202216202

(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 202216202 A

(43)公開日： 中華民國 111 (2022) 年 05 月 01 日

(21)申請案號：110131472 (22)申請日： 中華民國 110 (2021) 年 08 月 25 日

(51)Int. Cl.： *A61K47/50 (2017.01)* *A61K47/34 (2017.01)*
A61K31/00 (2006.01) *A61K39/00 (2006.01)*
A61P35/00 (2006.01) *C08G73/02 (2006.01)*

(30)優先權：2020/08/25 中國大陸 202010862995.8

(71)申請人：大陸商上海森輝醫藥有限公司 (中國大陸) SHANGHAI SENHUI MEDICINE CO., LTD. (CN)
中國大陸
大陸商上海盛迪醫藥有限公司 (中國大陸) SHANGHAI SHENGDI PHARMACEUTICAL CO., LTD (CN)
中國大陸
大陸商江蘇恆瑞醫藥股份有限公司 (中國大陸) JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD. (CN)
中國大陸

(72)發明人：黃建 HUANG, JIAN (CN) ；祝令建 ZHU, LINGJIAN (CN) ；管忠俊 GUAN, ZHONGJUN (CN) ；梁少楠 LIANG, SHAONAN (CN) ；任文明 REN, WENMING (CN) ；廖成 LIAO, CHENG (CN)

(74)代理人：洪武雄；陳昭誠

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：18 項 圖式數：6 共 105 頁

(54)名稱

一類載藥的大分子及其製備方法

(57)摘要

本公開涉及一類載藥的大分子及其製備方法。具體地，該大分子是負載藥物及藥物代謝動力學修飾劑的樹枝狀聚合物，尤其涉及藉由特定連接子將藥物連接於樹枝狀聚合物。該類大分子可以用於對藥物的釋放速率進行調節，具體是藉由連接子的選擇進行的。

The present disclosure relates to a drug-carrying macromolecule and preparation method thereof. Specifically, the macromolecule is a dendrimer loaded with drugs and pharmacokinetic modifiers, and particularly relates to the connection of drugs to the dendrimer through a specific linker. Such macromolecules can be used to adjust the release rate of drugs, specifically through the selection of linkers.

202216202

【發明摘要】

【中文發明名稱】 一類載藥的大分子及其製備方法

【英文發明名稱】 A DRUG-CARRYING MACROMOLECULE AND PREPARATION METHOD THEREOF

【中文】

本公開涉及一類載藥的大分子及其製備方法。具體地，該大分子是負載藥物及藥物代謝動力學修飾劑的樹枝狀聚合物，尤其涉及藉由特定連接子將藥物連接於樹枝狀聚合物。該類大分子可以用於對藥物的釋放速率進行調節，具體是藉由連接子的選擇進行的。

【英文】

The present disclosure relates to a drug-carrying macromolecule and preparation method thereof. Specifically, the macromolecule is a dendrimer loaded with drugs and pharmacokinetic modifiers, and particularly relates to the connection of drugs to the dendrimer through a specific linker. Such macromolecules can be used to adjust the release rate of drugs, specifically through the selection of linkers.

【指定代表圖】 無。

【代表圖之符號簡單說明】無。

【特徵化學式】 無。

【發明說明書】

【中文發明名稱】 一類載藥的大分子及其製備方法

【英文發明名稱】 A DRUG-CARRYING MACROMOLECULE AND PREPARATION METHOD THEREOF

【技術領域】

【0001】 本公開屬於醫藥領域，涉及負載藥物及藥物代謝動力學修飾劑的樹枝狀聚合物，尤其是涉及藉由特定連接子將藥物連接於樹枝狀聚合物。

【先前技術】

【0002】 目前，雖然藥物的研究開發取得了長足進步，但還是有許多藥物在臨床試驗階段因其物理性質(如溶解性)使得其難以配製成合適的製劑進行給藥，或由於給藥後發生的高藥物濃度期間導致的毒性效應及差的治療指數而失敗。此外，還包括其它缺點如吸收差、生物利用度低、體內穩定性差、靶向性差導致的全身性副作用、以及在給藥後無法控制其在體內的生物分佈、代謝和腎或肝清除。隨著藥物研究的不斷進步，出現了一些新的研究領域和一些具有重大潛力的技術方法來推動藥物的開發，如在脂質體、膠束或聚合膠束製劑中配製藥物試劑，以及將藥物試劑共價附著至親水聚合物主鏈等。雖然這些策略可增溶藥物活性劑且在某些情況下改善生物利用度和靶向性，但藥物活性劑的釋放存在困難，在某些情況下，在藥物分子到達靶向器官之前，載體就會快速降解釋放出藥物活性劑。很

多情況下藥物活性劑從載體的釋放速率為可變的，因此使藥物在體內或在靶器官中達不到有效治療劑量。

【0003】 近年來，已發現樹枝狀聚合物在生物技術和藥物應用領域取得明顯進步（Xiangyang Shi 等人, Sci China Mater, 2018, 61(11), 1387–1403.）。樹枝狀聚合物是具有密集分支結構的特定種類的聚合物，從核心分子出發不斷地向外重複支化生長而得到的結構類似於樹狀的大分子，即核心經過分支長到一定長度後分成兩個分枝，如此重複進行，直到長得足夠稠密以致於長成像球形一樣的樹叢（V Gajbhiye 等人, Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2009, 61, 989–1003.），其特徵在於比普通聚合物更高濃度的官能團/單位分子體積。特別是樹枝狀聚合物的獨特性質，例如其高分支程度、多價、球形結構和良好確定的分子量，使得其給予用於藥物遞送的新支架的希望。在過去十年中，關於生物相容性樹枝狀聚合物的設計和合成及其對生物科學的許多領域包括藥物遞送的應用的研究也越來越受關注。

【0004】 澳大利亞的 Starpahrma 公司利用其開發的樹枝狀聚賴胺酸進行抗癌藥物的負載和運輸，來增強藥物的藥理性質，確保了藥物在適當的時候被送到身體的適當部位，這種方法被稱為“藥物輸送”，這項技術以 DEP®商標面市。其中 DEP®-多西他賽、DEP®-卡巴他賽以及 DEP®-伊立替康是該公司目前利用 DEP®技術重點開發處於臨床研究階段的 3 款抗癌藥物，顯示了很好的開發前景。

【0005】 CN103796684A 公開了藉由二酸連接子將藥物與樹枝狀聚合物連接起來的大分子，尤其是藉由包含被氧、氮或硫原子間斷的 C1-C10 的飽和支鏈或直鏈的二酸連接子連接。

【發明內容】

【0006】 本公開提供一種大分子，其包含：

i）具有表面胺基的樹枝狀聚合物 D，其中至少兩個不同的端基共價連接於該樹枝狀聚合物的表面胺基：

ii）第一端基，其為包含羥基、胺基或者巯基的藥學活性劑或其殘基 A；

iii）第二端基，其為藥物代謝動力學修飾劑；

其中該第一端基藉由連接子-X_1-L-X_2-共價連接於該樹枝狀聚合物的表面胺基，X_1 為連接子與藥學活性劑或其殘基 A 的連接基，X_2 為連接子與樹枝狀聚合物 D 的連接基，X_1 和 X_2 均為-C(O)-，L 為 C_{1-10} 直鏈或支鏈伸烷基，其中該 C_{1-10} 直鏈或支鏈伸烷基被選自氘、羥基、C_{3-7} 環烷基、C_{3-7} 伸環烷基、C_{1-6} 烷氧基、鹵烷基、鹵烷氧基、鹵素、硝基、氰基、醯基、巯基、硫醚基、亞磺醯基、磺醯基、-NR_1R_2、芳基、雜芳基和雜環基中的一個或多個取代基取代；

R_1、R_2 各自獨立地選自氫、羥基、C_{1-6} 烷基、環烷基、C_{1-6} 烷氧基。

在一些實施方案中，L 為 C_{1-10} 直鏈或支鏈伸烷基，該 C_{1-10} 直鏈或支鏈伸烷基被選自氘、鹵素、-OR_1、-SR_1、-NR_1R_2 和-C(O)R_3 中的一個或多個取代基取代；

其中 R_1、R_2 各自獨立地選自氫、羥基、C_{1-6} 烷基、C_{3-7} 環烷基、C_{1-6} 烷氧基和 C(O)R_4，該 C_{1-6} 烷基、C_{3-7} 環烷基和 C_{1-6} 烷氧基任選被選自羥基、鹵素、C_{1-6} 烷基、C_{1-6} 烷氧基、C_{2-6} 烯基、C_{2-6} 炔基、C_{1-6} 鹵烷基、C_{1-6} 鹵烷氧基、硝基、氰基、胺基和 C_{1-6} 烷基胺基中的一個或多個取代基取代；

R_3、R_4 各自獨立地選自氫、C_{1-6} 烷基、C_{1-6} 鹵烷基和 C_{1-6} 烷氧基。

【0007】 在一些實施方案中，R_1 不為氫。

【0008】 在一些實施方案中，該 C_{1-10} 直鏈或支鏈伸烷基被選自-OR_1、-SR_1、-NR_1R_2 中的一個或多個取代基取代，其中 R_1、R_2 各自獨立地選自氫、C_{1-6} 烷基、C_{3-7} 環烷基、C_{1-6} 烷氧基和 $C(O)R_4$，該 C_{1-6} 烷基、C_{3-7} 環烷基和 C_{1-6} 烷氧基任選被選自羥基、鹵素、C_{1-6} 烷基、C_{1-6} 烷氧基、C_{1-6} 鹵烷基、C_{1-6} 鹵烷氧基、胺基和 C_{1-6} 烷基胺基中的一個或多個取代基取代，R_4 選自氫、C_{1-6} 烷基、C_{1-6} 鹵烷基和 C_{1-6} 烷氧基。

【0009】 在一些實施方案中，該 C_{1-10} 直鏈或支鏈伸烷基被一個或多個-NR_1R_2 取代，其中 R_1、R_2 各自獨立地選自氫、C_{1-6} 烷基、C_{3-7} 環烷基、C_{1-6} 烷氧基和 $C(O)R_4$，該 C_{1-6} 烷基、C_{3-7} 環烷基和 C_{1-6} 烷氧基任選被選自羥基、鹵素、C_{1-6} 烷基、C_{1-6} 烷氧基、C_{1-6} 鹵烷基、C_{1-6} 鹵烷氧基、胺基和 C_{1-6} 烷基胺基中的一個或多個取代基取代，R_4 選自氫、C_{1-6} 烷基、C_{1-6} 鹵烷基和 C_{1-6} 烷氧基。

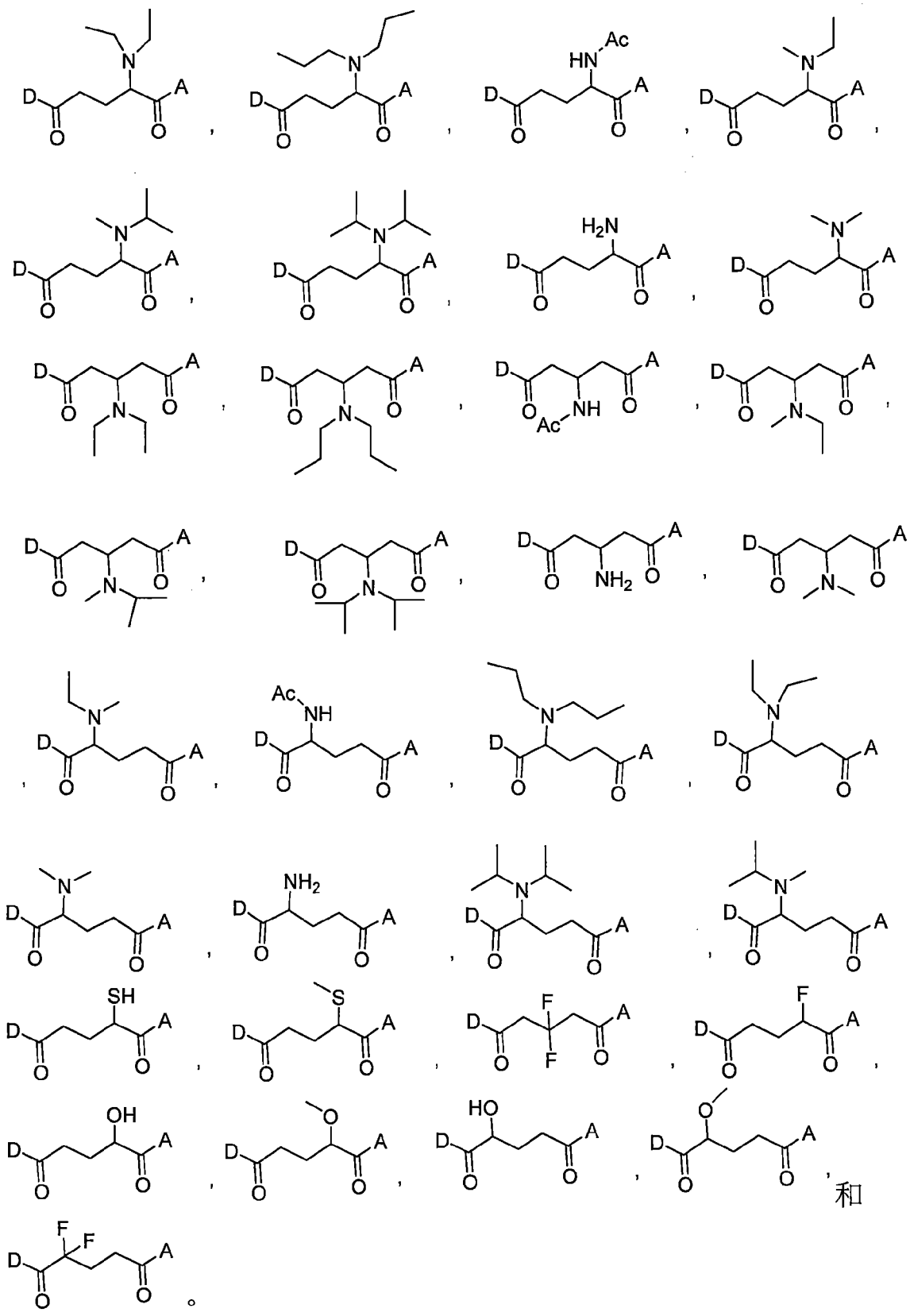
【0010】 在一些實施方案中，該 C_{1-10} 直鏈或支鏈伸烷基被一個或多個-NR_1R_2 取代，其中 R_1、R_2 各自獨立地選自氫、C_{1-6} 烷基和 $C(O)R_4$，R_4 選自氫、C_{1-6} 烷基、C_{1-6} 鹵烷基和 C_{1-6} 烷氧基；較佳 R_1、R_2 各自獨立地選自氫和 C_{1-6} 烷基，且 R_1、R_2 不同時為氫。

【0011】 在一些實施方案中，該 C_{1-10} 直鏈或支鏈伸烷基為 C_{1-6} 直鏈或支鏈伸烷基。

【0012】 在一些實施方案中，連接子-X_1-L-X_2-中，X_1 為-C(O)-，與藥學活性劑或其殘基 A 連接；X_2 為-C(O)-，與樹枝狀聚合物 D 的表面胺基連接形成醯胺鍵。

【0013】 在一些實施方案中，藥學活性劑或其殘基 A 包含羥基，並與 X1 形成酯鍵。

【0014】 在一些具體實施方案中，該大分子結構選自如下：



和

【0015】 在一些實施方案中，選擇本公開的連接子可以提供所需的藥物釋放速率，例如，快速釋放或者緩慢釋放。

【0016】 在一些實施方案中，大分子的藥學活性劑的釋放速率比不依賴於大分子遞送的快一些，可能至少快 1 倍。在一些實施方案中，大分子的藥學活性劑的釋放速率比不依賴於大分子遞送的釋放的更慢，可能慢兩倍、三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍、十倍或者十倍以上、十五倍以上、二十倍以上、三十倍以上。低釋放速率的大分子適合將大分子配製成長時間例如 1 週到 3 個月、1 個月到 6 個月、6 個月以上的時間內緩慢釋放的藥物。快速釋放較佳在 0-8h 內，尤其是 0-4h 內，特別是 0-2h，更特別是 5-60 分鐘內釋放大於 50%的藥學活性劑。中等釋放較佳在 1-72 小時內，尤其是 2-48 小時內釋放大於 50%的藥學活性劑。藥學活性劑的釋放速率可以藉由選擇合適的連接子進行控制，釋放速率還依賴藥物活性劑的特性。在一些實施方案中，藥學活性劑藉由相同的連接子連接於樹枝狀聚合物。在另一些實施方案中，藥學活性劑藉由兩種或者多種連接子與樹枝狀聚合物進行連接，以使藥學活性劑可以以不同的釋放速率從大分子釋放。

