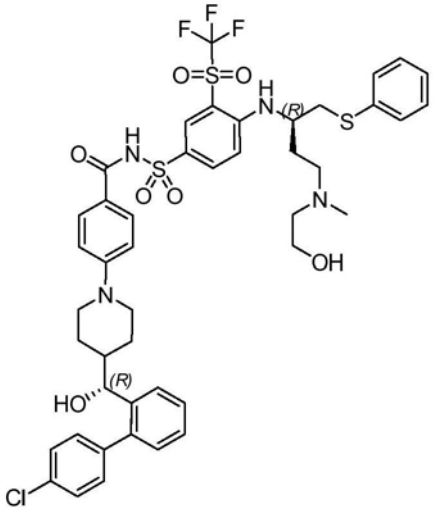
[0364] 其中#指示至BHALys的胺部分或Lys构建单元的氨基部分的共价附接,且+指示至Lys构建单元的羰基部分的共价附接或至PEG或附接至活性剂的接头的共价附接。

[0365] 为了方便,只有实例的树枝状体中表面世代的构建单元被包括在树枝状体的名字中。此外,对应地,名字中的符号‡是指可用于与PEG共轭的ε-氨基基团的理论数量,且名字

中的符号†是指树枝状体上可用于与附接至活性剂的接头共轭的α-氨基基团的理论数量。例如，名字“BHALys[Lys]$_{32}$†[α-TDA-化合物A]$_{32}$[ε-PEG$_{2100,2200}$]$_{32}$‡”是指五世代树枝状体，具有BHALys核心，在表面(第五)层中的Lys构建单元，大约32个以硫代二乙酸接头与Lys表面构建单元的α-氨基基团共轭的化合物A，大约32个与Lys表面构建单元的ε-氨基基团共轭的平均分子量在2100与2200之间的PEG基团。

[0366] 实例1：4-(4-((R)-(4'-氯联苯-2-基)(羟基)甲基)哌啶-1-基)-N-(4-((R)-4-((2-羟乙基)(甲基)氨基)-1-(苯硫基)丁-2-基氨基)-3-(三氟甲基磺酰基)苯磺酰基)苯甲酰胺(化合物A)的物理化学性质

[0367]



(化合物A)

[0368] 化合物A的合成见于美国专利号9,018,381中。

[0369] 制备化合物A，形式B

[0370] 在50℃下搅拌粗制化合物A(900g)在DMSO(450mL)和乙醇(2250ml)中的悬浮液，直到得到溶液。使溶液通过串联过滤器，并加热至60℃。在35分钟内将乙醇反溶剂(2700mL)加入溶液中。完成添加后，将溶液冷却至50℃，接种化合物A形式B晶种(18g)，并在50℃下搅拌18小时。然后在17.5小时内以线性坡度将该批次冷却至20℃，并在20℃下另外维持4.5小时。通过过滤收集所得固体，用2份乙醇(1350mL和1350mL)清洗。在烘箱(40℃，5毫巴)中干燥所得固体，得到化合物A形式B(764g，81.49％产率)。图2中提供了化合物A形式B的XRPD衍射图。

[0371] 溶解度

[0372] 化合物A具有极低水溶性，如表1中所示数据所说明。溶解度在pH 4-9的生理pH范围内都是低的。形式B是至今发现的化合物A的最稳定结晶形式并且此形式具有差的润湿和溶解特性。带着寻找具有改进溶解动力学的盐的目的进行盐筛选，但是并未鉴定到结晶盐形式。

[0373] 在水和丙二醇中测定化合物A(形式B)的溶解度。利用摇瓶法测定溶解度，允许原料药在室温下平衡24小时，小瓶中有一些沉淀，表明存在过量原料药。利用超速离心机以40,000rpm对溶液离心30min，将上清液转移到新的离心管中，并以40,000rpm再离心30min。然后用UV-HPLC法分析丙二醇上清液。水上清液在分析前进行第三次超速过滤。结果报告在表1中。

[0374] 表1.化合物A结晶形式B溶解度数据

[0375]

溶剂	最终pH	溶解度(mg/mL)
水	8.7	<1μg/ml*
丙二醇	-	6.12mg/ml

[0376] *精确测量化合物A在水中的溶解度是重大的挑战,由于以下原因:

[0377] 1)溶解度极低,且当将溶液从离心瓶转移到移液管/LC瓶等中时,一些化合物A可能因为结合在玻璃/塑料组件而丢失。

[0378] 2)化合物A对光敏感,且在这样的低浓度下,光降解速率变得举足轻重。虽然努力使水溶液暴露于光的量最小化,但暴露于少量的光也会明显影响溶解度测量。

[0379] LogD

[0380] 用辛醇/水摇瓶原理测量化合物A的亲脂性(LogD)。所用水溶液是10mM磷酸钠缓冲液,pH调整为7.4。用辛醇作为有机分配层。该方法对log D介于-2至5.0范围内有效。所测量的化合物A的LogD值>3.5,表明它是高亲脂性分子。

[0381] Caco2渗透性

[0382] Caco-2细胞系源自人类结直肠腺癌。在常规细胞培养条件下接种,分化和形成致密细胞单层(在多孔聚碳酸酯膜上)允许Caco-2细胞模仿肠(吸收性)肠上皮细胞的那些。Caco-2细胞表达一系列外排性转运蛋白,包括人类多药耐药性1(hMDR1)、人类多药耐药性相关蛋白2(hMRP2)和人类乳腺癌耐药性蛋白(hBCRP)。以96孔格式使用Caco-2细胞评估新化学实体的渗透性和外流性。通过常规LC-MS/MS生成数据,然而没有报告值。回收不佳可能是因为化合物A的溶解度限制。

[0383] 血浆蛋白结合:

[0384] 在从雄性CD-1小鼠、雄性Han Wistar大鼠、雌性新西兰兔、雄性Beagle犬和男性人类获得的经汇集冷冻血浆中用平衡透析RED装置法一式三份地评估化合物A(作为DMSO原液制备,并以名义孵育浓度0.1μmol/L、1μmol/L、10μmol/L和100μmol/L掺入血浆中)的蛋白质结合(Waters NJ等人,Validation of a Rapid Equilibrium Dialysis Approach for the Measurement of Plasma Protein Binding[验证测量血浆蛋白结合的快速平衡透析方法],Journal ofPharmaceutical Sciences[药学科学杂志];2008;第97卷;第10期;第4586-4595页,2008)。在37℃下,在30小时的平衡时间内进行孵育。通过HPLC-MS/MS分析样品,并用以下生物分析法,采用[^{13}C,$^{2}H_7$]化合物A内部标准:

[0385] LC-MS/MS器械

[0386] UHPLC:Shimadzu CC-30A

[0387] MS/MS仪器:API 4000(AB Sciex公司,美国)。

[0388] LC-MS/MS条件

[0389] 1.色谱条件

[0390] 柱:PhenomenexKinetex 1.7μC18(2.1x 30mm)

[0391] 流动相:在乙腈中的0.1%甲酸(B)和在水中的0.1%甲酸(A)

[0392] 表2.甲酸在水中的梯度

[0393]

时间(min)	0	0.5	1.2	2.0	2.1	2.5

%B	5	5	100	100	5	5

[0394] 洗脱速率:0.6mL/min,柱温:室温,注射体积:10μL

[0395] 质谱条件

[0396] 离子源:Turbo spray

[0397] 电离模式:ESI

[0398] 扫描类型:MRM

[0399] 其他参数

[0400] 表3.

[0401]

	Q1	Q3	DP(V)	EP(V)	CE(V)	CXP(V)
化合物A	945.2	404.3	120	10	55	12
[^{13}C,$^{2}H_7$]化合物A	953.2	404.3	120	10	55	12

[0402] 在100μmol/L的化合物A浓度下,发现小鼠、兔和人中未结合化合物A的百分比分别为0.00235%、0.00153%和0.00196%。在100μmol/L的化合物A浓度下,大鼠和狗血浆中的未结合化合物A的百分比<0.001%,然而在缓冲液组分中观察到可检测水平的化合物A,但这些水平无法量化(<1nmol/L)。在0.1μmol/L、1μmol/L和10μmol/L的化合物A浓度下,任何物种中都无法测得未结合化合物A的百分比,因为缓冲液组分中的浓度无法量化(<1nmol/L)。这个数据说明,化合物A极其高度结合到小鼠、大鼠、兔、狗和人类血浆蛋白。

[0403] 实例2:制备化合物A的配制品

[0404] 所制备的配制品的组成示于表4(10mL规模)和表5(大规模,500mL和1200mL规模)中。所示浓度是化合物A在每种配制品中的浓度。

[0405] 表4. 10mL规模的示例配制品组成

[0406]

成分	30% w/v HP-β-CDpH 4（1 mg/mL）	30% w/v HP-β-CD pH 4（0.4 mg/mL）	5% w/v Cremophor EL pH 4（2 mg/mL）	0.5% w/v Tween 80 pH 9（1 mg/mL）	0.5% w/v Tween 80 pH 9（0.4 mg/mL）	10.6% w/v Captisol pH 9（1 mg/mL）	10.2% w/v Captisol pH 9（0.4 mg/mL）
WFI	qs 10 mL	qs 10 mL	qs 10 mL	qs 10 mL（带有盐水）	qs 10 mL（带有盐水）	qs 10 mL	qs 10 mL
HP-β-CD（赋形剂）	3.0 g	3.0 g	-	-	-	-	-
Captisol（赋形剂）	-	-	-	-	-	1.06 g	1.02 g
Cremophor EL（赋形剂）	-	-	0.5 g	-	-	-	-
Tween 80（赋形剂）	-	-	-	0.05 g	0.05 g	-	-
PEG 400（赋形剂）	-	-	1.5 mL	-	-	-	-
化合物A（活性成分）	0.01 g	0.004 g	0.02 g	0.01 g	0.004 g	0.01 g	0.004 g
1M 葡甲	-	-	-	0.04 mL	0.04 mL	0.02 mL	0.02 mL

[0407]

胺（pH 调节剂）				（相当于4摩尔活性成分）	（相当于4摩尔活性成分）	（相当于2摩尔活性成分）	（相当于2摩尔活性成分）
1M MSA（pH 调节剂）	足以将pH 调节为 4	足以将pH 调节为 4	0.024 mL（且足以将最终pH 调节为 4）	-	-	-	-
1M HCl（pH 调节剂）	-	-	-	足以将pH 调节为 9	足以将pH 调节为 9	足以将pH 调节为 9	足以将pH 调节为 9
1M NaOH（pH 调节剂）	足以将pH 调节为 4（如果需要）	足以将pH 调节为 4（如果需要）	足以将pH 调节为 4（如果需要）	-	-	-	-
乙醇（共溶剂）	-	-	0.5 mL	-	-	-	-

[0408] 制备30%w/vHP-β-CD配制品的方法(在实例3中用作“媒介物1”)

[0409] 制备30%w/v HP-β-CD媒介物。称量3g HP-β-CD(Roquette Kleptose,肠胃外级别)放入10mL容量瓶中,添加8mL WFI并搅拌(或超声波处理)溶解。溶解后,用WFI将体积补足至10mL。

[0410] 称量适量化合物A放入10mL容量瓶中。然后添加8mL 30%w/v HP-β-CD媒介物,并搅拌配制品。逐滴添加1M MSA,直到pH降至约2。然后搅拌配制品,直到化合物完全溶解。测量pH,并逐滴用1M MSA或NaOH调节为pH 4。然后搅拌配制品,确保获得澄清溶液(可能有薄雾)。然后用30%w/v HP-β-CD媒介物将体积补足至10mL并搅拌。测量并记录最终pH,并在给予前使配制品滤过0.22uM过滤器。通过用适量30%w/v HP-β-CD媒介物将化合物A稀释在30%w/v HP-β-CD中来制备其他配制品强度。

[0411] 制备10.6%w/vCaptisol配制品的方法(在实例3中用作“媒介物2”)

[0412] 制备20%w/v Captisol媒介物。称量2g Captisol(研究级别,配体)放入10mL容量瓶中,添加8mL WFI并搅拌(或超声波处理)溶解。溶解后,用WFI将体积补足至10mL。通过用WFI将20%w/v Captisol媒介物3.75mL稀释至10mL来制备7.5%w/v Captisol媒介物。通过用WFI将20%w/v Captisol媒介物5mL稀释至10mL来制备10.0%w/v Captisol媒介物。

[0413] 制备4mg/mL化合物A在20%w/v Captisol中的原液,pH 9。称量0.04g化合物A放入容量瓶中。然后添加8mL 20%w/v Captisol媒介物,并搅拌配制品。添加相关体积的1M葡甲胺。然后搅拌配制品,直到化合物完全溶解。然后测量pH,并逐滴用1M HCl调节为pH 9。然后用20%w/v Captisol媒介物将体积补足至10mL并搅拌。测量并记录最终pH,并使配制品滤过0.22uM过滤器。

[0414] 通过用7.5%w/v Captisol媒介物将4mg/mL化合物A在20%w/v Captisol中的原液2.5mL稀释至10mL来制备在10.6%w/v Captisol配制品中的1mg/mL化合物A(如实例3中所用)。

[0415] 制备0.5%w/v Tween 80配制品的方法(在实例3中用作“媒介物3”)

[0416] 制备5%w/v Tween 80媒介物。称量0.5g Tween 80(超精制,飞世尔科技公司(Fisher Scientific))放入10mL容量瓶中,添加8mL WFI并搅拌(或超声波处理)溶解。溶解后,用WFI将体积补足至10mL。通过用盐水将5%w/v Tween媒介物1mL稀释至10mL来制备0.5%w/v Tween 80媒介物。

[0417] 制备10mg/mL化合物A在5%w/v Tween 80中的原液,pH 9。称量0.1g化合物A放入容量瓶中。然后添加8mL 5%w/v Tween 80媒介物,并搅拌配制品。添加相关体积的1M葡甲胺。然后搅拌配制品,直到化合物完全溶解。然后测量pH,并逐滴用1M HCl调节为pH 9。然后用5%w/v Tween 80媒介物将体积补足至10mL并搅拌。测量并记录最终pH,并使配制品滤过0.22uM过滤器。

[0418] 通过用盐水将10mg/mL化合物A在5%w/v Tween中的原液1mL稀释至10mL来制备在0.5%w/v Tween配制品中的1mg/mL化合物A。通过用0.5%w/v Tween 80媒介物将在0.5%w/v Tween配制品中的1mg/mL化合物A 4mL稀释至10mL来制备在0.5%w/v Tween中的0.4mg/mL化合物A。

[0419] 制备5%w/v Cremophor EL配制品的方法(在实例3中用作“媒介物4”)

[0420] 制备20%w/v Cremophor媒介物。称量2g Cremophor EL(Kolliphor EL®,巴斯

夫公司(BASF))(粘滞液体)放入10mL容量瓶中。然后添加5mL WFI,并用超声波处理或搅拌溶解。溶解后,用WFI将体积补足至合适体积。

[0421] 称量0.02g化合物A放入10mL容量瓶中。添加0.5mL乙醇、1.5mL PEG400(飞世尔科技公司)和0.024mL 1M MSA。然后搅拌配制品,直到药物完全溶解。测量pH,并视需要用浓缩1M NaOH或1M MSA调节为pH 4.0。添加2.5mL 20%w/v Cremophor媒介物,然后用WFI将体积补足至10mL,得到澄清溶液。在给予之前使配制品滤过0.22uM过滤器。

[0422] 制备10.2%w/v Captisol配制品的方法

[0423] 通过用10.0%w/v Captisol媒介物将在10.6%w/v Captisol配制品中的1mg/mL化合物A(制备方法参见前述部分)4mL稀释至10mL来制备在10.2%w/v Captisol中的0.4mg/mL化合物A。

[0424] 表5.大规模的配制品组成

[0425]

成分	28% w/v HP-β-CD 配制品 pH 9.5（5 mg/mL 化合物 A）	14% w/v Captisol 配制品 pH 9.5（0.5 mg/mL 化合物 A）
WFI	qs 500 mL	qs 1200 mL
HP-β-CD（赋形剂）	140.0 g	-
Captisol（赋形剂）	-	168.0 g
化合物 A（活性成分）	2.5 g	0.60 g
1M 葡甲胺（pH 调节剂）	5.42 mL（相当于 2 摩尔活性成分）且足以将最终 pH 调节为 9.5	1.30 mL（相当于 2 摩尔活性成分）且足以将最终 pH 调节为 9.5
1M HCl（pH 调节剂）	足以将 pH 调节为 9.5	足以将 pH 调节为 9.5

[0426] 制备28%w/vHP-β-CD配制品的方法

[0427] 在清洁室内进行制备,使用干净的无菌设备。制备28%w/v HP-β-CD媒介物。称量145.60g HP-β-CD放入2L烧杯中,添加412.88g WFI并搅拌HP-β-CD完全溶解。

[0428] 将279.2g 28%w/v HP-β-CD加入1L烧杯中。随后添加5.689g 1M葡甲胺同时搅拌,随后添加2.50g化合物A同时搅拌。使悬浮液匀化30分钟。然后用28%w/v HP-β-CD清洗匀化器头,并将清洗物加入1L烧杯中,得到最终目标体积的约95%。使悬浮液避光,并搅拌过夜,得到黄色、略微混浊的溶液。用1M葡甲胺将混浊溶液的pH调节为9.5,用28%w/v HP-β-CD媒介物补足至目标体积,并搅拌30分钟。测量并记录最终pH,并使配制品滤过0.22uM过滤器,然后装入干净的无菌小瓶中,加塞并绑上。

[0429] 制备14%w/v Captisol配制品的方法

[0430] 在清洁室内进行制备,使用干净的无菌设备。首先制备浓缩42%w/v Captisol媒介物,帮助化合物A溶解。(随后在制备中,用WFI稀释配制品,产生14%w/v Captisol的最终配制品。)称量579.86g WFI放入3L烧杯中,添加352.94g Captisol同时搅拌,然后用大涡旋搅拌,直到Captisol完全溶解。

[0431] 将233.2g 42%w/v Captisol加入600mL烧瓶中。随后添加1.365g 1M葡甲胺同时

搅拌,随后添加0.60g化合物A同时搅拌。使悬浮液匀化30分钟,得到黄色、略微混浊的溶液。用42%w/v Captisol清洗匀化器头。将匀化溶液和清洗物转移至2L烧瓶中,并用42%w/v Captisol补足至400mL的总体积。使溶液避光,并搅拌过夜。用740g WFI将略微混浊的溶液稀释至最终目标体积的约95%,并搅拌30分钟。用1M葡甲胺将溶液的pH调节为9.5,用WFI补足至目标体积,并搅拌30分钟。测量并记录最终pH,并使配制品滤过0.22uM过滤器,然后装入干净的无菌小瓶中,加塞并绑上。

[0432] Captisol和HP-β-CD配制品的稳定性

[0433] 评估0.5mg/mL化合物A/14%w/v Captisol配制品和5.0mg/mL化合物A/28%w/v HP-β-CD配制品的物理稳定性。在环境温度下储存24小时内每种配制品中形成刚好裸眼可见的极少量沉淀物。对于Captisol基配制品,注意到当扰动(例如,过滤)配制品体系时,迅速形成沉淀物,但配制品储存在5℃和25℃下6个月时,沉淀物不会继续快速增长。

[0434] 化学稳定性数据表明,Captisol基调配物将需要储存在5℃下或冷冻,以提供可接受的储存期限(>6个月)供临床研究。

[0435] 由于化合物A在水性媒介物中的溶解度低,除高pH和高输注体积以外,将需要高水平的Captisol或HP-β-CD来溶解开展临床安全性研究所需的化合物A的剂量。

[0436] 实例3:化合物A配制品的异种移植功效研究

[0437] 根据上文实例2的程序制备用于异种移植功效的配制品。

[0438] 化合物A在小鼠的RS4;11急性成淋巴细胞白血病(ALL)异种移植模型中的功效评估

[0439] 用人类急性成淋巴细胞白血病细胞(RS4;11)测试化合物A在不同配制品中的活性(图3A)。通过皮下途径以5x 10^6个细胞/小鼠将RS4;11细胞注射到雌性CB-17/ICr-Prkdcscid/IcrIcoCrl SCID小鼠(查尔斯河实验室(Charles River Laboratories))的右胁中。当肿瘤达到300-400mm^3的目标尺寸时,将小鼠随机分到媒介物对照;媒介物1(30%HP-β-CD,pH 4)、媒介物2(10.6%Captisol,pH 9)、媒介物3(0.5%Tween,pH 9)或化合物A治疗(2mg/kg和5mg/kg,在媒介物1、2或3中配制)。此外,在独立的实验中,研究化合物A在Cremophor配制品,媒介物4中的活性(图3B)。所有配制品作为单次静脉推注给予。为评估功效,每周两次地测量肿瘤体积,并如下计算:肿瘤体积=(AxB^2)/2,其中A和B分别是给药后达4周时的肿瘤长度和宽度(以mm计)。

[0440] 为评估单剂量药效动力学(PD)反应(图4),在适当时间点宰杀小鼠,移出肿瘤,处理一半肿瘤,并用Cell Signaling Pathscan ELISA试剂盒分析经裂解半胱天冬酶3反应(CC3)作为凋亡诱导的标记。为评估单剂量肿瘤暴露(PK)(图5),处理剩下的一半肿瘤,并测量药物浓度。

[0441] Captisol和HP-β-CD配制品在33天内示出统计学上相当的功效。另一方面,Tween 80配制品示出零/最低功效(图3A)。Captisol和HP-β-CD配制品在6hr和24hr时都示出类似肿瘤暴露(图5)。然而,HP-β-CD配制品比Captisol配制品引发更多细胞死亡,如通过经裂解半胱天冬酶3反应测量(图4),但功效和暴露似乎相当。Tween 80配制品示出较低肿瘤暴露,且没有经裂解半胱天冬酶3诱导证据。概括地说,化合物A的功效取决于环糊精,HP-β-CD或Captisol的存在。观察到其他媒介物(例如,Tween或Cremophor)的功效降低。

[0442] 化合物A(HP-β-CD)在不同输注长度下在大鼠RS4;11急性成淋巴细胞白血病异种

移植模型中的功效评估

[0443] 给从(SAGE)购买的Rag2-/-大鼠接种RS4;1(10x 10^6个细胞/大鼠)。当肿瘤生长到大约4500-6000mm^3,将大鼠随机分到作为单次IV 30min输注递送的媒介物对照(30%HP-β-CD)或化合物A(5mg/kg在媒介物1中)(图6)以及作为单次IV 5hr输注的媒介物对照(30%HP-B-CD)或化合物A(5mg/kg、3mg/kg和1mg/kg在媒介物1中)(图7)。每周测量两次肿瘤尺寸,并如下计算:肿瘤体积=(AxB^2)/2,其中A和B分别是肿瘤长度和宽度(以mm计)。

[0444] 结果示于图6和7中。与媒介物相比,以30min输注的5mg/kg化合物A在单次处理后抑制肿瘤生长约9天。当将输注延长到5hr时观察到可比的功效。概括地说,延长输注时间不影响化合物A在这个配制品中的活性。

[0445] 实例4:制备和表征BHALys[Lys]$_{32}$[α-NH_2TFA]$_{32}$[ε-PEG～2000]$_{32}$‡

[0446] 注意:32‡涉及可用于被PEG$_{\sim2000}$取代的ε-氨基基团的理论数量。通过^{1}H NMR实验测定附接至BHALys[Lys]$_{32}$的PEG$_{\sim2000}$基团的实际平均数量(参见下文本发明实例中的标题为表征BHALys[Lys]$_{32}$[α-NH_2-TFA]$_{32}$[ε-PEG～2000]$_{32}$‡的部分)。

[0447] 制备BHALys[Lys]$_{32}$[α-NH_2TFA]$_{32}$[ε-PEG～2000]$_{32}$'‡

[0448] BHALys[Boc]$_2$

[0449] 在15min的时间内将固体α,ε-(t-Boc)$_2$-(L)-赖氨酸对硝基苯酚酯(2.787kg,5.96mol)添加至氨基二苯基甲烷(二苯甲胺)(0.99kg,5.4mol)在无水乙腈(4.0L)、DMF(1.0L)和三乙胺(1.09kg)中的溶液中。在20℃下搅拌反应混合物过夜。然后将反应混合物温热至35℃,在30min内缓慢添加氢氧化钠水溶液(0.5N,10L)。额外搅拌混合物30min,然后过滤。用水清洗固体滤饼,并以100%产率干燥至恒定重量(2.76kg,5.4mol)。^{1}H NMR(CD_3OD)δ7.3(m,10H,Ph Calc 10H);6.2(s,1H,CH-Ph_2Calc 1H);4.08(m,α-CH,1H),3.18(br,ε-CH_2)和2.99(m,ε-CH_2 2H);1.7-1.2(br,β,γ,δ-CH_2)和1.43(s,tBu)全部针对β,γ,δ-CH_2和tBu 25H Calc 24H。$C_{29}H_{41}N_3O_5Na$的MS(ESI+ve)实测值534.2$[M+Na]^+$,计算值$[M+Na]^+$534.7。

[0450] BHALys[HCl]$_2$

[0451] 以使过量起泡最小化的速率分三份将浓HCl(1.5L)在甲醇(1.5L)中的溶液缓慢添加至BHALys[Boc]$_2$(780.5g,1.52mol)在甲醇(1.5L)中的搅拌悬浮液中。额外搅拌反应混合物30min,然后在35℃下真空浓缩。将残余物溶解在水(3.4L)中,并在35℃下真空浓缩两次,然后储存在真空下过夜。然后添加乙腈(3.4L),并在35℃下再次真空浓缩残余物,以100%产率得到呈白色固体的BHALys[HCl]$_2$(586g,1.52mol)。^{1}H NMR(D_2O)δ7.23(brm,10H,Ph Calc 10H);5.99(s,1H,CH-Ph_2Calc 1H);3.92(t,J=6.5Hz,α-CH,1H,Calc1H);2.71(t,J=7.8Hz,ε-CH_2,2H,Calc 2H);1.78(m,β,γ,δ-CH_2,2H),1.47(m,β,γ,δ-CH_2,2H),和1.17(m,β,γ,δ-CH_2,2H,总6H Calc 6H)。$C_{19}H_{26}N_3O$的MS(ESI+ve)实测值312[M+H]+,计算值[M+H]+312。

