



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 111712263 B

(45) 授权公告日 2024. 12. 17

(21) 申请号 201880088076.0
(22) 申请日 2018.11.30
(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 111712263 A
(43) 申请公布日 2020.09.25

A • 瓦尔内克 F • I • 诺尔曼
S • D • 克斯特
J • 加西亚费尔南德斯 L • 帕斯
H-K • 瓦尔特 J • P • 马格努松
S • 切尔切亚 P • 佩雷斯加兰
F • 梅达 S • J • 道姆

(30) 优先权数据
62/593,184 2017.11.30 US
(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2020.07.29
(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2018/063380 2018.11.30

(74) 专利代理机构 中国贸促会专利商标事务所
有限公司 11038
专利代理师 徐达

(87) PCT国际申请的公布数据
W02019/108975 EN 2019.06.06

(51) Int.Cl.
A61K 47/64 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(73) 专利权人 拉德克斯公司
地址 美国加利福尼亚

(56) 对比文件
CN 105849086 A, 2016.08.10
EP 1183050 A2, 2002.03.06
审查员 刘晓晨

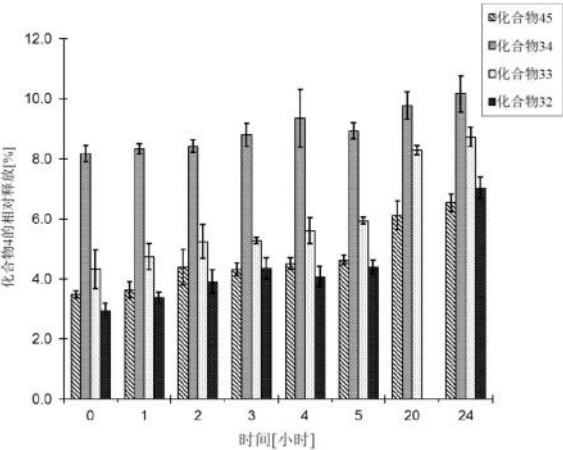
(72) 发明人 F • 克拉茨 K • 阿布阿贾伊

权利要求书10页 说明书77页 附图15页

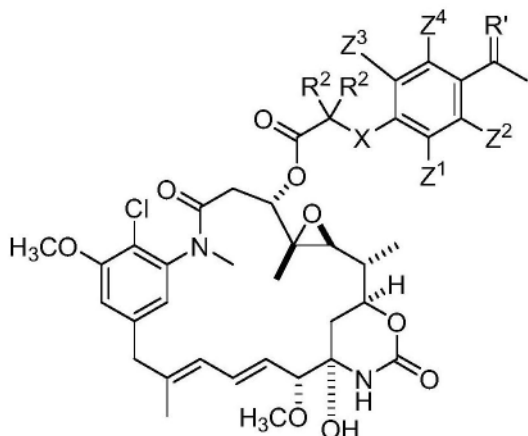
(54) 发明名称
基于美登木素生物碱的药物递送系统

(57) 摘要
本主题提供了白蛋白结合前药、基于美登木素生物碱的化合物及其用途。

CD1鼠血浆中化合物4衍生物的稳定性



1.一种具有式(II)的结构的化合物:



式 (II)

或其药学上可接受的盐或水合物，

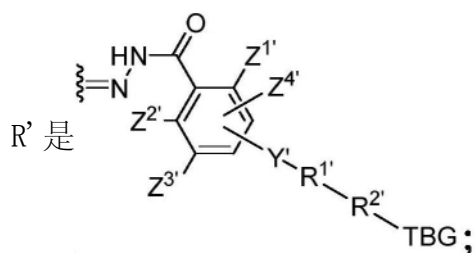
其中：

每个 R^2 独立地是-H;

X不存在或选自-CH₂、-O-和-S;

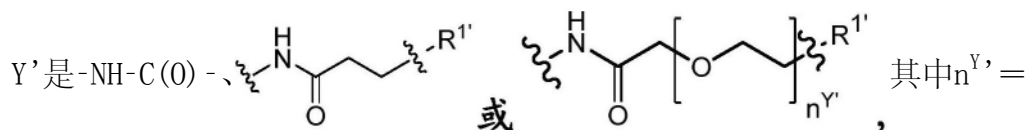
Z¹选自-H、-F、-Cl、-Br和-I;

Z^2 、 Z^3 和 Z^4 各自独立地是-H;



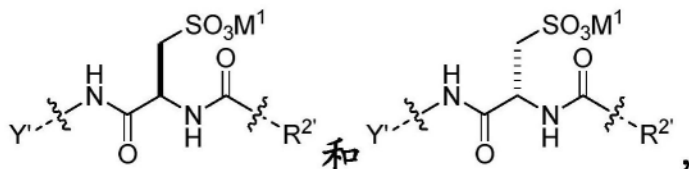
Z¹选自-H、-F、-Cl、-Br、-I、-CF₃、-OCH₃、-CN、-NO₂、-SO₃M²和C₁-C₄烷基,其中M²是药理学上可接受的抗衡离子,其选自H⁺、Na⁺、K⁺、Ca²⁺、Mg²⁺、NR₄⁺和NHR₃⁺;其中R是H或C₁-C₄烷基;

Z^2 、 Z^3 和 Z^4 各自独立地是 -H;



0至6;

$R^{1'}$ 不存在或选自由以下组成的组:



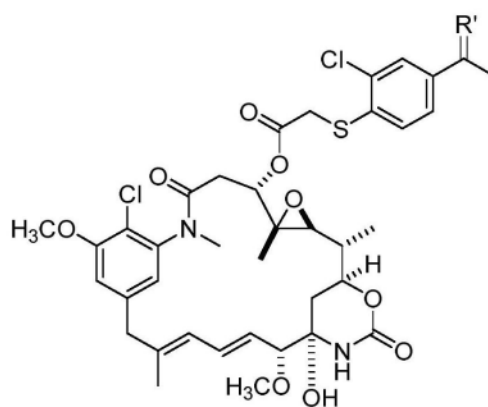
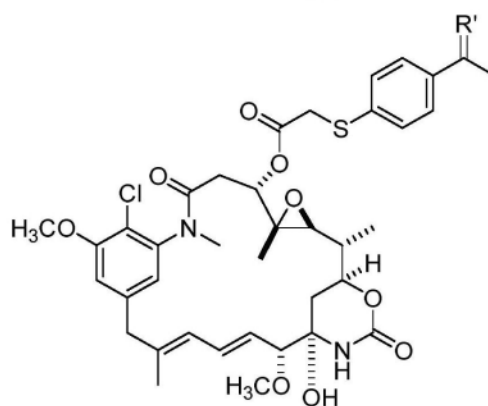
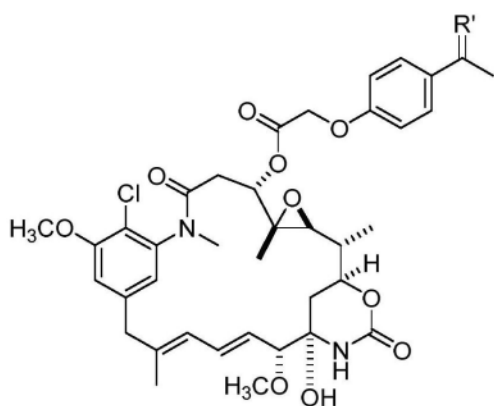
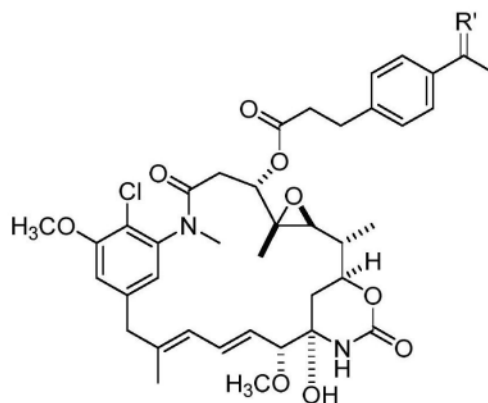
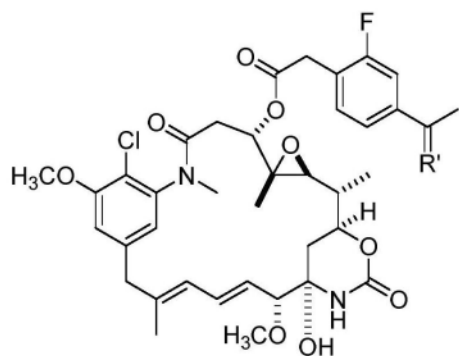
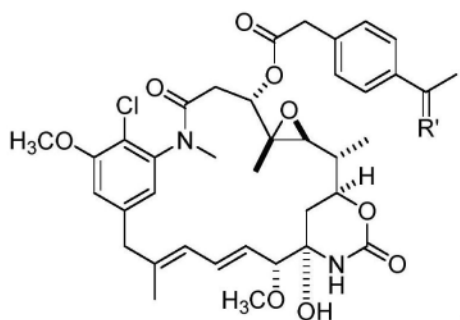
其中M¹是药学上可接受的抗衡离子,其选自H⁺、Na⁺、K⁺、Ca²⁺、Mg²⁺、NR₄⁺和NHR₃⁺;其中R是H或C₁-C₄烷基;

R^{2'} 是任选取代的C₁-C₁₈烷基;

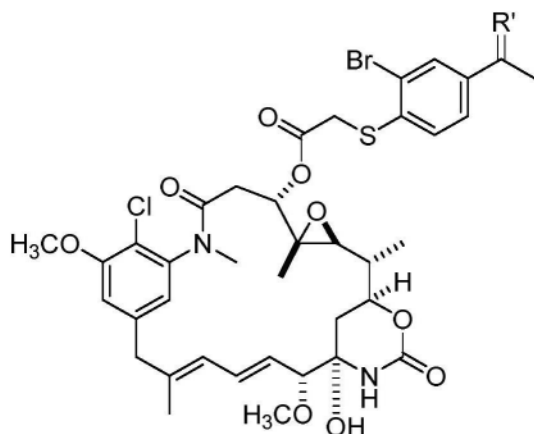
TBG是马来酰亚胺基；

其中所述TBG任选地与带有硫醇的大分子载体或带有硫醇的肿瘤特异性载体结合，其中所述带有硫醇的大分子载体或带有硫醇的肿瘤特异性载体选自内源性白蛋白、外源性白蛋白、抗体、抗体片段和肽。

2. 根据权利要求1所述的化合物，或其药学上可接受的盐或水合物，其中 Z^1 是-F。
3. 根据权利要求1所述的化合物，或其药学上可接受的盐或水合物，其中X不存在。
4. 根据权利要求1所述的化合物，或其药学上可接受的盐或水合物，其中X是 $-\text{CH}_2-$ 。
5. 根据权利要求1所述的化合物，或其药学上可接受的盐或水合物，其中X是-O-或-S-。
6. 根据权利要求1所述的化合物，其中所述化合物选自：



和

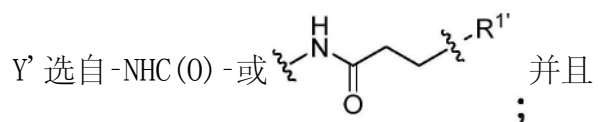


或其药学上可接受的盐或水合物。

7. 根据权利要求1所述的化合物,或其药学上可接受的盐或水合物,其中所述TBG不与带有硫醇的大分子载体或带有硫醇的肿瘤特异性载体结合。

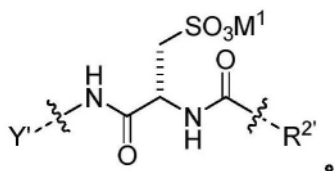
8. 根据权利要求1所述的化合物,或其药学上可接受的盐或水合物,其中所述TBG与带有硫醇的大分子载体或带有硫醇的肿瘤特异性载体结合。

9. 根据权利要求1所述的化合物, 或其药学上可接受的盐或水合物, 其中 Z' 选自 $-NO_2$ 或 $-SO_3M^2$;

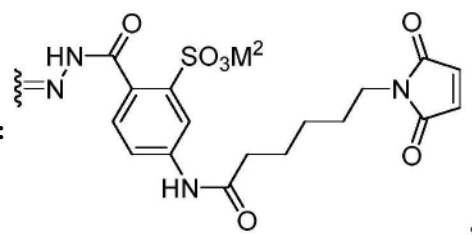


M²是药学上可接受的抗衡离子,其选自H⁺、Na⁺、K⁺、Ca²⁺、Mg²⁺、NR₄⁺和NHR₃⁺;其中R是H或C₁-C₄烷基。

10. 根据权利要求1所述的化合物,或其药学上可接受的盐或水合物,其中R¹是:

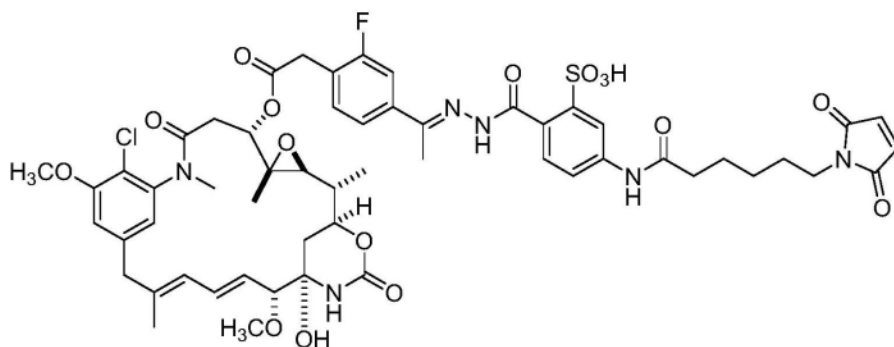
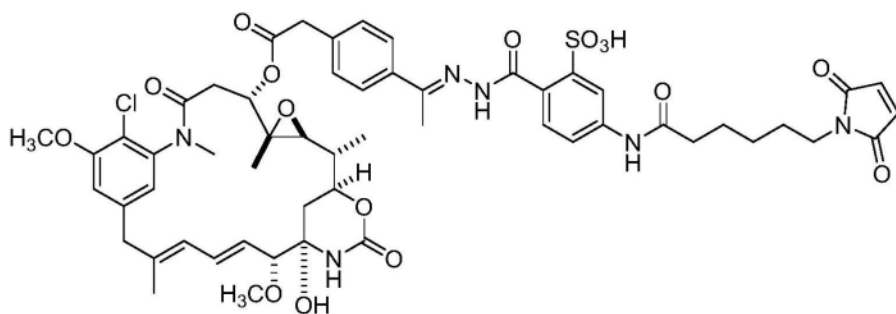
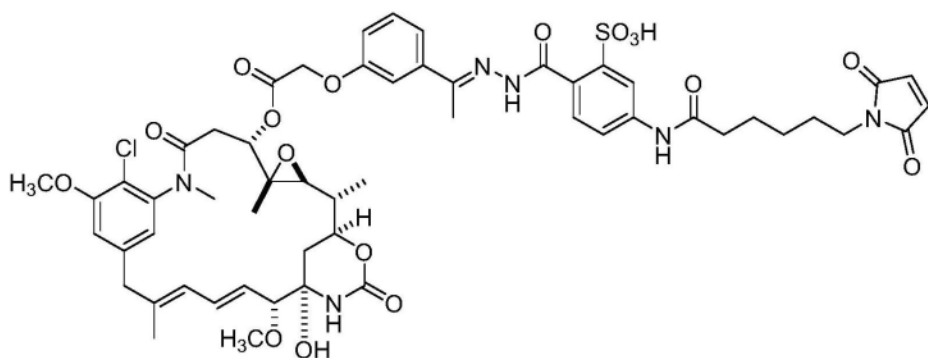


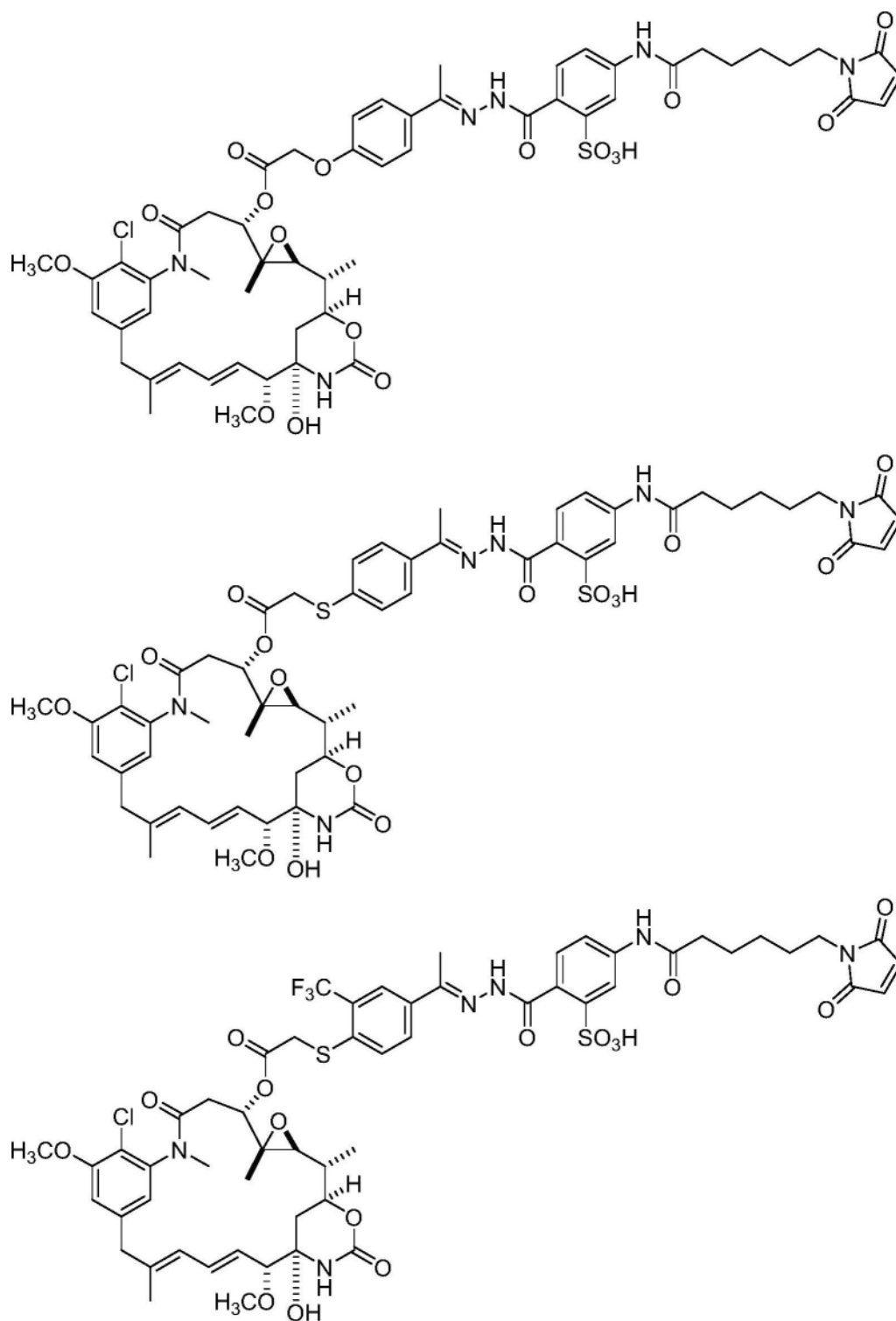
11. 根据权利要求1所述的化合物, 其中R' 是:

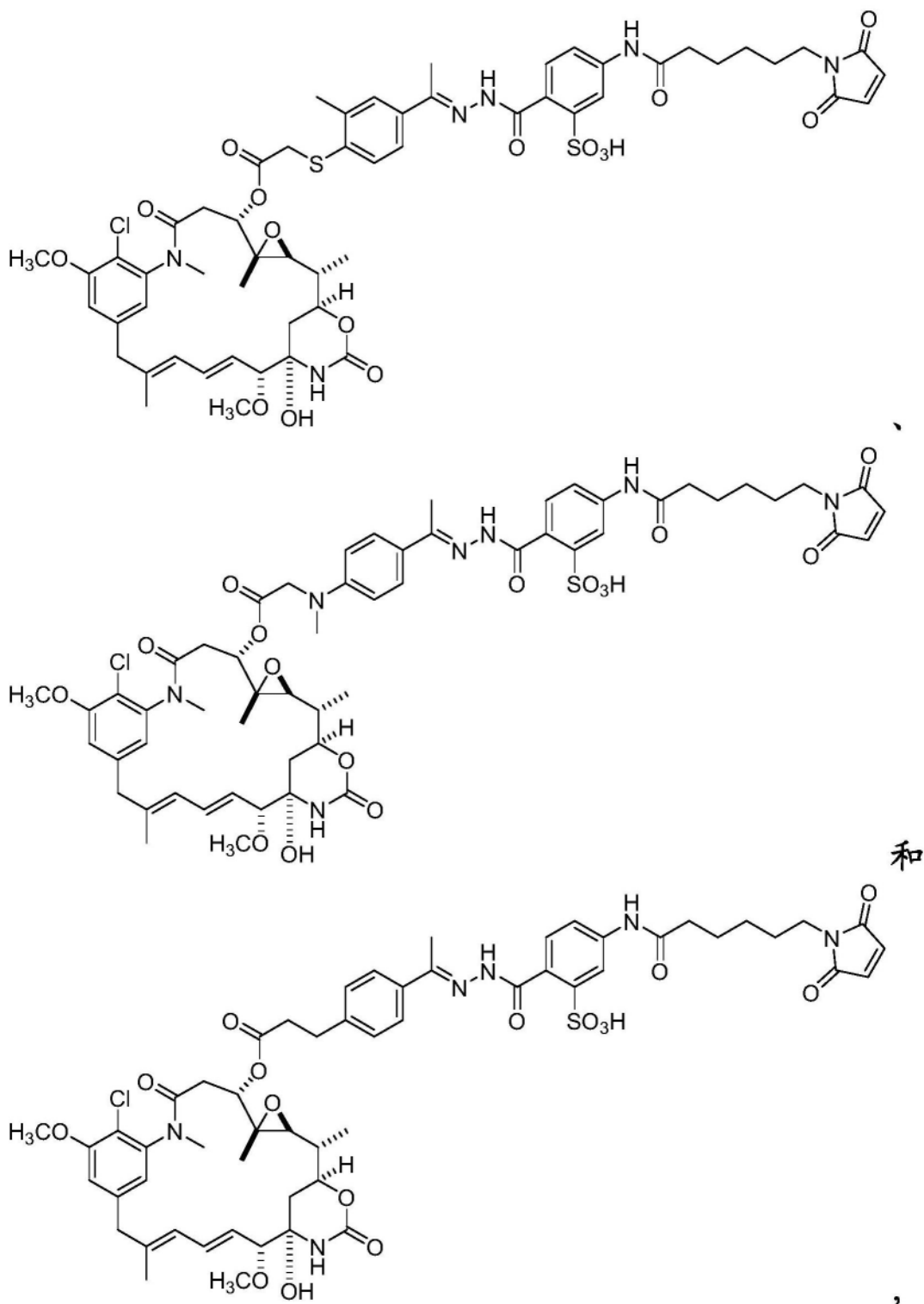


或其药学上可接受的盐或水合物。

12.选自下述的化合物:

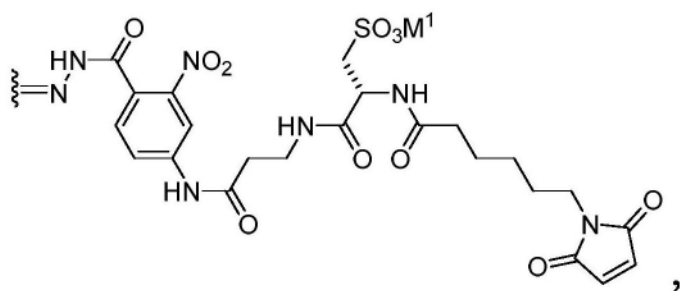






或其药学上可接受的盐或水合物。

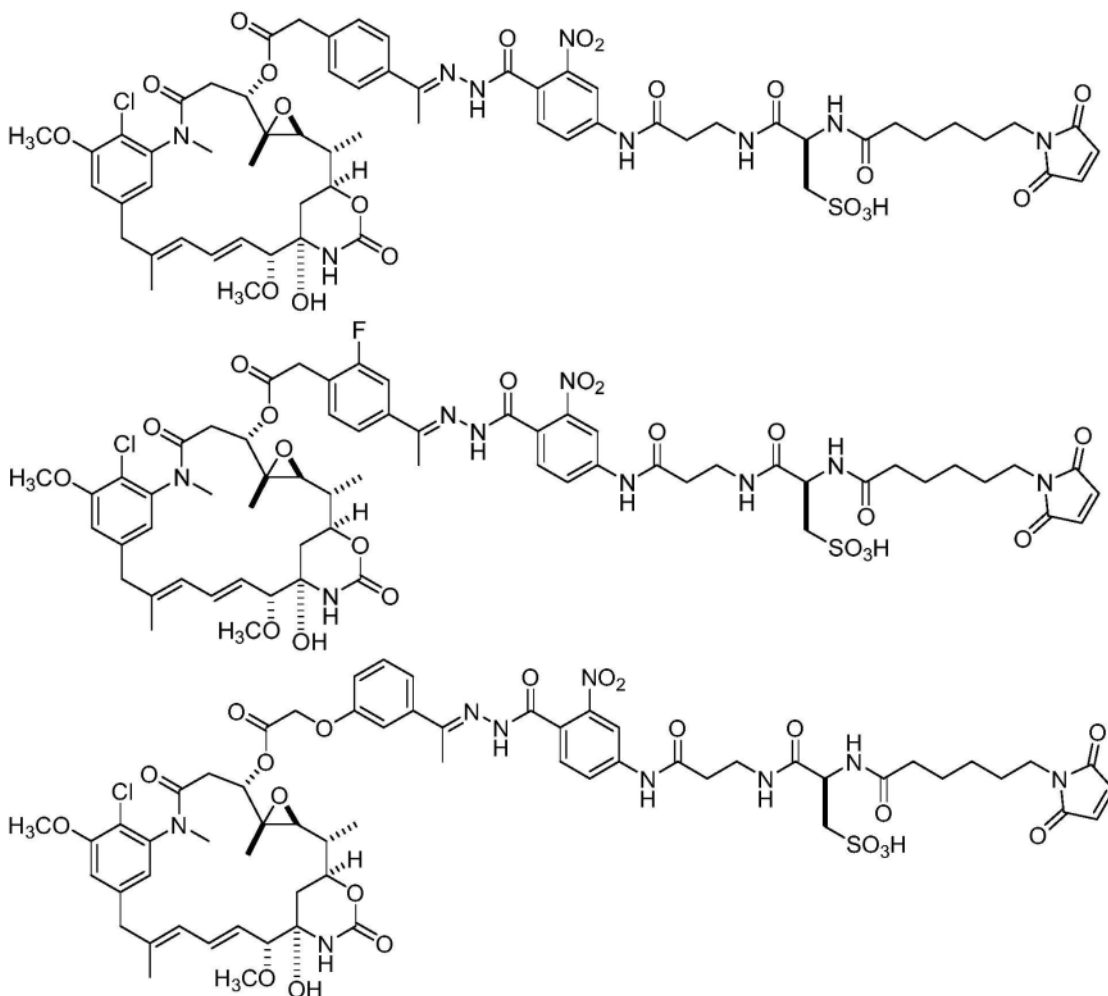
13. 根据权利要求1所述的化合物, 其中R' 是:



或其药学上可接受的盐或水合物;和

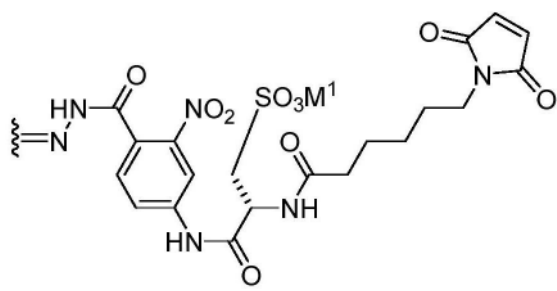
其中M¹是药学上可接受的抗衡离子,其选自H⁺、Na⁺、K⁺、Ca²⁺、Mg²⁺、NR₄⁺和NHR₃⁺;其中R是H或C₁-C₄烷基。

14. 根据权利要求13所述的化合物, 其中所述化合物选自:



或其药学上可接受的盐或水合物。

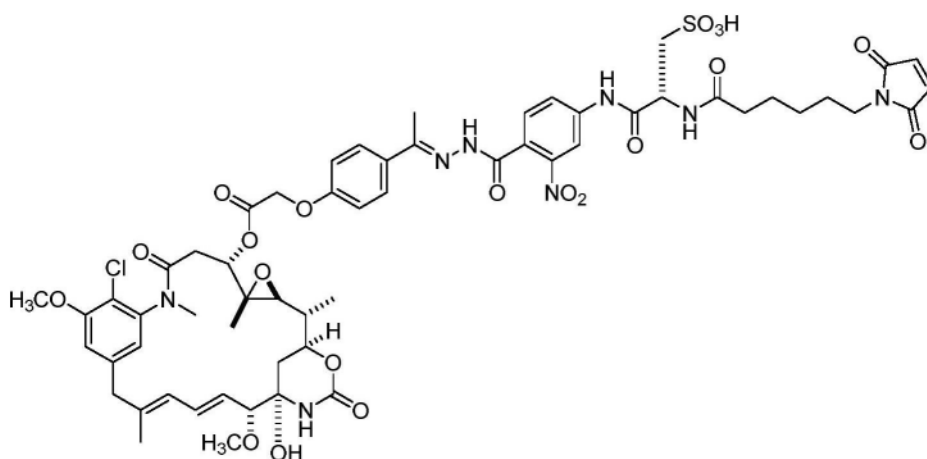
15. 根据权利要求1至4中任一项所述的化合物, 其中R' 是:



或其药学上可接受的盐或水合物;和

其中M¹是药学上可接受的抗衡离子,其选自H⁺、Na⁺、K⁺、Ca²⁺、Mg²⁺、NR₄⁺和NHR₃⁺;其中R是H或C₁-C₄烷基。

16. 根据权利要求15所述的化合物,其中所述化合物是:



或其药学上可接

受的盐或水合物。

17. 一种药物组合物,其包括根据权利要求1至16中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐和药学上可接受的载体。

18. 一种用作药剂的根据权利要求1至16中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐。

19. 一种用于治疗癌症的根据权利要求1至16中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐。

20. 根据权利要求19的用途的化合物,其中所述癌症选自腺癌、葡萄膜黑色素瘤、听神经瘤、壶腹癌、肛门癌、星形细胞瘤、基底细胞癌、胰腺癌、结缔组织肿瘤、膀胱癌、支气管癌、乳腺癌、伯基特氏淋巴瘤、子宫体癌、CUP综合征、结肠癌、小肠癌、卵巢癌、子宫内膜癌、胆囊癌、子宫癌、子宫颈癌、颈、鼻、耳肿瘤、血液肿瘤、尿道癌、皮肤癌、神经胶质瘤、睾丸癌、卡波济肉瘤、喉癌、骨癌、大肠癌、头颈癌、颅咽管瘤、肝癌、肺癌、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、胃癌、髓母细胞瘤、黑素瘤、脑膜瘤、肾癌、少突胶质细胞瘤、食道癌、阴茎癌、前列腺癌、舌癌和淋巴腺癌。

21. 根据权利要求19的用途的化合物,其中所述癌症选自非小细胞支气管癌、胆囊癌、毛细胞白血病、非小细胞肺癌、肾细胞癌、溶骨癌、成骨癌和骨肉瘤。

22. 一种根据权利要求1至16中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐或根据权利要求17所述的药物组合物在制备用于治疗癌症的药剂中的用途。

23. 根据权利要求22的用途,其中所述癌症选自腺癌、葡萄膜黑色素瘤、听神经瘤、壶腹

癌、肛门癌、星形细胞瘤、基底细胞癌、胰腺癌、结缔组织肿瘤、膀胱癌、支气管癌、乳腺癌、伯基特氏淋巴瘤、子宫体癌、CUP综合征、结肠癌、小肠癌、卵巢癌、子宫内膜癌、胆囊癌、子宫癌、子宫颈癌、颈、鼻、耳肿瘤、血液肿瘤、尿道癌、皮肤癌、神经胶质瘤、睾丸癌、卡波济肉瘤、喉癌、骨癌、大肠癌、头颈癌、颅咽管瘤、肝癌、肺癌、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、胃癌、髓母细胞瘤、黑素瘤、脑膜瘤、肾癌、肾细胞癌、少突胶质细胞瘤、食道癌、阴茎癌、前列腺癌、舌癌和淋巴腺癌。

24. 根据权利要求22的用途, 其中所述癌症选自非小细胞支气管癌、胆囊瘤癌、毛细胞白血病、非小细胞肺癌、肾细胞癌、溶骨癌、成骨癌和骨肉瘤。

基于美登木素生物碱的药物递送系统

[0001] 本申请要求2017年11月30日提交的美国临时申请号62/593,184的优先权,所述美国临时申请的公开内容全文以引用方式并入本文。

背景技术

[0002] 许多药物,特别是癌症治疗剂,具有狭窄的治疗窗口,其中它们的副作用限制了它们的有益效果。这类药物的全身投药通常导致有限的治疗效果,这是因为引起更强效果所需的剂量会导致患者经受不可接受的副作用。对于那些具有高细胞毒性潜能的药物,例如细胞抑制剂、病毒抑制剂或免疫抑制剂,这尤其关键。对于某些在皮摩尔范围内抑制肿瘤细胞生长的细胞毒剂,这甚至更为关键。这些试剂通常毒性过大而不能用作化学治疗剂。例如,微管蛋白结合美登素在抑制肿瘤细胞生长方面非常有效,但由于毒性谱不可接受而在各种临床试验中均告失败。

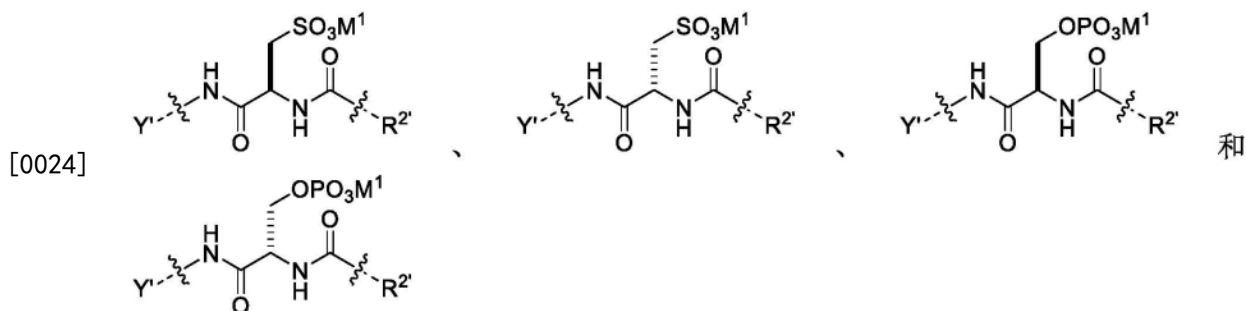
[0003] 许多研究努力已经研究在特定的作用部位递送特定药物。通常,此方法在作用部位产生的药物浓度高于全身投药所达到的浓度,同时限制了副作用。

[0004] 由于在这种适应症中使用的试剂的治疗窗口狭窄,因此肿瘤学中的药物递送特别令人关注。许多研究工作集中于将抗癌药物与各种低分子量和高分子量载体结合,载体包括糖、生长因子、维生素、肽、抗体、多糖、凝集素、血清蛋白和合成聚合物。在大多数这些药物递送系统中,药物通过结合有预定断裂点的间隔基与载体结合,该断裂点允许结合的药物在细胞靶位点释放(Kratz等人,ChemMedChem,3:20-53(2008))。

[0005] 已知偶联物,其中细胞抑制剂与血清蛋白结合,主要与特定的载体分子结合,诸如与人血清白蛋白和人血清转铁蛋白结合,接着进行投予。在其他情况下,包括治疗有效物质、间隔基分子和蛋白质结合分子的偶联物在投予后与循环血清白蛋白共价结合,这导致治疗有效物质转运到释放其的靶位点(US 7,387,771)。在其他情况下,抗体药物偶联物(ADC)可以将药物转运到靶位点进行局部释放(Kratz等人,ChemMedChem,3:20-53(2008); Panowski等人,mAbs,6,34-45(2014); Chari等人,Angewandte Chem.Int.Ed.,53,3796-3827(2014))。

[0006] 然而,在设计药物递送系统时,应在保持药物载体的靶向特性与控制药物释放之间取得适当的平衡。药物递送系统应在血流中具有足够的稳定性,并允许通过酶促裂解、还原或以pH依赖的方式有效地在肿瘤部位释放药物(Kratz等人,ChemMedChem,3:20-53(2008))。对于来自美登木素生物碱(源自美登素)类的高效细胞毒性剂,仅报道了其中以非特异性或以还原性方式释放基于美登木素生物碱的活性种的药物递送系统。在这些中,只有那些使用单克隆抗体作为载体分子的抗体才进入临床开发阶段,并且只有一种抗体-美登木素生物碱偶联物,即T-DM1(**Kadcyla**[®]),获得了针对某些乳腺癌亚型的市场认可。因此,仍然需要有效且不太复杂的药物递送和释放系统,其以有效方式释放基于美登木素生物碱的高效细胞毒性剂。

[0023] R^1 不存在或选自由以下组成的组:



[0025] 其中 M^1 是药学上可接受的抗衡离子 (例如, H^+ 、 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 NR_4^+ 和 NHR_3^+ ; 其中 R 是 H 或 C_1-C_4 烷基);

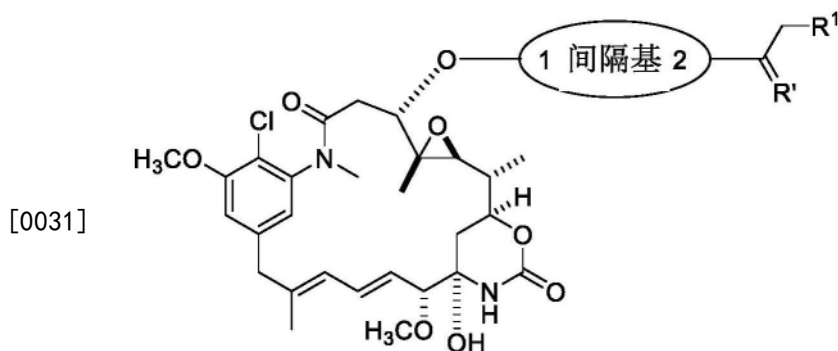
[0026] R^2 是任选取代的 C_1-C_{18} 烷基, 其中在所述 C_1-C_{18} 烷基中任选地至多六个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 取代;

[0027] Z^1 、 Z^2 、 Z^3 和 Z^4 各自独立地选自 $-H$ 、卤素基团 (例如, $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 或 $-I$)、 $-CF_3$ 、 $-OCH_3$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-SO_3M^2$ 和 C_1-C_4 烷基, 其中 M^2 是药学上可接受的抗衡离子 (例如, H^+ 、 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 NR_4^+ 和 NHR_3^+ ; 其中 R 是 H 或 C_1-C_4 烷基);

[0028] TBG 是选自以下的硫醇结合基团: 任选取代的马来酰亚胺基、任选取代的卤代乙酰胺基、任选取代的卤代乙酸酯基、任选取代的吡啶硫基、任选取代的异硫氰酸酯基、任选取代的乙烯基羰基、任选取代的氮丙啶基、任选取代的二硫基、任选取代的乙炔基和任选取代的 N-羟基琥珀酰亚胺酯基;

[0029] 其中所述 TBG 任选地与带有硫醇的大分子载体或带有硫醇的肿瘤特异性载体结合。

[0030] 在一些实施例中, 本公开提供了一种具有式 (I) 的结构化合物:

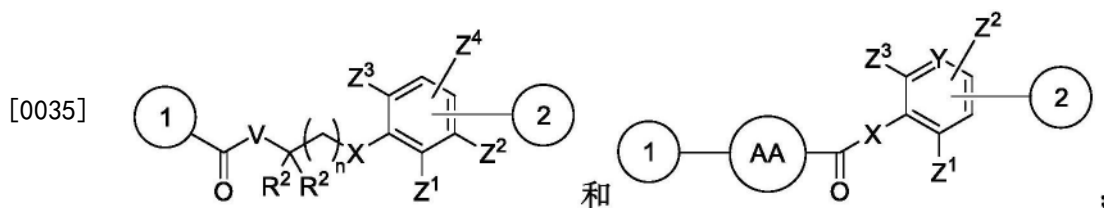


式 (I)

[0032] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体, 其中:

[0033] R^1 选自 $-H$ 和 C_1-C_4 烷基;

[0034] 间隔基选自:



[0036] V不存在或选自 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{O}-$ 和 $-\text{NR}^3-$ ，其中 R^3 是 $-\text{H}$ 或 C_1 - C_4 烷基；

[0037] 每个 R^2 独立地选自 $-\text{H}$ 、卤素基团(例如， $-\text{F}$ 、 $-\text{Cl}$ 、 $-\text{Br}$ 或 $-\text{I}$)和 C_1 - C_4 烷基，或两个 R^2 一起形成 C_3 - C_6 环烷基；

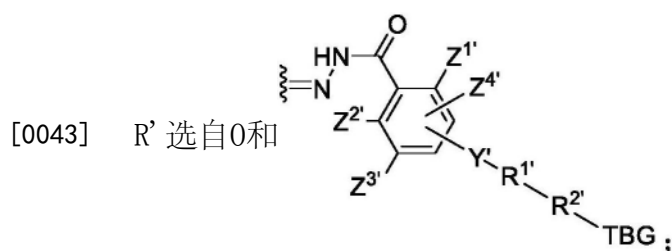
[0038] n是0至3；

[0039] X不存在或选自 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{Se}-$ 和 $-\text{NR}^4-$ ，其中 R^4 是 $-\text{H}$ 或 C_1 - C_4 烷基；

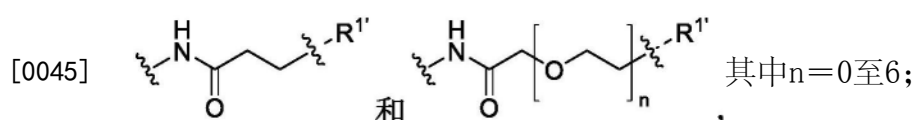
[0040] Y选自 $=\text{CH}-$ 和 $=\text{N}-$ ；

[0041] Z^1 、 Z^2 、 Z^3 和 Z^4 各自独立地选自 $-\text{H}$ 、卤素基团(例如， $-\text{F}$ 、 $-\text{Cl}$ 、 $-\text{Br}$ 或 $-\text{I}$)、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 C_1 - C_4 烷基和 C_2 - C_4 烷氧基；

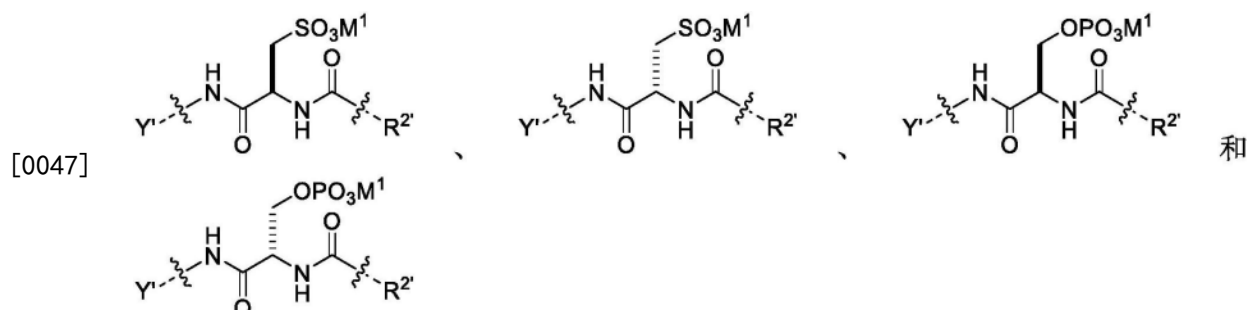
[0042] AA是氨基酸，其选自甘氨酸、D或L脯氨酸、肌氨酸、D或L丙氨酸、D或L N-甲基丙氨酸、 β -丙氨酸、N-甲基- β -丙氨酸、 α -氨基异丁酸和N-甲基- α -氨基异丁酸；



