



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110520161 A

(43)申请公布日 2019.11.29

(21)申请号 201880023821.3

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

(22)申请日 2018.02.12

72001

(30)优先权数据

62/457597 2017.02.10 US

代理人 徐晶 黄登高

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

(51)Int.Cl.

2019.10.08

A61K 47/56(2006.01)

A61K 47/68(2006.01)

C07H 15/26(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2018/017802 2018.02.12

(87)PCT国际申请的公布数据

W02018/148650 EN 2018.08.16

(71)申请人 伊利诺伊大学评议会

地址 美国伊利诺伊州

(72)发明人 程建军 蔡恺珉 于晋

权利要求书25页 说明书58页 附图19页

(54)发明名称

用于癌症选择性标记和靶向的触发器可激活的糖缀合物

(57)摘要

公开了用于选择性标记癌细胞中的细胞表面糖的化合物。这些化合物可被癌细胞特异性触发器激活，并且当代谢时，用叠氮化学基团标记癌细胞表面糖。通过点击化学反应促进，细胞表面表达的叠氮化物与炔基-药物缀合物的组合使得能够有效靶向药物递送至癌细胞而具有降低的毒性。还公开了用于将药物递送至携带叠氮化物的癌细胞的化合物，以及使用所述化合物治疗癌症的方法。

1. 化合物或其药学上可接受的盐, 其包括:

任选取代的N-((叠氮基) 酰基) 5-氨基-3,5-二脱氧-D-甘油基-D-半乳糖-2-壬基吡喃糖酸部分或任选取代的N-((叠氮基) 酰基) 2-氨基-2-脱氧-D-吡喃半乳糖基部分;

由触发器切割的触发器反应部分; 和

自降解连接基;

其中

所述自降解连接基与所述壬基吡喃糖酸部分或所述吡喃半乳糖基部分并与触发器反应部分共价键合。

2. 根据权利要求1所述的化合物, 其中所述触发器是细胞过氧化物。

3. 根据权利要求1或2所述的化合物, 其中所述触发器反应部分包括硼酸基团、二烷基硼酸酯基团、二芳基硼酸酯基团、二(芳烷基) 硼酸酯基团、环戊硼烷基团或二氧杂环戊硼烷基团。

4. 根据权利要求3所述的化合物, 其中在通过细胞过氧化物裂解所述触发器反应部分后, 所述自降解连接基分解, 从而释放任选取代的N-((叠氮基) 酰基) 5-氨基-3,5-二脱氧-D-甘油基-D-半乳糖-2-壬基吡喃糖酸或任选取代的N-((叠氮基) 酰基) 2-氨基-2-脱氧-D-吡喃半乳糖苷。

5. 根据权利要求1所述的化合物, 其中所述触发器是缺氧。

6. 根据权利要求1或5所述的化合物, 其中所述触发器反应部分包含2-硝基咪唑部分或偶氮基团, 例如偶氮苯。

7. 根据权利要求6所述的化合物, 其中在在缺氧条件下裂解所述触发器反应部分后, 所述自降解连接基分解, 从而释放任选取代的N-((叠氮基) 酰基) 5-氨基-3,5-二脱氧-D-甘油基-D-半乳糖-2-壬基吡喃糖酸或任选取代的N-((叠氮基) 酰基) 2-氨基-2-脱氧-D-吡喃半乳糖苷。

8. 根据权利要求1所述的化合物, 其中所述触发器是含巯基或硫醇盐的化合物, 例如谷胱甘肽。

9. 根据权利要求1或8所述的化合物, 其中所述触发器反应部分包含二硫键。

10. 根据权利要求9所述的化合物, 其中在通过含巯基或硫醇盐的化合物裂解所述二硫键后, 所述自降解连接基分解, 从而释放任选取代的N-((叠氮基) 酰基) 5-氨基-3,5-二脱氧-D-甘油基-D-半乳糖-2-壬基吡喃糖酸或任选取代的N-((叠氮基) 酰基) 2-氨基-2-脱氧-D-吡喃半乳糖苷。

11. 根据权利要求1所述的化合物, 其中所述触发器是NAD(P) H脱氢酶(醌1) (NQ01)。

12. 根据权利要求1或11所述的化合物, 其中所述触发器反应部分包含任选取代的醌, 其与任选取代的丙酸或丙酰胺部分共价结合。

13. 根据权利要求12所述的化合物, 其中在通过NAD(P) H脱氢酶(醌1) (NQ01) 裂解与任选取代的丙酸或丙酰胺部分共价结合的任选取代的醌后, 所述自降解连接基分解, 从而释放任选取代的N-((叠氮基) 酰基) 5-氨基-3,5-二脱氧-D-甘油基-D-半乳糖-2-壬基吡喃糖酸或任选取代的N-((叠氮基) 酰基) 2-氨基-2-脱氧-D-吡喃半乳糖苷。

14. 根据权利要求1所述的化合物, 其中所述触发器是组织蛋白酶。

15. 根据权利要求14所述的化合物, 其中所述触发器反应部分是氨基酸或寡肽序列, 其

包含由组织蛋白酶切割的酰胺键。

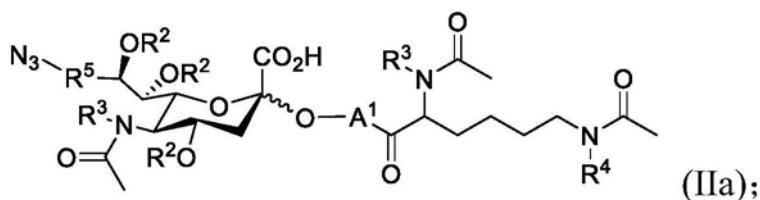
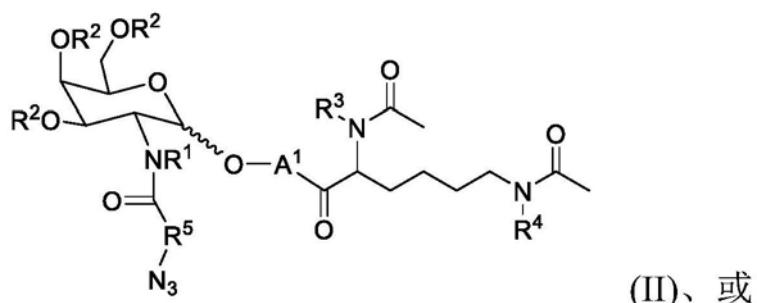
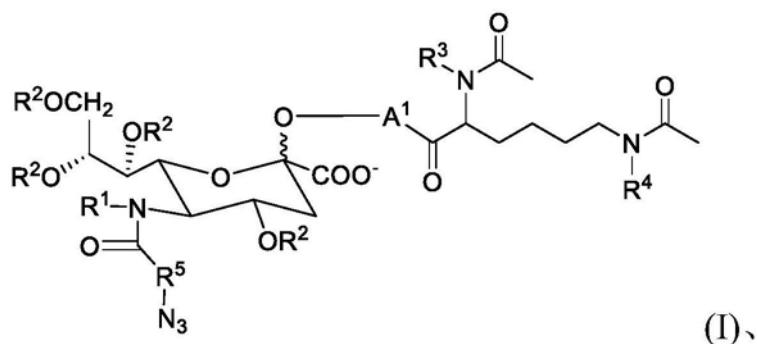
16. 根据权利要求15所述的化合物,其中包含酰胺键的所述氨基酸或寡肽序列包括Phe-Lys、Val-Lys、Ala-Lys、Val-Cit、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp-Cit、Phe-Arg (NO₂)、Phe-Arg (Ts) 或Lys-Gly-Arg-Arg。

17. 根据权利要求15所述的化合物,其中所述氨基酸或寡肽序列是取代的赖氨酸酰胺。

18. 根据权利要求15-17中任一项所述的化合物,其中在通过组织蛋白酶切割酰胺键时,所述自降解连接基分解,从而释放任选取代的N-((叠氮基)酰基)5-氨基-3,5-二脱氧-D-甘油基-D-半乳糖-2-壬基吡喃糖酸或任选取代的N-((叠氮基)酰基)2-氨基-2-脱氧-D-吡喃半乳糖昔。

19. 根据权利要求14-18中任一项所述的化合物,其中所述组织蛋白酶是组织蛋白酶L。

20. 根据权利要求1所述的化合物,其由式(I)、式(II)或式(IIa)或其药学上可接受的盐表示:



其中:

R¹表示H或三((C₁-C₆)烷基)甲硅烷基;

R²每次出现时独立地表示H、-C(0)((C₁-C₆)烷基)、半乳糖基、N-乙酰基半乳糖基氨基、甘露糖基、N-乙酰基甘露糖氨基、葡萄糖基、N-乙酰基葡萄糖氨基、麦芽糖基或果糖基;

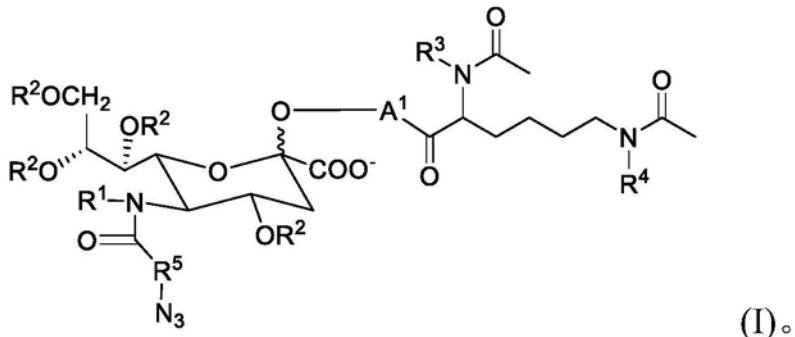
R³和R⁴各自独立地表示H、三((C₁-C₆)烷基)甲硅烷基或-C(0)((C₁-C₆)烷基);

R⁵表示(C₁-C₆)亚烷基;和

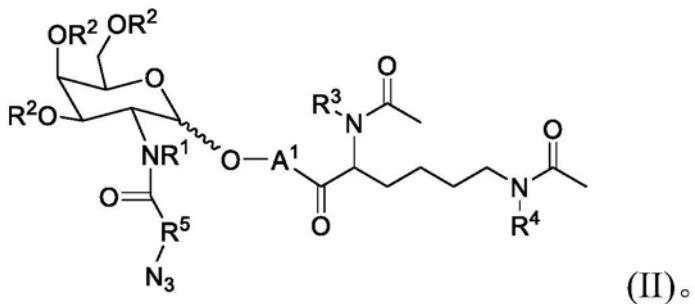
A¹代表自降解连接基。

21. 根据权利要求20所述的化合物,其中R¹代表H。

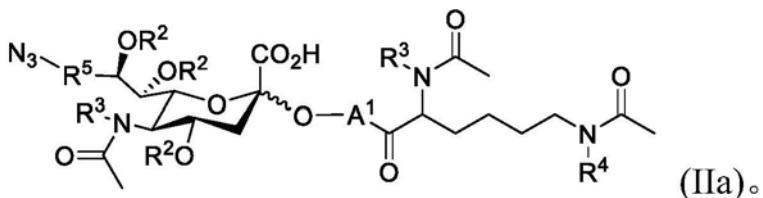
22. 根据权利要求20或21所述的化合物,其中R²独立地每次出现代表H或-C(0)CH₃。
23. 根据权利要求22所述的化合物,其中所有出现的R²是相同的。
24. 根据权利要求20-23中任一项所述的化合物,其中R³和R⁴是H。
25. 根据权利要求20-24中任一项所述的化合物,其由式(I)或其药学上可接受的盐表示:



26. 根据权利要求20-24中任一项所述的化合物,其由式(II)或其药学上可接受的盐表示:



27. 根据权利要求20-24中任一项所述的化合物,其由式(IIa)或其药学上可接受的盐表示:



28. 根据权利要求20-27中任一项所述的化合物,其中:

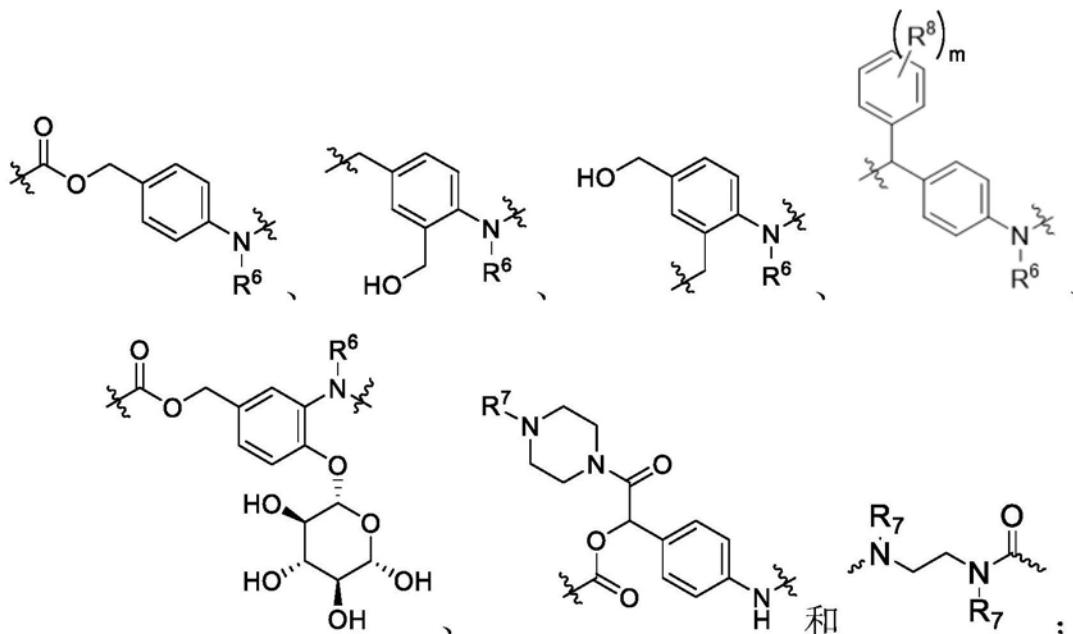
A¹表示基团-X¹-Y¹-;

X¹代表键或-C(0)-; 和

Y¹表示键或任选取代的-((C₁)亚烷基)-亚芳基-或-((C₁)亚烷基)-杂芳基-。

29. 根据权利要求28所述的化合物,其中Y¹表示任选取代的-((C₁)亚烷基)-亚芳基-。

30. 根据权利要求29所述的化合物,其中所述自降解连接基选自:



其中

R⁶表示H、三((C₁-C₆)烷基)甲硅烷基或-C(=O)(C₁-C₆)烷基；

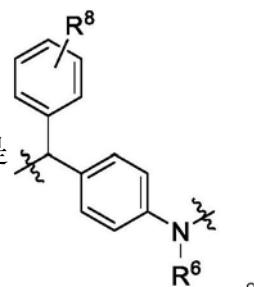
R⁷表示H、(C₁-C₆)烷基或杂环烷基；

R⁸表示H、卤素、-C(=O)₂H、(C₁-C₆)烷氧基、二((C₁-C₆)烷基)氨基、-NO₂、-O(CH₂CH₂O)_qCH₃；

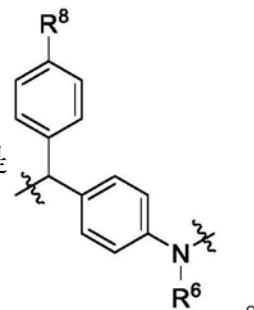
m是1、2、3、4或5；和

q是1或2。

31. 根据权利要求30所述的化合物，其中R⁸是H。



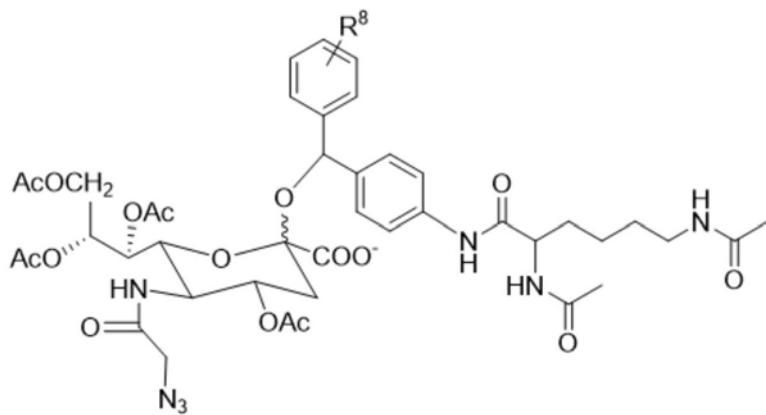
32. 根据权利要求30所述的化合物，其中所述自降解连接基是



33. 根据权利要求32所述的化合物，其中所述自降解连接基是

34. 根据权利要求32所述的化合物，其中R⁸是H。

35. 根据权利要求1所述的化合物，其由式(III)或其药学上可接受的盐表示：



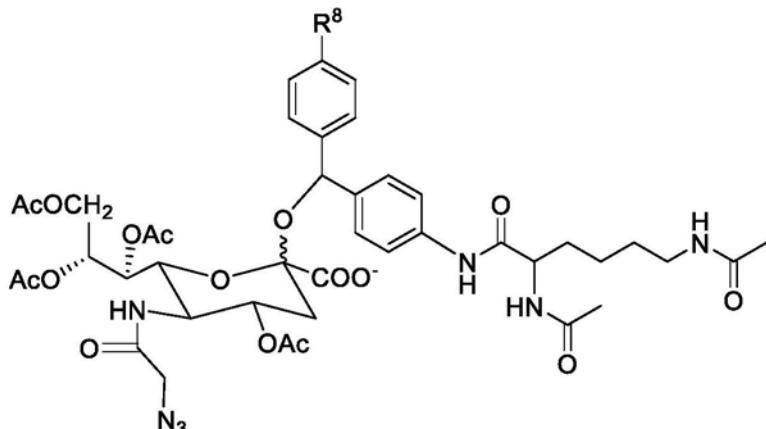
(III);

其中 R^8 表示H、卤素、 $-\text{C}(\text{O})_2\text{H}$ 、 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_6)$ 烷氧基、二($(\text{C}_1\text{--}\text{C}_6)$ 烷基)氨基、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_q\text{CH}_3$ ；

m 是1、2、3、4或5；和

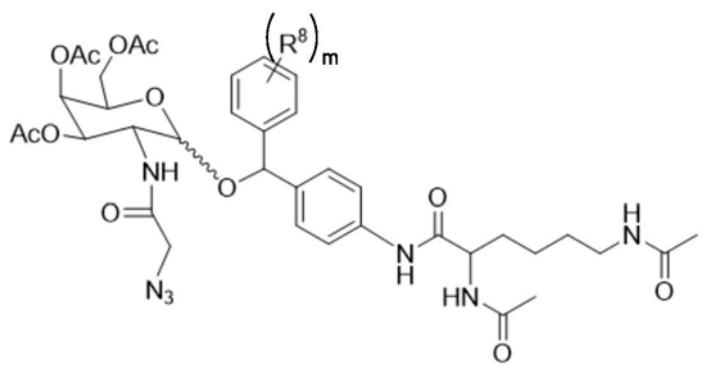
q 是1到5000。

36. 根据权利要求35所述的化合物，其由式(III')或其药学上可接受的盐表示：



(III')。

37. 根据权利要求1所述的化合物，其由式(IV)或其药学上可接受的盐表示：



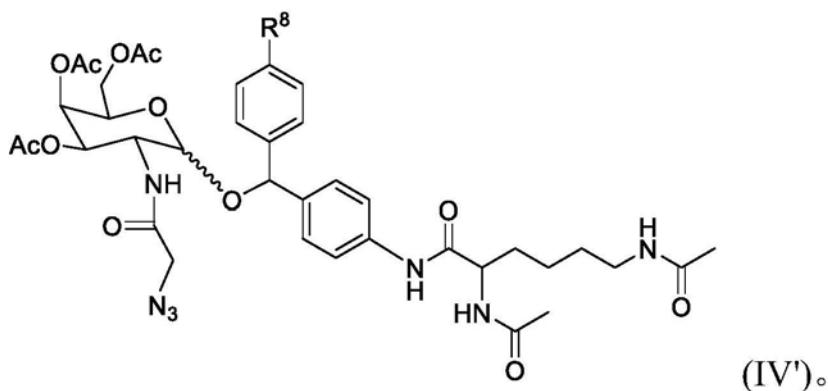
(IV);

其中 R^8 表示H、卤素、 $-\text{C}(\text{O})_2\text{H}$ 、 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_6)$ 烷氧基、二($(\text{C}_1\text{--}\text{C}_6)$ 烷基)氨基、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_q\text{CH}_3$ ；

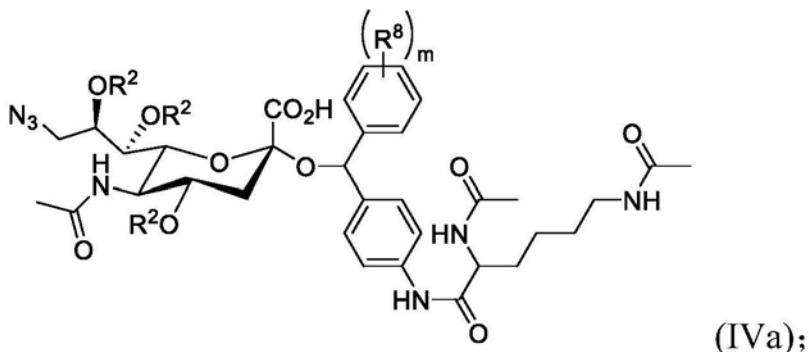
m 是1、2、3、4或5；和

q 是1或2。

38. 根据权利要求37所述的化合物，其由式(IV')或其药学上可接受的盐表示：



39. 根据权利要求1所述的化合物,其由式 (IVa) 或其药学上可接受的盐表示:

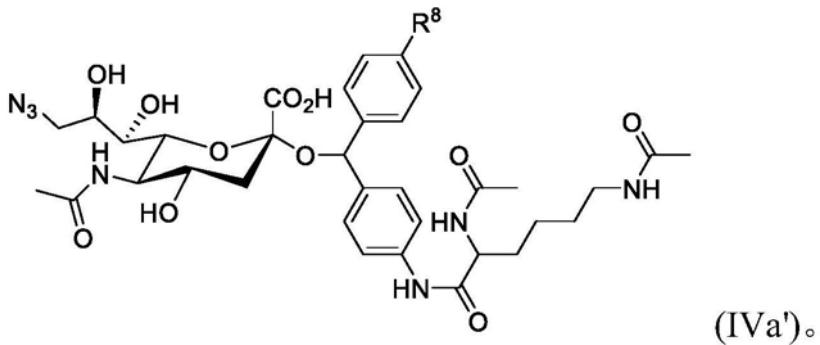


其中R⁸表示H、卤素、-C(O)₂H、(C₁-C₆) 烷氧基、二((C₁-C₆) 烷基) 氨基、-NO₂、-O(CH₂CH₂O)_qCH₃;

m是1、2、3、4或5;和

q是1或2。

40. 根据权利要求39所述的化合物,其由式 (IVa') 或其药学上可接受的盐表示:

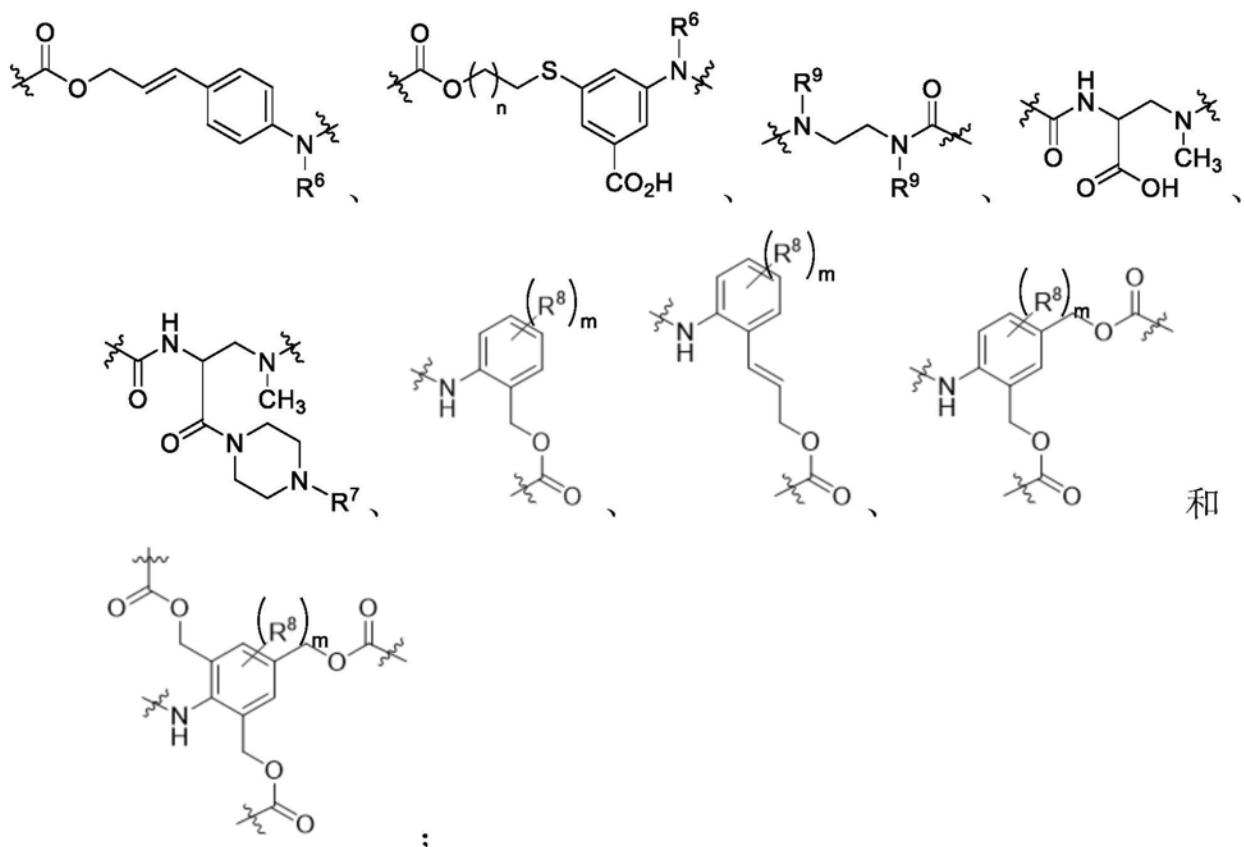


41. 根据权利要求35-40中任一项所述的化合物,其中R⁸是H。

42. 根据权利要求1-29中任一项所述的化合物,进一步包含含有一个或多个糖部分的糖连接基,其中(i)所述糖连接基将自降解连接基共价连接至N-((叠氮)酰基)5-氨基-3,5-二脱氧-D-甘油基-D-半乳糖-2-壬基吡喃糖酸部分的异头碳或N-((叠氮基)酰基)2-氨基-2-脱氧-D-吡喃半乳糖基部分的异头碳,或(ii)A¹还包含所述糖连接基。

43. 根据权利要求42所述的化合物,其中所述一个或多个糖部分选自半乳糖基、N-乙酰半乳糖基、甘露糖基、N-乙酰基甘露糖氨基、神经氨酸、葡糖基、N-乙酰基葡糖氨基、麦芽糖基和果糖基。

44. 根据权利要求20-27、41和42中任一项所述的化合物,其中所述自降解连接基选自:



其中

R⁶表示H、三((C₁-C₆)烷基)甲硅烷基或-C(O)((C₁-C₆)烷基)；

R⁷表示H、(C₁-C₆)烷基或杂环烷基；

R⁸表示H、卤素、-C(O)₂H、(C₁-C₆)烷氧基、二((C₁-C₆)烷基)氨基、-NO₂、-O(CH₂CH₂O)_qCH₃；

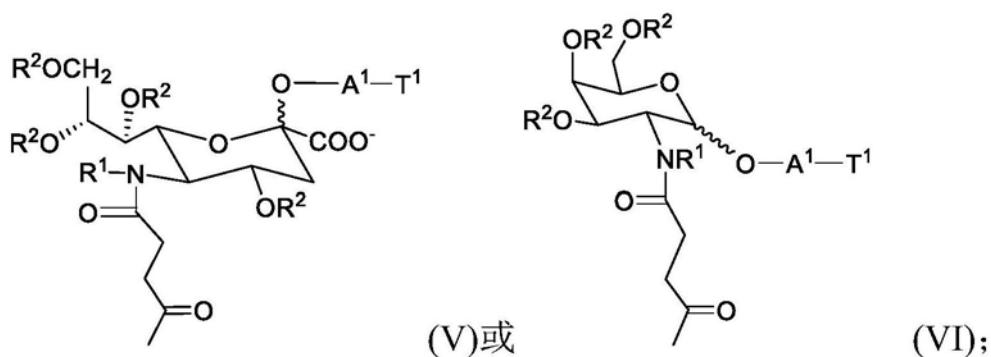
R⁹表示H或(C₁-C₆)烷基；

m是1、2、3、4或5；

n是1或2；和

q是1或2。

45. 根据权利要求1-19中任一项所述的化合物，其由式(V)或式(VI)或其任一者的药学上可接受的盐表示：



其中：

R¹表示H或三((C₁-C₆)烷基)甲硅烷基；

R²每次出现时独立地表示H、-C(O)((C₁-C₆)烷基)、半乳糖基、N-乙酰基半乳糖基氨基、

甘露糖基、N-乙酰基甘露糖氨基、葡糖基、N-乙酰基葡糖氨基、麦芽糖基或果糖基；

A^1 代表自降解连接基；和

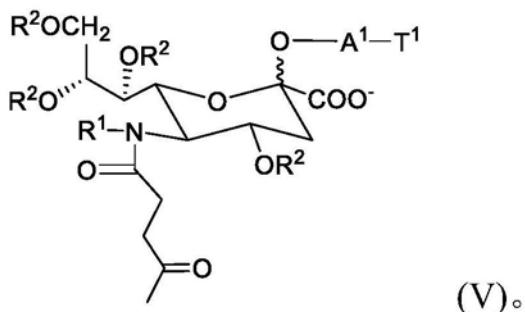
T^1 代表触发器反应部分。

46. 根据权利要求45所述的化合物，其中 R^1 代表H。

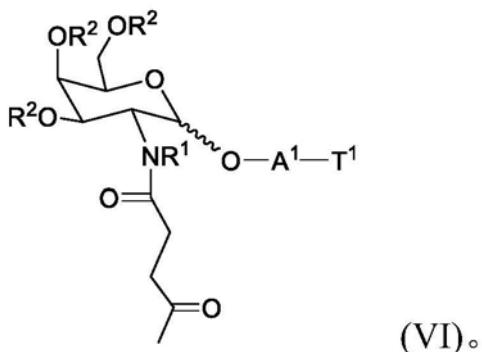
47. 根据权利要求45或46所述的化合物，其中 R^2 独立地每次出现代表H或 $-C(O)CH_3$ 。

48. 根据权利要求47所述的化合物，其中所有出现的 R^2 是相同的。

49. 根据权利要求45-48中任一项所述的化合物，其由式(V)或其药学上可接受的盐表示：



50. 根据权利要求45-48中任一项所述的化合物，其由式(VI)或其药学上可接受的盐表示：



51. 根据权利要求45-50中任一项所述的化合物，其中：

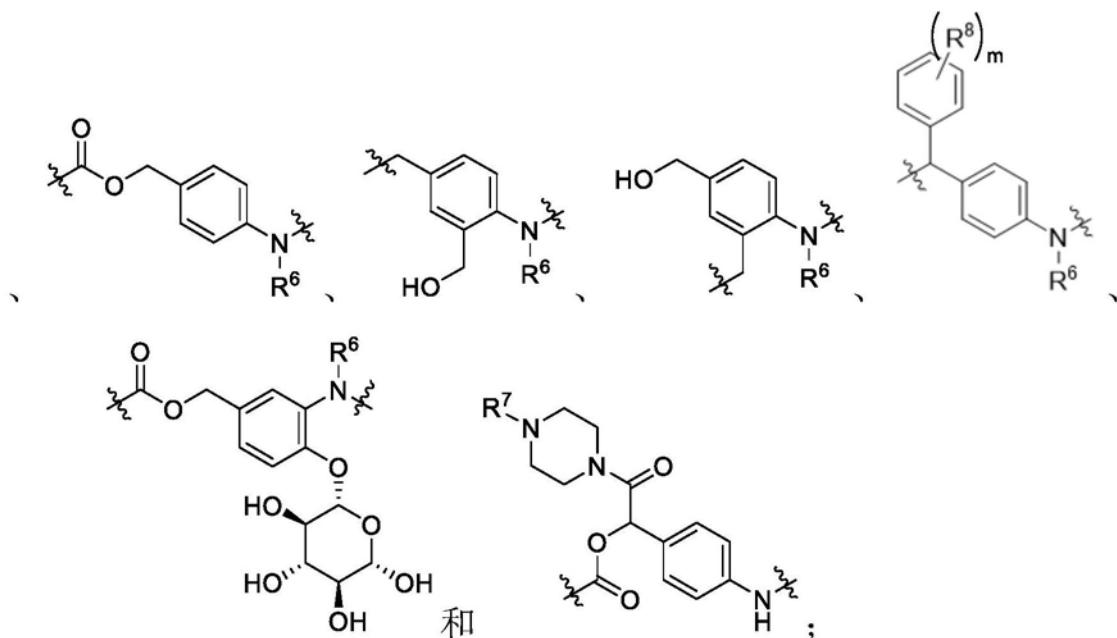
A^1 表示基团 $-X^1-Y^1-$ ；

X^1 代表键或 $-C(O)-$ ；和

Y^1 表示键或任选取代的-((C₁)亚烷基)-亚芳基-或-((C₁)亚烷基)-杂芳基-。

52. 根据权利要求51所述的化合物，其中 Y^1 表示任选取代的-((C₁)亚烷基)-亚芳基-。

53. 根据权利要求52所述的化合物，其中所述自降解连接基选自：



其中

R⁶表示H、三((C₁-C₆)烷基)甲硅烷基或-C(=O)(C₁-C₆)烷基；

R^7 表示H、(C₁—C₆)烷基或杂环烷基；

R^8 表示H、卤素、 $-C(O)_{2}H$ 、 (C_1-C_6) 烷氧基、二((C_1-C_6) 烷基)氨基、 $-NO_2$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_nCH_3$ ；

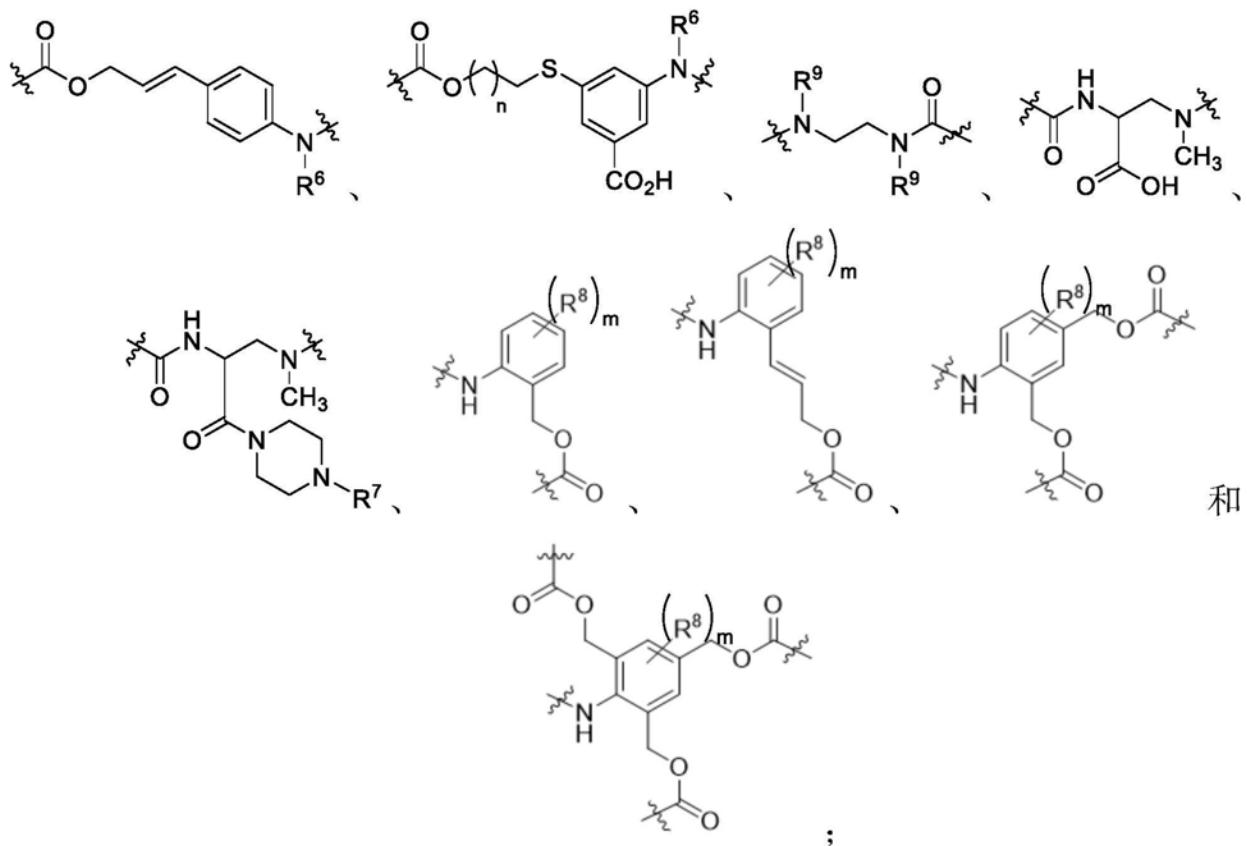
m 是1、2、3、4或5；和

a 是1或2。

54. 根据权利要求45-50中任一项所述的化合物，其中A¹还包含糖连接基；并且所述糖连接基包含一个或多个糖部分。

55.根据权利要求54所述的化合物,其中所述一个或多个糖部分选自半乳糖基、N-乙酰半乳糖基、甘露糖基、N-乙酰基甘露糖氨基、神经氨酸、葡糖基、N-乙酰基葡糖氨基、麦芽糖基和果糖基。

56. 根据权利要求45-50、54和55中任一项所述的化合物，其中所述自降解连接基选自：



其中

R⁶表示H、三((C₁-C₆)烷基)甲硅烷基或-C(0)((C₁-C₆)烷基)；

R⁷表示H、(C₁-C₆)烷基或杂环烷基；

R⁸表示H、卤素、-C(0)₂H、(C₁-C₆)烷氧基、二((C₁-C₆)烷基)氨基、-NO₂、-O(CH₂CH₂O)_qCH₃；

R⁹表示H或(C₁-C₆)烷基；

m是1、2、3、4或5；

n是1或2；和

q是1或2。

57.由式(VII)表示的化合物或其药学上可接受的盐：

K-Pol-Pep-A²-D (VII)；

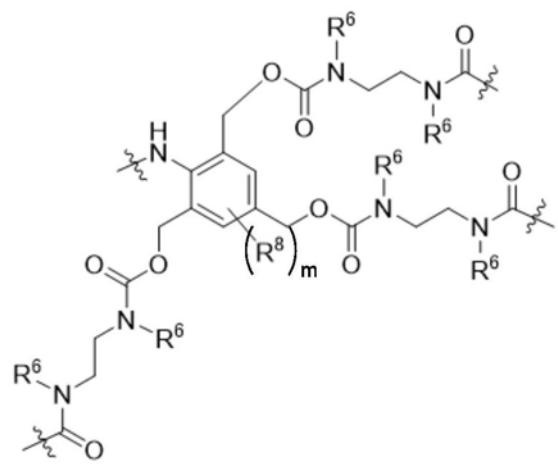
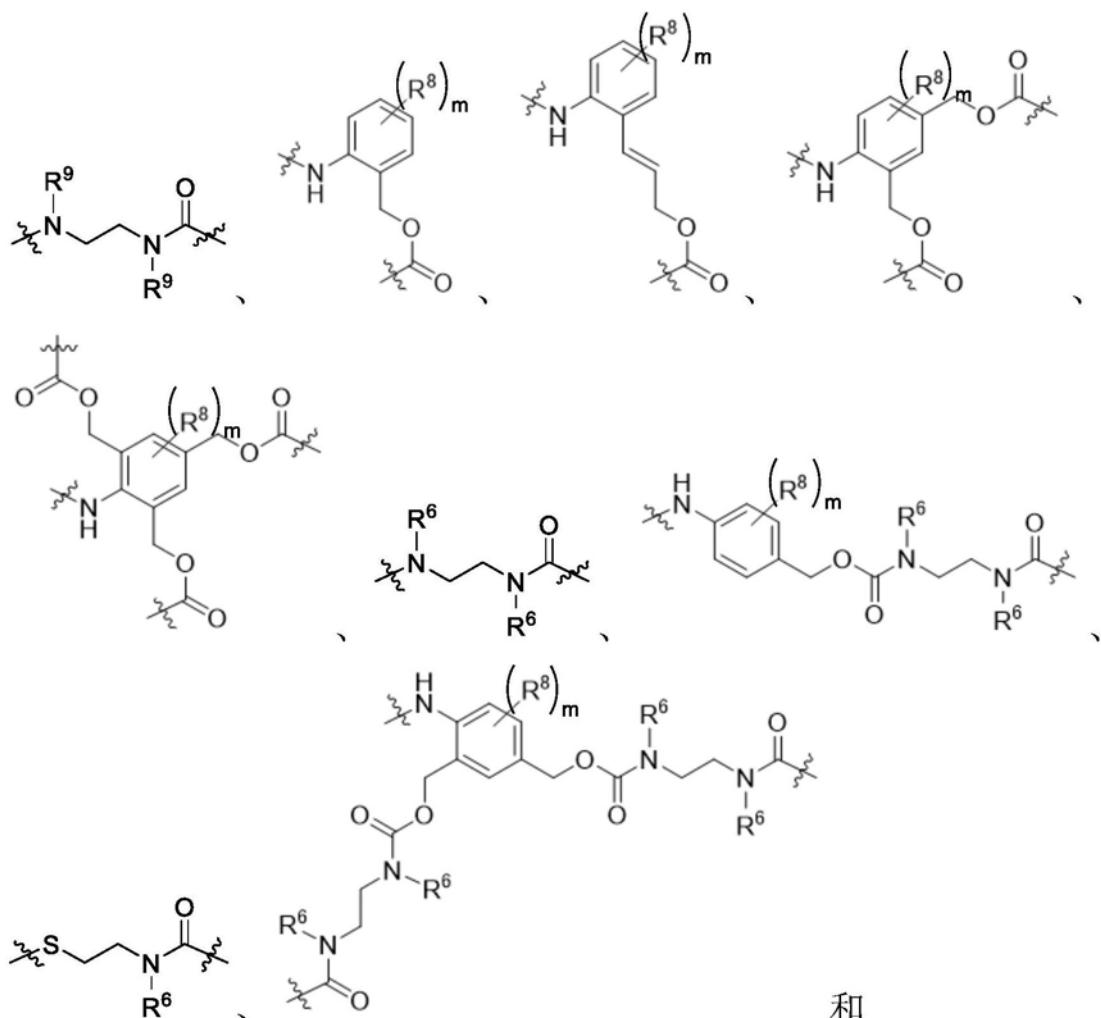
其中：

K表示任选取代的环炔基、杂环炔基或炔基部分；

Pol不存在或代表聚合物部分；

Pep代表氨基酸或寡肽序列；

A²是键或代表选自下组的自降解连接基



;

其中

 R^6 表示H、三((C₁-C₆)烷基)甲硅烷基或-C(0)((C₁-C₆)烷基)； R^7 表示H、(C₁-C₆)烷基或杂环烷基； R^8 表示H、卤素、-C(0)₂H、(C₁-C₆)烷氧基、二((C₁-C₆)烷基)氨基、-NO₂、-O(CH₂CH₂O)_qCH₃； R^9 表示H或(C₁-C₆)烷基； m 为1、2、3、4或5； q 为1或2；和

D代表药效团；

其中：

当存在时，所述聚合物部分是聚亚烷基二醇或聚亚烷基酰亚胺；和
氨基酸或寡肽序列包含被酶切割的酰胺键，所述酶(i)相对于对应的健康细胞在恶性
细胞中过表达或(ii)在对应的健康细胞中不表达的恶性细胞中表达。

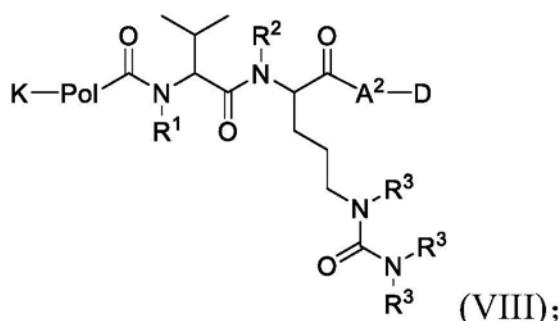
58. 根据权利要求57所述的化合物，其中在酶切割酰胺键后，所述自降解连接基分解，
从而释放药效团。

59. 根据权利要求57或58所述的化合物，其中所述酶是组织蛋白酶。

60. 根据权利要求59所述的化合物，其中所述组织蛋白酶是组织蛋白酶B。

61. 根据权利要求57-60中任一项所述的化合物，其中Pep代表任选取代的Val-Cit。

62. 根据权利要求57所述的化合物，其由式(VIII)表示：



其中：

R¹、R²和R³各自独立地表示H、三((C₁-C₆)烷基)甲硅烷基或-C(O)((C₁-C₆)烷基)。

63. 根据权利要求62所述的化合物，其中R¹、R²和R³是H。

64. 根据权利要求57-63中任一项所述的化合物，其中K包含任选取代的杂环炔基或环
炔基。

65. 根据权利要求64所述的化合物，其中K包含任选取代的二苯并环辛炔部分。

66. 根据权利要求57-65中任一项所述的化合物，其中Pol表示聚乙二醇或聚丙二醇部
分。

67. 根据权利要求65所述的化合物，其中Pol表示聚乙二醇或聚丙二醇的10至30个重复
单元。

68. 根据权利要求67所述的化合物，其中Pol代表聚乙二醇的10至30个重复单元。

69. 根据权利要求68所述的化合物，其中Pol代表聚乙二醇的15至25个重复单元。

70. 根据权利要求57-69中任一项所述的化合物，其中A²还包含糖连接基；并且所述糖连
接基包含一个或多个糖部分。

71. 根据权利要求70所述的化合物，其中所述一个或多个糖部分选自半乳糖基、N-乙酰
半乳糖基、甘露糖基、N-乙酰基甘露糖氨基、神经氨酸、葡糖基、N-乙酰基葡糖氨基、麦芽糖
基和果糖基。

72. 由式(IX)表示的化合物或其药学上可接受的盐：

K-Pol-L¹-D (IX)；

其中：

K表示任选取代的环炔基、杂环炔基或炔基部分；

Pol不存在或代表聚合物部分；

L¹表示包含选自酰氨基、酯、马来酰亚胺基、亚氨基、硫醚、二硫醚、亚肼基和肟基的部分的连接基；和

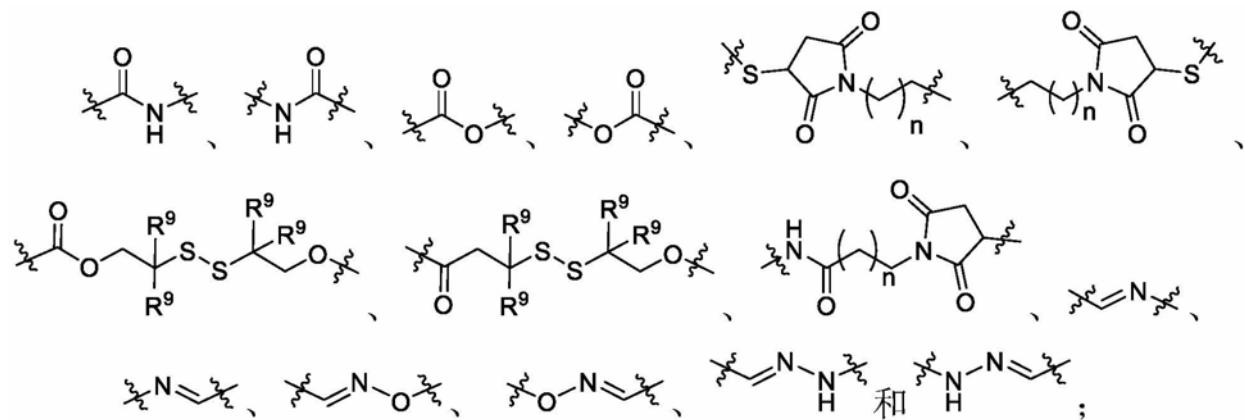
D代表药效团：

其中：

当存在时，所述聚合物部分是聚亚烷基二醇或聚亚烷基酰亚胺。

73.根据权利要求72所述的化合物，其中L¹表示包含酰氨基、碳酸酯或氨基甲酸酯部分的连接基。

74. 根据权利要求72所述的化合物，其中L¹表示包含选自下组的部分的连接基：



其中

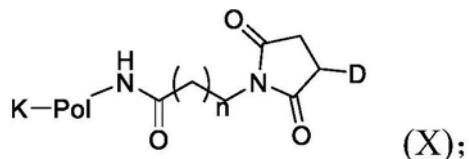
R^9 表示H或(C_1-C_6)烷基;和

n是1或2。

75. 根据权利要求72-74中任一项所述的化合物，其中所述连接基是 

76. 根据权利要求75所述的化合物，其中n是1。

77. 根据权利要求72-75中任一项所述的化合物，其由式(X)表示：



其中：

n是1或2。

78.由式(XI)表示的化合物或其药学上可接受的盐：

$$K-Pol-L^2-D \quad (XI) ;$$

其中：

K表示任选取代的环炔基、杂环炔基或炔基部分；

Pol不存在或代表聚合物部分；

L^2 不存在或代表触发器反应部分;和

D代表药效团；

其中：

当存在时，所述聚合物部分是聚亚烷基二醇或聚亚烷基酰亚胺。

79. 根据权利要求78所述的化合物，其中所述触发器是细胞过氧化物。

80. 根据权利要求78或79所述的化合物，其中所述触发器反应部分包括硼酸基团、二烷基硼酸酯基团、二芳基硼酸酯基团、二(芳烷基)硼酸酯基团、环戊硼烷基团或二氧杂环戊硼烷基团。