【0017】 在一些實施方案中，該第一端基與第二端基以 1:2-2:1 的比率存在，尤其是 1:2、1:1、2:1。在一些實施方案中，該大分子包含為封閉基團、藥物或者靶向基團的第三端基。封閉基團可以是醯基。在一些實施方案中，第一端基、第二端基和第三端基的比率為 1:1:1-1:2:2，尤其是 1:2:1。在一些實施方案中，其中至少 50%的端基包含第一端基或者第二端基中的一者。在特定實施方案中，藥物活性劑結合至大於 14%、25%、27%、30%、39%、44%或 48%的表面胺基。在一些實施方案中，藥物代謝動力學修飾劑結合至大於 15%、25%、30%、33%或 46%的表面胺基。

【0018】 本公開所述藥學活性劑可選自：麻醉劑、抗酸劑、抗體、抗感染藥、生物製品、心血管藥物、造影劑、利尿劑、補血藥、免疫抑制劑、

激素和類似物、營養製品、眼科藥物、疼痛治療劑、呼吸藥物、佐劑、同化劑、抗關節炎藥、抗驚厥藥、抗組胺藥、消炎藥、抗潰瘍病藥、行為矯正藥物、腫瘤藥物、中樞神經系統藥物、避孕藥、糖尿病治療藥物、生育藥物、生長促進劑、止血藥、免疫刺激劑、肌肉鬆弛藥、肥胖治療劑、骨質疏鬆症藥物、肽、鎮靜劑和安定藥、尿道酸化劑或維生素。

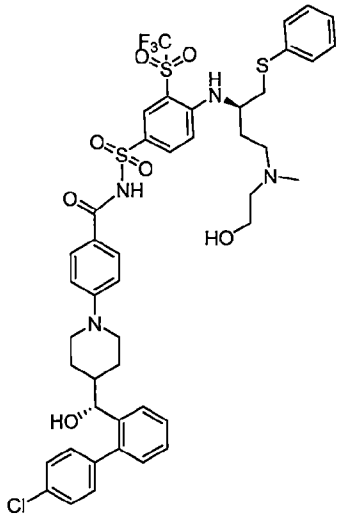
【0019】 在一些實施方案中，藥物活性劑為腫瘤藥物、類固醇、阿片類鎮痛藥、呼吸系統藥物、中樞神經系統(CNS)藥物、高膽固醇血症藥物、抗高血壓藥物、抗菌劑、免疫抑制藥物、抗生素、促黃體激素釋放激素(LHRH)激動劑、LHRH 拮抗劑、抗病毒藥、抗逆轉錄病毒藥物、雌激素受體調節劑、生長抑素類似物、抗炎藥物、維生素 D2 類似物、合成甲狀腺素、抗組胺劑、抗真菌劑或非類固醇類抗炎藥物(NSAID)，較佳腫瘤藥物。

【0020】 在一些實施方案中，該腫瘤藥物包括紫杉烷類（如紫杉醇、卡巴他賽和多西他賽）、喜樹鹼及其類似物（如伊立替康和托泊替康）、核苷類（如吉西他濱、克拉屈濱、氟達拉濱、卡培他濱、地西他濱、阿紮胞苷、氯法拉濱和奈拉濱）、激酶抑制劑（如達沙替尼(sprycel)、坦羅莫斯(temisirolimus)、AZD6244、AZD1152、PI-103、R-洛斯可維汀(roscovitine)、奧羅莫星和嘌呤醇(purvalanol) A）和埃博黴素 B 類似物（如伊沙匹隆）、蒽環類藥物(anthrocyclines)（如胺柔比星、多柔比星、表柔比星和戊柔比星）、海鞘素衍生物（如曲貝替定(trabectecin)、盧比替定(lurbinectedin)、）蛋白酶體抑制劑（如硼替佐米）和其它拓撲異構酶抑制劑、嵌入劑和烷化劑、微管抑制劑（如艾日布林、長春氟寧）等，或這些藥物分子的結構改造物。

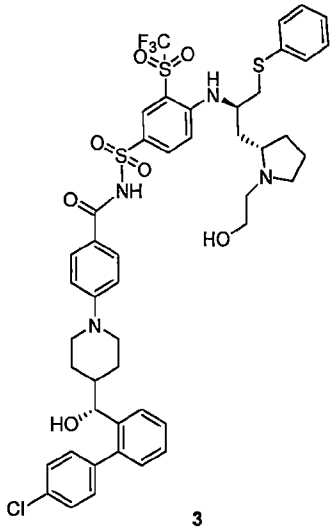
【0021】 在一些實施方案中，該藥學活性劑選自紫杉烷類藥物、喜樹鹼衍生物、核苷類藥物、蒽環類藥物、海鞘素衍生物、蛋白酶體抑制劑、

微管抑制劑、BCL-2 抑制劑、BCL-X_L 抑制劑、選擇性核輸出抑制劑、抗代謝藥物、酪胺酸激酶抑制劑、PLK1 抑制劑、CDK4/6 抑制劑、BTK 抑制劑、非甾體激素受體拮抗劑和類固醇，較佳紫杉烷類藥物、喜樹鹼衍生物、BCL-2 抑制劑或 BCL-X_L 抑制劑。

【0022】 在一些實施方案中，該藥學活性劑選自多西他賽、伊立替康、吉西他濱、卡培他濱、地西他濱、阿紮胞苷、多柔比星、表柔比星、曲貝替定、盧比替定、硼替佐米、艾日布林、塞利尼索、維奈托克、特西他賽、培美曲塞、卡巴他賽、卡博替尼、昂凡色替(Onvansertib)、以下化合物 2 和化合物 3，或這些藥物分子的結構改造物，



2



3 。

【0023】 在一些實施方案中，該類固醇包括合成類固醇(如睾酮、雙氫睾酮和乙炔雌二醇)和皮質類固醇(如可的松、潑尼松龍(prednisilone)、布地奈德、曲安西龍、氟替卡松、莫米松、安西奈德、氟輕松(flucinolone)、醋酸氟輕松(fluocinanide)、地奈德、氯氟舒松、潑尼卡酯、氟可龍、地塞米松、倍他米松和氟潑尼定(fluprednidine))。

【0024】 在一些實施方案中，該阿片類鎮痛藥包括嗎啡、羥嗎啡酮、納洛酮、可待因、羥考酮、甲基納曲酮、氫嗎啡酮、丁丙諾啡和埃托啡。在一些實施方案中，該呼吸系統藥物包括支氣管擴張劑、吸入類固醇和減

充血劑且特別是沙丁胺醇、異丙托溴銨、孟魯司特和福莫特羅。在一些實施方案中，該 CNS 藥物包括抗精神病藥(如喹硫平)和抗抑鬱藥(如文拉法辛)。在一些實施方案中，該高膽固醇血症藥物包括依澤替米貝和他汀類如辛伐他汀、洛伐他汀、阿托伐他汀、氟伐他汀、匹伐他汀、普伐他汀和瑞舒伐他汀。在一些實施方案中，該抗高血壓藥物包括氯沙坦、奧美沙坦、坦酯(medoxomil)、美托洛爾(metrolol)、曲伏前列素和波生坦。在一些實施方案中，該免疫抑制藥物包括糖皮質激素、細胞抑制劑、抗體片段、抗嗜免疫劑、干擾素、TNF 結合蛋白且特別是鈣調磷酸酶抑制劑(cacineurin inhibitors)如他克莫司、黴酚酸及其衍生物，如嗎替麥考酚酯和環孢菌素。在一些實施方案中，該抗菌劑包括抗生素，如阿莫西林、美羅培南和克拉維酸。在一些實施方案中，該 LHRH 激動劑包括醋酸戈舍瑞林、地洛瑞林和亮丙瑞林。在一些實施方案中，該 LHRH 拮抗劑包括西曲瑞克、加尼瑞克、阿巴瑞克和地加瑞克(degarelix)。在一些實施方案中，該抗病毒藥包括核苷類似物如拉米夫定、齊多夫定、阿巴卡韋和恩替卡韋以及抗逆轉錄病毒藥物包括蛋白酶抑制劑如阿紮那韋、拉匹那韋(lapinavir)和利托那韋(ritonavir)。在一些實施方案中，該雌激素受體調節劑包括雷洛昔芬和氟維司群。在一些實施方案中，該生長抑素類似物包括奧曲肽。在一些實施方案中，該抗炎藥物包括美沙拉秦以及合適的 NSAID 包括撲熱息痛(對乙醯胺基酚)。在一些實施方案中，該維生素 D2 類似物包括帕立骨化醇。在一些實施方案中，該合成甲狀腺素包括左甲狀腺素。在一些實施方案中，該抗組胺劑包括非索非那定。在一些實施方案中，該抗真菌劑包括唑類如伏立康唑(viriconazole)。

【0025】 在一些實施方案中，該藥學活性劑是艾日布林。在一些實施方案中，該藥學活性劑是多西他賽。在一些實施方案中，該藥學活性劑是曲貝替定。在一些實施方案中，該藥學活性劑是魯比卡汀(lurbinectedin)。

【0026】 在一些實施方案中，該藥學活性劑在水溶液中是微溶或者不溶的。

【0027】 第二端基為藥物代謝動力學修飾劑，可以修飾或調解藥學活性劑或大分子的藥物代謝動力學特徵，包括吸收、分佈、代謝和/或排泄。在特定的實施方案中，藥物代謝動力學修飾劑延長藥學活性劑的血漿半衰期，使得連接於大分子的藥學活性劑的半衰期比單純的藥學活性劑或在非樹枝狀聚合物載體上的藥學活性劑的半衰期更長。較佳地，大分子或組成物的半衰期比單純的藥學活性劑或在非樹枝狀聚合物載體上的藥學活性劑的半衰期長至少 2 倍且更佳地至少 10 倍。

【0028】 該藥物代謝動力學修飾劑可選自聚乙二醇、聚乙基噁唑啉、聚乙烯基吡咯烷酮、聚丙二醇、葉酸鹽或關於細胞表面受體的配體的葉酸鹽衍生物。在一些實施方案中，該藥物代謝動力學修飾劑是聚乙二醇。在一些實施方案中，該聚乙二醇具有 220 至 5500Da 範圍內的分子量，例如可以是 220-2500Da、570-2500Da、220-1100Da、570-1100Da、1000-5500Da、1000-2500Da、1000-2300Da 的分子量。在一些實施方案中，該藥物代謝動力學修飾劑與該樹枝狀聚合物表面胺基形成醯胺鍵。

【0029】 靶向基團為結合至具有一些選擇性的生物靶細胞、器官或組織的試劑，從而有助於將大分子導向體內特定的靶標並使其在該靶細胞、器官或組織中積聚。另外，靶向基團可以為藉由受體介導的胞吞作用積極進入細胞或組織的大分子提供機制。特定的實例包括凝集素和抗體以及其它針對細胞表面受體的配體(包括小分子)。該相互作用可藉由任何類型的

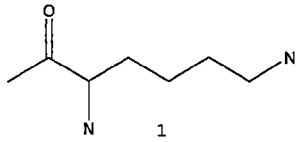
鍵或締合(包括共價鍵、離子鍵和氫鍵、范德華力)進行。合適的靶向基團包括結合於細胞表面受體的那些，例如，葉酸受體、腎上腺素能受體、生長激素、促黃體激素受體、雌激素受體、表皮生長因子受體、成纖維細胞生長因子受體(如 FGFR2)、IL-2 受體、CFTR 和血管上皮生長因子(VEGF)受體。

【0030】 在一些實施方案中，靶向基團為促黃體激素釋放激素(LHRH)或其結合於促黃體激素釋放激素受體的衍生物。在一些實施方案中，靶向基團為 LYP-1，其為靶向腫瘤的淋巴系統而非正常組織的淋巴系統的肽。在一些實施方案中，靶向基團可為 RGD 肽。RGD 肽為含有序列-Arg-Gly-Asp-的肽，該序列為細胞外基質蛋白質中主要的整聯蛋白識別位點。在一些實施方案中，靶向基團可為葉酸。雌激素也可用於表達雌激素受體的靶細胞。

【0031】 在一些實施方案中，靶向基團可直接地或較佳地藉由連接基團結合至樹枝狀聚合物核心。連接基團可為能夠結合至核心的官能團和靶向基團上的官能團的任何二價基團。

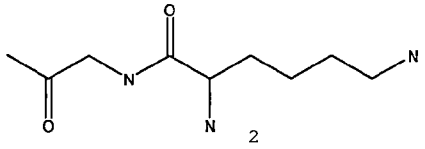
【0032】 本公開的大分子包含樹枝狀聚合物，其中結構單元的最外代具有表面胺基。大分子的樹枝狀聚合物的特性並不特別地重要，條件是它具有表面胺基。例如，樹枝狀聚合物可以為聚賴胺酸、聚賴胺酸類似物、聚醯胺基胺(PAMAM)、聚乙烯亞胺(PEI)或聚醚羥胺(PEHAM)樹枝狀聚合物。在一些實施方案中，樹枝狀聚合物是聚賴胺酸或聚賴胺酸類似物。聚賴胺酸或聚賴胺酸類似物包含核心和 2-7 代賴胺酸或賴胺酸類似物，例如包含 2 代、3 代、4 代、5 代、6 代或者 7 代賴胺酸或賴胺酸類似物。

【0033】在一些實施方案中，該賴胺酸具有如 1 所示結構：



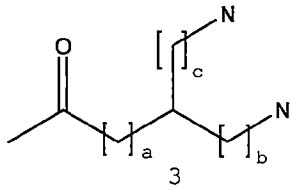
1。

【0034】在一些實施方案中，該賴胺酸類似物具有如 2 所示結構：



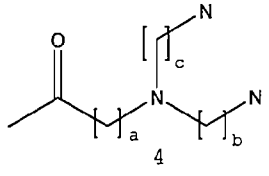
2。

【0035】在一些實施方案中，該賴胺酸類似物具有如 3 所示結構：



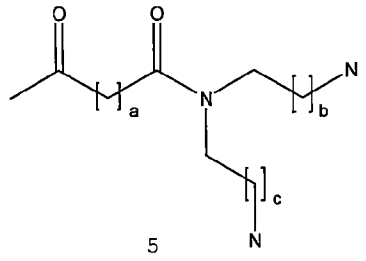
3，其中 a 為 1 或者 2；b 和 c 相同或不同且為 1 至 4 的整數。

【0036】在一些實施方案中，該賴胺酸類似物具有如 4 所示結構：



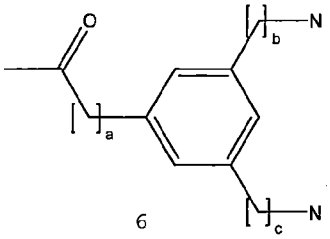
4，其中 a 為 0 至 2 的整數；b 和 c 相同或不同且為 2 至 6 的整數。

【0037】在一些實施方案中，該賴胺酸類似物具有如 5 所示結構：



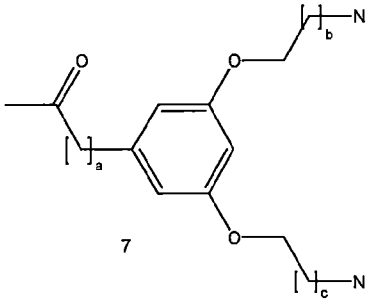
5，其中 a 為 0 至 5 的整數；b 和 c 相同或不同且為 1 至 5 的整數。

【0038】 在一些實施方案中，該賴胺酸類似物具有如 6 所示結構：



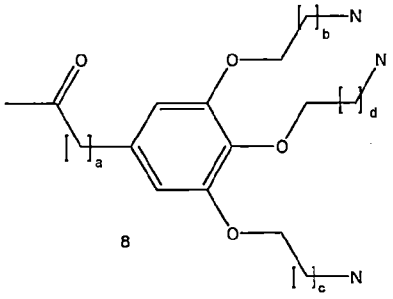
6，其中 a 為 0 至 5 的整數；b 和 c 相同或不同且為 0 至 5 的整數。

【0039】 在一些實施方案中，該賴胺酸類似物具有如 7 所示結構：



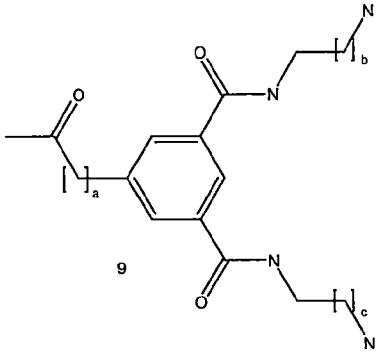
7，其中 a 為 0 至 5 的整數；b 和 c 相同或不同且為 1 至 5 的整數。

