

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁷

A61K 47/48
A61K 31/59

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 98802534.5

[43]公开日 2000 年 5 月 24 日

[11]公开号 CN 1254293A

[22]申请日 1998.2.13 [21]申请号 98802534.5
[30]优先权

[32]1997.2.13 [33]US [31]60/038,364
[86]国际申请 PCT/US98/02899 1998.2.13
[87]国际公布 WO98/35704 英 1998.8.20
[85]进入国家阶段日期 1999.8.13
[71]申请人 骨疗国际公司
地址 美国威斯康星州
[72]发明人 理查德·B·马泽斯
查尔斯·W·毕晓普

[74]专利代理机构 永新专利商标代理有限公司
代理人 过晓东

权利要求书 7 页 说明书 37 页 附图页数 9 页

[54]发明名称 靶向治疗性给药维生素 D 化合物
[57]摘要

本发明涉及一种结合物,其包含至少一种维生素 D 部分和至少一种靶向分子部分。本发明还涉及包含该结合物的药物组合物,以及使用该结合物向目标组织定位给药维生素 D 或其类似物的方法。在将特别优选的结合物给药于患者时,本发明之结合物中的靶向分子部分可寻靶并结合于目标组织,如骨或肿瘤组织,其中所述维生素 D 具有治疗作用。

ISSN 1008-4274



权 利 要 求 书

1、一种结合物，其包含至少一种维生素 D 部分，该维生素 D 部分与对目标组织具有亲和性的靶向分子部分缔合。

2、如权利要求 1 所述的结合物，其中，所述至少一种维生素 D 部分与至少一种靶向分子部分的摩尔比为 1: 1。

3、如权利要求 1 所述的结合物，其中，所述维生素 D 部分通过连接基团与所述靶向分子部分缔合。

4、如权利要求 3 所述的结合物，其中，所述连接基团是通过改性维生素 D 部分和靶向分子部分而形成的连接基团，以在它们之间形成键联。

5、如权利要求 3 所述的结合物，其中，所述连接基团是二官能连接基团。

6、如权利要求 3 所述的结合物，其中，所述维生素 D 部分通过所述连接基团和至少一个其他连接基团而与所述靶向分子部分缔合。

7、如权利要求 1 所述的结合物，其中，所述靶向分子部分是二磷

酸酯。

8、如权利要求 1 所述的结合物，其中，所述靶向分子部分是脱氢表雄酮。

9、如权利要求 7 所述的结合物，其中，所述二磷酸酯在所述维生素 D 部分的 C-1、C-3、C-24 或者 C-25 位置处连接在所述维生素 D 部分上。

10、如权利要求 1 所述的结合物，其中，所述靶向分子部分是金属离子。

11、如权利要求 5 所述的结合物，其中，所述二官能连接基团是整合于靶向分子部分上的氨基酸，而且其通过酰胺键连接在所述维生素 D 部分上。

12、如权利要求 10 所述的结合物，其中，所述金属离子是选自以下组中的二价金属离子： Sr^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Co^{2+} 、 Cr^{2+} 或 Mo^{2+} 。

13、如权利要求 1 所述的结合物，其中，所述靶向分子是抗体。

14、如权利要求 13 所述的结合物，其中，所述抗体靶向分子部分通过生物素-抗生物素蛋白键连而与所述维生素 D 部分缔合，而且所述生物素连接在所述抗体上，抗生物素蛋白连接在所述维生素 D 部分上。

15、如权利要求 13 所述的结合物，其中，所述靶向分子是单克隆抗体。

16、如权利要求 13 所述的结合物，其中，所述靶向分子是多克隆抗体。

17、如权利要求 1 所述的结合物，其中，除连接的维生素 D 外，还包括至少一种治疗剂。

18、如权利要求 17 所述的结合物，其中，所述治疗剂是选自以下组中的骨治疗剂：结合雌激素或者它们的等同物、抗雌激素、降钙素、二磷酸酯、钙添加剂、钴胺素、百日咳毒素、硼、脱氢表雄酮、转化生长因子 β 、抗生物素蛋白和骨形态发生蛋白。

19、如权利要求 17 所述的结合物，其中，所述治疗剂是选自以下组中的细胞毒性药剂：estromustene、磷酸酯、松龙苯芥、顺铂、S-氟尿嘧啶、苯丙氨酸氮芥、羟基脲、丝裂霉素、去甲氧柔红霉素、氨

甲蝶呤、阿霉素和柔红霉素。

20、一种药物组合物，其包括：

包含至少一种维生素 D 部分的结合物，该维生素 D 部分与对目标组织具有亲和性的至少一种靶向分子部分缔合；以及
合适的药物学上可接受的载体。

21、如权利要求 20 所述的药物组合物，其进一步包括用于包封结合物以定时释放结合物的不同降解包衣。

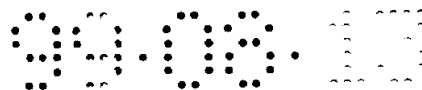
22、如权利要求 21 所述的药物组合物，其中，所述包衣是肠溶包衣。

23、一种向患者的目标组织定位给药维生素 D 部分的方法，其包括以下步骤：

a、提供包含在药物学上可接受的载体中的维生素 D 部分的结合物，所述结合物包含至少一种与至少一种靶向分子部分缔合的维生素 D 部分，所述靶向分子部分对目标组织具有亲和性。

b、向所述患者给药治疗有效剂量的所述结合物。

24、如权利要求 23 所述的方法，其中，所述结合物口服给药于患有骨疾病的患者，其剂量为 0.5—50 nmol 每单元剂量。



25、如权利要求 23 所述的方法，其中，所述结合物口服给药于患有过度增殖性疾病的患者，其剂量为 1—100 nmol 每单元剂量。

26、如权利要求 23 所述的方法，其中，所述结合物在给药于所述患者后被释放至目标组织。

27、如权利要求 26 所述的方法，其中，所述靶向分子部分在将所述结合物释放至所述目标组织后断开，由此增强所述结合物中维生素 D 部分的效用。

28、式 (I) 的结合物：



其中：D 代表维生素 D 部分；T 代表靶向分子部分；n 和 m 代表 1 或更大的整数；而 * 表示所述靶向分子部分与所述维生素 D 部分缔合。

29、一种包含如权利要求 28 所述之结合物的抗增殖组合物，其中，T 是能够寻靶癌细胞之维生素 D 受体的试剂

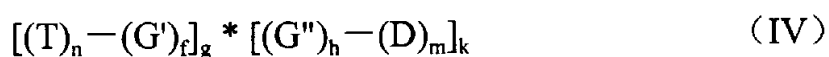
30、如权利要求 28 所述的结合物，其中，T 是单克隆、多克隆抗



体或其片段、金属离子、骨寻靶剂、或者肿瘤寻靶剂。

31、如权利要求 30 所述的结合物，其中，所述骨寻靶剂是二磷酸酯、四环素、聚丙二酸酯或者脱氢表雄酮。

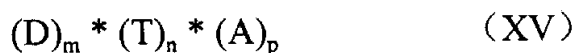
32、式 (IV) 的结合物：



其中：G'代表相同或不同的连接基团；G''代表相同或不同的连接基团；D 代表维生素 D 部分；T 代表靶向分子部分；g、k、n 和 m 分别独立地代表 1 或更大的整数；f 和 h 分别独立地代表 0 或更大的整数；—表示在存在连接基团时的键；而 * 表示 D 通过连接基团 G'或 G''或者在这两个连接基团都存在时通过这两个连接基团而与 T 缔合。

33、如权利要求 32 所述的结合物，其中，G' 是生物素；G''是抗生物素蛋白，而 * 表示生物素—抗生物素蛋白键连。

34、式 (XV) 的结合物：





其中：D 代表维生素 D 部分；T 代表靶向分子部分；A 代表除维生素 D 外的治疗剂，m、n 和 p 代表 1 或更大的整数，而 * 表示靶向分子部分与维生素 D 部分缔合以及与除维生素 D 外的治疗剂缔合。

35、如权利要求 34 所述的结合物，其中，A 是细胞毒性剂或者骨治疗剂。

36、如权利要求 35 所述的结合物，其中，T 是骨寻靶剂。

37、一种治疗人骨疾病的方法，其包括向所述患者给药治疗有效量的如权利要求 36 所述的结合物。

38、如权利要求 34 所述的结合物，其中，T 是骨寻靶剂，而 A 是骨寻靶剂。

39、一种治疗人骨疾病的方法，其包括向所述患者给药治疗有效量的如权利要求 38 所述的结合物。

40、一种包含如权利要求 34 所述之结合物的抗增殖组合物，其中，T 是能够寻靶癌细胞之维生素 D 受体的试剂，而 A 是细胞毒性剂。



说明书

靶向治疗性给药维生素 D 化合物

交叉参考相关申请

根据 35 U.S.C. § 119, 本发明要求于 1997 年 2 月 13 日申请的第 60/038,364 号美国临时申请的优先权日之权益。

有关联邦资助之研究或开发的声明

不适用

发明背景

本发明涉及靶向治疗性给药维生素 D 化合物, 更具体而言是向骨和肿瘤组织靶向给药维生素 D 化合物。

医生经常面临难以解决的两难处境。为有效地治疗疾病, 必须在疾病所造成的损害和治疗该疾病所用之药物产生的毒性作用之间进行平衡。虽然治疗应代表着对给药方案的完全耐受性, 但从绝对意义上讲, 其通常处于折中的处境, 并由此仅实现“可接受”水平的治疗。

在没有对抗疾病发生的预防措施时, 接下来理想的替代方法是设计一种能够特异性识别疾病的起源并对其进行校正的药物。该所谓的“魔弹”或者定位给药概念并不是一个新的概念。此概念涉及将药物的作用与特异性受体介导的作用联系在一起。这些概念仍是连续研制



药物和抗体的主要基础。

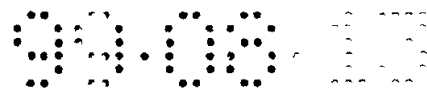
在某些情况下，对药物进行化学改性可增强其目标器官的特异性。例如，对于例如雌二醇和乙炔雌二醇的化合物，已研制出基于二氢吡啶-吡啶鎓盐氧化还原相互转化作用的脑靶向给药系统。Brewster 等人，31 *J. Med. Chem.* (1988) 244。在药物上共价偶联某些糖可增强它们的肝吸收。Ponpinom 等人，in Receptor Mediated Targeting of Drugs, (Gregoriadis 等人编辑), NATO ASI series, Plenum Press, New York, 1983, 第 53 页。

但在大多数情况下，需要具体的载体以将药物运送并释放至目标组织。在此情况下，药物本身的分布特性是无关的，这是因为载体的特征决定了药物是否被释放至目标细胞处。但是，一旦被释放至目标细胞，则仍需要考虑药物在细胞内作用部位处的分布。

已有人提出许多的颗粒作为药物载体系统。最近的焦点主要集中在单克隆抗体和胶体给药系统如脂质体和聚合物微球。见：例如 Davis 等人，in Site-Specific Drug Delivery, (Tomlinson 等人编辑), John Wiley, New York, 1986, 第 93 页。

还有人提出用可溶性分子作为药物载体，包括 DNA、卵磷脂、聚 L-赖氨酸、病毒体、胰岛素、葡聚糖、HCG、二肽以及细胞系统如红细胞和成纤维细胞。见：例如 Poznansky 等人，36 *Pharmacol. Rev.* (1984) 277。还有其它人建议并试图使用脂蛋白作为药物载体，特别是低密度脂蛋白。见：例如 Counsell 等人，25 *J. Med. Chem.* (1982) 1115。

显而易见的是，在如癌症和严重的病毒感染等的病症中，最需要



定位给药系统。治疗肿瘤疾病中所用的药物的副作用经常是相当严重的。抗肿瘤药物影响其它快速生长的组织，如骨髓和胃肠道边缘细胞，而且通常不得不停止治疗。

在骨疾病、特别是骨质疏松症中也特别需要定位给药系统。人们已认识到在所有的绝经后妇女中都发生某种程度的骨质疏松症，并由此提出向矿物化的骨基质定位给药骨治疗剂。已知某些药剂具有骨寻靶特性或者骨亲和性，而且发现将此等骨寻靶剂与酶、甾体、或激素连接在一起可形成骨特异性药物释放剂。例如，已有人提出通过桥连剂将骨寻靶剂如四环素连接在碳酸脱氢酶抑制剂上，由此提供用于治疗或预防变性骨疾病的化合物。见：第 201,057 号欧洲专利申请。

另外，已有人提出将激素如降钙素或者胰岛素样生长因子连接在氨基亚甲基二磷酸上。见：第 2104-593A 号日本专利申请。第 5,183,815 号美国专利公开了将甾体连接在烷基二磷酸上，对骨具有局部治疗作用。第 0 521 844 A1 号欧洲专利申请公开了将骨生长因子如转化生长因子- β 连接在骨靶向分子如四环素、降钙素、二磷酸酯、聚天冬酸、聚谷氨酸、氨基磷酸糖或者雌激素上，以形成局部骨增强形成剂。

维生素 D 早已被认为对骨和矿物质代谢具有重要的生理作用。众所周知，维生素 D 在刺激钙吸收和调节钙代谢方面具有关键性的作用。维生素 D 活性形式 (M. F. Holick 等人, 68 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 803-804 (1971); G. Jones 等人, 14 *Biochemistry*, 1250-1256 (1975)) 和活性维生素 D 类似物 (M. F. Holick 等人, *Science* 180, 190-191 (1973); H. Y. Lam 等人, *Science* 186, 1038-1040 (1974)) 的发现，对于这些维

生素 D 化合物在治疗骨缺失性疾病中的作用产生了更多的兴奋和推测。

检验这些活性维生素 D 化合物之作用的动物研究表明，此等药剂可用于恢复钙平衡。另外，早期的临床研究表明，向一组绝经后妇女给药 $0.5 \mu\text{g}$ /天的 $1\alpha, 25\text{-二羟基维生素 D}_3$ ——维生素 D_3 的激素活性形式，可改善这些妇女的钙肠吸收和钙平衡。在此基础上，第 4,225,596 号美国专利 ('596 专利) 描述并要求保护 $1\alpha, 25\text{-二羟基维生素 D}_3$ 在增加钙吸收和保留中的应用。该专利还要求保护 $1, 25\text{-二羟基维生素 D}_2$ 和 $1\alpha\text{-羟基维生素 D}_2$ 的此等应用，此专利称这些化合物是“非常适合于而且易于替代 $1, 25\text{-二羟基胆骨化醇 } [1\alpha, 25\text{-二羟基维生素 D}_3]$ ”。

