



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106511270 A

(43)申请公布日 2017. 03. 22

(21)申请号 201610908380.8

(22)申请日 2013.03.15

(30)优先权数据

61/622,755 2012.04.11 US

61/659,841 2012.06.14 US

(62)分案原申请数据

201380023578.2 2013.03.15

(71)申请人 茵肽锌科技公司

地址 美国佛罗里达州

(72)发明人 凯文·西尔 亚当·卡里

约瑟夫·爱德华·森普尔

托马斯·沃伊科夫斯卡

(74)专利代理机构 北京律盟知识产权代理有限公司

责任公司 11287

代理人 王允方

(51)Int.Cl.

A61K 9/107(2006.01)

A61K 47/34(2017.01)

A61K 47/62(2017.01)

A61K 47/69(2017.01)

C08G 65/26(2006.01)

C08G 65/332(2006.01)

C08G 65/333(2006.01)

C08G 65/48(2006.01)

C08F 283/06(2006.01)

C08G 69/04(2006.01)

C08G 69/10(2006.01)

C08G 69/40(2006.01)

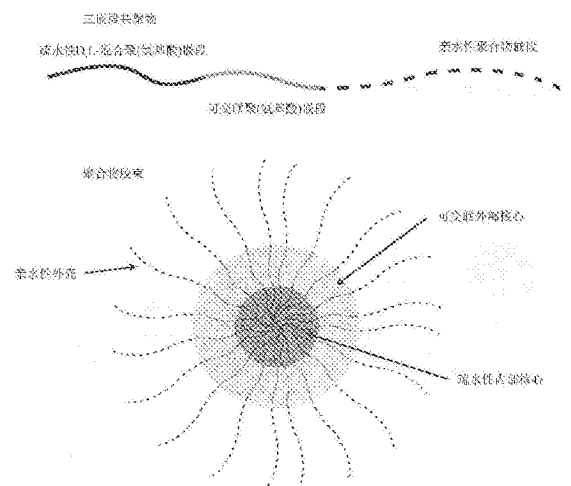
权利要求书1页 说明书176页 附图15页

(54)发明名称

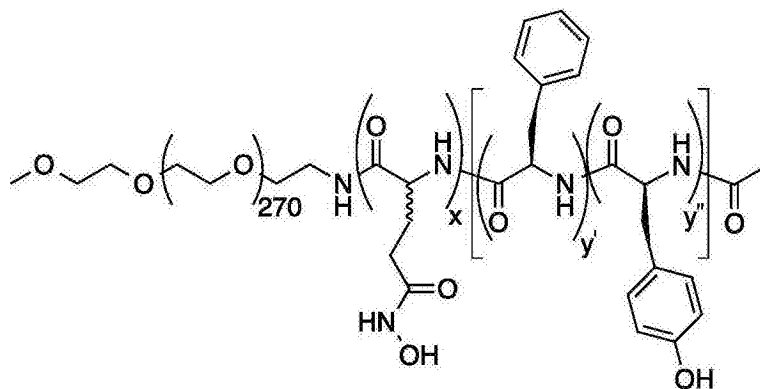
用于稳定的胶束的嵌段共聚物

(57)摘要

本发明涉及用于稳定的胶束的嵌段共聚物。具体讲,本发明涉及聚合物化学领域并且更具体地说,涉及多嵌段共聚物和包含所述多嵌段共聚物的胶束。本文中的组合物适用于药物传递应用。



1. 一种三嵌段共聚物,所述三嵌段共聚物具有以下结构:



其中:

x 是3-50;

y' 是3-50;并且

y'' 是3-50。

用于稳定的胶束的嵌段共聚物

[0001] 本申请为申请日2013年3月15日, 申请号201380023578.2, 名称为“用于稳定的胶束的嵌段共聚物”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请案的交叉引用

[0003] 本申请案要求2012年4月11日提出的美国临时专利申请案序号61/622,755和2012年6月14日提出的美国临时专利申请案序号61/659,841的优先权, 并且每个临时专利申请案的全部内容以引用的方式并入本文中。

技术领域

[0004] 本发明涉及聚合物化学领域并且更具体地说, 涉及多嵌段共聚物和其用途。

背景技术

[0005] 新治疗剂的研发已经极大地提高了罹患各种病症的患者的生活质量和存活率。但是, 需要药物传递的创新以提高这些治疗的成功率。确切地说, 仍然需要有效地将治疗剂的过早排泄和/或代谢降到最低并将这些药剂特异性地传递到患病细胞, 由此减少其对健康细胞的毒性的传递系统。

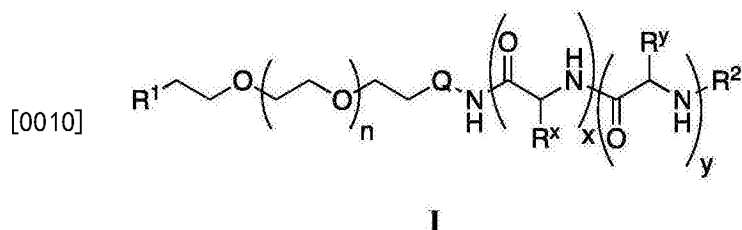
[0006] 合理设计的纳米级药物运载体或“纳米载体”因其克服许多生物屏障的固有能力的而提供了一种有望实现这些目标的方法。此外, 其多官能性允许将靶向细胞的基团、诊断剂和众多的药物并入单一传递系统中。通过官能性两性嵌段共聚物的分子组装而形成的聚合物胶束代表了一种著名类型的多官能性纳米载体。

[0007] 聚合物胶束由于能够传递大的有效负载的多种药物(例如小分子、蛋白质和DNA/RNA治疗剂), 与其它胶状运载体(例如脂质体)相比体内稳定性提高, 以及通过高穿透性和滞留(EPR)效应允许被动累积在患病组织(例如实体肿瘤)中的纳米级尺寸, 尤其具有吸引力。使用适当的表面官能团, 聚合物胶束被靶向细胞的基团和穿透增强剂进一步装饰, 这些靶向细胞的基团和穿透增强剂可以主动地靶向患病细胞并帮助细胞进入, 从而提高细胞特异性传递。

[0008] 虽然自组装代表了一种便于自底向上设计纳米载体的方法, 但驱动和维持聚合物胶束组装的力依赖于浓度并且本身是可逆的。在临床应用中, 在聚合物胶束在投药后迅速稀释的情况下, 此可逆性连同高浓度的使胶束不稳定的血液组分(例如蛋白质、脂质和磷脂)常常会引起负载药物的胶束在有效地实现主动或被动靶向过早分解。对于完全达到其靶向细胞的潜能并采用其设想的多官能团的聚合物胶束, 必须改善体内循环时间。需要药物传递运载工具, 其面对投药后稀释时无限地稳定, 可以避免生物屏障(例如网状内皮系统(RES)吸收), 并回应于例如实体肿瘤等患病组织中遇到的生理环境来传递药物。

发明内容

[0009] 本发明提供一种式I的三嵌段共聚物:



[0011] 其中：

[0012] n是20-500；

[0013] x是3到50；

[0014] y是5到100；

[0015] Rx是含有异羟肟酸酯或儿茶酚的部分；

[0016] Ry选自一或多种使整个嵌段是疏水性的天然或非天然氨基酸侧链基团；

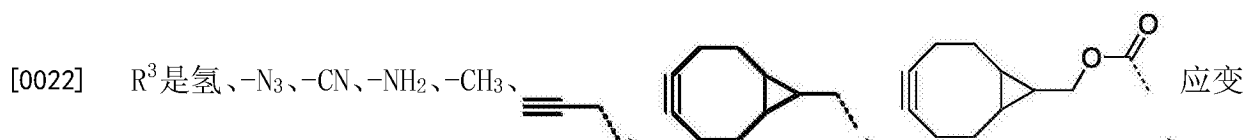
[0017] R¹是-Z (CH₂CH₂Y)_p (CH₂)_tR³，其中：

[0018] Z是-O-、-NH-、-S-、-C≡C-或-CH₂-；

[0019] 每个Y独立地是-O-或-S-；

[0020] p是0-10；

[0021] t是0-10；以及



环辛炔部分、单保护胺、双保护胺、任选地保护的醛、任选地保护的羟基、任选地保护的羧酸、任选地保护的硫醇或选自以下各基的任选地取代的基团：脂肪族基、具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5-8元饱和、部分不饱和或芳基环、具有0-5个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的8-10元饱和、部分不饱和或芳基双环或可检测部分；

[0023] Q是价键或二价的饱和或不饱和的直链或分支链C₁₋₁₂烃链，其中Q的0-6个亚甲基单元独立地经-Cy-、-O-、-NH-、-S-、-OC(O)-、-C(O)O-、-C(O)-、-SO-、-SO₂-、-NHSO₂-、-SO₂NH-、-NHC(O)-、-C(O)NH-、-OC(O)NH-或-NHC(O)O-置换，其中：

[0024] -Cy-是具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的任选地取代的5-8元二价饱和、部分不饱和或芳基环或具有0-5个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的任选地取代的8-10元二价饱和、部分不饱和或芳基双环；

[0025] R²是单保护胺、双保护胺、-N(R⁴)₂、-NR⁴C(O)R⁴、-NR⁴C(O)N(R⁴)₂、-NR⁴C(O)OR⁴或-NR⁴SO₂R⁴；以及

[0026] 每个R⁴独立地是氢或选自以下各基的任选地取代的基团：脂肪族基、具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5-8元饱和、部分不饱和或芳基环、具有0-5个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的8-10元饱和、部分不饱和或芳基双环或可检测部分，或：

[0027] 同一氮原子上的两个R⁴连同所述氮原子一起形成具有1-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的任选地取代的4-7元饱和、部分不饱和或芳基环。

附图说明

[0028] 图1.描绘本发明的三嵌段共聚物和聚合物胶束的示意图。

- [0029] 图2.展示负载药物的胶束的制备的示意图。
- [0030] 图3.展示负载药物的胶束与金属离子交联的示意图。
- [0031] 图4.描绘本发明的交联的负载药物的胶束的示意图。
- [0032] 图5.通过在20mg/ml (黑色条) 和0.2mg/mL (白色条) 下未交联的调配物针对pH 8的磷酸盐缓冲液透析6小时,验证道诺比星 (daunorubicin) 的囊封。
- [0033] 图6.通过在0.2mg/mL下在pH 8的磷酸盐缓冲液中透析6小时,检验铁依赖性交联。
- [0034] 图7.通过在0.2mg/mL下在pH 8的磷酸盐缓冲液中透析6小时,检验铁介导的交联对时间的依赖性。
- [0035] 图8.未交联的样品复原在20mg/ml下并且pH值调到3、4、5、6、7、7.4和8以确定铁介导的交联的pH值依赖性。样品被稀释到0.2mg/mL并针对10mM pH 8的磷酸盐缓冲液透析6小时。
- [0036] 图9.针对pH值调到3、4、5、6、7、7.4和8的10mM磷酸盐缓冲液透析6小时的交联的道诺比星调配物的pH值依赖性释放。
- [0037] 图10.在0、10、50、100、200、300、400或500mM的NaCl浓度下在0.2mg/mL下针对10mM磷酸盐缓冲液透析的交联的道诺比星调配物的盐依赖性释放。
- [0038] 图11.证实交联的氨基蝶呤调配物的粒度分布的DLS柱状图。
- [0039] 图12.通过CMC以上 (20mg/mL, 黑色条) 和以下 (0.2mg/mL, 白色条) 的调配物的透析,检验囊封。
- [0040] 图13.通过在10mM磷酸盐缓冲液中透析6小时,检验在0.2mg/mL下氨基蝶呤调配物的交联和pH值依赖性释放。
- [0041] 图14.用游离氨基蝶呤、未交联的氨基蝶呤调配物、交联的氨基蝶呤调配物、未交联的空胶束运载工具和交联的空胶束运载工具处理的A549肺癌细胞的细胞活力。
- [0042] 图15.用游离氨基蝶呤、未交联的氨基蝶呤调配物、交联的氨基蝶呤调配物、未交联的空胶束运载工具和交联的空胶束运载工具处理的OVCAR3卵巢癌细胞的细胞活力。
- [0043] 图16.用游离氨基蝶呤、未交联的氨基蝶呤调配物、交联的氨基蝶呤调配物、未交联的空胶束运载工具和交联的空胶束运载工具处理的PANC-1胰腺 (叶酸盐受体+) 癌细胞的细胞活力。
- [0044] 图17.用游离氨基蝶呤、未交联的氨基蝶呤调配物、交联的氨基蝶呤调配物、未交联的空胶束运载工具和交联的空胶束运载工具处理的BxPC3胰腺 (叶酸盐受体-) 癌细胞的细胞活力。
- [0045] 图18.与10mg/kg下IT-141 (Asp;127E) 调配物相比,大鼠血浆隔室中来自IT-141 (NH₂OH;127C) 调配物的SN-38的浓度。
- [0046] 图19.SN-38调配物的大鼠药物动力学。
- [0047] 图20.针对pH值调到3、4、5、6、7、7.4和8的10mM磷酸盐缓冲液透析6小时的交联的卡巴他赛 (cabizataxel) 调配物的pH值依赖性释放。
- [0048] 图21.大鼠中游离道诺比星和道诺比星调配物的药物动力学。
- [0049] 图22.投与交联的卡巴他赛调配物和游离卡巴他赛后卡巴他赛的大鼠血浆含量。
- [0050] 图23.HCT-116异种移植模型中交联的SN-38调配物的抗肿瘤功效。
- [0051] 图24.OVCAR-3异种移植模型中来自交联的氨基蝶呤调配物的氨基蝶呤的生物分

布。

[0052] 图25.MFE-296异种移植模型中交联的氨基蝶呤调配物的抗肿瘤功效。

具体实施方式

[0053] 1.一般描述:

[0054] 根据一个实施例,本发明提供了一种包含多嵌段共聚物的胶束,所述多嵌段共聚物包含亲水性聚合物嵌段、任选地可交联或交联的聚(氨基酸嵌段)和疏水性D,L-混合聚(氨基酸)嵌段,其特征在于所述胶束具有内部核心、任选地可交联或交联的外部核心和亲水性外壳。应了解,亲水性聚合物嵌段对应于亲水性外壳,任选地可交联或交联的聚(氨基酸嵌段)对应于任选地交联的外部核心,并且疏水性D,L-混合聚(氨基酸)嵌段对应于内部核心。

[0055] 如本文中所述,“疏水性D,L-混合聚(氨基酸)嵌段”由D与L对映异构体的混合物组成以促进疏水性部分的囊封。已经确定,由单一立体异构体组成的氨基酸的均聚物和共聚物可以展现二级结构,例如 α -螺旋或 β -折叠片。参见 α -氨基酸-N-羧基-酸酐和相关杂环,克里薛尔多夫,施普林格出版社,1987(α -Aminoacid-N-Carboxy-Anhydrides and Related Heterocycles, H.R.Kricheldorf, Springer-Verlag, 1987)。举例来说,聚(L-谷氨酸苯甲酯)通常展现 α 螺旋构象;但是,此二级结构可能受到溶剂或温度改变的破坏(参见蛋白质化学进展XVI, 乌尔内斯和多缇,学术出版社,纽约1961(Advances in Protein Chemistry XVI, P.Urnes and P.Doty, Academic Press, New York 1961))。所述二级结构也可能受到并入结构不相似的氨基酸(例如形成 β 折叠片的氨基酸(例如脯氨酸))或并入具有不相似的立体化学的氨基酸(例如D与L立体异构体的混合物)的破坏,此产生具有随机卷曲构象的聚(氨基酸)。参见酒井;池田;伊势村日本化学会通报1969, 42, 1332-1336(Sakai, R.; Ikeda; S.; Isemura, T. Bull. Chem. Soc. Japan 1969, 42, 1332-1336);保利洛;泰穆西;布莱伯利;克瑞-罗宾逊,生物聚合物1972, 11, 2043-2052(Paolillo, L.; Temussi, P.A.; Bradbury, E.M.; Crane-Robinson, C. Biopolymers 1972, 11, 2043-2052);以及曹;金姆;荣格聚合物2003, 44, 5497-5500(Cho, I.; Kim, J.B.; Jung, H.J. Polymer 2003, 44, 5497-5500)。

[0056] 虽然知道影响聚(氨基酸)二级结构的方法已经一段时间,但已经意外地发现与具有螺旋区段的类似嵌段共聚物相比,具有随机卷曲构象的嵌段共聚物尤其适用于囊封疏水性分子和纳米粒子。参见美国专利申请案2008-0274173。不希望束缚于任何具体的理论,相信所提供的具有卷-卷构象的嵌段共聚物容许疏水性部分有效填充和负载于胶束核心内,而含有螺旋的嵌段共聚物的棒-卷构象的空间需求则不太有效地囊封。

[0057] 驱动例如聚合物胶束和脂质体等胶状药物运载体水性组装的疏水性力相对较弱,并且这些组装的结构在称为临界胶束浓度(CMC)的有限浓度以下分解。聚合物胶束的CMC值在临床应用中非常重要,因为负载药物的胶状运载体在投与后在血流中被稀释并迅速达到CMC以下的浓度(μ M或更低)。此稀释作用将引起在靶向区域外部胶束分解和药物释放,并且将失去与胶束尺寸(EPR效应)或主动靶向相关的任何益处。虽然整个1990年代的大量研究都集中在鉴别具有超低CMC值(nM或更低)的聚合物胶束上,但梅斯格(Maysinger)(萨维奇等人,朗缪尔,2006,第3570-3578页(Savic et.al., Langmuir, 2006, p3570-3578)和斯科克特(Schiochet)(鲁等人,大分子,2011,第6002-6008页(Lu et.al., Macromolecules, 2011,

p6002-6008))通过展示当比较有和没有血清下生理食盐水中的CMC值时聚合物胶束的CMC值移动两个数量级,重新定义了生物相关的CMC的概念。

[0058] 除了其核心-外壳形态外,聚合物胶束还可以进行修饰以能够被动和主动靶向细胞,从而使当前和将来治疗剂的益处最大化。因为负载药物的胶束通常具有超过20nm的直径,所以其展现与单独药物相比由于肾清除率减到最少而使得循环时间大大增加。归因于高穿透性和滞留效应(“EPR”),纳米载体和聚合物药物的此独特特征引起在患病组织、尤其是癌性组织中的选择性累积。EPR效应是肿瘤血管紊乱性质的结果,其导致聚合物治疗剂的穿透性增加和药物滞留在肿瘤部位。除通过EPR效应被动靶向细胞外,胶束还被设计成通过将靶向基团化学附接到胶束边缘来主动靶向肿瘤细胞。此类基团的并入常常大多是通过使用化学结合技术进行亲水性嵌段的末端基团官能化来实现。像病毒粒子一样,经靶向基团官能化的胶束利用受体-配体相互作用来控制投与后胶束的空间分布,进一步加强了治疗剂的细胞特异性传递。在癌症疗法中,靶向基团被设计成与相对于正常组织在癌性组织中过度表达的受体(例如叶酸、寡肽、糖和单克隆抗体)相互作用。参见潘;特纳;乌里化学通讯2003,2400-2401(Pan,D.;Turner,J.L.;Wooley,K.L.Chem.Commun.2003,2400-2401);格比宗;史密达;霍洛维茨;塞里普斯基先进药物输送评论2004,56,1177-1202(Gabizon,A.;Shmeeda,H.;Horowitz,A.T.;Zalipsky,S.Adv.Drug Deliv.Rev.2004,56,1177-1202);雷诺;德米特里耶夫;库列尔基因疗法载体1999,6,1336-1339(Reynolds,P.N.;Dmitriev,I.;Curiel,D.T.Vector.Gene Ther.1999,6,1336-1339);德瑞克;卡姆哈瓦;吉森斯;罗斯卡姆斯;德沃斯;卡伦;胡维乐;密斯恩;德韦特,国立癌症研究所杂志2004,96,1620-30(Derycke,A.S.L.;Kamuhabwa,A.;Gijssens,A.;Roskams,T.;De Vos,D.;Kasran,A.;Huwyler,J.;Missiaen,L.;de Witte,P.A.M.T J.Nat.Cancer Inst.2004,96,1620-30);纳松拉,帅,艾;温伯格;布斯曼;高应用化学国际版2004,43,6323-6327(Nasongkla,N.,Shuai,X.,Ai,H.,;Weinberg,B.D.P.,J.;Boothman,D.A.;Gao,J.Angew.Chem.Int.Ed.2004,43,6323-6327);朱莉;长崎;片冈生物结合物化学2003,14,177-186(Jule,E.;Nagasaki,Y.;Kataoka,K.Bioconj.Chem.2003,14,177-186);施图本劳赫;格莱特;布林克曼;鲁道夫;理雷.生物化学杂志2001,356,867-873(Stubenrauch,K.;Gleiter,S.;Brinkmann,U.;Rudolph,R.;Lilie,H.Biochem.J.2001,356,867-873);柯库斯;克兰施米特;费娄斯;多玛;鲁道夫;理雷;杰尼.欧洲生物化学学会联合会快报2004,562,87-92(Kurschus,F.C.;Kleinschmidt,M.;Fellows,E.;Dornmair,K.;Rudolph,R.;Lilie,H.;Jenne,D.E.FEBS Lett.2004,562,87-92);以及琼斯;玛拉斯科先进药物输送评论1998,31,153-170(Jones,S.D.;Marasco,W.A.Adv.Drug Del.Rev.1998,31,153-170)。

[0059] 尽管大量的工作是关于胶束药物运载体进行的,但很少尝试去提高其在体内面对稀释时的稳定性。一种可能原因是直到利用大型动物研究才完全意识到胶束稀释在体内的真实作用。因为小鼠的代谢比大型动物高许多,所以其可以接受比例如大鼠或狗等大型动物高得多的剂量的毒性药物。因此,当投与负载药物的胶束并在整个血量中完全稀释时,小鼠模型中的对应聚合物浓度将始终最高。因此,制备面对生物培养基内的稀释时稳定(交联)的胶束是非常合乎需要的。

[0060] 在本发明中,任选地可交联或交联的聚(氨基酸嵌段)包含强有力地与金属离子结合或配位的化学官能团。一个具体实例是异羟肟酸和铁(III)。另一实例是经铁邻位取代的

二羟基苯基(儿茶酚)。异羟肟酸和儿茶酚部分两者在噬铁素(微生物产生的高亲和性铁螯合剂)中是常见的。另外,已经报道在用铁(III)处理后经异羟肟酸修饰的聚(丙烯酸酯)可以形成交联的凝胶(罗莎瑟和温斯顿,大分子,1981,第538-543页(Rosthauser and Winston,Macromolecules,1981,p538-543))。不希望束缚于任何具体的理论,相信在用金属离子处理后例如异羟肟酸和儿茶酚等高亲和性金属螯合基团并入胶束的外部核心中将产生面对生物培养基内的稀释时稳定的胶束。

[0061] 先前的工作已经利用羧酸与金属离子相互作用以提供胶束稳定性。参见美国专利申请案2006-0240092。已经意外地发现,使用经异羟肟酸修饰的聚合物有效地使聚合物胶束面对生物培养基内的稀释时可逆地稳定化。此异羟肟酸化学作用已经被证实囊封具有一或多种已知结合铁的化学官能团(例如羧酸)的药物时尤其有效。不希望束缚于任何具体的理论,相信用以稳定化胶束的金属离子将优选地结合于例如异羟肟酸和儿茶酚等高亲和性金属螯合基团,产生稳定的胶束。此外,在铁(III)与异羟肟酸部分之间的螯合反应在数秒内进行,允许迅速的交联步骤。

[0062] 2. 定义:

[0063] 本发明的化合物包括以上一般描述的化合物,并且进一步由本文中所公开的实施例、子实施例和物质说明。如本文中所用,除非另外指明,否则以下定义应适用。出于本发明的目的,化学元素是根据元素周期表,CAS版本,化学与物理手册(Handbook of Chemistry and Physics),第75版来鉴别。另外,有机化学的一般原理描述于“有机化学”,托马斯·索雷尔,大学科学书籍,索萨利托:1999(“Organic Chemistry”,Thomas Sorrell,University Science Books,Sausalito:1999)和“马奇高等有机化学”,第5版,编辑:史密斯和马奇,约翰·威利父子公司,纽约:2001(“March’s Advanced Organic Chemistry”,5th Ed.,Ed.: Smith,M.B.and March,J.,John Wiley&Sons,New York:2001)中,这些参考文献的全部内容以引用的方式并入本文中。

[0064] 如本文所用,术语“序列聚合”和其变体是指如下方法,其中在第一单体(例如NCA、内酰胺或酰亚胺)并入聚合物中,因而形成氨基酸“嵌段”后,添加第二单体(例如NCA、内酰胺或酰亚胺)到反应中以形成第二氨基酸嵌段,此过程可以按类似方式继续以将其它氨基酸嵌段引入所得多嵌段共聚物中。

[0065] 如本文所用,术语“多嵌段共聚物”是指包含一个合成聚合物部分和两个或两个以上聚(氨基酸)部分的聚合物。此类多嵌段共聚物包括具有格式W-X-X’的多嵌段共聚物,其中W是合成聚合物部分并且X和X’是聚(氨基酸)链或“氨基酸嵌段”。在某些实施例中,本发明的多嵌段共聚物是三嵌段共聚物。如本文所述,氨基酸嵌段中的一或多者可以是“混合嵌段”,意指这些嵌段可以含有氨基酸单体的混合物,由此产生本发明的多嵌段共聚物。在一些实施例中,本发明的多嵌段共聚物包含混合氨基酸嵌段并且是四嵌段共聚物。

[0066] 所属领域的技术人员将认识到,单体重单元是通过在重复单元单元周围的圆括号界定。圆括号右下方的数字(或代表数字范围的字母)代表了聚合物链中所存在的单元单元的数目。在仅仅一种单元表示嵌段(例如均聚物)的情况下,嵌段将仅仅通过圆括号表示。在混合嵌段的情况下,多个单元构成单一连续的嵌段。应了解方括号将界定部分或嵌段。举例来说,一个嵌段可以由四个单独的单元组成,每个单元由其自身独立的圆括号组和存在的重复单元数目界定。所有四组圆括号将被一组方括号包围,表示这些单元中所有四者以

随机或近乎随机的次序组合以构成混合嵌段。为了清楚起见,随机混合的嵌段[BCADDCBADABCDABC]将通过[(A)₄(B)₄(C)₄(D)₄]简写表示。

[0067] 如本文所用,上述单体重复单元是代表了构成聚合物链的单体单元的平均数目的数值。举例来说,由(A)₁₀表示的聚合物对应于由十个连接在一起的“A”单体单元组成的聚合物。所属领域的技术人员将认识到,在此情况下数字10将代表平均值为10的数目的分布。此分布的宽度由分散性指数(PDI)表示。1.0的PDI表示其中每一链长准确相同的聚合物(例如蛋白质)。2.0的PDI表示其中链长度具有高斯分布(Gaussian distribution)的聚合物。本发明的聚合物通常具有低于1.20的PDI。

[0068] 如本文所用,术语“三嵌段共聚物”是指包含一个合成聚合物部分和两个聚(氨基酸)部分的聚合物。

[0069] 如本文所用,术语“四嵌段共聚物”是指包含一个合成聚合物部分和两个聚(氨基酸)部分(其中1个聚(氨基酸)部分是混合嵌段)的聚合物,或包含一个合成聚合物部分和三个聚(氨基酸)部分的聚合物。

[0070] 如本文所用,术语“内部核心”在其应用于本发明的胶束时是指通过疏水性D,L-混合聚(氨基酸)嵌段所形成的胶束中心。根据本发明,内部核心不交联。举例说明,在如上文所述的格式W-X'-X''的三嵌段聚合物中,内部核心对应于X''嵌段。

[0071] 如本文所用,术语“外部核心”在其应用于本发明的胶束时是指通过第一聚(氨基酸)嵌段所形成的层。外部核心处于内部核心与亲水性外壳之间。根据本发明,外部核心是可交联的或交联的。举例说明,在如上文所述的格式W-X'-X''的三嵌段聚合物中,外部核心对应于X'嵌段。预期X'嵌段可以是混合嵌段。

[0072] 如本文所用,术语“负载药物”和“囊封”以及其派生词可互换地使用。根据本发明,“负载药物”的胶束是指具有位于胶束核心内的药物或治疗剂的胶束。在某些情况下,药物或治疗剂位于核心与亲水性冠之间的界面上。此也被称为药物或治疗剂“囊封”于胶束内。

[0073] 如本文所用,术语“亲水性聚合物嵌段”是指不是聚(氨基酸)并且具有亲水性的聚合物。此类亲水性聚合物是所属领域中众所周知的,并且包括聚氧化乙烯(也被称为聚乙二醇或PEG)和其衍生物、聚(N-乙烯基-2-吡咯烷酮)和其衍生物、聚(N-异丙基丙烯酰胺)和其衍生物、聚(丙烯酸羟乙酯)和其衍生物、聚(甲基丙烯酸羟乙酯)和其衍生物以及N-(2-羟基丙基)甲基丙烯酰胺(HMPA)的聚合物和其衍生物。

[0074] 如本文所用,术语“聚(氨基酸)”或“氨基酸嵌段”是指其中每个单体是氨基酸单元的共价连接的氨基酸链。此类氨基酸单元包括天然和非天然氨基酸。在某些实施例中,任选地可交联或交联的聚(氨基酸嵌段)的每个氨基酸单元均呈L-构型。此类聚(氨基酸)包括具有经适当保护的官能团的聚(氨基酸)。举例来说,氨基酸单体可以具有羟基或氨基部分,其按需要任选地经羟基保护基或胺保护基保护。此类适合的羟基保护基和胺保护基在下文更详细地描述。如本文所用,氨基酸嵌段包含一或多个单体或一组两个或两个以上单体。在某些实施例中,氨基酸嵌段包含一或多个使得整个嵌段是亲水性的单体。在其它实施例中,本发明的氨基酸嵌段包括无规氨基酸嵌段,即包含氨基酸残基的混合物的嵌段。

[0075] 如本文所用,术语“D,L-混合聚(氨基酸)嵌段”是指其中聚(氨基酸)由呈D-和L-构型的氨基酸的混合物组成的聚(氨基酸)嵌段。在某些实施例中,D,L-混合聚(氨基酸)嵌段是疏水性的。在其它实施例中,D,L-混合聚(氨基酸)嵌段由D-构型的疏水性氨基酸和L-构

型的亲水性氨基酸侧链基团的混合物组成,使得构成的整个聚(氨基酸)嵌段是疏水性的。

[0076] 例示性聚(氨基酸)包括聚(谷氨酸苯甲酯)、聚(天冬氨酸苯甲酯)、聚(L-亮氨酸-共-酪氨酸)、聚(D-亮氨酸-共-酪氨酸)、聚(L-苯丙氨酸-共-酪氨酸)、聚(D-苯丙氨酸-共-酪氨酸)、聚(L-亮氨酸-共-天冬氨酸)、聚(D-亮氨酸-共-天冬氨酸)、聚(L-苯丙氨酸-共-天冬氨酸)、聚(D-苯丙氨酸-共-天冬氨酸)。

[0077] 如本文所用,短语“天然氨基酸侧链基团”是指蛋白质中天然存在的20种氨基酸中任一者的侧链基团。为了清楚起见,侧链基团-CH₃将代表氨基酸丙氨酸。此类天然氨基酸包括非极性或疏水性氨基酸,甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、色氨酸和脯氨酸。半胱氨酸有时分类为非极性或疏水性的,而其它时候分类为极性的。天然氨基酸还包括极性或亲水性氨基酸,例如酪氨酸、丝氨酸、苏氨酸、天冬氨酸(带电时也称为天冬氨酸酯)、谷氨酸(带电时也称为谷氨酸酯)、天冬酰胺和谷氨酰胺。某些极性或亲水性的氨基酸具有带电的侧链。此类带电的氨基酸包括赖氨酸、精氨酸和组氨酸。所属领域的技术人员将认识到,极性或亲水性氨基酸侧链的保护可以使氨基酸为非极性的。举例来说,经适当保护的酪氨酸羟基可以借助于保护羟基而使酪氨酸为非极性和疏水性的。

[0078] 如本文所用,短语“非天然氨基酸侧链基团”是指不包括在如上文所述的蛋白质中天然存在的20种氨基酸清单中的天然氨基酸。此类氨基酸包括20种天然存在的氨基酸中任一者的D-异构体。非天然氨基酸还包括高丝氨酸、鸟氨酸和甲状腺素。其它非天然氨基酸侧链是所属领域的技术人员众所周知的,并且包括非天然脂肪族侧链。其它非天然氨基酸包括经修饰的氨基酸,包括经N-烷基化、环化、磷酸化、乙酰化、酰胺化、叠氮化、标记等的氨基酸。

[0079] 如本文所用,术语“立体规正性”是指聚(氨基酸)疏水性嵌段的立体化学。由单一立体异构体(例如所有L异构体)组成的聚(氨基酸)嵌段被称作“等规”。由D和L氨基酸单体的无规并入组成的聚(氨基酸)被称作“杂排”聚合物。具有交替立体化学的聚(氨基酸)(例如...DLDL...)被称作“间规”聚合物。聚合物立体规正性更详细地描述于“聚合原理”,第3版,奥迪恩,约翰·威利父子公司,纽约:1991(“Principles of Polymerization”,3rd Ed.,G.Odian,John Wiley&Sons,New York:1991)中,所述参考文献的全部内容以引用的方式并入本文中。

[0080] 如本文所用,短语“活聚合物链末端”是指由聚合反应产生的维持与其它单体或与聚合终止剂进一步反应的能力的末端。

[0081] 如本文所用,术语“终止”是指通过活聚合物与适当化合物的反应将端基附接到聚合物链末端。或者,术语“终止”可指将端基附接到聚合物链的胺或羟基末端或其衍生物。

[0082] 如本文所用,术语“聚合终止剂(polymerization terminator)”与术语“聚合终止剂(polymerization terminating agent)”可互换地使用,并且是指与活聚合物链末端反应从而获得具有端基的聚合物的化合物。或者,术语“聚合终止剂”可指与聚合物链的胺或羟基末端或其衍生物反应从而获得具有端基的聚合物的化合物。

[0083] 如本文所用,术语“聚合引发剂”是指与所需单体以使单体聚合的方式反应或阴离子或游离碱形式与所需单体以使单体聚合的方式反应的化合物。在某些实施例中,聚合引发剂是与环氧烷反应从而获得聚氧化烯嵌段的化合物。在其它实施例中,聚合引发剂是如本文中所述的胺盐。在某些实施例中,聚合引发剂是三氟乙酸胺盐。

[0084] 如本文所用,术语“脂肪族”或“脂肪族基”表示可以是直链(亦即非分支链)、分支链或环状(包括稠合、桥接和螺稠合多环),并且可以是完全饱和或可以含有一或多个不饱和单元,但不是芳香族的烃部分。除非另外说明,否则脂肪族基含有1-20个碳原子。在一些实施例中,脂肪族基含有1-10个碳原子。在其它实施例中,脂肪族基含有1-8个碳原子。在其它实施例中,脂肪族基含有1-6个碳原子,并且在其它实施例中,脂肪族基含有1-4个碳原子。脂肪族基包括(但不限于)直链或分支链烷基、烯基和炔基以及其混杂基团,例如(环烷基)烷基、(环烯基)烷基或(环烷基)烯基。

[0085] 术语“杂原子”意指氧、硫、氮、磷或硅中的一或多者。此包括氮、硫、磷或硅的任何氧化形式;任何碱性氮的季铵化形式;或杂环的可取代氮,包括如3,4-二氢-2H-吡咯基中的=N-、如吡咯烷中的-NH-或如N上经取代的吡咯烷基中的=N(R⁺)-。

[0086] 如本文中所用,术语「不饱和」意指具有一或多个不饱和单元的部分。

[0087] 如本文所用,术语「二价的饱和或不饱和的直链或分支链C₁₋₁₂烃链」是指如本文所定义,直链或分支链的二价的亚烷基、亚烯基和亚炔基链。

[0088] 单独或作为如“芳烷基”、“芳烷氧基”或“芳氧基烷基”中较大部分的一部分使用的术语“芳基”是指具有总共五到十四个环成员的单环、双环和三环系统,其中系统中的至少一个环是芳香族并且其中系统中的每个环都含有三到七个环成员。术语“芳基”可以与术语「芳基环」互换使用。

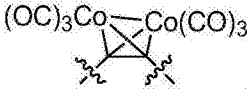
[0089] 如本文所述,本发明的化合物可以含有“任选地取代的”部分。一般来说,术语「取代」无论前面有还是没有术语「任选地」,都意谓指定部分的一或多个氢经适合的取代基置换。除非另外指明,否则“任选地取代的”基团可以在基团的每个可取代位置处具有适合的取代基,并且当任何既定结构中的一个以上位置可以经一个以上选自规定基团的取代基取代时,每一位置处的取代基可以是相同或不同的。本发明所预想的取代基的组合优选地是形成稳定或化学可行的化合物的组合。如本文所用,术语「稳定」是指化合物在经受允许其产生、检测和在某些实施例中其回收、纯化和用于本文中所公开的一或多种目的的条件时实质上不发生改变。

[0090] “任选地取代的”基团的可取代碳原子上的单价取代基独立地是卤素;- (CH₂)₀₋₄R[○]; - (CH₂)₀₋₄OR[○]; -O- (CH₂)₀₋₄C(O)OR[○]; - (CH₂)₀₋₄CH(OR[○])₂; - (CH₂)₀₋₄SR[○]; - (CH₂)₀₋₄Ph, 其可以经R[○]取代; - (CH₂)₀₋₄O (CH₂)₀₋₁Ph, 其可以经R[○]取代; -CH=CHPh, 其可以经R[○]取代; -NO₂; -CN; -N₃; - (CH₂)₀₋₄N(R[○])₂; - (CH₂)₀₋₄N(R[○])C(O)R[○]; -N(R[○])C(S)R[○]; - (CH₂)₀₋₄N(R[○])C(O)NR[○]₂; -N(R[○])C(S)NR[○]₂; - (CH₂)₀₋₄N(R[○])C(O)OR[○]; -N(R[○])N(R[○])C(O)R[○]; -N(R[○])N(R[○])C(O)NR[○]₂; -N(R[○])N(R[○])C(O)OR[○]; - (CH₂)₀₋₄C(O)R[○]; -C(S)R[○]; - (CH₂)₀₋₄C(O)OR[○]; - (CH₂)₀₋₄C(O)SR[○]; - (CH₂)₀₋₄C(O)OSiR[○]₃; - (CH₂)₀₋₄OC(O)R[○]; -OC(O) (CH₂)₀₋₄SR[○]; -SC(S)SR[○]; - (CH₂)₀₋₄SC(O)R[○]; - (CH₂)₀₋₄C(O)NR[○]₂; -C(S)NR[○]₂; -C(S)SR[○]; -SC(S)SR[○]; - (CH₂)₀₋₄OC(O)NR[○]₂; -C(O)N(OR[○])R[○]; -C(O)C(O)R[○]; -C(O)CH₂C(O)R[○]; -C(NOR[○])R[○]; - (CH₂)₀₋₄SSR[○]; - (CH₂)₀₋₄S(O)₂R[○]; - (CH₂)₀₋₄S(O)₂OR[○]; - (CH₂)₀₋₄OS(O)₂R[○]; -S(O)₂NR[○]₂; - (CH₂)₀₋₄S(O)R[○]; -N(R[○])S(O)₂NR[○]₂; -N(R[○])S(O)₂R[○]; -N(OR[○])R[○]; -C(NH)NR[○]₂; -P(O)₂R[○]; -P(O)R[○]₂; -OP(O)R[○]₂; -OP(O)(OR[○])₂; SiR[○]₃; - (C₁₋₄直链或分支链亚烷基)O-N(R[○])₂; 或- (C₁₋₄直链或分支链亚烷基)C(O)O-N(R[○])₂, 其中每个R[○]可以如下文所定义来取代,并独立地是氢、C₁₋₆脂肪族基、-CH₂Ph、-O(CH₂)₀₋₁Ph或具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5-6元饱和、部分不饱和或芳基环,或不管以上定义,两个独立出现的R[○]连同

其插入原子一起形成具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的3-12元饱和、部分不饱和或芳基单环或双环,其可以如下文所定义来取代。

[0091] R° (或通过两个独立出现的 R° 连同其插入原子一起所形成的环)上的单价取代基独立地是卤素、 $-(CH_2)_{0-2}R^\bullet$ 、 $-(\text{卤基}R^\bullet)$ 、 $-(CH_2)_{0-2}OH$ 、 $-(CH_2)_{0-2}OR^\bullet$ 、 $-(CH_2)_{0-2}CH(OR^\bullet)_2$ 、 $-O(\text{卤基}R^\bullet)$ 、 $-CN$ 、 $-N_3$ 、 $-(CH_2)_{0-2}C(O)R^\bullet$ 、 $-(CH_2)_{0-2}C(O)OH$ 、 $-(CH_2)_{0-2}C(O)OR^\bullet$ 、 $-(CH_2)_{0-2}SR^\bullet$ 、 $-(CH_2)_{0-2}SH$ 、 $-(CH_2)_{0-2}NH_2$ 、 $-(CH_2)_{0-2}NHR^\bullet$ 、 $-(CH_2)_{0-2}NR^\bullet_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SiR^\bullet_3$ 、 $-OSiR^\bullet_3$ 、 $-C(O)SR^\bullet$ 、 $-(C_{1-4}\text{直链或分支链亚烷基})C(O)OR^\bullet$ 或 $-SSR^\bullet$,其中每个 $R^\bullet$ 未取代或在前面有“卤基”的情况下仅仅经一或多个卤素取代,并独立地选自 C_{1-4} 脂肪族基、 $-CH_2Ph$ 、 $-O(CH_2)_{0-1}Ph$ 或具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5-6元饱和、部分不饱和或芳基环。 R° 的饱和碳原子上的此类二价取代基包括 $=O$ 和 $=S$ 。

[0092] “任选地取代的”基团的饱和碳原子上的二价取代基包括以下: $=O$ 、 $=S$ 、 $=NNR^{*2}$ 、 $=NNHC(O)R^*$ 、 $=NNHC(O)OR^*$ 、 $=NNHS(O)_2R^*$ 、 $=NR^*$ 、 $=NOR^*$ 、 $-O(C(R^{*2}))_{2-3}O-$ 或 $-S(C(R^{*2}))_{2-3}S-$,其中每个独立出现的 R^* 选自氢、可以如下文所定义来取代的 C_{1-6} 脂肪族基或具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的未取代的5-6元饱和、部分不饱和或芳基环。结合于「任选地取代的」基团的附近可取代碳的二价取代基包括: $-O(C(R^{*2}))_{2-3}O-$,其中每个独立出现的 R^* 选自氢、可以如下文所定义来取代的 C_{1-6} 脂肪族基或具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的未经取代的5-6元饱和、部分不饱和或芳基环。结合于「任选地取代的」基团的附近可

取代亚甲基碳的四价取代基是由  表示的二钴六羰基团簇,其中在载有其的亚甲基下进行描绘。

[0093] R^* 的脂肪族基上的适合取代基包括卤素、 $-R^\bullet$ 、 $-(\text{卤基}R^\bullet)$ 、 $-OH$ 、 $-OR^\bullet$ 、 $-O(\text{卤基}R^\bullet)$ 、 $-CN$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)OR^\bullet$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR^\bullet$ 、 $-NR^\bullet_2$ 或 $-NO_2$,其中每个 $R^\bullet$ 未取代或在前面有“卤基”的情况下仅仅经一或多个卤素取代,并独立地选自 C_{1-4} 脂肪族基、 $-CH_2Ph$ 、 $-O(CH_2)_{0-1}Ph$ 或具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5-6元饱和、部分不饱和或芳基环。

[0094] “任选地取代的”基团的可取代氮上的适合取代基包括 $-R^\dagger$ 、 $-NR^\dagger_2$ 、 $-C(O)R^\dagger$ 、 $-C(O)OR^\dagger$ 、 $-C(O)C(O)R^\dagger$ 、 $-C(O)CH_2C(O)R^\dagger$ 、 $-S(O)_2R^\dagger$ 、 $-S(O)_2NR^\dagger_2$ 、 $-C(S)NR^\dagger_2$ 、 $-C(NH)NR^\dagger_2$ 或 $-N(R^\dagger)S(O)_2R^\dagger$;其中每个 $R^\dagger$ 独立地是氢、可以如下文所定义来取代的 C_{1-6} 脂肪族基、未取代的 $-OPh$ 或具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的未取代的5-6元饱和、部分不饱和或芳基环,或不管以上定义,两个独立出现的 $R^\dagger$ 连同其插入原子一起形成具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的3-12元饱和、部分不饱和或芳基单环或双环。

[0095] $R^\dagger$ 的脂肪族基上的适合取代基独立地是卤素、 $-R^\bullet$ 、 $-(\text{卤基}R^\bullet)$ 、 $-OH$ 、 $-OR^\bullet$ 、 $-O(\text{卤基}R^\bullet)$ 、 $-CN$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)OR^\bullet$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR^\bullet$ 、 $-NR^\bullet_2$ 或 $-NO_2$,其中每个 $R^\bullet$ 未取代或在前面有“卤基”的情况下仅仅经一或多个卤素取代,并独立地选自 C_{1-4} 脂肪族基、 $-CH_2Ph$ 、 $-O(CH_2)_{0-1}Ph$ 或具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5-6元饱和、部分不饱和或芳基环。

[0096] 经保护的羟基是所属领域中众所周知的,并包括详细描述于有机合成中的保护基,格林和威兹,第3版,约翰·威利父子公司,1999(Protecting Groups in Organic Synthesis, T.W. Greene and P.G.M. Wuts, 3rd edition, John Wiley & Sons, 1999)中的经保护的羟基,所述参考文献的全部内容以引用的方式并入本文中。适当保护的羟基的实例进

一步包括(但不限于)酯、碳酸酯、磺酸酯、烯丙基醚、醚、硅烷基醚、烷基醚、芳基烷基醚和烷氧基烷基醚。适合酯的实例包括甲酸酯、乙酸酯、丙酸酯、戊酸酯、巴豆酸酯和苯甲酸酯。适合的酯的具体实例包括甲酸酯、苯甲酰基甲酸酯、氯乙酸酯、三氟乙酸酯、甲氧基乙酸酯、三苯基甲氧基乙酸酯、对氯苯氧基乙酸酯、3-苯基丙酸酯、4-氧代基戊酸酯、4,4-(亚乙基二硫基)戊酸酯、新戊酸酯(三甲基乙酸酯)、巴豆酸酯、4-甲氧基-巴豆酸酯、苯甲酸酯、对苯甲基苯甲酸酯、2,4,6-三甲基苯甲酸酯。碳酸酯的实例包括9-苄基甲基、乙基、2,2,2-三氯乙基、2-(三甲基硅烷基)乙基、2-(苯基磺酰基)乙基、乙烯基、烯丙基和对硝基苯甲基碳酸酯。硅烷基醚的实例包括三甲基硅烷基、三乙基硅烷基、叔丁基二甲基硅烷基、叔丁基二苯基硅烷基、三异丙基硅烷基醚和其它三烷基硅烷基醚。烷基醚的实例包括甲基、苯甲基、对甲氧基苯甲基、3,4-二甲氧基苯甲基、三苯甲基、叔丁基和烯丙醚或其衍生物。烷氧基烷基醚包括缩醛,例如甲氧基甲基、甲硫基甲基、(2-甲氧基乙氧基)甲基、苯甲氧基甲基、 β -(三甲基硅烷基)乙氧基甲基和四氢吡喃-2-基醚。芳基烷基醚的实例包括苯甲基、对甲氧基苯甲基(MPM)、3,4-二甲氧基苯甲基、邻硝基苯甲基、对硝基苯甲基、对卤基苯甲基、2,6-二氯苯甲基、对氰基苯甲基、2-和4-吡啶甲基醚。

[0097] 保护胺是所属领域中众所周知的,并包括格林(1999)中详细描述的保护胺。单保护胺进一步包括(但不限于)芳烷基胺、氨基甲酸酯、烯丙基胺、酰胺等。单保护氨基部分的实例包括叔丁氧基羰基氨基(-NHBOC)、乙氧基羰基氨基、甲氧基羰基氨基、三氯乙氧基羰基氨基、烯丙氧基羰基氨基(-NHAlloc)、苯甲氧基羰基氨基(-NHCBZ)、烯丙基氨基、苯甲基氨基(-NHBn)、苄基甲基羰基(-NHfmoc)、甲酰胺基、乙酰胺基、氯乙酰胺基、二氯乙酰胺基、三氯乙酰胺基、苯基乙酰胺基、三氟乙酰胺基、苯甲酰胺基、叔丁基二苯基硅烷基等。双保护胺包括经两个独立地选自上文描述为单保护胺的取代基的取代基取代的胺,并进一步包括环状酰亚胺,例如邻苯二甲酰亚胺、顺丁烯二酰亚胺、丁二酰亚胺等。双保护胺还包括吡咯等、2,2,5,5-四甲基-[1,2,5]氮杂二硅杂环戊烷等以及叠氮化物。

[0098] 保护醛是所属领域中众所周知的,并包括格林(1999)中详细描述的保护醛。保护醛进一步包括(但不限于)非环状缩醛、环状缩醛、脎、亚胺等。此类基团的实例包括二甲基缩醛、二乙基缩醛、二异丙基缩醛、二苯甲基缩醛、双(2-硝基苯甲基)缩醛、1,3-二噁烷、1,3-二氧杂环戊烷、缩氨基脲和其衍生物。

[0099] 保护羧酸是所属领域中众所周知的,并包括格林(1999)中详细描述的保护羧酸。保护羧酸进一步包括(但不限于)任选地取代的C₁₋₆脂肪族基酯、任选地取代的芳基酯、硅烷基酯、活化酯、酰胺、酰肼等。此类酯基的实例包括甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、苯甲基和苯基酯,其中每个基团任选地取代。其它保护羧酸包括噁唑啉和原酸酯。

[0100] 保护硫醇是所属领域中众所周知的,并包括格林(1999)中详细描述的保护硫醇。保护硫醇进一步包括(但不限于)二硫化物、硫醚、硅烷基硫醚、硫酯、硫代碳酸酯和硫代氨基甲酸酯等。此类基团的实例包括(但不限于)烷基硫醚、苯甲基和经取代苯甲基硫醚、三苯甲基硫醚和三氯乙氧基羰基硫酯等等。

[0101] 除非另有说明,否则本文中所描绘的结构还意味着包括所述结构的所有异构(例如对映异构、非对映异构和几何异构(或构象异构))形式;举例来说,各不对称中心的R和S构型、Z和E双键异构体以及Z和E构象异构体。因此,本发明化合物的单一立体化学异构体以及对映异构体、非对映异构体以及几何异构体(或构象异构体)混合物都在本发明的范围

内。除非另有说明,否则本发明化合物的所有互变异构形式都在本发明的范围内。另外,除非另有说明,否则在此所描绘的结构还意味着包括不同之处仅在于存在一或多个同位素增浓原子的化合物。举例来说,除了氢被氘或氚置换或碳被 ^{13}C 或 ^{14}C 增浓的碳置换外具有本发明结构的化合物在本发明的范围内。此类化合物例如适用于中子散射实验中,适用作生物分析中的分析工具或探针。

[0102] 如本文所用,术语“可检测部分”与术语“标记”可互换地使用并指能够被检测到的任何部分(例如初级标记和二级标记)。“可检测部分”或“标记”是可检测化合物的基团。

[0103] “初级”标记包括含有放射性同位素的部分(例如含有 ^{32}P 、 ^{33}P 、 ^{35}S 或 ^{14}C 的部分)、质量标签和荧光标记,并且是可以在无进一步修饰下被检测到的产生信号的报告基团。

[0104] 其它初级标记包括适用于正电子发射断层摄影法的标记,包括含有放射性同位素(例如 ^{18}F)的分子或具有结合的放射性金属(例如 ^{62}Cu)的配体。在其它实施例中,初级标记是磁共振成像的造影剂,例如钆、钆螯合物或铁氧化物(例如 Fe_3O_4 和 Fe_2O_3)粒子。类似地,半导体纳米粒子(例如硒化镉、硫化镉、碲化镉)适用作荧光标记。其它金属纳米粒子(例如胶体金)也充当初级标记。

[0105] “二级”标记包括例如生物素或蛋白抗原等需要存在第二化合物来产生可检测信号的部分。举例来说,在生物素标记的情况下,第二化合物可以包括抗生物素-酶结合物。在抗原标记的情况下,第二化合物可以包括抗体-酶结合物。另外,某些荧光基团可以充当二级标记,其是通过在非放射性荧光共振能量转移(FRET)的过程中将能量转移到另一化合物或基团,引起第二化合物或基团随后产生被检测的信号。

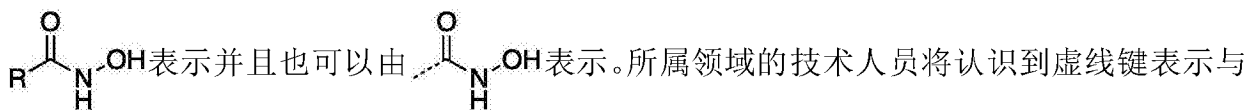
[0106] 除非另外指明,否则含有放射性同位素的部分是含有至少一种放射性同位素的任选地取代的烃基。除非另外指明,否则含有放射性同位素的部分含有1-40个碳原子和一种放射性同位素。在某些实施例中,含有放射性同位素的部分含有1-20个碳原子和一种放射性同位素。

[0107] 如本文所用,术语“荧光标记”、“荧光基团”、“荧光化合物”、“荧光染料”和“荧光团”是指吸收界定激发波长下的光能并发射不同波长下的光能的化合物或部分。荧光化合物的实例包括(但不限于):Alexa Fluor染料(Alexa Fluor 350、Alexa Fluor 488、Alexa Fluor 532、Alexa Fluor 546、Alexa Fluor 568、Alexa Fluor 594、Alexa Fluor 633、Alexa Fluor 660和Alexa Fluor 680)、AMCA、AMCA-S、BODIPY染料(BODIPY FL、BODIPY R6G、BODIPY TMR、BODIPY TR、BODIPY 530/550、BODIPY 558/568、BODIPY 564/570、BODIPY 576/589、BODIPY 581/591、BODIPY 630/650、BODIPY 650/665)、羧基若丹明6G、羧基-X-若丹明(ROX)、级联蓝(Cascade Blue)、级联黄(Cascade Yellow)、香豆素343、花青染料(Cy3、Cy5、Cy3.5、Cy5.5)、丹酰基、Dapoxyl、二烷基氨基香豆素、4',5'-二氯-2',7'-二甲氧基-荧光素、DM-NERF、曙红、赤藓红、荧光素、FAM、羟基香豆素、IRDye (IRD40、IRD 700、IRD 800)、JOE、Lissamine若丹明B、玛丽娜蓝(Marina Blue)、甲氧基香豆素、萘荧光素、俄勒冈绿(Oregon Green) 488、俄勒冈绿500、俄勒冈绿514、太平洋蓝、PyMP0、苾、若丹明B、若丹明6G、若丹明绿、若丹明红、佛多绿(Rhodol Green)、2',4',5',7'-四-溴砒-荧光素、四甲基-若丹明(TMR)、羧基四甲基若丹明(TAMRA)、德克萨斯红(Texas Red)、德克萨斯红-X。

[0108] 如本文所用,术语“底物”是指嵌段共聚物的官能化端基可以附接的任何物质或大分子复合物。常用底物的实例包括(但不限于)玻璃表面、二氧化硅表面、塑料表面、金属表

面、含有金属或化学涂层的表面、膜(例如尼龙、聚砷、二氧化硅)、微珠粒(例如乳胶、聚苯乙烯或其它聚合物)、多孔聚合物基质(例如聚丙烯酰胺凝胶、多醣、聚甲基丙烯酸酯)、大分子复合物(例如蛋白质、多醣)。

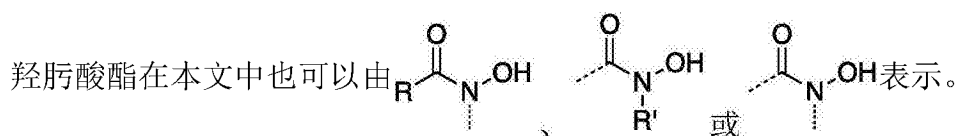
[0109] 如本文所用,术语异羟肟酸是指含有异羟肟酸($-\text{CO}-\text{NH}-\text{OH}$)官能团的部分。结构由



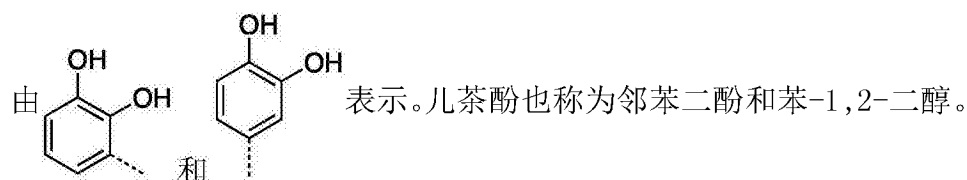
分子其余部分的附接点。

[0110] 如本文所用,术语异羟肟酸酯是指含有异羟肟酸或N上经取代的异羟肟酸的部分。

归因于N上取代,对于化学附接存在两个分开的位置,如 $\text{R}-\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{R}')-\text{OH}$ 这里R和R'基团所示。异



[0111] 如本文所用,术语儿茶酚是指经取代的邻二羟基苯衍生物。两个不同异构体构象



[0112] 3. 例示性实施例的描述:

[0113] A. 多嵌段共聚物

[0114] 在某些实施例中,多嵌段共聚物包含亲水性聚(乙二醇)嵌段、含有异羟肟酸的聚(氨基酸)嵌段和疏水性聚(氨基酸)嵌段,其特征在于所得胶束具有内部核心、含有异羟肟酸的外部核心和亲水性外壳。应了解,亲水性聚(乙二醇)嵌段对应于亲水性外壳,稳定化的含有异羟肟酸的聚(氨基酸)嵌段对应于含有异羟肟酸的外部核心,并且疏水性聚(氨基酸)嵌段对应于内部核心。

[0115] 在其它实施例中,多嵌段共聚物包含亲水性聚(乙二醇)嵌段、含有儿茶酚的聚(氨基酸)嵌段和疏水性聚(氨基酸)嵌段,其特征在于所得胶束具有内部核心、含有儿茶酚的外部核心和亲水性外壳。应了解,亲水性聚(乙二醇)嵌段对应于亲水性外壳,稳定化的含有儿茶酚的聚(氨基酸)嵌段对应于含有儿茶酚的外部核心,并且疏水性聚(氨基酸)嵌段对应于内部核心。

[0116] 在某些实施例中,多嵌段共聚物包含亲水性聚(乙二醇)嵌段、含有异羟肟酸酯的聚(氨基酸)嵌段和疏水性聚(氨基酸)嵌段,其特征在于所得胶束具有内部核心、含有异羟肟酸酯的外部核心和亲水性外壳。应了解,亲水性聚(乙二醇)嵌段对应于亲水性外壳,稳定化的含有异羟肟酸酯的聚(氨基酸)嵌段对应于含有异羟肟酸酯的外部核心,并且疏水性聚(氨基酸)嵌段对应于内部核心。

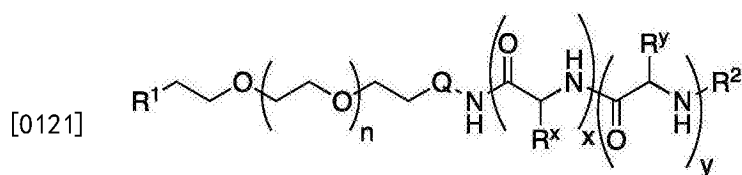
[0117] 在某些实施例中,多嵌段共聚物包含亲水性聚(乙二醇)嵌段、含有异羟肟酸的聚(氨基酸)嵌段和疏水性D,L混合聚(氨基酸)嵌段,其特征在于所得胶束具有内部核心、含有

异羟肟酸的外部核心和亲水性外壳。应了解,亲水性聚(乙二醇)嵌段对应于亲水性外壳,稳定化的含有异羟肟酸的聚(氨基酸)嵌段对应于含有异羟肟酸的外部核心,并且疏水性D,L聚(氨基酸)嵌段对应于内部核心。

[0118] 在其它实施例中,多嵌段共聚物包含亲水性聚(乙二醇)嵌段、含有儿茶酚的聚(氨基酸)嵌段和疏水性D,L混合聚(氨基酸)嵌段,其特征在于所得胶束具有内部核心、含有儿茶酚的外部核心和亲水性外壳。应了解,亲水性聚(乙二醇)嵌段对应于亲水性外壳,稳定化的含有儿茶酚的聚(氨基酸)嵌段对应于含有儿茶酚的外部核心,并且疏水性D,L混合聚(氨基酸)嵌段对应于内部核心。

[0119] 在某些实施例中,多嵌段共聚物包含亲水性聚(乙二醇)嵌段、含有异羟肟酸酯的聚(氨基酸)嵌段和疏水性D,L混合聚(氨基酸)嵌段,其特征在于所得胶束具有内部核心、含有异羟肟酸酯的外部核心和亲水性外壳。应了解,亲水性聚(乙二醇)嵌段对应于亲水性外壳,稳定化的含有异羟肟酸酯的聚(氨基酸)嵌段对应于含有异羟肟酸酯的外部核心,并且疏水性D,L混合聚(氨基酸)嵌段对应于内部核心。

[0120] 在某些实施例中,本发明提供一种式I的三嵌段共聚物:



I

[0122] 其中:

[0123] n是20-500;

[0124] x是3到50;

[0125] y是5到100;

[0126] Rˣ是含有异羟肟酸酯或儿茶酚的部分;

[0127] Rʸ选自一或多种使整个嵌段是疏水性的天然或非天然氨基酸侧链基团;

[0128] R¹是-Z(CH₂CH₂Y)ₚ(CH₂)ₜR³, 其中:

[0129] Z是-O-、-NH-、-S-、-C≡C-或-CH₂-;

[0130] 每个Y独立地是-O-或-S-;

[0131] p是0-10;

[0132] t是0-10; 以及



环辛炔部分、单保护胺、双保护胺、任选地保护的醛、任选地保护的羟基、任选地保护的羧酸、任选地保护的硫醇或选自以下各基的任选地取代的基团: 脂肪族基、具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5-8元饱和、部分不饱和或芳基环、具有0-5个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的8-10元饱和、部分不饱和或芳基双环或可检测部分;

[0134] Q是价键或二价的饱和或不饱和的直链或分支链C₁-₁₂烃链, 其中Q的0-6个亚甲基单元独立地经-Cy-、-O-、-NH-、-S-、-OC(O)-、-C(O)O-、-C(O)-、-SO-、-SO₂-、-NHSO₂-、-

SO₂NH-、-NHC(O)-、-C(O)NH-、-OC(O)NH-或-NHC(O)O-置换,其中:

[0135] -Cy-是具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的任选地取代的5-8元二价饱和、部分不饱和或芳基环或具有0-5个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的任选地取代的8-10元二价饱和、部分不饱和或芳基双环;

[0136] R²是单保护胺、双保护胺、-N(R⁴)₂、-NR⁴C(O)R⁴、-NR⁴C(O)N(R⁴)₂、-NR⁴C(O)OR⁴或-NR⁴SO₂R⁴;以及

[0137] 每个R⁴独立地是氢或选自以下各基的任选地取代的基团:脂肪族基、具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5-8元饱和、部分不饱和或芳基环、具有0-5个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的8-10元饱和、部分不饱和或芳基双环或可检测部分,或:

[0138] 同一氮原子上的两个R⁴连同所述氮原子一起形成具有1-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的任选地取代的4-7元饱和、部分不饱和或芳基环。

[0139] 根据另一个实施例,本发明提供了如上文所述的式I化合物,其中所述化合物具有1.0到1.2的分散性指数(“PDI”)。根据另一个实施例,本发明提供了如上文所述的式I化合物,其中所述化合物具有1.01到1.10的分散性指数(“PDI”)。根据又一个实施例,本发明提供了如上文所述的式I化合物,其中所述化合物具有1.10到1.20的分散性指数(“PDI”)。根据其它实施例,本发明提供了PDI低于1.10的式I化合物。

[0140] 如上文一般界定,n是20到500。在某些实施例中,本发明提供了其中n是225的化合物。在其它实施例中,n是40到60。在其它实施例中,n是60到90。在其它实施例中,n是90到150。在其它实施例中,n是150到200。在一些实施例中,n是200到300、300到400或400到500。在其它实施例中,n是250到280。在其它实施例中,n是300到375。在其它实施例中,n是400到500。在某些实施例中,n选自50±10。在其它实施例中,n选自80±10、115±10、180±10、225±10或275±10。

[0141] 在某些实施例中,x是3到50。在某些实施例中,x是10。在其它实施例中,x是20。根据又一个实施例,x是15。在其它实施例中,x是5。在其它实施例中,x选自5±3、10±3、10±5、15±5或20±5。

[0142] 在某些实施例中,y是5到100。在某些实施例中,y是10。在其它实施例中,y是20。根据又一个实施例,y是15。在其它实施例中,y是30。在其它实施例中,y选自10±3、15±3、17±3、20±5或30±5。

[0143] 在某些实施例中,式I的R¹基团的R³部分是-N₃。

[0144] 在其它实施例中,式I的R¹基团的R³部分是-CH₃。

[0145] 在一些实施例中,式I的R¹基团的R³部分是氢。

[0146] 在某些实施例中,式I的R¹基团的R³部分是任选地取代的脂肪族基。实例包括甲基、叔丁基、5-降冰片烯-2-基、辛烷-5-基、乙炔基、三甲基硅烷基乙炔基、三异丙基硅烷基乙炔基和叔丁基二甲基硅烷基乙炔基。在一些实施例中,所述R³部分是任选地取代的烷基。在其它实施例中,所述R³部分是任选地取代的炔基或烯基。当所述R³部分是经取代的脂肪族基时,R³上的取代基包括CN、N₃、三甲基硅烷基、三异丙基硅烷基、叔丁基二甲基硅烷基、N-甲基丙炔酰胺基、N-甲基-4-乙炔基苯胺基、N-甲基-4-乙炔基苯甲酰胺基、双-(4-乙炔基-苯甲基)-氨基、二炔丙基氨基、二-己-5-炔基-氨基、二-戊-4-炔基-氨基、二-丁-3-炔基-氨基、炔丙基氧基、己-5-炔基氧基、戊-4-炔基氧基、二-丁-3-炔基氧基、N-甲基-炔丙基氨基、N-

甲基-己-5-炔基-氨基、N-甲基-戊-4-炔基-氨基、N-甲基-丁-3-炔基-氨基、2-己-5-炔基二硫基、2-戊-4-炔基二硫基、2-丁-3-炔基二硫基和2-炔丙基二硫基。在某些实施例中，R¹基团是2-(N-甲基-N-(乙炔基羰基)氨基)乙氧基、4-乙炔基苯甲基氧基或2-(4-乙炔基苯氧基)乙氧基。

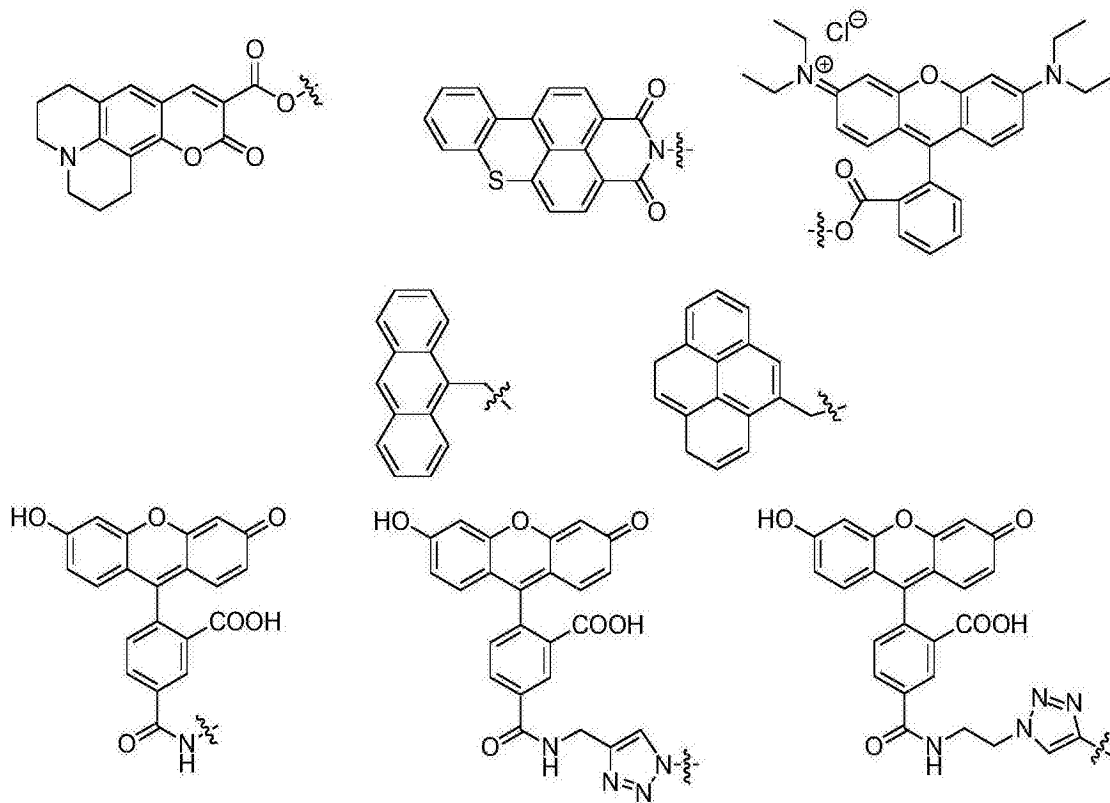
[0147] 在某些实施例中，式I的R¹基团的R³部分是任选地取代的芳基。实例包括任选地取代的苯基和任选地取代的吡啶基。当所述R³部分是经取代的芳基时，R³上的取代基包括CN、N₃、NO₂、-CH₃、-CH₂N₃、-CH=CH₂、-C≡CH、Br、I、F、双-(4-乙炔基-苯甲基)-氨基、二炔丙基氨基、二-己-5-炔基-氨基、二-戊-4-炔基-氨基、二-丁-3-炔基-氨基、炔丙基氧基、己-5-炔基氧基、戊-4-炔基氧基、二-丁-3-炔基氧基、2-己-5-炔基氧基-乙基二硫基、2-戊-4-炔基氧基-乙基二硫基、2-丁-3-炔基氧基-乙基二硫基、2-炔丙基氧基-乙基二硫基、双-苯甲基氧基-甲基、[1,3]二氧戊环基-2-基和[1,3]二噁烷-2-基。

[0148] 在其它实施例中，式I的R¹基团的R³部分是经保护的醛基。在某些实施例中，R³的经保护的醛基部分是非环状缩醛、环状缩醛、脎或亚胺。例示性R³基团包括二甲基缩醛、二乙基缩醛、二异丙基缩醛、二苯甲基缩醛、双(2-硝基苯甲基)缩醛、1,3-二噁烷、1,3-二氧戊环和缩氨基脲。在某些实施例中，R³是非环状缩醛或环状缩醛。在其它实施例中，R³是二苯甲基缩醛。

[0149] 在其它实施例中，式I的R¹基团的R³部分是经保护的羧酸基。在某些实施例中，R³的经保护的羧酸部分是选自C₁₋₆脂肪族基或芳基或硅烷基酯的任选地取代的酯、活化酯、酰胺或酰肼。此类酯基的实例包括甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、苯甲基和苯基酯。在其它实施例中，R³的经保护的羧酸部分是噁唑啉或原酸酯。此类经保护的羧酸部分的实例包括噁唑啉-2-基和2-甲氧基-[1,3]二氧杂环己烯-2-基。在某些实施例中，R¹基团是噁唑啉-2-基甲氧基或2-噁唑啉-2-基-1-丙氧基。

[0150] 在其它实施例中，式I的R¹基团的R³部分是可检测部分。根据本发明的一个方面，式I的R¹基团的R³部分是荧光部分。此类荧光部分是所属领域中众所周知的，并包括香豆素、喹诺酮、苯并异喹诺酮、霍斯塔佐(hostasol)和若丹明染料等等。R¹的R³基团的例示性荧光部分包括蒽-9-基、芘-4-基、9-H-咔唑-9-基、若丹明B的羧酸酯和香豆素343的羧酸酯。在某些实施例中，式I的R¹基团的R³部分是选自以下的可检测部分：

[0151]

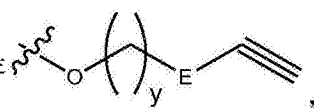


[0152] 在某些实施例中,式I的 R^1 基团的 R^3 部分是适合于点击化学(Click chemistry)的基团。点击反应倾向于涉及高能(“负载弹簧”)反应剂与界限分明的反应坐标,产生宽范围的选择性成键事件。实例包括应变环亲电子试剂(环氧化物、氮丙啶、吡丙啶盐离子、表氯离子)的亲核捕获、羰基反应性的某些形式(例如醛和肼或羟胺)和若干类型的环加成反应。叠氮化物-炔1,3-偶极环加成是一种此类反应。点击化学是所属领域中已知的并且所属领域的技术人员将认识到本发明的某些 R^3 部分适合于点击化学。

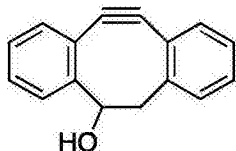
[0153] 具有适合于点击化学的 R^3 部分的式I化合物适用于将所述化合物结合于生物系统或大分子,例如蛋白质、病毒和细胞等等。已知点击反应在生理条件下快速并选择性地进行。相比之下,大部分的结合反应都是在蛋白质(例如赖氨酸或蛋白质末端基团)上使用伯胺官能团进行。因为大部分蛋白质都含有众多的赖氨酸和精氨酸,所以此类结合不可控制地在蛋白质上多处发生。当赖氨酸或精氨酸位于酶或其它生物分子的活性位点周围时此尤其成问题。因而,本发明的另一个实施例提供了一种将式I化合物的 R^1 基团经由点击化学结合于大分子的方法。本发明的又一个实施例提供了经由 R^1 基团结合于式I化合物的大分子。

[0154] 根据一个实施例,式I的 R^1 基团的 R^3 部分是含有叠氮化物的基团。根据另一个实施例,式I的 R^1 基团的 R^3 部分是含有炔的基团。在某些实施例中,式I的 R^1 基团的 R^3 部分具有末端炔部分。在其它实施例中,式I的 R^1 基团的 R^3 部分是具有拉电子基团的炔部分。因此,在此

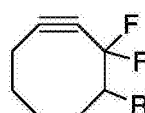
类实施例中,式I的 R^1 基团的 R^3 部分是 $\text{---O---}(\text{---CH}_2\text{---})_y\text{---C}\equiv\text{C---E}$, 其中E是拉电子基团并且y是0-6。此类吸电子基团是所属领域的技术人员已知的。在某些实施例中,E是酯。在其它实施例

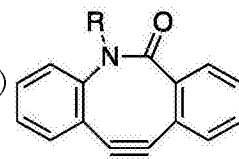
中,式I的R¹基团的R³部分是,其中E是拉电子基团,例如-C(O)O-基团并且y是0-6。

[0155] 某些不含金属的点击部分是文献中已知的。实例包括4-二苯并环辛炔醇(DIBO)

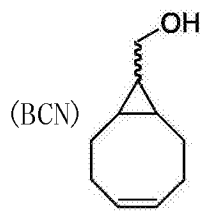


(来自宁等人;应用化学国际版2008,47,2253(Ning et.al;Angew Chem

Int Ed,2008,47,2253));二氟化环辛炔(DIFO或DFO) (来自可戴利等人;美国化学学会杂志2008,130,11486-11493.(Codelli,et.al.;J.Am.Chem.Soc.2008,130,11486-

11493.));联芳基氮杂环辛炔酮(BARAC) (来自朱厄特等人;美国化学学会

杂志2010,132,3688.(Jewett et.al.;J.Am.Chem.Soc.2010,132,3688.));或联环辛炔

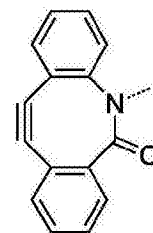
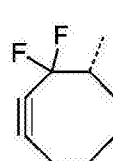
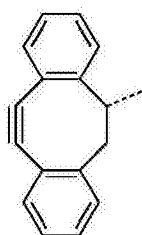
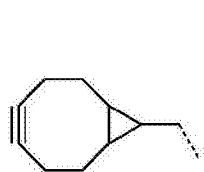


(BCN) (来自道姆霍特等人;应用化学国际版,2010,49,9422-9425(Dommerholt,

et.al.;Angew Chem Int Ed,2010,49,9422-9425))。不含金属的点击PEG衍生物的制备描述于美国申请案第13/601,606号中,所述申请案的全部内容以引用的方式并入本文中。

[0156] 根据一个实施例,式I的R¹基团的R³部分是不含金属的点击部分。在另一个实施例中,式I的R¹基团的R³部分是任选地取代的应变环辛炔部分。在某些实施例中,式I的R¹基团的R³部分是选自以下的不含金属的点击部分:

[0157]

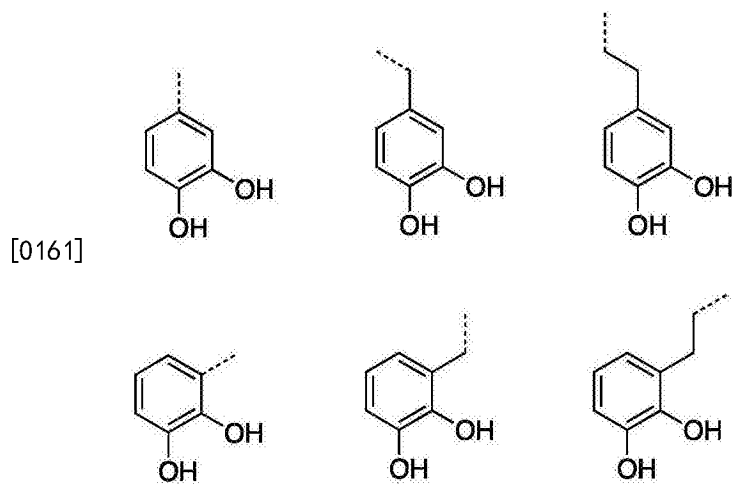
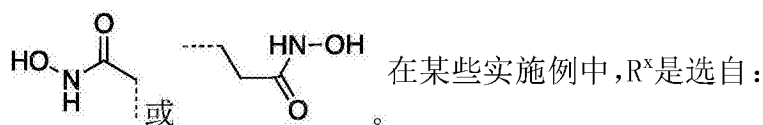


[0158] 如上文一般定义,Q是价键或二价的饱和或不饱和的直链或分支链C₁₋₁₂烃链,其中Q的0-6个亚甲基单元独立地经-Cy-、-O-、-NH-、-S-、-OC(O)-、-C(O)O-、-C(O)-、-SO-、-SO₂-、-NHSO₂-、-SO₂NH-、-NHC(O)-、-C(O)NH-、-OC(O)NH-或-NHC(O)O-置换,其中-Cy-是具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的任选地取代的5-8元二价饱和、部分不饱和或芳基环或具有0-5个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的任选地取代的8-10元二价饱和、部分不饱和或芳基双环。在某些实施例中,Q是价键。在其它实施例中,Q是二价饱和C₁₋₁₂亚烷基链,其中Q的0-6个亚甲基单元独立地经-Cy-、-O-、-NH-、-S-、-OC(O)-、-C(O)O-或-C(O)-置换,其

中-Cy-是具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的任选地取代的5-8元二价饱和、部分不饱和或芳基环或具有0-5个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的任选地取代的8-10元二价饱和、部分不饱和或芳基双环。

[0159] 在某些实施例中，Q是-Cy-（即C₁亚烷基链，其中亚甲基单元经-Cy-置换），其中-Cy-是具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的任选地取代的5-8元二价饱和、部分不饱和或芳基环。根据本发明的一个方面，-Cy-是任选地取代的二价芳基。根据本发明的另一个方面，-Cy-是任选地取代的二价苯基。在其它实施例中，-Cy-是任选地取代的5-8元二价饱和和碳环。在其它实施例中，-Cy-是具有1-2个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的任选地取代的5-8元二价饱和杂环。例示性-Cy-基团包括选自苯基、吡啶基、嘧啶基、环己基、环戊基或环丙基的二价环。

[0160] 如上文所定义，R^x是含有异羟肟酸酯或儿茶酚的部分。在某些实施例中，R^x是含有异羟肟酸的部分。在其它实施例中，R^x是含有儿茶酚的部分。在某些实施例中，R^x选自



[0162] 如上文所定义，R^y选自一或多种使整个嵌段是疏水性的天然或非天然氨基酸侧链基团。此类疏水性氨基酸侧链基团包括任选地保护的酪氨酸侧链、任选地保护的丝氨酸侧链、任选地保护的苏氨酸侧链、苯丙氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、色氨酸、脯氨酸、谷氨酸苯甲酯和谷氨酸烷酯或天冬氨酸苯甲酯和天冬氨酸烷酯或其混合物。所属领域的技术人员将认识到，极性或非极性氨基酸侧链的保护可以使氨基酸为非极性的。举例来说，经适当保护的酪氨酸羟基可以借助于保护羟基使酪氨酸为非极性和疏水性的。羟基、氨基和硫醇以及R^y的羧化物官能团的保护基如本文中所述。此外，所属领域的技术人员将认识到，亲水性和疏水性氨基酸侧链可以组合，使得整个嵌段是疏水性的。举例来说，大部分亮氨酸侧链基团可以与少数天冬氨酸侧链基团组合，其中所得嵌段是净疏水性的。氨基酸侧链基团的此类混合物包括酪氨酸和亮氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸、丝氨酸和苯丙氨酸、天冬氨酸和苯丙氨酸、谷氨酸和苯丙氨酸、酪氨酸和谷氨酸苯甲酯、丝氨酸和谷氨酸苯甲酯、天冬氨酸和谷氨酸苯甲酯、谷氨酸和谷氨酸苯甲酯、天冬氨酸和亮氨酸以及谷氨酸和亮氨酸。

[0163] 在一些实施例中，R^y由三种天然或非天然氨基酸侧链基团的混合物组成，使得整个嵌段是疏水性的。氨基酸侧链基团的此类三元混合物包括（但不限于）：亮氨酸、酪氨酸和

天冬氨酸;亮氨酸、酪氨酸和谷氨酸;苯丙氨酸、酪氨酸和天冬氨酸;或苯丙氨酸、酪氨酸和谷氨酸。

[0164] 在其它实施例中, R^y 由D-疏水性和L-亲水性氨基酸侧链基团的混合物组成, 使得包含 R^y 的整个聚(氨基酸)嵌段是疏水性的并且是D-与L-构型氨基酸的混合物。氨基酸侧链基团的此类混合物包括L-酪氨酸和D-亮氨酸、L-酪氨酸和D-苯丙氨酸、L-丝氨酸和D-苯丙氨酸、L-天冬氨酸和D-苯丙氨酸、L-谷氨酸和D-苯丙氨酸、L-酪氨酸和D-谷氨酸苯甲酯、L-丝氨酸和D-谷氨酸苯甲酯、L-天冬氨酸和D-谷氨酸苯甲酯、L-谷氨酸和D-谷氨酸苯甲酯、L-天冬氨酸和D-亮氨酸以及L-谷氨酸和D-亮氨酸。此类混合物的(D-疏水性与L-亲水性)比率包括6:1、5:1、4:1、3:1、2:1、1:1、1:2、1:3、1:4、1:5和1:6中的任一者。

[0165] 如上文一般定义, 式I的 R^2 基团是单保护胺、双保护胺、 $-NHR^4$ 、 $-N(R^4)_2$ 、 $-NHC(O)R^4$ 、 $-NR^4C(O)R^4$ 、 $-NHC(O)NHR^4$ 、 $-NHC(O)N(R^4)_2$ 、 $-NR^4C(O)NHR^4$ 、 $-NR^4C(O)N(R^4)_2$ 、 $-NHC(O)OR^4$ 、 $-NR^4C(O)OR^4$ 、 $-NHSO_2R^4$ 或 $-NR^4SO_2R^4$, 其中每个 R^4 独立地是选自以下各基的任选地取代的基团: 脂肪族基、具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5-8元饱和、部分不饱和或芳基环、具有0-5个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的8-10元饱和、部分不饱和或芳基双环或可检测部分, 或同一氮原子上的两个 R^4 连同所述氮原子一起形成具有1-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的任选地取代的4-7元饱和、部分不饱和或芳基环。

[0166] 在某些实施例中, 式I的 R^2 基团是 $-NHR^4$ 或 $-N(R^4)_2$, 其中每个 R^4 是任选地取代的脂肪族基。一种例示性 R^4 基团是5-降冰片烯-2-基-甲基。根据本发明的又一个方面, 式I的 R^{2a} 基团是 $-NHR^4$, 其中 R^4 是经 N_3 取代的 C_{1-6} 脂肪族基。实例包括 $-CH_2N_3$ 。在一些实施例中, R^4 是任选地取代的 C_{1-6} 烷基。实例包括甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、2-(四氢吡喃-2-基氧基)乙基、吡啶-2-基二硫基甲基、甲基二硫基甲基、(4-乙炔基苯基)甲基、3-(甲氧基羰基)-丙-2-炔基、甲氧基羰基甲基、2-(N-甲基-N-(4-乙炔基苯基)羰基氨基)-乙基、2-邻苯二酰亚胺基乙基、4-溴苯甲基、4-氯苯甲基、4-氟苯甲基、4-碘苯甲基、4-炔丙基氧基苯甲基、2-硝基苯甲基、4-(双-4-乙炔基苯甲基)氨基甲基-苯甲基、4-炔丙基氧基-苯甲基、4-二炔丙基氨基-苯甲基、4-(2-炔丙基氧基-乙基二硫基)苯甲基、2-炔丙基氧基-乙基、2-炔丙基二硫基-乙基、4-炔丙基氧基-丁基、2-(N-甲基-N-炔丙基氨基)乙基和2-(2-二炔丙基氨基乙氧基)-乙基。在其它实施例中, R^4 是任选地取代的 C_{2-6} 烯基。实例包括乙烯基、烯丙基、2-丁烯基、2-丙烯基和丁-3-烯基。当 R^4 基团是经取代的脂肪族基时, R^4 上的取代基包括 N_3 、CN 和卤素。在某些实施例中, R^4 是 $-CH_2CN$ 、 $-CH_2CH_2CN$ 、 $-CH_2CH(OCH_3)_2$ 、4-(双苯甲基氧基甲基)苯基甲基等等。

[0167] 根据本发明的另一个方面, 式I的 R^2 基团是 $-NHR^4$, 其中 R^4 是任选地取代的 C_{2-6} 炔基。实例包括 $-CC\equiv CH$ 、 $-CH_2C\equiv CH$ 、 $-CH_2C\equiv CCH_3$ 和 $-CH_2CH_2C\equiv CH$ 。

[0168] 在某些实施例中, 式I的 R^2 基团是 $-NHR^4$, 其中 R^4 是任选地取代的5-8元芳环。在某些实施例中, R^4 是任选地取代的苯基或任选地取代的吡啶基。实例包括苯基、4-叔丁氧基羰基氨基苯基、4-叠氮基甲基苯基、4-炔丙基氧基苯基、2-吡啶基、3-吡啶基和4-吡啶基。在某些实施例中, R^{2a} 是4-叔丁氧基羰基氨基苯基氨基、4-叠氮基甲基苯基氨基或4-炔丙基氧基苯基氨基。

[0169] 在某些实施例中, 式I的 R^2 基团是 $-NHR^4$, 其中 R^4 是任选地取代的苯环。 R^4 苯环上的取代基包括卤素; $-(CH_2)_{0-4}R^O$; $-(CH_2)_{0-4}OR^O$; $-(CH_2)_{0-4}CH(OR^O)_2$; $-(CH_2)_{0-4}SR^O$; $-(CH_2)_{0-4}Ph$, 其可以经 R^O 取代; $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}Ph$, 其可以经 R^O 取代; $-CH=CHPh$, 其可以经 R^O 取代; $-$

NO_2 ; $-\text{CN}$; $-\text{N}_3$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{N}(\text{R}^\circ)_2$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{S})\text{R}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{NR}^\circ_2$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{S})\text{NR}^\circ_2$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{OR}^\circ$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{NR}^\circ_2$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{OR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-\text{C}(\text{S})\text{R}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{OR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{SR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{OSiR}^\circ_3$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{OC}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{SC}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{NR}^\circ_2$; $-\text{C}(\text{S})\text{NR}^\circ_2$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{OC}(\text{O})\text{NR}^\circ_2$; $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{OR}^\circ)\text{R}^\circ$; $-\text{C}(\text{O})\text{C}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-\text{C}(\text{NOR}^\circ)\text{R}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{SSR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{S}(\text{O})_2\text{R}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{S}(\text{O})_2\text{OR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{OS}(\text{O})_2\text{R}^\circ$; $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^\circ_2$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{S}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^\circ_2$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{S}(\text{O})_2\text{R}^\circ$; $-\text{N}(\text{OR}^\circ)\text{R}^\circ$; $-\text{C}(\text{NH})\text{NR}^\circ_2$; $-\text{P}(\text{O})_2\text{R}^\circ$; $-\text{P}(\text{O})\text{R}^\circ_2$; $-\text{OP}(\text{O})\text{R}^\circ_2$; SiR°_3 ; 其中每个独立出现的 R° 如上文中所定义。在其它实施例中,式I的 R^{2a} 基团是 $-\text{NHR}^4$,其中 R^4 是经一或多种任选地取代的 C_{1-6} 脂肪族基取代的苯基。在其它实施例中, R^4 是经乙烯基、烯丙基、乙炔基、 $-\text{CH}_2\text{N}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CCH}_3$ 或 $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ 取代的苯基。

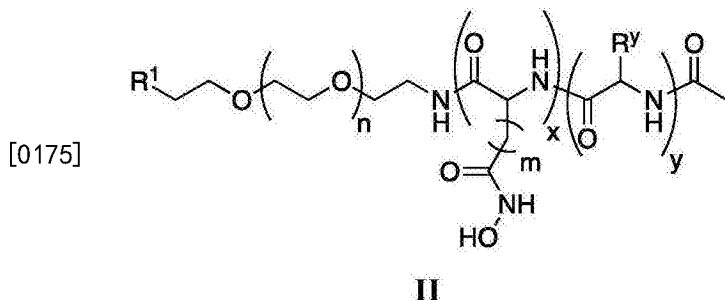
[0170] 在某些实施例中,式I的 R^2 基团是 $-\text{NHR}^4$,其中 R^4 是经 N_3 、 $\text{N}(\text{R}^\circ)_2$ 、 $\text{CO}_2\text{R}^\circ$ 或 $\text{C}(\text{O})\text{R}^\circ$ 取代的苯基,其中每个 R° 独立地如上文中所定义。

[0171] 在某些实施例中,式I的 R^2 基团是 $-\text{N}(\text{R}^4)_2$,其中每个 R^4 独立地是选自以下的任选地取代的基团:脂肪族基、苯基、萘基、具有1-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5-6元芳环或具有1-5个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的8-10元双环芳环或可检测部分。

[0172] 在其它实施例中,式I的 R^2 基团是 $-\text{N}(\text{R}^4)_2$,其中两个 R^4 基团连同所述氮原子一起形成具有1-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的任选地取代的4-7元饱和、部分不饱和或芳基环。根据另一个实施例,两个 R^4 基团结合在一起形成一个氮的5-6元饱和或部分不饱和和环,其中所述环经一或两个氧代基取代。此类 R^{2a} 基团包括(但不限于)邻苯二甲酰亚胺、顺丁烯二酰亚胺和丁二酰亚胺。

