



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103025164 B

(45)授权公告日 2017.03.08

(21)申请号 201180022343.2

(22)申请日 2011.05.05

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 103025164 A

(43)申请公布日 2013.04.03

(30)优先权数据
61/331,742 2010.05.05 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2012.11.02

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2011/035422 2011.05.05

(87)PCT国际申请的公布数据
W02011/140392 EN 2011.11.10

(73)专利权人 普罗林科斯有限责任公司
地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 G·阿什利 D·V·桑蒂

(74)专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司 31100

代理人 陈文青

(51)Int.Cl.
A61K 48/00(2006.01)
A61K 38/00(2006.01)

(56)对比文件
W0 2009/158668 A1, 2009.12.30, 第3-6,
51, 84, 103页.
US 2003/0190341 A1, 2003.10.09, 第1, 5
页.

审查员 南艳

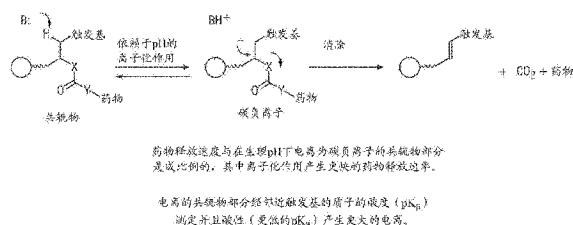
权利要求书3页 说明书45页 附图4页

(54)发明名称

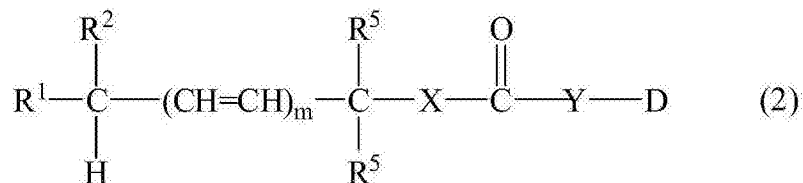
从固体支撑物中药物的控制释放

(57)摘要

本发明涉及在医学应用中提供药物(例如肽、核酸以及小分子)控释的固体支撑物。这些药物通过一种键合共价偶联至该固体支撑物上,该支撑物通过控制的 β 消除反应释放药物或一种前药。



1. 一种固体支撑物,其具有共价偶联了多种取代基上的表面,这些取代基具有化学式



其中

$m=0$ 或 1 ;

R^1 和 R^2 中至少一个或两者都独立地为 CN ; NO_2 ;

R^1 和 R^2 中至少一个或两者都独立地为芳基,为未取代的或被烷基、烯基或炔基所取代,所述的烷基、烯基或炔基为未取代的或被卤素、硝基、氰基、 OR 、 SR 、 NR_2 、 OCOR 、 NRCOR 、 COOR 、 CONR_2 、 SOR 、 SO_2R 、 SONR_2 、 SO_2NR_2 所取代,其中每一个 R 独立地是烷基、烯基或炔基,或者

R^1 或 R^2 中的所述芳基被卤素、硝基、氰基、 OR 、 SR 、 NR_2 、 OCOR 、 NRCOR 、 COOR 、 CONR_2 、 SOR 、 SO_2R 、 SONR_2 、 SO_2NR_2 所取代,其中每一个 R 独立地是烷基、烯基或炔基;或者

R^1 和 R^2 中至少一个或两者都独立地为烯基或炔基,每一个为未取代的或被卤素、硝基、氰基、 OR 、 SR 、 NR_2 、 OCOR 、 NRCOR 、 COOR 、 CONR_2 、 SOR 、 SO_2R 、 SONR_2 、 SO_2NR_2 所取代,其中每一个 R 独立地是烷基、烯基或炔基;或者

R^1 和 R^2 中至少一个或两者都独立地为 COR^3 或 SOR^3 或 SO_2R^3 其中

R^3 是 H 或烷基,所述烷基是未取代的或被卤素、硝基、氰基、 OR 、 SR 、 NR_2 、 OCOR 、 NRCOR 、 COOR 、 CONR_2 、 SOR 、 SO_2R 、 SONR_2 、 SO_2NR_2 所取代,其中每一个 R 独立地是烷基、烯基或炔基;

R^3 是芳基,为未取代的或被烷基、烯基或炔基所取代,所述的烷基、烯基或炔基的每一个为未取代的或被卤素、硝基、氰基、 OR 、 SR 、 NR_2 、 OCOR 、 NRCOR 、 COOR 、 CONR_2 、 SOR 、 SO_2R 、 SONR_2 、 SO_2NR_2 所取代,其中每一个 R 独立地是烷基、烯基或炔基;或者

R^3 中所述芳基被卤素、硝基、氰基、 OR 、 SR 、 NR_2 、 OCOR 、 NRCOR 、 COOR 、 CONR_2 、 SOR 、 SO_2R 、 SONR_2 、 SO_2NR_2 所取代,其中每一个 R 独立地是烷基、烯基或炔基;

R^3 是 OR^9 或 $\text{N}(\text{R}^9)_2$ 其中各个 R^9 独立地为 H 或烷基,所述烷基是未取代的或被卤素、硝基、氰基、 OR 、 SR 、 NR_2 、 OCOR 、 NRCOR 、 COOR 、 CONR_2 、 SOR 、 SO_2R 、 SONR_2 、 SO_2NR_2 所取代,其中每一个 R 独立地是烷基、烯基或炔基,或两个 R^9 基团与其所附接的原子一起形成一个环,或两个 R^9 基团与它们附接到其上的氮一起形成一种杂环;

R^1 和 R^2 中至少一个或两者都独立地为 SR^4 其中

R^4 是未取代烷基或被卤素、硝基、氰基、 OR 、 SR 、 NR_2 、 OCOR 、 NRCOR 、 COOR 、 CONR_2 、 SOR 、 SO_2R 、 SONR_2 、 SO_2NR_2 所取代的烷基,其中每一个 R 独立地是烷基、烯基或炔基;或者

R^4 是芳基,为未取代的或被烷基、烯基或炔基取代,所述的烷基、烯基或炔基为未取代的或被卤素、硝基、氰基、 OR 、 SR 、 NR_2 、 OCOR 、 NRCOR 、 COOR 、 CONR_2 、 SOR 、 SO_2R 、 SONR_2 、 SO_2NR_2 所取代,其中每一个 R 独立地是烷基、烯基或炔基,或者

R^4 中所述芳基被卤素、硝基、氰基、 OR 、 SR 、 NR_2 、 OCOR 、 NRCOR 、 COOR 、 CONR_2 、 SOR 、 SO_2R 、 SONR_2 、 SO_2NR_2 所取代,其中每一个 R 独立地是烷基、烯基或炔基;或者

其中 R^1 和 R^2 连接在一起形成3-8元环;以及

其中 R^1 和 R^2 中的一个并且仅有一个可以是 H 或烷基,所述的烷基是未取代的或被卤素、硝基、氰基、 OR 、 SR 、 NR_2 、 OCOR 、 NRCOR 、 COOR 、 CONR_2 、 SOR 、 SO_2R 、 SONR_2 、 SO_2NR_2 所取代,其中每一

个R独立地是烷基、烯基或炔基;或者

各个R⁵独立地是H或是烷基、烯基烷基或炔基烷基,所述烷基、烯基烷基或炔基烷基为未取代的或被卤素、硝基、氰基、OR、SR、NR₂、OCOR、NRCOR、COOR、CONR₂、SOR、SO₂R、SONR₂、SO₂NR₂所取代,其中每一个R独立地是烷基、烯基或炔基;或者

各个R⁵独立地是芳基或芳烷基,所述的芳基或芳烷基被烷基、烯基或炔基取代,所述的烷基、烯基或炔基被卤素、硝基、氰基、OR、SR、NR₂、OCOR、NRCOR、COOR、CONR₂、SOR、SO₂R、SONR₂、SO₂NR₂所取代,其中每一个R独立地是烷基、烯基或炔基;或者

R⁵中所述芳基或芳烷基被卤素、硝基、氰基、OR、SR、NR₂、OCOR、NRCOR、COOR、CONR₂、SOR、SO₂R、SONR₂、SO₂NR₂所取代,其中每一个R独立地是烷基、烯基或炔基;

D是一种通过O、S、或N偶联的药物的或前药的残基;

Y是不存在的,X是O或S;或

Y是NBCH₂,X是O;

其中B是烷基,为未取代的或是被卤素、硝基、氰基、OR、SR、NR₂、OCOR、NRCOR、COOR、CONR₂、SOR、SO₂R、SONR₂、SO₂NR₂所取代,其中每一个R独立地是烷基、烯基或炔基;

或者B是芳基,为未取代的或被烷基、烯基或炔基取代,所述的烷基、烯基或炔基为未取代的或被卤素、硝基、氰基、OR、SR、NR₂、OCOR、NRCOR、COOR、CONR₂、SOR、SO₂R、SONR₂、SO₂NR₂所取代,其中每一个R独立地是烷基、烯基或炔基,或者

B中所述芳基被卤素、硝基、氰基、OR、SR、NR₂、OCOR、NRCOR、COOR、CONR₂、SOR、SO₂R、SONR₂、SO₂NR₂所取代,其中每一个R独立地是烷基、烯基或炔基;

其中通过R¹、R²、R⁵或B中的任何一个共价偶联至所述的表面上,且

其中,所述芳基具有6-18C,所述烷基具有1-6C。

2.如权利要求1所述的固体支撑物,它是一种支架、一种水凝胶、一种导管、一种伤口敷料、一种植入物、一种石膏、一种矫形外科装置、或一种牙科假体。

3.如权利要求1或2所述的固体支撑物,其中所述的表面共价偶联到多种偶联的惰性的保护性聚合物上。

4.如权利要求3所述的固体支撑物,其中所述的聚合物是聚乙二醇。

5.如权利要求1所述的固体支撑物,其中该药物是一种肽、一种核酸或一种小分子,其中所述的小分子是除肽或核酸以外的化合物,其具有小于1,000的分子量。

6.如权利要求1所述的固体支撑物,其中R¹和R²中的一个CN。

7.如权利要求1所述的固体支撑物,其中R¹和R²中的至少一个包括苯基或亚苯基。

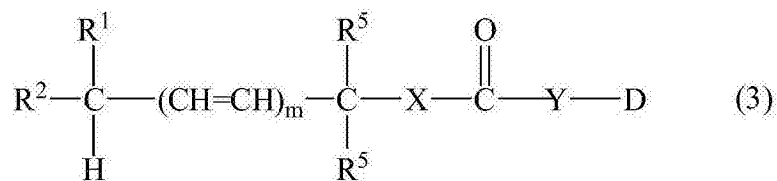
8.如权利要求1所述的固体支撑物,其中R¹和R²中的一个SO₂R³,另一个是H、烷基或苯基。

9.如权利要求1所述的固体支撑物,其中m是0。

10.如权利要求1所述的固体支撑物,其中m是0,R¹是未取代苯磺酰基或被烷基、烯基或炔基所取代的苯磺酰基,所述的烷基、烯基或炔基为未取代的或被卤素、硝基、氰基、OR、SR、NR₂、OCOR、NRCOR、COOR、CONR₂、SOR、SO₂R、SONR₂、SO₂NR₂所取代,其中每一个R独立地是烷基、烯基或炔基;被卤素、硝基、氰基、OR、SR、NR₂、OCOR、NRCOR、COOR、CONR₂、SOR、SO₂R、SONR₂、SO₂NR₂所取代的苯磺酰基,其中每一个R独立地是烷基、烯基或炔基;甲磺酰基;(R⁹)₂N-SO₂或CN;R²是H;或R¹和R²与它们所连接的CH一起形成9-芴基。

11. 如权利要求1所述的固体支撑物,其中 m 是0; R^1 是未取代苯磺酰基或被烷基、烯基或炔基所取代的苯磺酰基,所述的烷基、烯基或炔基为未取代的或被卤素、硝基、氰基、OR、SR、 NR_2 、OCOR、NRCOR、COOR、CONR₂、SOR、SO₂R、SONR₂、SO₂NR₂所取代,其中每一个R独立地是烷基、烯基或炔基;被卤素、硝基、氰基、OR、SR、 NR_2 、OCOR、NRCOR、COOR、CONR₂、SOR、SO₂R、SONR₂、SO₂NR₂所取代的苯磺酰基,其中每一个R独立地是烷基、烯基或炔基;甲磺酰基; $(R^9)_2N-SO_2$ 或CN; R^2 是H;一个 R^5 是未取代的烷基或被卤素、硝基、氰基、OR、SR、 NR_2 、OCOR、NRCOR、COOR、CONR₂、SOR、SO₂R、SONR₂、SO₂NR₂所取代的烷基,其中每一个R独立地是烷基、烯基或炔基,并且另一个 R^5 是H;B是苯基或取代的苯基;其中 R^1 、 R^5 以及B中的一个共价地连接到所述固体支撑物的表面上。

12. 一种制备如权利要求1所述的固体支撑物的方法,该方法包括使一种具有化学式(3)的化合物



其中 m 、 R^1 、 R^2 、 R^5 、X、Y、 m 以及D如在式(2)中所定义;

其中 R^1 、 R^2 、 R^5 以及B中的一个包括一种将式(3)偶联至一种固体支撑物上的官能团,

与一种固体支撑物在由此所述固体支撑物的表面共价偶联至所述化合物上的条件下进行反应。

从固体支撑物中药物的控制释放

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求了于2010年5月5日提交的美国临时申请61/331,742的优先权。此文件的内容通过引用结合在此。

技术领域

[0003] 本发明涉及通过共价接头共价结合至多种药物分子上的医学装置以及其他药理学上有用的固体支撑物,它们通过受控的 β -消除反应释放药物。

背景技术

[0004] 存在过多的用于从固体支撑物中控制释放药物或医学中有用的生长因子的安排方法。例如,用包含药物并随时间的推移释放它们的聚合物包覆的支架披露于美国专利7,229,473,代表了大量的这种方法的披露。以一种可受控的速率释放药物的装置描述于美国7,647,099中。大体上,但是,用于这些方法中的药物或生长因子非共价地被包含于聚合物基质内。

[0005] 更近地,已经描述了用于共价偶联至大分子(例如聚乙二醇(PEG))的药物的控释的组合物以及方法,来增强药学特性,诸如半衰期、稳定性、溶解性、耐受性和安全性的。在一种方法中,药物部分通过永久性接头而偶联到大分子上,但是这种方法受至少两个因素限制:1)接头必须在不抑制生物活性的位点附接到该药物部分上,并且2)永久性共轭物通常不能穿过细胞膜,因此,该方法仅对于细胞外药物靶标可行。在一种第二方法中,共价结合的药物-大分子共轭物采用了PEG作为药物或前药的可释放载体。典型地,药物通过经常可利用酯酶-催化的水解作用裂解的酯键或碳酸酯键附接到载体上。例子有PEG-喜树碱、PEG-SN38、PEG-依立替康和PEG-多烯紫杉醇。已经进行了附加的调整来适应含胺药物,由此利用可裂解的酯将PEG部分连接到一种自我牺牲型(self-immolating)氨基甲酸酯上。这种技术已应用于肽和蛋白质以及柔红霉素、两性霉素、Ara-C和其他小分子。然而,在这些情况下的药物释放速率是不可预测的且难以调节的,因为酯酶活性在各物种和个体之间变化并且某些区室是缺乏酯酶的(例如,局部区、眼内区、间质区)。

[0006] 在魏兹曼研究所(Weizmann Institute)的研究开发了一种系统,其中一种蛋白质或聚合物载体附接至诸如苄氧羰基(Fmoc)或其2-磺酸基衍生物(Fms)的接头上。这些描述于美国专利号7,585,837中。这些接头通过一种非酶的 β 消除机理释放药物,但是,对释放速率的可调控制仍然是这个问题。

[0007] PCT公开W02009/158668说明了药物-大分子共轭物,其中药物是通过 β 消除机理释放,其中 β -消除的速率是由独立于大分子自身的触发基所控制的。这解决了现有技术中遗留的未解决的问题。在'668PCT公开中提出的释放机理已经应用于实例,其中多种药物共价但可释放地偶联至固体支撑物的表面或间隙。

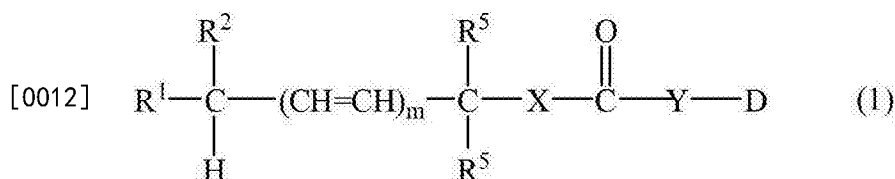
[0008] 本发明提供了药物-固体支撑物共轭物,其中药物以控制的速率从固体支撑物中释放。除了提供一种从固体支撑物本身中药物可控速率的释放,该方法还提供了一种手段

(means)由此在固体支撑物的表面或间隙的不同位点上偶联的药物在一种保护性聚合物(例如PEG)存在下受到保护以免于水解。

[0009] 发明的披露

[0010] 本发明提供了药物、生长因子、或其他生物试剂(例如病毒递送剂)与固体支撑物的共轭物,它们在生理学和医学中是有用的,这些共轭物包括允许随后药物在生理学条件下以控制的速率释放的可裂解的连接,并且提供了固体支撑物(这些固体支撑物包括可剪切的接头、合成的中间体)以及以上各项的制备方法和用途。大体上,一个接头被共价结合到该固体支撑物的多个位点,并且各个接头进而与一种合适的药物或前药偶联。然后该药物或前药在生理学pH下通过一种 β -消除反应以所希望的速率释放。此外,药物在支撑物上的位点可以包含于一种与固体支撑物上的邻近位点相结合的保护性聚合物层中。

[0011] 因此,一方面,本发明是针对一种组合物,该组合物具有化学式



[0013] 其中

[0014] m是0或1;

[0015] R^1 和 R^2 中至少一个或两者都独立地为CN; NO_2 ;

[0016] 可任选取代的芳基;

[0017] 可任选取代的杂芳基;

[0018] 可任选取代的烯基;

[0019] 可任选取代的炔基;

[0020] COR^3 或 SOR^3 或 SO_2R^3 其中

[0021] R^3 是H或可任选取代的烷基;

[0022] 芳基或芳烷基,各自可任选地取代;

[0023] 杂芳基或杂芳基烷基,各自可任选地取代;或

[0024] OR^9 或 $\text{N}(\text{R}^9)_2$ 其中各个 R^9 独立地为H或可任选取代的烷基,或两个 R^9 基团与它们附接到其上的氮一起形成一种杂环;

[0025] SR^4 其中

[0026] R^4 是可任选取代的烷基;

[0027] 芳基或芳烷基,各自可任选地取代;或

[0028] 杂芳基或杂芳基烷基,各自可任选地取代;

[0029] 其中 R^1 和 R^2 可以结合以形成一种3-8元环;并且

[0030] 其中 R^1 和 R^2 中的一个并且仅有一个可以是H或可以是烷基、芳烷基或杂芳基烷基,各自可任选地取代;

[0031] 各个 R^5 独立地是H或是烷基、烯芳基、炔芳基、芳基、芳烷基、杂芳基或杂芳基烷基,各自可任选地取代;

[0032] D是一种通过O、S、或N偶联的药物的或前药的残基;

[0033] Y是不存在的并且X是O或S;或

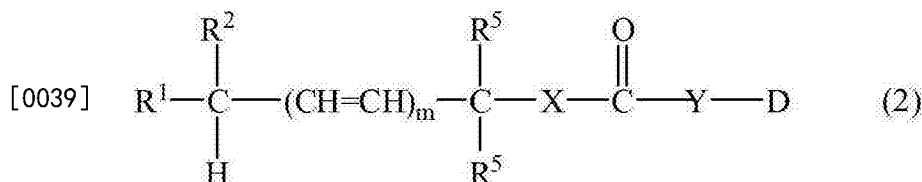
[0034] Y是NBCH₂并且X是O;

[0035] 其中B是烷基、芳基、芳烷基、杂芳基或杂芳基烷基,各自可任选地取代;并且

[0036] 其中R¹、R²、R⁵或B中的一个偶联至一种固体支撑物上。

[0037] 所述固体支撑物还可以进一步地偶联至一种惰性的保护性聚合物上。

[0038] 可替代地短语表达,本发明是针对一种固体支撑物,该固体支撑物偶联至具有以下化学式的多个取代基上



[0040] 其中

[0041] m是0或1;

[0042] R¹和R²中至少一个或两者都独立地为CN;NO₂;

[0043] 可任选取代的芳基;

[0044] 可任选取代的杂芳基;

[0045] 可任选取代的烯基;

[0046] 可任选取代的炔基;

[0047] COR³或SOR³或SO₂R³其中

[0048] R³是H或可任选取代的烷基;

[0049] 芳基或芳烷基,各自可任选地取代;

[0050] 杂芳基或杂芳基烷基,各自可任选地取代;或

[0051] OR⁹或N(R⁹)₂其中各个R⁹独立地为H或可任选取代的烷基,或两个R⁹基团与它们附接到其上的氮一起形成一种杂环;

[0052] SR⁴其中

[0053] R⁴是可任选取代的烷基;

[0054] 芳基或芳烷基,各自可任选地取代;或

[0055] 杂芳基或杂芳基烷基,各自可任选地取代;

[0056] 其中R¹和R²可以结合以形成一种3-8元环;并且

[0057] 其中R¹和R²中的一个并且仅有一个可以是H或可以是烷基、芳烷基或杂芳基烷基,各自可任选地取代;

[0058] 各个R⁵独立地是H或是烷基、烯芳基、炔芳基、芳基、芳烷基、杂芳基或杂芳基烷基,各自可任选地取代;

[0059] D是一种通过O、S、或N偶联的药物的或前药的残基;

[0060] Y是不存在的并且X是O或S;或

[0061] Y是NBCH₂并且X是O;

[0062] 其中B是烷基、芳基、芳烷基、杂芳基或杂芳基烷基,各自可任选地取代;并且

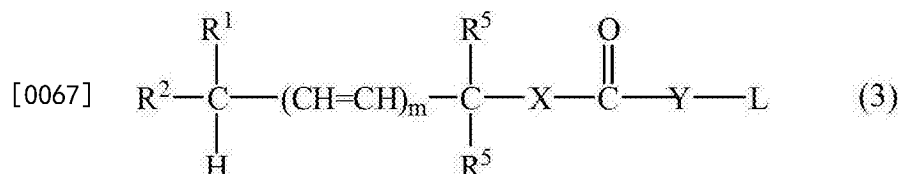
[0063] 其中所述的偶联是通过R¹、R²、R⁵或B中的一种。

[0064] 所述固体支撑物还可以包括多种惰性的保护性聚合物,例如PEG。该固体支撑物可以是,例如,一种支架、一种水凝胶、一种导管、一种伤口敷料、一种植入物、一种石膏、一种

矫形外科装置、或一种牙科假体。

[0065] 在其他方面,本发明是针对制备本发明组合物的方法,以及在医学/兽医/生理学的步骤中使用它们的方法。它还包括在式(1)和(2)的合成中的中间体。

[0066] 因此,本发明进一步包括与式(1)或(2)相同的“前体”分子,在这些式中, R^1 、 R^2 、 R^5 或B中的一个与固体支撑物相偶联,除了一种药物或前药的替代外还存在一种离去基团。因此该固体支撑物具有式(3)的取代基

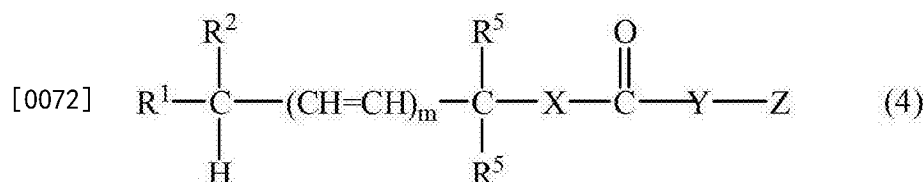


[0068] 其中 R^1 、 R^2 、 R^5 、X、Y以及m如在式(1)或(2)中所定义;并且

[0069] 其中L是一种用于将药物或前药偶联至该分子的剩余部分上的一种离去基团。

[0070] 在另一个方面,本发明提供了一种药物-固体支撑物共轭物,其中该药物是通过一个接头连接到该固体支撑物上的,该药物分子通过O、S或N附接到接头上,并且其中该药物在生理条件下通过 β -消除反应从共轭物释放。

[0071] 在又另一个方面,本发明提供了具有式(4)的化合物:



[0073] 其中Z是D或L; R^1 、 R^2 、m、 R^5 、X、Y、D、以及L如以上所定义,但是并非偶联至固体支撑物上, R^1 、 R^2 、 R^5 以及B基团包括允许偶联至固体支撑物上的一种官能团。

[0074] 附图简要说明

[0075] 图1示出了药物或前药经 β -消除释放的总体性质。

[0076] 图2是一个曲线图,它示出了如实例1所述的通过一种模型系统的研究对于从取代的 β -消除化合物中释放标记物的自由能对半衰期的关系。

[0077] 图3是一个曲线图,它示出了如实例2所述的在哈密特 σ (Hammett)值和经 β -消除释放标记物的速率之间的自由能相关性。

[0078] 图4示出了实例33的结果,作为与在37°C、pH 8.4下释放速率的比较。开放的正方形:4-氯苯基磺酰基类似物($k=0.040/h$; $t_{1/2}=17h$);实心菱形:苯磺酰基类似物($k=0.027/h$; $t_{1/2}=26h$);开放的菱形:对照,非可释放的接头(未观察到释放; $k<0.00001/h$; $t_{1/2}>6900h$)。

[0079] 图5示出了具有一种与一系列PEG-共轭的接头(其中R1是可任选地取代的苯基SO₂,R2是H)上的触发基相关联的哈密特常数的功能的药物(且该药物是荧光黄素)在体内和在体外释放速率的比较。依照理论,从接头 β -消除的速率是依赖于苯基取代基,该苯基取代基具有产生更快速率的吸电子的取代基(正 σ :CF₃、Cl)以及产生更慢速率的供电子的取代基(负 σ :Me、OMe)。在体外和在体内(在大鼠中测量)都观察到速率相关性。