[0452] BHALys[Lys]$_2$[Boc]$_4$

[0453] 向BHALys[HCl]$_2$(586g,1.52mmol)在无水DMF(3.8L)中的悬浮液中缓慢添加三乙胺(1.08kg),以将反应温度维持在30℃以下。分三份缓慢添加固体α,ε-(t-Boc)$_2$-(L)-赖氨酸对硝基苯酚酯(1.49kg),在添加操作之间搅拌2小时。允许搅拌反应过夜。将氢氧化钠水溶液(0.5M,17L)缓慢添加至充分搅拌的混合物中,并持续搅拌,直到固体沉淀物自由流动。通过过滤收集沉淀物,并先后用水(2x 4L)和丙酮/水(1:4,2x 4L)充分清洗固体滤饼。用水

再次使固体变成浆液，然后过滤并在真空下干燥过夜，以100％产率得到BHALys[Lys]$_2$[Boc]$_4$(1.51kg)。^{1}H NMR(CD_3OD)δ7.3(m,10H,Ph Calc 10H)；6.2(s,1H,CH-Ph_2Calc 1H)；4.21(m,α-CH)，4.02(m,α-CH)和3.93(m,α-CH,total 3H,Calc 3H)；3.15(m,ε-CH_2)和3.00(m,ε-CH_2总6H,Calc 6H)；1.7-1.3(br,β,γ,δ-CH_2)和1.43(s,tBu)全部针对β,γ,δ-CH_2和tBu 57H,Calc 54H。$C_{51}H_{81}N_7O_{11}Na$的MS(ESI+ve)实测值868.6$[M-Boc]^+$；990.7$[M+Na]^+$，计算值[M+Na]+991.1。

[0454] BHALys[Lys]$_2$[HCl]$_4$

[0455] 在35℃下伴随搅拌将BHALys[Lys]$_2$[Boc]$_4$(1.41kg,1.46mol)悬浮在甲醇(1.7L)中。将盐酸(1.7L)与甲醇(1.7L)混合，并分四份将所得溶液添加至树枝状体悬浮液中，搅拌30min。在减压下移除溶剂，并先后用两个连续水(3.5L)条(strip)和两个连续乙腈(4L)条处理，以102％产率得到BHALys[Lys]$_2$[HCl]$_4$(1.05Kg,1.46mmol)。^{1}H NMR(D_2O)δ7.4(brm,10H,Ph Calc 10H)；6.14(s,1H,CH-Ph_2Calc 1H)；4.47(t,J＝7.5Hz,α-CH,1H)，4.04(t,J＝6.5Hz,α-CH,1H)，3.91(t,J＝6.8Hz,α-CH,1H,总3H,Calc 3H)；3.21(t,J＝7.4Hz,ε-CH_2,2H)，3.01(t,J＝7.8Hz,ε-CH_2,2H)和2.74(t,J＝7.8Hz,ε-CH_2,2H,总6H,Calc 6H)；1.88(m,β,γ,δ-CH_2)，1.71(m,β,γ,δ-CH_2)，1.57(m,β,γ,δ-CH_2)和1.35(m,β,γ,δ-CH_2总19H,Calc 18H)。

[0456] BHALys[Lys]$_4$[Boc]$_8$

[0457] 将BHALys[Lys]$_2$[HCl]$_4$(1.05Kg,1.47mol)溶解在DMF(5.6L)和三乙胺(2.19L)中。分三份添加α,ε-(t-Boc)$_2$-(L)-赖氨酸对硝基苯酚酯(2.35Kg,5.03mol)，并在25℃下搅拌反应过夜。添加NaOH(0.5M,22L)溶液，并过滤所得混合物，用水(42L)清洗，然后风干。在45℃下真空干燥固体，以76％产率得到BHALys[Lys]$_4$[Boc]$_8$(2.09kg,1.11mol)。^{1}H NMR(CD_3OD)δ7.3(m,10H,Ph Calc 10H)；6.2(s,1H,CH-Ph_2Calc 1H)；4.43(m,α-CH)，4.34(m,α-CH)，4.25(m,α-CH)和3.98(br,α-CH,总7H,Calc 7H)；3.15(br,ε-CH_2)和3.02(br,ε-CH_2总14H,Calc 14H)；1.9-1.2(br,β,γ,δ-CH_2)和1.44(br s,tBu)全部针对β,γ,δ-CH_2和tBu 122H,Calc 144H。

[0458] BHALys[Lys]$_4$[TFA]$_8$

[0459] 在0℃下向BHALys[Lys]$_4$[Boc]$_8$(4g,2.13mmol)在DCM(18mL)中的搅拌溶液中添加TFA(13mL)。将固体溶解，并在氩气氛下搅拌溶液过夜。在真空下移除溶剂，并通过用二乙醚(100mL)研磨来移除残余TFA。将产物重新溶解在水中，然后冷冻干燥，以101％产率得到呈灰白色固体的BHALys[Lys]$_4$[TFA]$_8$(4.27g,2.14mmol)。^{1}H NMR(D_2O)δ7.21(brm,10H,Ph Calc 10H)；5.91(s,1H,CH-Ph_2Calc 1H)；4.17(t,J＝7.4Hz,α-CH,1H)，4.09(t,J＝7.1Hz,α-CH,1H)，4.02(t,J＝7.2Hz,α-CH,1H,3.84(t,J＝6.5Hz,α-CH,2H)，3.73(t,J＝6.7Hz,α-CH,1H)，3.67(t,J＝6.7Hz,α-CH,1H,总7H,Calc 7H)；3.0(m,ε-CH_2)，2.93(m,ε-CH_2)和2.79(b,ε-CH_2,总15H,Calc 14H)；1.7(br,β,γ,δ-CH_2)，1.5(br,β,γ,δ-CH2)，1.57(m,β,γ,δ-CH_2)和1.25(br,β,γ,δ-CH2总45H,Calc 42H).$C_{55}H_{99}N_{15}O_7$的MS(ESI+ve)实测值541.4$[M+2H]^{2+}$；计算值$[M+2H]^{2+}$541.2。

[0460] BHALys[Lys]$_8$[Boc]$_{16}$

[0461] 将α,ε-(t-Boc)$_2$-(L)-赖氨酸对硝基苯酚酯(1.89g,4.05mmol)在DMF(25mL)中的溶液添加至BHALys[Lys]$_4$[NH_2TFA]$_8$(644mg,0.32mmol)和三乙胺(0.72mL,5.2mmol)在DMF

(25mL)中的溶液中,并在氩气氛下搅拌反应过夜。将反应混合物倾倒在冰/水(500mL)上,然后过滤,并在真空下干燥收集的固体过夜。用乙腈充分清洗干燥的固体,以68%产率得到呈灰白色固体的BHALys[Lys]$_8$[Boc]$_{16}$(0.82g,0.22mmol)。^{1}H NMR(CD_3OD)δ7.3(m,10H,Ph Calc 10H);6.2(br s,1H,CH-Ph_2Calc 1H);4.48(br,α-CH),4.30(br,α-CH)和4.05(br,α-CH,总16H Calc 15H);3.18(br,ε-CH_2)和3.02(m,ε-CH_2总31H,Calc30H);1.9-1.4(br,β,γ,δ-CH_2)和1.47(br s,tBu)全部针对β,γ,δ-CH_2和tBu 240H,Calc 234H。$C_{173}H_{306}N_{31}O_{43}$的MS(ESI+ve)实测值3509[M+H-(Boc)$_2$]$^+$,计算值[M+H-(Boc)$_2$]$^+$3508.5;$C_{168}H_{298}N_{31}O_{41}$的实测值3408[M+H-(Boc)$_3$]$^+$,计算值[M+H-(Boc)$_3$]$^+$3408.4。

[0462] BHALys[Lys]$_8$[TFA]$_{16}$

[0463] 将TFA/DCM溶液(1:1,19mL)缓慢添加至BHALys[Lys]$_8$[Boc]$_{16}$(800mg,0.22mmol)在DCM(25mL)中的搅拌悬浮液中。固体溶解,并在氩气氛下搅拌溶液过夜。在真空下移除溶剂,并通过反复冻干残余物移除残余TFA,以100%产率得到呈灰白色冻干物(lyophylate)的BHALys[Lys]$_8$[TFA]$_{16}$(848mg,0.22mmol)。^{1}H NMR(D_2O)δ7.3(br m,10H,Ph Calc 10H);6.08(s,1H,CH-Ph_2Calc 1H);4.3(m,α-CH),4.18(m,α-CH),4.0(m,α-CH)和3.89(m,α-CH,总16H,Calc 15H);3.18(br,ε-CH_2)和2.94(m,ε-CH_2总32H,Calc 30H);1.9(m,β,γ,δ-CH_2),1.68(m,β,γ,δ-CH_2)和1.4(m,β,γ,δ-CH_2总99H,Calc 90H)。$C_{103}H_{194}N_{31}O_{15}$的MS(ESI+ve)实测值2106[M+H]$^+$,计算值[M+H]$^+$2106.9。

[0464] BHALys[Lys]$_{16}$[Boc]$_{32}$

[0465] 将α,ε-(t-Boc)$_2$-(L)-赖氨酸对硝基苯酚酯(1.89g,4.05mmol)在DMF(25mL)中的溶液添加至BHALys[Lys]$_8$[TFA]$_{16}$(644mg,0.32mmol)和三乙胺(0.72mL,5.2mmol)在DMF(25mL)中的溶液中,并在氩气氛下搅拌反应过夜。将反应倾倒在冰/水(500mL)上,然后过滤,并在真空下干燥收集的固体过夜。用乙腈充分清洗干燥的固体,以68%产率得到呈灰白色固体的BHALys[Lys]$_{16}$[Boc]$_{32}$(0.82g,0.22mmol)。

[0466] ^{1}H NMR(CD_3OD)δ7.28(m,9H,Ph Calc 10H);6.2(br s,1H,CH-Ph_2Calc1H);4.53(br,α-CH),4.32(br,α-CH)和4.05(br,α-CH,总35H,Calc 31H);3.18(br,ε-CH_2)和3.04(m,ε-CH_2总67H,Calc 62H);1.9-1.5(br,β,γ,δ-CH_2)和1.47(br s,tBu)全部针对β,γ,δ-CH_2和tBu 474H Calc,474H。$C_{339}H_{610}N_{63}O_{87}$的MS(ESI+ve)实测值6963[M+H-(Boc)$_4$]$^+$,计算值[M+H-(Boc)$_4$]$^+$6960.9;$C_{334}H_{604}N_{63}O_{85}$的实测值6862[M+H-(Boc)$_5$]$^+$,计算值[M+H-(Boc)$_5$]$^+$6860.8。

[0467] BHALys[Lys]$_{16}$[TFA]$_{32}$

[0468] 将TFA/DCM溶液(1:1,19mL)缓慢添加至BHALys[Lys]$_{16}$[Boc]$_{32}$(800mg,0.11mmol)在DCM(25mL)中的搅拌悬浮液中。固体溶解,并在氩气氛下搅拌溶液过夜。在真空下移除溶剂,并通过反复冻干残余物移除残余TFA,以100%产率得到呈灰白色冻干物的BHALys[Lys]$_{16}$[TFA]$_{32}$(847mg,0.11mmol)。^{1}H NMR(D_2O)δ7.3(brm,11H,Ph Calc 10H);6.06(s,1H,CH-Ph_2Calc1H);4.3(m,α-CH),4.19(m,α-CH),4.0(m,α-CH)和3.88(m,α-CH,总35H,Calc31H);3.15(br,ε-CH_2)和2.98(m,ε-CH_2总69H,Calc 62H);1.88(m,β,γ,δ-CH_2),1.7(m,β,γ,δ-CH_2)和1.42(m,β,γ,δ-CH_2总215H,Calc 186H)。$C_{199}H_{386}N_{63}O_{31}$的MS(ESI+ve)实测值4158[M+H]$^+$,计算值[M+H]+4157.6

[0469] HO-Lys(α-BOC)(ε-PEG_{2100})

[0470] 将DIPEA(0.37mL,2.10mmol)添加至NHS-PEG_{2100}(2.29g,1.05mmol)和N-α-t-BOC-L-赖氨酸(0.26g,1.05mmol)在DMF(20mL)中的冰冷混合物中。允许将搅拌混合物温热至室温过夜,然后过滤掉任何剩余的固体(0.45μm PALL acrodisc),然后在真空中移除溶剂。将残余物溶解在ACN/H_2O(1:3,54mL)中,并通过PREP HPLC(Waters XBridge C18,5μm,19 x 150mm,25%至32%ACN(5-15min),32%至60%ACN(15至20min),无缓冲液,8mL/min,RT=17min)纯化,提供1.41g(56%)HO-Lys(BOC)(PEG_{2100})。^{1}H NMR(CD_3OD)δ3.96-4.09(m,1H),3.34-3.87(m,188H);3.32(s,3H),3.15(q,J=6.0Hz,2H),2.40(t,J=6.2Hz,2H),1.28-1.88(m,6H),1.41(s,9H)。

[0471] BHALys[Lys]$_{32}$[α-BOC]$_{32}$[ε-PEG2100]$_{32}$

[0472] 向BHALys[Lys]$_{16}$[TFA]$_{32}$(0.19g,24μmol)在DMF(20mL)中的搅拌混合物中添加DIPEA(0.86mL,4.86mmol)。然后在室温下将该混合物逐滴添加至PyBOP(0.62g,1.20mmol)和Lys(BOC)(PEG_{2100})(2.94g,1.20mmol)在DMF(20mL)中的搅拌混合物中。搅拌反应混合物过夜,然后用水(200mL)稀释。使含水混合物经受centramate过滤(5k膜,20L水)。冷冻干燥滞留物,提供1.27g(73%)期望的树枝状体。HPLC(C8 Xbridge,3 x 100mm,梯度:5%ACN(0-1min),5%-80%ACN/H_2O(1-7min),80%ACN(7-12min),80%-5%ACN(12-13min),5%ACN(13-15min),214nm,0.1%TFA)Rf(min)=8.52。1H-nmr(300MHz,D_2O)δ(ppm):1.10-2.10(m,Lys CH_2(β,x,δ)和BOC,666H),3.02-3.36(m,Lys CH_2(ε),110H),3.40(s,PEG-OMe,98H),3.40-4.20(m,PEG-OCH_2,5750H+Lys CH表面,32H),4.20-4.50(m,Lys,CH内部32H),7.20-7.54(m,BHA,8H)。^{1}H NMR指示大约29个PEG。

[0473] BHALys[Lys]$_{32}$[α-TFA]$_{32}$[ε-PEG_{2100}]$_{32}$

[0474] 在室温下在TFA/DCM(1:1,20mL)中搅拌1.27g(17.4μmol)BHALys[Lys]$_{32}$[α-BOC]$_{32}$[ε-PEG_{2100}]$_{32}$过夜。在真空中移除挥发物,然后将残余物溶解在水(30mL)中。然后浓缩混合物。再重复这个过程两次,然后冷冻干燥,提供1.35g(106%)呈粘滞无色油状物的期望产物。HPLC(C8 Xbridge,3 x 100mm,梯度:5%ACN(0-1min),5%-80%ACN/H_2O(1-7min),80%ACN(7-12min),80%-5%ACN(12-13min),5%ACN(13-15min),214nm,0.1%TFA)Rf(min)=8.51。^{1}H-nmr(300MHz,D_2O)δ(ppm):1.22-2.08(Lys CH_2((β,x,δ),378H),3.00-3.26(Lys CH2(ε),129H),3.40(PEG-OMe,96H),3.45-4.18(PEG-OCH_2,5610H+Lys CH表面,32H),4.20-4.46(Lys,CH内部,33H),7.24-7.48(8H,BHA)。^{1}H NMR指示大约29个PEG。

[0475] 表征BHALys[Lys]$_{32}$[α-NH_2TFA]$_{32}$[ε-PEG$_{\sim 2000}$]$_{32}$

[0476] 表6说明了下文实例5-9中使用的各个批次的BHALys[Lys]$_{32}$[α-NH_2TFA]$_{32}$[ε-PEG$_{\sim 2000}$]$_{32}$#,它们有略微不同的PEG长度。树枝状体上PEG链的实际数量也是通过质子NMR计算。

[0477] 表6.各个批次的BHALys[Lys]$_{32}$[α-NH_2TFA]$_{32}$[ε-PEG$_{\sim 2000}$]$_{32}$

[0478]

批次	规模	来自 CoA 的 PEG 长度 (Da)	BHALys[Lys]$_{32}$[α-NH_2.TFA]$_{32}$[ε-PEG~$_{2000}$]$_x$ 上的 PEG 数量 (x) (来自 NMR*)	估计 MW** (kDa)
1	101 mg	2200	29	75.7
2	98 mg	2200	29	75.7
3	74.8 g	2100	29	72.8
4	137 mg	2200	29	75.7
5	1.19 g	2100	31	77.0
6	18.98 g	2100	29	72.8

[0479] *由质子NMR计算PEG数量。对于批次1:PEG数量＝NMR的PEG区域中的质子数量(积分)(3.4-4.2ppm)/每条PEG链的质子平均(均值)数量(CoA PEG/44Dax 4H)

[0480] ＝5706H/(2200/44x4)

[0481] ＝28.53(大约29个PEG单元)

[0482] **通过加总各个组分的MW估算的分子量。对于批次1:

[0483] 总MW＝树枝状体的Mw+TFA的Mw+PEG的Mw

[0484] ＝BHALys[Lys]$_{32}$+32(TFA)+29(PEG)

[0485] ＝8,258+3,648+63800

[0486] ＝约75.7kDa

[0487] 表7中提供了各个批次的BHALys[Lys]$_{32}$[α-NH_2TFA]$_{32}$[ε-PEG～$_{2000}$]$_{32}$‡的质子NMR:

[0488] 表7.各个批次的BHALys[Lys]$_{32}$[α-NH_2TFA]$_{32}$[ε-PEG~$_{2000}$]$_{32}$‡的质子NMR数据

[0489]

批次	规模	BHALys[Lys]$_{32}$[α-NH_2.TFA]$_{32}$[ε-PEG~$_{2000}$]$_x$ 的质子 NMR
1	101 mg	1.22-2.08 (Lys CH_2(β,χ,δ, 378H), 3.00-3.26 (Lys CH_2 (α), 129H), 3.40 (PEG-OMe, 96H), 3.45-4.18 (PEG-OCH_2, 5610H + Lys CH 表面, 32H), 4.20-4.46 (Lys, CH 内部, 33H), 7.24-7.48 (8H, BHA)。
2	98 mg	如批次 1
3	74.8 g	1.02-2.18 (Lys CH_2(β,χ,δ, 378H), 2.94-3.36 (Lys CH_2 (α), 129H), 3.41 (PEG-OMe, 93H), 3.45-4.18 (PEG-OCH_2, 5432H + Lys CH 表面, 32H), 4.18-4.50 (Lys, CH 内部, 32H), 7.12-7.64 (9H,

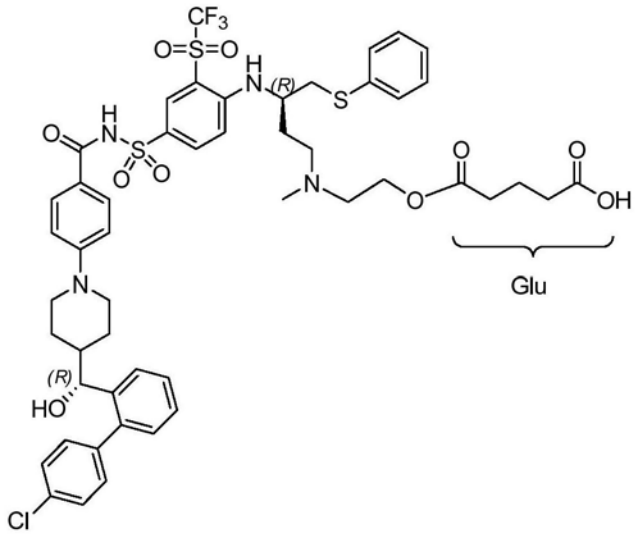
[0490]

		BHA)。
4	137 mg	如批次 1
5	1.19 g	1.02-2.16 (Lys CH_2(β,χ,δ, 378H), 2.93-3.36 (Lys CH_2 (α), 129H), 3.41 (PEG-OMe, 101H), 3.45-4.18 (PEG-OCH_2, 5908H + Lys CH 表面, 32H), 4.18-4.50 (Lys, CH 内部, 33H), 7.21-7.54 (9H, BHA)。
6	18.98 g	如批次 3

[0491] 实例5:制备BHALys[Lys]$_{32}$[α-Glu-化合物A]$_{32}$†[ε-PEG$_{2200}$]$_{32}$‡

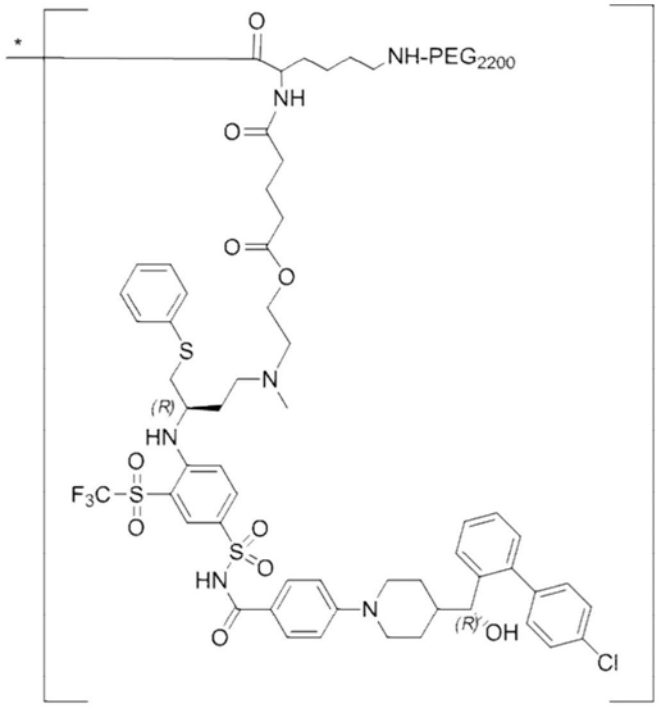
[0492] 注意:32†涉及树枝状体上可用于被Glu-化合物A取代的α-氨基基团的理论数量。通过^{1}H NMR实验测定附接至BHALys[Lys]$_{32}$的Glu-化合物A基团的实际数量(参见实例10)。32‡涉及树枝状体上可用于被PEG$_{2200}$取代的ε-氨基基团的理论数量。通过^{1}H NMR实验测定附接至BHALys[Lys]$_{32}$的PEG$_{2200}$基团的实际平均数量(参见实例4,批次1)。

[0493] 制备Glu-化合物A

[0494] 

[0495] 在室温下向化合物A(200mg,0.21mmol)在DCM(10mL)中的磁力搅拌悬浮液中添加戊二酸酐(29mg,0.25mmol)、DMAP(26mg,0.21mmol)和DIPEA(93μL,0.53mmol)。悬浮液迅速溶解,并将混合物在室温下搅拌过夜。在随后的24小时内添加额外的戊二酸酐,直到HPLC判断反应完成>80%。然后在真空中移除挥发物,并通过制备型HPLC(BEH 300Waters XBridge C18,5μM,30x 150mm,60%-80%ACN/水(5-40min),0.1%TFA,RT=22min)纯化残余物,提供117mg(52%)呈白色固体的产物。LCMS(C18,梯度:50%-60%ACN/H_2O(1-10min),60%ACN(10-11min),60%-50%ACN(11-13min),50%ACN(13-15min),0.1%甲酸,0.4mL/min,Rf(min)=6.30。$C_{50}H_{54}ClF_3N_4O_{10}S_3$的ESI(+ve)实测值$[M+H]^+$=1059,计算值=1058.26Da。1H-NMR(300MHz,CD_3OD)δ(ppm):0.65-1.40(m,4H),1.70-2.30(m,6H),2.34(t,J=6.9Hz,2H),2.42(t,J=7.5Hz,2H),2.65(t,J=12.3Hz,1H),2.79(t,J=12.6Hz,1H),2.91(s,3H),3.14-3.29(m,2H),3.33-3.38(m,3H),3.38-3.52(m,3H),3.71(d,J=12.9Hz,1H),3.89(d,J=12.9Hz,1H),4.10(m,1H),4.34-4.48(m,3H),6.80-6.96(m,3H),7.01(d,J=9.0Hz,1H),7.09-7.24(m,4H),7.26-7.46(m,8H),7.61(d,J=7.8Hz,1H),7.68(d,J=9.0Hz,2H),8.07(dd,J=9.3,2.1Hz,1H),8.31(d,J=3.0Hz,1H)。

[0496] 制备BHALys[Lys]$_{32}$[α-Glu-化合物A]$_{31}$[ε-PEG$_{2200}$]$_{29}$

[0497] 