但是，维生素 D 化合物在预防和治疗缺失性骨疾病中的效用的最佳指示是骨本身，而不是钙吸收或者钙平衡。最近的临床数据表明，在'596 专利公开的剂量范围内， $1\alpha, 25\text{-二羟基-维生素 D}_3$ 在预防或恢复骨质或骨矿物含量丢失中最多仅有中等的效用(S. M. Ott 和 C. H. Chesnut, *Ann. Int. Med.* 110: 267-274 (1989); J. C. Gallagher 等人, *Ann. Int. Med.* 113: 649-655 (1990); J. Aloia 等人, *Amer. J. Med.* 84: 401-408 (1988))。

这些用 $1\alpha, 25\text{-二羟基维生素 D}_3$ 以及其它用 $1\alpha\text{-羟基维生素 D}_3$ 进行的临床研究 (M. Shiraki 等人, *Endocrinol. Japan* 32, 305-315 (1985)) 表明，这两种维生素 D 化合物恢复丢失的骨质或骨矿物含量的能力是与剂量相关的。但是，这些研究还表明，在达到有效作用所

需的化合物剂量范围内，以高钙血症和高钙尿症为表现形式的毒性是最主要的问题。具体而言，将 $1\alpha, 25$ -二羟基维生素 D_3 的量增加至 $0.5 \mu\text{g}/\text{天}$ 以上，常导致毒性产生。在低于 $0.5 \mu\text{g}/\text{天}$ 的剂量时，没有观察到对骨质或矿物含量产生作用。（见：G. F. Jensen 等人，*Clin. Endocrinol.* 16, 515-524 (1982); C. Christiansen 等人，*Eur. J. Clin. Invest.* 11, 305-309 (1981)）。发现 $2 \mu\text{g}/\text{天}$ 的 1α -羟基维生素 D_3 对增加老年骨质疏松症患者的骨质具有效用（O. H. Sorensen 等人，*Clin. Endocrinol.* 7, 169S-175S (1977)）。在日本对低钙吸收人口群进行的临床研究数据表明，给药 $1 \mu\text{g}/\text{天}$ 的 1α -羟基维生素 D_3 时，发现具有效用（M. Shiraki 等人，*Endocrinol. Japan.* 32: 305-315 (1985); H. Orimo 等人，*Bone and Mineral* 3, 47-52 (1987)）。但是，在 $2 \mu\text{g}/\text{天}$ 时，在大约 67% 的患者中发生 1α -羟基维生素 D_3 的毒性，而在 $1 \mu\text{g}/\text{天}$ 时，该百分数约为 20 %。

最近，还发现了维生素 D 的其它作用。在不参与钙体内平衡的不同器官的细胞中发现了 $1\alpha, 25$ -二羟基维生素 D_3 的特异性核受体。例如，Miller 等人（52 *Cancer Res.* (1992) 515-520）已证实了在人前列腺癌细胞系——LNCaP 中的 $1\alpha, 25$ -二羟基维生素 D_3 的生理活性的、特异性的受体。

更具体而言，已有报道称，某些维生素 D 化合物和类似物是恶性细胞增殖作用的强效抑制剂和细胞分化作用的诱导剂/刺激剂。例如，颁与 Suda 等人的第 4,391,802 号美国专利公开了 1α -羟基维生素 D 化合物，特别是 $1\alpha, 25$ -二羟基维生素 D_3 和 1α -羟基维生素 D_3 ，

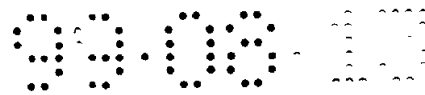
由于诱导恶性细胞（具体为白血病细胞）分化为非恶性的巨噬细胞（单核细胞）而具有强效的抗白血病活性，而且可用于治疗白血病。在另一个例子中，Skowronski 等人（136 Endocrinology (1995) 20—26）报道了 $1\alpha, 25$ -二羟基维生素 D_3 和其它维生素 D_3 类似物对前列腺癌细胞系的抗增殖作用和分化作用。

如上所述的增殖作用研究绝大多数集中于维生素 D_3 化合物。即使此等化合物的确能够有效地分化培养基中的恶性细胞，但是由于它们作为影响钙代谢的药剂的高效用，其在分化治疗中作为抗癌剂的实际应用受到了严重的限制。在体内有效作为抗白血病剂所需要的剂量时，由于其固有的钙血症活性，这些相同的化合物可明显诱导血钙浓度的增高并至危险的水平。也就是说，高血钙症的危险阻碍或者严重地限制了临床使用 $1\alpha, 25$ -二羟基维生素 D_3 和其它维生素 D_3 类似物作为抗癌剂。这表明仍需要化合物在发挥作用时具有更大的特异性活性和选择性，即、具有抗增殖作用和分化作用但比维生素 D 的已知化合物或类似物的治疗量低的钙血症活性的维生素 D 化合物。

实际上，在本领域中还没有人提出用于向特异性靶组织如骨或者恶性肿瘤部位如前列腺癌细胞靶向给药维生素 D 化合物的材料或者方法。

发明简述

本发明提供维生素 D 化合物或类似物和靶向分子的结合物，其能够定位给药维生素 D 。具体的结合物包括骨治疗结合物和抗肿瘤结合



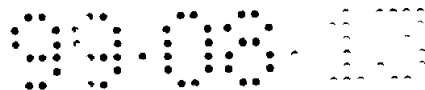
物。本发明还提供此等结合物的药物制剂，以及向患者目标组织定位给药结合物中维生素 D 部分的方法。本发明令人惊奇地提供用于向目标组织（如靶组织）给药维生素 D 化合物、类似物或衍生物的手段。

本发明的结合物包括至少一种维生素 D 部分，该维生素 D 部分与对靶组织具有亲和性的靶向分子缔合。在本发明的一个实施方案中，结合物包括至少一种维生素 D 部分，该维生素 D 部分通过至少一个连接基团与靶向分子部分缔合，所述连接基团例如是维生素 D 部分和靶向分子部分之间的键连、二官能连接基团、或者其它连接基团如生物素-抗生物素蛋白连接。在另一个实施方案中，结合物包括对目标组织具有亲和性的靶向分子部分，该靶向分子部分与至少一种维生素 D 部分以及除维生素 D 外的第二种治疗药剂缔合。

本发明的药物组合物包括与至少一种靶向分子部分缔合的至少一种维生素 D 部分、以及合适的药物学上可接受的载体。

在另一个实施方案中，本发明提供定位给药维生素 D 或维生素 D 类似物的方法，该方法包括向患者给药在药物学上可接受的载体中的治疗有效量的结合物，其中，所述结合物包括至少一种通过连接基团与至少一种靶向分子缔合的维生素 D 部分，而且所述靶向分子对目标组织具有亲和性。该方法用于实现向患者的目标组织定位给药维生素 D 部分。

本发明的结合物、药物组合物和方法能够向患者的目标组织定位给药维生素 D。特异性地导向并释放作为本发明之结合物的一部分的维生素 D 化合物，人们由此可通过向患者给药较给药该化合物本身更



小量的结合物来向目标组织释放相同量的化合物。由于降低了维生素 D 化合物的给药量，本发明显著地减少了使用常规给药装置所产生的高血钙症以及向患者给药维生素 D 化合物或类似物的其它副作用。

在参考附图详细阅读优选实施方案的具体描述后，可了解本发明的其它优点和具体的适应症、组分的变化和物理特性。应完全可以理解的是，这些附图仅是用于说明和描述本发明，而不是对本发明范围的限制。

附图简述

以下将参考附图来详细描述本发明的优选实施方案，其中类似的标号表示类似的部分。在附图中：

图 1 显示了制备由 $1\alpha, 24\text{-(OH)}_2\text{D}_2$ (“ $1\alpha, 24\text{-(OH)}_2\text{D}_2$ ”) 和连接在所述维生素 D 部分的 C-24 处的氨基烷基-1, 1-二磷酸酯所形成的结合物的反应路线；

图 2A 和 2B 显示了制备由 $1\alpha, 24\text{-(OH)}_2\text{D}_2$ 和连接在所述维生素 D 部分的 C-1 处的氨基烷基-1, 1-二磷酸酯所形成的结合物的反应路线；

图 3 显示了制备由 $1\alpha, 24\text{-(OH)}_2\text{D}_2$ 和连接在所述维生素 D 部分的 C-3 处的氨基烷基-1, 1-二磷酸酯所形成的结合物的反应路线；

图 4A 和 4B 显示了制备由 $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ (“ $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ ”) 和连接在所述维生素 D 部分的 C-1 处的氨基烷基-1, 1-二磷酸酯所形成的结合物的反应路线；

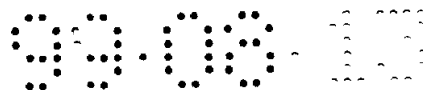


图 5 显示了制备由 $1\alpha, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ 和连接在所述维生素 D 部分的 C-3 处的氨基烷基-1, 1-二磷酸酯所形成的结合物的反应路线；

图 6 显示了制备由 $1\alpha, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ 和连接在所述维生素 D 部分的 C-25 处的氨基烷基-1, 1-二磷酸酯形成的结合物的反应路线；
以及

图 7 是使用生物素-抗生物素蛋白连接基团制备维生素 D 和单克隆抗体之结合物的示意图。

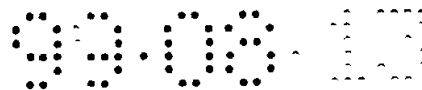
发明详细描述

本发明涉及维生素 D 制剂在靶向应用中的用途。但是，本发明更具体地是涉及在向骨和肿瘤细胞定位给药维生素 D 中的用途。因此，以下将在此方面更详细地描述本发明。但是，本领域技术人员可认识到，本发明的此等描述仅是说明性的，而不应被视为对其全部范围的限制。

本发明的特征在于通过使用由维生素 D 和对目标组织具有亲和性的靶向分子所形成的结合物能够定位靶向给药维生素 D 化合物。例如，维生素 D 和骨亲和剂的结合物可用于向骨转运并释放维生素 D。这些特性是通过物理和化学特征的新结合而实现的。

除非另有说明，在本发明的以下描述中，是在室温和大气压下进行处理步骤。

在此所用术语“靶向分子”是指与目标组织结合或影响其代谢的分子。例如，骨靶向剂可包括骨寻靶分子，如四环素、降钙素、二磷

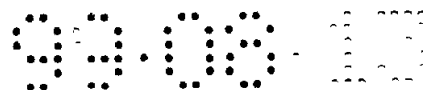


酸酯、螯合剂、磷酸酯、聚天冬酸、聚谷氨酸、氨基磷酸糖，已知可与骨中的矿物相缔合的肽如骨结合素、骨唾液蛋白和 osteopontin，带有骨矿物结合域的蛋白，等等。骨靶向分子还包括本身能够影响骨吸收和骨形成速率的分子，如二磷酸酯、雌激素和其它载体如脱氢表雄酮（DHEA）。这些骨寻靶分子也可具有骨生长治疗性质和/或与维生素 D 化合物一起对骨重吸收或形成产生协同或附加作用。皮肤寻靶分子包括某些金属离子-氨基酸螯合物；前列腺寻靶分子包括某些甾体如 DHEA。肿瘤寻靶剂包括某些抗体。

在此所用术语“目标组织”或“靶组织”是指身体中待治疗或者施用维生素 D 化合物或类似物的希望目标或部位。术语“治疗”是指修复、防止、缓解、改善、预防患病或者有缺陷的目标组织，以及抑制异常生长如细胞的过度增殖，和促进细胞分化。

在此所用术语“治疗剂”是指在给药或释放于目标组织时具有或者表现出治愈能力的物质。在此所用术语“骨治疗剂”是指具体类型的治疗剂，其在释放或者给药于骨时能够缓解骨疾病。骨治疗剂的例子包括维生素 D 化合物、结合雌激素或者它们的等同物、抗雌激素、降钙素、二磷酸酯、钙添加剂、钴胺素、百日咳毒素、硼、和其它骨生长因子如转化生长因子 β 、抗生物素蛋白或者骨形态发生蛋白。

本发明的结合物包括至少一种维生素 D 化合物、类似物、组分或部分（在此称为“D”），其与至少一种靶向分子部分（在此称为“T”）缔合，并包括式（I）所代表者：

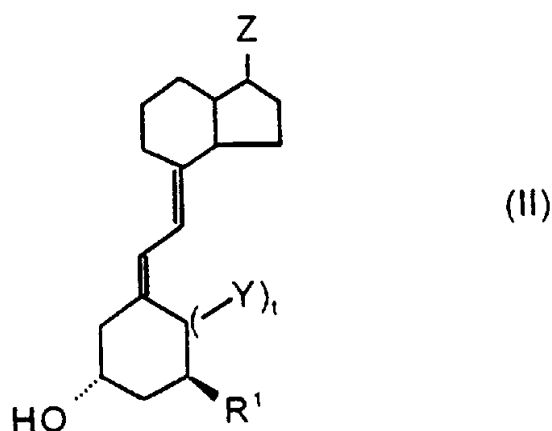


其中：n 和 m 代表 1 或更大的整数；而 * 表示靶向分子部分（T）与维生素 D 化合物、类似物、组分或部分（D）缔合。应理解的是，在此所用术语“维生素 D”包括所有具有 A、C 和 D 环之常规维生素 D 结构和 C-17 侧链的化合物，以及作为相应维生素 D 形式的热异构体的前维生素 D 化合物，其中的基础结构可是经取代、未经取代或者经改性的，例如 19-去甲基化合物。还应理解的是，维生素 D 部分在结合物中保持其生理作用，即、相对于骨的有益作用，或者在前维生素 D 的情况时，异构化成具有生理作用的相应维生素 D 形式。

