

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

C07H 19/10 (2006.01)

C07H 19/00 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680030082.8

[43] 公开日 2009年8月5日

[11] 公开号 CN 101501054A

[22] 申请日 2006.6.29

[21] 申请号 200680030082.8

[30] 优先权

[32] 2005.6.29 [33] US [31] 60/695,755

[86] 国际申请 PCT/US2006/025881 2006.6.29

[87] 国际公布 WO2007/002931 英 2007.1.4

[85] 进入国家阶段日期 2008.2.18

[71] 申请人 施瑞修德制药公司

地址 美国加利福尼亚州

[72] 发明人 M·麦特尔西 J·X·段 H·焦

J·凯泽曼 S·阿蒙斯

[74] 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司

代理人 赵蓉民 路小龙

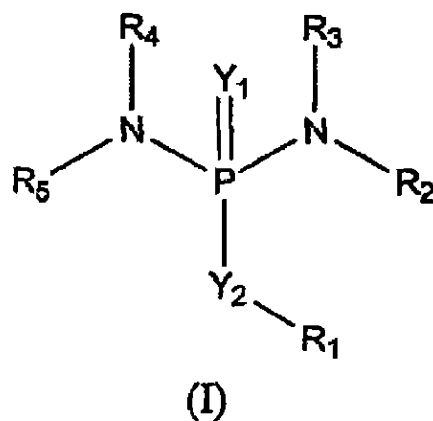
权利要求书 24 页 说明书 150 页 附图 7 页

[54] 发明名称

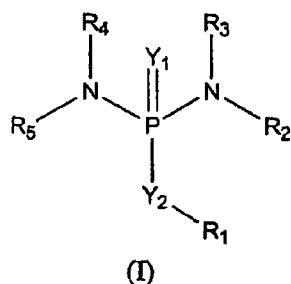
氨基磷酸酯烷化剂前体药物

[57] 摘要

当氨基磷酸酯烷化剂前体药物单独施用或与其它一种或多种抗肿瘤药联合施用，氨基磷酸酯烷化剂前体药物可被用来治疗癌症。



1. 分子式(I)的化合物:



;

其单独的异构体或者异构体的外消旋或非外消旋混合物、生物电子等排物、药效团、药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物或前体药物;

其中

Y_1 是 O、S、 NR_6 或 NSO_2R_6

Y_2 是 O、S、 NR_6 、 $NCOR_6$ 或 NSO_2R_6 , 其中每一 R_6 独立为 (C_1-C_6) 烷基、 (C_1-C_6) 杂烷基、芳基或杂芳基;

R_1-R_5 的每一个独立地是氢、羟基、氨基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 杂烷基、 C_3-C_8 环烷基、杂环基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷基氨基、 C_1-C_6 二烷基氨基、芳基、杂芳基、 C_1-C_6 酰基、 C_1-C_6 杂酰基、芳酰基或杂芳酰基; 或者 R_1-R_5 的任意两个一起形成 C_3-C_{10} 杂环; 或者 R_1-R_5 的每一个独立为具有式 L- Z_3 的触发物 T;

L 选自

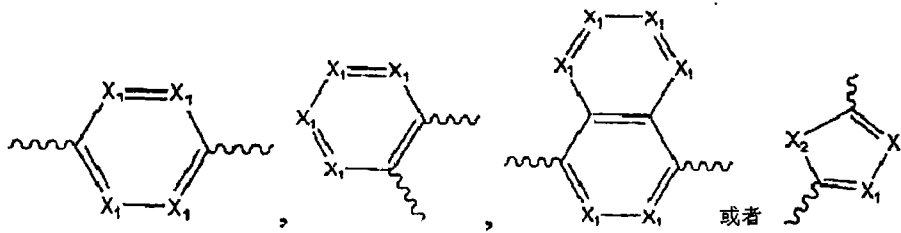
$-[C(Z_1)_2-Y_3]_v-[C(=O)-O]_q-[C(Z_1)_2-Z_2-Y_4]_u-[C(Z_1)_2]_z-[C(Z_1)=C(Z_1)]_g-$; 和
 $-[C(Z_1)_2-Y_3]_v-(S(=O)_2)_q-[C(Z_1)_2-Z_2-Y_4]_u-[C(Z_1)_2]_z-[C(Z_1)=C(Z_1)]_g$; 其中每一个 z、v、q、u 和 g 独立为 0 或者 1;

Y_3 是 S、O 或 NR_7 , 其中每一 R_7 独立地是氢、羟基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 杂烷基、 C_3-C_8 环烷基、杂环基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷基氨基、 C_1-C_6 二烷基氨基、芳基、杂芳基、 C_1-C_6 酰基、 C_1-C_6 杂酰基、芳酰基或杂芳酰基;

Y_4 是 O、S 或者 $-NR_7-C(=O)-O-$;

每一 Z_1 和 Z_1 独立为氢、卤素、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 杂烷基、芳基、杂芳基、 C_3-C_8 环烷基、杂环基、 C_1-C_6 酰基、 C_1-C_6 杂酰基、芳酰基或杂芳酰基;

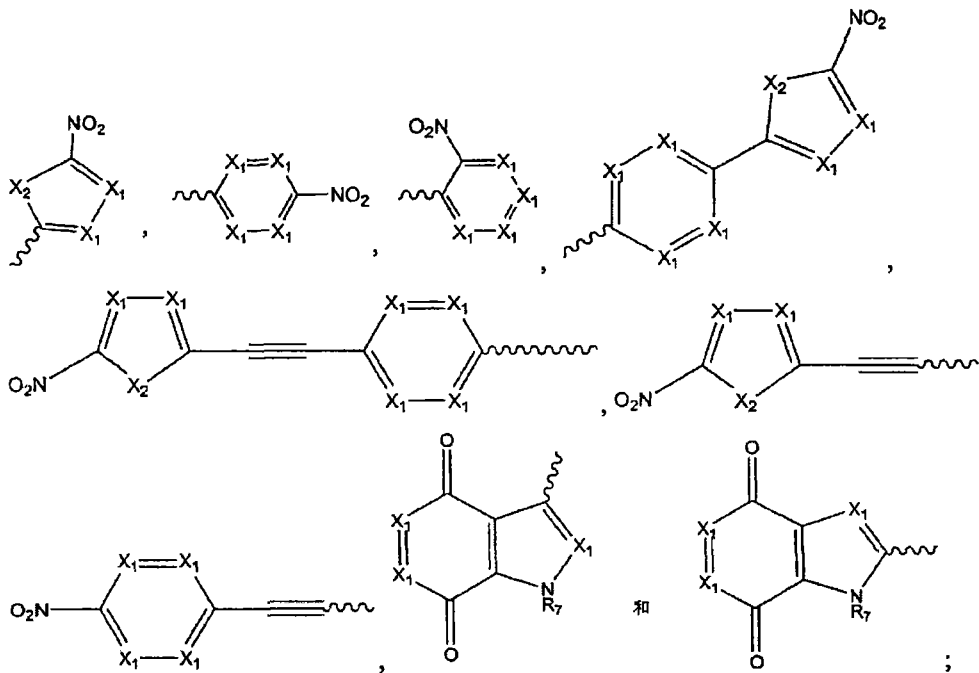
Z_2 是 C_1-C_6 亚烷基、 C_1-C_6 杂亚烷基,



其中每一 X_1 独立为 N 或 CR_8 ，其中 R_8 独立地是氢、卤素、硝基、氰基、 CHF_2 、 CF_3 、 CO_2H 、氨基、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 杂烷基、 C_1 - C_6 环烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 烷基氨基、 C_1 - C_6 二烷基氨基、芳基、 $CON(R_7)_2$ 、 C_1 - C_6 酰基、 C_1 - C_6 杂酰基、芳酰基或杂芳酰基；

X_2 是 NR_7 、S 或 O；和

Z_3 是具有选自下面的分子式的生物还原基团：



条件是在分子式(I)中：

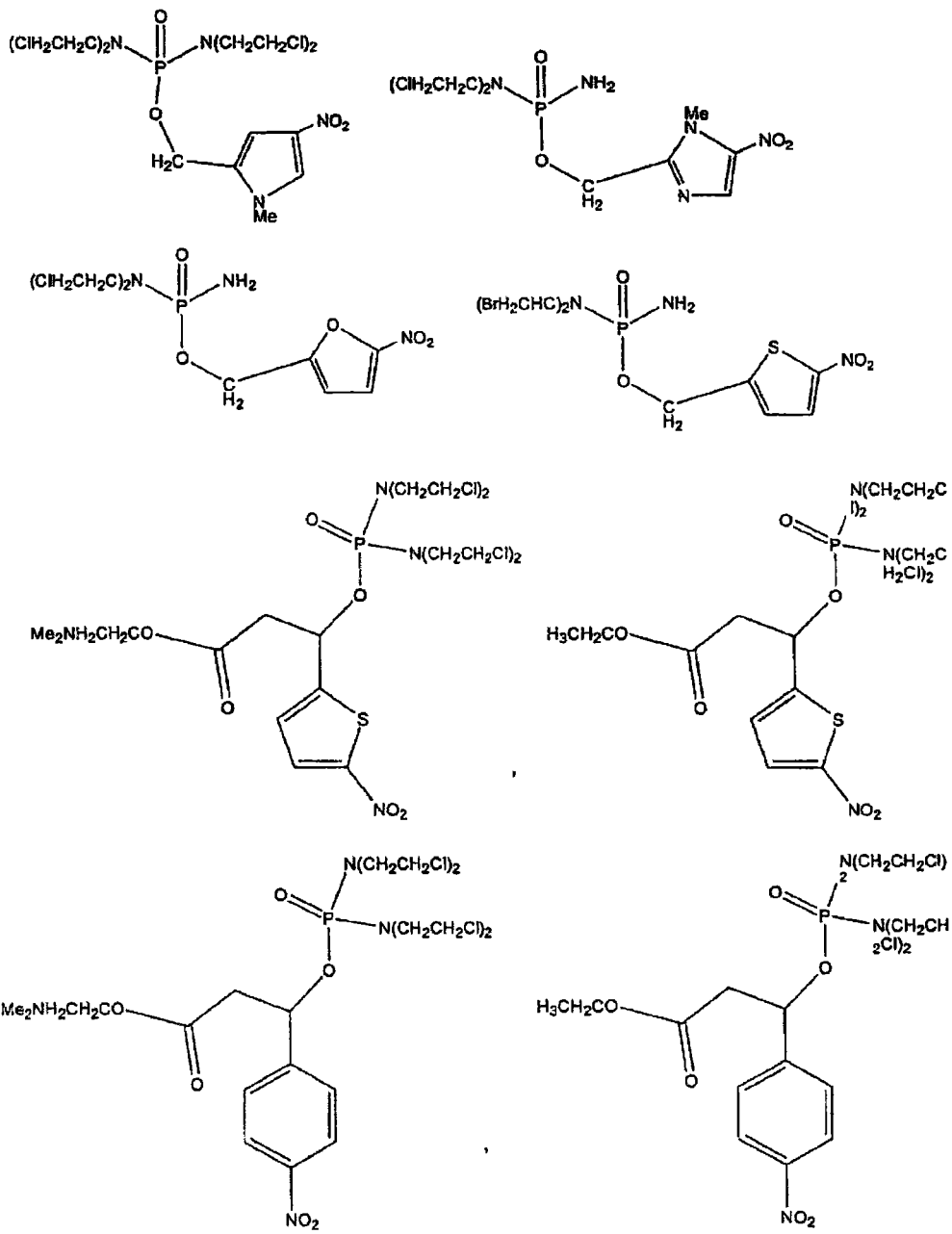
(ia) R_1 - R_5 的至少两个选自 2-卤烷基、2-烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基和 2-杂烷基磺酰氧基烷基；

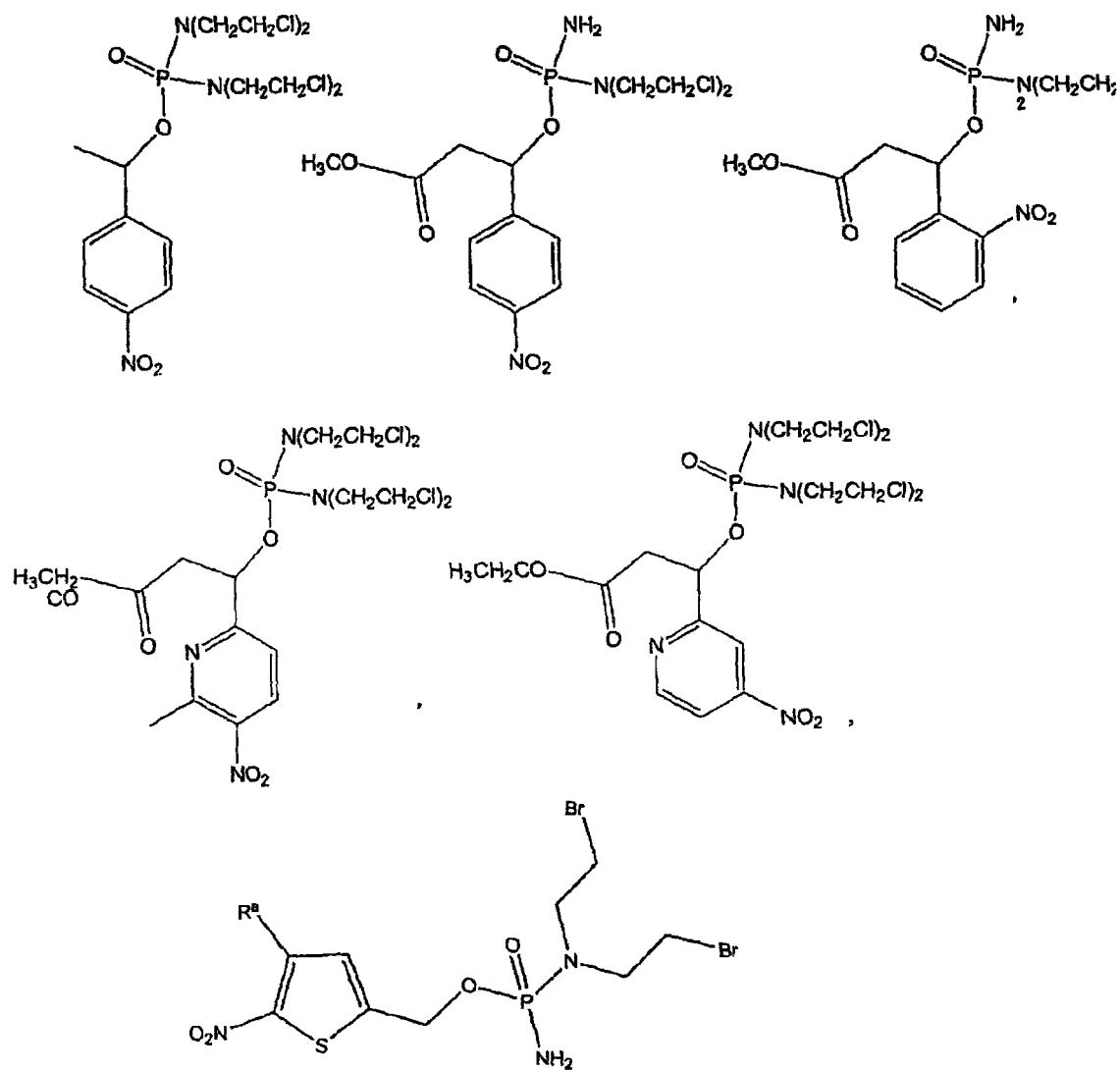
(ib) R_1 - R_5 的至少一个选自 2-卤烷基、2- C_1 - C_6 烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基和 2-杂烷基磺酰氧基烷基；并且 NR_2R_3 或 NR_4R_5 至少一个是 ；或者

(ic) NR_2R_3 和 NR_4R_5 都是 ；和

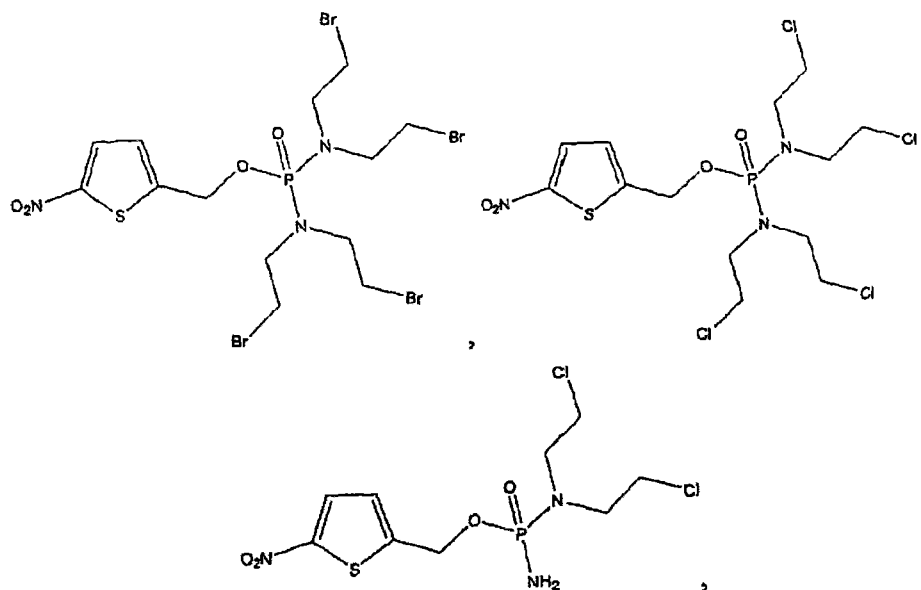
(ii) R_1 - R_5 的至少一个是所述触发物 T；及

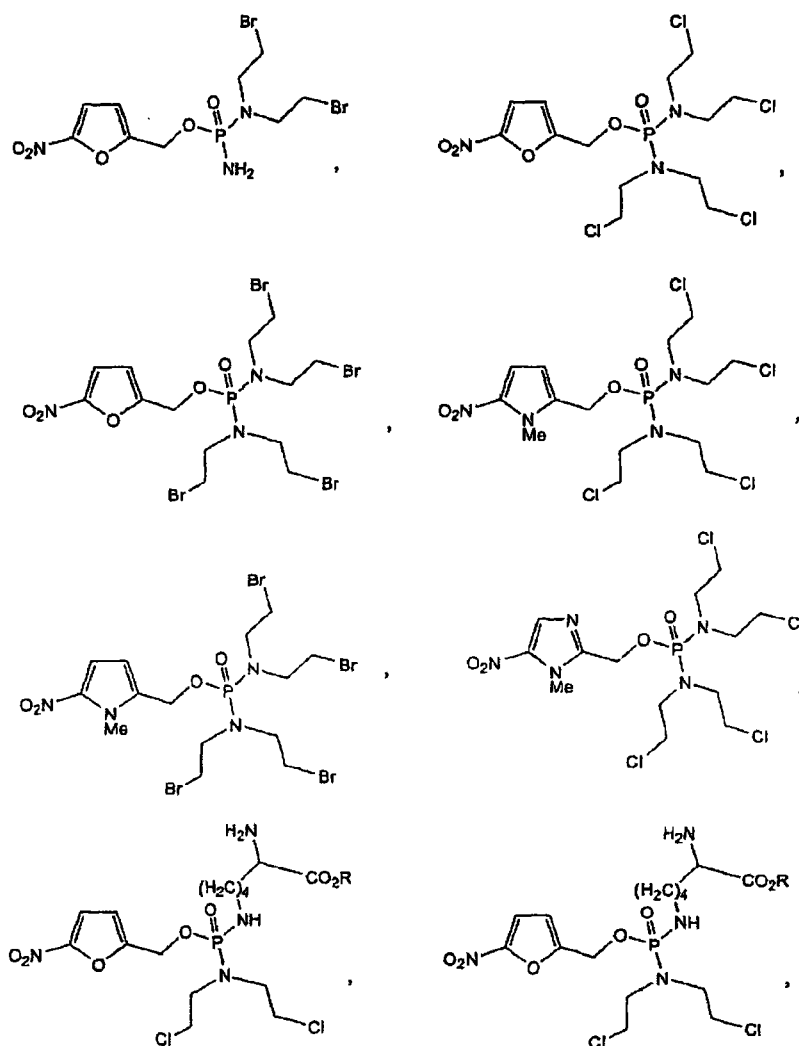
(iii) 不包括具有选自下列的分子式的化合物：





其中 R^a 是 H、Br、NMe₂、CN 或 CONH₂，





其中 R 是 H、Me 或烯丙基；

3-(5-甲氧基-1-甲基-4,7-吡啶酮基)-甲基二[N-甲基-N-(2-溴乙基)]二氨基磷酸酯，

3-(5-甲氧基-1-甲基-4,7-吡啶酮基)甲基 N,N-二(2-溴乙基)-二氨基磷酸酯，

2-(5-甲氧基-1-甲基-4,7-吡啶酮基)甲基二[N-甲基-N-(2-溴乙基)]二氨基磷酸酯，

2-(5-甲氧基-1-甲基-4,7-吡啶酮基)甲基 N,N-二(2-氯乙基)二氨基磷酸酯，

2-(5-甲氧基-1-甲基-4,7-吡啶酮基)甲基 N,N-二(2-溴乙基)二氨基磷酸酯，

3-(5-甲氧基-1-甲基-4,7-吡啶酮基)甲基 N,N-二(2-溴乙基)二氨基磷酸酯，

2-(5-甲氧基-1-甲基-4,7-吡啶酮基)甲基二[N-甲基-N-(2-溴乙基)]二氨基磷酸酯，

2-(5-甲氧基-1-甲基-4,7-吡啶酮基)甲基 N,N-二(2-氯乙基)二氨基磷酸酯， 和

2-(5-甲氧基-1-甲基-4,7-吡啶酮基)甲基 N,N-二(2-溴乙基)二氨基磷酸酯。

2. 权利要求 1 所述的化合物，其中 Y₁ 和 Y₂ 是 O。

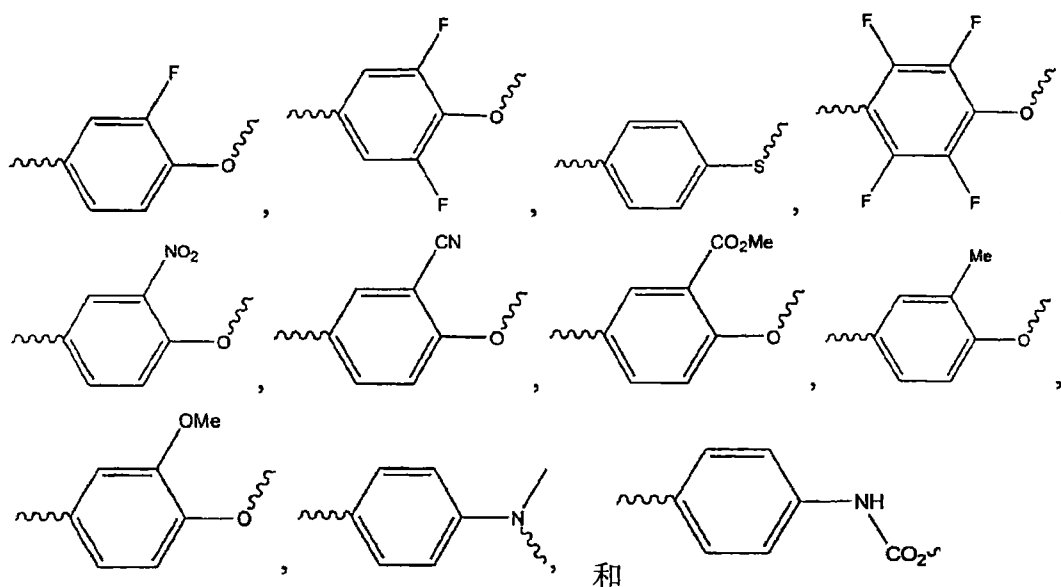
3. 前述权利要求的任一项所述的化合物，其中 R₁ 是 T。

6. 权利要求 5 所述的化合物, 其中 L 是 $-\text{C}(\text{Z}_1)_2\text{-}$ 。

7. 权利要求 5 所述的化合物, 其中每一 $-\text{C}(\text{Z}_1)_2\text{-}$ 独立地是: $-\text{CH}_2\text{-}$ 、 $-\text{CHMe-}$ 、 $-\text{CH}(\text{CN})\text{-}$ 、 $-\text{CH}(\text{CO}_2\text{H})\text{-}$ 、 $-\text{CH}(\text{CONH}_2)\text{-}$ 、 $-\text{CH}(\text{CF}_3)\text{-}$ 、 $-\text{CH}(\text{CHF}_2)\text{-}$ 、 $-\text{C}(\text{Me})_2\text{-}$ 、 $-\text{C}(\text{Et})_2\text{-}$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{NMe}_2)\text{-}$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{NMe}_2)\text{-}$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_2\text{NMe}_2)_2\text{-}$ 或 $-\text{C}(\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H})_2\text{-}$ 。

8. 权利要求 5 所述的化合物, 其中 $-\text{C}(\text{Z}_1)_2\text{-Y}_3\text{-}$ 是: $-\text{CH}_2\text{-O-}$ 、 $-\text{CH}_2\text{-S-}$ 、 $-\text{CH}_2\text{-NMe-}$ 、 $-\text{CH}_2\text{-NH-}$ 、 $\text{CH}(\text{Me})\text{-O-}$ 、 $\text{CH}(\text{Me})\text{-S-}$ 、 $-\text{CH}(\text{Me})\text{-NMe-}$ 、 $-\text{CH}(\text{Me})\text{-NH-}$ 、 $-\text{CMe}_2\text{-NMe-}$ 、 $-\text{CMe}_2\text{-NMe-}$ 或 $-\text{CMe}_2\text{-NMe-}$ 。

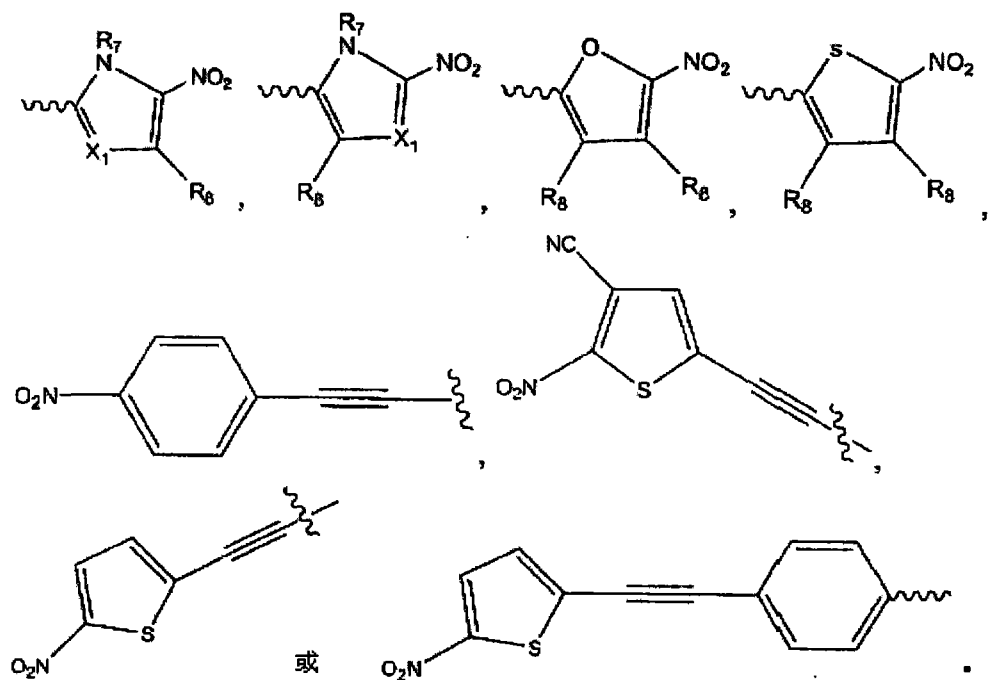
9. 权利要求 5 所述的化合物, 其中 $-\text{Z}_2\text{-Y}_4\text{-}$ 合起来选自:



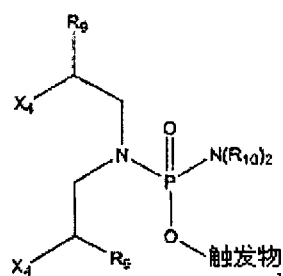
。

10. 权利要求 5 所述的化合物, 其中 $-\text{C}(\text{Z}_1)=\text{C}(\text{Z}_1)\text{-}$ 是: $-\text{CH}=\text{CH-}$ 、 $-\text{C}(\text{CN})=\text{CH-}$ 、 $-\text{CH}=\text{C}(\text{CN})\text{-}$ 、 $-\text{C}(\text{Ar})=\text{CH-}$ 、 $-\text{CH}=\text{CAr-}$ 、 $-\text{C}(\text{COAr})=\text{CH-}$ 、 $-\text{CH}=\text{C}(\text{COAr})\text{-}$ 、 $-\text{C}(\text{COR}_{12})=\text{CH-}$ 或 $-\text{CH}=\text{C}(\text{COR}_{12})\text{-}$, 其中 Ar 是芳基和 R_{12} 独立为氢、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 杂烷基、 $\text{C}_3\text{-C}_8$ 环烷基或杂环基。

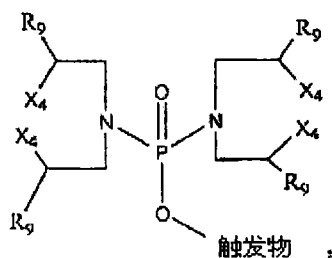
11. 权利要求 5 所述的化合物, 其中所述 Z_3 选自:



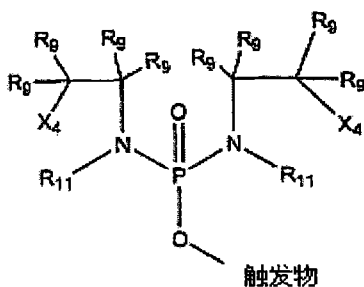
12. 权利要求 4 所述的化合物，具有分子式(IV)、(V)、(VI)或(VII)：



(IV)

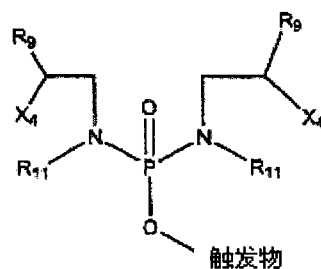


(V)



(VI)

和



(VII)

其中每一 R_9 独立为氢、芳基、杂芳基、 C_1 - C_4 烷基、 C_1 - C_6 杂烷基、 C_3 - C_8 环烷基、杂环基、 C_3 - C_8 环烷基、杂环基、 C_1 - C_6 酰基、 C_1 - C_6 杂酰基、芳酰基或杂芳酰基、 C_1 - C_6 烷氧基羰基、 C_1 - C_6 烷基氨基羰基、 C_1 - C_6 二烷基氨基羰基或 C_1 - C_6 烷氧基；

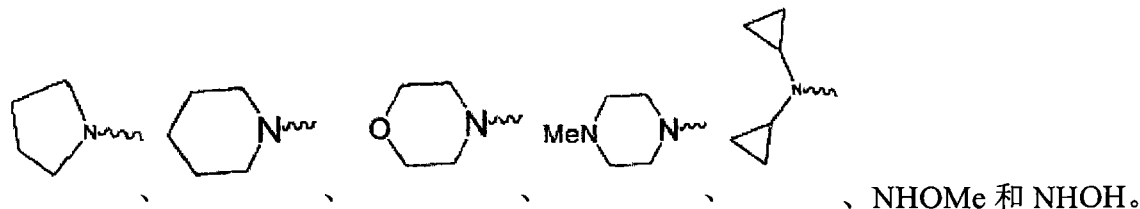
每一 R_{10} 是氢、 C_1-C_6 烷基或杂烷基、 C_3-C_8 环烷基、杂环基、 C_1-C_6 烷氧基、芳基、杂芳基或者两个 R_{10} 一起形成杂环；

每一 R_{11} 独立为氢、芳基、杂芳基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 杂烷基、 C_3-C_8 环烷基、杂环基或 C_1-C_6 烷氧基；或者两个 R_{11} 一起形成杂环；条件是当每一 R_{11} 独立地是

C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 杂烷基时则 R_{11} 不包括  ;

X_4 是 Cl、Br、烷基磺酰氧基、杂烷基磺酰氧基、芳基磺酰氧基或杂烷基磺酰氧基。

13. 权利要求 12 所述的化合物，具有分子式(IV)，其中每一 R_9 独立为氢、甲基、乙基、丙基、异丙基或环丙基；并且 $N(R_{10})_2$ 选自 NH_2 、 $NHMe$ 、 NMe_2 、 NEt_2 、

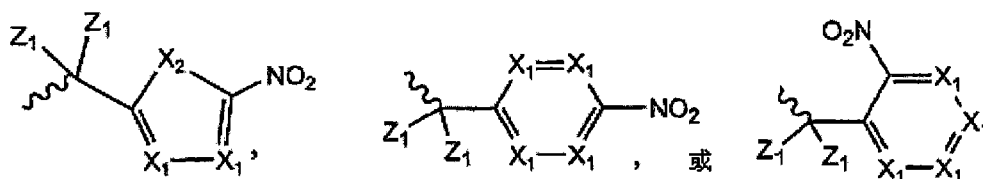


14. 权利要求 12 所述的化合物，具有分子式(V)，其中每一 R_9 独立为氢、甲基、乙基、丙基、异丙基或环丙基。

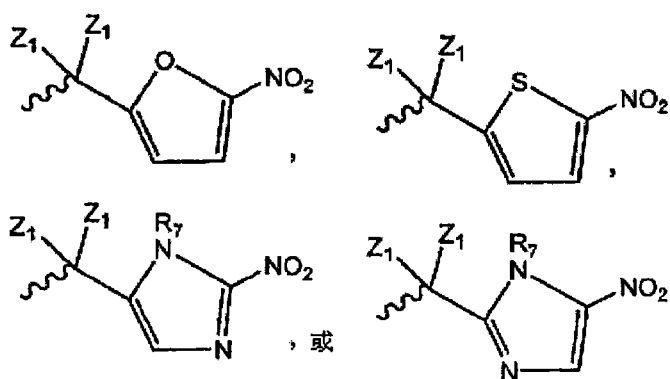
15. 权利要求 12 所述的化合物，具有分子式(VI)，其中每一 R_9 独立为氢、甲基、乙基、丙基、异丙基或环丙基，并且 R_{11} 为氢或甲基。

16. 权利要求 12 所述的化合物，具有分子式(VII)，其中每一 R_9 独立为氢、甲基、乙基、丙基、异丙基或环丙基；并且每一 R_{11} 独立为氢、甲基、乙基、丙基、异丙基、苄基、取代的甲基、环丙基、甲氧基和羟基；或者两个 R_{11} 一起形成杂环。

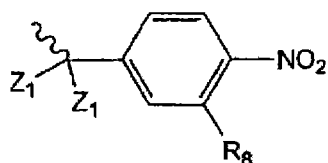
17. 权利要求 1 所述的化合物，其中 T 具有分子式：



18. 权利要求 1 所述的化合物，其中 T 具有分子式：

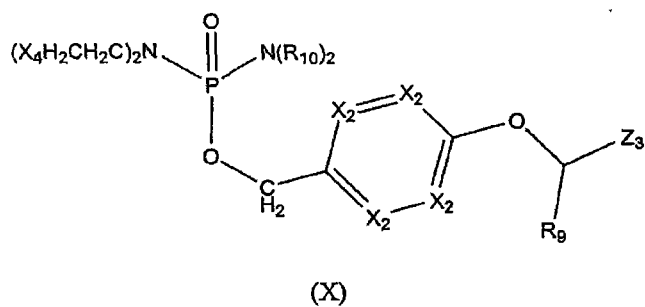
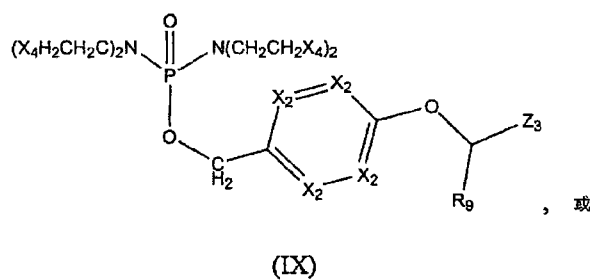
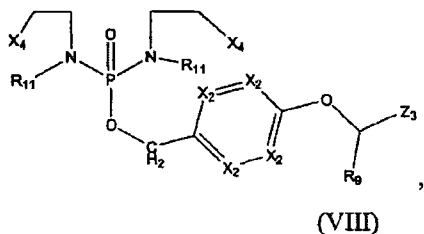


19. 权利要求 1 所述的化合物，其中 T 具有分子式：

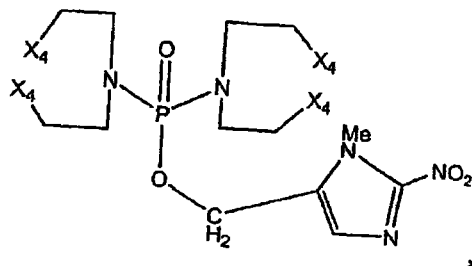


其中每一 Z_1 为氢或 C_1 - C_6 烷基， R_8 是 H、OH 或 $-OP(=O)(OH)_2$ 。

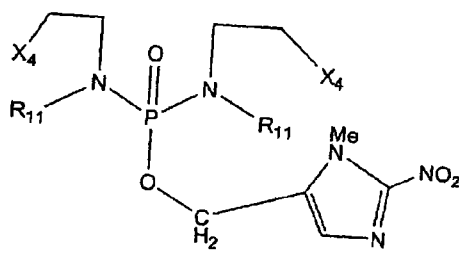
20. 权利要求 12 所述的化合物，具有分子式(VIII)、(IX)或(X)：



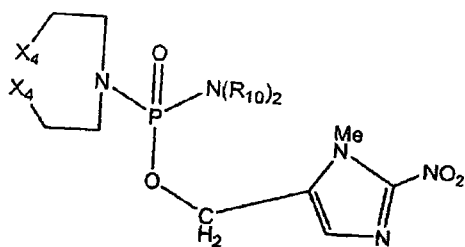
21. 权利要求 12 所述的化合物, 具有分子式(XI)、(XII)、(XIII)、(XIV)或(XV):



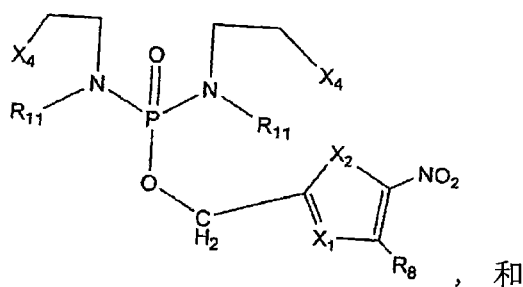
(XI)



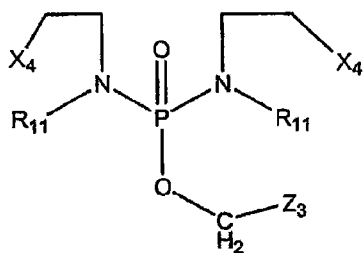
(XII)



(XIII)



(XIV)

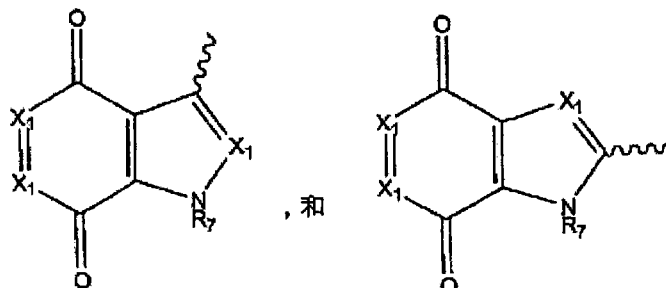


(XV)

其中每一 R₁₁ 独立为氢、甲基或取代的甲基、苄基、异丙基、环丙基、甲氧基

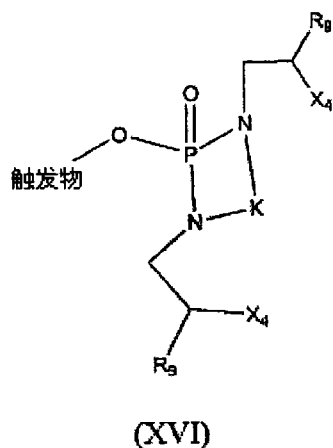
和羟基；并且 X_4 是 Cl、Br、烷基磺酰氧基、杂烷基磺酰氧基、环烷基磺酰氧基、杂环烷基磺酰氧基、芳基磺酰氧基或杂芳基磺酰氧基；条件是：

- (i) 在(XII)、(XIV)或(XV)中，当 X_4 是 Cl 或 Br 时，则 R_{11} 不包括异丙基，和
(ii) 分子式(XVIII)不包括其中 Z_3 是下列的化合物：



22. 权利要求 15 和权利要求 21 所述的化合物，具有分子式 XII、XIV 或 XV，其中每一 R_{11} 是氢。

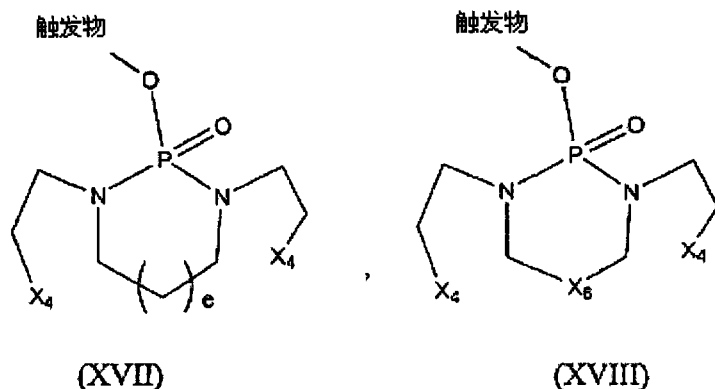
23. 权利要求 4 所述的化合物，具有分子式(XIX)：



其中 K 是 C_1 - C_6 亚烷基或 C_1 - C_6 杂亚烷基。

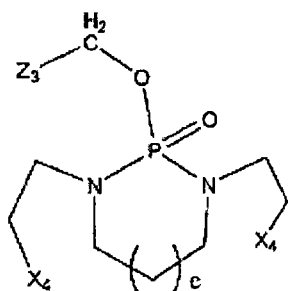
24. 权利要求 23 所述的化合物，其中 K 是 $(C(R_{12})_2)_e$ 、 $CH_2CH_2(-X_6-CH_2CH_2)_f$ 、或 $CH_2(-X_6-CH_2)_f$ ，其中 e 是 1-10，f 是 0-3， X_6 是 O、S 或 NR_{12} ，其中每一 R_{12} 独立为氢、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 杂烷基、 C_3 - C_8 环烷基或杂环基。

25. 权利要求 21 所述的化合物，具有分子式(XVII)或(XVIII)：



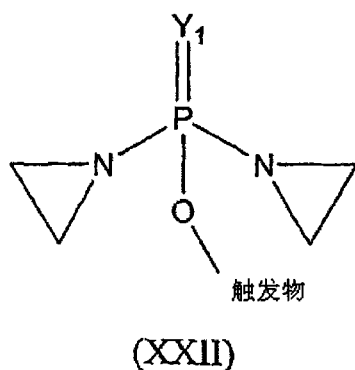
其中 e 是 0-4, X₄ 是 Cl 或 Br、烷基磺酰氧基、杂烷基磺酰氧基、芳基磺酰氧基或杂芳基磺酰氧基。

26. 权利要求 25 所述的化合物, 具有分子式:

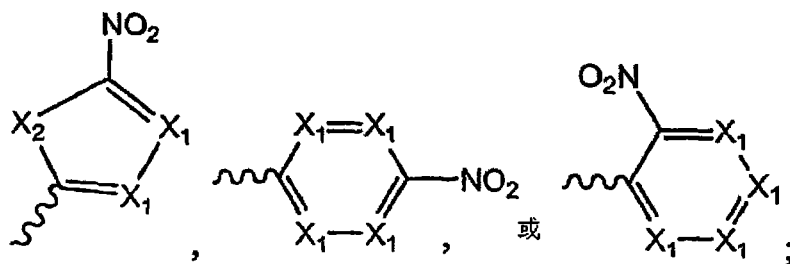


其中 e 是 0-4, X₄ 是 Cl、Br、烷基磺酰氧基、杂烷基磺酰氧基、芳基磺酰氧基或杂芳基磺酰氧基。

27. 权利要求 4 所述的化合物, 具有分子式(XXII):



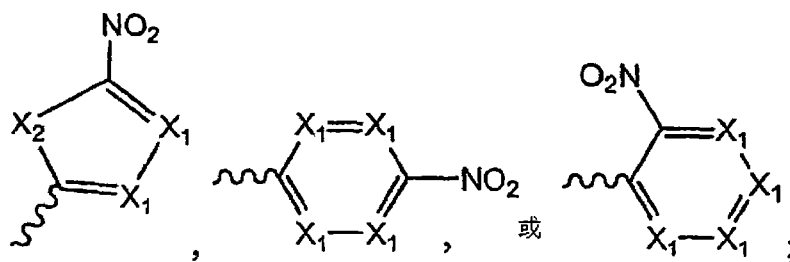
28. 权利要求 4 所述的化合物, 具有分子式(II), 其中触发物 T 是 -CH₂-Z₃ 或 -CH(Z₁)-Z₃, 其中 Z₁ 是 C₁-烷基, 并且 Z₃ 是:



条件是在分子式(II)中:

- (i) R_2 和 R_3 的一个是 H, 并且 R_4 和 R_5 的一个是 H;
- (ii) R_2 和 R_3 的一个是 C_1 -烷基, 并且 R_4 和 R_5 的一个是 C_1 -烷基; 或者
- (iii) R_2 - R_5 的至少一个是羟基、氨基、 C_3 - C_8 环烷基、杂环基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 烷基氨基、 C_1 - C_6 二烷基氨基、芳基、杂芳基、 C_1 - C_6 酰基、 C_1 - C_6 杂酰基、或芳酰基或杂芳酰基。

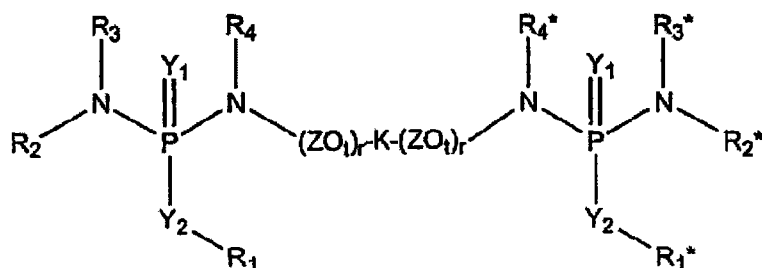
29. 权利要求 4 所述的化合物, 具有分子式(II), 其中 Z_3 是选自下列的生物还原基团:



条件是在分子式(I)中:

- (i) R_1 - R_5 的至少一个选自 2-烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基和 2-杂烷基磺酰氧基烷基以及
 R_1 - R_5 的至少一个选自 2-卤烷基、2-烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基和 2-杂烷基磺酰氧基烷基; 或者
- (ii) R_1 - R_5 的至少一个选自 2-卤烷基、2- C_1 - C_6 烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基和 2-杂烷基磺酰氧基烷基; 并且 NR_2R_3 和 NR_4R_5 的至少一个是 $\sim N$; 或者
- (iii) NR_2R_3 和 NR_4R_5 都合起来是 $\sim N$ 。

30. 具有下列分子式的化合物:

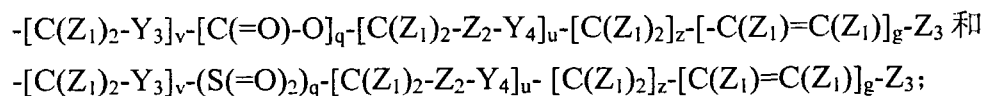


和其单独的异构体或异构体的外消旋或非外消旋混合物、生物电子等排物、药效团、药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物或前体药物，

其中 Y_1 是 O、S、 NR_6 或 NSO_2R_6 ；

Y_2 是 O、S、 NR_6 或 NSO_2R_6 ，其中每一 R_6 独立为 (C_1-C_6) 烷基、 C_1-C_6 杂烷基、芳基或杂芳基；

R_1-R_4 和 $R_1^*-R_4^*$ 的每一个独立选自氢、羟基、氨基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷基氨基、 C_1-C_6 二烷基氨基、芳基、杂芳基、 C_1-C_6 酰基、 C_1-C_6 杂酰基、芳酰基或杂芳酰基；或者 R_1-R_4 或 $R_1^*-R_4^*$ 的任意两个一起形成杂环；或者 R_1-R_4 和 $R_1^*-R_4^*$ 的每一个独立为选自下列的触发物 T：



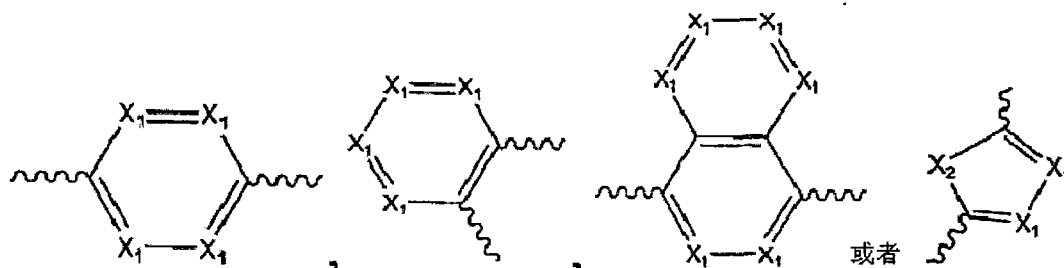
其中每一个 z 、 v 、 q 、 u 和 g 独立为 0 或者 1；

Y_3 是 S、O 或 NR_7 ，其中每一 R_7 独立地是氢、羟基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 杂烷基、 C_3-C_8 环烷基、杂环基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷基氨基、 C_1-C_6 二烷基氨基、芳基、杂芳基；

Y_4 是 O、S 或者 $-NR_7-C(=O)-O-$ ；

每一 Z_1 和 Z_1 独立为氢、卤素、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 杂烷基、芳基、杂芳基、 C_3-C_8 环烷基、杂环基、 C_1-C_6 酰基、 C_1-C_6 杂酰基、芳酰基或杂芳酰基；

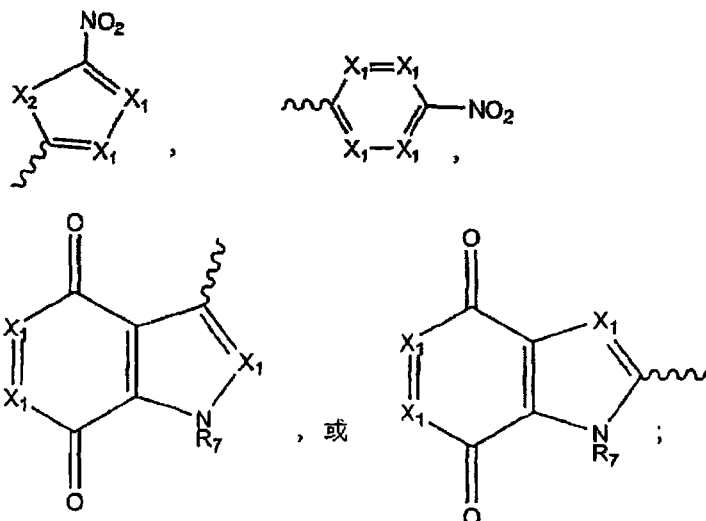
Z_2 是



其中每一 X_1 独立为 N 或 CR_8 ，其中 R_8 独立地是氢、卤素、硝基、氰基、 CHF_2 、 CF_3 、 CO_2H 、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 杂烷基、 C_1-C_6 环烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷基氨基、 C_1-C_6 二烷基氨基、芳基和 $CON(R_7)_2$ ；

X_2 是 NR_7 、S 或 O；和

Z_3 是具有下面分子式的生物还原基团：



每一个 Z 独立为 C、S 或 P；每一个 t 独立为 1 或 2；每一个 r 独立为 0 或 1；

K 是 C_1 - C_6 亚烷基、 C_1 - C_6 杂亚烷基、亚芳基或杂亚芳基；

条件是在分子式(XXI)中：

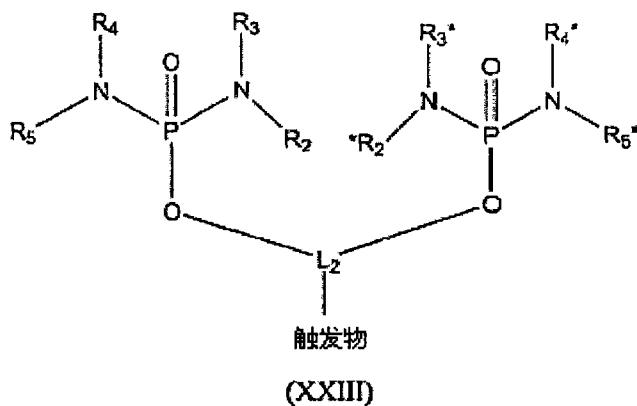
(i) R_1 - R_4 的至少一个和 R_1^* - R_4^* 的至少一个选自 2-卤烷基、2-烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基和 2-杂烷基磺酰氧基烷基；

(ii) R_1 - R_4 和 R_1^* - R_4^* 的至少一个选自 2-卤烷基、2- C_1 - C_6 烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基和 2-杂烷基磺酰氧基烷基；并且

NR_2R_3 和 $NR_2^*R_3^*$ 的一个是 $\sim N$ ；或者

(iii) NR_2R_3 和 $NR_2^*R_3^*$ 都合起来是 $\sim N$ 。

31. 分子式(XXI)的化合物：



和其单独的异构体或异构体的外消旋或非外消旋混合物、生物电子等排物、药效团、药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物或前体药物，

其中, Y_1 是 O、S、 NR_6 或 NSO_2R_6 ;

Y_2 是 O、S、 NR_6 或 NSO_2R_6 , 其中每一 R_6 独立为 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 杂烷基、芳基或杂芳基;

R_2 - R_5 和 R_2^* - R_5^* 的每一个独立选自氢、羟基、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 烷基氨基、 C_1 - C_6 二烷基氨基、芳基、杂芳基; 或者 R_2^* - R_5^* 的任意两个一起形成杂环; 或者 R_2^* - R_5^* 的每一个独立为选自下列的触发物 T:

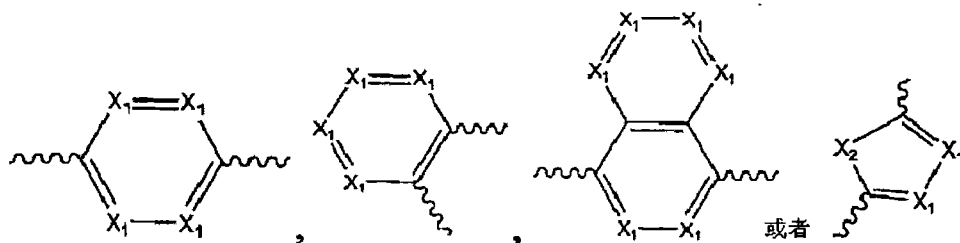
$-[C(Z_1)_2-Y_3]_v-[C(=O)-O]_q-[C(Z_1)_2-Z_2-Y_4]_u-[C(Z_1)_2]_z-[C(Z_1)=C(Z_1)]_g-Z_3$ 和
 $-[C(Z_1)_2-Y_3]_v-(S(=O)_2)_q-[C(Z_1)_2-Z_2-Y_4]_u-[C(Z_1)_2]_z-[C(Z_1)=C(Z_1)]_g-Z_3$; 其中每一个 z、v、q、u 和 g 独立为 0 或者 1;

Y_3 是 S、O 或 NR_7 , 其中每一 R_7 独立地是氢、羟基、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 杂烷基、 C_3 - C_8 环烷基、杂环基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 烷基氨基、 C_1 - C_6 二烷基氨基、芳基、杂芳基;

Y_4 是 O、S 或者 $-NR_7-C(=O)-O-$;

每一 Z_1 和 Z_1 独立为氢、卤素、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 杂烷基、芳基、杂芳基、 C_3 - C_8 环烷基、杂环基、 C_1 - C_6 酰基、 C_1 - C_6 杂酰基、芳酰基或杂芳酰基;

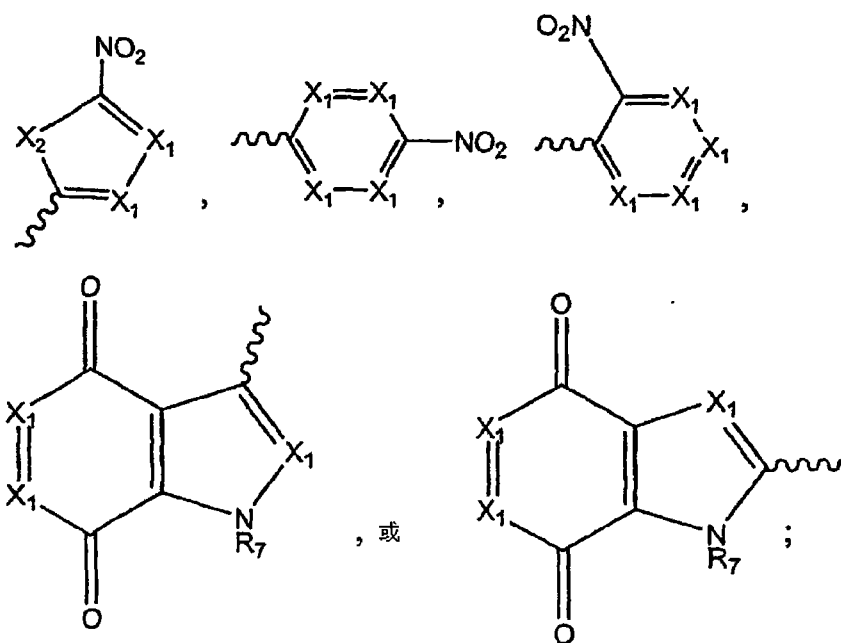
Z_2 是



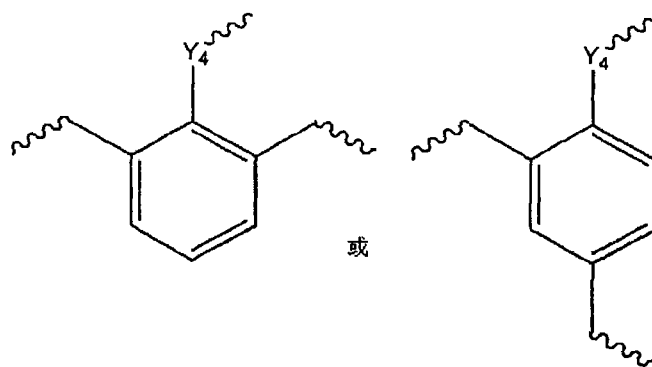
其中每一 X_1 独立为 N 或 CR_8 , 其中 R_8 独立地是氢、卤素、硝基、氰基、 CHF_2 、 CF_3 、 CO_2H 、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 杂烷基、 C_1 - C_6 环烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 烷基氨基、 C_1 - C_6 二烷基氨基、芳基和 $CON(R_7)_2$;

X_2 是 NR_7 、S 或 O; 和

Z_3 是具有下面分子式的生物还原基团:



L^2 是





其中 Y_4 如上定义；

条件是在分子式(XXII)中：

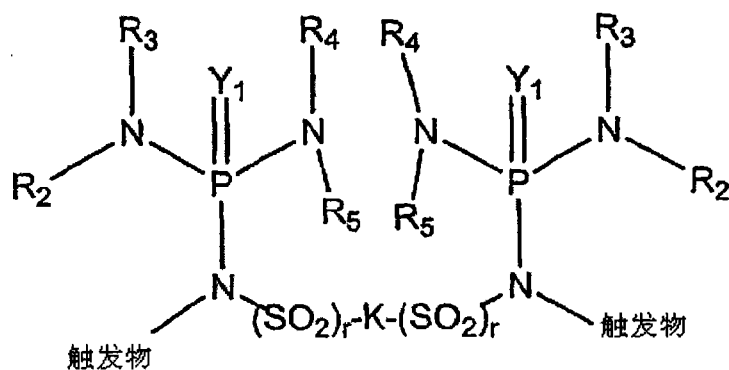
(i) R_2-R_5 的至少一个和 $R_2^*-R_5^*$ 的至少一个选自 2-卤烷基、2-烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基和 2-杂烷基磺酰氧基烷基；

(ii) R_2-R_5 和 $R_2^*-R_5^*$ 的至少一个选自 2-卤烷基、2- C_1-C_6 烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基和 2-杂烷基磺酰氧基烷基；并且

NR_2R_3 和 $NR_2^*R_3^*$ 的至少一个是 ；或者

(iii) NR_2R_3 和 $NR_2^*R_3^*$ 都合起来是 。

32. 分子式(XXVI)的化合物：



(XXVI)

和其单独的异构体或异构体的外消旋或非外消旋混合物、生物电子等排物、药效团、药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物或前体药物，

其中 Y_1 是 O、S、 NR_6 或 NSO_2R_6 ；

Y_2 是 O、S、 NR_6 或 NSO_2R_6 ，其中每一 R_6 独立为 (C_1-C_6) 烷基、 C_1-C_6 杂烷基、芳基或杂芳基；

R_2-R_5 和 $R_2^*-R_5^*$ 的每一个独立选自氢、羟基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷基氨基、 C_1-C_6 二烷基氨基、芳基、杂芳基；或者 R_2-R_5 或 $R_2^*-R_5^*$ 的任意两个一起形成杂环；

每个触发物 T 选自：

$-[C(Z_1)_2-Y_3]_v-[C(=O)-O]_q-[C(Z_1)_2-Z_2-Y_4]_u-[C(Z_1)_2]_z-[-C(Z_1)=C(Z_1)]_g-Z_3$ 和
 $-[C(Z_1)_2-Y_3]_v-(S(=O))_2]_q-[C(Z_1)_2-Z_2-Y_4]_u-[C(Z_1)_2]_z-[-C(Z_1)=C(Z_1)]_g-Z_3$ ；

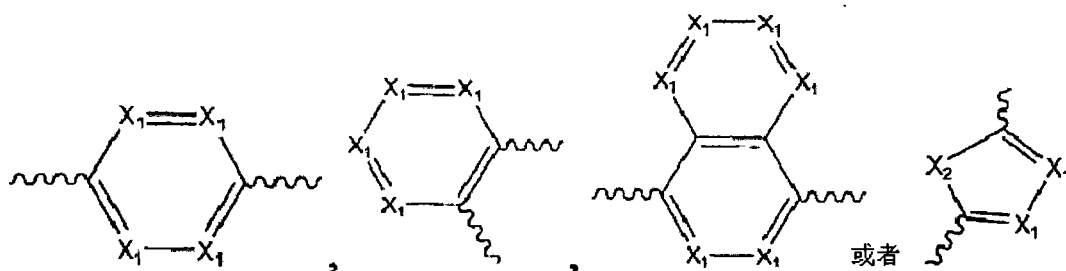
其中每一个 z 、 v 、 q 、 u 和 g 独立为 0 或者 1；

Y_3 是 S、O 或 NR_7 ，其中每一 R_7 独立地是氢、羟基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 杂烷基、 C_3-C_8 环烷基、杂环基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷基氨基、 C_1-C_6 二烷基氨基、芳基、杂芳基；

Y_4 是 O、S 或者 $-NR_7-C(=O)-O-$ ；

每一 Z_1 和 Z_2 独立为氢、卤素、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 杂烷基、芳基、杂芳基、 C_3-C_8 环烷基、杂环基、 C_1-C_6 酰基、 C_1-C_6 杂酰基、芳酰基或杂芳酰基；

Z_2 是

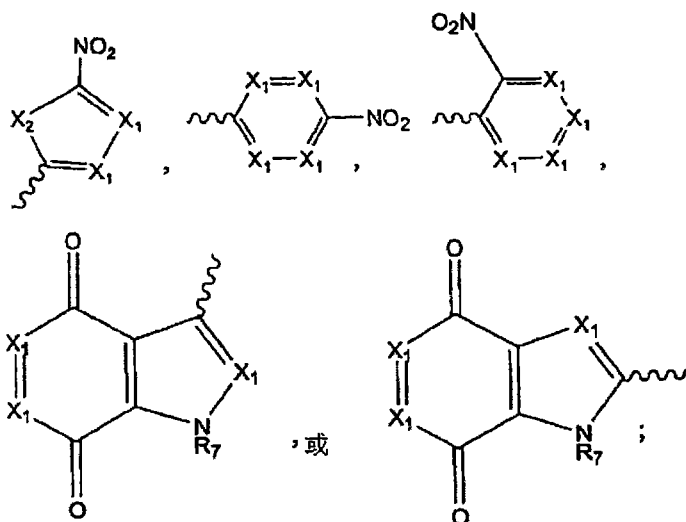


其中每一 X_1 独立为 N 或 CR_8 ，其中 R_8 独立地是氢、卤素、硝基、氰基、 CHF_2 、

CF₃、CO₂H、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 杂烷基、C₁-C₆ 环烷基、C₁-C₆ 烷氧基、C₁-C₆ 烷基氨基、C₁-C₆ 二烷基氨基、芳基和 CON(R₇)₂;

X₂ 是 NR₇、S 或 O; 和

Z₃ 是具有下面分子式的生物还原基团:





每一个 Z 独立为 C、S 或 P; 每一个 t 独立为 1 或 2; 每一个 r 独立为 0 或 1;

K 是 C₁-C₆ 亚烷基、C₁-C₆ 杂亚烷基、亚芳基或杂亚芳基;

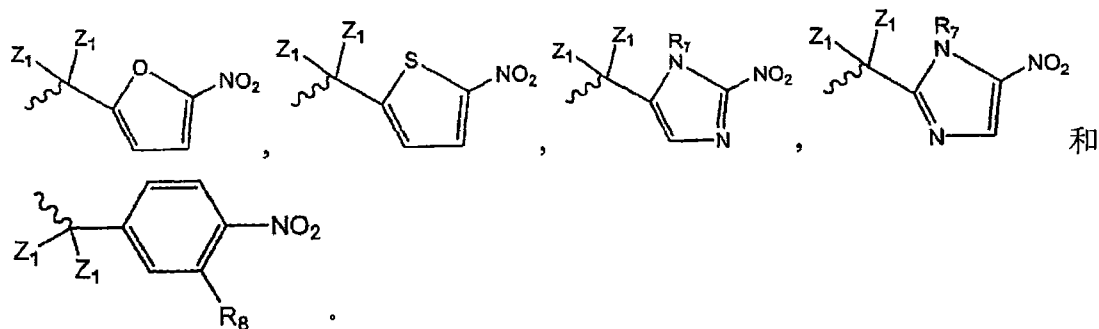
条件是在分子式(XXI)中:

(i) R₁-R₄ 和 R₁-R₄* 的至少两个选自 2-卤烷基、2-烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基或 2-杂烷基磺酰氧基烷基;

(ii) R₁-R₄ 和 R₁-R₄* 的至少一个选自 2-卤烷基、2-C₁-C₆ 烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基或 2-杂烷基磺酰氧基烷基; 并且 NR₂R₃ 和 NR₂*R₃* 的一个是 ; 或者

(iii) NR₂R₃ 和 NR₂*R₃* 都合起来是 .