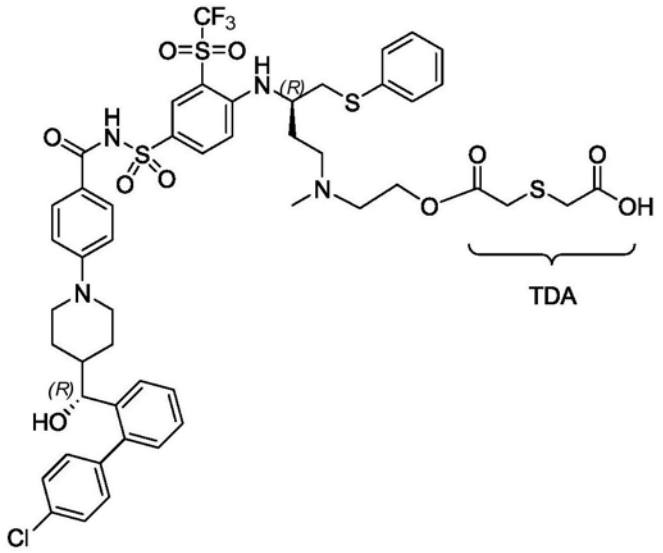
[0498] *＝BHALys[Lys]$_{16}$

[0499] 在室温下向化合物A-Glu(67mg,63μmol)和PyBOP(33mg,63.3μmol)在DMF(1mL)中的磁力搅拌混合物中添加BHALys[Lys]$_{32}$[α-NH_2TFA]$_{32}$[ε-PEG_{2200}]$_{29}$(99mg,1.32μmol,实例4的批次1)和NMM(23μL,0.21mmol)也是在DMF(2mL)中的混合物。在室温下16小时后,移除挥发物,并通过尺寸排阻色谱法(sephadex,LH20,MeOH)纯化残余物。合并并浓缩适当的级分,如通过HPLC判断。然后将残余物溶解在水中,过滤(0.22μm)并冷冻干燥,提供101mg(73%)呈浅粉色固体的期望材料。HPLC(C8Xbridge,3x 100mm,梯度:42%-50%ACN/H_2O(1-7min),50%-80%ACN(7-8min),80%ACN(8-11min),80%-42%ACN(11-12min),42%ACN(12-15min),214nm,10mM甲酸铵)Rf(min)＝10.18。^{1}H-NMR(300MHz,CD_3OD)δ(ppm):0.65-2.08(m,585H),2.10-2.50(m,144H),2.50-2.80(m,71H),2.82-3.02(m,80H),3.04-3.27(m,137H),3.35(s,108H),3.40-4.06(m,5824H),4.08-4.62(m,181H),6.54-8.40(m,632H)。

[0500] 实例6:制备BHALys[Lys]$_{32}$[α-TDA-化合物A]$_{32}$†[ε-$PEG_{2100,2200}$]$_{32}$‡

[0501] 注意:32†涉及树枝状体上可用于被TDA-化合物A取代的α-氨基基团的理论数量。通过^{1}H NMR实验测定附接至BHALys[Lys]$_{32}$的TDA-化合物A基团的实际数量(参见实例10)。32‡涉及树枝状体上可用于被$PEG_{2100,2200}$取代的ε-氨基基团的理论数量。通过^{1}H NMR实验测定附接至BHALys[Lys]$_{32}$的$PEG_{2100,2200}$基团的实际平均数量(参见实例4,批次2和批次3)。

[0502] 制备TDA-化合物A

[0503] 

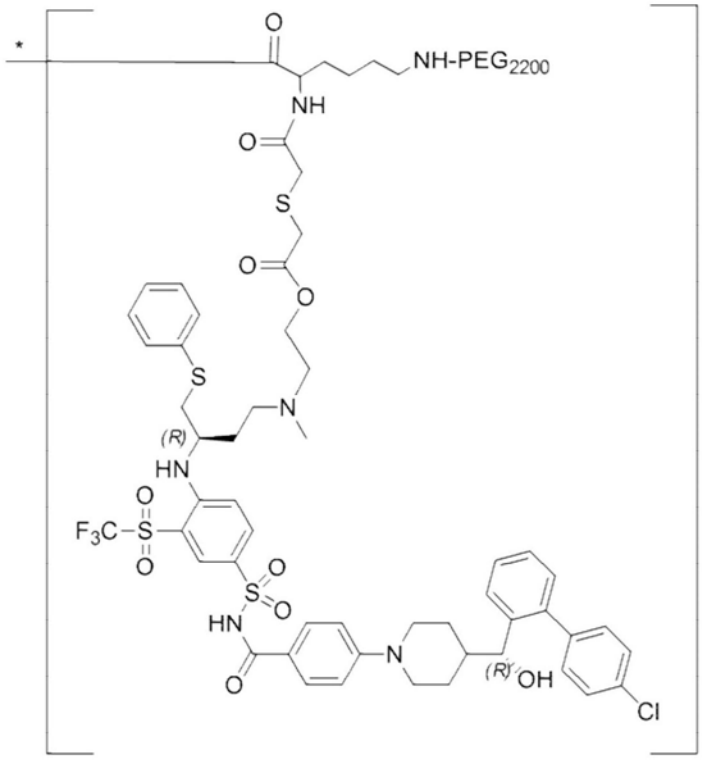
[0504] 在室温下向化合物A(70mg,74.1μmol)在DCM(5mL)中的磁力搅拌悬浮液中添加硫代二乙醇酸酐(TDA,10mg,74.1μmol)和DIPEA(33μL,185μmol)。悬浮液迅速溶解,并将混合物在室温下搅拌过夜。在随后的24小时内添加额外的硫代二乙醇酸酐,直到HPLC判断反应完成>80%。然后在真空中移除挥发物,并通过制备型HPLC(BEH 300Waters XBridge C18,5μM,30x 150mm,60%-80%ACN/水(5-40min),0.1%TFA,RT=22min)纯化残余物,提供63mg(70%)呈白色固体的产物。LCMS(C18,梯度:50%-60%ACN/H_2O(1-10min),60%ACN(10-11min),60%-50%ACN(11-13min),50%ACN(13-15min),0.1%甲酸,0.4mL/min,Rf(min)=7.33。$C_{49}H_{52}ClF_3N_4O_{10}S_4$的ESI(+ve)实测值$[M+H]^+$=1077,计算值=1076.22Da。^{1}H-NMR(300MHz,CD_3OD)δ(ppm):0.87-1.04(m,1H),1.08-1.36(m,3H),1.71-1.90(m,1H),1.96-2.40(m,3H),2.64(t,J=12.0Hz,1H),2.77(t,J=12.6Hz,1H),2.94(s,3H),3.18-3.30(m,2H),3.35(s,2H),3.40(s,2H),3.46-3.55(m,2H),3.73(d,J=13.5Hz,1H),3.90(d,J=12.9Hz,1H),4.02-4.15(m,1H),4.40-4.48(m,3H),6.86(d,J=9.3Hz,2H),6.92(d,J=9.6Hz,1H),7.02(d,J=9.0Hz,1H),7.08-7.46(m,13H),7.61(d,J=7.8Hz,1H),7.67(d,J=9.0Hz,2H),8.08(dd,J=9.3,2.1Hz,1H),8.31(d,J=2.1Hz,1H)。

[0505] 替代性制备方法

[0506] 将化合物A(25.50g,2.70 x 10^{-2}mol)和TDA(4.81g,3.64 x 10^{-2}mol,1.35equiv.)加入配有内部温度探针和均压滴液漏斗的3颈反应容器中(在N_2气氛下)。引入DCM(255mL,10vol.),接着将悬浮液冷却至-10℃。在40分钟的时间内引入在DCM中的0.29M TEA(100mL,3.77 x 10^{-2}mol,1.4equiv.),同时将温度维持在-10℃。每小时进行反应过程控制(IPC)。当通过HPLC判断化合物A<10%面积时(通常在结束添加4.5h后),视为反应完全。用DCM(1.66L,65vol.)稀释反应混合物,并用磷酸盐缓冲盐水(PBS)水溶液(1.02L,40vol.)清洗三次。在$MgSO_4$(100g,5%w/V)上干燥合并的有机萃取物,在真空(0.2巴,25℃)中浓缩过夜后得到浅黄色固体(通常24.5g,85%产率,通过HPLC判定86.83%)。

[0507] 制备BHALys[Lys]$_{32}$[α-TDA-化合物A]$_{32}$[ε-$PEG_{2100,2200}$]$_{32}$

[0508] 小规模制备方法

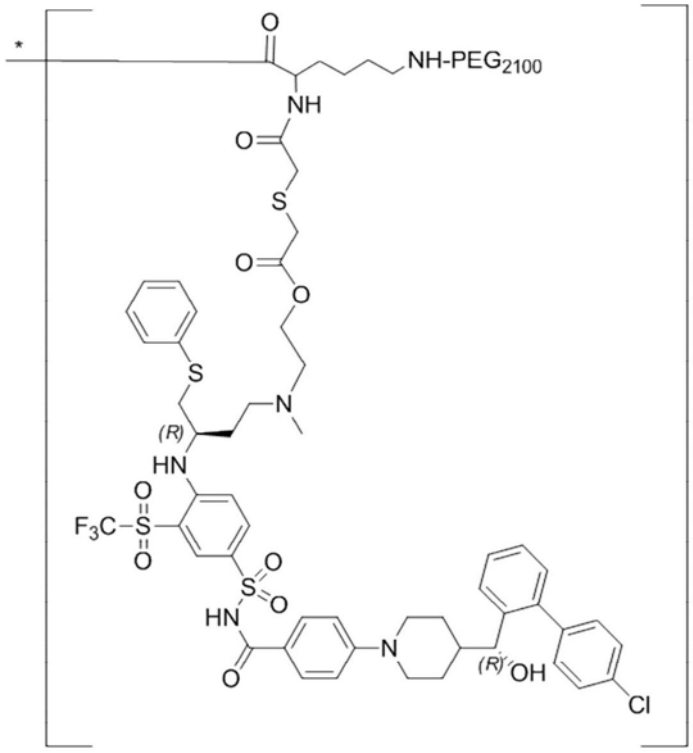
[0509] 

32 （理论的）

[0510] *＝BHALys[Lys]16

[0511] 在室温下向化合物A-TDA(62mg,58μmol)和PyBOP(30mg,58μmol)在DMF(1mL)中的磁力搅拌混合物中添加BHALys[Lys]$_{32}$[α-NH_2TFA]$_{32}$[ε-PEG_{2200}]$_{29}$(97mg,1.28μmol,实例4的批次2)和NMM(27μL,0.24mmol)也是在DMF(2mL)中的混合物。在室温下16小时后,移除挥发物,并通过尺寸排阻色谱法(sephadex,LH20,MeOH)纯化残余物。合并并浓缩适当的级分,如通过HPLC判断。然后将残余物溶解在水中,过滤(0.22μm)并冷冻干燥,提供98mg(72%)呈浅粉色固体的期望材料。HPLC(C8Xbridge,3x 100mm,梯度:42%-50%ACN/H_2O(1-7min),50%-80%ACN(7-8min),80%ACN(8-11min),80%-42%ACN(11-12min),42%ACN(12-15min),214nm,10mM甲酸铵)Rf(min)＝10.24。^{1}H-NMR(300MHz,CD_3OD)δ(ppm):0.62-2.33(m,589H),2.37-2.69(m,87H),2.69-2.92(m,98H),2.94-3.27(m,202H),3.35(s,113H),3.37-4.10(m,5781H),4.10-4.70(m,154H),6.50-8.45(m,661H)。

[0512] 替代性(大规模)制备方法

[0513] 

32 （理论的）

[0514] *＝BHALys[Lys]16

[0515] 在N_2气氛下将DMF(495mL,16.5vol.)添加至BHALys[Lys]$_{32}$[α-NH_2TFA]$_{32}$[ε-PEG_{2100}]$_{29}$(30.6g,3.82x 10^{-4}mol,实例4的批次3)和化合物A-TDA(19.01g,1.53x 10^{-2}mol,40equiv.)中。引入NMM(8.06mL,7.33x 10^{-2}mol,192equiv.),并将反应温热至30℃帮助溶解(大约10min)。然后将混合物冷却回20℃,并分两等份引入PyBOP(9.20g,1.68x 10-2mol.,44equiv.)。过程控制监控揭示反应在2h后完成。用ACN(495mL,16.5vol.)稀释反应混合物,滤过烧结漏斗,并经受10倍恒定体积倍数(600mL,ACN)超滤(MerckMillipore Pellicon 3,2x 0.11m2盒),维持18PSI的跨膜压力(TMP)和48L/m2/小时(LMH)。在减压(45℃,0.2巴;持续30min)下浓缩,并在周围环境下另外干燥16h,得到45.7g呈深黄色糖浆的纯化产物(批次A)。重复这个过程,产生另外46.8g材料(批次B)。

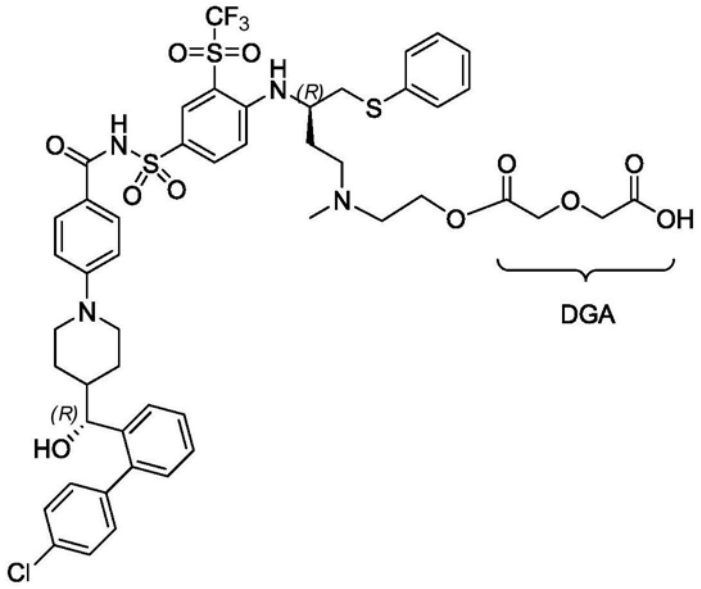
[0516] 将两个批次(批次A和B)分别溶解在THF(4.7vol.)中,并温热至35℃-40℃,直到完全溶解(10min)。向配有内部温度计、均压滴液漏斗和磁力搅拌棒的独立3颈圆底容器中添加MTBE(1.8L,19.5vol.)。然后在外部冰浴帮助下将溶剂冷却至0℃。在达到环境温度时将合并的批次A和B的THF溶液加入滴液漏斗中,并逐滴引入至MTBE的搅拌溶液中,同时将温度维持在0℃。在初见混浊时,将固体BHALys[Lys]$_{32}$[α-TDA-化合物A]$_{27}$[ε-PEG_{2200}]$_{29}$(0.95g,相对于输入的批次A和B为1％w/w)加入反应,并继续添加,持续30分钟。允许结晶成熟60分钟,然后在N_2下转移到Buchner真空过滤器(160mm直径)中(持续15min)。用5vol.MTBE(300mL/清洗)清洗滤饼两次,并进行干燥(在N_2下),总共持续30分钟。将滤饼转移到真空烘箱中,在烘箱中在40℃、0.2巴下进行干燥,直到达到恒定质量(24h),得到74.8g自由流动的白色粉末(105％产率)。HPLC(C8Phenomenix Aeris,2.1x 100mm,梯度:5％ACN(0-1min),5％-45％ACN/H_2O(1-2min),45％-60％ACN(2-8min),60％ACN(8-10min),60％-90％ACN(10-10.1min),90％ACN(10.1-12min),90％-5％ACN(12-15min),5％ACN(15-20min),272nm,10mM甲酸铵)Rf(min)＝14.92。^{1}H-NMR(300MHz,CD_3OD)δ(ppm):0.40-2.30(m,589H),

2.31-2.79(m,154H),2.81-3.29(m,263H),3.35(s,116H),3.36-4.10(m,5924H),4.13-4.62(m,151H),6.28-8.52(m,622H)。19F-NMR(300MHz,DMSO-d6)δ:-106.9ppm(3.81mg,FBA,设定积分为100),-79.0ppm(21.4mg树枝状体,62.80)。这样提供5.36mg化合物A(或25.1％负载)。

[0517] 实例7:制备BHALys[Lys]$_{32}$[α-DGA-化合物A]$_{32}$†[ε-PEG$_{2200}$]$_{32}$‡

[0518] 注意:32†涉及可用于被DGA-化合物A取代的α-氨基基团的理论数量。通过^{1}H NMR实验测定附接至BHALys[Lys]$_{32}$的DGA-化合物A基团的实际数量(参见实例10)。32‡涉及可用于被PEG$_{2200}$取代的ε-氨基基团的最大理论数量。通过^{1}H NMR实验测定附接至BHALys[Lys]$_{32}$的PEG$_{2200}$基团的实际平均数量(参见实例4,批次4)。

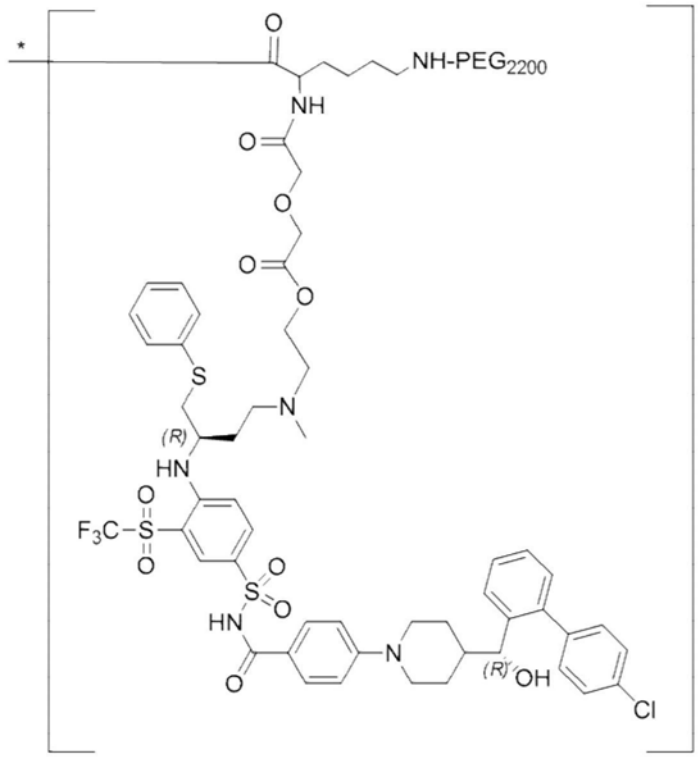
[0519] 制备DGA-化合物A

[0520] 

[0521] 在室温下向化合物A(77mg,81.5μmol)在DCM(5mL)中的磁力搅拌悬浮液中添加二甘醇酸酐(9.6mg,81.5μmol)和DIPEA(36μL,200μmol)。悬浮液迅速溶解,并将混合物在室温下搅拌过夜。在随后的24小时内添加额外的二甘醇酸酐,直到HPLC判断反应完成>80％。然后在真空中移除挥发物,并通过制备型HPLC(BEH 300 Waters XBridge C18,5μM,30 x 150mm,60％-80％ACN/水(5-40min),0.1％TFA,RT＝22 min)纯化残余物,提供76mg(87％)呈白色固体的产物。LCMS(C18,梯度:50％-60％ACN/H$_2$O(1-10min),60％ACN(10-11min),60％-50％ACN(11-13min),50％ACN(13-15min),0.1％甲酸,0.4mL/min,Rf(min)＝5.93。$C_{49}H_{52}ClF_3N_4O_{11}S_3$的ESI(+ve)实测值$[M+H]^+$＝1061,计算值＝1060.24Da。

[0522] 1H-NMR(300MHz,CD_3OD)δ(ppm):0.86-1.04(m,1H),1.08-1.32(m,2H),1.70-1.90(m,1H),1.97-2.08(m,1H),2.08-2.20(m,1H),2.22-2.38(m,1H),2.65(t,J＝12.3Hz,1H),2.77(t,J＝12.6Hz,1H),2.92(s,3H),3.15-3.29(m,2H),3.36-3.42(m,2H),3.46-3.54(m,2H),3.73(d,J＝12.6Hz,1H),3.90(d,J＝11.7Hz,1H),3.99-4.15(m,1H),4.20(s,2H),4.28(s,2H),4.42(j,J＝8.1Hz,1H),4.45-4.54(m,2H),6.86(d,J＝9.3Hz,2H),6.92(d,J＝9.6Hz,1H),7.01(d,J＝9.3Hz,1H),7.10-7.26(m,4H),7.26-7.47(m,7H),7.59(d,J＝7.8Hz,1H),7.67(d,J＝9.0 Hz,2H),8.08(dd,J＝9.0,2.1Hz,1H),8.31(d,J＝2.1Hz,1H)。

[0523] 制备BHALys[Lys]$_{32}$[α-DGA-化合物A]$_{32}$†[ε-PEG$_{2200}$]$_{32}$‡

[0524] 

（理论的）

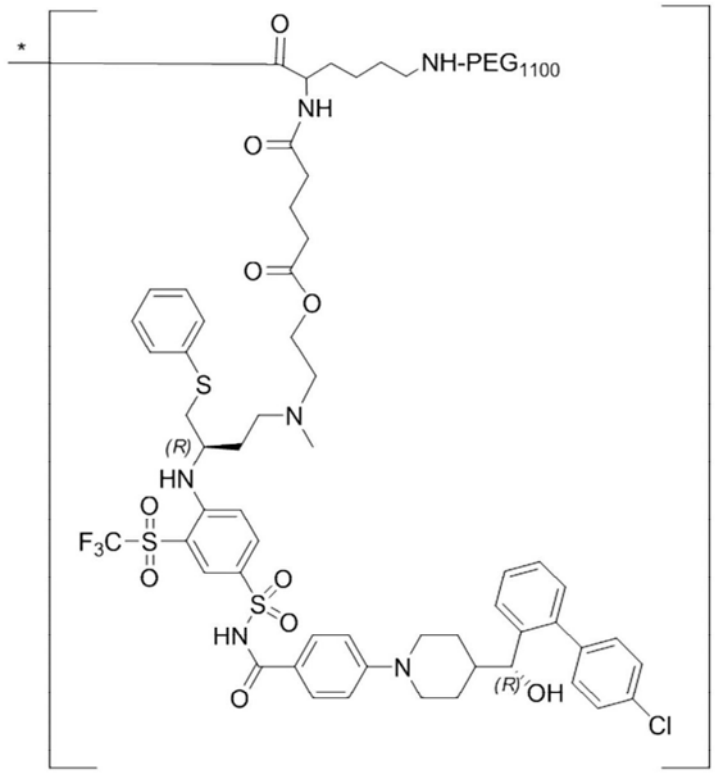
[0525] *＝BHALys[Lys]16

[0526] 在室温下向化合物A-DGA(76mg,72μmol)和PyBOP(37mg,72μmol)在DMF(1mL)中的磁力搅拌混合物中添加BHALys[Lys]$_{32}$[α-NH$_2$TFA]$_{32}$[ε-PEG$_{2200}$]$_{29}$(112mg,1.49μmol,实例4的批次4)和NMM(31μL,0.29mmol)也是在DMF(2mL)中的混合物。在室温下16小时后,移除挥发物,并通过尺寸排阻色谱法(sephadex,LH20,MeOH)纯化残余物。合并并浓缩适当的级分,如通过HPLC判断。然后将残余物溶解在水中,过滤(0.22μm)并冷冻干燥,提供137mg(88%)呈浅粉色固体的期望材料。HPLC(C8 Xbridge,3 x 100mm,梯度:42%-50%ACN/H$_2$O(1-7min),50%-80%ACN(7-8min),80%ACN(8-11min),80%-42%ACN(11-12min),42%ACN(12-15min),214nm,10mM甲酸铵)Rf(min)＝10.23。^{1}H-NMR(300MHz,CD$_3$OD)δ(ppm):0.58-2.26(m,834H),2.28-2.72(m,154H),2.74-3.28(m,245H),3.35(s,101H),3.37-4.02(m,5824H),4.04-4.68(m,272H),6.46-8.54(m,652H)。

[0527] 实例8:制备BHALys[Lys]$_{32}$[α-Glu-化合物A]$_{32}$†[ε-PEG$_{1100}$]$_{32}$‡

[0528] 注意:32†涉及树枝状体上可用于被Glu-化合物A取代的α-氨基基团的理论数量。32‡涉及可用于被PEG$_{1100}$取代的ε-氨基基团的最大理论数量。

[0529] 制备BHALys[Lys]$_{32}$[α-Glu-化合物A]$_{32}$†[ε-PEG$_{1100}$]$_{32}$‡

[0530] 

32 （理论的）

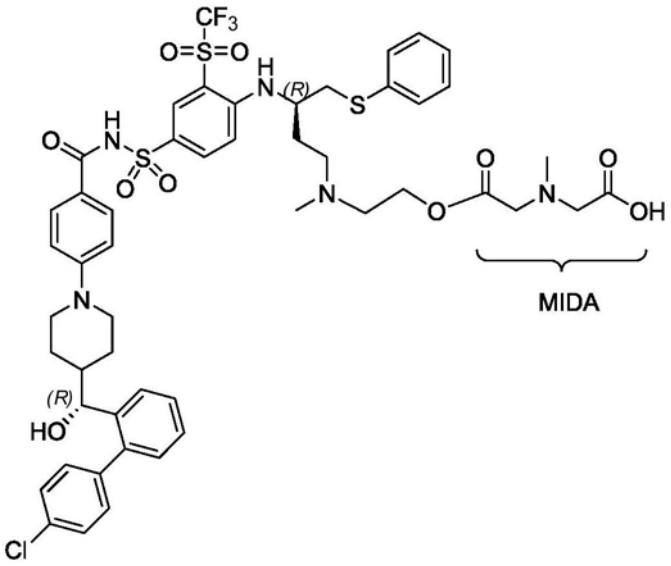
[0531] *＝BHALys[Lys]16

[0532] 在室温下向化合物A-Glu(57mg,54μmol)和PyBOP(28mg,54μmol)在DMF(1mL)中的磁力搅拌混合物中添加BHALys[Lys]$_{32}$[α-NH_2TFA]$_{32}$[ε-PEG_{1100}]$_{32\#}$(57mg,1.20μmol)和NMM(25μL,0.23mmol)也是在DMF(2mL)中的混合物。在室温下16小时后,移除挥发物,并通过尺寸排阻色谱法(sephadex,LH20,ACN)纯化残余物。合并并浓缩适当的级分,如通过HPLC判断。然后将残余物溶解在水中,过滤(0.22μm)并冷冻干燥,提供72mg(78%)呈浅粉色固体的期望材料。HPLC(C8Xbridge,3x 100mm,梯度:42%-50%ACN/H_2O(1-7min),50%-80%ACN(7-8min),80%ACN(8-11min),80%-42%ACN(11-12min),42%ACN(12-15min),214nm,10mM甲酸铵)Rf(min)＝10.40。1H-NMR(300MHz,CD_3OD)δ(ppm):0.60-2.08(m,632H),2.10-2.35(m,127H),2.36-2.53(m,114H),2.54-2.78(m,117H),2.82-3.27(m,254H),3.34(s,102H),3.37-3.89(m,3226H),3.90-4.58(m,185H),6.36-8.52(m,654H)。