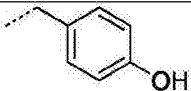
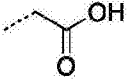
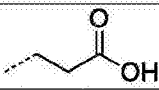
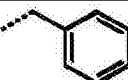
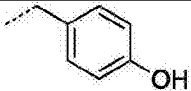
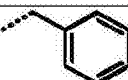
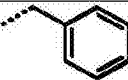
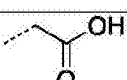
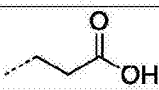
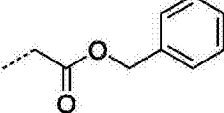
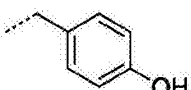
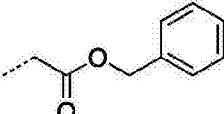
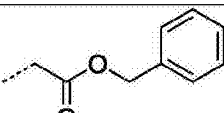
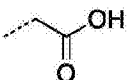
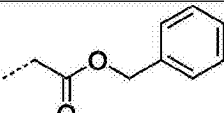
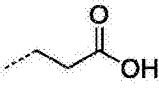
[0173] 在某些实施例中,式I的 R^2 基团是单保护或双保护氨基。在某些实施例中, R^{2a} 是单保护胺。在某些实施例中, R^{2a} 是选自芳烷基胺、氨基甲酸酯、烯丙基胺或酰胺的单保护胺。例示性单保护氨基部分包括叔丁氧基羰基氨基、乙氧基羰基氨基、甲氧基羰基氨基、三氯乙氧基羰基氨基、烯丙氧基羰基氨基、苄甲氧基羰基氨基、烯丙基氨基、苄甲基氨基、苄基甲基羰基、甲酰胺基、乙酰胺基、氯乙酰胺基、二氯乙酰胺基、三氯乙酰胺基、苄基乙酰胺基、三氟乙酰胺基、苄甲酰胺基和叔丁基二苄基硅烷基氨基。在其它实施例中, R^{2a} 是双保护胺。例示性双保护氨基部分包括二苄甲基氨基、二烯丙基氨基、邻苯二甲酰亚胺、顺丁烯二酰亚胺基、丁二酰亚胺基、吡咯基、2,2,5,5-四甲基-[1,2,5]氮杂二硅杂环戊烷基和叠氮基。在某些实施例中, R^{2a} 部分是邻苯二甲酰亚胺基。在其它实施例中, R^{2a} 部分是单或二苄甲基氨基或单或二烯丙基氨基。

[0174] 在某些实施例中,本发明提供了一种式II的三嵌段共聚物:

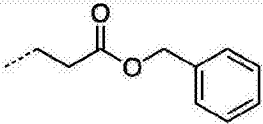
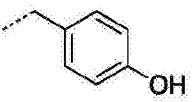
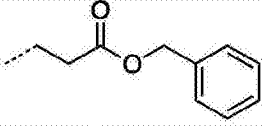
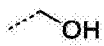
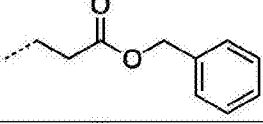
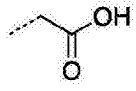
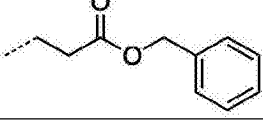
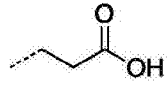
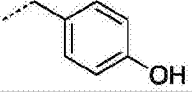
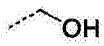
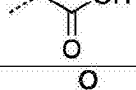
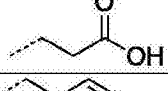
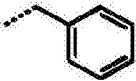
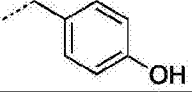
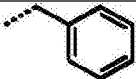
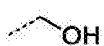
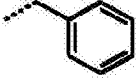
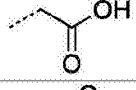
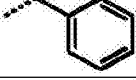
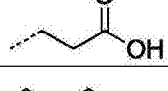
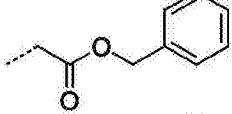
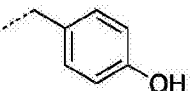
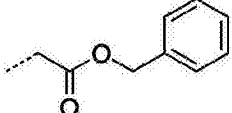
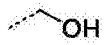
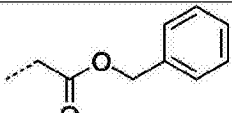
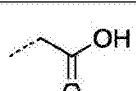
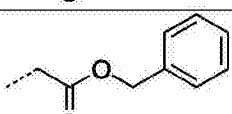
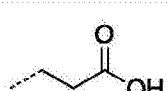


[0176] 其中:

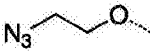
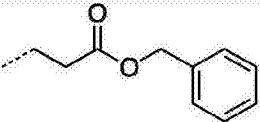
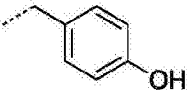
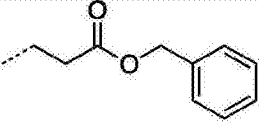
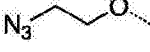
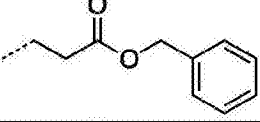
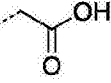
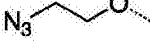
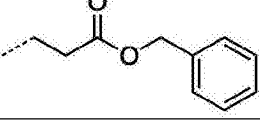
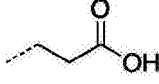
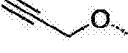
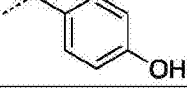
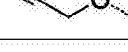
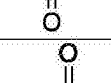
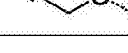
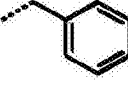
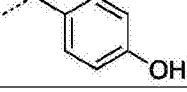
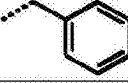
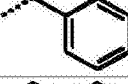
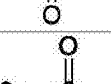
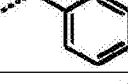
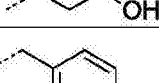
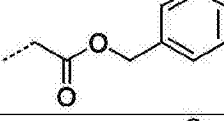
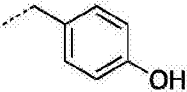
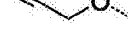
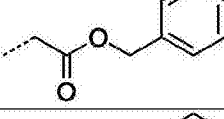
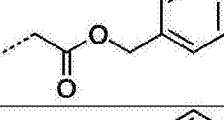
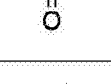
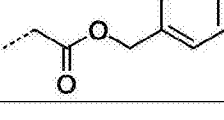
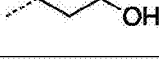
[0192]

化合物编号	R^1	R^{ya}	R^{yb}
1	CH_3O		
2	CH_3O		
3	CH_3O		
4	CH_3O		
5	CH_3O		
6	CH_3O		
7	CH_3O		
8	CH_3O		
9	CH_3O		
10	CH_3O		
11	CH_3O		
12	CH_3O		

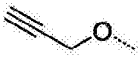
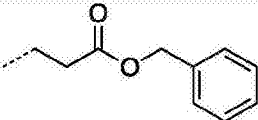
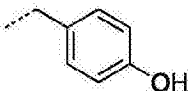
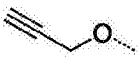
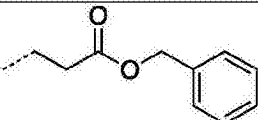
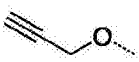
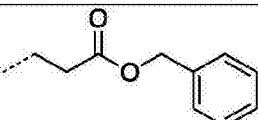
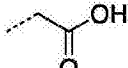
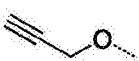
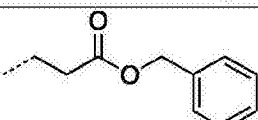
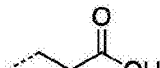
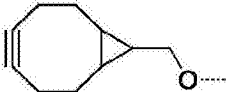
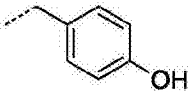
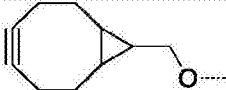
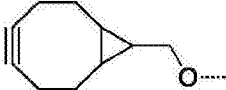
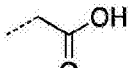
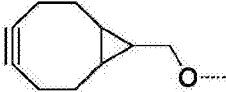
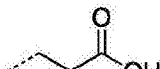
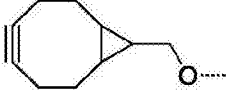
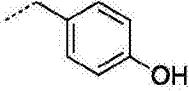
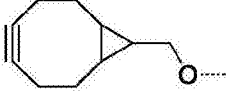
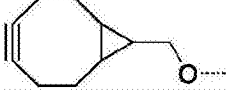
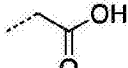
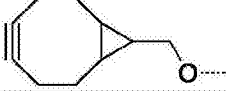
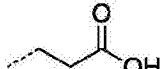
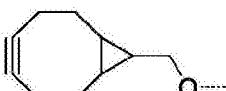
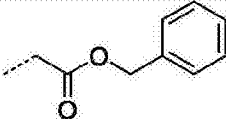
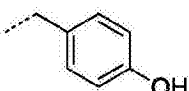
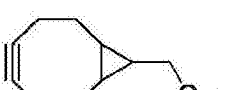
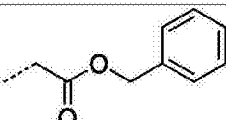
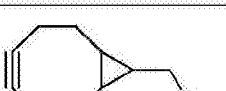
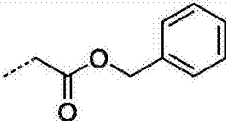
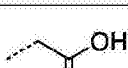
[0193]

13	<chem>CH3O-</chem>		
14	<chem>CH3O-</chem>		
15	<chem>CH3O-</chem>		
16	<chem>CH3O-</chem>		
17	<chem>N3CH2CH2O-</chem>		
18	<chem>N3CH2CH2O-</chem>		
19	<chem>N3CH2CH2O-</chem>		
20	<chem>N3CH2CH2O-</chem>		
21	<chem>N3CH2CH2O-</chem>		
22	<chem>N3CH2CH2O-</chem>		
23	<chem>N3CH2CH2O-</chem>		
24	<chem>N3CH2CH2O-</chem>		
25	<chem>N3CH2CH2O-</chem>		
26	<chem>N3CH2CH2O-</chem>		
27	<chem>N3CH2CH2O-</chem>		
28	<chem>N3CH2CH2O-</chem>		

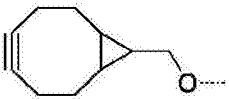
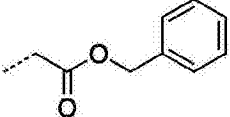
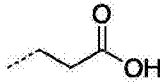
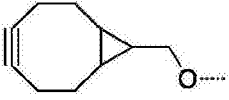
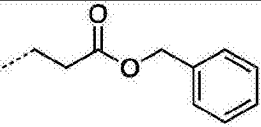
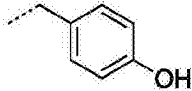
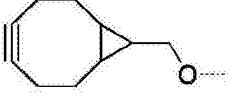
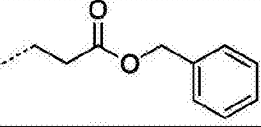
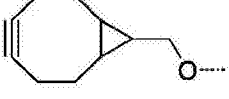
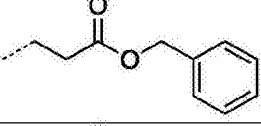
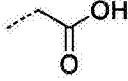
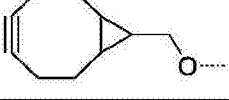
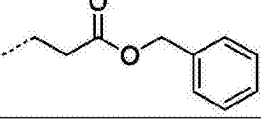
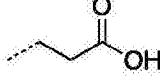
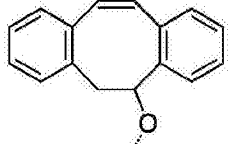
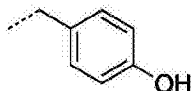
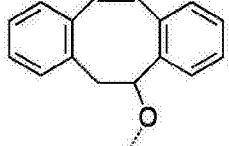
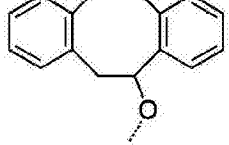
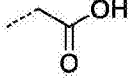
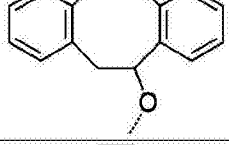
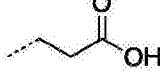
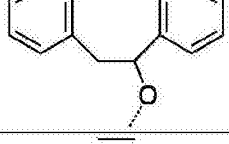
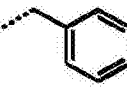
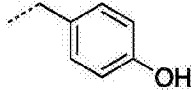
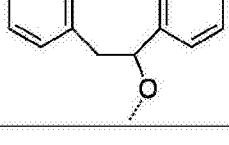
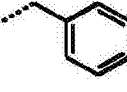
[0194]

29			
30			
31			
32			
33			
34			
35			
36			
37			
38			
39			
40			
41			
42			
43			
44			

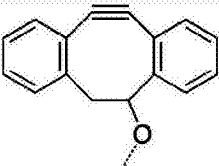
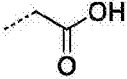
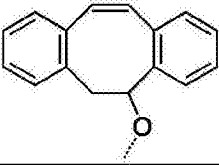
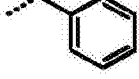
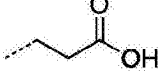
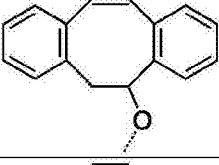
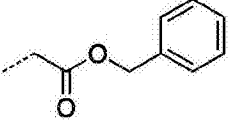
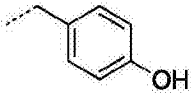
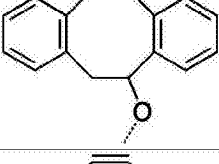
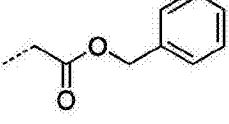
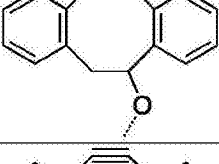
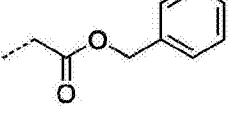
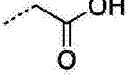
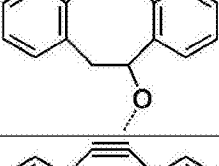
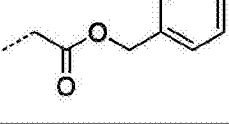
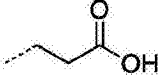
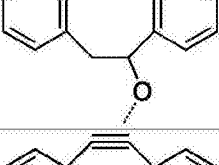
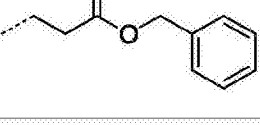
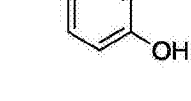
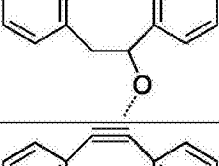
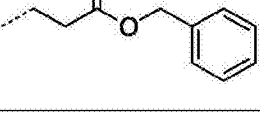
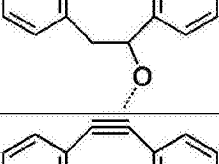
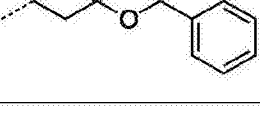
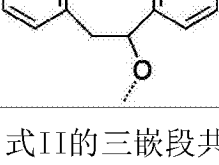
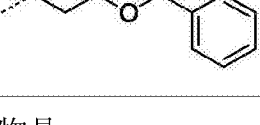
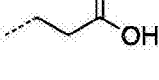
[0195]

45			
46			
47			
48			
49			
50			
51			
52			
53			
54			
55			
56			
57			
58			
59			

[0196]

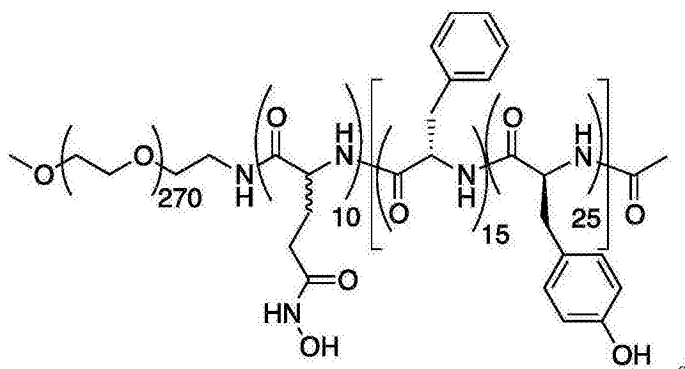
60			
61			
62			
63			
64			
65			
66			
67			
68			
69			
70			

[0197]

71			
72			
73			
74			
75			
76			
77			
78			
79			
80			

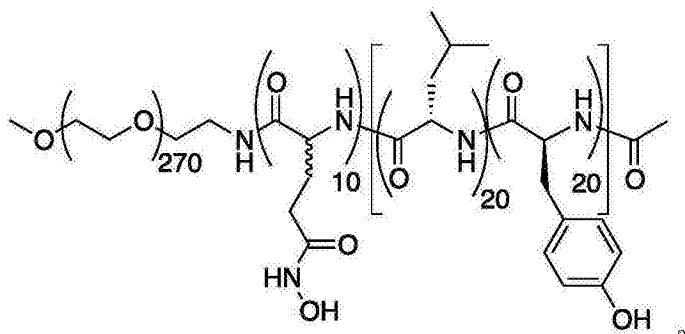
[0198] 在某些实施例中,式II的三嵌段共聚物是

[0199]



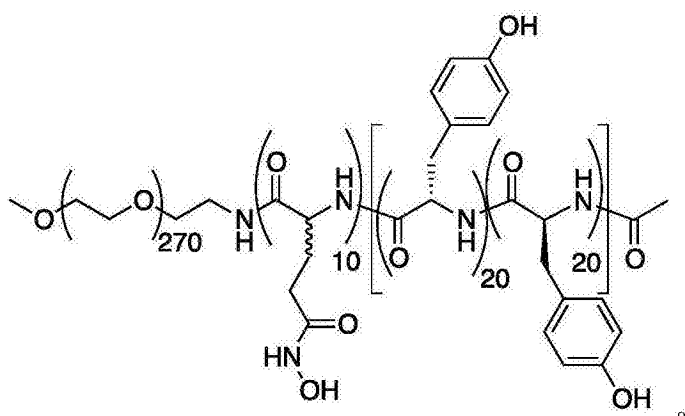
[0200] 在某些实施例中,式II的三嵌段共聚物是

[0201]



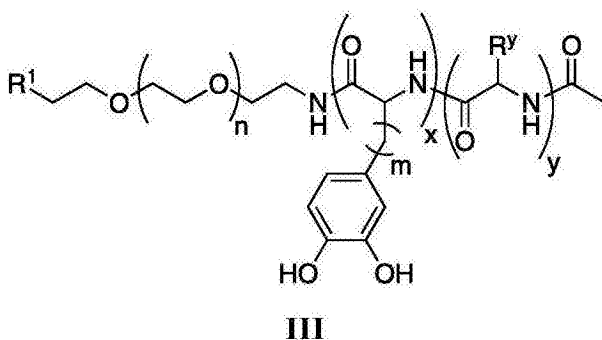
[0202] 在某些实施例中,式II的三嵌段共聚物是

[0203]



[0204] 在某些实施例中,本发明提供了一种式III的三嵌段共聚物:

[0205]



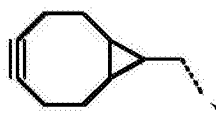
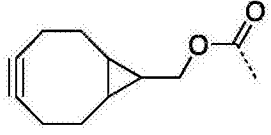
[0206] 其中:

[0207] n是20-500;

[0208] m是0、1或2;

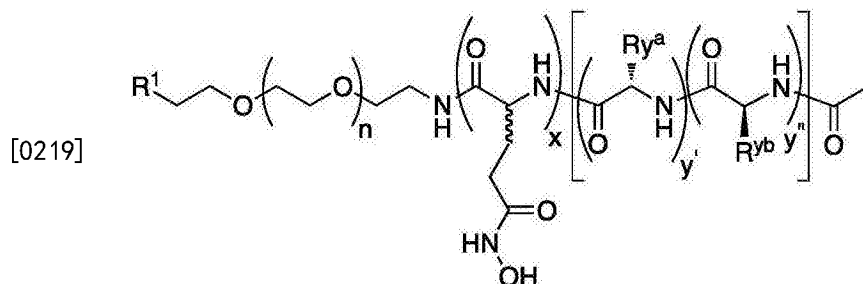
[0209] x是3到50;

- [0210] y是5到100；
 [0211] R^y 选自一或多种使整个嵌段是疏水性的天然或非天然氨基酸侧链基团；
 [0212] R^1 是 $-Z(CH_2CH_2Y)_p(CH_2)_tR^3$ ，其中：
 [0213] Z是 $-O-$ 、 $-NH-$ 、 $-S-$ 、 $-C\equiv C-$ 或 $-CH_2-$ ；
 [0214] 每个Y独立地是 $-O-$ 或 $-S-$ ；
 [0215] p是0-10；
 [0216] t是0-10；以及

- [0217] R^3 是氢、 $-N_3$ 、 $-CN$ 、 $-NH_2$ 、 $-CH_3$ 、、、、应变

环辛炔部分、单保护胺、双保护胺、任选地保护的醛、任选地保护的羟基、任选地保护的羧酸、任选地保护的硫醇或选自以下各基的任选地取代的基团：脂肪族基、具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5-8元饱和、部分不饱和或芳基环、具有0-5个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的8-10元饱和、部分不饱和或芳基双环或可检测部分。

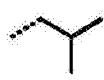
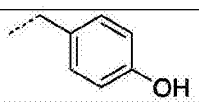
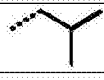
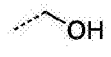
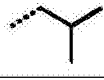
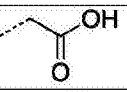
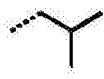
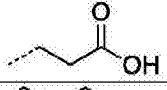
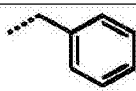
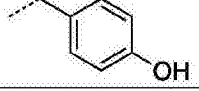
- [0218] 在某些实施例中，式III的三嵌段共聚物选自表2中展示的以下例示性化合物，



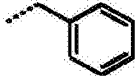
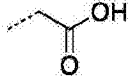
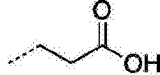
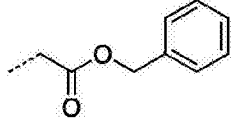
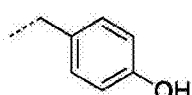
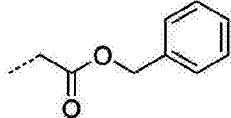
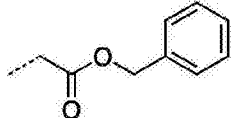
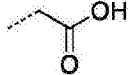
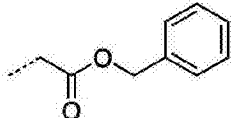
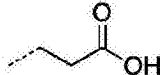
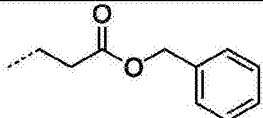
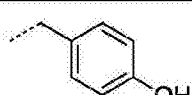
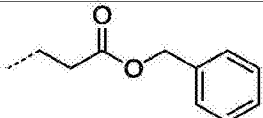
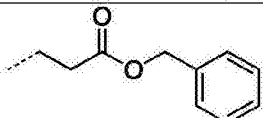
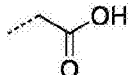
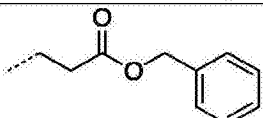
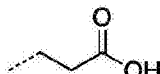
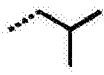
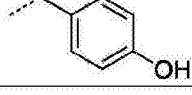
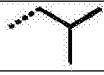
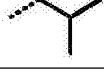
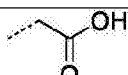
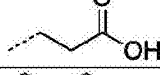
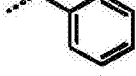
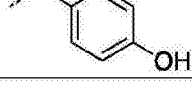
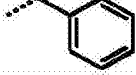
- [0220] 其中n是20到500，x是3到50，y'是3到50，并且y''是3到50。

- [0221] 表2.

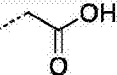
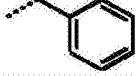
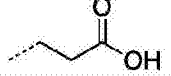
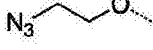
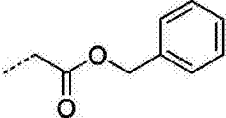
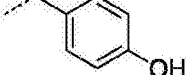
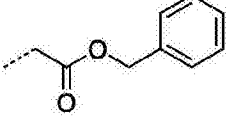
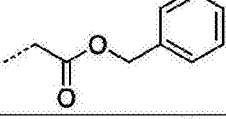
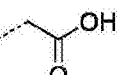
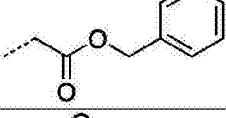
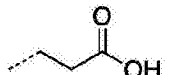
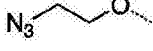
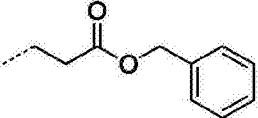
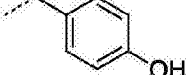
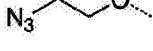
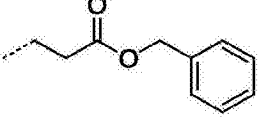
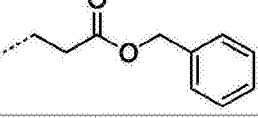
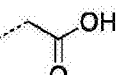
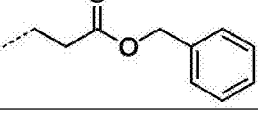
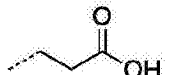
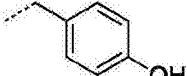
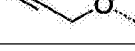
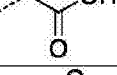
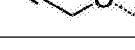
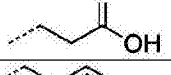
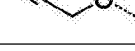
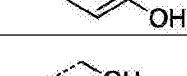
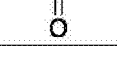
- [0222]

81	CH_3O ----		
82	CH_3O ----		
83	CH_3O ----		
84	CH_3O ----		
85	CH_3O ----		

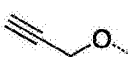
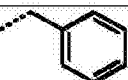
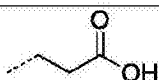
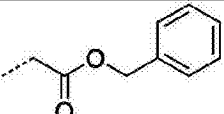
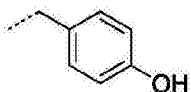
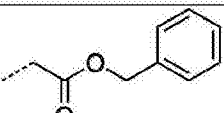
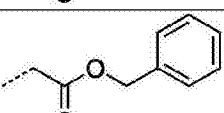
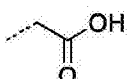
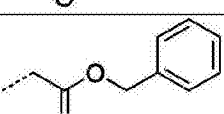
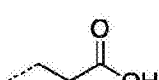
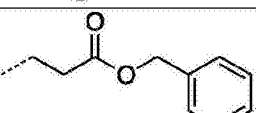
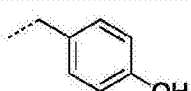
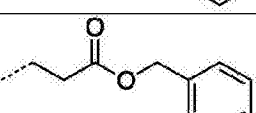
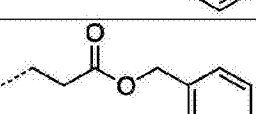
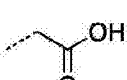
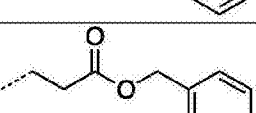
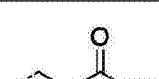
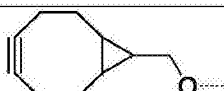
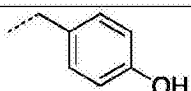
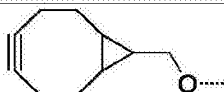
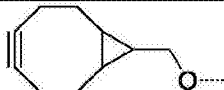
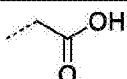
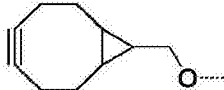
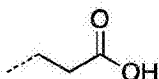
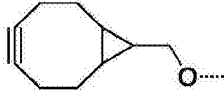
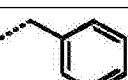
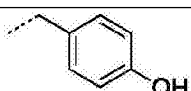
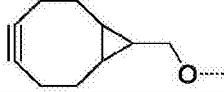
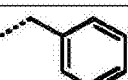
[0223]

86	CH ₃ O----		
87	CH ₃ O----		
88	CH ₃ O----		
89	CH ₃ O----		
90	CH ₃ O----		
91	CH ₃ O----		
92	CH ₃ O----		
93	CH ₃ O----		
94	CH ₃ O----		
95	CH ₃ O----		
96	CH ₃ O----		
97	N ₃ CH ₂ CH ₂ O----		
98	N ₃ CH ₂ CH ₂ O----		
99	N ₃ CH ₂ CH ₂ O----		
100	N ₃ CH ₂ CH ₂ O----		
101	N ₃ CH ₂ CH ₂ O----		
102	N ₃ CH ₂ CH ₂ O----		

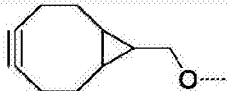
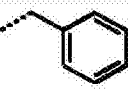
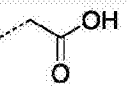
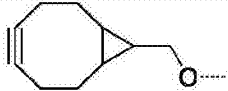
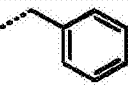
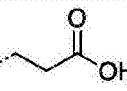
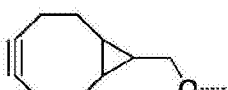
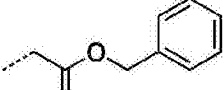
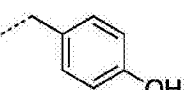
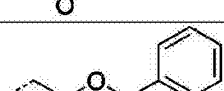
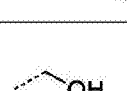
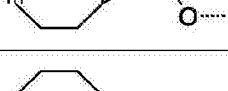
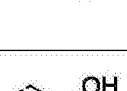
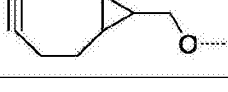
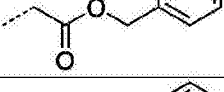
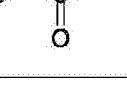
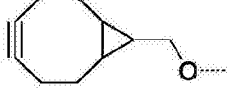
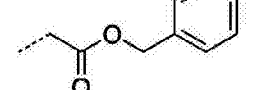
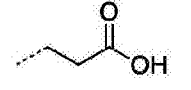
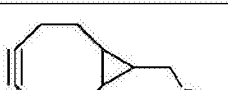
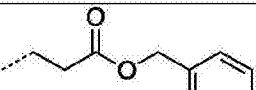
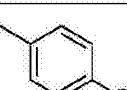
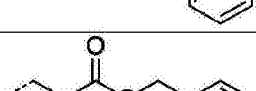
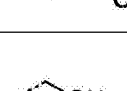
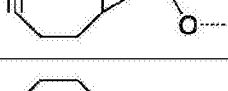
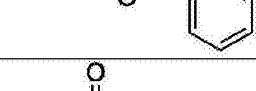
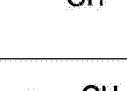
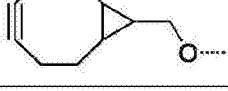
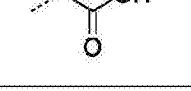
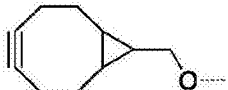
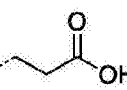
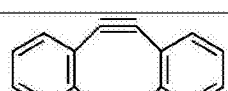
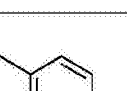
[0224]

103			
104			
105			
106			
107			
108			
109			
110			
111			
112			
113			
114			
115			
116			
117			
118			
119			

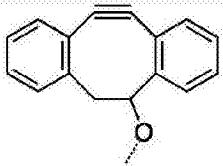
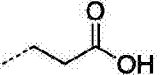
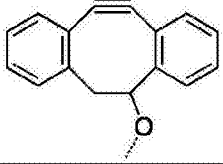
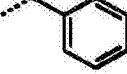
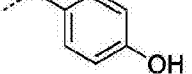
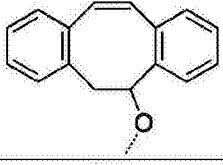
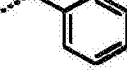
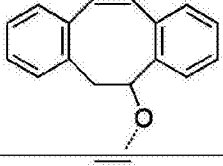
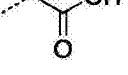
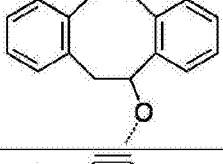
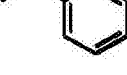
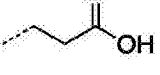
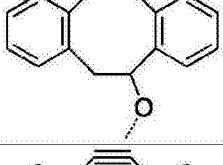
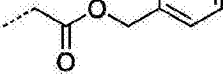
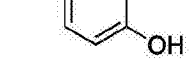
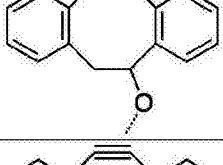
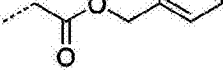
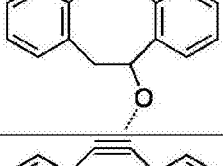
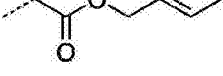
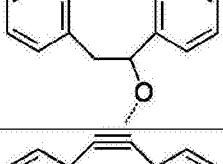
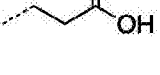
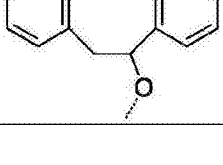
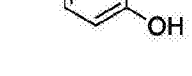
[0225]

120			
121			
122			
123			
124			
125			
126			
127			
128			
129			
130			
131			
132			
133			
134			

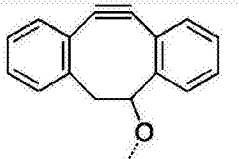
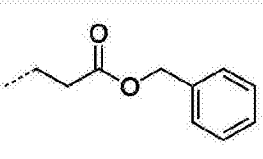
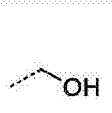
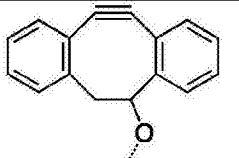
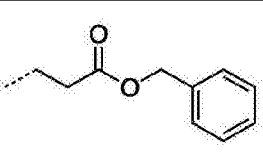
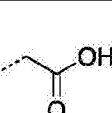
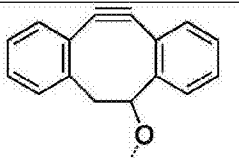
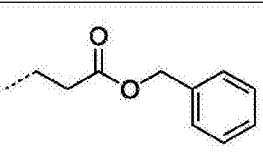
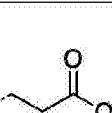
[0226]

135			
136			
137			
138			
139			
140			
141			
142			
143			
144			
145			
146			
147			

[0227]

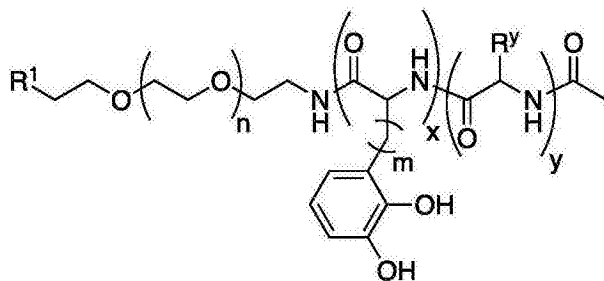
148			
149			
150			
151			
152			
153			
154			
155			
156			
157			

[0228]

158			
159			
160			

[0229] 在某些实施例中,本发明提供了一种式IV的三嵌段共聚物:

[0230]



IV

[0231] 其中:

[0232] n是20-500;

[0233] m是0、1或2;

[0234] x是3到50;

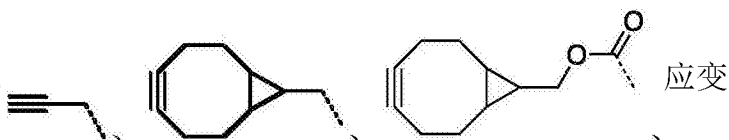
[0235] y是5到100;

[0236] R^y选自一或多种使整个嵌段是疏水性的天然或非天然氨基酸侧链基团;[0237] R¹是-Z(CH₂CH₂Y)_p(CH₂)_tR³,其中:[0238] Z是-O-、-NH-、-S-、-C≡C-或-CH₂-;

[0239] 每个Y独立地是-O-或-S-;

[0240] p是0-10;

[0241] t是0-10;以及

[0242] R³是氢、-N₃、-CN、-NH₂、-CH₃、

环辛炔部分、单保护胺、双保护胺、任选地保护的醛、任选地保护的羟基、任选地保护的羧酸、任选地保护的硫醇或选自以下各基的任选地取代的基团:脂肪族基、具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5-8元饱和、部分不饱和或芳基环、具有0-5个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的8-10元饱和、部分不饱和或芳基双环或可检测部分。

[0243] B. 靶向基团的附接

[0244] 具有适合于点击化学的 R^3 部分的式I、II、III和IV中任一式的化合物适用于将所述化合物结合于生物系统或大分子,例如肽、蛋白质、病毒和细胞等等。已知点击反应在生理条件下快速并选择性地。相比之下,大部分的结合反应是在蛋白质(例如赖氨酸或蛋白质末端基团)上使用伯胺官能团进行。因为大部分蛋白质含有众多的赖氨酸和精氨酸,所以此类结合不可控制地在蛋白质上多处发生。当赖氨酸或精氨酸位于酶或其它生物分子的活性位点周围时此尤其成问题。因而,本发明的另一个实施例提供了一种将式I、II、III和IV中任一式的化合物的 R^1 基团经由点击化学结合于大分子的方法。本发明的又一个实施例提供了经由 R^1 基团结合于式I、II、III和IV中任一式的化合物的大分子。

[0245] 在将聚(氨基酸)嵌段部分并入本发明的多嵌段共聚物中,产生W-X-X'形式的多嵌段共聚物后,对应于式I、II、III和IV中任一式的 R^1 部分的其它端基官能团可以用以附接靶向基团以进行细胞特异性传递,包括(但不限于)附接靶向基团以进行细胞特异性传递,包括(但不限于)蛋白质、寡肽、抗体、单糖、寡糖、维生素或其它小生物分子。此类靶向基团包括(但不限于)单克隆和多克隆抗体(例如IgG、IgA、IgM、IgD、IgE抗体)、糖(例如甘露糖、甘露糖-6-磷酸酯、半乳糖)、蛋白质(例如传递蛋白)、寡肽(例如环状和非环状的含有RGD的寡肽)和维生素(例如叶酸盐)。或者,式I、II、III和IV中任一式的 R^1 部分键结于生物分子、药物、细胞或其它底物。

[0246] 在其它实施例中,式I、II、III和IV中任一式的 R^1 部分键结于促进细胞进入和/或内体逃逸的生物分子。此类生物分子包括(但不限于)含有蛋白质转导域的寡肽,例如HIV Tat肽序列(GRKKRRQRRR)或寡精氨酸(RRRRRRRRR)等。在变化pH值环境下构象改变的寡肽(例如寡组氨酸(HHHHH))也促进细胞进入和内体逃逸。

[0247] 在其它实施例中,式I、II、III和IV中任一式的 R^1 部分键结于可检测部分,例如用于正电子发射断层摄影法的荧光染料或标记,包括含有放射性同位素(例如 ^{18}F)的分子,或结合有放射性金属(例如 ^{62}Cu)的配体。在其它实施例中,式I、II、III和IV中任一式的 R^1 部分键结于用于磁共振成像的造影剂,例如钆、钆螯合物或铁氧化物(例如 Fe_3O_4 和 Fe_2O_3)粒子。在其它实施例中,式I、II、III和IV中任一式的 R^1 部分键结于半导体纳米粒子,例如硒化镉、硫化镉或碲化镉,或键结于其它金属纳米粒子,例如胶体金。在其它实施例中,式I、II、III和IV中任一式的 R^1 部分键结于天然或合成表面、细胞、病毒、染料、药物、螯合剂,或用于并入水凝胶或其它组织支架中。

[0248] 在一个实施例中,式I、II、III和IV中任一式的 R^1 部分是炔或末端炔衍生物,其能够与互补的载有叠氮化物的分子和生物分子进行[3+2]环加成反应。在另一个实施例中,式I、II、III和IV中任一式的 R^1 部分是叠氮化物或叠氮化物衍生物,其能够与互补的载有炔的分子和生物分子进行[3+2]环加成反应(即点击化学)。

[0249] 点击化学已经变成一种流行的生物结合方法,因为其具有高反应性和选择性,甚至是在生物培养基中。参见科勃;芬;夏普利斯应用化学国际版2001,40,2004-2021(Ko1b, H.C.; Finn, M.G.; Sharpless, K.B. Angew. Chem. Int. Ed. 2001, 40, 2004-2021); 以及王;陈;黑尔格拉夫;福金;夏普利斯;芬美国化学学会杂志2003,125,3192-3193(Wang, Q.; Chan, T.R.; Hilgraf, R.; Fokin, V.V.; Sharpless, K.B.; Finn, M.G. J. Am. Chem. Soc. 2003, 125, 3192-3193)。此外,当前可使用的重组技术允许引入载有叠氮化物和炔的非典型氨基酸到

蛋白质、细胞、病毒、细菌和由蛋白质组成或呈现蛋白质的其它生物实体中。参见林克；维可；蒂雷尔美国化学学会杂志2004,126,10598-10602(Link,A.J.;Vink,M.K.S.;Tirrell,D.A.J.Am.Chem.Soc.2004,126,10598-10602);戴特斯；克洛普；穆克赫基；秦；安德森；舒尔茨美国化学学会杂志2003,125,11782-11783(Deiters,A.;Cropp,T.A.;Mukherji,M.;Chin,J.W.;Anderson,C.;Schultz,P.G.J.Am.Chem.Soc.2003,125,11782-11783)。

[0250] 在另一个实施例中，载有叠氮化物或乙炔的纳米载体和互补的载有叠氮化物或乙炔的生物分子的[3+2]环加成反应是过渡金属催化的。催化“点击”反应的含铜分子包括(但不限于)溴化铜(CuBr)、氯化铜(CuCl)、硫酸铜(CuSO₄)、碘化铜(CuI)、[Cu(MeCN)₄](OTf)和[Cu(MeCN)₄](PF₆)。有机和无机金属结合配体可以与金属催化剂结合使用并包括(但不限于)抗坏血酸钠、三(三唑基)胺配体、三(羧乙基)膦(TCEP)和磺化红菲绕啉配体。

[0251] 在另一个实施例中，式I、II、III和IV中任一式的R¹部分是肼或酰肼衍生物，其能够与含有醛或酮的生物分子进行反应以形成腙键。在另一个实施例中，式I、II、III和IV中任一式的R¹部分是醛或酮衍生物，其能够与含有肼或酰肼衍生物的生物分子进行反应以形成腙键。

[0252] 在另一个实施例中，式I、II、III和IV中任一式的R¹部分是羟胺衍生物，其能够与含有醛或酮的生物分子进行反应。在另一个实施例中，式I、II、III和IV中任一式的R¹部分是醛或酮，其能够与含有羟胺或羟胺衍生物的生物分子进行反应。

[0253] 在又一个实施例中，式I、II、III和IV中任一式的R¹部分是醛或酮衍生物，其能够与含有伯胺或仲胺的生物分子进行反应以形成亚胺键。在另一个实施例中，式I、II、III和IV中任一式的R¹部分是伯胺或仲胺，其能够与含有醛或酮官能团的生物分子进行反应以形成亚胺键。应了解亚胺键可以通过用还原剂(例如氢化铝锂、硼氢化钠、氰基硼氢化钠等)处理进一步转化成稳定的胺键。

[0254] 在又一个实施例中，式I、II、III和IV中任一式的R¹部分是胺(伯或仲)或醇，其能够与含有活化酯(例如4-硝基苯酚酯、N-羟基丁二酰亚胺、五氟苯基酯、邻吡啶基硫酸酯)的生物分子进行反应以形成酰胺或酯键。在其它实施例中，式I、II、III和IV中任一式的R¹部分是活化酯，其能够与具有胺(伯或仲)或醇的生物分子进行反应以形成酰胺或酯键。

[0255] 在其它实施例中，式I、II、III和IV中任一式的R¹部分是胺或醇，其使用偶合剂结合于具有羧酸官能团的生物分子。在其它实施例中，式I、II、III和IV中任一式的R¹部分是羧酸官能团，其使用偶合剂结合于含有胺或醇官能团的生物分子。此类偶合剂包括(但不限于)碳化二亚胺(例如1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)-碳化二亚胺(EDC)、二异丙基碳化二亚胺(DIC)、二环己基碳化二亚胺(DCC))、铵或磷衍生物(例如PyBOP、PyAOP、TBTU、HATU、HBTU)或1-羟基苯并三唑(HOBt)与铵或磷衍生物的组合。

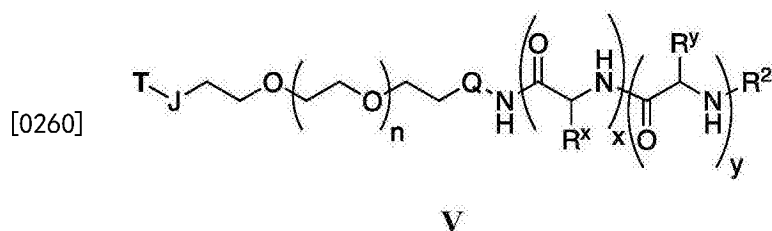
[0256] 在另一个实施例中，式I、II、III和IV中任一式的R¹部分是亲电子试剂，例如顺丁烯二酰亚胺、顺丁烯二酰亚胺衍生物或溴乙酰胺衍生物，其能够与含有硫醇或胺的生物分子进行反应。在另一个实施例中，式I、II、III和IV中任一式的R¹部分是亲核试剂，例如胺或硫醇，其能够与含有例如顺丁烯二酰亚胺、顺丁烯二酰亚胺衍生物或溴乙酰胺衍生物等亲电官能团的生物分子反应。

[0257] 在其它实施例中，式I、II、III和IV中任一式的R¹部分是邻吡啶基二硫化物部分，其与含有硫醇官能团的生物分子交换二硫化物。在其它实施例中，式I、II、III和IV中任一

式的R¹部分是硫醇或硫醇衍生物,其与含有邻吡啶基二硫化物官能团的生物分子交换二硫化物。应了解,此类交换反应产生二硫键,其在存在还原剂(例如谷胱甘肽、二硫苏糖醇(DTT)等)的情况下是可逆的。

[0258] 在某些实施例中,本发明的胶束是包含一或多种式I、II、III和IV的化合物的混合胶束。应了解,如本文中所述的具有不同R¹基团的混合胶束可以结合于多种其它化合物和/或大分子。举例来说,本发明的混合胶束可以具有一个适合于点击化学的R¹基团和另一个适合于经由多种偶合反应进行共价附接的R¹基团。此类混合胶束可以经由这些不同的R¹基团结合于不同化合物和/或大分子。此类结合反应是所属领域的技术人员众所周知的,并包括本文所述的结合反应。

[0259] 在某些实施例中,本发明提供了一种式V的三嵌段共聚物:



[0261] 其中在单独与组合下,Q、x、y、n、R^x、R^y和R²每一者如上文所定义并如本文类别和子类中所描述;

[0262] J独立地是价键或二价的饱和或不饱和的直链或分支链C₁₋₁₂烃链,其中J的0-6个亚甲基单元独立地经-Cy-、-O-、-NH-、-S-、-OC(O)-、-C(O)O-、-C(O)-、-SO-、-SO₂-、-NHSO₂-、-SO₂NH-、-NHC(O)-、-C(O)NH-、-OC(O)NH-或-NHC(O)O-置换,其中:

[0263] -Cy-是具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的任选地取代的5-8元二价饱和、部分不饱和或芳基环或具有0-5个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的任选地取代的8-10元二价饱和、部分不饱和或芳基双环;

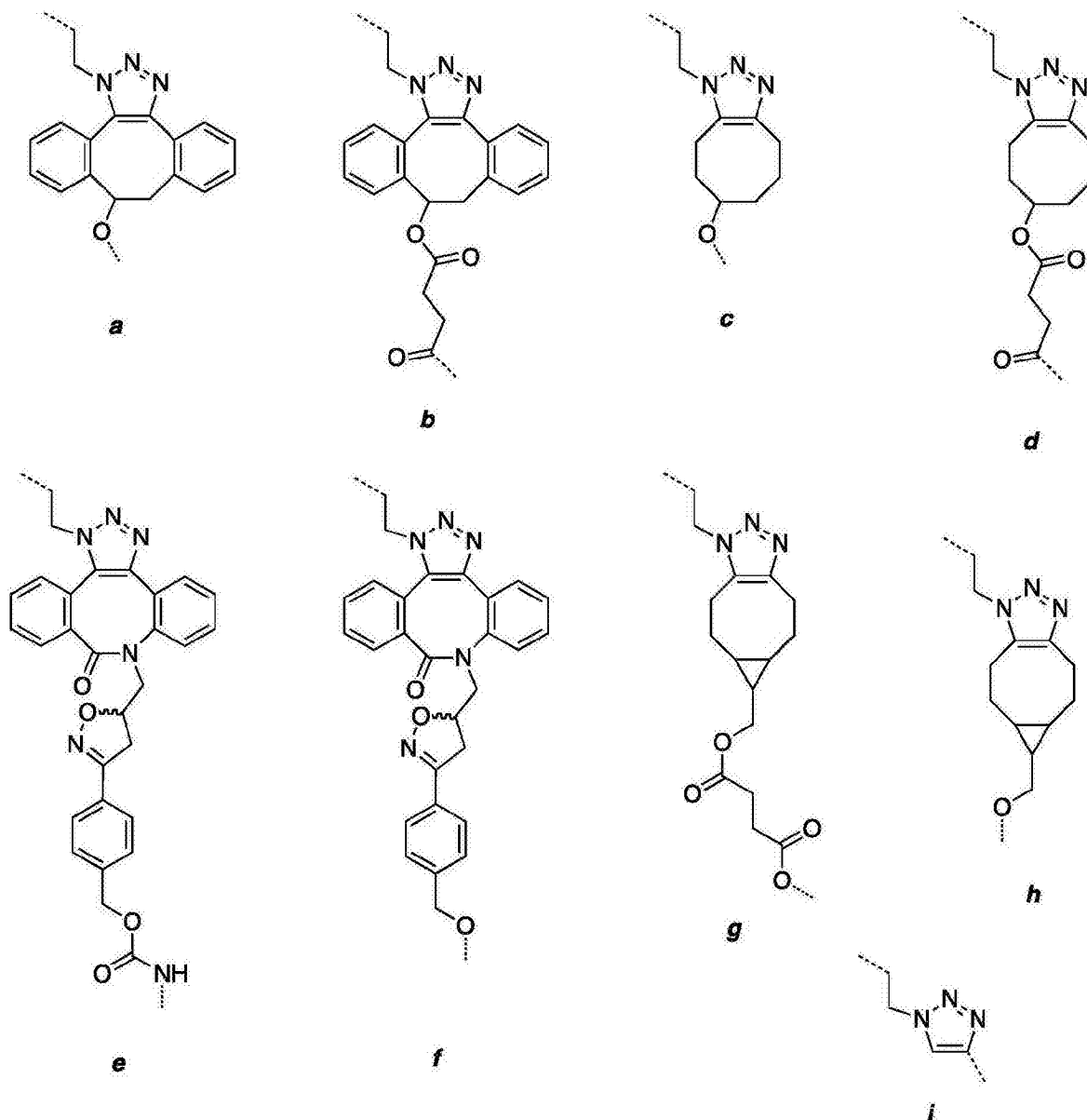
[0264] 每个T独立地是靶向基团。

[0265] 如上文一般描述,T是靶向基团。此类靶向基团详细地描述于2009年4月30日公开的美国专利申请公开案第2009/0110662号中,其全部内容以引用的方式并入本文中。其它靶向基团详细地描述于2012年3月9日提交的美国专利申请案第13/415,910号中,其全部内容以引用的方式并入本文中。

[0266] 在某些实施例中,J基团是如上文所述的价键。在某些实施例中,J基团是亚甲基。在其它实施例中,J基团是羰基。在某些实施例中,式V的J基团是价键。在其它实施例中,J基团由表3中的部分表示。

[0267] 表3.

[0268]



[0269] C. 胶束形成

[0270] 如本文中所述的两性多嵌段共聚物可以在水溶液中自组装以形成纳米和微米尺寸的结构。在水中,这些两性多嵌段共聚物在超过临界胶束浓度(CMC)存在于溶液中时通过多分子胶束化来组装。不希望受任何具体的理论所束缚,相信共聚物的疏水性聚(氨基酸)部分或“嵌段”崩塌以形成胶束核心,而亲水性PEG嵌段形成周边冠并赋予水溶性。在某些实施例中,根据本发明的多嵌段共聚物具有形成胶束的独特疏水性和亲水性区段。此外,这些多嵌段聚合物任选地包含含有交联用官能团的聚(氨基酸)嵌段。应了解发现此官能团在对应氨基酸侧链上。

[0271] D. 药物负载

[0272] 根据一个实施例,本发明提供了一种包含三嵌段共聚物的胶束,所述三嵌段共聚物包含亲水性聚合物嵌段、任选地可交联或交联的聚(氨基酸嵌段)和疏水性D,L-混合聚(氨基酸)嵌段,其特征在于所述胶束具有内部核心、任选地可交联或交联的外部核心和亲

水性外壳。如本文中所述,本发明的胶束尤其适用于囊封治疗剂。在某些实施例中,治疗剂是疏水性的。

[0273] 不希望受任何具体的理论所束缚,相信结构上多样的治疗剂容纳在本发明的胶束内是通过调节疏水性D,L-混合聚(氨基酸)嵌段,即包含R^y的嵌段来实现的。如上文所论述,D与L立体异构体的疏水性混合物提供了具有无规卷曲构象的聚(氨基酸)嵌段,由此加强了疏水性药物的囊封。

[0274] 适合于负载到本发明的胶束中的疏水性小分子药物是所属领域中众所周知的。在某些实施例中,本发明提供了如本文中所述的负载药物的胶束。在其它实施例中,本发明提供了如本文中所述的负载药物的胶束,其中所述药物是选自下文所述的疏水性药物的疏水性药物。

[0275] 如本文所用,术语疏水性小分子药物、小分子药物、治疗剂和疏水性治疗剂都是可互换的。

[0276] 根据另一个实施例,本发明提供了一种负载药物的胶束,其包含式I的三嵌段共聚物和治疗剂。

[0277] 根据另一个实施例,本发明提供了一种负载药物的胶束,其包含式I的三嵌段共聚物和疏水性治疗剂。

[0278] 在其它实施例中,本发明提供了一种系统,其包含式I的三嵌段共聚物和疏水性治疗剂。在另一个实施例中,本发明提供了一种系统,其包含单独或组合的式I、II、III或IV中任一式的三嵌段共聚物和疏水性治疗剂。在又一个实施例中,本发明提供了一种系统,其包含式II的三嵌段共聚物和疏水性治疗剂。

[0279] 在一些实施例中,本发明提供了一种其中囊封适合的疏水性治疗剂的胶束,其包含式I的多嵌段共聚物和式V的多嵌段共聚物,其中式I和式V中每一者如上文所定义和本文所述,其中式I与式V的比率在1000:1与1:1之间。在其它实施例中,比率是1000:1、100:1、50:1、33:1、25:1、20:1、10:1、5:1或4:1。在其它实施例中,比率在100:1与25:1之间。

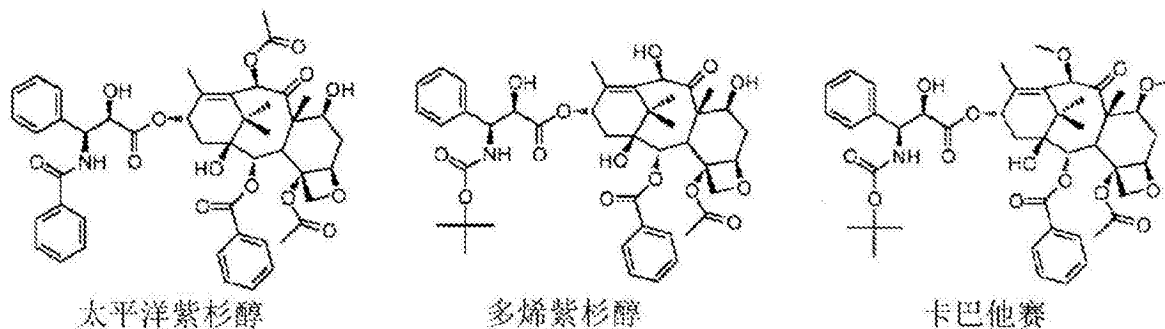
[0280] 在一些实施例中,本发明提供了一种其中囊封适合的疏水性治疗剂的胶束,其包含式II的多嵌段共聚物和式V的多嵌段共聚物,其中式II和式V中每一者如上文所定义和本文所述,其中式II与式V的比率在1000:1与1:1之间。在其它实施例中,比率是1000:1、100:1、50:1、33:1、25:1、20:1、10:1、5:1或4:1。在其它实施例中,比率在100:1与25:1之间。

[0281] 关于式I的R¹、R^{2a}、Q、R^x、R^y、n、m和m'基团每一者的实施例如本文中各种类别和子类中单独与组合描述。

[0282] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的负载药物的胶束,其中所述药物是紫杉烷(taxane)。

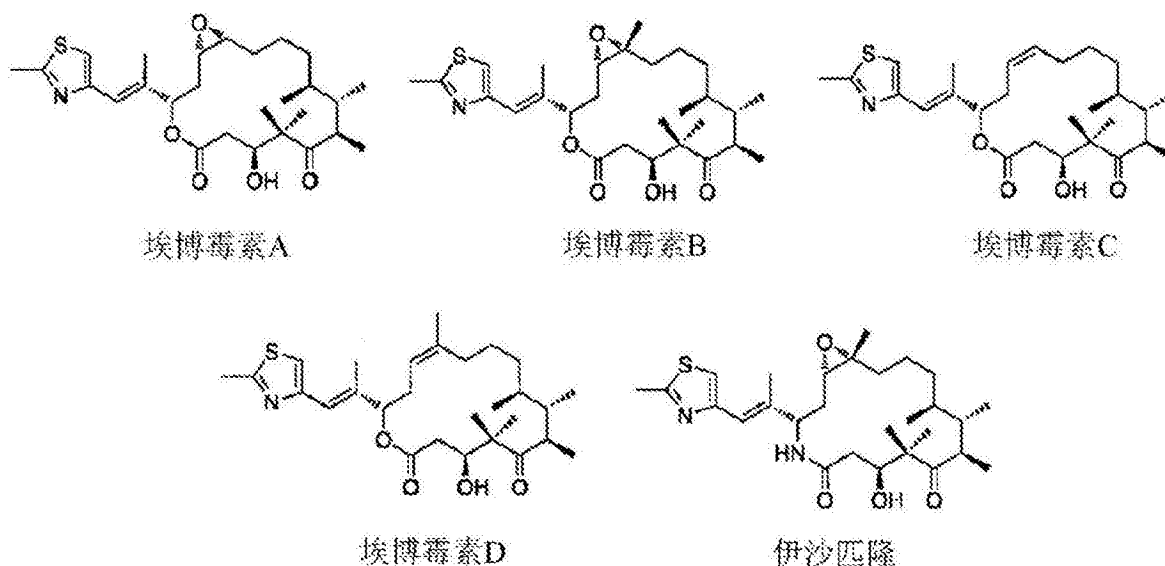
[0283] 紫杉烷是文献中众所周知的并且是紫杉(Taxus)属植物产生的天然产物。作用机制是微管稳定化,因而抑制有丝分裂。许多紫杉烷在水中是难溶的或几乎完全不溶。下文展示示例性埃博霉素(epothilone)。

[0284]



[0285] 埃博霉素是已经展示是微管稳定剂的一群分子,机制类似于太平洋紫杉醇(博拉格等人癌症研究1995,55,2325-2333(Bollag DM et al.Cancer Res.1995,55,2325-2333))。生物化学研究证实埃博霉素可以从微管蛋白替代太平洋紫杉醇,表明它们竞争同一结合位点(科沃斯基,吉纳卡可,哈迈尔.生物化学杂志1997,272,2534-2541(Kowalski RJ,Giannakakou P,Hamel E.J Biol Chem.1997,272,2534-2541)。埃博霉素的一个优点是其与太平洋紫杉醇相比,在PGP过度表达的细胞中细胞毒性效应要大得多。下文展示例示性埃博霉素。

[0286]



[0287] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的负载药物的胶束,其中所述药物是太平洋紫杉醇。

[0288] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的负载药物的胶束,其中所述药物是多烯紫杉醇。

[0289] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的负载药物的胶束,其中所述药物是卡巴他赛。

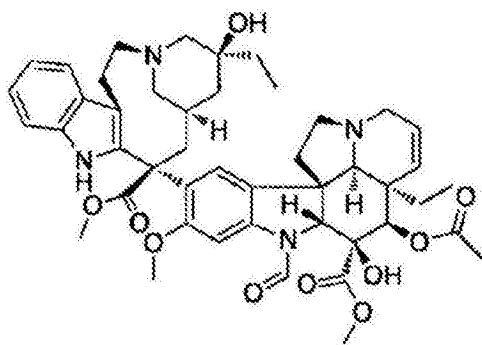
[0290] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的负载药物的胶束,其中所述药物是埃博霉素。

[0291] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的负载药物的胶束,其中所述药物是埃博霉素B或埃博霉素D。

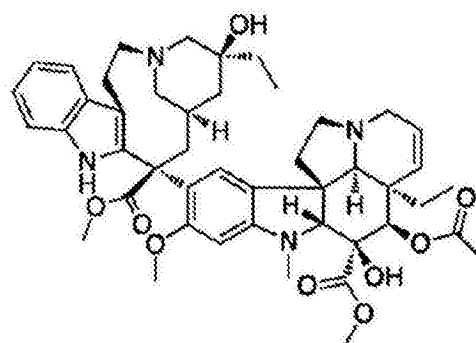
[0292] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的负载药物的胶束,其中所述

药物是埃坡霉素A或埃坡霉素C。

[0293] 长春花生物碱是文献中众所周知的并且是一组抗有丝分裂剂。长春花生物碱包括长春碱(vinblastine)、长春新碱(vincristine)、长春地辛(vindesine)和长春瑞宾(vinorelbine),并且用以预防微管的形成。下文展示例示性长春花生物碱。

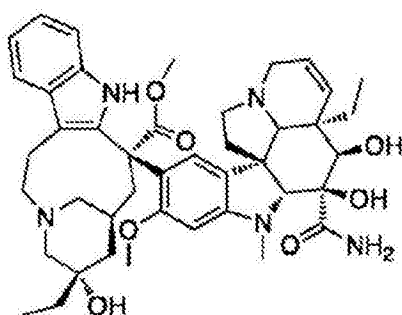


长春新碱

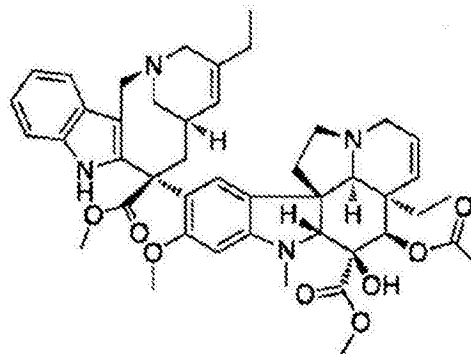


长春碱

[0294]



长春地辛

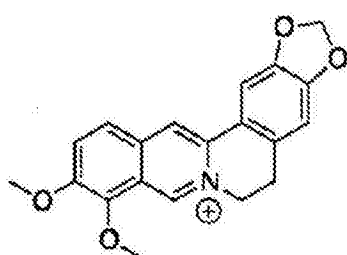


长春瑞宾

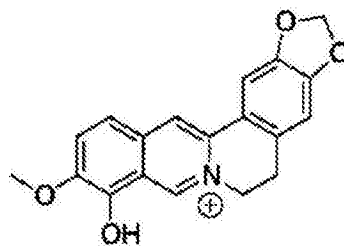
[0295] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的负载药物的胶束,其中所述药物是长春花生物碱。

[0296] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的负载药物的胶束,其中所述药物是长春瑞宾。

[0297] 小檗碱是文献中众所周知的并在包括抗菌和肿瘤学应用在内的应用范围内展示药物作用。小檗碱和相关衍生物的抗肿瘤活性描述于霍史等人癌症研究杂志,1976,67,321-325 (Hoshi, et. al. Gann, 1976, 67, 321-325)。确切地说,小檗红碱和小檗红碱的酯衍生物展示相对于小檗碱抗肿瘤活性增加。下文展示小檗碱和小檗红碱的结构。



小檗碱



小檗红碱

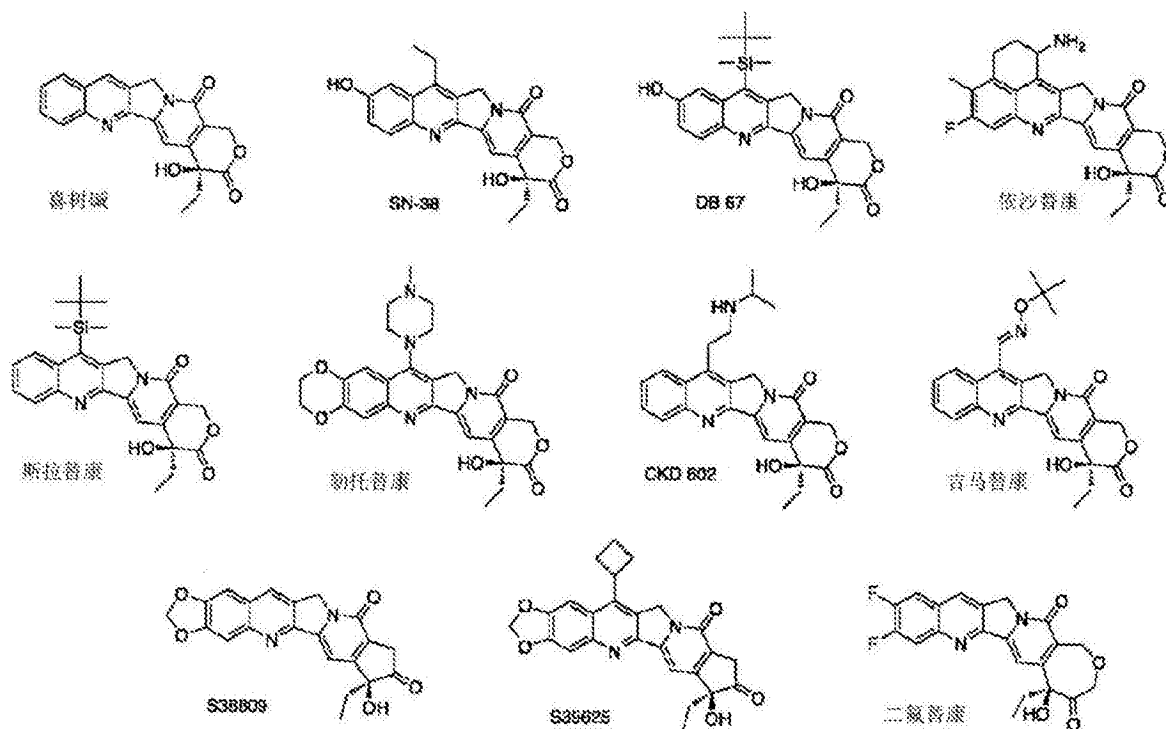
[0299] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的负载药物的胶束,其中所述药物是小檗碱。

[0300] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的负载药物的胶束,其中所述

药物是小檗红碱。

[0301] 抗肿瘤植物生物碱喜树碱 (CPT) 是一种靶向DNA拓扑异构酶I的广谱抗癌剂。虽然CPT已经展示在体外和体内有希望的抗肿瘤活性,但其尚未在临床上使用,因为其疗效低并且毒性严重。在CPT类似物当中,盐酸伊立替康 (irinotecan hydrochloride) (CPT-11) 近来已经展示对结肠直肠癌、肺癌和卵巢癌具有活性。CPT-11本身是一种前药并在体内通过羧酸酯酶转化成7-乙基-10-羟基-CPT (称为SN-38), 其为CPT-11的一种生物活性代谢物。多种喜树碱衍生物正在研发中,下文展示其结构。

[0302]



[0303] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的负载药物的胶束,其中所述药物是喜树碱。

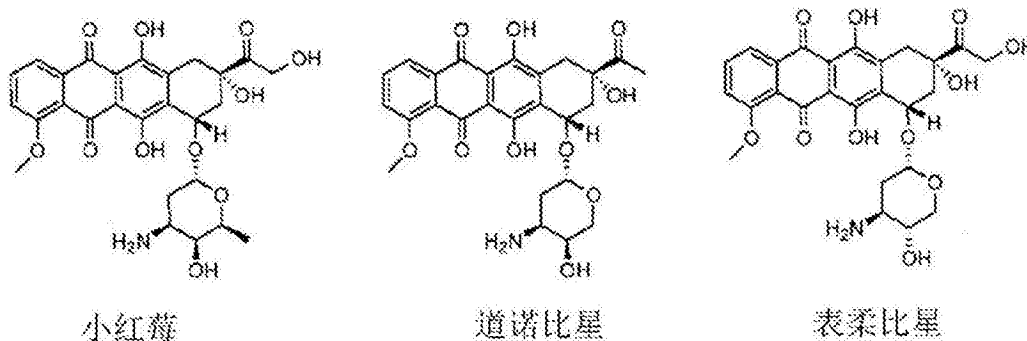
[0304] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的负载药物的胶束,其中所述药物是SN-38。

[0305] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的负载药物的胶束,其中所述药物是S39625。

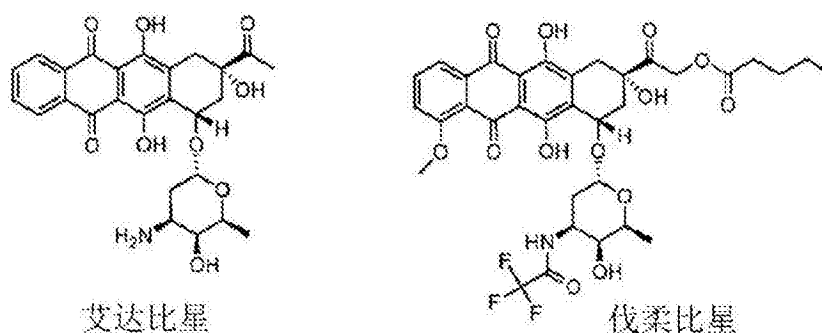
[0306] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的负载药物的胶束,其中所述药物是蒽环霉素 (anthracycline)。

[0307] 已经产生若干蒽环霉素衍生物并用于临床中治疗白血病、霍奇金氏淋巴瘤 (Hodgkin's lymphoma) 以及膀胱癌、乳癌、胃癌、肺癌、卵巢癌、甲状腺癌和软组织肉瘤。此类蒽环霉素衍生物包括道诺比星 (也称为道诺霉素 (Daunomycin) 或道诺霉素柔红霉素)、多柔比星 (doxorubicin) (也称为DOX、羟基道诺比星或阿德力霉素 (adriamycin))、表柔比星 (epirubicin) (也称为艾伦斯 (Ellence) 或法玛新 (Pharmorubicin))、艾达比星 (idarubicin) (也称为4-脱甲氧基道诺比星、善唯达 (Zavedos) 或艾达霉素 (Idamycin)) 和伐柔比星 (valrubicin) (也称为N-三氟乙酰基阿德力霉素-14-戊酸盐或瓦尔斯塔尔

(Valstar))。蒽环霉素通常制备为铵盐(例如盐酸盐)以提高水溶性并使其容易制备。



[0308]



[0309] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的负载药物的胶束,其中所述药物是道诺比星。

[0310] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的负载药物的胶束,其中所述药物是多柔比星。

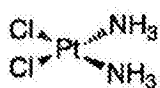
[0311] 氨基蝶呤是文献中众所周知的并且是作为抗赘生性剂的叶酸类似物。氨基蝶呤作为酶抑制剂,通过竞争酶二氢叶酸还原酶的叶酸盐结合位点来起作用。氨基蝶呤的结构展示于下文中。



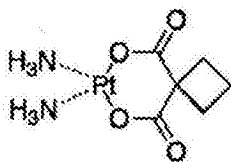
[0313] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的负载药物的胶束,其中所述药物是氨基蝶呤。

[0314] 基于铂的治疗剂是文献中众所周知的。铂治疗剂广泛用于肿瘤学中并用以交联导致细胞死亡(细胞凋亡)的DNA。卡铂(Carboplatin)、吡铂(picoplatin)、顺铂(cisplatin)和奥沙利铂(oxaliplatin)是例示性的铂治疗剂并且结构展示于下文中。

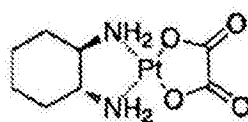
[0315]



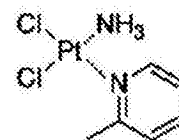
顺铂



卡铂



奥沙利铂



吡铂

[0316] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的负载药物的胶束,其中所述药物是吡铂。

[0317] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的负载药物的胶束,其中所述药物是铂治疗剂。

[0318] 适合于负载到本发明的胶束中的小分子药物是所属领域中众所周知的。在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的负载药物的胶束,其中所述药物是选自以下的疏水性药物:镇痛剂、消炎药、HDAC抑制剂、有丝分裂抑制剂、微管稳定剂、DNA嵌入剂、拓扑异构酶抑制剂、驱虫剂、抗心律失常剂、抗细菌剂、抗病毒剂、抗凝剂、抗抑郁剂、抗糖尿病药、抗癫痫药、抗真菌剂、抗痛风药、抗高血压药、抗疟疾药、抗偏头痛药、抗蕈毒碱药、抗赘生性剂、勃起功能障碍改善剂、免疫抑制剂、抗原虫剂、抗甲状腺药、抗焦虑剂、止痛药、安眠药、精神安定剂、β-阻断剂、心肌收缩药、皮质类固醇、利尿剂、抗帕金森氏病药、胃肠药、组织胺受体拮抗剂、角质溶解剂、脂质调节剂、抗心绞痛药、Cox-2抑制剂、白三烯抑制剂、大环内酯、肌肉松弛剂、营养剂、类鸦片镇痛剂、蛋白酶抑制剂、性激素、刺激剂、肌肉松弛剂、抗骨质疏松剂、减肥药、认知增强剂、抗尿失禁剂、抗良性前列腺肥大剂、必需脂肪酸、非必需脂肪酸以及其混合物。

[0319] 在其它实施例中,疏水性药物选自一或多种镇痛剂、抗细菌剂、抗病毒剂、消炎药、抗抑郁剂、抗糖尿病药、抗癫痫药、抗高血压药、抗偏头痛药、免疫抑制剂、抗焦虑剂、止痛药、安眠药、精神安定剂、β-阻断剂、胃肠药、脂质调节剂、抗心绞痛药、Cox-2抑制剂、白三烯抑制剂、大环内酯、肌肉松弛剂、类鸦片镇痛剂、蛋白酶抑制剂、性激素、认知增强剂、抗尿失禁剂以及其混合物。

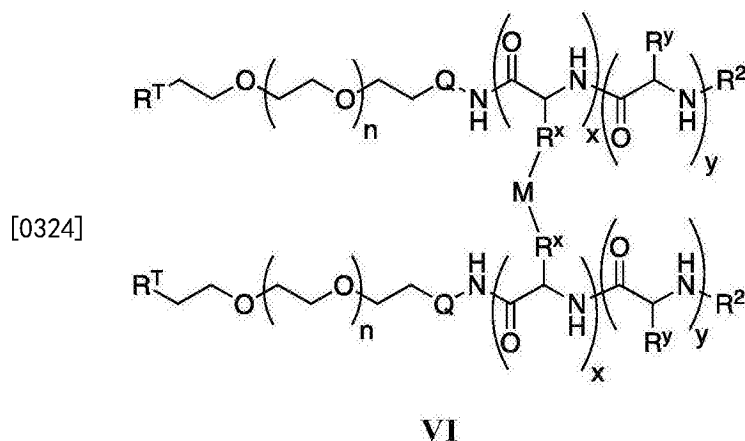
[0320] 根据一个方面,本发明提供了一种如本文中所述的负载疏水性药物的胶束,所述疏水性药物选自以下任一或多个:依西美坦 (Exemestane) (阿诺新 (aromasin))、坎普士沙 (Camptosar) (伊立替康 (irinotecan))、艾伦斯 (表柔比星)、弗隆 (Femara) (来曲唑 (Letrozole))、格列卫 (Gleevec) (甲磺酸伊马替尼 (imatinib mesylate))、兰特隆 (Lentaron) (福美司坦 (formestane))、塞特准 (Cytadren) / 奥美定 (Orimeten) (氨鲁米特 (aminoglutethimide))、特莫多 (Temodar)、保列治 (Proscar) (非那雄安 (finasteride))、维阿达 (Viadur) (亮丙立德 (leuprolide))、多吉美 (Nexavar) (索拉非尼 (Sorafenib))、格雷西隆 (Kytril) (格拉司琼 (Granisetron))、克癌易 (Taxotere) (多烯紫杉醇)、紫杉醇 (太平洋紫杉醇)、格雷西隆 (格拉司琼)、凡善能 (Vesanoid) (维甲酸 (tretinoin)) (瑞汀A (retin A))、希罗达 (XELODA) (卡培他滨 (Capecitabine))、阿纳托唑 (Arimidex) (阿那曲唑 (Anastrozole))、康士得 (Casodex) / 科士得 (Cosudex) (比卡鲁胺 (Bicalutamide))、芙仕得 (Faslodex) (氟维司群 (Fulvestrant))、易瑞沙 (Iressa) (吉非替尼 (Gefitinib))、诺瓦得士 (Nolvadex)、伊斯土包 (Istubal)、瓦伦得 (Valodex) (柠檬酸他莫昔芬 (tamoxifen))。

citrate))、托穆戴克斯(Tomudex)(雷替曲赛(Raltitrexed))、诺雷德(Zoladex)(乙酸戈舍瑞林(goserelin acetate))、乐司他丁(Leustatin)(克拉屈滨(Cladribine))、万珂(Velcade)(硼替佐米(bortezomib))、麦罗塔(Mylotarg)(吉妥珠单抗奥唑米星(gemtuzumab ozogamicin))、力比泰(Alimta)(培美曲塞(pemetrexed))、健择(Gemzar)(盐酸吉西他滨(gemcitabine hydrochloride))、美罗华(Rituxan)(利妥昔单抗(rituximab))、雷利米得(Revlimid)(来那度胺(lenalidomide))、撒利多迈(Thalomid)(撒利多胺(thalidomide))、爱克兰(Alkeran)(美法仑(melphalan))和其衍生物。

[0321] E. 交联化学反应

[0322] 在某些实施例中,本发明提供了交联的胶束,其在pH 7.4(血液)下有效地囊封疏水性或离子性治疗剂,但在5.0(内体pH值)到6.8(细胞外肿瘤pH值)范围内的目标酸性pH值下分解并释放药物。在其它实施例中,pH值可以调节在4.0与7.4之间。这些靶向pH值的纳米载体将极大地提高化学治疗剂的癌症特异性传递并将在有效化学疗法药物下通常遇到的有害副作用降到最低。此外,采用可以调整以跨越一定pH值范围分解的化学反应使得这些负载药物的胶束适用于治疗变得对药物具有抗性的实体肿瘤和恶性病。

[0323] 在某些实施例中,本发明提供了一种负载药物的胶束,其包含三嵌段共聚物,其中所述胶束具有负载药物的内部核心、交联的外部核心和亲水性外壳,其中三嵌段共聚物具有式VI:



[0325] 其中在单独与组合下,Q、J、T、x、y、n、Rx、Ry和R²如上文所定义并如本文类别和子类中所描述;

[0326] M是金属离子;

[0327] 每个R^T独立地选自-J-T或-Z(CH₂CH₂Y)_p(CH₂)_tR³,其中:

[0328] Z是-O-、-S-、-C≡C-或-CH₂-;

[0329] 每个Y独立地是-O-或-S-;

[0330] p是0-10;

[0331] t是0-10;以及

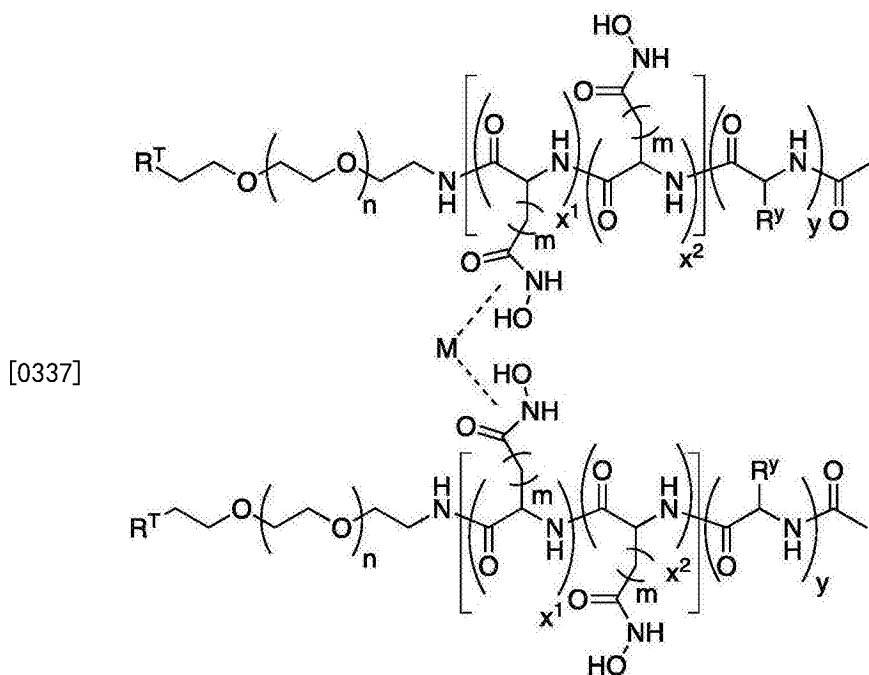
[0332] R³是-N₃、-CN、单保护胺、双保护胺、经保护的醛、经保护的羟基、经保护的羧酸、经保护的硫醇、9-30元冠醚或选自以下各基的任选地取代的基团:脂肪族基、具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5-8元饱和、部分不饱和或芳基环、具有0-5个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的8-10元饱和、部分不饱和或芳基双环或可检测部分;

[0333] Q是价键或二价的饱和或不饱和的直链或分支链C₁₋₁₂烃链,其中Q的0-6个亚甲基单元独立地经-Cy-、-O-、-NH-、-S-、-OC(O)-、-C(O)O-、-C(O)-、-SO-、-SO₂-、-NHSO₂-、-SO₂NH-、-NHC(O)-、-C(O)NH-、-OC(O)NH-或-NHC(O)O-置换,其中

[0334] -Cy-是具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的任选地取代的5-8元二价饱和、部分不饱和或芳基环或具有0-5个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的任选地取代的8-10元二价饱和、部分不饱和或芳基双环。

[0335] 在某些实施例中,M是铁。在其它实施例中,M是锌。在另一个实施例中,M是镍、钴、铜或铂。在其它实施例中,M是钙或铝。在其它实施例中,M是锆、锰、铂、钯、银、金、镉、铬、铟或铅。

[0336] 在某些实施例中,本发明提供了一种负载药物的胶束,其包含三嵌段共聚物,其中所述胶束具有负载药物的内部核心、交联的外部核心和亲水性外壳,其中三嵌段共聚物具有式VII:



VII

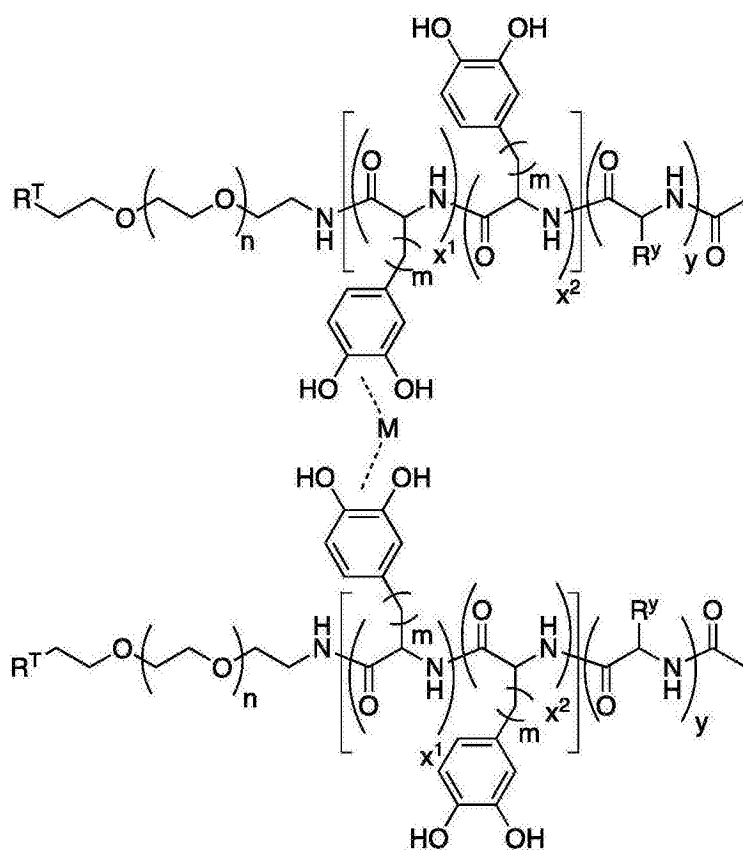
[0338] 其中在单独与组合下,Q、J、T、M、m、y、n、R^y和R^T每一者如上文所定义并如本文类别和子类中所描述;

[0339] x^1 是 1-20; 以及

[0340] x^2 是0-20。

[0341] 在某些实施例中,本发明提供了一种负载药物的胶束,其包含三嵌段共聚物,其中所述胶束具有负载药物的内部核心、交联的外部核心和亲水性外壳,其中三嵌段共聚物具有式VIII:

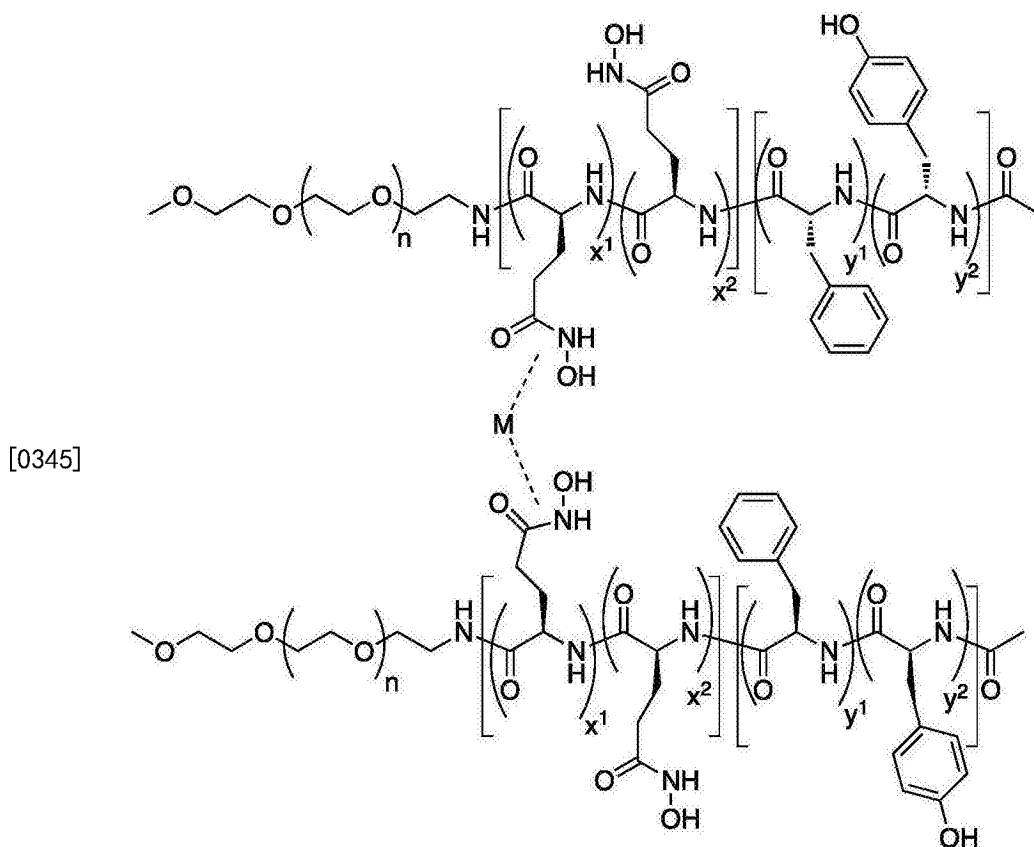
[0342]



VIII

[0343] 其中在单独与组合下, Q、J、T、M、m、y、x¹、x²、n、R^y和R^T如上文所定义并如本文类别和子类中所描述。

[0344] 在某些实施例中, 本发明提供了一种负载药物的胶束, 其包含三嵌段共聚物, 其中所述胶束具有负载药物的内部核心、交联的外部核心和亲水性外壳, 其中三嵌段共聚物具有式IX:



IX

[0346] 其中在单独与组合下，M、 x^1 、 x^2 和n每一者如上文所定义并如本文类别和子类中所描述；

[0347] y^1 是5-30；以及

[0348] y^2 是10-40。

[0349] 所属领域的技术人员将显而易见的是，本发明的负载药物的交联胶束由数十到数百条聚合物链构成。尽管在式VI、VII、VIII或IX中任一式中仅仅描绘由金属离子连接的两条聚合物链，但应了解聚合物胶束由更多聚合物链构成，不描绘是为了便于呈现。

[0350] 在其它实施例中，本发明提供了一种系统，其包含式I的三嵌段共聚物、疏水性治疗剂和金属离子。在另一个实施例中，本发明提供了一种系统，其包含单独或组合的式I、II、III和IV中任一式的三嵌段共聚物、疏水性治疗剂和金属离子。在又一个实施例中，本发明提供了一种系统，其包含式II的三嵌段共聚物、疏水性治疗剂和金属离子。

[0351] 在其它实施例中，本发明提供了一种系统，其包含式VI的三嵌段共聚物和疏水性治疗剂。在另一个实施例中，本发明提供了一种系统，其包含单独或组合的式VI、VII、VIII和IX中任一式的三嵌段共聚物和疏水性治疗剂。在又一个实施例中，本发明提供了一种系统，其包含式VII的三嵌段共聚物和疏水性治疗剂。在一些实施例中，本发明提供了一种系统，其包含式XI的三嵌段共聚物和疏水性治疗剂。

[0352] 金属介导的交联的最终目标是确保在血液中 (pH 7.4) 稀释时胶束的稳定性，接着回应于有限的pH值改变，例如在肿瘤环境中发现的pH值改变，迅速分解并释放药物。

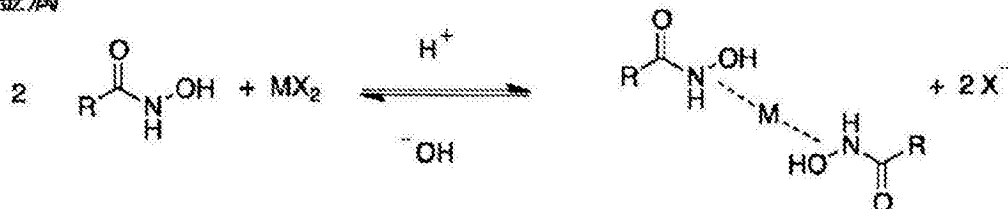
[0353] 在本发明的一个方面，负载药物的胶束经由异羟肟酸部分交联。如上文所述的异羟肟酸螯合某些金属，如罗萨尔等人大分子1981, 14, 538-543 (Rosthauser

et.al.Macromolecules 1981,14,538-543) 和米勒化学评论1989,89,1563-1579 (Miller Chemical Reviews 1989,89,1563-1579) (下文“米勒”) 中所描述。此螯合化学展示在方案1中。

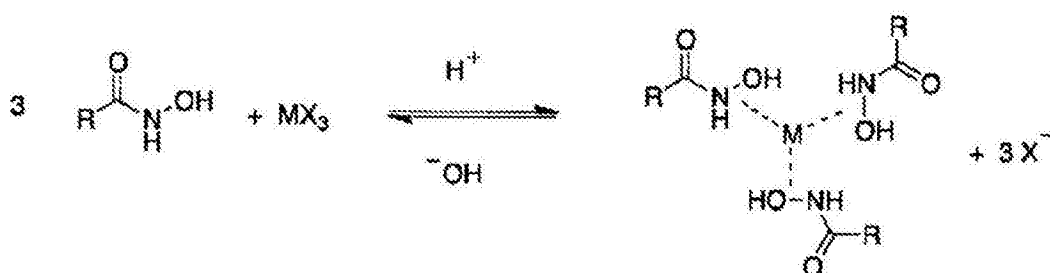
[0354] 方案1.