[0044] Y' 不存在或选自任选取代的 C_1 - C_6 烷基、 $-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-$ 和 $-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-$ ；或 Y' 选自由以下组成的组：



[0046] R^1 不存在或选自由以下组成的组：



[0048] 其中 M^1 是药学上可接受的抗衡离子(例如， H^+ 、 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 NR_4^+ 和 NHR_3^+ ；其中R是 $-\text{H}$ 或 C_1 - C_4 烷基)；

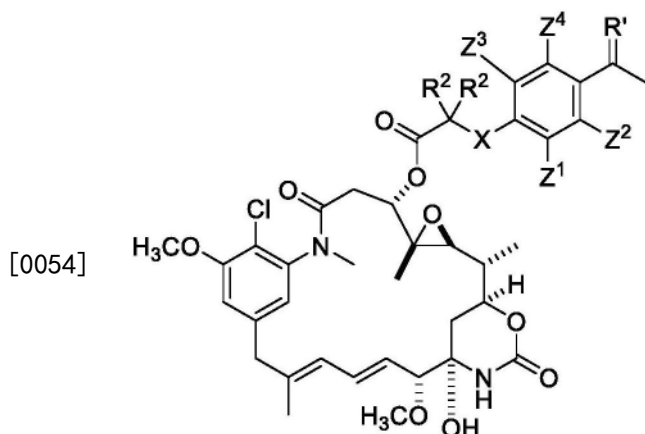
[0049] R^2 是任选取代的 C_1 - C_{18} 烷基，其中在所述 C_1 - C_{18} 烷基中任选地至多六个碳原子各自独立地被 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$ 取代；

[0050] Z^1 、 Z^2 、 Z^3 和 Z^4 各自独立地选自 $-\text{H}$ 、卤素基团(例如， $-\text{F}$ 、 $-\text{Cl}$ 、 $-\text{Br}$ 或 $-\text{I}$)、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{SO}_3\text{M}^2$ 和 C_1 - C_4 烷基，其中 M^2 是药学上可接受的抗衡离子(例如， H^+ 、 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 NR_4^+ 和 NHR_3^+ ；其中R是 $-\text{H}$ 或 C_1 - C_4 烷基)；

[0051] TBG是选自以下的硫醇结合基团：任选取代的马来酰亚胺基、任选取代的卤代乙酰胺基、任选取代的卤代乙酸酯基、任选取代的吡啶硫基、任选取代的异硫氰酸酯基、任选取代的乙烯基羰基、任选取代的氮丙啶基、任选取代的二硫基、任选取代的乙炔基和任选取代的N-羟基琥珀酰亚胺酯基；

[0052] 其中所述TBG任选地与带有硫醇的大分子载体或带有硫醇的肿瘤特异性载体结合。

[0053] 在一些实施例中,所述化合物具有式(II)的结构:



式(II)

[0055] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体,

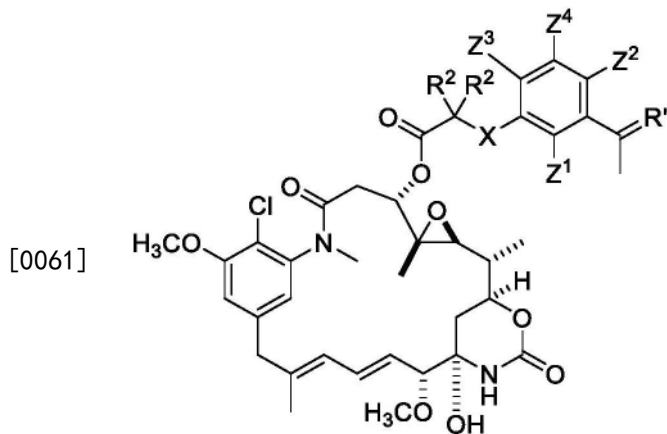
[0056] 其中:

[0057] 每个R²独立地选自-H和C₁-C₄烷基,或两个R²一起形成C₃-C₆环烷基;

[0058] X不存在或选自-CH₂-, -O-, -S-和-NR³-,其中R³是-H或C₁-C₄烷基;

[0059] Z¹、Z²、Z³和Z⁴各自独立地选自-H、卤素基团(例如,-F、-Cl、-Br或-I)、-CF₃、-OCH₃、-NO₂和-CH₃。

[0060] 在一些实施例中,所述化合物具有式(III)的结构:



式(III)

[0062] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体,

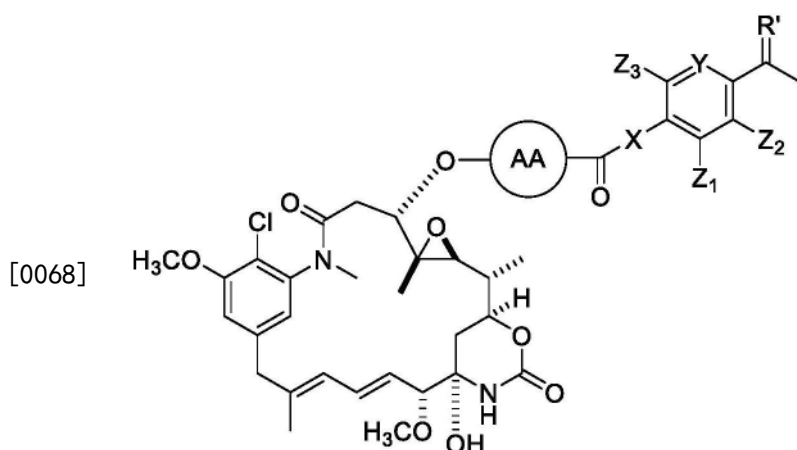
[0063] 其中:

[0064] 每个R²独立地选自-H和C₁-C₄烷基,或两个R²一起形成C₃-C₆环烷基;

[0065] X不存在或选自-CH₂-, -O-, -S-和-NR³-,其中R³是-H或C₁-C₄烷基;

[0066] Z¹、Z²、Z³和Z⁴各自独立地选自-H、卤素基团(例如,-F、-Cl、-Br或-I)、-CF₃、-OCH₃、-NO₂和-CH₃。

[0067] 在一些实施例中,所述化合物具有式(IV)的结构:



式 (IV)

[0069] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体,

[0070] 其中:

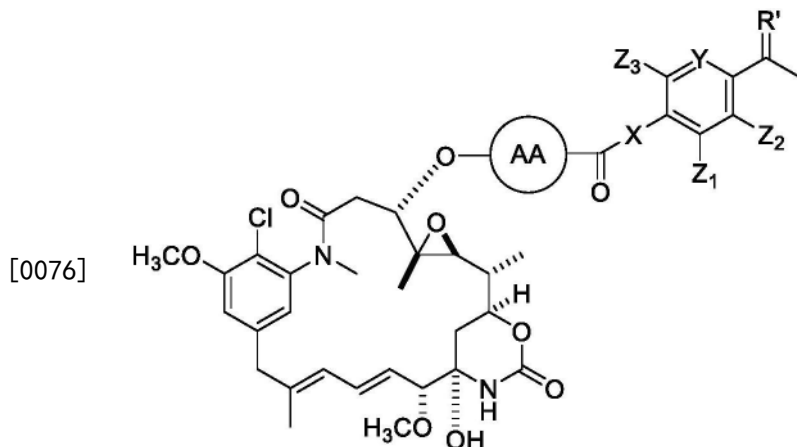
[0071] X不存在或选自 $-\text{CH}_2-$ 和 $-\text{NH}-$;

[0072] Y是 $=\text{CH}-$ 或 $=\text{N}-$;

[0073] Z^1 、 Z^2 、 Z^3 和 Z^3 各自独立地选自 $-\text{H}$ 、卤素基团 (例如, $-\text{F}$ 、 $-\text{Cl}$ 、 $-\text{Br}$ 或 $-\text{I}$)、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{NO}_2$ 和 $-\text{CH}_3$;

[0074] AA是氨基酸,其选自甘氨酸、D或L脯氨酸、肌氨酸、N-乙基甘氨酸、D或L丙氨酸、D或L N-甲基丙氨酸、 β -丙氨酸、N-甲基- β -丙氨酸、 α -氨基异丁酸和N-甲基- α -氨基异丁酸。

[0075] 在一些实施例中,所述化合物具有式 (IV) 的结构:



式 (IV)

[0077] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体,

[0078] 其中:

[0079] X不存在或选自 $-\text{CH}_2-$ 和 $-\text{NH}-$;

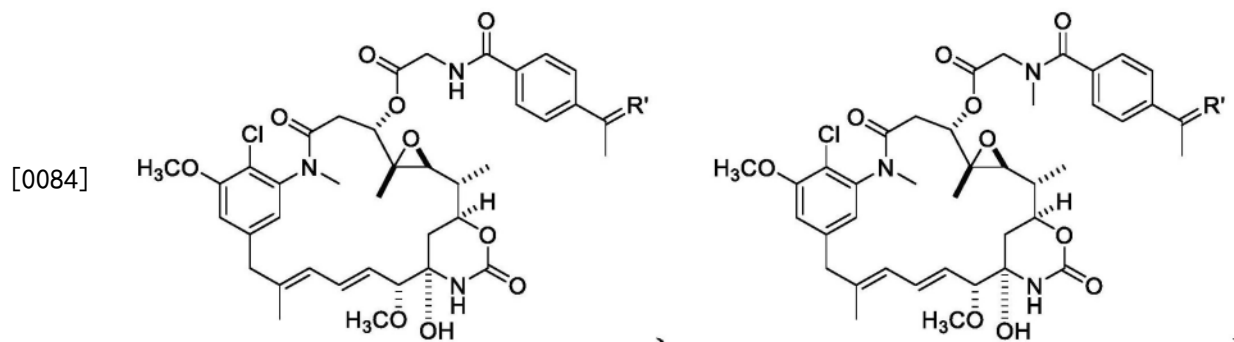
[0080] Y是 $=\text{CH}-$ 或 $=\text{N}-$;

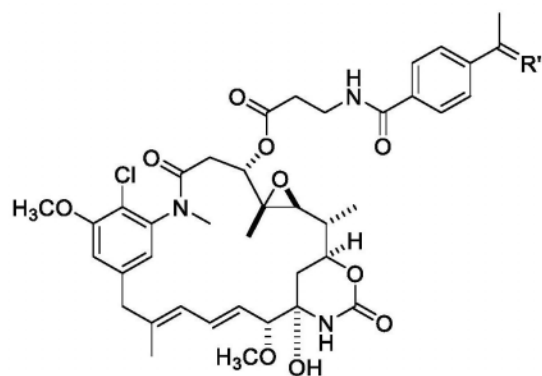
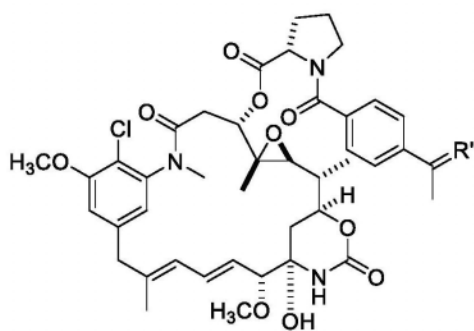
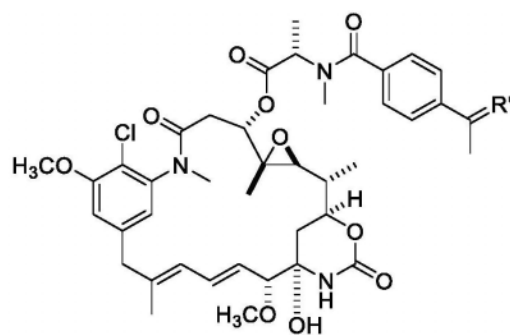
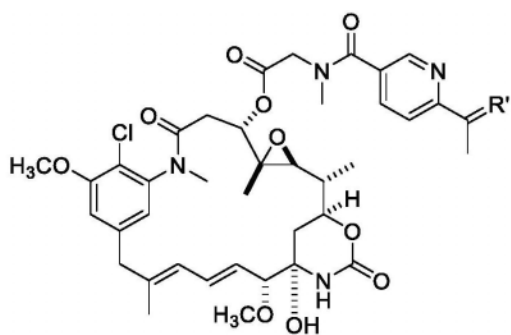
[0081] Z^1 、 Z^2 、 Z^3 和 Z^3 各自独立地选自 $-\text{H}$ 、卤素基团 (例如, $-\text{F}$ 、 $-\text{Cl}$ 、 $-\text{Br}$ 或 $-\text{I}$)、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{NO}_2$ 和 $-\text{CH}_3$;

[0082] AA是氨基酸,其选自甘氨酸、D或L脯氨酸、肌氨酸、D或L丙氨酸、D或L N-甲基丙氨

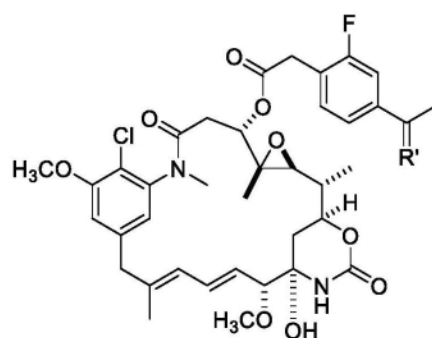
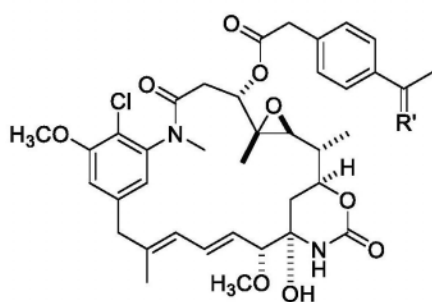
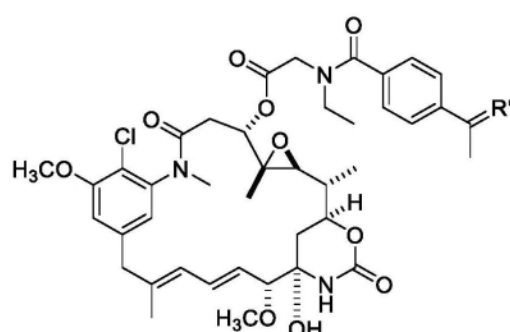
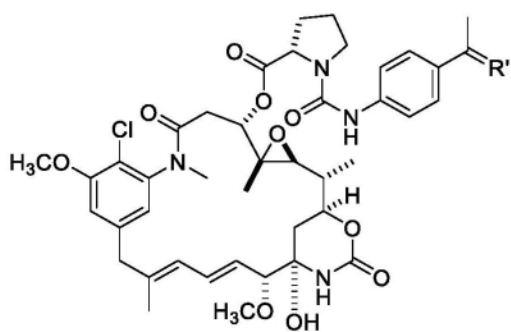
酸、 β -丙氨酸、N-甲基- β -丙氨酸、 α -氨基异丁酸和N-甲基- α -氨基异丁酸。

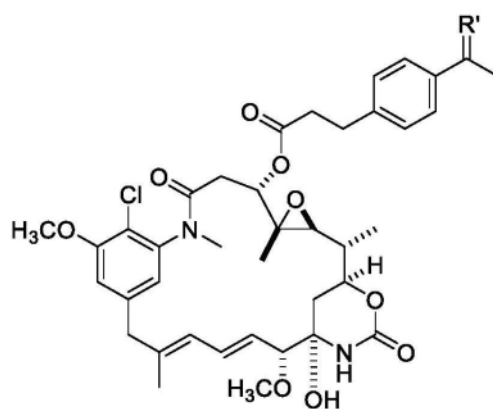
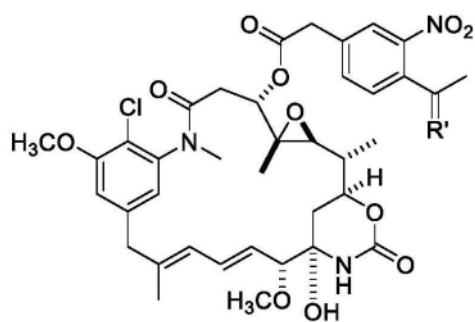
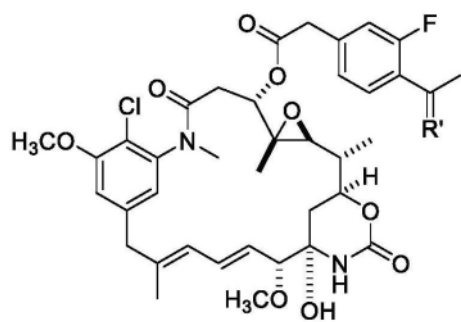
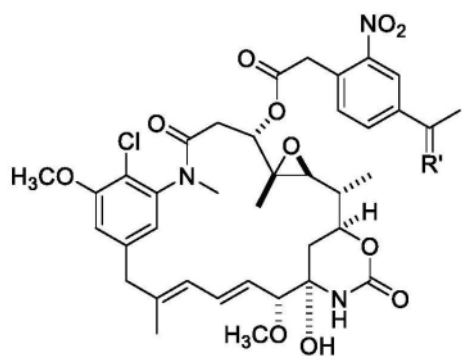
[0083] 在一些实施例中, R^1 是 -H。在一些实施例中, Z^1 、 Z^2 、 Z^3 和 Z^4 中的至少一个不是 H。在一些实施例中, Z^1 、 Z^2 、 Z^3 和 Z^4 中的至少一个是 -F 或 -NO_2 。在一些实施例中, n 是 0 且 X 不存在。在一些实施例中, n 是 0 且 X 是 $\text{-CH}_2\text{-}$ 。在一些实施例中, n 是 0 且 X 是 -O- 、 -NHMe 或 -S- 。在一些实施例中, 所述化合物选自:



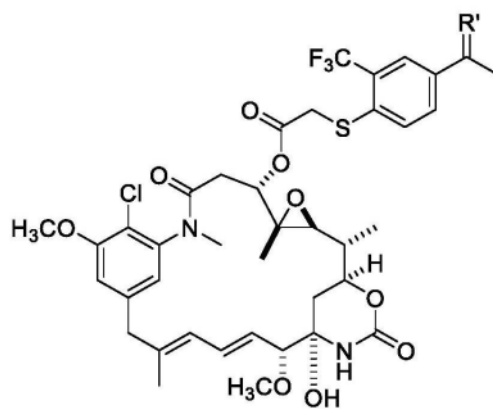
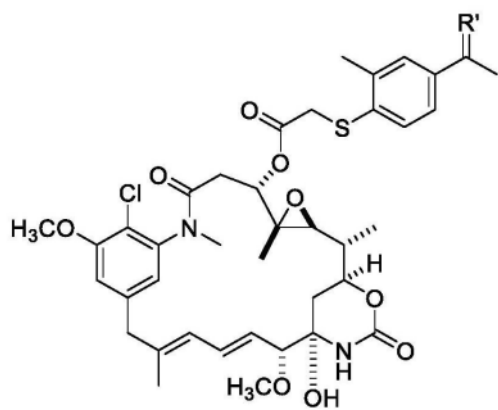
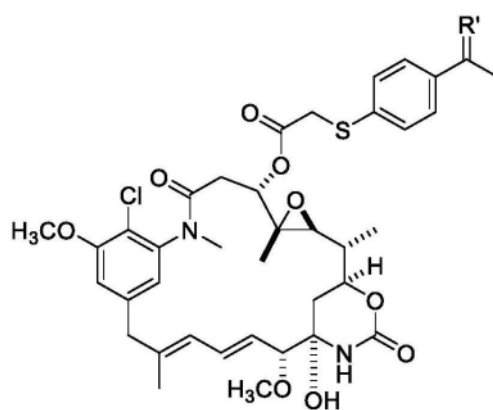
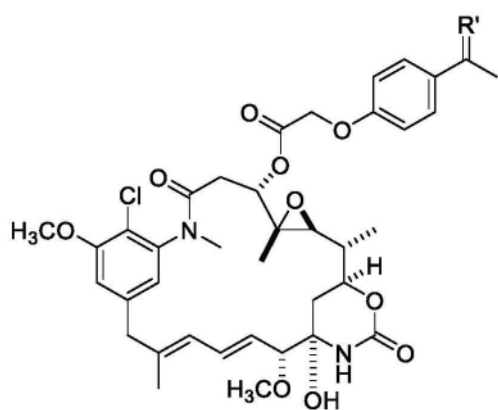


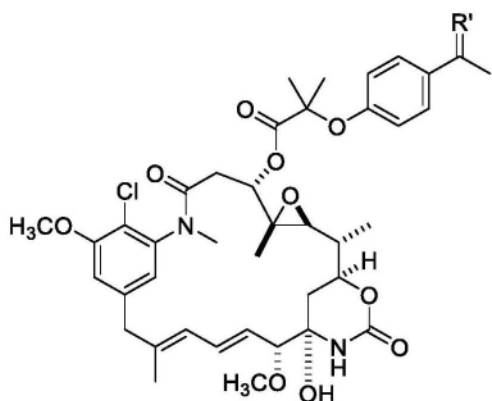
[0085]



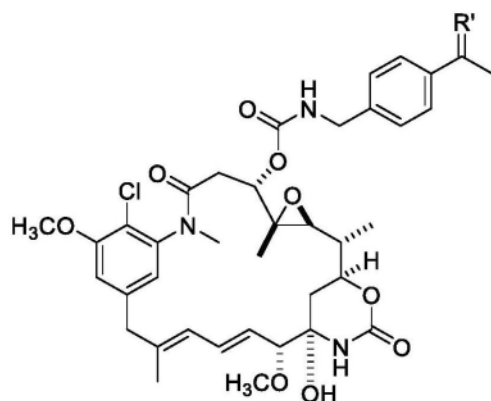


[0086]

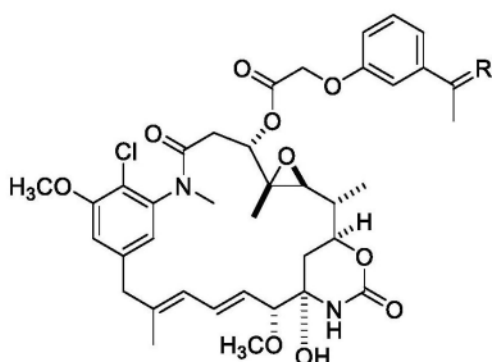




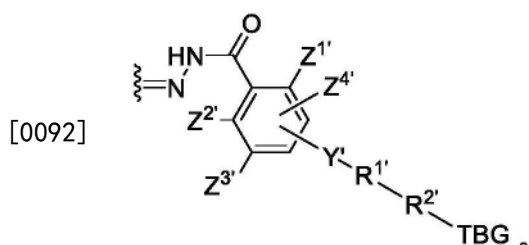
[0088]



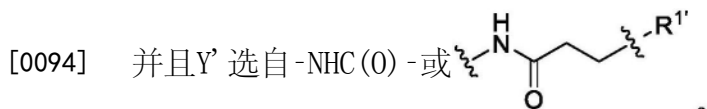
和



[0089] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体。

[0090] 在一些实施例中,所述药学上可接受的抗衡离子选自 H^+ 、 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 NR_4^+ 和 NHR_3^+ ;其中R是H或 C_1-C_4 烷基。[0091] 在一些实施例中, R' 是O。在一些实施例中, R' 是:

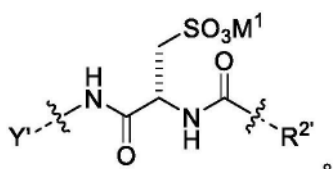
[0092]

[0093] 在一些实施例中,所述化合物不与带有硫醇的大分子载体或带有硫醇的肿瘤特异性载体结合。在一些实施例中,所述化合物与带有硫醇的大分子载体或带有硫醇的肿瘤特异性载体结合。在一些实施例中,所述带有硫醇的大分子载体或带有硫醇的肿瘤特异性载体选自内源性白蛋白、外源性白蛋白、抗体、抗体片段、肽、天然或合成聚合物、脂质体和纳米颗粒。在一些实施例中,TBG是任选取代的马来酰亚胺基团。在一些实施例中, $Z^{1'}$ 选自 $-NO_2$ 或 $-SO_3M^2$;

[0094]

并且 Y' 选自 $-NHC(O)-$ 或[0095] 在一些实施例中, $R^{1'}$ 是

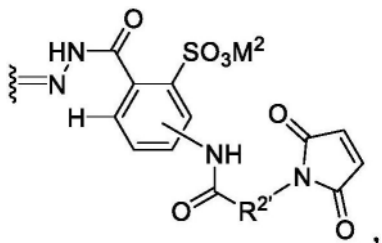
[0096]



[0097]

在一些实施例中, R' 是:

[0098]



[0099]

或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体,

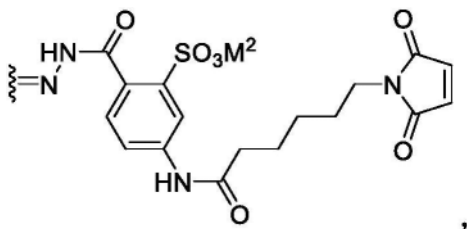
[0100]

其中 R^{2'} 选自任选取代的 C₁-C₁₈ 烷基, 其中在所述 C₁-C₁₈ 烷基中任选地至多六个碳原子各自独立地被 -OCH₂CH₂- 取代。

[0101]

在一些实施例中, R' 是:

[0102]

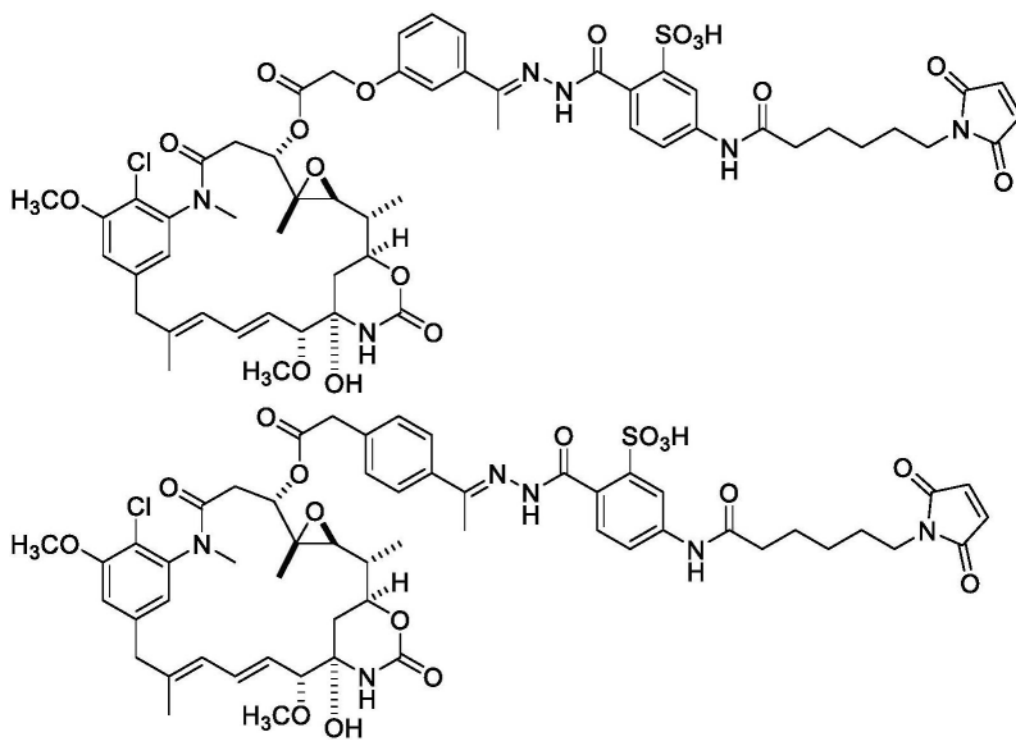


[0103]

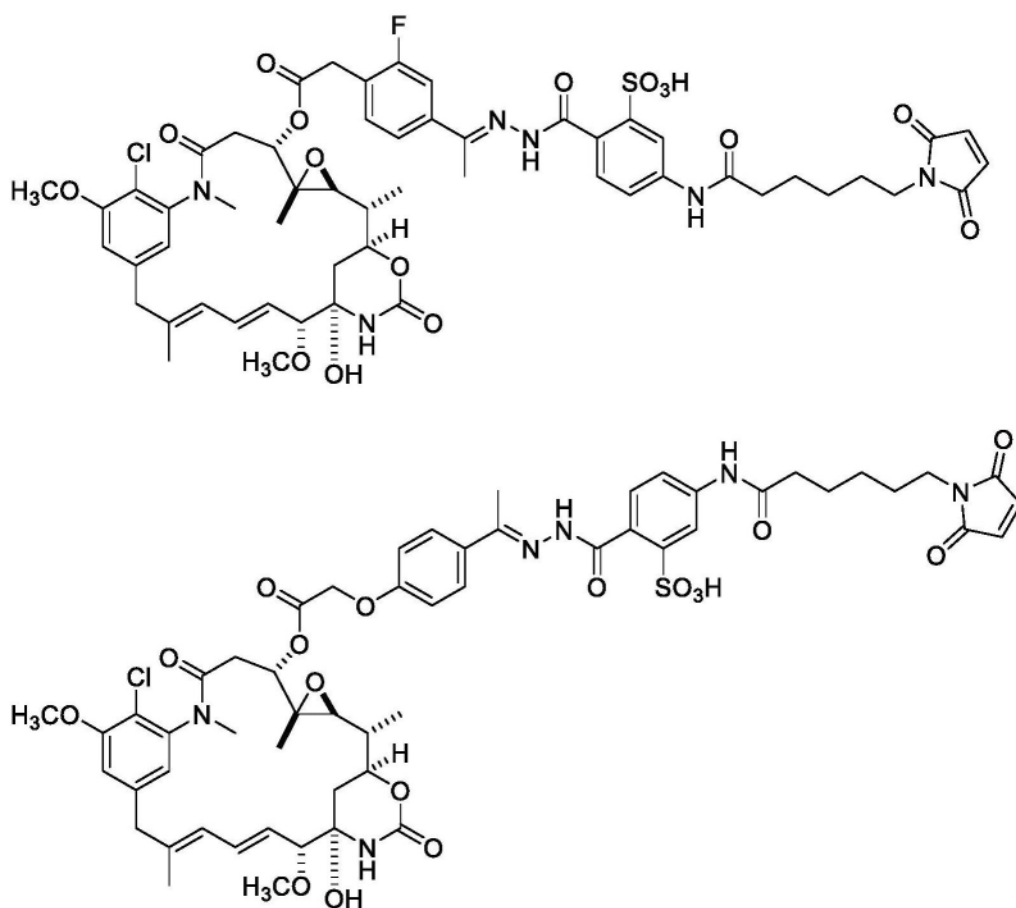
或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体。

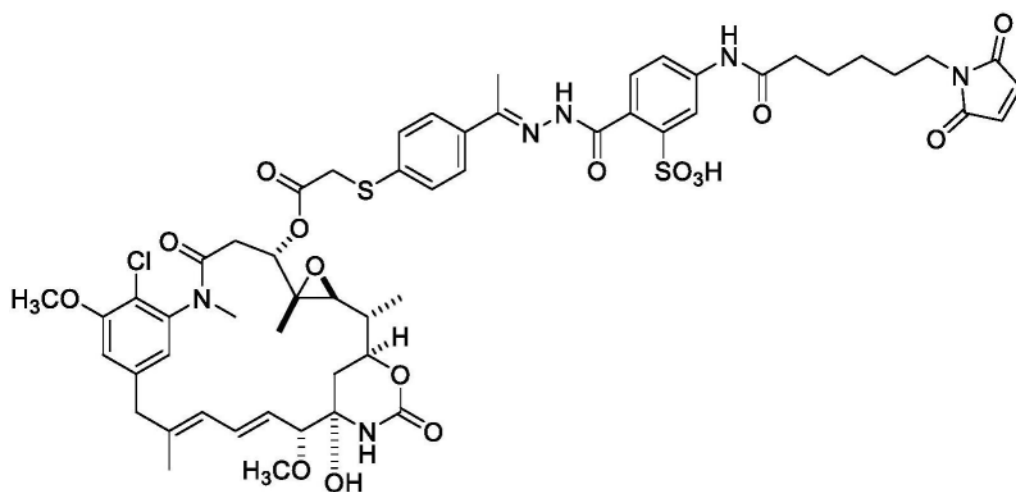
[0104]

在一些实施例中, 所述化合物选自:

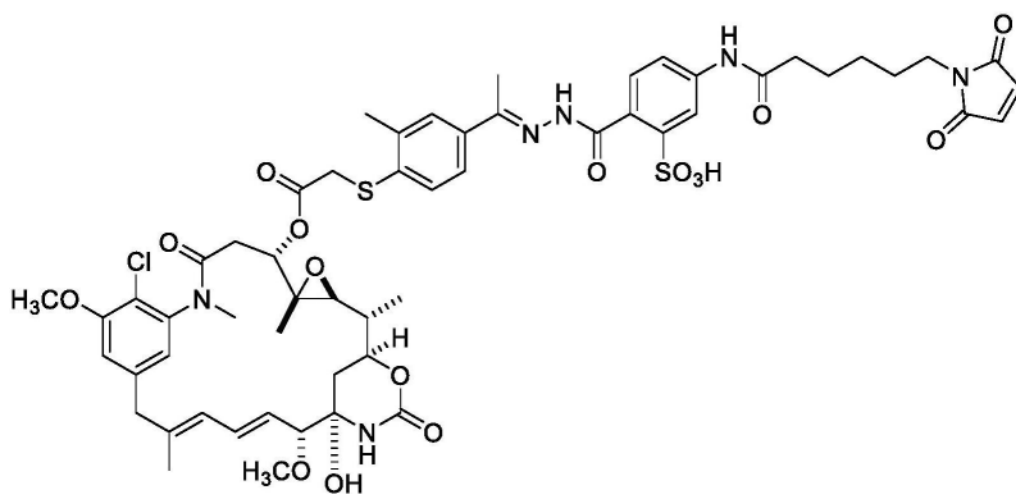
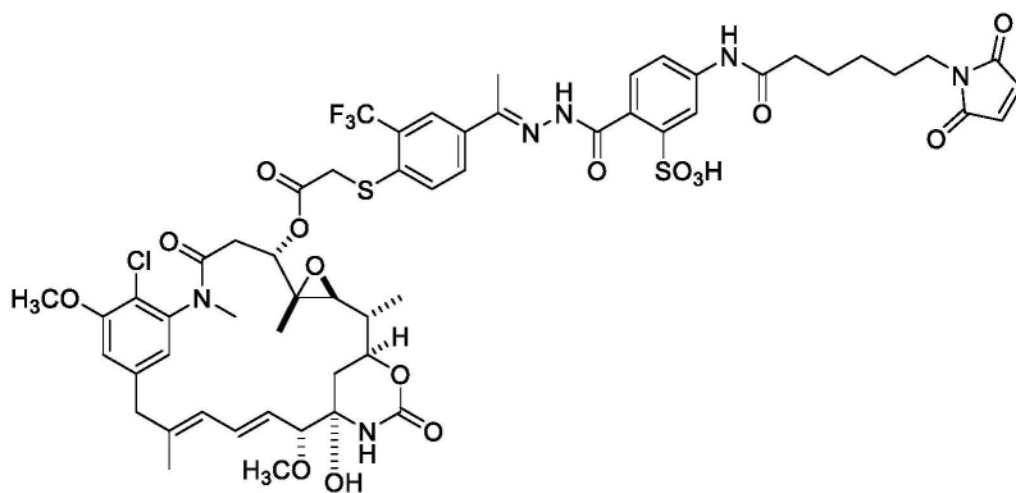


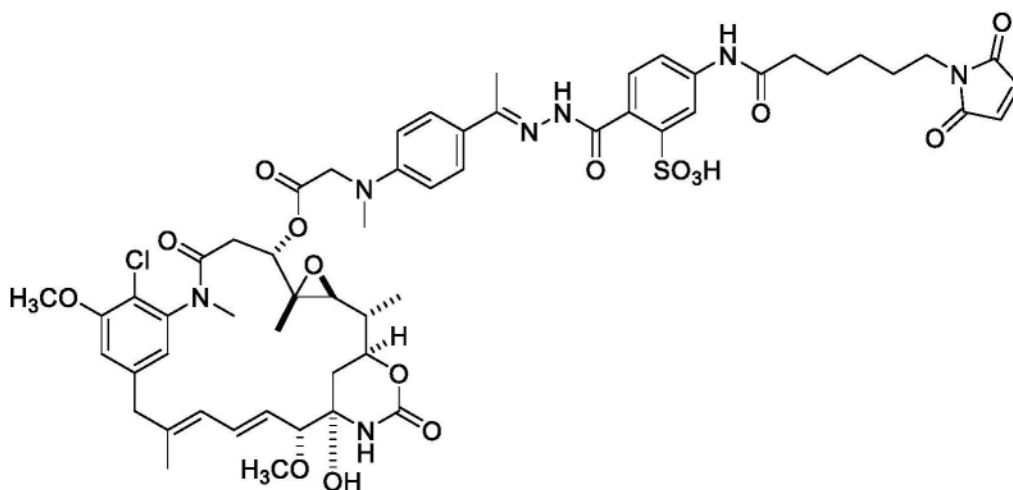
[0105]



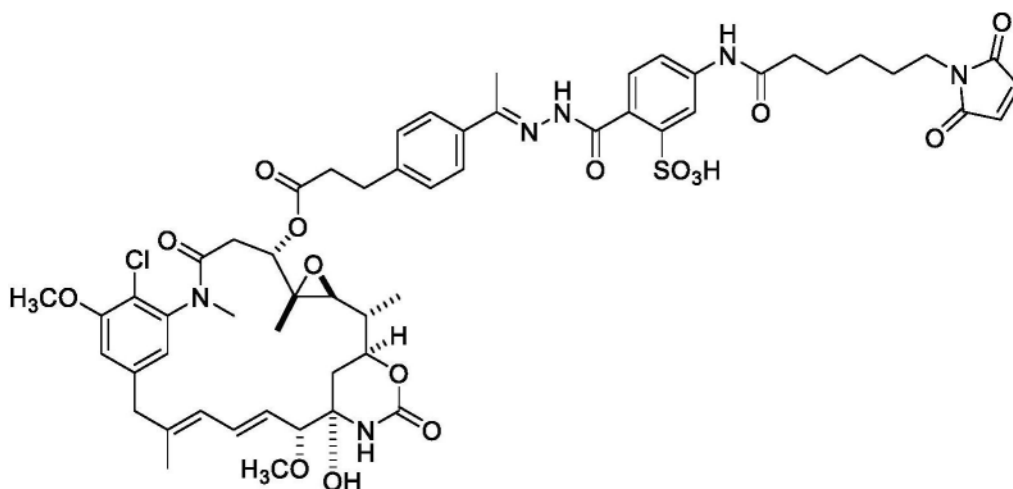


[0106]



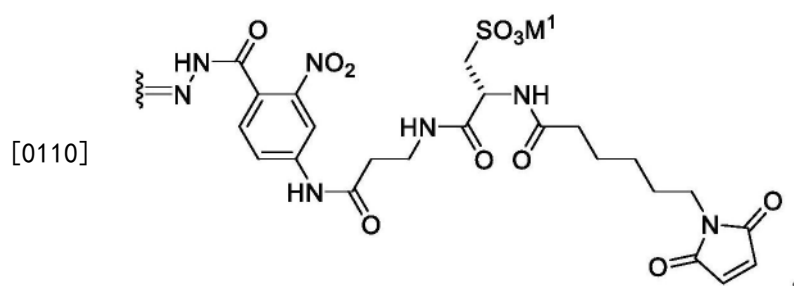


[0107]



[0108] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体。

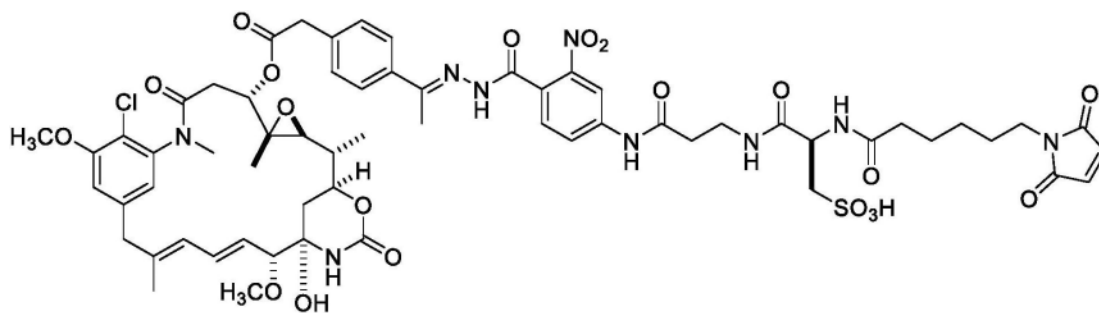
[0109] 在一些实施例中, R' 是:



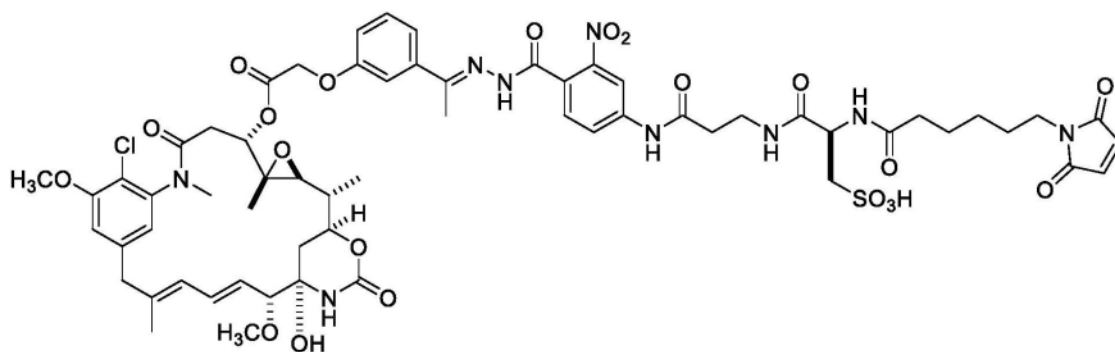
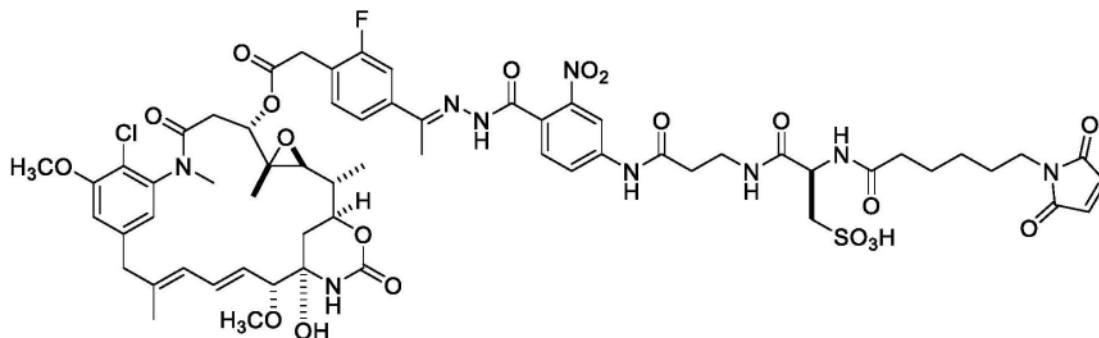
[0110]

[0111] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体;其中M¹是药学上可接受的抗衡离子。

[0112] 在一些实施例中,所述化合物选自:

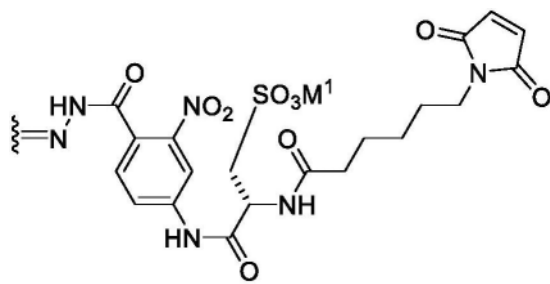


[0113]



[0114] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体。

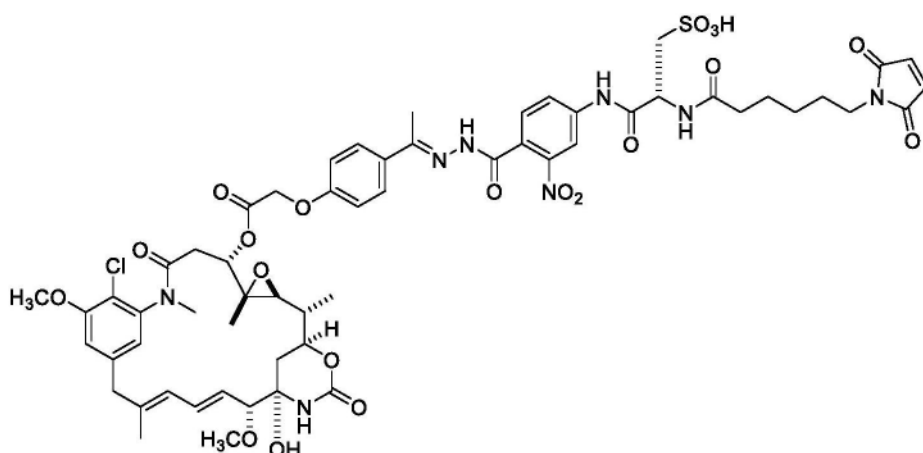
[0115] 在一些实施例中,根据权利要求14至20中任一项所述的化合物,其中R' 是:



[0116] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体;

[0117] 其中M¹是药学上可接受的抗衡离子。

[0118] 在一些实施例中,根据权利要求26所述的化合物,其中所述化合物是:



[0119] 其他实施例包括一种药物组合物,其包括本文公开的化合物和药学上可接受的载体。

[0120] 其他实施例包括一种用于治疗选自以下的疾病或病状的方法:癌症、病毒性疾病、自身免疫性疾病、急性或慢性炎症性疾病以及由细菌、真菌或其他微生物引起的疾病,所述方法包括对有此需要的患者投予治疗有效量的本文公开的化合物或药物组合物。在一些实施例中,所述疾病是癌症,例如癌症选自腺癌、葡萄膜黑色素瘤、急性白血病、听神经瘤、壶腹癌、肛门癌、星形细胞瘤、基底细胞癌、胰腺癌、结缔组织肿瘤、膀胱癌、支气管癌、非小细胞支气管癌、乳腺癌、伯基特氏淋巴瘤、子宫体癌、CUP综合征、结肠癌、小肠癌、卵巢癌、子宫内膜癌、胆囊癌、胆囊瘤、子宫癌、子宫颈癌、颈、鼻、耳肿瘤、血液肿瘤、毛细胞白血病、尿道癌、皮肤癌、神经胶质瘤、睾丸癌、卡波济肉瘤、喉癌、骨癌、大肠癌、头颈癌、结肠癌、颅咽管瘤、肝癌、白血病、肺癌、非小细胞肺癌、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、胃癌、结肠癌、髓母细胞瘤、黑色素瘤、脑膜瘤、肾癌、肾细胞癌、少突胶质细胞瘤、食道癌、溶骨癌和骨癌、骨肉瘤、卵巢癌、胰腺癌、阴茎癌、前列腺癌、舌癌、卵巢癌和淋巴腺癌。

[0121] 其他实施例包括一种降低化合物的细胞毒性的方法,所述方法包括对有此需要的患者投予本文公开的化合物或药物组合物,其中当与当量剂量的未修饰活性剂相比时,所述投药导致细胞毒性降低。

[0122] 其他实施例包括一种增加肿瘤中化合物的代谢物的浓度的方法,所述方法包括对有此需要的患者投予本文公开的化合物或药物组合物,其中将所述增加与当量剂量的所述未修饰活性剂进行比较。

[0123] 其他实施例包括一种用作药剂的本文公开的化合物。

[0124] 其他实施例包括一种用于治疗选自由以下组成的组的疾病或病状的本文公开的化合物:癌症、病毒性疾病、自身免疫性疾病、急性或慢性炎症性疾病以及由细菌、真菌或其他微生物引起的疾病。

[0125] 其他实施例包括一种本文公开的化合物或药物组合物在制备用于治疗选自以下的疾病或病状的药剂中的用途:癌症、病毒性疾病、自身免疫性疾病、急性或慢性炎症性疾病以及由细菌、真菌或其他微生物引起的疾病。

附图说明

[0126] 图1示出了4的不同连接基在CD1小鼠血浆中的稳定性。

[0127] 图2示出了一组不同细胞系中几何平均 IC_{50} 值的热图。

[0128] 图3示出了在RXF631肾细胞肿瘤模型中对照组、美登素组以及用化合物30、42、31和35治疗的组的肿瘤生长曲线。

[0129] 图4示出了在RXF631肾细胞肿瘤模型中对照组、美登素组以及用化合物30、42、31和35治疗的组的体重变化曲线。

[0130] 图5示出了在LXFE 937鳞状细胞肺癌模型中对照组、美登素组以及用化合物32、30和31治疗的组的肿瘤生长曲线。

[0131] 图6示出了在LXFE 937鳞状细胞肺癌模型中对照组、美登素组以及用化合物32、30和31治疗的组的体重变化曲线。

[0132] 图7示出了在LXFE 937鳞状细胞肺癌模型中对照组、美登素组以及用化合物30和31治疗的组的肿瘤生长曲线。

[0133] 图8示出了在LXFE 937鳞状细胞肺癌模型中对照组、美登素组以及用化合物30和31治疗的组的体重变化曲线。

[0134] 图9示出了在LXFA 737肺腺癌模型中对照组、美登素组以及用化合物30和31治疗的组的肿瘤生长曲线。

[0135] 图10示出了在LXFA 737肺腺癌模型中对照组、美登素组以及用化合物30和31治疗的组的体重变化曲线。

[0136] 图11示出了在MDA-MB 231乳腺癌模型中对照组、美登素组以及用化合物32、30和31治疗的组的肿瘤生长曲线。

[0137] 图12示出了在MDA-MB 231乳腺癌模型中对照组、美登素组以及用化合物32、30和31治疗的组的体重变化曲线。

[0138] 图13示出了在A2780卵巢癌模型中对照组、美登素组以及用化合物30和31治疗的组的肿瘤生长曲线。

[0139] 图14示出了在A2780卵巢癌模型中对照组、美登素组以及用化合物30和31治疗的组的体重变化曲线。

[0140] 图15示出了在MDA-MB 468乳腺癌模型中对照组、美登素组以及用化合物30和31治疗的组的肿瘤生长曲线。

[0141] 图16示出了在MDA-MB 468乳腺癌模型中对照组、美登素组以及用化合物30和31治疗的组的体重变化曲线。

具体实施方式

[0142] 除非本文另有定义,否则本申请中使用的科学和技术术语应具有本领域普通技术人员通常理解的含义。通常,本文描述的与化学、分子生物学、细胞和癌症生物学、免疫学、微生物学、药理学和蛋白质化学的技术有关的命名法是本领域众所周知的和常用的。

[0143] 本申请中提及的所有出版物、专利和公开的专利申请均通过引用特别地并入本文。在发生冲突的情况下,以本说明书(包括其具体定义)为准。除非另有说明,否则应理解,本文公开的每个实施例可以单独使用或与本发明的任何一个或多个其他实施例结合使用。

[0144] 定义

[0145] 在整个说明书中,词语“包括(comprise)”或其变体,诸如“包括(comprises)”或

“包括 (comprising)”, 将被理解为暗示包括所述整体 (或组分) 或整体 (或组分) 的组, 但不排除任何其他整体 (或组分) 或整体 (或组分) 的组。

[0146] 在整个申请中, 在化合物或组合物被描述为具有、包括 (including) 或包括 (comprising) 特定组分的情况下, 可以预期, 此类化合物或组合物也可以基本上由所列举的组分组成或由所列举的组分组成。类似地, 在将方法或过程描述为具有、包括 (including) 或包括 (comprising) 特定过程步骤的情况下, 所述过程也可以基本上由所列举的过程步骤组成或由所列举的过程步骤组成。另外, 应理解, 只要本文所述的化合物、组合物和方法保持可操作性, 步骤的顺序或执行某些动作的顺序就无关紧要。而且, 可以同时进行两个或更多个步骤或动作。

[0147] 除非上下文另外明确指出, 否则单数形式“一种 (a)”、“一种 (an)”和“所述”包括复数。

[0148] 术语“包括”用于意指“包括但不限于”。“包括”和“包括但不限于”可以互换使用。

[0149] 除非上下文另外明确指出, 否则本文所用的术语“或”应理解为意指“和/或”。

[0150] 术语“药物”、“试剂”、“治疗剂”、“治疗活性剂”、“细胞毒性剂或药物”、“高细胞毒性剂或药物”或“治疗有效物质”用于意指任何化合物, 其本身或在相关生物体内转化后会产生药理作用, 并且因此也包括来自这些转化的衍生物。根据本公开的组合物中的药物的药理作用只能是单一作用, 例如: 细胞抑制和/或细胞毒性作用, 或广泛药理作用谱, 诸如同时具有免疫抑制和消炎作用。

[0151] 术语“患者”、“受试者”或“个体”可以互换使用, 并且是指人类或非人类动物。这些术语包括哺乳动物, 诸如人、灵长类、家畜 (例如牛、猪)、伴侣动物 (例如犬、猫) 和啮齿动物 (例如小鼠和大鼠)。在某些实施例中, 患者或受试者是人类患者或受试者, 诸如患有需要治疗的病状的人类患者。

[0152] 术语“药物组合物”是指用于受试动物 (包括人和哺乳动物) 的适用于药物用途的组合物, 例如, 与一种或多种药学上可接受的载体、赋形剂或溶剂组合。这种组合物还可以包含稀释剂、填充剂、盐、缓冲剂、稳定剂、增溶剂、保护剂和本领域众所周知的其他材料。在某些实施例中, 药物组合物涵盖包括活性成分的组合物, 和由赋形剂、载体或稀释剂构成的惰性成分, 以及任何两种或更多种成分的组合、络合或聚集, 或一种或多种成分的分解, 或一种或多种成分的其他类型的反应或相互作用, 而直接或间接产生的任何产品。因此, 本公开的药物组合物涵盖通过将本公开的化合物与一种或多种药学上可接受的赋形剂、载体和/或稀释剂混合制成的任何组合物。

[0153] 术语“药学上可接受的载体”是指可以与本文公开的治疗有效物质一起对患者投予并且不破坏试剂的药学活性的无毒载体。术语“赋形剂”是指在制剂或组合物中不是药学活性成分的添加剂。在某些实施例中, “药学上可接受的”物质适合与动物或人的细胞、组织或器官接触而没有过度的毒性、刺激、变态反应、免疫原性或其他不良反应, 其剂量形式为: 根据投药时间表, 并具有合理的获益/风险比。在某些实施例中, 作为药物组合物的组分的“药学上可接受的”物质另外与组合物的其他成分相容。在某些实施例中, 术语“药学上可接受的赋形剂”、“药学上可接受的载体”和“药学上可接受的稀释剂”包括但不限于药学上可接受的非活性成分、材料、组合物和媒介物, 诸如液体填充剂、固体填充剂、稀释剂、赋形剂、载体、溶剂和包囊材料。载体、稀释剂和赋形剂还包括所有药学上可接受的分散介质、包衣、

缓冲剂、等渗剂、稳定剂、吸收延迟剂、抗微生物剂、抗菌剂、抗真菌剂、佐剂等。除了任何常规赋形剂、载体或稀释剂与活性成分不相容之外,本公开涵盖常规赋形剂、载体和稀释剂在药物组合物中的用途。参见例如Remington:The Science and Practice of Pharmacy,第21版,Lippincott Williams&Wilkins (Philadelphia,Pennsylvania,2005);Handbook of Pharmaceutical Excipients,第5版,Rowe等人编写,The Pharmaceutical Press and the American Pharmaceutical Association(2005);Handbook of Pharmaceutical Additives,第3版,Ash and Ash编写,Gower Publishing Co.(2007);以及Pharmaceutical Preformulation and Formulation,Gibson编写,CRC Press LLC(Boca Raton,Florida,2004)。

[0154] 术语“药学上有效量”,“治疗有效量”或“治疗有效剂量”是指有效治疗患者疾病或病状的量,例如,对患有疾病(例如癌症)或病状的患者,的总体健康、生理反应或状况的治疗、治愈、抑制或改善等,产生有益和/或理想的改变。完全的治疗效果不一定通过一次剂量投药而发生,并且可能仅在一系列剂量投药后才发生。因此,可以通过一次或多次投药来投予治疗有效量。受试者所需的确切有效量将取决于例如受试者的体型、健康状况和年龄、疾病的性质和程度,选择用于投药的疗法或疗法的组合以及投药方式。技术人员可以通过常规实验容易地确定给定情况的有效量。技术人员将认识到,治疗癌症包括但不限于杀死癌细胞,防止新癌细胞的生长,引起肿瘤消退(肿瘤大小减小),引起转移减少,改善患者的生命机能,改善患者的健康,减轻疼痛,改善食欲,改善患者的体重及其任何组合。术语“药学上有效量”,“治疗有效量”或“治疗有效剂量”也指改善患者临床症状所需的量。本文所述的一种或多种治疗癌症的方法不应解释为或以其他方式限于“治愈”癌症。

[0155] 如本文所用,术语“治疗(treating)”或“治疗(treatment)”包括以某种方式逆转、减轻或阻止症状、临床体征和潜在的病理状况,以改善或稳定受试者的状况。如本文所用,以及在本领域中众所周知的,“治疗”是用于获得有益的或期望的结果,包括临床结果的途径。有益或理想的临床结果可以包括但不限于缓解、改善或减缓与病状相关的一种或多种症状或病状的进展,例如,无论可检测还是不可检测的癌症,疾病程度的减轻、疾病状态的稳定(即,不恶化)、疾病进展的延迟或减慢、疾病状态的改善或减轻以及缓解(无论是部分的还是全部的)。与未接受治疗的预期生存期相比,“治疗”还可能意味着生存期延长。示例性有益临床结果在本文中予以描述。

[0156] 可以使用本领域技术人员已知的多种方法中的一种来对受试者“投予(Administering)”或“投予(administration)”物质、化合物或试剂。例如,可以通过静脉内、动脉内、皮内、肌内、腹膜内、皮下、眼内、舌下、口服(通过摄入)、鼻内(通过吸入)、脊髓内、脑内和经皮(通过吸收,例如通过皮肤导管)投予化合物或试剂。化合物或试剂还可以通过可再充电或可生物降解的聚合物装置或其他装置(例如贴剂和泵或制剂)适当地引入,所述装置提供化合物或试剂的延长、缓慢或受控释放。也可以例如一次、多次和/或在一个或多个延长的时期内进行投药。在某些方面中,投药包括直接投药(包括自我投药)和间接投药(包括开处方药的行为)两者。例如,如本文所用,指导患者自我投予药物或由另一人投予药物的医师,和/或向患者提供药物处方的医师正在对患者投予药物。当一种方法是涉及超过一种试剂或治疗方式的治疗方案的一部分时,本公开预期可以在相同或不同时间以及通过相同或不同的投药途径来投予所述试剂。对受试者投予物质、化合物或试剂的合适方法

还取决于例如受试者的年龄、在投药时受试者是活跃的还是不活跃的、在投药时受试者的认知能力是否受损、损伤的程度,以及化合物或试剂的化学和生物学特性(例如溶解度、消化率、生物利用度、稳定性和毒性)。

[0157] 术语“取代的”是指具有在化学化合物主链的一个或多个碳原子上取代氢的取代基的部分。应理解,“取代”或“被……取代”包括隐含的条件,即这种取代是根据取代原子和取代基的允许化合价,并且所述取代产生稳定的化合物,例如不会诸如通过重排、环化、消除等自发进行转化。如本文所用,术语“取代的”预期包括有机化合物的所有允许的取代基。在广义方面中,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。对于合适的有机化合物,允许的取代基可以是一个或多个并且可以相同或不同。为了本公开的目的,杂原子(诸如氮)可以具有氢取代基,和/或本文描述的满足杂原子的化合价的有机化合物的任何允许的取代基。取代基可以包括本文所述的任何取代基,例如,卤素、羟基、羰基(诸如羧基、烷氧基羰基、甲酰基或酰基)、硫代羰基(诸如硫代酸酯、硫代乙酸酯或硫代甲酸酯)、烷氧基、烷硫基、酰氧基、磷酰基、磷酸盐、膦酸酯、氨基、酰胺基、胺基、亚胺基、氰基、硝基、叠氮基、巯基、烷硫基、硫酸盐、磺酸盐、氨磺酰基、磺酰胺基、磺酰基、杂环基、芳烷基或芳族(例如C₆-C₁₂芳基)或杂芳族(例如杂芳基)部分。

[0158] “任选的”或“任选地”意指随后描述的情况可能会或可能不会发生,因此本申请包括发生这种情况的例子和未发生这种情况的例子。例如,短语“任选取代的”意指在给定原子上可以存在或可以不存在非氢取代基,并且因此,本申请包括其中存在非氢取代基的结构和其中不存在非氢取代基的结构。

[0159] 除非特别说明为“未取代的”,否则本文中提及的化学部分应理解为包括取代的变体。例如,提及“烷基”基团或部分隐含地包括取代的和未取代的变体两者。化学部分上的取代基的实例包括但不限于卤素、羟基、羰基(诸如羧基、烷氧基羰基、甲酰基或酰基)、硫代羰基(诸如硫代酸酯、硫代乙酸酯或硫代甲酸酯)、烷氧基、烷硫基、酰氧基、磷酰基、磷酸盐、膦酸酯、氨基、酰胺基、胺基、亚胺基、氰基、硝基、叠氮基、巯基、烷硫基、硫酸盐、磺酸盐、氨磺酰基、磺酰胺基、磺酰基、杂环基、芳烷基或芳基或杂芳基部分。

[0160] “芳基”指示在环中具有指定数量的碳原子,例如6至12或6至10个碳原子的芳族碳环。芳基可以是单环或多环的(例如,双环、三环的)。在一些情况下,多环芳基的两个环都是芳族的(例如萘基)。在其他情况下,多环芳基可以包括稠合到芳环的非芳族环(例如,环烷基、环烯基、杂环烷基、杂环烯基),条件是多环芳基经由芳环中的原子与母体结构结合。因此,将1,2,3,4-四氢萘-5-基(其中所述部分通过芳族碳原子与母体结构结合)视为芳基,而不将1,2,3,4-四氢萘-1-基(其中所述部分通过非芳族碳原子与母体结构结合)视为芳基。类似地,将1,2,3,4-四氢喹啉-8-基(其中所述部分通过芳族碳原子与母体结构结合)视为芳基,而不将1,2,3,4-四氢喹啉-1-基(其中所述部分通过非芳族氮原子与母体结构结合)视为芳基。然而,术语“芳基”不涵盖本文定义的“杂芳基”或与之重叠,不管其连接点(例如,喹啉-5-基和喹啉-2-基均为杂芳基)。

[0161] “杂芳基”指示包含指定数量的环原子(例如,5至12或5至10元杂芳基)的芳香环,所述指定数量的环原子由一个或多个选自N、O和S的杂原子(例如,1、2、3或4个杂原子)构成,其余的环原子为碳。5元杂芳基是具有5个环原子的杂芳基。6元杂芳基是具有6个环原子的杂芳基。杂芳基不包含相邻的S和O原子。在一些实施例中,杂芳基中的S和O原子的总数不

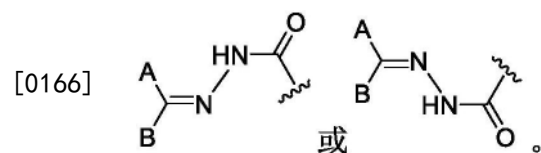
超过2。在一些实施例中,杂芳基中的S和O原子的总数不超过1。除非另有指示,在化合价允许的情况下,杂芳基可以通过碳或氮原子与母体结构结合。例如,“吡啶基”包括2-吡啶基、3-吡啶基和4-吡啶基,并且“吡咯基”包括1-吡咯基、2-吡咯基和3-吡咯基。当氮存在于杂芳基环中时,在相邻原子和基团的性质允许的情况下,氮可以以氧化态(即, N^+-O^-)存在。另外,当硫存在于杂芳基环中时,在相邻原子和基团的性质允许的情况下,它可以氧化态(即, S^+-O^- 或 SO_2)存在。杂芳基可以是单环或多环的(例如,双环、三环的)。

[0162] 在一些情况下,杂芳基是单环的。实例包括吡咯、吡唑、咪唑、三唑(例如,1,2,3-三唑、1,2,4-三唑、1,3,4-三唑)、四唑、呋喃、异噁唑、噁唑、噁二唑(例如,1,2,3-噁二唑、1,2,4-噁二唑、1,3,4-噁二唑)、噻吩、异噻唑、噻唑、噻二唑(例如,1,2,3-噻二唑、1,2,4-噻二唑、1,3,4-噻二唑)、吡啶、哒嗪、嘧啶、吡嗪、三嗪(例如,1,2,4-三嗪、1,3,5-三嗪)和四嗪。

[0163] 术语“酰基”是本领域公认的,并且是指由通式烃基-C(O)-表示的基团,例如烷基-C(O)-。

[0164] 术语“烷基”是指饱和脂肪族基的基团,包括直链烷基和支链烷基。在一些实施例中,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, C_1-C_{30} ,对于支链 C_4-C_{30}),并且在其他实施例中,具有20个或更少。在某些实施例中,烷基是低级烷基,例如,甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基和正戊基。而且,贯穿说明书、实例和权利要求书使用的术语“烷基”旨在包括“未取代的烷基”和“取代的烷基”两者,后者是指在烃主链的一个或多个碳原子上具有取代氢的取代基的烷基部分。在某些实施例中,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, C_1-C_{30} ,对于支链 C_3-C_{30})。在一些实施例中,链在其主链中具有十个或更少的碳原子(C_1-C_{10})。在其他实施例中,链在其主链中具有六个或更少的碳原子(C_1-C_6)。

[0165] 术语“脞部分”或“脞”是指E和/或Z脞,例如,



[0167] 脞部分的立体化学构型可以是E或Z。本文所用的术语脞,包括E和Z异构体两者。本文公开的脞部分通常以一种构型绘制,但是应理解,本公开可以包括E和/或Z两者。

[0168] 在本说明书的不同地方,以组或范围公开了本公开的化合物的取代基。具体地意图,本公开包括这种组和范围的成员中的每一个和每个单独的子组合。例如,术语“ C_1-C_6 烷基”具体地旨在个别地公开甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基等。

[0169] “药学上可接受的盐”是适用于药物用途的化合物的盐,包括但不限于金属盐(例如,钠、钾、镁、钙等)、酸加成盐(例如无机酸、羧酸等)和碱加成盐(例如,氨水、有机胺等)。以游离形式作为碱存在的化合物的酸加成盐形式可以通过用适当的酸处理所述游离碱形式来获得,所述酸诸如无机酸,例如氢卤酸,诸如盐酸或氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等;或有机酸,诸如像乙酸、羟基乙酸、丙酸、乳酸、丙酮酸、丙二酸、琥珀酸、马来酸、富马酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、甲磺酸、乙磺酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、环酸、水杨酸、对氨基水杨酸、棕榈酸等(参见例如W0 01/062726。Berge等人列出的一些药学上可接受的盐,Journal of Pharmaceutical Sciences,66:1-19(1977),所述文献以引用方式全文并入本文)。通过用适当的有机和无机碱处理,可以将包含酸性质子的化合物转化为其治疗活性的无毒碱加成

盐形式,例如金属盐或胺盐。适当的碱盐形式包括例如铵盐、碱金属和碱土金属盐或离子,例如,锂、钠、钾、镁、钙盐等,具有有机碱的盐,例如,N-甲基-D-葡萄糖胺、海巴明盐,以及具有氨基酸的盐,诸如像精氨酸、赖氨酸等。相反,通过用适当的碱或酸处理,可以将所述盐形式转化为游离形式。化合物及其盐可以是溶剂化物的形式,所述溶剂化物包括在本公开的范围。这种溶剂化物包括例如水合物、醇化物等(参见例如WO 01/062726)。

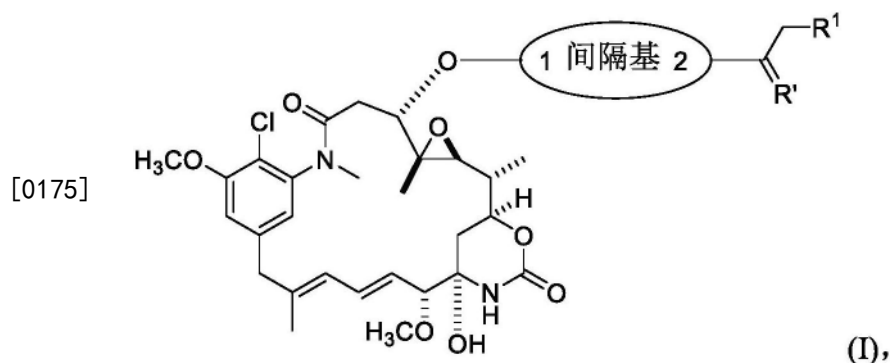
[0170] 本公开还提供了包括一种或多种本公开的化合物以及药学上可接受的载体或赋形剂的药物组合物。本公开的化合物或药物组合物可以在体外或体内使用。

[0171] 本文所用的术语“异构体”包括但不限于互变异构体、顺式和反式异构体(E(异侧)、Z(同侧))、R-和S-对映异构体(与PureAppl.Chem.(1976),45,11-30中所述的规则一致地使用R和S表示法)、非对映异构体、(D)-异构体、(L)-异构体、立体异构体、其外消旋混合物以及它们的其他混合物。所有这些异构体及其混合物都旨在包括在本公开中。互变异构体虽然未在本文所述的式中明确指出,但意图包括在本公开的范围。

[0172] 本公开还包括本公开的同位素标记的或富集的化合物。“同位素标记的”或“放射性标记的”化合物是本公开的化合物,其中一个或多个原子被原子质量或质量数与自然界中通常存在(天然存在)的原子质量或质量数不同的原子替换或取代。可以掺入本公开的化合物中的合适的放射性核素包括但不限于 ^2H (对于氘也写为D)、 ^3H (对于氚也写为T)、 ^{11}C 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{15}O 、 ^{17}O 、 ^{18}O 、 ^{18}F 、 ^{35}S 、 ^{36}Cl 、 ^{82}Br 、 ^{75}Br 、 ^{76}Br 和 ^{77}Br 。掺入本发明放射性标记的化合物中的放射性核素将取决于此放射性标记的化合物的具体应用。例如,对于体外金属蛋白酶标记和竞争测定,通常掺入 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{82}Br 、 ^{35}S 或的化合物最有用。对于无线电成像应用, ^{11}C 、 ^{18}F 、 ^{75}Br 、 ^{76}Br 或 ^{77}Br 通常最有用。氚(^3H)和 ^{14}C 可能对ADME研究有用。在一些实施例中,每个烷基、环烷基、烯基、亚烷基和烷氧基任选地被一个或多个-D或-F取代。

[0173] 本公开的化合物

[0174] 本公开的实施例提供了一种具有由式(I)表示的结构化合物:

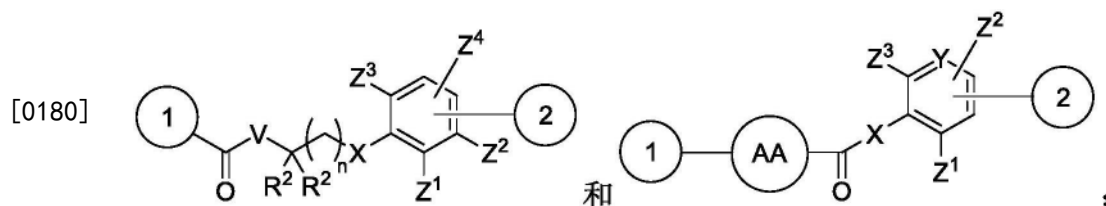


[0176] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体,

[0177] 其中:

[0178] R^1 选自-H和 C_1 - C_4 烷基;

[0179] 间隔基选自:



[0181] V不存在或选自 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{O}-$ 和 $-\text{NR}^3-$ ，其中 R^3 是 $-\text{H}$ 或 C_1-C_4 烷基；

[0182] 每个 R^2 独立地选自 $-\text{H}$ 、卤素基团(例如， $-\text{F}$ 、 $-\text{Cl}$ 、 $-\text{Br}$ 或 $-\text{I}$)和 C_1-C_4 烷基，或两个 R^2 一起形成 C_3-C_6 环烷基；

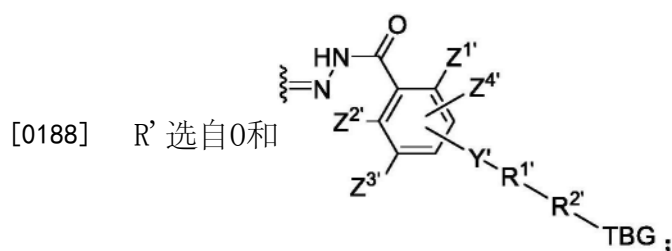
[0183] n是0至3；

[0184] X不存在或选自 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{Se}-$ 和 $-\text{NR}^4-$ ，其中 R^4 是 $-\text{H}$ 或 C_1-C_4 烷基；

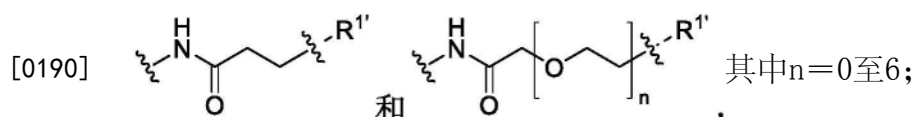
[0185] Y选自 $=\text{CH}-$ 和 $=\text{N}-$ ；

[0186] Z^1 、 Z^2 、 Z^3 和 Z^4 各自独立地选自 $-\text{H}$ 、卤素基团(例如， $-\text{F}$ 、 $-\text{Cl}$ 、 $-\text{Br}$ 或 $-\text{I}$)、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 C_1-C_4 烷基和 C_2-C_4 烷氧基；

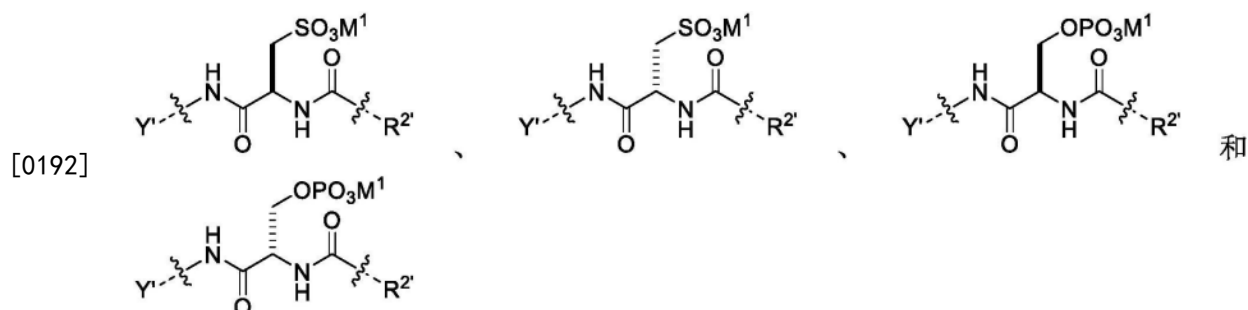
[0187] AA是氨基酸，其选自甘氨酸、D或L脯氨酸、肌氨酸、N-乙基甘氨酸、D或L丙氨酸、D或L N-甲基丙氨酸、 β -丙氨酸、N-甲基- β -丙氨酸、 α -氨基异丁酸和N-甲基- α -氨基异丁酸；



[0189] Y' 不存在或选自任选取代的 C_1-C_6 烷基、 $-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-$ 和 $-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-$ ；或 Y' 选自由以下组成的组：



[0191] R^1 不存在或选自由以下组成的组：



[0193] 其中 M^1 是药学上可接受的抗衡离子(例如， H^+ 、 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 NR_4^+ 和 NHR_3^+ ；其中R是 $-\text{H}$ 或 C_1-C_4 烷基)；

[0194] R^2 是任选取代的 C_1-C_{18} 烷基，其中在所述 C_1-C_{18} 烷基中任选地至多六个碳原子各自独立地被 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$ 取代；

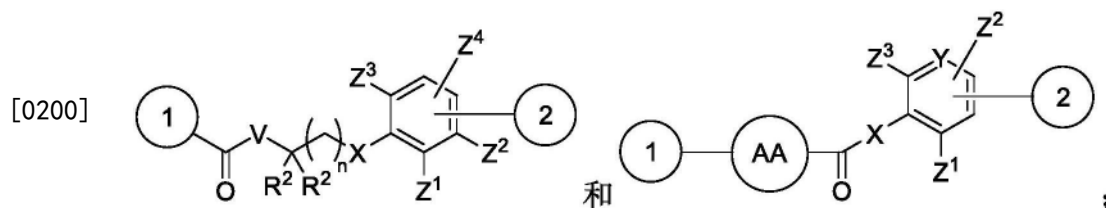
[0195] Z^1 、 Z^2 、 Z^3 和 Z^4 各自独立地选自 $-\text{H}$ 、卤素基团(例如， $-\text{F}$ 、 $-\text{Cl}$ 、 $-\text{Br}$ 或 $-\text{I}$)、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{SO}_3\text{M}^2$ 和 C_1-C_4 烷基，其中 M^2 是药学上可接受的抗衡离子(例如， H^+ 、 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 NR_4^+ 和 NHR_3^+ ；其中R是 $-\text{H}$ 或 C_1-C_4 烷基)；

[0196] TBG是选自以下的硫醇结合基团：任选取代的马来酰亚胺基、任选取代的卤代乙酰胺基、任选取代的卤代乙酸酯基、任选取代的吡啶硫基、任选取代的异硫氰酸酯基、任选取代的乙烯基羰基、任选取代的氮丙啶基、任选取代的二硫基、任选取代的乙炔基和任选取代的N-羟基琥珀酰亚胺酯基；

[0197] 其中所述TBG任选地与带有硫醇的大分子载体或带有硫醇的肿瘤特异性载体结合。

[0198] 在一些实施例中,在式(I)的化合物中, R^1 选自-H和 C_1 - C_4 烷基;

[0199] 间隔基选自:



[0201] V不存在或选自- CH_2 -、-O-和- NR^3 -,其中 R^3 是-H或 C_1 - C_4 烷基;

[0202] 每个 R^2 独立地选自-H、卤素基团(例如,-F、-Cl、-Br或-I)和 C_1 - C_4 烷基,或两个 R^2 一起形成 C_3 - C_6 环烷基;

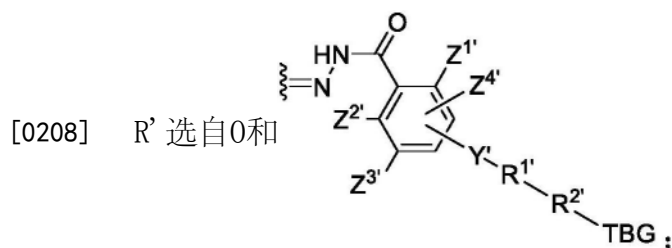
[0203] n是0至3;

[0204] X不存在或选自- CH_2 -、-O-、-S-、-Se-和- NR^4 -,其中 R^4 是-H或 C_1 - C_4 烷基;

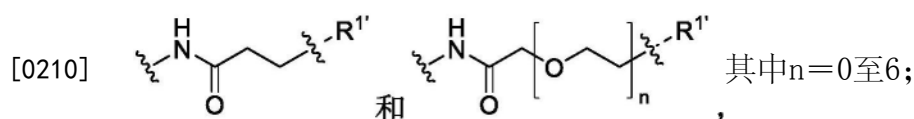
[0205] Y选自=CH-和=N-;

[0206] Z^1 、 Z^2 、 Z^3 和 Z^4 各自独立地选自-H、卤素基团(例如,-F、-Cl、-Br或-I)、- CF_3 、- OCH_3 、-CN、- NO_2 、 C_1 - C_4 烷基和 C_2 - C_4 烷氧基;

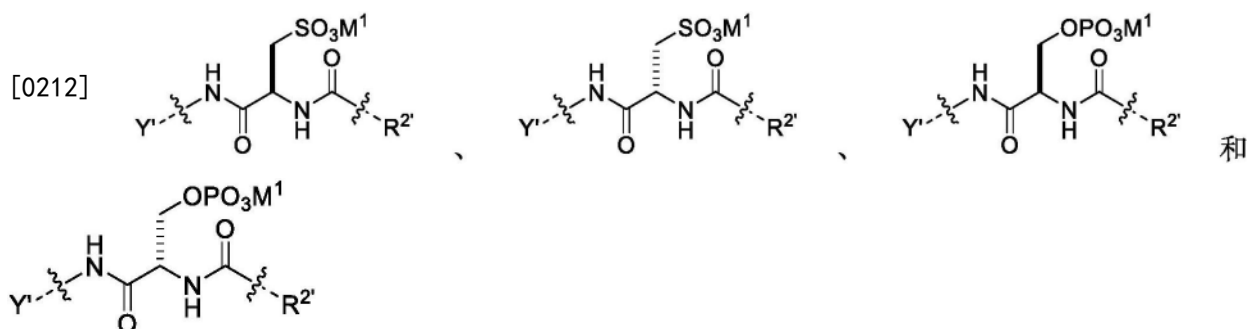
[0207] AA是氨基酸,其选自甘氨酸、D或L脯氨酸、肌氨酸、D或L丙氨酸、D或L N-甲基丙氨酸、 β -丙氨酸、N-甲基- β -丙氨酸、 α -氨基异丁酸和N-甲基- α -氨基异丁酸;



[0209] Y' 不存在或选自任选取代的 C_1 - C_6 烷基、-NH-C(O)-和-C(O)-NH-;或 Y' 选自由以下组成的组:



[0211] R^1 不存在或选自由以下组成的组:



[0213] 其中 M^1 是药学上可接受的抗衡离子(例如, H^+ 、 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 NR_4^+ 和 NHR_3^+ ;其中R是H或 C_1 - C_4 烷基);

[0214] R^2 是任选取代的 C_1-C_{18} 烷基, 其中在所述 C_1-C_{18} 烷基中任选地至多六个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 取代;

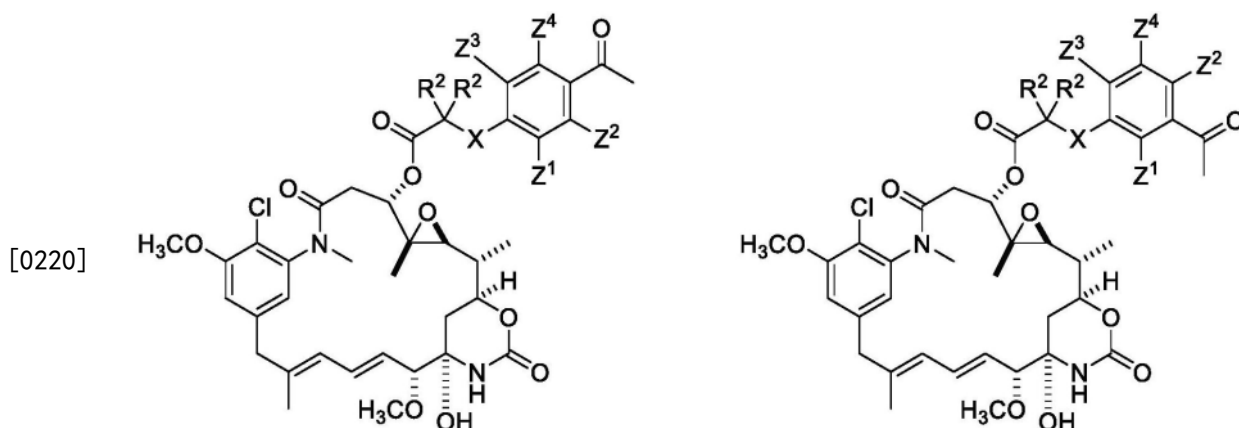
[0215] Z^1 、 Z^2 、 Z^3 和 Z^4 各自独立地选自 $-H$ 、卤素基团 (例如, $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 或 $-I$)、 $-CF_3$ 、 $-OCH_3$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-SO_3M^2$ 和 C_1-C_4 烷基, 其中 M^2 是药学上可接受的抗衡离子 (例如, H^+ 、 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 NR_4^+ 和 NHR_3^+ ; 其中 R 是 H 或 C_1-C_4 烷基);

[0216] TBG 是选自以下的硫醇结合基团: 任选取代的马来酰亚胺基、任选取代的卤代乙酰胺基、任选取代的卤代乙酸酯基、任选取代的吡啶硫基、任选取代的异硫氰酸酯基、任选取代的乙烯基羰基、任选取代的氮丙啶基、任选取代的二硫基、任选取代的乙炔基和任选取代的 N -羟基琥珀酰亚胺酯基;

[0217] 其中所述 TBG 任选地与带有硫醇的大分子载体或带有硫醇的肿瘤特异性载体结合。

[0218] 在一些实施例中, R' 是 O 。这些新颖化合物可以代表活性物质, 并且可以是例如药物递送系统的活性组分或从药物递送系统释放的活性代谢产物。

[0219] 在某些实施例中, R' 为 O 的式 (I) 的化合物具有式 (II')、(III') 和 (IV') 中的任一个的结构:



式 (II')

式 (III')

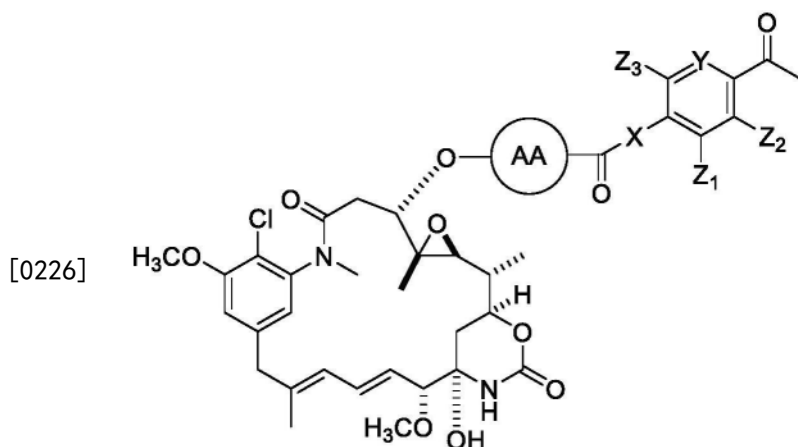
[0221] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体,

[0222] 其中:

[0223] 每个 R^2 独立地选自 $-H$ 和 C_1-C_4 烷基, 或两个 R^2 一起形成 C_3-C_6 环烷基;

[0224] X 不存在或选自 $-CH_2-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 和 $-NR^3-$, 其中 R^3 是 $-H$ 或 C_1-C_4 烷基;

[0225] Z^1 、 Z^2 、 Z^3 和 Z^4 各自独立地选自 $-H$ 、卤素基团 (例如, $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 或 $-I$)、 $-CF_3$ 、 $-OCH_3$ 、 $-NO_2$ 和 $-CH_3$;



式 (IV')

[0227] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体,

[0228] 其中:

[0229] X不存在或选自 -CH₂- 和 -NH-;

[0230] Y是 =CH- 或 =N-;