【0040】 在一些實施方案中，該賴胺酸類似物具有如 8 所示結構：



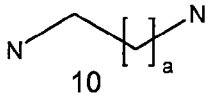
8，其中 a 為 0 至 5 的整數；b、c 和 d 相同或不同且為 1 至 5 的整數。

【0041】 在一些實施方案中，該賴胺酸類似物具有如 9 所示結構：



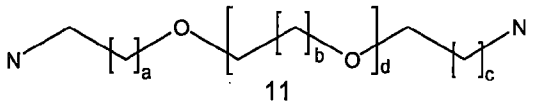
9，其中 a 為 0 至 5 的整數；b 和 c 相同或不同且為 1 至 5 的整數。

【0042】本公開所述的樹枝狀聚合物，尤其是聚賴胺酸或聚賴胺酸類似物的核心可選自二苯甲基胺（BHA）、賴胺酸的二苯甲基胺（BHALys）或賴胺酸類似物或者：



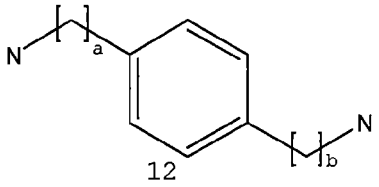
10

，其中 a 為 1 至 9，較佳 1 至 5 的整數；



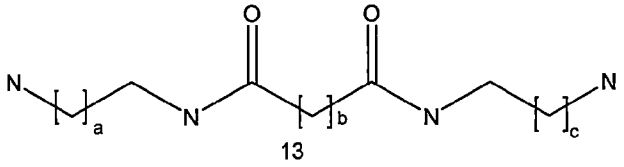
11

，其中 a、b 和 c 可相同或不同且為 1 至 5 的整數，d 為 0 至 100 的整數，較佳 1 至 30 的整數；



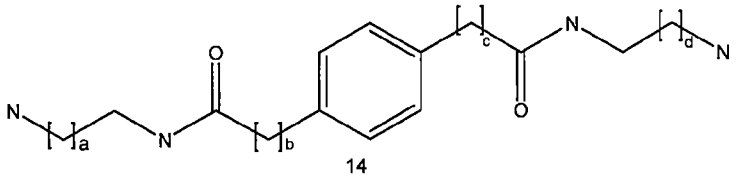
12

，其中 a 和 b 可相同或不同，且為 0 至 5 的整數；



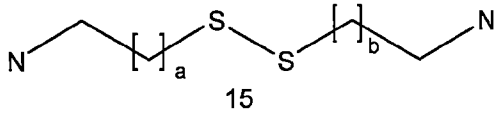
13

，其中 a 和 c 可相同或不同且為 1 至 6 的整數，b 為 0 至 6 的整數；



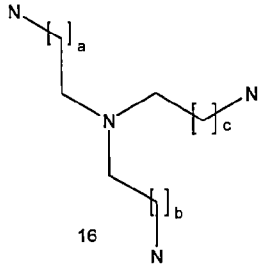
14

，其中 a 和 d 可相同或不同且為 1 至 6 的整數，b 和 c 可相同或不同且為 0 至 6 的整數；



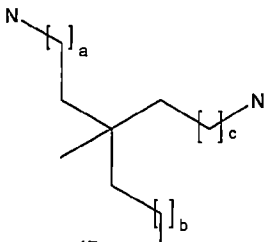
15

，其中 a 和 b 相同或不同且為 1 至 5 的整數，特別是 1 至 3 的整數，尤其是 1；

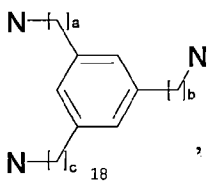


16

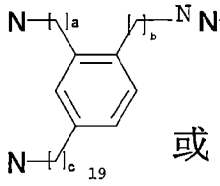
，其中 a、b 和 c 相同或不同，且為選自 1 至 6 的整數；



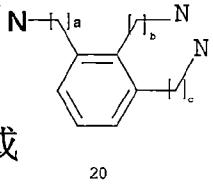
17，其中 a、b 和 c 相同或不同，且為選自 0 至 6 的整數；



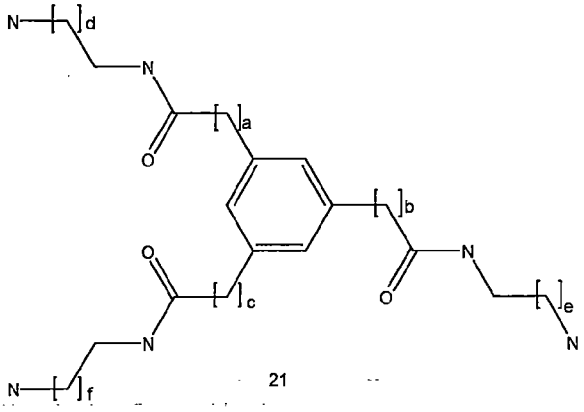
18，



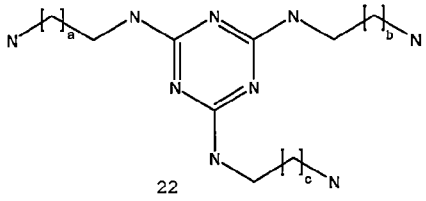
19 或



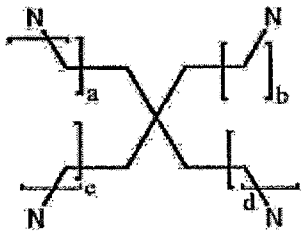
20，其中 a、b 和 c 相同或不同，且為選自 0 至 6 的整數；



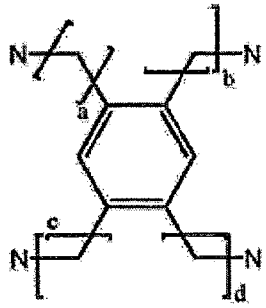
21，其中 a、b 和 c 可相同或不同，為 0 至 6 的整數，d、e 和 f 可相同或不同，為 1 至 6 的整數；



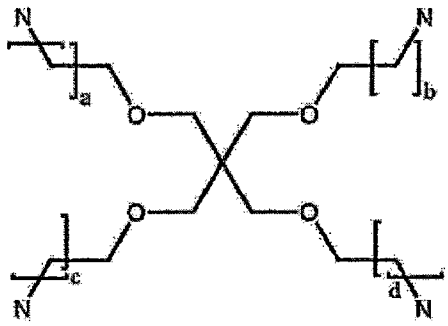
22，其中 a、b 和 c 可相同或不同，為 1 至 6 的整數；



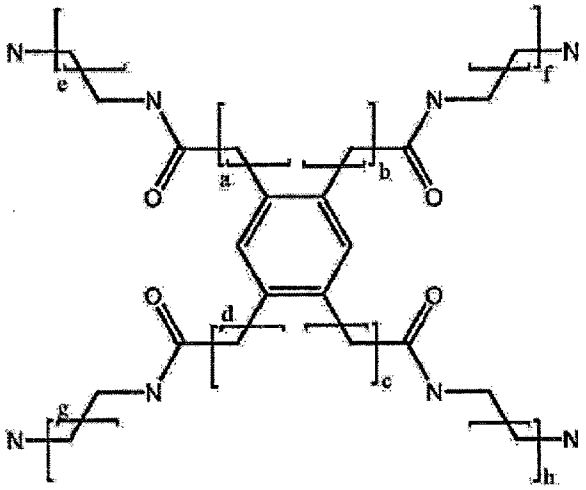
23，



24，其中 a、b、c 和 d 可以相同或不同，且為 0 至 6 的整數；



25，其中 a、b、c 和 d 可以相同或不同，且為 1 至 6 的整數；或者



26，其中 a、b、c 和 d 可以相同或不同，且為 0 至 6 的整數，e、f、g 和 h 可以相同或不同，且為 1 至 6 的整數。

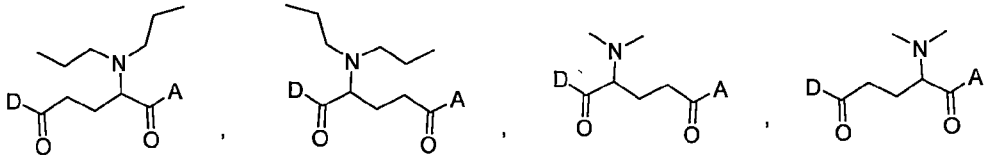
【0043】 在某些實施方式中，該大分子包含：

i）具有表面胺基的樹枝狀聚合物 D，其中至少兩個不同的端基共價連接於該樹枝狀聚合物的表面胺基：

ii)第一端基，其為包含羥基、胺基或者巰基的藥學活性劑或其殘基 A；

iii）第二端基，其為藥物代謝動力學修飾劑聚乙二醇；

其中該第一端基藉由連接子共價連接於該樹枝狀聚合物的表面胺基，該連接子選自



該樹枝狀聚合物 D 選自 BHALys[Lys]$_{16}$、BHALys[Lys]$_{32}$ 或 BHALys[Lys]$_{64}$，

該聚乙二醇具有 1000 至 2500Da 範圍內的分子量。

【0044】 本公開還涉及一種醫藥組成物，其包含本公開的大分子和藥學上可接受的載體。在一些實施方案中，該醫藥組成物中，不含增溶賦形劑，例如聚乙氧基蓖麻油、聚山梨醇酯。在一些實施方案中，該醫藥組成物藉由透皮、口服、注射等方式給藥。

【0045】 本公開的大分子配製成的組成物，其包括適於口服、直腸、局部、鼻、吸入、氣霧劑、眼部、或腸胃外(包括腹膜內、靜脈內、皮下或肌內注射)施用的那些。組成物可方便地以單位劑型呈現並且可藉由製藥領域眾所周知的任何方法製備。所有方法包括使大分子與構成一種或多種輔助成分的載體締合的步驟。通常，組成物藉由使大分子與液體載體締合形成溶液或懸浮液製備，或可選地使大分子與適於形成固體，任選地顆粒產物的製劑組分締合，然後，如果必要，將產物成型為所需的遞送形式。本公開的固體製劑，當為顆粒時，通常將包含約 1 奈米至約 500 微米的顆粒尺寸範圍。通常，針對預期用於靜脈內施用的固體製劑，顆粒直徑範圍通常將為約 1nm 至約 10 微米。組成物可含有本公開的大分子，該大分子為具有小於 1000nm，例如，5 至 1000nm，特別是 5 至 500nm，尤其是 5 至 400nm(如 5 至 50nm 且特別是 5 至 20nm)的顆粒直徑的奈米顆粒。在特定實施方案中，組成物含有具有 5 至 20nm 的平均尺寸的大分子。在一些實施方案中，大分子在組成物中為多分散的，PDI 為 1.01 至 1.8 之間，特別是 1.01 至 1.5 之間，且尤其是 1.01 至 1.2 之間。在特定實施方案中，大分子在組成物中為單分散的。特別佳的為無菌的、凍乾的組成物，該組成物在注射前於水性媒介物中重構。

【0046】 在一些實施方案中，組成物含有具有 5 至 20nm 的平均尺寸的大分子。在一些實施方案中，該大分子的顆粒尺寸 D_{90} 或者 D_{50} 小於 1000nm，例如，5 至 1000nm，特別是 5 至 500nm，尤其是 5 至 400nm(如 5 至 50nm，特別是 5 至 20nm)。在特定實施方案中，組成物含有具有 D_{50} 為 5 至 20nm 的大分子。

【0047】 本公開的大分子也可用於提供藥物活性劑的控釋和/或緩釋製劑。在緩釋製劑中，選擇製劑成分以在延長的時期裡(如數天、數週或數月)從製劑中釋放大分子。這類製劑包括經皮貼劑或在可皮下沉積的可植入裝置中或藉由靜脈注射、皮下注射、肌內注射、硬膜內注射或顱內注射。在控釋製劑中，選擇二酸連接子以在給定的時間窗口中釋放其大部分的藥物活性劑。例如，當已知大部分的大分子在靶器官、組織或腫瘤中積聚所花費的時間時，在積聚時間已過去之後可以選擇連接子以釋放其大部分的藥物活性劑。這可允許在給定時間點在需要其作用的位點遞送高載藥量。可選地，選擇連接子以在延長的時期裡於治療水平釋放藥物活性劑。在一些實施方案中，製劑可具有多種控釋特性。例如，製劑包含其中藥物藉由不同的連接子連接的大分子，這允許快釋藥物的突釋然後在延長的時期裡以較低但恆定的治療水平較慢釋放。在一些實施方案中，製劑可具有緩釋和控釋特性。例如，可以選擇製劑成分以在延長的時期裡釋放大分子且選擇連接子以遞送恆定的低治療水平的藥物活性劑。在一些實施方案中，藥物活性劑藉由不同的連接子連接於相同的分子。在一些實施方案中，每個藥物-連接子組合連接於相同製劑中的不同的大分子。

【0048】 在一些實施方案中，該醫藥組成物中，大分子被配製為在 5 分鐘至 60 分鐘之間釋放大於 50%的藥學活性劑。在一些實施方案中，該醫藥組成物中，大分子被配製為在 2 小時至 48 小時之間釋放大於 50%的

藥學活性劑。在一些實施方案中，該醫藥組成物中，大分子被配製為在 5 天至 30 天之間釋放大於 50%的藥學活性劑。

【0049】 本公開另一方面提供治療或抑制腫瘤生長的方法，其包括施用有效量的本公開的大分子或醫藥組成物，其中第一端基的藥物活性劑為腫瘤藥物。本公開中該腫瘤選自黑色素瘤、腦瘤、食管癌、胃癌、肝癌、胰腺癌、結腸直腸癌、肺癌、腎癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、皮膚癌、神經母細胞瘤、肉瘤、骨軟骨瘤、骨瘤、骨肉瘤、精原細胞瘤、睾丸腫瘤、子宮癌、頭頸腫瘤、多發性骨髓瘤、惡性淋巴瘤、真性紅細胞增多症、白血病、甲狀腺腫瘤、輸尿管腫瘤、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌、絨毛膜上皮癌和兒科腫瘤(尤因家族性肉瘤、維爾姆斯肉瘤、橫紋肌肉瘤、血管肉瘤、胚胎睾丸癌、成神經細胞瘤、視網膜母細胞瘤、肝胚細胞瘤、腎母細胞瘤等)。

【0050】 在本公開另一方面，提供用腫瘤藥物治療後降低過敏症的方法，其包括施用本公開的醫藥組成物，其中該組成物基本上不含增溶賦形劑諸如 Cremophor EL 和聚山梨醇酯 80。

【0051】 在本公開的另一方面，提供降低腫瘤藥物或腫瘤藥物的製劑的毒性的方法，其包括施用本公開的大分子，其中該腫瘤藥物為大分子的第一端基。在一些實施方案中，降低的毒性為血液毒性、神經毒性、胃腸毒性、心臟毒性、肝毒性、腎毒性、耳毒性或腦病毒性。

【0052】 在本公開的另一方面，提供降低與腫瘤藥物或腫瘤藥物的製劑相關的副作用的方法，其包括施用本公開的大分子，其中該腫瘤藥物為大分子的第一端基。在一些實施方案中，減少的副作用選自嗜中性白血球減少、白細胞減少、血小板減少、骨髓中毒性、骨髓抑制、神經病、疲勞、非特異性神經認知問題、眩暈、腦病、貧血、味覺障礙、呼吸困難、便秘、

厭食、甲病症、液體瀦留、虛弱、疼痛、噁心、嘔吐、黏膜炎、禿髮、皮膚反應、肌痛和過敏症。

【0053】 在一些實施方案中，本公開的大分子或包含大分子的醫藥組成物可以減少或消除具有試劑諸如皮質類固醇和抗組胺劑的術前用藥的需要。

【0054】 製備樹枝狀聚合物的方法在本領域為已知的。例如，大分子的樹枝狀聚合物可藉由發散方法或收斂方法或其混合製備。

【0055】 在發散方法中，將結構單元的每代依序加入至核心或前一代。保護具有一個或兩個表面胺基的表面代。如果胺基中的一者得到保護，那麼游離的胺基與連接子、連接子-藥物活性劑或藥物代謝動力學修飾劑中的一者反應。如果兩個胺基均得到保護，它們以不同的保護基團得到保護，那麼可以去除一個保護基團而不去除另一個保護基團。去除胺基保護基團中的一者並與連接子、連接子-藥物活性劑或藥物代謝動力學修飾劑中的一者反應。一旦初始端基已連接於樹狀物，那麼去除另一胺基保護基團且加入另一第一和第二端基。這些基團藉由本領域已知的醯胺形成連接於表面胺基。