[0355]

二价金属



三价金属



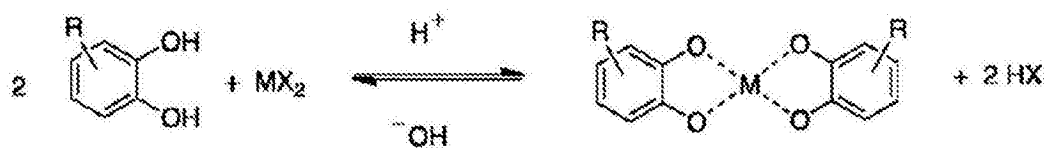
[0356] 因此,金属离子添加到本发明的负载药物的胶束将引起金属离子被异羟肟酸螯合,得到交联的负载药物的胶束。金属离子选自(但不限于):铁、镍、钴、锌、钙、铜、镉、铂、钯、钒、锰和钛。

[0357] 所属领域的技术人员将认识到式VI、VII或VIII的M基团可以是二价或三价金属离子。还认识到为了清楚起见,式VI、VII或VIII的结构使用二价金属离子表示。在如方案1中所述的三价金属离子情况下,应了解可以有三个异羟肟酸或儿茶酚基团结合于单个金属离子。

[0358] 在本发明的一个方面,负载药物的胶束经由儿茶酚部分交联。如上文所述的儿茶酚与金属离子络合,如方案2中表示。儿茶酚与金属离子的螯合也描述于米勒中。因此,金属离子添加到本发明的负载药物的胶束将引起金属离子被异羟肟酸螯合,得到交联的负载药物的胶束。金属离子选自(但不限于):铁、镍、钴、锌、钙、铜、镉、钒、锰和钛。

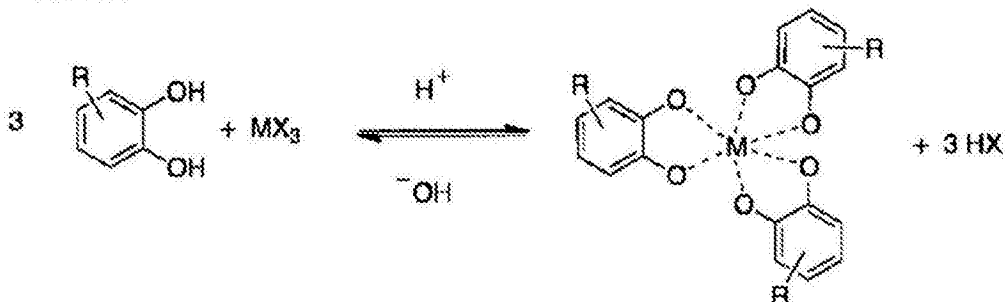
[0359] 方案2.

二价金属

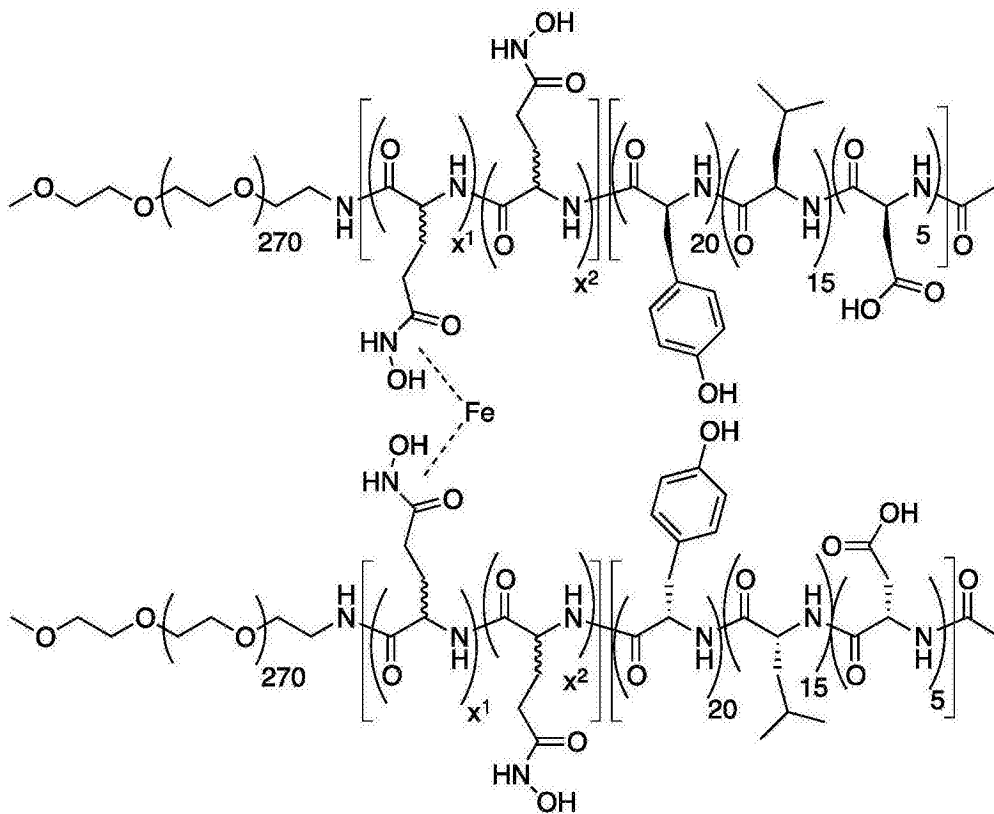


三价金属

[0360]

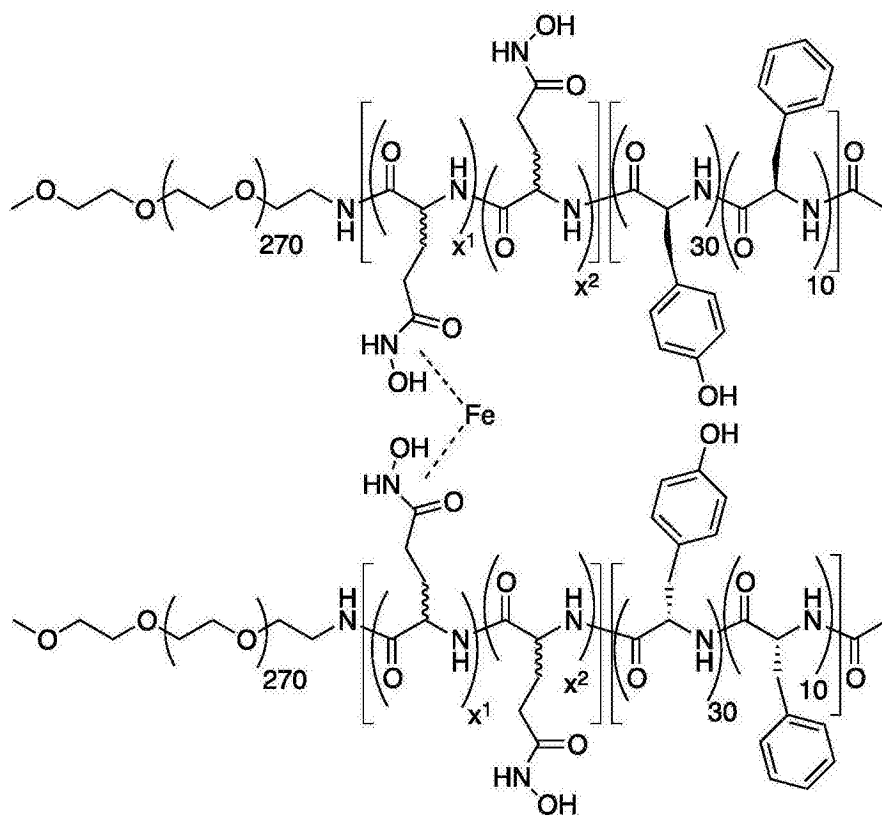


[0361] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的交联的负载药物的胶束,其中所述聚合物是



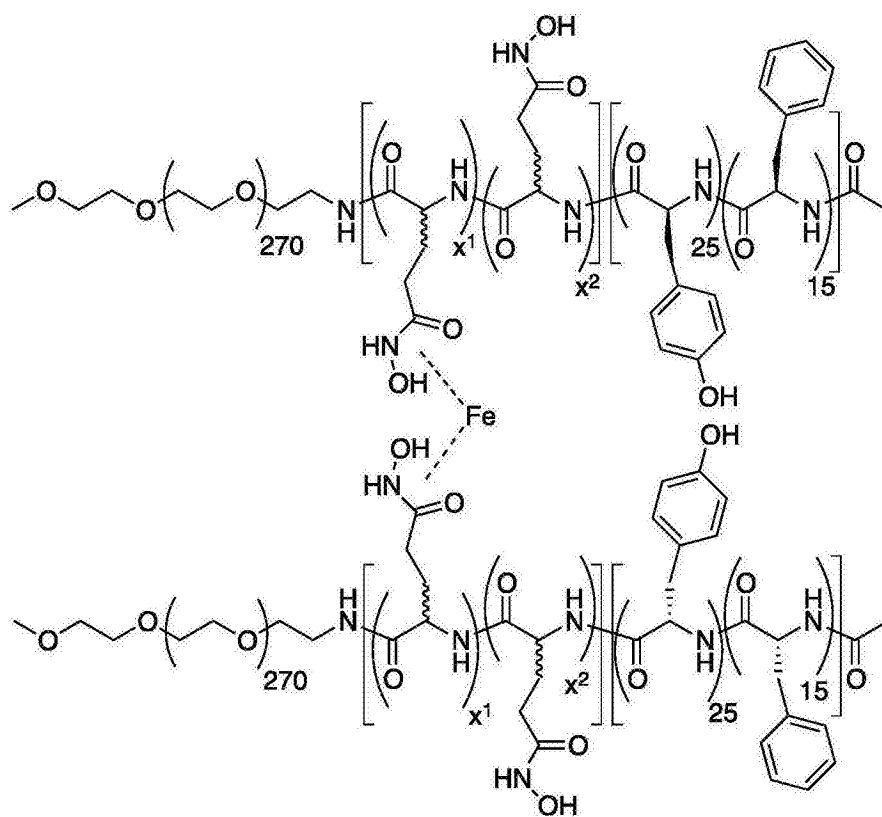
[0363] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的交联的负载药物的胶束,其中所述聚合物是

[0364]



[0365] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的交联的负载药物的胶束,其中所述聚合物是

[0366]



[0367] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的交联的负载药物的胶束,其中所述药物是紫杉烷。

[0368] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的交联的负载药物的胶束,其中所述药物是太平洋紫杉醇。

[0369] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的交联的负载药物的胶束,其中所述药物是多烯紫杉醇。

[0370] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的交联的负载药物的胶束,其中所述药物是卡巴他赛。

[0371] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的交联的负载药物的胶束,其中所述药物是埃坡霉素。

[0372] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的交联的负载药物的胶束,其中所述药物是埃坡霉素B或埃坡霉素D。

[0373] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的交联的负载药物的胶束,其中所述药物是埃坡霉素A或埃坡霉素C。

[0374] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的交联的负载药物的胶束,其中所述药物是长春花生物碱。

[0375] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的交联的负载药物的胶束,其中所述药物是长春瑞宾。

[0376] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的交联的负载药物的胶束,其中所述药物是小檗碱。

[0377] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的交联的负载药物的胶束,其中所述药物是小檗红碱。

[0378] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的交联的负载药物的胶束,其中所述药物是喜树碱。

[0379] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的交联的负载药物的胶束,其中所述药物是SN-38。

[0380] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的交联的负载药物的胶束,其中所述药物是S39625。

[0381] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的交联的负载药物的胶束,其中所述药物是埃坡霉素。

[0382] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的交联的负载药物的胶束,其中所述药物是道诺比星。

[0383] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的交联的负载药物的胶束,其中所述药物是多柔比星。

[0384] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的交联的负载药物的胶束,其中所述药物是氨基蝶呤。

[0385] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的交联的负载药物的胶束,其中所述药物是吡铂。

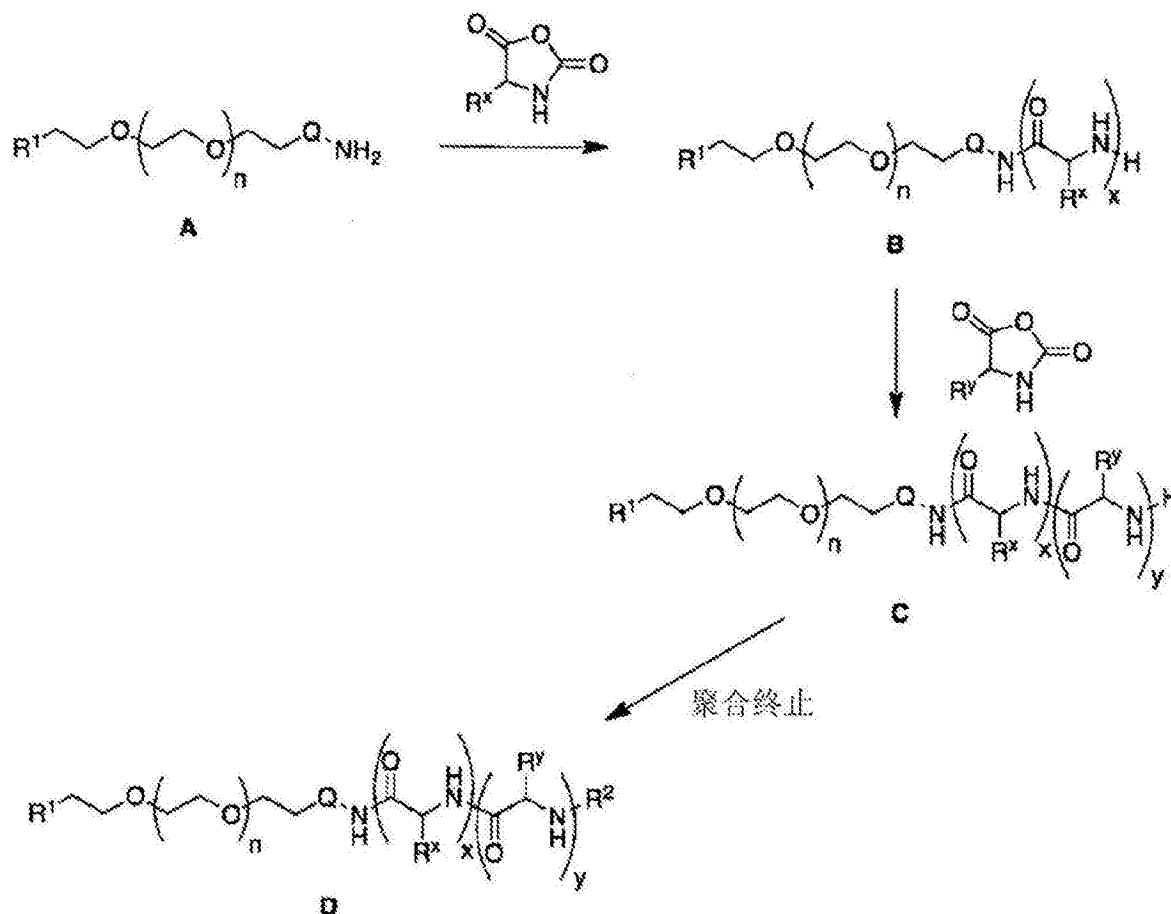
[0386] 在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的交联的负载药物的胶束,其中所述药物是铂治疗剂。

[0387] 4.得到本发明的化合物的一般方法

[0388] 本发明的多嵌段共聚物通过所属领域的技术人员已知的方法制备。一般地,此类多嵌段共聚物通过依序将一或多种环状氨基酸单体聚合到具有末端胺的亲水性聚合物上来制备,其中所述聚合通过所述胺引发。在某些实施例中,所述聚合通过环状氨基酸单体的开环聚合发生。在其它实施例中,环状氨基酸单体是氨基酸NCA、内酰胺或酰亚胺。

[0389] 方案3

[0390]



[0391] 以上方案3描绘了用于制备本发明的多嵌段聚合物的一般方法。式A的大分子引发剂用第一氨基酸NCA处理,以形成具有第一氨基酸嵌段的式B化合物。第二氨基酸NCA添加到式B的活聚合物,得到具有两个不同氨基酸嵌段的式C的三嵌段共聚物。在单独与组合下,方案3中所描绘的 R^1 、 R^2 、 n 、 Q 、 R^x 、 R^y 、 x 和 y 基团每一者如本文中所定义和类别和子类中所描述。

[0392] 式I化合物制备中的一个步骤包含用聚合终止剂将活聚合物链末端封端,得到式I化合物。所属领域的技术人员将认识到聚合终止剂提供式I的 R^2 基团。因此,如上文和本文中阐述的针对式I的 R^2 基团的实施例也是针对聚合终止剂本身,并且类似地,如上文和本文中阐述的针对聚合终止剂的实施例也是针对式I的 R^2 基团。

[0393] 如上文所描述,式I化合物由式C化合物,通过用终止剂处理来制备。所属领域的技术人员将认识到式I化合物还容易直接由式C化合物制备。所属领域的技术人员还将认识到,以上制备式I化合物的方法可以呈式I化合物的“一锅”合成进行,所述“一锅”合成利用活聚合物链末端并入式I的 R^2 基团。或者,式I化合物也可以按多步骤方式制备。举例来说,式C化合物的活聚合物链末端可以淬灭,得到氨基,所述氨基随后可以根据已知方法进一步衍生,得到式I化合物。

[0394] 所属领域的技术人员将认识到多种聚合终止剂用于本发明。此类聚合终止剂包括任何能够与式C化合物的活聚合物链末端反应的含 R^2 的基团或式C的游离碱性氨基,得到式I化合物。因此,聚合终止剂包括酸酐和其它酰化剂,以及含有进行亲核置换的离去基LG的基团。

[0395] 或者,式C化合物可以偶合于含有羧酸的基团以形成其酰胺。因此,预期式C的胺基可以与羧酸部分偶合以获得其中 R^2 是 $-NHC(O)R^4$ 的式I化合物。此类偶合反应在所属领域中是众所周知的。在某些实施例中,偶合用偶合试剂实现。此类试剂是所属领域中众所周知的并尤其包括例如DCC和EDC。在其它实施例中,羧酸部分活化用于偶合反应中。此类活化包括形成酰基卤化物、使用向山试剂(Mukaiyama reagent)等等。这些方法和其它方法是所属领域的技术人员已知的,例如参见“高等有机化学”,杰瑞马奇,第5版,第351-357页,约翰·威利父子公司,纽约(“Advanced Organic Chemistry,”Jerry March, 5th Ed., pp.351-357, John Wiley and Sons, N.Y.)。

[0396] “进行亲核置换的适合离去基”是容易被所需引入的化学部分置换的化学基团。适合的离去基是所属领域中众所周知的,例如参见马奇。此类离去基包括(但不限于)卤素、烷氧基、磺酰氧基、任选地取代的烷基磺酰氧基、任选地取代的烯基磺酰氧基、任选地取代的芳基磺酰氧基和重氮部分。适合的离去基的实例包括氯基、碘基、溴基、氟基、甲烷磺酰氧基(甲磺酰氧基)、甲苯磺酰氧基、三氟甲磺酰氧基、硝基-苯基磺酰氧基(硝基苯磺酰氧基)和溴-苯基磺酰氧基(溴苯磺酰氧基)。

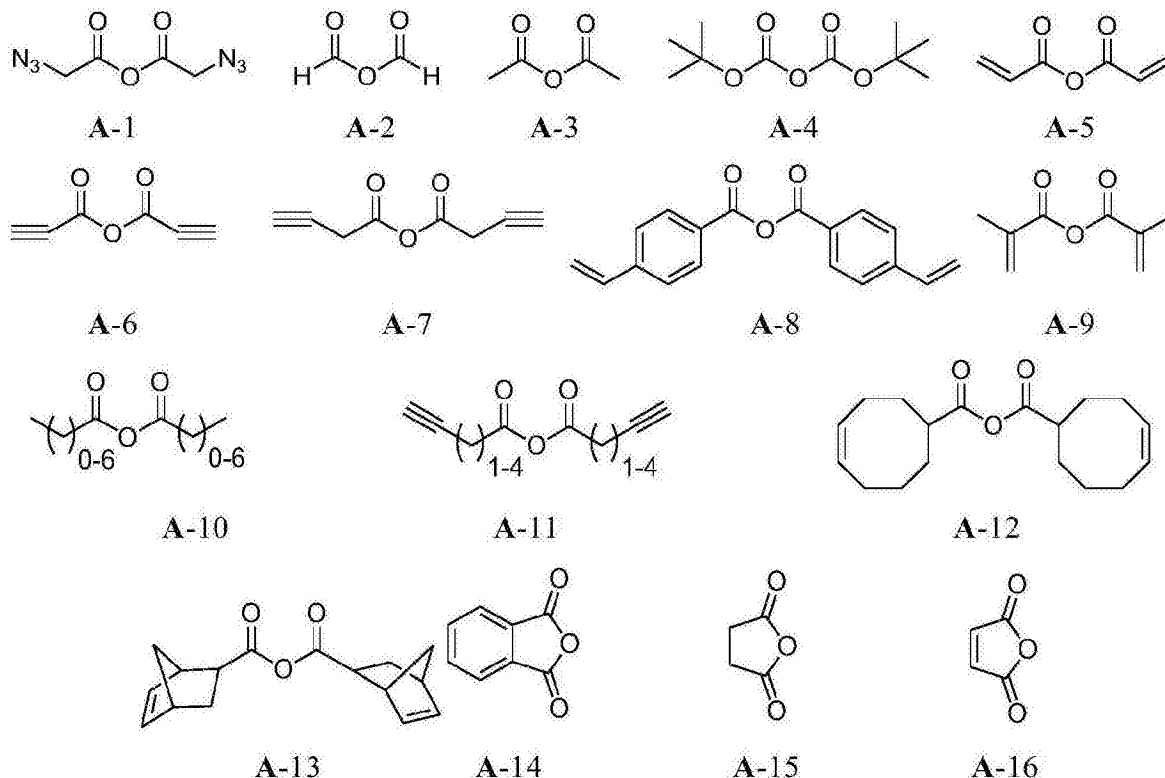
[0397] 根据一个替代实施例,离去基可以在反应介质内原位产生。举例来说,离去基可以由化合物的前驱体原位产生,其中所述前驱体含有容易被所述离去基原位置换的基团。

[0398] 或者,当式I的 R^2 基团是单或双保护胺时,去除保护基并可以衍生官能团或经不同保护基保护。应了解,式I的 R^2 基团的任何保护基通过用于保护基的方法去除。此类方法详细地描述于格林中。

[0399] 在其它实施例中,式I的 R^2 基团通过将式C的氨基经由酸酐偶合,按需要任选地在存在碱下衍生化来并入。所属领域的技术人员将认识到,含有叠氮化物、醛、羟基、炔和其它基团或其经保护形式的酸酐聚合终止剂可以用于将所述叠氮化物、所述醛、所述经保护的羟基、所述炔和其它基团并入式I化合物的 R^2 基团中。还应了解,此类酸酐聚合终止剂还适合于将式C化合物或其游离碱的活聚合物链末端封端。此类酸酐聚合终止剂包括(但不限于)以下表3中阐述的终止剂。

[0400] 表3. 代表性的酸酐聚合终止剂

[0401]



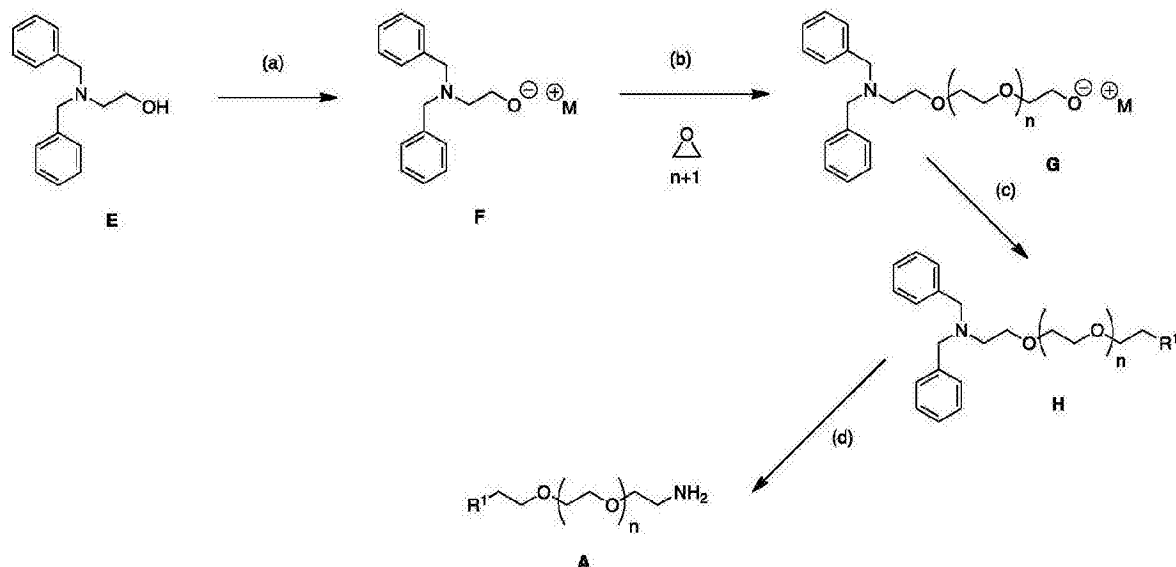
[0402] 在某些实施例中,亲水性聚合物嵌段是具有末端胺的聚(乙二醇)(PEG) (“PEG大分子引发剂”)。此PEG大分子引发剂引发NCA的聚合,从而得到本发明的多嵌段共聚物。此类具有末端胺基的合成聚合物是所属领域中已知的,并包括PEG-胺。PEG-胺可以通过将适当经保护的PEG-胺脱除保护基来获得。此类适当经保护的PEG-胺的制备以及其脱除保护基的方法详细地描述于2005年10月24日提交并作为US 20060142506于2006年6月29日公开的美国专利申请案序号11/256,735中,其全部内容以引用的方式并入本文中。

[0403] 如US 20060142506中所描述,适当经保护的PEG-胺可以通过用含有适当经保护的胺的终止剂将PEG的活聚合物链末端封端来形成。因此,在其它实施例中,终止剂具有适当经保护的氨基,其中所述保护基是酸不稳定的。

[0404] 或者,具有末端胺的合成聚合物可以由含有可以通过已知的合成途径转化成胺的末端官能团的合成聚合物制备。在某些实施例中,末端官能团到胺的转化以单一合成步骤进行。在其它实施例中,末端官能团到胺的转化以多步骤顺序的方式实现。在又一个实施例中,经保护的胺引发剂可以用以聚合环氧乙烷,随后用适当的官能团封端,以形成式I的R¹基团。经保护的胺引发剂可以随后脱除保护基,以获得游离胺用于随后聚合。得到胺或经保护的胺的官能团转换是所属领域中众所周知的,并包括拉洛克,“综合有机转换”,约翰·威利父子公司,纽约,1999 (Larock, R.C., “Comprehensive Organic Transformations,” John Wiley & Sons, New York, 1999) 中描述的那些官能团转换。

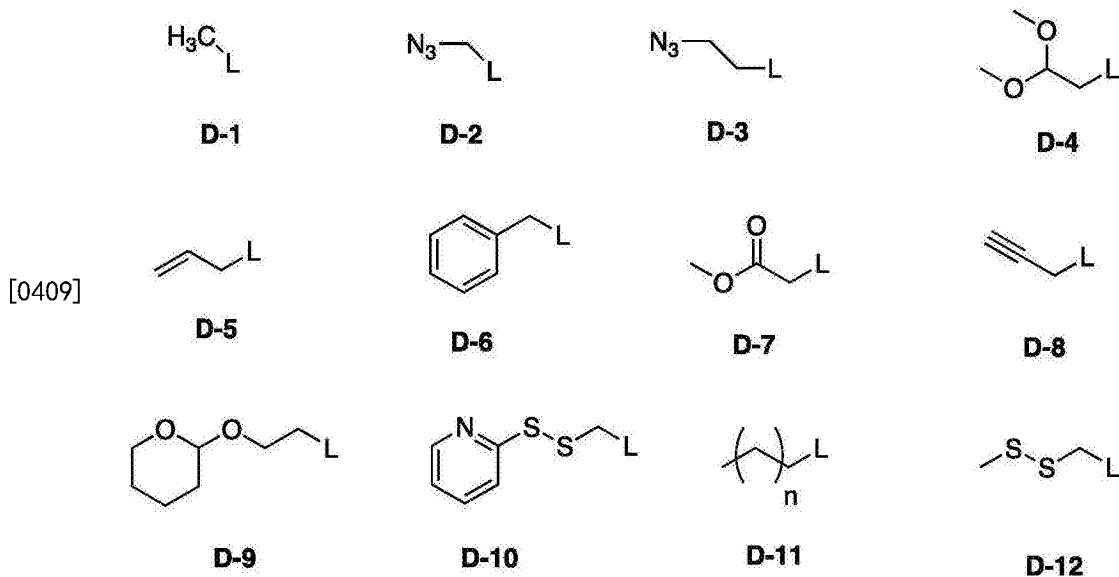
[0405] 方案4

[0406]



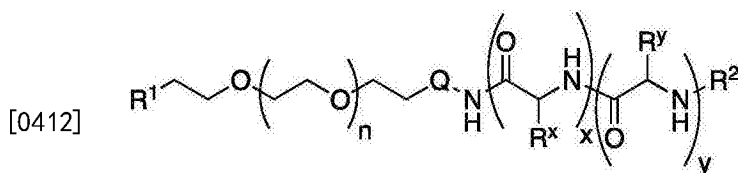
[0407] 以上方案4展示一种用来制备本发明的多嵌段共聚物的双官能PEG的例示性制备方法。在步骤(a)，聚合引发剂E用碱处理以形成F。多种碱适合于步骤(a)的反应。此类碱包括(但不限于)萘基钾、二苯甲基钾、三苯甲基钾和氢化钾。在步骤(b)，所得阴离子用环氧乙烷处理以形成聚合物G。随后在步骤(c)，聚合物G用终止剂淬灭，以形成聚合物H的R¹基团。可以在表4中找到用于聚合物G的例示性终止剂。聚合物H可以在步骤(d)通过利用氢化将二苯甲基胺基脱除保护基来转换成式A化合物。

[0408] 表4. 例示性PEG终止剂



[0410] 根据另一个实施例，本发明提供了一种用于制备包含多嵌段共聚物的胶束的方法，所述多嵌段共聚物包含亲水性聚合物嵌段、任选地可交联或交联的聚(氨基酸嵌段)和疏水性聚(氨基酸)嵌段，其特征在于所述胶束具有内部核心、任选地可交联或交联的外部核心和亲水性外壳，所述方法包含以下步骤：

[0411] (a) 提供式I的多嵌段共聚物：



I

[0413] 其中在单独与组合下,式I的 R^1 、 R^2 、Q、 R^x 、 R^y 、n、x和y基团每一者如本文中各种类别和子类中描述,

[0414] (b) 将所述式I化合物与治疗剂组合;以及

[0415] (c) 用交联试剂处理所得胶束以交联 R^x 。

[0416] 在一个实施例中,药物通过添加共聚物水溶液的等分试样到待并入的药物中来负载到胶束内部核心。举例来说,制备药物于极性有机溶剂中的储备溶液并蒸发,并随后添加共聚物/水溶液。在另一个实施例中,药物使用水包油型乳化技术并入。在此情况下,药物溶解于有机溶剂中并逐滴添加到水中的胶束溶液中,并且在溶剂蒸发期间药物并入胶束中。在另一个实施例中,药物与共聚物溶解于常见的极性有机溶剂中并针对水或另一含水介质透析。参见艾伦;梅辛格;伊诗贝格胶体表面B 1999,16,3-27 (Allen,C.;Maysinger,D.;Eisenberg A.Colloid Surface B 1999,16,3-27)。

[0417] 5.用途、方法和组合物

[0418] 如本文中所述,本发明的胶束可以囊封各种适用于治疗各种疾病的治疗剂。在某些实施例中,本发明提供了一种如本文中所述的负载药物的胶束,其中所述胶束适用于治疗用已知药物可以治疗的病症。根据一个实施例,本发明提供了一种用于治疗一或多种病症的方法,所述病症选自疼痛、发炎、心律失常、关节炎(类风湿性或骨关节炎)、动脉粥样硬化、再狭窄、细菌感染、病毒感染、抑郁症、糖尿病、癫痫症、真菌感染、痛风、高血压、疟疾、偏头痛、癌症或其它增生性病症、勃起功能障碍、甲状腺病症、神经病症和激素相关疾病、帕金森氏病(Parkinson's disease)、亨廷顿氏病(Huntington's disease)、阿尔茨海默氏病(Alzheimer's disease)、胃肠病、过敏症、自身免疫病症(例如哮喘或牛皮癣)、骨质疏松、肥胖和并存病、认知病症、中风、AIDS相关痴呆症、肌肉萎缩性侧索硬化(ALS、葛雷克氏症(Lou Gehrig's disease))、多发性硬化症(MS)、精神分裂症、焦虑、躁郁症、Tau蛋白病、脊髓或周边神经损伤、心肌梗塞、心肌细胞肥大、青光眼、注意力缺失症(ADD或ADHD)、睡眠障碍、再灌注/缺血、血管生成病症或尿失禁,其包含向患者投与包含多嵌段共聚物的胶束,所述多嵌段共聚物包含亲水性聚合物嵌段、任选地可交联或交联的聚(氨基酸嵌段)和疏水性D,L-混合聚(氨基酸嵌段),其特征在于所述胶束具有负载药物的内部核心、任选地可交联或交联的外部核心和亲水性外壳,其中所述胶束囊封适合于治疗所述病症的治疗剂。

[0419] 在其它实施例中,本发明提供了一种用于治疗一或多种病症的方法,所述病症选自自体免疫疾病、发炎性疾病、代谢失调、精神病症、糖尿病、血管生成病症、Tau蛋白病、神经或神经退化性病症、脊髓损伤、青光眼、秃头或心血管疾病,其包含向患者投与多嵌段共聚物,所述多嵌段共聚物包含亲水性聚合物嵌段、任选地可交联或交联的聚(氨基酸嵌段)和疏水性D,L-混合聚(氨基酸嵌段),其特征在于所述胶束具有负载药物的内部核心、任选地可交联或交联的外部核心和亲水性外壳,其中所述胶束囊封适合于治疗所述病症的治疗剂。

[0420] 在某些实施例中,本发明的负载药物的胶束适用于治疗癌症。因此,本发明的另一方面提供了一种用于治疗患者的癌症的方法,其包含向患者投与多嵌段共聚物,所述多嵌段共聚物包含亲水性聚合物嵌段、任选地可交联或交联的聚(氨基酸嵌段)和疏水性D,L-混合聚(氨基酸嵌段),其特征在于所述胶束具有负载药物的内部核心、任选地可交联或交联的外部核心和亲水性外壳,其中所述胶束囊封化学治疗剂。根据另一个实施例,本发明涉及一种治疗癌症的方法,所述癌症选自乳癌、卵巢癌、子宫颈癌、前列腺癌、睾丸癌、泌尿生殖道癌、食道癌、喉癌、成胶质细胞瘤、成神经细胞瘤、胃癌、皮肤癌、角化棘皮瘤、肺癌、表皮样瘤、大细胞癌、小细胞癌、肺腺癌、骨癌、结肠癌、腺瘤、胰腺癌、腺癌、甲状腺癌、滤泡性癌、未分化性癌、乳头状癌、精原细胞瘤、黑色素瘤、肉瘤、膀胱癌、肝癌和胆道癌、肾脏癌、骨髓病、淋巴病、霍奇金氏病、毛细细胞瘤、颊腔和咽(口腔)癌、唇癌、舌癌、口腔癌、咽癌、小肠癌、结肠-直肠癌、大肠癌、直肠癌、脑癌和中枢神经系统癌和白血病,其包含投与根据本发明的胶束,其中所述胶束囊封适合于治疗所述癌症的化学治疗剂。

[0421] 在高等真核生物的质膜中发现了P-糖蛋白(Pgp,也称为多药耐药蛋白),其在质膜中引起ATP水解驱动的疏水性分子输出。动物中,Pgp在排泄环境毒素和免受环境毒素伤害中起到重要的作用,当在癌细胞质膜中表达时其可以通过阻止疏水性化学治疗药物到达其在细胞内的靶靶而引起化学疗法失效。实际上,已知Pgp将疏水性化学治疗药物从肿瘤细胞输送出去。根据一个方面,本发明提供了一种用于传递疏水性化学治疗药物到癌细胞同时防止或减少化学治疗药物的Pgp排泄的方法,其包含投与负载药物的胶束,所述胶束包含负载疏水性化学治疗药物的本发明的多嵌段聚合物。此类疏水性化学治疗药物是所属领域中众所周知的并包括本文所述的疏水性化学治疗药物。

[0422] 组合物

[0423] 根据另一个实施例,本发明提供了一种组合物,其包含本发明的胶束或其药学上可接受的衍生物和药学上可接受的载剂、佐剂或媒剂。在某些实施例中,调配本发明的组合物用于投与需要所述组合物的患者。在其它实施例中,调配本发明的组合物用于经口投与患者。

[0424] 如本文所用,术语“患者”意指动物,优选地是哺乳动物,并且最优选地是人类。

[0425] 术语“药学上可接受的载剂、佐剂或媒剂”是指不会破坏一起调配的化合物的药理学活性的无毒载剂、佐剂或媒剂。可以在本发明的组合物中使用的药学上可接受的载剂、佐剂或媒剂包括(但不限于)离子交换剂、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白(例如人类血清白蛋白)、缓冲物质(例如磷酸盐)、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物、水、盐或电解质(例如硫酸鱼精蛋白、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐)、胶态二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、基于纤维素的物质、聚乙二醇、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸酯、蜡、聚乙烯-聚氧丙烯-嵌段聚合物、聚乙二醇和羊毛脂。

[0426] 本发明的化合物的药学上可接受的盐包括衍生自药学上可接受的无机和有机酸和碱的盐。酸式盐的实例包括乙酸盐、己二酸盐、海藻酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、硫酸氢盐、丁酸盐、柠檬酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙烷磺酸盐、甲酸盐、反丁烯二酸盐、葡萄糖庚酸盐、甘油磷酸盐、羟乙酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、2-羟基乙烷磺酸盐、乳酸盐、顺丁烯二酸盐、丙二酸盐、甲烷磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟碱酸盐、硝酸盐、草酸盐、双羟萘酸盐、果胶酸

盐、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、磷酸盐、苦味酸盐、特戊酸盐、丙酸盐、水杨酸盐、丁二酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、甲苯磺酸盐和十一烷酸盐。尽管例如草酸等其它酸本身不是药学上可接受的,但可以将其用于制备适用作获得本发明化合物和其药学上可接受的酸加成盐中的中间物的盐。

[0427] 衍生自适当碱的盐包括碱金属(例如钠和钾)、碱土金属(例如镁)、铵和N⁺(C1-4烷基)4盐。本发明亦预见本文中所公开的化合物的任何碱性含氮基团的季铵化。可以通过此类季铵化来获得水或油溶性或可分散性产物。

[0428] 本发明的组合物可以经口、不经肠、通过吸入喷雾、局部、经直肠、经鼻、经颊、经阴道或经由植入式贮器投与。如本文所用,术语「不经肠」包括皮下、静脉内、肌肉内、关节内、滑膜内、胸骨内、鞘内、肝内、病灶内和颅内注射或输注技术。优选地,组合物经口、经腹膜内或经静脉内投与。本发明组合物的无菌可注射形式可以是水性或油性悬浮液。这些悬浮液可以根据所属领域中已知的技术使用分散剂或湿润剂和悬浮剂来调配。无菌可注射制剂也可以是在无毒不经肠可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液或悬浮液,例如呈在1,3-丁二醇中的溶液形式。在可接受的媒剂和溶剂中,可采用的是水、林格氏溶液(Ringer's solution)和等渗氯化钠溶液。另外,无菌不挥发性油通常用作溶剂或悬浮介质。

[0429] 出于此目的,可以采用任何温和的不挥发性油,包括合成单或二甘油酯。例如油酸等脂肪酸和其甘油酯衍生物适用于制备可注射剂,例如橄榄油或蓖麻油,尤其其聚氧乙基化型式等天然药学上可接受的油也适用。这些油溶液或悬浮液还可以含有长链醇稀释剂或分散剂,例如羧甲基纤维素或常用于调配药学上可接受的剂型(包括乳液和悬浮液)的类似分散剂。出于调配的目的,也可以使用其它常用的表面活性剂(例如吐温(Tween)、斯潘(Span))和常用于制造药学上可接受的固体、液体或其它剂型中的其它乳化剂或生物可用性增强剂。

[0430] 本发明的药学上可接受的组合物可以按任何经口可接受的剂型经口投与,所述剂型包括(但不限于)胶囊、片剂、水性悬浮液或溶液。在用于经口使用的片剂的情况下,常用载剂包括乳糖和玉米淀粉。还典型地添加例如硬脂酸镁等润滑剂。为了以胶囊形式经口投与,适用的稀释剂包括乳糖和干燥玉米淀粉。当为了经口使用而需要水性悬浮液时,活性成分与乳化剂和悬浮剂组合。必要时,也可以添加某些甜味剂、调味剂或着色剂。在某些实施例中,本发明的药学上可接受的组合物包覆肠溶包衣。

[0431] 或者,本发明的药学上可接受的组合物可以按用于直肠投药的栓剂形式投与。这些栓剂可以通过将药剂与适合的非刺激性赋形剂混合来制备,所述赋形剂在室温下为固体但在直肠温度下为液体并因此将在直肠中熔融以释放药物。所述物质包括可可脂、蜂蜡和聚乙二醇。

[0432] 本发明的药学上可接受的组合物也可以局部投与,尤其当治疗目标包括通过局部施用容易达到的区域或器官(包括眼睛、皮肤或下部肠道的疾病)时。容易制备适合局部调配物用于这些区域或器官中的每一者。

[0433] 用于下部肠道的局部涂覆可以呈直肠栓剂调配物(参见上文)或呈适合灌肠调配物实现。也可以使用局部经皮贴片。

[0434] 对于局部涂覆来说,药学上可接受的组合物可以调配成含有活性组分悬浮或溶解在一或多种载剂中的软膏。用于局部投与本发明化合物的载剂包括(但不限于)矿物油、液

体矿脂、白矿脂、丙二醇、聚氧化乙烯、聚氧化丙烯化合物、乳化蜡和水。或者,药学上可接受的组合物可以调配成含有活性组分悬浮或溶解在一或多种药学上可接受的载剂中的洗剂或乳膏。适合的载剂包括(但不限于)矿物油、脱水山梨糖醇单硬脂酸酯、聚山梨醇酯60、十六酯蜡、十六醇十八醇、2-辛基十二醇、苯甲醇和水。

[0435] 对于眼科使用,药学上可接受的组合物可以在有或没有例如氯苄烷铵(benzylalkonium chloride)等防腐剂存在下,调配成在pH值经调整的等渗无菌生理食盐水中的微粉化悬浮液或优选地调配成在pH值经调整的等渗无菌生理食盐水中的溶液。或者对于眼科使用,药学上可接受的组合物可以在例如矿脂等软膏中调配。

[0436] 本发明的药学上可接受的组合物也可以通过鼻气雾剂或吸入投与。此类组合物是根据医药调配技术中众所周知的技术制备,并可以采用苯甲醇或其它防腐剂、增强生物可用性的吸收促进剂、碳氟化合物和/或其它常规的增溶剂或分散剂制备为于生理食盐水中的溶液。

[0437] 在某些实施例中,调配本发明的药学上可接受的组合物用于经口投与。

[0438] 可以与载剂物质组合以产生呈单一剂型的组合物的本发明化合物的量将取决于所治疗的宿主、具体投药模式而变化。优选地,应该调配组合物以使得可以向接受这些组合物的患者投与剂量介于0.01-100毫克/千克体重/天之间的药物。

[0439] 应了解,本发明涵盖通常用于囊封药物的剂量。在某些实施例中,向患者投与本发明的负载药物的胶束,其中药物的剂量等于所述药物的通常投与量。在其它实施例中,向患者投与本发明的负载药物的胶束,其中所述药物的剂量低于所述药物的通常投与量。

[0440] 还应了解,用于任何特定患者的具体剂量和治疗方案将视很多因素而定,这些因素包括所用具体化合物的活性、年龄、体重、一般健康、性别、膳食、投与时间、排泄率、药物组合和治疗医师的判断以及所治疗特定疾病的严重程度。组合物中本发明化合物的量还将取决于组合物中的特定化合物。

[0441] 为了可以更全面地了解本文中所述的本发明,阐述了以下实例。应了解,这些实例仅仅是出于说明性目的并且不应该理解为以任何方式限制本发明。

[0442] 范例

[0443] 如以上一般描述,本发明的多嵌段共聚物使用异双官能PEG制备,所述异双官能PEG描述于本文中和2005年10月24日提交并作为W02006/047419于2006年5月4日公开和作为US 20060142506于2006年6月29日公开的美国专利申请案序号11/256,735中,其全部内容以引用的方式并入本文中。根据本发明的多嵌段聚合物的制备是通过所属领域中已知的方法实现,包括2006年1月4日提交并作为W02006/74202于2006年7月13日公开和作为US 20060172914于2006年8月3日公开的美国专利申请案序号11/325,020中详细描述的方法,其全部内容以引用的方式并入本文中。

[0444] 在以下每个实例中,在氨基酸或对应NCA称为“D”的情况下,氨基酸或对应NCA是D-构型。在未叙述此类名称的情况下,氨基酸或对应NCA是L-构型。

[0445] 一般方法:

[0446] 粒度分析 具有怀雅特技术公司(Wyatt) Dynapro平板读取器的动态光散射用来确定未交联和交联的调配物的粒度。调配物的溶液于150mM NaCl中以1mg/mL制备。样品在2000RPM下离心5分钟,并随后一式三份地添加300μL每一者到96孔板的孔中,用于分析。使

用每孔10次获取以及30秒获取时间和激光自动衰减来收集数据。

[0447] 囊封检验透析 以20mg/mL和0.2mg/mL,将未交联的调配物以溶解于3.5mL 10mM pH 8的磷酸盐缓冲液中。添加3mL样品到3500分子量截止透析袋中,并针对透析前样品,添加剩余0.5mL到HPLC小瓶中。透析袋放在300mL 10mM pH 8的PB中并搅拌6小时。随后从透析袋内部取等分试样并使用HPLC分析来确定来自透析前与透析后样品的药物的峰面积。随后所述面积用来计算透析后剩余的药物%。

[0448] 铁依赖性交联和分析 将未交联的调配物在具有0.1、0.25、0.5、0.75、1、2.5、5、7.5或10mM氯化铁(III)的水中以20mg/mL复原,并在室温下搅拌过夜。随后样品在10mM pH 8的磷酸盐缓冲液中稀释到0.2mg/mL,最终体积是5mL。取1.5mL的等分试样作为透析前样品用于HPLC分析,随后添加3mL每个样品到3500MWC截止透析袋并针对10mM pH 8的磷酸盐缓冲液透析6小时。6小时后,从透析袋内去除样品并通过HPLC分析。每个样品的透析后峰面积除以透析前峰面积并乘以100,从而转化成剩余百分比。

[0449] 时间依赖性交联和分析 将未交联的调配物在水中以20mg/mL复原,并且对于未交联的样品,50μL稀释成4.95mL。随后添加500mM氯化铁(III)储备溶液到未交联的溶液,最终浓度为10mM氯化铁(III)。此用作储备交联溶液,其中在5分钟、30分钟、1小时、2小时、4小时和16小时取50μL等分试样,并在10mM pH 8的磷酸盐缓冲液中稀释到0.2mg/mL,最终体积为5mL。取1.5mL的等分试样作为透析前样品用于HPLC分析,随后添加3mL每个样品到3500MWC截止透析袋并针对10mM pH 8的磷酸盐缓冲液透析6小时。6小时后,从透析袋内去除样品并通过HPLC分析。每个样品的透析后峰面积除以透析前峰面积并乘以100,从而转化成剩余百分比。

[0450] pH值依赖性交联和分析 未交联的调配物在具有10mM氯化铁(III)的水中在pH 3、4、5、6、7、7.4和8下以20mg/mL复原。在复原和pH值调节后使样品培育10分钟,并随后在10mM pH 8的磷酸盐缓冲液中稀释到0.2mg/mL,最终体积为5mL。取1.5mL的等分试样作为透析前样品用于HPLC分析,随后添加3mL每个样品到3500MWC截止透析袋并针对10mM pH 8的磷酸盐缓冲液透析6小时。6小时后,从透析袋内去除样品并通过HPLC分析。每个样品的透析后峰面积除以透析前峰面积并乘以100,从而转化成剩余百分比。

[0451] 交联调配物的pH值依赖性释放 将未交联的调配物在具有10mM氯化铁(III)的水中以20mg/mL复原,pH值用NaOH调节到8.0,并在室温下搅拌过夜。次日,样品在10mM磷酸盐缓冲液中在pH 3、4、5、6、7、7.4和8下稀释到0.2mg/mL,每个样品最终体积为5mL。取1.5mL的等分试样作为透析前样品用于HPLC分析,随后添加3mL每个样品到3500MWC截止透析袋并针对10mM pH 8的磷酸盐缓冲液透析6小时。6小时后,从透析袋内去除样品并通过HPLC分析。每个样品的透析后峰面积除以透析前峰面积并乘以100,从而转化成剩余百分比。

[0452] 未交联调配物的pH值依赖性释放 未交联的调配物在水中以20mg/mL复原,pH值用NaOH调节到8.0,并在室温下搅拌过夜。次日,样品在10mM磷酸盐缓冲液中在pH 3、4、5、6、7、7.4和8下稀释到0.2mg/mL,每个样品最终体积为5mL。取1.5mL的等分试样作为透析前样品用于HPLC分析,随后添加3mL每个样品到3500MWC截止透析袋并针对10mM pH 8的磷酸盐缓冲液透析6小时。6小时后,从透析袋内去除样品并通过HPLC分析。每个样品的透析后峰面积除以透析前峰面积并乘以100,从而转化成剩余百分比。

[0453] 交联调配物的盐依赖性释放 将未交联的调配物在具有10mM氯化铁(III)的水中

以20mg/mL复原,pH值用NaOH调节到8.0,并搅拌10分钟。随后样品在具有0到10、50、100、200、300、400和500mM的递增NaCl浓度的10mM pH 8的磷酸盐缓冲液中稀释到0.2mg/mL,每个样品最终体积为5mL。取1.5mL等分试样作为透析前样品用于HPLC分析,随后添加3mL每个样品到3500MWC截止透析袋并针对具有对应盐浓度的10mM pH 8的磷酸盐缓冲液透析6小时。6小时后,从透析袋内去除样品并通过HPLC分析。每个样品的透析后峰面积除以透析前峰面积并乘以100,从而转化成剩余百分比。

[0454] 氨基蝶呤调配物的体外细胞毒性 最初购自ATCC的细胞(A549、Panc-1、OVCAR3和BXP-3)接种于96孔组织培养板中,通过24小时达到50%汇合。细胞在37℃和5.0%CO₂下培育。细胞用递增剂量的游离氨基蝶呤、交联的氨基蝶呤调配物、未交联的氨基蝶呤调配物以及未负载药物的胶束调配物处理24小时,接着进行培养板接种。游离氨基蝶呤溶解于DMSO中并投与细胞,DMSO总体积等于或小于0.0025%。胶束调配物再悬浮于生物级水中。在深孔板中用细胞培养基和水或DMSO(仅仅对于游离氨基蝶呤)进行稀释,均衡排出的体积。从96孔板抽吸培养基并一式三份地添加100μl每种稀释液到孔中,并在37℃和5.0%CO₂下培育72小时。交联和未交联的未负载药物的胶束调配物以四个最高剂量投与并在与传递运载工具的负载药物的胶束浓度相当的以mg/mL计的浓度下计算。72小时培育后,使培养板冷却到室温并添加25μl cell titer-glo到每个孔中。短暂震荡培养板以进行混合并在平板读取器上读取发光读数。对一式三份剂量的发光读数求平均值并除以来自同一板上未处理细胞的平均发光读数,以计算每一剂量的活细胞%。

[0455] 调配方法A 通过搅拌和加热到40℃,保持约30分钟,将聚合物以5mg/mL的浓度溶解于水中。随后蔗糖以5mg/mL添加到聚合物溶液中并在室温下搅拌直到均质。随后溶液在搅拌的同时冷却到室温。将活性药物成分(API)溶解于有机溶剂中,只在溶解限度以下。随后添加API/有机溶液到聚合物/蔗糖溶液中,同时在10,000RPM下剪切混合约30秒,或直到得到均质乳液。随后溶液通过单次穿过微流化床进行加工,微流化床的操作压力为约23,000PSI并且出口流经冰水浴冷却。随后溶液通过0.22微米死端过滤器,并随后通过超过滤,使用切向流过滤加工,直到更换总共4倍初始体积的蔗糖缓冲液并且溶液中聚合物的最终浓度是约20mg/mL。随后添加氯化铁(III)到调配物中,最终浓度为10mM。随后溶液的pH值用NaOH调节到6.0并在室温下搅拌4小时。随后添加含有20mg/mL冷冻保护剂的一体积缓冲液到溶液中,并随后浓缩到约20mg/mL聚合物浓度。随后溶液冷冻在-40℃下并冻干。

[0456] 调配方法B 通过搅拌和加热到40℃,保持约30分钟,将聚合物以2mg/mL的浓度溶解于水中。随后溶液在搅拌的同时冷却到室温。将活性药物成分(API)溶解于有机溶剂中,只在溶解限度以下。随后添加API/有机溶液到聚合物/蔗糖溶液中,同时在10,000RPM下剪切混合约30秒,或直到得到均质乳液。随后溶液在通风橱中搅拌过夜以允许有机溶液蒸发掉。次日,溶液通过0.22微米死端过滤器,并随后通过超过滤,使用切向流过滤加工,以将样品从2mg/mL浓缩到约20mg/mL。随后添加氯化铁(III)到调配物中,最终浓度为10mM。随后溶液的pH值用NaOH调节到6.0并在室温下搅拌4小时。随后溶液冷冻在-40℃下并冻干。

[0457] SN-38调配物重量负载分析 重量负载是通过用HPLC分析比较SN38的标准曲线与已知浓度调配物来确定。将SN38溶解于甲醇中,在30μg/mL到150μg/mL范围内,并将调配物以5mg/mL溶解于甲醇中。随后调配物中SN-38的量转化成基于所用调配物的已知量(即5mg/mL)的%。

[0458] 道诺比星调配物重量负载分析 重量负载是通过用HPLC分析比较道诺比星的标准曲线与已知浓度调配物来确定。将道诺比星溶解于甲醇中,在40 μ g/mL到200 μ g/mL范围内,并将调配物以2mg/mL溶解于甲醇中。随后调配物中道诺比星的量转化成基于所用调配物的已知量(即2mg/mL)的%。

[0459] 氨基蝶呤调配物重量负载分析 重量负载是通过用HPLC分析比较氨基蝶呤的标准曲线与已知浓度调配物来确定。将氨基蝶呤溶解于HPLC流动相(60%乙腈、40%10mM pH 8的磷酸盐缓冲液)中,在40 μ g/mL到200 μ g/mL范围内,并将调配物以5mg/mL溶解于HPLC流动相中。随后调配物中氨基蝶呤的量转化成基于所用调配物的已知量(即5mg/mL)的%。

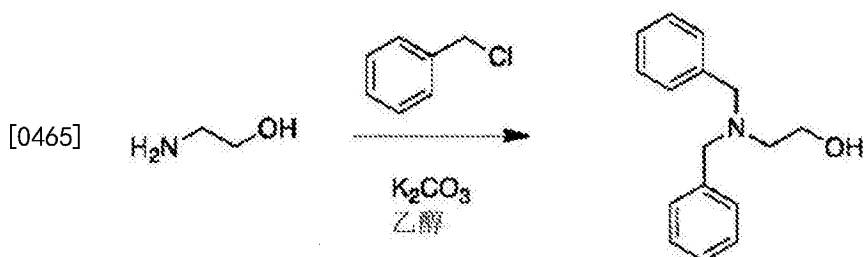
[0460] 小檗碱调配物重量负载分析 重量负载是通过用HPLC分析比较小檗碱的标准曲线与已知浓度调配物来确定。将小檗碱溶解于甲醇中,在40 μ g/mL到200 μ g/mL范围内,并将调配物以5mg/mL溶解于甲醇中。随后调配物中小檗碱的量转化成基于所用调配物的已知量(即5mg/mL)的%。

[0461] 卡巴他赛调配物重量负载分析 重量负载是通过用HPLC分析比较卡巴他赛的标准曲线与已知浓度调配物来确定。将卡巴他赛溶解于甲醇中,在40 μ g/mL到200 μ g/mL范围内,并将调配物以10mg/mL溶解于甲醇中。随后调配物中卡巴他赛的量转化成基于所用调配物的已知量(即10mg/mL)的%。

[0462] 埃坡霉素D调配物重量负载分析 重量负载是通过用HPLC分析比较埃坡霉素D的标准曲线与已知浓度调配物来确定。将埃坡霉素D溶解于甲醇中,在40 μ g/mL到200 μ g/mL范围内,并将调配物以10mg/mL溶解于甲醇中。随后调配物中埃坡霉素D的量转化为基于所用调配物的已知量(即10mg/mL)的%。

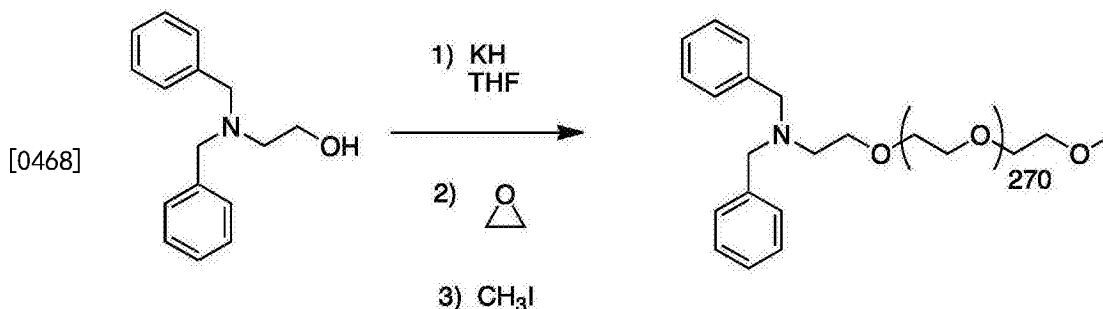
[0463] 一般大鼠药物动力学实验 以手术方式改装有颈静脉导管的史泊格-多利大鼠(Sprague-Dawley rat)购自弗吉尼亚州都柏林的哈兰实验室(Harlan Laboratories, Dublin, VA)。将调配物溶解于具有150mM NaCl的水中,最终浓度通常为对于经由JVC历时约1分钟快速注射1mL,接着用约250 μ L肝素化生理食盐水进行冲洗,每公斤动物体重10mg API。测试物品投与后血液收集的时间点如下:1、5、15分钟、1、4、8和24小时。每一时间点通过JVC收集约250 μ L血液到K3-EDTA血液收集管,接着用约250 μ L肝素化生理食盐水冲洗。随后血液在2000RPM下离心5分钟以分离血浆。随后收集血浆并迅速冷冻直到加工用于HPLC分析。通过首先在室温下解冻血浆样品来制备样品用于分析。添加50 μ L血浆到2mL艾本德管(eppendorf tube)中的150 μ L萃取溶液(含0.1%磷酸的甲醇、5 μ g/mL内标)中。随后样品涡旋10分钟并在13,000RPM下离心10分钟。随后上清液转移到HPLC小瓶中,接着通过HPLC分析。使用大鼠血浆中API调配物的标准曲线,与在每个时间点从大鼠收集的样品相比,确定API的量。

[0464] 实例1



[0466] 二苯甲基氨基乙醇 将苯甲基氯 (278.5g, 2.2mol)、乙醇胺 (60mL, 1mol)、碳酸钾 (283.1g, 2.05mol) 和乙醇 (2L) 一起混合在装有顶置式搅拌器、冷凝器和玻璃塞的3L三颈烧瓶中。设备加热到回流, 保持36小时, 接着通过中孔玻璃料过滤不溶固体。回收滤液并通过旋转蒸发去除乙醇。将粘性液体再溶解于乙醚中, 通过过滤去除固体悬浮液并针对水萃取两次。保持乙醚溶液并用二氯甲烷 (2×400mL) 萃取水层两次。将此部分重组, 经MgSO₄干燥, 在碳黑上搅拌15分钟并通过硅藻土垫过滤。去除二氯甲烷并将固体再溶解于最低限量的乙醚中 (与第一乙醚部分的组合体积为300mL, 300mL)。添加己烷 (1700mL) 并缓缓加热溶液, 直到产物完全分解。随后溶液缓缓冷却, 放于冰箱 (+4℃) 中并获得白色晶体。进行第二次再结晶。166.63g, 69%产率。¹H NMR (d₆-DMSO) δ 7.39-7.24 (10H), 4.42 (1H), 3.60 (4H), 3.52 (2H), 2.52 (2H)。

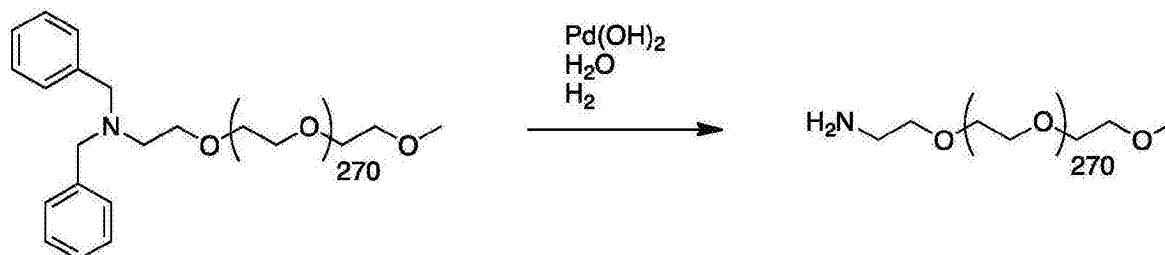
[0467] 实例2



[0469] 二苯甲基氨基-PEG-甲氧基 将由装备有玻璃磁性搅拌棒和隔热夹套加料漏斗的4L夹套三颈聚合烧瓶组成的设备抽到10毫托, 随后用氩气回填。在平缓的氩气流下反应烧瓶负载N,N-二苯甲基氨基乙醇 (4.28g, 17.7mmol) 和含50%KH固体的石蜡 (1.70g, 21.2mmol)。将约2L的无水THF引入反应烧瓶中并在氩气下在环境温度下搅拌混合物16小时。所得浆液冷却到10℃, 并且加料漏斗在真空下冷冻到-30℃。环氧乙烷气体冷凝到冷的抽空漏斗中直到收集225mL (4.8mol) 液体E0。冷凝漏斗中的液体环氧乙烷一次性添加到反应混合物中。将反应混合物在封闭烧瓶中在10℃下搅拌6小时, 随后在20℃下搅拌16小时。通过使温度升高到30℃, 保持16小时, 随后升高到40℃, 保持2天, 来完成聚合。反应混合物冷却到25℃, 随后一次性添加碘代甲烷 (1.6mL) 并在25℃下搅拌混合物10小时。随后通过添加乙醇 (99%, 100mL) 破坏过量的未反应的氢化钾。30分钟后, 将淬灭的反应混合物转移到大烧杯中并且通过添加乙醚 (8L) 使聚合物产物沉淀。沉淀产物通过在大的布氏漏斗 (Buchner funnel) 上过滤来收集并随后真空干燥。产率是215.1g白色固体。水性GPC展示12.0kDa的M_n和1.01的PDI。¹H-NMR (d₆-DMSO, 400MHz): 7.344 (m, 8H), 7.225 (m, 4H), 3.681 (m, 8H), 3.507 (m, 约1000H), 3.320 (m, 6H+水信号), 3.237 (s, 3H), 2.551 (t, 6.0Hz, 2H)。

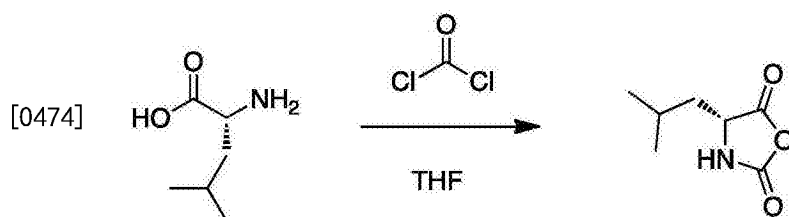
[0470] 实例3

[0471]



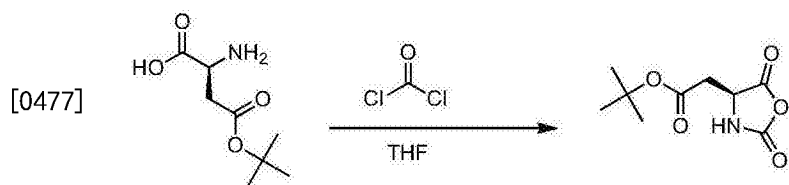
[0472] mPEG-胺 将mPEG-二苯甲基胺产物实例3 (214.0g) 溶解于去离子水 (1L) 中。通过在环境温度下在氢气球下搅拌来活化13.2g派尔曼催化剂 (Pearlman's catalyst) (20%氢氧化钯/碳, 奥德里奇 (Aldrich)) 于去离子水 (150mL) 中的浆液。烧瓶中的氢气被氮气置换, 添加二苯甲基氨基mPEG起始物质的溶液到催化剂浆液中并抽空烧瓶, 随后用氢气回填 (重复3次)。随后继续在环境温度下在氢气球下氢化2.5天, 此刻¹H-NMR指示苯甲基信号完全消失。添加氯化钠 (350g) 固体到反应混合物中并在氮气下搅拌混合物半天, 通过过滤来去除废催化剂并用盐水彻底冲洗。通过添加小体积的1M NaOH使组合的滤液为碱性 (到大约pH 11), 并用二氯甲烷 (4×0.7L) 萃取。合并的萃取物用无水碳酸钠干燥, 过滤并在旋转蒸发仪上浓缩到约0.75L总体积, 随后立刻通过添加过量乙醚 (8L) 来沉淀。沉淀产物通过过滤来收集并真空干燥, 得到202.5g体积庞大的雪白色固体。¹H-NMR (d₆-DMSO, 400MHz): 3.681 (m, 8H), 3.507 (m, 约1000H), 3.341 (m, 4H+水信号), 3.238 (s, 3H), 2.634 (t, 5.7Hz, 2H)。

[0473] 实例4



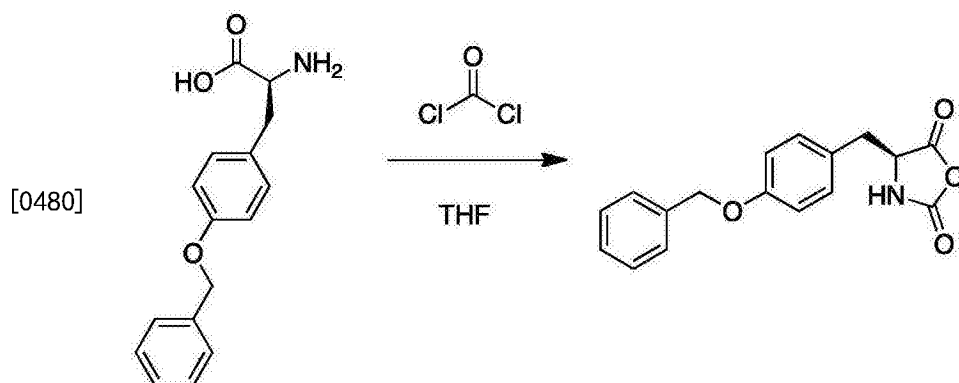
[0475] D-亮氨酸NCA 使H-D-Leu-OH (100g, 0.76mol) 悬浮于1L无水THF中并加热到50℃, 同时使劲搅拌。将光气 (20%于甲苯中) (500mL, 1mol) 添加到氨基酸悬浮液中。1小时20分钟后, 氨基酸溶解, 形成澄清溶液。将溶液在旋转蒸发仪上浓缩, 转移到烧杯, 并添加己烷以使产物沉淀。通过过滤来分离白色固体并溶解于具有少量THF (约60mL) 的甲苯 (约700mL) 中。溶液经硅藻土床过滤以去除任何不溶的物质。将过量的己烷 (约4L) 添加到滤液中以使产物沉淀。通过过滤来分离NCA并真空干燥。分离出呈白色结晶固体状的D-Leu NCA (91g, 79%产率)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ 9.13 (1H), 4.44 (1H), 1.74 (1H), 1.55 (2H), 0.90 (6H) ppm。

[0476] 实例5



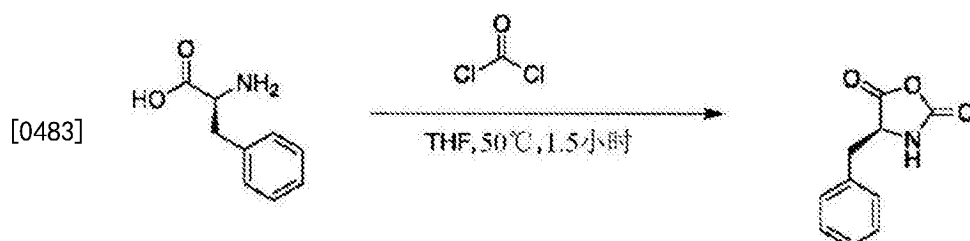
[0478] 天冬氨酸叔丁酯NCA 使H-Asp (tBu)-OH (120g, 0.63mol) 悬浮于1.2L无水THF中并加热到50℃, 同时使劲搅拌。将光气 (20%于甲苯中) (500mL, 1mol) 添加到氨基酸悬浮液中。1小时30分钟后, 氨基酸溶解, 形成澄清溶液。将溶液在旋转蒸发仪上浓缩, 转移到烧杯, 并添加己烷以使产物沉淀。通过过滤来分离白色固体并溶解于无水THF中。溶液经硅藻土床过滤以去除任何不溶的物质。添加过量的己烷以使产物沉淀。通过过滤来分离NCA并真空干燥。分离出93g (68%) 呈白色结晶固体状的Asp (tBu) NCA。¹H NMR (d₆-DMSO) δ 8.99 (1H), 4.61 (1H), 2.93 (1H), 2.69 (1H), 1.38 (9H) ppm。

[0479] 实例6



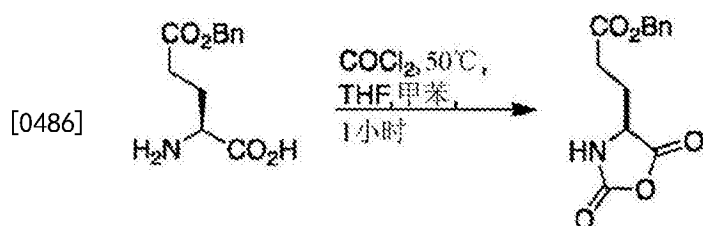
[0481] 苯甲基酪氨酸NCA 使H-Tyr(Obzl)-OH(140g,0.52mol)悬浮于1.5L无水THF中并加热到50℃,同时使劲搅拌。经由插入套管将光气(20%于甲苯中)(500mL,1mol)添加到氨基酸悬浮液中。氨基酸经约1小时30分钟的过程溶解,形成浅黄色溶液。溶液首先经装有惠特曼纸(Whatman paper) #1的布氏漏斗过滤以去除任何仍然悬浮的粒子。随后,将溶液通过旋转蒸发来浓缩,转移到烧杯,并添加己烷以使产物沉淀。通过过滤来分离灰白色固体并溶解于无水THF(约600mL)中。溶液经硅藻土床过滤以去除任何不溶的物质。将过量的己烷(约6L)添加到滤液中以使产物沉淀。通过过滤来分离NCA并真空干燥。分离出114.05g呈灰白色粉末状的Tyr(Obzl)NCA,74.3%。¹H NMR(d₆-DMSO) δ9.07(1H),7.49-7.29(5H),7.12-7.07(2H),6.98-6.94(2H),5.06(2H),4.74(1H),3.05-2.88(2H) ppm。

[0482] 实例7



[0484] 苯丙氨酸NCA 使H-L-Phe-OH(20.0g,132mmol)悬浮于300mL无水THF中并加热到50℃。将光气(20%于甲苯中)(90mL,182mmol)添加到氨基酸悬浮液中,并且氨基酸经约1小时的过程溶解,形成混浊溶液。溶液经纸过滤器(惠特曼#1)过滤,通过旋转蒸发来浓缩,转移到烧杯,并添加己烷以使产物沉淀。通过过滤来分离白色固体并溶解于无水THF中。溶液经硅藻土床过滤以去除任何不溶的物质。添加过量的己烷到滤液,同时用刮勺搅拌。通过过滤来分离NCA并真空干燥。分离出20.0g(86%产率)呈白色结晶固体状的D-PheNCA。¹H NMR(d₆-DMSO) δ9.09(1H),7.40-7.08(5H),4.788(1H),3.036(2H) ppm。

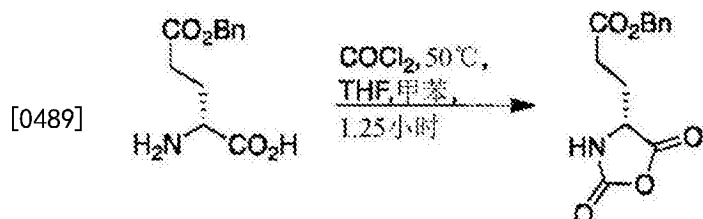
[0485] 实例8



[0487] L-谷氨酸苯甲酯NCA 使经真空干燥的H-Glu(Obn)-OH(71.2g,300.0mmol)悬浮于900mL无水THF中。在室温下将光气(20%于甲苯中)(210mL,420mmol)添加到氨基酸悬浮液

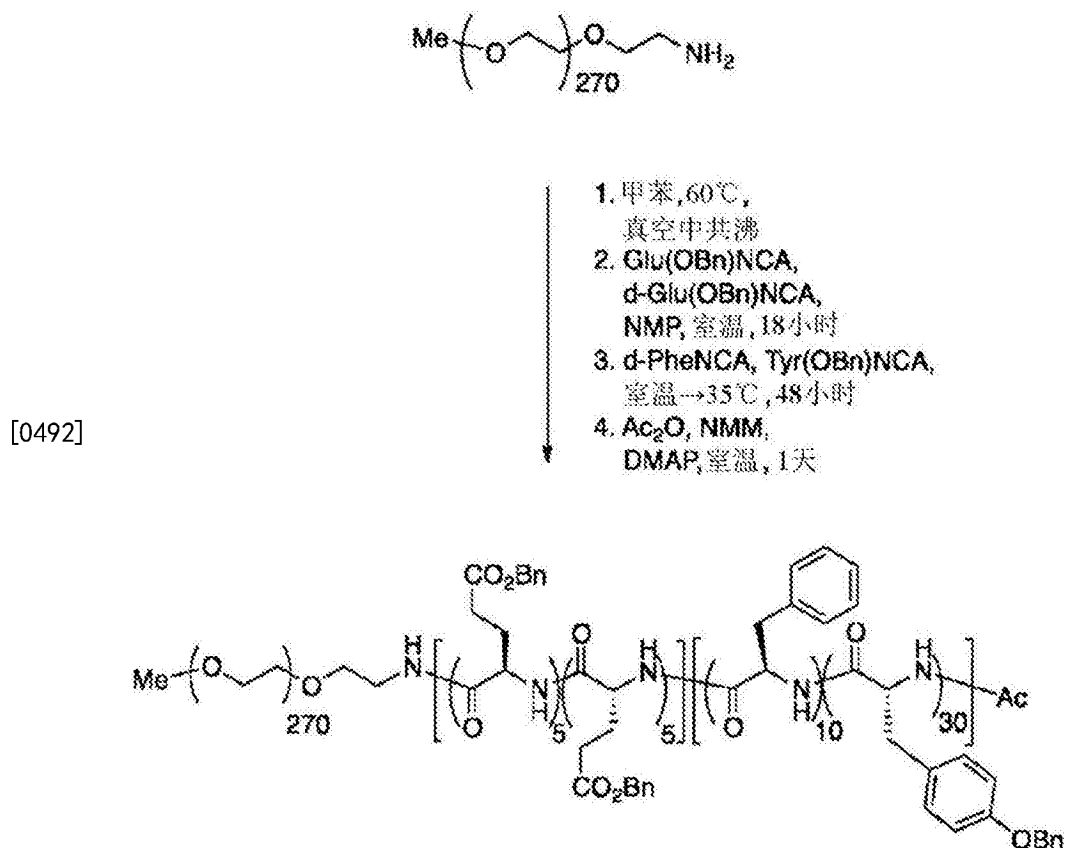
中并在十分钟后,加热混合物到50℃。氨基酸经约1小时的过程溶解,形成澄清溶液。溶液稍微冷却并在旋转蒸发仪上浓缩。将新制的无水THF (400mL) 添加到残余物中并在旋转蒸发仪上再蒸发溶液,得到无色固体,将其溶解于300mL无水THF中,转移到4L烧杯并通过缓慢添加1.5L无水庚烷而沉淀。通过抽吸过滤来分离纯NCA并真空干燥。分离出75.31g (95.4%产率) 呈无色结晶固体状的Glu (OBn) NCA。¹H NMR (CDCl₃) δ7.36 (5H) ,6.40 (1H) ,5.14 (2H) ,4.40 (1H) ,2.60 (2H) ,2.22 (2H) 。

[0488] 实例9



[0490] D-谷氨酸苯甲酯NCA通过使用与实例8相同的方法和反应规模并用H-d-Glu (OBn) -OH取代作为起始物质,在50℃下与光气反应1.25小时,得到75.53g (产率=95.6%) 呈无色结晶固体状的d-Glu (OBn) NCA。¹H NMR (CDCl₃) :与实例8一致。

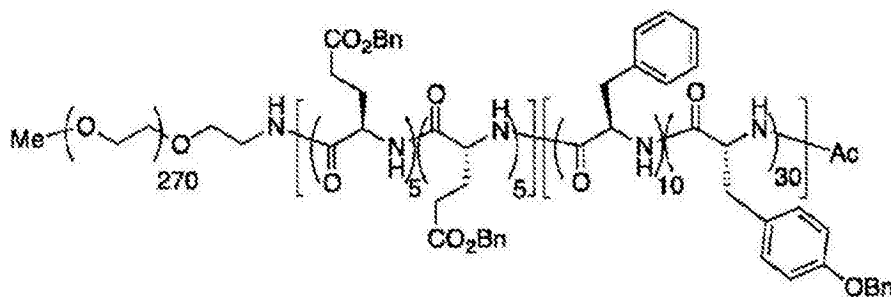
[0491] 实例10



[0493] mPEG12K-b-聚-(d-Glu (OBn) ₅-共-Glu (OBn) ₅)-b-聚 (Tyr (OBn) ₃₀-共-d-Phe₁₀)-Ac 将m-PEG12k-NH₂ (119.7g, 10.0mmol) 称重到烘干的2L圆底烧瓶中,溶解于甲苯 (1L) 中,并通过共沸蒸馏来干燥。蒸馏到干燥后,将聚合物置于真空下三小时。随后用N₂回填烧瓶,在减压下再抽空,并通过套管引入无水N-甲基吡咯烷酮 (NMP) (1100mL)。将混合物短暂加热到40℃以加快溶解并随后再冷却到25℃。将Glu (OBn) NCA (13.16g, 50.0mmol) 和d-Glu (OBn) NCA

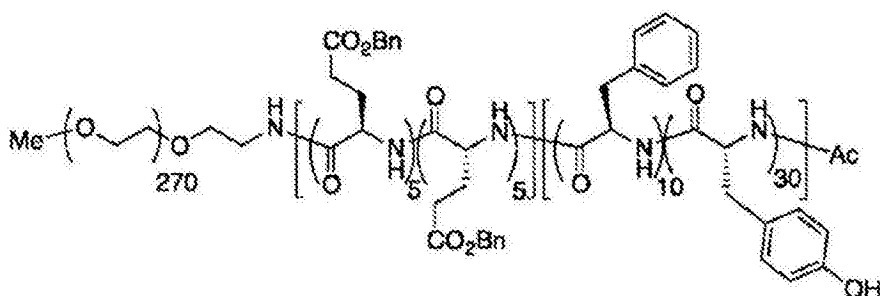
(13.16g, 50.0mmol) 添加到烧瓶中, 并在环境室温下在氮气下搅拌反应混合物16小时。随后, 添加d-Phe NCA (19.12g, 100mmol) 和Tyr (OBn) NCA (89.19g, 300mmol) 并在35℃下搅拌溶液48小时, 此刻反应完全 (GPC, DMF/0.1%LiBr)。溶液冷却到室温并添加乙酸酐 (10.21g, 100mmol, 9.45mL)、N-甲基吗啉 (NMM) (11.13g, 110mmol, 12.1mL) 和二甲氨基吡啶 (DMAP) (1.22g, 10.0mmol)。继续在室温下搅拌1天。使聚合物在乙醚 (14L) 中沉淀并通过过滤来分离, 用新制的500mL的乙醚部分洗涤, 并真空干燥, 得到呈精细的几乎无色粉末状的嵌段共聚物 (214.7g, 产率=92.3%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ8.42-7.70 (理论50H, 观测47H), 7.30 (理论250H, 观测253H), 6.95 (理论120H, 观测122H), 5.10-4.85 (理论80H, 观测80H), 4.65-4.20 ((理论50H, 观测56H), 3.72-3.25 (理论1087H, 观测1593H), 3.05-2.45 (理论80H, 观测83H), 2.44-1.60 (理论40H, 观测42H)。

[0494] 实例11



[0495]

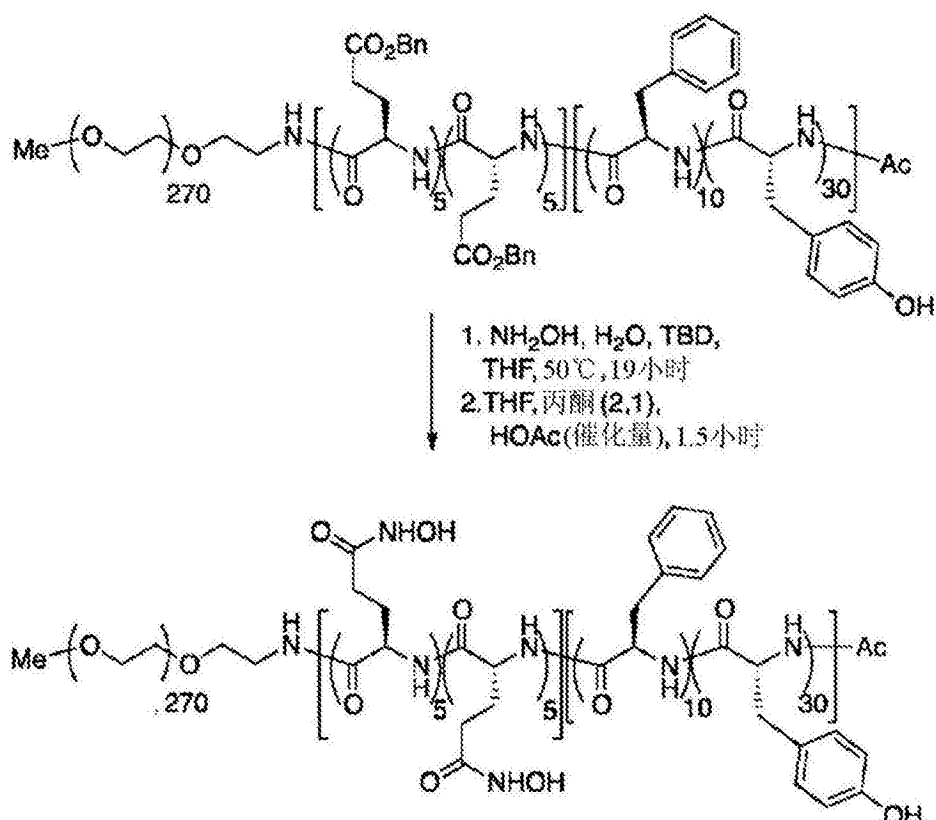
TFA, 五甲基苯
(PMB), 室温



[0496] mPEG12K-b-聚-[d-Glu (OBn)₅-共-Glu (OBn)₅]-b-聚 (Tyr (OH)₃₀-共-d-Phe₁₀)-Ac来自实例10的mPEG12K-b-聚-(d-Glu (OBn)₅-共-Glu (OBn)₅)-b-聚 (Tyr (OBn)₃₀-共-d-Phe₁₀)-Ac (151.3g, 6.5mmol) 和五甲基苯 (86.1g, 0.58mmol) 溶解到1400mL三氟乙酸 (TFA) 中。在室温下迅速地搅拌反应物六小时。在旋转蒸发仪上去除TFA, 水浴温度不超过35℃。所得粘稠的糊状物溶解于800mL无水THF中并使粗产物在12L乙醚中沉淀, 同时冷却到-30℃。所得固体通过过滤来收集, 再溶解于500mL无水THF中并在3L乙醚中再沉淀。真空干燥产物过夜后获得几乎无色无味的疏松聚合物 (126.0g, 产率=94.2%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ9.09 (理论30H, 观测29.4H), 8.50-7.75 (理论50H, 观测52.7H), 7.40-6.45 (理论220H, 观测220H), 5.04 (理论20H, 观测17.5H), 4.70-4.20 (理论50H, 观测54.5H), 3.91-3.05 (理论1087H, 观测1391H), 3.03-2.10 (理论80H, 观测91H), 2.09-1.50 (理论40H, 观测46H)。

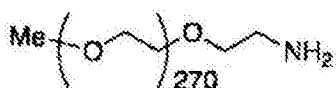
[0497] 实例12

[0498]



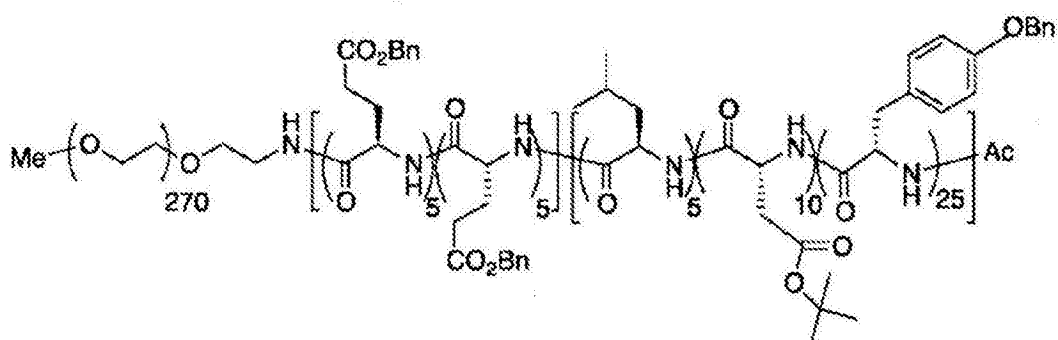
[0499] mPEG12K-b-聚-[d-Glu(NHOH)₅-共-Glu(NHOH)₅]-b-聚(Tyr(OH)₃₀-共-d-Phe₁₀)-AcmPEG12K-b-聚-[d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅]-b-聚(Tyr(OH)₃₀-共-d-Phe₁₀)-Ac (113.3g, 5.5mmol) 溶解于1130mL无水THF中并用羟胺溶液(50%水溶液, 2.20mol, 146mL)和1,5,7-三氮杂双环[4.4.0]癸-5-烯(TBD, 2.30g, 16.5mmol)处理。将所得微混浊溶液在 50°C 下在 N_2 下搅拌19小时, 冷却到室温并用1130mL MeOH稀释。粗产物从8L乙醚沉淀出, 同时冷却到 -30°C 。所得固体通过过滤来收集, 再溶解于250mL无水THF与125mL丙酮的混合物中, 用乙酸(4.72g, 79mmol, 4.5mL)处理, 加热到回流, 保持五分钟, 并随后在环境温度下搅拌1.5小时。通过添加2L乙醚使产物沉淀, 通过抽吸过滤来收集, 用新制的乙醚部分洗涤, 并真空干燥过夜, 得到106.3g(产率=97.5%)几乎无色的疏松聚合物。 ^1H NMR(d_6 -DMSO) δ 9.12(理论30H, 观测30H), 8.80-7.75(理论50H, 观测38.4H), 7.15(理论50H, 观测50H), 6.80(理论120H, 观测120H), 4.65-4.05(理论50H, 观测50.4H), 3.80-3.15(理论1087H, 观测1360H), 3.00-2.20(理论80H, 观测79H), 2.15-1.60(理论40H, 观测40H)。

[0500] 实例13



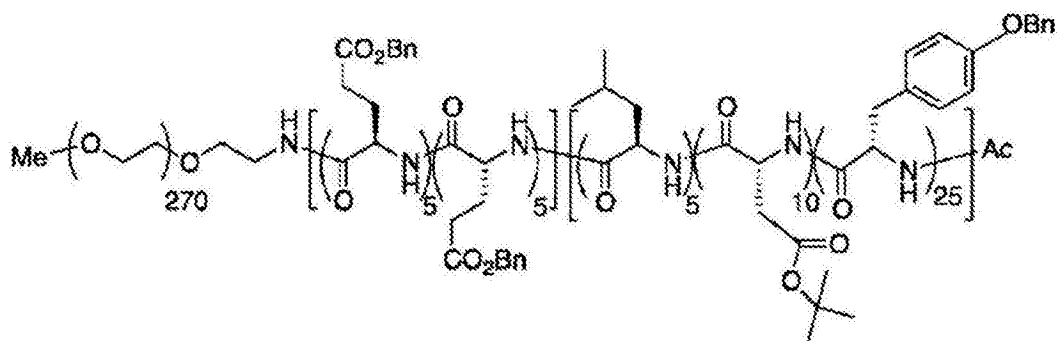
[0501]

1. 甲苯, 60℃, 真空中共沸
2. Glu(OBn)NCA, d-Glu(OBn)NCA, NMP, 室温, 16小时
3. d-LeuNCA, Asp(OtBu)NCA, Tyr(OBn)NCA, 室温, 48小时; 接着35℃, 23小时
4. Ac₂O, NMM, DMAP, 室温, 11小时



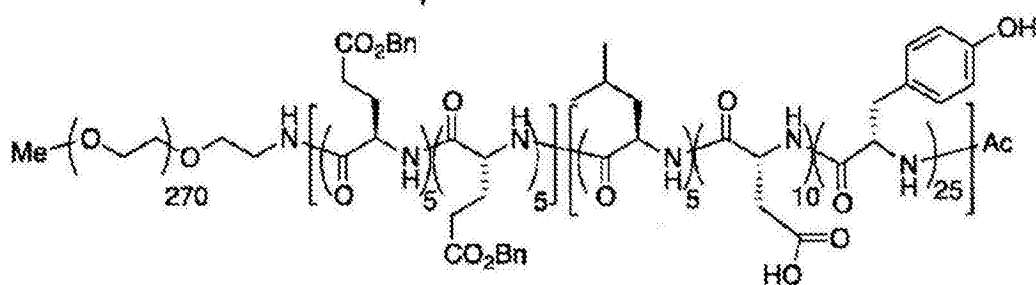
[0502] mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚(d-Leu₅-共-Asp(OtBu)₁₀-共-Tyr(OBn)₂₅)-Ac使用实例10中详述的一般方案并用适当NCA起始物质代替, 得到粗聚合物, 用12体积乙醚使其沉淀, 随后从二氯甲烷/乙醚:1/12再沉淀。过滤和真空干燥后, 获得呈精细的无色无味固体状的标题化合物(产率=93.9%)。

