



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 202317199 A

(43)公開日：中華民國 112 (2023) 年 05 月 01 日

(21)申請案號：111123557

(22)申請日：中華民國 111 (2022) 年 06 月 24 日

(51)Int. Cl.：

A61K47/65 (2017.01)

C07D491/22 (2006.01)

A61P25/00 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

A61P37/00 (2006.01)

A61P3/00 (2006.01)

(30)優先權：2021/06/25

世界智慧財產權組織

PCT/CN2021/102377

(71)申請人：大陸商同宜醫藥（蘇州）有限公司（中國大陸）COHERENT BIOPHARMA (SUZHOU), LIMITED (CN)

中國大陸

(72)發明人：黃 保華 HUANG, BAOHUA ROBERT (US)；譚 巍 TAN, WEI (US)；王貴濤 WANG, GUITAO (CN)；邵 軍 SHAO, JUN (US)；毛聲飛 MAO, SHENGFEI (CN)；王中波 WANG, ZHONGBO (CN)；顧龍軍 GU, LONGJUN (CN)；錢剛 QIAN, GANG (CN)；卜婷婷 BU, TINGTING (CN)

(74)代理人：呂紹凡；劉仁傑

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：68 項 圖式數：3 共 212 頁

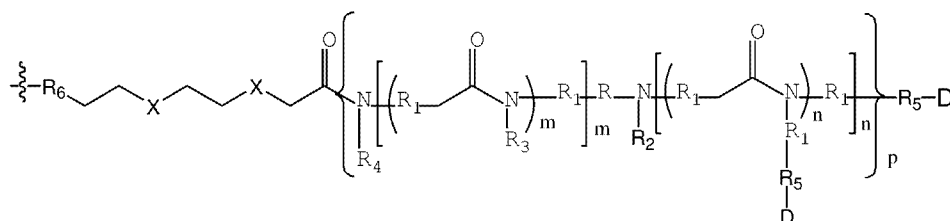
(54)名稱

配體藥物偶聯物及其應用

(57)摘要

一種配體藥物偶聯體，以及所述配體藥物偶聯體的應用。

特徵化學式：





【發明摘要】

【中文發明名稱】 配體藥物偶聯物及其應用

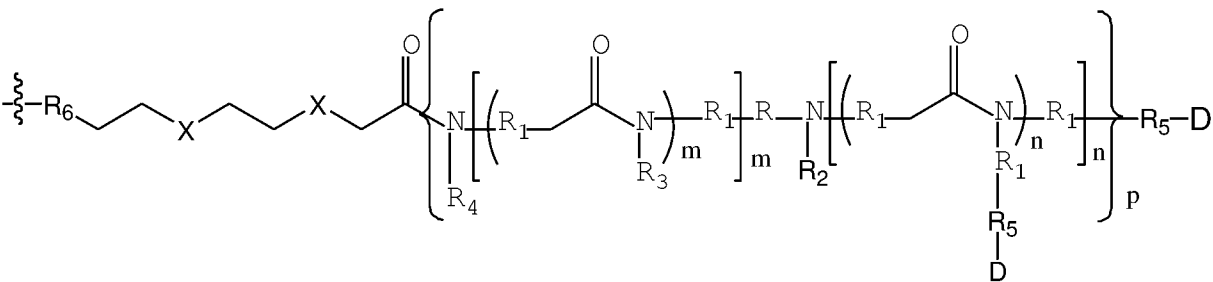
【中文】

一種配體藥物偶聯體，以及所述配體藥物偶聯體的應用。

【指定代表圖】 無

【代表圖之符號簡單說明】 無

【特徵化學式】



【發明說明書】

【中文發明名稱】 配體藥物偶聯物及其應用

【技術領域】

【0001】 本案涉及生物醫藥化學領域。更具體地，本案涉及一種配體藥物偶聯體，以及所述配體藥物偶聯體的應用。

【先前技術】

【0002】 抗體-藥物偶聯體（ADC）是一種透過化學連接將能夠靶向細胞表面分子的抗體和具有生物活性的分子進行偶聯，借助抗體的靶向作用，將生物活性分子定向運輸到目標細胞中，可提高療效並降低細胞毒素對正常組織、細胞的毒性。但是，由於ADC中抗體的複雜性和具有較大分子量，使其研發面臨著許多困難，包括缺乏適宜的靶點、生產困難和藥物穩定性較差。目前，ADC主要用於腫瘤治療領域。在一些情況下，靶向抗體對癌細胞表面抗原的親和性能夠高達 $10^{-9} \sim 10^{-12}$ （Kd，莫耳/升），因此在對靶細胞具有較高特異性的同時，ADC對與靶細胞具有相同靶向受體的正常細胞也具有較高的特異性。同時，由於ADC在體內的代謝時間較長（1至3週），在此期間其會不斷地殺傷正常細胞，因而極大地增加了ADC的毒副作用。因此，ADC更理想的適應症應當是其特徵為在腫瘤和正常細胞中的細胞表面抗原量相差非常懸殊的疾病。然而，目前所知滿足此嚴格要求的疾病非常少。此外，在抗體藥物偶聯體的製備中，藥物與抗體之比通常不能確定，影響了ADC的藥效和毒性評價。

【0003】 將具有生物活性的分子靶向運輸到目標細胞中的藥物偶聯體化合物還可以是配體-藥物偶聯體（LDC），其中配體可以是肽或小分子。與抗體藥物偶聯體中以抗體進行靶向定位相比，配體藥物偶聯體則是採取肽或小分子定向，配體藥物偶聯體中的具有靶向作用的配體和藥物通常都會有準確值。然而，從生物利用度、穩定性、療效到毒性等方面，LDC的應用也面臨很多挑戰。例如，很多配體由於其具有較大分子量、親脂性或其他屬性使其不能進入細胞，這限制了其治療應用。此外，透過連接子適時和精確的釋放具有生物活性的分子也十分重要，例如，過早釋放藥物可能達不到理想的療效甚至可能導致動物中毒死亡。而對於生物活性分子的選擇，如果配體與常規化療藥物（例如，多柔比星、紫杉醇等）偶聯，則療效通常較低，而如果其與高效藥物分子（例如，MMAE、DM1等）偶聯，則毒性較大，甚至可能在達到腫瘤治療的治療有效量之前就導致動物中毒死亡。因此，配體、連接子、生物活性分子的選擇是LDC設計的關鍵要素。

【0004】 靶向配體設計需要考慮結合親和力、標靶選擇性和化合物的大小。良好的配體結合親和力和選擇性能合理地降低實現高效治療所需的藥物劑量，減少毒副作用。配體的大小也會透過不同的機制影響生物活性分子向目標細胞（例如，毒性劑向實體瘤）的遞送，包括滲透性。低分子量的治療藥物更容易釋放和擴散，同時，也更容易被代謝。因此，即使藥物脫靶，通常也能夠及時從體內排泄，從而減少正常細胞中的不良毒性。配體的選擇範圍更廣，但卻不如抗體那樣直接，篩選合適的配體通常需要耗費很多精力。連接子（Linker）作為靶向配體和生物活性分子之間的連結，為了保留靶向配體的親和力和選擇性，以及生物活性分子的功效，需要被精心設計，以實現優化藥物

釋放、藥物動力學和藥效學性質等功能。對於細胞毒性分子的選擇，則需要考慮釋放速率、細胞活性、胞內的穩定性等。

【0005】 因此領域內還迫切需要獲得改進的LDC。尤其是設計精良的連接子，以使得LDC獲得期待的效果，配體部分和生物活性分子保留期待的性質和功能，增強藥效或降低藥物副作用。

【發明內容】

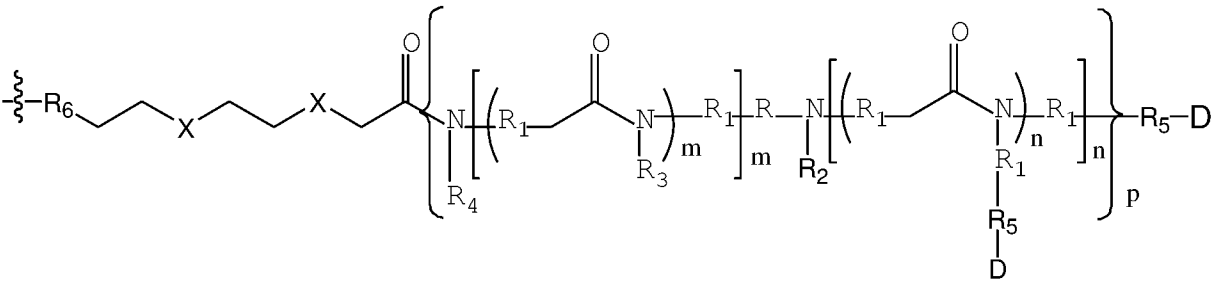
【0006】 本案的一個方面提供了一種偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，所述偶聯體化合物具有以下結構：

多配體部分—(連接子—有效負載)_q，

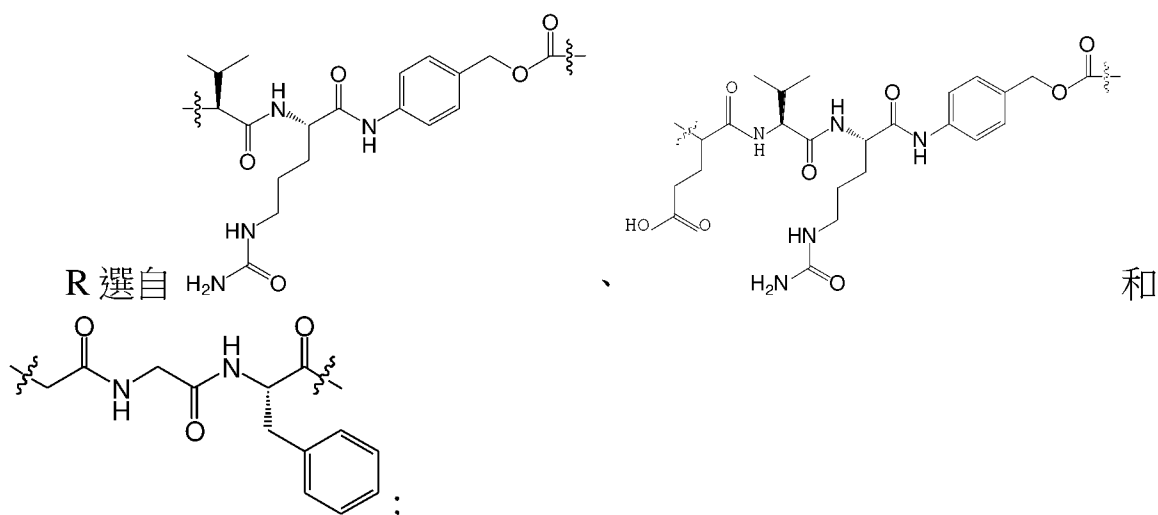
其中：

所述多配體部分包含至少兩個靶向不同細胞表面分子的配體，

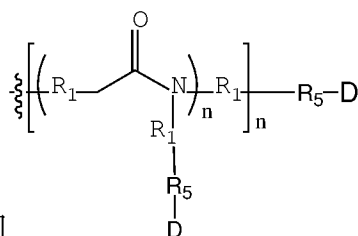
所述連接子-有效負載部分具有以下結構：



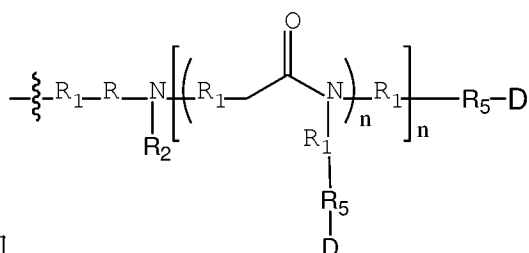
其中：



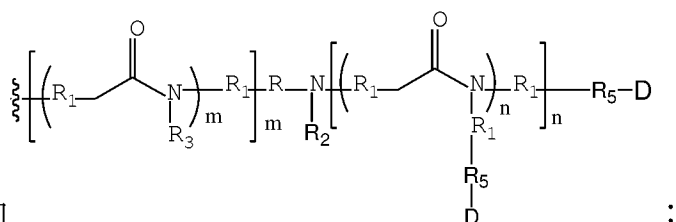
R₁ 各自獨立地選自鍵和-CH₂CH₂C(O)-NH-；



R_2 各自獨立地選自氫和



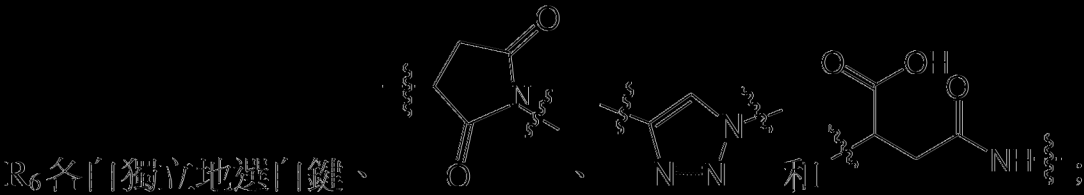
R_3 各自獨立地選自氫和



R₄各自獨立地選自氫和

R₅ 各自獨立地選自鍵、-(CH₂CH₂O)₃-CH₂CH₂-、-CH₂C(O)-NH-CH₂-、-





X 各自獨立地選自鍵、C和O；

m 各自獨立地為0或1；

n 各自獨立地為0或1；

p 為0或1；

q 為1至4的整數；

D為有效負載。

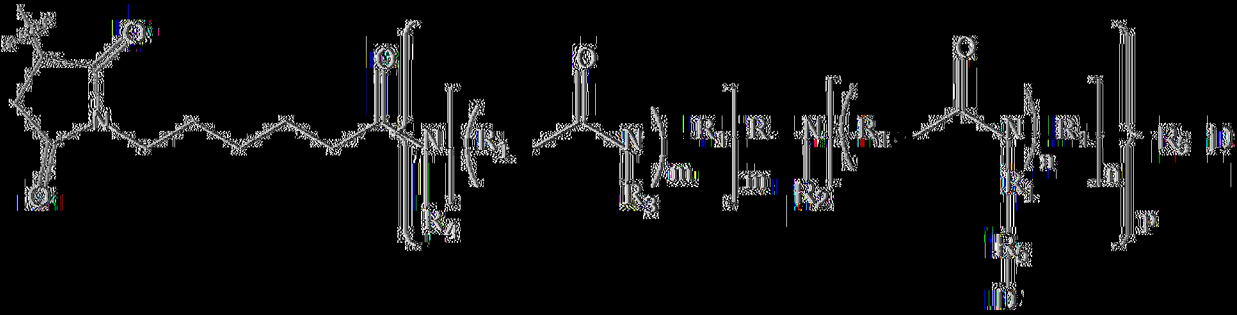
(0001) 本案的另一個方面提供了一種偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，所述偶聯體化合物具有以下結構：



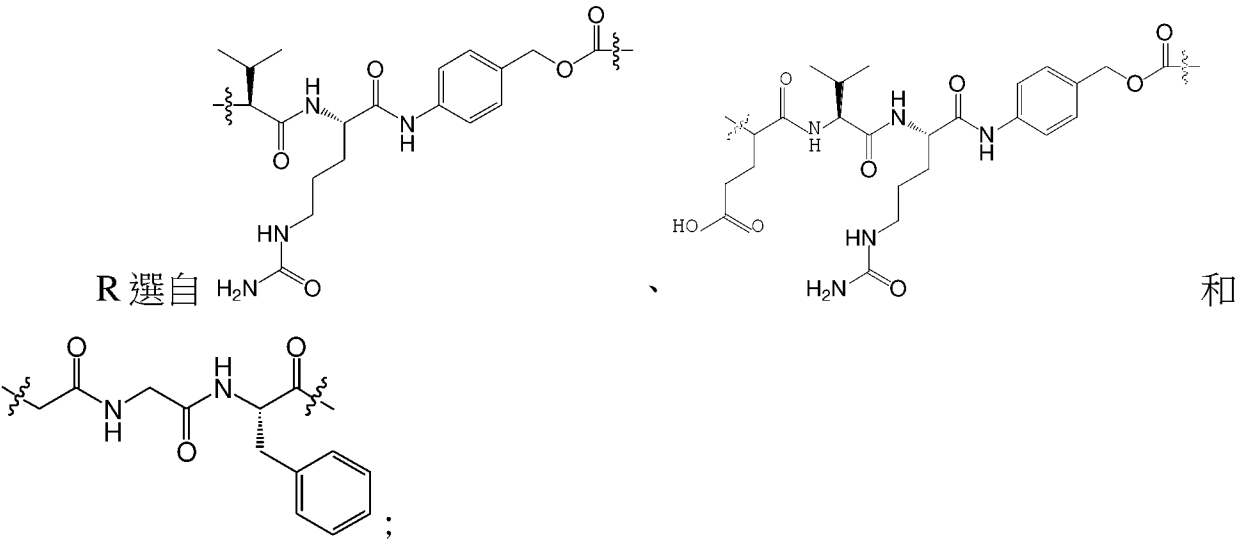
其中：

所述多配體部分包含至少兩個朝向不同細胞表面分子的配體，

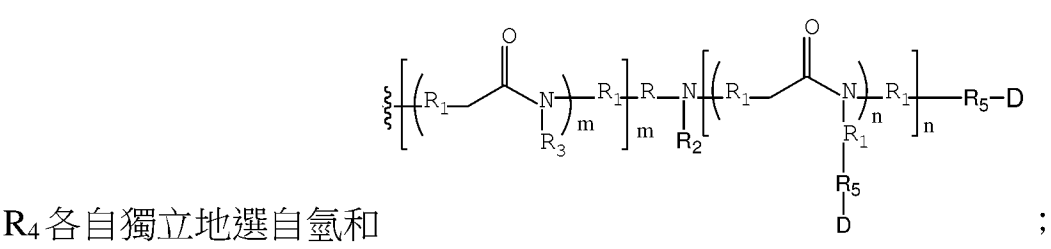
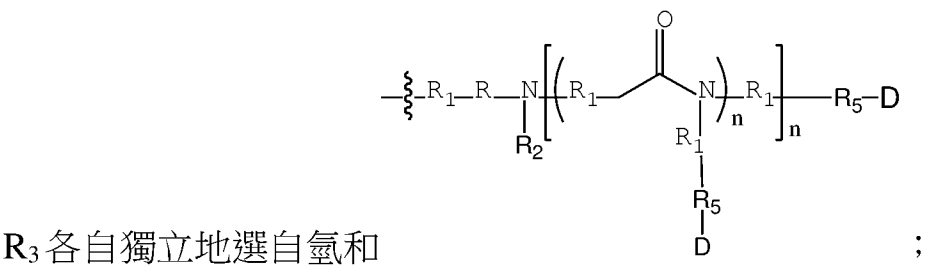
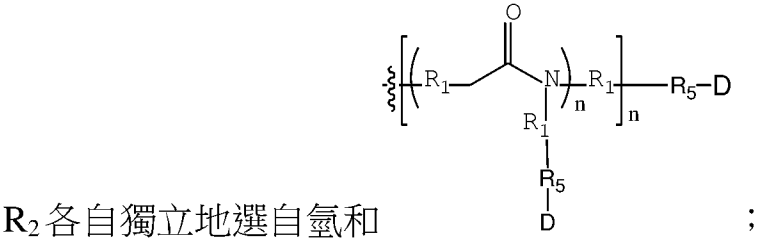
所述連接子-有效負載部分具有以下結構：



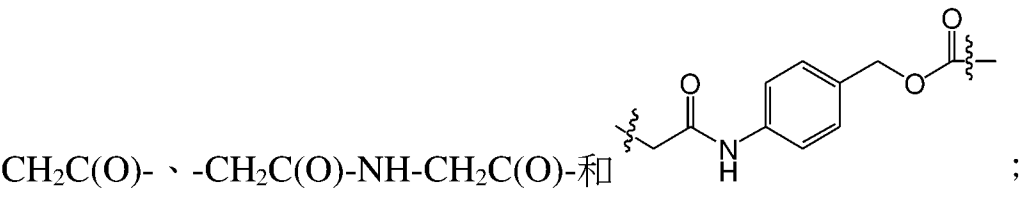
其中：



R₁ 各自獨立地選自鍵和-CH₂CH₂C(O)-NH- ；



R₅ 各自獨立地選自鍵、-(CH₂CH₂O)₃-CH₂CH₂-、-CH₂C(O)-NH-CH₂-、-



m 各自獨立地為 0 或 1 ；

n 各自獨立地為 0 或 1；

p 為 0 或 1；

q 為 1 至 4 的整數；

D 為有效負載。

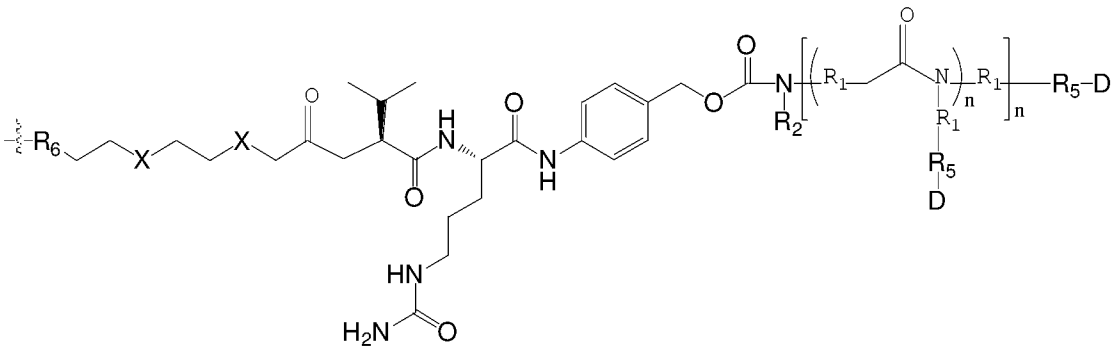
【0008】 本案的另一個方面提供了一種偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，所述偶聯體化合物具有以下結構：

多配體部分—(連接子—有效負載)_q，

其中：

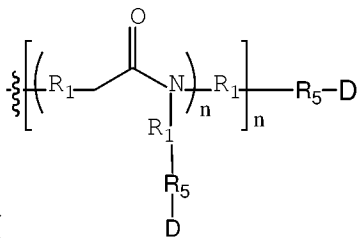
所述多配體部分包含至少兩個靶向不同細胞表面分子的配體，

所述連接子-有效負載部分具有以下結構：



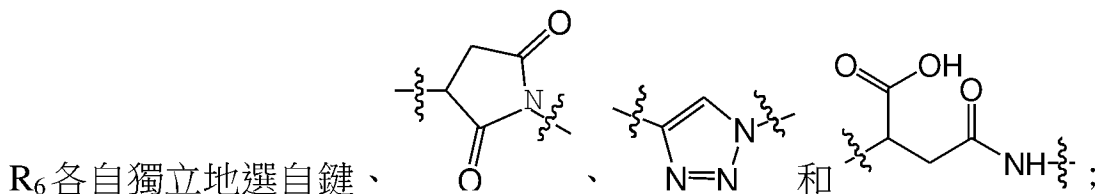
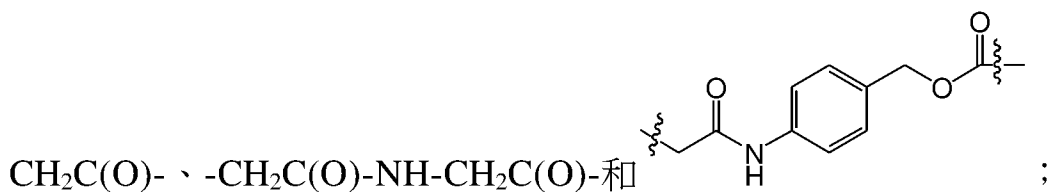
其中：

R₁ 各自獨立地選自鍵和-CH₂CH₂C(O)-NH-；



R₂ 各自獨立地選自氫和

R₅各自獨立地選自鍵、-(CH₂CH₂O)₃-CH₂CH₂-、-CH₂C(O)-NH-CH₂-、-



X 各自獨立地選自鍵、C 和 O；

n 各自獨立地為 0 或 1；

q 為 1 至 4 的整數；

D 為有效負載。

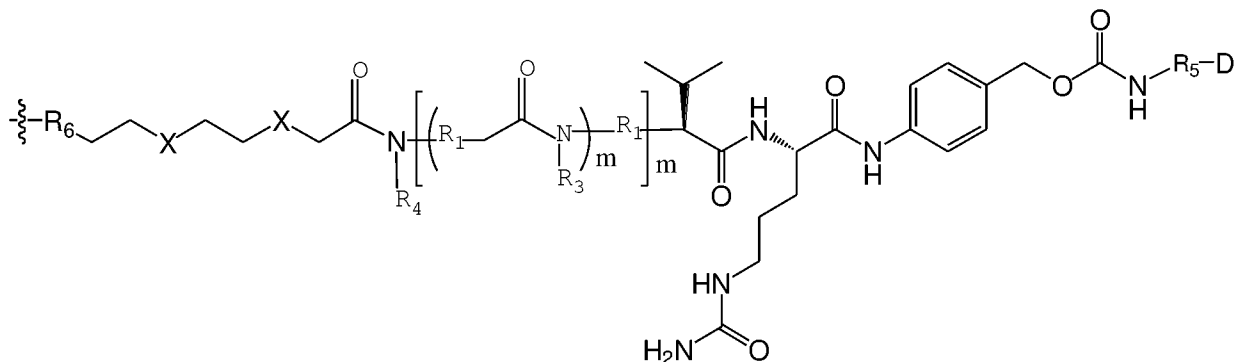
【0009】 本案的另一個方面提供了一種偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，所述偶聯體化合物具有以下結構：

多配體部分—(連接子—有效負載)_q，

其中：

所述多配體部分包含至少兩個靶向不同細胞表面分子的配體，

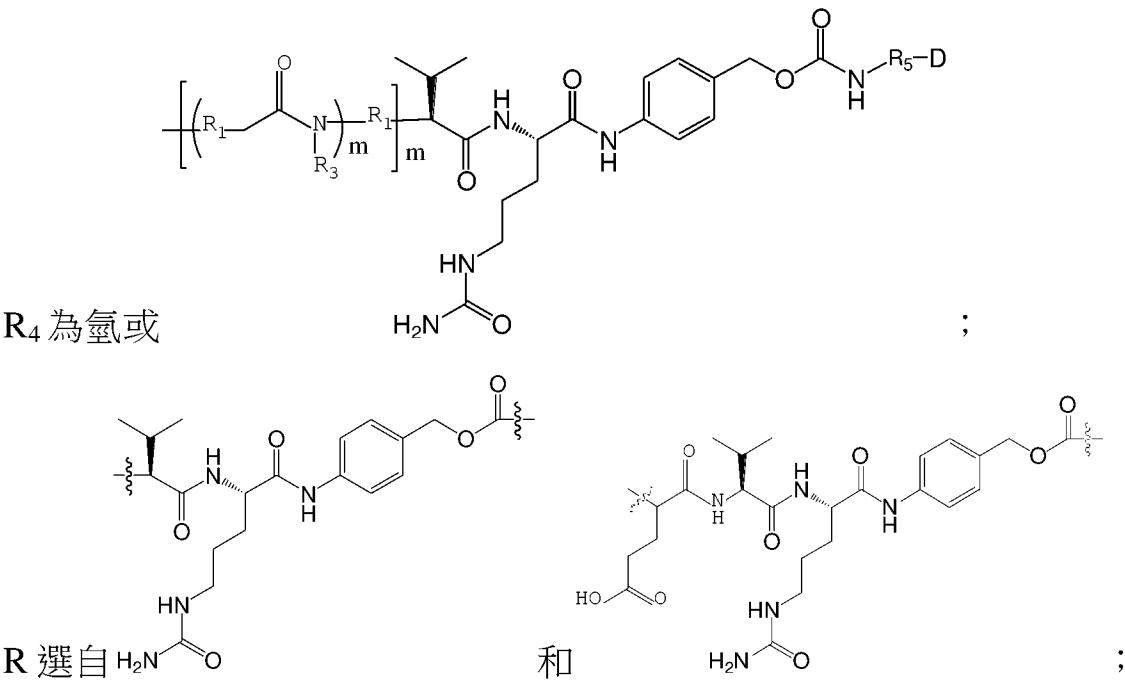
所述連接子-有效負載部分具有以下結構：



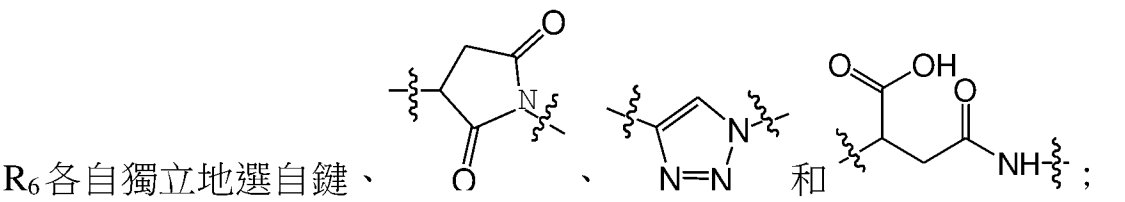
其中：

R₁ 各自獨立地選自鍵和-CH₂CH₂C(O)-NH- ；

R₃ 各自獨立地選自氫和-R₁-R-NH-R₅-D ；



R₅ 各自獨立地選自鍵、 -(CH₂CH₂O)₃-CH₂CH₂- 、 -CH₂C(O)-NH-CH₂- 、 -CH₂C(O)-NH-CH₂C(O)-和-CH₂C(O)- ；



X 各自獨立地選自鍵、 C 和 O ；

m 各自獨立地為 0 或 1 ；

q 為 1 至 4 的整數 ；

D 為有效負載 。

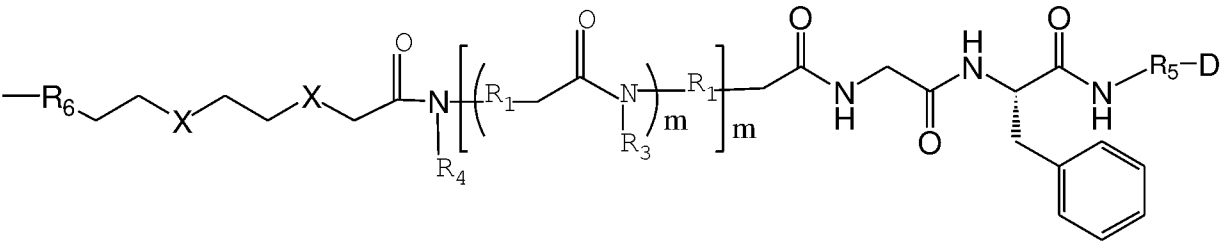
【0010】 本案的另一個方面提供了一種偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，所述偶聯體化合物具有以下結構：

多配體部分—(連接子—有效負載)_q，

其中：

所述多配體部分包含至少兩個靶向不同細胞表面分子的配體，

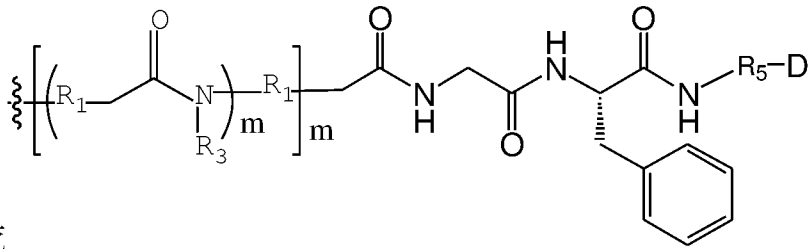
所述連接子-有效負載部分具有以下結構：



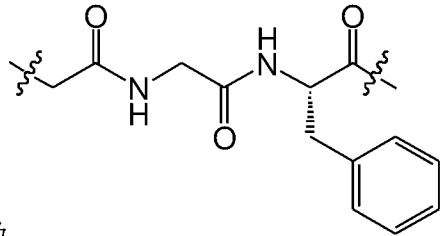
其中：

R_1 各自獨立地選自鍵和 $-CH_2CH_2C(O)-NH-$ ；

R_3 各自獨立地選自氫和 $-R_1-R-NH-R_5-D$ ；

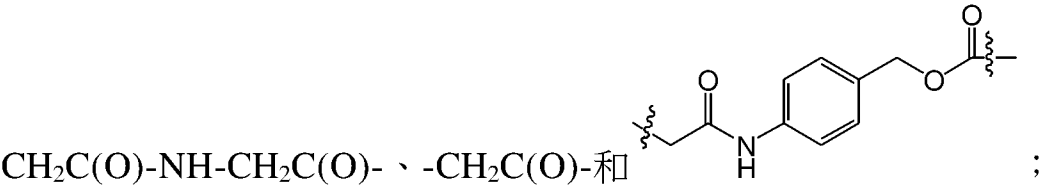


R_4 為氫或

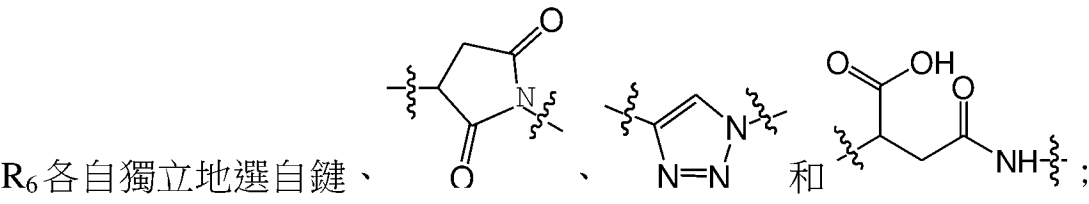


R 為

R_5 各自獨立地選自鍵、 $-(CH_2CH_2O)_3-CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2C(O)-NH-CH_2-$ 、 $-$



$CH_2C(O)-NH-CH_2C(O)-$ 、 $-CH_2C(O)-$ 和



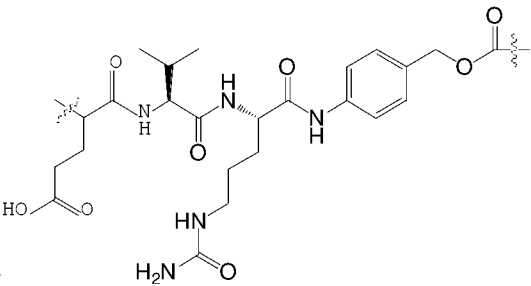
R_6 各自獨立地選自鍵、

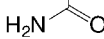
X 各自獨立地選自鍵、C 和 O；

m 各自獨立地為 0 或 1；

q 為 1 至 4 的整數；

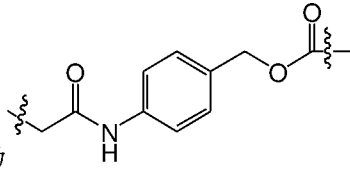
D 為有效負載。



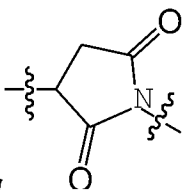
【0011】 在一些實施方式中，R 為 。

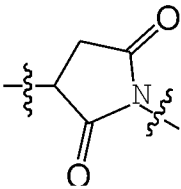
【0012】 在一些實施方式中，R₁為-CH₂CH₂C(O)-NH-。

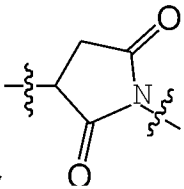
【0013】 在一些實施方式中，R₅為-(CH₂CH₂O)₃-CH₂CH₂-。在另一些實施方式中，R₅為-CH₂C(O)-NH-CH₂C(O)-。在又一些實施方式中，R₅為-

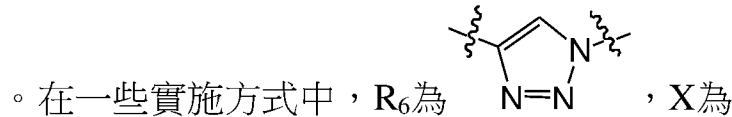
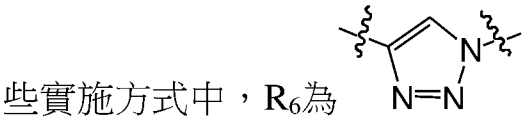
CH₂C(O)-。在一些實施方式中，R₅為 。在另一些實施方式中，R₅為-CH₂C(O)-NH-CH₂-。在又一些實施方式中，R₅不是-CH₂C(O)-NH-CH₂。CH₂。

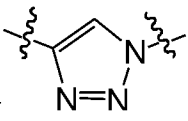
【0014】 在一些實施方式中，m各自獨立地為0或1，且n為0。在一些實施方式中，m為0，且n各自獨立地為0或1。在另一些實施方式中，m為0，且n為0。在又一些實施方式中，m為0，n為0，且R₅不是-CH₂C(O)-NH-CH₂-。

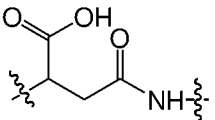
【0015】 在一些實施方式中，R₆為 。在一些實施方式中，R₆為

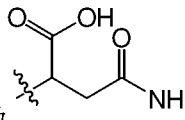


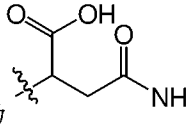
，且X為鍵。在一些實施方式中，R₆為 ，且X為O。在一



鍵。在又一些實施方式中，R₆為 ，X為O。在一些實施方式中，R₆為

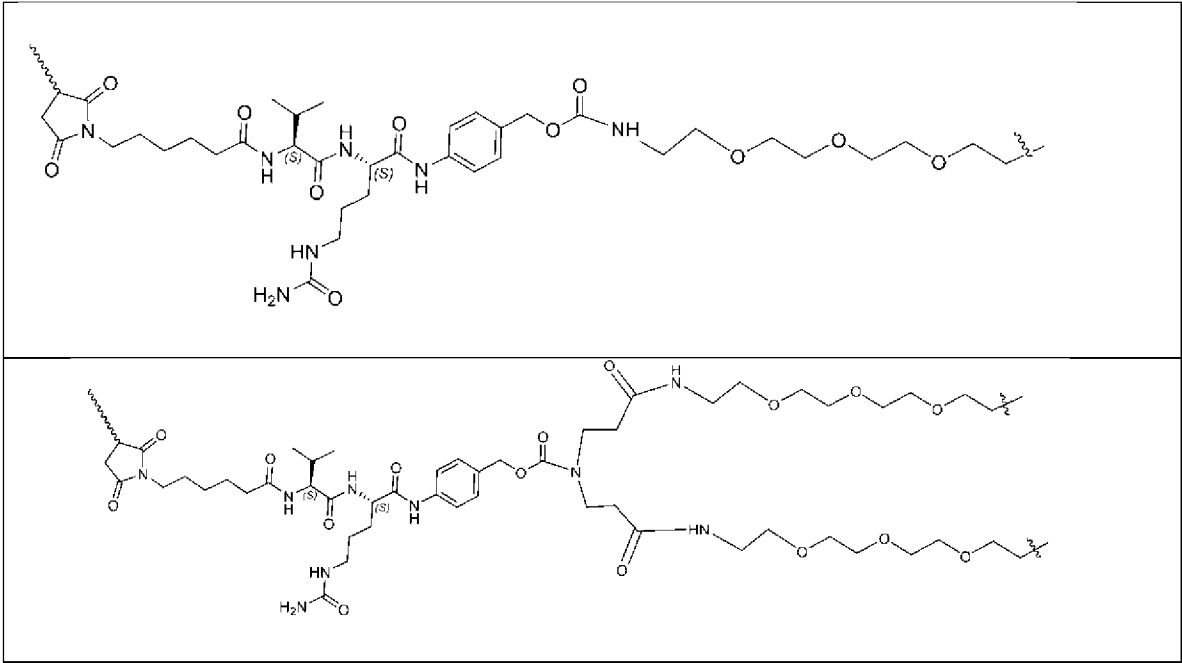


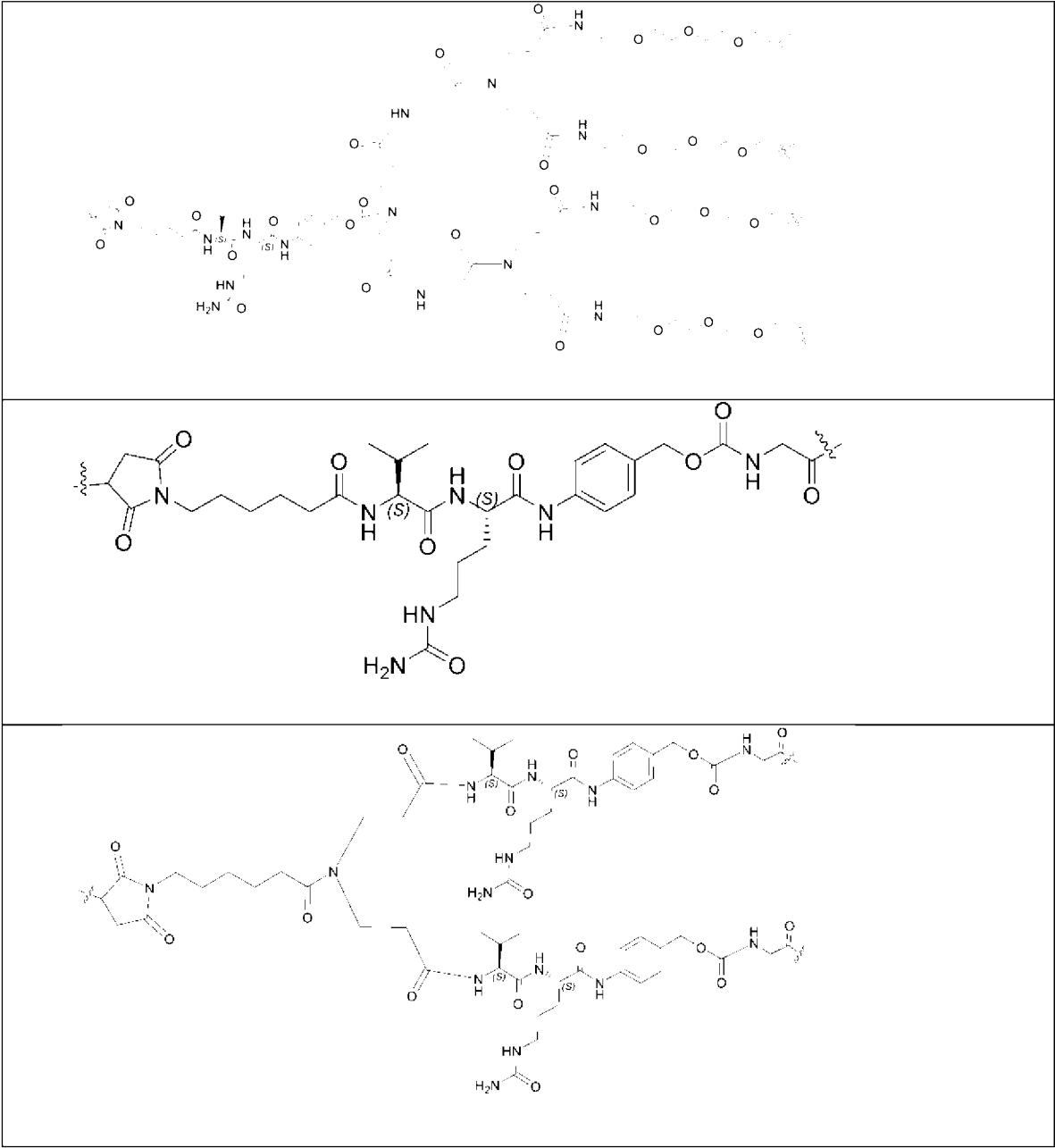
。在一些實施方式中，R₆為 ，X為鍵。在又一些實施

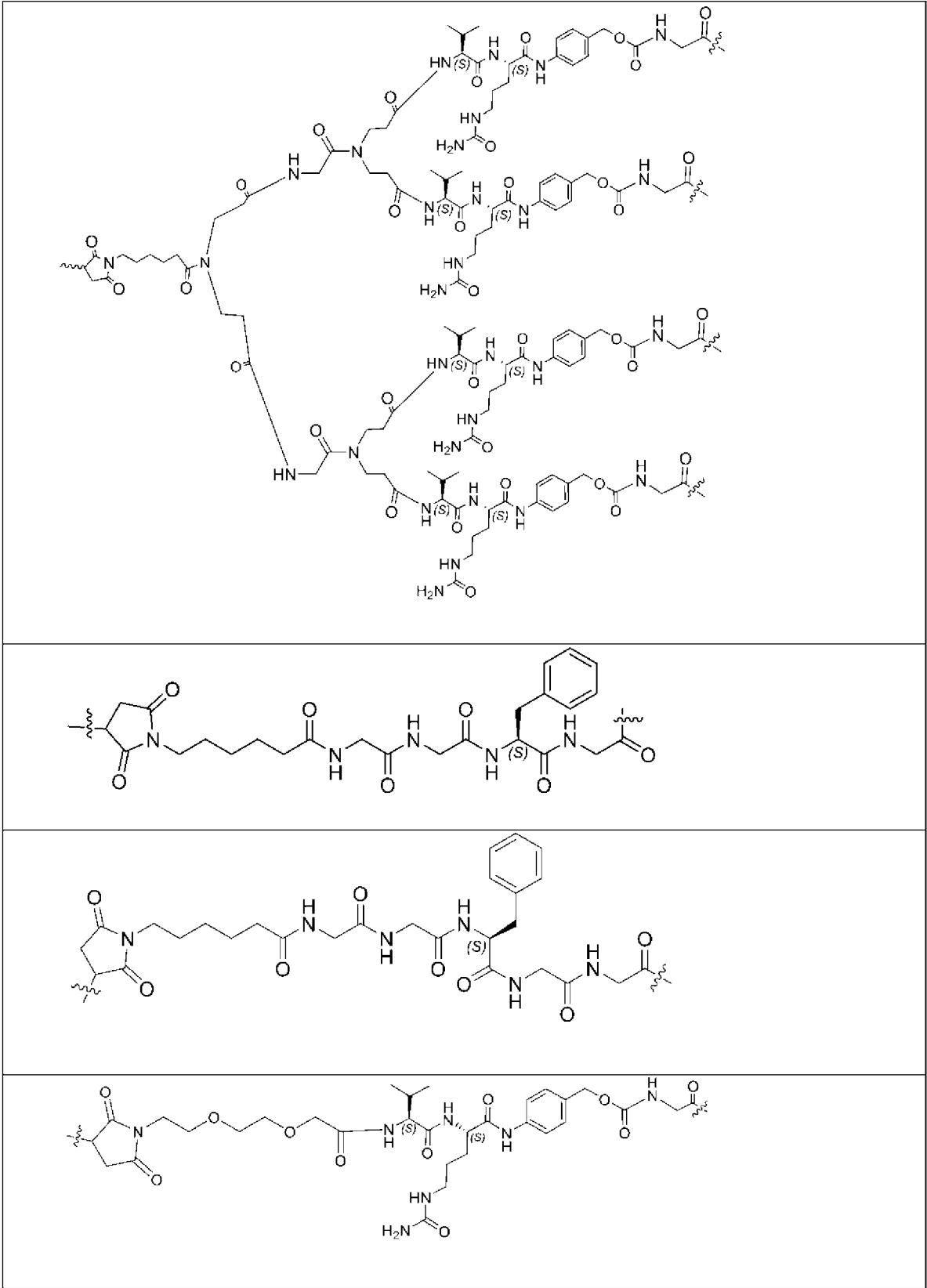
方式中，R₆為 ，X為O。

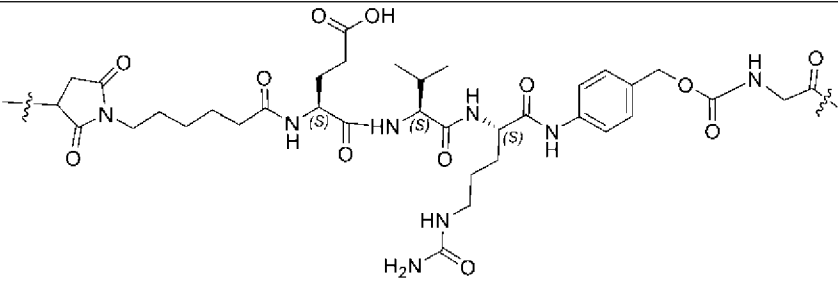
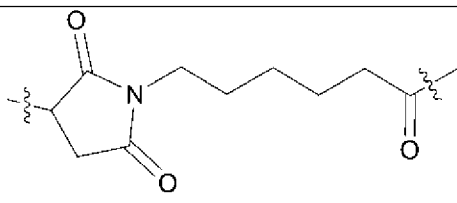
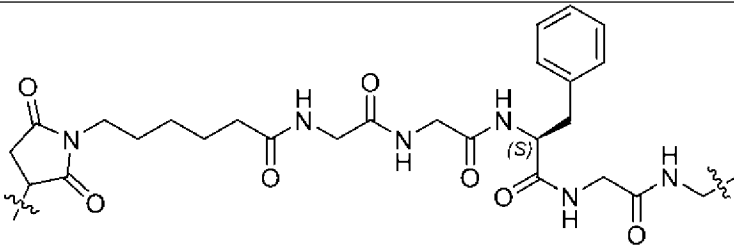
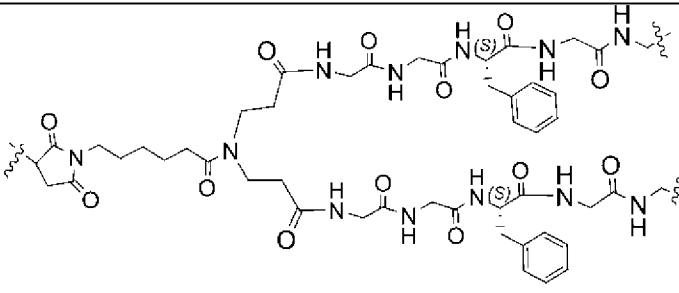
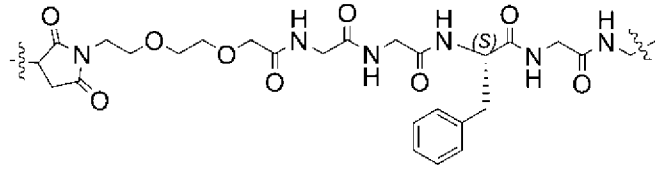
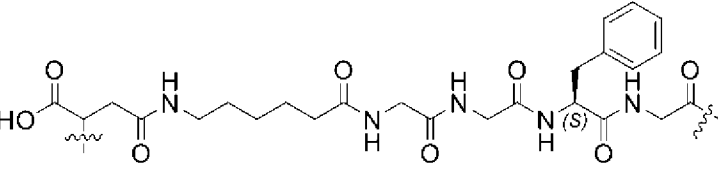
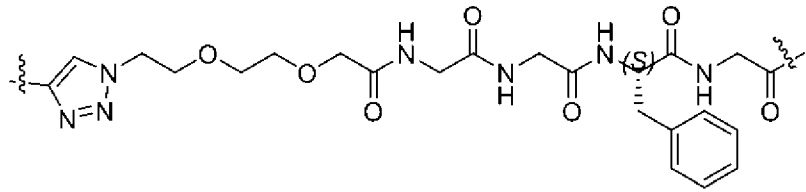
【0016】 在一些實施方式中，p為0。

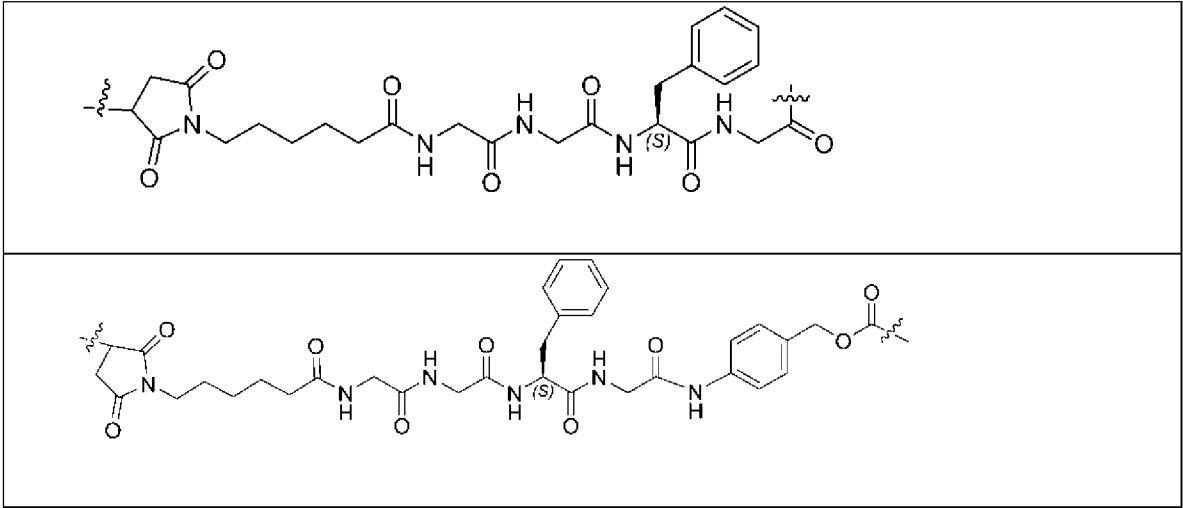
【0017】 在一些實施方式中，所述連接子具有選自下組的結構：







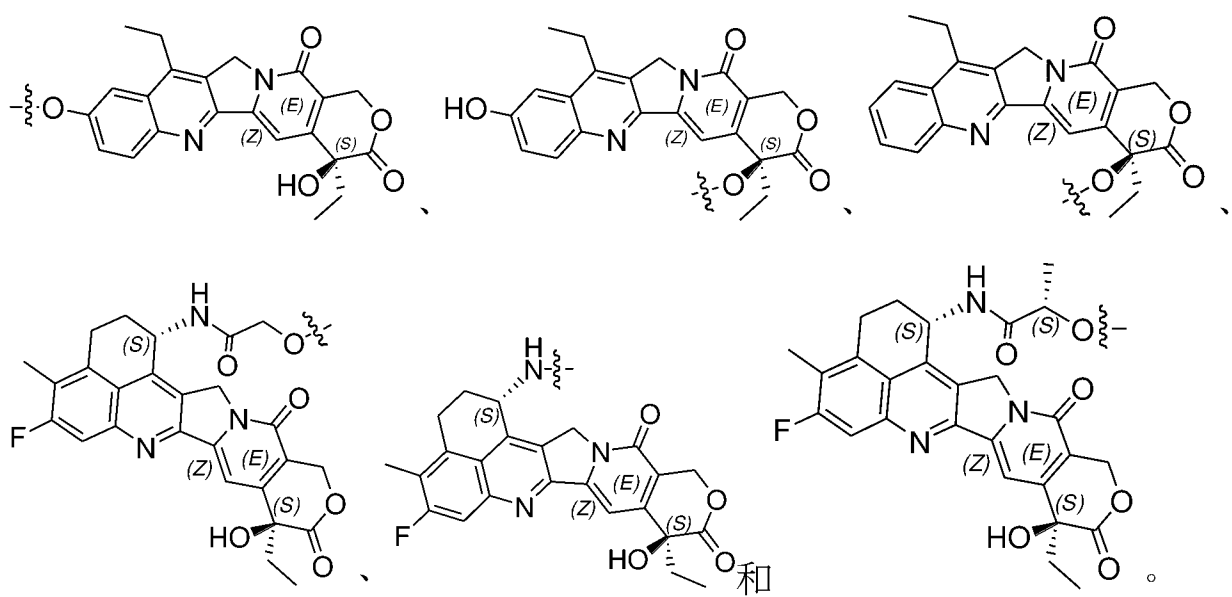










【0018】 在一些實施方式中，有效負載選自下組：小分子化合物、核苷酸和肽，較佳地，所述有效負載是小分子化合物。

【0019】 在一些實施方式中，所述小分子化合物選自下組：喜樹鹼及其任何衍生物、美登素及其任何衍生物、放射性金屬錯合物、環氧化酶-2抑制劑及其任何衍生物、紫杉醇及其任何衍生物、埃博黴素及其任何衍生物、博來黴素及其任何衍生物、更生黴素及其任何衍生物、普卡黴素及其任何衍生物、和絲裂黴素C及其任何衍生物。在一些較佳的實施方式中，所述小分子化合物是喜樹鹼及其任何衍生物。在一些較佳的實施方式中，所述喜樹鹼是依喜替康。

【0020】 在一些實施方式中，D各自獨立地選自



【0021】 在一些實施方式中，細胞表面分子選自TRPV6、FOLR1、PSMA和SSTR2。

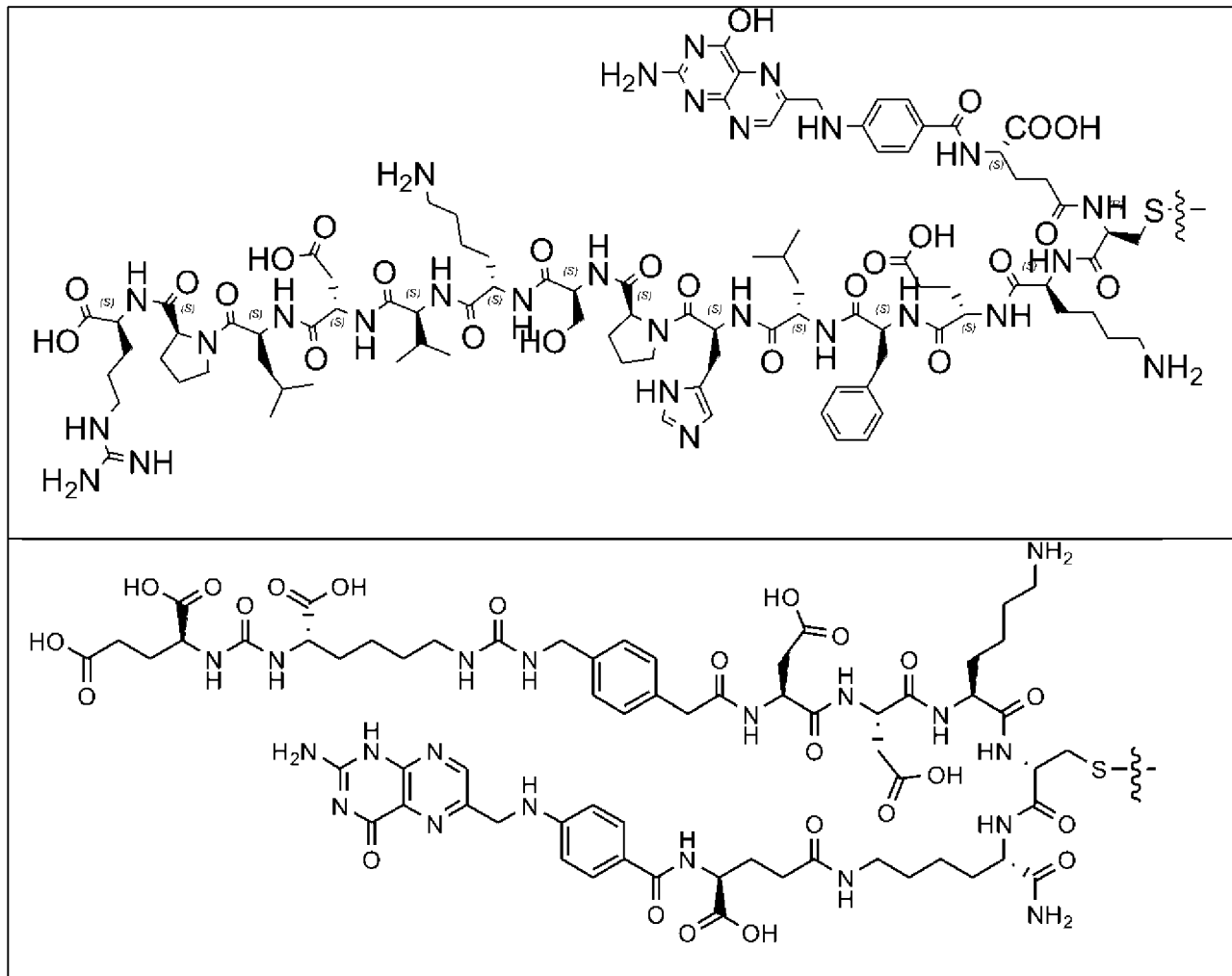
【0022】 在一些實施方式中，細胞表面分子分別為TRPV6和FOLR1、PSMA和FOLR1、或SSTR2和FOLR1。在一些較佳的實施方式中，細胞表面分子分別為TRPV6和FOLR1。在一些實施方式中，靶向FOLR1的配體選自葉酸或其類似物。在一些較佳的實施方式中，所述葉酸類似物選自5-甲基四氫葉酸、5-甲醯基四氫葉酸、甲氨蝶呤和5,10-亞甲基四氫葉酸。在一些實施方式中，靶向SSTR2的配體選自奧曲肽及其任何類似物。

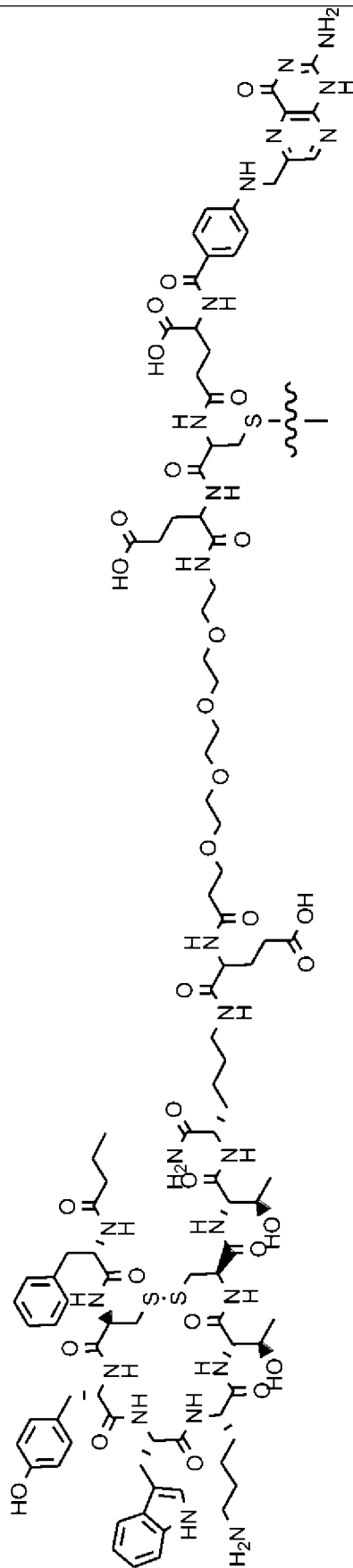
【0023】 在一些實施方式中，配體部分包含三個以上的靶向細胞表面分子的配體。在一些較佳的實施方式中，所述細胞表面分子選自TRPV6、FOLR1、PSMA和SSTR2。

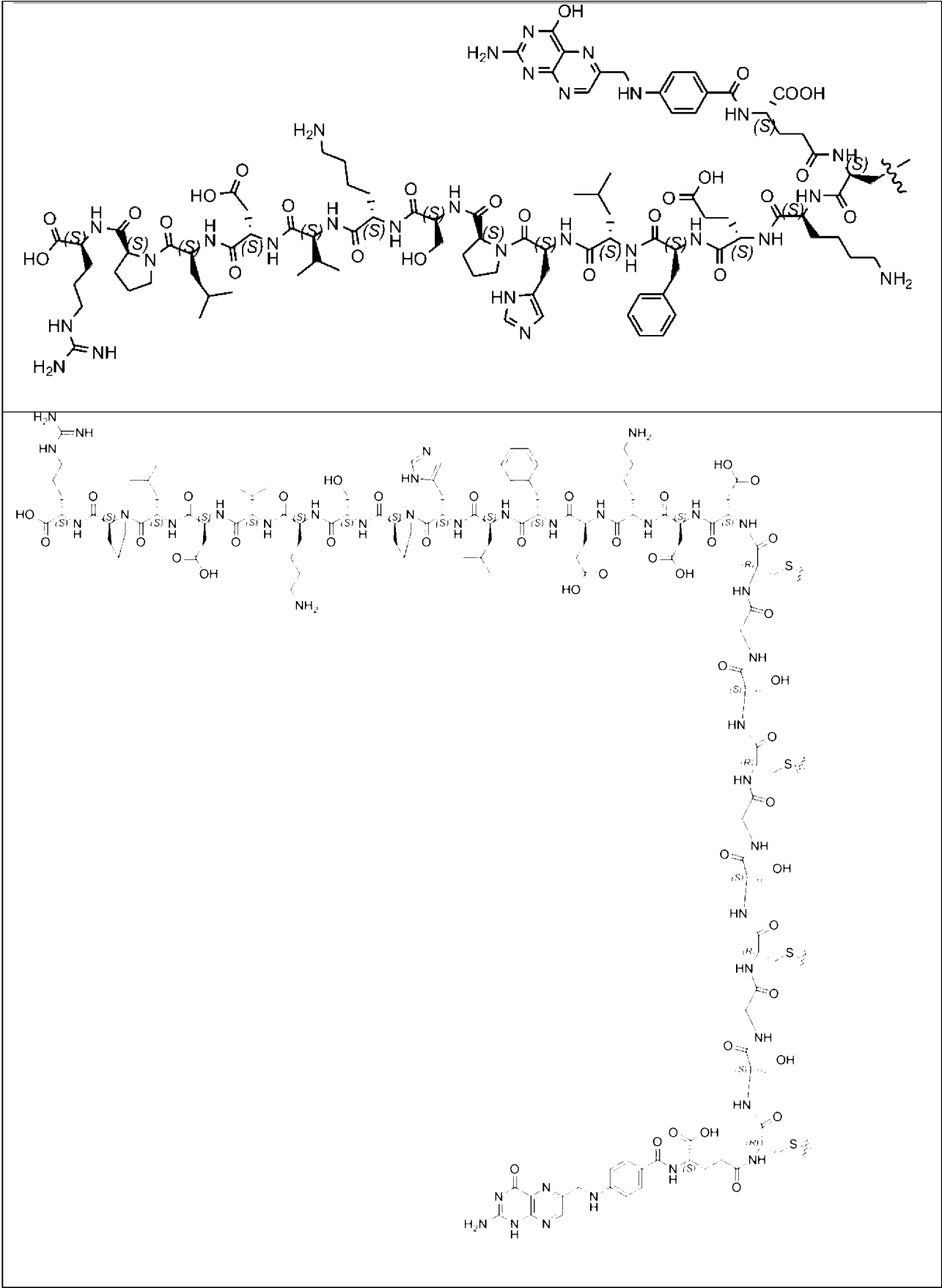
【0024】 在一些實施方式中，靶向不同細胞表面分子的配體彼此直接連接、或透過間隔區彼此連接。在一些實施方式中，所述間隔區由胺基酸組成。在一些較佳的實施方式中，所述間隔區由天然胺基酸或非天然胺基酸組成。在

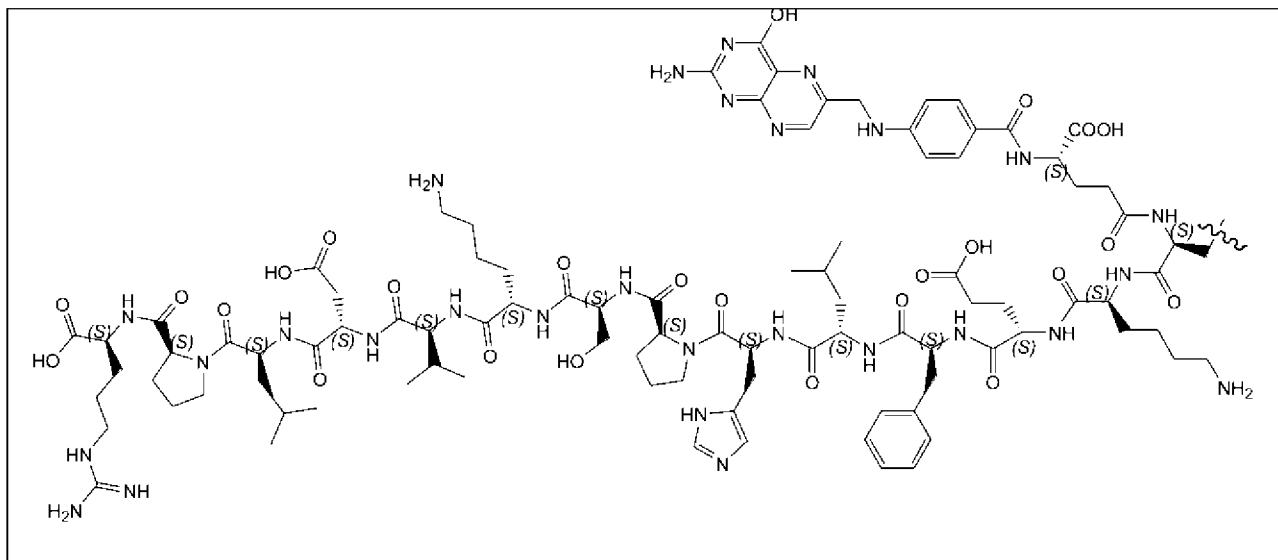
又一些較佳的實施方式中，所述間隔區為甘胺酸。在一些實施方式中，所述間隔區可在特定的生理環境下透過蛋白酶裂解或還原裂解。

【0025】 在一些實施方式中，所述配體部分具有以下結構：



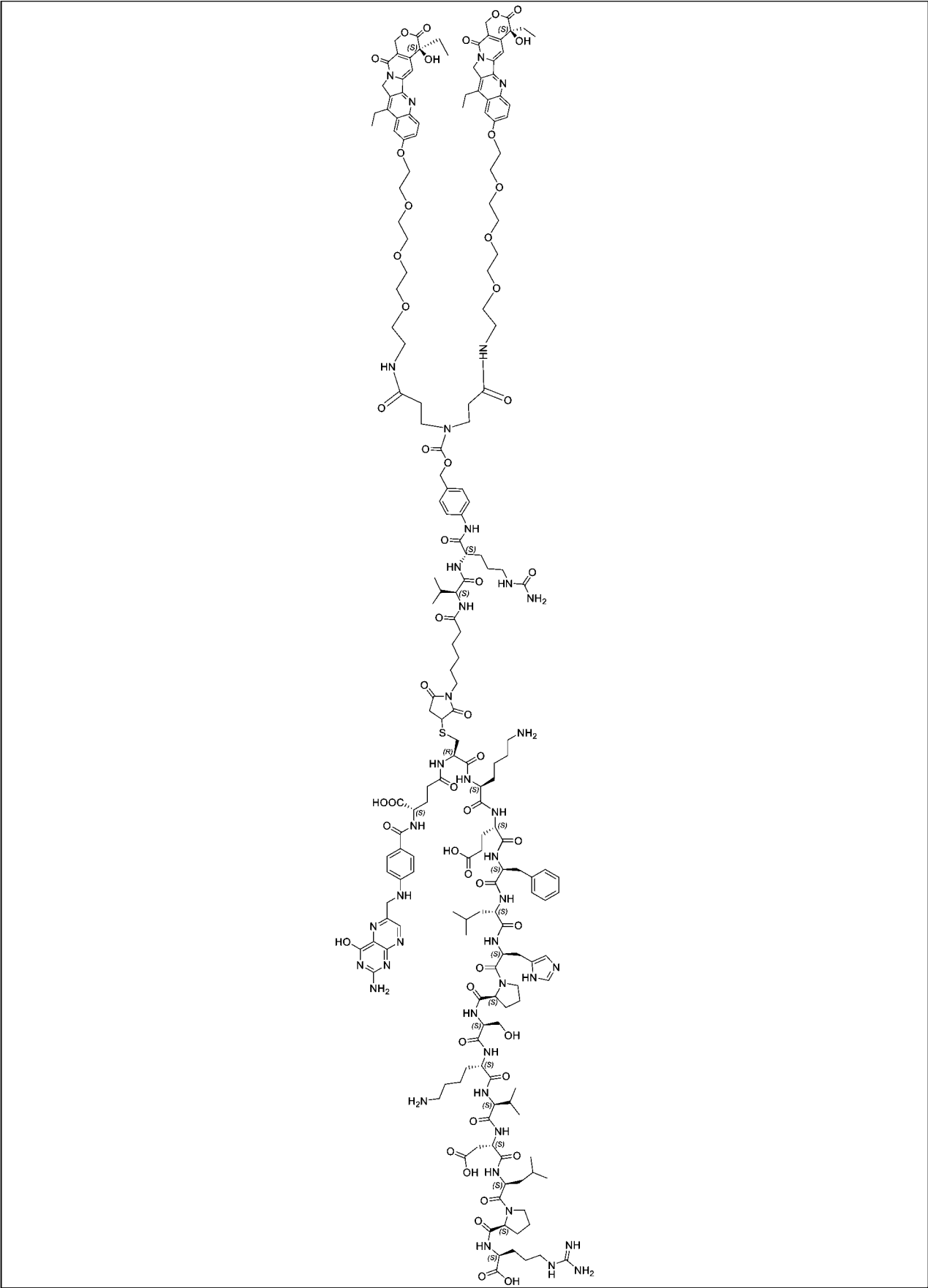


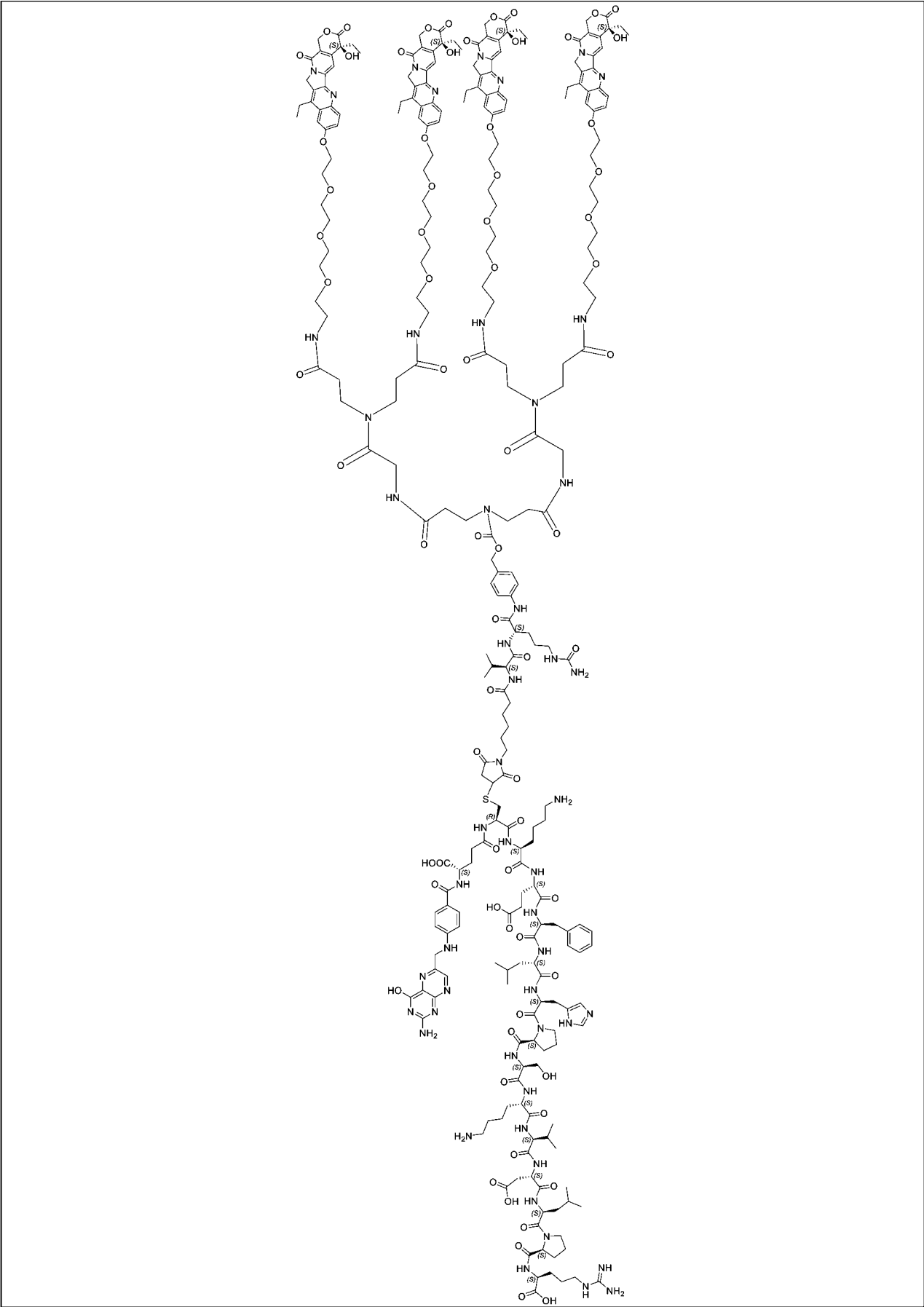


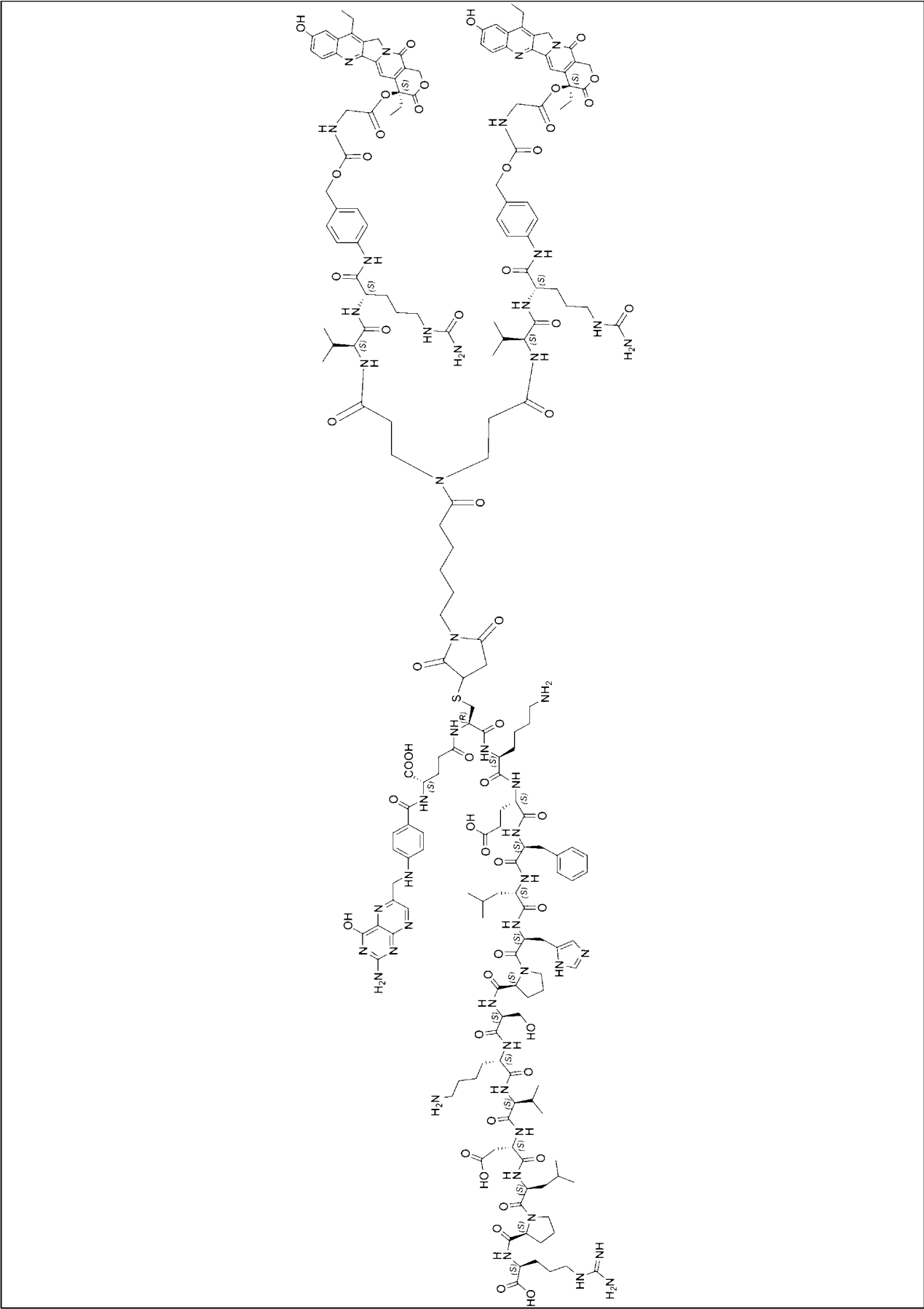


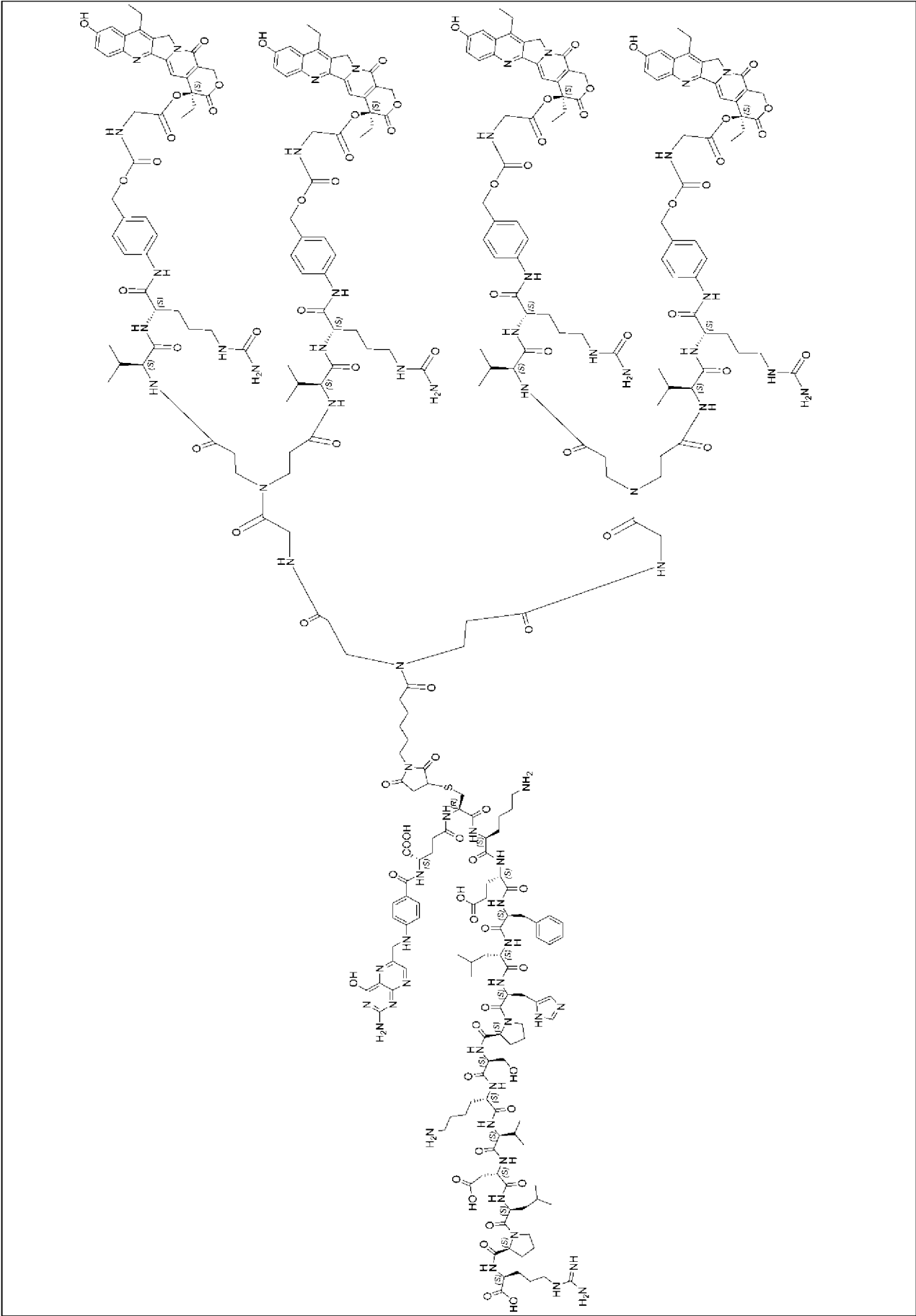
【0026】 在一些實施方式中，q為1。在一些實施方式中，q為2。在一些實施方式中，q為3。在一些實施方式中，q為4。

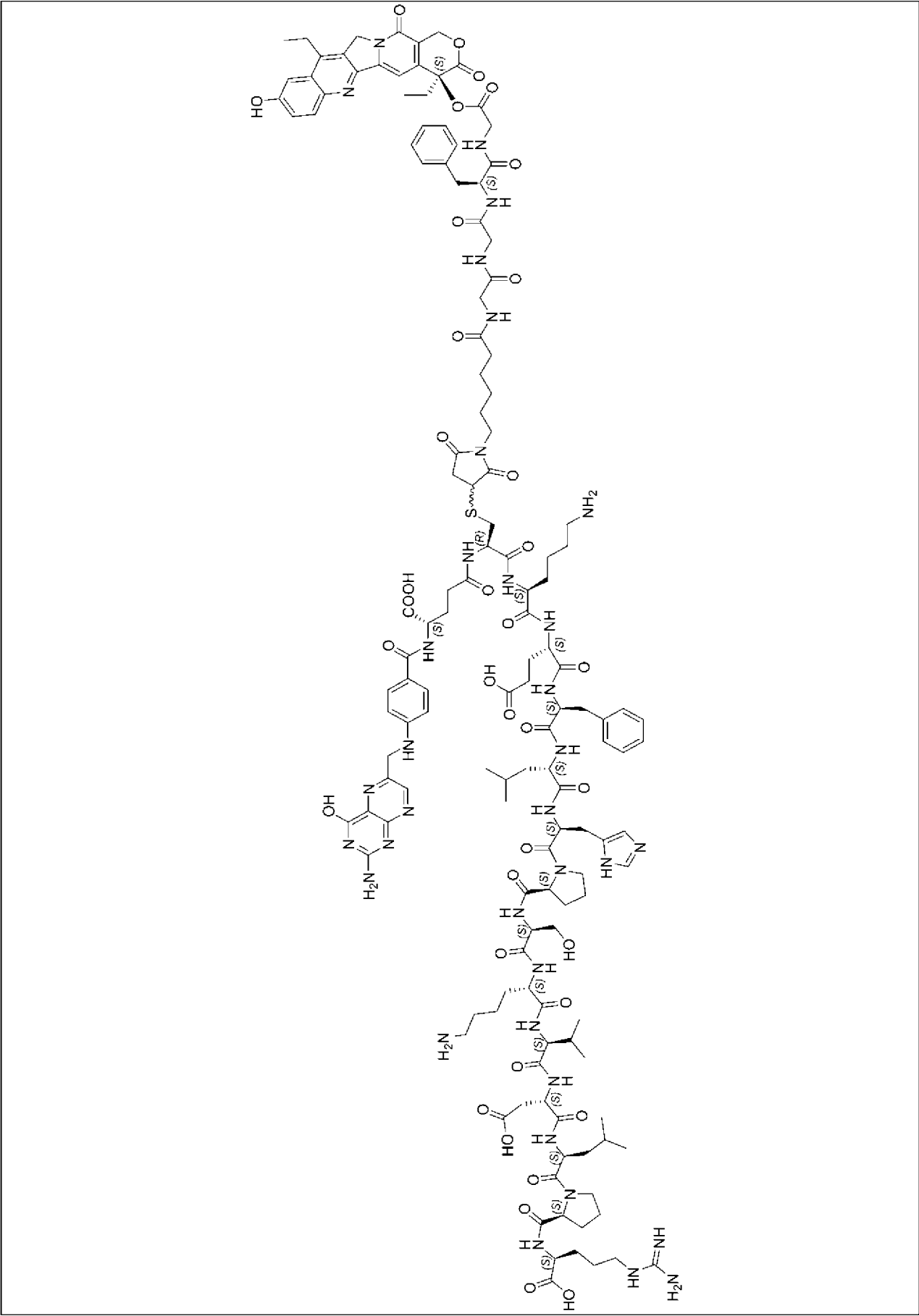
【0027】 本案的一個方面提供了一種偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，所述偶聯體化合物選自：