【0056】 在收斂方法中，結構單元的每一代在前一代上建立以形成樹枝化基元。在樹枝化基元連接於核心之前或之後，第一和第二端基可如以上所述連接於表面胺基。

【0057】 在混合方法中，將結構單元的每一代加入至核心或結構單元的前一代。然而，在最後一代加入至樹狀物之前，將表面胺基與端基(例如，第一和第二端基，第一和第三端基或第二和第三端基)官能化。然後將官能化的末代加入至結構單元的亞表面層並將樹枝化基元連接至核心。

【0058】藥物活性劑藉由本領域已知的酯形成與連接子的羧酸中的一者反應。例如，形成活化的羧酸，諸如使用醯氯或酸酐且與藥物活性劑的羥基反應。如果藥物活性劑具有一個以上的羥基，那麼其它的羥基可以得到保護。

【0059】在靶向試劑連接於核心的情況下，核心上的官能團可在樹狀物形成期間得到保護然後去保護並與靶向試劑、連接基團或靶向試劑-連接基團反應。可選地，在形成樹狀物之前，核心可與聯接基團或靶向試劑-連接基團反應。

【0060】合適的保護基團、其引入和去除的方法描述於Greene&Wuts，Protecting Groupsin Organic Synthesis，第三版，1999。

【0061】本公開還包括大分子或其藥學上可接受的鹽的各種氘代形式，大分子中的每個可用的氫原子可獨立地被氘原子置換。所屬技術領域具有通常知識者將知曉如何合成本公開的大分子或其藥學上可接受的鹽的氘代形式。

【0062】本公開還包括同位素標記的大分子，大分子中的一個或多個原子被具有不同於自然界中最常見的原子質量或質量數的原子替換。可用於本公開的大分子的同位素的實例包括氫、碳、氮、氧、氟、碘和氯的同位素，例如 ^{3}H、^{11}C、^{14}C、^{18}F、^{123}I 或 ^{125}I。

【0063】本公開的大分子可以呈藥學上可接受的鹽的形式。但是，應理解非藥學上可接受的鹽也落入本公開的範圍內，因為這些可以在藥學上可接受的鹽的製備中用作中間體或在儲存或運輸過程中可能為有用的。合適的藥學上可接受的鹽包括但不限於藥學上可接受的無機酸(如鹽酸、硫酸、磷酸、硝酸、碳酸、硼酸、胺基磺酸和氫溴酸)的鹽，或藥學上可接受的有機酸(如乙酸、丙酸、丁酸、酒石酸、馬來酸、羥基馬來酸、富馬酸、

檸檬酸、乳酸、黏酸、葡萄糖酸、苯甲酸、琥珀酸、草酸、苯乙酸、甲烷磺酸、甲苯磺酸(toluenesulphonic)、苯磺酸、水楊酸、磺胺酸(sulphanilic)、天冬胺酸、谷胺酸、乙二胺四乙酸、硬脂酸、棕櫚酸、油酸、月桂酸、泛酸、鞣酸、抗壞血酸和戊酸)的鹽。鹼式鹽包括但不限於與藥學上可接受的陽離子(如鈉、鉀、鋰、鈣、鎂、銨和烷基銨)形成的那些。

【0064】 除非有相反陳述，否則下列用在說明書和申請專利範圍中的術語具有下述含義。

【0065】 “鹵素”是指氟、氯、溴或碘。

【0066】 “鹵”是指被一個或多個選自氟、氯、溴、碘的原子取代。

【0067】 “烷基”是指具有 1 至 10 個碳原子的直鏈或支鏈飽和烴基。在適當的情況下，烷基可具有指定的碳原子數，例如，C_{1-4}烷基，該烷基包括在直鏈或支鏈排列中具有 1、2、3 或 4 個碳原子的烷基。合適的烷基的實例包括但不限於甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、第三丁基、正戊基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、4-甲基丁基、正己基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、5-甲基戊基、2-乙基丁基、3-乙基丁基、庚基、辛基、壬基和癸基。

【0068】 “伸烷基”是指具有1至10個碳原子的直鏈或支鏈二價烷基。

【0069】 術語“烯基”包括具有 2 至 12 個碳原子的支鏈和直鏈烯烴或含有脂族烴基團的烯烴，或若規定指定碳原子數，則意指該特定數目。例如“C_{2-6}烯基”表示具有 2、3、4、5 或 6 個碳原子的烯基。烯基的實例包括但不限於，乙烯基、烯丙基、1-丙烯基、1-丁烯基、2-丁烯基、3-丁烯基、2-甲基丁-2-烯基、3-甲基丁-1-烯基、1-戊烯基、3-戊烯基及 4-己烯基。

【0070】 術語“炔基”包括具有 2 至 12 個碳原子的支鏈和直鏈炔基或含有脂族烴基的烯烴，或若規定指定碳原子數，則意指該特定數目。例如乙炔基、丙炔基(例如 1-丙炔基、2-丙炔基)、3-丁炔基、戊炔基、己炔基及 1-甲基戊-2-炔基。

【0071】 “伸烯基”、“伸炔基”是指衍生自烯基或炔基的部分不飽和的支鏈或直鏈二價烴基。在某些實施例中，此類伸烯基任選地被取代。伸烯基的非限制性實例包括伸乙烯基、伸丙烯基、伸丁烯基、伸戊烯基、伸己烯基、伸庚烯基、伸辛烯基、伸壬烯基、伸癸烯基及類似基團；伸炔基的非限制性實例包括伸乙炔基、伸丙炔基、伸丁炔基、伸戊炔基、伸己炔基及類似基團。

【0072】 “環烷基”是指飽和或不飽和的環烴。環烷基環可包括指定的碳原子數。例如，3 至 8 元環烷基包括 3、4、5、6、7 或 8 個碳原子。合適的環烷基的實例包括但不限於環丙基、環丁基、環戊基、環戊烯基、環己基、環己烯基、1,4-環己二烯基、環庚基和環辛基。

【0073】 “伸環烷基” 是指衍生自環烷基的二價環烴基。例如 等。

【0074】 術語“烷氧基”是指-O-(烷基)和-O-(非取代的環烷基)，其中烷基的定義如上該。烷氧基的非限制性實例包括：甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、環丙氧基、環丁氧基、環戊氧基、環己氧基。烷氧基可以是任選取代的或非取代的，當被取代時，取代基較佳為一個或多個以下基團，其獨立地選自 H 原子、D 原子、鹵素、烷基、烷氧基、鹵烷基、羥基、羥烷基、氰基、胺基、硝基、環烷基、雜環基、芳基、雜芳基中的一個或多個取代基所取代。

【0075】“芳基”意指在各個環中至多 7 個原子的任何穩定的、單環或雙環碳環，其中至少一個環為芳族的。此類芳基的實例包括但不限於苯基、萘基、四氫萘基、茚滿基、聯苯基或聯萘基。

【0076】“雜環烷基”或“雜環基”是指環烴，其中一至四個碳原子已被獨立地選自 N、N(R)，S，S(O)、$S(O)_2$ 和 O 的雜原子替換。雜環可為飽和的或不飽和的。合適的雜環基的實例包括四氫呋喃基、 四氫噻吩基、吡咯烷基、吡咯啉基、吡唑啉基、吡喃基、哌啶基、吡唑啉基、二硫雜環戊二烯基、氧雜硫雜環戊二烯基、二氧雜環己基、二氧雜環己烯基、嗎啉代和噁嗪基。

【0077】“雜芳基”表示在各個環中至多 7 個原子的穩定的單環或雙環，其中至少一個環為芳族且至少一個環含有選自 O、N 和 S 的 1 至 4 個雜原子。在本定義範圍內的雜芳基包括但不限於吖啶基、哢唑基、噌啉基、喹喔啉基、喹唑啉基、吡唑基、吲哚基、苯并三唑基、呋喃基、噻吩基、苯硫基、3,4-伸丙基二氧苯硫基(3,4-propylenedioxythiophenyl)、苯并噻吩基、苯并呋喃基、苯并二噁烷、苯并二氧雜環己烯、喹啉基、異喹啉基、噁唑基、異噁唑基、咪唑基、吡嗪基、噠嗪基、吡啶基、嘧啶基、吡咯基、四氫喹啉、噻唑基、異噻唑基、1,2,4-三唑基、1,2,3-三唑基、1,2,4-噁二唑基、1,2,4-噻二唑基、1,3,5-三嗪基、1,2,4 三嗪基、1,2,4,5 四嗪基和四唑基。

【0078】“樹枝狀聚合物”是指含有核心和至少一個連接於該核心的樹枝化基元的分子。每個樹枝化基元由至少一層或一代分支的結構單元構成，產生具有每代結構單元的分支的越來越多的分支結構。連接於核心的樹枝化基元的最大數目受限於核心上官能團的數目。

【0079】“結構單元”是指具有至少三個官能團的分支的分子，一個官能團用於連接於核心或結構單元的上一代且至少兩個官能團用於連接於結構單元的下一代或形成樹狀物聚合物的表面。

【0080】“代”是指構成樹枝化基元或樹枝狀聚合物的結構單元的層數。例如，一代樹枝狀聚合物將具有一層連接於該核心的分支的結構單元，例如，核心-[[結構單元]]u，其中 u 為連接於核心的樹枝化基元的數目。兩代樹枝狀聚合物在連接於核心的每個樹枝化基元中具有兩層結構單元，當該結構單元具有一個分支點時，該樹枝狀聚合物可為：核心[[結構單元][結構單元]2]u，三代樹狀物在連接於核心的每個樹枝化基元中具有三層結構單元，例如核心-[[結構單元][結構單元]2[結構單元]4]u，6 代樹枝狀聚合物具有六層連接於核心的結構單元，例如，核心-[[結構單元][結構單元]2[結構單元]4[結構單元]8[結構單元]16[結構單元]32]u 等。結構單元的最後一代(最外代)提供樹枝狀聚合物的表面官能化和可用於結合端基的官能化基團的數目。例如，在具有兩個樹枝化基元連接於核心的樹枝狀聚合物中(u＝2)，如果每個結構單元具有一個分支點並且存在 6 代時，那麼最外代具有 64 個結構單元和 128 個可用於結合端基的官能團。

【0081】“微溶的”是指在水中具有 1mg/mL 至 10mg/mL 的溶解度的藥物或藥物活性劑。在水中溶解度小於 1mg/mL 的藥物被認為是不溶的。

【0082】“增溶賦形劑”是指用於將不溶的或微溶的藥學活性劑溶解於水性製劑的製劑添加劑。實例包括表面活性劑如聚乙氧基蓖麻油包括 Cremophor EL、CremophorRH40 和 Cremophor RH60、D-α 生育酚-聚乙二醇 1000 琥珀酸鹽、聚山梨醇酯 20、聚山梨醇酯 80、solutol HS15、山梨醇單油酸酯(sorbitan monoleate)、泊洛沙姆 407、Labrasol 等。

【0083】“任選的”或“任選”是指意味著隨後所描述的事件或環境可以但不必發生，該說明包括該事件或環境發生或不發生的場合。例如，“L為任選的被一個或多個氧、硫或氮原子間斷的 C_{1-10} 直鏈伸烷基”意味著 C_{1-10} 直鏈伸烷基可以被氧、硫或氮原子間斷但不必須被間斷，該說明包括 C_{1-10} 直鏈伸烷基被氧、硫或氮原子間斷的情形和 C_{1-10} 直鏈伸烷基不被氧、硫或氮原子間斷的情形。

【0084】“取代的”指基團中的一個或多個氫原子，較佳為最多 5 個，更佳為 1～3 個氫原子彼此獨立地被相應數目的取代基取代。不言而喻，取代基僅處在它們的可能的化學位置，所屬技術領域具有通常知識者能夠在不付出過多努力的情況下確定(藉由實驗或理論)可能或不可能的取代。

【0085】本公開所述化合物的化學結構中，鍵“”並未指定構型，即鍵“”可以為“”或“”，或者同時包含“”和“”兩種構型。本公開所述化合物的化學結構中，鍵“”並未指定構型，即可以為 Z 構型或 E 構型，或者同時包含兩種構型。

【0086】本公開所述化合物或其可藥用鹽、或其異構體的任何同位素標記的衍生物都被本公開所覆蓋。能夠被同位素標記的原子包括但不限於氫、碳、氮、氧、磷、氟、氯、碘等。它們可分別被同位素 $^{2}H(D)$、^{3}H、^{11}C、^{13}C、^{14}C、^{15}N、^{18}F、^{31}P、^{32}P、^{35}S、^{36}Cl 和 ^{125}I 等代替。除另有說明，當一個位置被特別地指定為氘（D）時，該位置應理解為具有大於氘的天然豐度（其為 0.015%）至少 3000 倍的豐度的氘（即，至少 45%的氘摻入）。

【0087】本公開中藥學活性劑或其殘基、藥學活性劑、藥學活性劑或其殘基 A 可互換使用，均是指具有藥學活性的分子或者基團。

【圖式簡單說明】

【0088】 圖 1 為測試例 1 中的大鼠血漿中藥物 PK 曲線。

【0089】 圖 2 為測試例 2 中的比格犬血漿 PK 曲線（0-168 小時）。

【0090】 圖 3 為測試例 2 中的比格犬血漿 PK 曲線（0-24 小時）。

【0091】 圖 4 為測試例 3 中的在人源肺癌細胞 A549 皮下移植腫瘤模型中各組小鼠腫瘤體積的生長曲線。

【0092】 圖 5 為測試例 4 中的比格犬血漿 PK 曲線。

【0093】 圖 6 為測試例 6 中的化合物對荷人急性淋巴細胞白血病 RS4;11 小鼠皮下移植瘤的療效。

【實施方式】

【0094】 以下結合實施例進一步描述解釋本公開，但這些實施例並非意味著限制本公開的範圍。

【0095】 本公開實施例中未註明具體條件的實驗方法，通常按照常規條件，或按照原料或商品製造廠商所建議的條件。未註明具體來源的試劑，為市場購買的常規試劑。

【0096】 化合物的結構是藉由核磁共振(NMR)或質譜(MS)來確定的。NMR 的測定是用 Bruker AVANCE-400 核磁儀，測定溶劑為氘代二甲基亞碸(*DMSO-d6*)、氘代氯仿($CDCl_3$)、氘代甲醇(CD_3OD)，內標為四甲基矽烷(TMS)，化學位移是以 10^{-6}(ppm)作為單位給出。

【0097】 MS 的測定用 FINNIGAN LCQAd (ESI)質譜儀(生產商：Thermo，型號：Finnigan LCQ advantage MAX)。

【0098】 高效液相色譜法（HPLC）的測定使用安捷倫 1200DAD 高壓液相色譜儀(Sunfire C18 150×4.6mm 色譜管柱)和 Waters 2695-2996 高壓液相色譜儀(Gimini C18 150×4.6mm 色譜管柱)。

【0099】 薄層層析矽膠板使用煙臺黃海 HSGF254 或青島 GF254 矽膠板，薄層色譜法(TLC)使用的矽膠板採用的規格是 0.15 mm～0.2 mm，薄層層析分離純化產品採用的規格是 0.4 mm～0.5 mm 矽膠板。

【0100】 管柱層析一般使用煙臺黃海 200~300 目矽膠為載體。

【0101】 本公開的已知的起始原料可以採用或按照本領域已知的方法來合成，或可購買自 ABCR GmbH & Co.KG、Acros Organnics、Aldrich Chemical Company、韶遠化學科技(Accela ChemBio Inc)、達瑞化學品等公司。