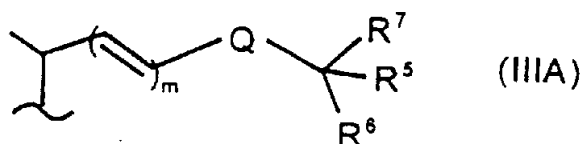
在此所用术语“缔合”是指结合物的一个组分（如维生素 D 部分）或者维生素 D 部分和连接基团通过共价键、氢键、金属键、范德华力、离子键、库仑力、疏水或亲水力、吸收或吸附、螯合类型的缔合、或者它们的组合而与结合物的其它组分如靶向分子或者靶向分子和连接基团连接在一起。在涉及维生素 D 或 D、或者靶向分子部分或 T 时所用的术语“部分”或者“组分”是指例如在缔合发生后以结合形式存在的维生素 D 或靶向分子。根据靶向分子的官能度，在维生素 D 类似物和靶向分子之间的缔合作用可发生在维生素 D 类似物分子的任何位置上。例如，二磷酸酯或酰胺可适当地连接在维生素 D 化合物或者维生素 D 类似物分子具有羟基基团的位置上，如在 C-1、C-3、C-24、C-25 上。

可用于本发明中的维生素 D 化合物和类似物可适当地用式 (II)

表示:

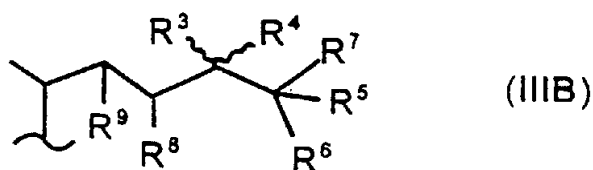


其中: R^1 是 H 或 OH; Z 代表饱和或不饱和、经取代或未取代、直链或支链的 C_1-C_{18} 烃基; Y 是 $=CH_2$ 基团; 而 t 是 0 或 1, 这样, 当 t 是 0 时, 式 (II) 的化合物为 19-去甲基化合物。优选的是, Z 为式 (IIIA) 所表示的侧链:



其中: m 是 0 或 1; R^5 是 H 或 OH; R^6 和 R^7 独立地是 H、OH、低级烷基、低级氟代烷基、O-低级烷基、O-低级酰基、O-芳香性烷基、低级环烷基, 或者与它们所连接的碳 (如 C-25) 一起形成 C_3-C_8 环烃环; 而 Q 是 $-C=C-$ 、 $-C\equiv C-$ 、或者 $\begin{matrix} R^3 & & R^4 \\ & \diagdown & / \\ & -C- & \end{matrix}_n$ (其中 n

是 0 或者 1-7 的整数, R^3 是 CH_3 或 H, 而 R^4 是 H 或 OH)。例如, Z 包括式 (IIIB) 所表示的胆固醇或麦角甾醇:



本发明范围内的维生素 D 化合物还包括前维生素 D 化合物，优选为 1 α -羟基前维生素 D，其可包括普通的被任选取代但优选在 C-24 或 C-25 处羟基取代的胆固醇和麦角甾醇侧链。前维生素 D 化合物是相应维生素 D 化合物的热异构体，例如，1 α -羟基前维生素 D₃ 是 1 α -羟基维生素 D₃ 的热异构体，并与后者存在于热平衡中。

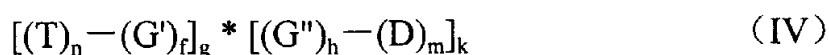
式 (I) 的结合物是在不损坏具体的结合物组分以及存在合适的所需要的溶剂的条件 (如: 具体的 pH、温度或者盐浓度) 下制备的。为



控制 pH，可使用缓冲剂或者添加合适的酸或碱。反应条件取决于在维生素 D 化合物或类似物 (D) 与靶向分子部分 (T) 之间所形成的缔合类型，以形成结合物。

式 (I) 结合物中的 T: D 摩尔比优选为 1: 1。

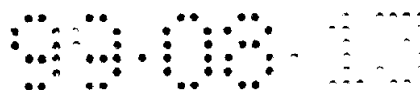
其中 D 通过 D 和 T 之间的连接基团（在此称为“G”）而与 T 缔合的那些结合物也包括在本发明的范围内；这些优选的结合物可用式（IV）表示：



其中：G'代表相同或不同的连接基团；G''代表相同或不同的连接基团；g 和 k 分别独立地代表 1 或更大的整数；f 和 h 分别独立地代表 0 或更大的整数；—表示在存在连接基团时的键；n 和 m 如前所定义；而 * 表示靶向分子组分通过连接基团 G'或 G''或者在这两个连接基团都存在时通过这两个连接基团而与维生素 D 组分缔合。应理解的是，D 在结合物中保持其生理作用，或者在 D 为前维生素 D 时，异构化为具有生理作用的相应维生素 D 形式。

在 f 或 h 为零（而且 g 和 k 为 1）的情况时，式（IV）的结合物可简单地用式（V）表示：

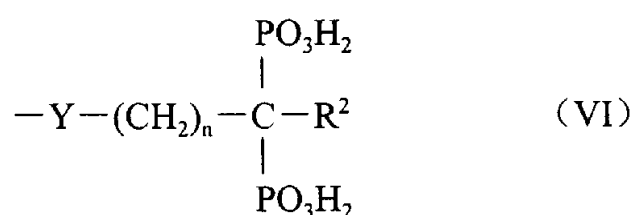




在此情况下，G 合适地为二官能连接基团，如聚谷氨酸或聚天冬酸，或者为通过改性 D 和/或 T 而形成的连接基团，并随后形成键连。

用于形成式 (IV) 之结合物的合适连接基团是那些将维生素 D 部分连接在靶向分子部分上但不明显损坏维生素 D 的生理作用以及结合物之靶向分子组分的亲和性的基团。连接基团在结合物的靶向分子部分和维生素 D 部分之间形成连接，该连接必须足够稳定以至少在将结合物释放至邻近靶的区域时保持完整性。在某些情况下，作为结合物的一部分而被释放至靶区域中的维生素 D 在连接靶向分子部分和维生素 D 部分的至少一个连接基团断开后更为有效。在此情况下，一旦结合物被释放接近于靶，至少一个此等连接基团优选立即断开。换言之，通过在此情况下断开连接基团，可避免维生素 D 和在一些本发明结合物中存在的靶向分子部分之间的立体障碍，而这种立体障碍会降低结合物中维生素 D 的作用。

在一个示例性实施方案中，本发明的结合物包括有效治疗骨疾病的药剂，即、该结合物包括维生素 D 部分和骨寻靶剂。在具有骨亲和性的药剂中优选的是二磷酸酯 (“BP”) (也称为双磷酸酯)。例如，可适用于本发明中的具体二磷酸酯部分可用式 (VI) 表示：

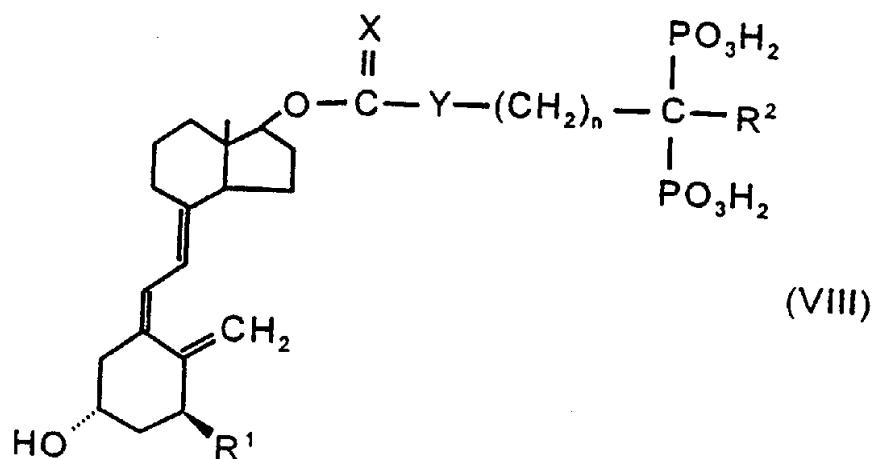


其中： R^2 是 H 或 OH；Y 是 NH、O 或 NR^8 （其中 R^8 是 H 或者 C_1-C_4 烷基）；而 n 是 1-4 的整数。其中 T 是 BP 的特别优选的骨治疗结合物如式（VII）所表示：



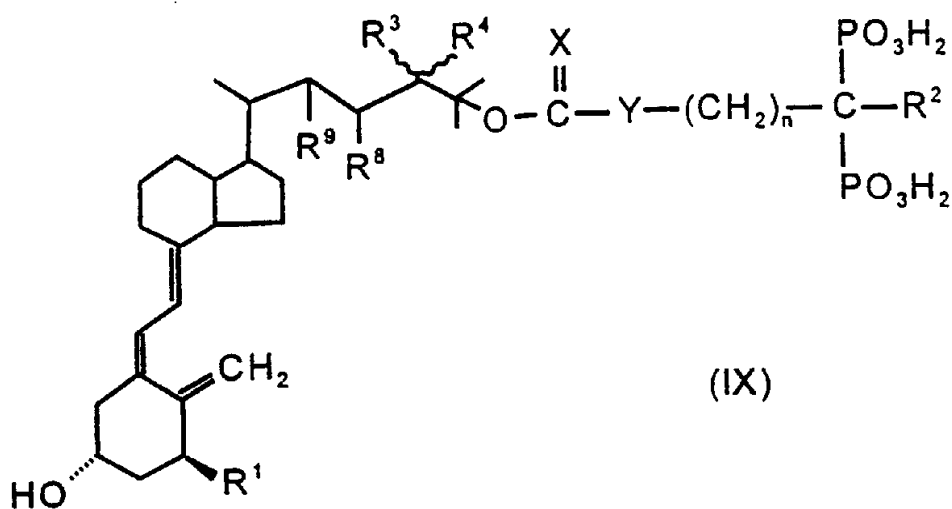
其中：BP 适当地连接在例如 D 部分的 C-1、C-3、C-17、C-24 或者 C-25 位置处。

其中 T 是二磷酸酯并可用于本发明中的具体骨治疗结合物包括式（VIII）的结合物：



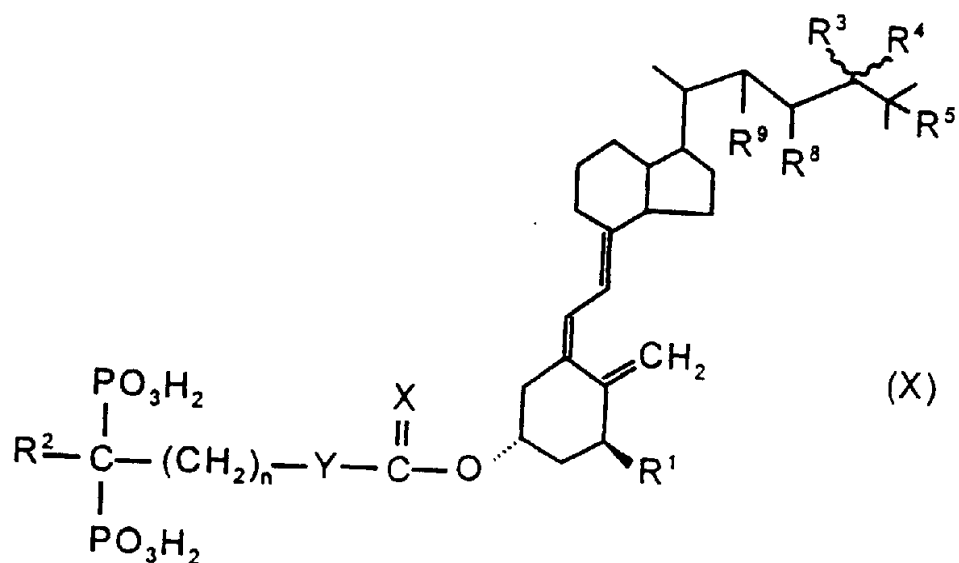
其中： R^1 是 H 或 OH； R^2 是 H 或 OH；X 是 O 或 S；Y 是 NH、O 或 NR（其中 R 是 H 或 C_1-C_4 烷基）；n 是 1-4；以及其药物学上可接受的盐，即、二磷酸酯连接在维生素 D 部分的 C-17 位上。

本发明还提供了式（IX）的结合物：



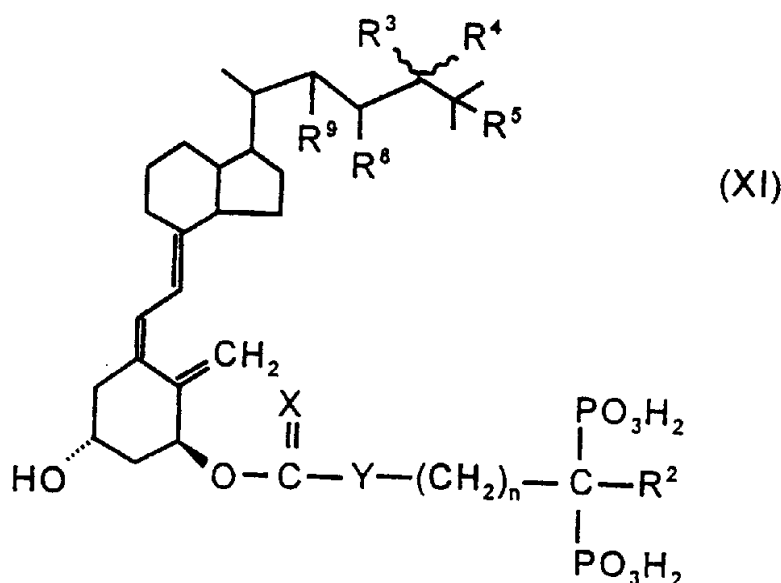
其中：R¹ 是 H 或 OH；R² 是 H 或 OH；R³ 是 CH₃ 或 H；R⁴ 是 H 或 OH；X 是 O 或 S；Y 是 NH、O 或 NR（其中 R 是 H 或 C₁—C₄ 烷基）；n 是 1—4 的整数；R⁸ 和 R⁹ 分别是 H 或者一起在 C—22 和 C—23 之间形成双键；以及其药理学上可接受的盐，即、二磷酸酯连接在维生素 D 部分的 C—25 位上。