[0080] 发明的详细说明

[0081] 固体支撑物的性质

[0082] 存在许多情况,其中提供一种在一个限定位置在原位有预定速率的药物是所希望

的。从最普遍意义上讲,提供了如此一种药物(或前药)的控制释放的固体支撑物可以称之为“植入物”或一种“局部洒施机”(“topical applicator”)。此类植入物和局部洒施机可以采取许多方式,包括血管移植物以及神经探针

[0083] 例如,提供机械目的以及药物分配目的的一种“植入物”的最普遍的例子之一是一种肌内支架。此类支架可以是金属或聚合物的,并且在许多例子中被设计来释放已经非共价地被包入一种聚合物包衣的药物。可以包括有益于预防再狭窄的抗增殖剂连同促凝血素抑制剂、血管紧张素转化酶抑制剂、以及前列腺环素模拟物。根据本发明,此类药物可以使用本发明的接头以及方法非共价地与或聚合物的或金属的支架相偶联。

[0084] 其他固体支撑物含有水凝胶,包含在滴眼剂和滴耳剂中普遍使用的胶原水凝胶。这些也可以使用本发明的方法和组合物连接到适合的眼科以及耳科试剂上。抗-青光眼药物连同,例如,设计来治疗黄斑变性的药物可以因此偶联

[0085] 另一种普遍使用的固体支撑物的医疗装置是一种导管。典型地,导管,尤其是那些设计持续长的停留时间的导管,可以偶联至用于治疗的适当的药物上,但也可以偶联至预防感染的抗生素上。

[0086] 水凝胶还可以用作植入物以支持干细胞治疗,并且通过本发明的将生长因子连接至水凝胶基质的方法将生长因子释放于此类干细胞是本发明的一个方面。

[0087] 该支撑物还可以包括聚乳酸-乙醇酸(PLGA)聚合物。PLGA是一种在多种生物学装置生产中的普遍选择,这些生物学装置是诸如移植物、缝合线、植入物、假肢器官、以及纳米颗粒。游离的羧酸酯基团可以被衍生化。

[0088] 同样普遍的是旨在为类风湿性关节炎患者直接提供抗-关节炎的药物到关节处的植入物。

[0089] 典型的应用包括外科的敷料和石膏,在那里药物释放到外部,并且可以被设计用来治疗表面创伤或用来经皮进入身体。

[0090] 又一些其他类型固体支撑物包括可以有益地偶联至骨生长因子(例如骨形态发生因子)的矫形外科装置、以及可以设计来供给适合的抗生素以及生长因子的牙科基质。

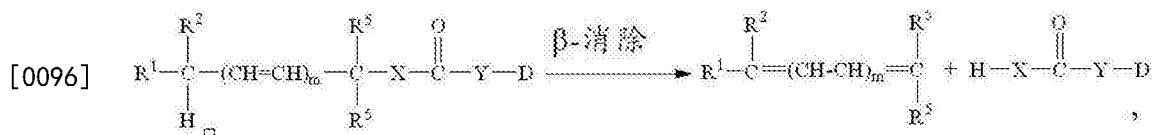
[0091] 因此,通过“固体支撑物”意为任何独立地以一种固体(虽然其表面可能不是平滑或坚硬的,并且该固体可以是柔性的)存在的材料。因此,包含了水凝胶连同外科敷料、绷带、物理物体、等等。

[0092] 药物共轭物的性质

[0093] 具有式(1)或(2)的药物共轭物被设计来控制药物的或前药的药物代谢动力学,当偶联至该分子的剩余部分时药物的或前药的残基特指为“D”。由此药物或前药释放的机理如图1所示。释放的速率是根据依赖于pH的 β -消除机理来控制的。选择基团 R^1 和 R^2 以提供将质子插入到 R^1-CH-R^2 中所需的酸度,并且因此,提供将质子插入到 R^1-CH-R^2 中所需的反应性,将质子插入到 R^1-CH-R^2 中可以提供对药物或前药释放速率的控制。 R^1 和 R^2 的特性可以经供电子或吸电子取代基(例如,在包含于其中的芳基部分)的任选添加来调整。

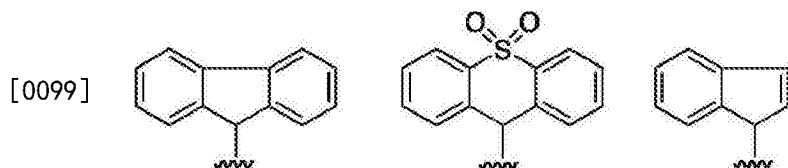
[0094] 换言之,或 R^1 或 R^2 ,或者 R^1 和 R^2 的组合,可以表现为图1所示的“触发基”。“触发基”的性质控制了将质子插入 R^1-CH-R^2 中的酸度,当释放时允许如此被解放的(freed)电子对进行图1所示的对于其中Y不存在的化合物的 β -消除;当Y是 $NBCH_2$ 时反应的第一步与以下提出的是相同的。

[0095] 因此以下示出了β-消除释放机理，



[0097] 该方案是在生物系统中的那些典型的条件下发生，例如pH值在6和8之间，并且温度在25°C和40°C之间，速率使得反应的半衰期是在1和10,000小时之间、或在1和5,000小时之间、或在1和1,000小时之间、或在1和100小时之间、或在1和10小时之间。产物酸是典型地非常不稳定的，并进一步分解以依赖于X和Y的性质释放CO₂或COS、或CO₂、B-NH₂、以及H₂C=O、连同Z-H。

[0098] R¹和/或R²基团激活相邻的C-H键的程度可以通过所得的C-H键的酸度来表示；这种酸度可以进而表示为C-H键的pK_a值，其中较低的pK_a表示更酸性的、更易离子化的C-H键。各种基团的合适pK_a值的清单是本领域中常见的，例如见于Bordwell, F.G., "Equilibrium acidities in dimethyl sulfoxide solution," Accounts of Chemical Research [化学研究述评] (2002) 21:456-463中(通过引用结合在此)。适当地活化基团的例子包括但不限于任选取代的芳基、任选取代的杂芳基、任选取代的烯烃基、任选取代的炔、砜、亚砜、腈、酮、酯、酰胺和硝基的基团。当R¹和/或R²基团连接以形成一个3-8元环时，该环可以形成更大的环状结构的一部分(被任选地取代)，例如



[0100] 及其取代的形式。

[0101] R¹和/或R²基团上的取代基可任选地被添加，以提供对相邻的C-H的酸度以及从而β-消除反应的速率的进一步的控制。总体上，吸电子的取代基会增加β-消除反应的速率，而供电子的取代基会降低β-消除反应的速率。不同取代基的电子效应在本领域中是众所周知的，并且可以被表示为例如线性自由能(哈密特)关系。对于芳族体系，例如取代的芳基、杂芳基、芳基酮、杂芳基酮、芳基砜、杂芳基砜、芳基亚砜和杂芳基亚砜基团，取代基的电子效应由哈密特σ参数描述，其中正σ值表示吸电子基(相对于相邻的C-H的速率加速)的效应，并且负σ值表示供电子基(相对于该C-H的速率减缓)的效应。表1提供了对于不同的取代基的哈密特σ常数的列表。

[0102] 通过举例的方式，其中芳基环R¹被“供电子的基团”取代，该取代基将导致相邻的芳型的C-H键的酸度减小。合适的供电子的取代基的例子包括但不限于烷基、烷氧基、烷硫基、甲硅烷氨基、烷氨基和二烷氨基。用一个或多个“吸电子的基团”取代芳基环导致相邻的芳型的质子的酸度增加。合适的吸电子的取代基的例子包括但不限于卤素、二氟甲基、三氟甲基、硝基、苯基、烯基、氰基、C(=O)-R，其中R是H、烷基、烷氧基、或氨基、或SOR或SO₂R，其中R是烷基、芳基或杂芳基。非氢的供电子或吸电子的取代基可以是存在于它们结合到其上的环上的多个位置。尽管，为了方便起见，在大多数例子中仅示出了在一个单环上非氢取代基单个取代基的发生，但也可以存在多个取代基，并且是在本发明的范围之内。这些取代基可以是相同的或不同的。

[0103] 以上是过于简化的情况,因为在某些情况下,取代基是吸电子还是供电子取决于它在芳香环中的位置。这反映在下面的线性自由能(哈米特)关系的表中,其中正的 σ 值表示吸电子的效应,并且负的 σ 值表示供电子的效应。如表中所示,例如,OMe存在于苯环的间位时是吸电子的,但在对(或邻)位时是供电子的。

[0104] 表1: 芳族取代基的选择的哈米特 σ 常数

[0105]

取代基	σ (间位)	σ (对位)	取代基	σ (间位)	σ (对位)
H	0	0	F	+ 0.34	+ 0.06
CH ₃	- 0.07	- 0.17	Cl	+ 0.37	+ 0.23
CH ₃ CH ₂	- 0.07	- 0.15	Br	+ 0.39	+ 0.23
Me ₂ CH	- 0.05	- 0.15	I	+ 0.35	+ 0.18
Me ₃ C	- 0.1	- 0.2	SH	+ 0.25	+ 0.15
Me ₃ Si	- 0.04	- 0.07	MeS	+ 0.15	0
NH ₂	- 0.16	- 0.66	ClCH ₂	+ 0.11	+ 0.12
Me ₂ N	- 0.15	- 0.83	CF ₃	+ 0.43	+ 0.54
OH	+ 0.12	- 0.37	CN	+ 0.56	+ 0.66
OMe	+ 0.12	- 0.27	CHO	+ 0.35	+ 0.42
OCH ₂ CH ₃	+ 0.10	- 0.24	CH ₃ C=O	+ 0.38	+ 0.50
AcNH	+ 0.07	- 0.15	CO ₂ H	+ 0.37	+ 0.45
Ph	+ 0.06	- 0.01	NO	+ 0.62	+ 0.91
CH ₂ =CH	+ 0.05	- 0.02	NO ₂	+ 0.71	+ 0.78
HC(=O)NH	+0.19	0	Me ₃ N ⁺	+0.88	+0.82

[0106] 其余的取代基R⁵、m、以及B对 β -消除的速率有更小的效应,但B的性质特别影响竞争性的显著地不依赖于pH的E1消除反应(当Y是NBCH₂时)的速率。B基团的性质影响N-亚甲基-氨基甲酸酯针对经由E1消除而分解的稳定性。例如通过延长的共轭和/或吸电子的能力来降低氨基甲酸酯N孤电子对的反应性的B基团降低了这种竞争性E1-消除途径的速率。

[0107] 固体支撑物可以通过额外的“连接物”偶联至式(1)或(2)。额外的连接物是双官能团有机化合物。许多这样的连接物是例如从皮尔斯化学公司(Pierce Chemical Co),罗克福德(Rockford),伊利诺斯州可商购的。不同双官能团连接物本领域中是众所周知的,包括二羧酸或酸酐、二胺或异双官能团连接物。异双官能团连接物的例子包括例如具有琥珀酰亚胺基酯(“NHS”)和炔或环炔(例如,DBC0-NHS)、马来酰亚胺和NHS、或类似的分子的异双官能团连接物。该连接物的选择当然将取决于在大分子的取代基上的官能团的性质、药物以及取决于与式(1)-(4)对应的中间体。

[0108] 术语“烷基”包括1-8个碳原子的直链的、支链的或环状的饱和烃基,或者在一些实施方案中是1-6或1-4个碳原子。

[0109] 术语“烷氧基”包括与氧键合的烷基基团,包括甲氧基、乙氧基、异丙氧基、环丙氧基、环丁氧基和类似物。

[0110] 术语“烯基”包括带有碳-碳双键的非芳族不饱和烃。术语“烯基(C₂)”的意思是指单-、二-、三-或四-取代的任何几何构型的碳-碳双键。

[0111] 术语“炔基”包括带有碳-碳三键的非芳族不饱和烃。术语“炔基(C₂)”的意思是指单-或二-取代的碳碳三键。

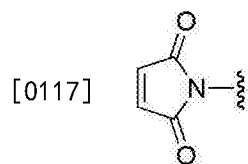
[0112] 术语“芳基”包括6-18个碳原子优选为6-10个碳原子的芳族烃基,包括诸如苯基、萘基和蒽基的基团。术语“杂芳基”包括芳族环,该芳族环含有3-15个碳原子,含有至少一个N、O或S原子;优选为3-7个碳原子,含有至少一个N、O或S原子;包括基团诸如吡咯基、吡啶基、嘧啶基、咪唑基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、异噻唑基、喹啉基、吲哚基、茛基和类似物。

[0113] 在某些情况下,烯基、炔基、芳基或杂芳基部分可以通过烯烃键被偶联至该分子的其余部分上。在那些情况下,取代基将被称为烯基烷基、炔基烷基、芳烷基或杂芳烷基,这表明在烯基、炔基、芳基或杂芳基部分和烯基、炔基、芳基或杂芳基偶联的分子之间存在亚烷基部分。

[0114] 术语“卤素”包括溴、氟、氯和碘。

[0115] 术语“杂环”是指含有3-7个碳原子和至少一个N、O或S原子的4-8元芳族或非芳族环。例子包括哌啶基、哌嗪基、四氢吡喃基、吡咯烷、和四氢呋喃基、以及上述为术语“杂芳基”提供的示例性基团。

[0116] “马来酰亚胺基”是指式



[0118] “离核体”是一种离去基团,该离去基团带有与其一起的电子对,该离去基团通过该电子对而键合。示例性离核体为卤素、OH、烷氧基、羟基琥珀酰亚胺基、芳基砜、烷基磺酸酯、或R₂S⁺,其中每个R独立地是烷基、芳基、或杂芳基。

[0119] 术语“蛋白质”和“肽”可互换使用而与链长无关,并且这些术语进一步包括假肽,假肽包括除酰胺键以外的键合,诸如CH₂NH₂键以及模拟肽的键。

[0120] 术语“核酸”和“寡核苷酸”也可以互换使用而与链长无关。核酸或寡核苷酸可以是单链或双链,或者可以是DNA、RNA、或其带有改变的键合的其变形,例如磷酸二酯、氨基磷酸酯和类似物。对于在本发明中用作药物的蛋白质和核酸二者,这些术语还包括在蛋白质的情况下带有非天然的侧链的蛋白质、以及在核酸以及主链变体(backbone variants)(诸如肽核酸)的情况下带有非天然的假肽键和碱基的核酸。

[0121] 药物背景中的术语“小分子”是在本领域中得到充分理解的术语,并且意思是指包括除蛋白质和核酸以外的化合物,该化合物在性质上或合成或分离,并且总体上不类似于蛋白质或核酸。典型地,它们具有小于1,000的分子量,虽然没有确认的具体的截断值(cutoff)。然而,该术语在药理学和医学领域得到了充分的理解。

[0122] 多种多样的药物可以被包含作为实施方案D。这些药物的每一种将通过氮、氧或硫偶联至分子的剩余部分。因此,适合的药物将是那些具有羟基、硫醇、或游离NH以允许用于与接头的偶联的药物。值得注意地,多于50%的经批准的小分子药物具有脂肪族的羟基或硫醇基或酚羟基,并且多于40%的包含伯胺或仲胺、磺酰胺、酰胺、酰亚胺、或杂环NH(例如吡咯或吡啶)。因此,根据本发明大多数批准的药物应易于进行共轭。具体地,本发明考虑通过伯醇或仲醇、苯酚、杂芳基-OH、硫醇、苯硫酚或杂芳基-SH,或者一种“非碱性N”来共轭药物部分。术语“非碱性N”指的是在一种游离药物分子DH中的NH基团的一部分的氮,其中该NH其特征为具有小于或等于大约20的pKa。在某些实施方案中,该非碱性N是伯酰胺或仲酰胺、伯磺酰胺或仲磺酰胺、酰亚胺、或杂芳基NH(例如其存在于吡咯、嘧啶、吡啶、或嘌呤中)中的一员(统称为“非碱性N”基团)。

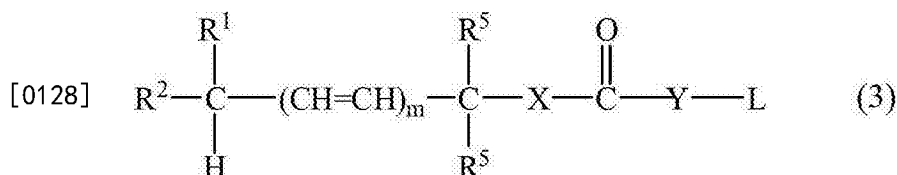
[0123] 合适的药物的例子包括人用或兽用的药物,包括但不限于:抗糖尿病药物;生长促进剂;抗菌剂,包括氨基糖苷类、青霉素类、头孢菌素类、大环内酯类和多肽类、甲氧苄啶、吡咯甲酸和磺胺二甲嘧啶;镇痛和抗炎药、抗过敏和止喘的药物、降低胆固醇的药物, β -肾上腺素能受体阻断剂和抗高血压药物、抗肿瘤药物和抗病毒药物。

[0124] 这类药物的进一步的例子包括诸如紫杉醇和类似物的醇,埃博霉素和类似物,喜树碱和类似物,诸如伊立替康(irinotecan),以及核苷,诸如5-氟尿嘧啶和卡培他滨的。在另一实施方案中,该药物是含有丝氨酸残基的肽。在另一个实施方案中,该药物是包含芳基基团的小分子;这类药物的例子包括SN-38、依替福林(etilefrine)、普瑞特罗(prenalterol)和雌二醇。在另一实施方案中,该药物是包含酪氨酸残基的肽。如果是通过S偶联,则该药物可以是含有硫醇的小分子。这类药物的例子包括青霉胺、卡托普利和依那普利。该药物可以是包含硫代芳基或硫杂芳基团的小分子;这类药物的例子包括6-巯基嘌呤。如果是通过非碱性N偶联,则该药物可以是小分子或含有伯或仲酰胺(例如焦谷氨酸酯残基或其他酰胺)或磺酰胺的肽或诸如吡啶(例如,色氨酸)或嘌呤的杂芳基。例子包括促甲状腺素释放激素、蛙皮素、促黄体生成激素释放激素、卵泡刺激激素释放激素、奥曲肽、5-氟尿嘧啶和别嘌呤醇。

[0125] 其他药物是肽、蛋白质、以及核酸药物。本发明中适合使用的肽药物的实例包括,例如,高血糖素样肽1(GLP-1)、心钠素(ANF)、以及许多其他实例。蛋白质药物的实例包括免疫毒素SS1P、酶(例如腺苷脱氨酶、精氨酸酶)、以及其他(例如生长因子、抗体以及细胞因子)。

[0126] 基于核酸的药物实例包括动物并且特别是来自哺乳动物的任何基因的正义链以及反义链。此类基因可以是已以治疗多种疾病为目的提供的反义DNAs或RNAs,或者小干扰RNAs的受试者(subject)的那些基因,例如蛋白激酶C- α 、BCL-2、ICAM-1、肿瘤坏死因子 α 等等。附加实例包括对于核酸的病毒递送剂。

[0127] 术语“前体”指的是一种类似于式(1)或式(2)的衍生固体支撑物,但是其中并不是连接至药物或前药,该连接化合物偶联至一种离核体以进一步地结合至一种如式(3)中的药物或前药。

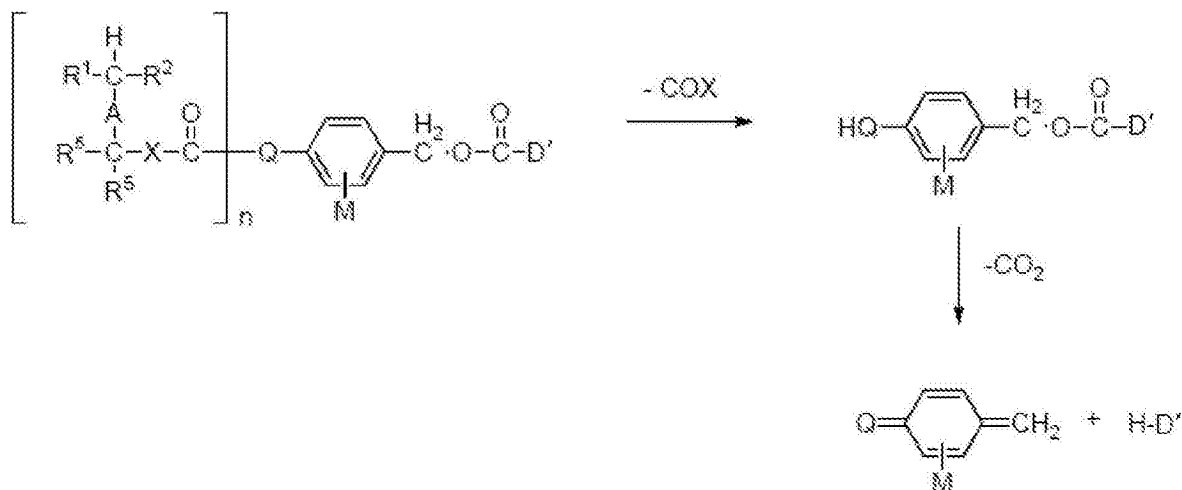


[0129] 其中 R^1 、 R^2 、 R^5 、 X 、 Y 以及 m 如在式(1)或式(2)中进行定义；并且

[0130] 其中 L 是一种离核体。

[0131] 虽然典型地,药物的活性形式是从本发明的共轭物直接释放的,但在某些情况下,有可能是以其前药的形式释放活性药物。这类系统的实例如下所示:

[0132]



[0133] 其中 A 是 $(\text{C}=\text{C})_m$ 、 $\text{Q}=\text{O}$ 或 NH 的 D' 是游离药物；并且

[0134] M 是 H 或至少一个适合的芳基取代基。

[0135] 为了避免误解,本文所述的“药物共轭物”包括药物和前药二者的共轭物。

[0136] 示例性取代基

[0137] 因为基团 R^1 、 R^2 、 R^5 、 X 、以及 Y 是由式(1)-(3)的化合物以及在它们制备中的任何中间体所共用的,所以在下面提出的替代方式中展示的这些与式(1)或(2)相联系的基团的各种实施方案可以外推至前体以及到其上的中间体。在任一基团可以本身被任选取代时,在任何的环体系上的取代可以是烷基、烯基、炔基或一个附加环,每一个均被任选地取代。包括上述的在内的任一基团上的任选取代基包括卤素、硝基、氰基、 OR 、 SR 、 NR_2 、 OCOR 、 NRCOR 、 COOR 、 CONR_2 、 SOR 、 SO_2R 、 SONR_2 、 SO_2NR_2 ,其中每一个 R 独立地是烷基、烯基、炔基、芳基或杂芳基、或两个 R 基团与其所附接的原子一起形成一个环。

[0138] 本发明的化合物含有通过 R^1 、 R^2 、 R^5 、和 B (式(1)、(2)、和(3))中的一个与固体支撑物的一个键合,或者 R^1 、 R^2 、 R^5 、和 B 中的一个包含允许连接到固体支撑物(式(4))上的官能团。允许连接到固体支撑物上的合适的官能团包括氨基、叠氨基、羟基、羧酸基、炔基、硫醇、马来酰亚胺基、呋喃基、环戊二烯基、1,3-二烯基或1,3-二羰基的基团或其受保护的变体。含有反应性官能团的取代基包括被反应性化学部分取代的烷基、芳基、芳烷基、杂芳基、杂烷基或杂芳烷基。因此, R^1 、 R^2 、 R^5 和 B 基团中的至少一个包含固体支撑物或包含一个或多个氨基、叠氨基、羟基、羧酸基、炔基、硫醇、马来酰亚胺基、呋喃基、环戊二烯基、1,3-二烯基、或1,3-二羰基的基团、或其受保护的变体。在某些实施方案中, R^1 偶联至一个固体支撑物上,或包含允许连接到固体支撑物上的一个官能团。在某些实施方案中, R^5 偶联至一个固体

支撑物上,或包含允许连接到固体支撑物上的一个官能团。

[0139] 如上所述,在本发明的化合物中, R^1 和 R^2 一起施加对药物的释放速率的最大控制,但 R^5 和 m 也具有一些影响。在某些情况下, R^1 和 R^2 中的一个为氢或者是烷基、芳烷基或杂芳烷基,并且另一个包括如上提出的其余实施方案之一。在其他情况下, R^1 和 R^2 均不为氢或烷基、芳烷基或杂芳烷基。

[0140] 例如, R^1 可以是H并且 R^2 可以是任选取代的苯基,或者 R^1 和 R^2 二者都可以是任选取代的苯基。在苯基环上的取代可以是在1-5处的位置,但优选为3或更小。如果 R^1 和 R^2 二者是任选取代的苯基,它们就不需要被相同地取代,或者可以被相同地取代。合适的取代基包括烷氧基、卤素、硝基、氰基和类似物,例如如上述表1所给出。

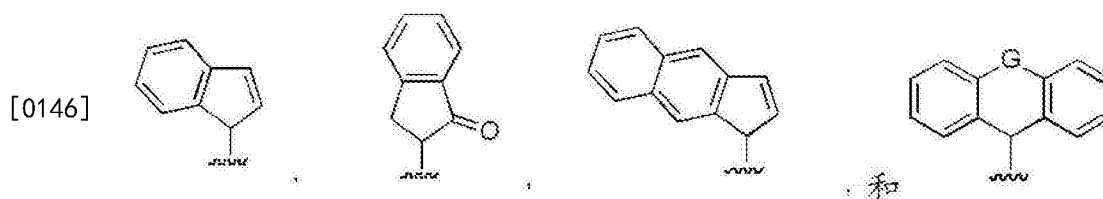
[0141] 在其他实施方案中, R^1 和 R^2 中的一者或二者是 R^6S- 、 $R^6S(O)-$ 或 $R^6S(O)_2-$,其中 R^6 是烷基、取代的烷基、二烷基氨基、烷基芳氨基、二芳基氨基、N-连接的杂环、芳基、取代的芳基、杂芳基或取代的杂芳基。 R^1 和 R^2 的其余成员则可以是例如H,或上文提出的任一替代实施方案。在具体实施方案中, R^1 和 R^2 中的一个为 $R^6S(O)_2-$,其中 R^6 是甲基、吗啉基、未取代的苯基、或用一个或多个卤素、甲基、甲氧基或三氟甲基的基团取代的苯基,并且 R^1 和 R^2 中的另一个是H。在进一步的实施方案中, R^1 和 R^2 中的一个为苯磺酰基、4-(三氟甲基)苯磺酰基、4-氯苯磺酰基、4-甲基苯磺酰基、4-甲氧基苯磺酰基、2,4-二甲磺基、2,4,6-三甲基苯磺酰基、吗啉代磺酰基或甲磺酰基,并且 R^1 和 R^2 中的另一个是H。