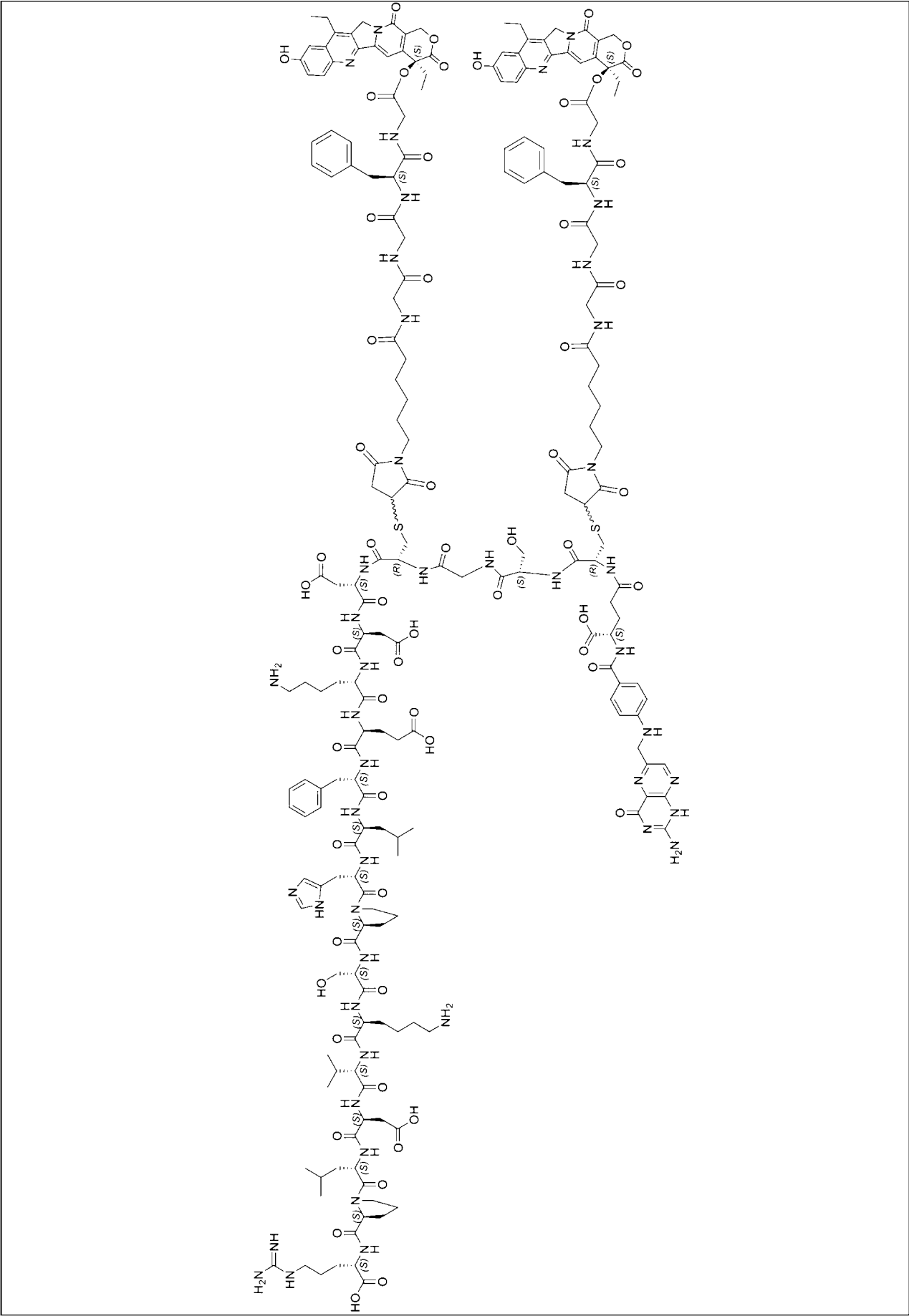


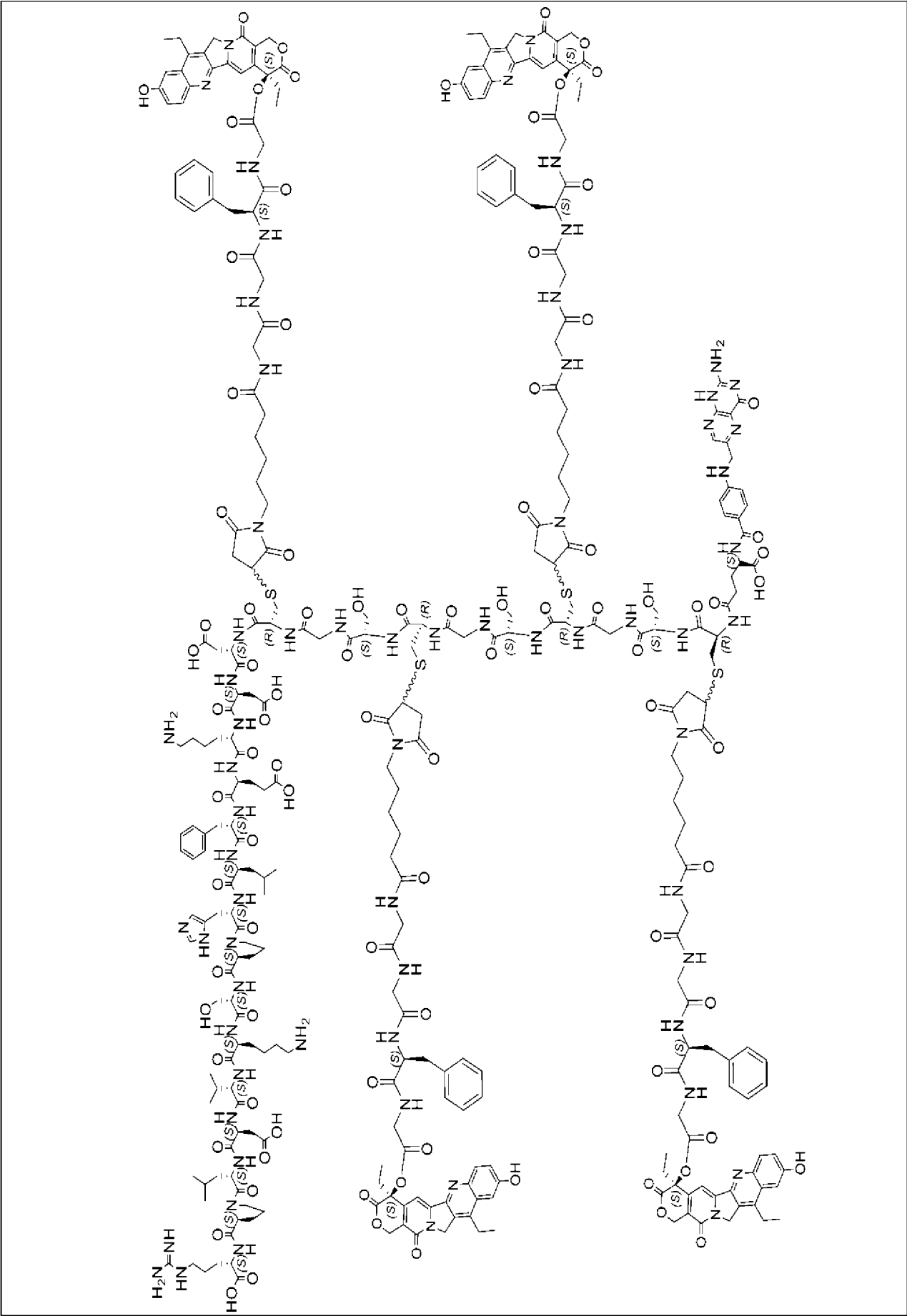


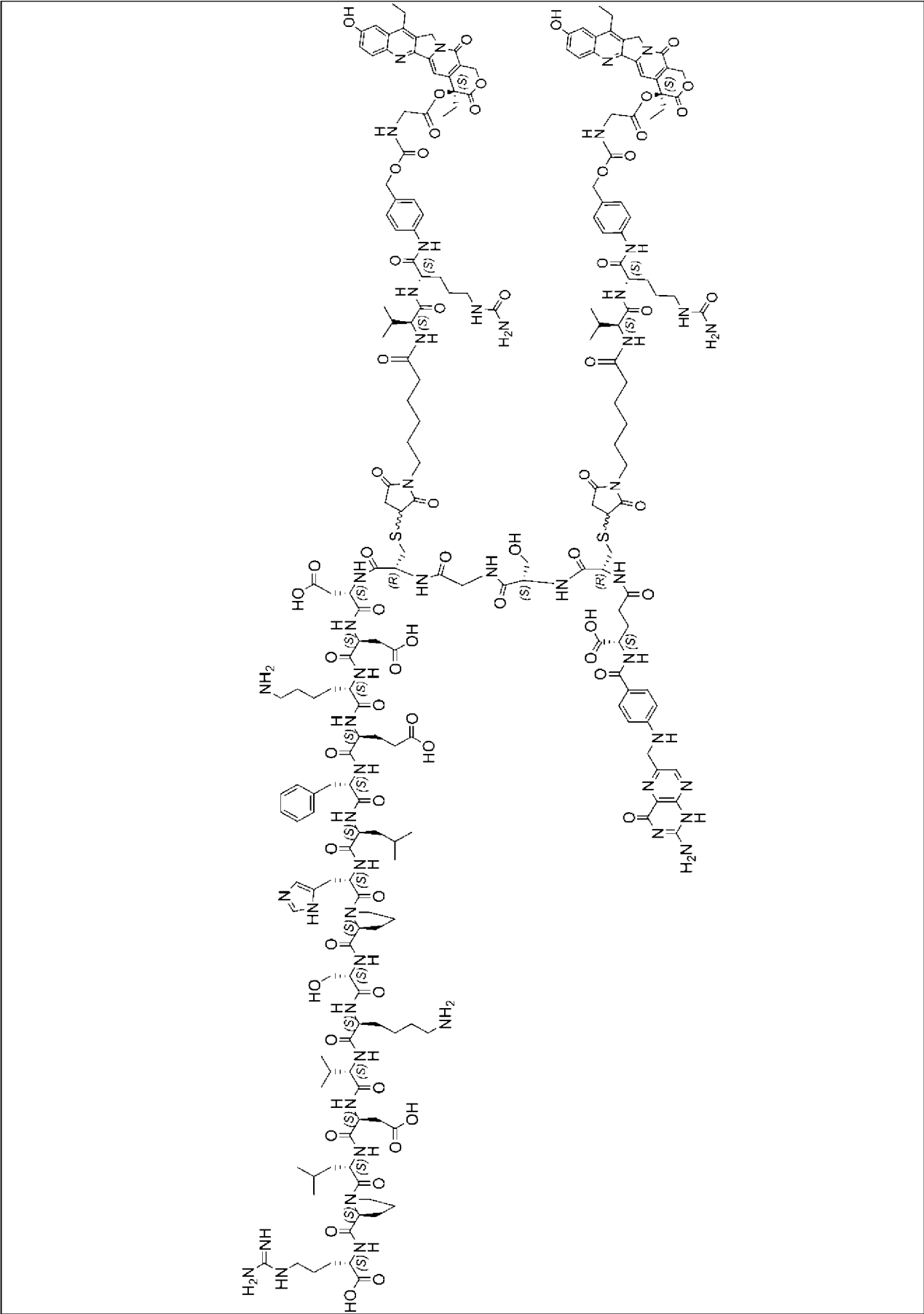


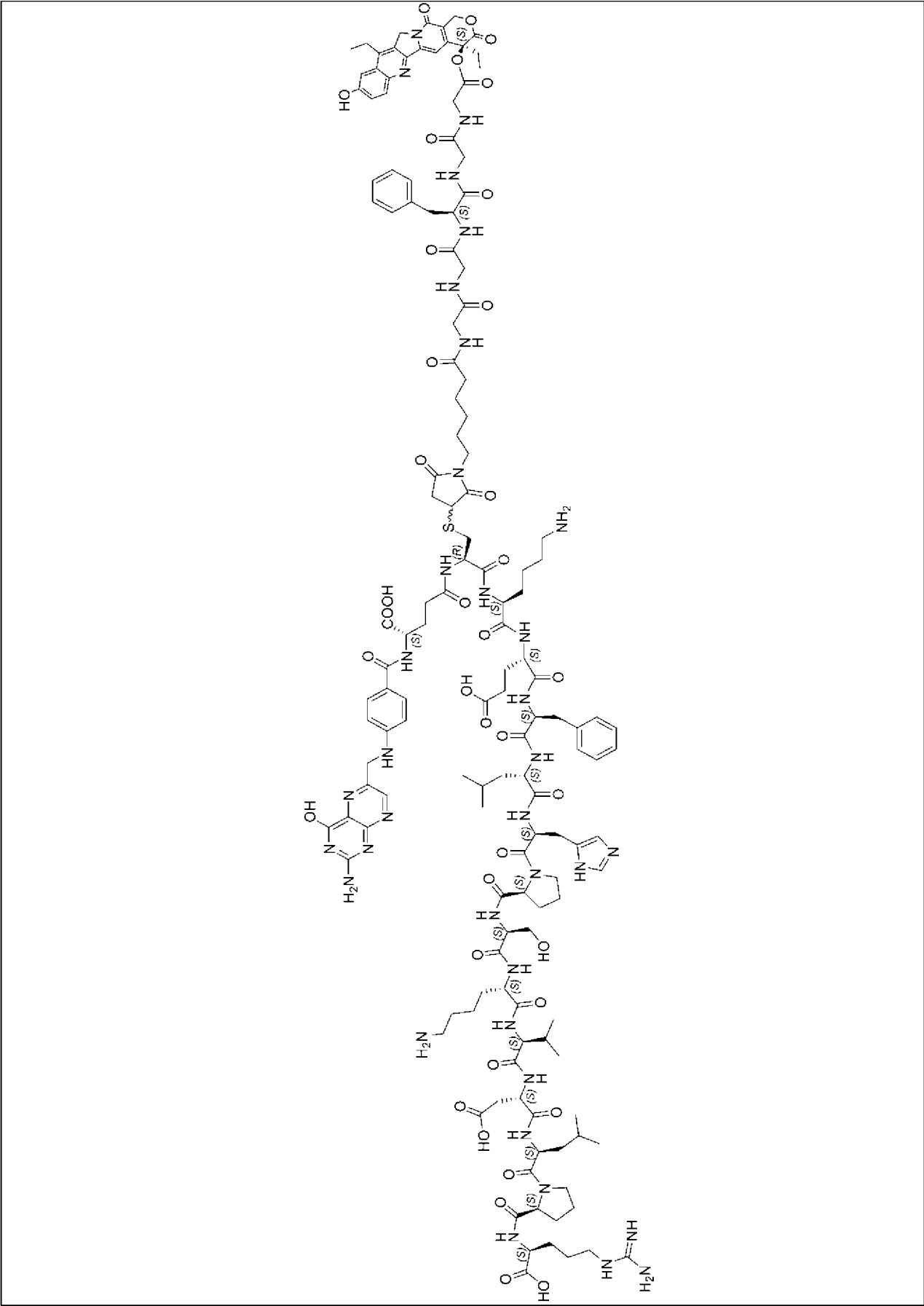


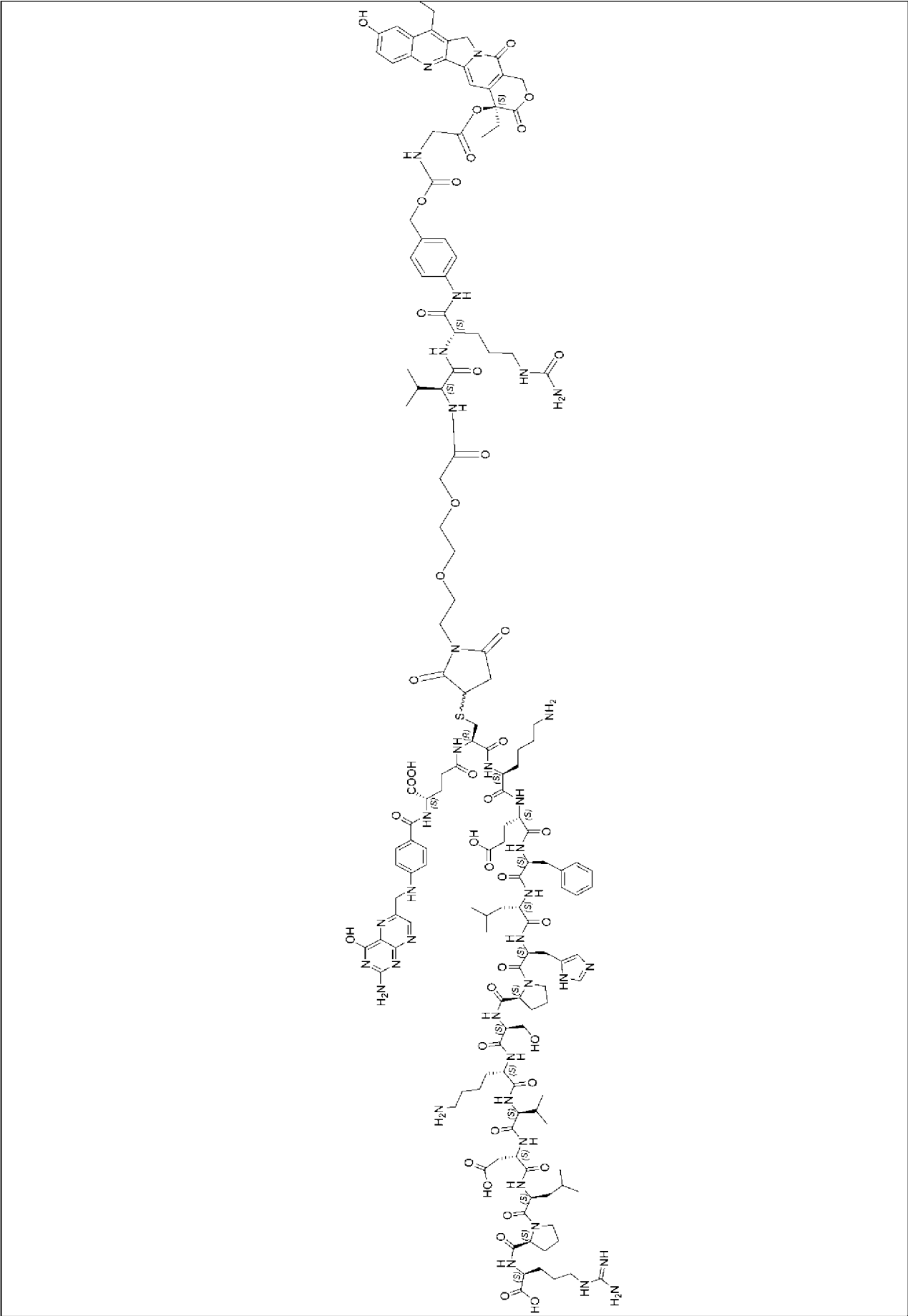


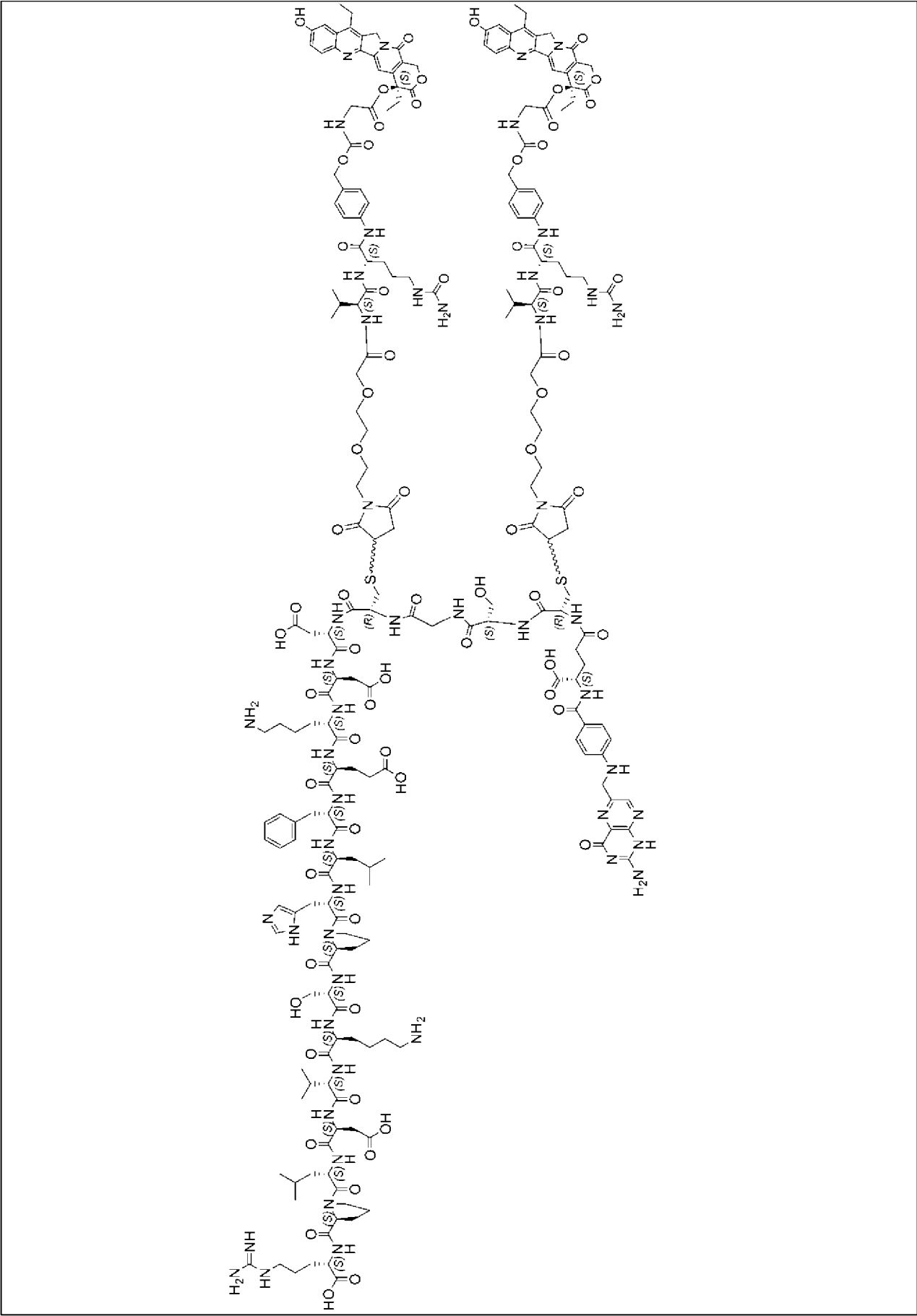


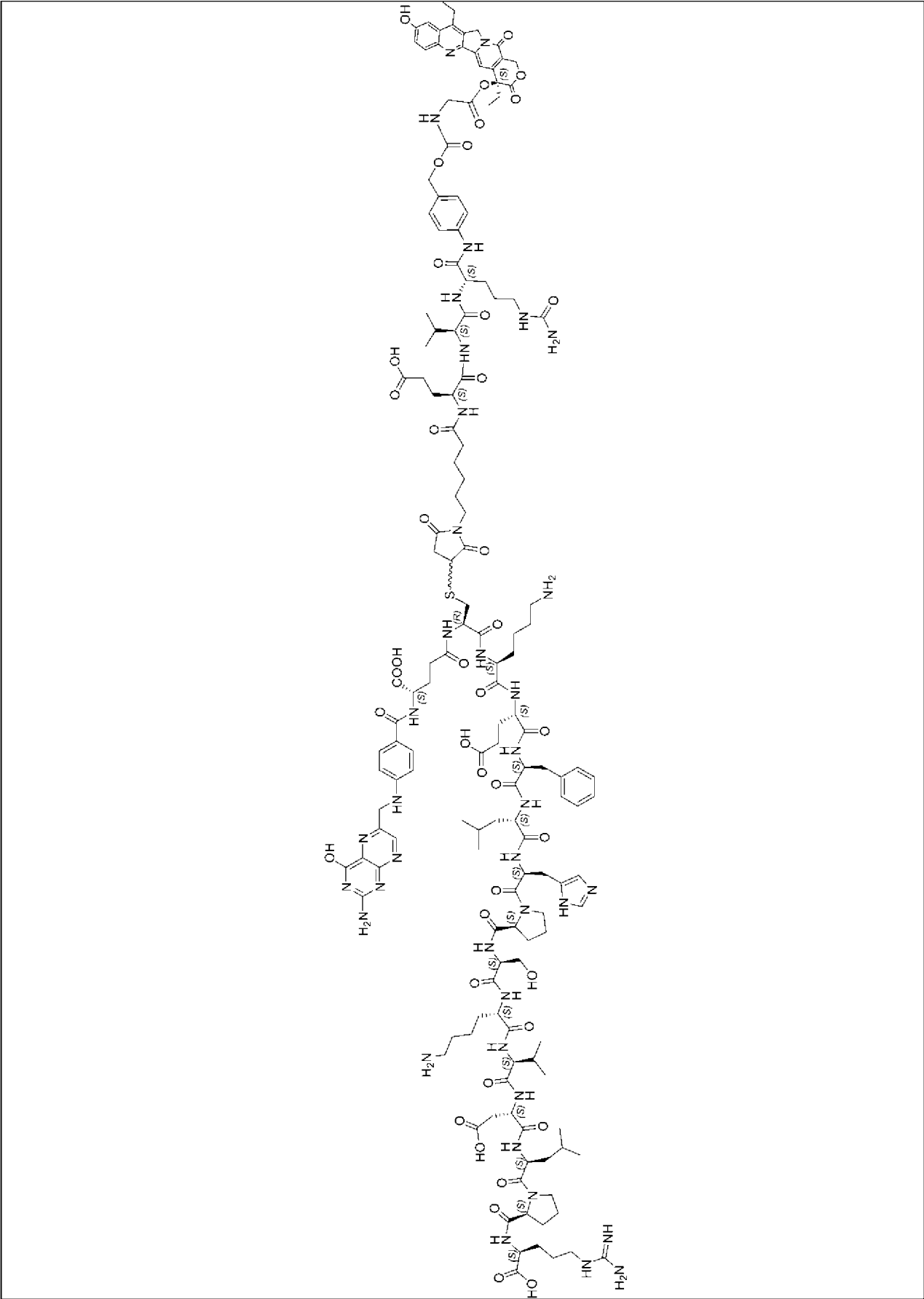


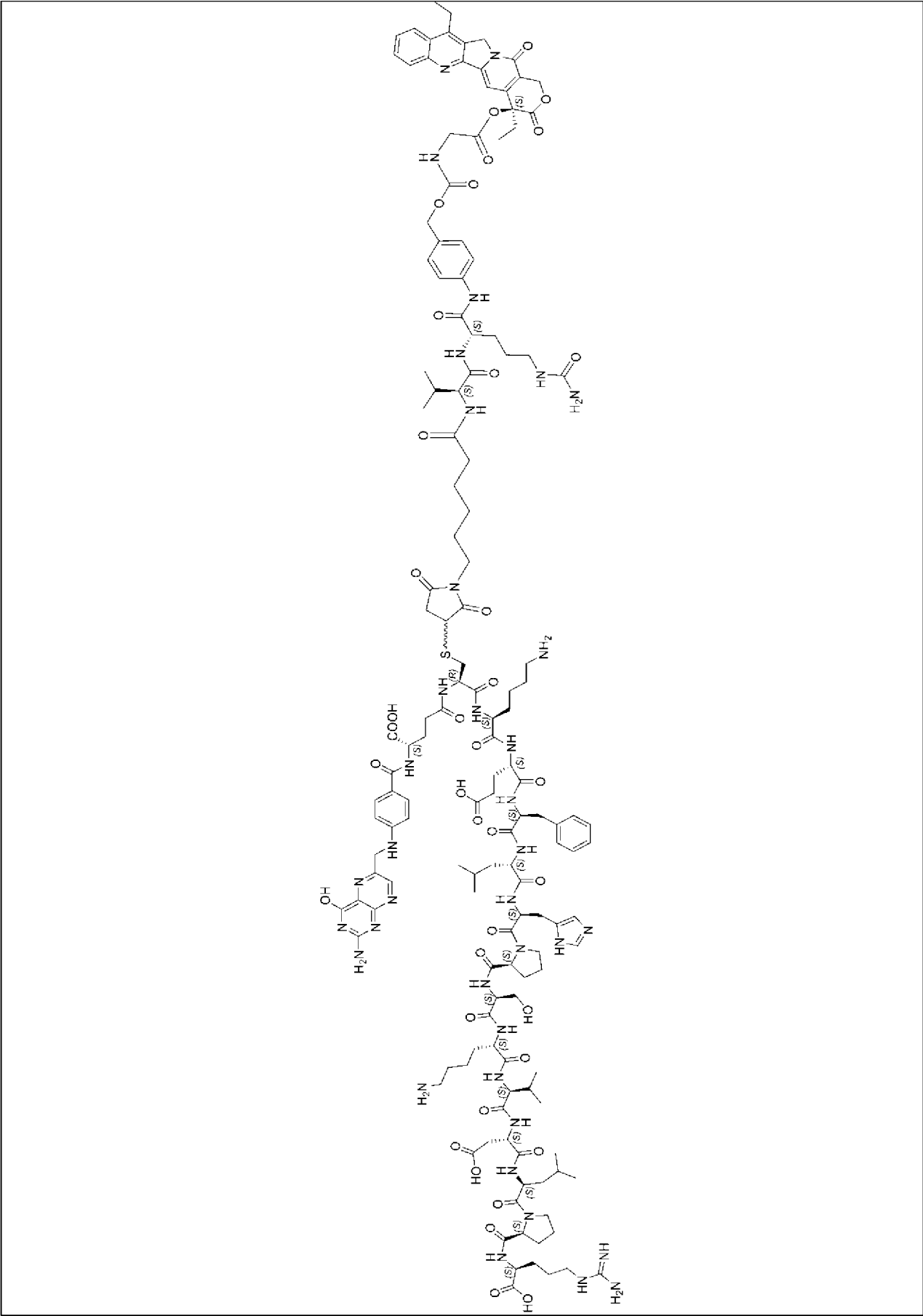




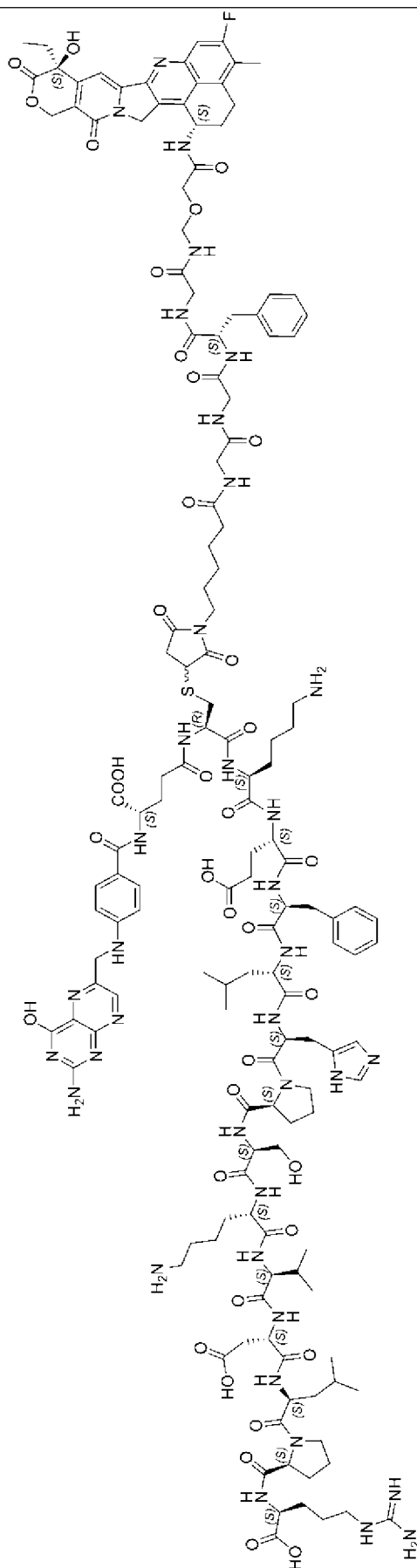


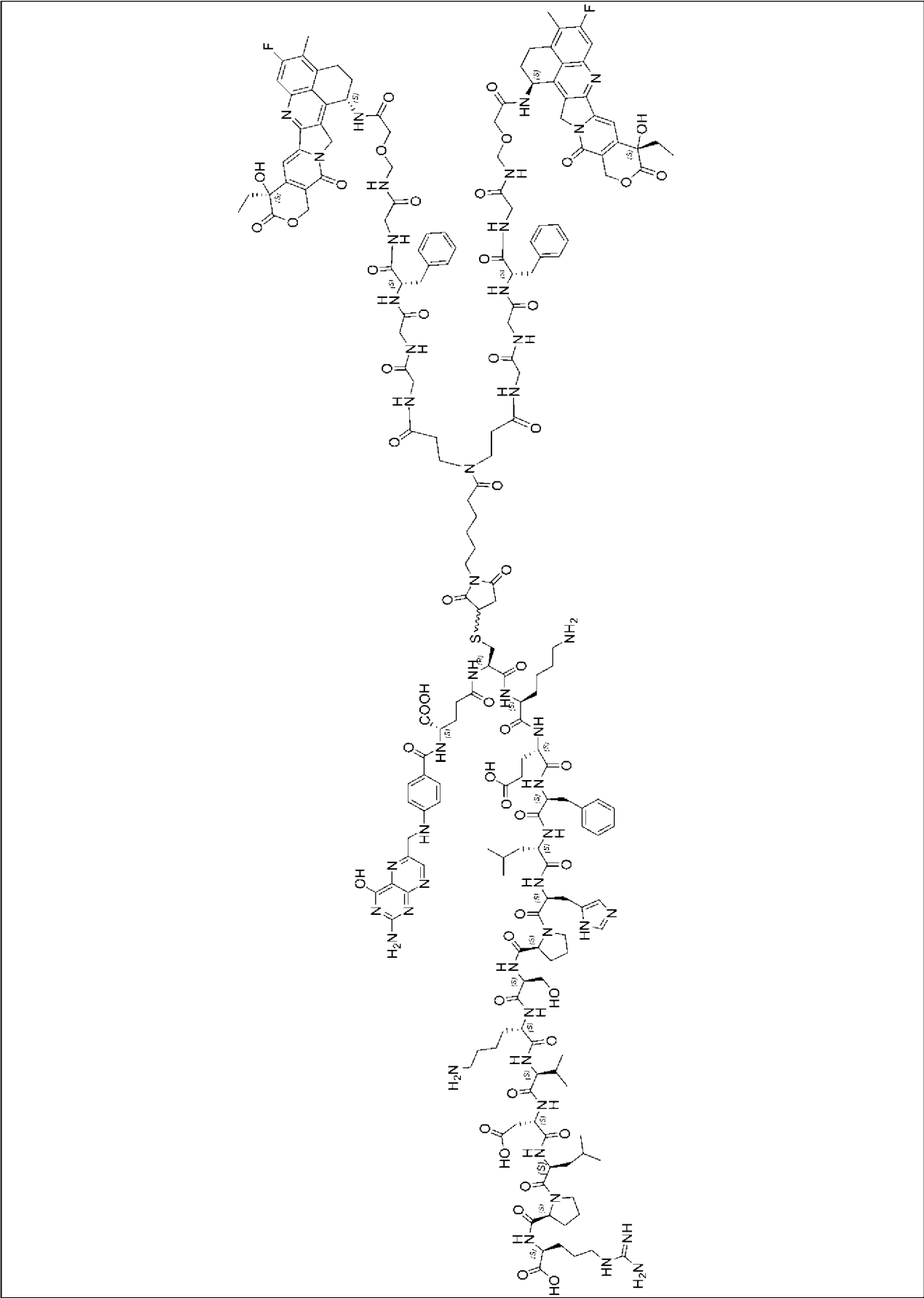


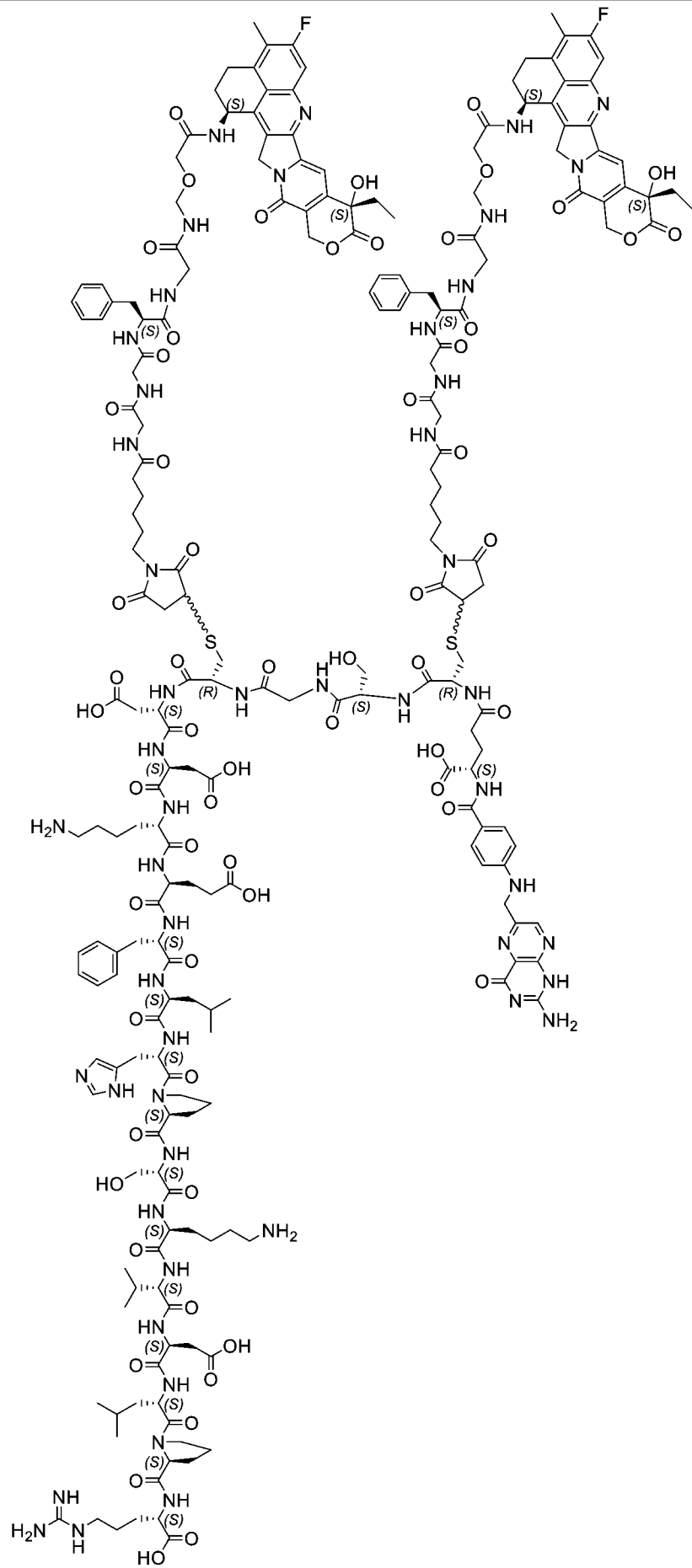


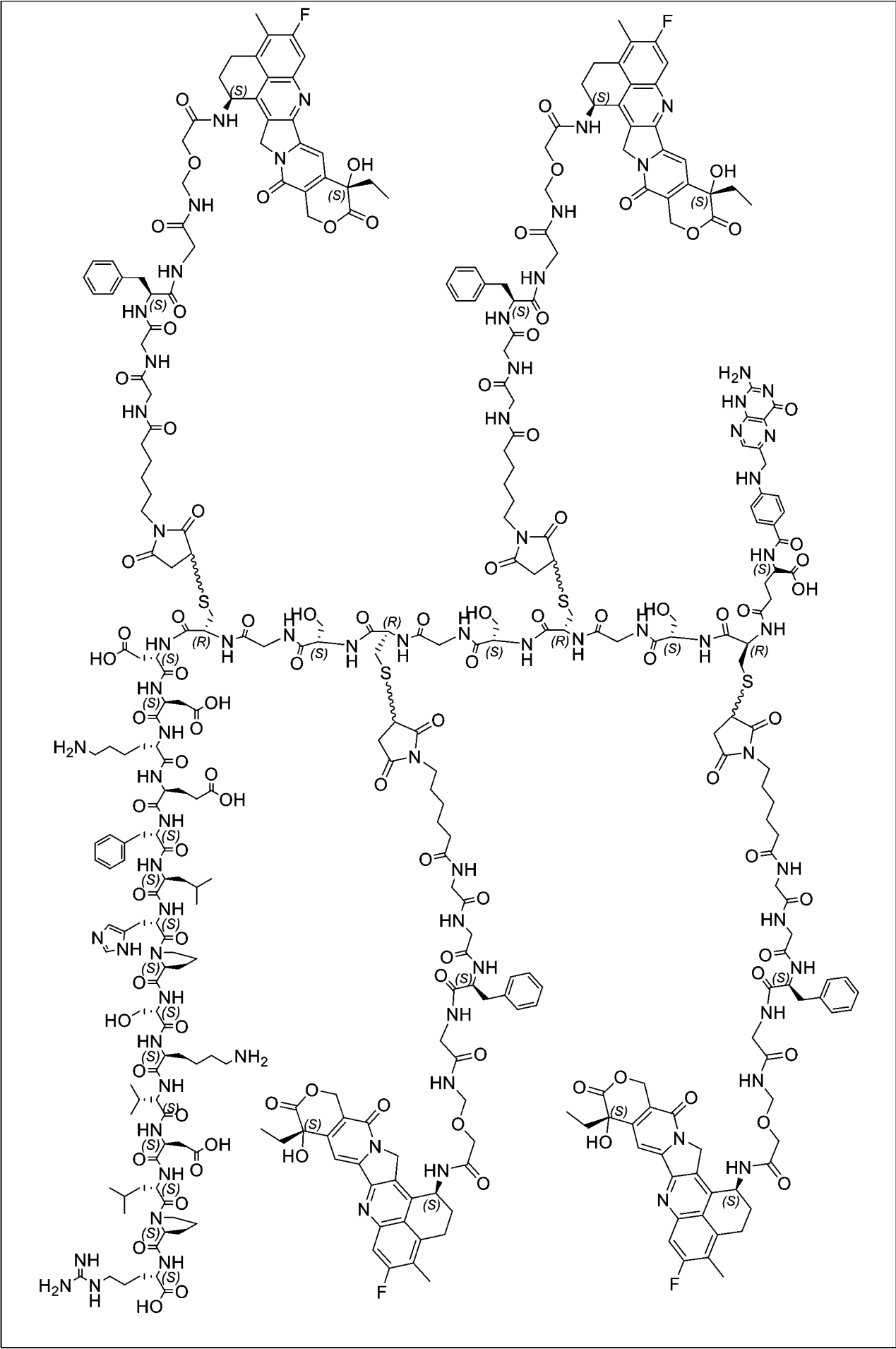


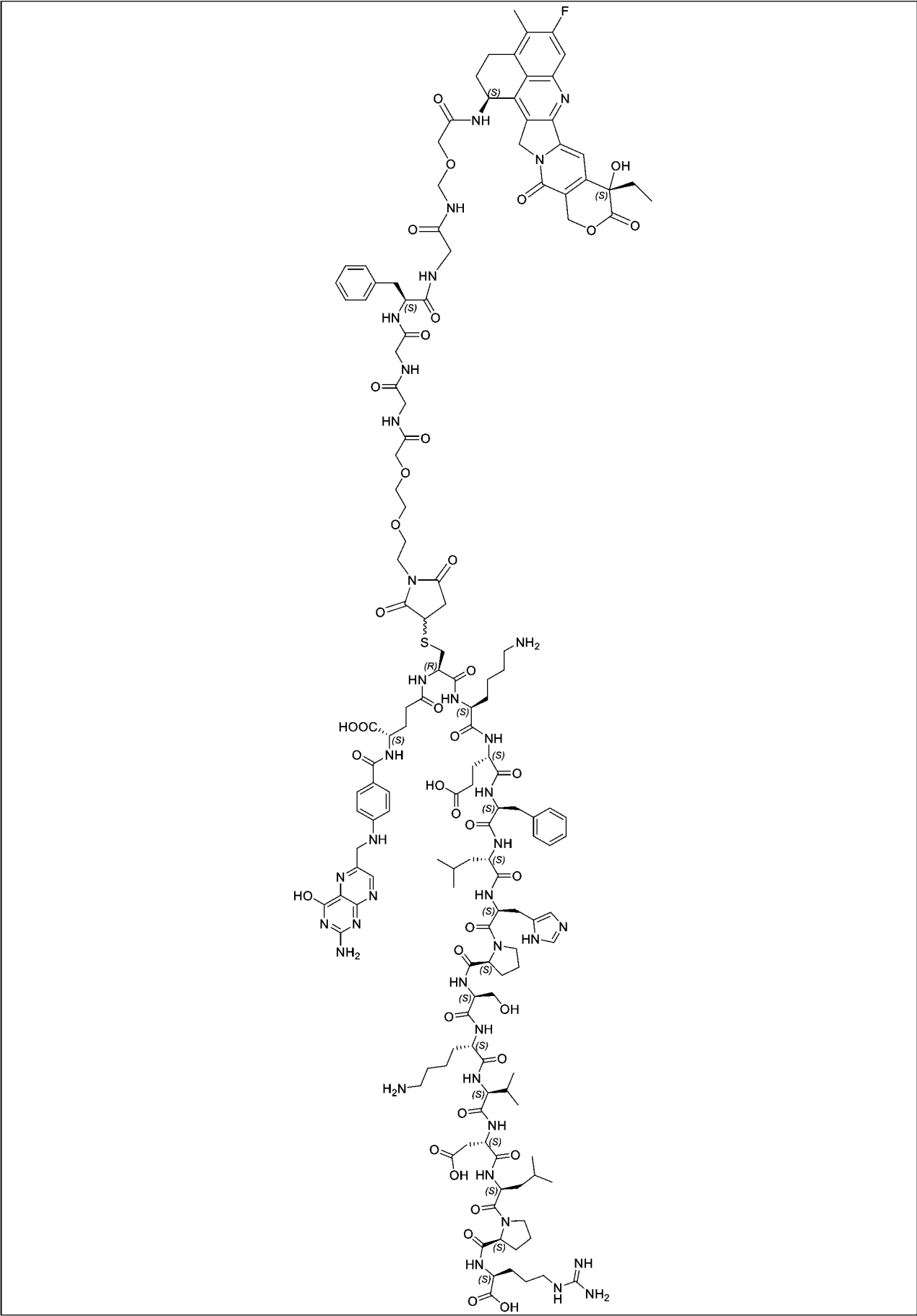


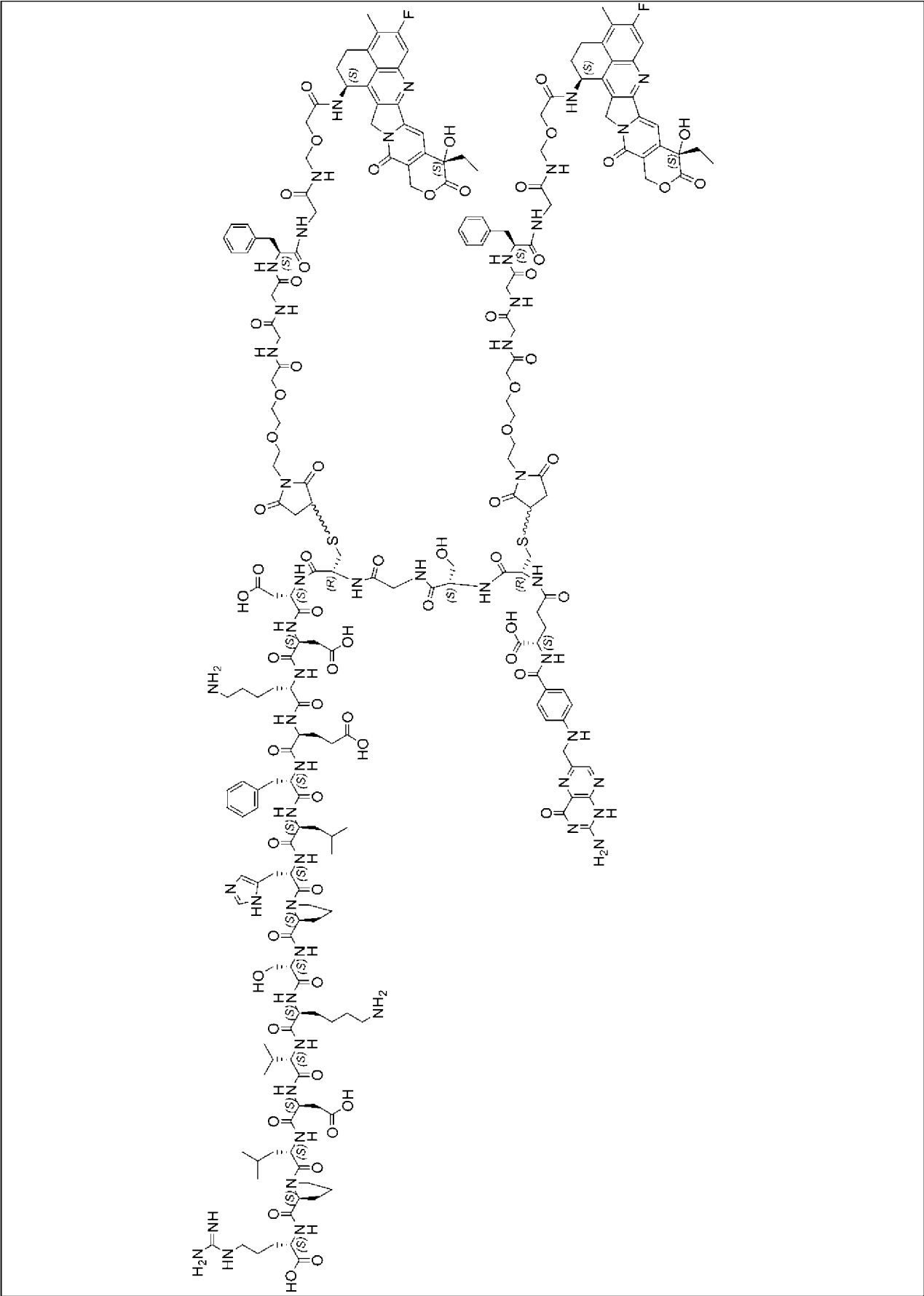


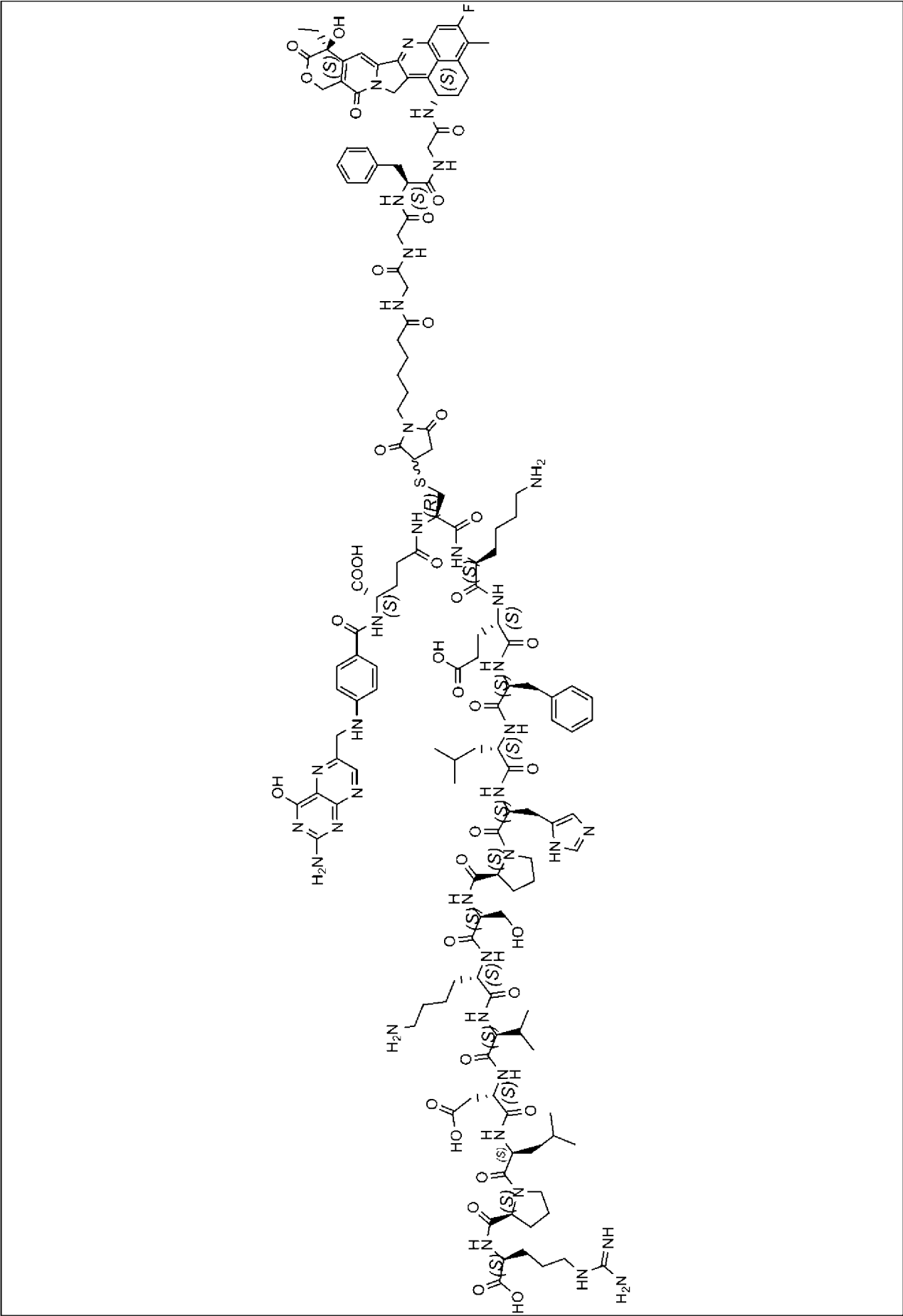


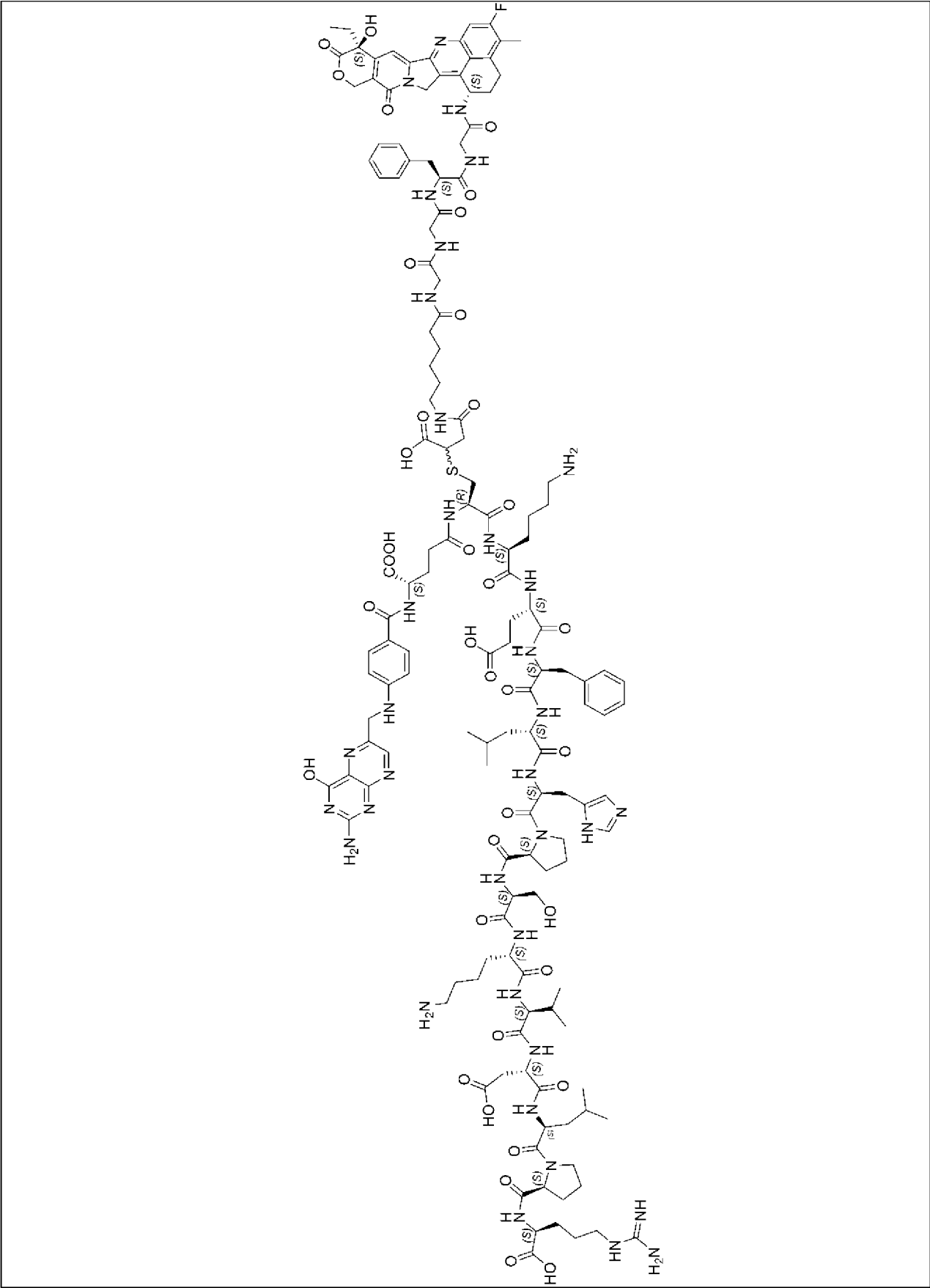


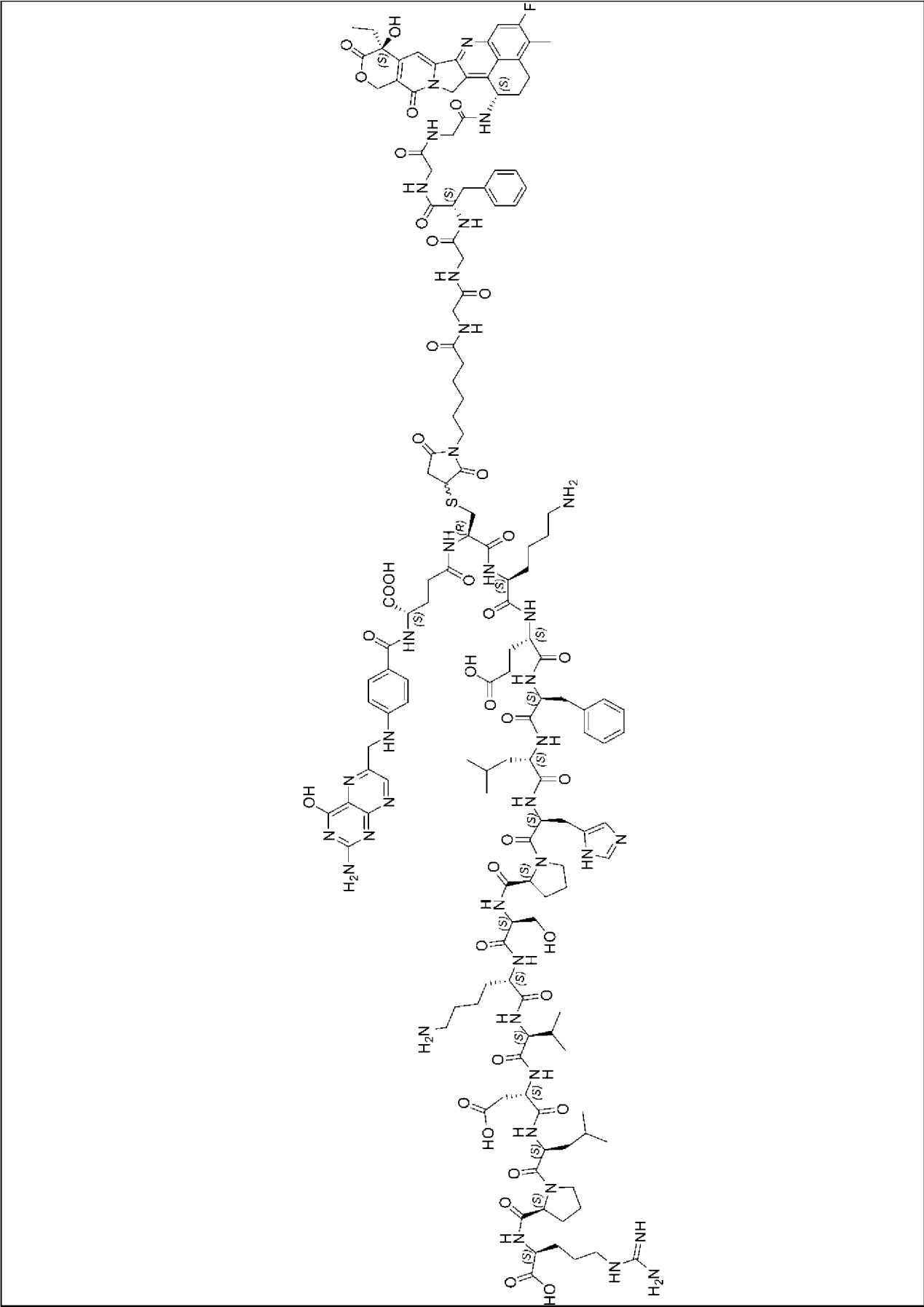


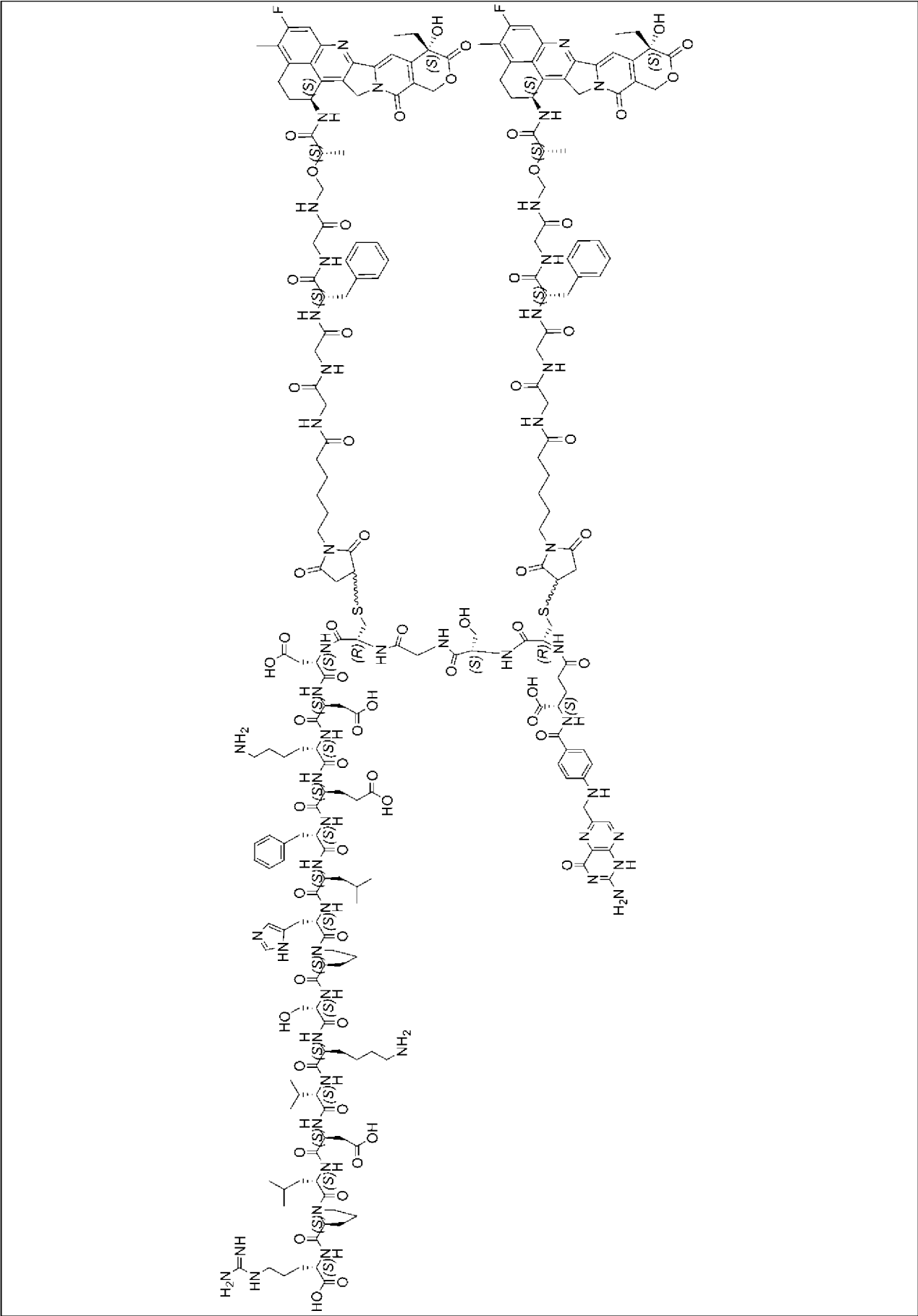


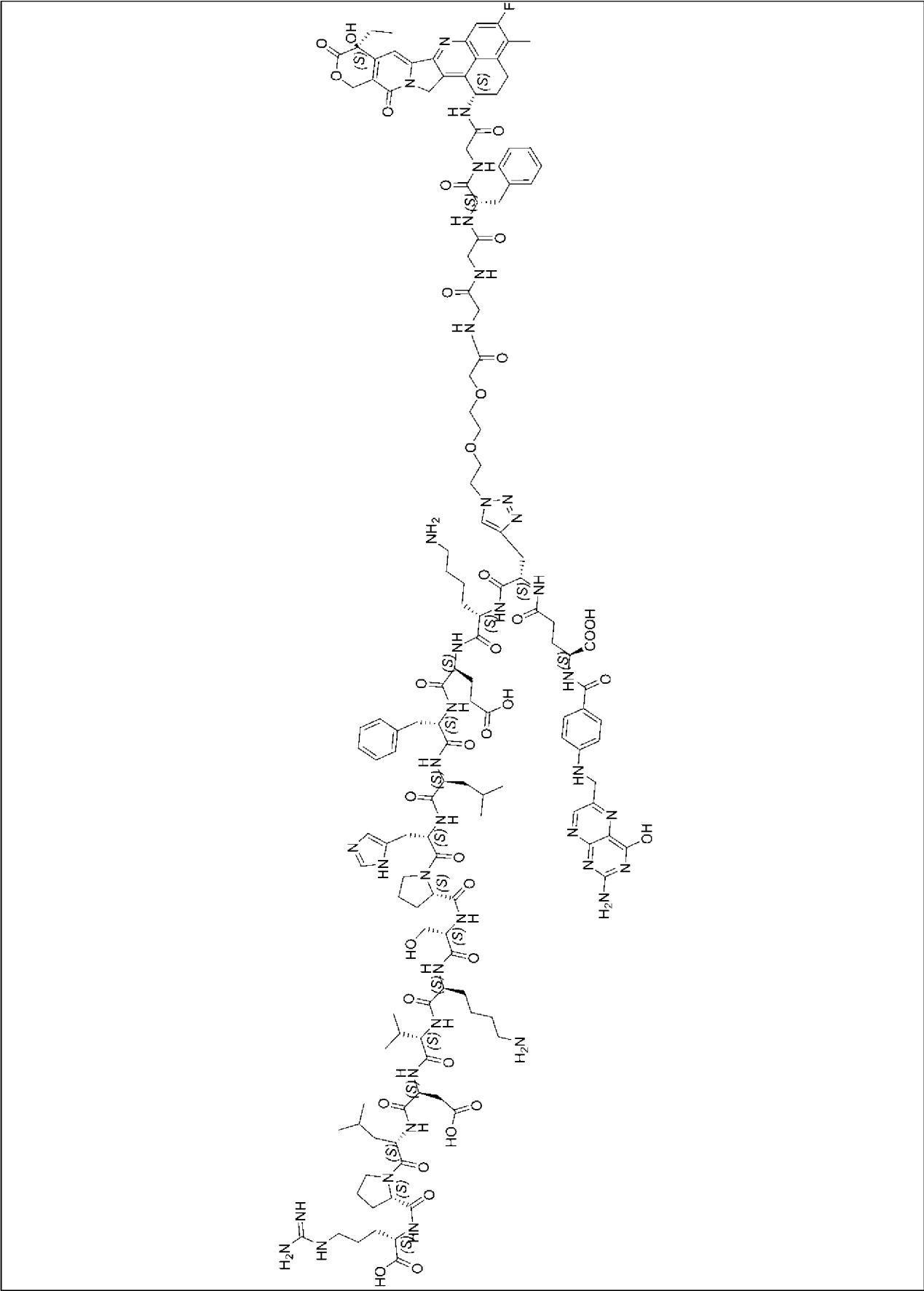


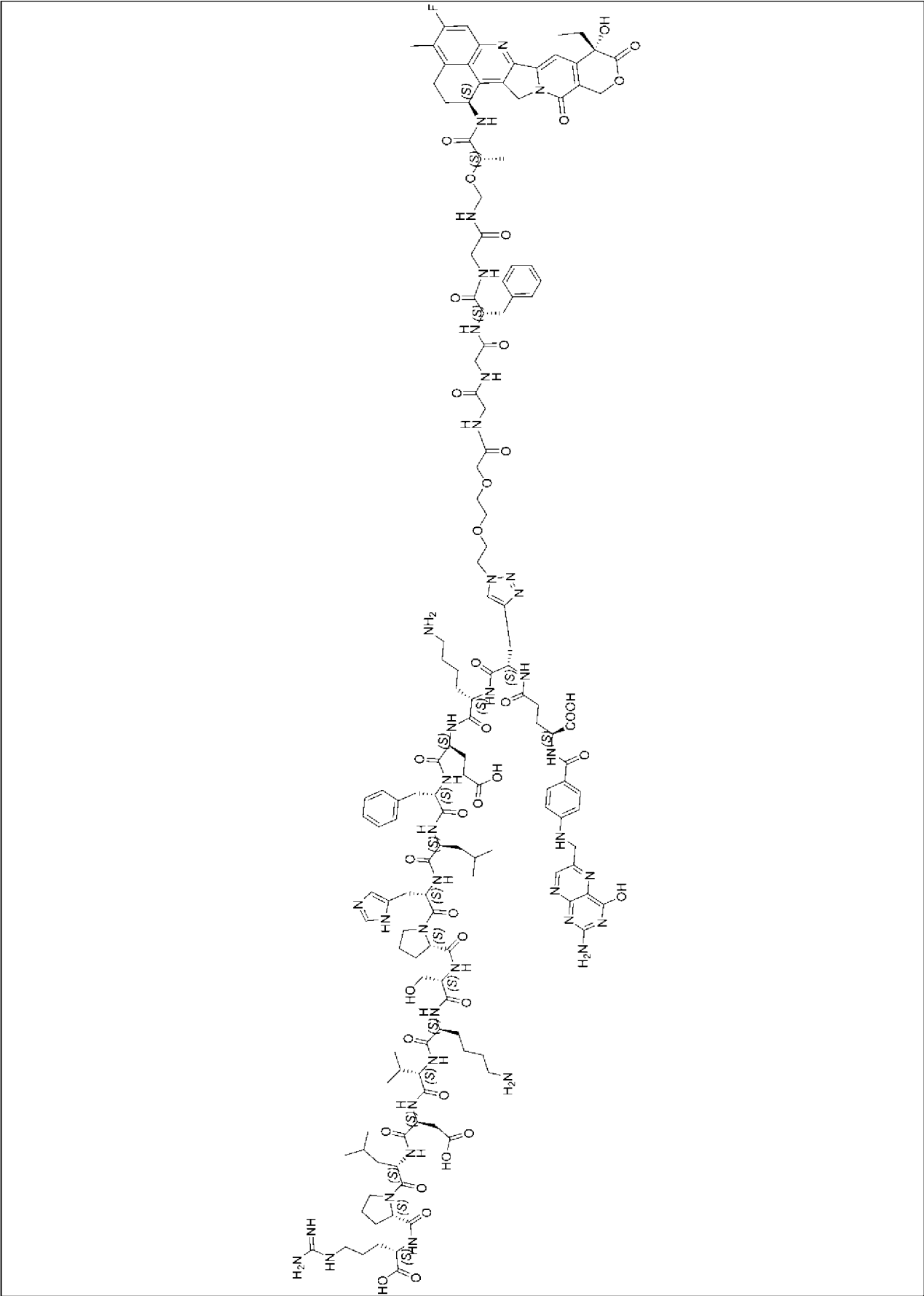


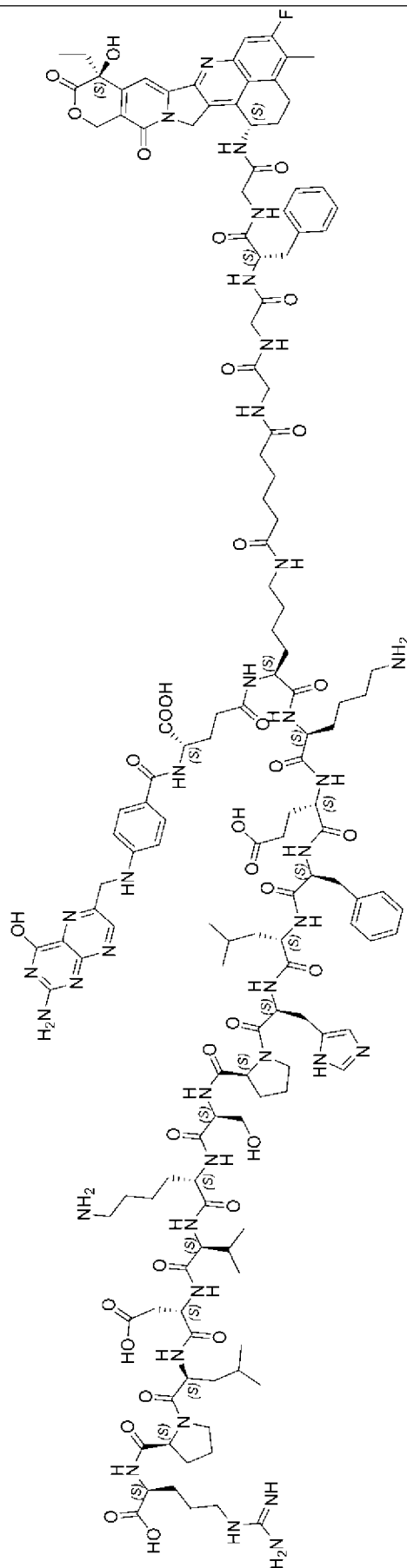


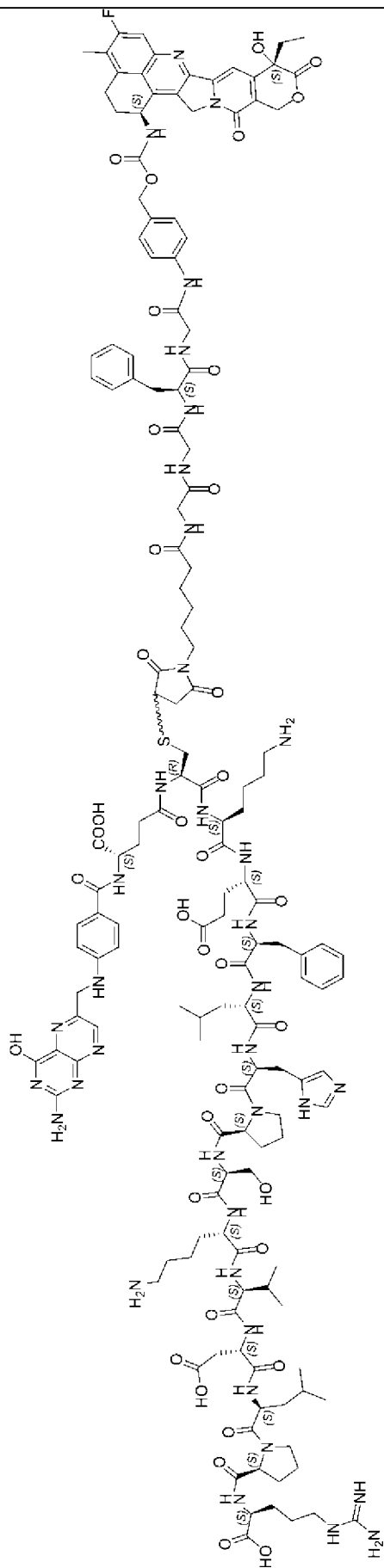


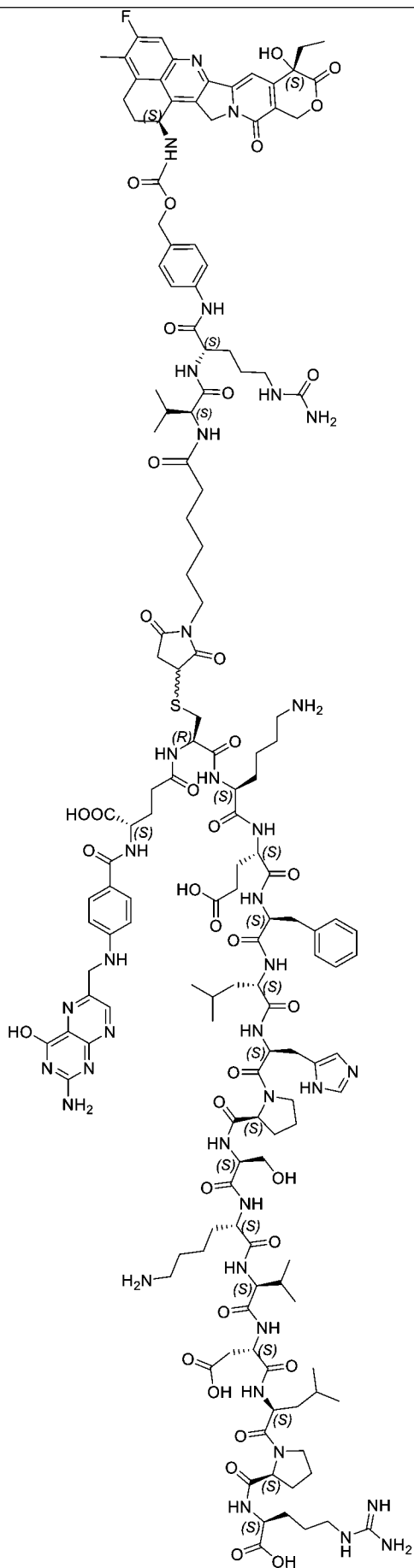


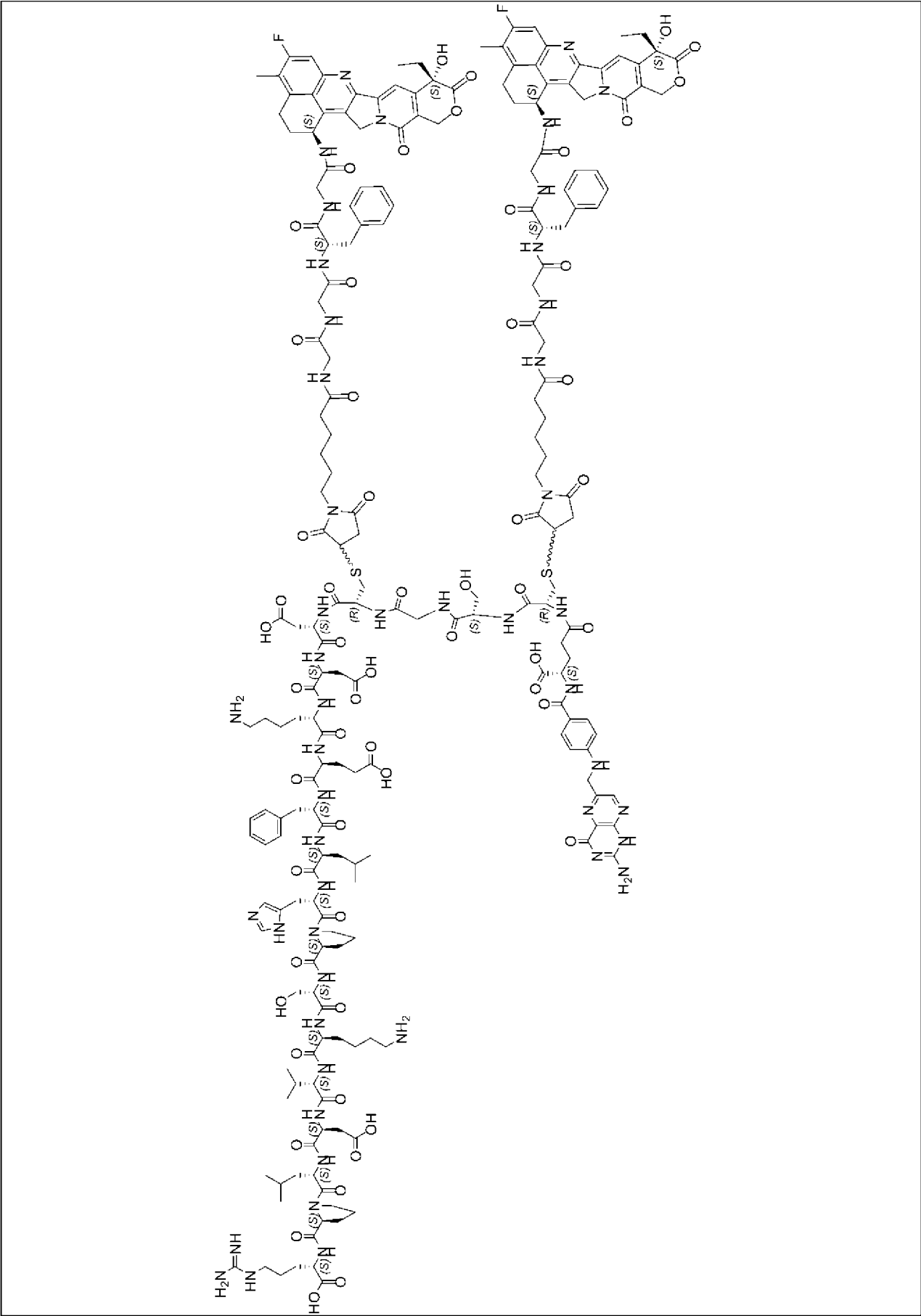


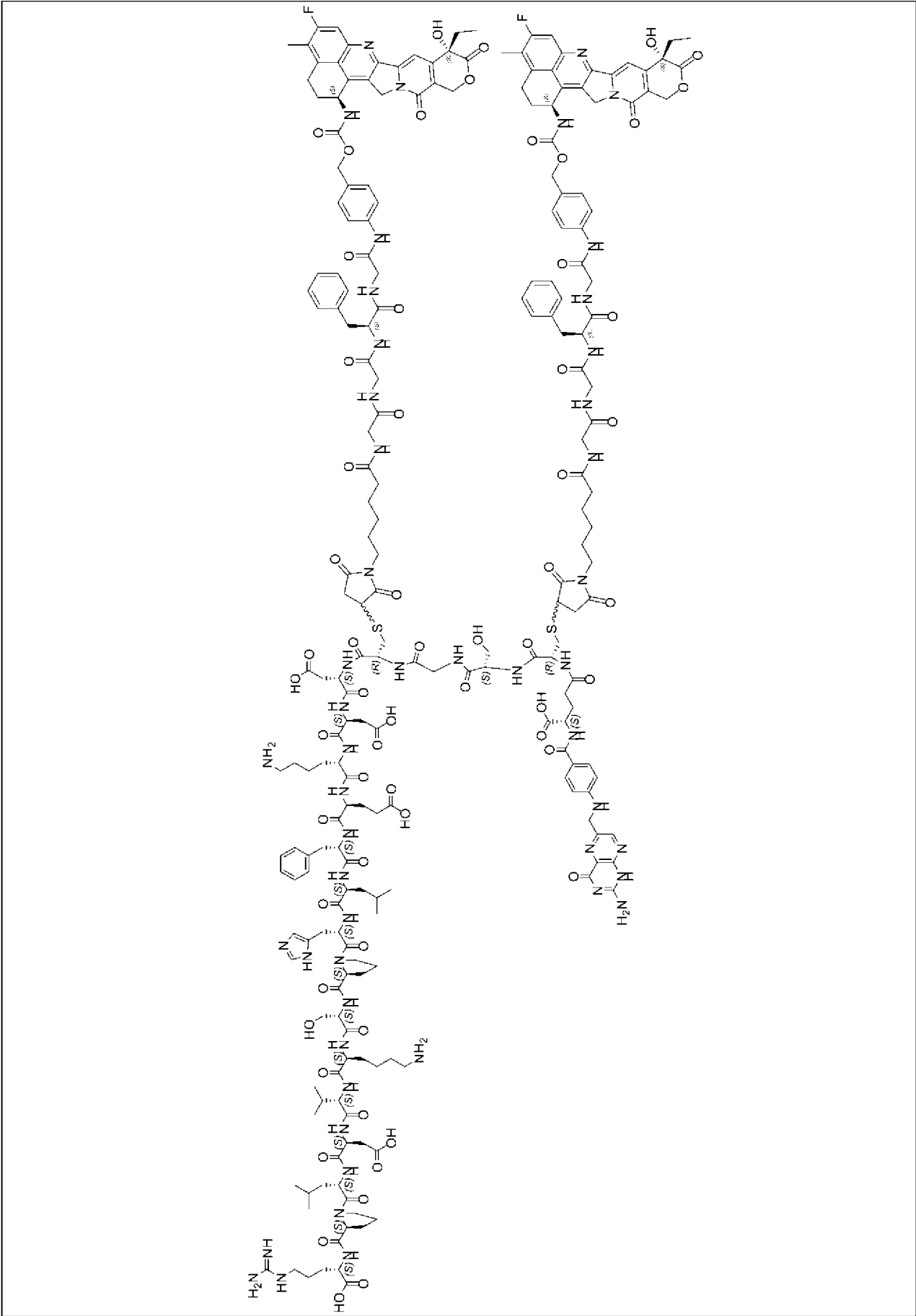


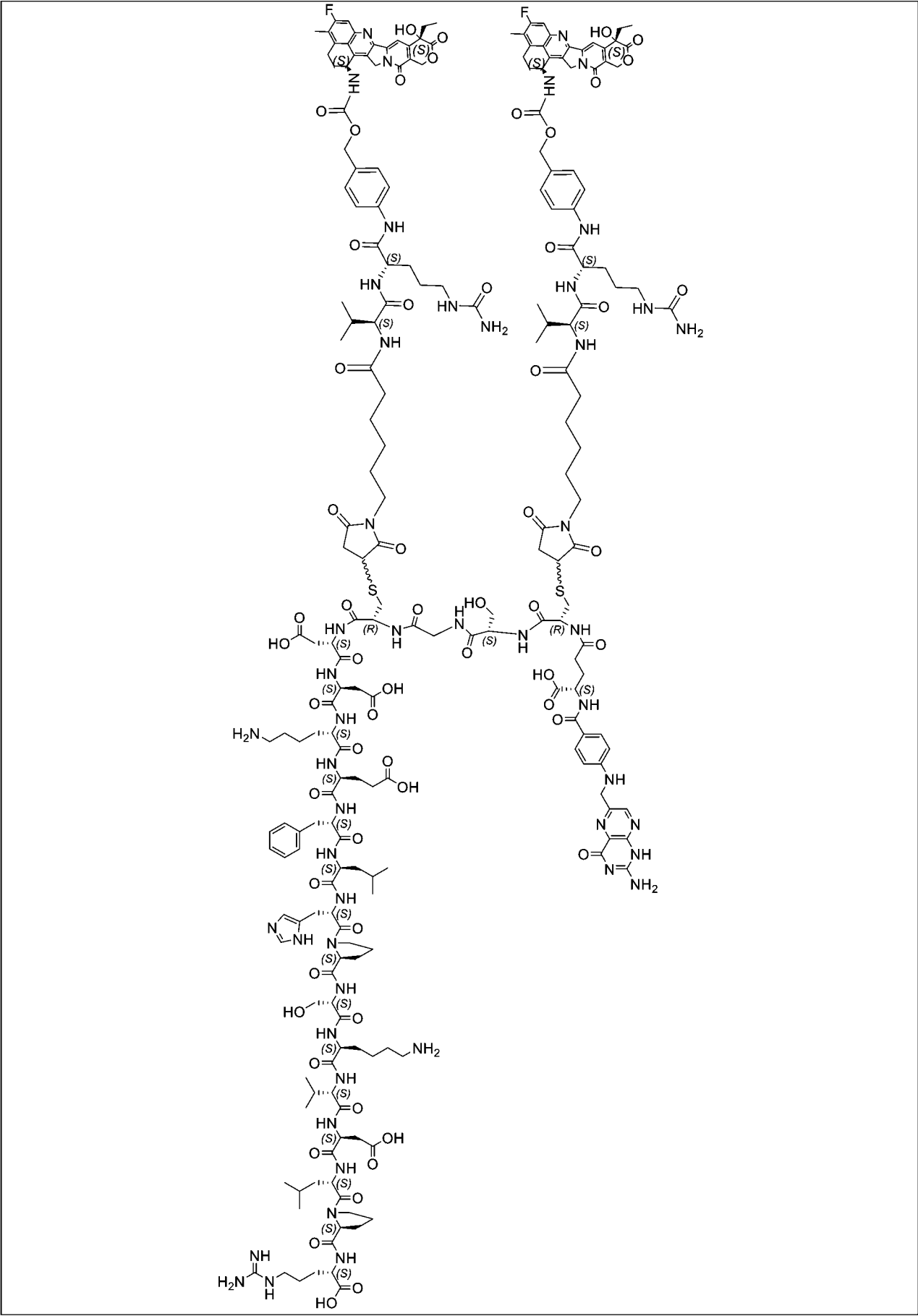












【0028】 本案的另一個方面提供了一種藥物組合物，所述藥物組合物包含本案所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，以及藥學上可接受的載體。在一些實施方式中，本案所述的藥物組合物用於靜脈內、皮下、口服、肌內或心室內施用。

【0029】 本案的又一個方面提供了一種用於向有需要的對象遞送有效負載的方法，所述方法包括向所述對象施用治療有效量的本案所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，或者本案所述的藥物組合物。

【0030】 本案的另一個方面提供了一種用於治療對象中的疾病的方法，所述方法包括向所述對象施用治療有效量的本案所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，或者本案所述的藥物組合物。在一些實施方式中，所述方法還包括將一種或多種治療劑與所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，或者所述藥物組合物聯合施用。

【0031】 本案的另一個方面提供了本案所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，或者本案所述的藥物組合物在用於製備治療對象中的疾病的藥物中的用途。

【0032】 在一些實施方式中，本案所述疾病選自下組：癌症、免疫性疾病、代謝疾病和神經疾病。在一些實施方式中，所述癌症選自胰腺癌、膽道癌、肝癌、乳腺癌、甲狀腺癌、結直腸癌、食道癌、肺癌、腎癌、白血病、卵巢癌、胃癌、子宮癌、子宮內膜癌、結腸癌、睪丸癌、皮膚癌、前列腺癌、淋巴瘤和多發性骨髓瘤。在一些實施方式中，免疫性疾病是自身免疫性疾病，較佳地，所述自身免疫性疾病選自結締組織病、系統性硬化症、類風濕性關節炎和系統性紅斑狼瘡。代謝疾病選自糖尿病、痛風、肥胖症、低血糖症、高血糖

症和血脂異常。在一些實施方式中，神經疾病選自阿茲海默症、帕金森氏症、亨廷頓舞蹈症、頭部損傷、多發性硬化症、眩暈、昏迷和癲癇。

【0033】 在一些實施方式中，本案的方法還包括將一種或多種治療劑與所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，或者所述藥物組合物聯合施用。

【0034】 在一些實施方式中，本案所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物的給藥頻率為每週一次、每週兩次、每週三次、每三天一次、每兩天一次、每天一次、每天兩次或每天三次。在一些實施方式中，本案所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物的給藥頻率為每週一次。在一些實施方式中，本案所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物的給藥頻率為每天三次。

【0035】 在一些實施方式中，本案所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物以1-150mg/kg的所述偶聯體化合物的劑量範圍施用。在一些實施方式中其中所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物以1mg/kg、3mg/kg、10mg/kg、25mg/kg、50mg/kg、75mg/kg、100mg/kg或150mg/kg的所述偶聯體化合物的劑量施用。在一些實施方式中，本案所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物以50 mg/kg的所述偶聯體化合物的劑量施用。在一些實施方式中，本案所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物以25 mg/kg的所述偶聯體化合物的劑量施用。

【圖式簡單說明】

【0036】圖1A為試驗中的小鼠體重隨給藥時間的變化，圖1B為MIAPaCa-2移植瘤模型各組腫瘤體積隨時間變化曲線，圖1A-1B顯示了本案的化合物在MIAPaCa-2移植瘤模型的抑瘤效果較好。

【0037】圖2A為試驗中的小鼠體重隨給藥時間的變化，圖2B為試驗中的小鼠相較初始體重隨給藥時間的變化情況。

【0038】圖3A為試驗中的大鼠體重隨給藥時間的變化，圖3B為給藥期間各組試驗動物攝食量變化。

【實施方式】

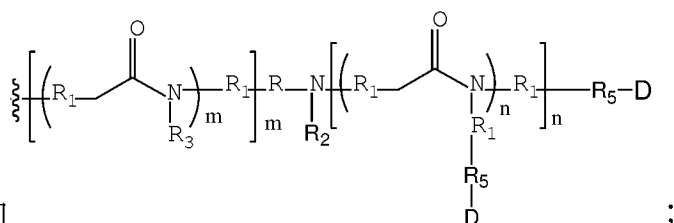
【0039】以下描述只為說明本案的多種實施方式。因此，此處的具體實施方式不應理解為對申請範圍的限制。本領域之具備通常知識者基於本發明的宗旨和本文的描述，可很容易地得出多種等同方式和修改，應理解這樣的等同實施方式包含在本發明範圍內。在本文中引用的所有文獻，包含公開出版物、專利和專利申請都透過引用的方式全文併入本案。

【0040】除非上下文另外明確指出，否則本文所使用的單數形式「一」、「一個」、「一種」和「該」或「所述」包括複數引用。

【0041】本文所使用的諸如「包括」、「包含」、「含有」、「含有」和「具有」等術語是包括性的或開放式的，並且不排除額外的、未敘述的要素或方法步驟。術語「由.....組成」是封閉式的。

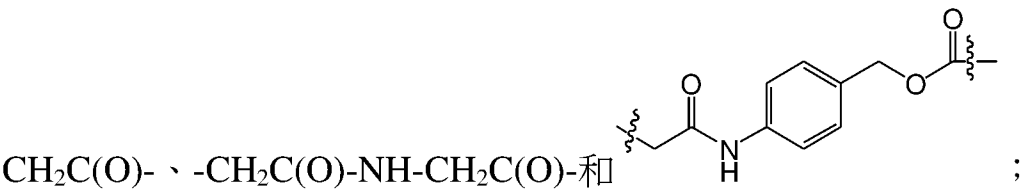
【0042】本案的一個方面公開了一種偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，所述偶聯體化合物具有以下結構：

多配體部分—(連接子—有效負載)_q，

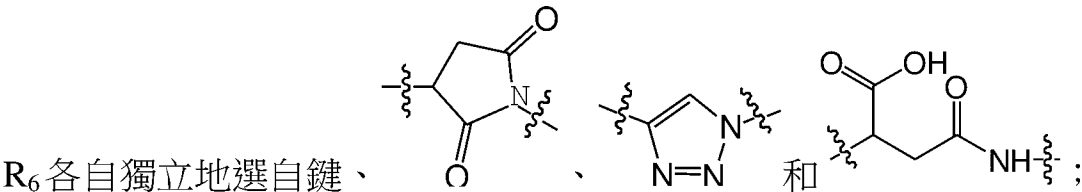


R₄ 各自獨立地選自氫和

R₅ 各自獨立地選自鍵、-(CH₂CH₂O)₃-CH₂CH₂-、-CH₂C(O)-NH-CH₂-、-



CH₂C(O)-、-CH₂C(O)-NH-CH₂C(O)-和



R₆ 各自獨立地選自鍵、

X 各自獨立地選自鍵、C 和 O；

m 各自獨立地為 0 或 1；

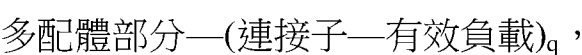
n 各自獨立地為 0 或 1；

p 為 0 或 1；

q 為 1 至 4 的整數；

D 為有效負載。

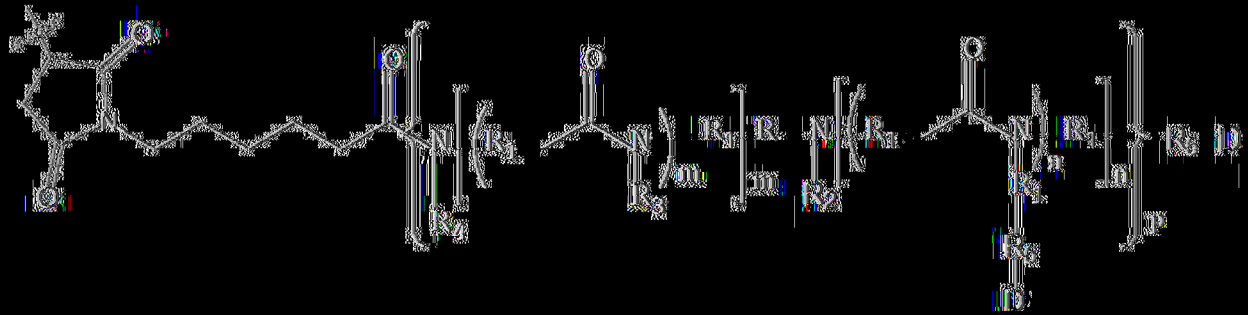
【0043】 本案的另一個方面公開了一種偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，所述偶聯體化合物具有以下結構：



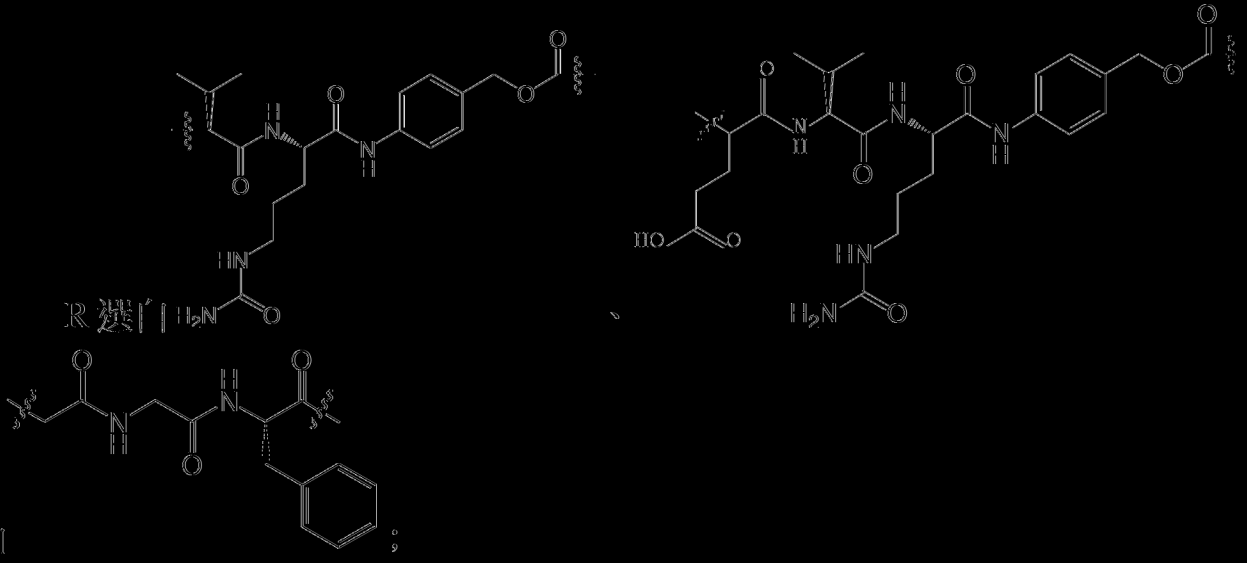
其中：

所述多配體部分包含至少兩個靶向不同細胞表面分子的配體，

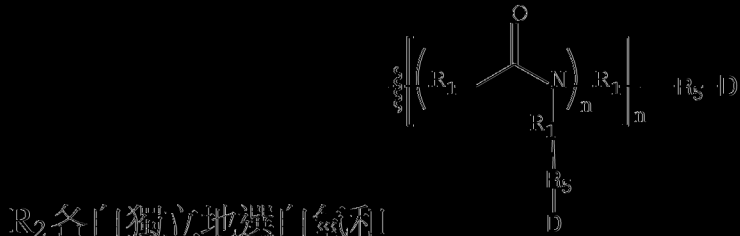
所述連接子-有效負載部分具有以下結構：



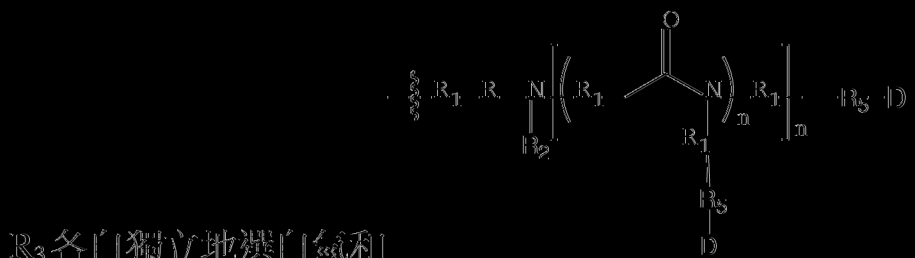
其中：



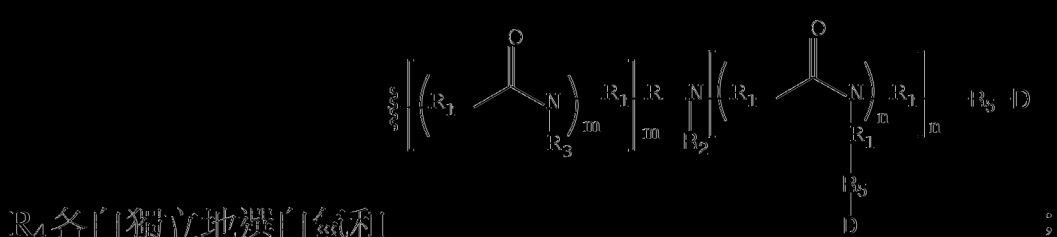
R₁各自獨立地選自鍵和-CEC₂CEC₂C(O)-NCE-；



R₂各自獨立地選自氣和

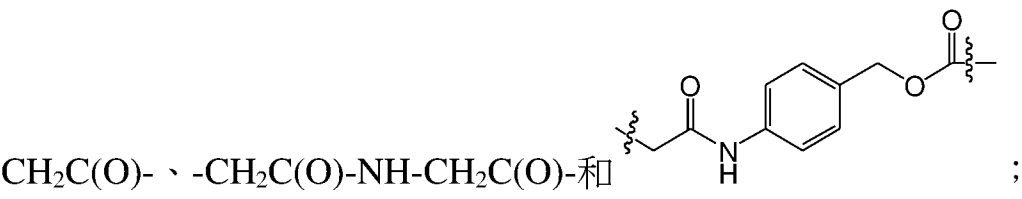


R₃各自獨立地選自氣和



R₄各自獨立地選自氣和

R₅ 各自獨立地選自鍵、-(CH₂CH₂O)₃-CH₂CH₂-、-CH₂C(O)-NH-CH₂-、-



m 各自獨立地為 0 或 1；

n 各自獨立地為 0 或 1；

p 為 0 或 1；

q 為 1 至 4 的整數；

D 為有效負載。

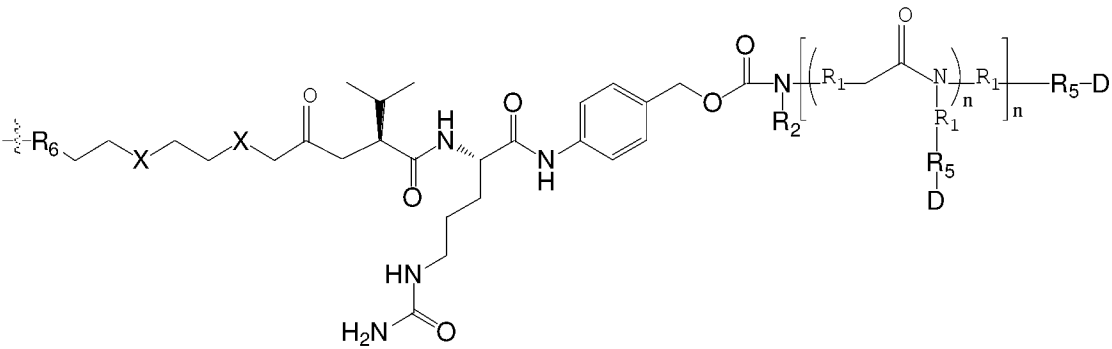
【0044】 本案的另一個方面公開了一種偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，所述偶聯體化合物具有以下結構：

多配體部分—(連接子—有效負載)_q，

其中：

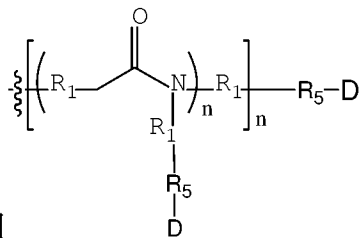
所述多配體部分包含至少兩個靶向不同細胞表面分子的配體，

所述連接子-有效負載部分具有以下結構：



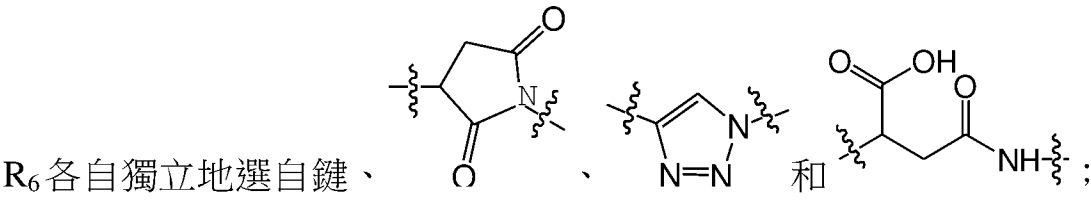
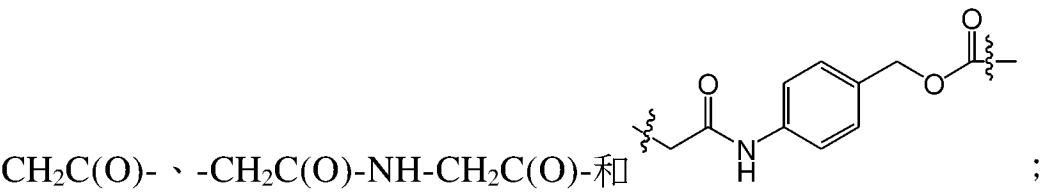
其中：

R₁ 各自獨立地選自鍵和-CH₂CH₂C(O)-NH-；



R₂ 各自獨立地選自氫和

R₅ 各自獨立地選自鍵、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 、-



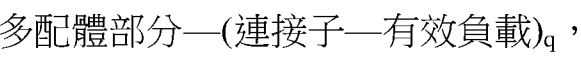
X 各自獨立地選自鍵、C 和 O；

n 各自獨立地為 0 或 1；

q 為 1 至 4 的整數；

D 為有效負載。

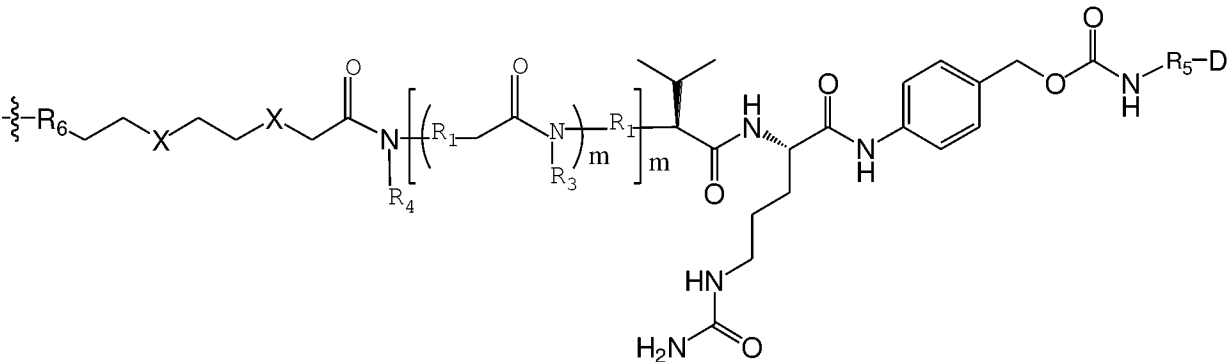
【0045】 本案的另一個方面公開了一種偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，所述偶聯體化合物具有以下結構：



其中：

所述多配體部分包含至少兩個靶向不同細胞表面分子的配體，

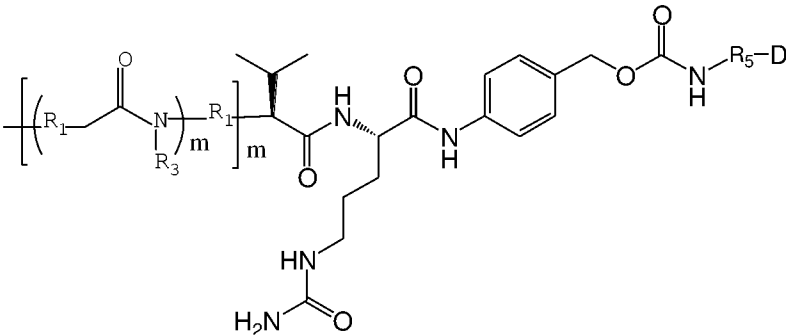
所述連接子-有效負載部分具有以下結構：



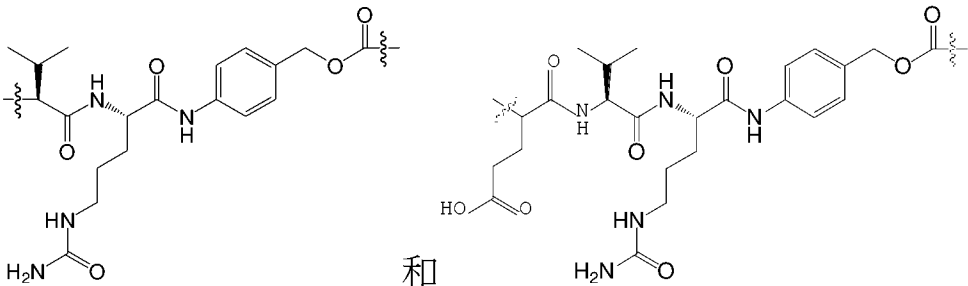
其中：

R₁ 各自獨立地選自鍵和-CH₂CH₂C(O)-NH-；

R_3 各自獨立地選自氫和 $-R_1-R-NH-R_5-D$;



R₄ 為氫或



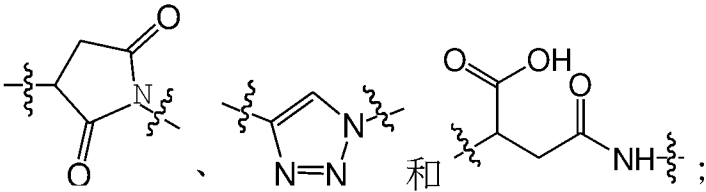
R 選白

和

;

R₅各自獨立地選自鍵、-(CH₂CH₂O)₃-CH₂CH₂-、-CH₂C(O)-NH-CH₂-、-

CH₂C(O)-NH-CH₂C(O)-和-CH₂C(O)-；



R_6 各自獨立地選自鍵、

X 各自獨立地選自鍵、C 和 O；

m 各自獨立地為 0 或 1；

q 為 1 至 4 的整數；

D 為有效負載。

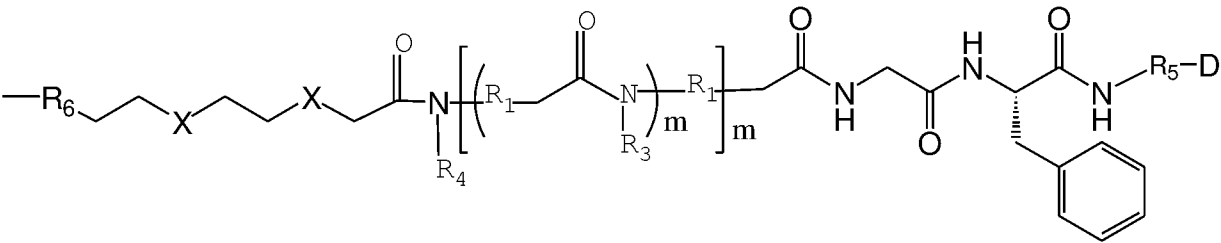
【0046】 本案的另一個方面公開了一種偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，所述偶聯體化合物具有以下結構：

多配體部分—(連接子—有效負載)_q，

其中：

所述多配體部分包含至少兩個靶向不同細胞表面分子的配體，

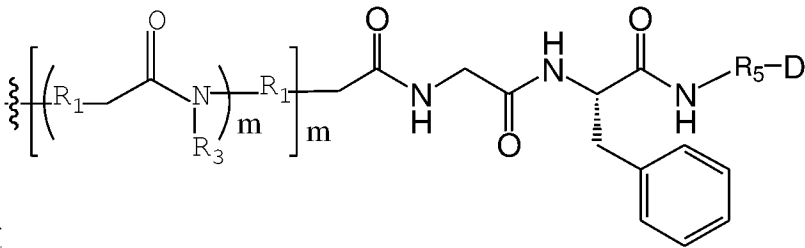
所述連接子-有效負載部分具有以下結構：



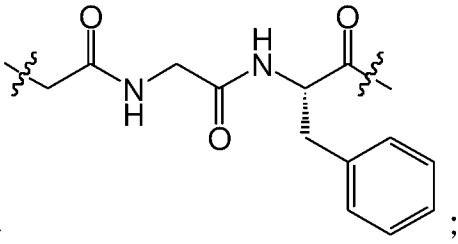
其中：

R₁ 各自獨立地選自鍵和-CH₂CH₂C(O)-NH-；

R₃ 各自獨立地選自氫和-R₁-R-NH-R₅-D；

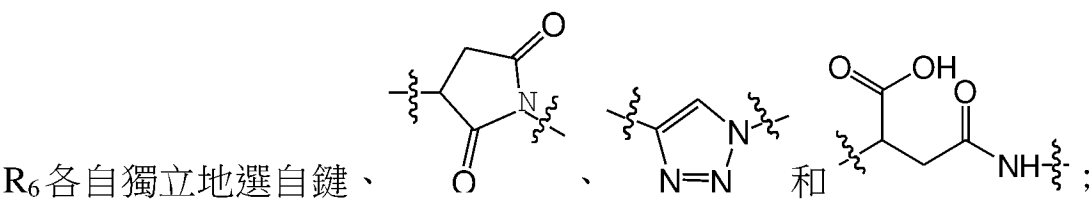
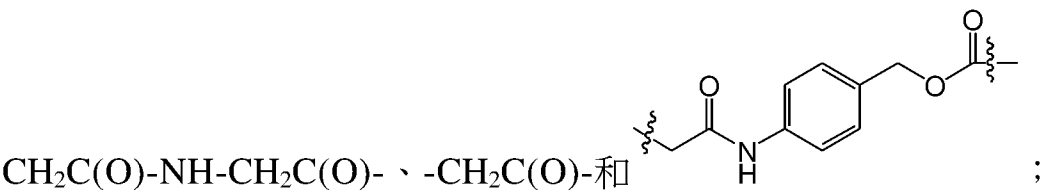


R₄ 為氫或



R 為

R₅ 各自獨立地選自鍵、-(CH₂CH₂O)₃-CH₂CH₂-、-CH₂C(O)-NH-CH₂-、-



X 各自獨立地選自鍵、C 和 O ；

m 各自獨立地為 0 或 1 ；

q 為 1 至 4 的整數 ；

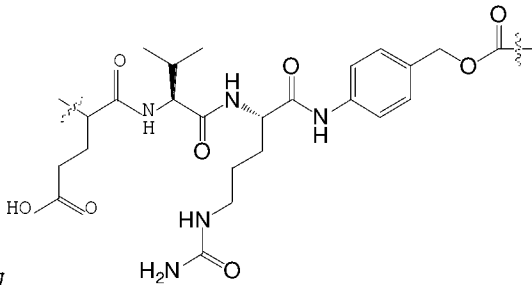
D 為有效負載 。

【0047】 本案使用的術語「配體」可以包括各種各樣的化學分子或肽，其對所選定的靶點具有特異性的結合親和性，所選定的靶點可以是例如細胞表面受體、細胞表面抗原、細胞、組織、器官等。在一些實施方式中，配體可以與靶細胞表面上表現的蛋白或標記物特異性結合。在一些實施方式中，本案的配體以10⁻⁶~10⁻¹¹M（K_d值）的親和性與細胞表面蛋白或標記物結合。在一些實施方式中，本案的配體以至少10⁻⁷、至少10⁻⁸、至少10⁻⁹ M（K_d值）的親和性與細胞表面蛋白或標記物結合。在一些實施方式中，本案的配體以低於10⁻⁶、低於10⁻⁷、低於10⁻⁸ M（K_d值）的親和性與細胞表面蛋白或標記物結合。在一些實施方式中，本案的配體以一定的親和性與細胞表面蛋白或標記物結合，所述一定的親和性是指與同非靶細胞表面蛋白或標記物的親和性相比，配體對靶細胞表面蛋白或標記物的親和性高至少兩倍、三倍、四倍、五倍、六倍、八倍、十倍、二十倍、五十倍、一百倍或更多倍。在一些實施方式中，本案的細胞表面

蛋白或標記物在靶細胞（例如，癌細胞）中的表現顯著高於在正常細胞中的表現。在本案中使用的術語「顯著」指的是統計學上的顯著差異，或者可以由本領域之具備通常知識者認識到的顯著性差異。

【0048】 本案中所描述的「多配體部分」包含至少兩個靶向不同細胞表面分子的配體。在一些實施方式中，多配體部分包含三個配體，其中第一配體和第二配體靶向不同的細胞表面分子，第三配體靶向的細胞表面分子可以與前述兩個配體靶向的細胞表面分子相同，也可以不同。在一些實施方式中，多配體部分可以包含四個或更多個配體。

【0049】 在本案中使用的術語「靶向」指的是指配體或含有配體的偶聯體化合物與細胞表面分子的特異性結合，觸發或促進靶細胞對配體或含有配體的偶聯體化合物的內吞作用，觸發或促進配體或含有配體的偶聯體化合物在靶細胞周圍富集和/或進入靶細胞。

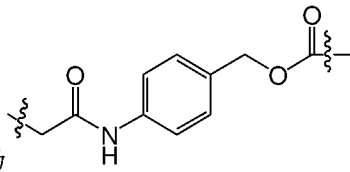


【0050】 在一些實施方式中，R為

【0051】 在一些實施方式中，R₁為-CH₂CH₂C(O)-NH-。

【0052】 在一些實施方式中，R₅為-(CH₂CH₂O)₃-CH₂CH₂-。在另一些實施方式中，R₅為-CH₂C(O)-NH-CH₂C(O)-。在又一些實施方式中，R₅為-

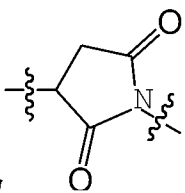
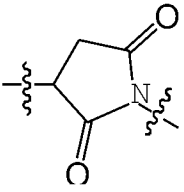
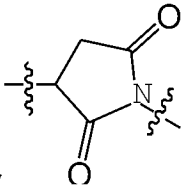
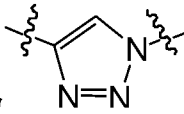
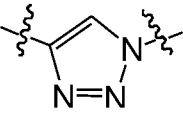
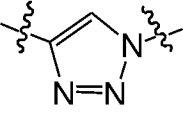
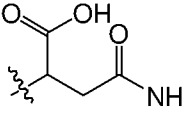
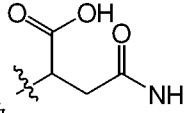
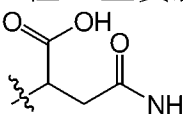
CH₂C(O)-。在一些實施方式中，R₅為



。在另一些實施方式

中， R_5 為 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 。在又一些實施方式中， R_5 不是 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 。

【0053】 在一些實施方式中， m 各自獨立地為0或1，且 n 為0。在一些實施方式中， m 為0，且 n 各自獨立地為0或1。在一些實施方式中， m 為0，且 n 為0。在又一些實施方式中， m 為0， n 為0，且 R_5 不是 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 。

【0054】 在一些實施方式中， R_6 為 。在一些實施方式中， R_6 為 ，且 X 為鍵。在一些實施方式中， R_6 為 ，且 X 為 O 。在一些實施方式中， R_6 為 。在一些實施方式中， R_6 為 ， X 為鍵。在又一些實施方式中， R_6 為 ， X 為 O 。在一些實施方式中， R_6 為 。在一些實施方式中， R_6 為 ， X 為鍵。在又一些實施方式中， R_6 為 ， X 為 O 。

【0055】 在一些實施方式中， p 為0。

【0056】 在本案中使用的術語「連接子」指的是將有效負載與多配體部分共價連接的分子或部分。連接子包括用於將有效負載與至少一個配體連接的官能團。在一些實施方式中，官能團可以含有兩個反應性部分，一個用於與有效負載連接，另一個用於與配體連接。在一些實施方式中，官能團彼此之間是不同的。在一些實施方式中，官能團包含含有巯基反應性部分和胺反應性部分

的基團。在一些實施方式中，官能團彼此之間是相同的。在一些實施方案中，連接子含有的胺基酸中的羧酸被醯胺化。在一些實施方案中，連接子含有短鏈的聚乙二醇（例如，包括2-10、2-8、3-8、4-8、4-7、4-6或5個重複單元）。在一些實施方案中，連接子含有疊氮基團。在一些實施方案中，連接子含有炔基基團。

【0057】 在一些實施方式中，在形成本案所述的連接子前，這些用於連接有效負載和配體的分子透過Click反應實現連接。本案所述的「click反應」為一類具有高效性和高選擇性的化學合成方法。click反應透過形成高效連接單元把幾個分子片段拼接起來，整個反應過程簡單、快捷且副產物少。一些click反應的實例包括但不限於硫醇與烯烴的加成反應、疊氮化物與炔烴的環化反應。

【0058】 在一些實施方式中，連接子足夠穩定以避免在血液迴圈過程中意外釋放有效負載，以增加有效負載到靶細胞或組織的有效量並避免毒性。在一些實施方式中，連接子能夠在靶細胞周圍或內部釋放有效負載以有效殺死靶細胞或阻斷靶細胞的功能。

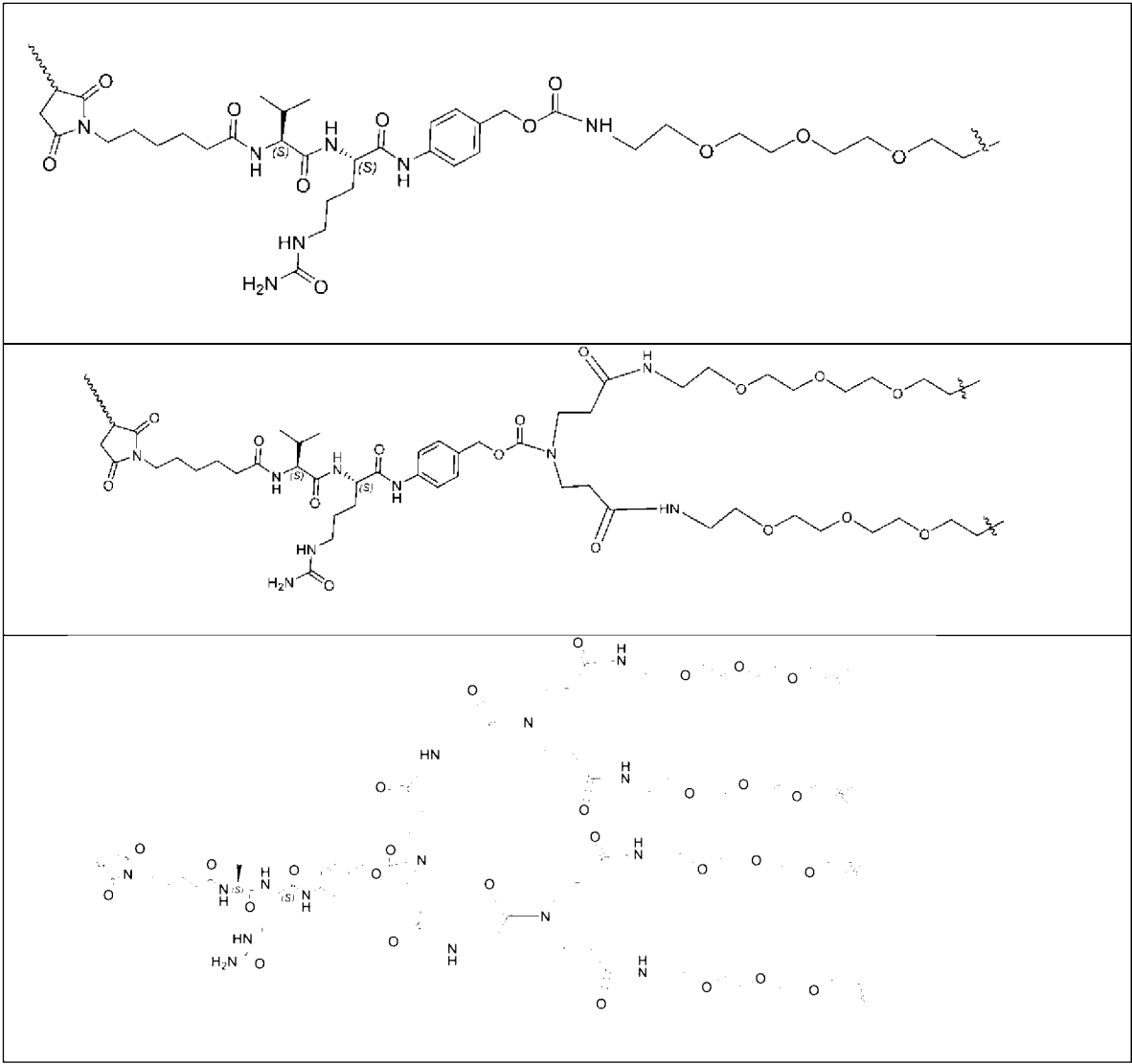
【0059】 在一些實施方式中，連接子是不可裂解的。在本案中使用的術語不可裂解連接子指的是在細胞內代謝期間基本保持完整的連接子。

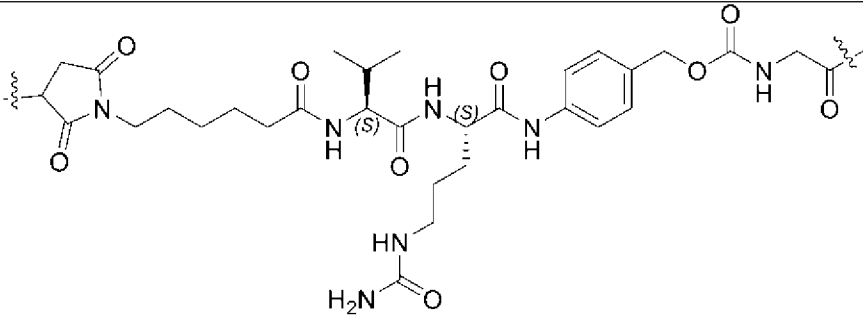
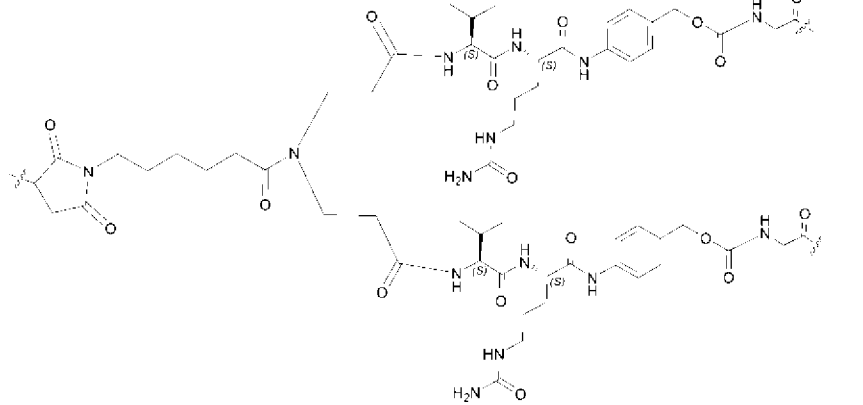
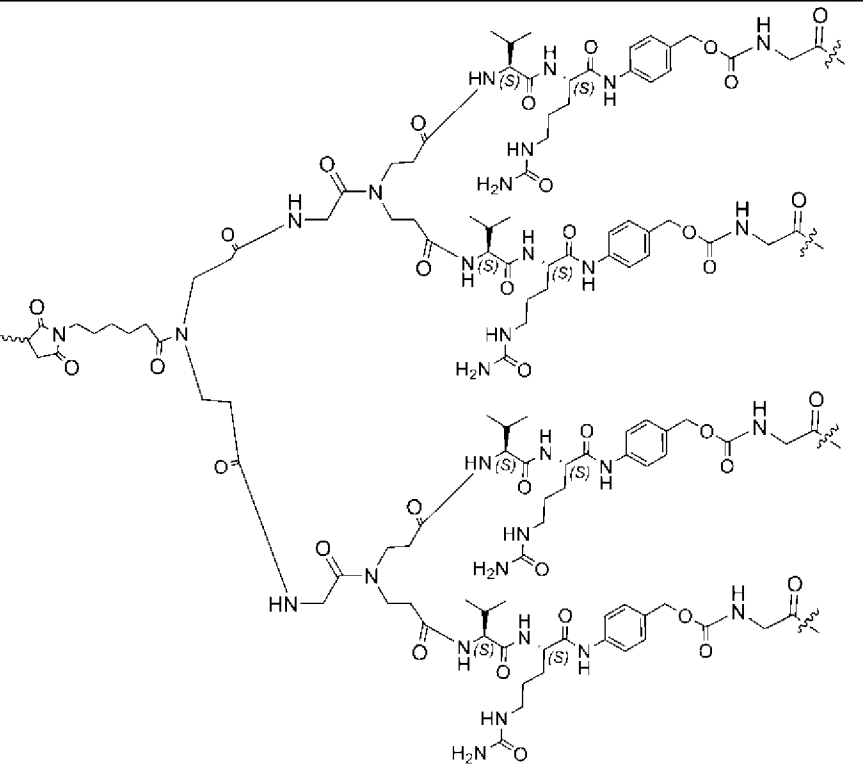
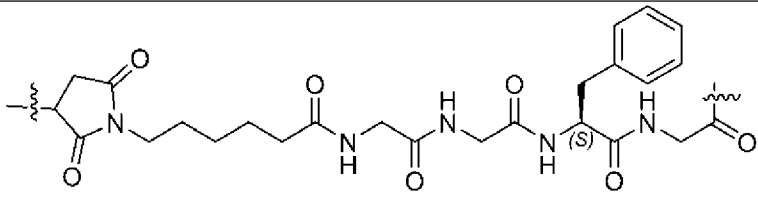
【0060】 在一些實施方式中，連接子是可裂解的。在一些實施方式中，可裂解官能團在靶細胞外足夠穩定，但是其在進入靶細胞後裂解以釋放有效負載。在一些實施方式中，可裂解官能團在靶細胞中的裂解效率比在血液或血清中的裂解效率高至少10、20、30、50、100倍或更多倍。在一些實施方式中，本案的可裂解連接子可以被水解、酶促反應、或還原反應、或透過pH改變所裂解。在一些實施方式中，連接子在特定生理環境下（例如，在適宜pH環境下）

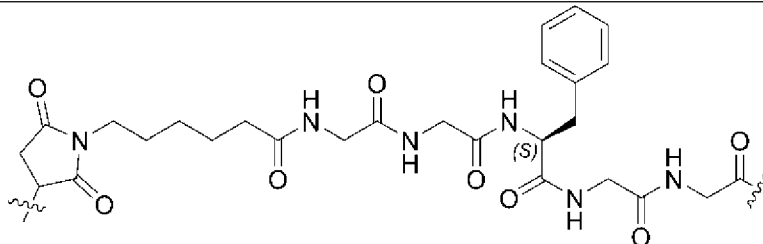
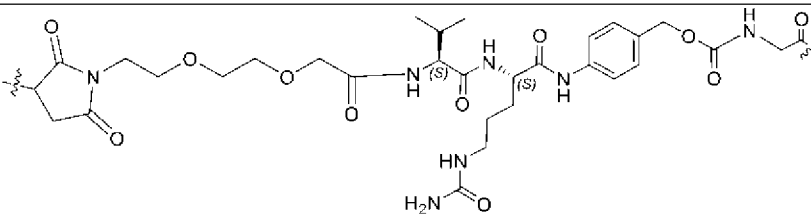
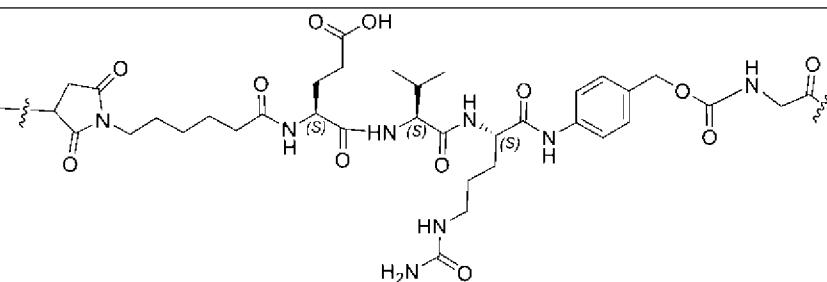
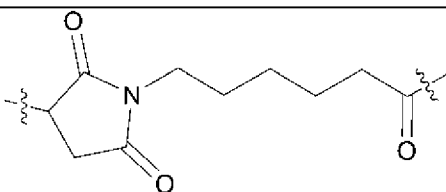
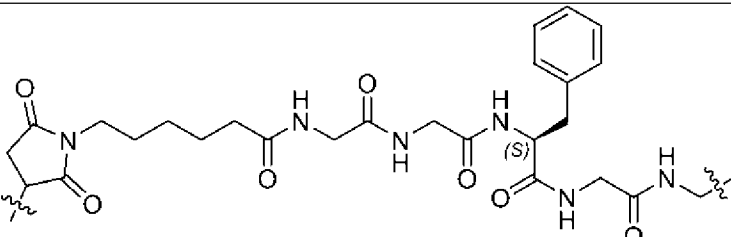
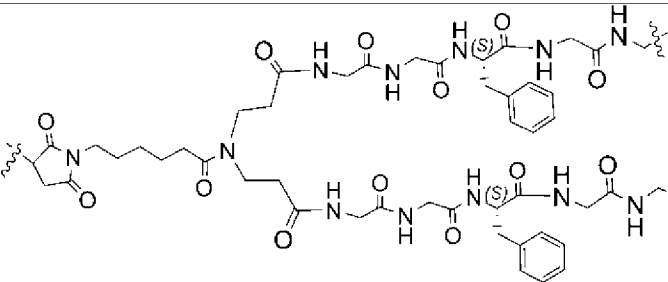
是可裂解的。在一些實施方式中，連接子可在pH約6.5或更低的酸性環境中裂解，或透過諸如酶等試劑裂解。在一些實施方式中，連接子對裂解劑敏感。例如，pH、氧化還原電位或存在降解分子。

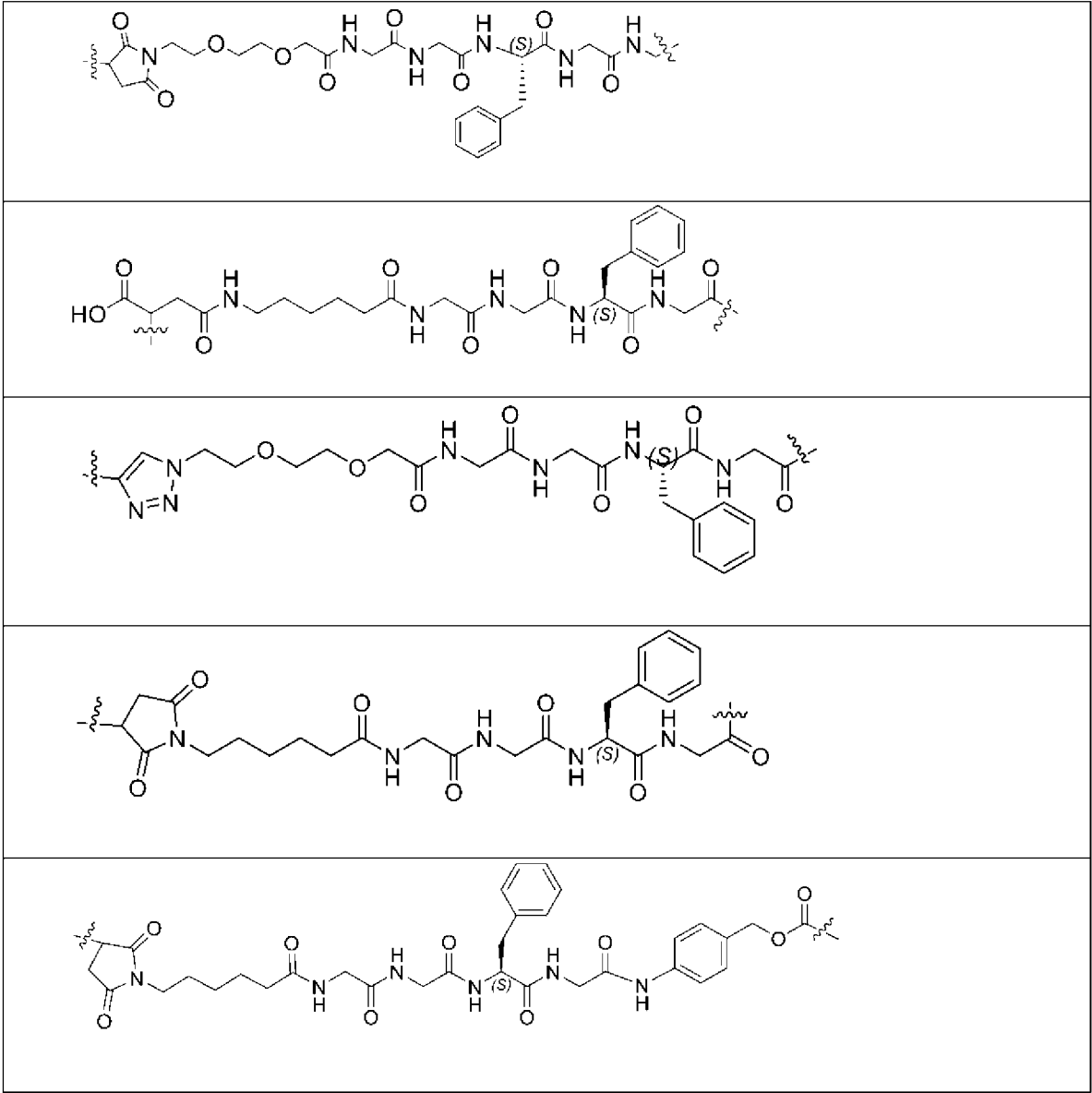
【0061】 在一些實施方式中，連接子內部透過肽鍵連接。在一些實施方式中，這些肽鍵可被在靶細胞周圍或靶細胞中高度或特異性表現的蛋白酶裂解，例如在溶酶體或胞內體中的組織蛋白酶B。

【0062】 在一些實施方式中，所述連接子具有選自下組的結構：





【0063】 在本案中使用的術語「有效負載」指的是擬遞送至靶細胞或組織的分子或物質。該分子可以是具有生物活性的分子，例如具有毒性。在某些情況下，有效負載和生物活性分子可以互換使用。非限制性地，有效負載可以是旨在用於診斷、治療或預防對象中的疾病的任意分子或物質。在一些實施方式中，本案所述的有效負載可以是研究者、獸醫、醫生或其他醫師正在尋找的在組織、系統、動物個體或人中引發生物學或醫學應答以預防、抑制、改善或治療疾病的任何藥劑。在一些實施方案中，所述有效負載具有小於或等於約5kDa的分子量。在一些實施方案中，所述有效負載具有小於或等於約1.5kDa的

分子量。在一些實施方案中，所述有效負載是已經被適當的藥物審批和註冊機構（例如，FDA，EMA或NMPA）認為使用安全且有效的藥物或診斷試劑。

【0064】 在一些實施方式中，本案的有效負載包括但不限於：抗癌藥、放射性物質、維生素、抗-AIDS藥物、抗生素、免疫抑制劑、抗病毒藥物、酶抑制劑、神經毒素、鴉片樣藥物、細胞-胞外基質相互作用的調節劑、血管擴張劑、抗高血壓藥、安眠藥、抗組織胺劑、抗驚厥藥、肌肉鬆弛藥、抗-帕金森物質、抗-痙攣藥和肌肉收縮藥、抗-寄生蟲和/或抗-原生動物藥、鎮痛藥、解熱劑、類固醇和非類固醇抗炎藥、抗-血管生成因子、抗分泌因子、抗凝血劑和/或抗血栓形成劑、局部麻醉藥、前列腺素、抗抑鬱劑、抗精神病藥物、止吐藥或成像劑。

【0065】 在一些實施方式中，本案的有效負載在連接至本案的偶聯體化合物之前具有游離的胺基或者羧基，有效負載透過上述胺基或者羧基與偶聯體化合物的相應部分（例如，連接子）的基團發生醯化反應或click反應從而偶聯至偶聯體化合物。

【0066】 在一些實施方式中，偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽包含一個、兩個、三個、四個或更多個有效負載。在一些實施方式中，本案的有效負載是小分子化合物、核苷酸（例如，DNA、質體DNA、RNA、siRNA、反義寡核苷酸或核酸適體等）、肽或蛋白（例如，酶）。在一些實施方式中，有效負載是小分子化合物或肽。

【0067】 在一些實施方式中，作為有效負載的肽所包含的胺基酸殘基至少為2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、12個、15個、18個或

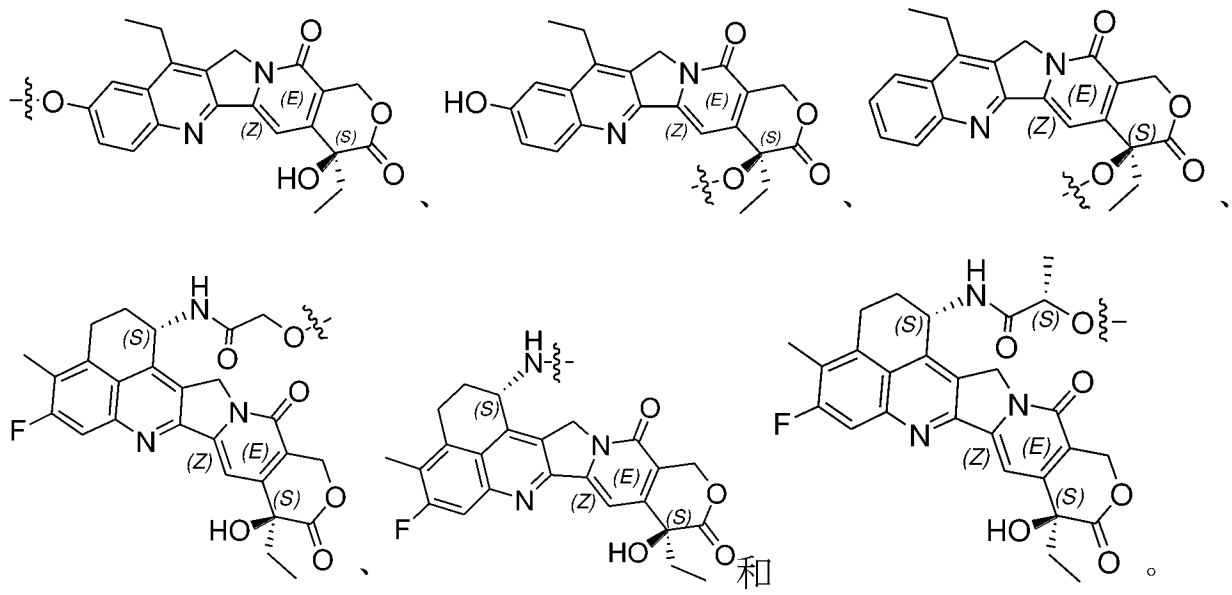
20個。在一些實施方式中，作為有效負載的肽所包含的胺基酸殘基至多為4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、12個、15個、18個或20個。

【0068】 在本案中使用的「小分子化合物」指的是具有小於或等於約2kDa分子量的化合物。在一些實施方式中，小分子化合物具有小於或等於約1.5kDa的分子量。在一些較佳的實施方式中，小分子化合物具有小於或等於約1kDa、800Da、700Da、600Da或500Da的分子量。在一些實施方式中，本案的小分子化合物選自下組：喜樹鹼及其任何衍生物（例如，SN38、Dx或Dxd）、美登素及其任何衍生物、放射性金屬錯合物、環氧化酶-2抑制劑及其任何衍生物（例如，塞來昔布）、紫杉醇及其任何衍生物、埃博黴素及其任何衍生物、博來黴素及其任何衍生物、更生黴素及其任何衍生物、普卡黴素及其任何衍生物、和絲裂黴素C及其任何衍生物。在一些較佳的實施方式中，所述小分子化合物是喜樹鹼及其任何衍生物。在一些較佳的實施方式中，所述喜樹鹼是依喜替康。在一些實施方式中，本案所述的小分子化合物是用於緩解或治療癌症的藥物。在一些實施方式中，本案所述的小分子化合物是用於緩解或治療自身免疫性疾病的藥物。

【0069】 本案中使用的術語「喜樹鹼」是指一種細胞毒性生物鹼，主要來源於珙桐科植物喜樹，其顯示出較強的抗腫瘤活性。本案的喜樹鹼及其衍生物包括目前已經存在的或者之後產生的喜樹鹼及其衍生物。本案的喜樹鹼及其衍生物包括但不限於：喜樹鹼、伊立替康、SN38、SN22、Dxd、依喜替康（DX-8951）、拓撲替康、GI-147211C、托泊替康、9-胺基喜樹鹼、7-羥甲基喜樹鹼、7-胺基甲基喜樹鹼、10-羥基喜樹鹼、(20S)-喜樹鹼、9-硝基喜樹鹼、吉馬替康、karenitecin、silatecan、勒托替康、依沙替康、二氟替康、貝洛替

康、勒托替康和S39625。在一些實施方式中，小分子化合物為SN38、SN22、Dxd和依喜替康（DX-8951）。在一些實施方式中，小分子化合物為乳酸-依喜替康。在一些實施方式中，所述小分子化合物為依喜替康（DX-8951）。

【0070】 在一些實施方式中，D各自獨立地選自



【0071】 在一些實施方式中，細胞表面分子選自TRPV6、FOLR1、PSMA、SSTR2、PD-L1、PD1、Her2、Trop2、Her3、4-BBL、4-1BB、CD70、CD27、CD155、CD122、CD113、CD28、CD86/80、CD160、ICOSL、ICOS、CD40、CD40L、OX40、OX40L、GITRL、GITR、NECTIN4、LRP1、GLUT1、EGFR₁、AXL、CD44、Claudin18.2、APN、DLL3、CEACAM5、FZD10、TFRC、MET、IGFR₁、CCKBR、LFA1、GPR87、GM-CSF、GM-CSFR、TIM3、TLR家族、HHLA2、MHCII抗原、TCR、CTLA-4、IGIT、Galectin-3、Galectin-9、TIM-3、HVEM、BTLA、VISTA、磷脂醯絲氨酸、LAG3、LILRB4、SIGLEC15、NKG2A、NKG2D、SLAMF7、KIR2DL1、KIR2DL2、KIR2DL3、FGFR1、FGFR2、FGFR4和NeuGcGM3。

【0072】 在一些實施方式中，細胞表面分子選自TRPV6、FOLR1、PSMA和SSTR2。

【0073】 在一些實施方式中，細胞表面分子分別為TRPV6和FOLR1、PSMA和FOLR1、或SSTR2和FOLR1。在一些較佳的實施方式中，細胞表面分子分別為TRPV6和FOLR1。

【0074】 在一些實施方式中，靶向FOLR1的配體選自葉酸或其類似物。在一些較佳的實施方式中，所述葉酸類似物選自5-甲基四氫葉酸、5-甲醯基四氫葉酸、甲氨蝶呤和5,10-亞甲基四氫葉酸。

【0075】 在一些實施方式中，靶向SSTR2的配體選自奧曲肽及其任何類似物。

【0076】 在一些實施方式中，配體部分包含三個以上的靶向細胞表面分子的配體。在一些較佳的實施方式中，所述細胞表面分子選自TRPV6、FOLR1、PSMA和SSTR2。

【0077】 TRPV6即暫態受體陽離子通道亞家族V成員6（transient receptor potential cation channel subfamily V member 6），是一種高選擇性鈣離子跨膜轉運通道，介導鈣離子由細胞外向細胞內的主動轉運。在人正常的腎臟、胃腸道、胰腺、乳腺、唾液腺等，主要表現於腸上皮細胞，參與鈣離子向細胞內的轉運，因此當TRPV6通道的數量或功能發生改變時，可引起鈣離子調節的變化，進一步導致與其相關組織器官的結構或功能異常。和正常組織相比，TRPV6在乳腺癌、膽管癌、卵巢癌、肺鱗癌、前列腺癌等惡性腫瘤中表現明顯升高，其異常表現可能與腫瘤的形成與進展有關。

【0078】 FOLR1是一種糖基磷脂酰肌醇（GPI）錨定的醣蛋白，它以奈莫耳的親和力結合葉酸，從而促進受體介導的內吞作用。快速生長的實體惡性腫瘤，包括卵巢癌和肺癌，都依賴於葉酸進行代謝和核酸合成。在一些實施方式中，本案所述的靶向分子包括靶向FOLR1的配體。

【0079】 PSMA是指「前列腺特異性膜抗原」，一種存在於前列腺上皮細胞膜的II型跨膜糖蛋白，由750個胺基酸組成，其具有19個胞內區胺基酸、24個跨膜區胺基酸和707個胞外區胺基酸。前列腺特異性膜抗原在正常前列腺上皮細胞中表現，但其在前列腺癌細胞中的表現水準要高得多。相對於傳統用於臨床檢測的前列腺特異抗原，前列腺特異性膜抗原是一種更加敏感和特異的前列腺癌腫瘤標記物，尤其是在激素難治性前列腺癌及前列腺癌轉移灶中均為高表現，在區分前列腺癌和其他類型惡性腫瘤時具有高敏感度和特異性。同時，在多種非前列腺來源的實體瘤（如肺癌、膀胱癌、胃癌、胰腺癌、腎癌和結直腸癌等）中，前列腺特異性膜抗原也高度特異地表現於腫瘤血管內皮細胞上。

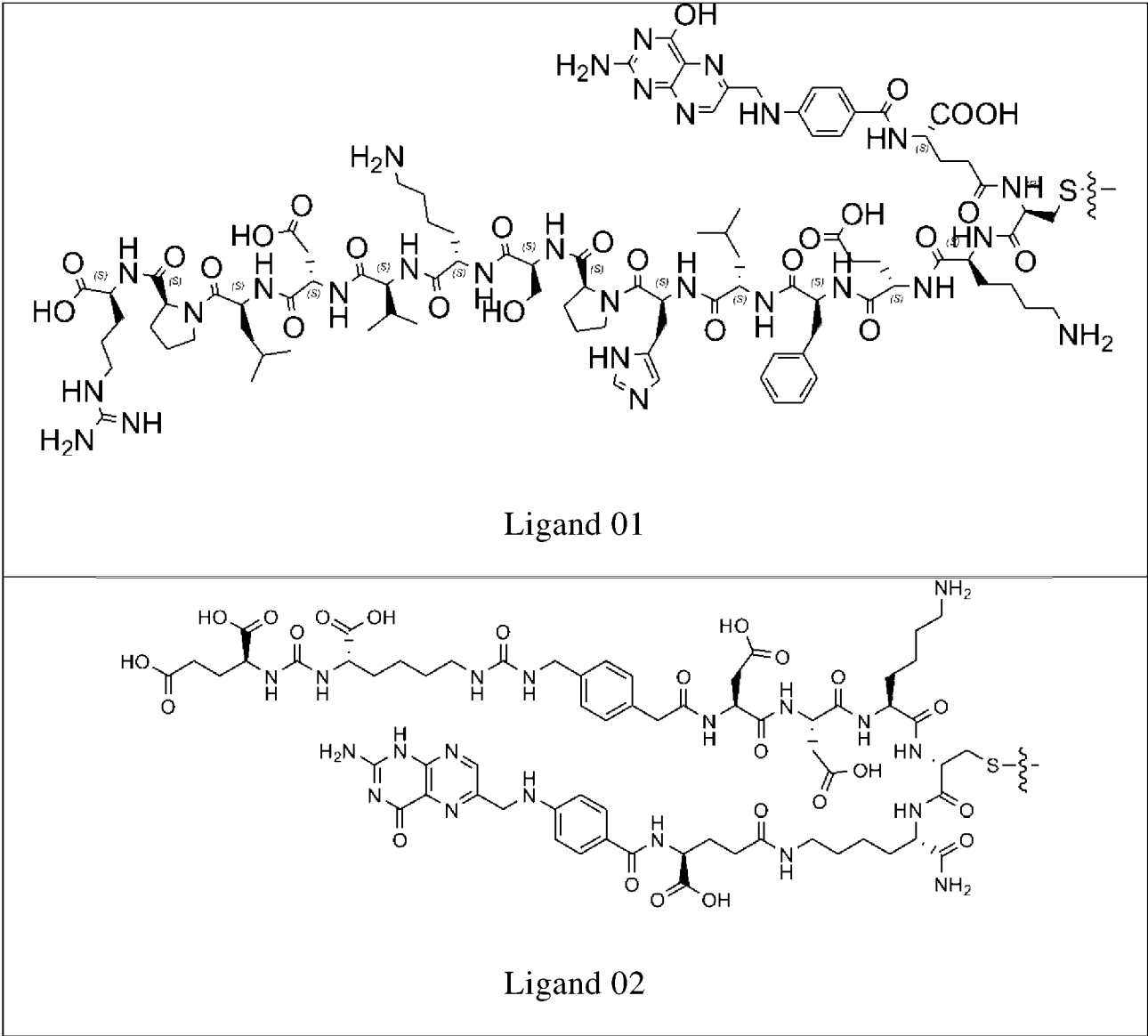
【0080】 SSTR2即生長抑素受體-2，是一種G蛋白偶聯受體，可以被生長抑素或其合成類似物啟動。SSTR2是生長抑素受體五種亞型中的一種，被認為與腫瘤的發展有關。生長抑素或生長抑素類似物可透過SSTR2抑制腫瘤細胞的增生。

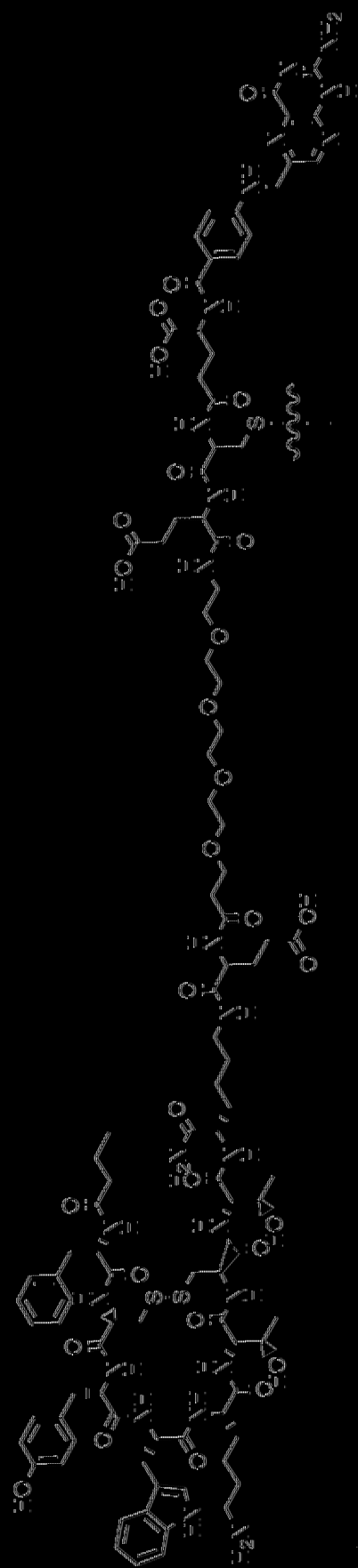
【0081】 在一些實施方式中，靶向不同細胞表面分子的配體彼此直接連接、或透過間隔區彼此連接。在一些實施方式中，所述間隔區由胺基酸組成。在一些較佳的實施方式中，所述間隔區由天然胺基酸或非天然胺基酸組成。在又一些較佳的實施方式中，所述間隔區為甘胺酸。在一些實施方式中，間隔區為Arg-Arg、Ala-Ser-Asn、Ala-Ala-Ala、Ser-Ser-Arg、Pro-Arg和Pro-Leu-Gly。

在一些實施方式中，所述間隔區可在特定的生理環境下透過蛋白酶裂解或還原裂解。在一些實施方式中，間隔區可以被由靶細胞特異性表現或將由靶細胞表現的蛋白酶裂解。

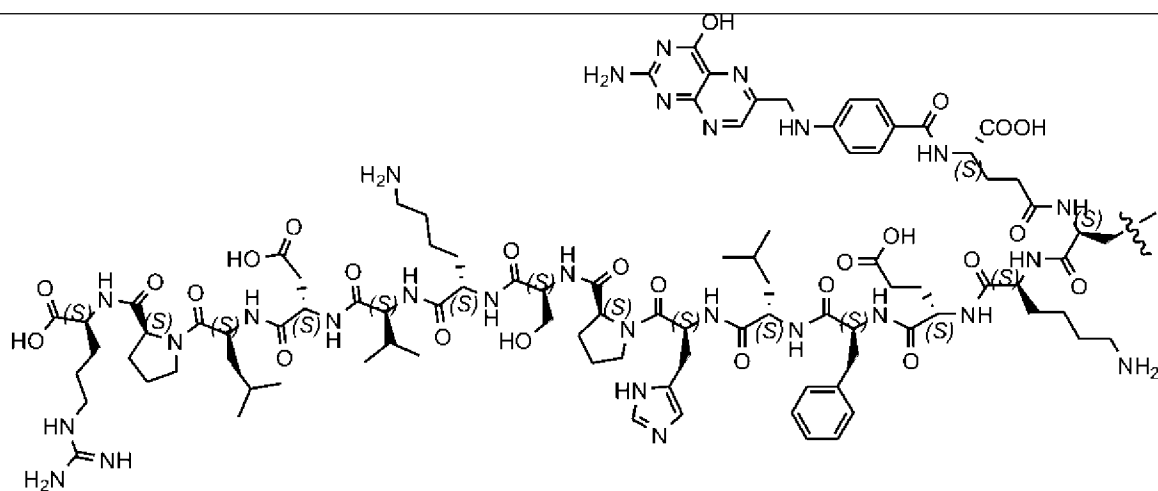
【0082】 在本案中使用的「可裂解」或「裂解」包括了在本案提供的偶聯體化合物上進行的代謝過程或反應過程，從而將有效負載與多配體部分之間的連接子，或配體之間の間隔區破壞以釋放游離的有效負載或配體。

【0083】 在一些實施方式中，所述配體部分具有以下結構：

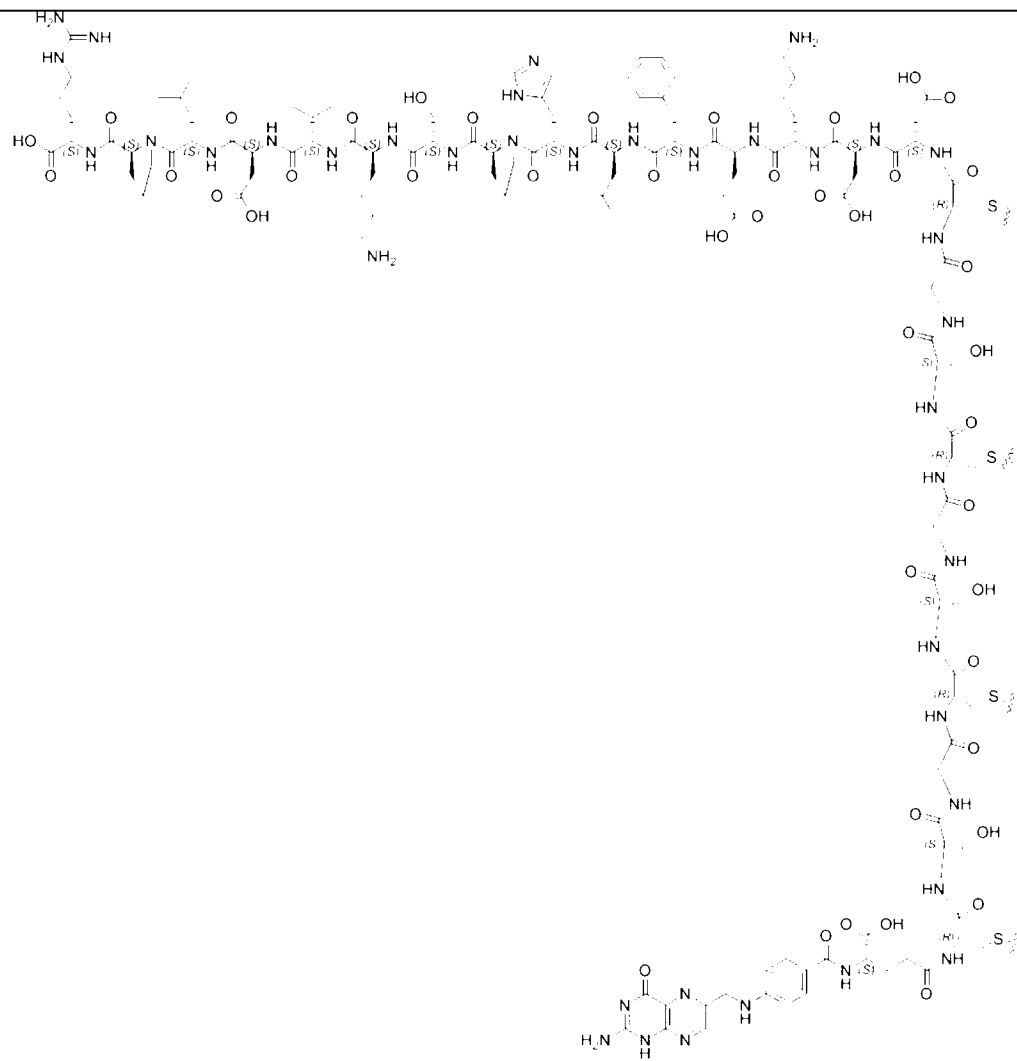




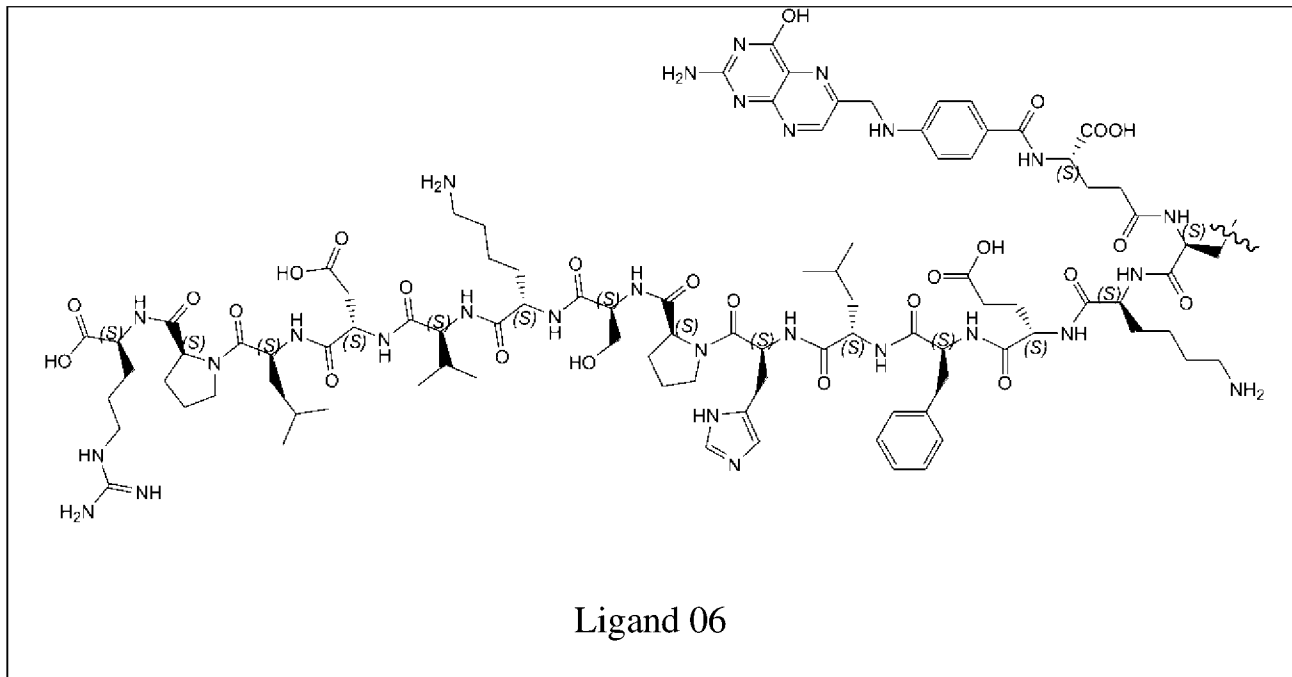
Ligand 03



Ligand 04

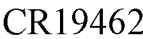


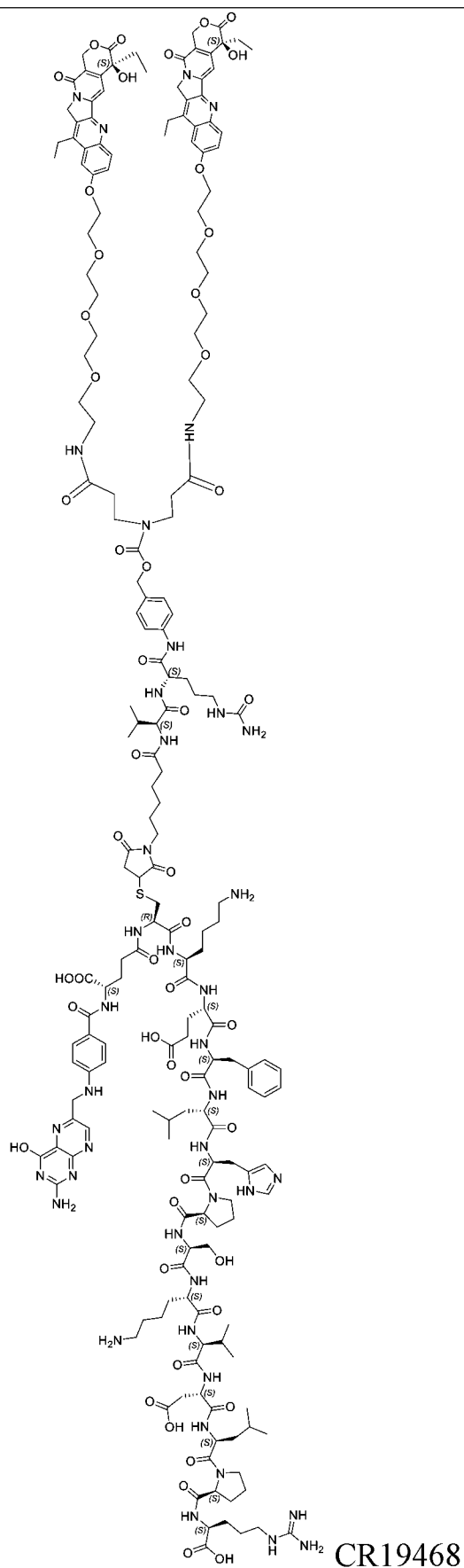
Ligand 05

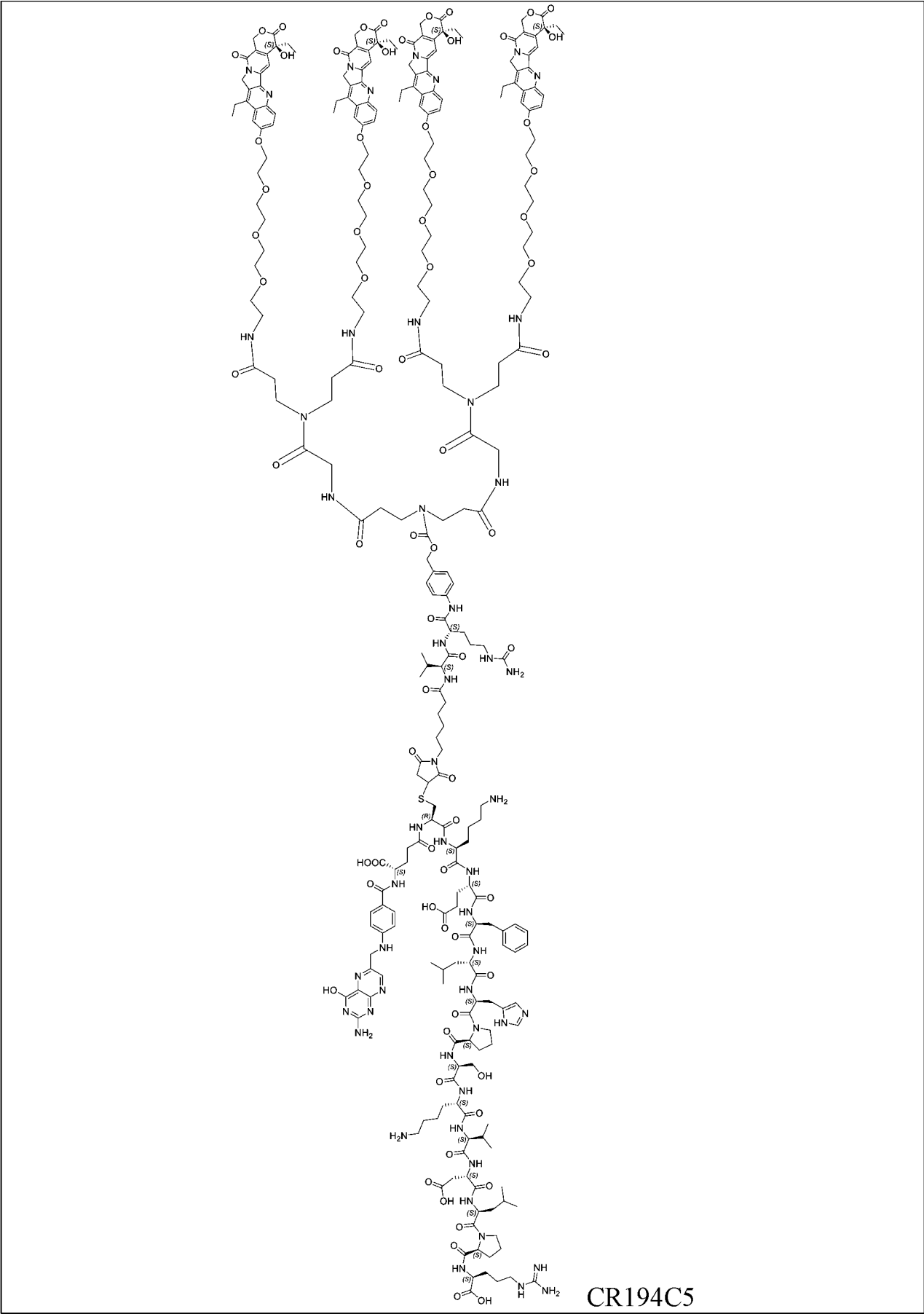


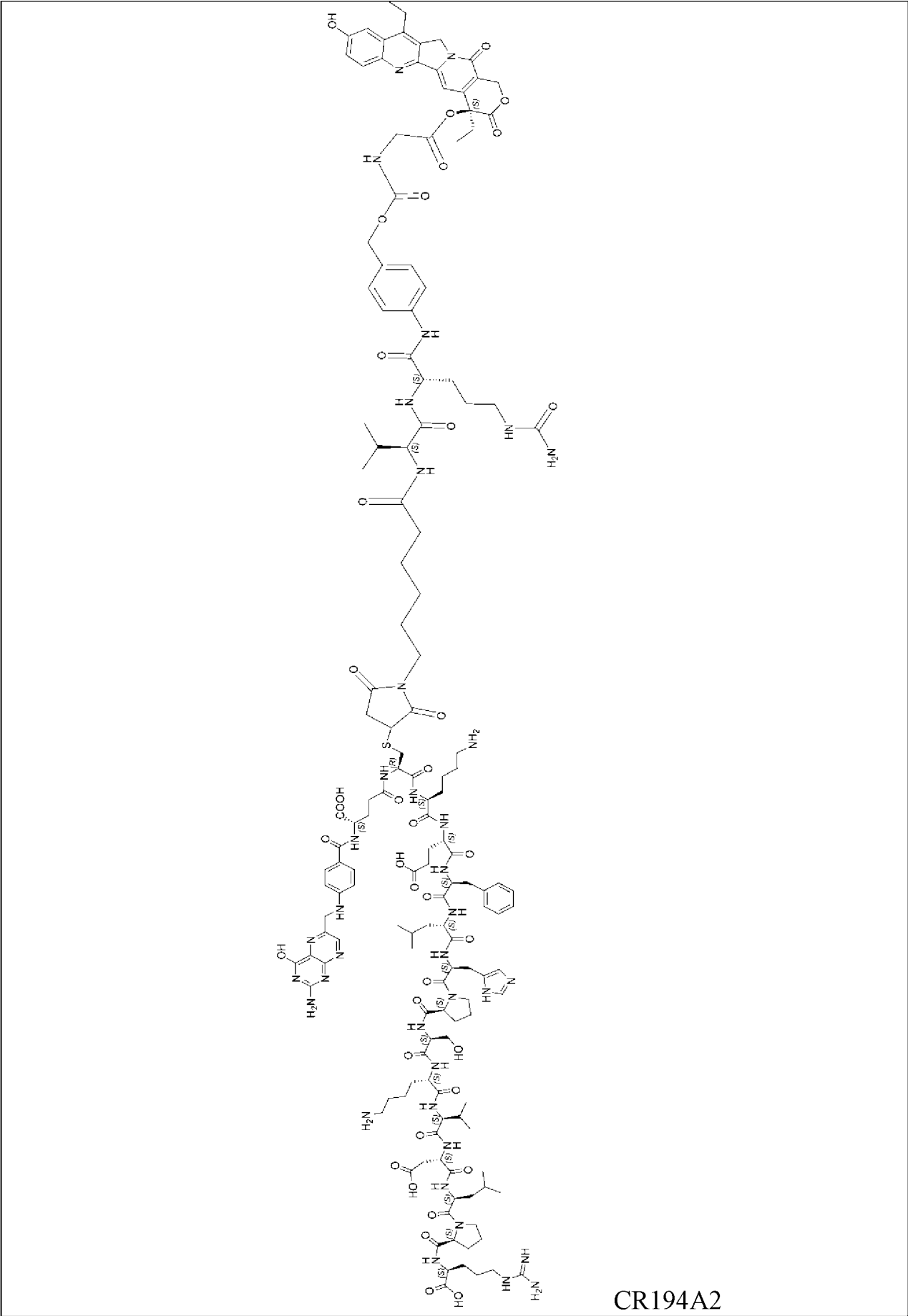
【0084】 在一些實施方式中，q為1。在一些實施方式中，q為2。在一些實施方式中，q為3。在一些實施方式中，q為4。