[0503] 实例14



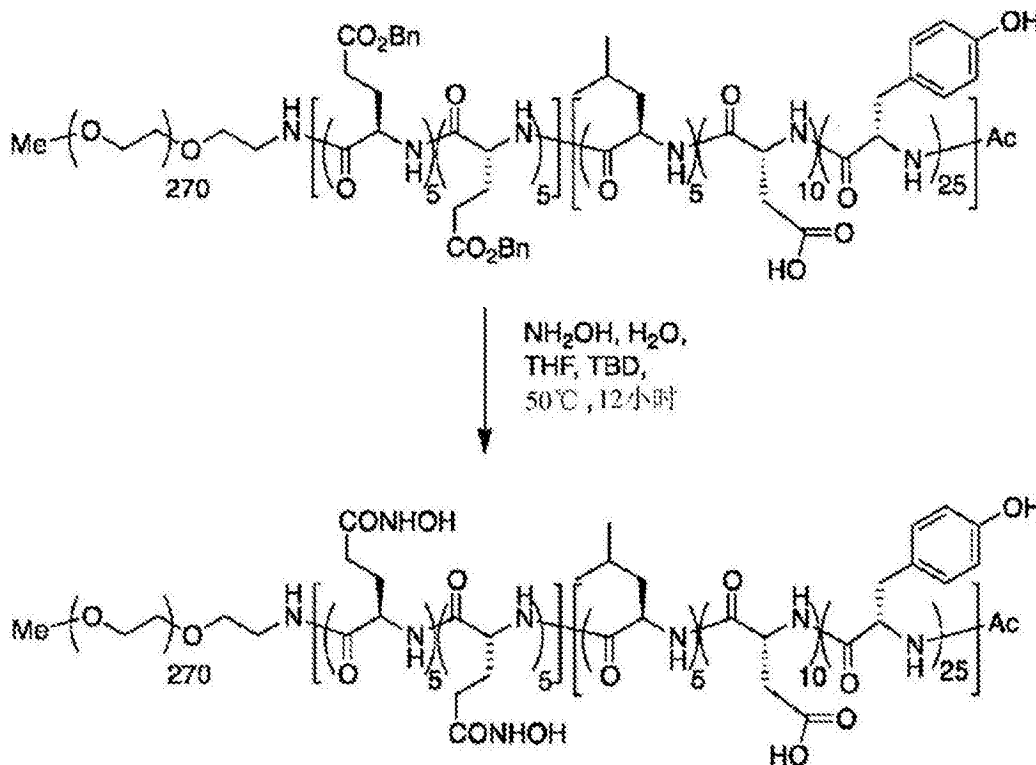
[0504]

TFA, 五甲基苯
室温, 3.25小时



[0505] mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚(d-Leu₅-共-Asp(OH)₁₀-共-Tyr(OH)₂₅)-Ac通过使用实例11的方法并用mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚(d-Leu₅-共-Asp(OtBu)₁₀-共-Tyr(OBn)₂₅)-Ac代替作为起始物质,在室温下反应三小时十五分钟,得到呈疏松的无色无味聚合物状的标题产物(产率=97.0%)。

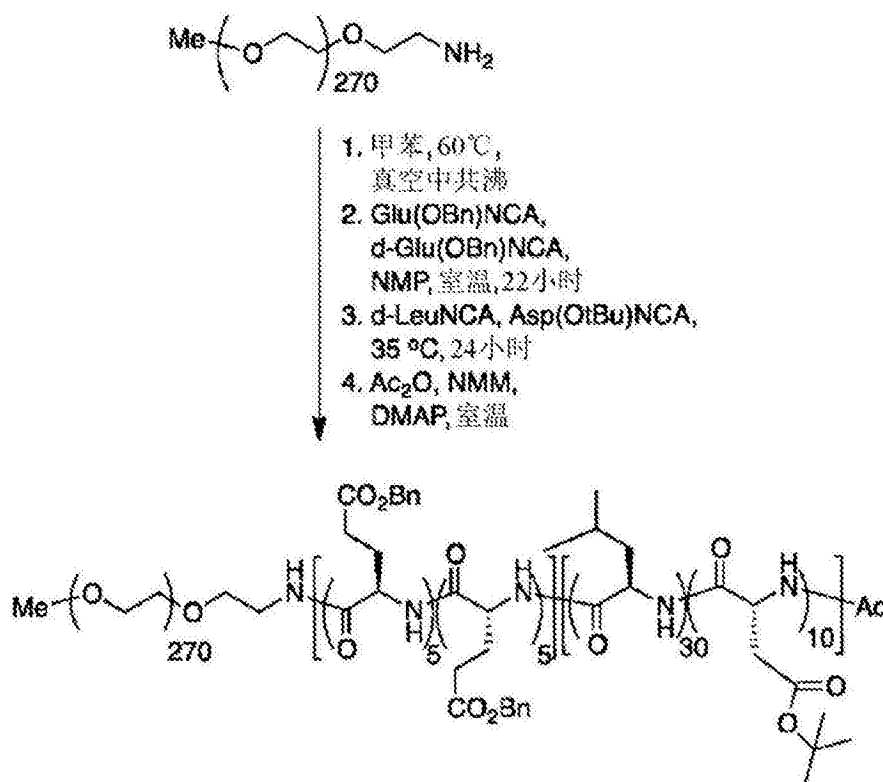
[0506] 实例15



[0508] mPEG12K-b-聚-(d-Glu(NHOH)₅-共-Glu(NHOH)₅)-b-聚(d-Leu₅-共-Asp(OH)₁₀-共-Tyr(OH)₂₅)-Ac mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚(d-Leu₅-共-Asp(OH)₁₀-共-Tyr(OH)₂₅)-Ac (20.81g, 1.0mmol) 溶解于210mL THF中并用羟胺溶液(50%水溶液, 0.80mol, 53.0mL)和1,5,7-三氮杂双环[4.4.0]癸-5-烯(TBD, 0.84g, 6.0mmol)处理。在50℃下在N₂下搅拌所得微混浊溶液17小时,冷却到室温并用210mL MeOH稀释。粗产物用1L乙醚沉淀,过滤,用新制的乙醚部分洗涤,并真空干燥过夜(产率=93.3%,羟胺盐),呈精细的无色聚合物状。

[0509] 实例16

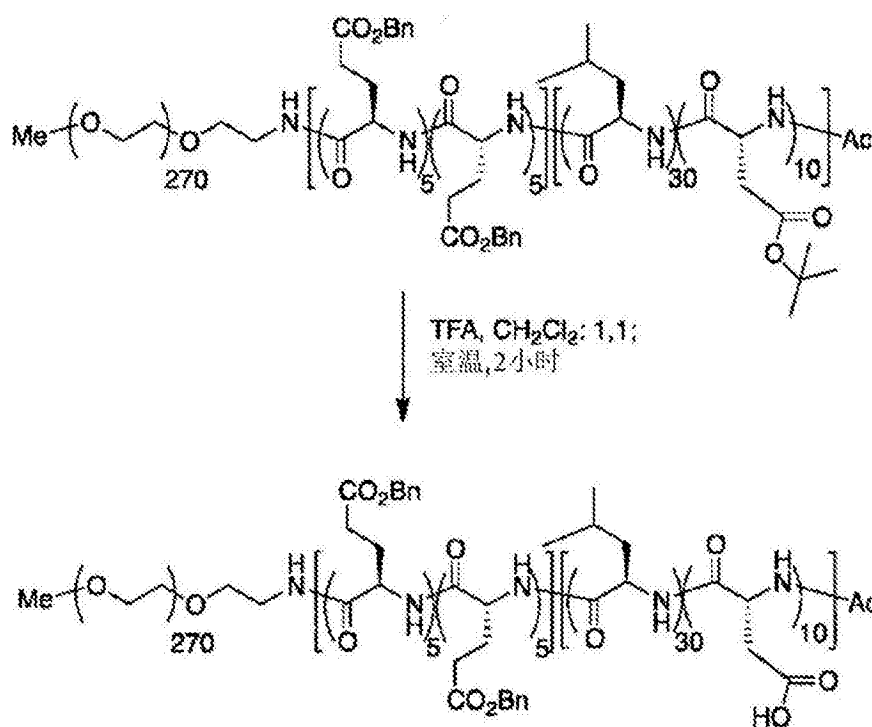
[0510]



[0511] mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚(d-Leu₃₀-共-Asp(OtBu)₁₀)-Ac 使用实例10中详述的一般方案并用适当NCA起始物质代替,得到粗聚合物,用30体积乙醚/庚烷:6/1使其沉淀,随后从二氯甲烷/乙醚:1/20再沉淀。过滤和真空干燥后,获得呈乳酪色无味固体状的标题化合物(产率=90.7%)。

[0512] 实例17

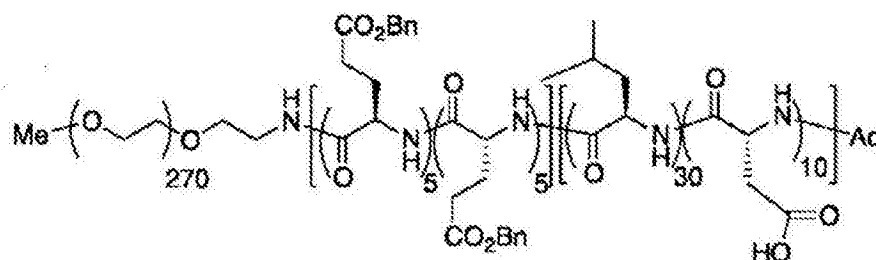
[0513]



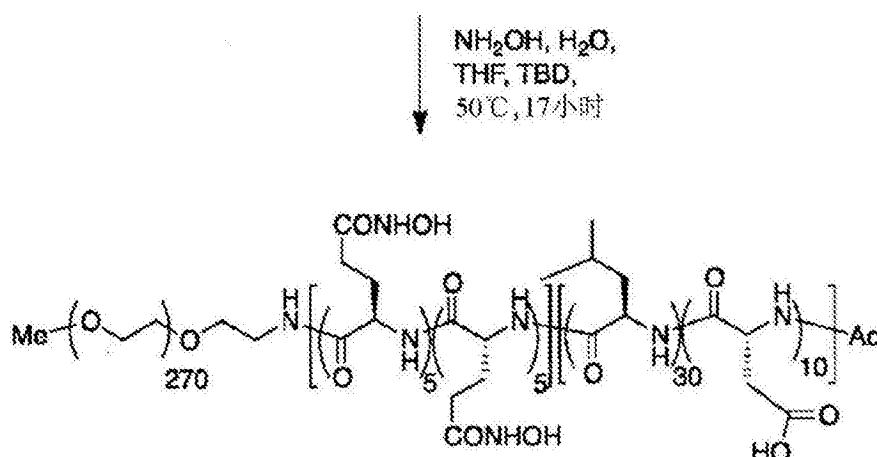
[0514] mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚(d-Leu₃₀-共-Asp(OH)₁₀)-Ac 通过使用实例11的方法,用mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚(d-Leu₃₀-共-

Asp(OtBu)₁₀-Ac代替作为起始物质并省略PMB,在室温下反应两小时,得到呈疏松无色聚合物状的标题产物(产率=97.4%)。

[0515] 实例18



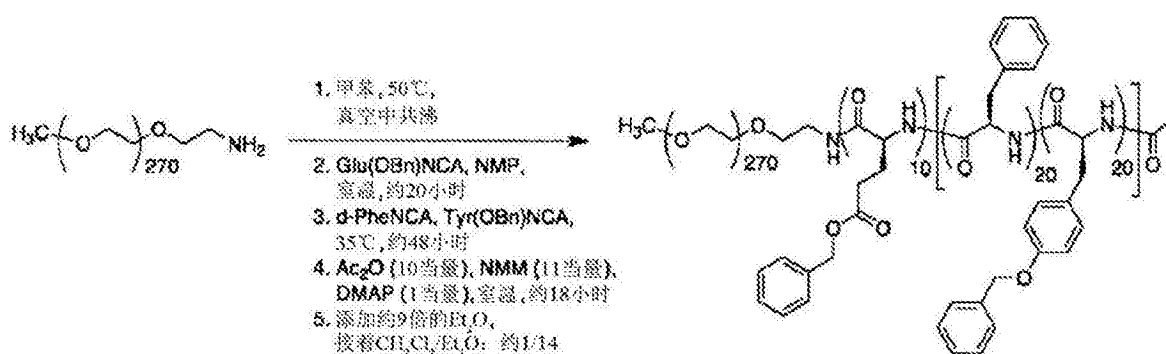
[0516]



[0517] mPEG12K-b-聚-(d-Glu (NHOH)₅-共-Glu (NHOH)₅)-b-聚(d-Leu₃₀-共-Asp (OH)₁₀)-Ac
通过使用实例12的方法并用mPEG12K-b-聚-(d-Glu (OBn)₅-共-Glu (OBn)₅)-b-聚(d-Leu₃₀-
共-Asp (OH)₁₀)-Ac代替作为起始物质,在50℃下反应17小时,得到呈精细的无色聚合物状的
标题产物(产率=96.4%,羟胺盐)。

[0518] 实例19

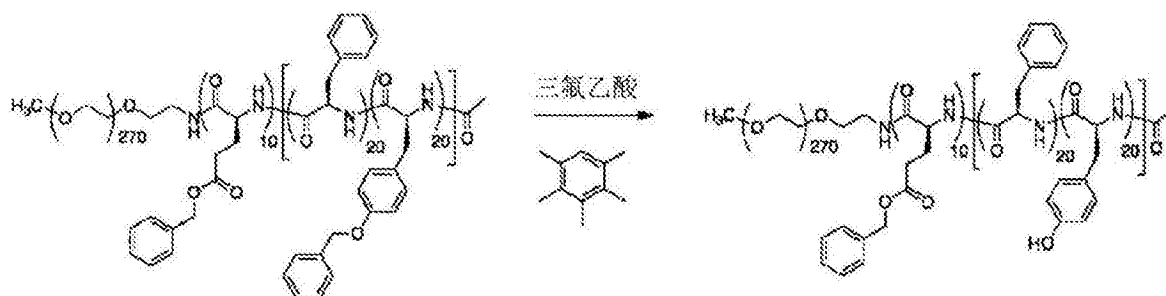
[0519]



[0520] mPEG12K-b-聚-(Glu(OBn)₁₀)-b-聚(d-Phe₂₀-共-Tyr(OBz)₂₀)-Ac使用实例10中详述的一般方案并用适当NCA起始物质代替,得到粗聚合物,用9体积乙醚使其沉淀,随后从二氯甲烷/乙醚:1/14再沉淀。过滤和真空干燥后,获得呈乳酪色无味固体状的标题化合物(产率=89%)。

[0521] 实例20

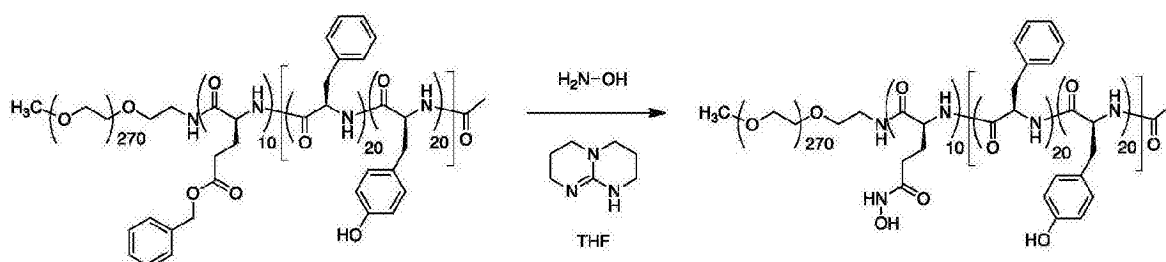
[0522]



[0523] mPEG12K-b-聚-(Glu(OBn)₁₀)-b-聚(d-Phe₂₀-共-Tyr₂₀)-Ac通过使用实例11的方法,用mPEG12K-b-聚-(Glu(OBn)₁₀)-b-聚(d-Phe₂₀-共-Tyr(OBz)₂₀)-Ac代替作为起始物质,并在室温下反应四小时,得到呈疏松无色聚合物状的标题产物(产率=87%)。

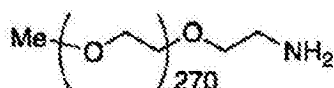
[0524] 实例21

[0525]



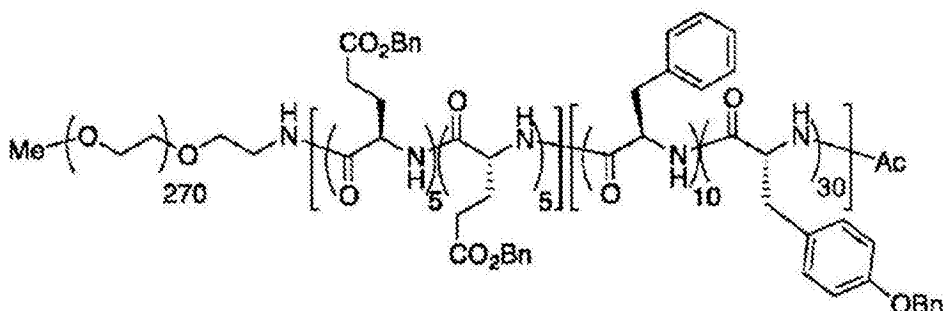
[0526] mPEG12K-b-聚-(Glu(NHOH)₁₀)-b-聚(d-Phe₂₀-共-Tyr₂₀)-Ac通过使用实例12的方法并用mPEG12K-b-聚-(Glu(OBn)₁₀)-b-聚(d-Phe₂₀-共-Tyr₂₀)-Ac代替作为起始物质,在50℃下反应17小时,得到呈精细无色聚合物状的标题产物(产率=94%,羟胺盐)。

[0527] 实例22



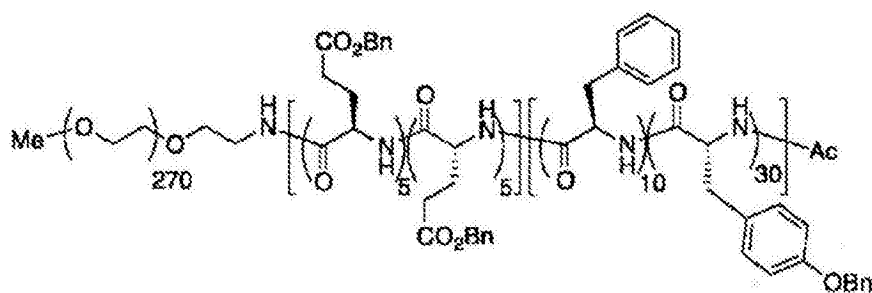
[0528]

1. 甲苯, 60℃,
真空中共沸
2. Glu(OBn)NCA,
d-Glu(OBn)NCA,
NMP, 室温, 18小时
3. d-PheNCA, Tyr(OBn)NCA,
室温→35℃, 48小时
4. Ac₂O, NMM,
DMAP, 室温, 1天

[0529] mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚(Tyr(OBn)₃₀-共-d-Phe₁₀)-Ac

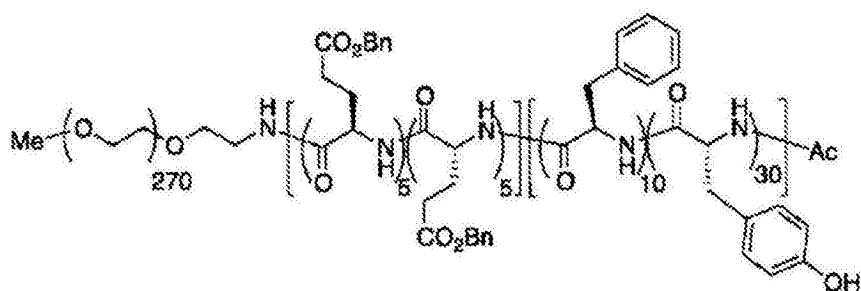
[0530] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚(Tyr(OBn)₃₀-共-d-Phe₁₀)-Ac将m-PEG10k-NH₂ (119.7g, 10.0mmol, 实例3) 称重到烘干的2L圆底烧瓶中, 溶解于甲苯(1L)中, 并通过共沸蒸馏来干燥。蒸馏到干燥后, 将聚合物置于真空下三小时。随后用N₂回填烧瓶, 在减压下再抽空, 并通过套管引入无水N-甲基吡咯烷酮(NMP) (1100mL)。将混合物短暂加热到40℃以加快溶解并随后再冷却到25℃。将Glu(OBn)NCA (13.16g, 50.0mmol) 和d-Glu(OBn)NCA (13.16g, 50.0mmol) 添加到烧瓶中, 并在环境室温下在氮气下搅拌反应混合物16小时。随后, 添加d-PheNCA (19.12g, 100mmol) 和Tyr(OBn)NCA (89.19g, 300mmol) 并在35℃下搅拌溶液48小时, 此刻反应完成(GPC, DMF/0.1%LiBr)。溶液冷却到室温并添加乙酸酐(10.21g, 100mmol, 9.45mL)、N-甲基吗啉(NMM) (11.13g, 110mmol, 12.1mL) 和二甲氨基吡啶(DMAP) (1.22g, 10.0mmol)。继续在室温下搅拌1天。使聚合物在乙醚(14L)中沉淀并通过过滤来分离, 用新制的500mL的乙醚部分洗涤, 并真空干燥, 得到呈精细的几乎无色粉末状的嵌段共聚物(214.7g, 产率=92.3%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ8.42-7.70 (理论50H, 观测47H), 7.30 (理论250H, 观测253H), 6.95 (理论120H, 观测122H), 5.10-4.85 (理论80H, 观测80H), 4.65-4.20 ((理论50H, 观测56H), 3.72-3.25 (理论1087H, 观测1593H), 3.05-2.45 (理论80H, 观测83H), 2.44-1.60 (理论40H, 观测42H)。

[0531] 实例23



[0532]

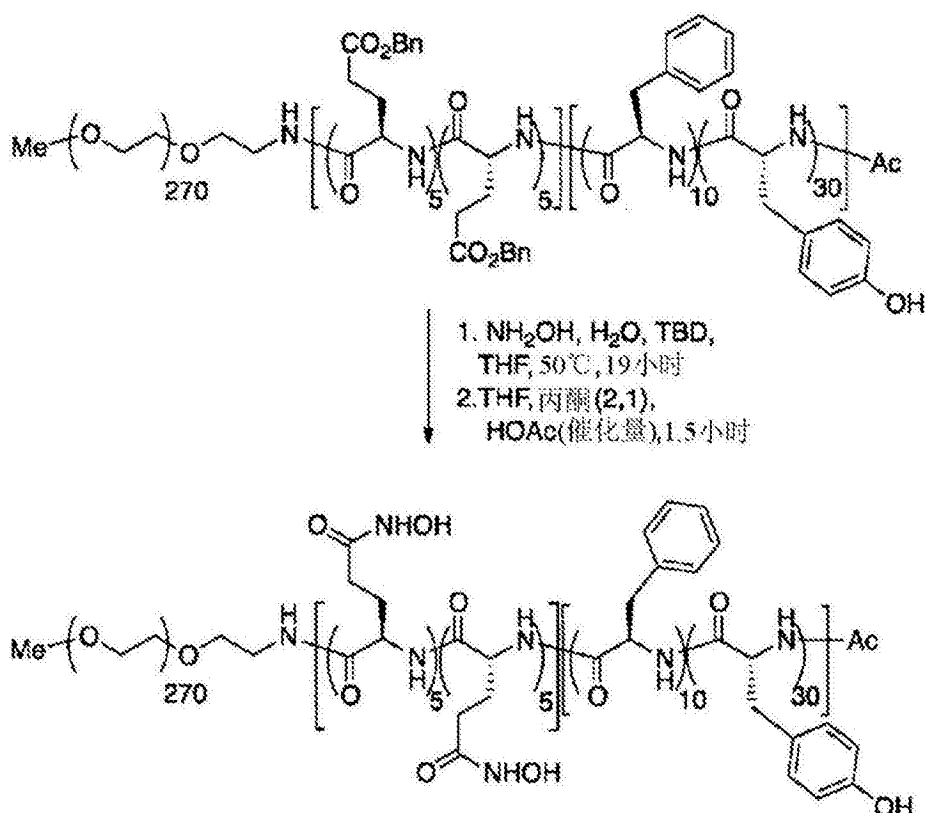
TFA, 五甲基苯
(PMB), 室温

[0533] mPEG12K-b-聚-[d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₃₀-共-d-Phe₁₀)-Ac

[0534] 合成mPEG12K-b-聚-[d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₃₀-共-d-Phe₁₀)-Ac mPEG12K-b-聚-[d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅]-b-聚-(Tyr(OBn)₃₀-共-d-Phe₁₀)-Ac (151.3g, 6.5mmol) 和五甲基苯 (86.1g, 0.58mol) 溶解于1400mL三氟乙酸 (TFA) 中。在室温下迅速地搅拌反应物六小时。在旋转蒸发仪上去除TFA, 水浴温度不超过35℃。所得粘稠的糊状物溶解于800mL无水THF中并使粗产物在12L乙醚中沉淀, 同时冷却到-30℃。所得固体通过过滤来收集, 再溶解于500mL无水THF中并在3L乙醚中再沉淀。真空干燥产物过夜后获得几乎无色无味的疏松聚合物 (126.0g, 产率=94.2%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ 9.09 (理论30H, 观测29.4H), 8.50-7.75 (理论50H, 观测52.7H), 7.40-6.45 (理论220H, 观测220H), 5.04 (理论20H, 观测17.5H), 4.70-4.20 (理论50H, 观测54.5H), 3.91-3.05 (理论1087H, 观测1391H), 3.03-2.10 (理论80H, 观测91H), 2.09-1.50 (理论40H, 观测46H)。

[0535] 实例24

[0536]

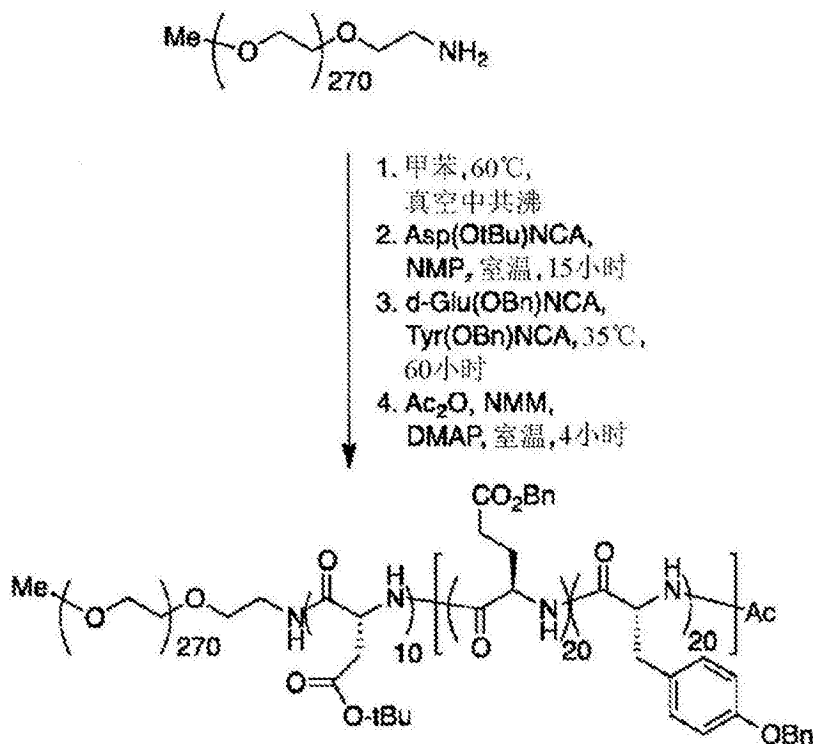


[0537] mPEG12K-b-聚-[d-Glu(NHOH)₅-共-Glu(NHOH)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₃₀-共-d-Phe₁₀)-Ac

[0538] 合成mPEG12K-b-聚-[d-Glu(NHOH)₅-共-Glu(NHOH)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₃₀-共-d-Phe₁₀)-Ac mPEG12K-b-聚-[d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₃₀-共-d-Phe₁₀)-Ac (113.3g, 5.5mmol) 溶解于1130mL无水THF中并用羟胺溶液(50%水溶液, 2.20mol, 146mL)和1,5,7-三氮杂双环[4.4.0]癸-5-烯(TBD, 2.30g, 16.5mmol)处理。将所得微混浊溶液在 50°C 下在 N_2 下搅拌19小时, 冷却到室温并用1130mL MeOH稀释。粗产物从8L乙醚沉淀出, 同时冷却到 -30°C 。所得固体通过过滤来收集, 再溶解于250mL无水THF与125mL丙酮的混合物中, 用乙酸(4.72g, 79mmol, 4.5mL)处理, 加热到回流, 保持五分钟, 并随后在环境温度下搅拌1.5小时。通过添加2L乙醚使产物沉淀, 通过抽吸过滤来收集, 用新制的乙醚部分洗涤, 并真空干燥过夜, 得到106.3g(产率=97.5%)几乎无色的疏松聚合物。 ^1H NMR(d_6 -DMSO) δ 9.12(理论30H, 观测30H), 8.80-7.75(理论50H, 观测38.4H), 7.15(理论50H, 观测50H), 6.80(理论120H, 观测120H), 4.65-4.05(理论50H, 观测50.4H), 3.80-3.15(理论1087H, 观测1360H), 3.00-2.20(理论80H, 观测79H), 2.15-1.60(理论40H, 观测40H)。

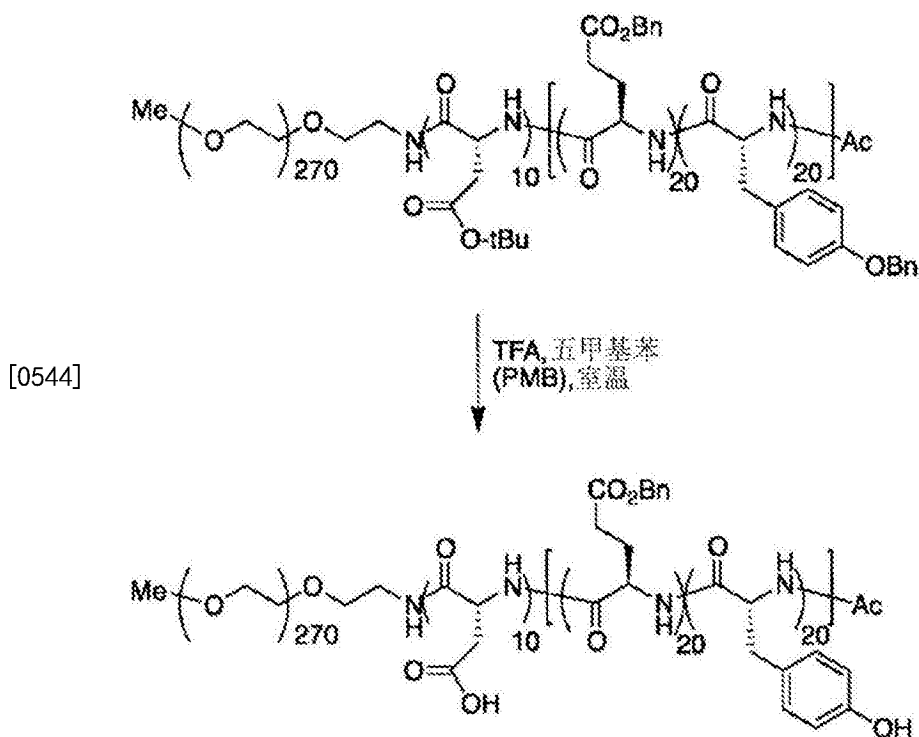
[0539] 实例25

[0540]

[0541] mPEG12K-b-聚-(Asp (OtBu)₁₀-b-聚-(Tyr (OBn)₂₀-共-d-Glu (OBn)₂₀-Ac

[0542] 合成mPEG12K-b-聚-(Asp (OtBu)₁₀-b-聚-(Tyr (OBn)₂₀-共-d-Glu (OBn)₂₀-Ac使用实例22中详述的方案,用二氯甲烷:DMF:10:1替换NMP溶剂,并用适当NCA起始物质代替,制备呈精细的无色无味固体状的标题化合物(产率=93.9%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ 8.42-7.85 (理论50H,观测51H), 7.30 (理论200H,观测198H), 6.98 (理论80H,观测72H), 5.15-4.85 (理论80H,观测80H), 4.68-4.20 (理论50H,观测46H), 3.72-3.25 (理论1087H,观测1415H), 3.05-1.50 (理论120H,观测114H), 1.35 (理论90H,观测76H)。

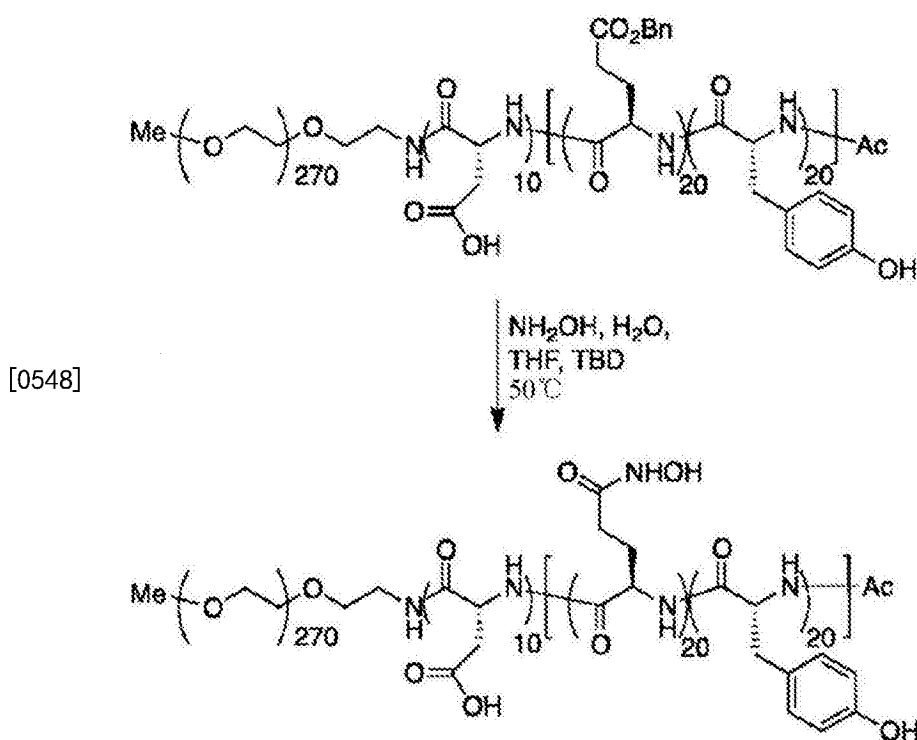
[0543] 实例26



[0545] mPEG12K-b-聚-(Asp(OH)₁₀-b-聚-(Tyr(OH)₂₀-共-d-Glu(OBn)₂₀-Ac

[0546] 合成mPEG12K-b-聚-(Asp(OH)₁₀-b-聚-(Tyr(OH)₂₀-共-d-Glu(OBn)₂₀-Ac通过使用实例23的方法并用mPEG12K-b-聚-(Asp(OtBu)₁₀-b-聚-(Tyr(OBn)₂₀-共-d-Glu(OBn)₂₀-Ac代替作为起始物质,在室温下反应三小时十五分钟并从二氯甲烷/乙醚:1/8.5的混合物沉淀,得到呈精细的无色无味聚合物状的标题产物(产率=98.9%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ12.38 (理论10H,观测9H), 9.13 (理论20H,观测17H), 8.40-7.80 (理论50H,观测43H), 7.32 (理论100H,观测82H), 6.80 (理论80H,观测83H), 5.04 (理论40H,观测34.2H), 4.60-4.20 (理论50H,观测55H), 3.80-3.20 (理论1087H,观测1100H), 2.95-1.45 (理论140H,观测154.6H)。

[0547] 实例27

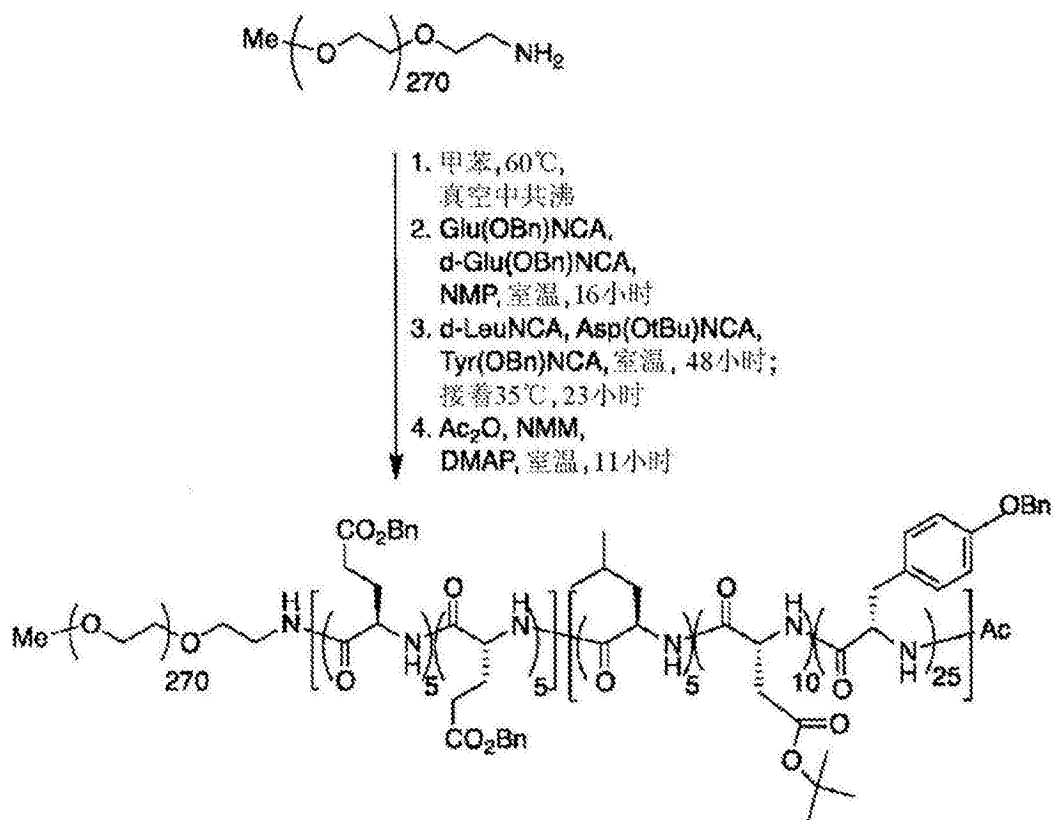


[0549] mPEG12K-b-聚-(Asp(OH)₁₀-b-聚-(Tyr(OH)₂₀-共-d-Glu(NHOH)₂₀-Ac

[0550] 合成mPEG12K-b-聚-(Asp(OH)₁₀-b-聚-(Tyr(OH)₂₀-共-d-Glu(NHOH)₂₀-Ac
mPEG12K-b-聚-(Asp(OH)₁₀-b-聚-(Tyr(OH)₂₀-共-d-Glu(OBn)₂₀-Ac (20.81g, 1.0mmol) 溶解于210mL THF中并用羟胺溶液(50%水溶液, 0.80mol, 53.0mL)和1,5,7-三氮杂双环[4.4.0]癸-5-烯(TBD, 0.84g, 6.0mmol)处理。在50℃下在N₂下搅拌所得微混浊溶液17小时, 冷却到室温并用210mL MeOH稀释。将粗产物用1L乙醚沉淀, 过滤, 用新制的乙醚部分洗涤, 并真空干燥过夜, 得到19.68g(产率=98.5%)呈羟胺盐形式的无色疏松聚合物。羟胺盐的一部分(10.0g)溶解于1L 30%叔丁醇/水中, 用碳酸铵(3.33g)处理, 并冻干, 得到呈无色无味疏松固体状的天然羧酸盐形式(产率定量)。¹H NMR(d₆-DMSO, 羟胺盐) δ9.08(理论20H, 观测10H), 6.80(理论80H, 观测80H), 4.60-4.02(理论50H, 观测54.7H), 3.80-3.15(理论1087H, 观测1211H), 2.90(理论40H, 观测45H), 2.80-1.50(理论100H, 观测120H)。光谱展示影响高场区域中整合的痕量溶剂。

[0551] 实例28

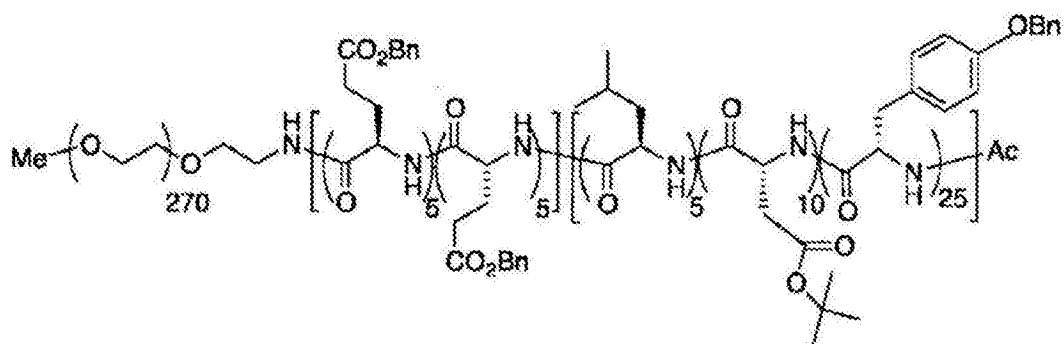
[0552]



[0553] mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚(d-Leu₅-共-Asp(OtBu)₁₀-共-Tyr(OBn)₂₅)-Ac

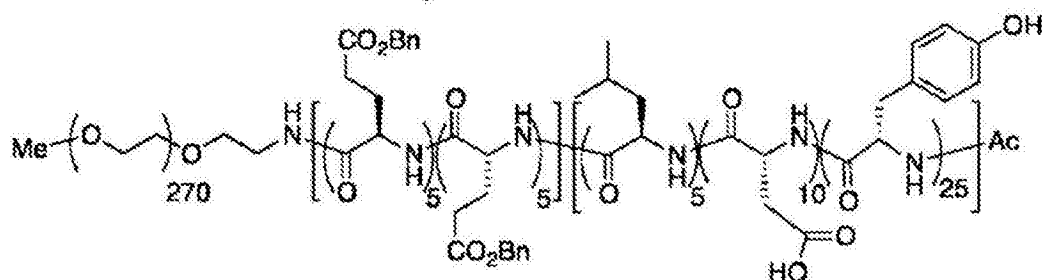
[0554] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚(d-Leu₅-共-Asp(OtBu)₁₀-共-Tyr(OBn)₂₅)-Ac使用实例22中详述的一般方案并用适当NCA起始物质代替,得到粗聚合物,用12体积乙醚使其沉淀,随后从二氯甲烷/乙醚:1/12再沉淀。过滤和真空干燥后,获得呈精细的无色无味固体状的标题化合物(产率=89.2%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ8.52-7.75 (理论50H, 观测49H), 7.35 (理论175H, 观测198H), 7.11 (理论50H, 观测49H), 6.80 (理论50H, 观测50H), 5.10-4.75 (理论70H, 观测75H), 4.70-4.15 (理论50H, 观测56H), 3.72-3.25 (理论1087H, 观测1580H), 3.05-1.65 (理论110H, 观测144H), 1.58-0.55 (理论135H, 观测155H)。

[0555] 实例29



[0556]

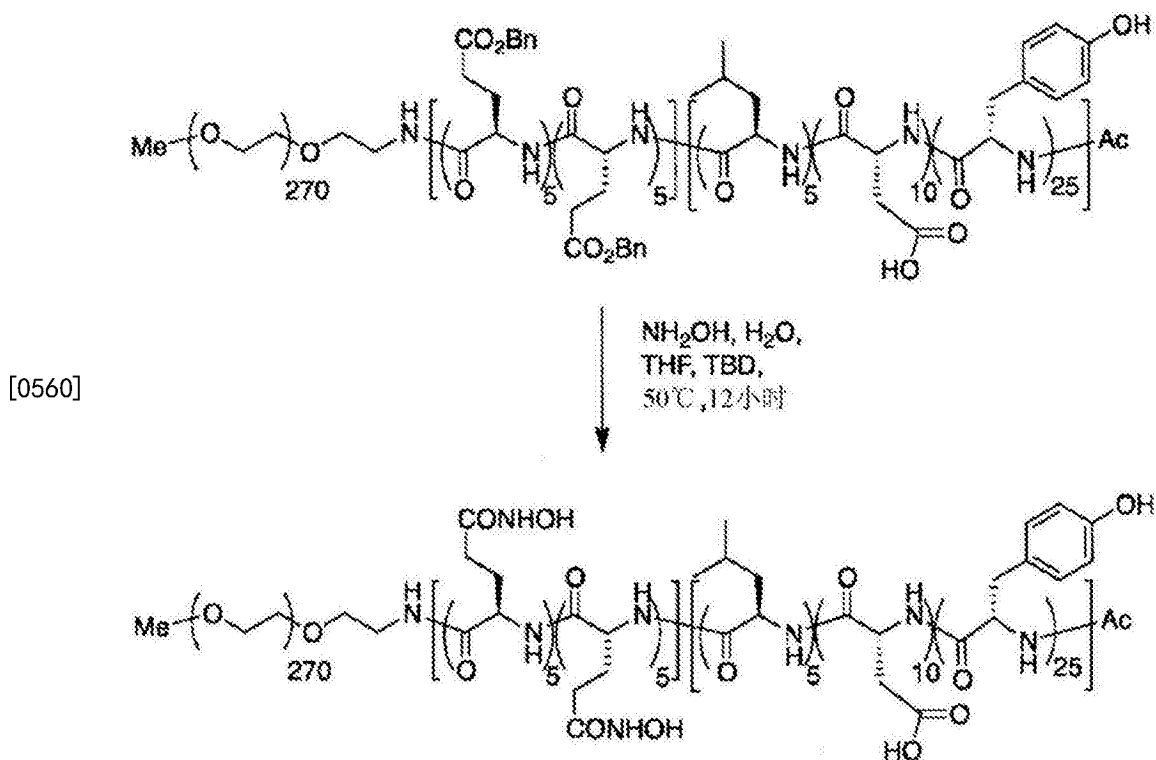
TFA, 五甲基苯
室温, 3.25 小时



[0557] mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚(d-Leu₅-共-Asp(OH)₁₀-共-Tyr(OH)₂₅)-Ac

[0558] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚(d-Leu₅-共-Asp(OH)₁₀-共-Tyr(OH)₂₅)-Ac通过使用实例23的方法并用mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚(d-Leu₅-共-Asp(OtBu)₁₀-共-Tyr(OBn)₂₅)-Ac代替作为起始物质,在室温下反应三小时十五分钟并从二氯甲烷/乙醚:1/24、接着二氯甲烷/乙醚:1/12的混合物沉淀,得到呈疏松的无色无味聚合物状的标题产物(产率=97.0%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ9.4-8.5(理论35H,观测34H),8.40-7.75(理论50H,观测61H),7.35-7.15(理论50H,观测43H),6.98(理论50H,观测49H),6.60(理论50H,观测50H),5.04(理论20H,观测18H),4.65-4.10(理论50H,观测58H),3.80-3.20(理论1087H,观测1367H,含有遮蔽的H₂O峰),3.00-2.15(理论90H,观测95H),2.05-1.70(理论20H,观测26H),1.63-0.57(理论45H,观测45H)。

[0559] 实例30

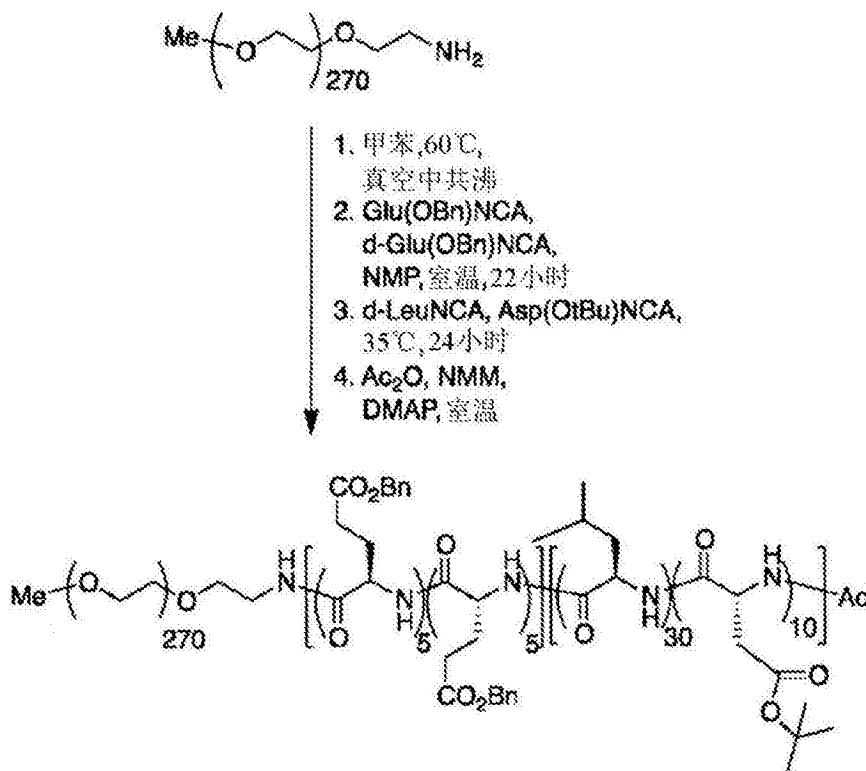


[0561] mPEG12K-b-聚-(d-Glu (NHOH)₅-共-Glu (NHOH)₅)-b-聚(d-Leu₅-共-Asp (OH)₁₀-共-Tyr (OH)₂₅)-Ac

[0562] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu (OBn)₅-共-Glu (OBn)₅)-b-聚(d-Leu₅-共-Asp (OH)₁₀-共-Tyr (OH)₂₅)-Ac通过使用实例27的方法并用mPEG12K-b-聚-(d-Glu (OBn)₅-共-Glu (OBn)₅)-b-聚(d-Leu₅-共-Asp (OH)₁₀-共-Tyr (OH)₂₅)-Ac代替作为起始物质,在 50°C 下反应12小时,得到呈精细的无色聚合物状的标题产物(产率=93.3%,羟胺盐)。 ^1H NMR (d_6 -DMSO) δ 9.4-8.5 (理论35H, 观测34H), 8.60-7.75 (理论50H, 观测43H), 7.2-6.85 (理论50H, 观测55H), 6.60 (理论50H, 观测50H), 4.60-4.00 (理论50H, 观测41H), 3.80-3.00 (理论1087H, 观测1174H, 含有遮蔽的 H_2O 峰), 3.00-1.65 (理论110H, 观测124H), 1.63-0.57 (理论45H, 观测40H)。

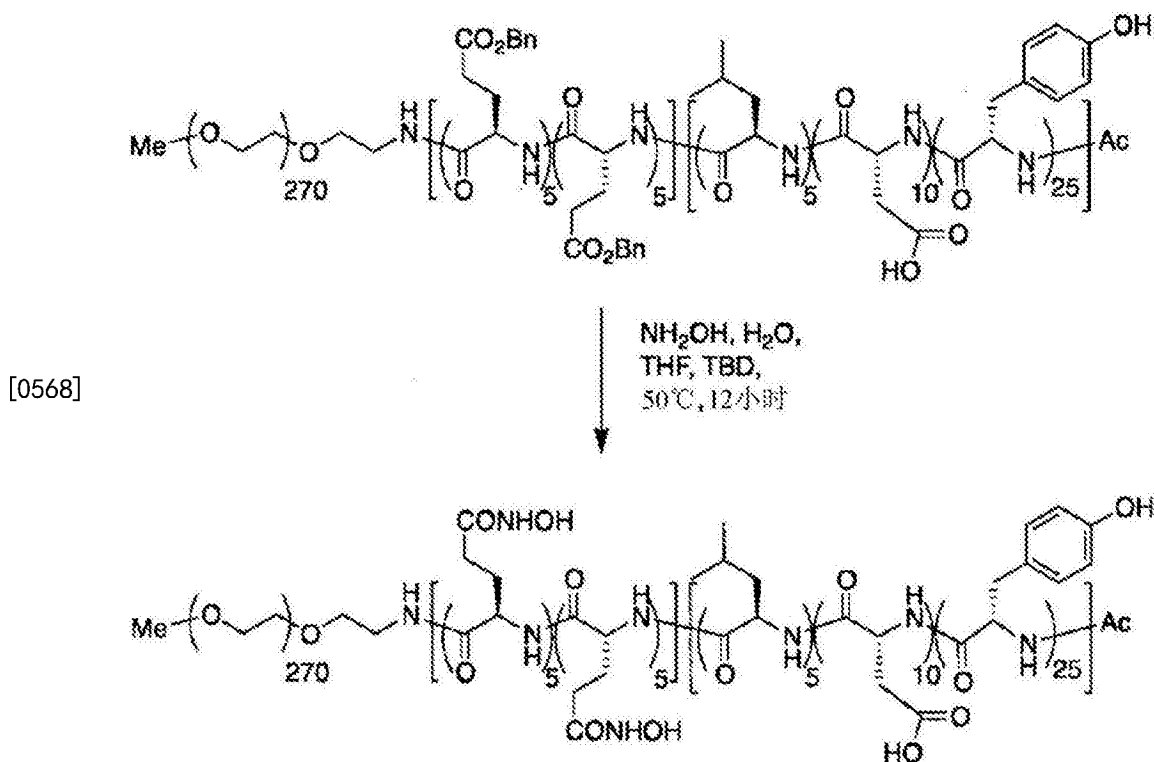
[0563] 实例31

[0564]

[0565] mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚(d-Leu₃₀-共-Asp(OtBu)₁₀)-Ac

[0566] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚(d-Leu₃₀-共-Asp(OtBu)₁₀)-Ac使用实例22中详述的一般方案并用适当NCA起始物质代替,得到粗聚合物,用30体积乙醚/庚烷:6/1使其沉淀,随后从二氯甲烷/乙醚:1/20再沉淀。过滤和真空干燥后,获得呈乳酪色无味固体状的标题化合物(产率=90.7%)。¹H NMR (d₄-MeOH) δ7.31 (理论50H, 观测66H), 5.04 (理论20H, 观测20H), 4.45-3.97 (理论50H, 观测37H), 3.95-3.25 (理论1087H, 观测1876H), 3.05-0.80 (理论420H, 观测313H)。

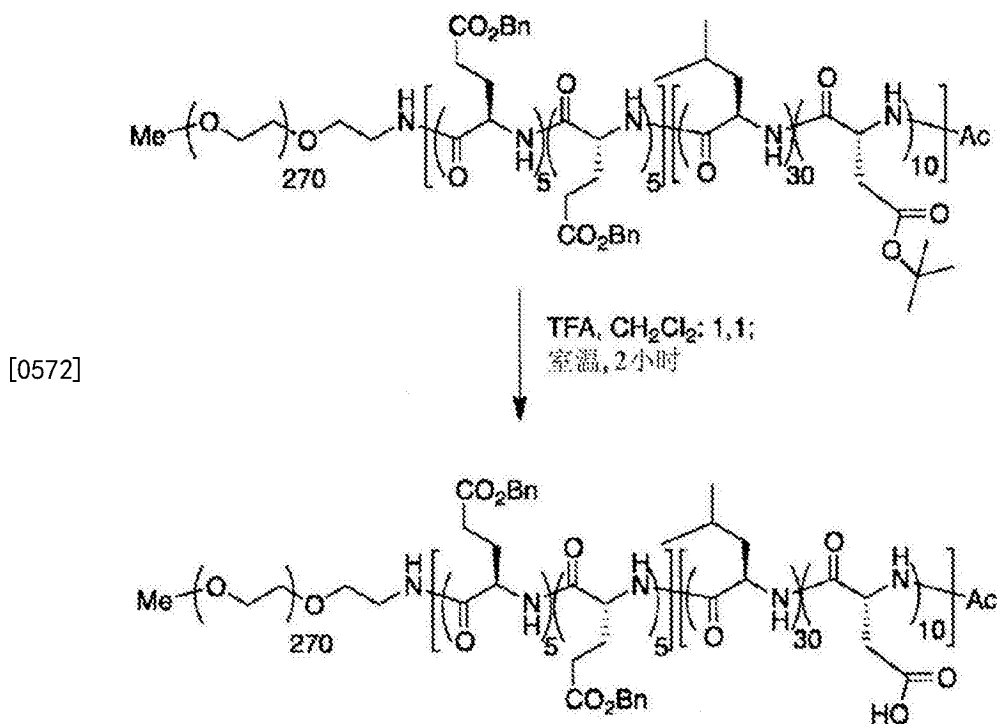
[0567] 实例32



[0569] mPEG12K-b-聚-(d-Glu (NHOH)₅-共-Glu (NHOH)₅)-b-聚(d-Leu₅-共-Asp (OH)₁₀-共-Tyr (OH)₂₅)-Ac

[0570] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu (NHOH)₅-共-Glu (NHOH)₅)-b-聚(d-Leu₅-共-Asp (OH)₁₀-共-Tyr (OH)₂₅)-Ac通过使用实例27的方法并用mPEG12K-b-聚-(d-Glu (OBn)₅-共-Glu (OBn)₅)-b-聚(d-Leu₅-共-Asp (OH)₁₀-共-Tyr (OH)₂₅)-Ac代替作为起始物质,在 50°C 下反应12小时,得到呈精细的无色聚合物状的标题产物(产率=93.3%,羟胺盐)。 ^1H NMR (d_6 -DMSO) δ 9.4-8.5 (理论35H, 观测34H), 8.60-7.75 (理论50H, 观测43H), 7.2-6.85 (理论50H, 观测55H), 6.60 (理论50H, 观测50H), 4.60-4.00 (理论50H, 观测41H), 3.80-3.00 (理论1087H, 观测1174H, 含有遮蔽的 H_2O 峰), 3.00-1.65 (理论110H, 观测124H), 1.63-0.57 (理论45H, 观测40H)。

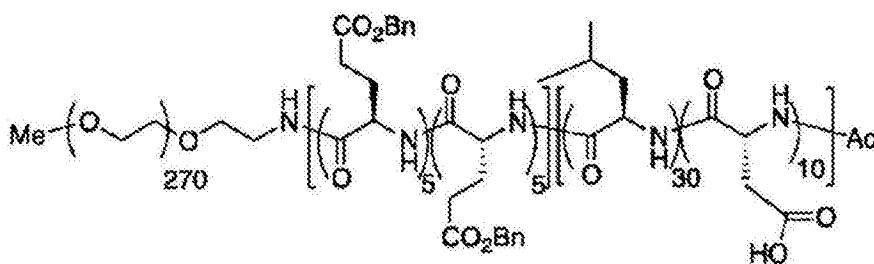
[0571] 实例33



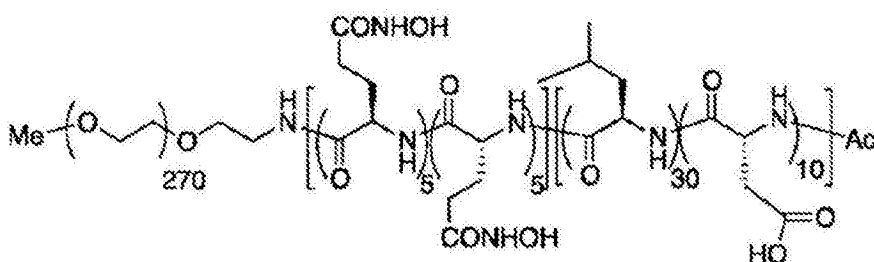
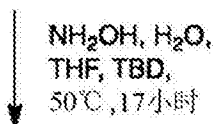
[0573] mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚(d-Leu₃₀-共-Asp(OH)₁₀)-Ac

[0574] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚(d-Leu₃₀-共-Asp(OH)₁₀)-Ac通过使用实例23的方法,用mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚(d-Leu₃₀-共-Asp(OtBu)₁₀)-Ac代替作为起始物质并省略PMB,在室温下反应两小时并从二氯甲烷/乙醚:1/13沉淀,得到呈疏松无色聚合物状的标题产物(产率=97.4%)。¹H NMR(d₄-MeOH) δ 7.31(理论50H,观测61H),5.04(理论20H,观测20H),4.45-3.97(理论50H,观测29H),3.95-3.25(理论1087H,观测1542H),3.05-0.80(理论330H,观测258H)。

[0575] 实例34

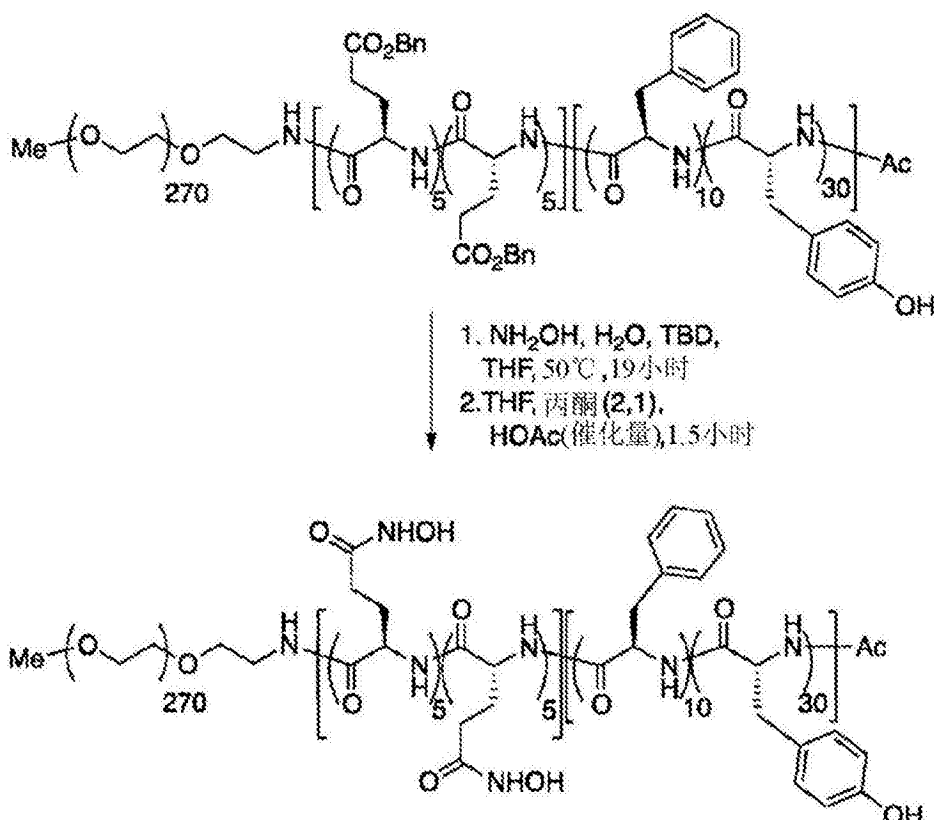


[0576]

[0577] mPEG12K-b-聚-(d-Glu(NHOH)₅-共-Glu(NHOH)₅)-b-聚(d-Leu₃₀-共-Asp(OH)₁₀)-Ac

[0578] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(NHOH)₅-共-Glu(NHOH)₅)-b-聚(d-Leu₃₀-共-Asp(OH)₁₀)-Ac通过使用实例27的方法并用mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚(d-Leu₃₀-共-Asp(OH)₁₀)-Ac代替作为起始物质,在50℃下反应17小时,得到呈精细的无色聚合物状的标题产物(产率=96.4%,羟胺盐)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ8.8-7.2(理论70H,观测67H),4.55-3.85(理论50H,观测50H),3.80-3.30(理论1087H,观测1520H),3.29-2.60(理论60H,观测80H),2.42-0.70(理论270H,观测278H)。

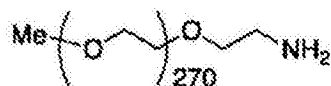
[0579] 实例35



[0581] mPEG12K-b-聚-[d-Glu (NHOH)₅-共-Glu (NHOH)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₃₀-共-d-Phe₁₀)-Ac

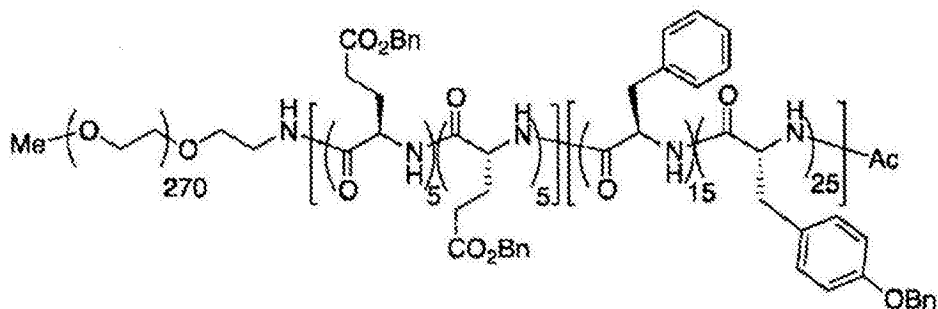
[0582] 合成mPEG12K-b-聚-[d-Glu (NHOH)₅-共-Glu (NHOH)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₃₀-共-d-Phe₁₀)-Ac mPEG12K-b-聚-[d-Glu (OBn)₅-共-Glu (OBn)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₃₀-共-d-Phe₁₀)-Ac (30.86g, 1.50mmol) 溶解于310mL无水THF中并用羟胺溶液(50%水溶液, 0.60mol, 39.7mL)和1,5,7-三氮杂双环[4.4.0]癸-5-烯(TBD, 626.4mg, 4.5mmol)处理。将所得微混浊溶液在 N_2 下在室温下搅拌69小时并用310mL MeOH稀释。粗产物从3L乙醚沉淀出,同时冷却到 -30°C 。所得固体通过过滤来收集,再溶解于150mL无水THF与100mL丙酮的混合物中,用乙酸(1.26g, 21.0mmol, 1.2mL)处理,并随后在环境温度下搅拌2小时。通过添加1.5L乙醚使产物沉淀,通过抽吸过滤来收集,用新制的乙醚部分洗涤,并真空干燥过夜,得到29.41g (产率=98.9%) 几乎无色的疏松聚合物。 ^1H NMR (d_6 -DMSO): 与实例24一致。

[0583] 实例36



[0584]

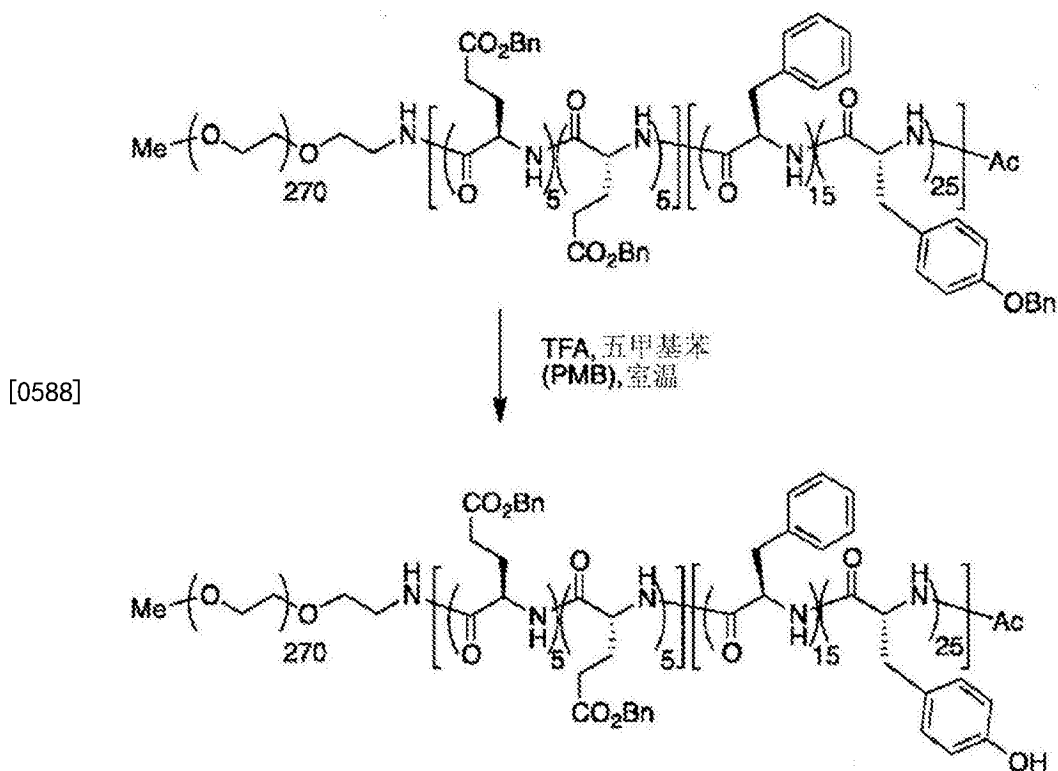
1. 甲苯, 60℃,
真空中共沸
2. Glu(OBn)NCA,
d-Glu(OBn)NCA,
NMP, 室温
3. d-PheNCA, Tyr(OBn)NCA,
室温→35℃
4. Ac₂O, NMM,
DMAP, 室温



[0585] mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚-(Tyr(OBn)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

[0586] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚-(Tyr(OBn)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac使用实例24中详述的方案并用适当NCA起始物质代替,得到粗聚合物,用10体积乙醚沉淀。过滤和真空干燥后,获得呈精细的无色无味固体状的标题化合物(产率=83.6%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ8.42-7.80 (理论50H,观测43H), 7.42-6.68 (理论350H,观测350H), 5.10-4.80 (理论70H,观测73H), 4.65-4.20 (理论50H,观测50H), 3.75-3.25 (理论1087H,观测1755H), 3.01-2.30 (理论80H,观测85H), 2.02-1.60 (理论40H,观测38H)。

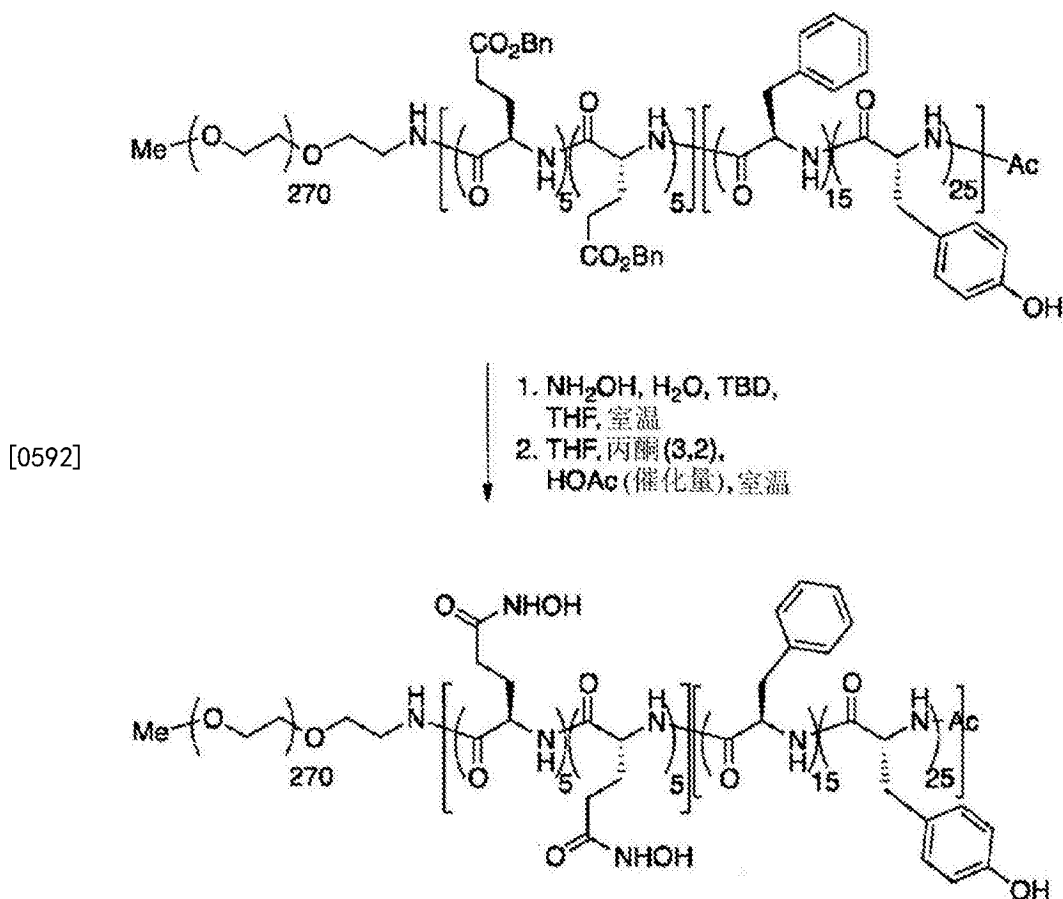
[0587] 实例37



[0589] mPEG12K-b-聚-[d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

[0590] 合成mPEG12K-b-聚-[d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac通过使用实例23的方法并用mPEG12K-b-聚-[d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅]-b-聚-(Tyr(OBn)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac代替作为起始物质,在室温下反应5.25小时,得到呈精细的无色无味聚合物状的标题产物(产率=99.3%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ9.09(理论25H,观测22H), 8.40-7.75(理论50H,观测49H), 7.40-6.50(理论225H,观测225H), 5.04(理论20H,观测21H), 4.65-4.20(理论50H,观测54H), 3.81-3.20(理论1087H,观测1613H), 3.05-2.10(理论80H,观测90H), 2.05-1.63(理论40H,观测38H)。

[0591] 实例38

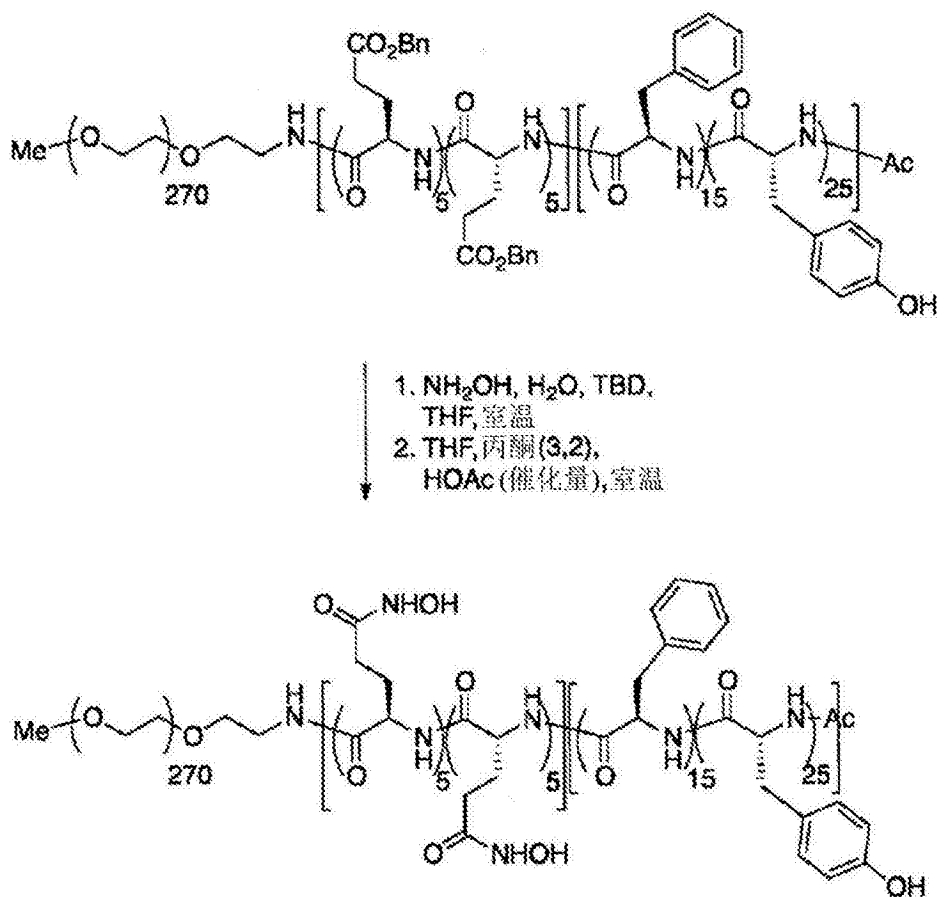


[0593] mPEG12K-b-聚-[d-Glu (NHOH)₅-共-Glu (NHOH)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

[0594] 合成mPEG12K-b-聚-[d-Glu (NHOH)₅-共-Glu (NHOH)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac mPEG12K-b-聚-[d-Glu (OBn)₅-共-Glu (OBn)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac (51.23g, 2.50mmol) 溶解于515mL无水THF中并用羟胺溶液(50%水溶液, 1.00mol, 66.3mL, 40当量/苯甲酯部分)和1,5,7-三氮杂双环[4.4.0]癸-5-烯(TBD, 1.044g, 7.5mmol, 0.3当量)处理。将所得微混浊溶液在 N_2 下在室温下搅拌108小时并用515mL IPA稀释。粗产物从6L乙醚沉淀出。所得固体通过过滤来收集,再溶解于300mL无水THF与200mL丙酮的混合物中,用乙酸(2.25g, 37.5mmol, 2.15mL)处理,并随后在环境温度下搅拌2.5小时。通过添加3L乙醚使产物沉淀,通过抽吸过滤来收集,用新制的乙醚部分洗涤,并真空干燥过夜,得到45.16g(产率=91.5%)呈几乎无色的疏松聚合物状的标题化合物,具有轻微的乙酸气味。¹H NMR (d_6 -DMSO) δ 9.35-8.85(理论45H, 观测28H), 8.42-7.75(理论50H, 观测37H), 7.37-6.46(理论175H, 观测164H), 4.65-4.00(理论50H, 观测50H), 3.82-3.07(理论1087H, 观测1708H, 含有遮蔽的 H_2O 峰), 3.05-2.20(理论80H, 观测84H), 2.18-1.63(理论40H, 观测68H, 含有痕量HOAc)。

[0595] 实例39

[0596]

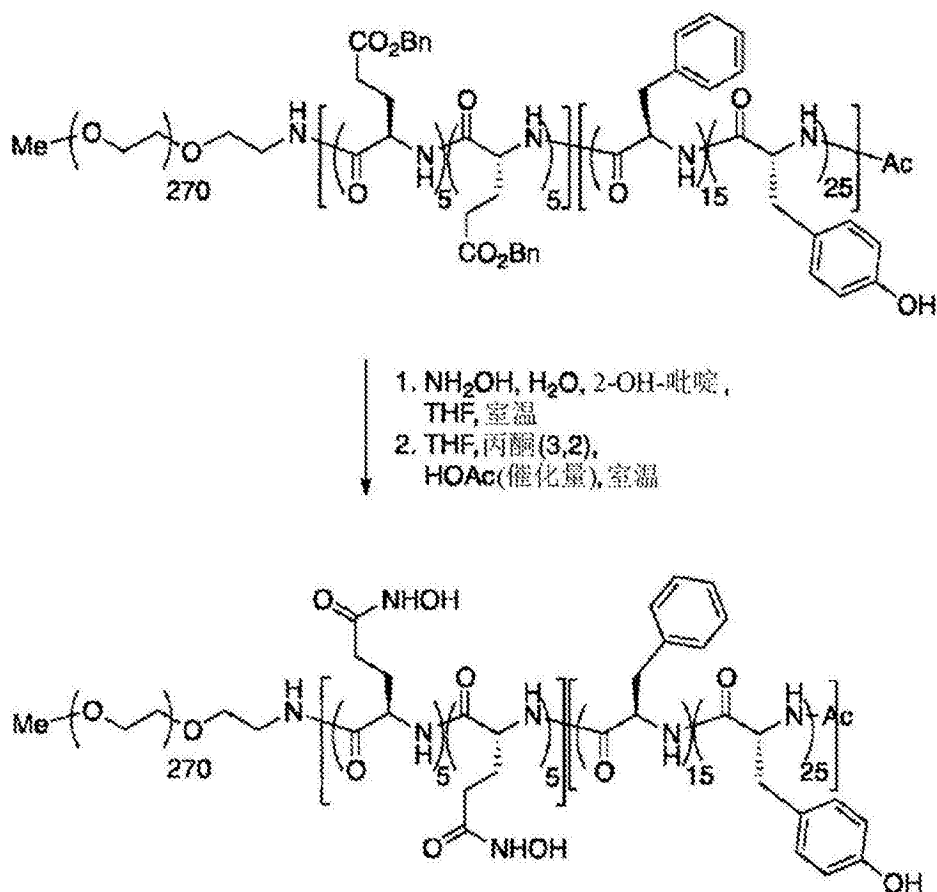


[0597] mPEG12K-b-聚-[d-Glu(NHOH)₅-共-Glu(NHOH)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

[0598] 合成mPEG12K-b-聚-[d-Glu(NHOH)₅-共-Glu(NHOH)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac通过使用实例38的方法并增加羟胺浓度(80当量/苯甲酯),在室温下反应65小时并如上处理,得到呈精细的无色聚合物状的标题产物(产率=87.8%),具有轻微的乙酸气味。¹H NMR(d_6 -DMSO):与实例38一致。

[0599] 实例40

[0600]

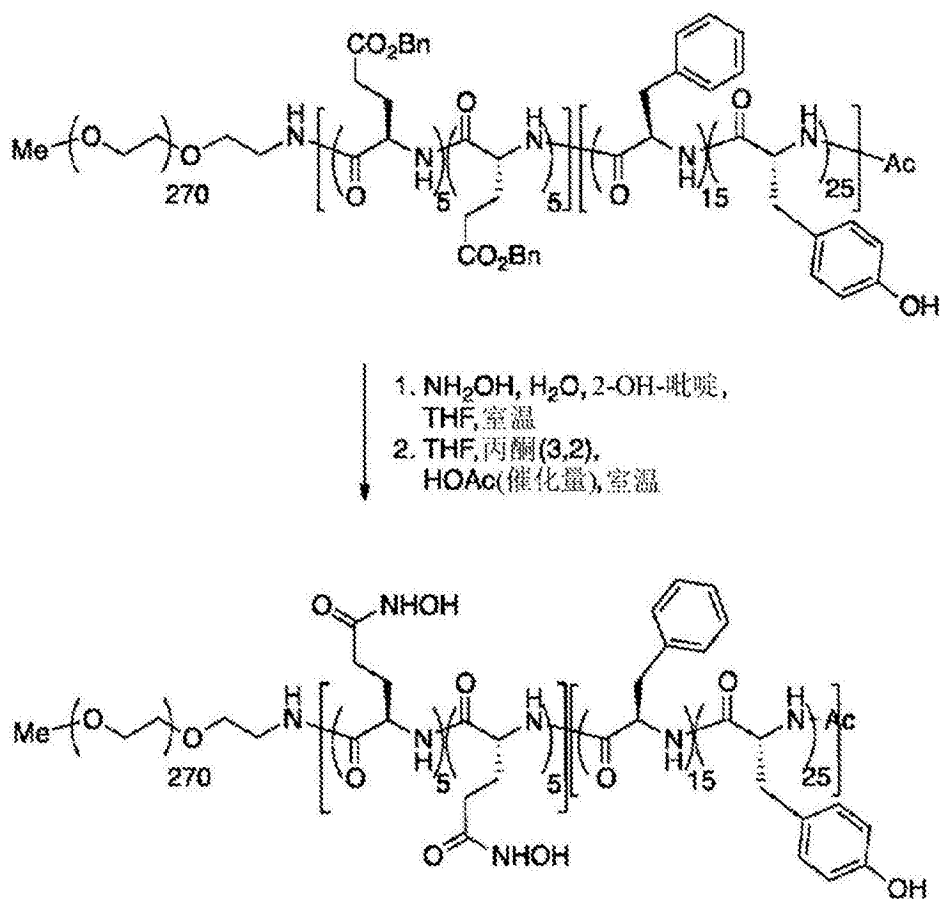


[0601] mPEG12K-b-聚-[d-Glu(NHOH)₅-共-Glu(NHOH)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

[0602] 合成mPEG12K-b-聚-[d-Glu(NHOH)₅-共-Glu(NHOH)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac通过使用实例39的方法并用2-羟基吡啶(0.3当量)代替TBD,在室温下反应137小时并如上处理,得到呈精细的无色聚合物状的标题产物(产率=91.2%),具有轻微的乙酸气味。¹H NMR(d_6 -DMSO):与实例38一致。

[0603] 实例41

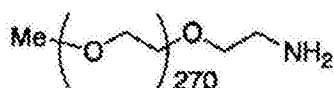
[0604]



[0605] mPEG12K-b-聚-[d-Glu (NHOH)₅-共-Glu (NHOH)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

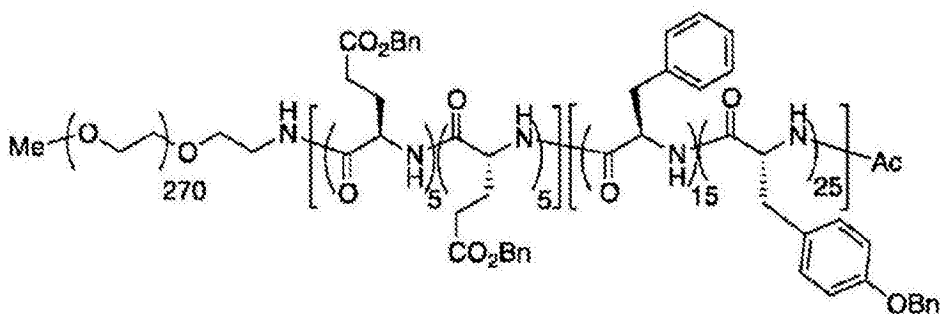
[0606] 合成mPEG12K-b-聚-[d-Glu (NHOH)₅-共-Glu (NHOH)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac通过使用实例38的方法并用2-羟基吡啶(0.3当量)代替TBD,在50℃下反应24.5小时并如上处理,得到呈精细的无色聚合物状的标题产物(产率=91.2%),具有轻微的乙酸气味。¹H NMR (d₆-DMSO):与实例38一致。

[0607] 实例42



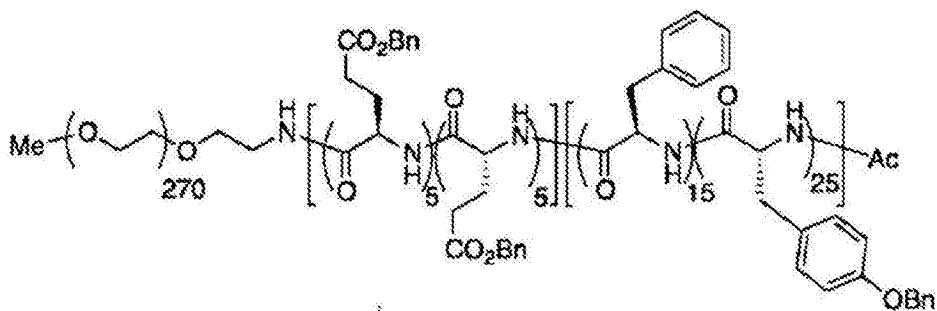
[0608]

1. 甲苯, 60°C,
真空中共沸
2. Glu(OBn)NCA,
d-Glu(OBn)NCA,
NMP, 室温
3. d-PheNCA, Tyr(OBn)NCA,
室温→35°C
4. Ac₂O, NMM,
DMAP, 室温

[0609] mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚-(Tyr(OBn)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

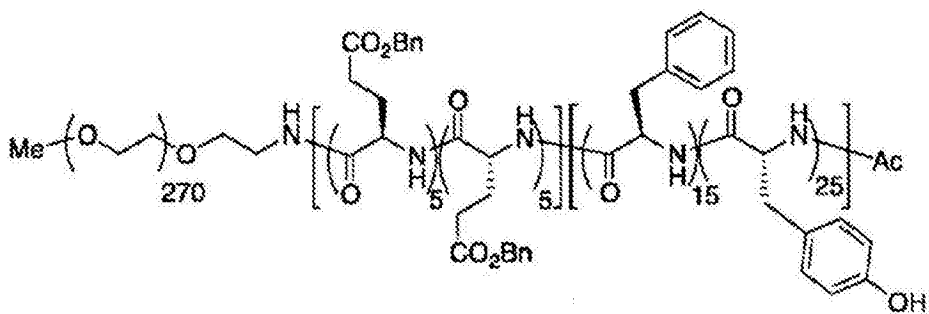
[0610] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚-(Tyr(OBn)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac使用实例36中详述的方案并用适当NCA起始物质代替,得到粗聚合物,用5体积异丙醇沉淀。过滤和真空干燥后,获得呈精细的无色无味固体状的标题化合物(产率=84.2%)。¹H NMR (d₆-DMSO):与实例36一致。

[0611] 实例43



[0612]

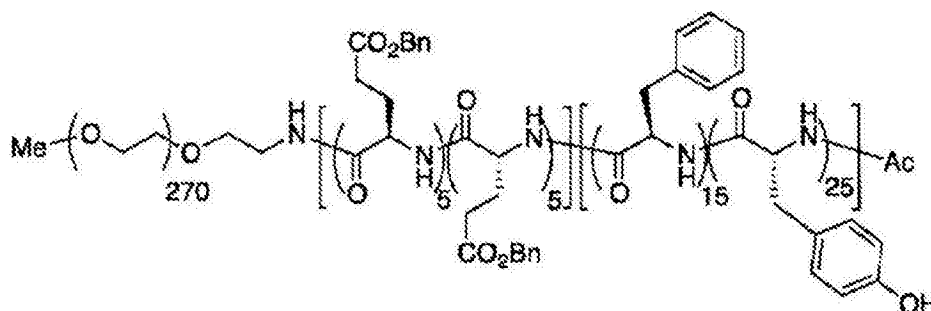
TFA, 五甲基苯
(PMB), 室温



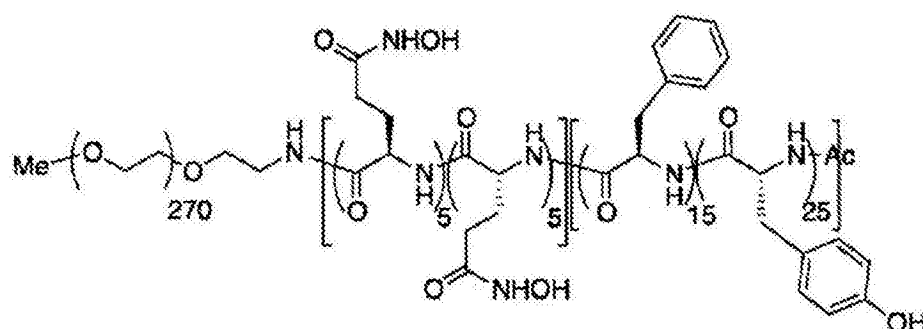
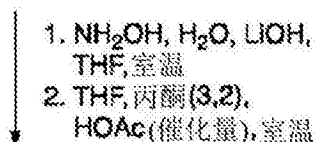
[0613] mPEG12K-b-聚-[d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

[0614] 合成mPEG12K-b-聚-[d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac通过使用实例37的方法,mPEG12K-b-聚-[d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅]-b-聚-(Tyr(OBn)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac与PMB在TFA中在室温下反应四小时并从氯丁烷/TBME:1/3的混合物沉淀,得到呈精细的无色无味聚合物状的标题产物(产率=93.1%)。¹H NMR(d₆-DMSO):与实例37一致。