[0142] 在其他的情况下, R^1 和 R^2 中的一者或二者可以是氰基,并且另一个任选地选自H或如上文提出的允许的取代基,特别是在一个或多个位置任选地用例如卤素、CN、NO₂、甲氧基和类似物取代的苯基。

[0143] 在另一组的情况下, R^1 和 R^2 中的一者或二者是任选取代的苯甲酰基,并且另一个是氢或任何其他合适的选择,如任选取代的苯基。在进一步的实施方案中, R^1 和 R^2 中的一个为氨基羰基,例如N,N-二烷基氨基羰基或吗啉代羰基,而另一个是H。

[0144] 在另外的实施方案中, R^1 和 R^2 中的一个为上文所述的具体实施方案中的任何一个,进一步包含一种到固体支撑物的连接,(或允许连接到固体支撑物上的一个官能团,如式(4)中)并且 R^1 和 R^2 中的另一个是H。

[0145] 当 R^1 和 R^2 连接形成环状结构时,这包括多个基团,在这些基团中 R^1-CH-R^2 部分形成一个子结构,诸如



[0147] 以及其任选地由如上所述的吸电子和/或供电子的基团取代的形式,其中G是一个键(例如,9-苄基),C=O、SO、SO₂、CG₂或CG₂CG₂,其中每一个G独立地为H或Cl。此类环状结构可以进一步包括一种对固体支撑物(或一种允许连接至固体支撑物的如在化学式(4)中的官能团)的连接。

[0148] 在进一步的实施方案中, R^1 和 R^2 与它们附接到其上CH一起形成未取代的苄基或进一步包含一种到固体支撑物上的连接的苄基。在某些实施方案中, R^1 和 R^2 与它们附接到其上的CH一起形成苄基或用烷基叠氮化物特别是(叠氮基-N-甲基(CH₂)₃₋₆烷基-酰氨基)甲基取

代的苄基。

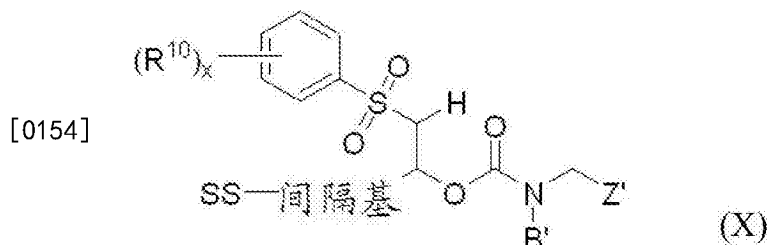
[0149] 每一个 R^5 独立地是H,或是烷基、烯基烷基、炔基烷基、芳基、芳烷基、杂芳基或杂芳烷基,每一个均任选地被取代。在某些实施方案中,每一个 R^5 为H。在其他实施方案中, R^5 中的一个H,而另一个是被取代的烷基或取代的苯基。在其他实施方案中, R^5 中的一个H,另一个包含叠氮烷基。在其他实施方案中, R^5 中的一个H,而另一个是叠氮基- $(CH_2)_{3-6}$ 烷基、单烷基氨基- $(CH_2)_{3-6}$ 烷基、 $N_3(CH_2)_{3-6}N(Me)CO(CH_2)_{3-6}$ 或- $(CH_2)_{3-6}-CO_2H$,或其受保护的变体。在另外的实施方案中, R^5 中的一个H是上述的具体实施方案中的任何一个,进一步包含固体支撑物或允许连接到固体支撑物上的一个官能基团,而另一个 R^5 是H。在某些实施方案中, R^5 的一个H并且另一个是苯基- $NHC(O)R^y$,其中 R^y 是叠氮基- $(CH_2)_5$ -、 $HCC-(CH_2)_3$ -、或(马来酰亚胺)- CH_2CH_2 -

[0150] 在本发明的优选实施方案中,B是任选地取代的芳基或任选地取代的杂芳基。在本发明的一个实施方案中,B是芳基或杂芳基,每一个被具有正的哈密特 σ 常数(表1)的至少一个基团取代。在本发明的一个具体实施方案中,B是苯基或以烷氧羰基、甲酰氨基、亚磺酰氨基、 CN 、 NO_2 或 Br 取代的苯基。在进一步的实施方案中,B是未取代的苯基。在更进一步的实施方案中,B是未取代的苯基或以二乙基氨基羰基、吗啉代羰基或吗啉代磺酰基取代的苯基。在更进一步的实施方案中,B是苯基、炔丙基、4-溴苯基、4-乙氧基羰基苯基、丙基、4-(N,N -二乙基甲酰氨基)苯基、4-吗啉代羰基苯基或4-吗啉代磺酰基苯基。在更进一步的实施方案中,B是苯基、4-(N,N -二乙基甲酰氨基)苯基、4-吗啉代羰基苯基或4-吗啉代磺酰基苯基。在另外的实施方案中,B是上述具体实施方案中的任何一个,进一步包含一种固体支撑物或一种允许连接到固体支撑物上的官能团。

[0151] 在某些实施方案中, m 为0。

[0152] 在其他实施方案中, X 是0。在其他实施方案中, Y 是 $NBCH_2$ 。

[0153] 在其他实施方案中,本发明考虑了式(X)的化合物:



[0155] 其中

[0156] x 是0、1、2、或3;

[0157] 每一个 R^{10} 独立地是甲基、三氟甲基、甲氧基或卤素;

[0158] B' 是苯基,任选以烷氧基羰基、甲酰氨基、亚磺酰氨基、 CN 、 NO_2 或卤素取代;

[0159] Z' 是通过O、S、或N偶联的一种药物或前药的残基,或者是允许这种偶联的一种离核体;

[0160] 间隔基是包含烷基、杂烷基、芳基或芳烷基基团(每一个任选被取代的)的接头;并且

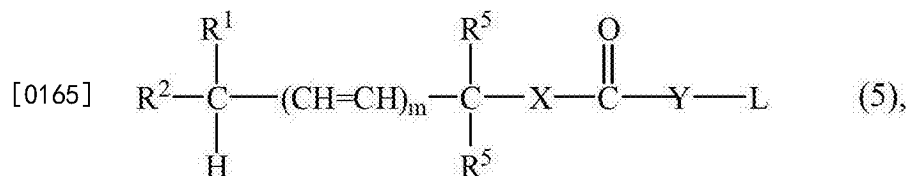
[0161] SS 是一种固体支撑物或一种允许连接到固体支撑物的官能团。

[0162] 在另一个实施方案中,本发明考虑式(2)的固体支撑物,其中 m 是0; R^1 是苯磺酰基、取代的苯磺酰基、甲磺酰基、 $(R^9)_2N-SO_2$ (其中 R^9 如式(2)所定义)、或 CN ; R^2 是H;一个 R^5 是可任

选取代的烷基并且另一个R⁵是H;并且B是苯基或取代的苯基;其中R¹、R⁵、以及B中的一个进一步地包括一种对该固体支撑物的连接。

[0163] 式1或2的化合物的合成

[0164] 式(1)或(2)的化合物衍生自前体和中间体,在衍生的最后一步添加或药物/前药或固体支撑物。因此,在一个途径中,一种化合物具有化学式



[0166] 其中R¹、R²、R⁵或B(如果存在)还没有偶联至固体支撑物上,该化合物可以用作一种中间体。可以首先将或药物/前药或固体支撑物偶联。如果首先偶联固体支撑物,形成新的式(3)化合物,其中固体支撑物偶联至R¹、R²、R⁵或B(如果存在)的一个上。可替代地,可以首先形成一种包含药物/前药的中间体并且接着偶联至固体支撑物上(例如式(4))。

[0167] 因此,合成的一个步骤是将分子的其余部分偶联至固体支撑物;因此,合成了以下中间体,它们包含允许如此偶联的在适当的R¹、R²、R⁵或B取代基中的官能团。

[0168] 用于将中间体或前体共轭至固体支撑物上的方法在本领域中通常是已知的。在一个方法中,在氨基基团和羧酸基团之间形成一个酰胺键;因此,包含氨基基团的前体或中间体能够共轭至包含羧酸基的一种固体支撑物,或包含羧酸基团的前体能够共轭至包含氨基的一种固体支撑物。

[0169] 例如,首先将一种钛表面用一种硅氧烷试剂(例如(3-氨基丙基)三乙氧基硅烷(APTES))改性,并且所得的胺包覆的表面在一种偶联试剂(例如碳二亚胺、磷、或铀试剂)的存在下与包含一种羧酸酯基团的接头发生反应,以形成至表面的甲酰胺键。(Xiao, 等人, Langmuir[朗缪尔](1998)14:5507-5516.)

[0170] 可替代地,可以首先将该表面用一种异双功能的连结物处理,然后与包括一种互补官能团的接头发生反应。在一个实例中,在类似条件下使胺包覆的表面与一种炔酸(例如5-己炔酸)发生反应以产生一种炔包覆的表面。然后在Cu(I)的催化下将炔包覆的表面偶联至一种叠氮基-接头-药物上以通过1,2,3-三唑偶联该接头-肽。类似地,使氨基包覆的表面与一种含环辛炔的羧酸发生反应以产生一种环辛炔包覆的表面,在游离铜的条件下这种环辛炔包覆的表面通过1,2,3-三唑偶联至一种叠氮基-接头-药物上。

[0171] 在另一个替代方案中,使胺包覆的表面与包含一种在一端为羟基琥珀酰亚胺基酯或碳酸酯并且另一端为马来酰亚胺基团的异双功能的连结物(例如4-(马来酰亚胺)丁酰基琥珀酰亚胺)发生反应。这导致一种马来酰亚胺包覆的表面的形成,然后该表面偶联至一种硫醇-接头-药物上。

[0172] 其他用于钛表面改性的试剂在本领域中已知并且可以用于本发明中,例如单功能的氨基硅烷(Pegg, 等人., J. Biomed. Materials Res. Part A[生物医学材料研究A部分](2008)947-958页)。

[0173] 如以上所指出,胺包覆的表面的共轭也可以通过在缩合剂的存在下使前体和固体支撑物反应进行,该缩合剂是例如诸如二环己基碳二亚胺(DCC)或1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺(EDCI)的碳二亚胺、诸如六氟磷酸O-苯并三唑-N,N',N'-四甲基脲鎓

(HBTU)的脲鎓试剂、或诸如六氟磷酸苯并三唑-1-三(三甲氨基)-磷鎓(BOP)的种磷试剂。

[0174] 可替代地,羧酸基可以在之前的步骤被活化以用于共轭,例如通过使用亚硫酸氯或草酰氯转化成酰氯,或使用碳二亚胺和五氟苯酚转化成诸如五氟苯基酯的活性酯,或使用碳二亚胺和N-羟基琥珀酰亚胺转化成N-羟基琥珀酰亚胺酯,并且得到的活化的羧酸酯然后在第二步骤中与该胺反应。该胺和羧酸基团最初能以受保护的形式存在,并在共轭步骤前去除保护,如稳定性和/或与另外的化学转化的相容性的所要求的。胺基团可作为氨基甲酸酯而被保护,优选为叔丁氧基羰基(^tBOC)、烯丙氧羰基(Alloc)或在中性至酸性条件下可除去的其他的氨基甲酸酯基团。羧酸可以作为在中性至酸性条件下可除去的酯被保护,如叔丁基(^tBu)、三苯甲基(Ph₃C)、烯丙基(Allyl)或甲氧基甲基(MOM)。

[0175] 进一步地如以上所指出,在硫醇和马来酰亚胺基团之间形成了一个硫醚键;因此,含有硫醇基团的前体能够共轭至含有马来酰亚胺基团的固体支撑物上,或含有马来酰亚胺基团的前体能够共轭至含有硫醇的固体支撑物。硫醇最初能以受保护的形式存在,并在共轭步骤前去除保护,如稳定性和/或与另外的化学转化的相容性的所要求的。合适的保护基包括可以在中性至酸性条件下除去的那些,例如叔丁基硫醚(^tBu)或三苯甲基硫醚。

[0176] 还如以上所指出,在炔和叠氮基团之间形成了一个1,2,3-三唑键;因此,含有炔基的前体能够共轭至含有叠氮基团的固体支撑物上,或含有叠氮基团的前体能够共轭至含有炔基的固体支撑物上。共轭反应可以在金属催化下(典型地使用铜或钨)进行,或可以在不存在催化剂时使用一种活化的炔烃(诸如环辛炔)进行。

[0177] 在另一个方法中,在氨基和1,3-二羰基之间形成了一个烯胺-酮键;因此,含有氨基的前体能够共轭至含有1,3-二羰基基团的固体支撑物上,或含有1,3-二羰基基团的前体能够共轭至含有胺基的固体支撑物上。

[0178] 因此,在中间体(例如式(4)和(5))中的R¹、R²、R⁵、或B基团可独立包括任选地受保护的胺、任选地受保护的羧酸基、任选地受保护的硫醇、马来酰亚胺基、炔或叠氮基团的基团,以允许与固体支撑物共轭。一旦共轭,R¹、R²、R⁵、或B基团可独立地任选地被通过羧酸酰胺、硫醚、或1,2,3-三唑基团连接的固体支撑物取代。

[0179] 此外,为了增加在固体表面上的负荷,中间体(含药或不含药)可以通过一种多价载体(例如树枝状的或分支的载体)附连到该表面上。

[0180] 因此,除了以上列举出的键合方法之外,这样一些键合可以通过树枝状化合物或多价的大分子偶联至式(5)的化合物或药物共轭物上。此描述见在代理案卷号67057-20004.00之下的共同未决申请领域,通过引用结合在此。因此中间体或药物共轭物通过树枝状化合物偶联至固体支撑物上。

[0181] 在一个实例中,制备了一种树枝状化合物,它包括在树枝状化合物上的基团,该基团可以选择性地与一种适合的改性金属表面相偶联。这些选择性偶联的适合的基团包括的基团诸如叠氮化物、端炔、环炔、硫醇类、以及马来酰亚胺基团。

[0182] 例如,一种树枝状化合物可以从受保护的半胱氨酸-树脂开始通过固相合成制备。与双-Fmoc-赖氨酸的顺序的轮次(round)的偶联产生了一种树状结构。使用Fmoc-L-叠氮基正亮氨酸完成最终一轮次偶联。最后去除Fmoc,并且游离胺基与一种活化的作为其羟基丁二酰亚胺(NHS)酯的聚乙二醇发生反应。然后用Cu(I)催化将所得的聚乙二醇化的树枝状化合物偶联至一种炔-药物共轭物上,并且使用三氟乙酸将该PEG-树枝状化合物-药物共轭物

从树脂中分离。所得络合物包括一种在核心半胱氨酸上的游离硫醇,该核心半胱氨酸可以偶联至一种如上所述的制备的马来酰亚胺改性的表面上。可替代地,最终一轮次的偶联使用双-Fmoc-赖氨酸;Fmoc基团的去除、使用任意一种以上所述方法的树枝状化合物与接头-药物的偶联、以及从合成的树脂分离提供了一种可以偶联至一种马来酰亚胺改性表面上的非聚乙二醇化的树枝状化合物。

[0183] 在某些实施方案中在中间体上的官能团直接附连到在固体支撑物上的相兼容的官能团上。在其他实施方案中,在中间体上的官能团与连到固体支撑物的连接基团发生反应,该连接基团是例如附连到固体支撑物上的官能化的PEG部分或肽部分并且提供了另外的可以与在中间体分子上对应的官能团发生反应的官能团。与此类大分子相偶联的描述,例如,在代理案卷号67057-20002.00之下的共同未决申请领域,通过引用结合在此。

[0184] 例如,在支架上的羟基或其他用羟基化聚合物(例如(乙烯-共-乙烯醇)共聚物(EVAL))包覆的医疗装置可以例如通过与羰基二咪唑或三光气活化,并且然后将活化的中间体与包含胺官能团的中间体发生反应以提供在该中间体和该包覆的装置之间的聚氨酯键。

[0185] 本发明的中间体共轭至用其他官能化聚合物包覆的医疗装置,这些官能化聚合物例如羧基化聚合物或氨基聚合物,包括,例如,聚(乙烯胺)(PVA)、聚(聚乙烯亚胺)(PEI)、聚(N-甲基-乙烯亚胺)(PMEI)、以及聚(氨基-胺)(PAA),该共轭也可以考虑为与适合的官能化中间体发生的反应。

[0186] 可替代地,可以将一种用羟基化聚合物包覆的支架激活并且与一种连接部分(例如官能化的PEG)发生反应,以装配(install)一种可以与其他中间体相兼容的不同的官能团。例如,活化的羟基与氨基-PEG部分发生的反应提供了一种经聚氨酯键共轭至PEG的聚合物包覆的支架。PEG部分的游离羟基可以进一步地与,例如炔丙基卤化物发生反应,以装配一种可以经历与一种中间体分子上的叠氮化物交叉偶联的末端乙炔基团。可以考虑其他官能化的PEGs,包含诸如羧酸、胺、硫醇类、炔、等的基团,它们允许偶联至不同的官能化的中间体上。

[0187] 在其他实施方案中,中间体分子可以共轭至下列材料,例如外科纱布、外科手术缝合线(单丝、加捻纱或针织纱)、吸水垫、绷带、烧伤敷料以及以棉、纸、纺织或非纺织织物、海绵、等等为形式的牙洞填料,这些材料可以包含或者是含有诸如游离羟基或胺的官能团的天然聚合物(例如纤维素、黏胶纤维人造丝、纤维素乙酸酯、羧甲基纤维素、甲基纤维素、琼脂糖、葡聚糖、果胶、海藻酸、甲壳质、多糖类、以及蛋白质(例如羊毛、丝绸、胶原、明胶以及酪蛋白)),或者是羧酸。也可以使用多种多样的合成聚合物。

[0188] 例如,含羟基的聚合物材料,例如棉或纤维素,可以经与聚马来酸酐或类似试剂发生的反应活化以产生一种包含羧酸官能团的聚合物浸渍材料,在适当的偶联条件下这些羧酸官能团可以经历与含有胺的中间体形成酰胺键。

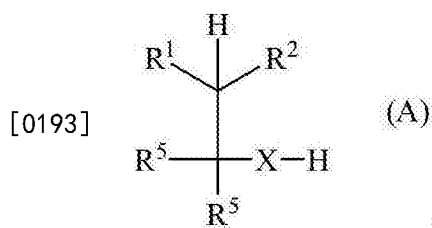
[0189] 可替代地,羟基化的材料可以用多种其他反应材料活化以装配不同的官能团。例如,用溴代乙酰基溴化物进行酰化产生了一种可以与包含胺、羟基、或硫醇的中间体发生反应的溴代乙缩醛基团。在其他实施方案中,该羟基化的材料可以与聚醛(例如戊二醛或乙二醛)发生反应,以引入可以经历与包含胺的中间体发生反应的甲酰基。

[0190] 在另外的实施方案中,这些中间体分子可以共轭至蛋白质材料上,例如可以任选

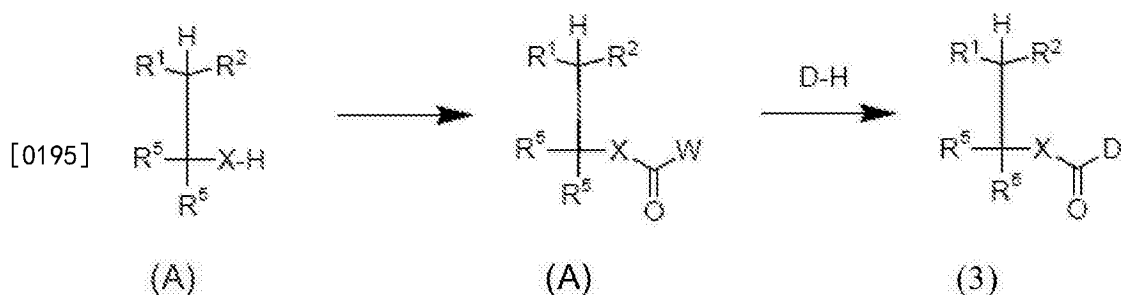
地以胶原水凝胶的形式存在的胶原,包括那些常常在滴眼剂和滴耳剂中使用的胶原水凝胶。例如,在标准条件下可以完成胶原的硫醇化。表面硫醇基团可以进一步地与例如是羰基二咪唑的活化剂发生反应,并且接着与一种含胺的中间体发生反应以得到一种硫代氨基甲酸酯连接的胶原药物共轭物。可替代地,这些硫醇基团可以用,例如,炔丙基卤化物烷基化,以产生可以与含叠氮化物的中间体发生反应的末端乙炔基团。偶联还可以通过胶原上的氨基基团的酰化进行。

[0191] 药物/前药的偶联

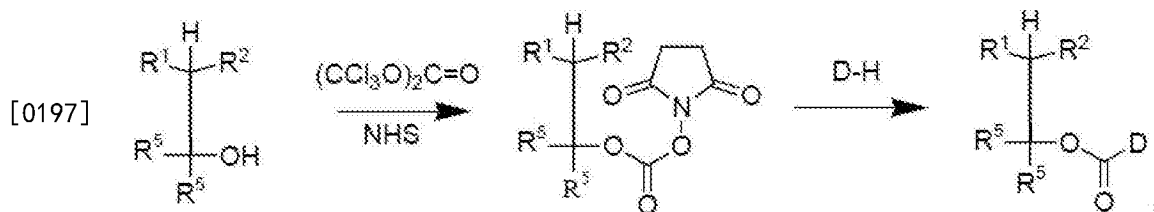
[0192] 对于Y是不存在的共轭物,药物的偶联如下所示。在式(A),



[0194] 或烯类似物中其中m是1(图未示出),它们与固体支撑物的偶联可以或不可以已经进行。因此,R¹、R²以及R⁵是如以上所定义的或可替代地,R¹、R²以及R⁵中的一个偶联至一种固体支撑物上。为了与一种药物或前药分子DH偶联,式(A)(或m=1类似物)的醇或硫醇被首先活化用于经与适合的试剂(例如碳酰氯或三光气)发生反应的缩合作用,该缩合作用任选地在N-羟基丁二酰亚胺;N,N'-二琥珀酰亚胺碳酸酯;1,1-羰基二咪唑;1,1-羰基二咪唑;或类似的试剂的存在下进行以转化为一种活化的化合物A*,其中W=F、Cl、咪唑基、三唑基、或O-琥珀酰亚胺基,并且然后偶联至药物DH以形成式(3)(包括m=1的它的类似物)的化合物。



[0196] 例如,一种式(A)(其中X=O)的化合物与三光气以及N-羟基丁二酰亚胺发生反应产生一种化合物(其中X=O并且W=O-琥珀酰亚胺基):



[0198] 当待共轭的药物或前药分子具有氨基时其中X=O并且W=O-琥珀酰亚胺基的化合物是特别优选的。在这种情况下,所得的化合物包含一种氨基甲酸酯键。对于其中药物或前药是一种肽或蛋白质的情况,与中间体发生反应的氨基可以是一种末端α-氨基,或一种侧链的氨基(例如赖氨酸、鸟氨酸、或非天然氨基酸残基的氨基)。

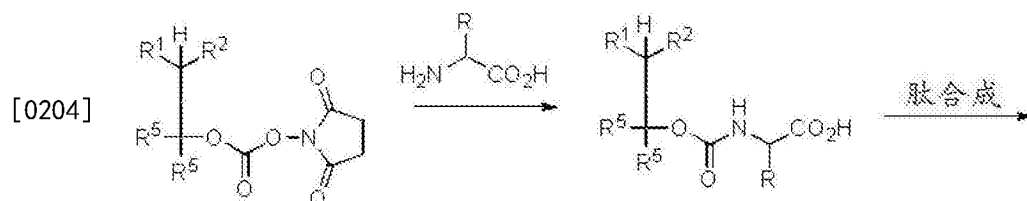
[0199] 可替代地,活化剂可以是取代的苯基氯甲酸酯,例如4-硝基苯基氯甲酸酯、2,4-二硝基苯基氯甲酸酯、或五氟苯基氯甲酸酯,从而导致形成一种取代的苯碳酸酯中间体。

[0200] 当待共轭的药物或前药分子没有任何氨基而是具有羟基时,例如当药物或前药是一种来自酪氨酸、丝氨酸、或苏氨酸残基侧链的肽或蛋白质,或当药物或前药是基于核酸的(例如脱氧核糖核酸或核糖核酸)、或一种小分子时,其中X=O并且W=F或Cl的中间体是特别优选的。

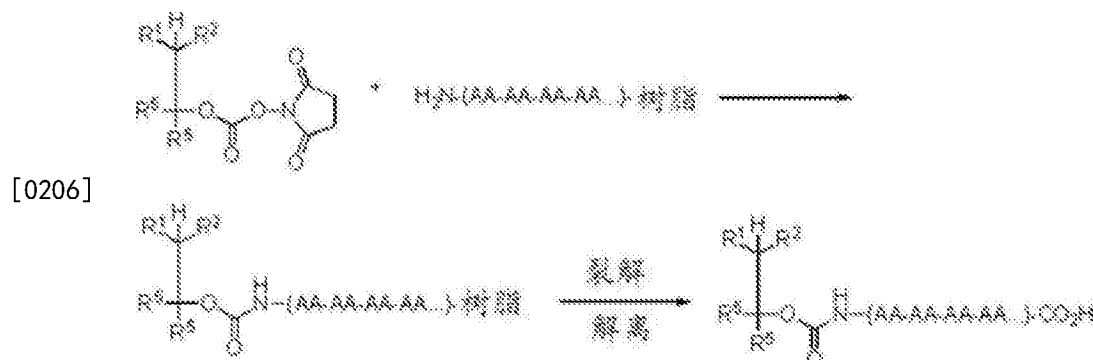
[0201] 这些前体(其中药物是一种寡核苷酸或核酸)可以经药物的化学合成制备,该化学合成包括一种允许共轭的5'-端修饰。例如,寡核苷酸可以经化学合成,这样在合成最后一轮此加入的5'-端核苷酸单位包括修饰的磷酸酯基团以容纳氨基-烷基基团。然后所得到的胺修饰的核酸分子共轭以形成一种药物共轭物。参见,例如,Zhao,等人,Bioconjugate Chemistry[生物共轭物化学](2005)16(4):758-766。