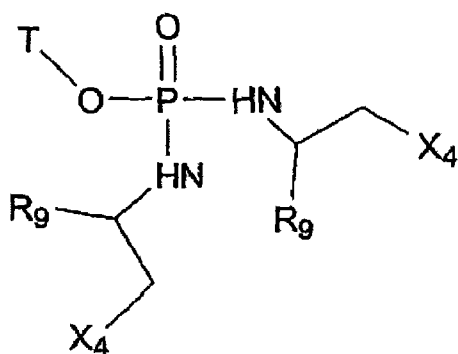
33. 权利要求 1 或权利要求 15 所述的化合物, 其中触发物 T 选自:



34. 权利要求 33 所述的化合物, 其中 Z_1 是氢、甲基或乙基; R_7 是甲基、三氟乙基、乙基、丙基和环己基; 以及 R_8 是 OH 或 $OP(=O)(OH)_2$; R_9 是氢或 C_1-C_6 烷基, 并且每一 X_4 是卤素或 $R_{sul}S(=O)_2O-$ 。

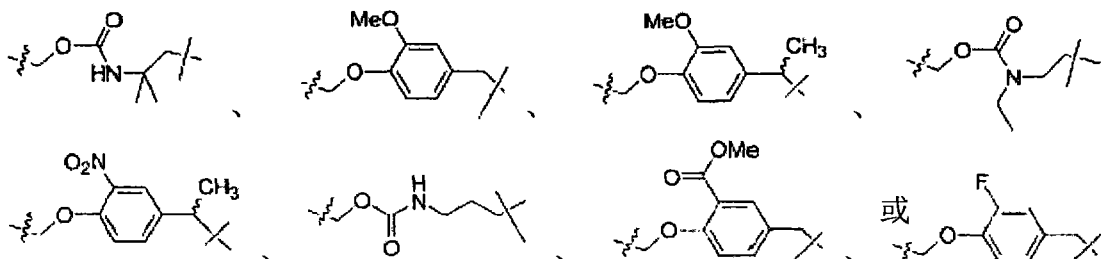
35. 权利要求 34 所述的化合物, 其中 R_9 是氢、甲基、乙基、异丙基或异丁基; 并且 X_4 是氯、溴或者甲磺酰氧基。

36. 权利要求 33 所述的化合物, 具有下列分子式:

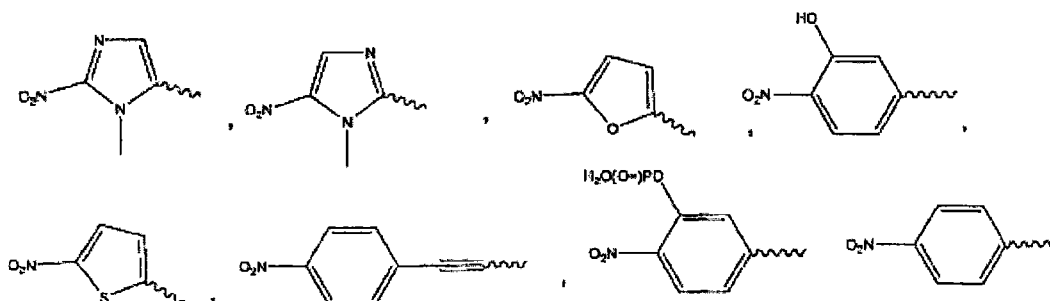


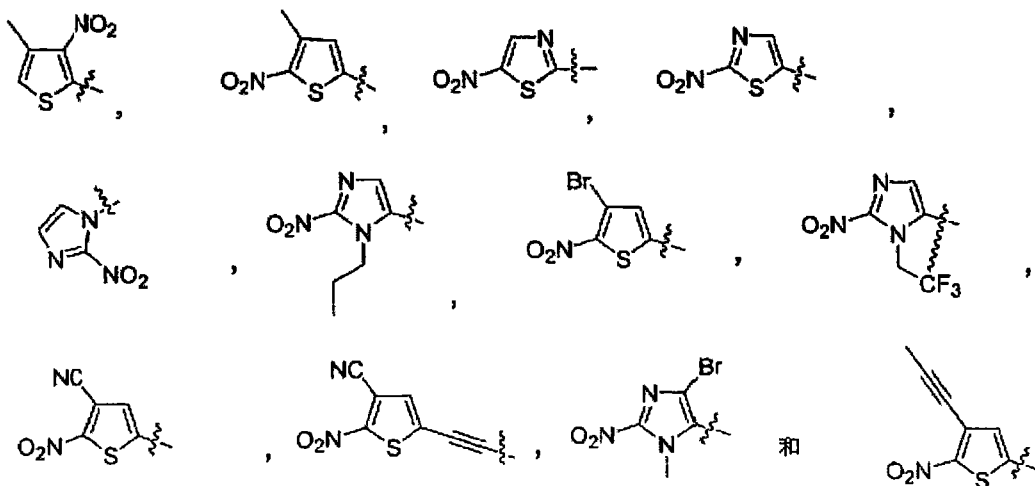
其中 T 是 L- Z_3 ;

L 是 CH_2 、 $CHMe$ 、 CMe_2 、

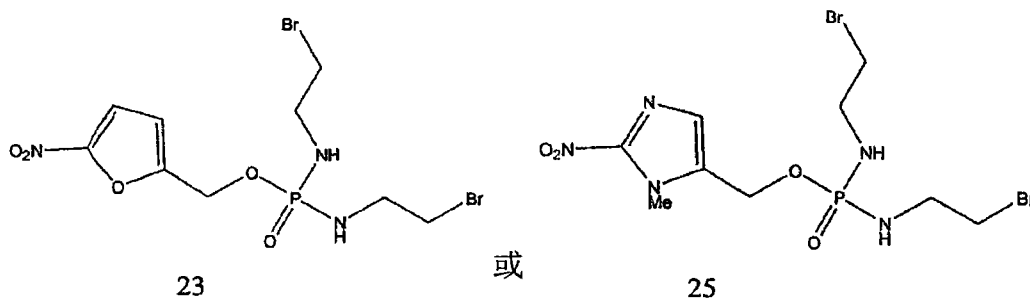


和 Z_3 是

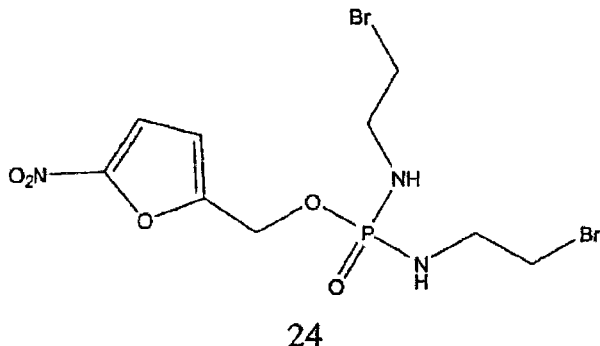




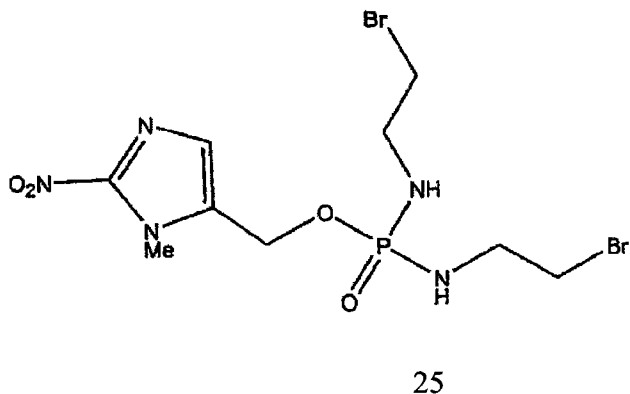
37. 权利要求 1 所述的化合物，具有选自下列的分子式：



38. 权利要求 1 所述的化合物，具有分子式：



39. 权利要求 1 所述的化合物，具有分子式：

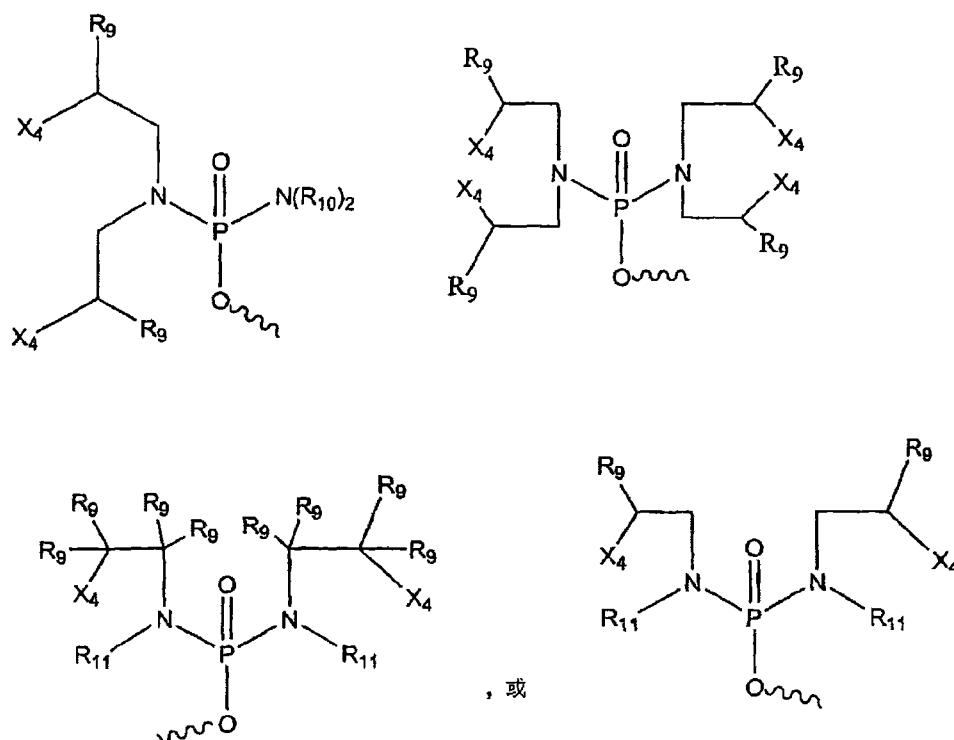


40. 药物制剂，其含有权利要求 1-39 任一项所述的化合物和药学可接受的赋形剂、载体或稀释剂。

41. 治疗癌症的方法，包括将权利要求 40 所述的药物制剂施用给需要治疗的患者。

42. 合成分子式 Alk-触发物的化合物的方法，包括使 Alk-H 与触发物-OH、三取代磷和二烷基偶氮二羧酸酯反应，以产生分子式 Alk-触发物的化合物，

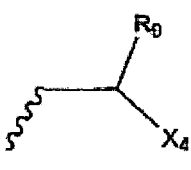
其中 Alk 是：



其中每一 R_9 独立为氢、芳基、杂芳基、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 杂烷基、 C_3 - C_8 环烷基、杂环基、 C_1 - C_6 酰基、 C_1 - C_6 杂酰基、芳酰基或杂芳酰基、 C_1 - C_6 烷氧基羰基、 C_1 - C_6 烷基氨基羰基、 C_1 - C_6 二烷基氨基羰基或 C_1 - C_6 烷氧基；

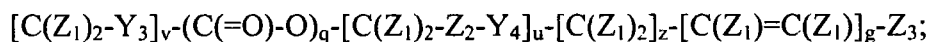
每一 R_{10} 是氢、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 杂烷基、 C_3 - C_8 环烷基、杂环基、 C_1 - C_6 烷氧基、芳基、杂芳基或者两个 R_{10} 一起形成杂环；

每一 R_{11} 独立为氢、芳基、杂芳基、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 杂烷基、 C_3 - C_8 环烷基、杂环基或 C_1 - C_6 烷氧基；或者两个 R_{11} 一起形成杂环；条件是当每一 R_{11} 独立是 C_1 - C_6

烷基、 C_1 - C_6 杂烷基时，则 R_{11} 不包括 ；和

X_4 是 Cl、Br、烷基磺酰氧基、杂烷基磺酰氧基、芳基磺酰氧基或杂烷基磺酰氧基；

其中触发物是



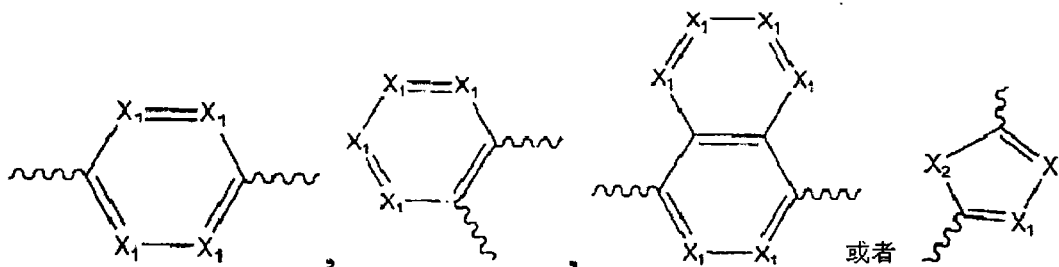
其中每一个 z 、 v 、 q 、 u 和 g 独立为 0 或者 1；

Y_3 是 S、O 或 NR_7 ，其中每一 R_7 独立地是氢、羟基、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 杂烷基、 C_3 - C_8 环烷基、杂环基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 烷基氨基、 C_1 - C_6 二烷基氨基、芳基、杂芳基、 C_1 - C_6 酰基、 C_1 - C_6 杂酰基、芳酰基或杂芳酰基；

Y_4 是 O、S 或者 $-NR_7-C(=O)-O-$ ；

每一 Z_1 和 Z_2 独立为氢、卤素、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 杂烷基、芳基、杂芳基、 C_3 - C_8 环烷基、杂环基、 C_1 - C_6 酰基、 C_1 - C_6 杂酰基、芳酰基或杂芳酰基；

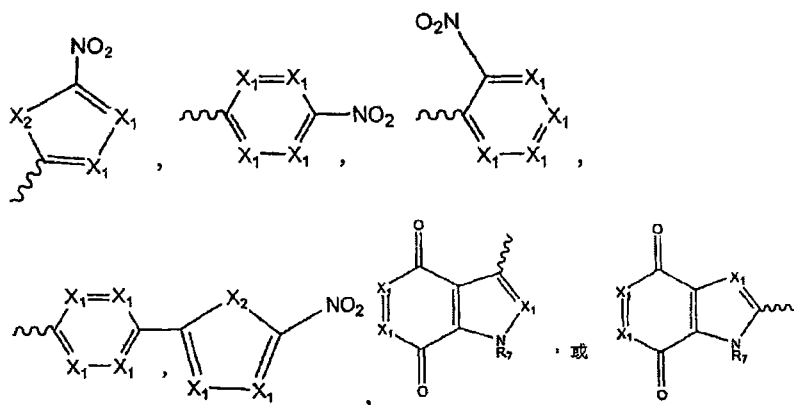
Z_2 是



其中每一 X_1 独立为 N 或 CR_8 ，其中 R_8 独立地是氢、卤素、硝基、氰基、 CHF_2 、 CF_3 、 CO_2H 、氨基、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 杂烷基、 C_1 - C_6 环烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 烷基氨基、 C_1 - C_6 二烷基氨基、芳基、 $CON(R_7)_2$ 、 C_1 - C_6 酰基、 C_1 - C_6 杂酰基、芳酰基或杂芳酰基；

X_2 是 NR_7 、S 或 O；和

Z_3 是具有下面分子式的生物还原基团：



氨基磷酸酯烷化剂前体药物

相关申请的交叉参考

[0001] 本申请要求 2005 年 6 月 29 日提交的美国临时专利申请第 60/695,755 号的权益，将其引入本文作为参考。

发明背景

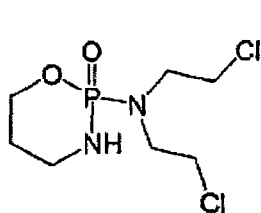
发明领域

[0002] 本发明提供含有氨基磷酸酯烷化剂前体药物的组合物和使用氨基磷酸酯烷化剂前体药物治疗癌症和其它增生性疾病的方法。一般而言，本发明涉及化学、生物学、分子生物学、药理学和医学领域。

相关技术描述

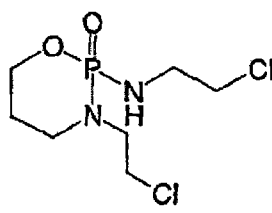
[0003] 用于癌症化学疗法的烷化剂（“烷化剂(alkylator)”或“芥子(mustard)”）包括多种多样的化学药品类，所述化学药品具有在生理条件下烷化生物重要大分子(biologically vital macromolecule)如 DNA 的能力(参见 Hardman 等, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 2001, 1389-1399, McGraw-Hill, New York, USA)。据推测，在烷化剂的抗肿瘤活性中，DNA 烷化是重要的机制。化学治疗的烷化剂作为强亲电体，例如通过形成相邻杂原子稳定的鎓中间体如氮丙啶或氮丙啶鎓阳离子而起作用。

[0004] 用于癌症疗法的氨基磷酸酯基烷化剂，例如环磷酰胺和异环磷酰胺是化学疗法烷化剂的重要亚类。环磷酰胺和异环磷酰胺都在肝脏被活化，并且释放的活性烷化剂烷化肿瘤细胞内的亲核部分如 DNA，以便起着化学治疗剂的作用。如果活性烷化剂被释放离开肿瘤，则健康非癌细胞的生物分子的 DNA 和其它亲核部分如磷酸酯、氨基、巯基、羟基、羧基和咪唑并基团可能被烷化。健康细胞的这类烷化可以导致患者的不期望的毒性事件(toxic event) (参见 Hardman 等, 同上)。



环磷酰胺

和



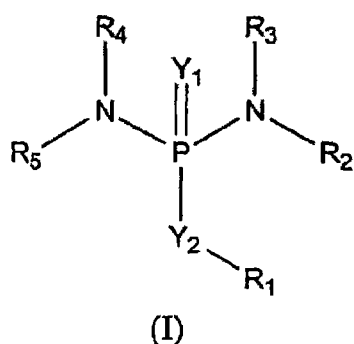
异环磷酰胺

[0005] 仍需要能用来治疗癌症或其它增生性疾病的新型氨基磷酸酯烷化剂, 优选地为对正常细胞具有更低毒性的化合物。本发明满足这些需要并且提供新的氨基磷酸酯烷化剂前体药物, 以及使用它们进行治疗的方法, 如在下面的部分概述的。

发明简述

[0006] 在一方面, 本发明提供低氧活化的氨基磷酸酯烷化剂前体药物和合成它们的方法。本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物可具有分子式 ALK-T, 其中 ALK 是氨基磷酸酯烷化剂, T 是 L-Z₃, 其中 L 是连接体, Z₃ 是生物还原基团。

[0007] 在一个方面, 本发明提供了分子式(I)的氨基磷酸酯烷化剂前体药物:



其中

[0008] Y₁ 是 O、S、NR₆、或 NSO₂R₆, 其中每一 R₆ 独立为 C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 杂烷基、芳基或杂芳基;

[0009] Y₂ 是 O、S、NR₆、NCOR₆ 或 NSO₂R₆;

[0010] R₁-R₅ 的每一个独立地是氢、羟基、氨基、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 杂烷基、C₃-C₈ 环烷基、杂环基、C₁-C₆ 烷氧基、C₁-C₆ 烷基氨基、C₁-C₆ 二烷基氨基、芳基、杂芳基、C₁-C₆ 酰基、C₁-C₆ 杂酰基、芳酰基或杂芳酰基; 或者 R₁-R₅ 的任意两个一起形成 C₃-C₁₀ 杂环; 或者 R₁-R₅ 的每一个独立为触发物 T, 其中 T 是 L-Z₃;

[0011] L 选自

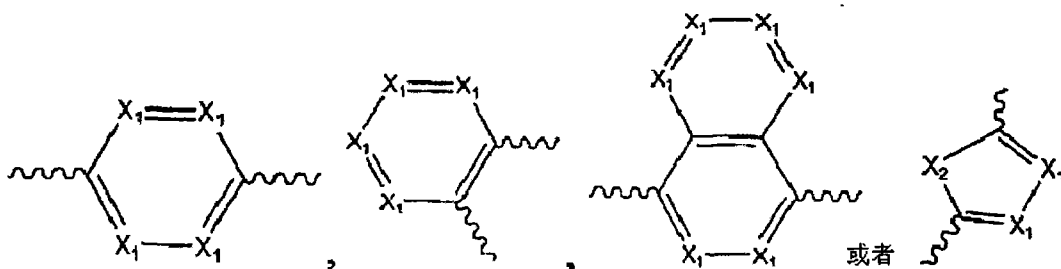
$-\text{[C(Z}_1\text{)}_2\text{-Y}_3\text{]}_v\text{-[C(=O)-O]}_q\text{-[C(Z}_1\text{)}_2\text{-Z}_2\text{-Y}_4\text{]}_u\text{-[C(Z}_1\text{)}_2\text{]}_z\text{-[C(Z}_1\text{)=C(Z}_1\text{)]}_g\text{-Z}_3$ 和
 $-\text{[C(Z}_1\text{)}_2\text{-Y}_3\text{]}_v\text{-(S(=O)}_2\text{)}_q\text{-[C(Z}_1\text{)}_2\text{-Z}_2\text{-Y}_4\text{]}_u\text{-[C(Z}_1\text{)}_2\text{]}_z\text{-[C(Z}_1\text{)=C(Z}_1\text{)]}_g\text{-Z}_3$; 其中每一个 z、v、q、u 和 g 独立地为 0 或者 1。

[0012] Y₃ 是 O、S 或 NR₇, 其中每一 R₇ 独立地是氢、羟基、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 杂烷基、C₃-C₈ 环烷基、杂环基、C₁-C₆ 烷氧基、C₁-C₆ 烷基氨基、C₁-C₆ 二烷基氨基、芳基、杂芳基、C₁-C₆ 酰基、C₁-C₆ 杂酰基、芳酰基或杂芳酰基;

[0013] Y₄ 是 O、S 或者 -NR₇-C(=O)-O-;

[0014] 每一 Z₁ 独立为氢、卤素、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 杂烷基、芳基、杂芳基、C₃-C₈ 环烷基、杂环基、C₁-C₆ 酰基、C₁-C₆ 杂酰基、芳酰基或杂芳酰基;

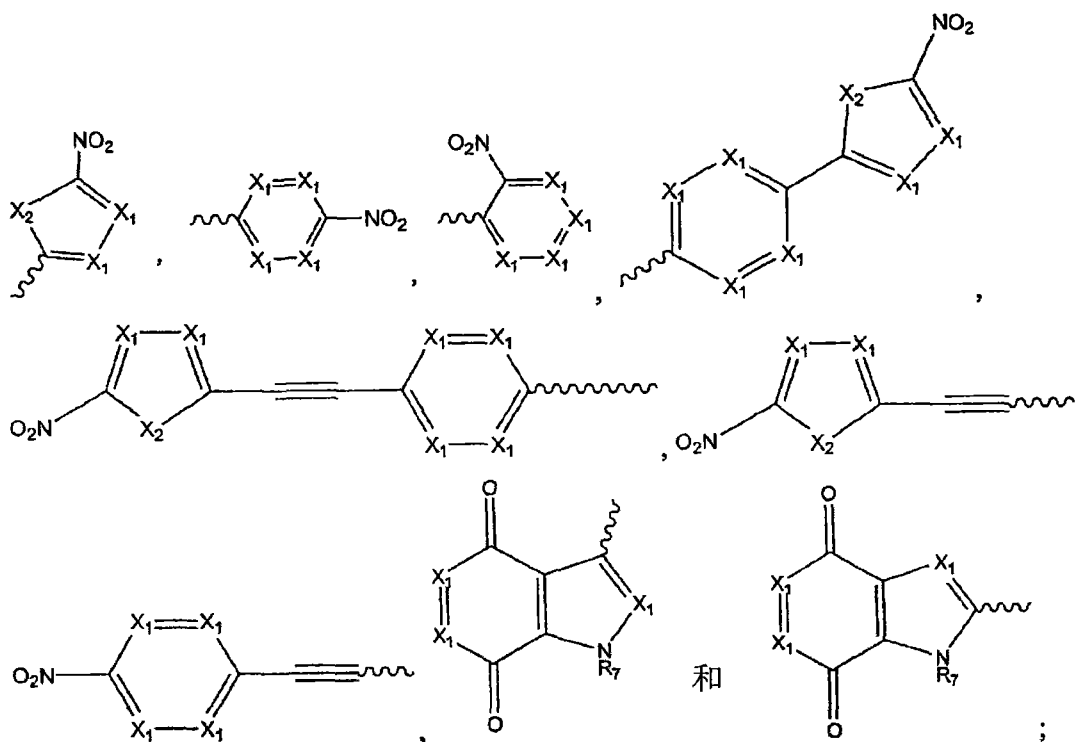
[0015] Z₂ 是 C₁-C₆ 亚烷基、C₁-C₆ 杂亚烷基,



其中每一 X_1 独立为 N 或 CR_8 ，每一 R_8 独立地是氢、卤素、硝基、氰基、 CO_2H 、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 杂烷基、 C_1-C_6 环烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷基氨基、 C_1-C_6 二烷基氨基、芳基、 $CON(R_7)_2$ 、 C_1-C_6 酰基、 C_1-C_6 杂酰基、芳酰基或杂芳酰基；

[0016] X_2 是 NR_7 、S 或 O；和

[0017] Z_3 选自：



[0018] 条件是，在分子式(I)中：

[0019] (i) R_1-R_5 的至少两个选自 2-卤烷基、2-烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基和 2-杂烷基磺酰氧基烷基；

[0020] (ii) R_1-R_5 的至少一个选自 2-卤烷基、2- C_1-C_6 烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基和 2-杂烷基磺酰氧基烷基；并且 NR_2R_3 和 NR_4R_5 中至少一个是 ~N ；或者

[0021] (iii) NR_2R_3 和 NR_4R_5 都合起来是 ~N ；以及

[0022] 提供其单独的异构体或异构体的外消旋或非外消旋混合物、生物电子等排物、药效团、药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物或前体药物。

[0023] 在一实施方式中，Z₃是在氧化还原反应中可接受一个或多个电子的生物还原基团。

[0024] 在相关的实施方式中，本发明提供在处于低氧的细胞中具有 50 μ M 到 0.01nM IC₅₀ 或 GI₅₀ 的氨基磷酸酯烷化剂前体药物。在相关的实施方式中，本发明提供在相应的常氧的细胞中具有毒性低至百万倍、10,000 倍和 1000 倍的低氧细胞毒性(hypoxic cytotoxicity)的氨基磷酸酯烷化剂前体药物。在相关的实施方式中，通过抗增殖试验并且使用含氧量低和常氧的细胞中的化合物的相对 IC₅₀ 值，测量细胞毒性。在相关的实施方式中，通过产克隆试验(clonogenic assay)并且使用含氧量低和常氧的细胞中的化合物的相对 C₁₀、C₅₀ 或 C₉₀ 值，测量细胞毒性。

[0025] 在另一相关的实施方式中，本发明提供在处于低氧的细胞中具有 50 μ M 到 0.01nM IC₅₀ 值的氨基磷酸酯烷化剂前体药物。在另一相关的实施方式中，本发明提供在相应的常氧的细胞中毒性低至 5000 倍的氨基磷酸酯烷化剂前体药物，如通过含氧量低和常氧的细胞中的相对 IC₅₀ 值进行测量。在另一相关的实施方式中，本发明提供氨基磷酸酯烷化剂前体药物，其在处于低氧的细胞中具有 50 μ M 到 0.01nM 的 IC₅₀，并且在相应的常氧的细胞中其毒性低至 1000 倍，如通过在含氧量低和常氧的细胞中的相对 IC₅₀ 值进行测量。

[0026] 在相关的实施方式中，本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物具有 0.1nM 到 50 μ M 的低氧细胞毒性(hypoxic cytotoxicity)和 10 到 100,000 的低氧细胞毒性比率(hypoxia cytotoxicity ratio)HCR，其通过常氧和含氧量低的细胞毒性的比率进行测量，并且其在本申请的后面进行更详细的定义。在相关的实施方式中，本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物具有 0.1nM 到 50 μ M 的低氧细胞毒性和 25 到 100,000 的 HCR。在另一相关的实施方式中，本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物具有 0.1nM 到 5 μ M 的低氧细胞毒性和 50 到 10,000 的 HCR。

[0027] 在一方面，本发明提供用于治疗癌症和其它增生性疾病的新的氨基磷酸酯烷化剂。

[0028] 在一方面，本发明提供包含本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物和药学上可接受的赋形剂、载体或稀释剂的药物制剂。

[0029] 在一方面，本发明提供治疗癌症和其它增生性疾病的方法，包括将治疗有效量的本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物或者已知的氨基磷酸酯烷化剂前体药物施用给需要该治疗的患者。在一实施方式中，治疗的癌症对第一线、第二线或第三线治疗具有抗性，或者其是复发癌症。在另一实施方式，治疗的癌症是转移癌。在另一实施方式，本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物或者已知的氨基磷酸酯烷化剂前体药物与至少另外的抗癌药剂(anticancer agent)联合施用。

附图简述

[0030] 图 1 说明化合物 25(50mg/kg)对 H460 异种移植小鼠模型中肿瘤生长的

影响。

[0031] 图 2 说明化合物 25(100mg/kg)对 H460 异种移植小鼠模型中肿瘤生长的影响。

[0032] 图 3 说明化合物 25(150mg/kg)与 CDDP 联合给药对 H460 异种移植小鼠模型中肿瘤生长的影响。

[0033] 图 4 说明化合物 25 与 CDDP 联合给药对 H460 异种移植小鼠模型中肿瘤生长的影响。

[0034] 图 5、6 和 7 说明化合物与吉西他滨(Gemcitabine)联合给药对 H460 异种移植小鼠模型中肿瘤生长的影响。

发明详述

[0035] 本发明不同的方面和实施方式的详细描述被组织如下：第 I 部分提供有用的定义；第 II 部分描述本发明的化合物和制备它们的方法；第 III 部分描述使用本发明的化合物单独或联合处理、治疗、施用和配制的方法；和第 IV 部分提供本发明化合物的合成方法和生物试验的实施例。该详细的描述被组织成各部分，仅仅是为了读者的方便，在任何部分的公开内容可用于本发明的任意方面。

I. 定义

[0036] 下面的定义被提供用来帮助读者。除非另有其它定义，本文应用的所有技术术语、符号和其它科学或医学词语或术语，意图具有化学和医学领域的技术人员普遍理解的含义。在一些情况下，为了清楚和/或为了容易参考，具有普遍理解含义的术语在本文中被定义，在本文中加入这些定义不应被解释为表示与本领域通常理解的术语定义具有实质上的差异。

[0037] 如本文所用，“一个(a)”或“一个(an)”指“至少一个(at least one)”或“一个或更多(one or more)”。

[0038] “烷基”指直链饱和单价烃基或支链饱和单价烃基，其具有词缀表示的碳原子数目。如在本公开内容所使用的，词缀(C₁-C_{qq})、Q_{1-qq}或 Q₁-C_{qq}具有相同的含义，其中 qq 是从 2-20 的整数。例如(C₁-C₈)烷基、C₁₋₈烷基或 C₁-C₈烷基包括甲基、乙基、正丙基、2-丙基、正丁基、2-丁基、叔丁基、戊基和类似烷基。对于本文的每一定义(例如烷基、烯基、烷氧基、芳烷氧基(araalkyloxy))，当不含有表示烷基部分主链碳原子数的词缀时，其基团或部分将具有六个或更少的主链碳原子。任选地，(C₁-C₆)烷基可以任选地进一步用取代基取代，所述取代基包括，例如，氘(“D”)、羟基、氨基、单(C₁-C₆)烷基氨基或二(C₁-C₆)烷基氨基、卤素、C₂-C₆烯基醚、氰基、硝基、乙烯基、乙炔基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷硫基、-COOH、-CONH₂、单-(C₁-C₆)烷基-酰胺基或二-(C₁-C₆)烷基-酰胺基、-SO₂NH₂、-OSO₂-(C₁-C₆)烷基、单(C₁-C₆)烷基磺酰氨基或二(C₁-C₆)烷基磺酰氨基、芳基、杂芳基、烷基磺

酰氧基、杂烷基磺酰氧基、芳基磺酰氧基或杂芳基磺酰氧基。

[0039] “烯基”指直链单价烃基或支链单价烃基，其具有词缀表示的碳原子数目并且含有至少一个双键，但是不超过三个双键。例如(C₂-C₆)烯基包括乙烯基、丙烯基、1,3-丁二烯基和类似烯基。任选地，链烯基可以进一步用取代基取代，所述取代基包括，例如，氘(“D”)、羟基、氨基、单(C₁-C₆)烷基氨基或二(C₁-C₆)烷基氨基、卤素、C₂-C₆烯基醚、氰基、硝基、乙烯基、乙炔基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷硫基、-COOH、-CONH₂、单-(C₁-C₆)烷基-酰胺基或二-(C₁-C₆)烷基-酰胺基、-SO₂NH₂、-OSO₂-(C₁-C₆)烷基、单(C₁-C₆)烷基磺酰氨基或二(C₁-C₆)烷基磺酰氨基、芳基、杂芳基、烷基或杂烷基磺酰氧基、以及芳基或杂芳基磺酰氧基。

[0040] “烷化剂”指通过与大分子上的亲核体的亲电反应可形成共价烷基键连接到大分子的反应部分。“氨基磷酸酯烷化剂(Phosphoramidate alkylator)”指存在氮丙啶或氮丙啶^鎗亲电体或通过分子内环化产生氮丙啶或氮丙啶^鎗亲电体的烷化剂。

[0041] “亚烷基”指具有一到十二个碳原子的直链饱和二价烃基或具有一到十二个碳原子的支链饱和二价烃基，任选地可以进一步用取代基取代，所述取代基包括，例如，氘(“D”)、羟基、氨基、单(C₁-C₆)烷基氨基或二(C₁-C₆)烷基氨基、卤素、C₂-C₆烯基醚、氰基、硝基、乙烯基、乙炔基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷硫基、-COOH、-CONH₂、单-(C₁-C₆)烷基-酰胺基或二-(C₁-C₆)烷基-酰胺基、-SO₂NH₂、-OSO₂-(C₁-C₆)烷基、单(C₁-C₆)烷基磺酰氨基或二(C₁-C₆)烷基磺酰氨基、芳基、杂芳基、烷基或杂烷基磺酰氧基、以及芳基或杂芳基磺酰氧基。例如，亚烷基包括亚甲基、亚乙基、亚丙基、2-甲基-亚丙基、亚戊基、亚己基和类似亚烷基。

[0042] “杂亚烷基”基本上具有前面给出的亚烷基的含义，除了在亚烷基的双基中可以存在一个或多个杂原子(即氧、硫、氮和/或磷)。例如，杂亚烷基包括-CH₂OCH₂O-、-CH₂CH₂OCH₂CH₂-、-CH₂CH₂N(CH₃)CH₂CH₂-、-CH₂CH₂SCH₂CH₂-和类似物。

[0043] “芳基”是指6到10个环原子的单价单环或双环芳族烃基，其被一个到八个，优选一个、两个、三个、四个或五个取代基独立取代，所述取代基选自氘(“D”)、烷基、环烷基、环烷基烷基、卤素、硝基、氰基、羟基、烷氧基、氨基、酰氨基、单烷基氨基、二烷基氨基、卤代烷基、卤代烷氧基、杂烷基、COR(其中R是氢、烷基、环烷基、环烷基烷基、苯基或苯基烷基)、-(CR'R'')_n-COOR(其中n是0至5的整数，R'和R''独立地为氢或烷基，R是氢、烷基、环烷基、环烷基烷基、苯基或苯基烷基)或-(CR'R'')_n-CONR^xR^y(其中n是0至5的整数，R'和R''独立地为氢或烷基，R^x和R^y独立地选自氢、烷基、环烷基、环烷基烷基、苯基或苯基烷基)。在一实施方式中，R^x和R^y一起为环烷基或杂环基。更具体地，术语芳基包括但不限于，苯基、联苯基、1-萘基和2-萘基，以及它们的取代形式。

[0044] “环烷基”是指具有3至7个环碳的单价环状烃基。环烷基可以具有

一个或多个双键，任选地也可独立地用一个、两个、三个或四个取代基取代，所述取代基选自烷基、任选取代的苯基或-C(O)R^z(其中 R^z 为氢、烷基、卤代烷基、氨基、单烷基氨基、二烷基氨基、羟基、烷氧基或任选取代的苯基)。更具体地，术语环烷基包括，例如，环丙基、环己基、环己烯基、苯基环己基、4-羧基环己基、2-酰胺基-环己烯基、2-二甲基氨基羰基-环己基和类似物。

[0045] “杂烷基(Heteroalkyl)”是指如本文定义的烷基，其带有一个、两个或三个取代基，所述取代基独立地选自氰基、-OR^w、-NR^xR^y和-S(O)_pR^z(其中 p 是 0 至 2 的整数)，可以理解，杂烷基的连接点是通过所述杂烷基的碳原子。R^w 是氢、烷基、环烷基、环烷基-烷基、芳基、芳烷基、烷氧基羰基、芳氧基羰基、酰胺基、或单烷基氨基甲酰基或二烷基氨基甲酰基。R^x 是氢、烷基、环烷基、环烷基-烷基、芳基或芳烷基(araalkyl)。R^y 是氢、烷基、环烷基、环烷基-烷基、芳基、芳烷基、烷氧基羰基、芳氧基羰基、酰胺基、单-烷基甲酰基或二-烷基甲酰基或烷基磺酰基。R^z 是氢(条件是 n 为 0)、烷基、环烷基、环烷基-烷基、芳基、芳烷基、氨基、单烷基氨基、二烷基氨基或羟烷基。代表性实例包括，例如，2-羟乙基、2,3-二羟基丙基、2-甲氧基乙基、苄氧基甲基、2-氰乙基和 2-甲基磺酰基-乙基。对于上述的每一个，R^w、R^x、R^y 和 R^z 可以进一步被氨基、卤素、氟、烷基氨基、二烷基氨基、OH 或烷氧基取代。另外，表示碳原子数目的词缀(例如 C₁-C₁₀)是指杂烷基中除氰基、-OR^w、-NR^xR^y 或-S(O)_pR^z 部分之外的部分中的碳原子总数。

[0046] 在一实施方式中，R^x 和 R^y 一起为环烷基或杂环基。

[0047] “杂芳基”是指具有 5 至 12 个环原子的单价单环、双环或三环基，具有至少一个含有一个、两个或三个选自 N、O 或 S 的环杂原子的芳环，剩余的环原子为 C，可以理解，杂芳基的连接点是在芳环上。杂芳环任选地被一个到八个，优选一个、两个、三个或四个取代基独立取代，所述取代基选自烷基、环烷基、环烷基-烷基、卤素、硝基、氰基、羟基、烷氧基、氨基、酰氨基、单烷基氨基、二烷基氨基、卤代烷基、卤代烷氧基、杂烷基、-COR(其中 R 是氢、烷基、苯基或苯基烷基)、-(CR'R'')_n-COOR(其中 n 是 0 至 5 的整数，R'和 R''独立地为氢或烷基，R 是氢、烷基、环烷基、环烷基-烷基、苯基或苯基烷基)或-(CR'R'')_n-CONR^xR^y(其中 n 是 0 至 5 的整数，R'和 R''独立地为氢或烷基，R^x 和 R^y 彼此独立地选自氢、烷基、环烷基、环烷基-烷基、苯基或苯基烷基)。在一实施方式中，R^x 和 R^y 一起为环烷基或杂环基。更具体地，术语杂芳基包括但不限于吡啶基、呋喃基、噁吩基、噻唑基、异噻唑基、三唑基、咪唑基、异^𠄎唑基、吡咯基、吡唑基、哒嗪基、嘧啶基、苯并呋喃基、四氢化苯并呋喃基、异苯并呋喃基、苯并噻唑基、苯并异噻唑基、苯并三唑基、吲哚基、异吲哚基、苯并^𠄎唑基、喹啉基、四氢喹啉基、异喹啉基、苯并咪唑基、苯并异^𠄎唑基或苯并噻吩基、吲唑基、吡咯并嘧啶基(pyrrolopyrimidinyl)、中氮茛基(indolizinylyl)、吡唑并吡啶基、三唑并吡啶基、吡唑并嘧啶基、三唑并嘧啶基、吡咯并三嗪基、吡唑并三嗪基、三唑并三嗪基、吡

唑并四嗪基、六吡啶基和七吡啶基、以及它们的衍生物。除非另外指明，杂原子在环中的排列可以是组成环原子的键合特性所允许的任何排列。

[0048] “杂环基”或“环杂烷基”是指具有3至8个环原子的饱和或不饱和非芳族环状基团，其中1至4个环原子是选自O、NR(其中R为氢、烷基、环烷基、环烷基烷基、苯基或苯基烷基)、P(=O)OR^w或S(O)_p(其中p是0至2的整数)的杂原子，其余的环原子是C，其中1个或2个C原子可以任选地被羰基取代。杂环基环可以任选地独立地用1、2、3或4个取代基取代，所述取代基选自烷基、芳基、芳烷基、杂芳基、杂芳烷基、环烷基、环烷基烷基、卤素、硝基、氰基、羟基、烷氧基、氨基、单烷基氨基、二烷基氨基、卤代烷基、卤代烷氧基、-COR(其中R是氢、烷基、环烷基、环烷基烷基、苯基或苯基烷基)、-(CR'R'')_n-COOR(n是0至5的整数，R'和R''独立地为氢或烷基，R是氢、烷基、环烷基、环烷基烷基、苯基或苯基烷基)、或-(CR'R'')_n-CONR^xR^y(其中n是0至5的整数，R'和R''独立地为氢或烷基，R^x和R^y彼此独立地为氢、烷基、环烷基、环烷基烷基、苯基或苯基烷基)。更具体地，术语杂环基包括但不限于吡啶基、四氢吡喃基、N-甲基哌啶-3-基、N-甲基吡咯烷-3-基、2-吡咯烷酮-1-基、咪唑基、噻吩基、苯并噻吩基、吡咯烷基、哌啶基、吗啉基、吡咯烷基、四氢咪唑基、四氢硫代咪唑基、1,1-二氧化-六氢-1Δ⁶-硫代吡喃-4-基、四氢咪唑并[4,5-c]吡啶基、咪唑啉基、哌嗪基和哌啶-2-酮基和它们的衍生物。表示碳原子数目的词缀(例如C₃-C₁₀)是指环杂烷基或杂环基部分中除杂原子数目之外的碳原子总数。

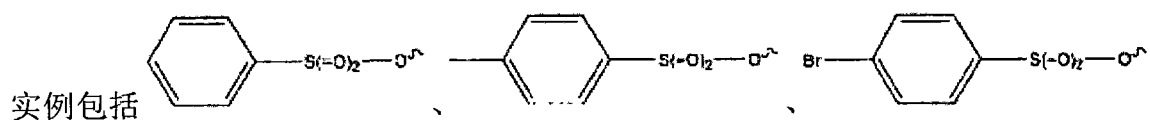
[0049] “C₁-C₆酰基”指-CO-(C₁-C₆烷基)，其中术语烷基定义如上。

[0050] “C₁-C₆杂酰基”指-CO-(C₁-C₆杂烷基)，其中术语杂烷基定义如上。

[0051] “芳酰基”指-CO-芳基，其中术语芳基定义如上。

[0052] “杂芳酰基”指-CO-杂芳基，其中术语杂芳基定义如上。

[0053] “R_{sul}磺酰氧基(R_{sul}sulfonyloxy)”指R_{sul}-S(=O)₂-O-，其包括烷基磺酰氧基、杂烷基磺酰氧基、环烷基磺酰氧基、杂环烷基磺酰氧基、芳基磺酰氧基和杂芳基磺酰氧基，其中R_{sul}分别是烷基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基，其中烷基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基定义如上。烷基磺酰氧基的实例包括Me-S(=O)₂-O-、Et-S(=O)₂-O-、CF₃-S(=O)₂-O-和类似物，芳基磺酰氧基的



和类似物。烷基磺酰氧基、杂烷基磺酰氧基、环烷基磺酰氧基、杂环烷基磺酰氧基、芳基磺酰氧基和杂芳基磺酰氧基基团在氨基磷酸酯烷化剂中可以是离去基团，在细胞中可被核酸如DNA或RNA和蛋白质的咪唑、羧酸酯或硫醇所取代，这引起烷基化以及细胞死亡。各种R_{sul}磺酰氧基基团与核酸、蛋白质或水的反应速率可根据例如R_{sul}部分的吸电子性质和空间体积进行调控，并且这些反应可提供氨基磷

酸酯烷化剂和其前体药物，特别地，它们在肿瘤的正常和氧含量低的区域对肿瘤比对健康细胞具有更强的毒性。

[0054] “取代基”与在上述每一基团的定义中具体描述的取代基一起，指选自下列的取代基：氘、-卤素、-OR'、-NR'R"、-SR'、-SiR'R"R"、-OC(O)R'、-C(O)R'、-CO₂R'、-CONR'R"、-OC(O)NR'R"、-NR"C(O)R'、-NR'-、C(O)NR"R"、-NR"C(O)₂R'、-NH-C(NH₂)=NH、-NR'C(NH₂)=NH、-NH-C(NH₂)=NR'、-S(O)R'、-S(O)₂R'、-S(O)₂NR'R"、-NR'S(O)₂R"、-CN 和 -NO₂、-R'、-N₃、全氟(C₁-C₄)烷氧基和全氟(C₁-C₄)烷基，其数目在零到基团上开放化合价总数之间；和其中 R'、R"和 R"独立地选自氢、C₁₋₈ 烷基、C₃₋₆ 环烷基、C₂₋₈ 烯基、C₂₋₈ 炔基、未取代的芳基和杂芳基、(未取代芳基)-C₁₋₄ 烷基、和未取代烷氧基-C₁₋₄ 烷基、用 1-3 个卤素取代的芳基、未取代的 C₁₋₈ 烷基、C₁₋₈ 烷氧基或 C₁₋₈ 硫代烷氧基、或者未取代的芳基-C₁₋₄ 烷基。当 R' 和 R"被连接到同一氮原子，它们可与氮原子结合形成 3-、4-、5-、6-或 7-元环。例如-NR'R"指包括 1-吡咯烷基和 4-吗啉基。其它适合的取代基包括每一个通过 1-4 个碳原子的亚烷基范围连接到环原子的上述芳基取代基。芳基或杂芳基环的相邻原子上的取代基中的两个可任选被具有式-T²-C(O)-(CH₂)_q-U³-的取代基所取代，其中 T² 和 U³ 独立地为-NH-、-O-、-CH₂-或单键，并且 q 是从 0 到 2 的整数。可选地，芳基或杂芳基环的相邻原子上的取代基中的两个可任选被具有式-A-(CH₂)_r-B-的取代基所取代，其中 A 和 B 独立地为-CH₂-、-O-、-NH-、-S-、-S(O)-、-S(O)₂-、-S(O)₂NR'-或单键，并且 r 是从 1 到 3 的整数。如此形成的新环的单键中的一个可任选地被双键所取代。可选地，芳基或杂芳基环的相邻原子上的取代基中的两个可任选被具有式-(CH₂)_s-X⁵-(CH₂)_t-的取代基所取代，其中 s 和 t 独立地为从 0 到 3 的整数，并且 X⁵ 是-O-、-NR'-、-S-、-S(O)-、-S(O)₂-或-S(O)₂NR'-。在-NR'-和-S(O)₂NR'中的取代基 R'选自氢或未取代的 C₁₋₆ 烷基。

[0055] 本发明的某些化合物拥有不对称碳原子(光学中心)或双键；外消旋物、非对映体、几何异构体、结构异构体(regioisomer)和单独的异构体(例如分离的对映体)都拟被包括在本发明的范围之内。本发明的化合物在组成这些化合物的一个或多个原子上也可包括非天然部分的原子同位素。例如，化合物可用放射性同位素放射标记，所述放射性同位素例如氚(³H)、碘-125(¹²⁵I)或碳-14(¹⁴C)。本发明的化合物的所有同位素的变体——无论是不是具有放射性，都拟被包括在本发明的范围之内。


[0056] 术语“药学上可接受的盐”是指包括用相对无毒性的酸或碱——这取决于在本文描述的化合物上的具体取代基，制备的活性化合物的盐。当本发明的化合物含有相对酸性官能度时，通过将这些化合物的中性形式与足够量的需要的碱相接触可得到碱性加成的盐，所述的碱是纯的或者在适合的惰性溶剂中。源自药学上可接受的无机碱的盐的实例包括：铝、铵、钙、铜、铁、亚铁、锂、锰、镁、亚锰、钾、钠、锌和类似物。源自药学上可接受的有机碱的盐包括下述物质

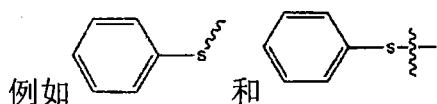
的盐：伯胺、仲胺和叔胺，这包括取代的胺、环胺、天然存在的胺和类似胺，例如精氨酸、甜菜碱、咖啡碱、胆碱、N,N'-二苊基乙二胺、二乙胺、2-二乙氨基乙醇、2-二甲氨基乙醇、乙醇胺、乙二胺、N-乙基吗啉、N-乙基哌啶、葡糖胺(glucamine)、氨基葡糖(glucosamine)、组氨酸、哈胺、异丙胺、赖氨酸、甲基葡糖胺、吗啉、哌嗪、哌啶(piperadine)、聚胺树脂、普鲁卡因、嘌呤、可可碱、三乙胺、三甲胺、三丙胺、三羟甲基甲胺(tromethamine)和类似物。当本发明的化合物含有相对碱性官能度时，通过这些化合物的中性形式与足够量的需要的酸相接触可得到酸性加成的盐，所述的酸是纯的或者在适合的惰性溶剂中。药学上可接受的酸加成的盐的实例包括源自无机酸的盐，所述无机酸如盐酸、氢溴酸、硝酸、碳酸、一氢碳酸、磷酸、一氢磷酸、二氢磷酸、硫酸、一氢硫酸、氢碘酸、或亚磷酸和类似物，以及源自相对无毒性的有机酸的盐，所述有机酸如乙酸、丙酸、异丁酸、马来酸、安息香酸、琥珀酸、辛二酸、反丁烯二酸、扁桃酸、邻苯二甲酸、苯磺酸、对-甲基磺酸(p-tolysulfonic acid)、柠檬酸、酒石酸、甲磺酸(methanesulfonic acid)和类似物。也包括氨基酸如精氨酸和类似物的盐，以及有机酸如葡糖醛酸或半乳糖醛酸和类似物的盐(参见如 Berge, S.M. 等, "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Science, 1977, 66, 1-19)。本发明某些具体的化合物同时含有碱性和酸性官能度，这样允许化合物被转化为碱或酸加成的盐。

[0057] 化合物的中性形式可通过将盐与碱或酸接触并且用传统的方式分离母体化合物而再产生。化合物的母体形式在某些物理性质上与各种盐形式不同，例如在极性溶剂中的溶解度，但是在其它方面，对于本发明，盐与化合物的母体形式是相同的。

[0058] 本发明的某些化合物可以以非溶剂化形式以及溶剂化形式存在，所述溶剂化形式包括水合形式。通常而言，溶剂化形式与非溶剂化形式相同，并拟被包括在本发明的范围内。本发明的某些化合物可以以多晶型或非晶型形式存在。通常而言，所有的物理形式对于本发明考虑的用途而言是相同的，并拟被包括在本发明的范围内。

[0059] 如本文使用的，“葡萄糖类似物”包括单-、二-和三糖。葡萄糖类似物包括含有氨基葡糖、N-乙酰基-氨基葡糖的糖；果糖；甘露糖和甘露糖衍生物；葡萄糖和葡萄糖衍生物，包括但不限于 2-脱氧葡萄糖(2-DG)、N-乙酰基-2-氨基-2-脱氧葡萄糖、3-氨基-3-脱氧-葡萄糖、2-氨基-2-脱氧-葡萄糖；和半乳糖和半乳糖衍生物，包括但不限于 D-2-脱氧-D-半乳糖、D-4-氨基-4-脱氧-半乳糖和 D-2-氨基-2-脱氧-半乳糖。因此，葡萄糖类似物可以与葡萄糖或衍生物如 DG 和氨基葡糖不同，因为其是其差向异构体。另外，葡萄糖类似物可以是任意前述化合物的氟化衍生物。而且，任意前述化合物的环中的氧可用选自硫、砷和类似物的等排物所取代。例如葡萄糖类似物可以是 5-硫代-D-葡萄糖或其衍生物。

[0060] 波浪线“”指将一个基团或部分连接到另一个基团或部分的位置。



表示硫代基团是连接另一个基团或部分的位置。

[0061] 术语 CO、C(O)、-CO-在本文可以互相交换使用。术语 CO₂ 和 COO 在本文可以互相交换使用。术语 SO₂、S(O)₂ 在本文可以互相交换使用。术语 SO 和 S(=O)在本文可以互相交换使用。术语 PO 和 P(=O)在本文可以互相交换使用。

[0062] 如本文使用的，化学部分如分子、基团或原子的“生物等排物”指具有相似大小和空间位置的一对电子对或多对电子对的另外的化学部分。生物等排物和生物等排性是公知的用于预测化合物生物活性的工具，这基于如此假设：具有相似大小、形状和电子密度的化合物可具有相似的生物活性。已知的生物等排取代包括，例如-F、-OH、-NH₂、-Cl 和 CH₃ 的相互交换；-Br 和 -i-C₃H₇ 的互相交换；-I 和 -t-C₄H₉ 的互相交换；-O-、-S-、-NH-、-CH₂-和-Se-的互相交换；-N=、-CH=和-P=(在环状或非环状部分)的互相交换；苯基和吡啶基的互相交换；-C=C-和-S-(例如苯和噻吩)的互相交换；芳族氮(R_{ar}-N(R_{ar})-R_{ar})与不饱和碳(R_{ar}-C(=R_{ar})-R_{ar})的互相交换；以及-CO-、-SO-和-SO₂-的互相交换。这些实例不限于生物等排等价物的范围，本领域的技术人员将能鉴定本领域其它已知的生物等排取代。参见，例如 Patani 等, 1996, *Chem. Rev.* 96: 3147-76;和 Burger, 1991, *A Prog. Drug Res.* 37: 287-371。

[0063] 已知分子的结合能力或功能的合适的定量预测可基于分子中少量的原子或官能团的空间排列进行。如本文使用的，这种排列被称为“药效团”，在分子中的一个或多个药效团被鉴定后，该信息可被用来鉴定含有相同或相似药效团的其它分子。该方法对医学化学领域的普通技术人员是公知的，并且作为在本申请中描述的结构信息鉴别氨基磷酸酯烷化剂前体药物和氨基磷酸酯烷化剂的药效团。进行药效团相关搜索可用的程序的实例是来自 Chemical Computing Group 的 3D 药效团搜索程序（参见 <http://www.chemcomp.com/fdept/prodinfo.htm>）。

[0064] “任选的”或“任选地”指其后描述的事件或情况可以发生，但不是必须发生，并且指该描述包括事件或情况发生的情形和事件或情况不发生的情形。例如，“任选地用烷基基团单或双取代的杂环基团”指，烷基可以但不是必须存在，并且该描述包括杂环基团被用烷基基团单或双取代的情形和杂环基团没有被用烷基基团取代的情形。

[0065] 取代基或变化的组合是允许的，仅仅如果这类组合产生稳定或化学可行的化合物。稳定的化合物或化学可行的化合物是当被保持在 4°C 或更低温度下，在不存在湿气或其它化学反应条件时，化学结构可在至少一周内基本上不发生改变的物质。

[0066] 如本文使用的，“前体药物”是这样的化合物，其在给药后被代谢或通过其它方式转变为活性形式，或比前体药物本身在至少一个生物性质上更有活性的形式。为了产生前体药物，药学活性化合物(或其适当的前体)可以被化学修饰，以便修饰形式具有较低活性或失活，但是该化学修饰在某些生物条件下可被有效

逆转,使得化合物的药理学活性形式通过代谢或其它生物过程产生。相对于该药物而言,前体药物可以具有,例如改变的代谢稳定性或转运特性、较少的副作用或较低的毒性、或改善的味道(参见文献 Nogrady, 1985, *Medicinal Chemistry A Biochemical Approach*, Oxford University Press, New York, pages 388-392)。前体药物也可使用如此的化合物制备,这些化合物不是药物但是其在某些生物条件下活化后,产生药理学活性化合物。如本文使用的氨基磷酸酯烷化剂前体药物是在活化后释放活性氨基磷酸酯烷化剂的前体药物。

[0067] 如本文使用的“细胞毒剂”是对细胞产生毒性影响的试剂或化合物。如本文使用的,“细胞抑制剂”是抑制或压制细胞生长和增殖的试剂。

[0068] 如本文使用的“低氧的细胞”是居住在低氧的体内环境中的细胞,例如在低氧的肿瘤区或在体外的细胞。如本文使用的“常氧的细胞”是居住在常氧的体内或体外环境中的细胞。如本文使用的化合物或试剂的“低氧细胞毒性”是其对低氧细胞的细胞毒性。如本文使用的化合物或试剂的“常氧细胞毒性”是其对常氧细胞的细胞毒性。

[0069] 如本文使用的“生物还原基团”指在氧化还原反应中接受电子的基团。生物还原基团是下列基团:(1)可被还原,即,能接受电子、氢和/或氢负离子的基团;(2)可在体内和/或体外被还原;(3)可在低氧下在体内和/或体外被还原;(4)可通过 DT-心肌黄酶、硫醇或通过光化学或电化学方法在体内和/或体外被还原;或(5)可通过生物方法例如酶水解、代谢等被除去和/或切割。

[0070] 例如,以及如下面更详细的描述,一种生物还原基团是可用多种基团取代的硝基咪唑。生物还原基团的其它实例包括但不限于基于缺电子硝基苯(electron deficient nitrobenzene)、缺电子硝基苯甲酸酰胺、硝基吡咯(nitroazole)、硝基咪唑、硝基噻吩、硝基噻唑、硝基吡啶、硝基吡咯(nitropyrrole),其中可任选取代这些类部分的每一个,这样生物还原基团的氧化还原电位处于如此范围内——在该范围内在肿瘤的低氧条件下,基团可通过 DT-心肌黄酶和/或硫醇进行还原。根据本文的公开内容,本领域的技术人员将理解如何取代这些和其它的生物还原基团,以提供具有处于所述范围内氧化还原电位的生物还原基团。

[0071] 一般而言,本领域技术人员可通过修饰基团以含有吸电子基团、给电子基团或这类基团的组合,来“调整”生物还原基团的氧化还原电位。例如,硝基噻吩、硝基咪唑和硝基噻唑基团可用一种或多种给电子基团取代以达到需要的氧化还原电位,所述给电子基团包括但不限于甲基、甲氧基或氨基基团。在另一实例中,可用吸电子基团取代硝基吡咯部分以达到需要的氧化还原电位,所述吸电子基团包括但不限于氰基、酰胺、 $-CF_3$ 和氨基磺酰基团。为了这个目标,可以使用强吸电子基团例如氰基、砒、氨基磺酰、酰胺、或 $-CF_3$ 和轻度吸电子基团例如 $-CH_2-$ 卤素,其中卤素是-F、-Cl或-Br。

[0072] 如本文使用的,“抗癌药”、“抗肿瘤药”或“抗癌药”指用于治疗癌症

的任何药剂。这类药剂可单独使用或者与其它化合物联合使用，它们可缓解、减轻、改善、抑制或者置于或保持在与瘤、肿瘤或癌症相关的临床症状或诊断标记的缓解状态。抗癌剂包括但不限于抗血管生成药、烷基化剂(alkylating agent)或烷化剂(alkylator)、抗代谢物、某些天然产物、铂配位络合物(platinum coordination complexe)、蒽醌、取代脲、甲基胍衍生物、皮质激素抑制剂、某些激素和拮抗剂、抗癌多糖、化学保护剂以及某些草本或其它植物提取液。

[0073] 如本文使用的，“癌症”指异常细胞的不受控制的生长和扩散所导致的一类 100 多种疾病中的一种，其可以采取实体瘤、淋巴瘤和非实体瘤如白血病的形式。

[0074] 如本文使用的，“恶性癌症”指具有转移能力、并且失去了生长和位置控制的癌细胞或者癌症。

[0075] 如本文使用的，“瘤”(瘤形成)或“肿瘤”指异常的新细胞或组织生长，其可以是良性的或者恶性的。

[0076] 如本文使用的，“治疗”疾病或患者是指采取步骤获得有益或所需的结果，包括临床结果。对于本发明，有益或所需的临床结果包括但不限于癌症或其它增生性疾病的一个或多个症状的缓解或改善，疾病程度减轻，疾病进展延迟或减慢，疾病状态改善、减轻或稳定，和如下所述的其它有益结果。

[0077] 如本文使用的，一个症状或多个症状的“减轻(reduction)”(和此词语的语法等价词)是指降低症状(一种或多种)的严重程度或频率，或消除症状(一种或多种)。

[0078] 如本文使用的，“给药”或向对象“给药”(和此词语的语法等价词)可以包括直接给药，包括自给药，和/或间接给药，包括开药物处方的行为。例如，如本文使用的，指导患者自给药和/或为患者提供药物处方的医生是向患者给药。

[0079] 如本文使用的，药物的“治疗有效量”是这样的药物量，当给予患有癌症的对象时，其将具有预期的治疗效果，例如，对象的癌症的一个或多个表现的缓解、改善、减轻或消除。全部治疗效应不必通过给予一个剂量而出现，可以仅在给予一系列剂量之后出现。因此，治疗有效量可以在一次或多次给药中给予。

[0080] 如本文使用的，药物的“预防有效量”是这样的药物量，当给予对象时，其将具有预期的预防效果，例如，防止或延迟疾病或症状的发生(或再发)或降低疾病或症状的发生(或再发)的可能性。全部预防效应不必通过给予一个剂量而出现，可以仅在给予一系列剂量之后出现。因此，预防有效量可以在一次或多次给药中给予。

[0081] 如本文使用的，“第二线”治疗指如此治疗，其对一次化学疗法方案(regimen)或“第一线”化学疗法没有应答的癌症给予治疗。“第三线”治疗指如此治疗，当初始治疗——第一线治疗和接下来的治疗——第二线治疗不起作用或者不再起作用时，给与癌症的治疗。

[0082] 如本文使用的“LogP”指物质亲脂性的测量，亲脂性基于辛醇和水之间物质的分配而确定。

IIa. 化合物

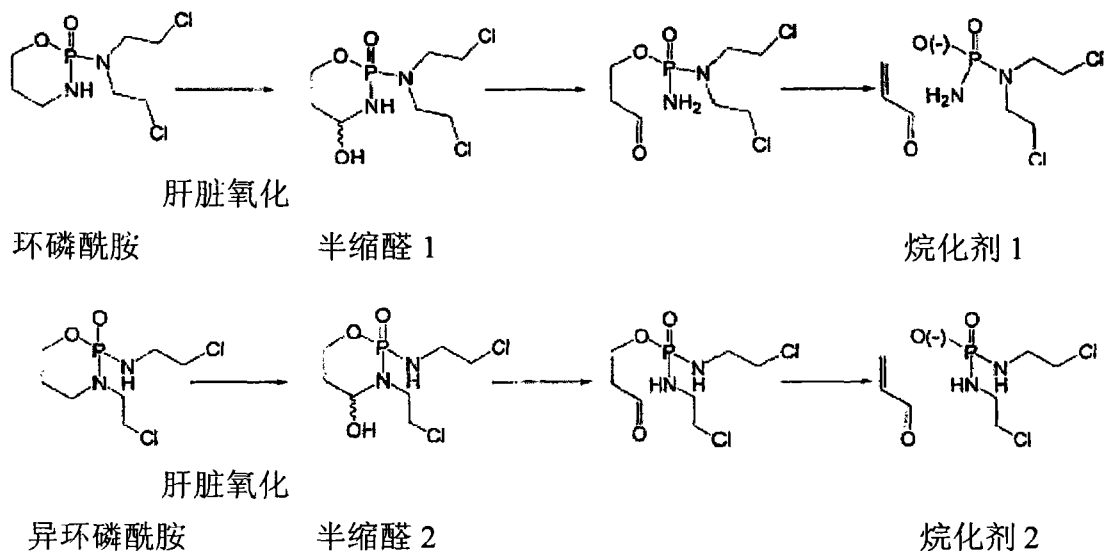
[0083] 大多数药物调节的癌症治疗——包括基于氨基磷酸酯烷化剂的治疗，依赖于被称为细胞毒剂的毒素，其对分裂细胞靶向具有选择性，所述细胞靶向例如其复制的 DNA、微管和多种生长因子和生长因子受体。这些药物是有效的，因为通常癌细胞比正常细胞分裂更频繁。然而，这些药物不可避免地几乎不能杀死患者的所有癌细胞。一个原因是癌细胞可突变并且发展出药物抗性。另一个原因是不是所有的癌细胞都比正常细胞分裂更频繁，缓慢分裂的癌细胞可能如同正常细胞对这样的细胞毒剂一样不敏感，或者甚至比正常细胞对细胞毒剂更不敏感。

[0084] 有些癌细胞存在于血管化较差的实体瘤中，不能产生细胞分裂所需要的能量，并且分裂缓慢。当肿瘤生长时，它需要血液供应，因而需要生长出新的血管。支持肿瘤生长的新血管通常是混乱的；这使肿瘤的重要区域血管化较差，并且甚至使血管化区域受到间歇式阻塞。肿瘤中这些血管化较差的和阻塞的区域的含氧量变低——与相应的正常组织相比它们具有较低的氧浓度或较低的氧分压，它们中的细胞表现出较慢的分裂速率。因而，仅有 10%的实体瘤的中值氧浓度 (median oxygen concentration) 落入了正常范围 40-60mm Hg 内，而有 50%的实体瘤的中值氧浓度低于 10mm Hg。

[0085] 肿瘤的低氧区域代表癌细胞转移和癌细胞对抗治疗的重要来源(参见，例如 De Jaeger 等, *Br J Cancer*. 2001, 84(9):1280-5 和 Rofstad 等, *Br J Cancer*. 1999, 80(11):1697-707)。那么，不值得奇怪的是，较低肿瘤氧水平与对治疗反应不足、增加的转移和较差的存活率相关。环磷酰胺和异环磷酰胺的活化和作用的机制可举例说明这些药剂如何不可能特异性靶向该困难，以杀死低氧区域的肿瘤。

[0086] 环磷酰胺和异环磷酰胺都是前体药物并且可在肝脏中经由中间体被氧化激活，以产生活性氨基磷酸酯烷化剂，分别为烷化剂 1(环磷酰胺芥子)和烷化剂 2(异环磷酰胺芥子)(参见下面)。电中性半缩醛 1 和 2 可以具有数分钟的半衰期，并且可渗透进或渗透出细胞。相反，阴离子烷化剂 1 和 2 具有小得多的细胞膜渗透能力，并且一旦在细胞外形成，不能有效地通过烷化细胞 DNA 而杀死细胞。

[0087] 当氨基磷酸酯烷化剂到达肿瘤，它们通常杀死快速生长、良好血管化、常氧、肿瘤外部区域的细胞。然而，这些氨基磷酸酯烷化剂在渗透入血管化更差、较缓慢生长、逐渐低氧的内部肿瘤区域方面并且在杀死其内的肿瘤细胞方面不是那么有效。在任意的这些活化烷化剂到达肿瘤之前，它们可与健康细胞反应并且导致毒性和/或细胞死亡。



[0088] 虽然低氧肿瘤很难治疗，但低氧肿瘤区可以产生各种化学基团的还原衍生物(参见文献 Workman 等, 1993, *Cancer and Metast. Rev.* 12: 73-82), 并且细胞毒素的前体药物可以被开发以利用这种生物还原环境(PCT 申请 US 04/009667 和 US 05/08161; PCT/US2005/041959 和 PCT/US2005/042095, 都属于 Matteucci 等)。通过一起使用生物还原基团(Z_3)和烷化剂, 可构建这类低氧还原(或低氧活化)前体药物。生物还原基团可用作共价结合或连接到氨基磷酸酯烷化剂的触发物(Trigger)部分的一部分。

[0089] 本发明的化合物通常被描述为氨基磷酸酯烷化剂前体药物。一般而言, 本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物具有下列结构:

Alk-触发物

其中 Alk 是氨基磷酸酯烷化剂, 触发物 T 具有结构 L- Z_3 , 其中连接体 L 被结合到生物还原基团 Z_3 。在一实施方式中, 触发物 T 是低氧激活触发物。

[0090] 氨基磷酸酯烷化剂衍生物在下列参看文献中被报道: Borch 等, *J. Med. Chem.* 2000, 43: 2258-65; 2001, 44: 69-73; 2001, 44: 74-7; Hernick 等 *J. Med. Chem.* 2002, 45: 3540-8; Hernick 等, *J. Med. Chem.* 2003, 46: 148-54; 美国专利第 4,908,356; 5,306,727; 5,403,932; 5,190,929; 5,472,956; 和 6,656,926 号; 美国专利申请公开第 2003/0008850 号; 和 Papot 等, *Curr. Med. Chem.*, 2002, 2, 155-85, 它们分离的化合物在其中被公开, 这不是本发明的主题。在一些实施方式中, 本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物具有一种或多种下列特性: (i)在低氧的组织中, 更高的低氧毒性或更低的 IC_{50} 或 IC_{90} 值, (ii)更低的含氧正常的细胞毒性, 以及(iii)更低的毒副作用情况或这些特性的一些组合。在一些实施方式中, 本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物与已知的氨基磷酸酯烷化剂衍生物不同, 在于: (i)释放的氨基磷酸酯烷化剂的性质, (ii)连接体(L)和/或生物还原基团 Z_3 的性质, (iii)一种以上生物还原基团部分的存在, 或这些特性的一些组合, (iv)通过更大的 HCR 值测定的增加的低

氧选择性细胞毒性, (v)增加的水溶性, (vi)增加的对肝脏微粒降解的稳定性和/或(vii)提供有效的氨基磷酸酯烷化剂前体药物, 所述前体药物是非手性的, 并且避免在体内代谢中特异性的对映体。

[0091] 为了理解为什么本发明的前体药物化合物代表对已知抗癌氨基磷酸酯烷化剂衍生物的明显进步, 了解肿瘤生物学特别是在低氧条件下的肿瘤生物学, 了解本文提供的前体药物的药物动力学和药效动力学是特别有帮助的。

[0092] 为了有效的肿瘤治疗, 低氧活化前体药物对于健康的常氧的细胞比对低氧肿瘤细胞具有少得多的毒性。在一些实施方式中, 本发明的低氧活化前体药物对于常氧的细胞比对于低氧细胞具有更少的活性和更低的毒性。当这类本发明的前体药物遇到实体瘤组织内的低氧、还原环境时, 生物还原基团的还原引起氨基磷酸酯烷化剂或活性细胞毒素的分解。在肿瘤区内释放氨基磷酸酯烷化剂, 并且可更容易地渗入实体瘤的低氧区。这些氨基磷酸酯烷化剂可在很难到达的实体瘤的低氧区杀死细胞, 同时减少了非癌健康细胞的死亡和对患者的毒副作用。因此, 本发明提供低氧活化前体药物, 对比于低氧、肿瘤细胞, 其对健康、常氧的细胞具有低得多的毒性。

[0093] 在某些实施方式中, 本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物使用含有硝基的芳族或吲哚醌部分作为触发物 T 中的生物还原基团。在低氧肿瘤中, 硝基基团被还原为羟氨基或氨基基团, 电子对从氨基或羟氨基流动穿过触发物 T 的共轭 π 电子体系释放氨基磷酸酯烷化剂。在另一实施方式中, 在低氧肿瘤中, 吲哚醌被还原为吲哚氢醌, 电子对从氢醌流动穿过触发物 T 释放氨基磷酸酯烷化剂。释放的氨基磷酸酯烷化剂在低氧肿瘤中和/或在低氧肿瘤附近杀死细胞。

[0094] 许多酶可负责触发物中生物还原基团 Z₃ 的还原。例如, 细胞色素 P450 还原酶可在第一步分别将生物还原基团中的硝基或醌部分还原成 NO₂(-)或半醌自由基阴离子。与常氧的组织相比, 低氧肿瘤区可具有更高浓度的还原酶。在常氧的情况下, 如在良好血管化的健康组织中, 在存在氧的情况下, 形成的 NO₂(-)或半醌自由基阴离子可与氧反应以回复到生物还原基团, 并且最终不会产生或释放氨基磷酸酯烷化剂。共价结合到 NO₂(-)或半醌自由基阴离子的芳基或杂芳基部分调控自由基阴离子的氧敏感性。

[0095] 生物还原基团的氧敏感性可部分地根据生物还原基团的还原电位而变化。因此, 例如, 一生物还原基团在具有 1%氧的低氧肿瘤区可被还原, 另一生物还原基团在具有 0.1%氧的低氧肿瘤区被还原, 而又一生物还原基团在具有 0.01%氧的低氧肿瘤区被还原。

[0096] 当生物还原基团如此容易被还原以致细胞色素 P450 还原酶或其它还原剂(“还原剂”)在健康常氧的组织中, 在存在氧的情况下可将其还原时, 生物还原基团失去了一些或所有其低氧特异性。如果生物还原基团中的 NO₂(-)或半醌自由基阴离子不与氧反应或者与氧反应缓慢, 自由基阴离子本身可释放氨基磷酸酯

烷化剂，或者其可被进一步还原并且释放氨基磷酸酯烷化剂，这引起对健康常氧的细胞和组织的毒性。本发明的新的氨基磷酸酯烷化剂前体药物对低氧癌细胞和组织比对健康常氧的细胞和组织的毒性更大。

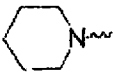
[0097] 将生物还原基团 Z₃ 还原的容易或困难性可通过生物还原基团的还原电位进行量度，并且其受连接体(L)和氨基磷酸酯烷化剂(Alk-H)影响。例如，与将生物还原基团共价结合到富含电子的连接体或富含电子的氨基磷酸酯烷化剂时相比，将生物还原基团连接到吸电子连接体或吸电子氨基磷酸酯烷化剂可使生物还原基团更容易被还原。

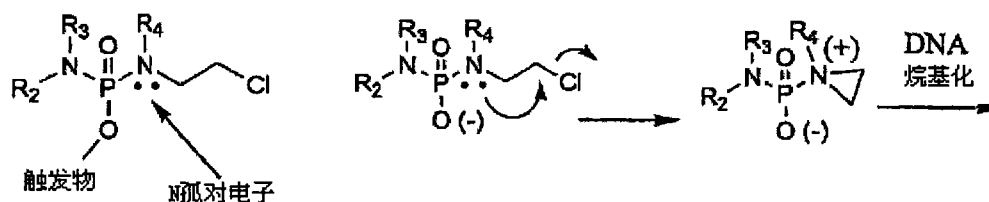
[0098] 触发物 T 可被氧化、水解或硫化，并且可以以低氧非选择性(non-senselective)方式释放氨基磷酸酯烷化剂。Telcyta™，一种临床的氨基磷酸酯烷化剂前体药物，可在不存在低氧的情况下，通过谷胱甘肽转移酶的作用释放活性毒素(参见，例如，“Methods of Treatment”部分的氨基磷酸酯烷化剂 1f)。关于氨基磷酸酯烷化剂的释放，连接体和/或氨基磷酸酯烷化剂的化学性质可影响前体药物的氧化、水解或硫化的稳定性。在本发明的一实施方式中，低氧活化的氨基磷酸酯烷化剂前体药物在低氧非特异性、氧化、水解或硫化中，不释放氨基磷酸酯烷化剂。

[0099] 根据本发明，在氨基磷酸酯烷化剂前体药物中合适地使用的触发物 T 可被用来“调整”前体药物的药物动力学，而不会改变细胞毒性性质。例如，抗癌药的大体积分布确保前体药物被组织很快吸收。根据本发明，在一实施方式中，氨基磷酸酯烷化剂前体药物分布的体积，可通过使用含有在生理条件下可形成铵阳离子的氨基基团的触发物 T 进行调节。在一实施方式中，含有季铵基团的触发物 T 可产生本发明的前体药物化合物，其具有大体积分布同时避免可能的内体截留。在另一实施方式，含有羰基官能度的触发物 T 将作为阴离子羧酸酯阴离子形式存在。正常健康组织外部的细胞外空间的 CO₂(⁻)不容易穿过正常细胞膜。肿瘤细胞外空间的更低 pH 可将 CO₂(⁻)转化为不带电荷的“CO₂H”形式，这允许前体药物通过肿瘤细胞膜。

[0100] 含有羟基、氨基、巯基和/或羰基基团的氨基磷酸酯烷化剂可被转化为前体药物，这是通过将触发物 T 共价结合到一个或多个这些官能团上完成的。在从氨基磷酸酯烷化剂转化为前体药物的过程中，氨基磷酸酯烷化剂中的羟基基团可被转化为例如醚或缩醛；氨基被转化为烷基氨基、氨基甲酸酯或酰胺；羰基基团转化为酯；以及巯基团转化为硫醚或硫代酰基，如下面在合成方法和实验部分更详细描述。这些转化可产生前体药物，与相应的氨基磷酸酯烷化剂相比，其具有更低的极性或更高的亲脂性。非极性氨基磷酸酯烷化剂前体药物不容易溶于含水药物载体或稀释液中。可溶性增强子基团如 CO₂H、氨基、烷基氨基、二烷基氨基和羟基可被使用在触发物 T 中，以调整前体药物的溶解度，并且克服在制备氨基磷酸酯烷化剂前体药物的含水制剂中遇到的任何问题。

[0101] 本发明的氨基磷酸酯烷化剂可具有一个或多个 N-(2-卤烷基)或 N-(2-卤乙基)和/或一个或多个共价结合到 P=O 部分的氮丙啶(N)部分, 如下文所示。在阴离子氨基磷酸酯烷化剂部分释放后, 氮丙啶或氮丙啶 N 类形成, 其可烷化 DNA(参见实施例部分, 实施例 36)。取决于 R_2 和 R_3 取代基的吸电子特性, 氮丙啶 N 形成动力学可变化。例如, 如下面的反应顺序所示, 当 NR_2R_3 部分从 NH_2 改变