[0533] 实例9:制备BHALys[Lys]$_{32}$[α-MIDA-化合物A]$_{32}$†[ε-PEG_{2100}]$_{32}$‡

[0534] 注意:32†涉及树枝状体上可用于被MIDA-化合物A取代的α-氨基基团的理论数量。通过^{19}F NMR实验测定附接至BHALys[Lys]$_{32}$的MIDA-化合物A基团的实际数量(参见实例10)。32‡涉及树枝状体上可用于被PEG_{2100}取代的ε-氨基基团的理论数量。通过^{1}H NMR实验测定附接至BHALys[Lys]$_{32}$的PEG_{2100}基团的实际平均数量(参见实例4,批次5和6)。

[0535] 制备MIDA-化合物A

[0536] 

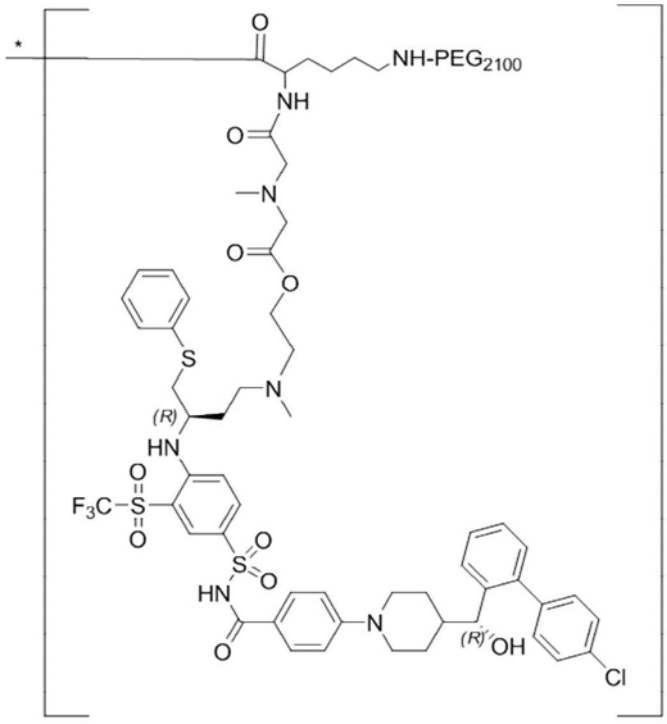
[0537] 在室温下向化合物A(200mg,0.21mmol)在DCM(5mL)的磁力搅拌悬浮液中添加DIPEA(24μL,0.14mmol)、NMM(72μL,0.66mmol)和4-甲基吗啉-2,6-二酮(33mg,0.26mmol)。悬浮液迅速溶解,并将混合物在室温下搅拌过夜。在随后的24小时内添加额外的4-甲基吗啉-2,6-二酮,直到HPLC判断反应完成>80%。然后在真空中移除挥发物,并通过制备型HPLC(BEH 300Waters XBridge C18,5μM,30x 150mm,50%-70%ACN/水(5-40min),0.1%TFA,RT=23min)纯化残余物,提供190mg(84%)呈白色固体的产物。LCMS(C18,梯度:50%-60%ACN/H_2O(1-10min),60%ACN(10-11min),60%-50%ACN(11-13min),50%ACN(13-15min),0.1%甲酸,0.4mL/min,Rf(min)=2.55。$C_{50}H_{55}ClF_3N_5O_{10}S_3$的ESI(+ve)实测值$[M+H]^+$=1074,计算值=1073.28Da。^{1}H-NMR(300MHz,CD_3OD)δ(ppm):0.86-1.07(m,1H),1.08-1.37(m,2H),1.72-1.88(m,1H),1.96-2.09(m,1H),2.10-2.24(m,1H),2.24-2.38(m,1H),2.66(t,J=12.3Hz,1H),2.79(t,J=12.6Hz,1H),2.92(s,3H),3.00(s,3H),3.14-3.28(m,2H),3.33-3.43(m,2H),3.47-3.57(m,2H),3.72(d,J=12.0Hz,1H),3.89(d,J=12.6Hz,1H),4.03-4.15(m,1H),4.06(s,2H),4.19(s,2H),4.43(d,J=8.1Hz,1H),4.54-4.64(m,2H),6.88(d,J=9.0Hz,2H),6.93(d,J=9.6Hz,1H),7.01(d,J=9.0Hz,1H),7.09-7.25(m,4H),7.26-7.47(m,8H),7.61(d,J=8.1Hz,1H),7.68(d,J=9.0Hz,2H),8.07(dd,J=9.3,2.1Hz,1H),8.31(d,J=2.1Hz,1H)。

[0538] 替代性制备方法

[0539] 将化合物A(28.00g,2.96 x 10^{-2}mol)和4-甲基吗啉-2,6-二酮(7.24g,5.33 x 10-2mol.,1.80equiv.)加入配有内部温度探针和均压滴液漏斗的3颈反应容器中(在N_2气氛下)。引入DCM(250mL,9vol.),接着将悬浮液冷却至0℃。在10分钟的时间内将TEA(6.25mL,4.44 x 10^{-2}mol.,1.5equiv.)逐滴加入DCM(50mL,1.8vol.)中,同时将温度维持在0℃。每小时进行反应过程控制。当通过峰面积判定化合物A<10%时(通常在结束添加4.5h后),视为反应完全。用DCM(1.40L,50vol.)稀释反应混合物,并用1.6MNa_2CO_3水溶液(1.60L,50vol.)清洗两次。在$MgSO_4$(90g,5%w/v)上干燥有机层,滤过烧结玻璃漏斗,并用DCM(100mL,5vol.)清洗,在真空(0.2巴,30℃)中浓缩后得到灰白色固体(33.07g,95%产率,通过HPLC判定为90.6%)。

[0540] 制备BHALys[Lys]$_{32}$[α-MIDA-化合物A]$_{32}$[ε-PEG2100]$_{32}$

[0541] 小规模制备方法

[0542] 

[0543] *＝BHALys[Lys]16

[0544] 在室温下向化合物A-MIDA(730mg,0.68mmol)和PyBOP(353mg,0.68mmol)在DMF(10mL)中的磁力搅拌混合物中添加BHALys[Lys]$_{32}$[α-NH_2TFA]$_{32}$[ε-PEG_{2100}]$_{31}$(934mg,12.1μmol,实例4的批次5)和NMM(255μL,2.32mmol)也是在DMF(10mL)中的混合物。在室温下16小时后,移除挥发物,并通过尺寸排阻色谱法(sephadex,LH20,ACN)纯化残余物。合并并浓缩适当的级分,如通过HPLC判断。然后将残余物溶解在水中,过滤(0.22μm)并冷冻干燥,提供1.19g(92%)呈浅粉色固体的期望材料。HPLC(C8Xbridge,3x 100mm,梯度:42%-50%ACN/H_2O(1-7min),50%-80%ACN(7-8min),80%ACN(8-11min),80%-42%ACN(11-12min),42%ACN(12-15min),214nm,10mM甲酸铵)Rf(min)＝10.80。1H-NMR(300MHz,CD_3OD)δ(ppm):0.45-1.92(m,565H),2.08-2.78(m,228H),2.79-3.00(m,96H),3.01-3.28(m,180H),3.35(s,180H),3.46-4.20(m,6164H),4.20-4.68(m,139H),6.40-8.52(m,680H)。

[0545] 替代性(大规模)制备方法

[0546] 在N_2气氛下将DMF(225mL,16.5vol.)添加至BHALys[Lys]$_{32}$[α-NH_2TFA]$_{32}$[ε-PEG_{2100}]$_{29}$(13.49g,1.72x 10^{-4}mol,实例4的批次6)和化合物A-MIDA(8.50g,6.87x 10^{-3}mol.,40.2equiv.)中。引入NMM(3.60mL,3.30x 10-2mol,192equiv.),并将反应混合物温热至30℃-35℃帮助溶解(大约5分钟)。然后将混合物冷却回20℃,并分两等份引入PyBOP(4.13g,7.56x 10^{-3}mol.,44equiv.)。过程控制监控揭示反应在2h后完成。用ACN(225mL,16.5体积)稀释反应混合物,滤过烧结漏斗,并经受16倍(恒定)体积倍数(200mL,ACN)超滤(MerckMillipore Pellicon 3,0.11m2盒,10kDa),维持25PSI的跨膜压力(TMP)和44L/m2/小时(LMH)。在减压(40℃,0.2巴;60分钟)下浓缩,并在环境温度下另外干燥16h,得到23.5g呈浅橙色糖浆的纯化材料。将糖浆在35℃-40℃下溶解在THF(235mL,10体积)中(10分钟),并滤过47mm,0.45微米PTFE膜(Merck-Millippore Omnipore)。将滤液浓缩至其原始体积的

一半(100mL,4.3体积),并在回到环境温度时加入均压滴液漏斗中。

[0547] 将MTBE(400mL,19.5体积)加入配有内部温度探针的3颈RBF中,并在N_2气氛下借助外部冰浴冷却至0℃。达到0℃时,开始添加树枝状体,持续15分钟(最大内部温度5℃),同时继续搅拌45分钟(在0℃-5℃下),允许沉淀物成熟。在N_2下将随后的混合物转移至Buchner真空过滤器(160mm直径)中,在15分钟内得到第一湿润滤饼。用5vol.MTBE(100mL/清洗)清洗滤饼两次,并进行干燥(在N_2下),总共持续15分钟。将滤饼转移到真空烘箱中,在烘箱中在(25℃,0.2巴)下进行干燥,直到达到恒定质量(48h),得到18.98g自由流动的白色粉末(102%产率)。HPLC(C8 Phenomenix Aeris,2.1x 100mm,梯度:5%ACN(0-1min),5%-45%ACN/H_2O(1-2min),45%-60%ACN(2-8min),60%ACN(8-10min),60%-90%ACN(10-10.1min),90%ACN(10.1-12min),90%-5%ACN(12-15min),5%ACN(15-20min),272nm,10mM甲酸铵)Rf(min)=14.94。^{1}H-NMR(300MHz,CD_3OD)δ(ppm):0.31-2.84(m,953H),2.86-3.27(m,211H),3.35(s,109H),3.37-4.23(m,5734H),4.24-4.64(m,95H),6.26-8.41(m,632H)。^{19}F-NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ:-107.1ppm(3.64mg,FBA,设定积分为100),-79.1ppm(31.2mg树枝状体,108.82)。这样提供8.91mg化合物A(或28.6%负载)。

[0548] 实例10:树枝状体的化合物A药物负载

[0549] 通过NMR测定上文实例5-9中制备的树枝状体中化合物A的药物负载。

[0550] 通过^{1}H NMR测定%化合物A负载:通过给芳族区域(6.5-8.5ppm)积分估算化合物A负载,所述区域代表化合物A,与之相比,PEG区域(3.4-4.2ppm)代表树枝状体骨架。在下表中所示的实例5中,32个化合物A基团加上树枝状体的残余BHA的理论质子数量是650H。只观察到631H,表明只有97%或32个位点中有31个被化合物A分子占据。然后用MW(化合物A)乘以31,后除以构建体的总MW计算%化合物A,即化合物A负载=(945x 31)/104,500=0.28(或28%)。

[0551] 通过^{19}F NMR测定%化合物A:通过利用内部标准(4-氟苯甲酸,FBA)对共轭物进行^{19}F NMR计算化合物A负载。实验将通常通过精确称量已知质量的树枝状体和FBA放入单个小瓶中来进行。然后溶解在DMSO中,超声波处理(2min),然后通过NMR(100次扫描,30s延迟时间)分析。然后对FBA和树枝状体峰进行积分,并利用摩尔比例(化合物(3F)与FBA(1F)的摩尔比例3:1)计算%化合物A。

[0552] 表8.Lys树枝状体上化合物A的负载百分比

[0553]

实例	规模	化合物 A 负载 (%)	MW* (kDa)	每个树枝状体的化合物 A 数量
5	101 mg	28.2 (^{1}H NMR)	104.5	31
6	小规模 (98 mg)	28.6 (^{1}H NMR)	106.0	32
	大规模 (74.8 g)	25.1 (^{19}F NMR)	96.2	27
7	137 mg	28.8 (^{1}H NMR)	105.6	32
9	小规模 (1.19	23.6 (^{19}F NMR)	99.7	25

[0554]

	g)			
	大规模 (18.98 g)	28.6 (^{19}F NMR)	101.6	31

[0555] *可以利用树枝状体骨架的估算MW、MW化合物A-接头和来自NMR的%化合物A负载估算总分子量,即,例如

[0556] :MW＝MW树枝状体骨架-32(MW TFA)/(100-化合物A负载%((Mr化合物A-接头-水)/Mr化合物A))/100

[0557] ＝75700-3648

[0558] (100-28.2((1058-18)/945))/100

[0559] ＝72052

[0560] (100-28.2(1.10))/100

[0561] ＝72052

[0562] 0.6898

[0563] ＝约104.5kDa

[0564] 实例11:树枝状体的体外释放研究(pH7.4,在PBS 10%DMA中)

[0565] 方案:

[0566] 1.制备PBS缓冲液-在pH 7.4,37℃下将1片PBS(西格玛公司(Sigma),P4417)溶解在200mL去离子水中制备PBS,提供0.01M磷酸盐缓冲液、0.0027M氯化钾和0.137M氯化钠。

[0567] 2.通过用1mL DMA稀释9mL PBS制备9:1v/v PBS/DMA混合物。

[0568] 3.在2mL HPLC小瓶中,在PBS/DMA混合物中制备1mg/mL的树枝状体溶液。

[0569] 4.每间隔2小时通过HPLC监测化合物A在室温下的释放。

[0570] HPLC方法(C8Xbridge,3x 100mm,梯度:42%-50%ACN/H_2O(1-7min),50%-80%ACN(7-8min),80%ACN(8-11min),80%-42%ACN(11-12min),42%ACN(12-15min),243nm,10mM甲酸铵)。

[0571] 表9a.释放的化合物A百分比(实例5-8)

[0572]

	%释放的化合物 A*			
时间 (h)	DGA PEG_{2200} **实例 7**	TDA PEG_{2100} **实例 6**	Glu PEG_{2200} **实例 5**	Glu PEG_{1100} **实例 8**
0	0	0	0	0
0.5	10.1	5.2	0.43	0.44
2.5	62.7	24.8	2.65	1.86
4.5	80	39.5	4.38	2.96

[0573]

6.5	81	50	5.96	4.35

[0574] *如通过比较经HPLC判定的化合物A的峰下面积(8.6min)与树枝状体的峰下面积(10.8min)判断。

[0575] 表9b.释放的化合物A百分比(实例9)

[0576]

	%释放的化合物 A*,#
时间（h）	MIDA PEG_{2100} **实例 9**
0	1.43
2	10.59
4	17.54
6	23.71

[0577] *如通过比较经HPLC判定的化合物A的峰下面积(8.6min)与树枝状体的峰下面积(10.8min)判断。#实例9作为独立实验进行。

[0578] 实例12:树枝状体的体外释放研究(pH 4.5,在0.1M柠檬酸中)

[0579] 方案:

[0580] 1.制备0.1M柠檬酸溶液(用去离子水将7.68g柠檬酸稀释至400mL),并将pH调节为4.5。

[0581] 2.在2mL HPLC小瓶中,在柠檬酸溶液中制备1mg/mL的树枝状体溶液。

[0582] 3.以不同时间间隔通过HPLC监测化合物A在室温下的释放。

[0583] HPLC方法(C8Xbridge,3x 100mm,梯度:42%-50%ACN/H_2O(1-7min),50%-80%ACN(7-8min),80%ACN(8-11min),80%-42%ACN(11-12min),42%ACN(12-15min),214nm,10mM甲酸铵)。

[0584] 表10a.释放的化合物A百分比(实例5-8)

[0585]

	%释放的化合物 A*		
时间（d）	DGA PEG_{2200} **实例 7**	TDA PEG_{2100} **实例 6**	Glu PEG_{2200} **实例 5**
0	0	0	0
0.1	4.2	1.3	0.2
0.75	17.5	5.5	0.4
1.75	32.5	10.5	1.2
7	63	30	3.6

[0586] *如通过比较经HPLC判定的化合物A的峰下面积(8.6min)与大分子的峰下面积(10.8min)判断。

[0587] 表10b.释放的化合物A百分比(实例9)

[0588]

	%释放的化合物 A*
时间（d）	MIDA PEG_{2100}

[0589]

	实例 9
0	1.83
2	33.87
5	65.03
7	80.7

[0590] *如通过比较经HPLC判定的化合物A的峰下面积(8.6min)与大分子的峰下面积(10.8min)判断。#实例9作为独立实验进行。

[0591] 实例13:化合物A从实例6和9初始释放至递送媒介物中的pH依赖性

[0592] 使用HPLC-UV法测定化合物A在pH 2.1、pH 3、pH 4、pH 5、pH 6、pH 7和pH 8下从大分子水解的速率。

[0593] 通过将50mL去离子水添加至0.14g十二水磷酸二钠和2.06g一水合柠檬酸中制备McIlvane缓冲液pH 2.2。用去离子水使溶液达到100mL的总体积,并确认pH。

[0594] 通过将50mL去离子水添加至1.47g十二水磷酸二钠和1.67g一水合柠檬酸中制备McIlvane缓冲液pH 3。用去离子水使溶液达到100mL的总体积,并确认pH。

[0595] 通过将50mL去离子水添加至2.76g十二水磷酸二钠和1.29g一水合柠檬酸中制备McIlvane缓冲液pH 4。用去离子水使溶液达到100mL的总体积,并确认pH。

[0596] 通过将50mL去离子水添加至3.69g十二水磷酸二钠和1.02g一水合柠檬酸中制备McIlvane缓冲液pH 5。用去离子水使溶液达到100mL的总体积,并确认pH。

[0597] 通过将50mL去离子水添加至4.52g十二水磷酸二钠和0.77g一水合柠檬酸中制备McIlvane缓冲液pH 6。用去离子水使溶液达到100mL的总体积,并确认pH。

[0598] 通过将50mL去离子水添加至5.90g十二水磷酸二钠和0.37g一水合柠檬酸中制备McIlvane缓冲液pH 7。用去离子水使溶液达到100mL的总体积,并确认pH。

[0599] 通过将50mL去离子水添加至6.97g十二水磷酸二钠和0.06g一水合柠檬酸中制备McIlvane缓冲液pH 8。用去离子水使溶液达到100mL的总体积,并确认pH。

[0600] 精确称量1mg-2mg树枝状体到小瓶中,并添加1mL缓冲液。在37℃下磁力搅拌样品达130h。通过HPLC-UV定期分析样品。通过比较样品中化合物A的HPLC-UV反应与已知浓度的标准物的HPLC-UV反应来测定化合物A的游离浓度。

[0601] 表11.实例13的HPLC方法

[0602]

标准物制备:	5 mg 化合物 A 在 10 mL 1 : 1 MeCN : 水中		
柱:	Waters XBridge C8, 50 x 4.6 mm, 2.7 μm		
柱温:	40°C		
注射体积 (μL) :	5 μL(注射器程序用 5 μL 二甲基乙酰胺夹着样品)		
检测波长:			
流速 (mL/min)			
流动相 A (MPA) :	在水中的 0.3% TFA		
流动相 B (MPB) :	在乙腈中的 0.3% TFA		
时间表:	时间 (min)	% MPA	% MPB
	0		

[0603] 用最小二乘拟合法,由随时间推移观察到的溶液浓度计算每个pH下的速率常数。观察到的速率常数汇总在图8中。数据显示,实例9在测试的pH范围内的初始释放比实例6呈现出更小的变动。

[0604] 实例14:在大鼠和小鼠血浆中化合物A从树枝状体的体外释放

[0605] 方案:向0.5mL小鼠(或大鼠)血浆(离心并过滤)中添加0.1mL树枝状体溶液(大约2mg/mL化合物A当量,在盐水中)。使混合物涡旋(30s),然后在37℃下孵育。在不同时间点

下，移除等分试样(0.1mL)，并添加至ACN(0.2mL，5％甲酸)中。使所得混合物涡旋(30s)，离心(10min，4℃)并通过HPLC(C8Xbridge，3x 100mm，梯度：42％-50％ACN/H_2O(1-7min)，50％-80％ACN(7-8min)，80％ACN(8-11min)，80％-42％ACN(11-12min)，42％ACN(12-15min)，243nm，10mM甲酸铵，RT(化合物A)＝6.7min)分析。对于小鼠血浆实验，针对化合物A标准物量化化合物A的量，并通过比较释放的材料与共轭物上负载的材料计算％释放。对于大鼠血浆实验，将在22.5小时下从DGA PEG_{2200}(实例7)的释放用作标准，并设定为100％。将结果汇总在表12a和12b中。

[0606] 表12a.大鼠血浆中化合物A的体外释放结果

[0607]

	37C 下在大鼠血浆中释放的%化合物 A*				
时间	DGA	TDA	MIDA	Glu PEG_{2200}	Glu PEG_{1100}

[0608]

(h)	PEG_{2200} **实例 7**	PEG_{2100} **实例 6**	PEG_{2100} **实例 9**	**实例 5**	**实例 8**
0	0	0	0	0	0
0.5	32	6	3	0.3	0.2
2.5	93	31	9	3.5	2.6
4.5	96	49	14	4.8	4.5
22.5	100	89.5	57	25.3	21

[0609] *所有数据都针对DGA PEG_{2200}(实例7)归一化，并假定在这种样品中完全释放。

[0610] 表12b.小鼠血浆中化合物A的体外释放结果

[0611]

	37C 下在小鼠血浆中释放的%化合物 A*				
时间 (h)	DGA PEG_{2200} **实例 7**	TDA PEG_{2100} **实例 6**	MIDA PEG_{2100} **实例 9**	Glu PEG_{2200} **实例 5**	Glu PEG_{1100} **实例 8**
0	0	0	0	0	0
0.5	32.6	9.1	2.1	0.9	1.4
2.5	70.8	33.2	6.7	2.9	2.8
4.5	76.1	50.6	11.3	5.8	4.3
22.5	87.5	88.4	46.5	22.9	22.1

[0612] *针对化合物A标准溶液测量

[0613] 实例15：pH 7.4和pH 4.5下的树枝状体溶解度

[0614] 方案：

[0615] 1.精确称量10mg树枝状体到小瓶中

[0616] 2.小心地将缓冲液等分试样加入小瓶中实现溶解。注意：在等分试样之间使混合物轻轻涡旋。利用超声处理帮助溶解。

[0617] 表13.pH 7.4和pH 4.5下的溶解度研究结果

[0618]

接头	分子量（kDa）	化合物 A 的重量%（来自 NMR）	pH 7.4 下在 PBS 中的溶解度，树枝状体 mg/mL（化合物 A mg/ml）	pH 4.5 下在 0.1M 柠檬酸中的溶解度，树枝状体 mg/mL（化合物 A mg/ml）
实例 5	104.5	28.2	158（44.5）	162（45.7）
实例 6	106.0	28.6	153（43.6）	141（40.2）
实例 7	105.6	28.8	142（41.0）	157（45.2）
实例 8	76.7	39.4	125（49.3）	121.3（48.0）

[0619] 实例16:pH 4和pH 5下的树枝状体溶解度

[0620] 用目测法测定树枝状体在水性缓冲液中的溶解度。数据表示单个实验。

[0621] 通过将50mL去离子水添加至3.69g十二水磷酸二钠和1.02g一水合柠檬酸中制备McIlvane缓冲液pH 5。用去离子水使溶液达到100mL的总体积，并确认pH。

[0622] 通过将50mL去离子水添加至2.76g十二水磷酸二钠和1.29g一水合柠檬酸中制备McIlvane缓冲液pH 4。用去离子水使溶液达到100mL的总体积，并确认pH。

[0623] 将1mL缓冲液添加至玻璃小瓶中，并加入磁力搅拌棒。以等分试样将树枝状体添加至小瓶中，同时搅拌。实例6和9的树枝状体都在添加约250mg后完全溶解，此后，溶液太粘，无法充分搅拌。溶解度报告为溶质克数/克溶液，并假定缓冲液的密度为1g/mL。

[0624] 表14.pH 4和pH 5下的溶解度研究结果

[0625]

实例	缓冲液	目测观察溶解度	化合物A当量
实例6	McIlvane缓冲液，pH4	>0.189g/g	>0.048g/g
实例9	McIlvane缓冲液，pH5	>0.224g/g	>0.064g/g

[0626] 实例17:树枝状体配制品

[0627] 1.用于大鼠遥测研究的配制品

[0628] 选择含有适量冻干树枝状体的小瓶。然后将大约0.5mL-1mL磷酸盐缓冲盐水(PBS)添加至每个小瓶中，使小瓶涡旋，直到树枝状体在溶液中。合并每个小瓶的内容物，并转移到单个小瓶中，用剩余的PBS冲洗，得到合适体积。除实例8以外，在室温下制备配制品。在设定为40℃的水浴中缓慢温热含实例8的配制品，帮助实例8分散在媒介物中。立即，在制备的至少30分钟内给予所有配制品。PBS配制品概述见于表15a中。

[0629] 表15a.用于大鼠遥测研究的实例5、6和8的PBS配制品

[0630]