[0202] 在基于肽、蛋白质、或核酸的药物情况下,可以存在多重反应基团以引起多重反应。这个多重反应的程度可以使用本领域中所述的标准条件控制,例如通过改变反应温度、浓度、以及化学计量以得到所希望的反应产物。

[0203] 在本发明的一个实施方案中,其中药物是一种肽,经与一种氨基酸发生反应形成的中间体然后在标准的肽合成中被使用,例如:



[0205] 在另一种方法中,在肽的合成中中间体被附连。例如,在经本领域所熟知的固相肽合成方法合成肽中的最终步骤涉及肽序列的N-端氨基酸以受保护的形式附连。将这个技术应用于本化合物,在最后的氨基酸残基的脱保护之后,活化的接头偶联至与支撑物结合的肽上。最后解离(deblock)并且从合成树脂去除以得到N端连接的肽。

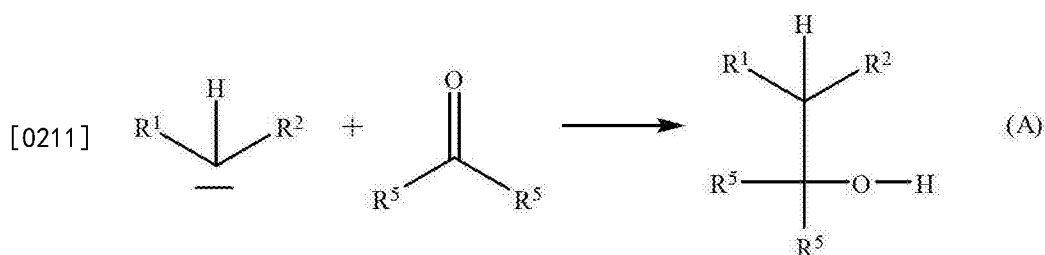


[0207] 这个实施方案是有利的,其中衍生作用的位置和化学计量是完全受控制的。

[0208] 中间体化合物的制备

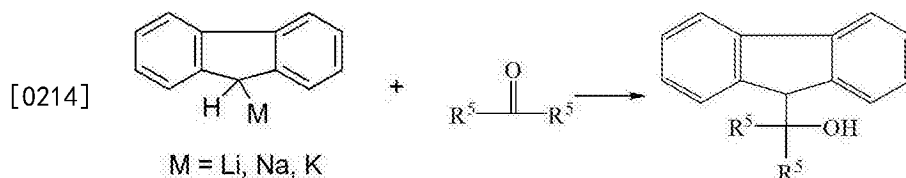
[0209] 式(1)的化合物从醇 $R^1R^2C-(C=C)_mC(R^5)_2OH$ 制备,其中固体支撑物还没有附连至该分子的剩余部分。此类醇的合成描述于,例如,在PCT专利申请PCT/US2009/048943中,公布号为W02009/158668A1(通过引用结合在此)。实例在以下提供的工作实例中给出。

[0210] 其中m是0(式(A))的醇 $R^1R^2C-(C=C)_mC(R^5)_2OH$ 可以经由 $R^1R^2CH_2$ 与一种强碱(例如,丁基锂、NaH、二异丙氨基锂、锂二(三甲基硅烷基甲胺))或类似物发生反应形成的碳负离子 $R^1R^2CH^-$ 与一种分子的加成制备,以产生式(A)化合物。



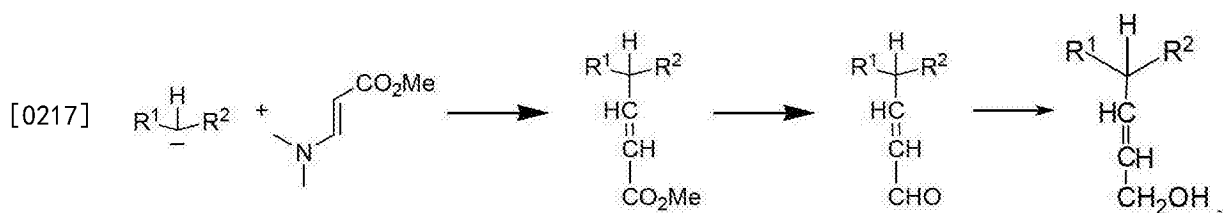
[0212] 可替代地,式(A)的化合物(其中m是0、X=O并且一个R⁵是H)可以经一种两步法工艺制备。在第一步中,经R¹R²CH₂与一种强碱发生反应形成的碳负离子R¹R²CH⁻,与一种其中R*是低级烷基的酯R⁵-C(=O)OR*加成产生一种中间体酮R¹R²CH-CR⁵=O,在第二步中,该酮与一种适合的还原剂(例如NaBH₄或NaBH₃CN)发生反应以得到其中X=O、并且一个R⁵是H的式(A)的化合物。

[0213] 例如,当R¹R²CH₂是茚,它与一种强碱发生反应,例如,形成了一种茚基碳负离子,然后与R⁵₂-CO发生反应,反应如下:

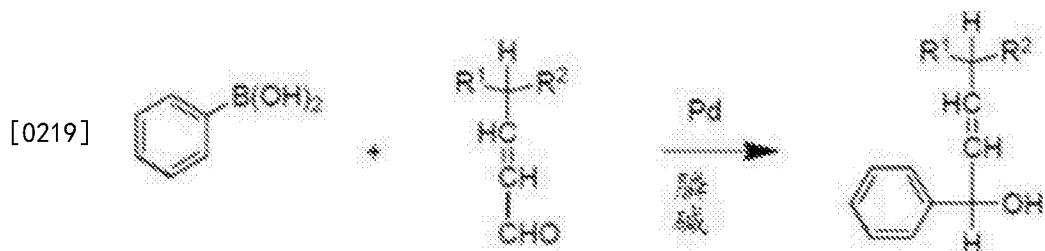


[0215] 其中X是S的对应化合物可以类似地使用适当的类似物R⁵₂-C=S制备;或可以可替代地使用本领域中所知的方法经其中X是O的式(A)随后的化学转化制备,该方法例如将式(A)中的醇基活化(如经使用PBr₃或 Ph₃PBr₂转换为一种溴化物,或经转换为甲苯磺酸酯或三氟甲磺酸酯),并且用一种诸如硫脲或硫代硫酸酯的适合的亲核基团置换。在一个实施方案中,使用硫代硫酸酯以形成一种经酸处理水解的中间体以形成硫醇。

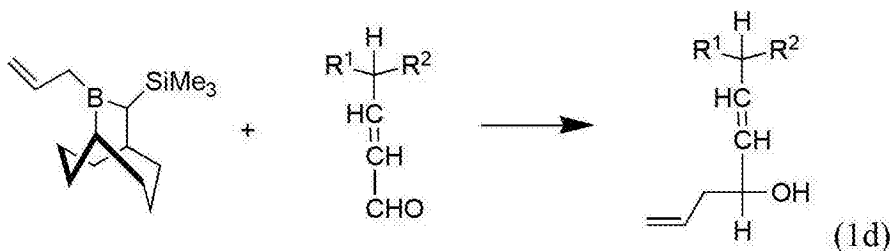
[0216] 其中m是1并且R⁵是H的醇R¹R²C-(C=C)_mC(R⁵)₂OH可以,例如通过使用强碱(例如R¹R²CH₂、丁基锂、锂二(三甲基-甲硅烷基酰胺)、或类似物),经由R¹R²CH₂的锂化衍生的碳负离子的与一种诸如甲基3-二甲氨基-丙烯酸酯的不饱和化合物加成以得到一种中间体酯类来制备,该酯类可以或经一个步骤或经多个步骤还原为相对应的不饱和醇:



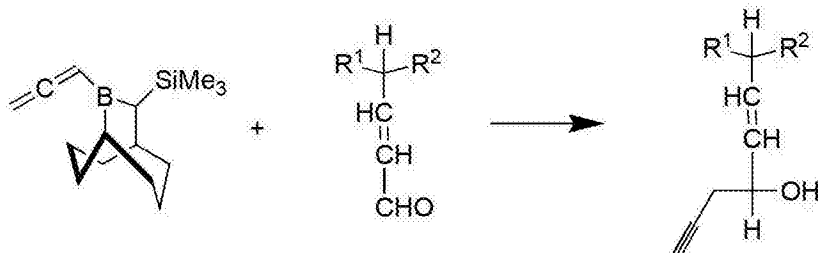
[0218] 以上所示的不饱和醛在钯催化剂的存在下与一种取代的或未取代的芳基硼酸(芳基-B(OH)₂)发生反应,例如在Org. Letts.[有机通讯](2005)7:4153-5中所述,提供了以下一种化合物,其中m是1,一个R⁵是取代的芳基并且一个R⁵是H,并且X=O。



[0220] 可替代地,根据Soderquist方法,以上所示的不饱和醛与一种烷基硼烷发生反应提供了这些化合物,其中m是1,X=0,一个R⁵是H并且另一个是-CH₂CH=CH₂或-CH₂CCH。参见Burgos,C.H.,等人,J.Am.Chem.Soc.[美国化学会志](2005)127:8044。



[0221]



[0222] 式(A)的化合物,或其中m是1的类似物,可以然后与药物偶联。在这些中间体以及药物共轭物中,保留所有关于式(1)和式(2)的许多展示形式的实施方案、以及R¹、R²与R⁵的确切的实施方案。

[0223] 在其中Y是NBCH₂的情况下,从其中m是1的式(A)的或类似物的化合物制备了一种加成中间体,例如,如上所述的,经过将其中X是0的式(A)的化合物活化成为一种式(A*)的化合物,并且然后这种化合物进一步与一种六氢三嗪衍生物(BNCH₂)₃发生反应。这导致产生了一种中间体,其中与亚甲基附连的离去基团L是一个氯基团。其中L是另一个适合的离去基团类似物,例如甲苯磺酸酯、甲磺酸酯、碘化物、或R₂S⁺,是经使用本领域中所知的方法制备。可替代地,醇R¹R²C-(C=C)_mC(R⁵)₂OH如上所述被活化,在诸如吡啶或NaHCO₃的弱碱的存在下与B-NH₂发生反应以产生一种氨基甲酸酯R¹R²C-(C=C)_mC(R⁵)₂OC(O)NHB,然后该产物在离核体供体L*的存在下与多聚甲醛发生反应。在一个具体实施方案中,L*是一种诸如Me₃SiCl或HCl的氯化物供体,从而产生了一种其中L是Cl的化合物。此类中间体可以在无水的条件下在弱碱的存在下与一种包含OH、SH或非碱性NH基团的药物发生反应。适合的碱包括叔胺,例如三乙胺以及N,N-二异丙基乙胺、吡啶、或4-(二甲氨基)吡啶。反应混合物可以任选地包括NaI或四烷基碘化铵以加速反应。适合的溶剂包括包含四氢呋喃、乙腈、二甲基甲酰胺、乙酸乙酯、二氯甲烷、丙酮、以及氯仿的任何惰性的、无水的溶剂。

[0224] 在某些实例中,例如当药物包括一种苯酚或非碱性NH时,经与一种强碱(例如NaH、锂二(三甲基硅烷基甲胺)、二异丙氨基锂、或类似物)发生反应预先形成一种药物的盐是有利的。

[0225] 保护性聚合物的附连

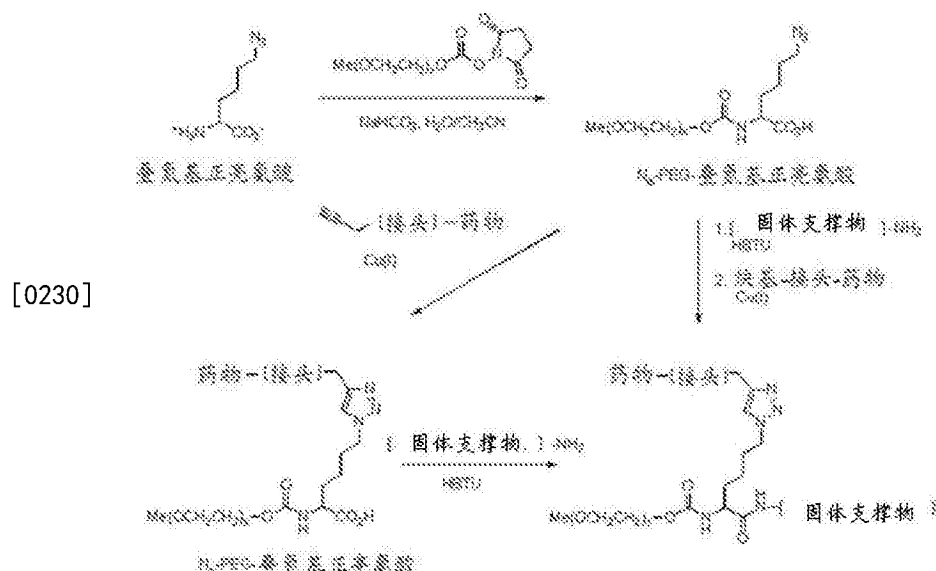
[0226] 这些固体支撑物还可以包括保护性聚合物(最普遍的实例应是聚乙二醇(PEG),但也可以使用其他亲水性聚合物)。在某些实施方案中,该保护性聚合物是一种平均分子量在2,000和20,000道尔顿之间的PEG,优选地在2,000和10,000道尔顿之间,并且更优选地在2,000和5,000道尔顿之间。在某些实施方案中,该PEG是一种单甲氧基-PEG。

[0227] 在一个方法中,在衍生化的固体支撑物上的仅一部分反应位点是经控制偶联反应

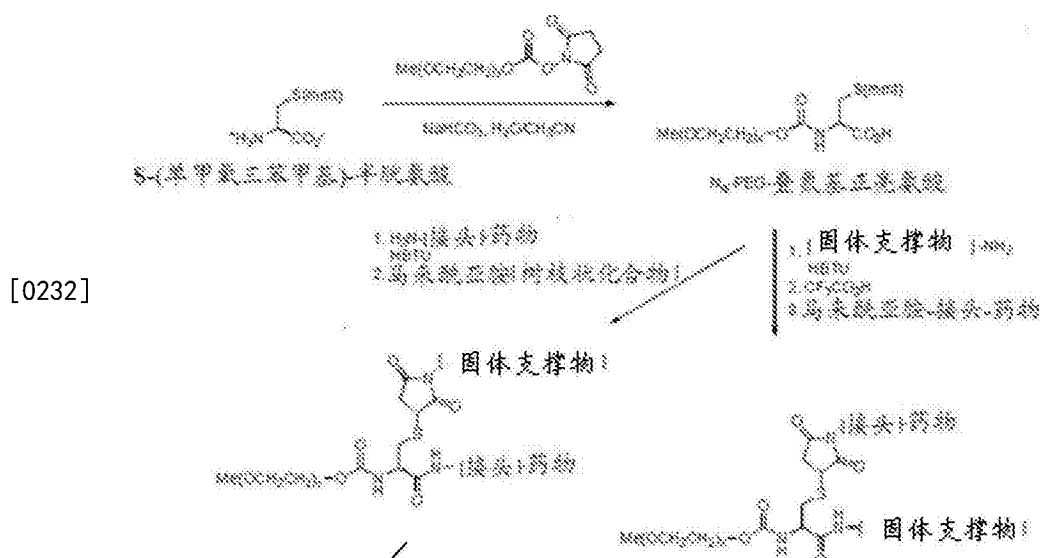
的化学计量用药物共轭物或聚合物提供的,并且剩余的位点然后偶联至另一个组分。

[0228] 在另一个方法中,制备包含PEG、可释放的接头、以及一种药物的预组装单元,或这些单元的某些组合,然后这些预组装单元附连至固体支撑物。这种预组装的单元可以在一种分段工艺中构造出,该工艺从一种其中各个起反应的官能团可以选择性地附连至PEG、可释放的接头或药物共轭物的三官能基体分子开始,并且附连至固体支撑物。在三-或多-官能基体分子上的适合的官能度包括羧酸、胺、马来酰亚胺、叠氮化物、硫醇类、以及炔,它们能以受保护的形式存在。

[0229] 例如,一种包含一个羧酸基团以及两个区别地受保护的官能团的氨基酸,可以经选择性将一个受保护官能团去保护、附连PEG、然后将第二受保护官能团去保护以及附连药物共轭物、然后最终通过羧酸将预组装单元附连至固体支撑物上转化为一种预组装的单元。在一个实例中,叠氮基正亮氨酸与一种活化的PEG分子(例如PEG N-羟基丁二酰亚胺碳酸酯)发生反应,以产生Na-PEG-叠氮基正亮氨酸。然后该Na-PEG-叠氮基正亮氨酸或通过标准的酰胺形成反应附连至固体支撑物上,以得到一种在外壳上具有起反应的叠氮化物官能度阵列的聚乙二醇化固体支撑物,该外壳随后与炔基-接头或炔基-药物共轭物相偶联;或首先在Cu(I)的催化下与炔基-接头或炔基-药物共轭物发生反应以提供完整的预组装单元,然后其通过使用标准的酰胺形成反应附连至由胺基衍生的固体支撑物上。



[0231] 在另一个实例中,一种受保护的半胱氨酸(例如S-(单甲氧三苯甲基)-半胱氨酸),与一种活化的PEG分子(例如PEG N-羟基丁二酰亚胺碳酸酯)发生反应,以产生Na-PEG-S(mmt)-半胱氨酸。它可以通过使用标准的酰胺形成反应附连至衍生化到胺的固体支撑物,并且所得的固体支撑物可以通过使用弱酸和这些与马来酰亚胺-接头或马来酰亚胺-药物共轭物发生反应所得的硫醇类进行脱三苯甲基化。可替代地,Na-PEG-S(mmt)-半胱氨酸可以通过使用标准的酰胺形成反应与胺-接头或胺药物共轭物发生反应,并且该完整的预组装单元可以通过使用弱酸进行脱三苯甲基化并且偶联至衍生化到马来酰亚胺基团的固体支撑物。



[0233] 给药以及用途

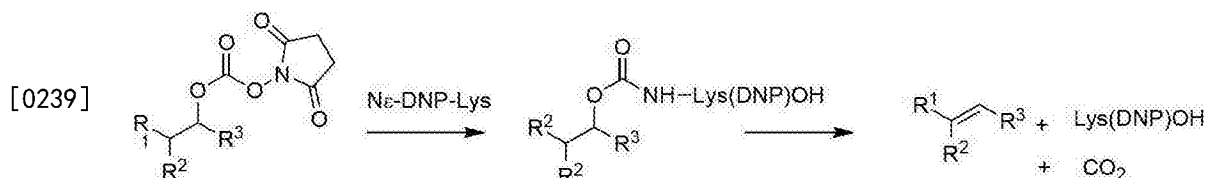
[0234] 被设计来以受控的速率释放药物的本发明的共轭物是以一种大体上类似于药剂的方式给予受试者。这些受试者可以是模型系统,例如小鼠、大鼠或兔或可以是人类患者或可以是例如伴侣动物、家畜、以及禽类的兽类受试者。这些固体支撑物共轭物可以经以下几种方法中任一种给予,例如在内作为外科植入物、皮下植入物、眼内植入物、栓剂、或包覆的医疗装置(例如支架、起搏器、以及心脏瓣膜),或在外作为伤口敷料或局部包被。剂量水平将依赖于药物的性质、有待治疗的病况、受试者的性质、以及主治专家的判断。对于一种特定药物的适当的释放速率或治疗方案的选择也依赖于这些因素。因此,本发明的化合物的使用和给予是在从业者的技能之内。进一步地,如以上所指出,本发明的这些共轭物在淋巴系统疾病治疗中是特别有用并且有利的,其中治疗中优选的是皮下注入。

[0235] 除非另行说明,在此引用的所有参考文件通过引用全文将其结合在此。以下实例旨在展示而不是限制本发明。

[0236] 实例1

[0237] 释放速率测定—二苯砷

[0238] 对具有一系列官能团作为潜在pKa调节剂(取代的芳香芳香族化合物、酮、腈、砜)的接头支架进行了设计、制备并经由氨基甲酸酯键连接至Ne-2,4-二硝基苯基-L-赖氨酸(Ne-DNP-Lys)以评估释放速率。将DNP-Lys选为释放部分,因为它是水溶性的并且是允许HPLC-UV分析的强发色团。此实验证实氨基甲酸酯裂解速率可通过选择触发基团的具体取代基进行控制。



[0240] 将商业上得到的或经标准方法制备的起始醇类,通过或使用用二琥珀酰亚胺碳酸酯的一步法方法(Manoharan, J. Org. Chem. [有机化学杂志](1999)64:6468-6472)或经其中通过使用三光气/吡啶该醇首先被转化成氯甲酸酯中并且然后经用N-HS的处理到碳酸酯的两步法方法(Tsubery, H., 等人, J. Biol. Chem. [生物化学杂志](2004)279:38118-38124)转

化成N-羟基丁二酰亚胺(HS)碳酸酯。

[0241] 二硝基苯基(DNP)碳酸酯的制备如下所述。将在600 μ L水中的N-DNP-L-Lys HCl (35mg, 0.1mmol)悬浮液依次用1.0N NaOH(200 μ L)以及1.0M NaHCO₃处理。将在乙腈(1.0mL)中的0.1M N-HS碳酸酯溶液加到搅拌混合物中以产生一种澄清的黄色溶液。1小时后,将该混合物用10mL水稀释并且装到Bond-ElutTMC18萃取柱(1gm)上。将该柱依次用水、1% CF₃CO₂H/水、水、以及50%MeOH/水洗涤。将产物用MeOH洗脱,然后蒸发以产生如一种黄色玻璃的产物。

[0242] N-2,4-二硝基苯酚-L-赖氨酸从这些化合物释放的速率经在pH 7.4或pH 8.3、37°C下的HPLC分析测定。释放反应的动力学分析经HPLC(C18、线性梯度的MeOH/水+0.5%H₂OAc)、使用在350nm的UV/vis检测器完成。在Lys(DNP) (“p”)以及起始材料 (“S”)之下的峰面积进行积分以按照 $R=P/(S+P)$ 确定反应的程度 (“R”)。反应速率是从 $\ln(1-R)$ 对时间曲线的线性回归分析得到的直线斜率计算的。DNP-Lys氨基甲酸酯在pH 7.4和/或8.3的 β -消除断裂的 $t_{1/2}$ 值在表2中示出。

[0243] 表2

[0244] 37°C下N ϵ -2,4-二硝基苯基-L-赖氨酸释放的动力学数据。

	R1	R2	R ⁵	t _{1/2} pH 7.4	t _{1/2} pH 7.4
	4-MePhS				
	O ₂	H	H, H	56 小时	-
	PhSO ₂	H	H, H	30 小时	-
	3-NO ₂ PhS				
	O ₂	H	H, H	2 小时	-
	PhSO ₂	H	H, Me	72 小时	-
	4-ClPhSO				
	2	H	H, Me	46 小时	-
	4-ClPhSO		H,		
[0245]	2	H	4-OMePh	18 小时	-
	4-ClPhSO				
	2	H	H, 4-BrPh	17 小时	-
	4-ClPhSO		H,		
	2	H	4-NO ₂ Ph	2 小时	-
	4-OMePh		H,		
	SO ₂	H	3-NO ₂ Ph	13 小时	-
	4-OMePh		H,		
	SO ₂	H	4-NO ₂ Ph	10 小时	-
					160 小
	CN	H	H, H	-	时
					320 小
	CN	H	H, Me	-	时

			$t_{1/2}$	pH	$t_{1/2}$	pH
R1	R2	R ⁵	7.4	7.4		
					98 小	
CN	H	H, Ph	-	时		
			270	小		
CN	H	H, 4-BrPh	时		-	
		H,				
CN	H	4-OMePh	22 小时		-	
	4-OMe		125	小		
[0246] CN	Ph	H, Me	时		-	
			约 80	小		
CN	4-NO ₂ Ph	H, Me	时			
			约 1650		200 小	
9-苄基		H, H	小时	时		
					约	
9-苄基		H, Me	-		1800 小时	
					285 小	
9-苄基		H, 4-BrPh	-	时		

[0247] 如表2所示,在pH 7.4下,氨基甲酸酯的消除Nε-2,4-二硝基苯基-L-赖氨酸的释放的半衰期从2至>1650小时变化。裂解由β-消除反应产生并且通过不同的半衰期和观察得以证实,该观察如下:在5天后于37°C和pH 7.4下,0-苄基-N-(Nε-2,4-二硝基苯基-L-赖氨酸)-氨基甲酸酯(它不能发生O-烷基断裂)未显示出Nε-2,4-二硝基苯基-L-赖氨酸的可观测到的释放(小于估计的0.25%裂解的检测极限)($t_{1/2}$ >3年)。

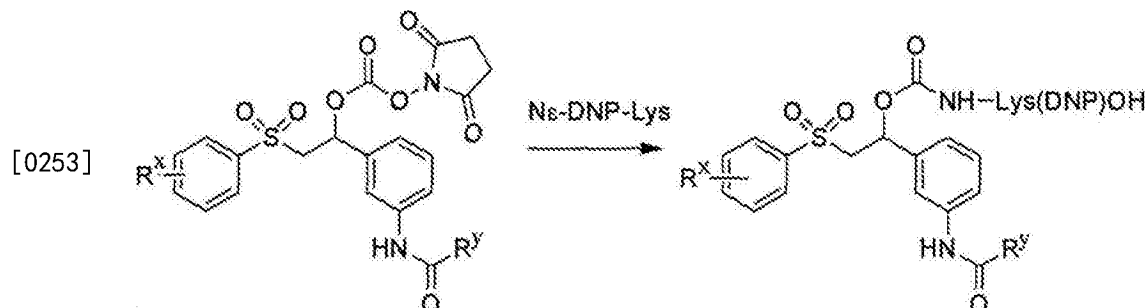
[0248] 在37°C下,0-苄基-N-(Nε-2,4-DNP-Lys)氨基甲酸酯于1周后在37°C下50%的人血清中没有发生可检出的水解。这证实氨基甲酸酯对血清水解酶的稳定性。总体上,与C-H相比,a)在R¹的吸电子基团提高速率;b)在R⁵的烷基提高速率;以及c)在R⁵的芳基部分降低速率。