81. 根据权利要求80所述的化合物，其中在通过细胞过氧化物裂解所述触发器反应部分时，所述化合物分解，从而释放药效团。

82. 根据权利要求78所述的化合物，其中所述触发器是缺氧。

83. 根据权利要求78或82所述的化合物，其中所述触发器反应部分包含2-硝基咪唑部分或偶氮基团，例如偶氮苯。

84. 根据权利要求83所述的化合物，其中在缺氧条件下裂解所述触发器反应部分后，所述化合物分解，从而释放药效团。

85. 根据权利要求78所述的化合物，其中所述触发器是含巯基或硫醇盐的化合物，例如谷胱甘肽。

86. 根据权利要求78或85所述的化合物，其中所述触发器反应部分包含二硫键。

87. 根据权利要求86所述的化合物，其中在通过含巯基或硫醇盐的化合物裂解二硫键时，所述化合物分解，从而释放药效团。

88. 根据权利要求78所述的化合物，其中所述触发器是NAD(P)H脱氢酶(醌1)(NQ01)。

89. 根据权利要求78或88所述的化合物，其中所述触发器反应部分包含任选取代的醌，其与任选取代的丙酸或丙酰胺部分共价结合。

90. 根据权利要求89所述的化合物，其中在通过NAD(P)H脱氢酶(醌1)(NQ01)裂解与任选取代的丙酸或丙酰胺部分共价结合的任选取代的醌后，所述化合物分解，从而释放药效团。

91. 根据权利要求78所述的化合物，其中所述触发器是组织蛋白酶。

92. 根据权利要求91所述的化合物，其中所述触发器反应部分是氨基酸或寡肽序列，其包含由组织蛋白酶切割的酰胺键。

93. 根据权利要求92所述的化合物，其中包含酰胺键的所述氨基酸或寡肽序列包括Phe-Lys、Val-Lys、Ala-Lys、Val-Cit、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp-Cit、Phe-Arg(NO₂)、Phe-Arg(Ts)或Lys-Gly-Arg-Arg。

94. 根据权利要求92所述的化合物，其中所述氨基酸或寡肽序列是取代的赖氨酸酰胺。

95. 根据权利要求92-94中任一项所述的化合物，其中在通过组织蛋白酶裂解酰胺键后，所述化合物分解，从而释放药效团。

96. 根据权利要求91-95中任一项所述的化合物，其中所述组织蛋白酶是组织蛋白酶L。

97. 根据权利要求72-96中任一项所述的化合物，其中K包含任选取代的杂环炔基或环炔基。

98. 根据权利要求97所述的化合物，其中K包含任选取代的二苯并环辛炔部分。

99. 根据权利要求72-98中任一项所述的化合物，其中Pol表示聚乙二醇或聚丙二醇部分。

100. 根据权利要求99所述的化合物,其中Pol表示聚乙二醇或聚丙二醇的0至5000个重复单元。

101. 根据权利要求99所述的化合物,其中Pol代表聚乙二醇的0至5000个重复单元。

102. 根据权利要求101所述的化合物,其中Pol代表聚乙二醇的4至30个重复单元。

103. 根据权利要求57-102中任一项所述的化合物,其中所述药效团是解痉剂,麻醉剂,抗炎剂,例如非甾体抗炎(NSAID)剂,抗癌治疗剂,钙通道阻滞剂,抗生素剂,免疫抑制剂,抗病毒剂,抗增殖剂,抗菌剂,神经生长诱导剂或平滑肌松弛剂。

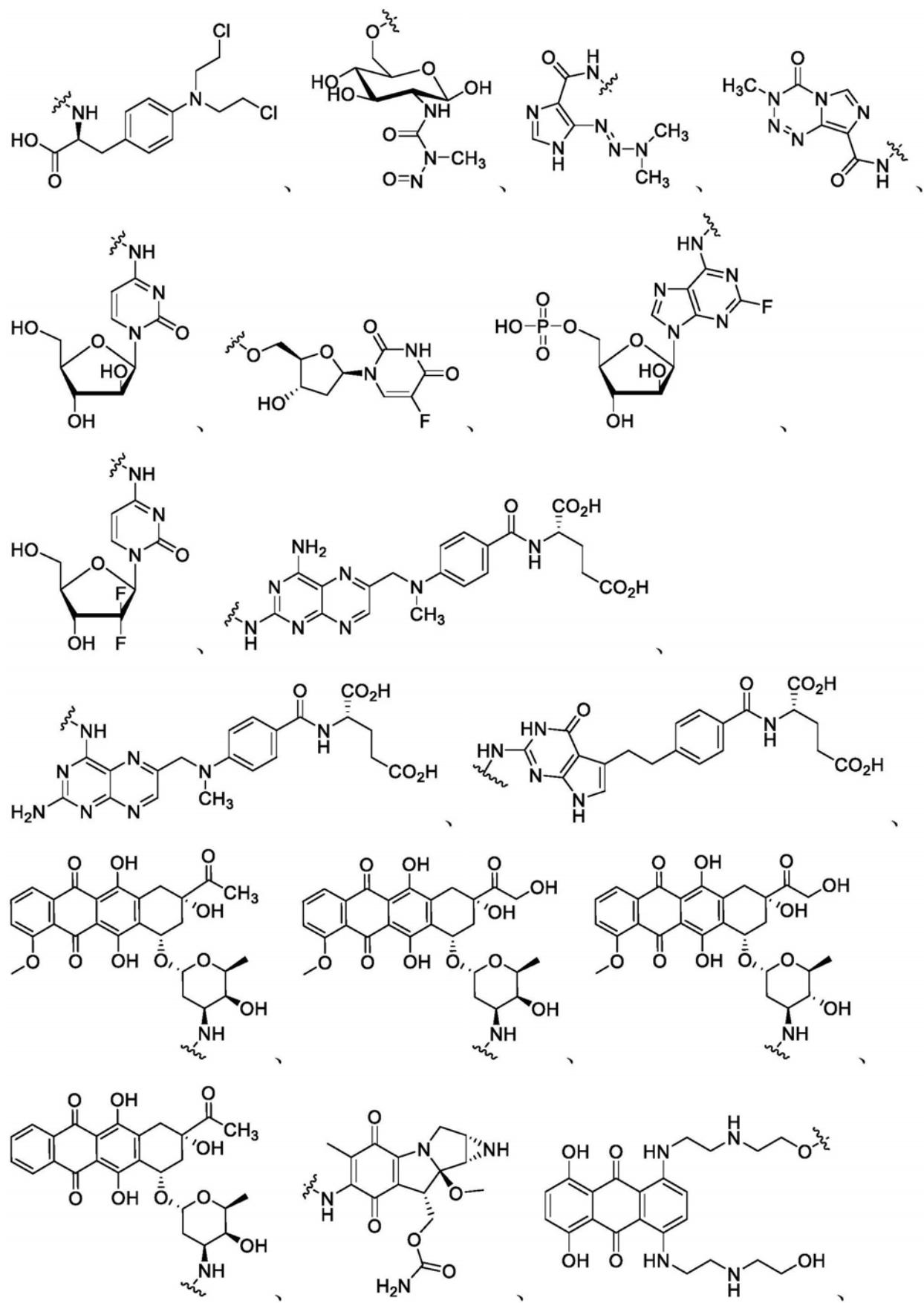
104. 根据权利要求103所述的化合物,其中所述药效团是抗癌治疗剂或细胞毒剂。

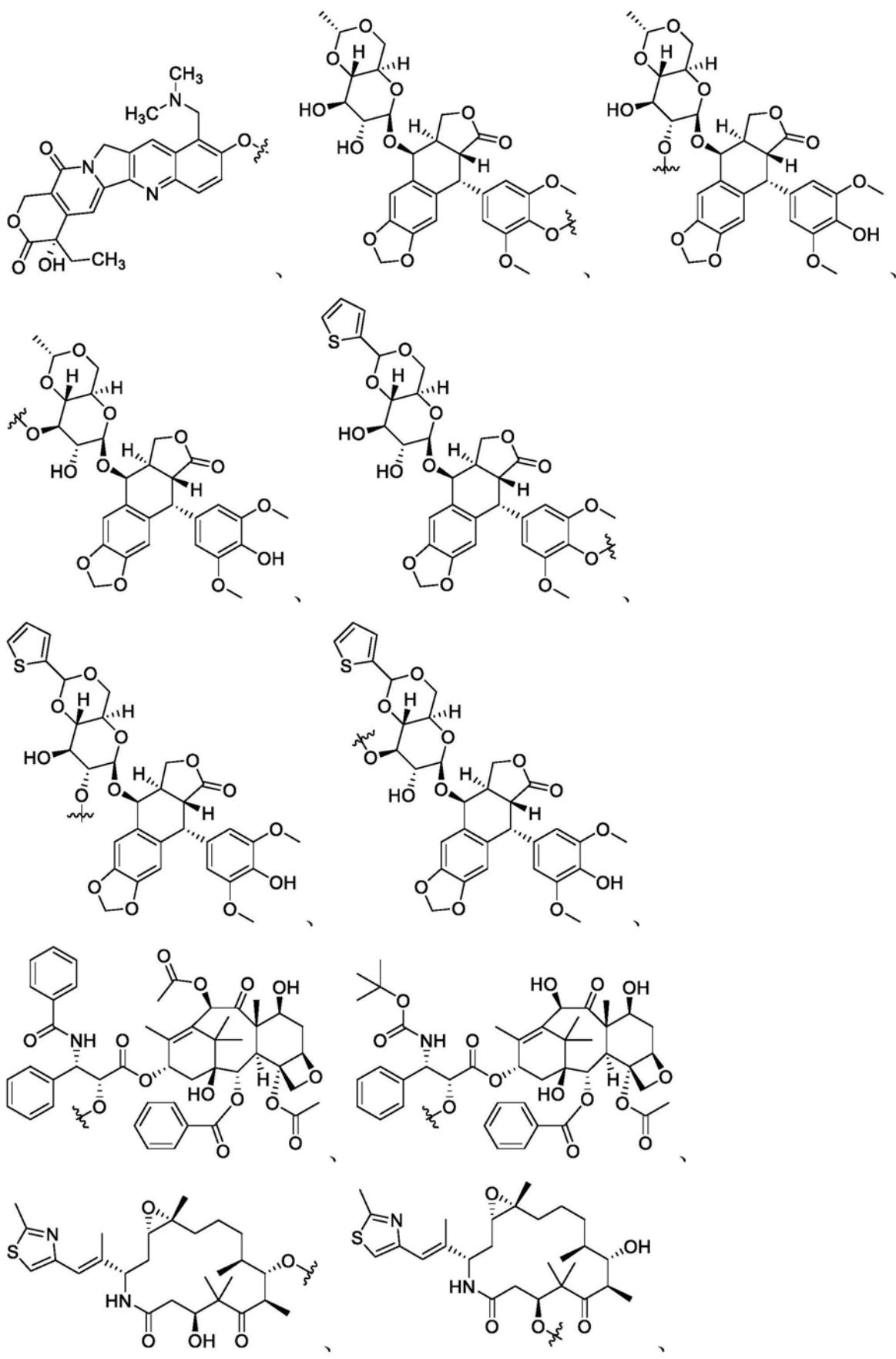
105. 根据权利要求104所述的化合物,其中所述抗癌治疗剂是放线菌素-D, altretamine,氨基乙酰亚胺,安吖啶,阿那曲唑,天冬酰胺酶,belactosin A,比卡鲁胺,博来霉素,硼替佐米,布舍瑞林,白消安,喜树碱,喜树碱,卡培他滨,卡铂,卡非佐米,卡莫司汀,苯丁酸氮芥,氯喹,顺铂,克拉屈滨,氯膦酸,秋水仙碱,环磷酰胺,环丙孕酮,阿糖胞苷,达卡巴嗪,放线菌素,柔红霉素,去甲氧嘧啶,地塞米松,二氯乙酸,二乙烯雌酚,己烯雌酚,多西紫杉醇,多柔比星,表柔比星,环氧酶,雌二醇,雌莫司汀,依托泊苷,依维莫司,依西美坦,fellutamide B,非格司亭,氟达拉滨,氟氢可的松,5-氟尿嘧啶,氟尿嘧啶,氟甲睾酮,氟他胺,吉西他滨,染料木黄酮,戈舍瑞林,羟基脲,伊达比星,异环磷酰胺,伊马替尼,干扰素,伊立替康,伊沙匹隆,来那度胺,来曲唑,甲酰四氢叶酸,亮丙瑞林,左旋咪唑,洛莫司汀,氯尼达明,marizomib,美登素,双氯乙基甲胺,甲羟孕酮,甲地孕酮,美法仑,巯基嘌呤,N2'-去乙酰-N2'-(3-巯基-1-酮代丙基)-美登素,美司钠,二甲双胍,甲氨蝶呤,甲基强的松龙,丝裂霉素,米托坦,米托蒽醌,单甲基奥瑞他汀,尼鲁米特,诺可唑,奥曲肽,奥利沙坦,奥沙利铂,紫杉醇,帕米膦酸,培美曲塞,喷司他丁,哌立福辛,巴卡霉素,泊马度胺,卟吩姆,泼尼松,丙卡巴肼,雷替曲塞,利妥昔单抗,索拉非尼,链脲佐菌素,舒尼明,苏拉明,他莫昔芬,替莫唑胺,替西罗莫司,替尼泊苷,睾酮,沙利度胺,硫鸟嘌呤,塞替派,二氯化二茂钛,拓扑替康,曲妥珠单抗,维A酸,长春碱,长春新碱,长春地辛,长春瑞滨,SN-38, MG-132, PSI, CEP-18770, MLN-2238, MLN-9708, NC-005, YU-101, LU-005, YU-102, NC-001, LU-001, NC-022, PR-957 (LMP7), CPSI (β 5), 10LMP2-sp-ek, BODIPY-NC-001, 叠氮-NC-002, ONX-0912, PS-519, 125I-NIP-L3VS, NC-005-VS, MV151, 或其衍生物。

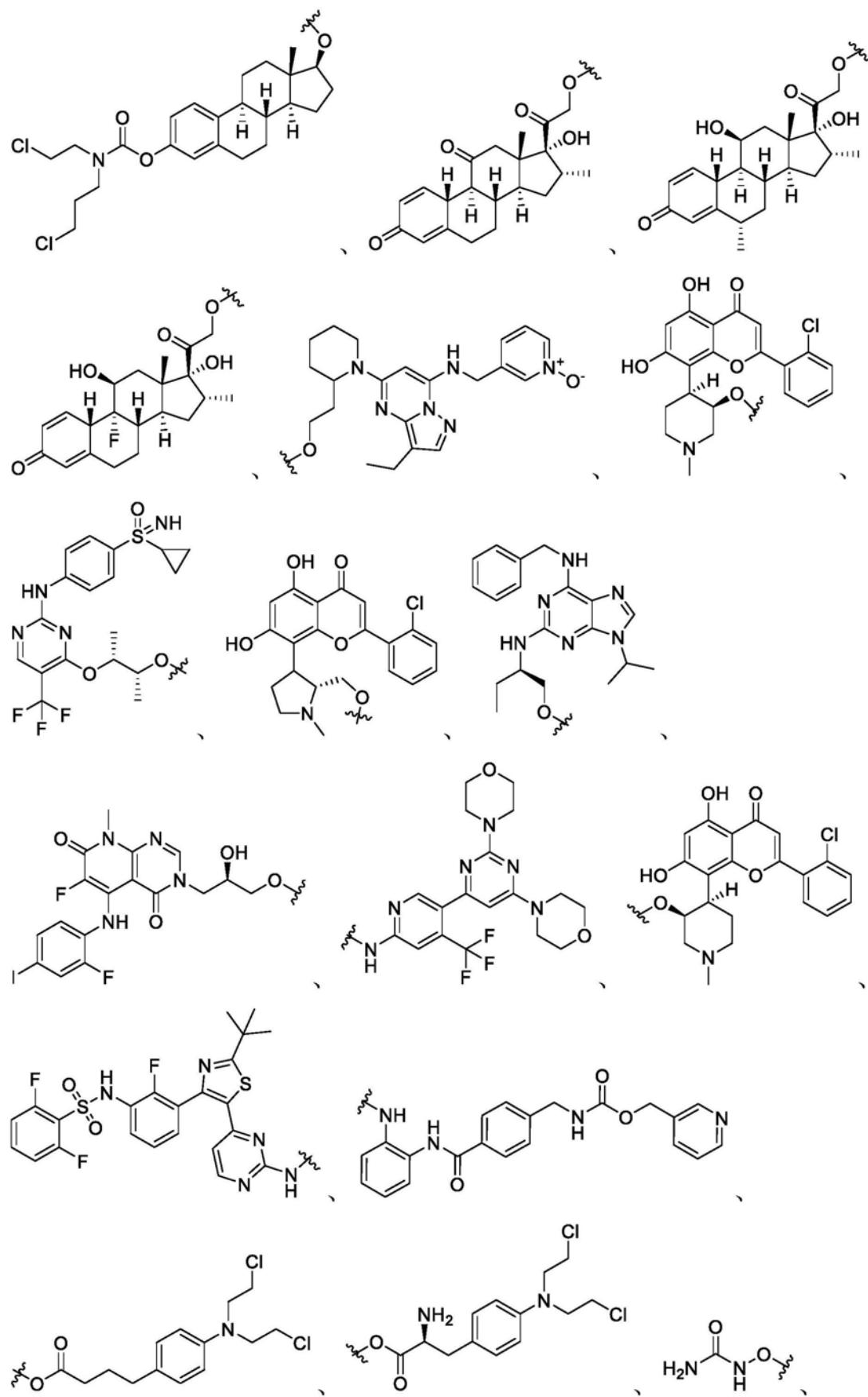
106. 根据权利要求105所述的化合物,其中所述抗癌治疗剂是多柔比星。

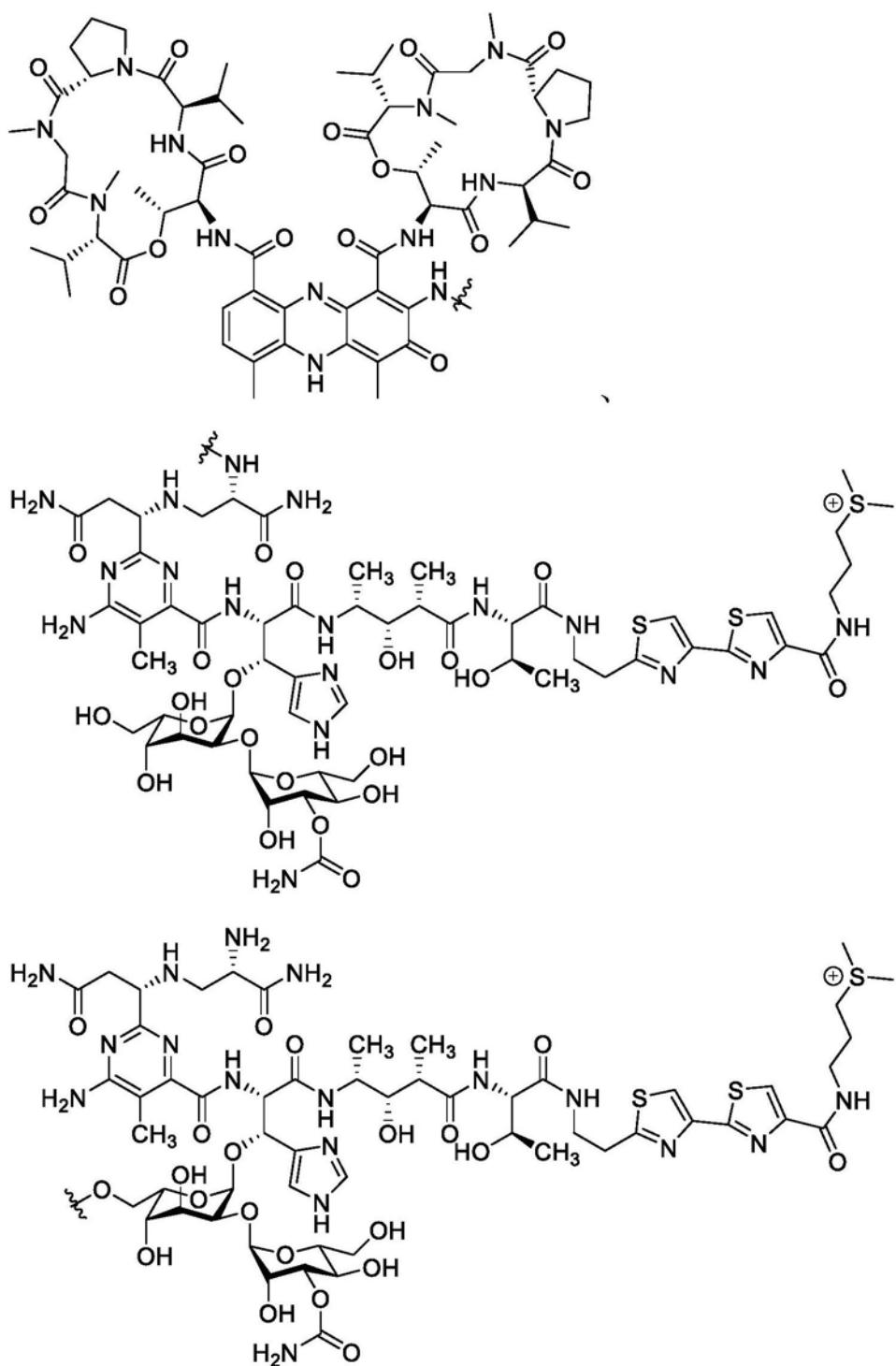
107. 根据权利要求105所述的化合物,其中所述抗癌治疗剂是N2'-去乙酰-N2'-(3-巯基-1-酮代丙基)-美登素。

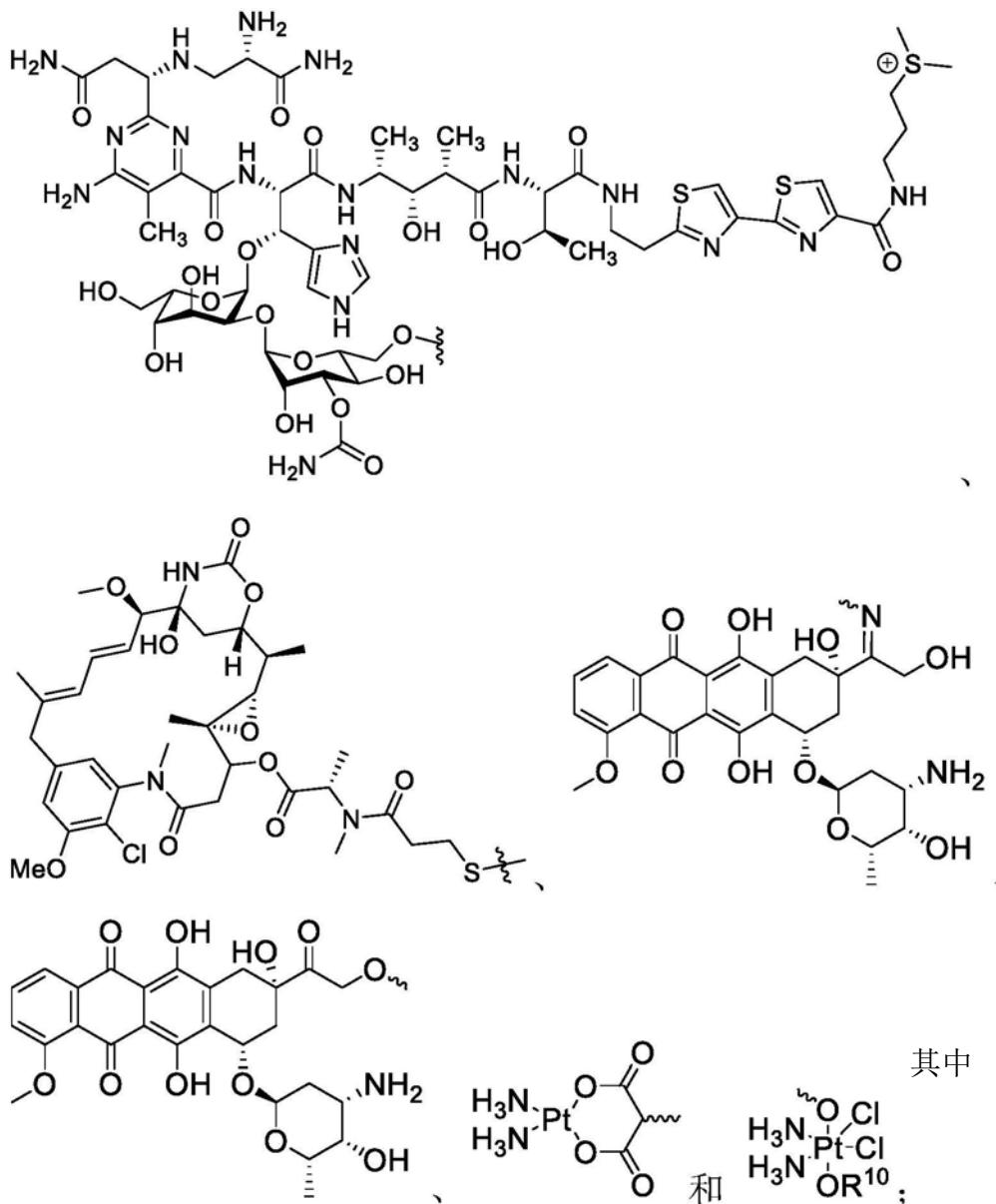
108. 根据权利要求57-105中任一项所述的化合物,其中D代表选自下组的药效团:







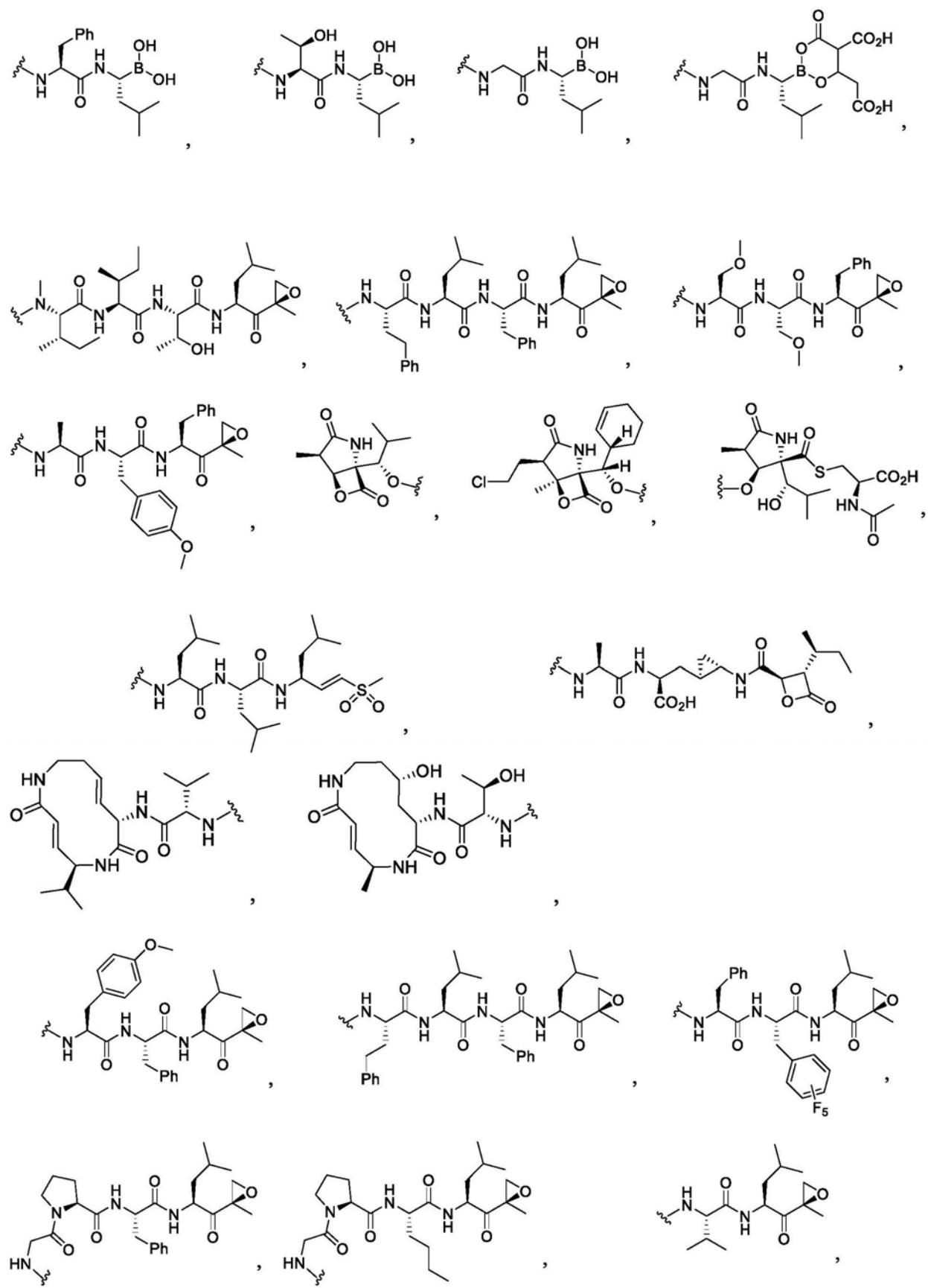


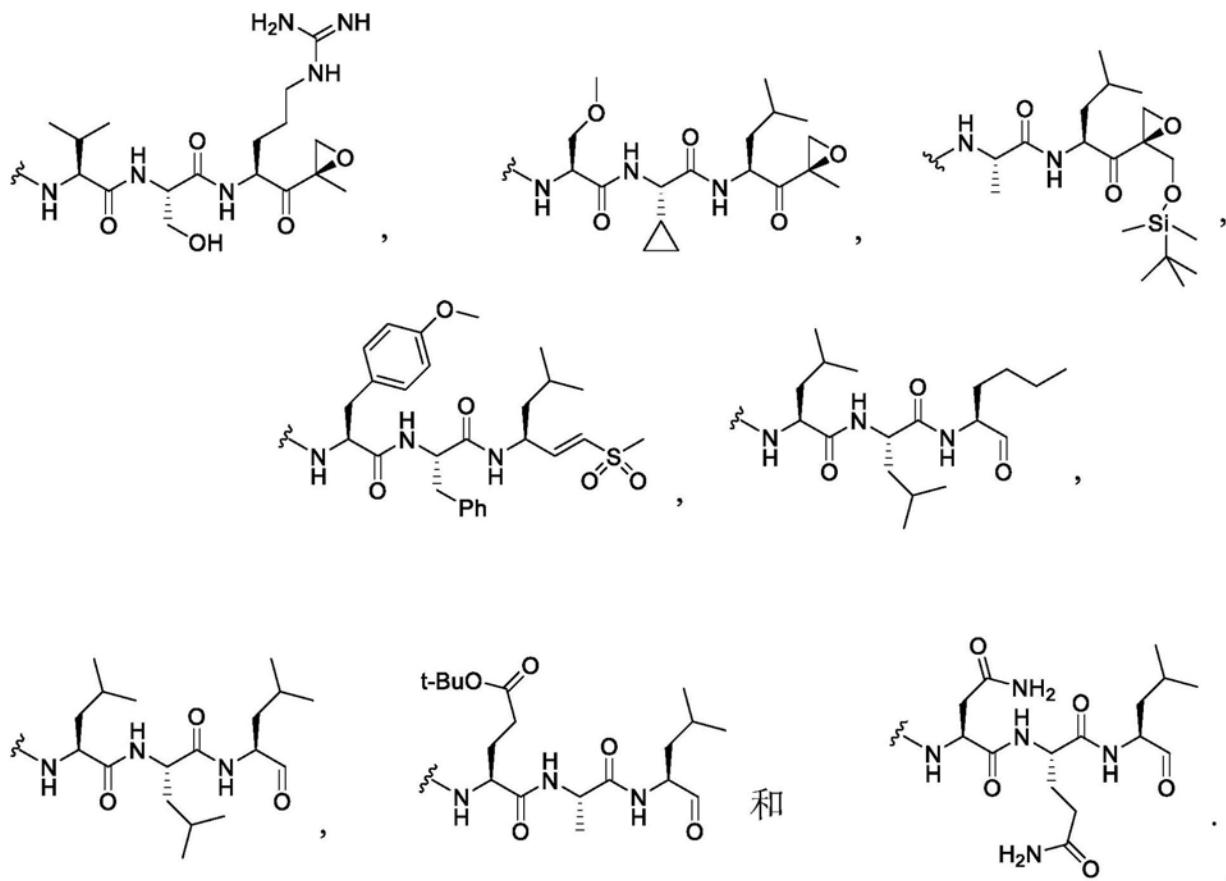


其中

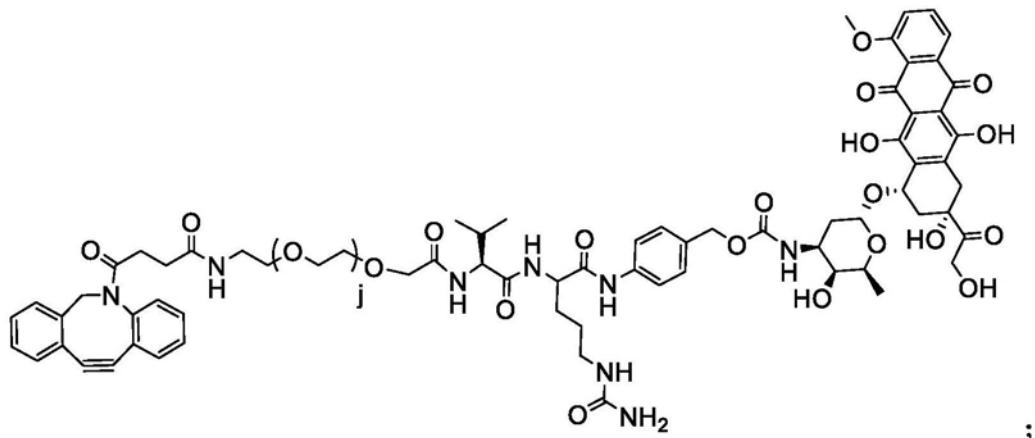
R^{10} 为 H 、 $\text{C}(\text{O})$ ((C_1-C_{18}) 烷基)、 $\text{C}(\text{O})-\text{NH}-$ ((C_1-C_{18}) 烷基) 或 (C_1-C_{18}) 烷基。

109. 根据权利要求57-105中任一项所述的化合物，其中D代表选自下组的药效团：



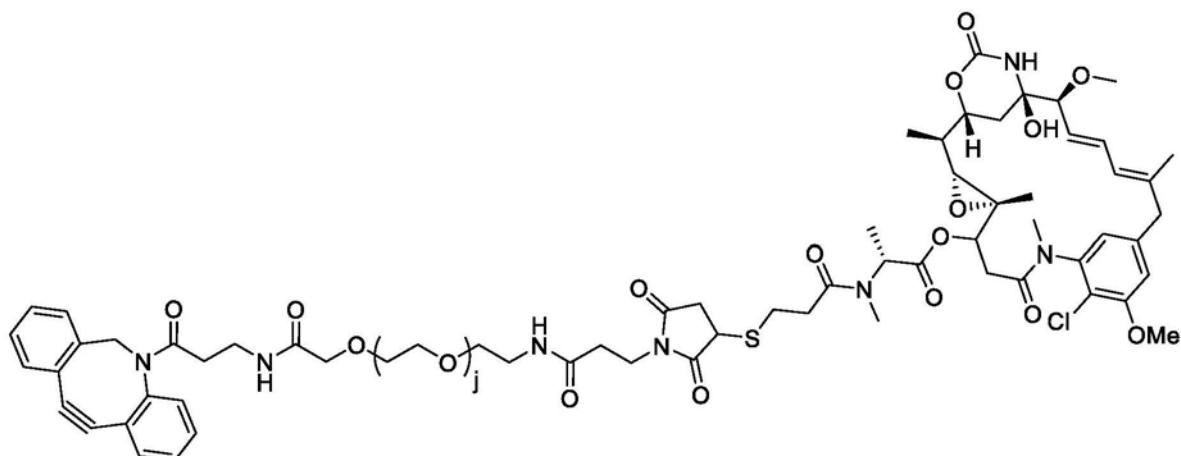


110. 由下列代表的化合物：



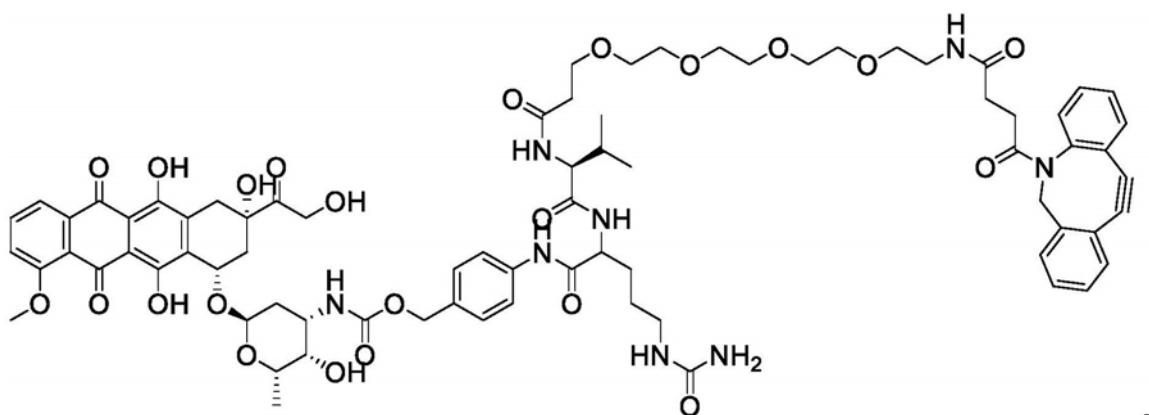
其中 j 是 0~5000 的整数。

111. 由下列代表的化合物：

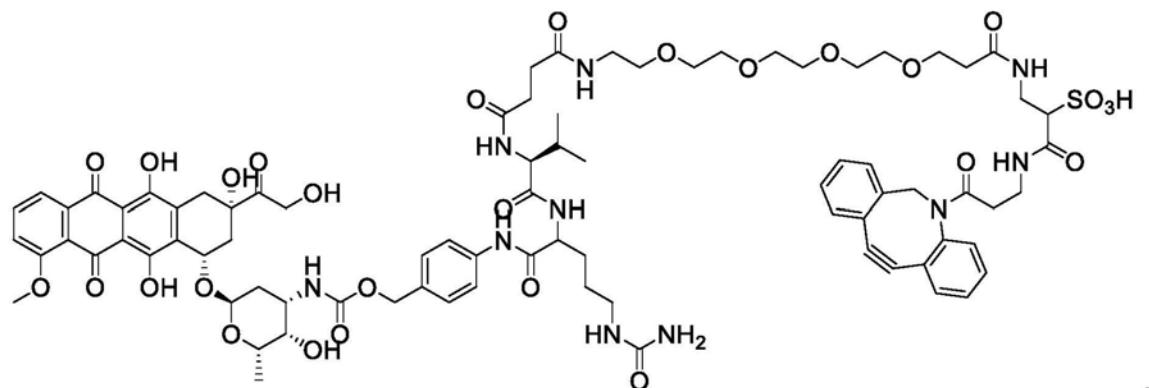


其中 j 是 0~5000 的整数。

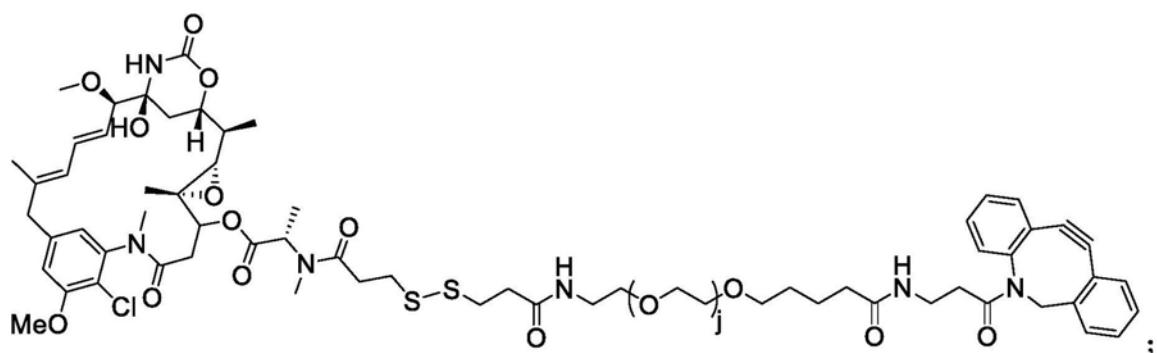
112. 由下列代表的化合物：



113. 由下列代表的化合物：

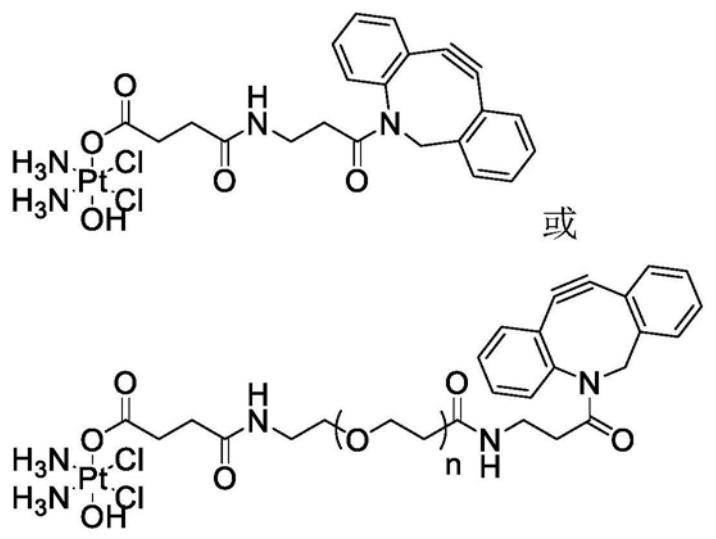


114. 由下列代表的化合物：



其中 j 是 0~5000 的整数。

115. 由下列代表的化合物：



其中 n 是 1 至 5000 的整数。

116. 选自以下的化合物：



其中

R^{10} 为H或(C₁-C₁₈)烷基；

或其药学上可接受的盐。

117. 一种药物组合物，其包含权利要求1-116中任一项所述的化合物和药学上可接受的赋形剂或载体。

118. 一种在癌细胞表面上表达叠氮糖的方法，包括：

使癌细胞与权利要求1-56中任一项所述的化合物接触，从而在癌细胞表面上表达叠氮糖。

119. 一种在哺乳动物的恶性组织中表达叠氮糖的方法，包括：

将有效量的权利要求1-56中任一项所述的化合物施用至具有恶性组织的哺乳动物。

120. 一种治疗癌症的方法，包括向有需要的受试者施用治疗有效量的权利要求1-56中任一项所述的化合物。

121. 根据权利要求117所述的方法，进一步包括给所述受试者施用治疗有效量的根据权利要求57-116中任一项所述的化合物。

122. 一种治疗癌症的方法，包括向有需要的受试者施用治疗有效量的权利要求57-116中任一项所述的化合物。

用于癌症选择性标记和靶向的触发器可激活的糖缀合物

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求2017年2月10日提交的美国临时申请62/457,597的权益，该临时申请通过引用整体并入。

[0003] 政府支持

[0004] 本发明是在由美国国家科学基金会授予的DMR奖第1309525号下和由美国国立卫生研究院授予的R21奖第1R21 CA198684号下政府支持下完成。政府拥有本发明的某些权利。

背景技术

[0005] 长期以来一直致力于癌症靶向治疗以改善癌症中药物的积累并最小化它们对身体其他部分的不期望的暴露。关键挑战在于鉴定癌组织中的独特受体和相应靶向配体的开发。已经开发了几种类型的靶向配体，包括小分子、肽和适体。然而，它们相应的受体很少是癌症特异性的，蛋白质受体和这些配体之间的结合亲和力相对较低。迄今为止开发的最有希望的靶向配体是单克隆抗体(mAb)。该领域的进展使得可以产生对细胞外/细胞表面蛋白特异的mAb，并且已经鉴定了几种癌症专有蛋白。尽管在临幊上是最成功的靶向配体，mAb有多个缺点，如生产成本高、规模大、严重的免疫原性、受体饱和以及不良的实体瘤穿透。此外，开发的每种mAb仅适用于某些类型的癌症，因为靶向蛋白质受体因癌症而异。

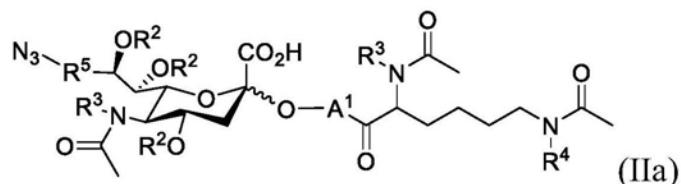
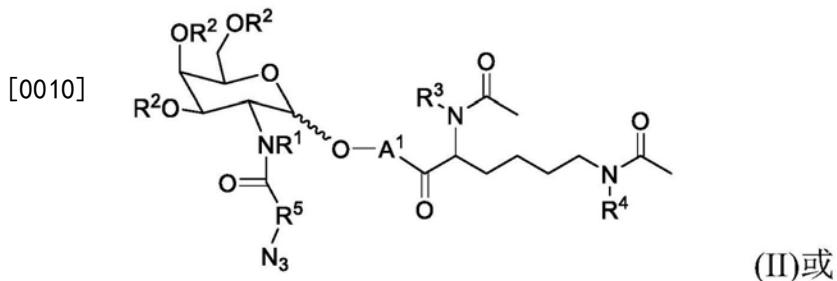
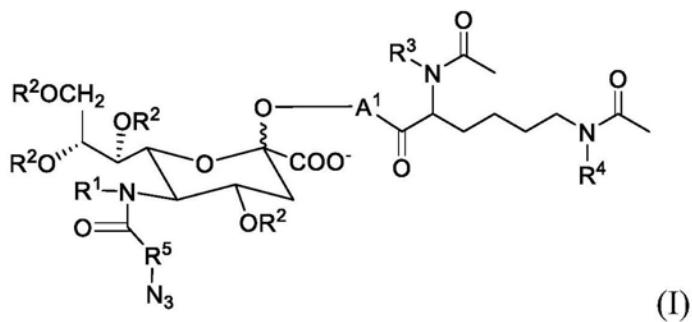
[0006] 值得注意的是，所有现有的积极靶向策略中的共同特征是细胞表面蛋白被视为靶标。该选择是有意义的，因为蛋白质提供多个疏水和带电位点以与靶向配体特异性结合。然而，与糖和脂质(细胞膜上的另外两个主要组分)相比，细胞表面蛋白的数密度低得多。表面侧链糖代表了一种有前景的靶标，并且已知在调节细胞识别和通信中发挥重要作用。最近发现非天然糖(例如，四乙酰基N-氮杂乙酰甘露糖胺(Ac₄ManAz))可以在细胞表面上代谢表达。¹⁻¹¹然而，非天然糖的这些代谢标记过程发生在正常细胞以及癌细胞中，所以在渲染对癌细胞有选择性或专有的此代谢标记过程中存在显著挑战。