成分	实例 5（2 mg/mL 化合物 A 当量）	实例 5（6 mg/mL 化合物 A 当量）	实例 6（2 mg/mL 化合物 A 当量）	实例 6（4 mg/mL 化合物 A 当量）
磷酸盐缓冲盐水	~9.5 mL	~9.5 mL	~9.5 mL	~9.5 mL
树枝状体	67 mg	201 mg	67 mg	134 mg
成分	**实例 6（6 mg/mL 化合物 A 当量）**	**实例 8（2 mg/mL 化合物 A 当量）**	**实例 8（6 mg/mL 化合物 A 当量）**	
磷酸盐缓冲	~9.2 mL	~9.5 mL	~10.3 mL	

[0631]

盐水				
树枝状体	194 mg	67 mg	218 mg	

[0632] 制备柠檬酸盐-磷酸盐(McIlvaine)缓冲液pH 4。每100mL缓冲液，称量1.29g一水合柠檬酸和2.76g十二水磷酸氢二钠放入圆筒中，并加入95mL注射用水。搅拌(或超声波处理)媒介物以溶解。然后测量pH，并视需要用0.1M HCl或NaOH调节为pH 4。用注射用水使媒介物达到合适体积。

[0633] 选择含有适量冻干树枝状体的小瓶。然后将0.5mL-1mL柠檬酸盐-磷酸盐(McIlvaine)缓冲液pH 4添加至每个小瓶中，并混合小瓶，视需要涡旋，直到大分子在溶液中。合并每个小瓶的内容物，并转移到单个小瓶中，用剩余的PBS冲洗，得到合适体积。立即，在制备的至少30分钟内给予它们。概述

[0634] 表15b.用于大鼠遥测研究的实例9的配制品

[0635]

成分	实例 9（2 mg/mL 化合物 A 当量）	22.6 mg/mL 实例 9（6 mg/mL 化合物 A 当量）
McIllvane 柠檬酸盐/磷酸盐缓冲液，pH 4	~8 mL	~8 mL
树枝状体	60 mg	181 mg

[0636] 2.用于沉淀(溶解度)研究的配制品

[0637] 柠檬酸盐-磷酸盐缓冲液制备：使用以下方法制备柠檬酸盐/磷酸盐缓冲液。称量适量柠檬酸和十二水磷酸氢二钠放入100mL容量瓶中，并添加95mL注射用水，然后搅拌(或超声波处理)。将所得溶液的pH调节为目标pH(即4或5)，并用注射用水使缓冲液达到合适体积(即100mL)。

[0638] 表15c.柠檬酸盐-磷酸盐(McIlvaine)缓冲液组成，每100ml沉淀(溶解度)研究用缓冲液

[0639]

实例	缓冲液pH	一水合柠檬酸/克	十二水磷酸氢二钠/克
实例6	4	1.29	2.76
实例9	5	1.02	3.69

[0640] 媒介物制备:通过在1%w/v KolliphorHS-15(聚乙二醇(15)-羟基硬脂酸酯)存在或不存在下用5%w/v葡萄糖进行1:10稀释,使用表15c中所列柠檬酸盐-磷酸盐(McIlvaine)缓冲液制备稀释缓冲媒介物。

[0641] 添加可商购的5%w/v葡萄糖溶液至大约90%的目标体积。对于含有Kolliphor的稀释缓冲媒介物,添加相当于1%w/v的Kolliphor HS-15,并搅拌媒介物以溶解Kolliphor HS-15。随后,用0.1M HCl或NaOH(如果需要)将pH调节为目标pH。然后用5%w/v葡萄糖使媒介物达到合适体积,并用0.22μm孔尺寸的PVDF针筒式过滤器过滤。

[0642] 配制品制备:在稀释缓冲媒介物中制备5mL规模的含有实例6和实例9的配制品(在KolliphorHS-15存在或不存在下),一式两份地(n=2),浓度如下表15d中所示:

[0643] 表15d.含有实例6和9,含和不含Kolliphor的配制品

[0644]

实例	化合物A浓度(mg/mL)	树枝状体浓度(mg/mL)	配制品pH
实例6	0.74	3	4
实例6	24.8	100	4
实例9	0.9	3	5
实例9	28.6	100	5

[0645] 为了制备配制品,称量适量树枝状体放入带有磁力搅拌棒的合适容器中。磁力搅拌棒还在工作时,添加稀释缓冲媒介物(用含有1%w/v Kolliphor HS-15的5%w/v葡萄糖以1:10稀释的pH 4或pH 5柠檬酸盐/磷酸盐缓冲液),达到95%的目标体积。连续搅拌配制品帮助溶解,避免产生过量泡沫,直到形成澄清溶液,并调节pH。随后,用稀释缓冲媒介物使配制品达到合适体积(5mL),并记录最终pH。

[0646] 评估沉淀动力学:将配制品储存在室温下并避光,并用Seidenader和光箱在0、3、6、24、48、72和96小时时间点下目测评估样品,以排除存在可见颗粒物。表15e提供了目测评估观察结果的汇总。

[0647] 表15e.沉淀观察结果汇总

[0648]

实例	树枝状体浓度(mg/mL)	注释
实例6(+Kolliphor HS15)	3	长达七天未观察到ppt
	100	长达七天未观察到ppt
实例6(-Kolliphor HS15)	3	长达七天未观察到ppt
	100	长达七天未观察到ppt
实例9(+Kolliphor HS15)	3	长达96小时未观察到ppt
	100	42小时开始有ppt
实例9(-Kolliphor HS15)	3	长达96小时未观察到ppt
	100	42小时开始有ppt

[0649] 鉴于化合物A的水溶性极低，预期在短得多的时间段内观察到沉淀。

[0650] 3.用于毒理学研究的配制品

[0651] 实例6的毒理学研究的配制品：在用5％葡萄糖以1:10稀释且含有1％w/v Kolliphor HS-15(聚乙二醇(15)-羟基硬脂酸酯)的pH 4柠檬酸盐-磷酸盐缓冲液中，以高达121mg/mL实例6的浓度(高达30mg/mL的化合物A浓度)配制实例6。

[0652] 柠檬酸盐-磷酸盐缓冲液制备：如上表14中所示制备适量柠檬酸盐-磷酸盐(McIlvaine)缓冲液pH 4。

[0653] 媒介物制备：通过用5％w/v葡萄糖，在1％w/v KolliphorHS-15存在下进行1:10稀释，用柠檬酸盐-磷酸盐缓冲液pH 4(按照表15c)制备稀释缓冲媒介物，如前述部分中所述。

[0654] 配制品制备：用5％葡萄糖以1:10稀释且含有1％w/v Kolliphor HS-15的pH 4柠檬酸盐/磷酸盐缓冲液制备实例6配制品，如前述部分中所述。

[0655] 在室温下制备实例6的配制品，并在制备60分钟内给予。制备含有4mg/mL与25mg/mL之间实例6(相当于1mg/mL和6.2mg/mL化合物A)的配制品。体积在从15ml至47mL的范围内。为了排除存在颗粒，目测评估配制品。

[0656] 用于实例9的大分子的毒理学研究的配制品：在用5％葡萄糖以1:10稀释且含有1％w/v Kolliphor HS-15(聚乙二醇(15)-羟基硬脂酸酯)的pH 5柠檬酸盐-磷酸盐缓冲液中，以从3.1mg/mL至105mg/mL实例9的浓度(相当于化合物A浓度为0.9mg/mL和30mg/mL)配制实例9。

[0657] 柠檬酸盐-磷酸盐缓冲液制备：制备100mL柠檬酸盐-磷酸盐(McIlvaine)缓冲液pH 5，如前述部分中所述。

[0658] 媒介物制备：通过用5％w/v葡萄糖，在1％w/v Kolliphor HS-15存在下进行1:10稀释，用柠檬酸盐-磷酸盐(McIlvaine)缓冲液pH 5(按照实例16b)制备稀释缓冲媒介物，如前述部分中所述。

[0659] 配制品制备：用5％葡萄糖以1:10稀释且含有1％w/v Kolliphor HS-15的pH 5柠檬酸盐-磷酸盐缓冲液制备实例9配制品，如前述部分中所述。为了排除存在颗粒，目测评估配制品。

[0660] 在室温下制备实例9的配制品，并在制备75分钟内给予。制备含有12.5mg/mL与100mg/mL之间的实例9(相当于化合物A浓度为3.6mg/mL和28.6mg/mL)的配制品。体积在从6mL至18mL的范围内。

[0661] 实例18:大鼠和小鼠功效研究

[0662] 如下制备用于功效研究的配制品：

[0663] 制备实例6和9大分子PBS配制品进行给予RS4;11功效研究:称量适量实例6或9放入容量瓶中。添加10mL Dulbecc氏磷酸盐缓冲盐水(PBS)，然后搅拌配制品，直到化合物完全溶解。还可参见实例17a中制备用于大鼠遥测研究的配制品。

[0664] 用于SuDHL-4功效研究中给予的实例6的配制品:在用5％葡萄糖以1:10稀释且含有1％w/v Kolliphor HS-15的pH 4柠檬酸盐/磷酸盐缓冲液中，以高达121mg/mL的实例6的浓度(相当于高达30mg/mL的化合物A浓度)配制实例6的大分子。

[0665] 制备100ml McIlvane柠檬酸盐/磷酸盐缓冲液pH 4。称量1.29g一水合柠檬酸和2.76g十二水磷酸氢二钠放入小瓶中，并添加95mL注射用水。搅拌(或超声波处理)媒介物以

溶解。然后测量pH,并视需要用0.1M HCl或NaOH调节为pH 4。用注射用水使媒介物达到合适体积(100mL)。

[0666] 使用这个McIlvane缓冲液制备稀释缓冲媒介物(用5%葡萄糖以1:10稀释且含有1%w/v KolliphorHS-15的pH 4柠檬酸盐/磷酸盐缓冲液)。将需要量的McIlvane柠檬酸盐/磷酸盐缓冲液(相当于待制备的总体积的10%)添加至合适容器中。添加可商购的5%葡萄糖溶液至大约90%的目标体积。添加相当于1%w/v的Kolliphor HS-15,并搅拌媒介物以溶解Kolliphor HS-15。测量pH并用0.1M HCl或NaOH(如果需要)调节为pH 4.0±0.05。然后用5%葡萄糖使媒介物达到合适体积。如果有必要,用0.22μm孔尺寸针筒式过滤器过滤灭菌。

[0667] 为了制备较高剂量(10mg/ml化合物A或相当于39mg/mL的实例6)的实例6的配制品,将390mg实例6(相当于100mg化合物A)转移到带有磁力搅拌棒的合适容器中。磁力搅拌棒还在工作时,添加稀释缓冲媒介物(用含有1%w/v Kolliphor HS-15的5%葡萄糖以1:10稀释的pH 4柠檬酸盐/磷酸盐缓冲液),达到95%的目标体积(9.5mL)。继续搅拌配制品帮助溶解,避免产生过量泡沫,直到形成澄清溶液。然后用稀释缓冲媒介物使配制品达到合适体积(0.5mL),并检查pH。目测评估配制品,排除存在颗粒。从较高浓度制备2mg/ml和6mg/ml。

[0668] 在室温下制备实例6的配制品,并在制备5分钟内给予。它们的制备如先前在实例17(用于毒理学研究的配制品)中所述。

[0669] 用于SuDHL-4功效研究的实例9的大分子的配制品:在用5%葡萄糖以1:10稀释且含有1%w/v KolliphorHS-15的pH 5柠檬酸盐/磷酸盐缓冲液中,以高达105mg/mL的实例9的浓度(相当于高达30mg/mL的化合物A浓度)配制实例9。

[0670] 制备100ml McIlvane柠檬酸盐/磷酸盐缓冲液pH 5。称量1.02g一水合柠檬酸和3.69g十二水磷酸氢二钠放入小瓶中,并添加95mL注射用水。搅拌(或超声波处理)媒介物以溶解。然后测量pH,并视需要用0.1M HCl或NaOH调节为pH 5。用注射用水使媒介物达到合适体积(100mL)。

[0671] 使用这个McIlvane缓冲液制备稀释缓冲媒介物(用5%葡萄糖以1:10稀释且含有1%w/v KolliphorHS-15的pH 5柠檬酸盐/磷酸盐缓冲液)。将需要量的McIllvanes柠檬酸盐/磷酸盐缓冲液(相当于待制备的总体积的10%)添加至合适容器中。添加可商购的5%葡萄糖溶液至大约90%的目标体积。添加相当于1%w/v的Kolliphor HS-15,并搅拌媒介物以溶解KolliphorHS-15。测量pH并用0.1M HCl或NaOH(如果需要)调节为pH 5.0±0.05。然后用5%葡萄糖使媒介物达到合适体积。如果有必要,用0.22μm孔尺寸针筒式过滤器过滤灭菌。

[0672] 为了制备较高剂量(10mg/ml化合物A或相当于37mg/mL的实例9)的实例9的配制品,将370mg实例9(相当于100mg化合物A)转移到带有磁力搅拌棒的合适容器中。磁力搅拌棒还在工作时,添加稀释缓冲媒介物(用含有1%w/v Kolliphor HS-15的5%葡萄糖以1:10稀释的pH 4柠檬酸盐/磷酸盐缓冲液),达到95%的目标体积(9.5mL)。继续搅拌帮助溶解,避免产生过量泡沫,直到形成澄清溶液。然后用稀释缓冲媒介物使配制品达到合适体积(0.5mL),并检查pH。目测评估配制品,排除存在颗粒。从较高浓度制备2mg/ml和6mg/ml。

[0673] 在室温下制备实例9的配制品,并在制备5分钟内给予。

[0674] 实例6和9在RS4;11异种移植模型中的功效:将总体积为100μl的5x 10^6个RS4;11细胞皮下接种在小鼠右胁。当肿瘤体积达到大约～350mm^3,将荷瘤小鼠随机分成4只动物的

小组，并用对照媒介物(PBS)或处理进行处理。图9显示，释放速率不同，树枝状体呈现不同功效。单次静脉剂量的实例6(30mg/kg化合物A当量)和实例9(10mg/kg化合物A当量)示出与化合物A HP-β-CD10mg/kg一次IV类似或略微更好的活性(分别为100％、98％和90％消退)。

[0675] 表16.实例6和9的抑制和消退数据汇总

[0676]

组编号	处理	功效			
		抑制% 天数（47）	消退% 天数（47）	P值 天数（47）	T-C （天数）
1	媒介物				
2	化合物 A 5 mg/kg	> 100	90	< 0.0001	
3	**实例 6** 10 mg/kg 化合物 A 当量（39 mg/kg 大分子）	> 100	56	< 0.0001	
4	**实例 6** 30 mg/kg 化合物 A 当量(117 mg/kg 大分子）	> 100	100	< 0.0001	> 32
	实例 9 10 mg/kg 化合物 A 当量（37 mg/kg 大分子）	> 100	98	0.0085	

[0677] 当RS4;11肿瘤体积达到大约～400-600mm^{3}时，3只荷瘤小鼠的组用单剂量的媒介物(PBS)或实例6以10mg/kg和30mg/kg I.V处理。在给予后的不同时间点收集肿瘤，并处理供分析。结果显示，接头诱导与经裂解半胱天冬酶3所示可比的凋亡反应，反应在给予后16-28hr达到峰值(图10)。30mg/kg化合物A当量的实例6(117mg/kg实例6)诱导最高CC3反应。

[0678] 图11显示，以20mg/kg化合物A当量给予的实例9和实例6(分别为74mg/kg和78mg/kg树枝状体)比每周10mg/kg的HP-β-CD配制品中的化合物A(参见实例2)略微更有效。

[0679] 此外，利用经裂解PARP测量细胞死亡(凋亡)(图12)。HP-β-CD中的化合物A(参见实例2)配制品在处理1hr和3hr后立即诱导经裂解PARP，而实例9在单次给予后20hr时引起细胞死亡，最大细胞死亡。

[0680] 实例5、7和8在小鼠的RS4;11异种移植模型中的功效：在PBS中配制实例5、7和8，并以10mg/kg化合物A当量给予RS4;11异种移植小鼠模型。图13说明，以10mg/kg化合物A当量给予的实例7诱导肿瘤消退，而以10mg/kg化合物A当量给予的实例5和8未示出显著抗肿瘤活性。

[0681] 实例6在Rag2-/-大鼠的RS4;11异种移植模型中的功效：图14显示，以30mg/kg化合物A当量给予的实例6(117mg/kg大分子)引起RS4;11肿瘤消退。10mg/kg化合物A当量(39mg/kg实例6)的单剂量的实例6抑制肿瘤生长(停滞)。

[0682] 实例6和9在SCID小鼠的SuDHL-4异种移植模型中通过利妥昔单抗改善抑制肿瘤生长：使用SuDHL-4异种移植模型测试实例6和9改善利妥昔单抗抑制肿瘤生长的活性的能力。当肿瘤长到大约175-250mm^3，将小鼠随机分到以下组：

[0683] (1)媒介物对照组：

[0684] (2)实例6处理组(50mg/kg化合物A当量，195mg/kg实例6，i.v.，一周一次，持续5

周)；

[0685] (3)实例9处理组(50mg/kg化合物A当量,185mg/kg实例9,i.v.,一周一次,持续5周)；

[0686] (4)利妥昔单抗组(10mg/kg i.p.,一周一次,持续5周)；

[0687] (5)实例6(10mg/kg化合物A当量,39mg/kg实例6)加利妥昔单抗；

[0688] (6)实例6(30mg/kg化合物A当量,117mg/kg实例6)加利妥昔单抗；

[0689] (7)实例6(50mg/kg化合物A当量,195mg/kg实例6)加利妥昔单抗；

[0690] (8)实例9(10mg/kg化合物A当量,37mg/kg实例9)加利妥昔单抗；

[0691] (9)实例9(30mg/kg化合物A当量,111mg/kg实例9)加利妥昔单抗；

[0692] (10)实例9(50mg/kg化合物A当量,185mg/kg实例9)加利妥昔单抗。

[0693] 每周测量2次肿瘤尺寸,并如下计算:肿瘤体积＝(AxB^2)/2,其中A和B分别是肿瘤长度和宽度(以mm计)。

[0694] 结果示于图15中。与媒介物对照相比,实例6和9在50mg/kg化合物A当量(分别为195mg/kg和185mg/kg树枝状体)下明显抑制肿瘤生长,实例6的大分子作为单一疗法比50mg/kg化合物A的实例9的大分子(185mg/kg实例9)略微更有效。表17汇总了肿瘤生长抑制(TIC)和肿瘤生长延迟(T-C)值,计算为抑制％和消退％。计算是基于每组中RTV的几何平均数。

[0695] 在特定的一天,对于每个处理组,通过以下公式计算抑制值:抑制％＝(CG-TG)*100/(CG-1),其中“CG”意指对照组的rtv的几何平均数,且“TG”意指处理组的相对肿瘤体积(rtv)的几何平均数。在计算时,“CG”应该使用处理组的相应对照组。如果抑制>100％,那么有必要通过以下公式计算消退:消退＝1-TG

[0696] 50mg/kg化合物A当量(195mg/kg实例6)的TIC值是63.5％,50mg/kg化合物A当量(185mg/kg实例9)的TIC值是40.44％,且10mg/kg利妥昔单抗的TIC值是75.27％。因此,以50mg/kg化合物A当量给予的实例6和实例9在这个模型中活性明显。更明显地,实例6和9在10mg/kg、30mg/kg和50mg/kg化合物A当量下与利妥昔单抗(10mg/kg)的组合导致肿瘤消退。此外,组合处理导致多数动物中肿瘤完全消退,而在单药处理时没看到。

[0697] 表17.实例6和9与利妥昔单抗的组合的功效数据汇总

[0698]

	处理	功效			
		抑制%（TIC）天数（41）	消退%天数（41）	P 值 天数（41）	T-C（天数）
1	媒介物				
2	**实例 6**（50 mg/kg 化合物 A 当量，195 mg/kg **实例 6**）	63.5		0.0002	
3	**实例 9**（50 mg/kg 化合物 A 当量，185 mg/kg **实例 6**）	40.44		0.0420	
4	利妥昔单抗（10 mg/kg）	75.27		0.0010	> 16
5	利妥昔单抗（10 mg/kg）加 **实例 6**（10 mg/kg 化合物 A 当量，39 mg/kg **实例 6**）	> 100	97	0.0005	> 37
6	利妥昔单抗（10 mg/kg）加 **实例 6**（30 mg/kg 化合物 A 当量，117 mg/kg **实例 6**）	> 100	100	< 0.0001	> 37

[0699]

7	利妥昔单抗（10 mg/kg）加**实例 6**（50 mg/kg 化合物 A 当量，195 mg/kg **实例 6**）	> 100	100	< 0.0001	> 37
8	利妥昔单抗（10 mg/kg）加**实例 9**（10 mg/kg化合物A当量，37 mg/kg **实例 9**）	> 100	69	0.0230	> 37
9	利妥昔单抗（10 mg/kg）加**实例 9** 30 mg/kg 化合物 A 当量，111 mg/kg **实例 9**）	> 100	100	< 0.0001	> 37
10	利妥昔单抗（10 mg/kg）加**实例 9**（50 mg/kg 化合物 A 当量，185 mg/kg **实例 9**）	> 100	100	< 0.0001	> 37

[0700] 实例19:大鼠的心血管遥测研究

[0701] 为评估化合物A和实例5、6、8和9对动脉血压、心率、QA间隔和心电图的影响，在麻醉下给雄性Han Wistar大鼠手术移植数据科学国际(Data Sciences International)啮齿动物遥测发射器。将遥测发射器放在腹部肌肉中，并将动脉血压导管放在腹部主动脉中。将ECG电极缝合至剑突的背面和前纵隔。

[0702] 遥测发射器植入后，单次30分钟尾静脉静脉输注化合物A或实例5、6或8给予每个大鼠组(8只雄鼠/组针对化合物A，3只雄鼠/组针对每种树枝状体)。将实例9作为单次静脉内尾静脉推注给予各个组的大鼠(3只雄鼠/组)。化合物A以0mg/kg和10mg/kg的剂量水平给予。实例6以0、35、70和105mg/kg(10、20和30mg/kg化合物A当量)的剂量水平给予，且实例5和8以0、35和105mg/kg(10和30mg/kg化合物A当量)的剂量水平给予，且实例9以0、37和112mg/kg(10和30mg/kg化合物A当量)的剂量水平给予。

[0703] 通过置于居住笼下的接收器连续记录心血管参数，持续至少给予前1小时至给予后72小时。获取血液样品测定化合物A和所有树枝状体的血浆暴露水平，从仅给予大分子构

建体的动物获取临床病理学和目标器官的有限组织组织病理学。

[0704] 化合物A的输注并不耐受，且发现总共有三只大鼠在开始输注后5小时死亡。所有给予树枝状体的动物存活至计划终点。给予化合物A后，注意到收缩和平均动脉血压在开始输注后1.5至16小时之间两相降低，伴随着心率在开始输注后2至10小时之间增加。在开始输注后1小时还注意到QRS振幅减小，这种情况在记录期结束时仍存在。实例6的心血管变化局限于以120mg/kg给予的动物中给予后2至8小时之间QRS振幅瞬时减小，给予后22小时完全恢复。实例6和所有其他树枝状体分别在高达80mg/kg和120mg/kg下未示出心血管变化。

[0705] 给予≥80mg/kg实例6的动物中血浆转氨酶升高。给予高达120mg/kg实例5、8和9的大鼠中没有注意到转氨酶变化。所有树枝状体示出血小板减少症，这与主要药理学一致。

[0706] 在≥80mg/kg实例6下的组织病理学发现包括最小骨骼肌退化/坏死，在以120mg/kg给予的动物中还看到心脏(最小内皮细胞凋亡)和肝脏(最小肝细胞凋亡)中的发现。实例9在≥40mg/kg下在骨骼肌中示出组织病理学发现(最小骨骼肌退化)，仅在120mg/kg下观察到最小肝细胞凋亡。实例5在高达120mg/kg时未示出处理相关的组织病理学，实例8的组织病理学发现仅局限于120mg/kg下的最小肝细胞凋亡。

[0707] 总之，这些数据说明与化合物A相比时，实例5、6、8和实例9的心血管和肝脏组织病理学特性得到改善。

[0708] 表18.静脉内给予化合物A和实例6和9后大鼠中心血管遥测研究的汇总

[0709]

参数	**化合物 A**	**实例 6[a]**			**实例 9[a]**	
	10 mg/kg	**10 mg/kg**	**20 mg/kg**	**30 mg/kg**	**10 mg/kg**	**30 mg/kg**
生命期内	发现 3 只死亡	耐受所有剂量水平			耐受所有剂量水平	
血小板	未评估	↓	↓	↓	↓	↓

[0710]

转氨酶	未评估	NAD	↑	↑	NAD	NAD
心血管	↓QRS 振幅 ↓ 血压 ↑ 心率	NAD	NAD	↓QRS 振幅	NAD	NAD
组织病理学 骨骼肌-退化/坏死 心脏-内皮细胞凋亡 肝脏-肝细胞凋亡	未评估	 0/3 0/3 0/3	 2/3 0/3 0/3	 2/3 1/3 3/3	 1/3 0/3 0/3	 1/3 0/3 1/3

[0711] [a]剂量水平表示为化合物A当量

[0712] NAD＝未检测到异常

[0713] 实例20:大鼠和狗中的最大耐受剂量毒性研究

[0714] 在大鼠和狗中进行实例6的最大耐受剂量(MTD)研究。通过静脉推注以125、200、225和250mg/kg(31、50、56和62mg/kg化合物A当量)的剂量水平将实例6给予各个组的Han Wistar雄性或雌性大鼠(多达4只/组)。实例6在大鼠中的MTD为225mg/kg(56mg/kg化合物A

当量)，这与只有化合物A相比提升了5倍。

[0715] 通过静脉推注以4、8、12、20、30和45mg/kg(1、2、3、5、7.5和11mg/kg化合物A当量)的每周递增剂量给予一只雄性和一只雌性beagle犬实例6。实例6在狗中的MTD为45mg/kg(11mg/kg化合物A当量)，这与化合物A相比提升了11倍。