【0102】 實施例中如無特殊說明，反應均在氬氣氛或氮氣氛下進行。

【0103】 氬氣氛或氮氣氛是指反應瓶連接一個約 1L 容積的氬氣或氮氣氣球。

【0104】 氫氣氛是指反應瓶連接一個約 1L 容積的氫氣氣球。

【0105】 加壓氫化反應使用 Parr 3916EKX 型氫化儀和清藍 QL-500 型氫氣發生器或 HC2-SS 型氫化儀。

【0106】 氫化反應通常抽真空，充入氫氣，重複操作 3 次。

【0107】 微波反應使用 CEM Discover-S 908860 型微波反應器。

【0108】 實施例中如無特殊說明，反應中的溶液是指水溶液。

【0109】 實施例中如無特殊說明，反應的溫度為室溫。

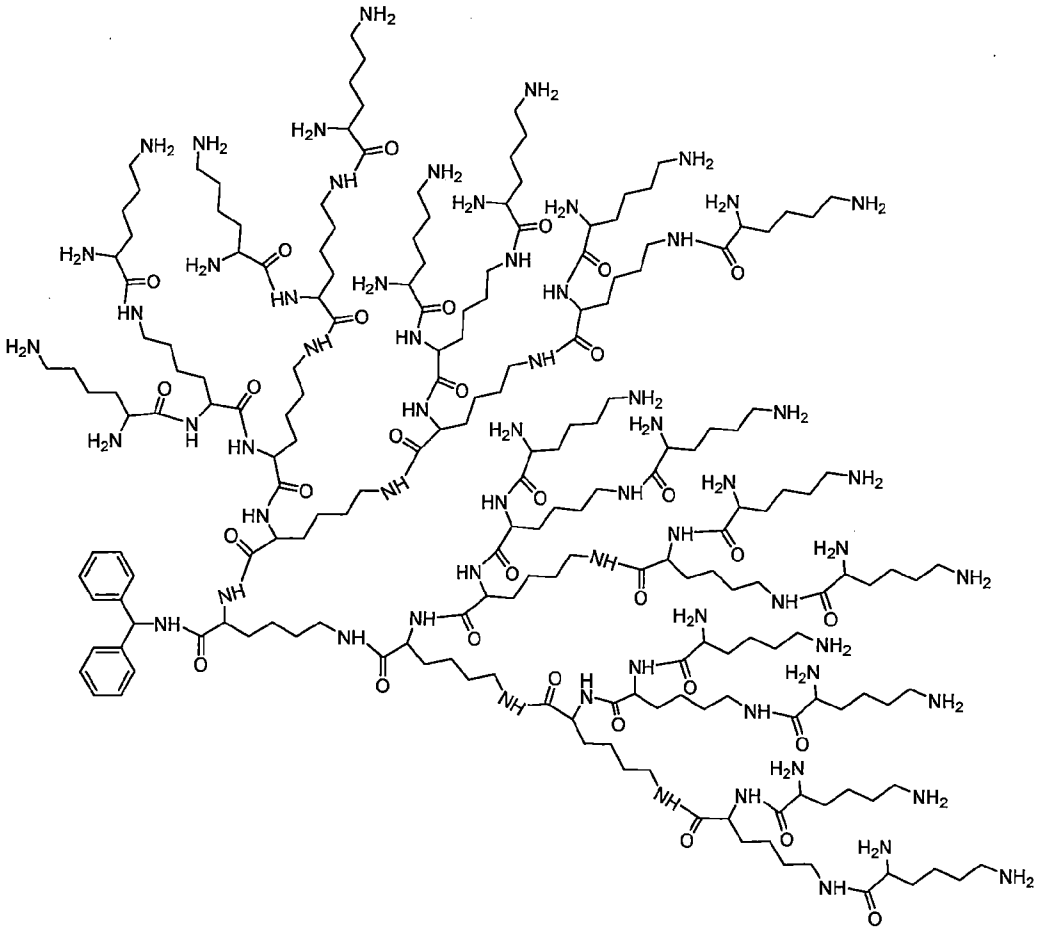
【0110】 室溫為最適宜的反應溫度，溫度範圍是 20℃～30℃。

【0111】 實施例中 pH=6.5 的 PBS 緩衝液的配製：取 KH_2PO_4 8.5g、$K_2HPO_4.3H_2O$ 8.56g、NaCl 5.85g、EDTA 1.5g 置於瓶中，定容至 2L，超聲波使其全部溶解，搖勻即得。

【0112】 純化化合物採用的管柱層析的沖提劑的體系和薄層色譜法的展開劑的體系包括：A：二氯甲烷和異丙醇體系，B：二氯甲烷和甲醇體系，C：石油醚和乙酸乙酯體系，溶劑的體積比根據化合物的極性不同而進行調節，也可以加入少量的三乙胺和酸性或鹼性試劑等進行調節。

【0113】 本公開部分化合物是藉由 Q-TOF LC/MS 來表徵的。Q-TOF LC/MS 使用安捷倫 6530 精確質量數四級杆-飛行時間質譜儀和安捷倫 1290-Infinity 超高效液相色譜儀(安捷倫 Poroshell 300SB-C8 5μm,2.1×75mm 色譜管柱)。

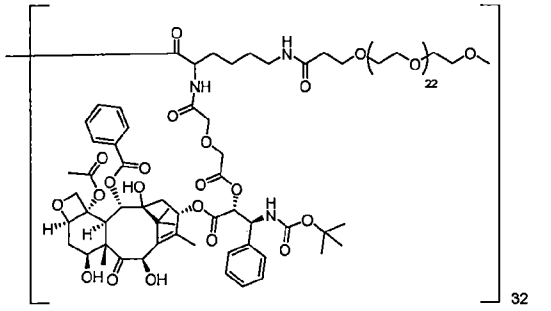
【0114】 參考專利 CN 110312531A 的合成方法，合成得到了如下一類樹枝狀聚合物，其第一胺基端基用於與藥物活性劑的連接，第二端基用於與藥物代謝動力學修飾劑 PEG 相連：



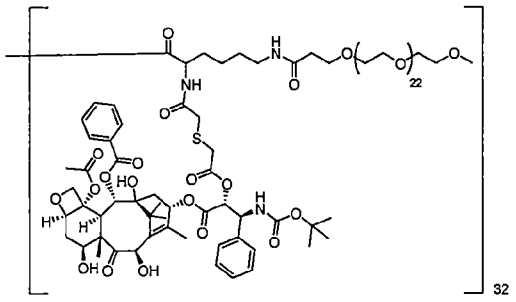
【0115】在下文實施例中表示的樹枝狀聚合物包括參考樹枝狀聚合物的核心和樹枝狀聚合物最外代中的結構單元。未描繪第 1 代至亞表面代。樹枝狀聚合物 $BHALys[Lys]_{32}$ 表示 5 代樹枝狀聚合物，其具有下式 BHALys $[Lys]_2[Lys]_4[Lys]_8[Lys]_{16}[Lys]_{32}$，64 個表面胺基可用於結合於端基。

【0116】樹枝狀聚合物支架 $BHALys[Lys]_{32}[\alpha\text{-}NH_2.TFA]_{32}[\varepsilon\text{-}PEG_{570}]_{32}$、$BHALys[Lys]_{32}[\alpha\text{-}NH_2.TFA]_{32}[\varepsilon\text{-}PEG_{1100}]_{32}$、$BHALys[Lys]_{32}[\alpha\text{-}NH_2.TFA]_{32}[\varepsilon\text{-t-}PEG_{2300}]_{32}$、$BHALys[Lys]_{32}[\alpha\text{-4-HSBA}]_{32}[\varepsilon\text{-}PEG_{1100}]_{32}$、$BHALys[Lys]_{32}[\alpha\text{-GILGVP-}NH_2.TFA]_{32}[\varepsilon\text{-}PEG_{1100}]_{32}$ 和 $BHALys[Lys]_{32}[\alpha\text{-GILGVP-}NH_2.TFA]_{32}[\varepsilon\text{-t-}PEG_{2300}]_{32}$ 的製備可見於 Kaminskas 等人，J Control.Release(2011)（doi：10.1016/j.jconrel.2011.02.005）。樹枝狀聚合物支架 4-疊氮苯甲醯胺-PEG_{12}-NEOEOEN $[Su(NPN)_2][Lys]_{16}[NH_2.TFA]_{32}$ 的製備可見於 WO08/017122。

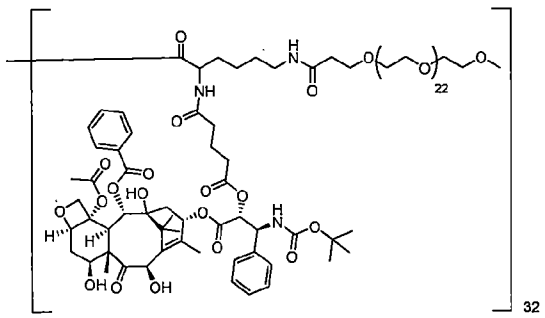
【0117】 1-A00、1-B00 和 1-C00 是根據專利 WO2012167309 合成，其連接的藥學活性劑為多西他賽；2-A00 是根據專利 WO2018154004A 合成，其連接的藥學活性劑為化合物 2（根據專利 WO2012017251 合成）。樹枝狀聚合物支架 $BHALys[Lys]_{32}[\alpha\text{-}NH_2\cdot TFA]_{32}[\varepsilon\text{-}PEG_{1100}]_{32}$ 在實施例中記為樹枝狀聚合物 1，$BHALys[Lys]_{32}[\alpha\text{-}NH_2\cdot TFA]_{32}[\varepsilon\text{-}PEG_{2100}]_{32}$ 在實施例中記為樹枝狀聚合物 1-PEG2K，根據 WO2018154004A 的方法合成：



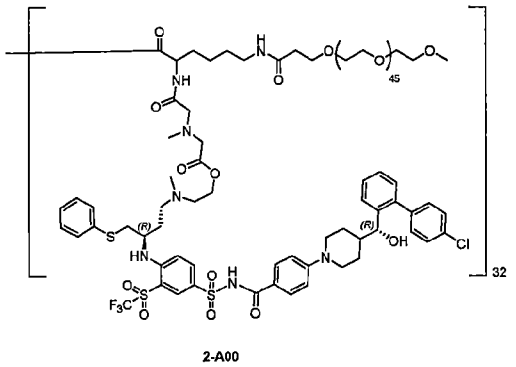
1-A00



1-B00



1-C00



2-A00

一般程序

一般程序 A

連接子與藥物安裝

【0118】 在 0℃，向磁力攪拌的羧酸連接子(0.2–0.5mmol)在溶劑 DMF 或乙腈(1–5mL)的溶液中加入 EDC 或 DCC(1.2 當量)的偶聯劑。將混合物放置攪拌 5min，然後滴加含有藥物(0.4–1 當量)和 DMAP(0.4–1 當量)的混合物的溶劑（1mL）的溶液。將混合物在 0℃保持 1 小時，然後使其升溫至環境溫度。然後真空去除揮發物並將殘餘物藉由製備型 HPLC

（BEH300 Waters XBridge C18，5μM，30x150mm，40-80%ACN/水(5-40min)，不含緩衝液）純化以獲得所需產物。

一般程序 B

連接子與藥物的安裝

【0119】 向磁力攪拌的藥物(0.3–1.0mmol)和酸酐(2 當量)在 DMF(3-5mL)的溶液中加入 DIPEA(3 當量)。將混合物在環境溫度攪拌過夜。然後真空去除揮發物並將殘餘物藉由製備型 HPLC（BEH300 Waters XBridge C18，5μM，30x150mm，40-70%ACN/水(5-40min)，不含緩衝液，RT=34min）純化。將適當的級分真空濃縮以得到所需產物。

一般程序 C.

【0120】 具有藥物-連接子負載的樹枝狀聚合物。

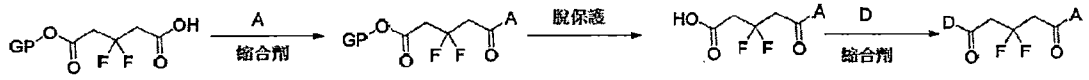
【0121】 在室溫，向磁力攪拌的 $BHALys[Lys]_{32}[\alpha\text{-}NH_2 \cdot TFA]_{32}[\varepsilon\text{-}PEG_{1100}]_{32}$（0.5–1.0μmol）和 DIPEA（1.2 當量/胺）在 DMF 的混合物中加入連接子-藥物（1.2 當量/胺）和 PyBOP（1.2 當量/胺）。在室溫攪拌 1.5 小時後，去除揮發物並將殘餘物藉由 SEC（sephadex，LH20，MeOH）純化。將適當的級分（如藉由 HPLC 判斷）合併並濃縮以得到所需產物。

一般程序 D

點擊反應

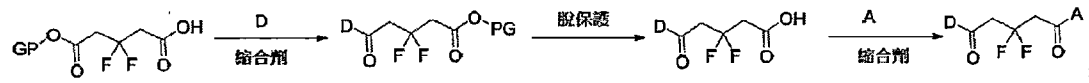
【0122】 向磁力攪拌的樹枝狀聚合物在 1:1 的 H_2O/t-BuOH（大約 0.5mL）中的溶液（0.5–1.0mmol）中加入炔烴試劑（2 當量）、抗壞血酸鈉溶液（2 當量）和 $CuSO_4$ 溶液（ 20mol%）。將溶液加熱至 80℃並用 HPLC 監測。根據需要，加入額外量的抗壞血酸鈉和 $CuSO_4$ 以驅動反應完成。在判斷反應完成之後，真空濃縮反應物，然後純化。