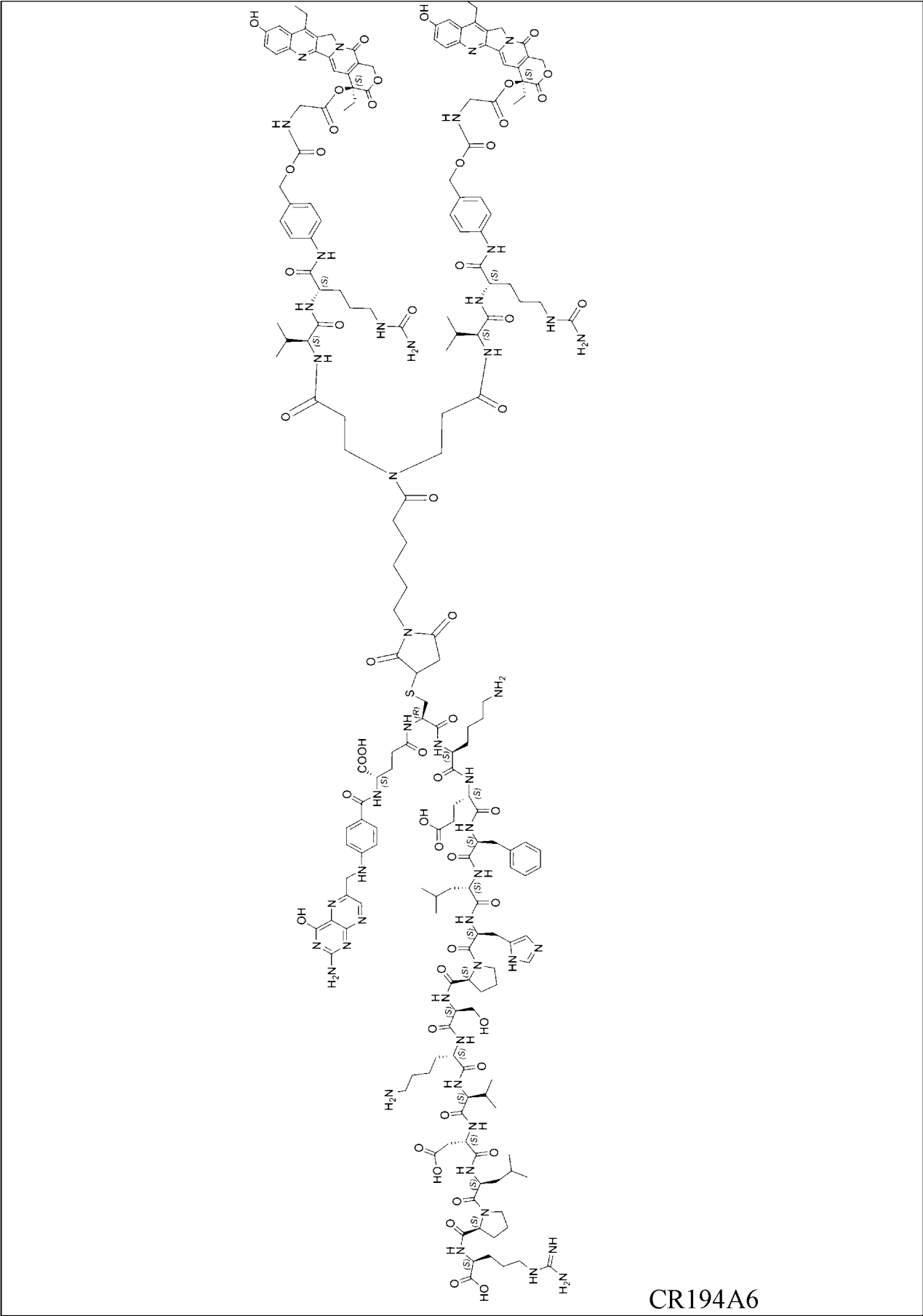
【0085】 本案的一個方面公開了一種偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，所述偶聯體化合物選自：

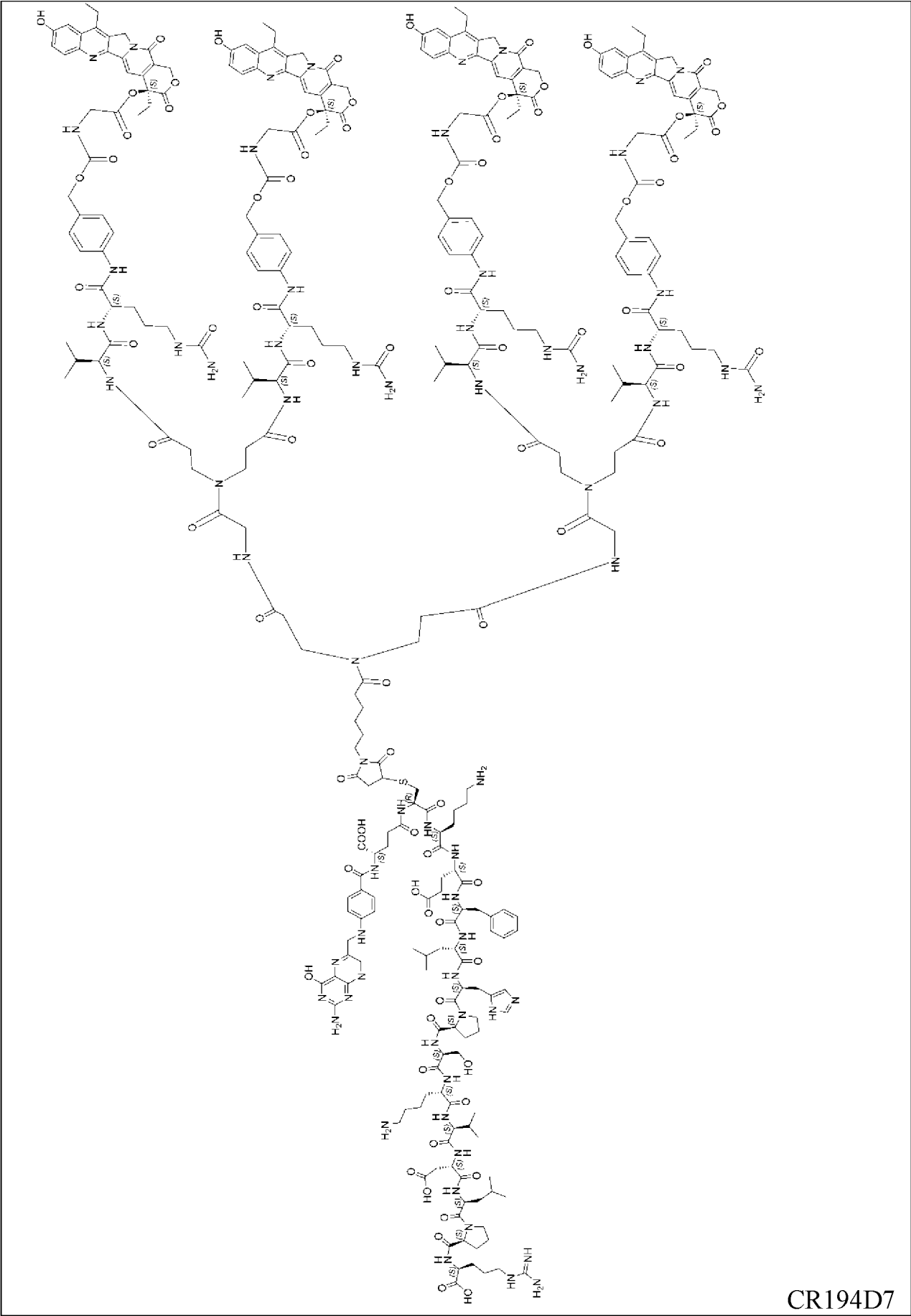




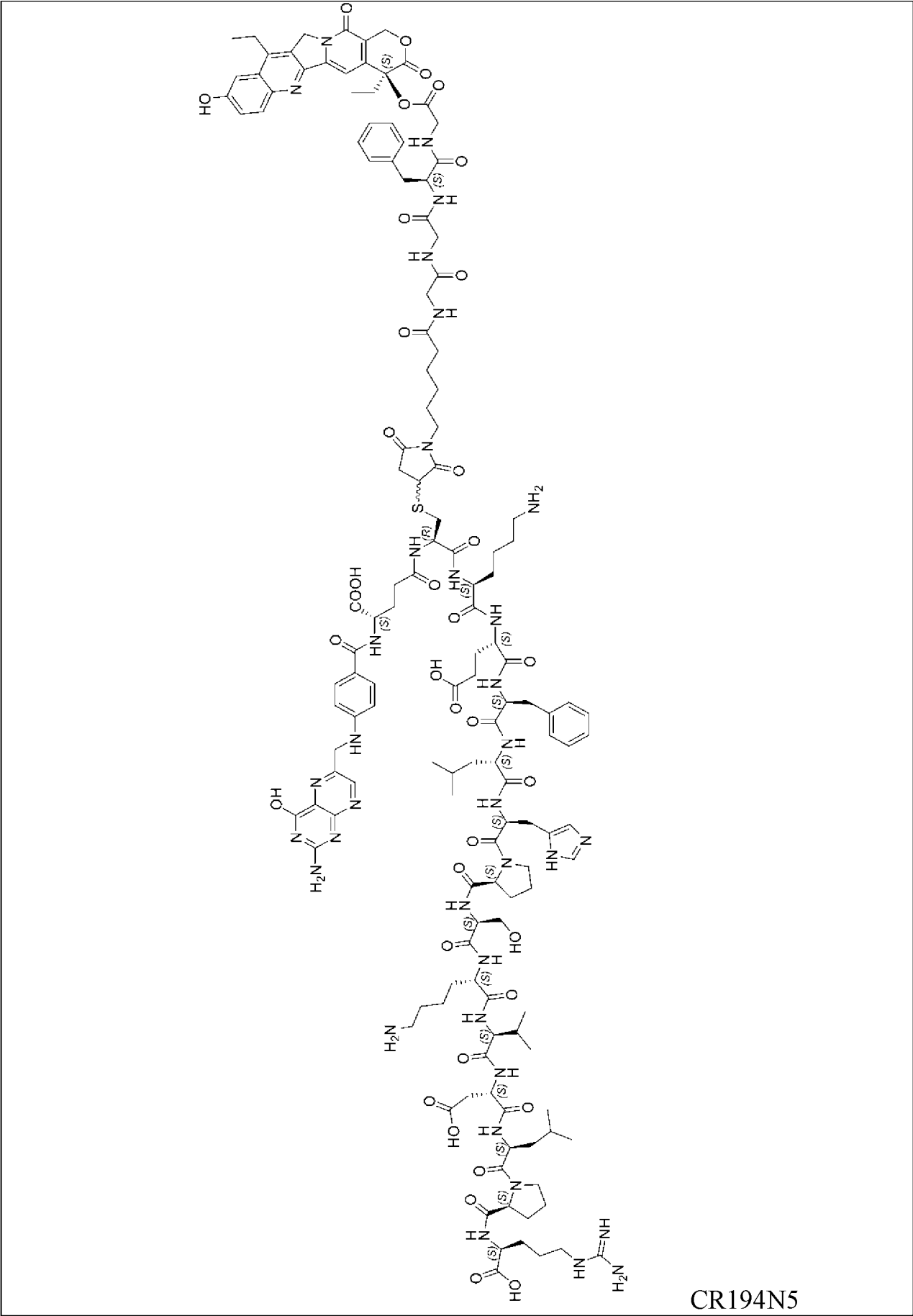




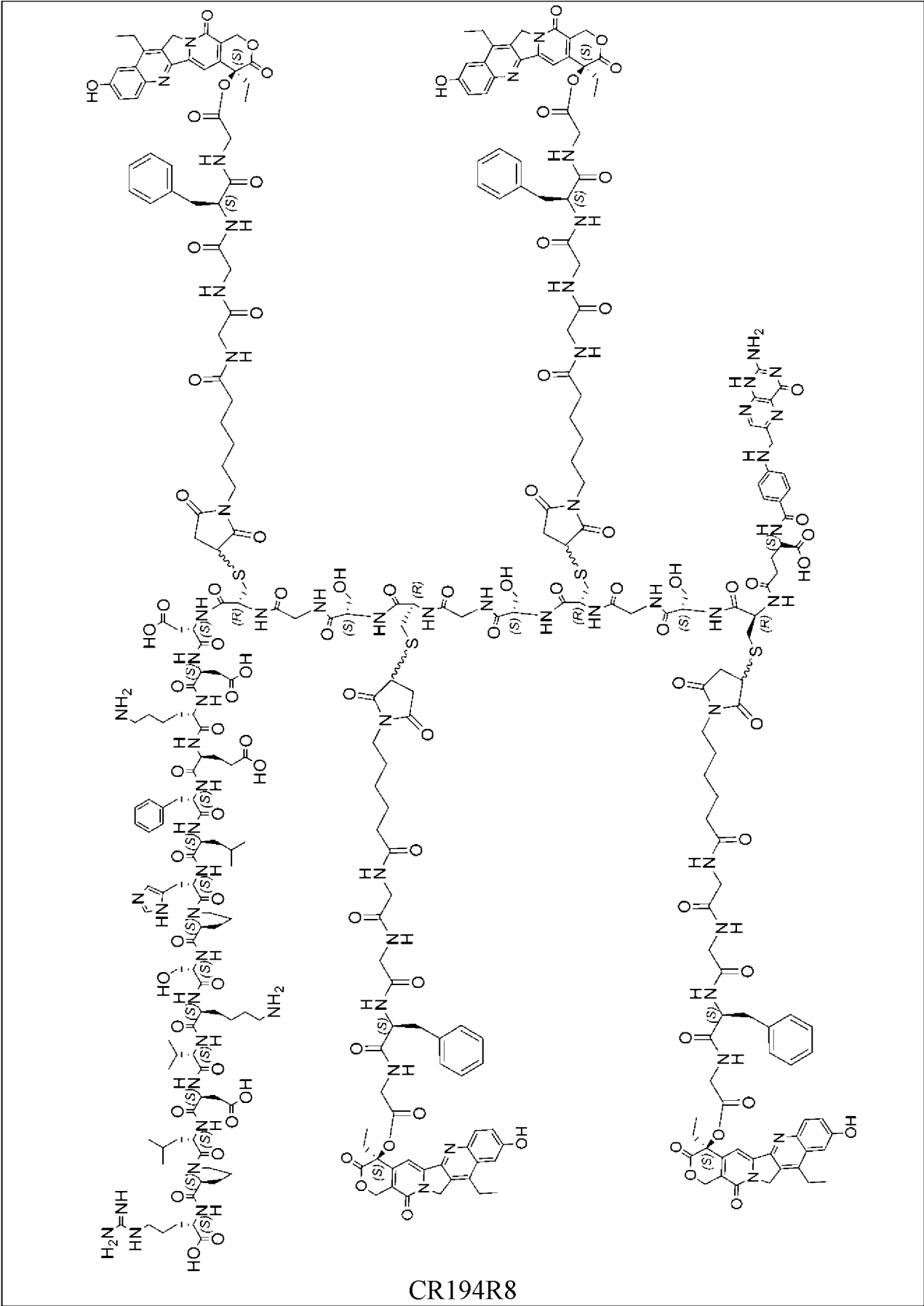


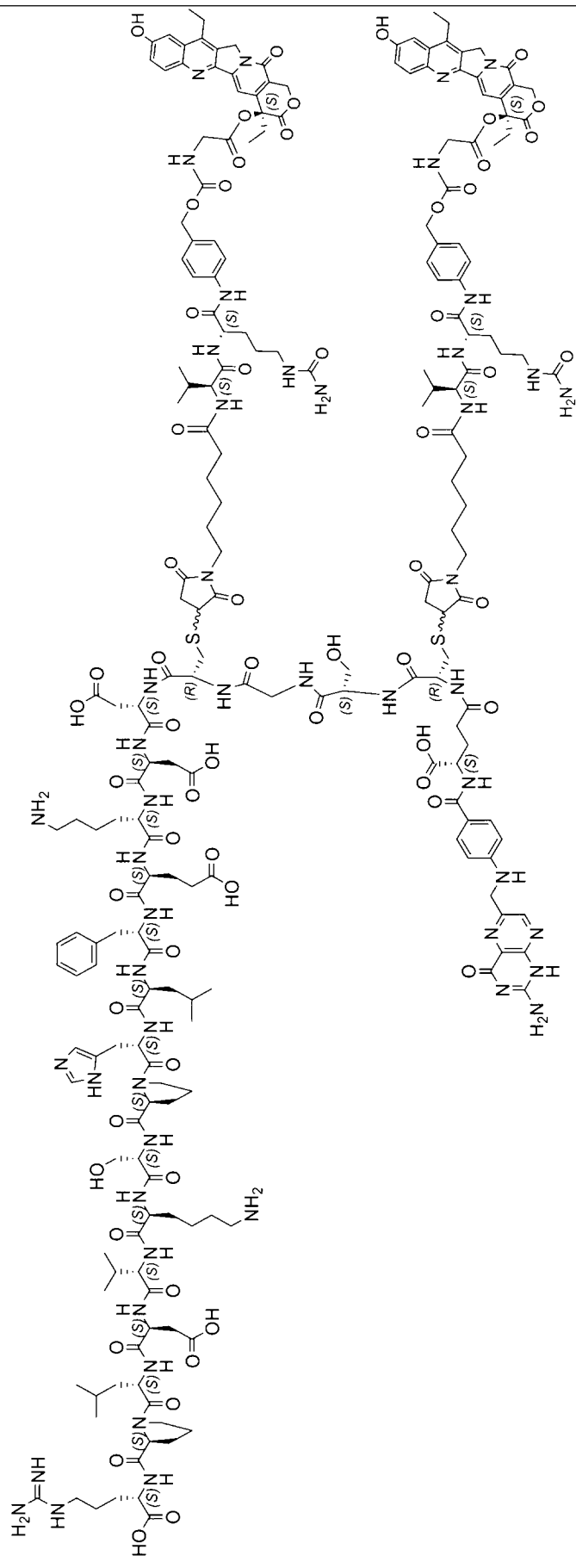


CR194D7

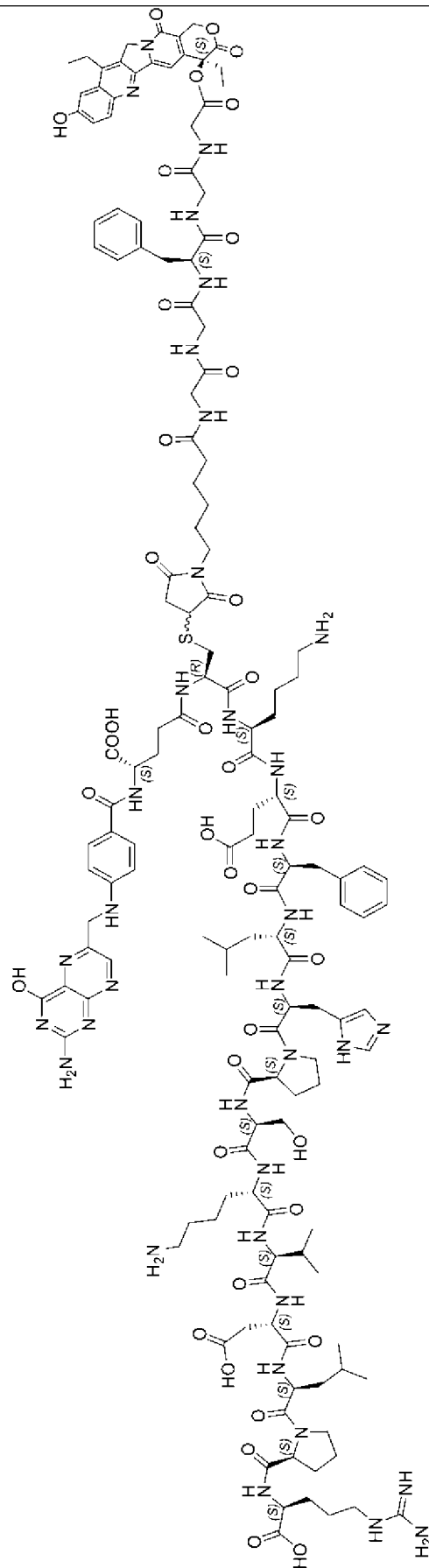


CR194S3

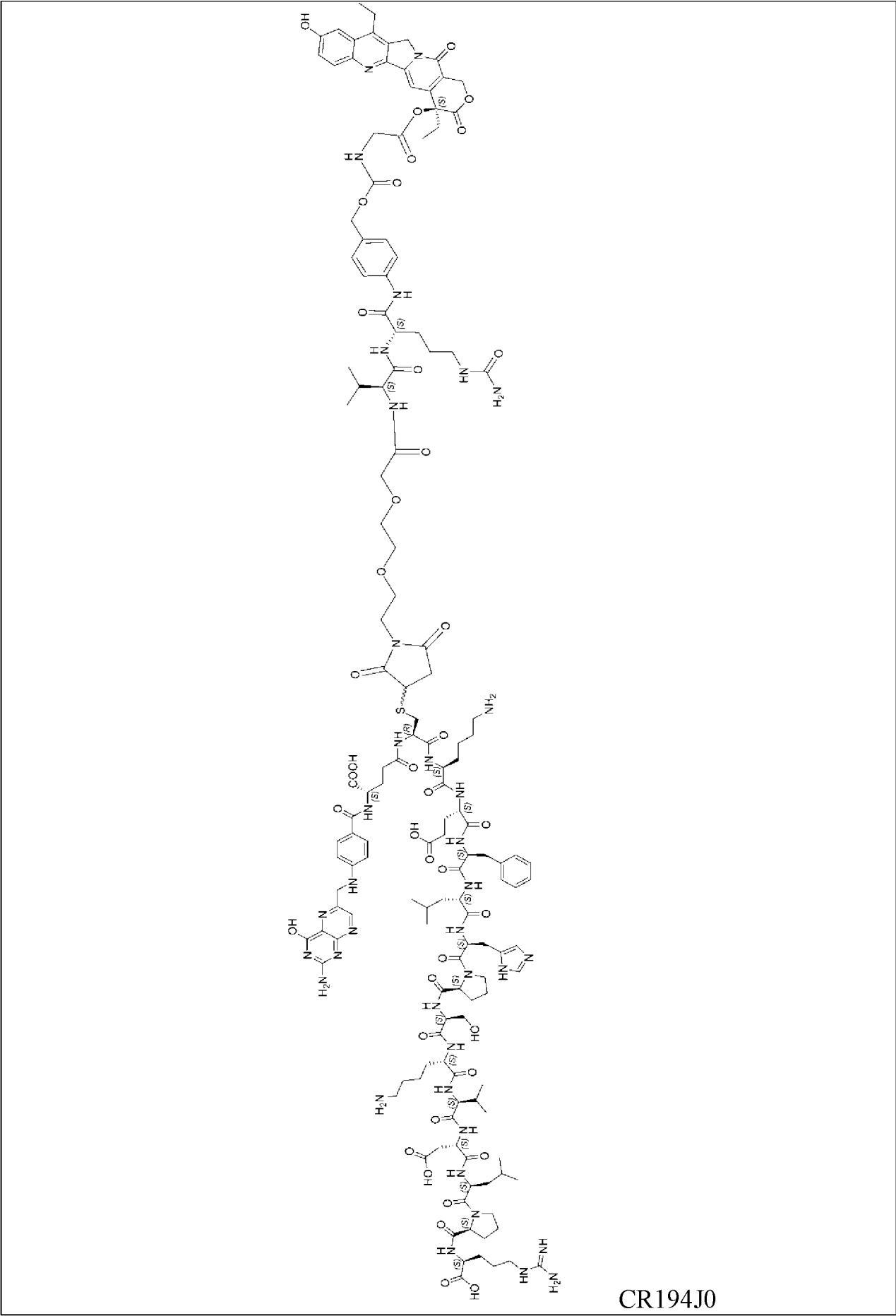


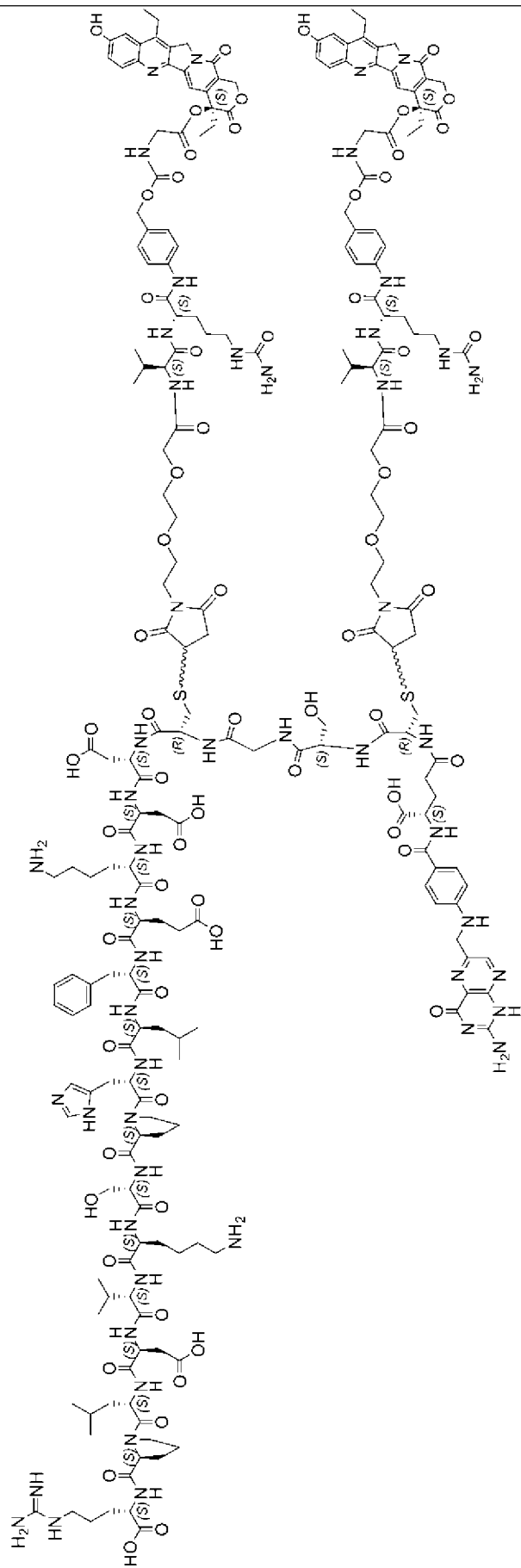


CR194H7

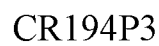


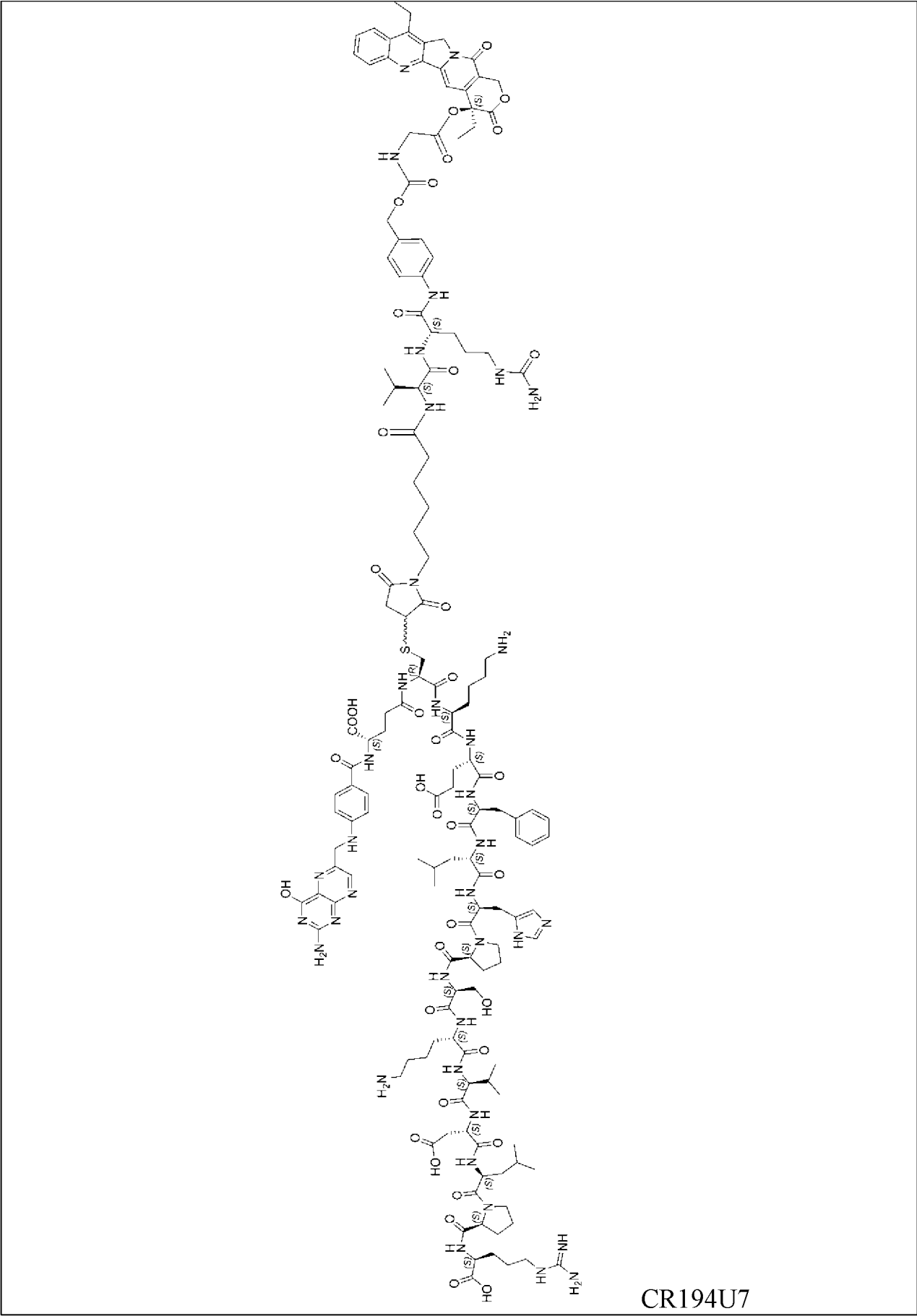
CR194N9

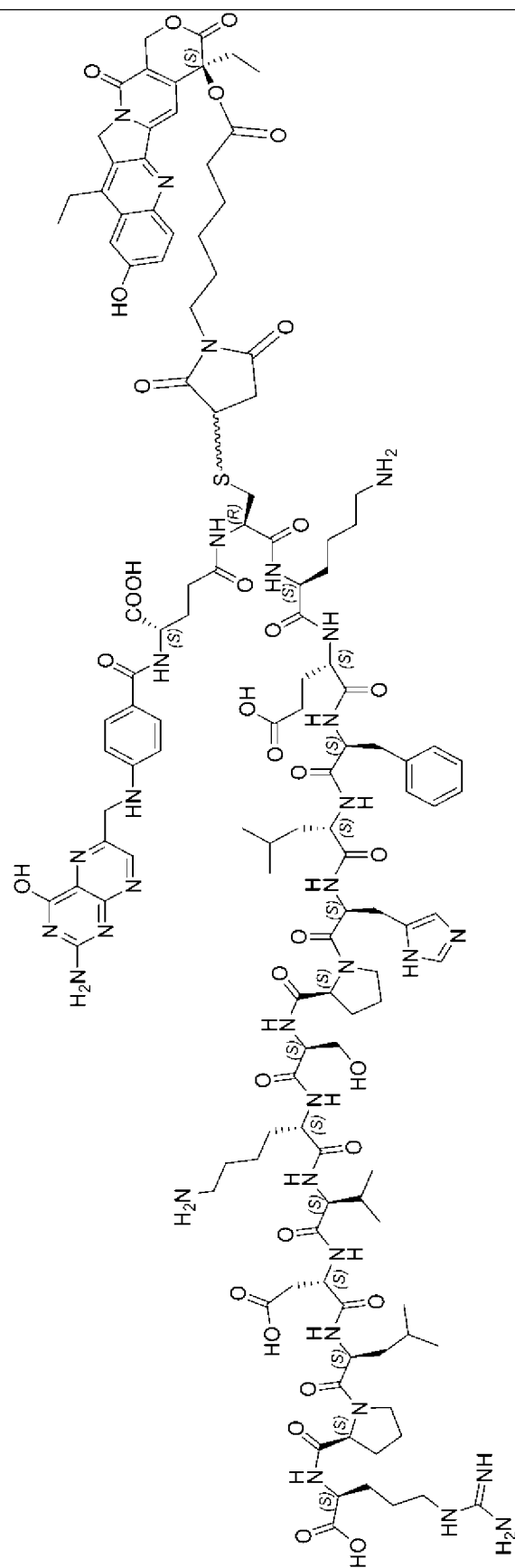




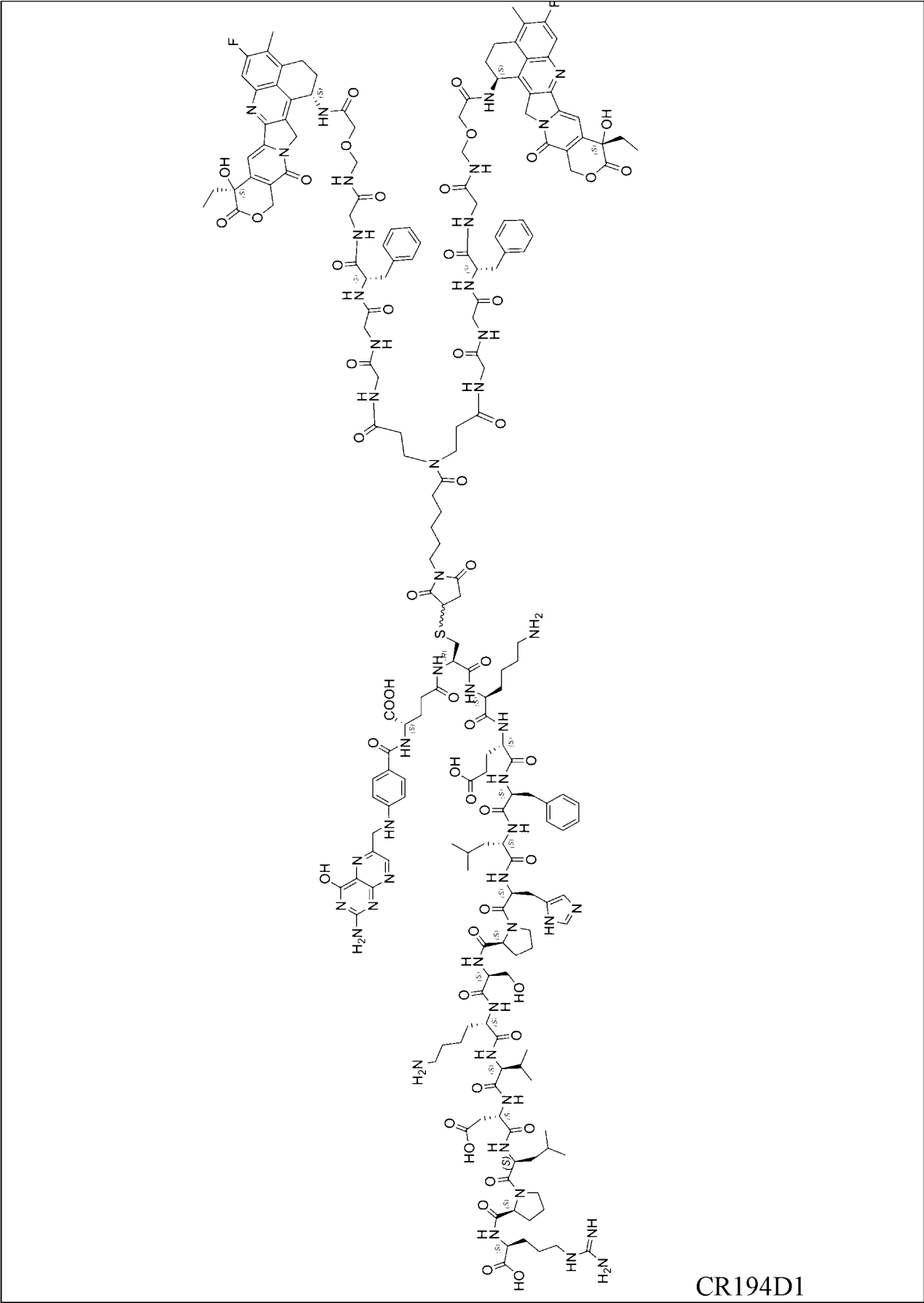
CR194J2



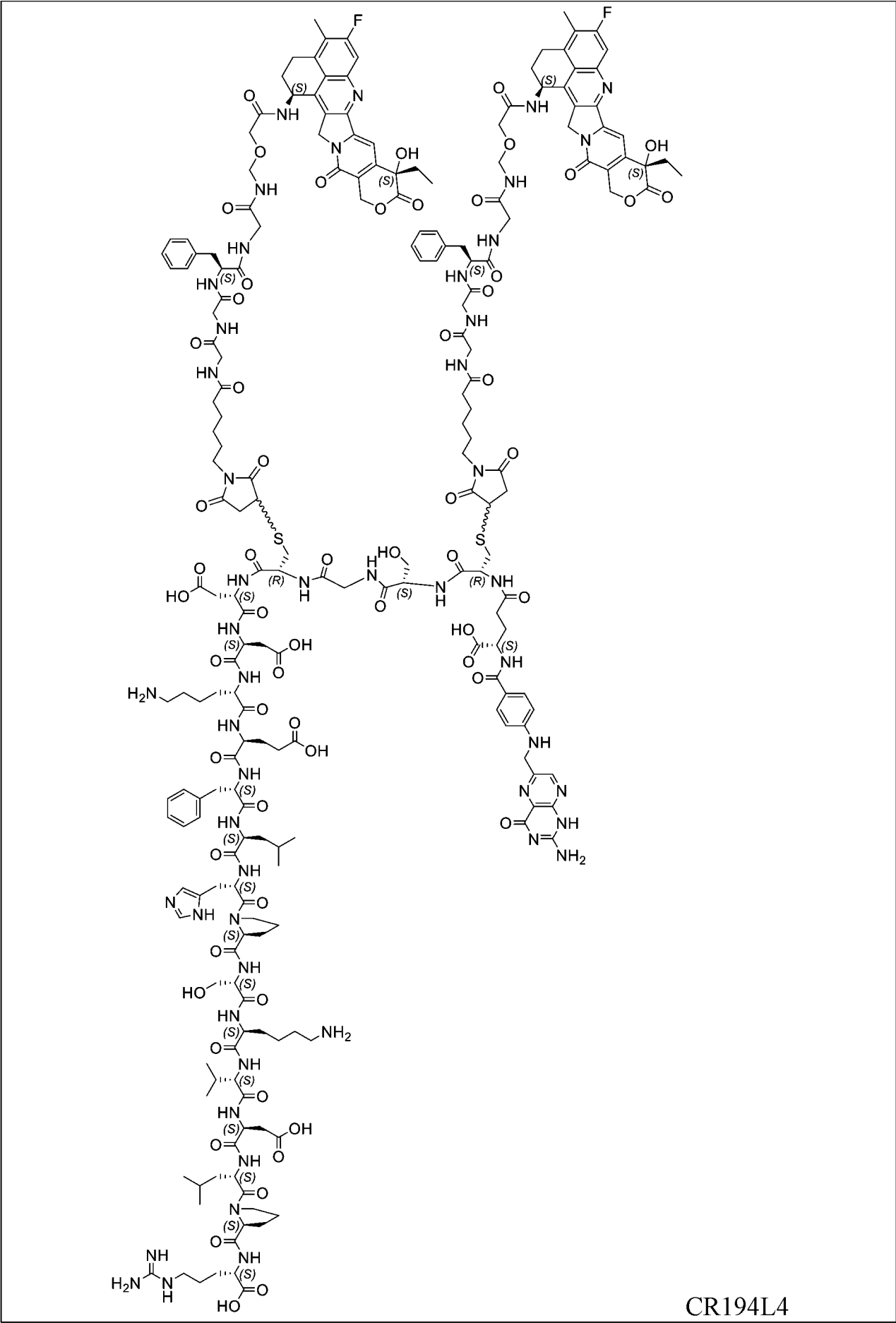


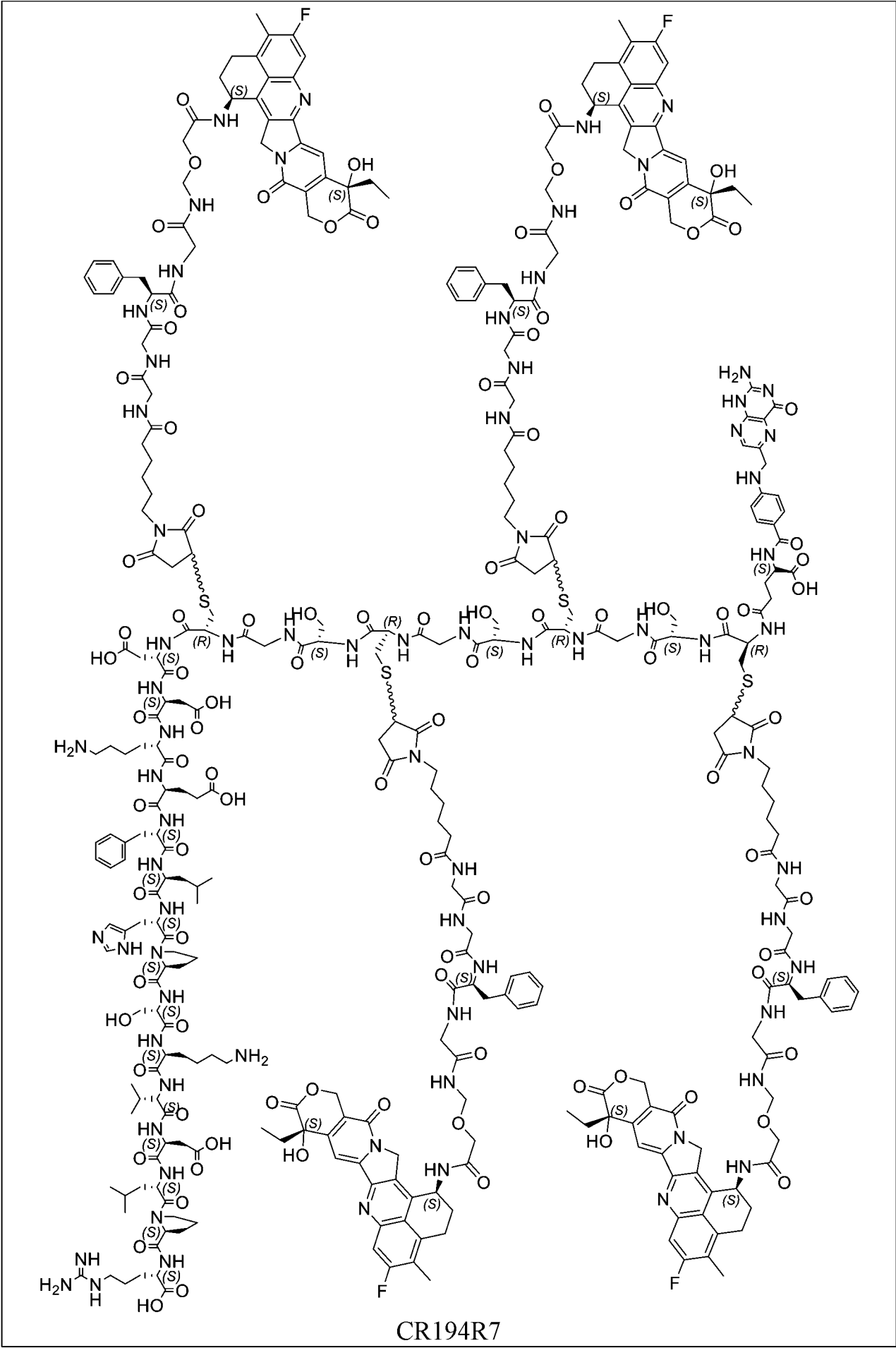


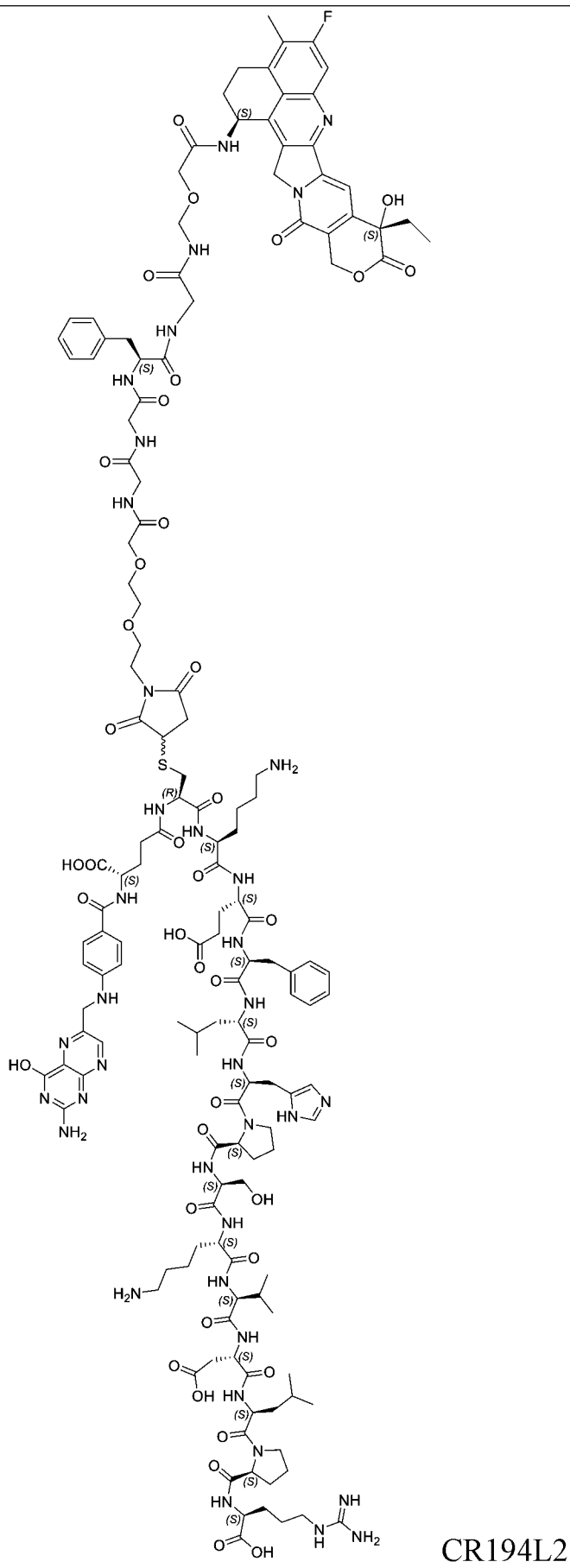
CR194P6

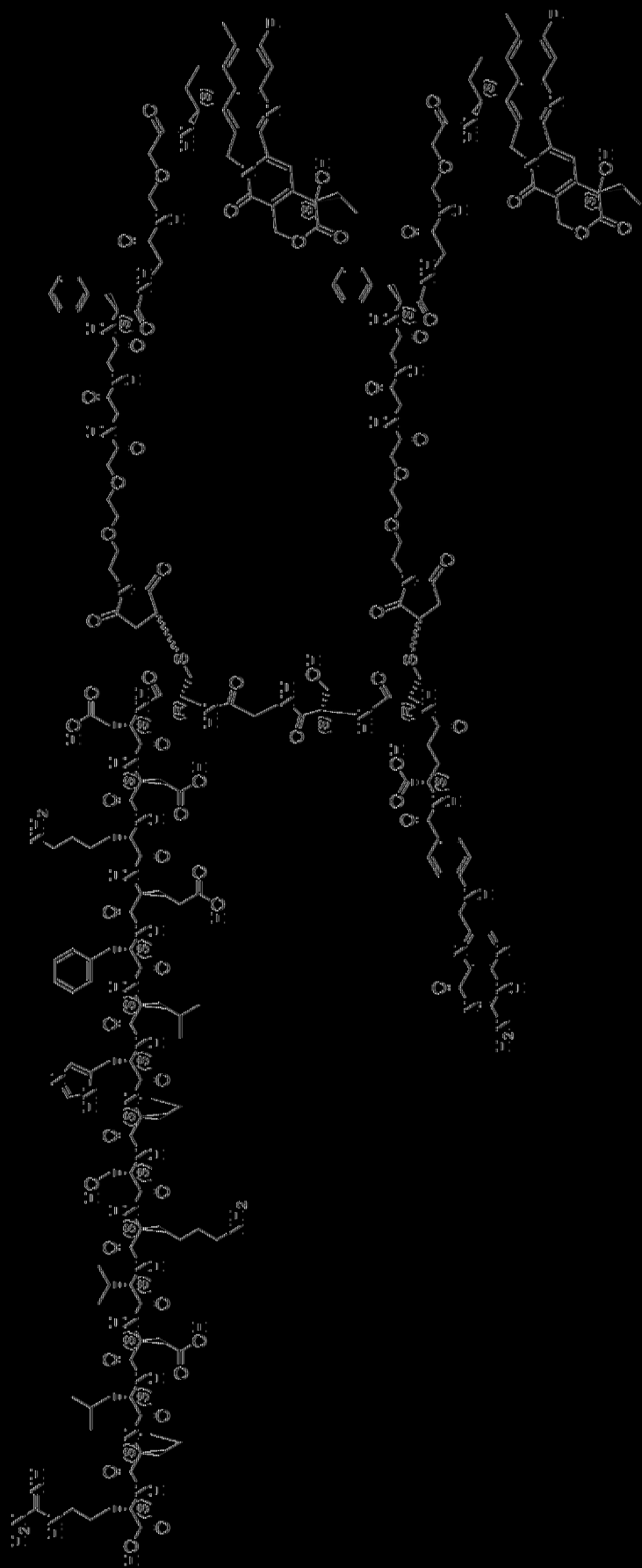


CR194D1



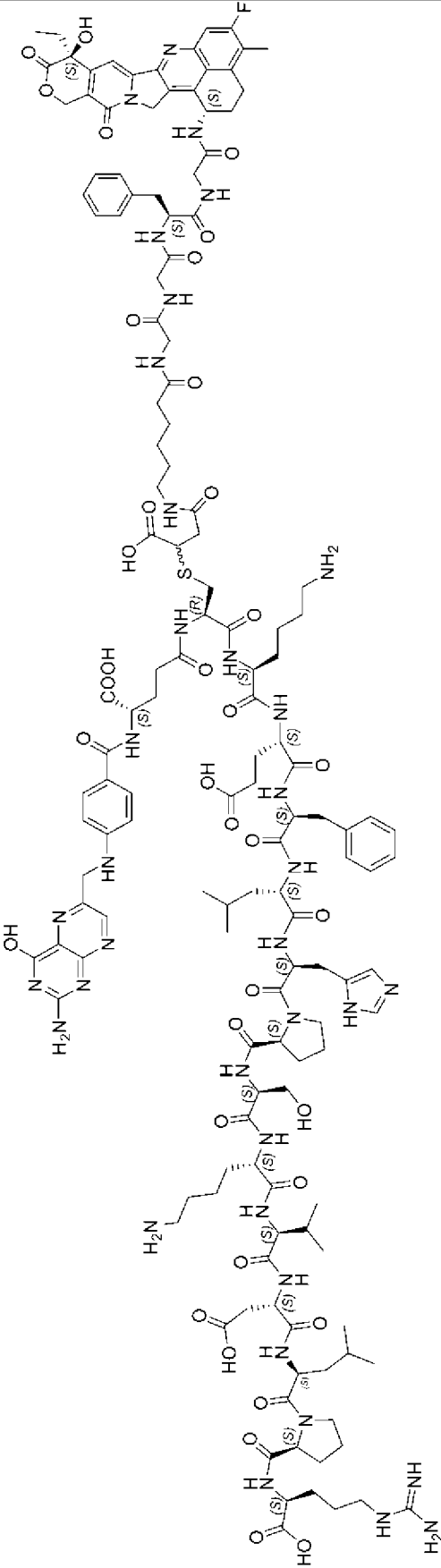






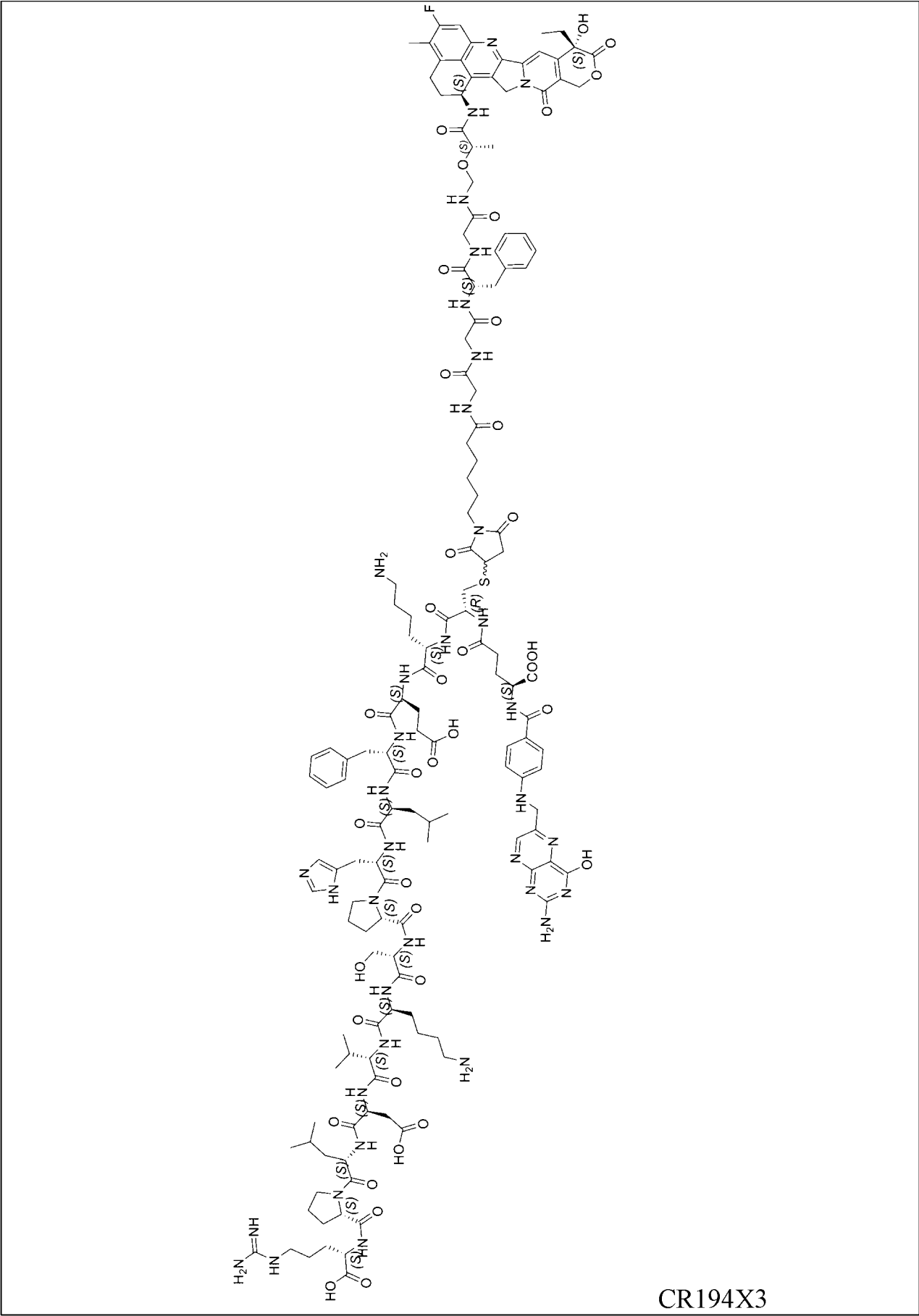
CR194L3

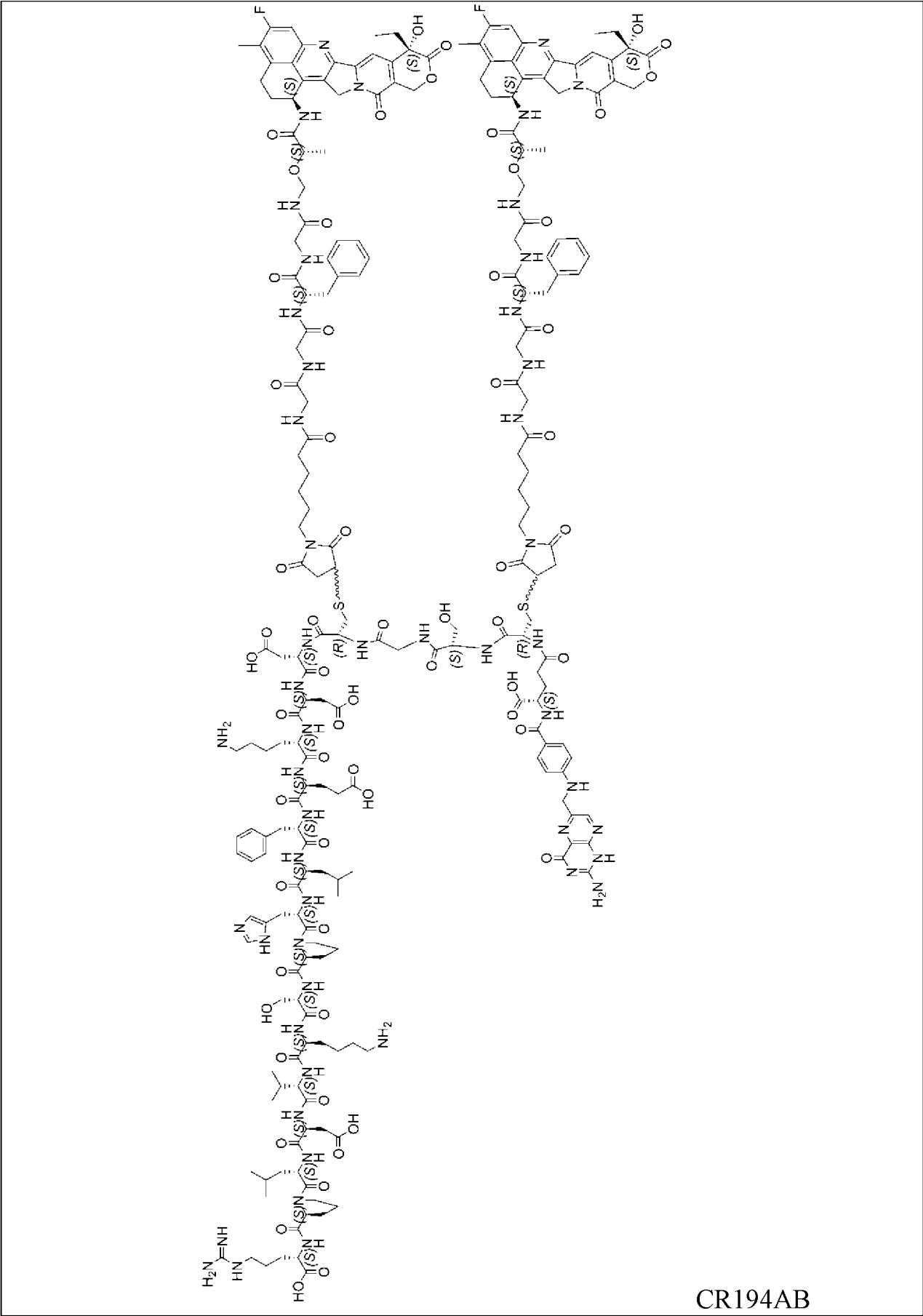
1113255947-0

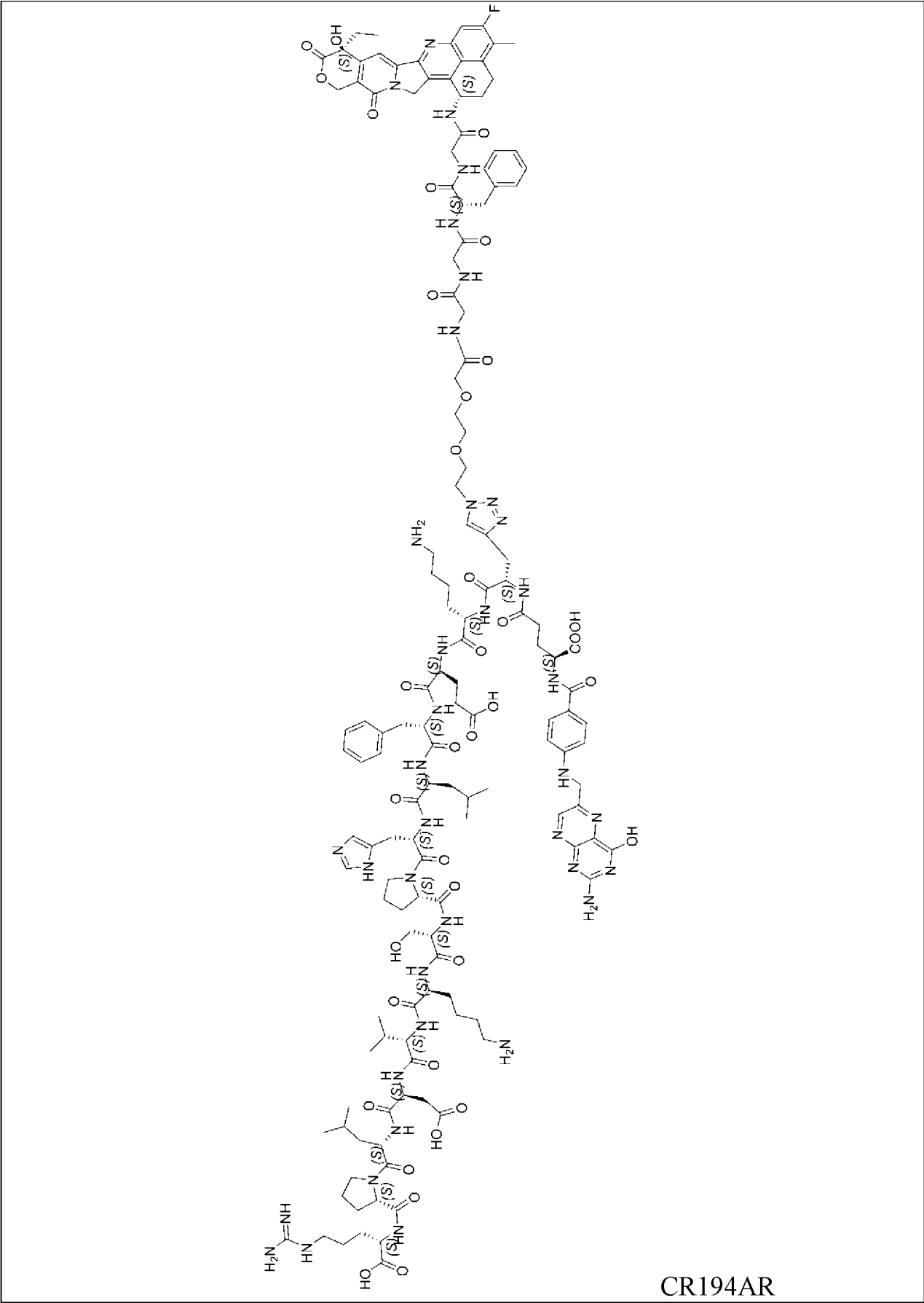


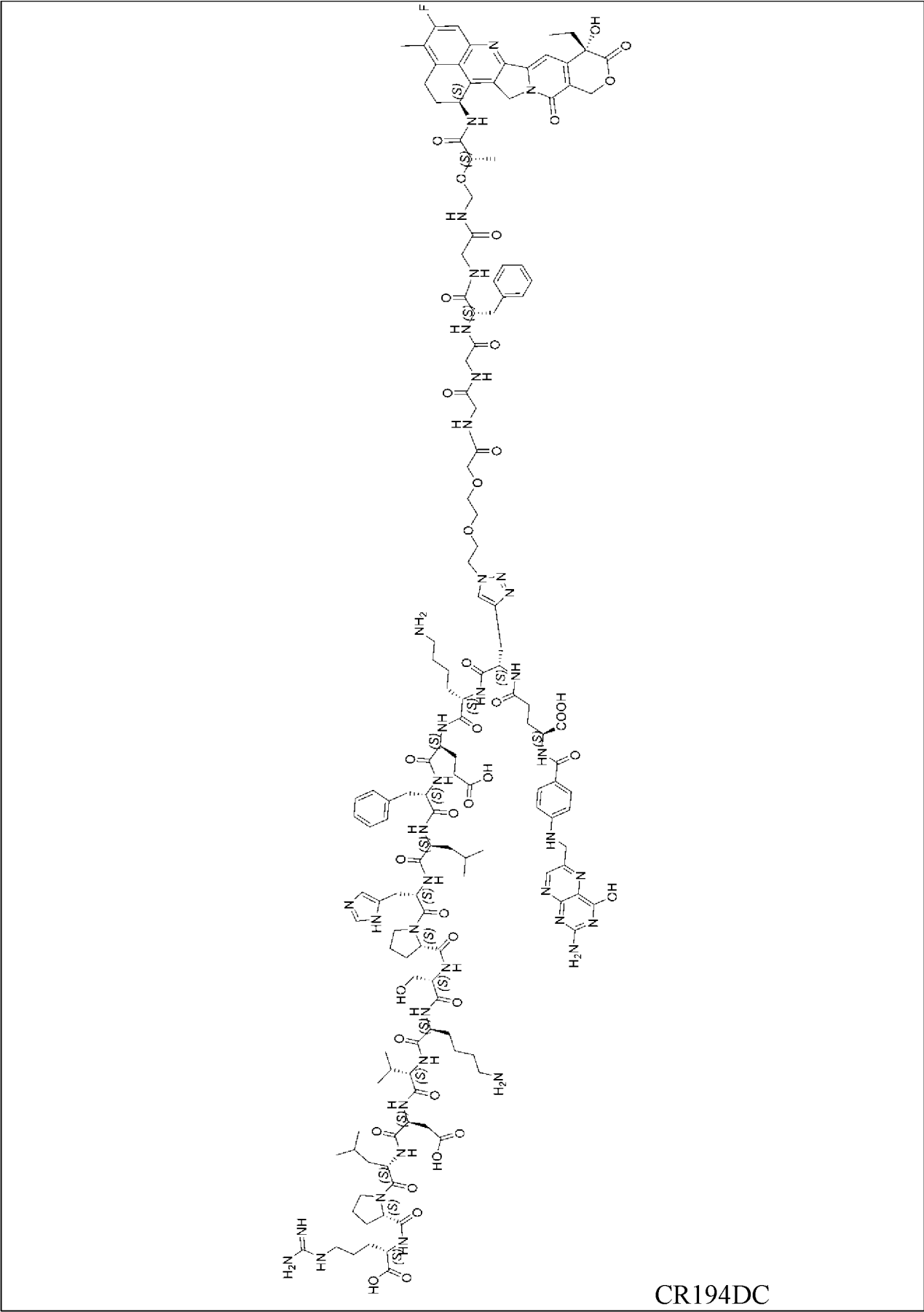
CR194AY

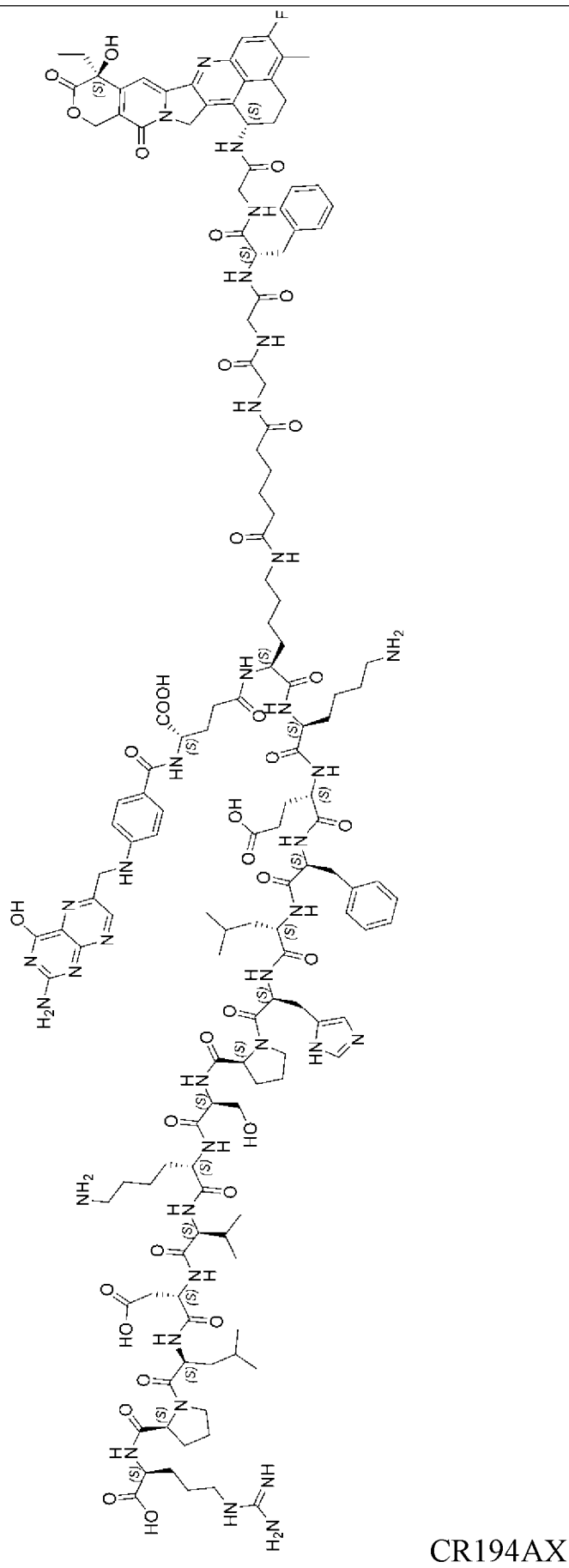
1113255947-0

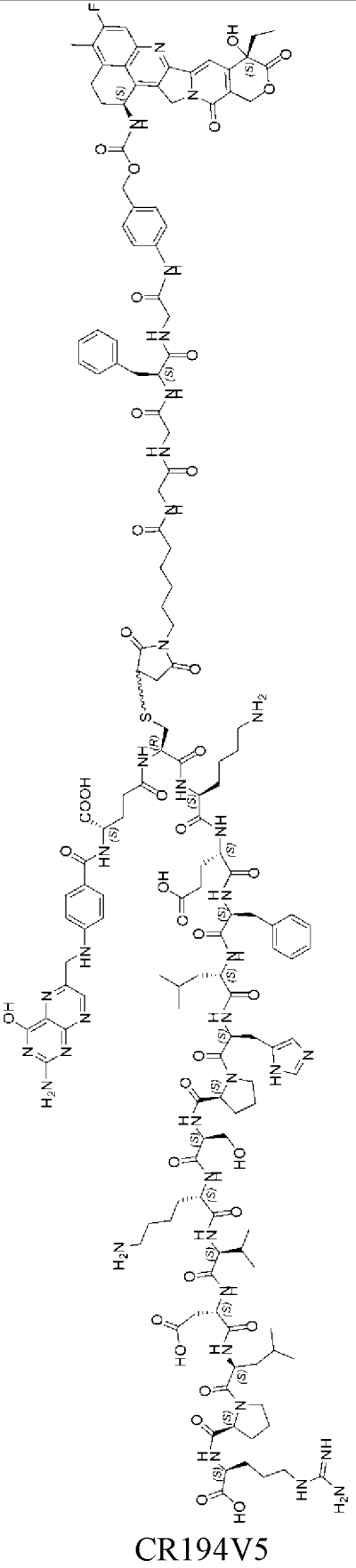


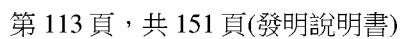


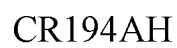


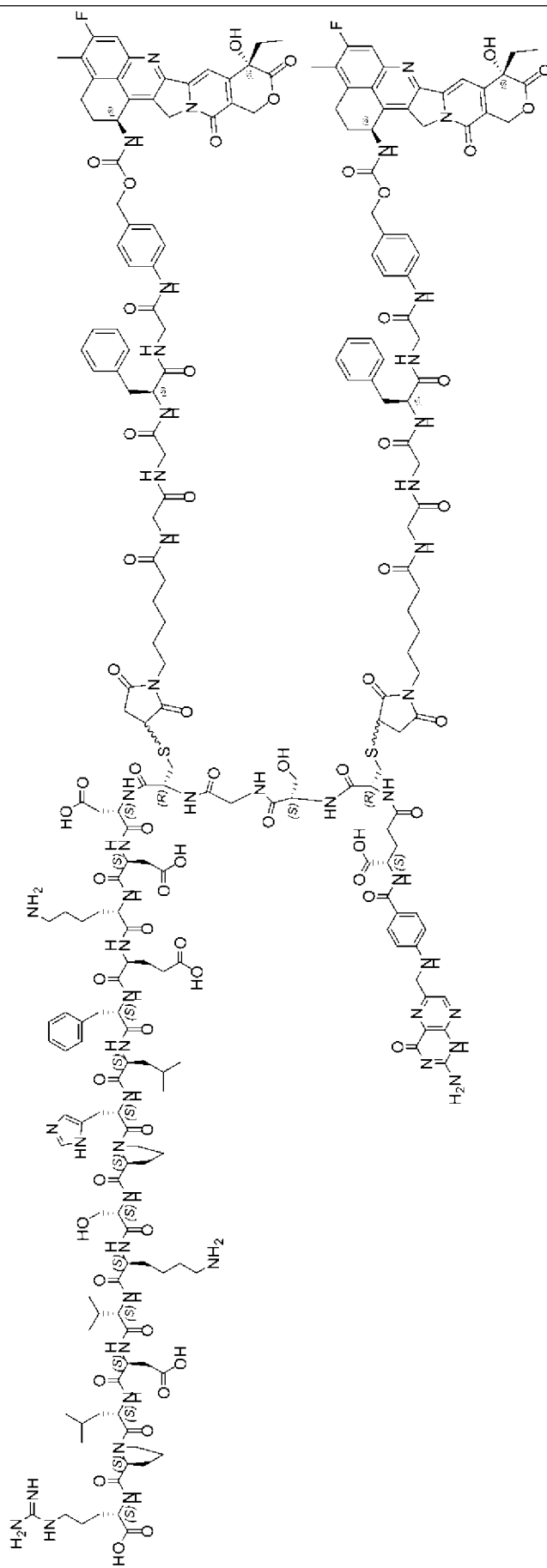




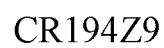








CR194AA



【0086】 本案的另一個方面公開了一種藥物組合物，所述藥物組合物包含本案所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，以及藥學上可接受的載體。在一些實施方式中，本案所述的藥物組合物用於靜脈內、皮下、口服、肌內或心室內施用。

【0087】 在本案中使用的術語「藥學上可接受的」指的是在合理的醫學判斷範圍內，其適用於與人和其他動物的細胞接觸而沒有不適當的毒性、刺激性、過敏反應等，並且與合理的效益/風險比是相稱的。

【0088】 在本案中使用的術語「藥學上可接受的鹽」指的是本案的偶聯體化合物的相對無毒性的、無機和有機酸加成鹽和鹼加成鹽。代表性的酸加成鹽包括氫溴酸鹽、鹽酸鹽、硫酸鹽、硫酸氫鹽、磷酸鹽、硝酸鹽、乙酸鹽、草酸鹽、戊酸鹽、油酸鹽、棕櫚酸鹽、硬脂酸鹽、月桂酸鹽、硼酸鹽、苯甲酸鹽、乳酸鹽、磷酸鹽、甲苯磺酸鹽、檸檬酸鹽、馬來酸鹽、富馬酸鹽、琥珀酸鹽、酒石酸鹽、茶酸鹽、甲磺酸鹽、葡庚糖酸鹽、乳糖酸鹽、胺基磺酸鹽、丙二酸鹽、水楊酸鹽、丙酸鹽、亞甲基-雙-b-羥基萘甲酸鹽、龍膽酸鹽、羥乙基磺酸鹽、二對甲苯甲醯基酒石酸鹽、甲磺酸鹽、乙磺酸鹽、苯磺酸鹽、對甲苯磺酸鹽、環己基胺基磺酸鹽和奎尼酸月桂基磺酸鹽等。鹼加成鹽包括藥學上可接受的金屬和胺鹽。適宜的金屬鹽包括鈉、鉀、鈣、鋇、鋅、鎂和鋁鹽。在一些實施方式中，鈉鹽和鉀鹽是較佳的。適宜的無機鹼加成鹽由金屬鹼製備，所述金屬鹼包括例如氫化鈉、氫氧化鈉、氫氧化鉀、氫氧化鈣、氫氧化鋁、氫氧化鋇、氫氧化鎂和氫氧化鋅。適宜的胺鹼加成鹽由具有足夠鹼性的胺製備，以形成穩定的鹽，並且較佳包括以下常用於藥物化學的胺，因為其毒性較低並且是醫療用途可接受的：氨、乙二胺、N-甲基葡萄糖胺、賴胺酸、精胺酸、鳥胺

宜的成分可以包括例如填充劑、黏合劑、緩衝劑、防腐劑、潤滑劑、調味劑、增稠劑、著色劑或乳化劑。

【0091】 在一些實施方式中，藥物組合物是注射製劑。注射製劑包括無菌水溶液或分散劑、混懸劑或乳劑。在所有情況下，注射製劑應該是無菌的並且應該是流體以便於注射。注射製劑應在生產和儲存條件下保持穩定，並且必須防止細菌和真菌等微生物的污染。載體可以是含有例如水、乙醇、多元醇（例如，甘油、丙二醇和液體聚乙二醇等）及其適宜的混合物和/或植物油的溶劑或分散介質。注射製劑應保持適當的流動性。例如，可以透過使用諸如卵磷脂的包衣、透過使用表面活性劑等保持適當的流動性。可以透過各種抗細菌劑和抗真菌劑實現阻止微生物的作用，例如對羥基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸、硫柳汞等。

【0092】 在一些實施方式中，藥物組合物是口服製劑。口服製劑包括但不限於膠囊、扁膠囊、丸劑、片劑、錠劑（使用調味基質，通常為蔗糖和阿拉伯膠或黃蓍膠）、粉劑、顆粒劑、或在水性或非水性液體中的溶液劑或混懸劑、或者作為水包油或油包水液體乳劑、或者作為酏劑或糖漿、或者作為軟錠劑（使用惰性基質，如明膠和甘油，或者蔗糖和阿拉伯膠）和/或作為漱口劑等。

【0093】 在用於口服施用的固體劑型（例如，膠囊、片劑、丸劑、糖衣丸、散劑、顆粒劑等）中，將偶聯體化合物與一種或多種藥學上可接受的載體混合，如檸檬酸鈉或磷酸氫二鈣，和/或下述中的任意一種：（1）填充劑或增量劑，例如，澱粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇和/或矽酸；（2）黏合劑，例如，羧甲基纖維素、藻酸鹽、明膠、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖和/或阿拉伯膠；

(3) 保濕劑，例如，甘油；(4) 崩解劑，例如，瓊脂、碳酸鈣、馬鈴薯或木薯澱粉、海藻酸、某些矽酸鹽和碳酸鈉；(5) 溶液阻滯劑，例如，石蠟；(6) 吸收促進劑，例如，季銨化合物；(7) 潤濕劑，例如，乙醯基醇和單硬脂酸甘油酯；(8) 吸收劑，例如，高嶺土和膨潤土；(9) 潤滑劑，例如，滑石、硬脂酸鈣、硬脂酸鎂、固體聚乙二醇、月桂基硫酸鈉及其混合物；以及(10) 著色劑。

【0094】 在用於口服施用的液體劑型中，將偶聯體化合物與下述中的任意一種混合：藥學上可接受的乳劑、微乳、溶液、混懸劑、糖漿劑和酞劑。除了偶聯體化合物以外，液體劑型可以含有本領域常用的惰性稀釋劑，例如，水或其他溶劑、增溶劑和乳化劑，例如，乙醇、異丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苯甲醇、苯甲酸苄酯、異丙醇、1,3-丁二醇、油（特別是，棉籽油、花生油、玉米油、橄欖油、蓖麻油和芝麻油）、甘油、四氫糠醇、聚乙二醇和脫水山梨醇脂肪酸酯及其混合物。除了惰性稀釋劑以外，口服組合物還可以包含佐劑，例如，潤濕劑、乳化劑和混懸劑、甜味劑、調味劑、著色劑、增香劑和防腐劑。

【0095】 在一些實施方式中，藥物組合物是口腔噴霧製劑或鼻噴霧製劑。噴霧製劑包括但不限於水性氣霧劑、非水性混懸劑、脂質體製劑或固體顆粒製劑等。水性氣霧劑透過將藥劑的水溶液或混懸液與常規藥學上可接受的載體和穩定劑混合製備。載體和穩定劑根據具體化合物的要求而改變，但是在通常情況下，其包括非離子表面活性劑（吐溫乳化劑或聚乙二醇）、油酸、卵磷脂、胺基酸，例如，甘胺酸、緩衝溶液、鹽、糖或糖醇。氣霧劑通常由等滲溶液製備，並且能夠透過噴霧遞送。

【0096】 在一些實施方式中，藥物組合物可以透過與一種或多種其他藥物混合使用。在一些實施方式中，藥物組合物包含至少一種其他藥物。在一些實施方式中，其他藥物是抗腫瘤藥、心血管藥、抗發炎藥、抗病毒藥、消化系統藥、神經系統藥、呼吸系統藥、免疫系統藥、皮膚病藥、代謝藥等。

【0097】 在一些實施方式中，可以透過適宜的途徑向有需要的對象施用藥物組合物，包括但不限於口服、注射（例如，靜脈內、肌內、皮下、皮內、心內、鞘內、胸膜內、腹膜內注射等）、黏膜（例如，鼻內、口內施用等）、舌下、直腸、經皮、眼內和肺部施用。在一些實施方式中，藥物組合物可以靜脈內、皮下、口服、肌內或心室內施用。

【0098】 由於一些有效負載的性質，例如高毒性、高親水性，因而希望將有效負載更特異性地和更有效地向有需要的對象遞送。例如，在癌症治療中，希望將化療劑特異性地向癌細胞遞送，而不對正常細胞產生毒性。因而，本案的另一個方面公開了向有需要的對象遞送有效負載的方法，所述方法包括向對象施用治療有效量的本案提供的偶聯體化合物，或其藥學上可接受的鹽，或者本案提供的藥物組合物。

【0099】 本案的另一個方面公開了一種用於治療對象中的疾病的方法，所述方法包括向所述對象施用治療有效量的本案所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，或者本案所述的藥物組合物。在一些實施方式中，所述方法還包括將一種或多種治療劑與所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，或者所述藥物組合物聯合施用。

【0100】 本案的另一個方面公開了本案所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，或者本案所述的藥物組合物在用於製備治療對象中的疾病的藥物中的用途。

【0101】 在本案中使用的術語「治療有效量」指的是偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或藥物組合物在一定程度上減輕對象中疾病或病症的一種或多種症狀的量；使與疾病或病症相關或導致疾病或病症的一個或多個生理或生化參數部分或完全恢復正常的量；和/或降低疾病或病症發病的可能性的量。這種量通常根據多種因素而改變，本領域中具有通常知識者根據本案提供的說明書的範圍能夠對其進行確定和說明。這些包括但不限於：特定對象及其年齡、體重、身高、一般身體狀況和病史、所使用的特定化合物，以及其製劑的載體和所選擇的施用途徑；以及所治療病況的性質和嚴重程度。

【0102】 在一些實施方式中，偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，或者藥物組合物的量足以在對象中抑制疾病或病症，或者預防性地抑制或阻止疾病或病症的發病。儘管治療有效量可以在不同對象中改變，但是其範圍通常為從0.01至150 mg/kg，例如0.01至140 mg/kg、0.01至130 mg/kg、0.01至120 mg/kg、0.01至110 mg/kg、0.01至90 mg/kg、0.01至80 mg/kg、0.01至70 mg/kg、0.01至60 mg/kg、0.01至50 mg/kg、0.01至40 mg/kg、0.01至30 mg/kg、0.01至20 mg/kg、0.01至10 mg/kg、0.01至5 mg/kg、0.01至4 mg/kg、0.01至3 mg/kg、0.01至2 mg/kg、0.01至1 mg/kg、0.01至0.1 mg/kg。在一些實施方式中，本案的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物以1-150mg/kg的所述偶聯體化合物的劑量範圍施用。在一些實施方式中，本案的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物以1-25 mg/kg、1-50 mg/kg、

1-75 mg/kg、1-100 mg/kg、1-125 mg/kg、1-150 mg/kg、25-75 mg/kg、25-50 mg/kg、25-40 mg/kg、25-30 mg/kg、1-20 mg/kg、1-15 mg/kg、1-10 mg/kg、1-5 mg/kg、1-3 mg/kg的所述偶聯體化合物的劑量施用。在一些實施方式中，本案的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物以1mg/kg、3mg/kg、10mg/kg、25mg/kg、50mg/kg、75mg/kg、100mg/kg、150mg/kg的所述偶聯體化合物的劑量施用。在一些實施方式中，本案所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物可以每天（例如：每天一次，兩次，三次或四次）施用，或者間隔一天或多天（例如：每週，每兩週，每三週，每月或每季度一次）施用。在一些實施方式中，本案所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物的給藥頻率為每週一次、每週兩次、每週三次、每三天一次、每兩天一次、每天一次、每天兩次或每天三次。在一些實施方式中，本案所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物的給藥頻率為每週一次。在一些實施方式中，本案所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物的給藥頻率為每天三次。本案所述的治療有效量可以等於上述數值範圍內的任意值，包括該範圍的端點。

【0103】 在本案中使用的術語「對象」指的是人和非人動物。非人動物包括所有的脊椎動物，例如哺乳動物和非哺乳動物。對象也可以是家畜，例如，牛、豬、羊、家禽和馬，或家養動物，例如，狗和貓。對象可以是雄性（例如，男性）或雌性（例如，女性），可以是老年，成年、青少年、兒童或嬰兒。人可以是高加索人、非洲人、亞洲人、閃族人或其他種族背景人士，或者是這些種族背景的混合。

【0104】 在一些實施方式中，本案所述疾病選自下組：癌症、免疫性疾病、代謝疾病和神經疾病。在一些實施方式中，所述癌症選自胰腺癌、膽道癌、肝癌、乳腺癌、甲狀腺癌、結直腸癌、食道癌、肺癌、腎癌、白血病、卵巢癌、胃癌、子宮癌、子宮內膜癌、結腸癌、睪丸癌、皮膚癌、前列腺癌、淋巴瘤和多發性骨髓瘤。在一些實施方式中，免疫性疾病是自身免疫性疾病，較佳地，所述自身免疫性疾病選自結締組織病、系統性硬化症、類風濕性關節炎和系統性紅斑狼瘡。代謝疾病選自糖尿病、痛風、肥胖症、低血糖症、高血糖症和血脂異常。在一些實施方式中，神經疾病選自阿茲海默症、帕金森氏症、亨廷頓舞蹈症、頭部損傷、多發性硬化症、眩暈、昏迷和癲癇。

【0105】 在一些實施方式中，本案的方法還包括將一種或多種治療劑與所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，或者所述藥物組合物聯合施用。

【0106】 以下將透過具體實施例更詳細地描述本案。提供以下實施例僅用於說明目的，並且不旨在以任何方式限制本發明。本領域之具備通常知識者將容易地意識到可以對多種非關鍵參數進行改變或修改以產生基本上相同的結果。

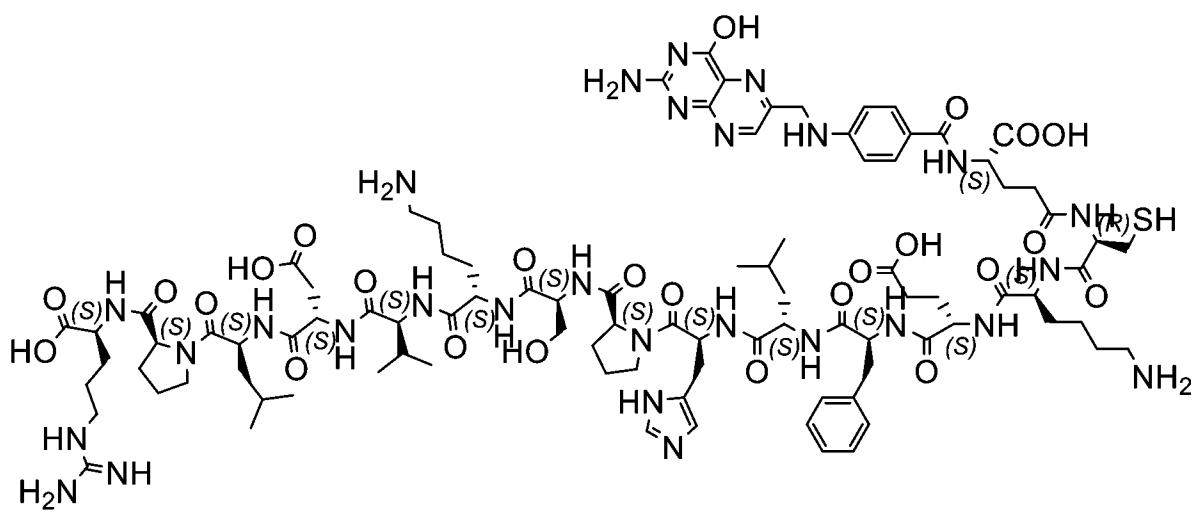
【0107】 實施例

【0108】 以下實施例旨在更好地說明本發明，且不應理解為限制本發明的範圍。所有下述的特定組合物、材料和方法，其整體或部分，都在本發明的範圍內。這些特定的組合物、材料和方法不是為了限制本發明，而只是為說明特定的實施方式在本發明的範圍內。本領域中具備通常知識者可不添加進步性及不偏離本發明範圍而開發出等同的組合物、材料和方法。應理解，在對本發

明的方法作出的多種改動可以仍然包含在本發明範圍內。發明人意在將這樣的變動包含在本發明的範圍內。

實施例 1 多配體部分的製備

【0109】 雙配體Ligand-01的製備



【0110】 用固相合成Fmoc化學胺基樹脂合成Pterioic acid（蝶酸）-Glu-Cys-Lys-Glu- Phe-Leu-His-Pro -Ser-Lys-Val-Asp-Leu-Pro-Arg-OH肽序。將樹脂裝載於固相反應柱中，加入DMF，氮氣鼓泡至溶劑中，使樹脂溶脹30分鐘；加入Fmoc-Arg-OH、DCC和DMAP，25°C，反應3小時，後用醋酸酐和吡啶封端1小時，再用DMF洗滌3次，用DBLK脫除樹脂上的Fmoc保護基團，再用DMF洗滌5次，秤取Fmoc-Pro-OH和HOBt，用DMF溶解，0°C冰水浴下向上述溶液中加入DIC，混合使其活化5分鐘，將該溶液加入上述反應柱中，反應3小時後，抽乾溶劑，洗滌反應柱中的樹脂3遍。隨後用DBLK脫除Fmoc保護基團，重複上述操作，按照結構依次偶聯Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Asp(OtBu)-OH、Fmoc-Val-OH、Fmoc-Lys(Boc)OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Pro-OH、Fmoc-His(Trt)-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OH、Fmoc-Lys(Boc)-

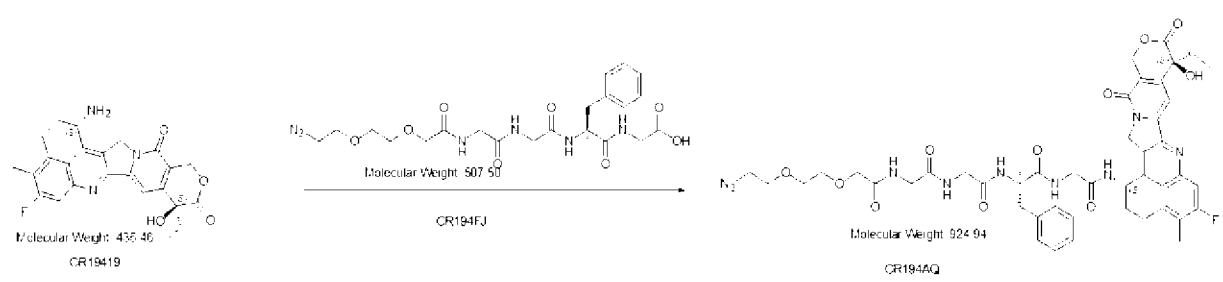
OH、Fmoc-Cys(Trt)-OH、Fmoc-Glu-OtBu以及蝶酸。樹脂用裂解液裂解後，過濾，裂解液倒入MTBE中，析出固體，用MTBE洗，得到粗品，將粗品經Pre-HPLC純化，製備得到Ligand01。

【0111】 同理，透過與以上方法類似的步驟可獲得到Ligand02、Ligand03、Ligand04、Ligand05和Ligand06。

實施例 2 偶聯體化合物的製備

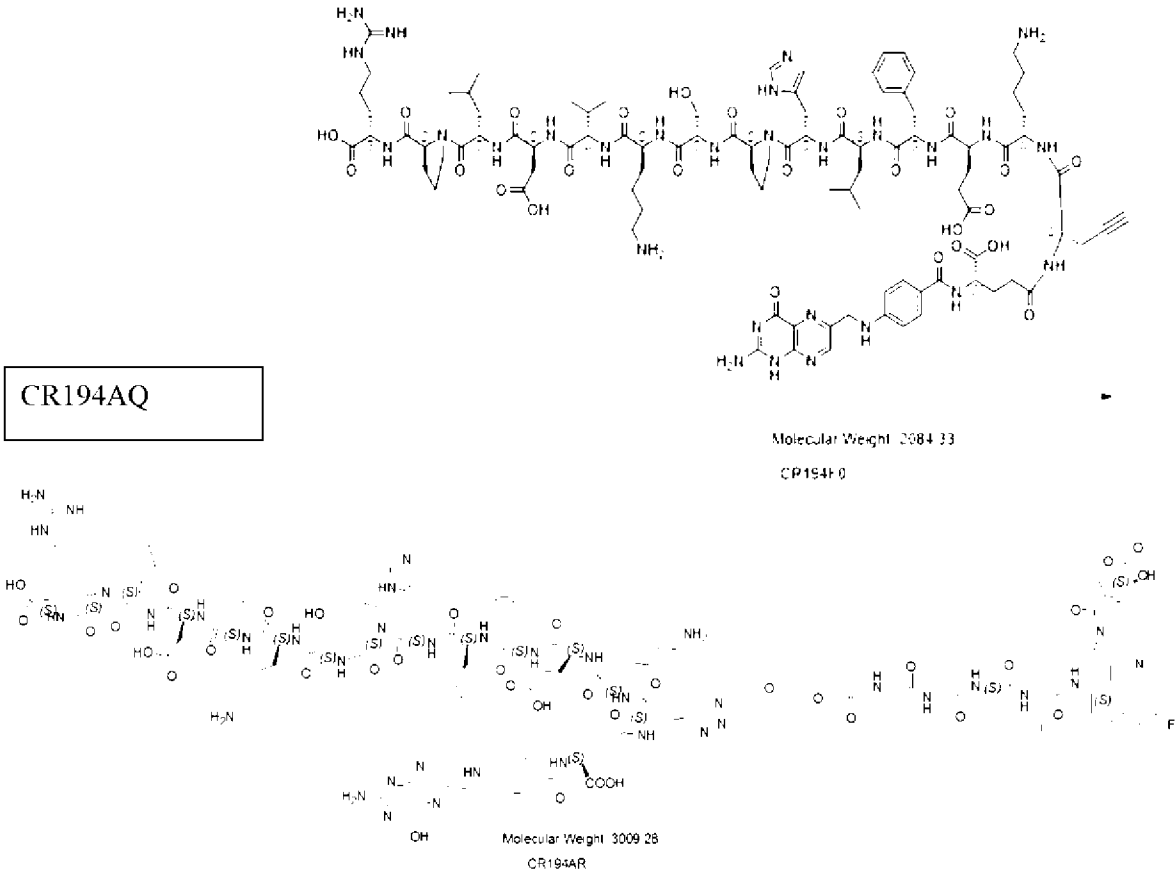
【0112】 1. 偶聯體化合物CR194AR的合成

【0113】 步驟1 (Step 1)：CR194AQ的製備



【0114】 秤取CR19419 (1.0 eq，結構參見圖示) 於50 mL 單口瓶中，加入DMF使其溶解，隨後加入CR194FJ (1.0 eq，結構參見圖示)、HATU (1.1 eq) 和DIPEA (2.5 eq)，25°C下，攪拌4小時。反應完畢後，將反應液倒入醋酸水中，用乙酸乙酯萃取三遍，有機相用水洗滌，飽和食鹽水洗，有機相乾燥得到CR194AQ (結構參見圖示)。

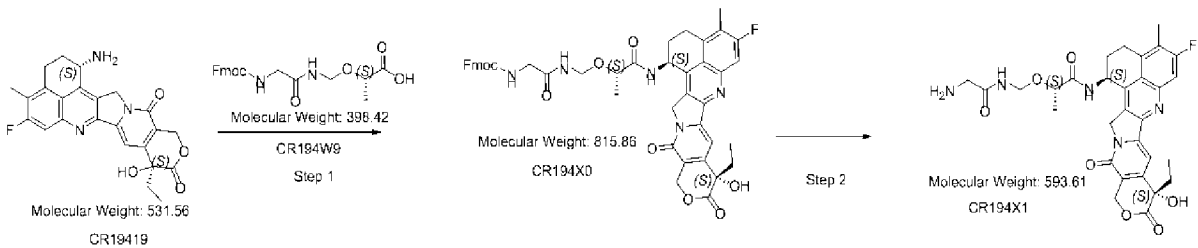
【0115】 步驟2 (Step 2)：CR194AR的製備



【0116】 秤取CR194AQ（1.0 eq）於50 mL單口瓶中，加入DMF:水=1:1的混合溶液使其溶解，隨後加入CR194K0（1.2 eq，結構參見圖示）和CuI（1.0 eq），25°C下，攪拌4小時。反應完畢後，反應液交製備純化，製備純品凍乾得到CR194AR。

【0117】 2. 偶聯體化合物CR194X3的合成

【0118】 步驟1：CR194X0的製備

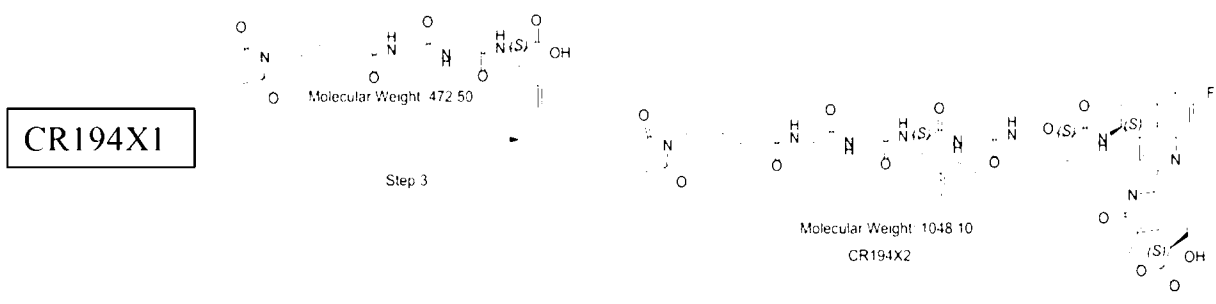


eq) 和DIPEA (2.5 eq) , 25°C下, 攪拌4小時。反應完畢後, 將反應液倒入醋酸水中, 析出固體, 過濾, 濾餅用醋酸水洗滌, 濾餅乾燥得到CR194X0 (結構參見圖示)。

【0120】 步驟2: CR194X1的製備

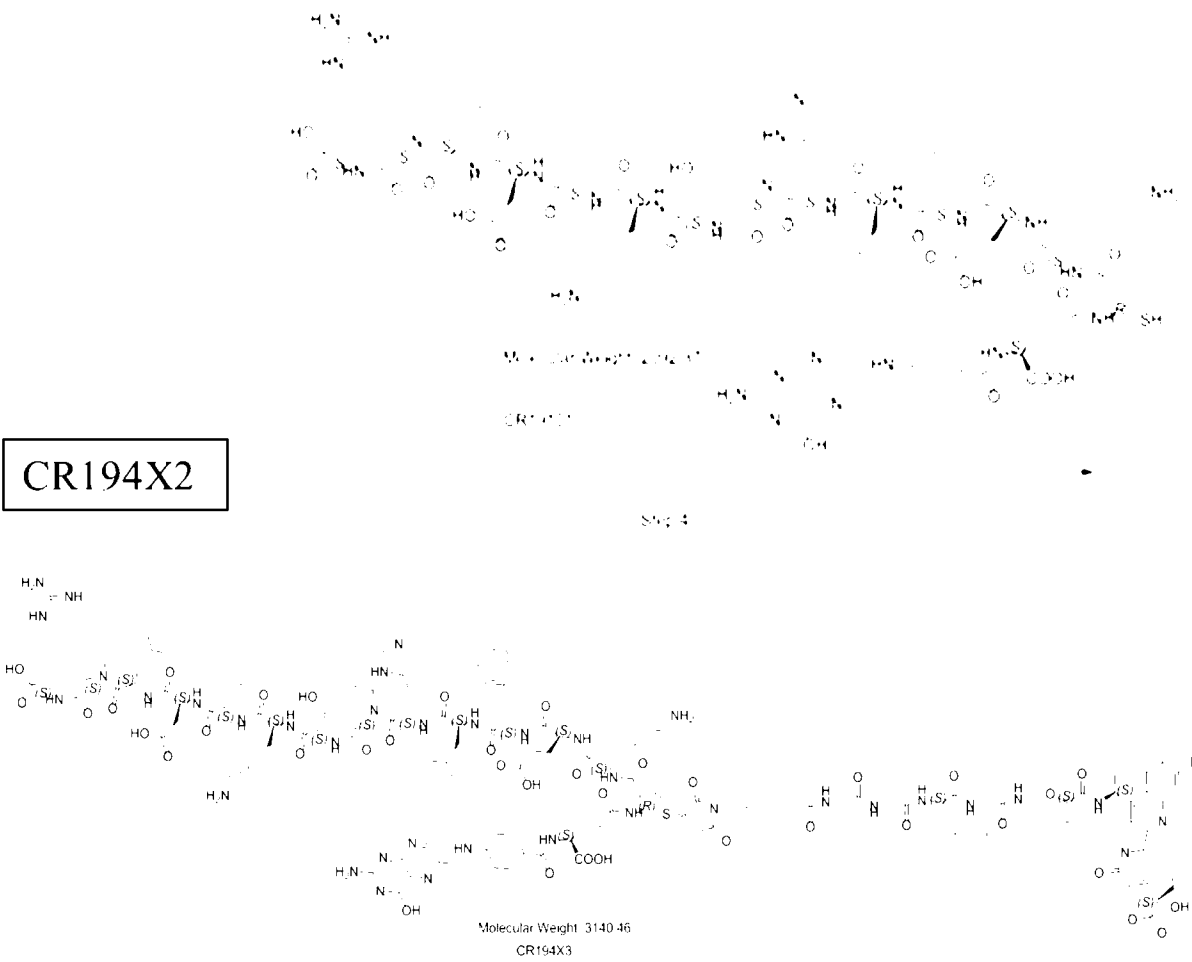
【0121】 秤取CR194X0 (1.0 eq, 結構參見圖示) 於50 mL單口瓶中, 加入DMF使其溶解, 冰浴降溫, 然後加入DBU (1.1 eq) 冰浴反應3小時, 反應完畢後將反應液倒入MTBE中析出固體, 過濾, 濾餅用MTBE洗三遍, 真空乾燥得CR194X1 (結構參見圖示)。

【0122】 步驟3 (Step 3) : CR194X2的製備



【0123】 秤取CR194X1 (1.0 eq) 於50 mL單口瓶中, 加入DMF使其溶解, 隨後加入CR19424 (1.0 eq, 結構參見圖示)、HATU (1.1 eq) 和DIPEA (2.5 eq) , 25°C下, 攪拌4小時。反應完畢後, 將反應液倒入醋酸水中, 用乙酸乙酯萃取三遍, 有機相用水洗滌, 飽和食鹽水洗, 有機相乾燥得到CR194X2 (結構參見圖示)。

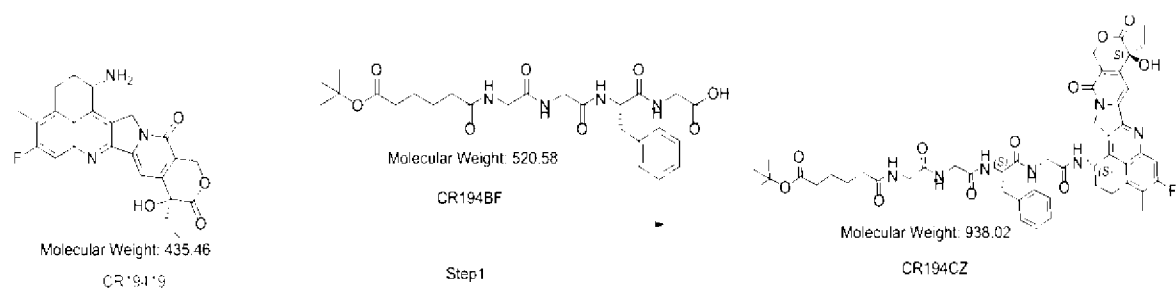
【0124】 步驟4 (Step 4) : CR194X3的製備



【0125】 秤取CR194X2（1.0 eq）於50mL單口瓶中，加入甲醇使其溶解，隨後加入10 mM PBS緩衝液，冰浴冷卻攪拌10分鐘，呈白色懸濁液，pH=8-9，加入0.1 M NaH₂PO₄調節pH至pH=7，秤取CR19101（結構參見圖示）分批加入，控制pH=7，反應冰浴攪拌15分鐘，HPLC中控原料反應完全，反應液交製備純化凍乾得到CR194X3（結構參見圖示）。

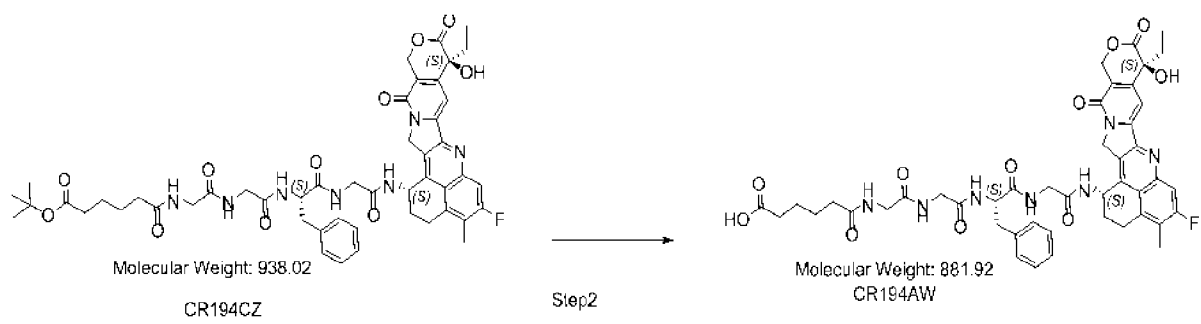
【0126】 3. 偶聯體化合物CR194AX的合成

【0127】 步驟1：CR194CZ的製備



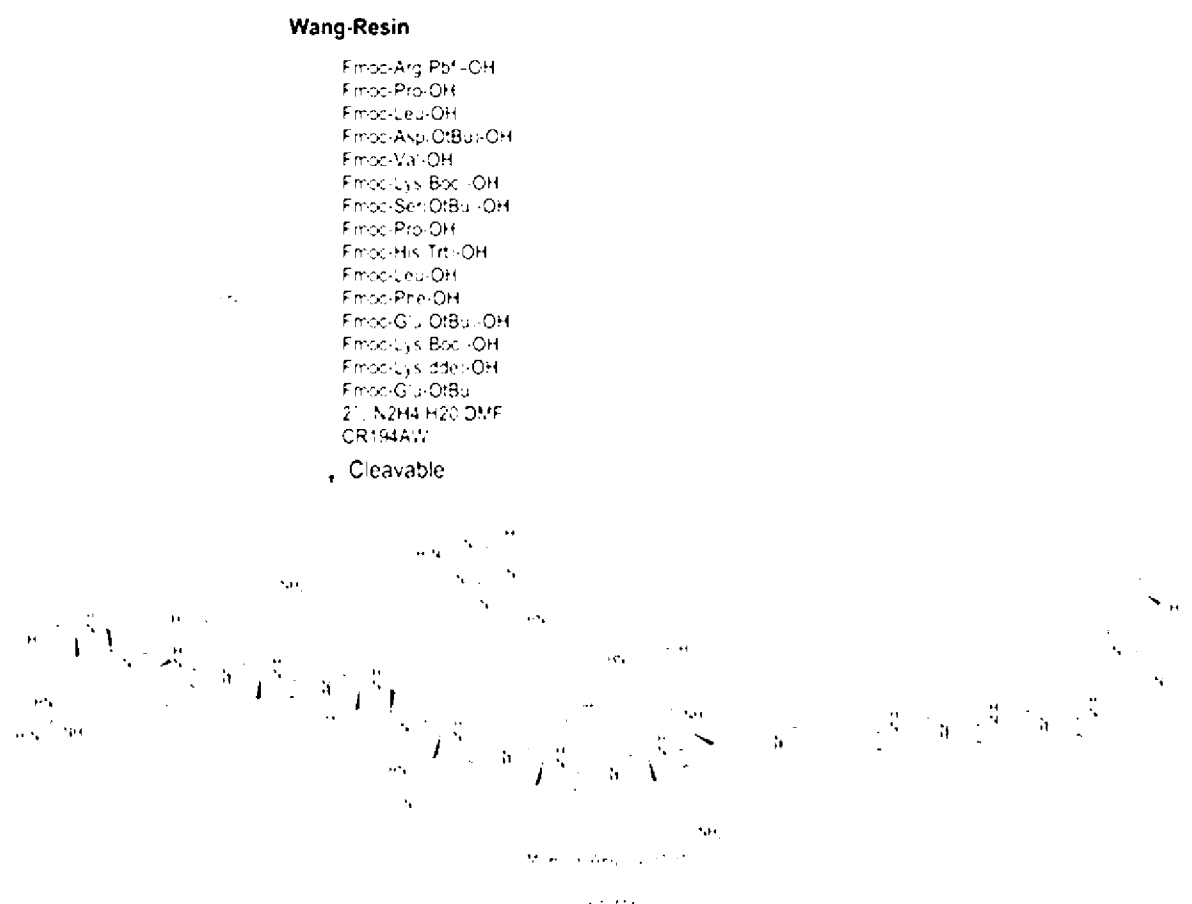
【0128】 秤取CR19419（1.0 eq）於50mL 單口瓶中，加入DMF使其溶解，然後加入CR194BF（1.0 eq），HATU（1.1 eq）和DIPEA（2.5eq），25°C 攪拌4小時。反應完畢後，將反應液倒入醋酸水中，用乙酸乙酯萃取三遍，有機相用水洗滌，飽和食鹽水洗，有機相乾燥得到CR194CZ。

【0129】 步驟2：CR194AW的製備



【0130】 秤取CR194CZ（1.0 eq）於50 mL單口瓶中，加入TFA:DCM=1:1 溶液，反應5小時，反應完畢後，反應完畢後將反應液倒入MTBE中析出固體，過濾，濾餅用MTBE洗三遍，真空乾燥得CR194AW。

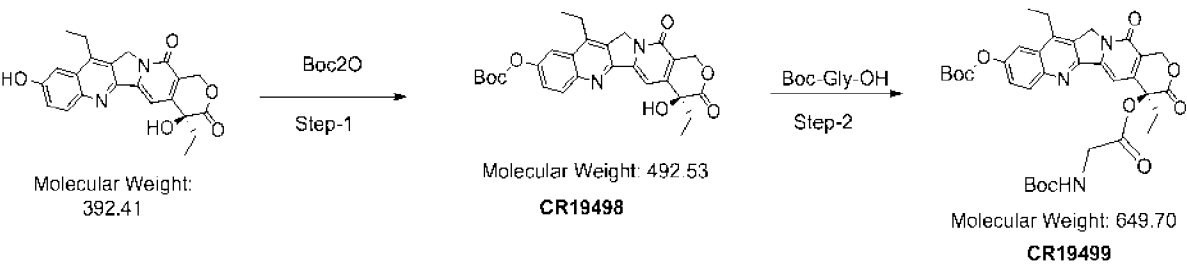
【0131】 步驟3：CR194AX的製備



【0132】 用固相合成Fmoc化學胺基樹脂實現CR194AX的合成。將樹脂裝載於固相反應柱中，加入DMF，氮氣鼓泡至溶劑中，使樹脂溶脹30分鐘；加入Fmoc-Arg-OH、DCC和DMAP，25℃，反應3小時，後用醋酸酐和吡啶封端1小時，再用DMF洗滌3次，用DBLK脫除樹脂上的Fmoc保護基團，再用DMF洗滌5次，秤取Fmoc-Pro-OH，HOBt，用DMF溶解，0℃冰水浴下向上述溶液中加入DIC，混合使其活化5分鐘，將該溶液加入上述反應柱中，反應3小時後，抽乾溶劑，洗滌反應柱中的樹脂3遍。隨後用DBLK脫除Fmoc保護基團，重複上述操作，按照結構依次偶聯Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Asp(OtBu)-OH、Fmoc-Val-OH、Fmoc-Lys(Boc)OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Pro-OH、Fmoc-His(Trt)-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OH、Fmoc-Lys(dde)-OH、Fmoc-Cys(Trt)-OH、Fmoc-Glu-OtBu以及蝶酸，用4%水合肼/DMF溶液脫

【0135】 5. 偶聯體化合物CR194A2的合成

【0136】 步驟1：CR19498的製備

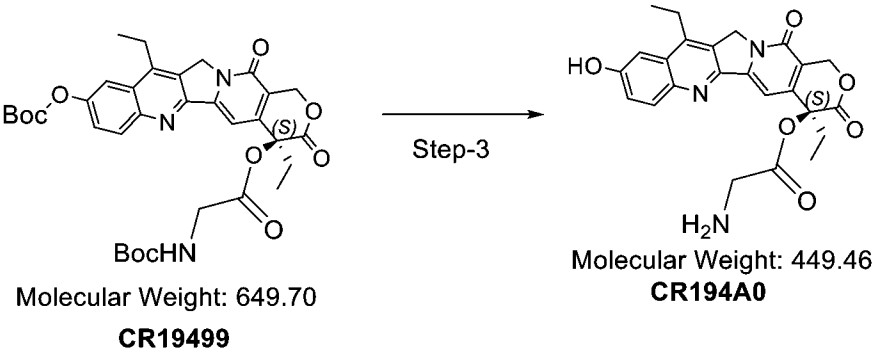


【0137】 秤取SN38（1.0 eq）於50mL單口燒瓶中，加入DMF溶解，隨後加入(Boc)₂O（1.2 eq）和DIPEA（1.5 eq），室溫攪拌過夜，TLC中控原料反應完，將反應液倒入水中，EtOAc萃取，有機相經無水硫酸鈉乾燥，減壓旋蒸得到CR19498（結構參見圖示）。

【0138】 步驟2：CR19499的製備

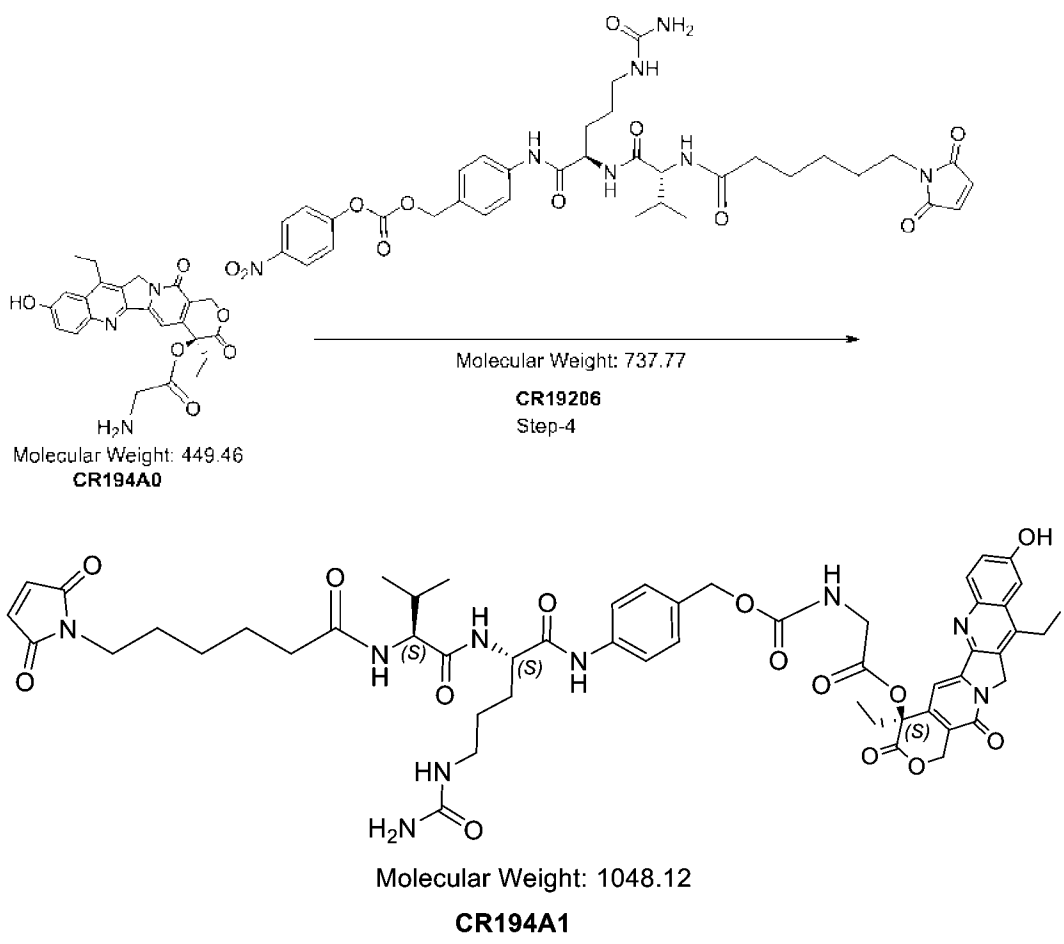
【0139】 秤取CR19498（1.0 eq）和Boc-Gly-OH（1.1 eq）於50 mL單口燒瓶中，加入DMF溶解，冰浴冷卻，加入HATU（1.1 eq），DMAP（0.1 eq）和DIPEA（2 eq），隨後移去冰浴室溫攪拌1小時，加入水淬滅，EtOAc萃取，有機相經無水硫酸鈉乾燥，減壓旋蒸得到CR19499（結構參見圖示）。

【0140】 步驟3：CR194A0的製備



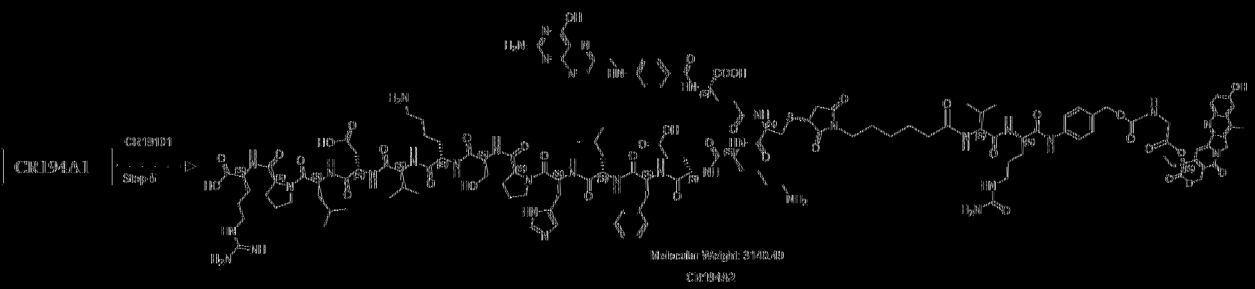
【0141】 秤取CR19499（1.0eq）溶於30% TFA二氯甲烷溶液中，室溫攪拌1小時，將反應液減壓旋蒸除去DCM和TFA，隨後加入MTBE，析出固體，抽濾得到CR194A0（結構參見圖示）。

【0142】 步驟4：CR194A1的製備



【0143】 秤取CR194A0（1.0 eq）和CR19206（1.05 eq），HOBT（0.1 eq）於50 mL單口燒瓶，加入DMF溶解，然後加入DIPEA（2 eq），室溫攪拌過夜，反應液交製備純化凍乾得到CR194A1（結構參見圖示）。

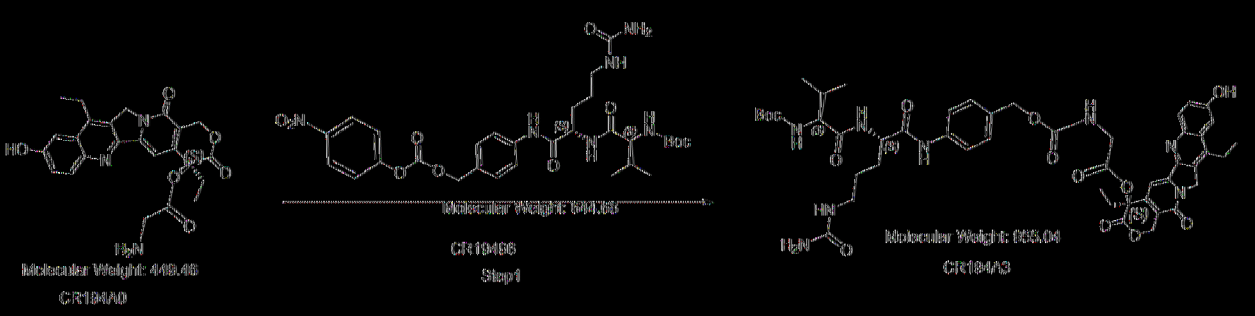
【0144】 步驟5（Step 5）：CR194A2的製備



(0145)| 秤取CR194A1 (1.0 eq) 於50 mL單口瓶中，加入甲醇使其溶解，隨後加入10 mM PBS緩衝液，冰浴冷卻攪拌10分鐘，pH 8.9，加入0.1M NaCl₂PO₄調節pH至pH 7，秤取CR19101 (1.0 eq) 加入，控制pH 7，反應冰浴攪拌15分鐘，HPLC中控原料反應完全，反應液交製備純化凍乾得到CR194A2 (結構參見圖示)。

(0146)| 6. 偶聯體化合物CR194A6的合成

(0147)| 步驟1：CR194A3的製備



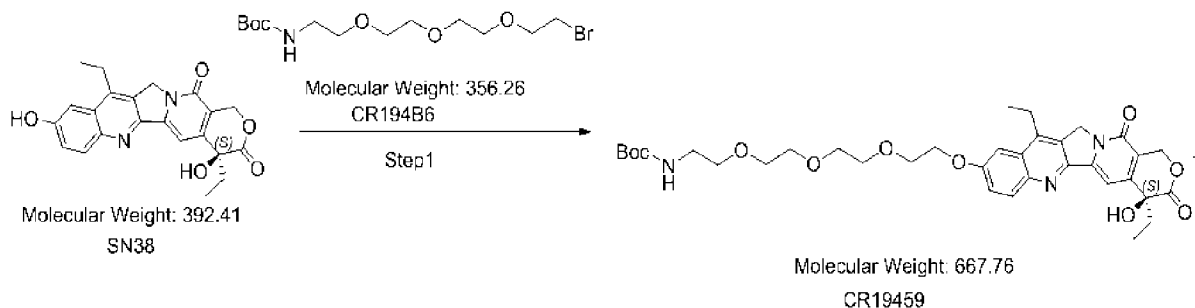
(0148)| 秤取CR194A0 (1.0 eq) 和CR19496 (1.05 eq)，HOBT (0.1 eq) 於50 mL單口燒瓶，加入DMF溶解，隨後加入DIEA (2 eq)，室溫攪拌過夜，反應液交製備純化凍乾得到CR194A3 (結構參見圖示)。

(0149)| 步驟2：CR194A4的製備

【0154】 秤取CR194A5 (1.0 eq) 於50 mL單口瓶中，加入甲醇使其溶解，隨後加入10 mM PBS緩衝液，冰浴冷卻攪拌10分鐘，pH=8-9，加入0.1 M NaH₂PO₄調節pH至pH=7，秤取CR19101 (1.0 eq) 加入，控制pH=7，反應冰浴攪拌15分鐘，HPLC中控原料反應完全，反應液交製備純化凍乾得到CR194A6 (結構參見圖示)。