本发明还提供了式 (X) 的结合物：



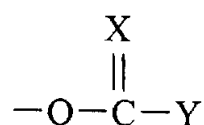
其中： R^1 是 H 或 OH； R^2 是 H 或 OH； R^3 是 CH_3 或 H； R^4 是 H 或 OH；
X 是 O 或 S；Y 是 NH、O 或 NR（其中 R 是 H 或 C_1-C_4 烷基）； R^5 是
H 或 OH；n 是 1-4 的整数； R^8 和 R^9 分别是 H 或者一起在 C-22 和 C
-23 之间形成双键；以及其药物学上可接受的盐，即、二磷酸酯连接
在维生素 D 部分的 C-3 位上。

本发明还提供了式 (XI) 的结合物：



其中： R^2 是 H 或 OH； R^3 是 CH_3 或 H； R^4 是 H 或 OH；X 是 O 或 S；
Y 是 NH、O 或 NR（其中 R 是 H 或 C_1-C_4 烷基）； R^5 是 H 或 OH；n
是 1-4 的整数； R^8 和 R^9 分别是 H 或者一起在 C-22 和 C-23 之间形
成双键；以及其药物学上可接受的盐，即、二磷酸酯连接在维生素 D
部分的 C-1 位上。

应注意的是，二磷酸酯部分和维生素 D 部分之间的连接通常是通
过维生素 D 上的羟基，其中将羟基转化为以下基团：



并连接在二磷酸酯的酰胺或羟基基团—Y 上，形成氨基甲酸酯型或碳酸酯型连接。X 可以为 O 或 S。例如，羟基可于 C-1、C-3、C-24、C-25 处包含在维生素结构中，而且结合作用可在任何一个羟基位置处进行，但合适的是在上述位置之一。

可根据图 1-6 所示的反应路线来合成其中 T 为二磷酸酯的式 (I) 结合物。通常情况下，合成方法包括将维生素 D 中的羟基转化为卤代甲酸酯（如氯甲酸酯）或者硫代甲酸酯，然后与二磷酸酯的合适氨基或羟基反应形成氨基甲酸酯、硫代氨基甲酸酯、碳酸酯或者硫代碳酸酯键连。如果 R² 是羟基或者维生素 D 化合物除所希望的羟基外还包含一个或多个羟基时，这些羟基可通过常规的羟基保护基如苄基、甲硅烷氧基等在将所希望的羟基转化为卤代甲酸酯或硫代甲酸酯基团前进行保护。

具体而言，在示例性的实施方案中，起始维生素 D 化合物或类似物（如果需要，羟基被保护）与光气反应，形成氯甲酸酯，该氯甲酸酯与氨基丁基-1，1-二磷酸酯反应，形成氨基甲酸酯键连。然后将任何被保护的羟基脱保护。

图 1 是合成 1 α ，24-(OH)₂D₂-氨基烷基和 1，1-二磷酸酯之结合物的示例性路线。如图 1 所示，1 α ，24-(OH)₂D₂ 起始物用甲硅烷氧基在 C-1 和 C-3 位置处进行保护。该经保护的 D 化合物 (1) 在

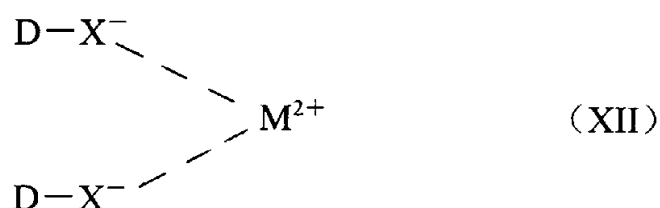


甲苯中与光气反应，形成氯甲酸酯 (2)。氯甲酸酯 (2) 与四异丙基 4-氨基丁基-1, 1-二磷酸酯 (例如羟基被保护) 在二氯甲烷中反应，然后通过快速色谱纯制反应混合物，以产生经保护的结合物 (4)。经保护的结合物 (4) 与四氢呋喃 (THF) 和四丁基氟化铵 (TBAF) 反应，以使 C-1 和 C-3 的羟基脱保护，产生结合物的四异丙基酯 (5)。四异丙基酯 (5) 用三甲基溴化硅进行水解，形成结合物二磷酸结构 (6)。在甲醇中照射化合物 (6) 和 9-乙酰基蒽，然后过滤、浓缩，并冻干，形成结合物 (7)。

图 2-6 所示的合成将在以下的实施例部分中详细描述。

式 (I) 结合物中还优选那些 T 是 DHEA 者。DHEA 的共有甾体结构具有 17-酮基和 1-羟基。这些基团都适用于通过例如醚或酯型键连而连接在维生素 D 的羟基化位置上。此等连接的反应是众所周知的。

其中 T 为金属离子——M 的结合物也是式 (I) 结合物中令人所希望的。已知金属离子可寻靶至许多组织，如锶对于骨。结合物可为维生素 D 部分和金属离子之间直接形成的配合物，其中所述维生素 D 部分具有负电荷端基，如在 C-24、C-25 位等上具有一个或多个羧基，通常表示为 $D-X^-$ 。该结合物可用式 (XII) 来表示：



其中：X 是负电荷基团，如羧基 -CO_2^- ；而 M 是二价金属离子。

另外，该结合物也可式 (V) 的形式，其中 D 和 M 通过连接基团而缔合，所述连接基团例如是氨基酸。例如，已有人公开金属离子-氨基酸螯合物能够进行组织靶向定位给药。参见：例如第 4,863,898、4,176,564 和 4,172,072 号美国专利，这些文献的内容在此并入作为参考。例如，镁-赖氨酸螯合物已表现为可以寻靶骨组织；而锌和蛋氨酸可寻靶皮肤。此等螯合物为以下形式：



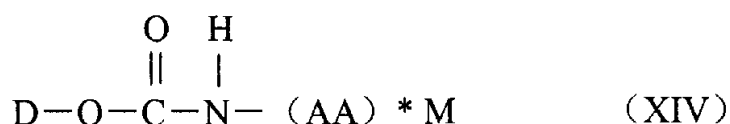
其中：M 是金属离子，而 AA 是氨基酸残基（例如赖氨酸、精氨酸等），* 表示氨基酸残基 (AA) 与金属离子 (M) 的缔合。在本发明的结合物中，金属-氨基酸螯合物中的氨基酸通过 T 为二磷酸酯时所示的酰胺型键连而连接在维生素 D 部分上。该结合物可用式 (XIII) 表示：



其中：D 是具有能够形成与氨基酸键连之基团如羟基的维生素 D 部分；

(AA) 是氨基酸残基，而 M 是金属离子，优选为二价离子，如 Sr^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Co^{2+} 、 Cr^{2+} 或 Mo^{2+} 。

更具体而言，所述结合物用下式 (XIV) 表示：



其中：D、M、AA 和 * 如以上所定义。

式 (I) 结合物中还优选那些其中 T 是抗体者。可用于此等优选结合物中的抗体或者抗体片段可用本领域技术人员已知的技术来制备。合适抗体的例子是免疫球蛋白，如 IgG、IgA、IgD 和 IgE。可用本领域已知的杂交技术来制备高特异性的单克隆抗体。例如见：Kohler 等人，245 *Nature* (1975) 495-497；以及 6 *Eur. J. Immuno.* (1976) 511-519。这两份文献的内容在此并入作为参考。此等抗体通常具有高的特异反应性。多克隆抗体也适合用作结合物中的靶向分子组分。但是，当靶向分子部分是抗体时，最优选单克隆抗体 (Mab)。

所选的单克隆抗体对单一表位具有高度特异性，使得单克隆抗体特别适合用作本发明结合物中的靶向分子组分。维生素 D 和单克隆抗体组成的结合物可在目标区域内寻靶特异性的部位，如癌变组织表面上的和骨组织中的特异性维生素 D 受体。分离和制备针对特异性抗原的单克隆或多克隆抗体是已知的，如对所选目标组织或甚特异性目标蛋白的抗体。例如参见：Molecular Cloning，第 2 版，Sambrook 等人编辑，Cold Spring Harbor Lab. Press 1989，§ 18.3 et seq.。也可使用多克隆抗体，其可比单克隆抗体更廉价地制造。但是，多克隆抗体本身是特异性较差的靶向分子。然而，可用组织培养（如杂交瘤细胞系）来制造大量适用于本发明结合物中的单克隆抗体。



使用此等抗体靶向分子制成的本发明结合物可直接针对如细胞、器官、肿瘤、分化、和其它细胞膜抗原、多核酸如 DNA 和 RNA 或者任何生理活性分子。针对靶细胞之维生素 D 受体的抗体可适用于本发明的结合物。

对于根据本发明的结合物，当 T 是单克隆抗体时，T * D 缔合适合通过连接基团“G”来完成，如 G' - G'' 表示的生物素-抗生物素蛋白键连，并使用本领域已知的生物素-抗生物素蛋白方法。此等基于连接基团的结合物，如维生素 D-生物素-抗生物素蛋白-抗体，可如下表示：

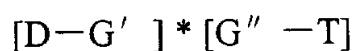


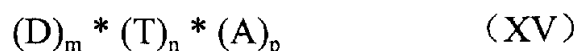
图 7 显示了使用例如生物素-抗生物素蛋白结合物而将抗体偶联至维生素 D 化合物或类似物上的示意图。

参考图 7，抗生物素蛋白对辅酶生物素具有高亲和性。这是一种强的非共价性的相互作用，已被利用将抗体结合与各种化合物上。生物素或者抗生物素蛋白适合于被偶联至维生素 D 化合物或者抗体组分上。因此，在键连维生素 D 化合物和抗体时，可有许多不同的方法。例如，适当地将生物素连接在抗体上，以形成生物素化的抗体复合物，而将抗生物素蛋白适当地连接在维生素 D 化合物上，以形成抗生物素蛋白维生素 D 复合物。随后使这两种复合物反应，以形成抗体-生物素-抗生物素蛋白-维生素 D 结合物。维生素 D-生物素-抗生物素



蛋白-抗体结合物可按照图 7 所示的类似方法来形成。

在式 (I) 的结合物上结合激素或其它药剂 (以 “A” 表示) 也是令人所希望的, 以形成如式 (XV) 表示的二官能结合物:



其中: A 代表除维生素 D 外的治疗剂, p 是 1 或更大的整数, D、T、m、和 n 如前所定义, 其条件是 D 和 A 保持其生理作用, 而 * 表示靶向分子部分与维生素 D 部分缔合以及与除维生素 D 外的治疗剂缔合。例如, 式 (XV) 的二官能结合物是能够向骨释放维生素 D 以及其它骨发生剂如雌激素者。

因此, 作为骨治疗结合物的式 (XV) 结合物也包括在本发明的范围内, 其中, A 是激素或者已知能够缓解骨疾病或病变的其它药剂。此等骨治疗剂可包括结合雌激素或者它们的等价物、抗雌激素、降钙素、二磷酸酯、钙添加剂、钴胺素、百日咳毒素、硼、DHEA 和其它骨生长因子如转化生长因子 β 、抗生物素蛋白或者骨形态发生蛋白。

本发明提供的式 (XV) 结合物也可以是其中 A 为细胞毒性药剂的抗增殖结合物。此等药剂包括 estromustene、磷酸酯、松龙苯芥、顺铂、S-氟尿嘧啶、苯丙氨酸氮芥、羟基脲、丝裂霉素、去甲氧柔红霉素、氨甲蝶呤、阿霉素和柔红霉素。

本发明结合物的所有可能的对映体也包括在本发明的范围内, 这些对映体由于双键处的顺-反构型而具有光学异构体和所有可能的几

何异构体。另外，本发明还包括所述化合物的所有药物学上可接受的盐，如钠、钾、锂、铵盐等。

根据本发明之结合物的预防或者治疗剂量大小取决于待治疗病症的性质或严重性以及具体的组合物和给药途径而变化。通常情况下，用于骨病的日剂量范围为约 0.025—2.5 nmol/kg 体重。治疗过度增殖性疾病如癌症的日剂量范围为约 0.025—5 nmol/kg 体重。

式 (I) 的结合物可在药物组合物中作为活性化合物，该组合物与维生素 D₃ 活性形式的已知类似物相比具有更低的副作用和毒性。

本发明的药物活性结合物可根据药学中常规的方法来处理，以制备用于给药于患者的药剂，所述患者例如为哺乳动物，其包括人。为提供有效剂量的结合物，可使用任何合适的给药途径。例如，可使用口服、直肠、局部、非胃肠道、静脉内、肌肉内、皮下、眼睛、鼻、颊等给药途径。

本发明的药物组合物包括作为活性组分的本发明结合物或其药物学上可接受的盐，还可包括药物学上可接受的载体和任选的其他治疗性成分。所述组合物是那些适合于上述各种给药途径给药者，但最合适的给药途径取决于待治疗之病症的性质和严重性以及活性成分的性质而变化。它们通常为单元剂量剂型。

用于本发明组合物或方法中合适的药物学上可接受的载体包括但不限于：水、盐溶液、醇、阿拉伯胶、植物油（如玉米油、棉籽油、花生油、橄榄油、椰子油）、鱼肝油、油酯如 Polysorbate 80、聚乙二醇、明胶、碳水化合物（如乳糖、直链淀粉或淀粉）、硬脂酸镁、滑石、硅

酸、粘性石蜡、脂肪酸单甘油酯和二甘油酯、季戊四醇脂肪酸酯、羟甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、等等。

药物制剂可是无菌的，而且如果需要的话，可与辅助试剂混合，所述辅助试剂例如是润滑剂、防腐剂、稳定剂、湿润剂、乳化剂、调节渗透压的盐、缓冲剂、着色剂和调味剂。另外，本发明的结合物可进行包衣，以防止例如肝脏的免疫原性或网状内皮（RES）反应。可用于此目的的试剂包括聚乙二醇（PEG）及本领域中其他的已知试剂。

在另一个方面中，本发明提供向患者目标组织定位给药维生素 D 的方法，其包括：（1）提供在药物学上可接受的载体中由维生素 D 和至少一种靶向分子形成的结合物；和（2）给药治疗有效剂量的所述本发明结合物。但是，根据具体的给药方法，所述结合物优选以下述剂型之一的形式给药。