【0123】本公開中大分子可按照選自以下的路線進行合成，PG 為羧酸保護基：

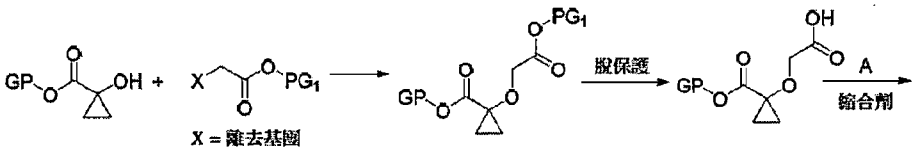


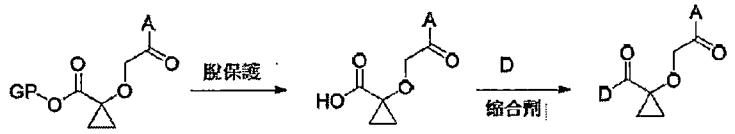
；

或



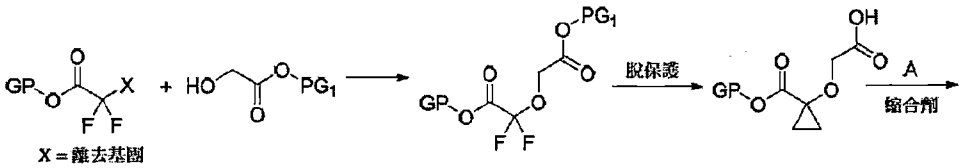
；或

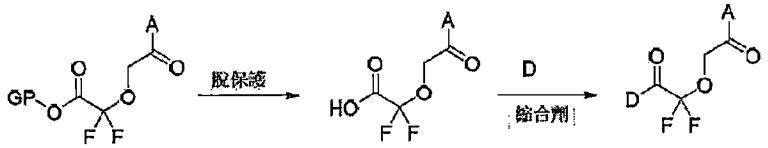




；

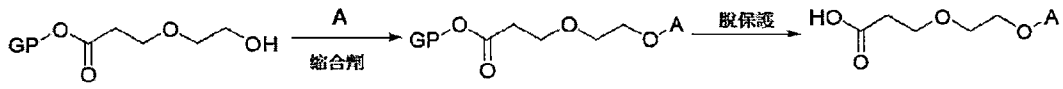
或



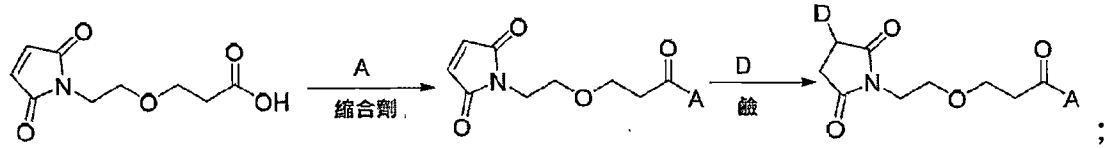


；

或

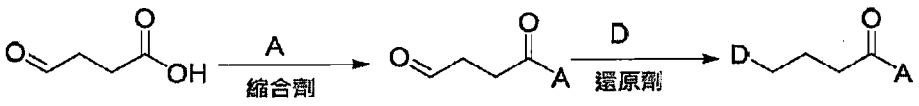


；或

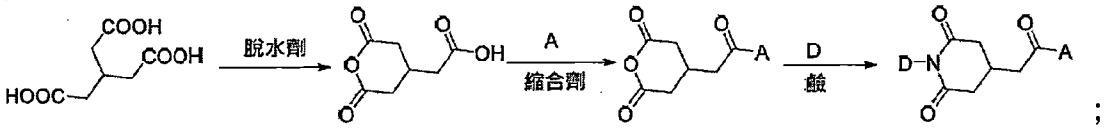


；

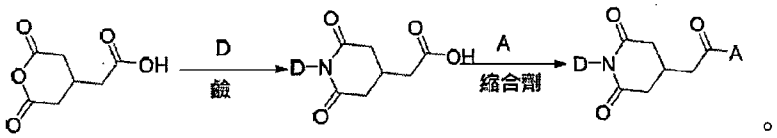
或



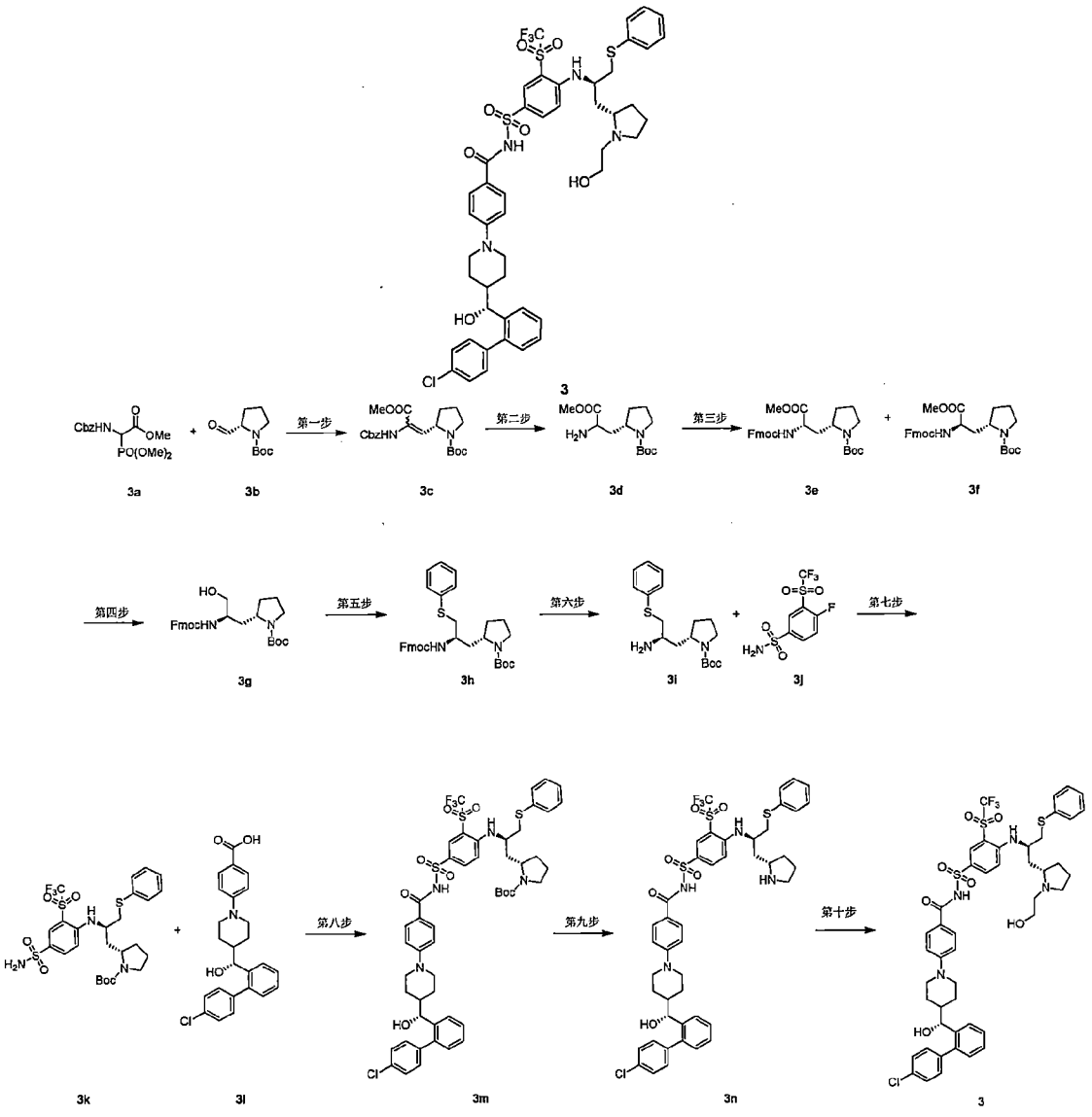
或



或



【0124】實施例 1：化合物 3 的製備



第一步

(*S*)-2-(2-(((苄氧基)羰基)胺基)-3-甲氧基-3-側氧丙-1-烯-1-基)吡咯烷-1-羧酸第三丁酯 **3c**

【0125】 將 **3a**(2.49 g，7.53 mmol，韶遠)溶解於四氫呋喃(20 mL)中，冰浴冷卻至 0℃，滴加 *N*,*N*-二異丙基胺基鋰 (661 mg，6.17 mmol)，0℃攪拌反應 1 小時後，將反應體系降至-78℃，向其中滴加(*S*)-2-甲醯基吡咯烷-1-羧酸第三丁酯 **3b** (1.00 g，5.02 mmol，藥石)的 20 mL 四氫呋喃溶液，滴完後撤去乾冰丙酮浴，升至室溫反應 12 小時。加飽和氯化銨(20 mL)淬滅，乙酸乙酯(20 mL×3)萃取，有機相用無水硫酸鈉乾燥後，過濾，濾液減壓濃縮，所得殘餘物用矽膠管柱色譜法以沖提劑體系 B 純化，得到標題產物 **3c** (1.90 g, 產率：94.1%)。

MS m/z (ESI)：305.0 [M+H-100]。

第二步

(2*S*)-2-(2-胺基-3-甲氧基-3-側氧丙基)吡咯烷-1-羧酸第三丁酯 **3d**

【0126】 將 **3c** (1.90 g，4.7 mmol)溶於異丙醇(50 mL)中，加入鈀碳(380 mg，含量 10%，乾型)，氫氣置換 3 次，室溫攪拌 8 小時。反應液用矽藻土過濾，濾餅用乙酸乙酯(20 mL)和甲醇(20 mL)淋洗，濾液濃縮，得到粗品標題產物 **3d** (1.28 g)，產品不經純化直接進行下一步。

第三步

(*S*)-2-((*S*)-2-((((9*H*-芴-9-基)甲氧基)羰基)胺基)-3-甲氧基-3-側氧丙基)吡咯烷-1-羧酸第三丁酯 **3e**

(*S*)-2-((*R*)-2-((((9*H*-芴-9-基)甲氧基)羰基)胺基)-3-甲氧基-3-側氧丙基)吡咯烷-1-羧酸第三丁酯 **3f**

【0127】 將粗品 **3d** (1.28 g，4.7 mmol)溶於 1,4-二噁烷(40 mL)中，加入水(10 mL)、碳酸氫鈉(1.17 g，14.1 mmol)和芴甲氧羰醯氯(1.21 g，

4.7 mmol)，室溫攪拌 3 小時。加水(30 mL)淬滅，乙酸乙酯萃取(20 mL×3)，有機相用無水硫酸鈉乾燥，過濾濃縮，所得殘餘物用矽膠管柱色譜法以沖提劑體系 A 純化，得到標題產物 **3e** (1.03 g，44.2%，峰 1)和 **3f** (513 mg，22.1%，峰 2)。

MS m/z (ESI)：495.2 [M+1]。

【0128】 峰 1：UPLC 分析：保留時間 2.77 分鐘 (色譜管柱：ACQUITY UPLC BEHC18 50*2.1mm，1.7um；流動相：乙腈/水/甲酸=10/90/0.1(v/v/v)至 95/5/0.1(v/v/v)梯度淋洗)。

【0129】 峰 2：UPLC 分析：保留時間 2.69 分鐘 (色譜管柱：ACQUITY UPLC BEHC18 50*2.1mm，1.7um；流動相：乙腈/水/甲酸=50/50/0.1(v/v/v)至 95/5/0.1(v/v/v)梯度淋洗)。

第四步

(*S*)-2-((*R*)-2-((((9*H*-芴-9-基)甲氧基)羰基)胺基)-3-羥基丙基)吡咯烷-1-羧酸第三丁酯 **3g**

【0130】 將 **3f** (169 mg，0.34 mmol)溶於四氫呋喃(8 mL)中，加入乙醇(8 mL)、硼氫化鈉(77 mg，2.05 mmol)和氯化鋰(94 mg，2.22 mmol)，28℃攪拌 2.5 小時，滴加飽和氯化銨(5 mL)淬滅反應。溶液減壓濃縮，殘餘物用乙酸乙酯(10 mL)溶解，用水(10 mL)洗滌，飽和氯化鈉(10 mL)洗滌，有機相用無水硫酸鈉乾燥，過濾濃縮，所得殘餘物用矽膠管柱色譜法以沖提劑體系 A 純化，得到標題產物 **3g** (125 mg，78.4%)。

MS m/z (ESI)：467.2 [M+1]。

第五步

(*S*)-2-((*R*)-2-((((9*H*-芴-9-基)甲氧基)羰基)胺基)-3-(苯基硫基)丙基)吡咯烷-1-羧酸第三丁酯 **3h**

【0131】 將 **3g** (120 mg，0.26 mmol)溶於甲苯(5 mL)中，加入二苯基二硫醚(168 mg，0.77 mmol)和三丁基膦(156 mg，0.77 mmol)，將反應體系在氮氣氛下，升溫至 80℃攪拌 12 小時。溶液減壓濃縮，所得殘餘物用矽膠管柱色譜法以沖提劑體系 A 純化，得到標題產物 **3h** (135 mg，93.9%)。

MS m/z (ESI)：559.2 [M+1]。

第六步

(*S*)-2-((*R*)-2-胺基-3-(苯基硫基)丙基)吡咯烷-1-羧酸第三丁酯 **3i**

【0132】 將 **3h** (135 mg，0.24 mmol)溶於二氯甲烷(4 mL)中，加入二乙胺(4 mL)，室溫攪拌 4 小時，反應液減壓濃縮除去有機溶劑，得到標題產物 **3i** (81.6 mg)，產品不經純化直接進行下一步。

第七步

(*S*)-2-((*R*)-4-(苯基硫基)-3-((4-胺基磺醯基-2-((三氟甲基)磺醯基)苯基)胺基)丁基)吡咯烷-1-羧酸第三丁酯 **3k**

【0133】 將粗品 **3i** (81.6 mg，0.24 mmol)溶於 *N*,*N*-二甲基甲醯胺(5 mL)中，加入 4-氟-3-(三氟甲基磺醯基)苯磺醯胺 **3j** (82 mg，0.27mmol)和 *N*,*N*-二異丙基乙胺(314 mg，2.4 mmol)，反應體系在氮氣氛下，升溫至 50℃攪拌 12 小時。加水(10 mL)淬滅，用乙酸乙酯(5 mL×3)萃取，有機相用無水硫酸鈉乾燥，過濾，濾液減壓濃縮，所得殘餘物用矽膠管柱色譜法以沖提劑體系 A 純化，得到標題產物 **3k** (105 mg，69.3%)。

MS m/z (ESI)：622.1 [M-1]。

第八步

(*S*)-2-((*R*)-2-((4-(*N*-(4-(4-((*R*)-(4'-氯-[1,1'-聯苯基]-2-基)(羥基)甲基)哌啶-1-基)苯甲醯基)胺基磺醯基)-2-((三氟甲基)磺醯基)苯基)胺基)-3-(苯基硫基)丙基)吡咯烷-1-羧酸第三丁酯 **3m**

【0134】 將 **3k** (30 mg，0.048 mmol)溶於二氯甲烷(3 mL)，加入 **3l** (24 mg，0.058 mmol，參照專利"CN103153954 B"中說明書第 79 頁的中間體 40 提供的方法合成)，再依次加入 1-(3-二甲胺基丙基)-3-乙基碳二亞胺 鹽酸鹽(19 mg，0.096 mmol)和 4-二甲胺基吡啶(12 mg，0.096 mmol)，加完後氮氣氛下，室溫攪拌 4 小時，補加 **3l** (12 mg， 0.038 mmol)、1-(3-二甲胺基丙基)-3-乙基碳二亞胺 鹽酸鹽(19 mg，0.096 mmol)和 4-二甲胺基吡啶(12 mg，0.096 mmol)，加完後室溫攪拌過夜。反應液用水(5 mL)洗滌，飽和食鹽水(5 mL)洗滌，無水硫酸鈉乾燥，過濾後減壓濃縮，所得殘餘物用薄層色譜法以展開劑體系 A 純化，得到標題產物 **3m** (30 mg，產率：60.7%)。

MS m/z (ESI)：1027.2 [M+1]。

第九步

4-(4-((*R*)-(4'-氯-[1,1'-聯苯基]-2-基)(羥基)甲基)哌啶-1-基)-*N*-((4-(((*R*)-1-(苯基硫基)-3-((*S*)-吡咯烷-2-基)丙-2-基)胺基)-3-((三氟甲基)磺醯基)苯基)磺醯基)苯甲醯胺 **3n**

【0135】 將 **3m** (30 mg，0.029 mmol)溶於二氯甲烷(2 mL)中，加入 4*M* 氯化氫的 1,4-二噁烷溶液(2 mL)，室溫攪拌 20 分鐘，反應液減壓濃縮除去有機溶劑。殘餘物溶於二氯甲烷，然後減壓濃縮乾，重複三次，所得殘餘物用高效液相色譜法純化(分離條件：色譜管柱：Sharpsil-T Prep C18；流動相：碳酸氫銨、水、乙腈)，收集其相應組分，減壓濃縮得到標題產物 **3n** (25 mg，產率：92.3%)。

MS m/z (ESI)：927.1 [M+1]。

^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8.24 (d, 1H), 8.05-8.01 (m, 1H), 7.82 (d, 2H), 7.60 (d, 1H), 7.45-7.39 (m, 3H), 7.37 (d, 2H), 7.34-7.28 (m, 3H), 7.23 (t, 2H), 7.20-7.14 (m, 2H), 6.80 (d, 2H), 6.72 (d, 1H), 4.42 (d, 1H), 3.97 (br, 1H), 3.84-3.74 (m, 1H), 3.27-3.21 (m, 2H), 3.19-3.07 (m, 3H), 3.06-2.97 (m, 1H), 2.69-2.61 (m, 1H), 2.55-2.48 (m, 1H), 2.16-2.00 (m, 5H), 1.98-1.89 (m, 2H), 1.88-1.80 (m, 1H), 1.78-1.69 (m, 1H), 1.63-1.57 (m, 2H), 1.54-1.49 (m, 1H), 1.26-1.20 (m, 1H), 1.15-1.04 (m, 1H), 1.01-0.94 (m, 1H)。

第十步

4-(4-((*R*)-(4'-氯-[1,1'-聯 苯 基]-2-基)(羥 基)甲 基)哌 啶-1-基)-*N*-((4-(((*R*)-1-((S)-1-(2-羥乙基)吡咯烷-2-基)-3-(苯基硫基)丙-2-基)胺基)-3-((三氟甲基)磺醯基)苯基)磺醯基)苯甲醯胺 **3**

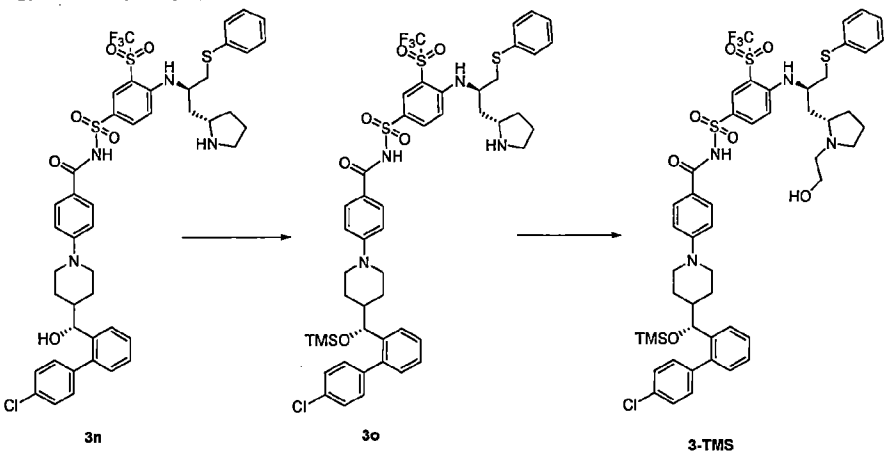
【0136】 將 **3n** (15 mg，0.016 mmol)溶於乙腈(2 mL)中，依次加入三乙胺(16 mg，0.16 mmol)和溴乙醇(20 mg，0.16 mmol)，反應體系在氮氣氛下，升至 70℃反應 12 小時。用高效液相色譜法純化(分離條件：色譜管柱：Sharpsil-T Prep C18；流動相：碳酸氫銨、水、乙腈)，收集其相應組分，減壓濃縮得到標題產物 **3** (10 mg，產率：63.4%)。