[0615] 实例44



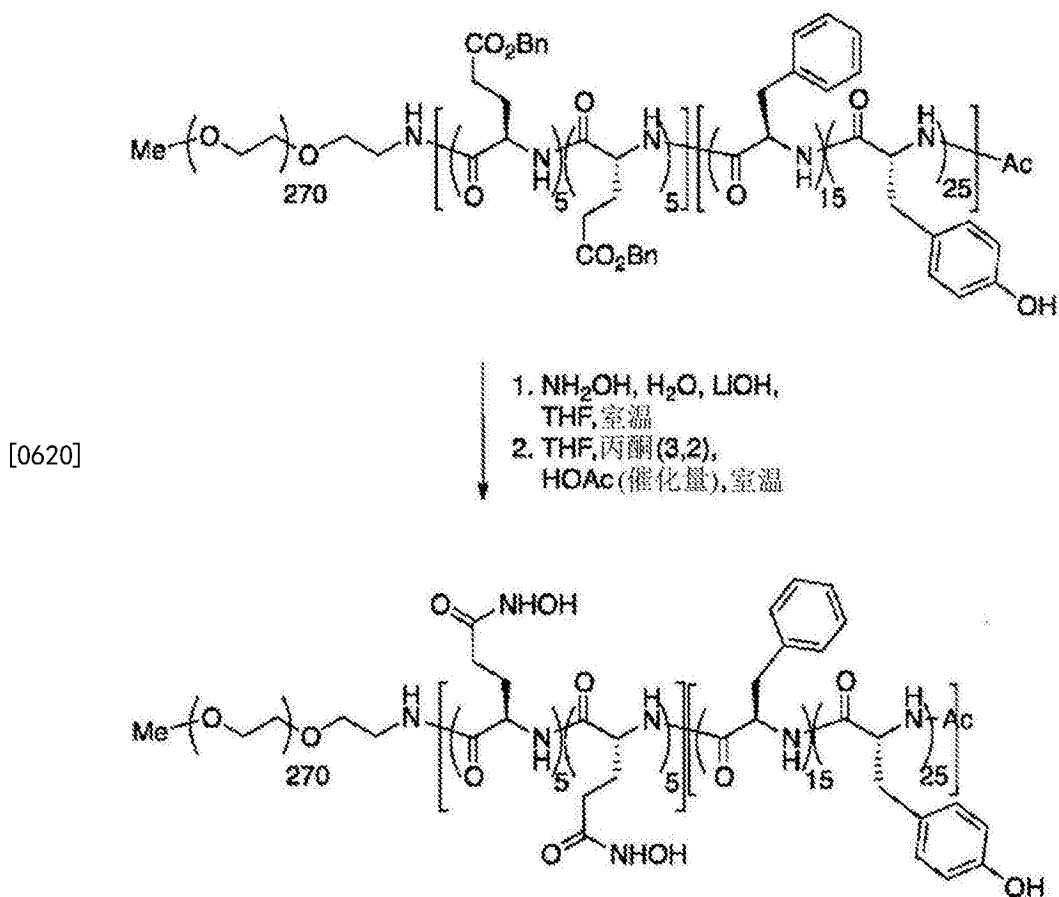
[0616]



[0617] mPEG12K-b-聚-[d-Glu(NHOH)₅-共-Glu(NHOH)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

[0618] 合成mPEG12K-b-聚-[d-Glu(NHOH)₅-共-Glu(NHOH)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac mPEG12K-b-聚-[d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac (4.10g, 0.20mmol) 溶解于41mL无水THF中并用羟胺溶液(50%水溶液, 40.0mmol, 2.65mL, 20当量/苯甲酯部分)和氢氧化锂单水合物(84.0mg, 2.0mmol, 1.0当量/苯甲酯部分)处理。将所得透明的浅黄色溶液在室温下在N₂下搅拌22小时并用41mL IPA稀释。在迅速搅拌下粗产物从160mL TBME沉淀出。所得固体通过过滤来收集, 真空干燥, 并再溶解于24mL无水THF与16mL丙酮的混合物中。溶液用乙酸(0.18g, 3.00mmol, 0.17mL)处理, 短暂加热到回流, 并在环境温度下搅拌15小时。通过添加一定体积的TBME使产物沉淀, 通过抽吸过滤来收集, 用新制的TBME部分洗涤, 并真空干燥过夜, 得到3.62g(产率=91.7%)呈几乎无色疏松聚合物状的标题化合物。¹H NMR(d₆-DMSO):与实例38一致。

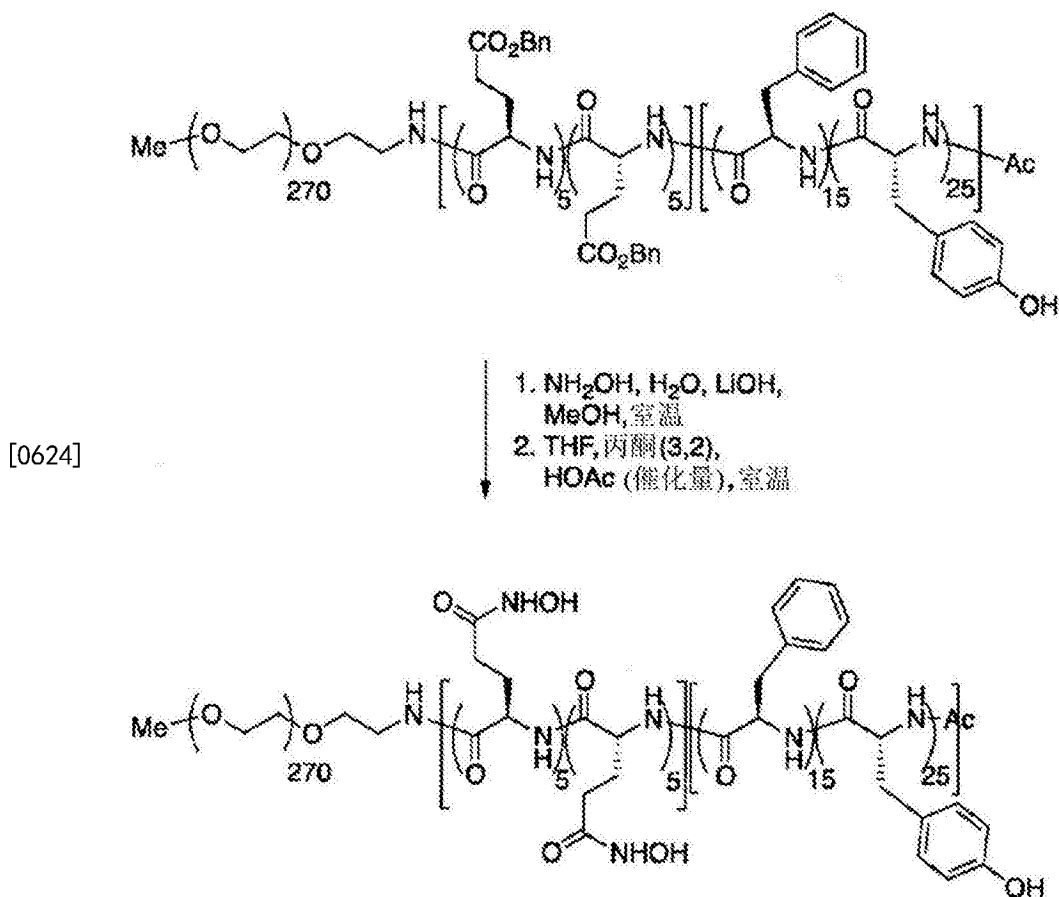
[0619] 实例45



[0621] mPEG12K-b-聚-[d-Glu (NHOH)₅-共-Glu (NHOH)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

[0622] 合成mPEG12K-b-聚-[d-Glu (NHOH)₅-共-Glu (NHOH)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac使用以上实例44中所述的方法,使用氢氧化锂单水合物(2.0当量/苯甲酯部分)将mPEG12K-b-聚-[d-Glu (OBn)₅-共-Glu (OBn)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac转化成标题化合物。反应时间是18小时。粗产物从16体积IPA沉淀出并且所得固体用THF、丙酮和乙酸处理,如实例44中所详述。在从两体积TBME沉淀、过滤和真空干燥后,获得呈精细的无色固体状的标题化合物(产率=96.2%)。¹H NMR (d_6 -DMSO):与实例38一致。

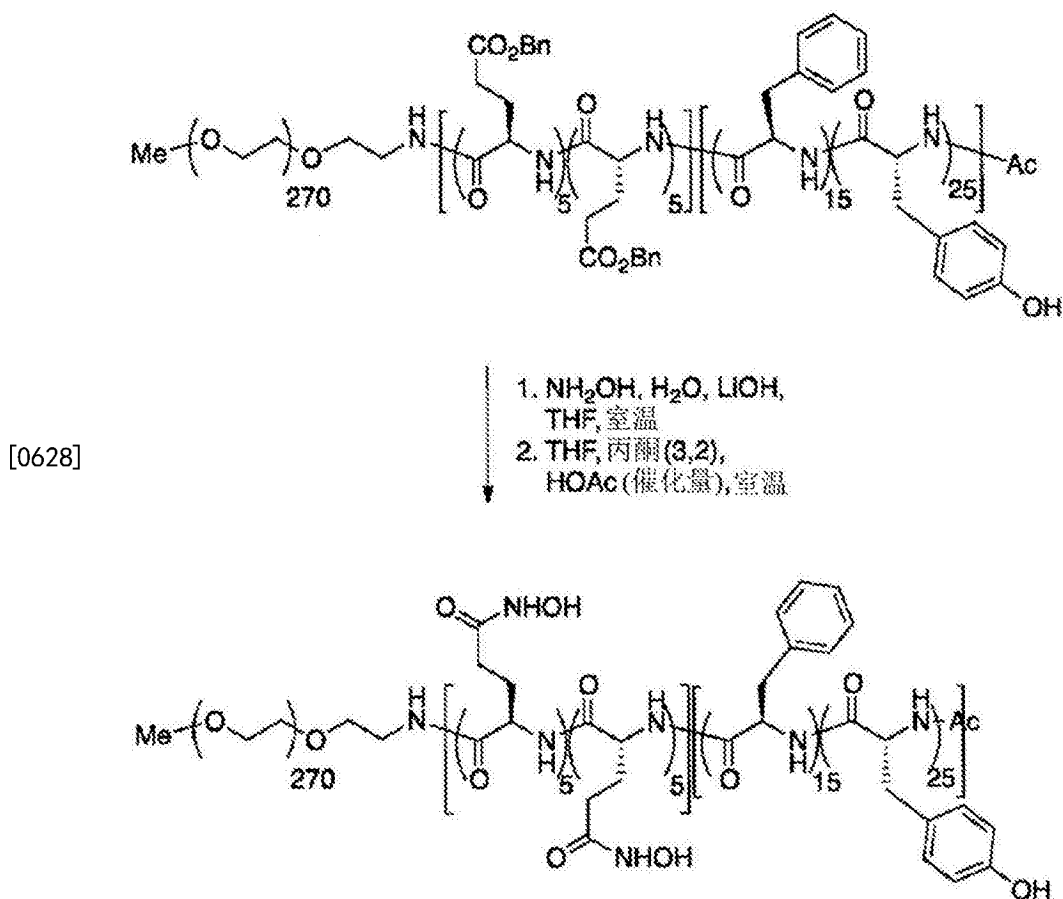
[0623] 实例46



[0625] mPEG12K-b-聚-[d-Glu(NHOH)₅-共-Glu(NHOH)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

[0626] 合成mPEG12K-b-聚-[d-Glu(NHOH)₅-共-Glu(NHOH)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac mPEG12K-b-聚-[d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac (2.05g, 0.10mmol) 溶解于21mL甲醇中并用羟胺溶液(50%水溶液, 20.0mmol, 1.32mL, 20当量/苯甲酯部分)和1M氢氧化锂溶液(1.0mL, 1.0mmol, 1.0当量/苯甲酯部分)处理。在室温下在 N_2 下搅拌所得浅黄色溶液22小时,并随后添加另一部分的1M氢氧化锂溶液(1.0mL, 1.0mmol, 1.0当量/苯甲酯部分)。又24小时后,粗产物从160TBME沉淀出。所得固体通过过滤来收集,真空干燥,并再溶解于12mL无水THF与8mL丙酮的混合物中。将溶液用乙酸(0.21g, 3.50mmol, 0.20mL)处理,短暂加热到回流并在环境温度下搅拌16小时。通过添加40mL TBME使产物沉淀,通过抽吸过滤来收集,用新制的TBME部分洗涤,并真空干燥过夜,得到1.87g(产率=94.9%)呈几乎无色疏松聚合物状的标题化合物。 ^1H NMR (d_6 -DMSO):与实例38一致。

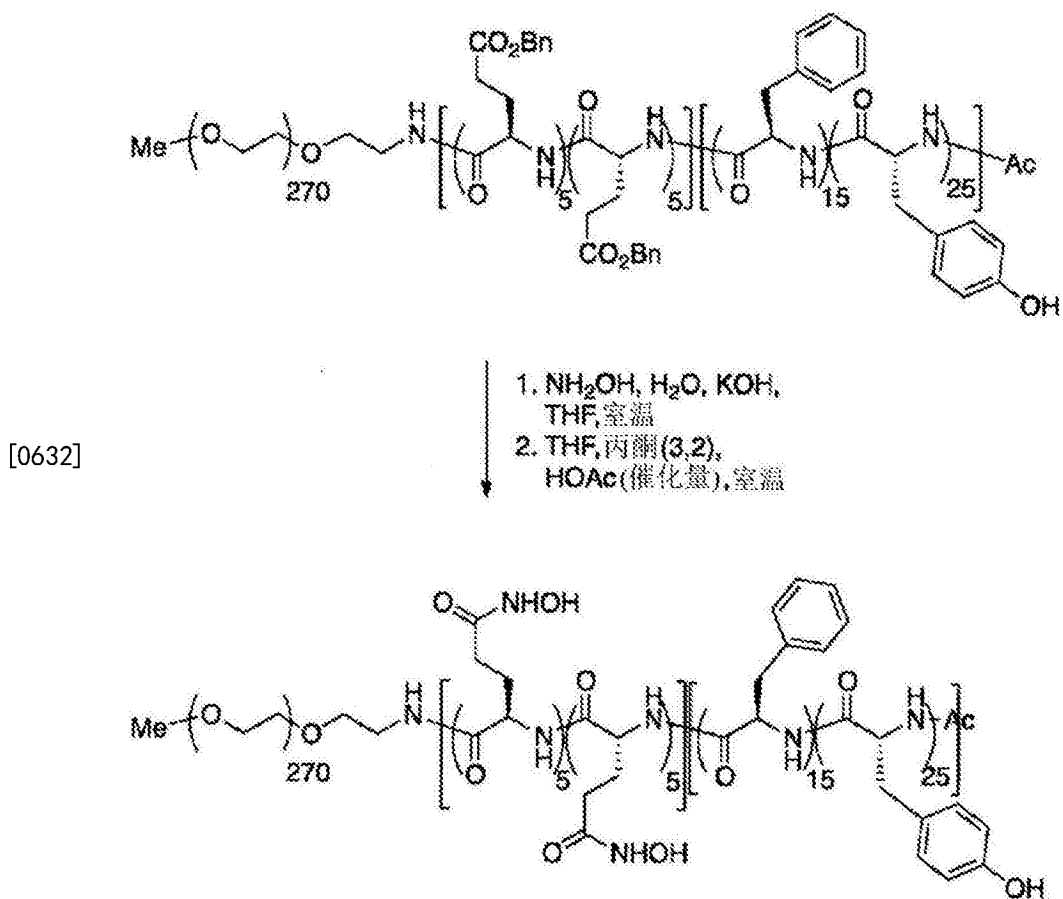
[0627] 实例47



[0629] mPEG12K-b-聚-[d-Glu (NHOH)₅-共-Glu (NHOH)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

[0630] 合成mPEG12K-b-聚-[d-Glu (NHOH)₅-共-Glu (NHOH)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac使用以上实例44中所述的方法,使用氢氧化锂溶液(0.5当量/苯甲酯部分)将mPEG12K-b-聚-[d-Glu (OBn)₅-共-Glu (OBn)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac转化成标题化合物。反应时间是72小时。溶液用一体积的IPA稀释,并且粗产物从两体积的TBME沉淀出。将所得固体用THF、丙酮和乙酸处理,如实例44中所详述。在从两体积的TBME沉淀、过滤和真空干燥后,获得呈精细的无色固体状的标题化合物(产率=91.1%)。¹H NMR (d_6 -DMSO): 与实例38一致。

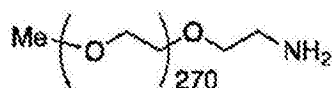
[0631] 实例48



[0633] mPEG12K-b-聚-[d-Glu (NHOH)₅-共-Glu (NHOH)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

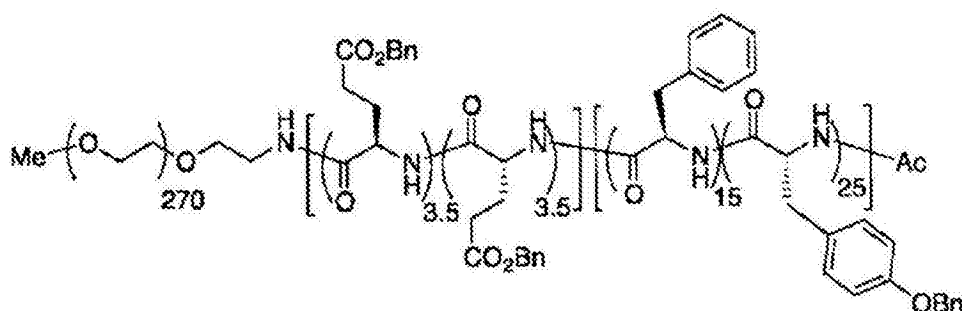
[0634] 合成mPEG12K-b-聚-[d-Glu (NHOH)₅-共-Glu (NHOH)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac使用以上实例47中所述的方法,使用1M氢氧化钾溶液(2.0当量/苯甲酯部分)将mPEG12K-b-聚-[d-Glu (OBn)₅-共-Glu (OBn)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac转化成标题化合物。反应时间是6小时。处理得到呈精细的无色固体状的标题化合物(产率=92.4%)。¹H NMR (d_6 -DMSO):与实例38一致。

[0635] 实例49



[0636]

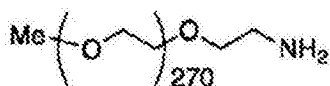
1. 甲苯, 60℃,
真空中共沸
2. Glu(OBn)NCA,
d-Glu(OBn)NCA,
CH₂Cl₂, NMP: 1,1, 室温
3. d-PheNCA, Tyr(OBn)NCA,
室温→35℃
4. Ac₂O, NMM,
DMAP, 室温



[0637] mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)_{3.5}-共-Glu(OBn)_{3.5})-b-聚(Tyr(OBn)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

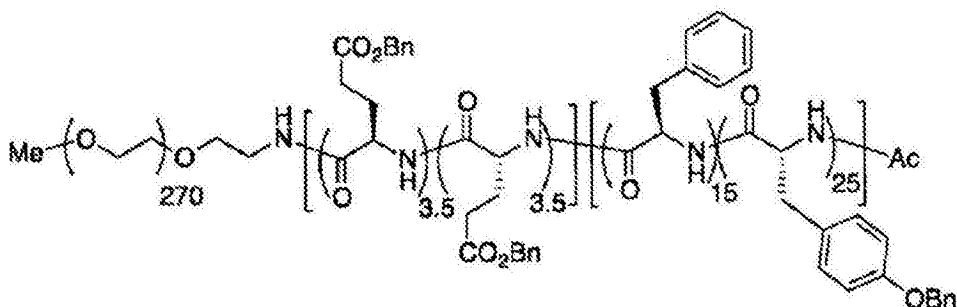
[0638] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)_{3.5}-共-Glu(OBn)_{3.5})-b-聚(Tyr(OBn)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac将m-PEG10k-NH₂ (59.86g, 5.0mmol) 称重到烘干的1L圆底烧瓶中, 溶解于甲苯 (450mL) 中并通过共沸蒸馏来干燥。蒸馏到干燥后, 将聚合物置于真空下16小时。随后将烧瓶用N₂回填, 在减压下再抽空, 并通过套管先后引入无水N-甲基吡咯烷酮 (NMP, 250mL) 和二氯甲烷 (250mL)。将混合物短暂加热到40℃以加快溶解并随后再冷却到25℃。将Glu(OBn)NCA (4.61g, 17.5mmol) 和d-Glu(OBn)NCA (4.61g, 17.5mmol) 添加到烧瓶中, 并在环境室温下在氮气下搅拌反应混合物24小时。随后添加d-Phe NCA (14.34g, 75.0mmol) 和Tyr(OBn)NCA (37.16g, 125.0mmol) 并在室温下搅拌溶液三天, 并随后在35℃下加热7小时, 此刻反应完成 (GPC, DMF/0.1%LiBr)。溶液冷却到室温并添加乙酸酐 (5.11g, 50.0mmol, 4.80mL)、N-甲基吗啉 (NMM) (5.56g, 55.0mmol, 6.1mL) 和二甲基氨基吡啶 (DMAP) (0.61g, 5.0mmol)。继续在室温下搅拌18小时并在旋转蒸发仪上去除二氯甲烷。使聚合物在异丙醇 (2.6L) 中沉淀并通过过滤来分离, 用新制的500mL的异丙醇部分洗涤, 并真空干燥, 得到呈精细的几乎无色粉末状的嵌段共聚物 (102.40g, 产率=92.6%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ8.42-7.80 (理论47H, 观测44H), 7.35 (理论75H, 观测75H), 7.28-6.65 (理论125H, 观测125H), 5.10-4.84 (理论64H, 观测59H), 4.64-4.20 (理论47H, 观测39H), 3.72-3.25 (理论1087H, 观测16713H), 3.00-2.20 (理论80H, 观测88H), 2.03-1.60 (理论28H, 观测27H)。

[0639] 实例50



[0640]

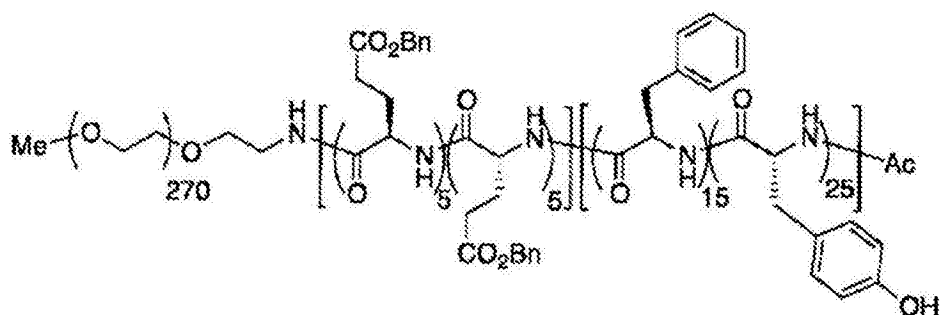
1. 甲苯, 60℃,
真空中共沸
2. Glu(OBn)NCA,
d-Glu(OBn)NCA,
CH₂Cl₂, NMP: 1,3, 室温
3. d-PheNCA, Tyr(OBn)NCA,
室温→35℃
4. Ac₂O, NMM,
DMAP, 室温



[0641] mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn))_{3.5}-共-Glu(OBn)_{3.5}-b-聚(Tyr(OBn))₂₅-共-d-Phe₁₅-Ac

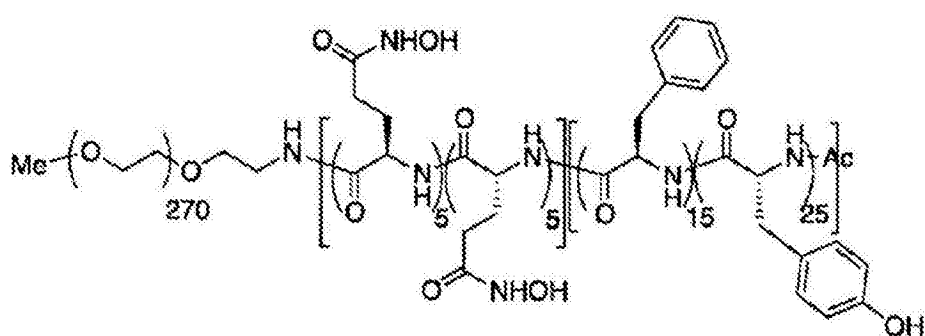
[0642] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn))_{3.5}-共-Glu(OBn)_{3.5}-b-聚(Tyr(OBn))₂₅-共-d-Phe₁₅-Ac使用实例49中所详述的方案,使用无水N-甲基吡咯烷酮(NMP, 125mL)和二氯甲烷(375mL)作为溶剂,得到粗聚合物,用5体积的异丙醇沉淀。过滤和真空干燥后,获得呈精细的无色无味固体状的标题化合物(产率=96.5%)。¹H NMR (d₆-DMSO):与实例49一致。

[0643] 实例51



[0644]

1. NH_2OH , H_2O , KOH ,
THF, 室温
2. THF, 丙酮(3,2),
HOAc(催化量), 室温

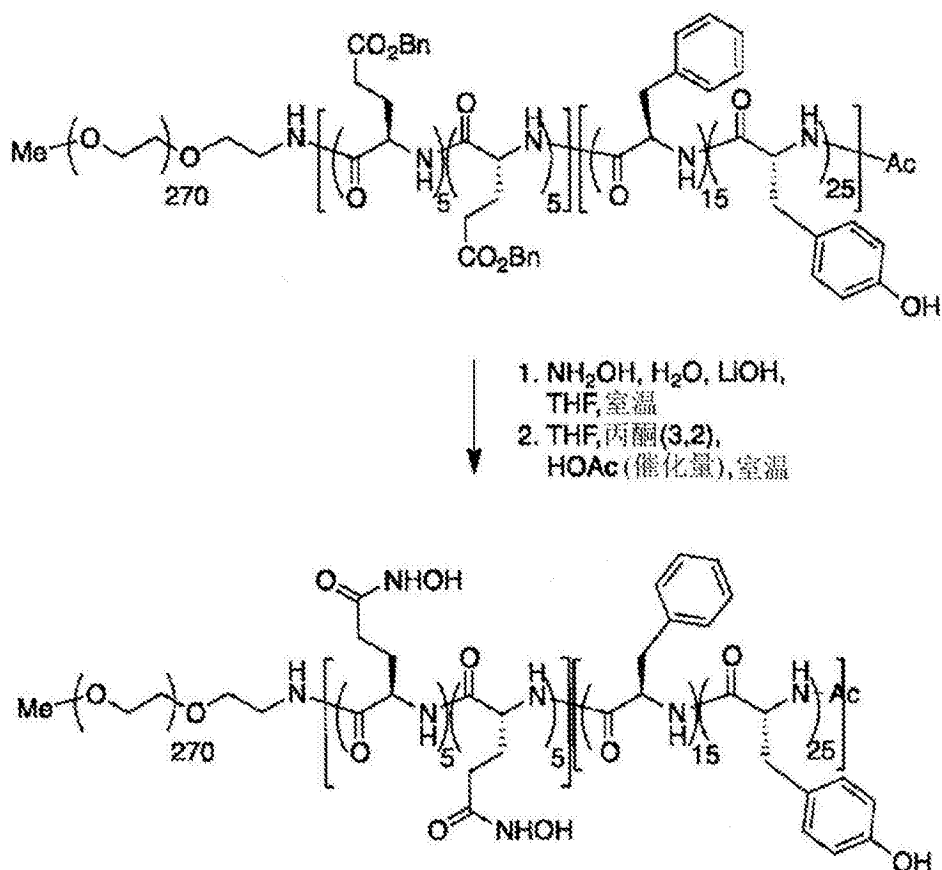


[0645] mPEG12K-b-聚-[d-Glu(NHOH)₅-共-Glu(NHOH)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

[0646] 合成mPEG12K-b-聚-[d-Glu(NHOH)₅-共-Glu(NHOH)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac mPEG12K-b-聚-[d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac (4.10g, 0.20mmol) 溶解于41mL THF中并用羟胺溶液(2.65mL, 40.0mmol)和1M氢氧化钾(2.0mL, 2.0mmol, 1.0当量/苯甲酯部分)处理。将所得微混浊的粉红色溶液在室温下在 N_2 下搅拌42小时并随后用丙酮(58.1g, 1.0mol, 74mL)稀释。添加乙酸(2.40g, 40.0mmol, 2.3mL), 将溶液短暂加热到回流, 并随后在室温下搅拌四小时。使用剧烈搅拌, 产物用TBME(300mL)沉淀出。又搅拌30分钟后, 过滤和真空干燥得到呈精细的无色固体状的标题化合物(产率=92.9%)。 ^1H NMR (d_6 -DMSO): 与实例38一致。

[0647] 实例52

[0648]

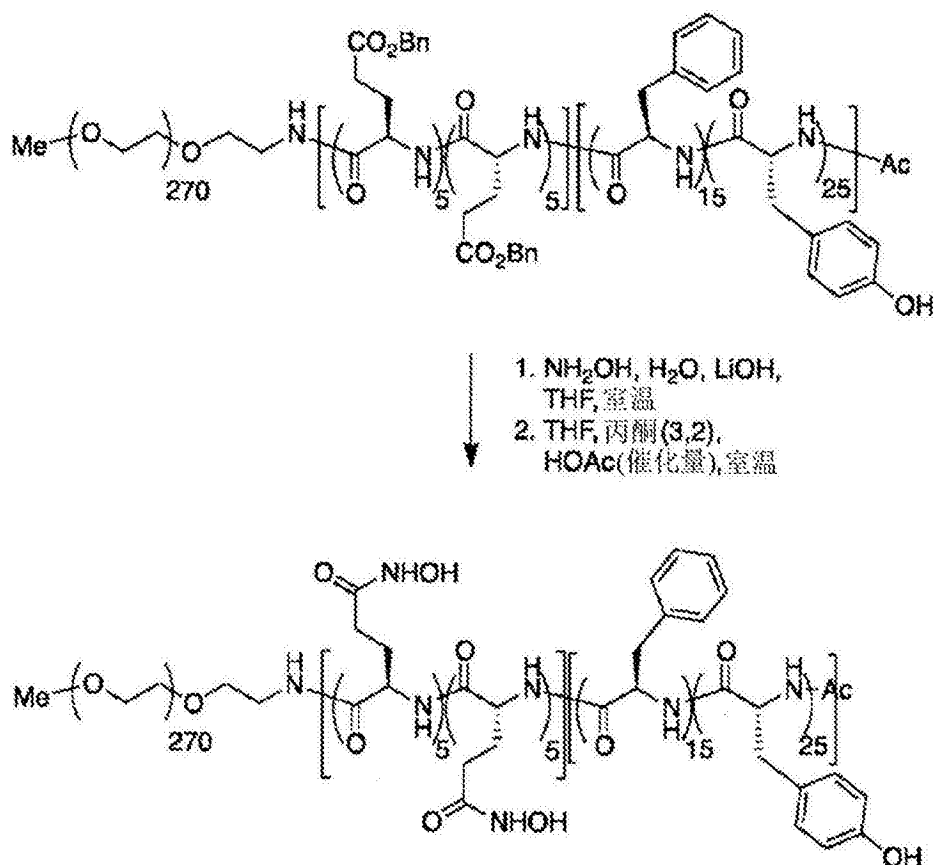


[0649] mPEG12K-b-聚-[d-Glu (NHOH)₅-共-Glu (NHOH)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

[0650] 合成mPEG12K-b-聚-[d-Glu (NHOH)₅-共-Glu (NHOH)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac使用以上实例51中所述的方法,使用1M氢氧化锂溶液(2.0当量/苯甲酯部分)将mPEG12K-b-聚-[d-Glu (OBn)₅-共-Glu (OBn)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac转化成标题化合物。反应时间是6小时。如上处理并用IPA (1体积) 稀释,接着用TBME (3体积) 沉淀,得到呈精细的无色固体状的标题化合物(产率=90.6%)。¹H NMR (d_6 -DMSO):与实例38一致。

[0651] 实例53

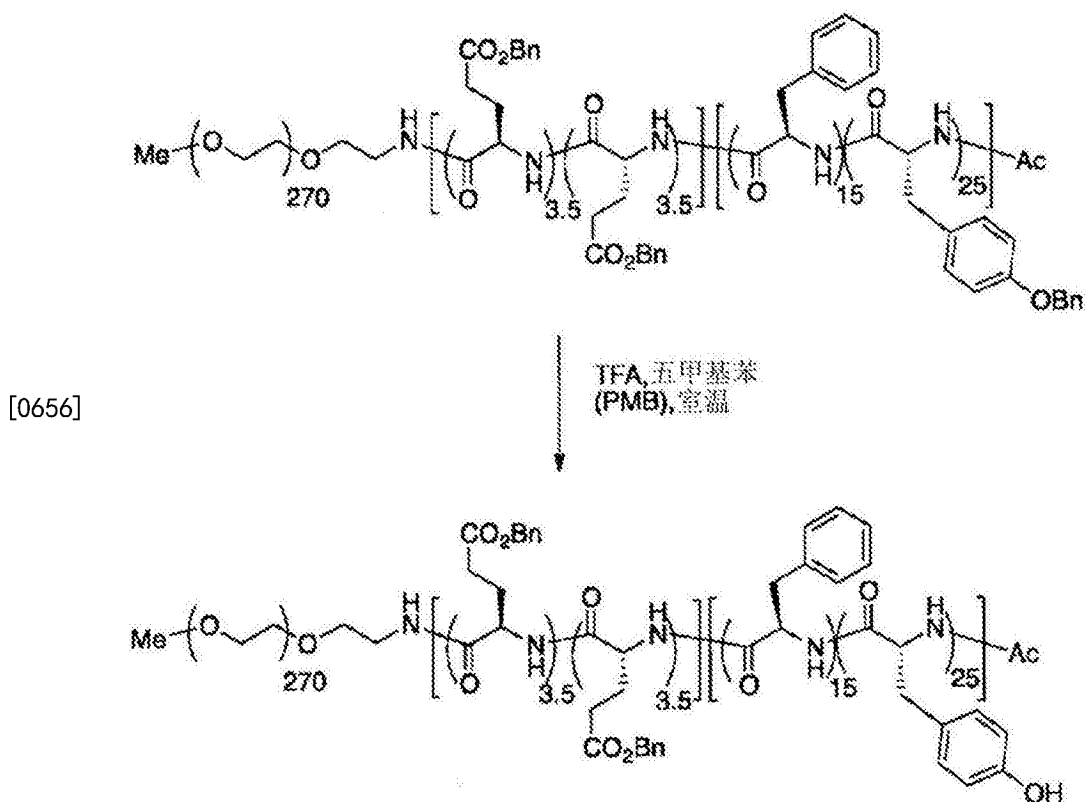
[0652]



[0653] mPEG12K-b-聚-[d-Glu (NHOH)₅-共-Glu (NHOH)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

[0654] 合成mPEG12K-b-聚-[d-Glu (NHOH)₅-共-Glu (NHOH)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac使用以上实例52中所述的方法,使用固体氢氧化锂单水合物(2.0当量/苯甲酯部分)将mPEG12K-b-聚-[d-Glu (OBn)₅-共-Glu (OBn)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac转化成标题化合物。反应时间是6小时。处理得到呈精细的无色固体状的标题化合物(产率=99.2%)。¹H NMR (d_6 -DMSO):与实例38一致。

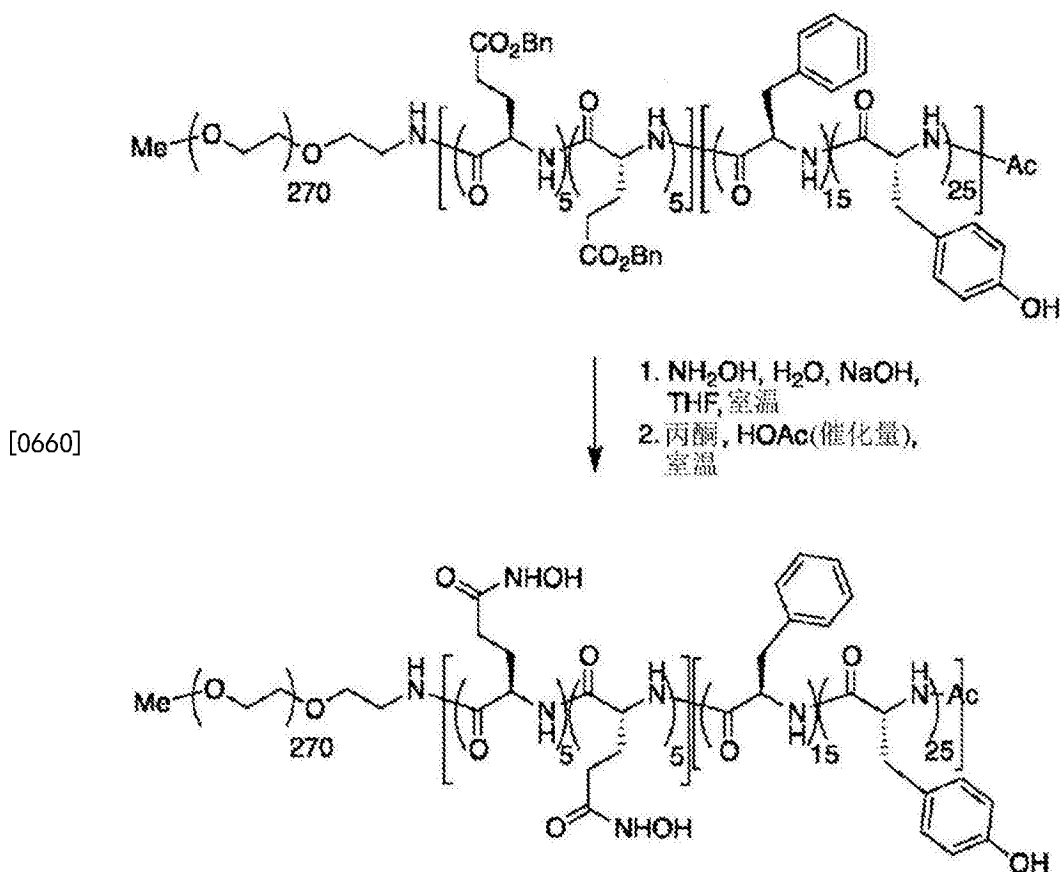
[0655] 实例54



[0657] mPEG12K-b-聚-[d-Glu(OBn)_{3.5}-共-Glu(OBn)_{3.5}]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

[0658] 合成mPEG12K-b-聚-[d-Glu(OBn)_{3.5}-共-Glu(OBn)_{3.5}]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac通过使用实例37的方法,mPEG12K-b-聚-[d-Glu(OBn)_{3.5}-共-Glu(OBn)_{3.5}]-b-聚-(Tyr(OBn)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac与PMB在TFA中在室温下反应3.5小时并从二氯甲烷/TBME:1/7的混合物沉淀,得到呈精细的无色无味聚合物状的标题产物(产率=96.1%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ9.09 (理论25H, 观测22H), 8.46-7.79 (理论47H, 观测48H), 7.40-6.45 (理论210H, 观测229H), 5.04 (理论14H, 观测13H), 4.65-4.20 (理论47H, 观测47H), 3.81-3.15 (理论1087H, 观测1308H), 3.03-2.10 (理论80H, 观测78H), 2.06-1.62 (理论40H, 观测27H)。

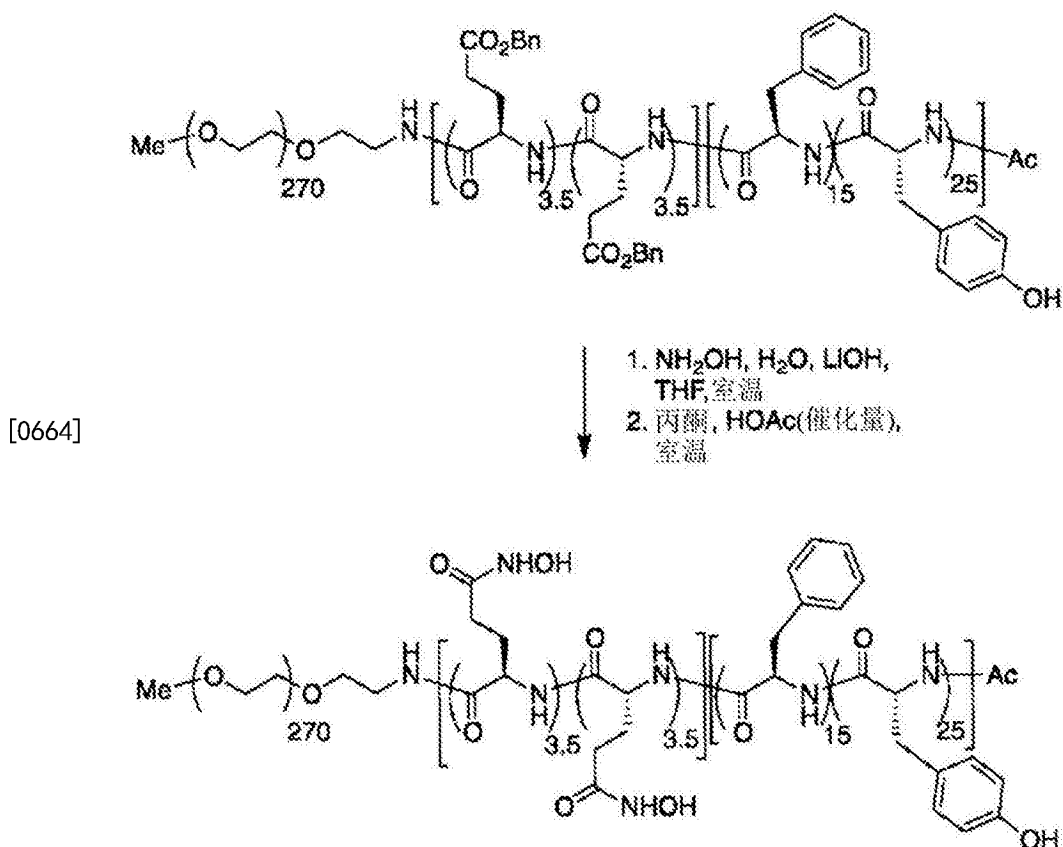
[0659] 实例55



[0661] mPEG12K-b-聚-[d-Glu (NHOH)₅-共-Glu (NHOH)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

[0662] 合成mPEG12K-b-聚-[d-Glu (NHOH)₅-共-Glu (NHOH)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac使用以上实例51中所述的方法,使用4M氢氧化锂溶液(2.0当量/苯甲酯部分)将mPEG12K-b-聚-[d-Glu (OBn)₅-共-Glu (OBn)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac转化成标题化合物。反应时间是4小时。将溶液用丙酮(基于总反应混合物体积0.30体积)稀释并添加乙酸(1.0当量/羟胺)。14小时后,粗产物从三体积的TBME沉淀出,搅拌三天,并过滤。将滤饼用TBME(50mL)、TBME/IPA:20/1(50mL)洗涤并真空干燥,得到呈精细无色固体状的标题化合物(产率=93.5%),具有轻微的乙酸气味。¹H NMR (d_6 -DMSO):与实例38一致。

[0663] 实例56

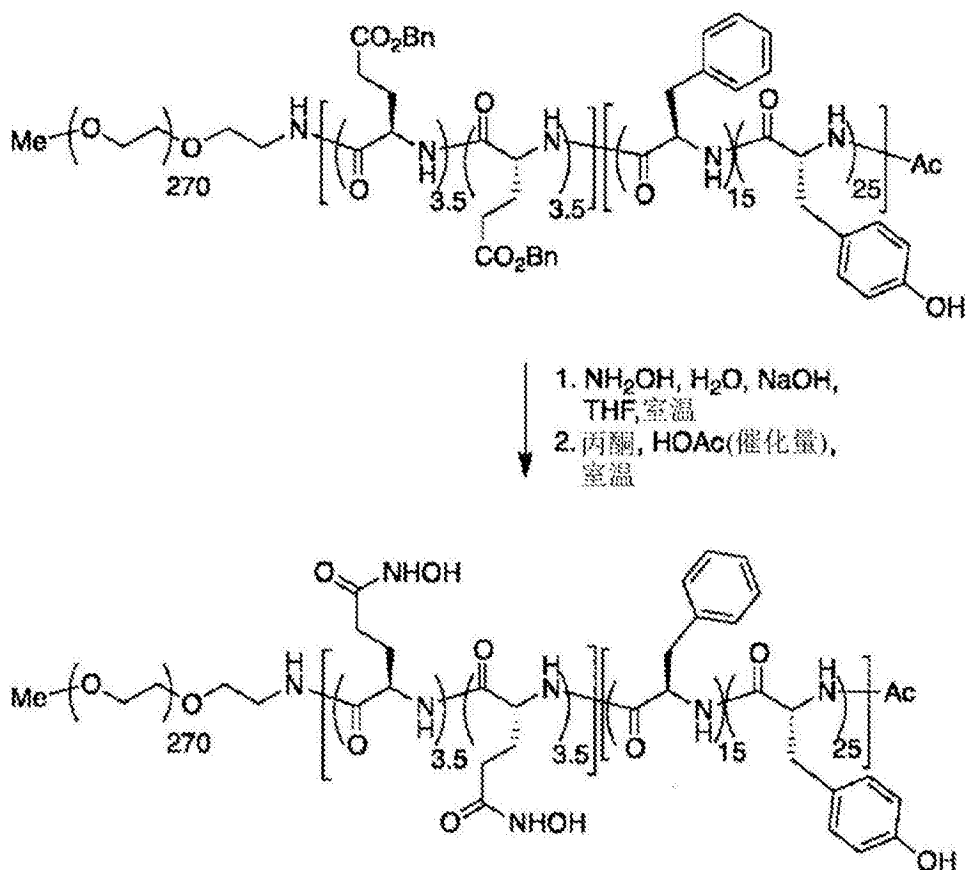


[0665] mPEG12K-b-聚-[d-Glu (NHOH)_{3.5}-共-Glu (NHOH)_{3.5}]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

[0666] 合成mPEG12K-b-聚-[d-Glu (NHOH)_{3.5}-共-Glu (NHOH)_{3.5}]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac使用以上实例52中所述的方法,使用固体氢氧化锂单水合物(2.0当量/苯甲酯部分)将mPEG12K-b-聚-[d-Glu (OBn)_{3.5}-共-Glu (OBn)_{3.5}]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac转化成标题化合物。反应时间是6小时。处理得到呈精细的无色固体状的标题化合物(产率=94.9%),具有轻微的乙酸气味。¹H NMR (d_6 -DMSO) δ 10.2-9.2 (理论25H, 观测19H), 8.52-7.90 (理论47H, 观测38H), 7.40-6.49 (理论175H, 观测175H), 4.63-4.00 (理论47H, 观测42H), 3.84-3.11 (理论1087H, 观测1496H, 含有遮蔽的 H_2O 峰), 3.00-2.20 (理论80H, 观测78H), 2.16-1.60 (理论28H, 观测约26H, 在 δ 1.69含有重叠 HOAc 峰)。

[0667] 实例57

[0668]

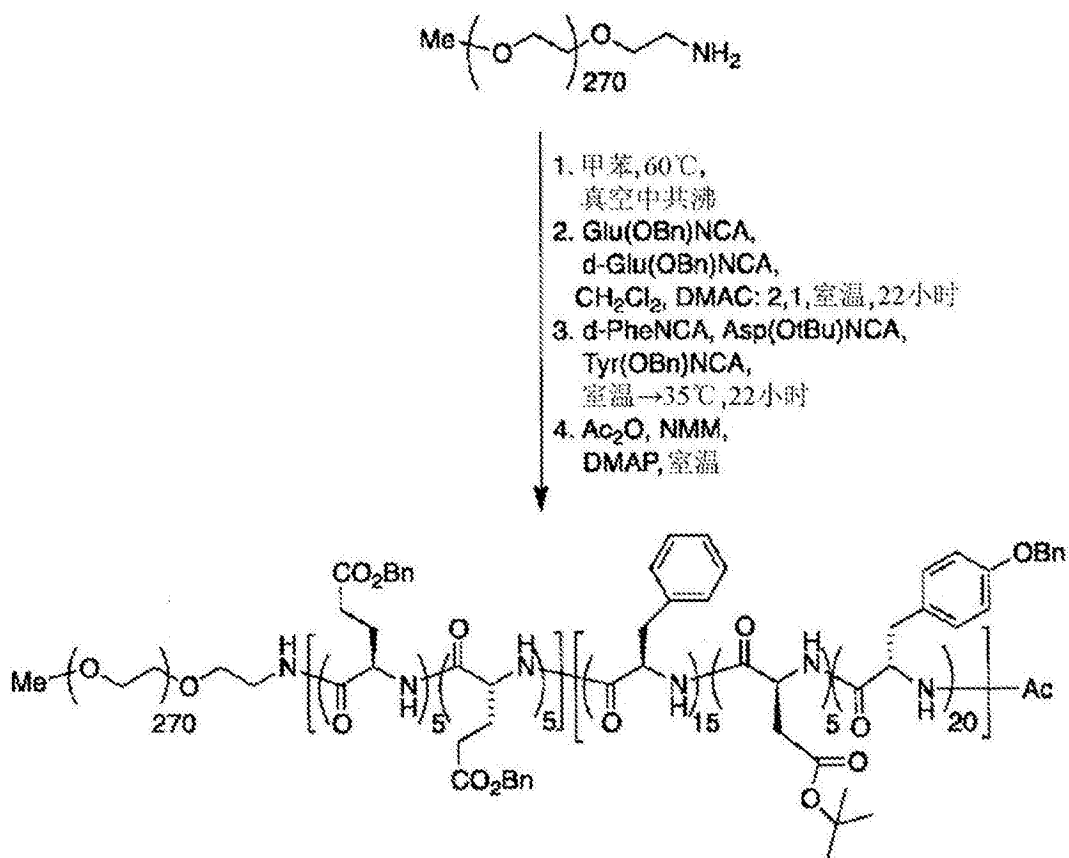


[0669] mPEG12K-b-聚-[d-Glu (NHOH)_{3.5}-共-Glu (NHOH)_{3.5}]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

[0670] 合成mPEG12K-b-聚-[d-Glu (NHOH)_{3.5}-共-Glu (NHOH)_{3.5}]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac使用以上实例52中所述的方法,使用10M氢氧化钠溶液(2.0当量/苯甲酯部分)将mPEG12K-b-聚-[d-Glu (OBn)_{3.5}-共-Glu (OBn)_{3.5}]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac转化成标题化合物。反应时间是3小时。处理得到呈精细的无色固体状的标题化合物(产率=85.8%),具有轻微的乙酸气味。¹H NMR (d_6 -DMSO):与实例56一致。

[0671] 实例58

[0672]

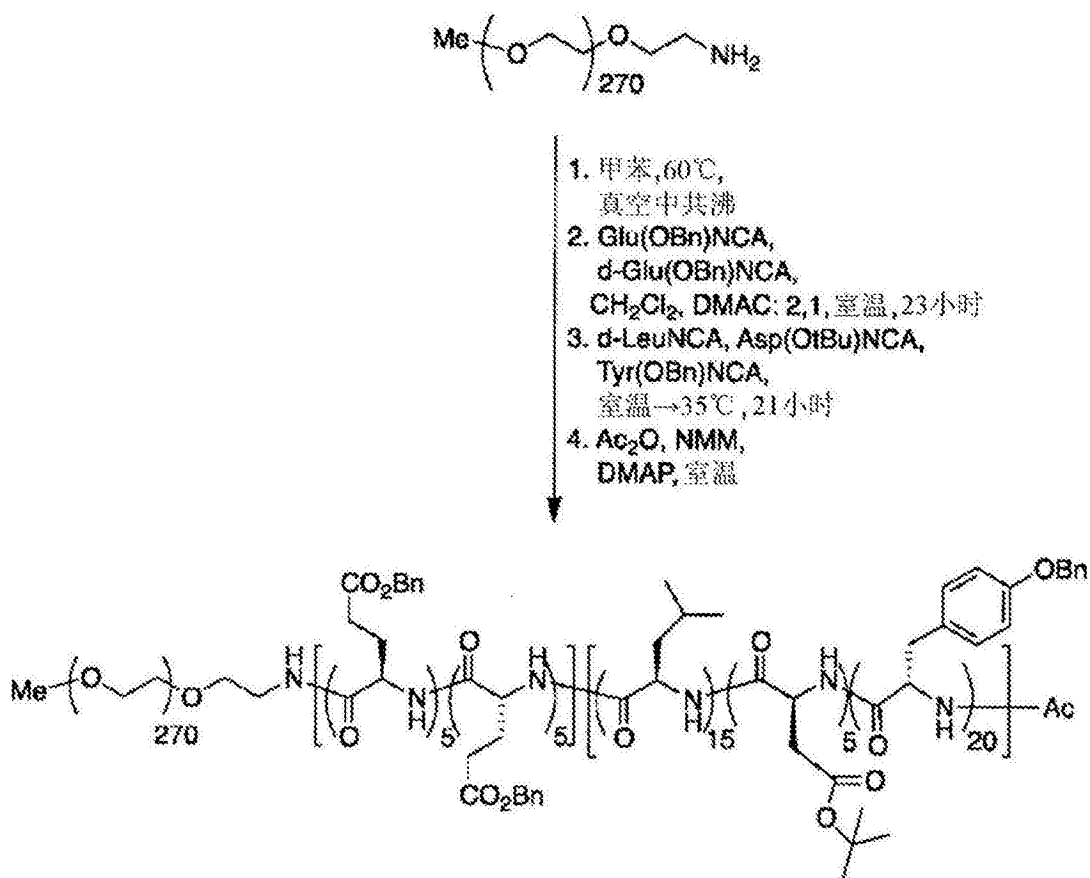


[0673] mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚(d-Phe₁₅-共-Asp(OtBu)₅-共-Tyr(OBn)₂₀)-Ac

[0674] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚(d-Phe₁₅-共-Asp(OtBu)₅-共-Tyr(OBn)₂₀)-Ac使用实例49中所详述的方法,使用无水二氯甲烷(2份)和N,N-二甲基乙酰胺(DMAC,1份)作为溶剂并用适当NCA建构嵌段代替,得到粗聚合物,用5体积的异丙醇沉淀。过滤和真空干燥后,获得呈精细的无色无味固体状的标题化合物(产率=95.4%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ 8.57-7.75 (理论50H,观测47H), 7.41-6.67 (理论305H,观测305H), 5.10-4.85 (理论60H,观测59H), 4.70-4.18 (理论50H,观测49H), 3.72-3.25 (理论1087H,观测1131H), 3.05-2.20 (理论80H,观测100H), 2.05-1.58 (理论40H,观测25H), 1.38-1.20 (理论45H,观测40H)。

[0675] 实例59

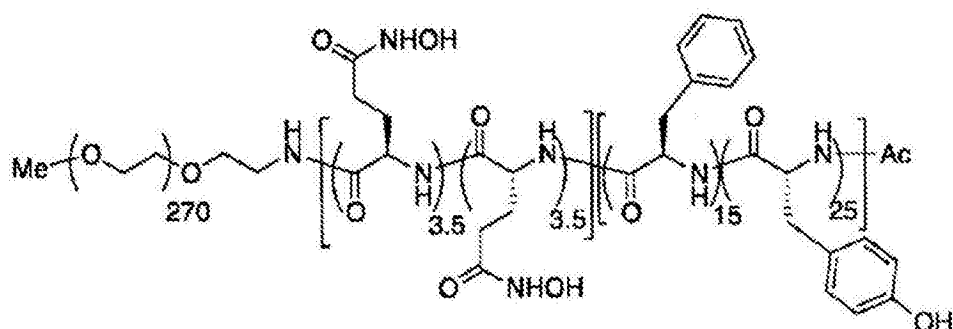
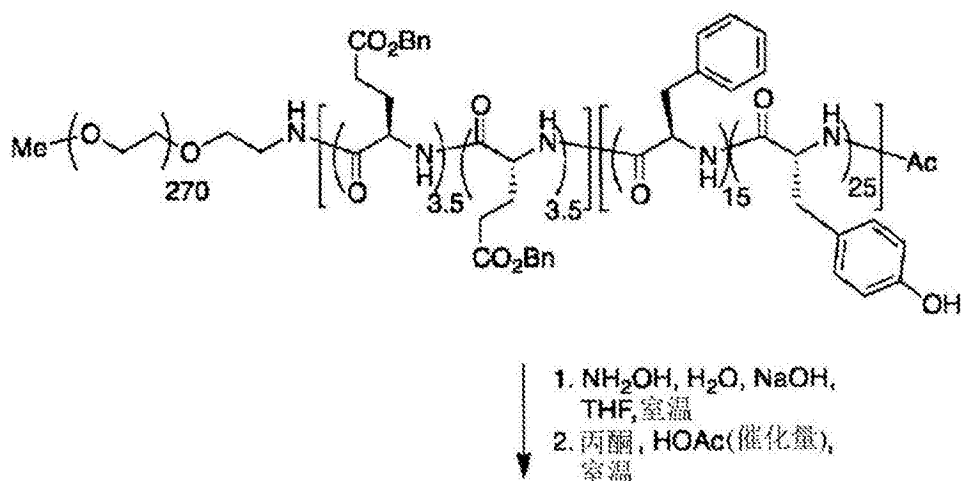
[0676]



[0677] mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚(d-Leu₁₅-共-Asp(OtBu)₅-共-Tyr(OBn)₂₀)-Ac

[0678] mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚-(d-Leu₁₅-共-Asp(OtBu)₅-共-Tyr(OBn)₂₀)-Ac使用实例58中所详述的方法并用适当NCA建构嵌段代替,得到粗聚合物,用5体积的异丙醇沉淀。过滤和真空干燥后,获得呈精细的无色无味固体状的标题化合物(产率=95.5%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ8.45-7.78(理论50H,观测47H), 7.45-6.67(理论230H,观测230H), 5.10-4.80(理论60H,观测59H), 4.65-4.00(理论50H,观测52H), 3.70-3.25(理论1087H,观测1196H), 3.05-2.55(理论40H,观测41H), 2.48-2.30(理论40H,观测33H), 2.05-1.71(理论40H,观测25H), 1.69-1.02(理论60H,观测65H), 0.95-0.55(理论90H,观测83H)。

[0679] 实例60

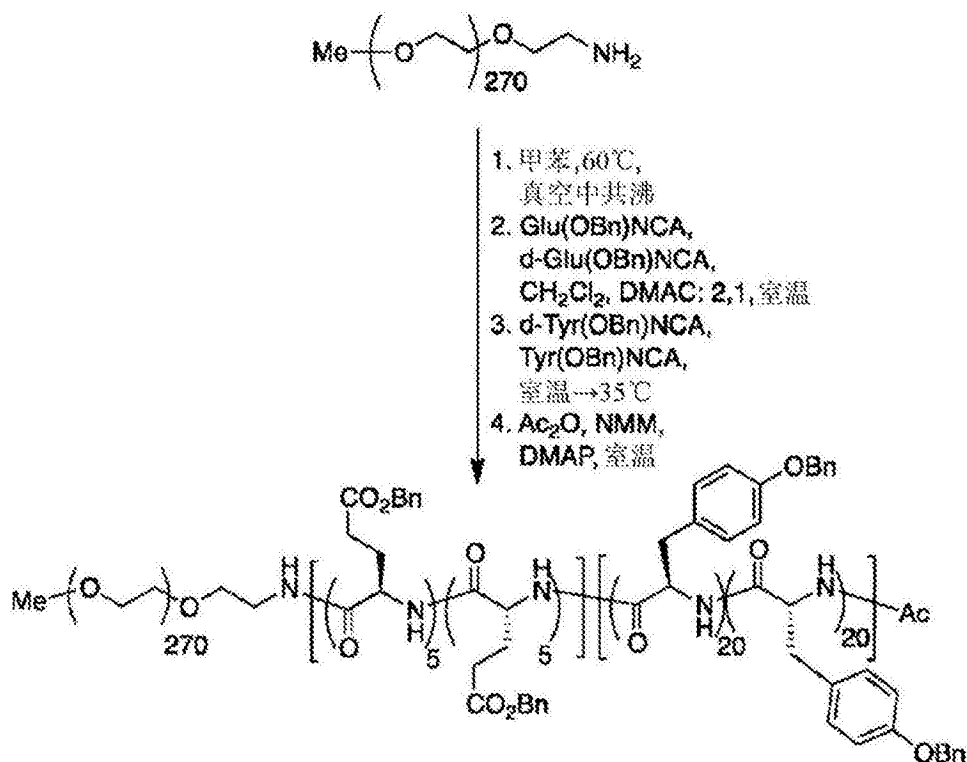


[0681] mPEG12K-b-聚-[d-Glu(NHOH)_{3.5}-共-Glu(NHOH)_{3.5}]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

[0682] 合成mPEG12K-b-聚-[d-Glu(NHOH)_{3.5}-共-Glu(NHOH)_{3.5}]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac使用以上实例57中所述的方法,使用4M氢氧化锂溶液(2.0当量/苯甲酯部分)将mPEG12K-b-聚-[d-Glu(OBn)_{3.5}-共-Glu(OBn)_{3.5}]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac转化成标题化合物。反应时间是16小时。用三倍正常体积的IPA处理,接着用TBME沉淀,得到呈精细的浅乳酪色固体状的标题化合物(产率=92.7%),具有轻微的乙酸气味。

[0683] 实例61

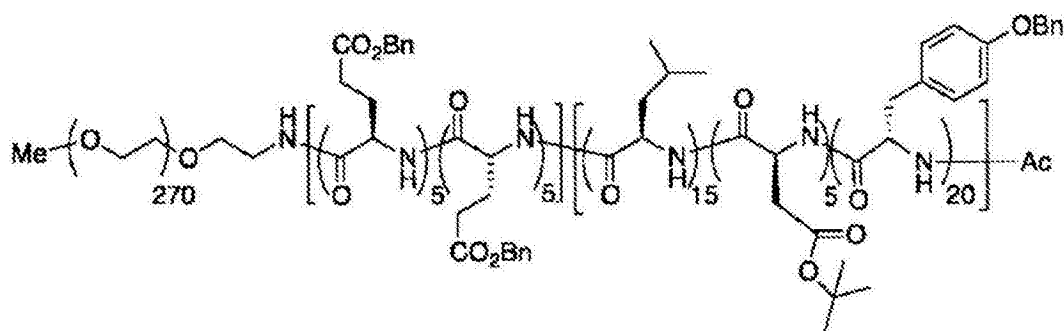
[0684]



[0685] mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚-(d-Tyr(OBn)₂₀-共-Tyr(OBn)₂₀)-Ac

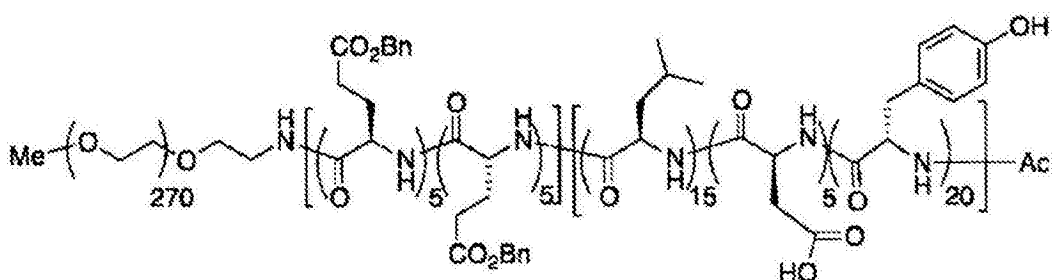
[0686] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚-(d-Tyr(OBn)₂₀-共-Tyr(OBn)₂₀)-Ac使用实例58中所详述的混合反应溶剂方法,并用适当NCA建构嵌段代替,得到粗聚合物,用9体积的异丙醇沉淀。过滤和真空干燥后,获得呈精细的无色无味固体状的标题化合物(产率=96.6%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ 8.44-7.80 (理论50H,观测47H), 7.40-6.75 (理论410H,观测410H), 5.11-4.84 (理论100H,观测94H), 4.60-4.20 (理论50H,观测52H), 3.70-3.25 (理论1087H,观测1605H), 3.00-2.28 (理论80H,观测95H), 2.03-1.60 (理论40H,观测31H)。

[0687] 实例62



[0688]

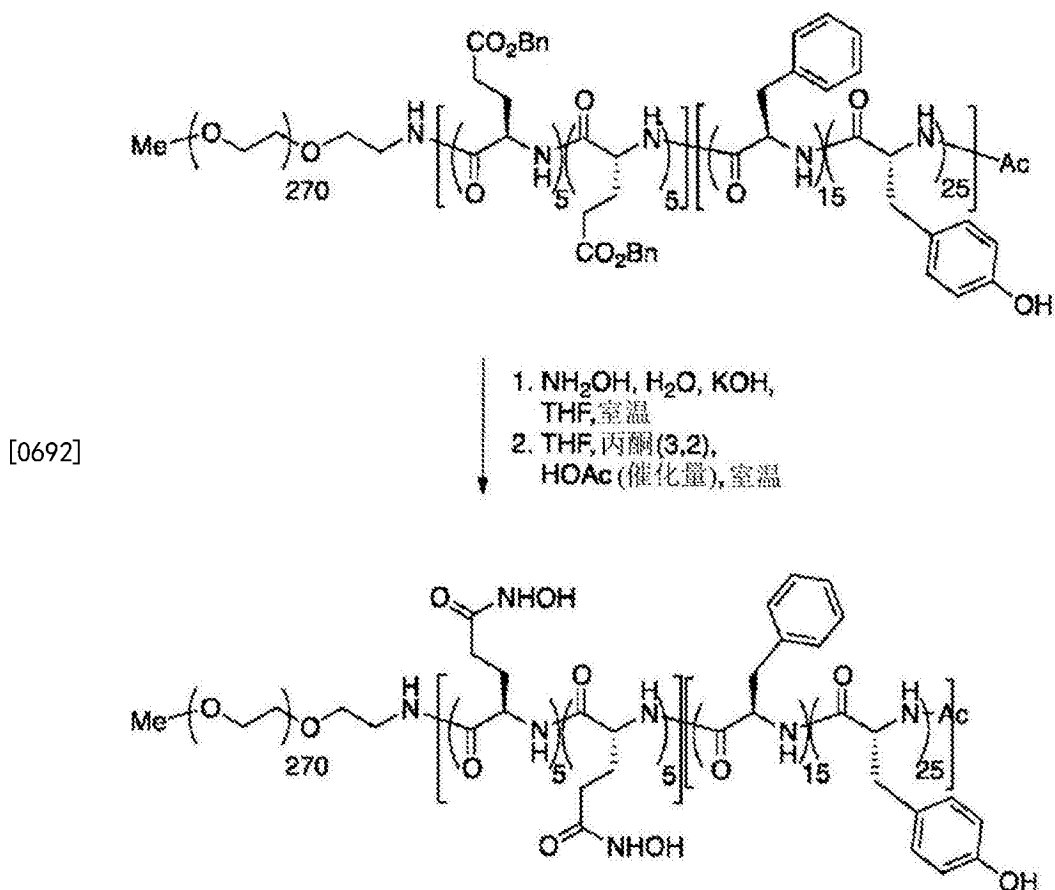
TFA, 五甲基苯
室温, 3.5小时



[0689] mPEG12K-b-聚-(d-Glu (OBn)₅-共-Glu (OBn)₅)-b-聚(d-Leu₁₅-共-Asp (OH)₅-共-Tyr (OH)₂₀)-Ac

[0690] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu (OBn)₅-共-Glu (OBn)₅)-b-聚-(d-Leu₁₅-共-Asp (OH)₅-共-Tyr (OH)₂₀)-Ac通过使用实例54的方法,mPEG12K-b-聚-(d-Glu (OBn)₅-共-Glu (OBn)₅)-b-聚-(d-Leu₁₅-共-Asp (OtBu)₅-共-Tyr (OBn)₂₀)-Ac与PMB在TFA中在室温下反应3.5小时并从二氯甲烷/TBME:1/6的混合物沉淀,得到呈精细的无色无味聚合物状的标题产物(产率=95.5%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ 9.15 (理论20H, 观测18H), 8.43-7.60 (理论50H, 观测47H), 7.40-6.45 (理论130H, 观测130H), 5.04 (理论20H, 观测13H), 4.65-4.00 (理论50H, 观测48H), 3.85-3.15 (理论1087H, 观测1334H), 3.01-2.10 (理论80H, 观测80H), 2.05-1.65 (理论40H, 观测42H), 1.63-0.55 (理论90H, 观测75H)。

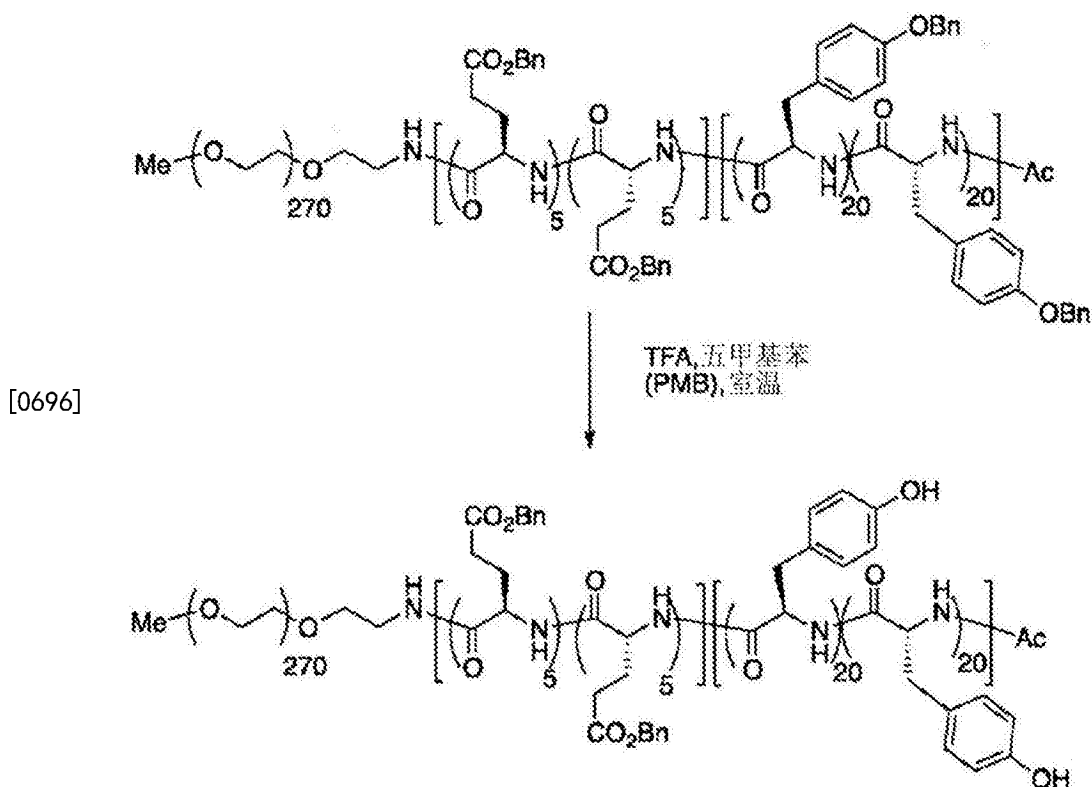
[0691] 实例63



[0693] mPEG12K-b-聚-[d-Glu (NHOH)₅-共-Glu (NHOH)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

[0694] 合成mPEG12K-b-聚-[d-Glu (NHOH)₅-共-Glu (NHOH)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac使用以上在实例47中所述的方法,使用预先溶解于羟胺溶液中的固体氢氧化钾(2.0当量/苯甲酯部分)将mPEG12K-b-聚-[d-Glu (OBn)₅-共-Glu (OBn)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac转化成标题化合物。反应时间是5.5小时。处理得到呈精细的无色固体状的标题化合物(产率=74.0%),具有轻微的乙酸气味。¹H NMR (d_6 -DMSO):与实例38一致。

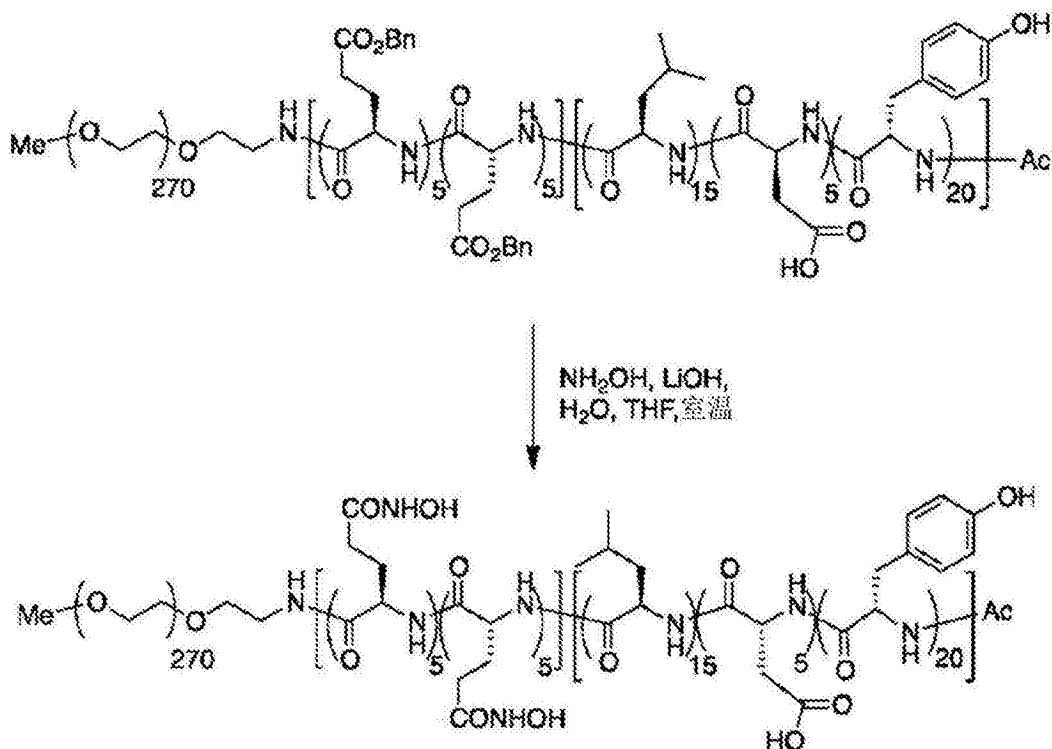
[0695] 实例64



[0697] mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚-(d-Tyr(OH)₂₀-共-Tyr(OH)₂₀)-Ac

[0698] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚-(d-Tyr(OH)₂₀-共-Tyr(OH)₂₀)-Ac通过使用实例54的方法,mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚-(d-Tyr(OBn)₂₀-共-Tyr(OBn)₂₀)-Ac与PMB在TFA中在室温下反应4.5小时并从二氯甲烷/TBME:1/5的混合物沉淀,得到呈精细的无色无味固体状的标题产物(产率=97.7%)。¹H NMR(d₆-DMSO) δ9.1(理论40H,观测33H),8.36-7.77(理论50H,观测52H),7.40-6.45(理论210H,观测234H),5.04(理论20H,观测17H),4.60-4.20(理论50H,观测50H),4.02-3.15(理论1087H,观测1384H,含有模糊的水峰),3.00-2.10(理论80H,观测78H),2.06-1.62(理论40H,观测39H)。

[0699] 实例65

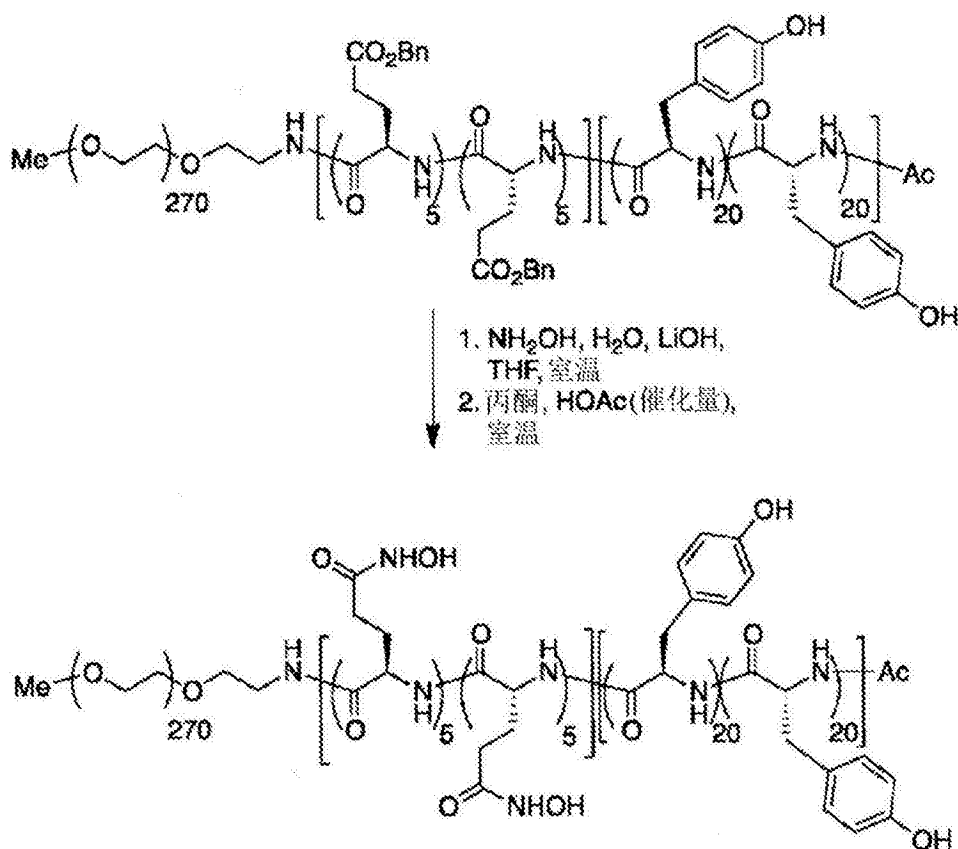


[0700]

[0701] mPEG12K-b-聚-(d-Glu (NH₂OH)₅-共-Glu (NH₂OH)₅)-b-聚(d-Leu₁₅-共-Asp (OH)₅-共-Tyr (OH)₂₀)-Ac

[0702] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu (NH₂OH)₅-共-Glu (NH₂OH)₅)-b-聚-(d-Leu₁₅-共-Asp (OH)₅-共-Tyr (OH)₂₀)-Ac使用以上实例52中所述的方法,使用氢氧化锂单水合物(2.0当量/苯甲酯部分)将mPEG12K-b-聚-(d-Glu (OBn)₅-共-Glu (OBn)₅)-b-聚-(d-Leu₁₅-共-Asp (OH)₅-共-Tyr (OH)₂₀)-Ac转化成标题化合物。反应时间是15小时。处理,接着用IPA/TBME沉淀,得到呈精细的无色固体状的标题化合物(产率=定量),具有轻微的乙酸气味。¹H NMR (d_6 -DMSO) δ 10.2-9.0 (理论40H,观测31H), 8.65-7.75 (理论50H,观测37H), 7.27-6.50 (理论80H,观测80H), 4.61-4.00 (理论50H,观测58H), 3.90-3.15 (理论1087H,观测1356H), 3.02-2.20 (理论80H,观测100H), 2.40-1.70 (理论40H,观测~47H,在 δ 1.69含有重叠HOAc峰), 1.63-0.55 (理论105H,观测96H)。

[0703] 实例66

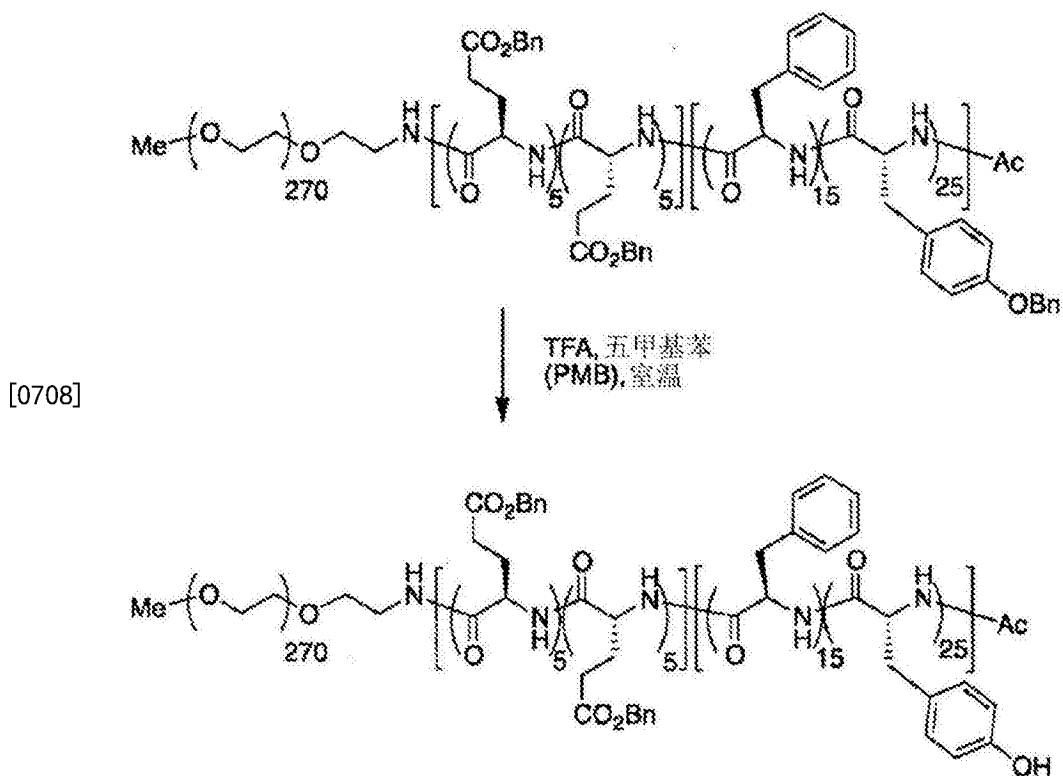


[0704]

[0705] mPEG12K-b-聚-(d-Glu (NHOH)₅-共-Glu (NHOH)₅)-b-聚-(d-Tyr (OH)₂₀-共-Tyr (OH)₂₀)-Ac

[0706] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu (NHOH)₅-共-Glu (NHOH)₅)-b-聚-(d-Tyr (OH)₂₀-共-Tyr (OH)₂₀)-Ac使用以上实例52中所述的方法,使用氢氧化锂单水合物(2.0当量/苯甲酯部分)将mPEG12K-b-聚-(d-Glu (OBn)₅-共-Glu (OBn)₅)-b-聚-(d-Tyr (OH)₂₀-共-Tyr (OH)₂₀)-Ac转化成标题化合物。反应时间是5.5小时。处理,接着用IPA/TBME沉淀,得到呈精细的无色固体状的标题化合物(产率=93.2%),具有轻微的乙酸气味。¹H NMR (d_6 -DMSO) δ 9.55 (理论40H, 观测26H), 8.45-7.90 (理论50H, 观测34H), 7.37-6.51 (理论160H, 观测166H), 4.55-4.10 (理论50H, 观测50H), 3.80-3.20 (理论1087H, 观测1269H, 含有模糊的水峰), 3.00-2.20 (理论80H, 观测108H), 2.18-1.60 (理论40H, 观测39H, 在 δ 1.69含有重叠HOAc峰)。

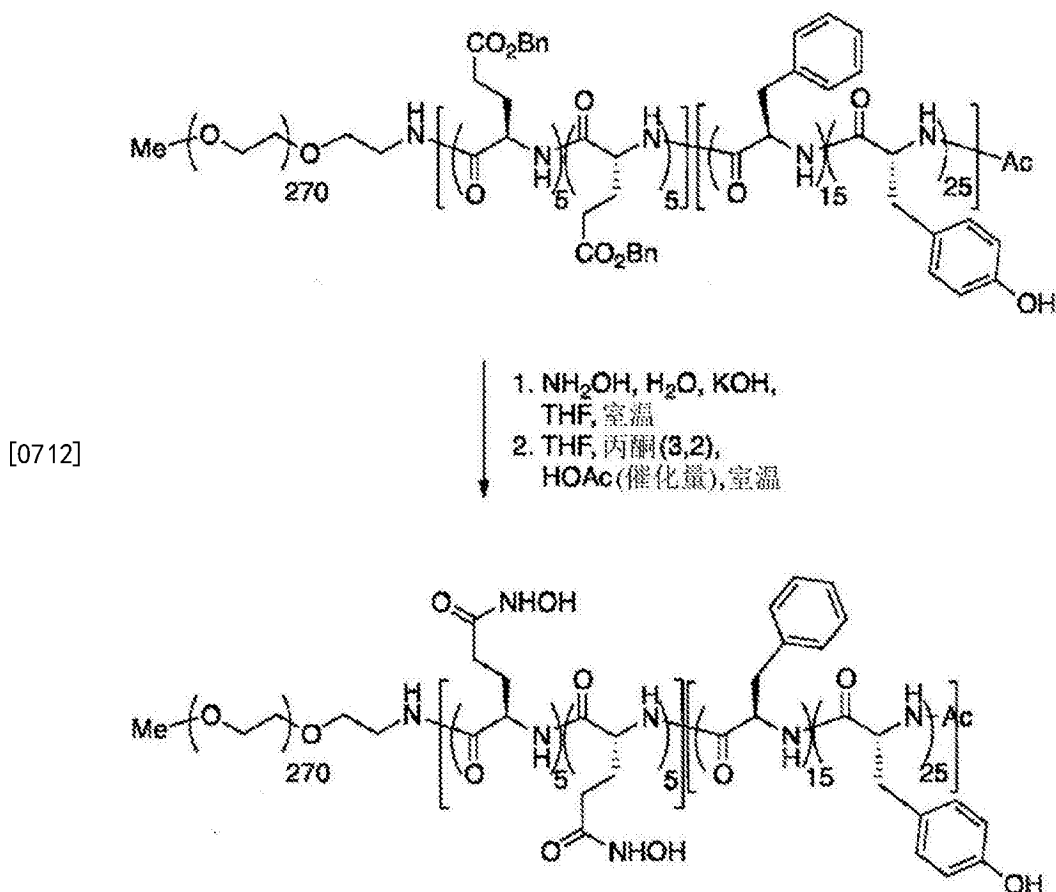
[0707] 实例67



[0709] mPEG12K-b-聚-[d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

[0710] 合成mPEG12K-b-聚-[d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac通过使用实例43的方法,mPEG12K-b-聚-[d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅]-b-聚-(Tyr(OBn)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac与PMB在TFA中在室温下反应3.5小时,得到粗产物,其溶解于二氯甲烷(2体积)中并随后从TBME(5体积)沉淀出。过滤和真空干燥得到呈精细的无色无味固体状的标题产物(产率=93.1%)。¹H NMR(d₆-DMSO):与实例37一致。

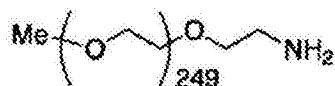
[0711] 实例68



[0713] mPEG12K-b-聚-[d-Glu(NHOH)₅-共-Glu(NHOH)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

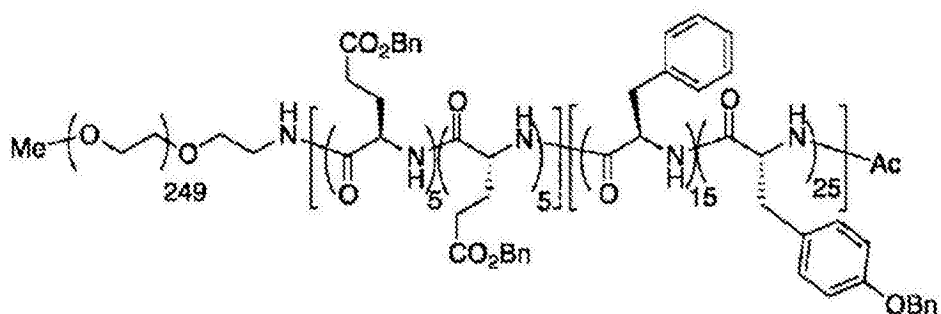
[0714] 合成mPEG12K-b-聚-[d-Glu(NHOH)₅-共-Glu(NHOH)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac mPEG12K-b-聚-[d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac (38.94g, 1.90mmol) 溶解于390mL THF中并用羟胺溶液(25.2mL, 380.0mmol)和4M氢氧化钾溶液(9.5mL, 38.0mmol, 2.0当量/苯甲酯部分)处理。将所得微混浊的浅黄色溶液在室温下在 N_2 下搅拌5.5小时并随后用丙酮(220.7g, 3.8mol, 280mL)稀释。添加乙酸(22.82g, 380.0mmol, 21.7mL), 将溶液短暂加热到回流, 并随后在室温下搅拌18小时。将溶液用280mL 丙酮稀释并使用剧烈机械搅拌, 通过添加TBME(5L)和乙醚(1L)使产物沉淀。冷却到 -25°C 并又搅拌30分钟后, 过滤和真空干燥得到呈精细的无色固体状的标题化合物(35.98g, 产率87.3%), 具有轻微的乙酸气味。 ^1H NMR(d_6 -DMSO): 与实例38一致。

[0715] 实例69

**MePEG11k-OH**

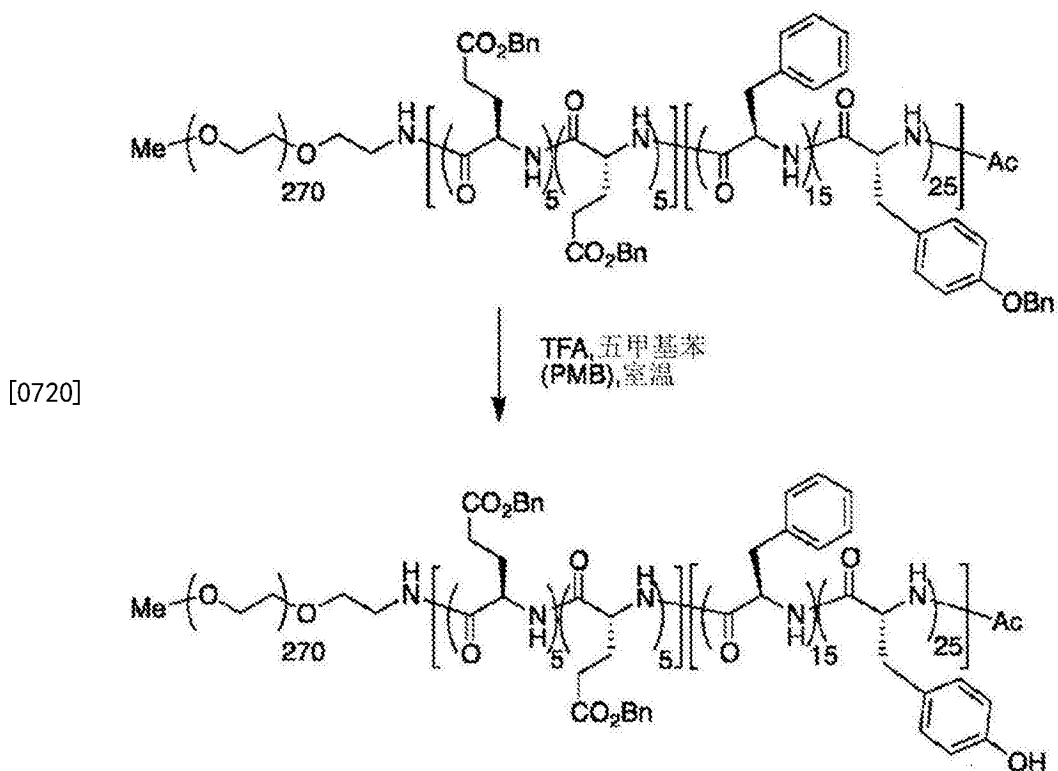
1. 甲苯, 55-60℃,
真空中共沸
2. Glu(OBn)NCA,
d-Glu(OBn)NCA,
CH₂Cl₂, DMAC: 2,1, 室温
3. d-PheNCA, Tyr(OBn)NCA,
室温→35℃
4. Ac₂O, NMM,
DMAP, 室温

[0716]

[0717] mPEG11K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚-(d-Phe₁₅-共-Tyr(OBn)₂₅)-Ac

[0718] 合成mPEG11K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚-(d-Phe₁₅-共-Tyr(OBn)₂₅)-Ac利用实例58中所详述的二氯甲烷/DMAC共溶剂方法,使用m-PEG11k-NH₂(1.10kg,100.0mmol)和适当NCA建构嵌段,得到于DMAC中的粗聚合物溶液,用8体积的异丙醇沉淀。过滤后,粗产物在5体积的异丙醇中形成浆液,历时两小时。将所得固体过滤,用新制IPA/Et₂O、Et₂O洗涤,并随后真空烘干过夜,得到2130g(97.8%产率)呈几乎无色无味固体状的产物。¹H-NMR(d₆-DMSO) δ8.45-7.85(理论50H,观测50H),7.45-6.60(理论350H,观测350H),5.10-4.84(理论70H,观测68H),4.65-4.20(理论50H,观测48H),3.72-3.25(理论1000H,观测1120H),3.05-2.55(理论50H,观测49H),2.44-1.60(理论70H,观测68H)。