[0231] Z¹、Z²、Z³和Z³各自独立地选自 -H、卤素基团 (例如, -F、-Cl、-Br或 -I)、-CF₃、-OCH₃、-NO₂和 -CH₃;

[0232] AA是氨基酸,其选自甘氨酸、D或L脯氨酸、肌氨酸、N-乙基甘氨酸、D或L丙氨酸、D或L N-甲基丙氨酸、β-丙氨酸、N-甲基-β-丙氨酸、α-氨基异丁酸和N-甲基-α-氨基异丁酸。

[0233] 在又其他实施例中,在式 (IV') 的化合物中:

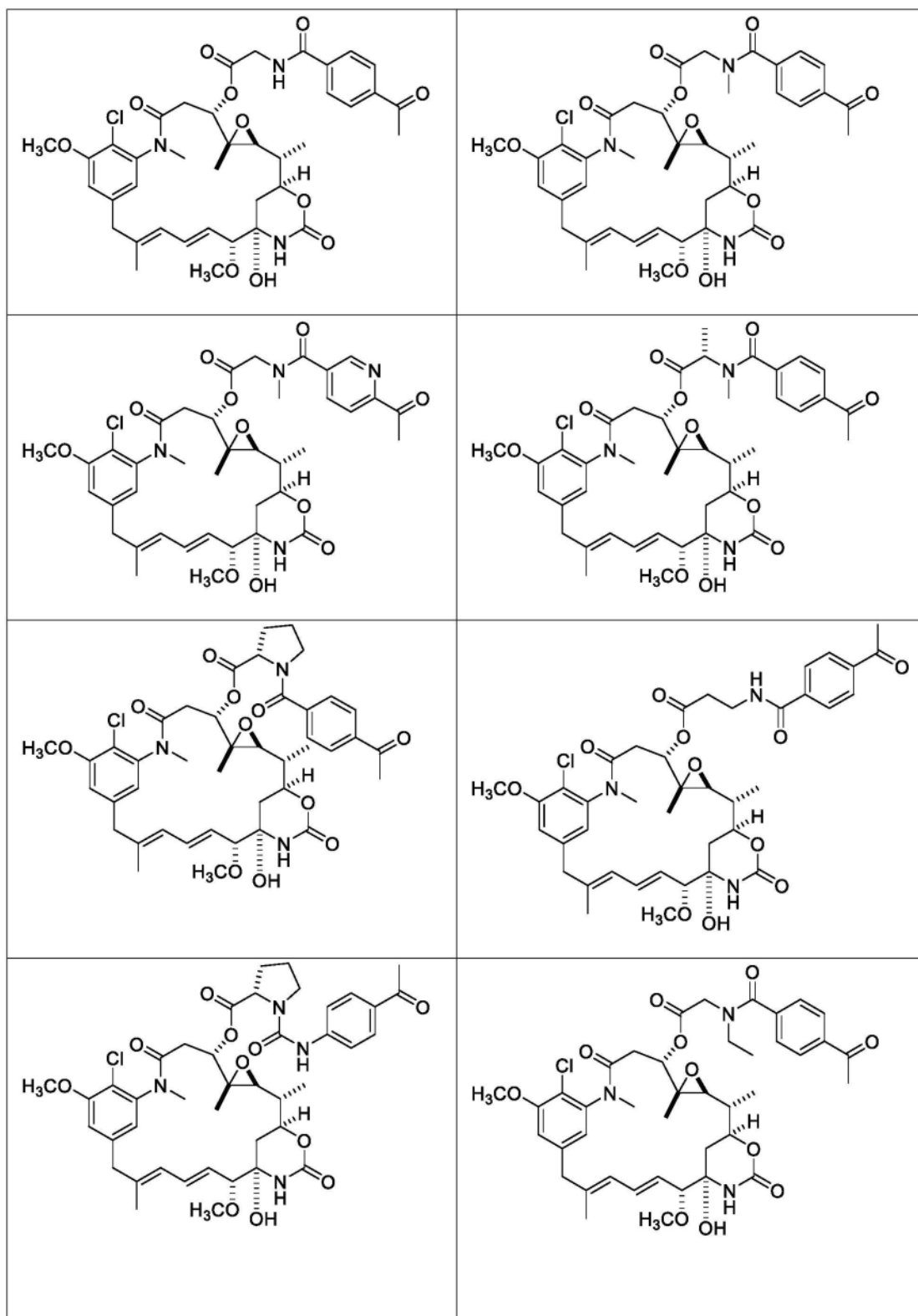
[0234] X不存在或选自 -CH₂- 和 -NH-; Y是 =CH- 或 =N-;

[0235] Z¹、Z²、Z³和Z³各自独立地选自 -H、卤素基团 (例如, -F、-Cl、-Br或 -I)、-CF₃、-OCH₃、-NO₂和 -CH₃;

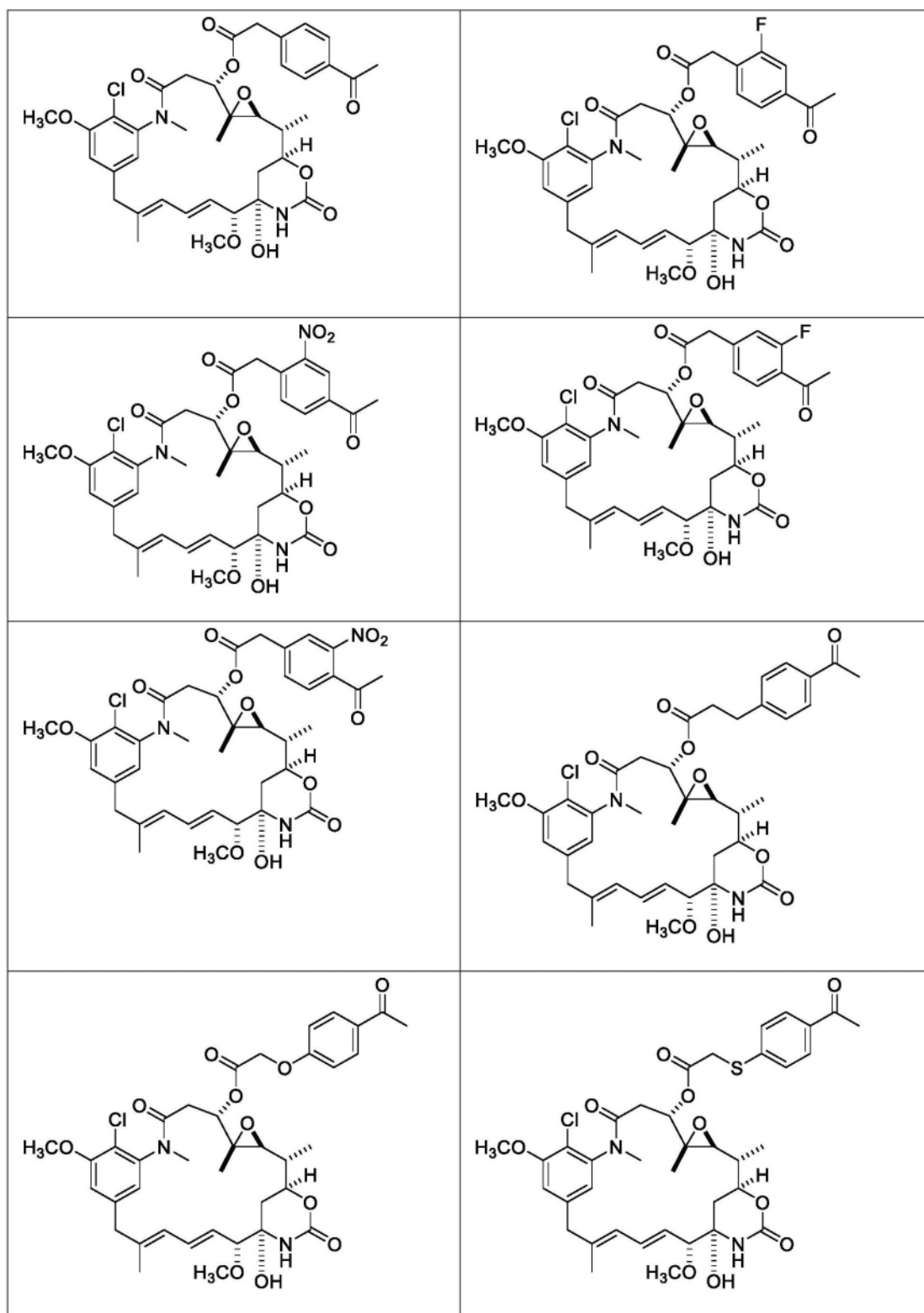
[0236] AA是氨基酸,其选自甘氨酸、D或L脯氨酸、肌氨酸、D或L丙氨酸、D或L N-甲基丙氨酸、β-丙氨酸、N-甲基-β-丙氨酸、α-氨基异丁酸和N-甲基-α-氨基异丁酸。

[0237] 在一些实施例中,所述化合物选自以下具体化合物:

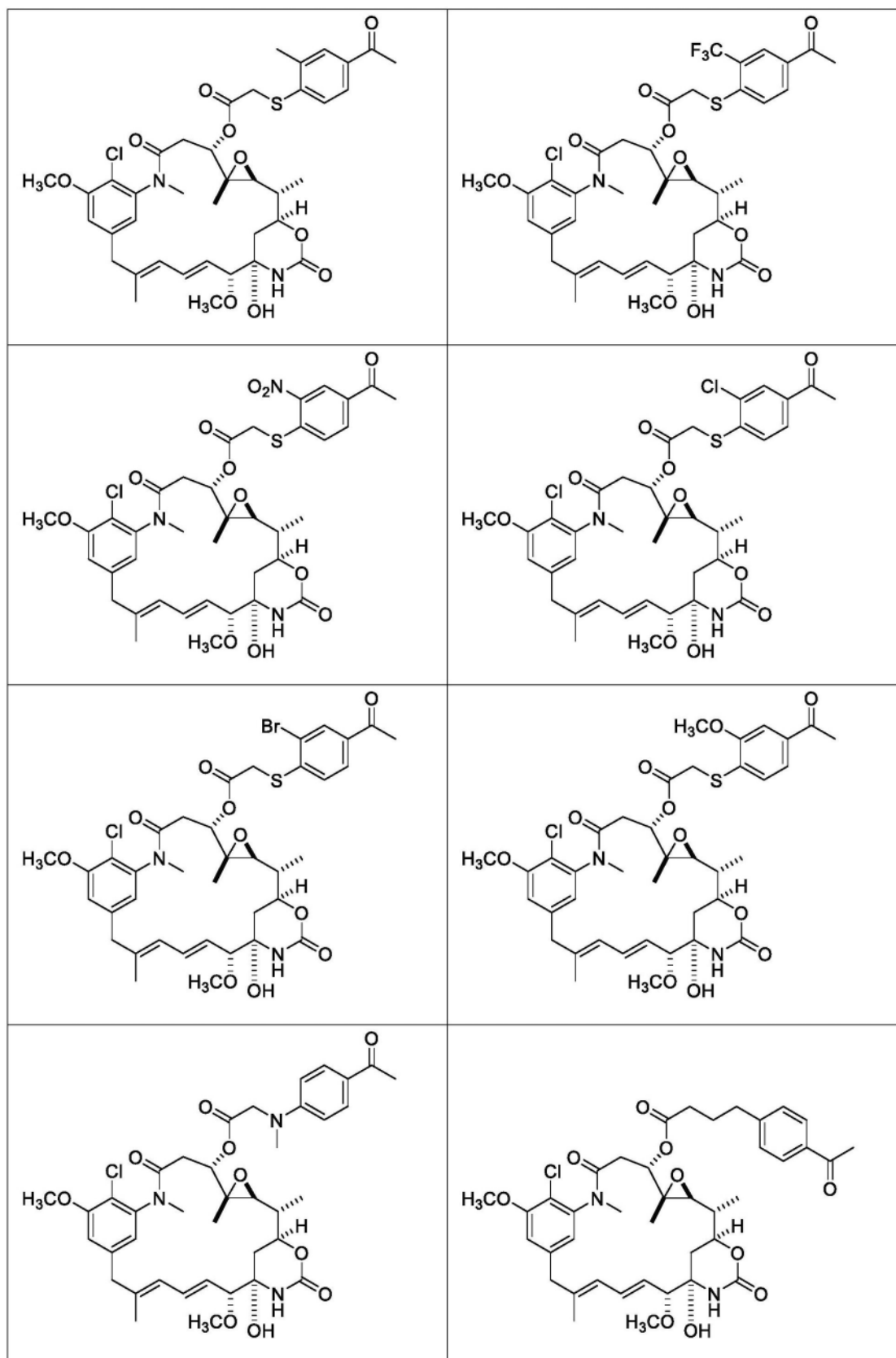
[0238]



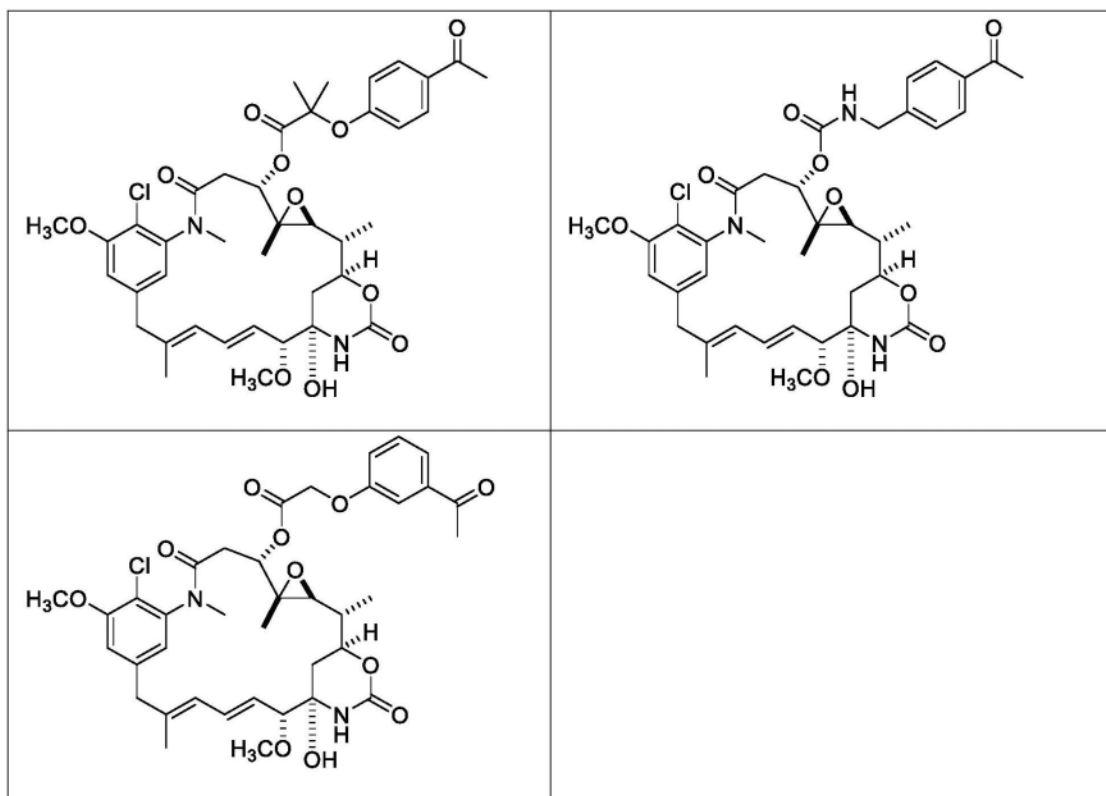
[0239]



[0240]



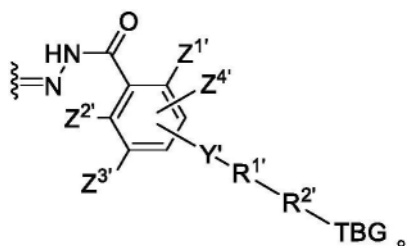
[0241]



[0242] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体。

[0243] 其他实施例包括前药,例如用式(I)表示的前药,其中R'为:

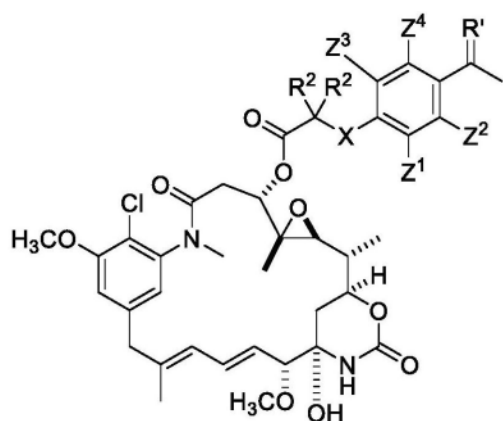
[0244]



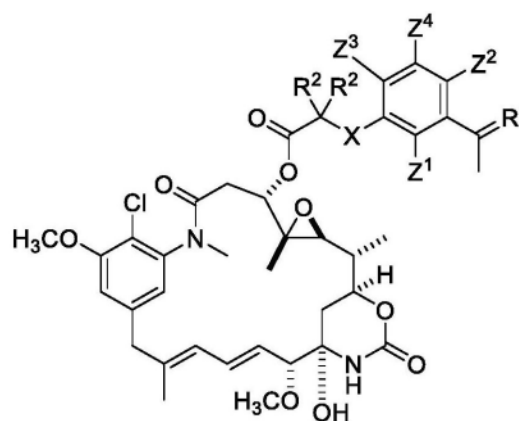
这些新颖化合物可以代表药物递送系统,由此活性

代谢产物从药物递送系统选择性地释放。这些前药包括例如白蛋白结合前药。

[0245] 在某些实施例中,这些化合物具有式(II)、(III)和(IV)中的任一个的结构:



式(II)



式(III)

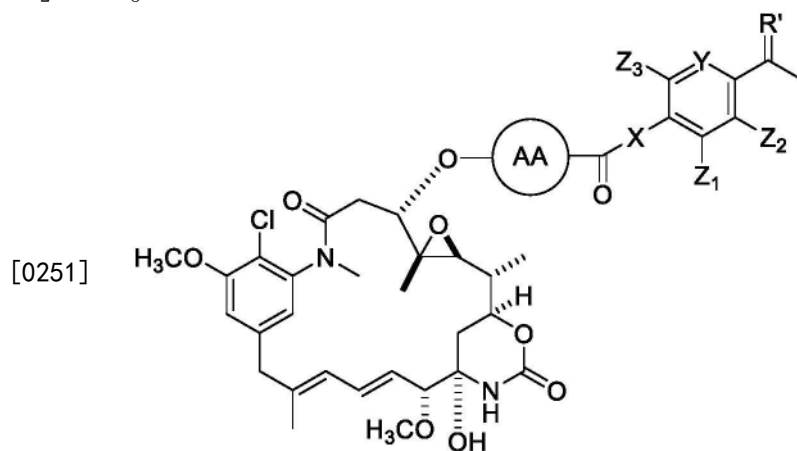
[0246] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体,

[0247] 其中:

[0248] 每个 R^2 独立地选自-H和 C_1 - C_4 烷基,或两个 R^2 一起形成 C_3 - C_6 环烷基;

[0249] X不存在或选自- CH_2 -、-O-、-S-和-N R^3 -,其中 R^3 是-H或 C_1 - C_4 烷基;

[0250] Z^1 、 Z^2 、 Z^3 和 Z^4 各自独立地选自-H、卤素基团(例如,-F、-Cl、-Br或-I)、- CF_3 、- OCH_3 、- NO_2 和- CH_3 ;



式 (IV)

[0252] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体,

[0253] 其中:

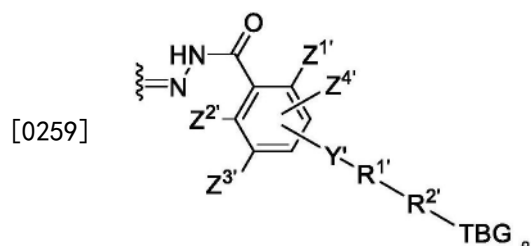
[0254] X不存在或选自- CH_2 -和-NH-;

[0255] Y是=CH-或=N-;

[0256] Z^1 、 Z^2 、 Z^3 和 Z^4 各自独立地选自-H、卤素基团(例如,-F、-Cl、-Br或-I)、- CF_3 、- OCH_3 、- NO_2 和- CH_3 ;

[0257] AA是氨基酸,其选自甘氨酸、D或L脯氨酸、肌氨酸、N-乙基甘氨酸、D或L丙氨酸、D或L N-甲基丙氨酸、 β -丙氨酸、N-甲基- β -丙氨酸、 α -氨基异丁酸和N-甲基- α -氨基异丁酸;且

[0258] 其中 R' 是:



[0260] 在又其他实施例中,在式(IV')的化合物中:

[0261] X不存在或选自- CH_2 -和-NH-;

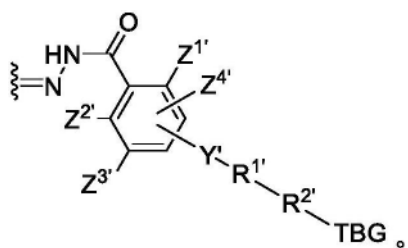
[0262] Y是=CH-或=N-;

[0263] Z^1 、 Z^2 、 Z^3 和 Z^4 各自独立地选自-H、卤素基团(例如,-F、-Cl、-Br或-I)、- CF_3 、- OCH_3 、- NO_2 和- CH_3 ;

[0264] AA是氨基酸,其选自甘氨酸、D或L脯氨酸、肌氨酸、D或L丙氨酸、D或L N-甲基丙氨酸、 β -丙氨酸、N-甲基- β -丙氨酸、 α -氨基异丁酸和N-甲基- α -氨基异丁酸;且

[0265] 其中 R' 是:

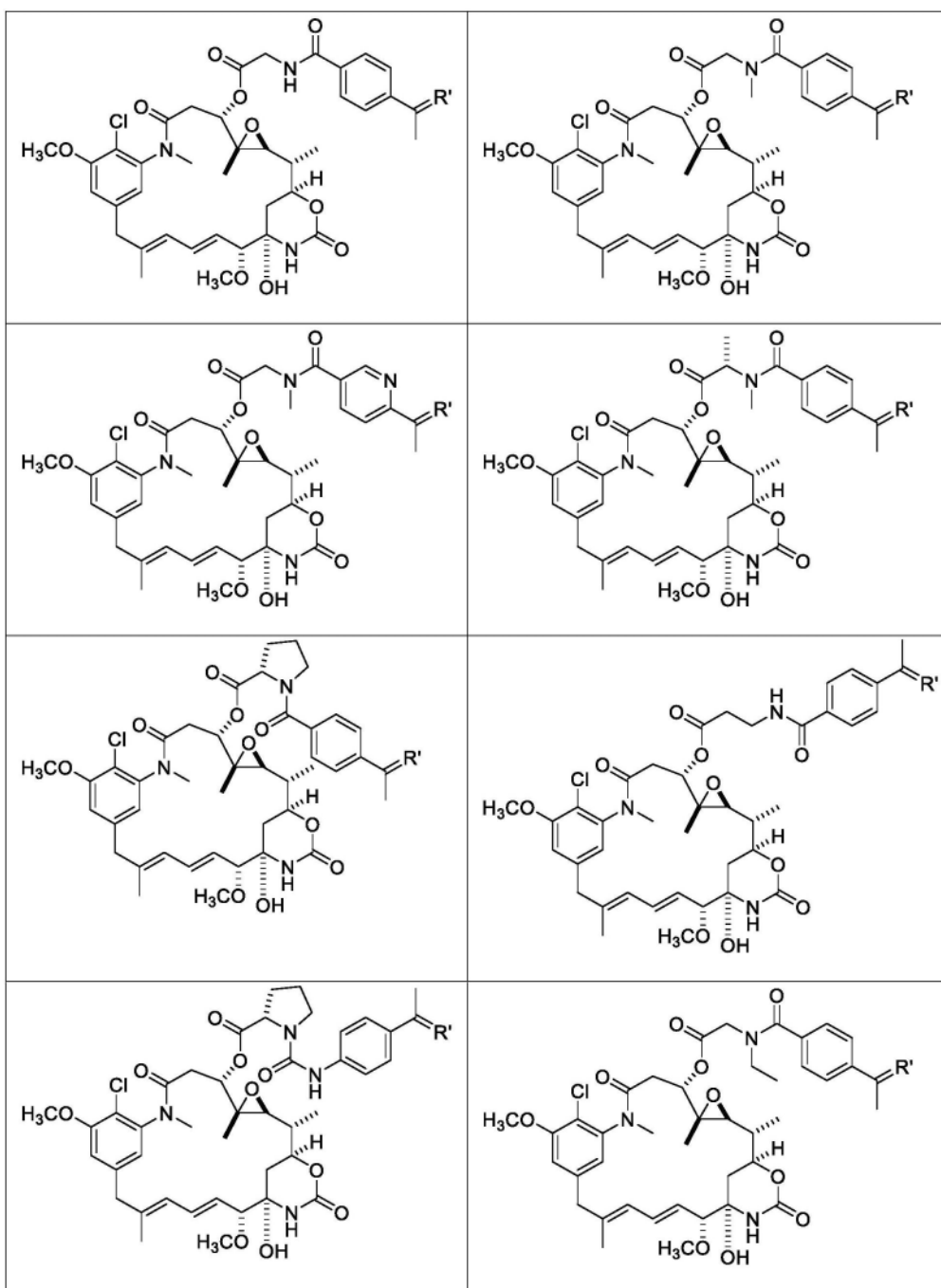
[0266]



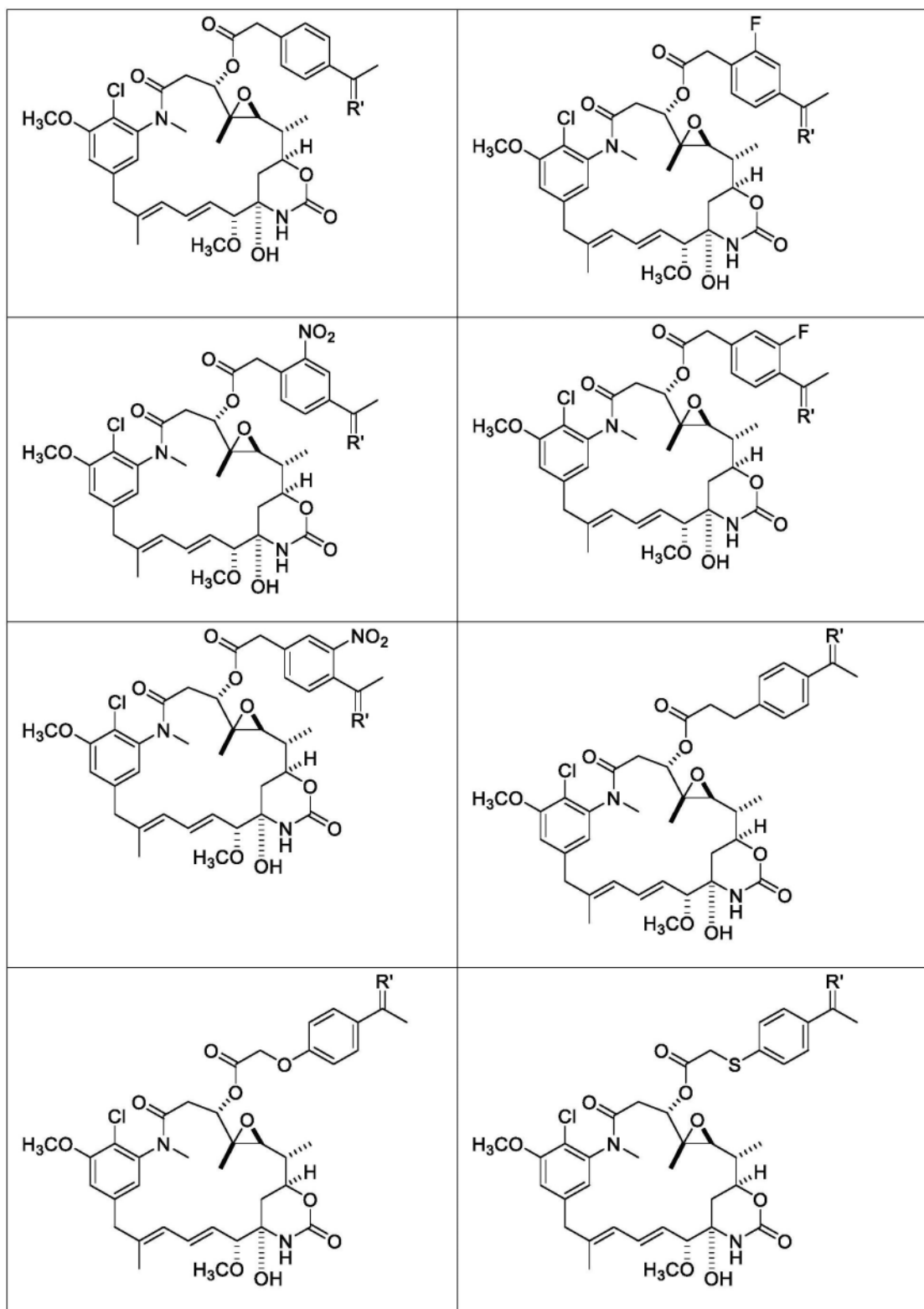
[0267] 在一些实施例中, R^1 是 -H。在其他实施例中, Z^1 、 Z^2 、 Z^3 和 Z^4 中的至少一个不是 H 和/或 Z^1 、 Z^2 、 Z^3 和 Z^4 中的至少一个是 -F 或 $-NO_2$ 。在一些实施例中, 当 n 是 0 时, X 不存在。在其他实施例中, 当 n 是 0 时, X 是 $-CH_2-$ 。在一些实施例中, n 是 0 且 X 是 $-O-$ 或 $-S-$ 。附加实施例包括所公开化合物的药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、互变异构体和固体形式。

[0268] 在一些实施例中, 所述化合物选自以下具体化合物:

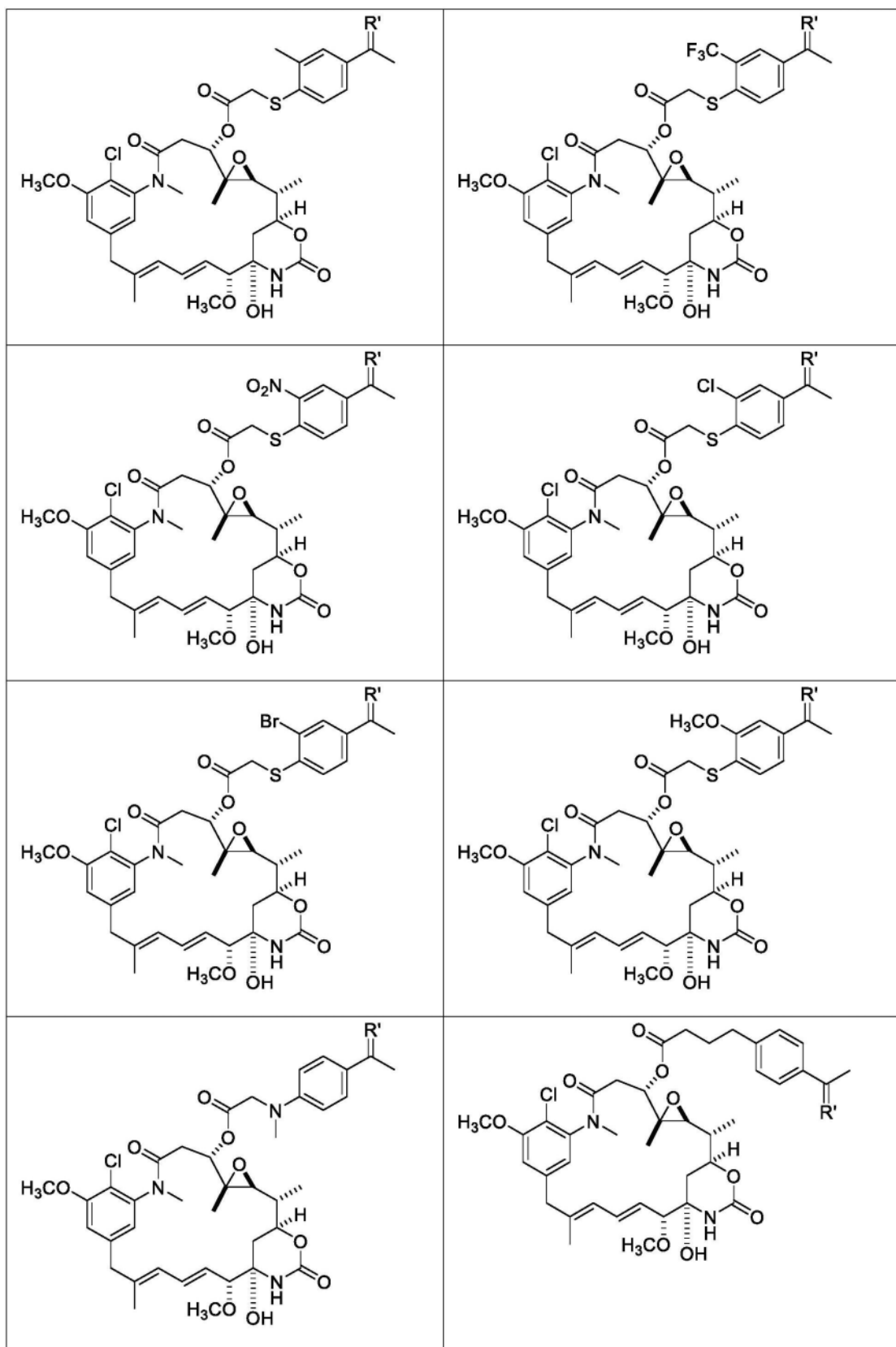
[0269]



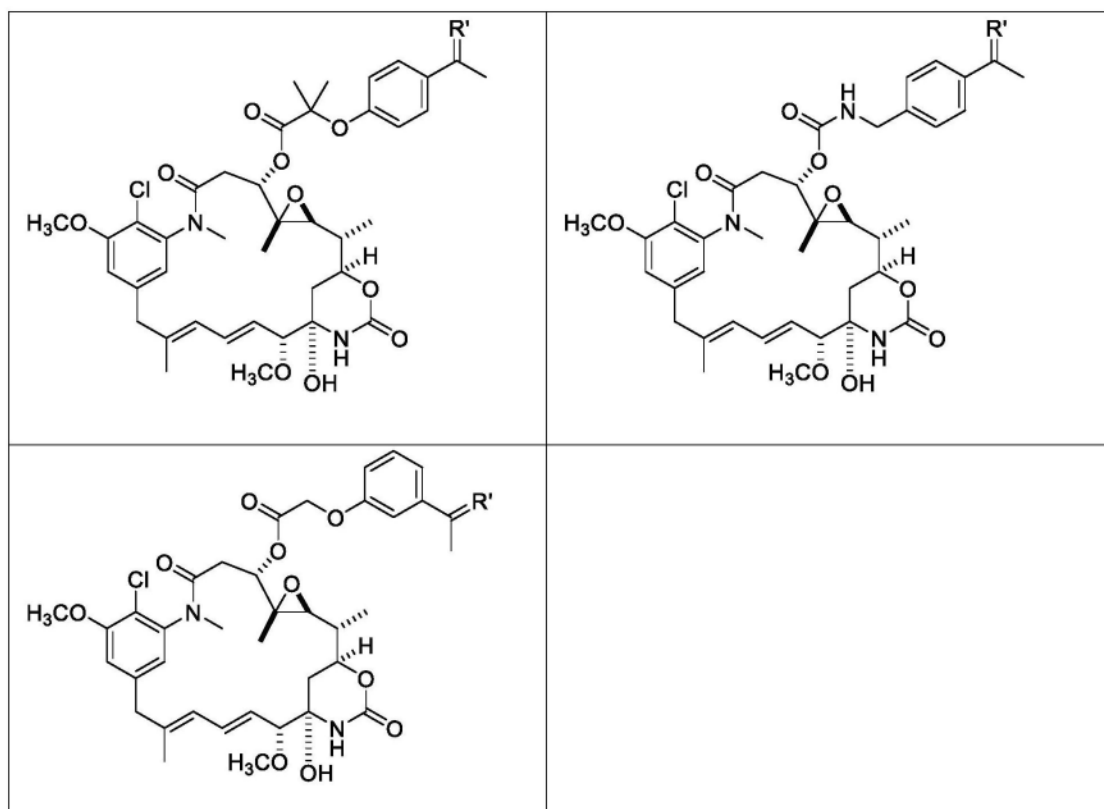
[0270]



[0271]



[0272]



[0273] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体。

[0274] 在某些实施例中,所述化合物不与带有硫醇的大分子载体或带有硫醇的肿瘤特异性载体结合。在其他实施例中,所述化合物与带有硫醇的大分子载体或带有硫醇的肿瘤特异性载体结合。例如,所述带有硫醇的大分子载体或带有硫醇的肿瘤特异性载体选自内源性白蛋白、外源性白蛋白、抗体、抗体片段、肽、天然或合成聚合物、脂质体和纳米颗粒。

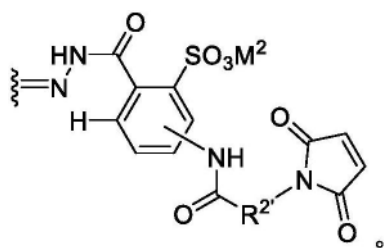
[0275] 在一些实施例中,TBG是任选取代的马来酰亚胺基团,例如未取代的马来酰亚胺基团。在一些实施例中,在对受试者(诸如人类)投药之后,马来酰亚胺基团快速且选择性地与白蛋白的半胱氨酸34结合。

[0276] 在一些实施例中, $Z^{1'}$ 选自 $-NO_2$ 或 $-SO_3M^2$ 和/或 Y' 选自 $-NHC(O)-$ 或 $-NH-C(=O)-CH_2-CH_2-CH_2-R^{1'}$ 。

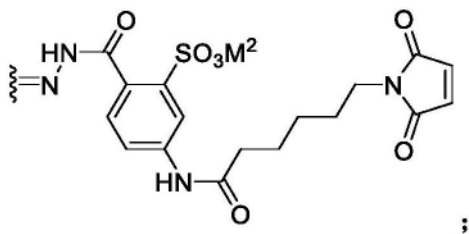
[0277] 在一些实施例中, $R^{1'}$ 是 在一些实施例中, $R^{2'}$ 选自任选取代的 C_1-C_{18} 烷基,其中在所述 C_1-C_{18} 烷基中任选地至多六个碳原子各自独立地被 $-OCH_2CH_2-$ 取代(例如,1、2、3、4、5或6个碳原子被 $-OCH_2CH_2-$ 取代)。

[0278] 在一些实施例中, R' 是:

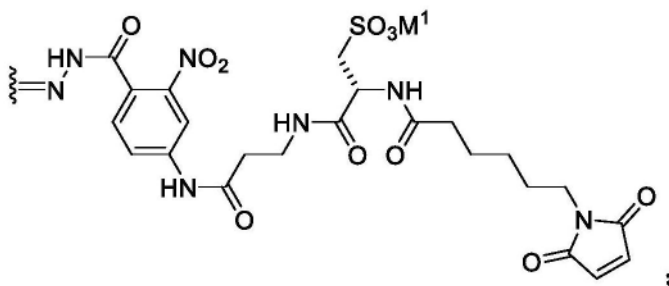
[0279]



[0280] 例如, R' 可以是:

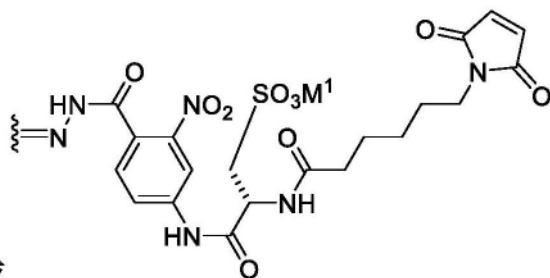


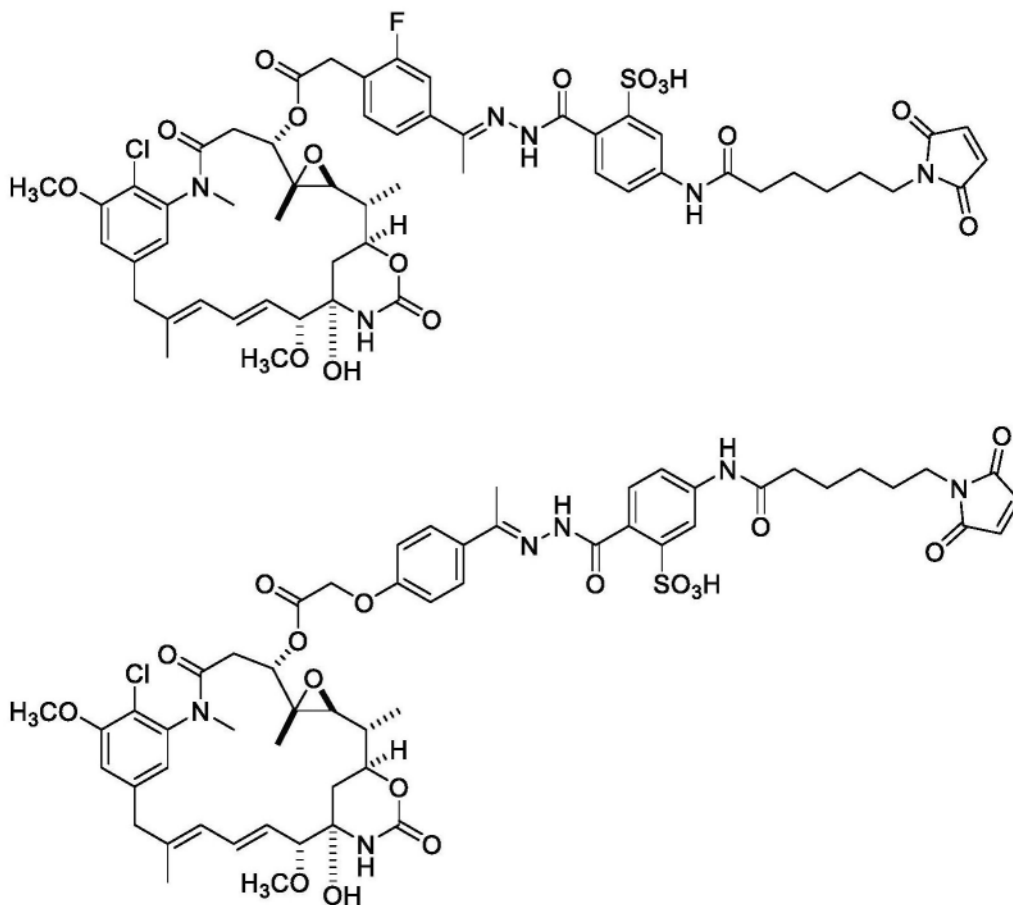
[0281]