[0007] 因此，需要开发可在癌细胞的细胞表面上进行选择性代谢表达的糖。还需要开发可以利用选择性代谢标记过程的用于治疗癌症的其他药剂和方法。

发明内容

[0008] 本发明的一个方面提供了可用于在癌细胞的细胞表面上表达叠氮糖(例如，叠氮基唾液酸；参见图1和2，小图b)的组合物和方法。因此，本发明的一个方面是化合物或其药学上可接受的盐，其包含任选取代的N-((叠氮基)酰基)5-氨基-3,5-二脱氧-D-甘油-D-半乳糖-2-壬基吡喃糖酸(nonulopyranosonic acid)部分或任选取代的N-((叠氮基)酰基)2-氨基-2-脱氧-D-吡喃半乳糖基部分、被触发器切割的触发器反应部分和自降解(self-immolative)连接基，其中所述自降解连接基与所述壬基吡喃糖酸部分或所述吡喃半乳糖基部分并与触发器反应部分共价键合。

[0009] 在一些实施方案中，这种化合物由式(I)、式(II)、式(IIa)或其任一个的药学上可接受的盐表示：



[0011] 其中：

[0012] R¹表示H或三((C₁-C₆)烷基)甲硅烷基；

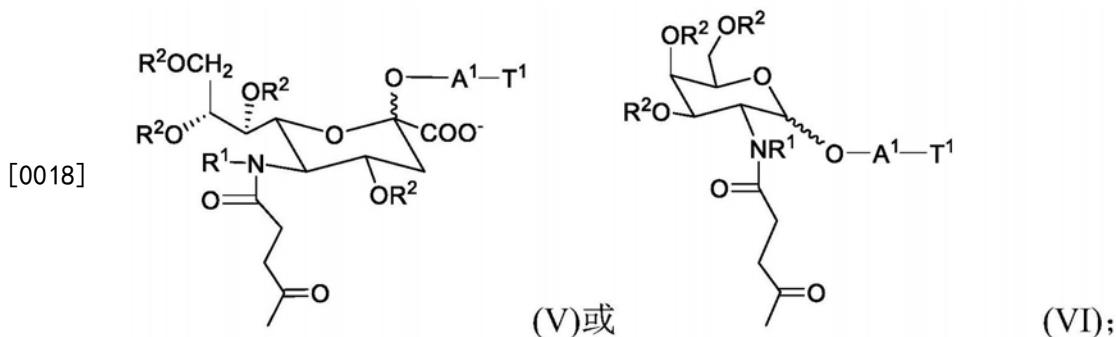
[0013] R²每次出现时独立地表示H、-C(0)((C₁-C₆)烷基)、半乳糖基、N-乙酰基半乳糖氨基、甘露糖基、N-乙酰基甘露糖氨基、葡糖基、N-乙酰基葡糖氨基、麦芽糖基或果糖基；

[0014] R³和R⁴各自独立地表示H、三((C₁-C₆)烷基)甲硅烷基或-C(0)((C₁-C₆)烷基)；

[0015] R⁵表示(C₁-C₆)亚烷基；和

[0016] A¹代表自降解连接基。

[0017] 在一些实施方案中，这种化合物由式(V)或式(VI)或其任一个的药学上可接受的盐表示：



[0019] 其中：

[0020] R¹表示H或三((C₁-C₆)烷基)甲硅烷基；

[0021] R²每次出现时独立地表示H、-C(0)((C₁-C₆)烷基)、半乳糖基、N-乙酰基半乳糖氨基、甘露糖基、N-乙酰基甘露糖氨基、葡糖基、N-乙酰基葡糖氨基、麦芽糖基或果糖基；

[0022] A¹代表自降解连接基；和

[0023] T¹代表触发器反应部分。

[0024] 在其他方面,本发明提供由式(VII)表示的化合物或其药学上可接受的盐:

[0025] K-Pol-Pep-A²-D (VII);

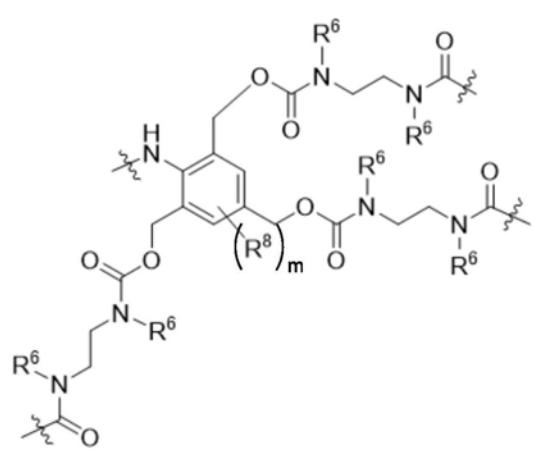
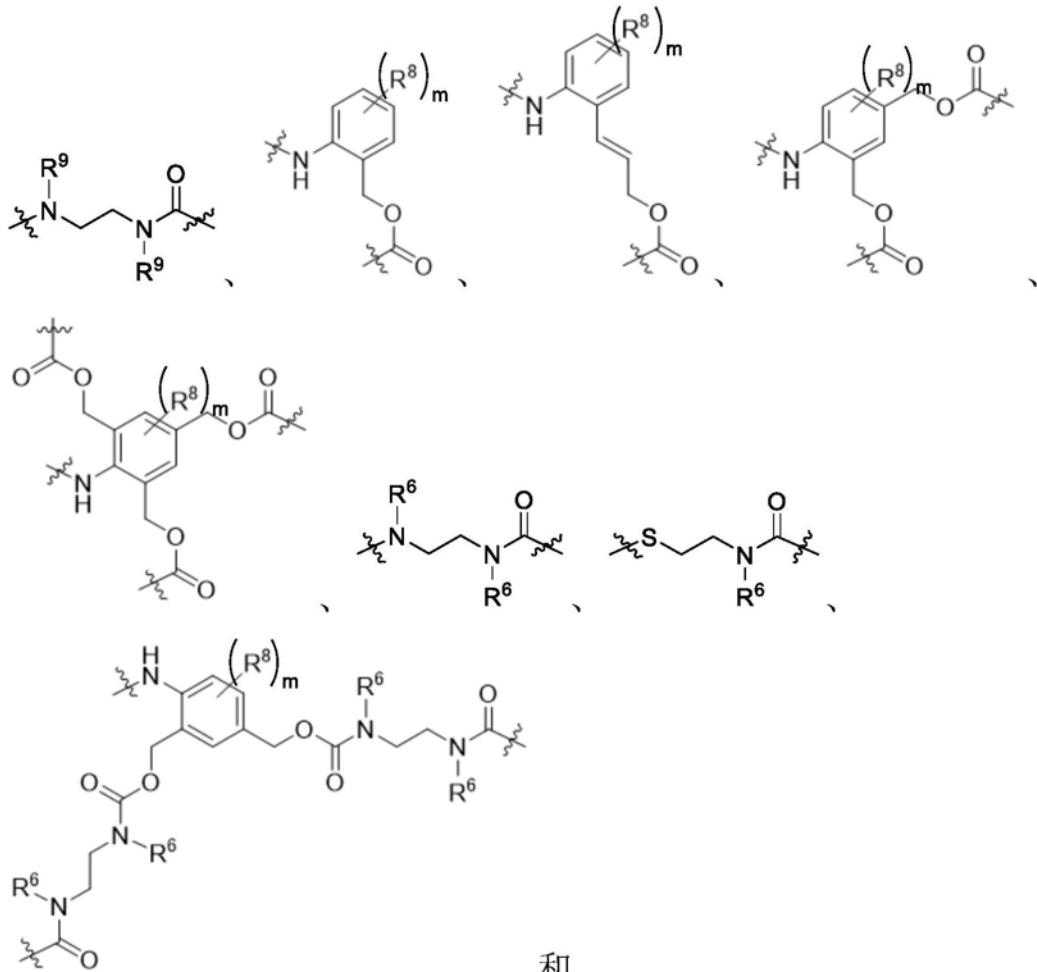
[0026] 其中:

[0027] K表示任选取代的环炔基、杂环炔基或炔基部分;

[0028] Pol代表聚合物部分;

[0029] Pep代表氨基酸或寡肽序列;

[0030] A²表示选自下组的自降解连接基



和

;

- [0032] 其中
- [0033] R⁶表示H、三((C₁-C₆)烷基)甲硅烷基或-C(0)((C₁-C₆)烷基)；
- [0034] R⁷表示H、(C₁-C₆)烷基或杂环烷基；
- [0035] R⁸表示H、卤素、-C(0)₂H、(C₁-C₆)烷氧基、二((C₁-C₆)烷基)氨基、-NO₂、-O(CH₂CH₂O)_qCH₃；
- [0036] R⁹表示H或(C₁-C₆)烷基；
- [0037] m是1、2、3、4或5；
- [0038] q是1或2；和
- [0039] D代表药效团；
- [0040] 其中：
- [0041] 聚合物部分是聚亚烷基二醇或聚亚烷基酰亚胺；和
- [0042] 氨基酸或寡肽序列包含被酶切割的酰胺键，所述酶(i)相对于对应的健康细胞在恶性细胞中过表达或(ii)在对应的健康细胞中不表达的恶性细胞中表达。
- [0043] 在其他方面，本发明提供由式(IX)表示的化合物或其药学上可接受的盐：
- [0044] K-Pol-L¹-D (IX)；
- [0045] 其中：
- [0046] K表示任选取代的环炔基、杂环炔基或炔基部分；
- [0047] Pol代表聚合物部分；
- [0048] L¹表示包含选自酰氨基、酯、马来酰亚胺基、亚氨基、硫醚和二硫醚的部分的连接基；和
- [0049] D代表药效团；
- [0050] 其中：
- [0051] 聚合物部分是聚亚烷基二醇或聚亚烷基酰亚胺。
- [0052] 在其他方面，本发明提供由式(XI)表示的化合物或其药学上可接受的盐：
- [0053] K-Pol-L²-D (XI)；
- [0054] 其中：
- [0055] K表示任选取代的环炔基、杂环炔基或炔基部分；
- [0056] Pol代表聚合物部分；
- [0057] L²不存在或代表触发器反应部分；和
- [0058] D代表药效团；
- [0059] 其中：
- [0060] 聚合物部分是聚亚烷基二醇或聚亚烷基酰亚胺。
- [0061] 在其他方面，本发明提供药物组合物，其包含本发明化合物(例如，式(I)、式(II)、式(IIa)、式(V)、式(VI)、式(VII)、式(IX)和式(XI)的化合物)和药学上可接受的赋形剂或载体。
- [0062] 在其他方面，本发明涉及在哺乳动物的恶性组织中表达叠氮糖(例如，叠氮基唾液酸)的方法，包括向具有恶性组织的哺乳动物施用有效量的化合物，所述化合物包含任选取代的N-((叠氮基)酰基)5-氨基-3,5-二脱氧-D-甘油-D-半乳糖-2-壬基吡喃糖酸部分或任选取代的N-((叠氮基)酰基)2-氨基-2-脱氧-D-吡喃半乳糖基部分、被触发器切割的触发器

反应部分和自降解连接基(例如,式(I)的化合物,式(II)的化合物,式(IIa),式(V)的化合物和式(VI)化合物)。

[0063] 在其他方面,本发明涉及治疗癌症的方法,包括向有需要的受试者施用有效量的化合物,所述化合物包含任选取代的N-((叠氮基)酰基)5-氨基-3,5-二脱氧-D-甘油-D-半乳糖-2-壬基吡喃糖酸部分或任选取代的N-((叠氮基)酰基)2-氨基-2-脱氧-D-吡喃半乳糖基部分、被触发器切割的触发器反应部分和自降解连接基(例如,式(I),式(II)的化合物,式(IIa)的化合物,式(V)的化合物和式(VI)化合物))。

[0064] 在其他方面,本发明涉及治疗癌症的方法,其包括向有需要的受试者施用有效量的式(VII)化合物、式(IX)化合物或式(XI)化合物。

附图说明

[0065] 图1是描绘休眠Ac₃Ga1NAz衍生物和休眠神经氨酸衍生物的触发器激活标记过程的示意图。P代表保护基团。

[0066] 图2由小图a-c组成。小图(a)显示Ac₃Ga1NAz(AAG)衍生物的合成路线,其包括Ac₃Ga1NAzEt(AAG-Et)和Ac₃Ga1NAzNb(AAG-Nb)。小图(b)是描绘AAG-Nb的UV辐射激活代谢标记和随后通过无铜点击化学法通过DBCO-Cy5检测叠氮基的方案。小图(c)包含描绘不同组的HepG2(肝癌)、Jurkat(淋巴瘤)和MDA-MB-231(乳腺癌)细胞的流式细胞术分析的图:PBS、AAG(50μM)、AAG-Et(50μM)、AAG-Nb(50μM)和AAG-Nb(50μM)+UV。

[0067] 图3由小图a和b组成。小图(a)显示了细胞标记实验中使用的非天然糖的结构。小组(b)包含不同组的HepG2(肝癌)、Jurkat(淋巴瘤)和MDA-MB-231(乳腺癌)细胞的流式细胞术分析图:PBS、AG(50μM)、AAG(50μM)和AAM(50μM)。

[0068] 图4由三个小图组成。小图(a)包含描绘不同组的HepG2(肝癌)细胞的流式细胞术分析的图:PBS、AAG(50μM)、AG(25μM)、AG(50μM)、AG(100μM)和AG(200μM)。小图(b)显示了通过SDS-PAGE分析的含有叠氮化物的细胞膜糖蛋白。小图(c)显示了具有AG标记的HepG2肝癌细胞的共聚焦激光扫描显微镜图像。细胞核用Hoechst(蓝色)染色,细胞膜用细胞罩橙色(橙色)染色。AG用DBCO-Cy5(红色)染色。

[0069] 图5显示了在HepG2肝癌细胞中通过MTT测定分析的AG(50μM)、AG(100μM)、AAG(50μM)和AAM(50μM)的细胞毒性。

[0070] 图6由三个小图组成。小图(a)描绘了显示使用常规前药系统中使用的两种常规自降解连接基(CL1和CL2)的方案。小图(b)显示了第一个提出的来自CL2的连接基PL1。小图(c)显示了第二个提出的从PL1修饰的连接基(PL2)。另外的苯环稳定了裂解的产物,从而促进降解过程。

[0071] 图7显示了DBCO-TEG-VC-DOX和碘基-DBCO-TEG-VC-DOX的化学结构。

[0072] 图8由两小图组成,显示了DBCO-TEG-VC-DOX(小图a)和碘基-DBCO-TEG-VC-DOX(小图b)的HPLC图谱;($\lambda_{abs}=478\text{nm}$)。

[0073] 图9由两小图组成,显示了在各种剂量静脉注射DBCO-TEX-VC-Dox(小图a)和碘基-DBCO-TEX-VC-Dox(小图b)之后CD-1小鼠的体重增长曲线。注射时间用箭头标记。

[0074] 图10显示了N2'-去乙酰-N2'-(3-巯基-1-酮代丙基)-美登素(mertansine)(DM1)、美登素和曲妥珠单抗emtansine(T-DM1)的化学结构。

[0075] 图11显示了DM1-MAL-PEG-DBCO和DM1-SS-PEG-DBCO的化学结构。

[0076] 图12由两个小图组成,显示:(小图a) DM1-MAL-PEG-DBCO的HPLC迹线。 $(\lambda_{abs}=285nm)$;和(小图b) DM1-MAL-PEG-DBCO的MALDI-TOF。基质:反式-2-[3-(4-叔丁基苯基)-2-甲基-2-亚丙烯基]丙二腈(DCTB)。主峰是[P+Na]⁺。

[0077] 图13由两个小图组成,显示:(小图a) DM1-SS-PEG-DBCO的HPLC迹线, $(\lambda_{abs}=285nm)$;和(小图b) DM1-SS-PEG-DBCO的MALDI-TOF。基质:DCTB。主峰是[P+Na]⁺。

[0078] 图14是显示DM1-MAL-PEG_{5k}-DBCO在MDA-MB-231乳腺癌细胞中的细胞毒性的图。

[0079] 图15由四个小图组成,显示了以不同剂量静脉内注射DM1-MAL-PEG-DBCO后裸雌性小鼠的体重增长曲线(小图a)和食物摄入曲线(小图b);和在以不同剂量静脉内注射DM1-SS-PEG-DBCO后CD-1雌性小鼠的体重增长曲线(小图c)和食物摄入曲线(小图d)。注射时间用箭头标记。

[0080] 图16由四个小图组成,显示DBCO-Pt(小图a)和DBCO-TEG-Pt(小图b)的化学结构。DBCO-Pt(小图c)和DBCO-TEG-Pt(小图d)的HPLC迹线; $(\lambda_{abs}=291nm)$ 。

[0081] 图17显示细胞毒性的图并报告了DBCO-TEG-Pt在A549非小细胞肺癌中的IC₅₀值。CDDP:顺铂。

[0082] 图18由四小图组成,显示了以不同剂量静脉内注射DBCO-TEG-Pt后CD-1雌性小鼠的体重增长曲线(小图a)和食物摄取曲线(小图b);MTD:40mg/kg(相当于12.8mg/kg顺铂);和在以不同剂量静脉内注射顺铂后CD-1雌性小鼠的体重增长曲线(小图c)和食物摄入曲线(小图d);MTD:5mg/kg。

[0083] 图19由四小图组成,显示:(小图a) PTX-TEG-DBCO的化学结构;(小图B) PTX-TEG-DBCO的HPLC迹线, $(\lambda_{abs}=291nm)$;和在以不同剂量静脉内注射DBCO-TEG-PTX后CD-1雌性小鼠的体重增长(小图c)和食物摄入(小图d)。

具体实施方式

[0084] 长期以来一直致力于癌症靶向治疗以改善癌症中药物的积累并最小化它们对身体其他部分的不期望的暴露。然而,现有的癌症靶向技术对于治疗应用并不令人满意。尽管大多数现有的癌症靶向策略利用癌细胞表面蛋白作为靶标,但是本文将癌细胞表面糖作为治疗靶标进行了探索,部分原因在于其较高的细胞表面密度。非天然糖的代谢糖工程化过程提供了将化学基团引入细胞表面的简便方法,这使得能够深入研究其他难以捉摸的细胞生物学问题,例如细胞内化、细胞融合和细胞靶向。本文公开了促进癌细胞表面糖的受控标记的化合物和方法,以及利用这种癌症靶向能力的其他治疗组合物和方法。

[0085] 本发明的原理表明,从结构的角度来看,可以控制叠氮基糖的代谢标记能力。休眠Ac₃Ga1NAz衍生物和休眠神经氨酸衍生物的代谢标记过程如图1所示。Ac₄Ga1NAz在进入细胞后被非特异性酯酶水解,然后磷酸化和开环异构化。磷酸烯醇丙酮酸(PEP)然后攻击新形成的羰基,形成唾液酸,然后(1)剥夺磷酸基团,(2)与蛋白质缀合,最后(3)以糖蛋白的形式在细胞表面表达。可以预期,开环异构化步骤对于成功的代谢标记是必不可少的,并且C1位点(1-OH)的羟基暴露对于成功的开环异构化是必需的。发明人惊奇地发现,通过形成能够在细胞酯酶中存活的糖苷键来修饰Ac₄Ga1NAz的C1位点阻止了开环异构化步骤,从而阻断了整个代谢标记过程。该策略也可以应用于本文公开的神经氨酸衍生物。通过设计可以在某

些触发器存在下暴露1-OH的触发器反应性糖昔(醚)键,可以控制代谢标记过程。通过使用对特定癌症相关触发器反应的神经氨酸衍生物和半乳糖胺衍生物,可以潜在地实现癌症选择性化学标记。示例性癌症相关触发器可包括氧化还原失调、升高的氧化剂水平和过表达的酶。

[0086] 本发明化合物

[0087] 糖衍生化合物

[0088] 本发明的一个方面涉及化合物或其药学上可接受的盐,其包含:

[0089] 任选取代的N-((叠氮基)酰基)5-氨基-3,5-二脱氧-D-甘油基-D-半乳糖-2-壬基吡喃糖酸部分或任选取代的N-((叠氮基)酰基)2-氨基-2-脱氧-D-吡喃半乳糖基;

[0090] 由触发器切割的触发器反应部分;和

[0091] 自降解连接基;

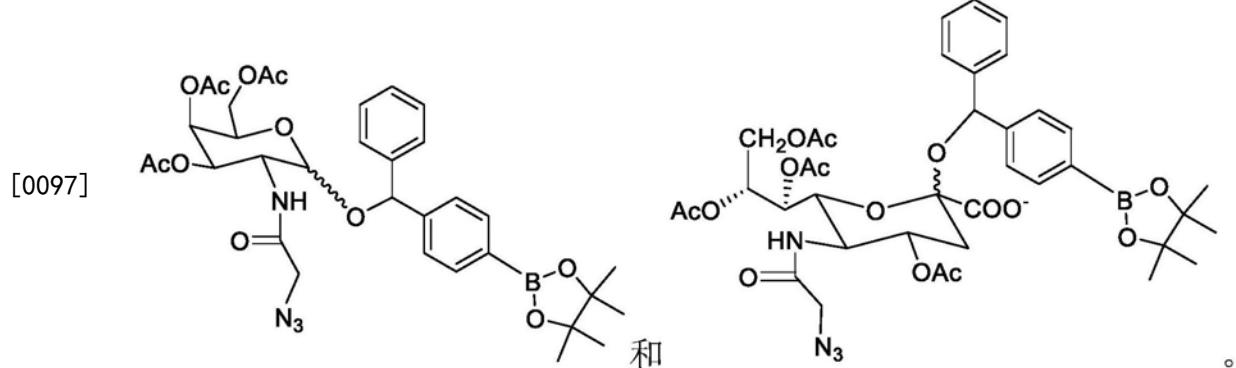
[0092] 其中

[0093] 所述自降解连接基与所述壬基吡喃糖酸部分或所述吡喃半乳糖基部分并与触发器反应部分共价键合。

[0094] 在某些实施方案中,相对于健康组织,在癌组织中触发器被增强、过表达或以其他方式增强。

[0095] 在某些实施方案中,触发器是细胞过氧化物。

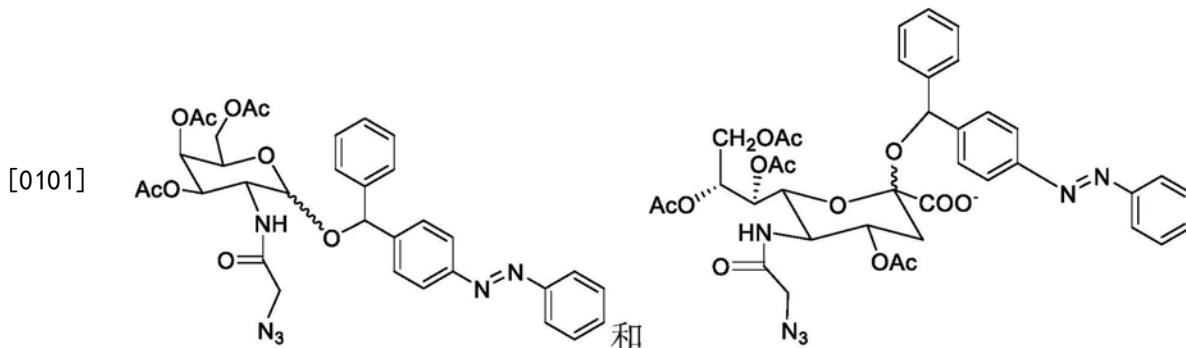
[0096] 在某些这样的实施方案中,触发器反应部分包括硼酸基团、二烷基硼酸酯基团、二芳基硼酸酯基团、二(芳烷基)硼酸酯基团、环戊硼烷(borolane)基团或二氧杂环戊硼烷基团。示例性实施方案如下所示:



[0098] 在某些这样的实施方案中,在通过细胞过氧化物裂解触发器反应部分后,自降解连接基分解,从而释放任选取代的N-((叠氮基)酰基)5-氨基-3,5-二脱氧-D-甘油基-D-半乳糖-2-壬基吡喃糖酸或任选取代的N-((叠氮基)酰基)2-氨基-2-脱氧-D-吡喃半乳糖昔。

[0099] 在替代实施方案中,触发器是缺氧。

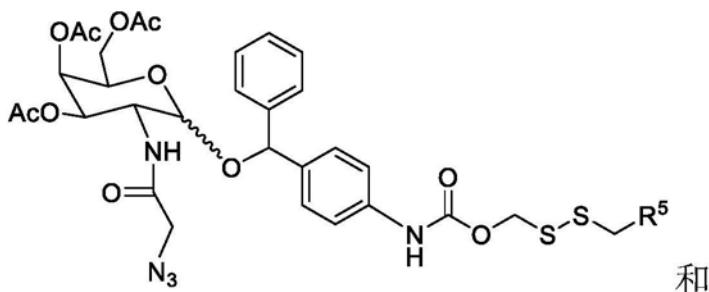
[0100] 在某些此类实施方案中,触发器反应部分包含2-硝基咪唑部分或偶氮基团,例如偶氮苯。示例性实施方案如下所示:



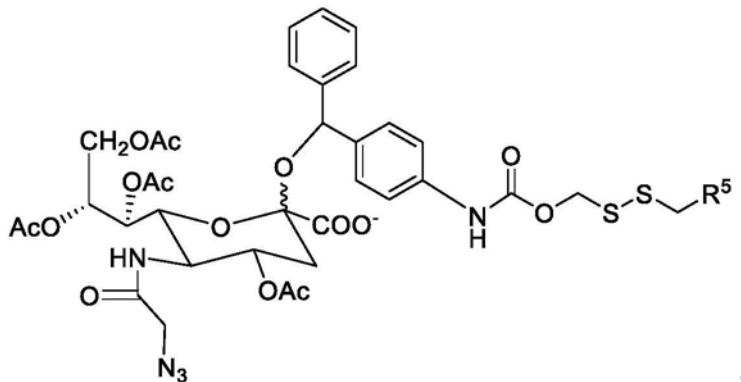
[0102] 在某些这样的实施方案中,在在缺氧条件下裂解触发器反应部分后,自降解连接基分解,从而释放任选取代的N-((叠氮基)酰基)5-氨基-3,5-二脱氧-D-甘油基-D-半乳糖-2-壬基吡喃糖酸或任选取代的N-((叠氮基)酰基)2-氨基-2-脱氧-D-吡喃半乳糖苷。

[0103] 在替代实施方案中,触发器是含巯基或硫醇盐的化合物,例如谷胱甘肽。

[0104] 在某些这样的实施方案中,触发器反应部分包含二硫键。示例性实施方案如下所示:



[0105]

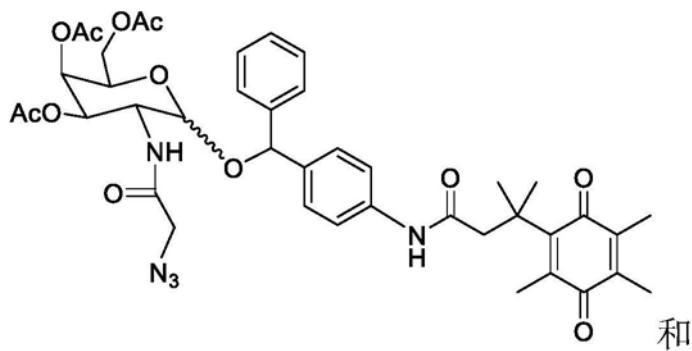


[0106] 其中R⁵代表(C₁-C₆)烷基。

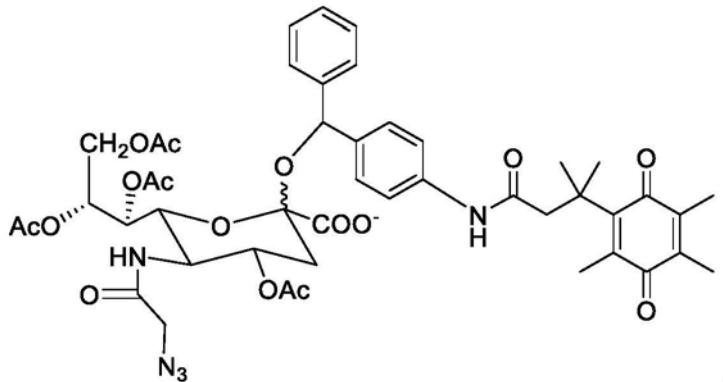
[0107] 在某些这样的实施方案中,在通过含巯基或硫醇盐的化合物裂解二硫键后,自降解连接基分解,从而释放任选取代的N-((叠氮基)酰基)5-氨基-3,5-二脱氧-D-甘油基-D-半乳糖-2-壬基吡喃糖酸或任选取代的N-((叠氮基)酰基)2-氨基-2-脱氧-D-吡喃半乳糖苷。

[0108] 在替代实施方案中,触发器是NAD(P)H脱氢酶(醌1)(NQ01)。

[0109] 在某些这样的实施方案中,触发器反应部分包含任选取代的醌,其与任选取代的丙酸或丙酰胺部分共价结合。示例性实施方案如下所示:



[0110]



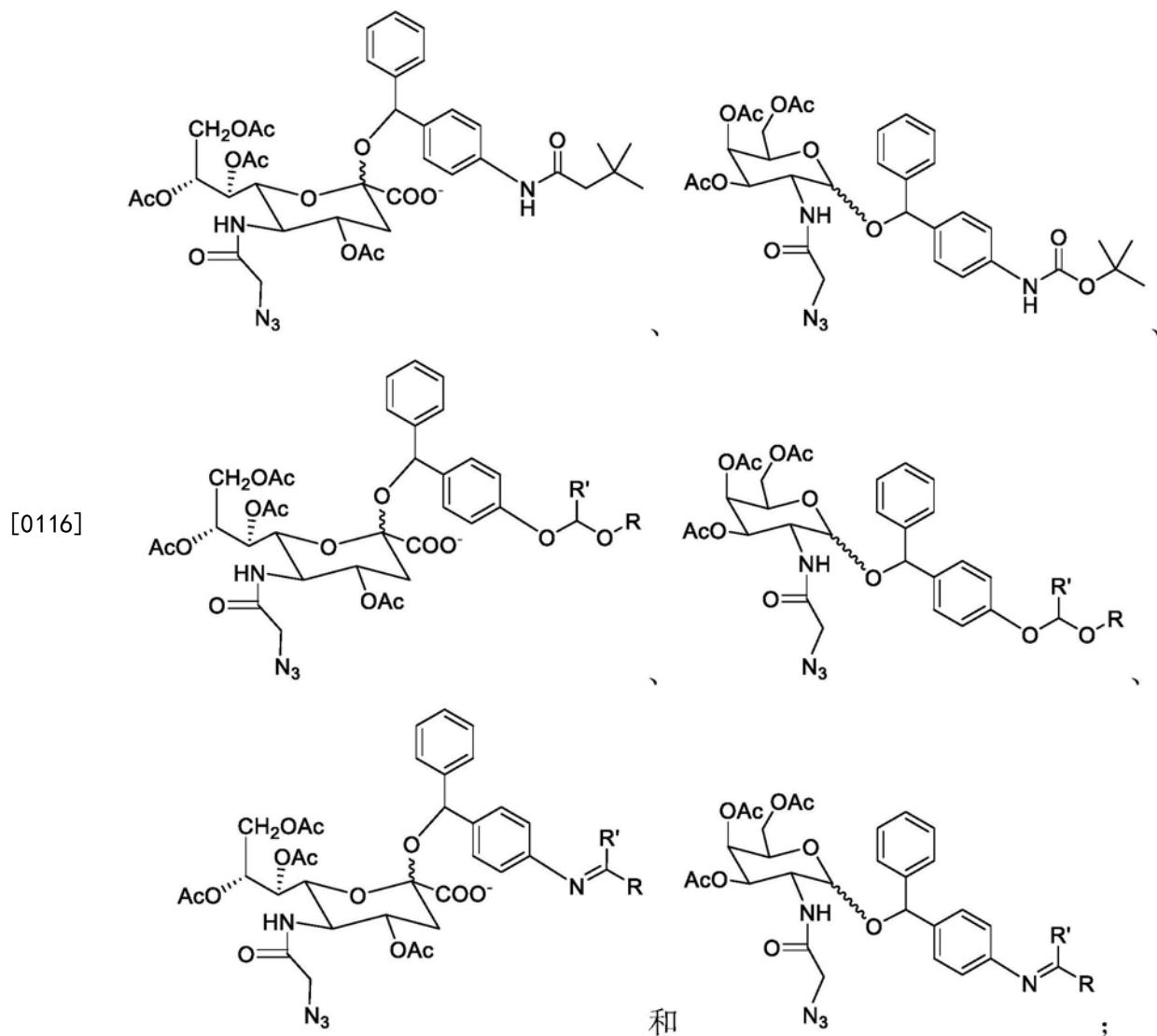
[0111] 在某些这样的实施方案中,在通过NAD(P)H脱氢酶(醌1)(NQ01)裂解与任选取代的丙酸或丙酰胺部分共价结合的任选取代的醌后,自降解连接基分解,从而释放任选取代的N-((叠氮基)酰基)5-氨基-3,5-二脱氧-D-甘油基-D-半乳糖-2-壬基吡喃糖酸或任选取代的N-((叠氮基)酰基)2-氨基-2-脱氧-D-吡喃半乳糖昔。

[0112] 在某些实施方案中,触发器是组织蛋白酶。

[0113] 在某些实施方案中,触发器是基质金属蛋白酶。

[0114] 在某些实施方案中,触发器是氨基酸或寡肽序列,其包含被基质金属蛋白酶切割的酰胺键。在某些这样的实施方案中,触发器反应部分是氨基酸或寡肽序列,其包含由组织蛋白酶切割的酰胺键。

[0115] 在进一步的实施方案中,触发器反应基团包含酸敏感部分,例如亚胺、缩醛、缩酮或氨基甲酸酯。示例性触发器反应基团在以下所示的实施方案中描绘:



[0117] 其中：

[0118] R表示H或(C₁-C₆)烷基；和

[0119] R'代表H、(C₁-C₆)烷基或芳基。

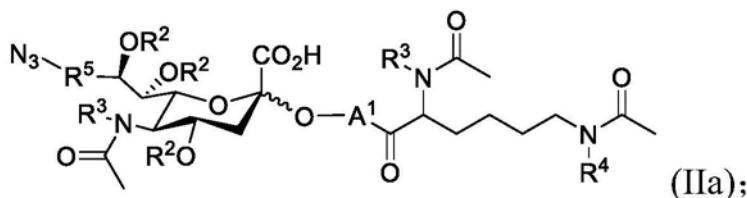
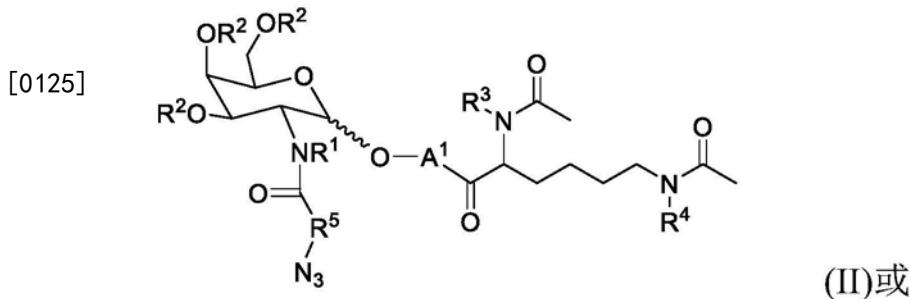
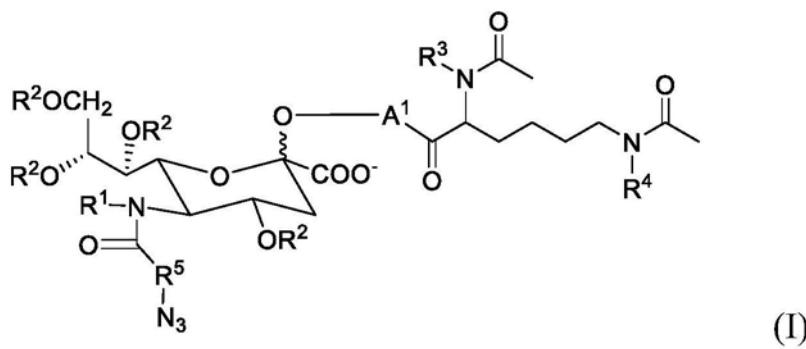
[0120] 在某些这样的实施方案中,包含酰胺键的氨基酸或寡肽序列包括Phe-Lys、Val-Lys、Ala-Lys、Val-Cit、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp-Cit、Phe-Arg (NO₂)、Phe-Arg (Ts)或Lys-Gly-Arg-Arg。Cit代表瓜氨酸,Ts代表甲苯磺酸酯保护基团。

[0121] 在某些实施方案中,氨基酸或寡肽序列是取代的赖氨酸酰胺。

[0122] 在某些这样的实施方案中,在通过组织蛋白酶切割酰胺键时,自降解连接基分解,从而释放任选取代的N-((叠氮基)酰基)5-氨基-3,5-二脱氧-D-甘油基-D-半乳糖-2-壬基吡喃糖酸或任选取代的N-((叠氮基)酰基)2-氨基-2-脱氧-D-吡喃半乳糖苷。

[0123] 在某些实施方案中,组织蛋白酶是组织蛋白酶L。

[0124] 在某些实施方案中,化合物由式(I)、式(II)或式(IIa)或其任一个的药学上可接受的盐表示:



[0126] 其中：

[0127] R¹表示H或三((C₁-C₆)烷基)甲硅烷基；

[0128] R²每次出现时独立地表示H、-C(0)((C₁-C₆)烷基)、半乳糖基、N-乙酰基半乳糖氨基、甘露糖基、N-乙酰基甘露糖氨基、葡糖基、N-乙酰基葡糖氨基、麦芽糖基或果糖基；

[0129] R³和R⁴各自独立地表示H、三((C₁-C₆)烷基)甲硅烷基或-C(0)((C₁-C₆)烷基)；

[0130] R⁵表示(C₁-C₆)亚烷基；和

[0131] A¹代表自降解连接基。

[0132] 式(I)、(II)和(IIa)中的变量可以如下所述进一步选择。

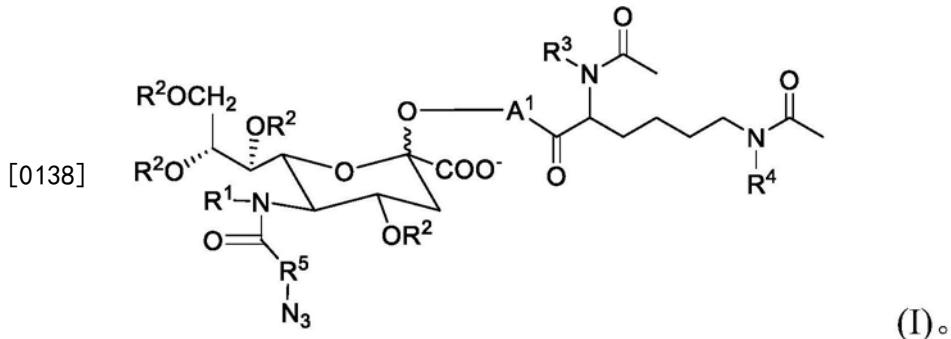
[0133] 在本文公开的化合物的某些实施方案中，R¹代表H。

[0134] 在本文公开的化合物的某些实施方案中，R²独立地每次出现代表H或-C(0)CH₃。

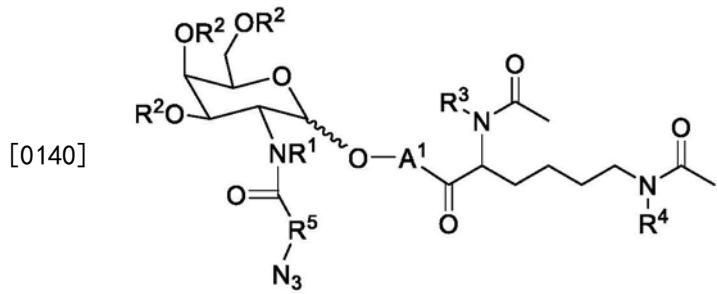
[0135] 在本文公开的化合物的某些实施方案中，所有出现的R²是相同的。

[0136] 在某些实施方案中，R³和R⁴是H。

[0137] 在某些实施方案中，化合物由式(I)或其药学上可接受的盐表示：

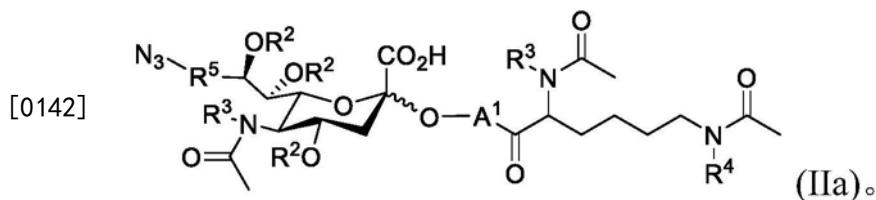


[0139] 在某些实施方案中,化合物由式 (II) 或其药学上可接受的盐表示:



(II)。

[0141] 在某些实施方案中,化合物由式 (IIa) 或其药学上可接受的盐表示:



(IIa)。

[0143] 本文公开的化合物包括自降解连接基,其将壬基吡喃糖酸部分或吡喃半乳糖基部分与触发器反应部分隔开并共价连接在一起。

[0144] 在一些实施方案中,自降解连接基是双功能化学部分,能够将两个间隔的化学部分(即,壬基吡喃糖酸部分或吡喃半乳糖基部分和触发器反应部分)共价连接在一起成为正常稳定的三部分分子。在一些实施方案中,自降解连接基能够通过触发诱导的切割(例如,酶促切割)从三部分分子释放间隔的化学部分之一;并且这种切割可以从分子的其余部分自发切割以释放另一个间隔的化学部分(例如,壬基吡喃糖酸部分或吡喃半乳糖基部分)。

[0145] 在本文公开的化合物的某些实施方案中:

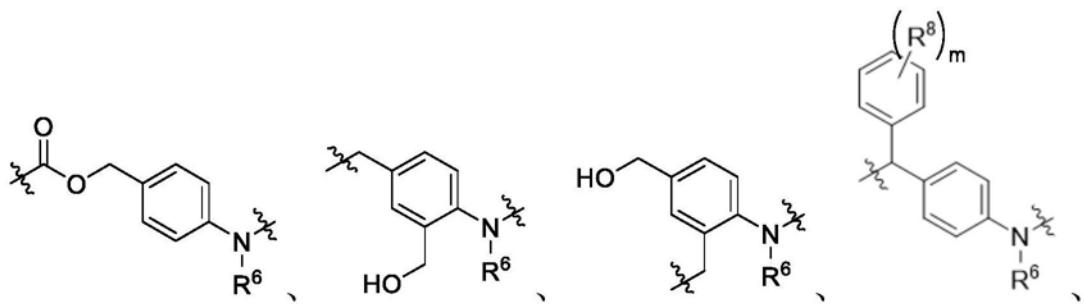
[0146] A¹表示基团-X¹-Y¹-;

[0147] X¹代表键或-C(O)-;和

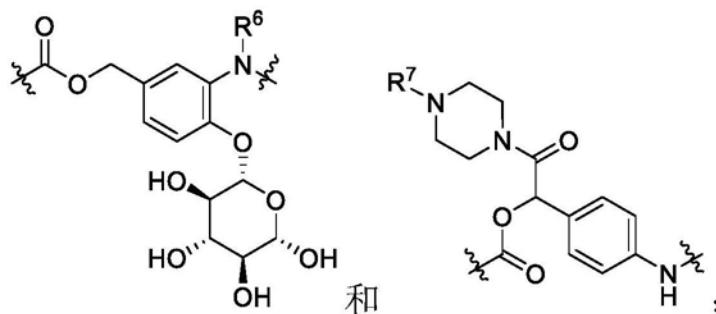
[0148] Y¹表示键或任选取代的-((C₁)亚烷基)-亚芳基-或-((C₁)亚烷基)-杂芳基-。

[0149] 在本文公开的化合物的某些此类实施方案中,Y¹表示任选取代的-((C₁)亚烷基)-亚芳基-。

[0150] 在本文公开的化合物的某些此类实施方案中,自降解连接基选自:



[0151]

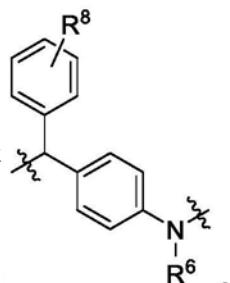


[0152] 其中

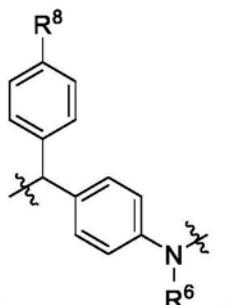
[0153] R⁶表示H、三((C₁-C₆)烷基)甲硅烷基或-C(0)((C₁-C₆)烷基)；[0154] R⁷表示H、(C₁-C₆)烷基或杂环烷基；[0155] R⁸表示H、卤素、-C(0)₂H、(C₁-C₆)烷氧基、二((C₁-C₆)烷基)氨基、-NO₂、-O(CH₂CH₂O)_qCH₃；

[0156] m是1、2、3、4或5；和

[0157] q是1或2。

[0158] 在某些这样的实施方案中，R⁸是H。

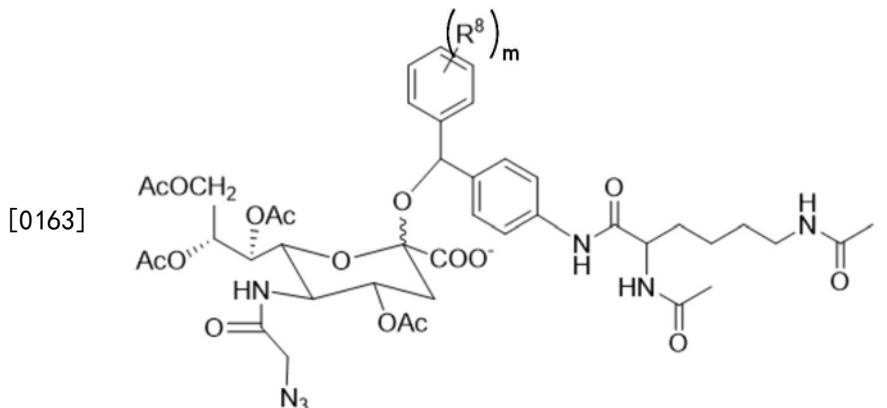
[0159] 在某些实施方案中，自降解连接基是



[0160] 在某些这样的实施方案中，自降解连接基是

[0161] 在进一步的这样的实施方案中，R⁸是H。

[0162] 在某些实施方案中，用于在癌细胞的细胞表面上表达叠氮糖(例如叠氮基唾液酸)的化合物由式(III)或其药学上可接受的盐表示：



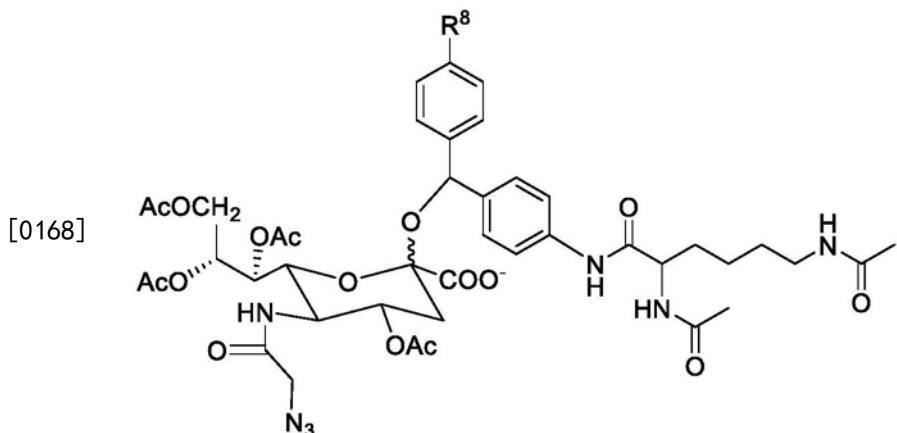
(III);