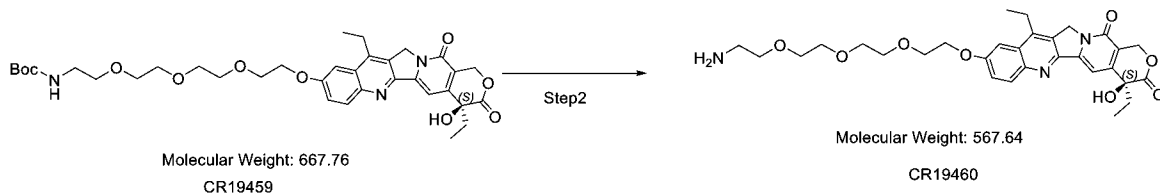
【0155】 7. 偶聯體化合物CR19462的合成

【0156】 步驟1：CR19459的製備



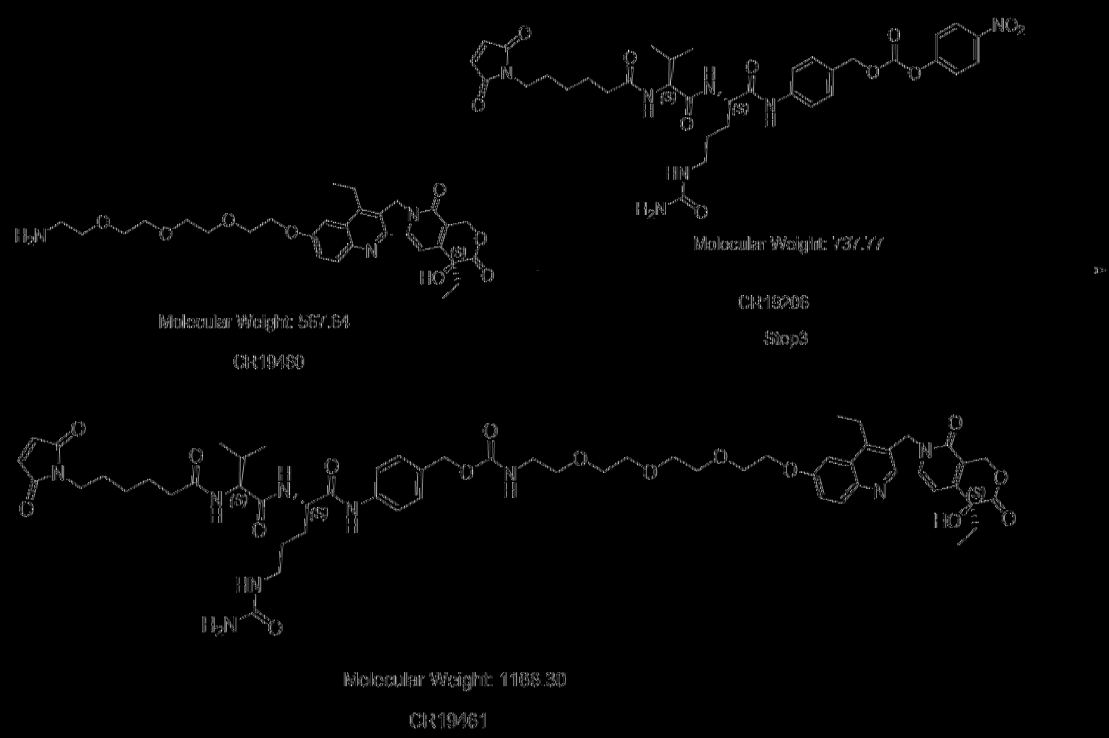
【0157】 秤取SN38 (1.0 eq) 於50mL單口燒瓶中，加入DMF溶解，隨後加入碳酸鉀 (1.5eq)，CR194B6 (1.2 eq)，加熱至50°C，攪拌5小時，將反應液冰浴冷卻，加入水淬滅，乙酸乙酯萃取，有機相用飽和氯化鈉洗，經無水硫酸鈉乾燥後，濃縮除去溶解，矽膠柱純化得到CR19459 (結構參見圖示)。

【0158】 步驟2：CR19460的製備



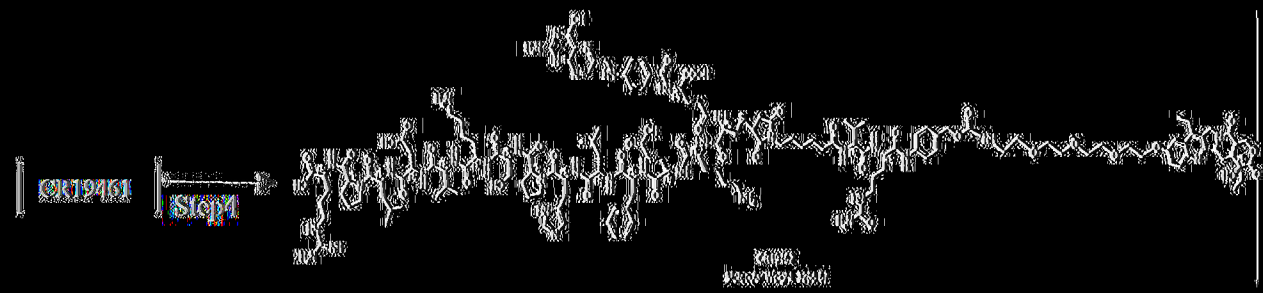
【0159】 秤取CR19459 (1.0 eq) 於50 mL單口燒瓶中，加入30% TFA二氯甲烷溶液，室溫攪拌1小時，減壓旋蒸除去溶解，加入MTBE，析出固體，抽濾，得到CR19460 (結構參見圖示)。

[(0160)] 步驟3：CR19461的製備



[(0161)] 秤取CR19460（1.0 eq）和CR19206（1.05 eq），EOBT（1.0 eq）於50 mL單口燒瓶，加入DMF溶解，隨後加入DIEA（2.0 eq），室溫攪拌過夜，反應液交製備純化凍乾得到CR19461（結構參見圖示）。

[(0162)] 步驟4：CR19462的製備



[(0163)] 秤取CR19461（1.0 eq）於50 mL單口瓶中，加入甲醇使其溶解，隨後加入10 mM PBS緩衝液，冰浴冷卻攪拌10分鐘，pH 8.9，加入0.1 M NaCl₂PO₄調節pH至pH 7，秤取CR19101（1.0 eq）加入，控制pH 7，反應冰浴攪拌15分鐘，HPLC中控原料反應完全，反應液交製備純化凍乾得到CR19462。（結構參見圖示）。

【0164】 採用類似於上述的製備方法，可以製備其它本案所述的偶聯體化合物。

實施例 3 親和實驗

【0165】 按照Reichert SPR4使用手冊進行實驗，分別測定分析物CR194AR與FOLR1、TRPV6的親和力。其中CM5晶片分別偶聯配體FOLR1（義翹神州，貨號11241-H08H）、TRPV6（Acro，貨號MAES）。實驗結果如下表1所示：

【0166】 表1：親和力測試結果

名稱	（FOLR1 端）KD (M)	（TRPV6 端）KD (M)
CR194AR	4.54E-10	7.88E-5

【0167】 結果顯示，CR194AR和FOLR1、TRPV6均特異性結合，並顯示出較高的親和力。

【0168】 與上述檢測方式類似，本案的其他偶聯體化合物與相應的細胞表面受體均具有良好的親和力。

實施例 4 細胞擴增抑制實驗

【0169】 樣品資訊：CR194AR、CR194X3、CR194V5、CR194AA、CR194AB、CR194U9、CR194Z9、CR194AH、CR194AY、CR194AX和Dx。

【0170】 細胞系：HEK293T-FOLR1（FOLR1過表現的穩定表現細胞株）、SK-BR-3（人乳腺癌細胞）和HEK293T（人胚胎腎細胞）。FOLR1在不同細胞系中的蛋白表現水準如下表2所示。

【0171】 表2：FOLR1在不同細胞系中的蛋白表現水準

細胞系	FOLR1
HEK293T-FOLR1	+++（高表現）
SK-BR-3	+（低表現）
HEK293T	-（無可見表現）

【0172】 主要試劑：1640無葉酸培養基、胎牛血清、青黴素-鏈黴素溶液、L-麩醯胺酸和CCK8。

【0173】 實驗操作：

【0174】 (1) 細胞鋪板：提前準備好細胞，Trypsin消化、收集計數，使用完全細胞培養基將HEK293T-FOLR1和HEK293T細胞稀釋成 6×10^3 個細胞/ml，SK-BR-3細胞稀釋成 1.5×10^4 個細胞/ml，鋪96孔板，每個孔加入100 μ l稀釋的細胞溶液，每塊板設置陰性及空白對照孔。將加好細胞的96孔板置於37°C，5%CO₂培養箱培養過夜。

【0175】 (2) 稀釋加樣：將樣品用培養基進行梯度稀釋（開始濃度30 μ M，5倍梯度稀釋），共設置10個濃度梯度。按照每孔50 μ l加入到過夜培養後的96孔板中，3個複孔，並設立陰性對照和空白對照，置於37°C，5%CO₂培養箱培養72小時。

【0176】 (3) 顯色讀板：取CCK-8顯色液，每孔加入15 μ l（孔內液體體積的10%），37°C孵育適宜時間（儘量使OD值在1.0-2.5範圍內），96孔板去掉培養板蓋，置於酶標儀（Molecular Devices SpectraMax iD5），450nm讀取數值。

【0177】 (4) 資料處理：用SoftMax Pro 7.1進行資料編輯，繪四參數擬合曲線。

【0178】 實驗結果如下表3所示：

【0179】 表3：對HEK293T-FOLR1、SK-BR-3和HEK293T細胞的抑制活性

樣品名稱	HEK293T-FOLR1 IC ₅₀	HEK293T IC ₅₀	SK-BR-3 IC ₅₀
CR194AR	0.4	2371	52
CR194X3	1.594	5.035	4.024
CR194V5	2.17	8.284	4.961
CR194AA	0.633	18.13	5.085
CR194AB	0.58	27.38	6.149
CR194U9	1.541	180.6	35.37
CR194Z9	1.19	145.7	20.06
CR194AH	0.308	346	38.78
CR194AY	0.755	5143	50.42
CR194AX	0.195	1211	132.6
Dx	1.017	1.12	0.599

【0180】 由表3可知，CR194AR、CR194AB、CR194U9、CR194Z9、CR194AH、CR194AY、CR194AX、CR194X3、CR194V5和CR194AA針對受體相對高表現的細胞株HEK293T-FOLR1和SK-BR-3顯示出的IC50明顯低於受體相對低表現的細胞株HEK293T。可見上述化合物顯示出了與細胞相關受體表現水準相關的抑瘤效果，在抑制腫瘤細胞增殖的過程中起重要作用。

【0181】 樣品資訊：CR194A2、CR194A6、CR194N5、CR194N9、CR194P6、CR194P3、CR194S3、CR194R8、CR194L4、CR194U7、CR194Q1、CR194Q5、CR194U9、CR194R7、Dxd、Dx和SN38。

【0182】 細胞系：HEK293T-FOLR1（FOLR1過表現的穩定表現細胞株）、SK-BR-3（人乳腺癌細胞，低表現FOLR1）和MIA PaCa-2（人胰腺癌細胞，不表現FOLR1）。

【0183】 主要試劑：1640無葉酸培養基、胎牛血清、青黴素-鏈黴素溶液、L-麩醯胺酸和CCK8。

【0184】 實驗操作：

【0185】 (1) 細胞鋪板：提前準備好細胞，Trypsin消化、收集計數，使用完全細胞培養基將SK-BR-3細胞稀釋成 3.0×10^4 個細胞/ml，HEK293T-FOLR1細胞稀釋成 1.5×10^4 個細胞/ml，MIA PaCa-2細胞稀釋成 2.0×10^4 個細胞/ml，鋪96孔板，每個孔加入100 μ l稀釋的細胞溶液，每塊板設置陰性及空白對照孔。將加好細胞的96孔板置於37°C，5%CO₂培養箱培養過夜。

【0186】 (2) 稀釋加樣：將樣品用培養基進行梯度稀釋（開始濃度30 μ M，5倍梯度稀釋），共設置10個濃度梯度。按照每孔50 μ l加入到過夜培養後的96孔板中，3個複孔，並設立陰性對照和空白對照，置於37°C，5%CO₂培養箱培養72小時。

【0187】 (3) 顯色讀板：取CCK-8顯色液，每孔加入15 μ l（孔內液體體積的10%），37°C孵育適宜時間（儘量使OD值在1.0-2.5範圍內），96孔板去掉培養板蓋，置於酶標儀（Molecular Devices SpectraMax iD5），450nm讀取數值。

【0188】 (4) 資料處理：用SoftMax Pro 7.1進行資料編輯，繪四參數擬合曲線。

【0189】 實驗結果如下表4所示：

【0190】 表4：對HEK293T-FOLR1、SK-BR-3和MIA PaCa-2細胞的抑制活性

樣品名稱	HEK293T-FOLR1 IC ₅₀	MIAPACA-2 IC ₅₀	SK-BR-3 IC ₅₀
CR194A2	1.069	20.15	12.6
CR194A6	2.513	15.54	1.719
CR194N5	2.754	19.79	3.204
CR194N9	4.957	16.9	3.239
CR194P6	200.9	434.8	283.1
CR194P3	1.473	75.28	20.27
CR194S3	0.76	10.04	1.051
CR194R8	0.269	0.412	0.537
CR194L4	0.436	23.76	/
CR194U7	18.66	148.8	29
CR194Q1	0.935	/	2508
CR194Q5	0.908	1.35	126
CR194U9	26.04	1064	237.5
CR194R7	0.132	262.5	62.42
Dxd	1.677	110.9	/
Dx	0.995	5.529	0.569
SN38	0.943	7.027	0.947

注：「/」表示未擬合出有效的 IC₅₀ 值。

實施例 5 CR194AX、CR194X3 和 CR194AR 在 CDX 模型中的藥效學研究

【0191】 實驗目的：研究偶聯物化合物CR194AX、CR194X3和CR194AR在FOLR1過表現的293T-FOLR1細胞株皮下異體移植模型（CDX）中的藥效。

【0192】 CDX模型：293T-FOLR1

【0193】 實驗方案：將準備好的細胞，接種於BALB/c-nude小鼠右側皮下，當腫瘤體積擴增到100-150 mm³時隨機分組，設置模型對照組和給藥組，在分組第1天開始給藥，根據小鼠最近一次的體重調整給藥量，尾靜脈注射，給藥體積為10 µl/g。分組給藥後，監測包括了腫瘤生長及治療對動物正常行為的影響，具體內容有實驗動物的活動性，攝食和飲水情況，體重增加或降低情況，眼睛、被毛及其它異常情況。分組給藥後，每週測量2次小鼠體重，計算體重變化率；同時以遊標卡尺測量腫瘤長徑、短徑，並計算腫瘤體積、相對腫瘤增殖率、腫瘤體積抑瘤率等指標。

【0194】 腫瘤體積公式為 $TV = 0.5 a \times b^2$ ，其中a是腫瘤的長徑，b是腫瘤的短徑。

【0195】 實驗結果如下表5所示。由實驗結果可知，測試樣品CR194AX、CR194X3和CR194AR的尾靜脈給藥方案下表現出不同程度的腫瘤生長抑制作用。CR194AX、CR194X3和CR194AR在中劑量（3 mg/kg）下，與陰性對照組相比，都有一定的抗腫瘤生長的作用；在高劑量（10 mg/kg）下，與陰性對照組相比，都有優異的抗腫瘤生長的作用，抗腫瘤作用顯示出劑量相關性，資料如表5所示。

【0196】 表5：在293T-FOLR1細胞株皮下異體移植模型（CDX）中的藥效

測試樣品	模型	FOLR1 表現量	TRPV6 表現量	抑瘤率（TGI） （%）	給藥劑量（時間）
CR194AX	293T-FOLR1	+++	-	-5.94	1 mg/kg（第 1、8、15 天）
				73.35	3 mg/kg（第 1、8、15 天）
				97.95	10 mg/kg（第 1、8、15 天）
CR194X3				53.15	1 mg/kg（第 1、8、15 天）
				64.80	3 mg/kg（第 1、8、15 天）
				89.98	10 mg/kg（第 1、8、15 天）
CR194AR				-9.95	1 mg/kg（第 1、8、15 天）
				58.21	3 mg/kg（第 1、8、15 天）
				96.37	10 mg/kg（第 1、8、15 天）

實施例 6 偶聯體化合物在在 CDX 模型中的藥效學研究

【0197】 實驗目的：研究偶聯體化合物CR194Q1、CR194V5、CR194AH、CR194X3、CR194U9、CR194Z9、CR194AB、CR194AX、CR194AY和CR194AR在CFPAC-1的CDX模型中的藥效。

【0198】 CDX模型：CFPAC-1（人胰腺癌細胞）

【0199】 實驗方案：將準備好的細胞，接種於BALB/c-nude小鼠右側皮下，當腫瘤體積擴增到100-150 mm³時隨機分組，設置模型對照組和給藥組，在分組第1天開始給藥，根據小鼠最近一次的體重調整給藥量，尾靜脈注射，給藥體積為10 μl/g。分組給藥後，監測包括了腫瘤生長及治療對動物正常行為的影響，具體內容有實驗動物的活動性，攝食和飲水情況，體重增加或降低情況，眼睛、被毛及其它異常情況。分組給藥後，每週測量2次小鼠體重，計算體重變化率；同時以遊標卡尺測量腫瘤長徑、短徑，並計算腫瘤體積、相對腫瘤增殖率、腫瘤體積抑瘤率等指標。腫瘤體積公式為TV = 0.5 a × b²，其中a是腫瘤的長徑，b是腫瘤的短徑。

【0200】 實驗結果如下表6所示。由實驗結果可知，測試樣品CR194Q1、CR194V5、CR194AH、CR194X3、CR194U9、CR194Z9、CR194AB、CR194AX、CR194AY和CR194AR對小鼠CFPAC-1的CDX腫瘤模型均有較好的抑制作用。

【0201】 表6

測試樣品	模型	FOLR1 表現量	TRPV6 表現量	抑 瘤 率 (TGI)(%)	給藥劑量/時間
CR194V5	CFPAC-1	++	-	85.11	25 mg/kg (第 1、4、7、10、13 天)
CR194AH				81.64	25 mg/kg (第 1、4、7、10、13 天)
CR194U9				88.85	25 mg/kg (第 1、4、7、10、13 天)
CR194Z9				90.26	25 mg/kg (第 1、4、7、10、13 天)
CR194AB				71.60	25 mg/kg (第 1、4、7、10、13 天)
CR194Q1				93.84	25 mg/kg (第 1、4、7、10、13 天)
				99.84	50 mg/kg (第 1、4、7、10、13 天)
				99.75	75 mg/kg (第 1、4、7、10、13 天)
CR194X3				87.71	25 mg/kg (第 1、4、7、10、13 天)
				98.53	50 mg/kg (第 1、4、7、10、13 天)
				99.70	75 mg/kg (第 1、4、7、10、13 天)
CR194AX				99.54	50 mg/kg (第 1、4、7、10、13 天)
CR194AY				33.46	50 mg/kg (第 1、4、7、10、13 天)
CR194AR				99.55	50 mg/kg (第 1、4、7、10、13 天)

實施例7 偶聯體化合物對HuPrime®異體移植PDX模型的抑瘤實驗

【0202】 實驗目的：偶聯體化合物CR194Q1、CR194X3、CR194AX、CR194AR和CR194AY在OV2423的PDX模型上的藥效學研究

【0203】 模型：卵巢癌動物模型OV2423，來源於中美冠科生物技術（太倉）有限公司

【0204】 實驗方案：將準備好的腫瘤組織塊，接種於BALB/c-nude小鼠右肢前部皮下，當腫瘤體積擴增到80-160 mm³時隨機分組，設置模型對照組和給藥組，在分組第1天開始給藥，根據小鼠最近一次的體重調整給藥量，尾靜脈注射，給藥體積為10 μl/g。分組給藥後，監測包括了腫瘤生長及治療對動物正

常行為的影響，具體內容有實驗動物的活動性，攝食和飲水情況，體重增加或降低情況，眼睛、被毛及其它異常情況。分組給藥後，每週測量2次小鼠體重，計算體重變化率；同時以遊標卡尺測量腫瘤長徑、短徑，並計算腫瘤體積、相對腫瘤增殖率和腫瘤體積抑瘤率等指標。

【0205】 腫瘤體積公式為 $TV = 0.5 a \times b^2$ ，其中a是腫瘤的長徑，b是腫瘤的短徑。

【0206】 實驗結果如下表7所示。由實驗結果可知，測試樣品CR194Q1、CR194X3、CR194AX、CR194AR和CR194AY在FOLR1單表現模型OV2423中顯現出優異的抗腫瘤生長的作用。

【0207】 表7

測試樣品	模型	FOLR1	TRPV6	TGI(%)	劑量/時間
CR194Q1	OV2423	9+	-	100	25 mg/kg, (第 1、4、7、10、13、16 天)
CR194Q1				100	50 mg/kg, (第 1、4、7、10、13、16 天)
CR194X3				84.02	10 mg/kg, (第 1、4、7、10、13、16 天)
CR194X3				94.92	25 mg/kg, (第 1、4、7、10、13、16 天)
CR194AX				99.41	25 mg/kg, (第 1、4、7、10、13、16 天)
CR194AR				99.37	25 mg/kg, (第 1、4、7、10、13、16 天)
CR194AY				92.16	25 mg/kg, (第 1、4、7、10、13、16 天)

實施例 8 偶聯體化合物在 MIAPaca-2 人胰腺癌模型 BALB/c nude 小鼠上的
安全性評價

【0208】 實驗目的：測試偶聯體化合物等劑量條件下對MIAPaCa-2人胰腺癌細胞皮下移植荷瘤裸鼠模型毒性的影響。

【0209】 樣品準備：秤取適量的化合物，用PBS溶解，加適量的鹼性溶液配製成PH為中性的樣品母液，過濾，用已過濾生理鹽水稀釋母液到工作濃度樣品溶液，備用。

【0210】 實驗方案：將準備好的腫瘤組織塊，接種於BALB/c-nude小鼠右肢前部皮下，當腫瘤體積擴增到80-160 mm³時隨機分組，設置模型對照組和給藥組，在分組第1天開始給藥，根據小鼠最近一次的體重調整給藥量，尾靜脈注射，給藥體積為10 μl/g。分組給藥後，監測包括了腫瘤生長及治療對動物正常行為的影響，具體內容有實驗動物的活動性，攝食和飲水情況，體重增加或降低情況，眼睛、被毛及其它異常情況。分組給藥後，每週測量2次小鼠體重，計算體重變化率；同時每週2次以遊標卡尺測量腫瘤長徑、短徑，並計算腫瘤體積、相對腫瘤增殖率和腫瘤體積抑瘤率等指標。腫瘤體積公式為TV = 0.5 a × b²，其中a是腫瘤的長徑，b是腫瘤的短徑。實驗設計如下表8所示。

【0211】 表8

組別	動物數	測試物	劑量（mg/kg）	給藥方式	計畫給藥週期
1	6	對照	-	-	-
3	6	CR194L4	100	iv	每3天一次，共給藥6次（q3d*6）
4	6	CR194A6	100	iv	每3天一次，共給藥3次（q3d*3）
5	6	CR194N5	100	iv	q3d*3
6	6	CR194P6	100	iv	q3d*3

【0212】 如圖1A-1B所示，CR194L4（100mg/kg iv q3d*6）和CR194A6（100mg/kg iv q3d*3）對MIAPaCa-2抑瘤性效果較好。CR194L4（100mg/kg iv q3d*6）在第一次給藥後，整組體重值一直緩慢降低，但是在第四次給藥後，停止給藥，動物體重值呈緩慢上升狀態；CR194A6（100mg/kg iv q3d*3）在實

驗日d2死亡一隻實驗動物，同組實驗動物的體重值呈緩慢增加狀態；其餘組實驗動物的體重值呈緩慢波動狀態，但是整體趨勢是增加的。

實施例 9 偶聯體化合物 CR194AX 在 ICR 小鼠上的安全性評價

【0213】 實驗目的：CR194AX在ICR小鼠上的安全性評價

【0214】 樣品準備：秤取適量的CR194AX，用PBS溶解，加適量的鹼性溶液配製成pH為中性的樣品母液，過濾，用已過濾PBS稀釋母液到工作濃度樣品溶液，備用。

【0215】 實驗設計：將ICR小鼠（雌性，6-8週齡，體重25g左右）根據體重隨機分組，分組第一天開始給藥，根據小鼠最近一次的體重調整給藥量，尾靜脈注射，給藥體積為10 µl/g。分組給藥後，檢測藥物對動物正常行為的影響，包括實驗動物的活動性、攝食和飲水情況、體重、眼睛、被毛、糞便、分泌物以及其它異常情況。每週測量2次小鼠體重，最後一次給藥後觀察8天。實驗結束時，肝臟、脾臟稱重，取肝、脾、肺、腎和胃置於10%福馬林中性固定液中做HE分析。樣品準備：秤取適量的化合物，用PBS溶解，加適量的鹼性溶液配製成PH為中性的樣品母液，過濾，用已過濾生理鹽水稀釋母液到工作濃度樣品溶液，備用。

【0216】 實驗結果與分析：CR194AX 50mg/kg，每週給藥一次，給藥3次（qw*3）和每三天給藥一次，給藥6次（q3d*6），給藥期間未出現小鼠死亡，小鼠平均體重下降未超過10%，顯示較好的耐受性；CR194AX 25 mg/kg q3d*6給藥期間未出現小鼠死亡，小鼠平均體重下降未超過5%，顯示良好的耐受性

(見圖2A-2B)。實驗終點取肝臟、脾臟結果顯示：和陰性對照組相比，各給藥組小鼠的肝臟、脾臟重量無顯著性差異。

實施例 10 偶聯體化合物 CR194X3 在 BALB/c nude 小鼠上的安全性評價

【0217】 實驗目的：CR194X3在BALB/c nude小鼠上的安全性評價

【0218】 樣品準備：秤取適量的CR194X3，用PBS溶解，加適量的鹼性溶液配製成pH為中性的樣品母液，過濾，用已過濾PBS稀釋母液到工作濃度樣品溶液，備用。

【0219】 將BALB/c nude小鼠（雌性、6-8週齡、體重25 g左右），根據體重隨機分組（每組6只），分組第一天開始給藥，根據小鼠最近一次的體重調整給藥量，尾靜脈注射，給藥體積為10 μ l/g。分組給藥後，檢測藥物對動物正常行為的影響，包括實驗動物的活動性、攝食和飲水情況、體重、眼睛、被毛、糞便、分泌物以及其它異常情況。每週測量2次小鼠體重，最後一次給藥後觀察7天。實驗結束時，肝臟、脾臟稱重，取肺、肝、脾、小腸，置於10%福馬林中性固定液中做HE分析。

【0220】 實驗結果與分析：小鼠對測試物CR194X3（150 mg/kg）耐受較好。實驗終點取肝臟、脾臟結果顯示：和陰性對照組相比，各給藥組小鼠的肝臟、脾臟重量無顯著性差異。

實施例 11 CR194AX 和 CR194X3 在 SD 大鼠上的安全性評價

【0221】 實驗目的：CR194系列化合物在SD大鼠上的安全性評價

【0222】 樣品準備：秤取適量的化合物，用生理鹽水溶解，加適量的鹼性溶液配製成PH為中性的樣品母液，過濾，用已過濾生理鹽水稀釋母液到工作濃度樣品溶液，備用。

【0223】 實驗方案：將SD大鼠（雌性、體重160-180 g），根據體重隨機分組（每組5只），分組第一天開始給藥，根據大鼠最近一次的體重調整給藥量，尾靜脈注射，給藥體積為10 ml/kg。分組給藥後，檢測藥物對動物正常行為的影響，包括實驗動物的活動性、攝食和飲水情況、體重、眼睛、被毛、糞便、分泌物以及其它異常情況。每週測量2次大鼠體重，給藥後觀察14天。

【0224】 實驗結果與分析：各給藥組動物體重從給藥後到第3天持續下降，但未超過10%。臨床觀察無異常情況（圖3A-3B）。

【符號說明】

【0225】 無

【發明申請專利範圍】

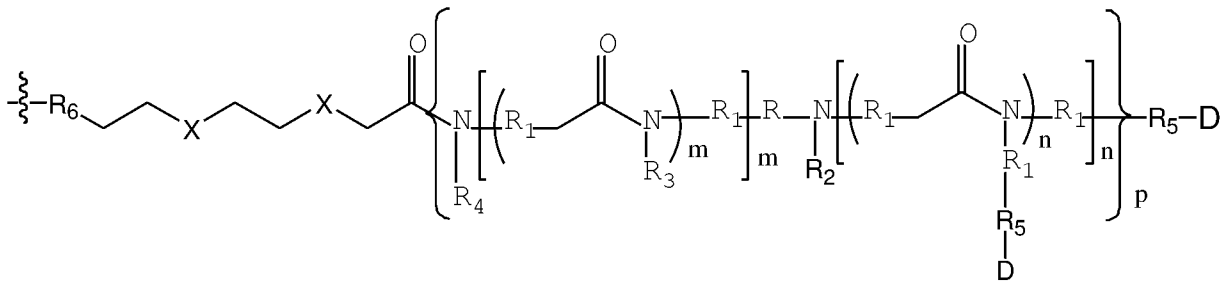
【請求項1】 一種偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，該偶聯體化合物具有以下結構：

多配體部分—(連接子—有效負載)_q，

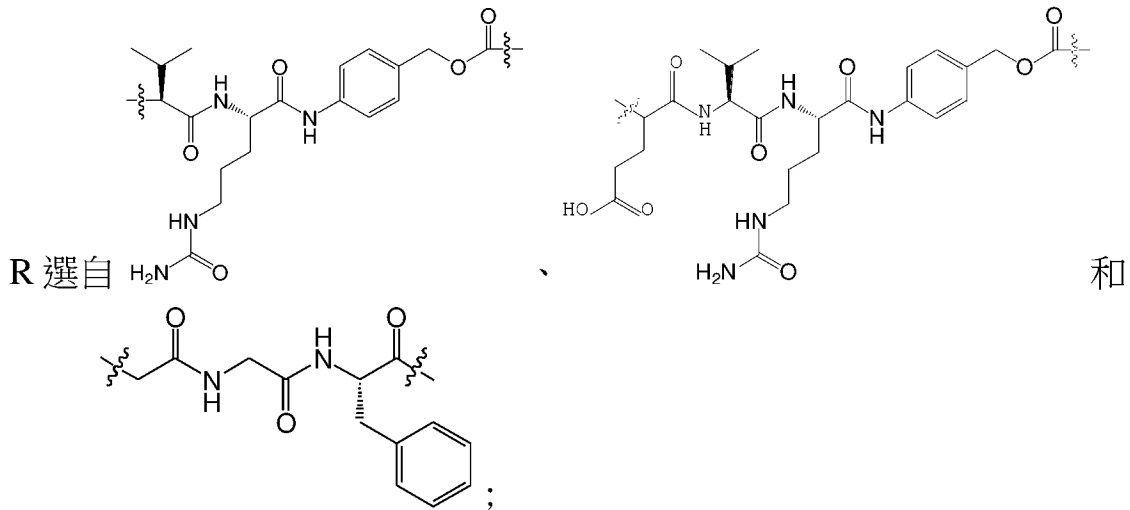
其中：

該多配體部分包含至少兩個靶向不同細胞表面分子的配體，

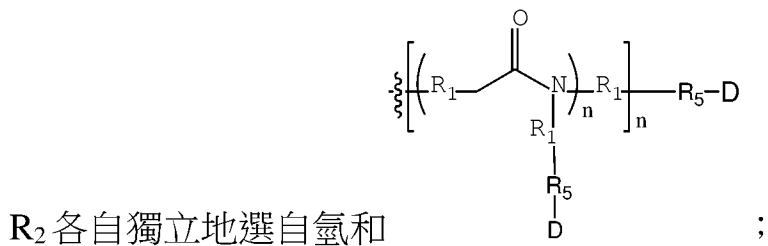
該連接子-有效負載部分具有以下結構：



其中：

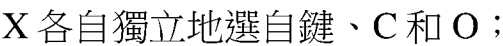


R₁ 各自獨立地選自鍵和-CH₂CH₂C(O)-NH-；





CH₂C(O)-、-CH₂C(O)-NH-CH₂C(O)-和  ;



n 各自獨立地為 0 或 1；

q 為 1 至 4 的整數；

D 為有效負載。

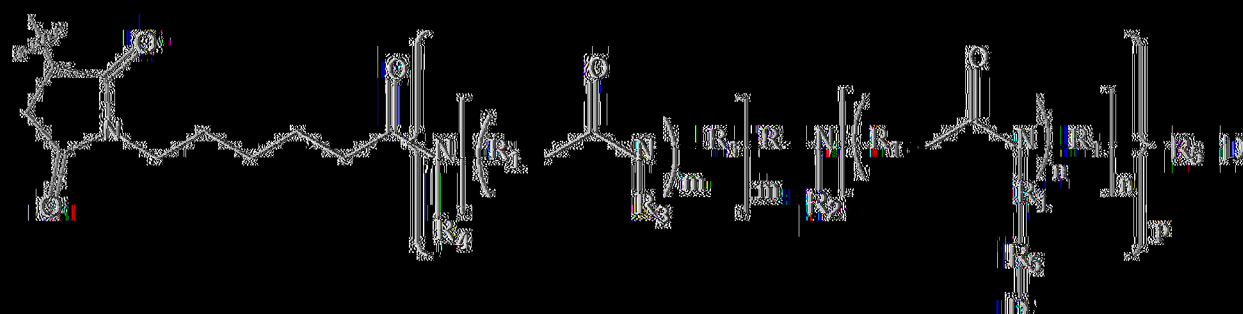
【請求項2】 一種偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，該偶聯體化合物具有以下結構：

多配體部分—(連接子—有效負載)_q，

美 1 0

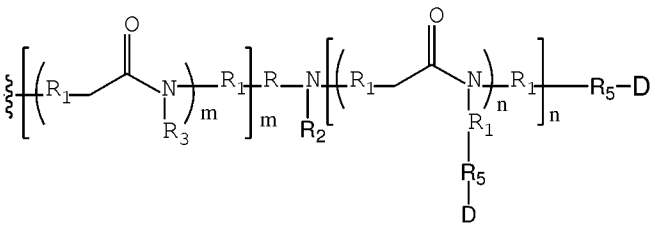
該多醣鏈部分包含至少兩個朝向不同細胞膜表面分子的醣鏈。

該連接子有效負載部分具有以下結構：



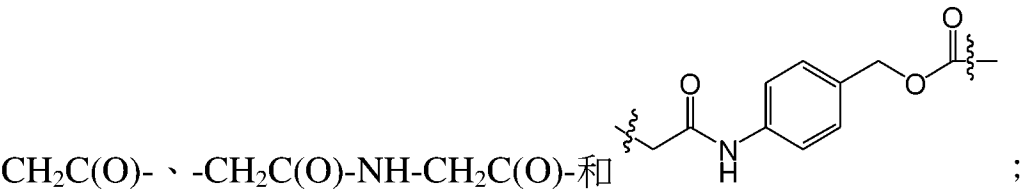
00

R_1 各自獨立地選自鍵和 $-CH_2CH_2C(O)NH-$;



R₄ 各自獨立地選自氫和

R₅ 各自獨立地選自鍵、-(CH₂CH₂O)₃-CH₂CH₂-、-CH₂C(O)-NH-CH₂-、-



CH₂C(O)-、-CH₂C(O)-NH-CH₂C(O)-和

m 各自獨立地為 0 或 1；

n 各自獨立地為 0 或 1；

p 為 0 或 1；

q 為 1 至 4 的整數；

D 為有效負載。

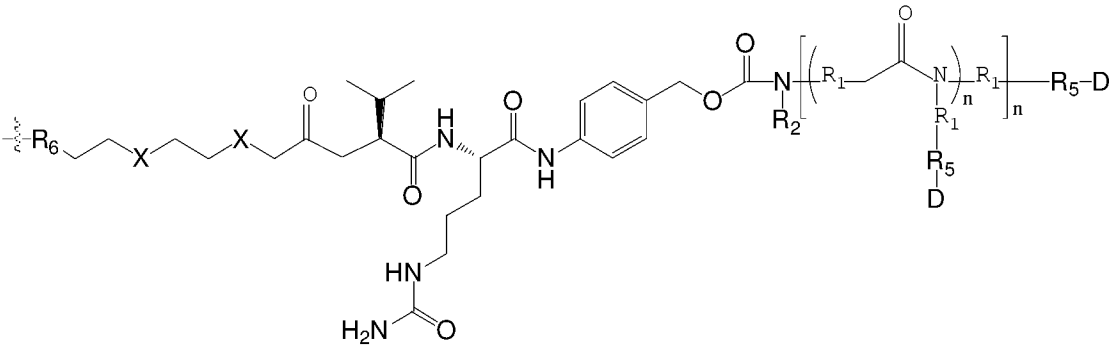
【請求項3】 一種偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，該偶聯體化合物具有以下結構：

多配體部分—(連接子—有效負載)_q，

其中：

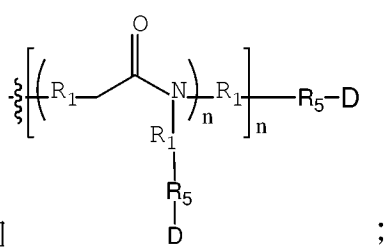
該多配體部分包含至少兩個靶向不同細胞表面分子的配體，

該連接子-有效負載部分具有以下結構：



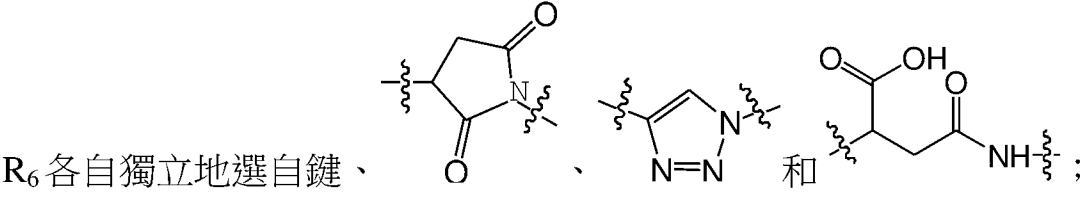
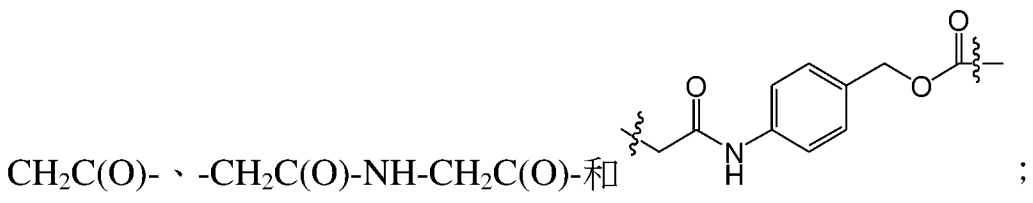
其中：

R₁ 各自獨立地選自鍵和-CH₂CH₂C(O)-NH- ；



R₂ 各自獨立地選自氫和

R₅ 各自獨立地選自鍵、-(CH₂CH₂O)₃-CH₂CH₂-、-CH₂C(O)-NH-CH₂-、-



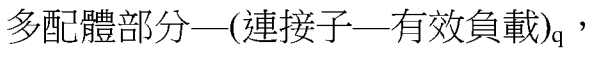
X 各自獨立地選自鍵、C 和 O ；

n 各自獨立地為 0 或 1 ；

q 為 1 至 4 的整數 ；

D 為有效負載。

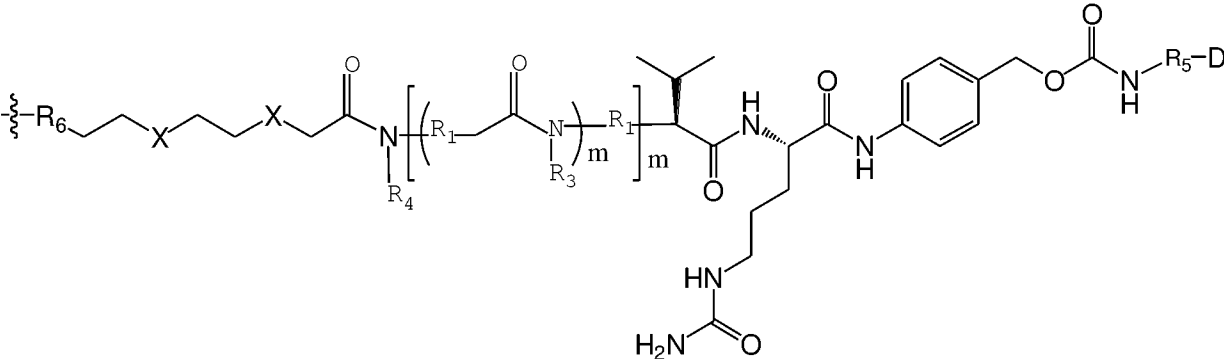
【請求項4】 一種偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，該偶聯體化合物具有以下結構：



其中：

該多配體部分包含至少兩個靶向不同細胞表面分子的配體，

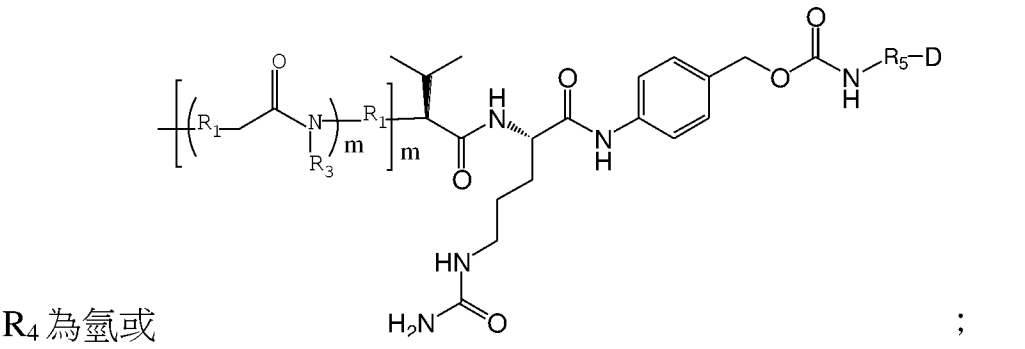
該連接子-有效負載部分具有以下結構：



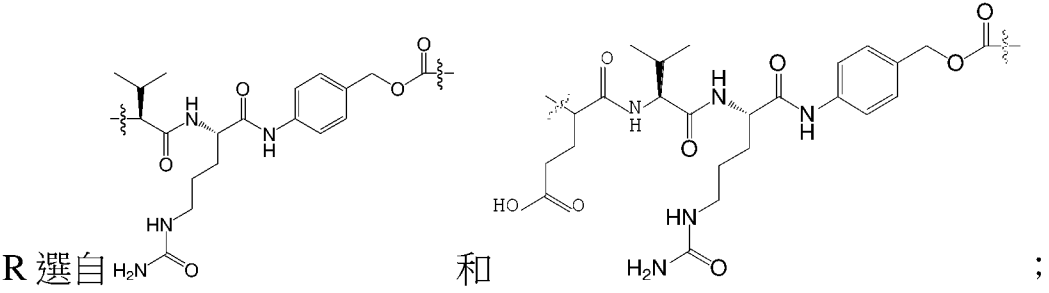
其中：

R_1 各自獨立地選自鍵和 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-\text{NH}-$ ；

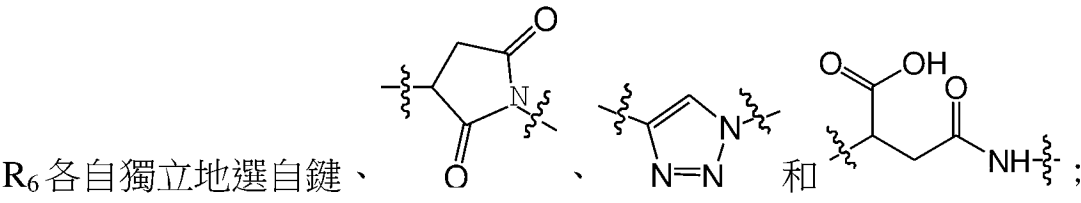
R_3 各自獨立地選自氫和 $-\text{R}_1-\text{R}-\text{NH}-\text{R}_5-\text{D}$ ；



R_4 為氫或



R_5 各自獨立地選自鍵、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ 和 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ ；



X 各自獨立地選自鍵、 C 和 O ；

m 各自獨立地為 0 或 1；

q 為 1 至 4 的整數；

D 為有效負載。

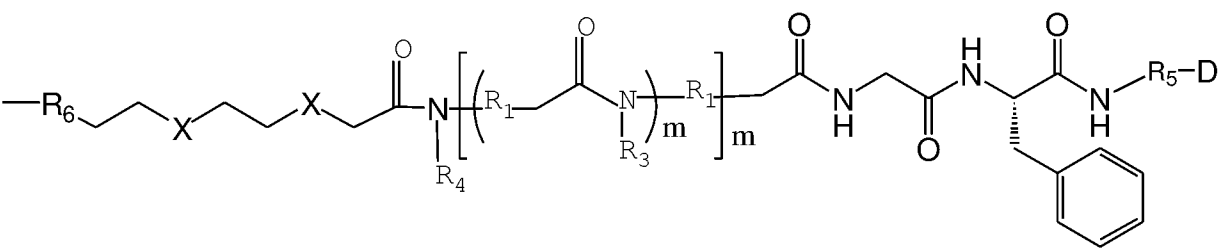
【請求項5】 一種偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，該偶聯體化合物具有以下結構：

多配體部分—(連接子—有效負載)_q，

其中：

該多配體部分包含至少兩個靶向不同細胞表面分子的配體，

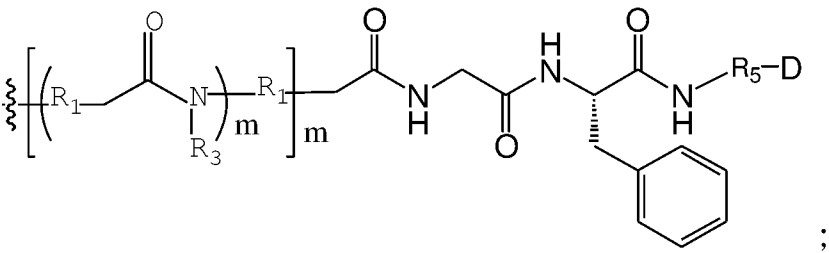
該連接子-有效負載部分具有以下結構：



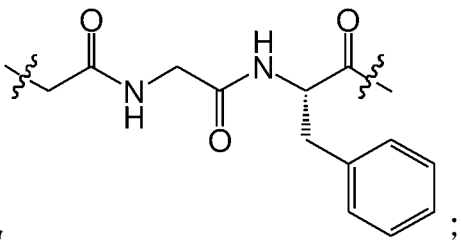
其中：

R₁ 各自獨立地選自鍵和-CH₂CH₂C(O)-NH-；

R₃ 各自獨立地選自氫和-R₁-R-NH-R₅-D；

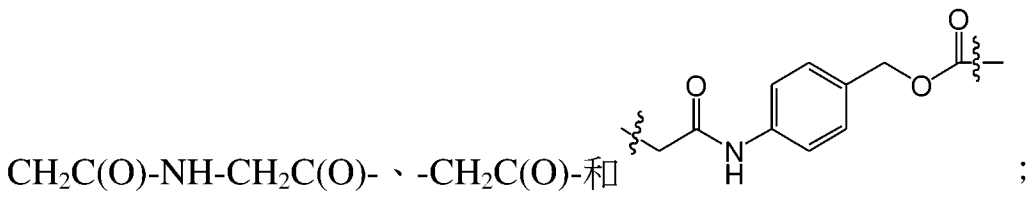


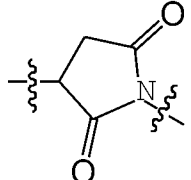
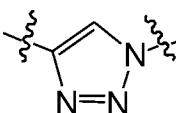
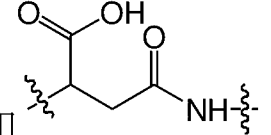
R₄ 為氫或



R 為

R₅ 各自獨立地選自鍵、-(CH₂CH₂O)₃-CH₂CH₂-、-CH₂C(O)-NH-CH₂-、-



R₆ 各自獨立地選自鍵、  、  和  ;

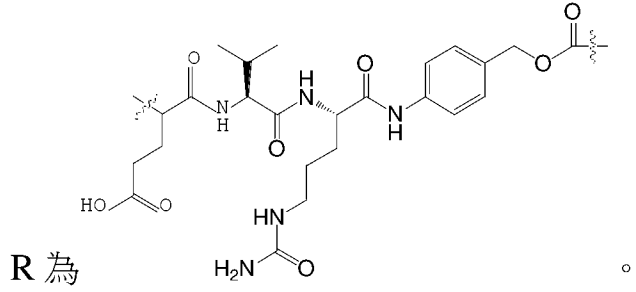
X 各自獨立地選自鍵、C 和 O；

m 各自獨立地為 0 或 1；

q 為 1 至 4 的整數；

D 為有效負載。

【請求項6】 如請求項 1 所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，其中



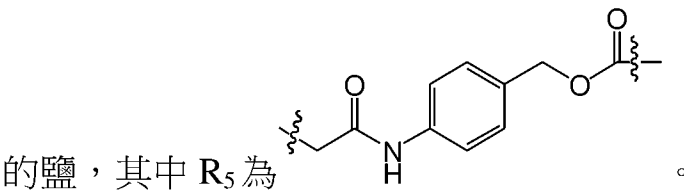
【請求項7】 如請求項 1-6 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，其中 R₁ 為-CH₂CH₂C(O)-NH-。

【請求項8】 如請求項 1-7 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，其中 R₅ 為-(CH₂CH₂O)₃-CH₂CH₂-。

【請求項9】 如請求項 1-7 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，其中 R₅ 為-CH₂C(O)-NH-CH₂C(O)-。

【請求項10】 如請求項 1-7 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，其中 R_5 為 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ 。

【請求項11】 如請求項 1-7 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的



【請求項12】 如請求項 1-7 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，其中 R_5 為 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 。

【請求項13】 如請求項 1-7 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，其中 R_5 不是 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 。

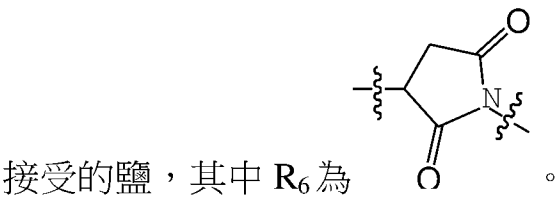
【請求項14】 如請求項 1-13 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，其中 m 各自獨立地為 0 或 1，且 n 為 0。

【請求項15】 如請求項 1-13 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，其中 m 為 0，且 n 各自獨立地為 0 或 1。

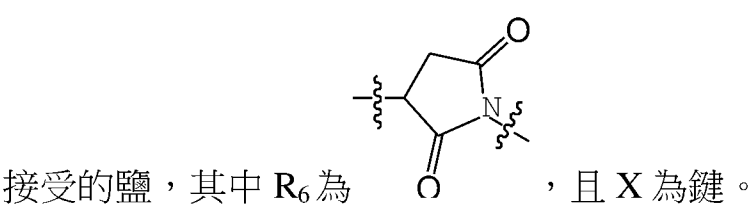
【請求項16】 如請求項 1-13 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，其中 m 為 0，且 n 為 0。

【請求項17】 如請求項 1-13 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，其中 m 為 0， n 為 0，且 R_5 不是 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 。

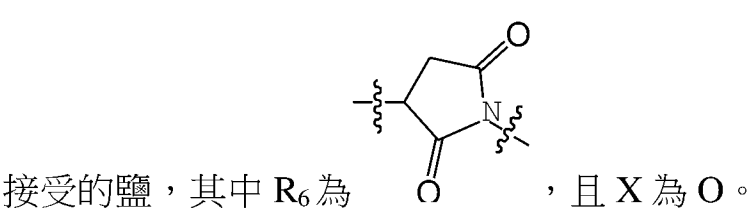
【請求項18】 如請求項 1 或 3-17 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可



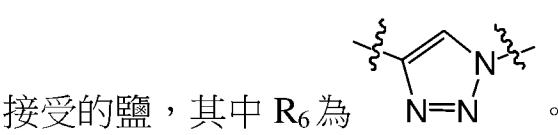
【請求項19】 如請求項 1 或 3-18 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可



【請求項20】 如請求項 1 或 3-18 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可



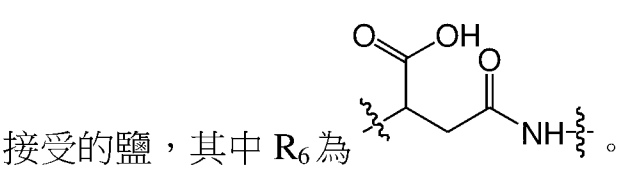
【請求項21】 如請求項 1 或 3-17 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可



【請求項22】 如請求項 21 所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，其中 X 為鍵。

【請求項23】 如請求項 21 所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，其中 X 為 O。

【請求項24】 如請求項 1 或 3-17 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可

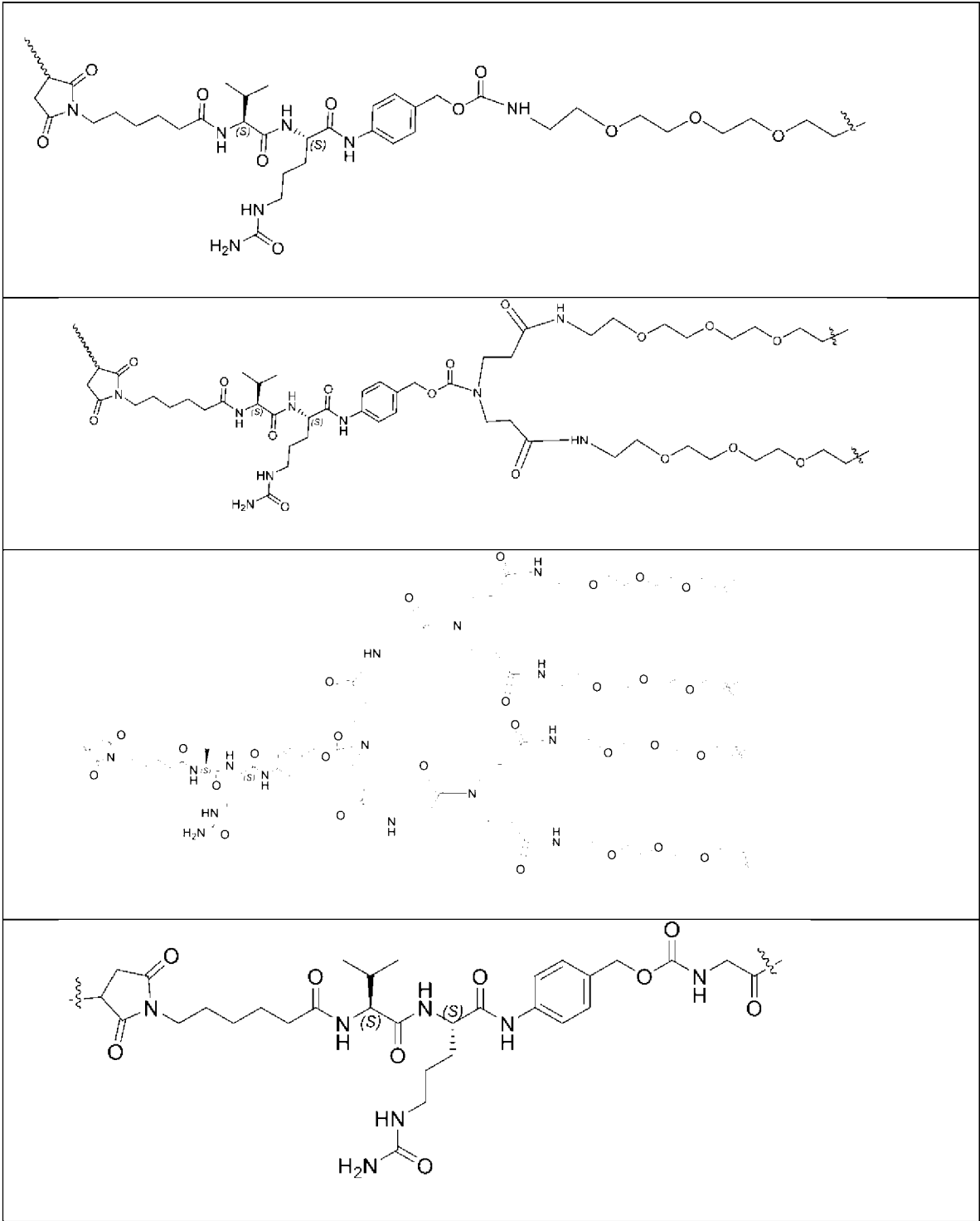


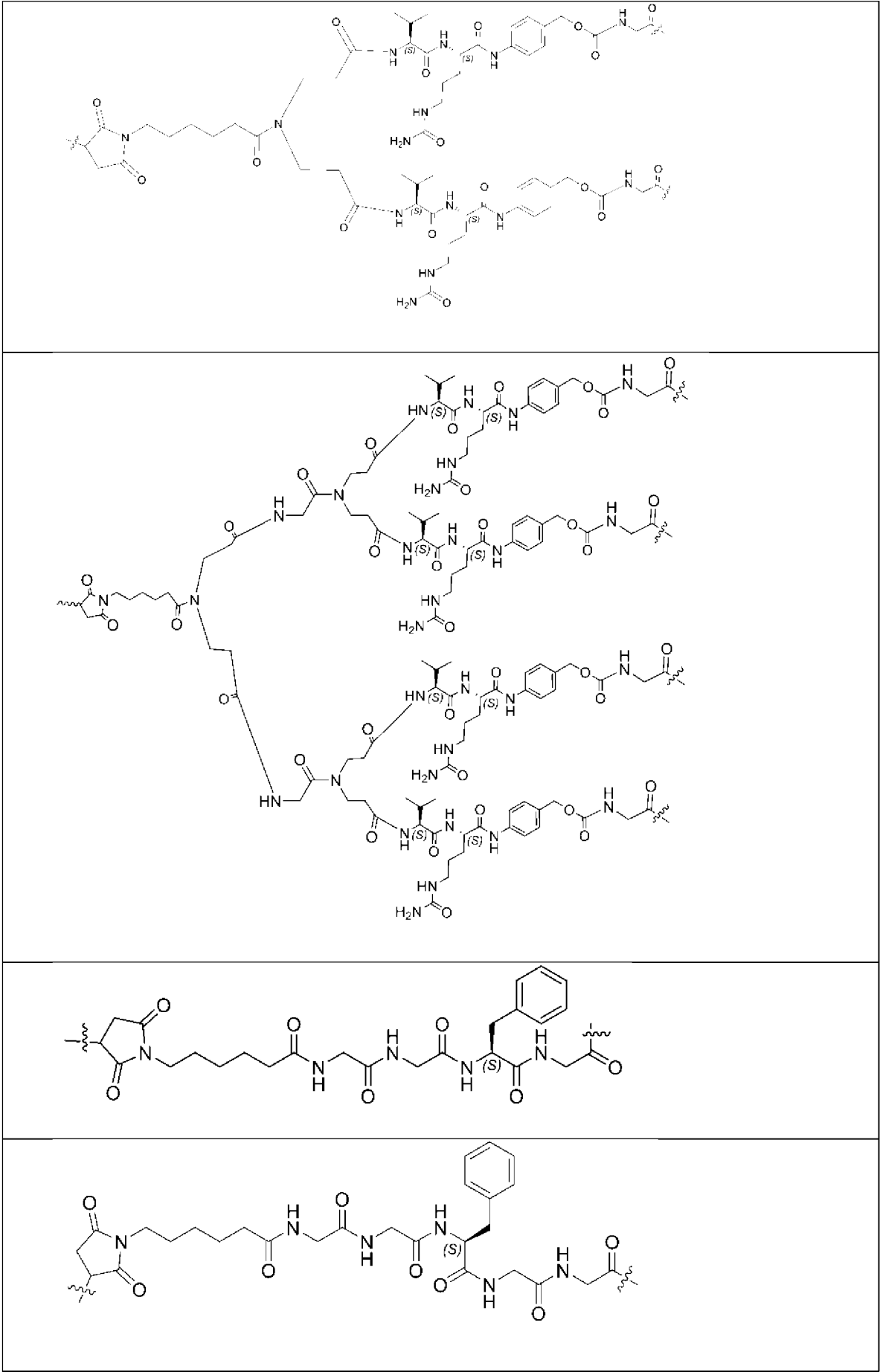
【請求項25】 如請求項 24 所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，其中 X 為鍵。

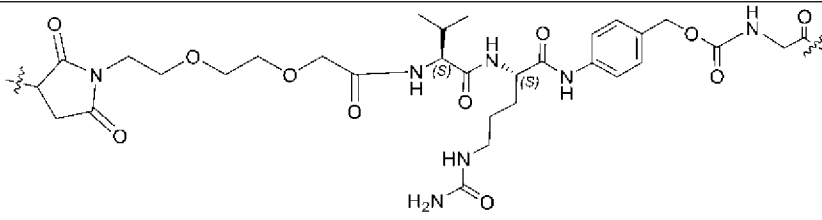
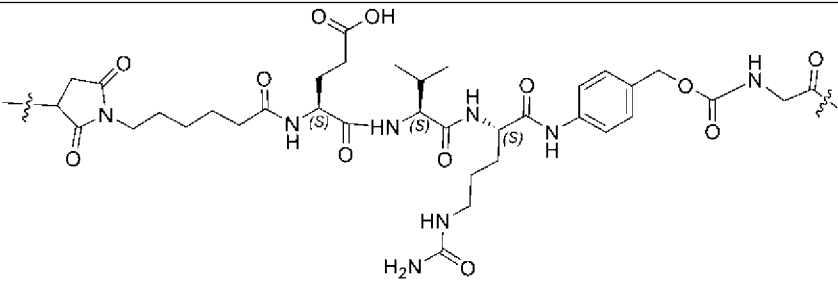
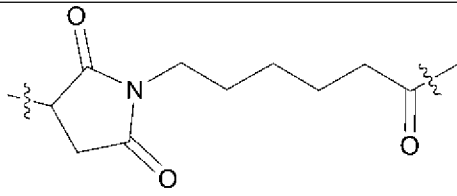
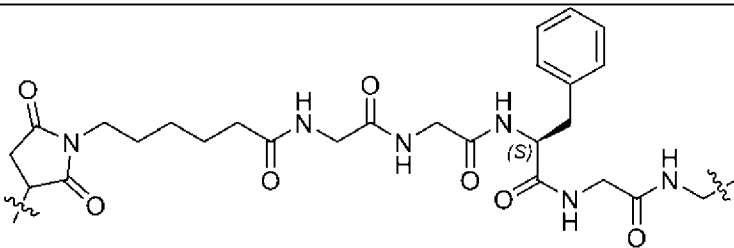
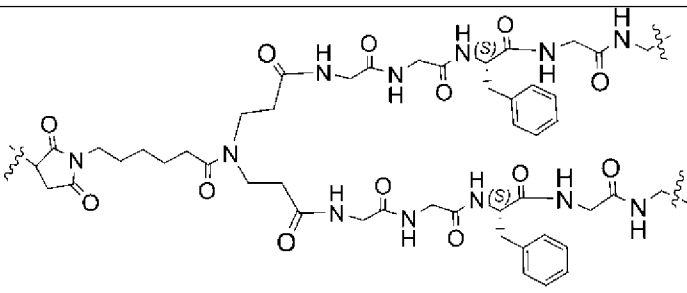
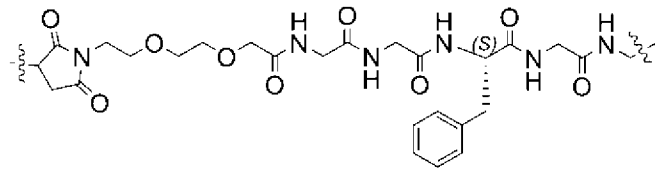
【請求項26】 如請求項 24 所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，其中 X 為 O。

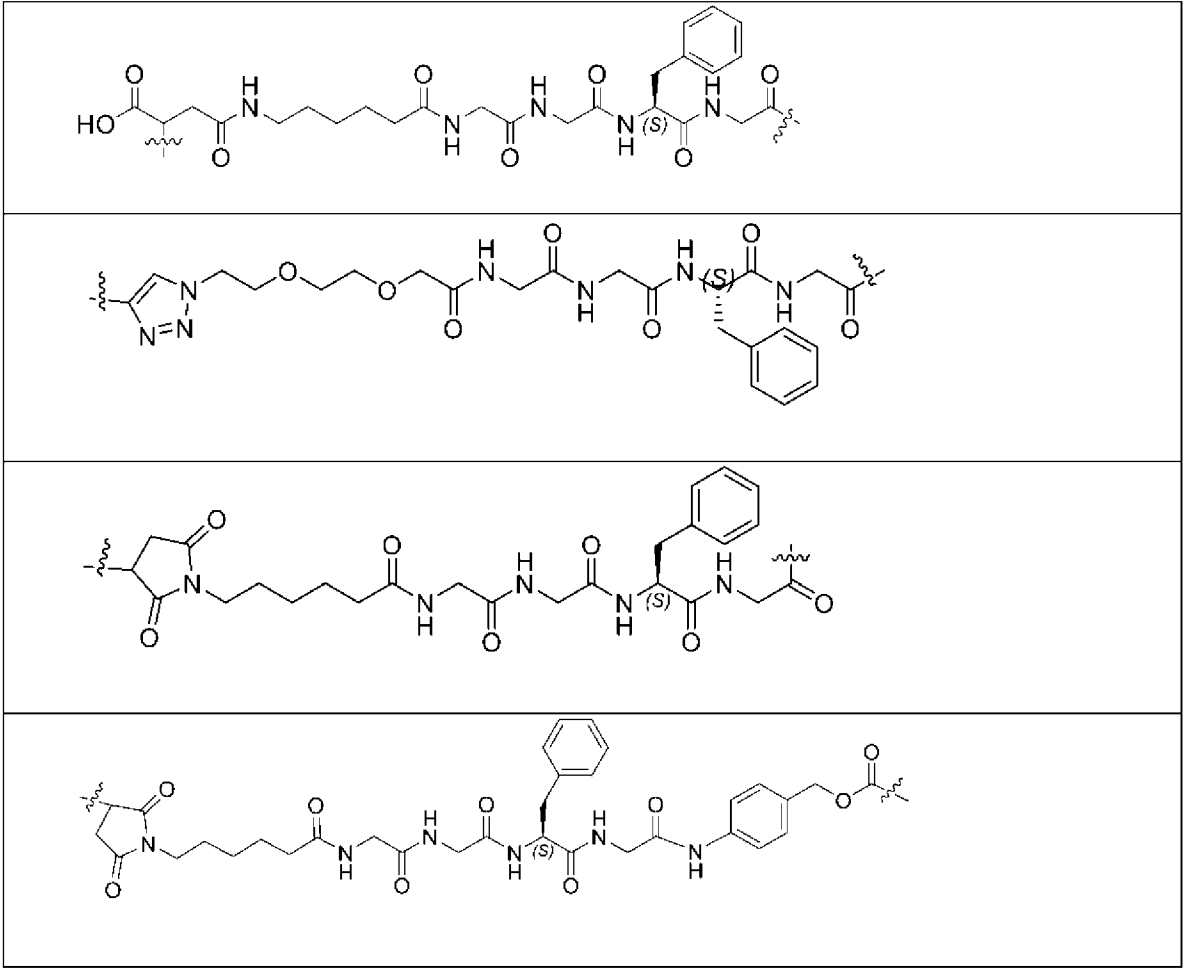
【請求項27】 如請求項 1-2 或 7-26 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，其中 p 為 0。

【請求項28】 如請求項 1-5 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，其中該連接子具有選自下組的結構：





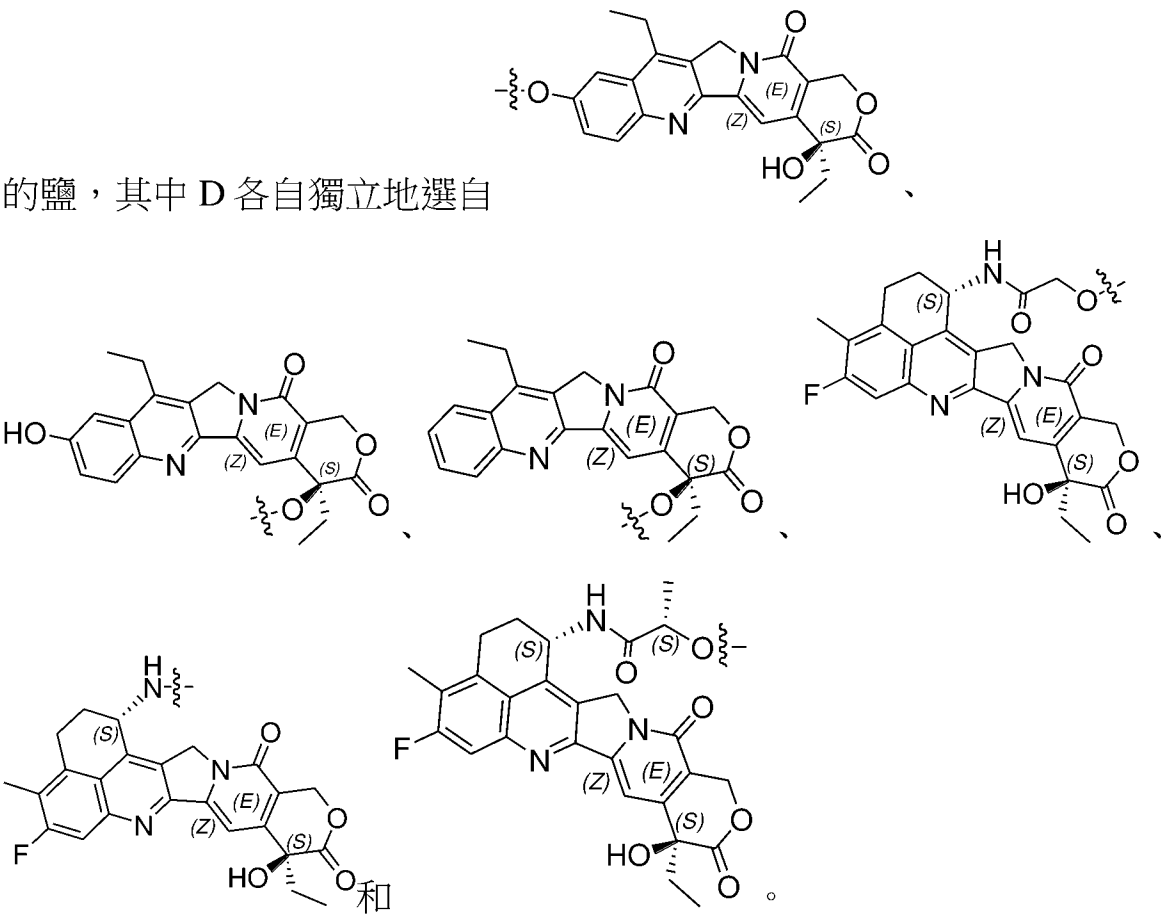









【請求項29】 如請求項 1-28 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，其中該有效負載選自下組：小分子化合物、核苷酸和肽，較佳地，該有效負載是小分子化合物。

【請求項30】 如請求項 29 所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，其中該小分子化合物選自下組：喜樹碱及其任何衍生物、美登素及其任何衍生物、放射性金屬絡合物、環氧化酶-2 抑制劑及其任何衍生物、紫杉醇及其任何衍生物、埃博黴素及其任何衍生物、博來黴素及其任何衍生物、更生黴素及其任何衍生物、普卡黴素及其任何衍生物、和絲裂黴素 C 及其任何衍生物，較佳地，該小分子化合物是喜樹碱及其任何衍生物，較佳地，該喜樹碱是依喜替康。

【請求項31】 如請求項 1-30 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受



【請求項32】 如請求項 1-31 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受
的鹽，其中該細胞表面分子選自 TRPV6、FOLR1、PSMA 和 SSTR2。

【請求項33】 如請求項 1-32 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受
的鹽，其中該細胞表面分子分別為 TRPV6 和 FOLR1、PSMA 和 FOLR1、
或 SSTR2 和 FOLR1。

【請求項34】 如請求項 1-33 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受
的鹽，其中該細胞表面分子分別為 TRPV6 和 FOLR1。

【請求項35】 如請求項 32-34 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接
受的鹽，其中靶向 FOLR1 的配體選自葉酸或其類似物，較佳地，該葉酸類

似物選自 5-甲基四氫葉酸、5-甲醯基四氫葉酸、甲氨蝶呤和 5,10-亞甲基四氫葉酸，其中靶向 SSTR2 的配體選自奧曲肽及其任何類似物。

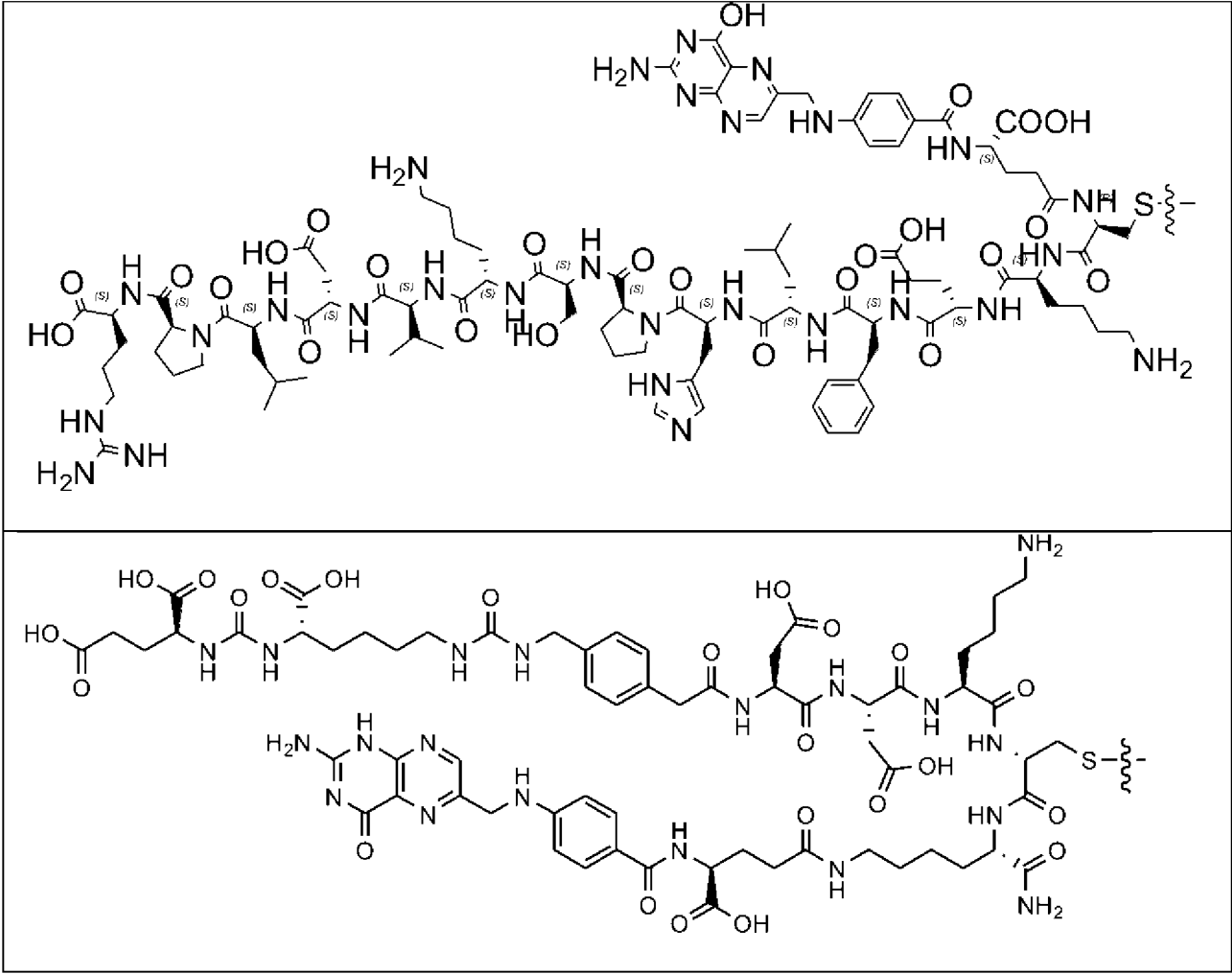
【請求項36】 如請求項 1-32 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，其中該配體部分包含三個以上的靶向細胞表面分子的配體，較佳地，該細胞表面分子選自 TRPV6、FOLR1、PSMA 和 SSTR2。

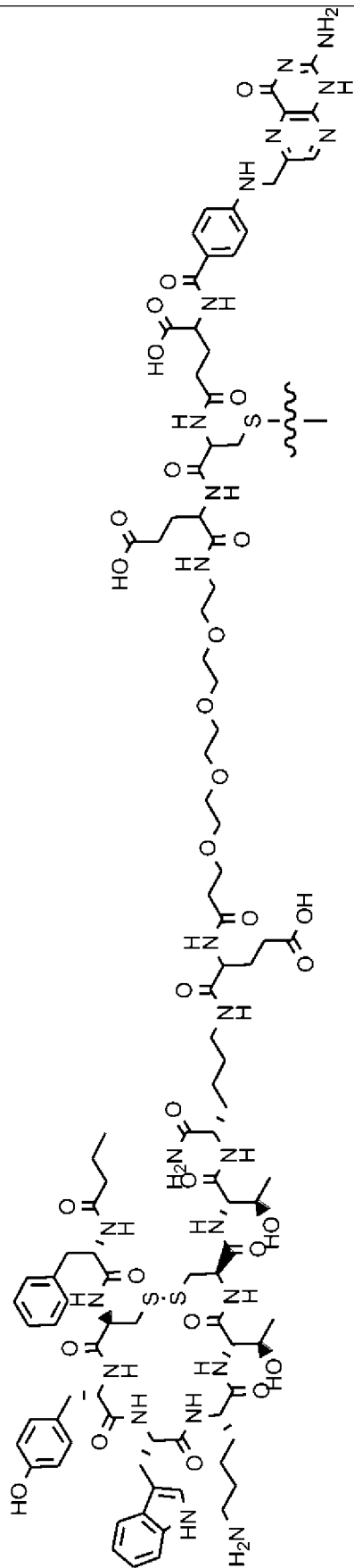
【請求項37】 如請求項 32-36 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，其中靶向不同細胞表面分子的配體彼此直接連接、或通過間隔區彼此連接。

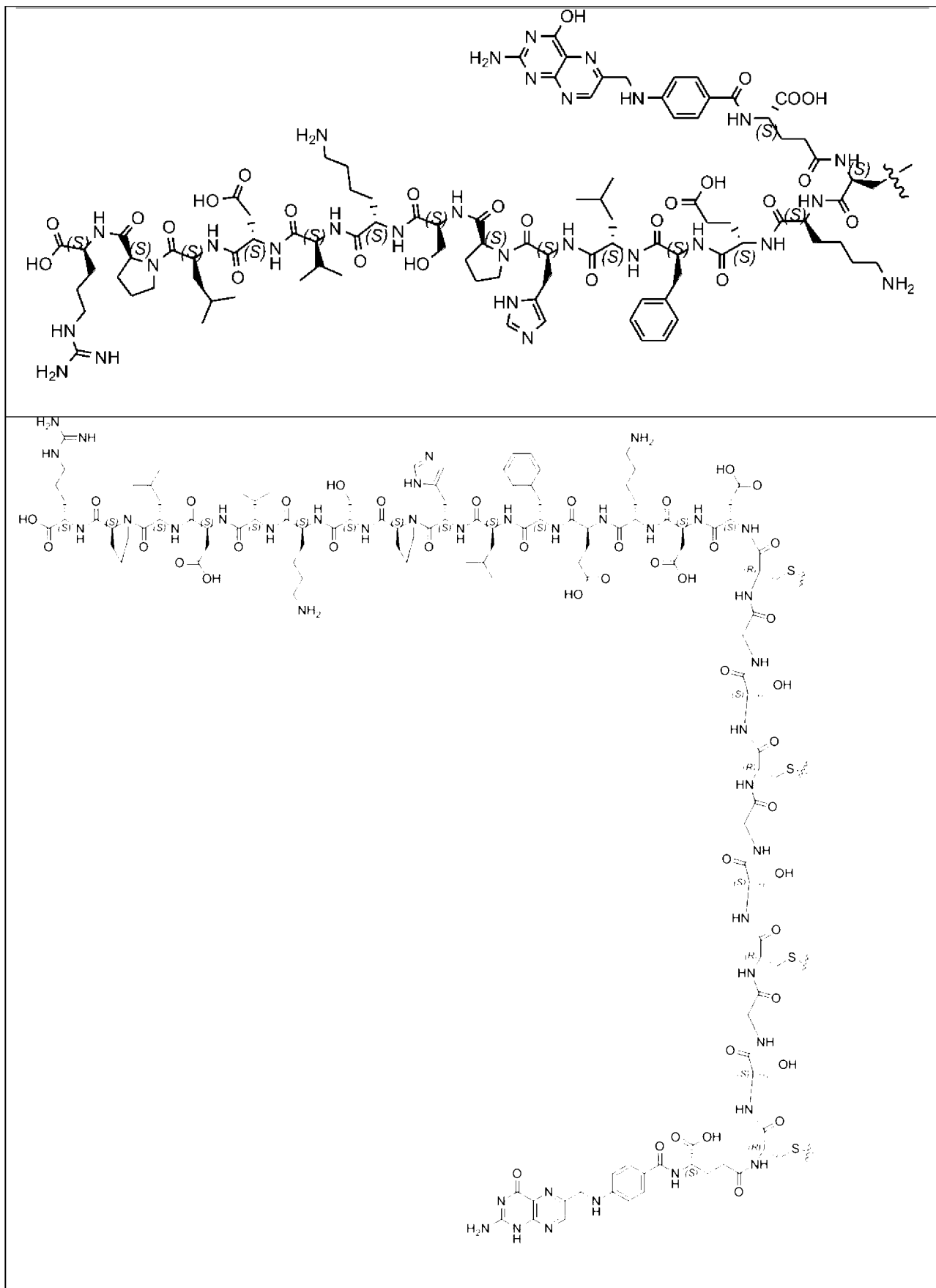
【請求項38】 如請求項 37 所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，其中該間隔區由胺基酸組成；較佳地，該間隔區由天然胺基酸或非天然胺基酸組成；較佳地，該間隔區為甘胺酸。

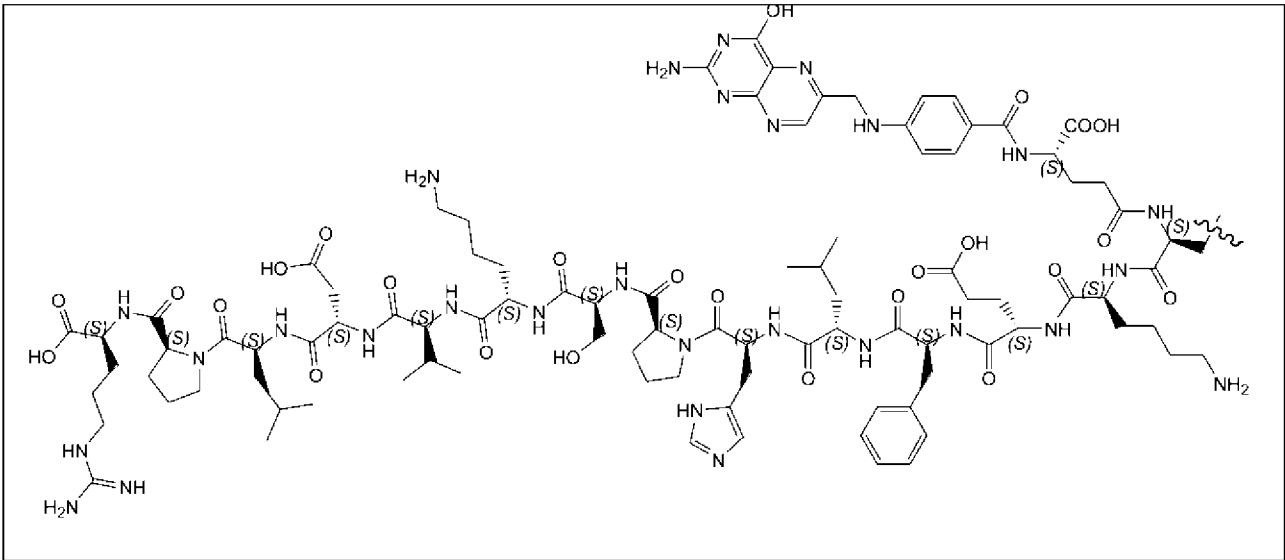
【請求項39】 如請求項 37-38 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，其中該間隔區可在特定的生理環境下通過蛋白酶裂解或還原裂解。

【請求項40】 如請求項 1-39 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，其中該配體部分具有以下結構：

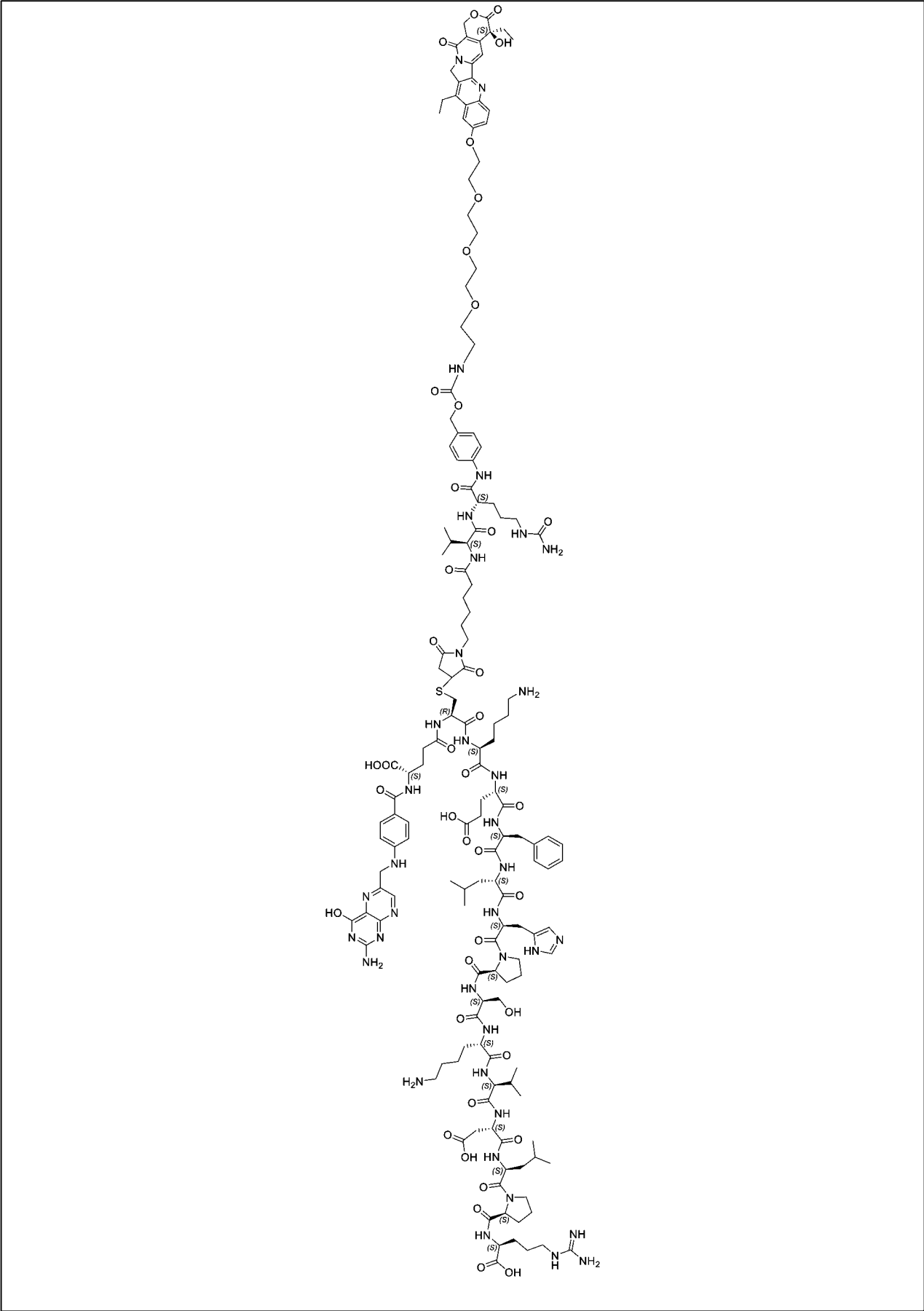


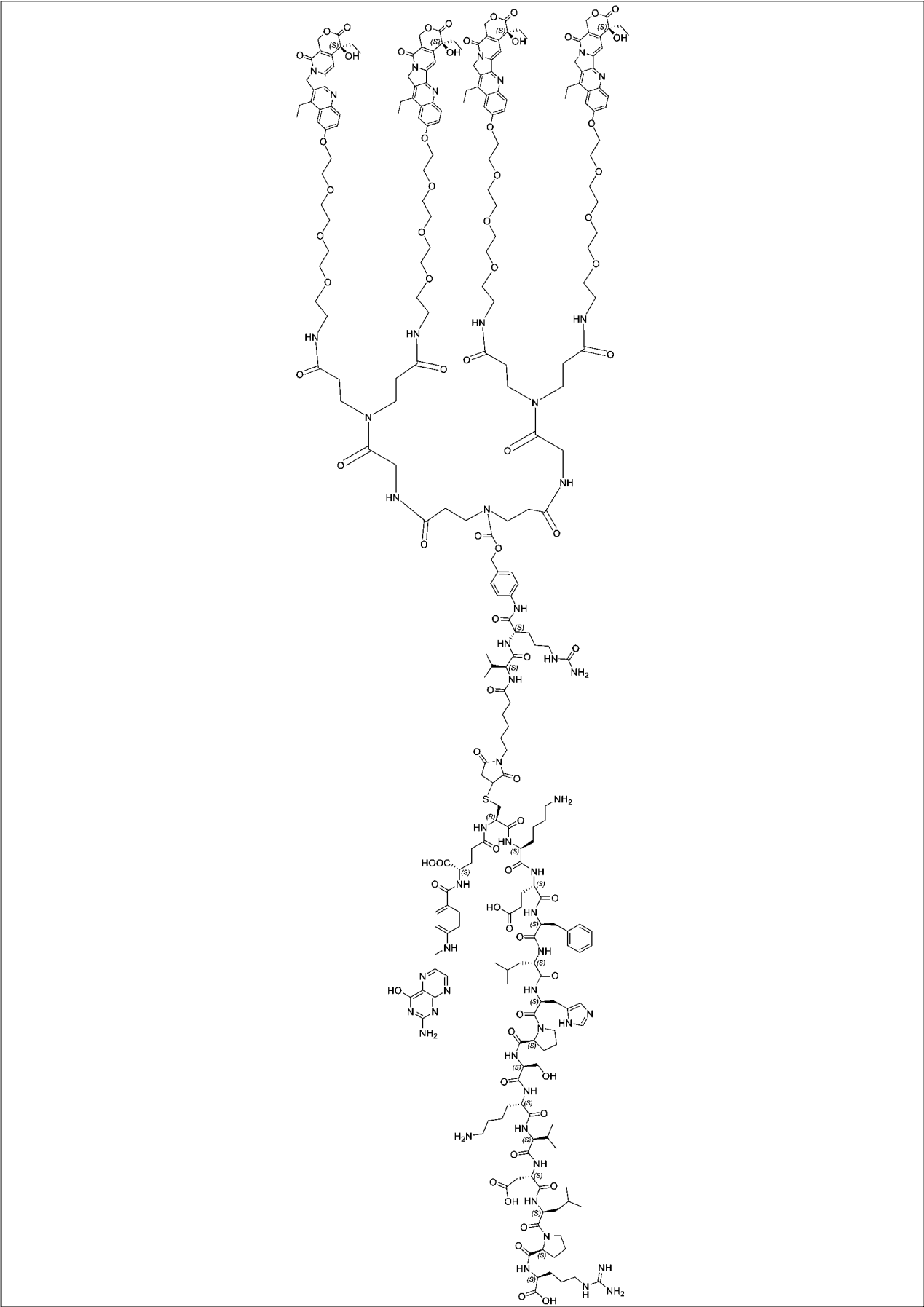


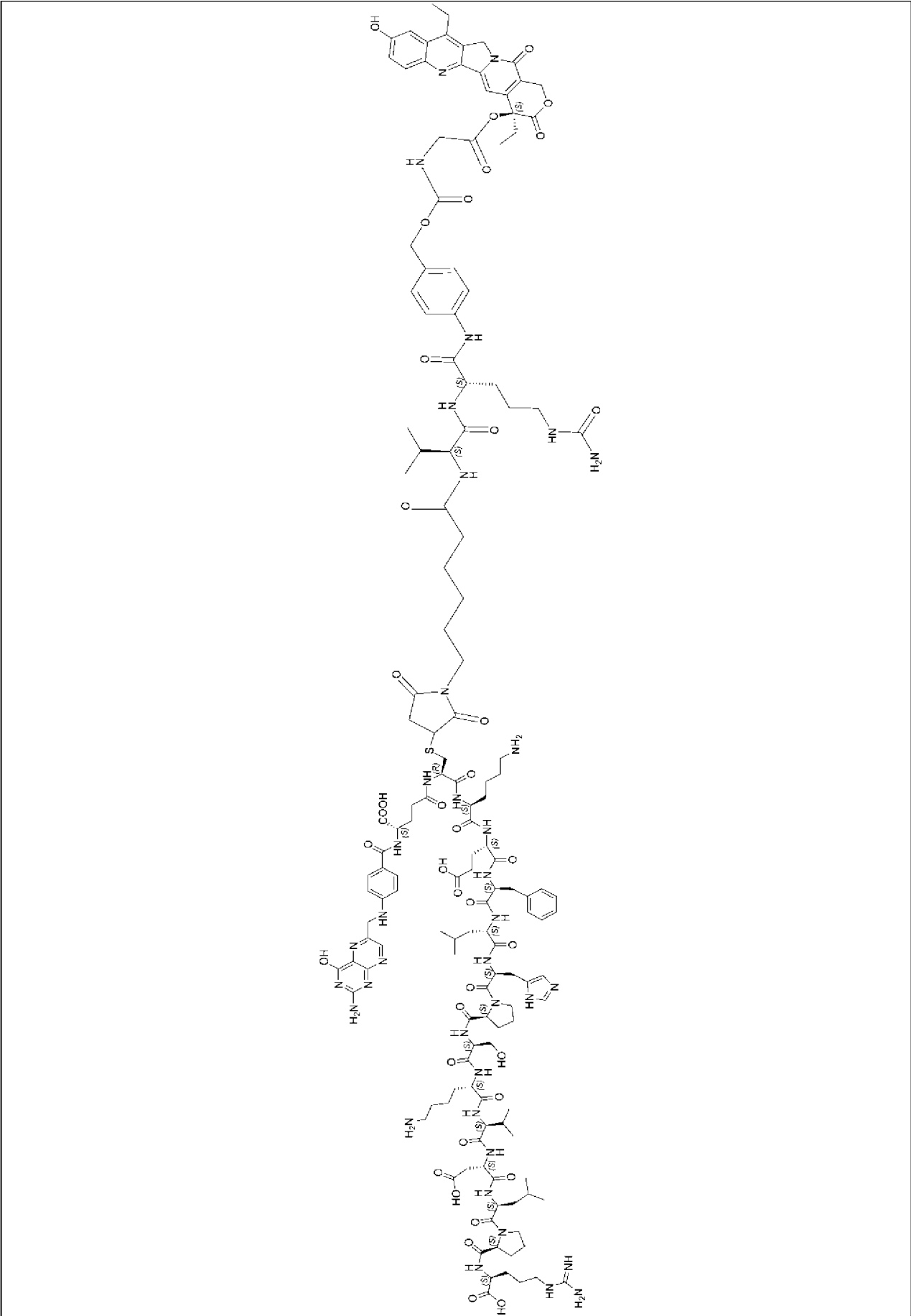


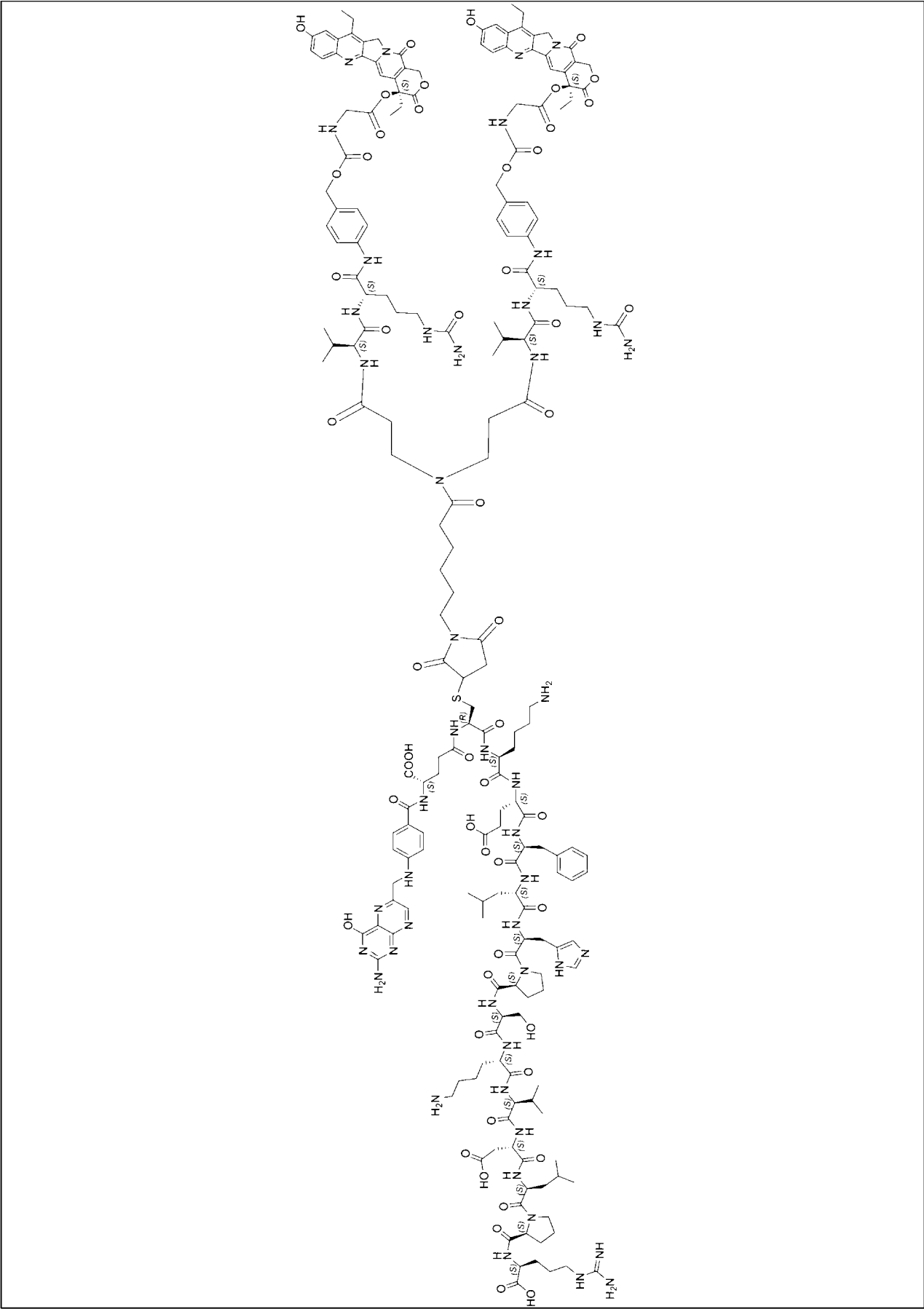


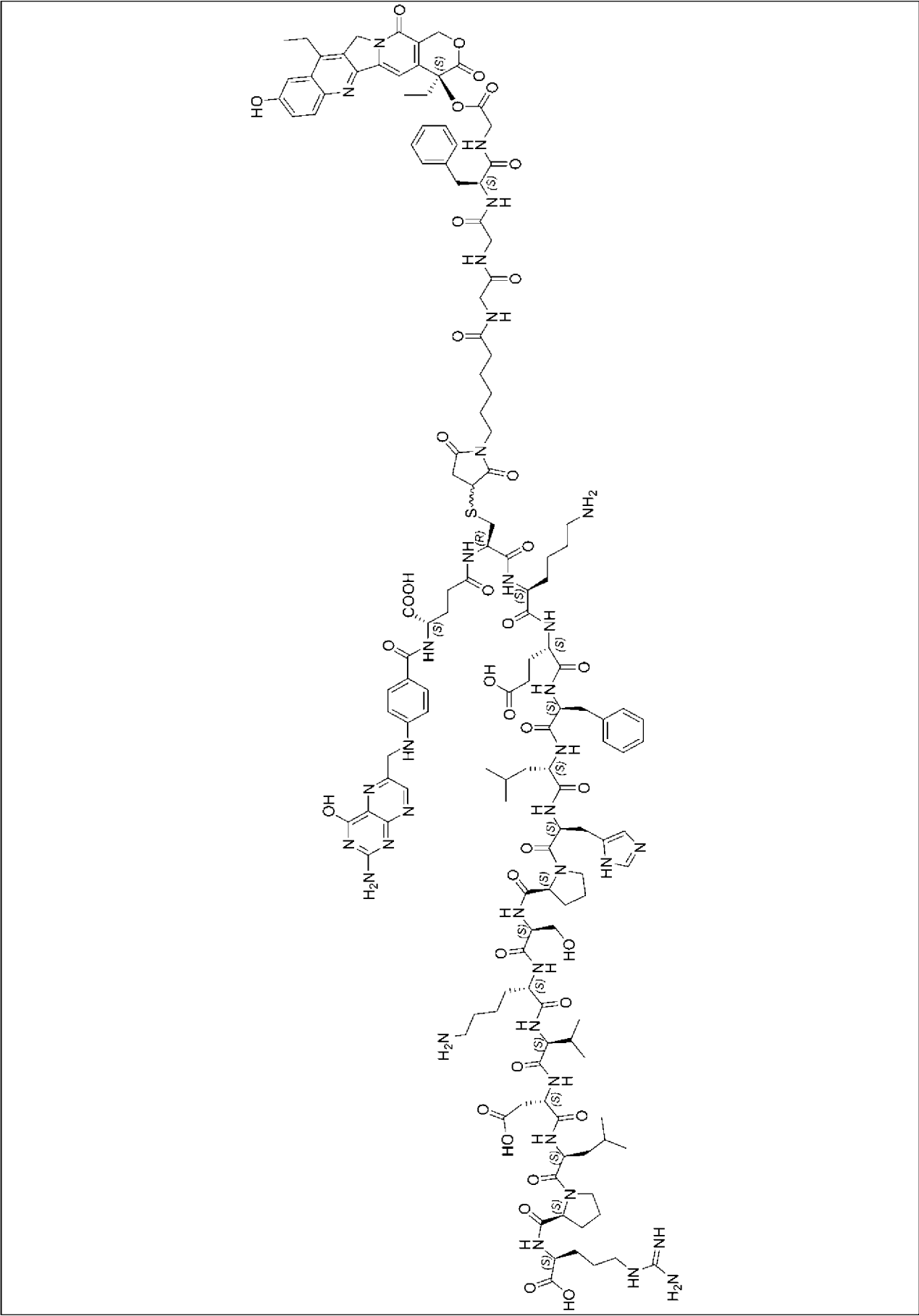
- 【請求項41】 如請求項 1-40 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，其中 q 為 1。
- 【請求項42】 如請求項 1-41 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，其中 q 為 2。
- 【請求項43】 如請求項 1-42 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，其中 q 為 3。
- 【請求項44】 如請求項 1-43 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，其中 q 為 4。
- 【請求項45】 一種偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，其中所述偶聯體化合物選自：