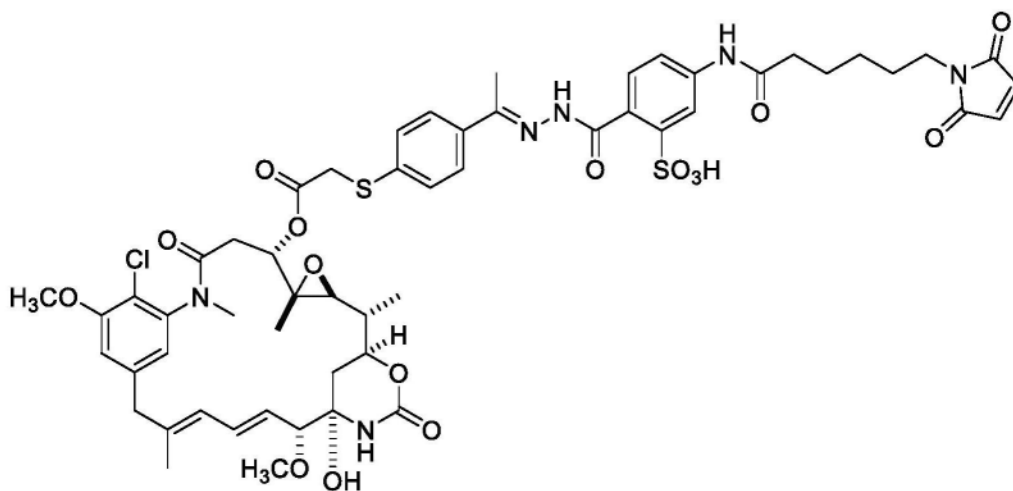


或

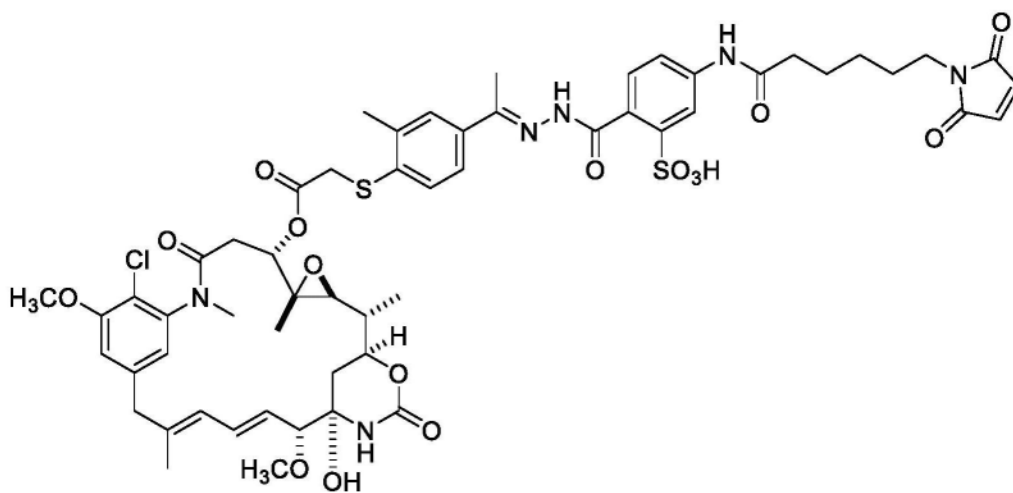
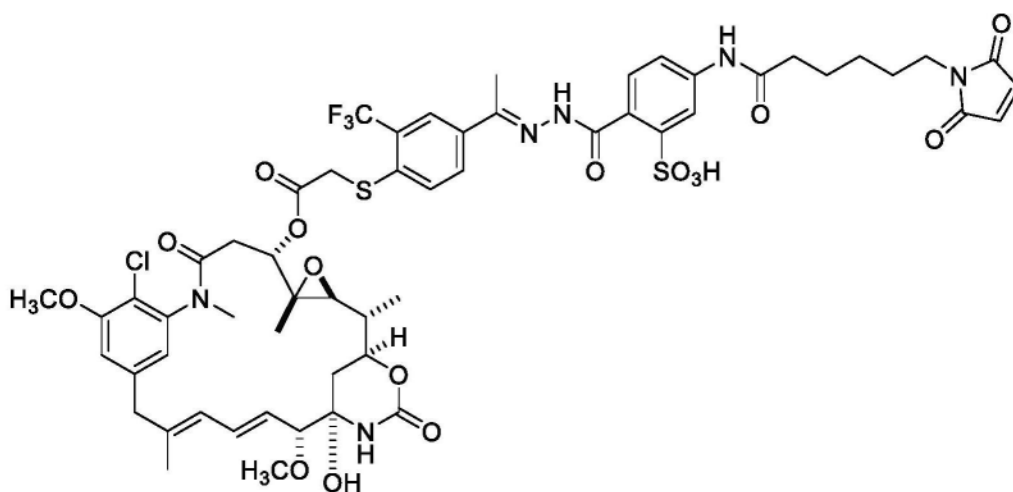
[0282] 本公开内的具体化合物包括以下各项:

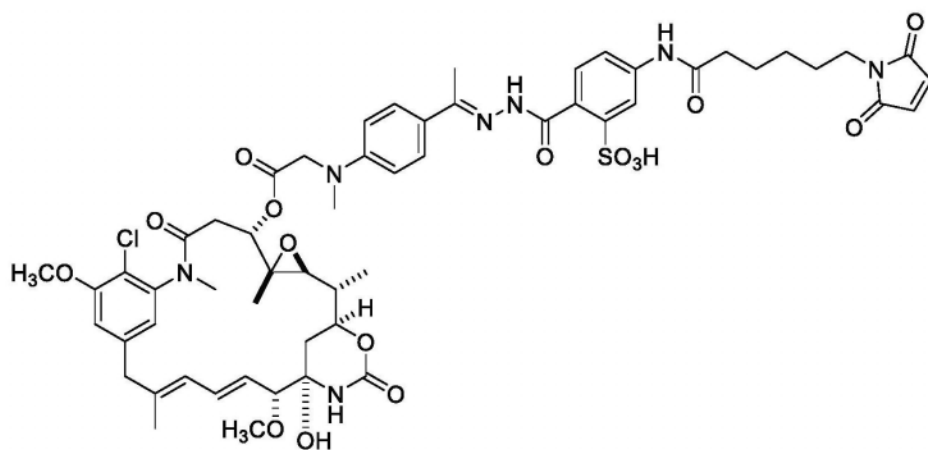




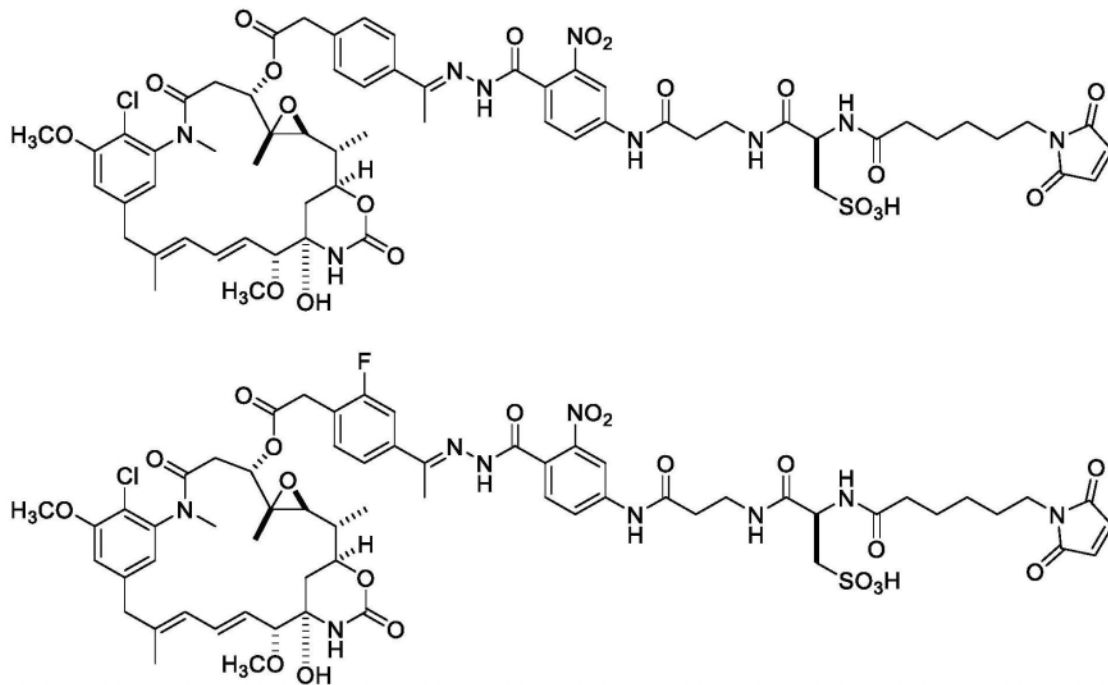
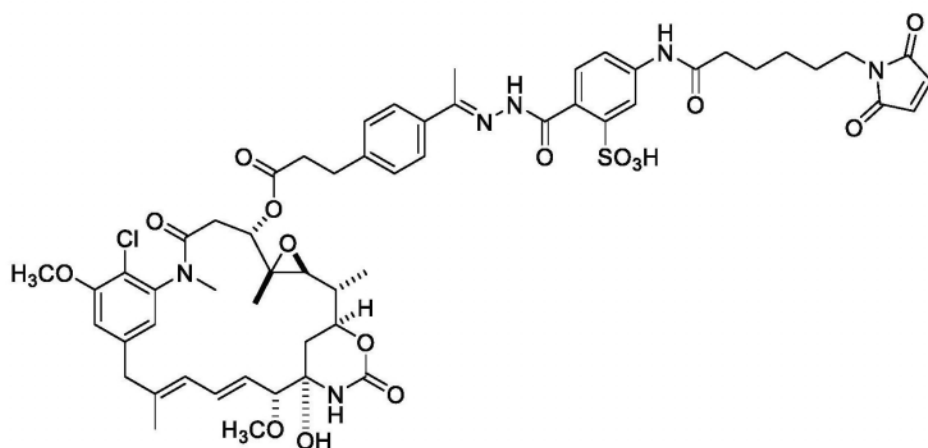


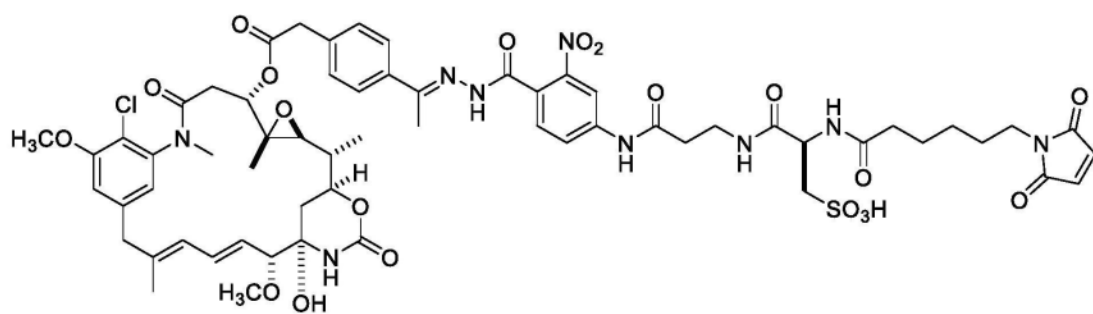
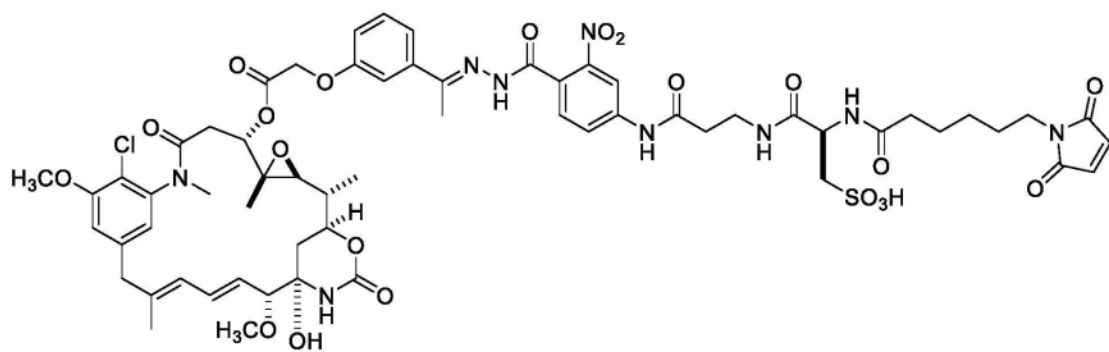
[0284]



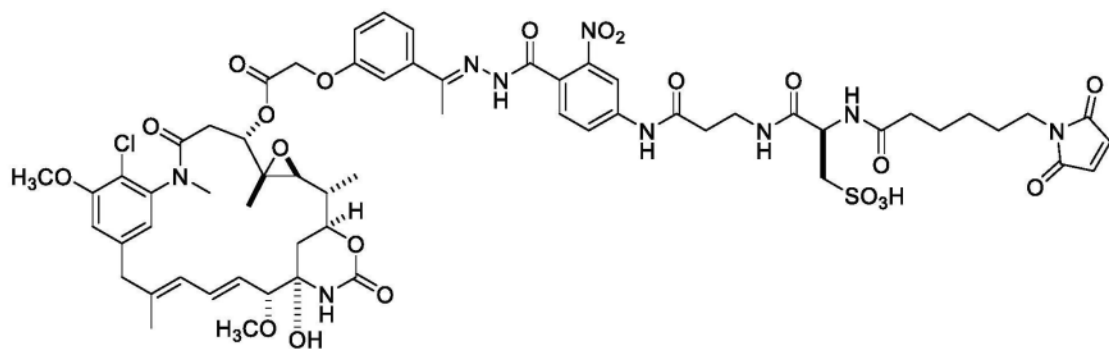
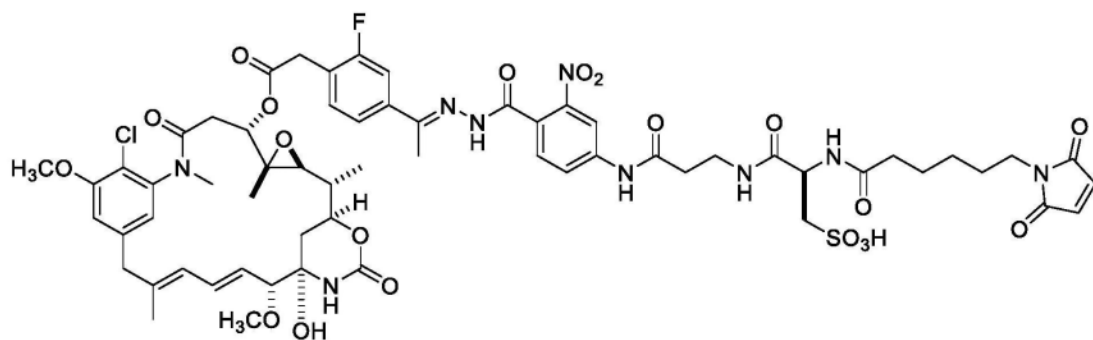


[0285]

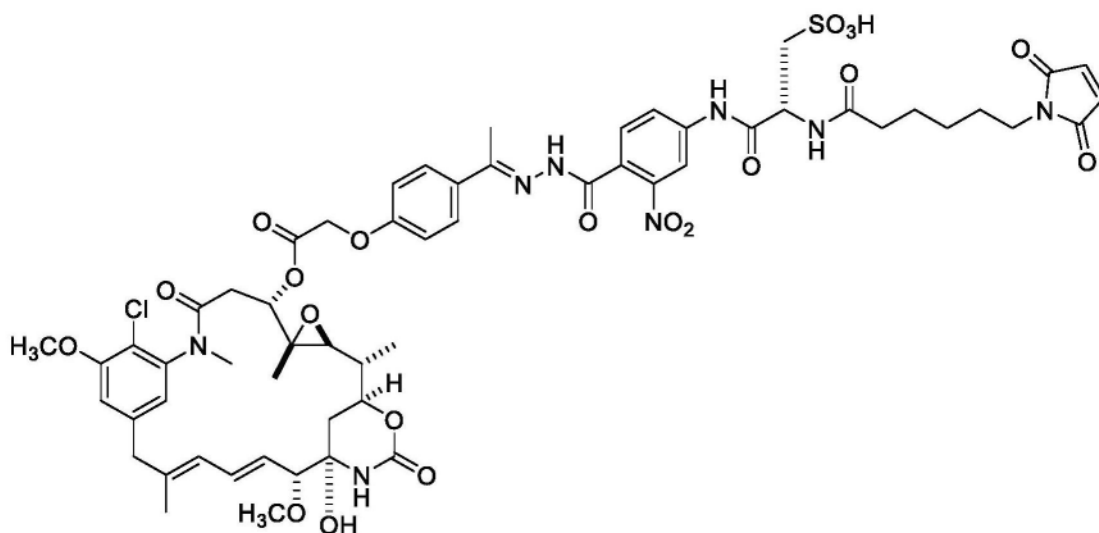




[0286]



[0287]

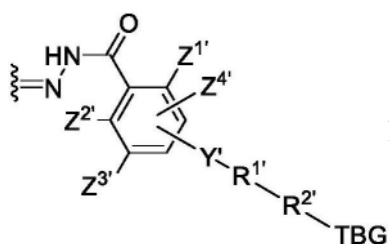


[0288] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或异构体。

[0289] 药物组合物

[0290] 在一些实施例中,本公开提供了包括本文描述的化合物的药物组合物。在一些实施例中,组合物包括式(I)化合物,其中R'是:

[0291]



或本文公开的各种实施例。

[0292] 授予患者的组合物中化合物的总量是最适合所述患者的量。本领域技术人员将理解,不同的个体可能需要不同总量的治疗有效物质。在一些实施例中,化合物的量是药学上有效量。技术人员将能够基于诸如像患者的年龄、体重和身体状况等因素来确定治疗患者所需的组合物中化合物的量。化合物的浓度取决于其在静脉内投药溶液中的溶解度以及可以授予的液体体积。例如,化合物在可注射组合物中的浓度可以为约0.1mg/ml至约50mg/ml。在一些实施例中,化合物的浓度可以在约0.1mg/ml至约40mg/mL的范围内。

[0293] 本公开的药物组合物和试剂盒还可以包含稀释剂、填充剂、盐、缓冲剂、稳定剂、增溶剂、保护剂和本领域众所周知的其他材料。术语“药学上可接受的”是指不干扰活性成分的生物活性有效性的无毒材料。载体的特征将取决于投药途径。

[0294] 组合物可以以多种常规方式授予。可以使用的示例性投药途径包括口服、肠胃外、静脉内、动脉内、皮肤、皮下、肌肉内、局部、颅内、眼眶、眼科、玻璃体内、心室内、囊内、脊髓内、脑池内、腹膜内、鼻内、气雾剂、中枢神经系统(CNS)投药或通过栓剂投药。在一些实施例中,组合物适合于肠胃外投药。这些组合物可以在例如腹膜内、静脉内或鞘内投药。在一些实施例中,在静脉内注射组合物。在一些实施例中,可以通过在包括例如醇、DMSO和/或聚乙二醇以及水和/或盐缓冲剂的重构液中重构冻干的化合物组合物来制备重构的制剂。这种重构可以包括加入重构液以及例如通过使混合物打旋或涡旋进行混合。接着通过将例如乳酸林格氏溶液、5%葡萄糖溶液、等渗盐水或合适的盐缓冲剂与所述制剂混合以制成可注射的组合物,可以使重构的制剂适合于注射。本领域技术人员将理解,授予治疗有效的物质制

剂或组合物的方法将取决于诸如所治疗的患者的年龄、体重和身体状况以及所治疗的疾病或病状等因素。因此,技术人员将能够根据具体情况选择对患者最佳的投药方法。

[0295] 在一些实施例中,本文公开的化合物和组合物用于治疗癌症、病毒性疾病、自身免疫性疾病、急性或慢性炎症性疾病以及由细菌、真菌或其他微生物引起的疾病。

[0296] 在一些实施例中,本文公开的化合物可以用于制造用于治疗选自以下的疾病的药剂:癌症、病毒性疾病、自身免疫性疾病、急性或慢性炎症性疾病以及由细菌、真菌或其他微生物引起的疾病。

[0297] 在一些实施例中,癌症是血液癌或实体瘤癌。在一些实施例中,癌症选自癌、肉瘤、白血病、淋巴瘤、多发性骨髓瘤和黑色素瘤。

[0298] 在一些实施例中,所述癌症是腺癌、葡萄膜黑色素瘤、急性白血病、听神经瘤、壶腹癌、肛门癌、星形细胞瘤、基底细胞癌、胰腺癌、结缔组织肿瘤、膀胱癌、支气管癌、非小细胞支气管癌、乳腺癌、伯基特氏淋巴瘤、子宫体癌、CUP综合征、结肠癌、小肠癌、卵巢癌、子宫内膜癌、胆囊癌、胆囊瘤癌、子宫癌、宫颈癌、颈、鼻、耳肿瘤、血液肿瘤、毛细胞白血病、尿道癌、皮肤癌、神经胶质瘤、睾丸癌、卡波济肉瘤、喉癌、骨癌、大肠癌、头颈癌、结肠癌、颅咽管瘤、肝癌、白血病、肺癌、非小细胞肺癌、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、胃癌、结肠癌、髓母细胞瘤、黑素瘤、脑膜瘤、肾癌、肾细胞癌、少突胶质细胞瘤、食道癌、溶骨癌和骨癌、骨肉瘤、卵巢癌、胰腺癌、阴茎癌、前列腺癌、舌癌、卵巢癌和淋巴腺癌。

[0299] 在一些实施例中,本公开提供了一种试剂盒,其包括如本文所述的化合物和药学上可接受的赋形剂、载体和/或稀释剂。

[0300] 在一些实施例中,组合物中可包括一种或多种赋形剂。本领域技术人员应理解,任何一种赋形剂的选择都可能影响任何其他赋形剂的选择。例如,赋形剂的选择可以排除一种或多种其他的赋形剂的使用,这是因为赋形剂的组合会产生不希望的效果。本领域技术人员将能够凭经验确定组合物中包括哪些赋形剂(如果存在的话)。赋形剂可以包括但不限于助溶剂、增溶剂、缓冲剂、pH调节剂、膨胀剂、表面活性剂、包封剂、张度调节剂、稳定剂、保护剂和粘度调节剂。在一些实施例中,在组合物中包括药学上可接受的载体可能是有益的。

[0301] 在一些实施例中,增溶剂可以包括在组合物中。增溶剂可用于增加组合物的任何组分(包括化合物或赋形剂)的溶解度。本文所述的增溶剂并非旨在构成详尽的清单,而是仅作为可用于组合物中的示例性增溶剂而提供。在某些实施例中,增溶剂包括但不限于乙醇、叔丁醇、聚乙二醇、甘油、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮、环糊精,诸如例如二甲基- β -环糊精、羟乙基- β -环糊精、羟丙基- β -环糊精和三甲基- β -环糊精及其组合,以及任何药学上可接受的盐和/或其组合。

[0302] 组合物的pH可以是制剂或组合物提供所需特性的任何pH。期望的特性可以包括例如化合物稳定性、相比于处于其他pH值的组合物增加的化合物的保留率,以及提高的过滤效率。在一些实施例中,组合物的pH值可以为约3.0至约9.0,例如约5.0至约7.0。在特定实施例中,组合物的pH值可以是 5.5 ± 0.1 、 5.6 ± 0.1 、 5.7 ± 0.1 、 5.8 ± 0.1 、 5.9 ± 0.1 、 6.0 ± 0.1 、 6.1 ± 0.1 、 6.2 ± 0.1 、 6.3 ± 0.1 、 6.4 ± 0.1 、 6.5 ± 0.1 、 6.6 ± 0.1 、 6.7 ± 0.1 、 6.8 ± 0.1 、 6.9 ± 0.1 、 7.0 ± 0.1 、 7.1 ± 0.1 和 7.2 ± 0.1 。

[0303] 在一些实施例中,通过在组合物中包括一种或多种缓冲剂来缓冲pH可能是有益的。在某些实施例中,缓冲剂可以具有例如约5.5,约6.0或约6.5的pKa。本领域技术人员应

理解,可以基于其pKa和其他特性来选择适当的缓冲剂以包括在组合物中。缓冲剂是本领域众所周知的。因此,本文描述的缓冲剂并不旨在构成详尽的清单,而仅仅是作为可用于本公开的制剂或组合物中的示例性缓冲剂而提供。在某些实施例中,缓冲剂包括但不限于Tris、Tris-HCl、磷酸钾、磷酸钠、柠檬酸钠、抗坏血酸钠、磷酸钠和磷酸钾的组合、Tris/Tris-HCl、碳酸氢钠、精氨酸磷酸酯、精氨酸盐酸盐、组氨酸盐酸盐、椰油酸酯、琥珀酸酯、2-(N-吗啉代)乙烷磺酸(MES)、马来酸酯、bis-tris、磷酸盐、碳酸盐和任何药学上可接受的盐和/或其组合。

[0304] 在一些实施例中,pH调节剂可以包括在组合物中。改变组合物的pH可以对例如化合物的稳定性或溶解性具有有益的作用,或者在制备适合于肠胃外投药的组合物时有用。pH调节剂是本领域众所周知的。因此,本文所述的pH调节剂并非旨在构成详尽的清单,而仅仅是作为可用于组合物中的示例性pH调节剂而提供。pH调节剂可以包括例如酸和碱。在一些实施例中,pH调节剂包括但不限于乙酸、盐酸、磷酸、氢氧化钠、碳酸钠及其组合。

[0305] 在一些实施例中,膨胀剂可以包括在组合物中。膨胀剂通常用于冻干的组合物中以增加组合物的体积并有助于组合物的可视化,特别是在冻干的颗粒难以看见的情况下。膨胀剂还可以帮助防止药物组合物的活性组分的喷出和/或帮助组合物的冷冻保护。膨胀剂是本领域众所周知的。因此,本文所述的膨胀剂并非旨在构成详尽的清单,而仅仅是作为可用于组合物中的示例性膨胀剂而提供。

[0306] 示例性的膨胀剂可以包括碳水化合物、单糖、二糖、多糖、糖醇、氨基酸和糖酸及其组合。碳水化合物膨胀剂包括但不限于单糖、二糖、多糖碳水化合物、淀粉、醛糖、酮糖、氨基糖、甘油醛、阿拉伯糖、来苏糖、戊糖、核糖、木糖、半乳糖、葡萄糖、己糖、艾杜糖、甘露糖、塔洛糖、庚糖、葡萄糖、果糖、甲基 α -D-吡喃葡萄糖苷、麦芽糖、内酯、山梨糖、赤藓糖、苏糖、阿拉伯糖、阿洛糖,阿卓糖,古洛糖、艾杜糖、塔洛糖、赤藓糖、核糖、木酮糖、阿洛酮糖、塔格糖、塔格糖葡萄糖胺、半乳糖胺、阿拉伯聚糖、果聚糖、岩藻聚糖、半乳糖聚糖、半乳糖醛酸、葡聚糖、甘露聚糖、木聚糖、菊粉、果聚糖、岩藻依聚糖、卡拉胶、半乳糖醛固酮、果胶、直链淀粉、普鲁兰糖、糖原、支链淀粉、纤维素、石耳多糖、甲壳素、琼脂糖、角蛋白、软骨素、皮肤素、透明质酸、黄原胶、蔗糖、海藻糖、右旋糖酐和乳糖。糖醇膨胀剂包括但不限于糖醇、肌醇、山梨糖醇和甘露糖醇。糖酸膨胀剂包括但不限于醛糖酸、糖醛酸、醛糖酸、葡萄糖酸、异抗坏血酸、抗坏血酸、葡萄糖二酸、葡萄糖醛酸、葡萄糖酸、葡萄糖二酸、半乳糖醛酸、甘露糖醛酸、神经氨酸、果胶酸和藻酸。氨基酸膨胀剂包括但不限于甘氨酸、组氨酸和脯氨酸。

[0307] 在一些实施例中,表面活性剂可以包括在组合物中。表面活性剂通常降低液体组合物的表面张力。这可以提供有益的特性,诸如提高过滤的便捷性。表面活性剂也可以用作乳化剂和/或增溶剂。表面活性剂是本领域众所周知的。因此,本文所述的表面活性剂并不旨在构成详尽的清单,而仅仅是作为可用于本公开的制剂或组合物中的示例性表面活性剂而提供。可以被包括的表面活性剂包括但不限于山梨糖醇酯,诸如聚山梨酸酯(例如,聚山梨酸酯20和聚山梨酸酯80)、脂多糖、聚乙二醇(例如,PEG 400和PEG 3000)、泊洛沙姆(即,普流尼克)、环氧乙烷和聚环氧乙烷(例如,Triton X-100)、皂苷、磷脂(例如,卵磷脂)及其组合。

[0308] 在一些实施例中,包封剂可以包括在组合物中。包封剂可以隔离分子并帮助稳定或增溶分子。包封剂是本领域众所周知的。因此,本文所述的包封剂并非旨在构成详尽的清

单,而仅仅是作为可用于组合物中的示例性包封剂而提供。可以包括在组合物中的包封剂包括但不限于 α -环糊精、 β -环糊精、 γ -环糊精及其组合(例如, α -环糊精、二甲基- α -环糊精、羟乙基- α -环糊精、羟丙基- α -环糊精、三甲基- α -环糊精、 β -环糊精、二甲基- β -环糊精、羟乙基- β -环糊精、羟丙基- β -环糊精、三甲基- β -环糊精、 γ -环糊精、二甲基- γ -环糊精、羟乙基- γ -环糊精、羟丙基- γ -环糊精、三甲基- γ -环糊精及其组合)。

[0309] 在一些实施例中,张度调节剂可以包括在组合物中。当例如通过肠胃外投药来向患者授予组合物时,液体组合物的张力是重要的考虑因素。因此,张度调节剂可用于帮助使组合物适合于投药。张度调节剂是本领域众所周知的。因此,本文所述的张度调节剂并非旨在构成详尽的清单,而仅仅是作为可用于组合物中的示例性张度调节剂而提供。张度调节剂可以是离子性或非离子性的,包括但不限于无机盐、氨基酸、碳水化合物、糖、糖醇和碳水化合物。示例性无机盐可以包括氯化钠、氯化钾、硫酸钠和硫酸钾。示例性氨基酸是甘氨酸。示例性糖可以包括糖醇,诸如甘油、丙二醇、葡萄糖、蔗糖、乳糖、右旋糖和甘露醇。

[0310] 在一些实施例中,稳定剂可以包括在组合物中。稳定剂有助于增加化合物在组合物中的稳定性。例如,这可以通过减少化合物的降解或防止其聚集而发生。不希望受理论所束缚,增强稳定性的机制可以包括将化合物与溶剂隔离或抑制治疗有效物质的自由基氧化。稳定剂是本领域众所周知的。因此,本文所述的稳定剂并非旨在构成详尽的清单,而仅仅是作为可用于组合物中的示例性稳定剂而提供。稳定剂可以包括但不限于乳化剂和表面活性剂。

[0311] 在一些实施例中,保护剂可以包括在组合物中。保护剂是保护药学活性成分(例如治疗有效物质或化合物)免受不良状况(例如,由冷冻或冻干或氧化引起的不稳定性)的试剂。保护剂可以包括例如冷冻保护剂、冻干保护剂和抗氧化剂。当组合物暴露于低于其冰点的温度时,冷冻保护剂可用于防止活性药物成分(例如,蒽环类化合物)的效力损失。例如,冷冻保护剂可以包括在重构的冻干制剂中,使得可以在稀释用于静脉内投药之前将制剂冷冻。冷冻保护剂是本领域众所周知的。因此,本文所述的冷冻保护剂并非旨在构成详尽的清单,而仅仅是作为可用于组合物中的示例性冷冻保护剂而提供。冷冻保护剂包括但不限于溶剂、表面活性剂、包封剂、稳定剂、粘度调节剂及其组合。冷冻保护剂可以包括例如二糖(例如,蔗糖、乳糖、麦芽糖和海藻糖)、多元醇(例如,甘油、甘露醇、山梨糖醇和二甘醇)、二醇(例如,乙二醇、聚乙二醇和丙二醇)。

[0312] 冻干保护剂可以用于稳定经受冻干的组合物的组分。例如,可以在重构之前用冻干保护剂冻干治疗有效物质。冻干保护剂是本领域众所周知的。因此,本文所述的冻干保护剂并非旨在构成详尽的清单,而仅仅是作为可用于组合物中的示例性冻干保护剂而提供。冻干保护剂包括但不限于溶剂、表面活性剂、包封剂、稳定剂、粘度调节剂及其组合。示例性冻干保护剂可以是例如糖和多元醇。海藻糖、蔗糖、葡聚糖和羟丙基- β -环糊精是冻干保护剂的非限制性实例。

[0313] 抗氧化剂可以用于防止组合物的组分的氧化。氧化可能导致药品的聚集或对药品纯度或其效力的其他有害影响。抗氧化剂是本领域众所周知的。因此,本文所述的抗氧化剂并非旨在构成详尽的清单,而仅仅是作为可用于组合物中的示例性抗氧化剂而提供。抗氧化剂可以是例如抗坏血酸钠、柠檬酸盐、硫醇、偏亚硫酸氢盐及其组合。

[0314] 在一些实施例中,粘度调节剂可以包括在组合物中。粘度调节剂改变液体组合物

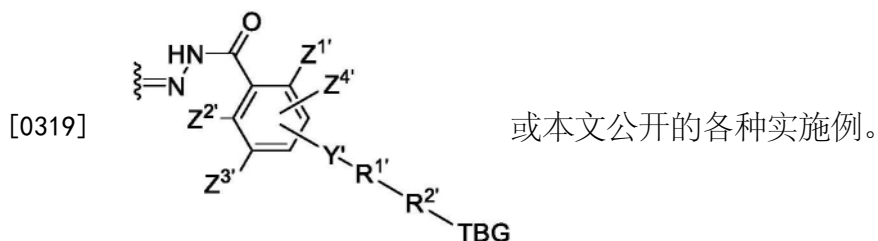
的粘度。因为粘度在容易过滤液体组合物方面起重要作用,所以这可能是有益的。可以在冻干和重构之前或重构之后过滤组合物。粘度调节剂是本领域众所周知的。因此,本文所述的粘度调节剂并非旨在构成详尽的清单,而仅仅是作为可用于组合物中的示例性粘度调节剂而提供。粘度调节剂包括溶剂、增溶剂、表面活性剂和包封剂。可以包括在组合物中的示例性粘度调节剂包括但不限于N-乙酰基-DL-色氨酸和N-乙酰基-半胱氨酸。

[0315] 人肿瘤异种移植小鼠模型的抗肿瘤活性

[0316] 白蛋白结合美登木素生物碱30和31在五种裸鼠人肿瘤异种移植模型中均表现出优异的抗肿瘤活性,从而在评估的所有人肿瘤异种移植中引起部分和完全的肿瘤消退(参见图3至图16)。这包括大约80至110mm³范围内的起始肿瘤体积,但也包括最大约400mm³的起始肿瘤体积。此外,在大多数情况下,白蛋白结合的美登木素生物碱30和31的治疗会引起长期缓解,并且减小相对肿瘤体积(RTV)。母体化合物美登素在测试模型中主要是无活性的,或仅示出微小的肿瘤抑制作用。实例11至19和图3至图16中详细描述了荷瘤小鼠模型的实验程序和结果。

[0317] 治疗方法

[0318] 本文所述的化合物和组合物可用于多种临床应用。在实施例,治疗方法利用包括式(I)的化合物的组合物的化合物,其中R'是:



[0320] 本文所述的化合物和组合物可以诱导肿瘤生长的延长或长期抑制。在某些实施例中,对肿瘤生长的延长或长期抑制没有任何体重减轻或任何或仅有的微小骨髓毒性。

[0321] 在一些实施例中,本公开提供了一种用于治疗恶性疾病的方法,所述方法包括对此需要的患者授予治疗有效量的包含本文所述化合物的药物组合物。例如,一些实施例包括一种治疗患有选自以下的疾病或病状的患者:癌症、病毒性疾病、自身免疫性疾病、急性或慢性炎性疾病以及由细菌、真菌或其他微生物引起的疾病,所述方法包括对此需要的患者授予治疗有效量的根据本公开的化合物。

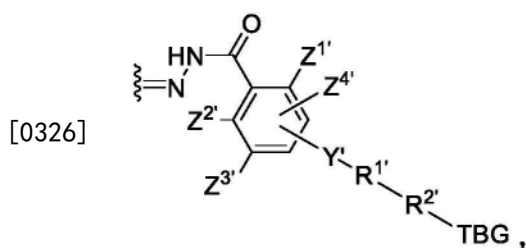
[0322] 本公开提供治疗患者的病状或疾病的方法,所述病状或疾病选自癌症、病毒性疾病、自身免疫性疾病、急性或慢性炎性疾病以及由细菌、真菌或其他微生物引起的疾病,所述方法包括对患者授予本文公开的化合物或药物组合物。

[0323] 在一些实施例中,癌症包括血管化的肿瘤。在一些实施例中,癌症是血液癌或实体瘤。在一些实施例中,癌症选自癌、肉瘤、白血病、淋巴瘤、多发性骨髓瘤和黑色素瘤。

[0324] 在一些实施例中,所述癌症选自腺癌、葡萄膜黑色素瘤、急性白血病、听神经瘤、壶腹癌、肛门癌、星形细胞瘤、基底细胞癌、胰腺癌、结缔组织肿瘤、膀胱癌、支气管癌、非小细胞支气管癌、乳腺癌、伯基特氏淋巴瘤、子宫体癌、CUP综合征、结肠癌、小肠癌、卵巢癌、子宫内膜癌、胆囊癌、子宫癌、宫颈癌、颈、鼻、耳肿瘤、血液肿瘤、毛细胞白血病、尿道癌、皮肤癌、神经胶质瘤、睾丸癌、卡波济肉瘤、喉癌、骨癌、大肠癌、头颈癌、结肠癌、颅咽管瘤、肝癌、白血病、肺癌、非小细胞肺癌、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、胃癌、结肠癌、髓母细胞瘤、黑

素瘤、脑膜瘤、肾癌、肾细胞癌、少突胶质细胞瘤、食道癌、溶骨癌和骨癌、骨肉瘤、卵巢癌、胰腺癌、阴茎癌、前列腺癌、舌癌、卵巢癌和淋巴腺癌

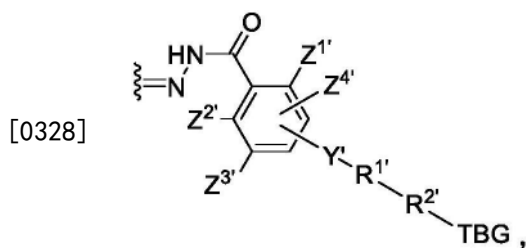
[0325] 一些实施例包括增加肿瘤中化合物的代谢物浓度的方法,所述方法包括投予根据本公开的化合物。在实施例中,化合物是式(I)化合物,其中R' 是:



或本文公开的各种实施例。在一些实施例中,将增加

与当量剂量的未修饰的活性剂进行比较,例如,“未修饰的活性剂”可以是式(I)的相同化合物,其中R' 是0。

[0327] 一些实施例包括一种降低化合物的细胞毒性的方法,所述方法包括对此需要的患者投予本公开的化合物或药物组合物,其中当与当量剂量的未修饰活性剂相比时,所述投药导致细胞毒性降低。例如,在一些实施例中,降低细胞毒性的方法包括投予式(I)的化合物,其中R' 是:



或本文公开的各种实施例,并且“未修饰的活性剂”

是式(I)的相同化合物,其中R' 是0。

[0329] 例证

[0330] 对于现在总体上描述了本公开的各方面,通过参考以下实例将更容易理解这些方面,这些实例仅出于说明本公开的某些特征和实施例的目的而被包括,而并非意图具有限制性。

[0331] 等同物

[0332] 本领域技术人员将仅使用常规实验就将认识到或能够确定本文所述的化合物、组合物及其使用方法的许多等同物。这种等同物被认为在本公开的范围内。

[0333] 实例

[0334] 以下实施例表明本发明的各种实施例和方面。

[0335] 缩写

[0336] 以下是实例中使用的缩写的列表,以及其完整的化学名称。如果未定义,则这些术语具有其普遍接受的含义。

[0337] aq. = 水

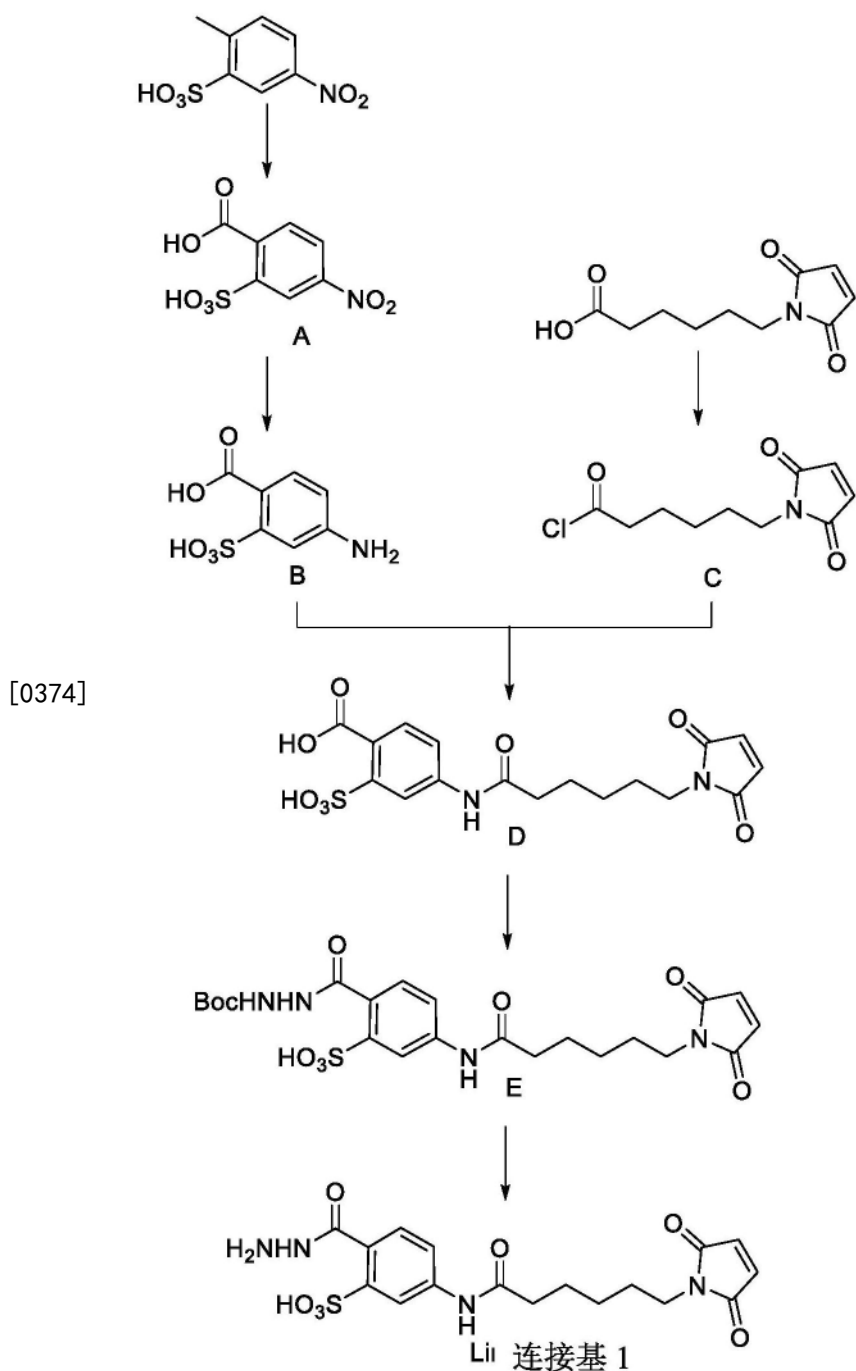
[0338] Boc = N-叔丁氧羰基

[0339] calcd. = 计算值

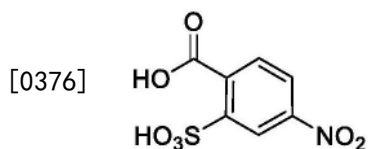
[0340] DCM = 二氯甲烷

[0341] DIC = N,N'-二异丙基碳二亚胺

- [0342] DMAP=N,N-二甲基-4-氨基吡啶
- [0343] DMF=N,N-二甲基甲酰胺
- [0344] DMSO=二甲基亚砷
- [0345] CV=柱体积
- [0346] EDC=1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺
- [0347] eq=当量
- [0348] ESI=电喷雾电离
- [0349] Fmoc=苄基甲氧基羰基
- [0350] HATU=(1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化六氟磷酸盐)
- [0351] HOAt=1-羟基-7-氮杂苯并三唑
- [0352] HOBt=N-羟基苯并三唑
- [0353] HPLC=高效液相色谱
- [0354] HRMS=高分辨率质谱
- [0355] HSA=人血清白蛋白
- [0356] IC=离子色谱
- [0357] LC-MS=液相色谱质谱
- [0358] LRMS=低分辨率质谱
- [0359] MeCN=乙腈
- [0360] MeOH=甲醇
- [0361] NMR=核磁共振波谱
- [0362] NP=正相
- [0363] Np=4-硝基苯氧羰基
- [0364] nd=不可检测
- [0365] na=不可用
- [0366] PBS=磷酸盐缓冲盐水,pH 7
- [0367] RP=反相
- [0368] TFA=三氟乙酸
- [0369] TRIS=2-氨基-2-(羟甲基)-1,3-丙二醇
- [0370] 实例1
- [0371] 连接基1的制备
- [0372] 可以如下所述制备并在方案1中示出连接基1。
- [0373] 方案1