[0716] 在大鼠中进行实例9的最大耐受剂量研究。通过静脉推注以125、250、500、1000和1500mg/kg(9、72、145、290和435mg/kg化合物A当量)的剂量水平将实例9给予各个组的Han Wistar雄性大鼠(3只/组)。实例9在大鼠中的MTD为1000mg/kg(290mg/kg化合物A当量)，这与化合物A相比提升了29倍。

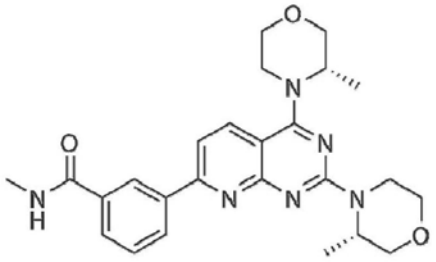
[0717] 总之，这些数据说明与只有化合物A相比时，实例6和实例9的最大耐受剂量得到提升。

[0718] 实例21:单个药剂和组合在人类小细胞肺癌肿瘤模型中的体内抗肿瘤活性

[0719] 实例9和AZD2014(vistusertib，一种下文示出的mTOR抑制剂)在NCI-H1048荷瘤小鼠中诱导单个药剂和组合的抗肿瘤活性(图18)。每周(qw)以103mg/kg(相当于30mg/kg化合物A)iv给予实例9产生76％TGI的明显抗肿瘤活性($p<0.05$)。每天(qd)以15mg/kg给予mTOR抑制剂AZD2014产生84％TGI的明显抗肿瘤活性($p<0.05$)。实例9与AZD2014的组合产生91％肿瘤消退($p<0.05$，相对于单个药剂活性)。

[0720] 在含有4.5％w/v葡萄糖的柠檬酸盐/磷酸盐缓冲液pH 5.0中配制实例9，并以5ml/kg的体积静脉内(iv)给予。在0.5％羟丙甲基纤维素/0.1％Tween 80中配制AZD2014，并以10ml/kg的体积口服给予。

[0721] 将5x 106个NCI-H1048肿瘤细胞以含有50％基质胶的0.1mL体积皮下注射在C.B.-17SCID雌性小鼠的右胁中。使用以下公式计算肿瘤体积(通过卡尺测量)：长度(mm)x宽度$(mm)^2$x 0.52。对于功效研究，基于肿瘤体积将小鼠随机化，并且通过比较对照与处理组之间的肿瘤体积的差异来评估生长抑制。当平均肿瘤体积达到大约124mm^3时开始给药。

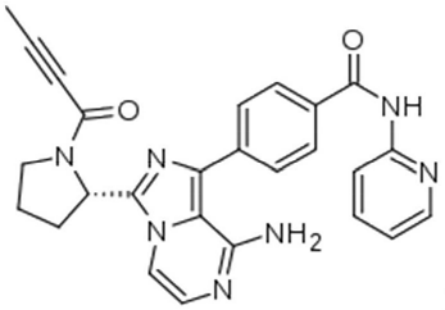
[0722] 

AZD2014

[0723] 实例22:单个药剂和组合在人类DLBCL模型中的体内抗肿瘤活性

[0724] 将5x 10^6个OCI-Ly10肿瘤细胞以含有50％基质胶的0.1mL体积皮下注射在C.B.-17SCID雌性小鼠的右胁中。在用含有1％w/v Kolliphor HS15的5％葡萄糖以1:10稀释的柠檬酸盐/磷酸盐缓冲液pH 5.0中配制实例9，并以5mL/kg的体积，以103mg/kg的剂量(30mg/kg API)每周静脉内(iv)给予。在0.5％羟丙甲基纤维素/0.2％Tween 80中配制阿卡拉布替尼，并以10mL/kg的体积，以12.5mg/kg的剂量一天两次(bid)口服(po)给予。在研究期间每周两次记录肿瘤体积(通过卡尺测量)、动物体重和肿瘤条件。用以下公式计算肿瘤体积：长度(mm)x宽度$(mm)^2$x 0.52。对于功效研究，从处理开始的生长抑制通过比较对照组与处理组之间的肿瘤体积的差异进行评估。当平均肿瘤大小达到大约166mm3时开始给药。

[0725] 如图19中所示,组合实例9与阿卡拉布替尼在OCI-Ly10DLBCL异种移植模型中产生明显体内抗肿瘤活性。每周iv给予103mg/kg实例9(30mg/kg化合物A)与一天两次口服给予12.5mg/kg阿卡拉布替尼的组合导致在开始处理后10天8只荷瘤小鼠中有8只完全消退。即使在结束处理后完全消退仍持续(3周处理加35天随访)。相比之下,单个药剂实例9或阿卡拉布替尼示出相对最适度的单个药剂活性,分别达到大约64%和58%肿瘤生长抑制(TGI)。

[0726] 

阿卡拉布替尼

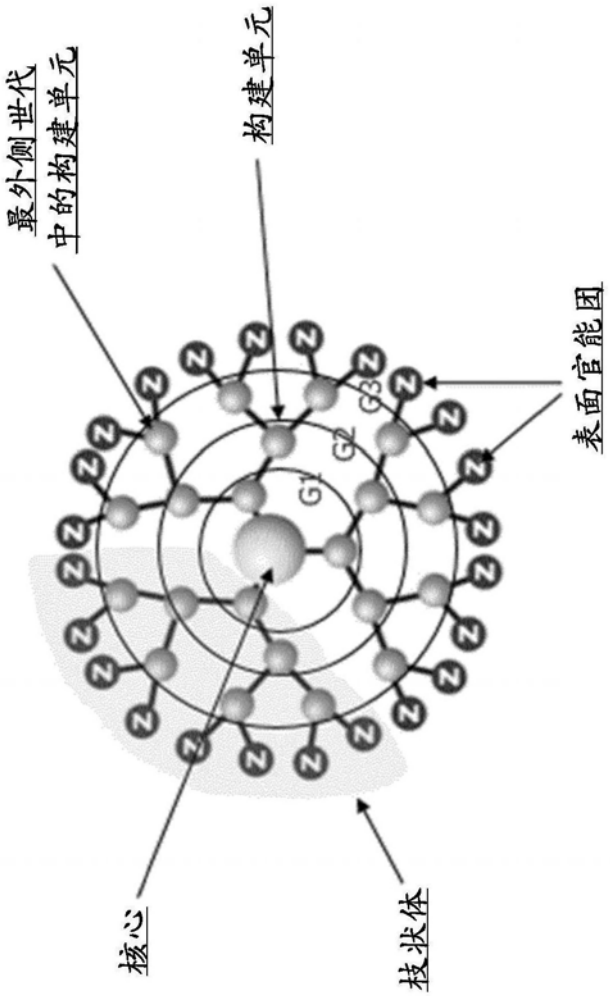


图1

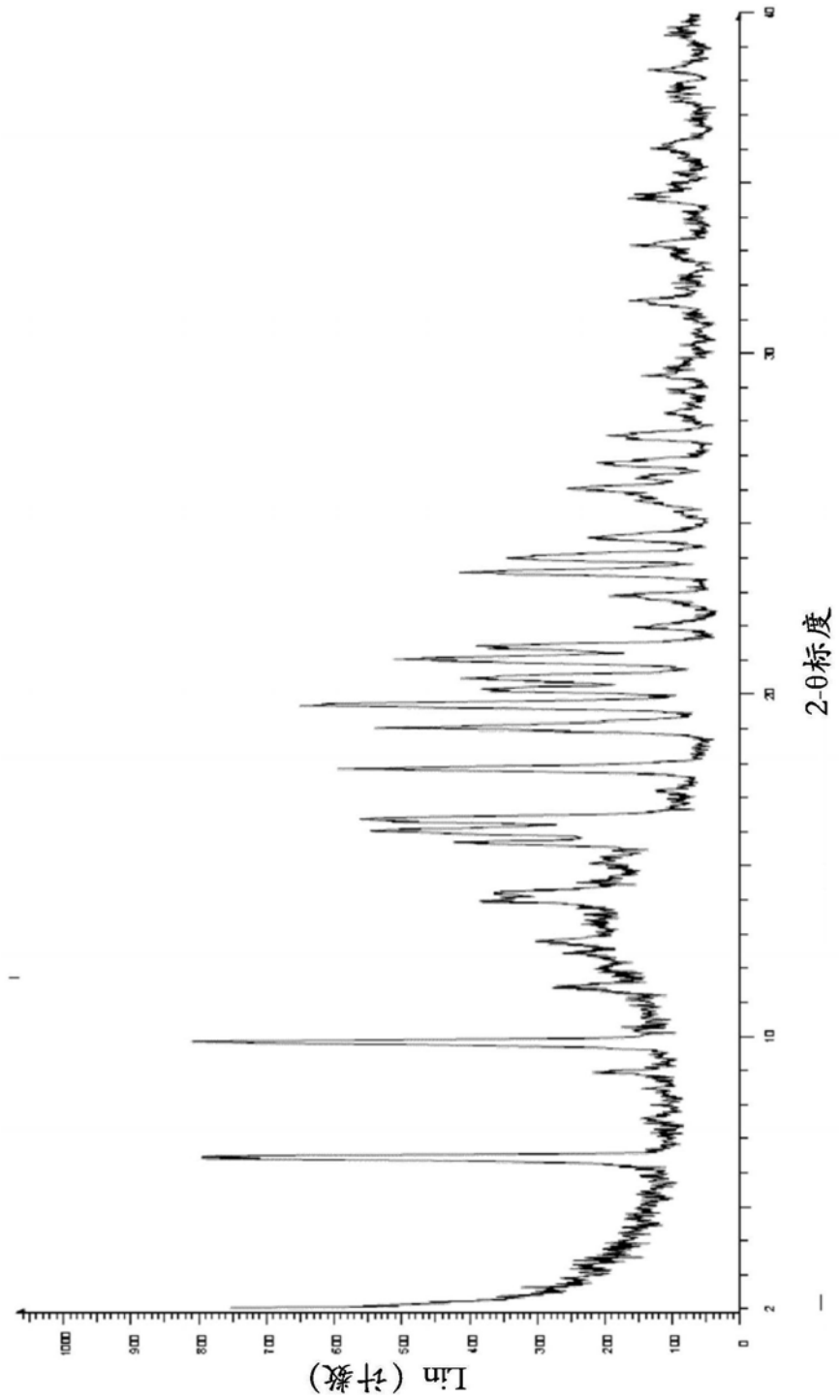


图2

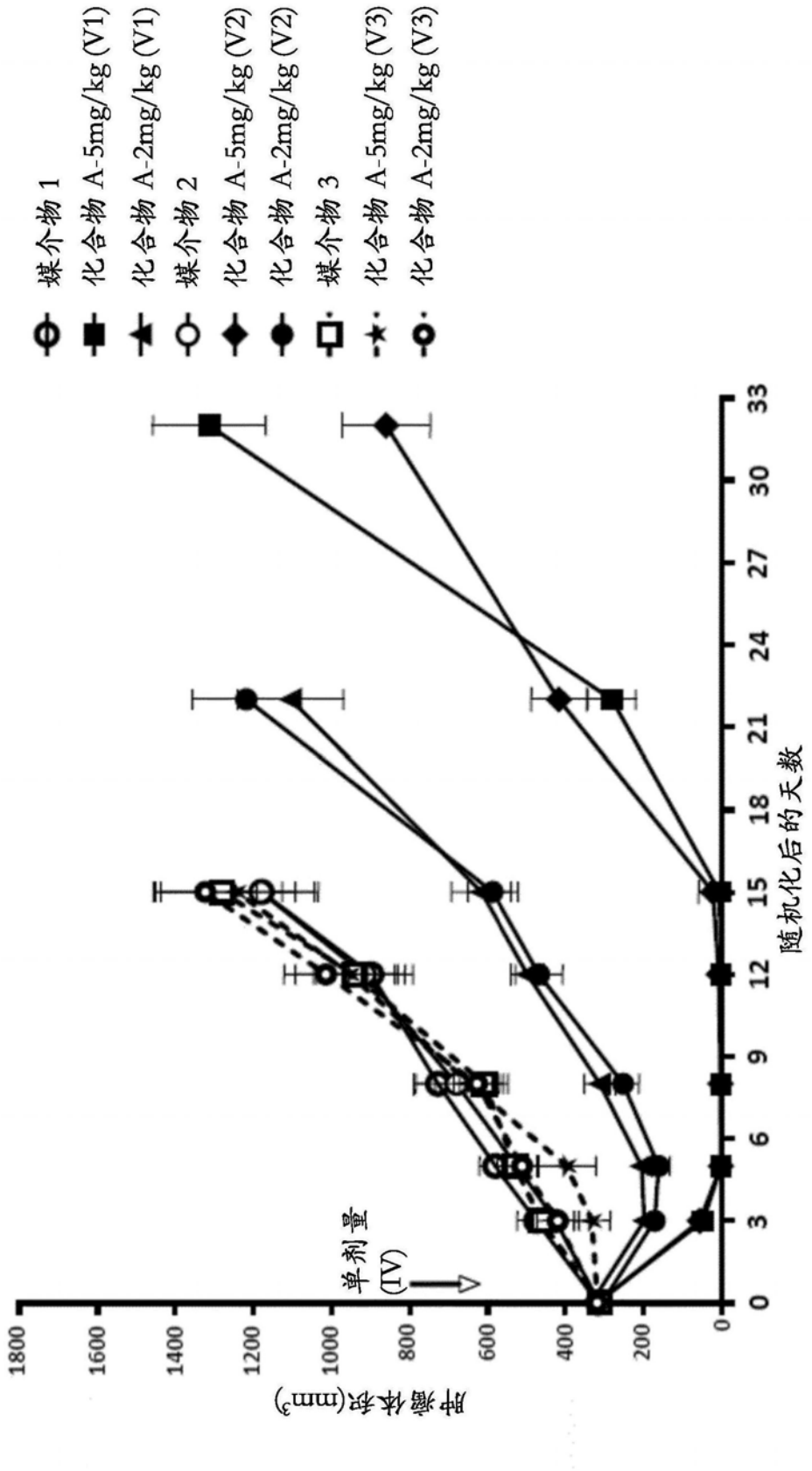

媒介物 1
化合物 A-5mg/kg (V1)
化合物 A-2mg/kg (V1)
媒介物 2
化合物 A-5mg/kg (V2)
化合物 A-2mg/kg (V2)
媒介物 3
化合物 A-5mg/kg (V3)
化合物 A-2mg/kg (V3)
肿瘤体积(mm³)
随机化后的天数
单剂量 (IV)
0
200
400
600
800
1000
1200
1400
1600
1800
0
3
6
9
12
15
18
21
24
27
30
33

图3A

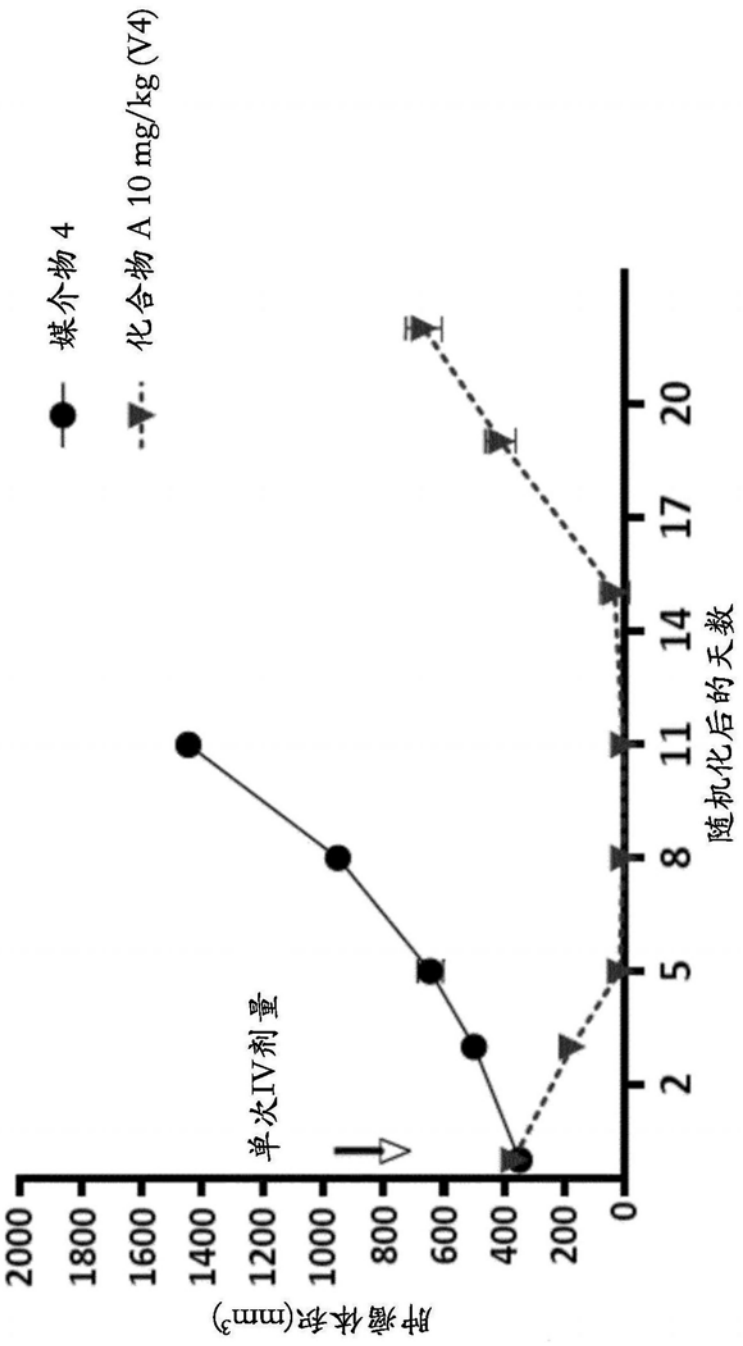

媒介物 4
化合物 A 10 mg/kg (V4)
单次IV剂量
肿瘤体积(mm³)
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
2
5
8
11
14
17
20
随机化后的天数

图3B

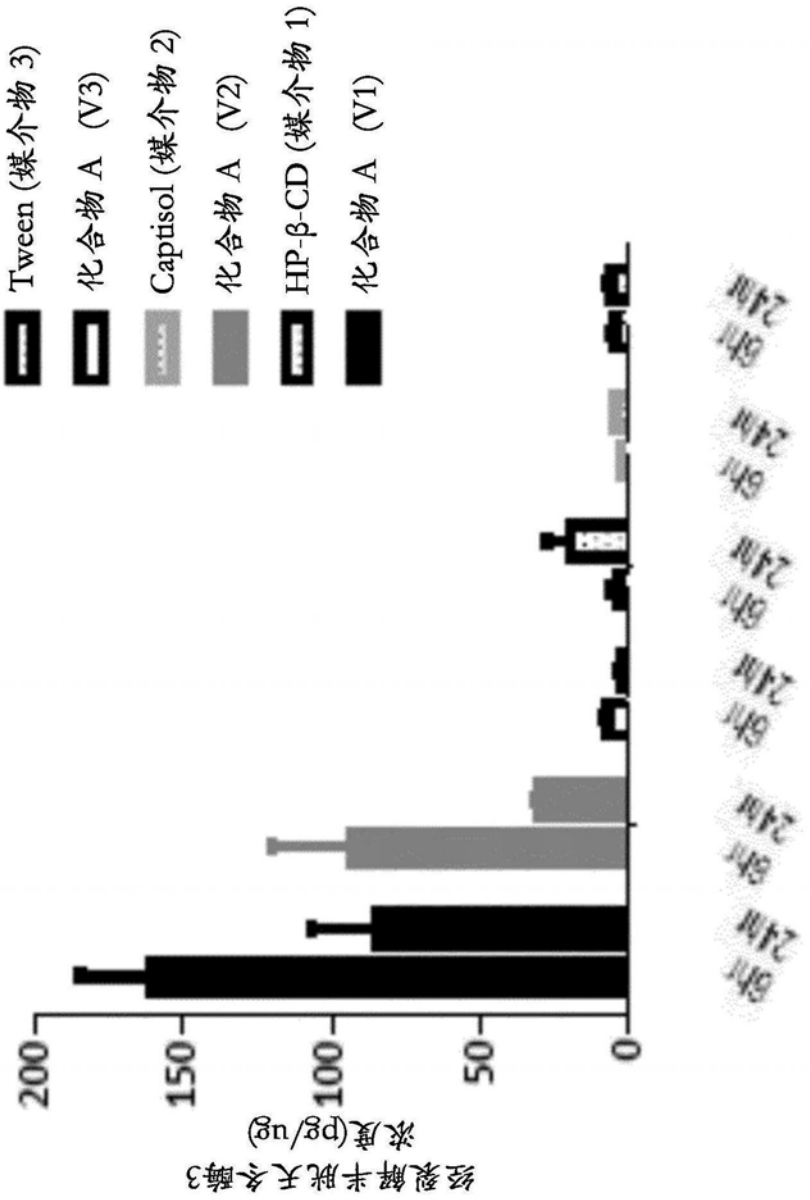

Tween (媒介物 3)
化合物 A (V3)
Captisol (媒介物 2)
化合物 A (V2)
HP-β-CD (媒介物 1)
化合物 A (V1)
200
150
100
50
0
经裂解半胱天冬酶3
浓度(pg/ug)
6hr
24hr

图4

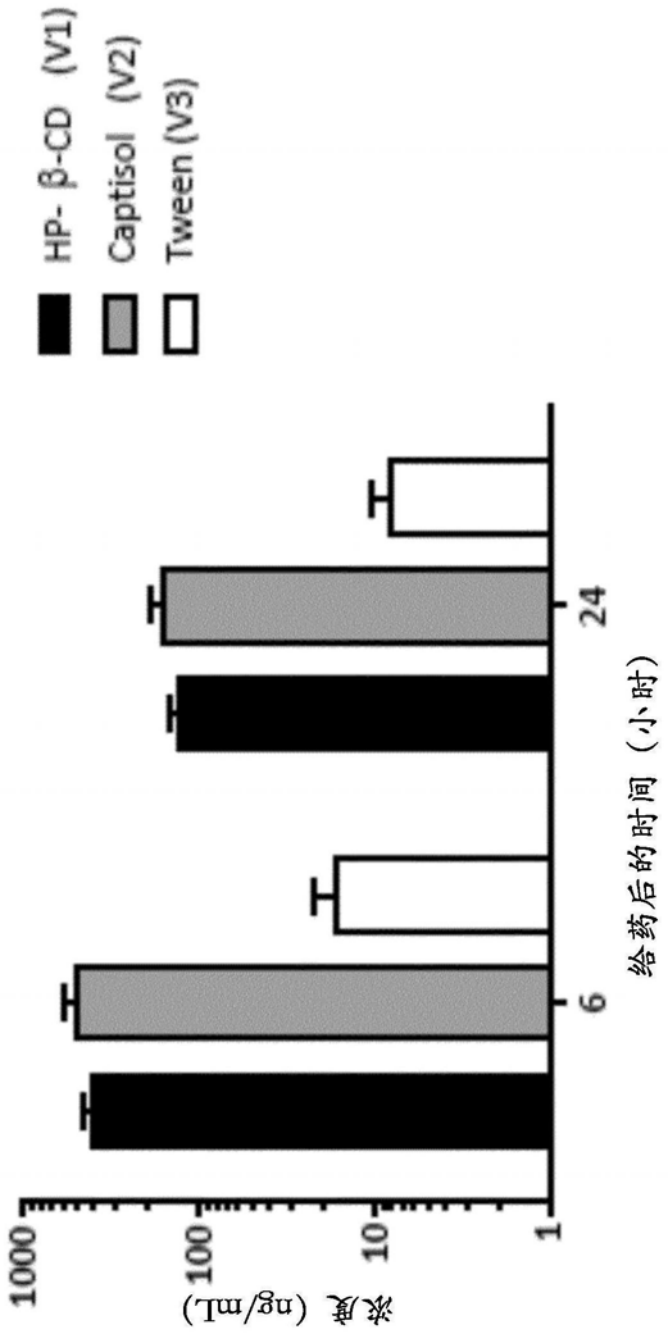

HP- β-CD (V1)
Captisol (V2)
Tween (V3)
浓度 (ng/mL)
1000
100
10
1
6
24
给药后的时间（小时）

图5

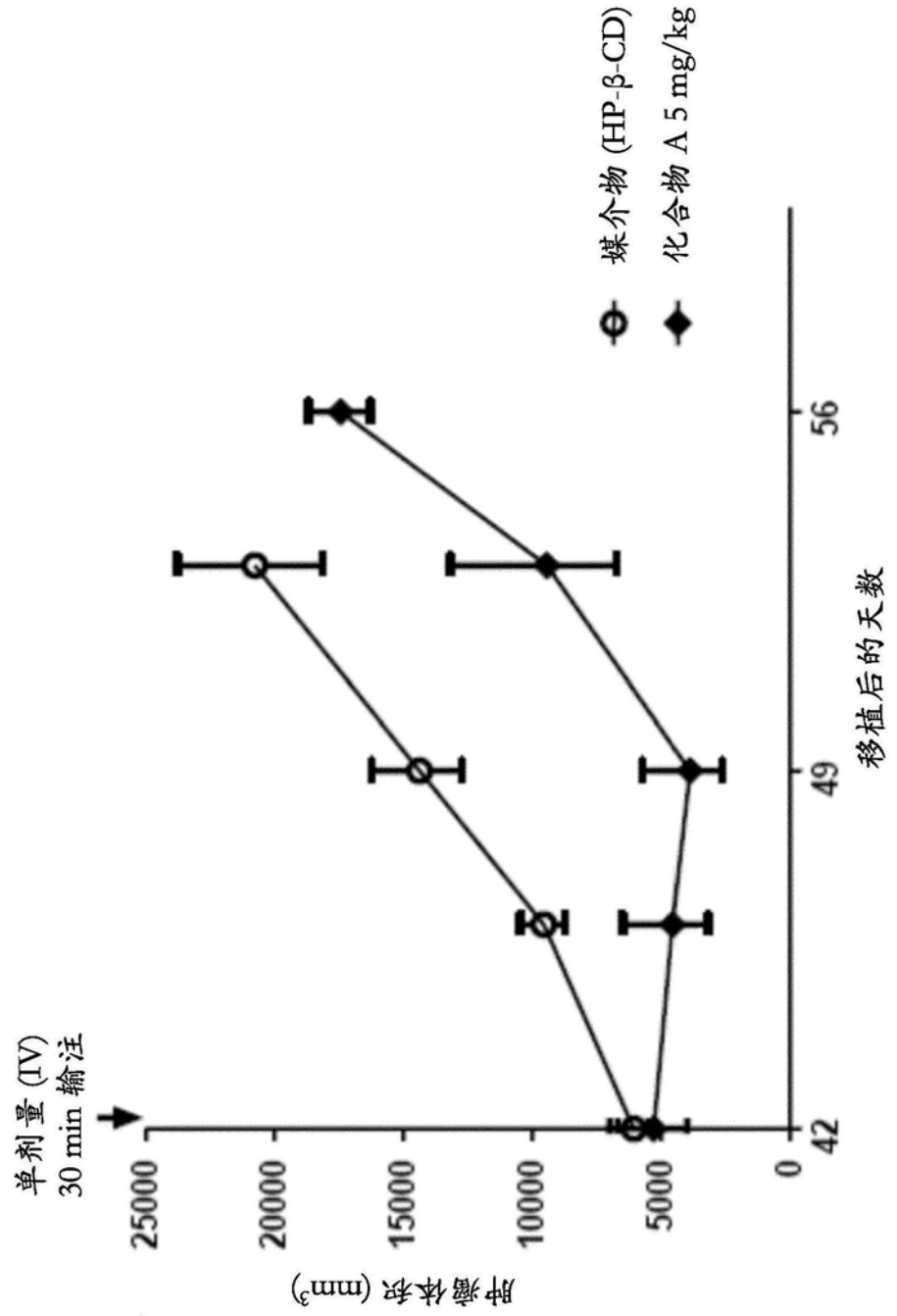

媒介物 (HP-β-CD)
化合物 A 5 mg/kg
单剂量 (IV)
30 min 输注
肿瘤体积 (mm³)
25000
20000
15000
10000
5000
0
42
49
56
移植后的天数