对于非胃肠道给药，无菌注射液是特别合适的，优选为油性或含水溶液、以及混悬液、乳液、或者植入剂包括栓剂。安瓿是常规的单元剂量。

对于肠内给药，特别合适的是片剂、糖衣片剂、液体、滴剂、栓剂、锭剂、粉末或胶囊剂。如果需要甜味载体，糖浆、甘香酒剂等也可使用。由于容易给药，片剂和胶囊剂是最有利的口服给药剂量单元。

对于直肠给药，结合物可形成为包含栓剂基质如可可油或其他三甘油酯的药物组合物。为延长储存时间，所述组合物可有利地包括抗氧化剂，如抗坏血酸、丁基化羟基茴香醚或氢醌。

合适的局部给药制剂包括透皮装置、气雾剂、乳膏、软膏、洗液剂、

粉末剂等。

优选口服给药本发明的药物组合物。根据本发明的化合物的日剂量通常为约 0.025—2.5 nmol/kg 体重，优选为 0.025—1 nmol/kg 体重。通常情况下，本发明的结合物以在药物学上可接受的载体中的单元剂量剂型来分配。在治疗增殖性疾病如癌症时，式 (I) 结合物的肠内剂量为约 1—100 nmol 每单元剂量；治疗骨病时，为约 0.5—50 nmol 每单元剂量。

另外，本领域技术人员还可认识到，所述剂量可进行包胶，制成持续释放、缓慢释放或者直接释放的给药系统，如脂质体给药系统、具有缓慢释放性质的多糖、salistic 或其他聚合物植入剂或微球，以及那些活性成分通过微包胶、肠溶包衣、多层包衣等被合适地以一层或多层不同的可降解包衣保护者，而且此等装置可实现连续给药其中所包含的组分。例如，肠溶包衣合适地是耐受胃液崩解者。还可冻干活性成分，并使用如此得到的冻干物，例如来制备注射制剂。

还可进一步理解到，在具体情况下活性化合物的实际优选用量可根据所用具体化合物的功效、配制的具体组分、给药形式以及所治疗的具体部位和生物而变化。例如，对于具体患者的具体剂量取决于患者年龄、性别、体重、健康状况、饮食、给药的时间和方式、排泄速率、复合用药、以及所治疗疾病的严重性。用于某一宿主的剂量可根据常规方法来确定，例如通过合适的常规药理学方法比较所用化合物与已知药剂的不同活性。

以下将通过实施例进一步说明本发明，但这些实施例并不是用于限

制本发明的范围。

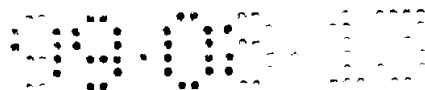
实施例 1: 合成 1 α - (OH) - 24-氨基烷基-1, 1-二磷酸酯-D₂ 结 合物 (7)

参考图 1 所示的反应路线。将已知醇 (1) (1.0 g, 1.52 mmol) 在甲苯 (5 ml) 中的溶液添加至 22 ml 的 12.5% 光气甲苯溶液, 然后在室温下搅拌溶液 20 小时。减压浓缩反应混合物, 以形成氯甲酸酯 (2)。

将吡啶 (0.18 ml, 2.2 mmol) 添加至 (2) (1.1 g, 1.53 mmol) 和四异丙基 4-氨基丁基-1, 1-二磷酸酯 (3) (见 Saari 等人的第 5,183,815 号美国专利) (0.92 g, 2.2 mmol) 在二氯甲烷 (12 ml) 中的溶液, 然后在室温下搅拌混合物 3 天。减压浓缩反应混合物, 并在硅胶上通过快速色谱纯制残留物, 其中使用甲醇/氯仿作为洗脱剂, 产生化合物 (4)。

在室温下搅拌化合物 (4) (0.80 g, 0.74 mmol) 在四氢呋喃 (THF) (10 ml) 中的溶液和四丁基氟化铵 (TBAF) (2.2 ml 的 1.0 M THF 溶液, 2.2 mmol) 24 小时。用水 (30 ml) 稀释反应混合物, 然后用二氯甲烷 (3 $\times$ 40 ml) 萃取。合并二氯甲烷部分, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 然后减压浓缩滤液。残留物在硅胶上通过快速色谱进行纯制, 其中使用甲醇/氯仿作为洗脱剂, 产生四异丙基酯化合物 (5)。

将三甲基溴化硅 (0.39 ml, 2.92 mmol) 添加至四异丙基酯化合物 (5) (0.5 g, 0.58 mmol) 在二氯甲烷 (6 ml) 中的溶液, 然后在惰性气氛下于室温搅拌该混合物 24 小时。减压浓缩反应混合物, 然后用水 (15 ml) 稀释残留物。过滤混合物, 然后冻干滤液, 形成化合物 (6)。



将化合物 (6) (250 mg, 0.36 mmol) 和 9-乙酰基蒽 (21 mg) 在甲醇 (93 ml) 中的溶液放置在 ACE 500 ml 光反应器中, 并用氮气清洗溶液 15 分钟。将反应混合物冷却至 0°C, 然后用从钽酰玻璃中滤过的 400 W Hanovia 灯照射 2 小时。过滤反应混合物, 并减压浓缩滤液。残留物用水 (10 ml) 稀释。过滤混合物, 冻干滤液, 形成题述结合物 (7)。

实施例 2: 合成 1-氨基烷基-1, 1-二磷酸酯-24-(OH)-D₂ (16)

参考图 2A 和 2B 中的反应路线。在 0℃ 的化合物 (1) (2.0 g, 3.04 mmol) 和 N, N-二异丙基乙基胺 (0.78 g, 6.1 mmol) 在二氯甲烷 (25 ml) 中的溶液中添加氯甲基甲基醚 (0.29 g, 3.6 mmol)。在 0℃ 下搅拌所得的反应混合物 1 小时, 然后在室温下搅拌 7 小时, 接着用水 (30 ml) 进行稀释。用二氯甲烷 (3×25 ml) 萃取经分离的含水相, 用无水硫酸钠干燥经合并的有机相, 过滤, 然后真空浓缩滤液。用硅胶快速色谱纯制残留物, 形成化合物 (8)。

在室温下搅拌化合物 (8) (1.99 g, 2.84 mmol) 在 THF (38 ml) 中的溶液和 TBAF (8.4 ml 的 1.0 M THF) 24 小时。用水 (100 ml) 稀释反应混合物, 然后用二氯甲烷 (3×100 ml) 萃取。用无水硫酸钠干燥经合并的二氯甲烷相, 过滤, 然后真空浓缩滤液。在硅胶上通过快速色谱纯制残留物, 其中使用甲醇/氯仿作为洗脱剂, 形成二醇化合物 (9)。

在二醇 (9) (1.25 g, 2.64 mmol)、N, N-二甲基甲酰胺 (20 ml) 和咪唑 (0.54 g, 7.93 mmol) 的溶液中添加叔丁基二甲基氯化硅 (0.40 g, 2.64 mmol)。在室温下搅拌反应混合物 6 小时, 然后用水 (60 ml) 稀

释，并用二氯甲烷（3×70 ml）萃取。用盐水（50 ml）洗涤经合并的有机相，用无水硫酸钠干燥，过滤，然后减压浓缩滤液。残留物在硅胶上通过快速色谱进行纯制，分别形成两种产物。它们在图 2A 中表示为醇（10）和（11）。

如图 2B 的上部所示，将醇（10）（0.5 g, 0.85 mmol）在甲苯（2.5 ml）中的溶液添加至 12.3 ml 的 12.5% 光气甲苯溶液，然后在室温下搅拌该溶液 20 小时。减压浓缩反应混合物，形成氯甲酸酯（12）。

将吡啶（0.09 ml, 1.1 mmol）添加至氯甲酸酯（12）（0.5 g, 0.77 mmol）和四异丙基 4-氨基丁基-1, 1-二磷酸酯（3）（0.46 g, 1.1 mmol）在二氯甲烷（6 ml）中的溶液，然后在室温下搅拌该混合物 3 天。减压浓缩反应混合物，残留物在硅胶上通过快速色谱进行纯制，其中使用甲醇/氯仿作为洗脱剂，形成化合物（13）。

在室温下搅拌化合物（13）（0.50 g, 0.49 mmol）在 THF（7 ml）中的溶液和 TBAF（0.74 ml 的 1.0 M THF 溶液，0.74 mmol）24 小时。用水（20 ml）稀释反应混合物，然后用二氯甲烷（3×30 ml）萃取。用无水硫酸钠干燥经合并的二氯甲烷部分，过滤，然后减压浓缩滤液。残留物在硅胶上通过快速色谱进行纯制，其中使用甲醇/氯仿作为洗脱剂，形成化合物（14）。

将三甲基溴化硅（0.26 ml, 1.96 mmol）添加至四异丙基酯（14）（0.35 g, 0.39 mmol）在二氯甲烷（4 ml）中的溶液，然后在惰性气氛下于室温搅拌该混合物 24 小时。减压浓缩反应混合物，残留物用水（15 ml）和甲醇（3 ml）稀释，并搅拌 8 小时。过滤混合物，然后冻干滤液，

形成化合物 (15)。

将化合物 (15) (0.21g, 0.31 mmol) 和 9-乙酰基蒽 (18 mg) 在甲醇 (80 ml) 中的溶液放置在 ACE 500 ml 光反应器中, 并用氮气清洗溶液 15 分钟。将反应混合物冷却至 0°C, 然后用从铈酰玻璃中滤过的 400 W Hanovia 灯照射 2 小时。过滤反应混合物, 并减压浓缩滤液。残留物用水 (10 ml) 稀释。过滤混合物, 冻干滤液, 形成题述结合物 (16)。

实施例 3: 合成 1 α , 24-(OH)₂-3-氨基烷基-1, 1-二磷酸酯-D₂ (21)

参考图 3 所示的反应路线。将醇 (11) (0.5 g, 0.85 mmol) 在甲苯 (2.5 ml) 中的溶液添加至 12.3 ml 的 12.5% 光气甲苯溶液, 然后在室温下搅拌溶液 20 小时。减压浓缩反应混合物, 以形成氯甲酸酯 (17)。

将吡啶 (0.081 ml, 1 mmol) 添加至 (17) (0.45 g, 0.69 mmol) 和四异丙基 4-氨基丁基-1, 1-二磷酸酯 (0.41 g, 1 mmol) 在二氯甲烷 (5 ml) 中的溶液, 然后在室温下搅拌混合物 3 天。减压浓缩反应混合物, 并在硅胶上通过快速色谱纯制残留物, 其中使用甲醇/氯仿作为洗脱剂, 产生化合物 (18)。

在室温下搅拌化合物 (18) (0.47 g, 0.46 mmol) 在 THF (6.5 ml) 中的溶液和 TBAF (0.7 ml 的 1.0 M THF 溶液, 0.7 mmol) 24 小时。用水 (30 ml) 稀释反应混合物, 然后用二氯甲烷 (3 $\times$ 30 ml) 萃取。合并二氯甲烷部分, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 然后减压浓缩滤液。残留物在硅胶上通过快速色谱进行纯制, 其中使用甲醇/氯仿作为洗脱剂,

产生化合物 (19)。

将三甲基溴化硅 (0.23 ml, 1.74 mmol) 添加至四异丙基酯 (19) (0.31 g, 0.34 mmol) 在二氯甲烷 (4 ml) 中的溶液, 然后在惰性气氛下于室温搅拌该混合物 24 小时。减压浓缩反应混合物, 然后用水 (15 ml) 和甲醇 (3 ml) 稀释残留物, 并搅拌 8 小时。过滤混合物, 然后冻干滤液, 形成化合物 (20)。

将化合物 (20) (0.21 g, 0.31 mmol) 和 9-乙酰基蒽 (18 mg) 在甲醇 (80 ml) 中的溶液放置在 ACE 500 ml 光反应器中, 并用氮气清洗溶液 15 分钟。将反应混合物冷却至 0°C, 然后用从铈酰玻璃中滤过的 400 W Hanovia 灯照射 2 小时。过滤反应混合物, 并减压浓缩滤液。残留物用水 (10 ml) 稀释。过滤混合物, 冻干滤液, 形成题述结合物 (21)。

实施例 4: 合成 1 α -氨基烷基-1, 1-二磷酸酯-25-(OH)-D₃ (32)

参考图 4A 和 4B 中的反应路线。将已知酮 (22) (3.1 g, 11.1 mmol) (见: Baggiolini 等人, 51 J. Org. Chem. (1986), 3098-3108, 该文献在此并入作为参考)、3, 4-二氢-2H-吡喃 (1.52 ml, 16.7 mmol) 和吡啶鎓对甲苯磺酸 (0.1 g, 0.4 mmol) 溶解在二氯甲烷 (50 ml) 中, 然后在室温下搅拌 24 小时。反应混合物用水 (30 ml) 进行洗涤, 并用无水硫酸钠干燥有机相, 过滤, 然后真空浓缩滤液。用硅胶快速色谱纯制残留物, 形成酮化合物 (23)。

将已知氧化膦 (24) (1.35 g, 2.32 mmol) 在 35 ml 无水 THF 中的溶液冷却至 -78°C, 然后滴加 m-丁基锂 (1.45 ml 的 1.6 M 己烷溶液)

进行处理。在 -78°C 下搅拌该阴离子溶液 5 分钟，然后在 10—15 分钟的时间内添加溶解在无水 THF (10 ml) 中的酮 (23) (0.57 g, 1.56 mmol)。在 -78°C 下搅拌反应混合物 2 小时，然后用 2 N 酒石酸钾钠溶液 (6 ml) 和 2 N 碳酸氢钾溶液 (6 ml) 稀释。将溶液温热至室温，然后用乙酸乙酯 (4×25 ml) 萃取。用盐水洗涤经合并的有机部分，在无水硫酸钠上干燥，过滤，然后减压浓缩。残留物在硅胶上通过快速色谱进行纯制，其中使用乙酸乙酯/己烷作为洗脱剂，形成化合物 (25)。