为  时, 烷化的速度可增加(参见 Engle 等, *J. Med. Chem.*, 1987, 25: 1347-57)。氮原子上的取代基可改变氨基磷酸酯烷化剂的几何形状、P=O 部分中的该氮原子上的孤对电子的离域作用、用于氮丙啶 N 或随后的氮丙啶形成的氮孤对电子的有效性、以及氨基磷酸酯烷化剂前体药物和氨基磷酸酯烷化剂的水溶性。



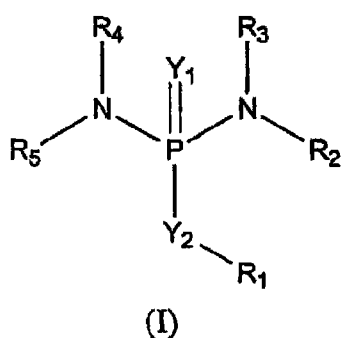
本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物

氨基磷酸酯烷化剂

氮丙啶 N

[0102] 本发明部分源于如此发现: 使用 2-硝基咪唑-生物还原基团的氨基磷酸酯烷化剂前体药物表现了出人意料高的低氧细胞毒性, 低常氧毒性和高 HCR 和提高的溶解度。例如, 在处于低氧的细胞中用 $0.05\mu\text{M}$ 的 IC_{50} 的抗增殖细胞毒性试验中, 化合物 24 和 25 在低氧细胞中的毒性分别为常氧细胞中的 400 到 1000 倍(参见实施例部分)。在抗增殖细胞毒性试验中, 含有异环磷酰胺芥子或异环磷酰胺芥子类似物和具有下列分子式的氨基磷酸酯烷化剂前体药物, 出人意料地在低氧细胞比常氧的细胞中毒性更高, 和/或与已知的具有 2-硝基噻吩-5-基、2-硝基呋喃-5-基或 5-硝基咪唑基、生物还原基团(Z_3)和 $\text{N,N}'$ (四-2-氯乙基(chloroethyl))氨基磷酸酯芥子或环磷酰胺芥子, 或者以吲哚醌基团作为 Z_3 和具有异环磷酰胺芥子的氨基磷酸酯烷化剂衍生物的 HCR 值相比, 拥有出人意料高的 HCR 值(参见, 例如, Borch 等, *J. Med. Chem.* 中化合物 P4, P 14- 17, P 19, 和 P21-22, 和美国专利第 6,656,926 号, 它们都在前面提到), 所述分子式为: $Z_3\text{-CH}_2\text{-O-P(=O)(NHCH}_2\text{CH}_2\text{X}_4)_2$ 、 $Z_3\text{-CH}_2\text{-O-P(=O)(NHCH(R}_9\text{)CH}_2\text{X}_4)_2$ 和 $Z_3\text{-CH(Z}_2\text{)-O-P(=O)(NHCH(R}_9\text{)CH}_2\text{X}_4)_2$; 其中 Z_2 是甲基; R_9 是氢、甲基或异丙基; Z_3 是 1-N-甲基-2-硝基咪唑-5-基、2-硝基噻吩-5-基或 2-硝基呋喃-5-基; 并且每一个 X_4 是 Cl 或 Br。

[0103] 在一个方面, 本发明提供了具有分子式(I)的氨基磷酸酯烷化剂前体药物:



其中

[0104] Y₁ 是 O、S、NR₆ 或 NSO₂R₆，其中每一 R₆ 独立为 C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 杂烷基、芳基或杂芳基；

[0105] Y₂ 是 O、S、NR₆、NCOR₆ 或 NSO₂R₆；

[0106] R₁-R₅ 的每一个是氢、羟基、氨基、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 杂烷基、C₃-C₈ 环烷基、杂环基、C₁-C₆ 烷氧基、C₁-C₆ 烷基氨基、C₁-C₆ 二烷基氨基、芳基、杂芳基、C₁-C₆ 酰基、C₁-C₆ 杂酰基、芳酰基或杂芳酰基；或者 R₁-R₅ 的任意两个一起形成 C₃-C₁₀ 杂环；或者 R₁-R₅ 的每一个独立为触发物 T，其中触发物是 L-Z₃；

[0107] L 选自

-[C(Z₁)₂-Y₃]_v-[C(=O)-O]_q-[C(Z₁)₂-Z₂-Y₄]_u-[C(Z₁)₂]_z-[C(Z₁)=C(Z₁)]_g-； 和
-[C(Z₁)₂-Y₃]_v-(S(=O)₂)_q-[C(Z₁)₂-Z₂-Y₄]_u-[C(Z₁)₂]_z-[C(Z₁)=C(Z₁)]_g-；

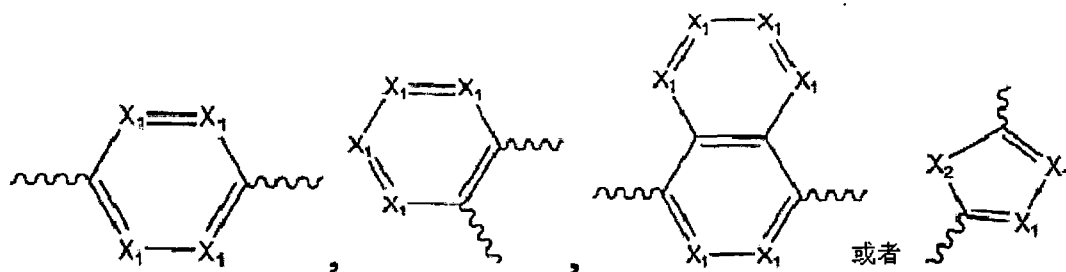
其中每一个 z、v、q、u 和 g 独立为 0 或者 1；

[0108] Y₃ 是 S、O 或 NR₇，其中每一 R₇ 独立地是氢、羟基、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 杂烷基、C₃-C₈ 环烷基、杂环基、C₁-C₆ 烷氧基、C₁-C₆ 烷基氨基、C₁-C₆ 二烷基氨基、芳基、杂芳基、C₁-C₆ 酰基、C₁-C₆ 杂酰基、芳酰基或杂芳酰基；

[0109] Y₄ 是 O、S 或者 -NR₇-C(=O)-O-；

[0110] 每一 Z₁ 独立为氢、卤素、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 杂烷基、芳基、杂芳基、C₃-C₈ 环烷基、杂环基、C₁-C₆ 酰基、C₁-C₆ 杂酰基、芳酰基或杂芳酰基；

[0111] Z₂ 是 C₁-C₆ 亚烷基、C₁-C₆ 杂亚烷基，

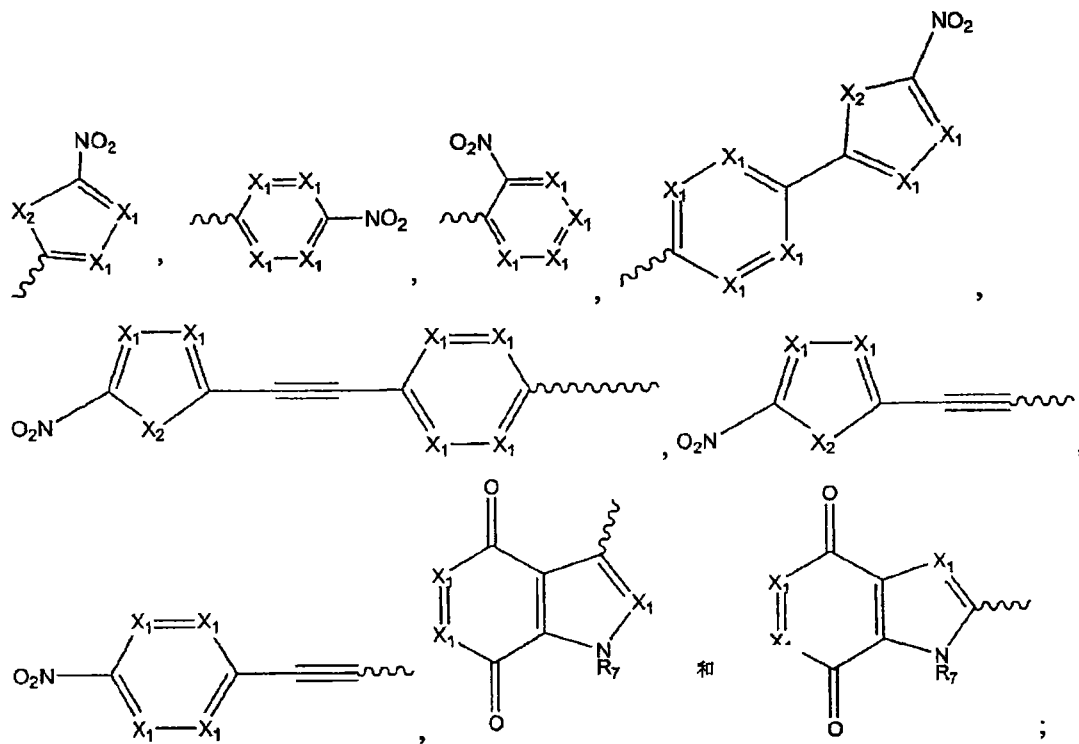


[0112] 其中每一 X₁ 独立为 N 或 CR₈，其中 R₈ 独立地是氢、卤素、OH、OP(=O)(OH)₂、硝基、氰基、CO₂H、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 杂烷基、C₁-C₆ 环烷基、C₁-C₆ 烷氧基、C₁-C₆ 烷基氨基、C₁-C₆ 二烷基氨基、芳基、CON(R₇)₂、C₁-C₆ 酰基、C₁-C₆

杂酰基、芳酰基或杂芳酰基；

[0113] X_2 是 NR₇、S 或 O；和

[0114] Z_3 是选自下面的生物还原基团：



条件是，在分子式(I)中：

[0115] (i) R_1 - R_5 的至少两个选自 2-卤烷基、2-烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基和 2-杂烷基磺酰氧基烷基；

[0116] (ii) R_1 - R_5 的至少一个选自 2-卤烷基、2-烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基和 2-杂烷基磺酰氧基烷基；并且 NR_2R_3 和 NR_4R_5 的至少一个是 $\sim N^{\triangleleft}$ ；或者

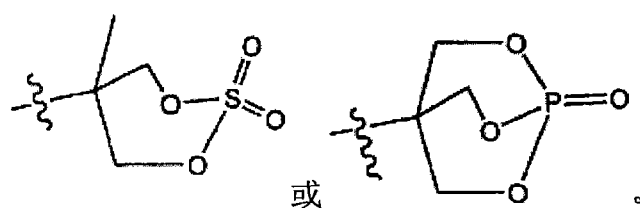
[0117] (iii) NR_2R_3 和 NR_4R_5 都是 $\sim N^{\triangleleft}$ ；以及

[0118] 提供其单独的异构体或异构体的外消旋或非外消旋混合物、生物电子等排物、药效团、药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物或前体药物。

[0119] 在一实施方式中， z 是 1。

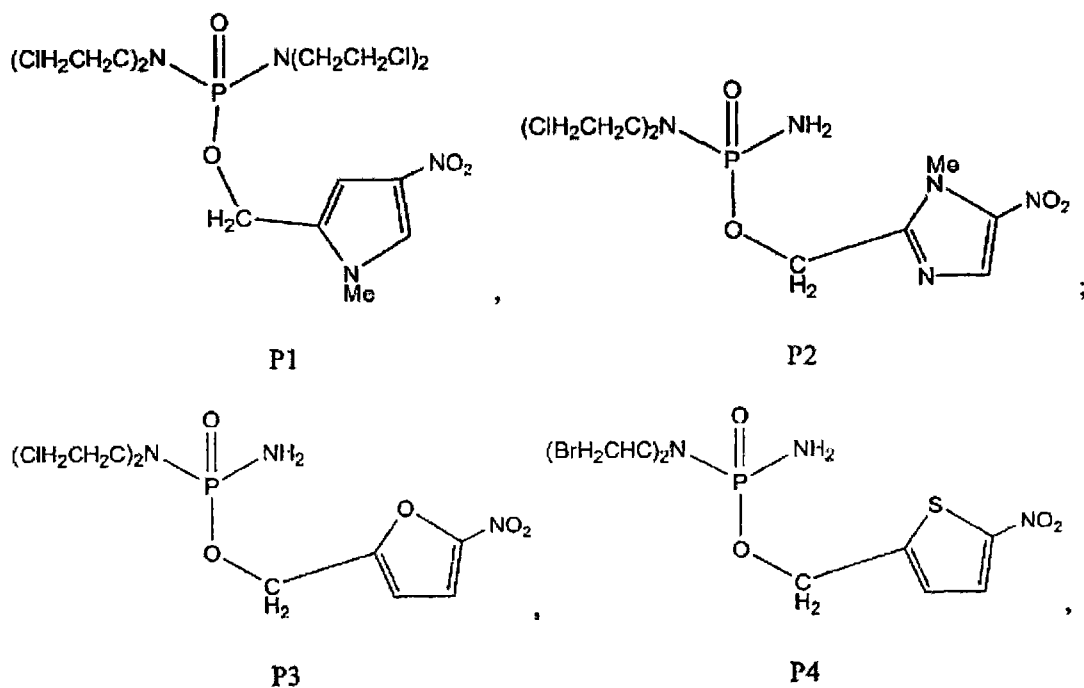
[0120] 在一实施方式中， R^2 - R^5 不是相同的。

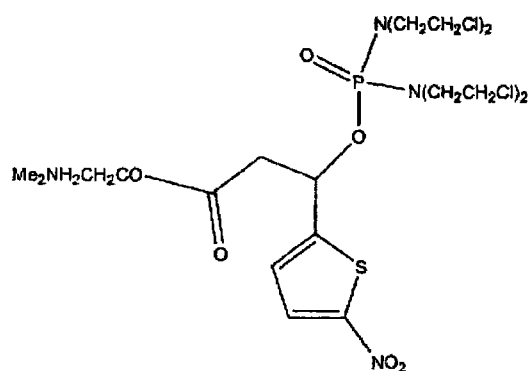
[0121] 在一实施方式中， R^2 - R^5 的任意一个是



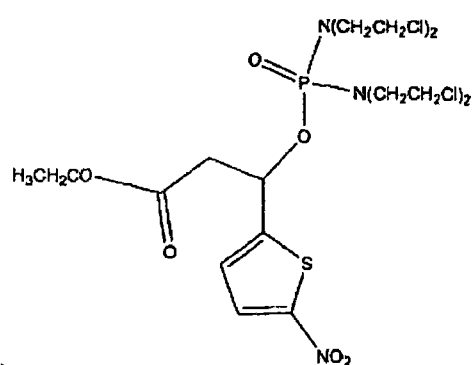
[0122] 在一实施方式中，本发明提供每一个使用两个氨基磷酸酯烷化剂的低氧活化氨基磷酸酯烷化剂前体药物。在一实施方式中，本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物使用 1-N-烷基-2-硝基咪唑-5-基部分或 1-N-甲基-2-硝基咪唑-5-基部分作为生物还原基团或 Z₃。在一实施方式中，本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物使用 2-硝基呋喃部分作为生物还原基团或 Z₃。

[0123] 在一实施方式中，本发明不包括下列化合物：

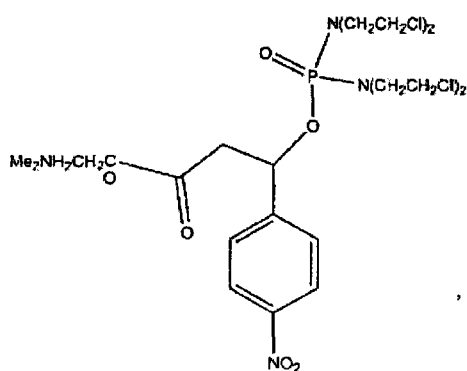




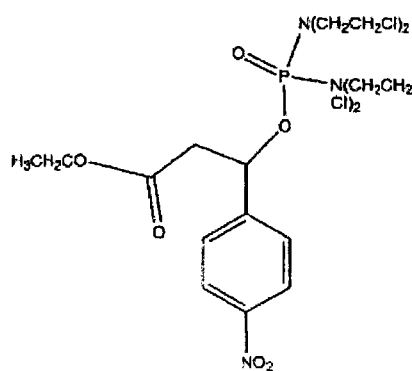
P5



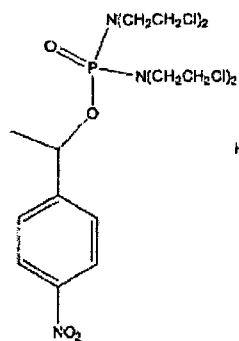
P6



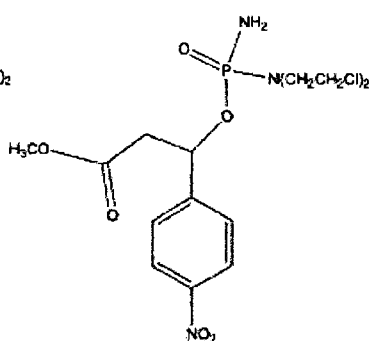
P7



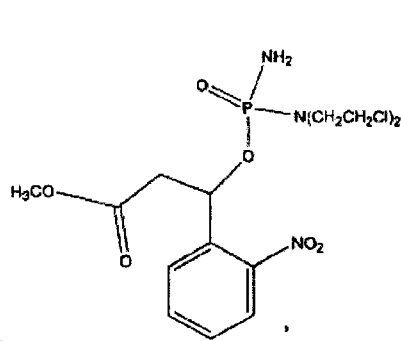
P8



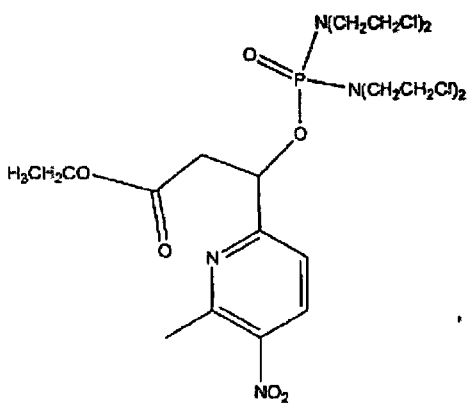
P9



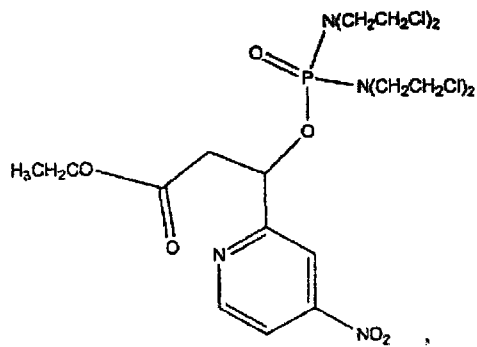
P10



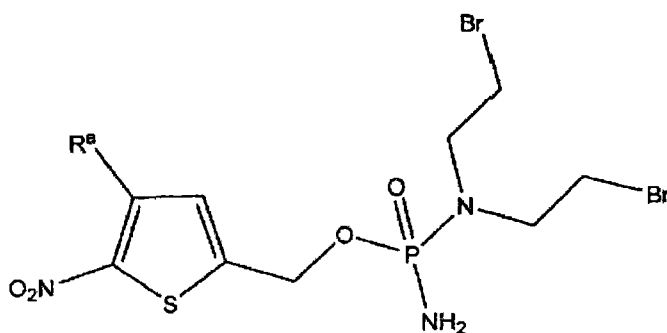
P11



P12

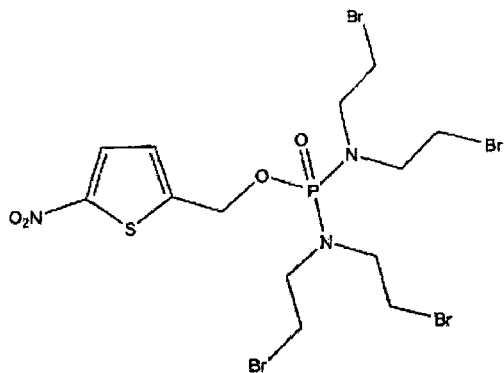


P13

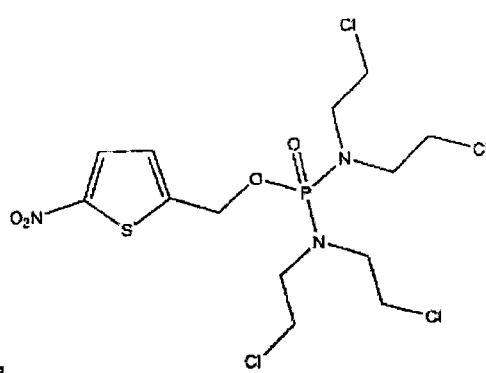


P14-P17

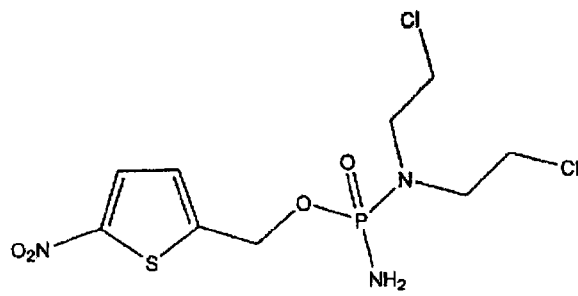
其中 R^a 是 H、Br (P14)、 NMe_2 (P15)、CN (P16) 或 $CONH_2$ (P17),



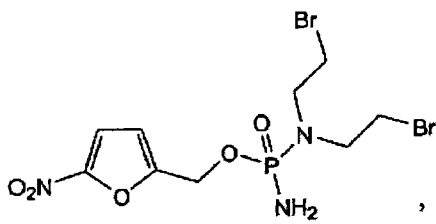
P18



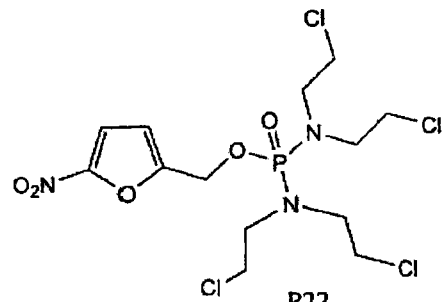
P19



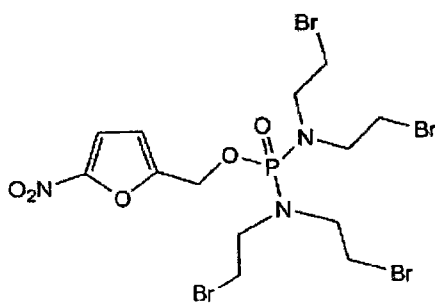
P20



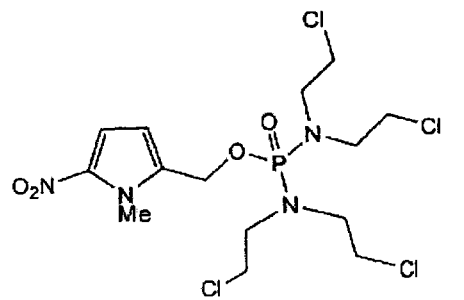
P21



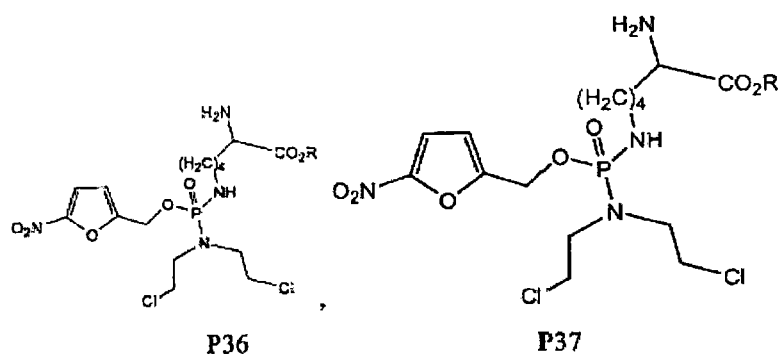
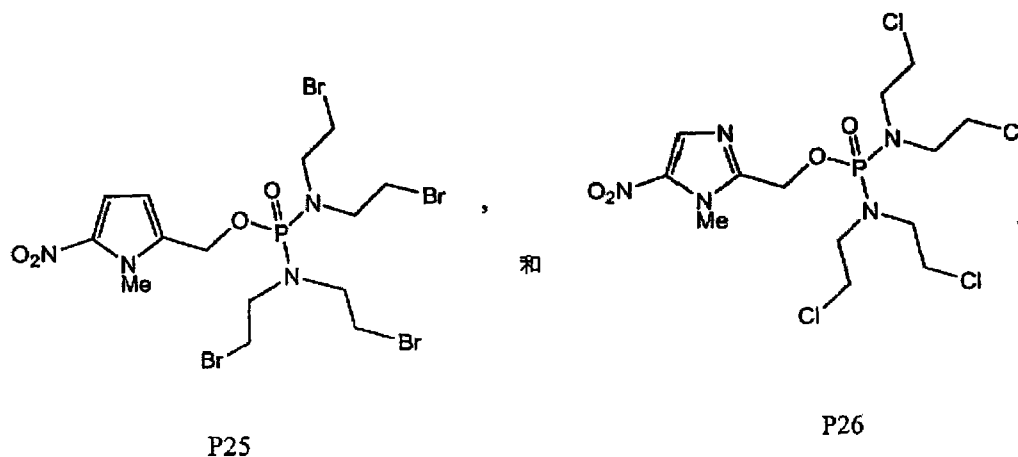
P22



P23



P24



其中 R 是 H、Me 或烯丙基；

[0124] 3-(5-甲氧基-1-甲基-4,7-咪唑醯基)-甲基二[N-甲基-N-(2-溴乙基)]二氨基磷酸酯(P27),

[0125] 3-(5-甲氧基-1-甲基-4,7-咪唑醯基)甲基 N,N-二(2-溴乙基)-二氨基磷酸酯(P28),

[0126] 2-(5-甲氧基-1-甲基-4,7-咪唑醯基)甲基二[N-甲基-N-(2-溴乙基)]二氨基磷酸酯(P29),

[0127] 2-(5-甲氧基-1-甲基-4,7-咪唑醯基)甲基 N,N-二(2-氯乙基)二氨基磷酸酯(P30),

[0128] 2-(5-甲氧基-1-甲基-4,7-咪唑醯基)甲基 N,N-二(2-溴乙基)二氨基磷酸酯(P31),

[0129] 3-(5-甲氧基-1-甲基-4,7-咪唑醯基)甲基 N,N-二(2-溴乙基)二氨基磷酸酯(P32),

[0130] 2-(5-甲氧基-1-甲基-4,7-咪唑醯基)甲基二[N-甲基-N-(2-溴乙基)]二氨基磷酸酯(P33),

[0131] 2-(5-甲氧基-1-甲基-4,7-咪唑醯基)甲基 N,N-二(2-氯乙基)二氨基磷酸酯(P34), 和

[0132] 2-(5-甲氧基-1-甲基-4,7-咪唑醯基)甲基 N,N-二(2-溴乙基)二氨基磷酸酯(P35)。

[0133] 在相关实施方式中, 本发明提供分子式(I)的化合物, 条件是:

[0134] (i) R_1 - R_5 的至少一个选自 2-烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基和 2-杂烷基磺酰氧基烷基，以及

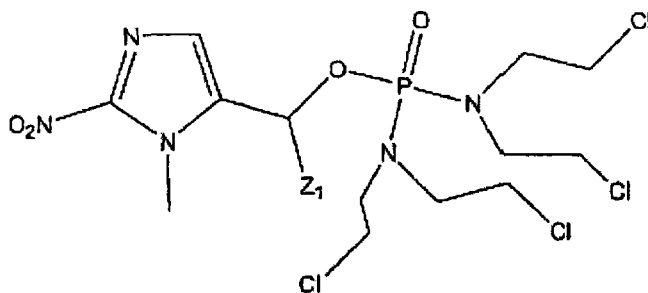
[0135] R_1 - R_5 的至少一个选自 2-卤烷基、2-烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基和 2-杂烷基磺酰氧基烷基；或者

[0136] (ii) R_1 - R_5 的至少一个选自 2-卤烷基、2- C_1 - C_6 烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基和 2-杂烷基磺酰氧基烷基；并且 NR_2R_3 和 NR_4R_5 的至少一个是 $\sim N \triangleleft$ ；或者

[0137] (iii) NR_2R_3 和 NR_4R_5 每一个是 $\sim N \triangleleft$ ；

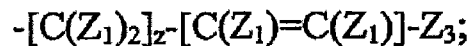
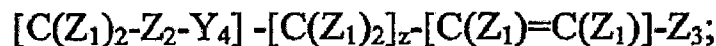
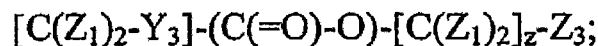
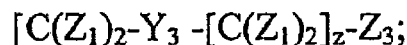
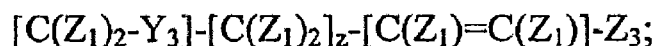
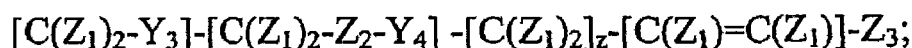
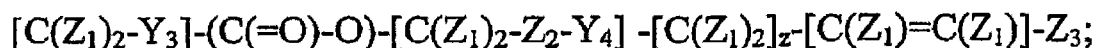
[0138] 在另一相关的实施方式中，本发明提供分子式(I)的化合物，条件是分子式(I)不包括 R_2 和 R_3 一起形成吗啉环或者 R_4 和 R_5 一起形成吗啉环。

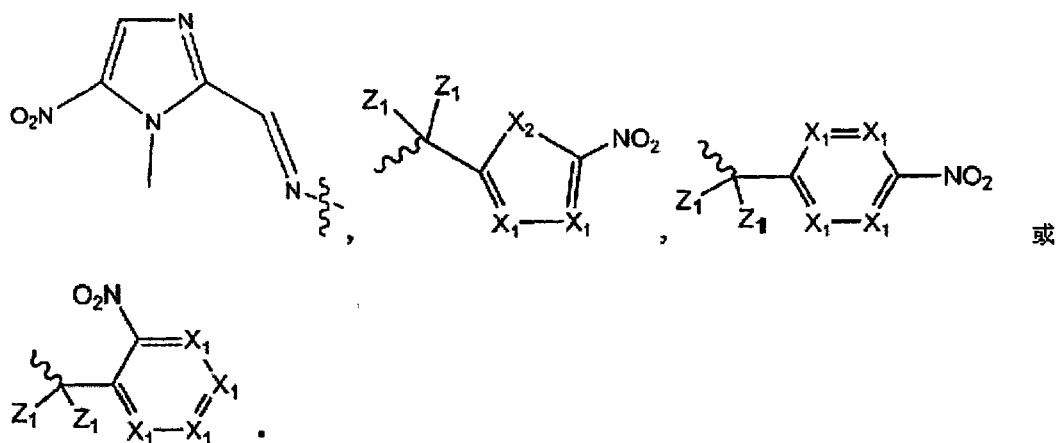
[0139] 在一实施方式中，本发明不包括具有下列结构的化合物：



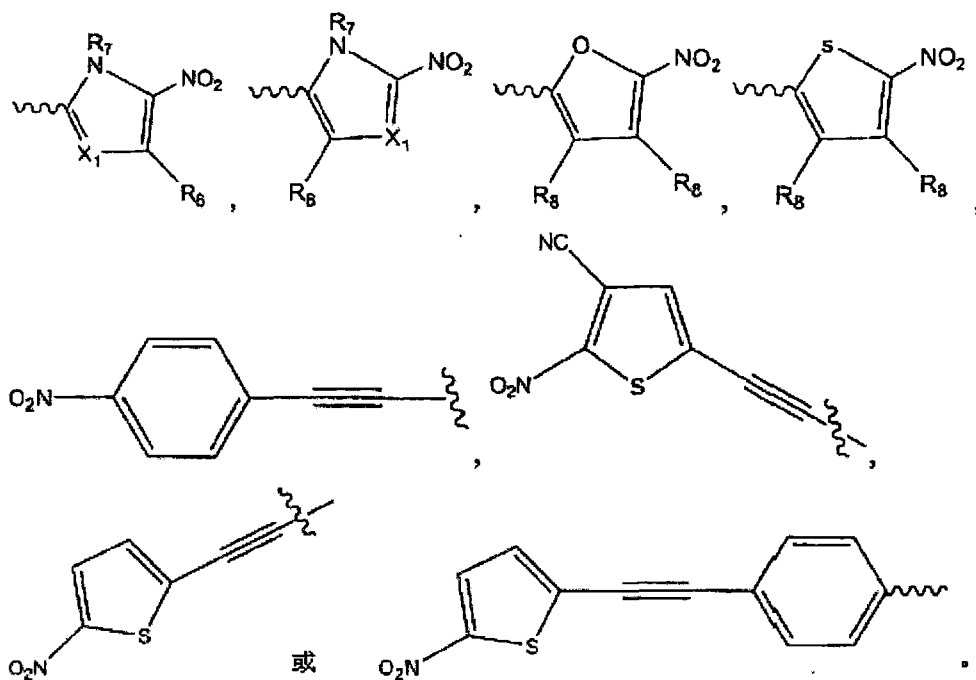
其中， Z_1 是氢或 C_1 - C_6 烷基。

[0140] 在一实施方式中，本发明提供化合物，其中触发物 T 是：





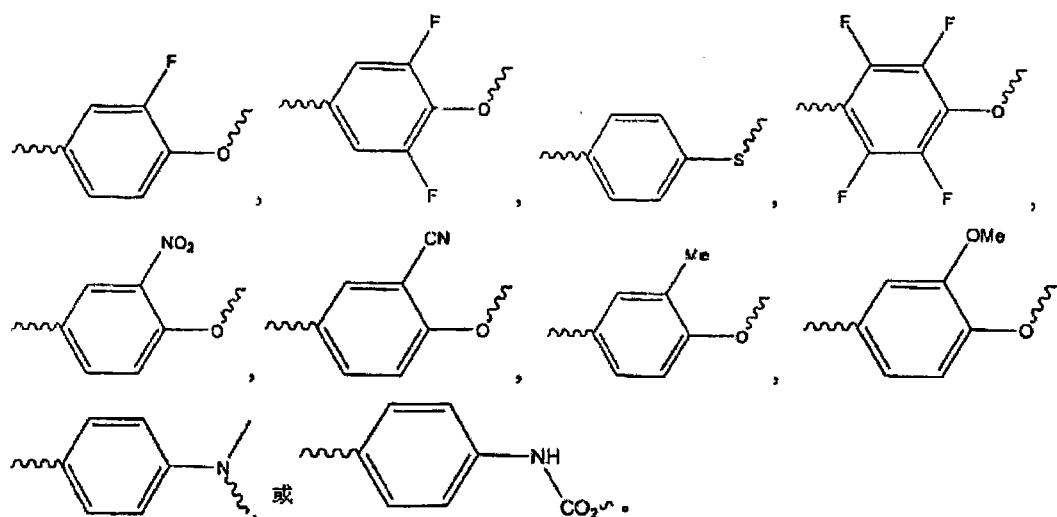
[0141] 在另外的实施方式中, Z_3 是:



[0142] 在一实施方式中, 每一 $-C(Z_1)_2-$ 是: $-CH_2-$, $-CHMe-$, $-CH(CN)-$, $-CH(CO_2H)-$, $-CH(CONH_2)-$, $-CH(CF_3)-$, $-CH(CHF_2)-$, $-C(Me)_2-$, $-C(Et)_2-$, $-CH(CH_2NMe_2)-$, $-CH(CH_2NMe_2)-$, $-C(CH_2NMe_2)_2-$, 或 $-C(CH_2CO_2H)_2-$ 。

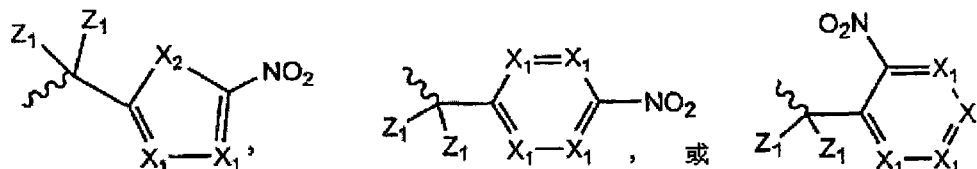
[0143] 在一实施方式中, $-C(Z_1)_2-Y_3$ 是: $-CH_2-O-$, $-CH_2-S-$, $-CH_2-NMe$, $-CH_2-NH-$, $CH(Me)-O-$, $CH(Me)-S-$; $-CH(Me)-NMe-$, $-CH(Me)-NH-$; $-CMe_2-NMe-$, $-CMe_2-NMe-$, 或 $-CMe_2-NMe-$ 。

[0144] 在一实施方式中, $-Z_2-Y_4$ 合起来是:

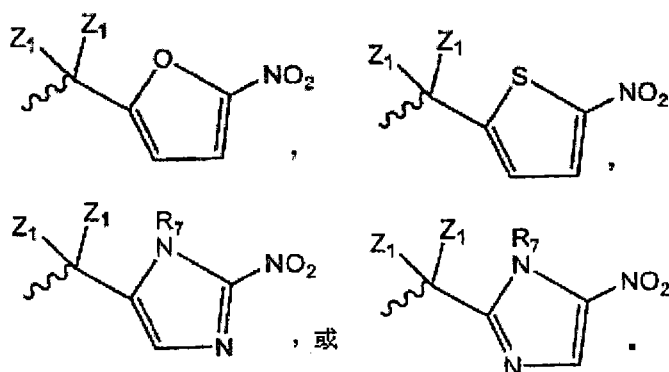


[0145] 在一实施方式中， $-\text{C}(\text{Z}_1)=\text{C}(\text{Z}_1)-$ 是 $-\text{CH}=\text{CH}-$ ， $-\text{C}(\text{CN})=\text{CH}-$ ， $-\text{CH}=\text{C}(\text{CN})-$ ， $-\text{C}(\text{Ar})=\text{CH}-$ ， $-\text{CH}=\text{CAr}-$ ， $-\text{C}(\text{COAr})=\text{CH}-$ ， $-\text{CH}=\text{C}(\text{COAr})-$ ， $-\text{C}(\text{COR}_{12})=\text{CH}-$ 或 $-\text{CH}=\text{C}(\text{COR}_{12})-$ ，其中 Ar 是芳基，其任选被多达 5 个选自下列的取代基所取代：OH, OMe, CF_3 , $\text{O}-\text{CHF}_2$, OCF_3 , NO_2 , CN, 卤素, 卤甲基, 二卤甲基, 三卤甲基, 羟甲基, CO_2H , CONH_2 , CONMe_2 , 和 CONHMe ; 并且 R_{12} 独立为氢, $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基, $\text{C}_1\text{-C}_6$ 杂烷基, $\text{C}_3\text{-C}_8$ 环烷基, 或杂环。

[0146] 在另一实施方式中，触发物是：

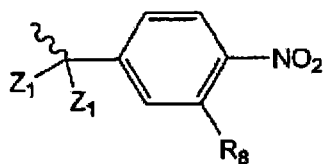


在另一实施方式中，触发物是



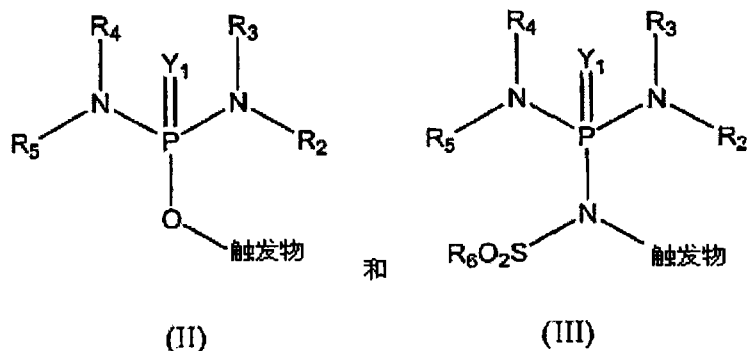
其中每一 Z_1 独立为 H 或 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基。

[0147] 在另一实施方式中，触发物是



其中每一 Z_1 为 H 或 C_1 - C_6 烷基, R_8 是 H、OH 或 $-OP(=O)(OH)_2$ 。

[0148] 在一实施方式中, 本发明提供分子式(II)和分子式(III)的化合物:



其中每一个 R_2 - R_5 独立地选自氢、羟基、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 杂烷基、 C_3 - C_8 环烷基、杂环基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 烷基氨基、 C_1 - C_6 二烷基氨基、芳基和杂芳基; 或者 R_2 - R_5 的任意两个一起形成 C_3 - C_{10} 杂环; 每一个 Y_1 独立地是 S 或 O; 以及每个触发物 T 如在式(I)中所定义;

[0149] 条件是在分子式(II)或(III)中:

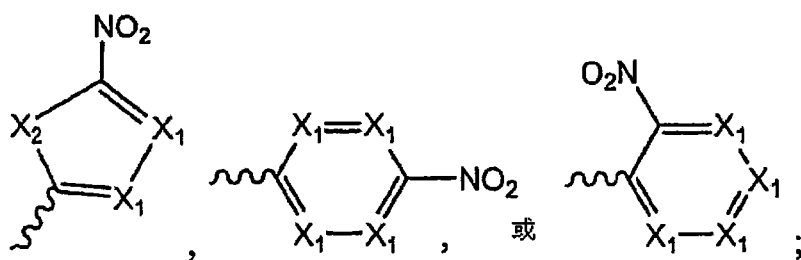
[0150] (i) R_1 - R_5 的至少二个选自 2-卤烷基、2-烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基和 2-杂烷基磺酰氧基烷基; 或

[0151] (ii) R_1 - R_5 的至少一个选自 2-卤烷基、2- C_1 - C_6 烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基和 2-杂烷基磺酰氧基烷基; 并且 NR_2R_3 和 NR_4R_5 的至少一个是 $\sim N$; 或者

[0152] (iii) NR_2R_3 和 NR_4R_5 每一个是 $\sim N$; 以及

[0153] 提供其单独的异构体或异构体的外消旋或非外消旋混合物、生物电子等排物、药效团、药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物或前体药物。

[0154] 在一实施方式中, 本发明提供分子式(II)的化合物, 其中触发物 T 是 $-CH_2-Z_3$ 、 $-CH(Z_1)-Z_3$ 或 $-C(Z_1)_2-Z_3$, 其中 Z_1 是 C_1 -烷基和 Z_3 是:



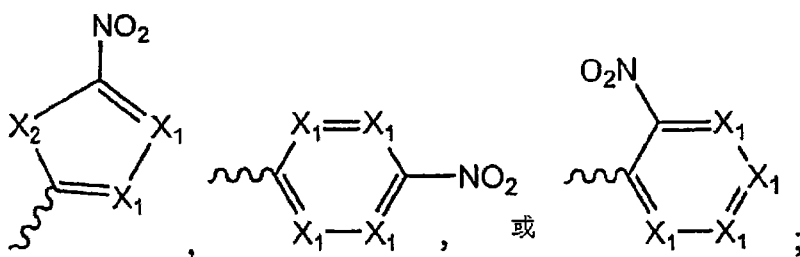
条件是在分子式(II)中:

[0155] (i) R_2 和 R_3 的一个是 H, 并且 R_4 和 R_5 的一个是 H;

[0156] (ii) R_2 和 R_3 的一个是 C_1 -烷基, 并且 R_4 和 R_5 的一个是 C_1 -烷基; 或者

[0157] (iii) R_2 - R_5 的至少一个是氢、氨基、 C_3 - C_8 环烷基、杂环基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 烷基氨基、 C_1 - C_6 二烷基氨基、芳基、杂芳基、 C_1 - C_6 酰基、 C_1 - C_6 杂酰基、或芳酰基或杂芳酰基。

[0158] 在一实施方式中, 本发明提供式(II)的化合物, 其中 Z_3 是选自下列的生物还原基团:



条件是在分子式(I)中:

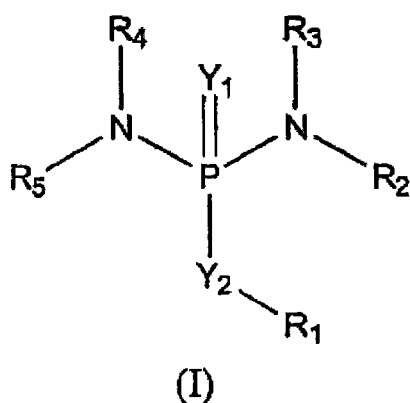
[0159] (i) R_1 - R_5 的至少一个选自 2-烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基和 2-杂烷基磺酰氧基烷基, 以及

[0160] R_1 - R_5 的至少一个选自 2-卤烷基、2-烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基和 2-杂烷基磺酰氧基烷基; 或者

[0161] (ii) R_1 - R_5 的至少一个选自 2-卤烷基、2- C_1 - C_6 烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基和 2-杂烷基磺酰氧基烷基; 并且 NR_2R_3 和 NR_4R_5 的至少一个是 $\sim N$; 或者

[0162] (iii) NR_2R_3 和 NR_4R_5 每一个是 $\sim N$ 。

[0163] 在一方面, 本发明提供分子式(I)的氨基磷酸酯烷化剂前体药物:



其中

[0164] R_1 是 $-[C(Z_1)_2-Y_3]_v-[C(=O)-O]_q-[C(Z_1)_2-Z_2-Y_4]_u-Z_3$ 或 $-[C(Z_1)_2-Y_3]_v-(S(=O)_2)_q-[C(Z_1)_2-Z_2-Y_4]_u-Z_3$, 其中每一个 v 、 q 和 u 独立为 0 或者 1; Z_3 是葡萄糖或其类似物, 条件是其不包括参考文件 Wiessler 等的美国专利第 5,622,936 号中描述的氨基磷酸酯烷化剂的葡萄糖偶联物(conjugate);

[0165] R_2-R_5 的每一个独立是氢、羟基、氨基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 杂烷基、 C_3-C_8 环烷基、杂环基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷基氨基、 C_1-C_6 二烷基氨基、芳基和杂芳基、 C_1-C_6 酰基、 C_1-C_6 杂酰基、芳酰基或杂芳酰基; 或者 R_1-R_5 的任意两个一起形成 C_3-C_{10} 杂环;

[0166] 条件是在分子式(I)中:

[0167] (i) R_2-R_5 的至少两个选自 2-卤烷基、2-烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基和 2-杂烷基磺酰氧基烷基;

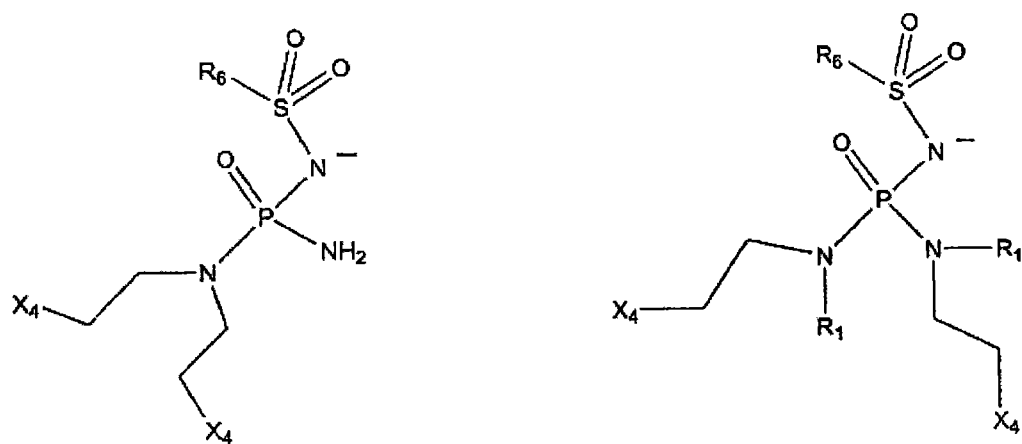
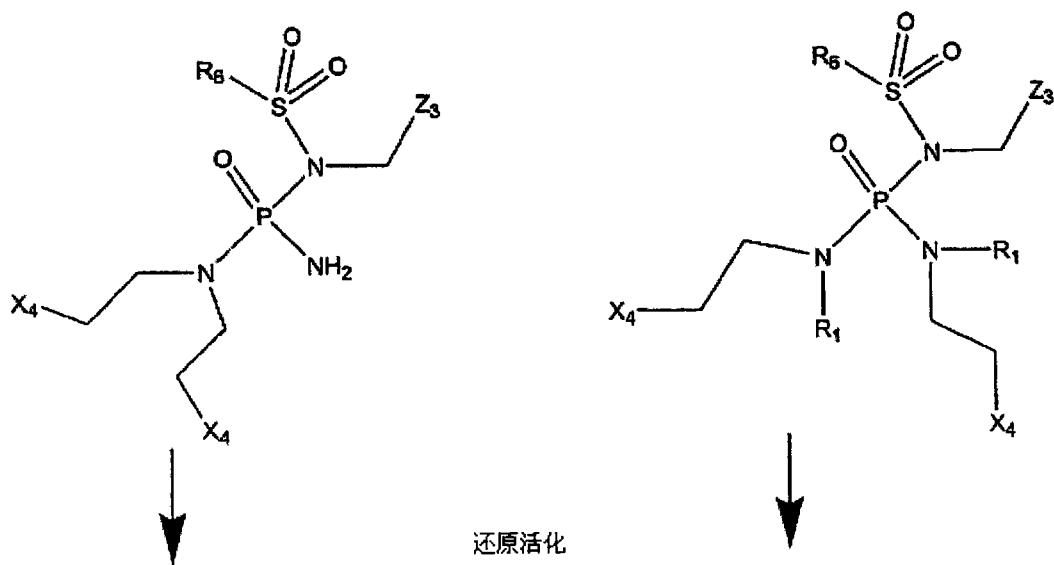
[0168] (ii) R_2-R_5 的至少一个选自 2-卤烷基、2- C_1-C_6 烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基和 2-杂烷基磺酰氧基烷基; 并且 NR_2R_3 和 NR_4R_5 至少一个是 \tilde{N} ; 或者

[0169] (iii) NR_2R_3 和 NR_4R_5 每一个是 \tilde{N} ; 以及

[0170] 提供其单独的异构体或异构体的外消旋或非外消旋混合物、生物电子等排物、药效团、药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物或前体药物。

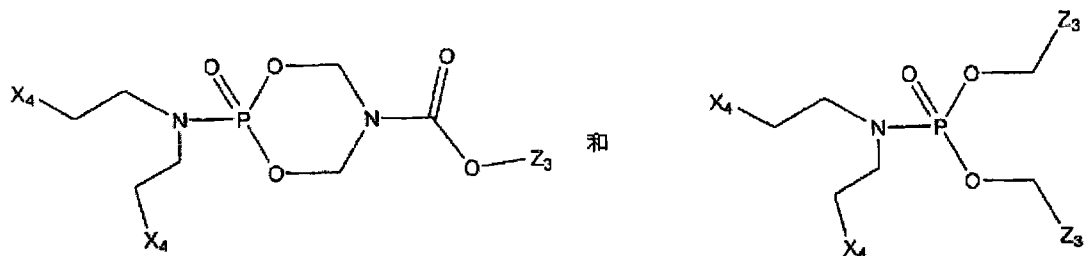
[0171] 在另一实施方式中, 本发明提供化合物:

氨基磷酸酯烷化剂前体药物



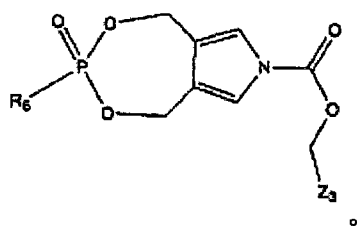
氨基磷酸酯烷化剂细胞毒素

[0172] 在另一实施方式中，本发明提供化合物：



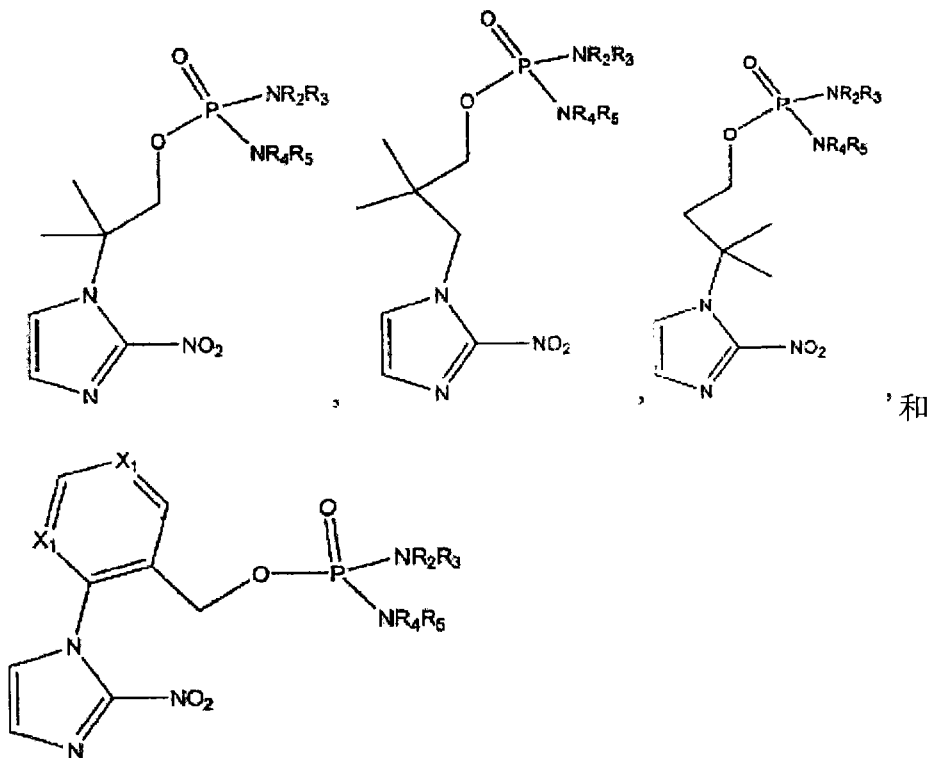
其中 X_4 和 Z_3 如前面定义。

[0173] 在另一实施方式中，本发明提供化合物：



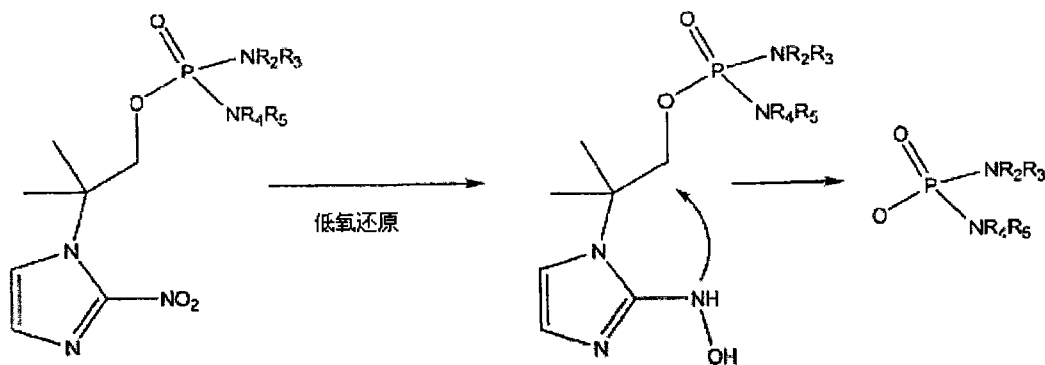
在一实施方式中， R_6 是 $-(N-CH_2CH_2X_4)_2$ 。

[0174] 在另一实施方式中，本发明提供化合物：



其中 R_2 - R_5 如在分子式(II)中所定义。

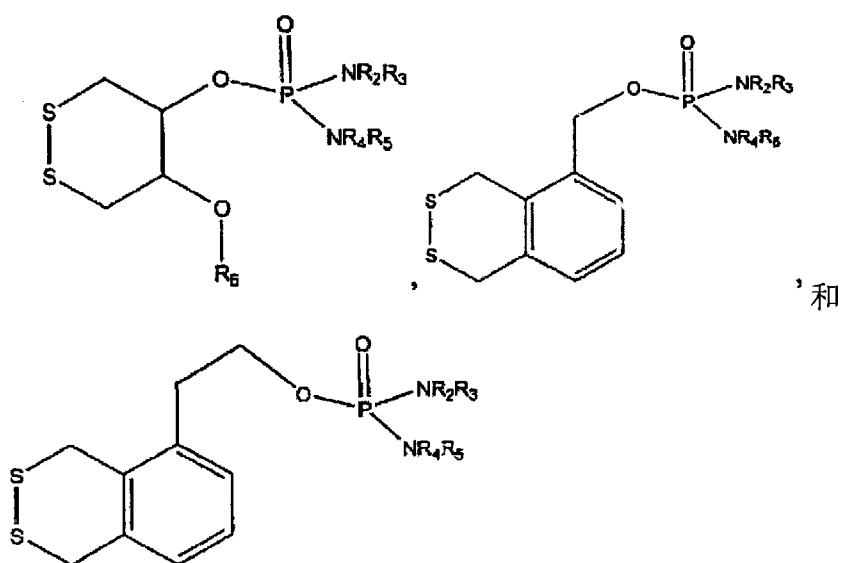
[0175] 下列的方案举例说明将氨基磷酸酯烷化剂前体药物低氧还原以产生相应的氨基磷酸酯烷化剂。



氨基磷酸酯烷化剂前体药物

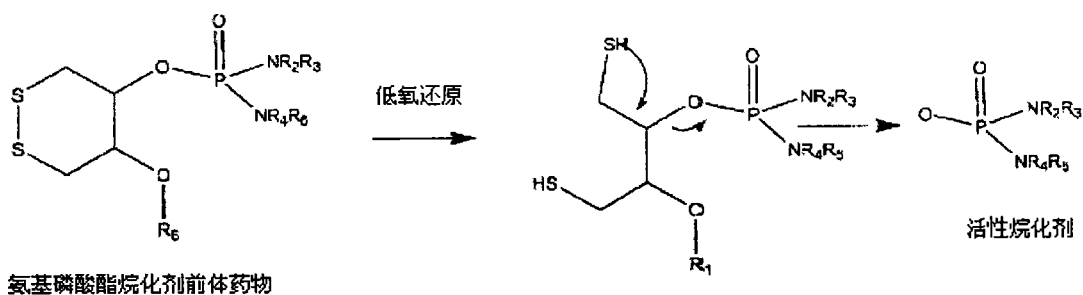
活性烷化剂

[0176] 在另一实施方式中，本发明提供化合物：

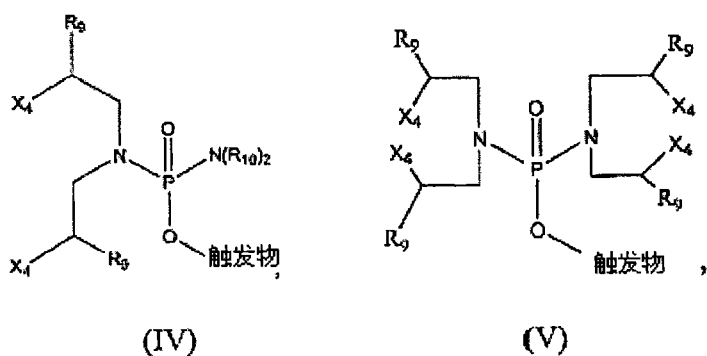


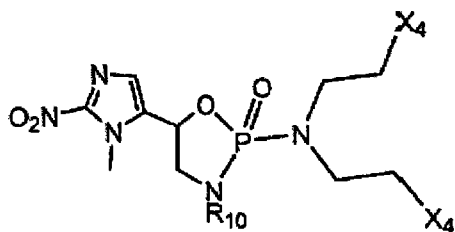
其中， R_2 - R_5 如在分子式(II)所定义。

[0177] 下列的方案举例说明将氨基磷酸酯烷化剂前体药物低氧还原以产生相应的氨基磷酸酯烷化剂。



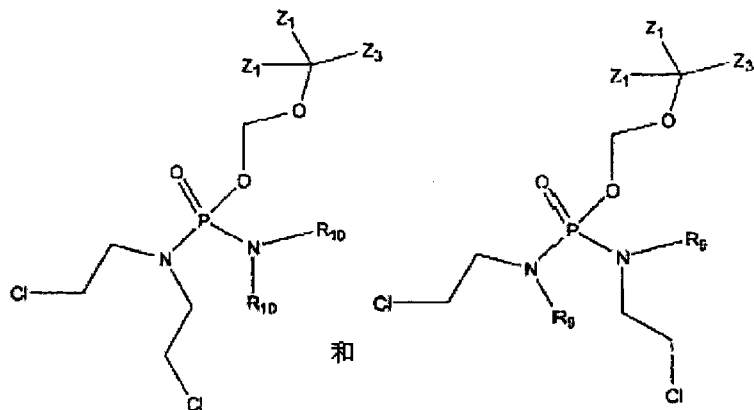
[0178] 在一实施方式中，本发明提供分子式(IV)-(VII)的化合物：



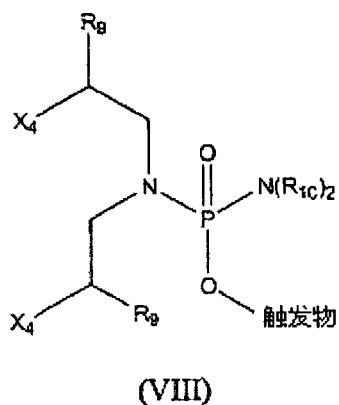


其中 X_4 和 R_{10} 如在分子式(IV)中所定义。


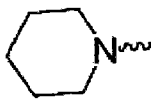
[0185] 在另一实施方式中, 本发明提供化合物:

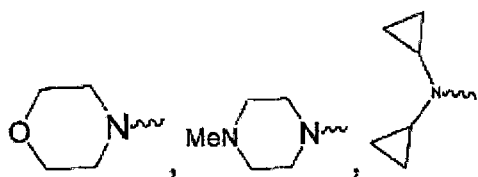


[0186] 在一实施方式中, 本发明提供分子式(VIII)的化合物:



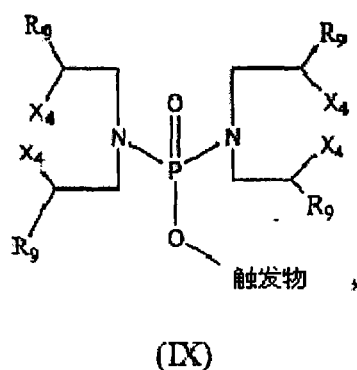
其中每一 R_9 独立为氢、甲基、乙基、丙基、异丙基或环丙基; 并且 $N(R_{10})_2$

选自 NH_2 , $NHMe$, NMe_2 , Net_2 , , ,



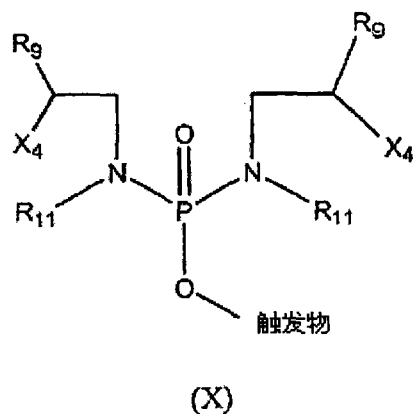
, $NHOMe$ 和 $NHOH$ 。

[0187] 在一实施方式中, 本发明提供分子式(IX)的化合物:



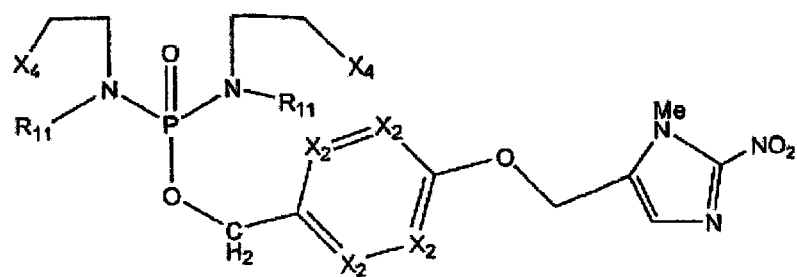
其中每一 R_9 独立为氢、甲基、乙基、丙基、异丙基或环丙基。

[0188] 在一实施方式中，本发明提供分子式(X)的化合物：

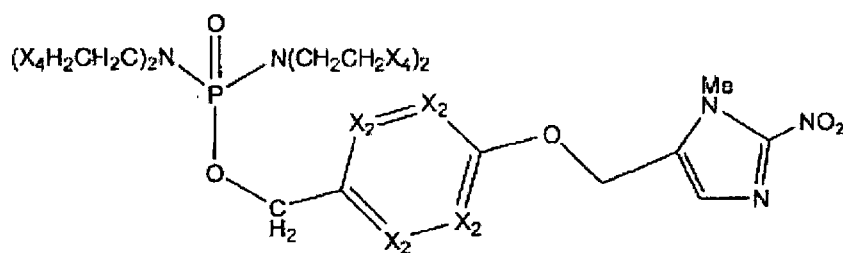


其中每一 R_9 独立为氢、甲基、乙基、丙基、异丙基或环丙基；并且每一 R_{11} 独立为氢、甲基、乙基、丙基、异丙基、苄基、取代的甲基、环丙基、甲氧基和羟基；或者两个 R_{11} 一起形成杂环。

[0189] 在一实施方式中，本发明提供分子式(X-A)、(X-B)和(X-C)的化合物：

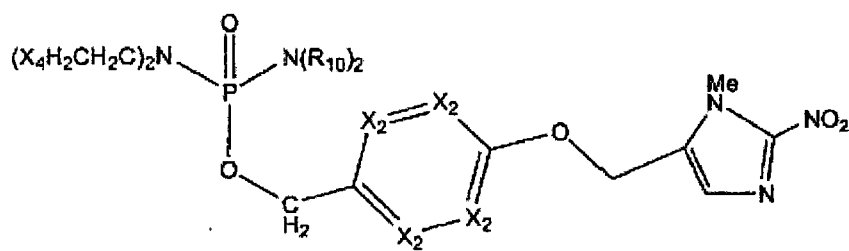


(X-A)



(X-B)

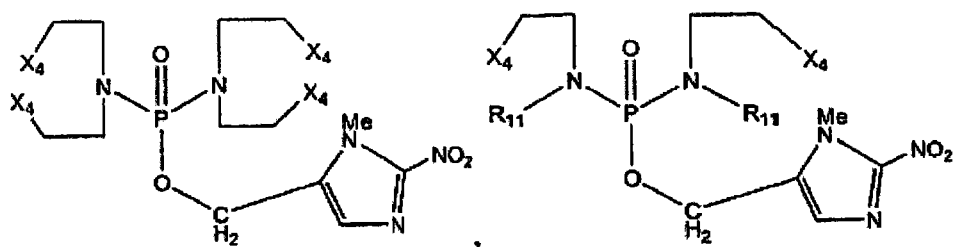
和



(X-C)

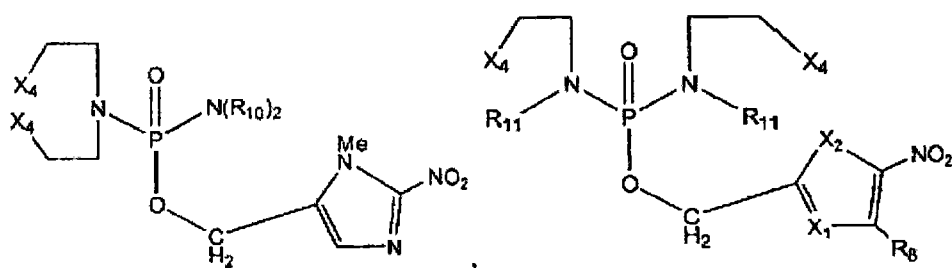
其中 X_2 和 X_4 如分子式(I)中所定义, 并且 R_{10} 和 R_{11} 如分子式(IV)、(VI)和(VII)中所定义。

[0190] 在一实施方式中, 本发明提供分子式(XI)-(XV)的化合物:



(XI)

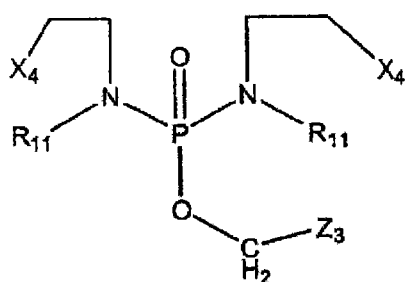
(XII)



(XIII)

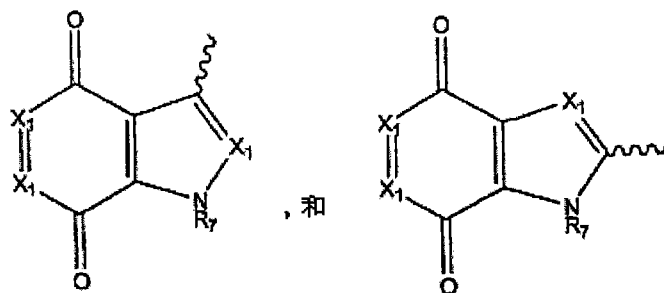
和

(XIV)

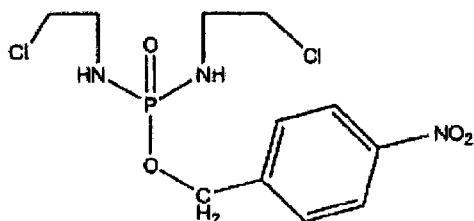


(XV)

其中每一 R_{11} 独立为氢、甲基或取代的甲基、苄基、异丙基、丙基、环丙基、甲氧基和羟基；并且 X_1 、 X_2 和 Z_3 如上所定义；并且 X_4 是 Cl、Br、烷基磺酰氧基、杂烷基磺酰氧基、环烷基磺酰氧基、杂环烷基磺酰氧基、芳基磺酰氧基或杂芳基磺酰氧基。在一实施方式中，在分子式(XII)、(XIV)和(XV)的化合物中，当 X_4 是 Cl 或 Br 时，那么 R_{11} 不包括异丙基。在一实施方式中，分子式(X)的化合物不包括其中 Z_3 是下述的化合物：

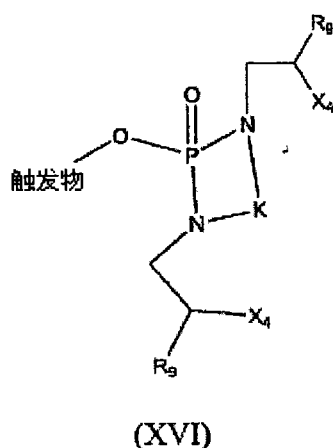


[0191] 在一实施方式中, 本发明提供分子式(XII)、(XIV)或(XV)的化合物, 其中每一 R_{11} 是氢。分子式 XII、XIV 或 XV 的化合物的实例包括化合物 5、7、8、9、10、13、14、15、19、23、24、25、26、32、34 和 36。在一实施方式中, 本发明提供分子式 XII、XIV 或 XV 的氨基磷酸酯烷化剂前体药物, 其中 R_{11} 不包括丙基或异丙基。在另一实施方式中, 本发明不包括下列化合物:



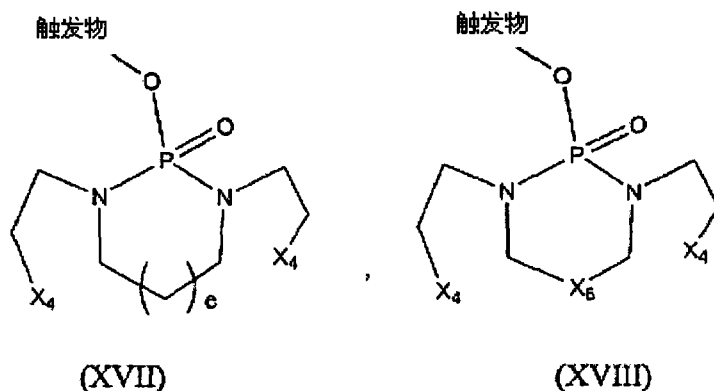
[0192] 在一实施方式中, 本发明提供氨基磷酸酯烷化剂前体药物, 其中 R_{11} 是 C_3 - C_8 环烷基。在另一实施方式中, 环烷基是环丙烷基。一般而言, 对于在细胞中氧化代谢蛋白质, 环丙基可能比烷基更稳定, 特别在肝脏中, 与已知的氨基磷酸酯烷化剂前体药物相比, 本发明的前体药物化合物提供药物动力学改善的氨基磷酸酯烷化剂前体药物。

[0193] 在一实施方式中, 本发明提供分子式(XVI)的化合物:



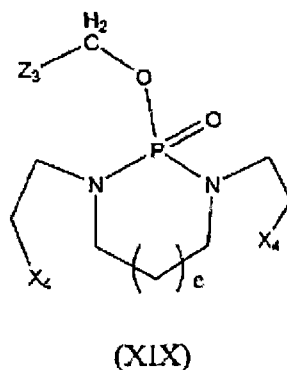
其中 K 是 C_1 - C_6 亚烷基或 C_1 - C_6 杂亚烷基。在一实施方式中, K 是 $(C(R_{12})_2)_e$ 、 $CH_2CH_2(-X_6-CH_2CH_2)_f$ 或 $CH_2(-X_6-CH_2)_f$, 其中 e 是 1-10, f 是 0-3, X_6 是 O、S 或 NR_{12} , 其中每一 R_{12} 如上独立定义。

[0194] 在一实施方式中, 本发明提供分子式(XVI)-(XVIII)的化合物



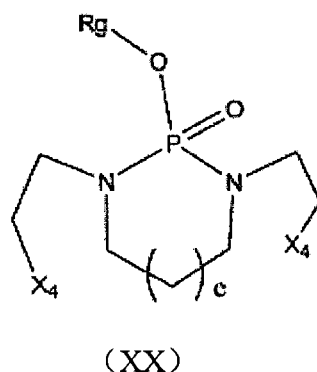
其中 e 是 0-4, X_4 是 Cl 或 Br、烷基磺酰氧基、杂烷基磺酰氧基、芳基磺酰氧基或杂芳基磺酰氧基; X_6 是 O、S 或 NR_{12} , 其中 R_{12} 如上所定义。

[0195] 在一实施方式中, 本发明提供分子式(XIX)的化合物:



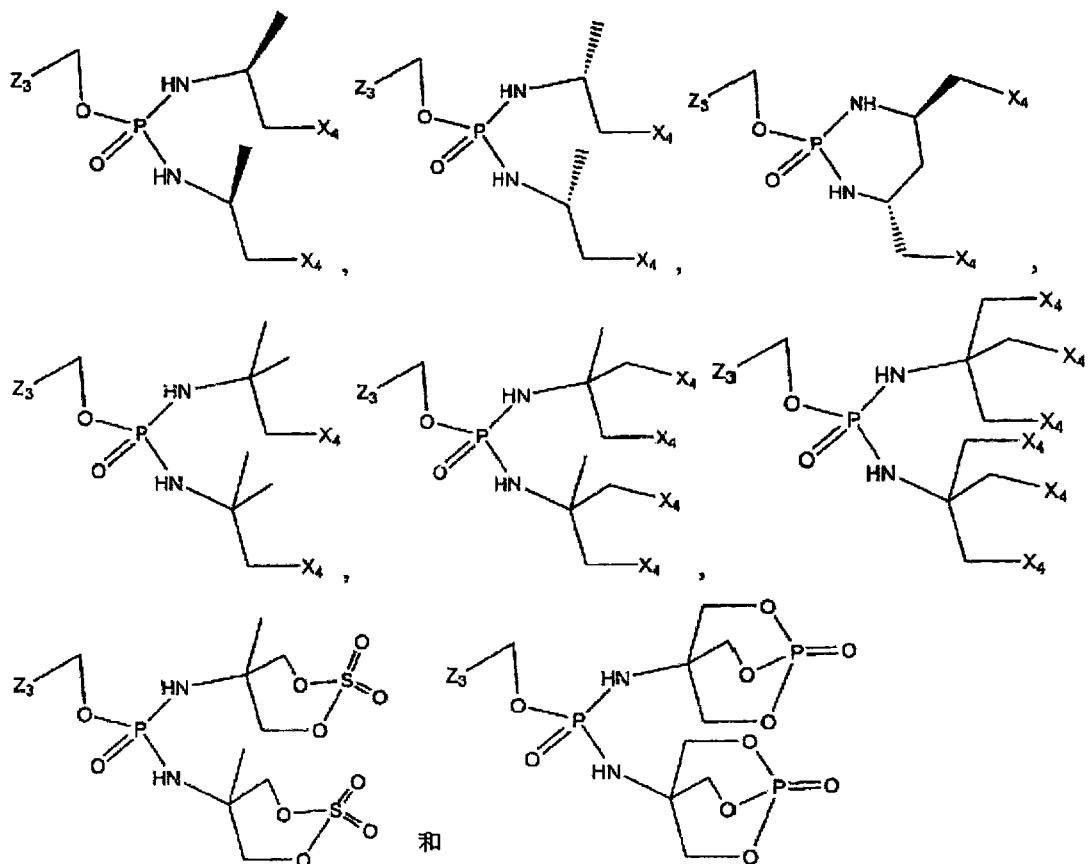
其中 e 是 0-4, X_4 是 Cl 或 Br、烷基磺酰氧基、杂烷基磺酰氧基、芳基磺酰氧基或杂芳基磺酰氧基。在相关实施方式中, 本发明提供分子式(XIX)的化合物, 其中 e 是 1。参见实施例部分的本文所述分子式化合物的实例。

[0196] 在一实施方式中, 本发明提供分子式(XX)的化合物:



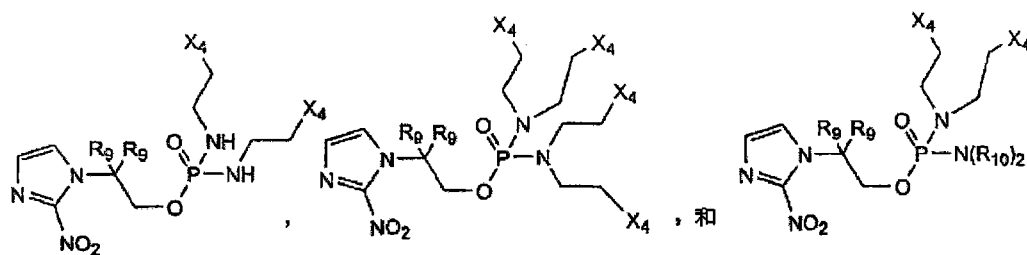
其中 R_g 是葡萄糖或葡萄糖类似物; 其中 e 是 0-4, X_4 是 Cl、Br、烷基磺酰氧基、杂烷基磺酰氧基、芳基磺酰氧基或杂芳基磺酰氧基。如本文所使用的, 葡萄糖类似物包括单、二和三糖。在相关实施方式中, 本发明提供分子式 XX 的化合物, 其中 e 是 1。

[0197] 在一实施方式中，本发明提供下列化合物：



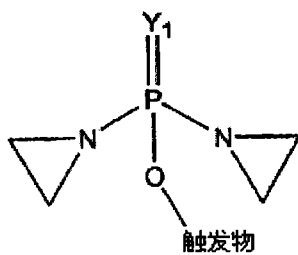
其中 X_4 是 Cl、Br 或烷基磺酰氧基。

[0198] 在一实施方式中，本发明提供下列化合物：



其中 R_9 和 X_4 如在分子式 VI 中所定义。

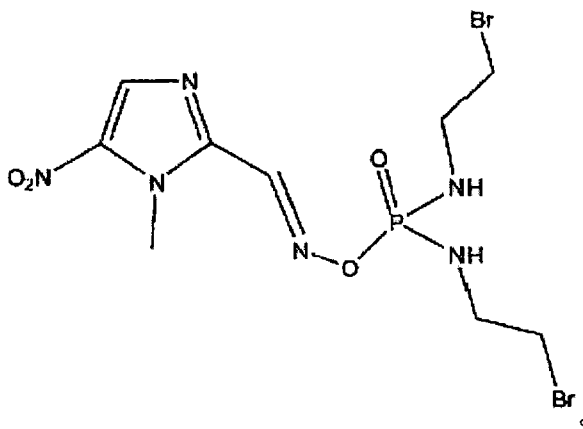
[0199] 在一实施方式中，本发明提供分子式(XXI)的化合物：



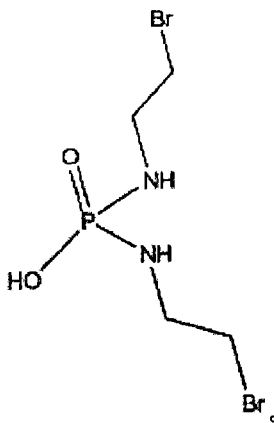
(XXI)

其中 Y_1 是 S 或 O；并且触发物 T 如在分子式(I)中所定义。

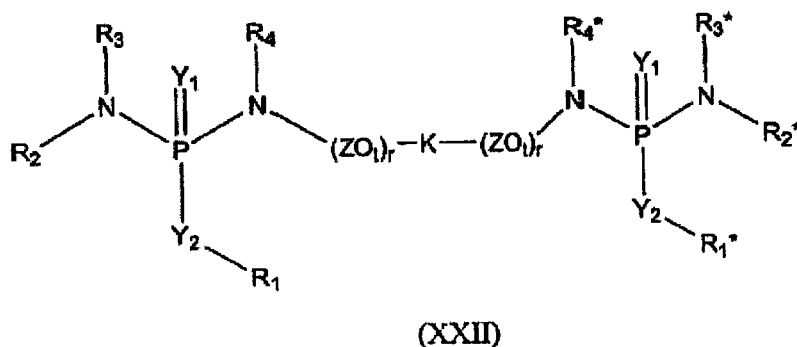
[0200] 在另一实施方式，本发明提供脘-氨基磷酸酯烷化剂偶联物：



[0201] 在一实施方式中，这类脘-氨基磷酸酯烷化剂偶联物可被酶促水解以产生



[0202] 在另一方面，本发明提供分子式(XXII)的化合物：



其中

[0203] R_1 - R_5 、 Y_1 和 Y_2 如在分子式(I)中所定义；

[0204] 每一 R_1 - R_5 和 R_1^* - R_5^* 独立选自氢、羟基、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 烷基氨基、 C_1 - C_6 二烷基氨基、芳基、杂芳基；或者 R_2 和 R_2^* 一起形成杂环；或者每一 R_1 - R_5 和 R_1^* - R_5^* 独立为选自下列的触发物 T：

$-[C(Z_1)_2-Y_3]_v-[C(=O)-O]_q-[C(Z_1)_2-Z_2-Y_4]_u-[C(Z_1)_2]_z-[C(Z_1)=C(Z_1)]_g-Z_3$ 和
 $-[C(Z_1)_2-Y_3]_v-(S(=O)_2)_q-[C(Z_1)_2-Z_2-Y_4]_u-[C(Z_1)_2]_z-[C(Z_1)=C(Z_1)]_g-Z_3-$ ；

条件是在分子式(XXII)中：

[0205] (i) R_1 - R_5 和 R_1^* - R_5^* 的至少两个是 2-卤烷基、2-烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基或 2-杂烷基磺酰氧基烷基；或者

[0206] (ii) R_1 - R_5 和 R_1^* - R_5^* 的至少一个是 2-卤烷基、2- C_1 - C_6 烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基或 2-杂烷基磺酰氧基烷基；并且 NR_2R_3 和 $NR_2^*R_3^*$ 中至少一个是 \tilde{N} ；或者

[0207] (iii) NR_2R_3 和 $NR_2^*R_3^*$ 每一个是 \tilde{N} ；以及

提供其单独的异构体或异构体的外消旋或非外消旋混合物、生物电子等排物、药效团、药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物或前体药物。

[0208] 每一个 Z 独立为 C、S 或 P；

[0209] 每一个 t 独立为 1 或 2；

[0210] 每一个 r 独立为 0 或 1；

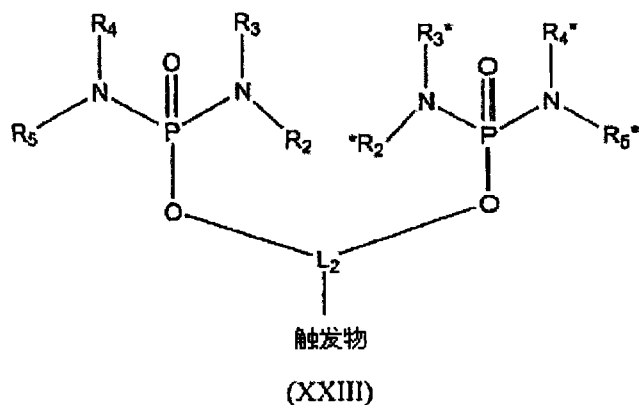
[0211] K 选自 C_1 - C_6 亚烷基、 C_1 - C_6 杂亚烷基、亚芳基或杂亚芳基、 $(C(R_9)_2)_n$ 和 $(Y_5-(C(R_9)_2)_m-Y_4-(C(R_9)_2)_m-Y_6)_n$ ，其中 n 是 1-8；

[0212] 每一个 m 独立为 1-4；

[0213] 每一 R_9 独立为 C_1 - C_6 烷基或杂烷基，或者当共价结合到同一碳原子或相邻碳原子时，一起为环烷基或杂环基；和

[0214] 每一 Y_4 、 Y_5 和 Y_6 独立为 O、S、 NR_7 或键；条件是 Y_4 、 Y_5 和 Y_6 的一个必须为 O、S 或 NR_7 。

[0215] 在另一方面, 本发明提供分子式(XXIII)的化合物:



其中

[0216] R_1 - R_5 、 Y_1 和 Y_2 如在分子式(I)中所定义;

[0217] 每一 R_1 - R_5 和 R_1^* - R_5^* 独立选自氢、羟基、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 烷基氨基、 C_1 - C_6 二烷基氨基、芳基、杂芳基; 或者 R_2 和 R_2^* 一起形成杂环; 或者每一 R_1^* - R_5^* 独立为选自下列的触发物 T:

$-[C(Z_1)_2-Y_3]_v-[C(=O)-O]_q-[C(Z_1)_2-Z_2-Y_4]_u-[C(Z_1)_2]_z-[C(Z_1)=C(Z_1)]_g-Z_3$ 和
 $-[C(Z_1)_2-Y_3]_v-(S(=O)_2)_q-[C(Z_1)_2-Z_2-Y_4]_u-[C(Z_1)_2]_z-[C(Z_1)=C(Z_1)]_g-Z_3$;

条件是在分子式(XXIII)中:

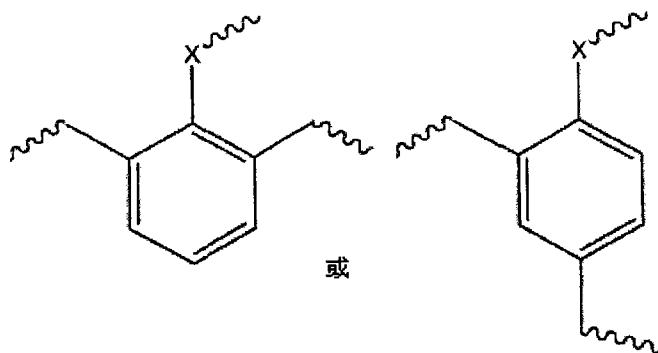
[0218] (i) R_2 - R_5 和 R_2^* - R_5^* 的至少两个选自 2-卤烷基、2-烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基或 2-杂烷基磺酰氧基烷基;

[0219] (ii) R_2 - R_5 和 R_2^* - R_5^* 的至少一个是 2-卤烷基、2- C_1 - C_6 烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基或 2-杂烷基磺酰氧基烷基; 并且 NR_2R_3 和 $NR_2^*R_3^*$ 中一个是 \tilde{N} ;

[0220] (iii) NR_2R_3 和 $NR_2^*R_3^*$ 都是 \tilde{N} ; 或 NR_4R_5 和 $NR_4^*R_5^*$ 都是 \tilde{N} ; 以及

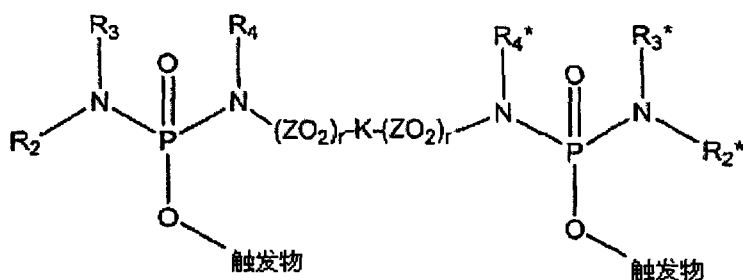
[0221] 提供其单独的异构体或异构体的外消旋或非外消旋混合物、生物电子等排物、药效团、药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物或前体药物。

[0222] L^2 是



其中 X 如上所定义。

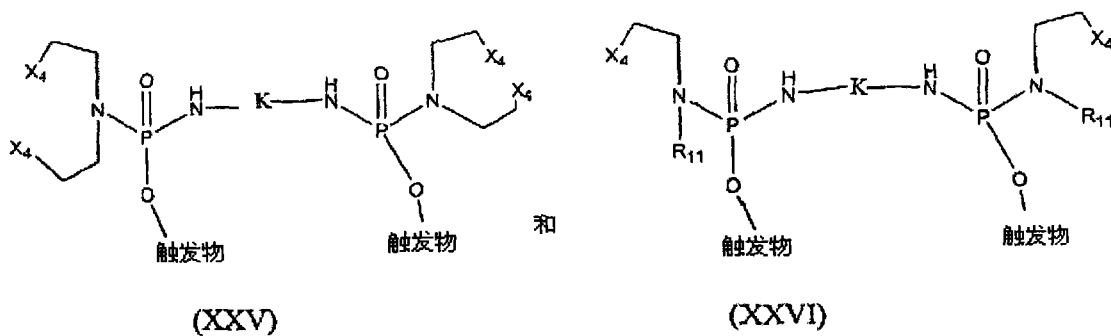
[0223] 在另一实施方式中, 本发明提供分子式(XXIV)的化合物:



(XXIV)

其中 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_2^* 、 R_3^* 、 R_4^* 、 Z 、 K 和触发物如在分子式(XXII)中所定义。

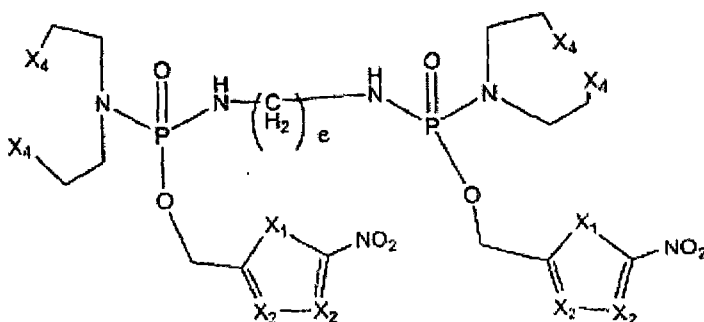
[0224] 在另一实施方式中, 本发明提供具有式(XXV)或(XXVI)结构的分子式(XXIV)的化合物:



(XXV)

(XXVI)

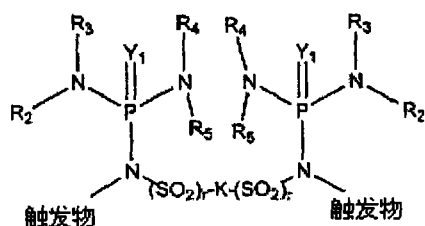
[0225] 在另一实施方式中, 本发明提供分子式(XXVI)的化合物:



(XXVI)

其中 X_1 、 X_2 、 X_4 和 e 如在分子式(XXV)中所定义。

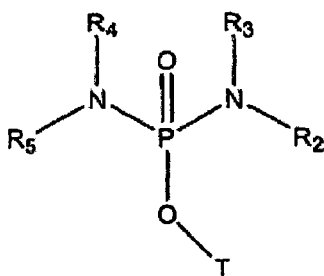
[0226] 在另一实施方式中, 本发明提供分子式(XXVII)的化合物:



(XXVII)

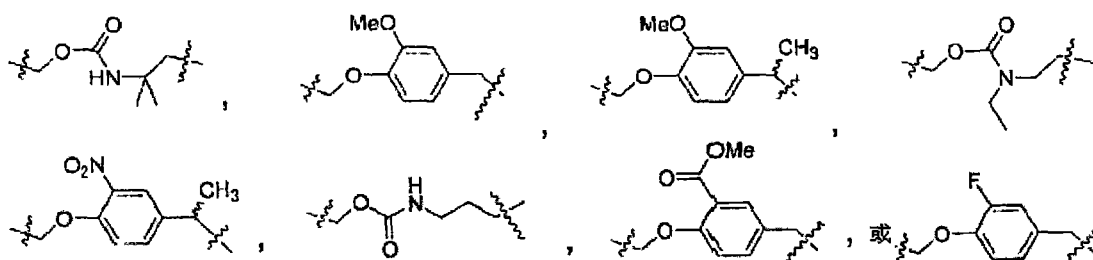
其中 R_2 - R_5 、 r 、 k 、 Y_1 和触发物 T 如在分子式(XXIV)中所定义。

[0227] 在一实施方式中, 本发明提供下列分子式的化合物:

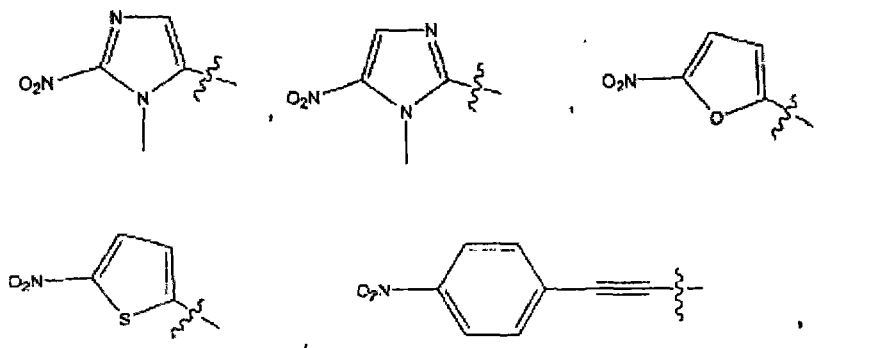


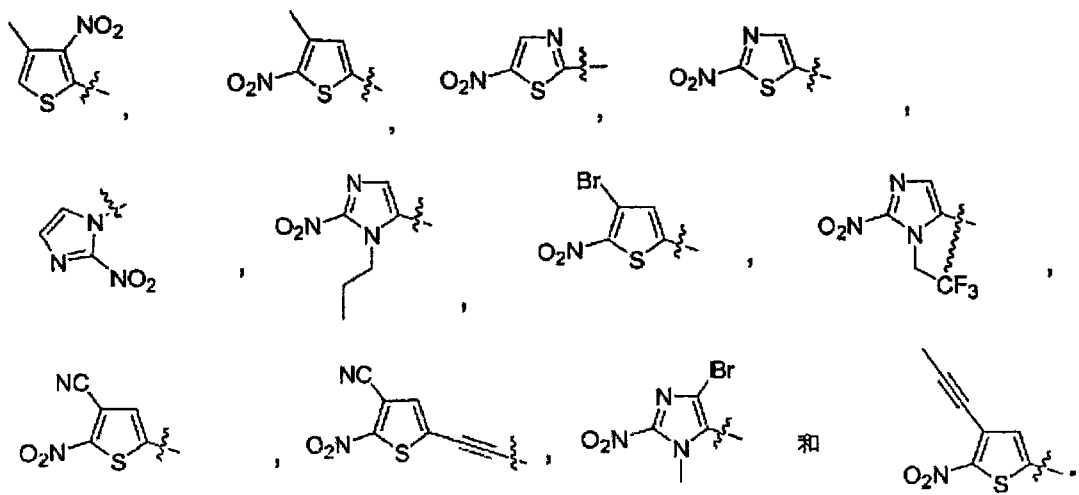
其中 T 是 L- Z_3 ;

L_1 是 CH_2 , $CHMe$, $C(Me)_2$, CH_2OCH_2 , $(CH_2)_3$, $CH_2S(CH_2)_2$, $CH_2S(CH_2)_3$,

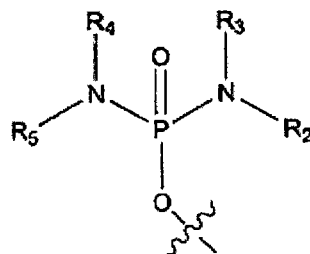


[0228] 在另一实施方式中, 本发明提供选自下列的 Z_3 :

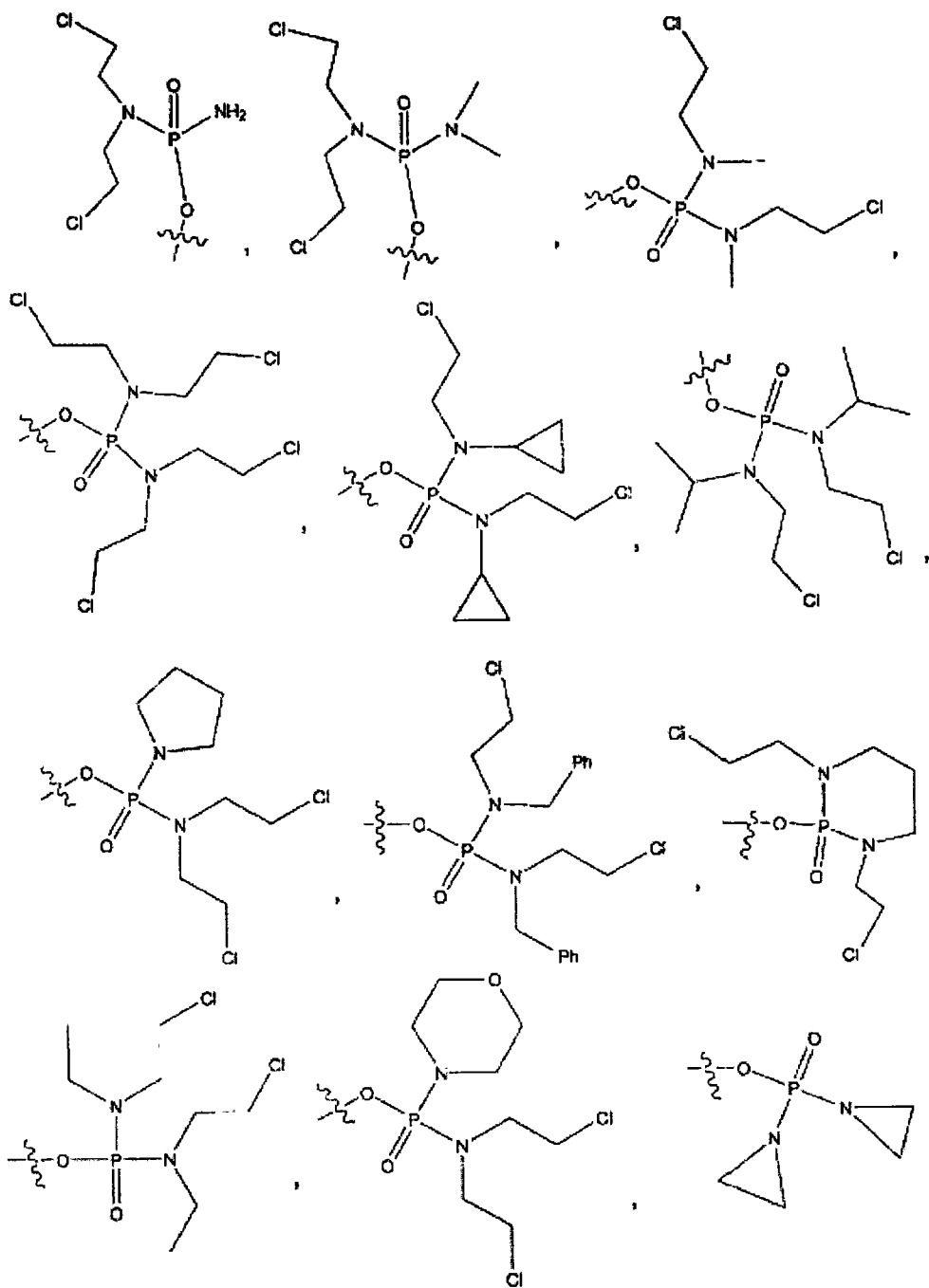


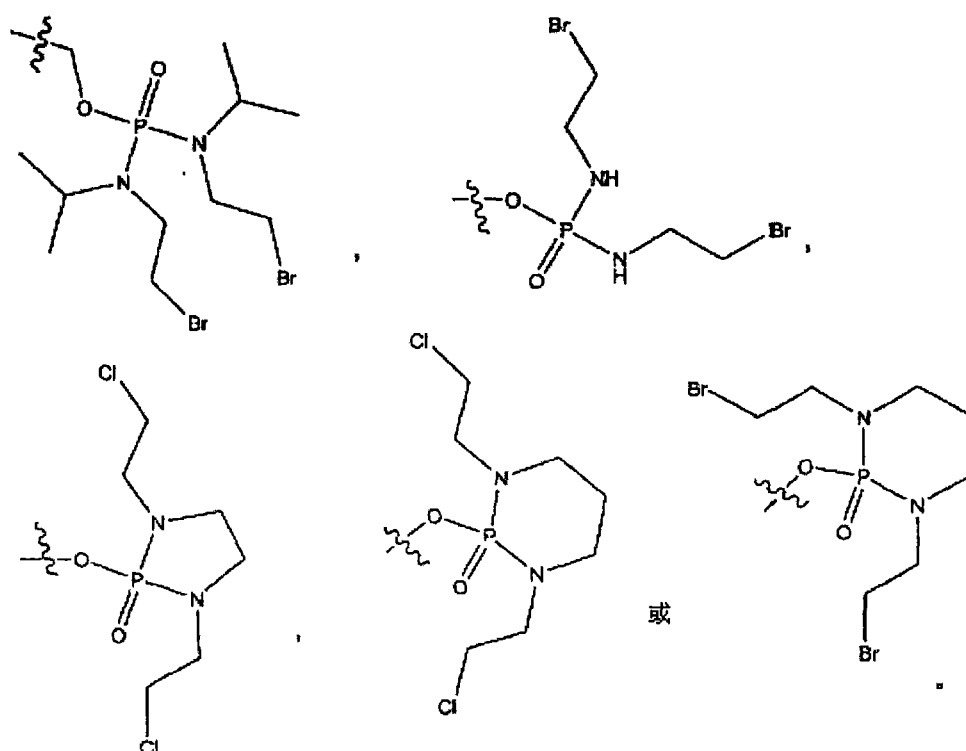


[0229] 在另一实施方式中，本发明提供具有下列分子式的部分：

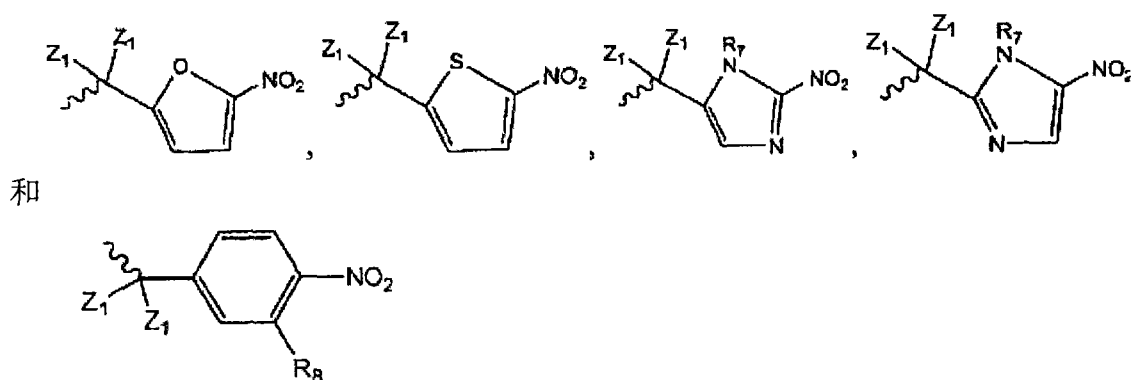


其选自：

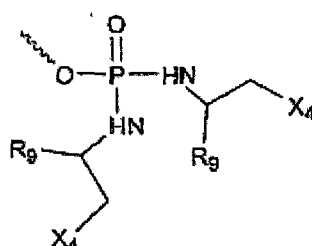




[0230] 在另一实施方式中，本发明提供选自下列的 T:

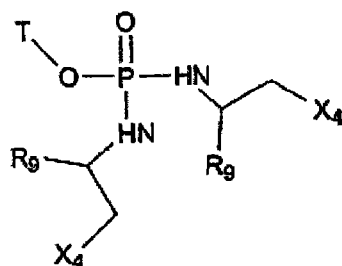


其中每一 Z₁、R₇ 和 R₈ 如上所定义。在本实施方式中，Z₁ 是氢、甲基或乙基；R₇ 是甲基、三氟乙基、乙基、丙基和环己基；以及 R₈ 是 OH 或 OP(=O)(OH)₂。在本实施方式中，

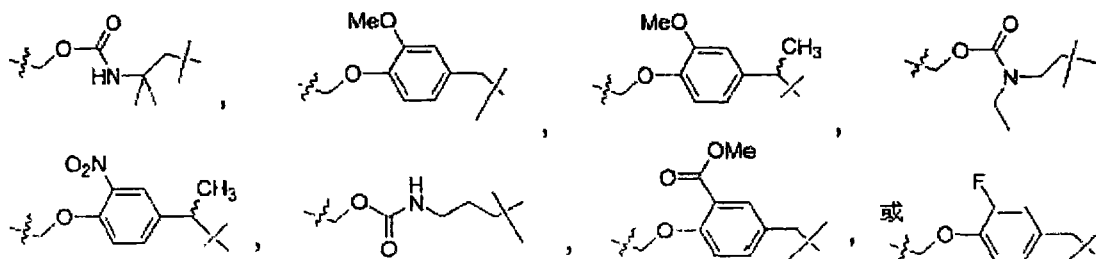


其中每一 R₉ 是氢或 C₁-C₆ 烷基，每一 X₄ 是卤素或 R_{sul}S(=O)₂O-。在另一实施方式中，R₉ 是氢、甲基、乙基、异丙基或异丁基；X₄ 是氯、溴或者甲磺酰氧基。

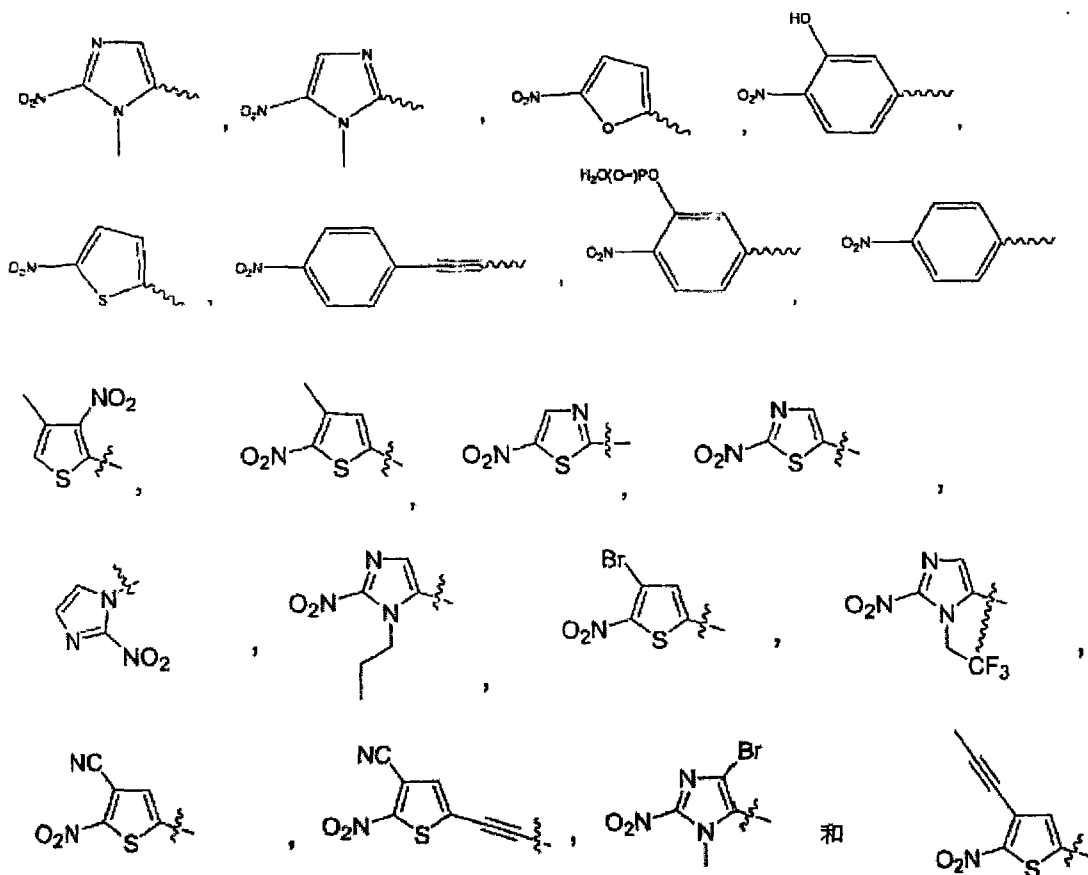
[0231] 在另一实施方式中, 本发明提供下列分子式的化合物:



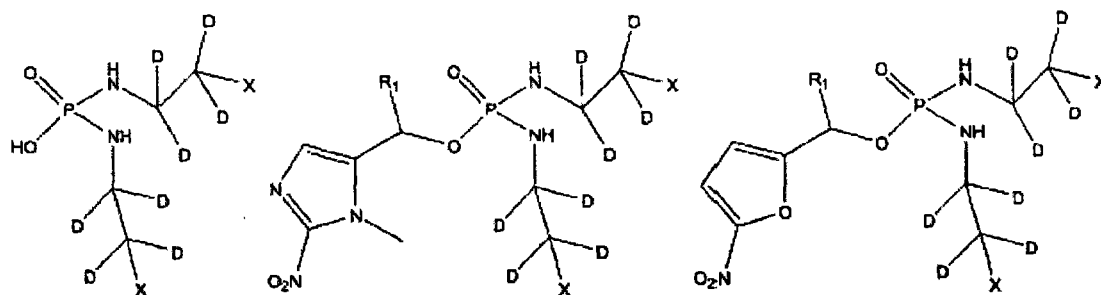
其中T(触发物)如上所定义, 或者更具体而言, T是L-Z₃, 其中L是CH₂、CHMe、CMe₂、



并且 Z₃ 是

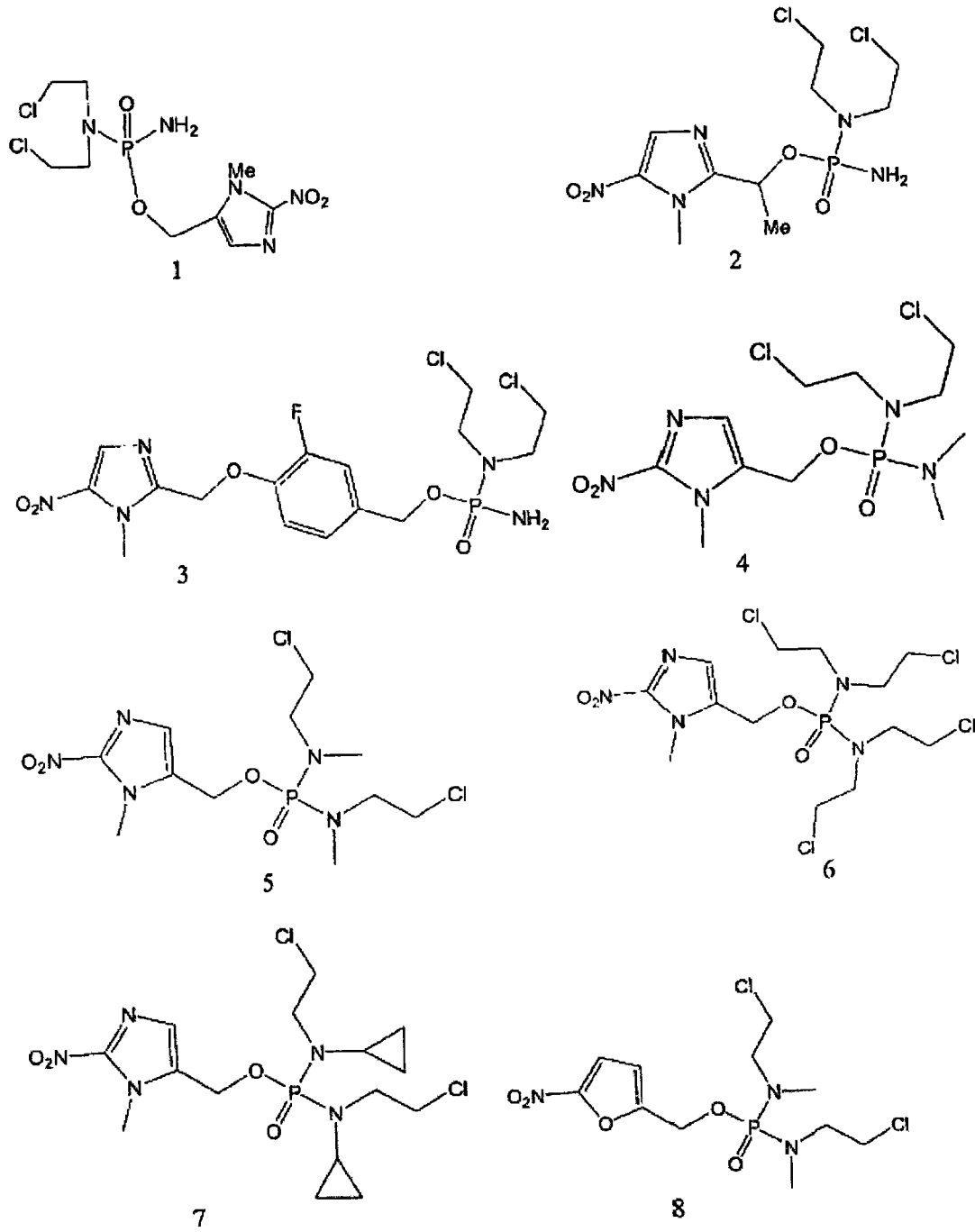


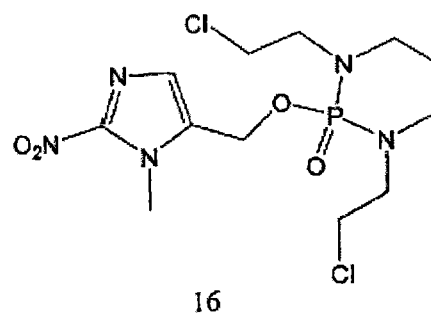
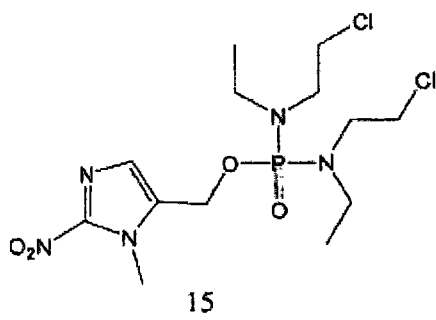
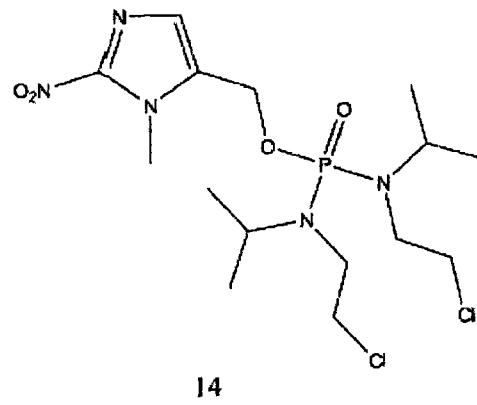
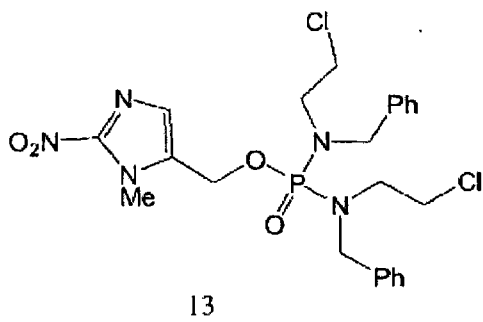
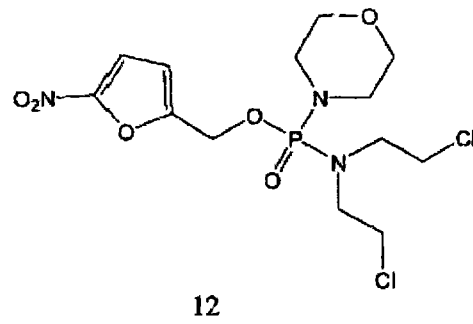
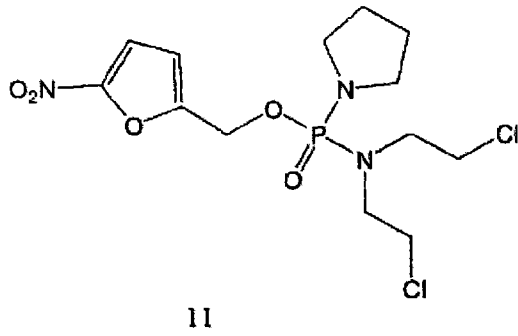
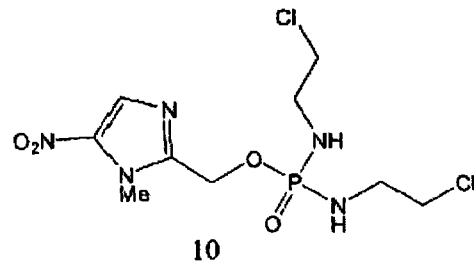
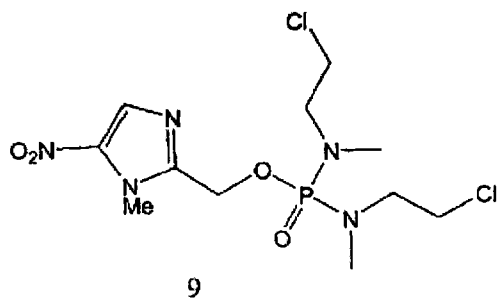
[0232] 在一方面, 本发明提供下列分子式的脲化氨基磷酸酯烷化剂和脲化氨基磷酸酯烷化剂前体药物

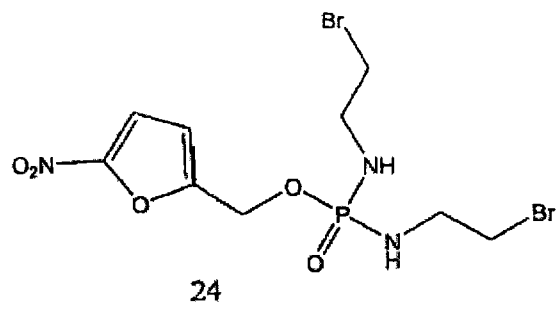
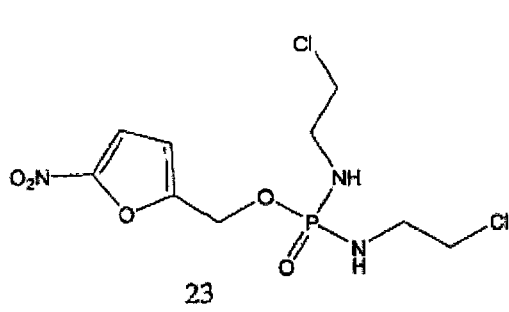
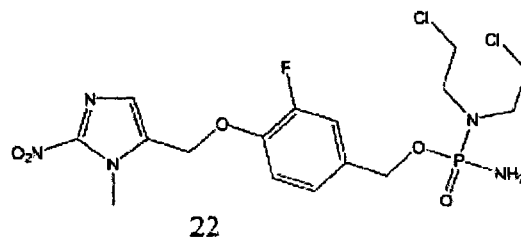
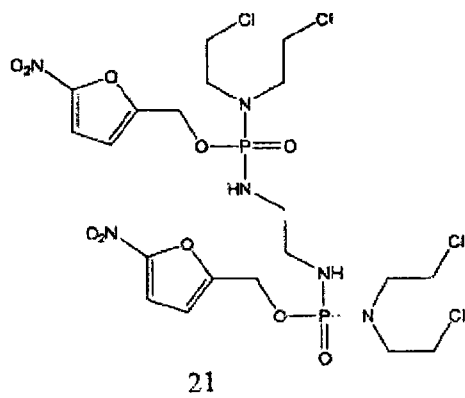
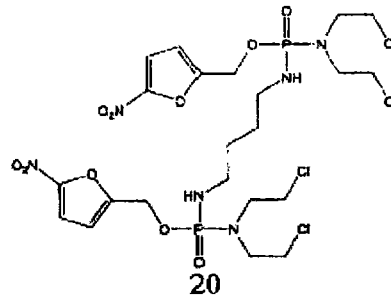
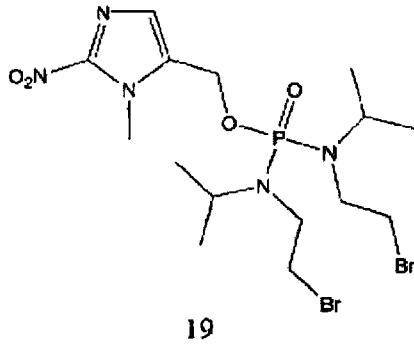
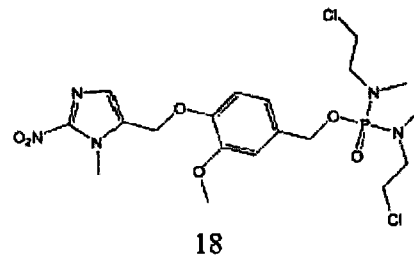
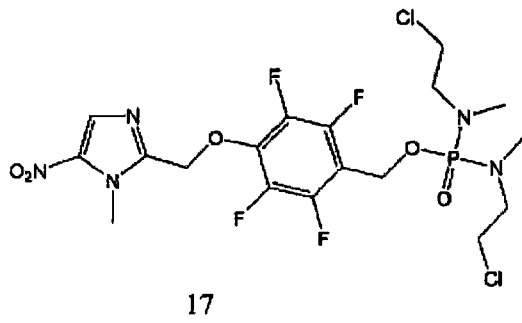


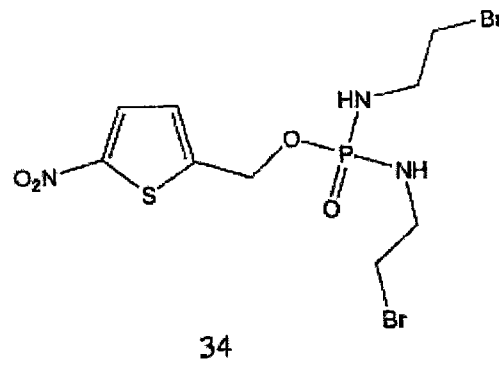
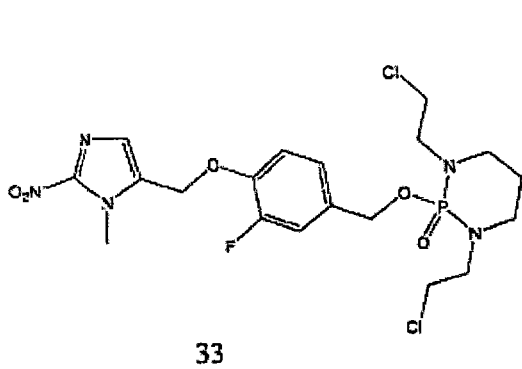
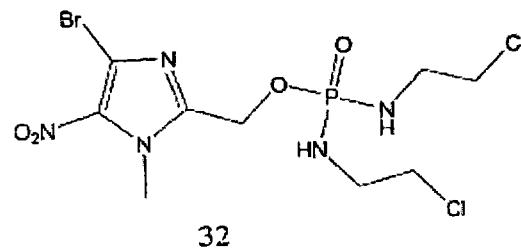
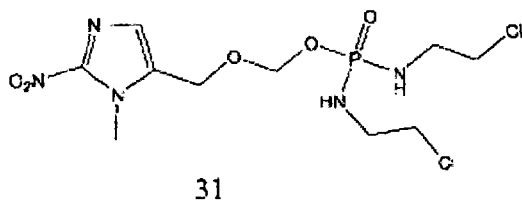
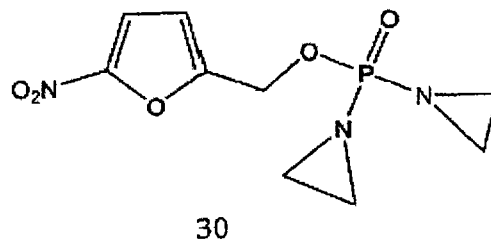
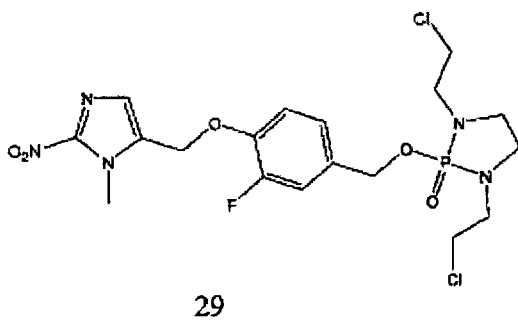
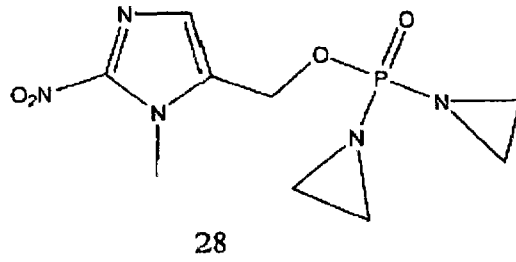
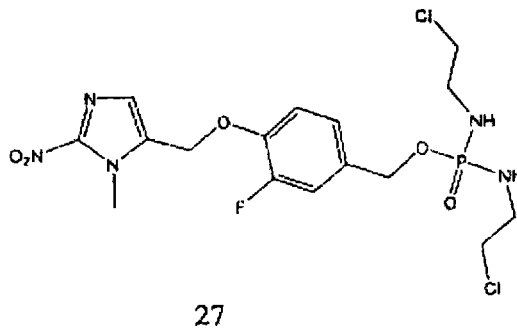
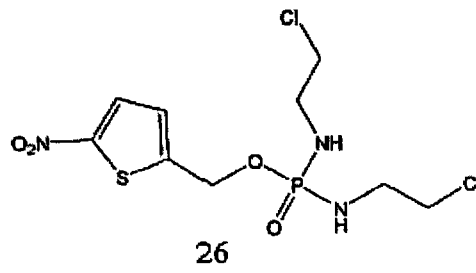
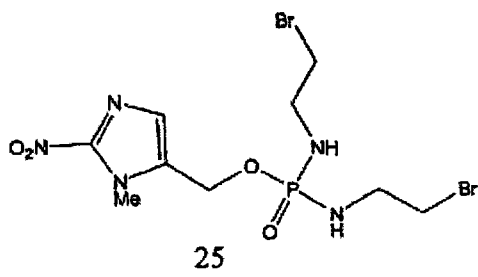
其中 X_4 是卤素或 $R_{sul}S(=O)_2O$ 。在另一实施方式, X_4 是 Cl 或 Br。这类氘化氨基磷酸酯烷化剂和它们的前体药物与其非氘化或氢化的类似物例如化合物 25、36 和类似物, 对于低氧肿瘤组织具有相等的细胞毒性。然而, 与其相应的氨基磷酸酯烷化剂和/或氨基磷酸酯烷化剂前体药物相比, 通过核磁共振方法, 这类氘化类似物在体内例如在血浆中的存在可以被更有效地确定, 而且这类氘化类似物可用于确定氨基磷酸酯烷化剂和/或氨基磷酸酯烷化剂前体药物的药物动力学或药效动力学特性。氨基磷酸酯烷化剂和/或氨基磷酸酯烷化剂前体药物的药物动力学和/或药效动力学信息被用于确定剂量、给药频率和相似的给药相关参数。八氘化化合物 25 和八氘化异环磷酰胺烷化剂的合成在实施例部分进行描述。

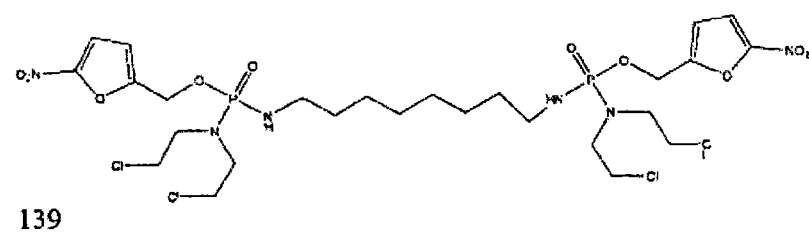
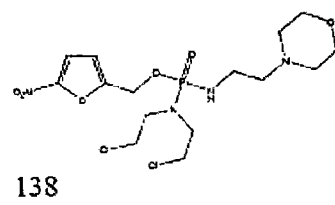
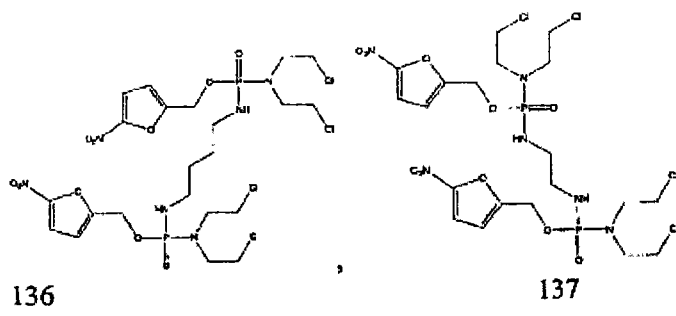
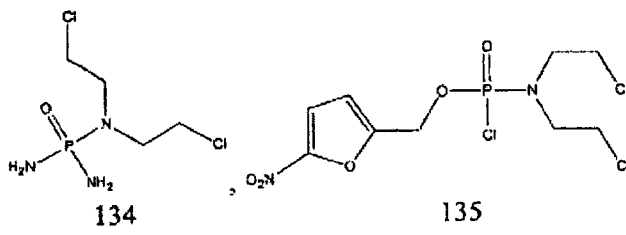
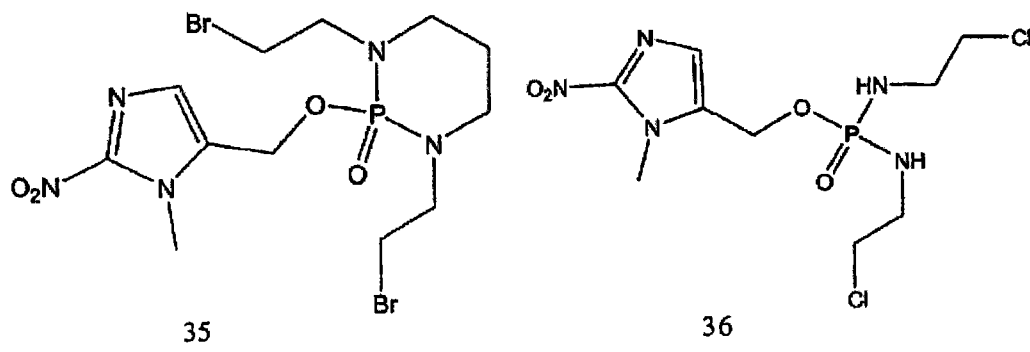
[0233] 在另一组的实施方式中, 本发明提供了对实施例中化合物的单独的和选择性的分组。本发明的化合物的实例包括:

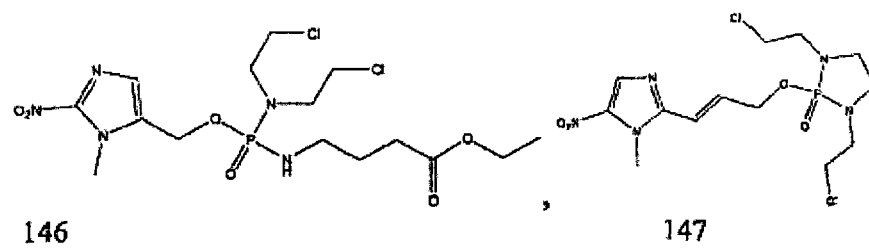
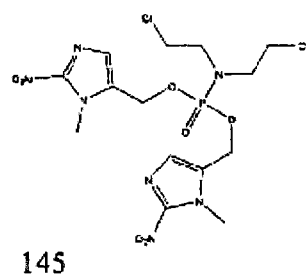
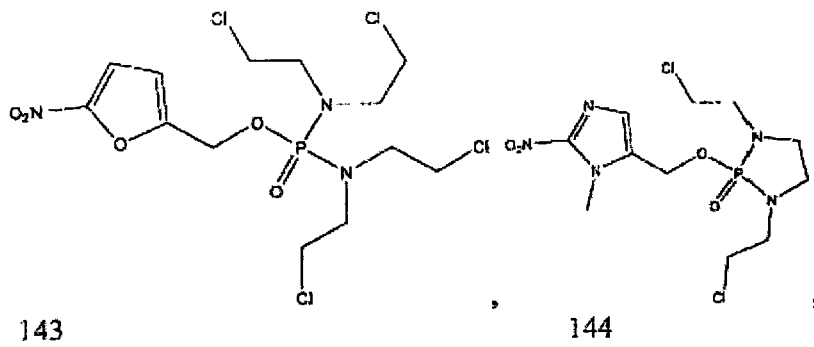
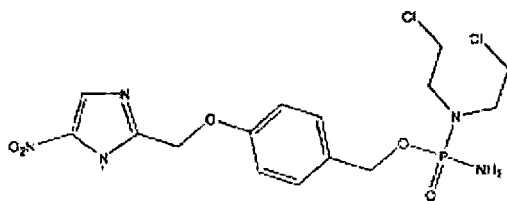
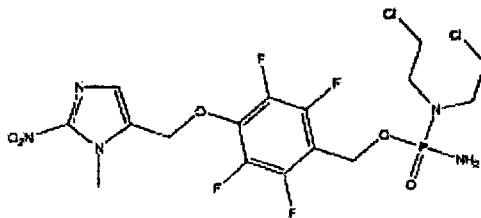
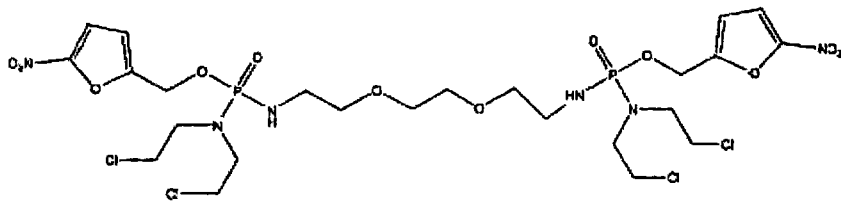


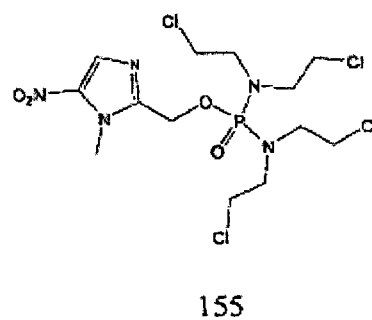
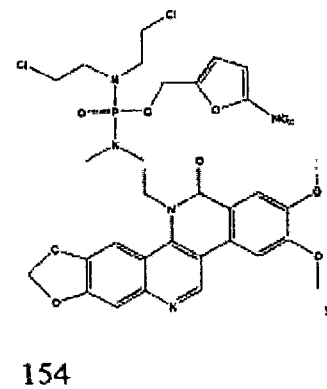
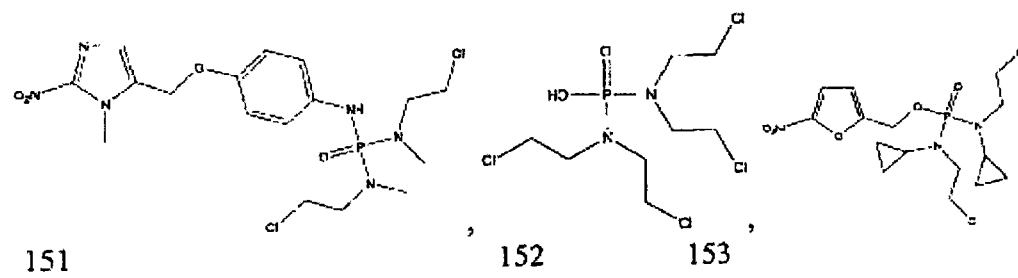
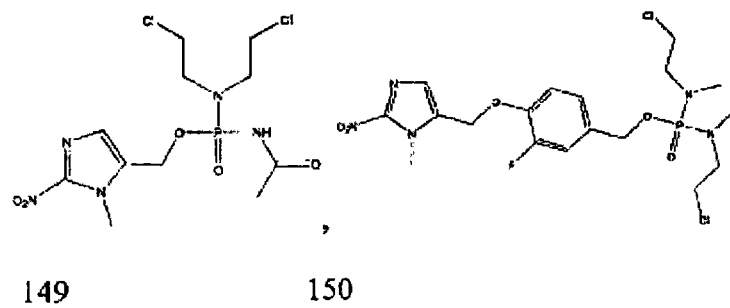
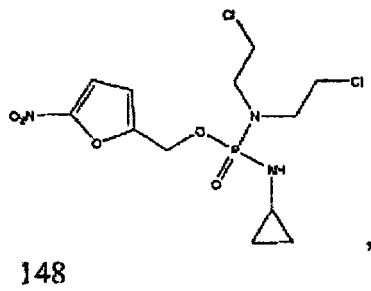




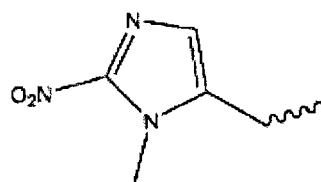






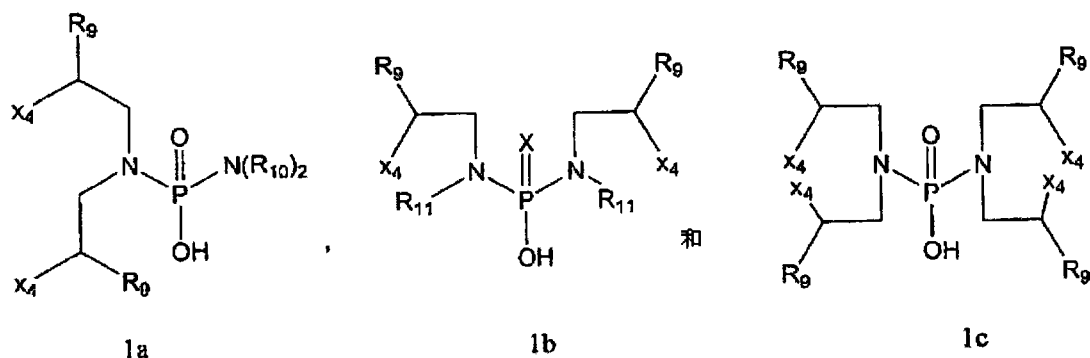


[0234] 在一实施方式中，氨基磷酸酯烷化剂前体药物包含



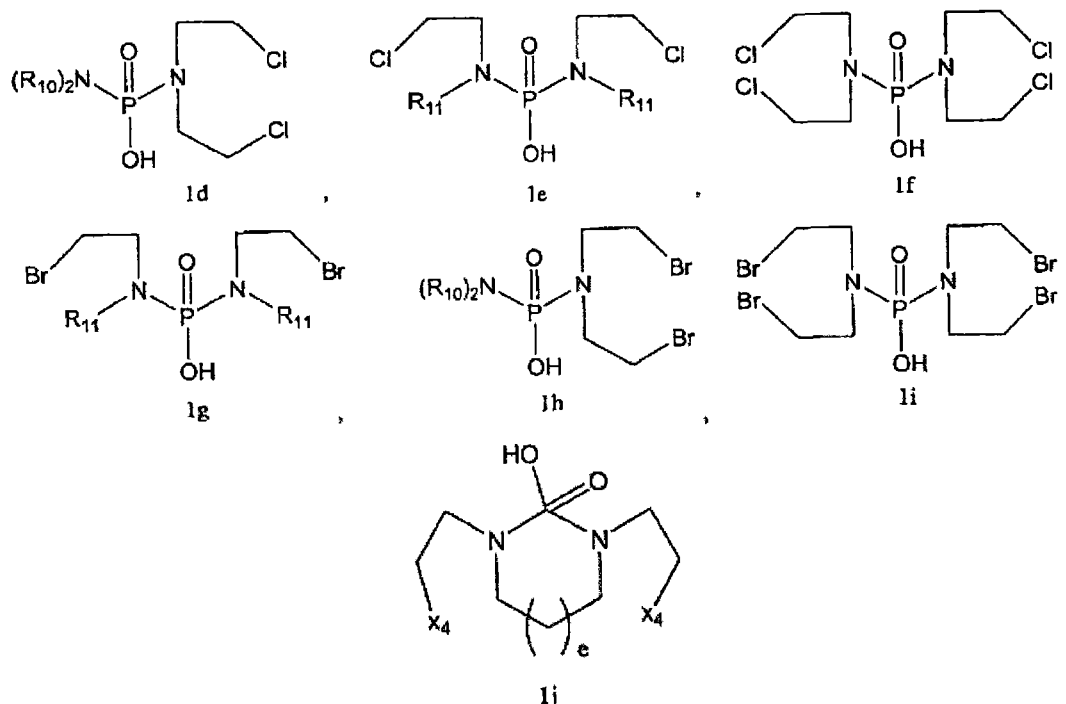
作为 Z₃，并且表现出对低氧肿瘤的特异性毒性，而对健康常氧的组织具有少得多的毒性。

[0235] 在一实施方式中, 本发明提供新的氨基磷酸酯烷化剂前体药物, 其在生物还原后, 释放相应的新的或已知的氨基磷酸酯烷化剂

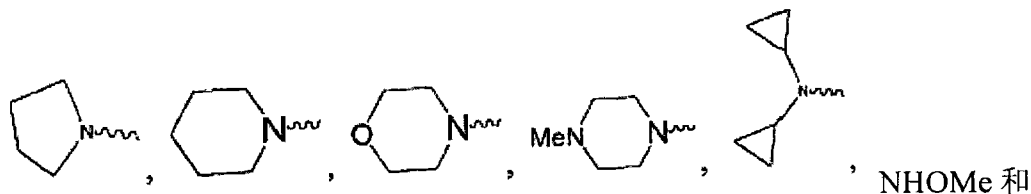


其中, X_4 如在分子式(I)中所定义, R_9 、 R_{10} 和 R_{11} 如在分子式(IV)-(VII)中所定义, 并提供它们的离子化形式。在相关的实施方式中, X_4 是 Cl、Br、甲磺酰氧基、苯磺酰氧基或对-甲苯磺酰氧基。

[0236] 在一实施方式中, 本发明提供新的氨基磷酸酯烷化剂前体药物, 其在生物还原后, 释放相应的新的或已知的氨基磷酸酯烷化剂, 和它们的离子化形式;



其中 $N(R_{10})_2$ 选自 NH_2 , $NHMe$, NMe_2 , NEt_2 ,



$NHOH$; 每一个 R_{11} 独立为氢、Me、乙基、环丙基、异丙基、丙基、苄基、取代的甲基、环丙基、甲氧基和羟基; 或者两个 R_{11} 一起形成杂环。

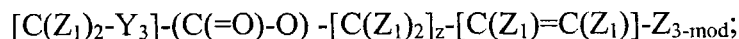
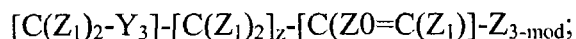
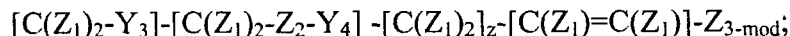
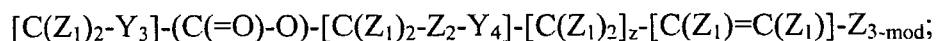
[0237] 当用于癌症治疗时, 抗癌药环磷酰胺代谢为 1d(R₁₀ 是氢)并且异环磷酰胺代谢为 1e(每一 R₁₁ 是氢)。葡磷酰胺(Glufosfamide), 其在临床癌症治疗中正被评估, 释放分子式 1e 的烷化剂(每一个 R₁₁ 是氢, 参见 Wiessler 等, 美国专利第 5,622,936 号; PCT 申请第 US05/03370 号, 其名称为"Anti Cancer Therapies", 美国专利申请第 60/638995 号, 其名称为"Glufosfamide Combination Therapy"和 2005 年 5 月 11 日提交的名称为"Glufosfamide Combination Therapy"的代理案卷第 021305-005900US 号)。在临床癌症治疗中正被评估的 Telcyta™ 释放 1f(Rosen 等, *Clin Cancer Res.* 2004, 10(11):3689-98)。