[0249] 针对取代的(苯磺酰基)乙基接头观察到良好的线性自由能关系,如图2中所示,从而允许使用哈密特σ参数对基于SAR的此系列中的其他取代的接头的释放速率进行估计。因此,可对取代基进行选择以提供更慢(例如,4-OMe,σ_p=-0.27;4-OH,σ_p=-0.37;4-Me₂N,σ_p=-0.83)或中等释放速率(例如,4-F,σ_p=+0.06;4-Cl,σ_p=+0.23;3-Br,σ_m=+0.39;4-CF₃,σ_p=+0.54)。

[0250] 实例2

[0251] 释放速率测定—R⁵的效应

[0252] 从在实例1的研究中,在R¹的二苯砜部分表现出提供了跨越用于药物共轭物的一个适合范围的一些速率($t_{1/2}$ ~2至72小时)。这些被转化成双功能接头,其包含用于附连至含胺分子的N-羟基丁二酰亚胺(NHS)碳酸酯、以及用于直接附连或者经PEG或树枝状化合物附连至固体支撑物的在R⁵处的酰化的3-氨基苯基部分。具体地,具有以下所示总体结构的共轭物被制备。



[0254] R^x=4-氯、H、4-甲基、4-甲氧基、2,4-二甲基、以及2,4,6-三甲基;

[0255] R^y=(CH₂)₃C≡CH、-(CH₂)₅N₃、-(CH₂)₂-马来酰亚胺

[0256] 具有R^y=(CH₂)₃C≡CH的NHS碳酸酯接头附连至Nε-DNP-Lys,并且Lys(DNP)的释放速率使用HPLC在0.1M HEPES、pH7.40、在25°C或37°C下测量。所有的化合物产生了良好的一级动力学,其中 $t_{1/2}$ 范围从16至120小时(表3)并且温度系数Q₁₂为5.7±0.1。

[0257] 表3:

[0258] H-Lys(DNP)-OH从化合物(R^y=(CH₂)₃C≡CH)释放的速率

[0259]

编 号	R1	k, hr ⁻¹		t _{1/2} pH 7.4	
		25°C	37°C	25°C	37°C
1	Cl	0.0074	0.0434	94	16
2	H	0.004	0.0236	170	30
3	2,4-Me 2	0.0021	0.012*	330	57
4	4-Me	0.0018	0.0104*	380	67
5	4-OMe	0.0013	0.0074	530	94
6	2,4,6-Me ₃	0.001	0.0057	690	120

[0260] *在25°C从数据外推。

[0261] 还观察到了对于如图3所示的单-取代化合物在释放速率和哈密特(Hammett)σ常量之间良好的相关性。

[0262] 实例3

[0263] 偶联至一种大分子的效应

[0264] 具有 $R^x=4$ -甲氧基、偶联至Ne-DNP-Lys的 $R^y=-(CH_2)_3C\equiv CH$ 的接头,通过使用铜-催化的Huisgen环加成作用与40kDa PEG-叠氮化物相共轭。H-Lys(DNP)-OH的释放试验指示从大分子共轭物释放的速率($k=0.0059h^{-1}$, $t_{1/2}=118hrs$)与从未共轭的接头释放的速率($t_{1/2}=94hrs$)相类似。

[0265] 人血清对从PEG-共轭物释放的速率的影响的初级测定结果说明可以存在一种均匀的速率增强三倍的断裂反应。将40kDa PEG与这种化合物的共轭物给予大鼠以确定药物代谢动力学;稳定地共轭的Lys(DNP)还经在Na-己炔醇-Lys(DNP)-OH与40kDa-PEG-叠氮化物之间的点击化学(click chemistry)制备并且被给予大鼠作为一种对照。对于使用DNP-BSA以及一种共轭至碱性磷酸酶的抗-DNP抗体的DNP-Lys,使用了竞争性ELISA。

[0266] 实例4

[0267] 氯甲酸酯和N-羟基琥珀酰亚胺碳酸酯通用制备

[0268] 将吡啶(0.33当量)逐滴添加到在冰上冷却的剧烈搅拌的醇 $R^1R^2C-(C=C)_mC(R^5)_2OH$ (1当量)和三光气(0.33当量)于无水四氢呋喃(2mL/mmol)的溶液中。1小时后,允许混合物升温至环境温度并保持过夜。然后将混合物过滤并在旋转蒸发仪上真空浓缩。所得粗氯甲酸酯 $R^1R^2C-(C=C)_mC(R^5)_2OC(O)Cl$ 即进行使用无需进一步纯化。

[0269] 为制备N-羟基琥珀酰亚胺碳酸酯,将粗氯甲酸酯溶解于无水四氢呋喃(2mL/mmol)中并用吡啶(2当量)和N-基琥珀酰亚胺(4当量)在环境温度下处理30分钟。将混合物用乙酸乙酯稀释,相继用0.1N HCl、水和盐水洗涤,然后经MgSO₄干燥,过滤并蒸发。将粗碳酸盐 $R^1R^2C-(C=C)_mC(R^5)_2OC(O)Su$ 通过硅胶色谱法(乙酸乙酯/己烷)纯化。

[0270] 实例5

[0271] 氨基甲酸酯的通用制备

[0272] 将实例4的氯甲酸酯(1当量)在丙酮(2mL/mmol)中的溶液逐滴添加到剧烈搅拌的BNH₂(1当量)和NaHCO₃(2当量)在水(2mL/mmol)中的混合物中。30分钟后,将沉淀为固体的氨基甲酸酯通过真空过滤收集,用水洗涤并干燥;将分离成油状物的氨基甲酸酯用乙酸乙酯萃取。将萃取物经MgSO₄干燥,过滤并蒸发以得到粗氨基甲酸酯。在任一种情况下,将粗氨基甲酸酯 $R^1R^2C-(C=C)_mC(R^5)_2OC(O)NHB$ 通过柱色谱法(SiO₂)或通过结晶进一步纯化。

[0273] 可替代地,将三乙胺(1当量)添加到BNH₂(1当量)和氯甲酸酯(1当量)在惰性无水溶剂(例如二氯甲烷、四氢呋喃或乙酸乙酯)的混合物中。在环境温度下搅拌1小时后,将混合物蒸发至干燥,并将残余物溶解于乙酸乙酯并相继用1N HCl、水、饱和NaHCO₃水溶液和盐水洗涤,然后经MgSO₄干燥,过滤并蒸发以得到粗氨基甲酸酯,该粗氨基甲酸酯按照上述进行纯化。

[0274] 可替代地,将醇 $R^1R^2C-(C=C)_mC(R^5)_2OH$ 转化成氨基甲酸酯而不分离中间体氯甲酸酯。吡啶(0.33当量)逐滴添加到在冰上冷却的剧烈搅拌的醇(1当量)和三光气(0.33当量)于无水四氢呋喃(2mL/mmol)的溶液中。1小时后,允许混合物升温至环境温度并保持过夜。将混合物在冰上冷却,并添加BNH₂(2当量)。允许混合物升温至环境温度并保持过夜。然后将混合物蒸发至干燥,并将残余物溶解于乙酸乙酯中并相继用1N HCl、水、饱和NaHCO₃水溶液和盐水洗涤,然后经MgSO₄干燥,过滤并蒸发以得到粗氨基甲酸酯,该粗氨基甲酸酯按照上述进行纯化。包含胺NH部分的药物可以使用相同的程序直接偶联至接头上。

[0275] 实例6

[0276] 氨基甲酸酯的N-氯甲基化

[0277] 在密封的螺口小瓶中,将实例5的氨基甲酸酯(1当量)和多聚甲醛(3当量甲醛)在1:1四氢呋喃/三甲基氯硅烷(1mL/mmol)中的混合物在55°C下加热直至获得澄清溶液。将混合物在旋转蒸发仪上真空浓缩,并将残余物溶解于乙酸乙酯,过滤并再次浓缩以得到粗N-氯甲基氨基甲酸酯 $R^1R^2C-(C=C)_mC(R^5)_2OC(O)NBCH_2Cl$ 。

[0278] 实例6A

[0279] N-甲氧基甲基氨基甲酸酯

[0280] 允许实例6的N-氯甲基氨基甲酸酯在甲醇中的溶液在环境温度下静置1小时,然后浓缩至干燥以得到N-甲氧基甲基氨基甲酸酯 $R^1R^2C-(C=C)_mC(R^5)_2OC(O)NBCH_2OMe$ 。

[0281] 实例7

[0282] N-烷氧基甲基氨基甲酸酯、N-苯氧基甲基氨基甲酸酯、N-硫代甲基氨基甲酸酯和N-硫代苯基甲基氨基甲酸酯

[0283] 将衍生自药物DH的醇、酚、硫醇或苯硫酚(1当量)和实例6的N-氯甲基氨基甲酸酯(1当量)在惰性无水溶剂(例如四氢呋喃、二氯甲烷或乙酸乙酯)中的溶液用三乙胺(1当量)逐滴处理。1小时后,将混合物蒸发至干燥。将粗产物通过硅胶色谱法纯化。

[0284] 实例8

[0285] O-(9-苄基甲基)-N-炔丙基氨基甲酸酯

[0286] 将9-苄基甲氧基羰基氯化物(2.6g)在20mL丙酮中的溶液缓慢添加到炔丙胺盐酸盐(0.91g)和 $NaHCO_3$ (2.5g)在20mL水中的搅拌混合物中。1小时后,将固体沉淀物通过真空过滤收集,用水洗涤并风干。从乙酸乙酯/己烷结晶得到产物。

[0287] 实例9

[0288] O-(9-苄基甲基)N-(4-溴苯基)氨基甲酸酯

[0289] 将三乙胺(0.7mL)添加到4-溴苯胺(0.85g)和9-苄基甲氧基羰基氯化物(1.3g)在25mL二氯甲烷的搅拌混合物中。将混合物在环境温度下搅拌1小时,然后用1N HCl、水、饱和 $NaHCO_3$ 水溶液和盐水洗涤。将有机溶液经 $MgSO_4$ 干燥,过滤并蒸发。

[0290] 实例10

[0291] O-(9-苄基甲基)N-(4-(乙氧羰基)苯基)氨基甲酸酯

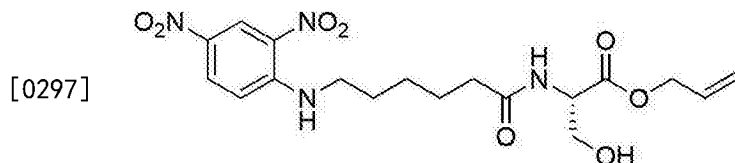
[0292] 将三乙胺(0.7mL)添加到4-氨基苯甲酸乙酯(0.85g)和9-苄基甲氧基羰基氯化物(1.3g)在25mL二氯甲烷的搅拌混合物中。将混合物在环境温度下搅拌1小时,然后用1N HCl、水、饱和 $NaHCO_3$ 水溶液和盐水洗涤。将有机溶液经 $MgSO_4$ 干燥,过滤并蒸发。

[0293] 实例11

[0294] 含有羟基的部分与接头的共轭

[0295] 该实例证实含有羟基的分子易于共轭至接头部分。

[0296] A.N-(6-(2,4-二硝基苯氨基)己酰基)-L-丝氨酸烯丙酯。

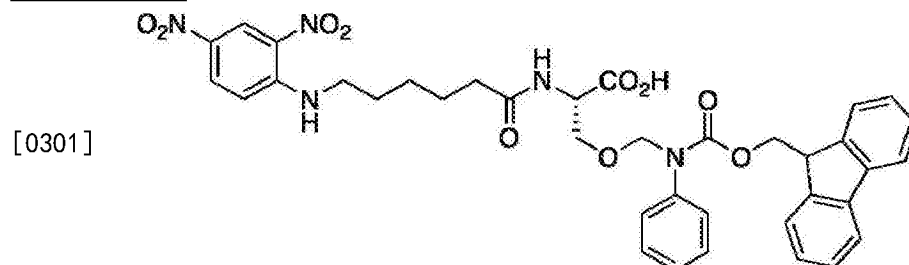


[0298] 步骤1.N-(叔丁氧基羰基)-L-丝氨酸烯丙酯:向烯丙基溴(2.3mL,26.6mmol)和三

辛基甲基氯化铵(4.00g, 9.90mmol)在CH₂Cl₂(35mL)的搅拌溶液中添加N-(叔丁氧基羰基)-L-丝氨酸(1.03g, 5.02mmol)和NaHCO₃(0.43g, 5.12mmol)在水(16mL)中的溶液将双相反应混合物在室温下剧烈搅拌48小时。将其用水(50mL)稀释并用CH₂Cl₂(3x 50mL)萃取。将合并的有机萃取物经MgSO₄干燥, 过滤并减压浓缩, 以得到无色油状物(5.95g)。使用Thomson Instruments单步80g硅胶筒以60%己烷/40%乙酸乙酯洗脱来进行纯化, 生产了呈无色油状物的LR2-1(1.01g, 82%)。¹H NMR(DMSO-d₆) δ 1.37(9H, s), 3.63(2H, m), 4.00(2H, m), 4.53(2H, m), 4.89(1H, t, J=6.2Hz), 5.18(1H, dd, J=1.4Hz, J=10.6Hz), 5.30(1H, dd, J=1.6Hz, J=17.1Hz), 5.84(1H, m), 6.98(1H, d, J=8.2Hz)。

[0299] 步骤2. 将N-(叔丁氧基羰基)-L-丝氨酸烯丙酯(0.175g, 0.731mmol)在4M氯化氢/二噁烷(2mL)中的溶液在环境温度下搅拌40分钟。将反应混合物在旋转蒸发仪上浓缩并将粗HCl盐溶于无水四氢呋喃(3mL)中。向此溶液中添加N-琥珀酰亚氨基-6-(2,4-二硝基苯基)己酸酯(0.288g, 0.791mmol)和三乙胺(102mL, 0.731mmol)。将反应混合物在室温下搅拌30分钟并将溶剂蒸发。将残余物在乙酸乙酯和水之间分配并分离各相。将有机相用饱和NaHCO₃和饱和NaCl洗涤。将其经MgSO₄干燥, 过滤并减压浓缩, 以得到呈黄色油状物的粗产物(0.293g)。使用Thomson Instruments单步12g硅胶筒, 以50%己烷/50%乙酸乙酯洗脱随后乙酸乙酯洗脱来进行纯化得到了呈黄色油状物的产物(0.222g, 72%)。¹H NMR(DMSO-d₆) δ 1.32(2H, m), 1.52-1.64(4H, m), 2.15(2H, t, J=7.0Hz), 3.44(2H, m), 3.59(1H, m), 3.66(1H, m), 4.33(1H, m), 4.55(2H, m), 5.02(1H, t, J=5.5Hz), 5.17(1H, m), 5.28(1H, m), 5.83(1H, m), 7.21(1H, d, J=9.5Hz), 8.12(1H, d, J=7.9Hz), 8.23(1H, dd, J=2.5Hz, J=9.4Hz), 8.85(2H, m)。

[0300] B.O-(N-((9-苄基甲氧基)羰基)-N-苯基)氨甲基)N-(6-(2,4-二硝基苯氨基)己酰基)-丝氨酸。



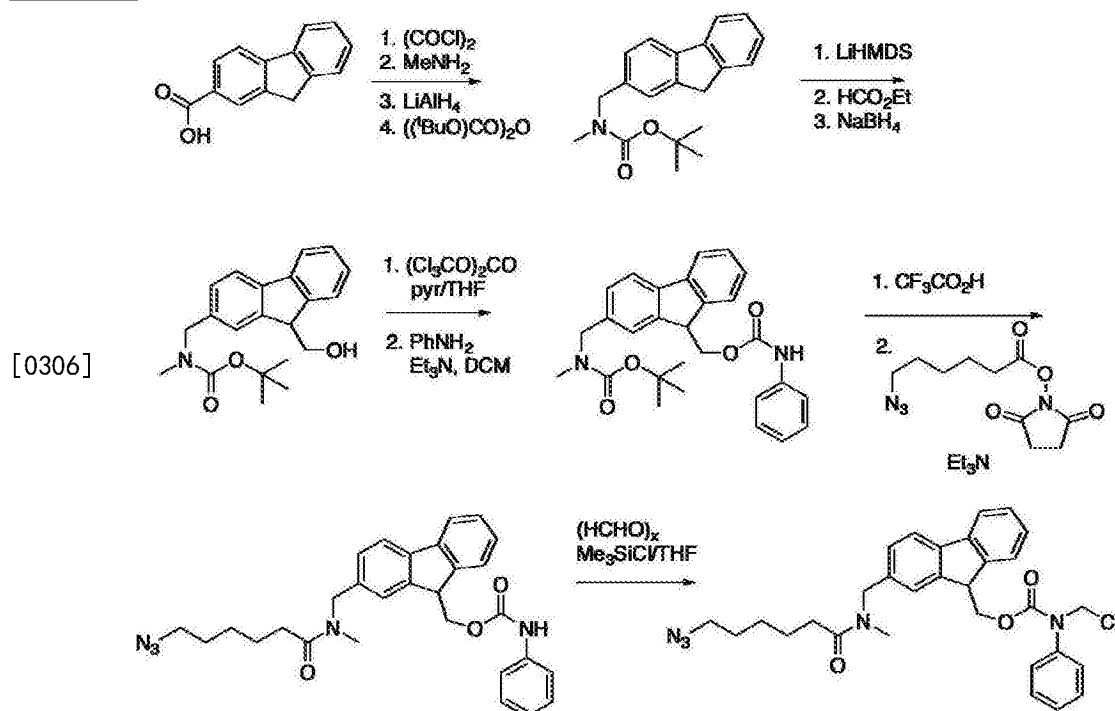
[0302] 步骤1. 将N-(6-(2,4-二硝基苯氨基)己酰基)-L-丝氨酸烯丙酯(0.050g, 0.118mmol)、O-(9-苄基甲氧基)-N-苯基-N-氯甲基氨基甲酸酯(0.043g, 0.118mmol)和三乙胺(16.1mL, 0.116mmol)在无水CH₂Cl₂(2mL)中的溶液加热回流1小时。将O-(9-苄基甲氧基)-N-苯基-N-氯甲基氨基甲酸酯(0.043g, 0.118mmol)和三乙胺(16.1mL, 0.116mmol)的其他等分试样加入并保持回流1小时。将溶液冷却至室温, 用CH₂Cl₂稀释, 用饱和NaCl溶液洗涤, 经MgSO₄干燥, 过滤并减压浓缩。使用Thomson Instruments单步12g硅胶筒, 以50%己烷/50%乙酸乙酯随后30%己烷/70%乙酸乙酯洗脱来对粗料(0.145g)进行纯化, 得到呈黄色油状物的中间体烯丙酯(0.030g, 33%)。¹H NMR(DMSO-d₆) δ 1.31(2H, m), 1.52-1.63(4H, m), 2.15(2H, t, J=7.3Hz), 3.41(2H, m), 3.43-3.70(2H, br. m), 4.15(1H, br. m), 4.43-4.54(5H, br. m), 4.87(2H, br. m), 5.14(1H, m), 5.25(1H, m), 5.79(1H, m), 7.12-7.38(12, m), 7.82(2H, d, J=7.4Hz), 8.21(1H, dd, J=2.5Hz, J=9.5Hz), 8.25(1H, d, J=8.0Hz), 8.84(2H, m)。

[0303] 步骤2. 将四(三苯基膦)钯(0)(0.002g, 1.7μmol)添加到得自步骤1的烯丙酯

(0.030g, 40 μ mol)和苯基硅烷(9.8mL, 80 μ mol)在无水四氢呋喃(0.5mL)中的搅拌溶液中。将反应混合物在环境温度下搅拌30分钟,然后浓缩。添加硅胶和CH₂Cl₂,并将混合物再次浓缩并加载到短硅胶柱上。将柱用30%己烷/70%乙酸乙酯随后乙酸乙酯洗脱并最终用含有0.5%乙酸的乙酸乙酯洗脱,得到呈黄色油状物的羧酸(0.024g, 86%)。¹H NMR(DMSO-d₆) δ 1.31 (2H, m), 1.51-1.62 (4H, m), 2.14 (2H, t, J=7.3Hz), 3.40 (2H, m), 3.45-3.80 (2H, br. m), 4.14 (1H, br. m), 4.41 (3H, br. m), 4.87 (2H, br. m), 7.16-7.30 (12H, m), 7.82 (2H, d, J=7.6Hz), 8.08 (1H, d, J=8.1Hz), 8.20 (1H, dd, J=2.7Hz, J=9.6Hz), 8.83 (2H, m)。

[0304] 实例12

[0305] 0-((9-(2-(N-(6-叠氮基己酰基)N-甲基)氨基)苄基)甲基)N-苯基N-氯甲基氨基甲酸酯



[0307] 将苄-2-羰基氯化物(由苄-2-羧酸和草酰氯制备)在THF中的溶液添加到甲胺水溶液(2摩尔当量)中以制备N-甲基苄-2-甲酰胺。使用醚中的LiAlH₄还原酰胺提供了2-((甲基)甲基)苄。通过与二碳酸二叔丁酯进行反应得到2-((N-^tBOC-N-甲氨基)甲基)苄来保护胺。

[0308] 将2-((N-^tBOC-N-甲氨基)甲基)苄在无水四氢呋喃(THF)中的溶液冷却至-78°C,然后用双(三甲基甲硅烷基)氨基锂在THF(1.2摩尔当量)中的溶液进行处理。1小时后,添加甲酸乙酯并允许混合物升温至环境温度。将混合物用乙酸乙酯稀释并相继用0.1N HCl、水、饱和NaHCO₃水溶液和盐水洗涤,然后经MgSO₄干燥,过滤并蒸发以提供2-((N-^tBOC-N-甲氨基)甲基)-苄-9-羧醛。将此化合物溶解于甲醇并用NaBH₄处理以提供9-(2-((N-^tBOC-N-甲氨基)甲基)苄基)苄基甲醇。

[0309] 将9-(2-((N-^tBOC-N-甲氨基)甲基)苄基)苄基甲醇溶解于THF并用根据实例4的通用工序用三光气和吡啶进行处理以提供氯甲酸酯。根据制备5的方法使氯甲酸酯与苯胺反应以提供0-(9-(2-((N-^tBOC-N-甲氨基)甲基)苄基)苄基)N-苯基氨基甲酸甲酯。

[0310] 将氨基甲酸酯溶解于三氟乙酸以除去^tBOC保护基。蒸发至干燥后,将所得胺溶解

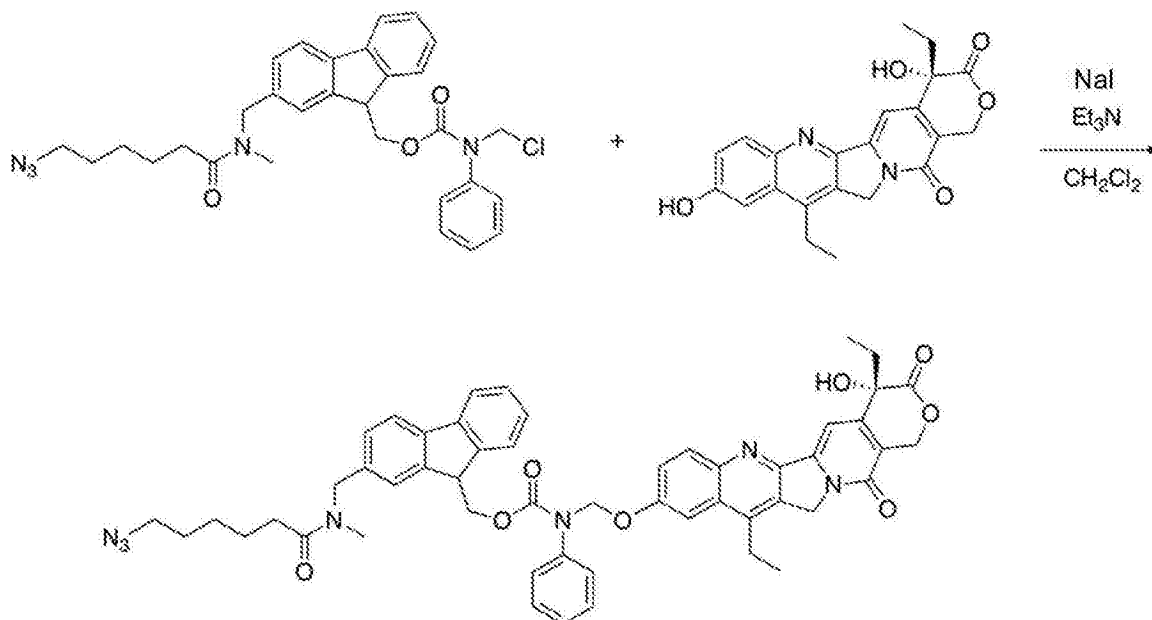
于THF中并用N-(6-叠氮基己酰基)琥珀酰亚胺和三乙胺(2当量)进行处理以提供O-(9-(2-((N-(6-叠氮基己酰基)-N-甲氨基)甲基)苄基甲基)N-苯基氨基甲酸酯。

[0311] 使O-(9-(2-((N-(6-叠氮基己酰基)-N-甲氨基)甲基)苄基甲基)N-苯基氨基甲酸酯与多聚甲醛在1:1THF/三甲基氯硅烷中反应提供了产物N-氯甲基氨基甲酸酯。

[0312] 实例13

[0313] 含有SN-38的接头-药物化合物

[0314]