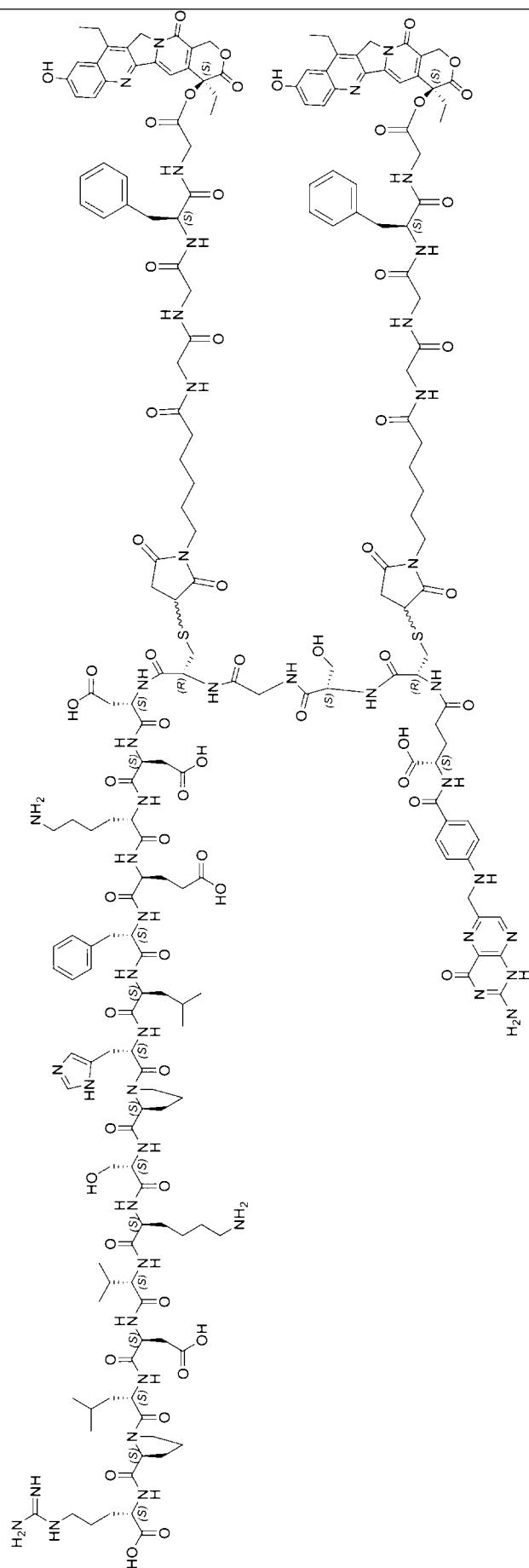


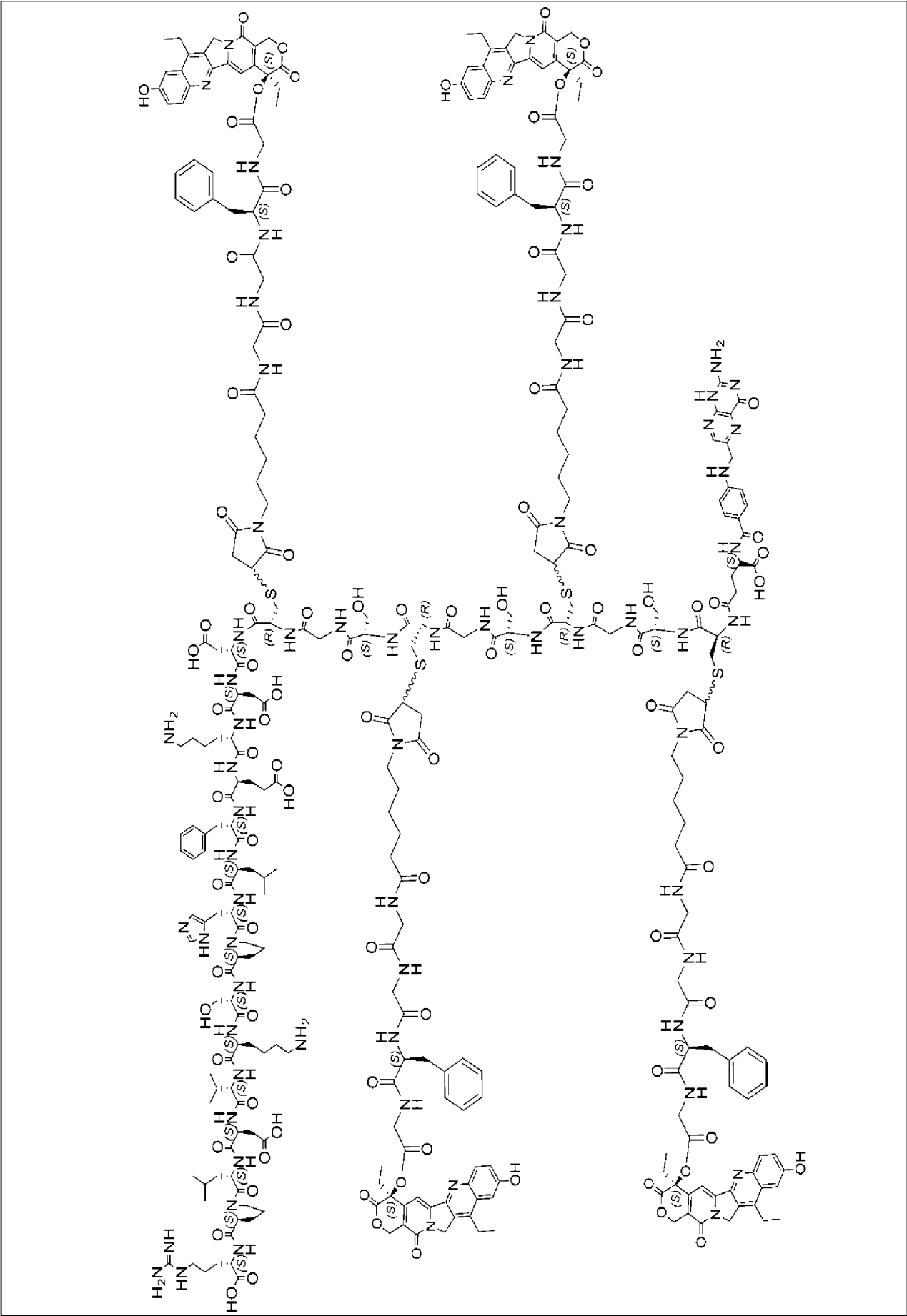


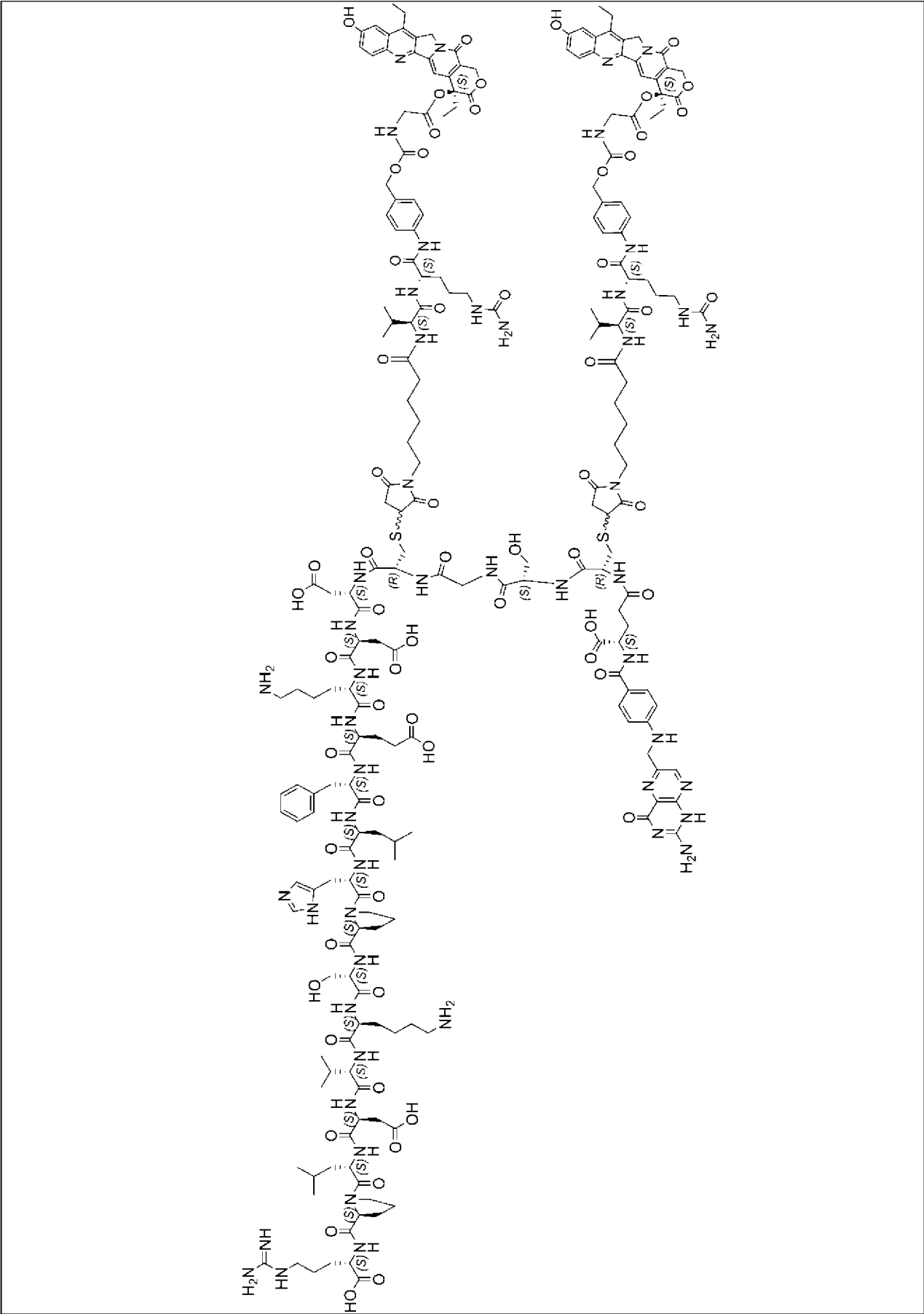


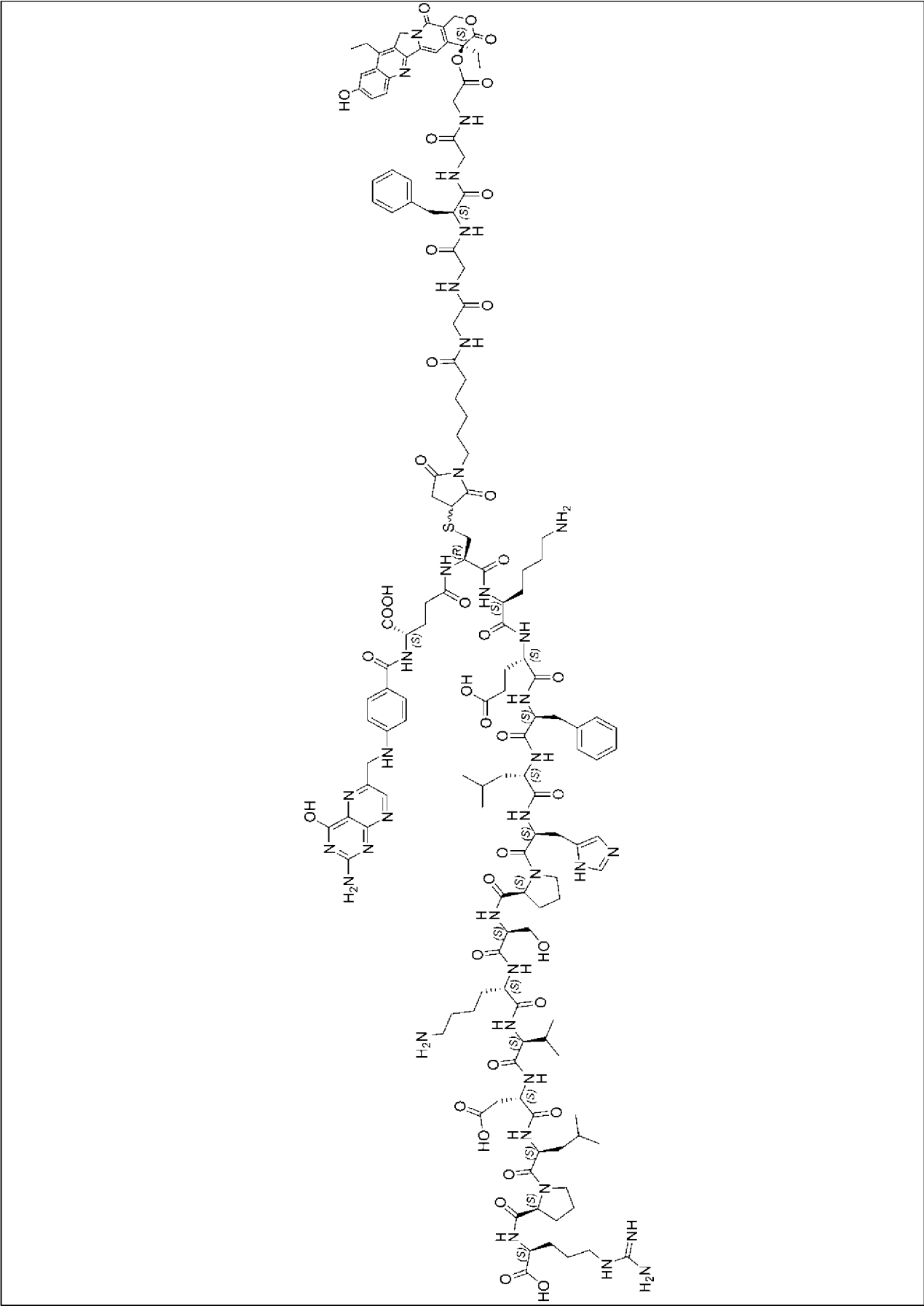


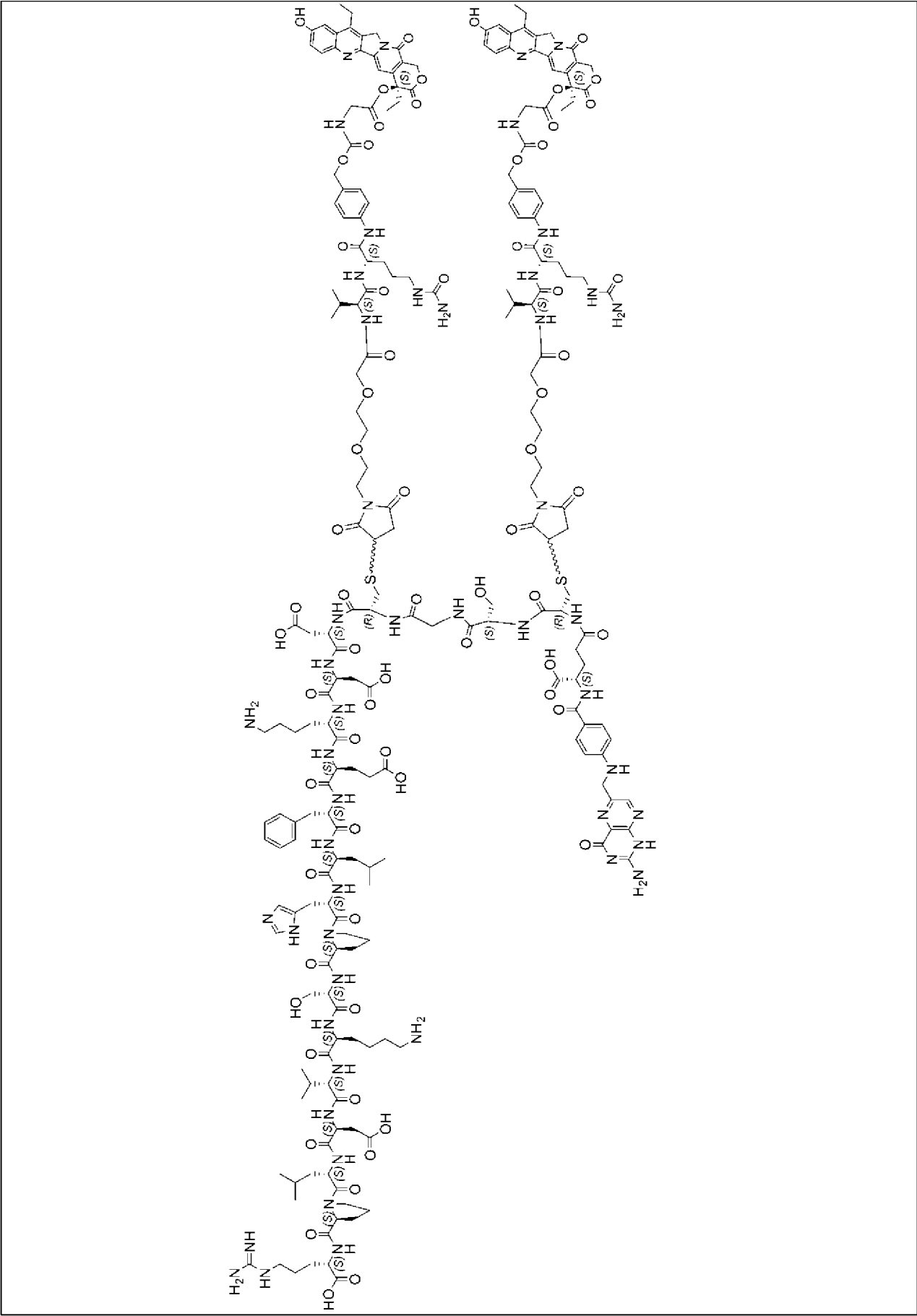


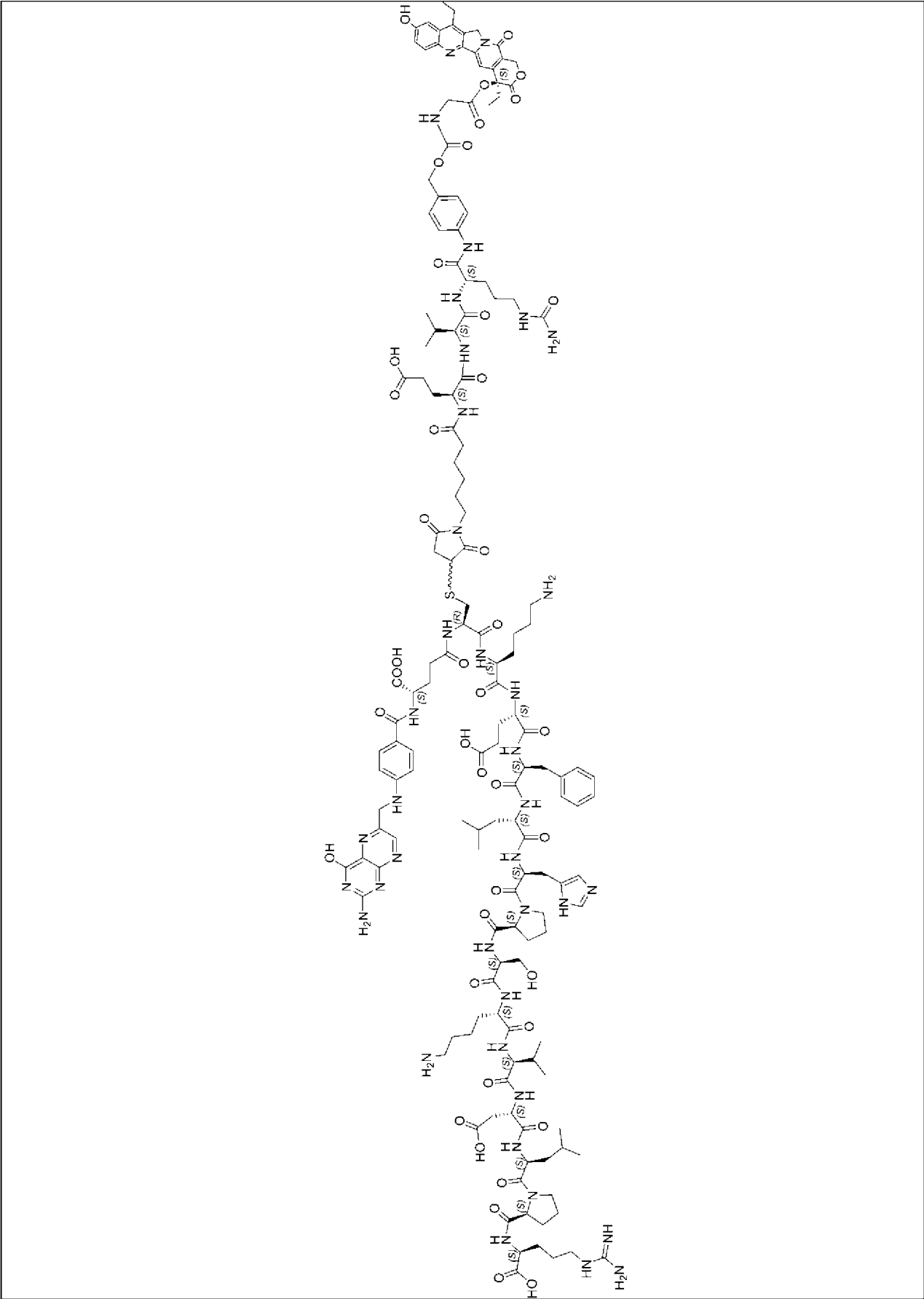


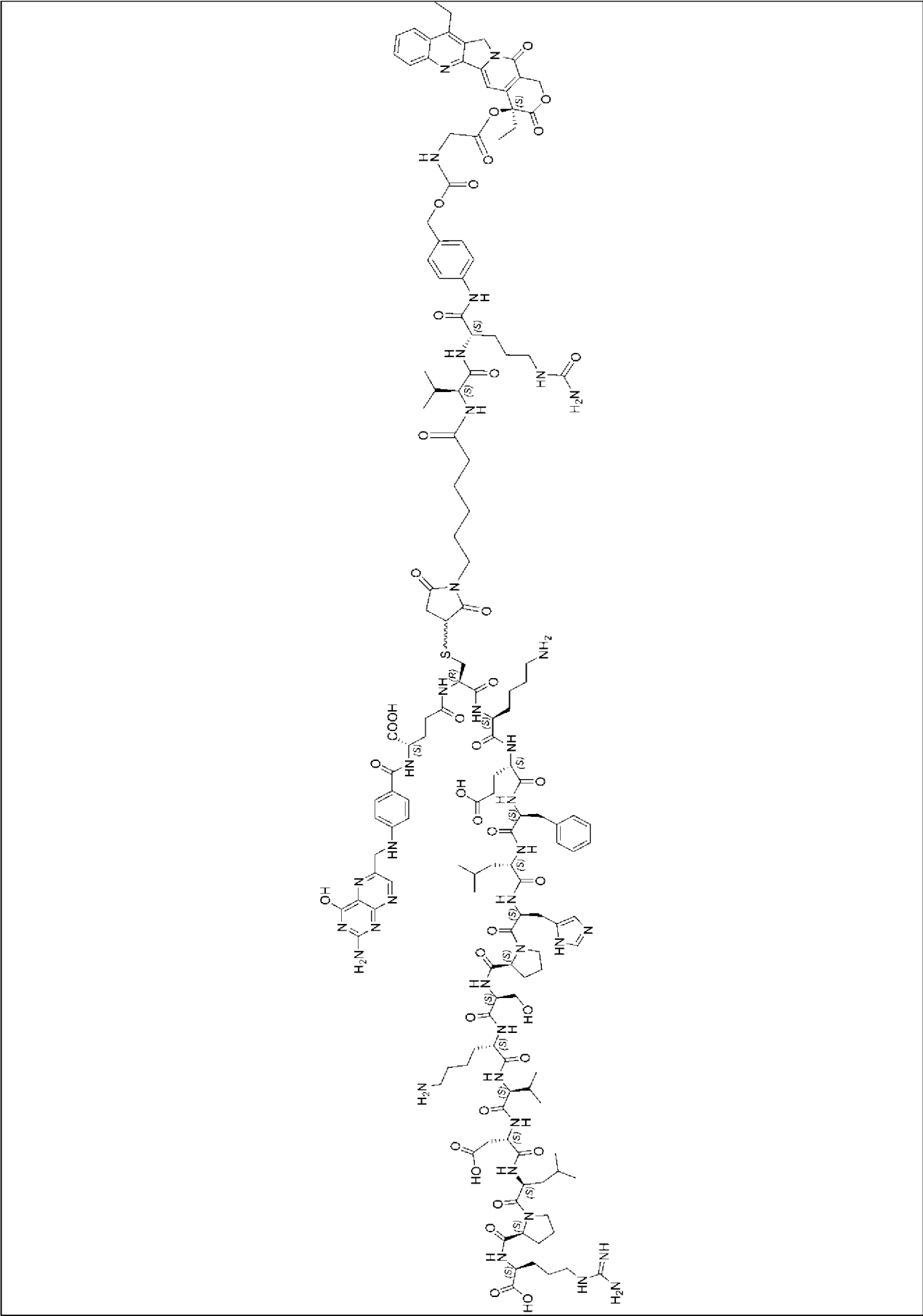


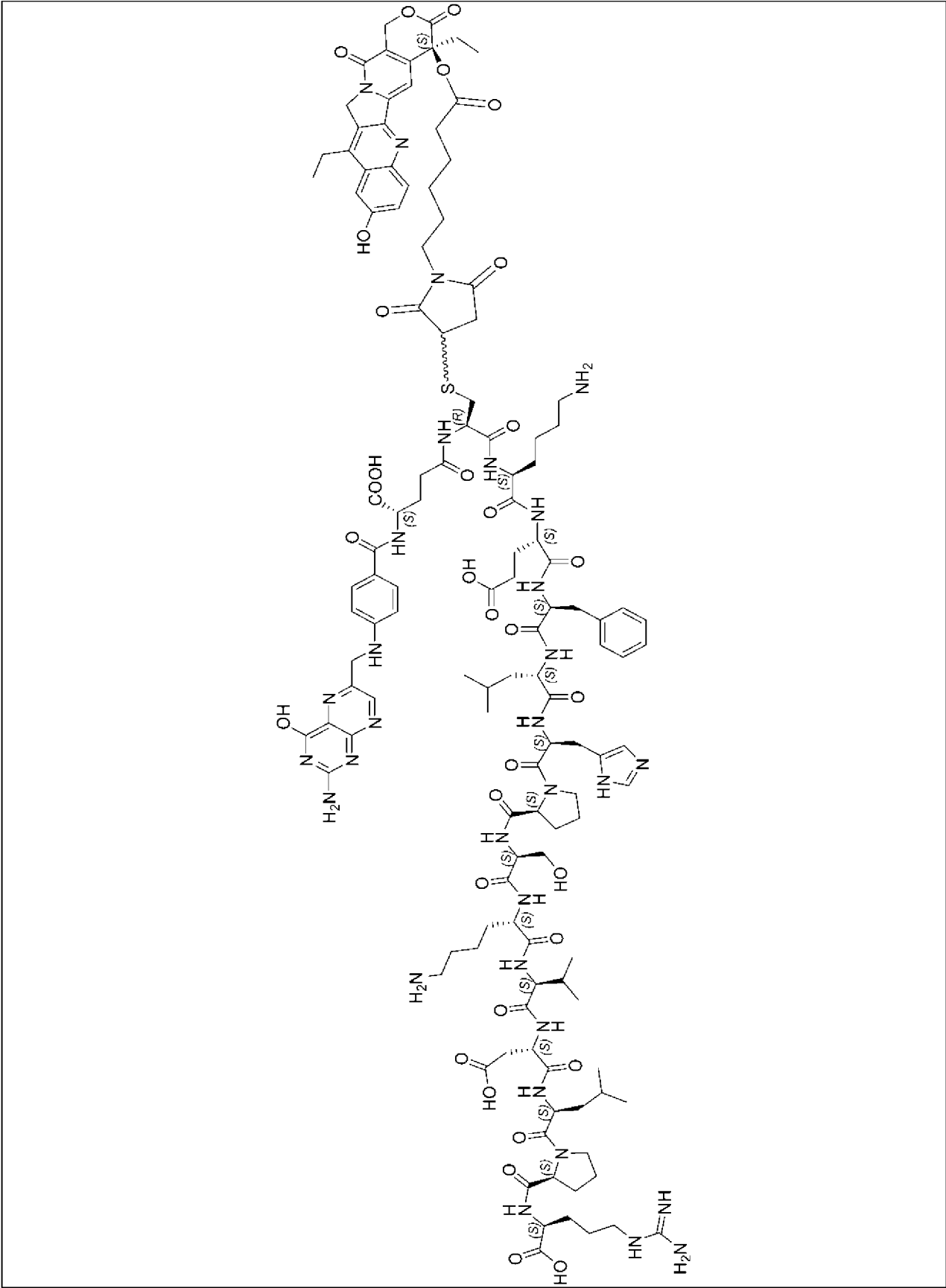


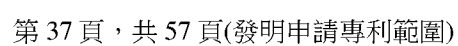


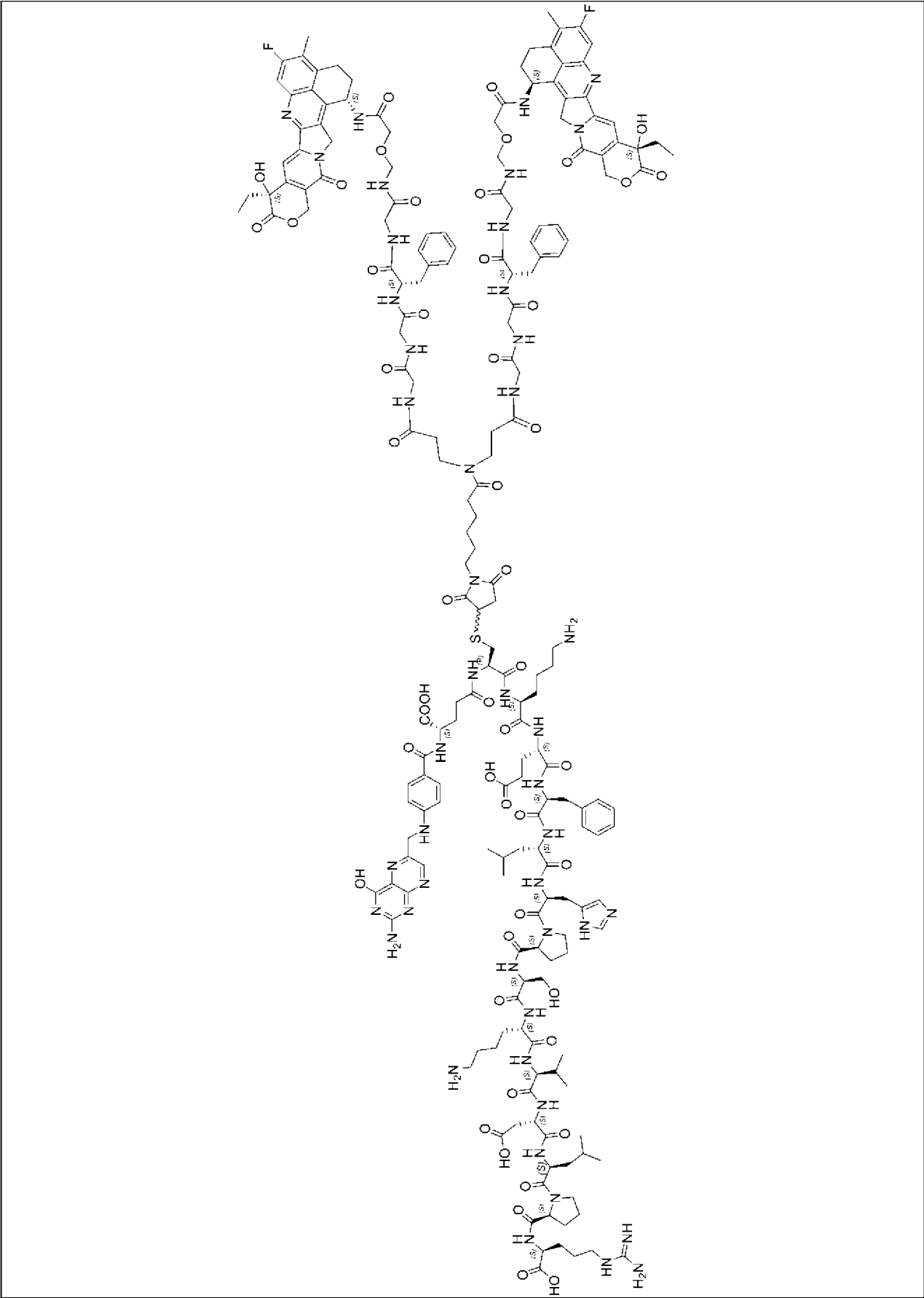


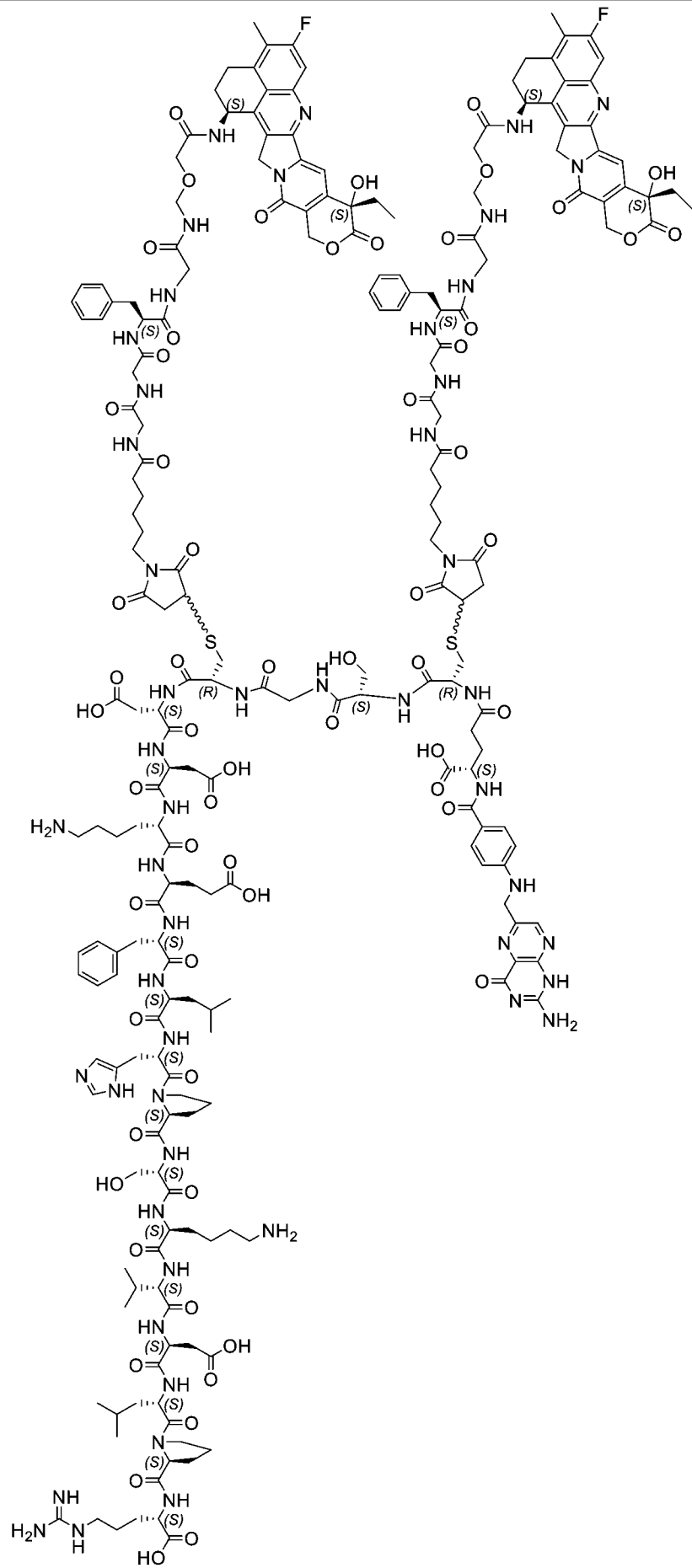


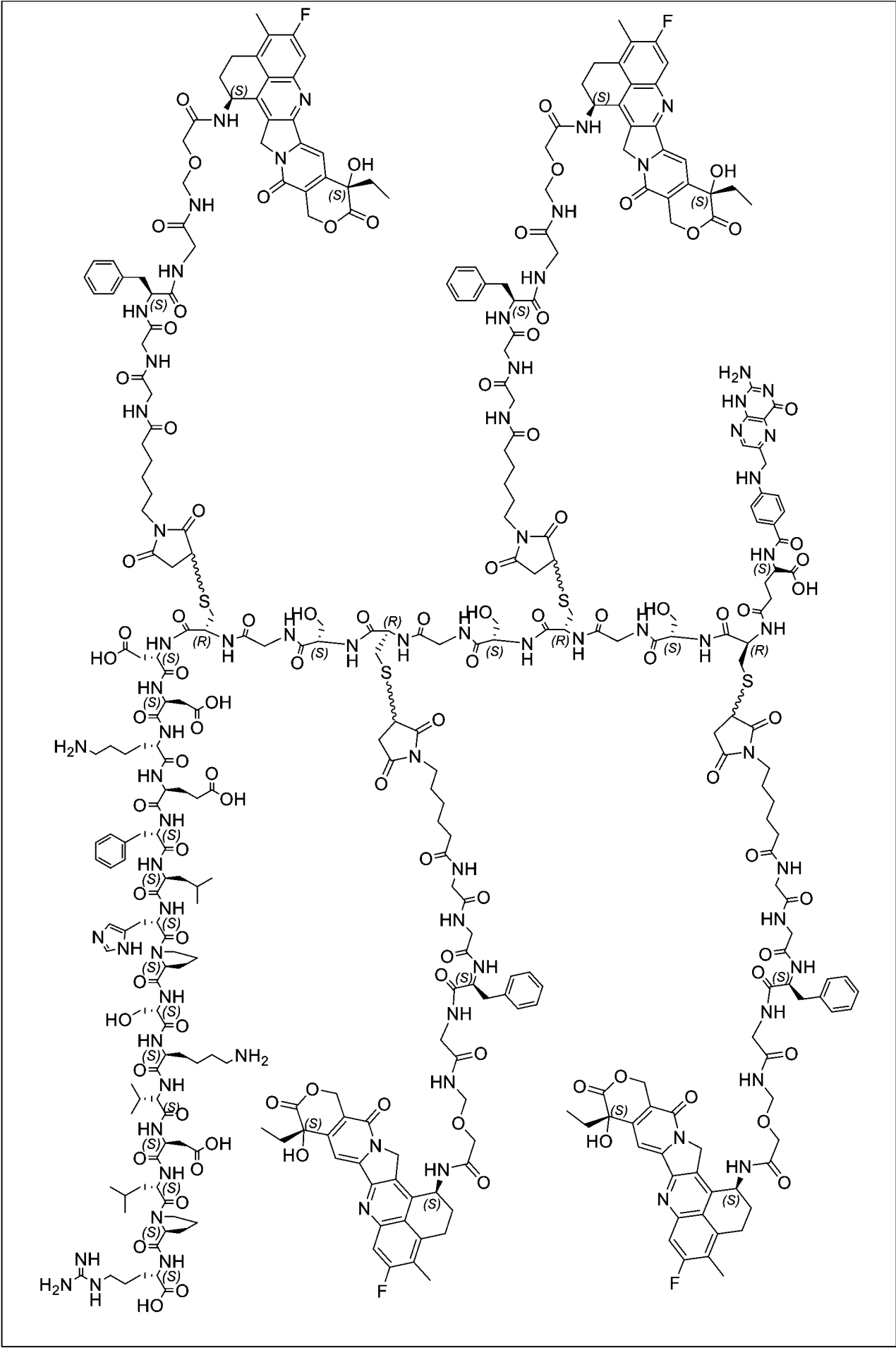


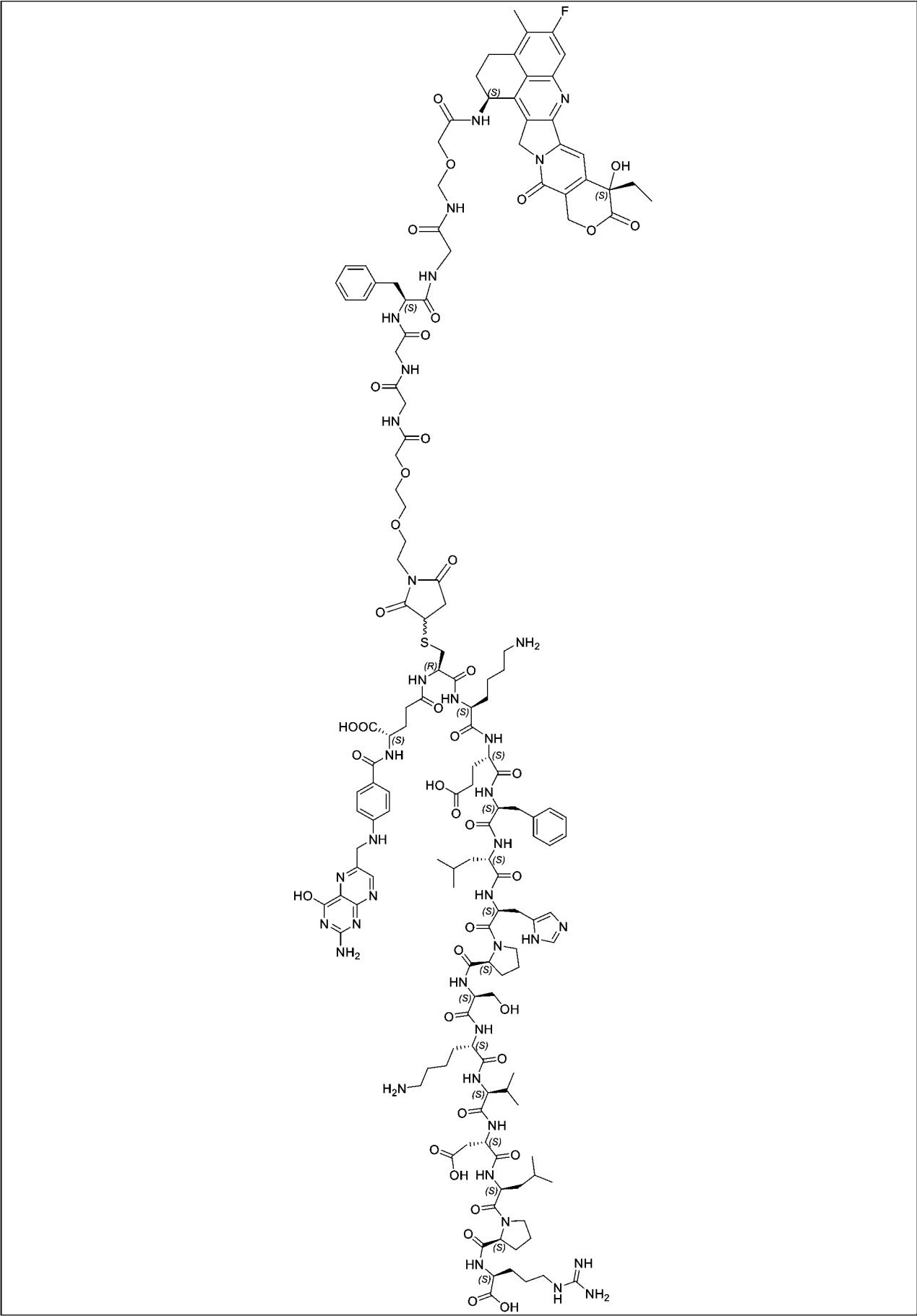


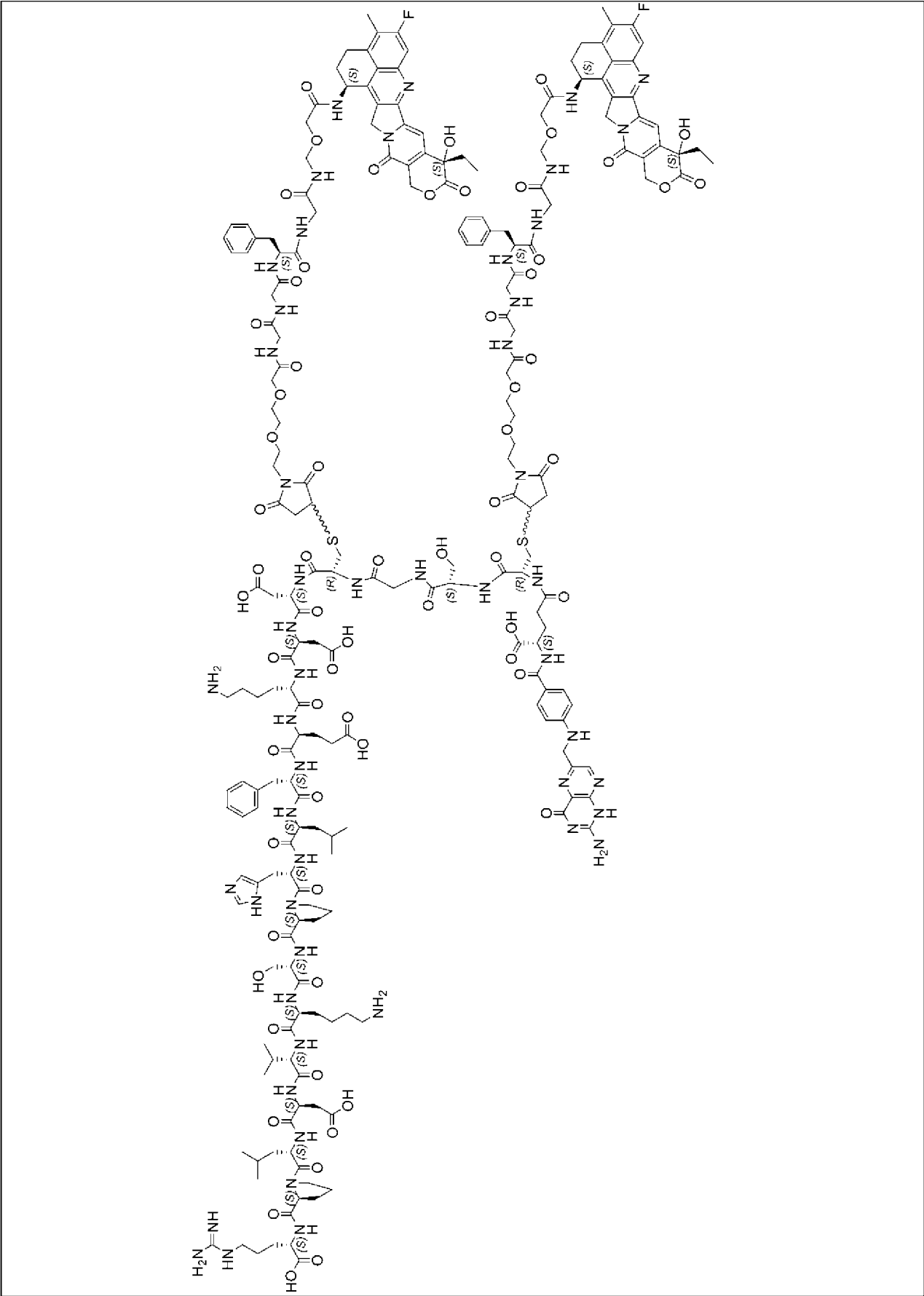


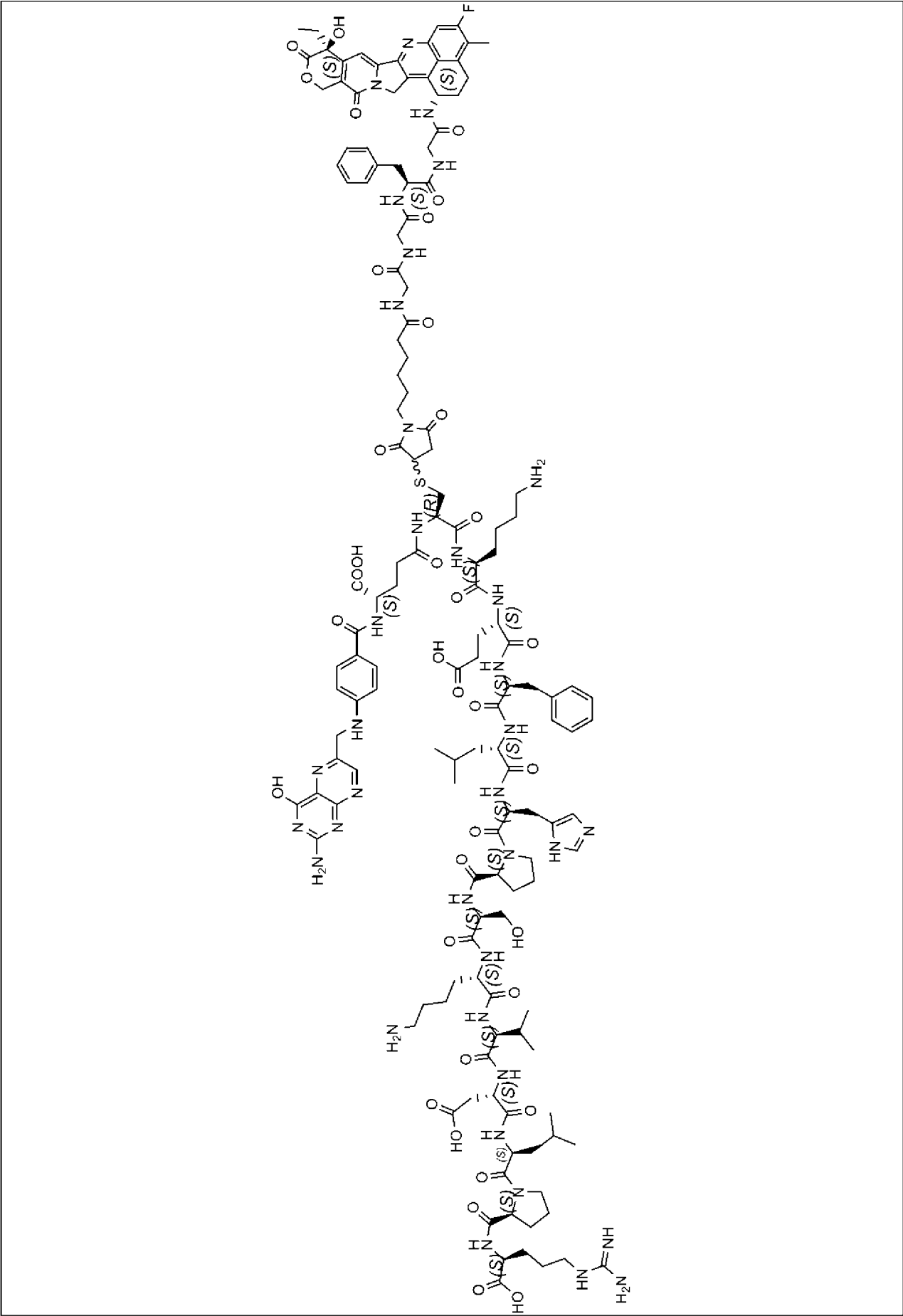


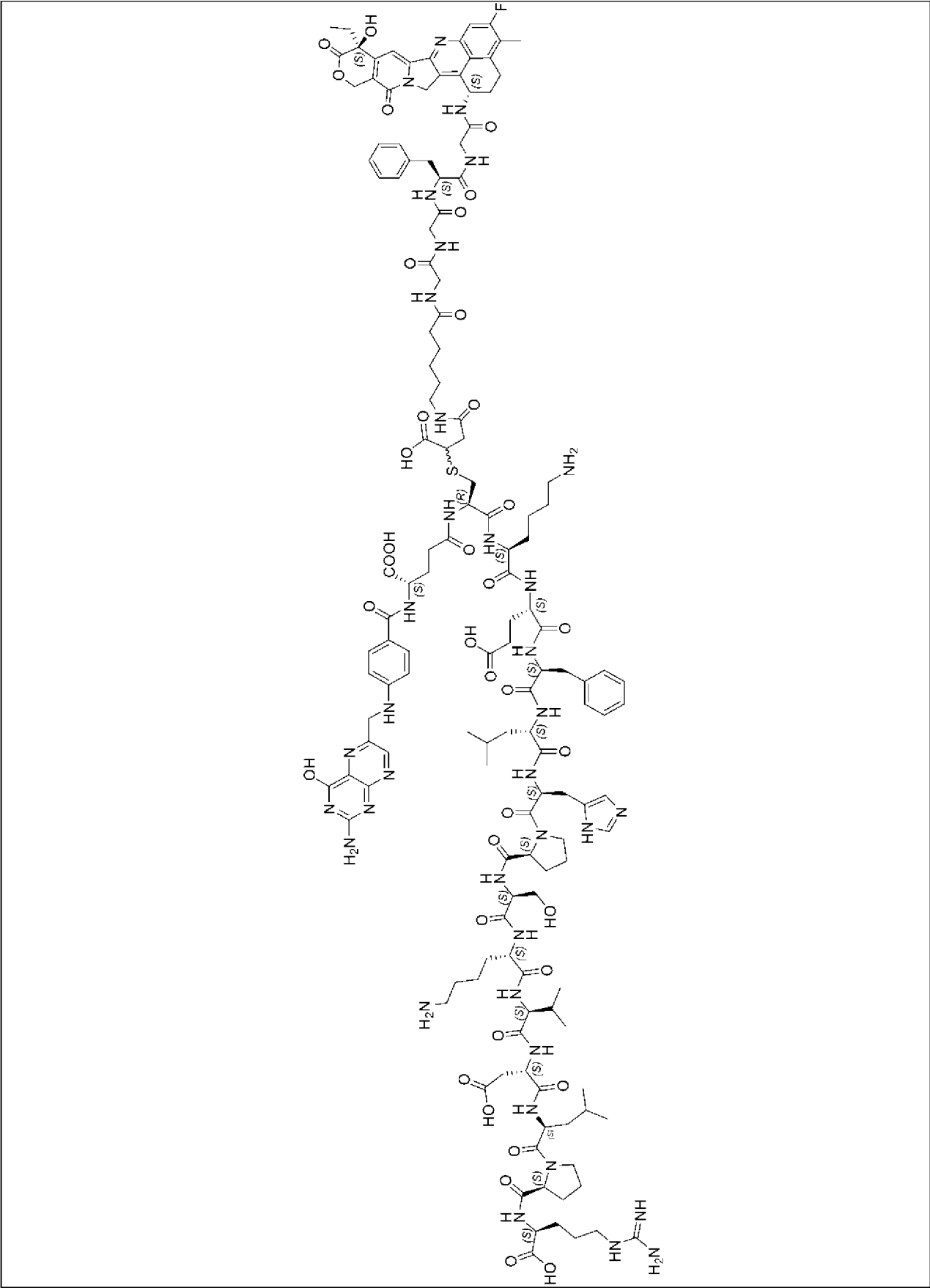


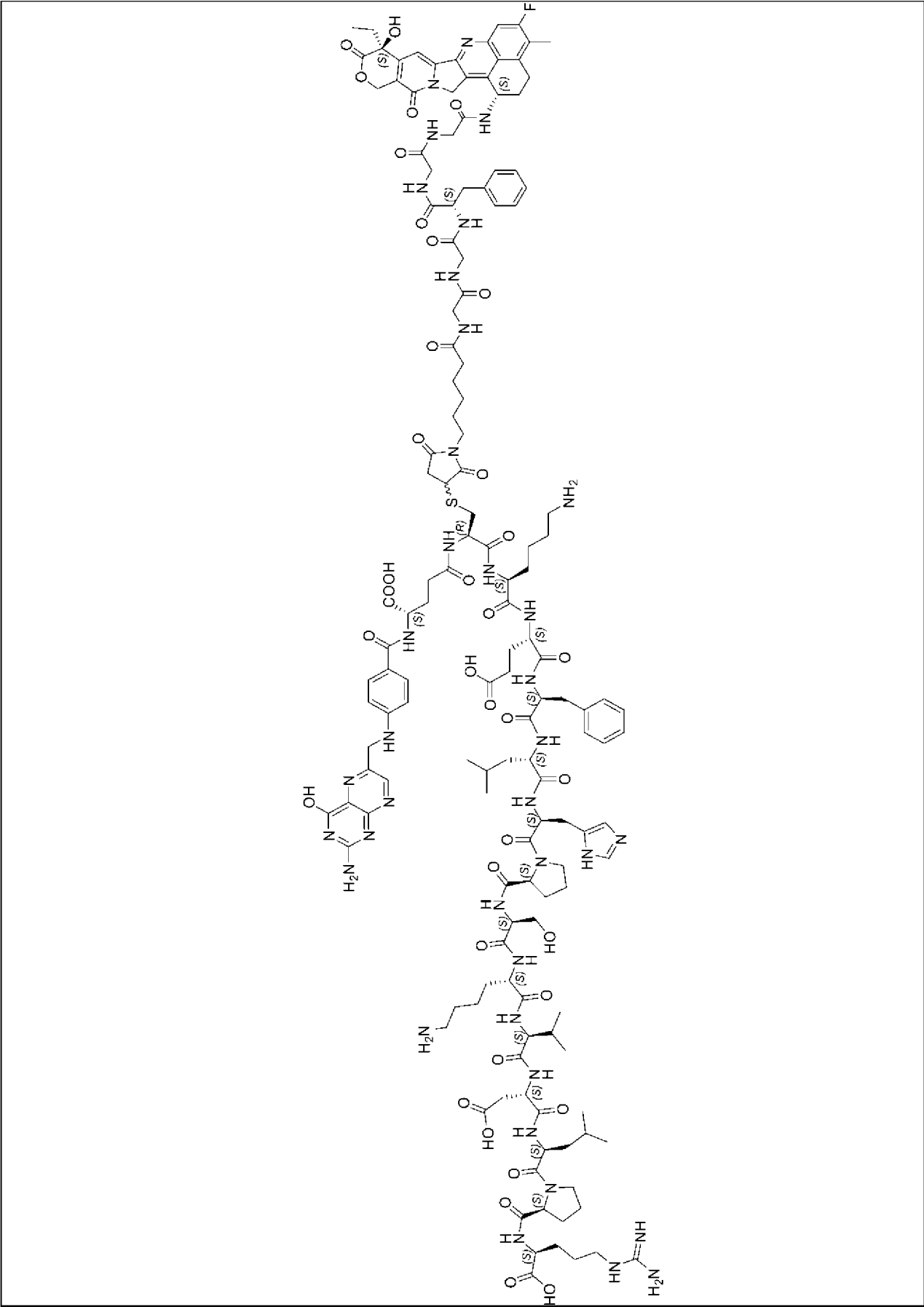


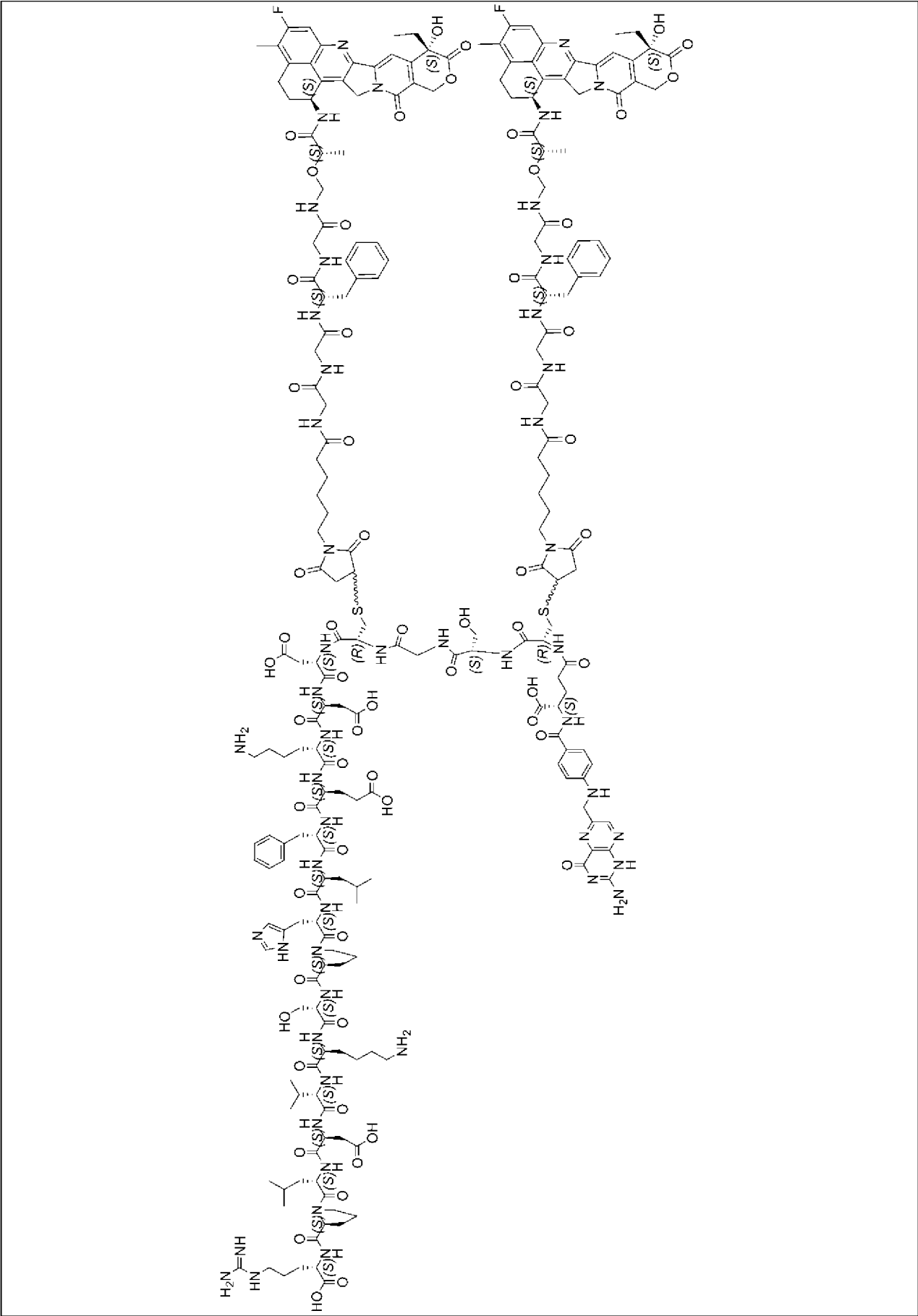


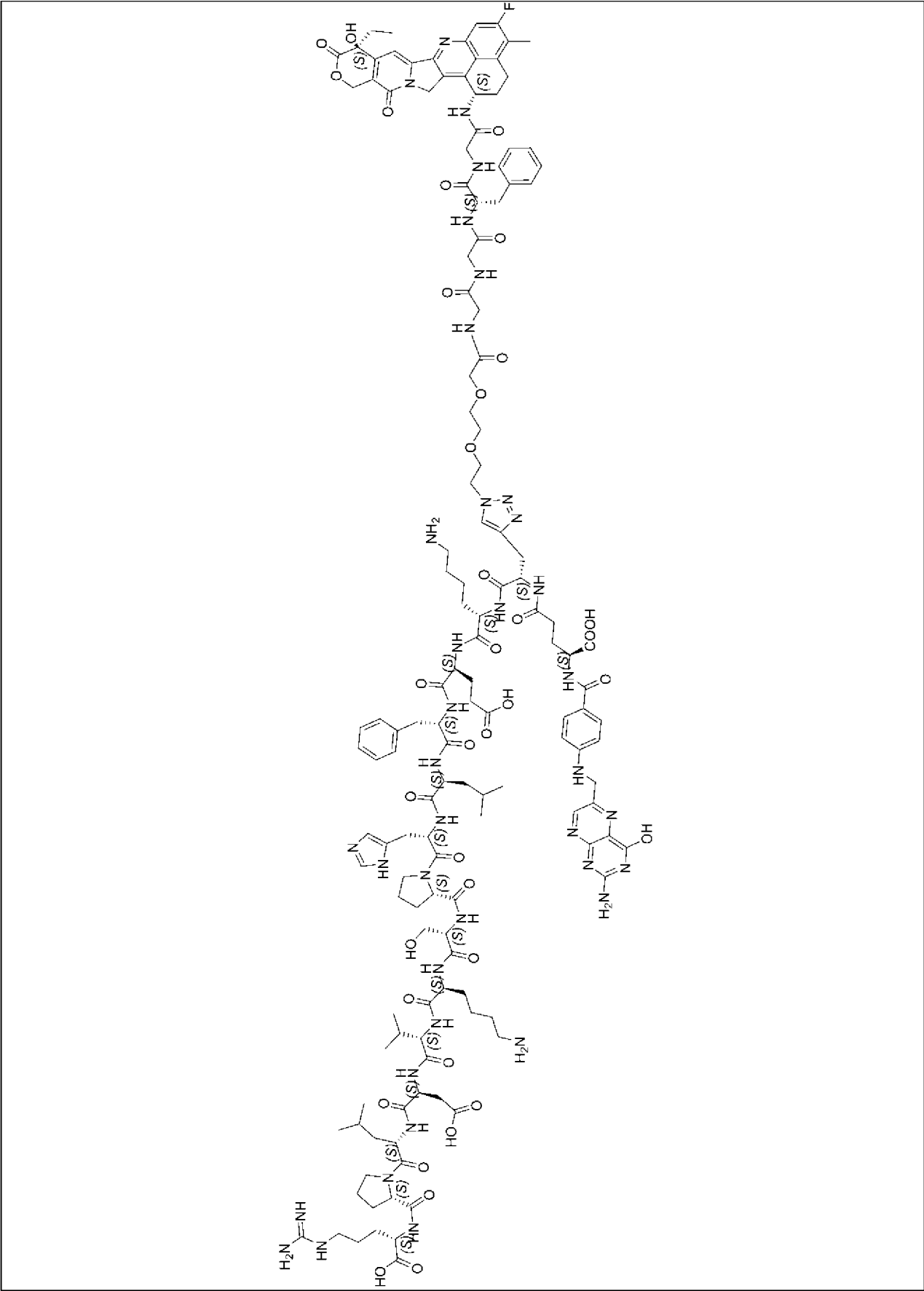


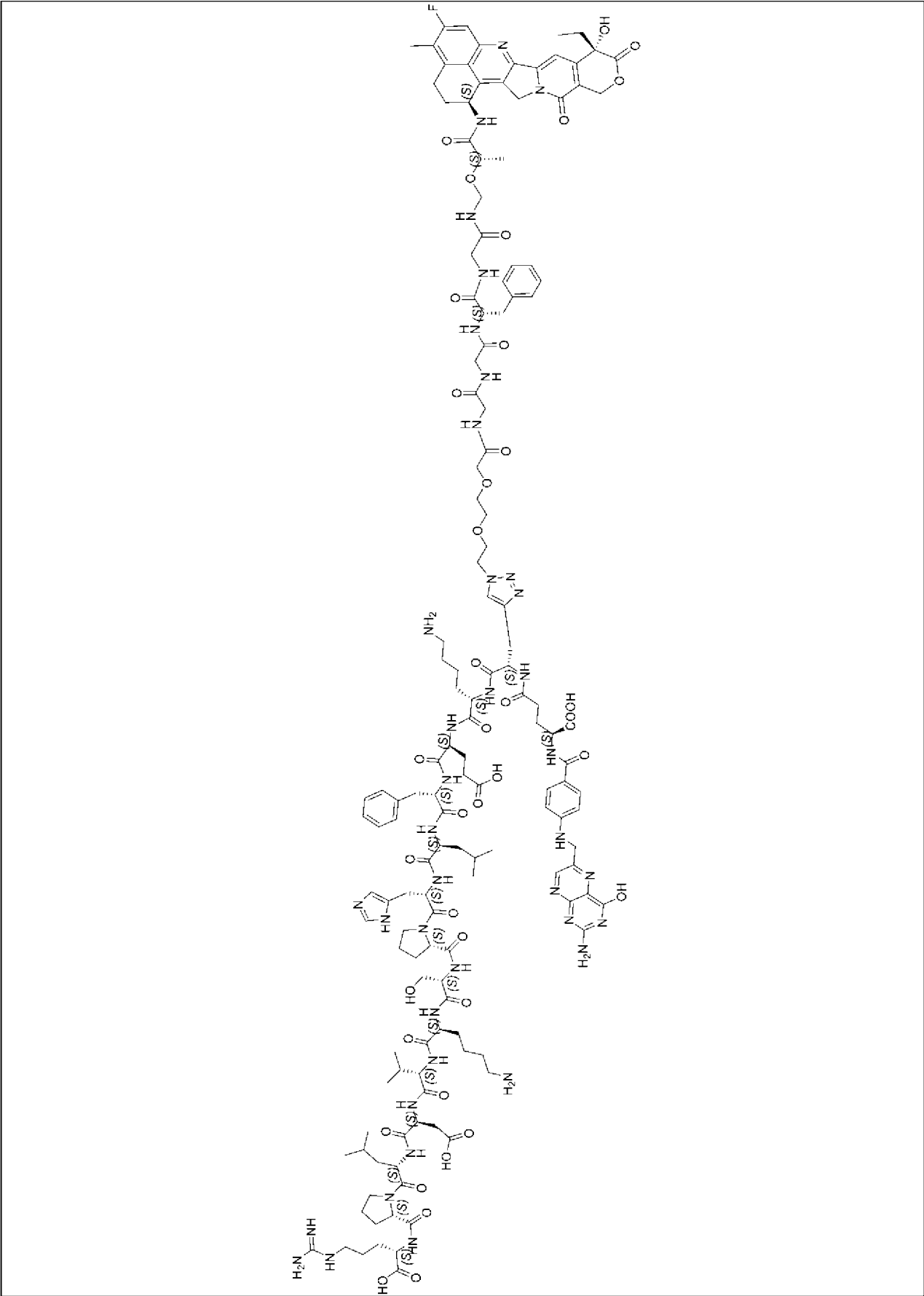


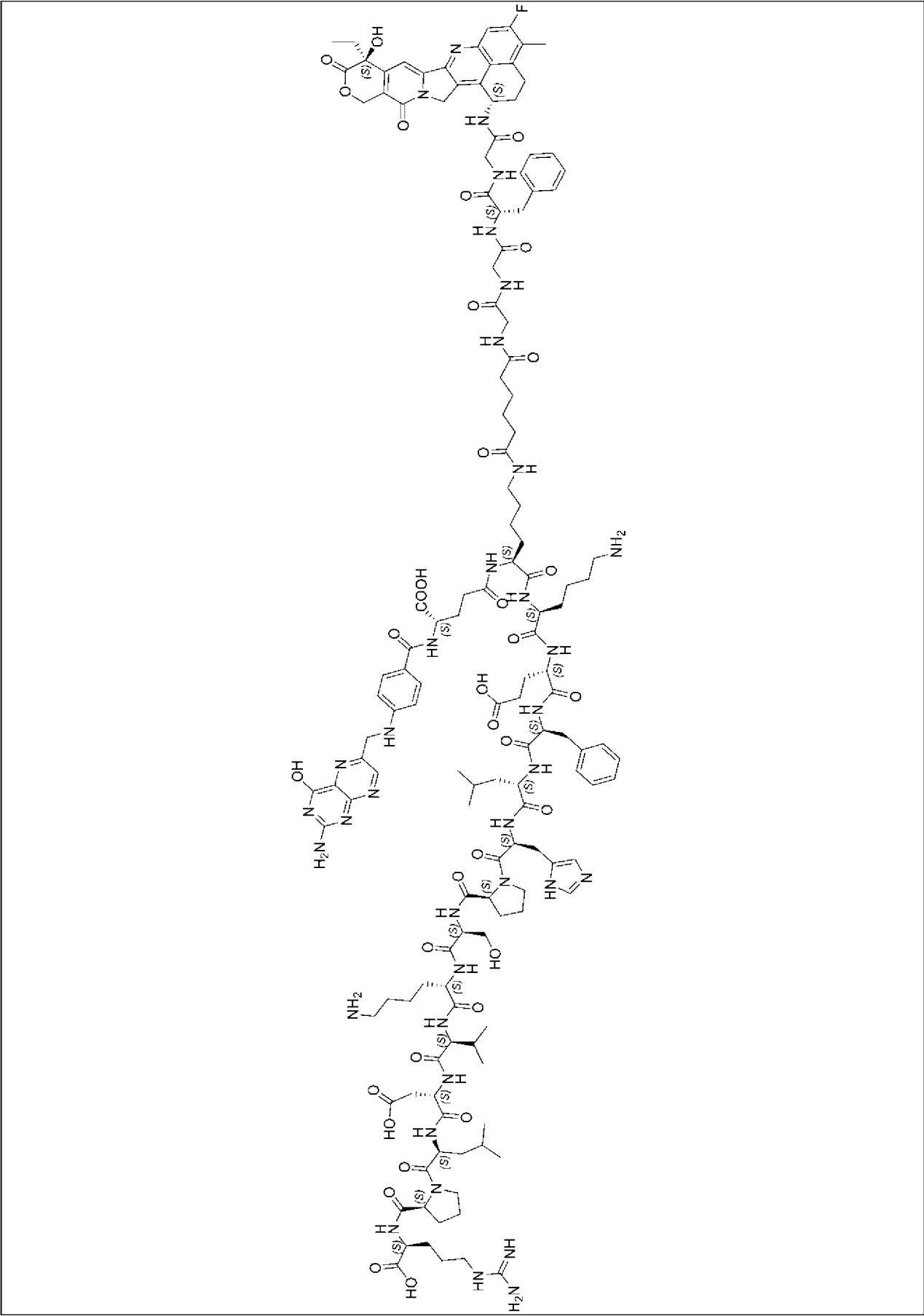


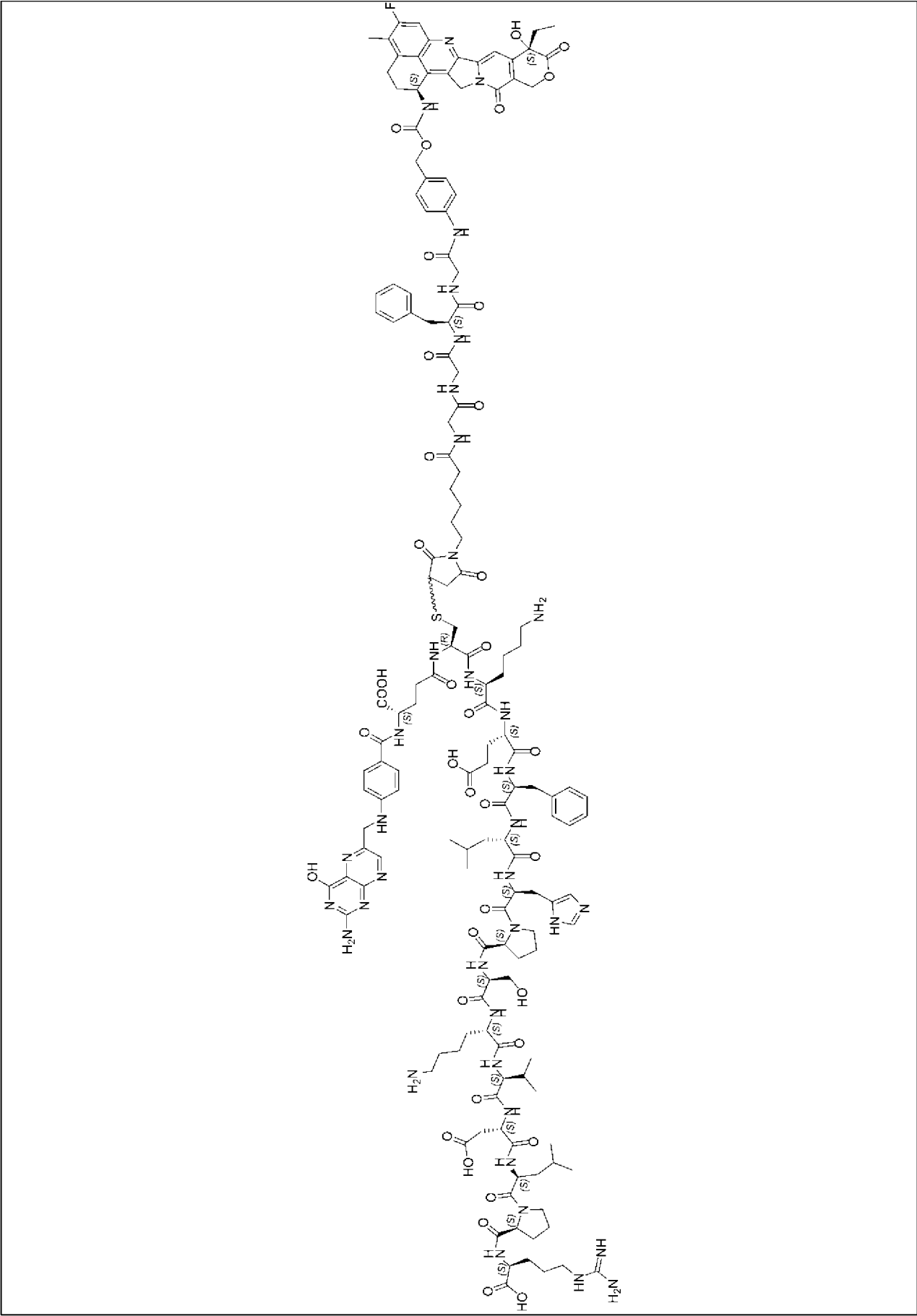


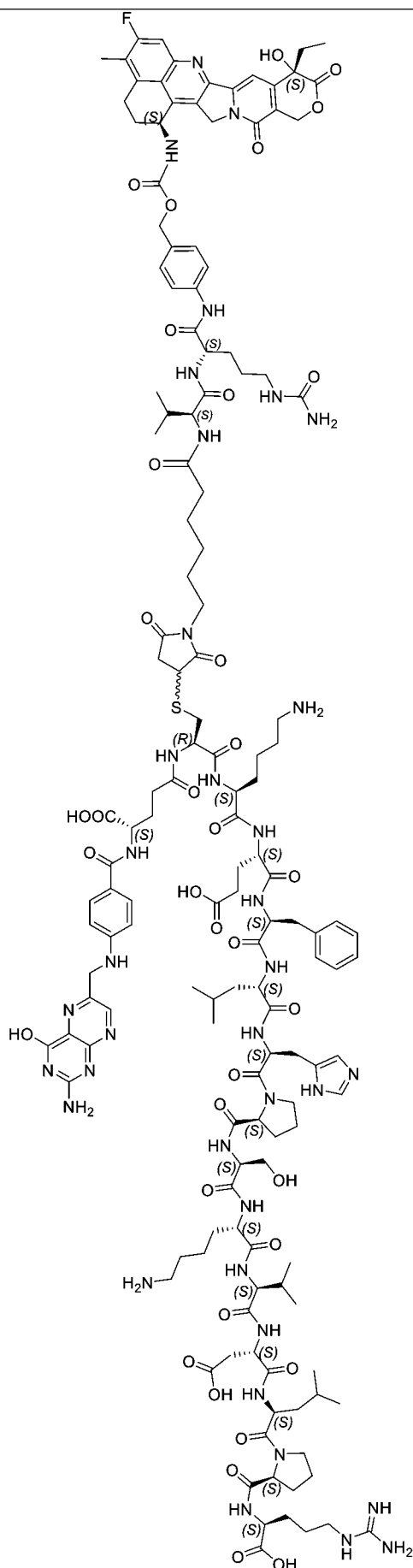


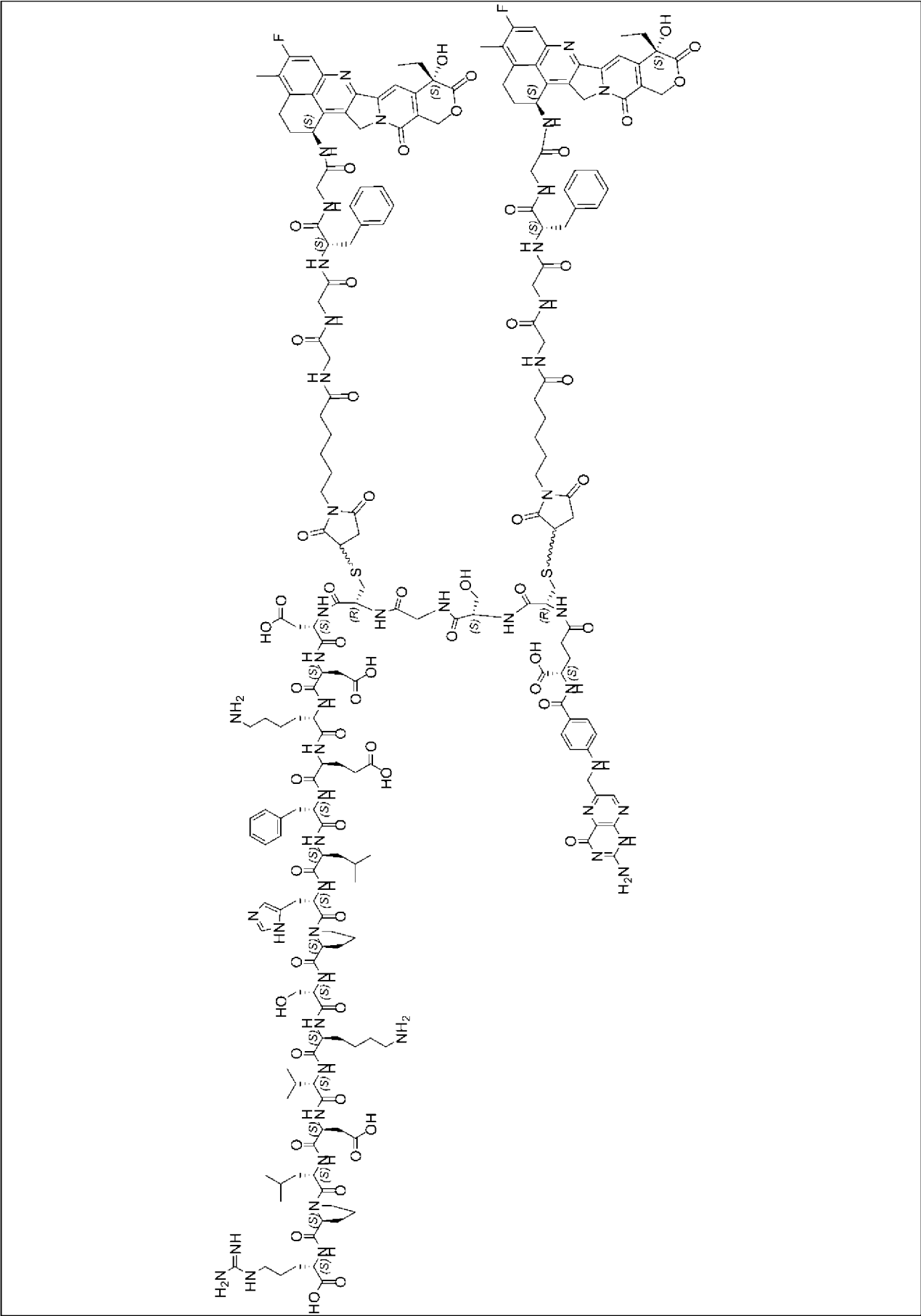


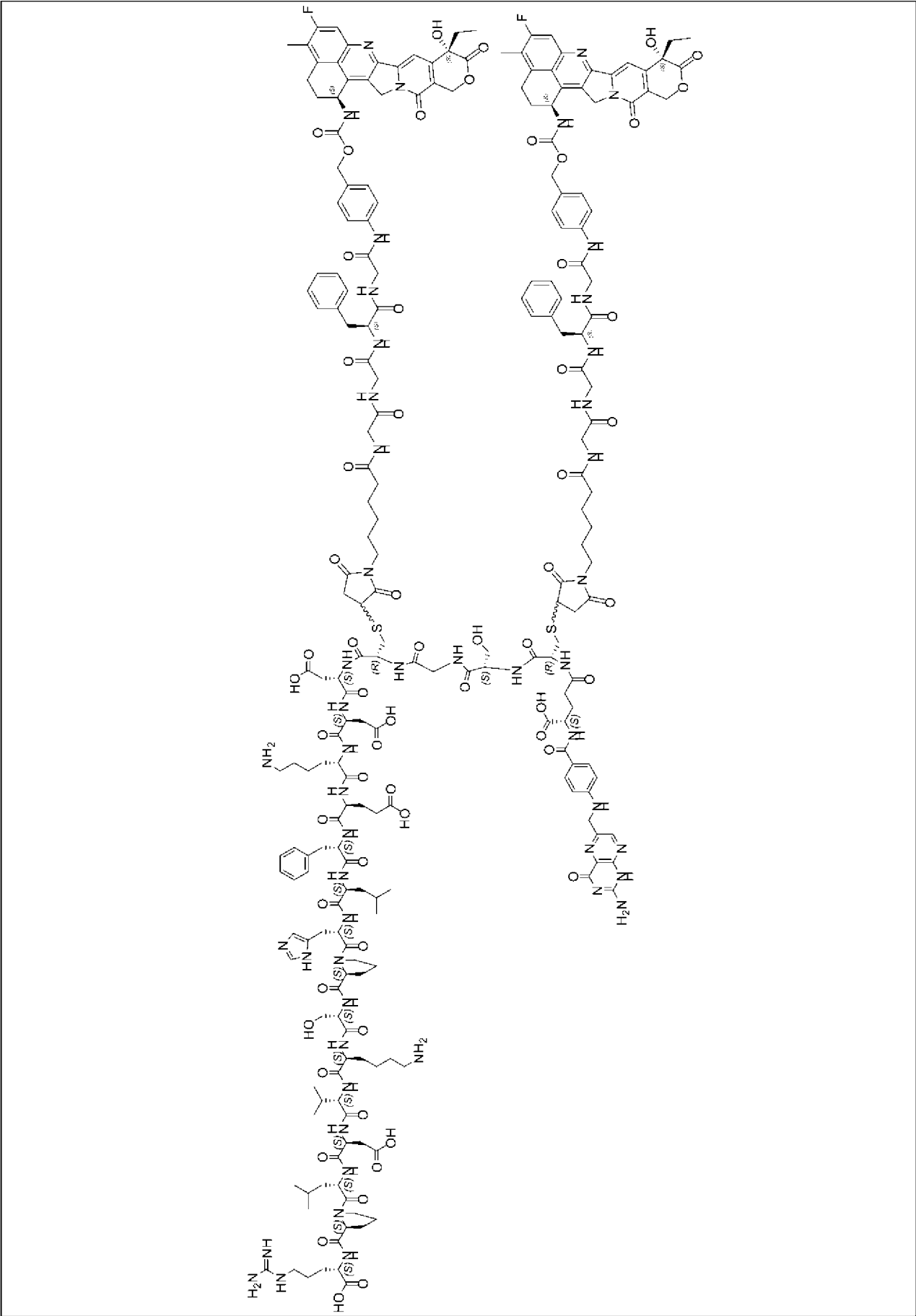


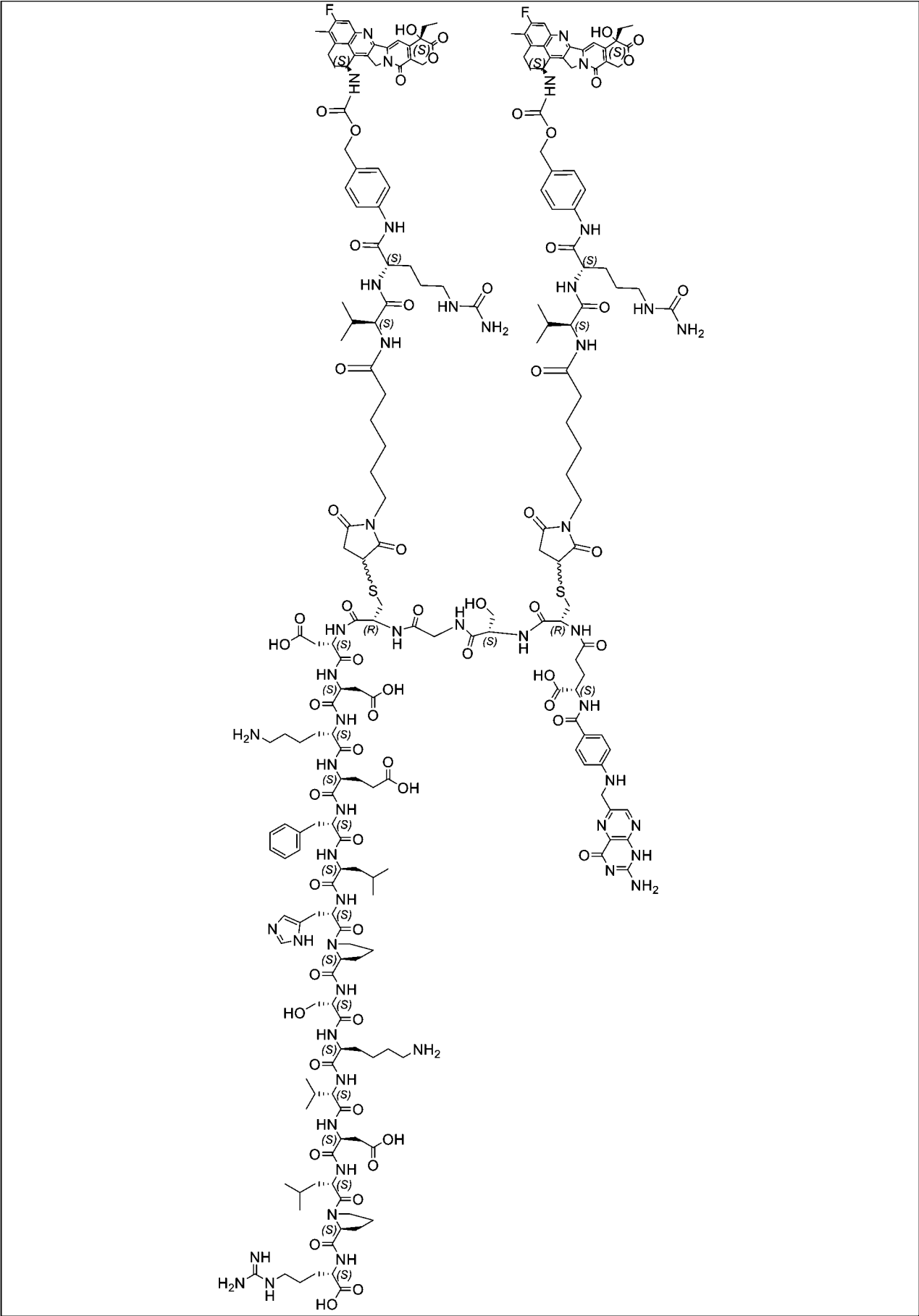












- 【請求項46】 一種藥物組合物，所述藥物組合物包含如請求項 1-45 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，以及藥學上可接受的載體。
- 【請求項47】 如請求項 46 所述的藥物組合物，其中，該組合物用於靜脈內、皮下、口服、肌內或心室內施用。
- 【請求項48】 一種用於向有需要的對象遞送有效負載的方法，該方法包括向該對象施用治療有效量的如請求項 1-45 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，或者如請求項 46 或 47 所述的藥物組合物。
- 【請求項49】 一種用於治療對象中的疾病的方法，所述方法包括向該對象施用治療有效量的如請求項 1-45 中任一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，或者如請求項 46 或 47 所述的藥物組合物。
- 【請求項50】 如請求項 49 所述的方法，其中該疾病選自下組：癌症、免疫性疾病、代謝疾病和神經疾病。
- 【請求項51】 如請求項 50 所述的方法，其中該癌症選自下組：胰腺癌、膽道癌、肝癌、乳腺癌、甲狀腺癌、結直腸癌、食道癌、肺癌、腎癌、白血病、卵巢癌、胃癌、子宮癌、子宮內膜癌、結腸癌、睪丸癌、皮膚癌、前列腺癌、淋巴瘤和多發性骨髓瘤。
- 【請求項52】 如請求項 50 所述的方法，其中該免疫性疾病是自身免疫性疾病，較佳地，該自身免疫性疾病選自下組：結締組織病、系統性硬化症、類風濕性關節炎和系統性紅斑狼瘡。
- 【請求項53】 如請求項 50 所述的方法，其中該代謝疾病選自下組：糖尿病、痛風、肥胖症、低血糖症、高血糖症和血脂異常。

【請求項54】 如請求項 50 所述的方法，其中該神經疾病選自下組：阿茲海默症、帕金森氏症、亨廷頓舞蹈症、頭部損傷、多發性硬化症、眩暈、昏迷和癲癇。

【請求項55】 如請求項 49-54 中任一項所述的方法，其中該方法還包括將一種或多種治療劑與該偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，或者該藥物組合物聯合施用。

【請求項56】 如請求項 1-45 中任意一項所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，或者如請求項 46 或 47 所述的藥物組合物在用於製備治療對象中的疾病的藥物中的用途。

【請求項57】 如請求項 56 所述的用途，其中該疾病選自下組：癌症、免疫性疾病、代謝疾病和神經疾病。

【請求項58】 如請求項 57 所述的用途，其中該癌症選自下組：胰腺癌、膽道癌、肝癌、乳腺癌、甲狀腺癌、結直腸癌、食道癌、肺癌、腎癌、白血病、卵巢癌、胃癌、子宮癌、子宮內膜癌、結腸癌、睪丸癌、皮膚癌、前列腺癌、淋巴瘤和多發性骨髓瘤。

【請求項59】 如請求項 57 所述的用途，其中該免疫性疾病是自身免疫性疾病，較佳地，該自身免疫性疾病選自下組：結締組織病、系統性硬化症、類風濕性關節炎和系統性紅斑狼瘡。

【請求項60】 如請求項 57 所述的用途，其中該代謝疾病選自下組：糖尿病、痛風、肥胖症、低血糖症、高血糖症和血脂異常。

【請求項61】 如請求項 57 所述的用途，其中該神經疾病選自下組：阿茲海默症、帕金森氏症、亨廷頓舞蹈症、頭部損傷、多發性硬化症、眩暈、昏迷和癲癇。

【請求項62】 如請求項 56 所述的用途，其中該偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物的給藥頻率為每週一次、每週兩次、每週三次、每三天一次、每兩天一次、每天一次、每天兩次或每天三次。

【請求項63】 如請求項 56 所述的用途，其中該偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物的給藥頻率為每週一次。

【請求項64】 如請求項 56 所述的用途，其中該偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物的給藥頻率為每天三次。

【請求項65】 如請求項 56 所述的用途，其中該偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物以 1-150mg/kg 的該偶聯體化合物的劑量範圍施用。

【請求項66】 如請求項 56 所述的用途，其中該偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物以 1mg/kg、3mg/kg、10mg/kg、25mg/kg、50mg/kg、75mg/kg、100mg/kg 或 150mg/kg 的該偶聯體化合物的劑量施用。

【請求項67】 如請求項 56 所述的用途，其中該偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物以 50 mg/kg 的該偶聯體化合物的劑量施用。

【請求項68】 如請求項 56 所述的用途，其中該偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物以 25 mg/kg 的該偶聯體化合物的劑量施用。

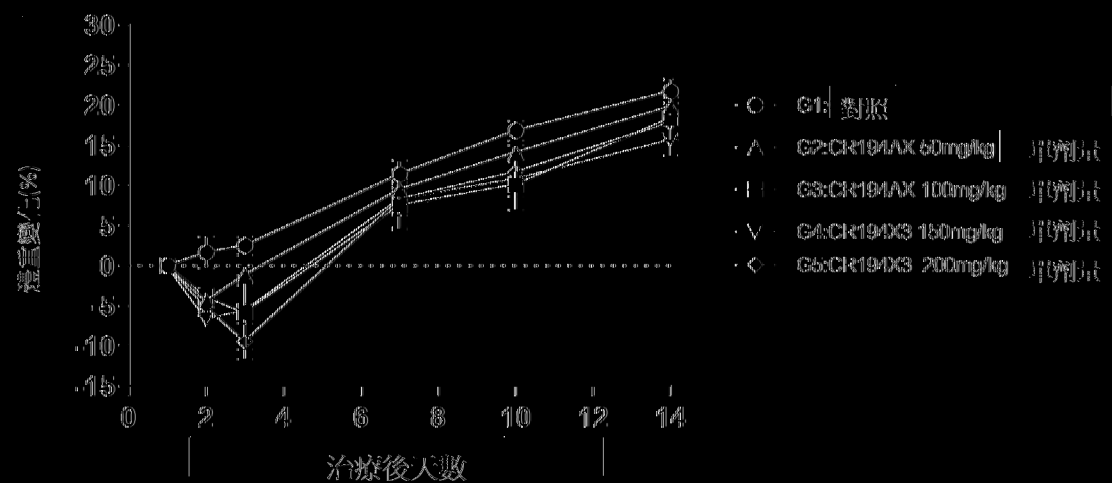


圖 3A

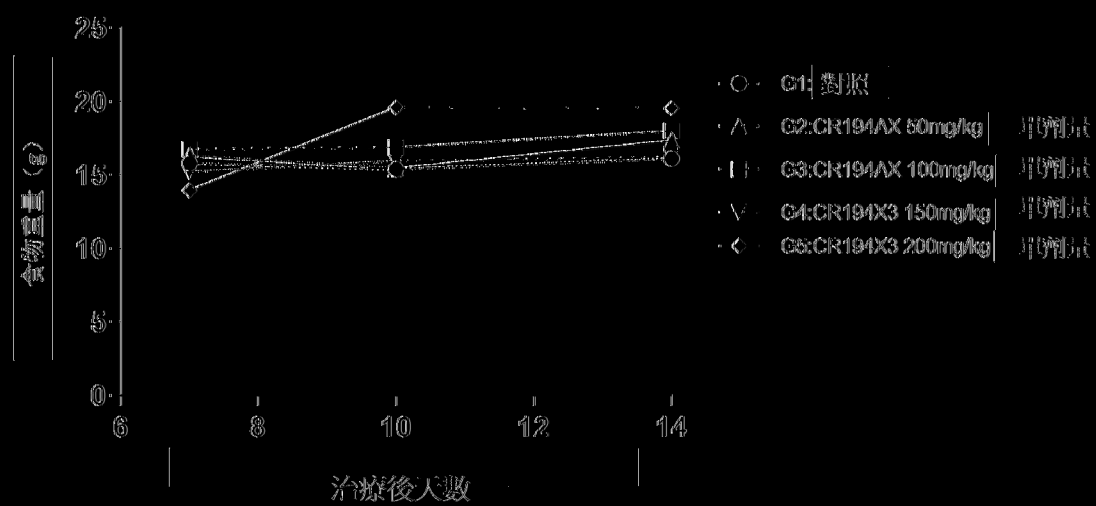


圖 3B

【發明說明書】

【中文發明名稱】 配體藥物偶聯物及其應用

【技術領域】

【0001】 本案涉及生物醫藥化學領域。更具體地，本案涉及一種配體藥物偶聯體，以及所述配體藥物偶聯體的應用。

【先前技術】

【0002】 抗體-藥物偶聯體（ADC）是一種透過化學連接將能夠靶向細胞表面分子的抗體和具有生物活性的分子進行偶聯，借助抗體的靶向作用，將生物活性分子定向運輸到目標細胞中，可提高療效並降低細胞毒素對正常組織、細胞的毒性。但是，由於ADC中抗體的複雜性和具有較大分子量，使其研發面臨著許多困難，包括缺乏適宜的靶點、生產困難和藥物穩定性較差。目前，ADC主要用於腫瘤治療領域。在一些情況下，靶向抗體對癌細胞表面抗原的親和性能夠高達 $10^{-9} \sim 10^{-12}$ （Kd，莫耳/升），因此在對靶細胞具有較高特異性的同時，ADC對與靶細胞具有相同靶向受體的正常細胞也具有較高的特異性。同時，由於ADC在體內的代謝時間較長（1至3週），在此期間其會不斷地殺傷正常細胞，因而極大地增加了ADC的毒副作用。因此，ADC更理想的適應症應當是其特徵為在腫瘤和正常細胞中的細胞表面抗原量相差非常懸殊的疾病。然而，目前所知滿足此嚴格要求的疾病非常少。此外，在抗體藥物偶聯體的製備中，藥物與抗體之比通常不能確定，影響了ADC的藥效和毒性評價。

【0003】 將具有生物活性的分子靶向運輸到目標細胞中的藥物偶聯體化合物還可以是配體-藥物偶聯體（LDC），其中配體可以是肽或小分子。與抗體藥物偶聯體中以抗體進行靶向定位相比，配體藥物偶聯體則是採取肽或小分子定向，配體藥物偶聯體中的具有靶向作用的配體和藥物通常都會有準確值。然而，從生物利用度、穩定性、療效到毒性等方面，LDC的應用也面臨很多挑戰。例如，很多配體由於其具有較大分子量、親脂性或其他屬性使其不能進入細胞，這限制了其治療應用。此外，透過連接子適時和精確的釋放具有生物活性的分子也十分重要，例如，過早釋放藥物可能達不到理想的療效甚至可能導致動物中毒死亡。而對於生物活性分子的選擇，如果配體與常規化療藥物（例如，多柔比星、紫杉醇等）偶聯，則療效通常較低，而如果其與高效藥物分子（例如，MMAE、DM1等）偶聯，則毒性較大，甚至可能在達到腫瘤治療的治療有效量之前就導致動物中毒死亡。因此，配體、連接子、生物活性分子的選擇是LDC設計的關鍵要素。

【0004】 靶向配體設計需要考慮結合親和力、標靶選擇性和化合物的大小。良好的配體結合親和力和選擇性能合理地降低實現高效治療所需的藥物劑量，減少毒副作用。配體的大小也會透過不同的機制影響生物活性分子向目標細胞（例如，毒性劑向實體瘤）的遞送，包括滲透性。低分子量的治療藥物更容易釋放和擴散，同時，也更容易被代謝。因此，即使藥物脫靶，通常也能夠及時從體內排泄，從而減少正常細胞中的不良毒性。配體的選擇範圍更廣，但卻不如抗體那樣直接，篩選合適的配體通常需要耗費很多精力。連接子（Linker）作為靶向配體和生物活性分子之間的連結，為了保留靶向配體的親和力和選擇性，以及生物活性分子的功效，需要被精心設計，以實現優化藥物

釋放、藥物動力學和藥效學性質等功能。對於細胞毒性分子的選擇，則需要考慮釋放速率、細胞活性、胞內的穩定性等。

【0005】 因此領域內還迫切需要獲得改進的LDC。尤其是設計精良的連接子，以使得LDC獲得期待的效果，配體部分和生物活性分子保留期待的性質和功能，增強藥效或降低藥物副作用。

【發明內容】

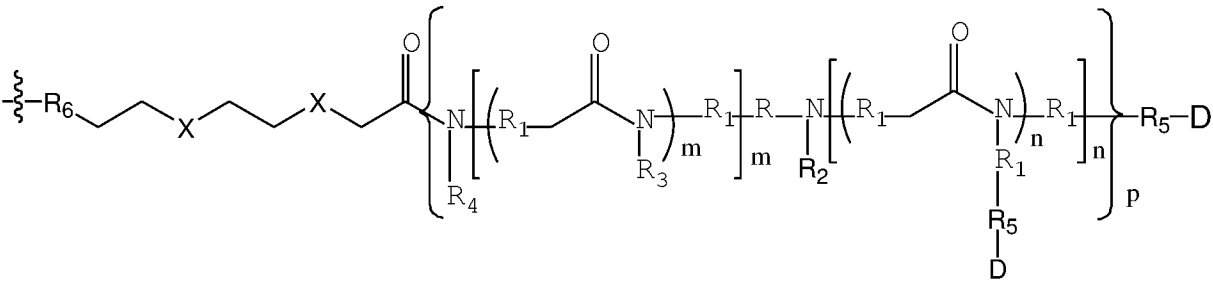
【0006】 本案的一個方面提供了一種偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，所述偶聯體化合物具有以下結構：

多配體部分—(連接子—有效負載)_q，

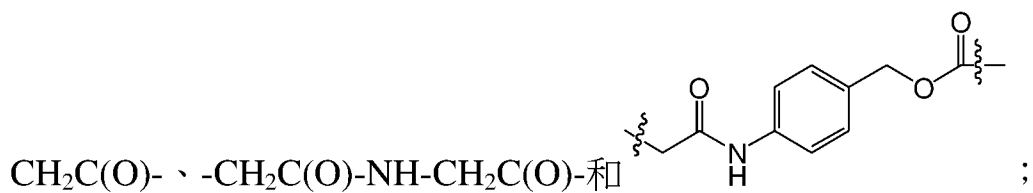
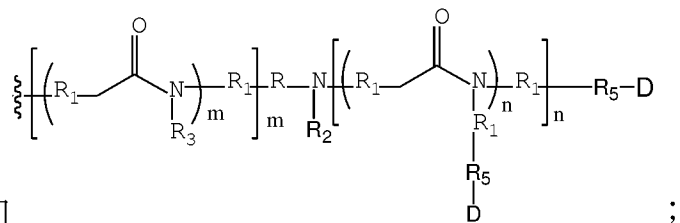
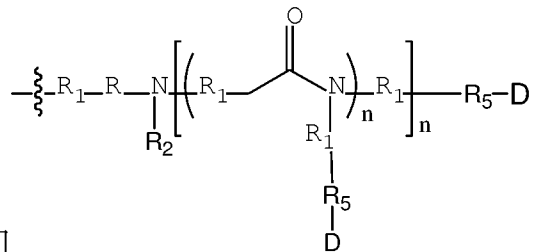
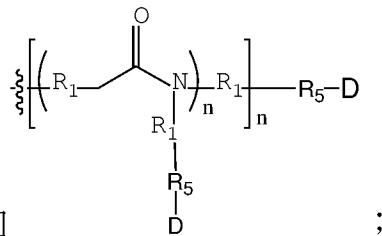
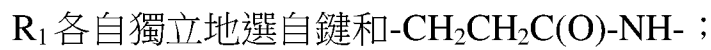
其中：

所述多配體部分包含至少兩個靶向不同細胞表面分子的配體，

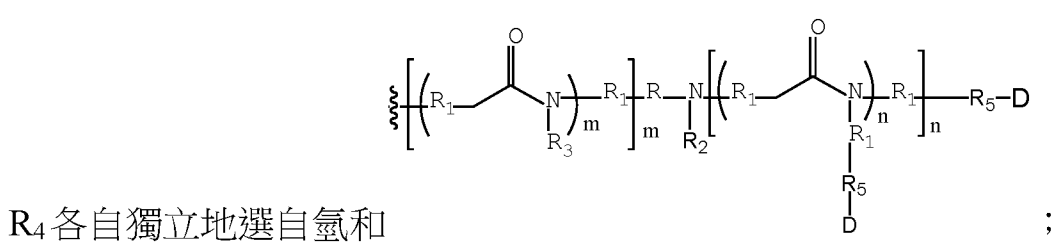
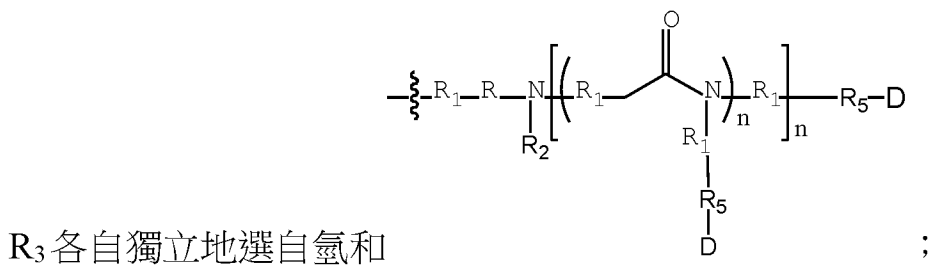
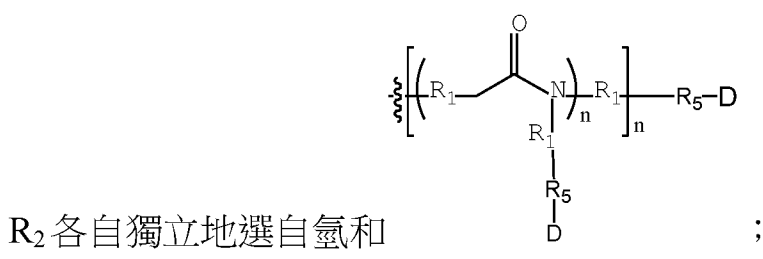
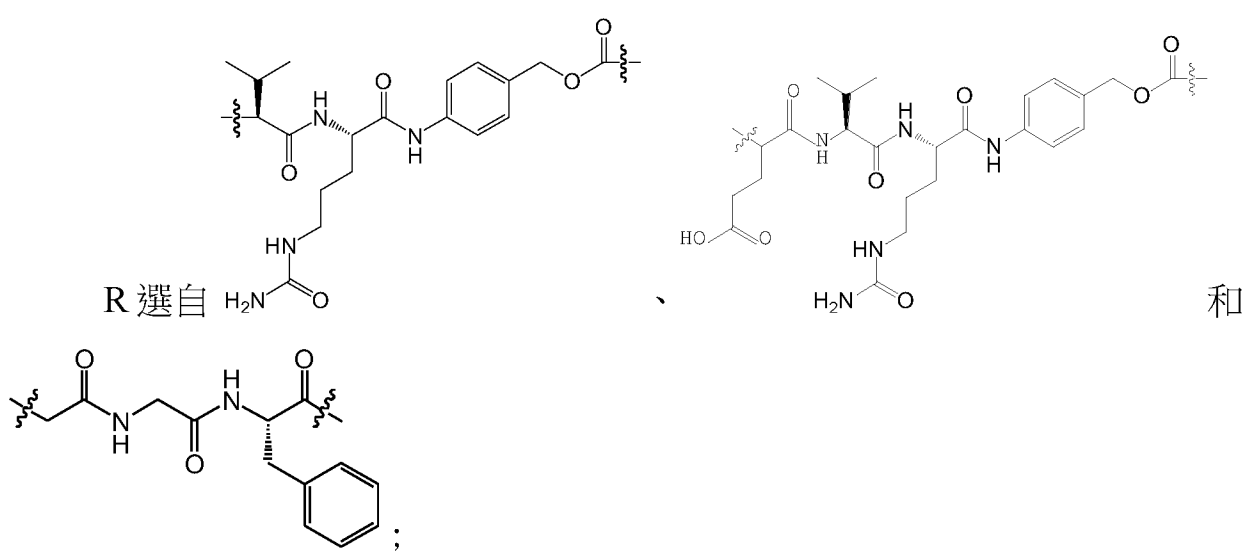
所述連接子-有效負載部分具有以下結構：



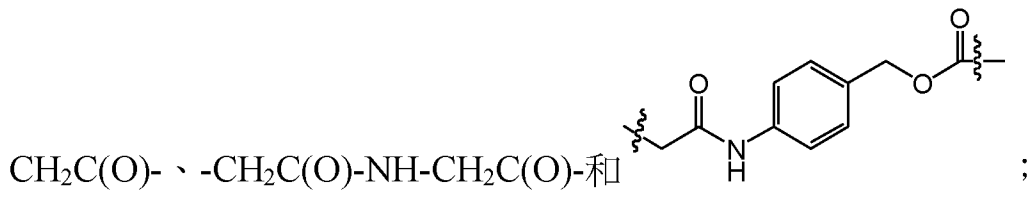
其中：



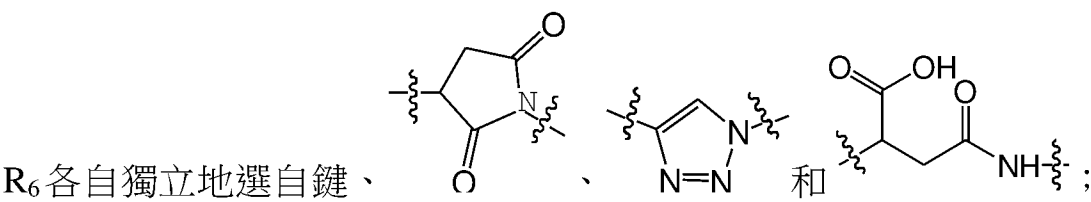
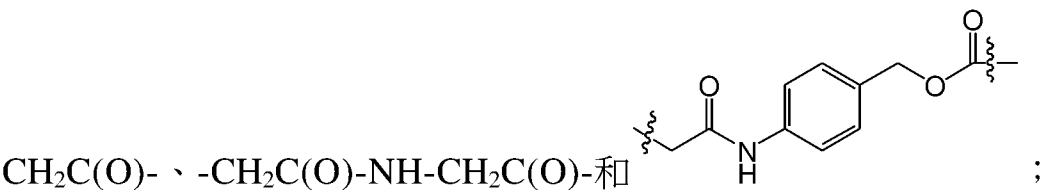




R₅ 各自獨立地選自鍵、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ 和 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-\text{NH}-$ ；



R₅各自獨立地選自鍵、-(CH₂CH₂O)₃-CH₂CH₂-、-CH₂C(O)-NH-CH₂-、-



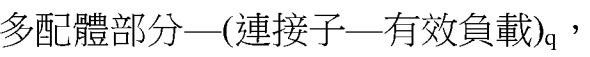
X 各自獨立地選自鍵、C 和 O ；

n 各自獨立地為 0 或 1 ；

q 為 1 至 4 的整數 ；

D 為有效負載 。

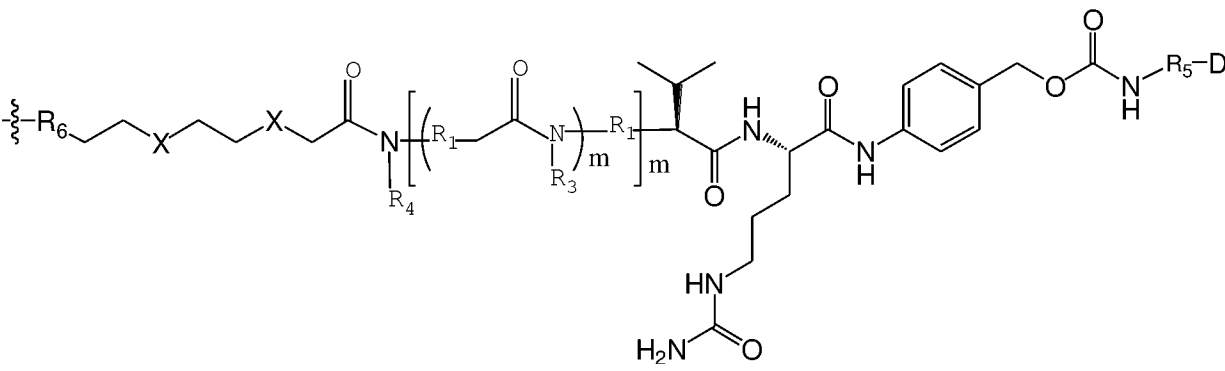
【0009】 本案的另一個方面提供了一種偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，所述偶聯體化合物具有以下結構：



其中：

所述多配體部分包含至少兩個靶向不同細胞表面分子的配體，

所述連接子-有效負載部分具有以下結構：

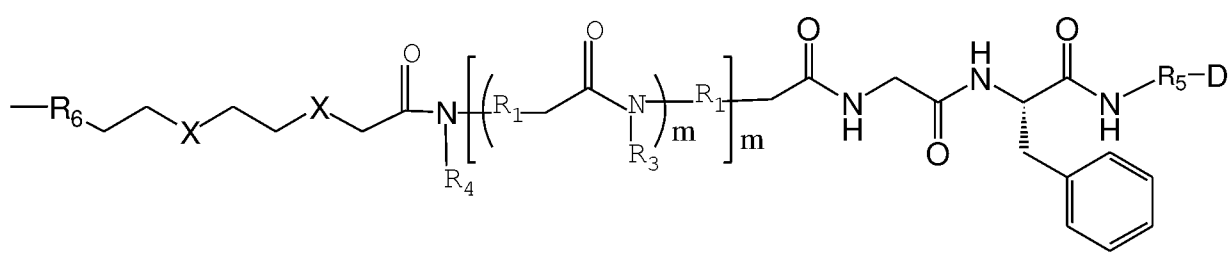


其中：

其中：

所述多配體部分包含至少兩個靶向不同細胞表面分子的配體，

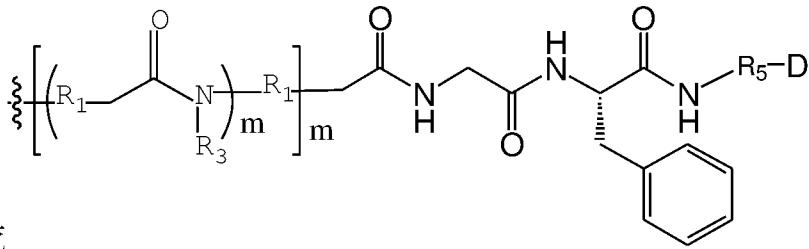
所述連接子-有效負載部分具有以下結構：



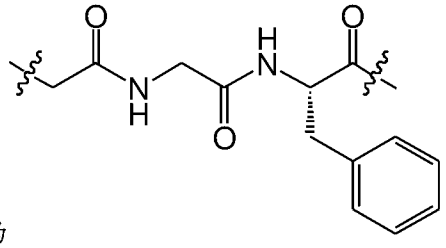
其中：

R₁ 各自獨立地選自鍵和-CH₂CH₂C(O)-NH-；

R₃ 各自獨立地選自氫和-R₁-R-NH-R₅-D；

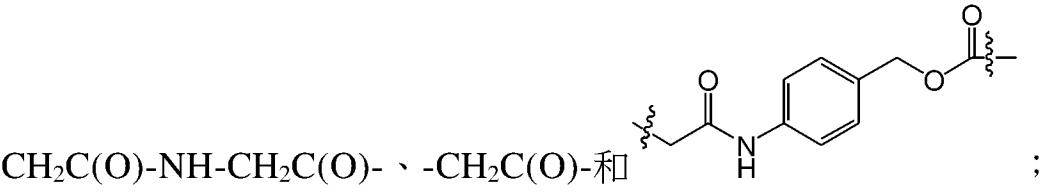


R₄ 為氫或

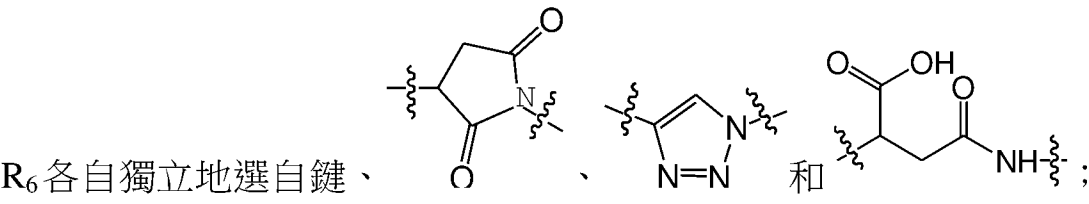


R 為

R₅ 各自獨立地選自鍵、-(CH₂CH₂O)₃-CH₂CH₂-、-CH₂C(O)-NH-CH₂-、-



CH₂C(O)-NH-CH₂C(O)-、-CH₂C(O)-和



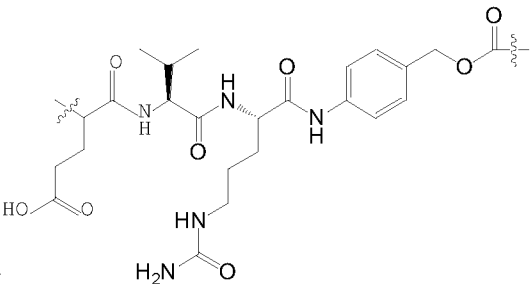
R₆ 各自獨立地選自鍵、

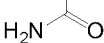
X 各自獨立地選自鍵、C 和 O；

m 各自獨立地為 0 或 1；

q 為 1 至 4 的整數；

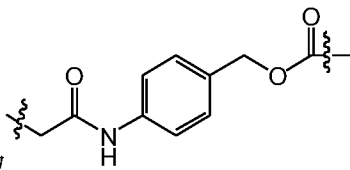
D 為有效負載。



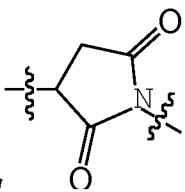
【0011】 在一些實施方式中，R 為 。

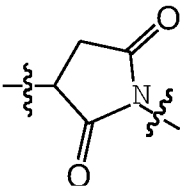
【0012】 在一些實施方式中，R₁為-CH₂CH₂C(O)-NH-。

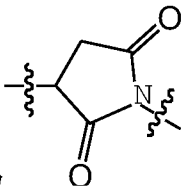
【0013】 在一些實施方式中，R₅為-(CH₂CH₂O)₃-CH₂CH₂-。在另一些實施方式中，R₅為-CH₂C(O)-NH-CH₂C(O)-。在又一些實施方式中，R₅為-

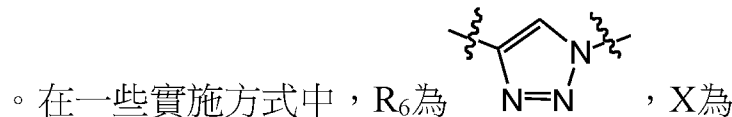
CH₂C(O)-。在一些實施方式中，R₅為 。在另一些實施方式中，R₅為-CH₂C(O)-NH-CH₂-。在又一些實施方式中，R₅不是-CH₂C(O)-NH-CH₂。CH₂。

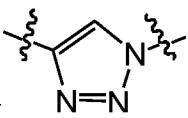
【0014】 在一些實施方式中，m各自獨立地為0或1，且n為0。在一些實施方式中，m為0，且n各自獨立地為0或1。在另一些實施方式中，m為0，且n為0。在又一些實施方式中，m為0，n為0，且R₅不是-CH₂C(O)-NH-CH₂-。

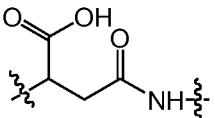
【0015】 在一些實施方式中，R₆為 。在一些實施方式中，R₆為

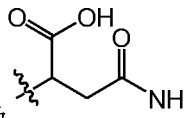


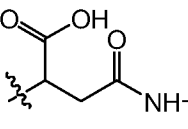
，且X為鍵。在一些實施方式中，R₆為 ，且X為O。在一



鍵。在又一些實施方式中，R₆為 ，X為O。在一些實施方式中，R₆為

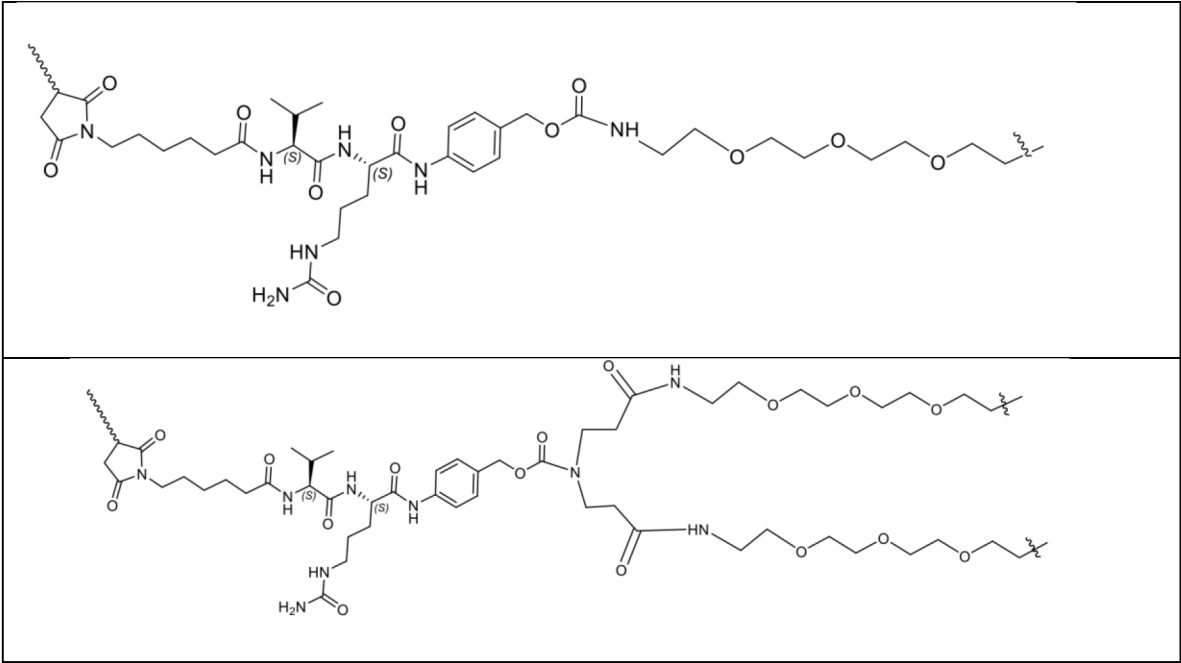


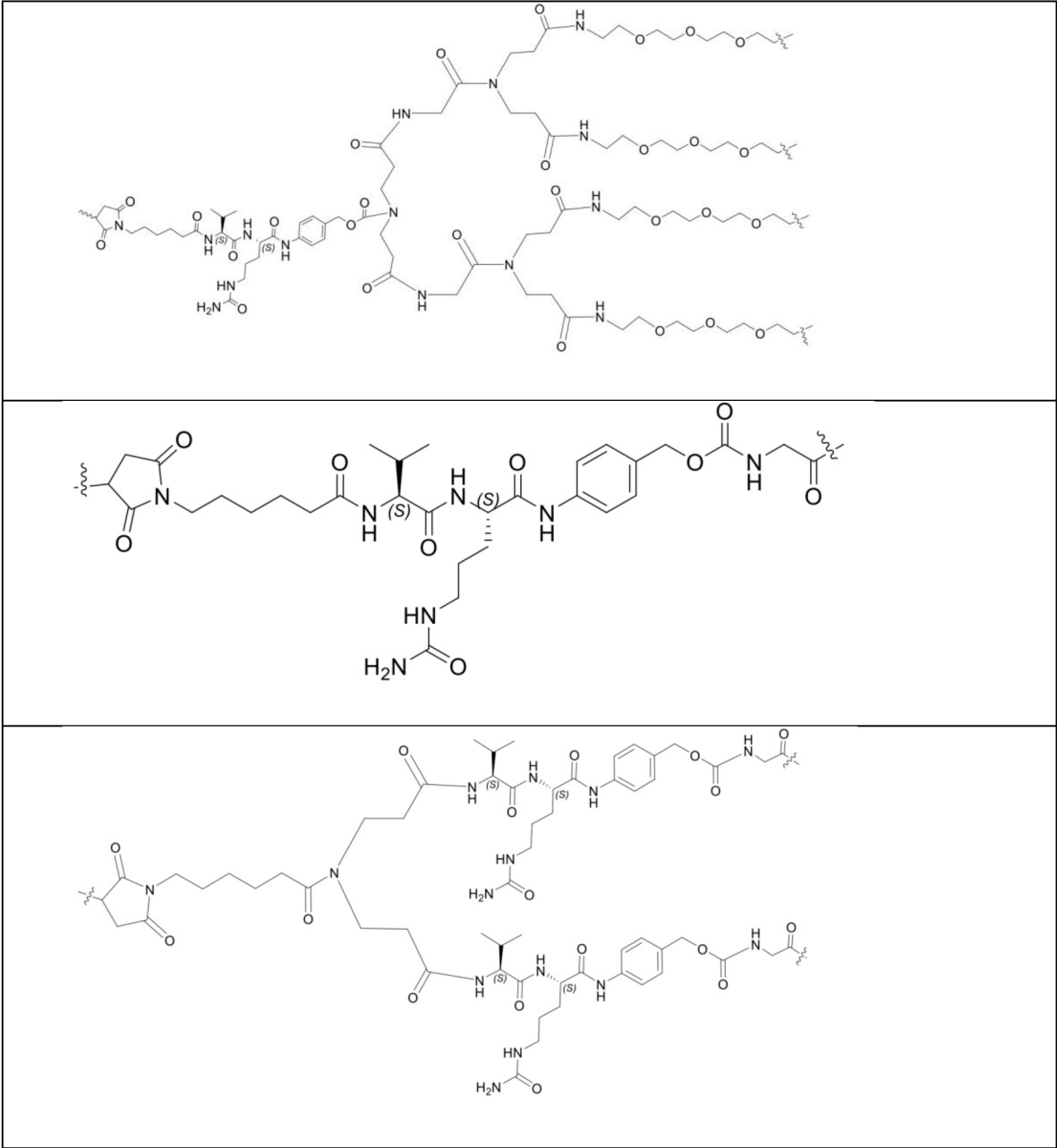
。在一些實施方式中，R₆為 ，X為鍵。在又一些實施

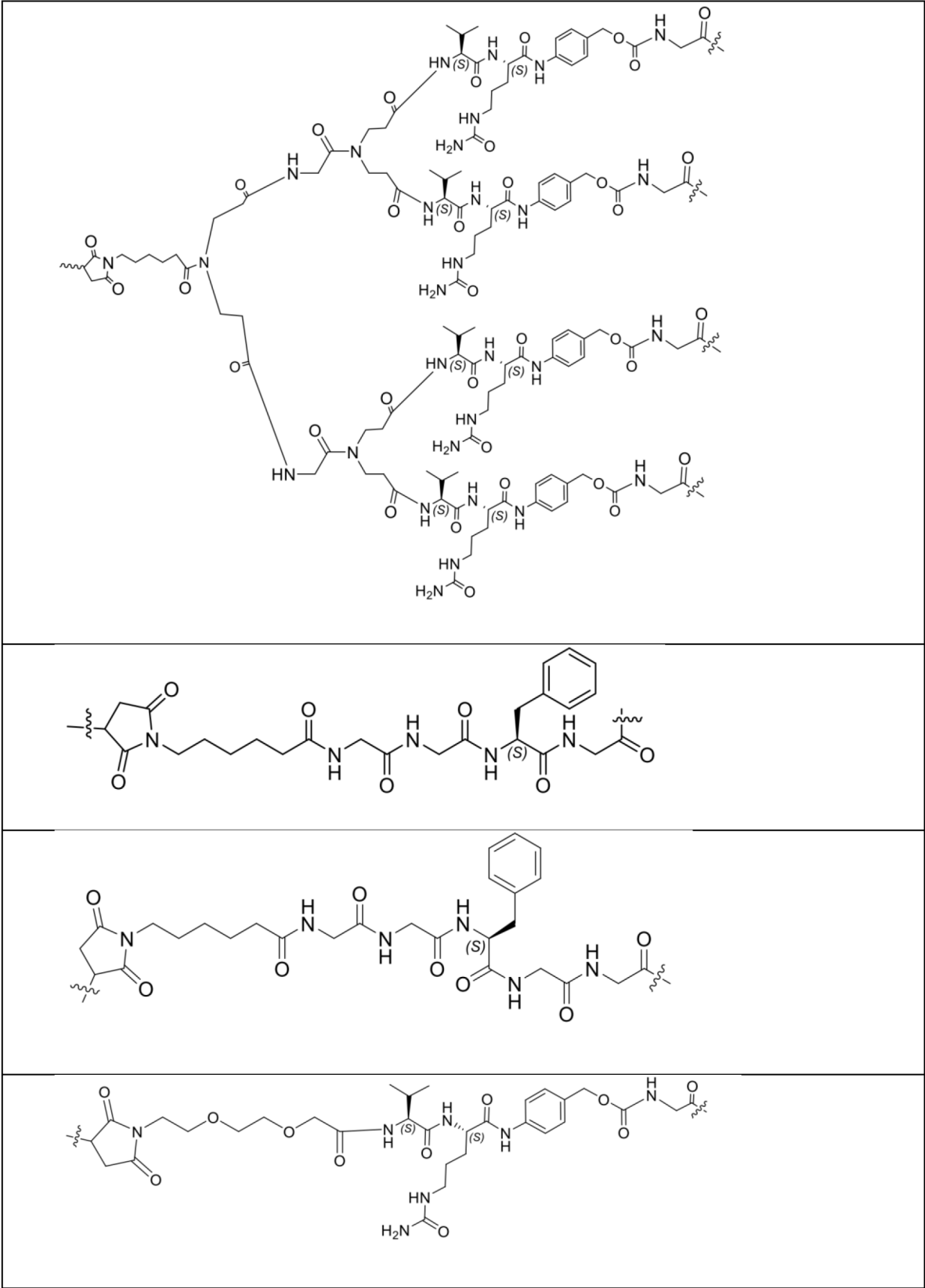
方式中，R₆為 ，X為O。

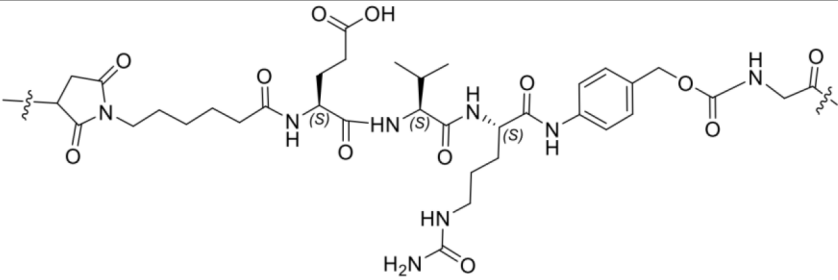
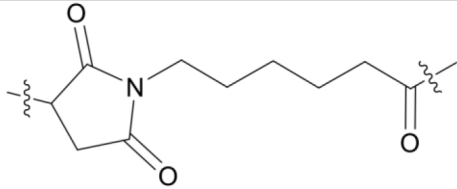
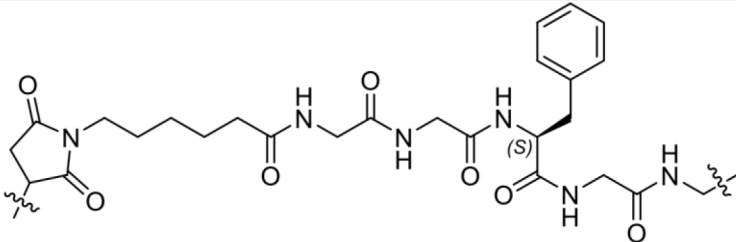
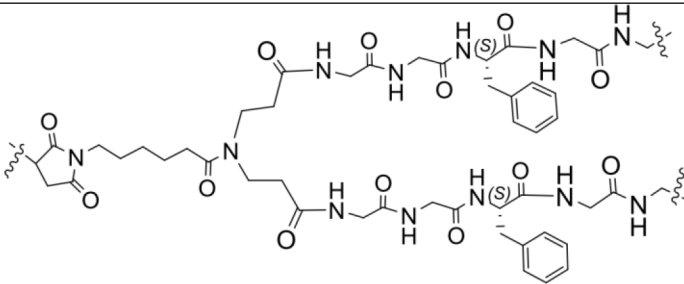
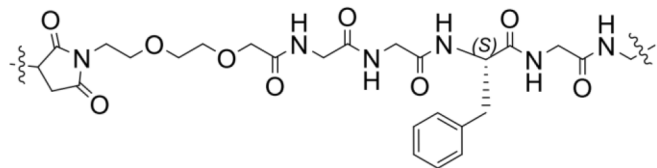
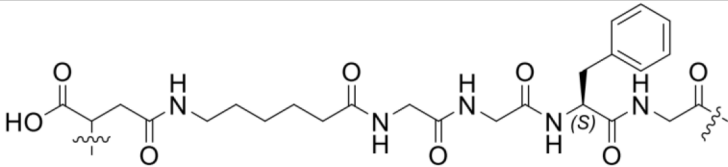
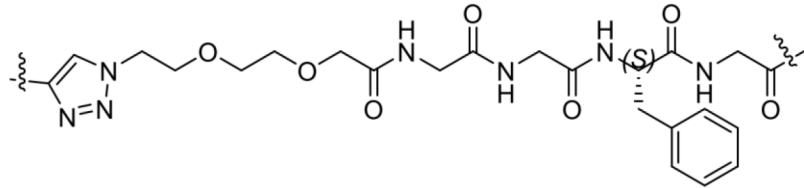
【0016】 在一些實施方式中，p為0。

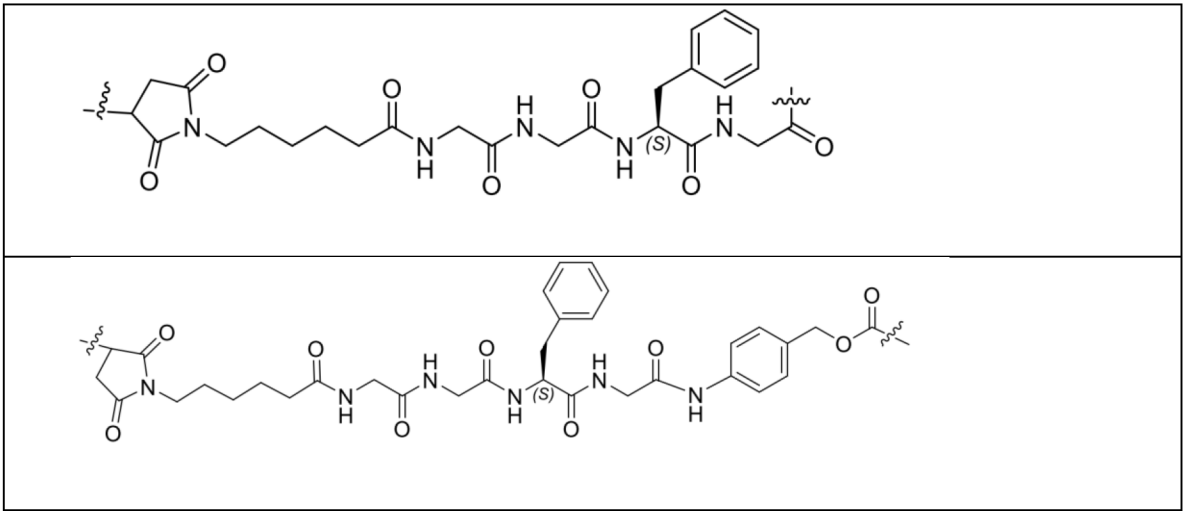
【0017】 在一些實施方式中，所述連接子具有選自下組的結構：







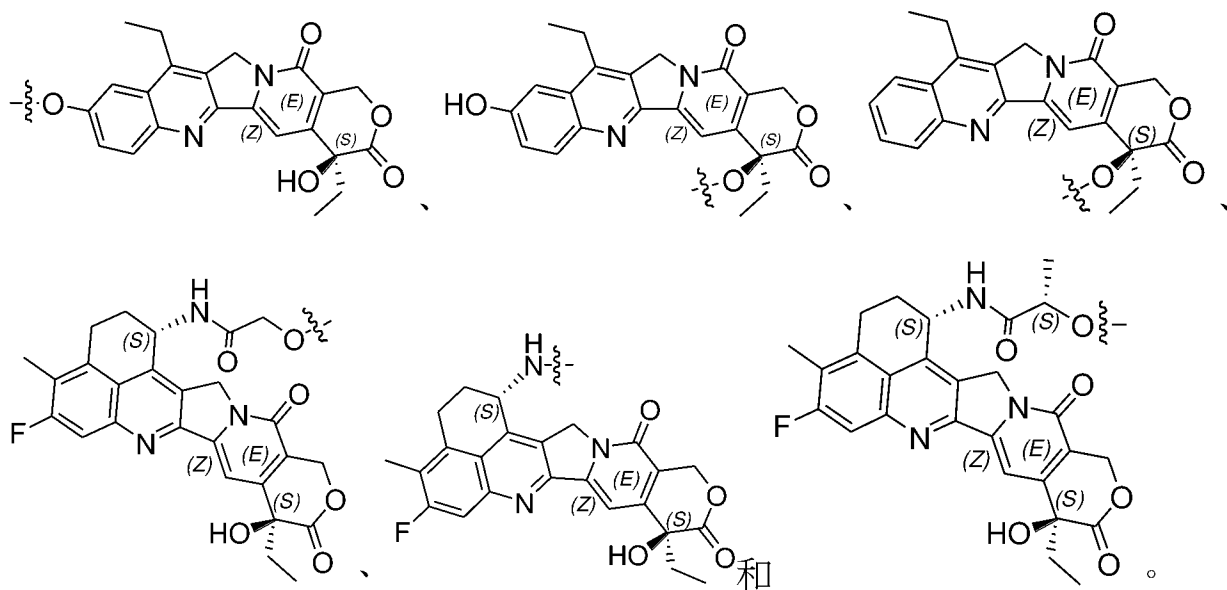










【0018】 在一些實施方式中，有效負載選自下組：小分子化合物、核苷酸和肽，較佳地，所述有效負載是小分子化合物。

【0019】 在一些實施方式中，所述小分子化合物選自下組：喜樹鹼及其任何衍生物、美登素及其任何衍生物、放射性金屬錯合物、環氧化酶-2抑制劑及其任何衍生物、紫杉醇及其任何衍生物、埃博黴素及其任何衍生物、博來黴素及其任何衍生物、更生黴素及其任何衍生物、普卡黴素及其任何衍生物、和絲裂黴素C及其任何衍生物。在一些較佳的實施方式中，所述小分子化合物是喜樹鹼及其任何衍生物。在一些較佳的實施方式中，所述喜樹鹼是依喜替康。

【0020】 在一些實施方式中，D各自獨立地選自



【0021】 在一些實施方式中，細胞表面分子選自TRPV6、FOLR1、PSMA和SSTR2。

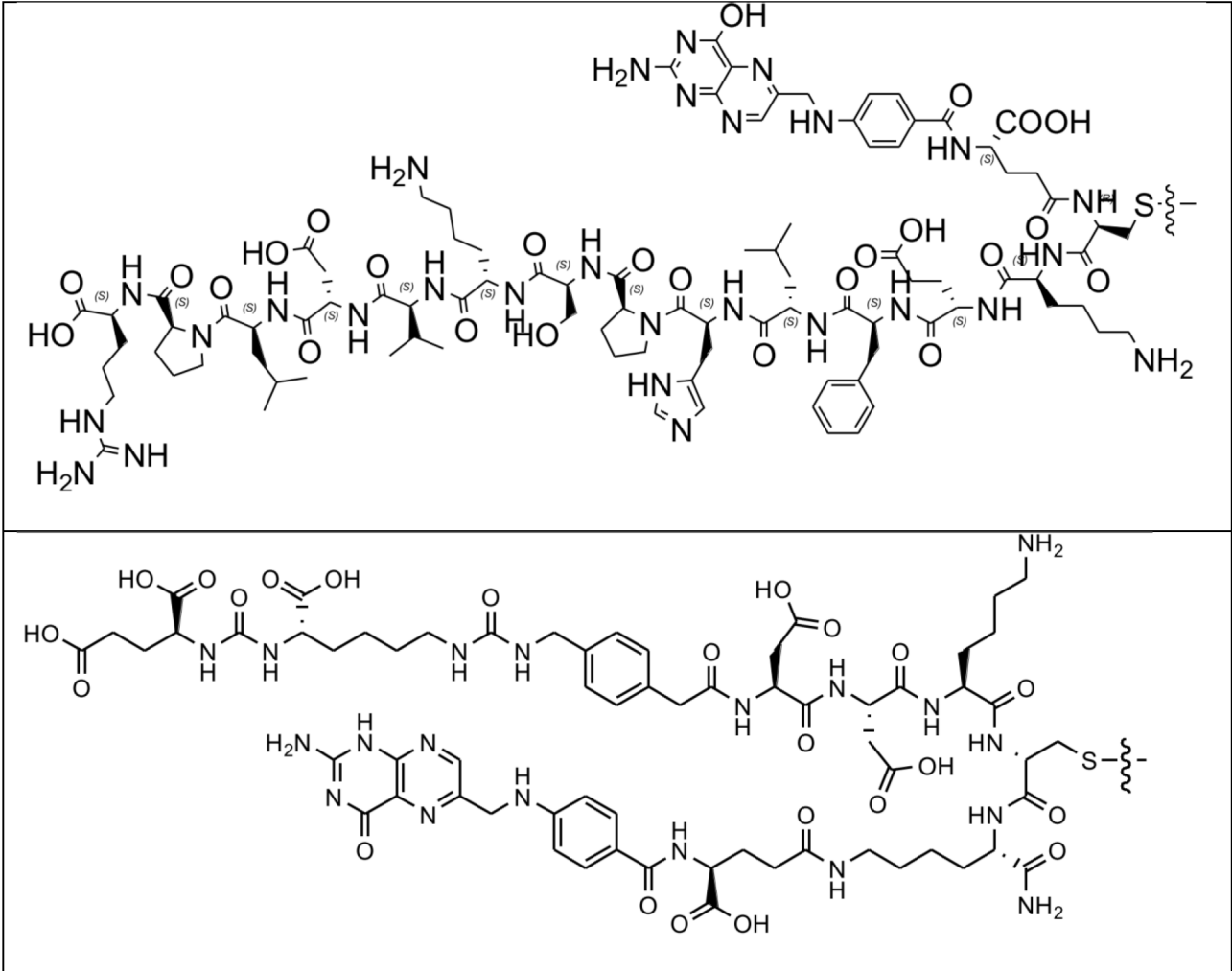
【0022】 在一些實施方式中，細胞表面分子分別為TRPV6和FOLR1、PSMA和FOLR1、或SSTR2和FOLR1。在一些較佳的實施方式中，細胞表面分子分別為TRPV6和FOLR1。在一些實施方式中，靶向FOLR1的配體選自葉酸或其類似物。在一些較佳的實施方式中，所述葉酸類似物選自5-甲基四氫葉酸、5-甲醯基四氫葉酸、甲氨蝶呤和5,10-亞甲基四氫葉酸。在一些實施方式中，靶向SSTR2的配體選自奧曲肽及其任何類似物。

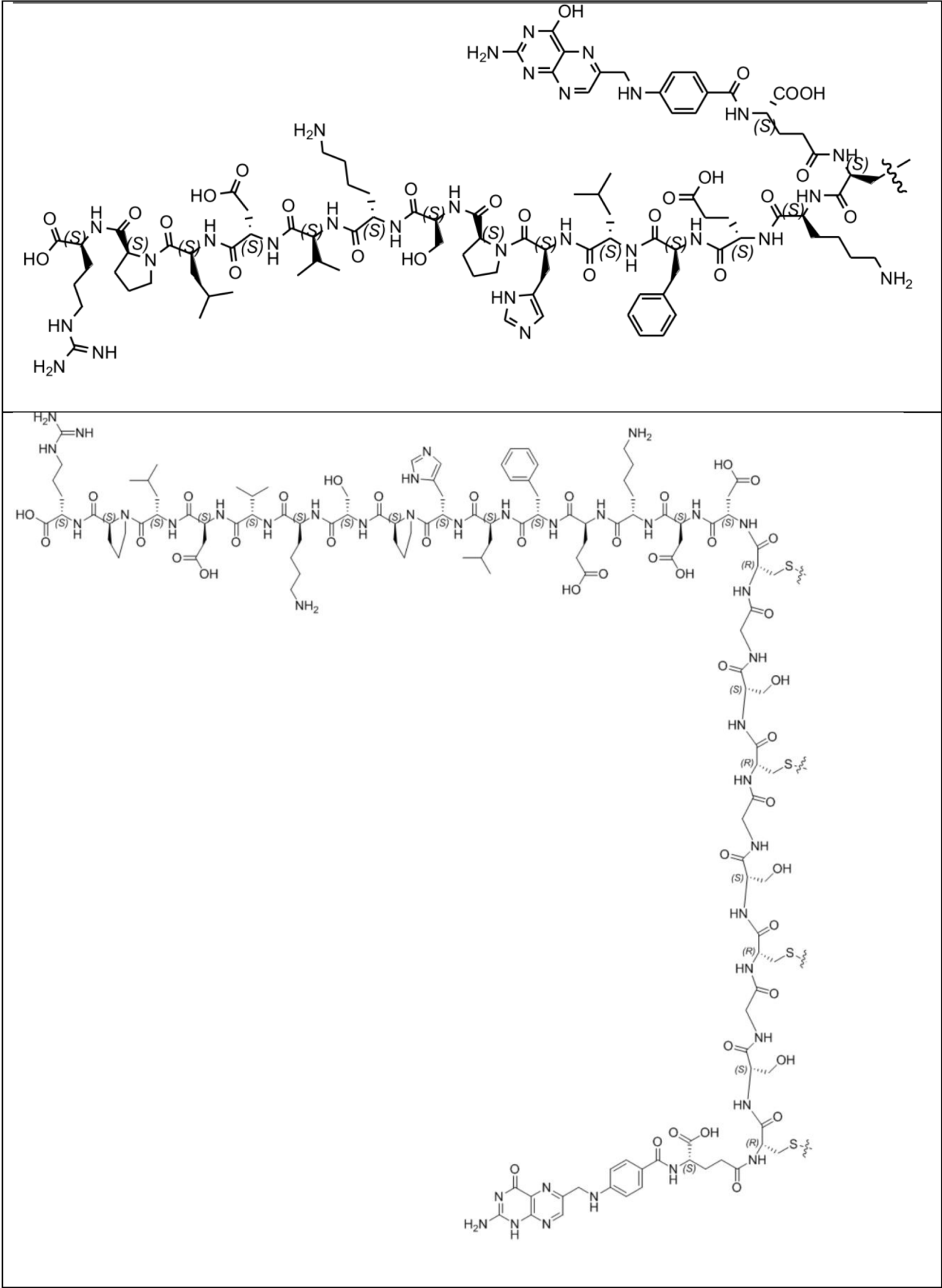
【0023】 在一些實施方式中，配體部分包含三個以上的靶向細胞表面分子的配體。在一些較佳的實施方式中，所述細胞表面分子選自TRPV6、FOLR1、PSMA和SSTR2。

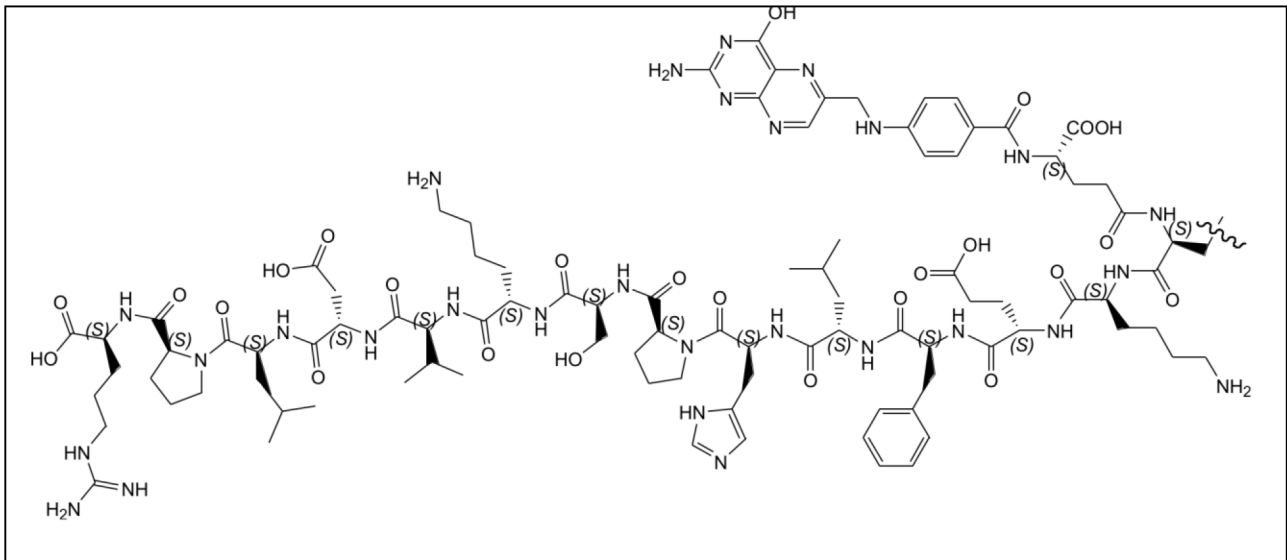
【0024】 在一些實施方式中，靶向不同細胞表面分子的配體彼此直接連接、或透過間隔區彼此連接。在一些實施方式中，所述間隔區由胺基酸組成。在一些較佳的實施方式中，所述間隔區由天然胺基酸或非天然胺基酸組成。在