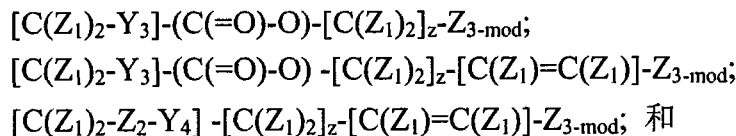
[0238] 已知的氨基磷酸酯烷化剂前体药物例如异环磷酰胺和环磷酰胺, 代谢产生细胞毒性的副产物(by product)例如丙烯醛和氯乙醛, 其引起不期望的患者副作用例如出血膀胱炎、昏迷或死亡。在一实施方式中, 本发明提供氨基磷酸酯烷化剂前体药物, 与通过异环磷酰胺和/或环磷酰胺代谢产生的那些相比, 其每次治疗在代谢后产生更少的毒性副产物。在一实施方式中, 本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物不通过体内代谢产生丙烯醛。由本发明的前体药物的代谢产生的副产物的实例包括氯-、溴-、烷基磺酰氧基-、杂烷基磺酰氧基-、芳基磺酰氧基-或杂芳基磺酰氧基-乙醛, (对于来自异环磷酰胺的氯乙醛的代谢产物, 参见上面提到的 Hardman 等的参考文献的第 1396 页)。在另一实施方式中, 本发明提供氨基磷酸酯烷化剂前体药物, 其在氧化代谢后产生 5-95%这么多的氯乙醛或者与上面定义的每次治疗中异环磷酰胺代谢产生的氯乙醛相等。

[0239] 在还原 Z₃ 后形成的氨基磷酸酯烷化剂衍生物可与被保护的氨基磷酸酯烷化剂和氨基磷酸酯烷化剂前体药物不同, 并且被称为修饰的氨基磷酸酯烷化剂前体药物。例如, 在还原生物还原基团(Z₃)后, 氨基磷酸酯烷化剂前体药物可产生修饰的氨基磷酸酯烷化剂前体药物 Alk-触发物_{mod}。当生物还原基团还原形成修饰的氨基磷酸酯烷化剂前体药物时, 结合到氨基磷酸酯烷化剂的连接体(L)可进行降解, 产生氨基磷酸酯烷化剂或一些其它的修饰的氨基磷酸酯烷化剂前体药物。

[0240] 在一实施方式中, 本发明提供通过引入上述的连接体(L)而在低氧组织中活化后表现出旁观者效应的化合物。在一实施方式中, 该旁观者效应使本发明的修饰的氨基磷酸酯烷化剂扩散或渗入进低氧不足以活化本发明前体药物化合物的肿瘤区, 但是驻留在可活化这些前体药物的低氧肿瘤区附近。

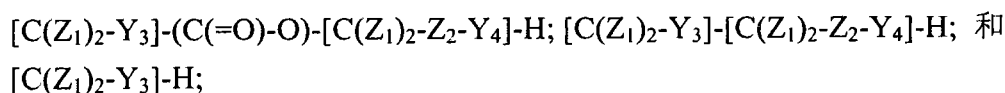
[0241] 在触发物 T 中的生物还原基团(Z₃)还原后, 修饰为 Z_{3-mod}, 产生修饰的氨基磷酸酯烷化剂前体药物如氨基磷酸酯烷化剂-T_M 或 Alk-T_M 偶联物。在一实施方式中, T_M 选自:



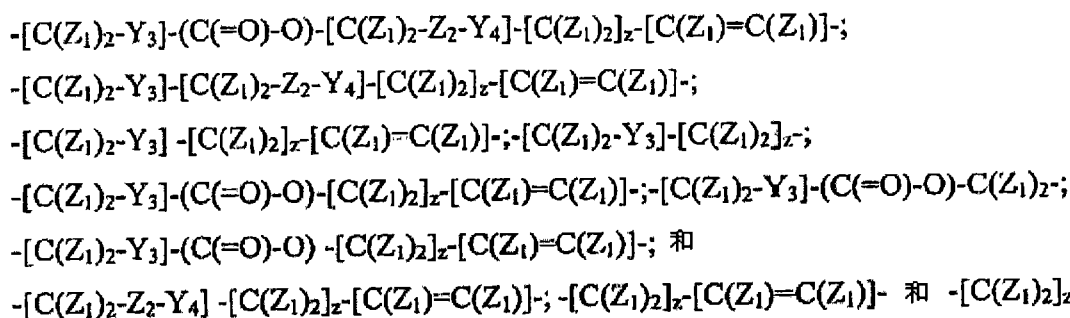


$-[C(Z_1)_2]_z-[C(Z_1)=C(Z_1)]-Z_3\text{-mod}$ 其中, $Z_3\text{-mod}$ 是被生物还原或其它方式还原或修饰的 Z_3 。

[0242] 在另一实施方式中, T_M 选自:



[0243] 在一实施方式中, 触发物 T 包括具有下列分子式的连接体(L):



[0244] 在一实施方式中, 本发明提供这样的触发物 T, 在生物还原后, 其被修饰为触发物 Mod 或 T_M , 并且在 0.1 秒以内从 T_M 分离氨基磷酸酯烷化剂。在另一实施方式中, 在 0.01 到 0.10 秒之内从 T_M 分离氨基磷酸酯烷化剂。在另一实施方式中, 在 0.1 到 1.0 秒之内从 T_M 分离氨基磷酸酯烷化剂。在另一实施方式中, 在 1.0 到 10.0 秒之内从 T_M 分离氨基磷酸酯烷化剂。在另一实施方式中, 在 10.0 到 100.0 秒之内从 T_M 分离氨基磷酸酯烷化剂。

[0245] 在相关实施方式中, 在活化或还原之后, 氨基磷酸酯烷化剂前体药物产生具有修饰的触发物 T(T_M)的前体药物, 其然后从活化或还原位置, 释放 20 到 500 μm 的氨基磷酸酯烷化剂; 或者从活化或还原位置, 释放 20 到 100 μm 的氨基磷酸酯烷化剂。使用细胞球状体和多层细胞实验(这类实验例如, 参见 Kyle 等, *Cancer Res.* 2004, 64(17):6304-9 and West 等, *Cancer Chemother. Pharmacol.* 1987, 20(2): 109-14), 可以测量本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物的旁观者效应, 并且如在实施例 35 与 37 更详细描述。将肿瘤细胞在培养物中培养成多细胞球状体, 以产生实体瘤的肿瘤微环境体外模型, 其含有低氧区和对有限营养和废物增加的环境压力应答的休眠细胞群。当细胞聚集体继续分裂和向外生长时, 这些球状体具有形成氧和营养物梯度的独特性质。在存活边缘(viable rim)达到大约 150 μm 大小后, 低氧区形成, 这使该区域中的细胞进入休眠状态并且最终细胞死亡。由于死亡的细胞, 坏死核(necrotic core)形成。球状体可被分为 4 个不同的区, 以模拟低氧活化前体药物的有效性: 1) 外层的需氧和活化分裂区; 2) 中间低氧区; 3) 细胞不处于周期中的低氧区; 4) 和含有死亡细胞和细胞残渣的坏死核。药物的响应将依赖于许多因素; 化合物渗入球状体最深区域的能力。通过硝基还原酶, 低氧活化前

体药物(HAP)的活化；已被活化的细胞内活化药物的反应性；和活化的药物从被活化的位置离开和杀死附近细胞的能力(旁观者效应)。因此，可在多种不同的水平上，进行化合物有效性的评估。单独化合物的效果可对于单层培养物中的细胞相对于完整球状体进行比较。HAP 可被用作单一治疗。球状体的低氧部分可通过改变平衡气体的 O₂ 浓度而调整，并且因此改变需氧和低氧区的比例。HAP 可与其它化学治疗剂联合，这些化学治疗剂或者仅靶向外层需氧细胞或者能靶向整个球状体。通过知道低氧部分和每一单一治疗的预期细胞杀死可预测预期的细胞杀死。

[0246] 在一实施方式中，本发明提供氨基磷酸酯烷化剂前体药物，其在活化例如生物还原后，释放具有半衰期在 0.1 秒以下的氨基磷酸酯烷化剂；半衰期在 0.01 到 0.1 秒之间的氨基磷酸酯烷化剂、半衰期在 0.1 到 1.0 秒之间的氨基磷酸酯烷化剂、半衰期在 1.0 到 10.0 秒之间的氨基磷酸酯烷化剂和半衰期在 10.0 到 100.0 秒之间的氨基磷酸酯烷化剂。

[0247] 抗癌药可结合到脉管系统周围的组织和/或具有高分子量，这阻碍了扩散并且不能以治疗有效浓度到达低氧肿瘤区，该低氧肿瘤区离脉管系统可达 150-200 μ m。在一实施方式中，本发明提供氨基磷酸酯烷化剂前体药物，其能到达远离脉管系统的低氧癌细胞。一些确定旁观者效应的方法在实施例 35 和 37 被更详细描述。用于低氧活化前体药物的氨基磷酸酯烷化剂在有效杀死肿瘤细胞方面起重要作用。例如，对于低氧活化氨基磷酸酯烷化剂前体药物，氨基磷酸酯烷化剂的细胞毒性和其细胞内烷化速率以及前体药物和氨基磷酸酯烷化剂对细胞膜的渗透性影响氨基磷酸酯烷化剂前体药物的低氧选择性和低氧细胞毒性。

[0248] 在一实施方式中，本发明提供氨基磷酸酯烷化剂前体药物，其比在体内形成的相应的氨基磷酸酯烷化剂安全（安全至少 10 倍以及多达 1,000,000 倍）。在一实施方式中，提高的安全性是由于对触发物 T 的连接部位的修饰(氨基磷酸酯烷化剂前体药物的活化释放烷化剂/细胞毒剂)。在任一情形中，氨基磷酸酯烷化剂前体药物在低氧组织中依靠生物还原基团(Z₂)的活化或还原被转化为相应的烷化剂，这导致其去除以及同时或随后释放或产生氨基磷酸酯烷化剂。

[0249] 在一实施方式中，以掩蔽或降低氨基磷酸酯烷化剂细胞毒性的方式，触发物 T 被共价结合到氨基磷酸酯烷化剂。这种掩蔽效应可不同并且依赖于氨基磷酸酯烷化剂的细胞毒性活性。典型地，氨基磷酸酯烷化剂前体药物比相应的氨基磷酸酯烷化剂将显示出至少小大约 10 倍的细胞毒性活性，并且可以显示出小大约至 100 万倍或更少的细胞毒性活性。在一情况下，氨基磷酸酯烷化剂前体药物的细胞毒性活性比相应的氨基磷酸酯烷化剂的细胞毒性活性小大约 100 倍到大约 10,000 倍。作为一实例，对于具有 1nM 的 IC₅₀、IC₉₀ 或 LC₅₀ 的氨基磷酸酯烷化剂，相应的氨基磷酸酯烷化剂前体药物的 IC₅₀、IC₉₀ 或 LC₅₀ 可以是 1 μ M 或更大。

[0250] 在一情况下，本文提供的化合物作为氨基磷酸酯烷化剂前体药物包括任何氨基磷酸酯烷化剂，该氨基磷酸酯烷化剂可以以产生氨基磷酸酯烷化剂前体

药物的方式连接到触发物 T, 所述氨基磷酸酯烷化剂前体药物作为细胞毒剂比相应的氨基磷酸酯烷化剂或修饰的氨基磷酸酯烷化剂活性小至少约 10 倍到约 1,000,000 倍, 一般地约 100 倍到约 10,000 倍, 所述氨基磷酸酯烷化剂在低氧条件下从所述化合物释放。

[0251] 为了确定在缺氧或低氧条件下氨基磷酸酯烷化剂前体药物是否是选择性地有活性的, 将细胞在或者有空气(常氧)或者没有氧气(缺氧)或者有很少氧气(低氧)的情况下暴露于药物。本领域技术人员将认识到, 在抗增殖实验中测量的氨基磷酸酯烷化剂前体药物的细胞毒性通过 IC_{50} 表示; 用产克隆存活试验测量的氨基磷酸酯烷化剂前体药物的细胞毒性表示为 IC_{10} 或 LC_{10} 、 IC_{90} 或 LC_{90} 、或者 IC_{99} 或 LC_{99} 。例如, 通过在常氧和低氧中确定的 IC_{50} 、 IC_{90} 、 LC_{50} 、 LC_{90} 或 LC_{99} 测量的细胞毒性的比率被称为低氧细胞毒性比(HCR), 并且可以作为本发明的前体药物的低氧选择细胞毒性的量度。氨基磷酸酯烷化剂前体药物的 HCR 越大, 低氧细胞选择毒性越高, 相对于健康、常氧的细胞, 前体药物的低氧肿瘤杀死能力越大。基于 IC_{99} 或 LC_{99} 确定的 HCR 比基于 IC_{90} 或 LC_{90} 确定的 HCR 大。

[0252] 在相关实施方式中, 本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物具有 0.1nM 到 50 μ M 的低氧细胞毒性和 10 到 100,000 的 HCR。在相关实施方式中, 本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物具有 0.1nM 到 50 μ M 的低氧细胞毒性和 25 到 100,000 的 HCR(参见实施例部分)。在另一相关实施方式中, 本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物具有 0.1nM 到 5 μ M 的低氧细胞毒性和 50 到 10,000 的 HCR, 例如在实施例 29、30 和 31 中描述的化合物。

[0253] 在一实施方式中, 本发明提供具有比相应常氧毒性多 5 到 1,000,000 倍的低氧毒性的氨基磷酸酯烷化剂前体药物。在另一实施方式中, 本发明提供具有比相应常氧毒性多 10 到 10,000 倍的低氧毒性的氨基磷酸酯烷化剂前体药物。在另一实施方式中, 本发明提供具有比相应常氧毒性多 25 到 5,000 倍的低氧毒性的氨基磷酸酯烷化剂前体药物。

[0254] 肿瘤具有氧浓度梯度, 其可从脉管系统附近的组织中的 10%变化为大约 150 μ M 远的组织中的 0.5%, 并且在进一步远离脉管系统并且靠近坏死核的组织中更低。在一实施方式中, 本发明提供这样的氨基磷酸酯烷化剂前体药物, 其在多种氧浓度下, 可产生比相应前体药物的毒性大 5-1,000,00、10-10,00 和 25-5,000 倍的氨基磷酸酯烷化剂。在一实施方式中, 本发明提供这样的氨基磷酸酯烷化剂前体药物, 其在大约 0.5-0.6%的氧浓度下, 可产生比相应前体药物的毒性大 5-1,000,00、10-10,00 和 25-5,000 倍的氨基磷酸酯烷化剂。

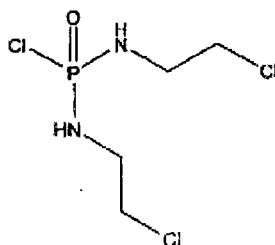
[0255] 本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物的 $\log P$ 可测量前体药物的亲脂性或亲水性。在一实施方式中, 本发明提供具有小于 0 的 $\log P$ 的氨基磷酸酯烷化剂前体药物。这类氨基磷酸酯烷化剂前体药物可以是亲水性的, 例如具有分子式 XV

的前体药物，其中每一 R_{11} 是 H，并且它们容易被配制成用于静脉内注射(i.v.)或腹膜内注射(i.p.)的含水制剂。这类前体药物的另一实施例是化合物 24、25 和 36。

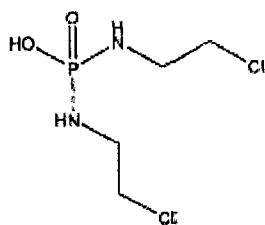
[0256] 在一实施方式中，本发明提供具有 $\log P$ 在 0 以上的氨基磷酸酯烷化剂前体药物。在一实施方式中，本发明提供具有 $\log P$ 在 0 和 4 之间的氨基磷酸酯烷化剂前体药物，例如分子式 XIV、XX 和 XV 所示例的那些，其中每一 R_{11} 是甲基或环丙基，并且被施用于患者可通过细胞膜渗透到癌细胞内部。另一实例是具有 $\log P$ 在 0 和 5、6、7 或 16 之间的前体药物。(对于本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物测量的 $\log P$ ，参见实施例部分)。

IIb.合成方法

[0257] 本发明部分源于如此发现：不能通过在适当的溶剂中将

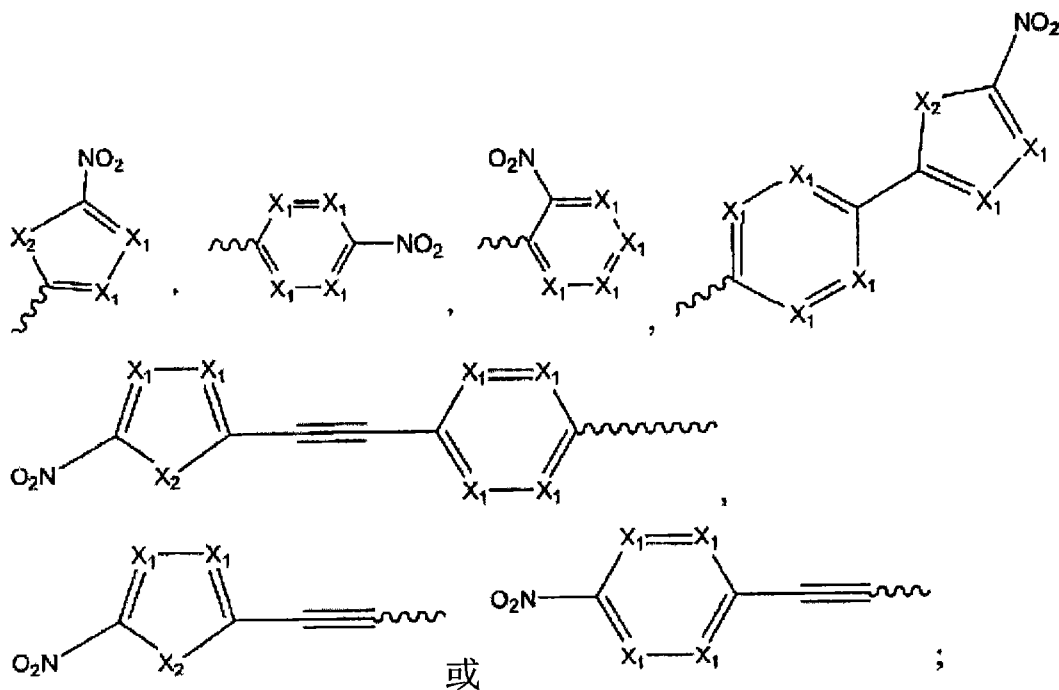


、1-N-甲基-2-硝基咪唑-5-甲醇和正-丁基锂反应而分离的化合物 36，通过采用 Mitsunobu 型反应容易被合成，其中通过加入三苯膦和二异丙基偶氮二羧酸酯，将 1-N-甲基-2-硝基咪唑-5-甲醇活化，并且与

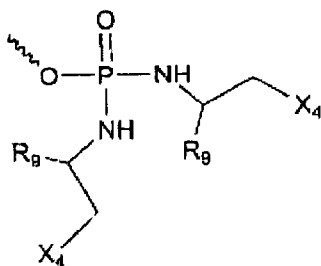


反应以产生化合物 36。

[0258] 因此，在一方面，本发明提供合成氨基磷酸酯化合物的方法，包括将氨基磷酸或二氨基磷酸与醇反应产生氨基磷酸酯。在另一方面，本发明提供合成本发明的新的氨基磷酸酯烷化剂前体药物化合物和已知的那些氨基磷酸酯烷化剂前体药物化合物的方法。在一实施方式中，本发明提供合成氨基磷酸酯烷化剂前体药物的方法，包括将新的或已知的氨基磷酸酯烷化剂、触发物-OH、三取代磷和二烷基偶氮二羧酸酯反应，产生新的或已知的氨基磷酸酯烷化剂前体药物。在该方法的一实施方式中，在第一步，触发物-OH 与三取代磷和二烷基偶氮二羧酸酯反应产生中间体，在第二步，将氨基磷酸酯烷化剂加入到从第一步得到的中间体，以产生产物。这类 Mitsunobu 型反应特别适合于合成新的或已知的氨基磷酸酯烷化剂前体药物或衍生物，Alk-触发物，其中触发物是 L-Z₃，其中 Z₃ 是

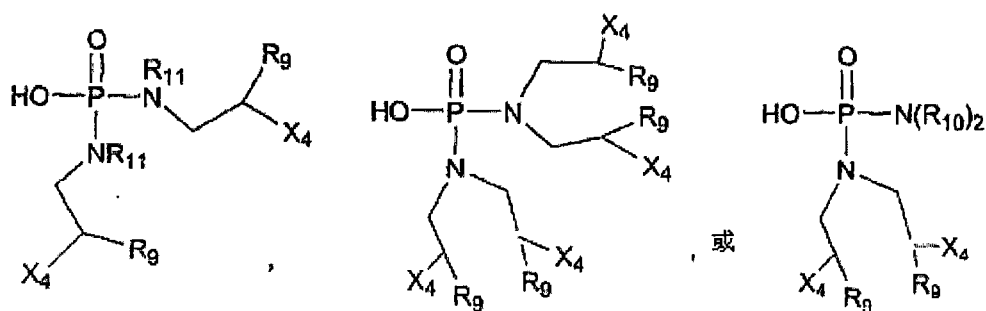


Alk 是

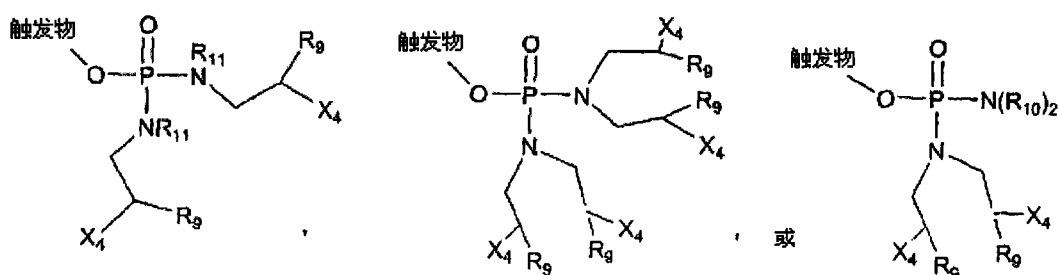


其中, R_9 如上所定义。

[0259] 在一实施方式中, 本发明提供合成氨基磷酸酯烷化剂前体药物的方法, 包括将每一新的或已知的氨基磷酸酯烷化剂:

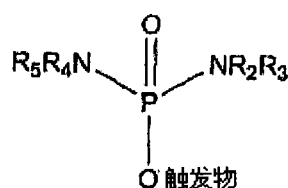


与触发物-OH、三取代磷和二烷基偶氮二羧酸酯反应, 分别产生:



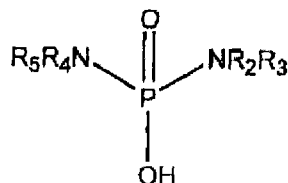
其中, X_4 、 R_5 、 R_7 和 R_8 如在分子式(I)中所定义。

[0260] 在一实施方式中, 本发明提供合成具有下列分子式的化合物的方法,



包括使 (a)、(b)和(c)反应。

(a) 具有下列分子式的新的或已知的氨基磷酸酯烷化剂:



其中, R_2 - R_5 如分子式(I)中所定义, 条件是

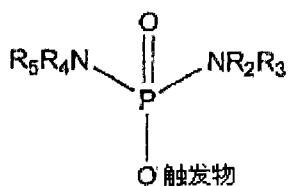
(i) R_2 - R_5 的至少两个选自 2-卤烷基、2-烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基和 2-杂烷基磺酰氧基烷基;

(ii) R_1 - R_5 的至少一个选自 2-卤烷基、2- C_1 - C_6 烷基磺酰氧基烷基、2-杂烷基磺酰氧基烷基、2-芳基磺酰氧基烷基和 2-杂烷基磺酰氧基烷基; 并且 NR_2R_3 和 NR_4R_5 的至少一个是 $\text{~}N$;

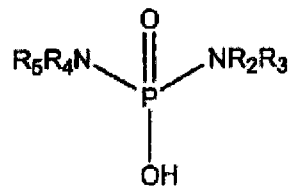
(iii) NR_2R_3 和 NR_4R_5 都合起来是 $\text{~}N$;

(b) 触发物-OH, 其中触发物如在分子式(I)中所定义, 三取代磷酸氢, 和

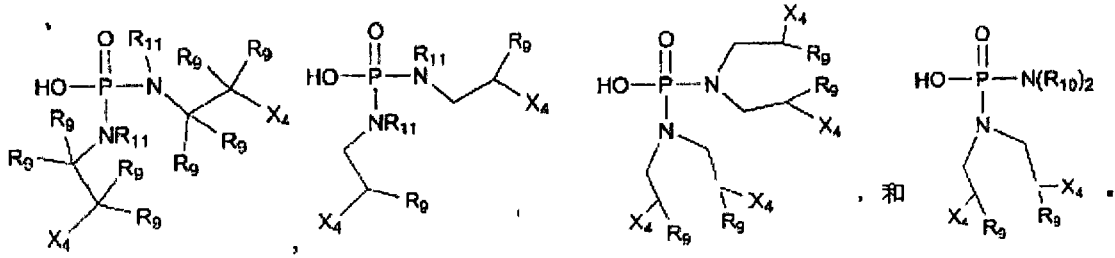
(c) 二烷基偶氮二羧酸酯, 以产生具有下列分子式的化合物



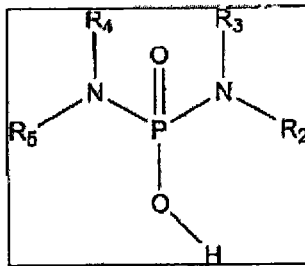
[0261] 在一实施方式中, 具有下列分子式的化合物



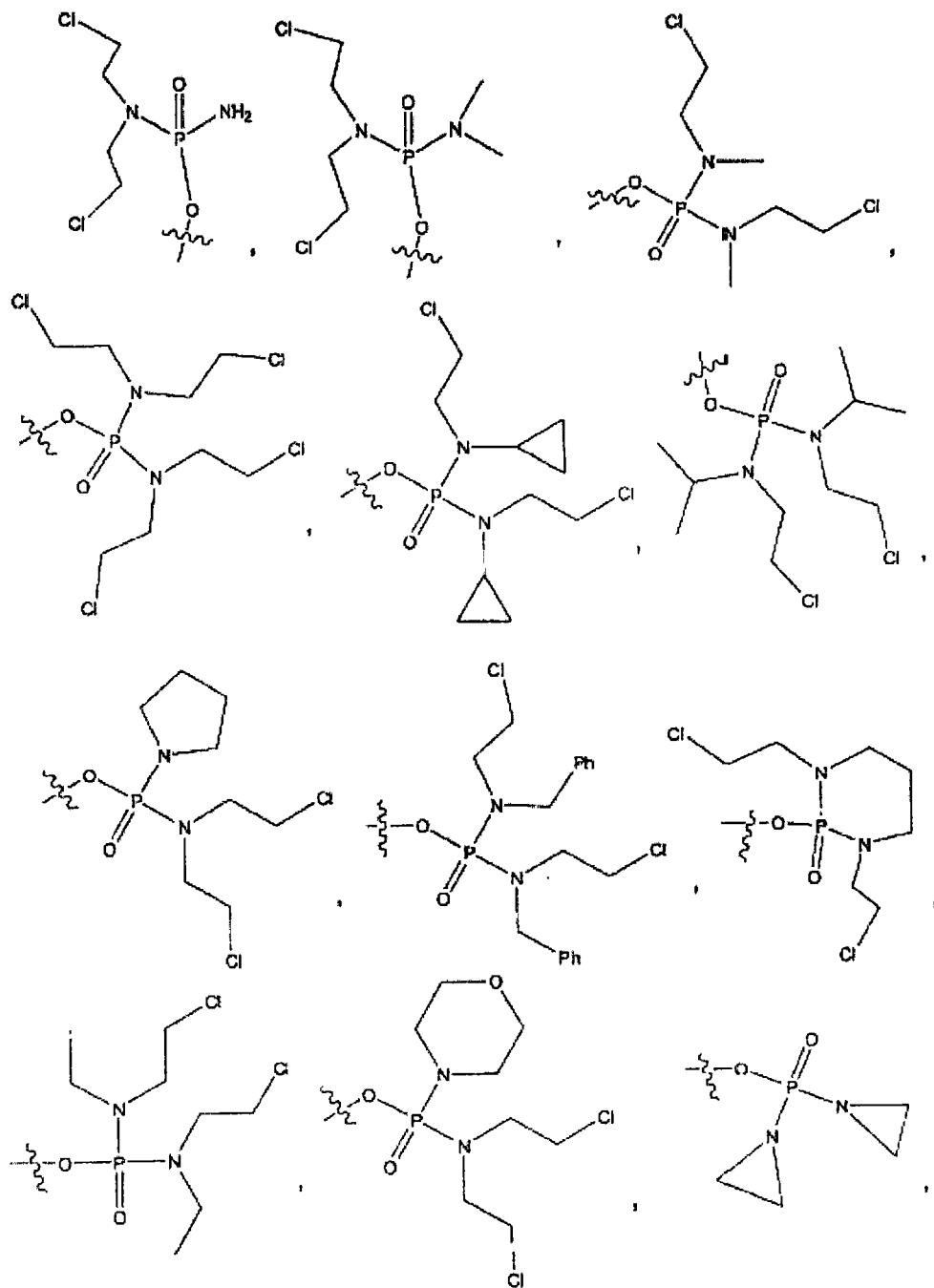
选自下列

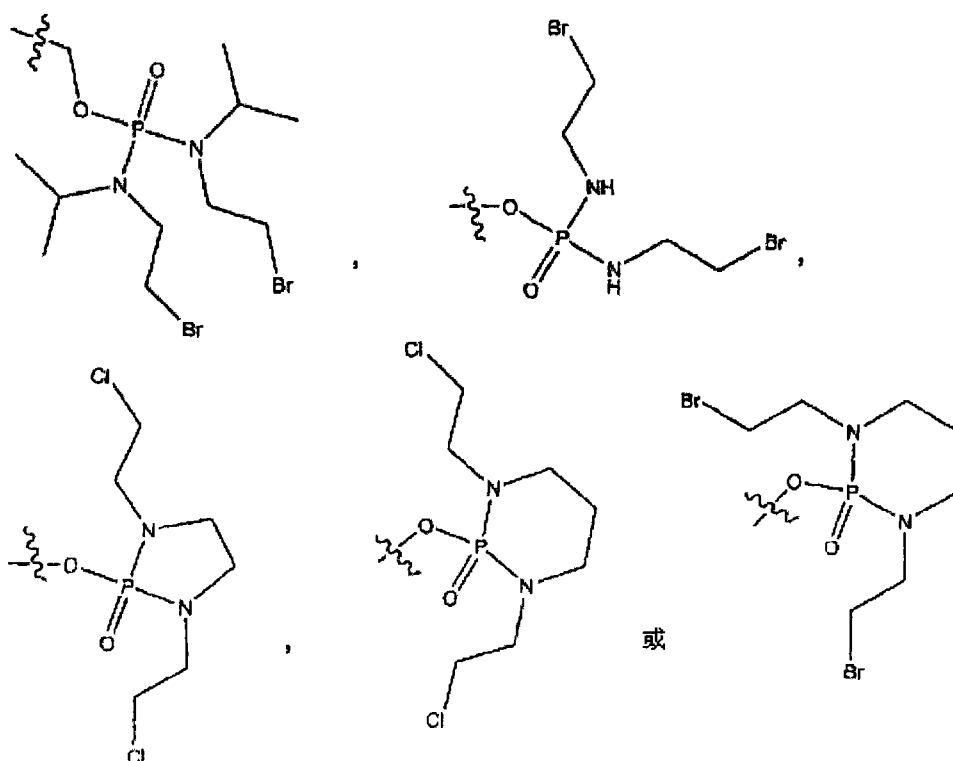


[0262] 在另一实施方式，具有分子式的下列基团

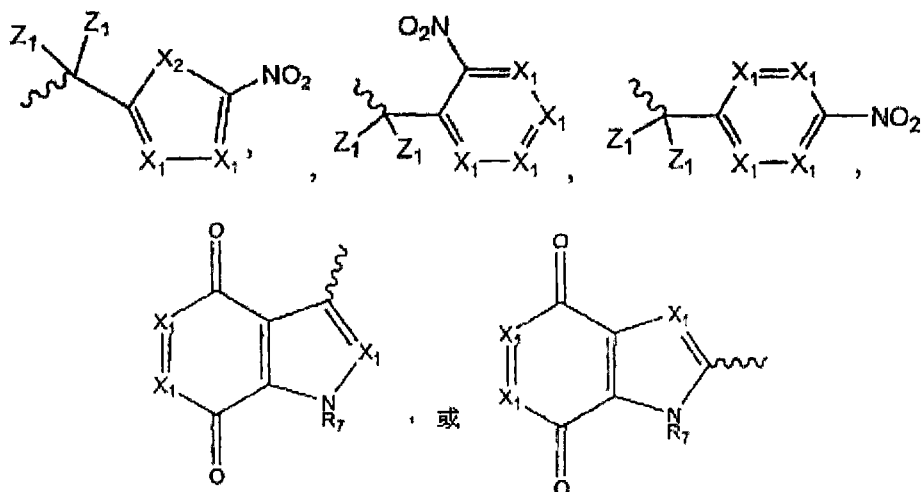


选自：





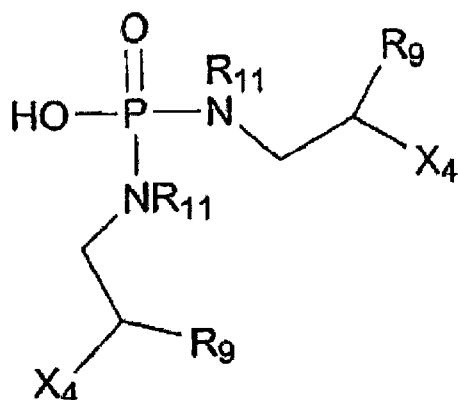
[0263] 在另一实施方式中, 反应包括溶剂如 THF、二噁烷、 C_1 - C_6 烷基乙酸酯、氯仿、二氯甲烷、乙腈和类似物。在另一实施方式中, 三取代磷中每一取代基独立选自 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 杂烷基、 C_3 - C_8 环烷基、杂环基、芳基、杂芳基和 C_1 - C_6 烷氧基取代基。在另一实施方式中, 触发物 T 是



其中 X_1 、 X_2 、 Z_1 和 Z_2 如在分子式(I)中所定义。

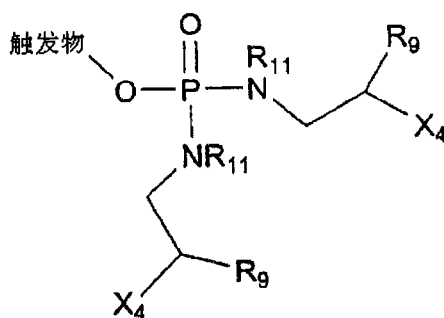
[0264] 在另一实施方式中, 本发明提供合成氨基磷酸酯烷化剂前体药物的方法, 包括

[0265] (i) 在选自 THF、二噁烷、二氯甲烷、氯仿、乙酸乙酯、乙酸丙酯、乙酸丁酯或乙腈的溶剂中, 使下述反应: 具有下列分子式的化合物

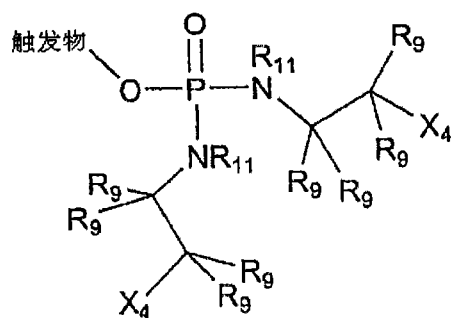


其中每一个 R_{11} 独立为氢、环丙基、甲基、乙基、苄基、或甲氧基；每一个 R_9 独立为氢、甲基、乙基、丙基或环丙基；并且 X_4 是卤素、甲基磺酰氧基、苯基磺酰氧基、4-甲基苯基磺酰氧基和 4-卤苯基磺酰氧基；

- (ii) 选自三苯膦、三丁基膦和三丁基亚磷酸酯的三取代膦；和
 (iii) 二乙基或二异丙基偶氮二羧酸酯；
 产生下列分子式的产物：

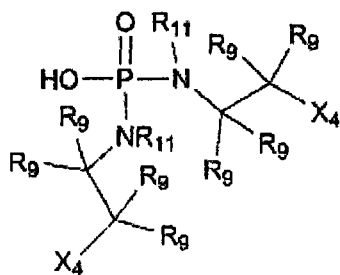


[0266] 在另一实施方式中，本发明提供合成下列分子式的化合物的方法：

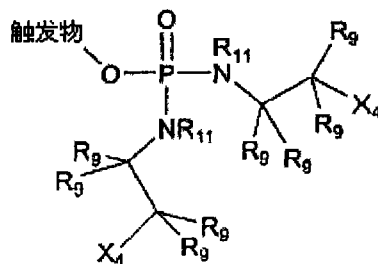


包括下列步骤：

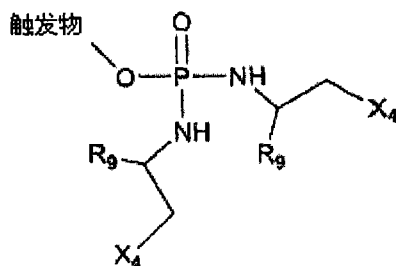
- (i) 在非质子溶剂中，将触发物-OH——其中触发物如分子式(I)所定义、三取代膦和二烷基偶氮二羧酸酯反应，产生中间体(i)；
 (ii) 将从步骤(i)得到的中间体(i)与下列分子式的化合物反应



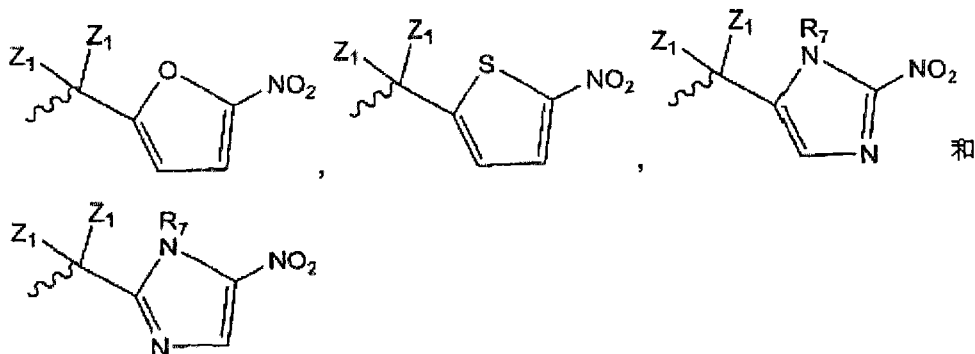
其中，每一 R_9 、 R_{11} 和 X_4 如分子式(I)所定义，产生下列分子式的化合物：



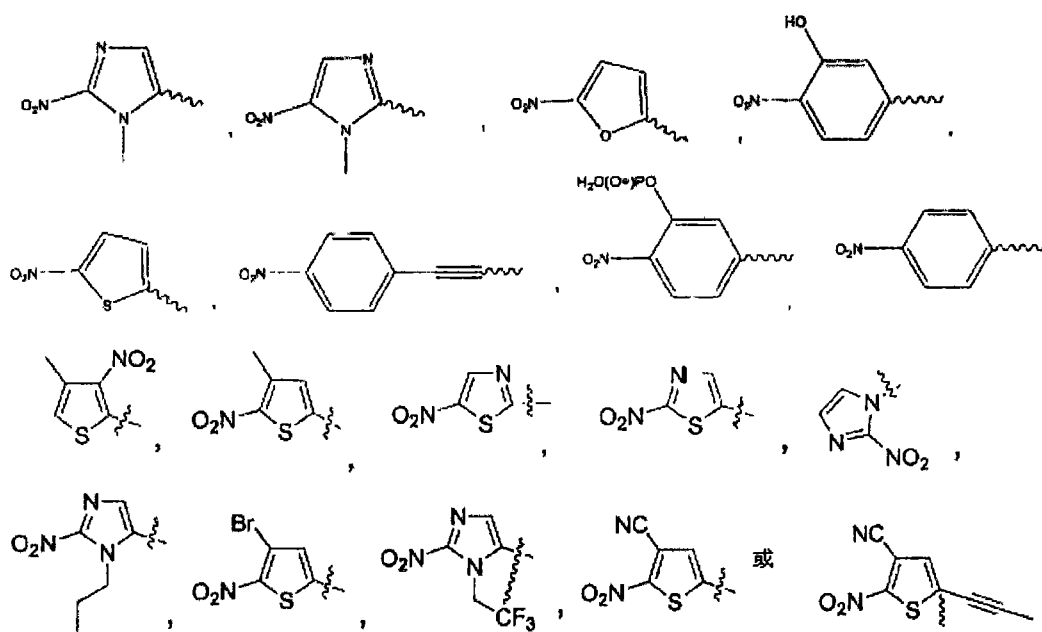
[0267] 在另一实施方式中，三取代磷是 $P(R_{12})_3$ ，其中每一 R_{12} 是 H、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 杂烷基、 C_3 - C_8 环烷基、杂环基、芳基或杂芳基。在另一实施方式中，三取代磷是聚合物支载的(polymer supported)三取代磷。在另一实施方式中，三取代磷是三苯磷、三丁基磷、三丙基磷、三乙基磷或三甲基磷。在另一实施方式中，三取代磷是聚合物支载的三苯磷。聚合物支载的三取代磷是商业上可获得的，例如从 Varian Inc. of Palo Alto, California。在另一实施方式中，本发明提供合成其中每一个 R_{11} 是氢的化合物的方法。在另一实施方式中，本发明提供合成下列化合物的方法：



[0268] 在另一实施方式中，本发明提供制造化合物的方法，其中触发物选自



和 Z₃ 是



[0269] 在一实施方式中, 本发明提供合成氨基磷酸酯烷化剂前体药物的方法, 包括下列步骤:

[0270] (a) 用 N-2-卤乙基-N-(R₁₃)铵盐回流 POCl₃, 产生二氯氨基磷酸酯中间体, 其中 R₁₃ 是氢、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 杂烷基、C₃-C₈ 环烷基、杂环基、芳基、杂芳基;

[0271] (b) 将步骤(a)中的二氯氨基磷酸酯中间体与 N-2-卤乙基-N-(R₁₃)铵盐和碱在溶剂中反应, 产生一氯氨基磷酸酯中间体, 其中 R₁₃ 是 H、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 杂烷基、C₃-C₈ 环烷基、杂环基、芳基、杂芳基; 和

[0272] (c) 将步骤(b)中获得的一氯氨基磷酸酯中间体与触发物-OH 和碱在溶剂中反应, 产生氨基磷酸酯烷化剂前体药物。

[0273] 在一实施方式中, 步骤(a)中的二氯氨基磷酸酯中间体从剩下的反应混合物中分离, 然后将它进行步骤(b)的反应。在另一实施方式中, 通过首先在真空中除去过量的 POCl₃, 然后在减压下蒸馏二氯氨基磷酸酯, 进行分离。

[0274] 在一实施方式中, 通过在硅胶上的急骤柱层析从剩下的反应混合物中分离步骤(c)中的氨基磷酸酯烷化剂前体药物。在一实施方式中, 在步骤(b)中使用的碱是叔胺。在步骤(b)中使用的适合的叔胺包括三烷基胺如三乙胺或二异丙基乙胺。在一实施方式中, 在步骤(b)中使用的溶剂是四氢呋喃(THF)或二噁烷。

[0275] 在一实施方式中, 通过在硅胶上的急骤柱层析从剩下的反应混合物中分离步骤(b)中的一氯氨基磷酸酯中间体, 然后将它进行步骤(c)的反应。在一实施方式中, 可用于步骤(c)中的碱是六烷基二硅氮化锂(lithium hexaalkyldisilazide)、六烷基二硅氮化钠或六烷基二硅氮化钾; 氢化钠或氢化钾; 或者二异丙基酰胺锂(lithium diisopropylamide)。在一实施方式中, 在步骤(c)中使用的溶剂是二甲氧基乙烷、二甘醇二甲醚、二乙醚或 THF。

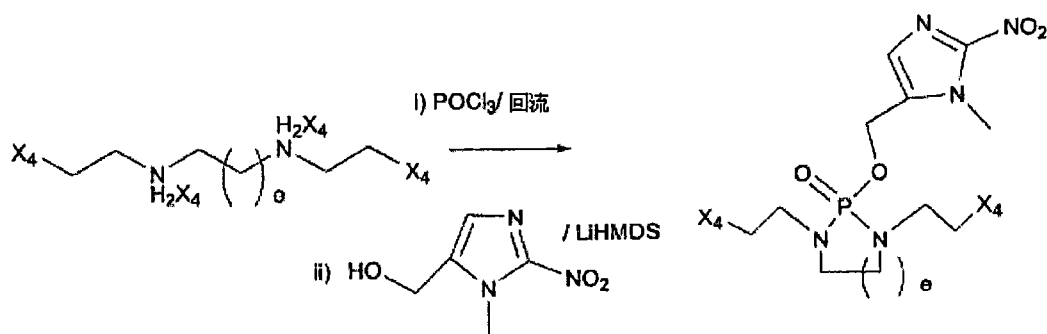
[0276] 在一实施方式中, 本发明提供合成氨基磷酸酯烷化剂前体药物的方法, 包括下列步骤:

[0277] (a) 在溶剂中反应大约每个 1 当量的 POCl_3 、触发物-OH 和碱, 产生二氯氨基磷酸酯中间体; 和

[0278] (b) 将步骤(a)中的二氯氨基磷酸酯中间体与 N-2-卤乙基-N-(R_{13})铵盐和碱在溶剂中反应, 产生氨基磷酸酯烷化剂前体药物, 其中 R_{13} 是氢、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 杂烷基、 C_3 - C_8 环烷基、杂环基、芳基、杂芳基。

[0279] 在一实施方式中, 在 0°C 以下进行步骤(a)和步骤(b)。在另一实施方式中, 在高于步骤(a)的温度 20 - 100°C 以上的温度进行步骤(b)。

[0280] 在另一实施方式中, 本发明提供合成如下所示的本发明的杂环氨基磷酸酯烷化剂前体药物的方法:



其中, $\text{X}_4 = \text{Br}$ 或 Cl ; $e = 1-3$

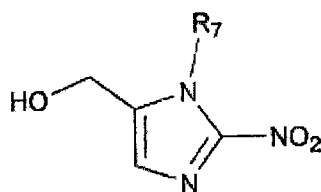
[0281] 在一实施方式中, 本发明提供合成氨基磷酸酯烷化剂前体药物的方法, 包括下列步骤:

[0282] (a) 使 PCl_3 与 N,N-二(2-卤乙基)铵盐和碱在溶剂中反应, 产生一氯磷酰胺衍生物;

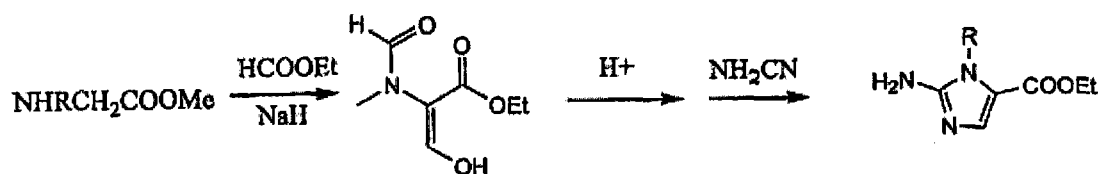
[0283] (b) 将一氯磷酰胺衍生物与触发物-OH 反应, 产生中间物; 和

[0284] (c) 氧化步骤(b)中的中间物, 产生氨基磷酸酯烷化剂前体药物。

[0285] 在一实施方式中, 在步骤(b)中使用的碱是三乙胺。在另一实施方式中, 在步骤(c)中使用的溶剂是二甲氧基乙烷、二甘醇二甲醚或 C_1 - C_6 烷基乙酸酯。在另一实施方式, 在步骤(c)中的触发物-OH 是



[0286] 多种 1-N-烷基-2-氨基咪唑-5-羧酸酯可按照下面示意性的描述进行合成:



[0287] 可还原 1-N-烷基-2-氨基咪唑-5-羧酸酯，以产生本发明中使用的 1-N-烷基-2-氨基-5-羟基甲基咪唑衍生物，作为生物还原基团 Z₃。

[0288] 在下面的实施例部分进一步详细地提供合成方法。

[0289] 生物还原基团和氨基磷酸酯烷化剂前体药物的合成和本发明的方法可从下列的参考文献中改变得得到: Matteucci 等, PCT 申请公开第 WO 04/009667 号, 和名称为 "Hypoxia Activated anti-Cancer Agents" 的低氧活化前体药物美国专利申请; deGroot 等, 2001, *Current Med. Chem.* 8: 1093-1122; Denny 等, 美国专利第 5,750,782; 5,780,585; 5,872,129; 和 6,251,933 号; Davis 等, PCT 申请公开第 WO 04/85421 和 WO 04/85361 号; 以及 Lin 等, 美国专利申请公开第 2004/254103 和 2005/043244 号, 以及 Borch 等 (如前所述)。

[0290] 在下面的“实施例”部分进一步详细地提供合成本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物的方法的实施例。

IIIa. 治疗方法

[0291] 在一实施方式中, 本发明提供通过施用本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物或者已知的氨基磷酸酯烷化剂前体药物给患者, 治疗需要治疗的患者的癌症的方法。已知的氨基磷酸酯烷化剂在前面所述的 Borch 等的参考文献中提供。在一实施方式中, 在根据本发明提供的方法治疗癌症中使用的氨基磷酸酯烷化剂前体药物具有选自(I)-(XXVII)的分子式。在一实施方式中, 在根据本发明提供的方法治疗癌症中使用的氨基磷酸酯烷化剂前体药物选自在实施例部分举例的化合物。

[0292] 用烷化剂治疗癌症可导致形成对这些烷化剂具有抗性的癌症。与在缓慢生长的低氧癌症区的癌细胞相比, 烷化剂可以杀死在更快速分裂或含更高氧的癌症区的癌细胞。缓慢生长的低氧癌症区的癌细胞在烷化剂治疗后仍存活, 并且可以产生对这类烷化剂具有抗性的细胞。鸟嘌呤-O⁶-烷基转移酶、谷胱甘肽、谷胱甘肽转移酶、核苷酸切除修复通路和/或错配修复蛋白的增强的活性, 以及主动运输的药物例如氮芥和苯丙氨酸氮芥降低的渗透性, 被推测对癌症的烷化剂抗性负责(例如, 参见 Hardman 等, 第 1393 和 1433 页, 如前所述)。

[0293] 本发明的前体药物对于治疗对其它疗法具有抗性的癌症是有效的。在低氧癌症区缓慢分裂的癌细胞作为抗性癌细胞和株系(strain)的来源, 其被本发明的前体药物杀死。在一实施方式中, 通过单独施用或者与其它抗癌剂一起联合施用本发明的化合物, 本发明提供治疗对一种或多种烷化剂的治疗具有抗性的癌症的

方法。在一实施方式中，本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物与基本不具有肾毒性的药物一起联合施用。在一实施方式中，氨基磷酸酯烷化剂前体药物与卡铂一起施用。

[0294] 在一实施方式中，本发明提供与已知烷化剂不具有交叉抗性的氨基磷酸酯烷化剂前体药物。在另一实施方式中，本发明提供与下列烷化剂不具有交叉抗性的氨基磷酸酯烷化剂前体药物：环磷酰胺、异环磷酰胺、葡磷酰胺、氮芥、苯丙氨酸氮芥、苯丁酸氮芥、达卡巴嗪、替莫唑胺、卡莫司汀、链脲霉素、苯达莫司汀、白消安、噻替派、顺铂、卡铂和奥沙利铂。

[0295] 在一实施方式中，通过单独或者与其它抗癌剂一起联合施用本发明的化合物作为第一线治疗，本发明提供治疗癌症的方法。在另一实施方式中，通过单独或者与其它抗癌剂一起联合施用本发明的化合物作为第一线治疗，本发明提供治疗转移癌的方法。在一实施方式中，通过单独或者与其它抗癌剂一起联合施用本发明的化合物作为第二线治疗，本发明提供治疗癌症的方法。在一实施方式中，通过单独或者与其它抗癌剂一起联合施用本发明的化合物作为第三线治疗，本发明提供治疗癌症的方法。在一实施方式中，通过先用手术和/或放射疗法的在先治疗后单独或者与其它抗癌剂一起联合施用本发明的化合物，本发明提供治疗癌症的方法。在一实施方式中，通过单独或者与其它抗癌剂一起联合施用本发明的化合物，本发明提供治疗癌症的方法，所述癌症在先前的化学疗法、手术、放疗或它们任意的组合后已经复发。

[0296] 在本发明提供的治疗癌症的方法中，将有效量的氨基磷酸酯烷化剂前体药物施用给对象。一般而言，对象可以是任何人或非人哺乳动物。优选的对象是人对象。其它具体的对象包括但不限于，非人灵长类、狗、猫、农场动物和马。在一情况下，氨基磷酸酯烷化剂前体药物被单独施用。在一种情况下，氨基磷酸酯烷化剂前体药物与一种或多种另外的抗癌剂联合使用。在一情况下，与癌症治疗一起，施用氨基磷酸酯烷化剂前体药物，所述癌症治疗包括但不限于手术和放疗。一般地，氨基磷酸酯烷化剂前体药物将以药学组合物施用。可被使用的多种药学组合物，在下文的制剂部分进行描述。

[0297] 氨基磷酸酯烷化剂前体药物和它们的药学组合物可被用来治疗对象特别是人对象的任意类型癌症。可被治疗的癌症包括但不限于白血病、乳癌、皮肤癌、骨癌、肝癌、脑癌、喉癌、胆囊癌、胰腺癌、直肠癌、甲状旁腺癌、甲状腺癌、肾上腺癌、神经组织癌、头部和颈部癌、胃癌、支气管癌、肾癌，基底细胞癌，溃疡状和乳头状两种类型的鳞状细胞癌，转移性皮肤癌，骨肉瘤，尤因氏肉瘤 (Ewing's Sarcoma)，网状细胞 (reticulum cell) 肉瘤，骨髓瘤，巨细胞瘤，小细胞肺肿瘤，胆石，胰岛细胞癌，原发性脑瘤，急性和慢性淋巴细胞瘤和粒细胞瘤，毛细血管瘤，腺瘤，增生，髓样癌，嗜铬细胞瘤，粘膜神经瘤，肠内神经节细胞瘤，增生性角膜神经瘤，类马伐氏症候群瘤 (marfanoid habitus tumor)，维尔母

斯肿瘤，精原细胞瘤，平滑肌瘤，子宫颈异常和原位癌，成神经细胞瘤，视网膜母细胞瘤，软组织肉瘤，恶性类癌瘤，局部皮肤病变，蕈样肉芽肿病，横纹肌肉瘤，卡波西肉瘤，成骨和其它肉瘤，恶性高钙血症，肾细胞瘤，真性红细胞增多症，腺癌，多形性成胶质细胞瘤，白血病，淋巴瘤，恶性黑素瘤，和表皮样癌。

[0298] 氨基磷酸酯烷化剂前体药物可具体被用来治疗含有明显低氧组织的癌症。这类癌症包括但不限于肺癌特别是非小细胞肺癌、乳腺癌、结肠癌、头部和颈部癌、卵巢癌、胰腺癌和前列腺癌。可用本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物治疗的癌症类型的实例在下面的参考文献中提供，它们中的每一个被全部引入本文作为参考：Tidmarsh 等，2005 年 12 月 22 日提交的 PCT 专利申请第 PCT/US2005/047314 号和名称为"Glufosfamide combination therapy"的 PCT 专利申请，其律师案卷号为 021305-005900PC；以及美国专利申请第 60/760,599 和 60/719,787 号和 PCT 专利申请公开第 WO 2005/076888 号。这些癌症中的几个在下面为阐明的目的进行评述。本领域技术人员将明白，癌症化学疗法通常涉及同时或连续施用多种抗癌剂，并且如下面进一步讨论的，氨基磷酸酯烷化剂前体药物可被用于联合治疗，如本文方法所描述的。因此，在含有适于用氨基磷酸酯烷化剂前体药物治疗的低氧区的示例性癌症的描述中，也描述了联合治疗的实例。

[0299] 在美国，肺癌影响 100,000 以上男性和 50,000 以上女性，他们中的大多数在诊断的一年内死去，这使得肺癌成为癌症死亡的主要因素。目前治疗肺癌的方法涉及在进行或不进行放疗或手术的情况下结合化学疗法。氨基磷酸酯烷化剂前体药物可被用作单一药剂或者与现有的联合治疗组合。多种联合化学治疗方法已被报道用于小细胞肺癌，包括由环磷酰胺、阿霉素和长春花新碱(CAV)组成的联合；依托泊甙和顺铂(VP-16)组成的联合；和环磷酰胺、阿霉素和 VP-16 (CAVP-16)组成的联合。对于非小细胞肺癌，从联合化疗(依托泊甙和顺铂)得到的适度的存活益处(modest survival benefit)已被报道。

[0300] 同样地，几种不同的细胞毒性药已经产生卵巢癌至少暂时的退化。在治疗卵巢癌中最具活性的药物是烷化剂，包括环磷酰胺、异环磷酰胺、苯丙氨酸氮芥、苯丁酸氮芥、噻替派、顺铂和卡铂。目前用于卵巢癌的联合治疗包括顺铂或卡铂与环磷酰胺结合，以三到四周为间隔，进行六到八个周期。本文描述的化合物和方法提供治疗卵巢癌的前体药物形式和方法，其中本文描述的氨基磷酸酯烷化剂前体药物被用作单一药剂或用于现有的这种联合治疗，或者取代或加入目前使用的药剂（一种或多种）。

[0301] 在美国，前列腺癌是男性中最常见的恶性肿瘤，它是 55 岁以上男性的癌症死亡中第二最常见的因素，这种癌症已被报道主要由低氧组织构成。几种化学疗法已被报道用于在激素治疗之后复发后的后期阶段疾病。用于治疗前列腺癌的药剂包括烷化剂磷酸雌二醇氮芥、泼尼莫司汀和顺铂。联合化学治疗也被用来治疗前列腺癌，包括用磷酸雌二醇氮芥加泼尼莫司汀和顺铂的治疗，以及用 5-氟

尿嘧啶、苯丙氨酸氮芥和炔脲的治疗。本发明提供治疗前列腺癌的方法，其中本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物被用于这类联合，或者取代目前使用的药剂或者加入目前使用的药剂（一种或多种）。

[0302] 在美国，大肠癌症是癌症死亡的第二最常见因素，并且同样是以低氧区为特征的癌症。虽然患有晚期直肠癌的患者进行化学治疗已证明仅仅具有有限的益处(marginal benefit)，但 5-氟尿嘧啶对于这种疾病是最有效的治疗。5-氟尿嘧啶可单独使用或与其它药物联合使用，但是其与将可测量的肿瘤质量降低 50% 或更多的仅为 15%到 20%的可能性相关。使用 5-氟尿嘧啶(5-FU)与本文描述的化合物和方法以及使用前体药物治疗结肠癌的方法相联合，可提供明显的治疗益处和潜力，因为其满足了更好治疗这种疾病的方法所需的未满足的要求。

[0303] 在一种治疗方法的情况中，氨基磷酸酯烷化剂前体药物可用于多种已知的癌症治疗方法，包括但不限于“抗体导向酶前体药疗法(antibody directed enzyme prodrug therapy, ADEPT)”、“病毒导向酶前体药疗法(VDEPT)”、“基因导向酶前体药疗法(GDEPT)”和“细菌导向酶前体药疗法(BDEPT)”。氨基磷酸酯烷化剂前体药物总的应用不限于前述治疗方法。

[0304] 在另一方面，本发明提供治疗非癌增生性疾病的方法，该疾病的特征为细胞增殖(例如异常增加的细胞增殖速率或数量)。在一实施方式中，根据本发明治疗的增生性疾病选自过敏性脉管炎和肉芽肿病(丘-施二氏疾病)、石棉沉着病、哮喘、萎缩性胃炎、良性前列腺增生、大疱性类天疱疮、乳糜泻、慢性支气管炎和慢性阻塞性呼吸道疾病、慢性鼻窦炎、克罗恩病、脱髓鞘神经性病、皮炎、包括特应性皮炎的湿疹、咽鼓管疾病(eustachean tube disease)、巨细胞动脉炎、移植排斥、超敏感性肺炎、高敏感性脉管炎(亨诺-许兰二氏紫癜)、刺激性皮炎、炎性溶血性贫血、炎性嗜中性粒细胞减少、炎性肠疾病、川崎氏病、多硬化症、心肌炎、肌炎、鼻息肉、鼻泪管疾病、新增性血管炎、胰腺炎、寻常天疱疮、原发性肾小球性肾炎、牛皮癣、牙周病、多囊肾疾病、结节性多动脉炎、多脉管炎重叠综合症、原发性硬化性胆管炎、类风湿性关节炎、血清病、手术后粘连(surgical adhesion)、狭窄或再狭窄、巩膜炎、硬皮病、胆管狭窄、(十二指肠、小肠和结肠)狭窄、矽肺和其它形式尘肺病、I型糖尿病、溃疡性结肠炎、溃疡性直肠炎、与结缔组织紊乱相关的血管炎、与补体系统先天性缺陷相关的血管炎、中枢神经系统血管炎和韦格纳肉芽肿病。

[0305] 在本发明的一些实施方式中，施用本发明的化合物治疗选自下列的增生性疾病：牛皮癣、多硬化症、类风湿性关节炎、再狭窄和良性前列腺增生。在一实施方式中，被治疗的增生性疾病是牛皮癣，一种以角质化细胞的细胞增殖为特征的疾病，其在皮肤上聚集形成突出的鳞状损伤。在另一实施方式中，被治疗的增生性疾病是多硬化症，一种以在脑中逐步脱髓鞘为特征的疾病。在另一实施方式中，被治疗的增生性疾病是类风湿性关节炎，一种多系统慢性、复发性炎性

疾病，其可导致受影响关节的破坏和强直(ankylosis)。在另一实施方式中，通过用含有本发明化合物的组合物涂敷假体施用本发明的化合物，以防止由于在植入对象的假体上细胞增殖导致的增生性疾病。在另一实施方式中，被治疗的增生性疾病是良性前列腺增生，一种其中前列腺上皮细胞生长异常并且因此阻断尿流动的疾病。

IIIb. 制剂、给药方式、剂量

[0306] 氨基磷酸酯烷化剂前体药物一般被配制为用于施用给对象的药物制剂。在这部分描述的是当使用本文描述的氨基磷酸酯烷化剂前体药物治疗癌症时，可被使用的给药方式、制剂和剂量。

[0307] 可通过任何可将药物输送到作用位置——肿瘤低氧区的方法，实现氨基磷酸酯烷化剂前体药物的给药以治疗癌症。通过静脉内注射，施用多种癌症药物，氨基磷酸酯烷化剂前体药物可被配制成如此制剂，不但包括随时注射(ready-for-injection)制剂，而且包括冻干或浓缩的制剂，冻干或浓缩的制剂在注射之前，必须先分别再水化或稀释。除了这些制剂，可配制氨基磷酸酯烷化剂前体药物，用于经口途径、十二指肠内途径、肠胃外注射(包括静脉内、皮下、肌肉内、血管内或灌流)、外用和直肠途径给药。本领域技术人员将认识到，氨基磷酸酯烷化剂前体药物在消化道内可被细菌活化。如果这种活化是不需要的，那么从业者可使用这样的给药途径或制剂——其导致氨基磷酸酯烷化剂前体药物在进入大肠或结肠之前被吸收。氨基磷酸酯烷化剂前体药物的实际给药途径和相应的剂型将取决于被治疗的癌症类型、选择用于给药的氨基磷酸酯烷化剂前体药物、癌症的严重性和患者的年龄、体重和状况，以及其它因素。

[0308] 氨基磷酸酯烷化剂前体药物施用的量，以及因此包含在施用的药剂中的氨基磷酸酯烷化剂前体药物的量和包含药剂的产物的量，将取决于被治疗的对象、癌症的严重性、癌症的位置、给药速率、前体药物的特性(例如分子量、溶解度以及低氧和常氧的细胞毒性)、氨基磷酸酯烷化剂前体药物释放的细胞毒剂和处方医师的判断。

[0309] 在一实施方式中，本发明提供治疗患者癌症的方法，其中有效剂量一般在每千克体重大约 0.001 到大约 0.1g 的范围，或者以单剂量或分次剂量为大约 1.0 到大约 35mg/kg/天。对于 70kg 的人，这总计为大约 0.05 到大约 7g/天，大约 0.2 到大约 2.5g/天。在一些情况下，在前述范围的下限以下的给药水平可能远远足够，而在另一些情况下，可以使用更大的剂量，而没有引起任何有害的副作用；更大的剂量可被分成几个较小的剂量来整日给药，这通过灌流一小时或者持续使用经外周插入的中心导管(PICC 管线)和便携式静脉注射袋和泵来实现。

[0310] 在一实施方式中，本发明治疗癌症和其它增生性疾病的化合物的有效剂量以单剂量或分次剂量在大约 0.1 到大约 35mg/kg/天；大约 0.5 到大约 20mg/kg/

天;大约0.5到大约15mg/kg/天;大约0.5到大约10mg/kg/天;大约0.5到大约8mg/kg/天;和大约1到大约5mg/kg/天的范围。在一实施方式中,本发明治疗癌症和其它增生性疾病的化合物的有效剂量以单剂量或分次剂量在大约2到大约8mg/kg/天;大约2到大约4mg/kg/天;和大约2mg/kg/天的范围。在一实施方式中,本发明治疗癌症和其它增生性疾病的化合物的有效剂量以单剂量或分次剂量在大约0.25到大约2.5mg/kg/天;大约0.25到大约1mg/kg/天;和大约0.25到大约0.5mg/kg/天的范围。在一实施方式中,或者作为单一疗法(只用本发明的化合物),或者与其它护理治疗标准联合(组合),通过每日静脉注射,给予该剂量。在一实施方式中,本发明治疗癌症和其它增生性疾病的化合物的有效剂量在如先前描述的范围,每周给药一次。

[0311] 在一实施方式中,间歇性(更少的频率)施用更大的剂量;在两周内每隔三天一次,施用大约3到大约20mg/kg的剂量;大约6到大约10mg/kg的剂量;或8mg/kg的剂量。在另一实施方式中,在四周内每周一次,施用大约5到大约30mg/kg的剂量;大约10到大约15mg/kg的剂量;或者大约12.5mg/kg的氨基磷酸酯烷化剂前体药物。在一实施方式中,施用大约0.5到大约8mg/kg/天范围内的剂量5天,两周为一周期。

[0312] 在另一实施方式中,对于治疗人类患者,氨基磷酸酯烷化剂前体药物的最大日剂量不大于500mg/kg患者体重,因此氨基磷酸酯烷化剂前体药物的每日给药剂量在每千克患者体重大约1mg氨基磷酸酯烷化剂前体药物到每千克患者体重大约500mg氨基磷酸酯烷化剂前体药物的范围内。在一实施方式中,氨基磷酸酯烷化剂前体药物的每日给药剂量在待被治疗的患者体重的大约5mg/kg到大约500mg/kg的范围内。在另一实施方式中,氨基磷酸酯烷化剂前体药物的日剂量的治疗有效量为待被治疗的患者体重的大约10mg/kg到大约250mg/kg。在另一实施方式中,氨基磷酸酯烷化剂前体药物的治疗有效量为待被治疗的患者体重的大约25mg/kg到大约150mg/kg。在另一实施方式中,氨基磷酸酯烷化剂前体药物的治疗有效量为待被治疗的患者体重的大约25mg/kg到大约50mg/kg。在另一实施方式中,氨基磷酸酯烷化剂前体药物的治疗有效量为待被治疗的患者体重的大约1.25mg/kg到大约12.5mg/kg。

[0313] 通过和根据对于人类以及任何其它哺乳动物的研究,也可提供关于给药的指导。可将为动物确定的治疗有效量转化为如下表所述的相应的人的相当剂量(HED):

动物	人的相当剂量(HED)转化因子 ^a
小鼠	12.3
仓鼠	7.4
大鼠	6.2

雪貂	5.3
豚鼠	4.6
微型猪(Micro-pig)	1.4
小型猪(Mini-pig)	1.1
兔	3.1
狗	1.8
猴 ^b	3.1
狨	6.2
松鼠猴	5.3
狒狒	1.8

^a 为了将以 mg/kg 为单位的动物剂量转化为以 mg/kg 为单位的 HED(假设 60kg 人), 将动物剂量除以 HED 转化因子。对于没有列出的物种或者在标准范围以外的重量, 人的相当剂量(HED)可从下面的公式计算: $HED = \text{以 mg/kg 为单位的动物剂量} \times (\text{kg 为单位的动物体重} / \text{kg 为单位的人体重})^{0.33}$ 。

^b 例如猕猴、恒河猴或桩尾猴。

[0314] 为了得到治疗效果, 氨基磷酸酯烷化剂前体药物的治疗有效日剂量通常多次施用给患者。在一实施方式中, 氨基磷酸酯烷化剂前体药物在一段时期内按日施用。一般而言, 将至少连续三天进行日给药。在相关实施方式中, 至少连续 5 天、至少连续 7 天或至少连续 10 天给药。根据医师选择的剂量、制剂和给药途径以及患者的方便程度, 全部日剂量可每天一次给药, 或者, 日剂量也可在一天的进程中分为多次较小的剂量给药(包括泵输注或静脉内给药)。例如, 可将剂量分为较小的两个剂量, 每日给药两次, 或分为较小的三个剂量, 每日给药三次。对癌症治疗领域技术人员显而易见的是, 如本文所采用, "日"给药并不限于每天给药一次, 而是可包括多次给药。

[0315] 也可采用除连续地日给药之外的其它给药方案。每隔一天 (qod) 给药一次是特别方便的, 在某些情况下采取每三日给药一次, 或每星期给药一次可能是合适的, 但在任何一种情况下, 都在一段时间内进行氨基磷酸酯烷化剂前体药物的重复给药。例如, 无论给药是按日 (如上所述, 包括多次的日剂量)、每隔一天或次数更少, 在一种实施方式中, 氨基磷酸酯烷化剂前体药物每星期至少 2 天给药, 持续至少二、三、四、五个或至少六个连续的星期, 或者可选地, 在六个月的期间内进行至少两、三、四、五个或至少六个星期, 或者可选地, 在十二个月的期间内进行至少两、三、四、五个或至少六个星期。在一个实施方式中, 氨基磷酸酯烷化剂前体药物每星期至少 3 天给药, 持续至少二、三、四、五个或至少六个连续的星期, 或者可选地, 在六个月期间内持续至少两、三、四、五个或至少六个星期, 或者可选地, 在十二个月期间内持续至少两、三、四、五个或至少

六个星期。在一种实施方式中，氨基磷酸酯烷化剂前体药物每月至少 10 天给药，任选为每月至少 20 天，持续至少一个月或至少两、三、四、五个或至少六个连续月，或者可选地，在六个月期间内持续至少一、二、三、四、五个或至少六个月。

[0316] 在一实施方式中，治疗有效剂量的给药持续进行多天，典型地为至少三个连续日，通常为至少五到十个连续日，或一星期，或几个星期或更长。因而，患者可按照本方法进行几天、一星期、一个月、两个月、三个月、六个月、或一年或更长时间的氨基磷酸酯烷化剂前体药物给药。

[0317] 与其它抗癌剂的给药方案相一致，氨基磷酸酯烷化剂前体药物可以进行多“轮”给药。例如，在一些实施方式中，氨基磷酸酯烷化剂前体药物的给药可为每日一次，持续至少三到十，或至少五到十个连续日，并且该三到十日或五到十日的治疗可重复一次、两次或三次或更多次，有时候在多日治疗的每次之间存在长达一到几星期的无治疗（用氨基磷酸酯烷化剂前体药物）期间。类似地，在一些实施方式中，氨基磷酸酯烷化剂前体药物每隔一天进行二到十次给药，更经常为三到十次给药，或五到十次给药，并且该二、三或五到十次每隔一天（qod）给药可以重复一次、两次或三次或更多次，在多日给药的每次之间存在长达一个到多个星期的无治疗（用氨基磷酸酯烷化剂前体药物）期间。其它的多轮给药计划对于受到本公开指导的熟练医师来说是显而易见的。