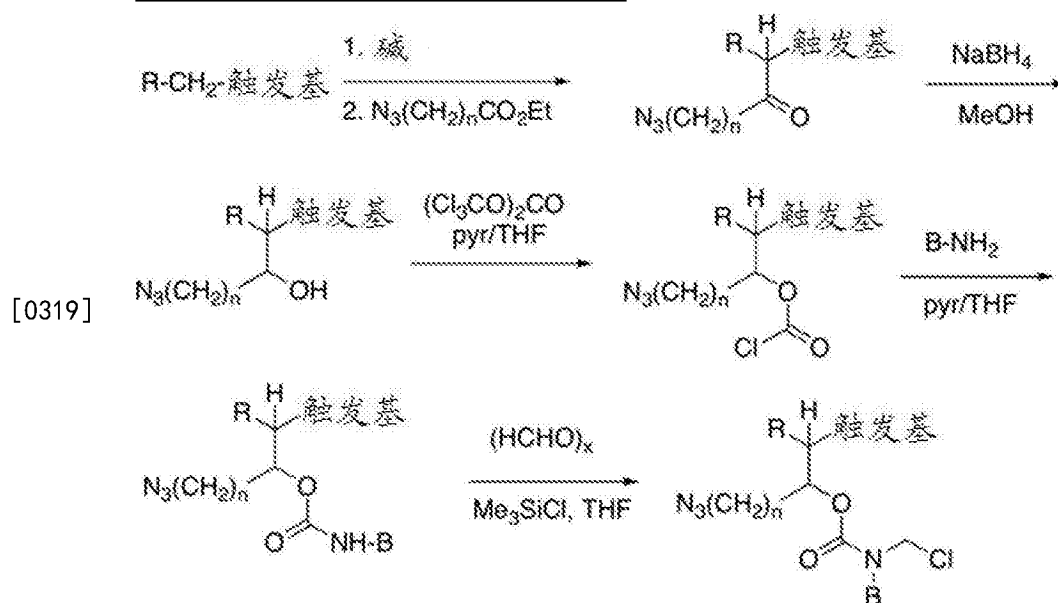


[0315] 该实例证实药物分子与本发明的化合物特别是通过药物分子中的酚基进行键合的。

[0316] 将实例12的N-氯甲基氨基甲酸酯(1当量)、SN-38(1当量)和碘化钠(10当量)在无水丙酮中的溶液用三乙胺(1当量)进行处理。将产物通过硅胶色谱法纯化。

[0317] 实例14

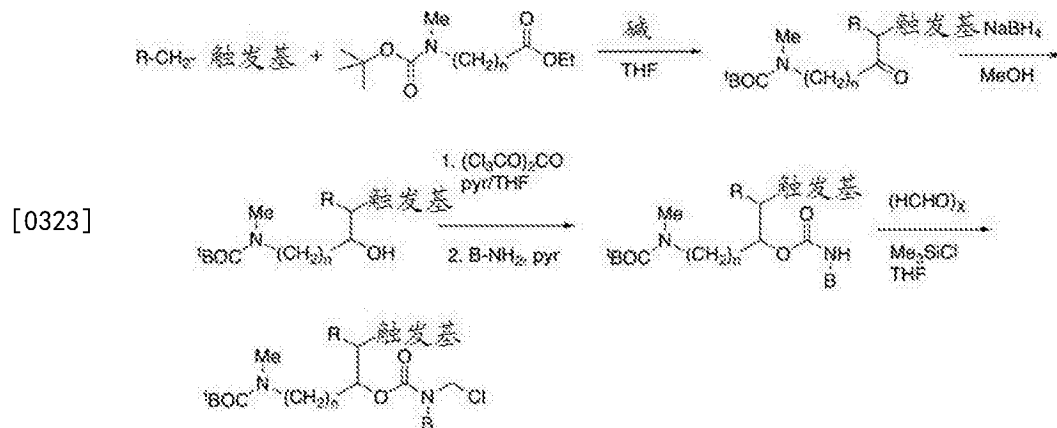
[0318] 制备R⁵叠氮基烷基-接头的通用方案



[0320] $R-CH_2$ -触发基与 ω -叠氮基链烷酸酯 $N_3(CH_2)_nCO_2R'$ ($n=3-6$) 在强碱例如 NaH、双(三甲基甲硅烷基)氨基锂(LiHMDS)或二异丙氨基锂(LDA)的存在下进行克莱森缩合得到酮,该酮通过与温和还原剂(例如硼氢化钠)在甲醇中反应而被还原成醇。然后将所得醇经由氯甲酸酯转化成氨基甲酸酯,然后如上所述转化成N-氯甲基氨基甲酸酯。

[0321] 实例15

[0322] 制备 R^5 BOC-保护的胺接头的通用方案

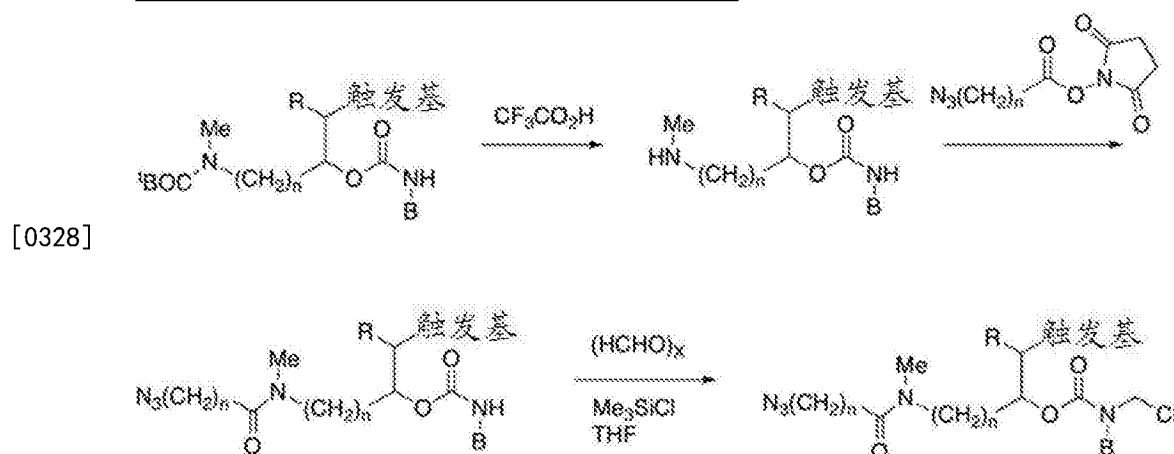


[0324] $R-CH_2$ -触发基与((N-叔丁氧基羰基N-烷基)氨基)链烷酸酯($n=3-6$)在强碱例如 NaH、双(三甲基甲硅烷基)氨基锂(LiHMDS)或二异丙氨基锂(LDA)的存在下进行克莱森缩合得到酮,该酮通过与温和还原剂(例如硼氢化钠)在甲醇中反应而被还原成醇。然后如实例5中所述,用胺 $B-NH_2$ 将所得醇转化成氨基甲酸酯。如实例6中所述,将氨基甲酸酯转化成N-氯甲基氨基甲酸酯。

[0325] 当与包含醇、硫醇、酚或苯硫酚基团的药物分子偶联后,通过用三氟乙酸处理将BOC基团从氨基甲酸酯中除去。使用缩合剂例如碳二亚胺(如EDCI)使所得胺与包含羧酸的大分子偶联。

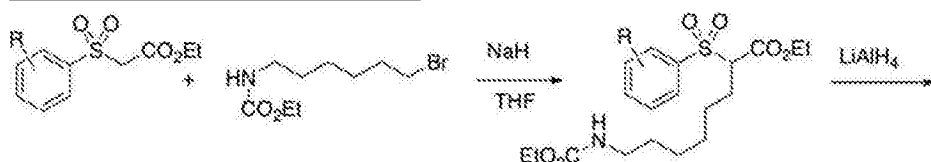
[0326] 实例16

[0327] 制备 R^5 酰氨基-叠氮基烷基-接头的替代方案

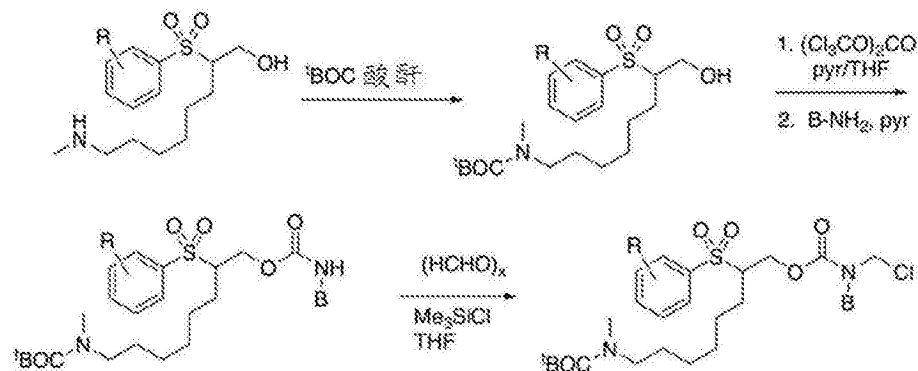


[0329] 通过用三氟乙酸处理将BOC基团从实例15的中间体BOC-保护的氨基甲酸酯中除去,并且所得胺与叠氮基链烷酸酯N-基琥珀酰亚胺酯($n=3-6$)进行反应得到叠氮基酰胺。将其转化成N-氯甲基氨基甲酸酯,如实例6中所述。

[0330] 实例17

[0331] 磺酰基触发的R⁵胺接头的制备

[0332]

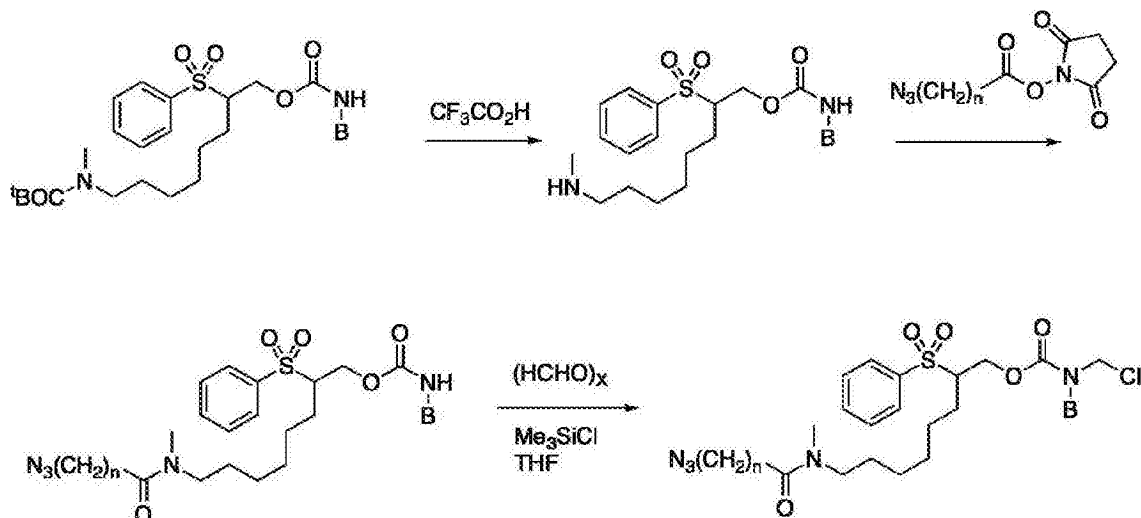


[0333] 使用THF中的过量的NaH将(2-苯磺酰基)乙酸乙酯去质子化并用N-(6-溴己基)乙基氨基甲酸乙酯烷基化。使用醚中的氢化铝锂还原产物以提供甲氨基醇,将甲氨基醇以BOC氨基甲酸酯的形式进行N-保护。根据前述工序将该醇转化成氯甲酸酯,然后转化成氨基甲酸酯并转化成N-氯甲基氨基甲酸酯。

[0334] 实例18

[0335] 磺酰基触发的R⁵酰氨基-叠氮化物接头的制备

[0336]

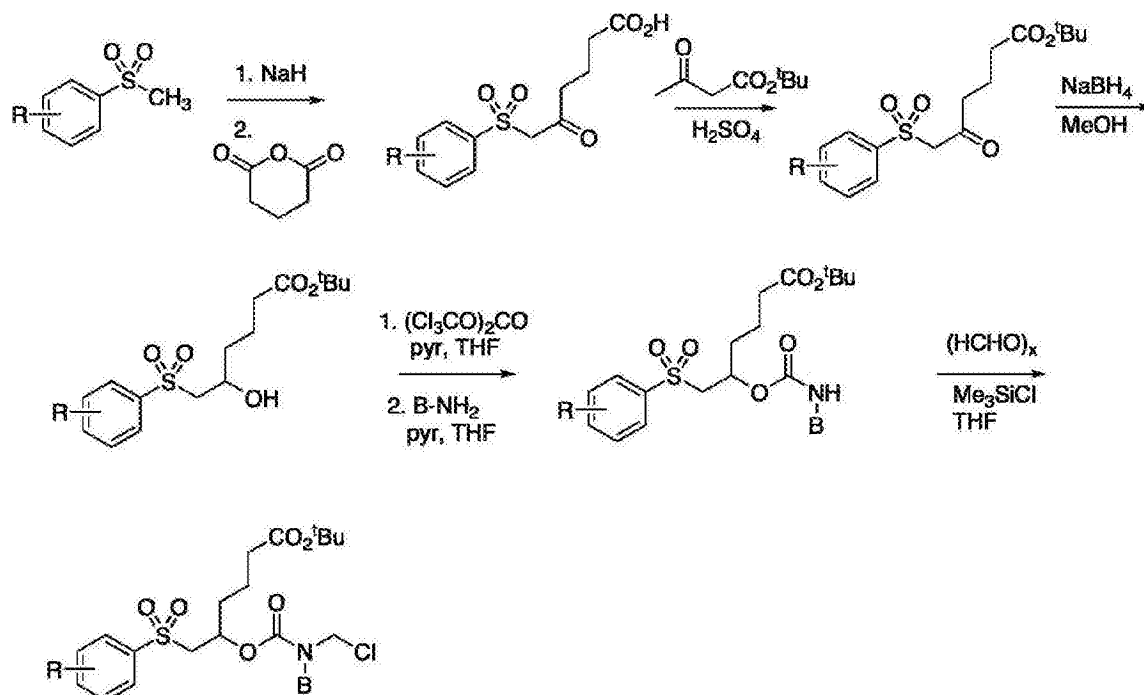


[0337] 通过用三氟乙酸处理将BOC基团从中间体实例17的BOC-保护的氨基甲酸酯中除去,并且所得胺与 ω -叠氮基链烷酸N-基琥珀酰亚胺酯(n=3-6)进行反应提供了叠氮基酰胺。将其转化成N-氯甲基氨基甲酸酯,如实例6中所述。

[0338] 实例19A

[0339] 磺酰基活化的R⁵酸接头的合成

[0340]

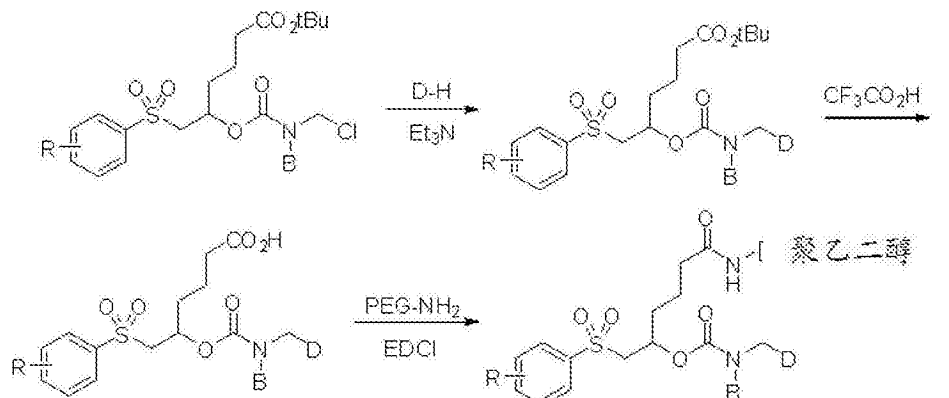


[0341] 在用戊二酸酐将苯基甲基磺酰化时,在四氢呋喃中用NaH将其去质子化,以提供一种酮酸。将所得酸以叔丁酯的形式进行保护,并将酮用NaBH₄还原。将所得醇经由氯甲酸酯转化成氨基甲酸酯,然后如上所述转化成N-氯甲基氨基甲酸酯。

[0342] 实例19B

[0343] 含有磺酰基活化的酸接头的接头-药物化合物的制备和与固体支撑物的共轭

[0344]



[0345] 使实例19A的接头与药物DH在1当量三乙胺的存在下进行反应。将所得保护的接头-药物化合物用三氟乙酸处理,并使用EDCI将所得游离羧酸共轭至氨基-衍生的固体支撑物上。

[0346] 实例20

[0347] 连接的肽的合成

[0348] 该实例证实使用本发明的化合物可容易地实现肽合成。使用针对固相肽合成的标准方法用丝氨酸、酪氨酸或半胱氨酸进行肽合成,丝氨酸、酪氨酸、酪氨酸或半胱氨酸呈适当受保护的形式,使得这些残基的侧链可选择性地解离(deblock)而不使其他残基脱保护。使部分脱保护的肽与过量的式(3)化合物在弱碱的存在下进行反应。洗涤树脂后,将产物肽解离并从树脂中分开以提供式(1)化合物,其中D为肽。可替代地,可以在肽连接至接头之后

将固体支撑物附上。

[0349] 作为一个实例,采用本领域中已知的方法,利用Rink树脂在固体载体上合成CCK8 (Asp-Tyr-Met-Gly-Trp-Met-Asp-Phe-NH₂),例如美国专利4,769,445中所描述(通过引用结合在此)。将商业Fmoc-Phe-Rink酰胺-MBHA树脂在DMF中预先溶胀30分钟,然后在室温下在哌啶/DMF(按体积计1:4,50ml)中悬浮并摇晃30分钟以除去Fmoc基团。将产物通过过滤分离并用DCM、DCM中的5%N,N-二异丙基乙胺(DIEA)和DCM洗涤(每次3×50ml)以得到Phe-Rink酰胺-MBHA-树脂的游离碱。在0°下将Fmoc-Asp(O^tBu)-OH(1.23g,3mmol)、DCC(0.62g,3mmol)和HOBt(0.69g,4.5mmol)在搅拌下溶解于50ml的按体积计4:1的DCM/DMF中持续1小时。将Phe-Rink酰胺-MBHA树脂(1毫当量)悬浮于过滤的反应混合物(除去DCU沉淀)中并在室温下摇晃2至15小时。将Fmoc-Asp-(O^tBu)-Phe-Rink酰胺-MBHA树脂产物通过过滤收集并用DCM洗涤。将Fmoc-Asp-(O^tBu)-Phe-Rink酰胺-MBHA树脂在室温下在哌啶/DMF(按体积计1:4,50ml)中悬浮并摇晃3分钟,然后第二次摇晃7分钟,以除去Fmoc基团。将产物通过过滤分离并用DMF和DCM洗涤(每次3×50ml),得到Asp-(O^tBu)-Phe-Rink酰胺-MBHA树脂的游离碱。Fmoc-Met-OH(1.12g,3mmol)、DCC(0.62g,3mmol)和HOBt(0.69g,4.5mmol)于0°,在下搅拌溶解于50ml按体积计4:1的DCM/DMF中持续1小时。将Asp-(O^tBu)-Phe-Rink酰胺-MBHA树脂(1毫当量)悬浮于过滤的反应混合物(除去DCU沉淀)中并在室温下摇晃2至15小时。将Fmoc-Met-Asp-(O^tBu)-Phe-Rink酰胺-MBHA树脂产物通过过滤收集并用DCM和DMF洗涤。将Fmoc-Met-Asp-(O^tBu)-Phe-Rink酰胺-MBHA树脂脱保护并相继与Fmoc-Trp-OH(1.28g,3mmol)、Fmoc-Gly-OH(0.89g,3mmol)、Fmoc-Met-OH(1.12g,3mmol)、Fmoc-Tyr-OH(1.37g,3mmol)和Boc-Asp(O^tBu)-OH(1.23g,3mmol)偶联以提供Boc-Asp(O^tBu)-Tyr-Met-Gly-Trp-Met-Asp(O^tBu)-Phe-Rink酰胺-MBHA树脂。将Boc-Asp(O^tBu)-Tyr-Met-Gly-Trp-Met-Asp(O^tBu)-Phe-Rink酰胺-MBHA树脂用DCM(3×50ml)在0-(9-苄基甲基)N-苯基N-氯甲基氨基甲酸酯(10当量)和三乙胺(1当量)于DCM的混合物中洗涤、悬浮并摇晃。将树脂通过过滤分离并用DCM洗涤(每次3×50ml)。使所得Boc-Asp(O^tBu)-Tyr(OX)-Met-Gly-Trp-Met-Asp(O^tBu)-Phe-Rink酰胺-MBHA树脂从树脂中分离并通过用8%酚、5%苯甲硫醚、5%水、以及3%3,6-二氧杂-1,8-辛二硫醇在三氟乙酸(10mL/g树脂)中的混合物摇晃4小时进行解离。将树脂通过过滤除去,并且通过添加10体积的醚来使肽沉淀。将粗肽通过反相HPLC纯化。

[0350] 在另一个实例中,使用上述方法通过固相合成制备含有半胱氨酸的肽,结合了S-(烯丙氧羰基氨基)-半胱氨酸[Cys(allocam)]或S-(N-[2,3,5,6-四氟-4-(N'-哌啶子基)苯基]-N-烯丙氧羰基-氨基)半胱氨酸[Cys(fnam)]残基。在从树脂中裂解之前,将半胱氨酸残基用DCM中的(Ph₃P)₄Pd和苯基硅烷进行选择性的解离,然后如上所述与式(3)的化合物进行反应。最后将肽解离,从树脂中除去并如上所述进行纯化。

[0351] 实例21

[0352] 5-氟尿嘧啶的接头-药物化合物

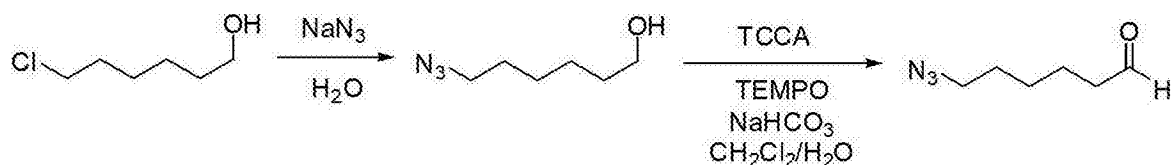
[0353] 作为制备本发明化合物的一个实例(其中D为通过杂环N偶联的药物残基),式(1)的接头-药物化合物可根据类似于Taylor和Sloane,“1-Alkylcarbonyloxymethyl Prodrugs of 5-Fluorouracil(5-FU):Synthesis,Physicochemical Properties,and Topical Delivery of 5-FU(5-氟尿嘧啶的1-烷基羰基氧基前药(5-FU):5-FU的合成、物理化学特性和局部递送)”,J.Pharmaceutical Sci.[药物科学]87(1):15-20(1998)以及

Synthesis of 3-Alkylcarbonyl-oxymethyl Derivatives of 5-Fluorouracil(5-氟尿嘧啶的3-烷基羰基氧甲基衍生物的合成)”, J.Heterocyclic Chem.[杂环化学]39:905-910 (均通过引用结合在此)中所用的方法由5-氟尿嘧啶和式(3)的化合物制备(在接头连接至固体支撑物之前或之后)。因此,将其中L为Cl的式(3)的化合物(1mmol)和NaI(1.3mmol)在无水乙腈(1mL)中的悬浮液在黑暗中搅拌24小时,然后过滤得到其中L为I的式(II)的化合物的溶液。允许滤液与1-(烯丙氧羰基-氧甲基)-5-氟尿嘧啶[Liu,Fullwood,and Rimmer, “Synthesis of Allyloxycarbonylmethyl-5-fluorouracil and copolymerizations with N-vinylpyrrolidinone(烯丙氧羰基甲基5-氟尿嘧啶的合成以及与N-乙烯基吡咯烷酮的共聚反应)”, J.MaterialsChem.[材料化学]10:1771-7,2000](0.8mmol)和1,8-双(二甲氨基)萘的混合物在环境温度下进行反应。6小时后,将混合物用醚稀释,搅拌1小时并过滤。将滤液浓缩以提供受保护的粗产物,将其用四(三苯基膦)钯(0)和苯基硅烷在无水THF中的混合物处理1小时,以除去烯丙氧羰基甲基保护基。将混合物蒸发,并将残基通过硅胶色谱法纯化,以提供式(1)的接头-药物化合物,其中该药物-接头部分易于与固体支撑物连接。

[0354] 实例22

[0355] 6-叠氮基己醛的制备

[0356]

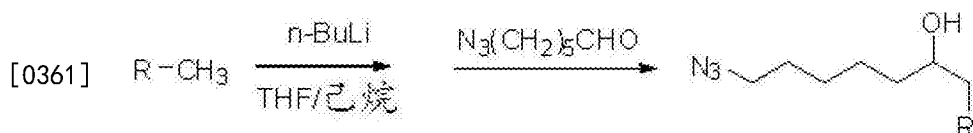


[0357] (1)6-叠氮基-1-己醇:将6-氯-1-己醇(25g,183mmol)和叠氮化钠(32.5g,500mmol)在200mL水中的混合物在回流下加热20小时,然后冷却至环境温度并用乙酸乙酯萃取3x。将合并的萃取物用盐水洗涤,经MgSO₄干燥,过滤并浓缩,以得到呈浅黄色油状物的产物(28.3g)。

[0358] (2)6-叠氮基己醛:将固体三氯异氰尿酸(TCCA;4.3g)分小部分添加到剧烈搅拌的6-叠氮基-1-己醇(7.15g)和碳酸氢钠(5.0g)在二氯甲烷(100mL)和水(10mL)中的混合物中。在添加后将混合物搅拌另外30分钟,然后通过硅藻土垫过滤。将有机相分离并相继用饱和NaHCO₃水溶液和盐水洗涤,然后经MgSO₄干燥,干燥并浓缩,以提供产物(5.8g),该产物即被使用无需进一步纯化。