图6

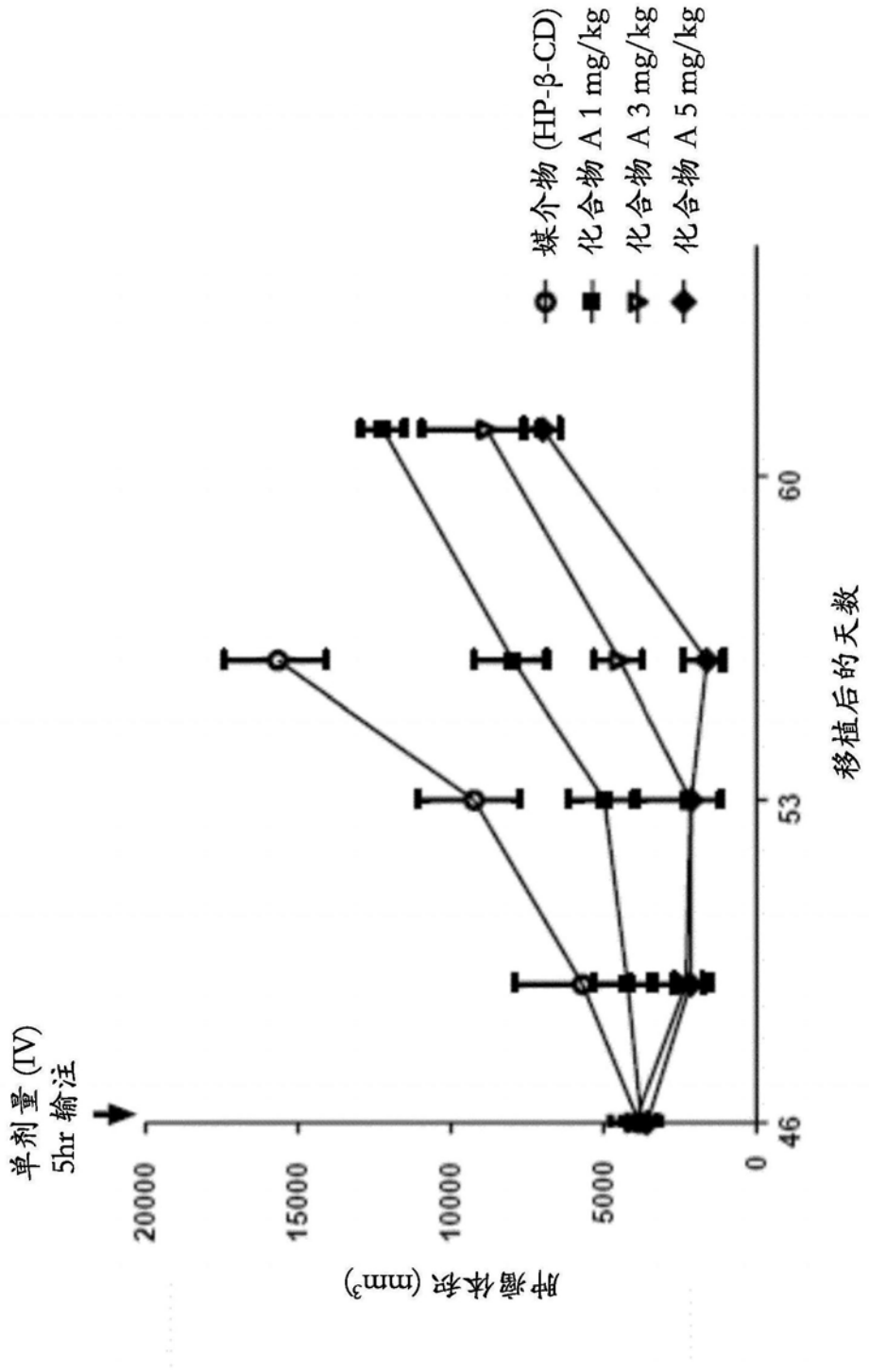

媒介物 (HP-β-CD)
化合物 A 1 mg/kg
化合物 A 3 mg/kg
化合物 A 5 mg/kg
单剂量 (IV)
5hr 输注
20000
15000
10000
5000
0
46
53
60
移植后的天数
平均体积 (mm³)

图7

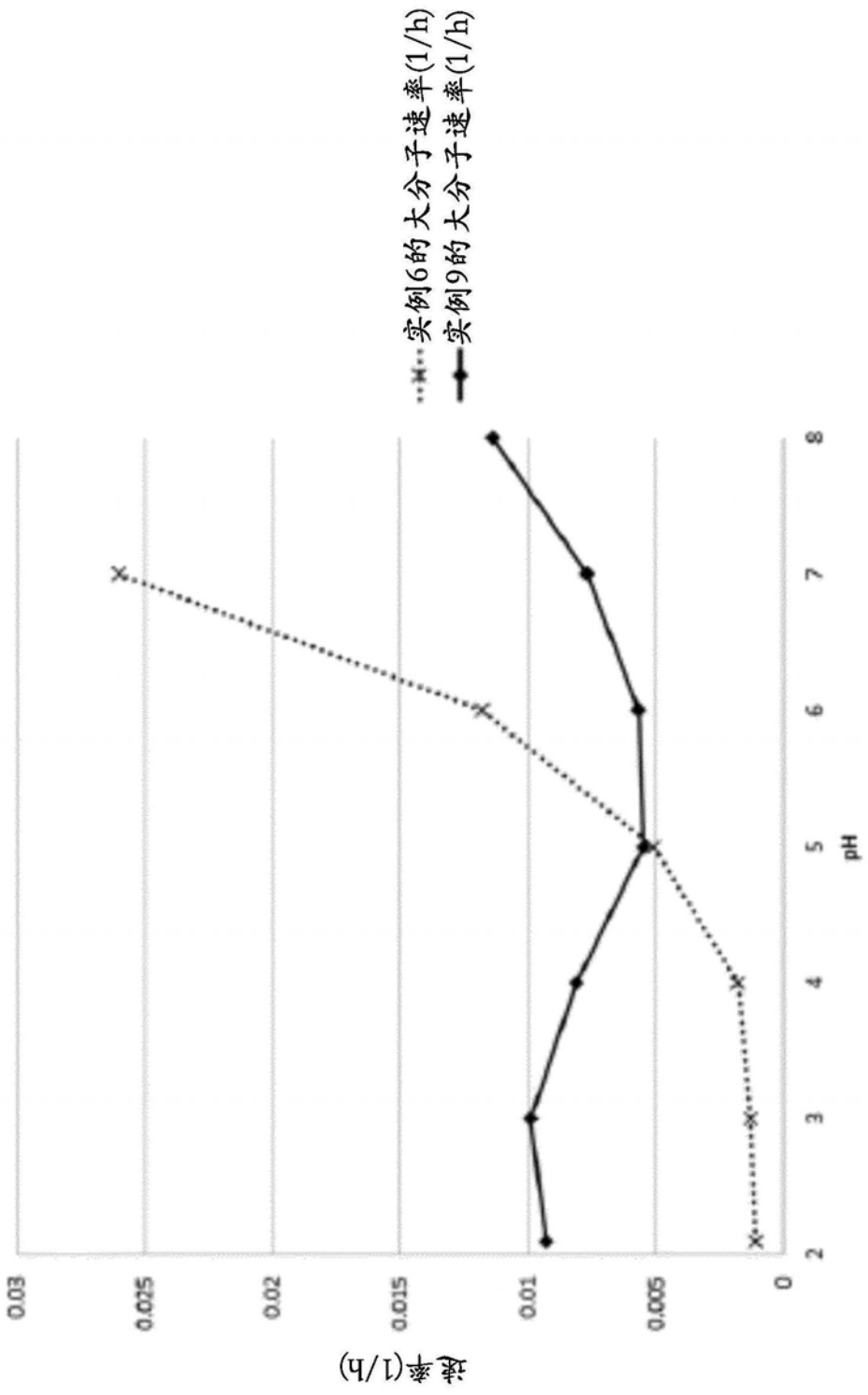

实例6的大分子速率(1/h)
实例9的大分子速率(1/h)
速率(1/h)
0.03
0.025
0.02
0.015
0.01
0.005
0
2
3
4
5
6
7
8
pH

图8

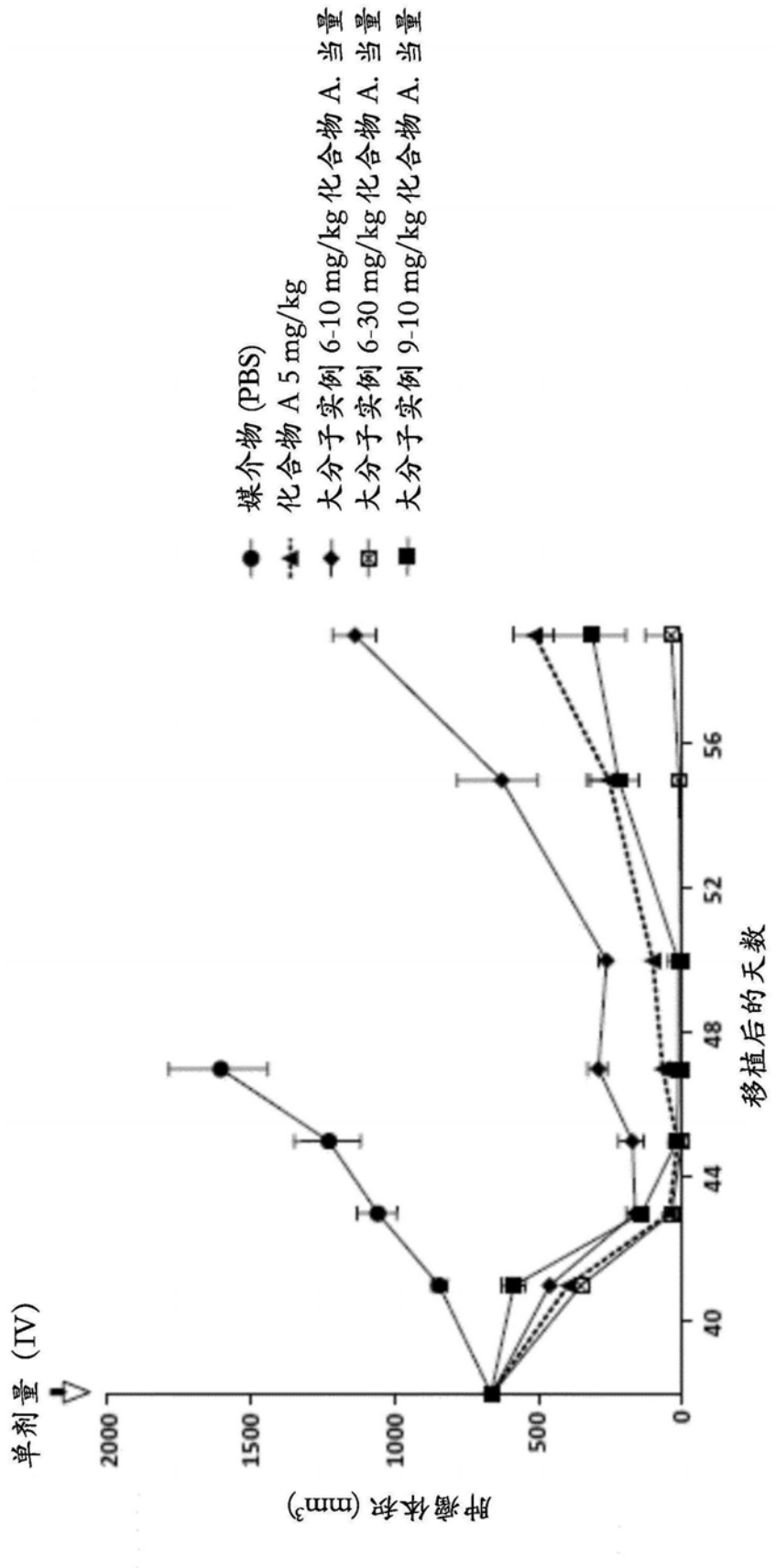

媒介物 (PBS)
化合物 A 5 mg/kg
大分子实例 6-10 mg/kg 化合物 A. 当量
大分子实例 6-30 mg/kg 化合物 A. 当量
大分子实例 9-10 mg/kg 化合物 A. 当量
单剂量 (IV)
肿瘤体积 (mm³)
2000
1500
1000
500
0
40
44
48
52
56
移植后的天数

图9

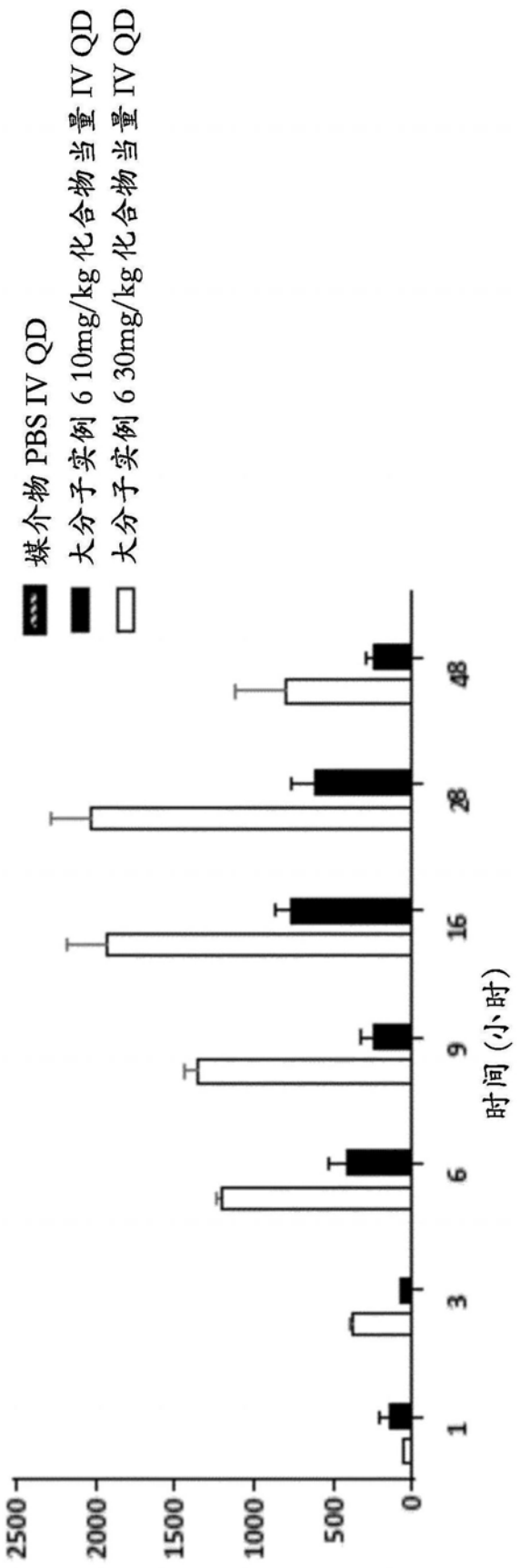

媒介物 PBS IV QD
大分子实例 6 10mg/kg 化合物当量 IV QD
大分子实例 6 30mg/kg 化合物当量 IV QD
2500
2000
1500
1000
500
0
1
3
6
9
16
28
48
时间（小时）

图10

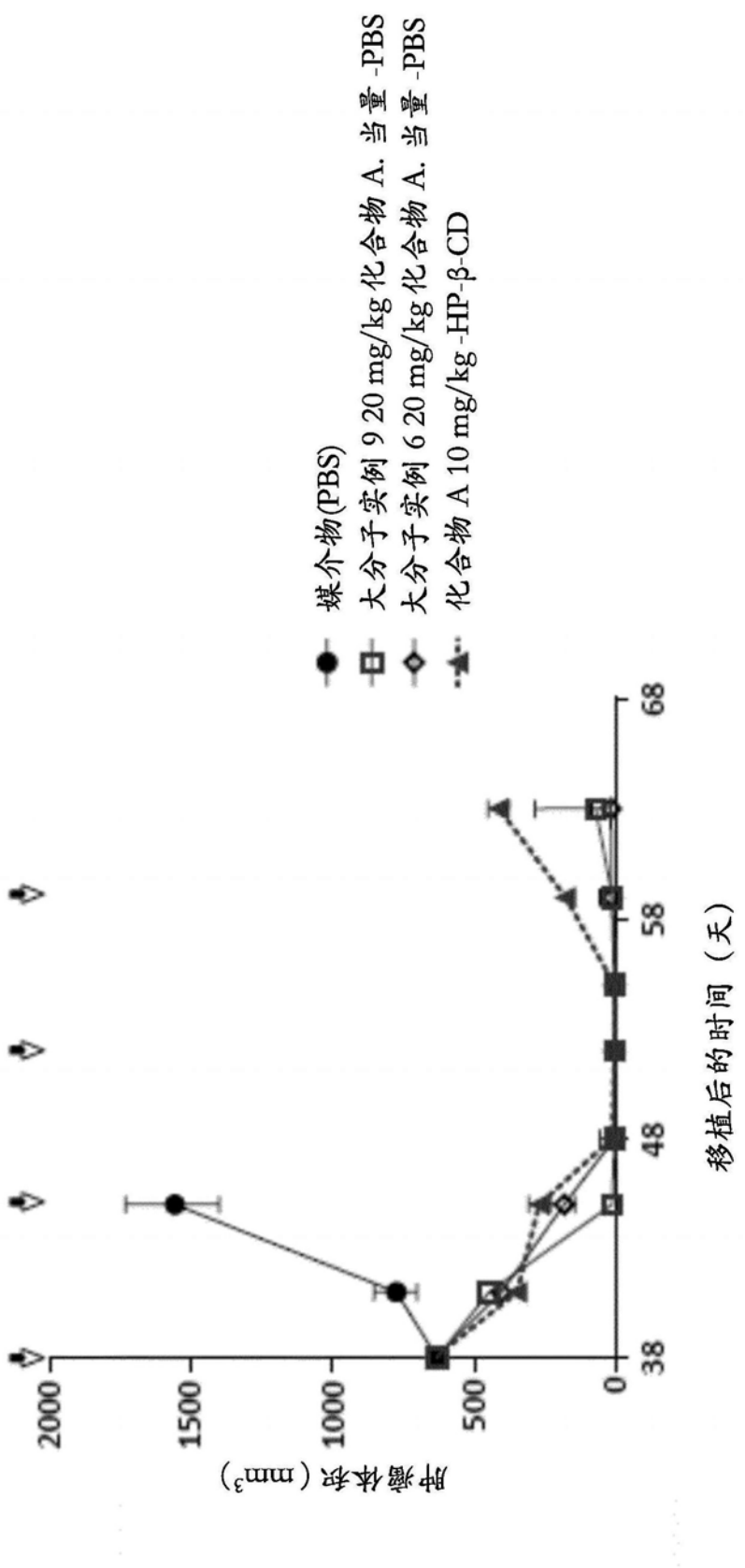

媒介物(PBS)
大分子实例 9 20 mg/kg 化合物 A. 当量 -PBS
大分子实例 6 20 mg/kg 化合物 A. 当量 -PBS
化合物 A 10 mg/kg -HP-β-CD
肿瘤体积（mm³）
2000
1500
1000
500
0
38
48
58
68
移植后的时间（天）

图11

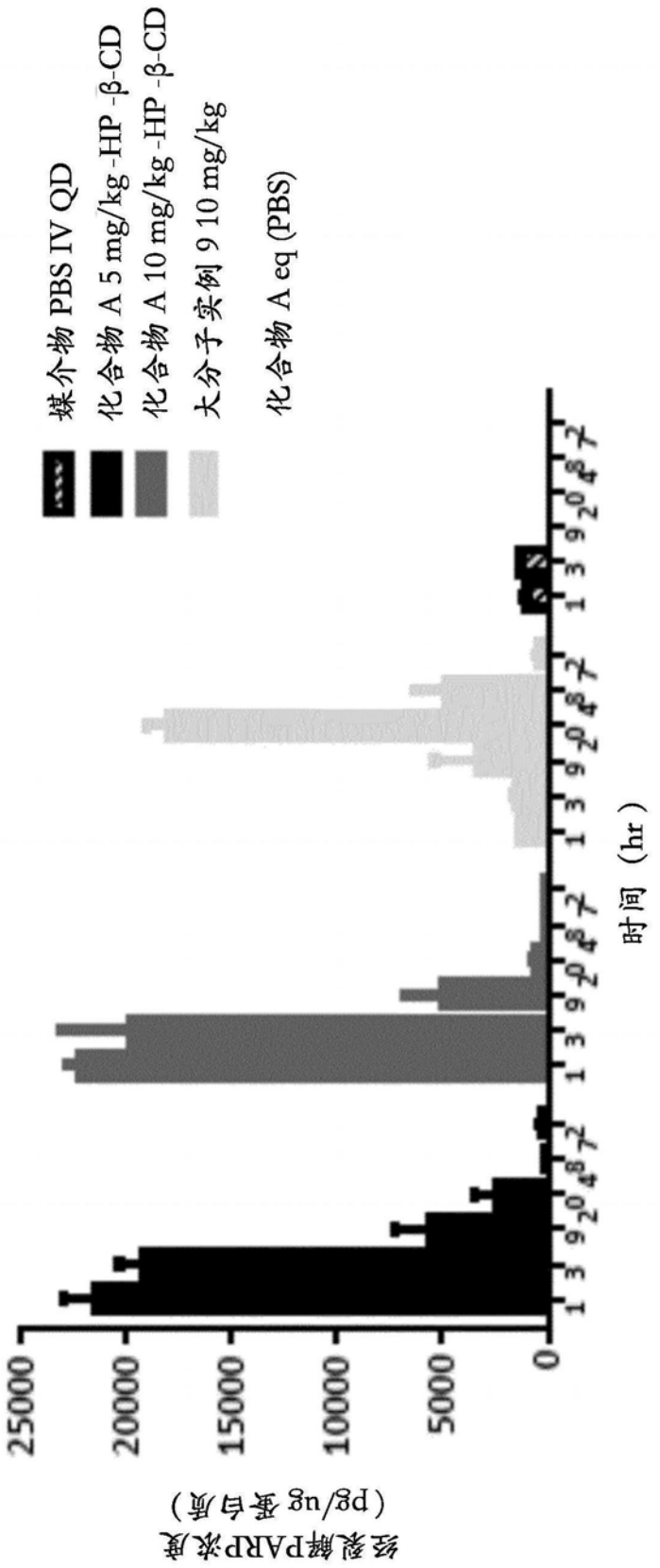

媒介物 PBS IV QD
化合物 A 5 mg/kg -HP -β-CD
化合物 A 10 mg/kg -HP -β-CD
大分子实例 9 10 mg/kg
化合物 A eq (PBS)
经裂解PARP浓度
(pg/ug 蛋白质)
25000
20000
15000
10000
5000
0
时间 (hr)