又一些較佳的實施方式中，所述間隔區為甘胺酸。在一些實施方式中，所述間隔區可在特定的生理環境下透過蛋白酶裂解或還原裂解。

【0025】 在一些實施方式中，所述配體部分具有以下結構：

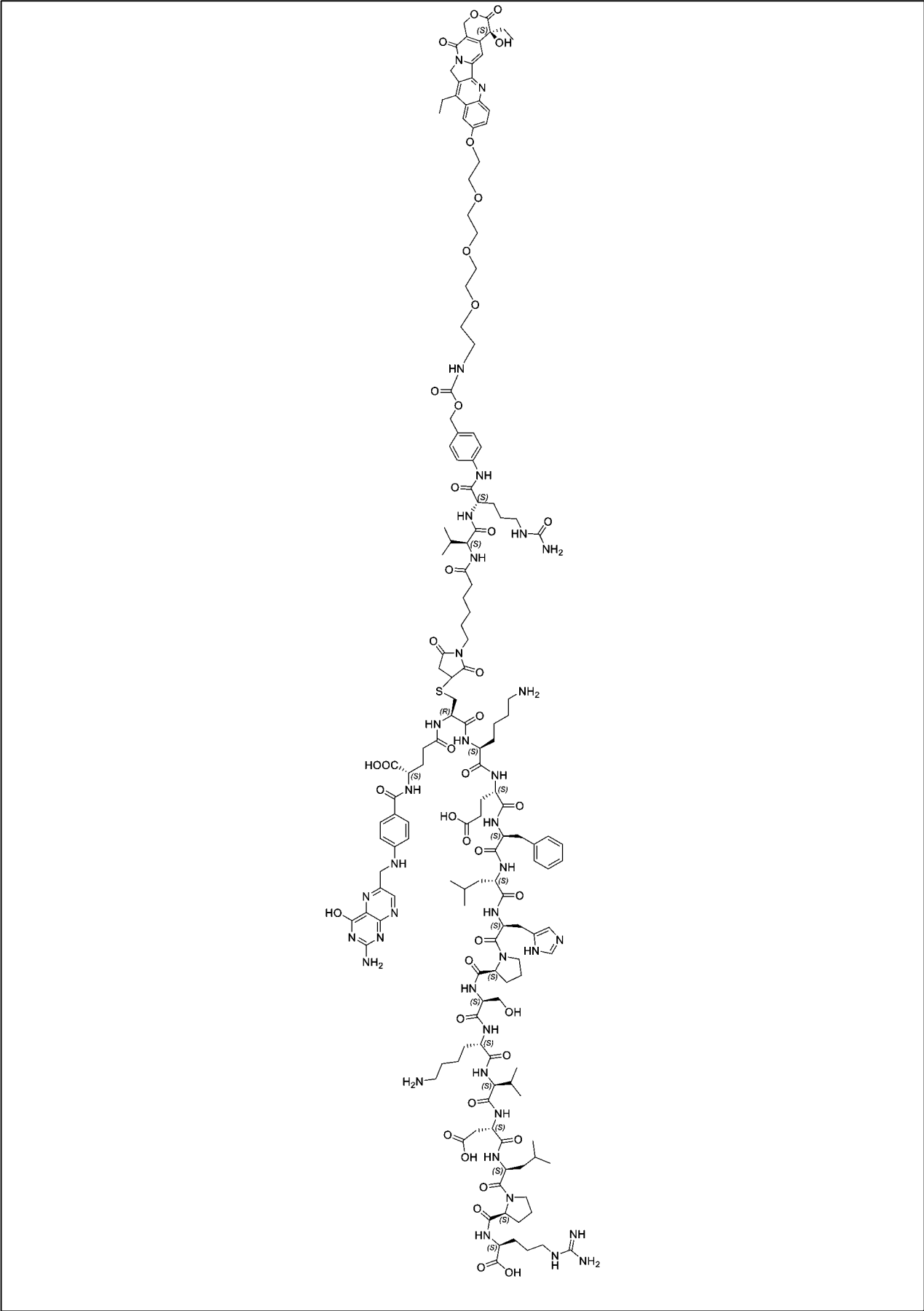


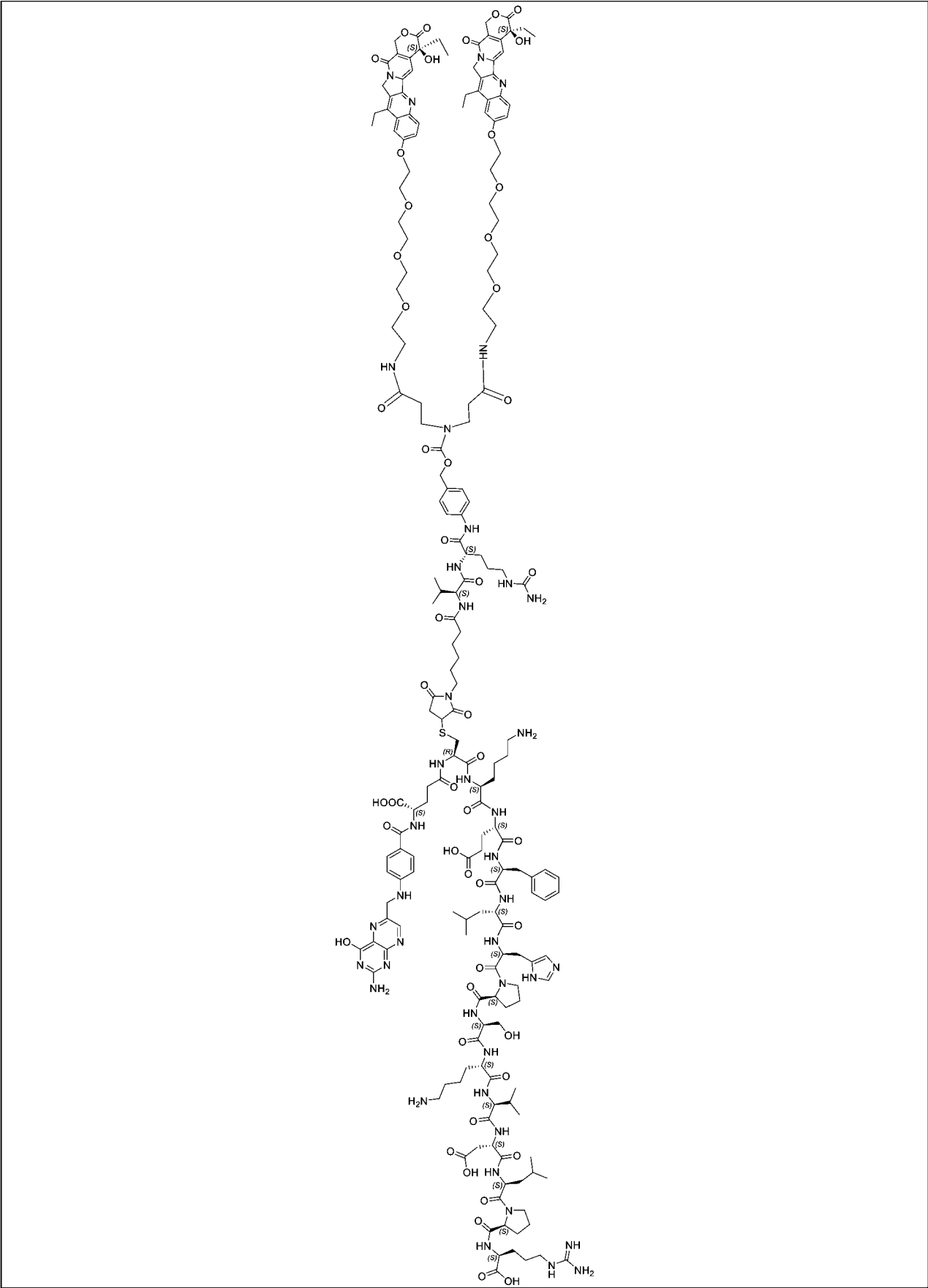


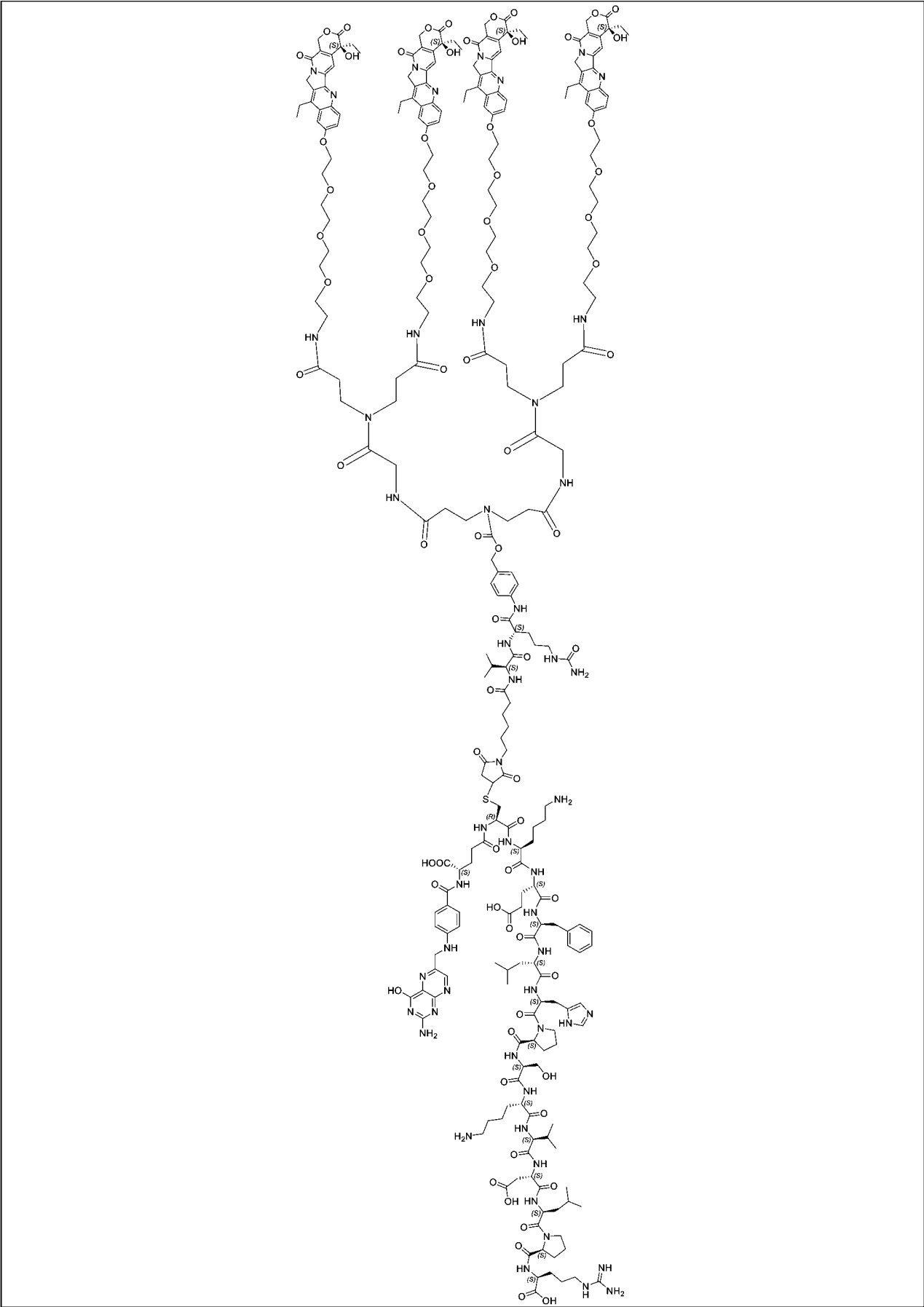


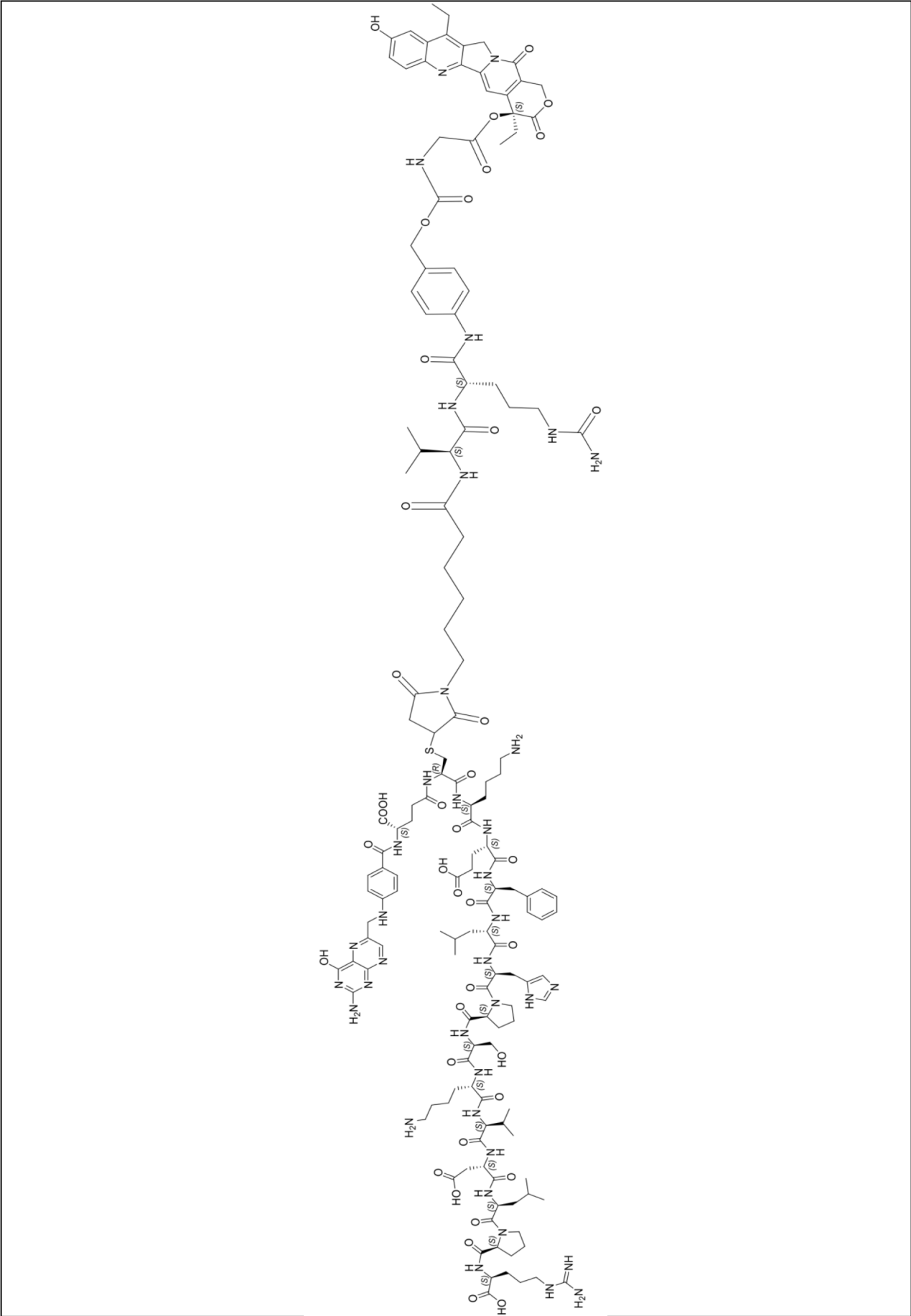
【0026】 在一些實施方式中，q為1。在一些實施方式中，q為2。在一些實施方式中，q為3。在一些實施方式中，q為4。

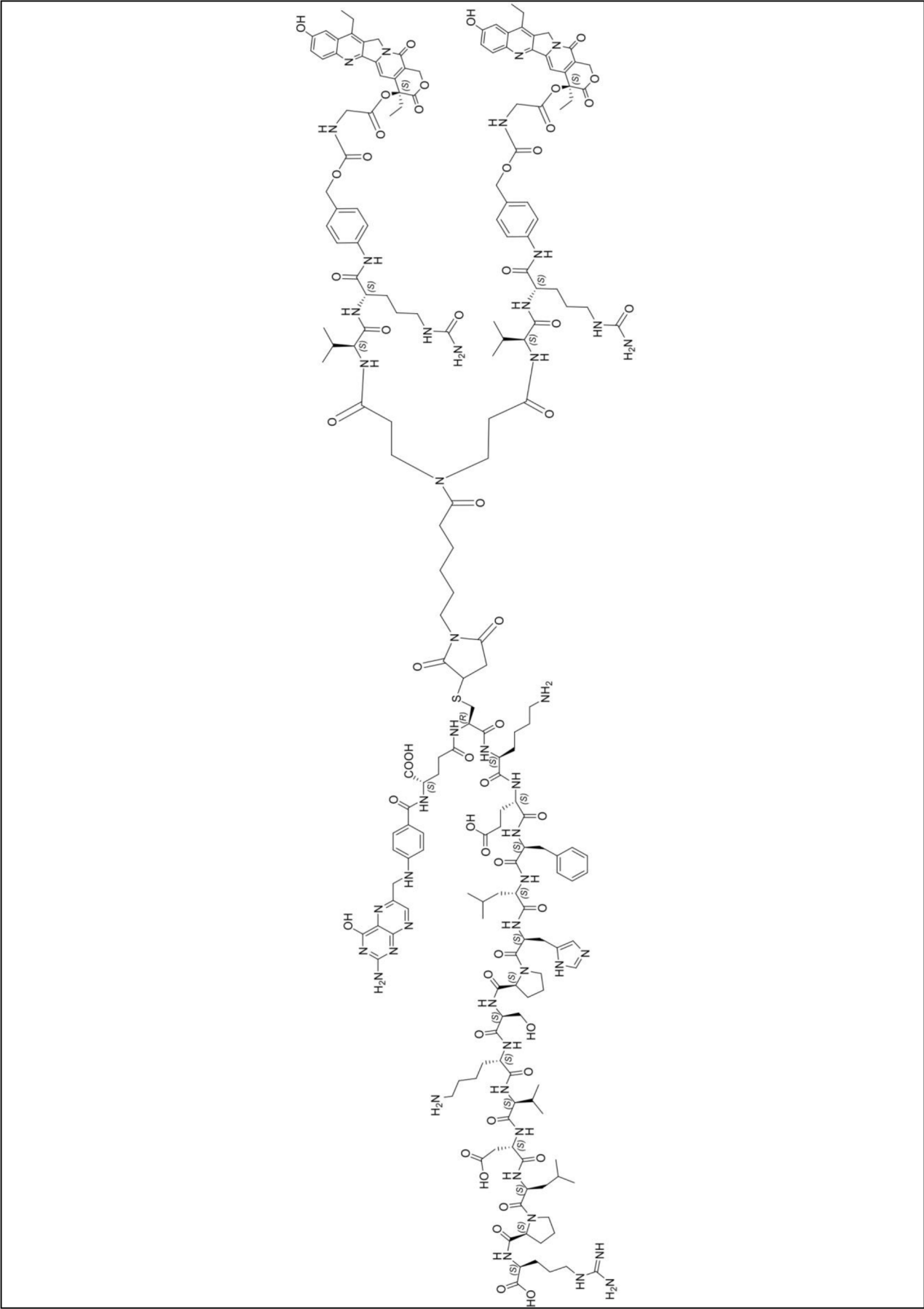
【0027】 本案的一個方面提供了一種偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，所述偶聯體化合物選自：

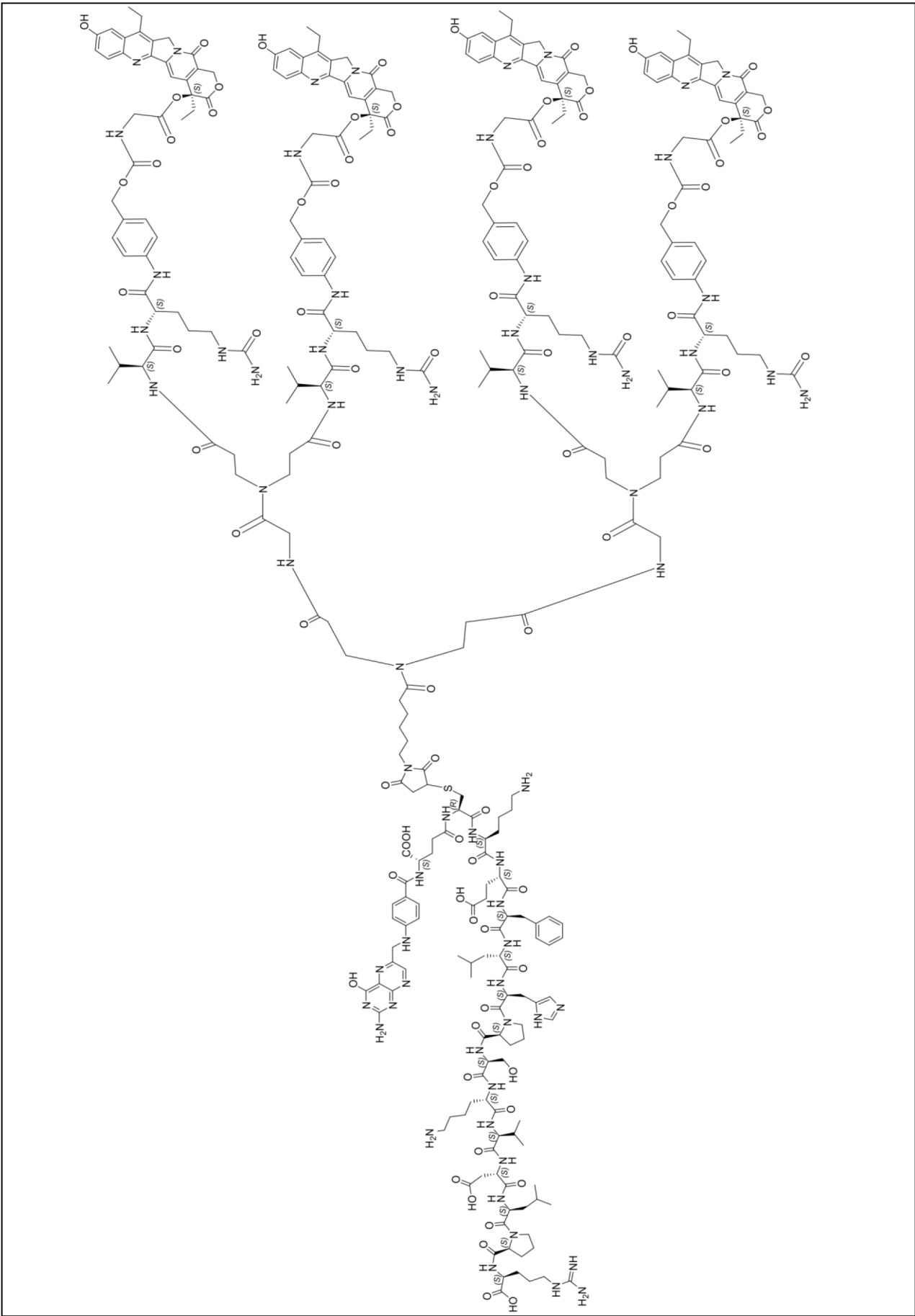


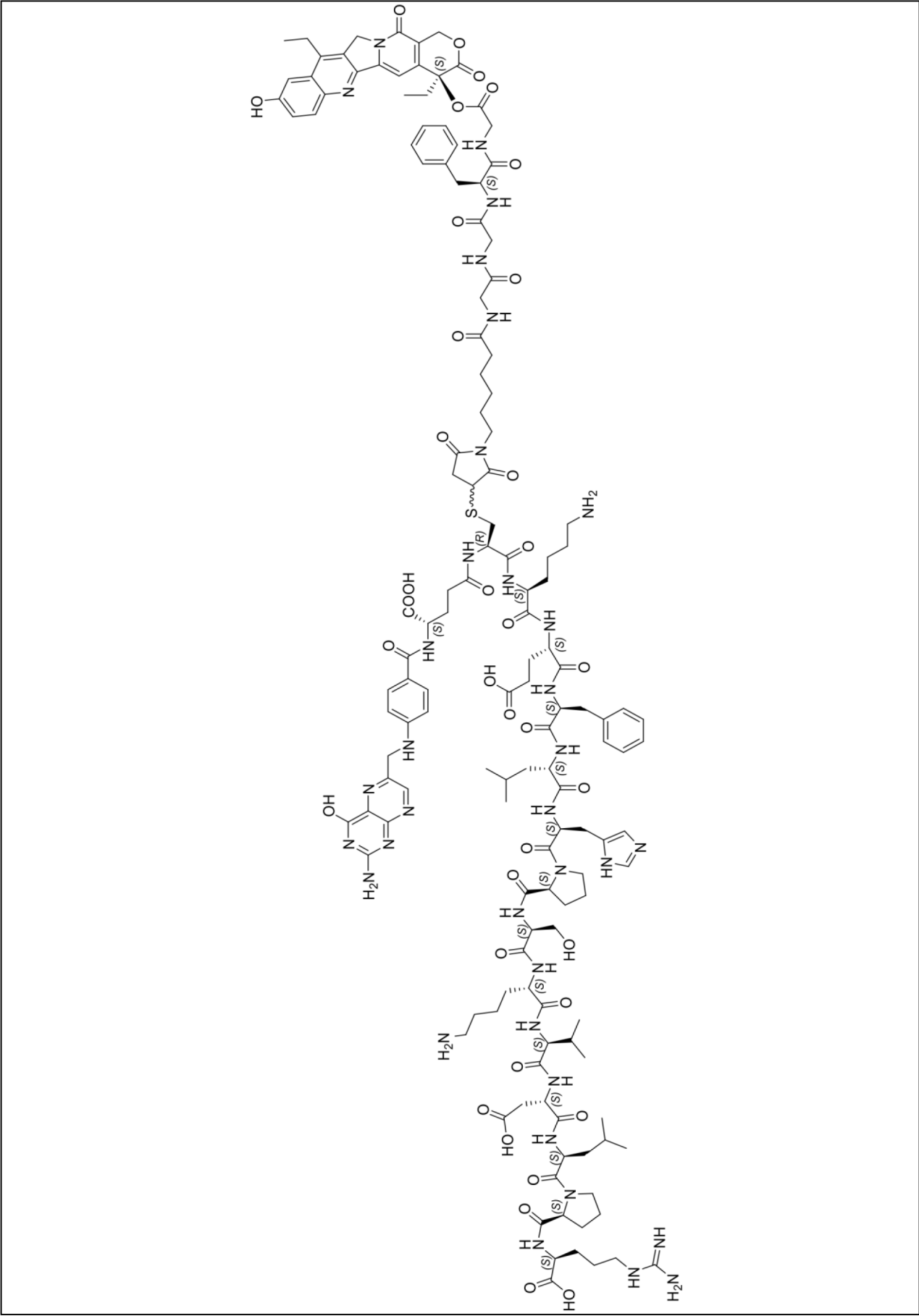


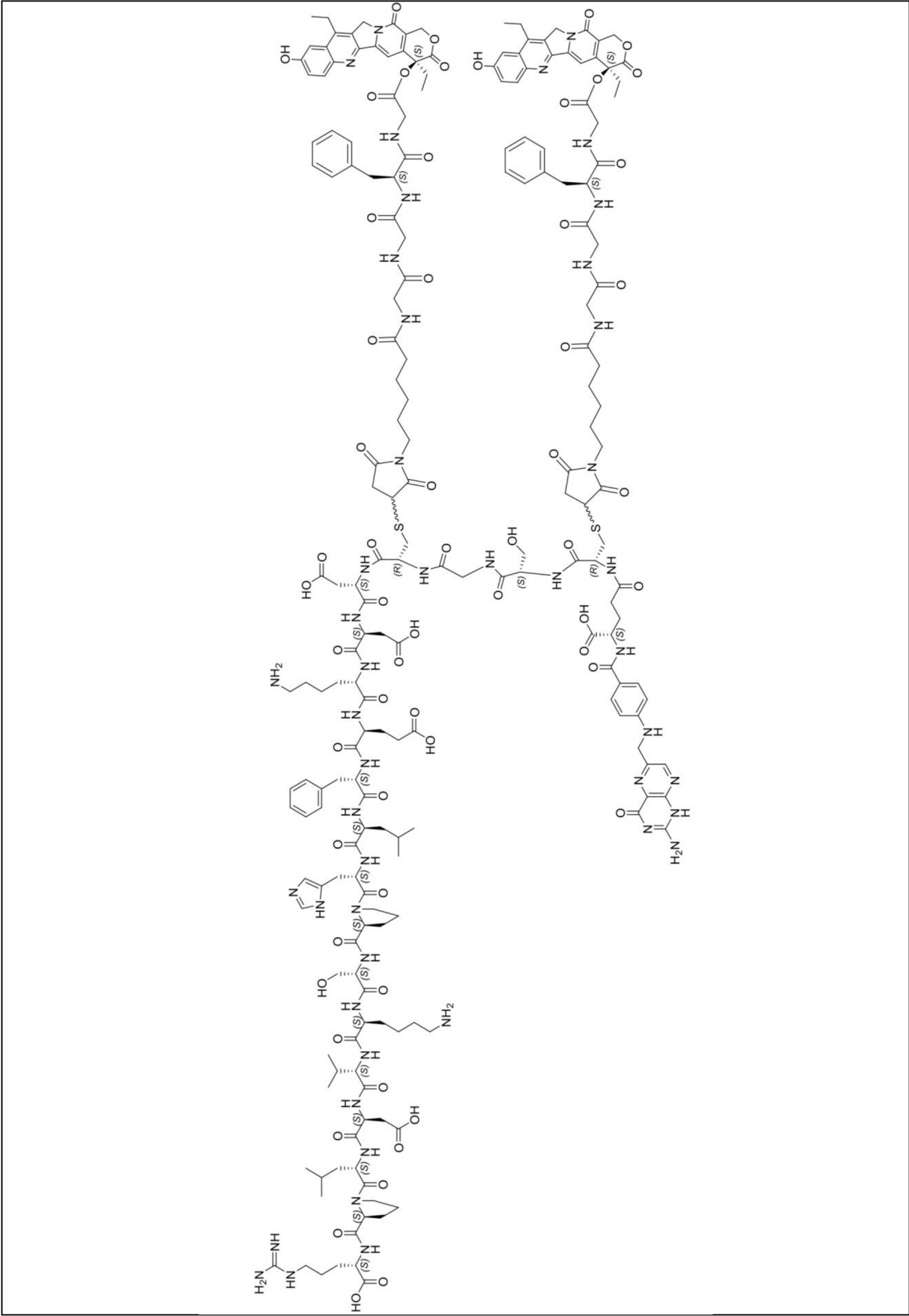


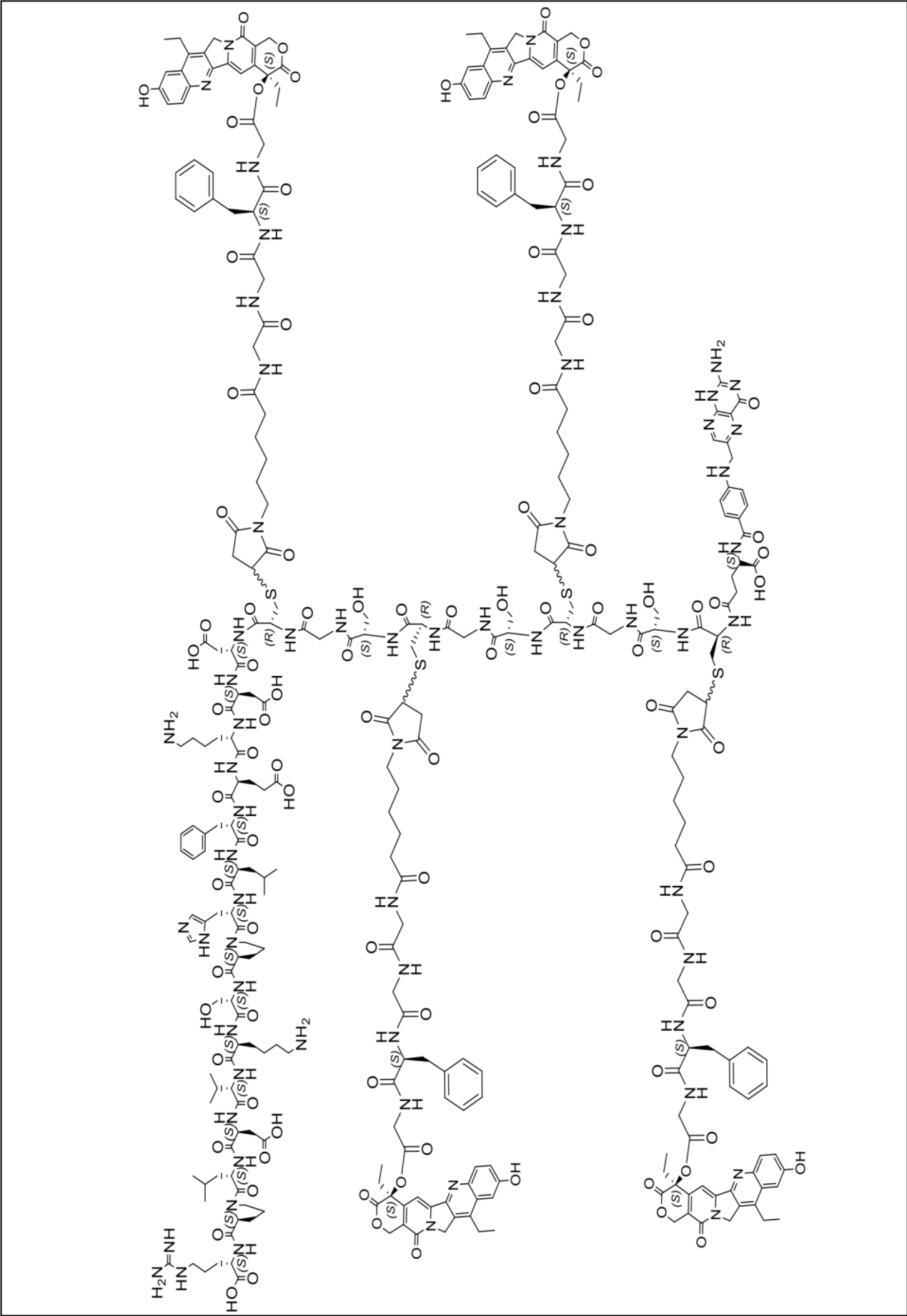


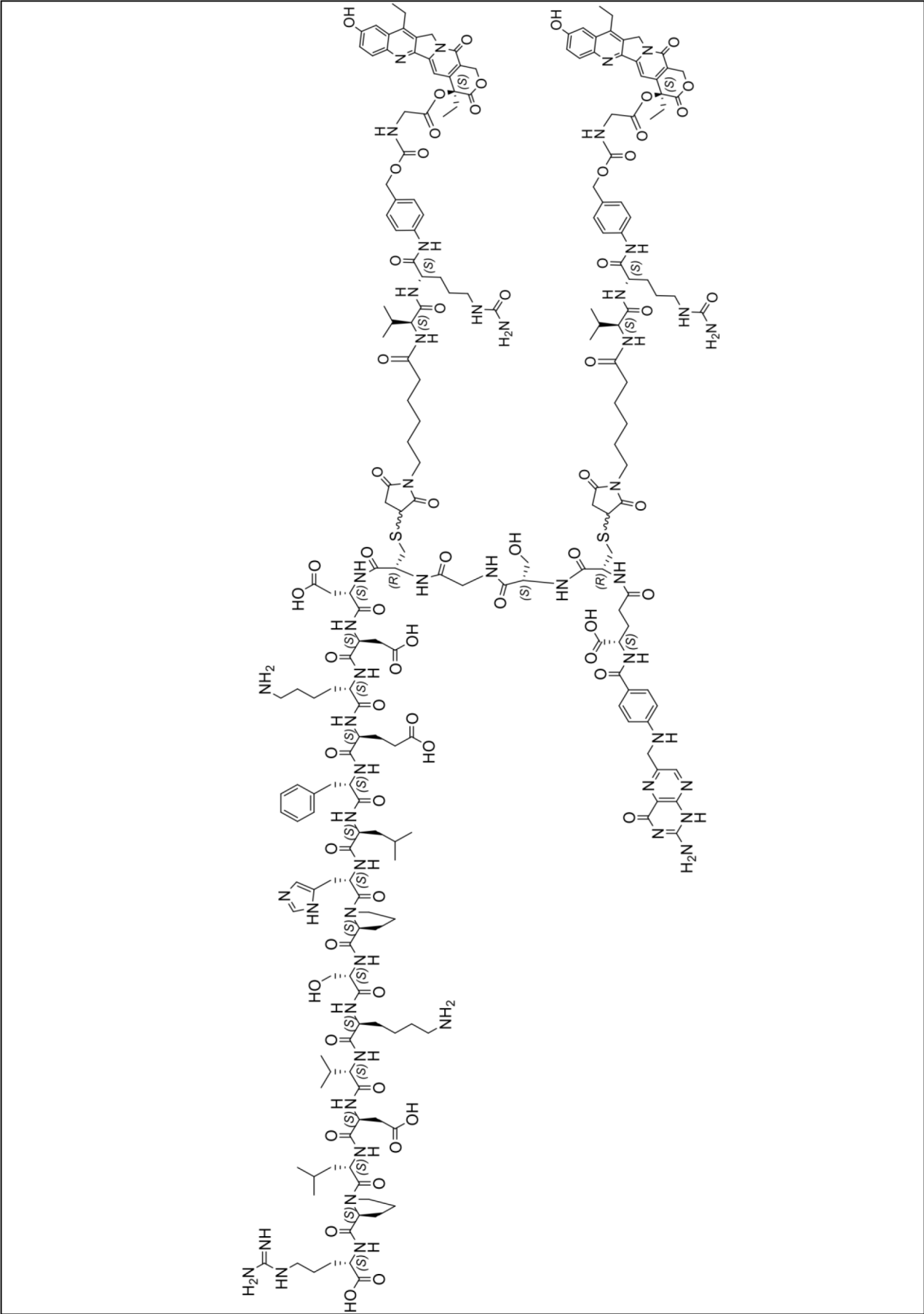


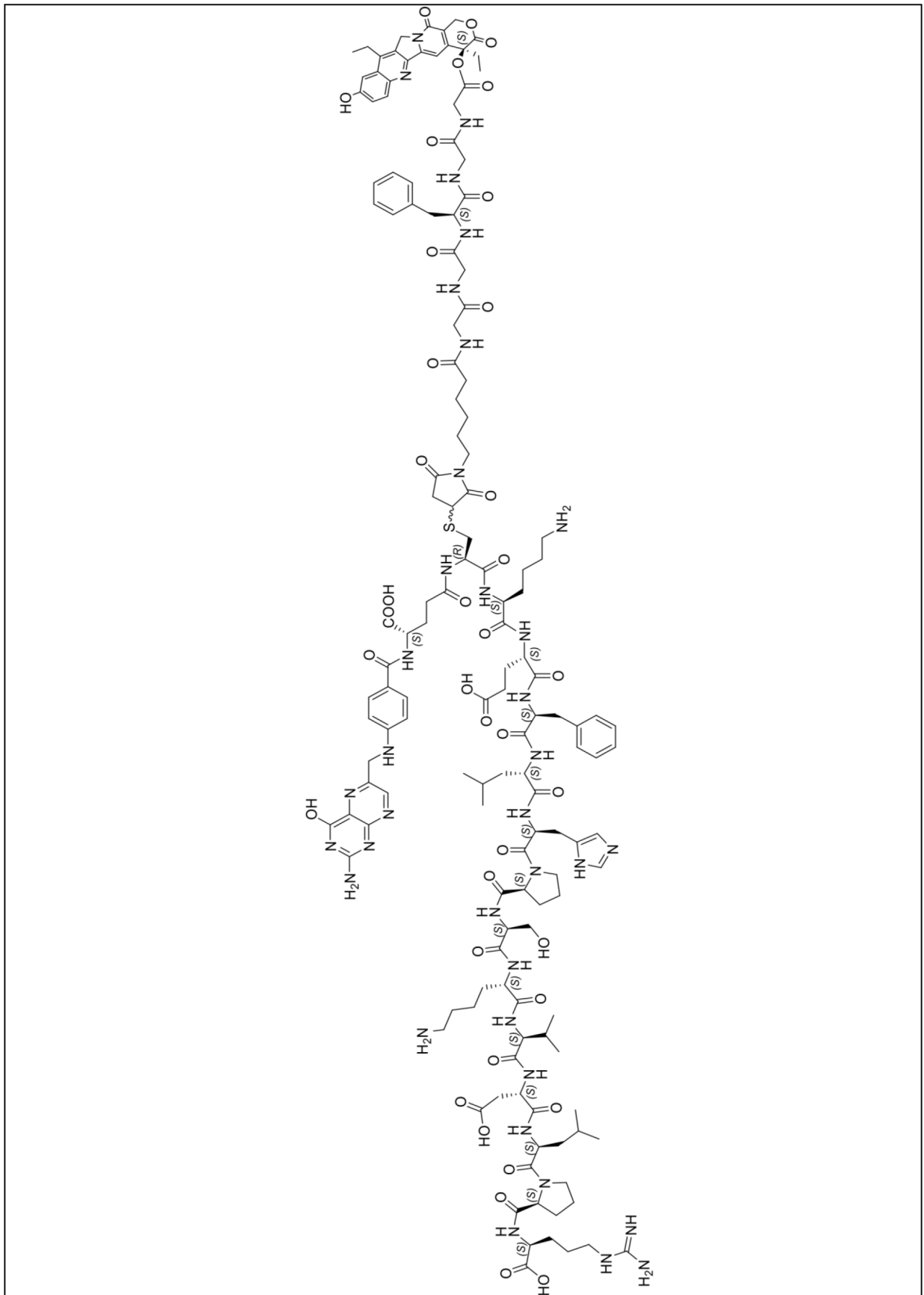


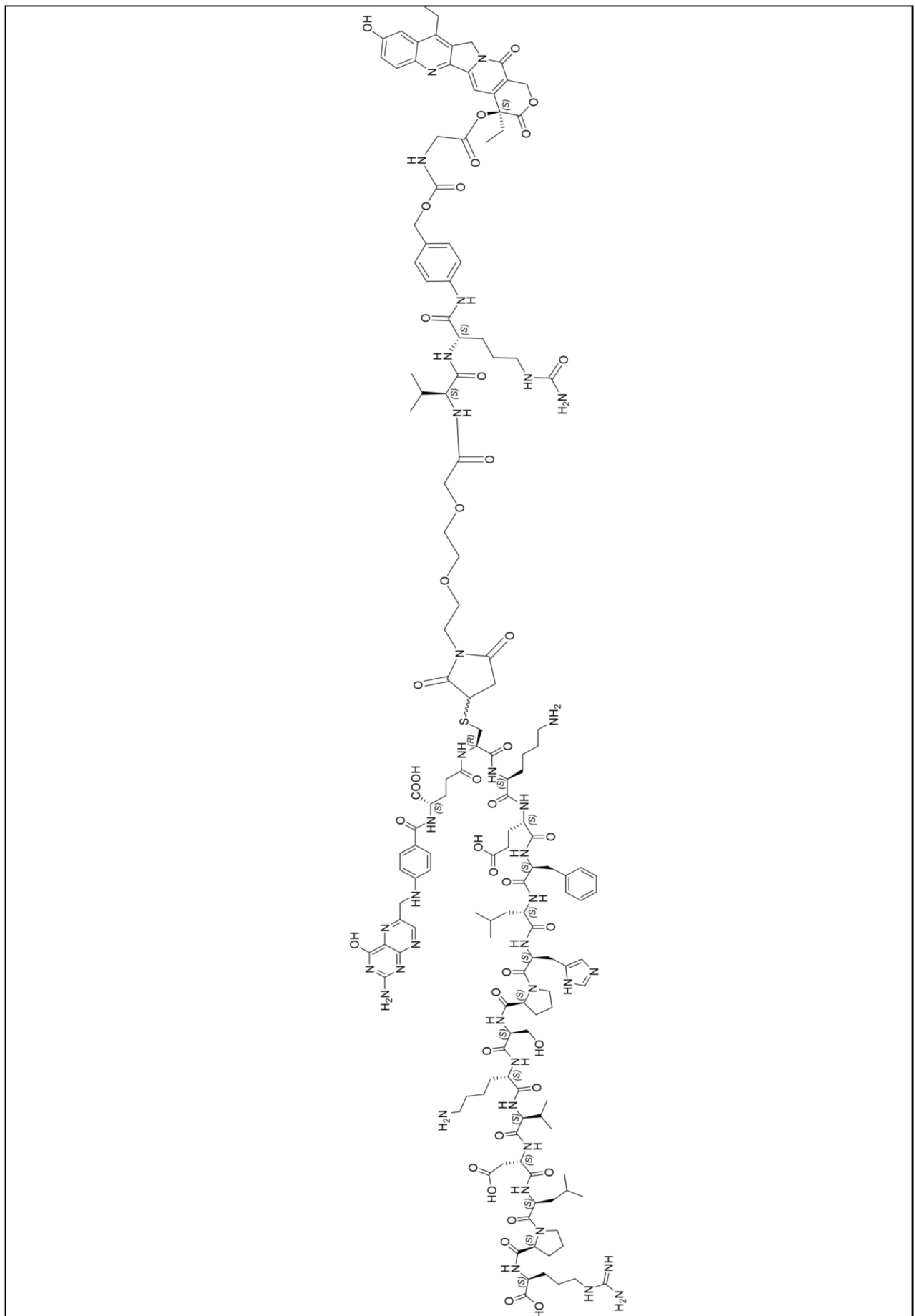


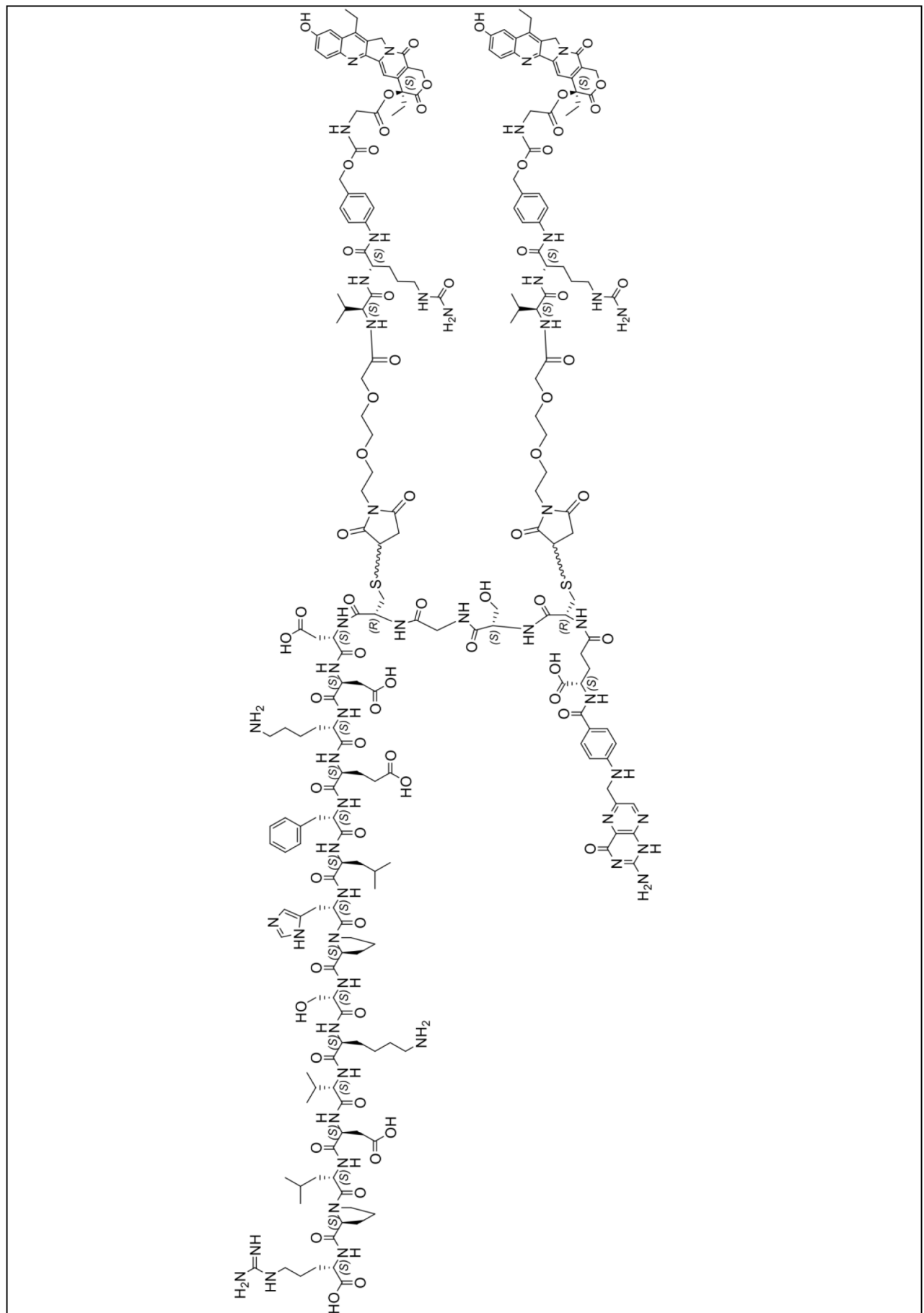


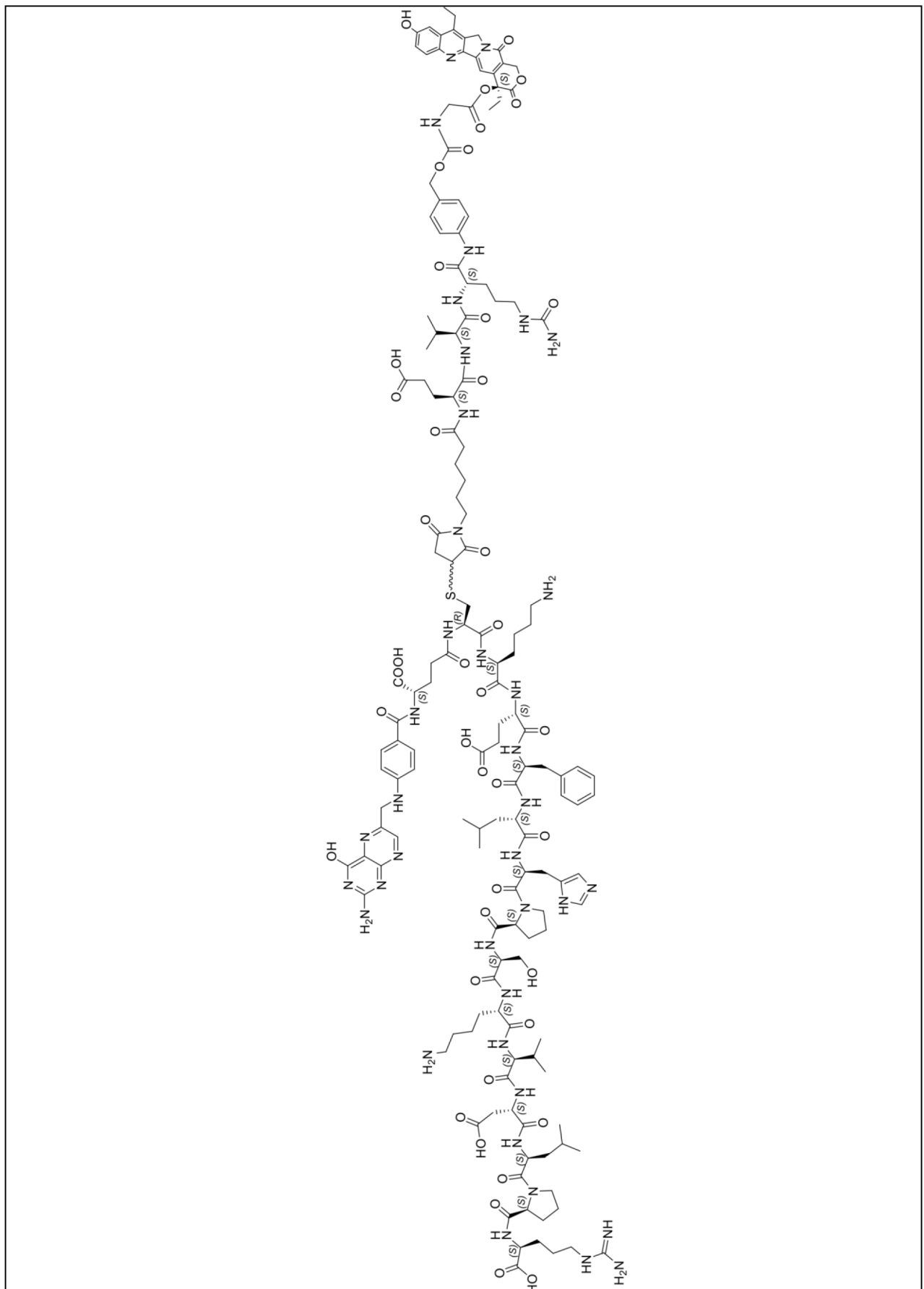


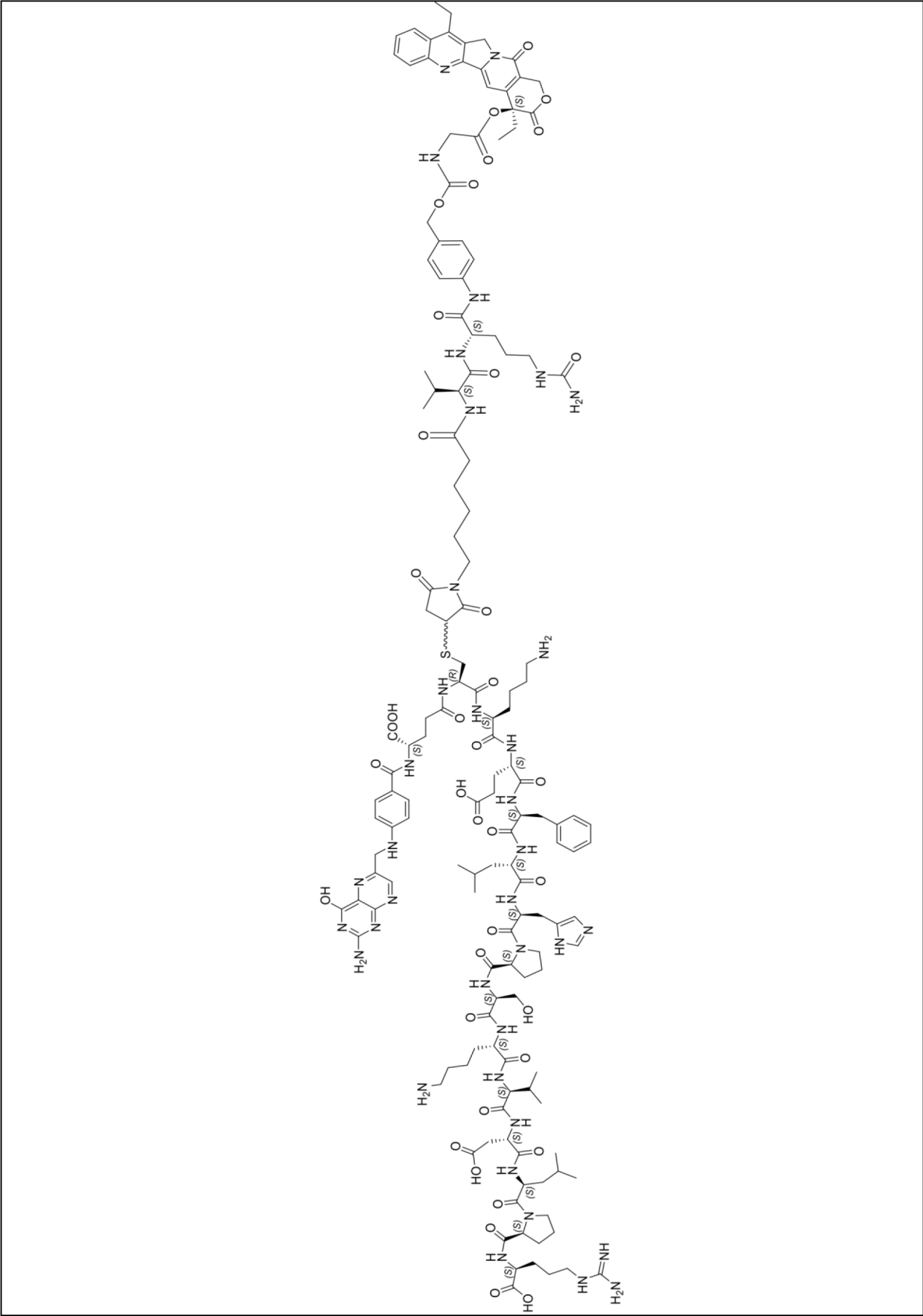


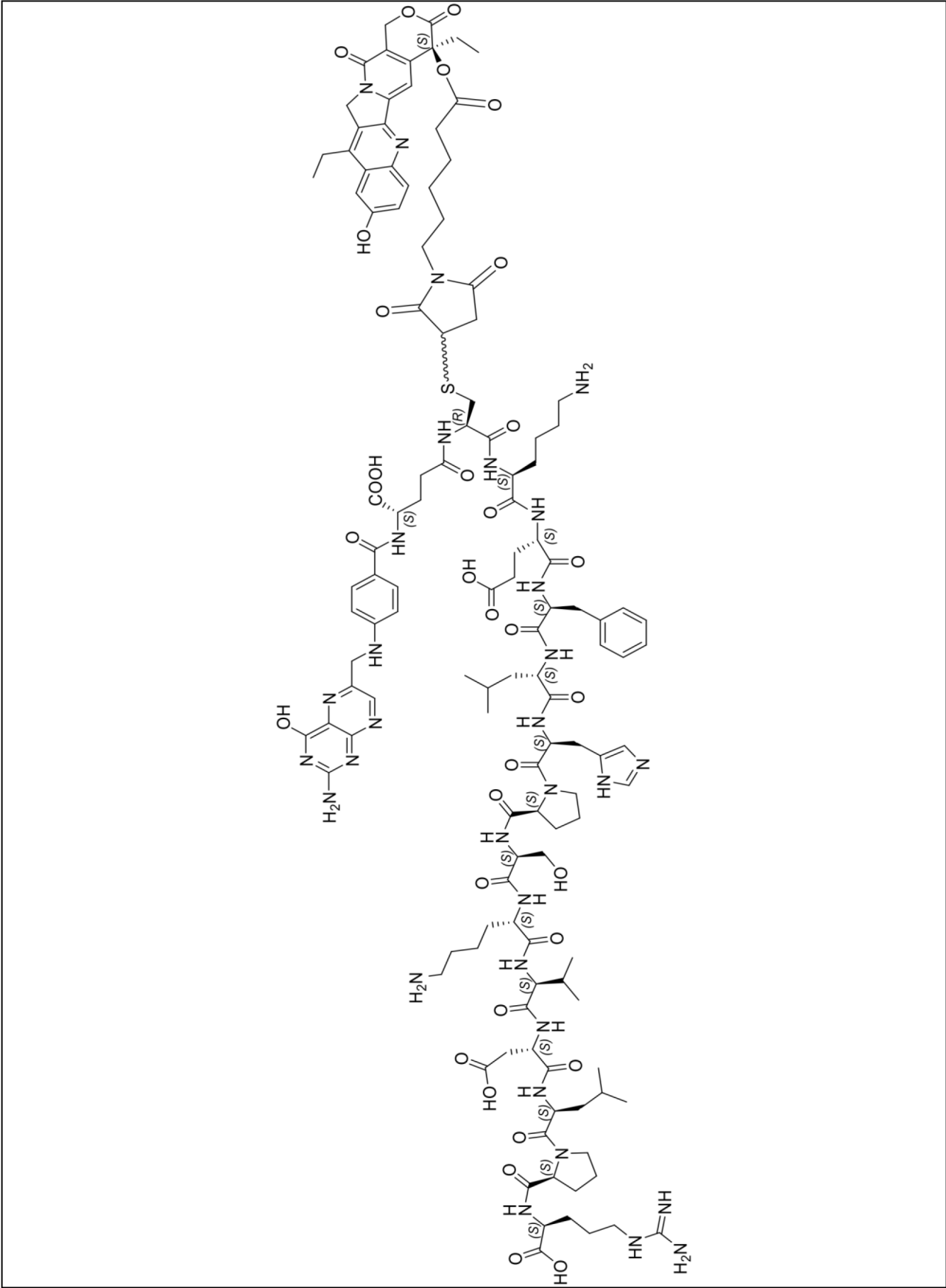


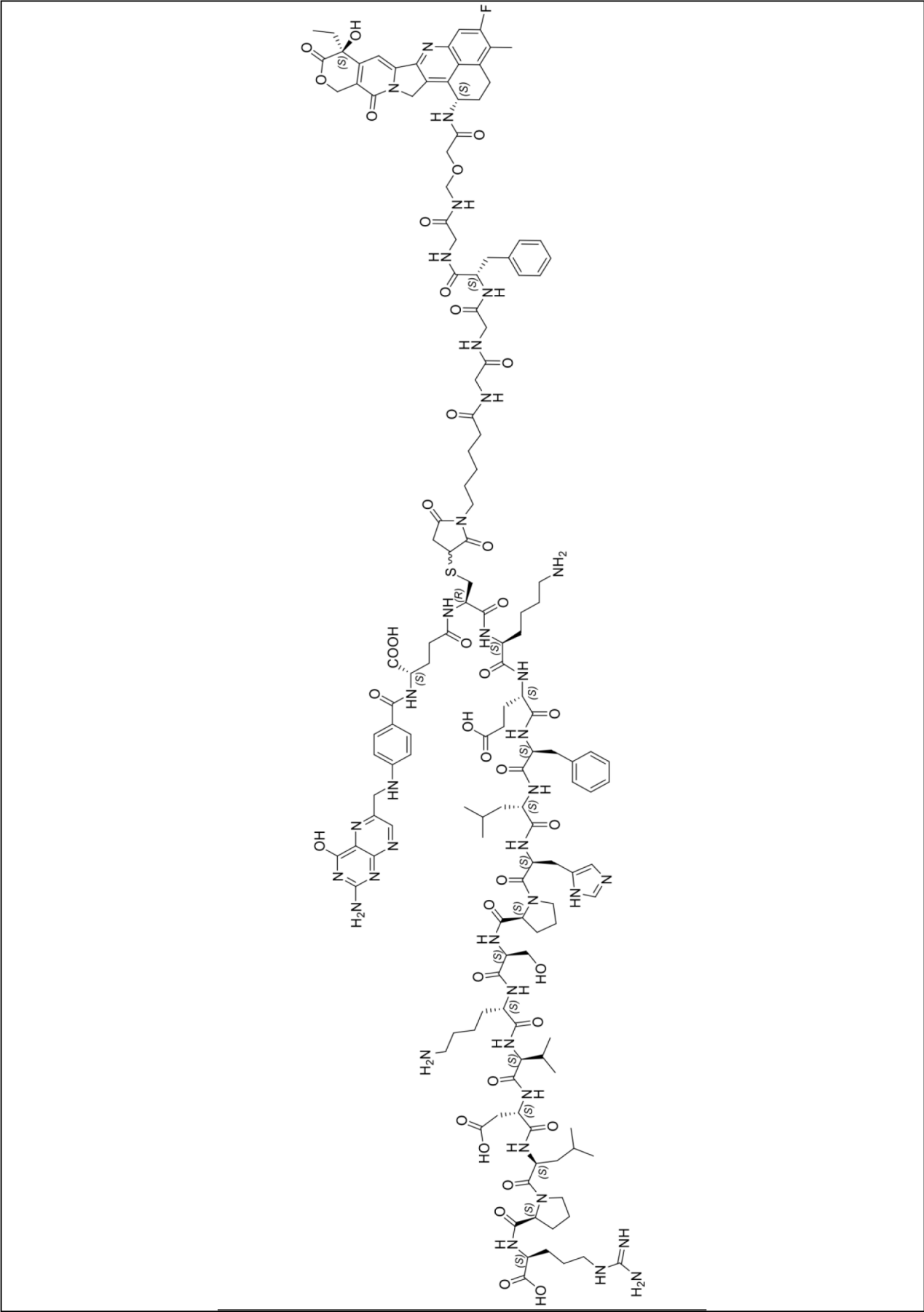


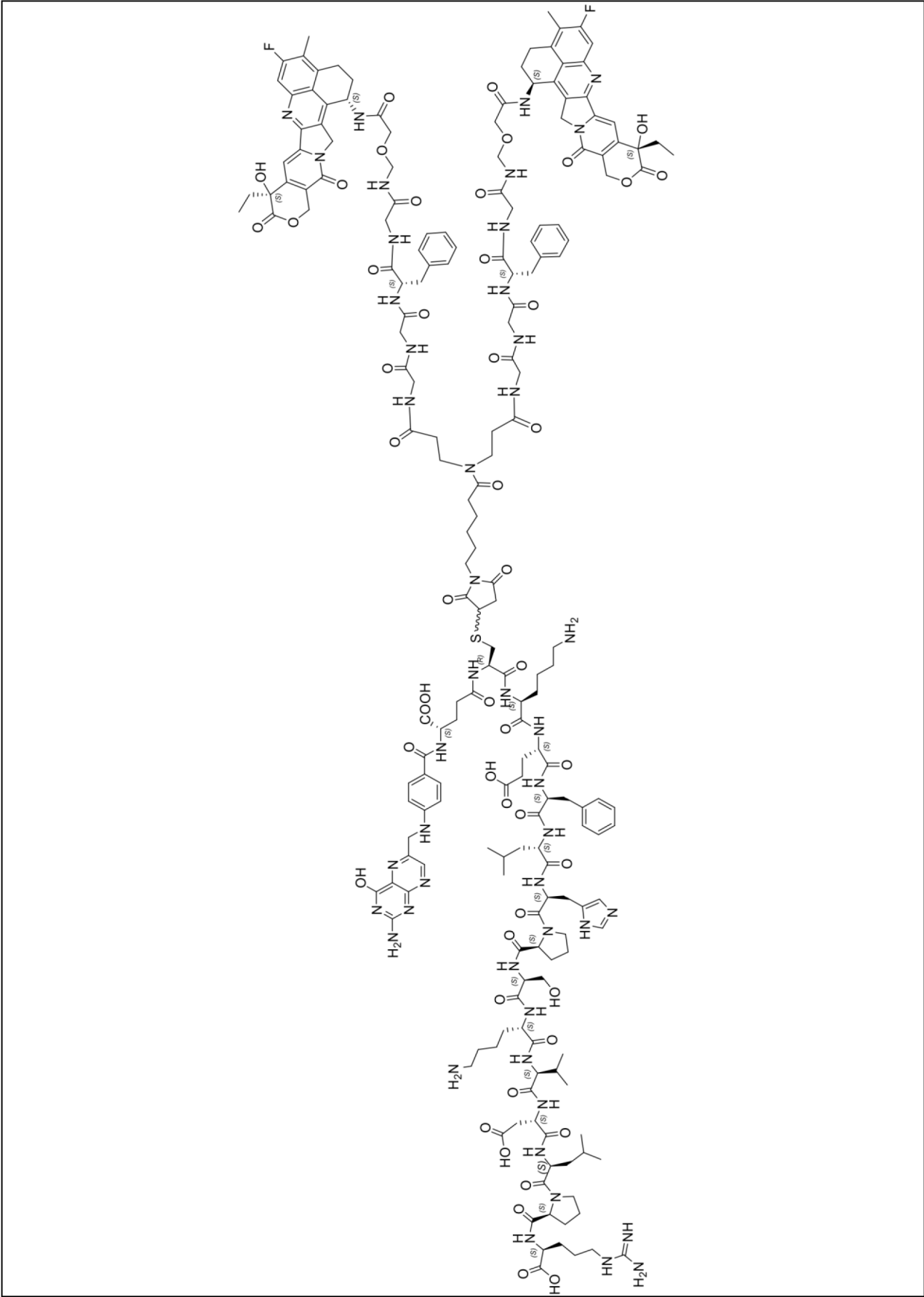


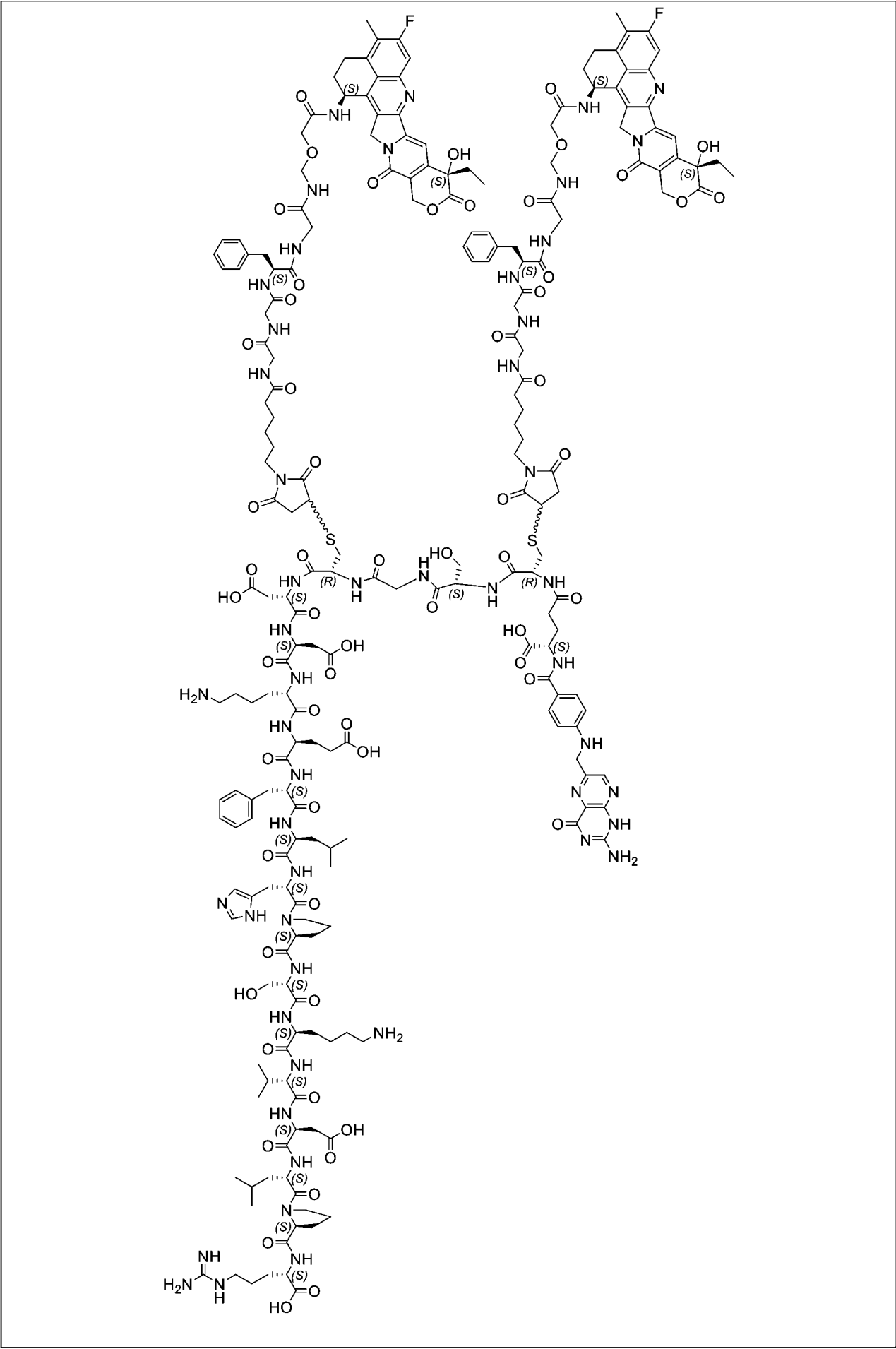


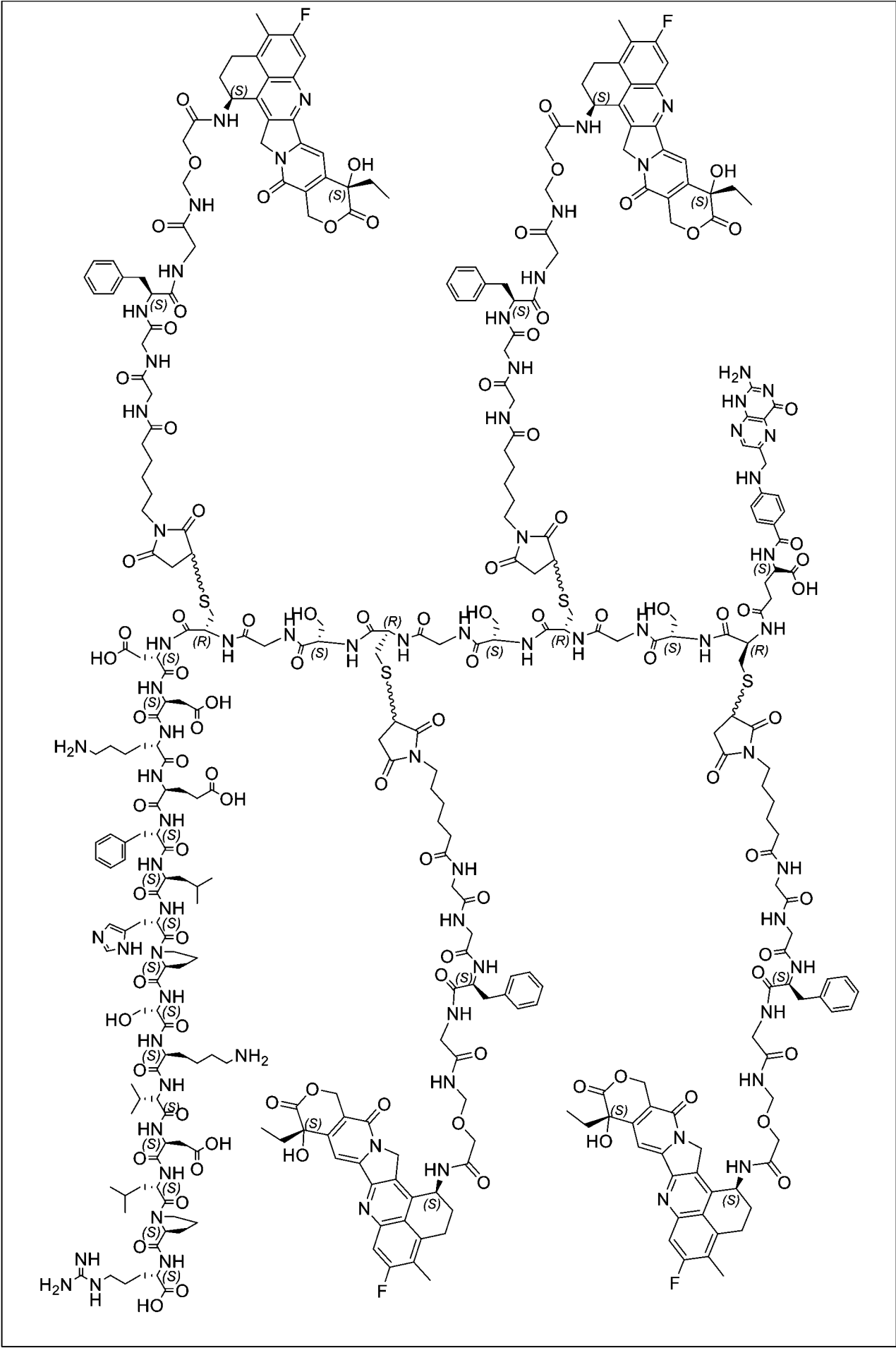


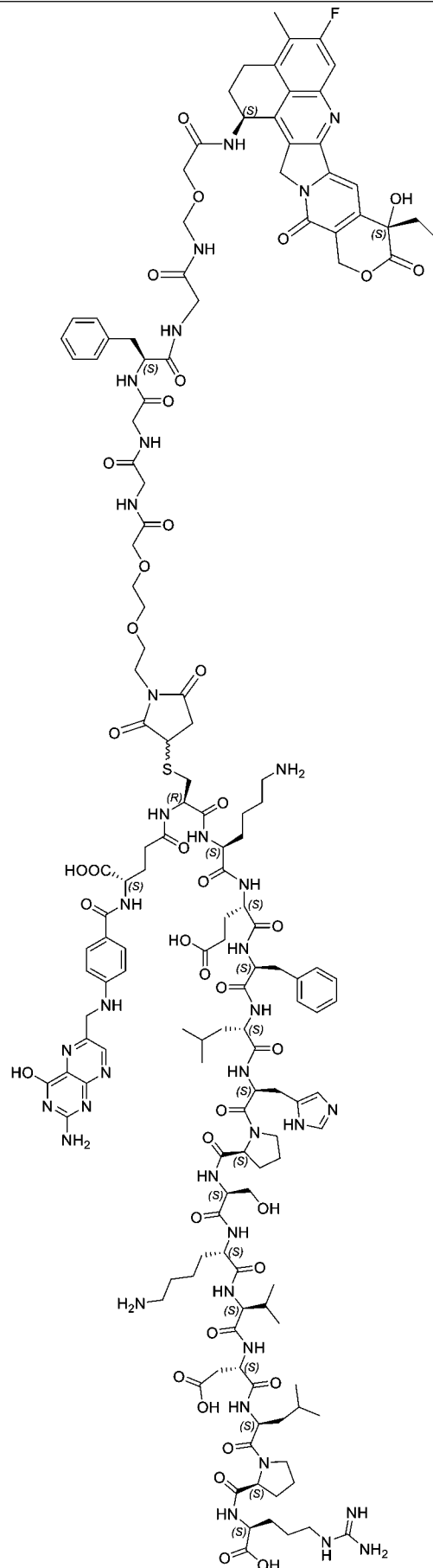


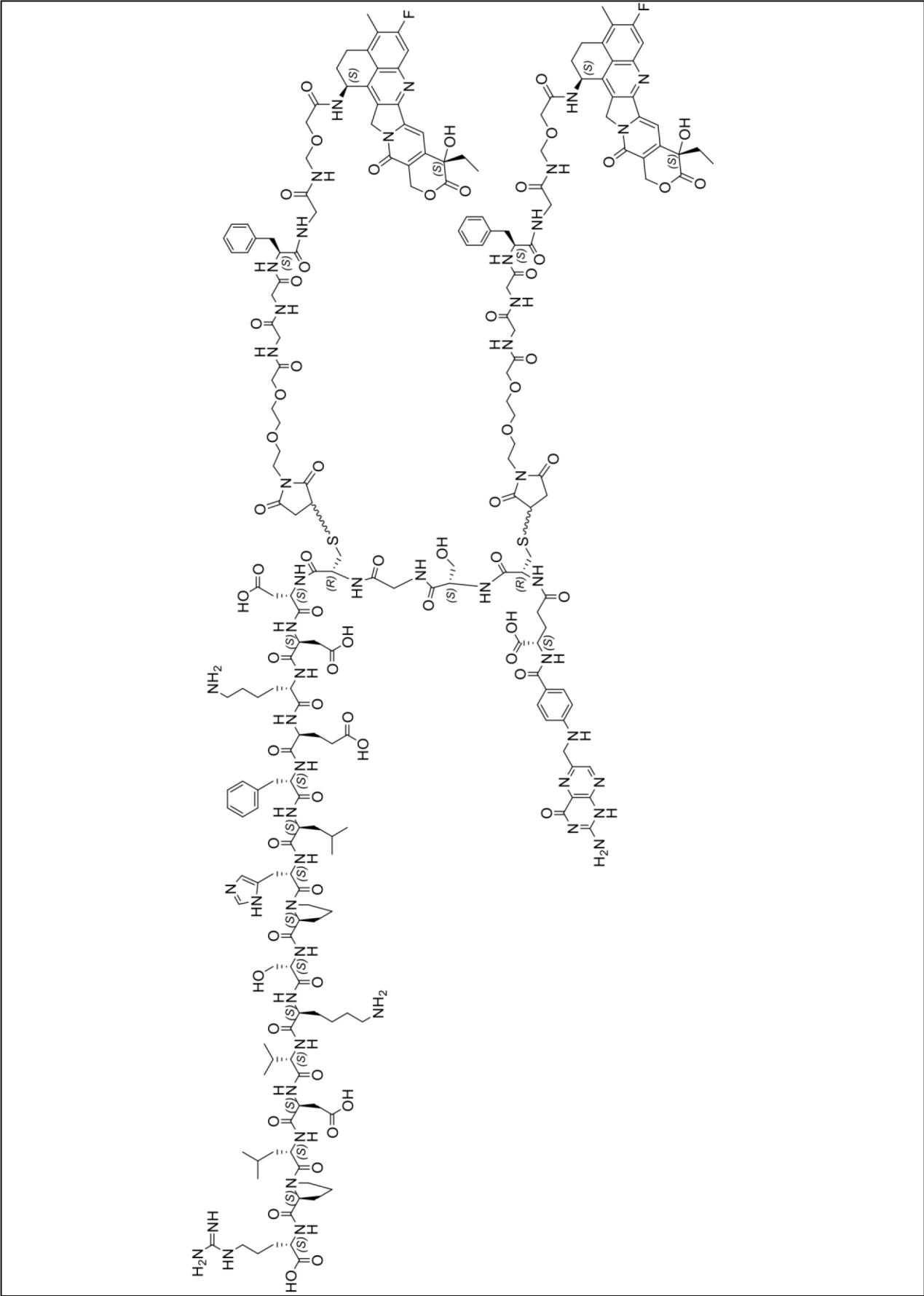


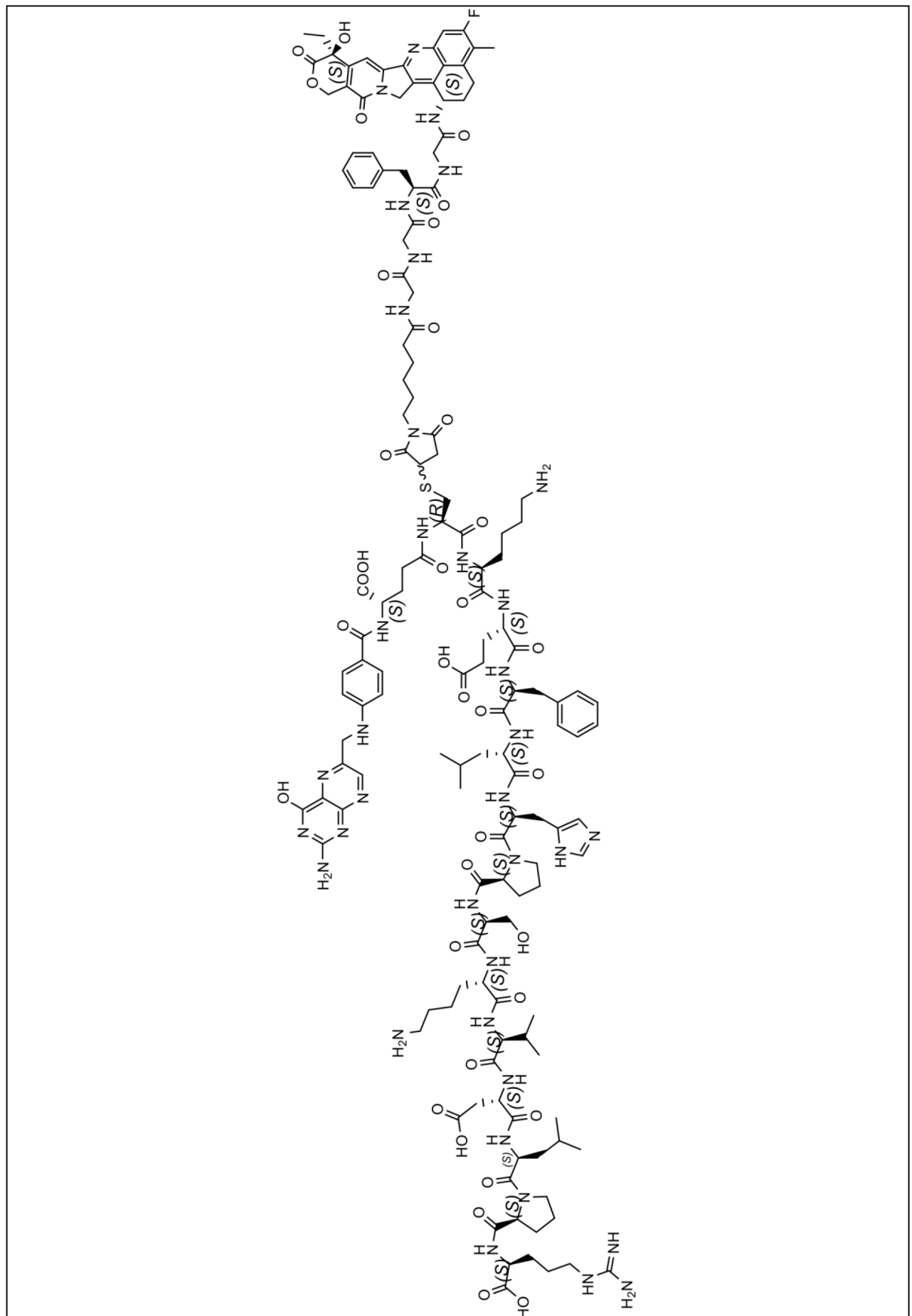


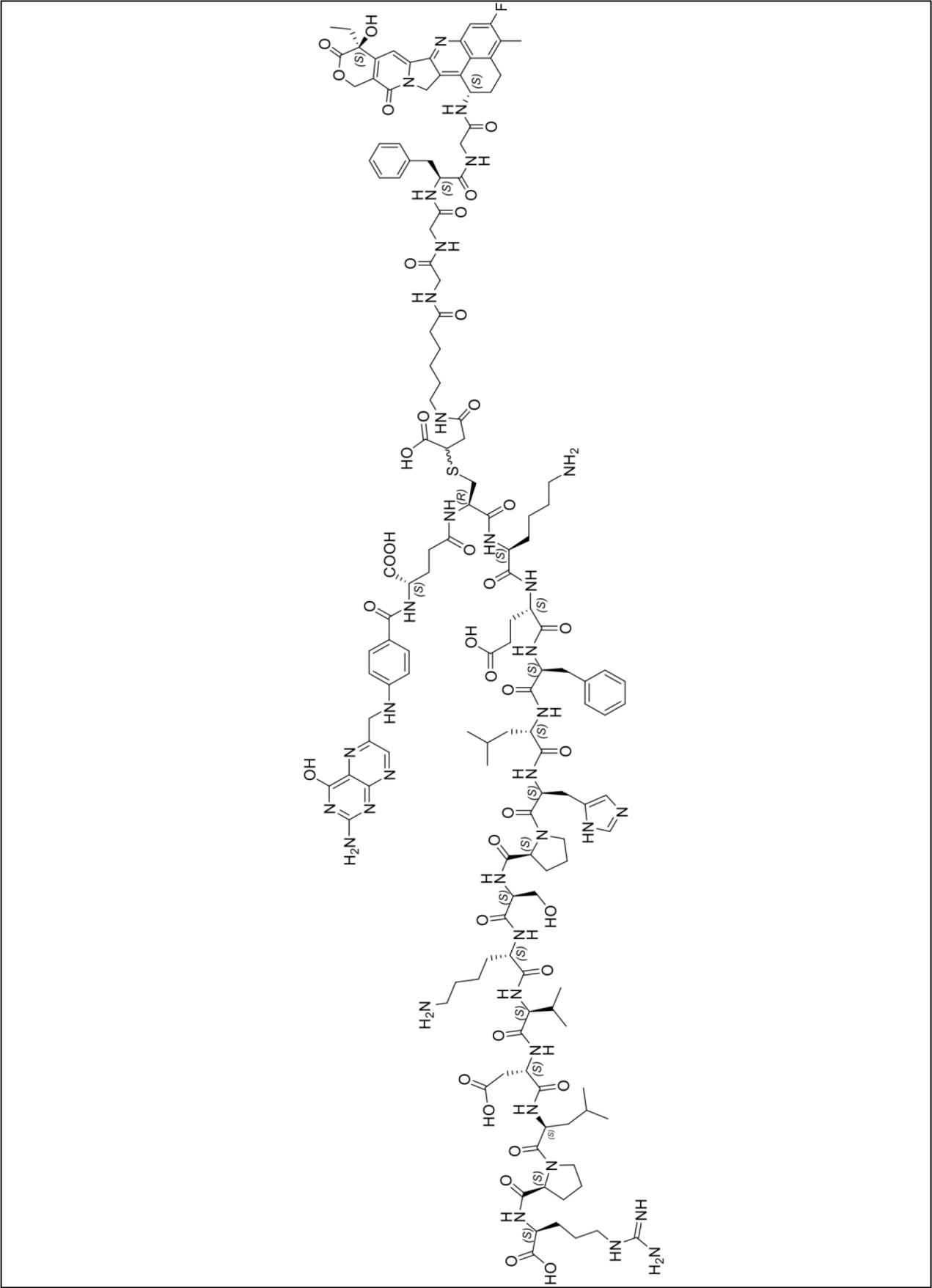


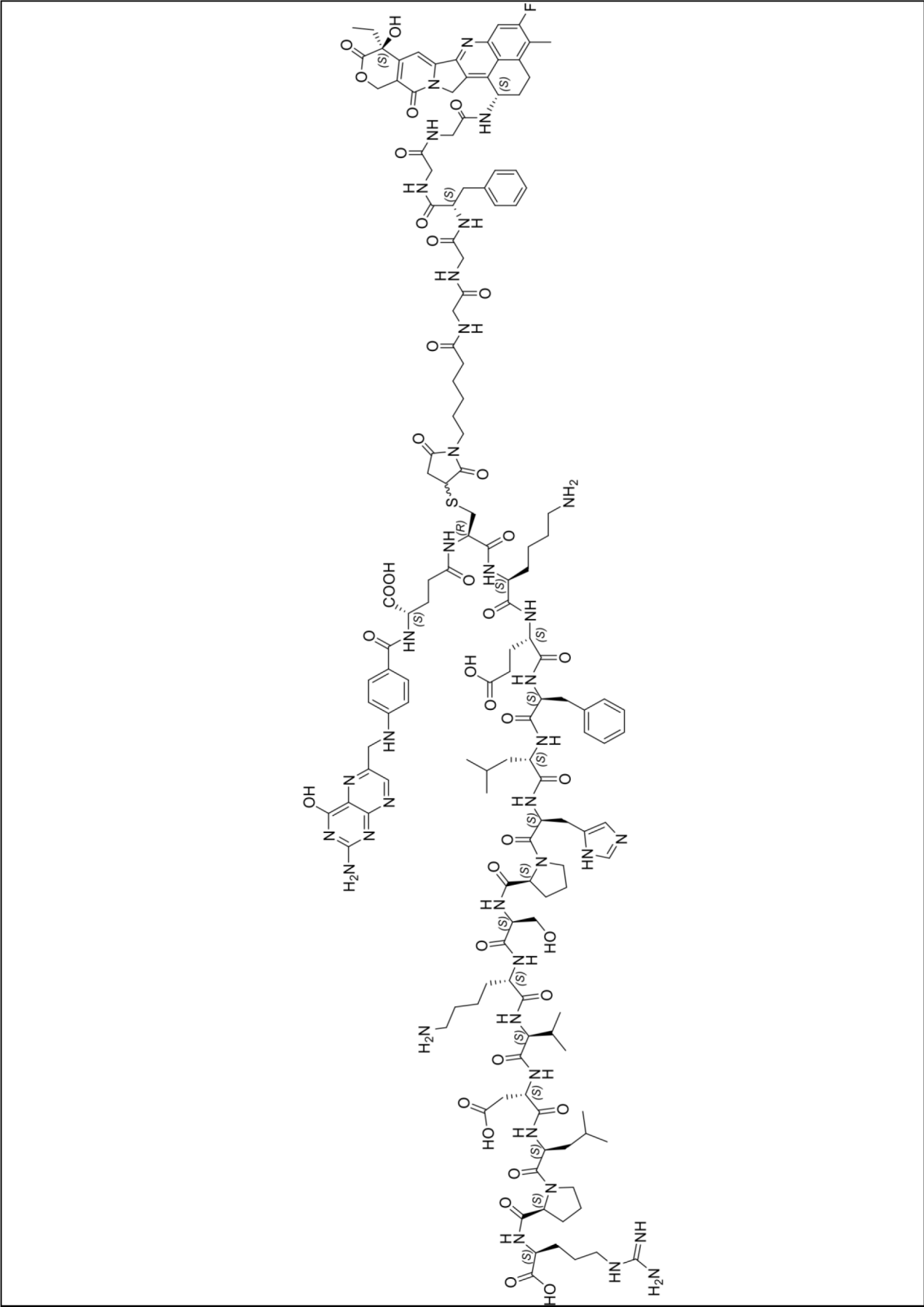


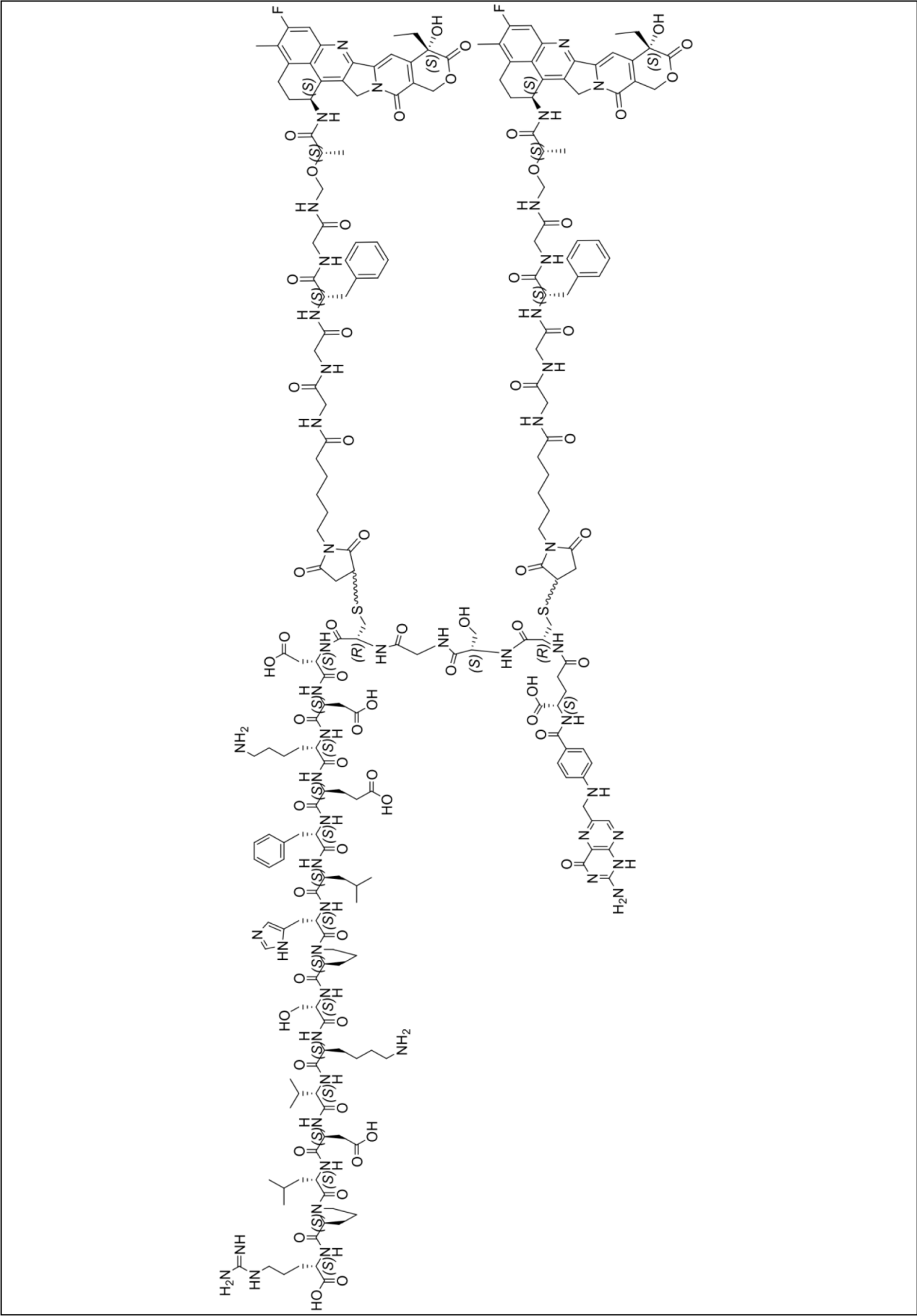


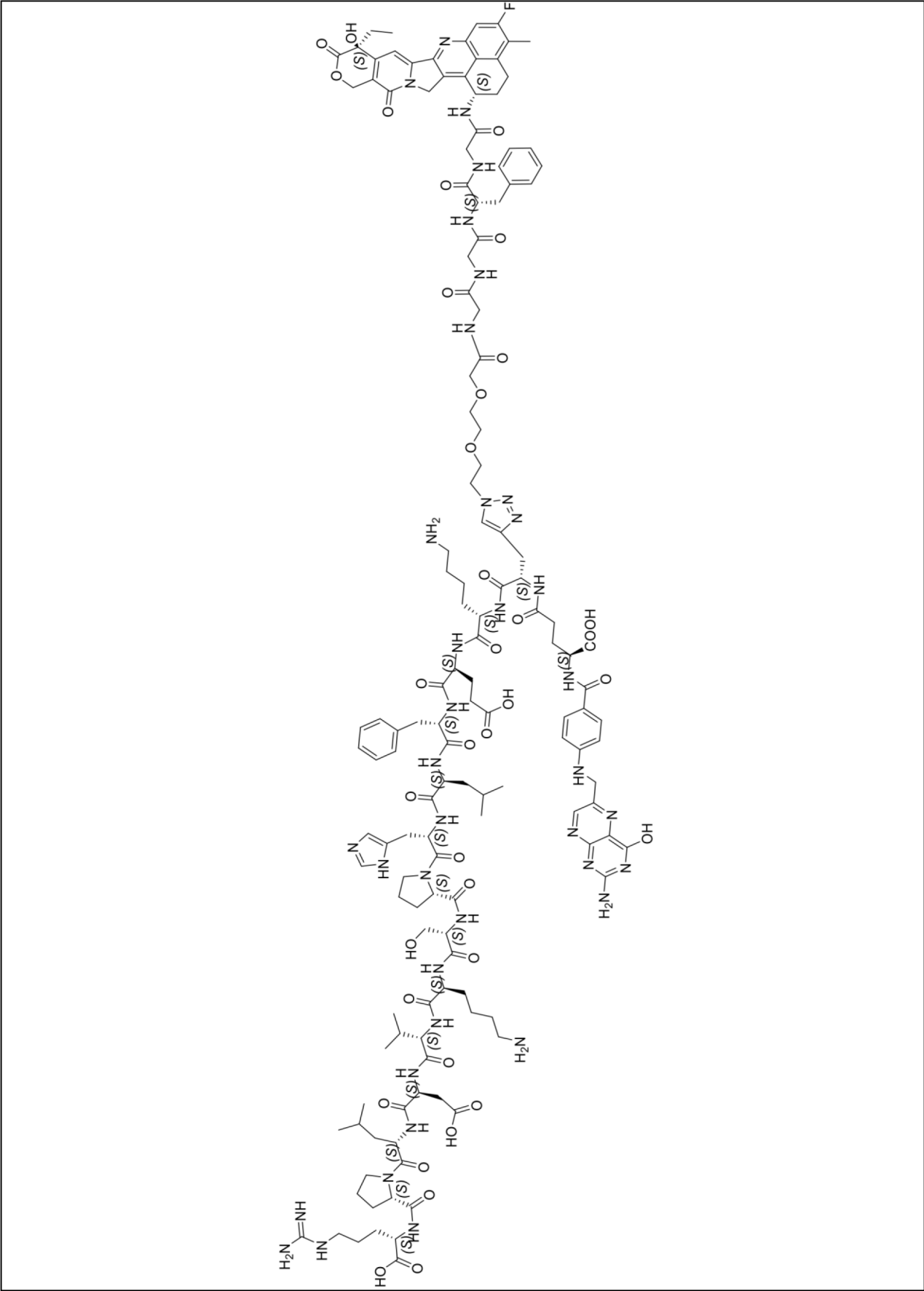


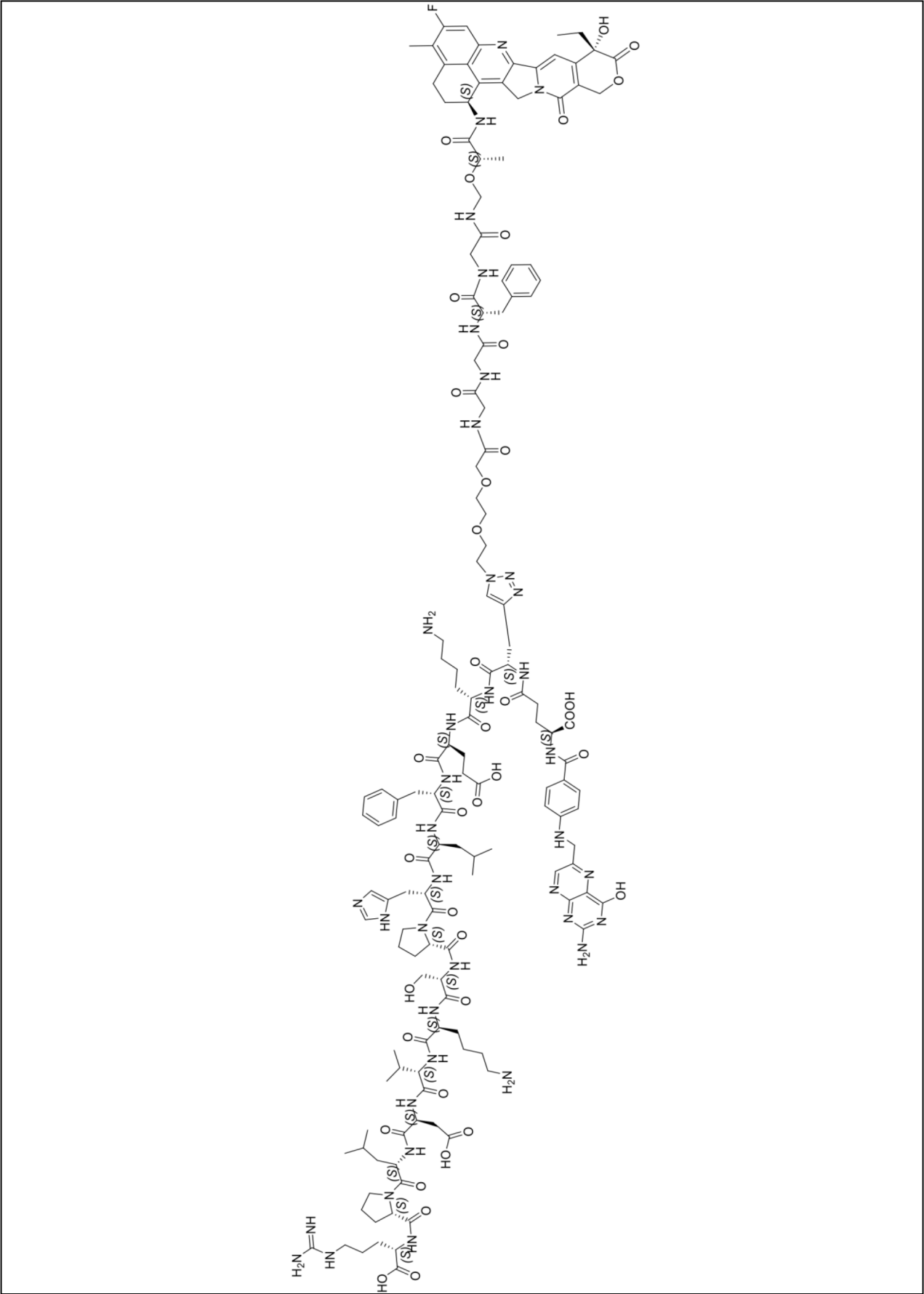


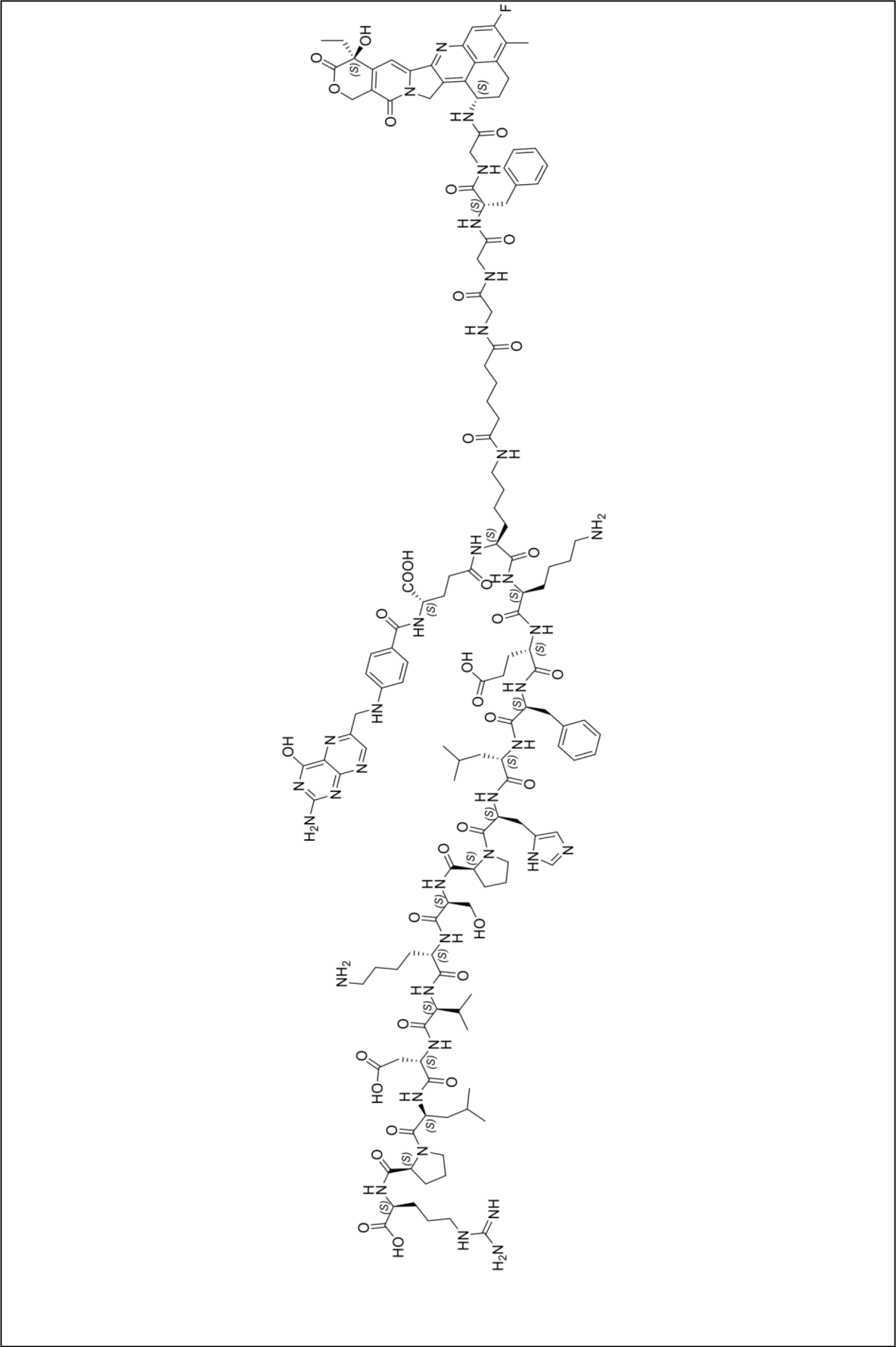


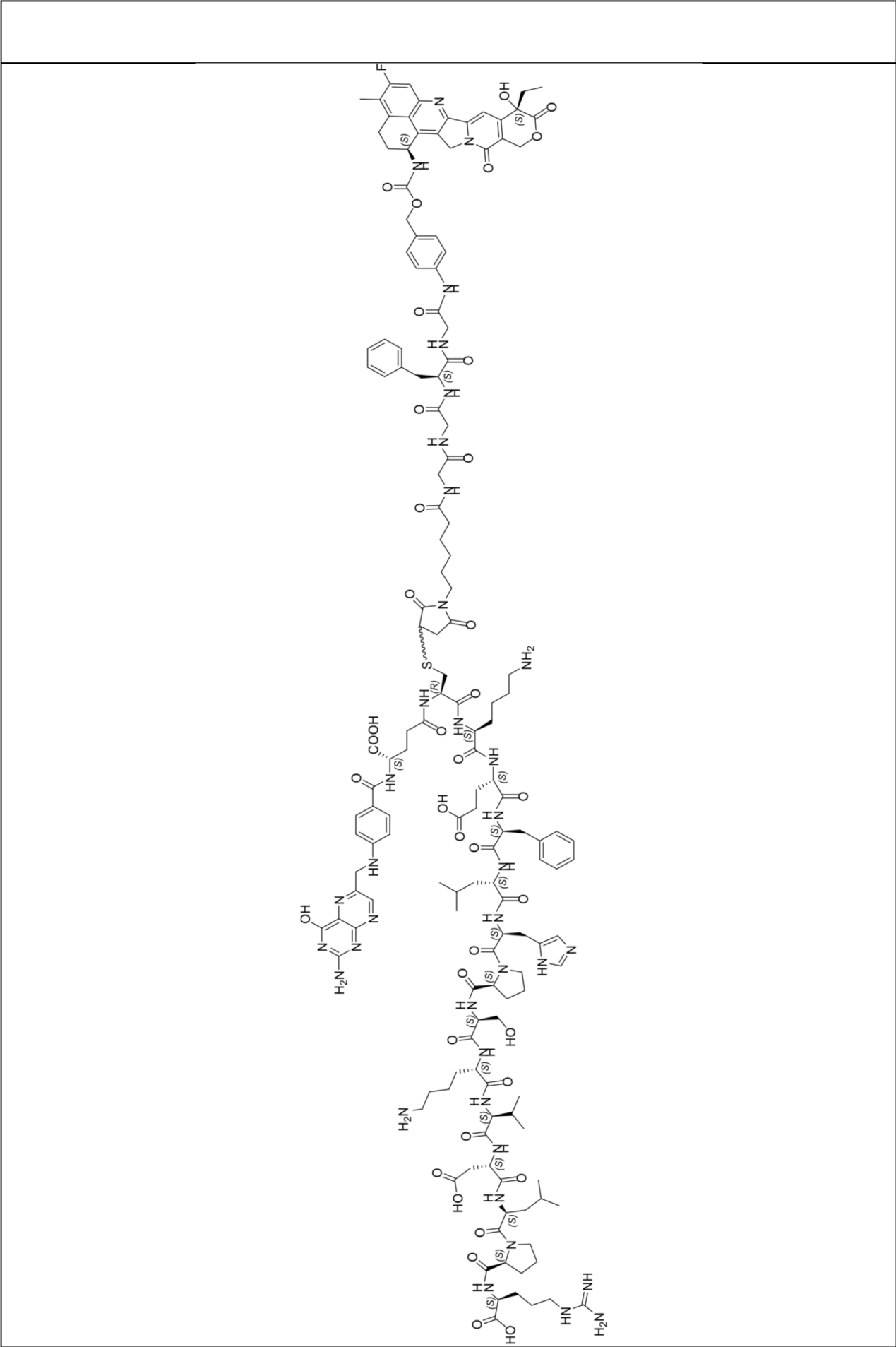


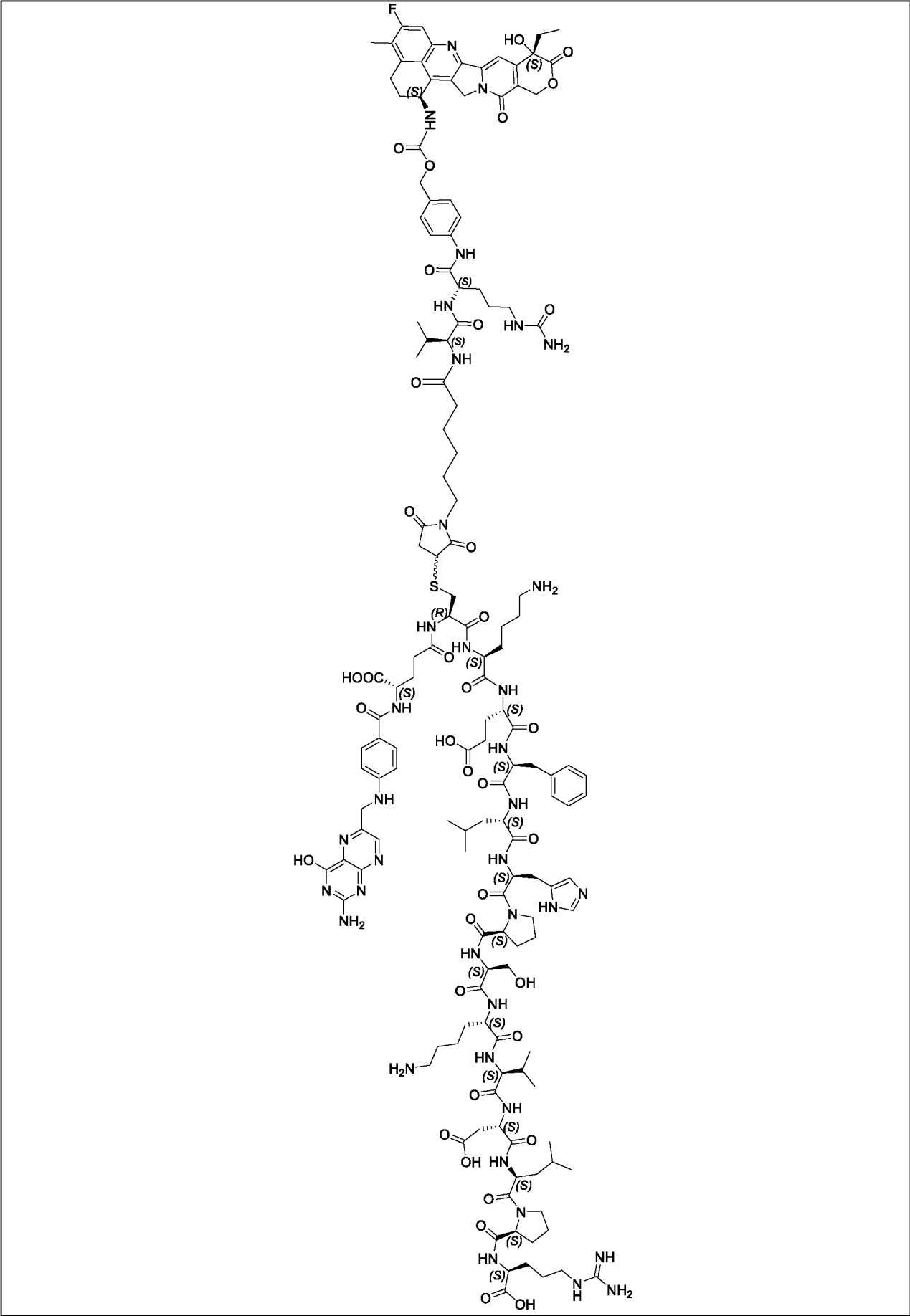


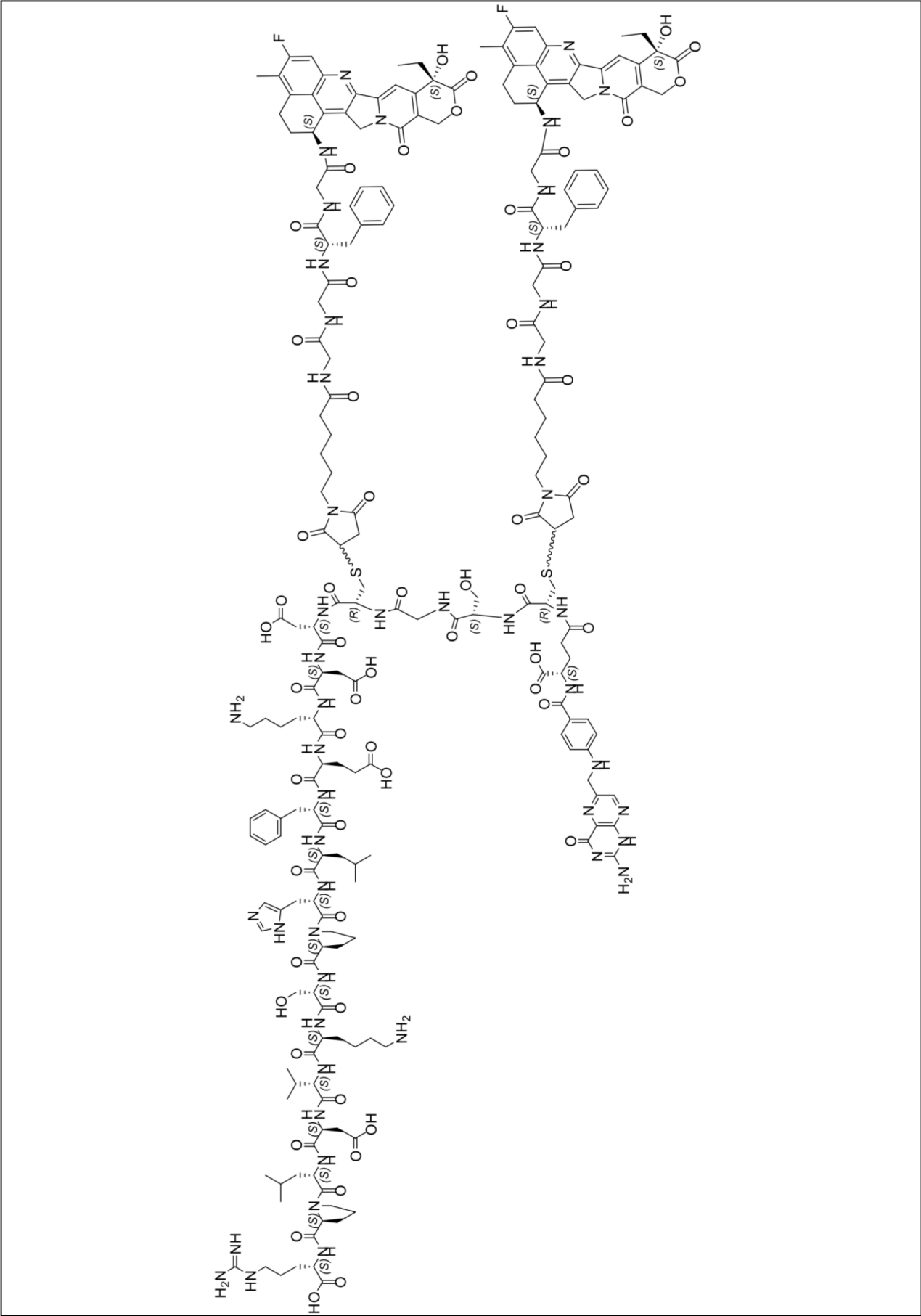


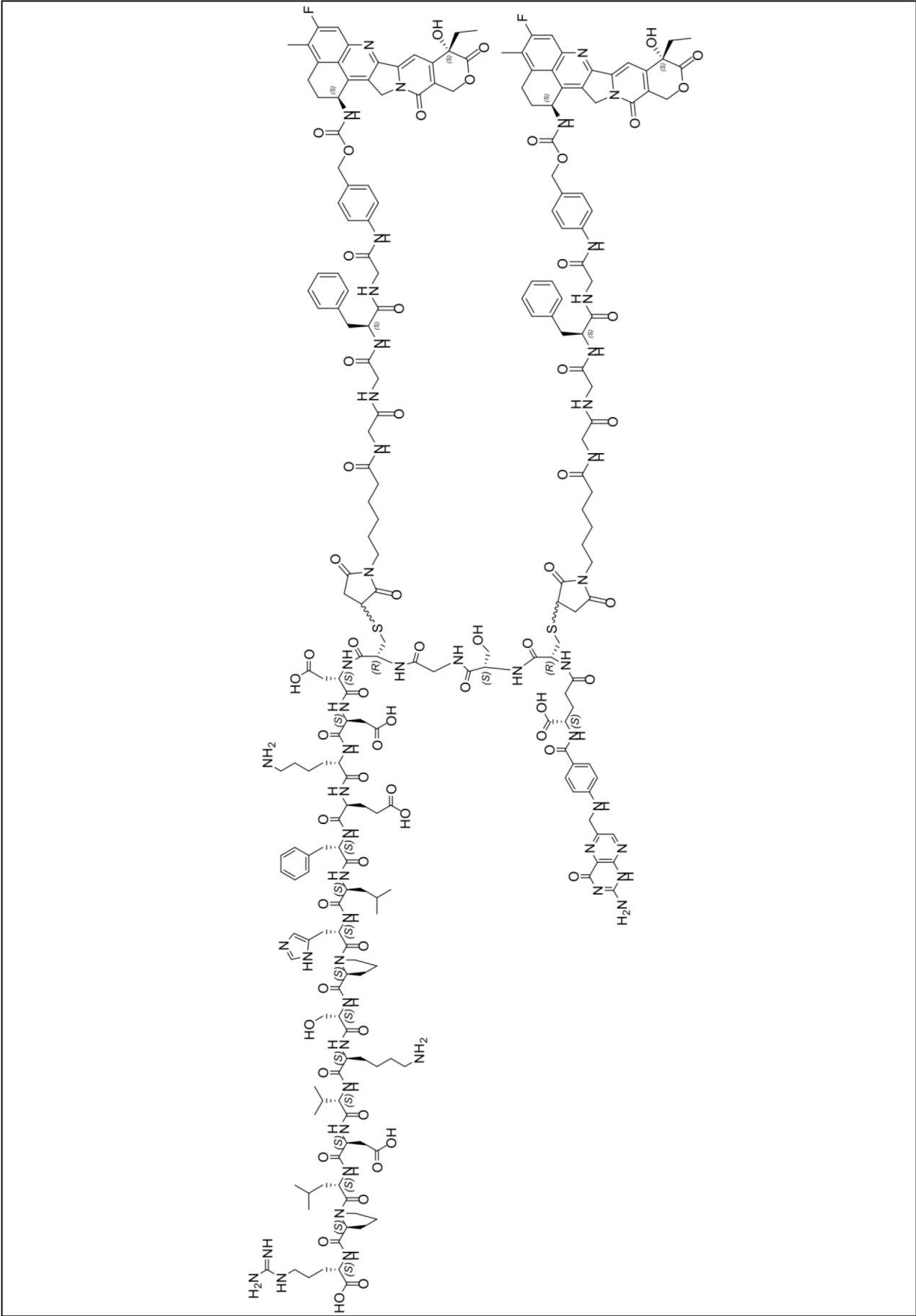


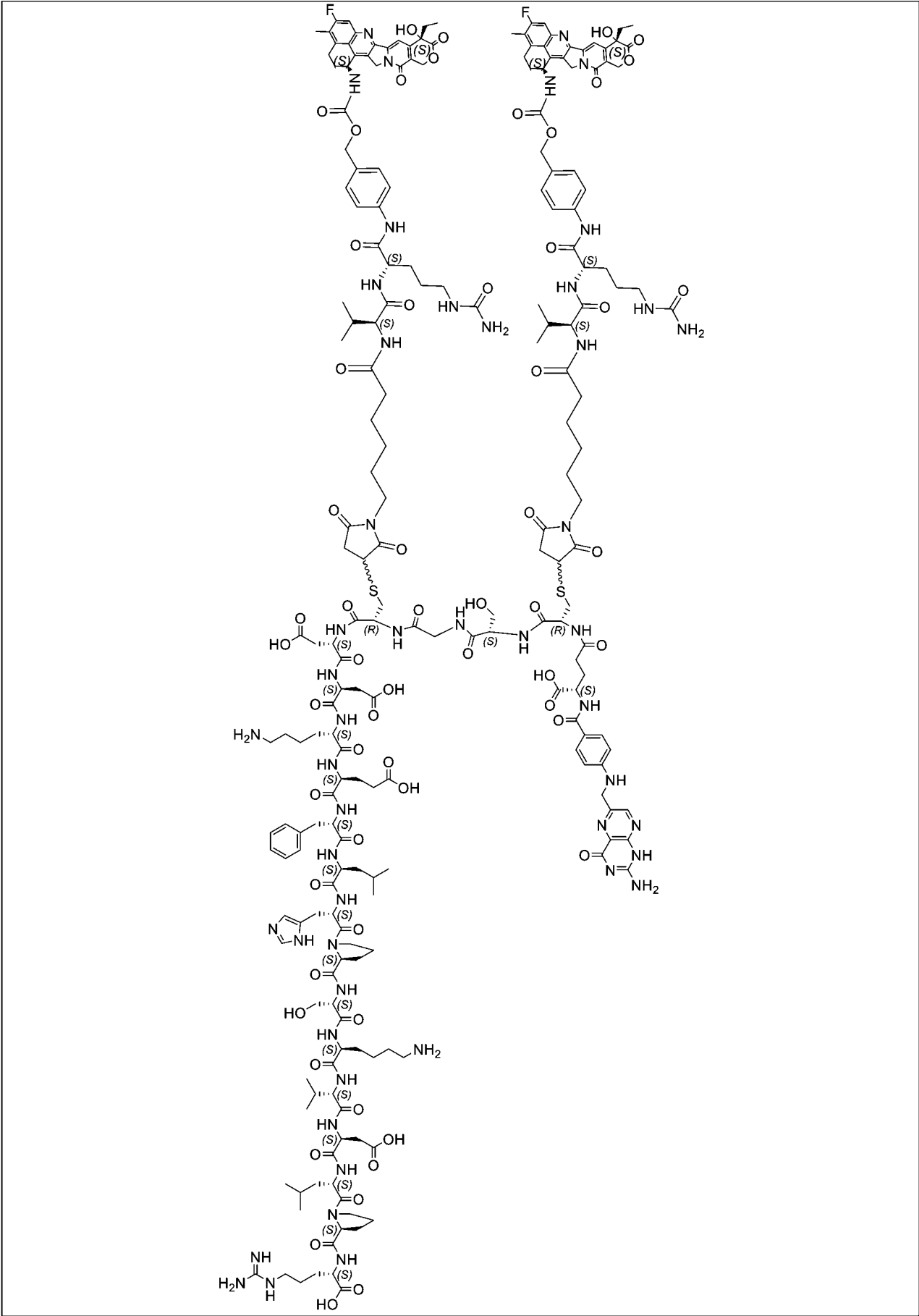












【0028】 本案的另一個方面提供了一種藥物組合物，所述藥物組合物包含本案所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，以及藥學上可接受的載體。在一些實施方式中，本案所述的藥物組合物用於靜脈內、皮下、口服、肌內或心室內施用。

【0029】 本案的又一個方面提供了一種用於向有需要的對象遞送有效負載的方法，所述方法包括向所述對象施用治療有效量的本案所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，或者本案所述的藥物組合物。

【0030】 本案的另一個方面提供了一種用於治療對象中的疾病的方法，所述方法包括向所述對象施用治療有效量的本案所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，或者本案所述的藥物組合物。在一些實施方式中，所述方法還包括將一種或多種治療劑與所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，或者所述藥物組合物聯合施用。

【0031】 本案的另一個方面提供了本案所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，或者本案所述的藥物組合物在用於製備治療對象中的疾病的藥物中的用途。

【0032】 在一些實施方式中，本案所述疾病選自下組：癌症、免疫性疾病、代謝疾病和神經疾病。在一些實施方式中，所述癌症選自胰腺癌、膽道癌、肝癌、乳腺癌、甲狀腺癌、結直腸癌、食道癌、肺癌、腎癌、白血病、卵巢癌、胃癌、子宮癌、子宮內膜癌、結腸癌、睪丸癌、皮膚癌、前列腺癌、淋巴瘤和多發性骨髓瘤。在一些實施方式中，免疫性疾病是自身免疫性疾病，較佳地，所述自身免疫性疾病選自結締組織病、系統性硬化症、類風濕性關節炎和系統性紅斑狼瘡。代謝疾病選自糖尿病、痛風、肥胖症、低血糖症、高血糖

症和血脂異常。在一些實施方式中，神經疾病選自阿茲海默症、帕金森氏症、亨廷頓舞蹈症、頭部損傷、多發性硬化症、眩暈、昏迷和癲癇。

【0033】 在一些實施方式中，本案的方法還包括將一種或多種治療劑與所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，或者所述藥物組合物聯合施用。

【0034】 在一些實施方式中，本案所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物的給藥頻率為每週一次、每週兩次、每週三次、每三天一次、每兩天一次、每天一次、每天兩次或每天三次。在一些實施方式中，本案所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物的給藥頻率為每週一次。在一些實施方式中，本案所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物的給藥頻率為每天三次。

【0035】 在一些實施方式中，本案所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物以1-150mg/kg的所述偶聯體化合物的劑量範圍施用。在一些實施方式中其中所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物以1mg/kg、3mg/kg、10mg/kg、25mg/kg、50mg/kg、75mg/kg、100mg/kg或150mg/kg的所述偶聯體化合物的劑量施用。在一些實施方式中，本案所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物以50 mg/kg的所述偶聯體化合物的劑量施用。在一些實施方式中，本案所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物以25 mg/kg的所述偶聯體化合物的劑量施用。

【圖式簡單說明】

【0036】圖1A為試驗中的小鼠體重隨給藥時間的變化，圖1B為MIAPaCa-2移植瘤模型各組腫瘤體積隨時間變化曲線，圖1A-1B顯示了本案的化合物在MIAPaCa-2移植瘤模型的抑瘤效果較好。

【0037】圖2A為試驗中的小鼠體重隨給藥時間的變化，圖2B為試驗中的小鼠相較初始體重隨給藥時間的變化情況。

【0038】圖3A為試驗中的大鼠體重隨給藥時間的變化，圖3B為給藥期間各組試驗動物攝食量變化。

【實施方式】

【0039】以下描述只為說明本案的多種實施方式。因此，此處的具體實施方式不應理解為對申請範圍的限制。本領域之具備通常知識者基於本發明的宗旨和本文的描述，可很容易地得出多種等同方式和修改，應理解這樣的等同實施方式包含在本發明範圍內。在本案中引用的所有文獻，包含公開出版物、專利和專利申請都透過引用的方式全文併入本案。

【0040】除非上下文另外明確指出，否則本文所使用的單數形式「一」、「一個」、「一種」和「該」或「所述」包括複數引用。

【0041】本文所使用的諸如「包括」、「包含」、「含有」、「含有」和「具有」等術語是包括性的或開放式的，並且不排除額外的、未敘述的要素或方法步驟。術語「由……組成」是封閉式的。

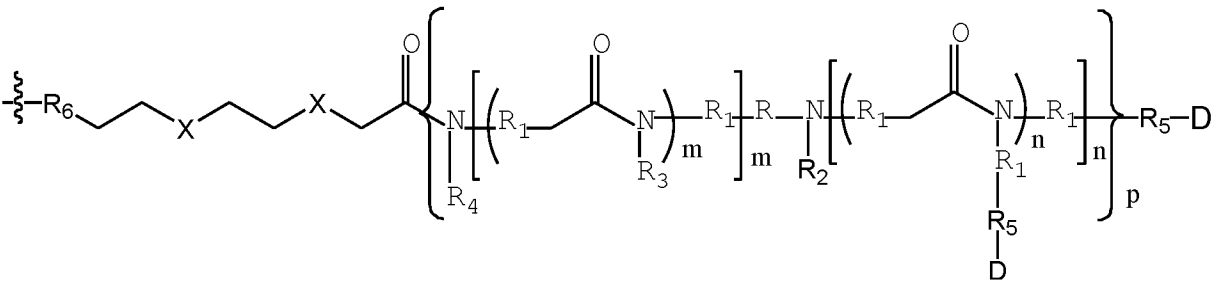
【0042】本案的一個方面公開了一種偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，所述偶聯體化合物具有以下結構：