[0164] 其中R⁸表示H、卤素、-C(0)2H、(C₁-C₆)烷氧基、二((C₁-C₆)烷基)氨基、-NO₂、-O(CH₂CH₂O)_qCH₃；

[0165] m是1、2、3、4或5；和

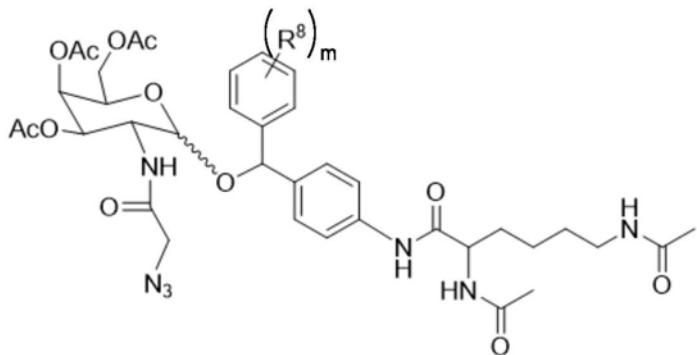
[0166] q是1到5000的整数。

[0167] 在进一步的实施方案中，化合物由式(III')或其药学上可接受的盐表示：

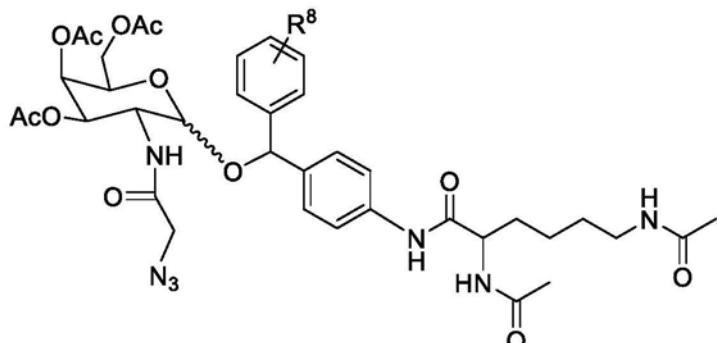


(III')。

[0169] 在一些实施方案中，用于在癌细胞的细胞表面上表达叠氮糖(例如，叠氮基唾液酸)的化合物由式(IV)或其药学上可接受的盐表示：



[0170]



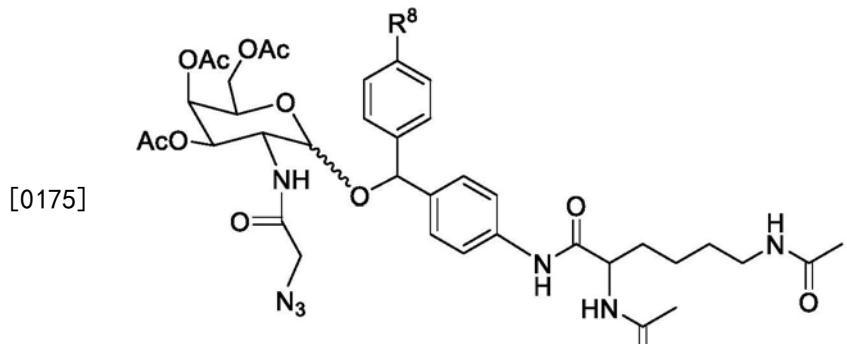
(IV);

[0171] 其中R⁸表示H、卤素、-C(O)₂H、(C₁-C₆)烷氧基、二((C₁-C₆)烷基)氨基、-NO₂、-O(CH₂CH₂O)_qCH₃；

[0172] m是1、2、3、4或5；和

[0173] q是1或2。

[0174] 在一些实施方案中，化合物由式(IV')或其药学上可接受的盐表示：



(IV')。

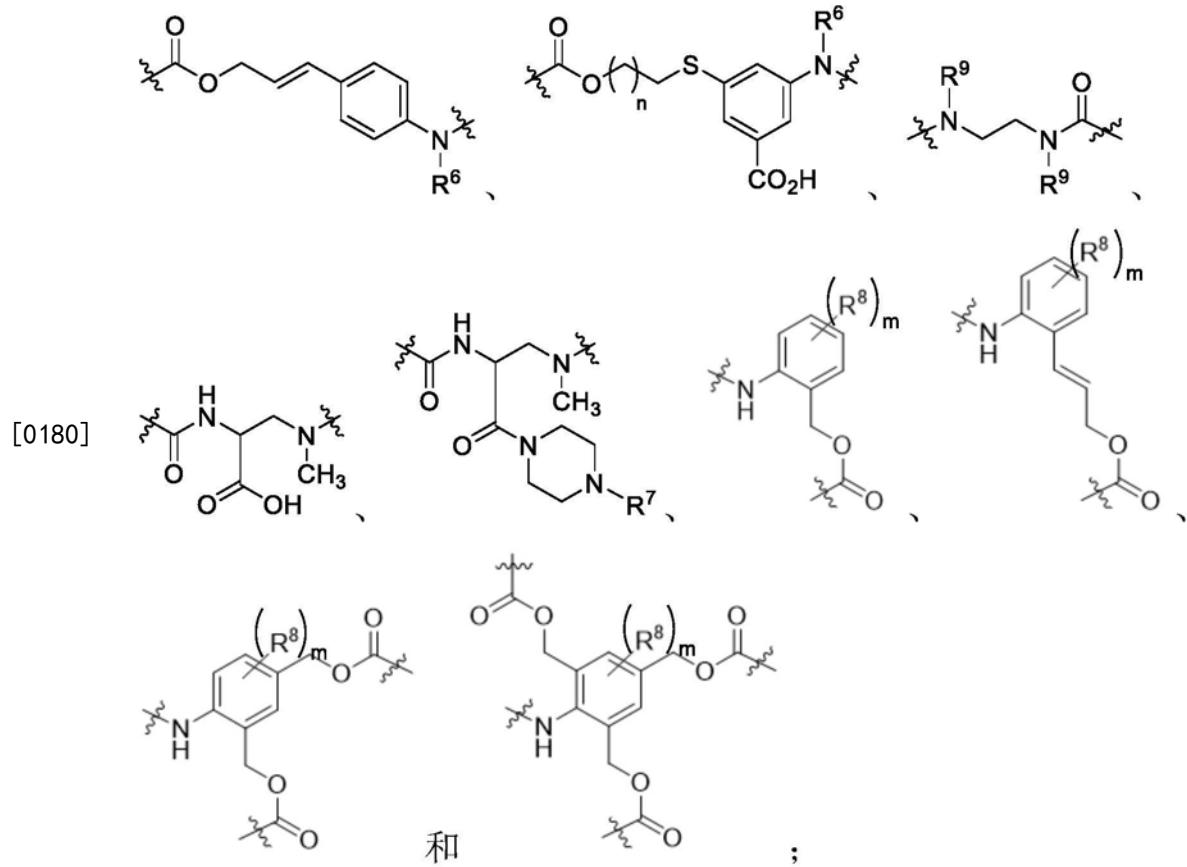
[0176] 在进一步的这样的实施方案中，R⁸是H。

[0177] 在本文公开的化合物的一些实施方案中，化合物还包含含有一个或多个糖部分的糖连接基，其中(i)所述糖连接基将自降解连接基共价连接至N-((叠氮酰基)5-氨基-3,5-二脱氧-D-甘油基-D-半乳糖-2-壬基吡喃糖酸部分的异头碳或N-((叠氮酰基)2-氨基-2-脱氧-D-吡喃半乳糖基部分的异头碳，或(ii)A¹还包含所述糖连接基。在一些实施方案中，自降解连接基能够通过触发诱导的切割(例如，酶促切割)从分子释放间隔的化学部分之一；并且这种切割可以从分子的其余部分自发切割以释放另一个间隔的化学部分(例如，壬基吡喃糖酸部分或吡喃半乳糖基部分)。在一些实施方案中，释放的化学部分包含与壬基吡喃糖酸部分和一个或多个糖部分共价键合的糖连接基。在一些实施方案中，释放的化学

部分包含与吡喃半乳糖基部分和一个或多个糖部分共价键合的糖连接基。

[0178] 在本文公开的化合物的一些实施方案中,一个或多个糖部分选自半乳糖基、N-乙酰半乳糖基、甘露糖基、N-乙酰基甘露糖氨基、神经氨酸、葡糖基、N-乙酰基葡糖氨基、麦芽糖基和果糖基。

[0179] 在本文公开的化合物的一些此类实施方案中,自降解连接基选自:



[0181] 其中

[0182] R⁶表示H、三((C₁-C₆)烷基)甲硅烷基或-C(0)((C₁-C₆)烷基);

[0183] R⁷表示H、(C₁-C₆)烷基或杂环烷基;

[0184] R⁸表示H、卤素、-C(0)₂H、(C₁-C₆)烷氧基、二((C₁-C₆)烷基)氨基、-NO₂、-O(CH₂CH₂O)_qCH₃;

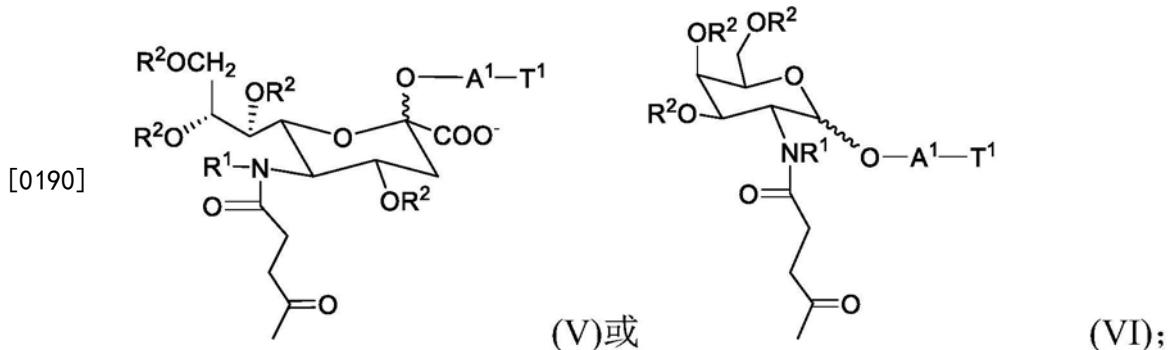
[0185] R⁹表示H或(C₁-C₆)烷基;

[0186] m是1、2、3、4或5;

[0187] n是1或2;和

[0188] q是1或2。

[0189] 在一些实施方案中,化合物由式(V)或式(VI)或其任一个的药学上可接受的盐表示:



[0191] 其中：

[0192] R¹表示H或三((C₁-C₆)烷基)甲硅烷基；

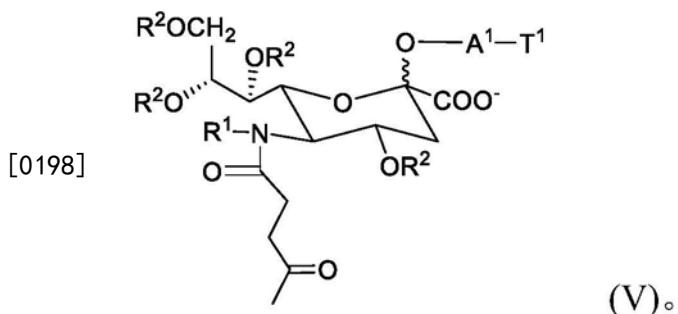
[0193] R²每次出现时独立地表示H、-C(0)((C₁-C₆)烷基)、半乳糖基、N-乙酰基半乳糖基氨基、甘露糖基、N-乙酰基甘露糖氨基、葡糖基、N-乙酰基葡糖氨基、麦芽糖基或果糖基；

[0194] A¹代表自降解连接基；和

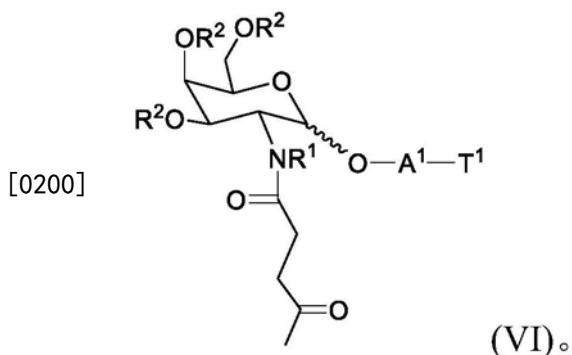
[0195] T¹代表触发器反应部分。

[0196] 式(V)和(VI)中的变量可以如上下文所述进一步选择。

[0197] 在一些实施方案中，化合物由式(V)或其药学上可接受的盐表示：



[0199] 在一些实施方案中，化合物由式(VI)或其药学上可接受的盐表示：



[0201] 药效团衍生物

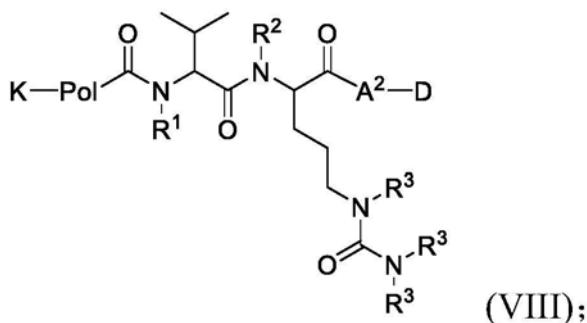
[0202] 在其他方面，本发明涉及可以将治疗剂选择性地递送至在其细胞表面上表达叠氮糖(例如叠氮基唾液酸)的细胞的化合物。因此，在某些实施方案中，本发明涉及式(VII)的化合物：

[0203] K-Pol-Pep-A²-D (VII)；

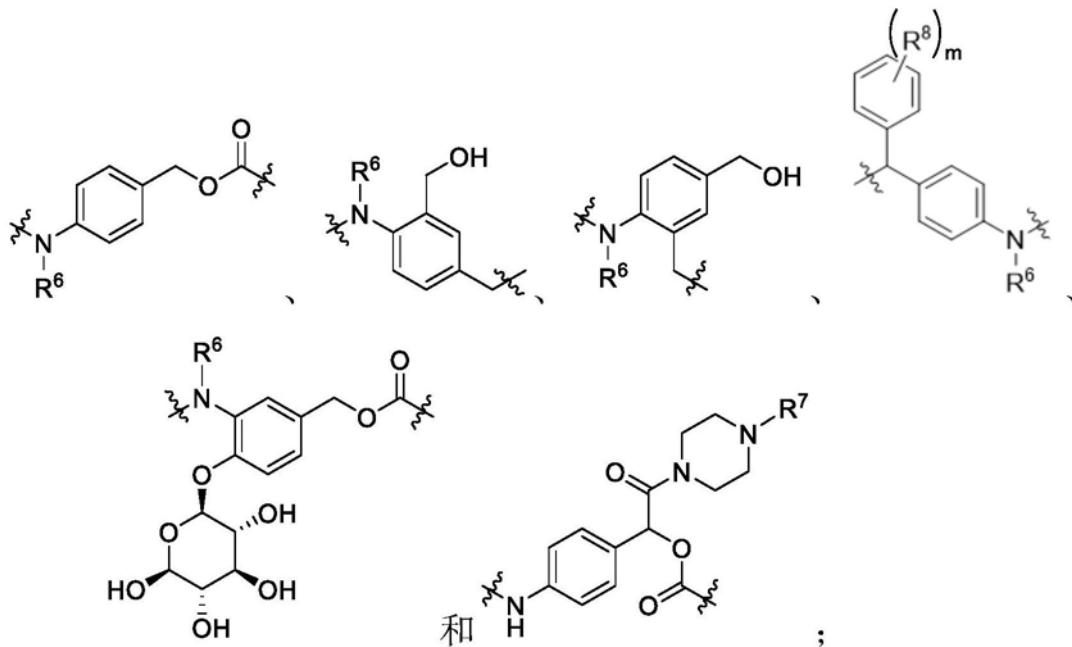
[0204] 其中：

[0205] K表示任选取代的环炔基、杂环炔基或炔基部分；

- [0206] Pol代表聚合物部分；
- [0207] Pep代表氨基酸或寡肽序列；
- [0208] A²代表自降解连接基；和
- [0209] D代表药效团；
- [0210] 其中：
- [0211] 聚合物部分是聚亚烷基二醇或聚亚烷基酰亚胺；和
- [0212] 氨基酸或寡肽序列包含被酶切割的酰胺键，所述酶(i)相对于对应的健康细胞在恶性细胞中过表达或(ii)在对应的健康细胞中不表达的恶性细胞中表达。
- [0213] 在某些实施方案中，在酶切割酰胺键后，自降解连接基分解，从而释放药效团。
- [0214] 在某些实施方案中，酶是组织蛋白酶。例如，酶可以是组织蛋白酶B。
- [0215] 在某些实施方案中，Pep代表任选取代的Val-Cit。
- [0216] 在某些实施方案中，式(VII)化合物由式(VIII)表示：



- [0217] 其中：
- [0218] R¹、R²和R³各自独立地表示H、三((C₁-C₆)烷基)甲硅烷基或-C(O)((C₁-C₆)烷基)。
- [0219] 在某些实施方案中，R¹、R²和R³是H。
- [0220] 式(VII)和(VIII)中的变量可以如上下文所述进一步选择。
- [0221] 在本文公开的化合物的某些实施方案中，K包含任选取代的杂环炔基或环炔基。在某些实施方案中，K包含任选取代的二苯并环辛炔(DBCO)部分。
- [0222] 在某些实施方案中，Pol代表聚乙二醇或聚丙二醇部分。
- [0223] 在某些实施方案中，Pol表示聚乙二醇或聚丙二醇的0至5000个重复单元。
- [0224] 在某些实施方案中，Pol表示聚乙二醇的0至5000个重复单元。
- [0225] 在某些实施方案中，Pol表示聚乙二醇或聚丙二醇的10至30个重复单元。
- [0226] 在某些实施方案中，Pol表示聚乙二醇或聚丙二醇的10至30个重复单元，或聚乙二醇的4至30个重复单元，或聚乙二醇的15至25个重复单元。
- [0227] 在某些实施方案中，Pol表示聚乙二醇的10至30个重复单元，或聚乙二醇的4至30个重复单元，或聚乙二醇的15至25个重复单元。
- [0228] 在本文所公开的化合物的某些实施方案中，
- [0229] A²表示基团-Y²-X²-；
- [0230] X²表示键或-C(O)₂-；
- [0231] Y²表示键或任选取代的-亚芳基-((C₁)亚烷基)-或-亚芳基-((C₁)亚烷基)-；和
- [0232] X²和Y²都不代表键。
- [0233] 在某些实施方案中，Y²代表任选取代的-亚芳基-((C₁)亚烷基)-。
- [0234] 在某些这样的实施方案中，自降解连接基选自：



[0236] 其中

[0237] R⁶表示H、三((C₁-C₆)烷基)甲硅烷基或-C(0)((C₁-C₆)烷基)；

[0238] R⁷表示H、(C₁—C₆) 烷基或杂环烷基；

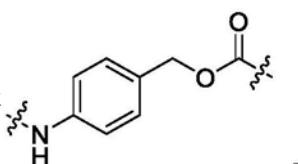
[0239] R⁸表示H、卤素、-C(O)H、(C₁-C₆)烷氧基、二((C₁-C₆)烷基)氨基、-NO₂、-O(CH₂CH₂O)_nCH₃；

[0240] m是1、2、3、4或5；和

[0241] q是1或2。

[0242] 在某些这样的实施方案中, R⁸是H。

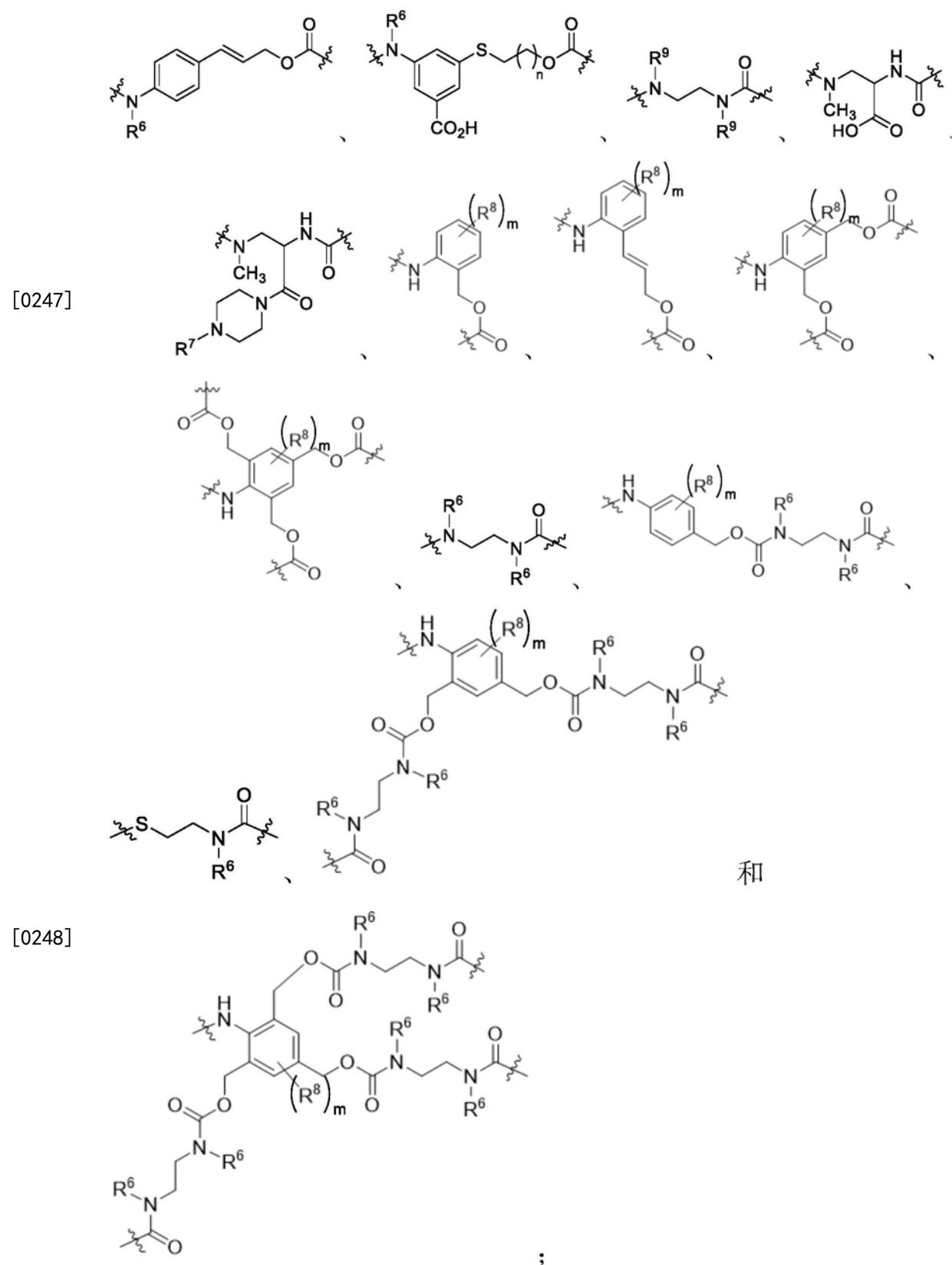
[9242] 在某些实施方式中，自降解连接基具



[0244] 在本文公开的化合物的一些实施方案中，化合物还包含含有一个或多个糖部分的糖连接基，其中A²还包含所述糖连接基。在一些实施方案中，自降解连接基分解，从而释放药效团。

[0245] 在本文公开的化合物的一些实施方案中，一个或多个糖部分选自半乳糖基、N-乙酰半乳糖基、甘露糖基、N-乙酰基甘露糖氨基、神经氨酸、葡糖基、N-乙酰基葡糖氨基、麦芽糖基或果糖基。

[0246] 在替代实施方案中，自降解连接基选自：



[0249] 其中

[0250] R⁶表示H、三((C₁-C₆)烷基)甲硅烷基或-C(=O)((C₁-C₆)烷基)；

[0251] R⁷表示H、(C₁—C₆) 烷基或杂环烷基；

[0252] R⁸表示H、卤素、-C(=O)H、(C₁-C₆)烷氧基、二((C₁-C₆)烷基)氨基、-NO₂、-O(CH₂CH₂O)

qCH_3 ;

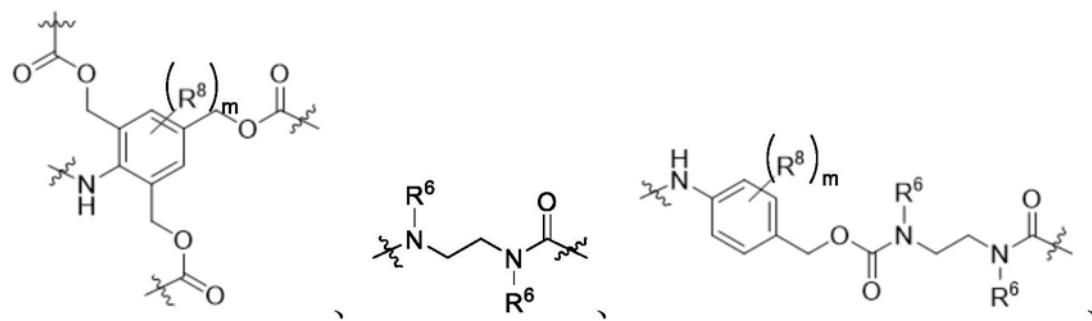
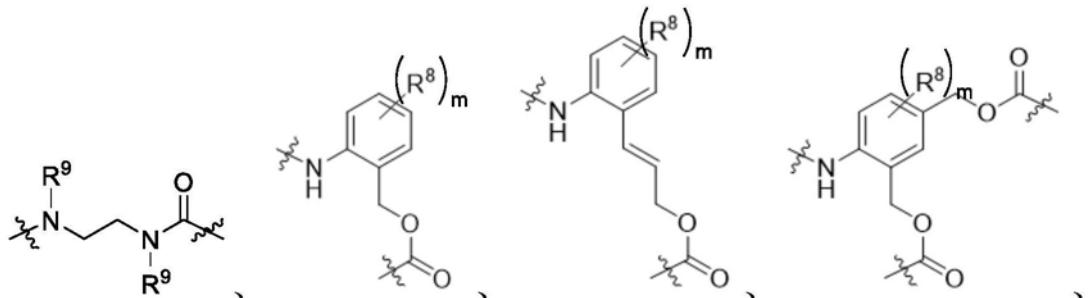
[0253] R^9 表示H或(C₁-C₆)烷基;

[0254] m 是1、2、3、4或5;

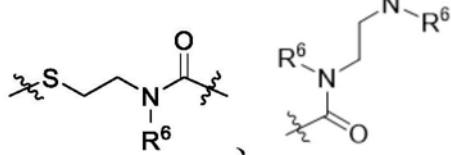
[0255] n 是1或2;和

[0256] q 是1或2。

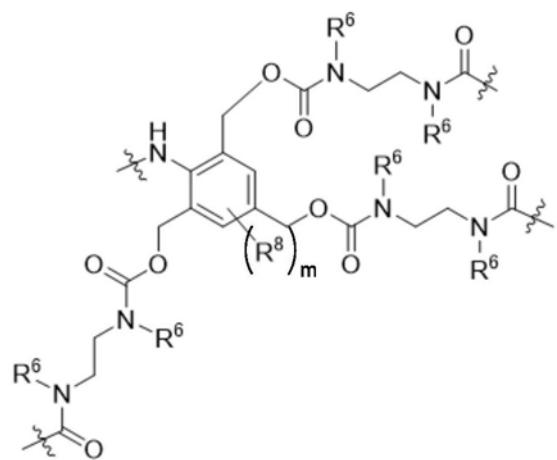
[0257] 在一些实施方案中,自降解连接基选自:



[0258]



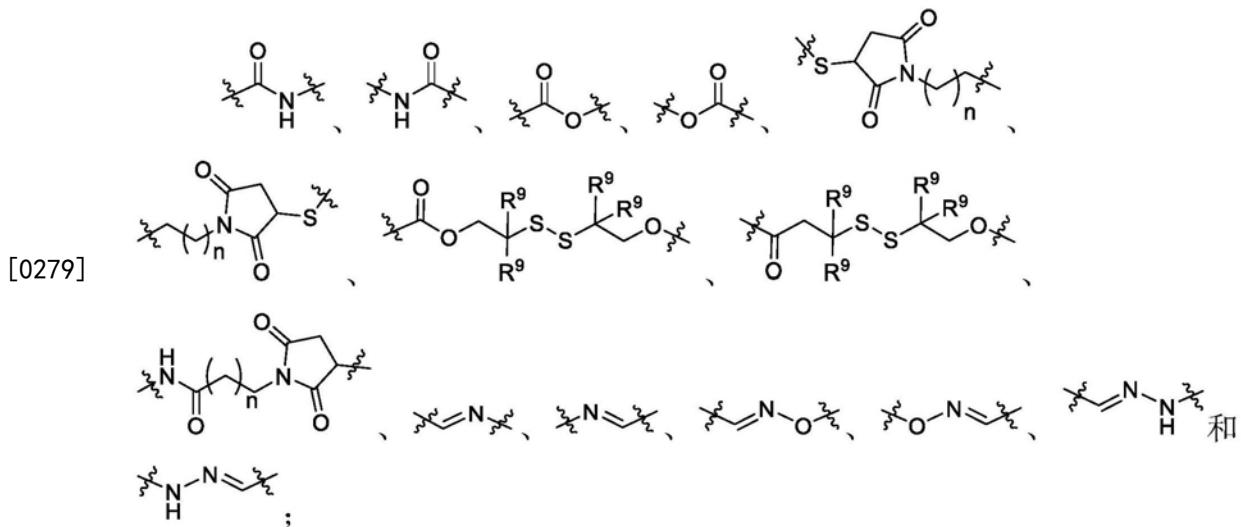
和



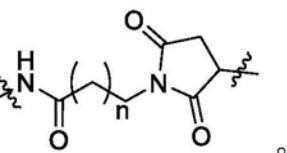
;

[0259] 其中

- [0260] R⁶表示H、三((C₁-C₆)烷基)甲硅烷基或-C(0)((C₁-C₆)烷基)；
- [0261] R⁷表示H、(C₁-C₆)烷基或杂环烷基；
- [0262] R⁸表示H、卤素、-C(0)₂H、(C₁-C₆)烷氧基、二((C₁-C₆)烷基)氨基、-NO₂、-O(CH₂CH₂O)qCH₃；
- [0263] R⁹表示H或(C₁-C₆)烷基；
- [0264] m是1、2、3、4或5；和
- [0265] q是1或2。
- [0266] 在某些实施方案中，本公开涉及式(IX)化合物或其药学上可接受的盐：
- [0267] K-Pol-L¹-D (IX)；
- [0268] 其中：
- [0269] K表示任选取代的环炔基、杂环炔基或炔基部分；
- [0270] Pol代表聚合物部分；
- [0271] L¹表示包含选自酰氨基、酯、马来酰亚胺基、亚氨基、硫醚、二硫醚、亚肼基和肟基的部分的连接基；
- [0272] 和
- [0273] D代表药效团；
- [0274] 其中：
- [0275] 聚合物部分是聚亚烷基二醇或聚亚烷基酰亚胺。
- [0276] 可以如上下文所述进一步选择式(IX)中的变量。
- [0277] 在一些实施方案中，L¹表示包含酰氨基部分的连接基。
- [0278] 在一些实施方案中，L¹表示包含选自下组的部分的连接基：

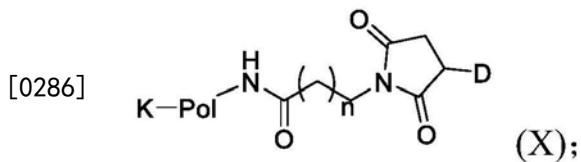


- [0280] 其中
- [0281] R⁹表示H或(C₁-C₆)烷基；和
- [0282] n是1或2。

- [0283] 在一些实施方案中，连接基是 。

[0284] 在一些实施方案中,n为1。

[0285] 在一些实施方案中,式(IX)化合物由式(X)表示:



[0287] 其中:

[0288] n是1或2。

[0289] 在一些实施方案中,本公开涉及式(XI)化合物或其药学上可接受的盐:

[0290] K-Pol-L²-D (XI);

[0291] 其中:

[0292] K表示任选取代的环炔基、杂环炔基或炔基部分;

[0293] Pol代表聚合物部分;

[0294] L²不存在或代表触发器反应部分;和

[0295] D代表药效团;

[0296] 其中:

[0297] 聚合物部分是聚亚烷基二醇或聚亚烷基酰亚胺。

[0298] 可以如上下文所述进一步选择式(XI)中的变量。

[0299] 在某些实施方案中,相对于健康组织,在癌组织中触发器被增强、过表达或以其他方式增强。

[0300] 在某些实施方案中,触发器是细胞过氧化物。

[0301] 在某些这样的实施方案中,触发器反应部分包括硼酸基团、二烷基硼酸酯基团、二芳基硼酸酯基团、二(芳烷基)硼酸酯基团、环戊硼烷(borolane)基团或二氧杂环戊硼烷基团。

[0302] 在某些这样的实施方案中,在通过细胞过氧化物裂解触发器反应部分时,化合物分解,从而释放药效团。

[0303] 在替代实施方案中,触发器是缺氧。

[0304] 在某些此类实施方案中,触发器反应部分包含2-硝基咪唑部分或偶氮基团,例如偶氮苯。

[0305] 在某些这样的实施方案中,在缺氧条件下裂解触发器反应部分后,化合物分解,从而释放药效团。

[0306] 在替代实施方案中,触发器是含巯基或硫醇盐的化合物,例如谷胱甘肽。

[0307] 在某些这样的实施方案中,触发器反应部分包含二硫键。

[0308] 在某些这样的实施方案中,在通过含巯基或硫醇盐的化合物裂解二硫键时,化合物分解,从而释放药效团。

[0309] 在替代实施方案中,触发器是NAD(P)H脱氢酶(醌1)(NQ01)。

[0310] 在某些这样的实施方案中,触发器反应部分包含任选取代的醌,其与任选取代的丙酸或丙酰胺部分共价结合。

[0311] 在某些这样的实施方案中,在通过NAD(P)H脱氢酶(醌1)(NQ01)裂解与任选取代的

丙酸或丙酰胺部分共价结合的任选取代的酰后，化合物分解，从而释放药效团。

[0312] 在某些实施方案中，触发器是组织蛋白酶。

[0313] 在某些这样的实施方案中，触发器反应部分是氨基酸或寡肽序列，其包含由组织蛋白酶切割的酰胺键。

[0314] 在进一步的实施方案中，触发器反应基团包含酸敏感部分，例如亚胺、缩醛、缩酮或氨基甲酸酯。

[0315] 在某些这样的实施方案中，包含酰胺键的氨基酸或寡肽序列包括Phe-Lys、Val-Lys、Ala-Lys、Val-Cit、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp-Cit、Phe-Arg (NO₂)、Phe-Arg (Ts) 或Lys-Gly-Arg-Arg。Cit代表瓜氨酸，Ts代表甲苯磺酸酯保护基团。

[0316] 在某些实施方案中，氨基酸或寡肽序列是取代的赖氨酸酰胺。

[0317] 在某些这样的实施方案中，在通过组织蛋白酶裂解酰胺键后，化合物分解，从而释放药效团。

[0318] 在某些实施方案中，组织蛋白酶是组织蛋白酶L。

[0319] 在某些实施方案中，式(VII)、式(VIII)、式(IX)、式(X)或式(XI)化合物的药效团是解痉剂，麻醉剂，抗炎剂，例如非甾体抗炎(NSAID)剂，抗癌治疗剂，钙通道阻滞剂，抗生素剂，免疫抑制剂，抗病毒剂，抗增殖剂，抗菌剂，神经生长诱导剂或平滑肌松弛剂。

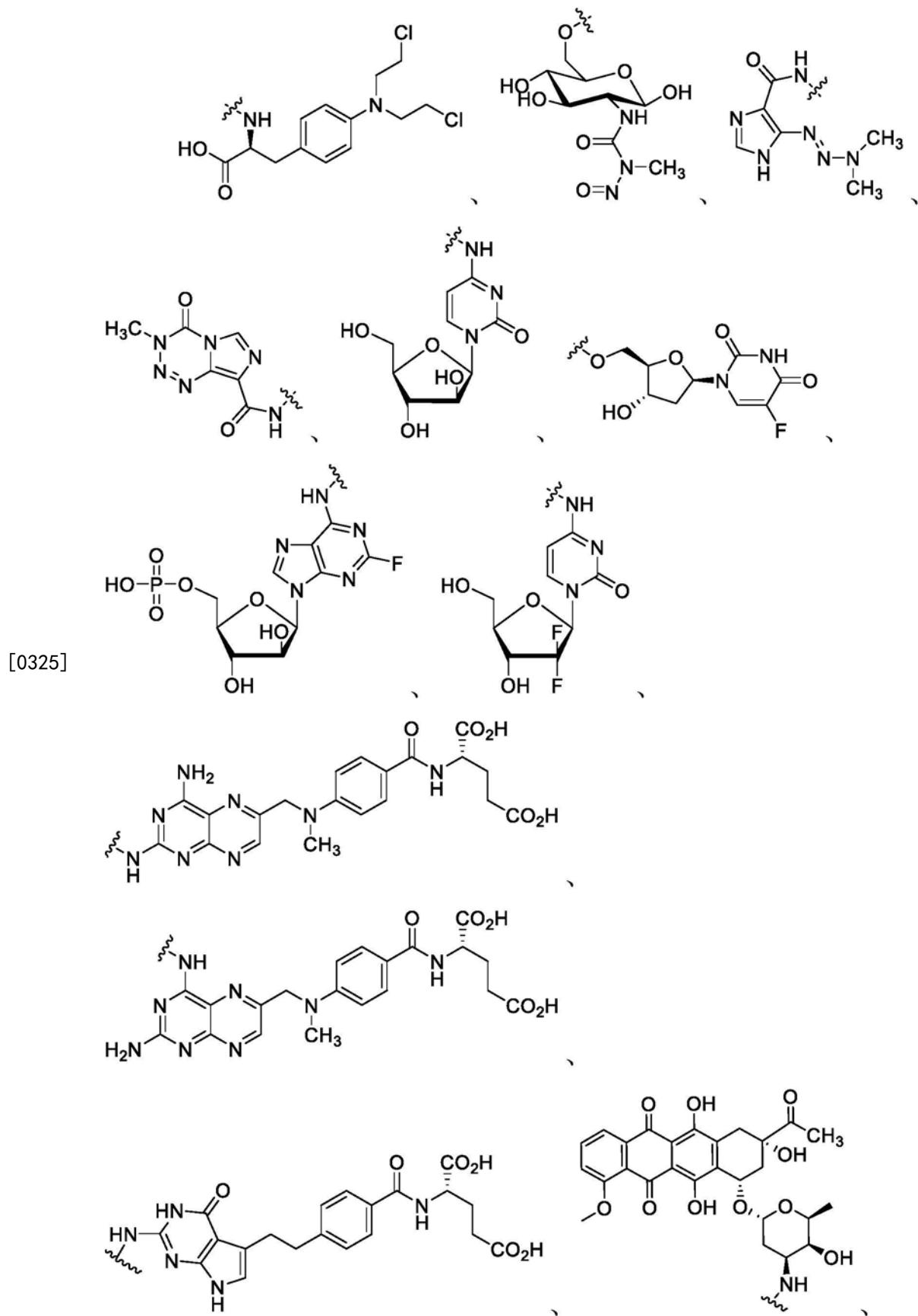
[0320] 在某些实施方案中，药效团是抗癌治疗剂。

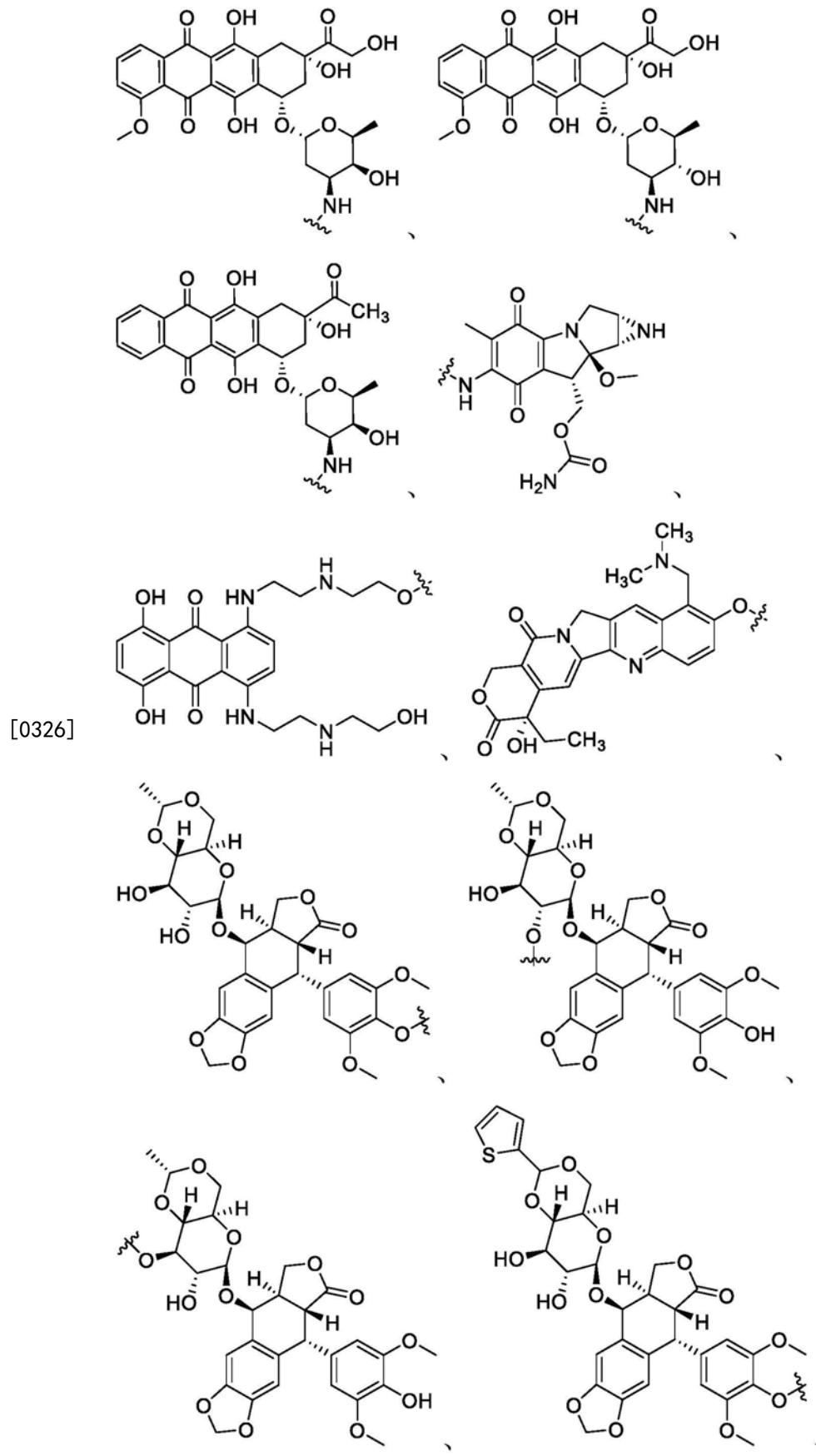
[0321] 在某些实施方案中，抗癌治疗剂是放线菌素-D, altretamine, 氨基乙酰亚胺, 安吖啶, 阿那曲唑, 天冬酰胺酶, belactosin A, 比卡鲁胺, 博来霉素, 硼替佐米, 布舍瑞林, 白消安, 喜树碱, 喜树碱, 卡培他滨, 卡铂, 卡非佐米, 卡莫司汀, 苯丁酸氮芥, 氯喹, 顺铂, 克拉屈滨, 氯膦酸, 秋水仙碱, 环磷酰胺, 环丙孕酮, 阿糖胞苷, 达卡巴嗪, 放线菌素, 柔红霉素, 去甲氧嘧啶, 地塞米松, 二氯乙酸, 二乙烯雌酚, 己烯雌酚, 多西紫杉醇, 多柔比星, 表柔比星, 环氧酶, 雌二醇, 雌莫司汀, 依托泊苷, 依维莫司, 依西美坦, fellutamide B, 非格司亭, 氟达拉滨, 氟氢可的松, 5-氟尿嘧啶, 氟尿嘧啶, 氟甲睾酮, 氟他胺, 吉西他滨, 染料木黄酮, 戈舍瑞林, 羟基脲, 伊达比星, 异环磷酰胺, 伊马替尼, 干扰素, 伊立替康, 伊沙匹隆, 来那度胺, 来曲唑, 甲酰四氢叶酸, 亮丙瑞林, 左旋咪唑, 洛莫司汀, 氯尼达明(lonidamine), marizomib, 美登素, 双氯乙基甲胺(mechlorethamine), 甲羟孕酮, 甲地孕酮, 美法仑, 疏基嘌呤, N2'-去乙酰-N2'-(3-巯基-1-酮代丙基)-美登素(mertansine), 美司钠, 二甲双胍, 甲氨蝶呤, 甲基强的松龙, 丝裂霉素, 米托坦, 米托蒽醌, 单甲基奥瑞他汀, 尼鲁米特, 诺可唑, 奥曲肽, 奥利沙坦, 奥沙利铂, 紫杉醇, 帕米膦酸, 培美曲塞, 喷司他丁, 味立福辛, 巴卡霉素, 泊马度胺(pomalidomide), 吲哚美芬(porfimer), 泊尼松, 丙卡巴肼, 雷替曲塞, 利妥昔单抗, 索拉非尼, 链脲佐菌素, 舒尼明, 苏拉明, 他莫昔芬, 替莫唑胺, 替西罗莫司(temsirolimus), 替尼泊昔, 睾酮, 沙利度胺, 硫鸟嘌呤, 塞替派(thiotepa), 二氯化二茂钛, 拓扑替康, 曲妥珠单抗, 维A酸, 长春碱, 长春新碱, 长春地辛, 长春瑞滨, SN-38, MG-132, PSI, CEP-18770, MLN-2238, MLN-9708, NC-005, YU-101, LU-005, YU-102, NC-001, LU-001, NC-022, PR-957(LMP7), CPSI(β5), 10LMP2-sp-ek, BODIPY-NC-001, 叠氮-NC-002, ONX-0912, PS-519, 125I-NIP-L3VS, NC-005-VS或MV151。