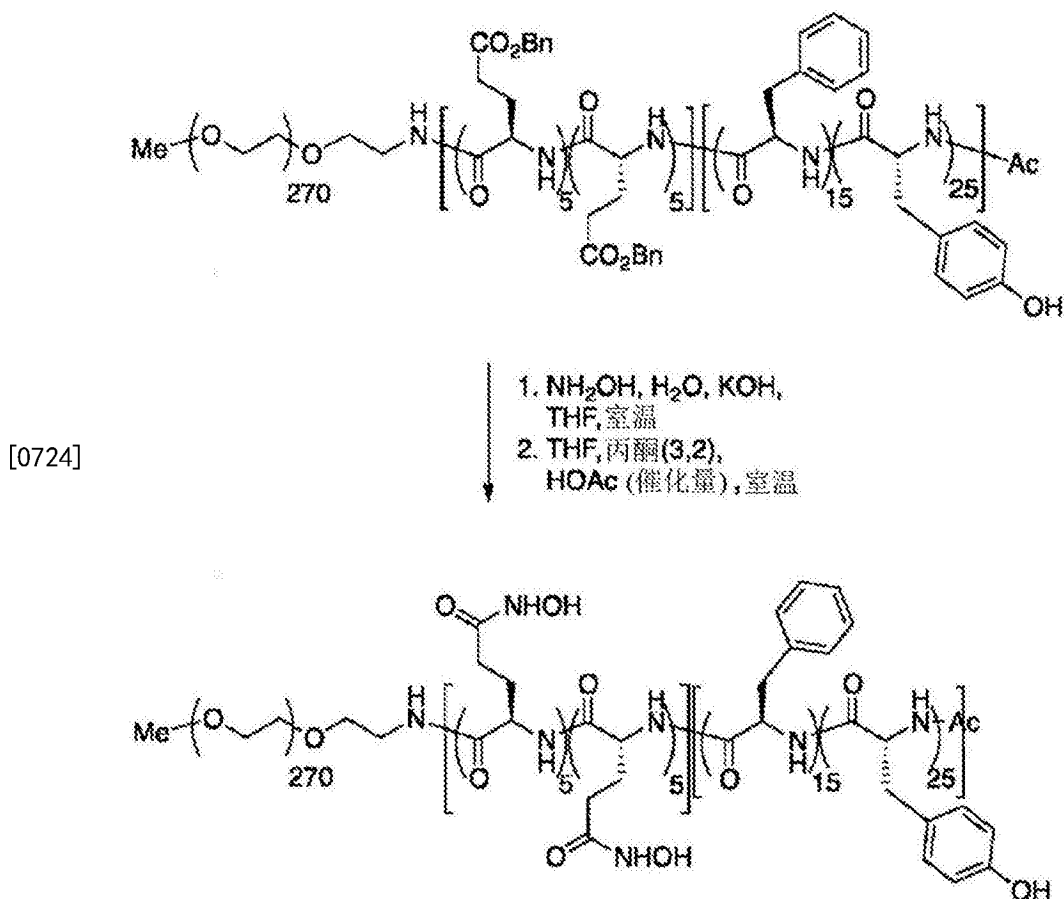
[0719] 实例70



[0721] mPEG12K-b-聚-[d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

[0722] 合成mPEG12K-b-聚-[d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac通过使用实例37的方法,mPEG12K-b-聚-[d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅]-b-聚-(Tyr(OBn)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac与PMB在TFA中在室温下反应三小时并从二氯甲烷/TBME:1/5的混合物沉淀,得到呈精细的无色无味聚合物状的标题产物(产率=92.7%)。¹H NMR (d₆-DMSO)与实例37一致。

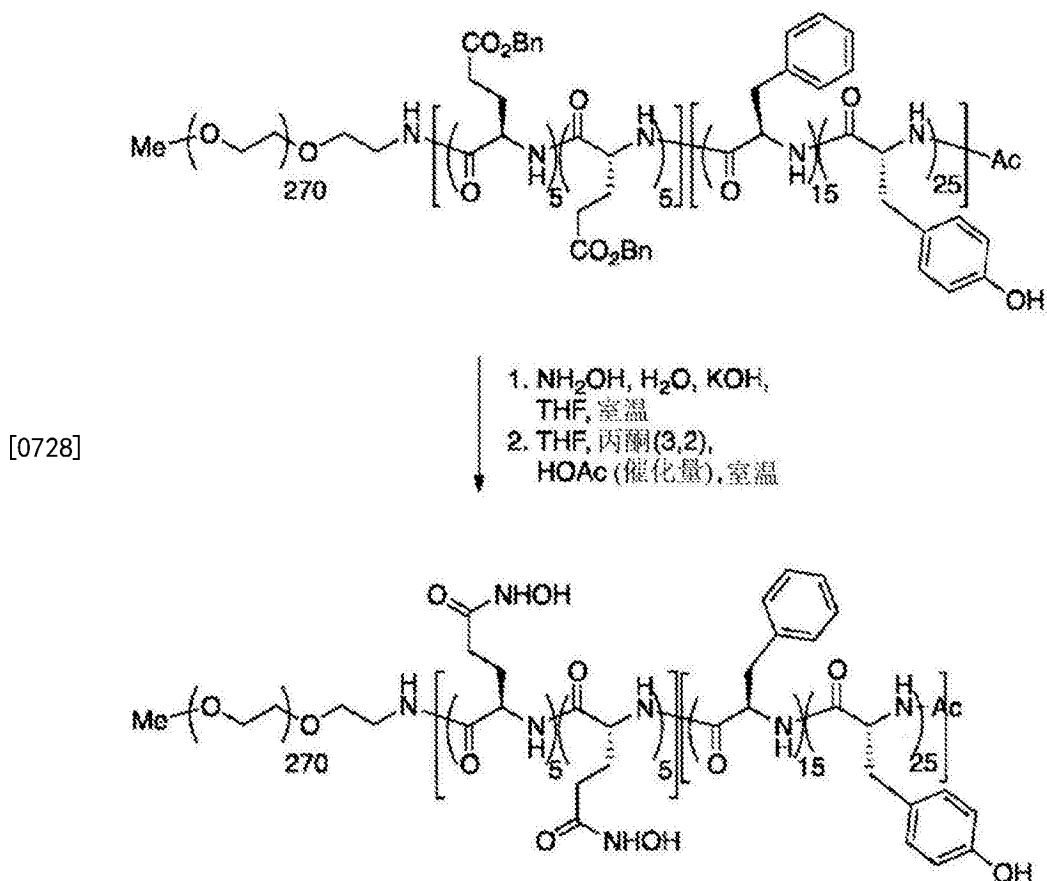
[0723] 实例71



[0725] mPEG12K-b-聚-[d-Glu (NHOH)₅-共-Glu (NHOH)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

[0726] 合成mPEG12K-b-聚-[d-Glu (NHOH)₅-共-Glu (NHOH)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac使用以上实例52中所述的方法,使用羟胺溶液(5当量/酯部分)和4M氢氧化钾溶液(2.0当量/苯甲酯部分)将mPEG12K-b-聚-[d-Glu (OBn)₅-共-Glu (OBn)₅]-b-聚-(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac转化成标题化合物。反应时间是5.25小时。用丙酮/乙酸处理,用IPA/TBME:1/2沉淀并用IPA/TBME:1/2进一步湿磨滤饼,并真空干燥,得到呈乳酪色固体状的标题化合物(产率=89.9%),具有轻微的乙酸气味。¹H NMR (d_6 -DMSO):与实例38一致。

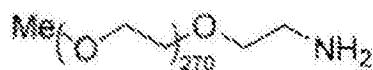
[0727] 实例72



[0729] mPEG12K-b-聚-[d-Glu(NHOH)₅-共-Glu(NHOH)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

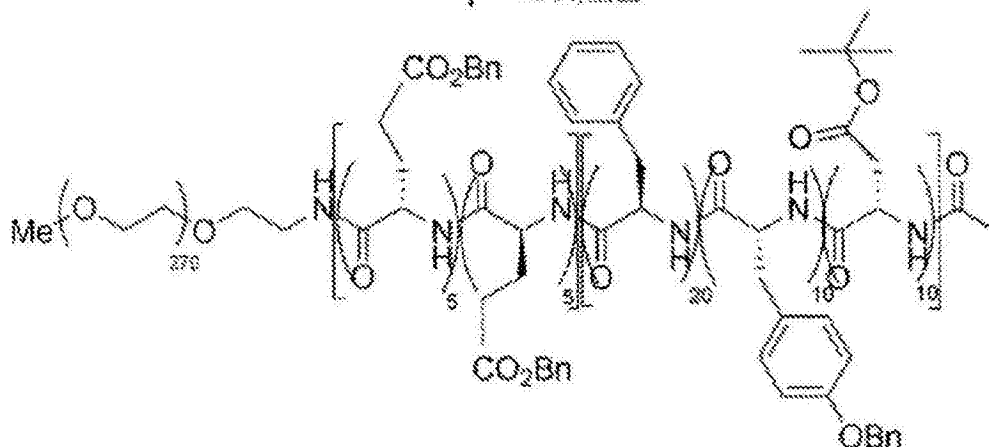
[0730] 合成mPEG12K-b-聚-[d-Glu(NHOH)₅-共-Glu(NHOH)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac使用以上实例71中所述的方法,使用羟胺溶液(10当量/酯部分)和4M氢氧化钾溶液(2.0当量/苯甲酯部分)将mPEG12K-b-聚-[d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅]-b-聚-(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac转化成标题化合物。反应时间是5.5小时。用丙酮/乙酸处理,用IPA/TBME:1/4沉淀并真空干燥,得到呈精细的无色固体状的标题化合物(产率=82.9%),具有轻微的乙酸气味。¹H NMR(d_6 -DMSO):与实例38一致。

[0731] 实例73



1. 甲苯, 60℃
共沸3小时.
2. NMP, 经由套管
3. Glu(oBn) NCA, d-Glu(oBn) NCA
18小时, 室温
4. d-Phe NCA, Tyr(oBn) NCA, Asp(oTbu) NCA
48小时, 室温→35℃
5. NMM, DMAP, AcANH
过夜, 室温

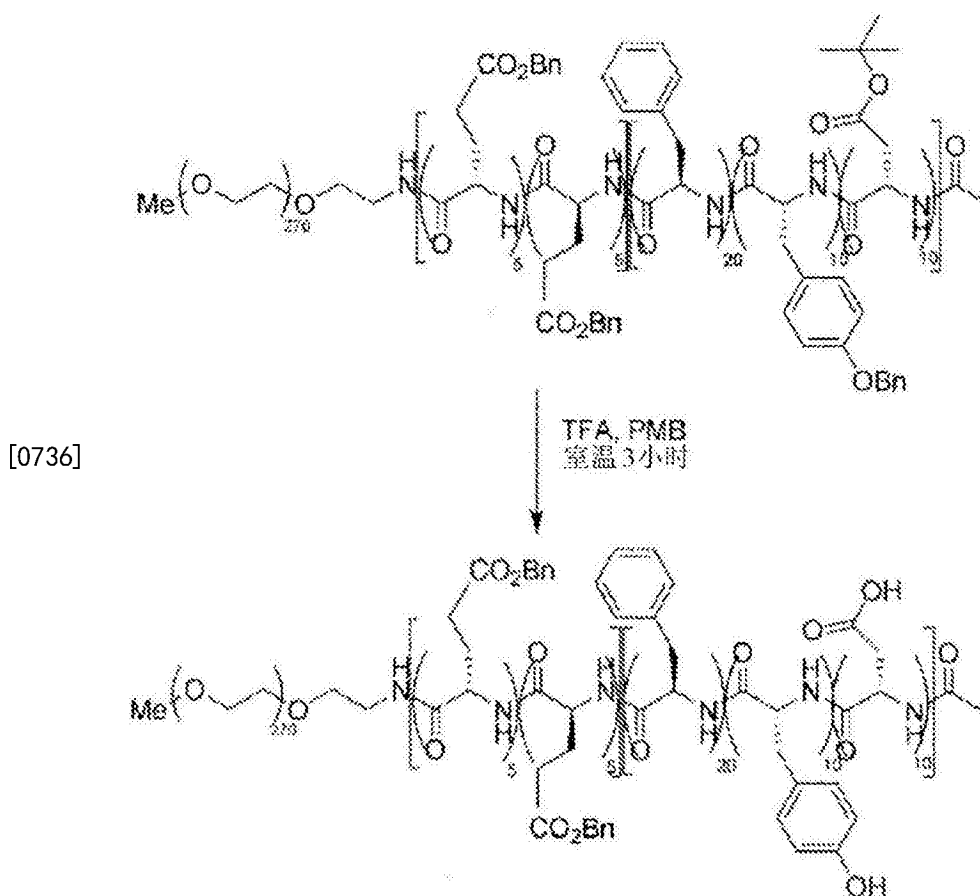
[0732]



[0733] mPEG12K-b-聚-(d-Glu (OBn)₅-共-Glu (OBn)₅)-b-聚 (Tyr (OBn)₁₀-共-d-Phe₂₀-共-Asp (oTbu)₁₀-Ac

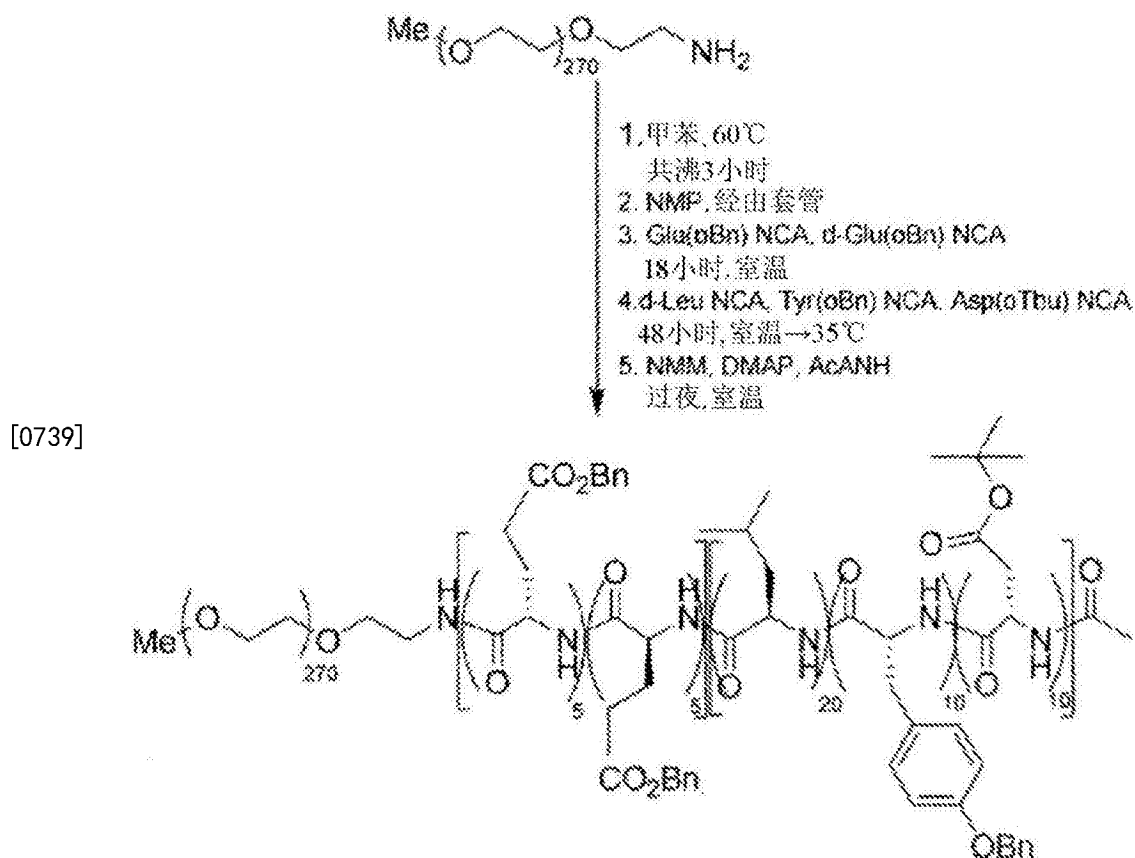
[0734] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu (OBn)₅-共-Glu (OBn)₅)-b-聚 (Tyr (OBn)₁₀-共-d-Phe₂₀-共-Asp (oTbu)₁₀-Ac将以与实例3相同的方式制备的mPEG12K-NH₂ (30g, 2.5mmol) 称重到干净的500mL圆底烧瓶中并完全溶解于甲苯中并通过共沸蒸馏来干燥。将甲苯经由简单的玻璃桥收集到用氮气冷却的第二个500mL圆底烧瓶中。使所得固体完全干燥, 历时三小时。经由套管和真空输送向干燥固体添加刚刚蒸馏的N-甲基吡咯烷。在添加NCA前使此混合物完全溶解。因此, 将如从实例8和实例9制备的NCA, 即Glu (oBn) NCA (2.87g)、d-Glu (oBn) NCA (2.87g) 称重到干净的二颈圆底烧瓶中, 并抽空一小时, 接着此固体完全溶解于NMP中, 并随后通过插管引入含有PEG的烧瓶中。在室温下搅拌此聚合并通过GPC (DMF, 0.1% LiBr) 监测, 以确保完成 (约16小时)。NCA的此第一嵌段聚合完成后, 以与第一次相同的方式进行NCA的第二次添加, 并由来自实例7的d-Phe (9.5g)、来自实例6的Tyr (oBn) (7.4g) 和来自实例5的Asp (oTbu) (5.38g) 组成。使其在室温下聚合两小时并随后加热到35℃, 直到完成 (约24小时)。一旦GPC确定, 就添加N-甲基-吗啉 (2.5g, 2.7mL, 25mmol)、DMAP (0.3g, 2.5mmol) 和乙酸酐 (2.5g, 2.36mL, 25mmol) 到反应溶液中, 搅拌过夜。将此反应混合物倾入具有磁性搅拌棒的两升烧杯中, 并缓慢添加乙醚, 直到观测到白色沉淀。将此固体过滤并在中孔烧结玻璃料上洗涤。将此固体真空干燥, 用¹H NMR和GPC表征。(产率=74.8%, 40克)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ 8.42-7.70, 7.30, 6.95, 5.10-4.9, 4.65-4.20, 3.77-3.25, 3.05-2.45, 2.44-1.60, 1.38-1.22。

[0735] 实例74



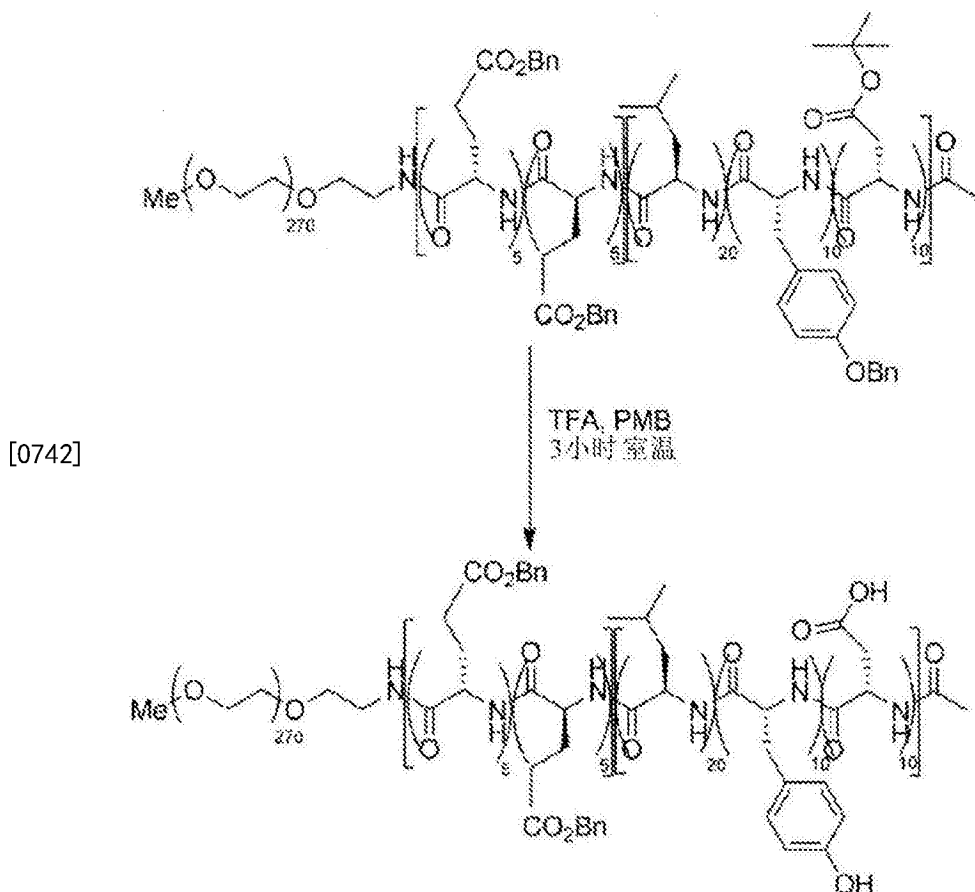
[0737] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚(Tyr₁₀-共-d-Phe₂₀-共-Asp₁₀-Ac)将经保护的三嵌段共聚物(实例73)称重(30g, 1.4mmol)到干净的500mL烧杯中并溶解于三氟乙酸中。添加五甲基苯(4g, 26.98mmol)并用磁性搅拌棒搅拌。将反应混合物搅拌两小时并通过NMR监测,以完全去除酪氨酸上的苯甲基保护基和天冬氨酸酯上的叔丁基。此脱除保护基完成后,溶液在冷乙醚中沉淀。随后在中孔烧结玻璃料上过滤此固体并再溶解于二氯甲烷中,并且再在冷乙醚中沉淀并过滤。将此固体(24.7g, 产率=88.4%)真空干燥并表征。¹H NMR (d₆-DMSO) δ 9.09, 8.50-7.75, 7.40-6.45, 5.03, 4.70-4.20, 3.91-3.05, 3.03-2.10, 2.09-1.50。

[0738] 实例75



[0740] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(oBn)₅-共-Glu(oBn)₅)-b-聚(Tyr(OBn)₁₀-共-d-Leu₂₀-共-Asp(oTbu)₁₀-Ac使用来自实例73的一般方案并用适当NCA起始物质代替,得到粗聚合物,用约10体积乙醚沉淀。过滤和干燥后,收集呈无色固体状的标题化合物(产率=80.2%)。¹H NMR(d₆-DMSO) δ8.50-7.75, 7.40-6.6, 5.03, 4.70-4.20, 3.69-3.09, 3.03-2.10, 2.09-1.50, 1.43-1.25, 0.85-0.62。

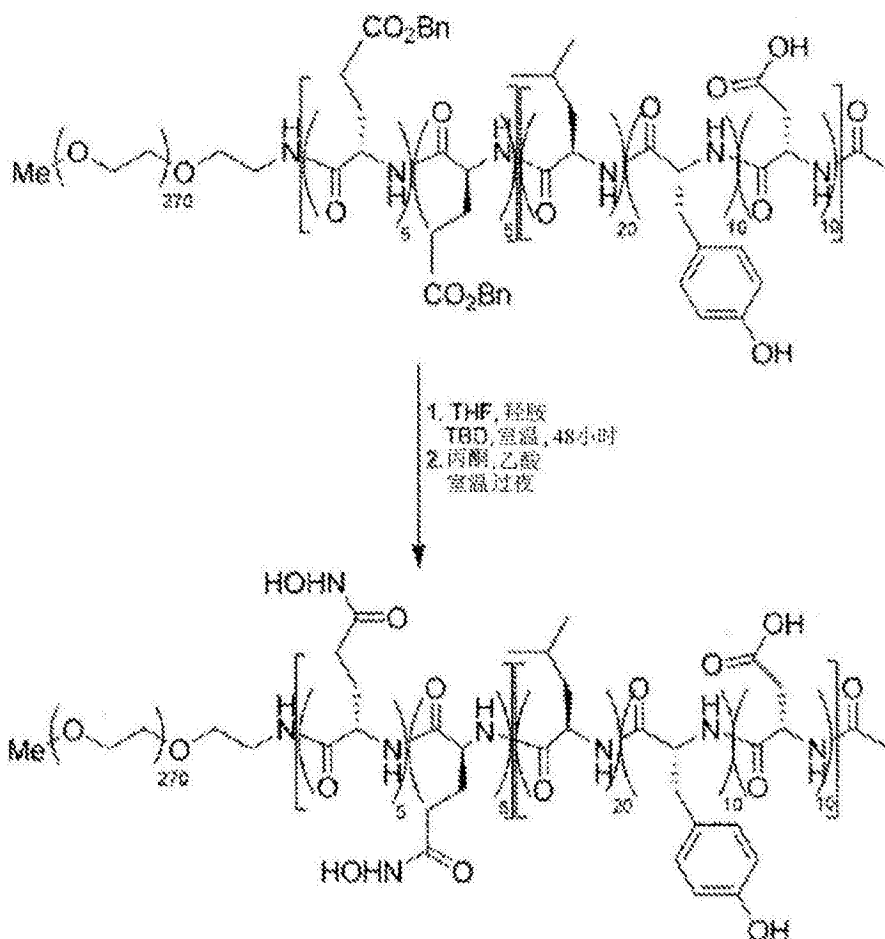
[0741] 实例76



[0743] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(oBn)₅-共-Glu(oBn)₅-b-聚(Tyr(OBn)₁₀-共-d-Leu₂₀-共-Asp(oTbu)₁₀)-Ac将三十四克的经保护的三嵌段聚合物(实例75)称重到干净的500mL烧杯中并溶解于三氟乙酸(500mL)中。向此溶液中添加五甲基苯(4g, 27mmol)并用磁性搅拌棒搅拌。添加五甲基苯三十分钟后,在溶液中观测到沉淀。将反应混合物搅拌2.5小时并通过NMR监测,以完全去除酪氨酸上的苯甲基保护基和天冬氨酸酯上的叔丁基。此脱除保护基完成后,溶液旋转蒸发成粘稠的糊状物,再溶解于二氯甲烷中并随后在冷乙醚中沉淀。随后在中孔烧结玻璃料上过滤此固体并再溶解于二氯甲烷中,并且再在冷乙醚中沉淀并过滤。将此固体真空干燥并表征。¹H NMR(d₆-DMSO) δ9.09, 8.50-7.75, 7.45-6.55, 5.03, 4.65-4.00, 3.69-3.09, 3.03-2.10, 2.09-1.50, 0.85-0.55。

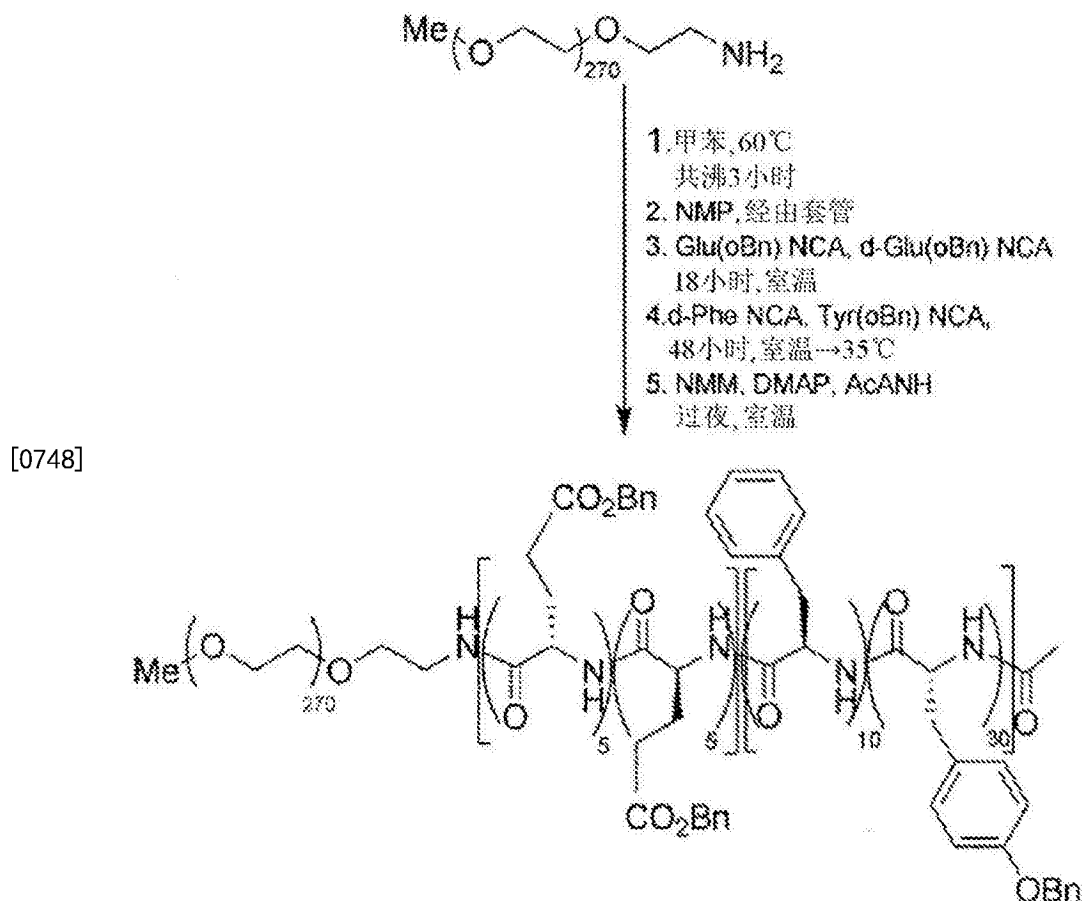
[0744] 实例77

[0745]



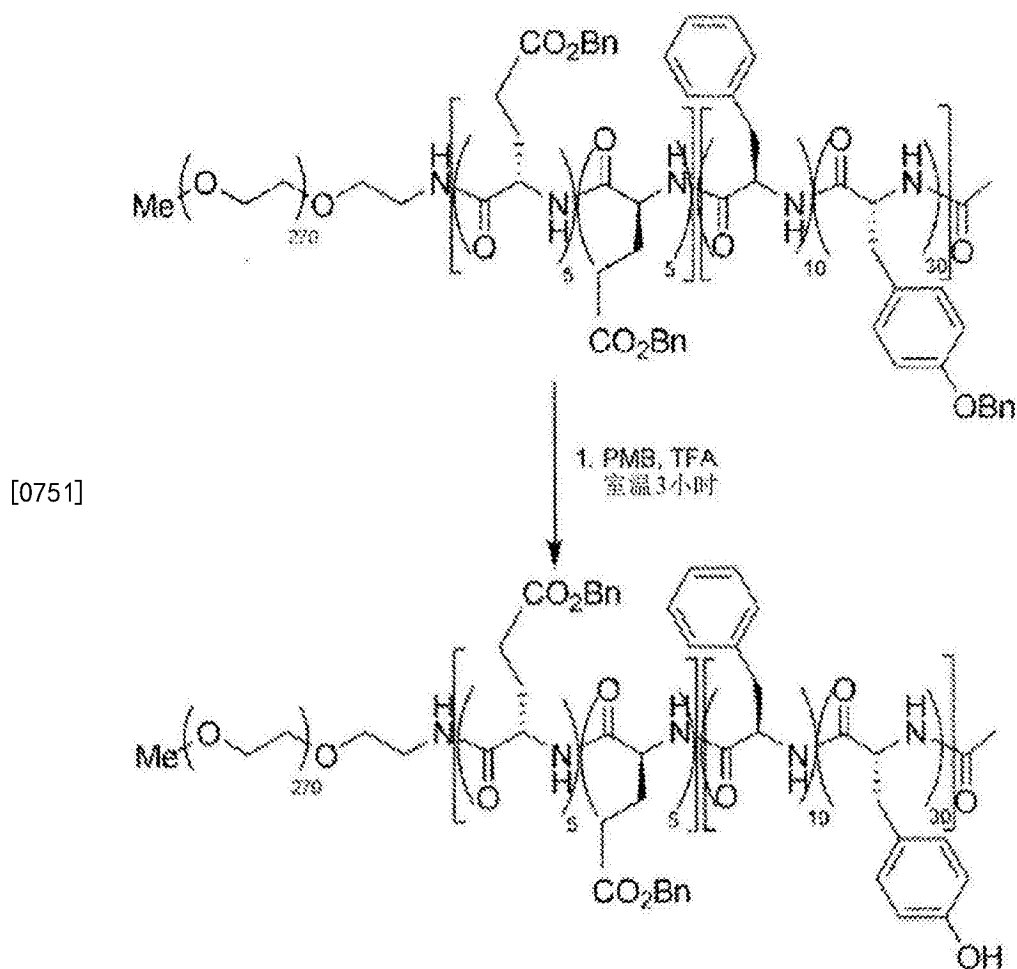
[0746] 合成mPEG12K-b-(d-Glu(NHOH))₅-共-Glu(NHOH)-b-聚(Tyr(OH))₁₀-共-d-Leu₂₀-共-Asp₁₀-Ac将三嵌段酯(实例76)(20g, 0.96mmol)称重到干净的500mL圆底烧瓶中并添加200mL四氢呋喃且完全溶解。在50℃下在氮气下向此溶液中搅拌三十当量羟胺(1.9mL, 28mmol)和0.5g TBD催化剂过夜。通过¹H NMR检验完成情况。将此溶液与100mL甲醇混合并用乙醚(约7体积)沉淀。此白色固体通过过滤来收集并用新制乙醚洗涤。随后收集的固体溶解于丙酮中并搅拌催化量的乙酸过夜。将溶液倾入干净的两升烧杯中并在搅拌下缓慢添加乙醚到溶液中。¹H NMR(d₆-DMSO) δ9.4-8.6, 8.51-7.77, 7.44-7.57, 6.96, 6.56, 4.52-4.00, 3.75-3.29, 3.03-2.45, 2.08-1.21, 0.95-0.57。

[0747] 实例78



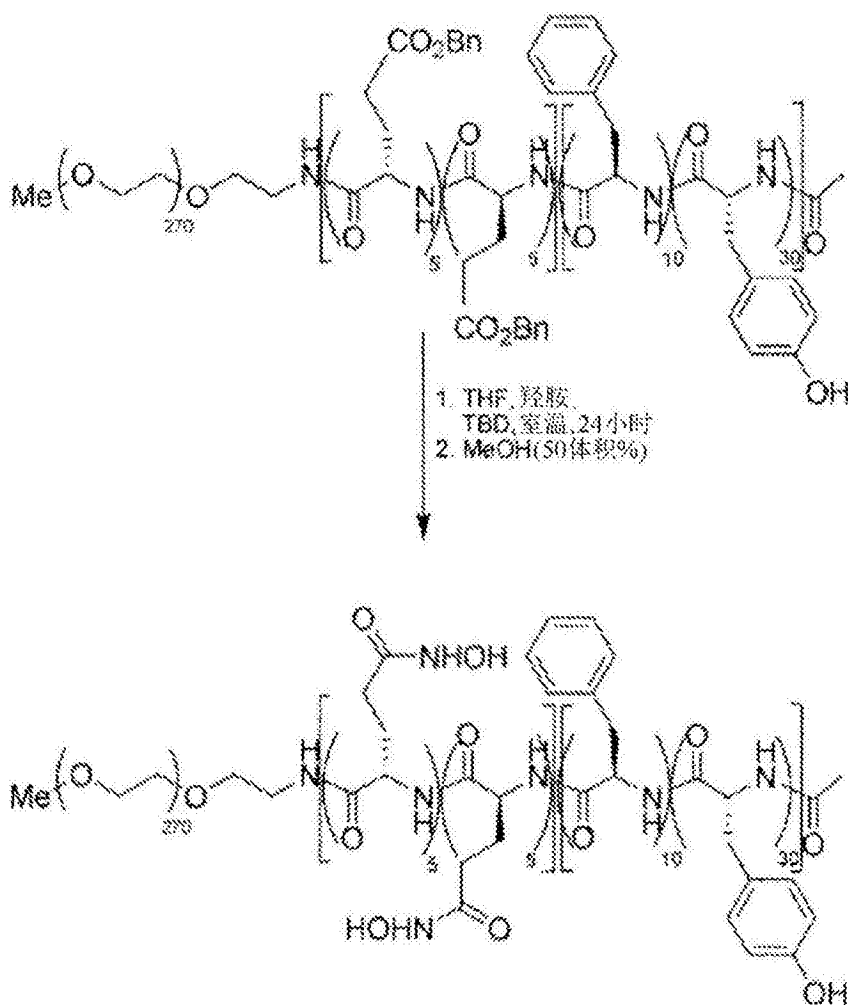
[0749] 合成mPEG12K-b-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚(Tyr(OBn)₃₀-共-d-Phe₁₀)-Ac共聚物的第一嵌段使用与实例73相同的规模和程序制备。在完成NCA的此第一嵌段后,进行以与实例7相同的方式制备的d-Phe NCA (4.78g, 25mmol) 和来自实例6中的程序的Tyr(oBn) NCA (22.29g, 75mmol) 的NCA第二次添加。使此溶液在室温下聚合两小时并随后加热到35℃,直到完成(约48小时)。一旦GPC确定,就添加N-甲基-吗啉 (2.5g, 2.7mL, 25mmol)、DMAP (0.3g, 2.5mmol) 和乙酸酐 (2.5g, 2.36mL, 25mmol) 到反应溶液中,搅拌过夜。此封端的聚合物以与实例73中相同的方式处理(产率=79.6%),约40克。¹H NMR (d₆-DMSO) δ8.46-7.72, 7.44-6.57, 5.10-4.80, 4.62-4.13, 3.74-3.23, 3.03-2.77, 2.62-2.21, 2.02-1.56(溶剂杂质)。

[0750] 实例79



[0752] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(oBn)₅-共-Glu(oBn)₅-b-聚(Tyr(OH)₃₀-共-d-Phe₁₀)-Ac将经保护的三嵌段共聚物(来自实例78)称重(34g, 1.46mmol)到干净的500mL烧杯中并溶解于三氟乙酸(500mL)中。向此溶液中添加五甲基苯(4g, 27mmol)并用磁性搅拌棒搅拌。添加五甲基苯三十分钟后,在溶液中观测到沉淀。搅拌反应混合物2.5小时并通过NMR监测,以完全去除酪氨酸上的苯甲基保护基。此脱除保护基完成(3小时)后,溶液旋转蒸发成粘稠的糊状物,再溶解于二氯甲烷中并随后在冷乙醚中沉淀。随后在中孔烧结玻璃料上过滤此固体并再溶解于二氯甲烷中,并且再在冷乙醚中沉淀并过滤。此固体真空干燥并表征。¹H NMR (d₆-DMSO) δ9.10, 8.38-7.77, 7.39-6.73, 6.59, 5.03, 4.64-3.79, 3.71-3.30, 2.98-2.56, 2.02-1.62。

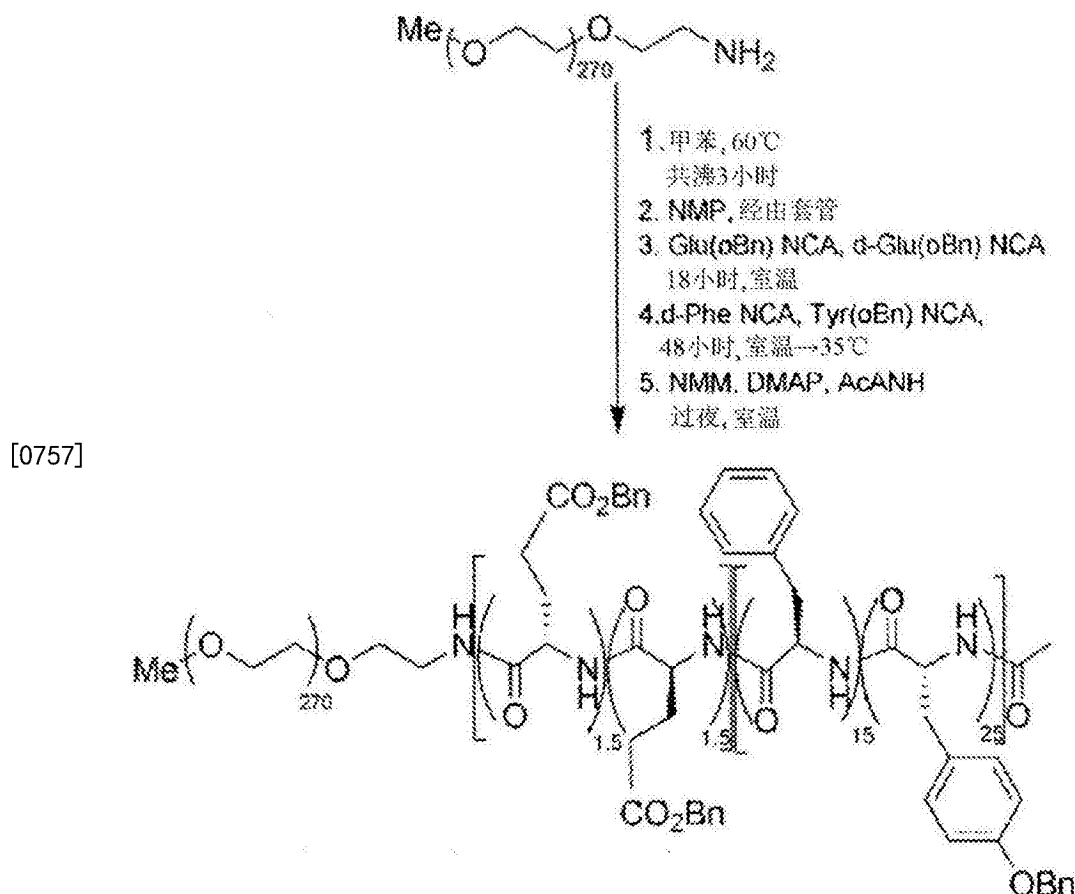
[0753] 实例80



[0754]

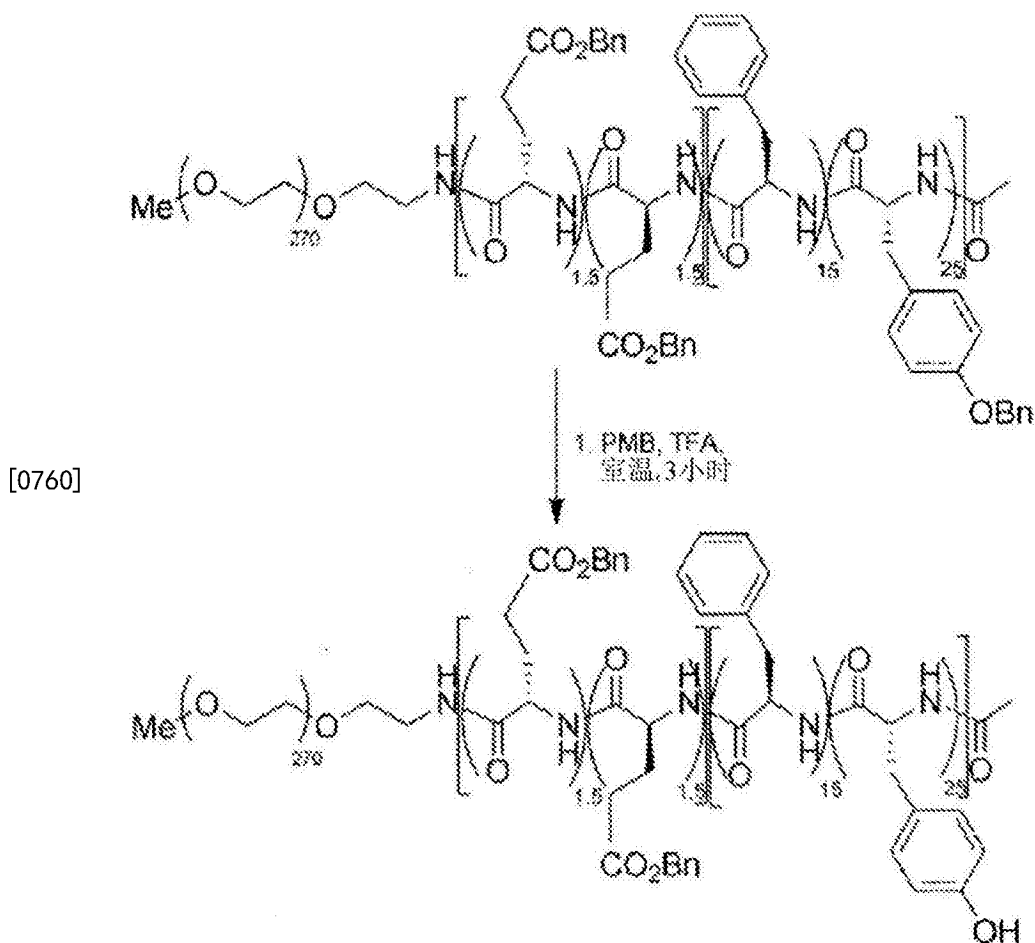
[0755] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(NH₂))₅-共-Glu(NH₂)₅-b-聚(Tyr(OH))₃₀-共-d-Phe₁₀-Ac将20g三嵌段酯(来自实例79)称重到干净的500mL圆底烧瓶中并添加200mL四氢呋喃且完全溶解。在氮气下在室温下向此溶液中搅拌十当量羟胺和1,5,7-三氮杂双环[4.4.0]癸-5-烯(TBD,0.5g,3.5mmol)。通过¹H NMR检验完成情况(48小时)。将此溶液与100mL甲醇混合并将此溶液倾入干净的两升烧杯中。在搅拌下缓慢添加甲基叔丁基醚(约5体积)到溶液中。随后在中孔玻璃料上收集所得白色固体并真空干燥。(17.34g,产率=90%)。¹H NMR(d₆-DMSO) δ9.10-8.65,8.39-7.78,7.28-6.75,6.80,6.59,4.59-4.31,3.75-3.13,3.00-2.57,2.16-1.57。

[0756] 实例81



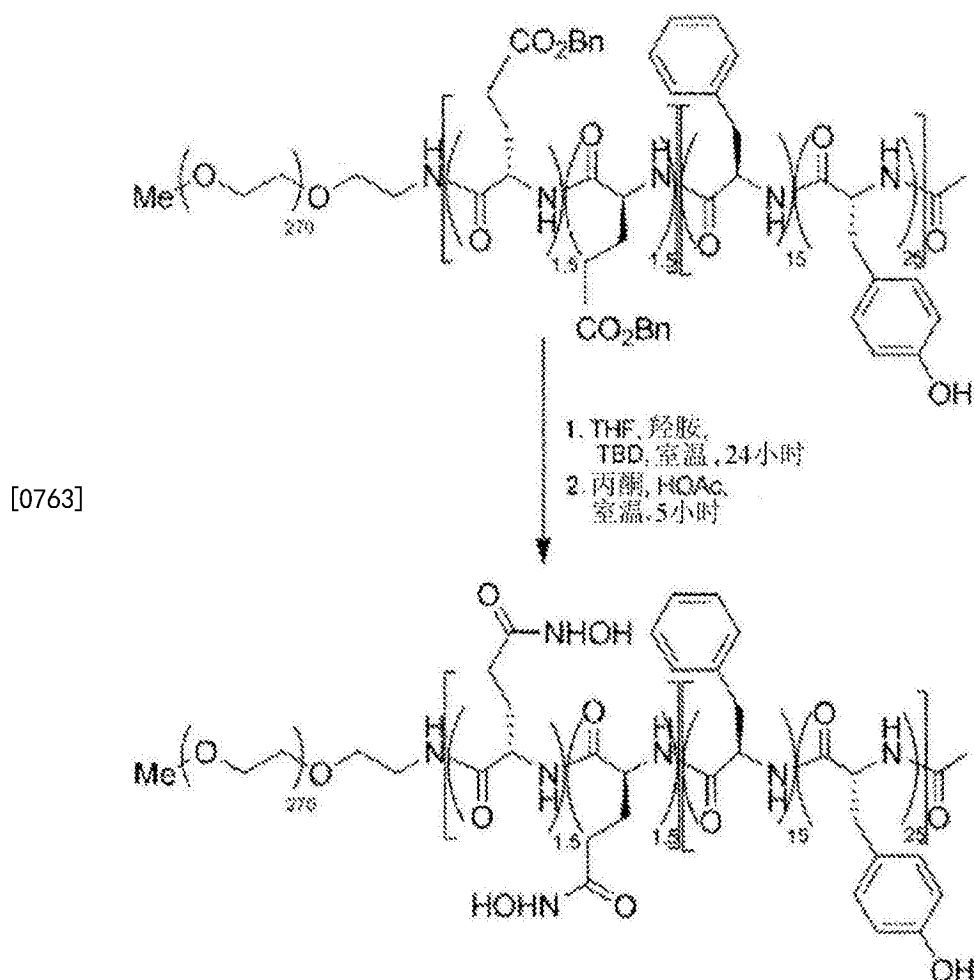
[0758] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)_{1.5}-共-Glu(OBn)_{1.5})-b-聚(Tyr(OBn)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac将以与实例3相同的方式制备的mPEG12KNH₂ (25g, 2.08mmol) 称重到1000mL干净的烘干二颈圆底烧瓶中并在加热下溶解于甲苯(300mL)中且通过共沸蒸馏来干燥。蒸馏到干燥后,将聚合物置于真空下三小时。随后用N₂回填烧瓶,在减压下再抽空,并通过套管引入无水N-甲基吡咯烷酮(NMP) (250mL)。将混合物短暂加热到40℃以加快溶解并随后冷却到25℃。将以与实例8相同的方式制得的Glu(OBn) NCA (0.82g, 3.1mmol) 和来自实例9的d-Glu(OBn) NCA (0.82g, 3.1mmol) 直接添加到烧瓶,并在室温下在氮气下搅拌反应混合物18小时。随后,来自实例7的d-Phe NCA (5.97g, 31.25mmol) 和由实例6制备的Tyr(OBn) NCA (15.49g, 52.08mmol) 添加到溶液中并搅拌2小时,随后加热到35℃,保持48小时,此刻反应完成(GPC, DMF/0.1%LiBr)。溶液冷却到室温并添加乙酸酐(2.04g, 20mmol, 1.88mL)、N-甲基吗啉(NMM) (2.23g, 22mmol, 2.47mL) 和二甲氨基吡啶(DMAP) (0.24g, 2.0mmol)。继续在室温下搅拌1天。使聚合物在乙醚:庚烷10:1 (2.5L) 中沉淀并通过过滤来分离,用新制的100mL的乙醚部分洗涤,并真空干燥,得到呈精细的灰白色粉末状的嵌段共聚物(39.81g, 产率=90.3%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ 9.26-9.04, 8.36-7.75, 7.41-7.25, 6.97, 6.60, 5.04, 4.59-4.13, 3.81-3.13, 2.96-2.76, 2.75-2.57, 2.43-2.12, 2.00-1.45。

[0759] 实例82



[0761] 合成mPEG12K-b-Poly-(d-Glu(OBn)_{1.5}-共-Glu(OBn)_{1.5})-b-聚(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac仅仅调整化学计量,使用来自实例74的一般方法将来自实例81的聚合物脱除保护基。一旦完成(3小时),溶液就旋转蒸发成粘稠的糊状物并随后再溶解于二氯甲烷中,且在冷乙醚中沉淀,通过过滤来收集并真空干燥。此反应产生22g干燥物质(产率=76.92%)。¹H NMR (d6-DMSO) δ 9.09, 8.50-7.75, 7.35-6.45, 5.04, 4.70-4.20, 3.91-3.05, 3.03-2.10, 2.09-1.50。

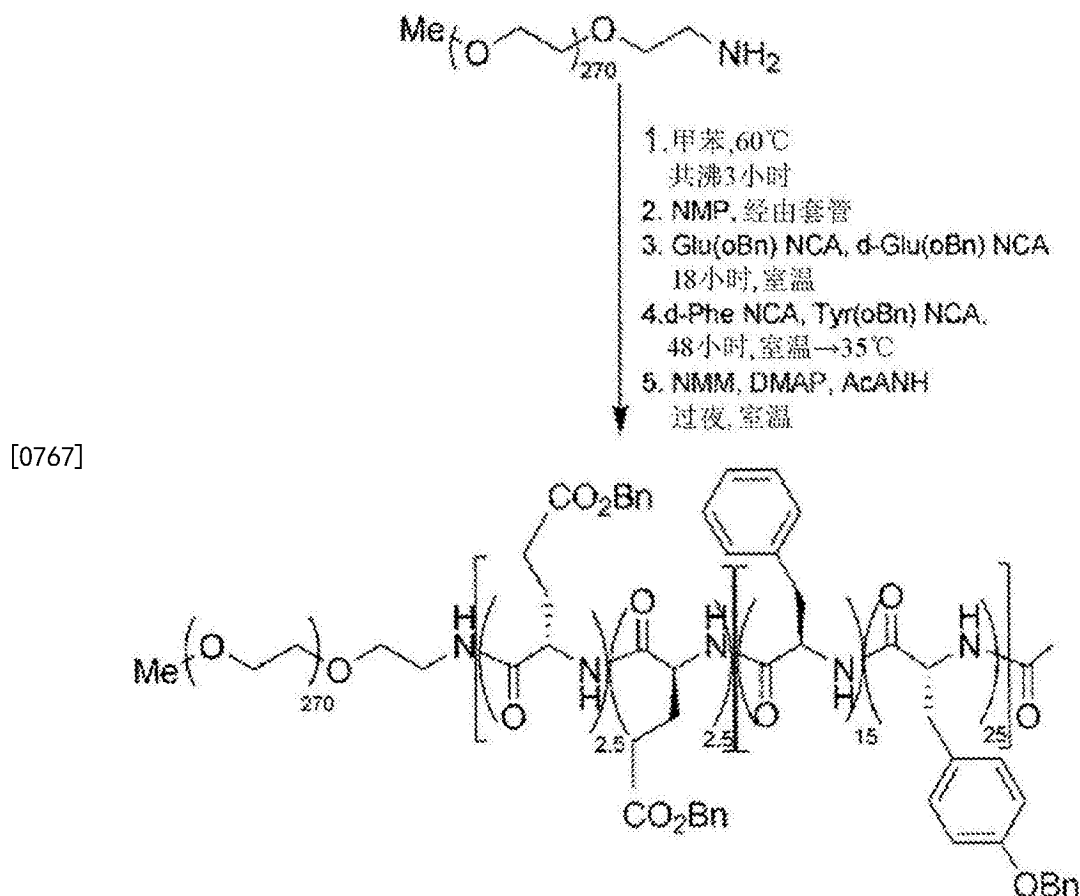
[0762] 实例83



[0764] mPEG12K-b-聚-(d-Glu (NHOH)_{1.5}-共-Glu (NHOH)_{1.5})-b-聚(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

[0765] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu (NHOH)_{1.5}-共-Glu (NHOH)_{1.5})-b-聚(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac在加热下来自实例82的聚合物(13.2g, 0.705mmol)完全溶解于160mL THF中,使此溶液冷却到室温,接着添加1,5,7-三氮杂双环[4.4.0]癸-5-烯(TBD, 0.3g, 2.2mmol),接着添加羟胺(50%水溶液, 25mL, 378mmol),在室温下搅拌此溶液24小时。添加甲醇(80mL)并随后用甲基叔丁基醚沉淀,通过过滤来收集,并溶解于丙酮中。将乙酸添加到此丙酮溶液中并搅拌5小时。蒸发溶液,直到几乎干燥,再溶解于二氯甲烷中并在MTBE中沉淀,通过过滤来收集并真空干燥(12.1g, 产率=92.8%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ 9.11, 8.34-7.75, 7.37-7.05, 6.92, 6.58 4.60-4.32, 3.81-3.12, 2.99-2.57, 2.49-2.32, 2.10-1.73。

[0766] 实例84

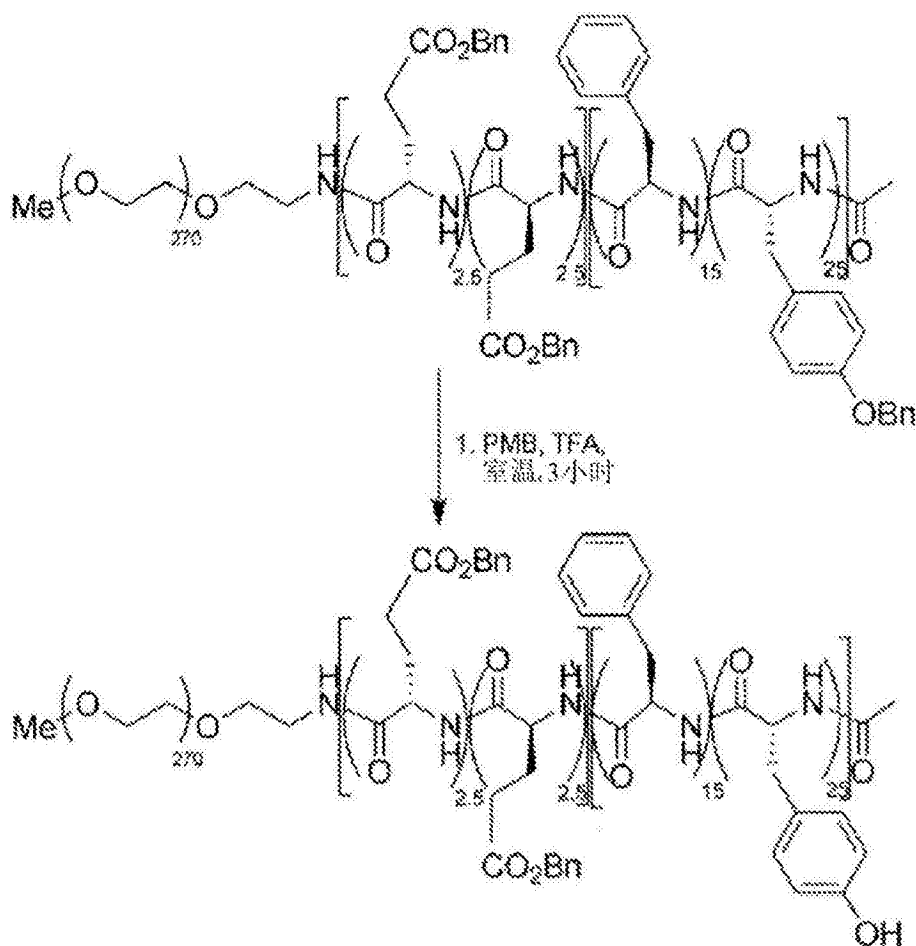


[0768] mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)_{2.5}-共-Glu(OBn)_{2.5})-b-聚(Tyr(OBn)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac

[0769] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)_{2.5}-共-Glu(OBn)_{2.5})-b-聚(Tyr(OBn)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac将以与实例3相同的方式制备的mPEG12KNH₂ (25g, 2.08mmol) 称重到1000mL干净的烘干二颈圆底烧瓶中并在加热下溶解于甲苯 (300mL) 中且通过共沸蒸馏来干燥。蒸馏到干燥后,将聚合物置于真空下三小时。随后用N₂回填烧瓶,在减压下再抽空,并通过套管引入无水N-甲基吡咯烷酮(NMP) (250mL)。将混合物短暂加热到40℃以加快溶解并随后冷却到25℃。将Glu(OBn) NCA (1.37g, 5.2mmol) 和d-Glu(OBn) NCA (1.37g, 5.2mmol) 添加到烧瓶中,并在室温下在氮气下搅拌反应混合物18小时。在NCA的第一嵌段完成后,添加以与实例79相同的方式制备的d-Phe NCA (5.97g, 31.25mmol) 和来自实例6的Tyr(OBn) NCA (15.49g, 52.08mmol) 并在室温下搅拌溶液两小时,在35℃下搅拌48小时,此刻反应完成(GPC, DMF/0.1%LiBr)。溶液冷却到室温并添加乙酸酐 (2.04g, 20mmol, 1.88mL)、N-甲基吗啉(NMM) (2.23g, 22mmol, 2.47mL) 和二甲氨基吡啶(DMAP) (0.24g, 2.0mmol)。继续在室温下搅拌1天。使聚合物在乙醚:庚烷10:1 (2.5L) 中沉淀并通过过滤来分离,用新制的100mL的乙醚部分洗涤,并真空干燥,得到呈精细的灰白色粉末状的嵌段共聚物 (36g, 产率=80%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ9.108.37-7.83, 7.39-7.21, 6.95, 6.56, 5.02, 4.61-4.34, 4.32-4.20, 3.71-3.25, 2.94-2.59, 2.40-2.10, 1.96-1.45。

[0770] 实例85

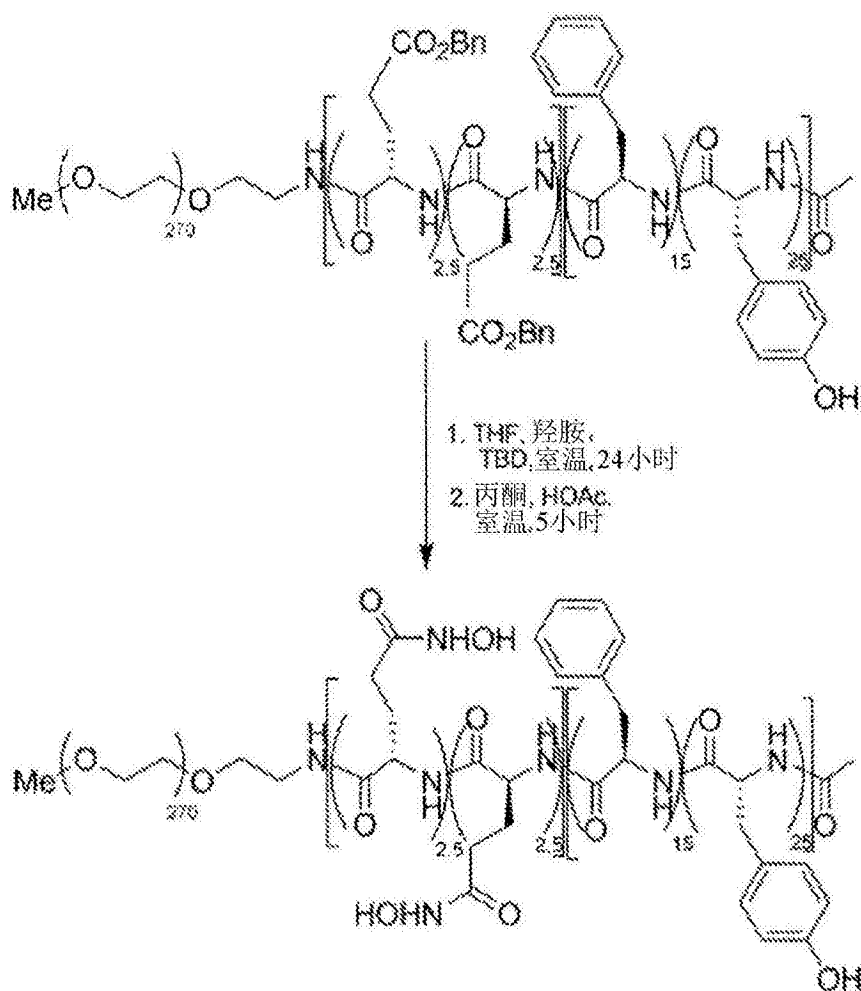
[0771]



[0772] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)_{2.5}-共-Glu(OBn)_{2.5})-b-聚(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac使用来自实例74的一般方法并调整化学计量,将来自实例84的聚合物脱除保护基(32g, 1.65mmol)。一旦完成(3小时),溶液就旋转蒸发成粘稠的糊状物并随后再溶解于DCM中,且在冷乙醚中沉淀,通过过滤来收集并真空干燥。此反应产生27g干燥物质(94.2%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ 9.09, 8.50-7.75, 7.35-6.45, 5.04, 4.70-4.20, 3.91-3.05, 3.03-2.10, 2.09-1.50。

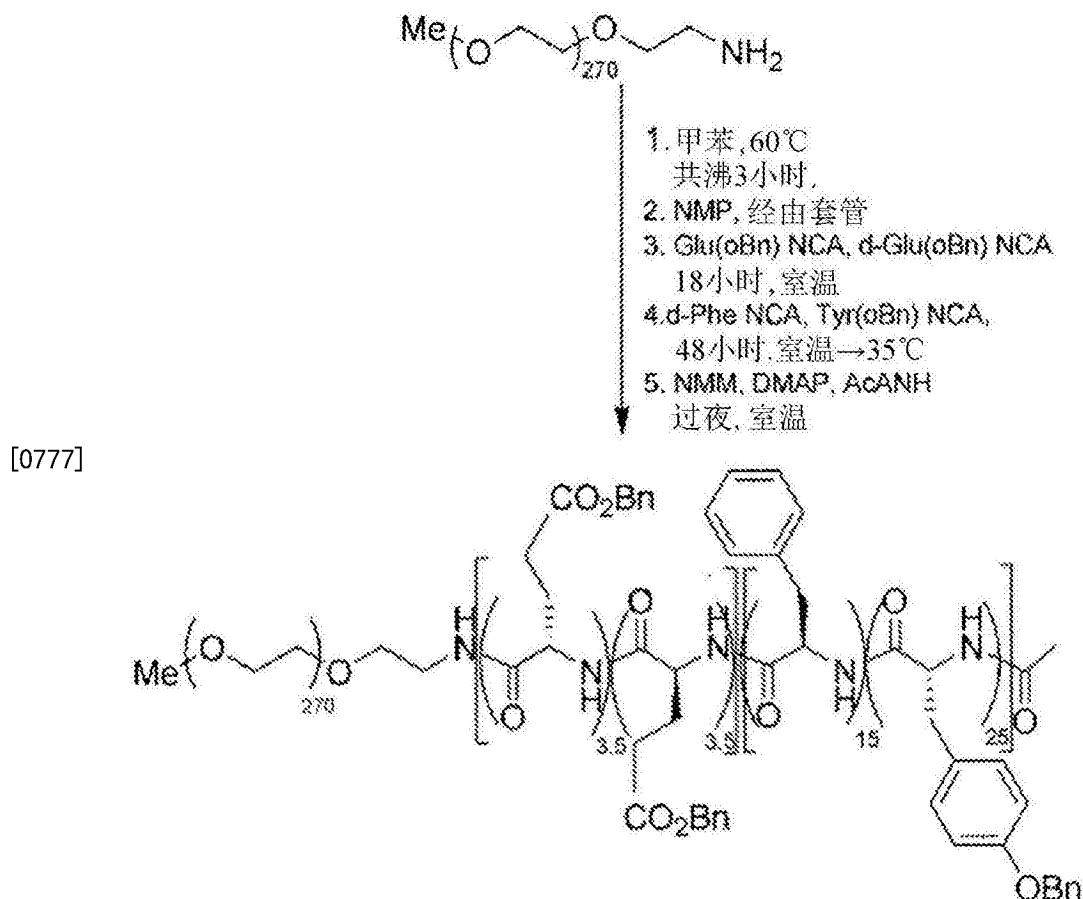
[0773] 实例86

[0774]



[0775] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(NHOH)_{2.5}-共-Glu(NHOH)_{2.5})-b-聚(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac在加热下来自实例85的聚合物(20g, 1mmol)完全溶解于160mL THF中, 使此溶液冷却到室温, 接着添加1,5,7-三氮杂双环[4.4.0]癸-5-烯(TBD, 0.5g, 3.6mmol), 接着添加羟胺(50%水溶液, 30mL, 545mmol), 在室温下搅拌此溶液24小时。添加甲醇(80mL)并随后用甲基叔丁基醚沉淀, 通过过滤来收集, 并溶解于丙酮中。将乙酸添加到此丙酮溶液中并搅拌5小时, 随后旋转蒸发此溶液直到几乎干燥, 再溶解于二氯甲烷中并在MTBE中沉淀, 通过过滤来收集并真空干燥(18g, 产率=91.7%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ 9.11, 8.34-7.75, 7.15, 6.80, 4.60-4.32, 3.81-3.12, 2.99-2.32, 1.93-1.83)。

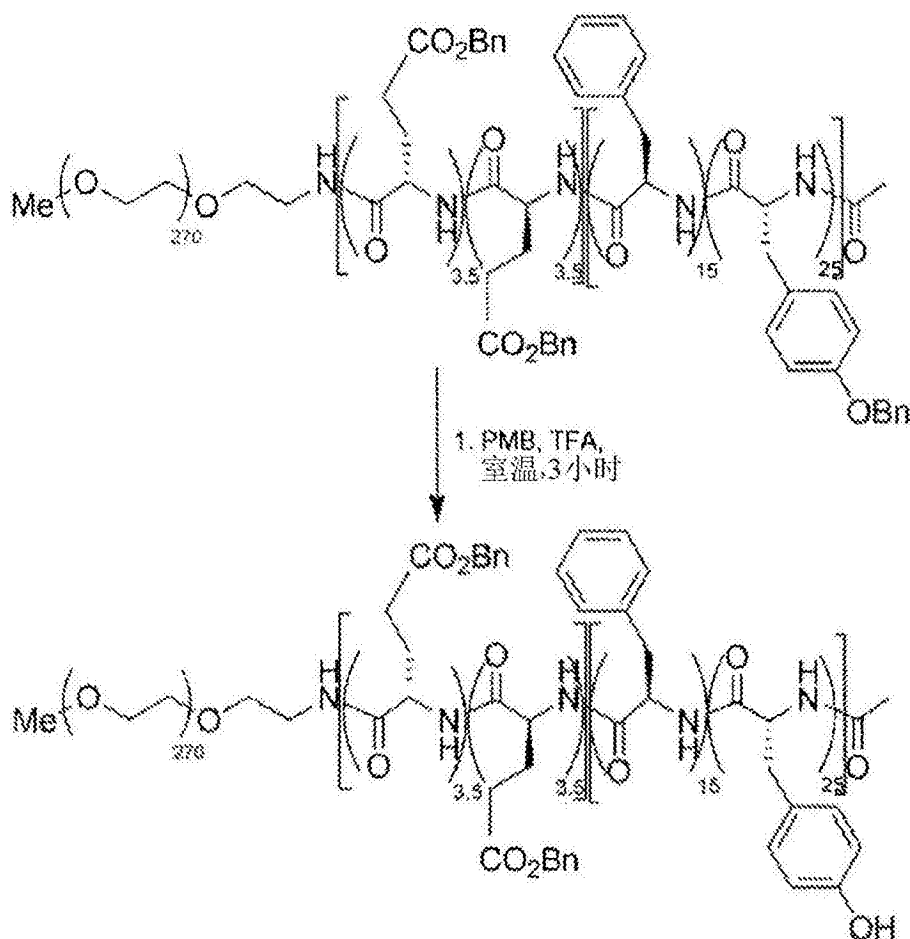
[0776] 实例87



[0778] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)_{3.5}-共-Glu(OBn)_{3.5})-b-聚(Tyr(OBn)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac将以与实例3相同的方式制备的mPEG12KNH₂ (25g, 2.08mmol) 称重到1000mL干净的烘干二颈圆底烧瓶中并溶解于甲苯 (300mL) 中。此聚合物以与实例1相同的方式制备。将来自实例8的Glu(OBn) NCA (1.92g, 7.3mmol) 和来自实例9的d-Glu(OBn) NCA (1.92g, 7.3mmol) 添加到烧瓶中, 并在环境室温下在氮气下搅拌反应混合物18小时。随后, 添加来自实例7的d-Phe NCA (5.97g, 31.25mmol) 和以与实例6相同的方式制备的Tyr(OBn) NCA (15.49g, 52.08mmol) 并在室温下搅拌溶液2小时, 并随后加热到35°C, 保持48小时, 此刻反应完成 (GPC, DMF/0.1%LiBr)。溶液冷却到室温并添加乙酸酐 (2.04g, 20mmol, 1.88mL)、N-甲基吗啉 (NMM) (2.23g, 22mmol, 2.47mL) 和二甲氨基吡啶 (DMAP) (0.24g, 2.0mmol)。继续在室温下搅拌1天。使聚合物在乙醚:庚烷10:1 (2.5L) 中沉淀并通过过滤来分离, 用新制的100mL的乙醚部分洗涤, 并真空干燥, 得到呈精细的几乎无色粉末状的嵌段共聚物 (37.0g, 产率=80.6)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ 9.08 8.42-7.70, 7.29, 6.96, 6.58, 5.10-4.85, 4.65-4.20, 3.71-3.25, 2.94-2.59, 2.40-2.10, 1.97-1.50。

[0779] 实例88

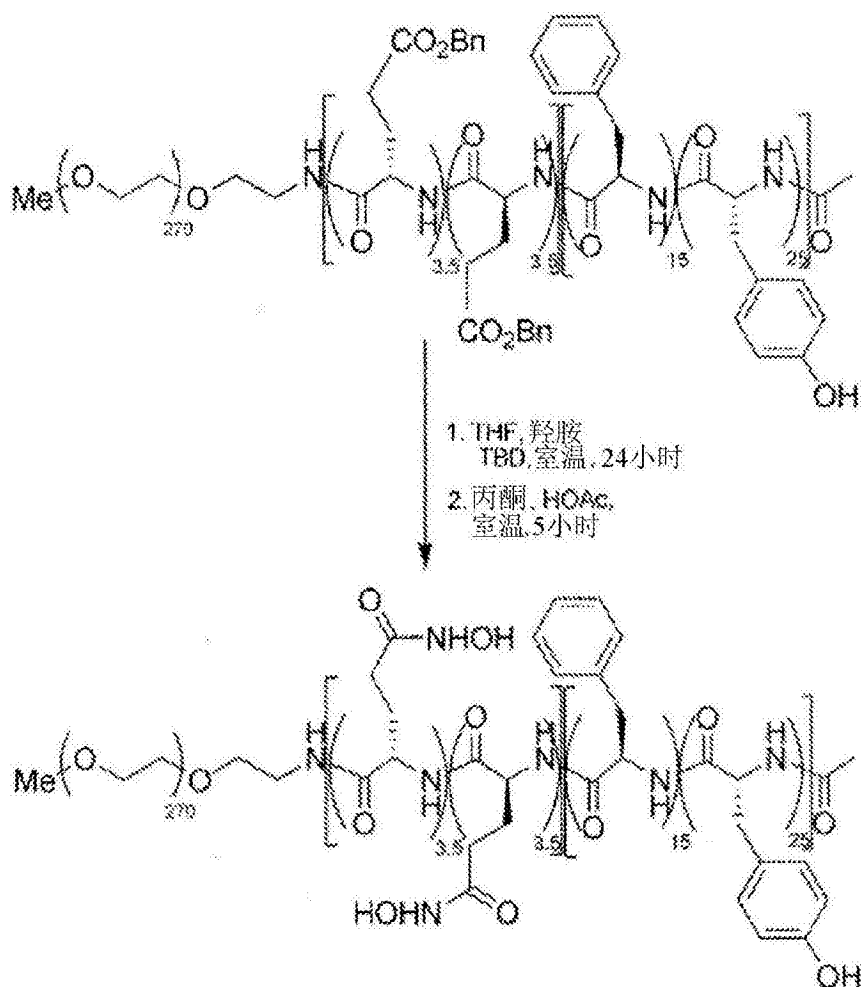
[0780]



[0781] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)_{3.5}-共-Glu(OBn)_{3.5})-b-聚(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac使用来自实例74的一般方法, 仅仅调整化学计量(32g, 1.61mmol), 将来自实例87的聚合物脱除保护基。一旦完成(3小时), 溶液就旋转蒸发成粘稠的糊状物并随后再溶解于DCM中, 且在冷乙醚中沉淀, 通过过滤来收集并真空干燥。此反应产生23g干燥物质(80%)。¹H NMR (d6-DMSO) δ 9.09, 8.50-7.75, 7.35-6.45, 5.04, 4.70-4.20, 3.91-3.05, 3.03-2.10, 2.09-1.50。

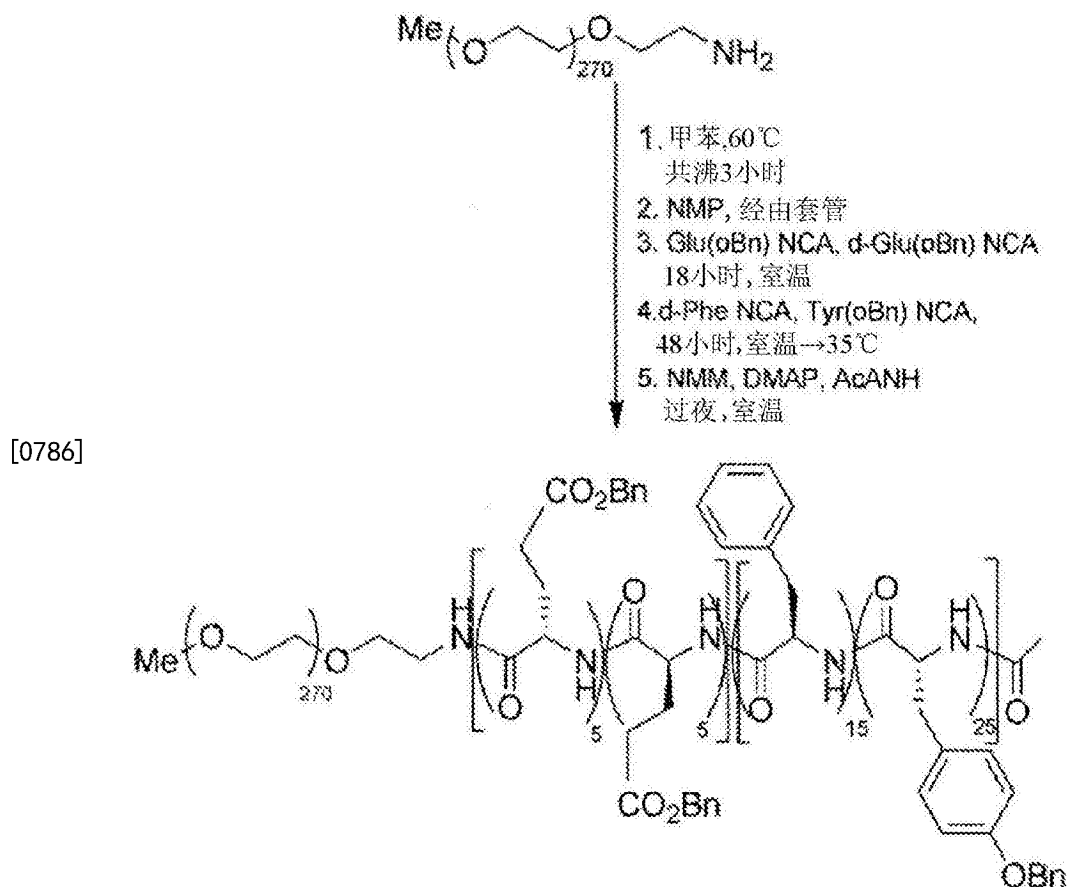
[0782] 实例89

[0783]



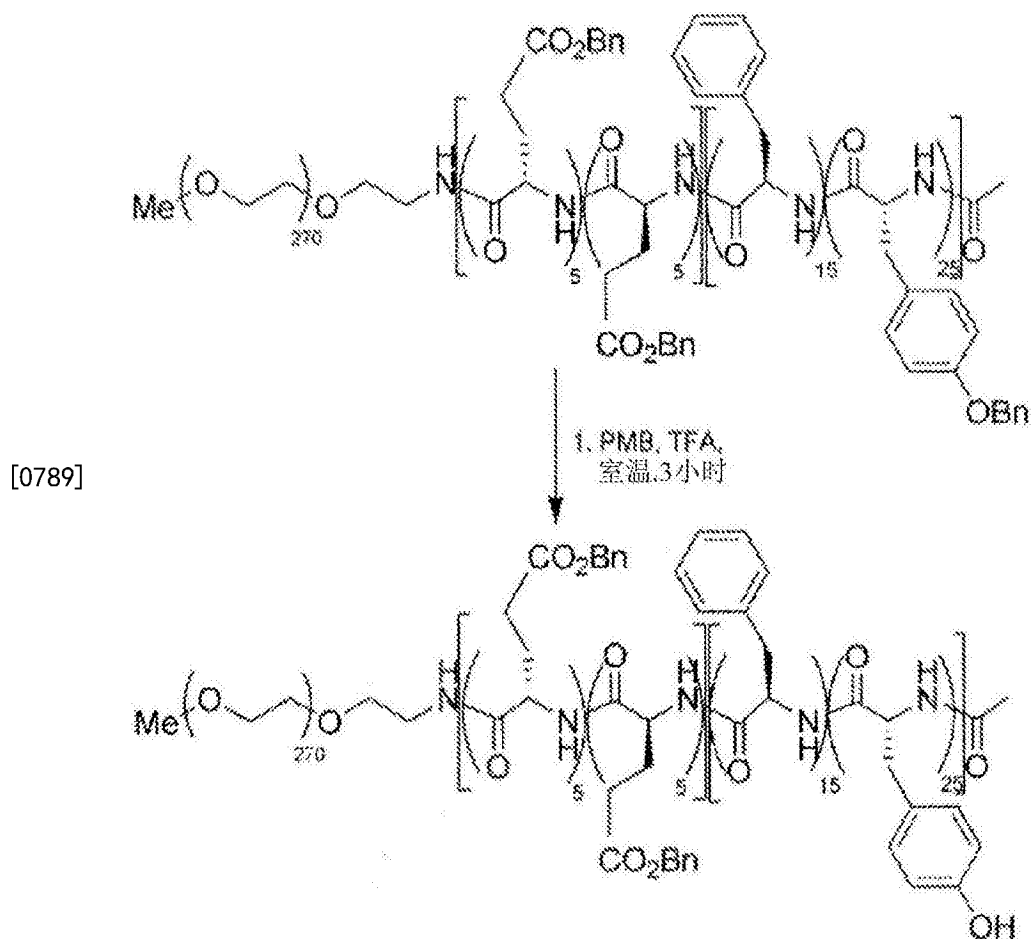
[0784] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(NHOH)_{3.5}-共-Glu(NHOH)_{3.5})-b-聚(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac在加热下来自实例88的聚合物(20g, 1mmol)完全溶解于160mL THF中, 使此溶液冷却到室温, 接着添加1, 5, 7-三氮杂双环[4.4.0]癸-5-烯(TBD, 0.5g, 3.6mmol), 接着添加羟胺(50%水溶液, 30mL, 545mmol), 在室温下搅拌此溶液24小时。添加甲醇(80mL)并随后用甲基叔丁基醚沉淀, 通过过滤来收集, 并溶解于丙酮中。将乙酸添加到此丙酮溶液中并搅拌过夜。旋转蒸发溶液, 直到几乎干燥, 再溶解于二氯甲烷中并在MTBE中沉淀, 通过过滤来收集并真空干燥(18.1g, 产率=92.9%)。¹H NMR(d₆-DMSO) δ9.11, 8.34-7.75, 7.15, 6.80, 4.60-4.32, 3.81-3.12, 2.99-2.32, 1.93-1.83。

[0785] 实例90



[0787] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚(Tyr(OBn)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac将以与实例3相同的方式制备的mPEG12KNH₂ (25g, 2.08mmol) 称重到1000mL干净的烘干二颈圆底烧瓶中并溶解于甲苯(300mL)中。此聚合物以与实例73相同的方式制备。随后将以与实例8相同的方式制备的Glu(OBn) NCA (2.74g, 10.4mmol) 和以与实例9相同的方式制备的d-Glu(OBn) NCA (2.74g, 10.4mmol) 添加到烧瓶中,并在环境室温下在氮气下搅拌反应混合物18小时。随后,添加来自实例7的d-Phe NCA (5.97g, 31.25mmol) 和由实例6的方法制备的Tyr(OBn) NCA (15.49g, 52.08mmol) 并在室温下搅拌溶液2小时,并随后加热到35℃,保持48小时,此刻反应完成(GPC, DMF/0.1%LiBr)。溶液冷却到室温并添加乙酸酐(2.04g, 20mmol, 1.88mL)、N-甲基吗啉(NMM) (2.23g, 22mmol, 2.47mL) 和二甲氨基吡啶(DMAP) (0.24g, 2.0mmol)。继续在室温下搅拌1天。使聚合物在乙醚:庚烷10:1 (2.5L) 中沉淀并通过过滤来分离,用新制的100mL的乙醚部分洗涤,并真空干燥,得到呈精细的几乎无色粉末状的嵌段共聚物(38.48g, 产率=81.4%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ 9.08 8.42-7.70, 7.29, 6.97, 5.11-4.84, 4.65-4.20, 3.72-3.25, 3.05-2.45, 2.44-1.59。

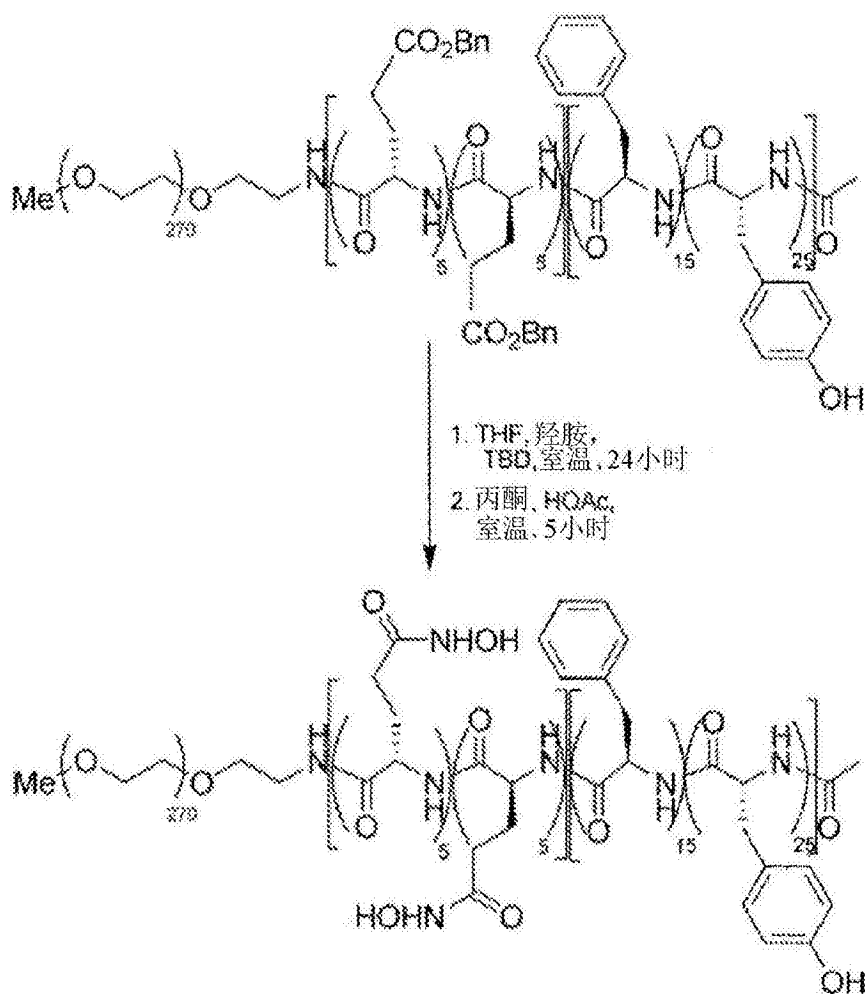
[0788] 实例91



[0790] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₅-共-Glu(OBn)₅)-b-聚(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac使用来自实例74的一般方法, 仅仅调整化学计量, 将此聚合物脱除保护基(32g, 1.56mmol)。一旦完成(3小时), 溶液就旋转蒸发成粘稠的糊状物并随后再溶解于DCM中, 且在冷乙醚中沉淀, 通过过滤来收集并真空干燥。此反应产生27g干燥物质(93.6%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ9.09, 8.50-7.75, 7.35-6.45, 5.04, 4.70-4.20, 3.91-3.05, 3.03-2.10, 2.09-1.50。

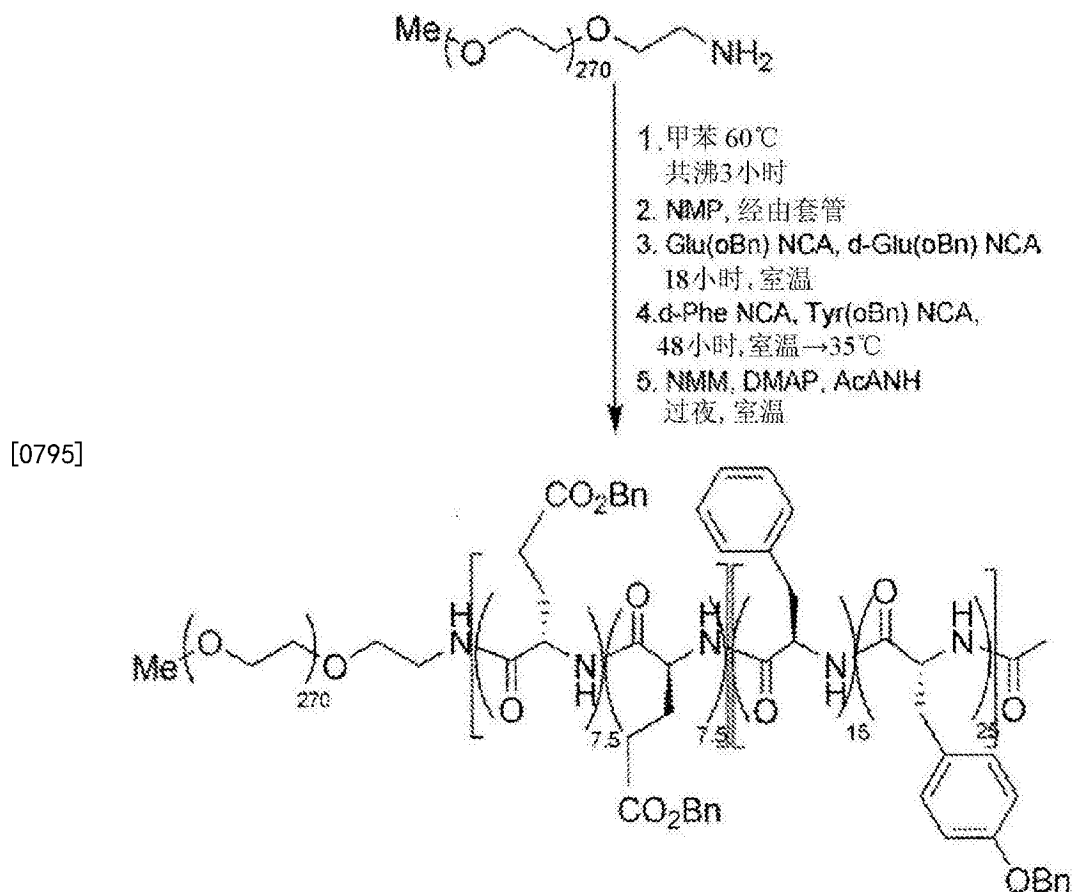
[0791] 实例92

[0792]



[0793] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(NHOH)_{3.5}-共-Glu(NHOH)_{3.5})-b-聚(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac在加热下来自实例91的聚合物(18g, 0.88mmol)完全溶解于160mL THF中, 使此溶液冷却到室温, 接着添加1, 5, 7-三氮杂双环[4.4.0]癸-5-烯(TBD, 0.5g, 3.6mmol), 接着添加羟胺(50%水溶液, 30mL, 545mmol), 在室温下搅拌此溶液24小时。添加甲醇(80mL)并随后用甲基叔丁基醚沉淀, 通过过滤来收集, 并溶解于丙酮中。将乙酸添加到此丙酮溶液并搅拌5小时并随后处理。旋转蒸发溶液, 直到几乎干燥, 再溶解于二氯甲烷中并在MTBE中沉淀, 通过过滤来收集并真空干燥(16.7g, 产率=96.3%)。