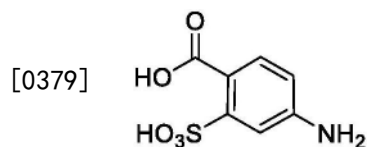
[0375] 4-硝基-2-磺基苯甲酸的合成 (A)



[0377] 在10秒内向高锰酸钾 (72g, 460mmol, 4.5当量) 在水 (450mL) 中的搅拌溶液中加入 4-硝基-2-磺基苯甲酸 (26g, 102mmol, 1.0当量) 在微孔水 (100mL) 中的溶液。将所得的紫色混合物在115℃下搅拌5小时, 此时间之后变成褐色。HPLC分析 (PDA 220nm) 证实反应在5小时后完成 (>90%转化率)。将反应混合物冷却至室温。通过在硅藻土垫上抽滤去除在反应期间形成的棕色固体, 用微孔水 (300mL) 洗涤, 并且用旋转蒸发器在40℃下将棕色/黄色滤

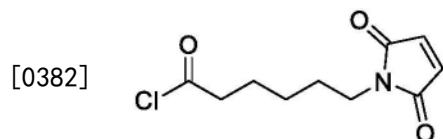
液溶液浓缩至大约125mL,用5M HCl(大约2mL)溶液缓慢酸化,直到形成白色悬浮液(大约pH 1.0)为止。接着将白色悬浮液在100℃加热,直到获得澄清溶液为止,将所述澄清溶液在冰浴中静置10分钟,直到形成白色固体为止。通过使用烧结过滤器的抽滤来获得白色固体。接着将白色固体在高真空下干燥,得到4-硝基-2-磺基苯甲酸。收率:18g(72%)。RP-HPLC得出的纯度,220nm,>95%。 $C_7H_4NO_7S[M-H]^-$ 的LRMS-ESI(m/z)计算值:245.98。实测值:245.83。

[0378] 4-氨基-2-磺基苯甲酸的合成(B)



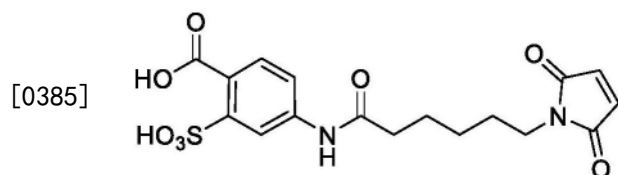
[0380] 将4-硝基-2-磺基苯甲酸(13g,51mmol,1.0当量)在水(75mL)中的搅拌悬浮液以回流加热,直到4-硝基-2-磺基苯甲酸完全溶解为止。接着在此温度下加入乙酸(7.2mL),然后加入铁粉(9.5g,180mmol,3.5当量),在10分钟内分批加入(约1g/min),以避免放热反应。接着将反应混合物在回流下搅拌1小时。在此期间,形成棕色固体,HPLC分析(PDA 220nm)证实反应完成(>95%转化率)。通过在硅藻土垫上直接抽滤去除棕色固体(当仍较热时),并进一步用热水洗涤。将滤液重新过滤。用旋转蒸发器在40℃下将得到的滤液浓缩至最终体积为100mL。滴加浓缩的HCl,直到达到pH 1为止,并沉淀出白色/黄色固体。将悬浮液在4℃下放置1小时。使用烧结过滤器通过抽滤收集固体,并在高真空下干燥,得到4-氨基-2-磺基苯甲酸,为白色固体。收率:9g(81%)。RP-HPLC得出的纯度,220nm,>95%。 $C_7H_4NO_5S[M-H]^-$ 的LRMS-ESI(m/z)计算值:216.00。实测值:216.16。

[0381] 6-马来酰亚胺基己酰氯或EMC-C1的合成(C)



[0383] 在室温下和在 N_2 气氛下,使用滴液漏斗在30分钟(约0.5mL/min)内向6-马来酰亚胺己酸(EMC)(33g,156mmol,1.0当量)在无水DCM(150mL)中的黄色搅拌溶液中加入草酰氯(15mL,171mmol,1.1当量)。将反应物在室温下搅拌5小时。在反应时间期间,反应溶液的颜色变为深黄色,HPLC分析(PDA 220nm)证实反应在5小时后完成(>95%转化率)。用旋转蒸发器在40℃下去除溶剂,得到一种油。将残余油在高真空下干燥过夜(固化过夜)。压碎获得的浅褐色固体,并在高真空下进一步干燥20小时,得到6-马来酰亚胺基己酰氯,为黄色微晶固体。化合物可用于下一步反应而无需进一步纯化。收率:34g(95%)。RP-HPLC得出的纯度,220nm,>95%,作为甲基酯。 $C_{11}H_{16}NO_4$ (作为甲基酯) $[M+H]^+$ 的LRMS-ESI(m/z)计算值:226.10。实测值:225.97。

[0384] 4-(6-马来酰亚胺基己酰胺基)-2-磺基苯甲酸的合成(D)

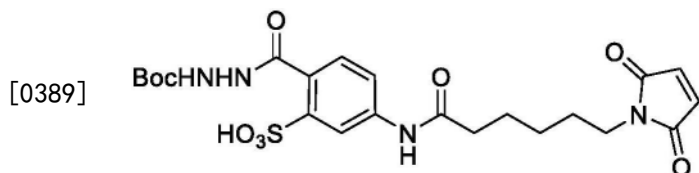


[0386] 在 N_2 气氛下,将4-氨基-2-磺基苯甲酸(18.5g,85.0mmol,1.0当量)溶解在无水DMF(300mL)中。将溶液冷却至4℃,并搅拌10分钟。接着,使用滴液漏斗在1小时内向冷却的溶液

中滴加(约0.3mL/min)4-N-甲基吗啉(18.7mL,170mmol,2.0当量)。使用滴液漏斗在1小时内向深棕色混合物中滴加(约0.5g/min)EMC-Cl(29.3g,127mmol,1.5当量)在无水DMF(200mL)中的溶液。将反应混合物搅拌过夜,接着经10小时使其达到室温。通过HPLC分析指示反应完成后(PDA 220nm,>95%转化率),将反应溶液分配在8×50mL的猎鹰管中。

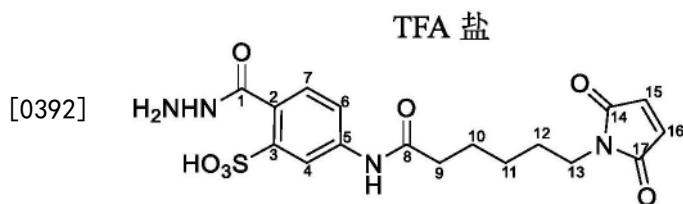
[0387] 将样品在10℃和4.000rpm下离心20分钟。通过倾析去除上清液,并且将固体重悬于每管10mLDMF中,并再次在10℃和4.000rpm下离心20分钟。合并所有DMF上清液,并在50℃减压下浓缩3小时,以获得浅橙色固体。将固体重悬浮于甲醇(250mL)中,并转移至8×50mL猎鹰管中。将样品在10℃和4.000rpm下离心20分钟。通过倾析去除上清液,将固体重悬浮于每管5mL甲醇中,并再次在10℃和4.000rpm下离心20分钟。合并所有固体,并在高真空中干燥24小时,以获得结晶黄色固体。收率:17g(48%)。RP-HPLC反向得出的纯度,220nm,>80%。 $C_{17}H_{17}N_2O_8S[M-H]^-$ 的LRMS-ESI(m/z)计算值:409.08。实测值:409.13。

[0388] 2-(2-(叔丁氧基羰基)肼-1-羰基)-5-(6-马来酰亚胺基六酰胺基)苯磺酸或Boc保护的连接基1的合成(E)



[0390] 在 N_2 气氛下,向4-(6-马来酰亚胺基六酰胺基)-2-磺基苯甲酸(17.0g,41.4mmol,1.0当量)在无水DMF(350mL)中的溶液中加入EDC-HCl(8.72g,45.5mmol,1.1当量)和1HOBt(6.15g,45.5mmol,1.1当量)。将反应混合物在室温下搅拌30分钟,接着加入肼基甲酸叔丁酯(7.12g,53.9mmol,1.3当量),溶液由澄清的黄色变为微红色。将反应混合物在室温搅拌过夜。此时间之后,通过HPLC证实反应完成(PDA 220nm,>95%转化率)。用旋转蒸发器在40℃下在高真空中去除溶剂1小时,得到紫棕色油,将其用装备两个预装SNAP ULTRA 340g柱体和Biotage®HP-Sphere™球形二氧化硅的Biotage Isolera One快速纯化系统进行纯化。合并包含所需产物的管,用旋转蒸发器在高真空中干燥10小时,得到2-(2-(叔丁氧基羰基)肼-1-羰基)-5-(6-马来酰亚胺基六氨基)苯磺酸,为泡沫状黄色固体。收率:9g(42%)。RP-HPLC(220nm)>95%。 $C_{22}H_{27}N_4O_9S[M-H]^-$ 的LRMS-ESI(m/z)计算值:523.16。实测值:523.15。

[0391] 连接基1的合成



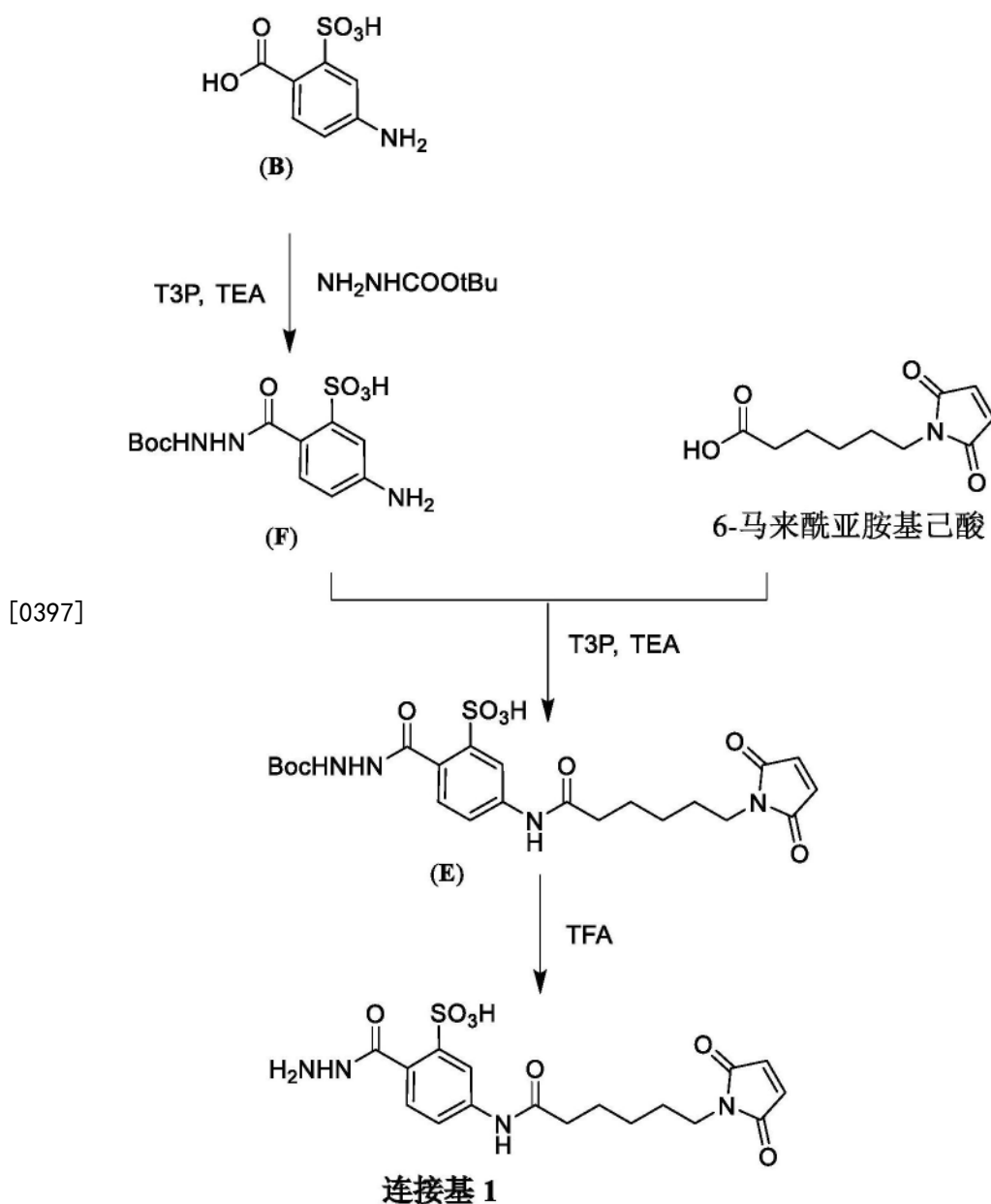
[0393] 在30分钟内向Boc保护的连接基1(10.2g,19.4mmol,1.0当量)在无水DCM(30mL)中的冷却(4℃至5℃)溶液中滴加(约0.5mL/min)TFA(15mL)。加入后,去除冷浴,并将反应混合物在室温搅拌3小时。此时间之后,通过HPLC分析(PDA 220nm)证实反应完成。将反应混合物逐滴倒入六个猎鹰管中,每个猎鹰管中加入大约35mL冷二乙醚。立即形成白色沉淀。将试管在4℃下放置3小时。在对猎鹰管进行离心操作(4000rpm,20分钟,10℃)后,通过倾析去除上清液,并将固体重悬浮于每管5mL乙醚中,并再次离心(4000rpm,20分钟,10℃)。通过倾析再

次去除上清液,并收集固体并在高真空下干燥,以提供连接基1,为白色微晶固体,为TFA盐。收率:10g (96%)。RP-HPLC (220nm) >95%。 $C_{17}H_{21}N_4O_7S[M+H]^+$ 的LRMS-ESI (m/z) 计算值:425.11。实测值:425.07。 $C_{17}H_{19}N_4O_7S[M-H]^-$ 的LRMS-ESI (m/z) 计算值:423.11。实测值:423.12。 $C_{17}H_{21}N_4O_7S[M+H]^+$ 的HRMS-ESI (m/z) 计算值:425.1125。实测值:425.1125。 $C_{17}H_{19}N_4O_7S[M-H]^-$ 的HRMS-ESI (m/z) 计算值:423.0978。实测值:423.0980。

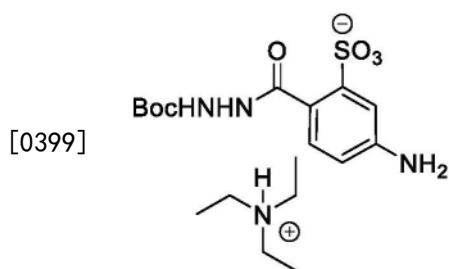
[0394] 通过 1H NMR和 ^{13}C NMR证实结构: 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 11.94 (s, 1H; C1-NH), 10.27 (s, 1H; C8-NH), 8.01 (d, J=2.2Hz, 1H; C4-CH), 7.93 (dd, J=8.5, 2.2Hz, 1H; C6-CH), 7.68 (d, J=8.4Hz, 1H; C7-CH), 7.00 (s, 2H; C15-CH, C16-CH), 3.40 (t, J=7.0Hz, 2H; C13-CH₂), 2.32 (t, J=7.4Hz, 2H; C9-CH₂), 1.60 (p, J=7.5Hz, 2H; C10-CH₂), 1.52 (p, J=7.2Hz, 2H; C12-CH₂), 1.26 (q, J=8.8Hz, 2H; C11-CH₂); ^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ 172.20 (C8), 171.54 (C14, C17), 167.59 (C1), 145.73 (C5), 142.09 (C3), 134.90 (C15, C16), 132.09 (C7), 123.79 (C2), 119.44 (C6), 117.47 (C4), 37.42 (C13), 36.65 (C9), 28.22 (C12), 26.21 (C11), 24.90 (C10)。 $C_{17}H_{21}N_4O_7S \cdot 1/2$ 分析计算值:TFA C, 45.71; H, 4.26; N, 11.85; S, 6.78。实测值:C, 46.2917; H, 4.4836; N, 12.8879; S, 6.7886。TFA含量0.51%。

[0395] 还可以如下所述制备并在方案2中示出连接基1。

[0396] 方案2



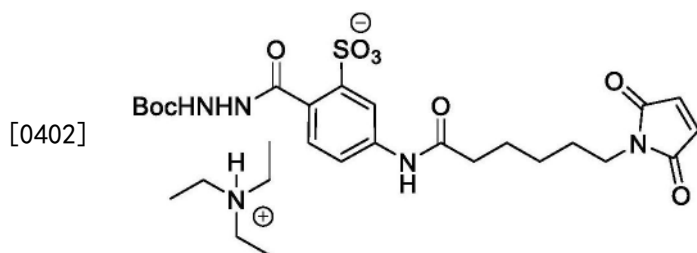
[0398] 5-氨基-2-(2-(叔丁氧基羰基)肼-1-羰基)苯磺酸的合成 (F)



[0400] 向B(30.00g, 138.12mmol, 1.00当量)在无水乙腈(600mL)中的悬浮液中加入三乙胺(41.93g, 57.76mL, 414.37mmol, 3.00当量),并将混合物搅拌10分钟。之后,加入肼基甲酸叔丁酯(27.38g, 207.19mmol, 1.50当量),并将混合物冷却至-35℃。在此温度下,在1小时内滴加丙基膦酸酐溶液T3P(114.27g, 106.79mL, 179.56mmol, 50%乙酸乙酯溶液, 1.3当量)。将反应物在-35℃下搅拌2h。使混合物升温至室温,并通过**Celite®** 545(100g)过滤。另外用乙腈(500mL)洗涤**Celite®**。合并两种滤液并浓缩至250mL。将溶液均等地分成6份,并在减压

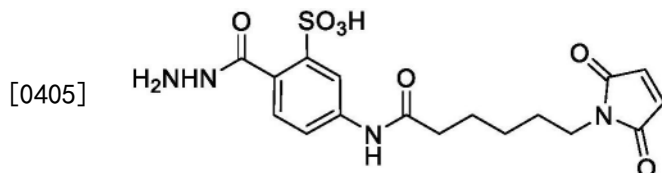
下去除溶剂。将每一份溶于含1%Et₃N的二氯甲烷(50mL)中,并通过NP快速色谱法在装备预装的SNAP Ultra 340g柱体的Biotage Isolera™ One快速纯化系统上进行纯化,使用阶梯梯度,在7柱体积上DCM(含1%NEt₃)中的甲醇(含1%NEt₃)含量从2%到12%。接着,合并各份的纯化的级分,在减压下去除溶剂,并在高真空下干燥固体,得到标题化合物F,为灰白色固体。收率:53.25g,108.0mmol,78.2%(DMSO-d₆中的NMR示出存在1.6当量三乙胺)。HPLC(方法9,220nm)>99%。C₁₂H₁₆N₃O₆S[M-H]⁻的LRMS-ESI(m/z)计算值:330.08。实测值:330.08。

[0401] N-乙基-N-异丙基丙-2-胺2-(2-(叔丁氧基羰基)肼-1-羰基)-5-(6-(2,5-二氧化代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)六氨基)苯磺酸盐的合成(E)



[0403] 在室温下,分批向F(45.00g,91.24mmol,1.00当量)和6-马来酰亚胺基己酸(19.27g,91.24mmol,1.00当量)的混合物中,加入乙腈(450mL)、三乙胺(13.85g,19.08mL,136.86mmol)和T3P(43.55g,40.70mL,136.86mmol,50%乙酸乙酯溶液)。将溶液在室温搅拌24小时。在减压下去除溶剂。粗物质接着通过快速纯化系统使用七个预装的SNAP Ultra 340g柱体进行纯化,线性梯度从二氯甲烷中2%甲醇运行到15%甲醇,得到为灰白色固体的标题化合物E。收率:30.55g,53.5%(DMSO-d₆中的NMR示出存在1.1当量三乙胺)。HPLC(方法9,220nm)>99%。C₂₂H₂₇N₄O₉S[M-H]⁻的LRMS-ESI(m/z)计算值:523.15。实测值:523.26。

[0404] 5-(6-(2,5-二氧化代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-2-(肼基羰基)苯磺酸的合成(连接基1)



[0406] 在15分钟内向E(10.00g,15.98mmol,1.00当量)在二氯甲烷(50mL)中的冷悬浮液(4℃)中加入三氟乙酸(18.22g,12.31mL,159.81mmol,10.17当量)。将混合物在4℃下进一步搅拌15分钟,接着使其逐渐温热至室温并搅拌150分钟。经由分液漏斗将反应混合物滴加到甲基叔丁基醚、MTBE(400mL)和二氯甲烷(200mL)的搅拌溶液中。所得的白色固体通过4 Å孔隙率烧结漏斗过滤,并且依次用二氯甲烷(2×150mL)和MTBE(1×50mL)、MeOH(1×50mL)和(再次)MTBE(2×150mL)洗涤。将固体在烧结漏斗上在室温下干燥过夜,持续10分钟。在高真空下在25℃下进一步干燥18小时。获得为黄色固体的最终产物连接基1。收率:5.786g,13.63mmol,98.7%,HPLC(方法9,220nm)>96%。C₁₇H₁₉N₄O₇S[M-H]⁻的LRMS-ESI(m/z)计算值:423.10。实测值:422.95。

[0407] 实例2

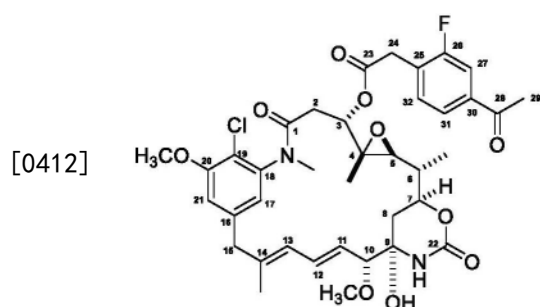
[0408] 通过美登醇与酮酸的直接酯化制备酮-美登木素生物碱

[0409] 通用方法A:在活化分子筛存在的情况下,将美登醇(500mg,0.88mmol,1当量)和相

应的酮酸 (3.52mmol, 4当量) 溶解在无水DCM (40mL) 中, 并用冰浴冷却至4℃至5℃。接着在10秒内向此溶液中加入氯化锌 (II) 在乙醚中的溶液 (2.64mL, 2.64mmol, 3.0当量, 1M溶液)。将所得溶液在4℃至5℃下搅拌40分钟, 然后加入N,N'-二异丙基碳二亚胺 (0.55mL, 3.52mmol, 4当量)。将混合物在4℃下搅拌, 接着将其浸入冰浴中过夜, 使其缓慢达到室温。通过LC-MS监测转化率, 并且达到60%后, 将反应混合物在40℃下在减压下浓缩至一半的体积, 通过0.45μm注射器式过滤器 (Macherey-Nagel, **Chromafil**® PTFE-0-45/25) 过滤, 并将滤液蒸发。最终产品使用装备预装的SNAP ULTRA50g柱体和**Biotage**® HP-Sphere™球形二氧化硅的Biotage Isolera One快速纯化系统进行纯化 (在25CV中线性梯度从100%DCM到90/10DCM/甲醇)。合并包含产物的管, 并在高真空下用旋转蒸发器干燥1小时, 以得到相应的酮类美登木素生物碱。

[0410] 通用方法B: 在活化分子筛 (0.8g, **4 Å**, 325目粒径, Sigma Aldrich) 存在的情况下将美登醇 (758mg, 1.34mmol, 1.0当量)、相应的酮酸 (1.47mmol, 1.1当量) 和DMAP (181mg, 1.47mmol, 1.1当量) 在N₂气氛下溶于无水DCM (30mL) 中。使用冰/水浴将混合物在10分钟内冷却至4℃。在30分钟内 (约10mg/min), 将EDC-HCl (283mg, 1.47mmol, 1.1当量) 在无水DCM (15mL) 中的溶液加入到冷却的混合物中, 并将反应混合物在4℃下搅拌2小时。此时间之后, 加入另一份酮酸 (1.47mmol, 1.1当量), 然后在30分钟 (约10mg/min) 内将EDC-HCl (283mg, 1.47mmol, 1.1当量) 在无水DCM (10mL) 中的溶液加入到冷却的混合物, 并将反应混合物在惰性气氛下在4℃下搅拌2小时。此时间之后, 再次重复加入试剂, 将反应混合物在4℃下搅拌过夜, 接着使其在此期间逐渐达到室温。对混合物进行过滤 (Macherey-Nagel, **Chromafil**® PTFE-0-45/25), 并在40℃下用旋转蒸发器去除溶剂, 使最终体积约为10mL。粗物质使用装备预装的SNAP ULTRA 100g柱体和**Biotage**® HP-Sphere™球形二氧化硅的Biotage Isolera One快速纯化系统进行纯化 (在25CV中, 线性梯度从100%DCM到90/10DCM/甲醇)。合并包含产物的管, 并用旋转蒸发器去除溶剂, 得到固体。在高真空下干燥固体, 得到相应的酮类美登木素生物碱。

[0411] 美登木素生物碱2的制备

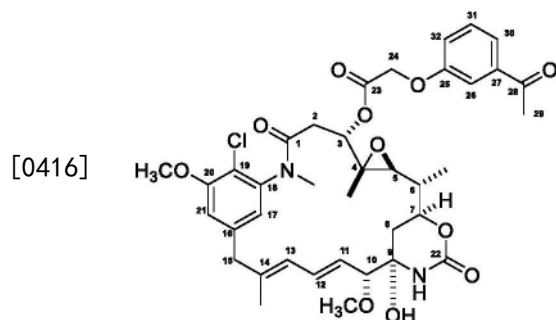


[0413] 从美登醇与2-(4-乙酰基-2-氟苯基)乙酸的反应, 使用方法A: 获得美登木素生物碱2, 为淡黄色固体。收率: 47%。RP-HPLC得出的纯度, 220nm, 96%。C₃₈H₄₅ClFN₂O₁₀ [M+H]⁺的LRMS-ESI (m/z) 计算值: 743.22。实测值: 743.25。C₃₈H₄₃ClFN₂O₁₀ [M-H]⁻的LRMS-ESI (m/z) 计算值: 741.22。实测值: 741.41。

[0414] 通过¹H NMR和¹³C NMR证实结构: ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.73 (dd, J=7.9, 1.6Hz, 1H; C31-CH), 7.66 (dd, J=10.5, 1.6Hz, 1H; C27-CH), 7.46 (t, J=7.6Hz, 1H; C32-CH), 6.82 (d, J=1.8Hz, 1H; C17-CH), 6.59 (d, J=1.8Hz, 1H; C21-CH), 6.48 (dd, J=15.5, 11.0Hz, 1H;

C12-CH), 6.43 (s, 1H; C9-NH), 6.25 (d, J=10.9Hz, 1H; C13-CH), 5.63 (dd, J=15.4, 8.8Hz, 1H; C11-CH), 4.99 (dd, J=11.8, 2.7Hz, 1H; C3-CH), 4.27 (td, J=11.2, 10.4, 1.8Hz, 1H; C7-CH), 3.97 (s, 3H; C20-OCH₃), 3.90 (d, J=15.7Hz, 1H; C24-CH₂), 3.76 (d, J=15.5Hz, 1H; C24-CH₂), 3.54 (d, J=8.8Hz, 1H; C10-CH), 3.46 (d, J=12.8Hz, 1H; C15-CH₂), 3.38 (s, 3H; C10-OCH₃), 3.19 (d, J=12.8Hz, 1H; C15-CH₂), 3.00 (s, 3H; C1-NCH₃), 2.87 (d, J=9.7Hz, 1H; C5-CH), 2.57 (s, 3H; C29-CH₃), 2.51 (dd, J=14.1, 11.9Hz, 1H; C2-CH₂), 2.17 (dd, J=13.9, 2.6Hz, 1H; C2-CH₂), 1.72 (d, J=13.6Hz, 1H; C8-CH₂), 1.68 (s, 3H; C14-CH₃), 1.50 (m, 1H; C6-CH), 1.28 (d, J=6.3Hz, 4H; C6-CH₃, C8-CH₂), 0.87 (d, J=1.4Hz, 3H; C4-CH₃); ¹³C NMR (101MHz, CDCl₃) δ196.50 (C28), 168.86 (C23), 168.30 (C1), 160.78 (d, ¹J_{C-F}=247.0Hz; C26), 156.13 (C20), 152.46 (C22), 142.53 (C18), 140.30 (C19), 140.24 (C14), 138.49 (d, ³J_{C-F}=6.4Hz; C30), 132.58 (C12), 131.68 (d, ³J_{C-F}=3.6Hz; C32), 128.32 (C11), 126.38 (d, ²J_{C-F}=16.1Hz; C25), 124.82 (d, ⁴J_{C-F}=3.3Hz; C31), 124.56 (C13), 122.04 (C21), 119.52 (C16), 114.73 (d, ²J_{C-F}=23.2Hz; C27), 113.13 (C17), 88.23 (C10), 81.25 (C9), 77.95 (C3), 74.37 (C7), 66.24 (C5), 60.39 (C4), 56.91 (C20-OCH₃), 56.71 (C10-OCH₃), 47.26 (C15), 38.37 (C6), 36.01 (C8), 35.46 (C1-NCH₃), 33.86 (C24), 32.76 (C2), 26.78 (C29), 15.88 (C14-CH₃), 14.60 (C6-CH₃), 12.35 (C4-CH₃)。

[0415] 美登木素生物碱3的制备

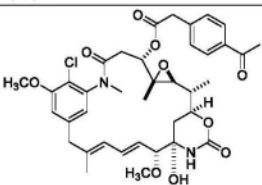


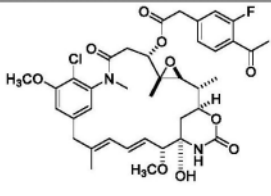
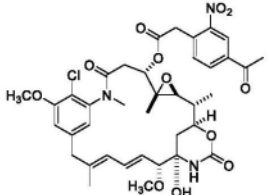
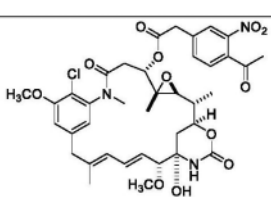
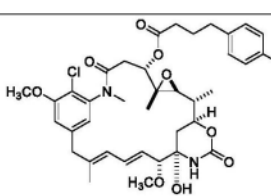
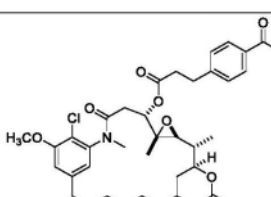
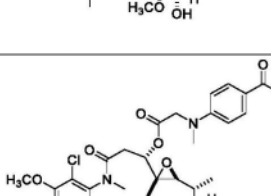
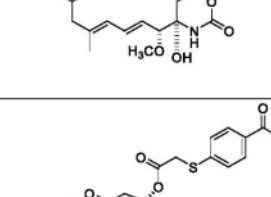
[0417] 从美登醇与2-(3-乙酰基苯氧基)乙酸的反应,使用方法B:获得为淡黄色固体的美登木素生物碱3。收率:49%。RP-HPLC得出的纯度,220nm,98%。C₃₈H₄₆C1N₂O₁₁ [M+H]⁺的LRMS-ESI (m/z) 计算值:741.23。实测值:741.23。

[0418] 通过¹H NMR和¹³C NMR证实结构:¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ7.58 (dt, J=7.8, 1.1Hz, 1H; C30-CH), 7.55 (s, 1H; C26-CH), 7.44 (d, J=7.9Hz, 1H; C31-CH), 7.12 (dd, J=8.3, 2.8Hz, 1H; C32-CH), 6.79 (d, J=1.8Hz, 1H; C17-CH), 6.65 (d, J=1.8Hz, 1H; C21-CH), 6.46 (dd, J=15.4, 11.0Hz, 1H; C12-CH), 6.37 (s, 1H; C9-NH), 6.26 (d, J=11.0Hz, 1H; C13-CH), 5.62 (dd, J=15.4, 8.9Hz, 1H; C11-CH), 5.08 (dd, J=11.9, 2.7Hz, 1H; C3-CH), 4.90 (d, J=15.9Hz, 1H; C24-CH₂), 4.66 (d, J=15.9Hz, 1H; C24-CH₂), 4.28 (t, J=10.6Hz, 1H; C7-CH), 3.96 (s, 3H; C20-OCH₃), 3.68 (s, 1H; C9-OH), 3.53 (d, J=8.9Hz, 1H; C10-CH), 3.47 (d, J=12.9Hz, 1H; C15-CH₂), 3.36 (s, 3H; C10-OCH₃), 3.15 (d, J=12.8Hz, 1H; C15-CH₂), 2.92 (d, J=9.7Hz, 1H; C5-CH), 2.87 (s, 3H; C1-NCH₃), 2.59 (s, 3H; C29-CH₃), 2.55 (d, J=11.9Hz, 1H; C2-CH₂), 2.22-2.14 (m, 1H; C2-CH₂), 1.71 (d, J=1.8Hz, 1H; C8-CH₂), 1.67 (s, 3H; C14-CH₃), 1.55-1.45 (m, 1H; C6-CH), 1.28 (d, J=6.4Hz, 3H; C6-CH₃), 1.28-1.25 (m, 1H; C8-CH₂), 0.86 (s, 3H; C4-CH₃); ¹³C NMR (101MHz, CDCl₃) δ197.99 (C28), 168.09 (C1), 168.07 (C23), 158.27 (C25), 156.09

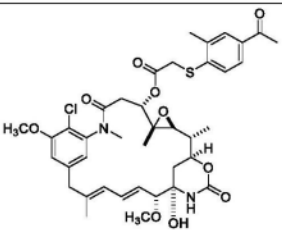
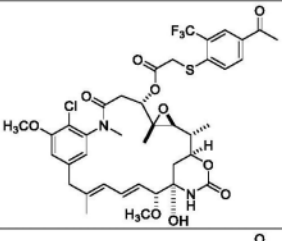
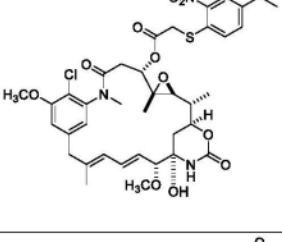
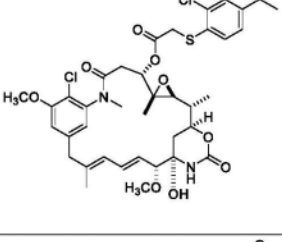
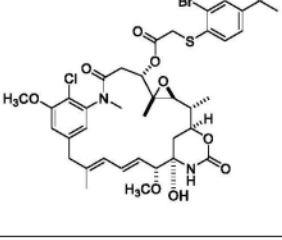
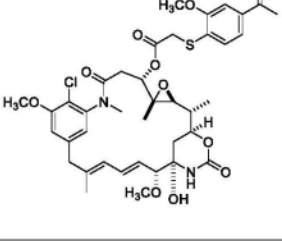
(C20) , 152.36 (C22) , 142.46 (C18) , 140.38 (C19) , 139.83 (C14) , 138.84 (C27) , 132.85 (C12) , 130.48 (C31) , 128.22 (C11) , 124.95 (C13) , 122.41 (C30) , 122.12 (C21) , 119.67 (C32) , 119.25 (C16) , 113.73 (C26) , 113.02 (C17) , 88.18 (C10) , 81.16 (C9) , 78.13 (C3) , 74.18 (C7) , 66.37 (C24) , 66.26 (C5) , 60.26 (C4) , 56.87 (C20-OCH₃) , 56.68 (C10-OCH₃) , 47.05 (C15) , 38.41 (C6) , 36.34 (C8) , 35.31 (C1-NCH₃) , 32.67 (C2) , 26.88 (C29) , 15.86 (C14-CH₃) , 14.58 (C6-CH₃) , 12.50 (C4-CH₃) 。

[0419] 表1:使用方法A或B合成的美登木素生物碱

化合物	结构	AA 间隔基	方法	收率:
[0420] 4		—	A	53%

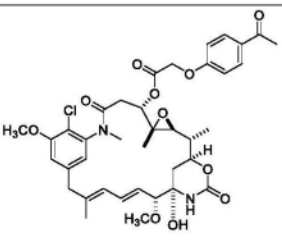
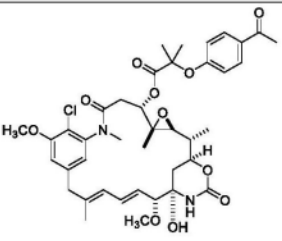
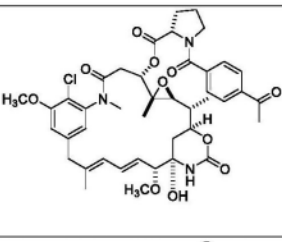
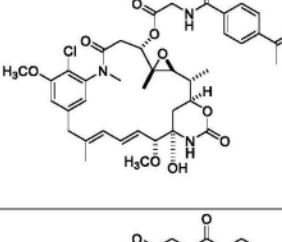
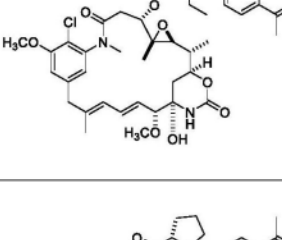
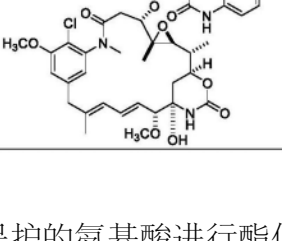
5		—	A	66%
6		—	A	27%
7		—	A	25%
8		—	A	27%
9		—	A	13%
10		—	A	33%
11		—	A	72%

[0421]

12		—	A	72%
13		—	A	47%
14		—	A	45%
15		—	B	4%
16		—	B	6%
17		—	B	11%

[0422]

[0423]

18		—	B	49%
19		—	B	13%
20		Pro	A	5%
21		Gly	A	6%
22		N-Et-Gly	A	9%
23		Pro	A	21%

[0424] 实例3

[0425] 经由与Fmoc保护的氨基酸进行酯化,裂解Fmoc基团并与酮酸缩合,可分三步合成酮基-美登木素生物碱。

[0426] 通用方法C-步骤1:使美登醇与Fmoc保护的氨基酸反应。在活性分子筛(1g, 4 Å, 325目粒度, Sigma Aldrich)的存在下,在N₂气氛下,将美登醇(565mg, 1.00mmol, 1.0当量)、Fmoc保护的氨基酸(3.00mmol, 3.0当量)、DMAP(982mg, 8.00mmol, 8.0当量)和三氟甲烷磺酸钪(III)(541mg, 1.1mmol, 1.1当量)溶解于无水DCM(10mL)中。使用冰/水浴将混合物冷却至

4℃,并搅拌30分钟以达到所述温度。此时间之后,在10分钟内(约0.25mL/min)加入DIC(2.47mL,16.0mmol,16.0当量),且将反应混合物在4℃搅拌2小时,并使其在此期间逐渐达到室温。混合物通过重力过滤。将滤液用DCM(50mL)稀释,并接着用磷酸钠缓冲液(50mL×3,pH 7.5)和盐水(50mL)洗涤。接着将有机层用无水硫酸钠干燥,通过重力过滤,并在40℃下用旋转蒸发器去除溶剂,最终体积约为10mL。粗物质在装备预装的SNAP ULTRA 50g柱体和Biotage® HP-Sphere™球形二氧化硅的Biotage Isolera One快速纯化系统上进行纯化(在25CV中,线性梯度从100%DCM到90/10DCM/甲醇)。用旋转蒸发器在40℃下将溶剂去除2小时,以获得淡黄色至黄色固体状的相应产物。

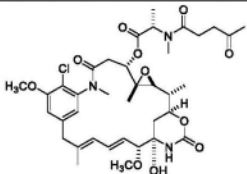
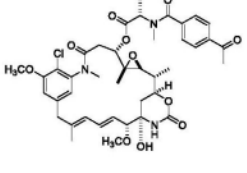
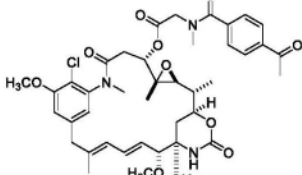
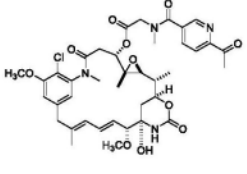
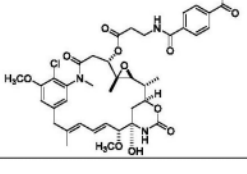
[0427] 通用方法C-步骤2:使Fmoc基团脱保护。将Fmoc保护的中间体(0.53mmol,1.0当量)溶解在DCM(5mL)中,并在10秒内向此溶液中加入三-(2-氨乙基)胺(0.320mL,2.13mmol,4.0当量)。将反应混合物在室温下搅拌1小时。将形成的白色沉淀物通过硅藻土垫滤出,用DCM(20mL)洗涤,并将黄色滤液用旋转蒸发器在40℃下蒸发至干燥2小时,并且在高真空下进一步干燥4小时,得到无需进一步纯化即可直接用于下一步骤的游离胺。

[0428] 通用方法C-步骤3:使胺-美登木素生物碱与酮酸反应。游离胺中间体(77.0μmol,1.0当量)、酮酸(150μmol,2.0当量)、HATU(35mg,94.0μmol,1.2当量)、HOAt(13mg,94.0μmol,1.2当量)和N-甲基吗啉(17μL,150μmol,2.0当量)在N₂气氛下溶于无水DMF(1mL)中。将混合物在室温搅拌过夜。将反应混合物用DCM(5mL)稀释,并用饱和氯化铵溶液(5mL×5)和盐水(5mL)洗涤。接着将有机相用无水硫酸钠干燥,通过重力过滤,并在40℃下用旋转蒸发器去除溶剂。粗物质在装备预装的SNAP ULTRAC-18 12g柱体和Biotage® HP-Sphere™ C18 25μm球形二氧化硅的Biotage Isolera One快速纯化系统上进行纯化(在20CV中,线性梯度从80/20水/MeCN到100%MeCN)。合并含产物的级分,在液氮中冷冻,并冻干24小时,得到相应的酮美登木素生物碱。

[0429] 表2:使用方法C合成的美登木素生物碱(步骤1至3)

[0430]	化合物	结构	AA 间隔基	收率步	收率步	收率步
				骤 1	骤 2	骤 3

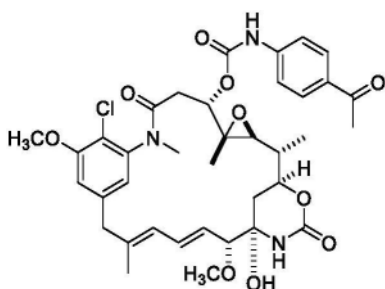
[0431]

44		N-Me-Ala	53%	87%	30%
24		N-Me-Ala	53%	87%	16%
25		Sar	47%	98%	23%
26		Sar	47%	98%	8%
27		β -Ala	58%	95%	12%

[0432] 实例4

[0433] 美登木素生物碱28的制备

[0434]