图12

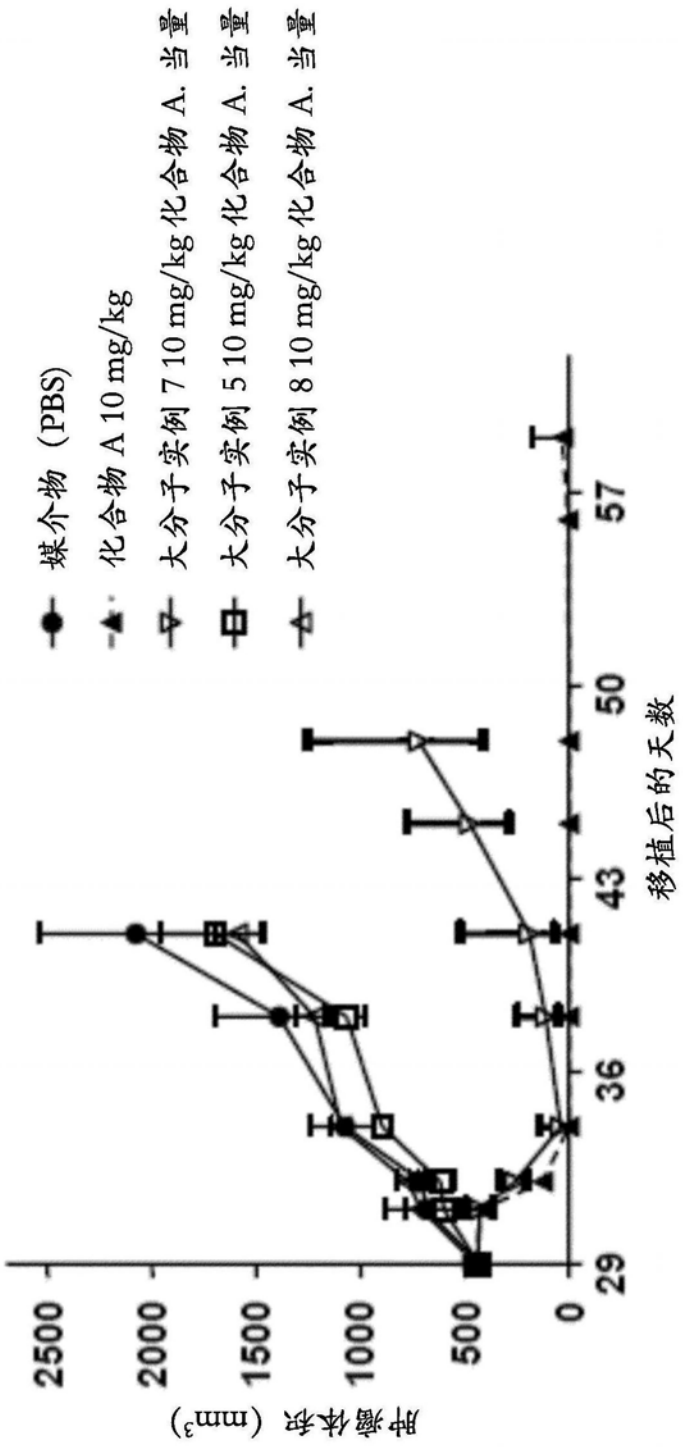

媒介物（PBS）
化合物 A 10 mg/kg
大分子实例 7 10 mg/kg 化合物 A. 当量
大分子实例 5 10 mg/kg 化合物 A. 当量
大分子实例 8 10 mg/kg 化合物 A. 当量
肿瘤体积 (mm³)
2500
2000
1500
1000
500
0
29
36
43
50
57
移植后的天数

图13

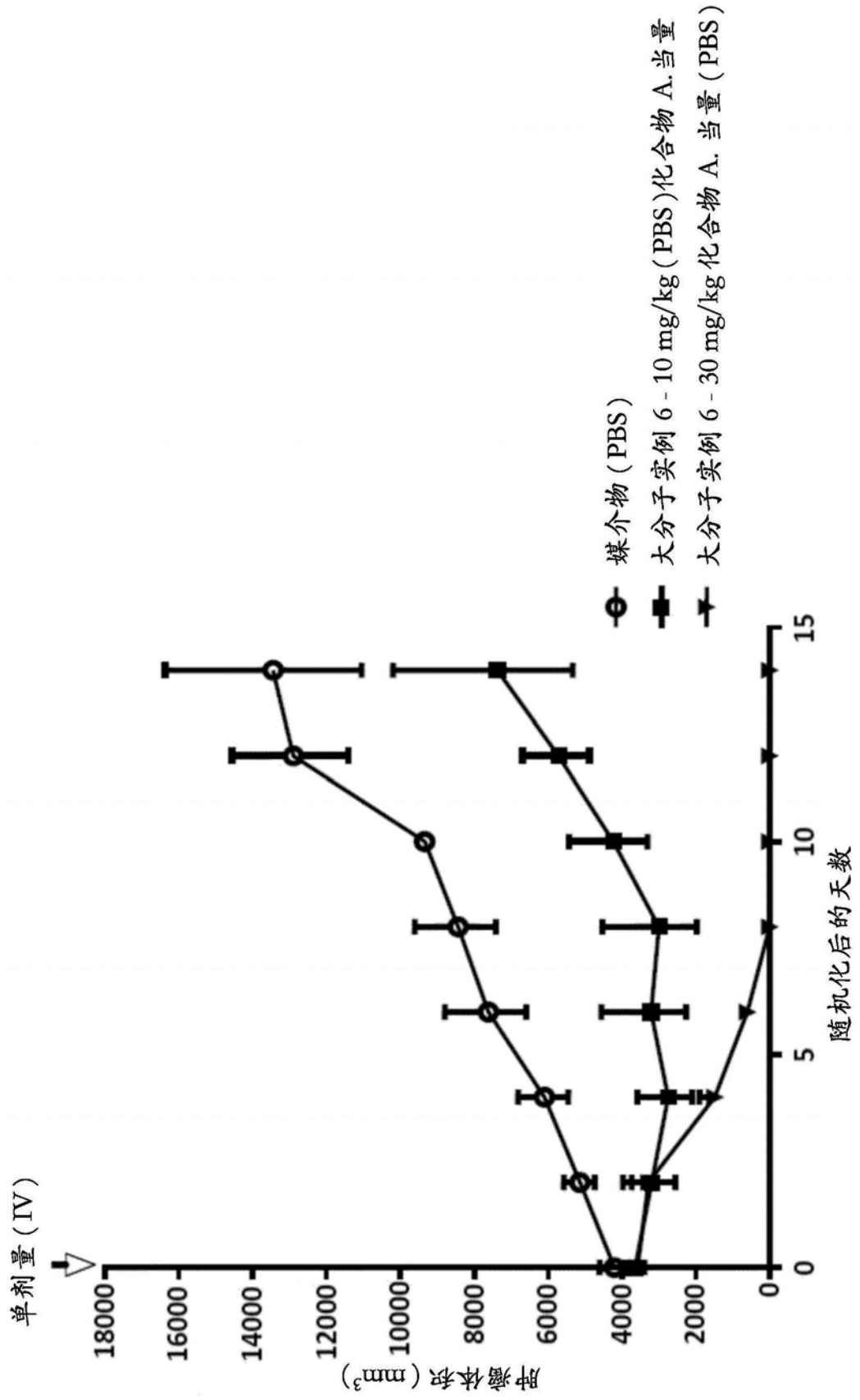

单剂量（IV）
肿瘤体积（mm³）
18000
16000
14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
0
5
10
15
随机化后的天数
媒介物（PBS）
大分子实例 6 - 10 mg/kg（PBS）化合物 A.当量
大分子实例 6 - 30 mg/kg 化合物 A. 当量（PBS）

图14

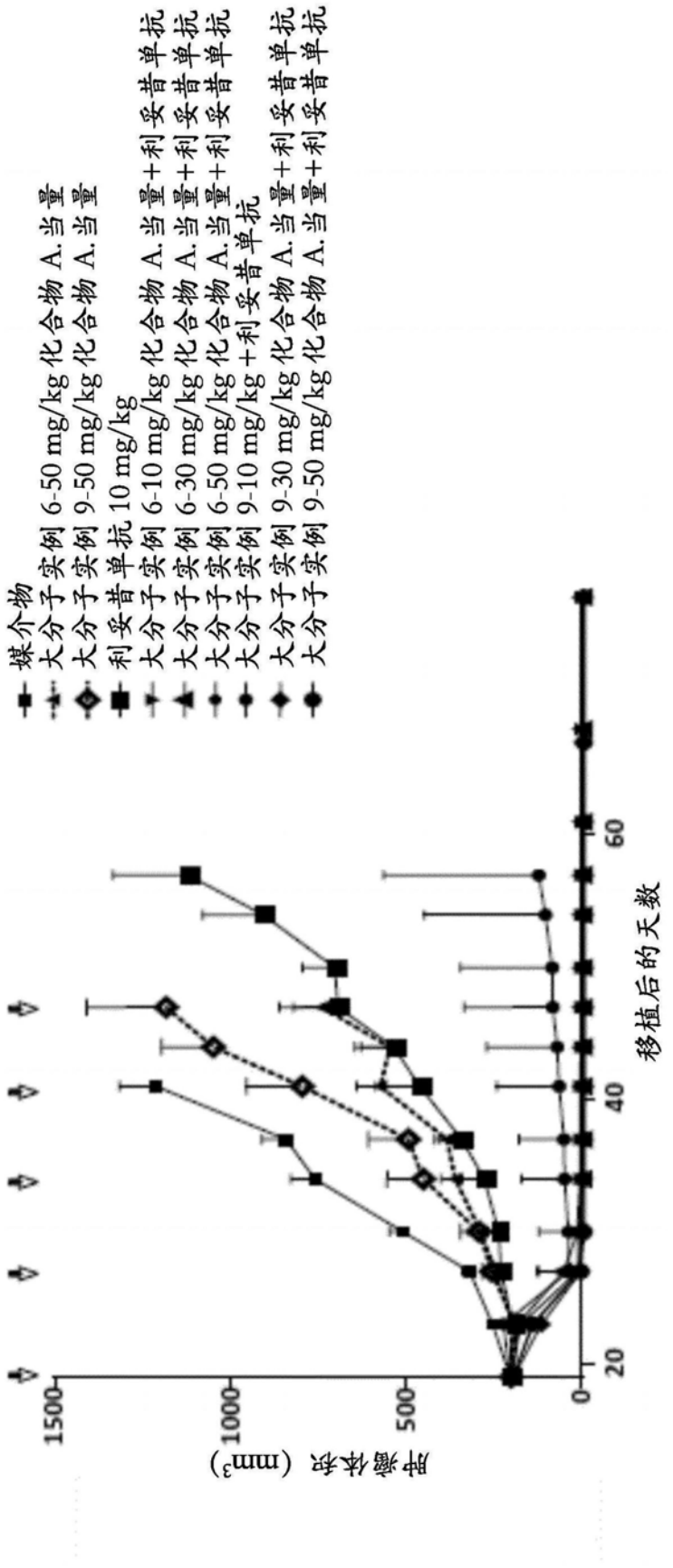

媒介物
大分子实例 6-50 mg/kg 化合物 A.当量
大分子实例 9-50 mg/kg 化合物 A.当量
利妥昔单抗 10 mg/kg
大分子实例 6-10 mg/kg 化合物 A.当量+利妥昔单抗
大分子实例 6-30 mg/kg 化合物 A.当量+利妥昔单抗
大分子实例 6-50 mg/kg 化合物 A.当量+利妥昔单抗
大分子实例 9-10 mg/kg +利妥昔单抗
大分子实例 9-30 mg/kg 化合物 A.当量+利妥昔单抗
大分子实例 9-50 mg/kg 化合物 A.当量+利妥昔单抗
肿瘤体积 (mm³)
1500
1000
500
0
20
40
60
移植后的天数

图15

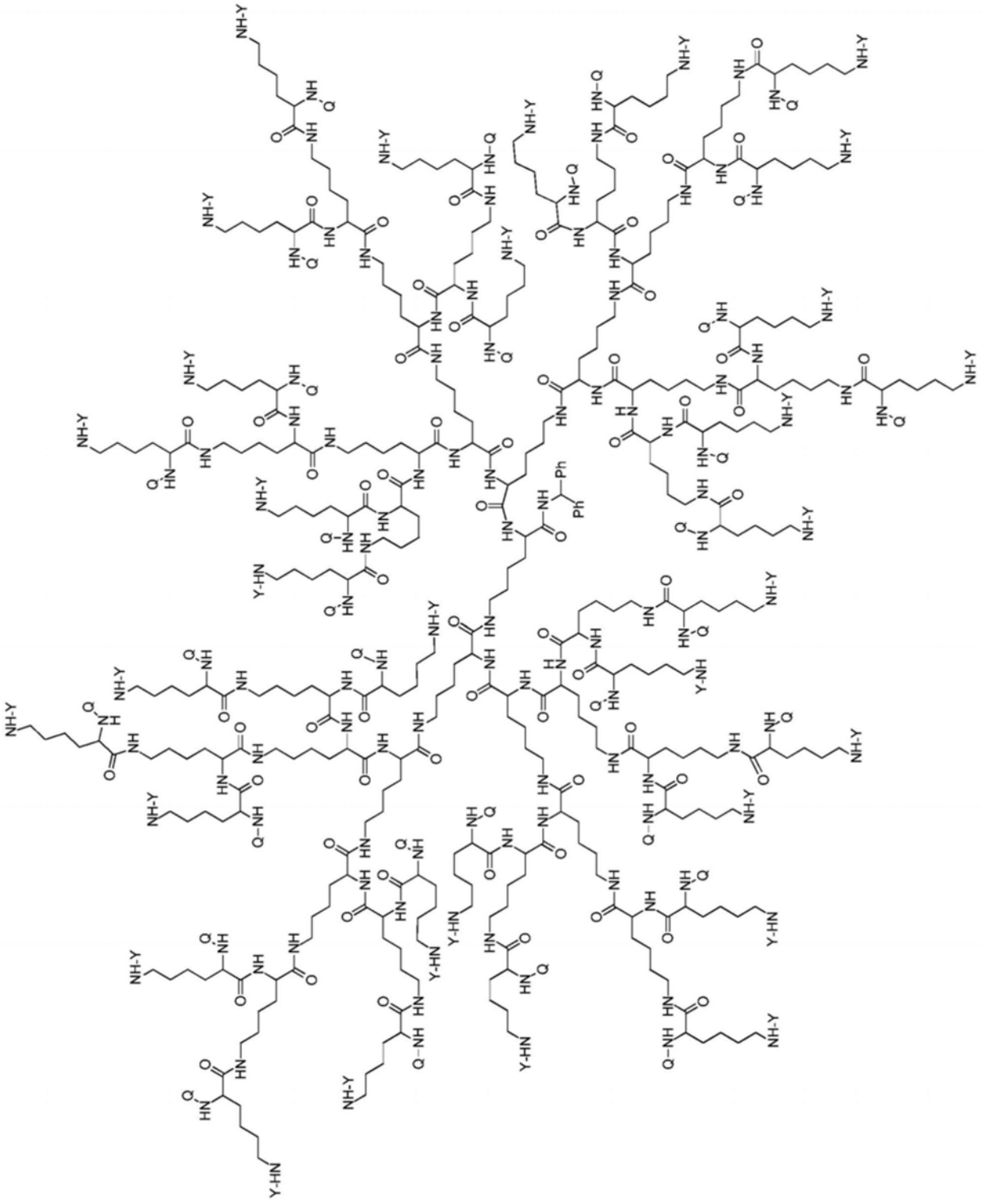


图16

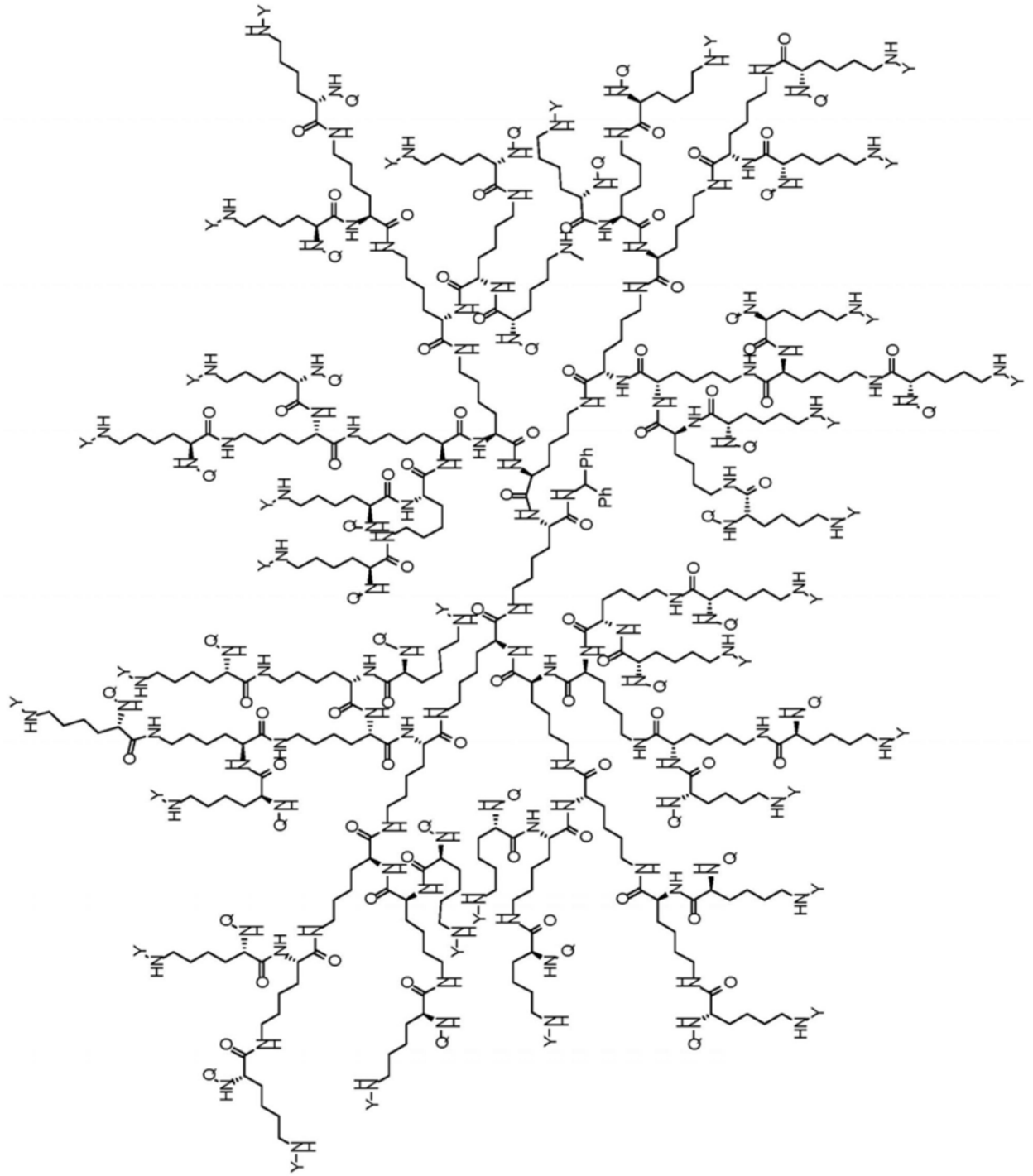


图17

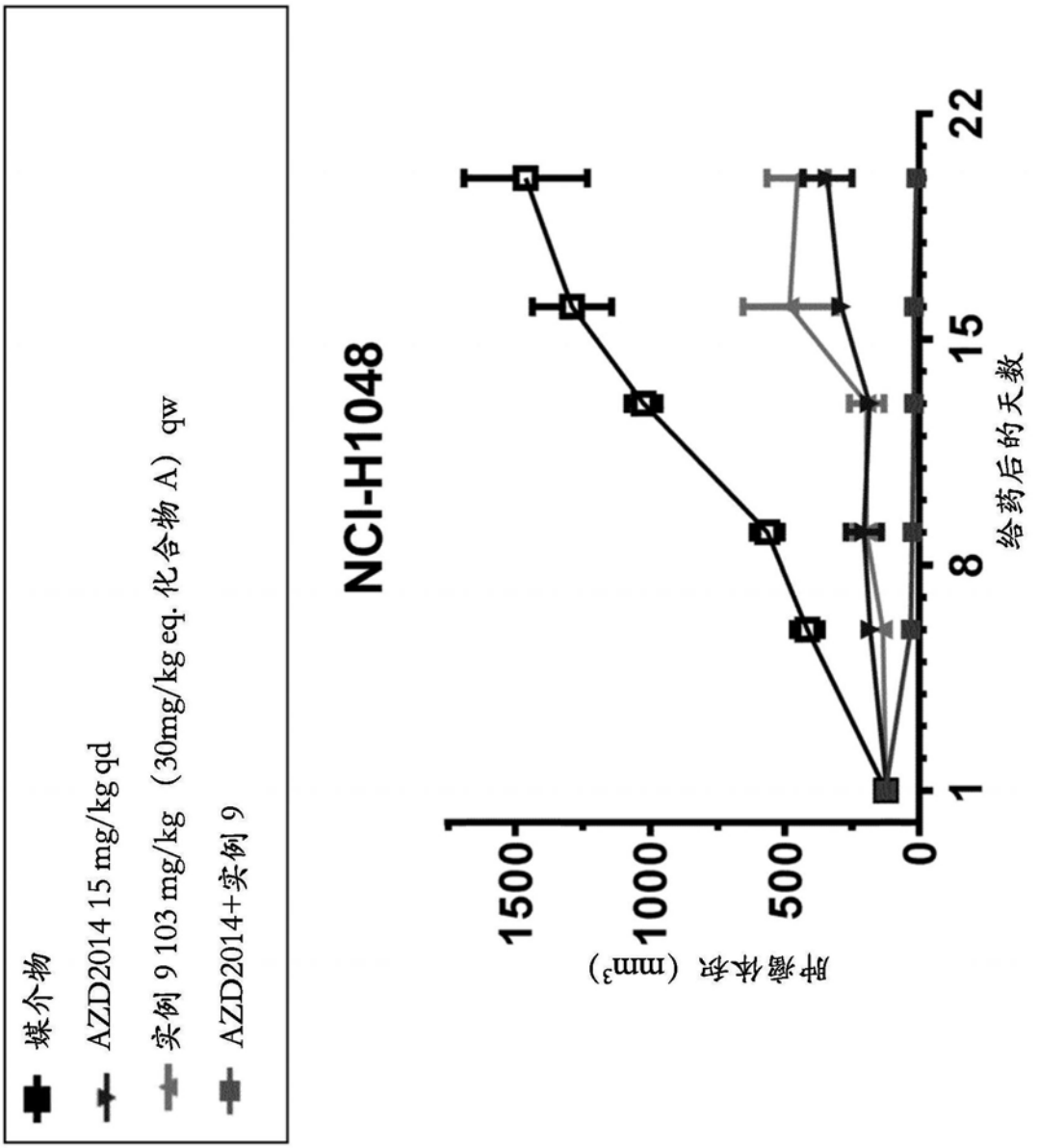

媒介物
AZD2014 15 mg/kg qd
实例 9 103 mg/kg （30mg/kg eq. 化合物 A） qw
AZD2014+实例 9
NCI-H1048
肿瘤体积 (mm³)
1500
1000
500
0
1
8
15
22
给药后的天数

图18

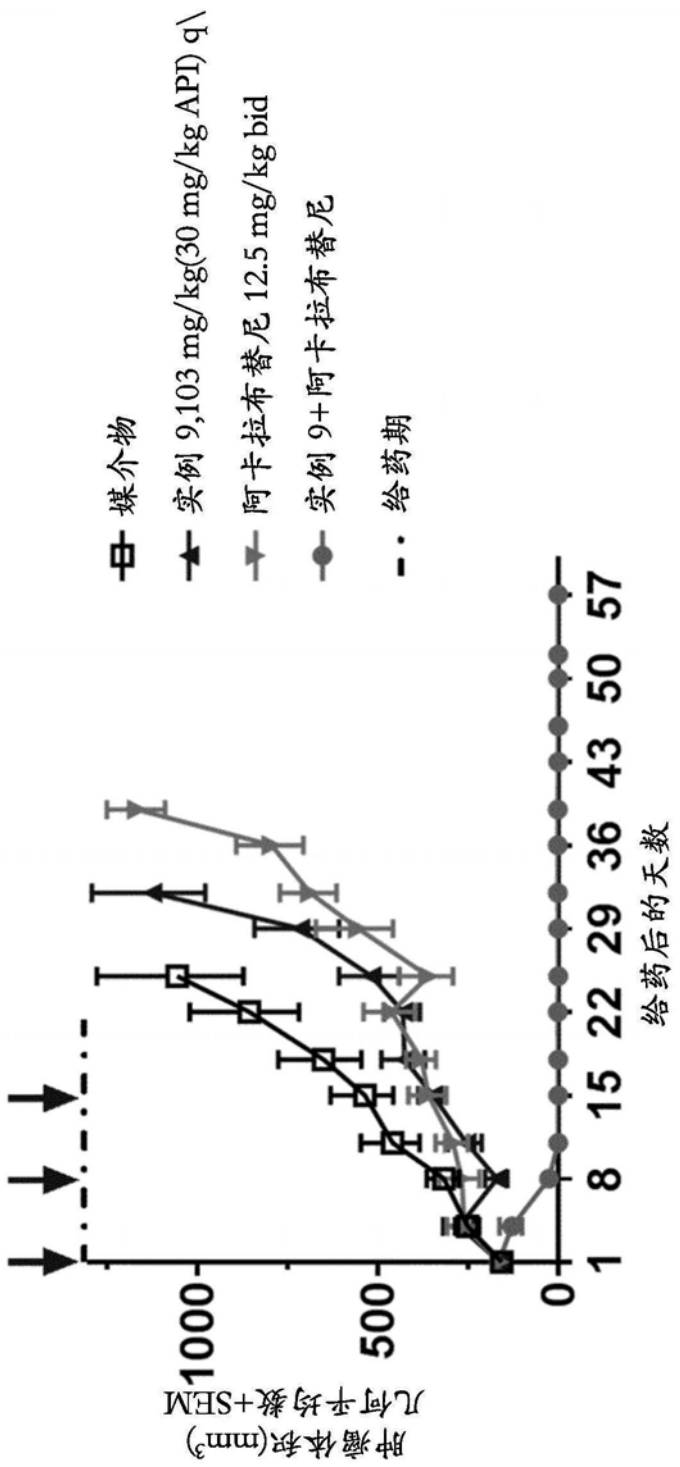

媒介物
实例 9,103 mg/kg(30 mg/kg API) q\
阿卡拉布替尼 12.5 mg/kg bid
实例 9+阿卡拉布替尼
给药期
肿瘤体积(mm³)
几何平均数+SEM
1000
500
0
1 8 15 22 29 36 43 50 57
给药后的天数

图19