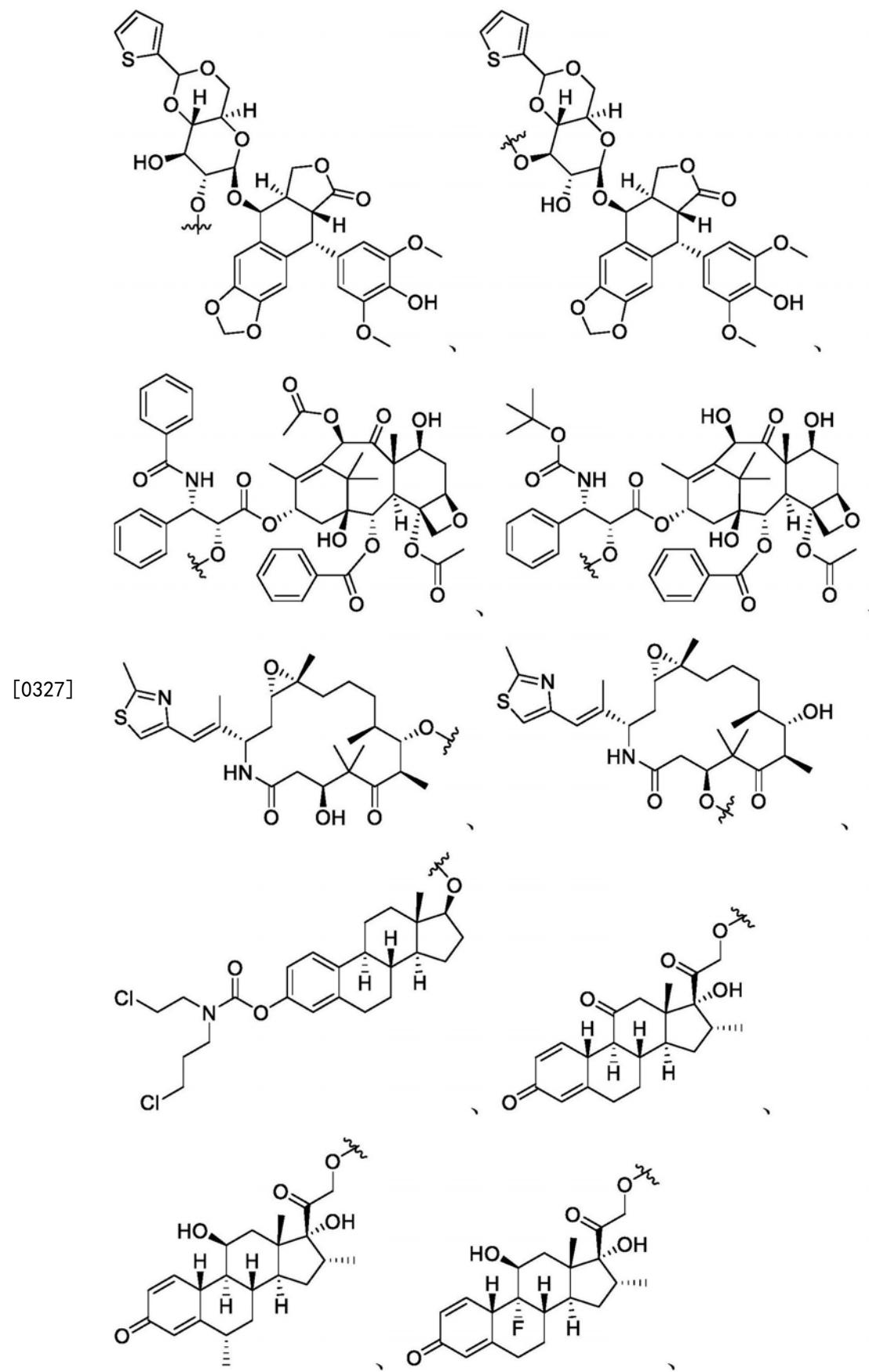
[0322] 在某些实施方案中，抗癌治疗剂是多柔比星。

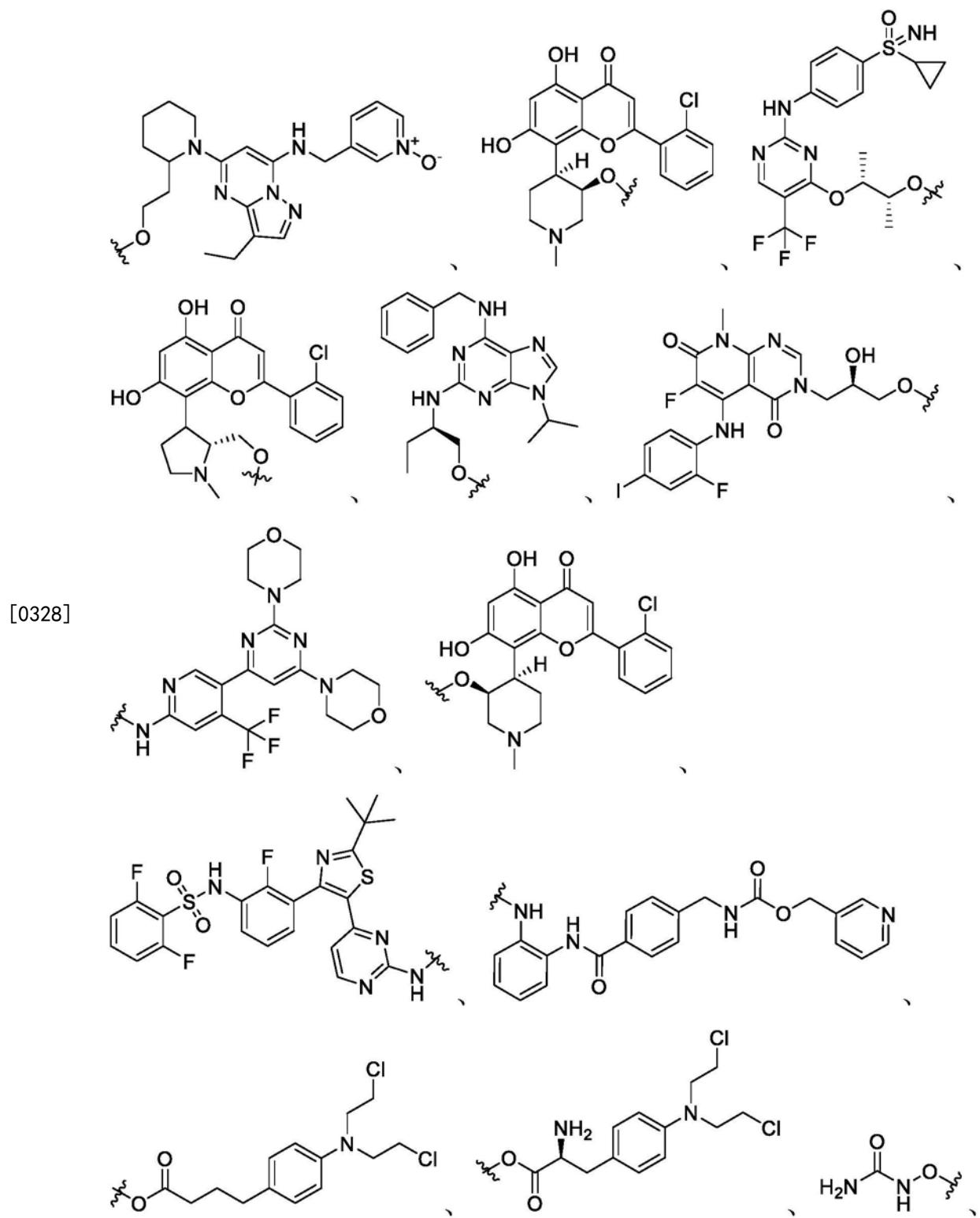
[0323] 在某些实施方案中，抗癌治疗剂是美登素(mertansine)。

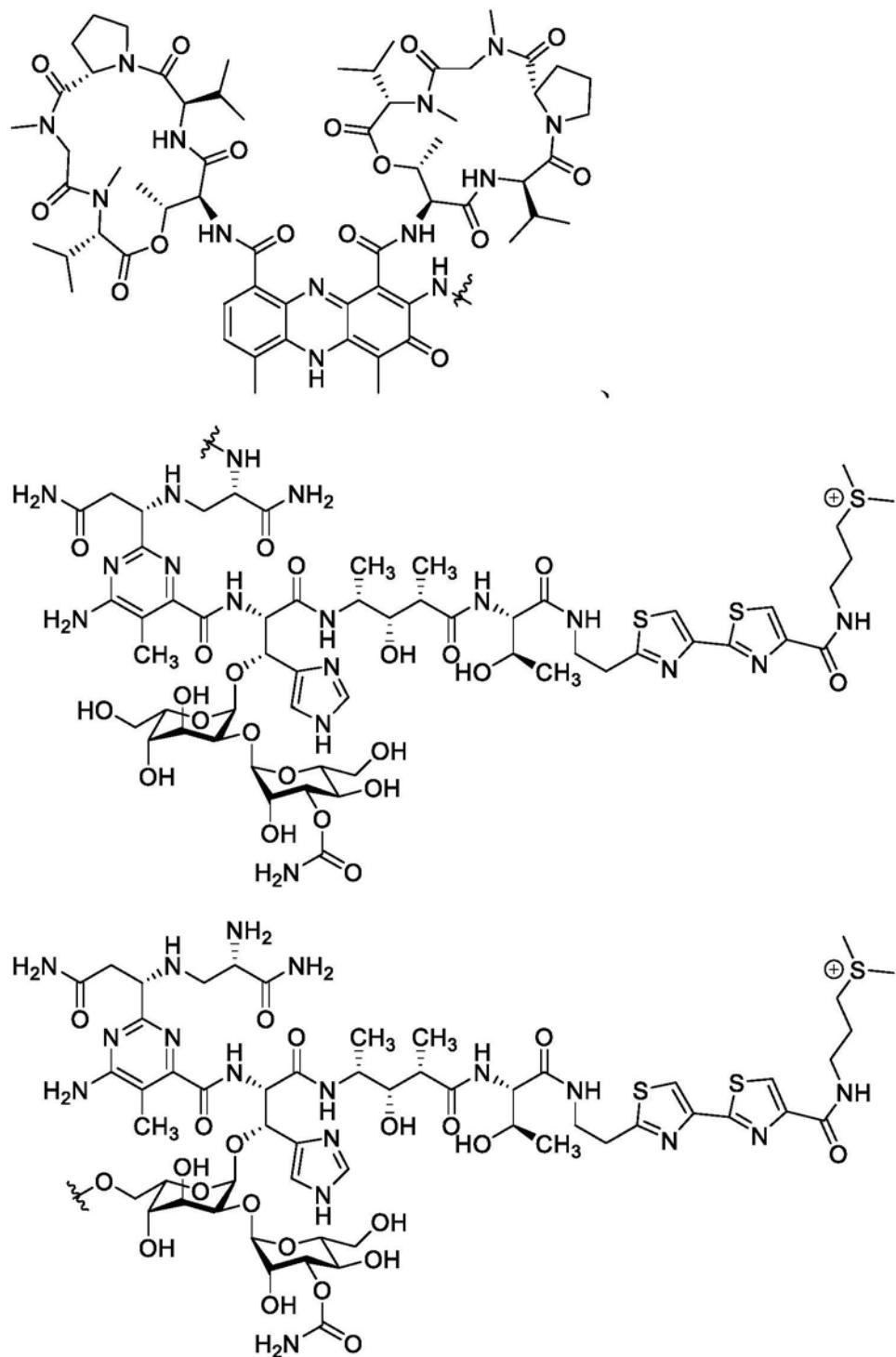
[0324] 在式(VII)、式(VIII)、式(IX)、式(X)或式(XI)化合物的某些实施方案中,D代表选自下组的药效团:

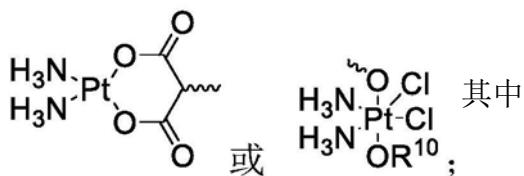
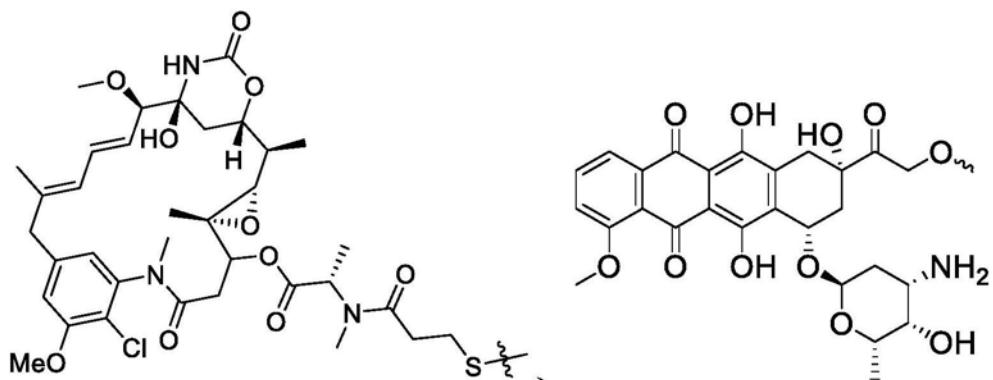
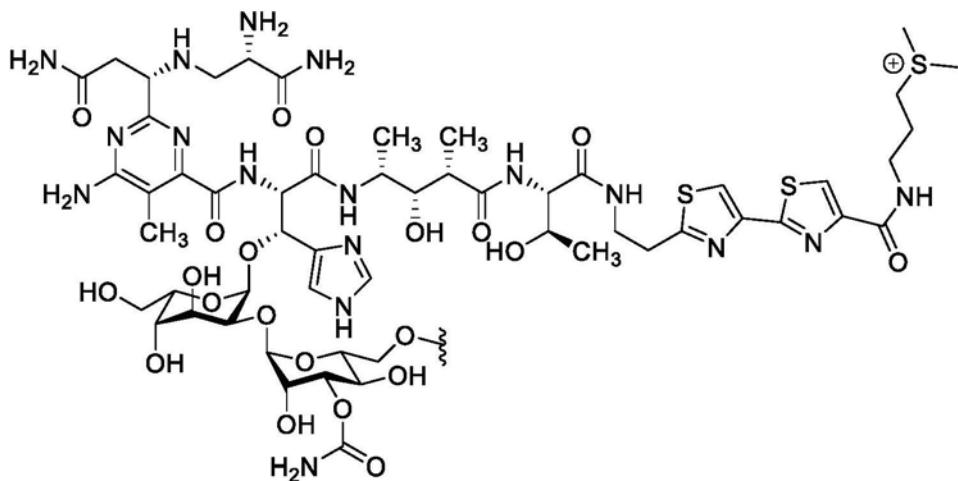








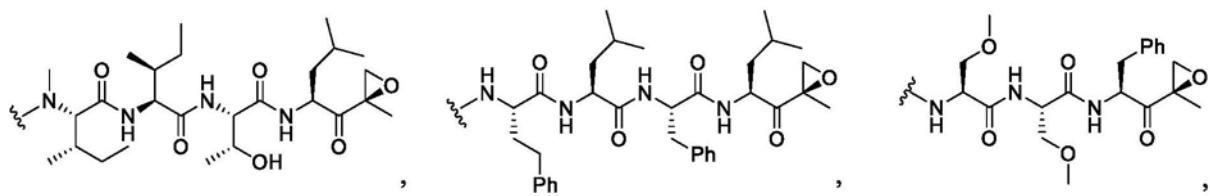
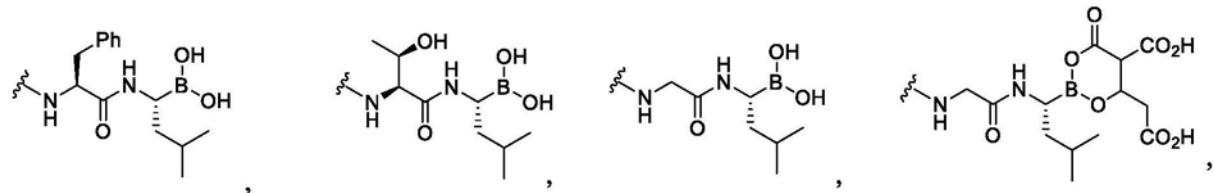




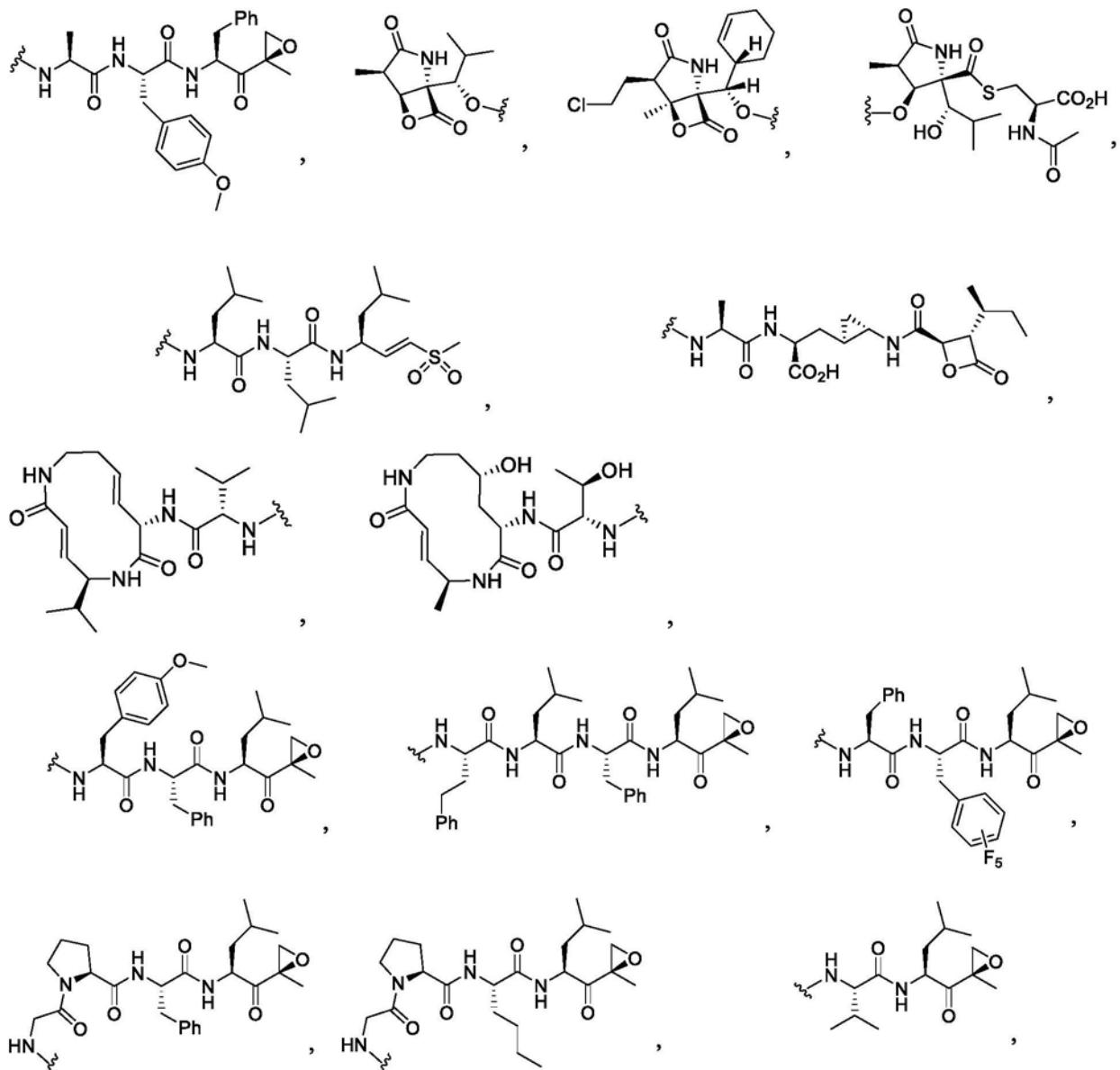
[0331] R^{10} 为 H 、 $\text{C}(0)$ ($\text{C}_1\text{--C}_{18}$ 烷基)、 $\text{C}(0)\text{--NH--}$ ($\text{C}_1\text{--C}_{18}$ 烷基) 或 ($\text{C}_1\text{--C}_{18}$) 烷基。

[0332] 在替代实施方案中, D代表选自下列的药效团:

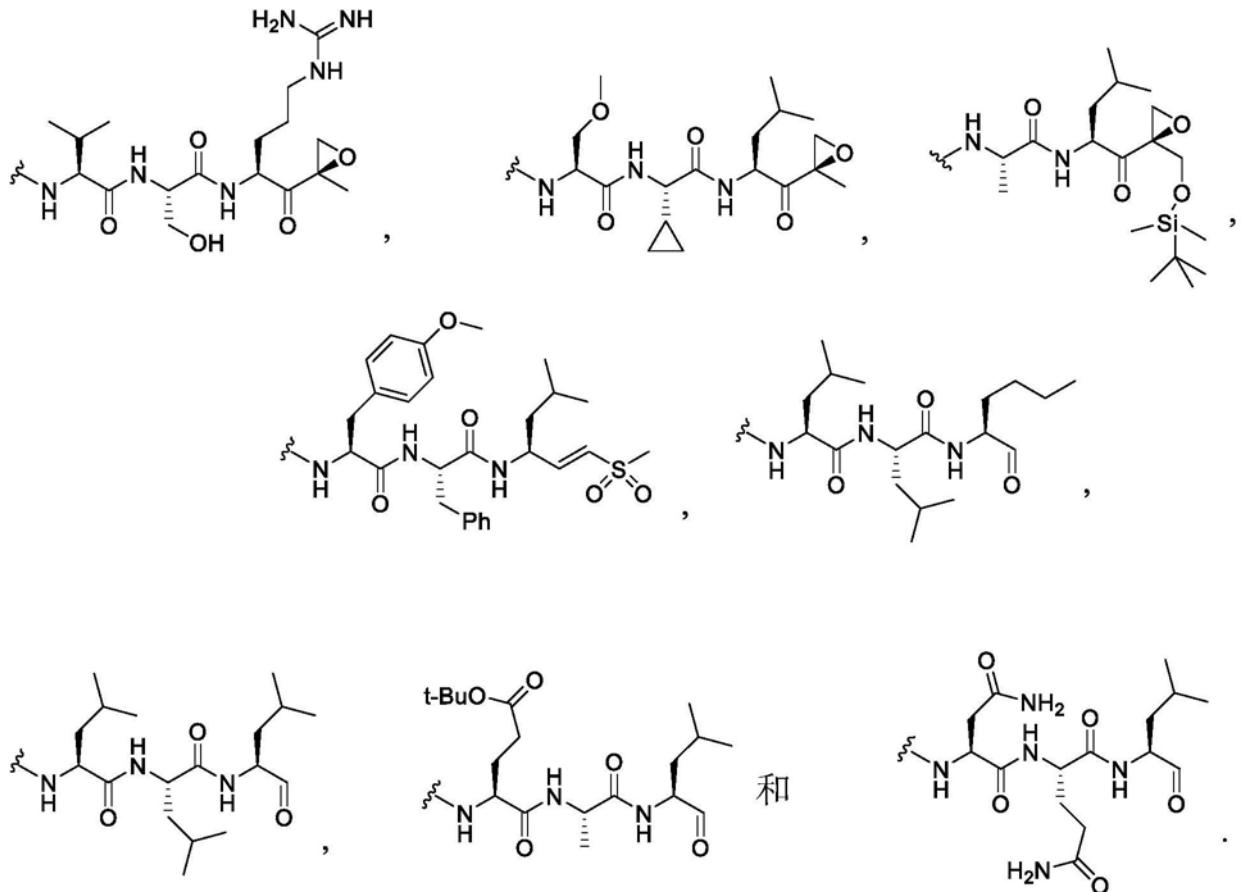
[0333]



[0334]

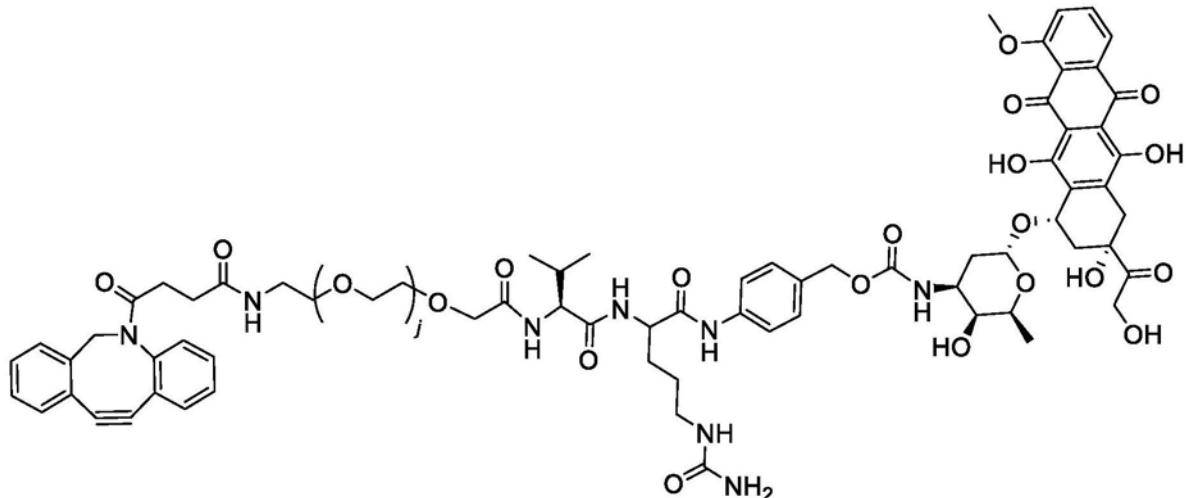


[0335]



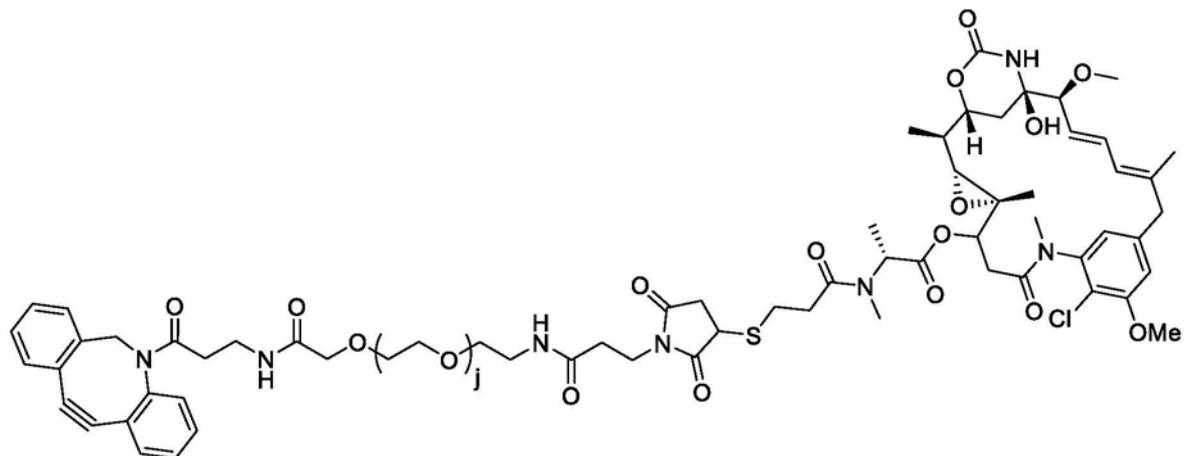
[0336] 在某些实施方案中,式(VII)化合物由下式表示:

[0337]



[0338] 其中j是0-5000的整数。

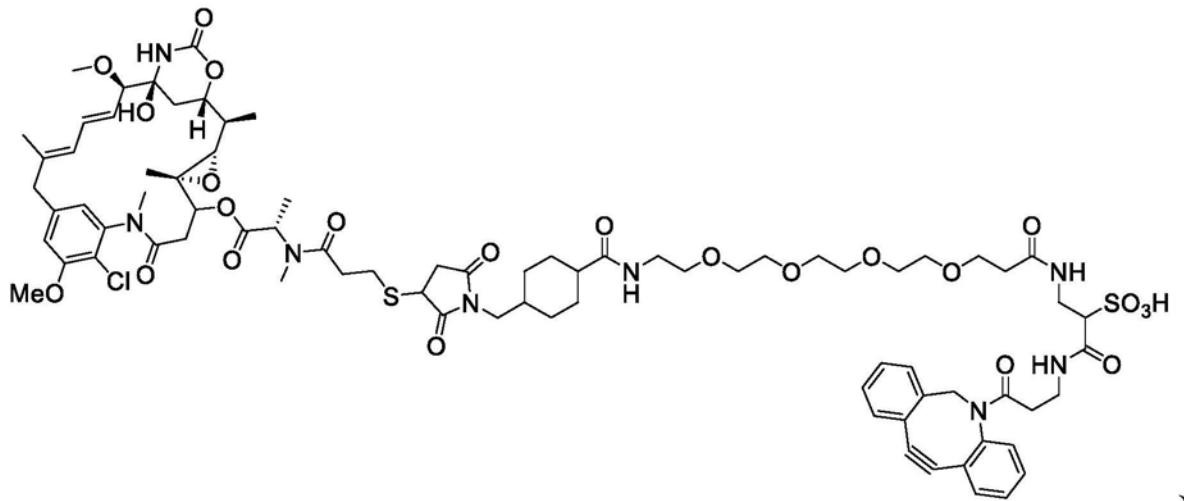
[0339]



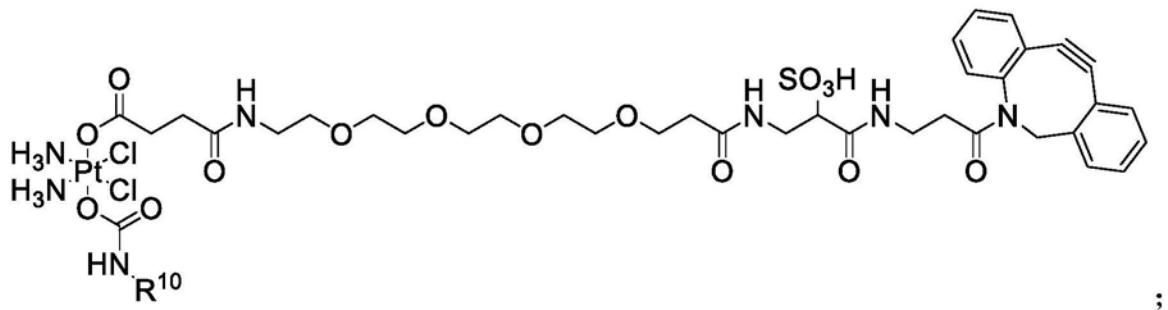
[0340] 其中j是0-5000的整数。

[0341] 在其他实施方案中,本公开提供具有下式的化合物:

[0342]







[0343] 其中

[0344] R^{10} 为H或(C₁-C₁₈)烷基；

[0345] 或其药学上可接受的盐。

[0346] 在某些方面，本发明涉及药物组合物，其包含本发明化合物或其药学上可接受的盐和药学上可接受的赋形剂或载体。药学上可接受的赋形剂和载体在下面详细描述。

[0347] 治疗方法

[0348] 在某些方面，本发明涉及在癌细胞表面上表达叠氮糖（例如，叠氮基唾液酸；参见图1和2，小图b）的方法，包括：

[0349] 使癌细胞与化合物接触；

[0350] 其中所述化合物如本文所述，并且包含任选取代的N-((叠氮基)酰基)5-氨基-3,5-二脱氧-D-甘油-D-半乳糖-2-壬基吡喃糖酸部分或任选取代的N-((叠氮基)酰基)2-氨基-2-脱氧-D-吡喃半乳糖基部分；被触发器切割的触发器反应部分；和自降解连接基；其中所述自降解连接基与所述壬基吡喃糖酸部分或所述吡喃半乳糖基部分并与触发器反应部分共价键合；

[0351] 从而在癌细胞表面上表达叠氮糖。

[0352] 在某些方面，在癌细胞表面上表达叠氮糖的方法，其包括使癌细胞与式(I)、式(II)、式(IIa)、式(V)或式(VI)的化合物接触；从而在癌细胞表面上表达叠氮糖。

[0353] 在某些方面，本发明提供治疗癌症的方法，其包括向有此需要的受试者施用治疗有效量的如本文所述的化合物，其中所述化合物包含任选取代的N-((叠氮基)酰基)5-氨基-3,5-二脱氧-D-甘油-D-半乳糖-2-壬基吡喃糖酸部分或任选取代的N-((叠氮基)酰基)2-氨基-2-脱氧-D-吡喃半乳糖基部分；被触发器切割的触发器反应部分；和自降解连接基；其中所述自降解连接基与所述壬基吡喃糖酸部分或所述吡喃半乳糖基部分并与触发器反应部分共价键合。

[0354] 在某些实施方案中，此类治疗癌症的方法还包括向受试者施用治疗有效量的式(VII)、式(IX)或式(XI)的化合物。

[0355] 在某些方面，本发明提供治疗癌症的方法，其包括向有需要的受试者施用治疗有效量的式(VII)、式(IX)或式(XI)的化合物。

[0356] 在某些实施方案中，癌症选自急性淋巴细胞白血病(ALL)，急性髓性白血病(AML)，肾上腺皮质瘤，艾滋病相关癌症(Kaposi肉瘤和淋巴瘤)，肛门癌，附件癌症，非典型畸胎样/横纹肌样瘤，Basal细胞癌，胆管癌(包括肝外)，膀胱癌，骨癌(包括骨肉瘤和恶性纤维组织细胞瘤)，脑肿瘤(如星形细胞瘤、脑和脊髓肿瘤、脑干胶质瘤、中枢神经系统非典型畸胎样/横纹肌样瘤、中枢神经系统胚胎肿瘤、颅咽管瘤、室管膜母细胞瘤、室管膜瘤、成神经管细胞瘤、髓质上皮瘤、中间分化的松果体实质肿瘤、幕上原始神经外胚层肿瘤和松果体细胞瘤)，乳腺癌，支气管肿瘤，伯基特淋巴瘤，基底细胞癌，胆管癌(包括肝外)，膀胱癌，骨癌(包括骨肉瘤和恶性纤维组织细胞瘤)，类癌肿瘤，原发性未知癌，中枢神经系统(如非典型畸形/横纹肌样瘤、胚胎肿瘤和淋巴瘤)，宫颈癌，儿童癌症，脊索瘤，慢性淋巴细胞白血病(CLL)，慢性粒细胞白血病(CML)，慢性骨髓增生性疾病，结肠癌，结肠直肠癌，颅咽管瘤，皮肤T细胞淋巴瘤(蕈样真菌病和Sézary综合征)，导管，胆汁(肝外)，原位导管癌(DCIS)，胚胎肿瘤(中枢神经系统)，子宫内膜癌症，室管膜母细胞瘤，室管膜瘤，食道癌，鼻腔神经胶质瘤，尤文肉瘤肿瘤家族，颅外生殖细胞肿瘤，外生殖细胞肿瘤，肝外胆管癌，眼癌(如眼内黑色素瘤、视网

膜母细胞瘤),骨纤维组织细胞瘤(包括恶性和骨肉瘤),胆囊癌,胃部癌(胃癌),胃肠道类癌肿瘤,胃肠道间质瘤(GIST),生殖细胞肿瘤(颅外、外颅、卵巢),妊娠滋养细胞肿瘤,胶质瘤,毛细胞白血病,头颈癌,心脏癌,肝细胞(肝)癌,组织细胞增生症,朗格汉斯细胞,霍奇金淋巴瘤,下咽癌,眼内黑色素瘤,胰岛细胞肿瘤(内分泌、胰腺),卡波西肉瘤,肾(包括肾细胞),朗格汉斯细胞组织细胞增生症,喉癌,白血病(包括急性淋巴细胞(ALL)、急性髓细胞样(AML)、慢性淋巴细胞(CLL)、慢性粒细胞瘤(CML)、毛细胞),唇和口腔癌,肝癌(原发),原位小叶癌(LCIS),肺癌(非小细胞和小细胞),淋巴瘤(艾滋病相关、伯基特、皮肤T细胞)(蕈样真菌病和Sézary综合征),霍奇金,非霍奇金,原发性中枢神经系统(CNS),巨球蛋白血症,Waldenström,男性乳腺癌,骨和骨肉瘤的恶性纤维组织细胞瘤,成神经管细胞瘤,髓母细胞瘤,黑色素瘤(包括眼内(眼)),Merkel细胞癌,间皮瘤(恶性),伴隐匿性原发性的转移性鳞状颈癌,涉及NUT基因的中线束癌,口腔癌,多发性内分泌肿瘤综合征,多发性骨髓瘤/浆细胞肿瘤,蕈样真菌病,骨髓增生异常综合征,骨髓增生异常/骨髓增生性肿瘤,髓性白血病,慢性(CML),髓性白血病,急性(AML),骨髓瘤和多发性骨髓瘤,骨髓增生性疾病(慢性),鼻腔和鼻窦癌,鼻咽癌,神经母细胞瘤,非霍奇金淋巴瘤,非小细胞肺癌,口部癌,口腔癌,唇和口咽癌,骨肉瘤和骨恶性纤维组织细胞瘤,卵巢癌(如上皮细胞、生殖细胞肿瘤和低恶性潜能肿瘤),胰腺癌(包括胰岛细胞瘤),乳头状瘤病,副神经节瘤,鼻窦和鼻腔癌,甲状腺旁腺癌,阴茎癌,咽癌,嗜铬细胞瘤,中间分化的松果体实质肿瘤,松果体细胞瘤和幕上原始神经外胚层肿瘤,垂体瘤,浆细胞肿瘤/多发性骨髓瘤,胸膜肿瘤,妊娠和乳腺癌,原发性中枢神经系统(CNS)淋巴瘤,前列腺癌,直肠癌,肾细胞(肾)癌,肾盂和输尿管,移行细胞癌,视网膜母细胞瘤,横纹肌肉瘤,唾液腺癌,肉瘤(如尤文肉瘤家族肿瘤、卡波西、软组织、子宫),Sézary综合征,皮肤癌(如黑色素瘤、Merkel细胞癌、非黑色素瘤),小细胞肺癌,小肠癌,软组织肉瘤,鳞状细胞癌,隐匿性原发性鳞状颈癌,转移性,胃部癌(胃癌),幕上原始神经外胚层肿瘤,T细胞淋巴瘤(皮肤、蕈样真菌病和Sézary综合征),睾丸癌,喉癌,胸腺瘤和胸腺癌,甲状腺癌,肾盂和输尿管移行细胞癌,滋养细胞肿瘤(妊娠),未知原发性,儿童期不寻常癌,输尿管和肾盂,移行细胞癌,尿道癌,子宫癌,子宫内膜,子宫肉瘤,Waldenström巨球蛋白血症和Wilms瘤。

[0357] 在某些实施方案中,受试者是哺乳动物,例如人。

[0358] 定义

[0359] 本文所用的短语“保护基”是指保护反应性官能团免于不希望的化学反应的取代基。这种保护基的实例包括羧酸和硼酸的酯、醇的醚、以及醛和酮的缩醛和缩酮。例如,本文所用的短语“N-末端保护基团”或“氨基保护基团”是指各种氨基保护基团,其可用于保护氨基酸或肽的N-末端免于在合成过程期间的不希望的反应。合适基团的实例包括酰基保护基团,例如,举例说明,甲酰基,丹酰基,乙酰基,苯甲酰基,三氟乙酰基,琥珀酰基和甲氧基琥珀酰基;芳族氨基甲酸酯保护基团,例如,苄氧基羰基(Cbz);脂族氨基甲酸酯保护基如叔丁氧基羰基(Boc)或9-芴基甲氧基羰基(Fmoc)。

[0360] 本文所用的术语“氨基末端保护基”是指通常用于有机合成,尤其是肽合成的末端氨基保护基。可以使用任何已知类别的保护基团,包括酰基保护基团,如乙酰基和苯甲酰基;芳族氨基甲酸酯保护基,如苄氧基羰基;和脂族氨基甲酸酯保护基团,如叔丁氧基羰基。参见,例如,Gross和Mienhoffer编辑,The Peptides,Academic Press:New York,1981;卷

3,3-88; 和 Green, T.W.; Wuts, P.G.M., Protective Groups in Organic Synthesis, 第2版, Wiley: New York, 1991。优选的保护基包括芳基-、芳烷基-、杂芳基-和杂芳基烷基-羧基和磺酰基部分。

[0361] 如本文所用,术语“生理条件”是指温度、pH、离子强度、粘度等生物化学参数,其与活的生物体相容和/或通常存在于活的哺乳动物细胞中的细胞内。

[0362] 如本文所用的术语“前药”包括在生理条件下转化为治疗活性剂的化合物。制备前药的常用方法是包括在生理条件下水解以显示所需分子的选定部分。在其他实施方案中,前药通过宿主动物的酶活性转化。

[0363] 本文所用的短语“药学上可接受的赋形剂”或“药学上可接受的载体”是指药学上可接受的材料、组合物或载体,例如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、溶剂或包封材料,其涉及携带或运输主题化学品从一个器官或身体的一部分到另一个器官或身体的另一部分。在与制剂的其他成分相容的意义上,每种载体必须是“可接受的”,对患者无害,并且基本上无致热原。可用作药学上可接受的载体的材料的一些实例包括:(1)糖,例如乳糖、葡萄糖和蔗糖;(2)淀粉,如玉米淀粉和马铃薯淀粉;(3)纤维素及其衍生物,如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和乙酸纤维素;(4)粉末黄蓍胶;(5)麦芽;(6)明胶;(7)滑石;(8)辅料,如可可脂和栓剂蜡;(9)花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和豆油等油类;(10)二醇,如丙二醇;(11)多元醇,如甘油、山梨糖醇、甘露醇和聚乙二醇;(12)酯类,如油酸乙酯和月桂酸乙酯;(13)琼脂;(14)缓冲剂,如氢氧化镁和氢氧化铝;(15)海藻酸;(16)无热原水;(17)等渗盐水;(18)林格溶液;(19)乙醇;(20)磷酸盐缓冲溶液;(21)药物制剂中使用的其他无毒相容物质。在某些实施方案中,本发明的药物组合物是无热原的,即当给予患者时不会引起显著的温度升高。

[0364] 术语“药学上可接受的盐”是指本发明化合物的相对无毒的无机和有机酸加成盐。这些盐可以在化合物的最终分离和纯化过程中原位制备,或者通过使纯化的化合物以其游离碱形式与合适的有机或无机酸分别反应并分离由此形成的盐制备。代表性的盐包括氢溴酸盐、盐酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、硝酸盐、乙酸盐、戊酸盐、油酸盐、棕榈酸盐、硬脂酸盐、月桂酸盐、苯甲酸盐、乳酸盐、磷酸盐、甲苯磺酸盐、柠檬酸盐、马来酸盐、富马酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、蔡二甲酸盐、甲磺酸盐、葡庚糖酸盐、乳糖酸盐和月桂基磺酸盐等。参见,例如,Berge等人(1977)“Pharmaceutical Salts”, J.Pharm.Sci. 66:1-19。

[0365] 在其他情况下,可用于本发明方法的化合物可含有一个或多个酸性官能团,因此能够与药学上可接受的碱形成药学上可接受的盐。在这些情况下,术语“药学上可接受的盐”是指本发明化合物的相对无毒的无机和有机碱加成盐。这些盐同样可以在化合物的最终分离和纯化过程中原位制备,或者通过使纯化的化合物以其游离酸形式与药学上可接受的金属阳离子的合适的碱例如氢氧化物、碳酸盐或碳酸氢盐、与氨、或与药学上可接受的有机伯、仲或叔胺分别反应来制备。代表性的碱金属或碱土金属盐包括锂盐、钠盐、钾盐、钙盐、镁盐和铝盐等。可用于形成碱加成盐的代表性有机胺包括乙胺、二乙胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌嗪等(参见,例如,Berge等,同上)。

[0366] 关于用于治疗的化合物的“治疗有效量”是指制剂中化合物的量,当作为所需剂量方案的一部分施用(至哺乳动物,优选人)时,根据待治疗疾病或病症或美容目的临幊上可接受的标准,例如以适用于任何医学治疗的合理利益/风险比,其缓解症状、改善病症或减

缓疾病状态的发作。

[0367] 术语“预防性或治疗性”治疗是本领域公知的，包括向宿主施用一种或多种主题组合物。如果在临床表现出不需要的病症(例如，宿主动物的疾病或其他不需要的状态)之前施用，则治疗是预防性的(即，它保护宿主免于发展不需要的病症)，而如果施用在表现出不需要的病症后，治疗是治疗性的(即，旨在减少、改善或稳定其存在的不需要的病症或副作用)。

[0368] 术语“自消除连接基”或“自降解连接基”是指通过化学键将两个或更多个分子连接在一起的临时的延伸物、间隔物或占位单元，所述化学键在限定条件下裂解以释放所述两个分子。自消除连接基的实例包括但不限于对氨基苄氧基羰基(PABC)、2,4-双(羟甲基)苯胺和4-(苯基亚甲基)苯胺。自消除或自降解连接基可以是线性的或分支的，并且可以将两个或更多个相同的分子连接在一起，或者可以将两个或更多个不同的分子连接在一起。自消除或自降解连接基可以在例如生理条件、酸性条件、碱性条件下或在特定化学试剂的存在下降解、分解或片段化。

[0369] 本发明中使用的药效团对于相应药物有效的通常目的是有效的，并且在某些实施方案中，由于叠氮基糖靶向部分固有的能力，将药物转运到具有特别有益的期望细胞具有优异的功效。

[0370] 用于本发明实施方案的优选治疗剂是细胞毒性药物，例如用于癌症治疗的那些。这些药物通常包括烷化剂、抗代谢物、抗肿瘤抗生素如蒽环霉素、拓扑异构酶抑制剂、有丝分裂抑制剂和皮质类固醇。

[0371] 本领域技术人员可以对所需化合物进行化学修饰，以使该化合物的反应更方便用于制备本发明的缀合物。

[0372] 在某些实施方案中，D是具有化学反应性官能团的药效团，通过该官能团，药效团与自降解连接基结合。在某些情况下，官能团选自伯胺、仲胺、羟基和巯基。在某些情况下，官能团是伯胺或仲胺。在某些情况下，官能团是羟基。

[0373] 如上所述，本发明的某些化合物可以以特定的几何或立体异构形式存在。本发明考虑所有这样的化合物，包括顺式和反式异构体、R-和S-对映体、非对映体、(D)-异构体、(L)-异构体、其外消旋混合物及其它混合物，其落入本发明的范围中。另外的不对称碳原子可以存在于取代基如烷基中。所有这些异构体及其混合物都意欲包括在本发明中。

[0374] 例如，如果需要本发明化合物的特定对映体，可以通过不对称合成或通过用手性助剂衍生来制备，其中分离所得的非对映体混合物并裂解辅助基团以提供纯的期望对映异构体。或者，当分子含有碱性官能团(如氨基)或酸性官能团(如羧基)时，用适当的光学活性酸或碱形成非对映体盐，然后通过本领域熟知的分步结晶或色谱方法拆分非对映异构体，并随后回收纯对映体。

[0375] 脂族链包括下面定义的烷基、烯基和炔基类。直链脂族链限于未支化的碳链部分。如本文所用，术语“脂族基团”是指直链、支链或环状脂族烃基，并且包括饱和和不饱和的脂族基团，例如烷基、烯基或炔基。

[0376] “烷基”是指完全饱和的环状或无环、支链或无支链的碳链部分，其具有指定的碳原子数，或者如果不进行说明，则最多30个碳原子。例如，1-8个碳原子的烷基是指诸如甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、庚基和辛基的部分，以及那些是这些部分的位置异构体的

部分。10至30个碳原子的烷基包括癸基、十一烷基、十二烷基、十三烷基、十四烷基、十五烷基、十六烷基、十七烷基、十八烷基、十九烷基、二十烷基、二十一烷基、二十二烷基、二十三烷基和二十四烷基。在某些实施方案中，直链或支链烷基在其主链中具有30个或更少的碳原子(例如，对于直链为C₁–C₃₀，对于支链为C₃–C₃₀)，并且更优选为20或更少。

[0377] “环烷基”是指单环或双环或桥连的饱和碳环，各自具有3至12个碳原子。同样，优选的环烷基在其环结构中具有5–12个碳原子，更优选在环结构中具有6–10个碳。

[0378] 除非另外说明碳原子数，否则本文所用的“低级烷基”是指如上所定义的烷基，但在其主链结构中具有1–10个碳原子，更优选1–6个碳原子，如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基和叔丁基。同样，“低级烯基”和“低级炔基”具有相似的链长。在整个申请中，优选的烷基是低级烷基。在某些实施方案中，本文中称为烷基的取代基是低级烷基。

[0379] “烯基”是指具有指定碳原子数的任何环状或非环状、支链或无支链不饱和碳链部分，或者如果不指定碳原子数限制则最多26个碳原子；并且在该部分中具有一个或多个双键。具有6至26个碳原子的烯基的例子有己烯基、庚烯基、辛烯基、壬烯基、癸烯基、十一烯基、十二烯基、十三烯基、十四烯基、十五烯基、十六烯基、十七烯基、十八烯基、十九烯基、二十烯基、二十一烯基、二十二烯基、二十三烯基和二十四烯基，它们的各种异构形式，其中不饱和键可以位于部分的任何位置，并且可以具有关于双键的(Z)或(E)构型。

[0380] “炔基”是指烯基范围内的烃基部分，但在该部分中具有一个或多个三键。

[0381] 术语“烷硫基”是指具有与其连接的硫部分的如上定义的烷基。在某些实施方案中，“烷硫基”部分由–(S)–烷基、–(S)–烯基、–(S)–炔基和–(S)–(CH₂)_m–R¹之一表示，其中，m和R¹定义如下。代表性的烷硫基包括甲硫基、乙硫基等。

[0382] 本文所用的术语“烷氧基(alkoxyl)”或“烷氧基(alkoxy)”是指具有与其连接的氧部分的如下定义的烷基。代表性的烷氧基包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、叔丁氧基等。“醚”是通过氧共价连接的两种烃。因此，使烷基成为醚的烷基的取代基是或类似于烷氧基，例如可以由–O–烷基、–O–烯基、–O–炔基、–O–(CH₂)_m–R¹之一代表，其中m和R¹如下所述。

[0383] 术语“胺”和“氨基”是本领域公认的并且是指未取代的和取代的胺，例如，可以由下式表示的部分：



[0385] 其中R³、R⁵和R⁶各自独立地代表氢、烷基、链烯基、–(CH₂)_m–R¹，或R³和R⁵与它们所连接的N原子一起完成在环结构中具有4–8个原子的杂环；R¹表示链烯基、芳基、环烷基、环烯基、杂环基或多环基；m为0或1至8范围内的整数。在某些实施方案中，R³或R⁵中仅一个可以是羰基，例如R³、R⁵和氮一起不形成酰亚胺。在甚至更具体的实施方案中，R³和R⁵(和任选的R⁶)各自独立地表示氢、烷基、链烯基或–(CH₂)_m–R¹。因此，本文所用的术语“烷基胺”是指如上定义的胺基，其上连接有取代或未取代的烷基，即R₃和R₅中的至少一个是烷基。在某些实施方案中，氨基或烷基胺是碱性的，意味着它具有pK_a>7.00的共轭酸，即这些官能团的质子化形式相对于水具有高于约7.00的pK_as。

[0386] 本文所用的术语“芳基”包括3–至12–元取代或未取代的单环芳族基团，其中环的每个原子是碳(即碳环芳基)或其中一个或多个原子是杂原子(即杂芳基)。优选地，芳基包

括5-至12-元环，更优选6-至10-元环。在某些实施方案中，芳基包括(C₆-C₁₀)芳基。术语“芳基”还包括具有两个或更多个环的多环系统，其中两个或更多个碳对于两个相邻的环是共同的，其中至少一个环是芳族的，例如，其他环可以是环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基和/或杂环基。碳环芳基包括苯、萘、菲、苯酚、苯胺等。杂芳基包括取代或未取代的芳族3-至12-元环结构，更优选5-至12-元环，更优选6-至10-元环，其环结构包括1-4个杂原子。在某些实施方案中，杂芳基包括(C₂-C₉)杂芳基。杂芳基包括例如吡咯、呋喃、噻吩、咪唑、噁唑、噻唑、三唑、吡唑、吡啶、吡嗪和嘧啶等。