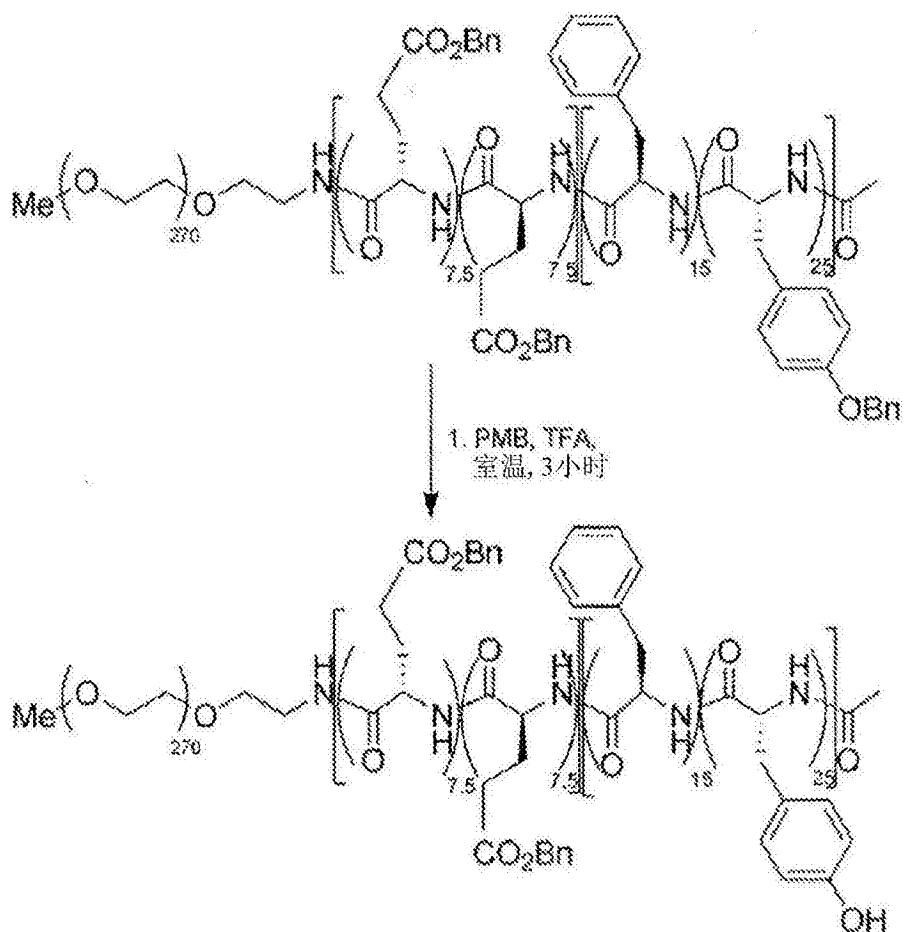
[0794] 实例93



[0796] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)_{7.5}-共-Glu(OBn)_{7.5}-b-聚(Tyr(OBn)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac将以与实例3相同的方式制备的mPEG12KNH₂ (25g, 2.08mmol) 称重到1000mL干净的烘干二颈圆底烧瓶中并溶解于甲苯(300mL)中。此聚合物以与实例1相同的方式制备。随后将以与实例8相同的方式制备的Glu(OBn) NCA (2.74g, 10.4mmol) 和来自实例9的d-Glu(OBn) NCA (2.74g, 10.4mmol) 添加到烧瓶中,并在室温下在氮气下搅拌反应混合物18小时。随后,添加来自实例7的d-Phe NCA (5.97g, 31.25mmol) 和来自实例6的Tyr(OBn) NCA (15.49g, 52.08mmol) 并在室温下搅拌溶液2小时,并随后加热到35℃,保持48小时,此刻反应完成(GPC, DMF/0.1%LiBr)。溶液冷却到室温并添加乙酸酐(2.04g, 20mmol, 1.88mL)、N-甲基吗啉(NMM) (2.23g, 22mmol, 2.47mL) 和二甲氨基吡啶(DMAP) (0.24g, 2.0mmol)。继续在室温下搅拌过夜。使聚合物在乙醚:庚烷10:1 (2.5L) 中沉淀并通过过滤来分离,用新制的100mL的乙醚部分洗涤,并真空干燥,得到呈几乎无色粉末状的嵌段共聚物(37.0g, 产率=74.66%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ 9.10 8.42-7.71, 7.27, 6.97, 5.11-4.85, 4.65-4.20, 3.72-3.25, 3.05-2.45, 2.45-1.60。

[0797] 实例94

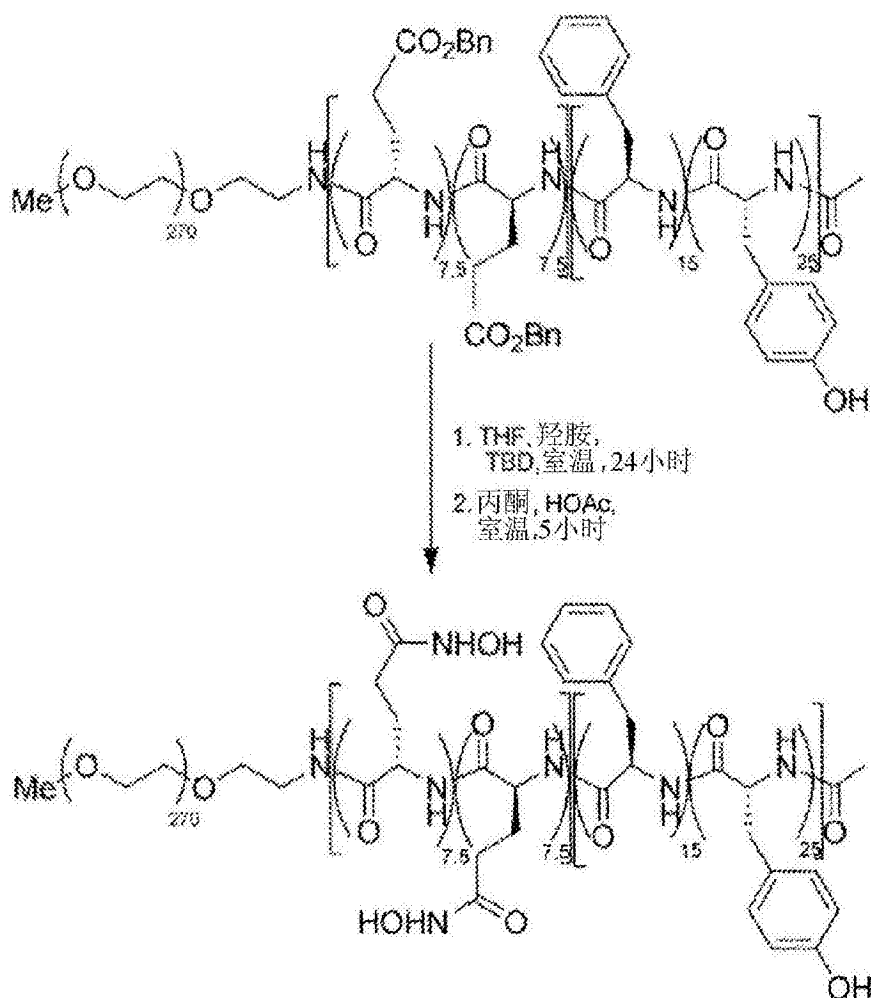
[0798]



[0799] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)_{7.5}-共-Glu(OBn)_{7.5})-b-聚(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac使用来自实例74的一般方法, 仅仅调整化学计量, 将此聚合物脱除保护基(32g, 1.48mmol)。一旦完成(3小时), 溶液就旋转蒸发成粘稠的糊状物并随后再溶解于DCM中, 且在冷乙醚中沉淀, 通过过滤来收集并真空干燥。此反应产生24g干燥物质(82.8%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ9.09, 8.50-7.75, 7.35-6.45, 5.04, 4.70-4.20, 3.91-3.05, 3.03-2.10, 2.09-1.50。

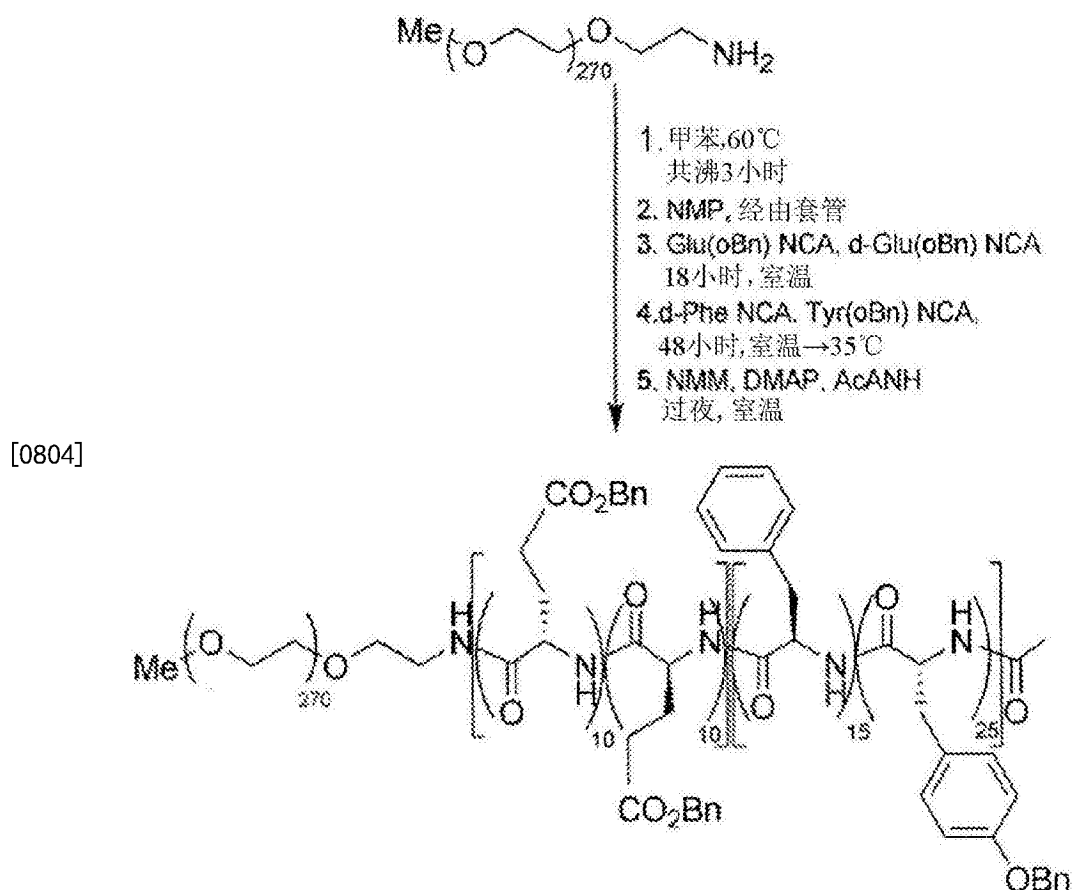
[0800] 实例95

[0801]



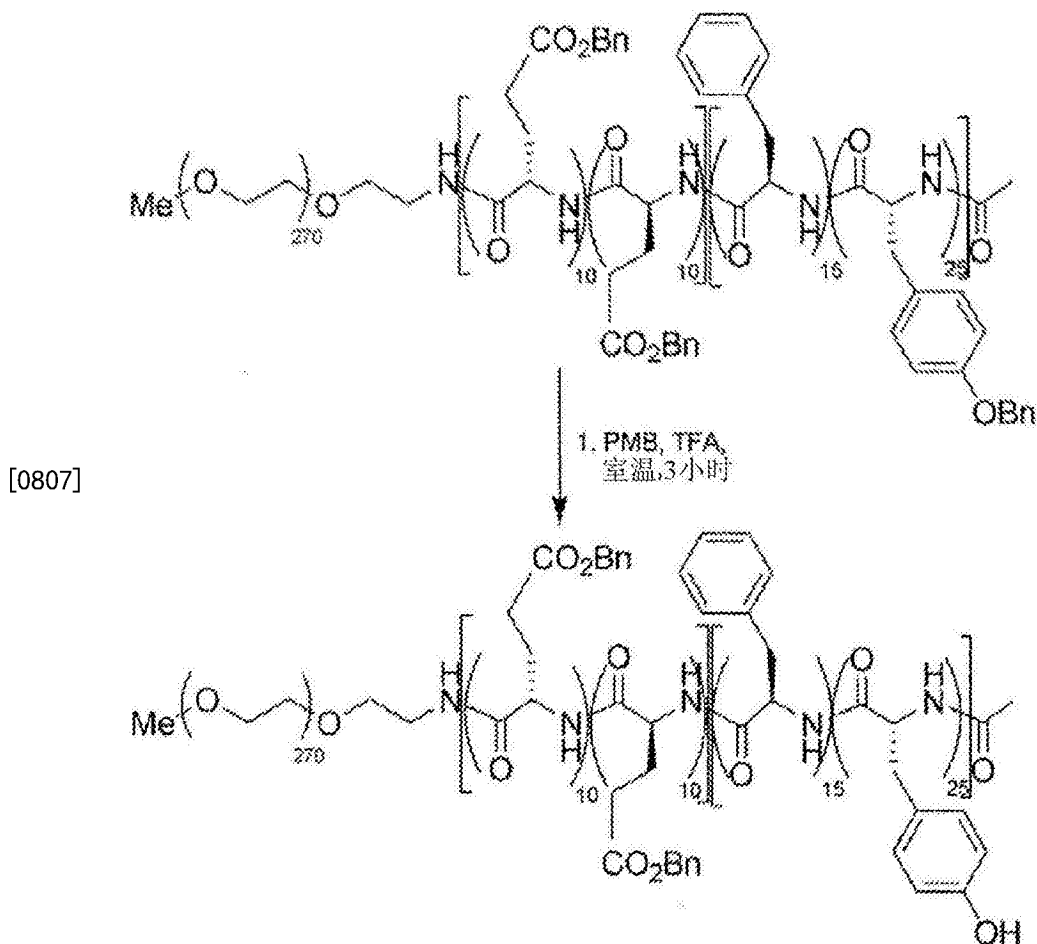
[0802] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(NHOH)_{3.5}-共-Glu(NHOH)_{3.5})-b-聚(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac在加热下在实例94中制备的聚合物(19g, 0.88mmol)完全溶解于160mL THF中, 使此溶液冷却到室温, 接着添加1,5,7-三氮杂双环[4.4.0]癸-5-烯(TBD, 0.5g, 3.6mmol), 接着添加羟胺(50%水溶液, 30mL, 545mmol), 在室温下搅拌此溶液24小时。添加甲醇(80mL)并随后用甲基叔丁基醚沉淀, 通过过滤来收集, 并溶解于丙酮中。将乙酸添加到此丙酮溶液中并搅拌5小时。旋转蒸发溶液, 直到几乎干燥, 再溶解于二氯甲烷中并在MTBE中沉淀, 通过过滤来收集并真空干燥(16.4g, 产率=91.1%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ 9.11, 8.34-7.75, 7.15, 6.80, 4.60-4.32, 3.81-3.12, 2.99-2.32, 1.93-1.83。

[0803] 实例96



[0805] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₁₀-共-Glu(OBn)₁₀)-b-聚(Tyr(OBn)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac将以与实例3相同的方式制备的mPEG12KNH₂ (25g, 2.08mmol) 称重到1L干净的烘干二颈圆底烧瓶中并溶解于甲苯 (300mL) 中。此聚合物以与实例1相同的方式制备。将以与实例8相同的方式制备的Glu(OBn) NCA (5.48g, 20.8mmol) 和通过实例9中的方法制备的d-Glu(OBn) NCA (5.48g, 20.8mmol) 直接添加到烧瓶中, 并在环境室温下在氮气下搅拌反应混合物16小时。随后, 添加来自实例7的d-Phe NCA (5.97g, 31.25mmol) 和来自实例6的Tyr(OBn) NCA (15.49g, 52.08mmol) 并在室温下搅拌溶液2小时, 并随后加热到35°C, 保持48小时, 此刻反应完成 (GPC, DMF/0.1% LiBr)。溶液冷却到室温并添加乙酸酐 (2.04g, 20mmol, 1.88mL)、N-甲基吗啉 (NMM) (2.23g, 22mmol, 2.47mL) 和二甲氨基吡啶 (DMAP) (0.24g, 2.0mmol)。继续在室温下搅拌1天。使聚合物在乙醚:庚烷10:1 (2.5L) 中沉淀并通过过滤来分离, 用新制的100mL的乙醚部分洗涤, 并真空干燥, 得到呈精细的几乎无色粉末状的嵌段共聚物 (38.9g, 产率=75.23%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ 9.08, 8.40-7.65, 7.35-7.25, 6.99, 6.76, 5.10-4.85, 4.65-4.20, 3.72-3.25, 3.06-2.45, 2.34-1.59。

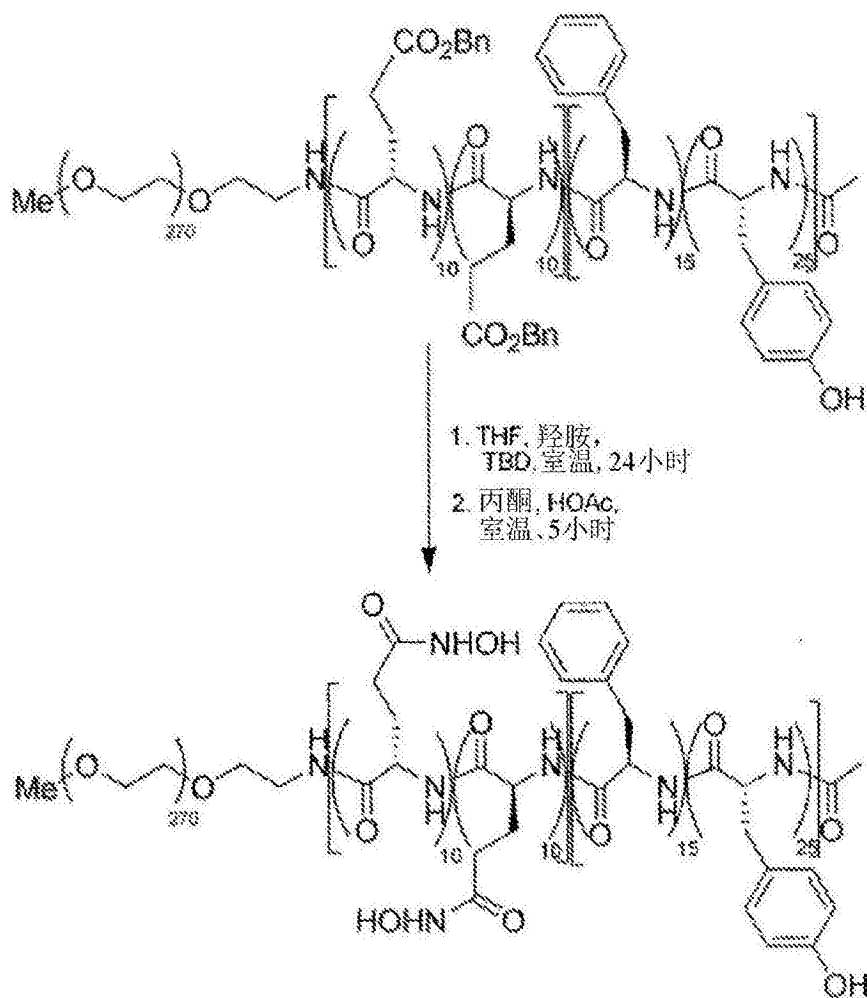
[0806] 实例97



[0808] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)₁₀-共-Glu(OBn)₁₀)-b-聚(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac使用来自实例74的一般方法, 仅仅调整化学计量, 将此聚合物脱除保护基(32g, 1.41mmol)。一旦完成(3小时), 溶液就旋转蒸发成粘稠的糊状物并随后再溶解于DCM中, 且在冷乙醚中沉淀, 通过过滤来收集并真空干燥。此反应产生27g干燥物质(92.8%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ 9.09, 8.50-7.75, 7.35-6.45, 5.04, 4.70-4.20, 3.91-3.05, 3.03-2.10, 2.09-1.50。

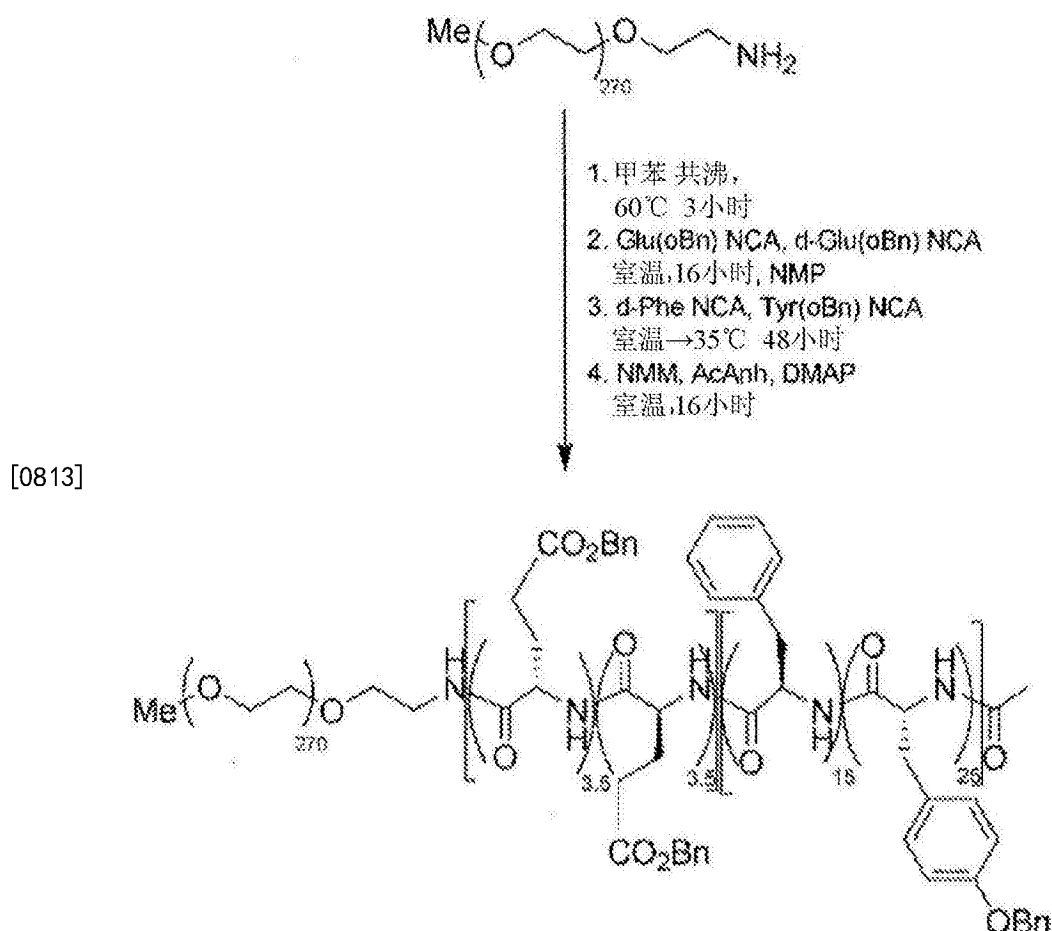
[0809] 实例98

[0810]



[0811] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu (NHOH)₁₀-共-Glu (NHOH)₁₀)-b-聚(Tyr (OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac在加热下来自实例98的聚合物(20g, 0.88mmol)完全溶解于160mL THF中, 使此溶液冷却到室温, 接着添加1, 5, 7-三氮杂双环[4.4.0]癸-5-烯(TBD, 0.5g, 3.6mmol), 接着添加羟胺(50%水溶液, 30mL, 545mmol), 在室温下搅拌此溶液24小时。添加甲醇(80mL)并随后用甲基叔丁基醚沉淀, 通过过滤来收集, 并溶解于丙酮中。将乙酸添加到此丙酮溶液并搅拌5小时并随后处理。旋转蒸发溶液, 直到几乎干燥, 再溶解于二氯甲烷中并在MTBE中沉淀, 通过过滤来收集并真空干燥(17.2g, 产率=92.1%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ 9.11, 8.33-7.69, 7.15, 6.98, 6.79, 5.06-4.85, 4.60-4.32, 3.81-3.19, 2.99-2.32, 2.03-1.59。

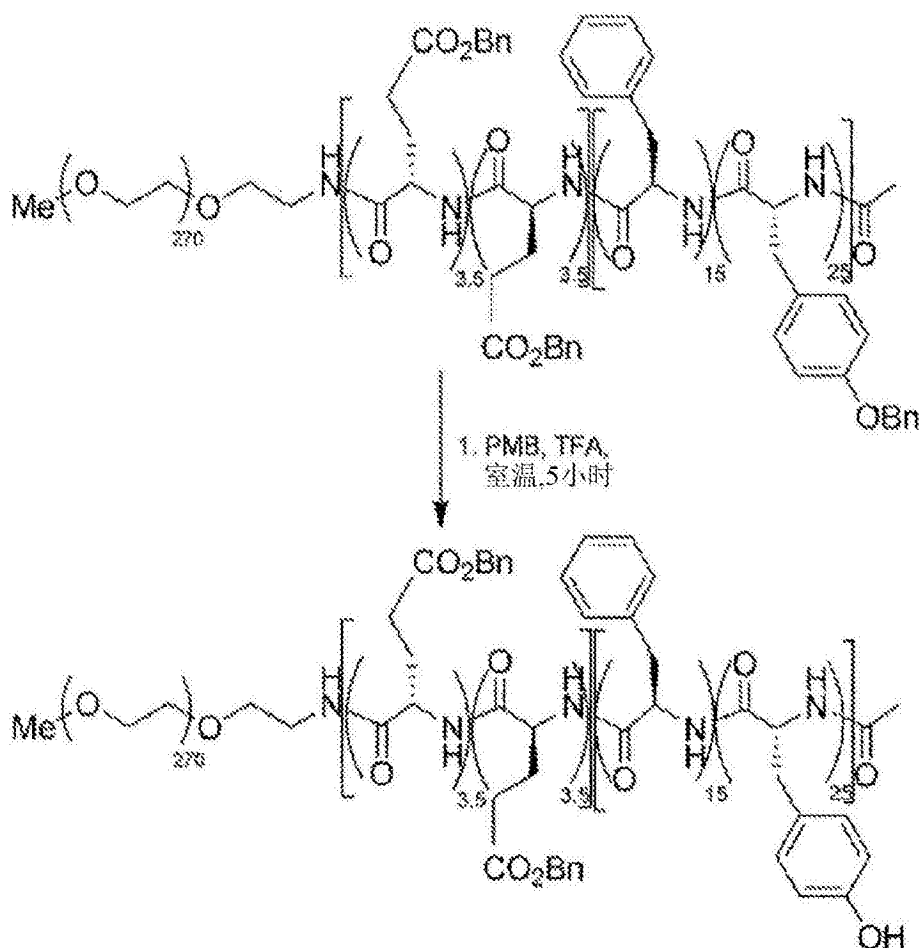
[0812] 实例99



[0814] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)_{3.5}-共-Glu(OBn)_{3.5})-b-聚(Tyr(OBn)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac将通过实例3中所详述的相同方法制备的mPEG12KNH₂(45.34g, 3.78mmol)称重到1000mL干净的烘干二颈圆底烧瓶中并溶解于甲苯(300mL)中。此聚合物以与实例73相同的方式制备。将来自实例8中所详述的方法的Glu(OBn) NCA(3.5g, 13.29mmol)和来自实例9中所详述的方法的d-Glu(OBn) NCA(3.5g, 13.29mmol)添加到烧瓶中,并在环境室温下在氮气下搅拌反应混合物16小时。随后,添加来自实例7中所详述的方法的d-Phe NCA(10.89g, 56.9mmol)和来自实例6中所详述的方法的Tyr(OBn) NCA(28.24g, 94.98mmol)并在35°C下搅拌溶液48小时,此刻反应完成(GPC, DMF/0.1%LiBr)。溶液冷却到室温并添加乙酸酐(3.88g, 37.8mmol, 3.58mL)、N-甲基吗啉(NMM)(3.76g, 37.8mmol, 4.16mL)和二甲氨基吡啶(DMAP)(0.47g, 3.8mmol)。继续在室温下搅拌1天。使聚合物在乙醚:庚烷10:1(2.5L)中沉淀并通过过滤来分离,用新制的100mL的乙醚部分洗涤,并真空干燥,得到呈精细的几乎无色粉末状的嵌段共聚物(68.22g, 产率=82.2%)。¹H NMR(d₆-DMSO) δ8.43-7.84, 7.30, 6.98, 6.97-6.65, 5.04, 4.98-4.80, 4.66-4.16, 3.72-3.21, 3.01-2.76, 2.74-2.56, 2.41-2.26, 2.23-2.10, 2.01-1.58。

[0815] 实例100

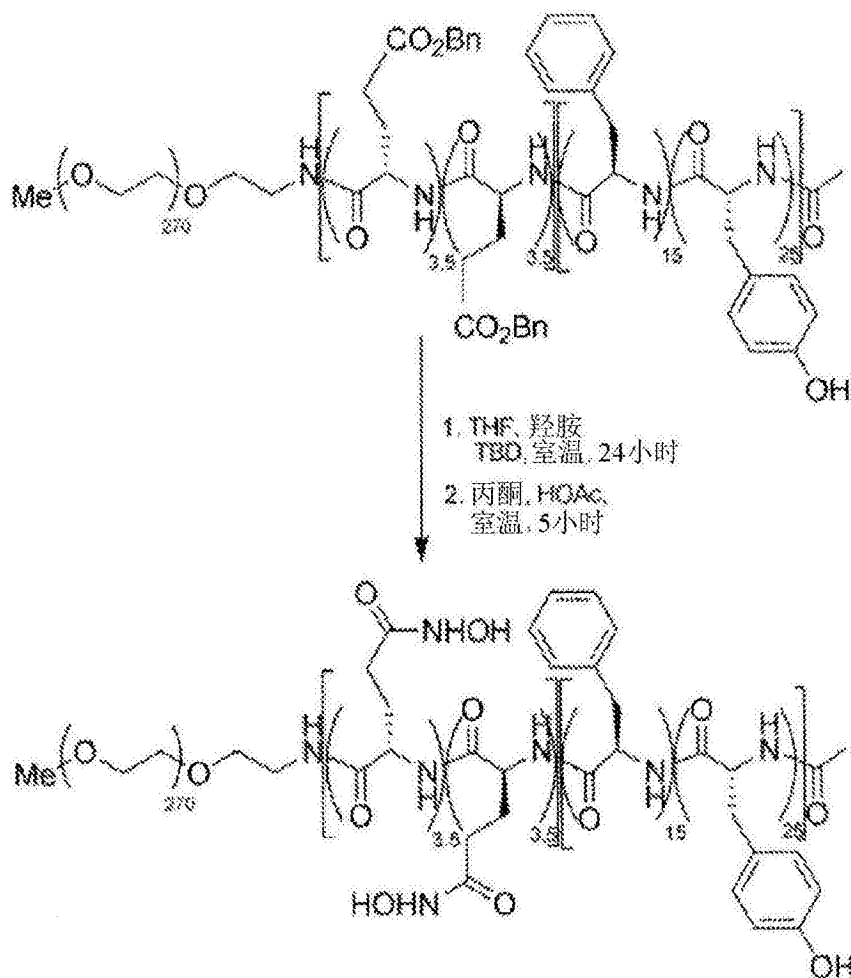
[0816]



[0817] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(OBn)_{3.5}-共-Glu(OBn)_{3.5})-b-聚(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac使用来自实例74的一般方法, 仅仅调整化学计量, 将此聚合物脱除保护基(60g, 2.73mmol)。一旦完成(5小时), 溶液就旋转蒸发成粘稠的糊状物并随后再溶解于DCM中, 且在冷乙醚中沉淀, 通过过滤来收集, 用新制的200mL的冷乙醚部分洗涤若干次并真空干燥。此反应产生43.8g干燥物质(81.4%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ 9.04, 8.38-7.73, 7.38-6.73, 5.04, 4.62-4.19, 3.82-3.27, 3.02-2.76, 2.75-2.56, 2.42-2.26, 2.20-1.61, 1.08(溶剂, 乙醚)。

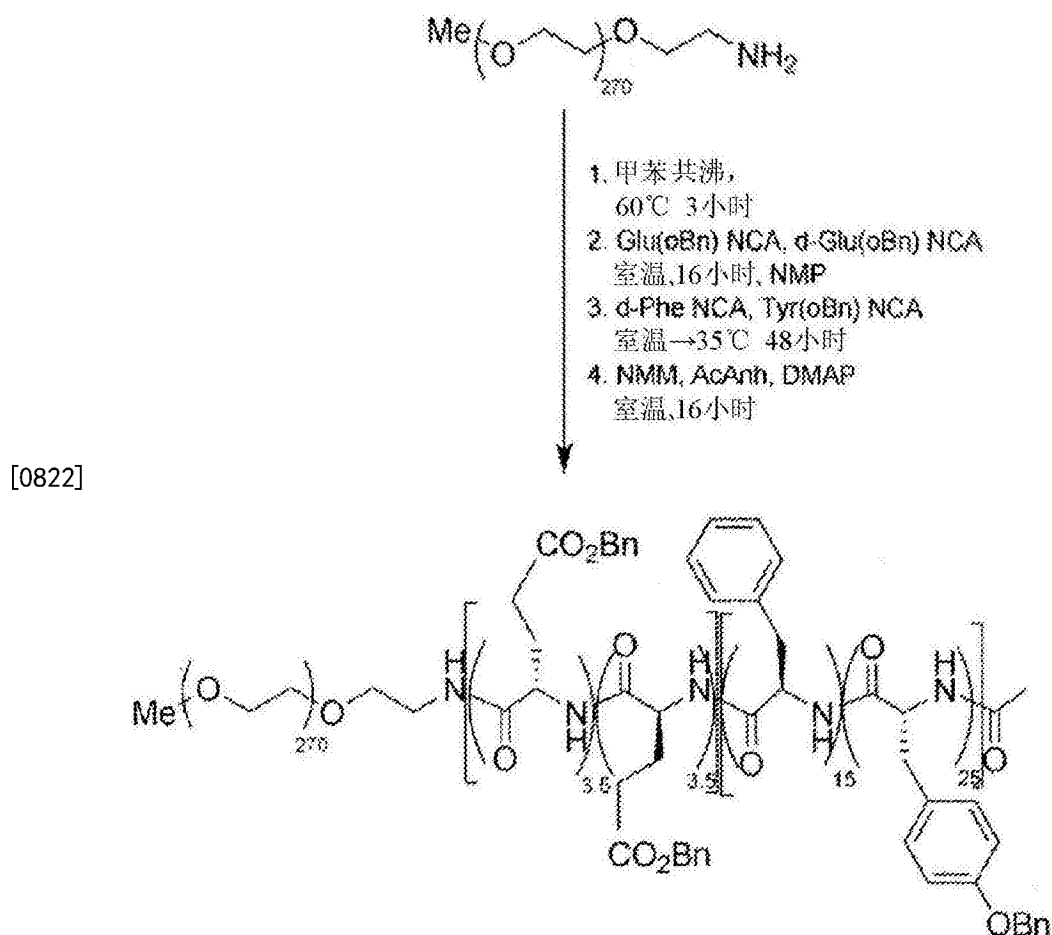
[0818] 实例101

[0819]



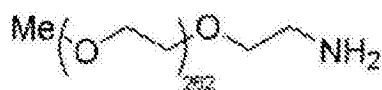
[0820] 合成mPEG12K-b-聚-(d-Glu(NHOH)_{3.5}-共-Glu(NHOH)_{3.5})-b-聚(Tyr(OH)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac在加热下来自实例100的聚合物(40g, 1mmol)完全溶解于700mL THF中, 使此溶液冷却到室温, 接着添加1,5,7-三氮杂双环[4.4.0]癸-5-烯(TBD, 1.5g, 10.8mmol), 接着添加羟胺(50%水溶液, 45mL, 817.5mmol), 在室温下搅拌此溶液24小时。添加异丙醇(200mL)并随后用甲基叔丁基醚沉淀, 通过过滤来收集, 并溶解于丙酮(500mL)中。将乙酸(5mL)添加到此丙酮溶液中并搅拌过夜。旋转蒸发溶液, 直到几乎干燥, 再溶解于二氯甲烷中并在MTBE中沉淀, 通过过滤来收集并真空干燥(33.5g, 产率=86%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ 9.03, 8.37-7.70, 7.36-6.72, 6.68-6.42, 4.64-4.14, 3.73-3.10, 3.00-2.76, 2.71-2.56, 2.42-2.27, 2.21-1.61。

[0821] 实例101



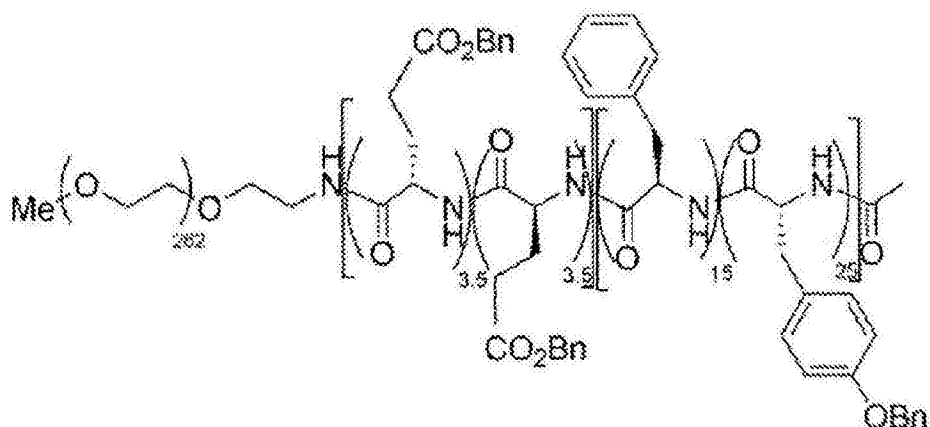
[0823] 合成mPEG11.5K-b-聚-(d-Glu(OBn)_{3.5}-共-Glu(OBn)_{3.5})-b-聚(Tyr(OBn)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac将除分子量外通过与实例3中相同的方法制备的mPEG11.5KNH₂ (15g, 1.3mmol) 称重到1000mL干净的烘干二颈圆底烧瓶中并溶解于甲苯(300mL)中。此聚合物以与实例73相同的方式制备。随后将以与实例8相同的方式制备的Glu(OBn) NCA (1.2g, 4.56mmol) 和以与实例9相同的方式制备的d-Glu(OBn) NCA (1.2g, 4.56mmol) 添加到烧瓶中, 并在环境室温下在氮气下搅拌反应混合物16小时。随后, 添加通过与实例7相同的方法制备的d-Phe NCA (2.88g, 19.56mmol) 和通过与实例6相同的方法制备的Tyr(OBn) NCA (8.26g, 32.60mmol) 并在室温下直接搅拌溶液2小时, 并随后加热到35℃, 保持48小时, 此刻反应完成(GPC, DMF/0.1%LiBr)。溶液冷却到室温并添加乙酸酐(1.34g, 13mmol, 1.23mL)、N-甲基吗啉(NMM) (1.3g, 13mmol, 1.43mL) 和二甲氨基吡啶(DMAP) (0.16g, 1.3mmol)。继续在室温下搅拌16小时。使聚合物在乙醚:庚烷10:1 (2.5L) 中沉淀并通过过滤来分离, 用新制的100mL的乙醚部分洗涤, 并真空干燥, 得到呈精细的几乎无色粉末状的嵌段共聚物(26g, 产率=82.2%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ8.40-7.83, 7.27, 7.16-6.98, 6.83-6.64, 5.06-4.79, 4.62-4.18, 3.71-3.21, 2.98-2.78, 2.75-2.58, 2.42-2.25, 2.22-2.13, 1.99-1.70。

[0824] 实例102



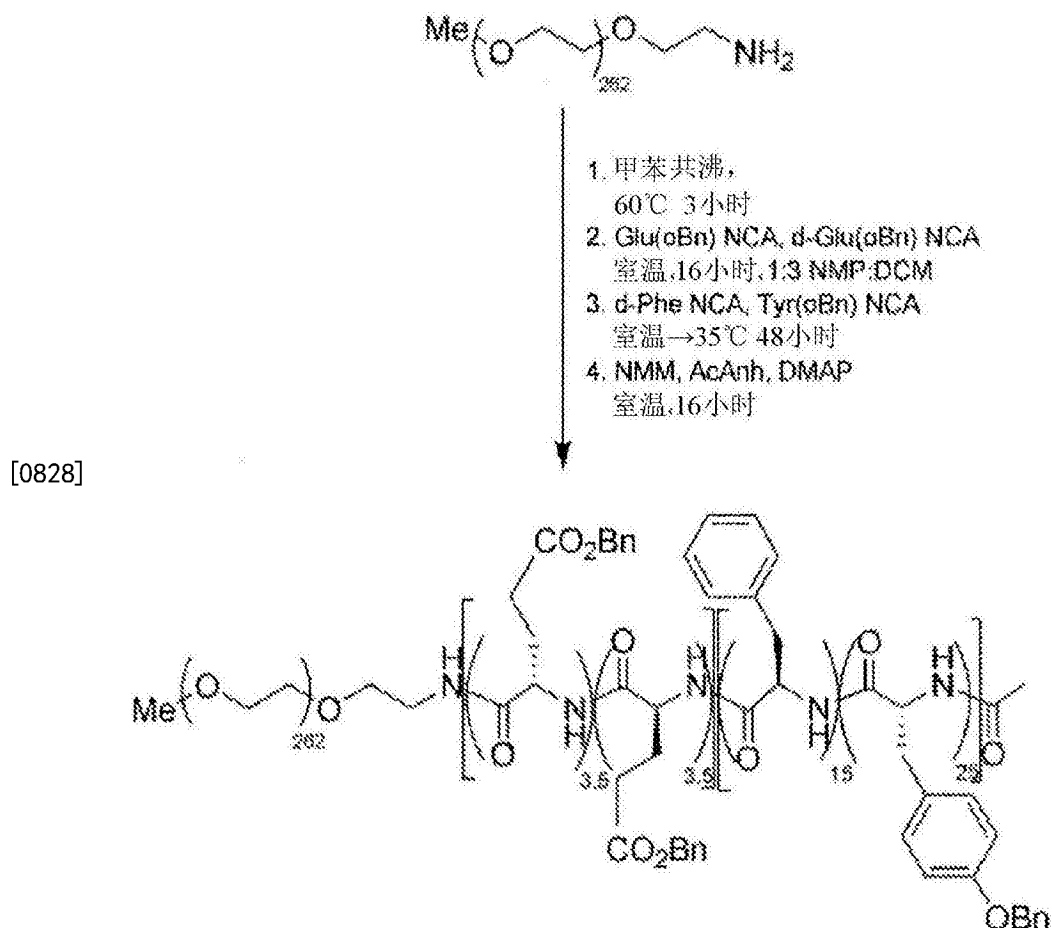
1. 甲苯共沸,
60℃, 3小时
2. Glu(OBn) NCA, d-Glu(OBn) NCA
室温, 16小时, 1:1 NMP:DCM
3. d-Phe NCA, Tyr(OBn) NCA
室温→35℃, 48小时
4. NMM, AcAnh, DMAP
室温, 16小时

[0825]



[0826] 合成mPEG11.5K-b-聚-(d-Glu(OBn)_{3.5}-共-Glu(OBn)_{3.5})-b-聚(Tyr(OBn)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac将除分子量外通过与实例3中相同的方法制备的mPEG11.5KNH₂ (15g, 1.3mmol) 称重到1000mL干净的烘干二颈圆底烧瓶中并在加热下溶解于甲苯(300mL)中,且通过共沸蒸馏来干燥。蒸馏到干燥后,将聚合物置于真空下三小时。随后用N₂回填烧瓶,在减压下再抽空,并通过套管引入干燥NMP:DCM(1:1)(450mL)。随后将以与实例8相同的方式制备的Glu(OBn) NCA(1.2g, 4.56mmol)和以与实例9相同的方式制备的d-Glu(OBn) NCA(1.2g, 4.56mmol)添加到烧瓶中,并在环境室温下在氮气下搅拌反应混合物48小时。随后,添加通过与实例7相同的方法制备的d-Phe NCA(2.88g, 19.56mmol)和通过与实例6相同的方法制备的Tyr(OBn) NCA(8.26g, 32.60mmol)并在室温下搅拌溶液2小时,并随后加热到35℃,保持48小时,此刻反应完成(GPC, DMF/0.1%LiBr)。溶液冷却到室温并添加乙酸酐(1.34g, 13mmol, 1.23mL)、N-甲基吗啉(NMM)(1.3g, 13mmol, 1.43mL)和二甲氨基吡啶(DMAP)(0.16g, 1.3mmol)。继续在室温下搅拌16小时。使聚合物在乙醚:庚烷10:1(2.5L)中沉淀并通过过滤来分离,用新制的100mL的乙醚部分洗涤,并真空干燥,得到呈精细的几乎无色粉末状的嵌段共聚物(25g, 产率=82.2%)。¹H NMR(d₆-DMSO) δ8.38-7.80, 7.42-7.18, 6.75, 5.02, 4.97-4.80, 4.66-4.16, 3.75-3.20, 3.02-2.80, 2.76-2.56, 2.44-2.25, 2.00-1.59。

[0827] 实例103



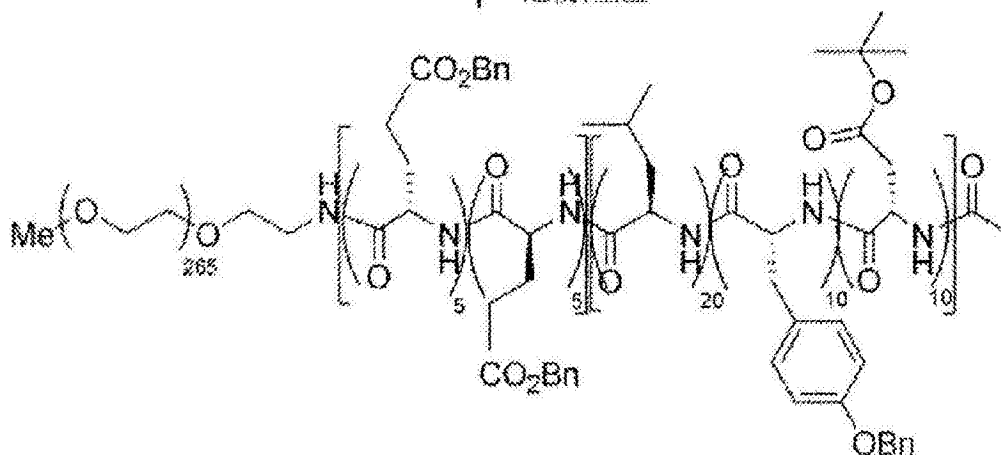
[0829] 合成mPEG11.5K-b-聚-(d-Glu(OBn)_{3.5}-共-Glu(OBn)_{3.5}-b-聚(Tyr(OBn)₂₅-共-d-Phe₁₅)-Ac将除分子量外通过与实例3中相同的方法制备的mPEG11.5KNH₂ (15g, 1.3mmol) 称重到1000mL干净的烘干二颈圆底烧瓶中并在加热下溶解于甲苯(300mL)中,且通过共沸蒸馏来干燥。蒸馏到干燥后,将聚合物置于真空下三小时。随后用N₂回填烧瓶,在减压下再抽空,并通过套管引入无水(NMP)和DCM(1:3比率)(450mL)。将以与实例8相同的方式制备的Glu(OBn) NCA(1.2g, 4.56mmol)和以与实例9相同的方式制备的d-Glu(OBn) NCA(1.2g, 4.56mmol)添加到烧瓶中,并在环境室温下在氮气下搅拌反应混合物48小时。随后,添加通过与实例7相同的方法制备的d-Phe NCA(2.88g, 19.56mmol)和通过与实例6相同的方法制备的Tyr(OBn) NCA(8.26g, 32.60mmol)并在室温下搅拌溶液2小时,并随后加热到35℃,保持48小时,此刻反应完成(GPC, DMF/0.1%LiBr)。溶液冷却到室温并添加乙酸酐(1.34g, 13mmol, 1.23mL)、N-甲基吗啉(NMM)(1.3g, 13mmol, 1.43mL)和二甲氨基吡啶(DMAP)(0.16g, 1.3mmol)。继续在室温下搅拌16小时。使聚合物在乙醚:庚烷10:1(2.5L)中沉淀并通过过滤来分离,用新制的100mL的乙醚部分洗涤,并真空干燥,得到呈精细的几乎无色粉末状的嵌段共聚物(26g, 产率=82.2%)。¹H NMR(d₆-DMSO) δ8.46-7.85, 7.48-6.95, 6.84-6.61, 5.02, 4.97-4.79, 4.66-4.16, 3.75-3.21, 3.00-2.79, 2.76-2.56, 2.43-2.25, 2.00-1.57。

[0830] 实例104



1. 甲苯, 60°C
共沸3小时
2. NMP:DCM 1:1, 经由套管
3. Glu(oBn) NCA, d-Glu(oBn) NCA
18小时, 室温
4. d-Leu NCA, Tyr(oBn) NCA, Asp(oTbu) NCA
48小时, 室温→35°C
5. NMM, DMAP, AcANH
过夜, 室温

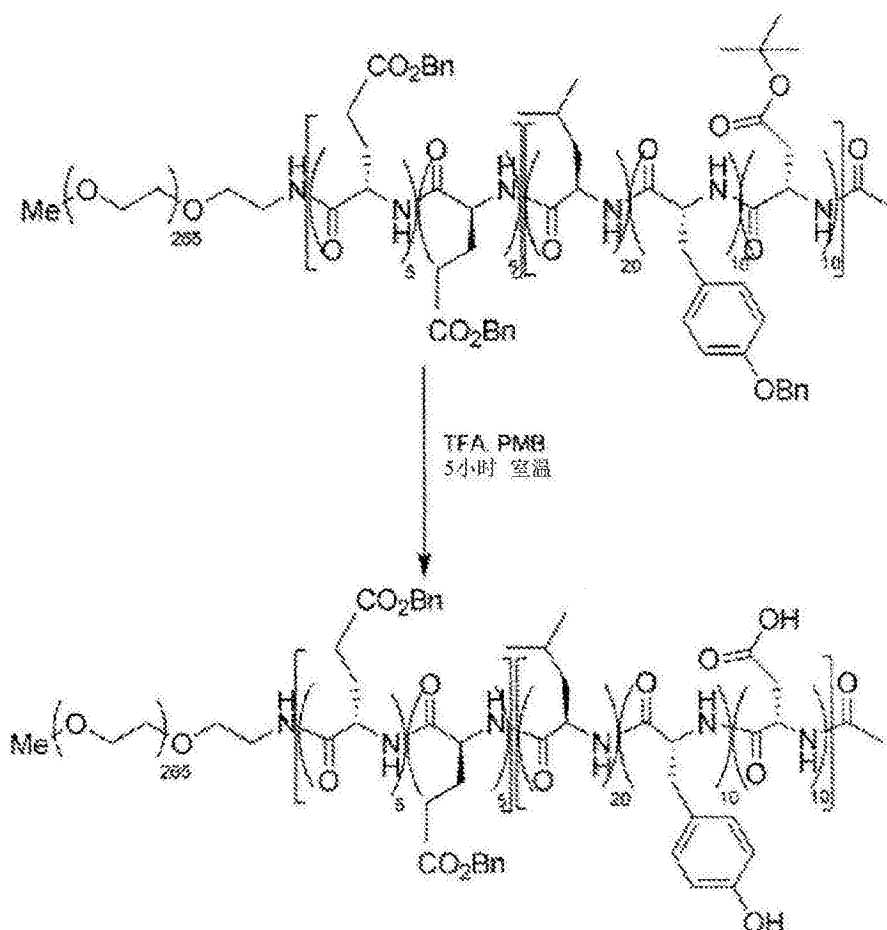
[0831]



[0832] 合成mPEG11.6K-b-聚-(d-Glu(oBn)₅-共-Glu(oBn)₅)-b-聚(Tyr(oBn)₁₀-共-d-Leu₁₀-共-Asp(oTbu)₁₀-Ac使用来自实例73的一般方案并用适当NCA起始物质代替,且使用1:1比率的NMP:DCM,得到粗聚合物,用约10体积的乙醚沉淀。在过滤和干燥后,收集呈无色固体状的标题化合物(30.5g,产率=87.1%)。¹H NMR(d₆-DMSO) δ8.39-7.94,7.41-7.17,7.15-7.02,6.82,5.01,4.60-4.16,3.72-3.30,2.70,2.42-2.26 2.02-1.71,1.33,0.9-0.55。

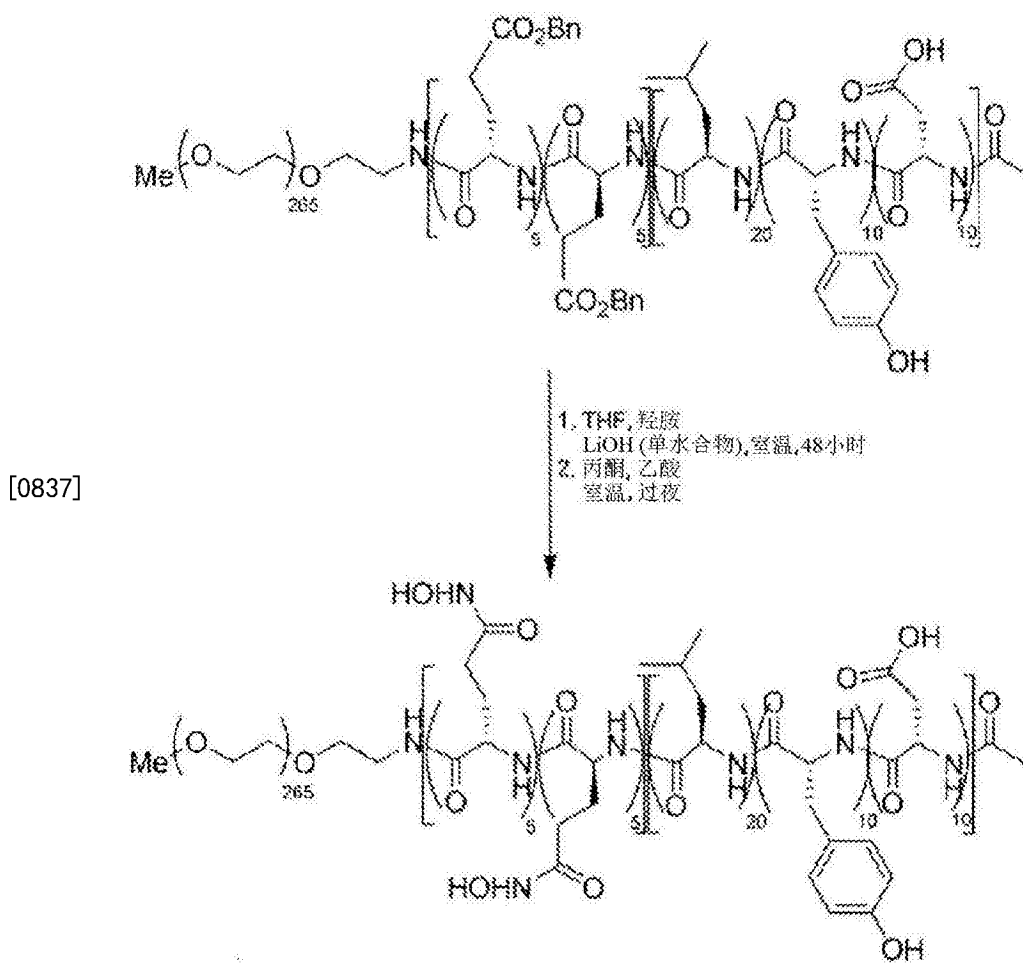
[0833] 实例105

[0834]



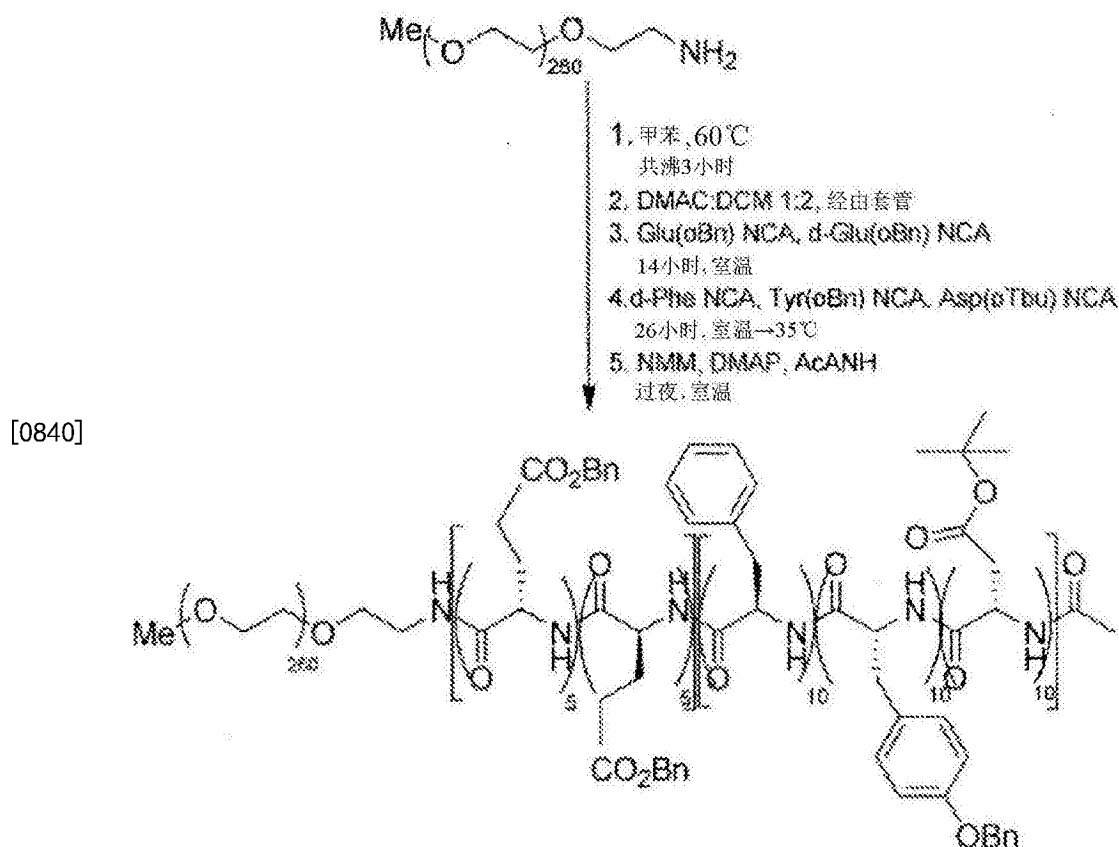
[0835] 合成mPEG11.6K-b-聚-(d-Glu(oBn)₅-共-Glu(oBn)₅)-b-聚(Tyr(OBn)₁₀-共-d-Leu₂₀-共-Asp₁₀)-Ac将来自实例104的三嵌段共聚物称重(29g, 1.38mmol)到干净的500mL烧杯中并溶解于三氟乙酸中。向此溶液中添加五甲基苯(6.14g, 41.4mmol)并用磁性搅拌棒搅拌。添加五甲基苯三十分钟后,在溶液中观测到沉淀。将反应混合物搅拌两小时并通过NMR监测,以完全去除酪氨酸上的苯甲基保护基和天冬氨酸酯上的叔丁基。在此脱除保护基完成后(5小时),溶液旋转蒸发成粘稠的糊状物,再溶解于二氯甲烷中并随后在冷乙醚中沉淀且通过过滤来收集。此固体用100mL的冷乙醚部分洗涤三次并真空干燥且表征。(26g, 产率=96.6%) ¹H NMR (d₆-DMSO) δ 9.09, 8.44-7.58, 7.35-6.89, 6.96, 6.58, 5.03, 4.62-4.16, 3.71-3.22, 2.75-2.64, 2.40-2.26, 2.23-2.04, 0.92-0.54。

[0836] 实例106



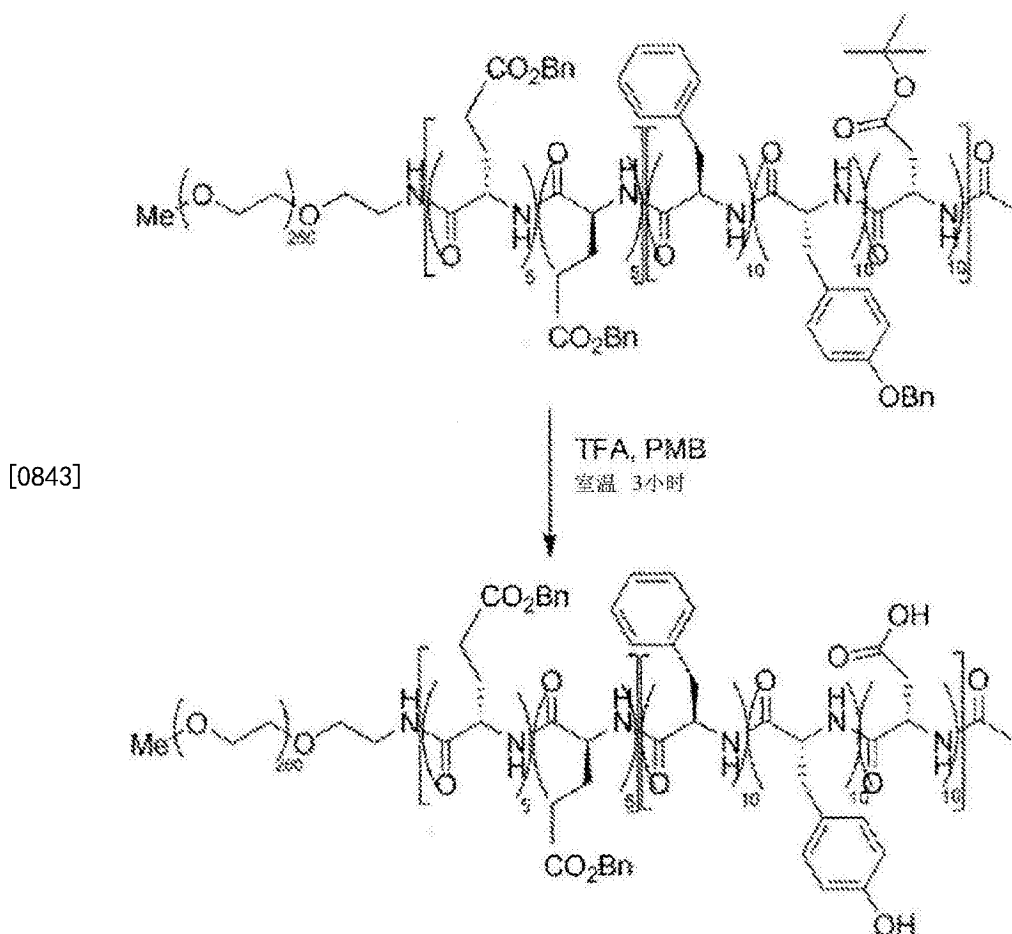
[0838] 合成mPEG11.6K-b-聚-(d-Glu (NH₂))₅-共-Glu (NH₂)-b-聚 (Tyr (OH))₁₀-共-d-Leu₂₀-共-Asp₁₀)-Ac将来自实例105的三嵌段酯称重 (25g, 1.38mmol) 到干净的500mL圆底烧瓶中且聚合物完全溶解于200mL四氢呋喃中。在氮气下在室温下向此溶液中搅拌三十当量羟胺 (1.9mL, 0.028mmol) 和氢氧化锂单水合物 (1.16g, 27.6mmol) 过夜。通过¹H NMR检验反应的完成情况。将此溶液与100mL甲醇混合并用乙醚 (约7体积) 沉淀。此白色固体通过过滤来收集并用新制乙醚洗涤。随后收集的固体溶解于丙酮中并搅拌催化量的乙酸过夜。将溶液倾入干净的两升烧杯中并在搅拌下缓慢添加乙醚到溶液中。此白色固体通过过滤来收集并随后真空干燥。得到22g (92%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ 9.4-8.5, 8.40-7.71, 7.40-7.11, 6.93, 6.57, 5.10, 4.53-3.99, 3.86-3.02, 2.99-2.87, 2.09-1.19, 1.6-1.2, 1.01-0.5。

[0839] 实例107



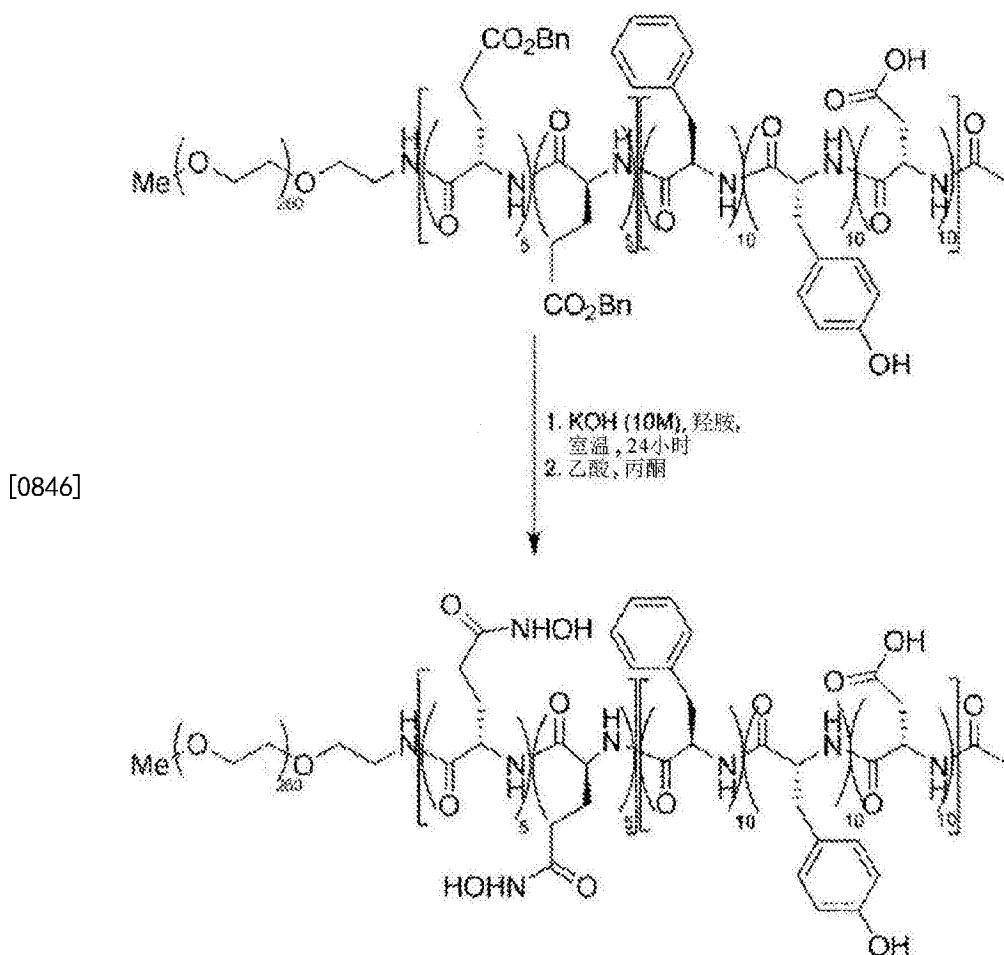
[0841] 合成mPEG11.5K-b-聚-(d-Glu(OBn))₅-共-Glu(OBn)₅-b-聚(Tyr(OBn))₁₀-共-d-Phe₁₀-共-Asp(OtBu)₁₀-Ac将除分子量外通过与实例3中相同的方法制备的mPEG11.5KNH₂ (31g, 2.7mmol) 称重到1000mL干净的烘干二颈圆底烧瓶中并在加热下溶解于甲苯(400mL)中,且通过共沸蒸馏来干燥。蒸馏到干燥后,将聚合物置于真空下三小时。随后用N₂回填烧瓶,在减压下再抽空,并通过套管引入1:2比率的二甲基乙酰胺:二氯甲烷且完全溶解。将通过实例8中相同的方法制备的Glu(OBn) NCA (3.4g, 12.9mmol) 和通过与实例9相同的方法制备的d-Glu(OBn) NCA (3.4g, 12.9mmol) 称重到干净的500mL圆底烧瓶中并抽空2小时,用N₂回填,且随后溶解于DMAC中并通过插管引入含有PEG的烧瓶中。将此反应混合物在环境室温下在氮气下搅拌14小时。随后,以与上文所提及相同的方式添加通过与实例7相同的方法制备的d-Phe NCA (5.15g, 26.9mmol) 和通过与实例6相同的方法制备的Tyr(OBn) NCA (7.99g, 26.9mmol),并在室温下搅拌溶液两小时,且随后加热到35℃,保持26小时,此刻反应完成(GPC, DMF/0.1%LiBr)。溶液冷却到室温并添加乙酸酐(2.77g, 26.9mmol, 2.46mL)、N-甲基吗啉(NMM) (2.69g, 26.9mmol, 1.43mL) 和二甲氨基吡啶(DMAP) (0.33g, 2.7mmol)。继续在室温下搅拌1天。旋转蒸发反应溶液,以去除二氯甲烷,并随后使聚合物在异丙醇(3.5L)中沉淀并通过过滤来分离,用新制的100mL的异丙醇部分洗涤,且真空干燥,得到呈几乎无色粉末状的嵌段共聚物(44.5g, 产率=83.1%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ8.59-7.86, 7.45-7.25, 7.10, 6.79, 5.12-4.79, 4.69-4.17, 3.84-3.23, 3.02-2.58, 2.40-2.23, 2.04-1.71, 1.33。

[0842] 实例108



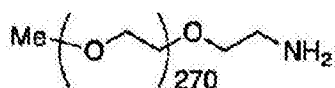
[0844] 合成mPEG11.5K-b-聚-(d-Glu(oBn)₅-共-Glu(oBn)₅)-b-聚-(Tyr(OH)₁₀-共-d-Phe₁₀-共-Asp(OH)₁₀)-Ac使用来自实例74的一般方法, 仅仅调整规模, 将此聚合物脱除保护基(30g, 1.54mmol)。一旦完成(3小时), 溶液就旋转蒸发成粘稠的糊状物并随后再溶解于DCM中, 且在MTBE中沉淀, 通过过滤来收集, 用新制100mL的MTBE部分洗涤若干次并真空干燥。此反应产生24g干燥物质(86.9%)。¹H NMR(d₆-DMSO) δ9.07, 8.50-7.80, 7.40-7.28, 6.98, 6.62, 5.04, 4.69-4.17, 3.72-3.23, 3.02-2.76, 2.73-2.57, 2.42-2.27, 2.23-1.59。

[0845] 实例109



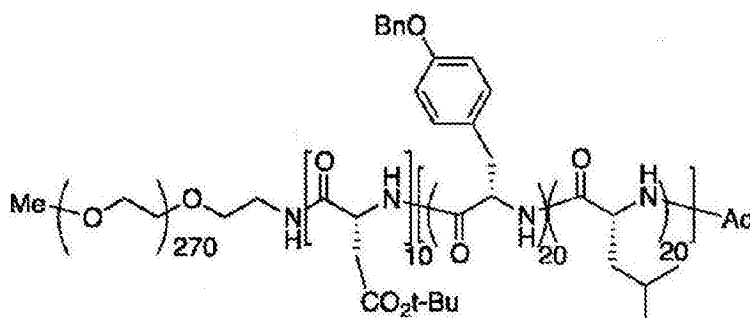
[0847] 合成mPEG11.5K-b-聚-(d-Glu(NHOH)₅-共-Glu(NHOH)₅-b-聚(Tyr(OH)₁₀-共-d-Phe₁₀-共-Asp(OH)₁₀-Ac在加热下来自实例108的聚合物(22g, 1.2mmol)完全溶解于200mL THF中。使此溶液冷却到室温, 接着添加10M KOH溶液(2mL, 1.5g, 10.8mmol), 接着添加羟胺(50%水溶液, 6mL, 3.6g, 108mmol)。在室温下搅拌此溶液24小时。将20mL丙酮和乙酸(2mL)添加到此反应溶液中并搅拌4小时。旋转蒸发溶液, 直到几乎干燥, 再溶解于二氯甲烷中并在MTBE中沉淀, 通过过滤来收集并真空干燥(20g, 产率=94.9%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ8.61-7.90, 7.50-6.29, 5.38-5.01, 4.63-4.12, 3.78-3.22, 2.17, 2.11, 1.81-1.63。

[0848] 实例110



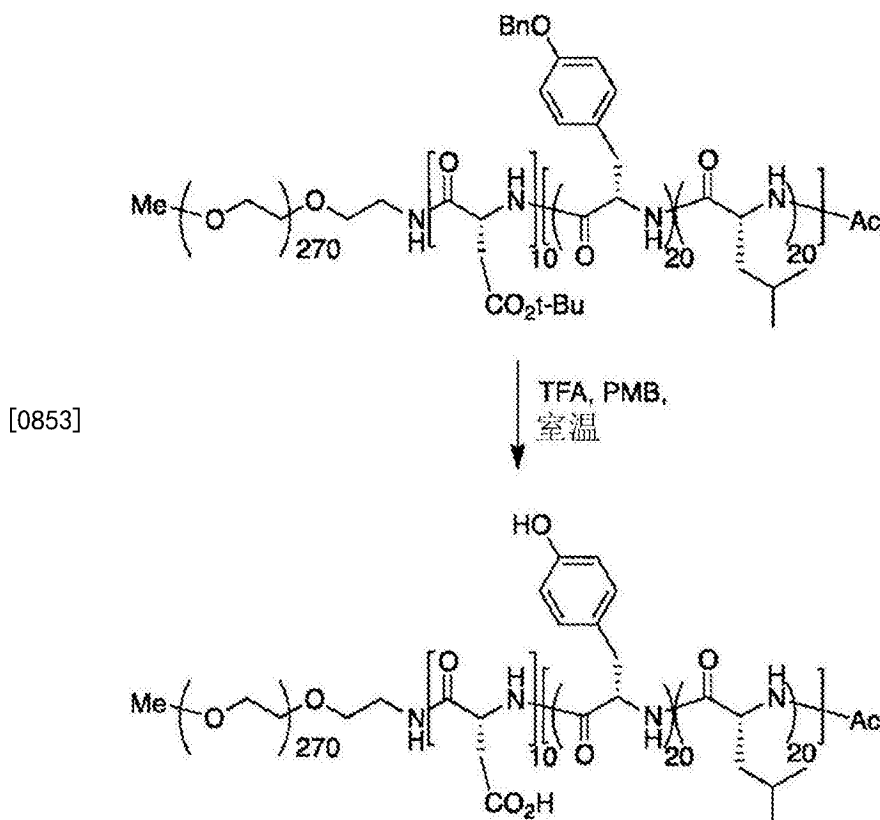
[0849]

1. 二氟乙酸,
甲苯, 55-60℃,
真空中共沸
2. Asp(tOBu)NCA,
NMP, 室温
3. d-LeuNCA, Tyr(OBn)NCA,
室温→35℃
4. Ac₂O, 吡啶,
DMAP, 室温

[0850] mPEG12K-b-聚-(Asp(Ot-Bu)₁₀)-b-聚-(d-Leu₂₀-共-Tyr(Obn)₂₀)-Ac

[0851] 合成mPEG12K-b-聚-(Asp(Ot-Bu)₁₀)-b-聚-(d-Leu₂₀-共-Tyr(Obn)₂₀)-Ac将来自实例3的mPEG12KNH₂ (360g, 30.0mmol) 称重到5000mL干净的烘干三颈圆底夹套烧瓶中并在55-60℃油浴中加热下溶解于甲苯(3000mL)中,并通过共沸真空蒸馏来干燥。在去除约30%甲苯后,停止蒸馏并通过注射器添加二氟乙酸(DFA) (2.26mL, 0.36mmol)以形成DFA盐。搅拌溶液30分钟并随后再次开始共沸并完全干燥。将聚合物盐置于真空下过夜。随后用N₂回填烧瓶,在减压下再抽空,并通过套管引入无水N-甲基吡咯烷酮(NMP) (3500mL)。将混合物短暂加热到40℃以加快溶解并随后冷却到25℃。将Asp(OtBu) NCA (64.56g, 300mmol) 称重到1L干净的二颈圆底烧瓶中并抽空一小时,接着刚刚蒸馏的NMP通过插管引入烧瓶中并完全溶解NCA。随后此溶液通过插管引入PEG烧瓶中并在室温下在氮气下搅拌48小时。随后,通过与上文所描述相同的方法添加d-Leu NCA (94.30g, 600mmol) 和Tyr(Obn) NCA (178.39g, 600mmol) 到溶液中并在35℃下搅拌所得溶液48小时,此刻认为反应完成(GPC, DMF/0.1% LiBr)。使溶液冷却到室温并添加乙酸酐(45.9g, 0.45mol, 42.5mL)、吡啶(59.3g, 0.75mol, 60.7mL)和二甲氨基吡啶(DMAP) (0.37g, 3.0mmol)。继续在室温下搅拌1天。使聚合物在5体积的乙醚(15L)中沉淀并通过过滤来分离,用新制的300mL的乙醚部分洗涤,并真空干燥,得到呈精细的灰白色粉末状的嵌段共聚物(434.9g, 产率=69.0%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ8.50-7.90, 7.60-7.30, 7.25-6.77, 5.10-4.85, 4.65-4.10, 3.72-3.25, 3.05-2.45, 2.44-1.60, 1.40-1.25, 0.90-0.50。

[0852] 实例111



[0854] mPEG12K-b-聚-(Asp(OH)₁₀)-b-聚-(d-Leu₂₀-共-Tyr(OH)₂₀)-Ac

[0855] 合成mPEG12K-b-聚-(Asp(OH)₁₀)-b-聚-(d-Leu₂₀-共-Tyr(OH)₂₀)-Ac将来自实例110的mPEG12K-b-聚-(Asp(Ot-Bu)₁₀)-b-聚-(d-Leu₂₀-共-Tyr(Obn)₂₀)-Ac (314.5g, 14.9mmol) 和五甲基苯 (141.4g, 0.954mol) 溶解于2.2L三氟乙酸(TFA)中。在环境室温下迅速地搅拌反应物14小时。在旋转蒸发仪上去除TFA, 水浴温度不超过35℃。将所得油灰样的固体溶解于1.4L二氯甲烷中, 转移到12L桶中, 并使用迅速机械搅拌, 通过缓慢添加5.6L乙醚来沉淀。将所得浆液搅拌30分钟, 通过过滤来收集固体, 用2×1L的多个部分的新制乙醚洗涤并真空干燥。固体再溶解于900mL二氯甲烷中并通过添加10L乙醚来沉淀。过滤和真空干燥得到呈无色疏松固体状的产物(254.4g, 产率=91.3%)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ12.4, 9.09, 8.50-7.80, 7.05-6.45, 4.65-4.0, 3.85-3.1, 3.03-2.45, 2.44-1.63, 1.58-0.95, 0.90-0.50。

[0856] 实例112

[0857] 道诺比星的调配-通过在约50℃下搅拌10分钟, 来自实例18的三嵌段共聚物(330mg)以1.65mg/mL溶解于水中。使溶液冷却并用0.1N NaOH调节pH值到7.0。用于调配的道诺比星进料率是聚合物重量的10%。有机溶液(20%甲醇、80%二氯甲烷)用来溶解33mg道诺比星, 达8.25mg/mL, 此是通过将溶液放入声处理水浴中, 接着加热和涡旋, 并重复直到透明的红色溶液持续存在来实现。使有机溶液冷却到室温, 随后添加17μL三乙胺。随后将有机溶液添加到聚合物溶液中, 同时在10,000RPM下剪切混合约1分钟。将呈混浊的红色溶液状的所得乳液在通风橱中搅拌过夜。随着有机溶剂蒸发, 溶液变得不太混浊并且颜色更红。次日, 溶液通过0.22微米的死端过滤器过滤。装备有10kD截止过滤器的切向流过滤设备用来将样品从200mL浓缩到约50mL。随后调配物在-70℃下冷冻并冻干。道诺比星的调配产生

88%产率。重量负载通过用HPLC分析比较道诺比星的标准曲线与已知浓度调配物来确定。将道诺比星以40 μ g/mL到200 μ g/mL范围溶解于甲醇中,并将调配物以2mg/mL溶解于甲醇中。随后将调配物中道诺比星的量转化成基于所用调配物的已知量(即2mg/mL)的%。此调配物证实从10%进料的7.8%重量负载;代表了69%有效工艺。通过动态光散射对未交联调配物进行粒度分析,得到75nm的平均直径。通过临界胶束浓度(CMC)以上在20mg/mL下和CMC以下在0.2mg/mL下的未交联调配物的透析,检验道诺比星的囊封。如图5所示,CMC以上透析的调配物产生约88%的道诺比星滞留,而CMC以下的透析产生约15%的道诺比星滞留。此结果表明了在高浓度下(CMC以上)道诺比星有效地囊封于胶束中,而当稀释到CMC以下时胶束瓦解。

[0858] 实例113

[0859] 负载道诺比星的胶束的交联 实例112的负载道诺比星的胶束在具有0.1、0.25、0.5、0.75、1、2.5、5、7.5或10mM氯化铁(III)的水中,达20mg/mL,历时约16小时。九个分开的样品每一者稀释到0.2mg/mL并针对pH 8的磷酸盐缓冲液透析6小时,以确定交联程度。此实验结果展示在图6中。此结果说明了当用氯化铁(III)处理时,负载道诺比星的胶束面对稀释时是稳定的(交联),其中最佳结果是在5mM以上浓度的氯化铁(III)下获得的。

[0860] 实例114

[0861] 交联时间的最佳化 实例112的负载道诺比星的胶束是在10mM氯化铁(III)中,达20mg/mL。在5分钟、30分钟、1小时、2小时、4小时和16小时取样品的等分试样,以及在5分钟取不具有铁的未交联样品,稀释到0.2mg/mL并针对10mM pH 8的磷酸盐缓冲液透析6小时。针对时间依赖性交联进行透析后剩余的道诺比星%展示在图7中。基于图3,样品迅速地交联,在样品与氯化铁(III)溶液仅培育5分钟后,在稀释到CMC以下前,剩余的道诺比星滞留几乎70%。

[0862] 实例115

[0863] 交联pH值的最佳化 实例112的负载道诺比星的胶束在10mM氯化铁(III)中,达20mg/mL,随后用稀氢氧化钠将此溶液的等分试样调节到pH 3、4、5、6、7、7.4和8,并搅拌10分钟。随后每个样品被稀释到0.2mg/mL并针对10mM pH 8的磷酸盐缓冲液透析6小时。针对10mM pH 8的磷酸盐缓冲液透析后剩余的道诺比星%展示在图8中。此结果说明了交联的理想pH值是7.4。

[0864] 实例116

[0865] 道诺比星从交联胶束释放的pH值依赖性 实例112的负载道诺比星的胶束在10mM氯化铁(III)中,达20mg/mL,随后用稀氢氧化钠调节到pH 7.4并搅拌10分钟。随后此样品稀释到0.2mg/mL并针对10mM磷酸盐缓冲液在pH 3、4、5、6、7、7.4和8下透析6小时。针对10mM磷酸盐缓冲液透析后随pH值而变的剩余道诺比星%展示在图9中。此结果说明了药物从交联胶束释放的pH值依赖性。

[0866] 实例117

[0867] 道诺比星从交联胶束释放的盐依赖性 实例112的负载道诺比星的胶束在10mM氯化铁(III)中,达20mg/mL,随后用稀氢氧化钠调节到pH 7.4并搅拌10分钟。随后每个样品稀释到0.2mg/mL并针对10mM pH 8的磷酸盐缓冲液在浓度在0到500mM范围内的NaCl下透析6小时。针对10mM磷酸盐缓冲液透析后随盐浓度而变的剩余道诺比星%展示在图10中。此结

果说明了药物从交联胶束释放的盐依赖性。

[0868] 实例118

[0869] 氨基蝶呤的囊封-通过在约50℃下搅拌30分钟,来自实例18的三嵌段共聚物(800mg)以2mg/mL溶解于水中。使溶液冷却并用0.1N NaOH调节pH值到7.0。用于调配的氨基蝶呤进料是聚合物重量的4%。有机溶液(20%甲醇、80%二氯甲烷、15mg/mL对甲苯磺酸)用来溶解32mg氨基蝶呤,达3.2mg/mL,此是通过将溶液放入声处理水浴中,接着加热和涡旋,并重复直到持续存在透明的黄色溶液来实现。一旦有机溶液冷却,就将其添加到聚合物溶液中,同时在10,000RPM下剪切混合约1分钟。将呈混浊的黄色溶液状的所得乳液在通风橱中搅拌过夜。当有机溶剂蒸发时,溶液变得不太混浊并且更黄。次日,溶液用NaOH调节pH值到7.0,并通过0.22微米死端过滤器过滤。装备有10kD截止过滤器的切向流过滤设备用于过滤,其中进行三倍缓冲液更换,以去除未囊封的氨基蝶呤和痕量溶剂。随后调配物在-70℃下冷冻并冻干。在三嵌段共聚物下氨基蝶呤的调配产生85%产率的产物。重量负载通过用HPLC分析比较氨基蝶呤的标准曲线与已知浓度调配物来确定。将氨基蝶呤以40μg/mL到200μg/mL范围溶解于HPLC流动相(60%乙腈、40%10mM pH 8的磷酸盐缓冲液)中,并将调配物以5mg/mL溶解于HPLC流动相中。随后调配物中氨基蝶呤的量转化成基于所用调配物的已知量(即5mg/mL)的%。发现负载氨基蝶呤的胶束具有从4%进料,2.5%重量负载的负载,产生53%有效工艺。未交联的调配物的粒度说明了约70nm的单一分布平均粒度,如图11中所示。

[0870] 实例119

[0871] 氨基蝶呤囊封的检验 来自实例118的负载氨基蝶呤的胶束以20mg/mL溶解于10mM pH 8的磷酸盐缓冲液中。还将未交联的调配物稀释到CMC以下(0.2mg/mL)并针对10mM pH 8的磷酸盐缓冲液透析六小时。图12中展示的直方图说明了未交联的调配物在20mg/mL下的稳定性,其中历经6小时,超过75%的氨基蝶呤剩余在透析袋内。但是,当稀释到0.2mg/mL时,6小时后,低于10%的氨基蝶呤剩在透析袋中。此结果表明了在高浓度下(CMC以上)氨基蝶呤有效地囊封于胶束中,而当稀释到CMC以下时胶束瓦解。

[0872] 实例120

[0873] 氨基蝶呤从交联胶束释放的pH值依赖性 来自实例118的负载氨基蝶呤的胶束以20mg/mL溶解于10mM氯化铁(III)中,并搅拌10分钟。随后此样品稀释到0.2mg/mL并针对10mM磷酸盐缓冲液在pH 3、4、5、6、7、7.4和8下透析6小时。针对10mM磷酸盐缓冲液透析后随pH值而变的剩余氨基蝶呤%展示在图13中。此结果说明了氨基蝶呤从交联胶束释放的pH值依赖性。

[0874] 实例121

[0875] 负载氨基蝶呤的交联胶束的细胞毒性 与游离氨基蝶呤以及交联与未交联的未负载药物的胶束调配物(来自实例18的聚合物)相比,针对A549肺、OVCAR3卵巢、PANC-1(叶酸盐受体+)胰腺和BxPC3(叶酸盐受体-)胰腺癌细胞系,测试来自实例118和实例120的负载氨基蝶呤的胶束的细胞毒性。每种细胞系的每种处理的细胞毒性型态在图14(A549肺)、图15(OVCAR3卵巢)、图16(PANC-1胰腺)和图17(BxPC3胰腺)中。在A549和PANC-1细胞中在低纳摩尔范围(约7-25nM)内氨基蝶呤抑制细胞活力50%(IC₅₀),然而对于OVCAR3或BxPC3细胞,未获得IC₅₀。同样,未交联和交联调配物说明针对A549和PANC-1细胞,在低纳摩尔范围(约20-70nM)内的IC₅₀值,且在OVCAR3或BxPC3细胞中未达到50%抑制。用未交联和交联的未负载药

物的胶束处理耐受性良好,其中所有测试的细胞具有超过80%活力。

[0876] 实例122

[0877] 小檗碱的囊封-通过在约50℃下搅拌10分钟,来自实例18的三嵌段共聚物(300mg)以2mg/mL溶解于水中。使溶液冷却并用0.1N NaOH调节pH值到7.0。用于调配的小檗碱进料率是聚合物重量的5%。有机溶液(20%甲醇、80%二氯甲烷)用来溶解15mg小檗碱,达6mg/mL,其是通过涡旋,直到持续存在透明的黄色溶液来实现。随后将有机溶液添加到聚合物溶液中,同时在10,000RPM下剪切混合约1分钟。将呈混浊的黄色溶液状的所得乳液在通风橱中搅拌过夜。当有机溶剂蒸发时,溶液变得不太混浊并且更黄。次日,溶液通过0.22微米的死端过滤器过滤。装备有10kD截止过滤器的切向流过滤设备用来将样品从200mL浓缩到约50mL。随后调配物在-70℃下冷冻并冻干。重量负载通过用HPLC分析比较小檗碱的标准曲线与已知浓度调配物来确定。将小檗碱以40μg/mL到200μg/mL范围溶解于甲醇中,并将调配物以5mg/mL溶解于甲醇中。随后调配物中小檗碱的量转化成基于所用调配物的已知量(即5mg/mL)的%。从5%进料,小檗碱调配物的重量负载是4%,如通过用HPLC分析比较调配物与游离药物的标准曲线来确定。调配物的囊封功效是72%。通过动态光散射进行粒度分析,产生未交联样品72.5nm的平均粒度。囊封透析产生53%滞留,说明了小檗碱有效地囊封于胶束中。

[0878] 实例123

[0879] 负载小檗碱的胶束的交联-来自实例122的冻干的未交联粉末在水中复原,达20mg/mL。将氯化铁(III)添加到溶液中,最终浓度为5mM,并搅拌约30分钟。随后调配物在-70℃下冷冻并冻干。为了检验交联,将未交联和交联样品稀释到0.2mg/mL并透析6小时。未交联胶束展示保留5%小檗碱,而交联样品展示剩余43%小檗碱。此结果说明了小檗碱胶束通过添加铁而稳定化。

[0880] 实例124

[0881] 太平洋紫杉醇的囊封-通过在约50℃下搅拌10分钟,来自实例18的三嵌段共聚物(300mg)以2mg/mL溶解于水中。使溶液冷却并用0.1N NaOH调节pH值到7.0。用于调配的太平洋紫杉醇进料率是聚合物重量的1%。有机溶液(20%甲醇、80%二氯甲烷)用来溶解3mg太平洋紫杉醇,达3mg/mL,其是通过涡旋,直到持续存在透明的无色溶液来实现。随后将有机溶液添加到聚合物溶液中,同时在10,000RPM下剪切混合约1分钟。所得乳液在通风橱中搅拌过夜。次日,溶液通过0.22微米的死端过滤器过滤。随后调配物在-70℃下冷冻并冻干。从1%进料,太平洋紫杉醇调配物的重量负载是0.78%,如通过用HPLC分析比较调配物与游离药物的标准曲线来确定。通过动态光散射进行粒度分析,产生未交联样品45.7nm的平均粒度。临界胶束浓度以上(20mg/mL)的囊封检验透析产生透析后52%滞留太平洋紫杉醇。

[0882] 实例125

[0883] SN-38的囊封-通过在约50℃下搅拌10分钟,来自实例18的三嵌段共聚物(1g)以5mg/mL溶解于水中。随后将蔗糖(1g)添加到聚合物溶液中并搅拌直到完全溶解。使溶液冷却到室温并用0.1N NaOH调节pH值到6.0。用于调配的SN-38进料是聚合物重量的3%。DMSO用来溶解30mg SN-38,达80mg/mL,其是通过加热、涡旋和将溶液放入声处理水浴中,直到持续存在透明的黄色溶液来实现。使有机溶液冷却到室温并随后添加到聚合物溶液中,同时在10,000RPM下剪切混合约1分钟。呈混浊的浅黄色溶液状的所得乳液随后转移到微流化床