多配體部分—(連接子—有效負載)_q，

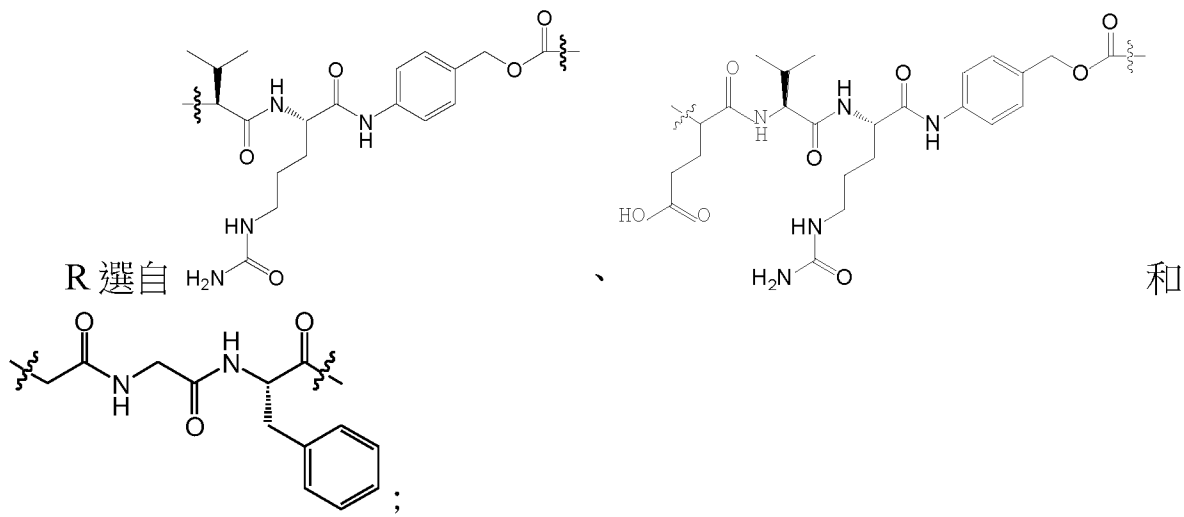
其中：

所述多配體部分包含至少兩個靶向不同細胞表面分子的配體，

所述連接子-有效負載部分具有以下結構：

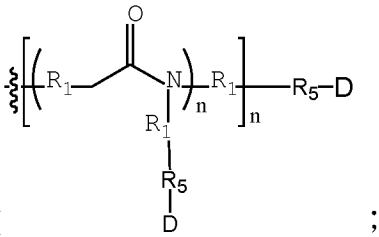


其中：

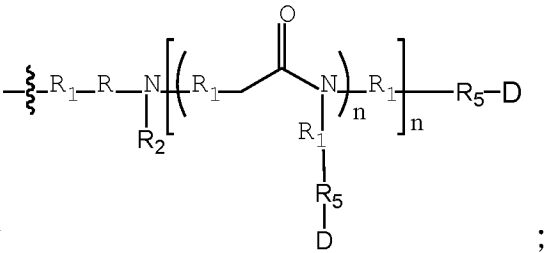


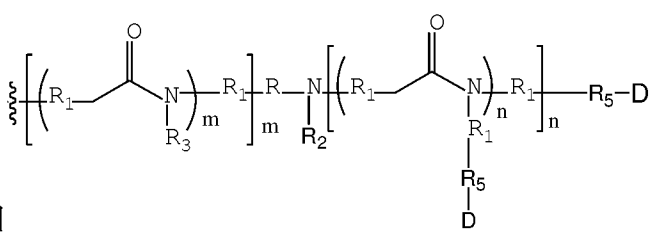
R₁ 各自獨立地選自鍵和-CH₂CH₂C(O)-NH-；

R₂ 各自獨立地選自氫和



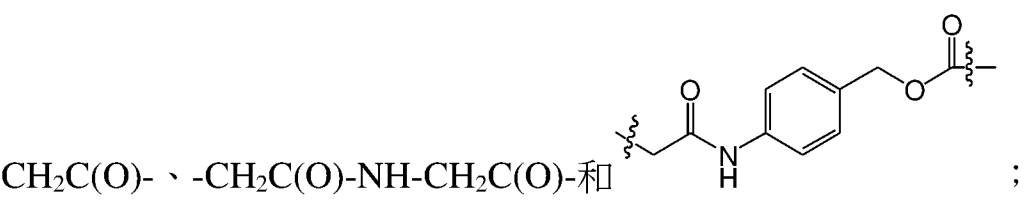
R₃ 各自獨立地選自氫和



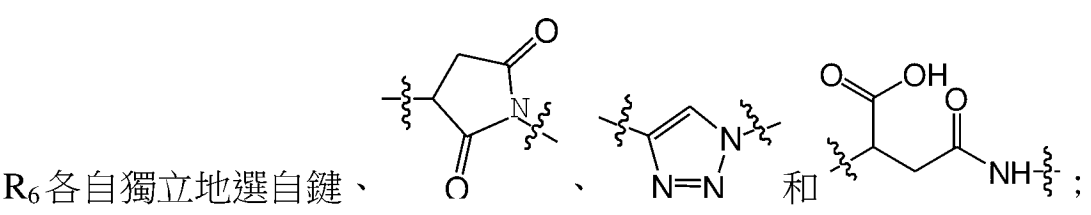


R₄ 各自獨立地選自氫和

R₅ 各自獨立地選自鍵、-(CH₂CH₂O)₃-CH₂CH₂-、-CH₂C(O)-NH-CH₂-、-



CH₂C(O)-、-CH₂C(O)-NH-CH₂C(O)-和



R₆ 各自獨立地選自鍵、

X 各自獨立地選自鍵、C 和 O；

m 各自獨立地為 0 或 1；

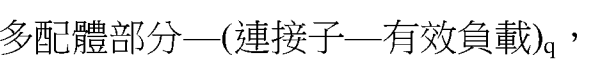
n 各自獨立地為 0 或 1；

p 為 0 或 1；

q 為 1 至 4 的整數；

D 為有效負載。

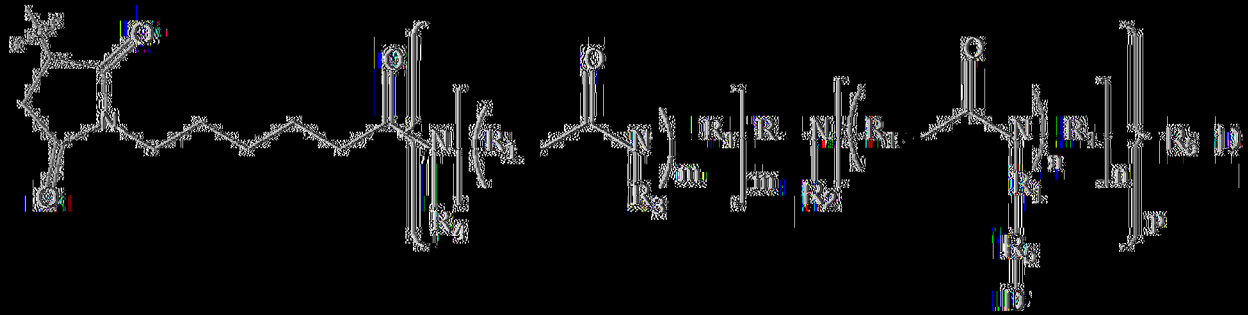
【0043】 本案的另一個方面公開了一種偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，所述偶聯體化合物具有以下結構：



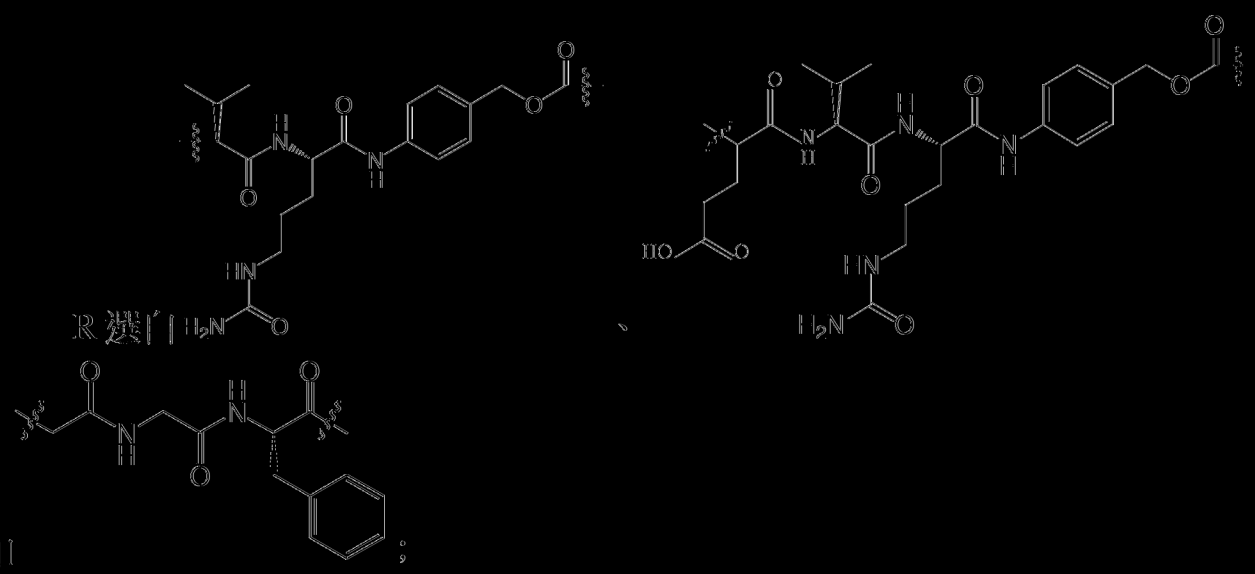
其中：

所述多配體部分包含至少兩個靶向不同細胞表面分子的配體，

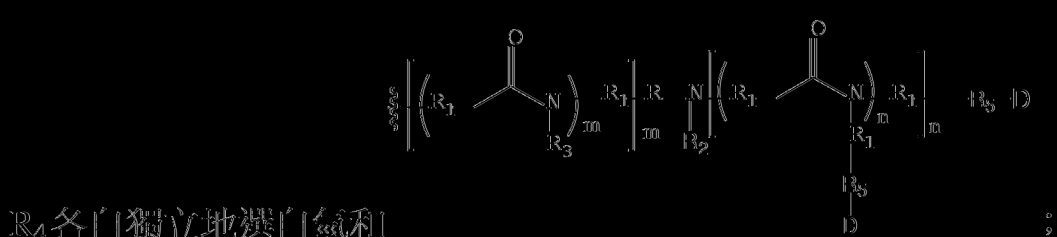
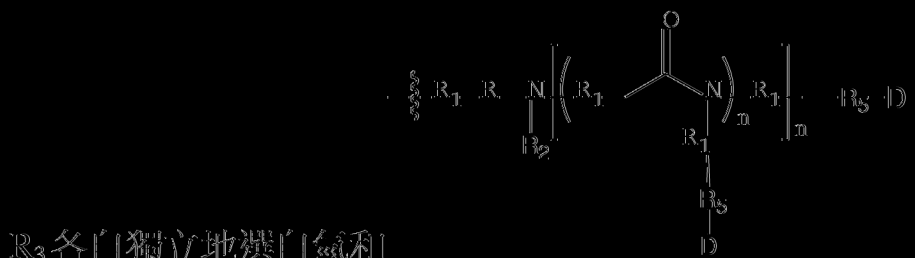
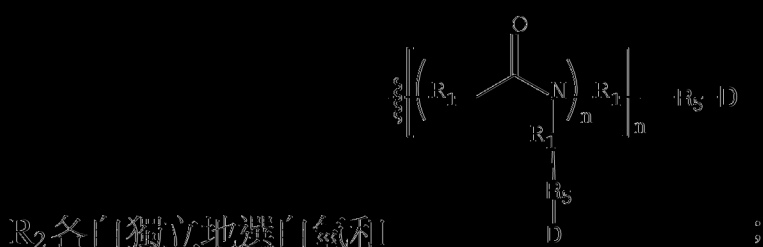
所述連接子-有效負載部分具有以下結構：



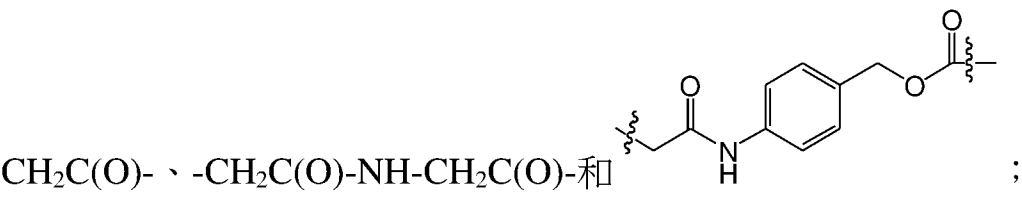
其中：



R_1 各自獨立地選自鍵和 $-\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NCH}_2-$ ；



R₅ 各自獨立地選自鍵、-(CH₂CH₂O)₃-CH₂CH₂-、-CH₂C(O)-NH-CH₂-、-



m 各自獨立地為 0 或 1；

n 各自獨立地為 0 或 1；

p 為 0 或 1；

q 為 1 至 4 的整數；

D 為有效負載。

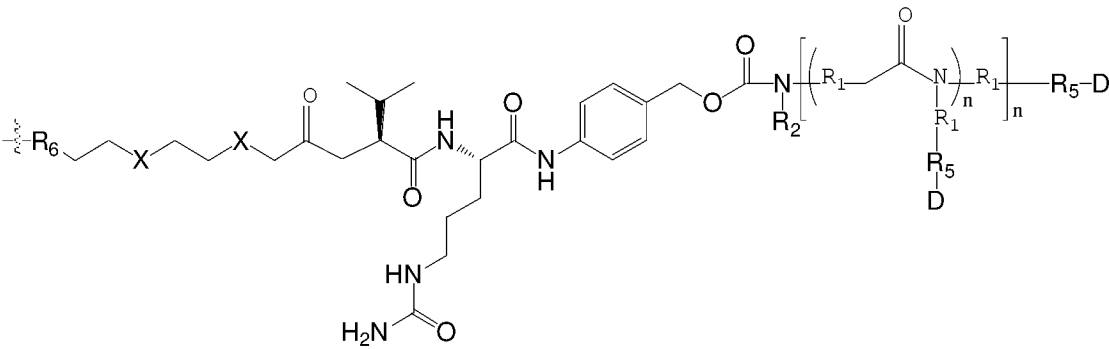
【0044】 本案的另一個方面公開了一種偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，所述偶聯體化合物具有以下結構：

多配體部分—(連接子—有效負載)_q，

其中：

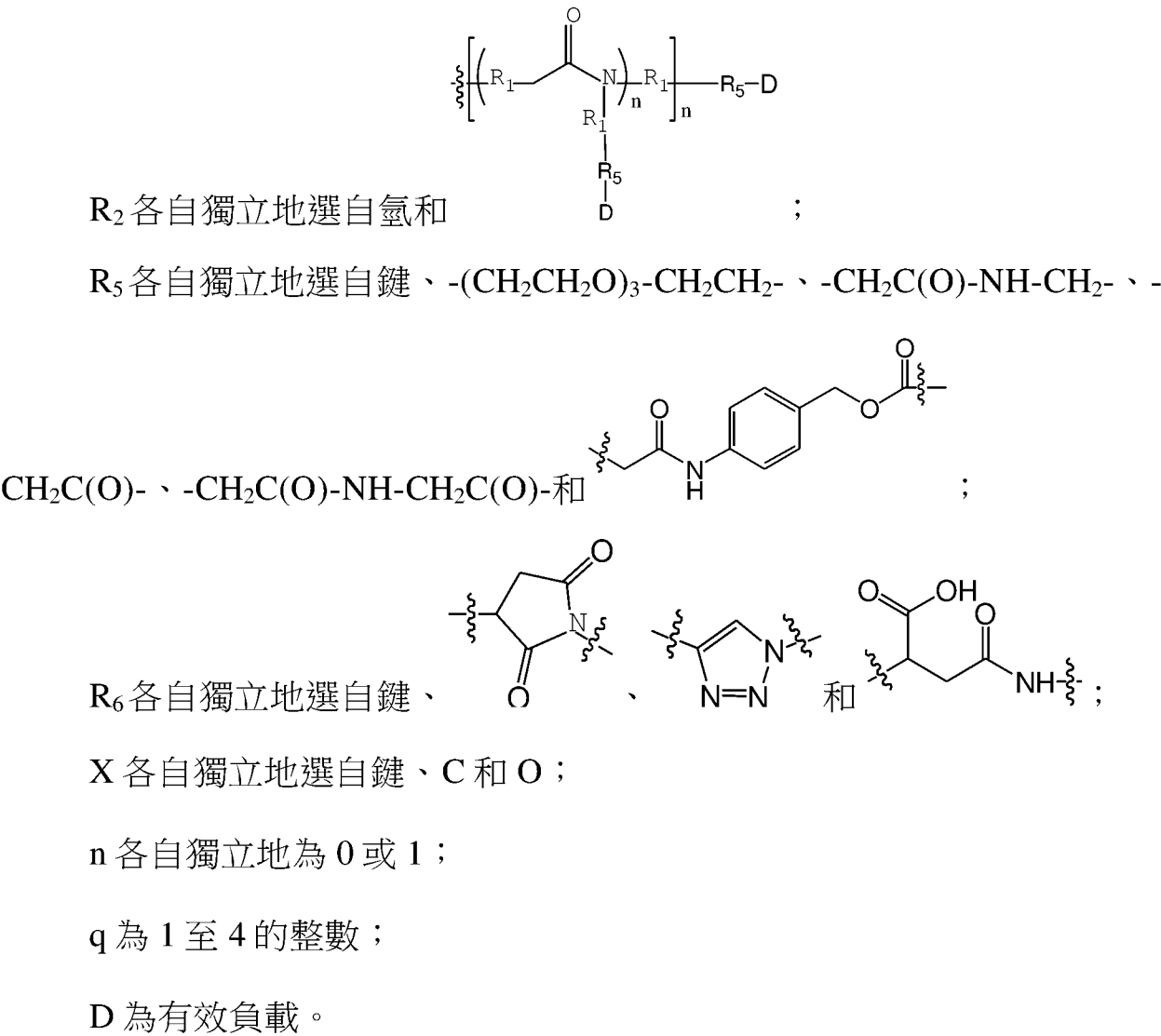
所述多配體部分包含至少兩個靶向不同細胞表面分子的配體，

所述連接子-有效負載部分具有以下結構：

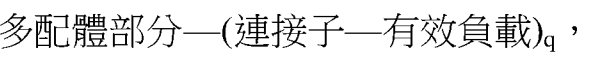


其中：

R₁ 各自獨立地選自鍵和-CH₂CH₂C(O)-NH-；



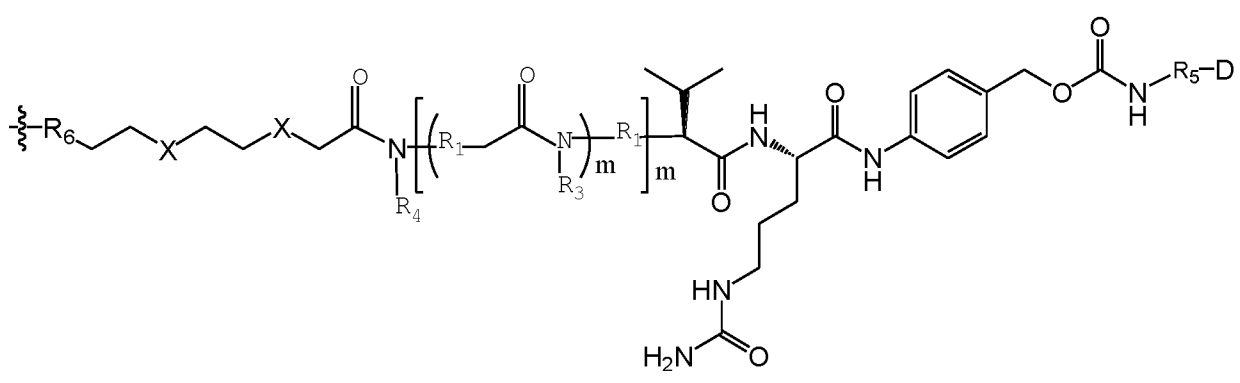
【0045】 本案的另一個方面公開了一種偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，所述偶聯體化合物具有以下結構：



其中：

所述多配體部分包含至少兩個靶向不同細胞表面分子的配體，

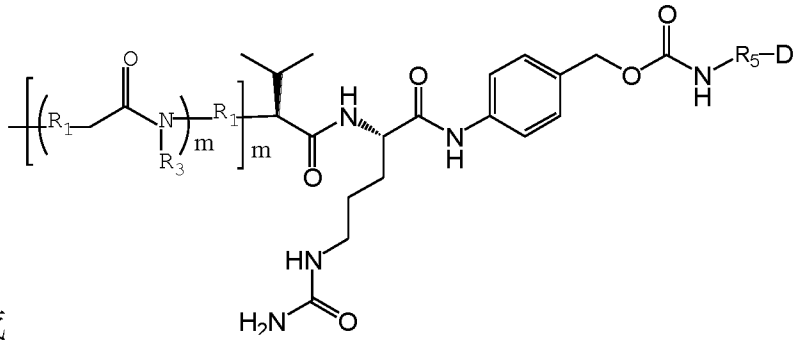
所述連接子-有效負載部分具有以下結構：



其中：

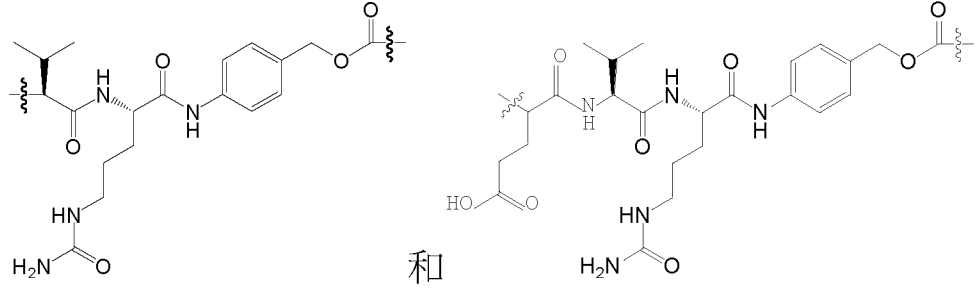
R_1 各自獨立地選自鍵和 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-\text{NH}-$ ；

R_3 各自獨立地選自氫和 $-\text{R}_1-\text{R}-\text{NH}-\text{R}_5-\text{D}$ ；



R_4 為氫或

；



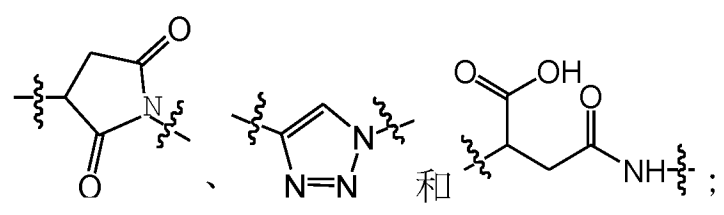
R 選自

和

；

R_5 各自獨立地選自鍵、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 、-

$\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ 和 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ ；



R_6 各自獨立地選自鍵、

、

和

X 各自獨立地選自鍵、 C 和 O ；

m 各自獨立地為 0 或 1；

q 為 1 至 4 的整數；

D 為有效負載。

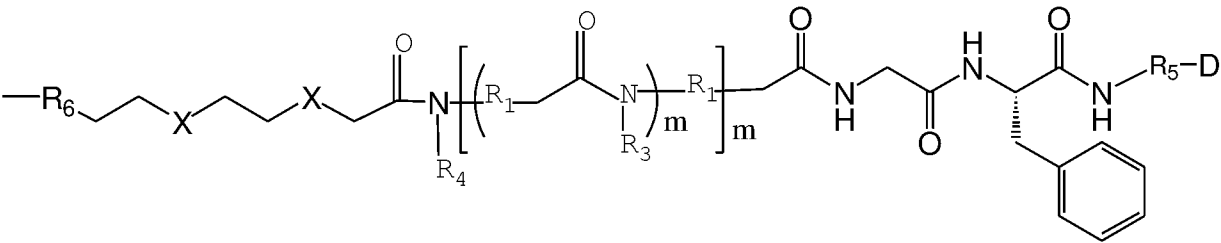
【0046】 本案的另一個方面公開了一種偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，所述偶聯體化合物具有以下結構：

多配體部分—(連接子—有效負載)_q，

其中：

所述多配體部分包含至少兩個靶向不同細胞表面分子的配體，

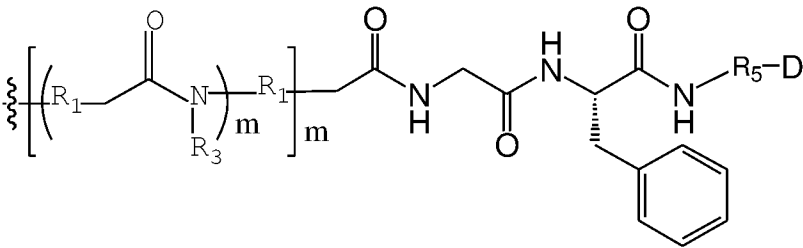
所述連接子-有效負載部分具有以下結構：



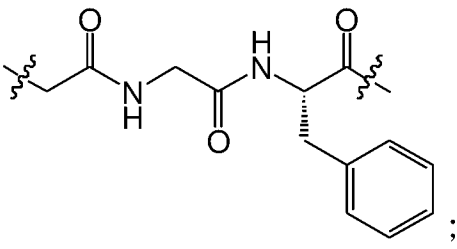
其中：

R₁ 各自獨立地選自鍵和-CH₂CH₂C(O)-NH-；

R₃ 各自獨立地選自氫和-R₁-R-NH-R₅-D；

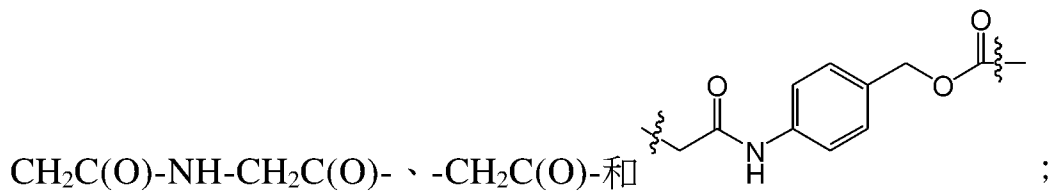


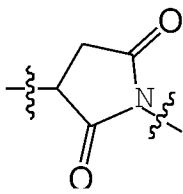
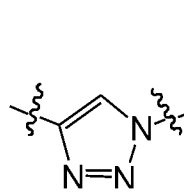
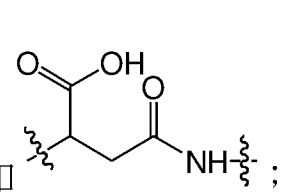
R₄ 為氫或



R 為

R_5 各自獨立地選自鍵、 $-(CH_2CH_2O)_3-CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2C(O)-NH-CH_2-$ 、 $-$



R_6 各自獨立地選自鍵、  、  和  ;

X 各自獨立地選自鍵、 C 和 O ;

m 各自獨立地為 0 或 1 ;

q 為 1 至 4 的整數 ;

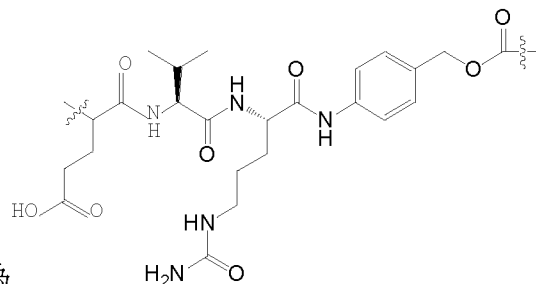
D 為有效負載。

【0047】 本案使用的術語「配體」可以包括各種各樣的化學分子或肽，其對所選定的靶點具有特異性的結合親和性，所選定的靶點可以是例如細胞表面受體、細胞表面抗原、細胞、組織、器官等。在一些實施方式中，配體可以與靶細胞表面上表現的蛋白或標記物特異性結合。在一些實施方式中，本案的配體以 10^{-6} ~ 10^{-11} M (K_d 值)的親和性與細胞表面蛋白或標記物結合。在一些實施方式中，本案的配體以至少 10^{-7} 、至少 10^{-8} 、至少 10^{-9} M (K_d 值)的親和性與細胞表面蛋白或標記物結合。在一些實施方式中，本案的配體以低於 10^{-6} 、低於 10^{-7} 、低於 10^{-8} M (K_d 值)的親和性與細胞表面蛋白或標記物結合。在一些實施方式中，本案的配體以一定的親和性與細胞表面蛋白或標記物結合，所述一定的親和性是指與同非靶細胞表面蛋白或標記物的親和性相比，配體對靶細胞表面蛋白或標記物的親和性高至少兩倍、三倍、四倍、五倍、六倍、八倍、十倍、二十倍、五十倍、一百倍或更多倍。在一些實施方式中，本案的細胞表面

蛋白或標記物在靶細胞（例如，癌細胞）中的表現顯著高於在正常細胞中的表現。在本案中使用的術語「顯著」指的是統計學上的顯著差異，或者可以由本領域之具備通常知識者認識到的顯著性差異。

【0048】 本案中所述的「多配體部分」包含至少兩個靶向不同細胞表面分子的配體。在一些實施方式中，多配體部分包含三個配體，其中第一配體和第二配體靶向不同的細胞表面分子，第三配體靶向的細胞表面分子可以與前述兩個配體靶向的細胞表面分子相同，也可以不同。在一些實施方式中，多配體部分可以包含四個或更多個配體。

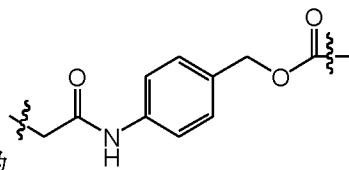
【0049】 在本案中使用的術語「靶向」指的是指配體或含有配體的偶聯體化合物與細胞表面分子的特異性結合，觸發或促進靶細胞對配體或含有配體的偶聯體化合物的內吞作用，觸發或促進配體或含有配體的偶聯體化合物在靶細胞周圍富集和/或進入靶細胞。



【0050】 在一些實施方式中，R為

【0051】 在一些實施方式中，R₁為-CH₂CH₂C(O)-NH-。

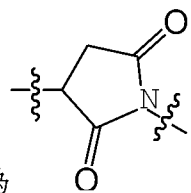
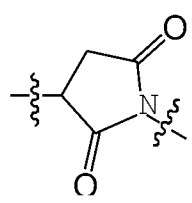
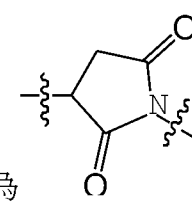
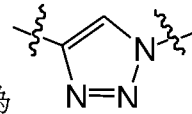
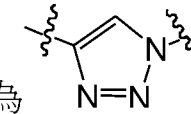
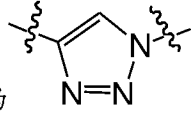
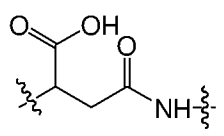
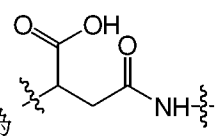
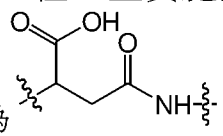
【0052】 在一些實施方式中，R₅為-(CH₂CH₂O)₃-CH₂CH₂-。在另一些實施方式中，R₅為-CH₂C(O)-NH-CH₂C(O)-。在又一些實施方式中，R₅為-



CH₂C(O)-。在一些實施方式中，R₅為。在另一些實施方式

中， R_5 為 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 。在又一些實施方式中， R_5 不是 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 。

【0053】 在一些實施方式中， m 各自獨立地為0或1，且 n 為0。在一些實施方式中， m 為0，且 n 各自獨立地為0或1。在一些實施方式中， m 為0，且 n 為0。在又一些實施方式中， m 為0， n 為0，且 R_5 不是 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 。

【0054】 在一些實施方式中， R_6 為 。在一些實施方式中， R_6 為 ，且 X 為鍵。在一些實施方式中， R_6 為 ，且 X 為 O 。在一些實施方式中， R_6 為 。在一些實施方式中， R_6 為 ， X 為鍵。在又一些實施方式中， R_6 為 ， X 為 O 。在一些實施方式中， R_6 為 。在一些實施方式中， R_6 為 ， X 為鍵。在又一些實施方式中， R_6 為 ， X 為 O 。

【0055】 在一些實施方式中， p 為0。

【0056】 在本案中使用的術語「連接子」指的是將有效負載與多配體部分共價連接的分子或部分。連接子包括用於將有效負載與至少一個配體連接的官能團。在一些實施方式中，官能團可以含有兩個反應性部分，一個用於與有效負載連接，另一個用於與配體連接。在一些實施方式中，官能團彼此之間是不同的。在一些實施方式中，官能團包含含有巯基反應性部分和胺反應性部分

的基團。在一些實施方式中，官能團彼此之間是相同的。在一些實施方案中，連接子含有的胺基酸中的羧酸被醯胺化。在一些實施方案中，連接子含有短鏈的聚乙二醇（例如，包括2-10、2-8、3-8、4-8、4-7、4-6或5個重複單元）。在一些實施方案中，連接子含有疊氮基團。在一些實施方案中，連接子含有炔基基團。

【0057】 在一些實施方式中，在形成本案所述的連接子前，這些用於連接有效負載和配體的分子透過Click反應實現連接。本案所述的「click反應」為一類具有高效性和高選擇性的化學合成方法。click反應透過形成高效連接單元把幾個分子片段拼接起來，整個反應過程簡單、快捷且副產物少。一些click反應的實例包括但不限於硫醇與烯烴的加成反應、疊氮化物與炔烴的環化反應。

【0058】 在一些實施方式中，連接子足夠穩定以避免在血液迴圈過程中意外釋放有效負載，以增加有效負載到靶細胞或組織的有效量並避免毒性。在一些實施方式中，連接子能夠在靶細胞周圍或內部釋放有效負載以有效殺死靶細胞或阻斷靶細胞的功能。

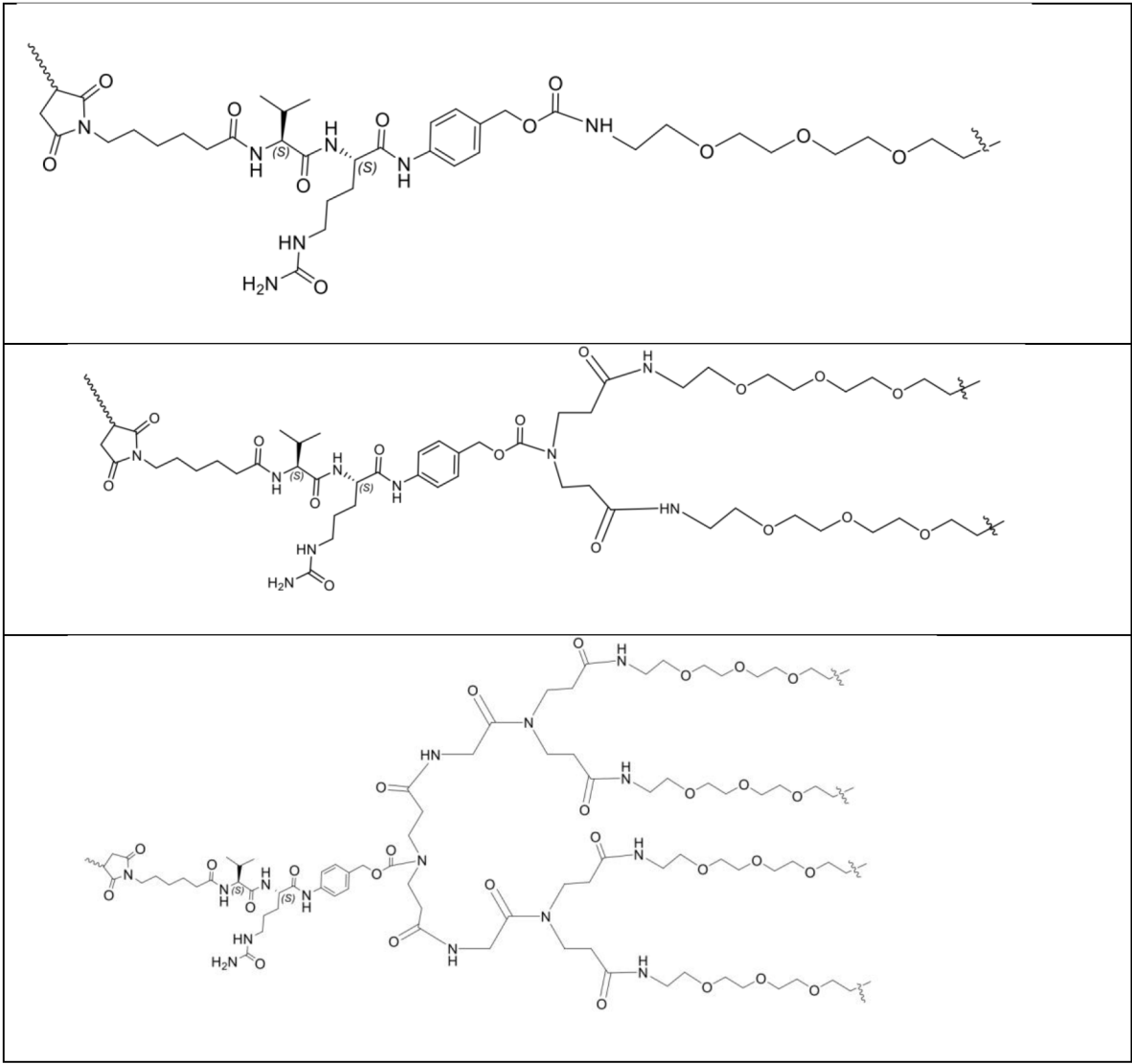
【0059】 在一些實施方式中，連接子是不可裂解的。在本案中使用的術語不可裂解連接子指的是在細胞內代謝期間基本保持完整的連接子。

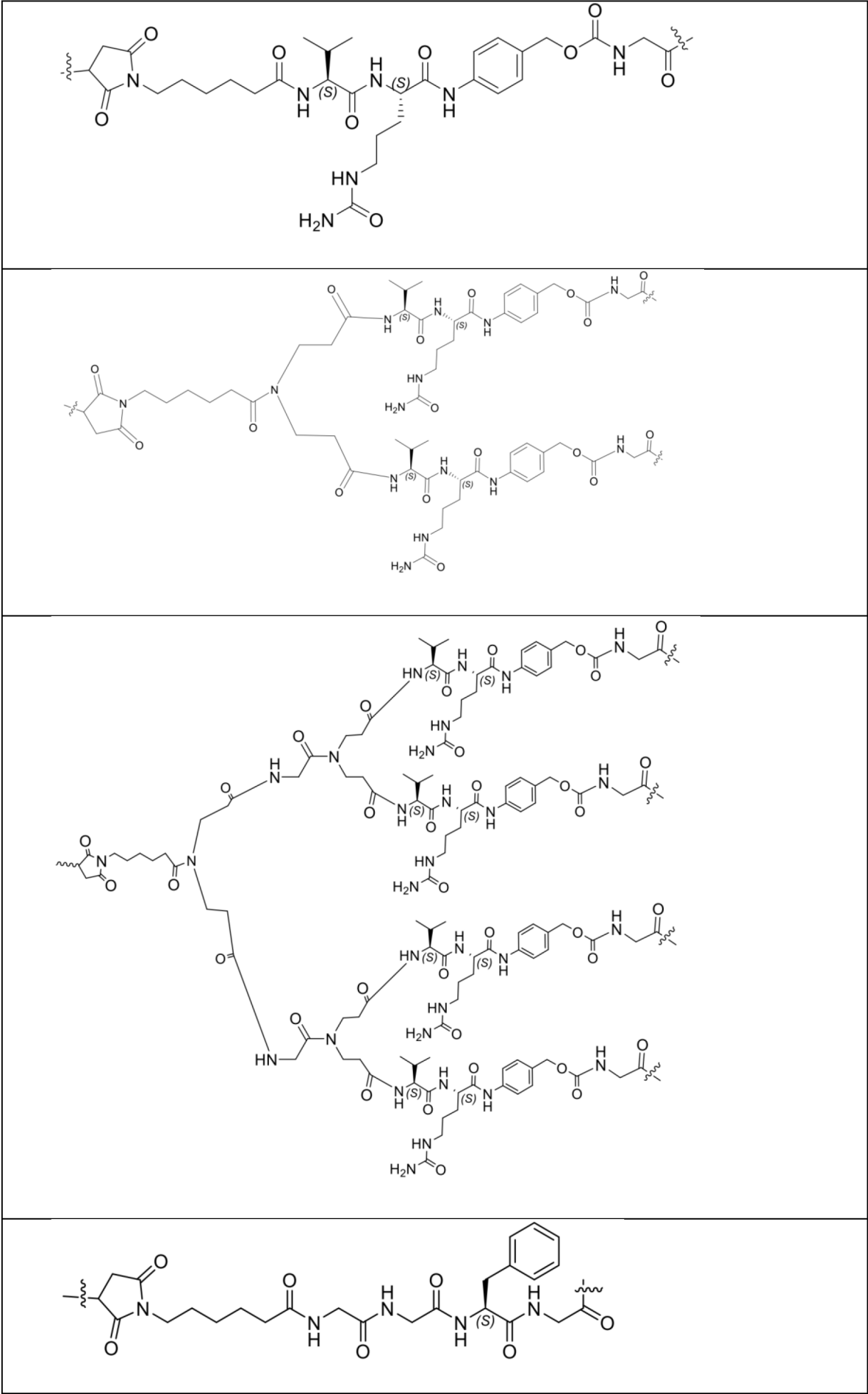
【0060】 在一些實施方式中，連接子是可裂解的。在一些實施方式中，可裂解官能團在靶細胞外足夠穩定，但是其在進入靶細胞後裂解以釋放有效負載。在一些實施方式中，可裂解官能團在靶細胞中的裂解效率比在血液或血清中的裂解效率高至少10、20、30、50、100倍或更多倍。在一些實施方式中，本案的可裂解連接子可以被水解、酶促反應、或還原反應、或透過pH改變所裂解。在一些實施方式中，連接子在特定生理環境下（例如，在適宜pH環境下）

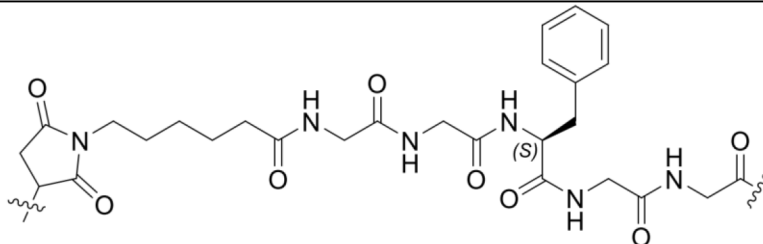
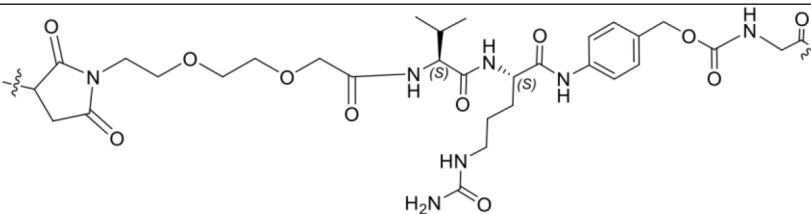
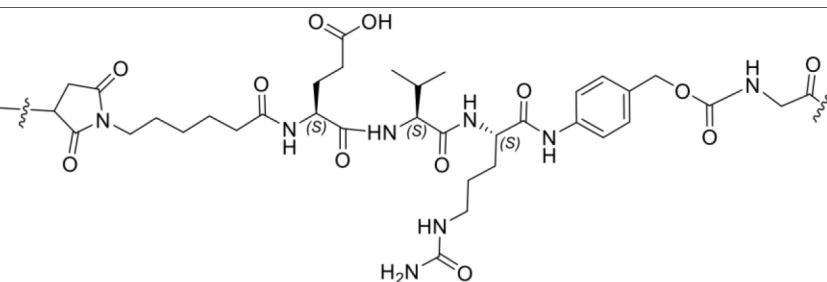
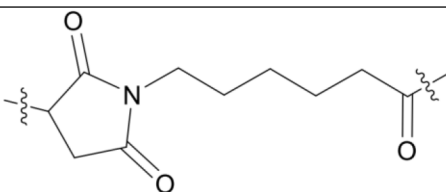
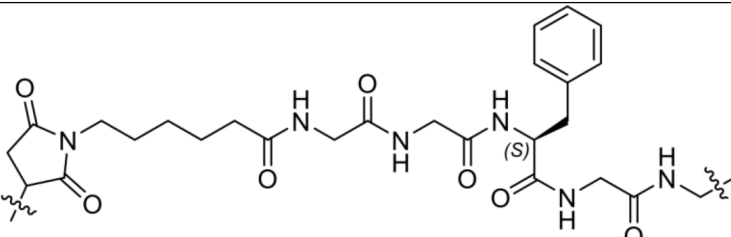
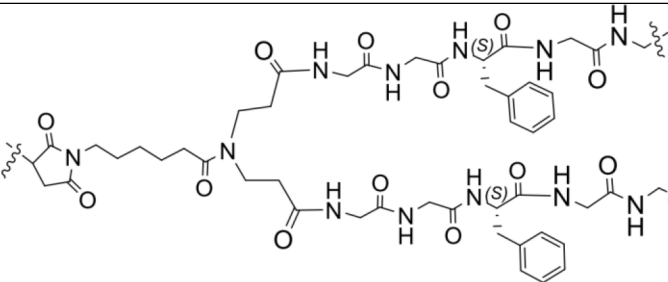
是可裂解的。在一些實施方式中，連接子可在pH約6.5或更低的酸性環境中裂解，或透過諸如酶等試劑裂解。在一些實施方式中，連接子對裂解劑敏感。例如，pH、氧化還原電位或存在降解分子。

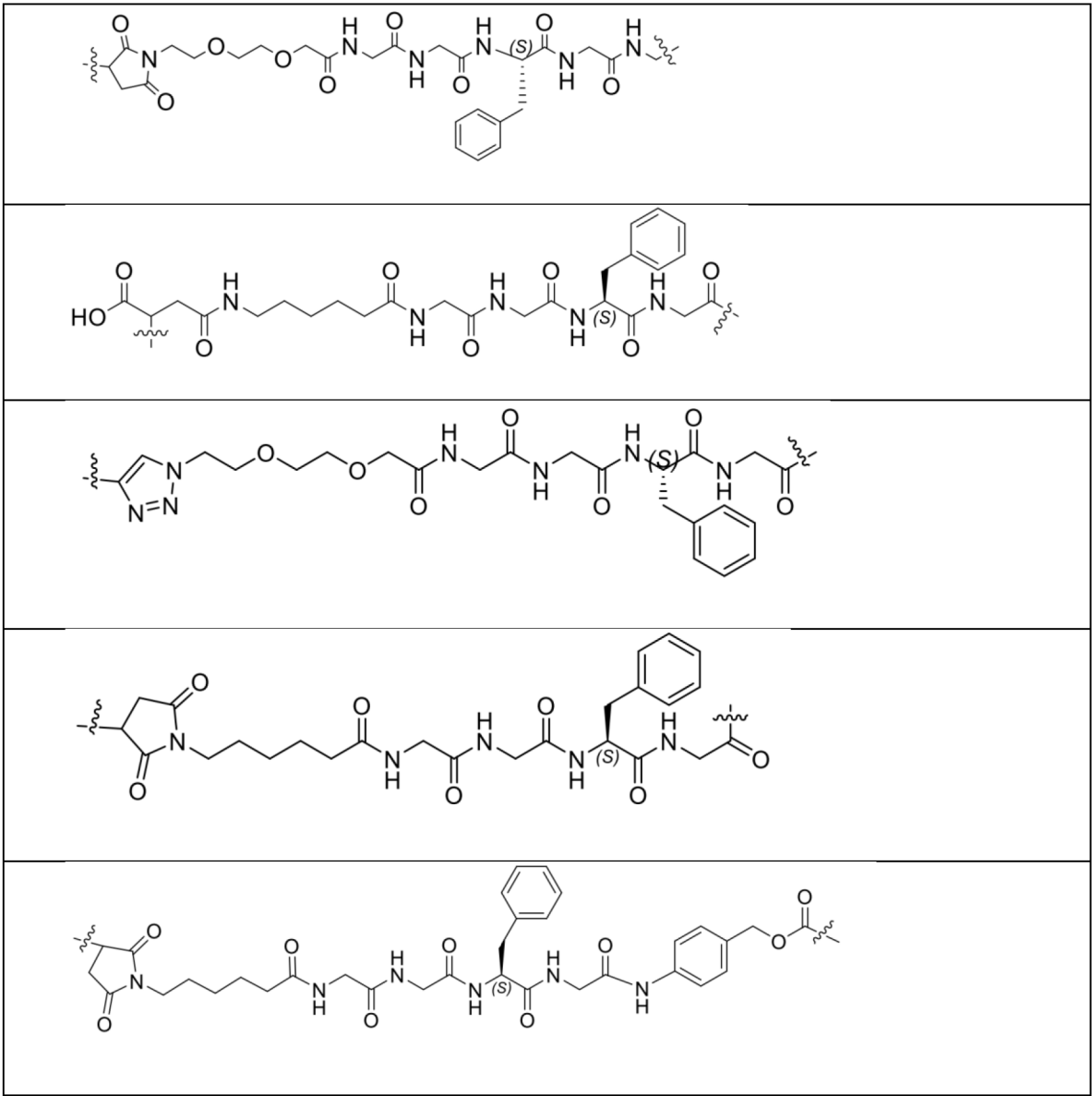
【0061】 在一些實施方式中，連接子內部透過肽鍵連接。在一些實施方式中，這些肽鍵可被在靶細胞周圍或靶細胞中高度或特異性表現的蛋白酶裂解，例如在溶酶體或胞內體中的組織蛋白酶B。

【0062】 在一些實施方式中，所述連接子具有選自下組的結構：







【0063】 在本案中使用的術語「有效負載」指的是擬遞送至靶細胞或組織的分子或物質。該分子可以是具有生物活性的分子，例如具有毒性。在某些情況下，有效負載和生物活性分子可以互換使用。非限制性地，有效負載可以是旨在用於診斷、治療或預防對象中的疾病的任意分子或物質。在一些實施方式中，本案所述的有效負載可以是研究者、獸醫、醫生或其他醫師正在尋找的在組織、系統、動物個體或人中引發生物學或醫學應答以預防、抑制、改善或治療疾病的任何藥劑。在一些實施方案中，所述有效負載具有小於或等於約5kDa的分子量。在一些實施方案中，所述有效負載具有小於或等於約1.5kDa的

分子量。在一些實施方案中，所述有效負載是已經被適當的藥物審批和註冊機構（例如，FDA，EMA或NMPA）認為使用安全且有效的藥物或診斷試劑。

【0064】 在一些實施方式中，本案的有效負載包括但不限於：抗癌藥、放射性物質、維生素、抗-AIDS藥物、抗生素、免疫抑制劑、抗病毒藥物、酶抑制劑、神經毒素、鴉片樣藥物、細胞-胞外基質相互作用的調節劑、血管擴張劑、抗高血壓藥、安眠藥、抗組織胺劑、抗驚厥藥、肌肉鬆弛藥、抗-帕金森物質、抗-痙攣藥和肌肉收縮藥、抗-寄生蟲和/或抗-原生動物藥、鎮痛藥、解熱劑、類固醇和非類固醇抗炎藥、抗-血管生成因子、抗分泌因子、抗凝血劑和/或抗血栓形成劑、局部麻醉藥、前列腺素、抗抑鬱劑、抗精神病藥物、止吐藥或成像劑。

【0065】 在一些實施方式中，本案的有效負載在連接至本案的偶聯體化合物之前具有游離的胺基或者羧基，有效負載透過上述胺基或者羧基與偶聯體化合物的相應部分（例如，連接子）的基團發生醯化反應或click反應從而偶聯至偶聯體化合物。

【0066】 在一些實施方式中，偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽包含一個、兩個、三個、四個或更多個有效負載。在一些實施方式中，本案的有效負載是小分子化合物、核苷酸（例如，DNA、質體DNA、RNA、siRNA、反義寡核苷酸或核酸適體等）、肽或蛋白（例如，酶）。在一些實施方式中，有效負載是小分子化合物或肽。

【0067】 在一些實施方式中，作為有效負載的肽所包含的胺基酸殘基至少為2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、12個、15個、18個或

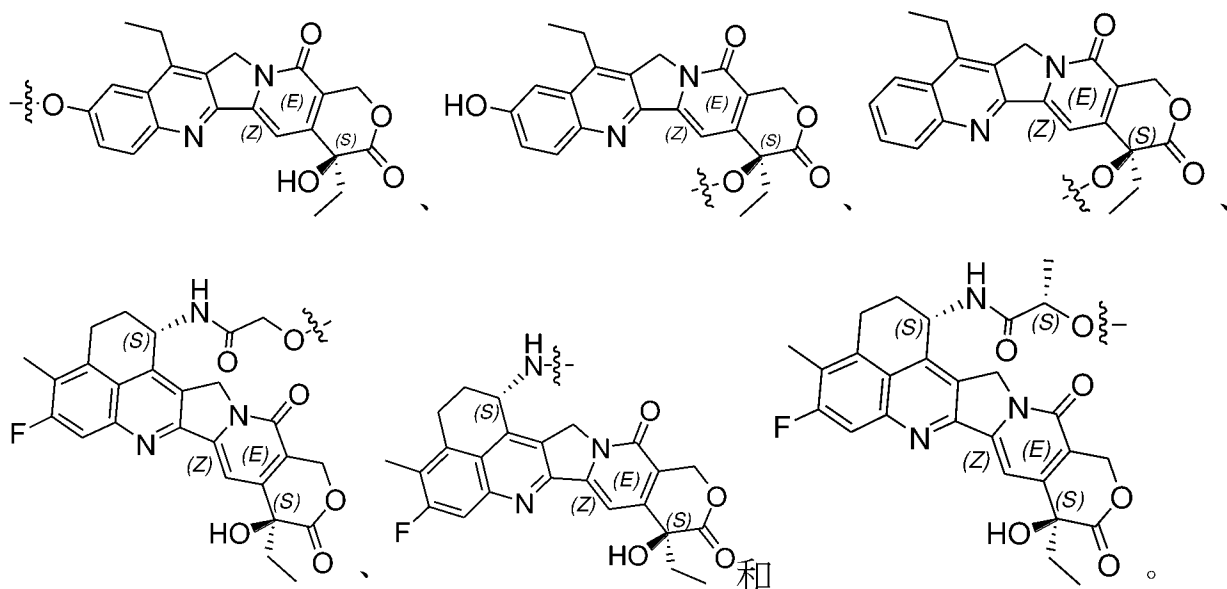
20個。在一些實施方式中，作為有效負載的肽所包含的胺基酸殘基至多為4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、12個、15個、18個或20個。

【0068】 在本案中使用的「小分子化合物」指的是具有小於或等於約2kDa分子量的化合物。在一些實施方式中，小分子化合物具有小於或等於約1.5kDa的分子量。在一些較佳的實施方式中，小分子化合物具有小於或等於約1kDa、800Da、700Da、600Da或500Da的分子量。在一些實施方式中，本案的小分子化合物選自下組：喜樹鹼及其任何衍生物（例如，SN38、Dx或Dxd）、美登素及其任何衍生物、放射性金屬錯合物、環氧化酶-2抑制劑及其任何衍生物（例如，塞來昔布）、紫杉醇及其任何衍生物、埃博黴素及其任何衍生物、博來黴素及其任何衍生物、更生黴素及其任何衍生物、普卡黴素及其任何衍生物、和絲裂黴素C及其任何衍生物。在一些較佳的實施方式中，所述小分子化合物是喜樹鹼及其任何衍生物。在一些較佳的實施方式中，所述喜樹鹼是依喜替康。在一些實施方式中，本案所述的小分子化合物是用於緩解或治療癌症的藥物。在一些實施方式中，本案所述的小分子化合物是用於緩解或治療自身免疫性疾病的藥物。

【0069】 本案中使用的術語「喜樹鹼」是指一種細胞毒性生物鹼，主要來源於珙桐科植物喜樹，其顯示出較強的抗腫瘤活性。本案的喜樹鹼及其衍生物包括目前已經存在的或者之後產生的喜樹鹼及其衍生物。本案的喜樹鹼及其衍生物包括但不限於：喜樹鹼、伊立替康、SN38、SN22、Dxd、依喜替康（DX-8951）、拓撲替康、GI-147211C、托泊替康、9-胺基喜樹鹼、7-羥甲基喜樹鹼、7-胺基甲基喜樹鹼、10-羥基喜樹鹼、(20S)-喜樹鹼、9-硝基喜樹鹼、吉馬替康、karenitecin、silatecan、勒托替康、依沙替康、二氟替康、貝洛替

康、勒托替康和S39625。在一些實施方式中，小分子化合物為SN38、SN22、Dxd和依喜替康（DX-8951）。在一些實施方式中，小分子化合物為乳酸-依喜替康。在一些實施方式中，所述小分子化合物為依喜替康（DX-8951）。

【0070】 在一些實施方式中，D各自獨立地選自



【0071】 在一些實施方式中，細胞表面分子選自TRPV6、FOLR1、PSMA、SSTR2、PD-L1、PD1、Her2、Trop2、Her3、4-BBL、4-1BB、CD70、CD27、CD155、CD122、CD113、CD28、CD86/80、CD160、ICOSL、ICOS、CD40、CD40L、OX40、OX40L、GITRL、GITR、NECTIN4、LRP1、GLUT1、EGFR₁、AXL、CD44、Claudin18.2、APN、DLL3、CEACAM5、FZD10、TFRC、MET、IGFR₁、CCKBR、LFA1、GPR87、GM-CSF、GM-CSFR、TIM3、TLR家族、HHLA2、MHCII抗原、TCR、CTLA-4、IGIT、Galectin-3、Galectin-9、TIM-3、HVEM、BTLA、VISTA、磷脂醯絲氨酸、LAG3、LILRB4、SIGLEC15、NKG2A、NKG2D、SLAMF7、KIR2DL1、KIR2DL2、KIR2DL3、FGFR1、FGFR2、FGFR4和NeuGcGM3。

【0072】 在一些實施方式中，細胞表面分子選自TRPV6、FOLR1、PSMA和SSTR2。

【0073】 在一些實施方式中，細胞表面分子分別為TRPV6和FOLR1、PSMA和FOLR1、或SSTR2和FOLR1。在一些較佳的實施方式中，細胞表面分子分別為TRPV6和FOLR1。

【0074】 在一些實施方式中，靶向FOLR1的配體選自葉酸或其類似物。在一些較佳的實施方式中，所述葉酸類似物選自5-甲基四氫葉酸、5-甲醯基四氫葉酸、甲氨蝶呤和5,10-亞甲基四氫葉酸。

【0075】 在一些實施方式中，靶向SSTR2的配體選自奧曲肽及其任何類似物。

【0076】 在一些實施方式中，配體部分包含三個以上的靶向細胞表面分子的配體。在一些較佳的實施方式中，所述細胞表面分子選自TRPV6、FOLR1、PSMA和SSTR2。

【0077】 TRPV6即暫態受體陽離子通道亞家族V成員6（transient receptor potential cation channel subfamily V member 6），是一種高選擇性鈣離子跨膜轉運通道，介導鈣離子由細胞外向細胞內的主動轉運。在人正常的腎臟、胃腸道、胰腺、乳腺、唾液腺等，主要表現於腸上皮細胞，參與鈣離子向細胞內的轉運，因此當TRPV6通道的數量或功能發生改變時，可引起鈣離子調節的變化，進一步導致與其相關組織器官的結構或功能異常。和正常組織相比，TRPV6在乳腺癌、膽管癌、卵巢癌、肺鱗癌、前列腺癌等惡性腫瘤中表現明顯升高，其異常表現可能與腫瘤的形成與進展有關。

【0078】 FOLR1是一種糖基磷脂酰肌醇（GPI）錨定的醣蛋白，它以奈莫耳的親和力結合葉酸，從而促進受體介導的內吞作用。快速生長的實體惡性腫瘤，包括卵巢癌和肺癌，都依賴於葉酸進行代謝和核酸合成。在一些實施方式中，本案所述的靶向分子包括靶向FOLR1的配體。

【0079】 PSMA是指「前列腺特異性膜抗原」，一種存在於前列腺上皮細胞膜的II型跨膜糖蛋白，由750個胺基酸組成，其具有19個胞內區胺基酸、24個跨膜區胺基酸和707個胞外區胺基酸。前列腺特異性膜抗原在正常前列腺上皮細胞中表現，但其在前列腺癌細胞中的表現水準要高得多。相對於傳統用於臨床檢測的前列腺特異抗原，前列腺特異性膜抗原是一種更加敏感和特異的前列腺癌腫瘤標記物，尤其是在激素難治性前列腺癌及前列腺癌轉移灶中均為高表現，在區分前列腺癌和其他類型惡性腫瘤時具有高敏感度和特異性。同時，在多種非前列腺來源的實體瘤（如肺癌、膀胱癌、胃癌、胰腺癌、腎癌和結直腸癌等）中，前列腺特異性膜抗原也高度特異地表現於腫瘤血管內皮細胞上。

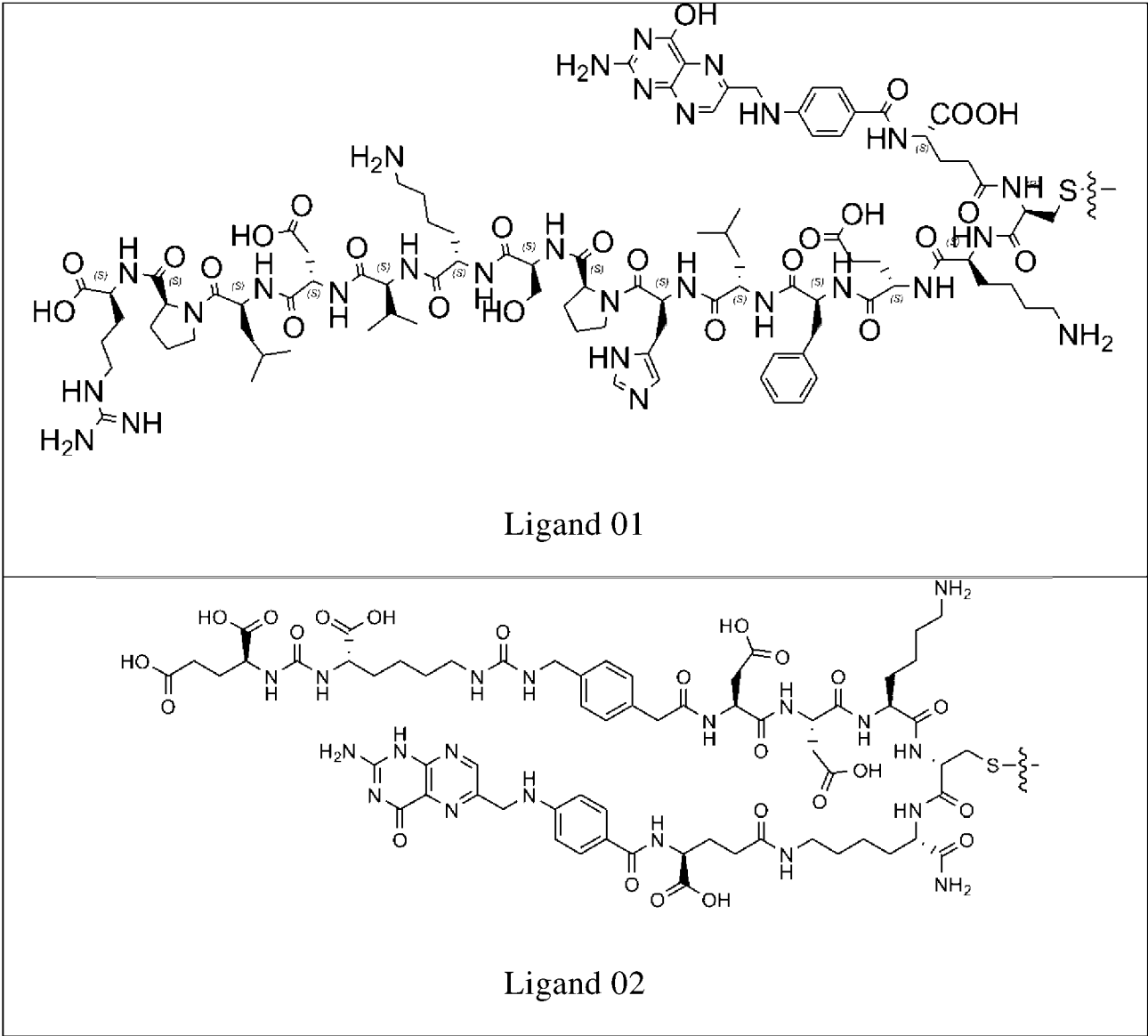
【0080】 SSTR2即生長抑素受體-2，是一種G蛋白偶聯受體，可以被生長抑素或其合成類似物啟動。SSTR2是生長抑素受體五種亞型中的一種，被認為與腫瘤的發展有關。生長抑素或生長抑素類似物可透過SSTR2抑制腫瘤細胞的增生。

【0081】 在一些實施方式中，靶向不同細胞表面分子的配體彼此直接連接、或透過間隔區彼此連接。在一些實施方式中，所述間隔區由胺基酸組成。在一些較佳的實施方式中，所述間隔區由天然胺基酸或非天然胺基酸組成。在又一些較佳的實施方式中，所述間隔區為甘胺酸。在一些實施方式中，間隔區為Arg-Arg、Ala-Ser-Asn、Ala-Ala-Ala、Ser-Ser-Arg、Pro-Arg和Pro-Leu-Gly。

在一些實施方式中，所述間隔區可在特定的生理環境下透過蛋白酶裂解或還原裂解。在一些實施方式中，間隔區可以被由靶細胞特異性表現或將由靶細胞表現的蛋白酶裂解。

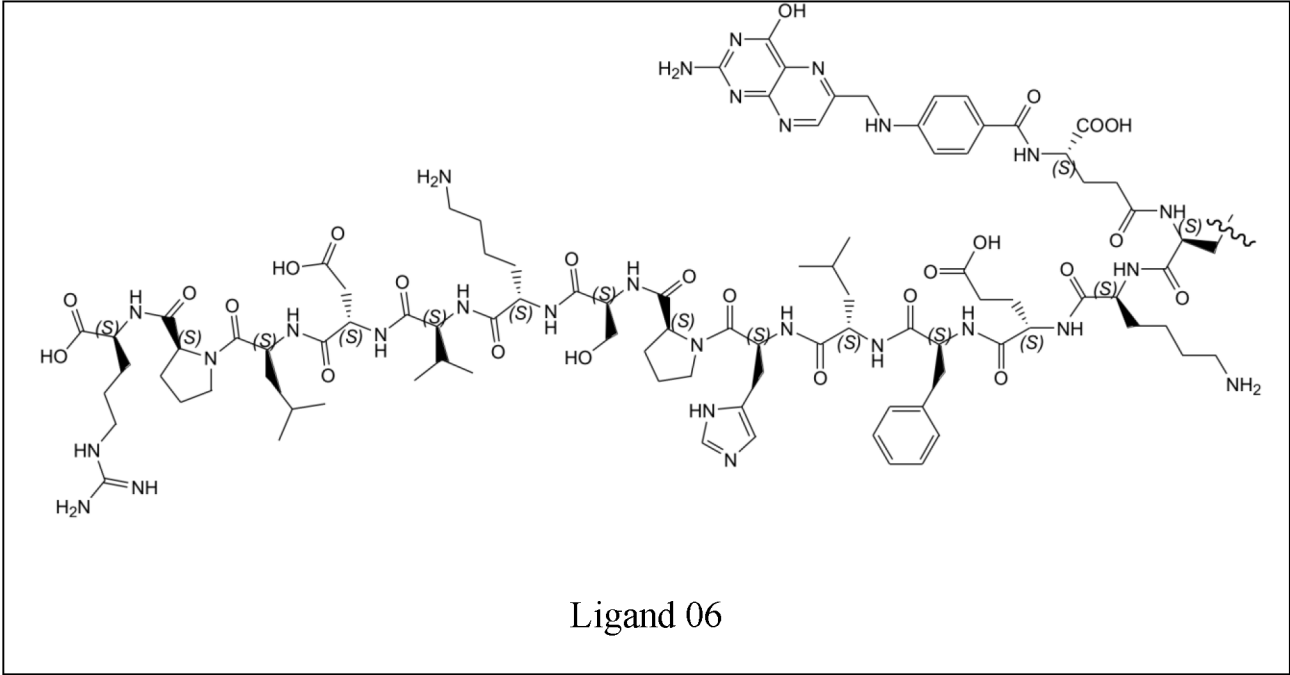
【0082】 在本案中使用的「可裂解」或「裂解」包括了在本案提供的偶聯體化合物上進行的代謝過程或反應過程，從而將有效負載與多配體部分之間的連接子，或配體之間の間隔區破壞以釋放游離的有效負載或配體。

【0083】 在一些實施方式中，所述配體部分具有以下結構：



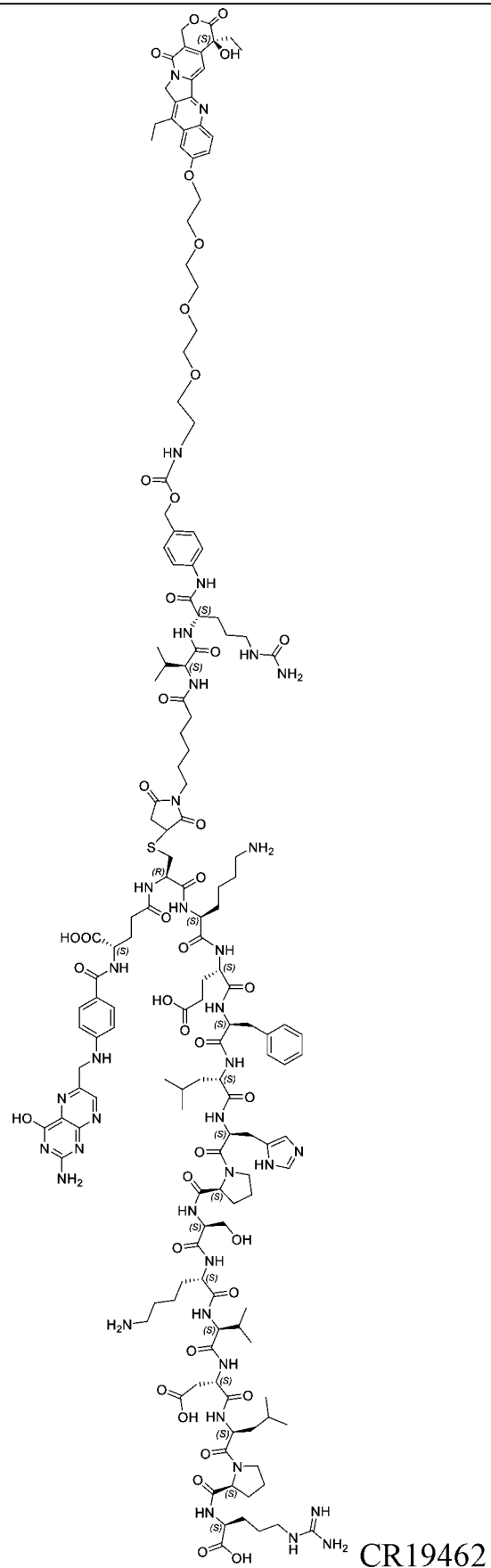
Ligand 03

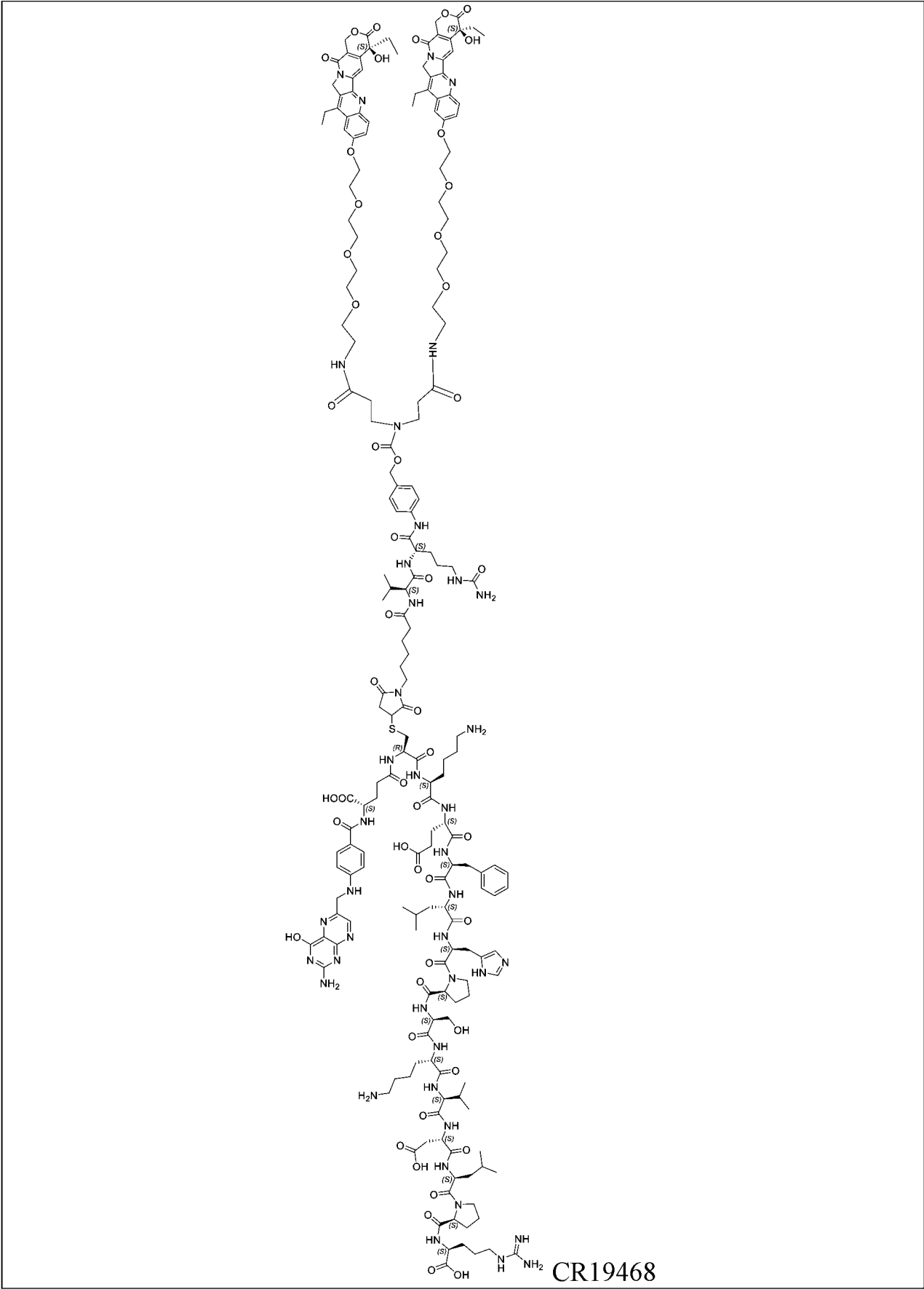


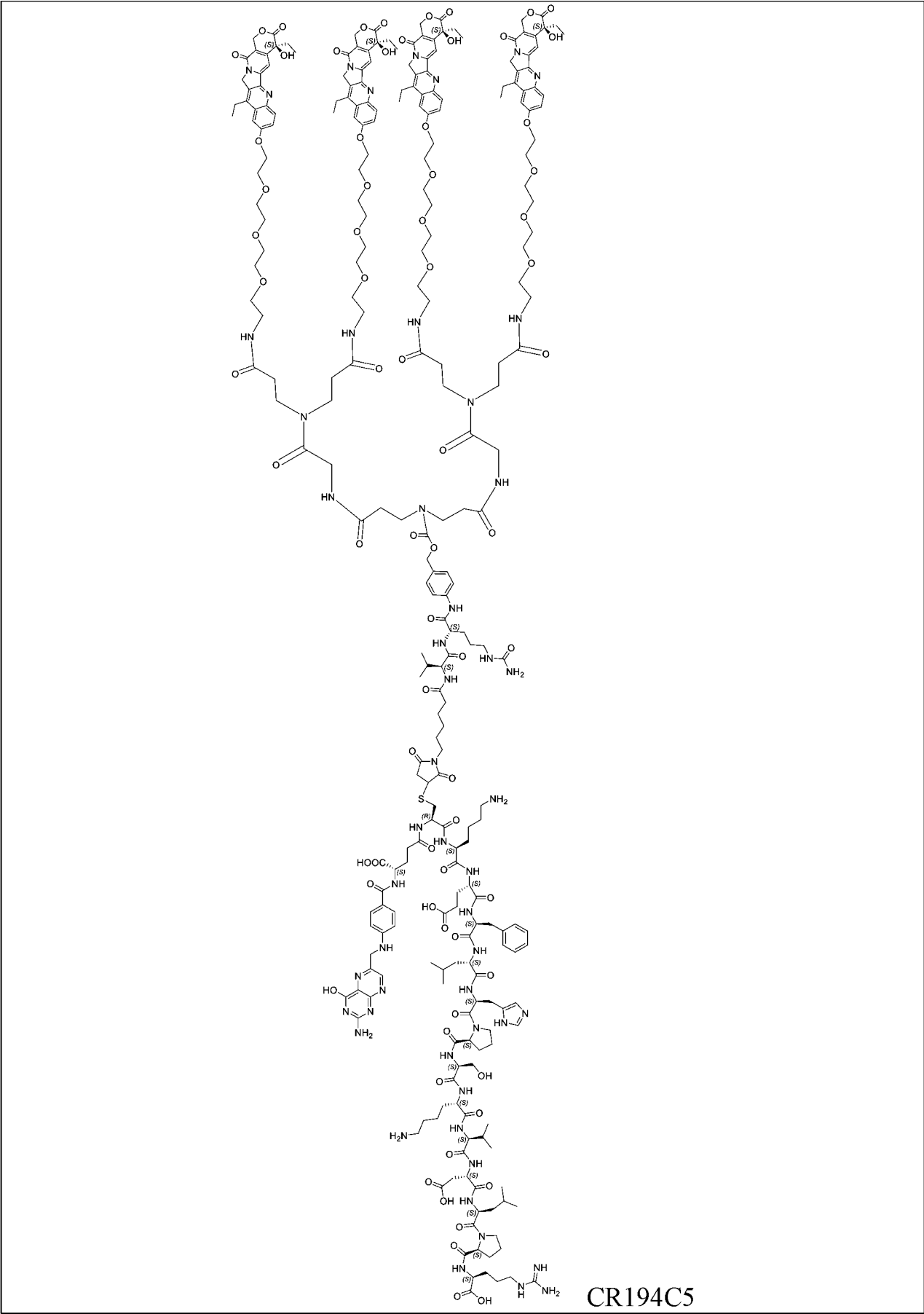


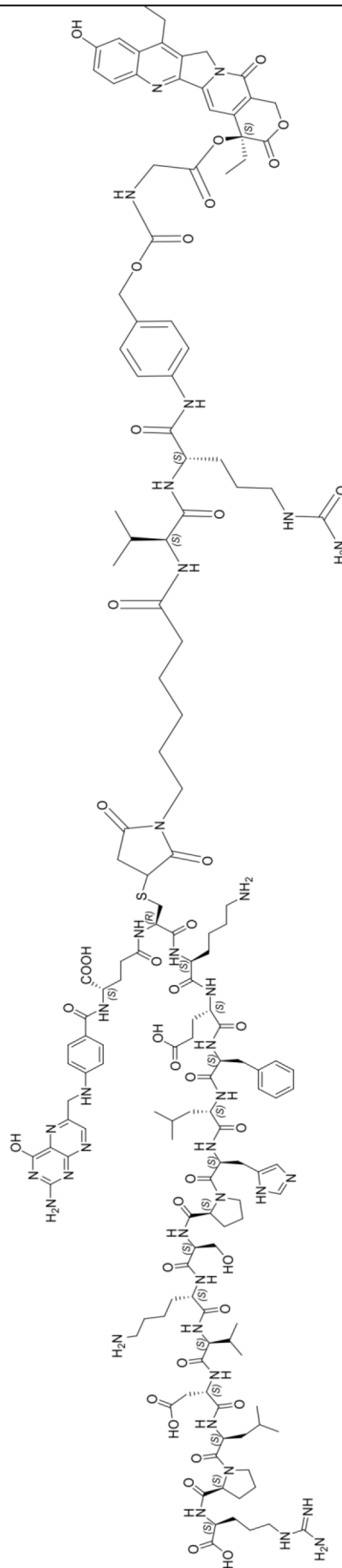
【0084】 在一些實施方式中，q為1。在一些實施方式中，q為2。在一些實施方式中，q為3。在一些實施方式中，q為4。

【0085】 本案的一個方面公開了一種偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，所述偶聯體化合物選自：