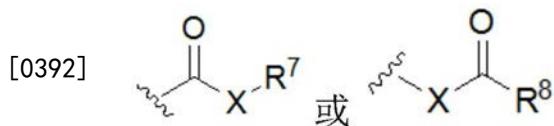
[0387] 术语“芳烷基”是本领域公认的并且是指被芳基取代的烷基。

[0388] 术语“杂芳烷基”是本领域公认的并且是指被杂芳基取代的烷基。

[0389] 术语“杂原子”是本领域公认的并且是指除碳或氢之外的任何元素的原子。示例性的杂原子包括硼、氮、氧、磷、硫和硒。

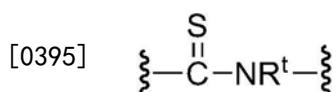
[0390] 术语“杂环基”或“杂环基团”是指3至12元环结构，更优选5-至12-元环，更优选6-至10-元环，其环结构包括1-4个杂原子。杂环也可以是多环。在某些实施方案中，杂环基包括(C₂-C₉)杂环基。杂环基包括例如噻吩、噻蒽、呋喃、吡喃、异苯并呋喃、色烯、咕吨、吩噁噻嗪、吡咯、咪唑、吡唑、异噻唑、异噁唑、吡啶、吡嗪、嘧啶、哒嗪、吲嗪、异吲哚、吲哚、吲唑、嘌呤、喹嗪、异喹啉、喹啉、酞嗪、萘啶、喹喔啉、喹唑啉、噌啉、蝶啶、咔唑、咔啉、菲啶、吖啶、嘧啶、菲咯啉、吩嗪、吩砒嗪、吩噻嗪、呋咱、吩噁嗪、吡咯烷、氧杂环戊烷、硫杂环戊烷、噁唑、哌啶、哌嗪、吗啉、内酯、内酰胺如氮杂环丁酮和吡咯烷酮、磺内酰胺、磺内酯等。杂环可以在一个或多个位置被如上所述的取代基取代，例如卤素、烷基、芳烷基、烯基、炔基、环烷基、羟基、氨基、硝基、巯基、亚氨基、酰氨基、磷酸酯、膦酸酯、次膦酸酯、羰基、羧基、甲硅烷基、氨基磺酰基、亚磺酰基、醚、烷硫基、磺酰基、酮、醛、酯、杂环基、芳族或杂芳族部分、-CF₃、-CN等。

[0391] 术语“羰基”是本领域公认的并且包括可以由下式表示的这样的部分：



[0393] 其中X是键或代表氧或硫，R⁷代表氢、烷基、烯基、-(CH₂)_m-R¹或药学上可接受的盐，R⁸代表氢、烷基、烯基或-(CH₂)_m-R¹，其中m和R¹如上所定义。当X是氧且R⁷或R⁸不是氢时，该式代表“酯”。当X是氧和R⁷如上所定义时，该部分在本文中称为羧基，特别是当R⁷是氢时，该式代表“羧酸”。当X是氧和R⁸是氢时，该式代表“甲酸酯”。通常，当上式的氧原子被硫取代时，该式代表“硫代羰基”基团。当X是硫且R⁷或R⁸不是氢时，该式代表“硫酯”基团。当X是硫且R⁷是氢时，该式代表“硫代羧酸”基团。当X是硫且R⁸是氢时，该式代表“硫代甲酸酯”基团。另一方面，当X是键且R⁷不是氢时，上式代表“酮”基团。当X是键且R⁷是氢时，上式代表“醛”基团。

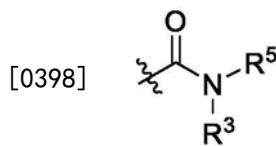
[0394] 如本文所用，术语“硫代酰胺”是指可由下式表示的部分：



[0396] 其中R^t选自氢、烷基、环烷基、芳烷基或芳基，优选地氢或烷基。此外，“硫代酰胺衍生的”化合物或“硫代酰胺类似物”是指其中一个或多个酰胺基团已被一个或多个相应的硫代酰胺基团取代的化合物。硫代酰胺在本领域中也称为“硫酰胺”。

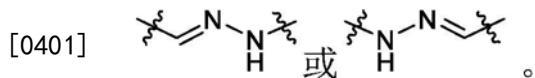
[0397] 术语“酰氨基”是本领域公认的氨基取代的羰基，并且包括可由下列通式表示的部

分：

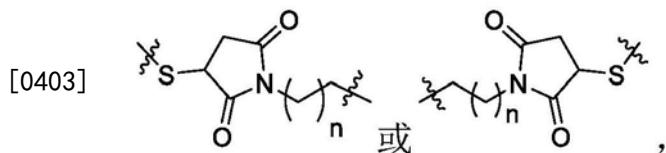


[0399] 其中R⁷和R⁸如上所定义。本发明中酰胺的某些实施方案不包括可能不稳定的酰亚胺。

[0400] 术语“亚肼基”是本领域公认的并且包括可以由下式表示的这样的部分：

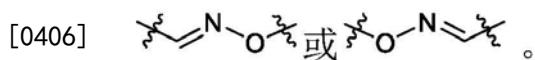


[0402] 术语“马来酰亚胺基”是本领域公认的并且包括可以由下式表示的这样的部分：



[0404] 其中n是1或2。

[0405] 术语“肟基”是本领域公认的并且包括可以由下式表示的这样的部分：



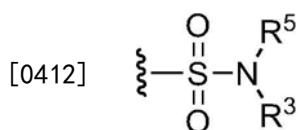
[0407] 如本文所用，术语“取代的”包括有机化合物的所有允许的取代基。在广义方面，允许的取代基包括有机化合物的无环和环状、支链和非支链、碳环和杂环、芳族和非芳族取代基。说明性的取代基包括例如上文所述的那些。对于合适的有机化合物，允许的取代基可以是一个或多个、相同或不同。出于本发明的目的，杂原子如氮可以具有氢取代基和/或满足杂原子的化合价的本文所述的有机化合物的任何允许的取代基。本发明不旨在以任何方式受有机化合物的允许取代基限制。应当理解，“取代”或“被……取代”包括隐含的条件，即这种取代符合被取代原子和取代基的允许化合价，并且取代产生稳定的化合物，例如，其不会自发地通过重新排列、环化、消除等进行转换。

[0408] 如本文所用，术语“硝基”表示-N₂O；术语“卤素”表示-F、-Cl、-Br或-I；

[0409] 术语“巯基”是指-SH；术语“羟基”表示-OH；术语“磺酰基”是指-SO₂-；术语“叠氮基”是指-N₃；术语“氰基”是指-CN；术语“异氰酸根合”是指-NC₀；术语“硫氰酸根”是指-SCN；术语“异硫氰酸根”是指-NCS；术语“氰氧基”表示-OCN。

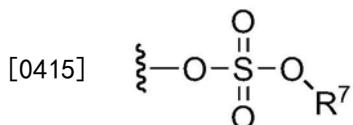
[0410] 术语“卤代烷基”是指本文所定义的至少一个卤素通过本文所定义的烷基与母体分子部分连接。卤代烷基的代表性实例包括但不限于氯甲基、2-氟乙基、三氟甲基、五氟乙基和2-氯-3-氟戊基。

[0411] 术语“氨磺酰基”是本领域公认的并且包括可以由下式表示的部分：



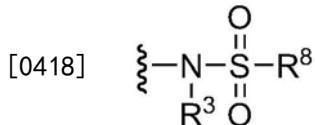
[0413] 其中R³和R⁵如上所定义。

[0414] 术语“硫酸盐”是本领域公认的并且包括可以由下式表示的部分：



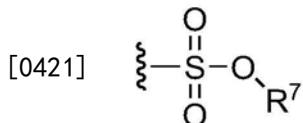
[0416] 其中R⁷如上所定义。

[0417] 术语“磺酰胺”是本领域公认的并且包括可以由下式表示的部分：



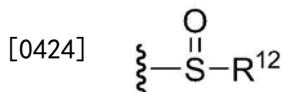
[0419] 其中R³和R⁸如上所定义。

[0420] 术语“磺酸盐”是本领域公认的并且包括可以由下式表示的部分：



[0422] 其中R⁷是电子对、氢、烷基、环烷基或芳基。

[0423] 如本文所用，术语“亚砜基”或“亚磺酰基”是指可由下式表示的部分：



[0425] 其中R¹²选自氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳烷基或芳基。

[0426] 如本文所用，每种表达的定义，例如烷基、m、n等，当其在任何结构中出现不止一次时，意图独立于其在相同结构中其他地方的定义。

[0427] 出于本发明的目的，化学元素根据CAS版Handbook of Chemistry and Physics第67版1986-87的内封面元素周期表进行鉴定。

[0428] 药物组合物

[0429] 还提供了药物组合物，其包含本发明化合物（例如，式I、II、IIa、III和IV中任一个的化合物）或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的赋形剂或载体。还提供了制备这种药物组合物的方法。该方法包括将本发明化合物或其药学上可接受的盐置于药学上可接受的赋形剂或载体中。

[0430] 本发明化合物和本发明药物组合物可用于治疗受试者的癌症。在某些实施方案中，将治疗有效量的本发明化合物或其药学上可接受的盐施用给有需要的受试者，从而治疗癌症。

[0431] 如本文所用，“抑制”或“阻止”意指与对照相比减少客观可测量的量或程度。在一个实施方案中，与对照相比，抑制或阻止手段降低至少统计学显著量。在一个实施方案中，与对照相比，抑制或阻止手段减少至少5%。在各种单独的实施方案中，与对照相比，抑制或阻止手段减少至少百分之10、15、20、25、30、33、40、50、60、67、70、75、80、90或95（%）。

[0432] 如本文所用，术语“治疗”和“处理”是指进行干预，其导致(a)预防可能有发展或倾向于患有该病症或疾病但是尚未被诊断为患有此病的受试者中的病症或疾病的发生；(b)抑制病症或疾病，例如减缓或阻止其发展；或(c)缓解或改善病症或疾病，例如导致病情或疾病消退。在一个实施方案中，术语“治疗”和“处理”是指进行干预，其导致(a)抑制病症或

疾病,例如减缓或阻止其发展;或(b)缓解或改善病症或疾病,例如导致病情或疾病消退。

[0433] 如本文所用,“受试者”是指活的哺乳动物。在各种实施方案中,受试者是非人哺乳动物,包括但不限于小鼠、大鼠、仓鼠、豚鼠、兔、绵羊、山羊、猫、狗、猪、马、牛或非人灵长类动物。在某些实施方案中,受试者是人。

[0434] 在某些实施方案中,受试者是人。

[0435] 如本文所用,“施用”具有其通常含义并且包括通过任何合适的施用途径施用,包括但不限于静脉内、肌肉内、腹膜内、鞘内、眼内(例如,玻璃体内)、皮下、直接注射(例如,进入肿瘤)、粘膜、吸入、口服和局部。

[0436] 在一个实施方案中,施用是静脉内的。

[0437] 在一个实施方案中,施用是口服。

[0438] 如本文所用,短语“有效量”是指足以实现期望生物效应的任何量。

[0439] 本发明化合物可以与其他治疗剂组合,或者可以与本发明的其他化合物组合使用。本发明化合物和其他治疗剂可以同时或依次施用。当同时施用其他治疗剂时,它们可以以相同或不同的制剂施用,但它们基本上同时施用。当其他治疗剂和本发明化合物的施用在时间上分开时,其他治疗剂彼此依次施用并与本发明化合物一起施用。施用这些化合物之间的时间间隔可以是几分钟或者可以更长。

[0440] 其他治疗剂的实例包括抗生素、抗病毒剂、抗炎剂、免疫抑制剂、抗心律失常剂、β阻滞剂、镇痛剂和抗癌剂。

[0441] 如上所述,“有效量”是指足以实现期望生物效应的任何量。结合本文提供的教导,通过选择各种活性化合物和加权因子如效力、相对生物利用度、患者体重、不良副作用的严重程度和优选的施用方式,可以计划有效的预防或治疗方案,其不会引起实质上不需要的毒性,但对治疗特定受试者却是有效的。任何特定应用的有效量可以根据诸如所治疗的疾病或病症、所施用的本发明的具体化合物、受试者的大小或疾病或病症的严重性等因素而变化。本领域普通技术人员可凭经验确定本发明的特定化合物和/或其他治疗剂的有效量,而无需过多的实验。有时优选使用最大剂量,即根据一些医学判断的最高安全剂量。可以考虑每天多次剂量以达到合适的全身水平的化合物。适当的全身水平可以通过例如测量患者的药物峰值或持续血浆水平来确定。“剂”和“剂量”在本文中可互换使用。

[0442] 通常,对于人类受试者,每日口服剂量的活性化合物将为约0.01毫克/千克/天至1000毫克/千克/天。预计口服剂量在0.5至50毫克/千克的范围内,每天一次或数次给药,将产生所需的结果。可根据给药方式适当调整剂量以达到所需的局部或全身药物水平。例如,预计静脉内给药将是每天一个至几个数量级的较低剂量。如果在这样的剂量下受试者的反应不充分,则可以在患者耐受性允许的范围内使用甚至更高的剂量(或通过不同的更局部的递送途径的有效更高剂量)。考虑每天多剂量以达到化合物的合适的全身水平。

[0443] 在一个实施方案中,静脉内施用本发明化合物通常可以为0.1mg/kg/天至20mg/kg/天。

[0444] 对于本文所述的任何化合物,治疗有效量可以最初由动物模型确定。治疗有效剂量还可以从已经在人体中测试的本发明化合物和已知具有相似药理活性的化合物(例如其他相关活性剂)的人体数据确定。肠胃外给药可能需要更高的剂量。可以基于所施用化合物的相对生物利用度和效力来调节施用的剂量。基于上述方法和本领域公知的其他方法调节

剂量以达到最大功效完全在普通技术人员的能力范围内。

[0445] 本发明的制剂可以在药学上可接受的溶液中施用,其可以常规地含有药学上可接受的浓度的盐、缓冲剂、防腐剂、相容的载体、佐剂和任选的其他治疗成分。

[0446] 为了用于治疗,可以通过将本发明化合物递送至期望位置或表面的任何方式将有效量的本发明化合物给予受试者。施用本发明的药物组合物可以通过本领域技术人员已知的任何方法完成。给药途径包括但不限于口服、静脉内、肌肉内、腹膜内、皮下、直接注射(例如,进入肿瘤或脓肿)、粘膜、吸入和局部。

[0447] 对于静脉内和其他肠胃外给药途径,该化合物可以配制成具有脱氧胆酸的冻干制剂、作为脂质体插入或包封的活性化合物的冻干制剂、作为水悬浮液中的脂质复合物、或作为胆固醇硫酸盐复合物。冻干制剂通常在给药前不久在合适的水溶液中重建,例如在无菌水或盐水中。

[0448] 对于口服给药,化合物(即,本发明化合物和其它治疗剂)可以通过将活性化合物与本领域熟知的药学上可接受的载体组合而容易地配制。这些载体能够将本发明化合物配制成片剂、丸剂、糖衣丸、胶囊、液体、凝胶、糖浆、浆液、悬浮液等,用于待治疗的受试者口服摄入。口服使用的药物制剂可以作为固体赋形剂获得,任选地研磨所得混合物,并且如果需要,在加入合适的助剂后加工颗粒混合物,以获得片剂或糖衣丸核心。合适的赋形剂特别地是填充剂,例如糖,包括乳糖、蔗糖、甘露糖醇或山梨糖醇;纤维素制剂,例如玉米淀粉、小麦淀粉、大米淀粉、马铃薯淀粉、明胶、黄蓍胶、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素钠和/或聚乙烯吡咯烷酮(PVP)。如果需要,可以加入崩解剂,例如交联聚乙烯吡咯烷酮、琼脂或海藻酸或其盐如海藻酸钠。任选地,口服制剂也可以配制在盐水或缓冲液例如EDTA中,用于中和内部酸性条件,或者可以在没有任何载体的情况下施用。

[0449] 还特别考虑的是上述组分或多种组分的口服剂型。可以化学改性一种或多种组分,使得衍生物的口服递送是有效的。通常,所考虑的化学修饰是至少一个部分与组分分子本身的连接,其中所述部分允许(a)抑制酸水解;和(b)从胃或肠吸收到血流中。还需要增加一种或多种组分的总体稳定性并增加体内循环时间。这些部分的实例包括:聚乙二醇、乙二醇和丙二醇的共聚物、羧甲基纤维素、葡聚糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮和聚脯氨酸。Abuchowski和Davis,“Soluble Polymer-Enzyme Adducts”,In:Enzymes as Drugs, Hocenberg和Roberts编辑,Wiley-Interscience,New York,NY,第367-383页(1981); Newmark等,J Appl Biochem 4:185-9(1982)。可以使用的其他聚合物是聚-1,3-二氧戊环和聚-1,3,6-二氧杂环戊烷。如上所述,优先用于药物用途的是聚乙二醇部分。

[0450] 对于组分(或衍生物),释放的位置可以是胃、小肠(十二指肠、空肠或回肠)或大肠。本领域技术人员可获得的制剂不溶解在胃中,但会将材料释放到十二指肠或肠中的其他地方。优选地,通过保护本发明化合物(或衍生物)或通过将生物活性物质释放到胃环境之外,例如在肠中,释放将避免胃环境的有害作用。

[0451] 为了确保完全的胃抗性,至少pH 5.0不可渗透的包衣是必要的。用作肠溶包衣的更常见的惰性成分的实例是偏苯三酸乙酸纤维素(CAT)、邻苯二甲酸羟丙基甲基纤维素(HPMCP)、HPMCP 50、HPMCP 55、聚醋酸乙烯邻苯二甲酸酯(PVAP)、Eudragit L30D、Aquateric、醋酸邻苯二甲酸纤维素(CAP)、Eudragit L、Eudragit S和虫胶。这些包衣可用作混合膜。

[0452] 包衣或包衣混合物也可用于片剂，其不用于保护胃。这可以包括糖衣或使片剂更容易吞咽的包衣。胶囊可以由硬壳（例如明胶）组成，用于递送干燥治疗剂（例如粉末）；对于液体形式，可以使用软明胶壳。扁囊的壳材料可以是厚淀粉或其他可食用纸。对于丸剂、锭剂、模制片剂或片剂研磨剂，可以使用湿成块技术。

[0453] 治疗剂可以作为粒径约1mm的颗粒或丸粒形式的细多颗粒包含在制剂中。用于胶囊给药的材料的配方也可以是粉末、轻微压缩的塞子甚至是片剂。可通过压缩制备治疗剂。

[0454] 可以包括着色剂和调味剂。例如，可以配制本发明的化合物（或衍生物）（例如通过脂质体或微球包封），然后进一步包含在可食用产品中，例如含有着色剂和调味剂的冷藏饮料中。

[0455] 可以用惰性材料稀释或增加治疗剂的体积。这些稀释剂可包括碳水化合物，尤其是甘露醇、 α -乳糖、无水乳糖、纤维素、蔗糖、改性葡聚糖和淀粉。某些无机盐也可用作填料，包括三磷酸钙、碳酸镁和氯化钠。一些市售稀释剂是Fast-Flo、Emdex、STA-Rx 1500、Emcompress和Avicell。

[0456] 崩解剂可以包含在治疗剂的制剂中成为固体剂型。用作崩解剂的材料包括但不限于淀粉，包括基于淀粉的商业崩解剂Explotab。可以使用羟基乙酸淀粉钠、Amberlite、羧甲基纤维素钠、超支链淀粉、海藻酸钠、明胶、橙皮、酸性羧甲基纤维素、天然海绵和膨润土。另一种形式的崩解剂是不溶性阳离子交换树脂。粉状胶可以用作崩解剂和粘合剂，这些可以包括粉末状胶，例如琼脂、Karaya或黄蓍胶。海藻酸及其钠盐也可用作崩解剂。

[0457] 粘合剂可用于将治疗剂保持在一起以形成硬片剂，并包括来自天然产物如阿拉伯胶、黄蓍胶、淀粉和明胶的物质。其他包括甲基纤维素（MC）、乙基纤维素（EC）和羧甲基纤维素（CMC）。聚乙烯吡咯烷酮（PVP）和羟丙基甲基纤维素（HPMC）均可用于醇溶液中以使治疗剂颗粒化。

[0458] 抗微生物剂可以包含在治疗剂的制剂中，以防止在配制过程中发生粘连。润滑剂可以用作治疗剂和模具壁之间的层，并且这些可以包括但不限于；硬脂酸包括其镁和钙盐、聚四氟乙烯（PTFE）、液体石蜡、植物油和蜡。还可以使用可溶性润滑剂，例如十二烷基硫酸钠、十二烷基硫酸镁、各种分子量的聚乙二醇、Carbowax 4000和6000。

[0459] 可以添加可在配制期间改善药物流动性质并有助于在压缩期间重排的助流剂。助流剂可包括淀粉、滑石、热解二氧化硅和水合硅铝酸盐。

[0460] 为了有助于将治疗剂溶解在水性环境中，可以加入表面活性剂作为润湿剂。表面活性剂可包括阴离子洗涤剂，例如十二烷基硫酸钠、二辛基碘基琥珀酸钠和二辛基碘酸钠。可以使用的阳离子洗涤剂可以包括苯扎氯铵和苄索氯铵。可作为表面活性剂包含在制剂中的潜在非离子型洗涤剂包括聚桂醇400，聚乙二醇40硬脂酸酯，聚氧乙烯氢化蓖麻油10、50和60，甘油单硬脂酸酯，聚山梨醇酯40、60、65和80，蔗糖脂肪酸酯，甲基纤维素和羧甲基纤维素。这些表面活性剂可以单独存在于本发明化合物或衍生物的制剂中，或者以不同比例的混合物存在。

[0461] 可口服使用的药物制剂包括由明胶制成的推入式胶囊，以及由明胶和增塑剂如甘油或山梨糖醇制成的软密封胶囊。推入式胶囊可含有活性成分与填充剂（如乳糖）、粘合剂（如淀粉）和/或润滑剂（如滑石粉或硬脂酸镁）和任选的稳定剂混合。在软胶囊中，活性化合

物可以溶解或悬浮在合适的液体中,例如脂肪油、液体石蜡或液体聚乙二醇。此外,可以添加稳定剂。也可以使用配制用于口服给药的微球。这种微球在本领域中已得到很好的定义。用于口服给药的所有制剂应该是适合于这种给药的剂量。

[0462] 对于口腔给药,组合物可以采用以常规方式配制的片剂或锭剂的形式。

[0463] 对于通过吸入给药,根据本发明使用的化合物可以从加压包或雾化器递送的气溶胶喷雾形式方便地递送,这使用合适的推进剂,例如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其他合适的气体在加压气雾剂的情况下,剂量单位可以通过提供递送计量量的阀来确定。可以配制用于吸入器或吹入器的例如明胶的胶囊和药筒,其含有化合物和合适的粉末基质如乳糖或淀粉的粉末混合物。

[0464] 本文还考虑了本发明化合物(或其衍生物)的肺部递送。将本发明化合物(或衍生物)在吸入时递送至哺乳动物的肺部,并穿过肺上皮衬里至血流。吸入分子的其他报道包括Adjei等,Pharm Res 7:565-569(1990);Adjei等,Int J Pharmaceutics 63:135-144(1990)(醋酸亮丙瑞林);Braquet等,J Cardiovasc Pharmacol 13(suppl.5):143-146(1989)(内皮素-1);Hubbard等,Annal Int Med3:206-212(1989)(α 1-抗胰蛋白酶);Smith等,1989,J Clin Invest 84:1145-1146(α -1-蛋白酶);Oswein等,1990,“Aerosolization of Proteins”,Proceedings of Symposium on Respiratory Drug Delivery II,Keystone,Colorado,March,(重组人生长激素);Debs等,1988,J Immunol 140:3482-3488(干扰素- γ 和肿瘤坏死因子 α)和Platz等,美国专利5,284,656(粒细胞集落刺激因子)。用于全身作用的药物的肺部递送的方法和组合物描述于1995年9月19日授予Wong等人的美国专利5,451,569。

[0465] 考虑用于本发明的实践的是设计用于肺部递送治疗产品的各种机械装置,包括但不限于雾化器、计量吸入器和粉末吸入器,所有这些都是本领域技术人员熟悉的。

[0466] 适用于实施本发明的市售装置的一些具体实例是Ultravent雾化器,由Mallinckrodt,Inc.,St.Louis,MO制造;Acorn II雾化器,由Marquest Medical Products,Englewood,Colo制造;Ventolin计量吸入器,由Glaxo Inc.,Research Triangle Park,North Carolina制造;和Spinhaler粉末吸入器,由Fisons Corp.,Bedford,Mass制造。

[0467] 所有这些装置都需要使用适合于分配本发明化合物(或衍生物)的制剂。通常,每种制剂对所用装置的类型是特异性的,并且除了可用于治疗的常用稀释剂、佐剂和/或载体外,还可包括使用适当的推进剂材料。此外,考虑使用脂质体、微胶囊或微球、包含复合物或其他类型的载体。根据化学改性的类型或所用装置的类型,本发明的化学改性的化合物也可以以不同的配方制备。

[0468] 适合与喷射型或超声波型雾化器一起使用的制剂通常包含溶解在水中的本发明化合物(或衍生物),其浓度为每毫升溶液约0.1至25mg本发明的生物活性化合物。制剂还可包括缓冲剂和单糖(例如,用于本发明化合物的稳定和渗透压调节)。雾化器制剂还可含有表面活性剂,以减少或防止由形成气溶胶时溶液的雾化引起的本发明化合物的表面诱导的聚集。

[0469] 与计量吸入器装置一起使用的制剂通常包含细碎粉末,其含有借助于表面活性剂悬浮在推进剂中的本发明化合物(或衍生物)。推进剂可以是用于此目的的任何常规材料,例如氯氟烃、氢氯氟烃、氢氟烃或烃,包括三氯氟甲烷、二氯二氟甲烷、二氯四氟乙醇和1,1,

1,2-四氟乙烷,或其组合。合适的表面活性剂包括脱水山梨糖醇三油酸酯和大豆卵磷脂。油酸也可用作表面活性剂。

[0470] 用于从粉末吸入器装置分配的制剂将包含含有本发明化合物(或衍生物)的细碎干粉,并且还可包含促进粉末从装置分散的量的填充剂,例如乳糖、山梨糖醇、蔗糖或甘露糖醇,例如,制剂的50-90重量%。本发明的化合物(或衍生物)应有利地以颗粒形式制备,具有小于10微米(μm)的平均粒径,对于最有效地递送到深肺,最优选0.5至5 μm 。

[0471] 还考虑了鼻内递送本发明的药物组合物。鼻内递送允许在将治疗产品施用于鼻子后直接将本发明的药物组合物送至血流,而不需要将产品沉积在肺中。用于鼻腔递送的制剂包括具有葡聚糖或环葡聚糖的制剂。

[0472] 对于鼻腔给药,有用的装置是小的计量剂量雾化器附着在其上的硬瓶。在一个实施方案中,通过将本发明的药物组合物溶液吸入限定体积的腔室中来递送计量剂量,该腔室具有尺寸用于雾化的孔径和当腔室中的液体被压缩时形成喷雾的气溶胶制剂。压缩腔室以施用本发明的药物组合物。在一个具体实施方案中,腔室是活塞装置。这种装置是可商购的。

[0473] 或者,使用具有孔或开口的塑料挤压瓶,其尺寸使得在挤压时通过形成喷雾使气溶胶制剂雾化。开口通常位于瓶子的顶部,并且顶部通常是锥形的,以部分地配合在鼻腔通道中,以有效地施用气溶胶制剂。优选地,鼻吸入器将提供计量量的气溶胶制剂,用于施用测量剂量的药物。

[0474] 当需要全身递送时,化合物可以配制用于通过注射,例如通过推注或连续输注进行肠胃外给药。用于注射的制剂可以以单位剂量型存在,例如在安瓿或多剂量容器中,并添加防腐剂。该组合物可以采取诸如油性或水性载体中的悬浮液、溶液或乳液的形式,并且可以含有配制剂,例如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂。

[0475] 用于肠胃外给药的药物制剂包括水溶形式的活性化合物的水溶液。另外,活性化合物的悬浮液可以制备成适当的油性注射悬浮液。合适的亲脂性溶剂或载体包括脂肪油,例如芝麻油,或合成脂肪酸酯,例如油酸乙酯或甘油三酯,或脂质体。水性注射悬浮液可含有增加悬浮液粘度的物质,例如羧甲基纤维素钠、山梨糖醇或葡聚糖。任选地,悬浮液还可含有合适的稳定剂或增加化合物溶解度的试剂,以制备高浓度溶液。

[0476] 或者,活性化合物可以是粉末形式,用于在使用前用合适的载体(例如无菌无热原水)构建。

[0477] 所述化合物还可以配制成直肠或阴道组合物,例如栓剂或保留灌肠剂,例如含有常规栓剂基质如可可脂或其他甘油酯。

[0478] 除了上述制剂之外,化合物还可以配制成长效制剂。这种长效制剂可以用合适的聚合或疏水材料(例如作为可接受油中的乳液)或离子交换树脂配制,或配制成微溶衍生物,例如微溶盐。

[0479] 药物组合物还可包含合适的固体或凝胶相载体或赋形剂。此类载体或赋形剂的实例包括但不限于碳酸钙、磷酸钙、各种糖、淀粉、纤维素衍生物、明胶和聚合物如聚乙二醇。

[0480] 合适的液体或固体药物制剂形式是例如用于吸入的水性或盐水溶液、微囊化的、包埋的、涂覆在微观金颗粒上、包含在脂质体中、雾化、气溶胶、用于植入皮肤的小丸、或干燥到尖锐物体上以被刮进皮肤中。药物组合物还包括颗粒、粉末、片剂、包衣片剂、(微)胶

囊、栓剂、糖浆、乳液、悬浮液、乳膏、滴剂或具有活性化合物延长释放的制剂，在其制备中赋形剂和添加剂和/或助剂如崩解剂、粘合剂、包衣剂、溶胀剂、润滑剂、调味剂、甜味剂或增溶剂通常如上所述使用。该药物组合物适用于各种药物递送系统。关于药物递送方法的简要综述，参见Langer R, Science 249:1527-33(1990)，其通过引用并入本文。

[0481] 本发明化合物和任选的其它治疗剂可以本身(纯)或以药学上可接受的盐的形式给药。当在药物中使用时，盐应该是药学上可接受的，但非药学上可接受的盐可以方便地用于制备其药学上可接受的盐。这些盐包括但不限于由以下酸制备的盐：盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸、马来酸、乙酸、水杨酸、对甲苯磺酸、酒石酸、柠檬酸、甲磺酸、甲酸、丙二酸、琥珀酸、萘-2-磺酸和苯磺酸。而且，这些盐可以作为碱金属盐或碱土金属盐制备，例如羧酸基团的钠盐、钾盐或钙盐。

[0482] 合适的缓冲剂包括：乙酸和盐(1-2% w/v)；柠檬酸和盐(1-3% w/v)；硼酸和盐(0.5-2.5% w/v)；和磷酸和盐(0.8-2% w/v)。合适的防腐剂包括苯扎氯铵(0.003-0.03% w/v)；氯丁醇(0.3-0.9% w/v)；对羟基苯甲酸酯(0.01-0.25% w/v)和硫柳汞(0.004-0.02% w/v)。

[0483] 本发明的药物组合物含有有效量的本发明化合物和任选包含在药学上可接受的载体中的治疗剂。术语“药学上可接受的载体”是指一种或多种相容的固体或液体填充剂、稀释剂或包封物质，其适于施用于人或其他脊椎动物。术语“载体”表示天然或合成的有机或无机成分，活性成分与其结合以促进应用。药物组合物的组分也能够与本发明化合物混合，并且能够以不会显著损害所需药物效率的相互作用的方式相互混合。

[0484] 治疗剂，具体包括但不限于本发明化合物，可以以颗粒形式提供。本文所用的颗粒是指纳米颗粒或微粒(或在一些情况下为较大的颗粒)，其可以全部或部分组成本发明化合物或本文所述的其他治疗剂。颗粒可以在被包衣包围的核心中含有治疗剂，包括但不限于肠溶包衣。治疗剂也可以分散在整个颗粒中。治疗剂也可以吸附到颗粒中。颗粒可以具有任何有序释放动力学，包括零级释放、一级释放、二级释放、延迟释放、持续释放、立即释放以及它们的任何组合等。除了治疗剂之外，颗粒还可以包括药学和药物领域中常规使用的任何那些材料，包括但不限于可侵蚀、不可侵蚀、可生物降解或不可生物降解的材料或其组合。颗粒可以是微胶囊，其含有溶液或半固态的本发明化合物。颗粒实际上可以是任何形状。

[0485] 非生物可降解和可生物降解的聚合物材料均可用于制造用于递送治疗剂的颗粒。这些聚合物可以是天然或合成聚合物。基于期望释放的时间段选择聚合物。特别感兴趣的生物粘附聚合物包括Sawhney H S等人(1993) Macromolecules 26:581-7描述的可生物侵蚀的水凝胶，将其教导并入本文。这些包括聚透明质酸、酪蛋白、明胶、明胶蛋白、聚酐、聚丙烯酸、藻酸盐、壳聚糖、聚(甲基丙烯酸甲酯)、聚(甲基丙烯酸乙酯)、聚(甲基丙烯酸丁酯)、聚(甲基丙烯酸异丁酯)、聚(甲基丙烯酸己酯)、聚(甲基丙烯酸异癸酯)、聚(甲基丙烯酸月桂酯)、聚(甲基丙烯酸苯酯)、聚(丙烯酸甲酯)、聚(丙烯酸异丙酯)、聚(丙烯酸异丁酯)、和聚(丙烯酸十八烷基酯)。

[0486] 治疗剂可以包含在控释系统中。术语“控制释放”旨在表示任何含药物的制剂，其中控制从制剂中释放药物的方式和特征。这是指立即释放制剂以及非立即释放制剂，非立即释放制剂包括但不限于持续释放和延迟释放制剂。术语“持续释放”(也称为“延长释放”)

以其常规意义使用,是指在延长的时间段内提供药物逐渐释放的药物制剂,并且优选地,尽管不一定,在延长的时间内导致药物的血液水平基本恒定。术语“延迟释放”以其常规意义使用,是指其中制剂给药和药物从其释放之间存在时间延迟的药物制剂。“延迟释放”可能涉及或可能不涉及在延长的时间段内逐渐释放药物,因此可能是或可能不是“持续释放”。

[0487] 长期持续释放植入物的使用可特别适用于治疗慢性病症。如本文所用,“长期”释放意指植入物被构建和布置成递送治疗水平的活性成分至少7天,优选30-60天。长期持续释放植入物是本领域普通技术人员所熟知的,并且包括一些上述释放系统。

[0488] 相关领域的普通技术人员将理解,鉴于本领域普通技术人员已知的信息,从本文所述的本发明的描述中容易明白对本文所述的组合物和方法的其它合适的修改和改变,并且可以在不脱离本发明或其任何实施方案的范围的情况下进行。

[0489] 实施例

[0490] 现在已经详细描述了本发明,通过参考以下实施例将更清楚地理解本发明,这些实施例仅出于说明的目的而包括在本文中,并不意图限制本发明。

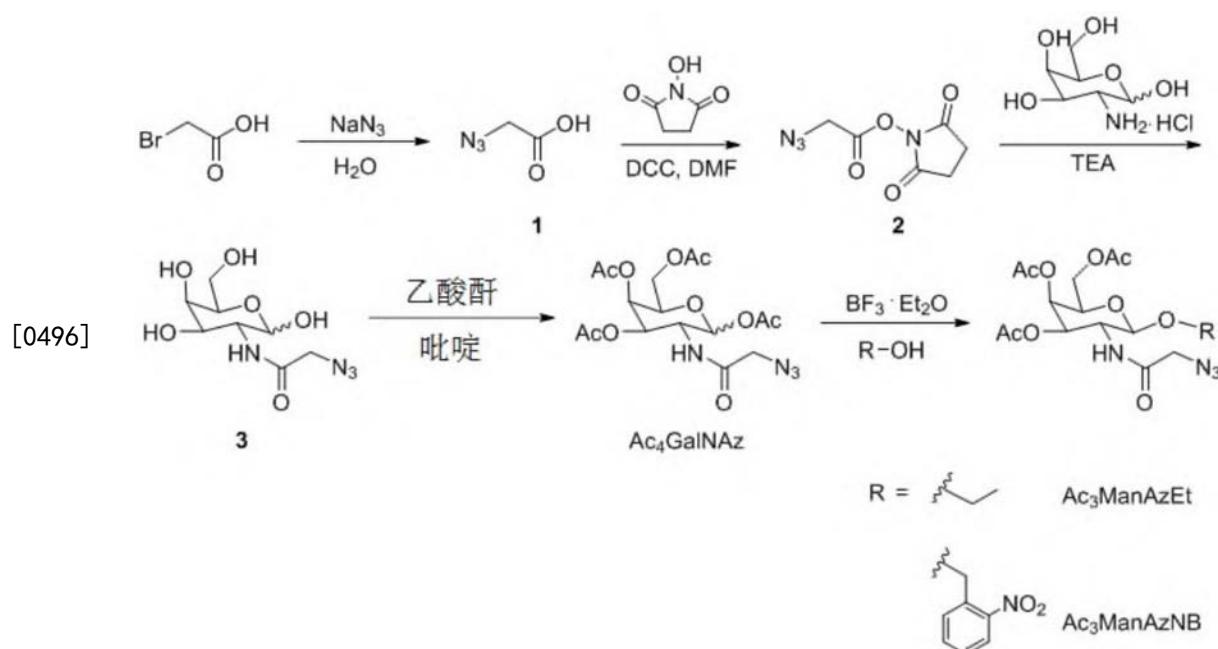
[0491] 材料.

[0492] 除非另有说明,否则购买化学品并按原样使用。无水二甲基甲酰胺(DMF)用装有4 \AA 分子筛的柱进行干燥。四氢呋喃(THF)用填充有氧化铝的柱进行干燥。根据文献报道合成Dox-VC-NH₂¹⁶、Pt-COOH¹⁷。DBCO-TEG-NHS、DBCO-TEG-NH₂、sμLfo-DBCO-TEG-NH₂、DBCO-NH₂购自Click Chemistry Tools。MAL-PEG_{5k}-SCM、Py-SS-PEG_{5k}-CONHS购自Laysan Bio Inc.。HPLC级0.1%TFA-H₂O和乙腈购自Fisher Scientific Company LLC(Hanover Park, IL, USA)。所有其他化学品购自Sigma-Aldrich(St.Louis, MO, USA)。

[0493] 仪器.

[0494] HPLC分析通过连接PDA检测器(SPD-M20A)的岛津制作所LC系统(LC-20AT)进行。Phenomenex Kinetex Ph-hexyl柱(5 μm , 100mm×4.6mm)用于分析。梯度法使用0.1%TFA-H₂O和乙腈(ACN)作为流动相。

[0495] 实施例1.Ac₄Ga1NAz衍生物的合成



[0497] 2-叠氮基乙酸(1)的合成.将溴乙酸(2.78g, 20mmol)溶于去离子水(30mL)中,然后加入叠氮化钠(2.60g, 40mmol)。将混合物在室温下搅拌24小时。使用盐酸溶液将所得溶液调节至pH=1,然后用乙醚萃取三次(100mL×3)。收集有机相,用无水硫酸钠干燥,浓缩,得到无色油状物(80%收率,1.62g)。

[0498] 合成N-(2-叠氮基乙酰)琥珀酰亚胺(2).将N,N'-二环己基碳二亚胺(DCC, 2.06g, 10mmol)和1(1.01g, 10mmol)溶解在无水DMF中,然后加入N-羟基琥珀酰亚胺(1.15g, 10mmol)。将混合物在室温下搅拌24小时。除去沉淀物后,除去溶剂,得到黄色固体。粗产物用二氯甲烷/己烷重结晶,得到白色固体(70%收率,1.39g)。¹H NMR (CDCl₃, 500MHz) : δ 84.25 (s, 2H, N₃CH₂), 2.88 (s, 4H, CH₂CH₂)。¹³C NMR (CDCl₃, 500MHz) : 168.7, 164.4, 48.2, 25.8. LRMS (ESI) m/z: C₆H₇N₄O₄ [M+H]⁺计算值为199.0, 实测值为199.0。

[0499] Ac₄Ga1NAz (AAG) 的合成.将D-半乳糖胺盐酸盐(539mg, 2.5mmol)和三乙胺(253mg, 2.5mmol)溶解在甲醇(40mL)中,然后加入2(545mg, 2.75mmol)。将混合物在室温下搅拌24小时。减压除去溶剂,将残余物重新溶解在吡啶中。加入乙酸酐(10mL)并将反应混合物在室温下再搅拌24小时。除去溶剂后,粗产物通过硅胶柱色谱法纯化,用乙酸乙酯/己烷(1/1, v/v)作为洗脱剂,得到白色固体(45%收率,484.5mg)。LRMS (ESI) m/z: C₁₆H₂₂N₄O₁₀Na [M+Na]⁺计算值为453.1, 实测值为453.1。

[0500] Ac₃Ga1NAzEt (AAG-Et) 的合成.将Ac₄Ga1NAz (43mg, 0.1mmol) 和无水乙醇(14mg, 0.3mmol)溶解在无水DCM(1.5mL)中并用氮气吹扫10分钟。通过注射器加入三氟化硼醚合物(71mg, 0.5mmol)。将混合物在黑暗中在室温下搅拌过夜。然后加入DCM(30mL), 溶液分别用饱和碳酸氢钠溶液洗涤两次(10mL×2)和用去离子水洗涤两次(10mL×2)。收集有机相,用无水硫酸钠干燥,浓缩,得到黄色油状物。通过硅胶柱色谱法纯化粗产物,使用乙酸乙酯/己烷(1/1, v/v)作为洗脱剂,得到白色固体(30%收率,12.5mg)。LRMS (ESI) m/z: C₁₆H₂₅N₄O₉ [M+H]⁺计算值为417.2, 实测值为417.2。

[0501] Ac₃Ga1NAzNb (AAG-Nb) 的合成.将Ac₄Ga1NAz (43mg, 0.1mmol) 和2-硝基苄醇(30mg, 0.2mmol)溶解在无水DCM(1.5mL)中并用氮气吹扫10分钟。通过注射器加入三氟化硼醚合物(70.9mg, 0.5mmol)。将混合物在室温下在氮气氛下搅拌过夜。然后加入DCM(30mL), 溶液分别用饱和碳酸氢钠溶液洗涤两次(10mL×2)和用去离子水洗涤两次(10mL×2)。收集有机相,用无水硫酸钠干燥并浓缩,得到棕色油状物。将粗产物通过硅胶柱色谱法纯化,用乙酸乙酯/己烷(1/1, v/v)作为洗脱剂,得到浅红色固体(25%收率,13.0mg)。LRMS (ESI) m/z: C₂₁H₂₅N₅O₁₁Na [M+Na]⁺计算值为546.2, 实测值为546.2。

[0502] 实施例2.细胞标记中Ac₄Ga1NAz衍生物的研究

[0503] 为了证明通过形成糖昔(醚)键修饰Ac₄Ga1NAz (AAG) 的C1位点是否会阻断代谢标记过程,制备了具有醚键封闭C1位置的1-O-乙基-3,4,6-三乙酰基-N-叠氮基乙酰半乳糖胺(Ac₃Ga1NAzEt, AAG-Et) (图2, 小图a)。评估了HepG2(肝癌)、Jurkat(淋巴瘤)和MDA-MB-231(三阴性乳腺癌)细胞中AAG衍生物的标记效率。将这些细胞分别与Ac₄Ga1NAz (AAG)、Ac₃Ga1NAzEt (AAG-Et) 和PBS一起温育3天。通过点击反应,通过DBCO-Cy5 (25μM, 50分钟) 检测细胞表面膜上的叠氮基糖含量,并通过流式细胞术分析(图2, 小图c)。如图2小图c所示,AAG可以在72小时内有效地标记所有三种细胞系。细胞表面上的强Cy5荧光表明叠氮基的成功表达。与阴性PBS(磷酸盐缓冲盐水)对照相比,AAG-Et显示可忽略的标记。也就是说,AAG-

Et处理显示细胞表面上的Cy5荧光可忽略不计。这些数据证明AAG-Et不能用叠氮基代谢标记癌细胞。

[0504] 为了进一步证明C1位点的糖苷键是阻断代谢标记过程的原因，并且该键断裂以暴露1-OH可以重新激活标记过程，合成了在C1位置具有紫外(UV)-可切割的2-硝基苄基的1-(2-硝基苄基)-3,4,6-三乙酰基-N-叠氮基乙酰基半乳糖胺($\text{Ac}_3\text{GalNAzNb}$, AAG-Nb) (图2, 小图b)。将HepG2(肝癌)、Jurkat(淋巴瘤)和MDA-MB-231(三阴性乳腺癌)细胞与AAG-Nb一起温育3天，并通过DBCO-Cy5检测细胞表面叠氮基(25 μM , 50分钟)。在没有UV照射的情况下，用AAG-Nb处理的这些细胞在细胞表面上显示出可忽略的Cy5荧光，进一步证明了C1位点化学修饰的阻断作用(图2, 小图c)。相比之下，可以切割AAG-Nb的2-硝基苄基并释放三乙酰基-N-乙酰基半乳糖胺的紫外线处理(15分钟, 10mW/cm²) (图2, 小图b)显著增加了糖的细胞标记，并显示显著增强的Cy5荧光。结果清楚地表明，具有醚键的N-乙酰半乳糖胺的异头(1'-位)修饰可以有效地阻断其在各种癌细胞中的代谢。

[0505] 已知，由于存在细胞受体如脱唾液酸糖蛋白受体(ASGPR)，半乳糖胺可优先被肝细胞(一种肝脏细胞)吸收。四乙酰基-N-叠氮基乙酰半乳糖胺(AAG)是相对疏水的并且可以通过与脂质细胞膜的疏水相互作用被动地扩散到细胞中，而N-叠氮基乙酰半乳糖胺(AG)太亲水而不能通过被动扩散渗透脂质屏障。因此，AG只能通过受体介导的内吞作用被细胞摄取。测试HepG2(肝细胞癌)细胞中的AG标记，并与其他肝外细胞系比较，包括Jurkat和MDA-MB-231(图3, 小图b)。虽然AAG和四乙酰基-N-叠氮基乙酰甘露糖胺(AAM)有效地标记了所有三种细胞系，但只有HepG2细胞被AG阳性标记。结果表明，N-乙酰半乳糖胺(AG)可以选择性地标记来自肝脏的癌细胞，而四乙酰基-N-乙酰基半乳糖胺(AAG)对不同的癌细胞没有选择性。

[0506] 通过各种技术进一步表征HepG2细胞中的AG标记。HepG2细胞上的AG标记显示是浓度依赖性的。随着AG浓度从25 μM 增加至200 μM ，HepG2细胞中的AG标记显著增加(图4, 小图a)。SDS-PAGE进一步证实细胞表面膜蛋白确实含有叠氮基，并且荧光信号来自叠氮基糖标记的糖蛋白而不是非特异性吸附(图4, 小图b)。共聚焦显微镜显示AG标记主要定位于细胞膜上(图4, 小图c)。MTT测定显示AG在高达200 μM 浓度下对HepG2细胞无毒性，表明AG可以是靶向细胞标记的安全试剂(图5)。

[0507] 叠氮基糖标记细胞的流式细胞术分析的一般程序。将细胞以40k/孔的细胞密度接种在6孔板中的盖玻片上。加入AAG或AAG衍生物并与细胞一起温育72小时。在脱除培养基和多个洗涤步骤后，加入opti-MEM中的DBCO-Cy5(25 μM)，并在37°C下与细胞一起温育1小时。然后除去opti-MEM，用PBS洗涤细胞三次。细胞通过用胰蛋白酶溶液(100 μL)在37°C下温育5分钟而解除，并转移至加入4%PFA溶液(0.4mL)的试管中。通过流式细胞术分析每个样品一万个细胞，并在FCS Express软件上进行数据分析。

[0508] AAG-Nb介导的受控细胞标记。将HepG2(肝癌)、Jurkat(淋巴瘤)或MDA-MB-231(三阴性乳腺癌)细胞以40k/孔的细胞密度接种在6孔板中的盖玻片上。加入终浓度为50 μM 的AAG-Nb。在温育开始时施加UV光(10mW/m²) 15分钟，并将细胞进一步温育72小时。将没有UV照射的细胞连续培养72小时。然后按照上述方法制备用于流式细胞术的细胞样品。

[0509] 叠氮基糖标记细胞的共焦成像的一般程序。将细胞以40k/孔的细胞密度接种在6孔板中的盖玻片上。以50 μM 的最终浓度加入 Ac_3GalNAz (AAG)或AAG衍生物，将细胞在37°C下