在室温下搅拌化合物 (25) (0.95 g, 1.3 mmol) 在 THF (17 ml) 中的溶液和 TBAF (3.9 ml 的 1.0 M THF, 3.9 mmol) 24 小时。用水 (50 ml) 稀释反应混合物，然后用二氯甲烷 (3×60 ml) 萃取。用无水硫酸钠干燥经合并的二氯甲烷相，过滤，然后真空浓缩滤液。在硅胶上通过快速色谱纯制残留物，其中使用甲醇/氯仿作为洗脱剂，形成二醇化合物 (26)。

在二醇化合物 (26) (0.55 g, 1.1 mmol)、N,N-二甲基甲酰胺 (8 ml) 和咪唑 (0.255 g, 3.3 mmol) 的溶液中添加叔丁基二甲基氯化硅 (0.166 g, 1.1 mmol)。在室温下搅拌反应混合物 6 小时，然后用水 (30 ml) 稀释，并用二氯甲烷 (3×40 ml) 萃取。用盐水 (30 ml) 洗涤经合并的有机相，用无水硫酸钠干燥，过滤，然后减压浓缩滤液。残留物在硅胶上通过快速色谱进行纯制，分别形成两种产物。它们在图 4A 中表示为醇 (27) 和 (28)。

如图 4B 的上部所示，将醇 (27) (0.25 g, 0.41 mmol) 在甲苯 (3 ml)

中的溶液添加至 6 ml 的 12.5% 光气甲苯溶液，然后在室温下搅拌该溶液 20 小时。减压浓缩反应混合物，形成氯甲酸酯 (29)。

将吡啶 (0.047 ml, 0.57 mmol) 添加至 (29) (0.27 g, 0.4 mmol) 和四异丙基 4-氨基丁基-1, 1-二磷酸酯 (0.24 g, 0.57 mmol) 在二氯甲烷 (4 ml) 中的溶液，然后在室温下搅拌该混合物 3 天。减压浓缩反应混合物，残留物在硅胶上通过快速色谱进行纯制，其中使用甲醇/氯仿作为洗脱剂，形成化合物 (30)。

在室温下搅拌化合物 (30) (0.36 g, 0.35 mmol) 在 THF (5 ml) 中的溶液和 TBAF (0.52 ml 的 1.0 M THF 溶液, 0.52 mmol) 24 小时。用水 (15 ml) 稀释反应混合物，然后用二氯甲烷 (3×25 ml) 萃取。用无水硫酸钠干燥经合并的二氯甲烷部分，过滤，然后减压浓缩滤液。残留物在硅胶上通过快速色谱进行纯制，其中使用甲醇/氯仿作为洗脱剂，形成化合物 (31)。

将三甲基溴化硅 (0.20 ml, 1.54 mmol) 添加至四异丙基酯 (31) (0.28 g, 0.30 mmol) 在二氯甲烷 (4 ml) 中的溶液，然后在惰性气氛下于室温搅拌该混合物 24 小时。减压浓缩反应混合物，残留物用水 (15 ml) 和甲醇 (3 ml) 稀释，并搅拌半小时。过滤混合物，然后冻干滤液，形成化合物 (32)。

实施例 5: 合成 1 α , 25-(OH)₂-3-氨基烷基-1, 1-二磷酸酯-D₃ (36)

参考图 5 所示的反应路线。将醇 (28) (0.26 g, 0.43 mmol) 在甲苯

(3 ml) 中的溶液添加至 6.2 ml 的 12.5% 光气甲苯溶液, 然后在室温下搅拌溶液 20 小时。减压浓缩反应混合物, 以形成氯甲酸酯 (33)。

将吡啶 (0.049 ml, 0.59 mmol) 添加至氯甲酸酯 (33) (0.28 g, 0.42 mmol) 和四异丙基 4-氨基丁基-1, 1-二磷酸酯 (0.25 g, 0.59 mmol) 在二氯甲烷 (5 ml) 中的溶液, 然后在室温下搅拌混合物 3 天。减压浓缩反应混合物, 并在硅胶上通过快速色谱纯制残留物, 其中使用甲醇/氯仿作为洗脱剂, 产生化合物 (34)。

在室温下搅拌化合物 (34) (0.37 g, 0.36 mmol) 在 THF (5 ml) 中的溶液和 TBAF (0.54 ml 的 1.0 M THF 溶液, 0.54 mmol) 24 小时。用水 (15 ml) 稀释反应混合物, 然后用二氯甲烷 (3×25 ml) 萃取。合并二氯甲烷部分, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 然后减压浓缩滤液。残留物在硅胶上通过快速色谱进行纯制, 其中使用甲醇/氯仿作为洗脱剂, 产生四异丙基酯 (35)。

将三甲基溴化硅 (0.21 ml, 1.60 mmol) 添加至四异丙基酯化合物 (35) (0.29 g, 0.31 mmol) 在二氯甲烷 (5 ml) 中的溶液, 然后在惰性气氛下于室温搅拌该混合物 24 小时。减压浓缩反应混合物, 然后用水 (15 ml) 和甲醇 (3 ml) 稀释残留物, 并搅拌半小时。过滤混合物, 然后冻干滤液, 形成题述结合物 (36)。

实施例 6: 合成 1 α -(OH)-25-氨基烷基-1, 1-二磷酸酯-D₃ (41)

参考图 6 所示的反应路线。向醚 (25) (1.31 g, 1.8 mmol) 在甲醇 (10 ml) 和水 (2 ml) 中的溶液添加吡啶和对甲苯磺酸水合物 (0.034 g,

0.18 mmol)。在室温下搅拌反应混合物 1 小时，用水 (20 ml) 稀释，然后用二氯甲烷 (3×30 ml) 萃取。用无水硫酸钠干燥经合并的有机相，过滤，然后真空浓缩。残留物在硅胶上通过快速色谱进行纯制，其中使用甲醇/氯仿作为洗脱剂，产生醇 (37)。

将醇 (37) (1.09 g, 1.7 mmol) 在甲苯 (9 ml) 中的溶液添加至 25 ml 的 12.5% 光气甲苯溶液，然后在室温下搅拌溶液 20 小时。减压浓缩反应混合物，以形成氯甲酸酯 (38)。

将吡啶 (0.19 ml, 2.32 mmol) 添加至氯甲酸酯 (38) (1.17 g, 1.65 mmol) 和四异丙基 4-氨基丁基-1, 1-二磷酸酯 (0.98 g, 2.32 mmol) 在二氯甲烷 (20 ml) 中的溶液，然后在室温下搅拌混合物 3 天。减压浓缩反应混合物，并在硅胶上通过快速色谱纯制残留物，其中使用甲醇/氯仿作为洗脱剂，产生醇 (39)。

在室温下搅拌醇 (39) (1.61 g, 1.5 mmol) 在 THF (20 ml) 中的溶液和 TBAF (4.5 ml 的 1.0 M THF 溶液, 4.5 mmol) 24 小时。用水 (60 ml) 稀释反应混合物，然后用二氯甲烷 (3×60 ml) 萃取。合并二氯甲烷部分，用无水硫酸钠干燥，过滤，然后减压浓缩滤液。残留物在硅胶上通过快速色谱进行纯制，其中使用甲醇/氯仿作为洗脱剂，产生四异丙基酯化合物 (40)。

将三甲基溴化硅 (0.75 ml, 5.68 mmol) 添加至四异丙基酯化合物 (40) (0.93 g, 1.1 mmol) 在二氯甲烷 (20 ml) 中的溶液，然后在惰性气氛下于室温搅拌该混合物 24 小时。减压浓缩反应混合物，然后用水 (30 ml) 稀释残留物。过滤混合物，然后冻干滤液，形成题述化合

物（41）。

总之，本发明提供用于靶向给药的维生素 D 结合物。所述结合物包括维生素 D 部分和对目标组织具有亲和性的靶向分子部分。该结合物的特征在于使维生素 D 化合物具有定位靶向作用，即、维生素 D 和骨亲和剂的结合物用于将维生素 D 输送至骨组织并释放。