[0359] 实例23

[0360] 叠氮醇的制备



[0362] 将正丁基锂(3.1mL,5.0mmol)在己烷中的1.6M溶液逐滴添加到R-CH₃(5.0mmol)在冷却至-78°C的无水四氢呋喃(THF)(15mL)的搅拌溶液中。添加后,将冷却浴除去并允许混合物经大约30分钟缓慢升温至0°C。然后将混合物冷却回-78°C,并添加6-叠氮基己醛(5.5mmol)。搅拌15分钟后,将冷却浴除去并允许混合物升温。在混合物变澄清时,添加5mL饱和NH₄Cl水溶液并允许混合物继续升温至环境温度。将混合物用乙酸乙酯稀释并相继用

水和盐水洗涤,然后经MgSO₄干燥,过滤并蒸发,以提供呈油状物的粗产物。使用己烷中的乙酸乙酯梯度在硅胶上进行色谱法提供了纯化的产物。

[0363] 根据此方法制备的化合物包括:

[0364] 1-(4-(三氟甲基)苯磺酰)-7-叠氮基-2-庚醇(R-CH₃=4-(三氟甲基)甲基苯基磺);

[0365] 1-(4-氯苯磺酰基)-7-叠氮基-2-庚醇(R-CH₃=4-氯苯基甲基磺);

[0366] 1-(苯磺酰基)-7-叠氮基-2-庚醇(R-CH₃=苯基甲基磺);

[0367] 1-(4-甲基苯磺酰基)-7-叠氮基-2-庚醇(R-CH₃=4-甲基苯基甲基磺);

[0368] 1-(4-甲氧基苯磺酰基)-7-叠氮基-2-庚醇(R-CH₃=4-甲氧基苯基甲基磺);

[0369] 1-(2,4,6-三甲基苯磺酰基)-7-叠氮基-2-庚醇(R-CH₃=2,4,6-三甲基苯基甲基磺);

[0370] 1-(吗啉代磺酰基)-7-叠氮基-2-庚醇(R-CH₃=4-(甲磺酰)-吗啉);

[0371] 1-(甲磺酰基)-7-叠氮基-2-庚醇(R-CH₃=二甲基磺);

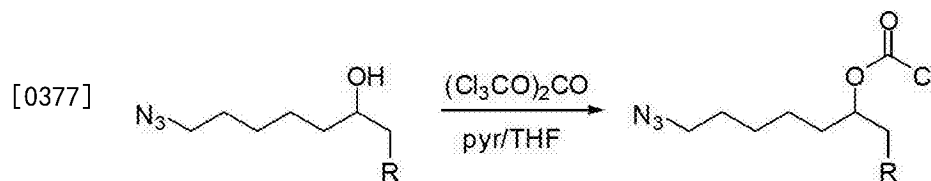
[0372] 1-氰基-7-叠氮基-2-庚醇(R-CH₃=乙腈);

[0373] 1-(吗啉代羰基)-7-叠氮基-2-庚醇(R-CH₃=4-乙酰基吗啉);和

[0374] 1-(9-苄基)-6-叠氮基-1-己醇("R-CH₃"=苄)。

[0375] 实例24

[0376] 叠氮基-接头氯甲酸酯的制备



[0378] 将吡啶(160μL)逐滴添加到实例23的叠氮醇(1.0mmol)和三光气(500mg)在15mL无水THF的搅拌溶液中。将此所得悬浮液搅拌10分钟,然后过滤并浓缩,得到呈油状物的粗氯甲酸酯。

[0379] 根据此方法制备的化合物包括:

[0380] 1-(4-(三氟甲基)苯磺酰基)-7-叠氮基-2-庚基氯甲酸酯;

[0381] 1-(4-氯苯磺酰基)-7-叠氮基-2-庚基氯甲酸酯;

[0382] 1-(苯磺酰基)-7-叠氮基-2-庚基氯甲酸酯;

[0383] 1-(4-甲基苯磺酰基)-7-叠氮基-2-庚基氯甲酸酯;

[0384] 1-(4-甲氧基苯磺酰基)-7-叠氮基-2-庚基氯甲酸酯;

[0385] 1-(2,4,6-三甲基苯磺酰基)-7-叠氮基-2-庚基氯甲酸酯;

[0386] 1-(吗啉代磺酰基)-7-叠氮基-2-庚基氯甲酸酯;

[0387] 1-(甲磺酰基)-7-叠氮基-2-庚基氯甲酸酯;

[0388] 1-氰基-7-叠氮基-2-庚基氯甲酸酯;

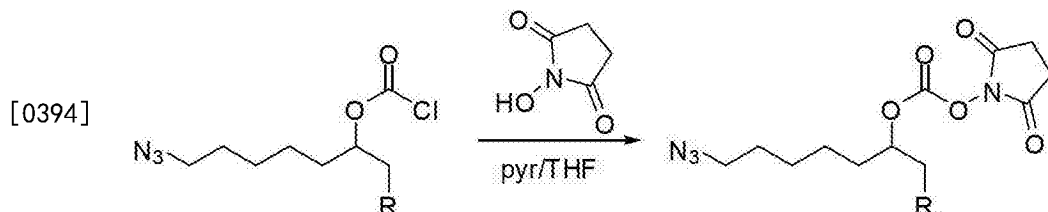
[0389] 1-(吗啉代羰基)-7-叠氮基-2-庚基氯甲酸酯;和

[0390] 1-(9-苄基)-6-叠氮基-1-己基氯甲酸酯。

[0391] 在制备缺少触发基官能团的控制体系的途径中,如上所述以6-叠氮基己醇开始制备了6-叠氮基己基氯甲酸酯。该控制体系不能经历β-消除。

[0392] 实例25

[0393] 叠氮基-接头-HSE碳酸酯的制备



[0395] 将实例24的氯甲酸酯在15mL无水THF中的溶液相继用N-基琥珀酰亚胺(350mg)和吡啶(250 μ L)处理10分钟。然后将混合物浓缩,并将残基再溶解于乙酸乙酯中。在用0.1N HCl、水、饱和NaHCO₃、水、和盐水洗涤后,将溶液经MgSO₄干燥,过滤并蒸发。在一些情况下,HSE碳酸酯自发结晶,并从乙酸乙酯/己烷中重结晶。在其他情况下,将粗HSE碳酸酯首先在硅胶上使用己烷在乙酸乙酯中的梯度进行层析,然后进行结晶。所有化合物均为晶体,除了得自1-(甲磺酰基)-7-叠氮基-2-庚醇的化合物之外。

[0396] 根据此方法制备的化合物包括:

[0397] 0-[1-(4-(三氟甲基)苯磺酰基)-7-叠氮基-2-庚基]-0'-琥珀酰亚胺基碳酸酯;

[0398] 0-[1-(4-氯苯磺酰基)-7-叠氮基-2-庚基]-0'-琥珀酰亚胺基碳酸酯;

[0399] 0-[1-(苯磺酰基)-7-叠氮基-2-庚基]-0'-琥珀酰亚胺基碳酸酯;

[0400] 0-[1-(4-甲基苯磺酰基)-7-叠氮基-2-庚基]-0'-琥珀酰亚胺基碳酸酯;

[0401] 0-[1-(4-甲氧基苯磺酰基)-7-叠氮基-2-庚基]-0'-琥珀酰亚胺基碳酸酯;

[0402] 0-[1-(2,4,6-三甲基苯磺酰基)-7-叠氮基-2-庚基]-0'-琥珀酰亚胺基碳酸酯;

[0403] 0-[1-(吗啉代磺酰基)-7-叠氮基-2-庚基]-0'-琥珀酰亚胺基碳酸酯;

[0404] 0-[1-(甲磺酰基)-7-叠氮基-2-庚基]-0'-琥珀酰亚胺基碳酸酯;

[0405] 0-[1-氰基-7-叠氮基-2-庚基]-0'-琥珀酰亚胺基碳酸酯;

[0406] 0-[1-(吗啉代羰基)-7-叠氮基-2-庚基]-0'-琥珀酰亚胺基碳酸酯;

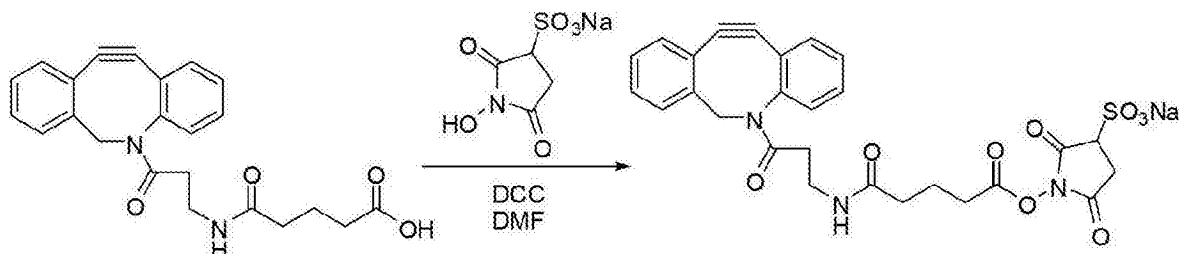
[0407] 0-[1-(9-苄基)-6-叠氮基-1-己基]-0'-琥珀酰亚胺基碳酸酯;

[0408] 还根据此方法在到缺乏触发基团的控制体系化合物的途径中从6-叠氮基己基氯甲酸酯开始制备了0-[6-叠氮基己基]-0'-琥珀酰亚胺基碳酸酯。

[0409] 实例26

[0410] DBCO-磺基NHS酯的制备

[0411]



[0412] DBCO-磺基NHS酯的制备是根据Staros, J.V., Biochemistry[生物化学]1982, 21, 3950-3955。将在DMF(250 μ L)中的0.88M二环己基碳二亚胺溶液加入43.4mg N-羟基琥珀酰亚胺钠(200 μ mol; Thermo Scientific)的悬浮液以及在一个1.5mL微量离心管中在250 μ L DMF中的78.1mg DBCO-酸(200 μ mol; Click Chemistry Tools)中。将该混合物在Daiggen Vortex Genie 2(涡旋装置3)上在室温下孵育16.5小时,在此期间N-羟基琥珀酰亚胺

钠溶解并且形成另一种沉淀物。在4°C冷却2.5小时之后,将悬浮液(14,000rpm,10min)离心并且将上清液转移至一个50mL离心管中。将这些洗涤液与原始上清液合并以产生1.3mL的总体积。加入乙酸乙酯(30mL),并且在1小时内允许一种沉淀物形成。经离心作用收集该沉淀物(4000rpm,10min)。依次用20mL乙酸乙酯(2x)以及15mL的乙醚(3x)洗涤球粒,然后干燥产生89.1mg(151μmol)的产量。

[0413] 实例27

[0414] DBC0-琼脂糖的制备

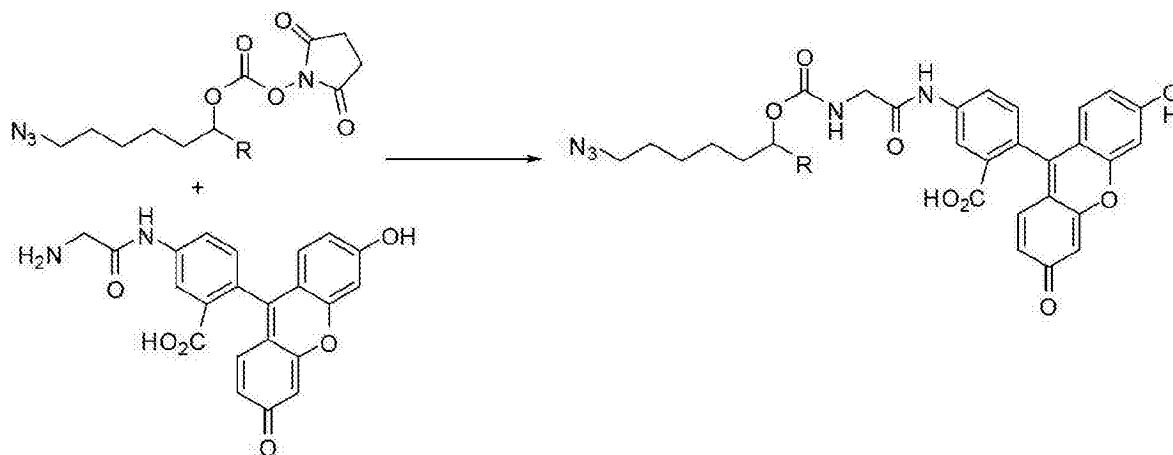


[0416] 将在12mL多孔的(fritted)柱(应用的分离方法(Applied Separations))中的3mL 100mM HEPES(pH 7.5)中的2mL氨乙基琼脂糖(3~6μmol/mL;Gold Biotechnology;极低浓度氨乙基琼脂糖,4%交联)用在167μL DMF中的3.54mg(6μmol)的DBC0-磺基NHS酯(实例26)处理,并且搅拌该混合物。反应进程通过移出从柱出口释放得到的20μL液滴进行跟踪。等分部分用120μL的水稀释,用20μL的0.2M、pH 3.5的乙酸酸化,以去除NHS的吸光度,并且用UV吸光度测量确定DBC0含量,在3.5小时之后,测量的剩下的DBC0常数并且表明>90%的DBC0已经发生反应。排出这些珠粒,并且顺序地用5mL的1M NaCl以及pH 7.5的4.5mL的0.1M HEPES洗涤。将合并的洗涤液用一个等体积的pH 3.5的0.2M乙酸酸化,并且UV测量表明剩下少于4%的初始DBC0吸光度,这表明转化>96%。将树脂(5.8μmol的DBC0;0.2至6.2μmol的胺)悬浮于3mL pH 7.5的0.25M HEPES中,并且将在乙腈(200μmol)中的0.5mL的0.4M乙酸酐加入并且搅拌1小时。用5mL的pH 7.5的0.25M HEPES,随后用5mL的pH 7.5的0.1M HEPES洗涤该树脂。经依次用各2mL的在pH 7.5的0.1M HEPES中含25%、50%、以及75%的MeOH,随后用10mL的100% MeOH洗涤将溶剂交换。将该树脂于0-4°C保存在MeOH中。

[0417] 实例28

[0418] 连接的荧光黄素的制备

[0419]



[0420] 将在DMSO(100μL)中25mM叠氨基-接头-HSE碳酸酯(实例25)溶液加入在DMSO(115μL)中10mg/mL的5-(氨基乙酰胺基)荧光黄素(Invitrogen)溶液中。在1h之后在环境温度,将

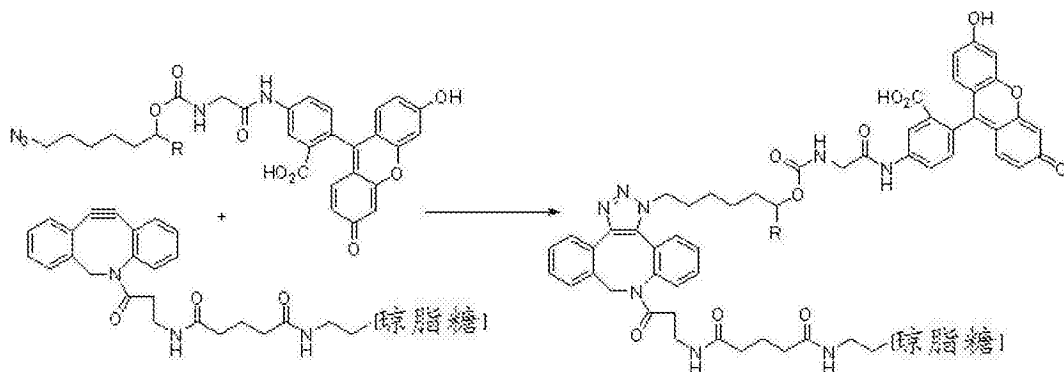
该混合物经反相HPLC分析,表明叠氮基-接头-HSE碳酸酯完全消耗并且形成了一种单个连接的荧光黄素产物。这些溶液未经纯化使用。

[0421] 根据此方法制备的化合物包含R=苯-SO₂CH₂、R=(4-氯苯基)-SO₂CH₂、以及R=H(对照体系)。

[0422] 实例29

[0423] 荧光黄素-琼脂糖共轭物的制备

[0424]



[0425] 将实例28的连接荧光黄素溶液(2.5 μ mol)加入悬浮于一个1.5mL离心管中0.7mL MeOH中的实例27的0.3mL的填充的DBCO-琼脂糖的悬浮液(1.15 μ mol)。将该混合物使用涡旋混合仪搅拌20小时,离心(2min, 4K rpm),用1mL的MeOH洗涤10x直到洗涤液在492nm的吸光度<0.001。基于未反应的连接的荧光黄素,使用组合洗涤液的吸光度以估计共轭至琼脂糖的量。

[0426] 通过使用这个方法,制备的共轭物具有接头,这些接头包含R=苯-SO₂-CH₂(1.17 μ mol共轭的荧光黄素)、R=(4-氯苯基)-SO₂-CH₂(0.46 μ mol共轭的荧光黄素)、以及R=H(0.92 μ mol共轭的荧光黄素)。

[0427] 实例30

[0428] 荧光黄素从荧光黄素-琼脂糖共轭物的释放

[0429] 将实例29的荧光黄素-琼脂糖共轭物(15 μ L;经计算具有57nmol荧光黄素共轭物;测量为在离心管中的填充体积)悬浮于在一个1.5mL离心管中的pH 8.5的1mL 0.1M二甘氨酸(bicine)中并且在37°C培养箱中的旋转摇摆器(Clay-Adams Nutator)上搅拌。以适当的时间间隔离心该悬浮液,测定上清液在495nm的吸光度,并且将上清液放回容器。在约7天之后,推测由于蒸发体积大约是650 μ L。为了得到在无限时间吸光度的估算值,测量的吸光度被校正到1.0mL的起始体积。

[0430] 当R=苯基-SO₂-CH₂, 57nmol的荧光黄素共轭物发生反应,释放的荧光黄素总量是29.9nmol,并且荧光黄素的释放显示 $k=0.0488\text{hr}^{-1}$ ($t_{1/2}=14.2$ 小时)。当R=(4-氯苯基-SO₂-CH₂),允许15nmol的荧光黄素共轭物反应116小时;释放的吸光度指示 $k=0.082\text{h}^{-1}$ ($t_{1/2}=8.4$ 小时),并且释放的荧光黄素总量是21nmol(每个测量是在实验误差之内)。当R=H,允许31nmol的荧光黄素共轭物反应140小时,没有吸光度释放;因此 $k<0.0001\text{hr}^{-1}$ ($t_{1/2}>5,000$ 小时)。

[0431] 实例31

[0432] PEGA-DBCO的制备

[0433] PEGA,一种珠状的聚乙二醇与二甲基丙烯酰胺的共聚物,是如下用DBCO衍生。将在

一个3-mL多孔的柱中的1mL 100mM HEPES(pH 7.5)中的1mL氨基PEGA树脂悬浮液(Merck; 0.41mmol氨基/g干重;在H₂O中12mL/g,在MeOH中10mL/g)(30.7 μ mol的总计的胺)加入在pH 7.5的405 μ L的100mMHEPES中的24.2mg(41 μ mol)的DBCO-磺基NHS酯(实例26)中。将该混合物经恒定地在血液学/化学混合器(Hematology/Chemistry Mixer)(Fisher)上翻滚旋转(end-over-end turning)搅拌。当进行反应时,将从出口释放的液滴的一个10 μ L等分部分用760 μ L的H₂O稀释,用30 μ L的0.2M、pH 3.5的乙酸酸化,以去除NHS的吸光度,并且用来经UV测量确定剩余的可溶DBCO(等分部分未用的部分被放回至反应)。在4小时之后,可溶DBCO的量仍然不变。顺序地用4mL pH 7.5的0.1M HEPES、2.5mL的1M NaCl、以及2.5mL pH 7.5的0.1M HEPES洗涤该树脂。将组合的洗涤液用一个等体积的pH 3.5的0.2M乙酸酸化,并且UV测量表明30 μ mol的初始DBCO吸光度与该树脂有关。将该树脂用1:1MeOH/0.1M HEPES(pH 7.5)平衡,转化为2mL浆料,用在1:1MeOH/0.1M HEPES(pH7.5)中的0.6mL 61.5mM乙酰基-N-羟基丁二酰亚胺(36.9 μ mol)处理并且搅拌2h。用5mL的pH 7.5的0.25M HEPES,随后用5mL的pH 7.5的0.1M HEPES洗涤该树脂。经依次用各2mL的在pH 7.5的0.1M HEPES中含25%、50%、以及75%的甲醇,随后用10mL的甲醇洗涤将溶剂交换。将该树脂于0-4°C保存在MeOH中。最终产量是在750 μ L填充体积中含30 μ mol。

[0434] 实例32

[0435] PEGA-荧光黄素共轭物的制备

[0436] 将在甲醇中PEGA-DBCO(实例31)的等分部分(35-50 μ L填充树脂;大约1.15-1.7 μ mol DBCO)悬浮于在1-mL多孔的柱中0.7mL的甲醇中。将在215 μ L DMSO中的连接的荧光黄素溶液(实例28;2.5 μ mol)加入,并且将该混合物经在血液学/化学混合器(Hematology/Chemistry Mixer)(Fisher)上翻滚旋转搅拌16小时。将所得树脂用甲醇(7.5-10mL)洗涤以去除未结合的荧光黄素;将这些组合洗涤液在稀释进0.1M硼酸钠中之后经测量在492nm的吸光度分析荧光黄素含量。结合的荧光黄素是经在加入反应中的总荧光黄素与在树脂洗涤之后测量的未结合的荧光黄素之间的差来确定。柱子排出过多的甲醇,并且将该湿柱保存在4°C。

[0437] 根据此方法制备的共轭物包括:R=苯基-SO₂CH₂(包含1.14 μ mol荧光黄素/ μ L填充树脂)、R=(4-氯苯基)-SO₂CH₂(包含0.68 μ mol荧光黄素/ μ L填充树脂)、以及对照R=H(包含1.12 μ mol荧光黄素/ μ L填充树脂)。

[0438] 实例33

[0439] 荧光黄素从PEGA-荧光黄素共轭物的释放

[0440] 将实例32的共轭物(20-30nmol的总荧光黄素)悬浮于在一个1.5mL微量离心管中的pH 8.45的1mL 0.1M二甘氨酸中并且在37°C培养箱中的旋转摇摆器(Clay-Adams Nutator)上搅拌。以多个时间间隔离心该悬浮液,测定上清液在492nm的吸光度,并且将上清液放回容器。在68小时之后,孵育温度提高至67°C,并且另外持续孵育3.5小时以允许对于两个具有可释放接头(R=苯基-SO₂CH₂以及(4-氯苯基)-SO₂CH₂)的样品其完全水解的测定并且以允许估算具有不可释放接头(R=H)的样品其断裂反应速率的上限。数据显示于图4中。

[0441] 具有R=苯基-SO₂CH₂(约22.8 μ mol结合的荧光黄素)共轭物以k=0.027/h(T_{1/2}=26h)释放23 μ mol的荧光黄素,同时具有R=(4-氯苯基)-SO₂CH₂(约27.2 μ mol结合的荧光黄素)的共

轭物以 $k=0.040/h$ ($T_{1/2}=17h$) 释放 $29\mu\text{mol}$ 的荧光黄素。这些结合的对比释放的荧光黄素的计算是在实验误差之内。基于 $<2\mu\text{mol}$ 的荧光黄素的释放,从具有 $R=H$ ($34.6\mu\text{mol}$ 的结合的荧光黄素)的不可释放共轭物(模型系统)中估算了 $k<0.0001/h$ ($T_{1/2}>6900h$) 释放速率的一个上限。

[0442] 实例34

[0443] 改性的金属表面

[0444] 用胺、羧酸酯、叠氮化物、炔、硫醇、或马来酰亚胺基团修饰的金属表面按如下方法制备。

[0445] 根据Xiao,等人,Langmuir[朗缪尔]14:5507-5516(1998)的方法制备胺修饰的钛表面。因此,表面通过使用一种诸如在 0.42mbar 持续2分钟的PDC-32G(Harrick, New York)的等离子体清洁剂/消毒器的水蒸气等离子体预处理,然后真空干燥。将干燥的表面用在甲苯中1%(w/v)的(3-氨基丙基)三乙氧基硅烷溶液在 80°C 处理48h。然后将该表面用氯仿五次、用丙酮两次,并且用甲醇五次超声洗涤,然后用水漂洗并且真空干燥并且在 100°C 在 N_2 下固化1h。

[0446] 使用胺修饰的钛表面经由一种环酐(例如琥珀酸酐或戊二酸酐)的处理来制造羧酸酯修饰的表面。因此,将胺修饰的钛表面悬浮于在乙腈中 0.1M 琥珀酸酐的溶液中,并且加入三乙胺至 0.1M 终浓度。在12h之后,该钛表面按照以上所述的方法被移去并且洗涤并且干燥。

[0447] 使用胺修饰的钛表面经与一种叠氮化物-、炔-、或马来酰亚胺-取代的羧酸(例如N-(6-叠氮基己酰氧基)琥珀酰亚胺、N-(4-叠氮基丁酰氧基)-琥珀酰亚胺、N-(5-己酰氧基)琥珀酰亚胺、N-(3-(马来酰亚胺)丙酰氧基)-琥珀酰亚胺、以及类似试剂)其适当的N-羟基琥珀酰亚胺酯发生反应以制造叠氮化物-、炔-、以及马来酰亚胺-修饰的表面。因此,将胺修饰的钛表面悬浮于在乙腈中 0.1M N-(6-叠氮基己酰氧基)琥珀酰亚胺的溶液中,并且加入三乙胺至 0.1M 终浓度。在1h之后,该钛表面按照以上所述的方法移去并且洗涤并且干燥,得到一种叠氮基修饰的钛表面。类似地,将胺修饰的钛表面悬浮于在乙腈中 0.1M N-(3-(马来酰亚胺)丙酰氧基)琥珀酰亚胺的溶液中,并且将三乙胺加至 0.1M 终浓度。在1h之后,该钛表面按照以上所述的方法移去并且洗涤并且干燥,得到一种马来酰亚胺修饰的钛表面。