温育72小时。除去培养基并用PBS洗涤三次。然后加入Opti-MEM中的DBCO-Cy5 (25 μ M), 将细胞再温育1小时。然后除去培养基, 用PBS洗涤细胞三次。加入4%多聚甲醛(PFA)溶液以固定细胞10分钟, 然后用Hoechst (1 μ g/mL) 染色细胞核并用细胞膜橙色(5 μ g/mL)染色细胞膜10分钟。将盖玻片安装在显微镜载玻片上, 加入ProLong Gold抗褪色试剂, 将制备的样品储存在黑暗中进行成像。

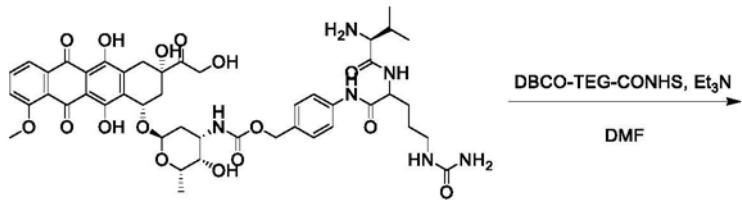
[0510] 用叠氮基糖处理的细胞的SDS-PAGE分析. 将HepG2肝癌细胞以40k/孔的细胞密度接种到6孔板上。加入不同浓度的不同叠氮基糖并与细胞一起温育72小时。在脱除培养基和多个洗涤步骤后, 加入opti-MEM中的DBCO-Cy5 (25 μ M), 并在37℃下与细胞一起温育1小时。然后除去opti-MEM, 用PBS洗涤细胞三次。将细胞在含有蛋白酶抑制剂的150 μ L裂解缓冲液(RIPA)中匀浆。将裂解物在4℃温育30分钟, 然后以5000rcf离心5分钟以除去不溶性碎片。通过二辛可宁酸(BCA)测定法测定每个样品中可溶性蛋白质的总浓度, 并调节至相同浓度。将4×上样缓冲液加入到每个样品, 并在95℃加热后将含有20 μ g蛋白质的15 μ L样品装载到10% SDS-PAGE凝胶上。凝胶在150V下运行60分钟。通过Imagequant LAS 4010发光图像分析仪对Cy-5荧光成像, 并且通过考马斯蓝进一步染色凝胶。

[0511] MTT细胞活力测定. 将HepG2肝癌细胞以40k/孔的细胞密度接种在6孔板中的盖玻片上。不同叠氮基糖(AG、AAG和AAM)在不同浓度(50 μ M–200 μ M)下加入, 并将细胞在37℃下培养72小时。除去培养基。然后加入20 μ L的3-(4,5-二甲基-2-噻唑基)-2,5-二苯基-2H-四唑溴化物(MTT)(PBS中5mg/mL)并在37℃培养4小时。MTT是提供响应可存活线粒体的比色信号的底物。在由100 μ l DMSO溶解后, 使用读板器测定570nm处吸光度。

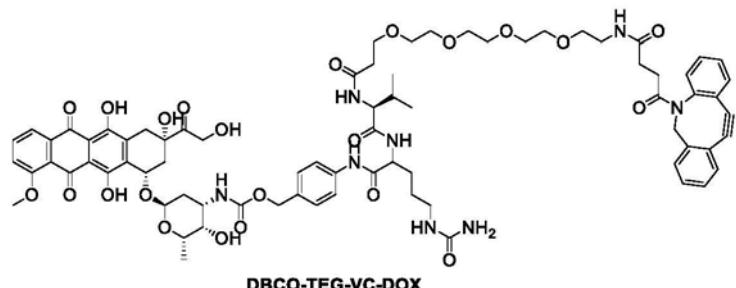
[0512] 实施例3. 替代性自降解连接基的研究

[0513] 在证明受控标记策略后, 目的是将其应用于体内癌症标记和靶向。由于UV因为其组织穿透性差和对健康组织的潜在损害而在体内不是一个实际的触发器, 因此开发了对内部癌症特异性触发器如氧化还原失调、氧化剂水平升高和过表达的酶有反应的Ac₃Ga1NAz衍生物是重要的。然而, 与可以直接将2-硝基苄基糖苷键切割成羟基的UV照射不同, 这些触发器不能直接切割糖苷键, 因此需要加入自降解连接基, 其最终可以在触发器诱导的保护基团切割之后释放羟基。两种常规的自降解连接基CL1和CL2已广泛用于前药设计(图6, 小图a)。除去保护基后, CL1可迅速除去CO₂分子, 露出羟基。然而, CL1含有碳酸酯键, 其易被细胞酯酶降解, 因此不适用于该设计。在除去保护基团后, CL2可以快速释放苯酚结构作为良好的离去基团。考虑到具有未掩蔽的1-OH的糖化合物可能是良好的离去基团, 我们设计了具有与CL2类似结构的PL1(图6, 小图b)并将其掺入过氧化氢(H₂O₂)反应性Ac₃Ga1NAzHB中。然而, 即使保护基团容易被H₂O₂除去, Ac₃Ga1NAzHB也不能释放Ac₃ManAzOH。PL2被设计为具有与PL1的α-碳连接的另外的苯基, 这是基于这样的假设, 即大大稳定的降解产物将促进自降解连接基的切割(图6, 小图c)。

[0514] 实施例4. DBCO-TEG-VC-DOX的合成

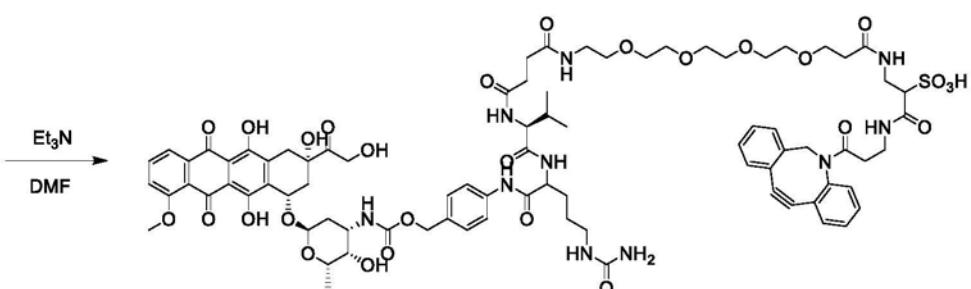
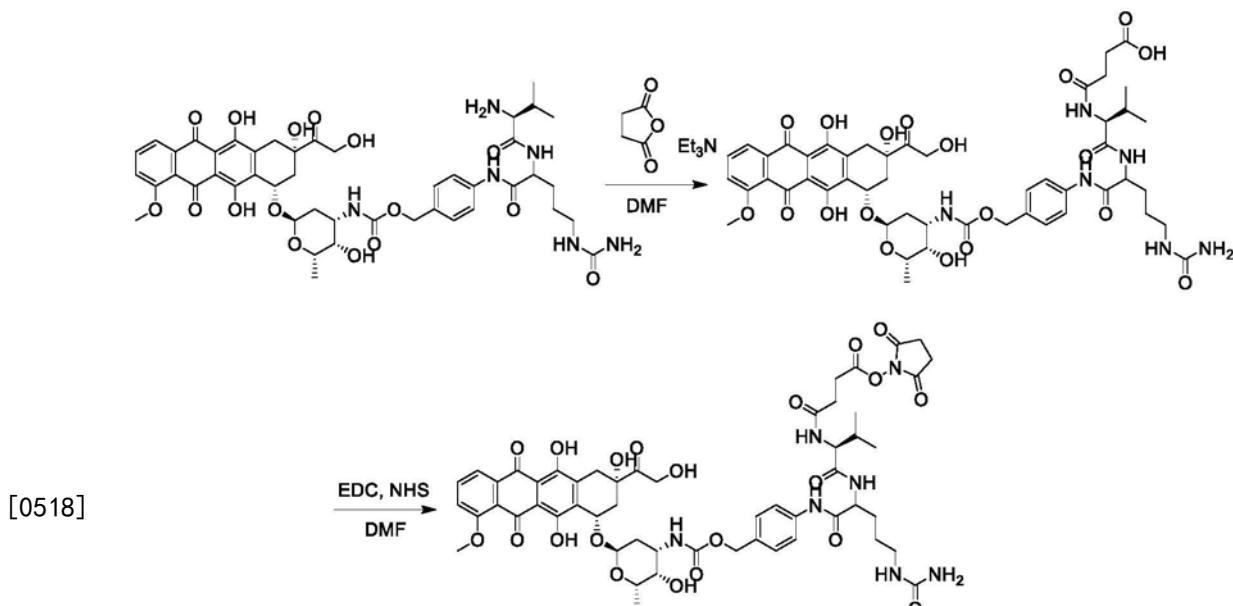


[0515]



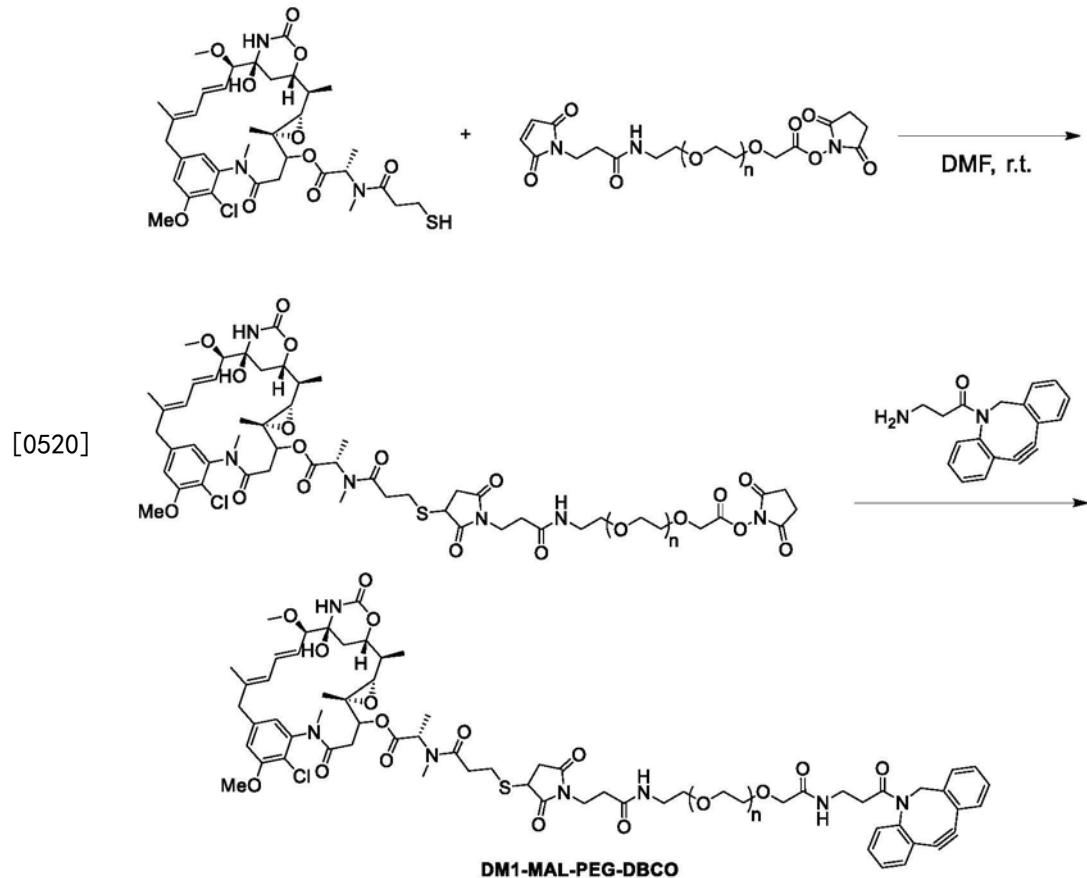
[0516] 将Dox-VC-NH₂(58mg,1.0当量)、DBCO-TEG-NHS(38mg,1.0当量)和三甲胺(9.8μL,1.2当量)在无水DMF(1mL)中混合并在室温下搅拌。通过HPLC监测反应，并在6小时内完成。加入8μL三氟乙酸以淬灭反应，并将混合物直接进行二氧化硅柱(DCM:MeOH 5:1)，得到红色粉末作为产物(68mg,收率75%)。ESI-MS:C₇₆H₉₁N₈O₂₃⁺计算值:1483.6,实测值:1483.5。

[0517] 实施例5.碘基-DBCO-TEG-VC-DOX的合成



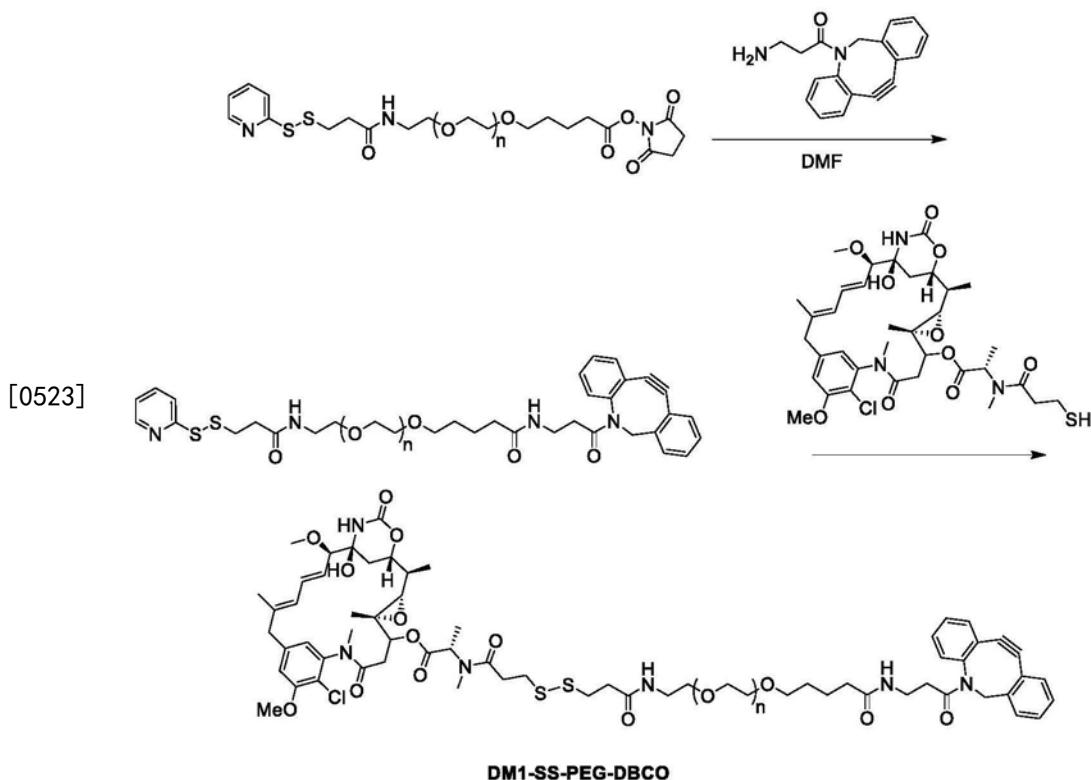
[0519] 将Dox-VC-NH₂(51mg,0.054mmol,1.0当量)、琥珀酸酐(5.9mg,0.059mmol,1.1当

量)和三甲胺(9.0 μ L, 0.065mmol, 1.2当量)在室温下在无水DMF(1mL)中混合并搅拌过夜。然后加入盐酸N-(3-二甲氨基丙基)-N'-乙基碳二亚酰胺(15.5毫克, 0.081毫摩尔, 1.5当量)和N-羟基琥珀酰亚胺(9.3毫克, 0.081毫摩尔, 1.5当量), 并将反应在室温下搅拌过夜。将溶液在13mL 0.1M HCl(水溶液)中沉淀, 通过离心收集沉淀物。将固体用15mL 0.1M HCl(水溶液)洗涤两次并用15mL H₂O洗涤一次, 干燥为纯的Dox-VC-CONHS(41mg, 0.036mmol)。在将Dox-VC-CONHS与碘基-DBCO-NH₂(29mg, 0.043mmol, 1.2当量)在DMF(800 μ L)中混合后, 加入三甲胺(6 μ L, 0.043mmol, 1.0当量)。溶液变为深紫色, 将反应物搅拌过夜。然后将澄清溶液在10mL异丙醇中沉淀, 通过离心收集沉淀物。将固体在DMF(600 μ L)重新溶解并沉淀在异丙醇两次, 在H₂O中冻干后得到红色粉末(40毫克, 产率66%)。ESI-HRMS: C₈₂H₁₀₁N₁₀O₂₈S⁺的计算值为1705.6507, 实测值: 1705.6470。



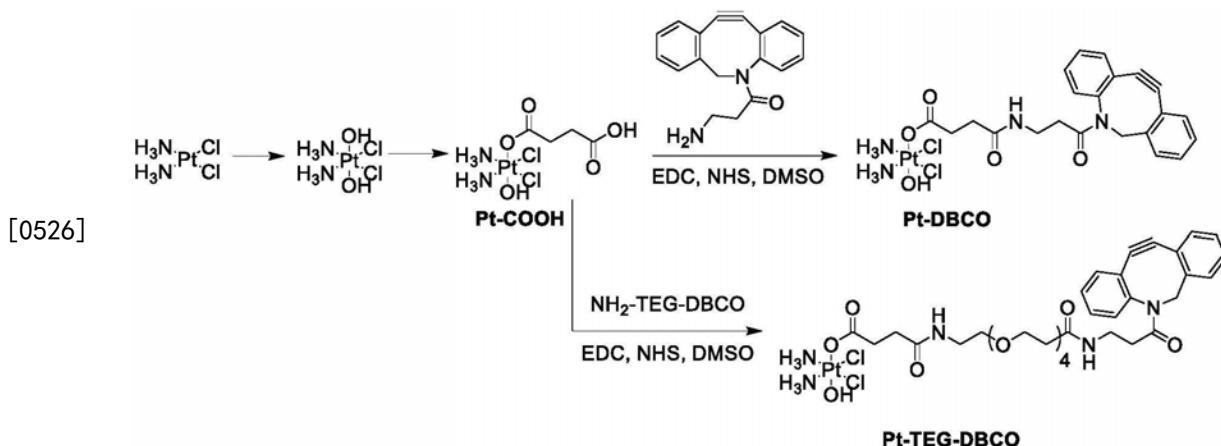
[0521] 实施例6.DM1-MAL-PEG-DBCO的合成

[0522] 将MAL-PEG_{5K}-SCM(119毫克, 0.024毫摩尔, 1.0当量)在加热至40℃时溶解于无水DMF中。将溶液冷却至室温, 然后加入DM-1(18mg, 0.025mmol, 1.05当量)。在4小时内完成反应后, 加入DBCO-NH₂(7mg, 0.025mmol, 1.05当量)并将溶液在室温下搅拌过夜。然后使用乙腈(ACN)/H₂O-TFA(25%-75% ACN梯度法)对混合物进行RP-HPLC(Ph-hex相)纯化, 得到灰白色粉末作为产物(53mg, 收率32%)。



[0524] 实施例7. DM1-MAL-PEG-DBCO的合成

[0525] 将Py-SS-PEG_{5k}-CONHS (196mg, 0.40mmol, 1.0当量) 和DBCO-NH₂ (11.6mg, 0.42mmol, 1.05当量) 在无水DMF (1mL) 中混合30分钟。然后将溶液与DM1 (29.5mg, 0.040mmol, 1.0当量) 在400μL DMF中混合。将溶液搅拌15分钟, 通过HPLC显示反应完成。然后使用乙腈 (ACN) / H₂O-TFA (25%–75% ACN梯度法) 对混合物进行RP-HPLC (Ph-hex相) 纯化, 得到灰白色粉末作为产物 (113mg, 收率50%)。



[0527] 实施例8. Pt-DBCO的合成

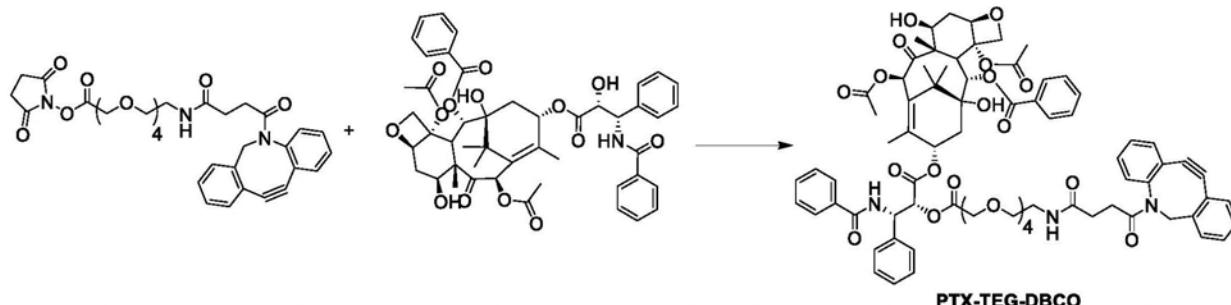
[0528] 将Pt-COOH (21.5毫克, 0.05毫摩尔, 1.0当量) 、盐酸N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二酰胺 (8.5毫克, 0.055毫摩尔, 1.1当量) 和N-羟基琥珀酰胺 (6.5毫克, 0.055毫摩尔, 1.1当量) 在无水DMSO (300μL) 中混合。Pt-COOH在1小时内逐渐溶解, 加入DBCO-NH₂的DMSO溶液 (14.5mg, 0.053mmol, 1.05当量), 将反应物搅拌过夜。然后将反应混合物用0.1% TFA-H₂O稀释, 并使用乙腈 (ACN) / H₂O-TFA (25%–75% ACN梯度方法) 进行RP-HPLC (Ph-hex相) 纯化,

得到淡黄色粉末作为产物(9mg,收率26%)。ESI-HRMS: $C_{22}H_{26}Cl_2N_4O_5Pt^+$ 的计算值:691.0928,实测值:691.0917

[0529] 实施例9.Pt-TEG-DBCO的合成

[0530] 将Pt-COOH(87毫克,0.2毫摩尔,1.0当量)、盐酸N-(3-二甲氨基丙基)-N'-乙基碳二酰胺(37毫克,0.24毫摩尔,1.2当量)和N-羟基琥珀酰胺(28毫克,0.24毫摩尔,1.2当量)在无水DMSO(2mL)中混合。Pt-COOH在1小时内逐渐溶解,并将溶液再搅拌4小时。加入DBCO-TEG-NH₂(115mg,0.22mmol,1.1当量)的DMSO溶液(1mL),并通过HPLC监测反应在10分钟内完成。然后将反应混合物用0.1%TFA-H₂O稀释,并使用乙腈(ACN)/H₂O-TFA(25%-75%ACN梯度方法)进行RP-HPLC(Ph-hex相)纯化,得到淡白色粉末作为产物(92mg,收率49%)。ESI-HRMS: $C_{33}H_{48}Cl_2N_5O_{10}Pt^+$ 的计算值:939.2426,实测值:939.2419。

[0531]



[0532] 实施例10.PTX-TEG-DBCO的合成

[0533] 将DBCO-TEG-NHS(162mg,0.25mmol,1.0当量)、紫杉醇(213mg,0.25mmol,1.0当量)、N,N-二甲氨基吡啶(30mg,0.25mmol,1.0当量)在亚甲基氯中混合并在室温下搅拌过夜。然后使用乙腈(ACN)/H₂O-TFA(25%-75%ACN梯度法)对混合物进行RP-HPLC(Ph-hex相)纯化,得到灰白色粉末作为产物(131mg,收率38%)。ESI-HRMS: $C_{79}H_{90}N_3O_{22}^+$ 的计算值为1432.6010。实测值:1432.6003。

[0534] 实施例11.DBCO-多柔比星缀合物

[0535] MTT试验评估体外细胞毒性.

[0536] 遵循标准MTT方案以评估DBCO-药物缀合物的细胞毒性。简而言之,将MDA-MB-231细胞以3000个细胞/孔接种在96孔板中的100μL DMEM培养基中并使其附着过夜。将10μL的DBCO-药物缀合物溶液加入到孔中至指定的终浓度,并在37℃下温育72小时。PBS作为100%对照。将20μL的5mg/mL MTT溶液加入到培养基中,并在37℃温育3小时。然后将培养基小心去除,将紫色晶体溶解于100μL DMSO中,并在λ_{abs}=570nm下通过吸收进行定量。

[0537] 用组织蛋白酶-B响应性肽连接基(VC)合成两种DBCO-多柔比星缀合物。加入四甘醇单元以改善缀合物的溶解度(图7)。还制备了含磺酸的缀合物磺基-DBCO-TEG-VC-DOX以进一步改善缀合物的溶解度。通过反相高效液相色谱(RP-HPLC)(图8)和质谱验证缀合物的纯度和特性。首先测试两种缀合物的溶解度。发现磺基-DBCO-TEG-VC-DOX可以容易地溶解在磷酸盐缓冲盐水(PBS)中多至8-10mg/mL。相反,DBCO-TEG-VC-DOX在PBS中的溶解度低于50μM,在DMSO-吐温80-PBS(5-10-85)制剂中的溶解度为~3.5mg/mL。

[0538] 还在CD-1小鼠中评估了两种缀合物的最大耐受剂量(MTD)(图9)。在单次注射中测试游离多柔比星(dox或DOX)的MTD为20mg/kg(<20%体重减轻)。在第1、3和5天使用DMSO-吐

温80-PBS (5-10-85) 制剂注射DBCO-TEG-VC-DOX, 剂量为34、68mg/kg (分别为37.5、75mg/kg) 等效累积dox剂量)。在CD-1小鼠中未观察到显著的体重减轻, 表明MTD高于204mg/kg。使用PBS注射磺基-DBCO-TEG-VC-DOX, 仅施用一次。在研究中使用的最大可行剂量下未观察到体重减少, 表明MTD高于120mg/kg (37.5mg/kg当量Dox剂量)。

[0539] 实施例12.DBCO-N2'-去乙酰-N2'-(3-巯基-1-酮代丙基)-美登素(mertansine)(DM1)缀合物

[0540] N2'-去乙酰-N2'-(3-巯基-1-酮代丙基)-美登素(DM1,图10)是微管蛋白聚合的有效抑制剂,并且是一种非常有效的细胞毒性试剂,在各种乳腺癌细胞系中体外IC₅₀值低至数十pM。¹²DM1的母体药物美登素(图10)已在癌症治疗的I期和II期临床试验中得到广泛评估,但由于严重的毒性和低效的治疗指数而停止使用。¹³最近,DM1已被用作在抗体-药物缀合物中的细胞毒试剂并且用药物T-DM1(曲妥珠单抗emtansine,商品名Kadcyla®,图10)治疗HER2+乳腺癌取得了巨大的成功。曲妥珠单抗的(Her2抗体)靶向能力与DM1的细胞毒性杀伤作用的结合使得T-DM1成为Her2过表达乳腺癌的有效治疗药物,副作用最小。与T-DM1类似,提出了将ATTACK标记的靶向能力与DBCO-DM1缀合物的细胞毒性杀伤相结合,作为用于抗癌治疗的第一种靶向小分子N2'-去乙酰-N2'-(3-巯基-1-酮代丙基)-美登素药物。

[0541] 然后通过完善的化学方法合成DBCO-DM1缀合物(图11)。在设计中使用聚乙二醇5000以达到以下目的:1.改善缀合物的水溶性;2.增加药物缀合物的亲水性,使得可以降低其在非叠氮化物标记细胞中的被动摄取;3.在体内增加分子的血液循环半衰期(药代动力学)。在DM1-MAL-PEG-DBCO中使用与T-DM1相同的不可切割的硫醚连接基,而在DM1-SS-PEG-DBCO中使用可还原切割的二硫键以确保在细胞内化时释放游离的DM1。通过RP-HPLC(图12)和MALDI-TOF(图13)验证缀合物的纯度和特性。两种缀合物的溶解度均显示为大于10mg/mL PBS。

[0542] 通过MTT测定评估DM1-MAL-PEG-DBCO的细胞毒性(图14)。DM1-MAL-PEG-DBCO在MDA-MB-231乳腺癌细胞中的IC₅₀约为60nM,比亲本DM1(~0.03nM)高一千倍,表明前药结构可以显著降低DM1的毒性而细胞毒性杀伤仍然有效。

[0543] 还在小鼠中评估了两种缀合物的最大耐受剂量(MTD)(图15)。将DM1-MAL-PEG_{5k}-DBCO溶解在PBS中,并在第1、5和9天以不同剂量静脉注射到雌性裸鼠中。在CD-1小鼠中未观察到显著的体重减轻,表明MTD约为10mg/kg。使用PBS注射DM1-SS-PEG-DBCO,在CD-1小鼠中仅施用一次。在研究中使用的最高剂量(80mg/kg)下未观察到体重减轻,表明MTD高于80mg/kg。

[0544] 实施例13.DBCO-铂缀合物

[0545] 制备两种DBCO-铂缀合物,DBCO-Pt和DBCO-TEG-Pt。已知Pt(IV)缀合物在细胞摄取后通过细胞内还原酶还原为Pt(II)-顺铂。¹⁴将四甘醇单元结合在DBCO-TEG-Pt中以改善缀合物中的溶解度(图16)。通过反相高效液相色谱(RP-HPLC)(图16)和质谱验证缀合物的纯度和特性。

[0546] 通过MTT测定在非小细胞肺癌(A549)中评估DBCO-TEG-Pt的细胞毒性(图17)。DBCO-TEG-Pt的IC₅₀为10μM,而亲本顺铂的IC₅₀为5μM。还在CD-1小鼠中评估了DBCO-TEG-Pt的最大耐受剂量(MTD)(图18)。将DBCO-TEG-Pt溶解在DMSO-吐温80-PBS(5-10-85)制剂中用于静脉内注射,并将顺铂直接溶解在PBS中用于注射。顺铂的MTD第0天单次注射约为5mg/

kg,而DBCO-TEG-Pt的MTD约为40mg/kg(12.8mg/kg当量顺铂)。

[0547] 实施例14.DBCO-紫杉醇缀合物

[0548] 紫杉烷类药物已被广泛用于治疗各种癌症患者并且是临床使用中最重要的化学药物之一。对于乳腺癌治疗,紫杉烷类被推荐用于术前/辅助组合,以及复发/转移性乳腺癌的单药治疗。¹⁵临床使用的紫杉烷类包括紫杉醇和多西他赛。与许多化学药物相似,紫杉烷类药物显示出优异的抗肿瘤效果,而严重的副作用则禁止其在单一和联合方案中进一步使用。因此,非常需要在保持治疗功效的同时改善紫杉烷的毒理学特征的新技术,具有巨大的市场潜力。一个成功的例子是Nab-紫杉醇(Abraxane®,使用白蛋白的紫杉醇纳米制剂),预计2017年的年销售量为10亿。

[0549] 通过公认的反应制备模型DBCO-紫杉醇缀合物PTX-TEG-DBCO。(图19)。通过RP-HPLC和ESI-MS验证缀合物的纯度和特性(图19)。可以将PTX-TEG-DBCO溶解在DMSO-吐温80-PBS(5-10-85)制剂中用于静脉内注射。初步MTD研究(图19)表明PTX-TEG-DBCO的MTD高于200mg/kg(124mg/kg当量PTX)。总之,药物缀合物的高MTD(高于制剂中的最大可行剂量)表明前药具有良好的生物相容性。

[0550] 引用的参考文献

[0551] 1.Brandley,B.K.&Schnaar,R.L.Cell-surface carbohydrates in cell recognition and response.Journal of Leukocyte Biology 40,97-111(1986)。

[0552] 2.Stoolman,L.M.&Rosen,S.D.Possible role for cell-surface carbohydrate-binding molecules in lymphocyte recirculation.The Journal of cell biology 96,722-729(1983)。

[0553] 3.Dabelsteen,E.Cell surface carbohydrates as prognostic markers in human carcinomas.The Journal of pathology 179,358-369(1996)。

[0554] 4.Gorelik,E.,Galili,U.&Raz,A.On the role of cell surface carbohydrates and their binding proteins(lectins) in tumor metastasis.Cancer and Metastasis Reviews 20,245-277(2001)。

[0555] 5.Fukuda,M.Possible roles of tumor-associated carbohydrate antigens.Cancer research 56,2237-2244(1996)。

[0556] 6.Prescher,J.A.,Dube,D.H.&Bertozzi,C.R.Chemical remodelling of cell surfaces in living animals.Nature 430,873-877(2004)。

[0557] 7.Laughlin,S.T.&Bertozzi,C.R.Metabolic labeling of glycans with azido sugars and subsequent glycan-profiling and visualization via Staudinger ligation.Nature protocols 2,2930-2944(2007)。

[0558] 8.Saxon,E.et al.Investigating cellular metabolism of synthetic azidosugars with the Staudinger ligation.Journal of the American Chemical Society 124,14893-14902(2002)。

[0559] 9.Laughlin,S.T.,Baskin,J.M.,Amacher,S.L.&Bertozzi,C.R.In vivo imaging of membrane-associated glycans in developing zebrafish.Science 320,664-667(2008)。

[0560] 10.Chang,P.V.et al.Metabolic labeling of sialic acids in living

animals with alkynyl sugars. *Angewandte Chemie International Edition* 48, 4030–4033 (2009)。

[0561] 11. Breidenbach, M.A. et al. Targeted metabolic labeling of yeast N-glycans with unnatural sugars. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107, 3988–3993 (2010)。

[0562] 12. Lambert, J.M.; Chari, R.V. "Ado-trastuzumab Emtansine (T-DM1) : an antibody-drug conjugate (ADC) for HER2-positive breast cancer". *J. Med. Chem.* 2014, 57, 6949–6964.

[0563] 13. Issell, B.F.; Crooke, S.T. "Maytansine". *Cancer Treat. Rev.* 1978, 5, 199–207.

[0564] 14. Zheng, Y.R.; Suntharalingam, K.; Johnstone, T.C.; Yoo, H.; Lin, W.; Brooks, J.G.; Lippard, S.J. "Pt (IV) prodrugs designed to bind non-covalently to human serum albumin for drug delivery". *J Am Chem Soc* 2014, 136, 8790–8798.

[0565] 15. "NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines) – Breast Cancer". 2017.

[0566] 16. Wang, H.; Wang, R.; Cai, K.; He, H.; Liu, Y.; Yen, J.; Wang, Z.; Xu, M.; Sun, Y.; Zhou, X.; Yin, Q.; Tang, L.; Dobrucki, I.T.; Dobrucki, L.W.; Chaney, E.J.; Boppart, S.A.; Fan, T.M.; Lezmi, S.; Chen, X.; Yin, L.; Cheng, J. "Selective in vivo metabolic cell-labeling-mediated cancer targeting". *Nat. Chem. Biol.* 2017, 13, 415–424.

[0567] 17. Dhar, S.; Daniel, W.L.; Giljohann, D.A.; Mirkin, C.A.; Lippard, S.J. "Polyvalent Oligonucleotide Gold Nanoparticle Conjugates as Delivery Vehicles for Platinum (IV) Warheads". *J. Am. Chem. Soc.* 2009, 131, 14652.