[0318] 一方面，“给予治疗有效剂量或治疗有效方案的氨基磷酸酯烷化剂前体药物”是指 (i) 在所述的范围内给予氨基磷酸酯烷化剂前体药物(例如，1 mg-1 g 氨基磷酸酯烷化剂前体药物/kg 患者体重，典型为 25-150 mg 氨基磷酸酯烷化剂前体药物/kg 患者体重)，在规定的时期内持续规定的最少天数，其中氨基磷酸酯烷化剂前体药物的给药对患者的癌症具有疗效。示例性的氨基磷酸酯烷化剂前体药物的治疗有效剂量方案包括本文所述的那些方案，如氨基磷酸酯烷化剂前体药物给药进行 3 个连续日，5 个连续日，7 个连续日，10 个连续日，每周至少 3 天，每周至少 3 天并持续一个月，每月至少 10 天，以及每月至少 20 天。

[0319] 在根据本发明优化氨基磷酸酯烷化剂前体药物治疗方案中，可对氨基磷酸酯烷化剂前体药物给药的剂量和频率进行选择，从而在治疗期间的血浆浓度曲线(AUC)下获得最大的持续面积。如 AUC 所测定的，理论上最佳的剂量给药方案使肿瘤细胞最大程度地暴露于氨基磷酸酯烷化剂前体药物，同时将任何单次给药的最大血浆浓度(C_{max})降至最低。较高的 C_{max} 将会带来毒性，而 AUC 将决定疗效。正如其它癌症治疗药物的领域中所理解的一样，如果观察到毒性或者为了方便患者，可以暂时停止采用氨基磷酸酯烷化剂前体药物的治疗，这并不偏离本发明的范围，然后再重新开始。

[0320] 在一实施方式中，用于治疗癌症的本发明氨基磷酸酯烷化剂前体药物的药物动力学可确定剂量、给药方法和用氨基磷酸酯烷化剂前体药物治疗的癌症的种类。在一实施方式中，本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物可具有 1 到 300

分钟之间的体内半衰期。在一实施方式中，本发明的化合物可具有 3 到 10 分钟之间的体内半衰期。在一实施方式中，本发明的化合物可具有 10 到 30 分钟之间的体内半衰期。氨基磷酸酯烷化剂前体药物的短半衰期可能要求治疗的灌注时间长于具有更长半衰期的氨基磷酸酯烷化剂前体药物所需要的灌注时间。氨基磷酸酯烷化剂前体药物的短半衰期可能增加对该前体药物的最大耐受剂量(MTD)。

[0321] 在另一实施方式中，本发明提供这样的氨基磷酸酯烷化剂前体药物——当与小鼠肝脏微粒(如果可行，用人的实例和数据更新)蛋白培养 30 分钟时，其保持多达 20%未改变。在另一实施方式中，本发明提供这样的氨基磷酸酯烷化剂前体药物——当与小鼠肝脏微粒蛋白培养 30 分钟时，其保持 20%-80%未改变。在另一实施方式中，本发明提供这样的氨基磷酸酯烷化剂前体药物——当与小鼠肝脏微粒蛋白培养 30 分钟时，其保持 80%以上未改变。在另一实施方式中，本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物示例——当与小鼠肝脏微粒蛋白培养 30 分钟时，其保持 80%以上未改变，包括 1、25 和 36。本发明的前体药物的 MLM 稳定性越高，其治疗有效剂量和患者不期望的副作用越低。

[0322] 在相关实施方式中，本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物的生物还原基团，在低氧肿瘤区还原/活化后，形成氨基磷酸酯烷化剂- T_M 偶联物。在转移疾病的情况下，氨基磷酸酯烷化剂- T_M 偶联物可扩散并且到达肿瘤的其它部分或其它肿瘤。多个药物动力学参数如在稳定状态下的分布体积(V_{ss})、清除率(clearance, CL)、曲线下面积(AUC)、小鼠肝脏微粒稳定性(MLM 稳定性)、血浆稳定性和本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物的 C_{max} 被测量并在实施例部分列出(也参见 Hardman 等，如前所述)。

[0323] 在再治疗方案中，可调整剂量以反映患者对先前治疗的耐受性。在任何情况下，当在重复给药期间观察到毒性时，如观察到严重的症状，可暂时停止给药。当带有毒性的第一器官不再含有显著浓度的氨基磷酸酯烷化剂前体药物或其释放的氨基磷酸酯烷化剂(可通过症状的停止而间接地测定或确定)时，可在此时终止给药的暂停期(药物假期)。因此，间歇给药期间不仅可用具体的天数来定义，也可通过基于症状和氨基磷酸酯烷化剂前体药物或其释放的氨基磷酸酯烷化剂的正常器官清除率的药物假期来具体化。

[0324] 例如，氨基磷酸酯烷化剂前体药物的制剂可以是适合经口给药的形式，如片剂、胶囊、药粉(pill powder)、持续释放剂型、溶液和悬浮液；适合肠胃外注射的形式，如无菌溶液、悬浮液或乳浊液；适合外用给药的形式，如软膏或乳脂；和适合直肠给药的形式，如栓剂。氨基磷酸酯烷化剂前体药物的制剂可以是适合精确剂量单次给药的单位剂量形式，其一般包括传统的药物载体或赋形剂。

[0325] 适合的药物载体包括惰性稀释剂或填料、水和多种有机溶剂。如果需要，药物组合物可含有另外的成分如调味剂、粘合剂、赋形剂和类似物。因此对于经口给药，含有多种赋形剂如柠檬酸的片剂可与多种崩解剂如淀粉、褐藻酸和

某些复合硅酸酯，以及与粘合剂如蔗糖、明胶和阿拉伯胶一起使用。另外，润滑剂如硬脂酸镁、十二烷基硫酸钠和滑石可被用来制备本文描述的氨基磷酸酯烷化剂前体药物的片剂形式的制剂。相似类型的固体组合物可被用于软和硬填充明胶胶囊。因此，优选的材料包括乳糖或奶糖和高分子量聚乙二醇。当需要水悬浮液或酞剂用于经口给药时，本文的前体药物可与多种增甜剂或调味剂、着色物质或染料，以及如果需要的话，乳化剂或悬浮剂组合，与稀释剂如水、乙醇、丙二醇、甘油或它们的组合结合。

[0326] 示例性肠胃外给药形式包括无菌水溶液中的氨基磷酸酯烷化剂前体药物的溶液或悬浮液，所述无菌水溶液例如含水聚乙二醇、丙二醇或右旋糖溶液。如果需要，这类剂型可被适当缓冲。

[0327] 根据本公开内容，制备多种含有具体量活性药物的药学组合物方法对本领域技术人员是已知的，或者是显而易见的。例如，参见 Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Philadelphia, Pa., 第 17 版 (1984)。

[0328] 使用本发明氨基磷酸酯烷化剂前体药物治疗癌症的方法在杀死生长在肿瘤低氧区最难杀死的癌细胞是有效的。一旦在低氧区释放，氨基磷酸酯烷化剂前体药物可从低氧细胞扩散并杀死含有快速分裂细胞增长群的邻近区域的癌细胞。低氧区作为药物工厂在肿瘤内产生用于杀死相邻常氧癌细胞的烷化剂，在肿瘤中产生相对于正常组织更高浓度的氨基磷酸酯烷化剂。前体药物用于在肿瘤内产生氨基磷酸酯烷化剂，可降低由于正常细胞毒性引起的毒副作用。在肿瘤常氧区域中的癌细胞被破坏后，低氧区可变成常氧区并开始分裂。如此，这类细胞可以被从本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物或已知的那些氨基磷酸酯烷化剂前体药物产生的氨基磷酸酯烷化剂杀死，或者被与氨基磷酸酯烷化剂前体药物一起施用的其它抗癌药或细胞毒素杀死，如下面部分描述。

IIIc. 联合治疗

[0329] 根据本发明的方法，氨基磷酸酯烷化剂前体药物可与其它抗癌药 ("抗癌剂") 联合进行共同给药。不拟受限于任何具体的机理或效果，这类共同给药在某些情况下可以提供优于已知癌症疗法的数个优势中的一个或多个，如，例如，共同施用氨基磷酸酯烷化剂前体药物和抗癌剂对诱导癌细胞死亡具有协同效应。共同给药提供了较单独施用抗癌剂更好的治疗结果，例如，癌症的一个或多个症状的更大程度的缓解或减轻，疾病程度的减轻，疾病进展的延迟或减慢，疾病状态的改善、缓解或稳定，部分或完全好转，存活延长或其它有益的治疗结果。

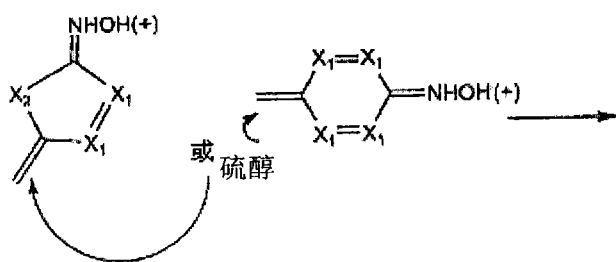
[0330] 氨基磷酸酯烷化剂前体药物的共同给药增加了癌细胞对抗癌剂的敏感性，使得可以将更低剂量的抗癌剂施用给患者，或者允许抗癌剂用于治疗在其它情况下对该抗癌剂有抗性的细胞或治疗在其它情况下难以治疗的细胞。已知的抗

癌剂一般靶向于常氧区中的快速分裂细胞，而本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物靶向在肿瘤区域中不能被单独的抗癌药有效杀死的低氧细胞。

[0331] 如本文所用，当氨基磷酸酯烷化剂前体药物与另一抗癌剂(本文也称为“药剂(agent)”)作为相同疗程的一部分而给予时，氨基磷酸酯烷化剂前体药物与该药剂被“共同给予”。在一实施方式中，在给予药剂(即，开始其它癌症疗法)之前，首先给予氨基磷酸酯烷化剂前体药物，并且在给予药剂的过程(即，其它疗法的过程)中，持续应用氨基磷酸酯烷化剂前体药物进行治疗。在另一实施方式中，在其它癌症疗法开始或完成之后，给予氨基磷酸酯烷化剂前体药物。在其它实施方式中，氨基磷酸酯烷化剂前体药物随其它癌症疗法开始的同时被首先给予。例如，参见在实施例部分描述的联合治疗。

[0332] 在一实施方式中，在给予药剂之前，首先给予氨基磷酸酯烷化剂前体药物，并且在停止给予药剂后，继续应用氨基磷酸酯烷化剂前体药物进行治疗。在一实施方式中，在给予药剂之前，首先给予氨基磷酸酯烷化剂前体药物，并且在给予药剂期间的一部分期间，继续应用氨基磷酸酯烷化剂前体药物进行治疗。对于某些药物，例如某些拓扑异构酶抑制剂，可以在给予该第二药物之前，开始和完成氨基磷酸酯烷化剂前体药物的给予。

[0333] 在存在氧的情况下，还原 Z_3 而形成的自由基阴离子与氧反应，产生超氧化物和 Z_3 。超氧化物是细胞毒素并且超氧化物在常氧组织中的产生可引起不期望的副作用。在一实施方式中，本发明提供了与化学保护试剂(chemoprotective agent)或化学保护剂(chemoprotectant)联合给予的氨基磷酸酯烷化剂前体药物。化学保护剂保护健康组织免遭抗癌药的毒性作用。在一实施方式中，化学保护剂是硫醇或二硫化物。在一实施方式中，化学保护剂可以还原超氧化物。在另一实施方式中，化学保护剂可以和产生于氨基磷酸酯烷化剂前体药物的“Michael 受体”反应并且防止“Michael 受体”与蛋白质和核酸反应(参见下面)。



[0334] 现今的抗癌药治疗通常涉及多轮或“多个周期”地给予抗癌药(一种或多种)。在给予氨基磷酸酯烷化剂前体药物的上下文中，每个给药周期(以及全部的完整周期组)可以被视为给予第二药物。氨基磷酸酯烷化剂前体药物可以在用其它药剂的多个治疗周期中的任意周期或所有周期中给予；一般地，氨基磷酸酯烷化剂前体药物在每一周期中，每日给予，持续至少 2 天或更多天。在本发明的一个方面，根据每轮重复的时间表，将氨基磷酸酯烷化剂前体药物与药剂共同给予。

[0335] 在应用氨基磷酸酯烷化剂前体药物治疗癌症的方法的一个方案中，氨

基磷酸酯烷化剂前体药物与有效量的一种或多种化疗药、有效量的放疗、适当的手术过程或这些额外治疗的任何组合联合给予。

[0336] 当氨基磷酸酯烷化剂前体药物与一种或多种另外的治疗联合使用时，氨基磷酸酯烷化剂前体药物和另外的治疗可以同时给予或者可以分开给予。例如，如果氨基磷酸酯烷化剂前体药物与另外的化疗药一起给予时，两种药可以同时给予或者可以相继给予，在给药之间相隔一段时间。本领域技术人员将理解同时和相继给予药物的方法和给药之间的可能时间段。例如，参见在实施例部分描述的联合治疗。

[0337] 药剂可以作为相同或不同的制剂给予，并且可以通过相同或不同的途径给予。

[0338] 可以和本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物联合应用的化疗剂包括但不限于白消安、英丙舒凡、派泊舒凡、苯佐替派、卡波醌、2-脱氧-D-葡萄糖、氯尼达明及其类似物(refrence apps)、葡磷酰胺、吉母赛他宾(gemcitabine)、埃罗替尼(erlotinib)、美妥替派、乌瑞替派、六甲基蜜胺、伊马替尼、三亚乙基蜜胺、三乙撑磷酰胺、三亚乙基硫代磷酰胺、三羟甲基蜜胺(trimethylolomelamine)、苯丁酸氮芥、蔡氮芥、雌莫司汀、异环磷酰胺、吉非替尼、氮芥、氮芥氧化物盐酸(mechlorethamine oxide hydrochloride)、苯丙氨酸氮芥、novembichin、苯芥胆固醇、泼尼莫司汀、曲磷胺、尿嘧啶氮芥、卡莫司汀、氯脲菌素、福莫司汀、尼莫司汀、雷莫司汀、达卡巴嗪、甘露莫司汀、二溴甘露醇、二溴卫矛醇、派泊溴烷、阿克拉霉素、放线菌素 F(1)、安曲霉素、偶氮丝氨酸、博来霉素、放线菌素 C、卡柔比星、嗜癌素、色霉素、放线菌素 D、柔红霉素、柔毛霉素、6-叠氮-5-氧代-1-正亮氨酸、麦考酚酸、诺拉霉素、橄榄霉素、培洛霉素、普卡霉素、泊非霉素、嘌罗霉素、绛色霉素、链脲霉素、杀结核菌素、乌苯美司、净司他丁、佐柔比星、二甲叶酸、丁喋翼素、三甲曲沙、氟达拉滨、6-巯基嘌呤、硫咪嘌呤、硫鸟嘌呤、安西他滨、阿扎胞苷、6-氮尿苷、卡莫氟、阿糖胞苷、双脱氧尿苷、去氧氟尿苷、依诺他滨、氟尿苷、5-氟尿嘧啶、替加氟、L-天冬酰胺酶、阿法链道酶(pulmozyme)、醋葡醛内酯、醛磷酰胺苷(aldophosphamide glycoside)、氨基乙酰丙酸、安吡啶、bestrabucil、比生群、卡铂、defofamide、地美可辛、地吡醌、elfornithine、依利醋铵、依托格鲁、氟他氨、硝酸镓、羟基脲、干扰素 α 、干扰素 β 、干扰素 γ 、白介素-2、香菇多糖、米托胍脲、米托蒽醌、莫派达醇、尼西吡啶(nitracrine)、喷司他丁、phenamet、吡柔比星、依托泊甙酸(podophyllinic acid)、2-乙基酰肼、丙卡巴肼、雷佐生、西佐喃、锗螺胺、紫杉醇、他莫昔芬、erlotinib、替尼泊甙、细交链孢菌酮酸、三亚胺醌、2,2',2''-三氯三乙胺、尿烷(urethan)、长春花碱、环磷酰胺和长春新碱。可以应用的其它化疗药包括铂衍生物，包括但不限于顺铂、卡铂和 oxoplatin。

[0339] 在一个方案中，本文描述的氨基磷酸酯烷化剂前体药物可以和抗血管

生成 (antiangiogenesis) 抑制剂联合应用, 所述血管生成抑制剂包括但不限于阿瓦斯汀(Avastin)和类似的治疗剂。在联合治疗方法的一个方案中, 对象用血管生成抑制剂来治疗, 随后应用氨基磷酸酯烷化剂前体药物来治疗。在联合治疗方法的一个方案中, 对象用血管生成抑制剂来治疗, 随后应用氨基磷酸酯烷化剂前体药物和其它化疗剂来治疗, 其它化疗剂包括但不限于顺铂和卡铂。在应用血管生成抑制剂治疗的这些联合方法的一个方案中, 应用该方法来治疗乳腺癌。

[0340] 在另一实施方式中, 氨基磷酸酯烷化剂前体药物与抗癌药一起给予, 所述抗癌药直接或间接起作用来抑制表皮生长因子或 EGFR 受体。适于与本发明氨基磷酸酯烷化剂前体药物共同给予的 EGFR 抑制剂包括吉非替尼和 erlotinib。

[0341] 在另一方案中, 氨基磷酸酯烷化剂前体药物与抗癌药一起给予, 所述抗癌药直接或间接起作用来抑制低氧诱导因子 1α (HIF1 α)或抑制蛋白质或酶例如葡萄糖转运蛋白或 VEGF, 其表达或活性随着 HIF1 α 水平增加而增加。适合用于本文所述方法和组合物的这一方案的 HIF1 α 抑制剂包括 P13 激酶抑制剂; LY294002; 雷帕霉素; 组蛋白脱乙酰酶抑制剂例如[(E)-(1S,4S,10S,21R)-7-[(Z)-亚乙基]-4,21-二异丙基-2-氧杂-12,13-二硫代-5,8,20,23-四氮杂双环-[8,7,6]-二十三-16-烯-3,6,9,19,22-戊酮(FR901228, depsipeptide); 热休克蛋白 90 (Hsp90)抑制剂例如格尔德霉素、17-烯丙基氨基-格尔德霉素(17-AAG)和其它格尔德霉素类似物, 和根赤壳菌素和根赤壳菌素衍生物例如 KF58333; 金转停 (genistein); 茛满酮; 星形孢菌素(staurosporin); 蛋白激酶-1(MEK-1)抑制剂例如 PD98059 (2'-氨基-3'-甲氧基黄酮); PX-12(1-甲基丙基 2-咪唑二硫化物); 北风菌素 PX-478; 喹恶啉 1,4-二氧化物; 丁酸钠(NaB); 硝普钠(SNP)和其它 NO 供体; 微管抑制剂例如新生霉素、panzem (2-甲氧雌二醇或 2-ME2)、长春新碱、紫杉烷、埃坡霉素、discodermolide 和前述任何物质的衍生物; 香豆素; 巴比妥酸盐和硫代巴比妥酸类似物; 喜树碱; 和 YC-1, 描述于 *Biochem. Pharmacol.*, 15 Apr 2001, 61(8):947-954 中的化合物, 所述文献并入本文作为参考, 及其衍生物。

[0342] 在另一方案中, 氨基磷酸酯烷化剂前体药物与抗血管生成药一起给予, 所述抗血管生成药包括但不限于选自下列的抗血管生成药: 血管抑素(angiostatin), 一种抑制或者以其它方式拮抗 VEGF 作用的药剂、巴马司他、卡托普利、软骨来源的抑制剂、genistein、内皮他丁、白介素、lavendustin A、甲羟孕酮乙酸酯、重组人血小板因子 4、紫杉醇、tecogalan、沙利度胺、血小板反应素、TNP-470 和阿瓦斯汀(Avastin)。用于由本文所述的方法和组合物提供的联合治疗的其它有用的血管生成抑制剂包括 Cox-2 抑制剂如 celecoxib (Celebrex)、双氯芬酸(扶他林)、依托度酸(Lodine)、非诺洛芬(Nalfon)、吲哚美辛(Indocin)、酮洛芬(Orudis、Oruvail)、ketoralac (Toradol)、奥沙普秦(Daypro)、萘丁美酮(Relafen)、舒林酸(Clinoril)、托美丁(Tolectin)、rofecoxib (Vioxx)、布洛芬(Advil)、萘普生(Aleve、Naprosyn)、阿司匹林和乙酰氨基酚(Tylenol)。

[0343] 此外, 由于丙酮酸在血管生成中起重要作用, 丙酮酸盐模拟物和糖酵解抑制物如卤代丙酮酸盐, 包括溴丙酮酸盐, 可以和抗血管生成化合物以及氨基磷酸酯烷化剂前体药物联合应用以治疗癌症。在另一方案中, 氨基磷酸酯烷化剂前体药物与抗血管生成药和另一抗癌药一起给予以治疗癌症, 另一抗癌药包括但不限于选自烷化剂、顺铂、卡铂和微管装配抑制剂的细胞毒性剂。

[0344] 除了氨基磷酸酯烷化剂前体药物与上述药剂的联合之外, 本文所述的方法和组合物还提供了氨基磷酸酯烷化剂前体药物与其它抗癌药的多种协同联合。本领域技术人员可以容易地确定与本文所述的氨基磷酸酯烷化剂前体药物“协同地”起作用的抗癌药。例如, 参考文献 Vendetti, "Relevance of Transplantable Animal-Tumor Systems to the Selection of New Agents for Clinical Trial," Pharmacological Basis of Cancer Chemotherapy, Williams and Wilkins, Baltimore, 1975 和 Simpson Herren 等, 1985, "Evaluation of *In Vivo* Tumor Models for Predicting Clinical Activity for Anticancer Drugs," *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 26: 330, 每一文献并入本文作为参考, 其描述了帮助确定两种药物是否协同起作用的方法。

[0345] 虽然根据本文所述的方法, 协同对于治疗益处而言并不是必须的, 但在一实施方式中, 本发明提供了治疗癌症的方法, 其中在氨基磷酸酯烷化剂前体药物与另一种抗癌药之间存在协同作用。如果两种药剂的联合给药方案产生比最优或最大耐受剂量的单一药剂的总和明显更好的肿瘤细胞杀伤作用, 则两种药物可以称作具有治疗协同作用。“协同度(degree of synergy)”可以定义为, 最优的联合方案引起的肿瘤细胞杀伤的净对数减去最优剂量的最具活性单一药剂引起的肿瘤细胞杀伤的净对数。10 倍(1 个对数)以上的细胞杀伤差异被结论性地认为表明了治疗协同作用。

[0346] 当氨基磷酸酯烷化剂前体药物与另一抗癌药应用时, 在至少一些实施方式中, 氨基磷酸酯烷化剂前体药物将在其它一种或多种药物治疗开始之前给予, 并且给药一般将在其它一种或多种药物的整个疗程中持续。在一些实施方式中, 与氨基磷酸酯烷化剂前体药物共同给予的药物将以低剂量输送, 并且任选地, 与不给予氨基磷酸酯烷化剂前体药物的情况相比, 持续更长的时期。这种“低剂量”治疗可以包括, 例如, 与根据本文所述方法给予的氨基磷酸酯烷化剂前体药物一起, 给予低于批准剂量和持续更长时期的抗癌药, 所述抗癌药包括但不限于紫杉醇、多烯紫杉醇、阿霉素、顺铂或卡铂。

[0347] 由于更有效地杀死癌细胞或终止癌细胞生长以及减少了其它疗法的不期望副作用, 相对于目前实施的疗法, 这些方法可以用于改善患者的结局。当与氨基磷酸酯烷化剂前体药物联合使用时, 其它抗癌药(一种或多种)可应用这些药剂所用的标准剂量(即, 未使用氨基磷酸酯烷化剂前体药物时应用的剂量)或低于这些标准剂量的剂量, 进行给药。

[0348] 因此, 根据本文所述方法给予氨基磷酸酯烷化剂前体药物使得医生可

以用更低剂量(比目前应用的)的现有(或者以后批准的)药物治疗癌症,从而缓解这些药物的一些或全部毒性副作用。对特定患者的确切剂量随患者而变化,这取决于许多因素,包括所使用的药物联合、待治疗的具体疾病和患者的状况以及过去病史,但是可以仅仅由本领域普通技术人员根据本文的教导就可以确定。

[0349] 已知的和批准的化疗药或抗肿瘤药的具体给药方案(即,推荐的有效剂量)是医生已知的,并且在例如, Physician's Desk Reference 2003, (Physicians' Desk Reference,第 57 版) Medical Economics Company, Inc., Oradell, N.J 的产品描述中给出,和/或可以从美国食品药品监督管理局(Federal Drug Administration)得到。一些抗癌药的示例性给药方案也被提供如下。

[0350] 癌症药物一般可以分为烷化剂、蒽环类、抗生素、芳香酶抑制剂、二磷酸酯、环加氧酶抑制剂、雌激素受体调节剂、叶酸拮抗剂、无机砷酸盐、微管抑制剂、修饰剂、亚硝基脲、核苷类似物、破骨细胞抑制剂、含铂化合物、视黄醛、拓扑异构酶 1 抑制剂、拓扑异构酶 2 抑制剂和酪氨酸激酶抑制剂。根据本文所述方法,氨基磷酸酯烷化剂前体药物可以和来自任意这些类型的任何抗癌药共同给予,或者可以在用任何这些药物或这些药物的组合治疗之前或之后给予。此外,氨基磷酸酯烷化剂前体药物可以和生物疗法联合给予(例如,用干扰素、白介素、集落刺激因子和单克隆抗体进行治疗)。用于治疗癌症的生物学试剂是本领域已知的,包括,例如,曲妥珠单抗(Herceptin)、托西莫单抗和 ^{131}I 托西莫单抗(Bexxar)、利妥昔单抗(Rituxan)。

[0351] 用于实施本文所述方法的烷化剂包括但不限于白消安(Myleran, Busulfex)、苯丁酸氮芥(Leukeran)、异环磷酰胺(带有或不带有 MESNA)、环磷酰胺(Cytosan, Neosar)、葡磷酰胺、苯丙氨酸氮芥、L-PAM (Alkeran)、达卡巴嗪(DTIC-Dome)和替莫唑胺(Temodar)。根据本文所述方法,氨基磷酸酯烷化剂前体药物与烷化剂共同给予以治疗癌症。在一个方案中,癌症是慢性骨髓性白血病、多发性骨髓瘤或多形性成胶质细胞瘤。

[0352] 在一实施方式中,本发明提供了治疗可以通过给予烷化剂治疗的癌症的方法,这是通过给予本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物,或单独给予或者与至少另一种烷化剂或其前体药物联合给予来进行的。烷化剂如,例如,环磷酰胺、异环磷酰胺、葡磷酰胺、氮芥、苯丙氨酸氮芥、苯丁酸氮芥、达卡巴嗪、替莫唑胺、卡莫司汀、链脲霉素、苯达莫司汀、白消安、噻替派、顺铂、卡铂和奥沙利铂,以及单独应用这些烷化剂中的任一种或与其它抗癌药或化学保护剂联合应用来治疗的癌症类型描述于例如 Hardman 等的参考文献(如前所述)中。

[0353] 在一实施方式中,本发明提供了治疗癌症的方法,其通过共同给予氨基磷酸酯烷化剂前体药物和至少烷化剂环磷酰胺,来治疗 III 阶段和 IV 阶段的恶性淋巴瘤、多发性骨髓瘤、白血病、蕈样霉菌病、神经细胞瘤、卵巢腺癌、视网膜母细胞瘤以及乳腺癌。对于诱导疗法,环磷酰胺的给药剂量为 $1500\text{-}1800\text{ mg/m}^2$,

其以分次剂量进行静脉内给药, 时间为 3—5 日; 对于维持疗法, 每 7-10 日给药 350-550 mg/m², 或者一周两次静脉内给药 110-185 mg/m²。根据本文描述的方法, 氨基磷酸酯烷化剂前体药物与环磷酰胺一起共同给药, 其中与环磷酰胺单独给药的标准量相比, 环磷酰胺按照这样的剂量或更少的剂量给药, 和/或给药持续时间更长。

[0354] 在一实施方式中, 本发明提供了治疗癌症的方法, 这通过给予本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物和使用至少烷化剂氮芥的癌症治疗方案一起来完成。例如, 氮芥被用于与化疗方案 MOPP(氮芥、长春新碱(长春花新碱))、丙卡巴肼(procarbazine)和泼尼松)联合使用于患有霍杰金病的患者, 并且通过在每一疗程的 28 天循环的第一天和第八天, 以 6mg/m² 的剂量静脉内快速给药方式进行给予。

[0355] 在一实施方式中, 本发明提供了治疗癌症的方法, 这通过给予本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物和使用至少烷化剂异环磷酰胺的癌症治疗方案来完成。异环磷酰胺被用来治疗儿童和成人肉瘤、颈和肺癌, 以及与其它药物联合来治疗睾丸癌。异环磷酰胺被用作 ICE(异环磷酰胺、卡铂和依托泊甙)和 RICE(利妥昔单抗和 ICE)疗法的一部分, 用于治疗淋巴瘤(参见 Hardman 等, 如前所述)。

[0356] 在一实施方式中, 本发明提供了治疗癌症的方法, 其通过给予本发明氨基磷酸酯烷化剂前体药物和应用至少烷化剂葡磷酰胺的癌症治疗方案来完成。葡磷酰胺在临床中用于治疗胰腺癌或盐酸吉他西宾(Gemzar)抗性胰腺癌。葡磷酰胺可以用于治疗乳腺癌、霍杰金病、胃肠道癌症, 或者作为 GCE(葡磷酰胺、卡铂和依托泊甙)或 RGCE(利妥昔单抗和 GCE)疗法的一部分用于治疗淋巴瘤。(Tidmarsh 等, 2005 年 12 月 22 日提交的 PCT 专利申请第 PCT/US2005/047314 号, 以及名称为 "Glufosfamide combination therapy" 的 PCT 专利申请, 律师案卷号 021305-005900PC; 和美国专利申请第 60/760,599 和 60/719,787 号, 以及 PCT 专利公开第 WO2005/076888 号, 引入这些文献的全部作为参考)。

[0357] 在一实施方式中, 本发明提供了治疗癌症的方法, 通过给予本发明氨基磷酸酯烷化剂前体药物和应用至少一种选自吡丙啶和甲基蜜胺的烷化剂的癌症治疗方案来完成。在另一实施方式中, 吡丙啶是三亚乙基蜜胺或噻替哌(Thiotepa)。

[0358] 噻替哌可被用来治疗乳腺癌、卵巢癌和膀胱癌、恶性淋巴瘤、支气管肺癌和维尔姆斯肿瘤。噻替哌以高剂量与使用环磷酰胺的化疗联合应用, 用于患有自体骨移植治疗的难治愈恶性肿瘤的患者, 而且治疗多种癌症, 包括膀胱癌、卵巢癌、乳腺癌、肺癌、脑癌和淋巴瘤(参见 *International Agency for Research on Cancer Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans*, 1975, 9 : 286, Lyon, France; *International Agency for Research on Cancer Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans*, 1990, 50 : 415, Lyon, France; 和 *MEDLINEplus*, 2003, Drug Information: Thiotepa, National Library of Medicine)。在第一轮治疗失败后, 甲基蜜胺——六甲蜜胺, 被用来治疗晚期卵巢

癌。

[0359] 在一实施方式中，本发明提供了治疗癌症的方法，通过给予本发明氨基磷酸酯烷化剂前体药物和应用至少烷化剂苯丙氨酸氮芥、苯丁酸氮芥或苯达莫司汀的癌症治疗方案来完成。苯丙氨酸氮芥被用来治疗多发性骨髓瘤，并可被经口给药。苯丁酸氮芥被用来治疗慢性淋巴细胞白血病和原发性巨球蛋白血症（macroblobulinemia）。苯达莫司汀是 Salmedix Inc.开发的，可被用来治疗血液恶性肿瘤，如，例如非霍杰金淋巴瘤、慢性淋巴细胞白血病和多发性骨髓瘤。

[0360] 在一实施方式中，本发明提供了治疗癌症的方法，通过给予本发明氨基磷酸酯烷化剂前体药物和应用至少烷化剂白消安的癌症治疗方案来完成。白消安被用来治疗慢性粒细胞性白血病和慢性骨髓性白血病。高剂量的白消安可与环磷酰胺联合使用，在骨髓移植前治疗患有急性骨髓性白血病的患者。

[0361] 在一实施方式中，本发明提供了治疗癌症的方法，通过给予本发明氨基磷酸酯烷化剂前体药物和应用至少亚硝基脲烷化剂的癌症治疗方案来完成。在另一实施方式中，亚硝基脲烷化剂是卡莫司汀。卡莫司汀可被用来治疗霍杰金病、淋巴瘤、骨髓瘤、恶性星形细胞瘤、脑转移瘤、黑素瘤和胃肠肿瘤。在另一实施方式中，亚硝基脲是用来治疗胰岛细胞癌的链脲霉素。

[0362] 在一实施方式中，本发明提供了治疗癌症的方法，通过给予本发明氨基磷酸酯烷化剂前体药物和至少应用三氮烯烷化剂的癌症治疗方案来完成。在一实施方式中，三氮烯烷化剂是达卡巴嗪。达卡巴嗪被用来治疗恶性黑素瘤、霍杰金病和成人肉瘤。在另一实施方式中，三氮烯烷化剂是替莫唑胺。替莫唑胺可被用来治疗恶性神经胶质瘤。

[0363] 在一实施方式中，本发明提供了治疗癌症的方法，通过给予本发明氨基磷酸酯烷化剂前体药物和应用至少铂配位配合物烷化剂的癌症治疗方案来完成。在一实施方式中，铂配位配合物烷化剂是顺铂。顺铂可用于治疗膀胱癌、头和颈癌、子宫内膜癌、小细胞肺癌以及一些儿童肿瘤。顺铂单独或与环磷酰胺联合用于治疗晚期卵巢癌。顺铂与博来霉素、依托泊甙和长春花碱的联合化疗用于治疗晚期睾丸癌，与紫杉醇、环磷酰胺或阿霉素之一的联合化疗用于治疗卵巢癌。

[0364] 可用于实施本文所述方法的蒽环类包括但不限于阿霉素(Adriamycin, Doxil, Rubex)、米托蒽醌(Novantrone)、伊达比星(Idamycin)、戊柔比星(valrubicin) (Valstar)和表阿霉素(Ellence)。根据本文所述方法，氨基磷酸酯烷化剂前体药物与蒽环类共同给予以治疗癌症。在一个方案中，癌症是急性非淋巴细胞白血病、卡波西肉瘤、前列腺癌、膀胱癌、卵巢转移癌和乳腺癌。

[0365] 作为一个实例，化合物(8S,10S)-10-[(3-氨基-2,3,6-三脱氧- α -L-来苏-己吡喃糖基)氧代]-8-乙醇酰-7,8,9,10-四氢-6,8,11-三羟基-1-甲氧基-5,12-并四苯二酮，更通常称作阿霉素(doxorubicin)，是分离自波塞链霉菌表灰变种(*Streptomyces peucetius* var. *caesius*)培养物的细胞毒性蒽环类抗生素。阿霉素(多柔比星)已经

被成功用于在播散性瘤性疾病中产生退化,如急性淋巴细胞白血病、急性粒细胞白血病、威尔姆斯瘤、神经母细胞瘤、软组织肉瘤和骨肉瘤、乳腺癌、卵巢癌、膀胱移行细胞癌(transitional cell bladder carcinoma)、甲状腺癌、霍杰金和非霍杰金型淋巴瘤、支气管癌和胃癌。阿霉素一般以 30-75 mg/m² 范围的剂量给药,以 21 天间隔静脉注射一次给予;以 20 mg/m² 的剂量每周静脉注射;或以 30 mg/m² 的剂量在三个连续日每日给予,每四周重复进行。根据本文所述方法,在给予这样剂量(或更低剂量)的阿霉素之前开始共同给予氨基磷酸酯烷化剂前体药物,并且在所述给予之后继续共同给予。用于实施本文所述方法的环状蒽环类细胞毒素前体药物由文献 Matteuci 等, PCT 专利申请号 US05/008161 提供。

[0366] 用于实施本文所述方法的抗生素包括但不限于放线菌素 D、放线菌素(Cosmegen)、博来霉素(Blenoxane)、柔红霉素和道诺霉素(Cerubidine, DanuoXome)。根据本文所述方法,氨基磷酸酯烷化剂前体药物与抗生素共同给予以治疗癌症。在一个方案中,癌症是选自急性淋巴细胞白血病、其它白血病和卡波西肉瘤的癌症。

[0367] 用于实施本文所述方法的芳香酶抑制剂包括但不限于阿那曲唑(Arimidex)和来曲唑(letrozole) (Femara)。根据本文所述方法,氨基磷酸酯烷化剂前体药物与芳香酶抑制剂共同给予以治疗癌症。在一个方案中,癌症是乳腺癌。

[0368] 用于实施本文所述方法的二磷酸盐抑制剂包括但不限于唑来磷酸(Zoledronate) (Zometa)。根据本文所述方法,氨基磷酸酯烷化剂前体药物与二磷酸盐抑制剂共同给予以治疗癌症。在一个方案中,癌症是选自多发性骨髓瘤、实体瘤转移的骨癌或前列腺癌的癌症。

[0369] 用于实施本文所述方法的环加氧酶抑制剂包括但不限于塞来考昔(西乐葆(Celebrex))。根据本文所述方法,氨基磷酸酯烷化剂前体药物与环加氧酶抑制剂共同给予以治疗癌症。在一个方案中,癌症是结肠癌或称为家族性腺瘤性息肉病的癌前状态。

[0370] 用于实施本文所述方法的雌激素受体调节剂包括但不限于他莫西芬(Nolvadex)和氟维司群(fulvestrant)(Faslodex)。根据本文所述方法,氨基磷酸酯烷化剂前体药物与雌激素受体调节剂共同给予以治疗癌症。在一个方案中,癌症是乳腺癌,或治疗被给予用来防止乳腺癌的发生或复发。

[0371] 用于实施本文所述方法的叶酸拮抗剂包括但不限于氨甲喋呤和三甲氧蝶呤(tremetrexate)。根据本文所述方法,氨基磷酸酯烷化剂前体药物与叶酸拮抗剂共同给予以治疗癌症。在一个方案中,癌症是骨肉瘤。

[0372] 作为一个实例,化合物 N-[4-[(2,4-二氨基-6-蝶啶基)甲基甲氨基]苯甲酰基]-L-谷氨酸,通常称为氨甲喋呤,是已用于治疗妊娠性绒癌和治疗患有破坏性绒毛膜腺瘤和水泡样胎块的患者的抗叶酸药。在晚期恶性淋巴瘤的治疗中和在蕈样肉芽肿病晚期情况的治疗中,它也是有用的。氨甲喋呤被如下给予。对于绒毛膜

癌,每日肌肉内注射 15 至 30 mg 的剂量,持续 5 天疗程,按照需要重复这一疗程,疗程间插入的休息期间是 1 周或更多周。对于白血病,给予每周两次肌肉内注射,剂量是 30 mg/m²。对于蕈样肉芽肿病,肌肉内注射 50 mg 剂量,每周一次,或者可选地,给予 25 mg 剂量,每周两次。根据本文所述方法,氨基磷酸酯烷化剂前体药物与以此类剂量(或更低剂量)给予的氨甲喋呤共同给予。5-甲基-6-[[[(3,4,5-三甲氧基苯基)-氨基]甲基]-2,4-喹唑啉二胺(通常称为三甲曲沙、三甲氧蝶呤)是能够与氨基磷酸酯烷化剂前体药物共同给予的另一抗叶酸药。

[0373] 可用于实施本文所述方法的无机砷酸盐包括但不限于三氧化二砷(Trisenox)。根据本文所述方法,氨基磷酸酯烷化剂前体药物与无机砷酸盐共同给予以治疗癌症。在一个方案中,癌症是难治性急性前髓细胞性白血病(APL)。

[0374] 可用于实施本文所述方法的微管抑制剂(如本文所用,“微管抑制剂”是干扰微管的装配或分解的任何药剂)包括但不限于长春新碱(Oncovin)、长春花碱(Velban)、紫杉醇(paclitaxel)(Taxol, Paxene)、长春瑞宾(vinorelbine)(Navelbine)、多烯紫杉醇(docetaxel)(Taxotere)、埃坡霉素 B 或 D 或其任一种的衍生物,以及 discodermolide 或其衍生物。可被用于本发明实践的微管蛋白结合抗癌药和其前体药物在如下参考文献中提供:Matteucci 等, PCT 专利申请第 PCT/US2005/042095 号;名称为“Tubulin Binding Anti Cancer Agents and Prodrugs Thereof”的美国专利申请(律师案卷号 021305-008500US、021305-008400US 和 021305-004520US)。根据本文所述方法,氨基磷酸酯烷化剂前体药物与微管抑制剂共同给予以治疗癌症。在一个方案中,癌症是卵巢癌、乳腺癌、非小细胞肺癌、卡波西肉瘤和乳腺或卵巢器官的转移癌。作为一个实例,化合物 22-氧代-长春花碱,通常也称为长春新碱,是获自普通长春花植物(夹竹桃科植物长春花(Vinca rosea, Linn.))的生物碱,在治疗急性白血病中是有用的。也已表明,其与其它溶瘤细胞药联合,在治疗霍杰金病、淋巴肉瘤、网状组织细胞肉瘤、横纹肌肉瘤、神经母细胞瘤和威尔姆斯瘤中是有用的。对于儿童,长春新碱每周静脉给予 2 mg/m² 剂量,对于成人给予 1.4 mg/m²。根据本文所述方法,氨基磷酸酯烷化剂前体药物与以此类剂量给予的长春新碱共同给予。在一个方案中,在用微管抑制剂如紫杉烷治疗之前,不给予氨基磷酸酯烷化剂前体药物,而是在用微管抑制剂的治疗开始的同时或在其后数日至一周内,给予氨基磷酸酯烷化剂前体药物。

[0375] 可用于实施本文所述方法的修饰剂包括但不限于亚叶酸(Wellcovorin),其与其它药物如 5-氟尿嘧啶一起应用以治疗结肠直肠癌。根据本文所述方法,氨基磷酸酯烷化剂前体药物与修饰剂和另一抗癌药共同给予以治疗癌症。在一个方案中,癌症是结肠癌。在一个方案中,修饰剂是增强细胞摄取葡萄糖的能力的化合物,包括但不限于化合物 N-羟基脲。已经报道, N-羟基脲增强细胞摄取 2-脱氧葡萄糖的能力(参见文献 Smith 等, 1999, *Cancer Letters* 141: 85, 其并入本文作为参考),以据报道可增强 2-脱氧葡萄糖摄取或治疗白血病的水平给予 N-羟基脲并连同

给予 2-脱氧葡萄糖和如本文描述的氨基磷酸酯烷化剂前体药物是本文提供的治疗方法的一个方案。在另一个这样的方案中，氨基磷酸酯烷化剂前体药物与一氧化一氮或一氧化一氮前体如有机亚硝酸盐或精胺二醇二氮烯鎓 (spermineNONOate) 共同给予，以治疗癌症，因为后者化合物刺激葡萄糖的摄取。

[0376] 可用于实施本文所述方法的亚硝基脲包括但不限于丙卡巴肼 (Matulane)、罗莫司丁 (lomustine)、CCNU (CeeBU)、卡莫司汀 (BCNU, BiCNU, Gliadel Wafer) 和雌莫司汀 (Emcyt)。根据本文所述方法，氨基磷酸酯烷化剂前体药物与亚硝基脲共同给予以治疗癌症。在一个方案中，癌症是前列腺癌或胶质母细胞瘤，包括复发性多形性成胶质母细胞瘤。

[0377] 可用于实施本文所述方法的核苷类似物包括但不限于巯基嘌呤、6-MP (Purinethol)、氟尿嘧啶、5-FU (Adrucil)、硫鸟嘌呤、6-TG (Thioguanine)、羟基脲 (Hydrea)、阿糖胞苷 (Cytosar-U, DepoCyt)、氟尿苷 (FUDR)、氟达拉滨 (fludarabine) (Fludara)、氮杂胞苷 (azacytidine) (Vidaza)、喷司他丁 (pentostatin) (Nipent)、克拉屈滨 (Leustatin, 2-CdA)、吉西他滨 (Gemzar) 和卡培他滨 (Xeloda)。根据本文所述方法，氨基磷酸酯烷化剂前体药物与核苷类似物共同给予以治疗癌症。在一个方案中，癌症是 B 细胞淋巴细胞白血病 (CLL)、毛细胞白血病、胰腺腺癌、转移性乳腺癌、非小细胞肺癌或转移结肠直肠癌。作为一个实例，化合物 5-氟-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮，通常也称为 5-氟尿嘧啶，是在被认为通过手术或其它方式不可治愈的患者的结肠癌、直肠癌、乳腺癌、胃癌和胰腺癌的姑息疗法 (palliative management) 中有效的抗代谢物核苷类似物。5-氟尿嘧啶在初始治疗中的给予剂量是 12 mg/m^2 ，每日一次静脉内给予，持续 4 个连续日，每日剂量不超过 800 mg。如果在治疗期间的任何时间没有观察到毒性，则在第 6 天、第 8 天、第 10 天和第 12 天静脉给予 6 mg/kg 。在第 5 天、第 7 天、第 9 天或第 11 天不给予治疗。对于风险大的患者或不处于足够营养状态的那些患者，给予 6 mg/kg 的日剂量，持续 3 日，日剂量不超过 400 mg。如果在治疗期间的任何时间没有观察到毒性，可以在第 5 天、第 7 天和第 9 天给予 3 mg/kg 。在第 4 天、第 6 天或第 8 天不给予治疗。按任一时间表的注射顺序构成了疗程。根据本文所述方法，氨基磷酸酯烷化剂前体药物与以此类剂量给予的 5-FU 共同给予，或与相应调整剂量的前体药物形式 Xeloda 共同给予。作为另一实例，化合物 2-氨基-1,7-二氢-6H-嘌呤-6-硫酮，一般也称为 6-硫鸟嘌呤，是在治疗急性非淋巴细胞白血病中有效的核苷类似物。6-硫鸟嘌呤以每日约 2 mg/kg 体重的剂量经口给予。日总剂量可以一次给予。如果在此水平剂量 4 周后没有改善，剂量可以谨慎增加至 3 mg/kg/日 。根据本文所述方法，氨基磷酸酯烷化剂前体药物与以此类剂量(或更低剂量)给予的 6-TG 共同给予。

[0378] 可用于实施本文所述方法的破骨细胞抑制剂包括但不限于帕米膦酸 (Aredia)。根据本文所述方法，氨基磷酸酯烷化剂前体药物与破骨细胞抑制剂共同给予，以治疗癌症。在一个方案中，癌症是乳腺癌破骨性骨转移，并且一种或多

种其它抗癌药也与氨基磷酸酯烷化剂前体药物共同给予。

[0350] 可用于实施本文所述方法的铂化合物包括但不限于顺铂(Platinol)和卡铂(Paraplatin)。根据本文所述方法,氨基磷酸酯烷化剂前体药物与铂化合物共同给予,以治疗癌症。在一个方案中,癌症是转移睾丸癌、转移卵巢癌、卵巢癌和膀胱移行细胞癌。作为一个实例,化合物顺-二胺二氯铂(II),通常称为顺铂,在转移睾丸肿瘤和转移卵巢肿瘤的姑息疗法中是有用的,并且可用于治疗手术或放疗无法改善的膀胱移行细胞癌。顺铂在用于晚期膀胱癌时,每3至4周一次静脉注射给药,剂量是50-70 mg/m²。根据本文所述方法,氨基磷酸酯烷化剂前体药物与以这些剂量(或更低剂量)给予的顺铂共同给予。一种或多种其它抗癌药可以与顺铂化合物和氨基磷酸酯烷化剂前体药物共同给予。作为一个实例,Platinol、Blenoxane和Velbam可以与氨基磷酸酯烷化剂前体药物共同给予。作为另一个例子,顺铂和阿霉素(adriamycin)可以与氨基磷酸酯烷化剂前体药物共同给予。

[0351] 可用于实施本文所述方法的视黄素包括但不限于维甲酸、ATRA (Vesanoid)、9-顺式视黄酸(alitretinoin)(Panretin)和贝沙罗汀(bexarotene)(Targretin)。根据本文所述方法,氨基磷酸酯烷化剂前体药物与视黄素共同给予,以治疗癌症。在一个方案中,癌症是选自APL、卡波西肉瘤和T细胞淋巴瘤的癌症。

[0352] 可用于本文所述方法的实践中的拓扑异构酶1抑制剂包括但不限于托泊替康(topotecan)(Hycamtin)和伊立替康(irinotecan)(Camptostar)。根据本文所述的方法,氨基磷酸酯烷化剂前体药物与拓扑异构酶1抑制剂共同给予,以治疗癌症。可用于本发明所述方法的实践中的拓扑异构酶抑制剂及其前体药物提供于文献Matteucci等,美国专利申请PCT/US2005/041959中。在一个方案中,癌症是卵巢、结肠或直肠转移癌,或小细胞肺癌。然而,如上所指出,在本文所述方法的一个方案中,氨基磷酸酯烷化剂前体药物的给予是在给予拓扑异构酶1抑制剂之前或之后或两者给予,但不是与其同时给予。

[0353] 可用于本文所述方法的实践中的拓扑异构酶2抑制剂包括但不限于依托泊甙(etoposide)、VP-16 (Vepesid)、替尼泊苷(teniposide)、VM-26 (Vumon)和依托泊甙磷酸盐(Etopophos)。根据本文所述的方法,氨基磷酸酯烷化剂前体药物与拓扑异构酶2抑制剂共同给予,以治疗癌症。在一个方案中,癌症是选自下列的癌症:难治性睾丸肿瘤、难治性急性淋巴细胞白血病(ALL)和小细胞肺癌。然而,如上所指,在本文所述方法的一个方案中,氨基磷酸酯烷化剂前体药物的给予是在给予拓扑异构酶2抑制剂之前或之后,或在之前和之后,但是不与其同时给予。

[0354] 可用于本文所述方法的实践中的酪氨酸激酶抑制剂包括但不限于伊马替尼(imatinib)(Gleevec)。根据本文所述的方法,氨基磷酸酯烷化剂前体药物与酪氨酸激酶抑制剂共同给予,以治疗癌症。在一个方案中,癌症是CML或转移的或不可切除的恶性胃肠道基质肿瘤。

[0355] 可用于本发明实践中的氯尼达明(lonidamine)类似物提供于文献

Matteucci 等美国专利申请第 11/346632、60/764,427、60/764,438 号和名称为 "Heterocyclic Lonidamine Analogs" 申请(律师案卷号 021305-007220US、021305-007900US)和 PCT 公开第 WO 2006/015191、WO 2006/015263 和 WO 2006/01007 A2 号。

[0356] 因此, 治疗癌症的方法在本文中被描述, 其中氨基磷酸酯烷化剂前体药物或其药学上可接受的盐和一种或多种其它抗癌药被给予患者。这些其它抗癌药的具体方案包括但不限于: 5-甲基-6-[[[(3,4,5-三甲氧基苯基)氨基]-甲基]-2,4-喹唑啉二胺或其药学上可接受的盐; (8S,10S)-10-(3-氨基-2,3,6-三脱氧- α -L-来苏-己吡喃糖基)氧代]-8-乙醇酰基-7,8,9,10-四氢-6,8,11-三羟基-1-甲氧基-5,12-并四苯二酮或其药学上可接受的盐; 5-氟-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮或其药学上可接受的盐; 2-氨基-1,7-二氢-6H-嘌呤-6-硫酮或其药学上可接受的盐; 22-氧代-长春花碱或其药学上可接受的盐; 2-二[(2-氯乙基)氨基]四氢-2H-1,3,2-氧氮杂磷(oxazaphosphorine),2-氧化物或其药学上可接受的盐; N-[4-[[[(2,4-二氨基-6-蝶啶基)甲基]-甲氨基]苯甲酰基]-L-谷氨酸或其药学上可接受的盐; 或顺二氨二氯-铂(II)。

IV. 实施例

[0357] 在下面的实施例中, 对文字所表示的化合物的任何提及是对在相应反应方案中接着该文字显示的结构, 或是该文字上方的结构的提及。

合成

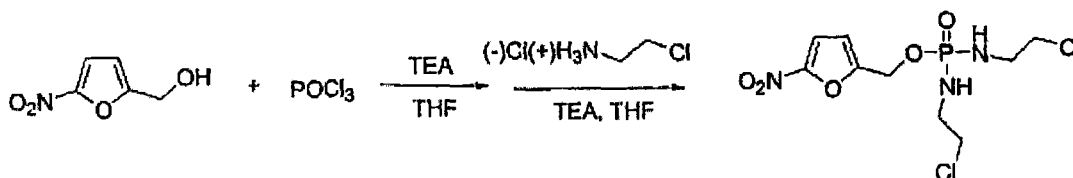
[0358] 合成本发明氨基磷酸酯烷化剂前体药物的方法在 IIb 部分提供。当可获得时, 用来合成本发明氨基磷酸酯烷化剂前体药物的原材料从商业制造商购买, 例如, 如 Sigma- Aldrich Co. 1-N-甲基- 2-硝基咪唑-5-甲醇从 Syngene, India 购买。非商业可获得的原材料经标准文献方法合成。这类方法可由文献搜索工具如 American Chemical Society 的 SciFinder 或可从 MDL Software 获得的 Beilstein 进行确定。

[0359] 与湿敏化合物如, 例如 POCl_3 和 PCl_3 以及它们的一氯或二氯衍生物的反应使用无水溶剂并在氮气或氩气中进行。从反应混合物中分离产物使用装置(work-up)进行, 当需要时, 接着进行真空蒸馏、结晶、柱层析或制备型厚层层析(preparative thick layer chromatography)。化合物柱层析的适当洗脱液可通过阅读本公开内容而确定, 和/或通过薄层层析确定化合物的 R_f 以及选择使需要的化合物与不需要的化合物中分离的溶剂而确定。具体洗脱液的选择可取决于化合物的极性性质、其它精细(closely)洗脱化合物的存在、使用的固定相的类型如硅胶或矾土和用于通过固定相洗脱溶剂的压力量以及其它因素。在实践中, 溶剂的不同组合可被用来分离同一化合物。

[0360] 通过标准的分析技术例如 TCL、NMR 光谱和 LC-MS 分析分离的化合

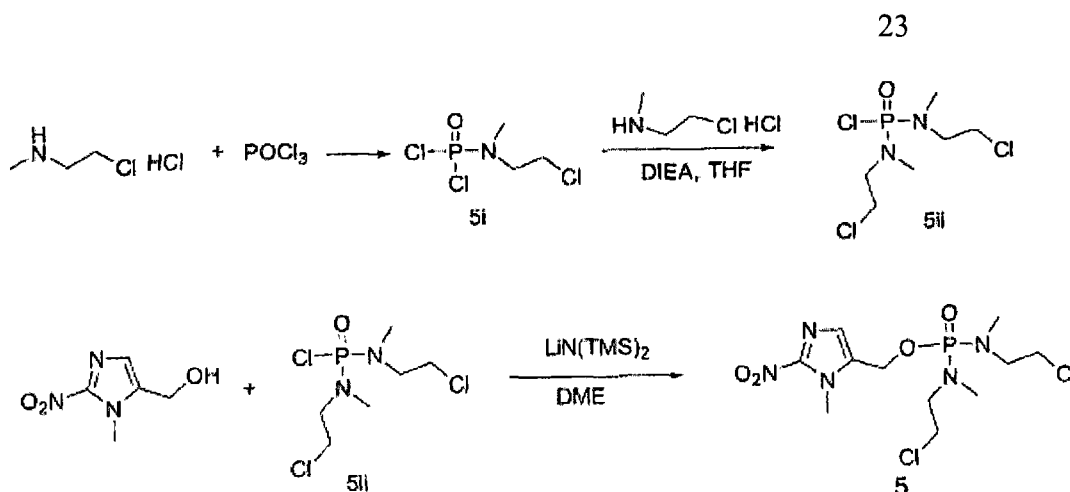
物的纯度，分离的化合物被贮藏于冷冻室或冰箱，以避免湿气、光或空气。氨基磷酸酯烷化剂前体药物化合物的储存溶液在 DMSO 中制备，并且存于冰箱中。

实施例 1 合成化合物 23



[0361] 在-78℃下，向 5-硝呋乙醇(5-nitrofurfuryl alcohol) (200mg, 1.4mmol)的 THF(10ml)溶液中，加入一份 POCl₃，然后逐滴加入三乙胺(TEA, 0.22ml, 1.54mmol)。在 1 小时内，将温度升高到-30℃，然后加入 2-盐酸氯乙胺，再加入 TEA(1ml、7mmol)。在将温度升高到室温后(rt)后，继续反应一个小时以上，用水淬灭反应混合物，并且分离有机层。用 DCM 提取水层，并且干燥和浓缩混合的有机溶液。通过急骤柱层析分离化合物 23，并且用 LC/MS 和 NMR 光谱分析化合物 23，其是纯的。

实施例 2 合成化合物 5



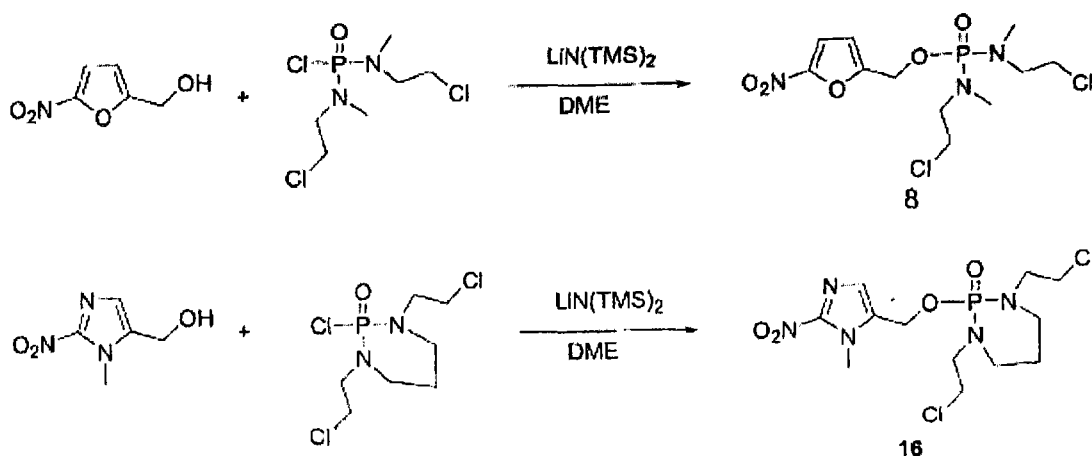
[0362] 将 N-甲基-2-氯乙基氯化铵(10gm)的 POCl₃(40ml)悬浮液回流(135℃)过夜。在真空中除去过量 POCl₃后，在真空中将产物 5i 蒸馏出，其为浅黄色油，通过 ¹H 和 ³¹P NMR 光谱分析其是纯的。

[0363] 在-78℃下，向 5i(1gm, 4.75mmol)和 N-甲基-2-氯乙基氯化铵(0.62gm, 4.75mmol)的 THF 溶液中，缓慢加入二异丙基乙胺(DIEA, 1.65ml, 9.5mmol)，并将反应混合物加热到室温。在室温下搅拌 1 小时后，用乙酸乙酯将反应混合物稀释，并且用盐水洗涤反应混合物。通过 MgSO₄ 干燥有机层，并且将其浓缩以产生

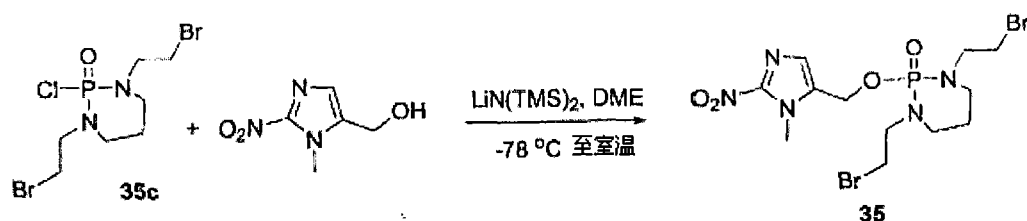
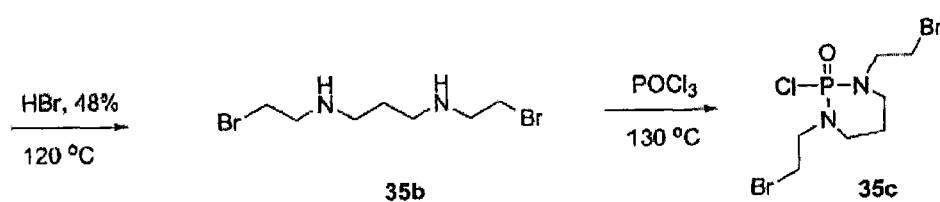
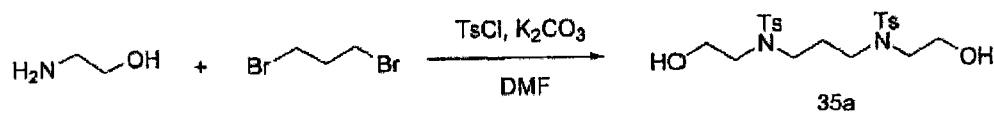
剩余物，通过急骤柱层析分离该剩余物，以产生油状化合物 5ii。

[0364] 在 -78°C 下，向 N-甲基-2-硝基咪唑-5-甲醇(0.5g, 3.2mmol)的二甲氧基乙烷(DME)溶液中，加入二(三甲基甲硅烷基)酰胺锂(lithium bis(trimethylsilyl)amide) (1M THF 溶液, 3.2mmol, 3.2ml)。5 分钟后，加入 **5ii**(2.9mmol, 770mg)，并且将反应混合物温热至 -20°C ，用乙酸乙酯将反应混合物稀释，并且用盐水洗涤反应混合物。通过 MgSO_4 干燥有机层，并且将其浓缩。通过用 DCM 中 6-12% 甲醇的急骤层析纯化，产生 **5**。

[0365] 使用制备化合物 5 所用的过程合成化合物 8 和 16。



实施例 3 合成化合物 35



[0366] 向乙醇胺(6.03 mL, 100 mmol)和 K_2CO_3 (13.8 g, 100 mmol) 的 DMF(38mL)溶液中，在室温下，逐滴加入对甲苯磺酰氯溶液(19g, 100mmol)，并且

将反应混合物加热到 120°C(浴温)。将 K_2CO_3 (27.6 g, 200 mmol) 加入到反应混合物, 然后逐滴加入 1,3-二溴丙烷(10g, 50mmol)。再加热 2 小时后, 将反应冷却至室温, 倒入水(250mL)中, 并且用乙酸乙酯提取。用 Na_2SO_4 干燥有机层, 并且将其浓缩产生化合物 **35a**, 其为黄色油状物, 在下一个反应中使用。

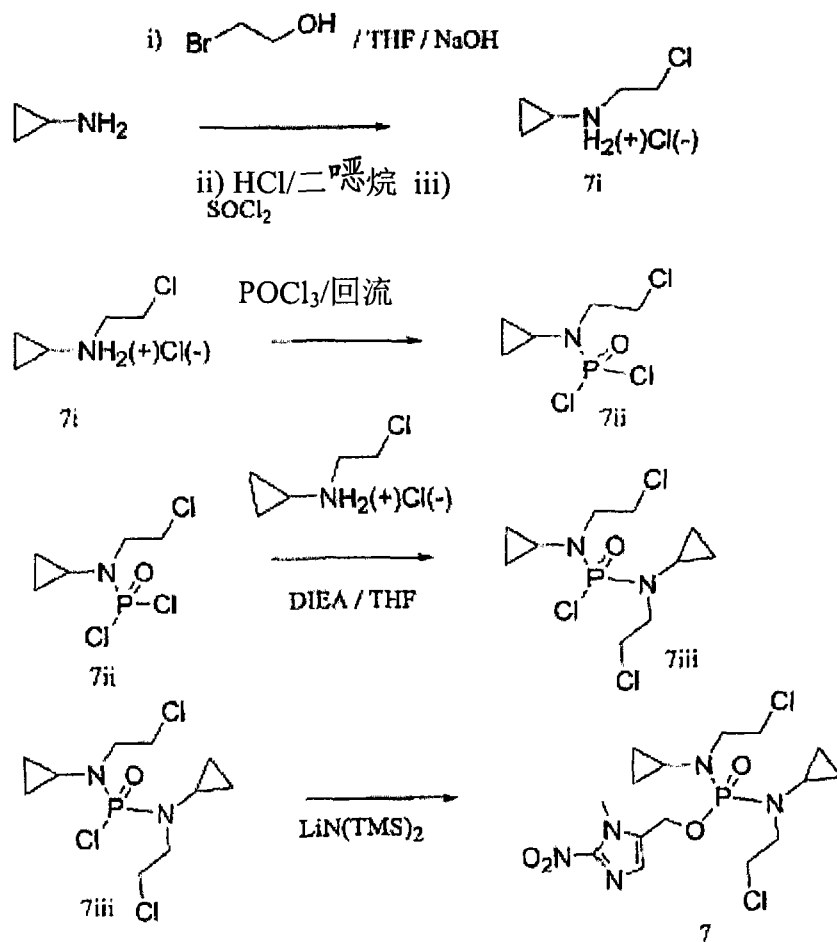
[0367] 蒸馏化合物 **35a** 的含水 HBr(48%, 50ml)溶液, 以除去水部分(大约 20ml), 并且回流反应混合物 40 小时。通过蒸馏除去另外的水部分(5ml), 并且回流反应混合物(4 小时)。将反应混合物冷却至室温, 用水(20mL)稀释, 并且通过才里特垫(celite pad)过滤。将滤液浓缩至干燥, 以产生剩余物, 将该剩余物与乙醇共蒸发 3 次, 然后加入大量丙酮, 过滤白色固体产物 **35b**, 用丙酮洗涤 2 遍, 并且将其用于下面提供的磷酸化中。

[0368] 将化合物 **35b**(1g)的 $POCl_3$ (14mL)悬浮液在 130°C 加热大约 14 小时, 在 130°C(浴温)下, 真空中除去过量 $POCl_3$ 。通过在硅胶上使用 10-80% ETOAc/己烷进行柱层析纯化剩余物, 产生产物 **35c**, 使用柱层析分离硅胶和 10-80%丙酮/甲苯作为洗脱液, 使用与实施例 2 提供的相同的过程, 采用柱层析分离硅胶并以 10-80%丙酮/甲苯为洗脱液, 将其转化为本发明的化合物 **35**。

实施例 4

合成化合物 7

[0369] 使用 N-环丙基-2-氯乙基氯化铵, 如下面提供的方法制备化合物 7



[0370] 向环丙胺(25g)的干燥 THF(30ml)溶液中, 在超过 35 分钟的时间逐滴加入 2-溴乙醇(17.6g, 0.141mol)在 30ml THF 中的溶液。在室温下搅拌反应混合物 1 小时, 并且在 50°C 下, 加热 75 分钟。冷却后, 浓缩反应混合物产生橙色油状物, 将其中加入氢氧化钠(7g)的水(50ml)溶液。搅拌反应混合物 10 分钟, 并且用乙酸乙酯(75ml)提取 4 次。将混合的有机层干燥(MgSO_4)并且蒸发, 以得到橙色油状剩余物。在 $53\text{-}56^\circ\text{C}$ 真空(1 mm Hg)下, 蒸馏该剩余物, 产生透明、无色液体的中间体醇(5.94g, 42%产率), 使用 LC/MS 和 $^1\text{H NMR}$ 分析其是纯的。

[0371] 向中间体醇(3.7g, 36.6mmol)的干燥 THF(30ml)溶液中, 加入 HCl 的二噁烷(4.0M, 18.3ml, 73.2mmol)溶液。将反应混合物冷却到 0°C , 通过注射器加入 SOCl_2 (6.50g, 54.9mmol)。将反应混合物回流(6h)、冷却并且浓缩, 产生剩余物。将剩余物与干燥醚(100ml)研磨, 过滤并且在真空中除去可挥发的剩余物, 产生 7i (5.42g, 95%产率), 通过 $^1\text{H NMR}$ 分析其是纯的。

[0372] 将 7i (3.00g, 19.2mmol)加入到 POCl_3 (15ml)中, 在氮气下回流 7.5 小时。浓缩反应混合物, 并且在真空中通过短程蒸馏设备(short path distillation apparatus)蒸馏所形成的油状物, 产生透明、浅黄色油状物 7ii (3.6g, 79%产率), 使用 $^1\text{H NMR}$ 分析其是纯的。

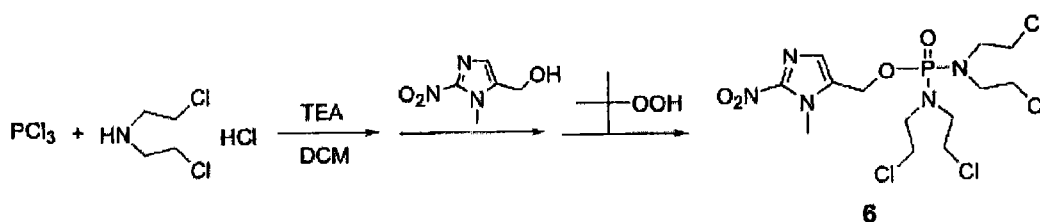
[0373] 将 7ii (0.50g, 2.11mmol)和 N-环丙基-2-氯乙胺盐酸(0.33g, 2.11mmol)在

氩气下, 在干燥 THF 中组合。将反应混合物冷却至 -78°C , 并且通过注射器缓慢加入 DIEA(0.545g, 4.22mmol), 缓慢暖至室温, 搅拌 1.5 小时, 并且浓缩, 得到橙色油状剩余物。通过二氧化硅上使用乙酸乙酯中 0-50%己烷进行急骤层析, 分离剩余物, 以给出 315mg(理论上为 47%)浅黄色油状物, 通过 MS 分析其为 7iii。

[0374] 将 N-甲基-2-硝基咪唑-5-甲醇(76.8mg, 0.489mmol), 在氩气下部分溶于干燥 THF(2ml)中。将反应混合物冷却至 -78°C , 加入二(三甲基甲硅烷基)酰胺锂的 THF 溶液中(1.6M, 0.306ml, 0.489mmol)。15 分钟后, 加入 7iii(172mg, 0.538mmol) 在 2ml THF 中的溶液。15 分钟后将反应混合物缓慢温至室温, 搅拌 2 小时, 倒入 25ml 水中并且用乙酸乙酯(30ml)萃取 3 次。通过 MgSO_4 干燥合并的有机层, 并且将其浓缩, 以得到黄色油状剩余物。通过用 DCM 中 0-10%甲醇急骤层析分离该剩余物, 产生为黄色油状物的化合物 7(110mg, 51%产率), 通过 LC-MS 和 ^1H NMR 分析其是纯的。

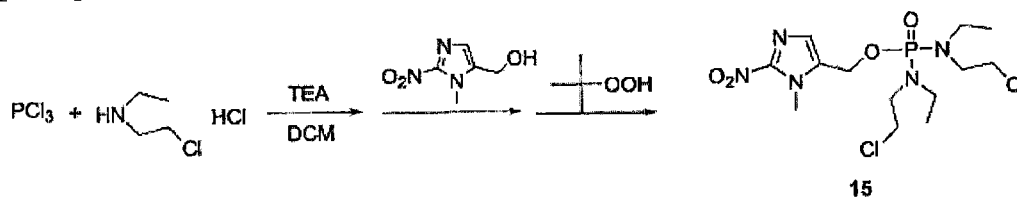
实施例 5

合成化合物 6 和 15



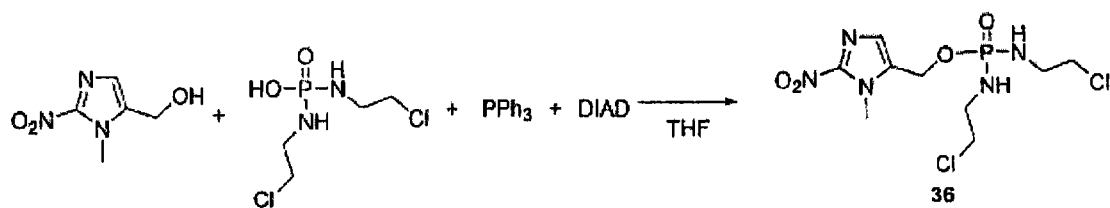
[0375] 向二(2-氯乙基)氯化铵(1.43g, 8.01mmol)的二氯甲烷(DCM)悬浮液中, 在室温下加入三氯化磷(0.32ml, 3.64mmol), 然后, 加入 TEA(3.05ml, 21.84mmol)。在室温下搅拌反应混合物 30 分钟, 然后加入 DME 中的 N-甲基-2-硝基咪唑基甲醇(0.474g, 3.31mmol)。搅拌 0.5 小时后, 将反应混合物冷却至 -20°C , 加入叔丁基氢过氧化物(癸烷中 0.7ml, 3.82mmol, 5.5M)。在超过一小时的时间内将反应混合物加热至室温, 并且倒入 10%含水 HCl 中。分离有机层, 用 DCM 提取水层。通过 MgSO_4 干燥混合的有机溶液, 并且将其浓缩, 得到剩余物, 用 DCM 中 6-12%甲醇急骤层析纯化该剩余物, 产生 6。