MS m/z (ESI): 971.2 [M+1]。

^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8.25 (d, 1H), 8.06 (dd, 1H), 7.80 (d, 2H), 7.61 (dd, 1H), 7.49-7.35 (m, 5H), 7.35-7.28 (m, 3H), 7.24 (dd, 2H), 7.20-7.14 (m, 2H), 6.79 (t, 3H), 4.42 (d, 1H), 4.02 (t, 1H), 3.84-3.70 (m, 3H), 3.61 (d, 2H), 3.28-3.14 (m, 2H), 3.06 (br, 1H), 2.96 (br, 1H), 2.71-2.59 (m, 1H), 2.56-2.45 (m, 1H), 2.45-2.35 (m, 1H), 2.32-2.22 (m, 1H),

2.10-1.97 (m, 4H), 1.96-1.86 (m, 1H), 1.85-1.69 (m, 2H), 1.60 (t, 2H), 1.26-1.18 (m, 1H), 1.06-1.08 (m, 1H), 1.01-0.92 (m, 1H), 0.92-1.86 (m, 1H)。

【0137】 實施例 2：化合物 **3-TMS** 的製備



第一步

【0138】 將 **3n** (6 g，6.47 mmol) 溶於 DCM (120mL)中，加入三乙胺（3.22 g，32.35 mmol），冰水浴冷卻至 0 ℃。將三甲矽基三氟甲磺酸酯（7.2 g，32.35 mmol）緩慢滴加入反應液，保持冰水浴攪拌反應 2 h。冰水浴下滴加甲醇（12mL）淬滅，保持冰水浴攪拌 10 min，減壓除去溶劑，得粗品 **3o** 16.5 g，不經純化進行下一步。

MS-ESI: m/z 999.1 $[M+1]^+$。

第二步

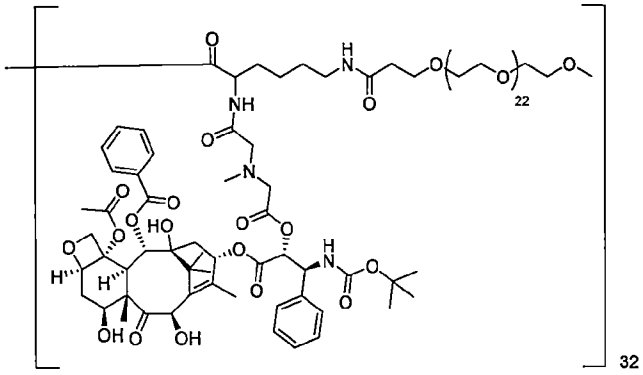
【0139】 將 **3o** (16.5 g, 以 6.47 mmol 計算) 溶於乙腈(90mL)中，加入三乙胺（7.86 g，77.64 mmol）和溴乙醇（9.7 g，77.64 mmol）。氮氣置換三次，加熱至 70 ℃反應過夜（約 16 h）。減壓除去溶劑，再加入 EA(120mL)和水（120mL），攪拌分液，水相用 EA(60mL×2)提取，合併有機相，用水（120mL）洗滌，飽和食鹽水（120mL）洗滌，乾燥，減壓

濃縮。所得殘餘物用矽膠管柱色譜法分離純化(DCM:CH_3OH=20:1-10:1)，得化合物 **3-TMS** 5.03 g，兩步收率 74.5 %，純度 95.9 %。

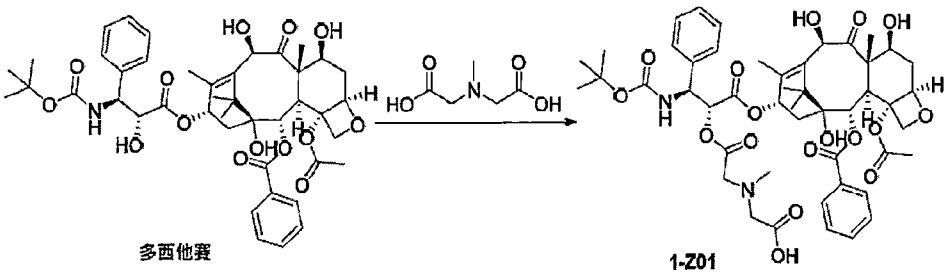
MS-ESI：m/z 1043.05 $[M+1]^+$。

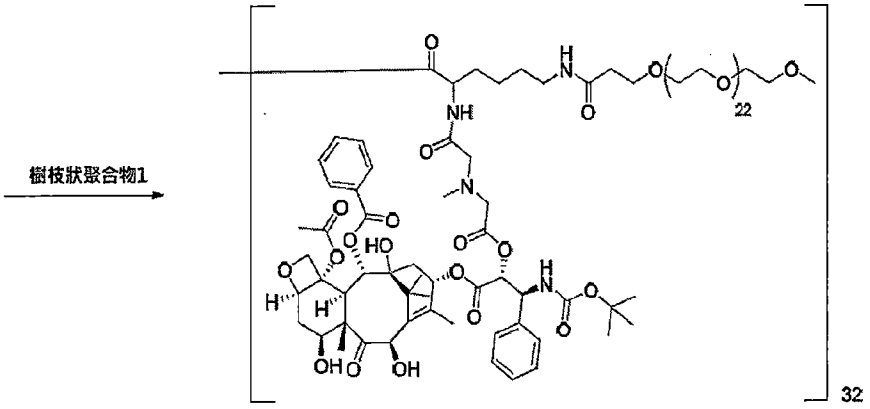
^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.29 (s, 1H), 8.05 (s, 1H), 7.74 (d, 2H), 7.55 (t, 1H), 7.43 – 7.33 (m, 3H), 7.29 (dd, 3H), 7.24 – 7.06 (m, 6H), 6.97 (d, 1H), 6.72 (d, 2H), 6.63 (d, 1H), 4.54 (d, 1H), 3.98 (s, 1H), 3.82 – 3.46 (m, 5H), 3.02 (d, 5H), 2.82 – 2.44 (m, 4H), 2.26 (dd, 1H), 2.07 (d, 1H), 1.90 (dd, 3H), 1.74 (d, 2H), 1.58 – 1.41 (m, 1H), 1.40 – 1.15 (m, 4H), -0.06 (s, 9H)。

【0140】 實施例 3：化合物 **1-Z00** 的製備



1-Z00





第一步

【0141】 在反應瓶中依次加入 DMF (4 mL)、甲基亞胺二乙酸 (218 mg，1.48 mmol)、DCC (245 mg，1.18 mmol)，冰水浴冷卻，加入多西他賽(400 mg，0.495 mmol)和 DMAP (60 mg，0.495 mmol)，室溫攪拌 1.5h。補加 DCC (102 mg，0.495 mmol)，繼續室溫攪拌 1 h。檢測反應完全，停止反應。過濾，濾餅用乙酸乙酯(15 mL)淋洗，濾液減壓濃縮除去乙酸乙酯，剩餘母液經 HPLC 製備純化得到 86 mg 化合物 **1-Z01**，收率：19%。

MS-ESI：m/z 937.4 $[M+H]^+$。

第二步

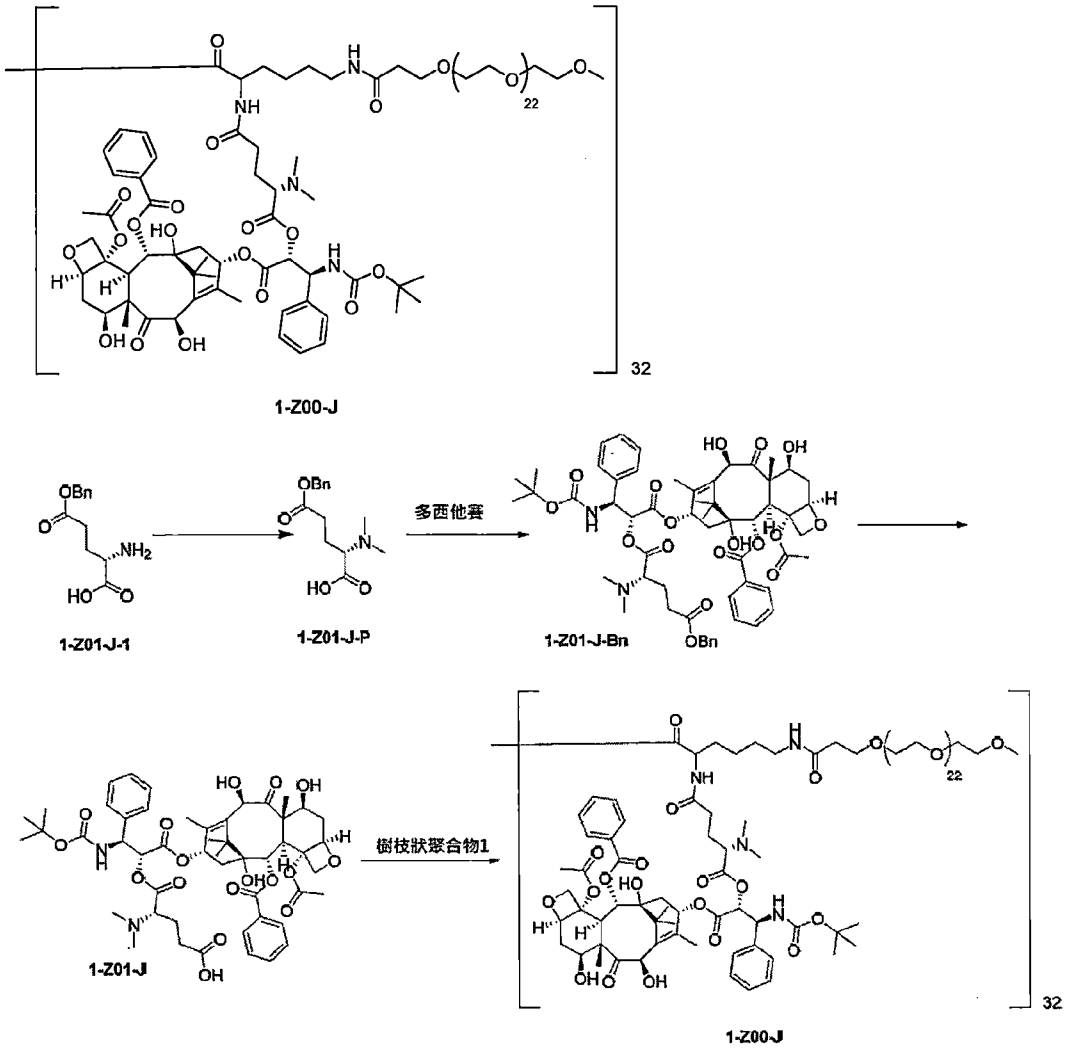
【0142】 在氮氣氛下，將 **1-Z01**（1.59 g，1.70 mmol）與 PyBOP（1.70 g，3.27 mmol）用無水 DMF（28.0 mL）溶解，攪拌均勻。然後將樹枝狀聚合物 **1**（2.00 g，4.25×10^{-2} mmol）與 DIPEA（0.42 g，3.27 mmol）的無水 DMF（28.0 mL）溶液滴加到上述反應液中，反應 2 小時。將反應液用乙腈（56.0 mL）稀釋後，藉由超濾（10KD，Hydrosart®）裝置，用乙

腈超濾純化，得到 2.70 g 粗品。用純水（150 mL）渦旋溶解，經濾膜（0.22 μm）過濾，凍乾後得到 2.40 g 化合物 **1-Z00**，收率 85 %。

【0143】 ^{1}H NMR 指示 25 DTX/樹狀物。實際的分子量大約為 66.4 kDa（30.39 %重量%DTX）。

^{1}H NMR（400 MHz，CD_3OD）δ（ppm）8.05-8.24 (m, 64 H), 7.11-7.78 (m, 272 H), 5.98-6.25 (m, 25 H), 5.55-5.71 (m, 29 H), 5.19-5.49 (m, 84 H), 4.93-5.07 (s, 47 H) , 4.10-4.64 (m, 162 H), 3.40-4.08 (m, 3200 H), 3.33-3.37 (S, 96 H), 3.02-3.23 (m, 126 H), 2.14-2.63 (m, 271 H), 0.99-2.10 (m, 1109 H)。

【0144】 實施例 4：化合物 **1-Z00-J** 的製備



第一步

【0145】 將化合物 **1-Z01-J-1**（7 g，29.5 mmol）溶於甲醇（150 mL）中，加入甲醛溶液（15 mL）和 $NaBH(AcO)_3$（63 g，295 mmol），室溫反應 1 小時。濃縮後經管柱層析色譜法純化得到 5.9 g 化合物 **1-Z01-J-P**，收率 75%。

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.36-7.32 (m, 5H), 5.09 (s, 2H), 3.12 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 2.5-2.44 (m, 2H), 2.38 (s, 6H), 1.87-1.84 (m, 2H)。MS-ESI: m/z 266.2 $[M+H]^+$。

第二步

【0146】 將化合物 **1-Z01-J-P**（1.44 g，5.45 mmol）和多西他賽（4 g，4.96 mmol）溶於二氯甲烷（50 mL）中，加入 EDCI（1.04 g，5.45 mmol）和 DMAP（665 mg，5.45 mmol），室溫攪拌過夜。加水淬滅，用二氯甲烷提取，濃縮後經管柱層析色譜法純化得到 5 g 化合物 **1-Z01-J-Bn**，收率 95%。

MS-ESI：m/z 1055.5 $[M+H]^+$。

第三步

【0147】 將化合物 **1-Z01-J-Bn**（5.75g，5.46 mmol）溶於四氫呋喃（60 mL）中，加入 Pd/C（600 mg，10 wt.%），置換氫氣三次，室溫反應過夜。過濾濃縮後經管柱層析色譜法純化得到 3.2 g 化合物 **1-Z01-J**，收率 57%。

MS-ESI：m/z 965.3 $[M+H]^+$。

第四步

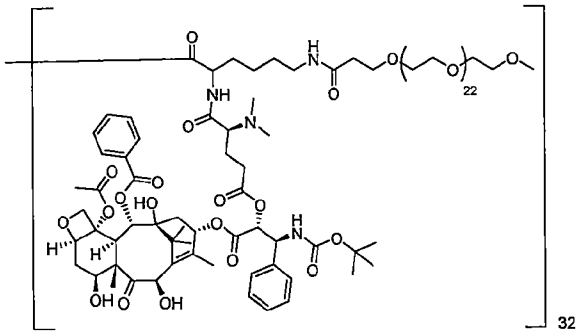
【0148】 氮氣氛下，將化合物 **1-Z01-J**（819 mg，849.5 μmol）與 PyBOP（853 mg，1640 μmol）溶於無水 *N,N*-二甲基甲醯胺（14 mL）中，

滴加化合物樹枝狀聚合物 **1**（1000 mg，21.24 μmol）與 DIPEA（212 mg，1640 μmol）的無水 *N,N*-二甲基甲醯胺（14 mL）溶液，反應 2 小時。將反應液用乙腈（28 mL）稀釋後，藉由超濾（10KD，Hydrosart®）裝置，用乙腈超濾純化，得到 1.42 g 粗品。用純水（100 mL）溶解，經濾膜（0.22 μm）過濾，凍乾後得到 1.42 g 化合物 **1-Z00-J**，收率 95 %。