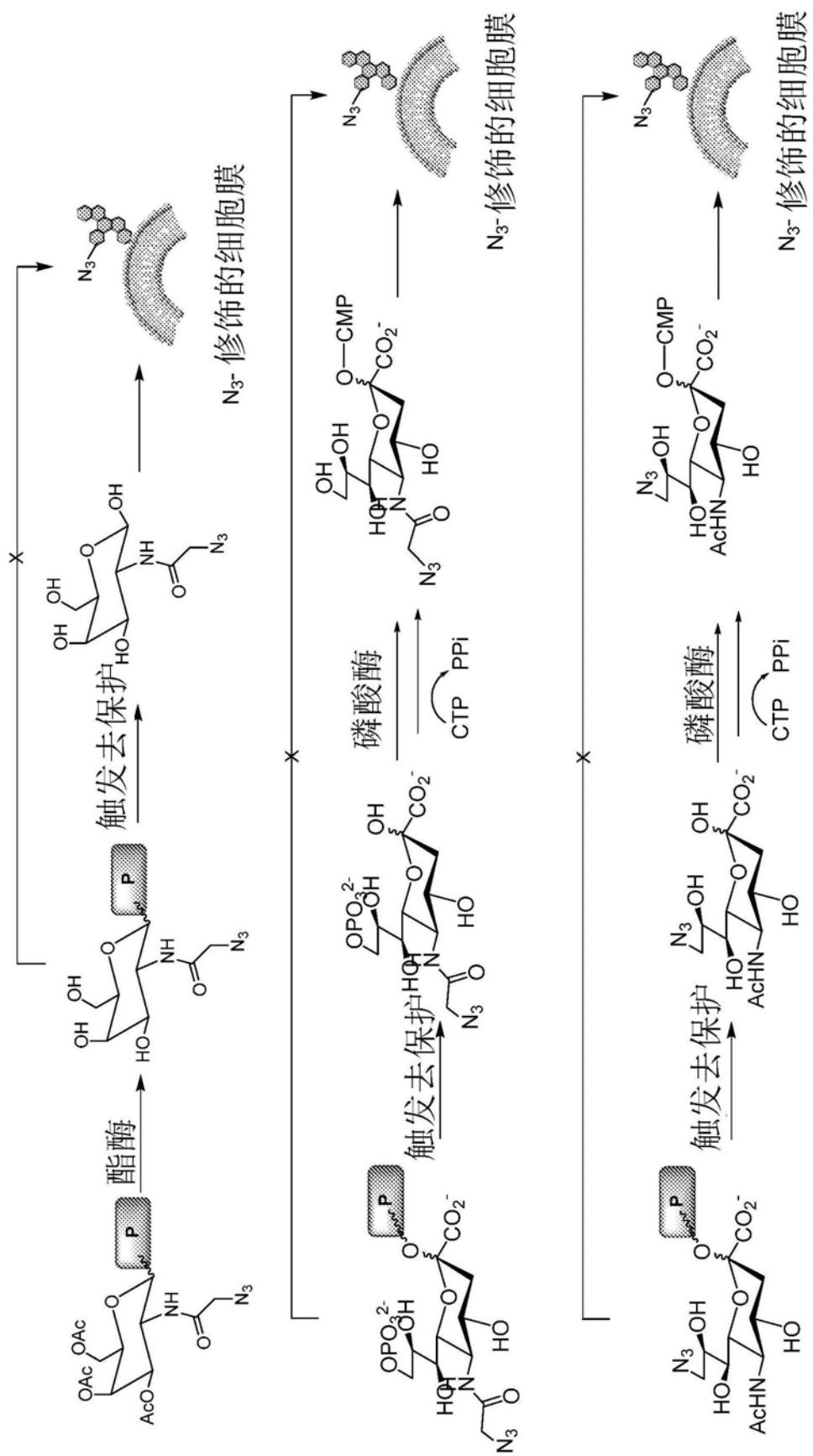


图1

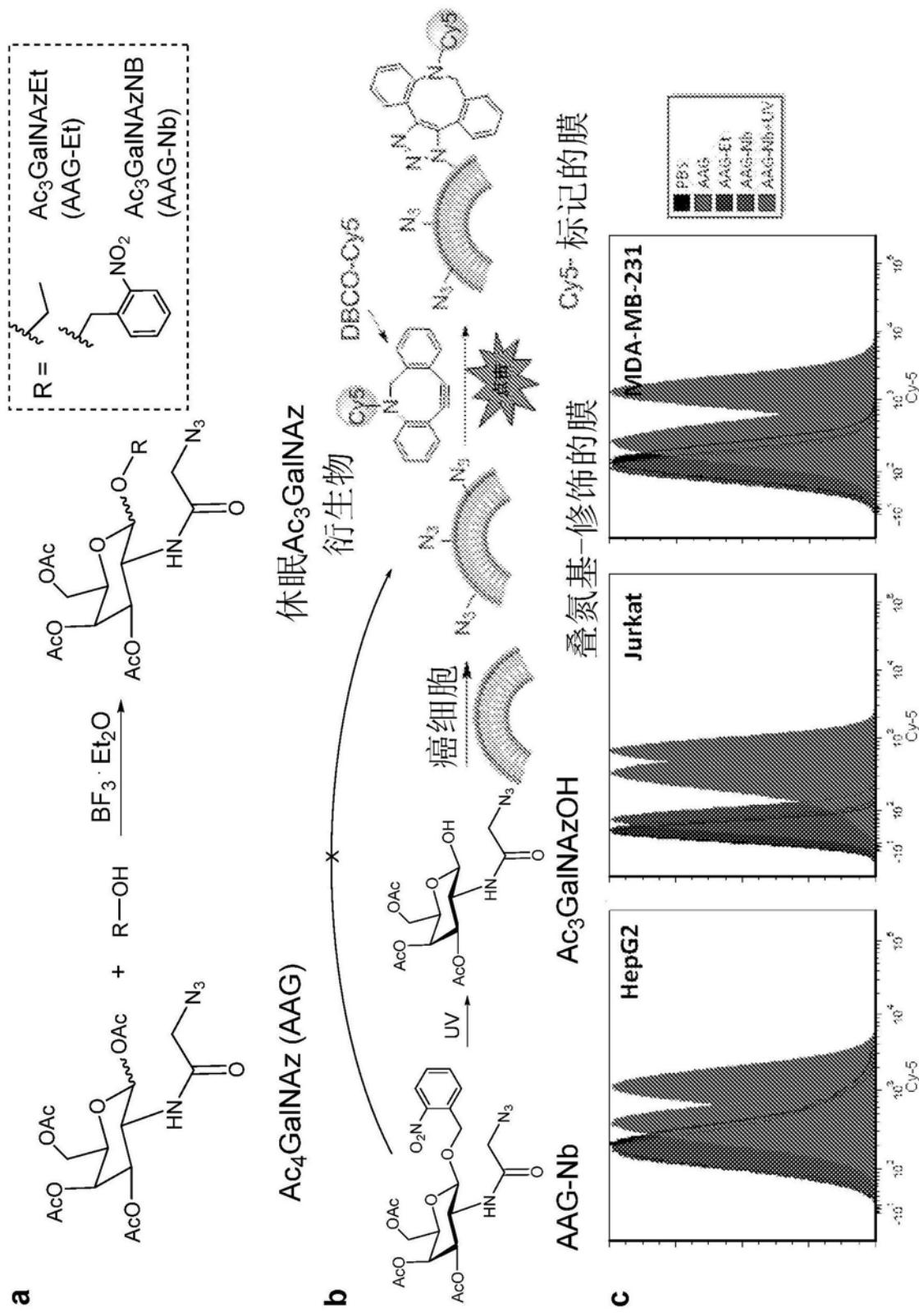


图2

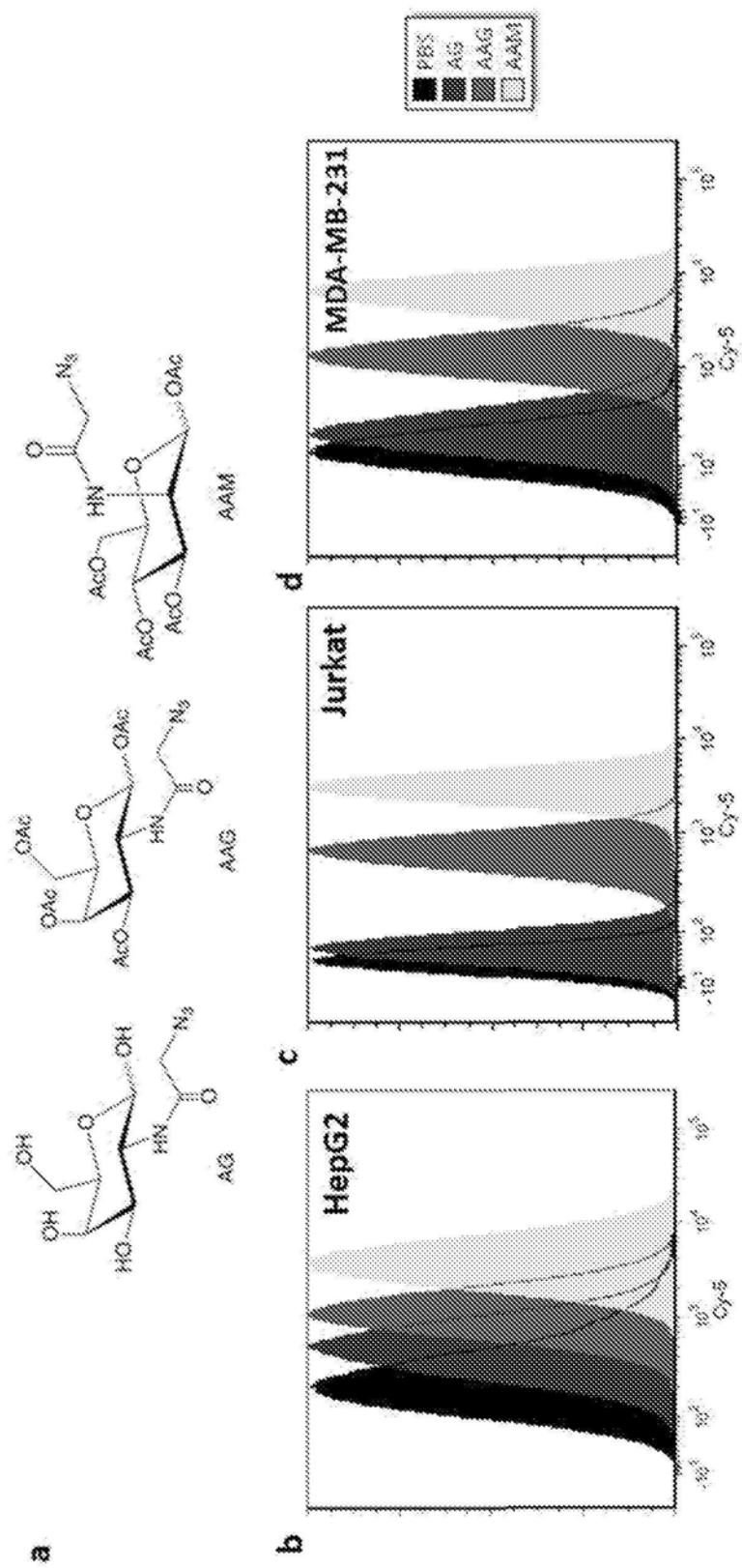


图3

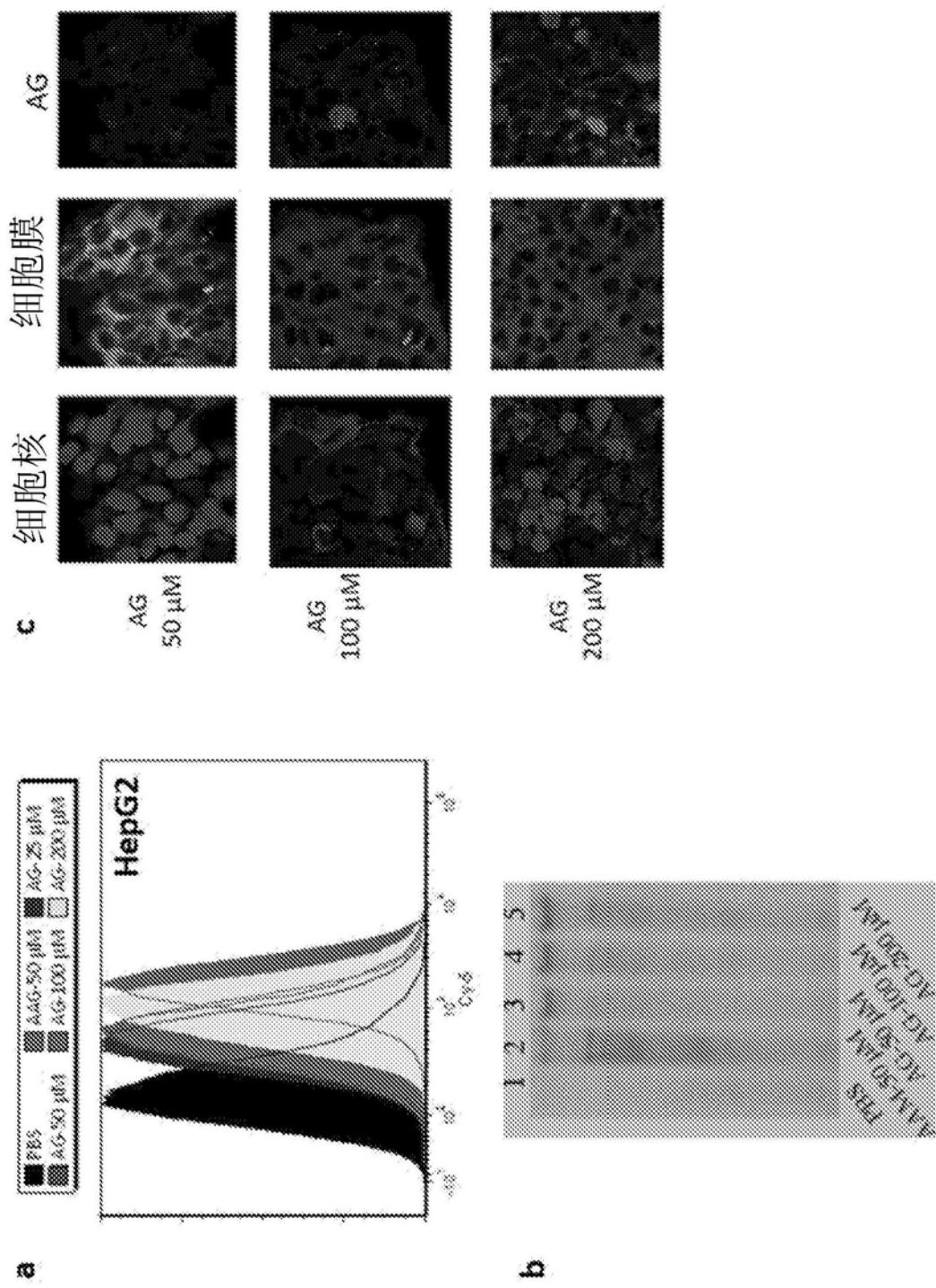


图4

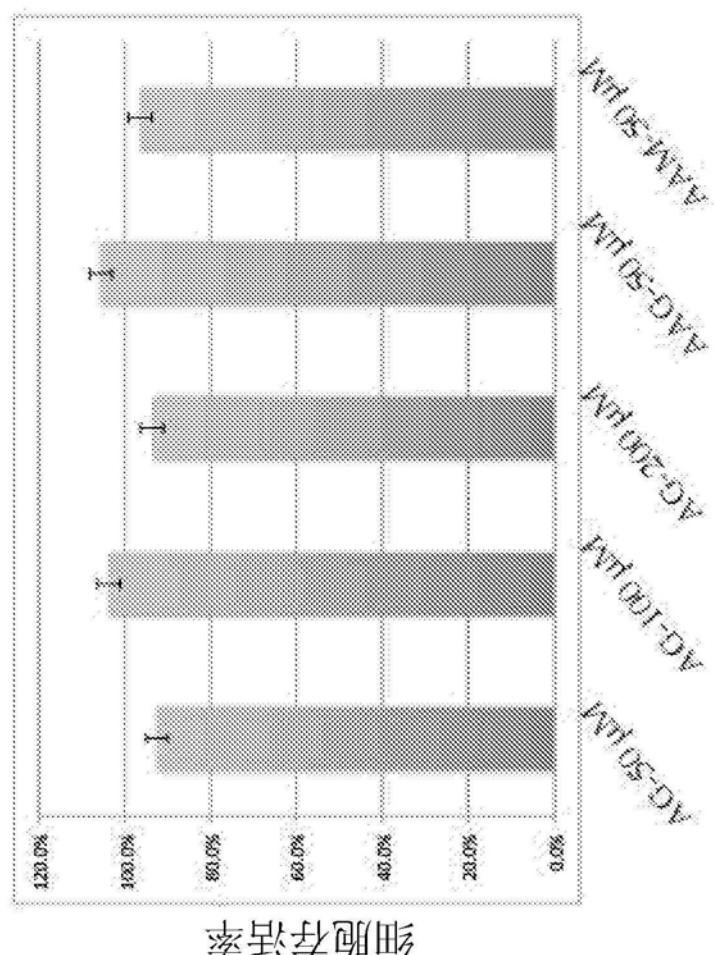


图5

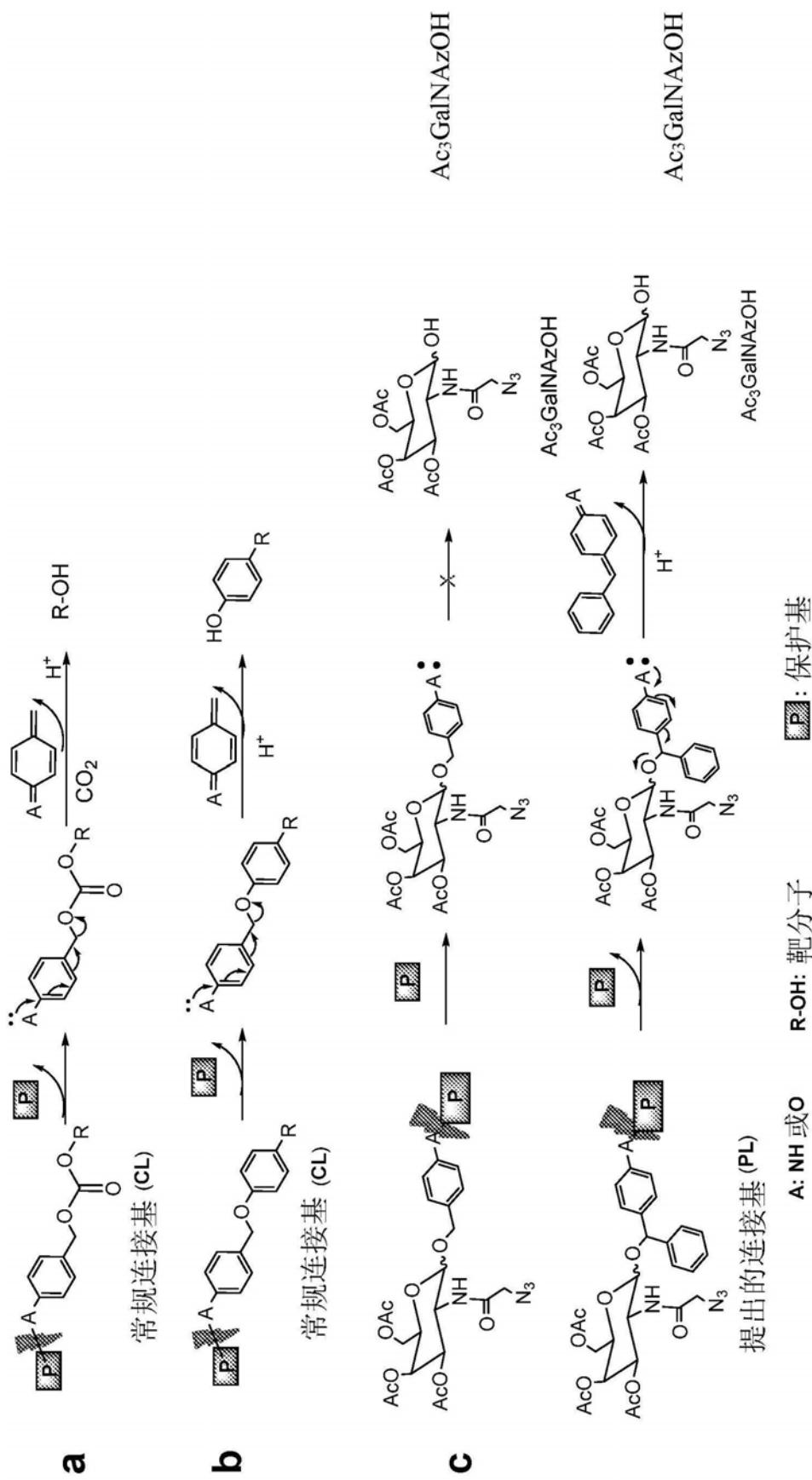


图6

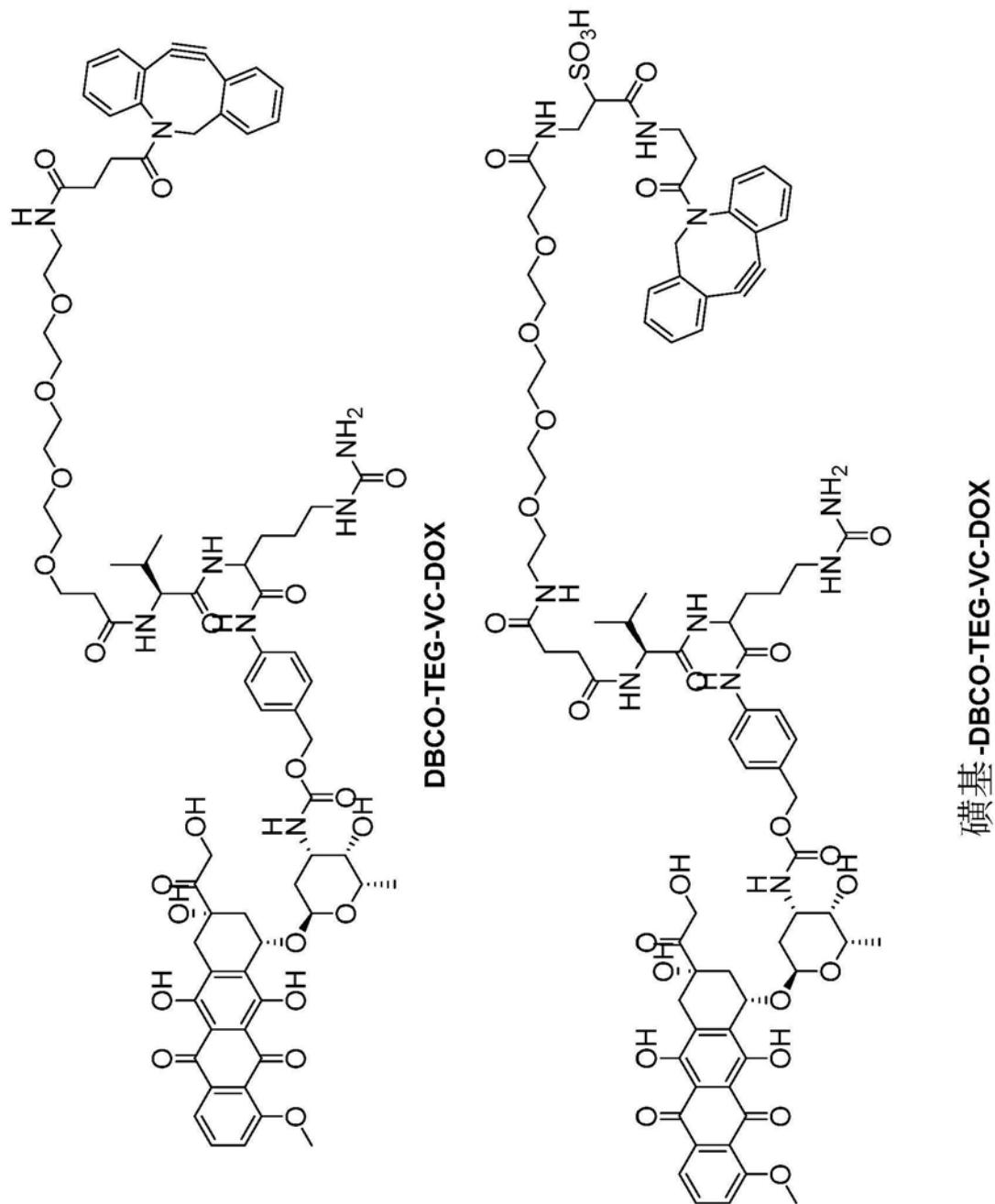


图7

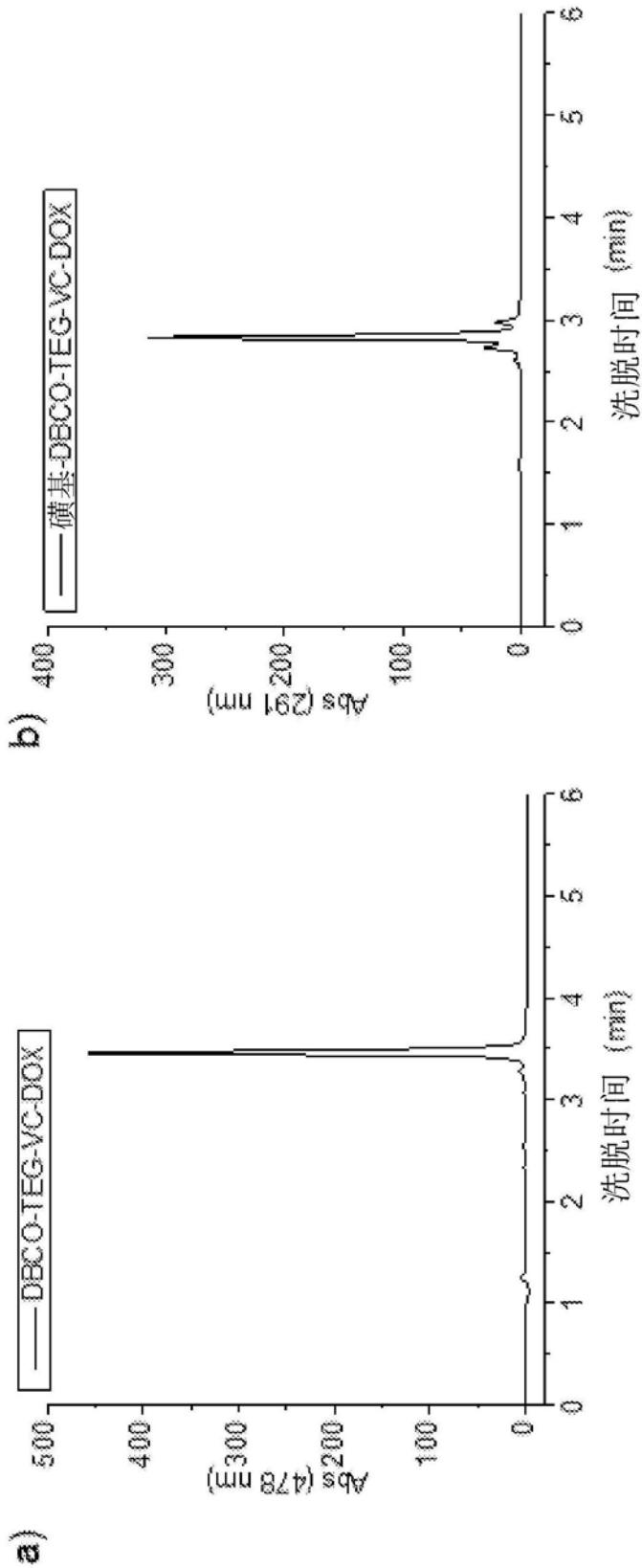


图8

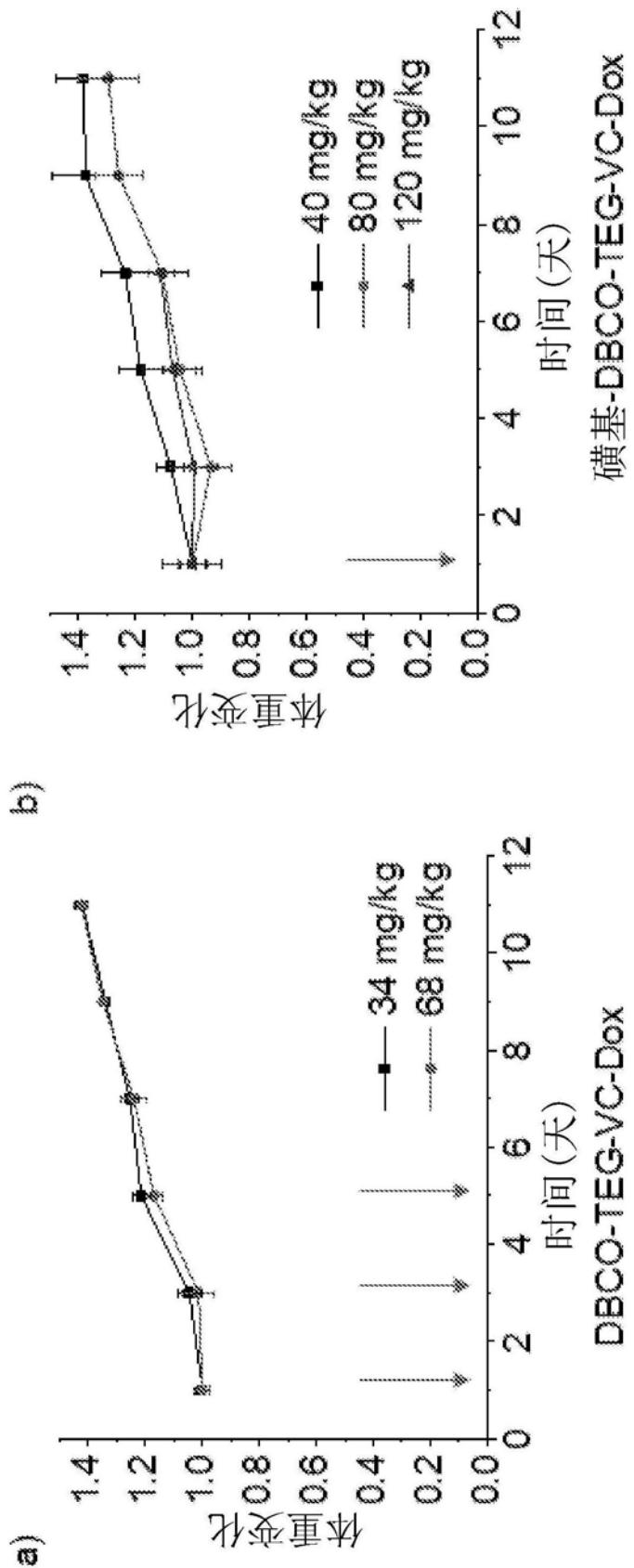


图9

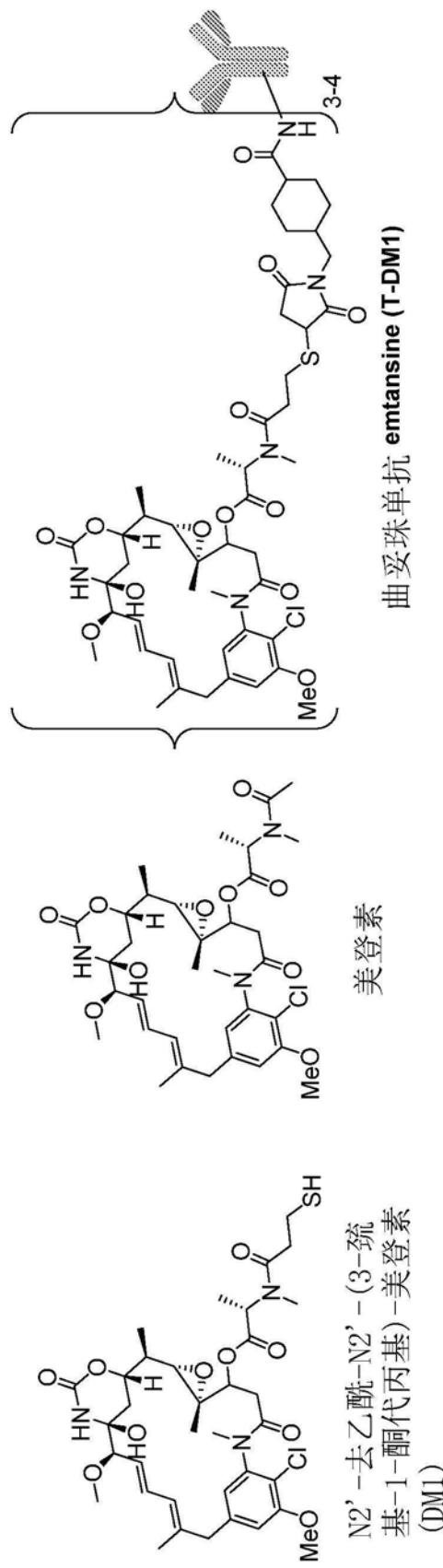


图10

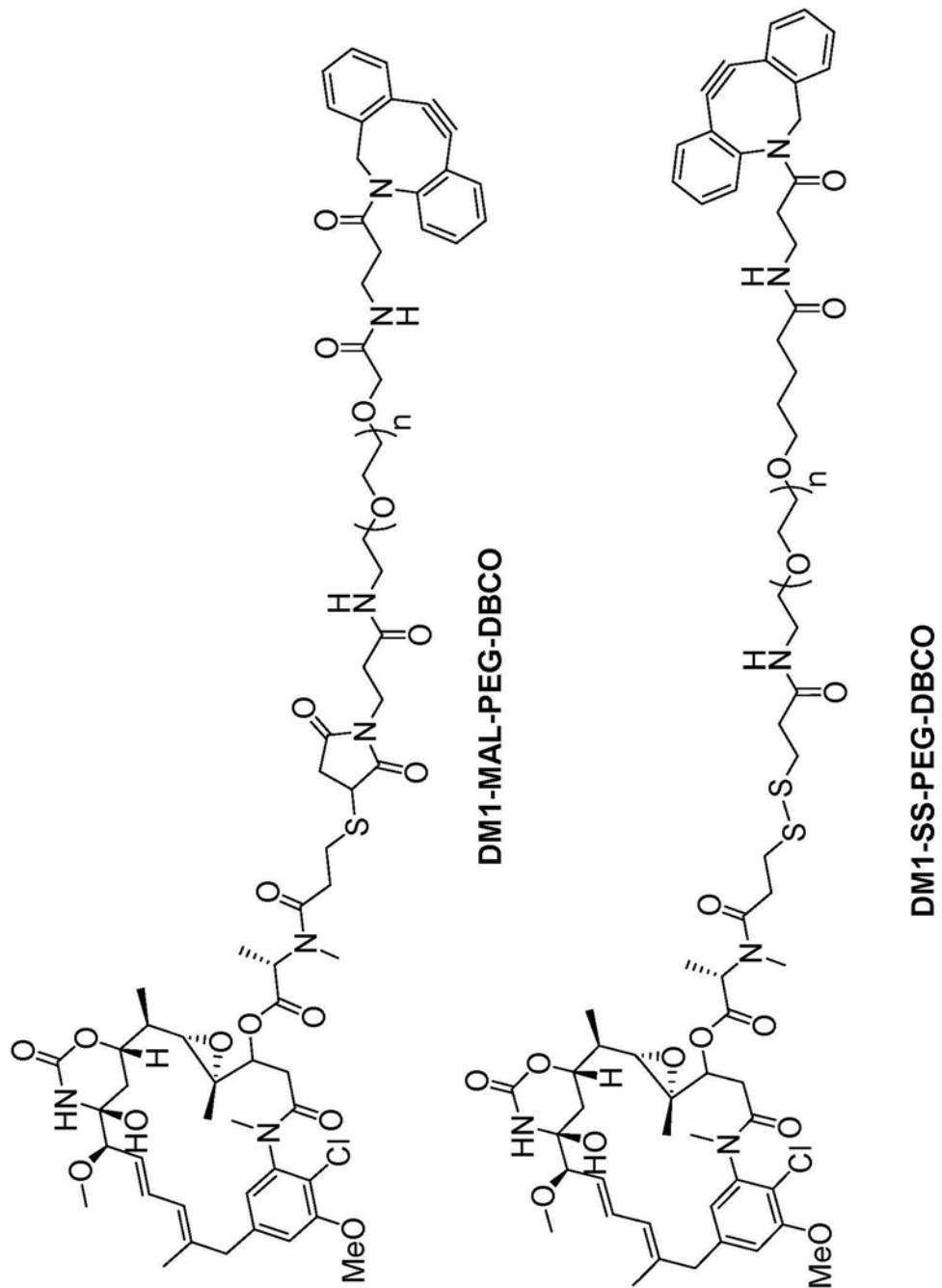


图11

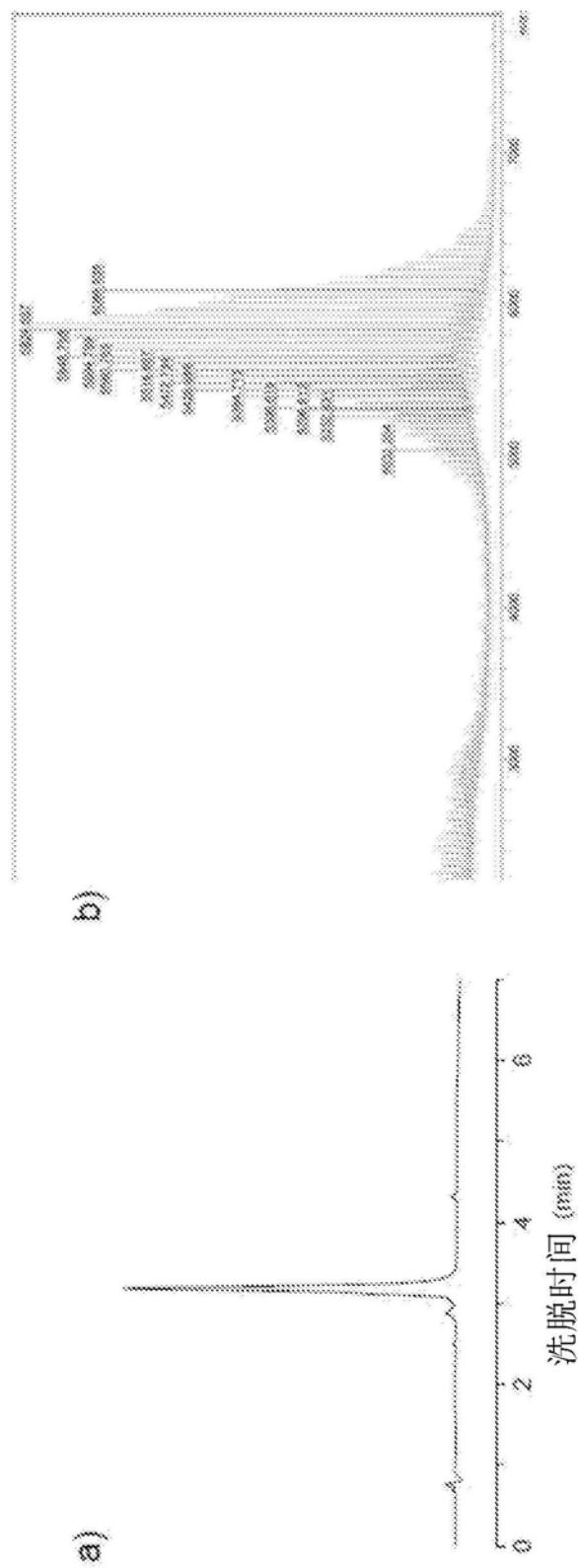


图12

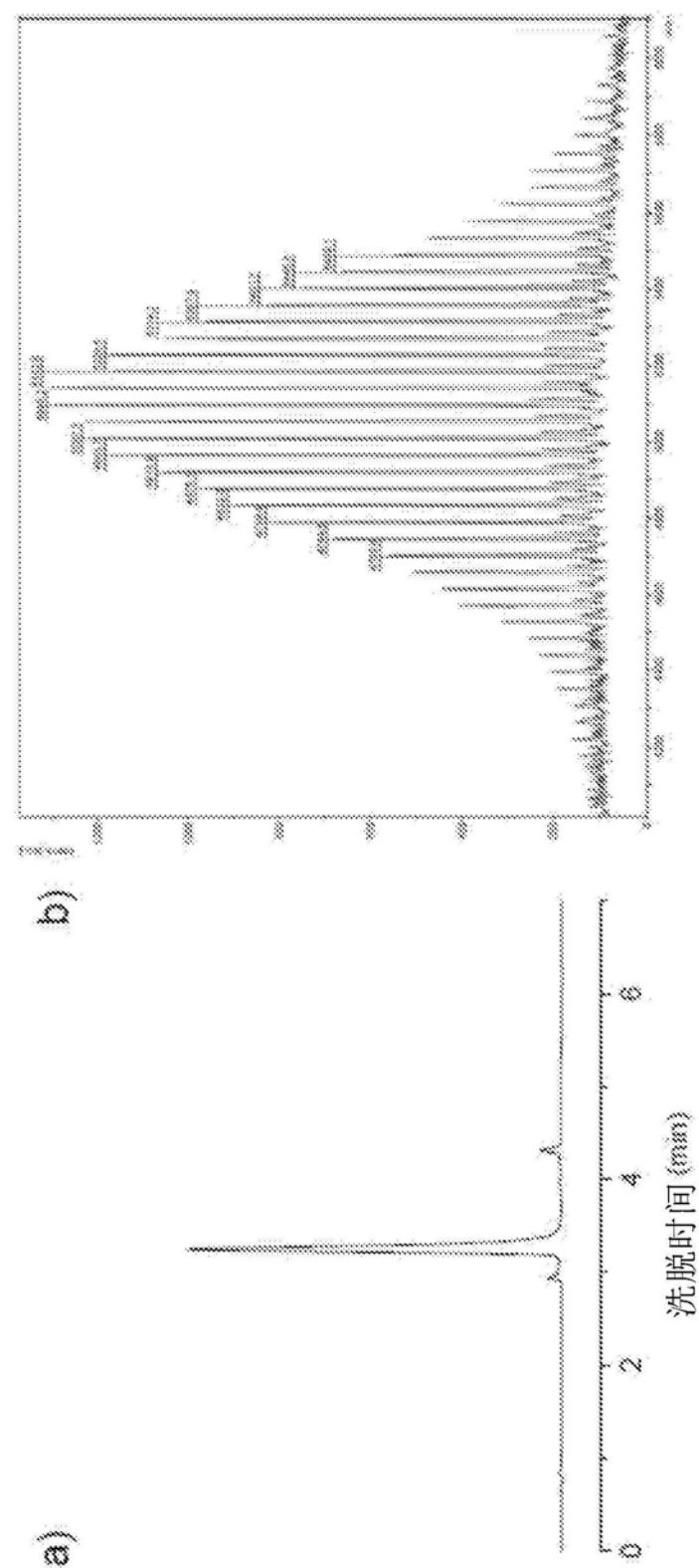


图13

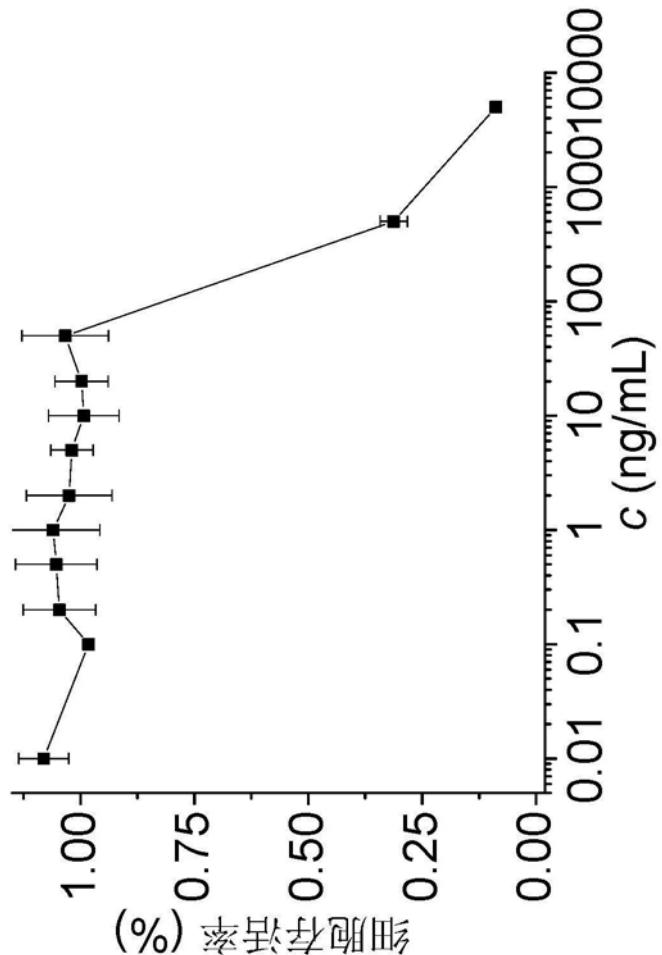


图14

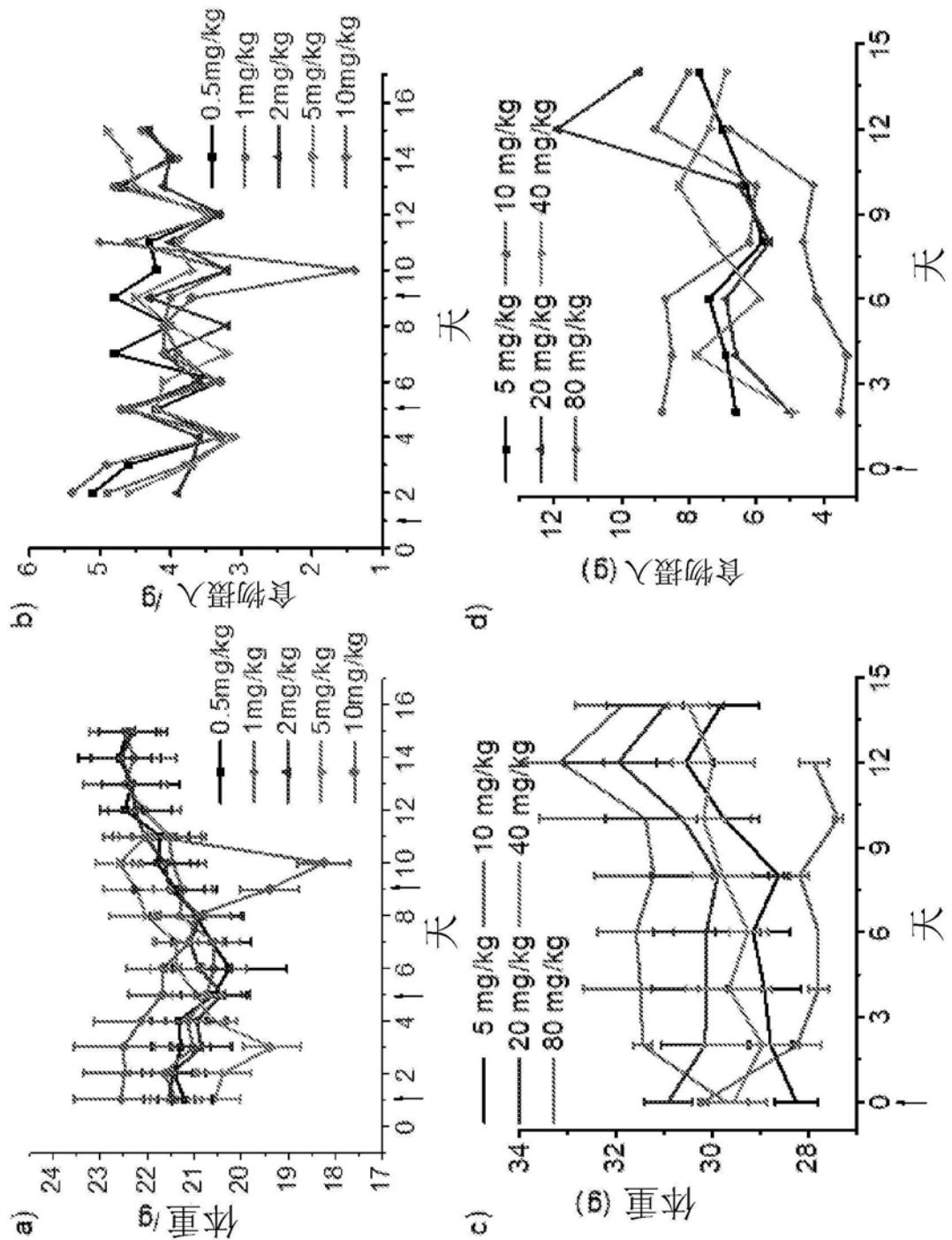


图15

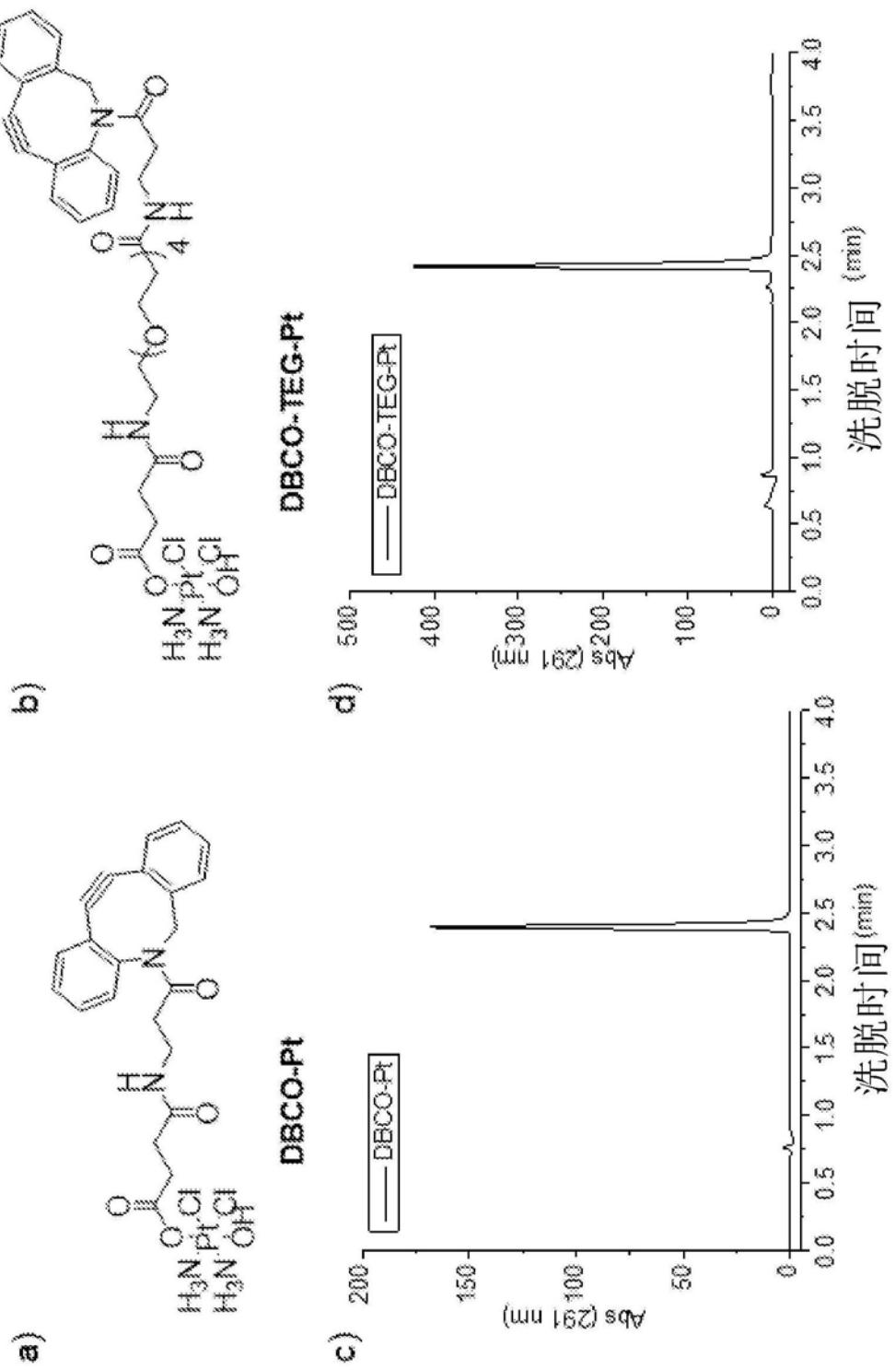


图16

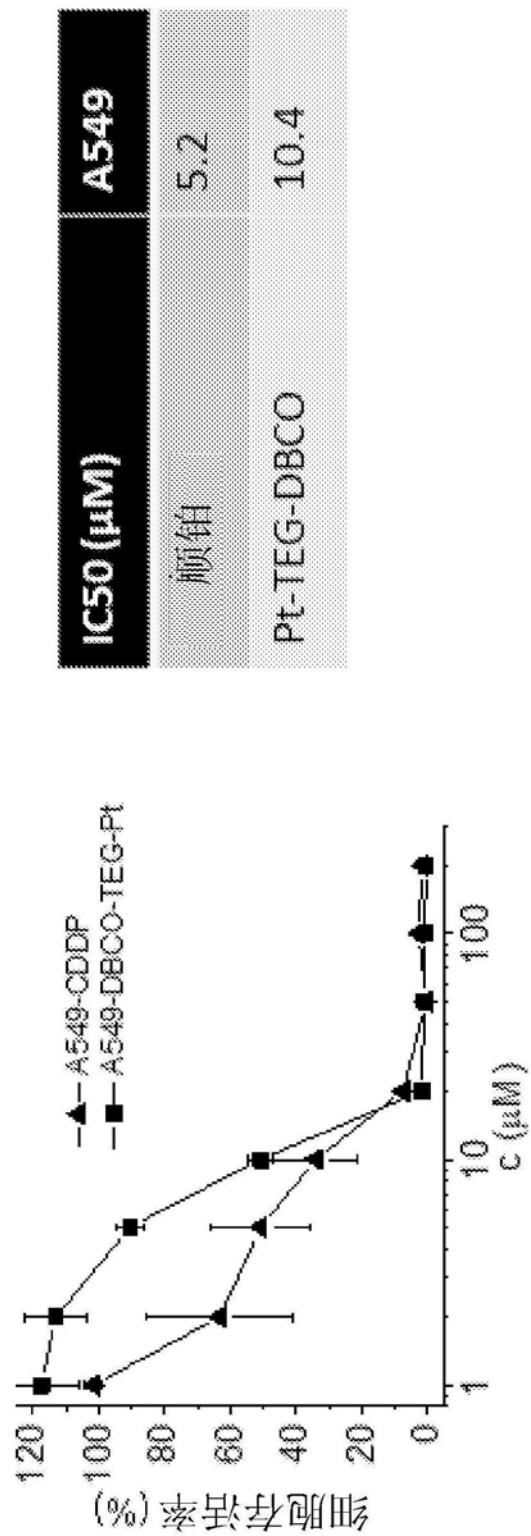


图17

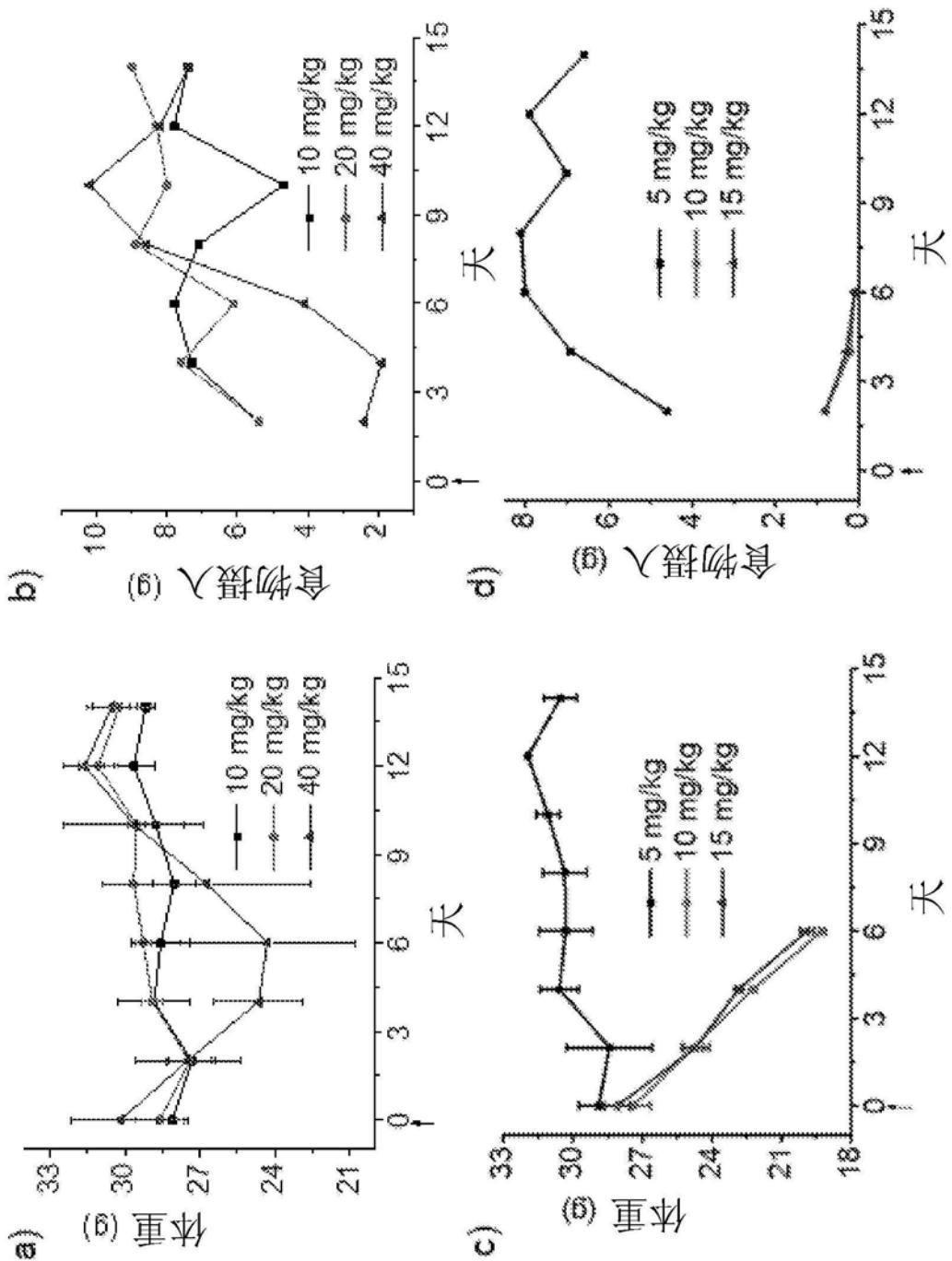


图18

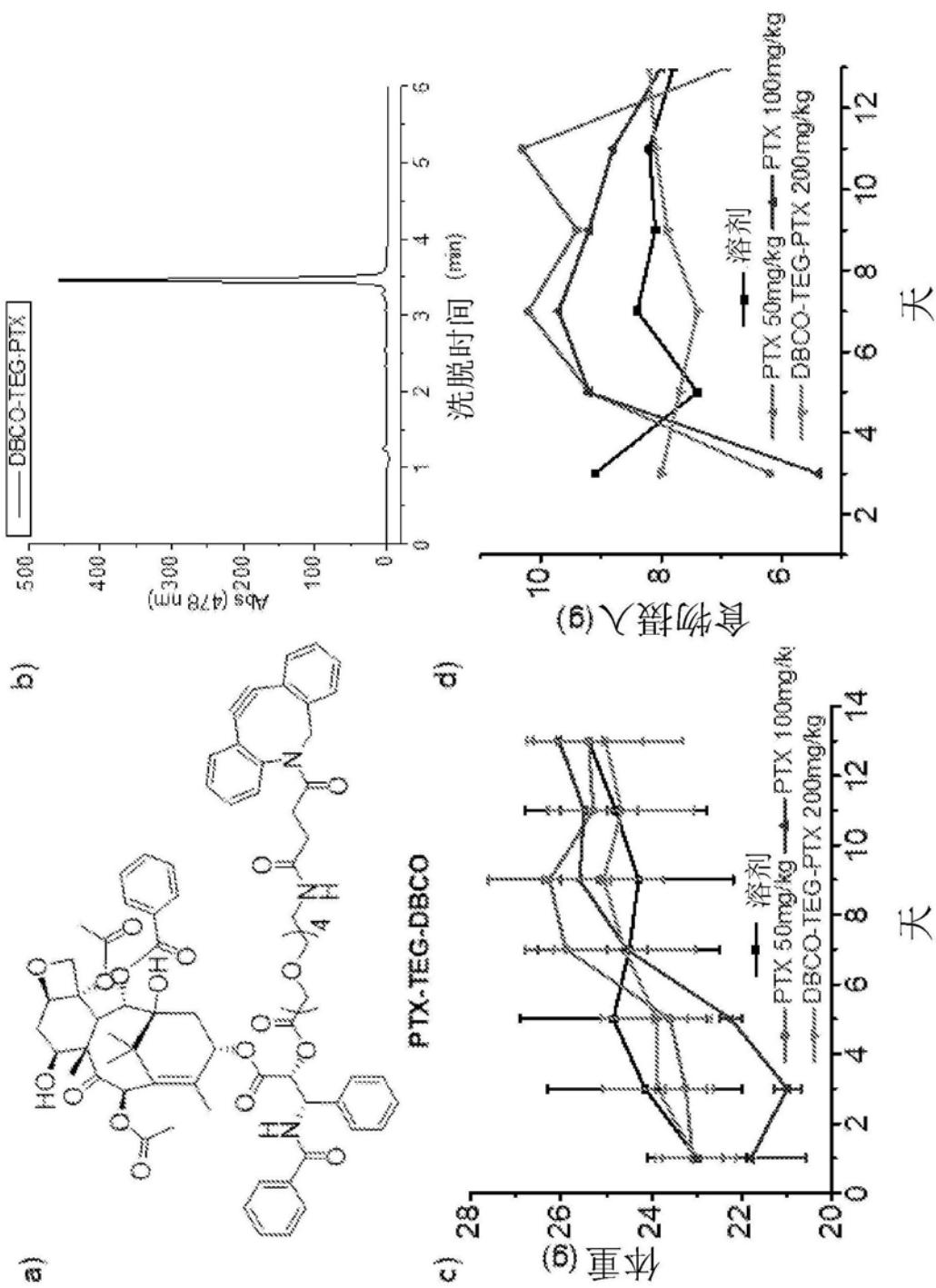


图19