[0376] 使用上面描述的合成化合物 6 的方法合成化合物 15。



实施例 6

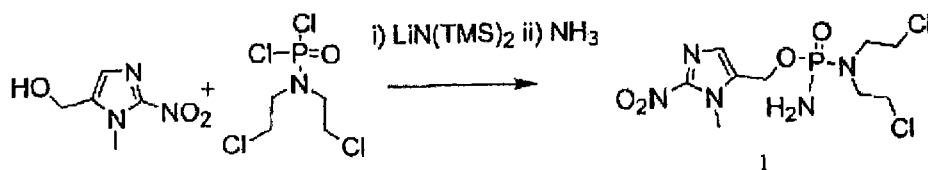
合成化合物 23、26 和 36



[0377] 向 N-甲基-2-硝基咪唑-5-甲醇(180mg, 1.14mmol)、三苯膦(300mg, 1.14mmol)和异磷酰胺芥子(1c, 127mg, 0.57mmol)的 THF(10ml)溶液中, 在室温下逐滴加入二异丙基偶氮二羧酸酯(diisopropyl azodicarboxylate, DIAD, 0.22ml, 1.14mmol)。两小时后, 浓缩反应混合物, 通过使用甲苯中 30-100%丙酮, 急骤层析分离剩余物, 产生化合物 36。

[0378] 使用实施例 6 的方法, 合成化合物 23 和 26。

实施例 7 合成化合物 1

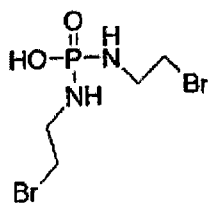


[0379] 将 N-甲基-2-硝基咪唑-5-甲醇(50mg, 0.318mmol), 在氩气下溶于干燥 THF(2ml)。将溶液冷却至-78℃, 通过注射器加入二(三甲基甲硅烷基)酰胺锂溶液(在甲苯中 1M, 0.35ml, 0.35mmol)。5 分钟后, 加入二(氯乙基)氨基磷酸二氯化物(91mg, 0.35mmol)的 THF(2ml)溶液。在 78℃下搅拌 30 分钟后, 使用 NaCl/冰浴将温度降至-20℃, 用无水氨鼓泡反应混合物 5 分钟。用氮气清洗反应混合物, 温至室温, 倒入 25ml 水中并且用乙酸乙酯(4×25ml)萃取。(MgSO₄)干燥混合的有机层, 并且将其浓缩, 得到浅黄色油状物, 通过在硅胶上用二氯甲烷中的 0-10%甲醇急骤层析分离该浅黄色油状物, 产生油状的化合物 1(32mg, 28%产率), 其立刻(on standing)固化, 并且通过 LC/MS 和 ¹H NMR 分析其是纯的。

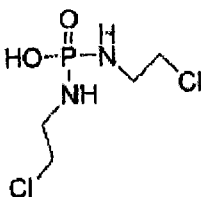
实施例 8 合成化合物 25、26

[0380] 在 10℃, 向 2-溴乙基溴化铵(19.4g)的 DCM(90mL)溶液中, 加入 POCl₃(2.3mL)的 DCM(4mL)溶液, 然后, 加入 TEA(14.1mL)的 DCM(25mL)溶液。将反应混合物过滤, 将滤液浓缩至原来体积的约 30%, 并过滤。用 DCM(3×25mL)洗涤剩余物, 并且将混合的 DCM 部分浓缩, 产生固体, 将 THF(6mL)和水(8mL)的混合物加入到该固体中。在旋转蒸发器(rotary evaporator)中除去 THF, 将所形成的溶液在冰箱中冷却过夜。过滤得到的沉淀物, 用水(10mL)和醚(30mL)洗涤, 然

后在真空中干燥以产生 2.1g

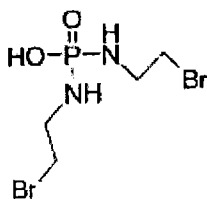


[0381] 异磷酰胺芥子



可通过使用实施例 8 提供的方法合成，其中用 2-氯乙基氯化铵取代 2-溴乙基溴化铵。合成异磷酰胺芥子方法已有描述(参见，如 Wiessler 等，如前所述)。

[0382] 使用实施例 6 提供的方法和适当的触发物-OH，将氨基磷酸酯烷化剂毒素：



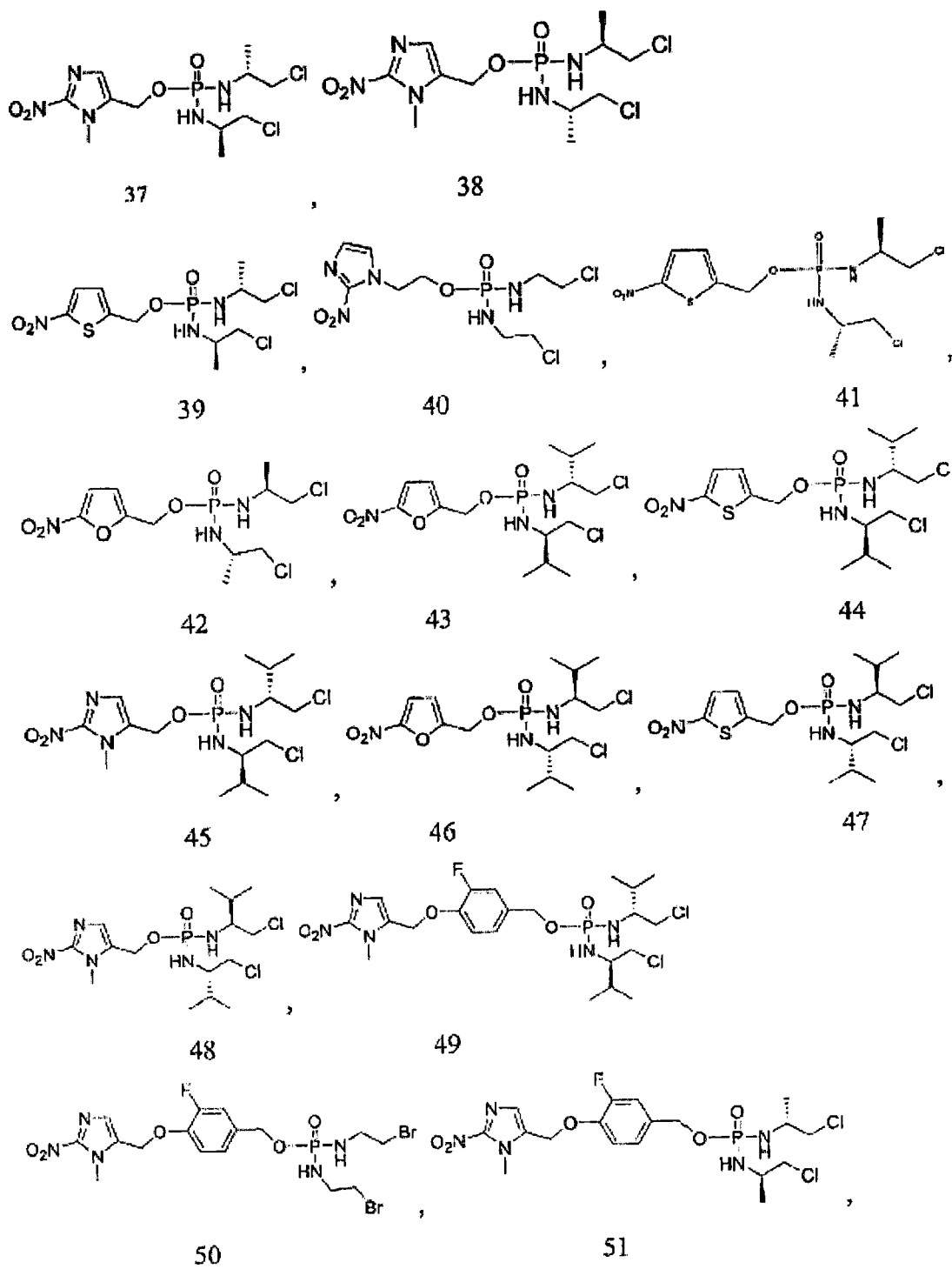
转化为化合物 24 和 25。

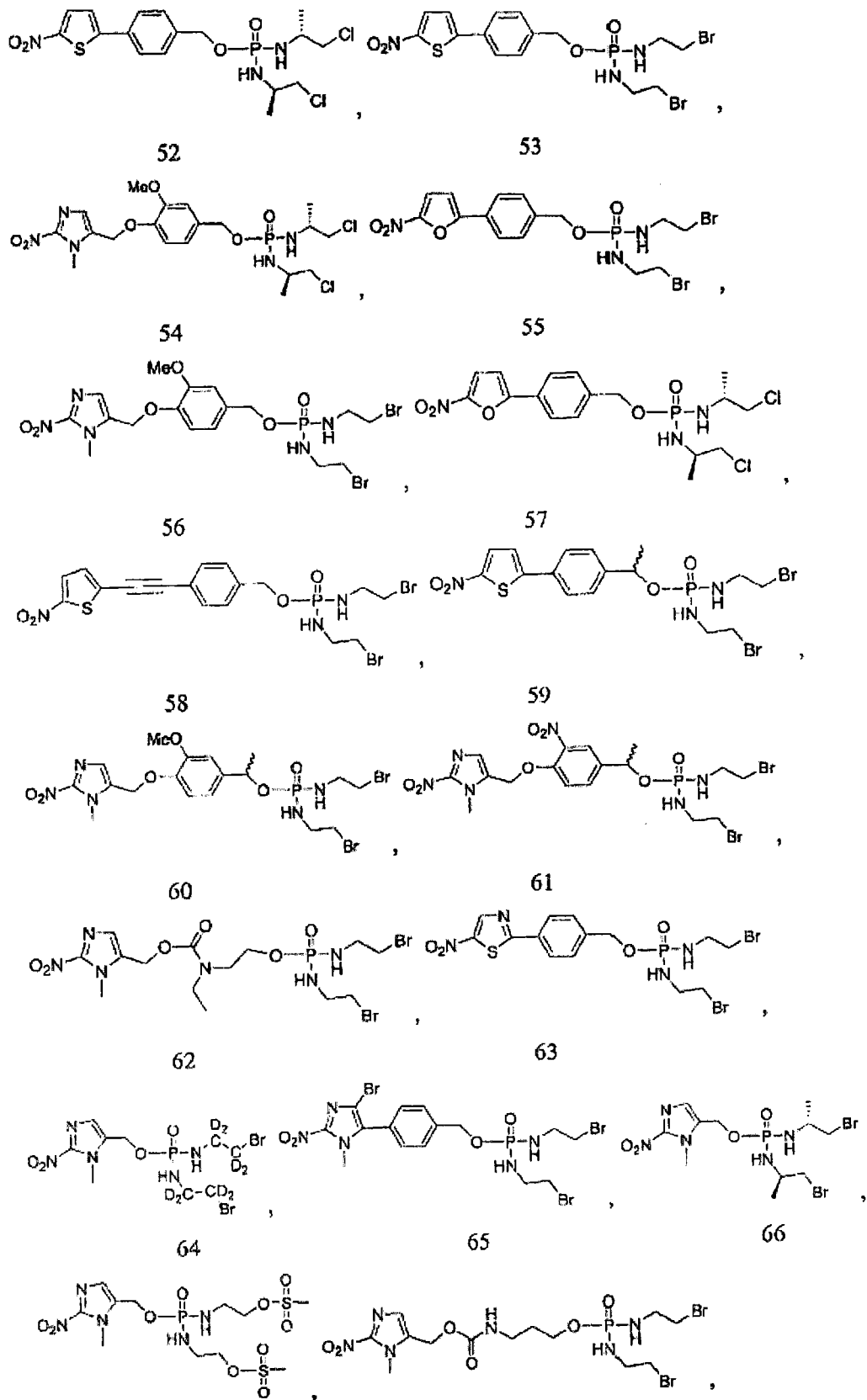
实施例 9

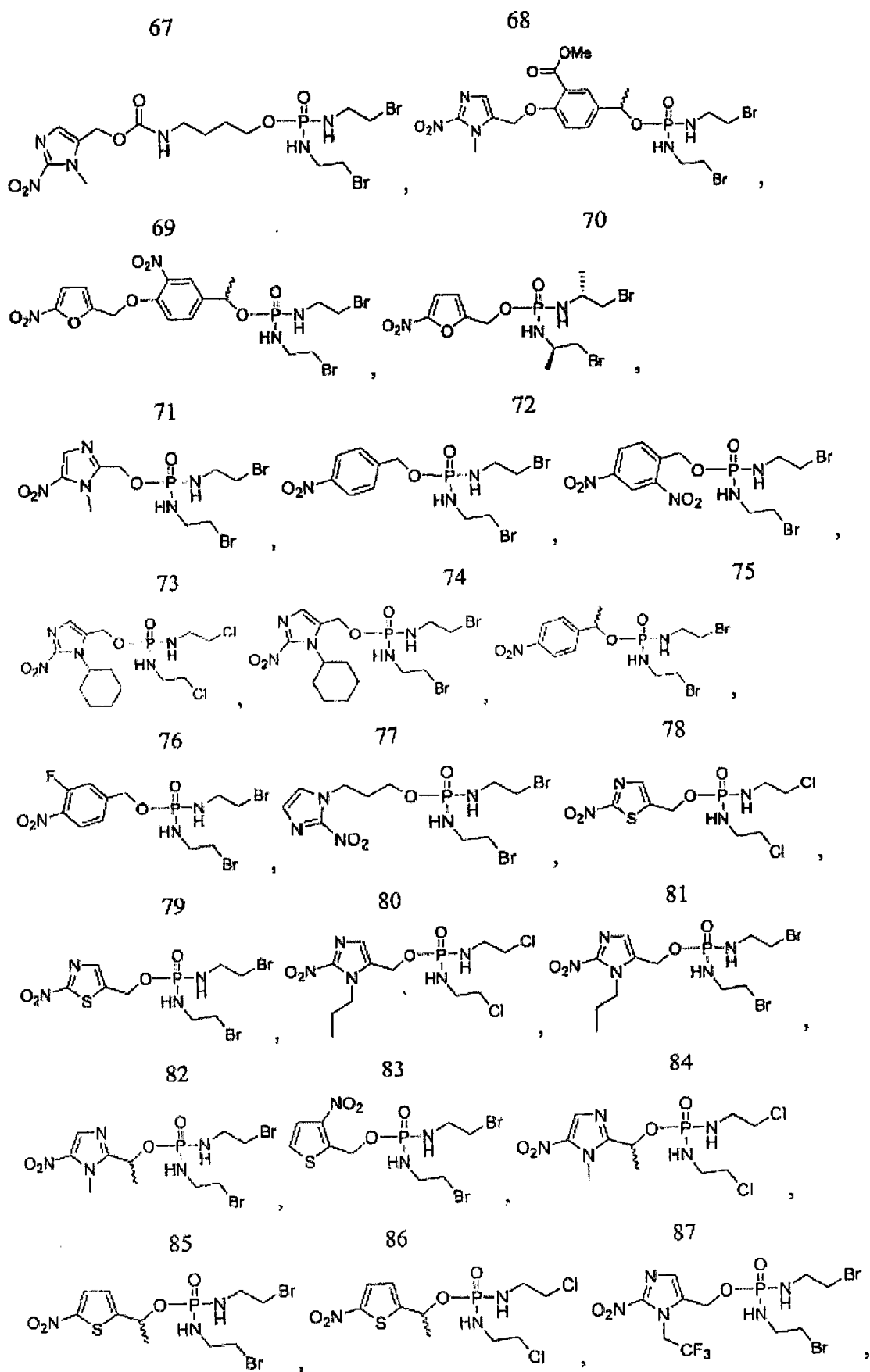
合成化合物 37-105

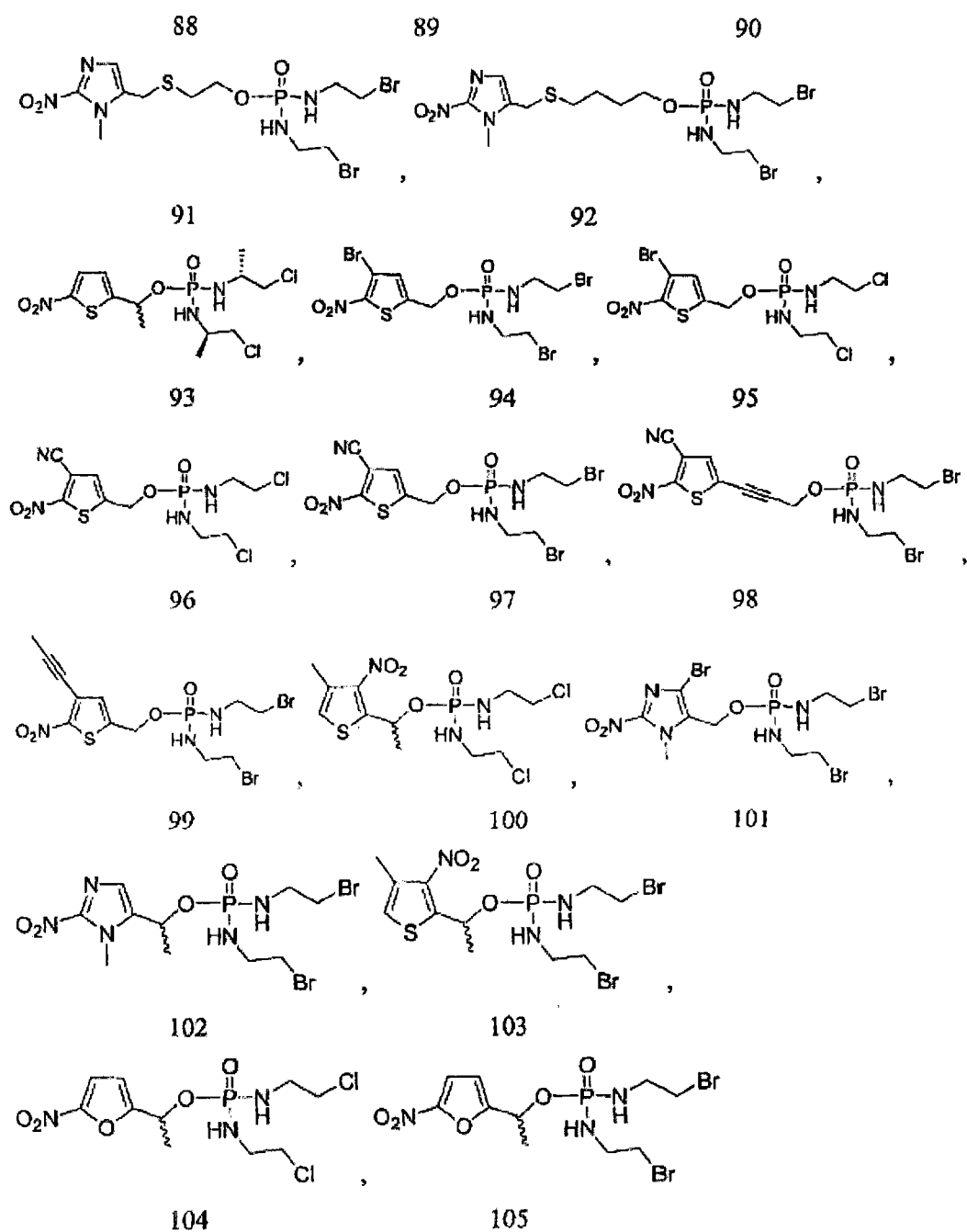
[0383] 使用描述用于上面的 25 或 36 合成的 Mitsunobu 型偶联，使用适当取代的触发物-OH 和异环磷酰胺芥子类类似物，合成下面的化合物 37-105。例如，对于合成化合物 40、81、83、87、89、95、96、100 和 104，使用的异环磷酰胺芥子类类似物是 $\text{HOP}(=\text{O})(\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$ ；在化合物 50、53、55、56、58-65、68-71、73-75、77-80、82、84-86、88、90-92、94、97-99、101-103 和 105 中，使用的异环磷酰胺芥子类类似物是 $\text{HOP}(=\text{O})(\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{Br})_2$ ；在化合物 37、39、52、54 和 93 中，使用的异环磷酰胺芥子类类似物是 $\text{HOP}(=\text{O})(\text{NHCHMeCH}_2\text{Cl})_2$ 的 R 对映体；在化合物 38、41、51 和 57 中，使用的异环磷酰胺芥子类类似物是 $\text{HOP}(=\text{O})(\text{NHCHMeCH}_2\text{Cl})_2$ 的 S 对映体；在化合物 43-45 和 49 中，使用的异环磷酰胺芥子类类似物是 $\text{HOP}(=\text{O})(\text{NHCH}(\text{CHMe}_2)\text{CH}_2\text{Cl})_2$ 的 R 对映体；以及在化合物 46-48 中，使用的异环磷酰胺芥子类类似物是 $\text{HOP}(=\text{O})(\text{NHCH}(\text{CHMe}_2)\text{CH}_2\text{Cl})_2$ 的 S 对映体。

[0384] 在合成化合物 37-105 中使用多种触发物-OH 化合物，包括下列触发物



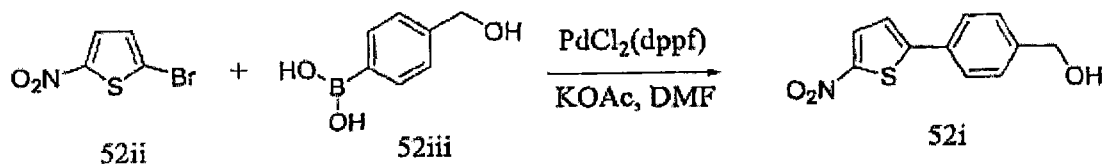






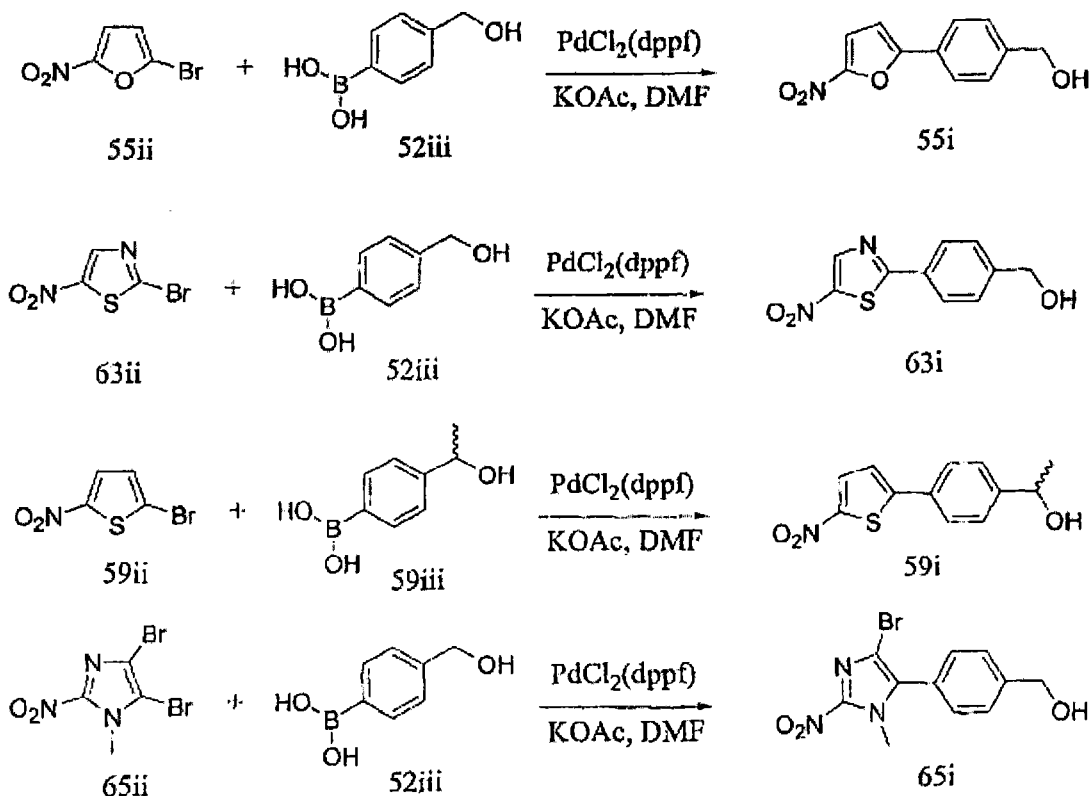
实施例 10-26 描述了在合成本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物中使用的多种触发物-OH 化合物的合成。

实施例 10
合成化合物 52i

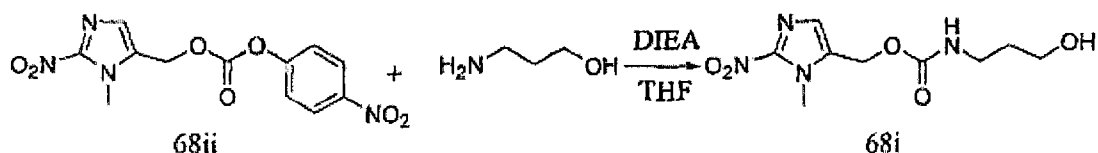


[0386] 化合物 52ii (100mg, 0.48mmol)、52iii(73mg, 0.48mmol)和 KOAc(190mg, 1.92mmol)的 DMF(5ml)溶液被脱气 3 次, 并且在室温下, 氩气气氛中加入 PdCl₂(dppf)(36mg, 0.048mmol)。将反应混合物在 60°C 加热两小时, 用乙酸乙酯(EA)将反应混合物稀释, 并且用盐水洗涤反应混合物。干燥有机层, 并进行浓缩, 在硅胶上使用 EA/Hex(0-80%)作为洗脱液通过柱层析分离剩余物, 以产生 52i。

[0387] 以相似的方式, 如下面示意描述的, 制备化合物 55i、63i、59i、65i 和 68i:

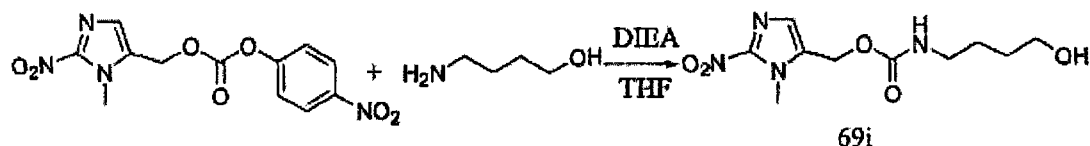


实施例 11

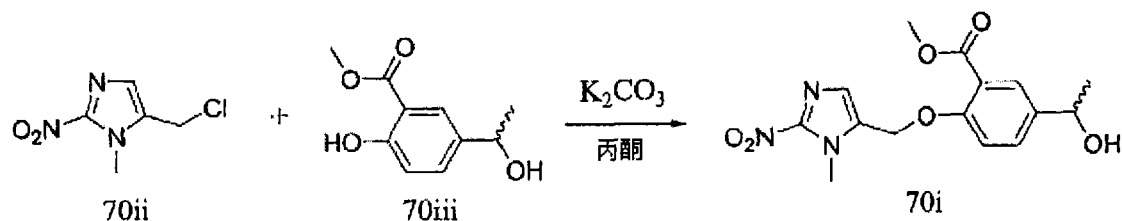


[0388] 在室温下, 向化合物 68ii(100mg, 0.31mmol)和 3-氨基-1-丙醇(0.047g, 0.62mmol)的 THF(2.5ml)溶液中, 加入 DIEA(0.162ml, 0.93mmol)。将反应混合物搅拌过夜, 并且浓缩产生剩余物, 在硅胶上使用 EA/Hex(0-80%)作为洗脱液通过柱层析分离该剩余物, 产生化合物 68i。

[0389]相似地制造化合物 69i, 如下面方案描述。

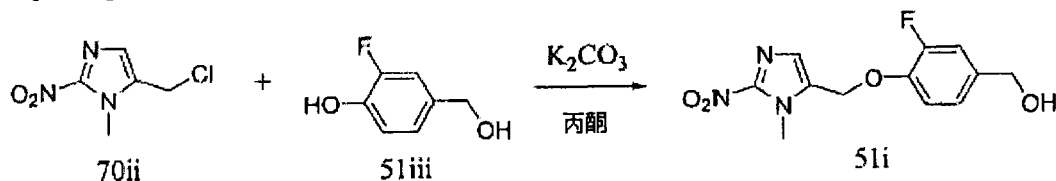


实施例 12



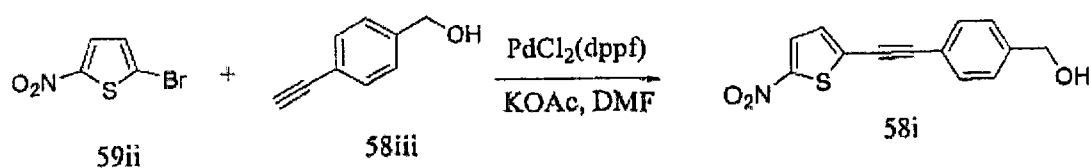
[0390] 在室温下，向化合物 70ii (100mg, 0.87mmol)和化合物 70iii(112mg, 0.87mmol)的丙酮(8ml)溶液中，加入 K_2CO_3 (78.6mg, 0.87mmol)。将反应混合物在 $60^\circ C$ 下加热，并搅拌 1 小时，过滤并且浓缩，产生剩余物，在硅胶上使用 (EA/Hex)0-60%通过柱层析分离该剩余物，产生化合物 70i。

[0391]类似地制造化合物 51i，如下面方案描述。



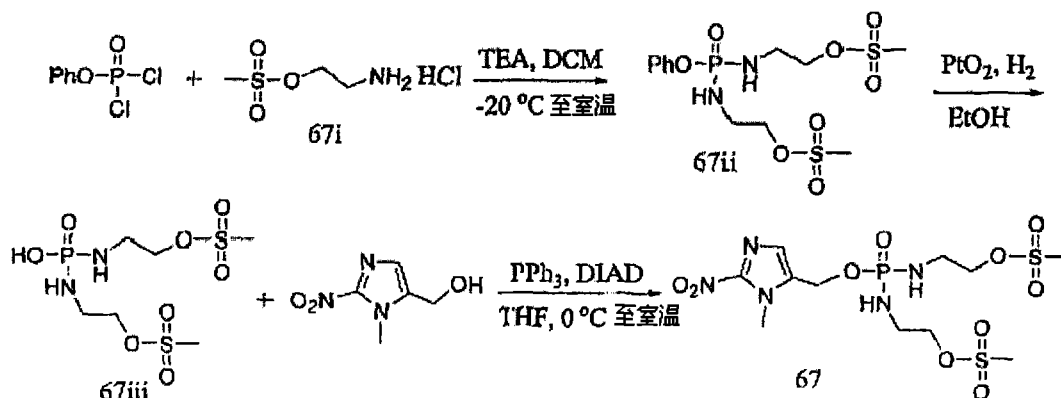
实施例 13

(HAP 触发物-检查编号(check #s))



[0392] 化合物 59ii (200mg, 0.96mmol)和 59iii(127mg, 0.96mmol)的 DMF(3ml)溶液被脱气 3 次，并且在室温下，氩气气氛中向其加入 $PdCl_2(dppf)$ (50mg, 0.07mmol)，然后加入 CuI (8.5mg, 0.043mmol)和 TEA (0.27ml, 1.92mmol)，并且将反应混合物在 $60^\circ C$ 加热两小时。用乙酸乙酯(EA)将反应混合物稀释，并且用盐水洗涤反应混合物，分离、干燥有机层，并进行浓缩以产生剩余物，在硅胶上使用 EA\Hex(0-70%)作为洗脱液，通过柱层析分离该剩余物，产生化合物 58i。

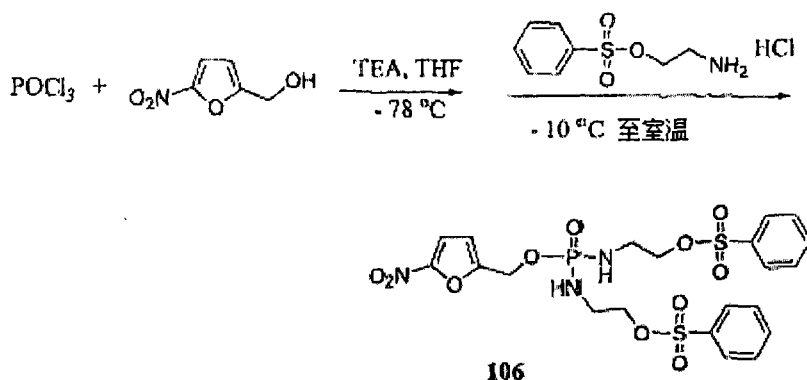
实施例 14



[0393] 在-20℃，向 67i(472mg, 2.69mmol)的 DCM(20ml)悬浮液中，加入苯基二氯磷酸酯(0.2ml, 1.34mmol)，然后逐滴加入 TEA(0.75ml, 5.38mmol)并进行搅拌。将反应混合物温至室温，在室温下搅拌 1 小时，倒入盐水中，分离有机层，并用 DCM 萃提水层。用 $MgSO_4$ 干燥混合的有机层，并进行浓缩。在硅胶上使用 EA/Hex(10-100%)作为洗脱液，通过柱层析分离剩余物，以产生化合物 67ii。向化合物 67ii(42mg)的 EtOH(5ml)的溶液中加入氧化铂(IV) (20mg)，将反应混合物脱气，并在氢气中强力搅拌 0.5 小时。用 MeOH 稀释反应混合物，通过针筒过滤器过滤，滤液在真空中浓缩，并与甲苯一起蒸发以产生化合物 67iii。应用如合成化合物 36 描述的 Mitsunobu 型反应，将化合物 67iii 与 1-N-甲基-2-硝基咪唑-5-甲醇反应。

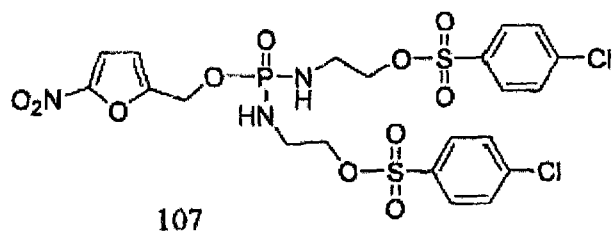
实施例 15

合成化合物 106 和 107

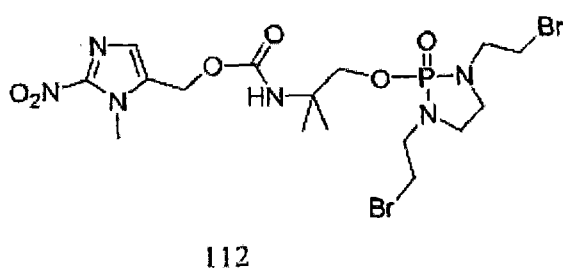
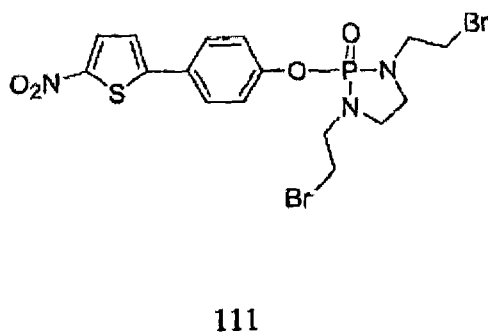
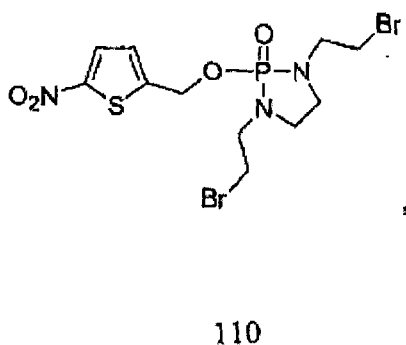
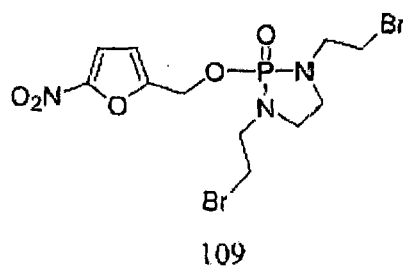
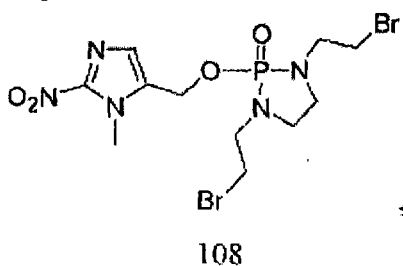



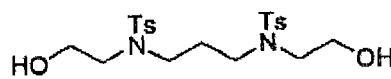
[0394] 在-78℃下，向 5-硝咪乙醇(200mg, 1.4mmol)的 THF(10ml)溶液中，加入 $POCl_3$ (0.13ml, 1.4mmol)，然后逐滴加入三乙胺(TEA, 0.216ml, 1.54mmol)。在 1 小时内，将反应温度升高到-10℃，然后加入 2-(苯基磺酰基)乙胺盐酸(832mg, 3.5mmol)，然后加入 TEA(1ml, 7mmol)。将反应升高到室温，搅拌一小时，用水淬灭，并且分离有机层。用 DCM 萃提水层两遍，并且干燥和浓缩混合的有机层，

产生剩余物，在硅胶上使用丙酮/甲苯(30%到 100%)作为洗脱液，通过柱层析分离该剩余物，产生产物 106。使用相似的方法合成化合物 107：

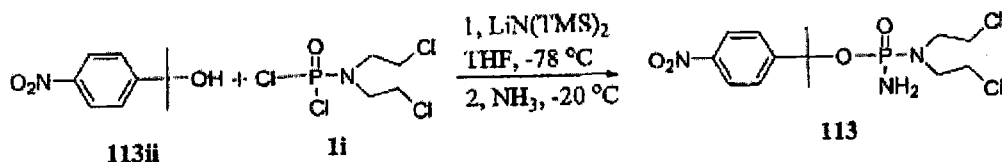


[0395] 下面示出的化合物 108-112:



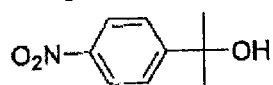
，使用在实施
例 3 中合成化合物 35 所描述的方法，并用  取代
 而进行合成。

实施例 16 合成化合物 113-117

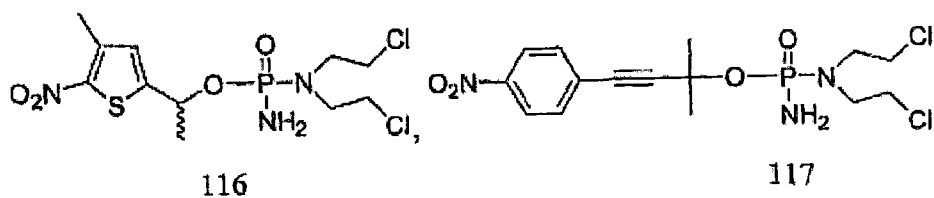
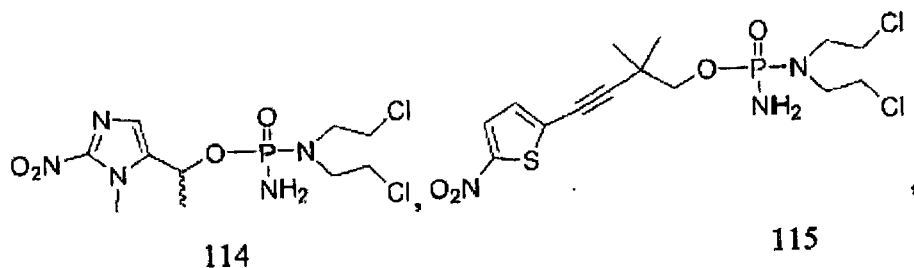


[0396] 根据在实施例 7 中描述的方法合成化合物 113, 如这里所述。在-78℃下, 向 113ii(181mg, 1.16mmol)的 THF(8mL)溶液中, 逐滴加入 LiN(TMS)₂(1.2mL, 1M THF 溶液, 1.2mmol), 然后加入 1i。将反应混合物暖至-20℃, 用 NH₃ 鼓泡反应混合物 5 分钟。将水(20mL)加入到反应混合物中, 并用 EA(30mL)萃取反应混合物 3 次。干燥混合的有机层, 并且将其浓缩, 以产生剩余物, 在硅胶上用丙酮\甲苯 (30-100%)柱层析, 分离该剩余物, 产生化合物 113。

[0397] 根据对于化合物 13 描述的方法, 并用合适的触发物-OH 作为原料代替

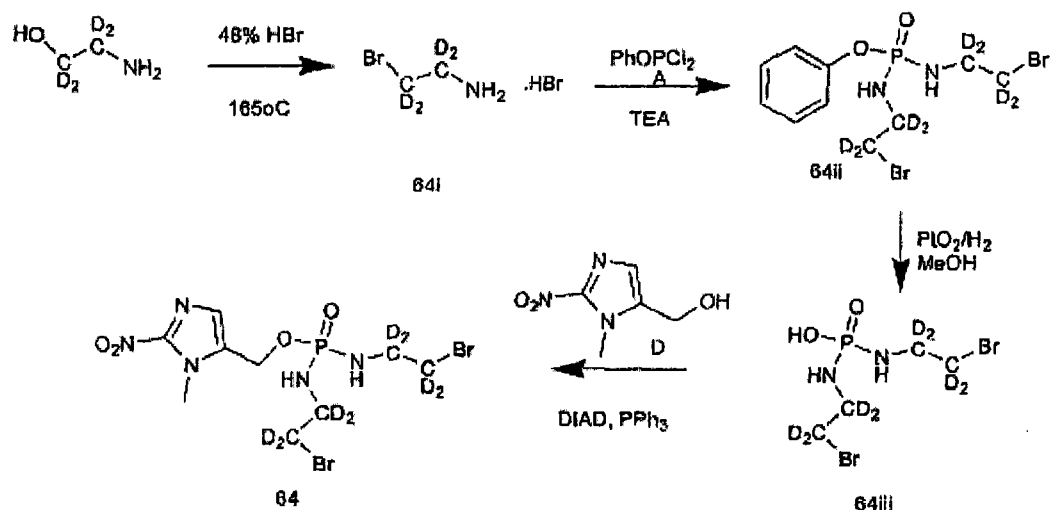


, 合成化合物 114-117。



实施例 17

合成八氟化异环磷酰胺和化合物 64(八氟化的化合物 25)



[0398] 在 0℃下，将 48% HBr(60mL)逐滴加入到 d₄-乙醇胺。在室温下，搅拌反应混合物 1 小时，然后进行温和回流和缓慢蒸馏，在 2 小时内收集 16mL 液体，直到 155℃(油浴)。用 60mL、48%的 HBr 置换两次，然后继续蒸馏另外 5 个小时。收集 90mL 液体。所形成的溶液在 165℃下加热 2 小时，并在真空中蒸发。残留物从无水乙醇(10mL)-乙酸乙酯(30mL)重结晶为 11.3g d₄-2-溴乙胺氢溴化物(化合物 64i)。在 -20℃下，氩气中将化合物 64i (19.5mmol, 1.0 当量)逐滴加入 d₄-2-溴乙胺氢溴化物(40.0mmol, 2.05 当量)在干燥 DCM(100mL)中的悬浮液，然后在 -20℃下逐滴加入 TEA(81.9mmol, 4.2 当量)。在 -20℃下搅拌反应混合物 0.5 小时，并在室温下搅拌 2 小时，倒入水中，并用 DCM(30mL)萃取 2 遍。用盐水洗涤混合的有机层，通过 Na₂SO₄ 干燥该有机层，并且在减压下将其浓缩以产生剩余物，在硅胶上使用己烷/EA(100:70(v/v))作为洗脱液，通过柱层析，分离该剩余物，产生 7.0g 化合物 64ii。将 PtO₂(0.7g)加入到化合物 64ii(7.0g)的 MeOH(160mL)溶液中，将反应混合物脱气，并且与 H₂ 交换三次，在室温下，H₂ 中搅拌 3 小时，并且用 MeOH 稀释直到反应混合物中的白色固体溶解。过滤稀释的反应混合物，在减压下将滤液浓缩，产生剩余物，用无水醚洗涤该剩余物 2 次，产生 2.9g 化合物 64iii。在 0℃下，氩气中向化合物 64iii(1.92g, 1.0 当量)、1-N-甲基-2-硝基咪唑甲醇(1.01g, 1.1 当量)和 PPh₃(2.39g, 1.5 当量)的 THF(20mL)悬浮液中，加入 DIAD(1.76ml, 1.5 当量)。搅拌反应混合物 2 小时，同时将反应混合物从 0℃加热到室温，然后在真空中除去挥发性物质，产生剩余物。在硅胶上使用丙酮/甲苯(100:70(v/v))作为洗脱液，通过急骤层析，分离该剩余物，产生 1.35g 化合物 64。

实施例 18 合成化合物 2i

错误！不能编辑域代码产生目标。

2ii

2iii

2i

[0399] 根据参考文献 Cavalleri 等, *J. Het. Chem.*, 1972, 9: 979 合成乙烯基衍生物 2iii, 并且如下进行羟汞化。将 $\text{Hg}(\text{OAc})_2$ (208 mg, 0.653 mmol) 溶于水(0.7mL)和 THF(0.7mL), 然后加入化合物 2iii(100mg, 0.653mmol)。在室温下, 搅拌反应混合物 1.5 小时, 将 NaBH_4 (25mg)分次(in portions)加入, 在搅拌 15 分钟后, 将反应混合物倒入水中, 用 EA 萃取, 干燥 EA 层, 并且进行浓缩以产生剩余物, 使用 EA/己烷(0-100%)作为洗脱液, 通过硅胶柱层析, 分离该剩余物, 产生化合物 2i(16mg)。

实施例 19

合成化合物 94i

错误! 不能编辑域代码产生目标。

94iii

94ii

94i

[0400] 在 0°C 下, 将 94iii (7.1 g) 的 Ac_2O (9.7 mL) 溶液逐滴加入发烟硝酸(1.5mL) 的 AcOH (12ml) 溶液中。将反应混合物加热至室温, 搅拌 1 小时, 将发烟硝酸(1mL) 逐滴加入, 并且搅拌 1.5 小时。将反应混合物倒入水中, 用 EA 萃取, 干燥 EA 层, 并且进行浓缩以产生剩余物, 使用 EA/己烷(0-100%)作为洗脱液, 通过硅胶柱层析, 分离该剩余物, 产生化合物 94ii。在 0°C 下, 将化合物 94ii (600 mg, 1.77 mmol) 悬浮于甲醇(10ml) 中, 然后在超过 5 分钟时间将 NaBH_4 (141mg) 分次加入反应混合物。每小时 3 次一次性加入 NaBH_4 (100mg), 将反应混合物搅拌 3.5 小时, 将反应混合物倒入水中, 用 EA 萃取, 干燥 EA 层, 并且进行浓缩以产生剩余物, 使用 EA/己烷(0-100%)作为洗脱液, 通过硅胶柱层析, 分离该剩余物, 产生化合物 94i(289mg), 其为黄色固体。

实施例 20

合成化合物 96i

错误! 不能编辑域代码产生目标。

96ii

96iii

96i

[0401] 在 140°C 下, 搅拌 A (1.4 g)、 CuCN (0.56g) 和 DMF (25 mL) 的混合物 35 分钟, 并且在 300mL 碎冰上搅拌 10 分钟。然后过滤反应混合物, 并且使用己烷: EA(1:0 到 2:3) 作为洗脱液, 通过柱层析分离剩余物, 产生黄色油状化合物 96iii(617mg)。将化合物 96iii 转化为醇 96i, 并且通过柱层析分离, 然后使用与化合物 94iii 所用的相似方法, 使用 THF 代替 MeOH 作为反应中溶剂。

实施例 21

合成化合物 99i

错误！不能编辑域代码产生目标。

99ii

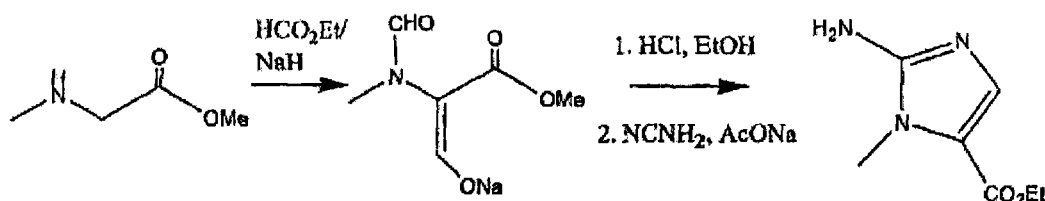
99iii

99i

[0402] 将 99ii (500 mg)、 $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (208 mg) 和 CuI (56.4 mg) 的混合物悬浮于 TEA (15 mL) 中，将反应混合物脱气，并且每一次用 Ar 吹洗 6 次。将丙炔鼓泡通过反应混合物 15 分钟，然后在丙炔气氛下 50°C 浴中继续反应 2 小时。将反应混合物倒入 EA 中，将其过滤，浓缩滤液以产生残留物，使用 EA/己烷(0-100%)为洗脱液，通过硅胶柱层析分离该残留物，产生化合物 99i(286mg)。

实施例 22

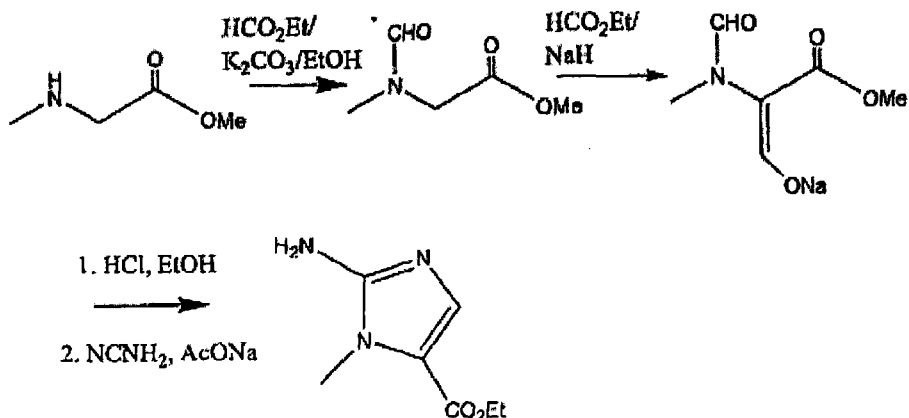
合成 1-N-甲基-2-氨基咪唑-5-羧酸乙酯



[0403] 将甲酸乙酯(500mL)加入到 1L 圆底烧瓶中含有的肌氨酸甲酯盐酸(82 g, 585.7 mmol, 在反应前磨成粉末)中。在冰水浴中，将反应混合物冷却，搅拌，将气体出口连接到烧瓶，在 2 小时期间将 NaH (60%油状悬浮液, 54 g, 1.35 mol)缓慢加入，并且在室温下搅拌大约 14 小时。使用旋转蒸发器除去挥发物，产生剩余物，将其与己烷(500mL)一起研磨两次，产生粘性浅棕色糊状物，将该糊状物溶解在乙醇(400mL)和浓 HCl (50mL)中，并在 110°C 下搅拌 1.5 小时。在反应混合物冷却后，过滤出白色沉淀物，并用 $2 \times 25\text{mL}$ 乙醇洗涤残留物。蒸发滤液，产生深棕色油状物，向其中加入 10%含水 HOAc 、 H_2NCN (45 g, 1.07 mol)和乙酸钠(88 g, 1.07 mol)。在 $90\text{-}100^\circ\text{C}$ 下，将反应混合物搅拌 1.5 小时，产生透明溶液，将溶液冷却，使用浓 HCl 将其 pH 调节到 1，使用旋转蒸发器在 45°C 以下的温度，将所形成的溶液浓缩至原来体积的 1/5。通过加入 K_2CO_3 ，将浓缩的反应混合物仔细中和到 8-9 的 pH，并且用 EA($5 \times 200\text{ mL}$, 然后 $3 \times 50\text{ mL}$)萃取。通过 MgSO_4 干燥混合的乙酸乙酯层，过滤，并且除去挥发物以产生 48g 1-N-甲基-2-氨基咪唑-5-羧酸乙酯。

实施例 23

合成 1-N-甲基-2-氨基咪唑-5-羧酸乙酯



[0404] 将甲酸乙酯(850mL)加入到肌氨酸甲酯盐酸盐(205g, 1.46mol, 在反应前磨成粉末)、碳酸钾(205 g, 1.48 mol)和 EtOH (800 mL)中, 在室温下搅拌整夜, 并且过滤。在旋转蒸发器中, 浓缩滤液, 在此期间, 剩余物分成两层。分离上层, 并用 EA 萃取下层。通过 $MgSO_4$ 干燥混合的 EA 层和上层, 过滤, 并浓缩, 产生 185g(81%)N-甲酰肌氨酸甲酯, 其被用于下面的反应。在 1 小时内, 分几部分小心将 NaH (60%油状悬浮液, 16.0 g, 0.4 mol)加入到在冰水浴中冷却的 N-甲酰肌氨酸甲酯(50 g, 0.34 mol)和甲酸乙酯(160mL)的混合物中。搅拌反应混合物, 并将温度升至室温, 继续搅拌过夜。将反应混合物与己烷(每次 100mL)一起研磨两次, 将剩余物溶解在 EtOH(100mL)和浓 HCl(60mL)中, 在 110°C 下搅拌反应混合物。1 小时后, 将反应混合物冷却, 过滤, 用 EtOH 洗涤剩余物, 将滤液浓缩, 产生深棕色油状物。将该油状物加入到 10%HOAc 的水(200mL)溶液、 NH_2CN (35g)和乙酸钠(90g)中, 在 95°C 下搅拌。1 小时后, 在旋转蒸发器中将反应混合物浓缩至原来体积的 1/3, 并且通过加入碳酸钠将其 pH 调节到大约 9。然后用 EA(8 x 100 mL)萃取反应混合物, 干燥组合的 EA 层, 过滤, 并且浓缩以产生剩余物, 通过重结晶将该剩余物纯化, 产生 1-N-甲基-2-氨基咪唑-5-羧酸乙酯(“氨基酯”)。

实施例 24

合成 1-N-甲基-2-硝基咪唑-5-羧酸乙酯



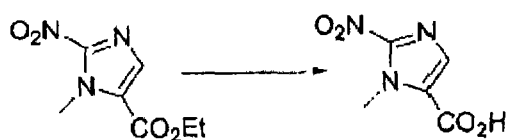
[0405] 将氨基酯(36.94g, 0.218mol)在 200ml 乙酸中的溶液逐滴加入到在冰水浴中冷却的亚硝酸钠(100g, 1.449mol)和水(300ml)的溶液中, 并且搅拌。测量为大约 -5-10°C 的反应混合物的温度, 被升高到室温, 并且搅拌反应混合物过夜。用 DCM(3 x 150mL)萃取反应混合物。干燥并蒸发混合的 DCM 层, 以产生微红的剩

余物，在硅胶上使用 EA/己烷 (30%)作为洗脱液，通过柱层析分离该剩余物，产生为浅棕色固体(27g, 产率 62%)的 1-N-甲基-2-硝基咪唑-5-羧酸乙酯(“硝基酯”)。

[0406] 在实施例 24 中描述的并使用含水乙酸的方法是对使用大约 7%硫酸(v/v)的方法的改进，用于从氨基酯形成重氮鎓离子。使用含水硫酸，反应体积变大，这引起难以有效搅拌反应混合物。例如，包含 150g 氨基酯的反应要求大约 12L 的反应混合体积。粘性硝基酯作为产物在含水硫酸中形成，并且中断了对反应混合物的搅拌。

实施例 25

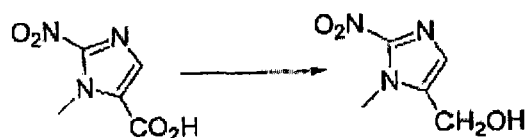
合成 1-N-甲基-2-硝基咪唑-5-羧酸



[0407] 在室温下，搅拌硝基酯(39.2 g, 196.9 mmol)在 1N NaOH (600 mL)和水 (200mL)中的悬浮液大约 20 小时，得到透明浅棕色溶液。通过加入浓 HCl 将反应混合物的 pH 调节到大约 1，并且用 EA(5 x 150 mL)萃取反应混合物。通过 MgSO₄ 干燥并浓缩混合的乙酸乙酯层，产生为浅棕色固体(32.2g, 产率 95%)的 1-N-甲基-2-硝基咪唑-5-羧酸 (“硝基酸”)。

实施例 26

合成 1-N-甲基-2-硝基咪唑-5-羧酸



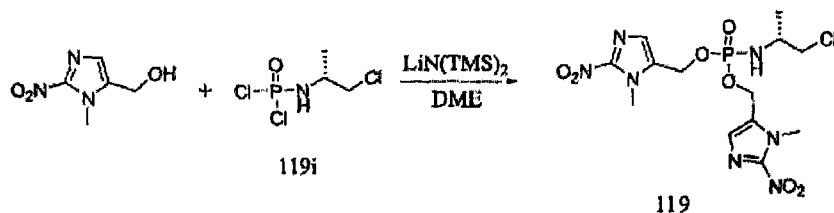
[0408] 搅拌硝基酸(30.82 g, 180.23 mmol)和三乙胺(140mL, 285 mmol)在无水 THF(360 mL)中的混合物，同时在干冰-乙腈浴(温度 < -20℃)中冷却该反应混合物。在 10 分钟的期间，将氯甲酸异丁酯(37.8 mL, 288 mmol)逐滴加入该冷却的反应混合物中，并且搅拌 1 小时，然后加入氢硼化钠(36 g, 947 mmol)和在 1 小时期间逐滴加入水，同时保持温度在大约 0℃或以下。将反应混合物温至 0℃。过滤掉固体并且用 THF 洗涤。蒸发组合的 THF 部分，产生为橙色固体(25g)的 1-N-甲基-2-硝基咪唑-5-甲醇，将它们从乙酸乙酯重结晶。

实施例 27

合成化合物 119

[0409] 在 -78℃下，向 1-N-甲基-2-硝基咪唑-5-甲醇(50 mg, 0.32 mmol)在 DME 中的悬浮液，加入 LiN(TMS)₂，伴随强力搅拌。10 分钟后，将化合物 119i (67 mg,

0.32 mmol)加入, 并将反应混合物温至室温。1 小时后, 浓缩反应混合物, 并且通过硅胶上层析(0-100%丙酮\甲苯)分离剩余物, 产生化合物 119。



实施例 28A-28V

[0410] 通过使用相应取代的氨基磷酸酯和羟基取代的触发物(触发物-OH), 根据上面的实施例 1-27 中描述的方法, 合成化合物 134 到 155。

实施例 29A

[0411] 下列化合物的溶解度在下面列出:

化合物	溶解度 (室温下盐水中)
10	10 mg/mL
25	15 mg/mL
73	10 mg/mL
155	<1 mg/mL

实施例 29B

抗增殖分析

[0412] 为了确定氨基磷酸酯烷化剂前体药物对细胞增殖的效应, 在基于多孔 Alamar Blue 的分析中检测这些化合物的抗增殖活性。比较测试化合物存在和不存在时的细胞生长, 这通过荧光平板读数器在激发波长 550 nm 和发射波长 590 nm 处测定(参见 Biosource International Inc., Tech Application Notes, *Use of Alamar Blue in the measurement of Cell Viability and Toxicity*, Determining IC₅₀)。用 20,000 细胞/孔/500 μ l 培养基, 检测下列细胞系: NCI-H460 细胞(ATCC HTB-177, RPMI 培养基(Gibco Products, Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA))、HT29 细胞(ATCC HTB-38, RPMI 培养基(Gibco))、MES-SA 细胞(ATCC CRL-1976, McCoy's 5a 培养基(ATCC))、MES-SA/Dx5 细胞(ATCC CRL-1977, McCoy's 5a 培养基(ATCC))、ACHN 细胞(ATCC CRL-1611, 极限必需培养基, Eagle (ATCC))、PC3 细胞(ATCC CRL-1435, Ham's F12K 培养基(ATCC))。将这些细胞在位于 24 孔平板中的每一孔中的玻璃插入物上接种, 其密度和培养基如上规定, 接种一天后进行化合物测试。24 小时后, 将这些平板分成 2 组——缺氧组和空气组。将测试化合物以从 100、30、10、3、1、0.3、0.1、0.03 到 0.01 μ M 的浓度加入到治疗组的每一个孔(200 μ l 体积)中。所有测试化合物在完全培养基中连续稀释, 在每个孔中最终的 DMSO 浓度小于或等于 1%。缺氧治疗组中的细胞在 Bactron II 厌氧培养室中培养 2 小时。

在空气治疗组中的细胞在标准组织培养培养箱中培养 2 小时。两小时后，用测试化合物治疗，将测试化合物从每一孔中除去，用 500 μ l 培养基洗涤细胞，并且在 500 μ l 新鲜培养基中培养三天。3 天后，用 10%Abamar Blue 染色细胞 2 小时，然后测量细胞增殖能力(如前面提到的)，计算测试化合物的 50%生长抑制浓度(GI₅₀(本文也称为 IC₅₀))，并将它们列在下面的表 X 中。

表 X: IC₅₀ 值(μ M)

化合物	H460	HT29	MES-SA	MES-SA/Dx5	ACHN	PC3
	缺氧/空气	缺氧/空气	缺氧/空气	缺氧/空气	缺氧/空气	缺氧/空气
P2	44 / >100					
1	0.4 / 72	50 / >100		1 / >100		
23	0.04 / 5	7.5 / -				
23	0.1 / 14					
154	0.9 / 2					
139	16 / 100					
140	5 / 65					
2	8 / >100					
5	0.05 / 6	10 / >100				
22	0.7 / 16					
3	>20 / >100					
142	>40 / >100					
4	40 / >100					
143	4.5 / 3.5					
6	0.7 / >100	22 / >100		5 / >100		
144	7 / >100					
145	>100 / >100					
147	>100 / >100					
7	0.14 / 25	7 / >100		0.59 / 83		
11	5.2 / >100					
12	1.7 / >100					
9	>10 / >100					
8	0.013 / 0.6					
36	0.88 / >100	55 / >100	5 / >100	7.5 / >100		
149	50 / >100					
15	0.08 / 1					
16	1.6 / >100					

17	1/9					
18	3.4/9					
14	8.5/>100					
150	-/21					
25	0.15/86	16/>100	0.9/ >100	0.3/>100	0.2/62	0.6/>100
26	0.1/35					
10	100/>100					
31	83/>100					
24	0.01/4		0.1/2	0.1/0.8		
27	25/100					
28	0.15/20					
32	50/100					
33	8/46					
34	0.01/1.8	0.8/57	0.13/10			
35	0.075/50					
35	0.05/55	1.8/>100	1/100			
74	>100/ >100					
75	9/26					
76	9/>100					
77	1.6/5.5					
78	>100/ >100					
79	3.5/3.5					
118	>100/ >100					
80	>100/ >100					
81	0.05/0.3					
82	0.03/0.02					
83	0.3/>100					
84	0.003/40					
85	0.7/100					
86	1.4/3					
119	0.3/>100					
37	0.36/ >100					
87	22/>100					
88	0.03/0.53					
89	0.33/3.7					
90	0.01/3.4					
38	0.33/ >100					
106	0.09/3.5					
107	0.06/2.8					
108	1.1/>100					
109	0.3/13					
110	0.3/21					

39	0.2 / 5					
91	- / >100					
92	>100 / >100					
41	- / 7					
42	0.5 / 9					
93	0.1 / 3.8					
94	0.3 / 2					
95	- / 2.7					
96	0.1 / 0.1					
120	0.3 / 50					
121	0.04 / 1					
122	0.04 / 1.3					
43	2 / 60					
44	3 / 100					
45	6 / >100					
46	5 / >100					
47	4 / >100					
48	- / >100					
97	0.01 / 0.1					
49	- / >100					
50	0.1 / 3					
98	0.1 / 2					
51	3 / 7					
52	15 / 20					
53	3 / 10					
99	0.1 / 1					
100	0.5 / 35					
54	1 / 60					
55	5 / 12					
56	0.5 / 10					
123	100 / >100					
57	14 / 100					
124	- / 0					
125	- / 100					
126	- / 0					
111	50 / 100					
58	5 / 10					
59	2 / 6					
60	15 / 15					
61	0.3 / 4					
62	2 / 45					
63	1 / 8					
127	0.02 / 5					
128	0.02 / 10					
112	70 / >100					
103	0.02 / 2					
113	1 / 100					

65	25 / 75					
114	1 / 80					
129	1 / 100					
115	0.5 / 5					
116	0.5 / 15					
130	0.7 / 20					
66	0.3 / 100					
67	48 / >100					
68	100 / >100					
69	71 / >100					
70	2 / 65					
117	8 / 70					
71	0.1 / 0.1					
72	0.5 / 12					
131	>100 / >100					
132	3 / 3					
133	22 / >100					
104	0.4 / 12					
105	<0.1 / 1					

实施例 30

抗增殖分析-氧依赖性

[0413] 为了确定氨基磷酸酯烷化剂前体药物的氧依赖性，如前所述(参见实施例 29)，在基于多孔 Alamar Blue 的分析中检测这些化合物的抗增殖活性。在测试前一天，将 NCI-H460 细胞(ATCC HTB-177, RPMI 培养基(Gibco))或 HT29 细胞(ATCC HTB-38, RPMI 培养基(Gibco))以 20,000 细胞/孔/500 μ l 培养基，接种于位于 24 孔平板中的玻璃插入物中。将细胞在 Bactron II 厌氧培养室中培养 2 小时，该厌氧培养室用期望氧浓度的气体冲洗，期望氧浓度从缺氧、0.1%、0.3%、0.6%、1%、10%氧气到空气。计算的 IC₅₀ 值(μ M)列在下面的表 Y1(H460 细胞)或表 Y2(HT29 细胞)中。

表 Y1: H460 细胞中的 IC₅₀ 值(μ M)

化合物	N ₂	0.1% O ₂	0.3% O ₂	0.6% O ₂	1% O ₂	10% O ₂	空气
1	0.3		10	7	50		100
23	0.05	5		6	5		5

5	0.03	1		1	10	5	40
36	1	30		60	60	>100	>100
16	0.3	10		10		100	>100
25	0.1	1	3	5	10	25	55
26	0.3	3		6	5	10	40
10	>100	>100		>100	>100		>100
24	0.007			0.85			>1
34	0.01		1				5
35	0.05		6	5	40		50
84	0			3			40
119	0.3			>100			>100
37	0.5			25			>100
88	0.03		0.5	0.2			0.5
38	0.4			45	>100		
106	0.1			0.7			4
108	1			>100			>100
109	0.3			10			15
110	0.3			3			25
44				45			>100
46				50			100
47				60			100
97	0.006			0.01			0.02
49				100			100
50				3			3
98				0.5			2
51				7			7
52				10			20
53				5			10
99				0.5			1
100	0.5			10			35
54	1			30			60

55	5			8			12
56	0.5			8			10
123	>100			>100			>100
61	0.3			4			4
62	2			30			45
63	1			15			8
127	0.02			1			5
128	0.02			1			10
113	1			>100			>100
114	1			5			80
66	0.3			20			100
70	2			30			65

表 Y2: HT29 细胞中的 IC₅₀ 值(μ M)

化合物	N ₂	0.1% O ₂	0.3% O ₂	0.6% O ₂	1% O ₂	10% O ₂	空气
25	2			25			>100

实施例 31

产克隆分析-氧依赖性

[0414] 为了确定氨基磷酸酯烷化剂前体药物的氧依赖性, 进行产克隆存活分析。在化合物测试前 2 天, 将细胞铺于 60mm 玻璃皿中(在 5mL 培养基中每个皿中 5×10^5 个细胞)。检测下列细胞系: NCI-H460 细胞(ATCC HTB-177, RPMI 培养基(Gibco))、HT29 细胞(ATCC HTB-38, RPMI 培养基(Gibco))、PC3 细胞(ATCC CRL-1435, Ham's F12K 培养基(ATCC))。在测试之前即刻在完全培养基中制造测试化合物的溶液, 并且直接加入到细胞中(2mL 体积)。通过将玻璃皿暴露于 Bactron II 厌氧培养室中或铝容器中(参见实施例 33)两小时, 实现缺氧或低氧(在 200ppm O₂ 以下)。对于厌氧培养室, 通过在实验之前用预先标定的气体冲洗厌氧培养室, 实现在 200ppm 和空气之间的期望水平的加氧作用。对于铝容器, 在 37°C 水浴中, 在摇动平台上, 通过将预先加热的、气密的铝固定装置(jig)中的玻璃皿暴露于一系列 5 次迅速抽空(rapid evacuation), 并且用 95%氮气和 5%二氧化碳冲洗(对照样品也进行冲洗), 实现缺氧或低氧。在第五次抽空和冲洗后, 摇动平台(其具有水浴和固定装置)5 分钟, 然后施行再一次抽空和冲洗, 将固定装置转移到 37°C 培养箱的摇床上, 进行剩余的 1 到 2 小时的药物暴露。通过改变抽空程度和次数, 达到 200ppm 和空气之间的加氧水平。使用特别修改的便于监控气相和液相的铝固定装置中的氧电极(Anima, Phoenixville, PA), 检测培养基和气相中的氧浓度。在暴露于

药物之后，从培养箱或铝容器移走玻璃皿，并且通过用培养基冲洗将药物从细胞洗掉。然后胰酶消化细胞，并将细胞铺板，以在塑料皮氏培养皿中进行产克隆存活。10到14天后，用结晶紫(在95%乙醇中0.25%)对培养皿染色，计数含有超过50个细胞的群落(参见实施例33)。计算测试化合物的90%生长抑制浓度(IC₉₀, 90%杀死, 10%存活)，并将它们列在下面的表Y3中。

表 Y3: IC₉₀ 值(μM)

化合物 (细胞系)	N2	0.1% O2	0.6% O2	空气
23 (H460)	0.3		0.6	5
25 (H460)	0.1	0.4	5	30
25 (HT29)	0.2		3	40
25 (PC3)	0.3			50
24 (H460)	0.07		0.25	14
35 (H460)	0.5		3	30
37 (H460)	0.2		5	90
70 (H460)	2		8	20

实施例 32

电化学

[0415] 为了确定氨基磷酸酯烷化剂前体药物的电化学特性和还原电位，由 Bioanalytical Systems, Inc. 产生这些化合物的循环伏安图(cyclic voltammogram)。用玻璃化碳黑(3.0mm 直径)工作电极、Ag/AgCl 参比电极和铂线辅助电极，进行所有的实验。在加入 9mL 磷酸缓冲盐溶液(PBS)之后，将化合物溶于 1mL 甲醇中，制造在 0.5 至 1.5mM 之间的最终药物浓度。将溶液加入到电化学细胞小瓶中，并且用氩气喷射该溶液 5 分钟，以除去大部分的氧。在 100mV/sec 和 10,000mV/sec 扫描速率下，在玻璃化碳黑工作电极处，进行循环伏安法。以 CGME 汞电极(SMDE 模式中的 CGME, 150 μm 内径毛细管，体积为 8 液滴(size 8 drop))，进行一次测试试验，但是在汞和玻璃化碳黑伏安图之间只观察到很小差异，所以没有进一步使用汞电极。化合物的单电子或多电子还原电位以每一扫描速率产生，并且在下面的表中列出。

表：还原电位(mV)

化合物	100 mV/sec	10,000 mV/sec
1	-596	-638
5	-606	-634
36	-609	-634
25	-594	-626
24	-568	-636
34	-584	-663
78	-704	-746
82	-428, -610	-414, -769
88	-559	-629
108	-614	-593
103	-638, -769, -875	-756
2-NO ₂ - 咪唑	-634	-693
5-NO ₂ - 咪唑	-487	-638
4-NO ₂ - 苯	-712, -1106	-735, -1268

实施例 33

产克隆存活分析

[0416] 在如下的分析中检测本发明的氨基磷酸酯烷化剂前体药物。将指数生长的人 H460 细胞(从 ATCC 获得)以每板 2.5 至 5×10^5 之间的密度接种于 60mm 具缺刻的玻璃板中, 并且在开始药物治疗之前, 将细胞在补充有 10%胎牛血清的 RPMI 培养基中生长 2 天。在检测那天, 在完全培养基中制备已知浓度的药物原液, 并且每块平板加入 2ml 需要的原液。为了达到在周围气相和液相之间的完全平衡, 除去玻璃平板的盖子并且将平板在轨道摇床上摇动 5 分钟。复原平板, 并且将其储存于无菌隔离罩(或手套箱)内。将无菌隔离罩抽空, 并且用标定的缺氧气体混合物(95%氮气和 5%二氧化碳)或者用需氧(常氧)气体混合物(95%空气和 5%二氧化碳)进行气体处理。然后在 37°C 下用药物培养细胞 2 小时。