虽然已通过实施例具体描述和阐明了本发明，但本领域技术人员还可对本发明进行各种的改进和修改。

说明书附图

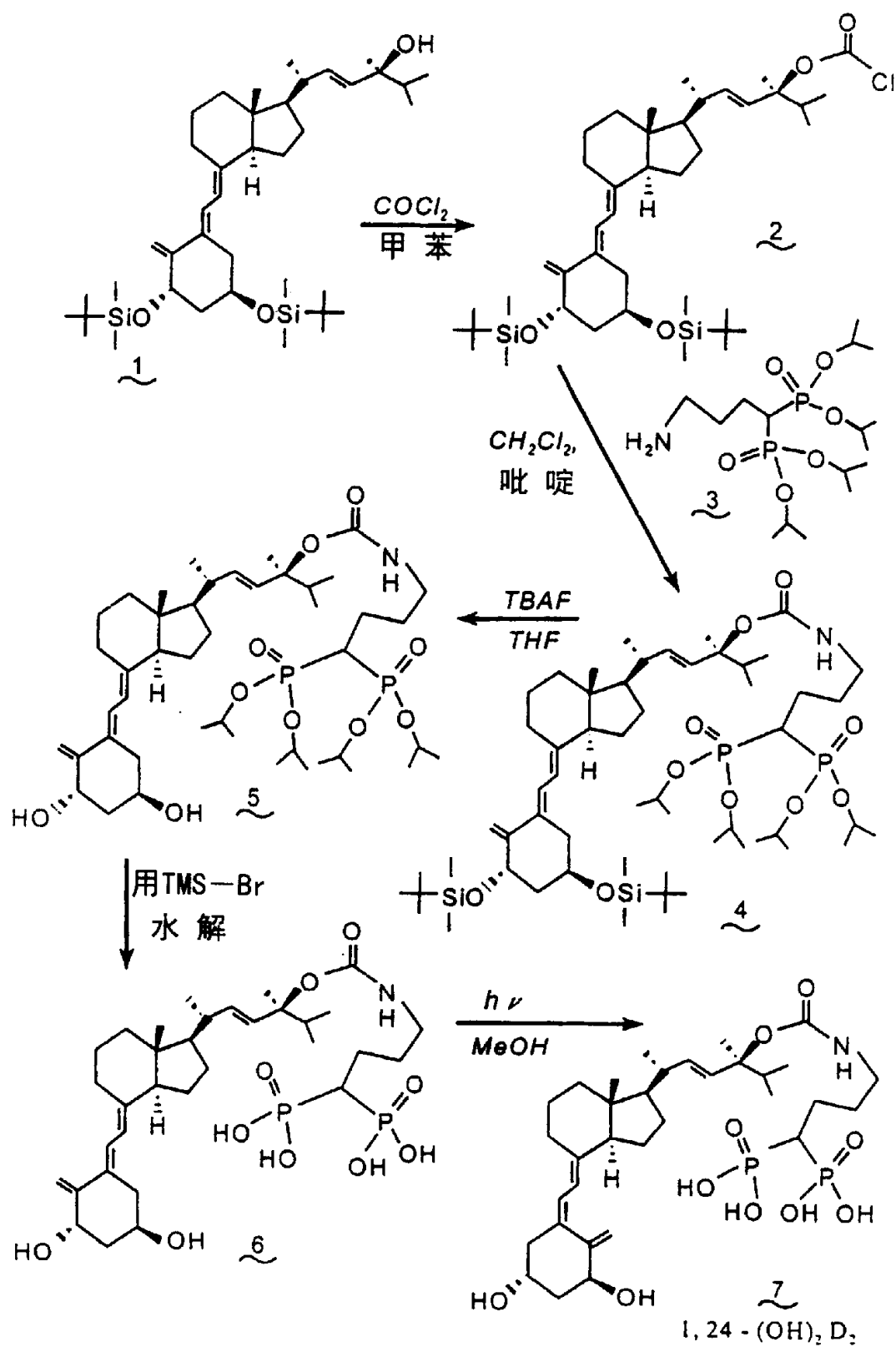


图 1

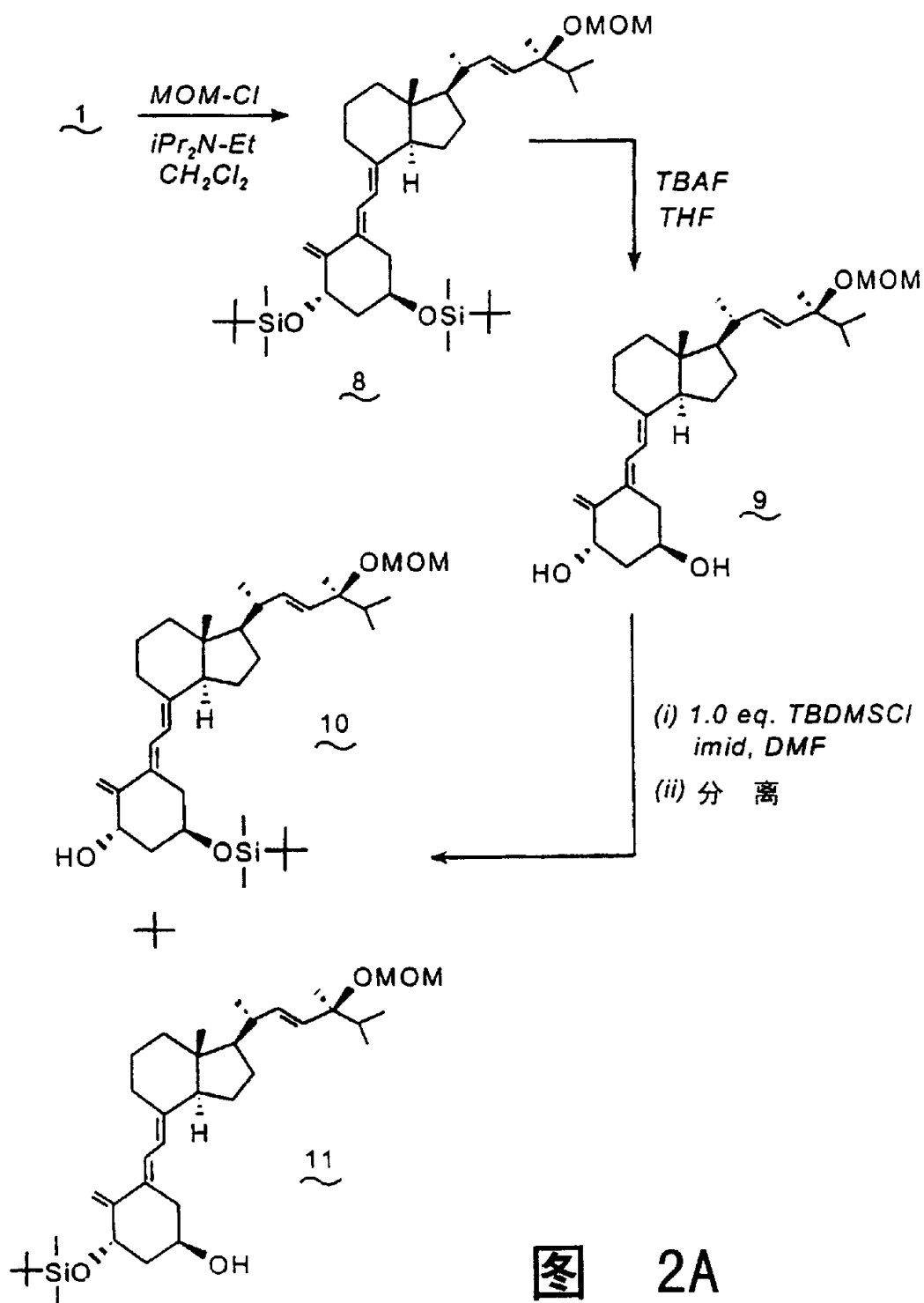


图 2A

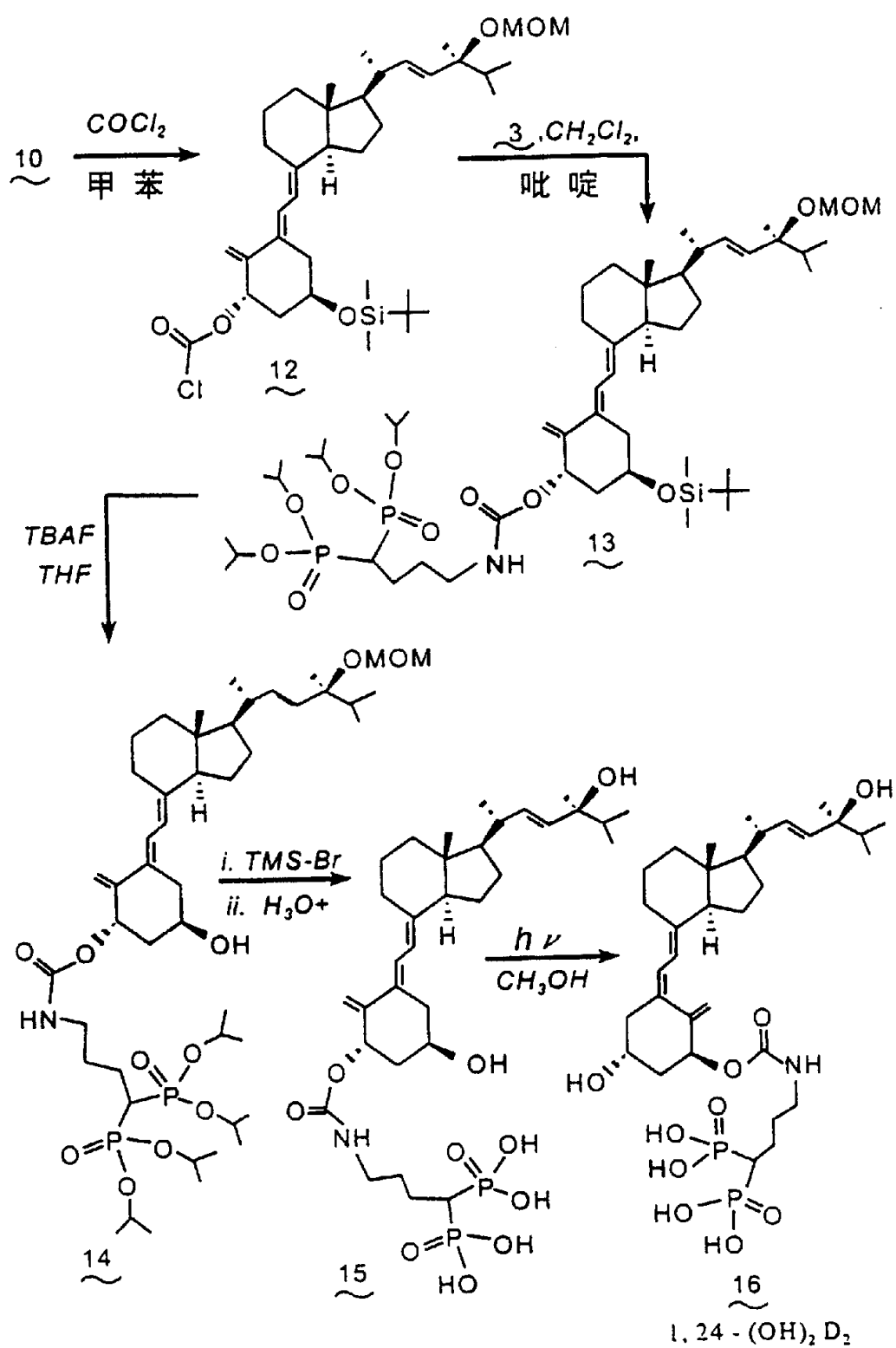


图 2B

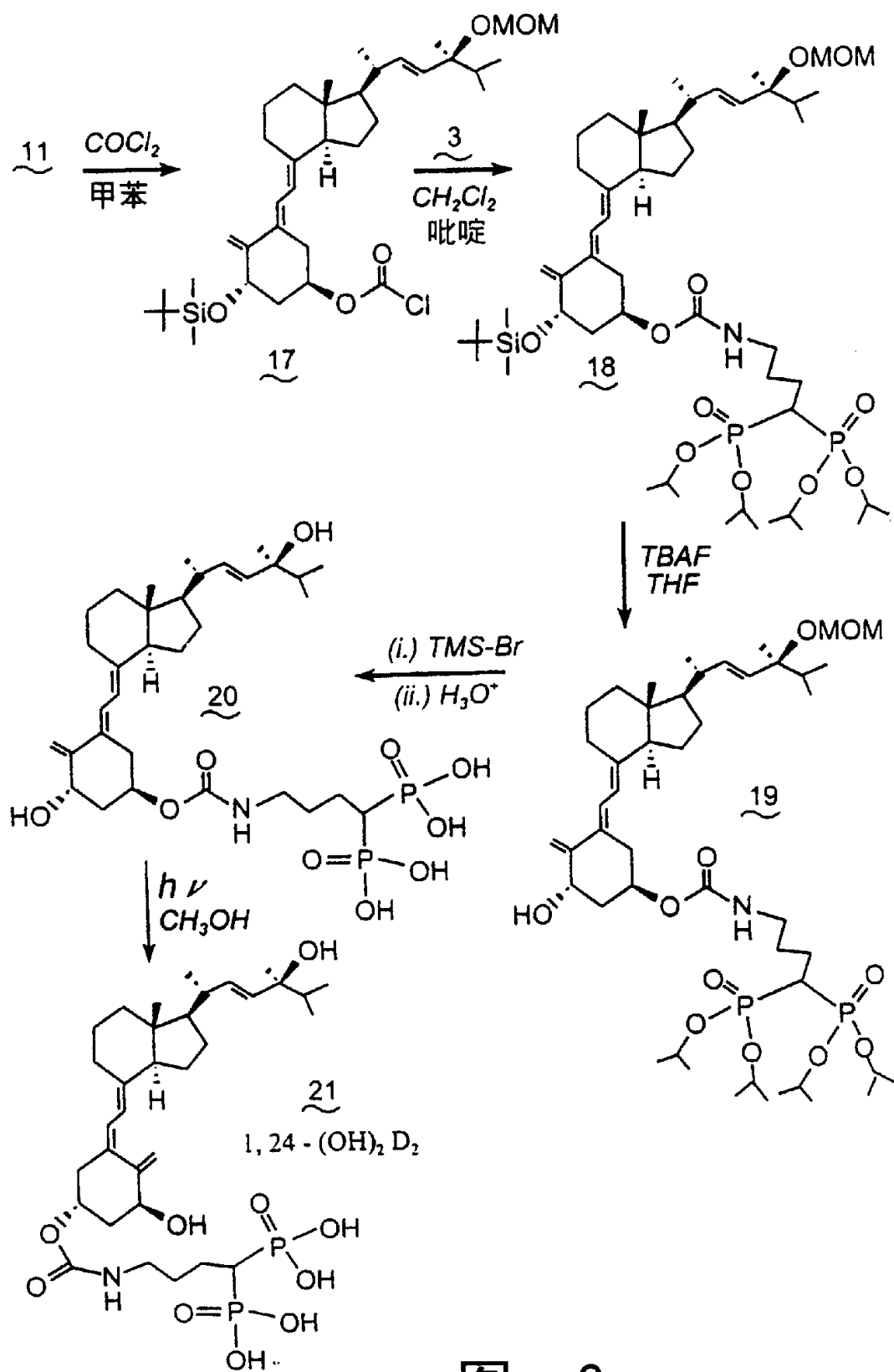


图 3