[0448] 使用胺修饰的钛表面经与一种适当的阻断-硫醇试剂的NHS酯发生反应来制造硫醇修饰的钛表面。例如,将胺修饰的钛表面在 0.1M 三乙胺的存在下悬浮于 0.1M N-(3-(2-吡啶基二硫基)丙酰氧基)琥珀酰亚胺溶液中。在1h之后,该钛表面按照以上所述的方法移去并且洗涤并且干燥,得到一种2-吡啶基二硫基修饰的钛表面。例如,将2-吡啶基二硫基修饰的钛表面悬浮于在 0.1M 的pH 6的MES缓冲液溶液中 10mM 三(2-羧乙基)膦酸盐的溶液中。经在 343nm 吸光值的检测分析该溶液2-吡啶基二硫基的形成。当吸光值达到一个最大值,按照以上所述的方法洗涤该钛表面并且干燥,得到一种硫醇修饰的钛表面。

[0449] 类似地起初用其他具有游离表面羟基的金属制备修饰的表面,这些金属是例如不锈钢、三价钴-铬合金、以及三价钴-铬-钼合金。

[0450] 实例35

[0451] 修饰的胶原

[0452] 处理胶原以引入如下官能团。遵照在Tiller,等人,Biotechnol Bioengineering

[生物技术生物工程](2001)73:246-252中的方法制备不可溶的I类胶原。因此,将胶原浸在4°C下在0.5M乙酸中过夜,然后在一个冷掺和器中均匀化并且过滤。将胶原以1%悬浮在pH 7.4的0.1M磷酸缓冲液中,并且置于真空下以去除夹入的空气气泡。

[0453] 为产生经2-吡啶基二硫基基团修饰的胶原,将以上的悬浮液用在pH 7.4缓冲液中的0.1M硫代琥珀酰亚胺基6-(3'-[2-吡啶基二硫基]-丙酰胺基)己酸酯(Thermo Scientific)在室温处理4h,按需添加1M NaOH使pH维持在7.4。将所得混合物透析以去除多余的试剂。

[0454] 以类似方式,经叠氮化物、炔、或马来酰亚胺基团修饰的胶原经用相对应的硫代琥珀酰亚胺基试剂处理来制备。

[0455] 将以上所述的修饰的胶原经用0.5M乙酸稀释至2.5mg/mL制成胶原膜,将该膜的1mL涂布于盖培养皿并且允许其充分干燥以形成一种透明薄膜。将这些膜用pH 7.4的10mM磷酸缓冲液洗涤3h,然后用水洗涤2h,并且干燥。可替代地,可以如以上所述处理由未衍生化的胶原制成的膜以引入不同的官能团。

[0456] 实例36

[0457] 修饰的水凝胶

[0458] 水凝胶是由聚合物链的网络组成的交联聚合物凝胶,例如藻酸钙、聚丙烯酸钠、聚乙烯醇、聚丙烯酰胺、聚环氧乙烷、以及聚乙烯吡咯烷酮,聚合物链网络中的聚合物不溶于水、有时被发现作为其中水是分散介质的胶态凝胶。水凝胶是高度可吸收的(它们可以包含超过99%的水)天然的或合成的聚合物。由于它们大量的含水量,水凝胶还具有类似于天然组织的一定的柔性。它们可以定型为薄层以提供并且维持一个有助于最大愈合的潮湿的创伤环境。经增加含湿量,水凝胶具有帮助清洁并清创坏死组织的能力。水凝胶是非粘附的并且可以移至创伤处而无外伤。成为薄层的不同的水凝胶敷料是可商购的,例如制备为称为TegaGel®(3M)的一种纺织纤维的藻酸钙以及称为AQUASORB®(DeRoyal)的聚丙烯酸钠。

[0459] 基于藻酸盐-以及聚丙烯酸酯-的水凝胶可以在N-羟基丁二酰亚胺的存在下通过经使用碳二亚胺缩聚试剂(例如EDCI)的游离羧酸酯基团的衍生化进行修饰,以提供包含活化N-羟基琥珀酰亚胺酯的藻酸盐。然后将该活化了的藻酸盐与一种也包含所希望的官能团(例如叠氮化物、胺、炔、2-吡啶二硫基、或马来酰亚胺)的胺化合物偶联。

[0460] 实例37

[0461] 修饰的纤维素材料

[0462] 包含游离羟基的纤维素材料,例如棉、外科纱布、外科手术缝合线、吸水垫、绷带、烧伤敷料、以及以棉、纸、纺织物、海绵、等等为形式的牙洞填料,可以用不同的方式修饰。

[0463] 在一个方法中,将这种材料用一种聚马来酸酐或(马来酸酐-乙酸乙烯酯)共聚物处理以引入羧酸酯官能团。共聚物是经马来酸酐和乙酸乙烯酯的自由基共聚合反应制备,如在Xiao,等人,“淀粉-g-(马来酸酐-乙酸乙烯酯)共聚物的合成和特性”(“Synthesis and properties of starch-g-poly(maleic anhydride-co-vinyl acetate)”),Express Polymer Letters[聚合物快报]4:9-16(2001)中所描述。因此在水中将纤维素材料和共聚物的混合物加热至100°C以驱逐掉水。将所得材料充分地用乙醇洗涤并且干燥,得到羧酸酯修饰的纤维素材料。

[0464] 在羟基丁二酰亚胺的存在下使所得的羧基化的纤维素材料经过与一种碳二亚胺缩聚试剂(例如EDCI)发生反应活化,得到包含活化N-羟基琥珀酰亚胺酯的改性纤维素。然后将该活化了的纤维素与一种也包含所希望需官能团(例如叠氮化物、胺、炔、2-吡啶基二硫基、或马来酰亚胺)的胺化合物偶联。因此,为了制备一种炔修饰的纤维素材料,该活化的纤维素材料可以与一种炔胺(例如5-己炔-1-胺)发生反应。

[0465] 实例38

[0466] SN-38可释放地经炔-叠氮化物环加成作用附连至钛表面

[0467] 将如在实例34中所述制备的一种炔修饰的钛表面悬浮于0.1M的实例13的接头-SN-38化合物在四氢呋喃的一个溶液中。加入包括50mM CuSO₄、50mM三-[(1-苄基-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基]胺(TBTA)以及100mM抗坏血酸钠的催化剂混合物,并且允许该反应进行48h。然后将该钛表面移去,用氯仿五次、用丙酮两次,并且用甲醇五次超声洗涤,然后用水漂洗并且真空干燥并且在100°C在N₂下固化1h。

[0468] 实例39

[0469] 抗体可释放地附连至修饰的胶原

[0470] 将抗体在表面胺基上经过与一种可释放的接头发生反应活化,该接头包括如在共同未决的申请公开为W02009/158668中所述的和如上所述的制备的一种叠氮基基团以及一种N-羟基琥珀酰亚胺基碳酸酯。因此,将在pH 8.4的0.1MNaHCO₃中的2mg/mL的该抗体溶液用一种叠氮化物-接头-NHS的溶液在常温处理4小时。将所得混合物用pH 7.4的PBS渗析,以去除多余的试剂并且提供一种经氨基甲酸酯基团附连至叠氮化物-接头的抗体溶液。

[0471] 将如在实例35中所述制备的一种炔修饰的胶原悬浮于一种在PBS中的叠氮化物接头-抗体化合物的溶液中。加入包括50mM CuSO₄、50mM三-[(1-苄基-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基]胺(TBTA)以及100mM抗坏血酸钠的催化剂混合物,并且允许该反应进行48h。移去该胶原并且用水充分地洗涤,得到可释放地附连至胶原的抗体。

[0472] 实例40

[0473] 可释放地附连至外科纱布的生长因子

[0474] 生长因子或细胞因子可以可释放地附连至固体支撑物(例如金属表面、胶原、水凝胶、以及纤维素材料)上。例如,一种生长因子,例如血小板衍生生长因子(PDGF),可以可释放地附连至外科纱布以促进伤口愈合。

[0475] 将生长因子在表面胺基上经过与一种可释放的接头发生反应活化,该接头包括如在共同未决的申请公开为W02009/158668中所述的和如上所述的制备的一种叠氮基基团以及一种N-羟基琥珀酰亚胺基碳酸酯。因此,将在pH 8.4的0.1M NaHCO₃中的2mg/mL的该生长因子溶液用一种叠氮化物-接头-NHS的溶液在常温处理4小时。将所得混合物用pH 7.4的PBS渗析,以去除多余的试剂并且提供一种经氨基甲酸酯基团附连至叠氮化物-接头的生长因子溶液。

[0476] 将如在实例37中所述制备的一种炔修饰的外科纱布悬浮于一种叠氮化物接头-生长因子化合物在PBS中的溶液中。加入包括50mM CuSO₄、50mM三-[(1-苄基-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基]胺(TBTA)以及100mM抗坏血酸钠的催化剂混合物,并且允许该反应进行48h。移去该胶原并且用水充分地洗涤,得到可释放地附连至外科纱布的生长因子。

[0477] 实例41

[0478] 聚合物-包覆的支架的制备

[0479] 经在W02006/102247中所描述的方法的修饰制备一种聚合物-包覆的支架。

[0480] 底漆层:

[0481] 将(乙烯-共-乙烯醇)共聚物(EVAL)溶解于1:1的DMSO:DMAC中以产生按重量计2%的溶液。将该2%的聚合物溶液以一系列的10秒道次(pass)应用于一个13mmTETRA®支架,以使每一道次喷洒沉淀10μg的包覆物。在喷洒道次之间,将该支架使用在80°C的气流干燥十秒。应用五道次喷洒以形成一种50μg的底漆层,随后将底漆层经在140°C干燥一小时。

[0482] 含药物层

[0483] 将EVAL的羟基用羰基二咪唑活化并且与PEG-NH₂发生反应以产生一种经氨基甲酸酯部分连接的PEG-EVAL共轭物。类似地,本发明的前体化合物在一个分离反应中偶联至活化的羟基。这些可以在DMF溶液中与溴丙炔以及三乙胺发生反应,得到一种包含端炔的PEG-EVAL共轭物。该炔与包含一种在R¹、R²、R⁵或B中叠氮基烷基的中间体发生反应。药物可以在这个反应之前或之后偶联。

[0484] 将该聚合物溶解于1:1的DMSO:DMAC中以产生按重量计的2%。用于喷洒在支架上底漆层的相同的仪器被用于涂布药物层。进行七十道次喷洒以形成一种700μg的药物-聚合物层,随后将药物-聚合物层经在50°C干燥2小时。

[0485] 面漆层

[0486] 将一种在4:1DMAC:戊烷中包含按重量计2%的(乙烯-共-丁基乙烯基醚-共-乙烯醇)共聚物的面漆层通过使用相同的仪器涂布于含药物层。进行十五道次喷洒以形成一种150μg的面漆层,随后经在50°C干燥2小时。

[0487] 罩面层

[0488] 将一种在5:3:2DMAC:乙醇:DMSO的溶液中包含按重量计2%的(乙烯-Mpeg(560)氨基甲酸酯-共-乙烯醇)共聚物的罩面层以与上述涂层相同的涂敷方式涂布。进行三十五道次喷洒以形成一种350μg的罩面层,随后经在50°C干燥2小时。

[0489] 实例42

[0490] 镍钛合金(TiNi)药物共轭物

[0491] 镍钛合金(TiNi)是通过使用13.56MHz RF等离子辅助的化学气相沉积(PACVD)用DLC薄层包覆的。这些DLC层在400V偏压以及1.33Pa沉积压力沉淀。处理TiNi-DLC的表面以去除杂质并且将样品真空干燥24h以得到一种氧化的TiNi-DLC。Shin,等人,J.Bioactive Compatible Polymers[生物活性相容聚合物](2009)24:316-328。

[0492] 将炔基PEG经已知方法的修饰异氰酸酯化。Id.在氮气下在45°C使炔基PEG与2%二月桂酸二丁基锡(DBTDL)以及溶于甲苯中的二异氰酸六亚甲酯(HDI)(2当量)反应45min。

[0493] 在40°C将这些TiNi-DLC样品在甲苯中与炔基-PEG以及的辛酸亚锡接枝24h以产生PEG-接枝的TiNi-DLC。该TiNi-DLC-PEG通过Huisgen's 1,3-偶极环加成作用在硫酸铜的催化下与一种包含叠氮基烷基的接头的共轭物发生反应。药物可以在这个反应之前或之后偶联。

[0494] 实例43

[0495] 药制的纱布

[0496] 将外科纱布(棉制,5cmx 5cm)与以按重量计大约10%的浓度溶解于丙酮(任选地包

含催化的盐酸)的聚马来酸酐发生反应,并且将该混合物反应在25°C持续10小时,如在美国专利号4,265,233中的大致说明的。

[0497] 使聚合物-浸渍的纱布在DMF中与N-羟基丁二酰亚胺(NHS)以及DCC在25°C反应3小时。使该NHS-活化的酸与包含一种胺接头的中间体化合物发生反应。药物可以在这个反应之前或之后偶联。

[0498] 实例44

[0499] 胶原药物共轭物

[0500] 真皮牛胶原(DBC)经与在DMSO中的 γ -硫丁内酯发生反应被硫醇化。Kurimoto,等人,Journal of Biotechnology[生物技术杂志](2001)86:1-8。可替代地,通过使用经NN'-二琥珀酰基脒胺与1,1'-羰基二咪唑发生反应随后经用1,4-二硫苏糖醇还原二硫化物基团制备的一种包含二硫化物的试剂使DBC硫醇化。Nicolas & Gagnieu, Biomaterials(1997)[生物材料]18:807-813。

[0501] 在DMF中该硫醇化的DBC与羰基二咪唑以及三乙胺发生反应,随后经与一种包含R¹、R²、R⁵或B官能团中的胺基的中间体发生反应,得到一种硫代氨基甲酸酯-连接的胶原共轭物。药物可以在这个反应之前或之后偶联。

[0502] 在其他的实施方案中,在DMF中使该硫醇化的DBC与NHS-活化的3-丁炔酸反应。该包含产物的炔进一步地经Huisgen's 1,3-偶极环加成作用在硫酸铜的催化下与一种包含叠氮基烷基的接头的药物共轭物发生反应。

[0503] 实例45

[0504] 包覆的生物医学装置(起搏器、心脏瓣膜、支架)

[0505] 通过使用铈离子引发(CeIV)、臭氧照射或UV辐射,该医学装置的表面与一种包含聚合物(例如羟基-官能化的PVP共聚物(如在美国专利号3,563,968中所描述))的乙烯基发生接枝,如在美国专利号6,033,719中大致所披露的那些。

[0506] 该聚合物的羟基与羰基二咪唑发生反应,随后经与一种包含R¹、R²、R⁵或B中的胺基的中间体发生反应以得到一种氨基甲酸酯-连接的共轭物。药物可以在这个反应之前或之后偶联。

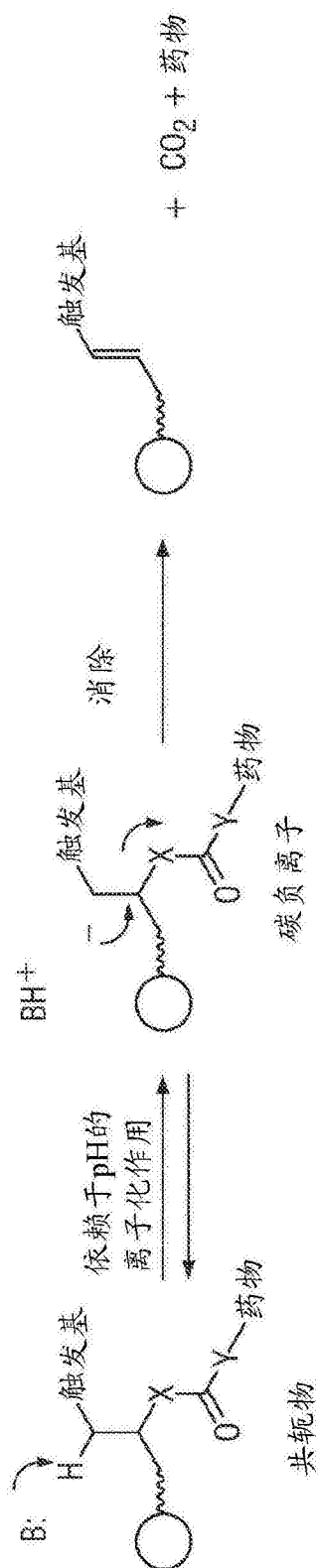


图1

药物释放速度与在生理pH下电离为碳负离子的共轭物部分是成比例的，其中离子化作用产生更快的药物释放速率。

电离的共轭物部分经邻近触发基的质子的酸度 (pK_a)

测定并且酸性 (更低的 pK_a) 产生更大的电离。

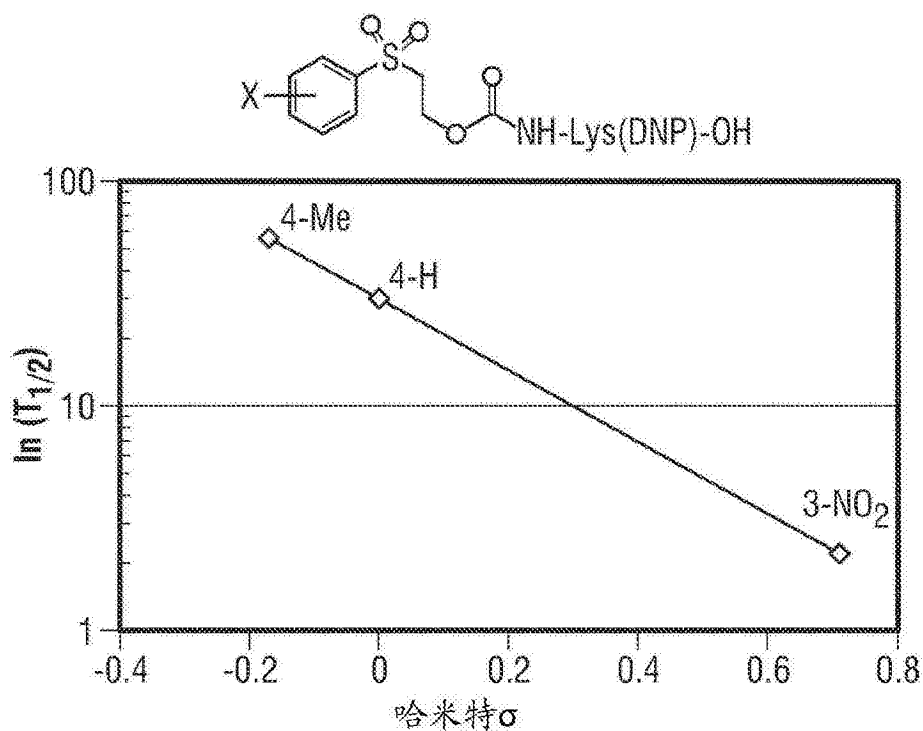
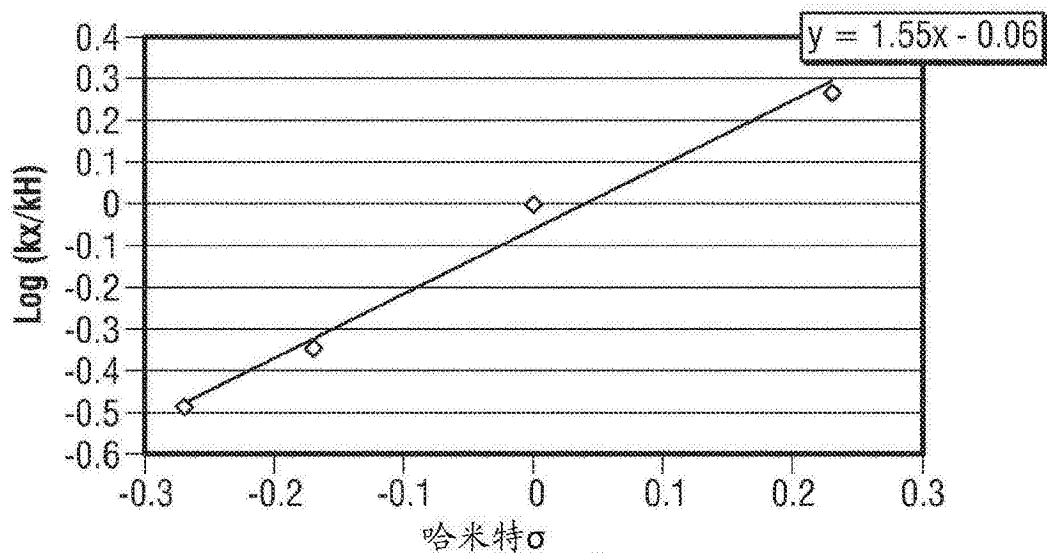


图2



在其中 $R^2 = -(\text{CH}_2)_3\text{CCH}$ 的 H-Lys(DNP)-OH 在 25°C 从图 5 的化合物释放的速率与 Hammett σ_p 之间的自由能线性相关；从左到右， $R^1 = -\text{OMe}$ 、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{H}$ 、 $-\text{Cl}$

图3

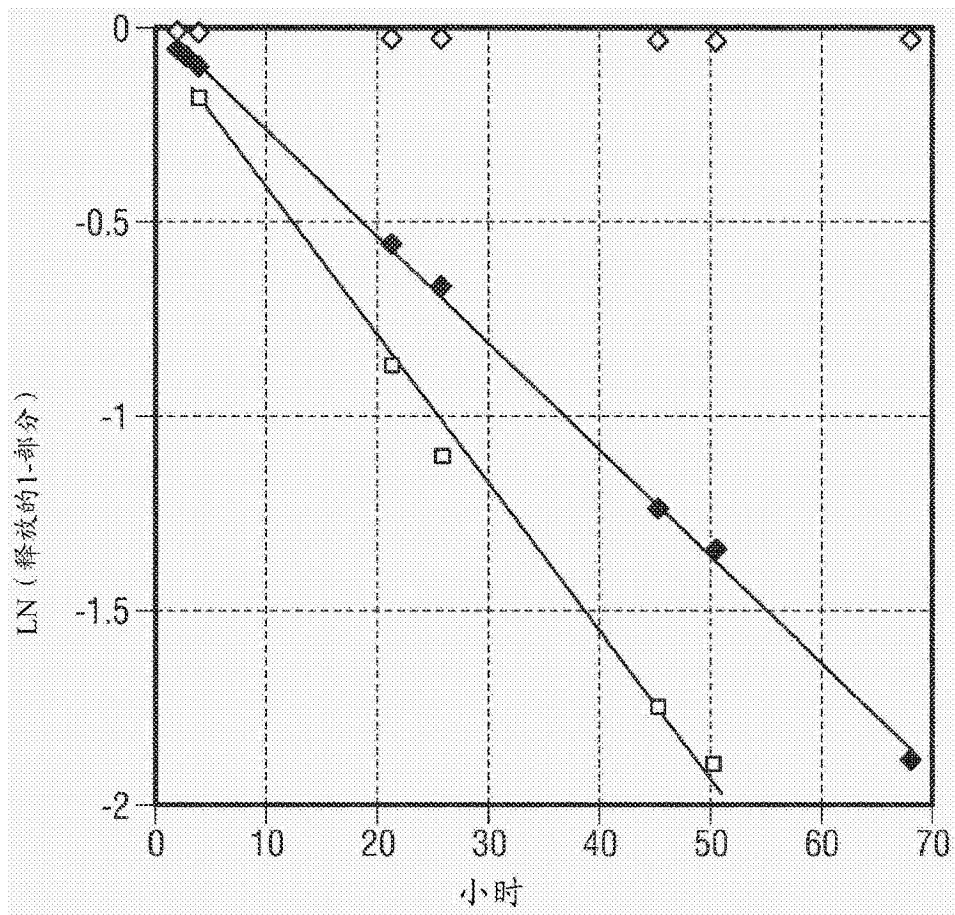


图4

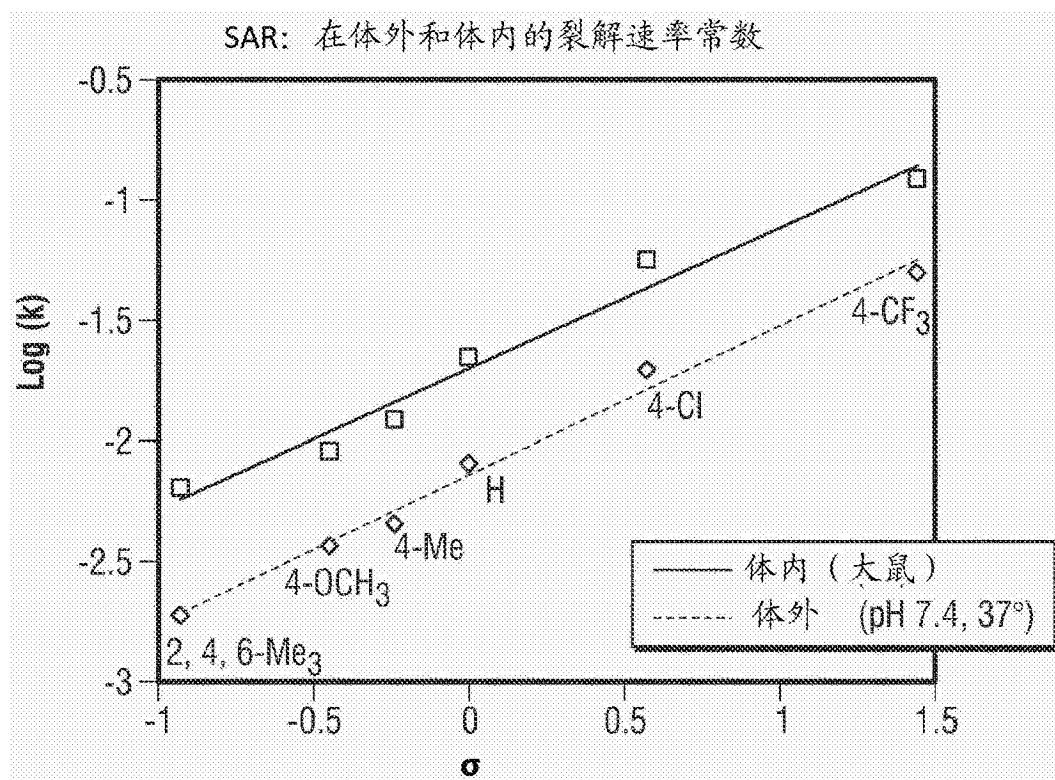


图5