[0417] 在前体药物治疗的最后, 将平板从每个容器中移出, 并将前体药物从细胞迅速除去。用磷酸缓冲盐溶液和胰蛋白酶-EDTA 溶液洗涤平板, 然后在 37°C 下胰酶消化 5 分钟。用培养基和血清中和脱离的细胞, 并且通过 $100 \times g$ 下离心 5 分钟进行收集。以大约 1×10^6 细胞/ml 将细胞再悬浮, 并且将其稀释 10 倍以产生用于铺板的原液浓度。每个原液的浓度通过用 Coulter Z2 颗粒计数器计数, 进行确定。将已知数量的细胞铺板, 并且将平板放置于培养箱 7 天到 10 天之间。用 95%乙醇和 0.25%结晶紫的溶液固定并染色集落(colony)。计数大于 50 个细胞的集落,

确定存活分数。

[0418] 基于 HT29 和细胞的产克隆分析以与上述和实施例 31 中描述的相同的方法进行。

[0419] 在低氧和常氧中, 通过如下方法确定化合物细胞毒性(表 1A 和 1B): 使用 H460 和 HT29 细胞系的产克隆分析, 如在实施例 31 和 33 中提供的, 并且表达为单位为 μM 的 IC_{90} ; 使用 H460, HT29, HCT116 和 DX-5 细胞系, 通过修改 Hay 等, *J. Med. Chem.*, 2003, 46:169-82 描述的多孔分析, 进行抗增殖分析, 并且表达为单位为 μM 的 IC_{50} (参见实施例 29)。在常氧和低氧中确定的 IC_{50} 或 IC_{90} 的比率被称为低氧细胞毒性比(HCR), 并且可作为本发明前体药物的低氧选择性细胞毒性的量度。

表 1A

Cpd #	logP	低氧		常氧		HCR	
		P	C	P	C	P	C
P3			0.25	10			40
P2		44.0		>100.0		>5	
S1		>40		>100		>3	
S2		7		>100		>14	
1		0.4	0.35	72.0	75.0	180	200
2		8		>100		>12	
3		>20		>100		>5	
4		40		>100		>2	
5	1	4.5		3.5		1	
6	0.9	0.7		>100		>140	
P22		4.5		3.5		ca. 1	
7	1.4	0.14		25		180	
8		0.01		0.6		60	
9		>10		>100		>10	
10		100		>100		>1	
11		5.2		>100		>20	
12		1.7		>100		>50	
14		8.5		>100		>12	
15		0.08		1		12	
16	0.5	1.6	0.2	100	35	60	175
17		1		9		9	
18		3.4		9		3	
20		1		8.5		8	
21		0.25		7.8		26	
22		0.7		16		23	

外温育 22 小时。胰酶消化细胞，离心，并且在-20℃下，在 75%乙醇中固定至少 24 小时。使用 Guava 细胞周期试剂(Guava, Hayward, CA)，通过流式细胞仪(Guava, Hayward, CA)确定细胞周期分布。数据显示，在多种人癌细胞系中，化合物 25 诱导细胞周期以氧-依赖性和浓度-依赖性的方式停止。

H460 细胞

μM		G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
0	空气	56	12	30
	氮气	59	11	26
0.005	空气	38	18	42
	氮气	50	12	38
0.05	空气	58	11	28
	氮气	30	7	59
0.5	空气	58	11	28
	氮气	23	31	40
5	空气	42	6	59
	氮气	47	15	17
50	空气	14	19	65
	氮气	33	14	11

PC3 细胞

μM		G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
0	空气	54	13	33
	氮气	60	12	28
0.0005	空气	55	12	32
	氮气	59	10	31
0.005	空气	52	13	34
	氮气	56	11	32
0.05	空气	55	12	33
	氮气	43	12	44
0.5	空气	55	13	32
	氮气	21	33	46
5	空气	55	12	32
	氮气	35	38	26

HT29 细胞

μM		G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
0	空气	50	14	36
	氮气	47	13	39
0.005	空气	52	12	35
	氮气	46	14	40
0.05	空气	50	15	35
	氮气	37	11	52
0.5	空气	48	14	37
	氮气	8	8	84
5	空气	47	13	39
	氮气	14	50	36
5	空气			
	氮气			

实施例 35

球状体模型

[0421] 两种人癌细胞系被用于这些球状体研究，以确定低氧活化氨基磷酸酯烷化剂前体药物的功效。将 HT29 结直肠腺癌(colorectal adenocarcinoma)(结肠癌)细胞以 10,000 细胞/mL 直接接种入 125ml 旋转瓶中，在补充有 10%FBS 和抗生素的 RPMI 培养基中生长。当这些细胞分裂时，它们彼此吸附，形成球状体。将 H460 肺癌细胞接种于非粘附表面包被的瓶中以形成小的细胞球，该小的细胞球可接种于旋转瓶。为了开始 H460 细胞接种，将 150cm² 组织培养瓶用 1%琼脂包被，然后每瓶加入 10,000 细胞，使其在补充有 10%FBS 和抗生素的 RPMI 培养基中生长 3 到 5 天，然后接种入旋转培养瓶。对于两种细胞系，在球状体可以用眼睛看到后，每天更换生长培养基。

[0422] 为了确定完整球状体中低氧区的形态和位置，制备所有球状体进行组织学研究。对于冷冻的部分，在磷酸缓冲盐溶液(PBS)中洗涤完整球状体，并且将其嵌入 OCT，在干冰/2-甲基丁烷溶液中迅速冷冻，然后储藏于-80℃。对于包埋于石蜡的部分，将完整球状体固定在新鲜制备的 4%的低聚甲醛 PBS 溶液中，接下来进行包埋和切片。

[0423] 为了评估氨基磷酸酯烷化剂前体药物渗透到内部低氧癌细胞、活化、释放氨基磷酸酯烷化剂和杀死那些内部癌细胞的能力，测量暴露于药物 2 小时的球状体的产克隆存活率。

[0424] 将球状体放置于新的生长培养基中，并且在开始实验之前温育至少一小时。通过一系列限定大小的无菌筛孔滤器(mesh filter)过滤球状体培养物，分离在 500 至 600 μM 之间的球状体。将 10 至 20 之间的球状体放置于硅化具缺刻的 60mm Pyrex 皿上，在具有需要浓度检测化合物的 3mL 培养基中。将这些皿放置于密封的铝容器中，并且进行一系列抽空，以及用含有 5%CO₂ 和限量 O₂(0% O₂、

3% O₂、10% O₂或空气)的标定气体进行气体处理。将球状体培养在摇动水浴中 2 小时, 以确保溶解 O₂ 在溶液中的平衡和溶液中球状体的完整性。将检测化合物除去, 并且洗涤球状体, 然后用胰蛋白酶完全消化。因为坏死核含有细胞碎片, 需要用 DNase I 处理以产生均匀的单个细胞悬液。以 10⁶/mL 将细胞重悬浮, 并且铺板以测量产克隆存活率。

[0425] 在氮气、0.6% O₂或空气下, 在单层细胞中进行最初的剂量反应实验, 以确定从氨基磷酸酯烷化剂前体药物释放的氨基磷酸酯烷化剂的适当的剂量范围和氧依赖性。产克隆存活率是终点, 并且通过 IC₉₀或 C₉₀值(杀死 90%细胞并且产生 10%存活所需要的抑制浓度)总结数据。柔红霉素和顺铂——它们中的每一个以不同程度渗透入球状体, 被用来杀死球状体外部的需氧癌细胞。由于其对细胞很高的亲和性, 柔红霉素被用来渗透入多层细胞球状体的外层, 而以适合仅杀死外部需要癌细胞的剂量使用顺铂。作为由于高反应性和低渗透性而杀死低氧下单层培养物中细胞但是不杀死多层细胞培养物中细胞的生物还原药物对照, 替拉扎明 (Tirapazamine)被用于基于单层的实验中和球状体中, 如下面对于暴露 2 小时的 H460 细胞所列出。

暴露的 H460 细胞作为单层或球状体的 IC₉₀ 值

药物	单层			球状体 10% O ₂
	N ₂	0.6% O ₂	空气	
顺铂	4.2μM	7.7μM	7.3μM	8.0μM
柔红霉素	0.16μM			19μM
替拉扎明	14μM	27μM	>100μM	>200μM

[0426] 在球状体中, 检测一系列氨基磷酸酯烷化剂前体药物, 以确定它们渗透入位于内部的低氧癌细胞、活化和杀死低氧细胞的能力。结果在下面列出。

将 H460 细胞作为单层或球状体暴露于氨基磷酸酯前体药物 2 小时的 IC₉₀ 值

化合物	单层			球状体 10% O ₂
	N ₂	0.6% O ₂	Air	
25	0.1 μM	0.6 μM	20 μM	15 μM
24	0.07 μM	0.25 μM	4 μM	3 μM
97				13 μM
70	1.25μM			25.5 μM
1	0.35 μM		75 μM	>>100 μM
36	1 μM		100 μM	>>100 μM
35				22 μM

[0427] 化合物 25 功效的相似结果在 HT29 球状体中示出, 如下面列出的:

药物	单层			球状体 10% O ₂
	N ₂	0.6% O ₂	空气	
25	0.2μM	3μM	40μM	29μM

[0428] 将氨基磷酸酯烷化剂前体药物与顺铂或柔红霉素同时组合，将球状体暴露于该组合 2 小时，然后测量产克隆存活率。结果在下面列出：

化合物	IC ₅₀ (μM)
柔红霉素	17
化合物 25	9
柔红霉素+化合物 25	2.3

化合物	IC ₅₀ (μM)	IC ₉₉ (μM)
顺铂	14	
化合物 25	12	
顺铂+化合物 25	2.3	5.4

[0429] 氨基磷酸酯烷化剂前体药物显示了渗透入球状体中内部细胞和单独以及与其它靶向需氧癌细胞的药剂联合以杀死低氧癌细胞的能力。

实施例 36

抗增殖分析-DNA 突变体修复细胞

[0430] 从 ATCC 得到特异性 DNA 修复途径的中国仓鼠卵细胞突变体。用 2,500 或 3,000 细胞/孔/500μL 补充有 10% 胎牛血清和抗生素的 Dulbecco's Modified Eagle 培养基(Gibco)，检测下面的细胞系：AA8 细胞(ATCC CRL-1859)、EM9 细胞(ATCC CRL-1861)、UV41 细胞(ATCC CRL-1860)、UV135 细胞(ATCC CRL-1867)、IRS1SF 细胞。最初用抗增殖分析筛选所有细胞系，用产克隆分析(如先前描述)重新检测表现敏感性的那些细胞系，以证实增殖结果。在低氧或需氧条件下，将细胞暴露于选定剂量的本发明氨基磷酸酯烷化剂前体药物中 2 小时，除去检验化合物，并分析细胞。下表列出了细胞系、突变途径和特异性基因缺陷：

细胞系	突变体途径	基因缺陷
AA8	没有(野生型)	(没有)
EM9	碱基切除修复	XRCC1
UV135	核苷酸切除修复	XPG
UV41	核苷酸切除修复和同源重组	XPF
Irs1SF	同源重组	XRCC3

[0431] 下表列出在缺氧或需氧条件下将各种细胞系暴露于化合物 25 和 36 的影响, 如通过 IC₅₀ 测量的增殖所分析。

化合物	AA8(缺氧/ 空气)	EM9(缺氧/ 空气)	UV41(缺氧/ 空气)	UV135(缺 氧/空气)	IRS1SF(缺 氧/空气)
36	2/>100	4/>100	0.03/20	2/>100	0.3/59
25	8/>100	7/>100	0.2/95	6/>100	2/>100

[0432] 下表列出在缺氧或需氧条件下将选择的细胞暴露于化合物 25 的产克隆存活率的 IC₉₀ 值。

细胞系	IC ₉₀ (μM)	
	N ₂	空气
AA8	0.85	>300
UV41	0.02	17
Irs1SF	0.02	20

[0433] 低氧下仅在同源重组中有缺陷的细胞系对化合物敏感。因为 UV41 涉及核苷酸切除修复途径以及同源重组修复途径, 化合物 25 也可能产生明显数量的一元加成物。然而, 也涉及核苷酸切除修复的 UV135 对化合物 25 不敏感。化合物 25 产生的主要损伤是 DNA 链间交联。用产克隆分析, 在 UV41 和 irs1SF 细胞中证实了这些结果。需氧条件下的暴露产生与低氧下所见的相同的敏感谱, 这表明需氧细胞毒性也由 DNA 链间交联形成所引起。在突变细胞系, 化合物 36 表现了相似的敏感模式(pattern of sensitivity), 这表明化合物 36 也产生 DNA 链间交联。

实施例 37

多层细胞培养物分析

[0434] 该实施例表示化合物 25 对使用多层细胞培养物(MCC)的组织渗透的影响, 并且评估任何旁观者效应。用氧合培养基(20% O₂ 和 5% O₂)或低氧培养基(大约 0% O₂)培养 MCC, 并且从一侧(暴露的表面, 常氧侧)暴露检测化合物, 而另一侧被暂时隔离(远侧, 低氧侧)。当 MCC 在 20% O₂ 或 5% O₂ 的培养基中培养时, 从暴露于培养基的表面到培养物的远侧表面的氧梯度形成。最远 50μm 的组织耗空了氧。在用 5% O₂ 处理的培养基中 O₂ 的耗空程度比用 20% O₂ 处理的培养基中 O₂ 的耗空程度大; 用 5% O₂ 培养最接近地反应了体内环境。用 0% O₂ 培养基培养 MCC 模拟了灌注有限的低氧, 其中肿瘤血管完全耗空了氧, 检测化合物必须渗透极大的距离到达所有细胞。因此, 如果活化药物的结合起着限制其渗透的作用, 这种情况对药物渗透具有更大的障碍。

[0435] 在用检测化合物培养之前和用检测化合物培养期间, 使用用 0.5 或 20%

O₂ 气体处理的培养基进行基于 MCC 的实验 45 分钟。在固体支持体上将 HCT116 细胞生长为 150 μ m 的厚度，培养物的一侧被夹紧，以形成扩散有限的低氧。在 0% O₂、5% O₂ 或 20% O₂ 下，将培养物暴露于检测化合物 1 小时，通过测量 BrdU 并入的抑制，评估功效。在新鲜培养基中，在 20% O₂ 下将培养物再培养 1 小时，从设备移走培养物，将培养物回到正常生长培养箱——这里培养基流过 MCC 的两侧。在 BrdUrd 标记和接下来的冷冻切片之前，将培养物培育 24 小时。使用免疫组织化学染色、显微镜成像和计算机图像分析分析，分析在 MCC 上暴露侧和远侧上的 BrdUrd 标记，以评估化合物 25 对细胞增殖的影响。

[0436] 当在 20% O₂ 下，将培养物暴露于化合物 25 的分次剂量(graded dose)时，与暴露侧(常氧)相比，远侧(低氧)需要的化合物少 5 倍，以产生相当的结果，这显示了化合物 25 的渗透和低氧活化。当在含有 5% O₂ 的更加生理相关的条件下，将 MCC 暴露于检测化合物时，化合物 25 抑制 BrdU 并入低氧侧比抑制 BrdU 并入常氧侧有效 10 倍。在 5% 和 20% O₂ 下，培养物的常氧侧通过暴露于化合物 25，受相同的影响。

[0437] 在 5% O₂ 下化合物 25 对培养物的低氧侧比在 0% O₂ 下化合物 25 对培养物的低氧侧更有效。在 5% O₂ 下，培养物常氧侧与低氧侧的比较表明，化合物 25 更有效地渗透穿过氧合相对完好的组织。化合物 25 能杀死位于距功能性血管大约 150 μ m 处的低氧细胞。相对于暴露于 5% O₂ 条件，在 0% O₂ 条件下观察到将低氧侧暴露于化合物 25，减少大约 3 倍。仅在最高的浓度，观察到旁观者效应。

[0438] 下表列出暴露于化合物 25 的分次剂量的影响，如 IC₅₀(抑制 50% 的 BrdU 并入的浓度)所测量。

侧	0% O ₂ (μ M)	5% O ₂ (μ M)	20% O ₂ (μ M)
低氧	~1.1	0.7	2.6
常氧	~1.7	8.0	>10

实施例 38

人和小鼠微粒蛋白对化合物 25 的代谢

[0439] 使用含有细胞色素 P450 酶的人(HLM)、大鼠(RLM)和小鼠(MLM)肝脏微粒蛋白，施行氨基磷酸酯烷化剂前体药物(化合物 25)的代谢能力的体外评估。通过在水:甲醇盐桥溶液中将 DMSO 原液溶液稀释 100 倍、将微粒蛋白(1mg/mL)加入 PBS/MgCl₂ 中和通过加入 NADPH 溶液引发的酶促反应，制备化合物 25(500 μ L, 5 μ M)的溶液。在加入 NADPH 溶液后 0、10、20 和 30 分钟，吸取 50 μ L 反应混合物，用乙腈沉淀蛋白质，并通过反相 LC-MS/MS 分析透明上清液中的化合物 25 量。硝苯吡啶和睾酮被用作阳性对照。第一研究对比 RLM 和 MLM(表 1)，第二研究对比 HLM 和 RLM(表 2A 和 2B)。

表 1

化合物	代谢稳定性(%，在 30 分钟时)	
	RLM	MLM
25	84%	89%
硝苯吡啶	6%	4%
睾丸素	0%	6%

表 2A

化合物	代谢稳定性(%，在 30 分钟时)	
	HLM	RLM
25	127%	137%
硝苯吡啶	22%	2%
睾丸素	65%	33%

表 2B

化合物 编号	代谢稳定性 (MLM) (% 30 分钟时)	血浆稳定性 (% 30 分钟时)	MTD (mg/ml)	小鼠静脉内注射					小鼠腹腔内注射		
				t 1/2 (hr)	Cmax (µg/ml)	AUC (µg/ml x hr)	Vss (l/kg)	CL (ml/min /kg)	t 1/2 (hr)	Cmax (µg/ml)	AUC (µg/ml x hr)
1	90	100		0.26	35	12.5	1.48	4.0	0.25	29.9	
5	5 (20)	100 (85)		0.08	16.9	4.5	1.25	185		3	1.0
6	0	60	250								
7	0	85	250								
16	40										
23	71	84		0.15	7.8	2.3	3.3	368	0.16	8.5	3.5
25	92	102 (在 20 min)		0.11 (6.7 min)	27.5				0.18 (11 min)	22.9	
26	56	85									
34	28	85 (在 20 min)									
35	56	85									
36	90	60	400	0.24	27.7	10.8	1.27	77.4	0.18	44	26.1

实施例 39

氨基磷酸酯烷化剂前体药物的体内药物动力学

[0440] 氨基磷酸酯烷化剂前体药物的各种血浆药物动力学参数在 CD-1 小鼠中确定, 除了在下面表 3 中注明的。

表 3

药物 (mg/kg)	剂量 (mg/kg)	途径	制剂	T _{max} (min)	C _{max} (μg/mL)	AUC (μg-h/mL)	半衰期 (min)
23	50	i.p.	25%PEG/75% 盐水	5.00	8.50	210	9.60
23	50	i.v.	25%PEG/75% 盐水	5.00	7.80	136	8.87
36	50	i.p.	25%PEG/75% 盐水	15.0	44.0	1439	11.0
36	50	i.v.	25%PEG/75% 盐水	5.00	27.7	646	14.1
1 ^a	50	i.p.	25%PEG/75% 盐水	15.0	29.9	-	-
1 ^a	50	i.v.	25%PEG/75% 盐水	5.00	35.0	12.5	15.3
5	50	i.p.	25%PEG/75% 盐水	5.00	3.00	57.4	2.56
5	50	i.v.	25%PEG/75% 盐水	5.00	16.9	270	4.67
37	20	i.p.	聚乙烯蓖麻油:乙醇:盐水 (1:2:7)	2.00	12.6	196	23.2
37	20	i.v.	聚乙烯蓖麻油:乙醇:盐水 (1:2:7)	2.00	15.0	172	9.00
85	25	i.p.	10% PEG	5.00	3.93	89.1	10.0
128	25	i.p.	10% PEG	5.00	3.85	102	8.31
24	50	i.p.	盐水	5.00	7.60	64.0	4.10

^aBalb/c 小鼠

实施例 40

化合物 25 的体内药物动力学

[0441] 化合物 25 的多种血浆或肿瘤药物动力学参数在 CD-1 小鼠中确定, 除了在下面表 4 中注明的。

表 4

剂量 (mg/kg)	途径	制剂	T _{max} (min)	C _{max} (μg/mL)	AUC (μg-h/mL)	半衰期 (min)	F ^c (%)
150 ^a	i.p.	盐水	5.00	90.1	1239	58.7	-
150 ^{a,b}	i.p.	盐水	15.0	3.38	307	ND	-
100	p.o.	盐水	15.0	15.8	784	95.2	-
50	i.p.	30% PEG/70% 盐水	5.00	22.9	438	11.0	-
50	i.v.	30% PEG/70% 盐水	2.0	27.5	325	6.7	-
50	i.p.	30% PEG/70% 盐水	15.0	9.2	-	-	-
50	i.v.	30% PEG/70% 盐水	2.0	27.5	177	10.1	-
50	i.p.	盐水	5.00	38.5	635	7.91	-
50	p.o.	盐水	15.0	0.93	40.4	25.7	13.6
25	i.p.	10% PEG	45.0	6.33	247	4.43	-

^a 具有 H460 肿瘤的裸鼠

^b 肿瘤 PK

^c 生物有效度

实施例 41

细胞色素 450 抑制化合物 25 的代谢

[0442] 含有 100 μ L 溶液的 8 个反应孔——所述溶液含有 pH 7.4 的 50mM 磷酸钾、2.6mM NADP⁺、6.6mM 葡萄糖-6-磷酸、0.8U/mL 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶和检测化合物(例如化合物 25)的 1:3 连续稀释液——和适当阳性对照抑制剂(例如对于 CYP1A2 用呋拉茶碱, 对于 CYP2C9 用磺胺苯吡唑、对于 CYP2C19 用 N-苄基尼凡诺, 对于 CYP2D6 用奎尼丁和对于 CYP3A4 用酮康唑)的 1:3 连续稀释液的 8 个孔被一起制备。检测化合物的浓度范围从 0.0229 μ M 到 200 μ M。通过加入 100 μ L 预热的酶/底物溶液开始反应。在 0 时刻点, 通过加入 50mL、10%的甲酸(对于 2C19, 用 400mL 乙腈)水溶液到 100mL 协同因子溶液中以使酶失活, 然后加入 100mL 酶/底物溶液, 制备对照反应。也制备不含抑制剂的对照反应。在 37 $^{\circ}$ C 下, 适当温育后, 通过加入 50mL、10%甲酸水溶液(对于 2C19, 用 400mL 乙腈)中止反应。制备反应并且使用 HPLC/MS/MS 分析反应的探针底物(对于 CYP1A2 为非那西丁, 对于 CYP2C9 为双氯芬酸、对于 CYP2C19 为(S)-美芬妥英, 对于 CYP2D6 为右美沙芬和对于 CYP3A4 为咪达唑仑、睾丸素和硝苯地平)的代谢形式。每一个分析进行两遍。IC₅₀ 值的总结在下面列出。

表 5

同工型(Isoform)	IC ₅₀ (mM)	
	对照	化合物 25
1A2	8.6	NI
2C9	0.20	~10
2C19	6.0	NI
2D6	0.21	>50
3A4 咪达唑仑	0.049	>50
3A4 硝苯地平	0.03	NI
3A4 睾丸素	0.10	>50

NI=没有检测到明显抑制

实施例 42

在小鼠、大鼠、狗和人肝细胞中形成的化合物 25 的潜在代谢物的确定

[0443] 10 μ M 浓度的化合物 25 与小鼠、大鼠、狗、猴和人冻存肝细胞一起温育。通过用乙腈淬灭, 反应在 0(预培育)、30、60 和 120 分钟停止, 然后离心, 并且通过高效液体色谱仪(HPLC)结合串联质谱仪(LC/MS/MS)进行分析。通过进行从

100 到 520amu 的全扫描，鉴别潜在的代谢物。接下来收集可能代谢物的产物离子谱，并且与母体化合物的产物离子谱对比，以确定每一可能代谢物是否与化合物 25 相关。通过对比获得的每一时间点的峰高度，监控随着时间母体化合物(化合物 25)的消失和可能代谢物的出现。

实施例 43

大鼠、狗和猴中化合物 25 和其代谢物（一种或多种）的体内药物动力学确定 [0444] 在 Sprague Dawley 大鼠中，单一静脉内施用 5、20、50 和 100mg/kg 化合物 25 后，确定化合物 25 和其代谢物（一种或多种）的药物动力学参数。也将在毕尔格猎犬和猕猴(cynomologus monkey)中，单一静脉内施用 20mg/kg 化合物 25 之后，确定化合物 25 和其代谢物（一种或多种）的药物动力学。通过 LC/MS/MS 方法，确定血浆中化合物 25 和其代谢物（一种或多种）的浓度，并且计算平均的药物动力学参数。

实施例 44

大鼠中的质量平衡研究

[0445] 将 ^{14}C -化合物 25 作为单一静脉内药剂，施用给正常和胆汁插管的 Sprague-Dawley 大鼠。在规定时间收集血浆、尿和大便，通过液体闪烁计数(LSC)确定总的放射性浓度。

实施例 45

定量的全身放射自显影

[0446] 将 ^{14}C -化合物 25 的单一静脉内药剂，施用给 Sprague-Dawley 大鼠。在规定时间，在每一时间点使一只大鼠安乐死。离心血液以得到血浆，并且分析血液和血浆的放射性浓度。将冷冻大鼠尸体包埋于 2% CMC 中，冷冻成块，并且在 Leica CM 3600 冷冻切片机中切割成 40 μm 片。将收集的切片冷冻干燥，与 ^{14}C 放射自显影标准一起安装和暴露于感光成像平板上， ^{14}C 放射自显影标准用于接下来的图像分析软件校准。使用 Molecular Dynamics Storm 820 或 860 扫描暴露的屏幕(screen)。通过图像分析，测量含有脂肪(棕色和白色)、肾上腺、血液、脑(大脑、小脑、髓质)骨、骨髓、盲肠和内含物、附睾、食道、眼球(葡萄膜、房水、晶状体)、哈氏腺、心脏、肾脏(皮层、髓质、乳突和完整切片)、大肠和内含物、肝脏、肺、颌下淋巴结、胰脏、垂体、前列腺、唾液腺、精囊、骨骼肌、皮肤、胃(和内含物)、小肠(和内含物)、脾脏、脊髓、气管、甲状腺和膀胱(和内含物)的选择组织中的放射性的浓度。对于每一动物，得到放射自发光图片和数字图像。

实施例 46

化合物 25 的血浆蛋白结合

[0447] 使用超滤，确定化合物 25 在小鼠、大鼠、狗、猴和人血浆中的蛋白结合。通过将以 3 种浓度掺加有化合物 25 的血浆等分加入 Centrifree® 仪器，一种三份，进行超滤。然后，将所有血浆样品平衡到 37°C。在 37°C 下，以 2500 x g，离心 Centrifree® 仪器 30 分钟。将超滤液的 75 μ L 等分液掺加入 I.S.(氘化化合物 25)，并且用 LC/MS/MS 分析。使用用于校正曲线的人超滤液标准分析和定量超滤液。

实施例 47

[0448] 实施例 47 使用 HT-29 人结肠癌异种移植小鼠模型，表明了本发明的化合物治疗癌症的有效性。

[0449] 使 7-8 周大的雌性 CB17/SCID 小鼠(购自 Charles River, Cambridge, MA) 适应至少 3 天，并在无病原体的条件下进行处理。从 American Type Culture Collection 得到人结肠癌细胞系 HT-29。将细胞系在补充 10%胎牛血清的 RPMI1640 培养基中培养。将细胞保持在 37°C 含有 5% CO₂ 的培养箱中。从培养物收获 HT-29 细胞，并且以 3 \times 10⁶ 细胞/动物接种于腹膜皮下空间。当肿瘤长到 100mm³ 的平均体积(第 8 天)时，给予 10 只小鼠的每组如下物质 3 周：仅给载体(组 1, 盐水和 PEG(每只 10mL/kg))；以 20、60 或 200mg/kg 日剂量(分别为组 2、组 3 和组 4)仅给化合物 36(溶解在 30%环式糊精的 PBS 中)；和在给予 10mg/kg 5FU(盐水中)2-3 小时后，以 20、60 和 200mg/kg 日剂量(分别为组 5、组 6 和组 7)给予化合物 36，并且与仅以 10mg/kg 接受 5FU 的组(组 8)进行比较，如在下面列出的。

[0450] 每周记录每只鼠的体重两次。通过使用数字测径器，每周两次外表上测量肿瘤的二维，监控每个异种移植的生长。通过下面的方程确定肿瘤体积(V)： $V=(L\times W^2)/2$ ，其中 L 是异种移植物的长度，W 是异种移植物的宽度。每周测量两次肿瘤体积。

[0451] 以 20、60 和 200 mg/kg/天施用化合物 36，与单独施用载体相比，每种剂量都减少了肿瘤生长。与施用载体相比，施用化合物 36 和 5FU 组合，导致对肿瘤生长的更大的和剂量相关的抑制。另外，60 和 200mg/kg 化合物 36 的组合减少了肿瘤生长，其减少程度大于单独给予 5FU。

组	治疗(mg/kg)	相对抑制%	
		组 1	组 8
2	20	34.6	-
3	60	16.1	-
4	200	20.2	-
5	20+5FU	35.7	3.3
6	60+5FU	46.9	13.3
7	200+5FU	58.2	23
8	5FU	38.7	-

[0452] 与这些抗肿瘤效果相关, 存在一定程度的体重减轻和偶然的死亡率, 特别是在那些用高剂量化合物 36 治疗的组中, 但是在其它组中也存在。总之, 化合物 36 显示出抑制肿瘤生长的不同速率。

实施例 48

[0453] 实施例 48 使用 NCI H460 人结肠癌异种移植物小鼠模型, 表明本发明的化合物治疗癌症的有效性。

[0454] 使 7-8 周大的雌性 CB17/SCID 小鼠(购自 Charles River, Cambridge, MA) 适应至少 3 天, 然后在无病原体的条件下进行处理。从 American Type Culture Collection 得到人结肠癌细胞系 NCI H460。根据实施例 47 中描述的过程, 培养和收获细胞系, 并且以 1×10^6 细胞/动物接种于腹膜皮下空间。当肿瘤长到 100mm^3 的平均体积(第 8 天)时, 每组小鼠给药 3 周, 如下表列出: 化合物 25(10%PEG 中 2.5mg/ml, 给药途径—腹膜内注射)和紫杉醇(5% EtOH、5% Cremophor(聚乙烯蓖麻油)和 90%盐水中 1mg/ml; 给药途径—在施用化合物 25 后 2 小时静脉内注射)。如在上面实施例 47 中的描述, 测量体重和肿瘤体积。

治疗方案

组(n=10)	治疗	剂量(mg/kg)	方案
1a*	不适用(NA)	NA	NA
1b*	盐水	NA	(q1d×5)/周×2周
2	载体	NA	(q1d×5)/周×2周
3	化合物 25	25	(q1d×5)/周×2周
4	化合物 25	50	(q2d×3)/周×2周
5	化合物 25	100	(q7d×1)/周×2周
6	紫杉醇	NA	(q2d×3)/周×2周
7	化合物 25	25	(q1d×5)/周×2周
	紫杉醇	10	(q2d×3)/周×2周
8	化合物 25	50	(q2d×3)/周×2周
	紫杉醇	10	(q2d×3)/周×2周
9	化合物 25	100	(q7d×1)/周×2周
	紫杉醇	10	(q2d×3)/周×2周

组 1a 和 1b, n=5

q1d/qd=每天; q2d=每第二天; q7d=每第 7 天

[0455] 当载体治疗的小鼠已经达到 946mm^3 的体积, 基于第 29 天测量的肿瘤体积的结果在表 X2 中呈现。加入接受盐水或不治疗的 5 只小鼠的组, 以便表示任

何载体的影响，但是不用于这些分析的比较。

组	相对抑制%	
	组2	组6
3	50.1	-
4	52	-
5	46.7	-
7	65.9	38.8
8	63.1	31.7
9	52.6	12.5
6	46	-

[0456] 结果表明，给药化合物 25 的所有三个方案提供相似的肿瘤生长抑制程度，而且联合治疗特别是每天给药的联合治疗提供了额外的益处。每一联合治疗与一定程度的体重减轻相关，但是没有大到足以引起任何死亡。总之，结果表明，化合物 25 在肺癌的这个模型中是有效的，并且比由标准化疗剂紫杉醇所提供的，提供了额外的益处。

[0457] 使用小鼠向 HED 转化，对于治疗癌症，特别是肺癌，以大约 2 到大约 8mg/kg/天的治疗有效剂量，单独或与 Taxol™ 联合，施用化合物 25，其中，与更低的剂量相比，对于更高的剂量，日剂量可以以降低的给药频率施用。

实施例 49

[0458] 实施例 49 描述了本发明的化合物治疗癌症的有效性，如使用 H460 非小肺癌异种移植小鼠模型所表明。使 7-8 周大的雌性 CB17/SCID 小鼠(购自 Charles River, Cambridge, MA)适应至少 3 天，然后在无病原体的条件下进行处理。从 American Type Culture Collection 得到人非小肺癌细胞系 NCI H460。如上面实施例 47 中描述的，培养和收获细胞系，并且以 3×10^6 细胞/动物接种于腹膜皮下空间。当肿瘤长到 100mm^3 的平均体积(第 8 天)时，每组小鼠(每组 10 只)给药 3 周，如下表列出：化合物 25(10%PEG 中 2.5mg/ml，施用途径—腹膜内注射)；化合物 24(10%PEG 中 0.3、0.1mg/ml，施用途径—腹膜内注射)和紫杉醇(5% EtOH、5% Cremophor 和 90%盐水中 1mg/ml；在施用检测化合物后 2 小时，静脉内注射施用)。

治疗方法

组	小鼠数量	治疗	剂量(mg/kg)	方案
1	10	载体*	NA	(q1d×5d)/周×3 周
2	8	紫杉醇	10	(q2d×3)/周×2 周
3	8	化合物 24	3	(q1d×5d)/周×3 周
4	9	化合物 24 紫杉醇	1 10	(q1d×5d)/周×3 周 (q2d×3)/周×2 周
5	8	化合物 24	3	(q1d×5d)/周×3 周

		紫杉醇	10	(q2d×3)/周×2周
6	8	化合物 25	25	(q1d×5d)/周×3周
		紫杉醇	10	(q2d×3)/周×2周

* -50% PEG

[0459] 如在上面实施例 47 中的描述，测量体重和肿瘤体积。第 27 天测量的肿瘤生长抑制的结果在下面列出。在第 27 天进行对比，因为那是载体组测量的最后一天而且那些动物已死亡。

组	相对抑制%	
	组1	组2
3	39.9	-
4	16	-32.7
5	51.5	23.3
6	56.8	31.7
2	36.7	-

[0460] 这些结果表明，3mg/kg 的化合物 24 和 25mg/kg 的化合物 25 的日剂量抑制肿瘤生长，并且化合物 25 单独治疗和与紫杉醇联合治疗都具有稍多的益处。这些效果伴随有轻微的体重减轻，特别在化合物 25+紫杉醇组。

[0461] 使用小鼠向 HED 转化，对于治疗癌症，特别是肺癌，以 2 mg/kg/天的治疗有效剂量，单独或与 Taxol™ 联合，施用化合物 25，以及对于治疗癌症，特别是肺癌，以 0.25 mg/kg/天的治疗有效剂量单独或与 Taxol™ 联合施用化合物 24。

实施例 50

[0462] 实施例 50 描述本发明的化合物治疗癌症的有效性，如使用 HT-29 人结肠癌异种移植物小鼠模型所表明。使 7-8 周大的雌性 CB17/SCID 小鼠(购自 Charles River, Cambridge, MA)适应至少 3 天，然后在无病原体的条件下进行处理。从 American Type Culture Collection 得到人结肠癌细胞系 HT29。如上面实施例 47 中描述的，培养和收获细胞系，并且以 3×10^6 细胞/动物接种于腹膜皮下空间。当肿瘤长到 100mm^3 的平均体积(第 8 天)时，每组小鼠(每组 10 只)如下表列出的给药 3 周：在计划联合治疗的那天，在施用 5-FU 或顺铂(CDDP；盐水中)之前 2 小时，施用化合物 24(10%PEG 中)，施用途径—腹膜内注射；仅给予 5FU(在盐水中)，或者仅施用 CDDP。

治疗方案

组	小鼠数量	检测项目	剂量(mg/kg)	途径, 方案
1*	8	盐水	10ml/kg	iv, q3d×4
2*	8	5-FU	50	iv, q3d×4
3*	4	没有治疗	N/A	N/A

4**	9	载体(盐水)	10ml/kg	ip, (q1d×5)/周×3周
5**	9	5-FU	50	iv, q3d×4
6**	9	CDDP	5	iv, 一次
7**	9	化合物 24	3	ip, (q1d×5)/周×3周
8**	9	化合物 24	6	ip, (q1d×5)/周×3周
9**	9	化合物 24 5-FU	6 50	ip, (q1d×5)/周×3周 iv, q3d×4
10**	9	化合物 24 CDDP	3 5	ip, (q1d×5)/周×3周 iv, 一次
11**	9	化合物 24 CDDP	6 5	ip, (q1d×5)/周×3周 iv, 一次
12**	8	没有治疗	N/A	N/A

*-肿瘤位于侧腹；**-肿瘤位于腹膜；q3d=每第三天

[0463] 在对照组，将肿瘤移植入两个位置，作为位置对对照组肿瘤生长影响的单独研究的一部分。这些结果对该研究的解释没有影响，并且将所有治疗与机体同一部位带有肿瘤的载体组进行比较。如在上面实施例 47 中的描述，测量体重和肿瘤体积。第 25 天测量的肿瘤生长抑制在下面列出，第 25 时载体肿瘤已经达到最大的尺寸，并且该组里的动物已死亡。

组	相对抑制%	
	组4	组6
7	44.1	-
8	42.1	-
9	71.1	28.9
10	53.2	24.8
11	50.7	20.9
5	59.3	-
6	37.4	-

[0464] 这些结果表明，作为单一治疗的化合物 24 导致稍高于 40%的肿瘤生长抑制，而组合的化合物 24 与 CDDP 或 5FU 联合施用提供了大约 50-70%的生长抑制。根据该实施例，最治疗有效的联合是化合物 24 和 5FU 的联合。对肿瘤生长的影响与治疗期间小鼠体重较小的下降相关；然而在治疗结束时，小鼠恢复了失去的重量。

[0465] 使用小鼠向 HED 转化，对于治疗癌症，特别是肺癌，以大约 0.25 到大约 0.50 mg/kg/天的治疗有效剂量，单独或与 5FU 或 CDDP 联合施用化合物 24。

实施例 51

[0466]，实施例 51 描述本发明的化合物治疗癌症的有效性，如使用 H460 非小

肺癌异种移植小鼠模型所表明。使 7-8 周大的雌性 CB17/SCID 小鼠(购自 Charles River, Cambridge, MA)适应至少 3 天,然后在无病原体的条件下进行处理。从 American Type Culture Collection 得到人非小肺癌细胞系 NCI H460。如上面实施例 47 中描述的,培养和收获细胞系,并且以 3×10^6 细胞/动物接种于腹膜皮下空间。当肿瘤长到 100mm^3 的平均体积时,开始治疗,其中 10 只小鼠的组接受载体(组 1); 3 或 6mg/kg 的 CDDP(分别为组 2 和组 3,一次静脉内注射);盐水中的 50mg/kg 的化合物 25,每周 5 次持续两周(组 4); 100mg/kg 的化合物 25,每三天一次,进行 5 次(组 5),或者每一剂量的化合物 25 与 3 或 6mg/kg 的 CDDP 的联合(分别为组 6 和组 7)。接受 50mg/kg 化合物 25 的组的结果在图 1 中阐明。图 2 示出 100mg/kg 化合物 25 的相似结果。

[0467] 使用化合物 25 的盐水配制形式进行的这些结果表明,与使用 50mg/kg 日剂量的那些结果相比,使用更低频率给药的 50mg/kg 和 100mg/kg 的日剂量,明显地剂量相关地,肿瘤体积减小并且肿瘤生长延迟增加。这些数据也表明,在该模型中,两种给药方案都增加了 CDDP 的效果。

[0468] 使用小鼠向 HED 转化,对于治疗癌症,特别是肺癌,以大约 4 到大约 8mg/kg/天 的治疗有效剂量,单独或与 5FU 或 CDDP 联合施用化合物 25,其中,与更低的剂量相比,对于更高的剂量,日剂量可以以降低的给药频率施用。

实施例 52

[0469] 实施例 52 描述了本发明的化合物治疗癌症的有效性,如使用 HT-29 人结肠癌异种移植小鼠模型所表明。使 7-8 周大的雌性 CB17/SCID 小鼠(购自 Charles River, Cambridge, MA)适应至少 3 天,然后在无病原体的条件下进行处理。从 American Type Culture Collection 得到人结肠癌细胞系 HT29。如上面实施例 47 中描述的,培养和收获细胞系,并且以 3×10^6 细胞/动物接种于腹膜皮下空间。当肿瘤长到 100mm^3 的平均体积(第 8 天)时,每组小鼠(每组 10 只)如下表列出给药 3 周:在计划联合治疗的那天,在施用 CDDP 之前 2 小时,施用盐水中的化合物 25,施用途径—腹膜内注射;和 CDDP(盐水中,静脉内注射)。

治疗方案

组(n=9)	检测项目	剂量(mg/kg)	给药方案
1	盐水	10ml/mg	$(\text{qd} \times 5)/\text{周} \times 2$ 周
2	CDDP	5	一次
3	化合物 25	50	$(\text{qd} \times 5)/\text{周} \times 2$ 周
4	化合物 25	100	$(\text{q2d} \times 3)/\text{周} \times 2$ 周
5	化合物 25	100	$\text{Q3d} \times 5$
6	化合物 25	100	$\text{Q7d} \times 2$
7	化合物 25	50	$(\text{qd} \times 5)/\text{周} \times 2$ 周

	CDDP	5	一次
8	化合物 25	100	(q2d×3)/周×2 周
	CDDP	5	一次
9	化合物 25	100	Q3d×5
	CDDP	5	一次
10	化合物 25	100	Q7d×2
	CDDP	5	一次

[0470] 如在上面实施例 47 中的描述，测量体重和肿瘤体积。数据基于第 25 天的肿瘤体积，此时载体组的肿瘤已经达到足够使小鼠死亡的大小。肿瘤生长抑制的结果在下面列出。

组	相对抑制%	
	组1	组2
3	28.2	-
4	30.1	-
5	31.3	-
6	48.1	-
7	50.7	30.8
8	44.2	27.5
9	36.2	21.5
10	51.8	33.2
2	24.2	-

[0471] 结果表明，以 50mg/kg/天和 100mg/kg/天，多种剂量方案，单一治疗施用在盐水中配制的化合物 25，导致在该结肠癌模型中抑制肿瘤生长，并且化合物 25 和 CDDP 的治疗联合加强了化合物 25 治疗该模型中结肠癌的有效性。这些效果伴随有轻微的体重减轻，在联合组中更是如此；在治疗结束后，小鼠恢复了失去的重量。

[0472] 使用小鼠向 HED 转化，对于治疗癌症，特别是肺癌，以大约 4 到大约 8mg/kg/天的治疗有效剂量，单独或与 CDDP 联合施用化合物 25，其中，与更低的剂量相比，对于更高的剂量，日剂量可以以降低的给药频率施用。

实施例 53

[0473] 实施例 53 描述了本发明的化合物治疗癌症的有效性，如使用 H460 非小肺癌异种移植小鼠模型所表明。使 7-8 周大的雌性 CB17/SCID 小鼠(购自 Charles River, Cambridge, MA)适应至少 3 天，然后在无病原体的条件下进行处理。从 American Type Culture Collection 得到人非小肺癌细胞系 NCI H460。如上面实施例 47 中描述的，培养和收获细胞系，并且以 3×10^6 细胞/动物接种于腹膜皮下空间。当肿瘤长到 100mm^3 的平均体积时，开始治疗，其中 10 只小鼠的组接受载体(组 1)；

6mg/kg 的 CDDP(一次静脉内注射, 组 2); 盐水中 150mg/kg 的化合物 25, 每周一次持续两周(组 3, 腹膜内注射); 或者两种药剂联合(组 4)。

[0474] 图 3 所示的结果表明, 每周 150mg/kg 的化合物 25 比仅给予 CDDP 提供更大的肿瘤生长减小, 并且两种药剂的联合导致增加的益处。这些结果也表明, 在两周的给药期间肿瘤体积不变化, 这表示完全抑制了肿瘤的生长。这些数据表明, 以一周一次 150mg/kg/天施用化合物 25 作为单一治疗, 是前述实施例(实施例 47-52)中描述的所有给药方案中最有效的。观察到很小的体重改变, 这表明该给药方案减小毒性。

[0475] 使用小鼠向 HED 转化, 对于治疗癌症, 特别是非小细胞肺癌, 以大约 12 mg/kg/天的治疗有效剂量, 单独或与 CDDP 联合施用化合物 25, 任选以每周一次的频率给药。

实施例 54

[0476] 实施例 54 描述在 H460 异种移植物小鼠模型中, 经腹膜内快速注射或腹膜内灌流, 化合物 25 单独或与顺铂联合的有效性。使 6 周大的雌性 Nu-Foxnltm 纯合 nu/nu 小鼠(购自 Charles River, Cambridge, MA)适应至少 3 天, 然后在无病原体的条件下进行处理。从 American Type Culture Collection 得到人结肠癌细胞系 HT29。如上面实施例 47 中描述的, 培养和收获细胞系, 并且以 3×10^6 细胞/动物接种于腹膜皮下空间。当肿瘤长到 100mm³ 的平均体积(第 8 天)时, 每组小鼠(每组 10 只)如下表列出给药 3 周: 在计划联合治疗的那天, 在施用 CDDP 之前 2 小时, 施用化合物 25(配制为 15mg/ml 盐水溶液, 施用方式——腹膜内注射); 和盐水中 CDDP, 静脉内注射。

治疗方案

组	检测项目	剂量(mg/kg)	方案	剂量浓度: 剂量体积
1	盐水	10	Q7d×2	0mg/ml:10mL/kg
2	CDDP	6	Q7d×2	0.6mg/ml:10mL/kg
3	化合物 25	150	Q7d×2	15mg/ml:10mL/kg
4	化合物 25 CDDP	150 6	q7d×2 q7d×2	15mg/ml:10mL/kg 0.6mg/ml:10mL/kg
5	化合物 25	150	Q7d×2	10mg/ml:15mL/kg
6	盐水	0.2ml	200μl-每周×2*	0mg/ml:1μL/小时
7	化合物 25	15mg/ml	200μl-每周×2*	15mg/ml:1μL/小时

*-Alzet 泵, 200μl, 每周×2(在一星期末, 重新植入新的泵)

[0477] 如在上面实施例 47 中的描述, 测量体重和肿瘤体积。结果表示在图 4 中。数据表明, 当持续单独或与 CDDP 联合应用化合物 25 有效时, 间歇给药, 如每周一次给药, 在治疗某些癌症例如非小细胞肺癌中可提供更大的治疗益处。

实施例 55

化合物 25 和吉西他滨联合治疗

[0478] 将化合物 25 和吉西他滨联合施用给裸鼠, 所述裸鼠携带衍生自 MiPaca2 型人胰腺癌细胞的肿瘤。MiaPaca-2 肿瘤是高度浸润性的、快速生长的肿瘤, 其导致未治疗的动物在 20-30 天内死亡。用红色荧光蛋白基因转染肿瘤细胞。通过腹膜内注射给药, 对小鼠施用载体对照药剂、吉西他滨、化合物 25、化合物 24 或吉西他滨/化合物 25 联合或吉西他滨/化合物 24, 如在下面列出的(8 只鼠/组)。将化合物 24 和 25 配制于盐水中, 由 Threshold Pharmaceuticals, Inc. 作为干粉提供。吉西他滨从商业获得, 并且根据制造商的指导, 新鲜制备。

治疗方案

组	化合物	剂量(mg/kg)	方案
1	载体	10ml/kg	(qd*5)/周, 2 周
2	吉西他滨	200	qw*3 周
3	化合物 25	30	(qd*5)/周, 2 周
4	化合物 24	6	(qd*5)/周, 2 周
5	吉西他滨	200	qw*3 周
	化合物 25	30	(qd*5)/周, 2 周
6	吉西他滨	200	qw*3 周
	化合物 24	6	(qd*5)/周, 2 周

*qd=每天; qw=每周

[0479] 每周作肿瘤图像 1 次, 直到研究结束, 此时获得打开的身体图像(open body image), 以证实效果。在组 1 中, 肿瘤快速生长(图 5), 并且到 30 天产生 100% 致命性(图 6)。

[0480] 组 3 和组 4 对肿瘤体积产生较小的影响, 对存活率也产生很小的影响。组 2 明显减小了肿瘤体积并且延长了存活。组 6 提供了肿瘤大小微小的减小, 但是对存活率没有另外的影响。相反地, 组 5 明显表明了减小的肿瘤生长, 并且相比于组 2, 明显延长了存活。在治疗后, 组 5 中八分之五的肿瘤迅速退化(regress), 并且在短期内没有发出荧光(图 7)。

[0481] 直到实验结束, 这些肿瘤中的四个保持零荧光, 认为肿瘤已被治愈。在组 2 中, 没有肿瘤被认为已治愈。这些结果表明, 与基于护理的 (with the stand

of care) 吉西他滨单一治疗相比, 用化合物 25 和吉西他滨联合治疗在该癌症模型的治疗中更有益处。这些结果表明, 用 30mg/kg/天的化合物 25 和吉西他滨联合给药的动物中的肿瘤减小明显比用吉西他滨作为单一药剂治疗的动物的肿瘤减小更大。

[0842] 使用小鼠向 HED 转化, 对于治疗癌症, 特别是胰腺癌, 以大约 2.5 mg/kg/天的治疗有效剂量, 单独或与吉西他滨联合施用化合物 25。

实施例 36

[0483] 已经知道, 治疗人疾病包括癌症的有效分子, 在剂量接近达到有益效果必需的剂量或者有时比达到有益效果必需的剂量多得多时, 可能是有毒性的。为了确定给予这样的化合物的适当剂量和途径, 需要了解其毒性。常规地, 确定毒性剂量的最初方法涉及使用啮齿类动物如小鼠来提供初步数据, 其可能支持在更大的动物和人中进行的相似研究的设计。检测化合物(化合物 24、25 和 36)在小鼠中检测, 作为确定在更大的动物中使用的初步实验。以高达 300mg/kg 作为单一药剂的剂量检测化合物 25, 发现化合物 25 引起肾毒性例如肾小管坏死和蛋白溢入尿。也观察到白细胞短暂的减少。然而, 在更低剂量(100 和 200 mg/kg)时, 注意到很小的毒性。选择的这些剂量表示了可用于更大动物如大鼠和狗的大概的剂量, 目的在于证实这类毒性存在以及预测人的肾功能是否应该进行测定。

[0484] 虽然本发明已参照具体实施方式被详细描述, 但本领域技术人员将知道, 修改和改进在本发明的范围和精神内, 如所附权利要求书中所述。本文引用的所有出版物和专利文献(专利、公布的专利申请和未公布的专利申请)并入本文作为参考, 如同每一这样的出版物或文献被特别地和具体地指明并入本文作为参考。对出版物和专利文献的引用并不意图承认, 任何这种文献是有关的现有技术, 也不构成对其内容或其日期的任何承认。本发明现在已通过书面说明和实施例的方式被描述, 本领域技术人员将知道, 本发明可以以多种实施方式实践, 并且前面的描述和实施例是为了阐明的目的, 而不是对所附权利要求的限制。

在H460异种移植中化合物25 (50mg/kg) 的功效

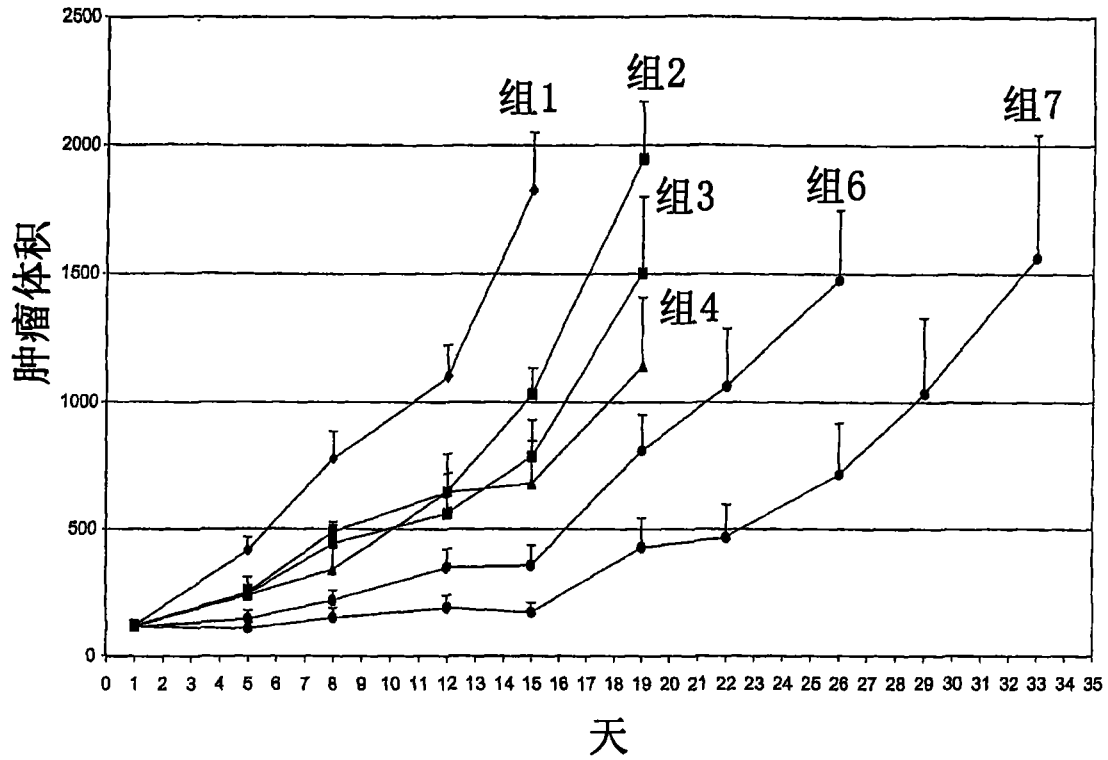


图1

在H460异种移植中100mg/kg的化合物25的功效

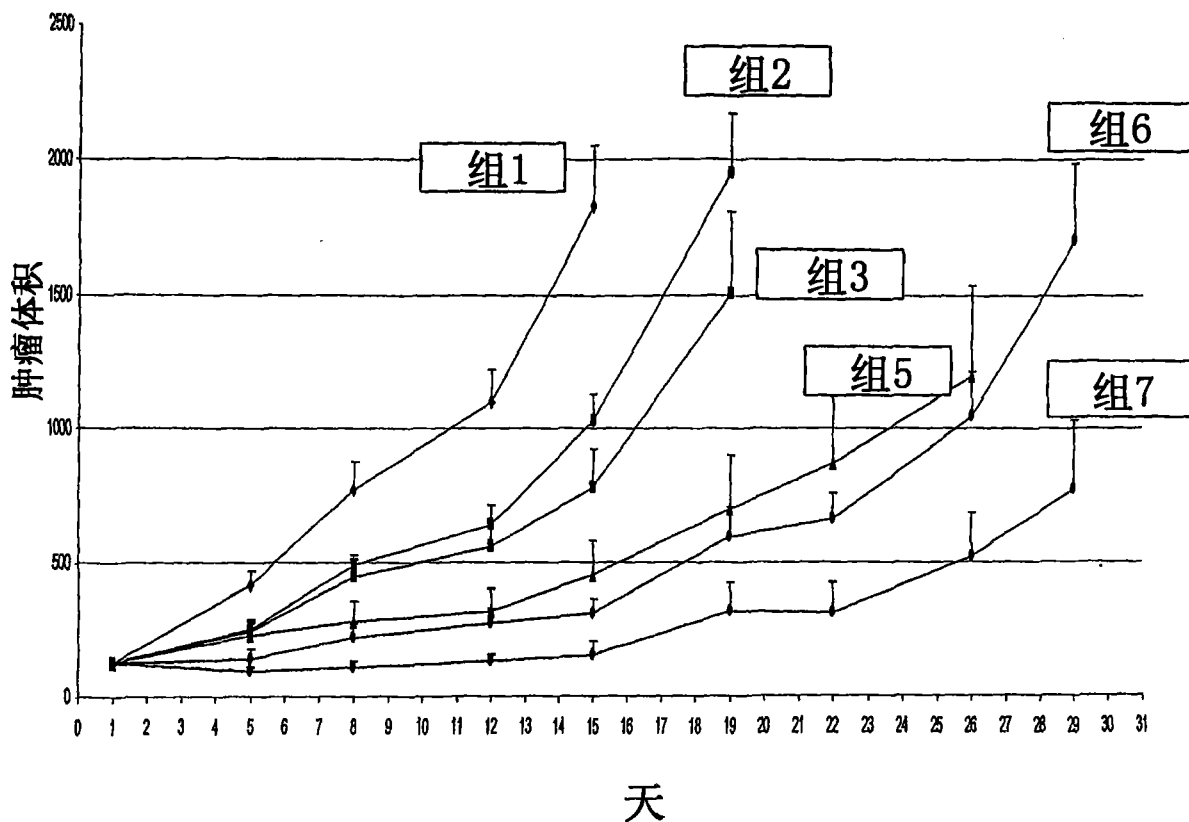


图2

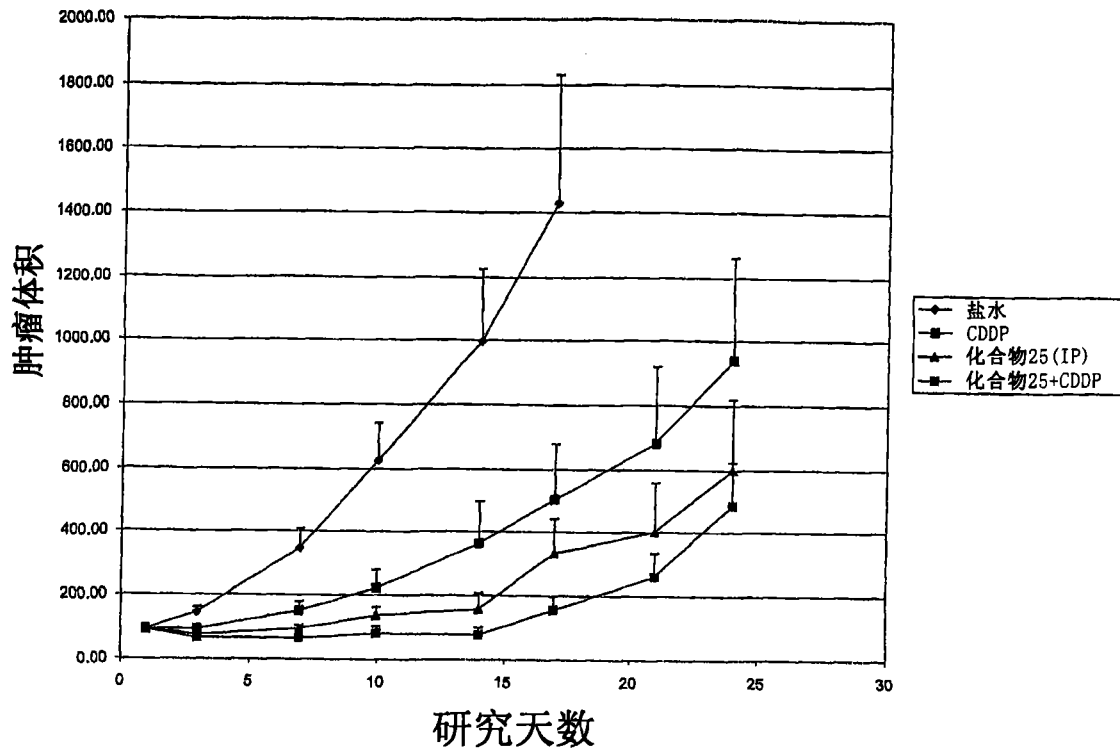


图3

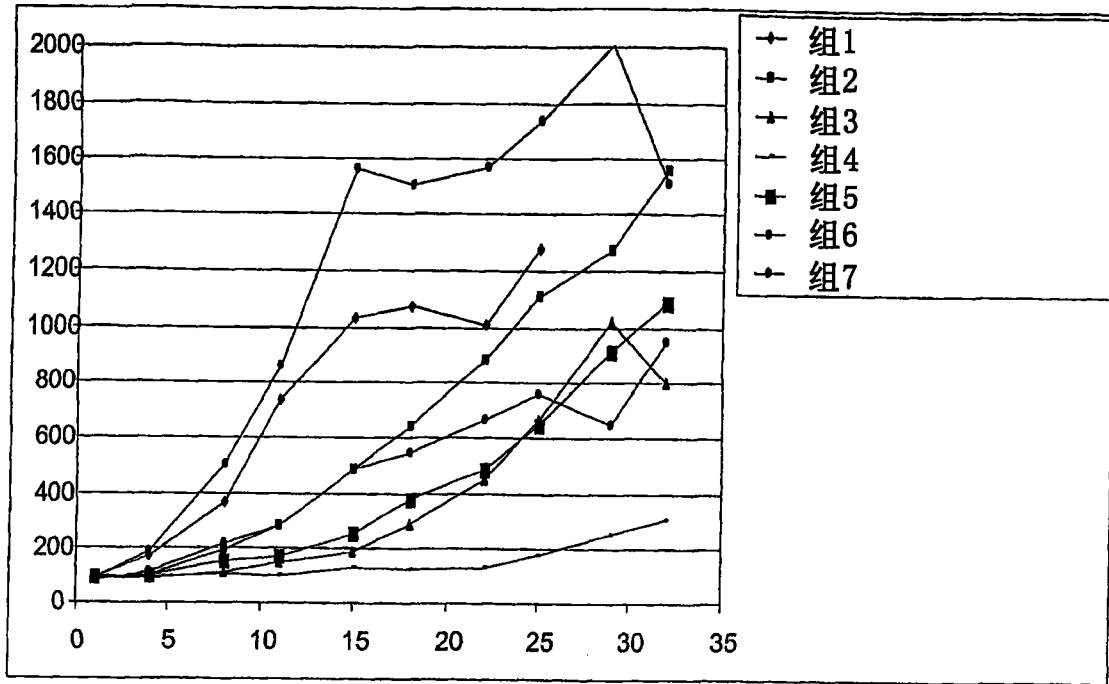


图4

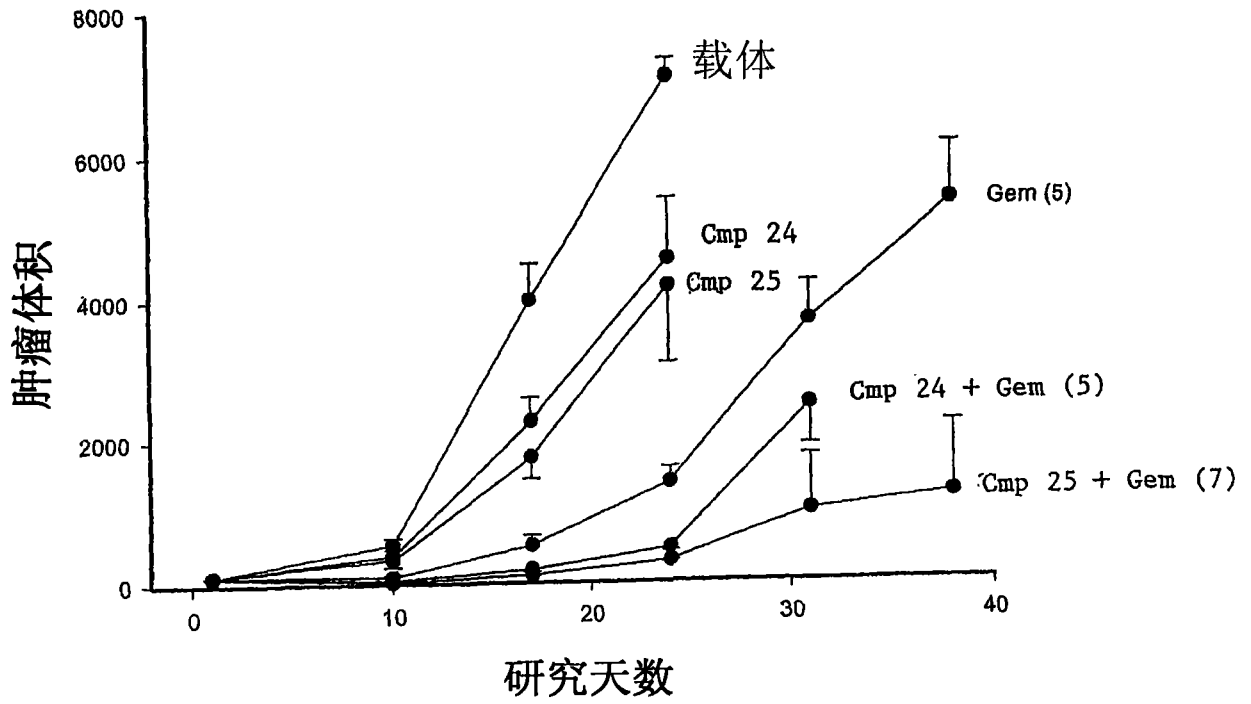


图5

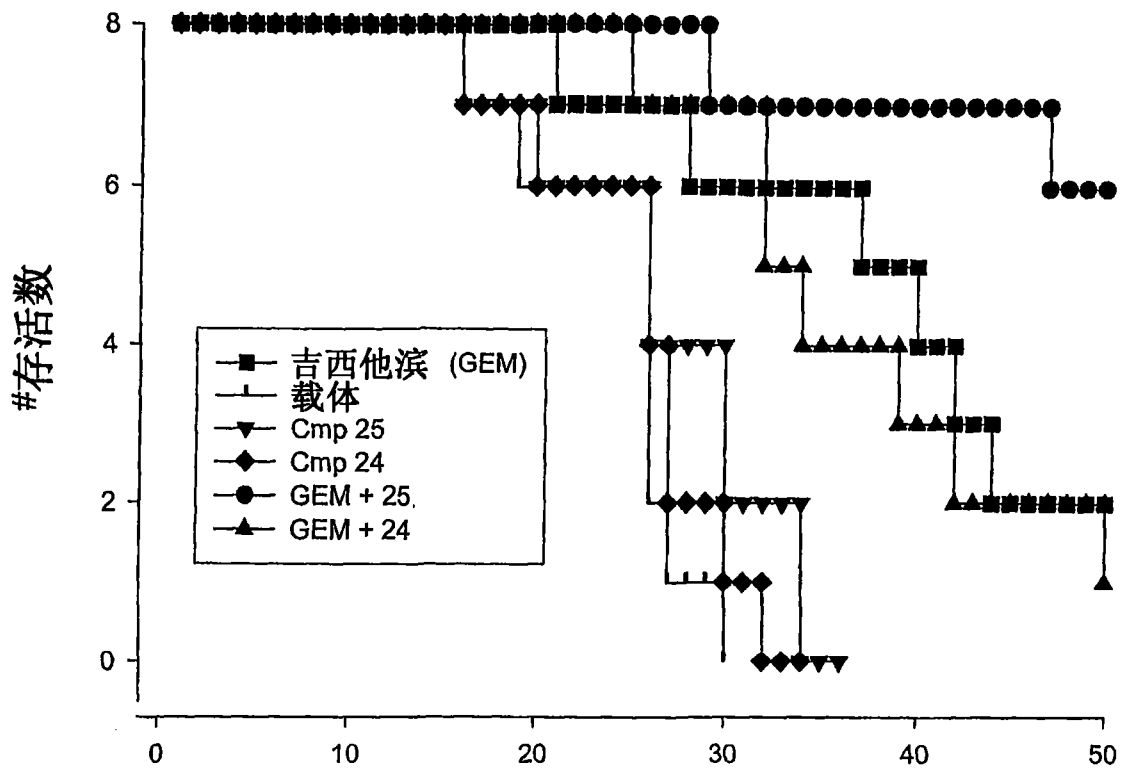


图6

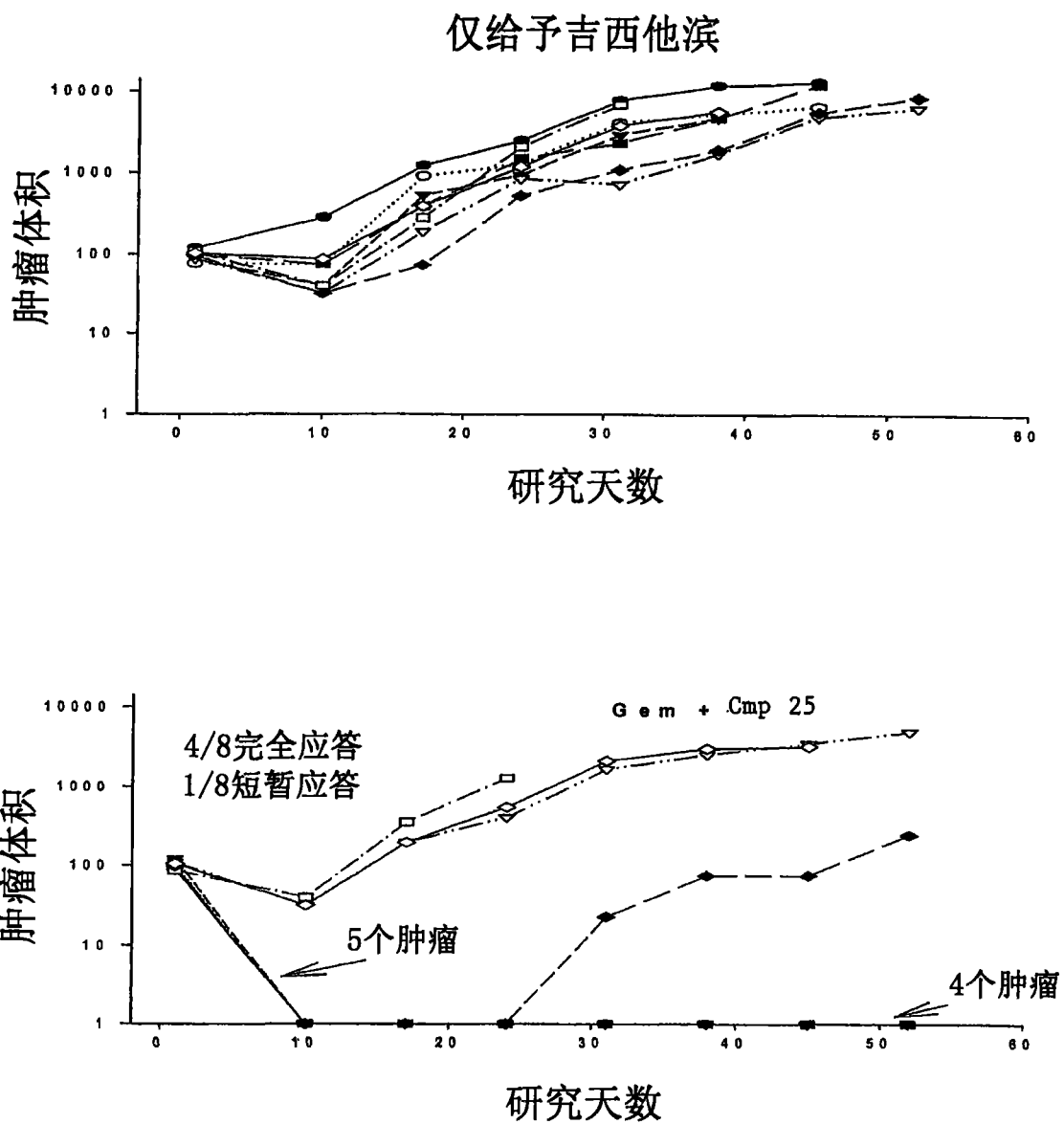


图7