[0435] 将美登醇 (56.5mg, 0.10mmol, 1.0当量) 溶于无水DCM (10mL) 中, 在室温下在 N_2 气氛下加入氯化锌 (II) 在乙醚中的溶液 (0.3mL, 0.30mmol, 3.0当量, 1M溶液), 并保持搅拌10分钟。在10秒内加入4-乙酰基苯基异氰酸酯 (48.3mg, 0.30mmol, 3.0当量), 并将所得溶液在室温下搅拌5小时。此时间之后, 通过HPLC分析 (PDA 220nm) 证实反应完成。用旋转蒸发器在40℃下去除挥发物。粗物质通过NP色谱法使用装备预装的SNAP ULTRA 10g柱体和Biotage® HP-Sphere™ 球形二氧化硅的Biotage Isolera One快速纯化系统进行纯化 (在13CV中, 线性梯度从100% DCM到90/10DCM/甲醇), 接着通过RP色谱法使用预装的SNAP ULTRA C-18 12g柱体和Biotage® HP-Sphere™ C18 25 μ m球形二氧化硅进行纯化 (在30CV中, 线性梯度从80/20水/MeCN到100% MeCN)。合并含产物的级分, 在液氮中冷冻, 并冻干24小时, 得到为白色固体

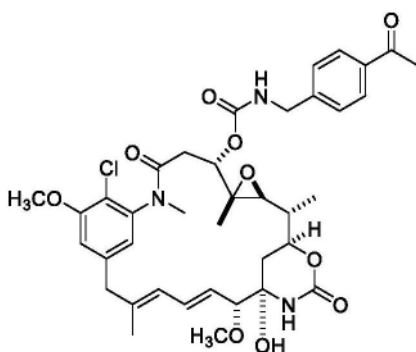
的化合物28。收率:20mg (28%)。RP-HPLC得出的纯度(220nm) >95%。 $C_{37}H_{45}ClN_3O_{10}$ [M+H]⁺的LRMS-ESI (m/z) 计算值:726.27。实测值:726.25。 $C_{37}H_{43}ClN_3O_{10}$ [M-H]⁻的LRMS-ESI (m/z) 计算值:724.27。实测值:724.43。

[0436] 实例5

[0437] 美登木素生物碱29的制备

[0438] May-ONp的合成:在室温下向美登醇(88mg, 155 μ mol, 1.0当量)在DCM(8mL)中的溶液中加入吡啶(25 μ L, 310 μ mol, 2.0当量)。将所得澄清溶液搅拌15分钟,然后冷却至4℃,并将对硝基苯基氯甲酸酯(219mg, 1.08mmol, 7.0当量)加入DCM(4mL)中,此后立即形成白色沉淀。将反应混合物在室温下搅拌24小时。粗物质使用旋转蒸发器在40℃下浓缩1小时,并通过Biotage Isolera One快速纯化系统使用预装的SNAP ULTRA 25g柱体和Biotage®HP-Sphere™球形二氧化硅进行纯化(在50CV中,线性梯度从100%乙酸乙酯到40/60乙酸乙酯/DCM)。用旋转蒸发器在40℃下将含产物的级分干燥30分钟,并且在高真空下再干燥30分钟,得到为白色固体的中间体May-ONp。收率:102mg (90%)。 $C_{35}H_{41}ClN_3O_{12}$ [M+H]⁺的LRMS-ESI (m/z) 计算值:730.23。实测值:730.01。

[0439]



[0440] 美登木素生物碱29的合成:在室温下向化合物May-ONp(3.7mg, 5.00 μ mol, 1.0当量)在DCM(1mL)中的溶液中加入4-(氨基甲基)苯乙酮(1.1mg, 7.50 μ mol, 1.5当量)在DCM/DMF(2:0.1v/v)中的溶液,并搅拌5分钟,然后加入三乙胺(2 μ L, 10.0 μ mol, 2.0当量)。将反应混合物在室温下搅拌2小时,并在60℃下搅拌过夜。粗物质在40℃下浓缩1小时,并通过Biotage Isolera One快速纯化系统使用预装的SNAP ULTRA 10g柱体和Biotage®HP-Sphere™球形二氧化硅进行纯化(在20CV中,线性梯度从100%氯仿到90/10氯仿/甲醇)。用旋转蒸发器在40℃下将含产物的级分干燥30分钟,并且在高真空下再干燥30分钟,得到为白色固体的化合物29。收率:1mg (27%)。RP-HPLC得出的纯度(220nm) >95%。 $C_{38}H_{46}ClN_3O_{10}$ [M+H]⁺的LRMS-ESI (m/z) 计算值:739.28。实测值:739.96。

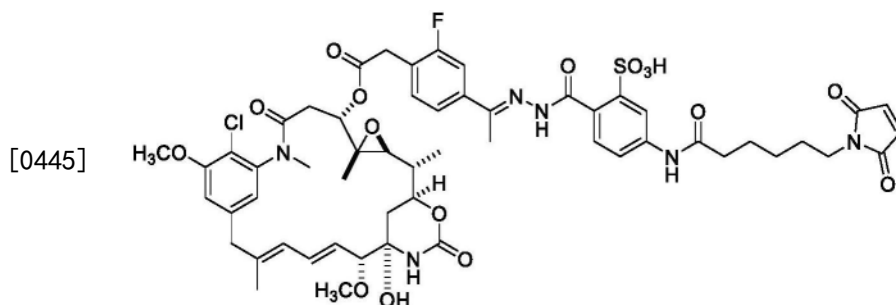
[0441] 实例6

[0442] 白蛋白结合美登木素生物碱的制备

[0443] 从酮-美登木素生物碱和马来酰亚胺-酰肼连接基合成白蛋白结合美登木素生物碱的通用方法D:在室温下在N₂气氛下,向酮-美登木素生物碱(1.0当量)在无水溶剂(合适的溶剂为DCM、DMSO、二噁烷、2-甲基四氢呋喃)中的搅拌溶液中加入分子筛(1:1至5:1w/w)和催化剂(TFA、对甲苯磺酸、amberlyst-H形式、amberlite-Na形式),然后加入酰肼连接基(1.0至5.0当量)在无水DMSO中的溶液。将反应混合物在室温下搅拌,并使用HPLC分析(PDA 220nm)证实转化率(>90%转化率)。过滤反应混合物,在30℃下用旋转蒸发器浓缩,并通过

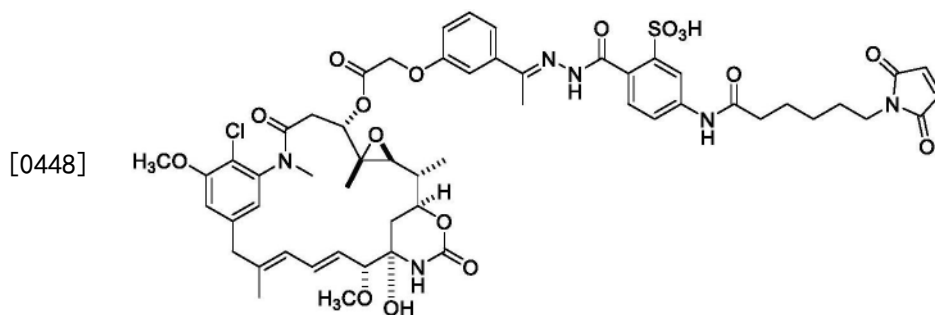
Biotage Isolera One快速纯化系统使用预装的SNAP ULTRA Biotage®HP-Sphere™球形二氧化硅进行色谱纯化(线性梯度从100%DCM到90/10DCM/甲醇),用旋转蒸发器在30℃下干燥30分钟,然后在高真空下再干燥30分钟,得到游离酸。将产物重新溶解在合适的溶剂(甲醇、丙酮、2-甲基四氢呋喃或其他有机极性溶剂)中,接着使用盐溶液(钠盐、钾盐、三乙铵盐)中和,直到pH范围达到5.5至7.5为止。将溶液在液氮中冷冻,并冻干24小时,得到为盐的化合物。抗衡离子的含量由IC确定。钠离子含量范围为0.2至1.0当量(约0.2%至0.9%),而三乙铵离子含量范围为0.8至2.0当量(约6%至16%)。

[0444] 白蛋白结合美登木素生物碱30的制备



[0446] 从美登木素生物碱2与连接基1的反应:在室温下在N₂气氛下向美登木素生物碱2 (170mg, 0.23mmol, 1.0当量)、分子筛(0.2g, 粉末, 活化的, 4 Å, 325目粒径)和Amberlyst®-H (20mg, 大孔, 30至60目)在无水DCM(2mL)中的溶液中加入连接基1 (51mg, 0.12mmol, 2.0当量)在无水DMSO(0.6mL)中的溶液。将反应混合物在室温下搅拌,并且在3小时后,HPLC分析(PDA 220nm)证实反应完成(>98%转化率)。用旋转蒸发器在30℃下浓缩反应混合物,用0.45μm注射器式过滤器(Macherey-Nagel, Chromafil®PTFE-0-45/25)过滤。滤液用无水DCM(8mL)稀释,并通过Biotage Isolera One快速纯化系统使用预装的SNAP ULTRA 10g柱体和Biotage®HP-Sphere™球形二氧化硅进行纯化(在22CV中线性梯度从100%DCM到90/10DCM/MeOH)。用旋转蒸发器在30℃下将合并的含产物的级分干燥30分钟,并且在高真空下再干燥30分钟,得到为白色黄色固体状的游离酸形式30。将固体溶于MeOH/丙酮(50:50v/v, 总计约4mL),接着将其用5mM的NaHCO₃在微孔水的溶液进行中和,直到pH 6.8值7.1(使用pH计测得的pH)为止。将溶液在液氮中冷冻,并冻干24小时,以提供为黄白色泡沫的美登木素生物碱前药30。收率:161mg (60%)。C₅₅H₆₁ClFN₆O₁₆S[M-H]⁻的LRMS-ESI(m/z)计算值:1147.36。实测值:1147.84。Na⁺的含量范围介于0.2至0.8%。

[0447] 白蛋白结合美登木素生物碱31的制备



[0449] 从美登木素生物碱3与连接基1的反应得出:在室温下在N₂气氛下向美登木素生物碱3 (186mg, 0.25mmol, 1.0当量)、分子筛(0.4g, 粉末, 活化, 4 Å, 325目粒径, Sigma

Aldrich) 和 **Amberlite**[®] (IR120 Na形式, 484mg, 2.1mmol/mL, 4.0当量) 在无水二氯甲烷 (4mL) 中的搅拌溶液中加入连接基1 (329mg, 0.77mmol, 2.5当量) 在无水DMSO (4mL) 中的溶液。将反应混合物在室温下搅拌, 并且在6小时后, HPLC分析 (PDA 220nm) 证实反应完成 (> 98% 转化率)。用旋转蒸发器在30℃下浓缩反应混合物, 用0.45μm注射器式过滤器 (Macherey-Nagel, **Chromafil**[®] PTFE-0-45/25) 过滤。用氢氧化钠 (318μL的1M NaOH溶液, 1.3当量) 中和滤液。将中和的混合物滴加到包含冷却的甲基叔丁基醚 (27mL) 和异丙醇 (14mL) 的混合物 (4℃冰浴) 的50mL猎鹰管中, 并在4℃下离心5分钟。倒出上清液, 并将沉淀物重悬于二氯甲烷 (10mL) 中, 并通过Biotage Isolera One快速纯化系统使用预装的SNAP ULTRA 10g柱体和**Biotage**[®] HP-Sphere[™]球形二氧化硅进行纯化 (在22CV中, 线性梯度从100% DCM到90/10DCM/MeOH)。用旋转蒸发器在30℃下将合并的含产物的级分干燥30分钟, 并且在高真空下再干燥10小时, 得到为白黄固体的31。收率: 156mg (52%)。RP-HPLC得出的纯度 (220nm) > 95%。 $C_{55}H_{62}ClN_6O_{17}S[M-H]^-$ 的LRMS-ESI (m/z) 计算值: 1145.36。实测值: 1145.87。Na的含量具有0.2至0.8%的窗口。

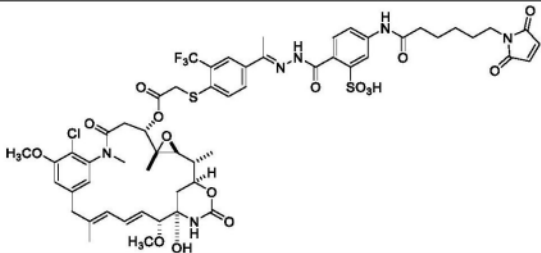
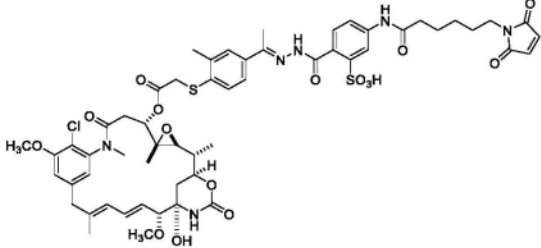
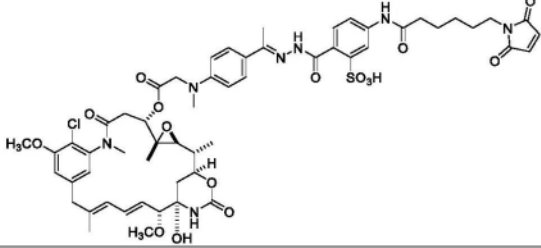
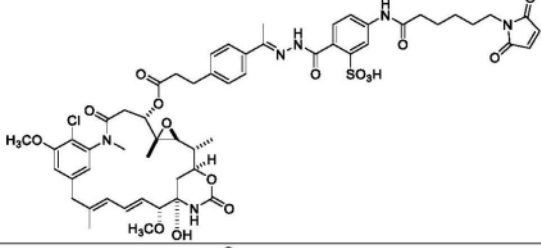
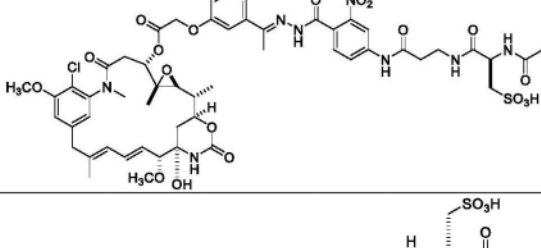
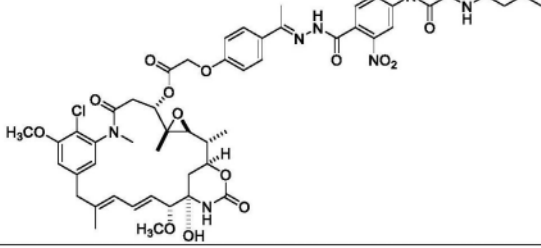
[0450] 表3: 使用通用方法D合成的白蛋白结合美登木素生物碱

[0451]	化合物	结构	药物	收 率
			(化 合 物)	(抗 衡 离子)

[0452]

45		4	54% (-)
32		4	10% (Na ⁺)
33		4	33% (Na ⁺)
34		4	49%
35		2	33% (Na ⁺)
36		18	17% (Et ₃ N H ⁺)
37		11	12% (Et ₃ N H ⁺)

[0453]

38		13	24% (Et ₃ N H ⁺)
39		12	24% (Et ₃ N H ⁺)
40		10	12% (Et ₃ N H ⁺)
41		9	7% (Na ⁺)
42		3	73% (Na ⁺)
43		18	11% (Na ⁺)

[0454] 实例7

[0455] 美登木素生物碱-HSA偶联物在pH 4.0和pH 7.4的缓冲溶液中的稳定性和释放动力学

[0456] 为了制备白蛋白结合美登木素生物碱的HSA偶联物,将HSA(200μM:361.8μL,1078μM游离Cys34;100μM:180.9μL,1078μM游离Cys34)用PBS缓冲液(4mM磷酸钠,150mM NaCl,pH 7.4)(200μM:678.2μL;100μM:859.1μL)和DMSO(200μM:130.0μL;100μM:195.0μL)稀释,并在

37℃的加热块中孵育30分钟。将白蛋白结合美登木素生物碱以DMSO中2mM的储备溶液的形式(200μM:130.0μL;100μM:65.0μL)加入预孵育的HSA样品中,以产生200μM或100μM的美登木素生物碱前药溶液和300μM或150μM的游离Cys34。pH为7.4的混合物在37℃下反应10分钟,接着通过RP-HPLC (Phenomenex Aeris WP XB-C18,3.6μm,250×4.6mm)每小时分析一次,持续24小时。

[0457] 为了研究pH 4.0下的释放动力学,用50mM乙酸钠缓冲液pH 3.0(200μM:119.3μL;100μM:125.2μL)和1M HCl(200μM:12.7μL;100μM:6.8μL)对混合物进行酸化,以达到pH 4.0。随后通过RP-HPLC (Phenomenex Aeris WP XB-C18,3.6μm,250×4.6mm)对混合物每小时分析一次,持续24小时。

[0458] 使用以下RP-HPLC条件:Phenomenex Aeris WP XB-C183.6μm,250×4.6mm;洗脱液A(100%20mM Tris缓冲液pH 8.0)和洗脱液B(90:10,MeCN:水),用洗脱液B的梯度洗脱(25%0至0.5分钟,25至35%0.5至2.5分钟,35至85%2.5至16分钟,85至95%16至17分钟,95%17至20分钟,95至25%20至25分钟,25%25至30分钟,流速1.0mL/min)。柱箱温度37℃;自动进样器温度37℃;进样量20μL。

[0459] 为了量化释放的游离药物的百分比,以不同浓度(200μM,100μM,50μM,25μM和12.5μM)制备游离美登木素生物碱的标准曲线。曲线下面积(AUC)确定为250nm。

[0460] 表4:美登木素生物碱-HSA偶联物在pH 4.0和pH 7.4下的释放动力学

美登木素生物碱	pH 4.1 下的相对 <i>t</i> _{1/2}	24 小时后 pH 7.4 下的游离美 登木素生物碱
[0461] 36	4.5 小时*	4.7%*
41	4.0 小时*	4.6%*
31	4.5 小时*	4.0%*

[0462]

	6.0 小时**	3.7%**
33	7.0 小时*	6.5%*
32	4.0 小时*	9.5%*
37	5.5 小时*	3.9%*
30	3.5 小时**	9.6%**
40	3.5 小时*	8.9%*
39	5.5 小时*	9.6%*
38	8.5 小时*	4.9%*
42	45.4 小时**	4.8%**

[0463] *测量值为200 μ M[0464] **以100 μ M测量

[0465] 实例8

[0466] 美登木素生物碱和美登木素生物碱-HSA偶联物在CD1小鼠和人类血浆中的稳定性:为了研究美登木素生物碱以及CD1和人类血浆中的美登木素生物碱-HSA偶联物的稳定性,将化合物在37℃下孵育24小时。通过LC-MS/MS(或HPLC)在某些时间点对剩余游离美登木素生物碱或相应美登木素生物碱的释放进行定量。

[0467] LC-MS定量程序:将合并的CD1小鼠或人类血浆(K_2 EDTA, 创新研究)离心(1分钟, 12,044g)。首先通过过滤针(5 μ m, 无菌, Becton Dickinson)且随后通过醋酸纤维素膜(0.45 μ m, 无菌, Carl Roth)过滤上清液。将过滤后的血浆(1710 μ L)在加热块中于37℃孵育30分钟。将游离美登木素生物碱或白蛋白结合美登木素生物碱以DMSO(190 μ L)的300 μ M储备液的形式加入到预孵育的血浆样品,得到相应美登木素生物碱或美登木素生物碱-HSA偶联物的30 μ M溶液。使混合物在37℃下反应10分钟,然后在每个时间点(0、1、2、3、4、5、21和24小时)将三个样品(70 μ L)放入96孔板,用塑料垫密封,立即用液氮冷冻并储存在-20℃下。在实验结束时,将96孔板在室温下解冻。接着将样品(30 μ L)通过多通道移液器直接转移到96孔Impact™蛋白沉淀板(Strata®)中,将其用MeCN(150 μ L)洗涤一次,且接着将其装载有内标(120 μ L, 含有5 μ g/mL美登素的MeCN)。Impact™沉淀板用硅胶垫密封,并以420rpm的速度振摇2分钟。接着将Impact™沉淀板置于96孔样品歧管上,并通过施加适度真空来将滤液收集到另一个96孔板上。用硅胶垫密封96孔板,并保持在室温下直到LC-MS/MS定量为止。将滤液注入到LC-MS中,以使用MRM模式进行定量。

[0468] LC-MS方法:Phenomenex Luna® Omega Polar C18, 1.6 μ m, 100 Å, 50×2.1mm, 柱;洗脱液A(0.1%甲酸水溶液)和洗脱液B(0.1%甲酸MeCN溶液),用洗脱液B的梯度洗脱(20% 0至0.5分钟,流速0.4mL/min;20至60%0.5至9.0分钟,0.4mL/min;60至100%9.0至9.5分

钟,流速0.4mL/min;100至20%9.5至10.5分钟,流速0.4mL/min;20%10.5至12分钟,0.6mL/min)。柱箱温度25℃;自动进样器温度室温;10μL进样量。

[0469] 将每种游离药物在时间点0的曲线下面积(AUC)设定为相应前药的100%值。基于美登素的AUC而将每个样品的AUC标准化。

[0470] HPLC定量程序:在使用游离药物和前药的DMSO中的2mM储备溶液之前,如前所述而制备样品。在37℃下孵育后,每小时将样品直接注入HPLC中,持续24小时。每个游离美登木素生物碱的曲线下面积(AUC)(PBS缓冲液中10%DMSO中200μM)用作相应白蛋白结合美登木素生物碱的100%值。

[0471] HPLC方法:Phenomenex Aeris WP XB-C18,3.6μm,250×4.6mm,柱;洗脱液A(20mM Tris缓冲液pH 8.0)和洗脱液B(90:10,MeCN:水),用洗脱液B的梯度洗脱(25%0至0.5分钟,25至35%0.5至2.5分钟,35至85%2.5至16分钟,85至95%16至17分钟,95%17至20分钟,95至25%20至25分钟,25%25至30分钟,流速=1.0mL/min)。柱箱温度37℃;自动进样器温度37℃;进样量20μL。

[0472] 下表5列出了游离美登木素生物碱的相对释放以及向美登醇的转化率。

[0473] 表5:针对美登木素生物碱-HSA偶联物而相对释放游离美登木素生物碱和/或美登醇在CD1小鼠和人血浆

	白蛋白结合美登木素生物碱 (化合物)	24 小时后释放的游离美登木素生物碱的%		24 小时后的美登醇转化率的%	
		CD1 小鼠	人	CD1 小鼠	人
[0474]	31	3.0	6.8	2.9	2.1
	45	6.5	<i>na</i>	<i>nd</i>	<i>na</i>
	34*	4.3	<i>na</i>	<i>nd</i>	<i>na</i>
	33	8.7	10.3	<i>nd</i>	<i>nd</i>
	32	7.0	7.8	<i>nd</i>	0.3
	30	4.1	6.2	<i>nd</i>	<i>nd</i>
[0475]	42	2.7	7.4	2.1	1.8
	35	<i>na</i>	9.0	<i>na</i>	<i>nd</i>

[0476] *通过HPLC获得数据

[0477] 下表6列出了剩余的游离美登木素生物碱的量以及向美登醇的转化率。

[0478] 表6:24小时后CD1小鼠和人血白蛋白中的游离美登木素生物碱和美登醇的剩余量

美登木素生物碱 (化合物)	24 小时后剩余的游离 美登木素生物碱的%		24 小时后的美登醇转 化率的%	
	CD1 小鼠	人	CD1 小鼠	人
[0479] 4	65.2	75.6	0.5	<i>nd</i>
2	71.8	74.8	<i>nd</i>	<i>nd</i>
3	40.8	69.6	19.1	4.5

[0480] 图1中描绘了CD1鼠血浆内的不同连接基(美登木素生物碱4)的稳定性。

[0481] 实例9

[0482] 合并的人全血和血浆中的白蛋白结合美登木素生物碱与白蛋白的体外结合动力学:为了研究合并的人血浆和合并的人全血中与白蛋白结合的美登木素生物碱的结合动力学,将化合物与合并的人血浆在37℃下一起孵育,并在指定时间点进行取样。通过HPLC对剩余的白蛋白结合美登木素生物碱进行定量。

[0483] HPLC定量程序:为了研究人全血中的结合动力学,将血液(K₂EDTA, 36个供体, Zen-Bio; 900μL)在加热块中于37℃下预孵育30分钟。为了研究合并的人类血浆中的结合动力学,将合并的全血离心(10分钟, 1811g),收集上清液血浆,并接着在37℃下预孵育30分钟。

[0484] 将白蛋白结合美登木素生物碱以在10mM磷酸钠缓冲液中的2.5%丙二醇中的1.2mM储备溶液和1.48mM柠檬酸盐(100μL)的PBS稀释10倍的方式加入到预孵育的全血/血浆样品,产生相应白蛋白结合美登木素生物碱的12.0μM溶液。在15秒、2分钟、4分钟、8分钟和15分钟后进行取样(190μL)。将样品直接加入到含有美登素(5μg/mL)的760μL MeCN中作为内标,并涡旋1分钟。在离心(12,044g下1分钟)后,将上清液(850μL)在高真空下浓缩。将残留物溶于DMSO/水(1:1v/v; 95μL)中,并接着通过RP-HPLC分析。通过比较白蛋白结合的美登木素生物碱相对于PBS缓冲液中的对照样品(100%值)在220nm处的曲线下面积(AUC)来确定结合百分比。所有实验均一式三份进行。

[0485] HPLC方法:Phenomenex Kinetex Polar C18, 2.6μm, 100 Å, 150×4.6mm;洗脱液A(95:5 5mM醋酸铵:MeCN)和洗脱液B(5:95 5mM醋酸铵:MeCN),用洗脱液B的梯度洗脱(30%0至0.5分钟,30至95%0.5至9.0分钟,95%11.0分钟,95至30%11.0至14.5分钟,30%15.0分钟,流速=1.0mL/min)。柱箱温度环境温度;自动进样器温度4℃;50μL进样量。

[0486] 下表列出在0和8分钟时白蛋白结合美登木素生物碱的相对量:

[0487] 表7:15秒和8分钟后的合并的人全血和血浆中的结合的白蛋白结合美登木素生物碱的量

[0488]	白蛋白结合美登木素生物碱	%结合			
		血浆		全血	
		15 秒	8 分钟	15 秒	8 分钟
	31	92.0±7.5	98.6±0.1	99.2±0.4	99.3±0.2
	30	96.4±3.6	98.5±0.6	98.3±0.5	98.5±0.6

[0489] 实例10

[0490] 使用**CellTiter-Blue®**细胞活力测定法,不同细胞系中美登素、DM1、DM1-SMe、美登醇和美登木素生物碱的体外细胞毒性

[0491] 这项研究使用Promega的**CellTiter-Blue®**细胞活力测定法来测试所有化合物的体外功效。受测试的癌细胞系是:LXFL 529 (大细胞肺癌)、RK0 (结肠癌)、SW-620 (结肠癌)、CAL-27 (头颈癌)、LXFL 1674L (大细胞肺癌)、MDA-MB 468 (乳腺癌)、SK-OV-3 (卵巢癌)、PAXF 1657 (胰腺癌)、MCF7 (乳腺癌)、COLO 205 (结肠癌)、MDA-MB 231 (乳腺癌)、BT-474 (乳腺癌)和Hep G2 (肝癌)。

[0492] 从指数相培养物收获细胞,进行计数并以取决于细胞系生长速率(4,000和60,000个细胞)的细胞密度铺在96孔平底微量滴定板中。在24小时的恢复期后,允许细胞恢复指数生长,然后加入10μL培养基(四个对照孔/板)或含测试化合物的培养基。

[0493] 化合物以半对数稀释步骤以10个浓度一式两份投予,并将细胞连续处理96小时。在处理和孵育细胞后,加入20μL/孔**CellTiter-Blue®**试剂。在孵育最多4小时后,使用EnSpire多标记读数器来测量荧光(FU) (激发 $\lambda=531\text{nm}$,发射 $\lambda=615\text{nm}$)。使用4参数非线性曲线拟合(Oncotest Warehouse Software),将S形浓度响应曲线拟合到针对每个细胞系获得的数据点(T/C值)。IC₅₀值报告为相对IC₅₀值,它们是在S形曲线浓度响应曲线的顶部平稳状态与底部平稳状态之间产生响应(抑制菌落形成/活力)的测试化合物的浓度(曲线的拐点),或报告为绝对IC₅₀值,它们是在T/C=50%的浓度-响应曲线的交点处的测试化合物的浓度。为了计算平均IC₅₀值,使用了几何平均数。结果呈现如受测试的所有细胞系的均值图或热图(相对于几何平均IC₅₀值的单个IC₅₀值)。参见表8和图2。图2示出所有受测试化合物的IC₅₀热图。

[0494] 表8

[0495]

	几何平均值 IC ₅₀ [nM]	<i>n</i> 个细胞系
DM1	3.22	6
DM1-SMe	1.30	6
18	0.13	12
24	9.04	7
44	7.21	6
4	0.16	13
2	0.30	11
5	0.90	6
6	2.14	6
28	10.6	6
20	0.94	6
7	0.89	6
23	26.80	10
21	1.67	6
22	25.00	3

[0496]

19	1.12	6
9	0.19	7
17	0.45	6
15	0.18	7
16	0.32	7
14	1.54	6
3	0.10	6
8	0.10	6
48	59.90	6
美登素	0.22	12
美登醇	86.00	6
27	11.70	6
46	67.80	6
11	0.21	8
25	8.47	7
10	0.30	7
47	10.70	7
26	18.50	7
12	0.76	6
13	0.88	6

[0497] 实例11

[0498] 在患者源性肿瘤异种移植模型中评估美登素和与白蛋白结合美登木素生物碱化化合物的通用程序

[0499] 来自Charles River的雌性免疫缺陷NMRI裸鼠在异氟烷麻醉下与人类癌症肿瘤一

起在左肋皮下接受单侧肿瘤植入,直到癌症肿瘤可触及并体积达到80至200mm³为止(除非另有说明)。

[0500] 将动物关在笼子里,笼子内的温度保持在25±1℃,相对湿度为45至65%,笼子里的换气速率为每小时60倍。将动物放在14小时亮:10小时暗人造光周期。用来自Envigo RMS SARL的高压灭菌的Teklad Global 19%蛋白质挤压饲料(T.2019S.12)喂养动物,并获得无菌过滤和酸化(pH 2.5)的自来水,每周更换两次。随意提供饲料和水。在治疗之前,考虑组肿瘤体积的可比较中值和平均值,将动物随机分组(每组7只小鼠,除非另有说明)。在工作日每天对动物进行例行两次监测,周六和周日则每天进行一次。从第0天开始,每周两次对动物称重。个体动物的相对体重(RBW)通过将第X天的个体绝对体重(BW_x)除以随机化当天的个体体重乘以100%来计算。在随机化当天(第0天),然后每周两次,用卡尺进行二维测量来确定肿瘤体积。根据以下方程式计算肿瘤体积:肿瘤体积[mm³]=1[mm]×w²[mm²]×0.5,其中“1”是肿瘤的长度且“w”是肿瘤的宽度。通过将第X天(Tx)的各个肿瘤的绝对单个肿瘤体积[mm³]除以随机化当天的同一肿瘤的绝对单个肿瘤体积乘以100%来计算出第X天的单个肿瘤的相对体积(RTV_x)。在动物福利政策允许的范围内应用时间表。以>2000mm³的肿瘤体积(单侧)终止单个小鼠。所有测试化合物在第1、8、15和22天投药,并以含有蔗糖的冻干固体形式提供。在处理当天,将冻干的样品溶解在含有20%丙二醇的pH 6.8的10mM磷酸钠缓冲液中,并与媒剂(10mM磷酸钠缓冲液,20%丙二醇和5%蔗糖-pH 6.8)一起静脉注射(100μL/20-g小鼠)。

[0501] 实例12

[0502] 在癌细胞系源性异种移植模型中评估美登素和与白蛋白结合美登木素生物碱化化合物的通用程序

[0503] 来自法国·扬维耶(Janvier)的雌性免疫缺陷NMRI裸鼠经缓冲液/基质胶(1:1)皮下移植(除非另有说明)接受了5×10⁶个培养的癌细胞(除非另有说明),直到肿瘤可触及并体积达到80至200mm³(除非另有说明)为止。将动物关在笼子里,笼子内的温度保持在22±1℃,相对湿度为50±10%,笼子里的换气速率为每小时60倍。将动物放在12小时亮:12小时暗人造光周期。用来自Ssniff®的高压灭菌的SsniffNM喂养动物,并获得无菌过滤和酸化(pH 4.0)的自来水,每周更换两次。随意提供饲料和水。在治疗之前,考虑组肿瘤体积的可比较中值和平均值,将动物随机分组(每组7只小鼠,除非另有说明)。在工作日每天对动物进行例行两次监测,周六和周日则每天进行一次。从第0天开始,每周两次确定小鼠的体重,每组的平均体重与初始值(以百分比为单位)相关,以计算体重变化(BWC)。在随机化当天(第0天),然后每周两次或三次,用卡尺进行二维测量来确定肿瘤体积。根据以下方程式计算肿瘤体积:

[0504] 肿瘤体积[mm³]=1[mm]×w²[mm²]×0.5,其中“1”是肿瘤的长度且“w”是肿瘤的宽度。通过将第X天(Tx)的各个肿瘤的绝对单个肿瘤体积[mm³]除以随机化当天的同一肿瘤的绝对单个肿瘤体积乘以100%来计算出第X天的单个肿瘤的相对体积(RTV_x)。在动物福利政策允许的范围内应用时间表。以>1500mm³的肿瘤体积(单侧)终止单个小鼠,或者可见溃疡。所有测试化合物在第1、8、15和22天投药,并以含有蔗糖的冻干固体形式提供。在处理当天,将冻干的样品溶解在含有20%丙二醇的pH 6.8的10mM磷酸钠缓冲液中,并与媒剂(10mM磷酸钠缓冲液,20%丙二醇和5%蔗糖-pH 6.8)一起静脉注射(100μL/20-g小鼠)。

[0505] 实例13

[0506] 在人类PDX肾细胞癌模型RXF 631中评估美登素和白蛋白结合美登木素生物碱30、42、31和35

[0507] 根据患者源性异种移植模型的一般程序,对肾癌细胞RXF 631模型中的美登素和白蛋白结合化合物30、42、31和35进行评估。在肿瘤达到 100mm^3 的平均大小后开始治疗。图3示出了对照组、美登素组以及用化合物30、42、31和35治疗的组的肿瘤生长曲线。图4示出了对照组、美登素组以及用化合物30、42、31和35治疗的组的体重变化曲线。

[0508] 实例14

[0509] 在人类PDX鳞状细胞肺癌模型LXFE 937中评估美登素和白蛋白结合美登木素生物碱32、30和31

[0510] 根据患者源性异种移植模型的一般程序,对鳞状细胞肺癌LXFE 937模型中的美登素和白蛋白结合化合物32、30和31进行评估。在肿瘤达到 117mm^3 的平均大小后开始治疗。图5示出了对照组、美登素组以及用化合物32、30和31治疗的组的肿瘤生长曲线。图6示出了对照组、美登素组以及用化合物32、30和31治疗的组的体重变化曲线。

[0511] 实例15

[0512] 在人类PDX鳞状细胞肺癌模型LXFE 937 (大肿瘤) 中评估美登素和白蛋白结合美登木素生物碱30和31

[0513] 根据患者源性异种移植模型的一般程序,对鳞状细胞肺癌LXFE 937模型中的美登素和白蛋白结合化合物30和31进行评估。在肿瘤达到 270mm^3 的平均大小后开始治疗。图7示出了对照组、美登素组以及用化合物30和31治疗的组的肿瘤生长曲线。图8示出了对照组、美登素组以及用化合物30和31治疗的组的体重变化曲线。

[0514] 实例16

[0515] 在人类PDX肺腺癌模型LXFA 737中评估美登素和白蛋白结合美登木素生物碱30和31

[0516] 根据患者源性异种移植模型的一般程序,对肺腺癌LXFA 737模型中的美登素和白蛋白结合化合物30和31进行评估。在肿瘤达到 311mm^3 的平均大小后开始治疗。图9示出了对照组、美登素组以及用化合物30和31治疗的组的肿瘤生长曲线。图10示出了对照组、美登素组以及用化合物30和31治疗的组的体重变化曲线。

[0517] 实例17

[0518] 在人类异种移植乳腺癌模型MDA-MB-231中评估美登素和白蛋白结合美登木素生物碱32、30和31

[0519] 根据癌细胞系源性异种移植模型的一般程序,对MDA-MB 231乳腺癌模型中的美登素和白蛋白结合化合物32、30和31进行评估。在肿瘤达到 80mm^3 的平均大小后开始治疗。图11示出了对照组、美登素组以及用化合物32、30和31治疗的组的肿瘤生长曲线。图12示出了对照组、美登素组以及用化合物32、30和31治疗的组的体重变化曲线。

[0520] 实例18

[0521] 在人类异种移植卵巢癌模型A2780中评估美登素和白蛋白结合美登木素生物碱30和31

[0522] 根据卵巢癌细胞系异种移植模型的一般程序,对卵巢癌A2780模型中的美登素和

白蛋白结合化合物30和31进行评估。在肿瘤达到 380mm^3 的平均大小后开始治疗。图13示出了对照组、美登素组以及用化合物30和31治疗的组的肿瘤生长曲线。图14示出了对照组、美登素组以及用化合物30和31治疗的组的体重变化曲线。

[0523] 实例19

[0524] 在人类异种移植乳腺癌模型MDA-MB 468中评估美登素和白蛋白结合美登木素生物碱30和31

[0525] 根据癌细胞系源性异种移植模型的一般程序,对乳腺癌MDA-MB 468中的美登素和白蛋白结合化合物30和31进行评估。在肿瘤达到 94mm^3 的平均大小后开始治疗。图15示出了对照组、美登素组以及用化合物30和31治疗的组的肿瘤生长曲线。图16示出了对照组、美登素组以及用化合物30和31治疗的组的体重变化曲线。