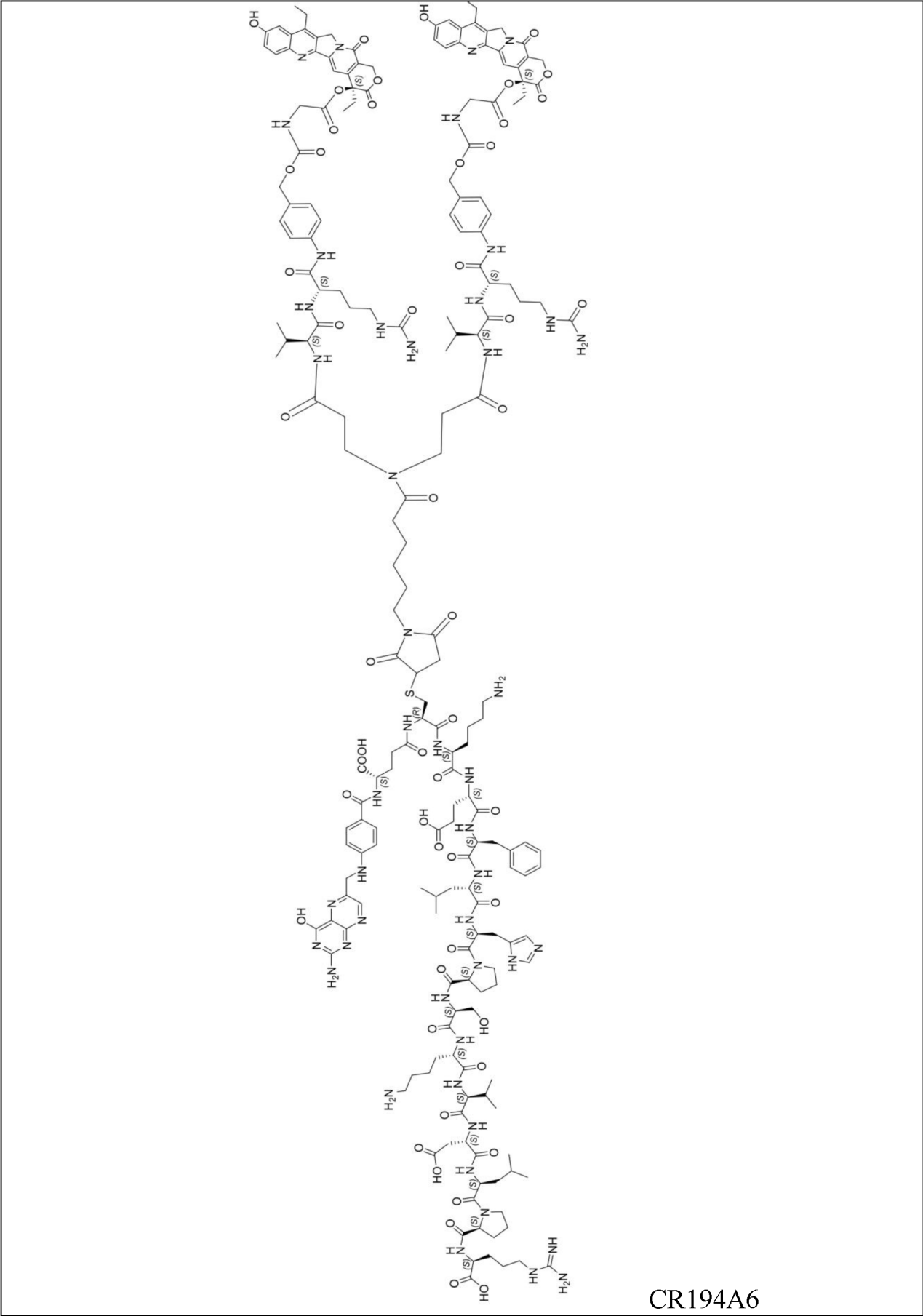


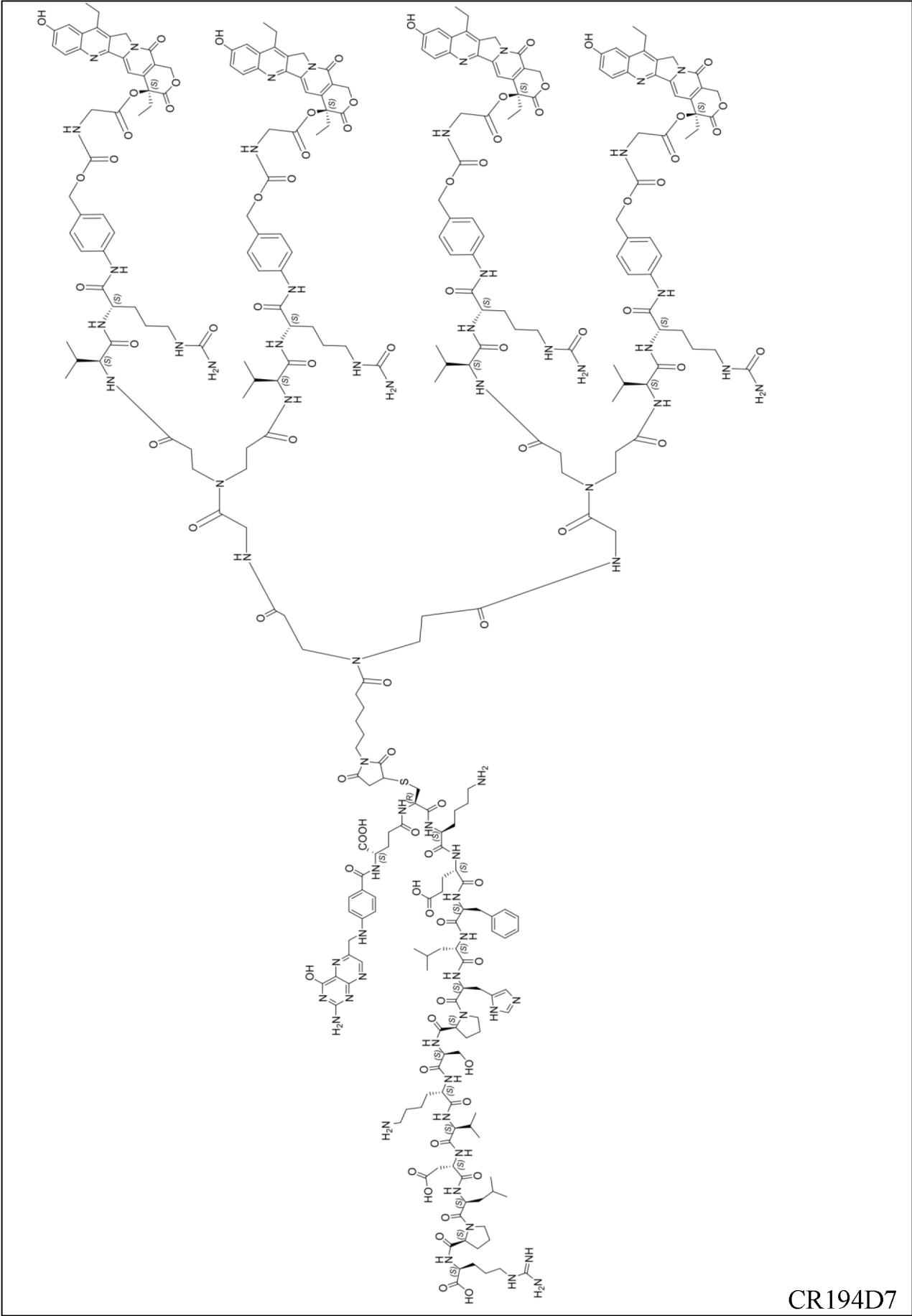


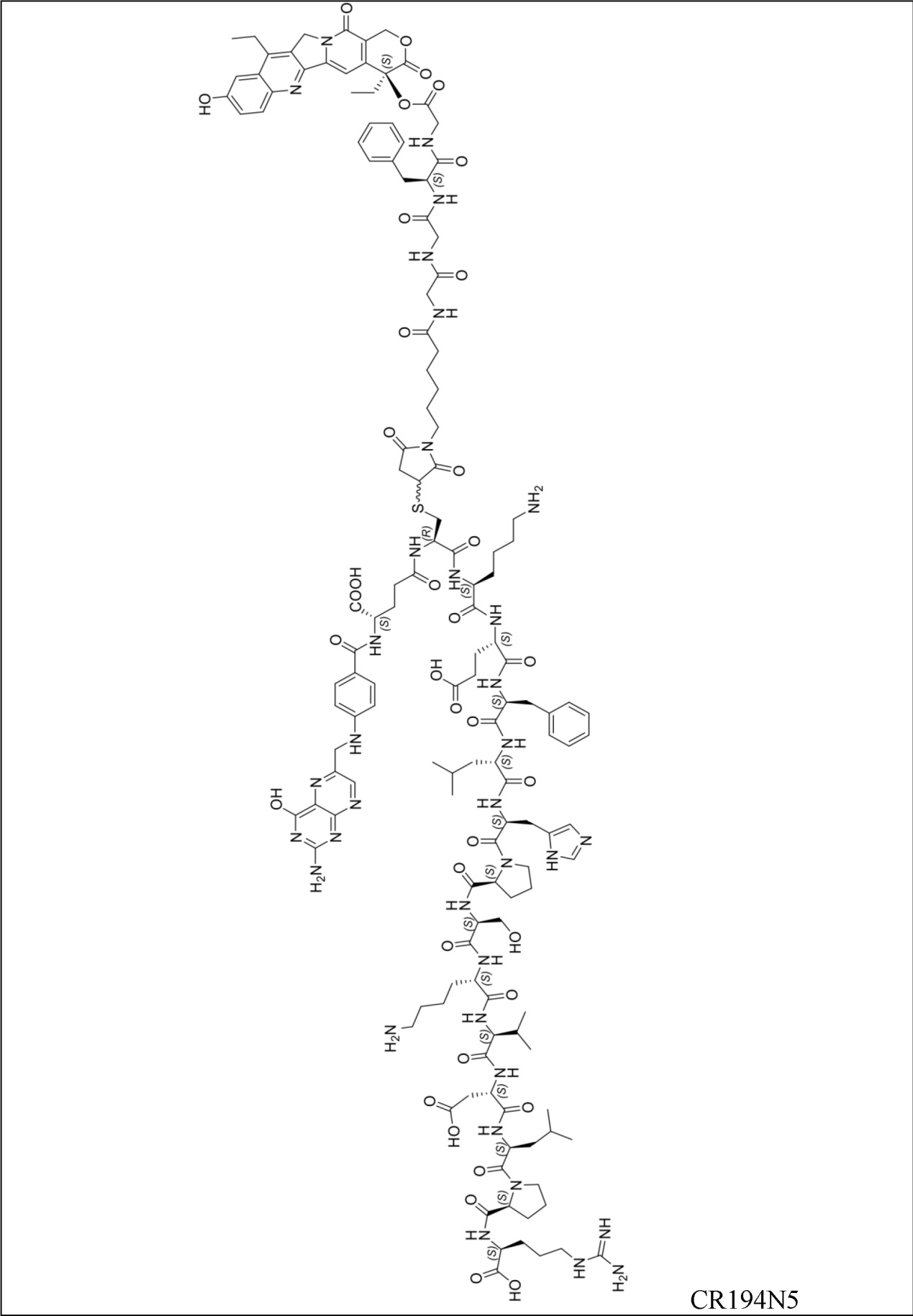


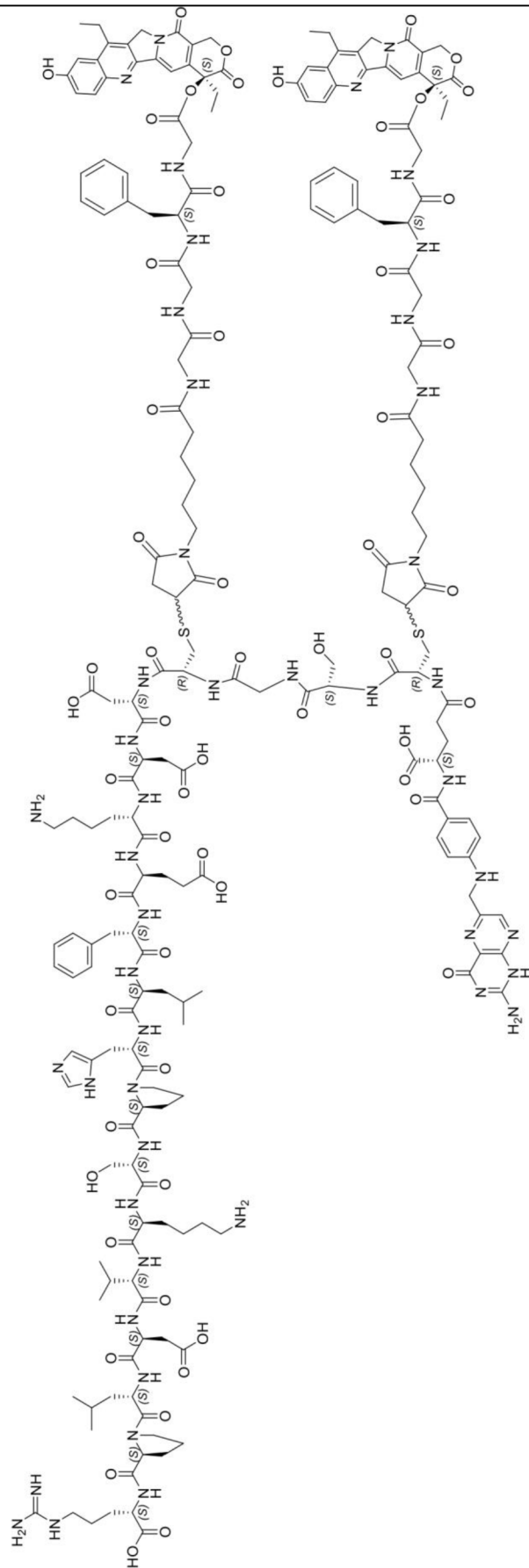


CR194A2

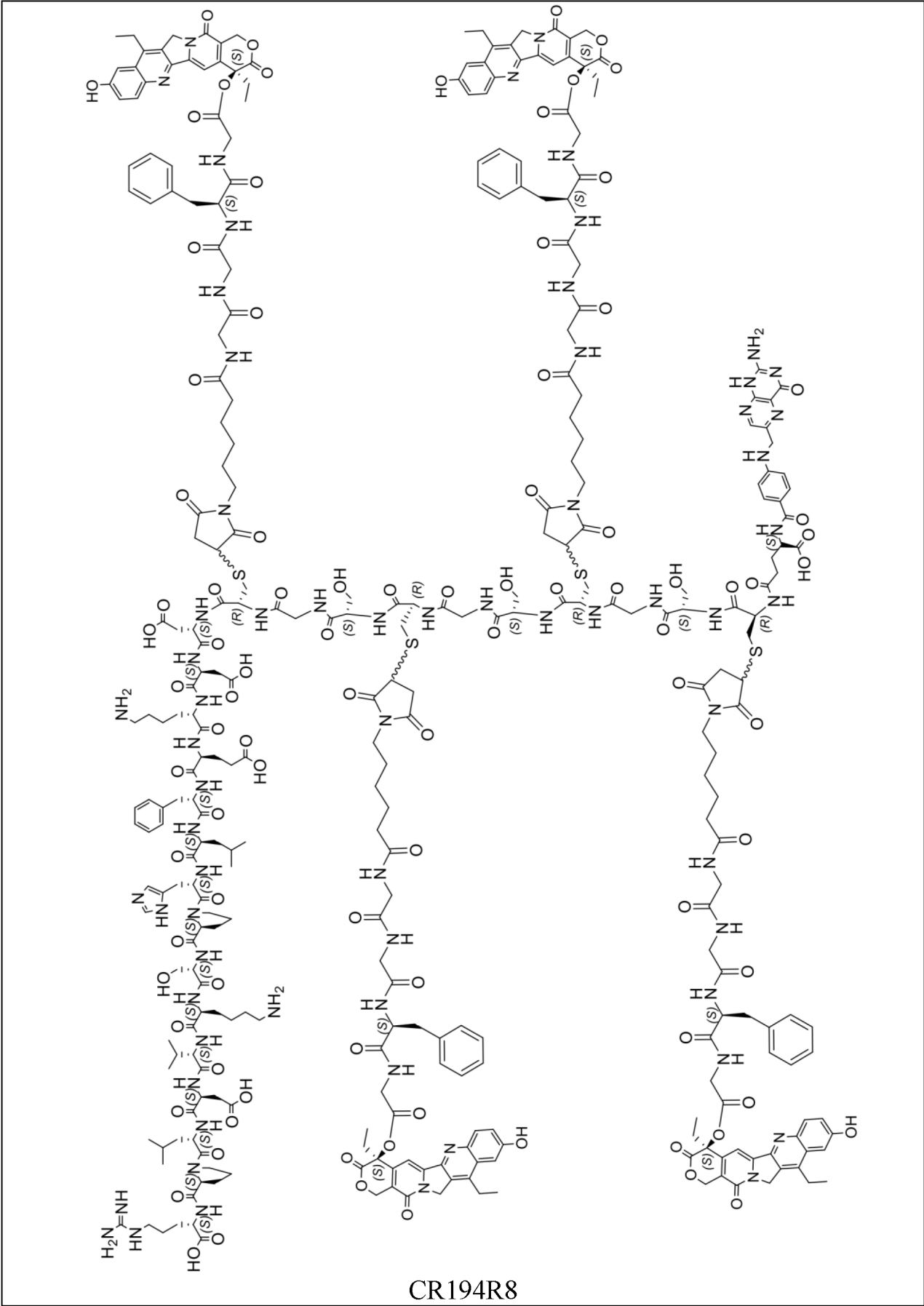


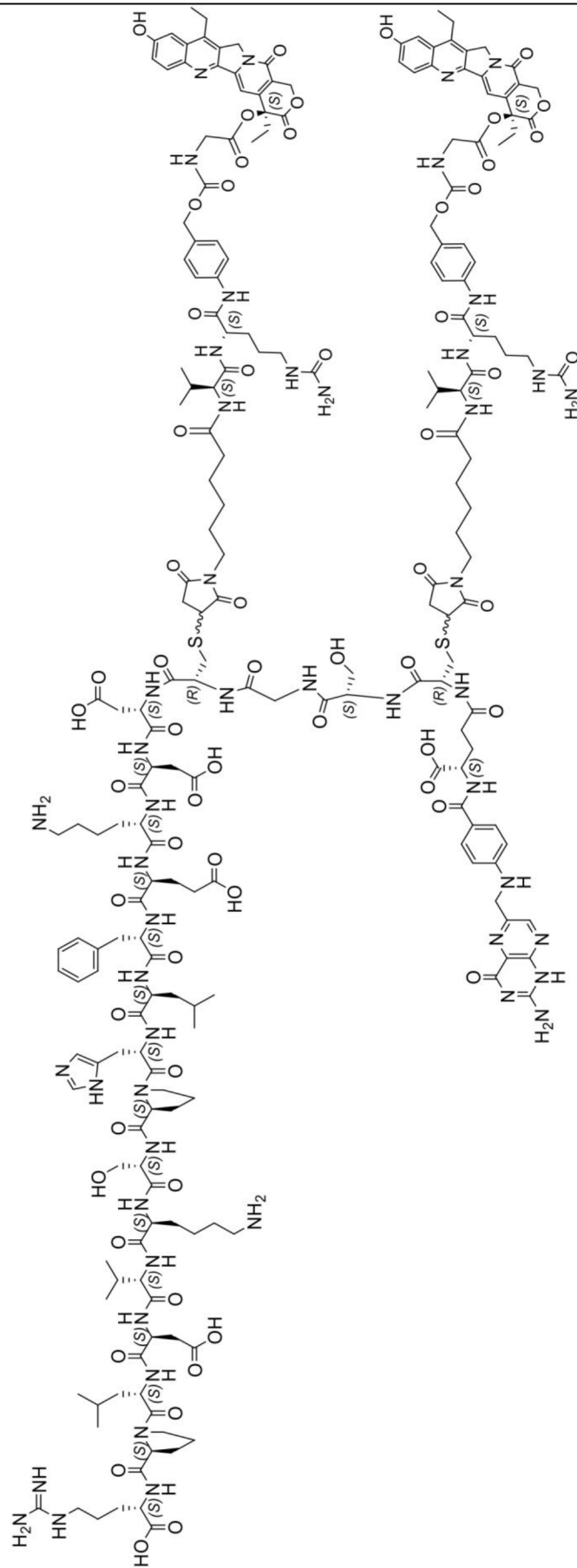




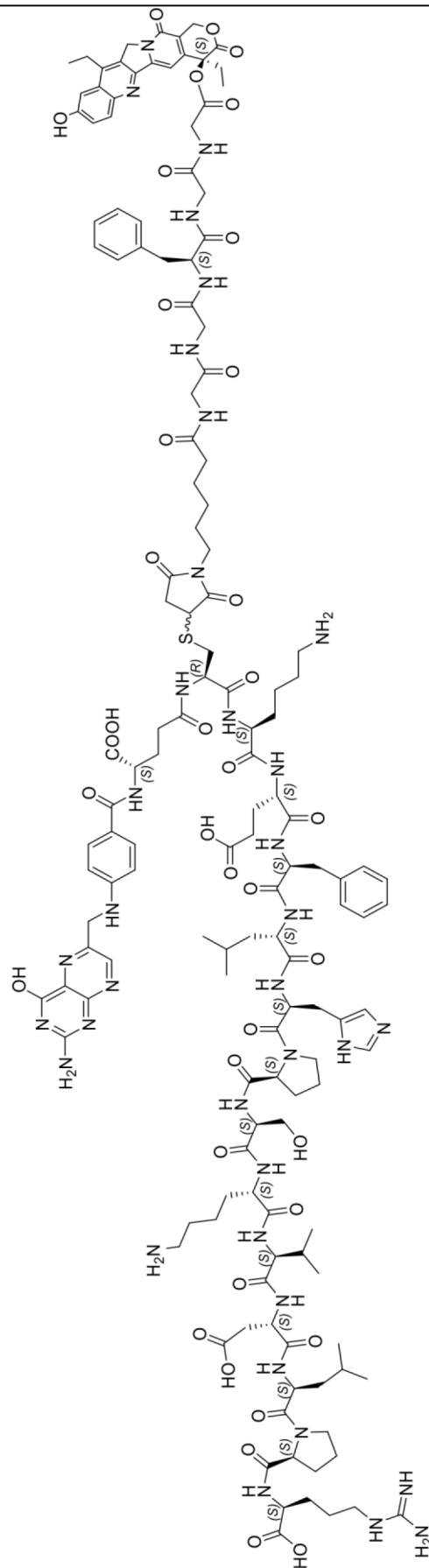


CR194S3

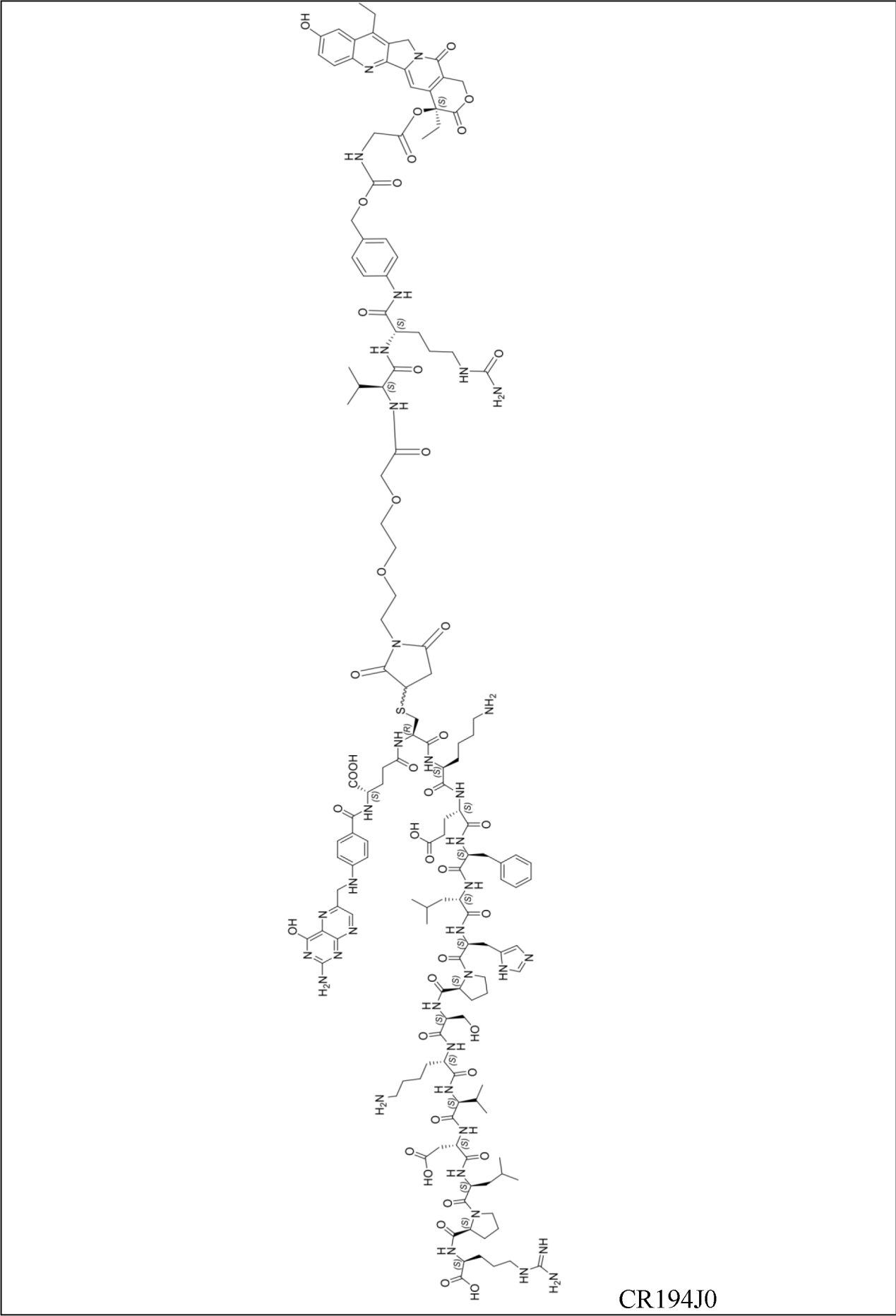


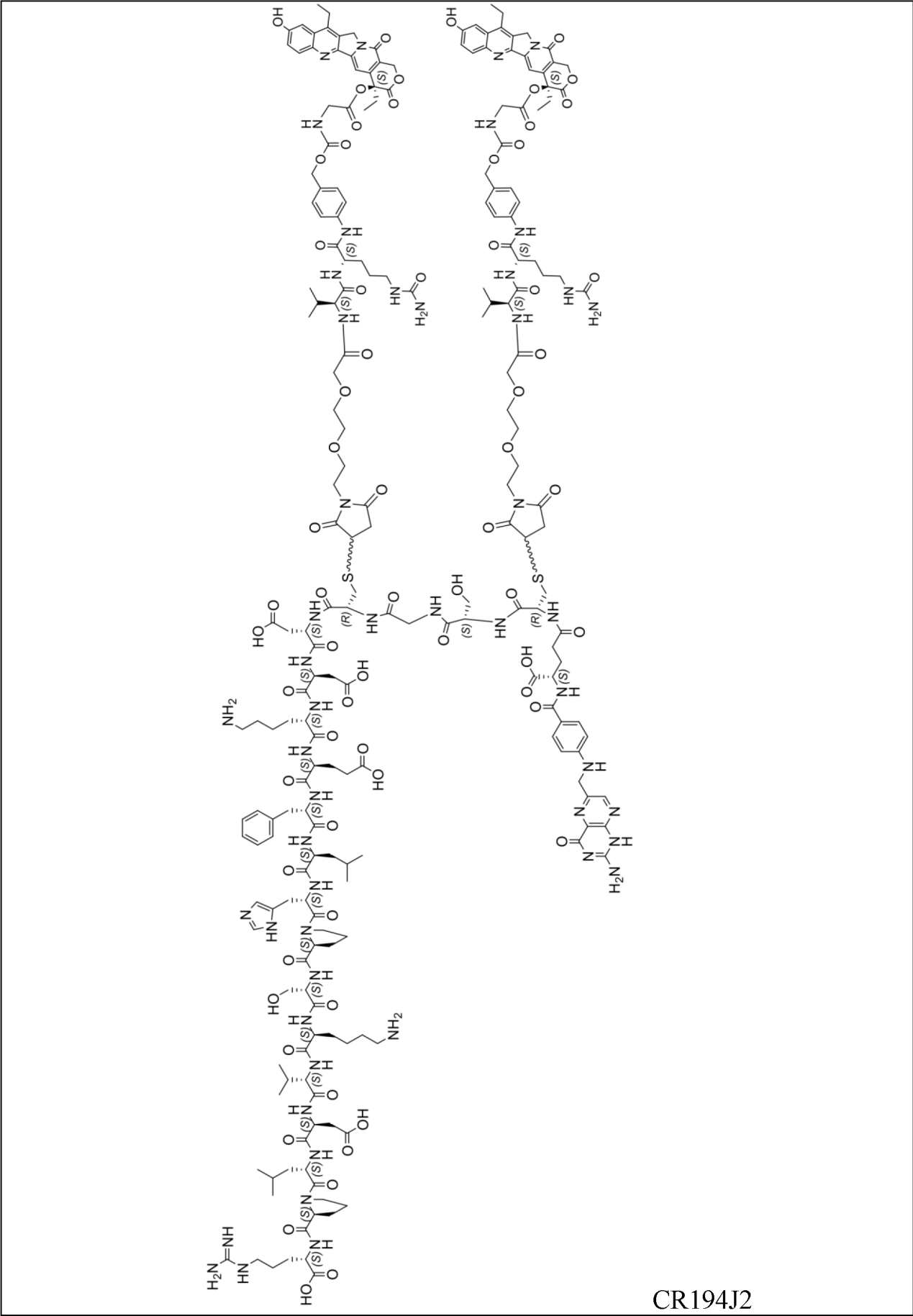


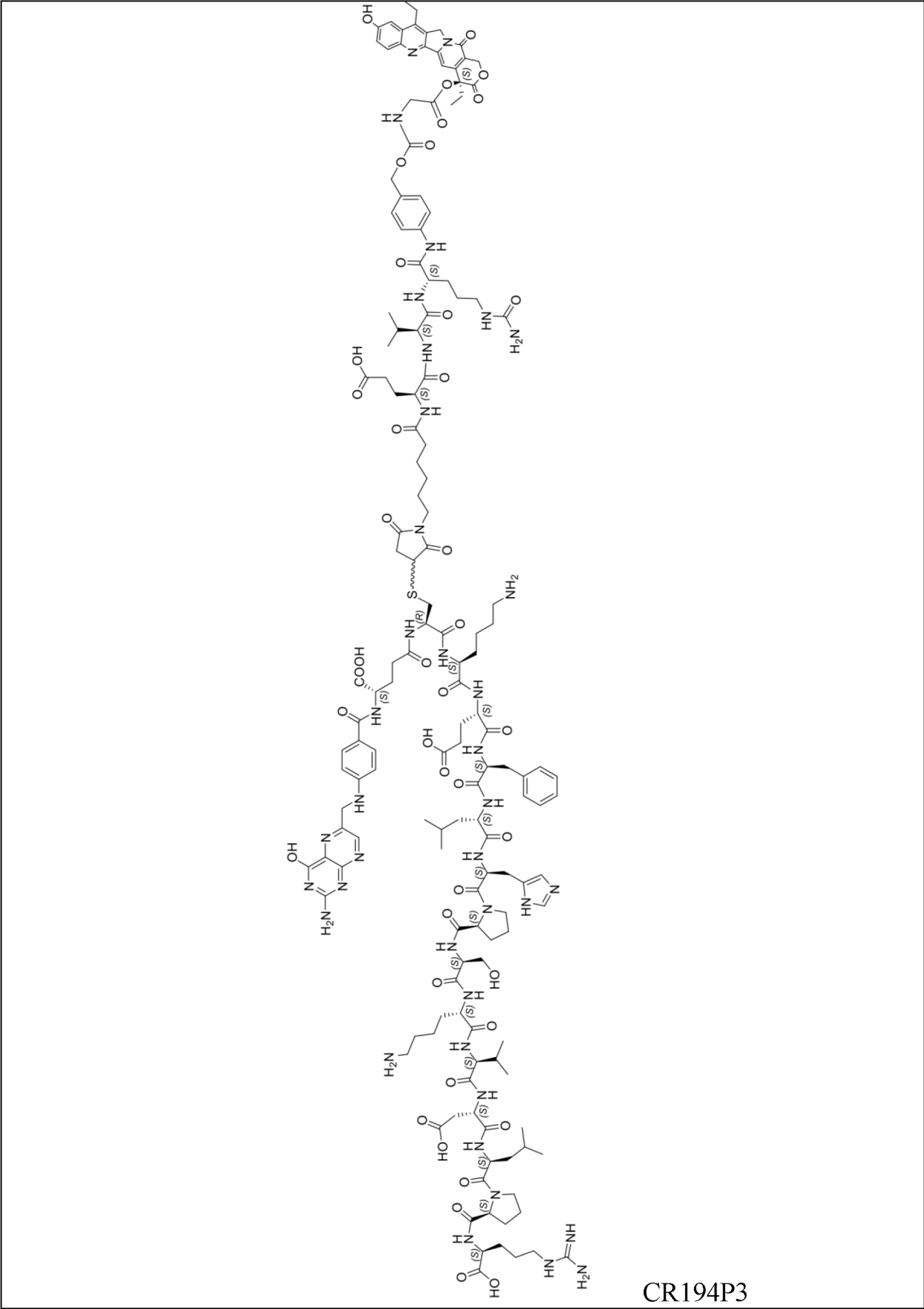
CR194H7

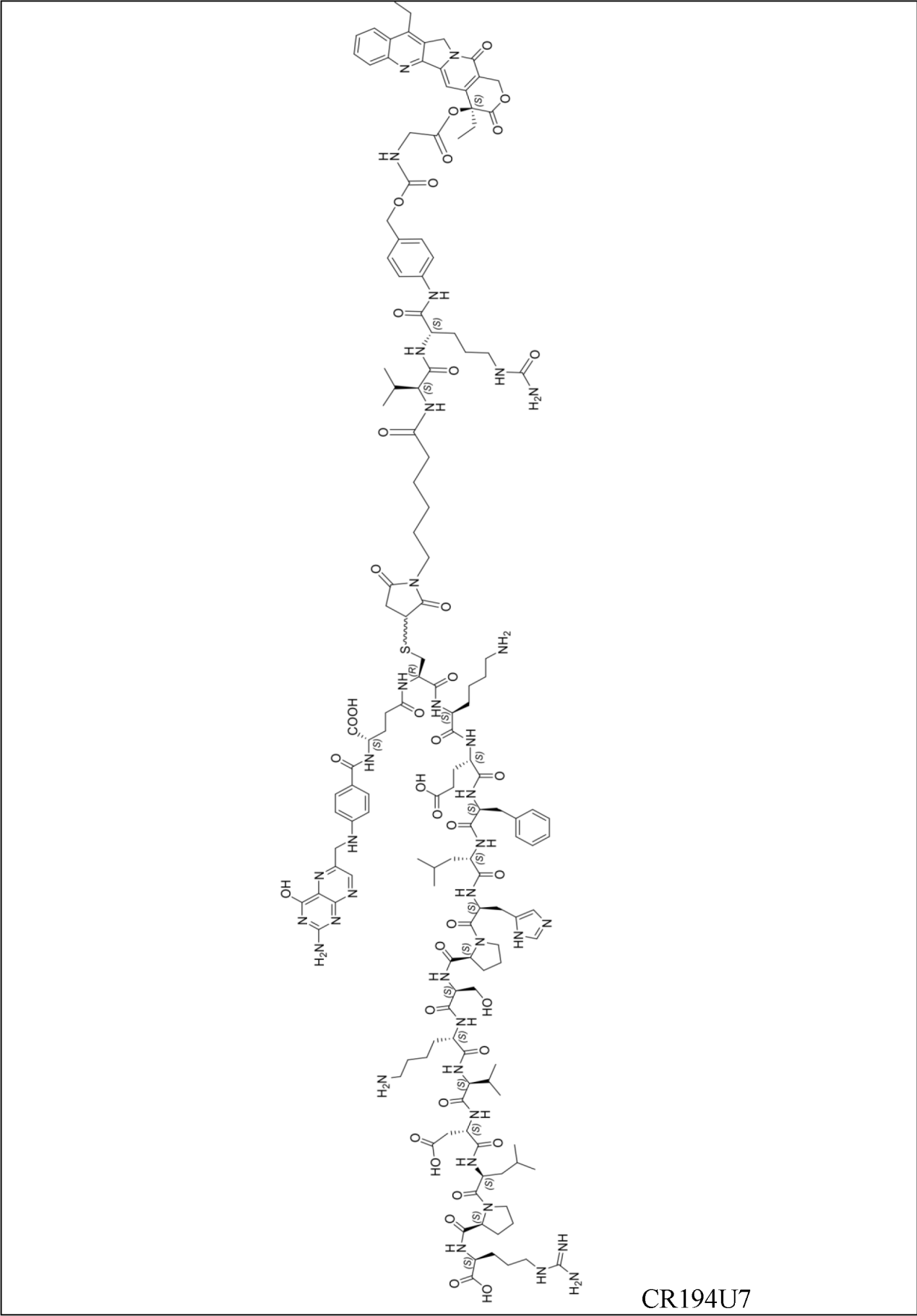


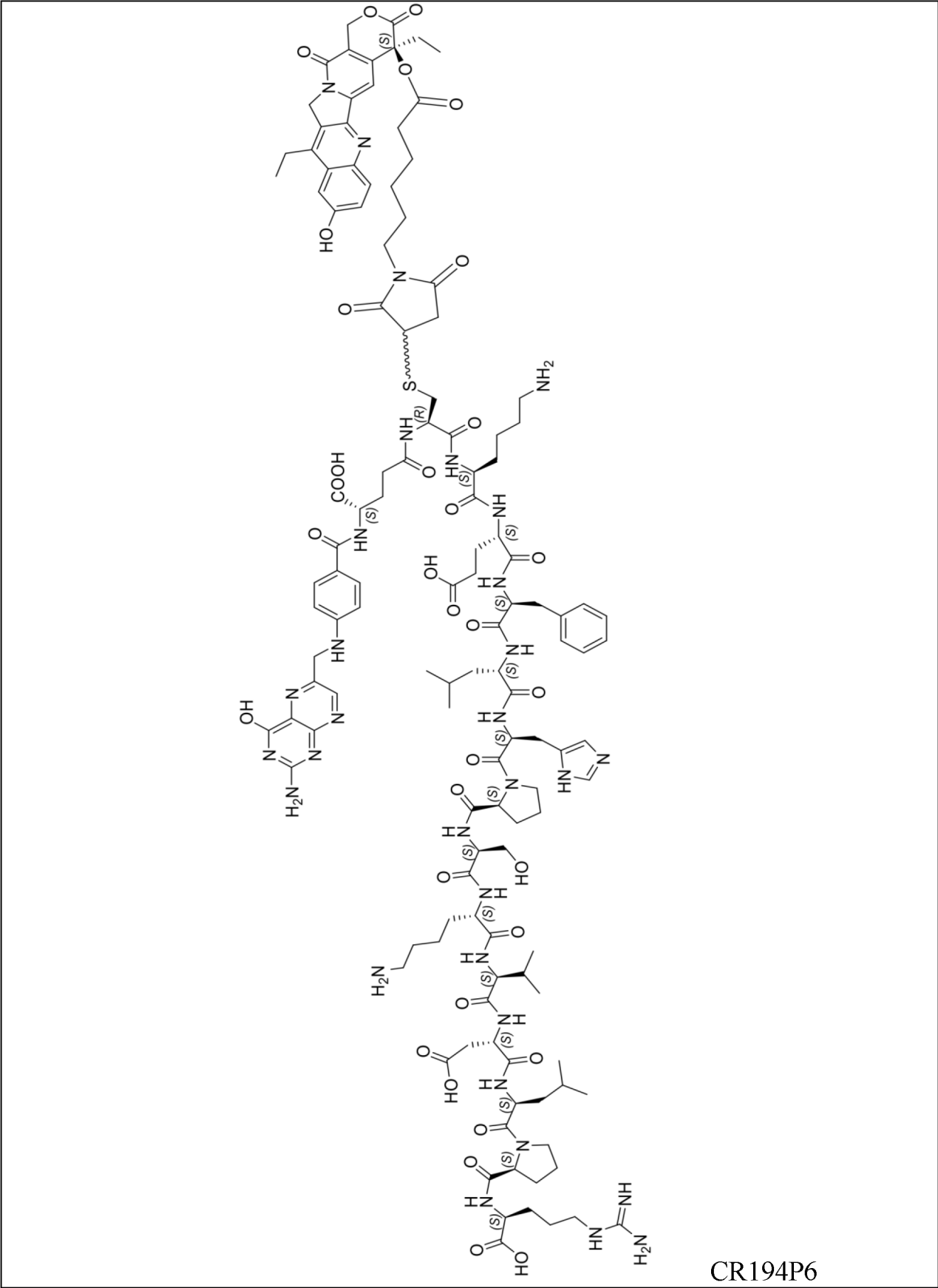
CR194N9

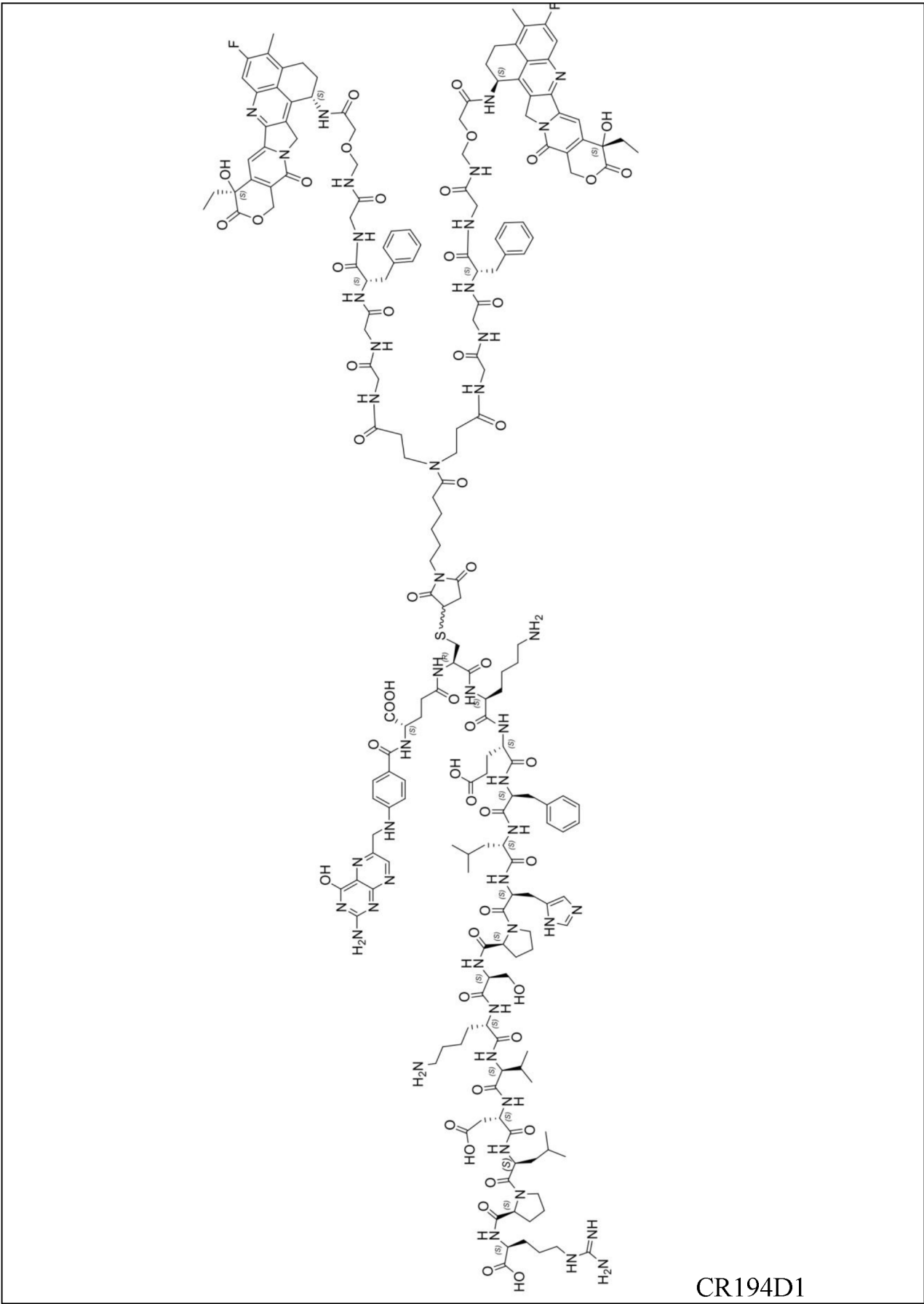


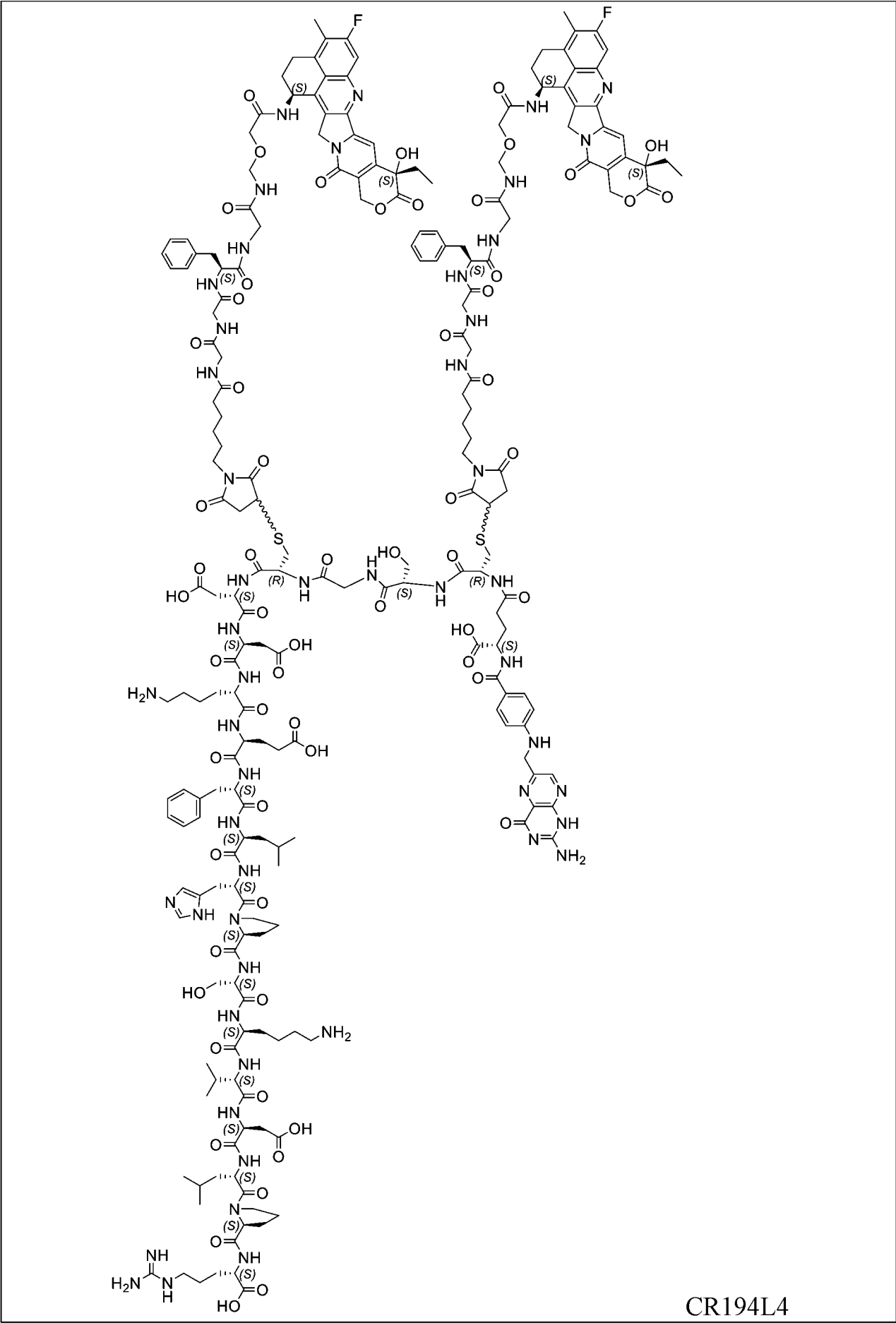


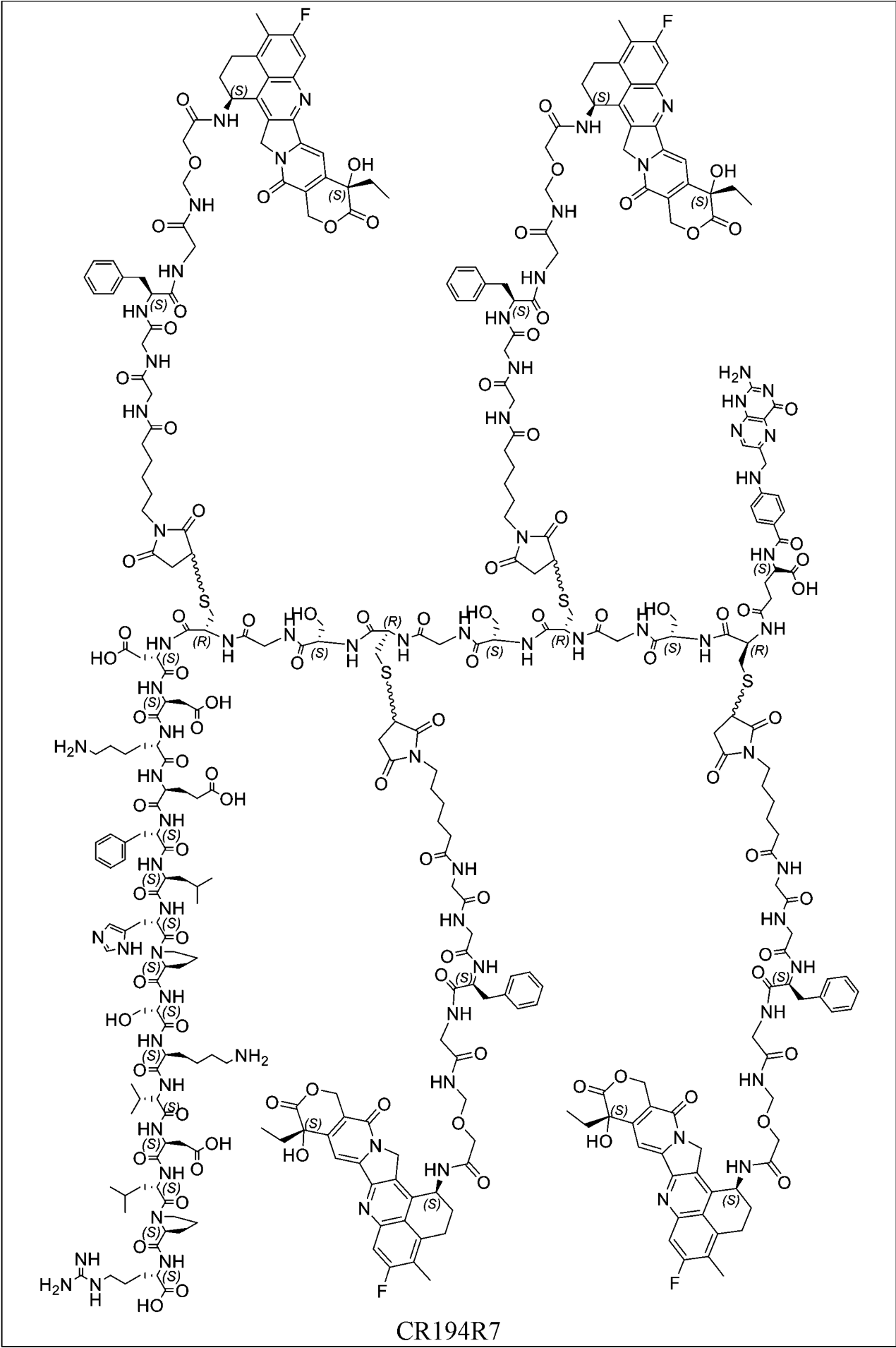


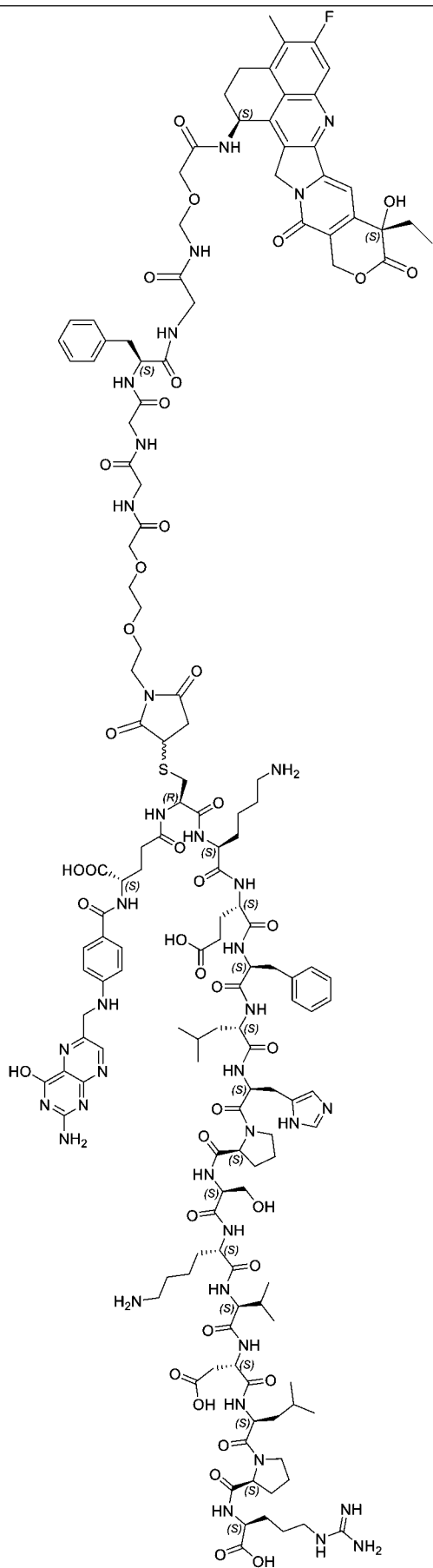




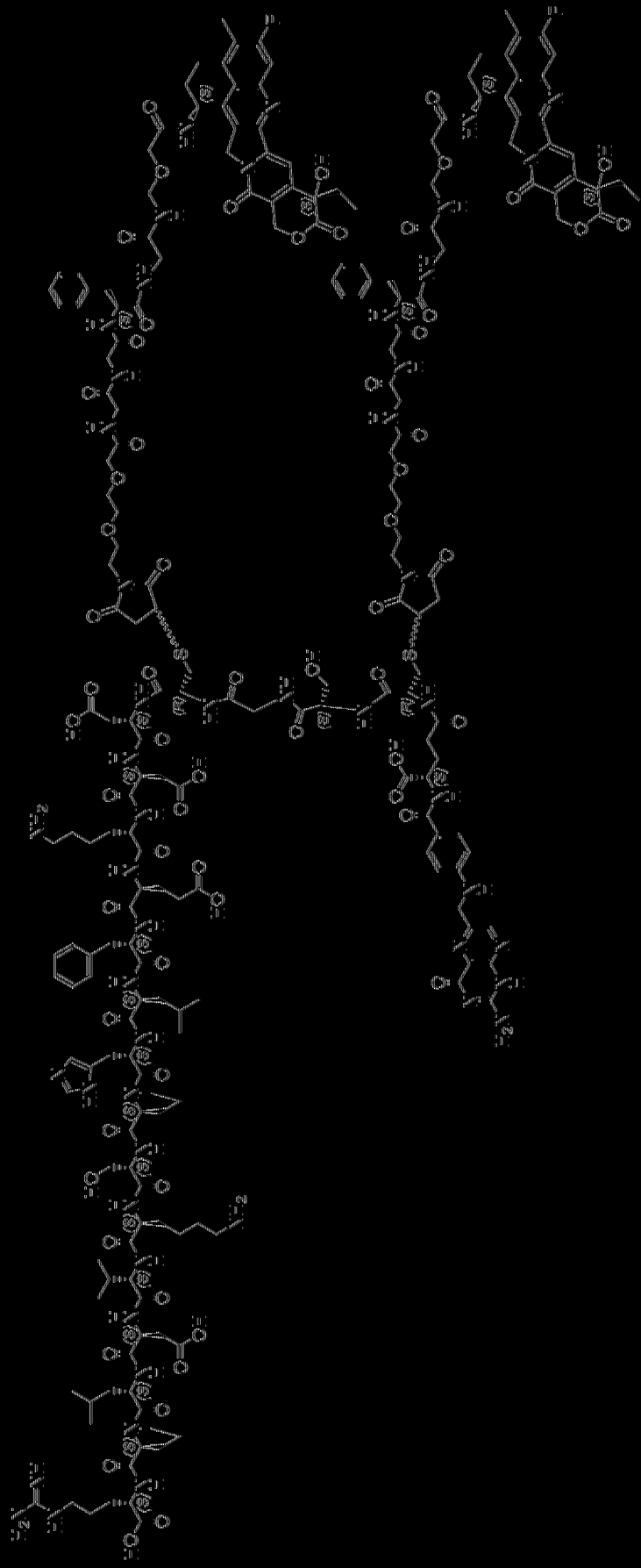




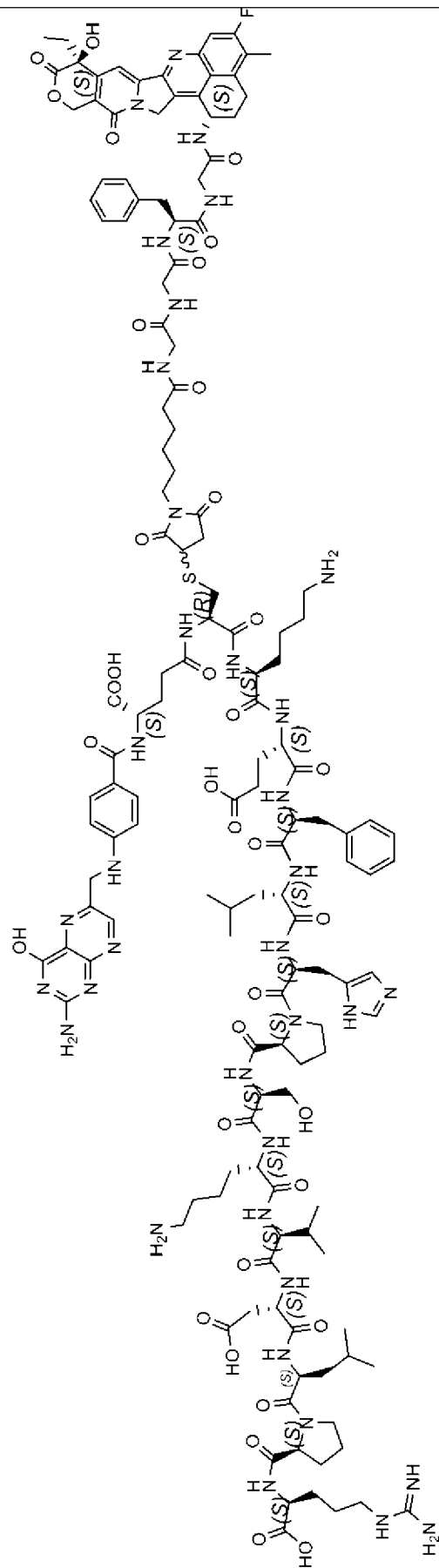




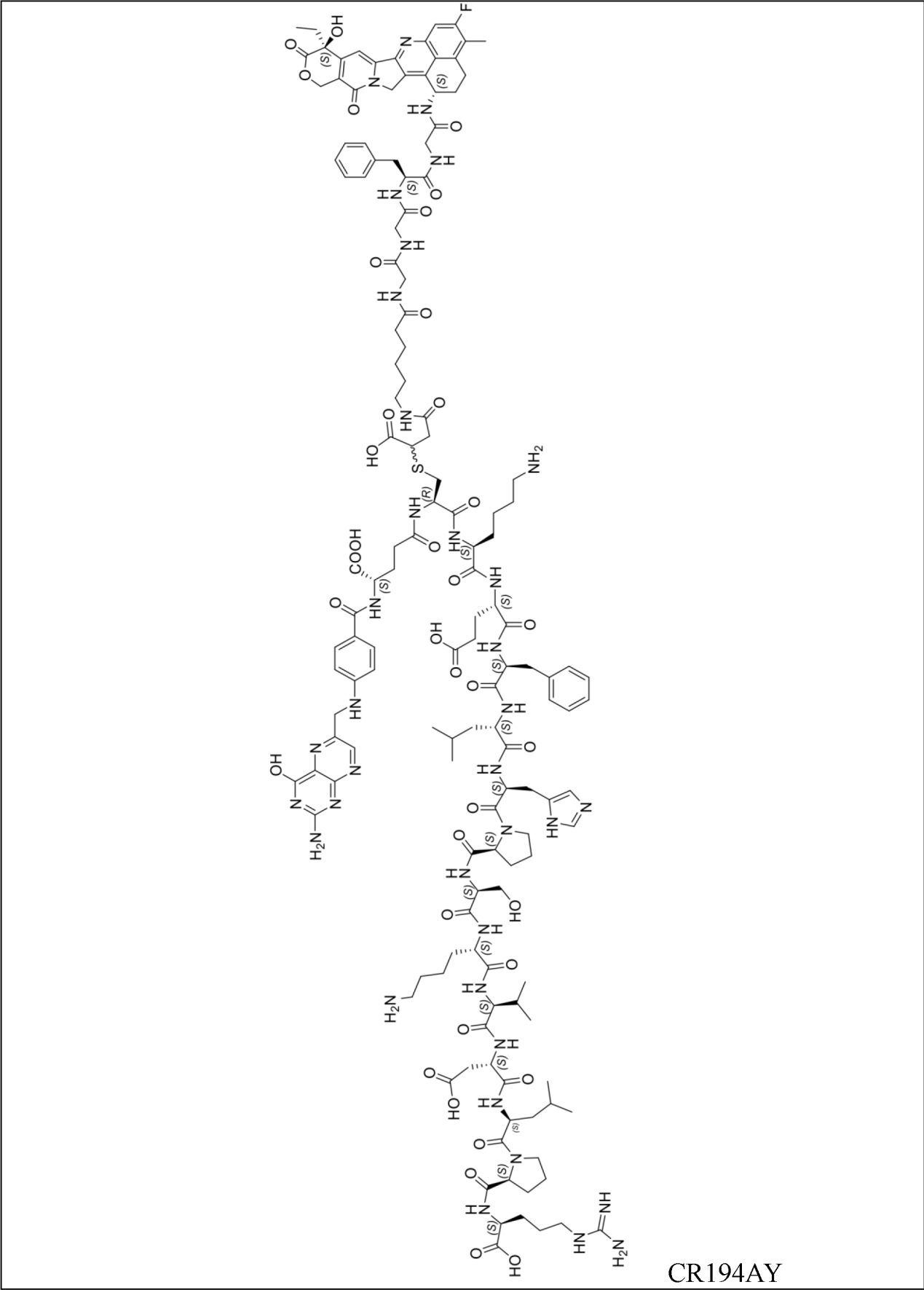
CR194L2

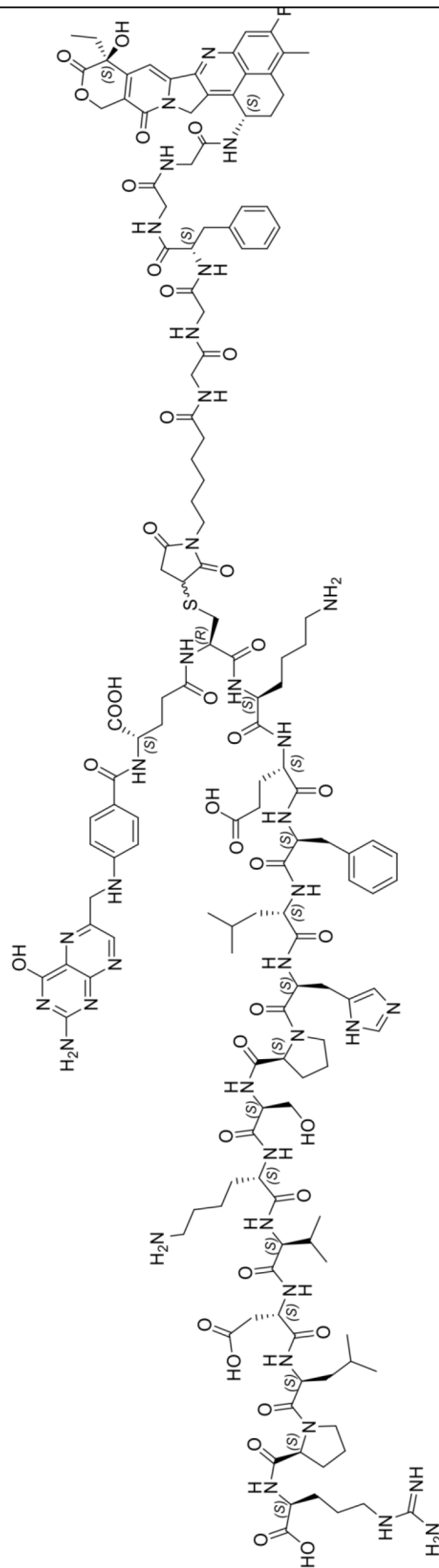


CR194.3

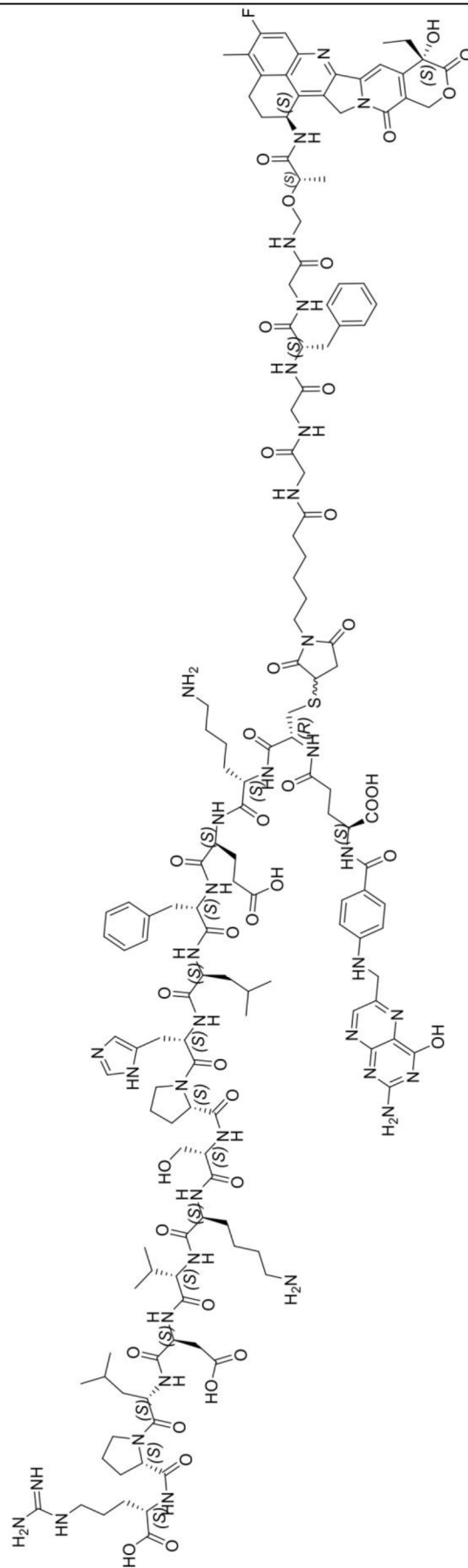


CR194Q1

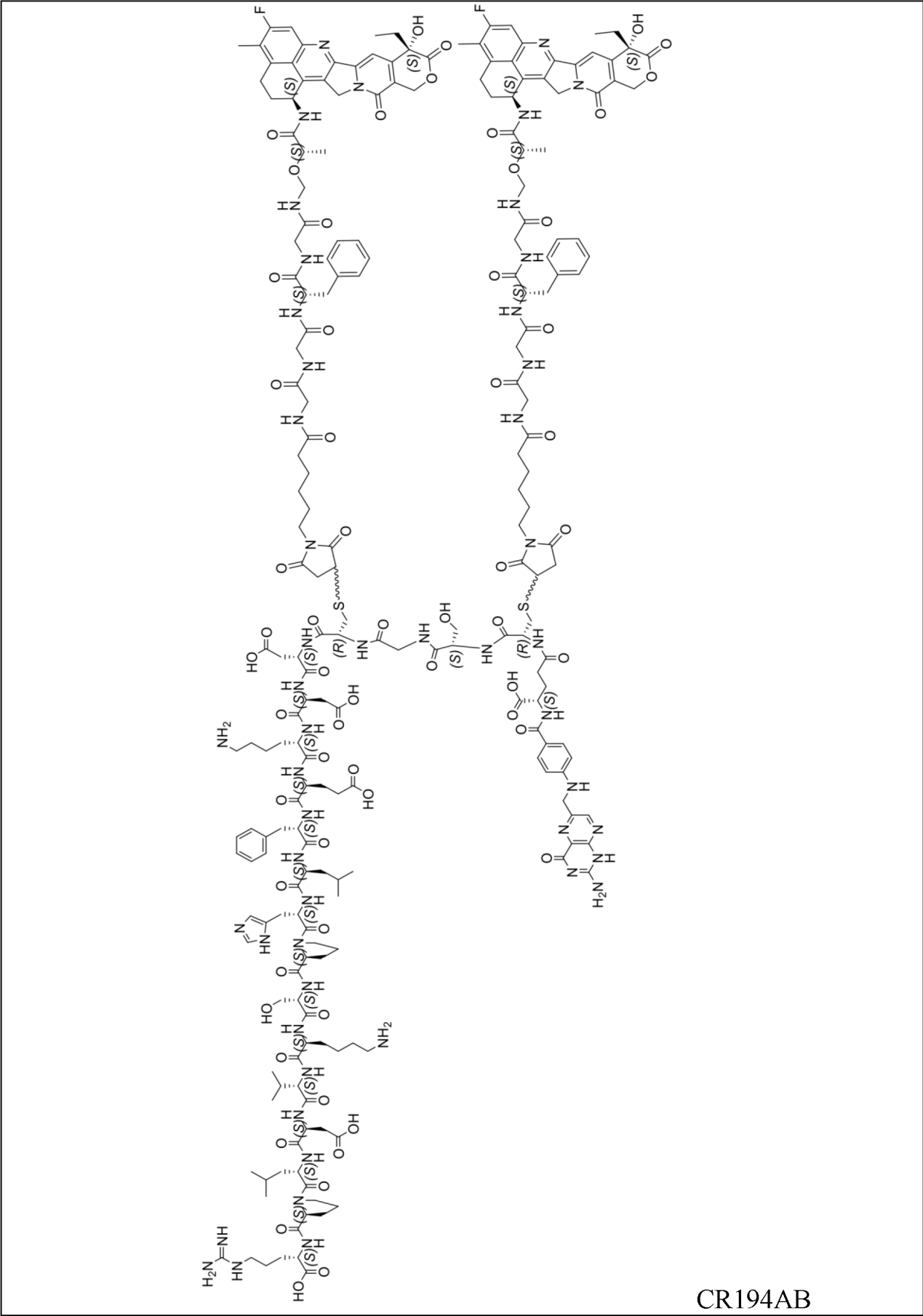


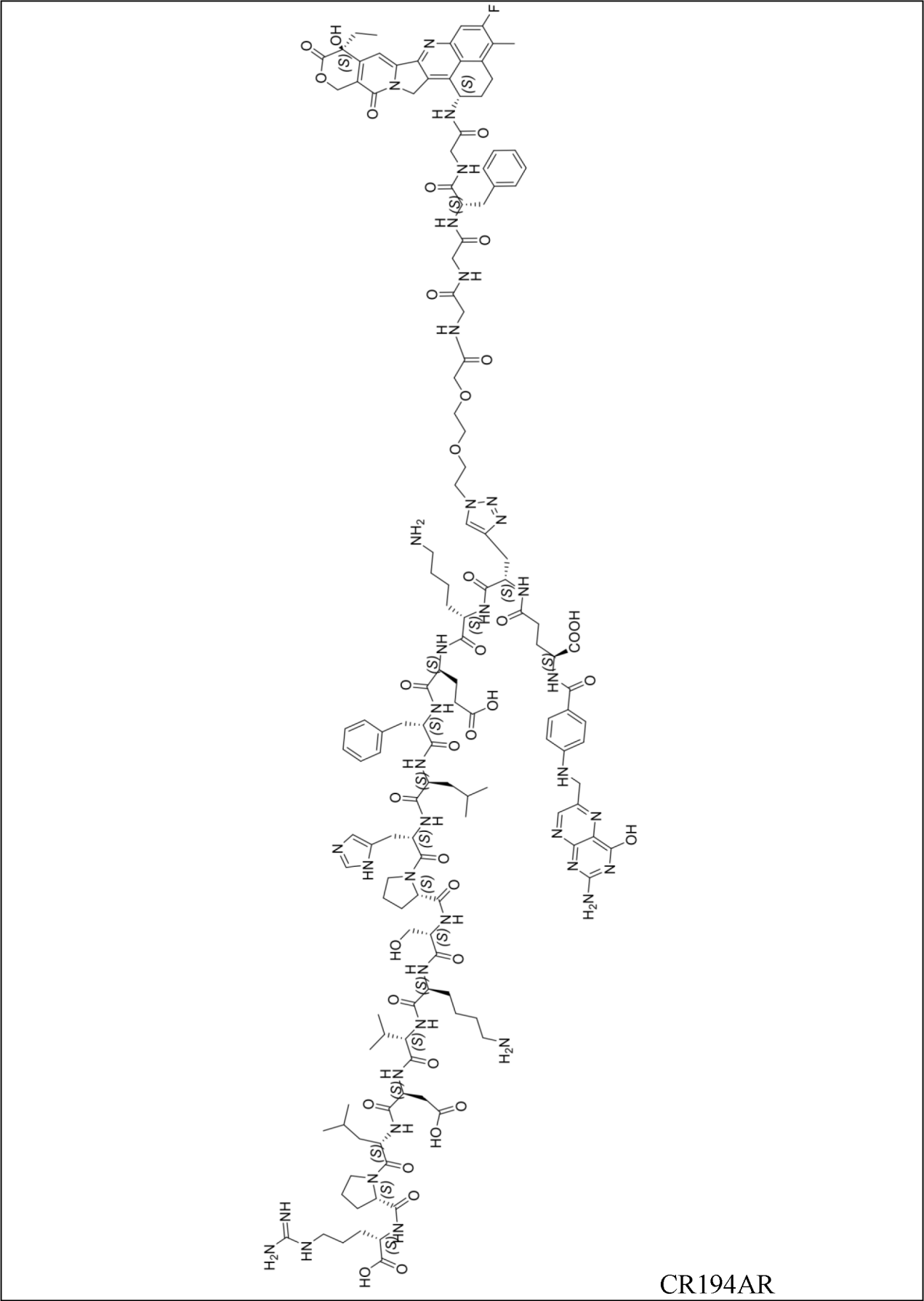


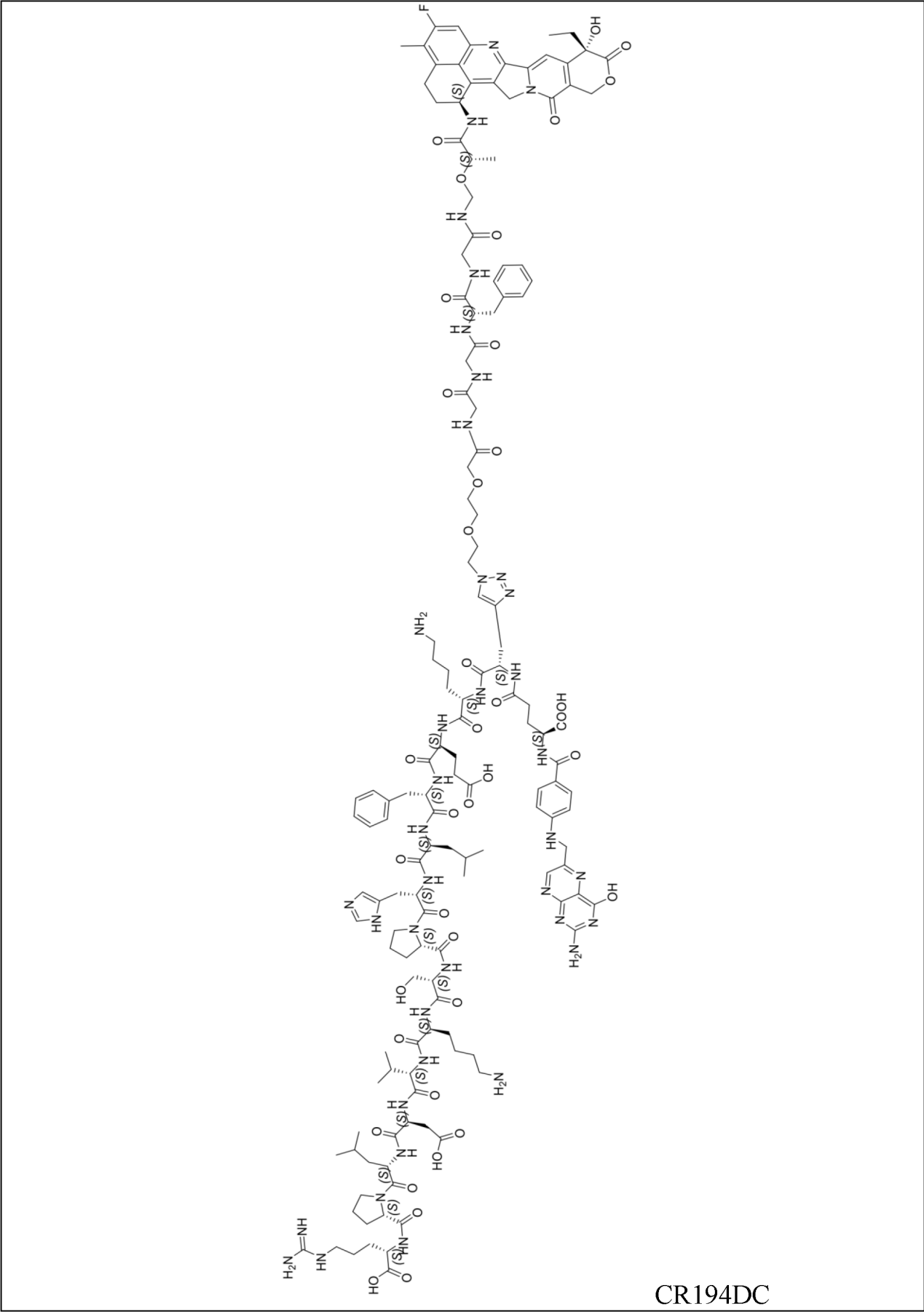
CR194Q5

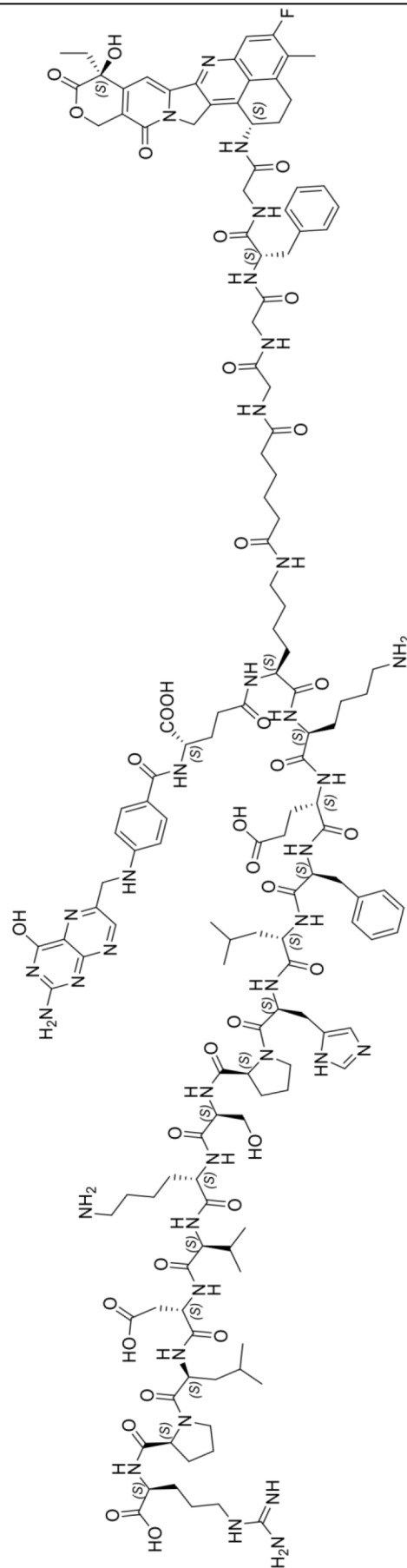


CR194X3

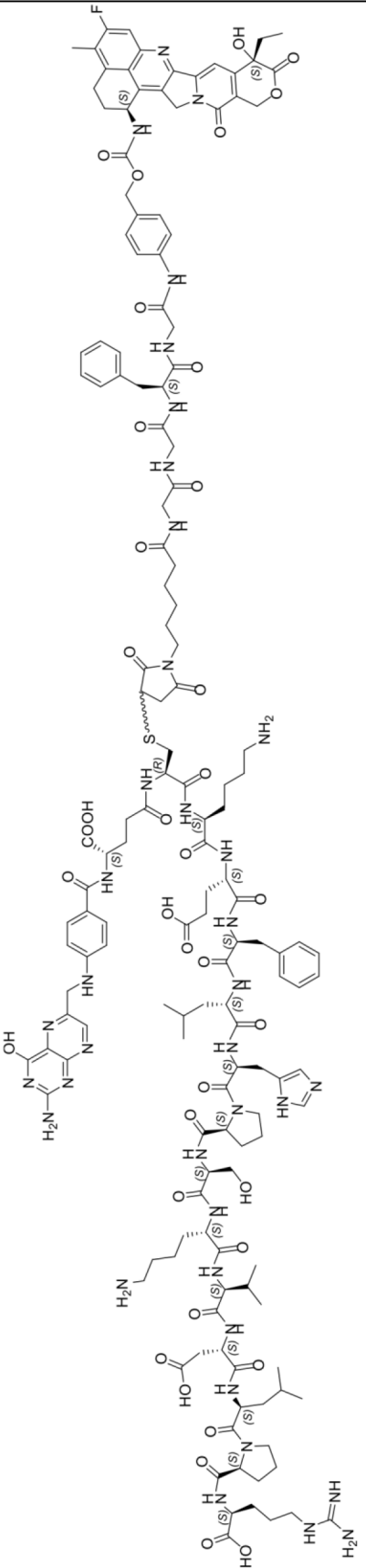




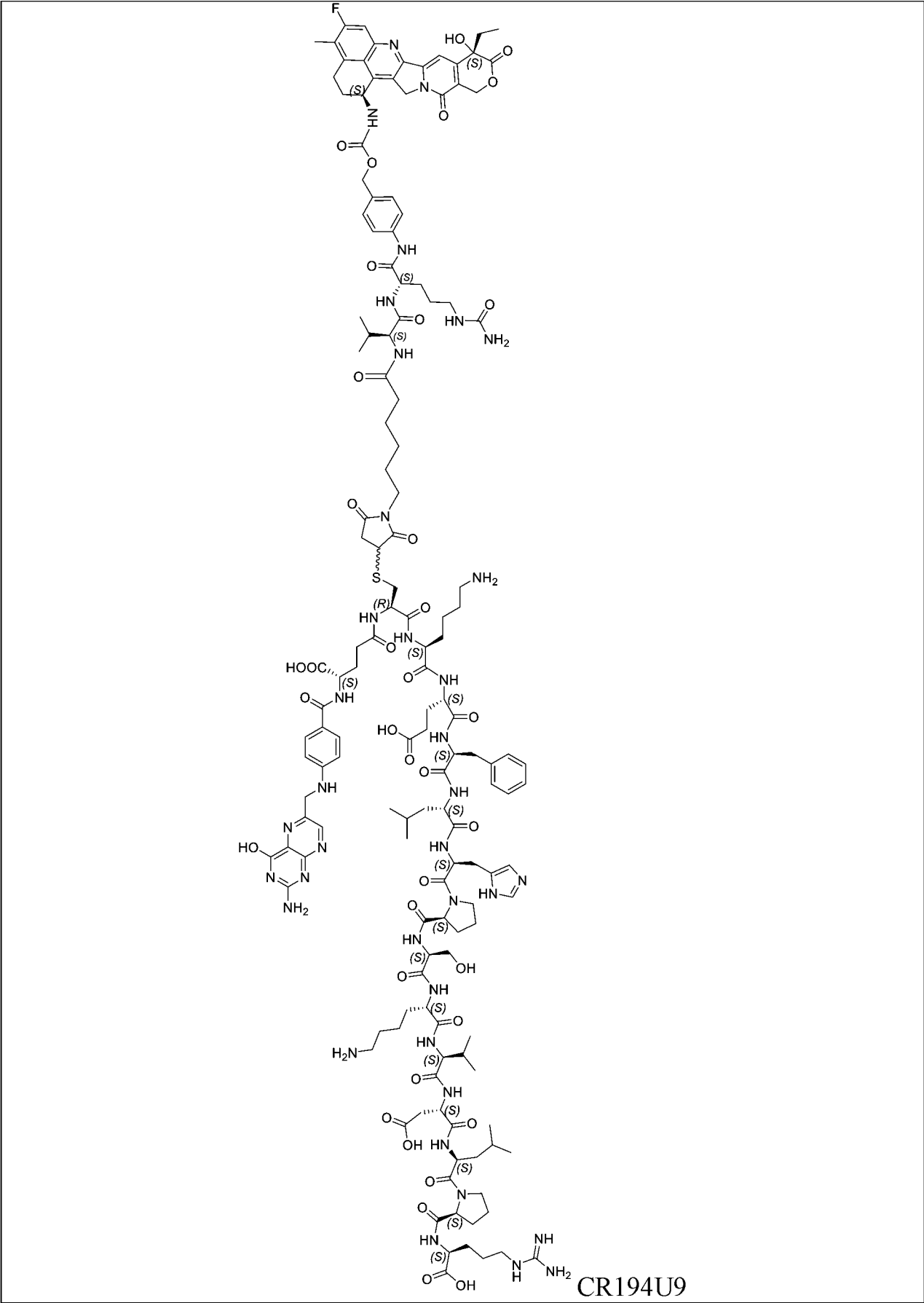


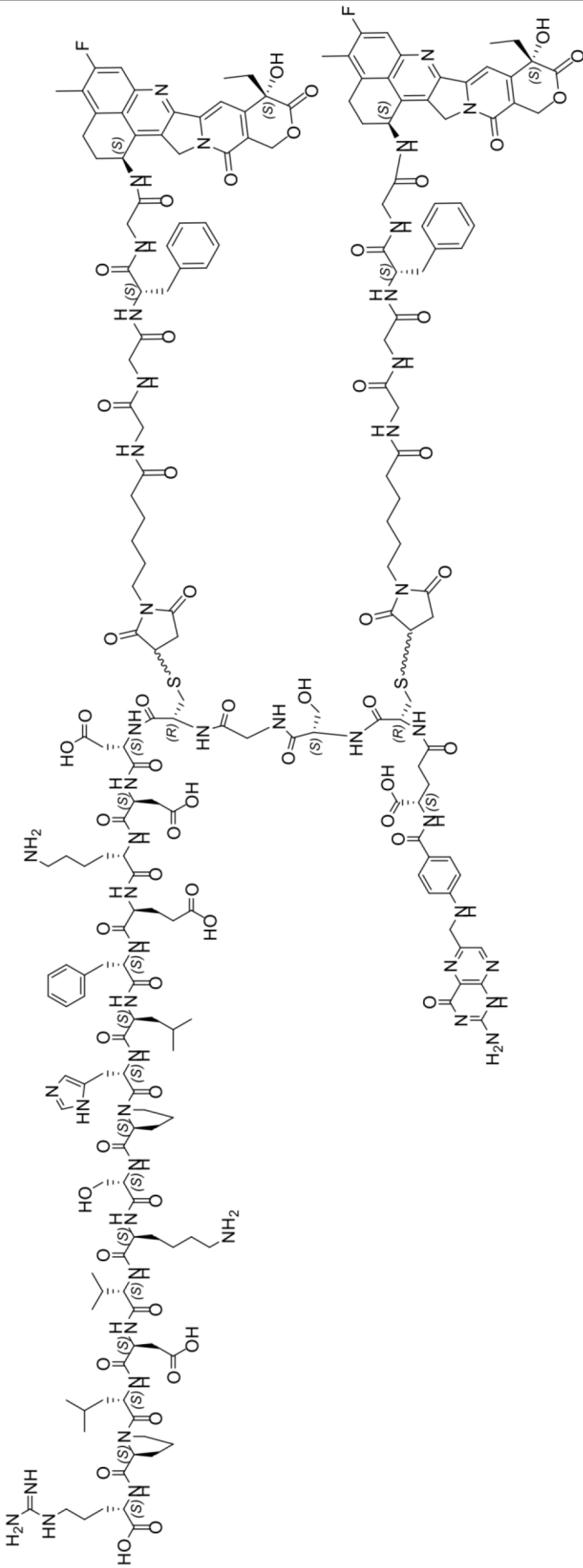


CR194AX

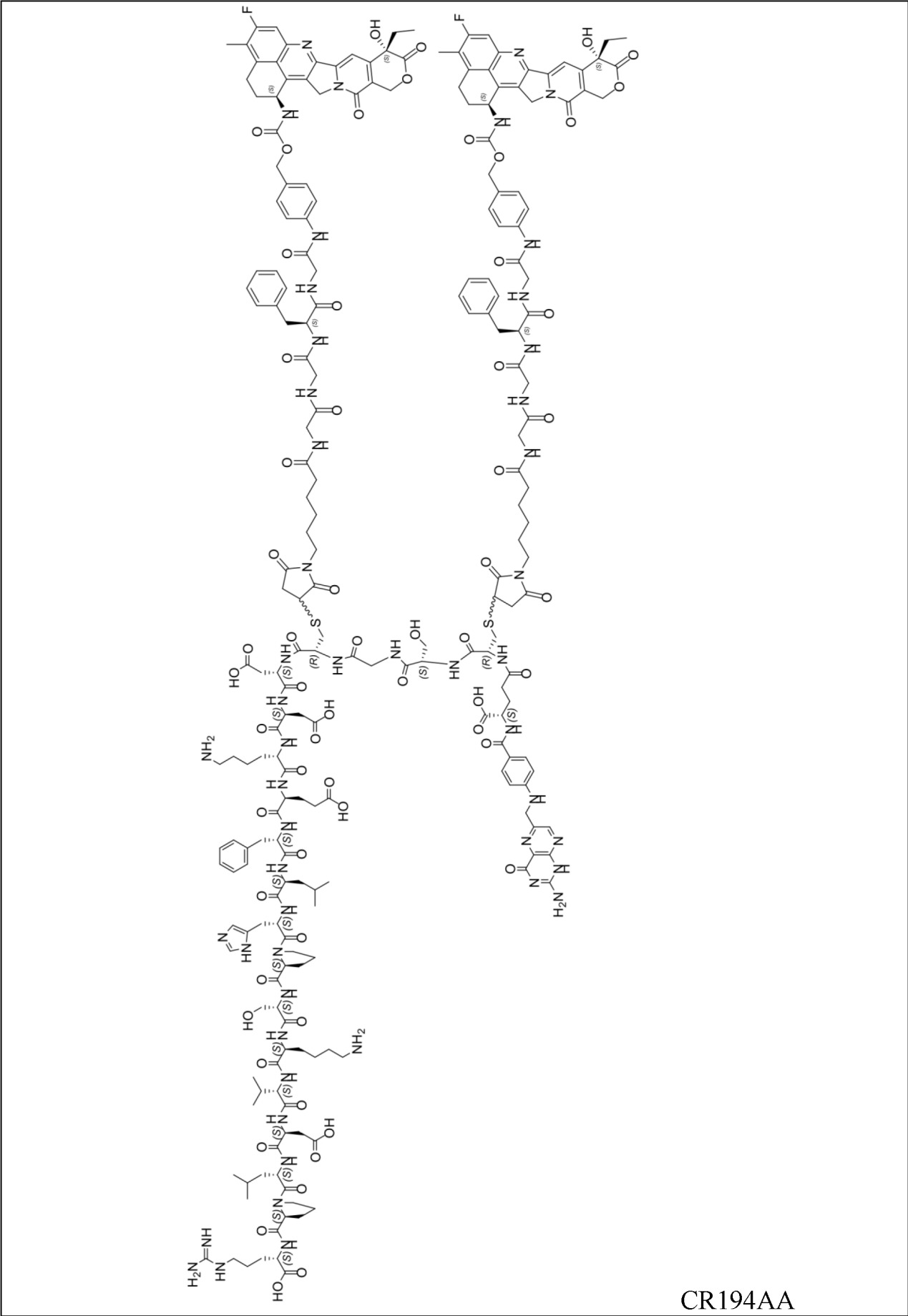


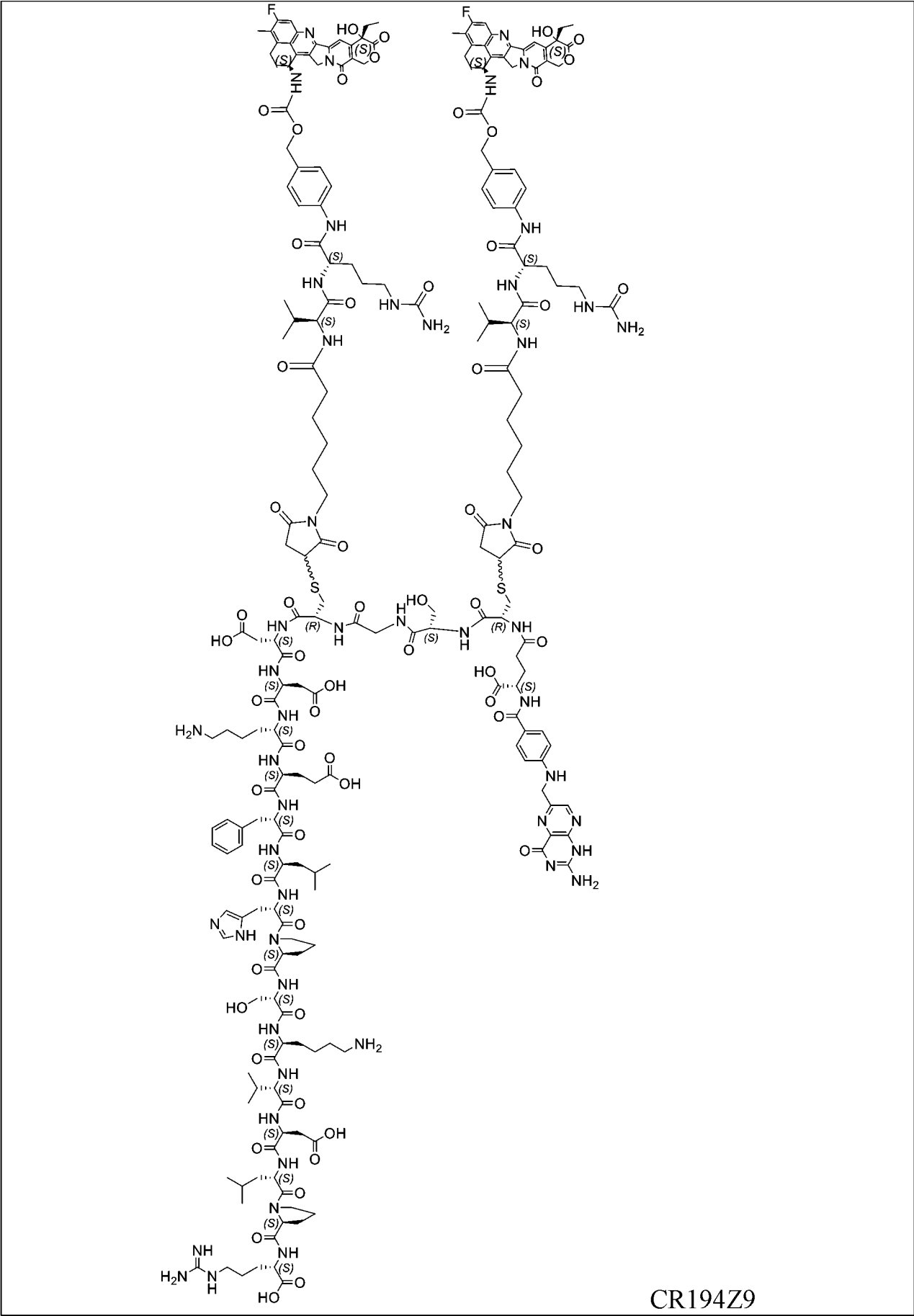
CR194V5





CR194AH





【0086】 本案的另一個方面公開了一種藥物組合物，所述藥物組合物包含本案所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，以及藥學上可接受的載體。在一些實施方式中，本案所述的藥物組合物用於靜脈內、皮下、口服、肌肉內或心室內施用。

【0087】 在本案中使用的術語「藥學上可接受的」指的是在合理的醫學判斷範圍內，其適用於與人和其他動物的細胞接觸而沒有不適當的毒性、刺激性、過敏反應等，並且與合理的效益/風險比是相稱的。

【0088】 在本案中使用的術語「藥學上可接受的鹽」指的是本案的偶聯體化合物的相對無毒性的、無機和有機酸加成鹽和鹼加成鹽。代表性的酸加成鹽包括氫溴酸鹽、鹽酸鹽、硫酸鹽、硫酸氫鹽、磷酸鹽、硝酸鹽、乙酸鹽、草酸鹽、戊酸鹽、油酸鹽、棕櫚酸鹽、硬脂酸鹽、月桂酸鹽、硼酸鹽、苯甲酸鹽、乳酸鹽、磷酸鹽、甲苯磺酸鹽、檸檬酸鹽、馬來酸鹽、富馬酸鹽、琥珀酸鹽、酒石酸鹽、茶酸鹽、甲磺酸鹽、葡庚糖酸鹽、乳糖酸鹽、胺基磺酸鹽、丙二酸鹽、水楊酸鹽、丙酸鹽、亞甲基-雙-b-羥基萘甲酸鹽、龍膽酸鹽、羥乙基磺酸鹽、二對甲苯甲醯基酒石酸鹽、甲磺酸鹽、乙磺酸鹽、苯磺酸鹽、對甲苯磺酸鹽、環己基胺基磺酸鹽和奎尼酸月桂基磺酸鹽等。鹼加成鹽包括藥學上可接受的金屬和胺鹽。適宜的金屬鹽包括鈉、鉀、鈣、鋇、鋅、鎂和鋁鹽。在一些實施方式中，鈉鹽和鉀鹽是較佳的。適宜的無機鹼加成鹽由金屬鹼製備，所述金屬鹼包括例如氫化鈉、氫氧化鈉、氫氧化鉀、氫氧化鈣、氫氧化鋁、氫氧化鋇、氫氧化鎂和氫氧化鋅。適宜的胺鹼加成鹽由具有足夠鹼性的胺製備，以形成穩定的鹽，並且較佳包括以下常用於藥物化學的胺，因為其毒性較低並且是醫療用途可接受的：氨、乙二胺、N-甲基葡萄糖胺、賴胺酸、精胺酸、鳥胺

酸、膽鹼、N, N'-二苳基乙二胺、氯普魯卡因、二乙醇胺、普魯卡因、N-苳基苳乙胺、二乙胺、哌咾、三羢甲基胺基甲烷、四甲基氫氧化銨、三乙胺、二苳胺、二苳羢甲胺、脫氫橿胺、N-乙基呱啖、苳胺、四甲基銨、四乙基銨、甲胺、二甲胺、三甲胺、乙胺、鹼性胺基酸（例如，賴胺酸和精胺酸）以及二環己胺等。

【0089】 在本案中使用的術語「藥學上可接受的載體」指的是用於向對象遞送本案提供的偶聯體化合物的藥學上可接受的溶劑、混懸劑或任意其他藥學上惰性的載劑，其不干擾偶聯體化合物的結構和性質。某些這樣的載體能夠將偶聯體化合物配製成例如片劑、丸劑、膠囊劑、液體、凝膠劑、糖漿劑、漿劑、混懸劑和軟錠劑，供對象口服攝入。某些這樣的載體能夠將偶聯體化合物製成注射、輸注或局部施用的製劑。

【0090】 用於本案提供的藥物組合物中的藥學上可接受的載體包括但不限於，例如藥學上可接受的液體、凝膠或固體載體、水性載劑（例如，氯化鈉注射液、林格氏注射液、等滲右旋糖注射液、無菌水注射液或者右旋糖和乳酸林格氏注射液）、非水性載劑（例如，植物來源的固定油、棉籽油、玉米油、芝麻油或花生油）、抗微生物劑、等滲劑（例如，氯化鈉或右旋糖）、緩衝劑（例如，磷酸或檸檬酸緩衝劑）、抗氧劑（例如，硫酸氫鈉）、麻醉劑（例如，鹽酸普魯卡因）、混懸劑/分散劑（例如，羧甲基纖維素鈉、羢丙基甲基纖維素或聚乙烯吡咯烷酮）、螯合劑（例如，EDTA（乙二胺四乙酸）或EGTA（乙二醇四乙酸））、乳化劑（例如，聚山梨醇酯80（吐溫-80））、稀釋劑、佐劑、賦形劑、或無毒性輔助物質、本領域習知的其他成分或其各種組合。適

宜的成分可以包括例如填充劑、黏合劑、緩衝劑、防腐劑、潤滑劑、調味劑、增稠劑、著色劑或乳化劑。

【0091】 在一些實施方式中，藥物組合物是注射製劑。注射製劑包括無菌水溶液或分散劑、混懸劑或乳劑。在所有情況下，注射製劑應該是無菌的並且應該是流體以便於注射。注射製劑應在生產和儲存條件下保持穩定，並且必須防止細菌和真菌等微生物的污染。載體可以是含有例如水、乙醇、多元醇（例如，甘油、丙二醇和液體聚乙二醇等）及其適宜的混合物和/或植物油的溶劑或分散介質。注射製劑應保持適當的流動性。例如，可以透過使用諸如卵磷脂的包衣、透過使用表面活性劑等保持適當的流動性。可以透過各種抗細菌劑和抗真菌劑實現阻止微生物的作用，例如對羥基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸、硫柳汞等。

【0092】 在一些實施方式中，藥物組合物是口服製劑。口服製劑包括但不限於膠囊、扁膠囊、丸劑、片劑、錠劑（使用調味基質，通常為蔗糖和阿拉伯膠或黃蓍膠）、粉劑、顆粒劑、或在水性或非水性液體中的溶液劑或混懸劑、或者作為水包油或油包水液體乳劑、或者作為酏劑或糖漿、或者作為軟錠劑（使用惰性基質，如明膠和甘油，或者蔗糖和阿拉伯膠）和/或作為漱口劑等。

【0093】 在用於口服施用的固體劑型（例如，膠囊、片劑、丸劑、糖衣丸、散劑、顆粒劑等）中，將偶聯體化合物與一種或多種藥學上可接受的載體混合，如檸檬酸鈉或磷酸氫二鈣，和/或下述中的任意一種：（1）填充劑或增量劑，例如，澱粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇和/或矽酸；（2）黏合劑，例如，羧甲基纖維素、藻酸鹽、明膠、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖和/或阿拉伯膠；

(3) 保濕劑，例如，甘油；(4) 崩解劑，例如，瓊脂、碳酸鈣、馬鈴薯或木薯澱粉、海藻酸、某些矽酸鹽和碳酸鈉；(5) 溶液阻滯劑，例如，石蠟；(6) 吸收促進劑，例如，季銨化合物；(7) 潤濕劑，例如，乙醯基醇和單硬脂酸甘油酯；(8) 吸收劑，例如，高嶺土和膨潤土；(9) 潤滑劑，例如，滑石、硬脂酸鈣、硬脂酸鎂、固體聚乙二醇、月桂基硫酸鈉及其混合物；以及(10) 著色劑。

【0094】 在用於口服施用的液體劑型中，將偶聯體化合物與下述中的任意一種混合：藥學上可接受的乳劑、微乳、溶液、混懸劑、糖漿劑和酞劑。除了偶聯體化合物以外，液體劑型可以含有本領域常用的惰性稀釋劑，例如，水或其他溶劑、增溶劑和乳化劑，例如，乙醇、異丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苯甲醇、苯甲酸苄酯、異丙醇、1,3-丁二醇、油（特別是，棉籽油、花生油、玉米油、橄欖油、蓖麻油和芝麻油）、甘油、四氫糠醇、聚乙二醇和脫水山梨醇脂肪酸酯及其混合物。除了惰性稀釋劑以外，口服組合物還可以包含佐劑，例如，潤濕劑、乳化劑和混懸劑、甜味劑、調味劑、著色劑、增香劑和防腐劑。

【0095】 在一些實施方式中，藥物組合物是口腔噴霧製劑或鼻噴霧製劑。噴霧製劑包括但不限於水性氣霧劑、非水性混懸劑、脂質體製劑或固體顆粒製劑等。水性氣霧劑透過將藥劑的水溶液或混懸液與常規藥學上可接受的載體和穩定劑混合製備。載體和穩定劑根據具體化合物的要求而改變，但是在通常情況下，其包括非離子表面活性劑（吐溫乳化劑或聚乙二醇）、油酸、卵磷脂、胺基酸，例如，甘胺酸、緩衝溶液、鹽、糖或糖醇。氣霧劑通常由等滲溶液製備，並且能夠透過噴霧遞送。

【0096】 在一些實施方式中，藥物組合物可以透過與一種或多種其他藥物混合使用。在一些實施方式中，藥物組合物包含至少一種其他藥物。在一些實施方式中，其他藥物是抗腫瘤藥、心血管藥、抗發炎藥、抗病毒藥、消化系統藥、神經系統藥、呼吸系統藥、免疫系統藥、皮膚病藥、代謝藥等。

【0097】 在一些實施方式中，可以透過適宜的途徑向有需要的對象施用藥物組合物，包括但不限於口服、注射（例如，靜脈內、肌內、皮下、皮內、心內、鞘內、胸膜內、腹膜內注射等）、黏膜（例如，鼻內、口內施用等）、舌下、直腸、經皮、眼內和肺部施用。在一些實施方式中，藥物組合物可以靜脈內、皮下、口服、肌內或心室內施用。

【0098】 由於一些有效負載的性質，例如高毒性、高親水性，因而希望將有效負載更特異性地和更有效地向有需要的對象遞送。例如，在癌症治療中，希望將化療劑特異性地向癌細胞遞送，而不對正常細胞產生毒性。因而，本案的另一個方面公開了向有需要的對象遞送有效負載的方法，所述方法包括向對象施用治療有效量的本案提供的偶聯體化合物，或其藥學上可接受的鹽，或者本案提供的藥物組合物。

【0099】 本案的另一個方面公開了一種用於治療對象中的疾病的方法，所述方法包括向所述對象施用治療有效量的本案所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，或者本案所述的藥物組合物。在一些實施方式中，所述方法還包括將一種或多種治療劑與所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，或者所述藥物組合物聯合施用。

【0100】 本案的另一個方面公開了本案所述的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，或者本案所述的藥物組合物在用於製備治療對象中的疾病的藥物中的用途。

【0101】 在本案中使用的術語「治療有效量」指的是偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或藥物組合物在一定程度上減輕對象中疾病或病症的一種或多種症狀的量；使與疾病或病症相關或導致疾病或病症的一個或多個生理或生化參數部分或完全恢復正常的量；和/或降低疾病或病症發病的可能性的量。這種量通常根據多種因素而改變，本領域中具有通常知識者根據本案提供的說明書的範圍能夠對其進行確定和說明。這些包括但不限於：特定對象及其年齡、體重、身高、一般身體狀況和病史、所使用的特定化合物，以及其製劑的載體和所選擇的施用途徑；以及所治療病況的性質和嚴重程度。

【0102】 在一些實施方式中，偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，或者藥物組合物的量足以在對象中抑制疾病或病症，或者預防性地抑制或阻止疾病或病症的發病。儘管治療有效量可以在不同對象中改變，但是其範圍通常為從0.01至150 mg/kg，例如0.01至140 mg/kg、0.01至130 mg/kg、0.01至120 mg/kg、0.01至110 mg/kg、0.01至90 mg/kg、0.01至80 mg/kg、0.01至70 mg/kg、0.01至60 mg/kg、0.01至50 mg/kg、0.01至40 mg/kg、0.01至30 mg/kg、0.01至20 mg/kg、0.01至10 mg/kg、0.01至5 mg/kg、0.01至4 mg/kg、0.01至3 mg/kg、0.01至2 mg/kg、0.01至1 mg/kg、0.01至0.1 mg/kg。在一些實施方式中，本案的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物以1-150mg/kg的所述偶聯體化合物的劑量範圍施用。在一些實施方式中，本案的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物以1-25 mg/kg、1-50 mg/kg、

1-75 mg/kg、1-100 mg/kg、1-125 mg/kg、1-150 mg/kg、25-75 mg/kg、25-50 mg/kg、25-40 mg/kg、25-30 mg/kg、1-20 mg/kg、1-15 mg/kg、1-10 mg/kg、1-5 mg/kg、1-3 mg/kg的所述偶聯體化合物的劑量施用。在一些實施方式中，本案的偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物以1mg/kg、3mg/kg、10mg/kg、25mg/kg、50mg/kg、75mg/kg、100mg/kg、150mg/kg的所述偶聯體化合物的劑量施用。在一些實施方式中，本案所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物可以每天（例如：每天一次，兩次，三次或四次）施用，或者間隔一天或多天（例如：每週，每兩週，每三週，每月或每季度一次）施用。在一些實施方式中，本案所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物的給藥頻率為每週一次、每週兩次、每週三次、每三天一次、每兩天一次、每天一次、每天兩次或每天三次。在一些實施方式中，本案所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物的給藥頻率為每週一次。在一些實施方式中，本案所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽或其藥物組合物的給藥頻率為每天三次。本案所述的治療有效量可以等於上述數值範圍內的任意值，包括該範圍的端點。

【0103】 在本案中使用的術語「對象」指的是人和非人動物。非人動物包括所有的脊椎動物，例如哺乳動物和非哺乳動物。對象也可以是家畜，例如，牛、豬、羊、家禽和馬，或家養動物，例如，狗和貓。對象可以是雄性（例如，男性）或雌性（例如，女性），可以是老年，成年、青少年、兒童或嬰兒。人可以是高加索人、非洲人、亞洲人、閃族人或其他種族背景人士，或者是這些種族背景的混合。

【0104】 在一些實施方式中，本案所述疾病選自下組：癌症、免疫性疾病、代謝疾病和神經疾病。在一些實施方式中，所述癌症選自胰腺癌、膽道癌、肝癌、乳腺癌、甲狀腺癌、結直腸癌、食道癌、肺癌、腎癌、白血病、卵巢癌、胃癌、子宮癌、子宮內膜癌、結腸癌、睪丸癌、皮膚癌、前列腺癌、淋巴瘤和多發性骨髓瘤。在一些實施方式中，免疫性疾病是自身免疫性疾病，較佳地，所述自身免疫性疾病選自結締組織病、系統性硬化症、類風濕性關節炎和系統性紅斑狼瘡。代謝疾病選自糖尿病、痛風、肥胖症、低血糖症、高血糖症和血脂異常。在一些實施方式中，神經疾病選自阿茲海默症、帕金森氏症、亨廷頓舞蹈症、頭部損傷、多發性硬化症、眩暈、昏迷和癲癇。

【0105】 在一些實施方式中，本案的方法還包括將一種或多種治療劑與所述偶聯體化合物或其藥學上可接受的鹽，或者所述藥物組合物聯合施用。

【0106】 以下將透過具體實施例更詳細地描述本案。提供以下實施例僅用於說明目的，並且不旨在以任何方式限制本發明。本領域之具備通常知識者將容易地意識到可以對多種非關鍵參數進行改變或修改以產生基本上相同的結果。

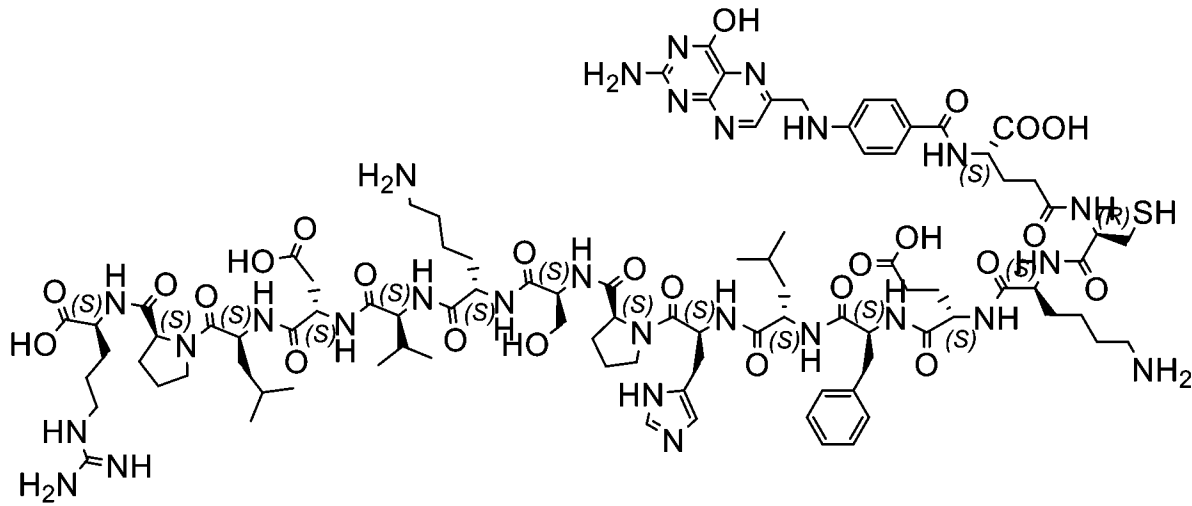
【0107】 實施例

【0108】 以下實施例旨在更好地說明本發明，且不應理解為限制本發明的範圍。所有下述的特定組合物、材料和方法，其整體或部分，都在本發明的範圍內。這些特定的組合物、材料和方法不是為了限制本發明，而只是為說明特定的實施方式在本發明的範圍內。本領域中具備通常知識者可不添加進步性及不偏離本發明範圍而開發出等同的組合物、材料和方法。應理解，在對本發

明的方法作出的多種改動可以仍然包含在本發明範圍內。發明人意在將這樣的變動包含在本發明的範圍內。

實施例 1 多配體部分的製備

【0109】 雙配體Ligand-01的製備



【0110】 用固相合成Fmoc化學胺基樹脂合成Pterioic acid（蝶酸）-Glu-Cys-Lys-Glu- Phe-Leu-His-Pro -Ser-Lys-Val-Asp-Leu-Pro-Arg-OH肽序。將樹脂裝載於固相反應柱中，加入DMF，氮氣鼓泡至溶劑中，使樹脂溶脹30分鐘；加入Fmoc-Arg-OH、DCC和DMAP，25°C，反應3小時，後用醋酸酐和吡啶封端1小時，再用DMF洗滌3次，用DBLK脫除樹脂上的Fmoc保護基團，再用DMF洗滌5次，秤取Fmoc-Pro-OH和HOBt，用DMF溶解，0°C冰水浴下向上述溶液中加入DIC，混合使其活化5分鐘，將該溶液加入上述反應柱中，反應3小時後，抽乾溶劑，洗滌反應柱中的樹脂3遍。隨後用DBLK脫除Fmoc保護基團，重複上述操作，按照結構依次偶聯Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Asp(OtBu)-OH、Fmoc-Val-OH、Fmoc-Lys(Boc)OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Pro-OH、Fmoc-His(Trt)-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OH、Fmoc-Lys(Boc)-

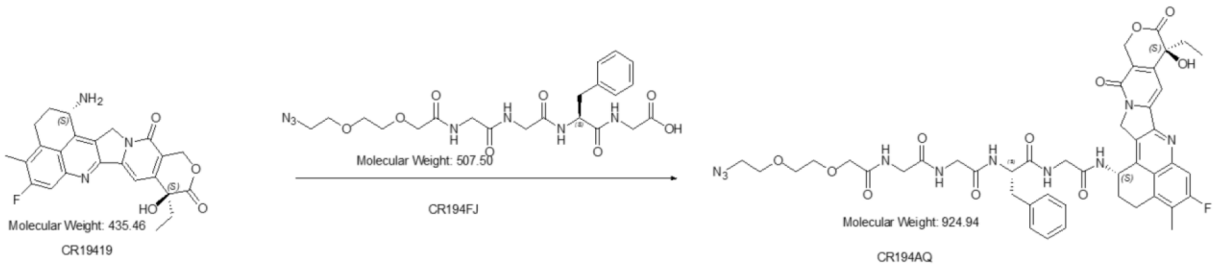
OH、Fmoc-Cys(Trt)-OH、Fmoc-Glu-OtBu以及蝶酸。樹脂用裂解液裂解後，過濾，裂解液倒入MTBE中，析出固體，用MTBE洗，得到粗品，將粗品經Pre-HPLC純化，製備得到Ligand01。

【0111】 同理，透過與以上方法類似的步驟可獲得到Ligand02、Ligand03、Ligand04、Ligand05和Ligand06。

實施例 2 偶聯體化合物的製備

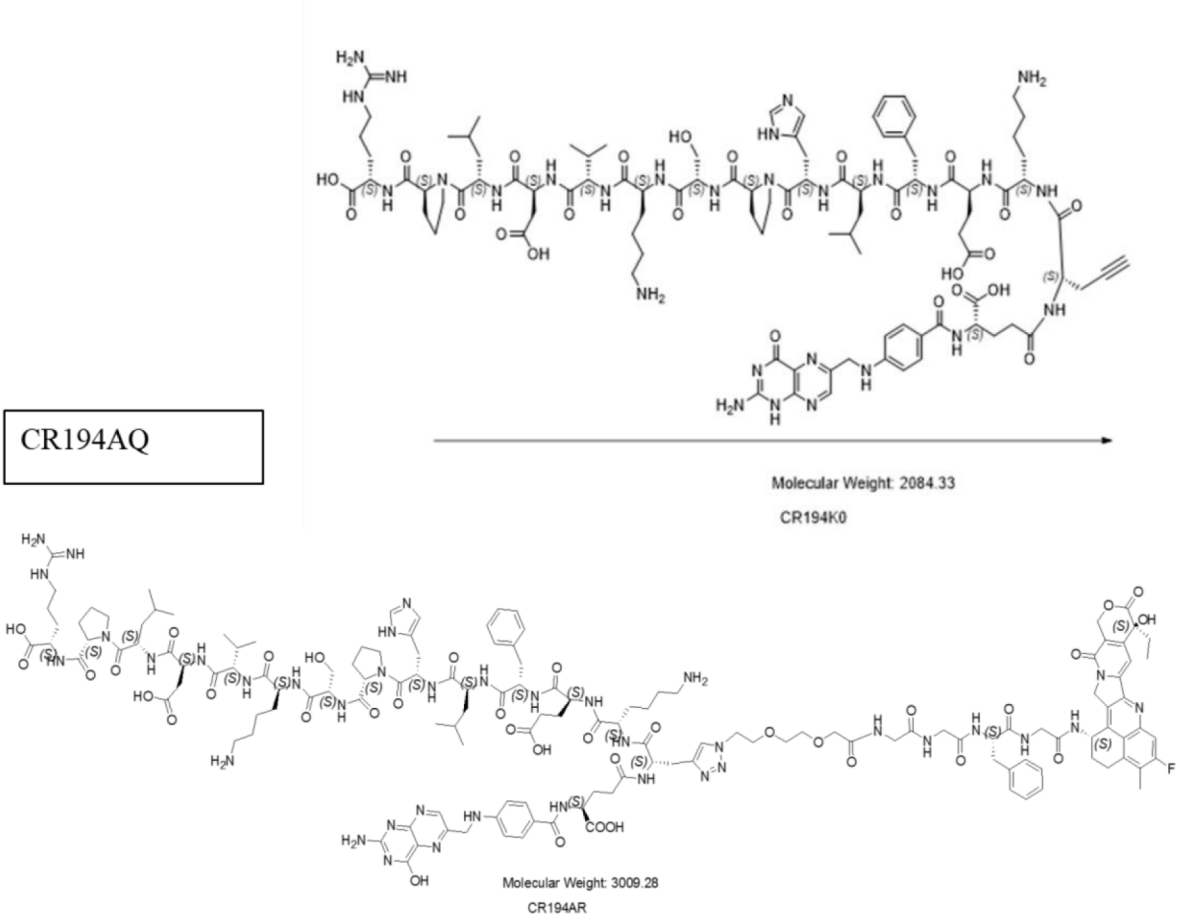
【0112】 1. 偶聯體化合物CR194AR的合成

【0113】 步驟1 (Step 1)：CR194AQ的製備



【0114】 秤取CR19419 (1.0 eq，結構參見圖示) 於50 mL 單口瓶中，加入DMF使其溶解，隨後加入CR194FJ (1.0 eq，結構參見圖示)、HATU (1.1 eq) 和DIPEA (2.5 eq)，25°C下，攪拌4小時。反應完畢後，將反應液倒入醋酸水中，用乙酸乙酯萃取三遍，有機相用水洗滌，飽和食鹽水洗，有機相乾燥得到CR194AQ (結構參見圖示)。

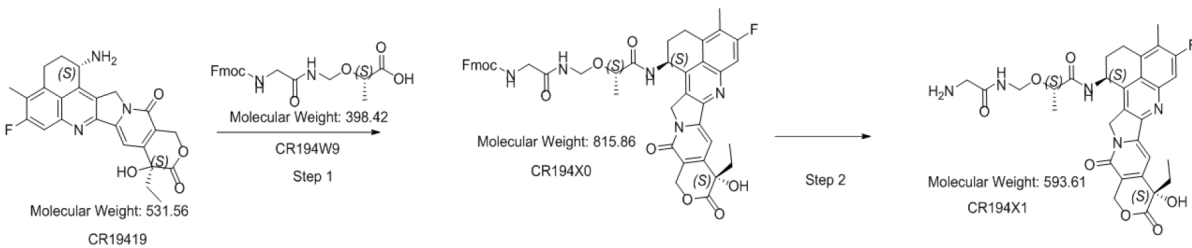
【0115】 步驟2 (Step 2)：CR194AR的製備



【0116】 秤取CR194AQ（1.0 eq）於50 mL單口瓶中，加入DMF:水=1:1的混合溶液使其溶解，隨後加入CR194K0（1.2 eq，結構參見圖示）和CuI（1.0 eq），25°C下，攪拌4小時。反應完畢後，反應液交製備純化，製備純品凍乾得到CR194AR。

【0117】 2. 偶聯體化合物CR194X3的合成

【0118】 步驟1：CR194X0的製備

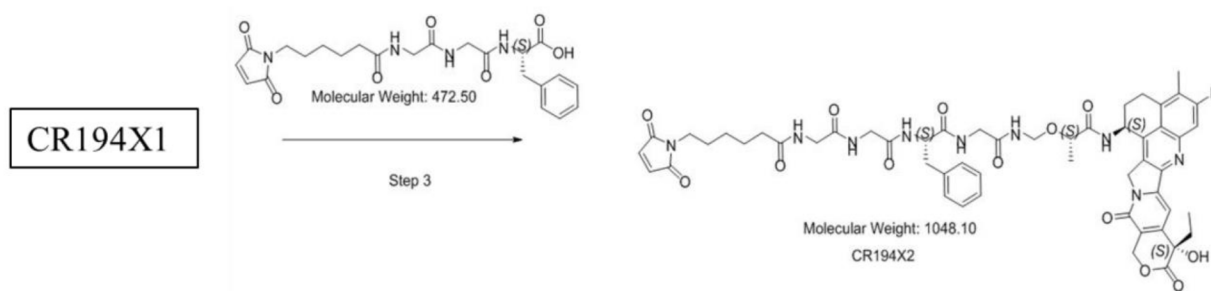


eq) 和DIPEA (2.5 eq), 25°C下, 攪拌4小時。反應完畢後, 將反應液倒入醋酸水中, 析出固體, 過濾, 濾餅用醋酸水洗滌, 濾餅乾燥得到CR194X0 (結構參見圖示)。

【0120】 步驟2: CR194X1的製備

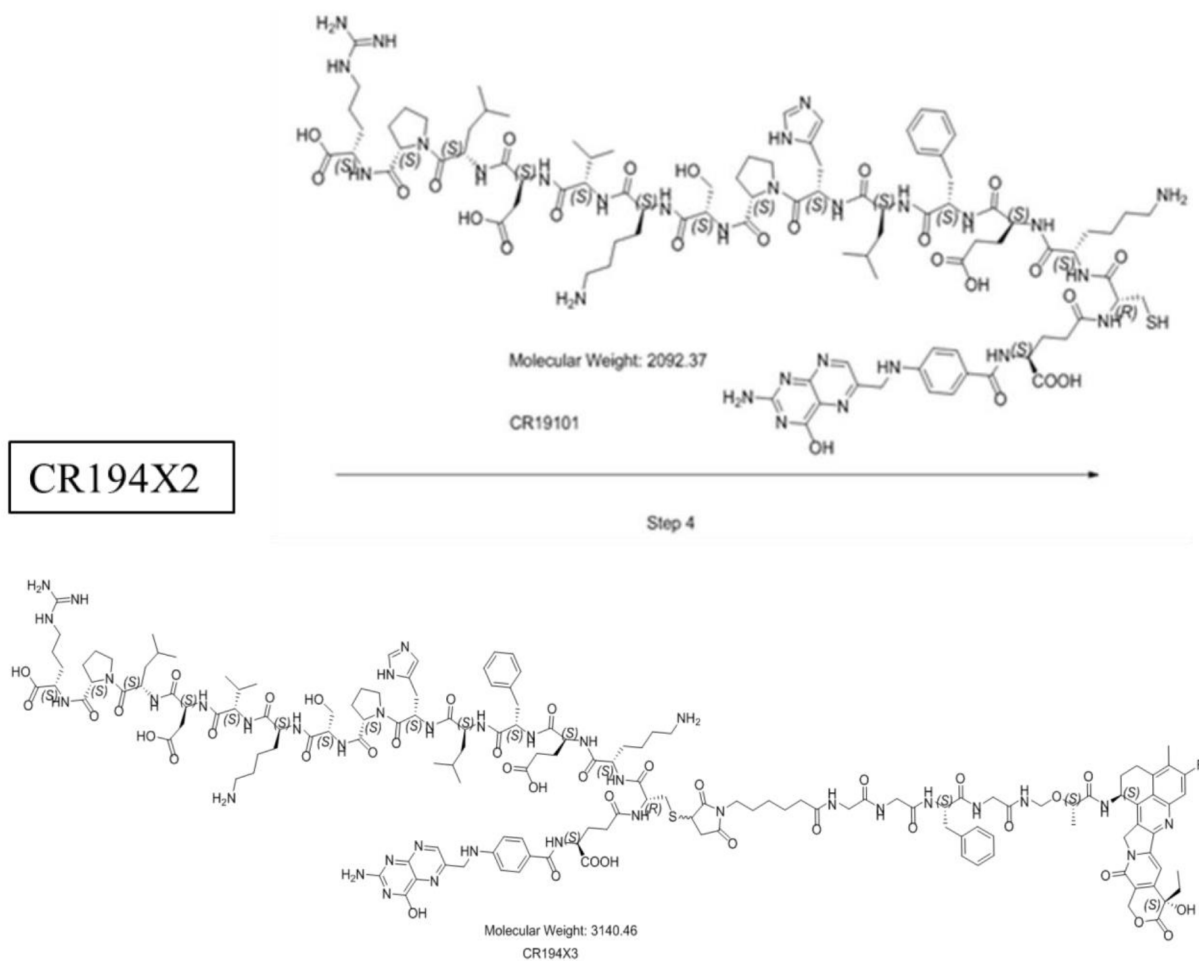
【0121】 秤取CR194X0 (1.0 eq, 結構參見圖示) 於50 mL單口瓶中, 加入DMF使其溶解, 冰浴降溫, 然後加入DBU (1.1 eq) 冰浴反應3小時, 反應完畢後將反應液倒入MTBE中析出固體, 過濾, 濾餅用MTBE洗三遍, 真空乾燥得CR194X1 (結構參見圖示)。

【0122】 步驟3 (Step 3): CR194X2的製備



【0123】 秤取CR194X1 (1.0 eq) 於50 mL單口瓶中, 加入DMF使其溶解, 隨後加入CR19424 (1.0 eq, 結構參見圖示)、HATU (1.1 eq) 和DIPEA (2.5 eq), 25°C下, 攪拌4小時。反應完畢後, 將反應液倒入醋酸水中, 用乙酸乙酯萃取三遍, 有機相用水洗滌, 飽和食鹽水洗, 有機相乾燥得到CR194X2 (結構參見圖示)。

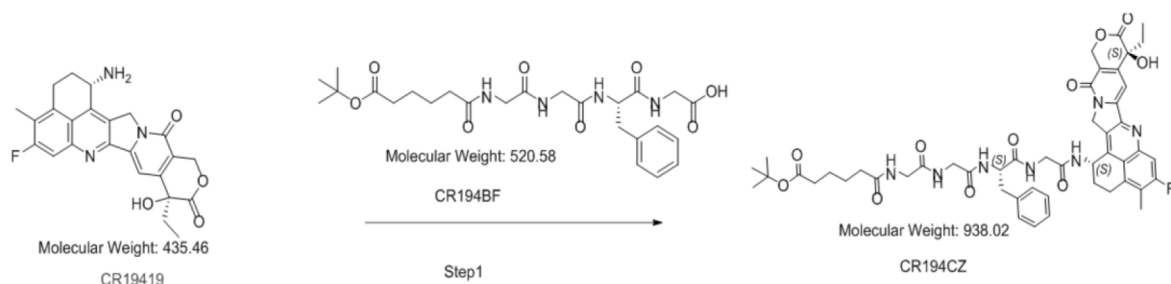
【0124】 步驟4 (Step 4): CR194X3的製備



【0125】 秤取CR194X2（1.0 eq）於50mL單口瓶中，加入甲醇使其溶解，隨後加入10 mM PBS緩衝液，冰浴冷卻攪拌10分鐘，呈白色懸濁液，pH=8-9，加入0.1 M NaH₂PO₄調節pH至pH=7，秤取CR19101（結構參見圖示）分批加入，控制pH=7，反應冰浴攪拌15分鐘，HPLC中控原料反應完全，反應液交製備純化凍乾得到CR194X3（結構參見圖示）。

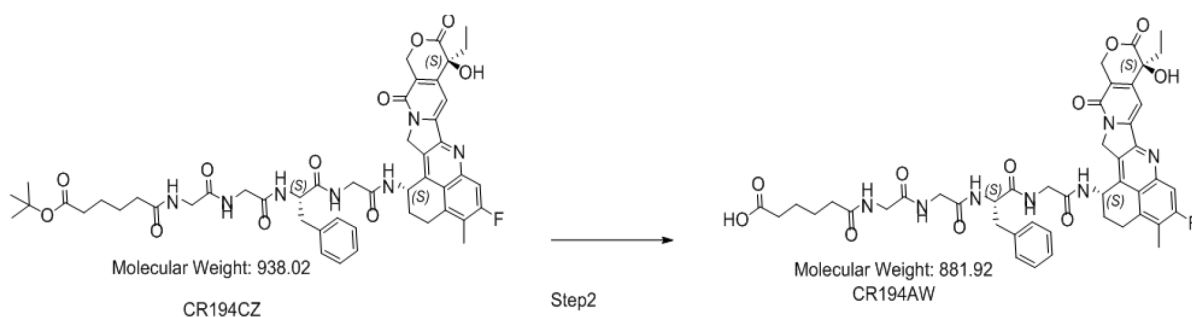
【0126】 3. 偶聯體化合物CR194AX的合成

【0127】 步驟1：CR194CZ的製備



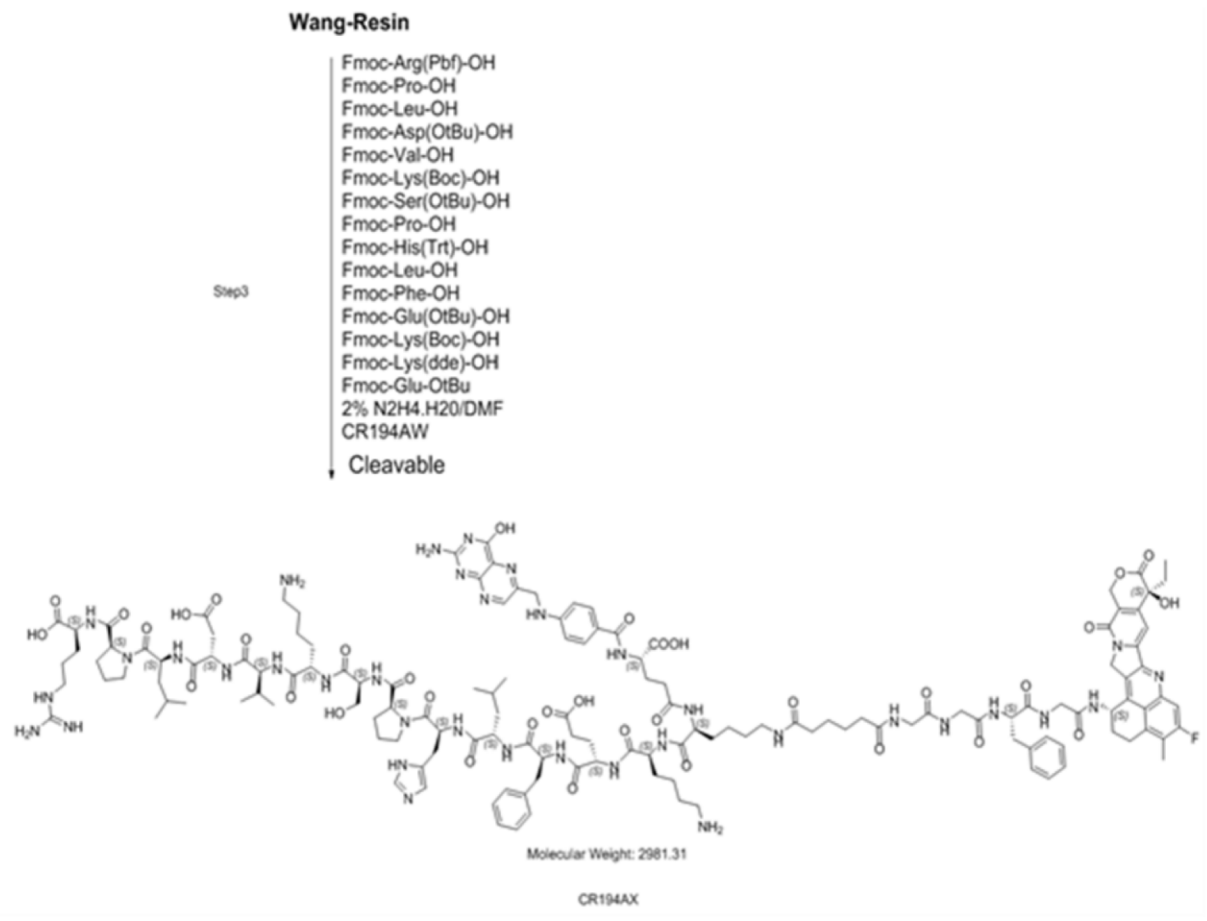
【0128】 秤取CR19419 (1.0 eq) 於50mL 單口瓶中，加入DMF使其溶解，然後加入CR194BF (1.0 eq)，HATU (1.1 eq) 和DIPEA (2.5eq)，25°C 攪拌4小時。反應完畢後，將反應液倒入醋酸水中，用乙酸乙酯萃取三遍，有機相用水洗滌，飽和食鹽水洗，有機相乾燥得到CR194CZ。

【0129】 步驟2：CR194AW的製備

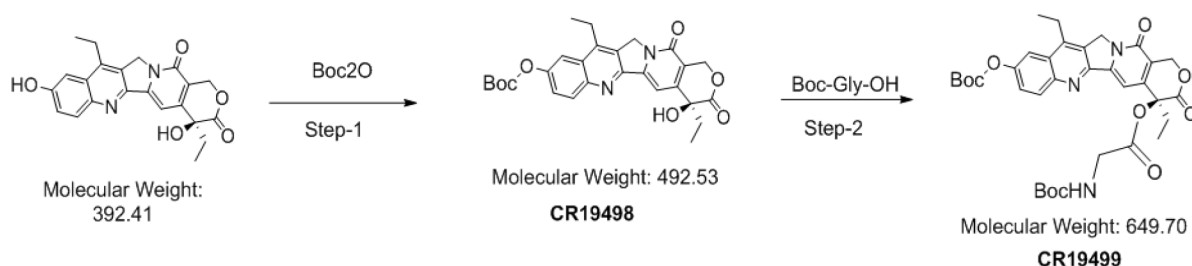


【0130】 秤取CR194CZ (1.0 eq) 於50 mL單口瓶中，加入TFA:DCM=1:1 溶液，反應5小時，反應完畢後，反應完畢後將反應液倒入MTBE中析出固體，過濾，濾餅用MTBE洗三遍，真空乾燥得CR194AW。

【0131】 步驟3：CR194AX的製備



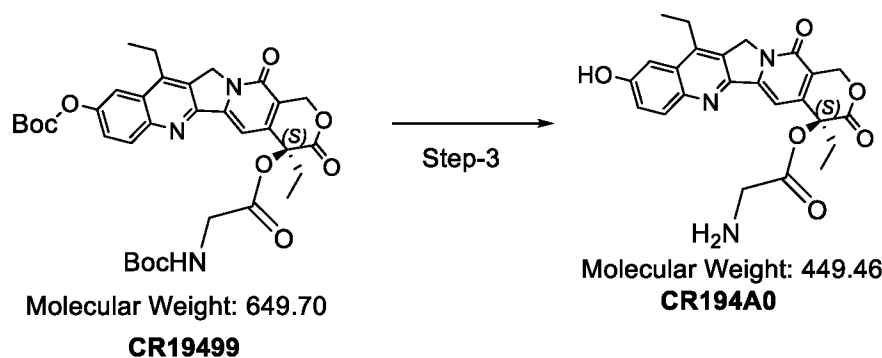
【0132】 用固相合成Fmoc化學胺基樹脂實現CR194AX的合成。將樹脂裝載於固相反應柱中，加入DMF，氮氣鼓泡至溶劑中，使樹脂溶脹30分鐘；加入Fmoc-Arg-OH、DCC和DMAP，25℃，反應3小時，後用醋酸酐和吡啶封端1小時，再用DMF洗滌3次，用DBLK脫除樹脂上的Fmoc保護基團，再用DMF洗滌5次，秤取Fmoc-Pro-OH，HOBt，用DMF溶解，0℃冰水浴下向上述溶液中加入DIC，混合使其活化5分鐘，將該溶液加入上述反應柱中，反應3小時後，抽乾溶劑，洗滌反應柱中的樹脂3遍。隨後用DBLK脫除Fmoc保護基團，重複上述操作，按照結構依次偶聯Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Asp(OtBu)-OH、Fmoc-Val-OH、Fmoc-Lys(Boc)OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Pro-OH、Fmoc-His(Trt)-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OH、Fmoc-Lys(dde)-OH、Fmoc-Cys(Trt)-OH、Fmoc-Glu-OtBu以及蝶酸，用4%水合肼/DMF溶液脫

【0135】 5. 偶聯體化合物CR194A2的合成**【0136】 步驟1：CR19498的製備**

【0137】 秤取SN38（1.0 eq）於50mL單口燒瓶中，加入DMF溶解，隨後加入 $(\text{Boc})_2\text{O}$ （1.2 eq）和DIPEA（1.5 eq），室溫攪拌過夜，TLC中控原料反應完，將反應液倒入水中，EtOAc萃取，有機相經無水硫酸鈉乾燥，減壓旋蒸得到CR19498（結構參見圖示）。

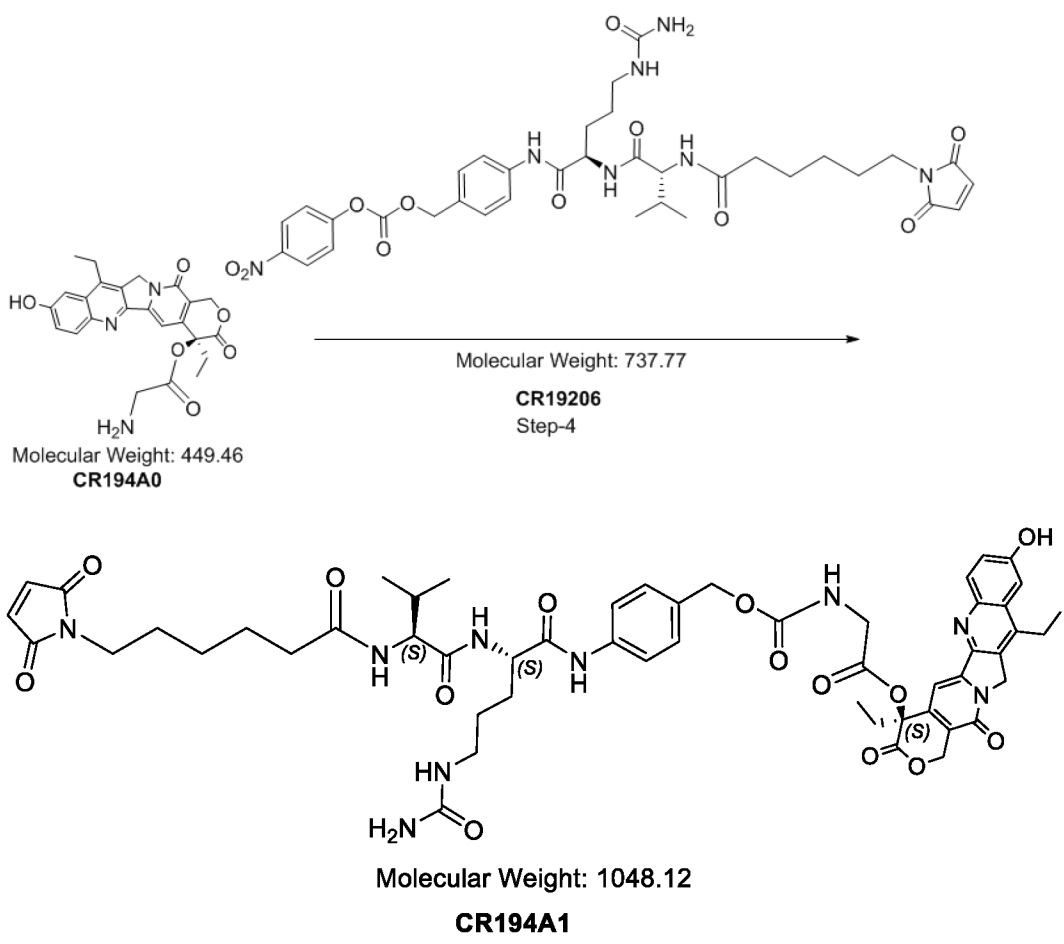
【0138】 步驟2：CR19499的製備

【0139】 秤取CR19498（1.0 eq）和Boc-Gly-OH（1.1 eq）於50 mL單口燒瓶中，加入DMF溶解，冰浴冷卻，加入HATU（1.1 eq），DMAP（0.1 eq）和DIPEA（2 eq），隨後移去冰浴室溫攪拌1小時，加入水淬滅，EtOAc萃取，有機相經無水硫酸鈉乾燥，減壓旋蒸得到CR19499（結構參見圖示）。

【0140】 步驟3：CR194A0的製備

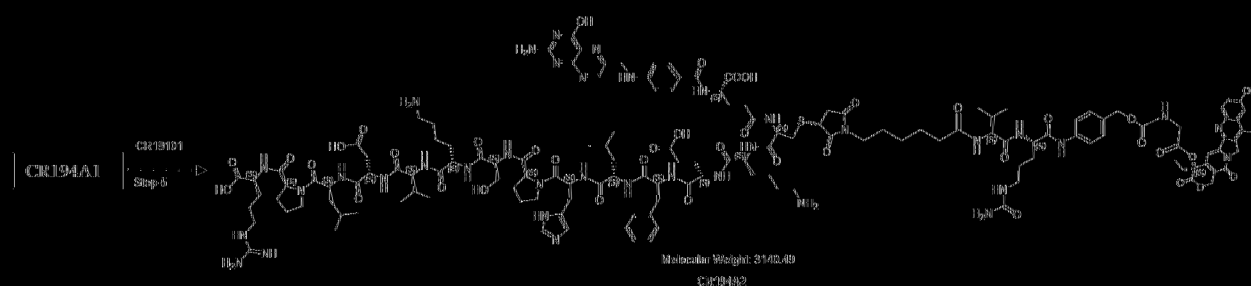
【0141】 秤取CR19499（1.0eq）溶於30% TFA二氯甲烷溶液中，室溫攪拌1小時，將反應液減壓旋蒸除去DCM和TFA，隨後加入MTBE，析出固體，抽濾得到CR194A0（結構參見圖示）。

【0142】 步驟4：CR194A1的製備



【0143】 秤取CR194A0（1.0 eq）和CR19206（1.05 eq），HOBT（0.1 eq）於50 mL單口燒瓶，加入DMF溶解，然後加入DIPEA（2 eq），室溫攪拌過夜，反應液交製備純化凍乾得到CR194A1（結構參見圖示）。

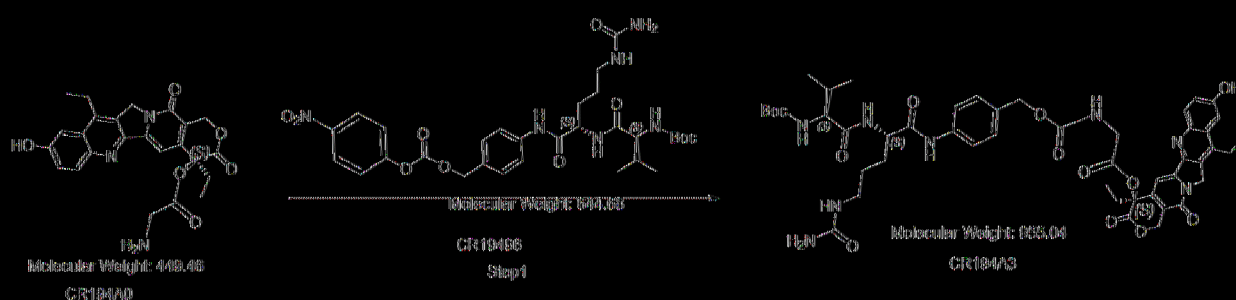
【0144】 步驟5（Step 5）：CR194A2的製備



(0145) 秤取CR194A1 (1.0 eq) 於50 mL單口瓶中，加入甲醇使其溶解，隨後加入10 mM PBS緩衝液，冰浴冷卻攪拌10分鐘，pH 8.9，加入0.1M NaCl₂PO₄調節pH至pH 7，秤取CR19101 (1.0 eq) 加入，控制pH 7，反應冰浴攪拌15分鐘，HPLC中控原料反應完全，反應液交製備純化凍乾得到CR194A2 (結構參見圖示)。

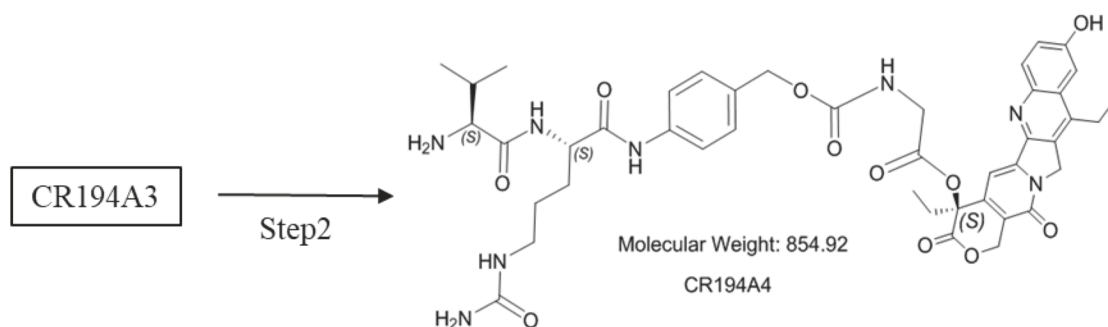
(0146) 6. 偶聯體化合物CR194A6的合成

(0147) 步驟1：CR194A3的製備



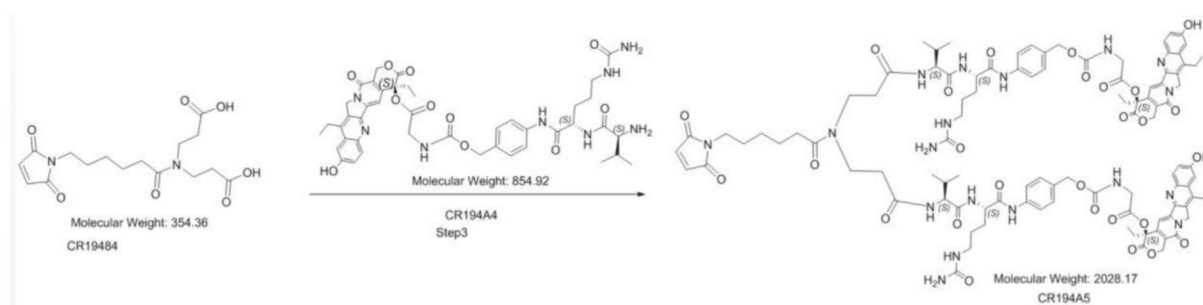
(0148) 秤取CR194A0 (1.0 eq) 和CR19496 (1.05 eq)，HOBT (0.1 eq) 於50 mL單口燒瓶，加入DMF溶解，隨後加入DIEA (2 eq)，室溫攪拌過夜，反應液交製備純化凍乾得到CR194A3 (結構參見圖示)。

(0149) 步驟2：CR194A4的製備



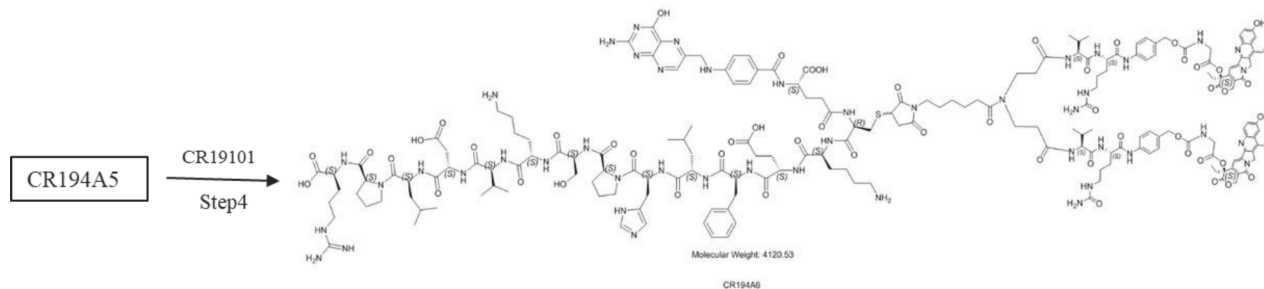
【0150】 秤取CR194A3 (1.0 eq) 溶於30% TFA二氯甲烷溶液中，室溫攪拌1小時，將反應液減壓旋蒸除去DCM和TFA，隨後加入MTBE，析出固體，抽濾得到CR194A4 (結構參見圖示)。

【0151】步驟3：CR194A5的製備



【0152】 秤取CR19484 (1.0 eq) 和CR194A4 (2.0 eq) 於50mL單口燒瓶中，加入DMF溶解，冰浴冷卻，隨後加入HATU (2.1 eq) 和DIPEA (3 eq) ，室溫攪拌2小時，加5%醋酸水淬滅，析出固體，抽濾得到CR194A5粗品，交製備純化凍乾得到CR194A5 (結構參見圖示) 。

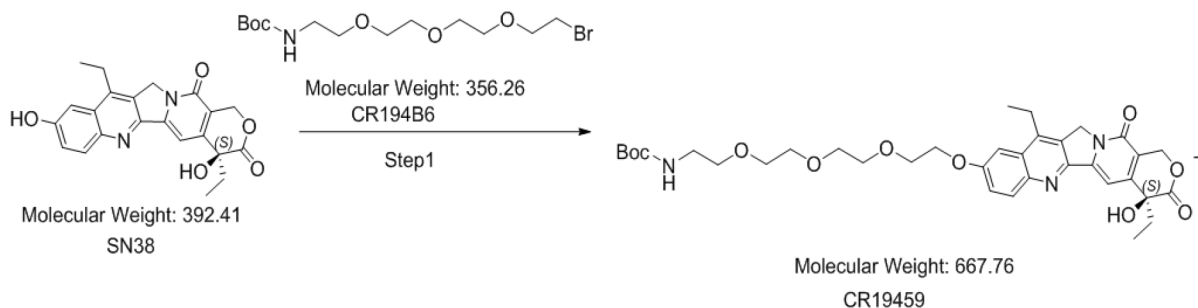
【0153】步驟4：CR194A6的製備



【0154】 秤取CR194A5 (1.0 eq) 於50 mL單口瓶中，加入甲醇使其溶解，隨後加入10 mM PBS緩衝液，冰浴冷卻攪拌10分鐘，pH=8-9，加入0.1 M NaH₂PO₄調節pH至pH=7，秤取CR19101 (1.0 eq) 加入，控制pH=7，反應冰浴攪拌15分鐘，HPLC中控原料反應完全，反應液交製備純化凍乾得到CR194A6 (結構參見圖示)。

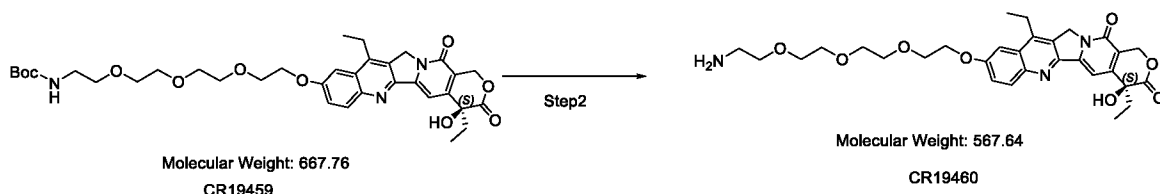
【0155】 7. 偶聯體化合物CR19462的合成

【0156】 步驟1：CR19459的製備



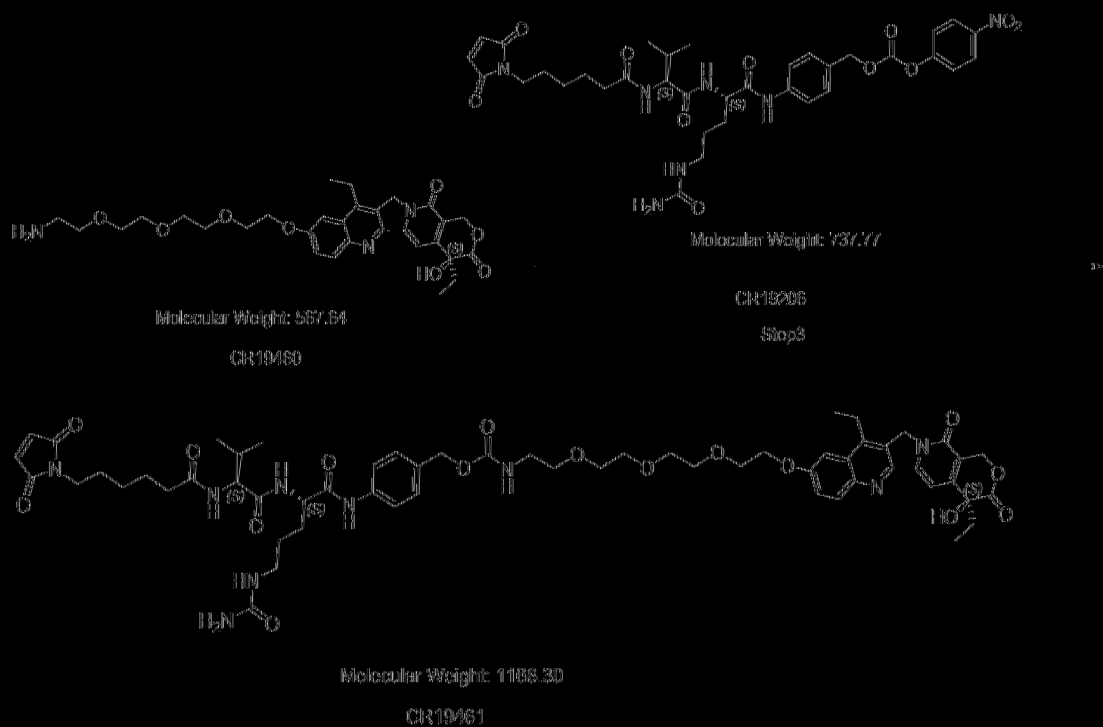
【0157】 秤取SN38 (1.0 eq) 於50mL單口燒瓶中，加入DMF溶解，隨後加入碳酸鉀 (1.5eq)，CR194B6 (1.2 eq)，加熱至50°C，攪拌5小時，將反應液冰浴冷卻，加入水淬滅，乙酸乙酯萃取，有機相用飽和氯化鈉洗，經無水硫酸鈉乾燥後，濃縮除去溶解，矽膠柱純化得到CR19459 (結構參見圖示)。

【0158】 步驟2：CR19460的製備



【0159】 秤取CR19459 (1.0 eq) 於50 mL單口燒瓶中，加入30% TFA二氯甲烷溶液，室溫攪拌1小時，減壓旋蒸除去溶解，加入MTBE，析出固體，抽濾，得到CR19460 (結構參見圖示)。

[(0160)] 步驟3：CR19461的製備



[(0161)] 秤取CR19460 (1.0 eq) 和CR19206 (1.05 eq) , HOBt (1.0 eq) 於50 mL單口燒瓶，加入DMF溶解，隨後加入DIEPBA (2.0 eq) ，室溫攪拌過夜，反應液交製備純化凍乾得到CR19461 (結構參見圖示) 。

[(0162)] 步驟4：CR19462的製備



[(0163)] 秤取CR19461 (1.0 eq) 於50 mL單口瓶中，加入甲醇使其溶解，隨後加入10 mM PBS緩衝液，冰浴冷卻攪拌10分鐘，pH 8.9，加入0.1 M NaCl₂PO₄調節pH至pH 7，秤取CR19101 (1.0 eq) 加入，控制pH 7，反應冰浴攪拌15分鐘，HPLC中控原料反應完全，反應液交製備純化凍乾得到CR19462。(結構參見圖示) 。

【0164】 採用類似於上述的製備方法，可以製備其它本案所述的偶聯體化合物。

實施例 3 親和實驗

【0165】 按照Reichert SPR4使用手冊進行實驗，分別測定分析物CR194AR與FOLR1、TRPV6的親和力。其中CM5晶片分別偶聯配體FOLR1（義翹神州，貨號11241-H08H）、TRPV6（Acro，貨號MAES）。實驗結果如下表1所示：

【0166】 表1：親和力測試結果

名稱	（FOLR1 端）KD (M)	（TRPV6 端）KD (M)
CR194AR	4.54E-10	7.88E-5

【0167】 結果顯示，CR194AR和FOLR1、TRPV6均特異性結合，並顯示出較高的親和力。

【0168】 與上述檢測方式類似，本案的其他偶聯體化合物與相應的細胞表面受體均具有良好的親和力。

實施例 4 細胞擴增抑制實驗

【0169】 樣品資訊：CR194AR、CR194X3、CR194V5、CR194AA、CR194AB、CR194U9、CR194Z9、CR194AH、CR194AY、CR194AX和Dx。

【0170】 細胞系：HEK293T-FOLR1（FOLR1過表現的穩定表現細胞株）、SK-BR-3（人乳腺癌細胞）和HEK293T（人胚胎腎細胞）。FOLR1在不同細胞系中的蛋白表現水準如下表2所示。

【0171】 表2：FOLR1在不同細胞系中的蛋白表現水準

細胞系	FOLR1
HEK293T-FOLR1	+++（高表現）
SK-BR-3	+（低表現）
HEK293T	-（無可見表現）

【0172】 主要試劑：1640無葉酸培養基、胎牛血清、青黴素-鏈黴素溶液、L-麩醯胺酸和CCK8。

【0173】 實驗操作：

【0174】 (1) 細胞鋪板：提前準備好細胞，Trypsin消化、收集計數，使用完全細胞培養基將HEK293T-FOLR1和HEK293T細胞稀釋成 6×10^3 個細胞/ml，SK-BR-3細胞稀釋成 1.5×10^4 個細胞/ml，鋪96孔板，每個孔加入100 μ l稀釋的細胞溶液，每塊板設置陰性及空白對照孔。將加好細胞的96孔板置於37℃，5%CO₂培養箱培養過夜。

【0175】 (2) 稀釋加樣：將樣品用培養基進行梯度稀釋（開始濃度30 μ M，5倍梯度稀釋），共設置10個濃度梯度。按照每孔50 μ l加入到過夜培養後的96孔板中，3個複孔，並設立陰性對照和空白對照，置於37℃，5%CO₂培養箱培養72小時。

【0176】 (3) 顯色讀板：取CCK-8顯色液，每孔加入15 μ l（孔內液體體積的10%），37℃孵育適宜時間（儘量使OD值在1.0-2.5範圍內），96孔板去掉培養板蓋，置於酶標儀（Molecular Devices SpectraMax iD5），450nm讀取數值。

【0177】 (4) 資料處理：用SoftMax Pro 7.1進行資料編輯，繪四參數擬合曲線。

【0178】 實驗結果如下表3所示：

【0179】 表3：對HEK293T-FOLR1、SK-BR-3和HEK293T細胞的抑制活性

樣品名稱	HEK293T-FOLR1 IC ₅₀	HEK293T IC ₅₀	SK-BR-3 IC ₅₀
CR194AR	0.4	2371	52
CR194X3	1.594	5.035	4.024
CR194V5	2.17	8.284	4.961
CR194AA	0.633	18.13	5.085
CR194AB	0.58	27.38	6.149
CR194U9	1.541	180.6	35.37
CR194Z9	1.19	145.7	20.06
CR194AH	0.308	346	38.78
CR194AY	0.755	5143	50.42
CR194AX	0.195	1211	132.6
Dx	1.017	1.12	0.599

【0180】 由表3可知，CR194AR、CR194AB、CR194U9、CR194Z9、CR194AH、CR194AY、CR194AX、CR194X3、CR194V5和CR194AA針對受體相對高表現的細胞株HEK293T-FOLR1和SK-BR-3顯示出的IC50明顯低於受體相對低表現的細胞株HEK293T。可見上述化合物顯示出了與細胞相關受體表現水準相關的抑瘤效果，在抑制腫瘤細胞增殖的過程中起重要作用。

【0181】 樣品資訊：CR194A2、CR194A6、CR194N5、CR194N9、CR194P6、CR194P3、CR194S3、CR194R8、CR194L4、CR194U7、CR194Q1、CR194Q5、CR194U9、CR194R7、Dxd、Dx和SN38。

【0182】 細胞系：HEK293T-FOLR1（FOLR1過表現的穩定表現細胞株）、SK-BR-3（人乳腺癌細胞，低表現FOLR1）和MIA PaCa-2（人胰腺癌細胞，不表現FOLR1）。

【0183】 主要試劑：1640無葉酸培養基、胎牛血清、青黴素-鏈黴素溶液、L-麩醯胺酸和CCK8。

【0184】 實驗操作：

【0185】 (1) 細胞鋪板：提前準備好細胞，Trypsin消化、收集計數，使用完全細胞培養基將SK-BR-3細胞稀釋成 3.0×10^4 個細胞/ml，HEK293T-FOLR1細胞稀釋成 1.5×10^4 個細胞/ml，MIA PaCa-2細胞稀釋成 2.0×10^4 個細胞/ml，鋪96孔板，每個孔加入100 μ l稀釋的細胞溶液，每塊板設置陰性及空白對照孔。將加好細胞的96孔板置於37°C，5%CO₂培養箱培養過夜。

【0186】 (2) 稀釋加樣：將樣品用培養基進行梯度稀釋（開始濃度30 μ M，5倍梯度稀釋），共設置10個濃度梯度。按照每孔50 μ l加入到過夜培養後的96孔板中，3個複孔，並設立陰性對照和空白對照，置於37°C，5%CO₂培養箱培養72小時。

【0187】 (3) 顯色讀板：取CCK-8顯色液，每孔加入15 μ l（孔內液體體積的10%），37°C孵育適宜時間（儘量使OD值在1.0-2.5範圍內），96孔板去掉培養板蓋，置於酶標儀（Molecular Devices SpectraMax iD5），450nm讀取數值。

【0188】 (4) 資料處理：用SoftMax Pro 7.1進行資料編輯，繪四參數擬合曲線。

【0189】 實驗結果如下表4所示：

【0190】 表4：對HEK293T-FOLR1、SK-BR-3和MIA PaCa-2細胞的抑制活性

樣品名稱	HEK293T-FOLR1 IC ₅₀	MIAPACA-2 IC ₅₀	SK-BR-3 IC ₅₀
CR194A2	1.069	20.15	12.6
CR194A6	2.513	15.54	1.719
CR194N5	2.754	19.79	3.204
CR194N9	4.957	16.9	3.239
CR194P6	200.9	434.8	283.1
CR194P3	1.473	75.28	20.27
CR194S3	0.76	10.04	1.051
CR194R8	0.269	0.412	0.537
CR194L4	0.436	23.76	/
CR194U7	18.66	148.8	29
CR194Q1	0.935	/	2508
CR194Q5	0.908	1.35	126
CR194U9	26.04	1064	237.5
CR194R7	0.132	262.5	62.42
Dxd	1.677	110.9	/
Dx	0.995	5.529	0.569
SN38	0.943	7.027	0.947

注：「/」表示未擬合出有效的 IC₅₀ 值。

實施例 5 CR194AX、CR194X3 和 CR194AR 在 CDX 模型中的藥效學研究

【0191】 實驗目的：研究偶聯物化合物CR194AX、CR194X3和CR194AR在FOLR1過表現的293T-FOLR1細胞株皮下異體移植模型（CDX）中的藥效。

【0192】 CDX模型：293T-FOLR1

【0193】 實驗方案：將準備好的細胞，接種於BALB/c-nude小鼠右側皮下，當腫瘤體積擴增到100-150 mm³時隨機分組，設置模型對照組和給藥組，在分組第1天開始給藥，根據小鼠最近一次的體重調整給藥量，尾靜脈注射，給藥體積為10 µl/g。分組給藥後，監測包括了腫瘤生長及治療對動物正常行為的影響，具體內容有實驗動物的活動性，攝食和飲水情況，體重增加或降低情況，眼睛、被毛及其它異常情況。分組給藥後，每週測量2次小鼠體重，計算體重變化率；同時以遊標卡尺測量腫瘤長徑、短徑，並計算腫瘤體積、相對腫瘤增殖率、腫瘤體積抑瘤率等指標。

【0194】 腫瘤體積公式為 $TV = 0.5 a \times b^2$ ，其中a是腫瘤的長徑，b是腫瘤的短徑。

【0195】 實驗結果如下表5所示。由實驗結果可知，測試樣品CR194AX、CR194X3和CR194AR的尾靜脈給藥方案下表現出不同程度的腫瘤生長抑制作用。CR194AX、CR194X3和CR194AR在中劑量（3 mg/kg）下，與陰性對照組相比，都有一定的抗腫瘤生長的作用；在高劑量（10 mg/kg）下，與陰性對照組相比，都有優異的抗腫瘤生長的作用，抗腫瘤作用顯示出劑量相關性，資料如表5所示。

【0196】 表5：在293T-FOLR1細胞株皮下異體移植模型（CDX）中的藥效

測試樣品	模型	FOLR1 表現量	TRPV6 表現量	抑瘤率（TGI） （%）	給藥劑量（時間）
CR194AX	293T-FOLR1	+++	-	-5.94	1 mg/kg（第 1、8、15 天）
				73.35	3 mg/kg（第 1、8、15 天）
				97.95	10 mg/kg（第 1、8、15 天）
CR194X3				53.15	1 mg/kg（第 1、8、15 天）
				64.80	3 mg/kg（第 1、8、15 天）
				89.98	10 mg/kg（第 1、8、15 天）
CR194AR				-9.95	1 mg/kg（第 1、8、15 天）
				58.21	3 mg/kg（第 1、8、15 天）
				96.37	10 mg/kg（第 1、8、15 天）

實施例 6 偶聯體化合物在在 CDX 模型中的藥效學研究

【0197】 實驗目的：研究偶聯體化合物CR194Q1、CR194V5、CR194AH、CR194X3、CR194U9、CR194Z9、CR194AB、CR194AX、CR194AY和CR194AR在CFPAC-1的CDX模型中的藥效。

【0198】 CDX模型：CFPAC-1（人胰腺癌細胞）

【0199】 實驗方案：將準備好的細胞，接種於BALB/c-nude小鼠右側皮下，當腫瘤體積擴增到100-150 mm³時隨機分組，設置模型對照組和給藥組，在分組第1天開始給藥，根據小鼠最近一次的體重調整給藥量，尾靜脈注射，給藥體積為10 μl/g。分組給藥後，監測包括了腫瘤生長及治療對動物正常行為的影響，具體內容有實驗動物的活動性，攝食和飲水情況，體重增加或降低情況，眼睛、被毛及其它異常情況。分組給藥後，每週測量2次小鼠體重，計算體重變化率；同時以遊標卡尺測量腫瘤長徑、短徑，並計算腫瘤體積、相對腫瘤增殖率、腫瘤體積抑瘤率等指標。腫瘤體積公式為TV = 0.5 a × b²，其中a是腫瘤的長徑，b是腫瘤的短徑。

【0200】 實驗結果如下表6所示。由實驗結果可知，測試樣品CR194Q1、CR194V5、CR194AH、CR194X3、CR194U9、CR194Z9、CR194AB、CR194AX、CR194AY和CR194AR對小鼠CFPAC-1的CDX腫瘤模型均有較好的抑制作用。

【0201】 表6

測試樣品	模型	FOLR1 表現量	TRPV6 表現量	抑 瘤 率 (TGI)(%)	給藥劑量/時間
CR194V5	CFPAC-1	++	-	85.11	25 mg/kg (第 1、4、7、10、13 天)
CR194AH				81.64	25 mg/kg (第 1、4、7、10、13 天)
CR194U9				88.85	25 mg/kg (第 1、4、7、10、13 天)
CR194Z9				90.26	25 mg/kg (第 1、4、7、10、13 天)
CR194AB				71.60	25 mg/kg (第 1、4、7、10、13 天)
CR194Q1				93.84	25 mg/kg (第 1、4、7、10、13 天)
				99.84	50 mg/kg (第 1、4、7、10、13 天)
				99.75	75 mg/kg (第 1、4、7、10、13 天)
CR194X3				87.71	25 mg/kg (第 1、4、7、10、13 天)
				98.53	50 mg/kg (第 1、4、7、10、13 天)
				99.70	75 mg/kg (第 1、4、7、10、13 天)
CR194AX				99.54	50 mg/kg (第 1、4、7、10、13 天)
CR194AY				33.46	50 mg/kg (第 1、4、7、10、13 天)
CR194AR				99.55	50 mg/kg (第 1、4、7、10、13 天)

實施例7 偶聯體化合物對HuPrime®異體移植PDX模型的抑瘤實驗

【0202】 實驗目的：偶聯體化合物CR194Q1、CR194X3、CR194AX、CR194AR和CR194AY在OV2423的PDX模型上的藥效學研究

【0203】 模型：卵巢癌動物模型OV2423，來源於中美冠科生物技術（太倉）有限公司

【0204】 實驗方案：將準備好的腫瘤組織塊，接種於BALB/c-nude小鼠右肢前部皮下，當腫瘤體積擴增到80-160 mm³時隨機分組，設置模型對照組和給藥組，在分組第1天開始給藥，根據小鼠最近一次的體重調整給藥量，尾靜脈注射，給藥體積為10 μl/g。分組給藥後，監測包括了腫瘤生長及治療對動物正

常行為的影響，具體內容有實驗動物的活動性，攝食和飲水情況，體重增加或降低情況，眼睛、被毛及其它異常情況。分組給藥後，每週測量2次小鼠體重，計算體重變化率；同時以遊標卡尺測量腫瘤長徑、短徑，並計算腫瘤體積、相對腫瘤增殖率和腫瘤體積抑瘤率等指標。

【0205】 腫瘤體積公式為 $TV = 0.5 a \times b^2$ ，其中a是腫瘤的長徑，b是腫瘤的短徑。

【0206】 實驗結果如下表7所示。由實驗結果可知，測試樣品CR194Q1、CR194X3、CR194AX、CR194AR和CR194AY在FOLR1單表現模型OV2423中顯現出優異的抗腫瘤生長的作用。

【0207】 表7

測試樣品	模型	FOLR1	TRPV6	TGI(%)	劑量/時間
CR194Q1	OV2423	9+	-	100	25 mg/kg, (第 1、4、7、10、13、16 天)
CR194Q1				100	50 mg/kg, (第 1、4、7、10、13、16 天)
CR194X3				84.02	10 mg/kg, (第 1、4、7、10、13、16 天)
CR194X3				94.92	25 mg/kg, (第 1、4、7、10、13、16 天)
CR194AX				99.41	25 mg/kg, (第 1、4、7、10、13、16 天)
CR194AR				99.37	25 mg/kg, (第 1、4、7、10、13、16 天)
CR194AY				92.16	25 mg/kg, (第 1、4、7、10、13、16 天)

實施例 8

偶聯體化合物在 MIAPaca-2 人胰腺癌模型 BALB/c nude 小鼠上的
安全性評價

【0208】 實驗目的：測試偶聯體化合物等劑量條件下對MIAPaCa-2人胰腺癌細胞皮下移植荷瘤裸鼠模型毒性的影響。

【0209】 樣品準備：秤取適量的化合物，用PBS溶解，加適量的鹼性溶液配製成PH為中性的樣品母液，過濾，用已過濾生理鹽水稀釋母液到工作濃度樣品溶液，備用。

【0210】 實驗方案：將準備好的腫瘤組織塊，接種於BALB/c-nude小鼠右肢前部皮下，當腫瘤體積擴增到80-160 mm³時隨機分組，設置模型對照組和給藥組，在分組第1天開始給藥，根據小鼠最近一次的體重調整給藥量，尾靜脈注射，給藥體積為10 μl/g。分組給藥後，監測包括了腫瘤生長及治療對動物正常行為的影響，具體內容有實驗動物的活動性，攝食和飲水情況，體重增加或降低情況，眼睛、被毛及其它異常情況。分組給藥後，每週測量2次小鼠體重，計算體重變化率；同時每週2次以遊標卡尺測量腫瘤長徑、短徑，並計算腫瘤體積、相對腫瘤增殖率和腫瘤體積抑瘤率等指標。腫瘤體積公式為TV = 0.5 a × b²，其中a是腫瘤的長徑，b是腫瘤的短徑。實驗設計如下表8所示。

【0211】 表8

組別	動物數	測試物	劑量（mg/kg）	給藥方式	計畫給藥週期
1	6	對照	-	-	-
3	6	CR194L4	100	iv	每 3 天一次，共給藥 6 次（q3d*6）
4	6	CR194A6	100	iv	每 3 天一次，共給藥 3 次（q3d*3）
5	6	CR194N5	100	iv	q3d*3
6	6	CR194P6	100	iv	q3d*3

【0212】 如圖1A-1B所示，CR194L4（100mg/kg iv q3d*6）和CR194A6（100mg/kg iv q3d*3）對MIAPaCa-2抑瘤性效果較好。CR194L4（100mg/kg iv q3d*6）在第一次給藥後，整組體重值一直緩慢降低，但是在第四次給藥後，停止給藥，動物體重值呈緩慢上升狀態；CR194A6（100mg/kg iv q3d*3）在實

驗日d2死亡一隻實驗動物，同組實驗動物的體重值呈緩慢增加狀態；其餘組實驗動物的體重值呈緩慢波動狀態，但是整體趨勢是增加的。

實施例 9 偶聯體化合物 CR194AX 在 ICR 小鼠上的安全性評價

【0213】 實驗目的：CR194AX在ICR小鼠上的安全性評價

【0214】 樣品準備：秤取適量的CR194AX，用PBS溶解，加適量的鹼性溶液配製成pH為中性的樣品母液，過濾，用已過濾PBS稀釋母液到工作濃度樣品溶液，備用。

【0215】 實驗設計：將ICR小鼠（雌性，6-8週齡，體重25g左右）根據體重隨機分組，分組第一天開始給藥，根據小鼠最近一次的體重調整給藥量，尾靜脈注射，給藥體積為10 μ l/g。分組給藥後，檢測藥物對動物正常行為的影響，包括實驗動物的活動性、攝食和飲水情況、體重、眼睛、被毛、糞便、分泌物以及其它異常情況。每週測量2次小鼠體重，最後一次給藥後觀察8天。實驗結束時，肝臟、脾臟稱重，取肝、脾、肺、腎和胃置於10%福馬林中性固定液中做HE分析。樣品準備：秤取適量的化合物，用PBS溶解，加適量的鹼性溶液配製成PH為中性的樣品母液，過濾，用已過濾生理鹽水稀釋母液到工作濃度樣品溶液，備用。

【0216】 實驗結果與分析： CR194AX 50mg/kg，每週給藥一次，給藥3次（qw*3）和每三天給藥一次，給藥6次（q3d*6），給藥期間未出現小鼠死亡，小鼠平均體重下降未超過10%，顯示較好的耐受性；CR194AX 25 mg/kg q3d*6給藥期間未出現小鼠死亡，小鼠平均體重下降未超過5%，顯示良好的耐受性

(見圖2A-2B)。實驗終點取肝臟、脾臟結果顯示：和陰性對照組相比，各給藥組小鼠的肝臟、脾臟重量無顯著性差異。

實施例 10 偶聯體化合物 CR194X3 在 BALB/c nude 小鼠上的安全性評價

【0217】 實驗目的：CR194X3在BALB/c nude小鼠上的安全性評價

【0218】 樣品準備：秤取適量的CR194X3，用PBS溶解，加適量的鹼性溶液配製成pH為中性的樣品母液，過濾，用已過濾PBS稀釋母液到工作濃度樣品溶液，備用。

【0219】 將BALB/c nude小鼠（雌性、6-8週齡、體重25 g左右），根據體重隨機分組（每組6只），分組第一天開始給藥，根據小鼠最近一次的體重調整給藥量，尾靜脈注射，給藥體積為10 μ l/g。分組給藥後，檢測藥物對動物正常行為的影響，包括實驗動物的活動性、攝食和飲水情況、體重、眼睛、被毛、糞便、分泌物以及其它異常情況。每週測量2次小鼠體重，最後一次給藥後觀察7天。實驗結束時，肝臟、脾臟稱重，取肺、肝、脾、小腸，置於10%福馬林中性固定液中做HE分析。

【0220】 實驗結果與分析：小鼠對測試物CR194X3（150 mg/kg）耐受較好。實驗終點取肝臟、脾臟結果顯示：和陰性對照組相比，各給藥組小鼠的肝臟、脾臟重量無顯著性差異。

實施例 11 CR194AX 和 CR194X3 在 SD 大鼠上的安全性評價

【0221】 實驗目的：CR194系列化合物在SD大鼠上的安全性評價

【0222】 樣品準備：秤取適量的化合物，用生理鹽水溶解，加適量的鹼性溶液配製成PH為中性的樣品母液，過濾，用已過濾生理鹽水稀釋母液到工作濃度樣品溶液，備用。

【0223】 實驗方案：將SD大鼠（雌性、體重160-180 g），根據體重隨機分組（每組5只），分組第一天開始給藥，根據大鼠最近一次的體重調整給藥量，尾靜脈注射，給藥體積為10 ml/kg。分組給藥後，檢測藥物對動物正常行為的影響，包括實驗動物的活動性、攝食和飲水情況、體重、眼睛、被毛、糞便、分泌物以及其它異常情況。每週測量2次大鼠體重，給藥後觀察14天。

【0224】 實驗結果與分析：各給藥組動物體重從給藥後到第3天持續下降，但未超過10%。臨床觀察無異常情況（圖3A-3B）。

【符號說明】

【0225】 無