的进料室。溶液通过单程穿过Microfluidics M10Y微流化床来加工。微流化床出口流用冰水浴冷却。随后溶液通过0.22微米死端过滤器过滤,并且所得溶液随后经受仕必纯(Spectrum Labs)KrosFlo切向流过滤系统和10kDa透滤膜的超过滤。溶液从200mL浓缩到约50mL,随后添加具有3mg/mL蔗糖的150mL水并浓缩到约50mL。重复超过滤,直到更换总共4倍的缓冲液初始体积(800mL)。所得溶液随后在-70℃下冷冻并冻干。

[0884] 实例126

[0885] SN-38胶束的交联-来自实例125的SN-38胶束以20mg/mL溶解于10mM FeCl₃水溶液中。随后用稀NaOH将pH值调节到6.8。在室温下搅拌溶液1小时,随后冻干。此交联的负载SN-38的胶束呈淡褐色粉末状分离,重量负载为1.75%,代表了81.4%有效工艺。通过动态光散射进行粒度分析,产生70nm的平均直径。

[0886] 实例127

[0887] 制备和交联SN-38胶束-用以下聚合物进行调配:127A=mPEG12k-b-p [Glu (NH₂)₂]-b-p [Phe₁₅-共-Tyr₂₅]-Ac,来自实例81;127B=mPEG12k-b-p [Glu (NH₂)₇]-b-p [Phe₁₅-共-Tyr₂₅]-Ac,来自实例56;127C=mPEG12k-b-p [Glu (NH₂)₁₀]-b-p [Phe₁₅-共-Tyr₂₅]-Ac,来自实例38;127D=mPEG12k-b-p [Glu (NH₂)₂₀]-b-p [Phe₁₅-共-Tyr₂₅]-Ac,来自实例98;以及127E=mPEG12k-b-p [Asp₁₀]-b-p [Leu₂₀-共-Tyr₂₀]-Ac,来自实例111。通过在约40℃下搅拌30分钟,三嵌段共聚物(1g)以5mg/mL溶解于水中。随后将1g蔗糖添加到聚合物溶液中并搅拌直到完全溶解。使溶液冷却到室温并用NaOH调节pH值到6.0。用于调配的SN38进料率是聚合物重量的5%。DMSO用来溶解50mg SN-38,达80mg/mL,其是通过加热、涡旋和将溶液放入声处理水浴中,直到持续存在透明的黄色溶液来实现。使有机溶液冷却到室温并随后添加到聚合物溶液中,同时在10,000RPM下剪切混合约1分钟。呈混浊的浅黄色溶液状的所得乳液随后转移到微流化床的进料室。溶液通过单程穿过微流化床来加工。微流化床出口流用冰水浴冷却。随后溶液通过0.22微米死端过滤器过滤,并且所得溶液随后经受仕必纯KrosFlo切向流过滤系统和10kDa透滤膜的超过滤。溶液从200mL浓缩到约50mL,随后添加具有5mg/mL蔗糖的150mL水并浓缩到约50mL。重复超过滤,直到更换总共4倍的缓冲液初始体积(800mL)。随后添加氯化铁(III)到调配物中,最终浓度为10mM。随后溶液的pH值用NaOH调节到6.0并在室温下搅拌4小时。随后将一体积的含有20mg/mL蔗糖的缓冲液添加到溶液中,并随后浓缩到约20mg/mL聚合物浓度。随后溶液在-40℃下冷冻并冻干。在三嵌段共聚物下SN-38的调配产生85%产物的平均产率,重量负载为3.5%。实际重量负载:A=3.4%,B=3.2%,C=3.6%,D=3.6%,E=3.2%。通过动态光散射进行粒度分析,产生90nm的平均直径。实际粒度:A=84nm,B=88nm,C=89nm,D=110nm,E=91nm。

[0888] 实例128

[0889] 交联SN-38胶束的药物代谢动力学-以手术方式改装有颈静脉导管的史泊格-多利大鼠购自弗吉尼亚州都柏林的哈兰实验室(Harlan Laboratories,Dublin,VA)。将SN-38交联调配物(来自实例127C和127E)溶解于具有150mM NaCl的水中,最终浓度通常为对于经由JVC历时约1分钟快速注射2mL,接着用约250μL肝素化生理食盐水进行冲洗,每公斤动物体重10mg SN-38。测试物品投与后血液收集的时间点如下:1、5、15分钟、1、4和24小时。每一时间点通过JVC收集约250μL血液到K3-EDTA血液收集管,接着用约200μL肝素化生理食盐水冲洗。随后血液在2000RPM下离心5分钟以分离血浆。随后收集血浆并迅速冷冻直到加工用于

HPLC分析。通过首先在室温下解冻血浆样品来制备样品用于分析。添加50 μ L血浆到2mL艾本德管(eppendorf tube)中的150 μ L萃取溶液(含0.1%磷酸的甲醇、5 μ g/mL喜树碱内标)中。随后样品涡旋10分钟并在13,000RPM下离心10分钟。随后上清液转移到HPLC小瓶中,随后通过HPLC分析。使用大鼠血浆中SN-38调配物的标准曲线,与在每个时间点从大鼠收集的样品相比,确定SN-38的定量。此实验的结果展示于图18中。血浆中来自IT-141 (NHOH;127C)中的SN-38的CMax是304.5 μ g/mL,投与1分钟后测定。通过异羟肟酸调配物传递的SN-38对血浆隔室的暴露是111.5 μ g*h/mL。来自IT-141 (Asp;127E)的SN-38对血浆隔室的暴露是31.6 μ g*h/mL,CMax为156.0 μ g/mL。

[0890] 实例129

[0891] 通过大鼠药物动力学测定的最佳交联嵌段长度的测定 使用实例128的程序,实例127A、127B和127D的调配物以10mg/kg投与大鼠。血浆中来自实例127D (NHOH-20)的SN-38的CMax是292.9 μ g/mL,投与1分钟后测定。通过调配物传递的如通过浓度与时间曲线下面积所确定的SN-38对血浆隔室的暴露是85.7 μ g*h/mL。来自实例127B (NHOH-7)的SN-38对血浆隔室的暴露是71.3 μ g*h/mL,其中投与1分钟后测定,CMax为256.9 μ g/mL。血浆中来自实例127A (NHOH-2)的SN-38的CMax是267.7 μ g/mL,投与1分钟后测定。通过调配物传递的如通过浓度与时间曲线下面积所确定的SN38对血浆隔室的暴露是41.8 μ g*h/mL。结果展示于图19中。确定实例127C说明了最佳交联结果。

[0892] 实例130

[0893] 负载道诺比星的胶束的制备 将来自实例111的三嵌段共聚物(天冬氨酸核心嵌段)和水(2L)添加到4L烧杯中并搅拌直到存在均质的溶液。盐酸道诺比星(301mg)悬浮于4:1二氯甲烷:甲醇(60mL)中,接着添加三乙胺(82 μ L)。将所得道诺比星悬浮液逐滴添加到迅速搅拌的水溶液中。将所得溶液用箔覆盖并再搅拌八小时。溶液通过0.22 μ m过滤器过滤并随后冻干,得到2.95g(89%产率)红色粉末。此物质的一部分溶解于补充有5mM FeCl₃的20mM Tris pH 7.5中,聚合物浓度为25mg/mL。一旦存在均质溶液,就用1N NaOH将pH值调节到8.0,随后搅拌过夜。溶液冷冻并冻干,得到暗红色粉末。

[0894] 实例131

[0895] 氨基蝶呤胶束的制备 通过在约40℃下搅拌30分钟,来自实例30的三嵌段共聚物mPEG12k-b-p[Glu(NHOH)10]-b-p[Asp5-共-Leu15-共-Tyr20]-Ac(800mg)以2mg/mL溶解于水中。使溶液冷却并用NaOH调节pH值到7.0。用于调配的氨基蝶呤进料率是聚合物重量的4%。有机溶液(20%甲醇、80%二氯甲烷、25mg/mL对甲苯磺酸)用来溶解32mg氨基蝶呤,达3.2mg/mL,此是通过将溶液放入声处理水浴中,接着加热和涡旋,并重复直到持续存在透明的黄色溶液来实现。一旦有机溶液冷却,就将其添加到聚合物溶液中,同时在10,000RPM下剪切混合约1分钟。将呈混浊的黄色溶液状的所得乳液在通风橱中搅拌过夜。当有机溶剂蒸发时,溶液变得不太混浊并且更黄。次日,溶液用NaOH调节pH值到7.0,并通过0.22微米死端过滤器过滤,并且所得溶液随后经受仕必纯KrosFlo切向流过滤系统和10kDa透滤膜的超过滤。溶液从2mg/mL聚合物浓度浓缩到约20mg/mL聚合物浓度,并添加氯化铁(III)到调配物中,最终浓度为10mM。随后溶液的pH值用NaOH调节到7.0并在室温下搅拌4小时。随后用水将溶液调节到5mg/mL聚合物浓度,并通过超过滤浓缩到约20mg/mL。随后溶液在-40℃下冷冻并冻干。在三嵌段共聚物下氨基蝶呤的调配产生85%产率的产物,从4%进料的重量负载为

2.5%，产生53%有效工艺。未交联和交联调配物的粒度说明了约70nm的单一分布平均粒度。

[0896] 实例132

[0897] 卡巴他赛胶束的制备 通过在约40℃下搅拌30分钟，来自实例38的三嵌段共聚物 mPEG12k-b-p [Glu (NH₂) 10] -b-p [Phe15-共-Tyr25] -Ac (300mg) 以2mg/mL溶解于水中。使溶液冷却并用NaOH调节pH值到7.0。用于调配的卡巴他赛进料率是聚合物重量的1.5%。有机溶液 (20% 甲醇、80% 二氯甲烷) 用来溶解4.5mg卡巴他赛，达2mg/mL，其是通过涡旋，直到持续存在透明的无色溶液来实现。随后将有机溶液添加到聚合物溶液中，同时在10,000RPM下剪切混合约1分钟。所得乳液在通风橱中搅拌过夜。次日，溶液通过0.22微米死端过滤器过滤，并且所得溶液随后经受仕必纯KrosFlo切向流过滤系统和10kDa透滤膜的超过滤。溶液从2mg/mL聚合物浓度浓缩到约20mg/mL聚合物浓度，并添加氯化铁 (III) 到调配物中，最终浓度为10mM。随后溶液的pH值用NaOH调节到7.0并在室温下搅拌4小时。随后用水将溶液调节到5mg/mL聚合物浓度，并通过超过滤浓缩到约20mg/mL。随后溶液在-40℃下冷冻并冻干。从1.5%进料，卡巴他赛调配物的重量负载是1%。调配物粒度是62nm直径。未交联调配物的囊封透析使得CMC以上在20mg/mL下滞留68%，并且当交联调配物稀释到0.2mg/mL时滞留72%。图20展示交联卡巴他赛胶束的pH值依赖性交联透析的结果。

[0898] 实例133

[0899] 埃坡霉素D胶束的制备 通过在约40℃下搅拌30分钟，来自实例98的三嵌段共聚物 mPEG12k-b-p [Glu (NH₂) 20] -b-p [Phe15-共-Tyr25] -Ac (300mg) 以2mg/mL溶解于水中。使溶液冷却并用NaOH调节pH值到7.0。用于调配的埃坡霉素D进料率是聚合物重量的2%。有机溶液 (20% 甲醇、80% 二氯甲烷) 用来溶解6mg埃坡霉素D，达2mg/mL，其是通过涡旋，直到持续存在透明的无色溶液来实现。随后将有机溶液添加到聚合物溶液中，同时在10,000RPM下剪切混合约1分钟。所得乳液在通风橱中搅拌过夜。次日，溶液通过0.22微米死端过滤器过滤，并且所得溶液随后经受仕必纯KrosFlo切向流过滤系统和10kDa透滤膜的超过滤。溶液从2mg/mL聚合物浓度浓缩到约20mg/mL聚合物浓度，并添加氯化铁 (III) 到调配物中，最终浓度为10mM。随后溶液的pH值用NaOH调节到6.0并在室温下搅拌4小时。随后用水将溶液调节到5mg/mL聚合物浓度，并通过超过滤浓缩到约20mg/mL。随后溶液在-40℃下冷冻并冻干。此工艺产生71%有效工艺，从2%进料的重量负载为1.5%，且总产率为94%。调配物粒度是82nm直径。未交联调配物的囊封透析使得在20mg/mL下历经6小时埃坡霉素D滞留88%，当稀释到0.2mg/mL时历经6小时药物滞留10%。

[0900] 实例134

[0901] 小檗碱胶束的制备 通过在约40℃下搅拌30分钟，来自实例98的三嵌段共聚物 mPEG12k-b-p [Glu (NH₂) 10] -b-p [Asp5-共-Leu15-共-Tyr20] -Ac (300mg) 以2mg/mL溶解于水中。使溶液冷却并用0.1N NaOH调节pH值到7.0。用于调配的小檗碱进料率是聚合物重量的5%。有机溶液 (20% 甲醇、80% 二氯甲烷) 用来溶解15mg小檗碱，达6mg/mL，其是通过涡旋，直到持续存在透明的黄色溶液来实现。随后将有机溶液添加到聚合物溶液中，同时在10,000RPM下剪切混合约1分钟。将呈混浊的黄色溶液状的所得乳液在通风橱中搅拌过夜。当有机溶剂蒸发时，溶液变得不太混浊并且更黄。次日，溶液通过0.22微米死端过滤器过滤，并且所得溶液随后经受仕必纯KrosFlo切向流过滤系统和10kDa透滤膜的超过滤。溶液

从2mg/mL聚合物浓度浓缩到约20mg/mL聚合物浓度,并添加氯化铁(III)到调配物中,最终浓度为10mM。随后溶液的pH值用NaOH调节到7.0并在室温下搅拌4小时。随后用水将溶液调节到5mg/mL聚合物浓度,并通过超过滤浓缩到约20mg/mL。随后溶液在-40℃下冷冻并冻干。从5%进料,小檗碱调配物的重量负载是4%,如通过用HPLC分析比较调配物与游离药物的标准曲线来确定。调配物的囊封效率是72%。通过动态光散射进行粒度分析,产生交联样品66.7nm直径的平均粒度,和未交联样品72.5nm的平均粒度。

[0902] 实例135

[0903] 长春瑞宾胶束的制备 通过在约40℃下搅拌30分钟,来自实例38的三嵌段共聚物(300mg)以2mg/mL溶解于水中。使溶液冷却并用0.1N NaOH调节pH值到7.0。用于调配的长春瑞宾进料率是聚合物重量的5%。有机溶液(20%甲醇、80%二氯甲烷)用来溶解15mg长春瑞宾,达6mg/mL,其是通过涡旋,直到持续存在透明的无色溶液来实现。随后将有机溶液添加到聚合物溶液中,同时在10,000RPM下剪切混合约1分钟。将呈混浊溶液状的所得乳液在通风橱中搅拌过夜。当有机溶剂蒸发时,溶液变得不太混浊并且无色。次日,溶液通过0.22微米死端过滤器过滤,并且所得溶液随后经受仕必纯KrosFlo切向流过滤系统和10kDa透滤膜的超过滤。溶液从2mg/mL聚合物浓度浓缩到约20mg/mL聚合物浓度,并添加氯化铁(III)到调配物中,最终浓度为10mM。随后溶液的pH值用NaOH调节到7.0并在室温下搅拌4小时。随后用水将溶液调节到5mg/mL聚合物浓度,并通过超过滤浓缩到约20mg/mL。随后溶液在-40℃下冷冻并冻干。

[0904] 实例136

[0905] 依维莫司胶束的制备 通过在约40℃下搅拌30分钟,来自实例38的三嵌段共聚物(300mg)以2mg/mL溶解于水中。使溶液冷却并用0.1N NaOH调节pH值到7.0。用于调配的依维莫司进料率是聚合物重量的5%。有机溶液(20%甲醇、80%二氯甲烷)用来溶解15mg依维莫司,达6mg/mL,其是通过涡旋,直到持续存在透明的无色溶液来实现。随后将有机溶液添加到聚合物溶液中,同时在10,000RPM下剪切混合约1分钟。将呈混浊溶液状的所得乳液在通风橱中搅拌过夜。当有机溶剂蒸发时,溶液变得不太混浊并且无色。次日,溶液通过0.22微米死端过滤器过滤,并且所得溶液随后经受仕必纯KrosFlo切向流过滤系统和10kDa透滤膜的超过滤。溶液从2mg/mL聚合物浓度浓缩到约20mg/mL聚合物浓度,并添加氯化铁(III)到调配物中,最终浓度为10mM。随后溶液的pH值用NaOH调节到7.0并在室温下搅拌4小时。随后用水将溶液调节到5mg/mL聚合物浓度,并通过超过滤浓缩到约20mg/mL。随后溶液在-40℃下冷冻并冻干。

[0906] 实例137

[0907] 与游离道诺比星相比道诺比星胶束的大鼠药物动力学 通过静脉内快速注射2mL注射体积,向具有颈静脉导管的费舍尔大鼠(Fisher rat)注射10mg/kg游离道诺比星、交联(异羟肟酸)道诺比星胶束(根据实例113制备)和羧酸交联的负载道诺比星的胶束(根据实例130制备)。用于投与药物的传递媒介剂是等渗生理食盐水。在1分钟、5分钟、15分钟、1小时、4小时、8小时和24小时的时间点,通过心穿刺术,从导管收集大鼠血液到K₂-EDTA管。通过在1000RPM下离心5分钟来分离血浆,并添加150μL萃取溶液(冰冷甲醇/100ng/mL道诺比星内标)到50μL每种血浆样品。随后样品涡旋10分钟,在13,000RPM下离心10分钟,并将150μL上清液转移到HPLC小瓶中以供分析。在装备有2475荧光检测器(Ex=470nm;Em=580)的沃特

士 (Waters) Alliance 2695 上分析样品。将 5 μ L 样品注射液放在沃特士 4 μ m Nova Pak C18 (3.9 $\times$ 150mm) 上 30 $^{\circ}$ C 下, 流动速率为每分钟 0.750mL 10mM 磷酸盐缓冲液 (pH=1.4)、甲醇和乙腈 (历经八分钟, 缓冲液/甲醇/乙腈的梯度从 70/10/20 到 40/10/50)。在这些条件下在 5.9 分钟洗脱的分析物相对于内标正规化, 并使用包含七个标准品的标准曲线定量。药物动力学参数概述于以下表中并且曲线展示在图 21 中。通过异羟肟酸调配物传递的如通过浓度与时间曲线下面积 (AUC) 测定的道诺比星对血浆隔室的暴露是 383.6 μ g $\cdot$ h/mL。通过调配物传递到血浆的道诺比星的终末半衰期 (消除) 是 3.9 小时。此与展示 1.3 μ g $\cdot$ h/mL 的 AUC 和 3.4 小时的半衰期的游离药物以及展示 51.8 μ g $\cdot$ h/mL 的 AUC 和 2.4 小时的半衰期的羧酸调配物相比。因此, 羧酸交联的调配物的暴露是游离药物的 40 倍, 并且异羟肟酸调配物的暴露是游离药物的 295 倍。

[0908]

样品	AUC (μ g $\cdot$ h/mL)	CMax (μ g/mL)	半衰期 (h)
来自实例 113 的异羟肟酸调配物	383.6	144.0	3.9
来自实例 130 的羧酸调配物	51.8	143.5	2.4
游离道诺比星	1.3	3.3	3.3

[0909] 实例 138

[0910] 交联卡巴他赛胶束的大鼠药物动力学 通过静脉内快速注射 2mL 注射体积, 向具有颈静脉导管的费舍尔大鼠注射 5mg/kg 游离卡巴他赛或交联卡巴他赛胶束 (根据实例 132 制备)。用于投与药物的传递媒剂是等渗生理食盐水。在 1 分钟、5 分钟和 15 分钟的时间点, 通过心穿刺术, 从导管收集大鼠血液到 K₂-EDTA 管。通过在 1000RPM 下离心 5 分钟来分离血浆, 并添加 150 μ L 萃取溶液到 50 μ L 每种血浆样品。随后样品涡旋 10 分钟, 在 13,000RPM 下离心 10 分钟, 并将 150 μ L 上清液转移到 HPLC 小瓶中以供分析。图 22 说明在投与测试物品后开始 15 分钟大鼠血浆中卡巴他赛的浓度。与游离药物 0.2 μ g $\cdot$ h/mL 的暴露和 1.2 μ g/mL 的 CMax 相比, 历经 15 分钟卡巴他赛对血浆隔室的暴露是 10 μ g $\cdot$ h/mL, CMax 为 44.5 μ g/mL。

[0911] 实例 139

[0912] SN-38 胶束的抗肿瘤功效 HCT-116 结肠癌细胞根据 ATCC 指南培养, 通过胰蛋白酶培育来收获, 并再悬浮于生理食盐水中以供注射, 浓度为每 0.1mL 两百万个细胞。通过皮下注射 0.1mL (即两百万个细胞) 到小鼠右侧腹部来接种小鼠。当肿瘤达到约 100mm³ 时, 小鼠随机化到处理组中。每组由 8 只小鼠组成。处理组包括生理食盐水对照; 聚合物对照; 在 35mg/kg 下游离伊立替康; 以及在 20、35 和 50mg/kg 下来自实例 127C 的 SN-38 调配物。通过静脉内快速注射到尾静脉向小鼠给药; 注射体积是 0.2mL。肿瘤通过数显卡尺测量, 并使用式 $V = (W^2 \times L) / 2$ 计算体积 (mm³), 其中宽度 (W) 是最大直径测量值并且长度 (L) 是垂直于宽度的直径测量值。给药时程一周一次, 持续三周 (3 $\times$ QW)。用于聚合物传递的媒剂是等渗生理食盐水。在研究期间临床观测包括小鼠体重的变化、患病小鼠综合症 (脱水、脊柱弯曲和眼睛、生殖器或皮疹的机会性感染) 的形态观测以及通过实验终止时尸检确定的大体病理变化。增长速率图展示在图 23 中。数据展示生理食盐水对照组的肿瘤体积增加 6 倍, 每天 46.8mm³ 的平均增长速率。与生理食盐水对照组相比, 聚合物对照组的肿瘤生长无统计差异, 其中体积增加 5.5 倍并且平均增长速率为每天 43.7mm³。与生理食盐水相比, 伊立替康 50mg/kg 游离药物对照组的肿瘤体积下降 40%, 其中体积增加 2.7 倍并且平均增长速率为每天 18.9mm³。

与生理食盐水对照相比,20mg/kg SN-38调配物组的肿瘤体积抑制71%,并且平均增长速率为每天 13.6mm^3 。35mg/kg SN-38调配物组的肿瘤体积消退30%,尺寸减小1.5倍并且平均肿瘤消退率为每天 -2.4mm^3 。50mg/kg SN-38调配物组的肿瘤体积消退47.6%,尺寸减小2.1倍并且平均肿瘤消退率为每天 -3.8mm^3 。

[0913] 实例140

[0914] 交联氨基蝶呤胶束的药物动力学和生物分布 雌性无胸腺裸小鼠由哈兰公司(印第安纳州印第安纳波利斯(Indianapolis,IN))提供。所接收的小鼠为4-5周龄。重12-15g。将小鼠圈养在微型隔离器中并维持在特定的无病原体的条件下。在右侧腹部,用含有OVCAR-3肿瘤细胞的悬浮液(约 5.0×10^6 个细胞/小鼠)的0.1ml 50%RPMI/50%MatrigelTM(马萨诸塞州贝德福的碧迪生物科学公司(BD Biosciences,Bedford,MA))混合物皮下接种研究雌性小鼠。肿瘤使用卡尺测量,并使用式 $V = (W^2 \times L) / 2$ 计算肿瘤重量,其中宽度(W)是最大直径测量值并且长度(L)是垂直于宽度的直径测量值。归因于肿瘤变化的生长模式,各组的研究开始之日交错。一旦肿瘤体积达到 $150-250\text{mm}^3$,就向动物投与测试物质,即20mg/kg来自实例131的氨基蝶呤胶束。在处理5和15分钟、1、4、12、24和48小时(每一时间点4只小鼠)处死每只小鼠后,收集血浆、肿瘤、脾、肝和肺标本。使用高压液相层析分析法与串联质谱检测(LC-MS/MS)来分析肝素化小鼠血浆和组织样品(肝、肺、脾和肿瘤)。通过将氨基蝶呤外加到肝素钠化的人类血浆中来制备校验和质量控制(QC)样品。组织样品在50%甲醇中均质化并在 -80°C 下冷冻储存,直到分析。在分开的分析型批料以及复制的校验和QC样品中分析每种研究基质类型。在微量离心管中将校验、QC、空白或研究样品(血浆或组织均质物)的100 μl 等分试样先后与50.0 μL 稀释缓冲液(含有0.1%甲酸的1.0mM甲酸铵)和含有内标(IS;甲氨蝶呤(methotrexate)50.0ng/mL)的400 μL 乙腈混合,以使蛋白质沉淀。将管加盖,涡旋,消化5分钟,并在14,000rpm和 4°C 下离心5分钟。将上清液的100 μL 等分试样用1.5mL稀释缓冲液稀释,涡旋混合并注射20 μL 到LC-MS/MS系统中。每种样品的浓度通过与标准曲线比较来确定。建构每个隔室的浓度-时间曲线并计算每个隔室的药物动力学数据。平均血浆和组织PK型态可以在图24中见到。血浆NCA确定氨基蝶呤的平均半衰期是37.65小时。发现血浆中平均AUC_{0-48hr}是 $12571\text{ng}\cdot\text{hr}/\text{ml}$ 。肿瘤、肺和脾中氨基蝶呤的平均半衰期分别是9.65、11153和51.87小时。肝浓度的终末斜率不允许计算半衰期,因为在48小时,浓度高于12小时和24小时。发现肿瘤、肺、脾和肝的平均AUC_{0-48hr}分别是9559、4276、4586和9909 $\text{ng}\cdot\text{hr}/\text{g}$ 。

[0915] 实例141

[0916] 交联氨基蝶呤胶束的抗肿瘤功效 MFE-296人类子宫内膜肿瘤细胞系从ATCC接收并根据ATCC培养。雌性无胸腺NCR裸小鼠(CrTac:Ncr-Foxn1nu)由泰康尼克公司(Taconic)提供。在右侧腹部,用含有MFE-296肿瘤细胞的悬浮液(约 1×10^7 个细胞/小鼠)的0.1ml 50%RPMI 1640/50%MatrigelTM(马萨诸塞州贝德福的碧迪生物科学公司(BD Biosciences,Bedford,MA))混合物皮下接种雌性无胸腺裸小鼠。接种二十天后,肿瘤使用卡尺测量,并使用式 $V = (W^2 \times L) / 2$ 计算肿瘤重量,其中宽度(W)是最大直径测量值并且长度(L)是垂直于宽度的直径测量值。将肿瘤尺寸为 $80-257\text{mm}^3$ 的五十只小鼠随机化到每组十只小鼠的五组中,通过随机平衡,平均约 143mm^3 。当小鼠随机化时记录体重并此后结合肿瘤测量,每周进行两次。处理组包括聚合物对照、游离1.5mg/kg氨基蝶呤、来自实例131的1.5mg/

kg和7.5mg/kg的氨基蝶呤胶束。通过尾静脉的静脉内投与,在第1天、第8天和第15天进行处理,或一周一次,持续三周(3×QW)。注射0.2mL且媒剂是等渗生理食盐水。每组的肿瘤生长图展示在图25中。到第28天,聚合物对照组达到973.9mg平均肿瘤重量。此组在研究期间未经历明显的体重减轻。未观测到不良给药反应。到第28天,用1.5mg/kg氨基蝶呤调配物处理产生1330.4mg的平均肿瘤重量。在第28天,与媒剂对照物相比,此组未产生值得报告的抑制。此组在研究期间未经历明显的体重减轻。未观测到不良给药反应。到第28天,用7.5mg/kg氨基蝶呤调配物处理产生599.7mg的平均肿瘤重量。在第28天,与媒剂对照物相比,此组产生44.8%的抑制。此组经历轻度的体重减轻,最大在第4天,为4.3%。体重到第15天完全恢复。未观测到不良给药反应。到第28天,用1.5mg/kg游离氨基蝶呤处理产生1115.1mg的平均肿瘤重量。在第28天,与媒剂对照物相比,此组未产生值得报告的抑制。在第28天,与媒剂对照物相比,未观测到肿瘤重量显著性差异。此组在研究期间未经历明显的体重减轻。

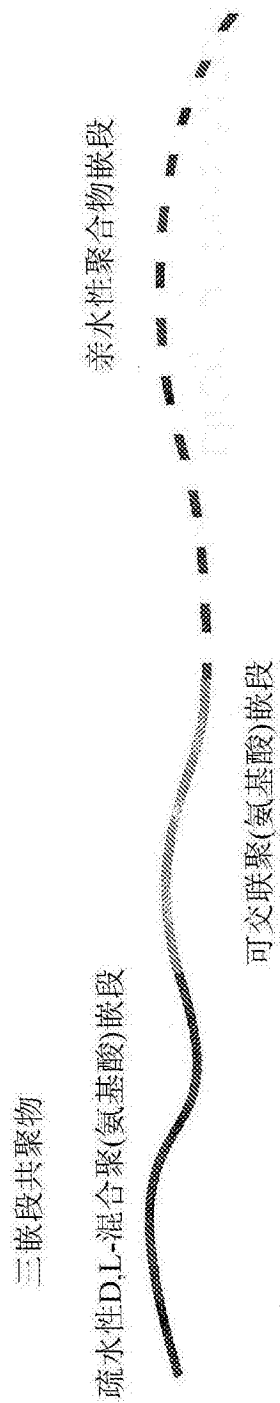


图1a

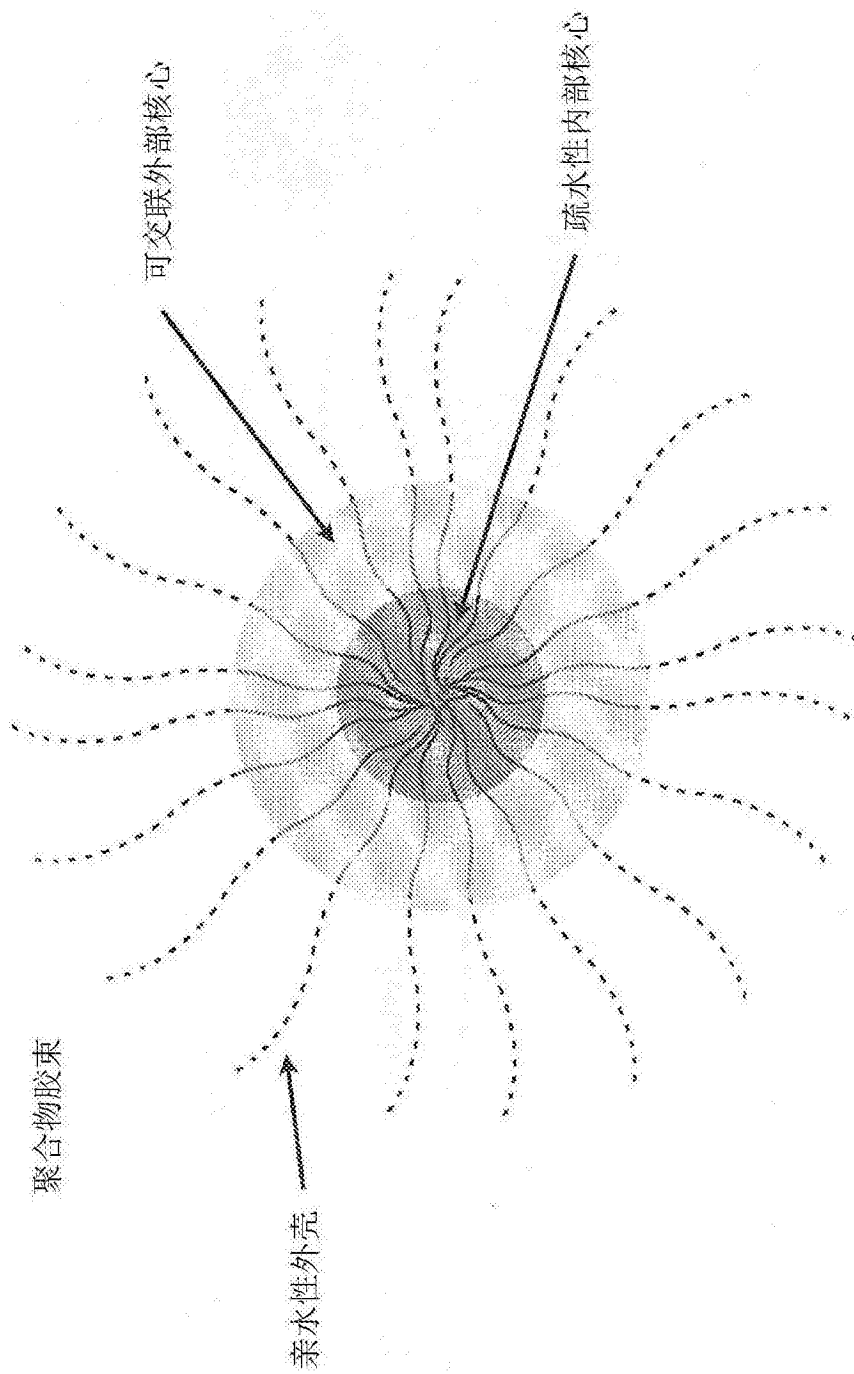


图1b

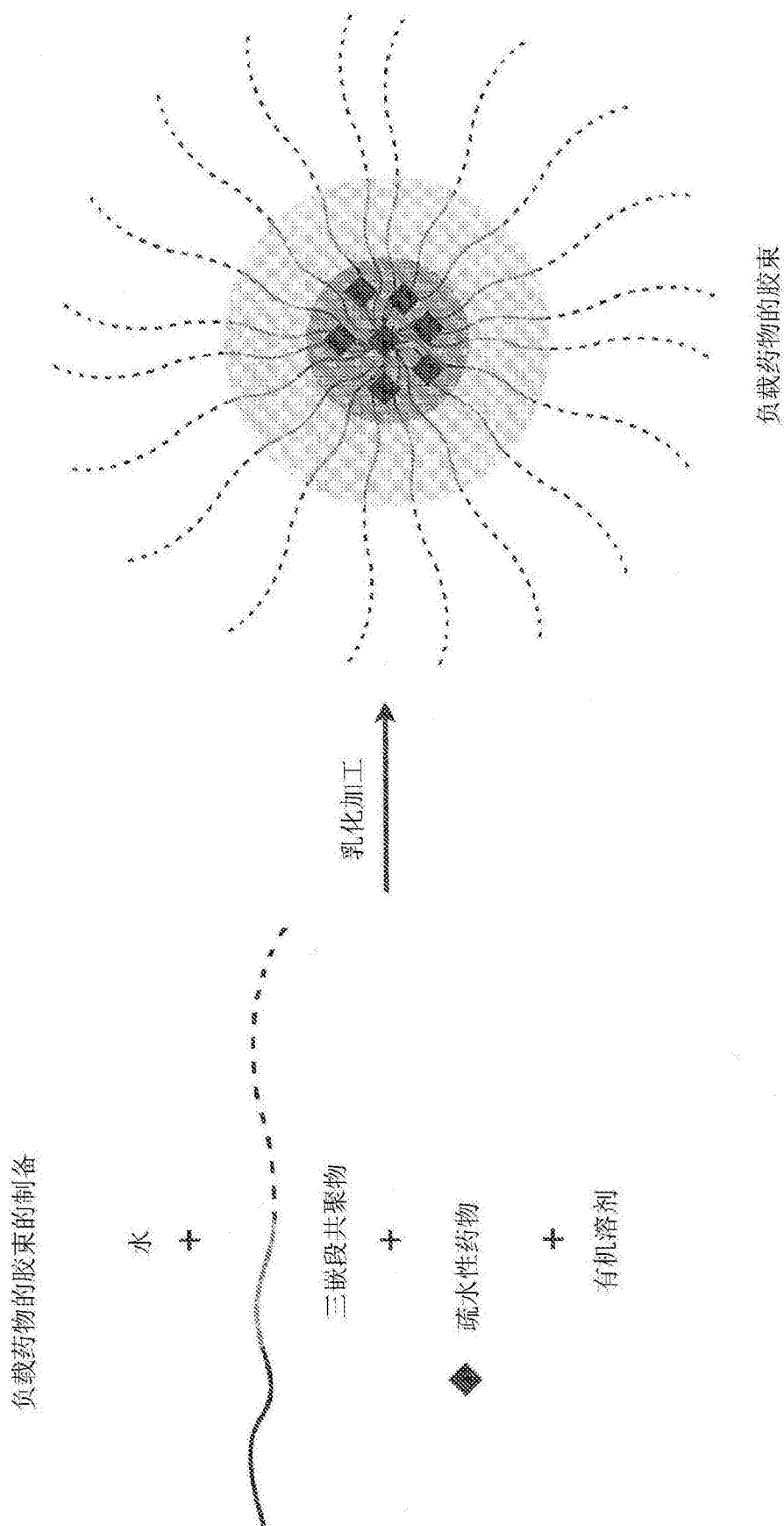


图2

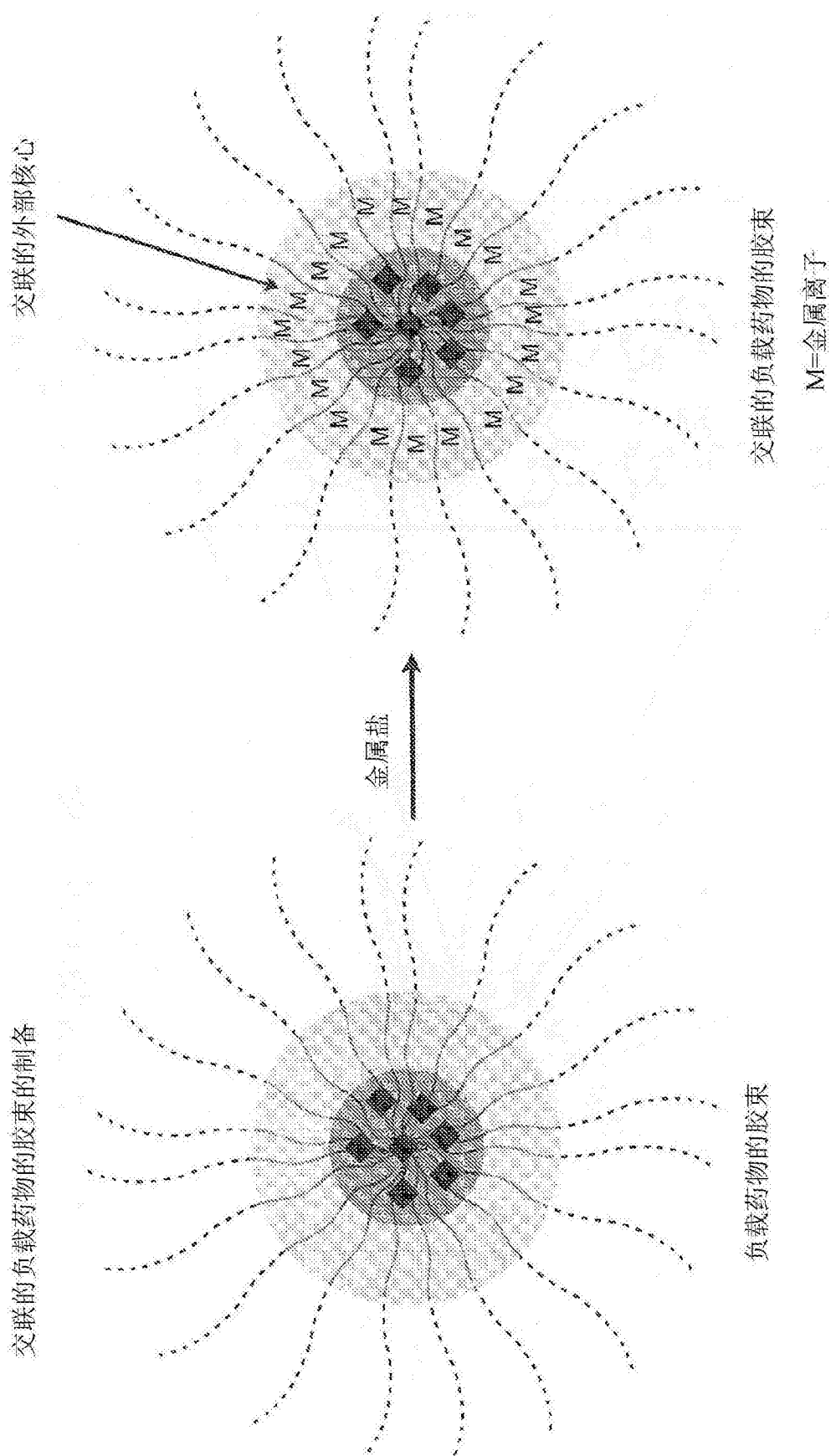


图3

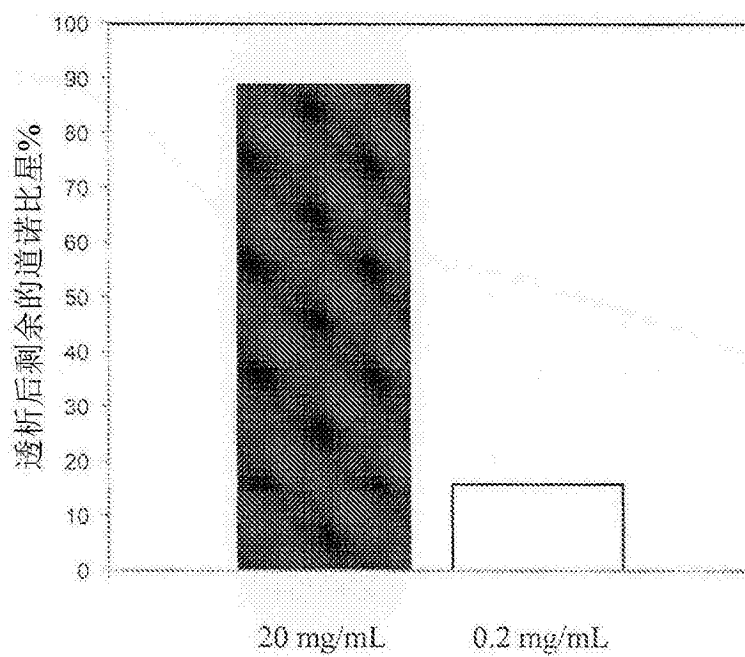


图5

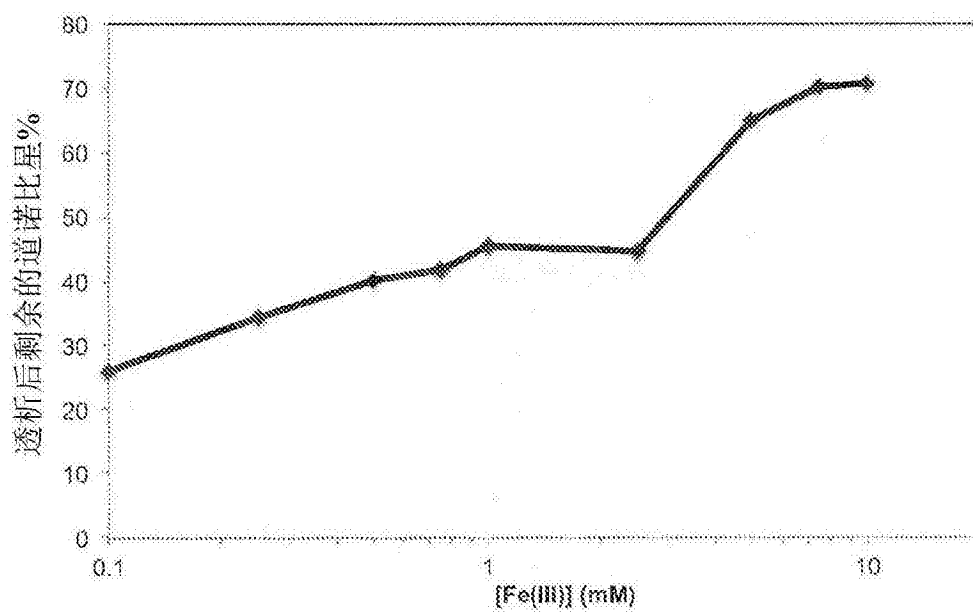


图6

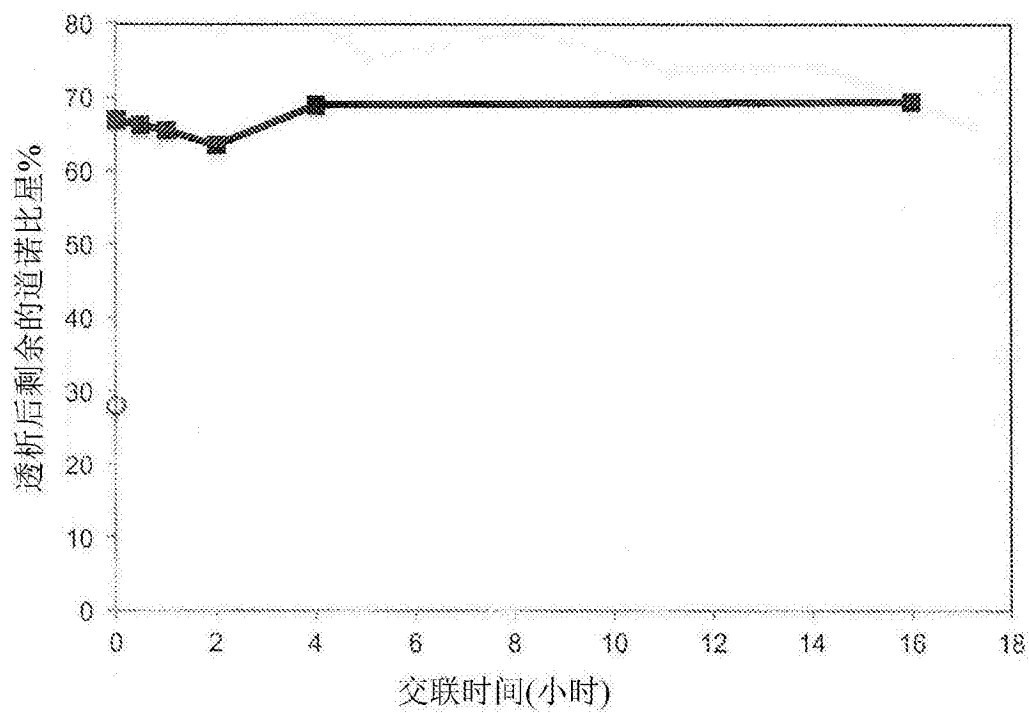


图7

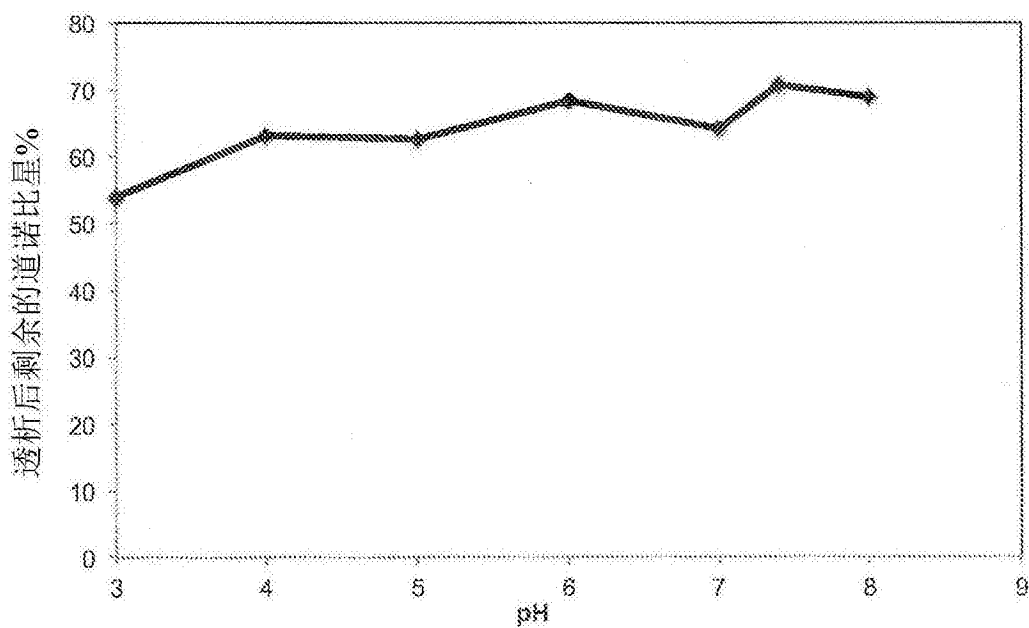


图8

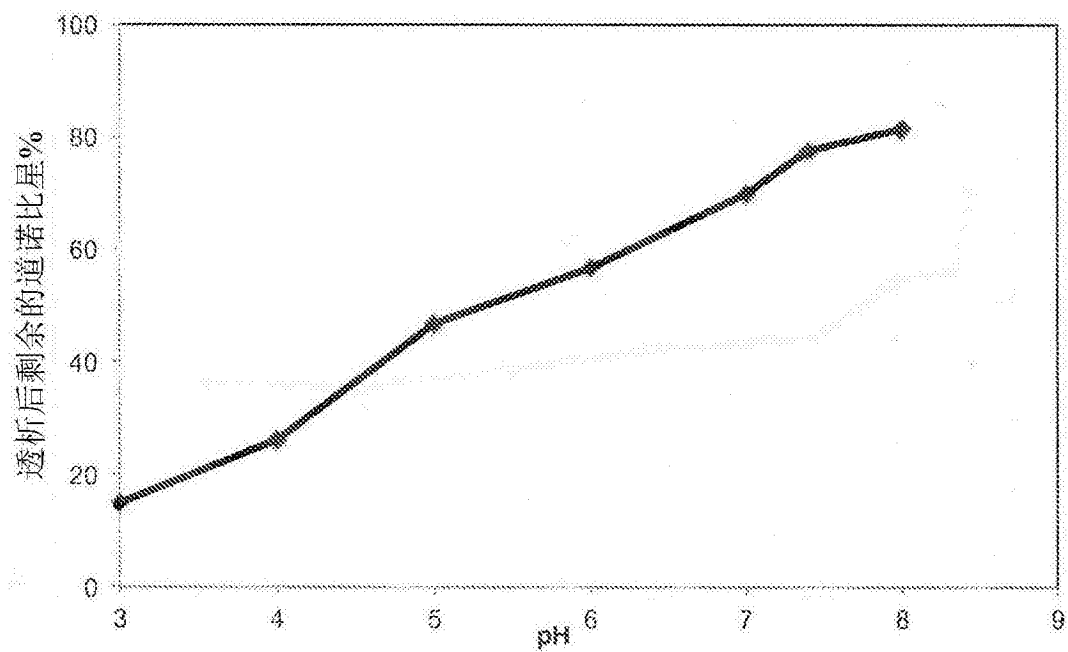


图9

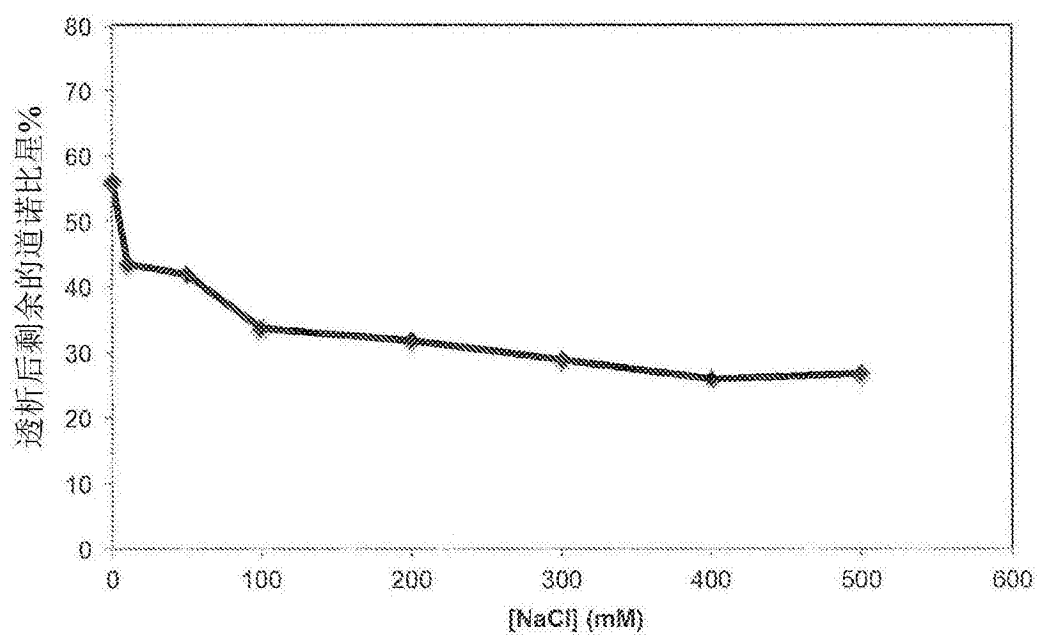


图10

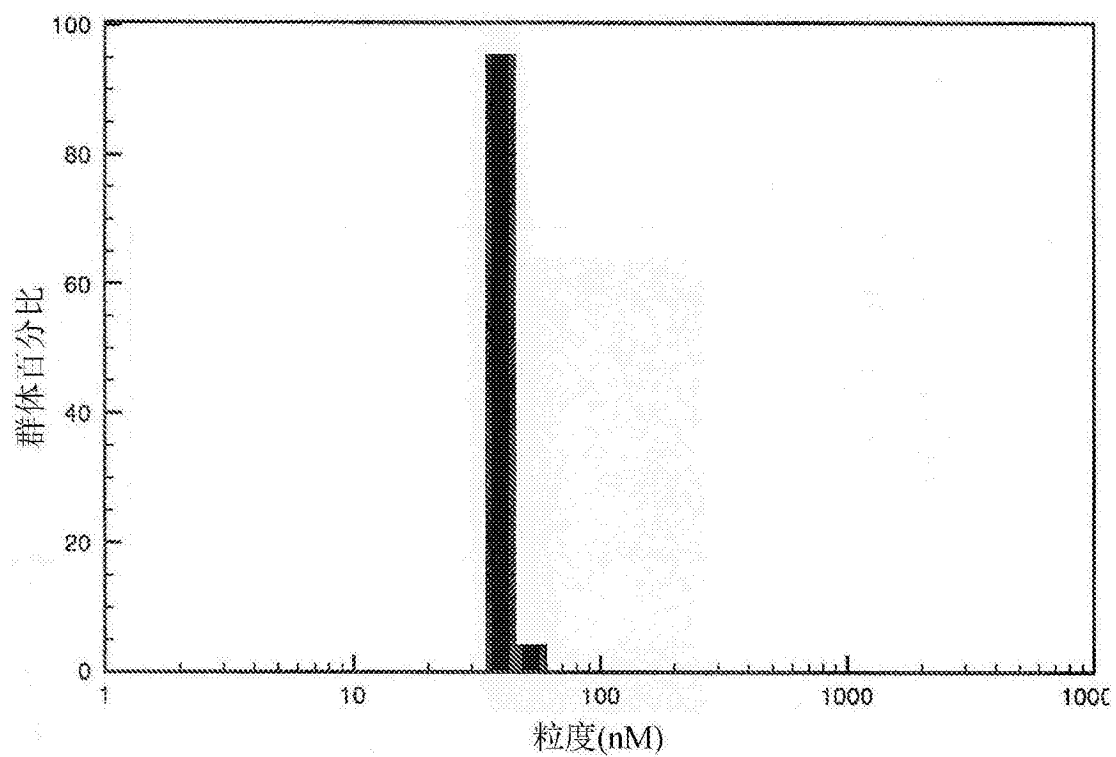


图11

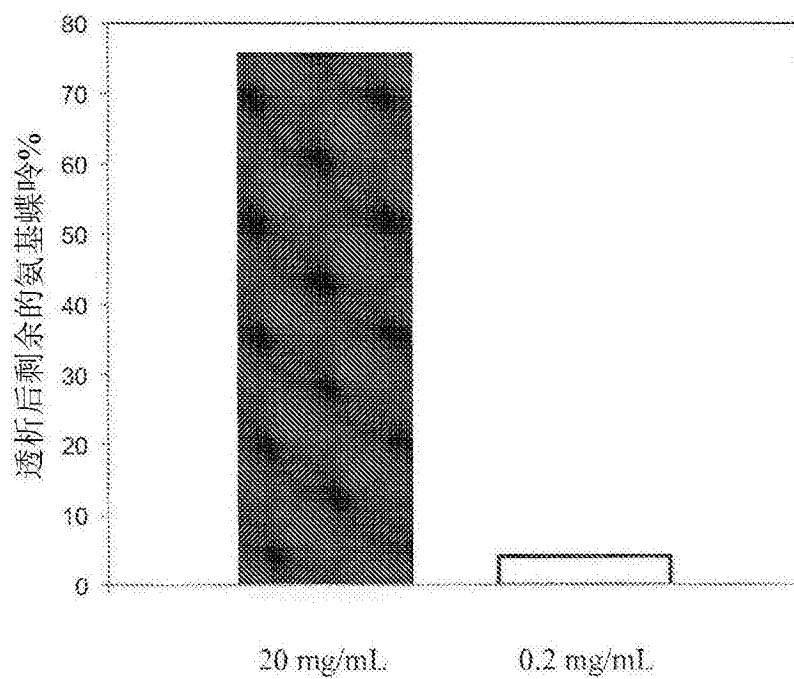


图12

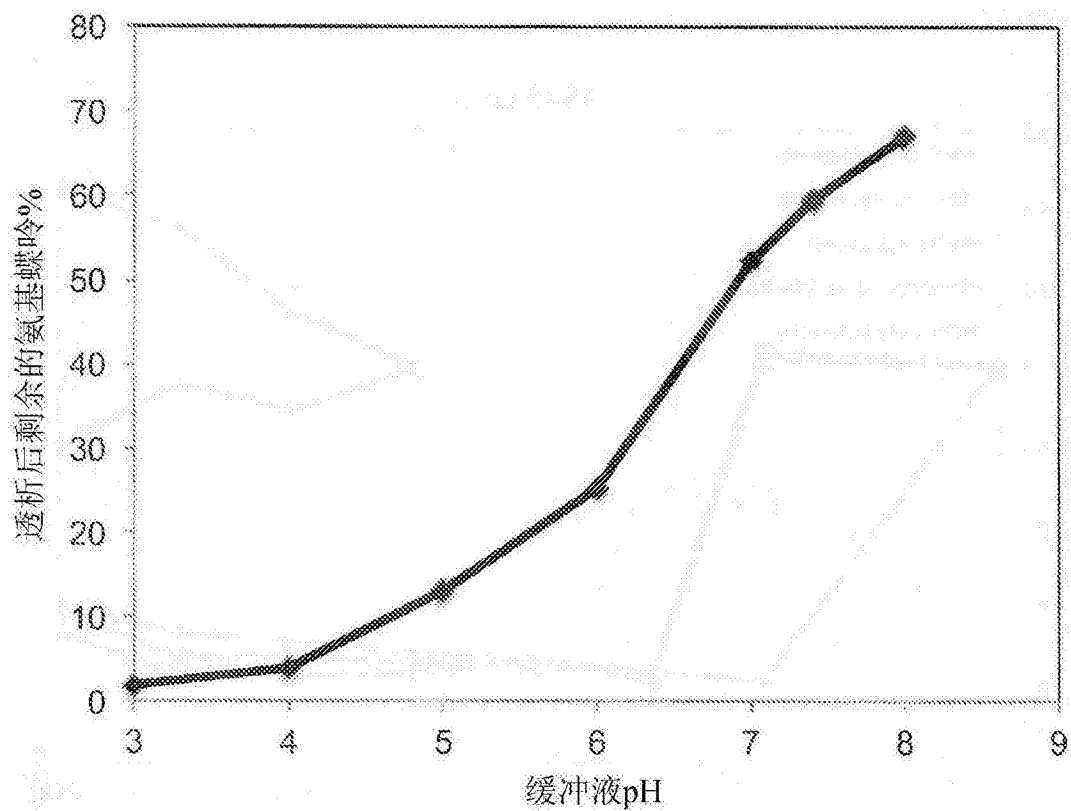


图13

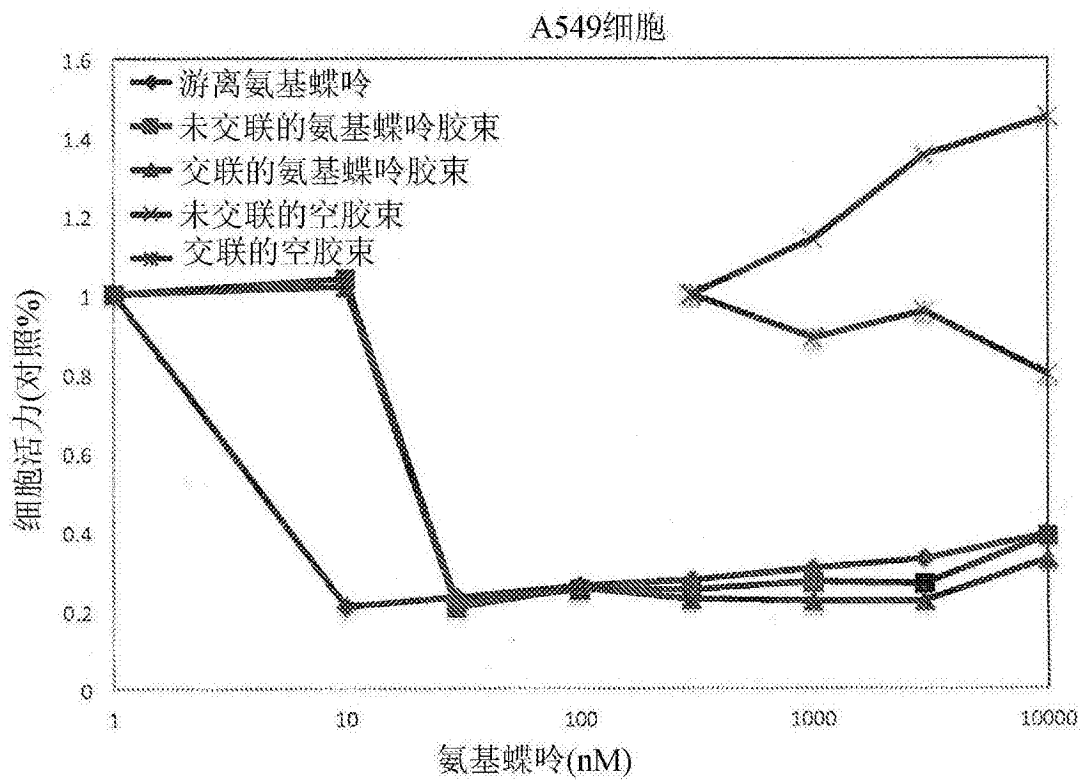


图14

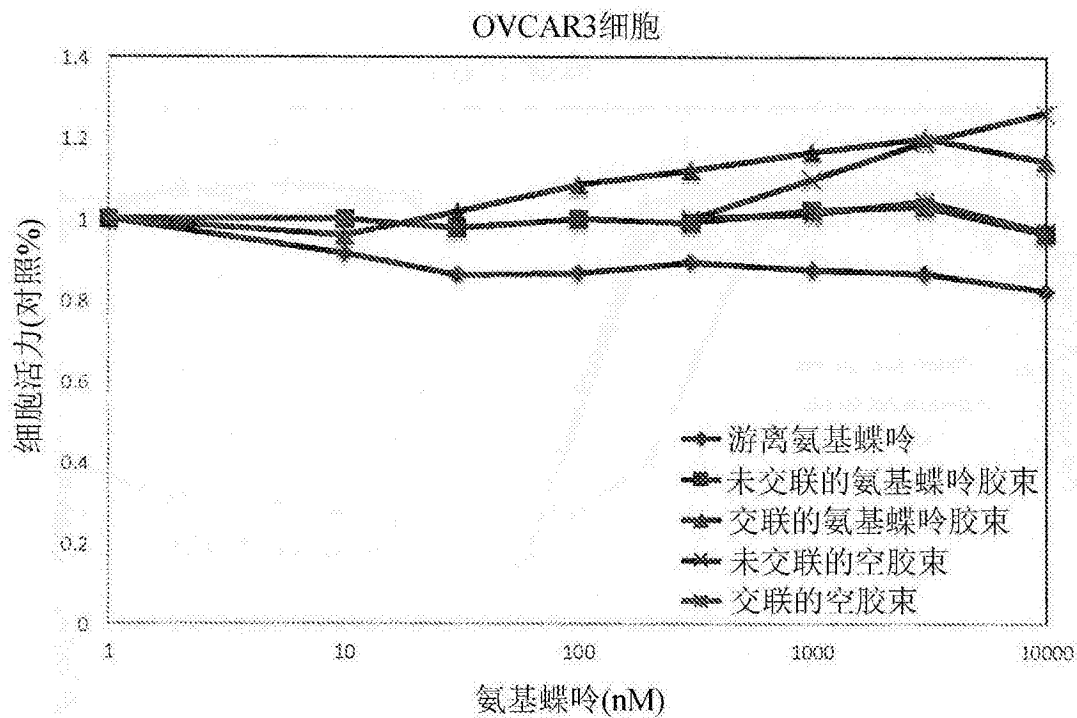


图15

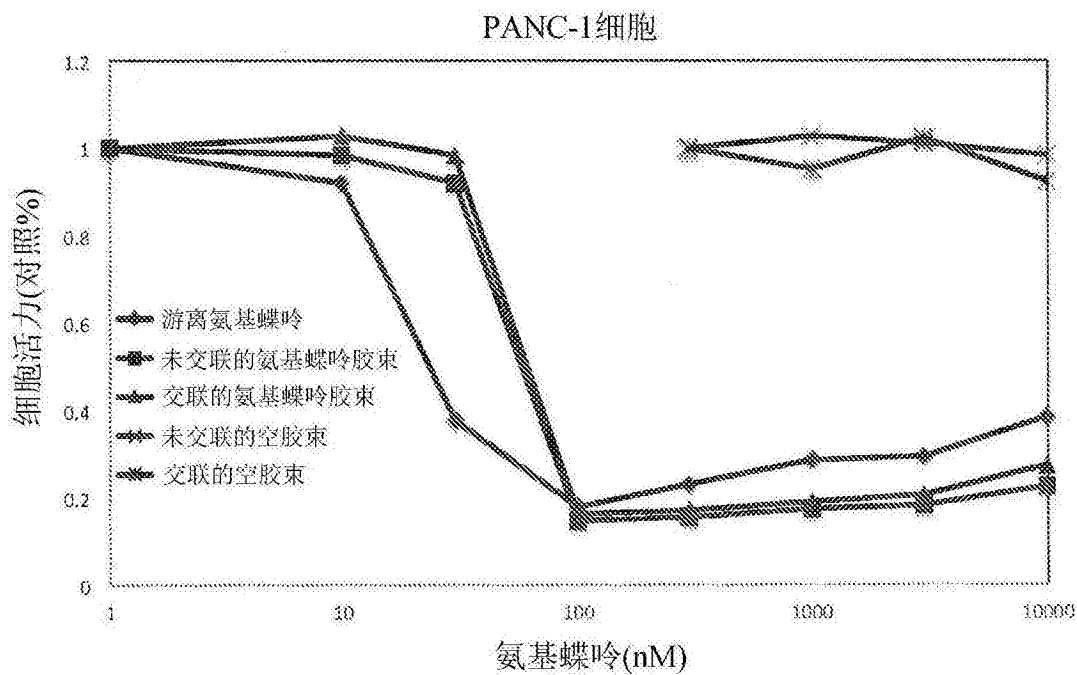


图16

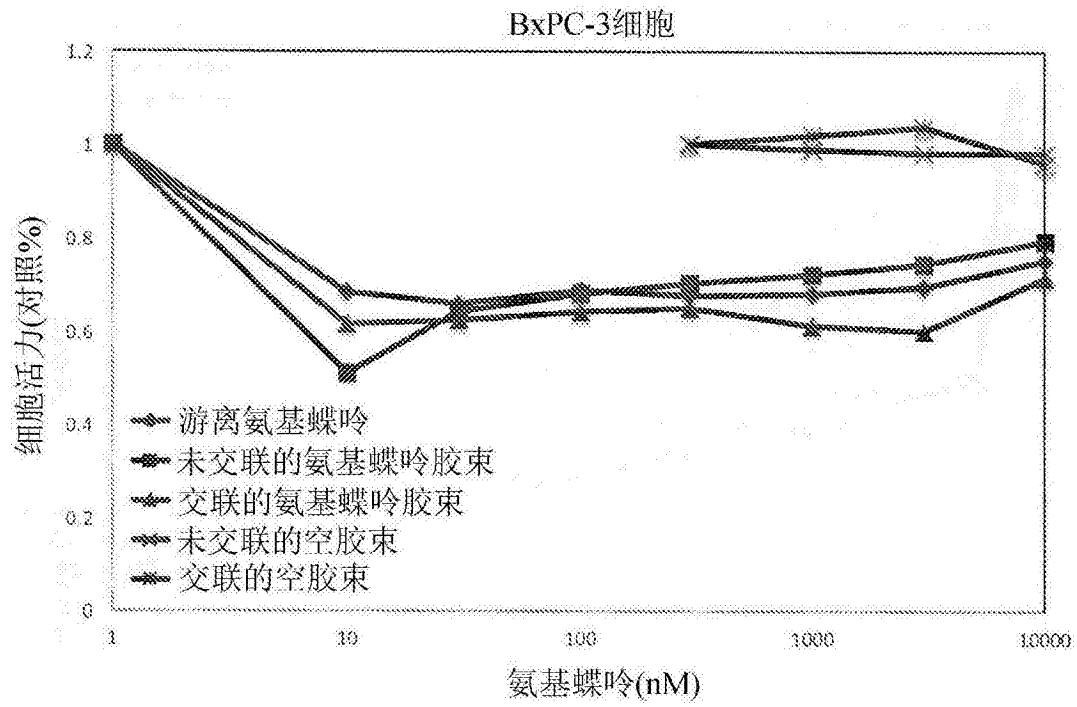


图17

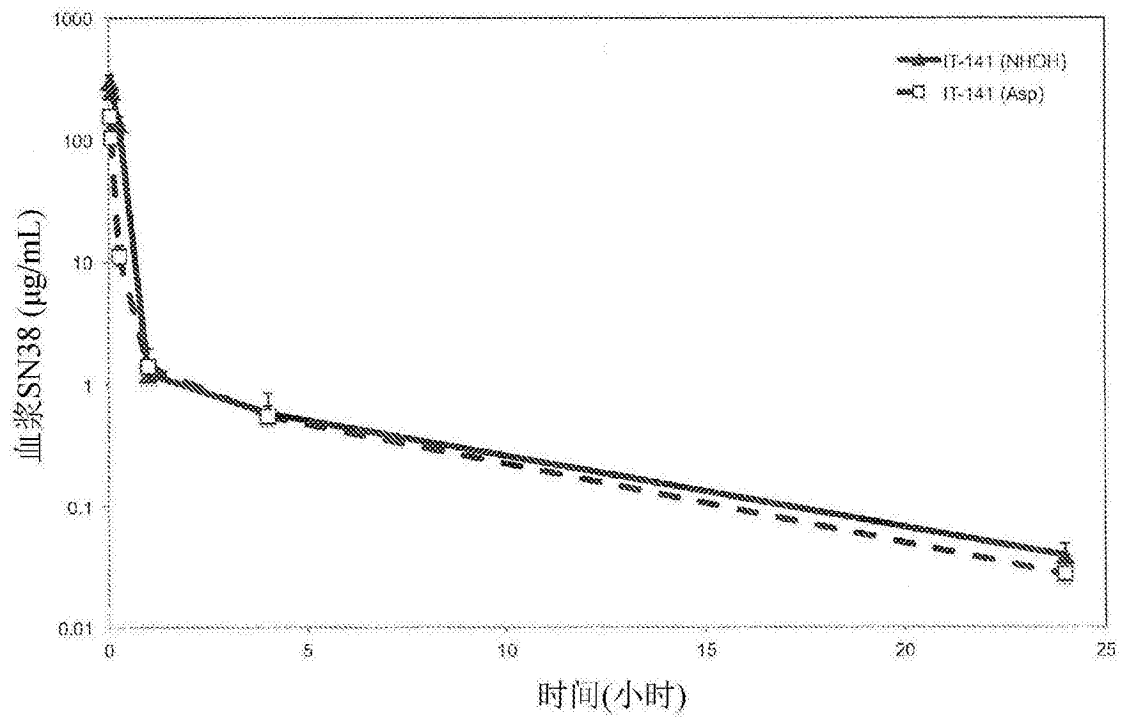


图18

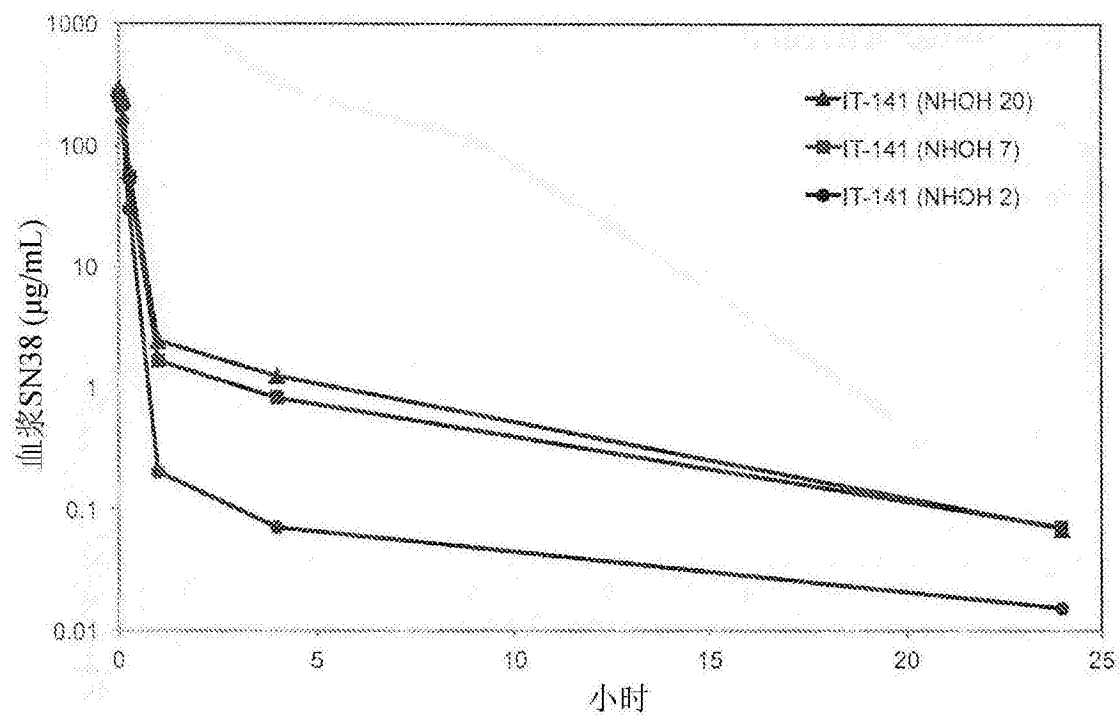


图19

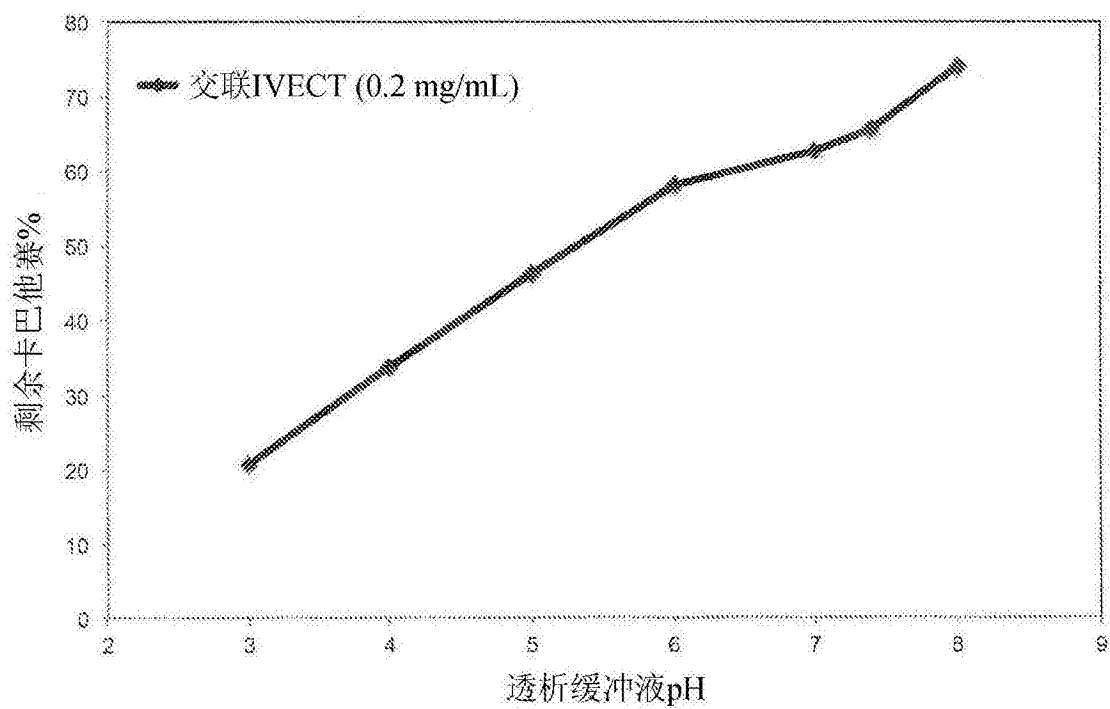


图20

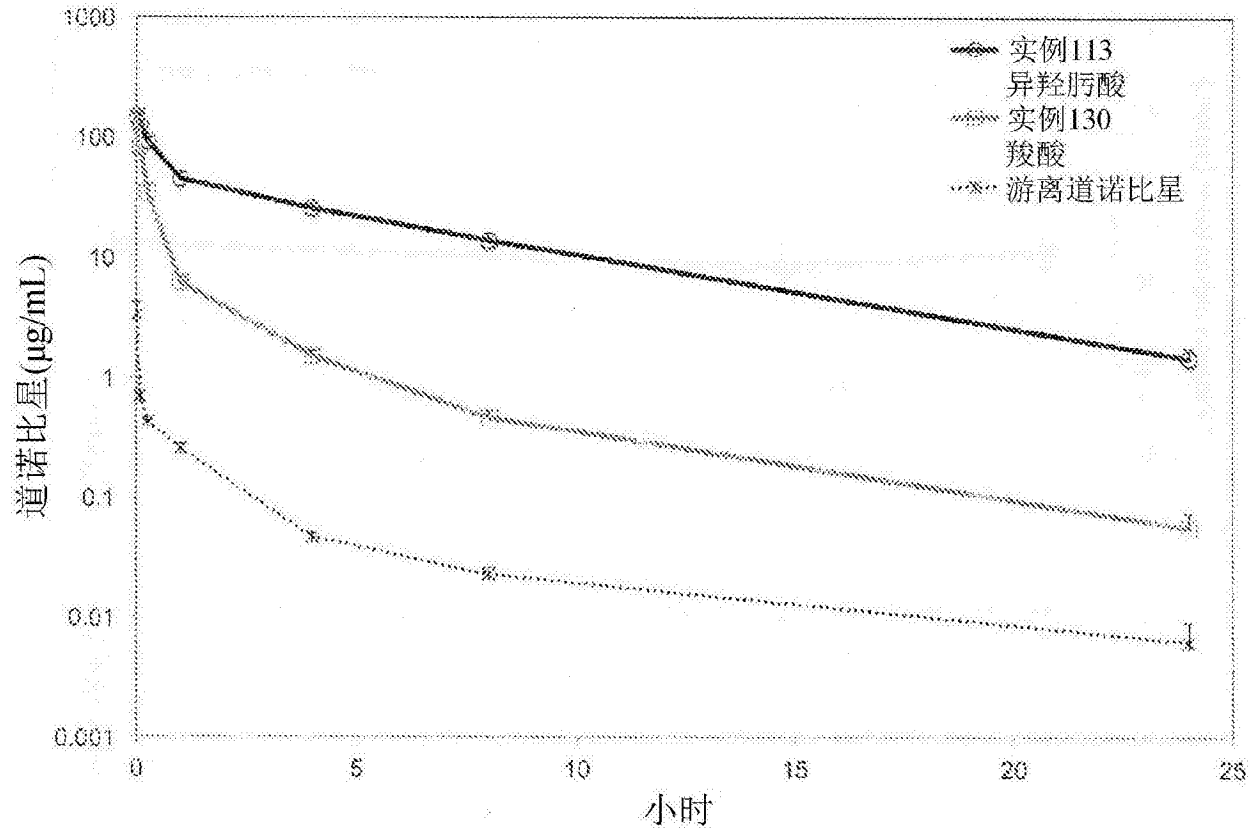


图21

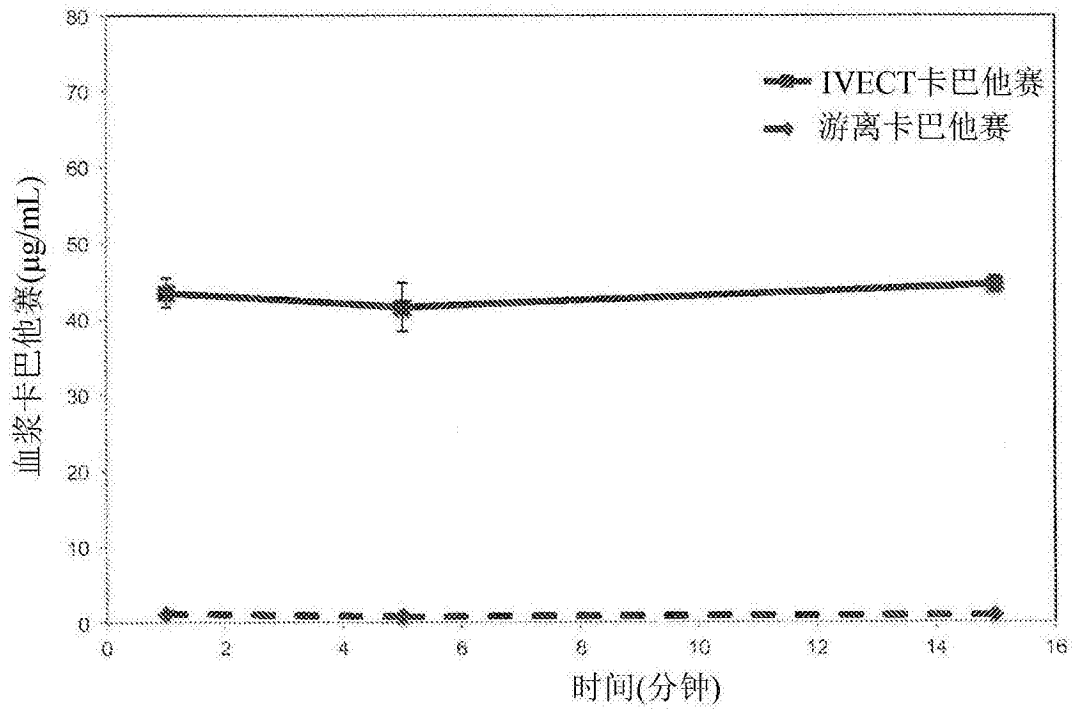


图22

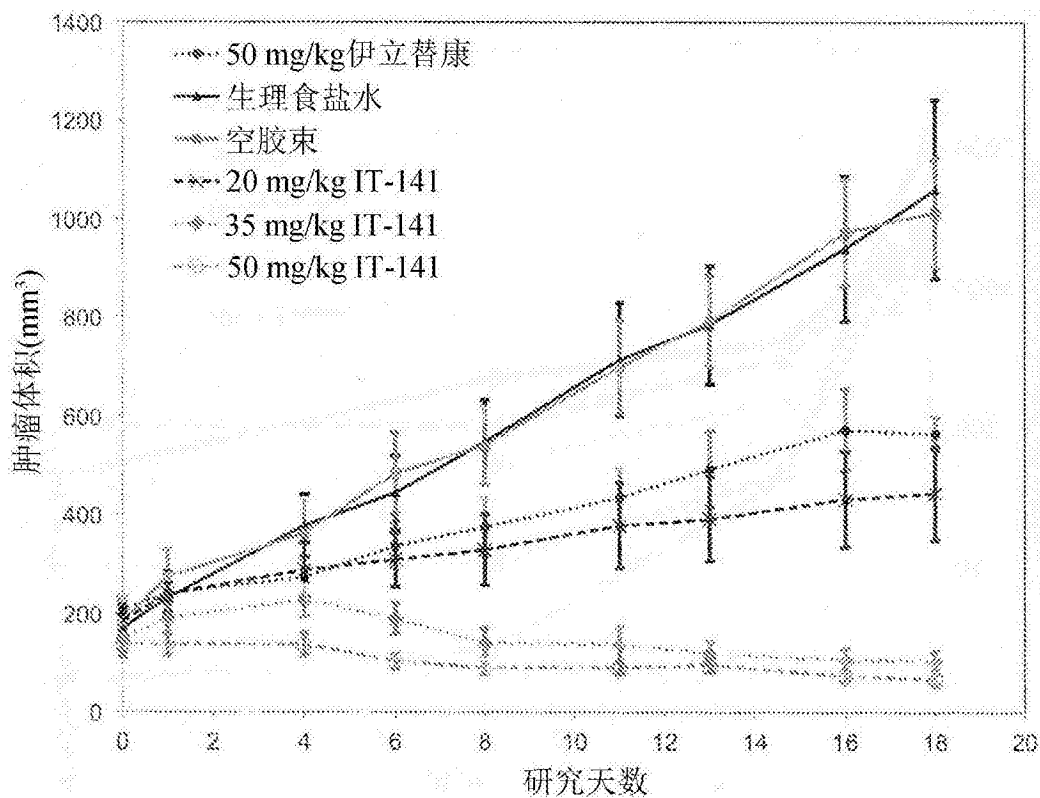


图23

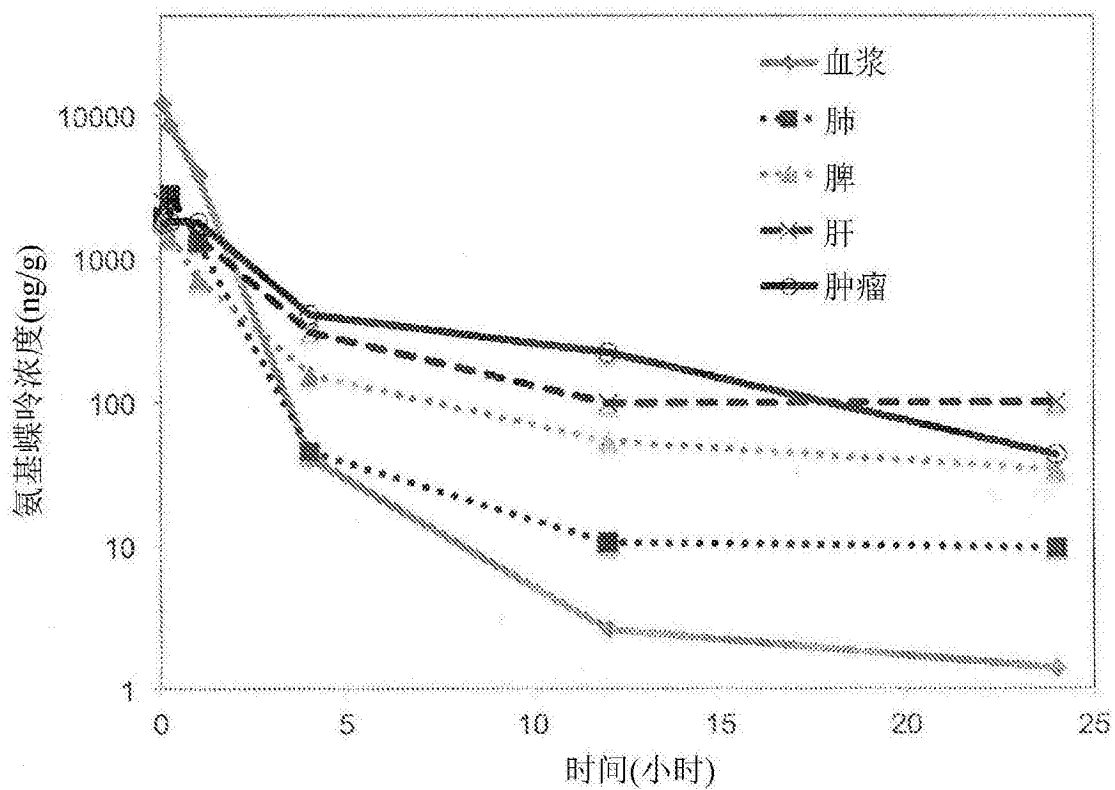


图24

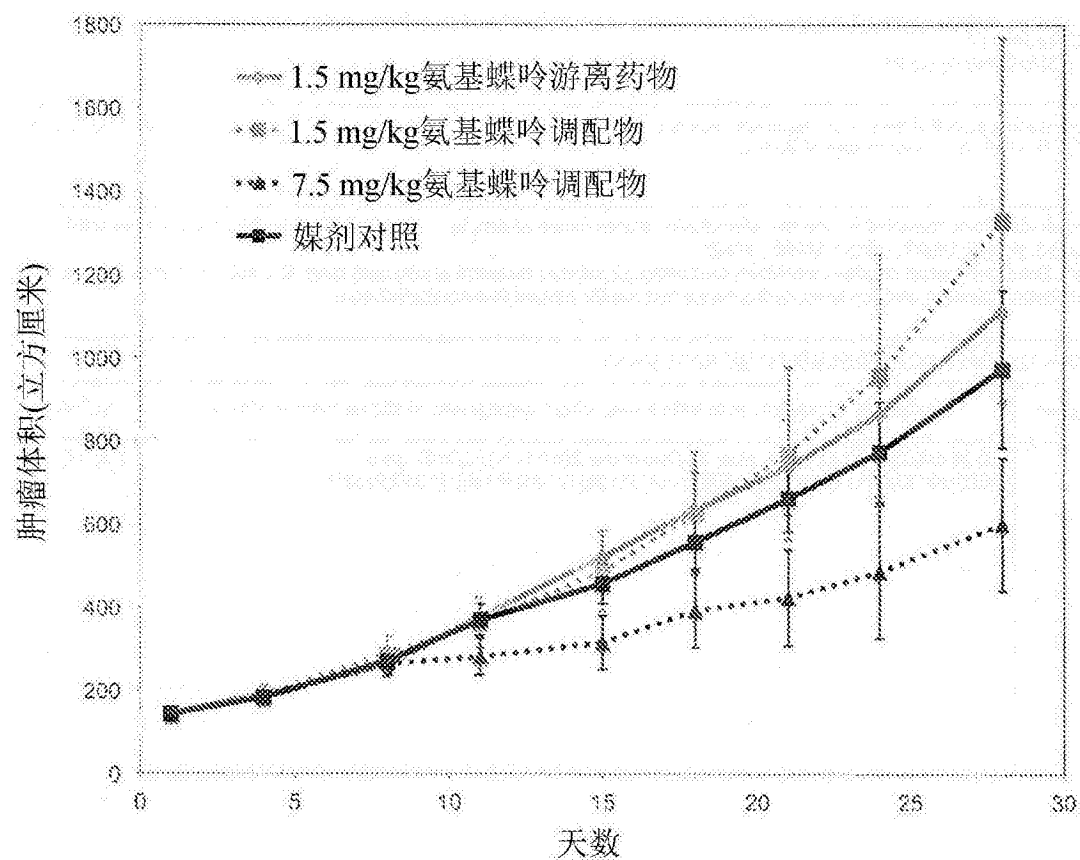


图25