CD1鼠血浆中化合物4衍生物的稳定性

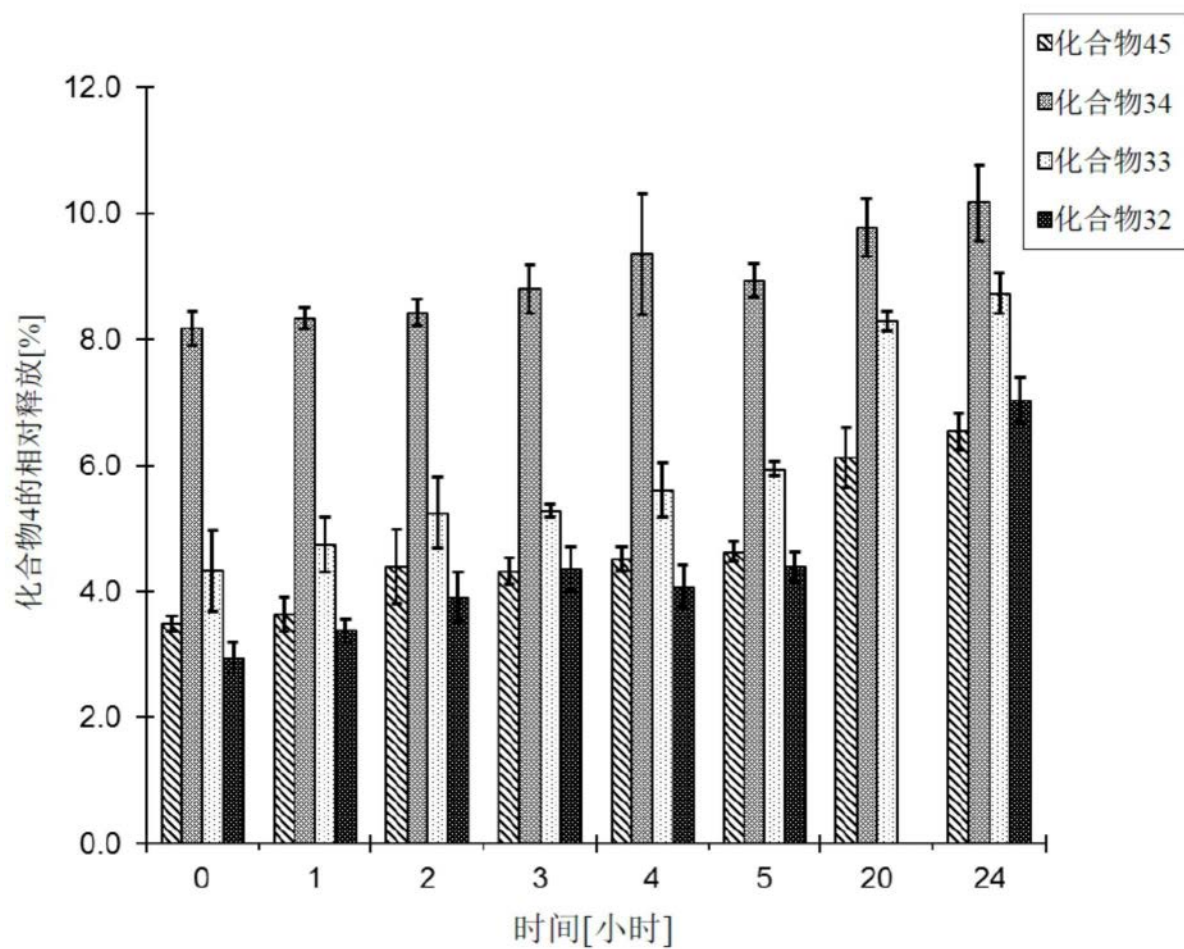


图1

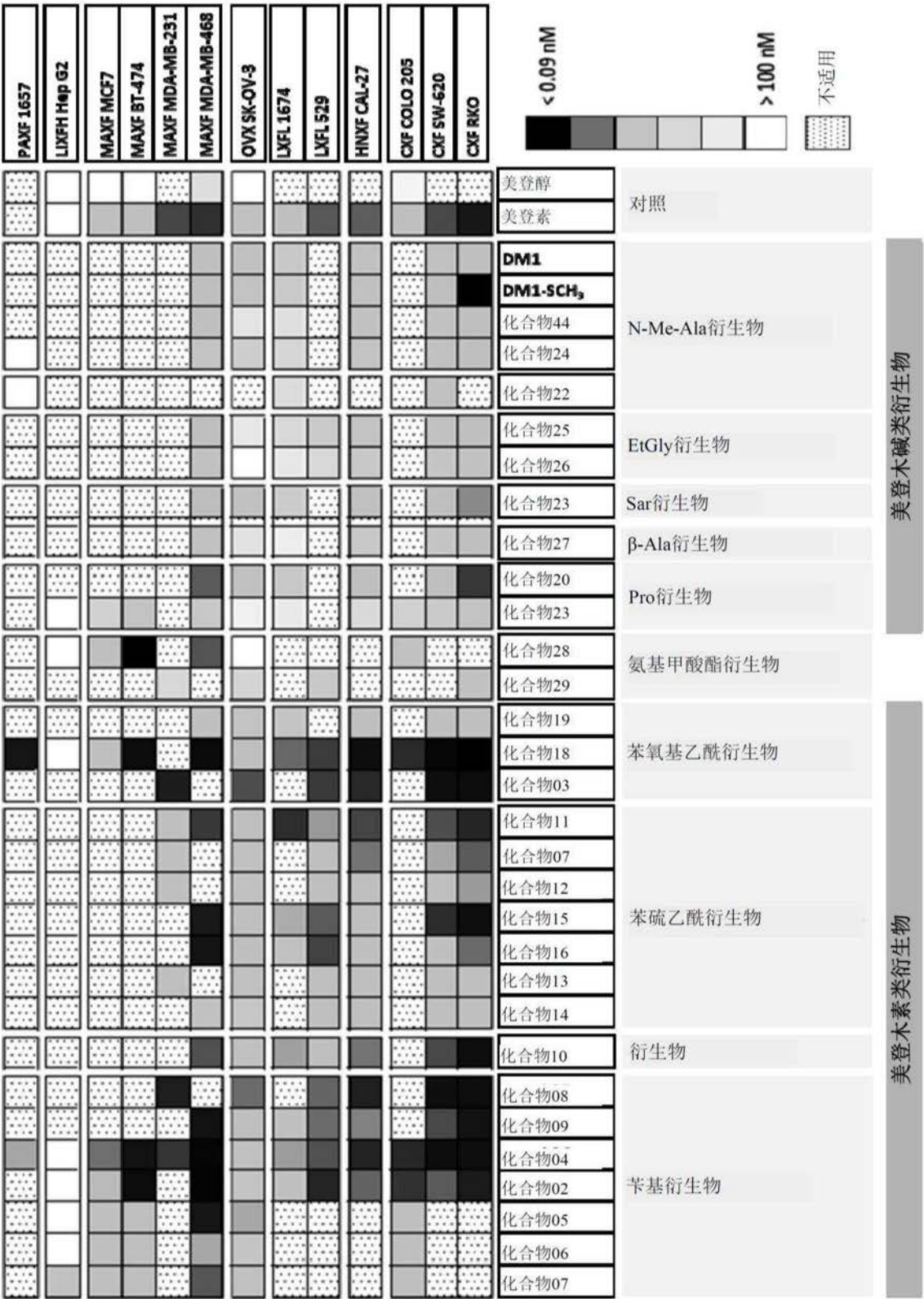


图2

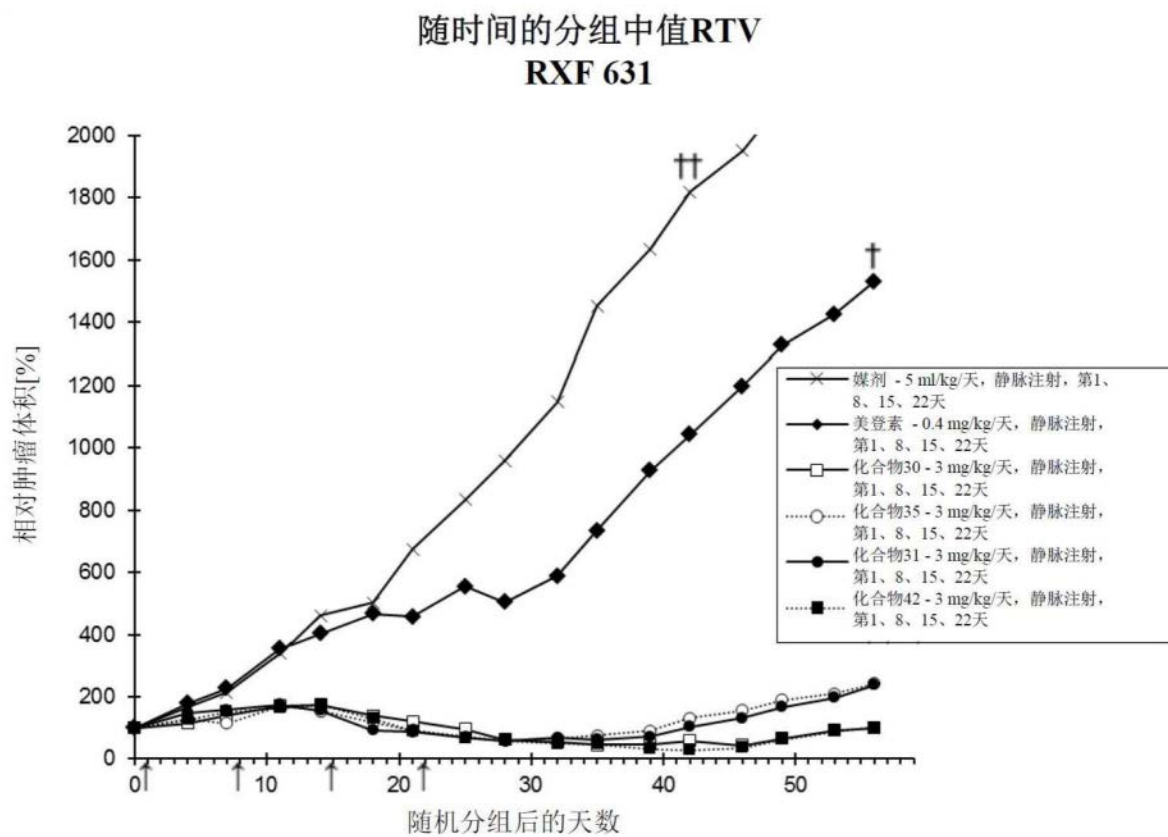


图3

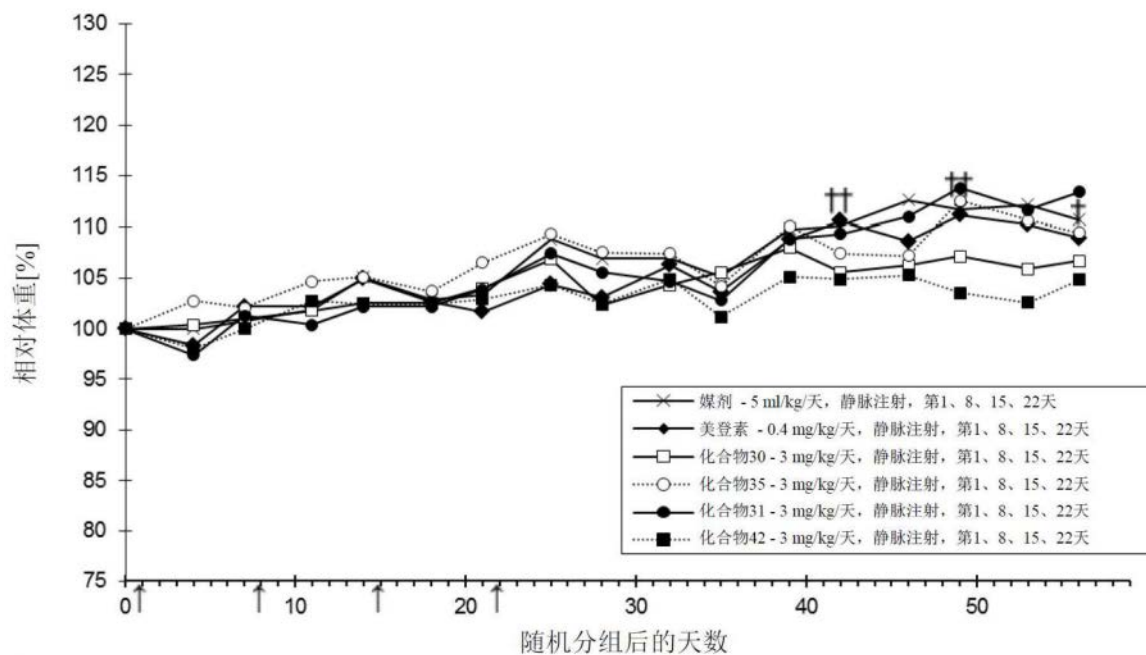
随时间的分组中值RBW
RXF 631

图4

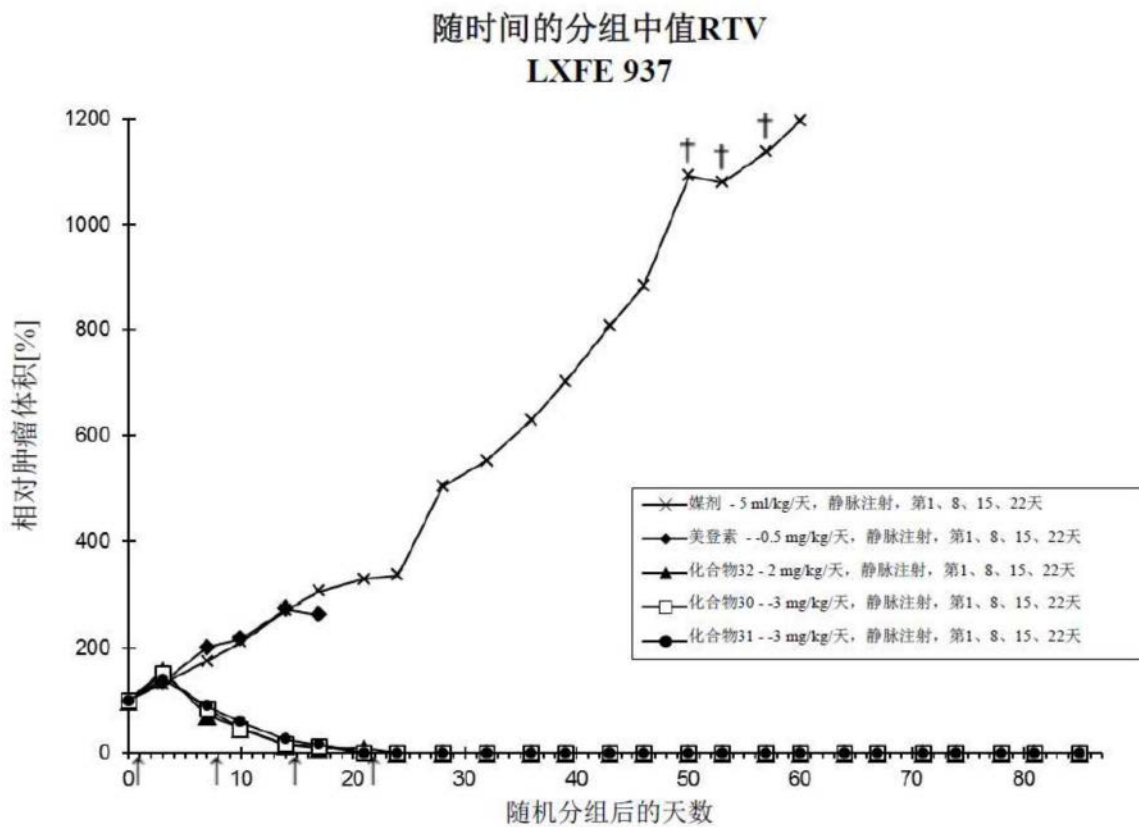


图5

随时间的分组中值RBW
LXFE 937

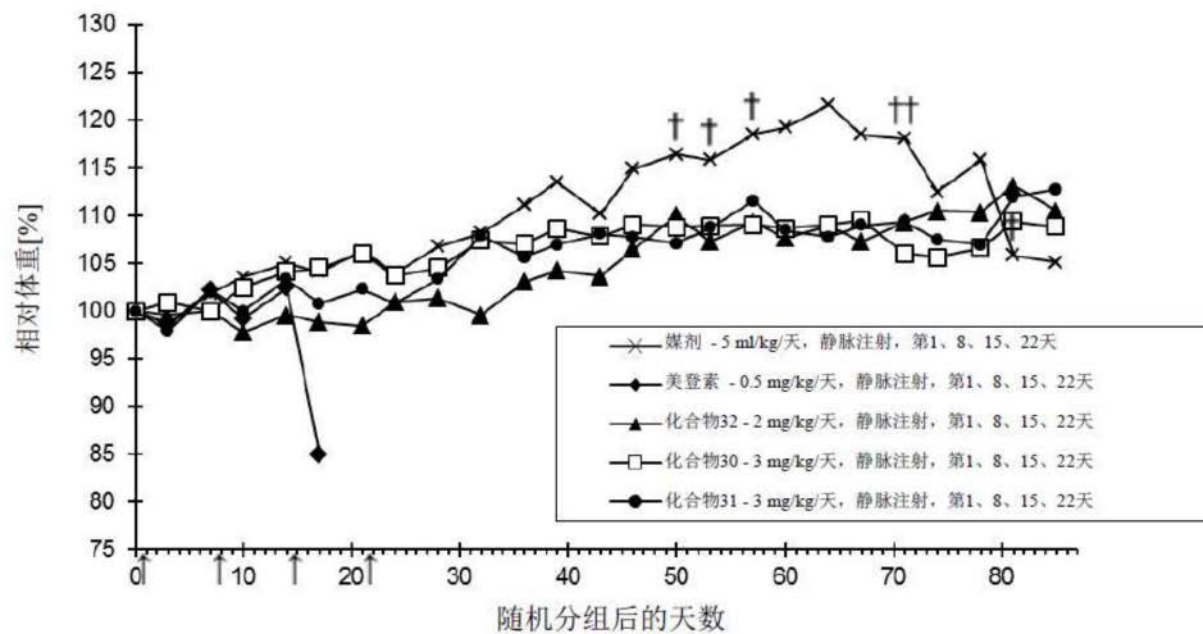


图6

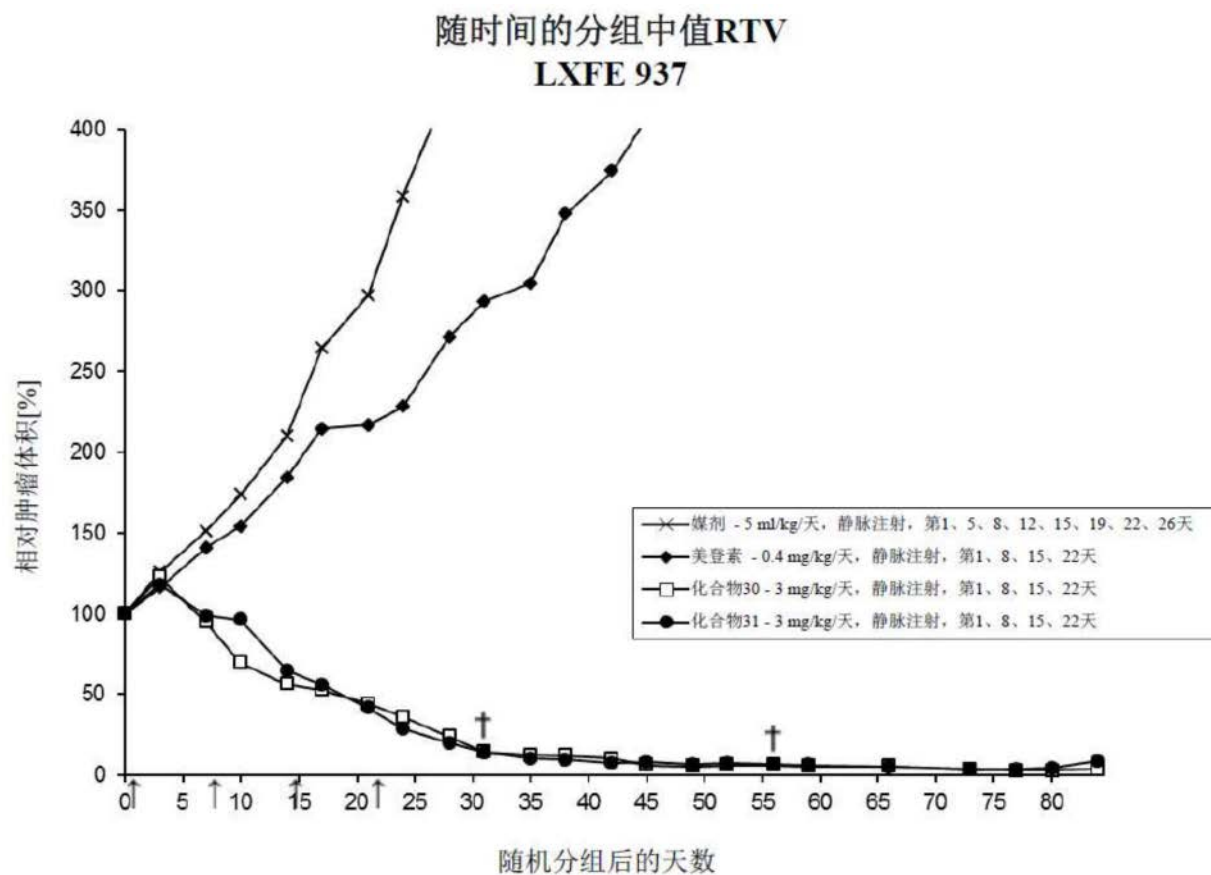


图7

随时间的分组中值RBW
LXFE 937

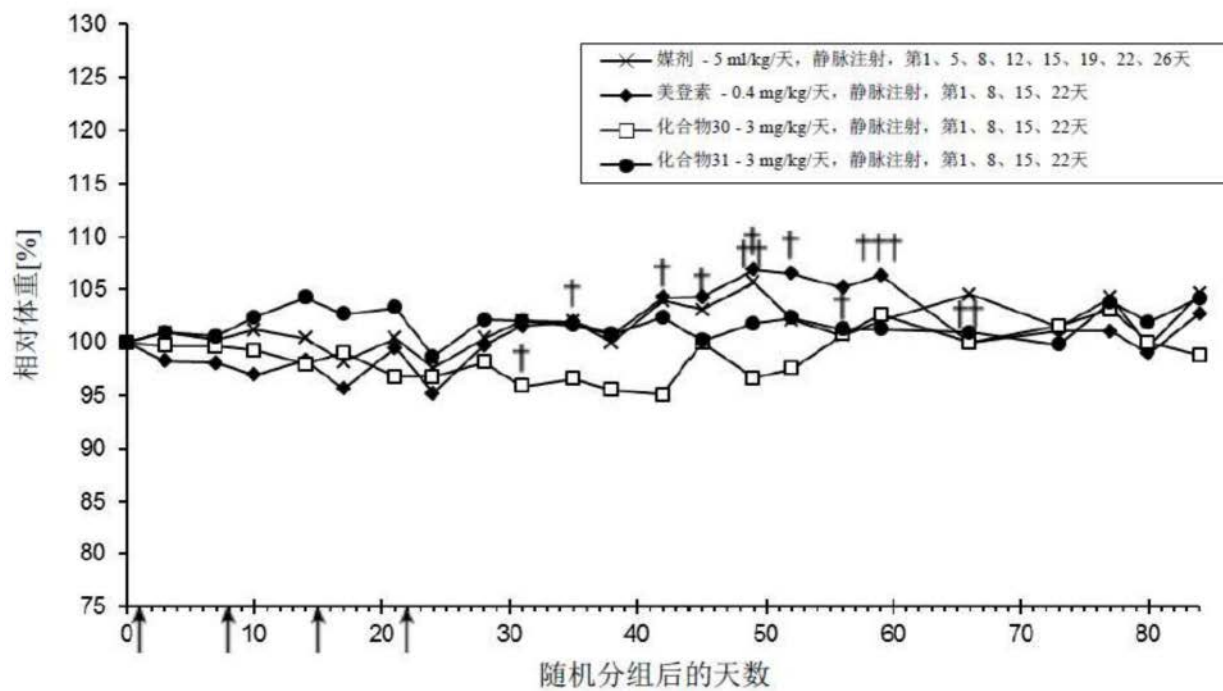


图8

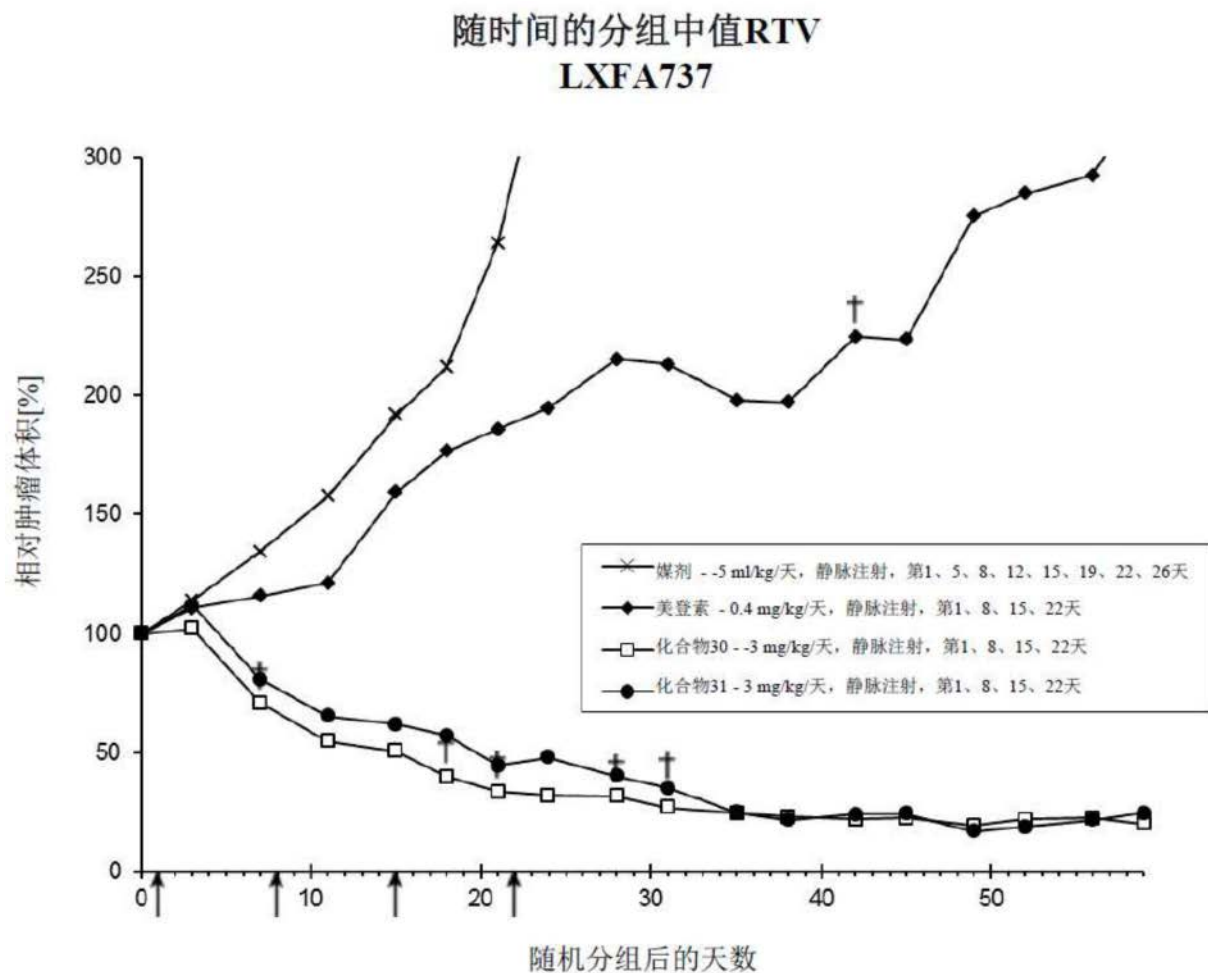


图9

随时间的分组中值RBW
LXFA737

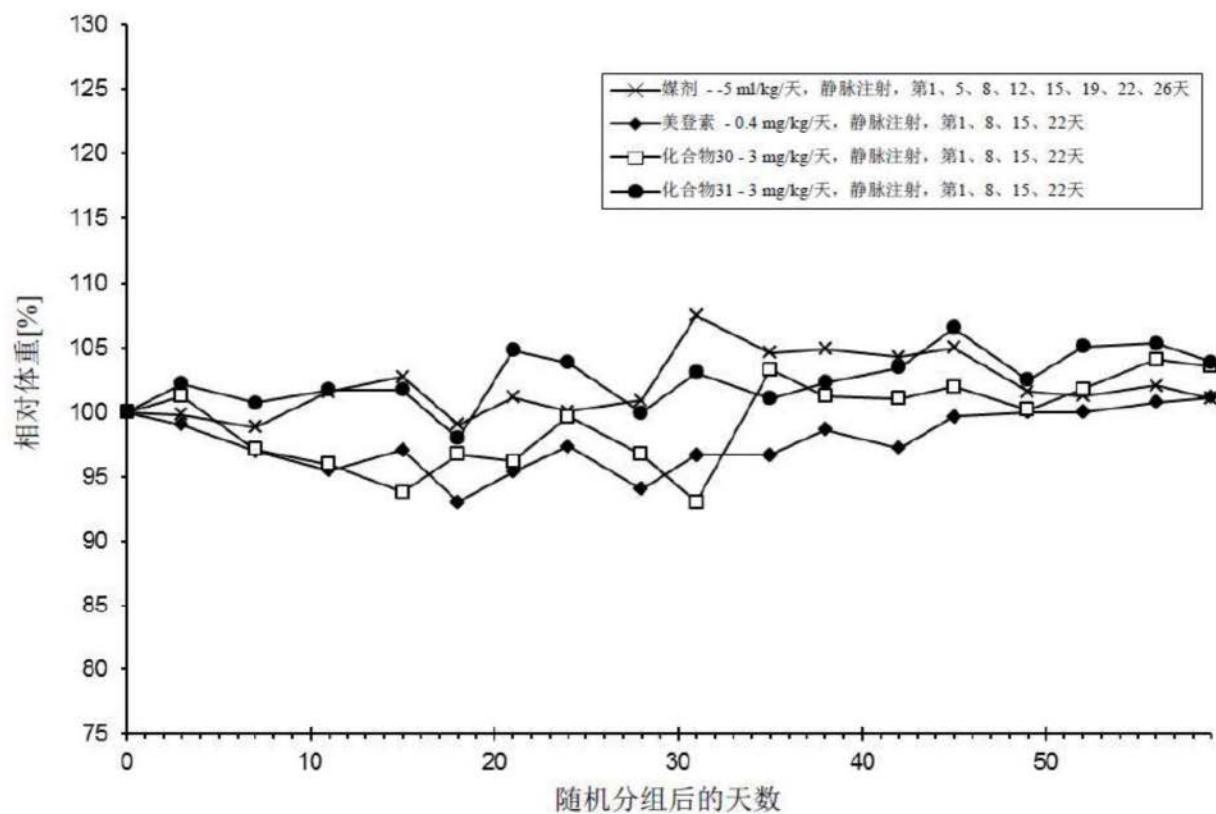


图10

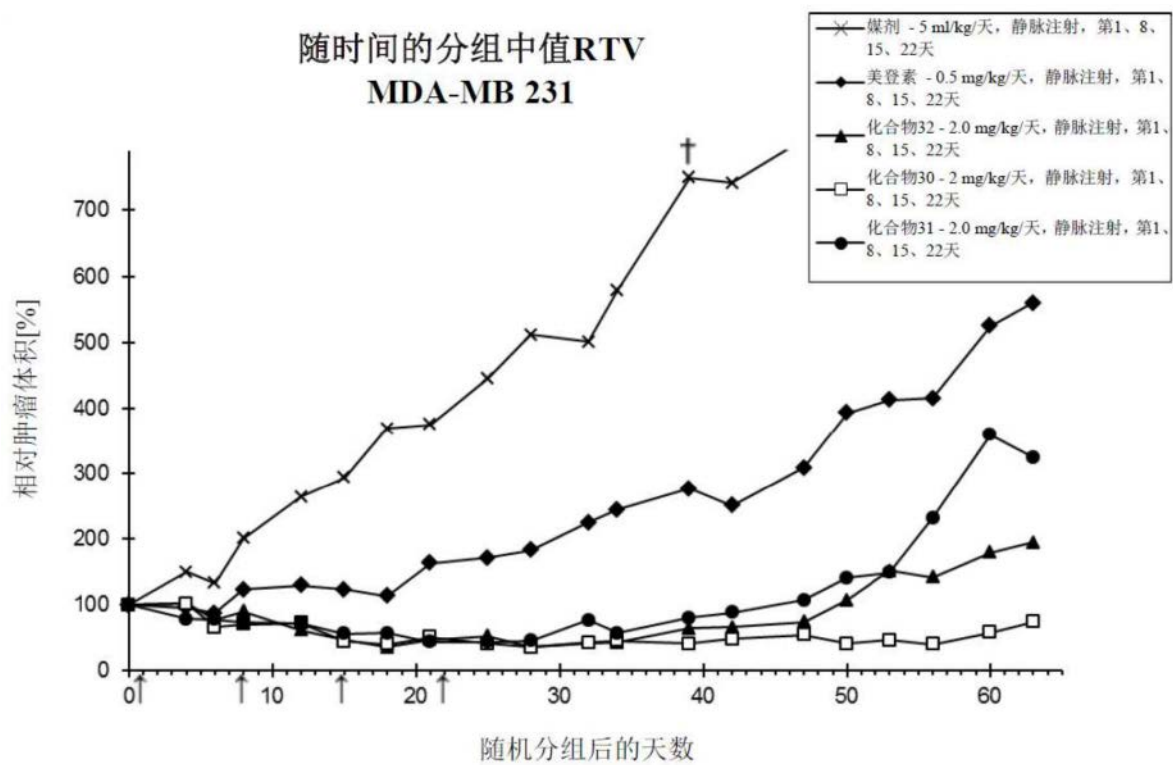


图11

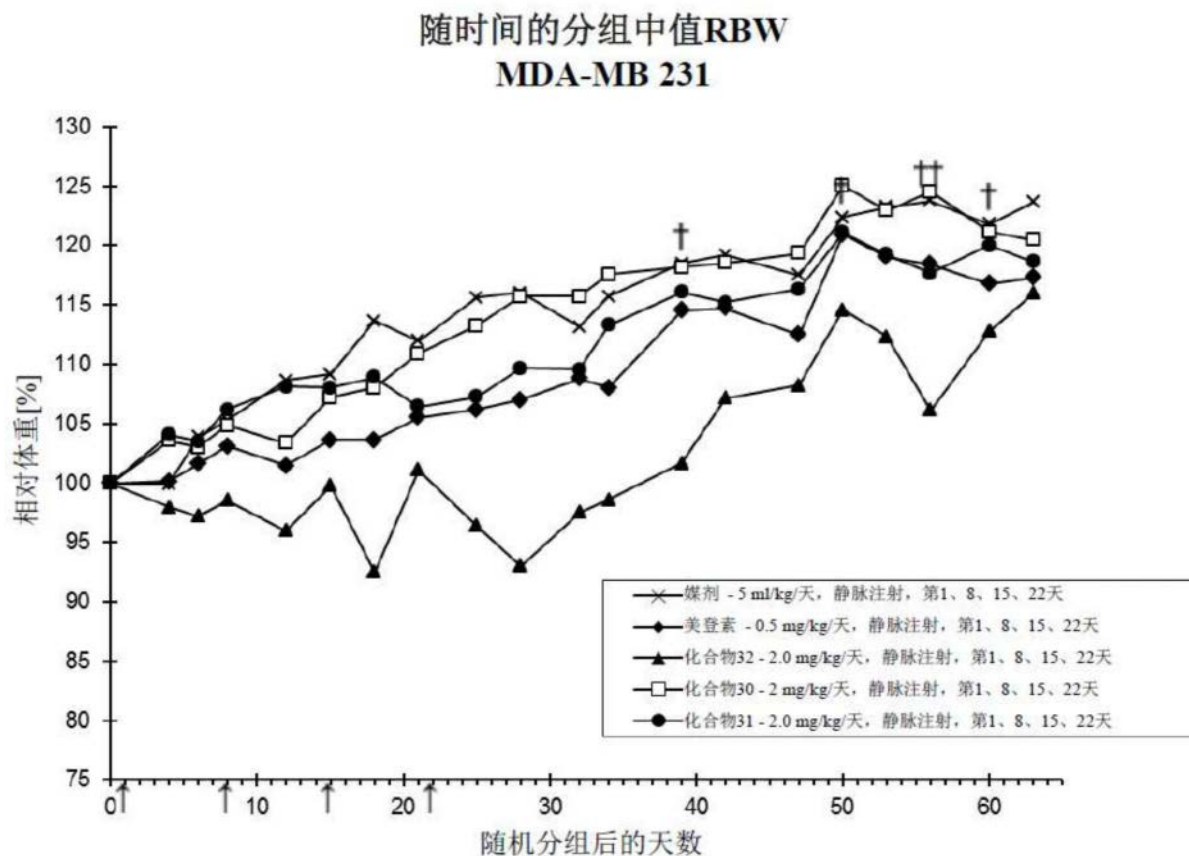


图12

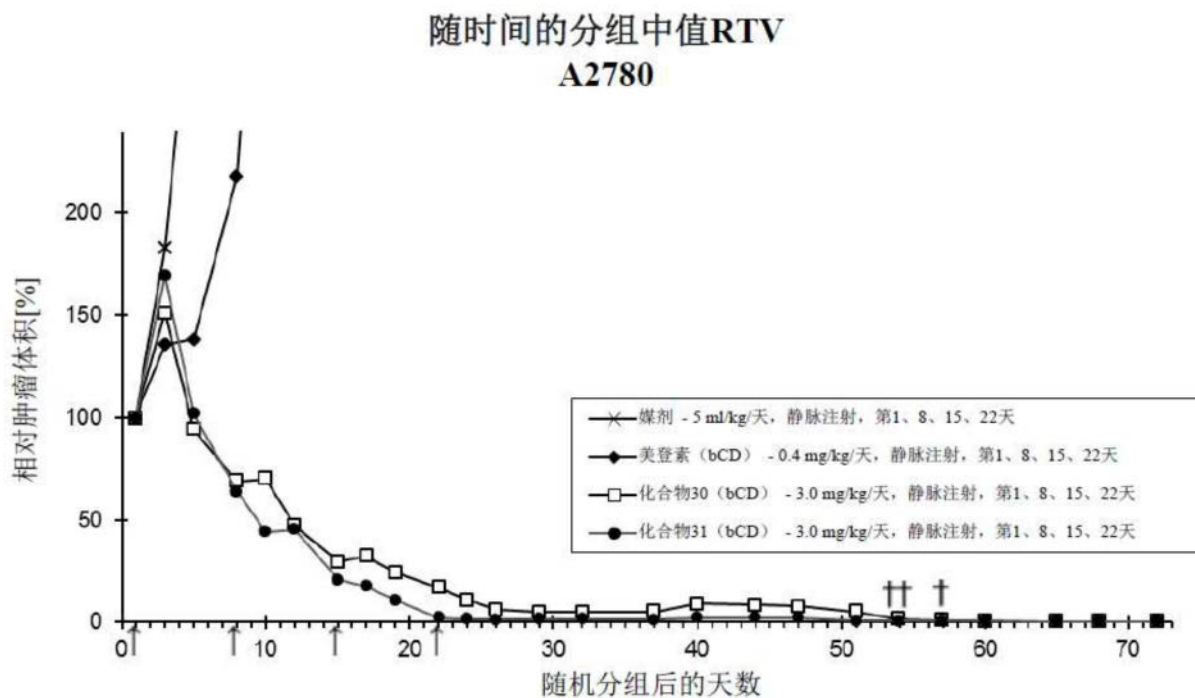


图13

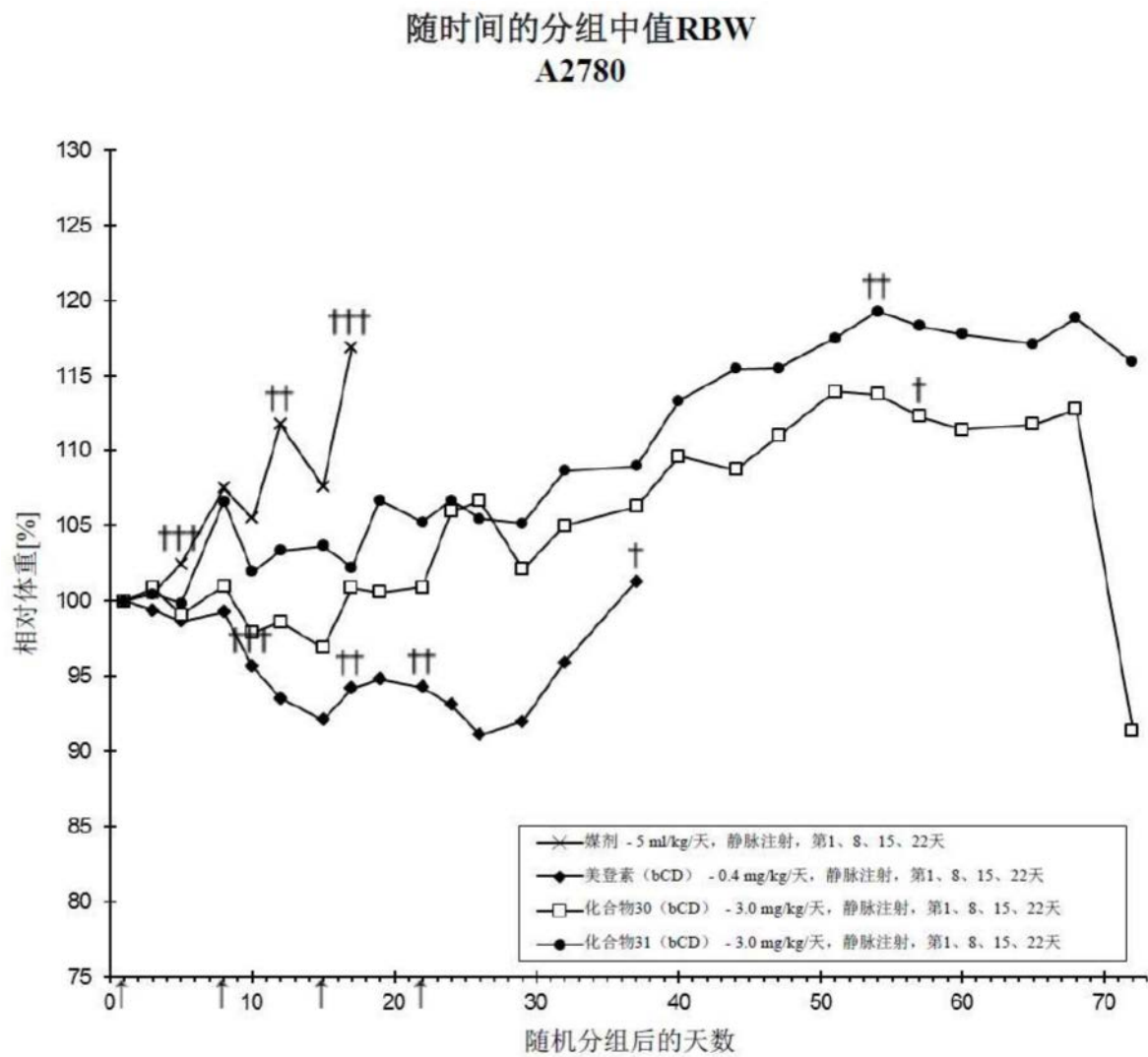


图14

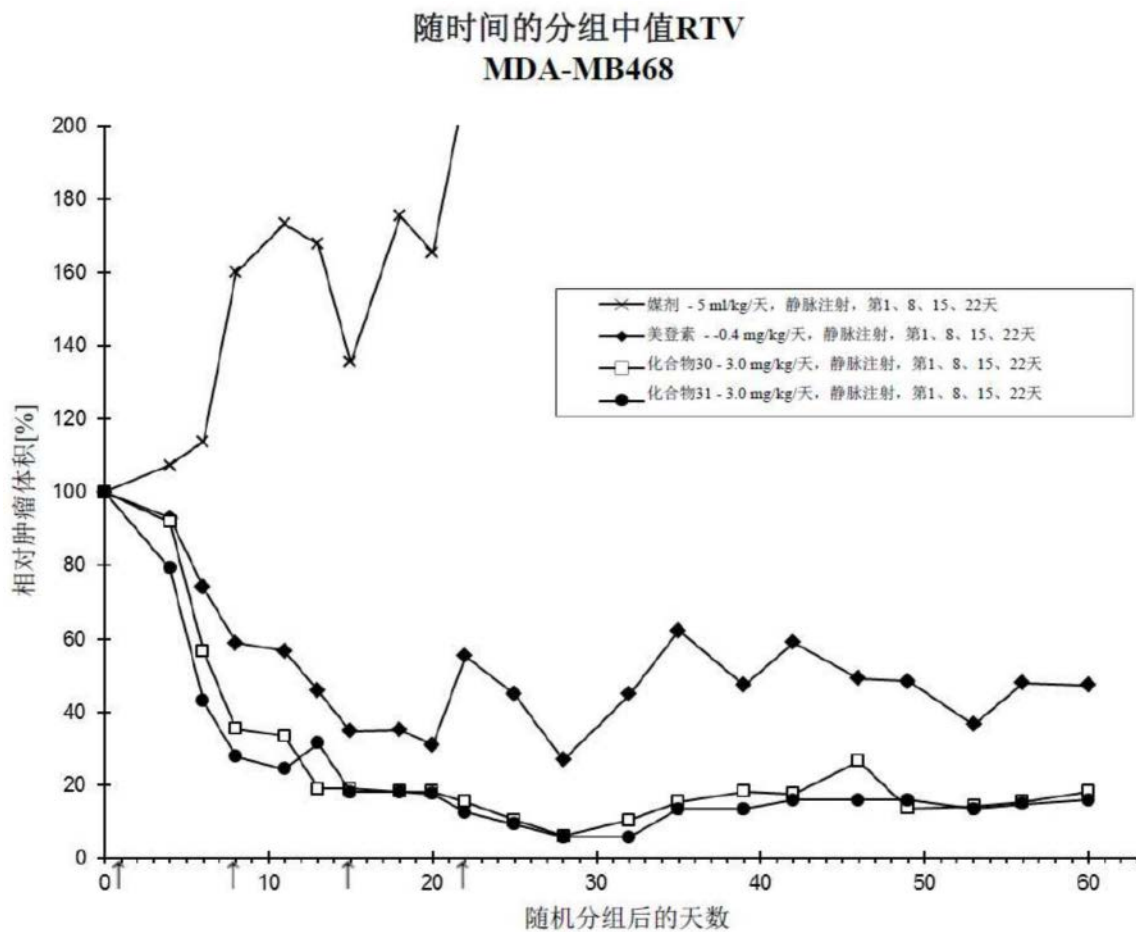


图15

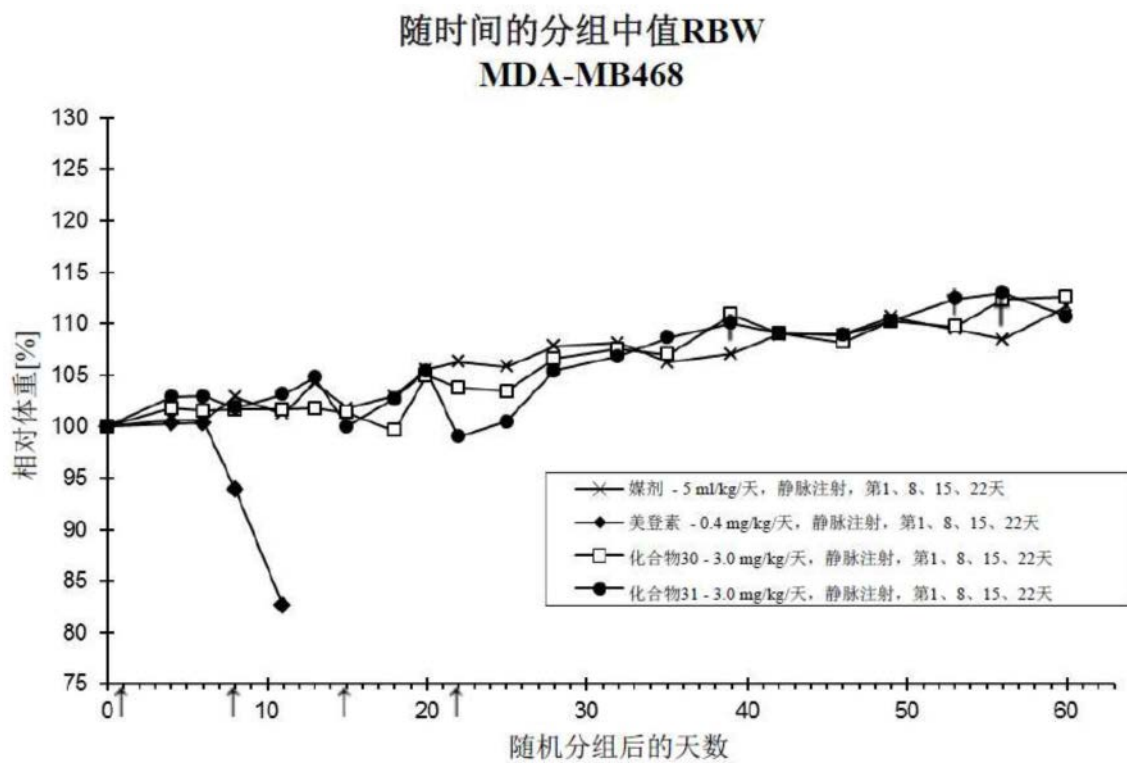


图16