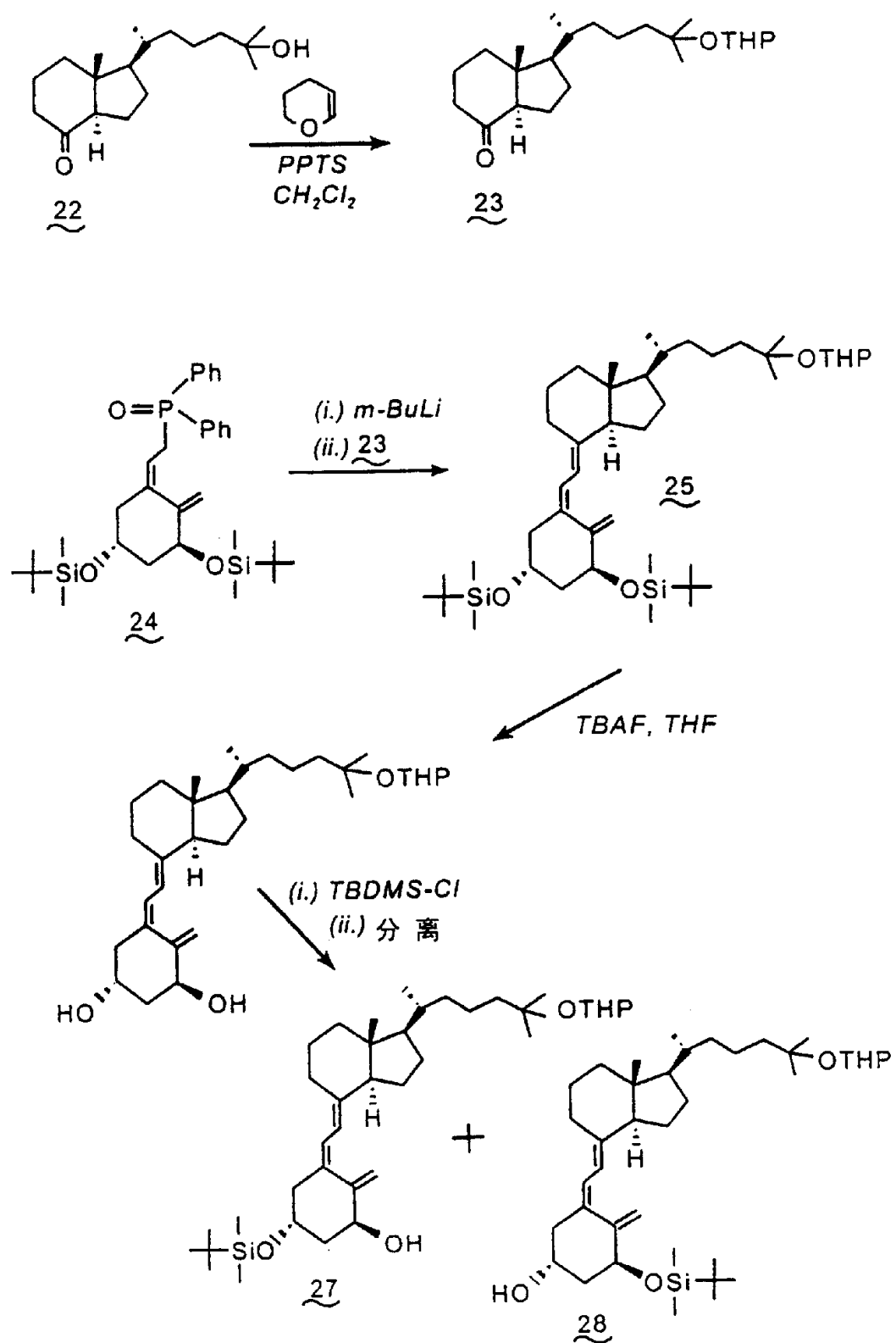


图 4A

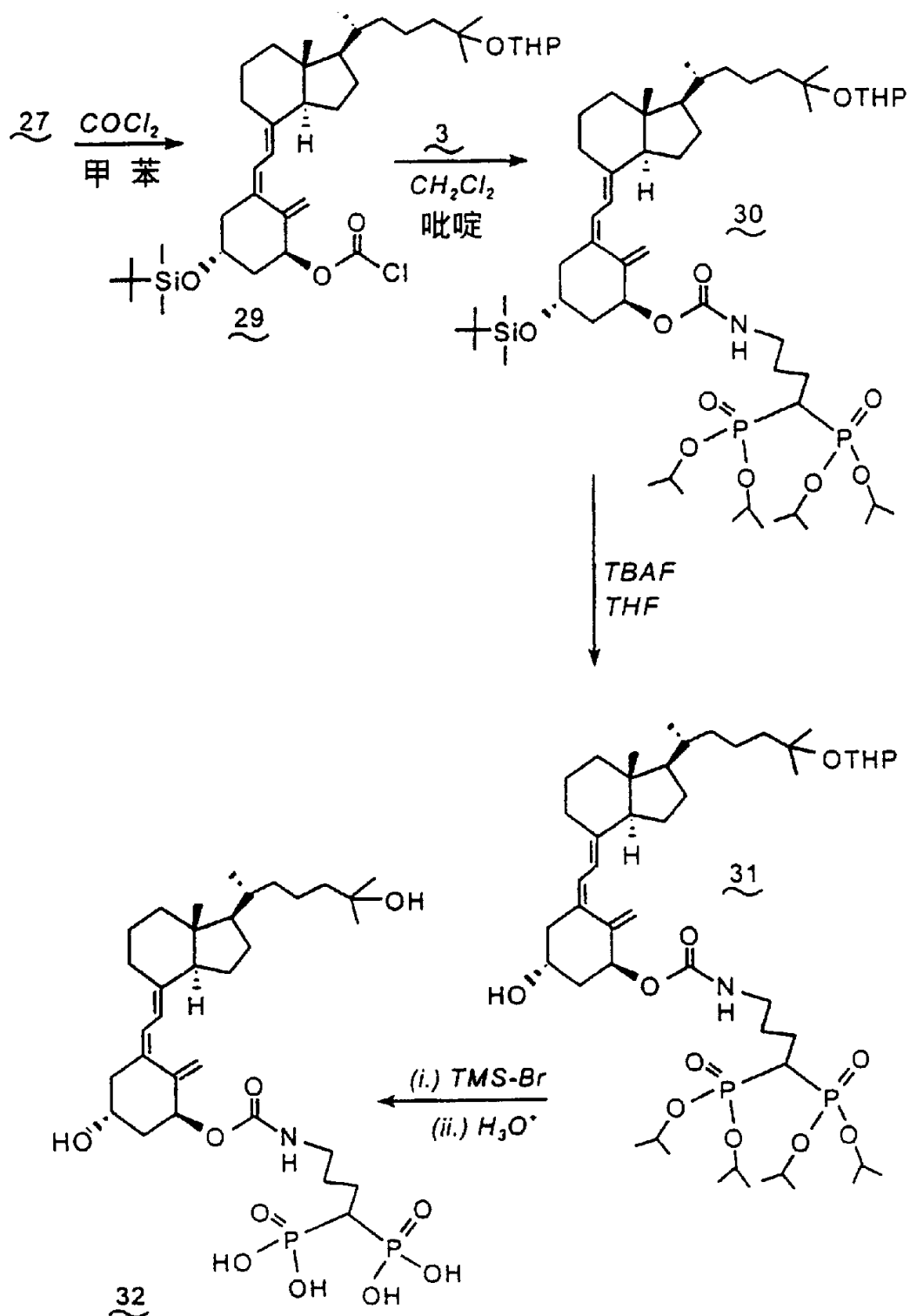
1, 25 - (OH)₂ D₁

图 4B

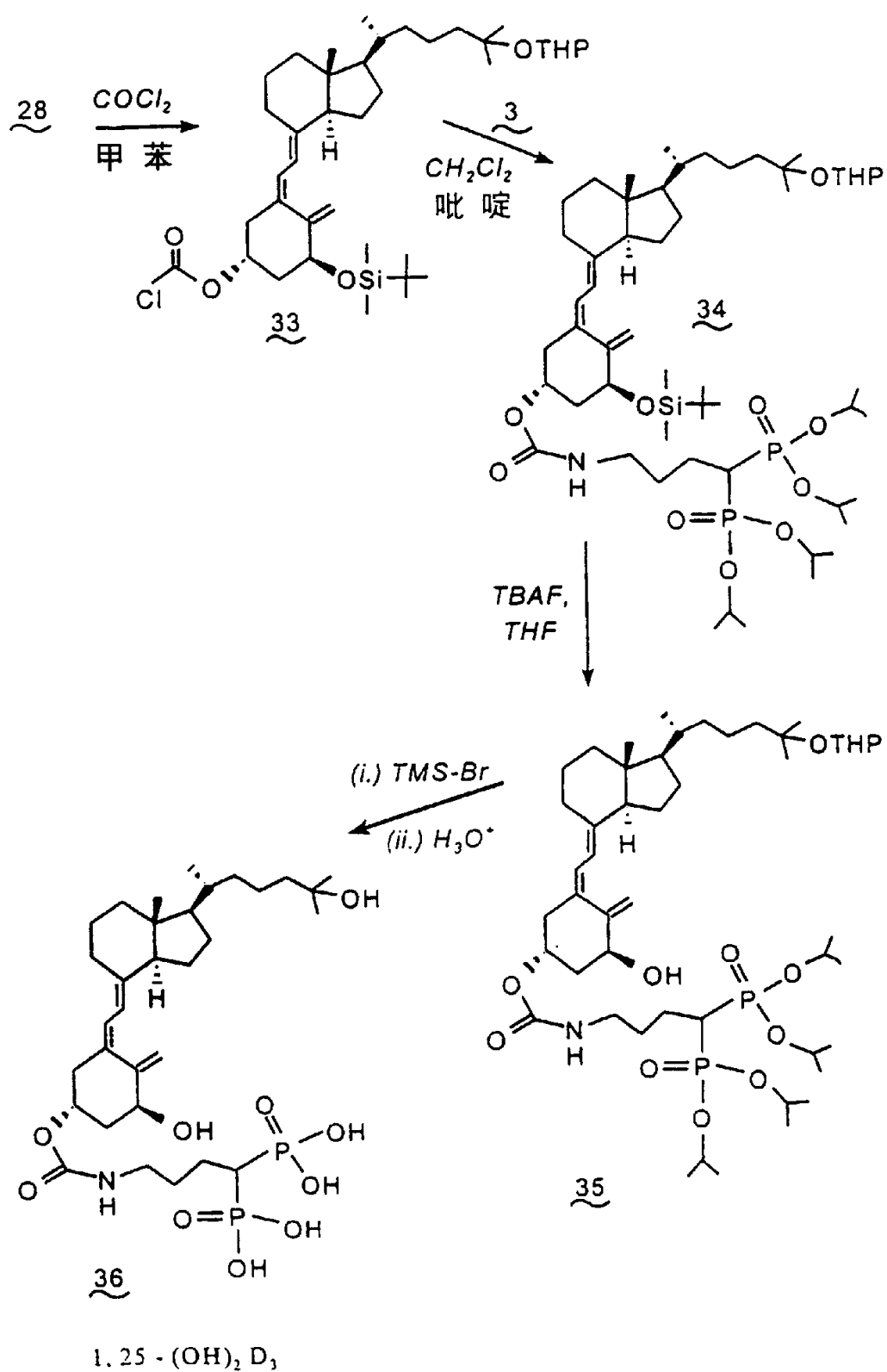


图 5

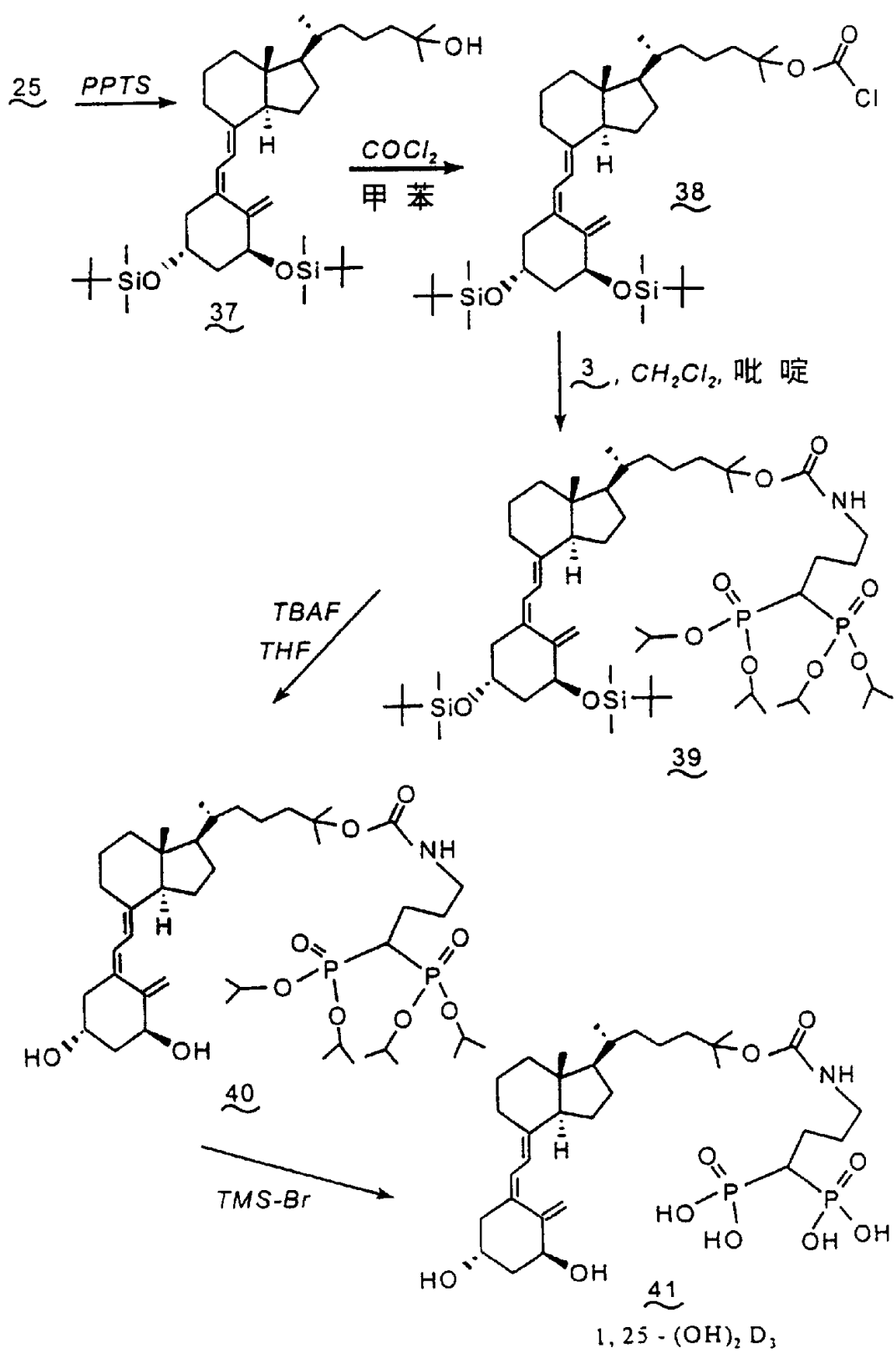


图 6

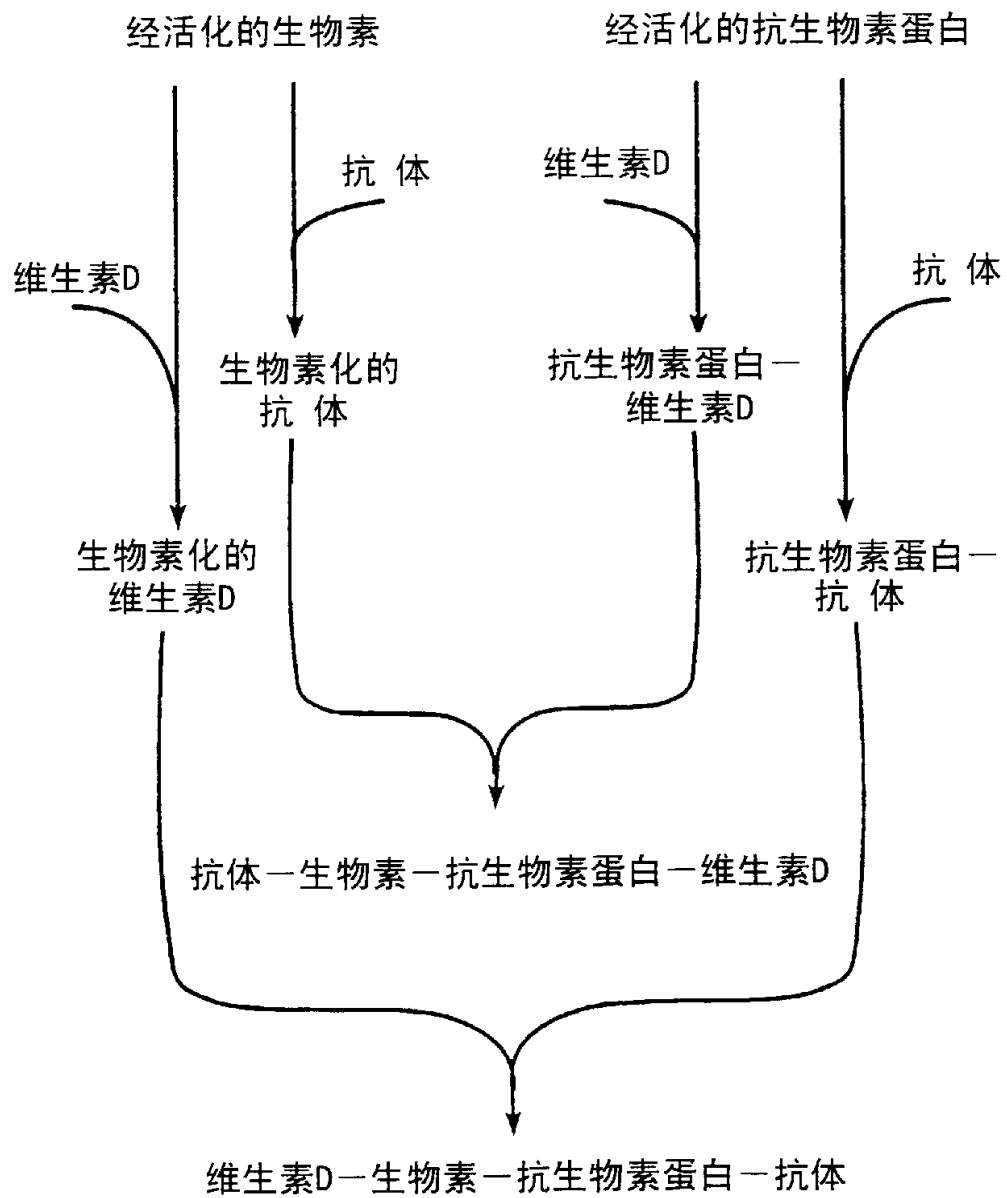


图 7