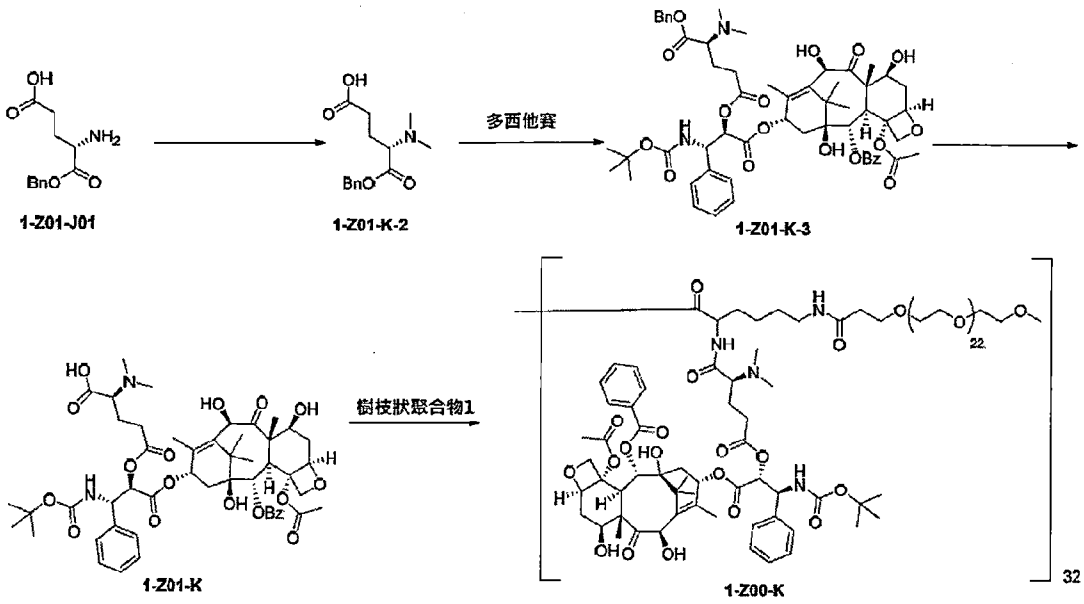
【0149】 ^{1}H NMR 指示 25 DTX/樹狀物。實際的分子量大約為 67.1 kDa（30.0 %重量% DTX）。

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.15-8.31 (m, 405H), 6.00-6.31 (m, 25H), 5.57-5.73 (m, 25H), 5.20-5.54 (m, 83H), 4.96-5.08 (m, 35H), 4.10-4.68 (m, 141H), 3.40-4.08 (m, 3200H), 3.33-3.37 (s, 103H), 3.07-3.24 (m, 92H), 2.14-2.69 (m, 260H), 1.00-2.10 (m, 1183H)。

【0150】 實施例 5：化合物 **1-Z00-K** 的製備



1-Z00-K



第一步

【0151】將化合物 **1-Z01-J01**（5.0 g, 21.09 mmol，吉爾生化（上海）有限公司）溶解在 MeOH（100 mL）中攪拌，隨後加入甲醛水溶液（37%wt，10 mL）。冰浴冷卻下，分批加入 $NaBH(AcO)_3$ (22.3 g，105.4 mmol)，加完後室溫反應 18 小時。檢測反應完畢，反應液減壓濃縮，所得殘餘物用管柱層析色譜法純化得 3.2 g 化合物 **1-Z01-K-2**，收率 57%。

MS-ESI：m/z 266.1 $[M+H]^+$。

^{1}H-NMR：(CDCl3，400 MHz) δ 7.36-7.27 (m, 5 H), 5.18 (dd, J_1=20.0 Hz, J_2= 12.0 Hz, 2 H)，3.42-3.36 (m, 2 H)，2.48-2.46 (m, 2 H), 2.45 (s, 6 H), 2.05-2.00 (m, 2 H)。

第二步

【0152】氮氣氛下，在反應瓶中加入化合物 **1-Z01-K-2**（1.0 g，1.23 mmol）和多西他賽（1.0 g，1.23 mmol）、EDCI（261 mg，1.36 mmol）及 DMAP（166 mg，1.36 mmol），加入無水 DMF（10 mL），室溫攪拌過夜。加入飽和碳酸氫鈉溶液和乙酸乙酯，有機相用飽和食鹽水洗滌，無

水硫酸鈉乾燥，過濾後減壓濃縮。所得殘餘物用管柱層析色譜法純化得1.021 g化合物**1-Z01-K-3**，收率71%。

MS-ESI：m/z 1055.4 $[M+H]^+$。

第三步

【0153】在反應瓶中加入原料**1-Z01-K-3**（1.0 g，0.947 mmol）和濕鈀碳（10%wt，200 mg），加入四氫呋喃（20 mL），氫氣置換3次，室溫反應18小時。反應混合物經矽藻土過濾，乙酸乙酯淋洗，濾液濃縮，真空乾燥得736 mg化合物**1-Z01-K**，收率80%。

MS-ESI：m/z 965.3 $[M+H]^+$。

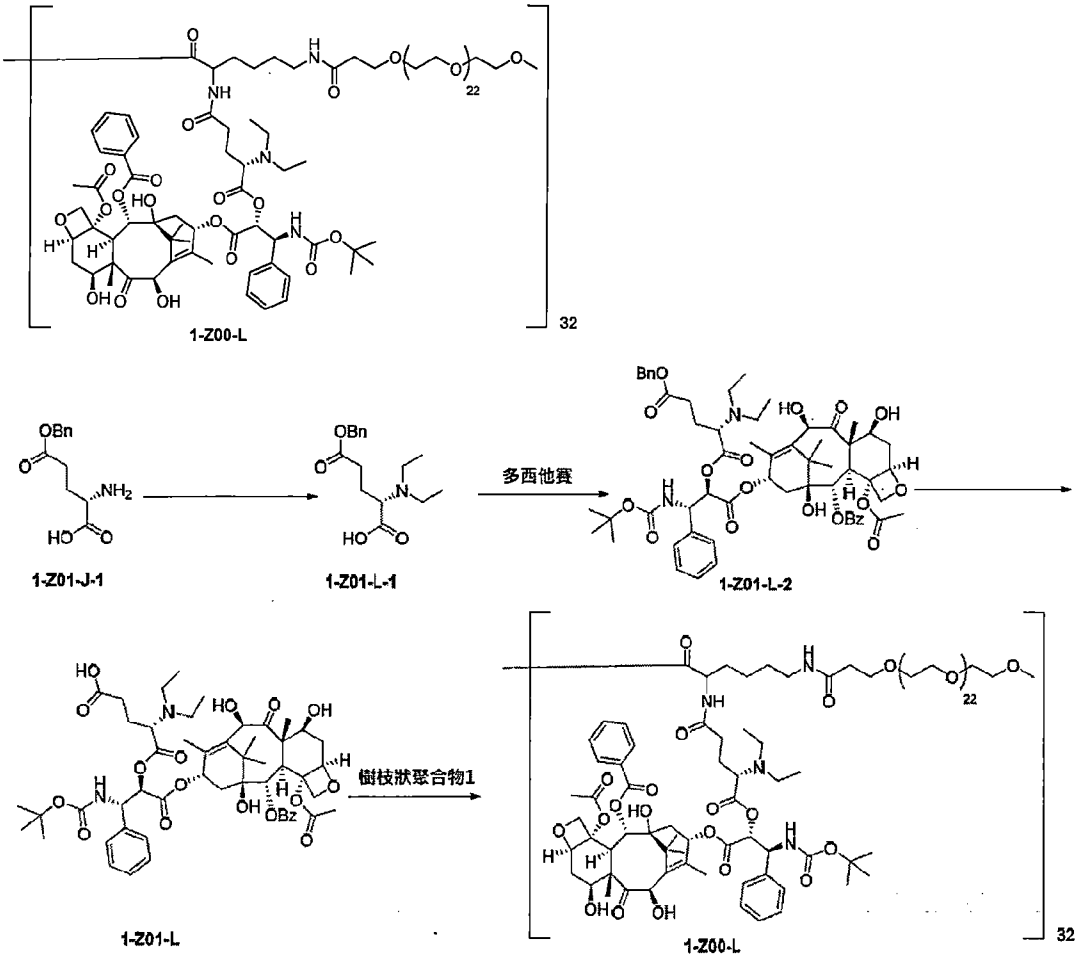
第四步

【0154】在氮氣氛下，將化合物**1-Z01-K**（162 mg，0.168 mmol）與PyBOP（168 mg，0.323 mmol）用無水DMF（6.0 mL）溶解攪拌均勻，然後將樹枝狀聚合物**1**（200 mg，4.2 x 10^{-3} mmol）與DIPEA（42 mg，0.323 mmol）的無水DMF（6.0 mL）溶液滴加到上述反應液中，反應2小時。將反應液用乙腈稀釋後，藉由超濾（10KD，Hydrosart®）裝置，用乙腈超濾純化，得到0.215 g粗品。用純水（50 mL）溶解，經濾膜（0.22 μm）過濾，凍乾後得到0.21 g化合物**1-Z00-K**，收率76 %。

【0155】^{1}H NMR 指示24 DTX/樹狀物。實際的分子量大約為66.1 kDa（29.30 %重量%DTX）。

^{1}H NMR（400 MHz，CD_3OD）δ（ppm）8.00-8.23 (m, 55 H), 7.11-7.78 (m, 239 H), 5.95-6.30 (m, 24 H), 5.51-5.75 (m, 24 H), 5.15-5.45 (m, 72 H), 4.93-5.07 (s, 19 H) , 4.10-4.64 (m, 157 H), 3.40-4.08 (m, 3200 H), 3.33-3.37 (s, 102 H), 2.93-3.23 (m, 167 H), 2.12-2.63 (m, 212 H), 0.99-2.10 (m, 1145 H)。

【0156】 實施例 6：化合物 **1-Z00-L** 的製備



第一步

【0157】 將化合物 **1-Z01-J-1**（1.0 g，4.2 mmol，上海畢得醫藥）溶解在 MeOH（20 mL）中攪拌，隨後加入乙醛水溶液（40%wt，2 mL），冰浴下加入 $NaBH(AcO)_3$ (4.472 g, 21.0 mmol)，室溫反應 20 小時。減壓濃縮，殘餘物用管柱層析色譜法純化得 733 mg 化合物 **1-Z01-L-1**，收率 59.6%。

MS-ESI：m/z 294.1 $[M+H]^+$。

^{1}H-NMR：（CDCl3，400 MHz）δ 7.35~7.28 (m, 5H)，5.10（dd, J_1=18 Hz, J_2= 12.4 Hz, 2H），4.15 (brs 1 H), 3.56（t, J=6.8 Hz 1H），3.27~3.22

（m, 2H），3.07-3.02 (m, 2H), 2.86~2.69 (m, 2H), 2.05 ~2.00 (m, 2H), 1.30 (t, *J*=7.6 Hz, 6H)。

第二步

【0158】 在反應瓶中加入化合物 1-Z01-L-1（399 mg，1.36 mmol）和多西他賽（1.0 g，1.23 mmol）、EDCI（261 mg，1.36 mmol）及 DMAP（166 mg，1.36 mmol），加入無水 DMF（10 mL），室溫攪拌過夜。加入飽和碳酸氫鈉溶液和乙酸乙酯，水相用乙酸乙酯萃取，合併有機相，飽和食鹽水洗滌，無水硫酸鈉乾燥，過濾，減壓濃縮，殘餘物用管柱層析色譜法純化得 798 mg 化合物 **1-Z01-L-2**，收率 54%。

MS-ESI：m/z 1083.4 $[M+H]^+$。

第三步

【0159】 在反應瓶中加入化合物 **1-Z01-L-2**（790 mg，0.729 mmol）和濕鈀碳（10% wt，158 mg），加入四氫呋喃（16 mL），氫氣置換 3 次，室溫攪拌反應 18 小時。反應混合物經矽藻土過濾，乙酸乙酯淋洗，濾液濃縮乾燥得 616 mg 化合物 **1-Z01-L**，收率 85%。

MS-ESI：m/z 993.4 $[M+H]^+$。

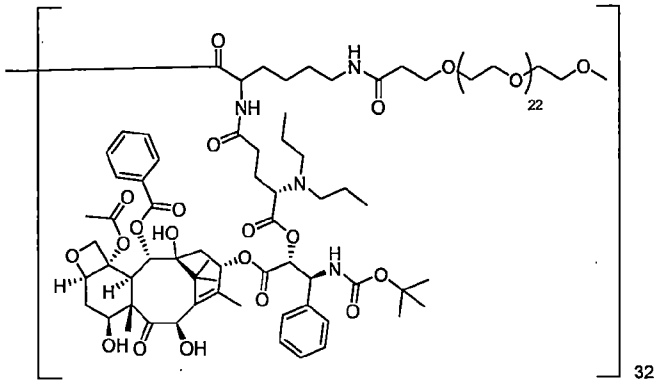
第四步

【0160】 在氮氣氛下，將化合物 **1-Z01-L**（530 mg，0.53 mmol）與 PyBOP（537 mg，1.03 mmol）用無水 DMF（9.0 mL）溶解，攪拌均勻，然後將樹枝狀聚合物 **1**（629 mg，13.4 x 10^{-3} mmol）與 DIPEA（133 mg，1.03 mmol）的無水 DMF（9.0 mL）溶液滴加到上述反應液中，反應 2 小時。將反應液用乙腈稀釋後，藉由超濾（10KD，Hydrosart®）裝置，用乙腈超濾純化，得到 0.66 g 粗品，用純水（100 mL）溶解，經濾膜（0.22 μm）過濾，凍乾後得到 0.65 g 化合物 **1-Z00-L**，收率 71 %。

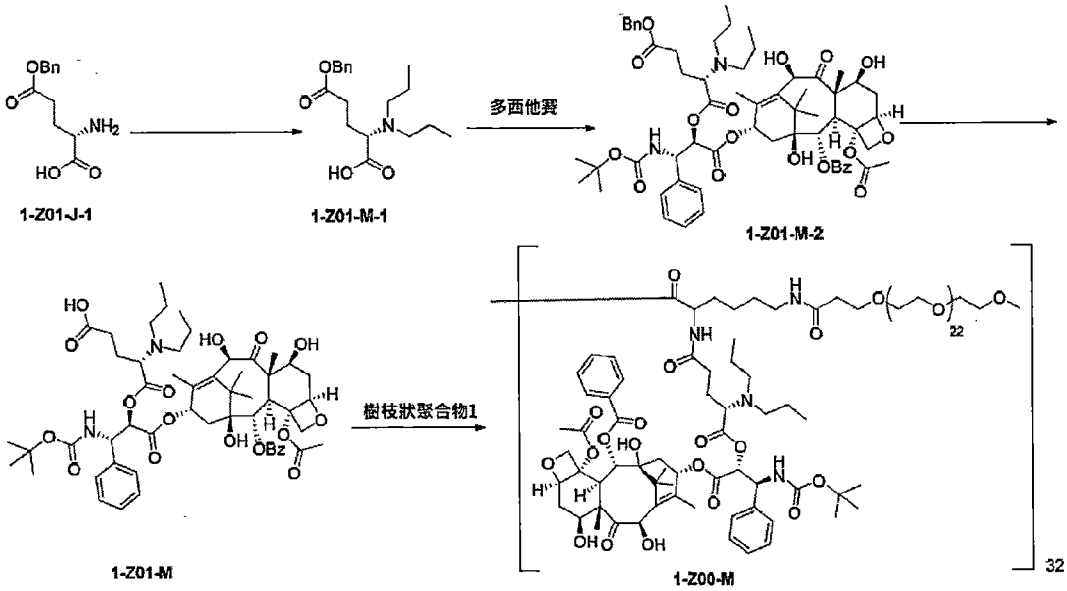
【0161】 ^{1}H NMR 指示 26 DTX/樹狀物。實際的分子量大約為 68.8 kDa（30.51 %重量%DTX）。

^{1}H NMR（400 MHz，CD_3OD）δ（ppm）7.20-8.25 (m, 288 H), 5.98-6.30 (m, 26 H), 5.52-5.78 (m, 28 H), 5.15-5.45 (m, 84 H), 4.92-5.08 (s, 31 H) , 4.10-4.64 (m, 212 H), 3.40-4.08 (m, 3200 H), 3.33-3.37 (S, 102 H), 2.93-3.23 (m, 172 H), 2.12-2.63 (m, 262 H), 0.99-2.10 (m, 1186 H)。

【0162】 實施例 7：化合物 **1-Z00-M** 的製備



1-Z00-M



第一步

【0163】 將化合物 **1-Z01-J-1**（5.1 g，21.496 mmol，上海畢得醫藥）溶解在 MeOH（100 mL）中攪拌，隨後加入丙醛（6.3 g，108.47 mmol），冰浴冷卻加入 $NaBH(AcO)_3$(22.9 g，108.02mmol)，加完後室溫反應 20 小

時。反應液減壓濃縮除去甲醇，殘餘物加水攪拌，過濾不溶物，濾液用管柱層析色譜法純化得 4.85 g 化合物 **1-Z01-M-1**，收率：68.7%。

MS-ESI：m/z 322.2$[M+H]^+$。

^{1}H-NMR ($CDCl_3$，400 MHz) δ 7.37-7.26 (m, 5 H)，5.12 (s, 2 H)，3.53 (brs 1 H), 3.04-2.72 (m, 7 H), 2.09-1.98 (m, 2 H), 1.79-1.67 (m, 4 H), 0.97-0.93 (m, 6 H)。

第二步

【0164】 氮氣氛下，在反應瓶中加入化合物 **1-Z01-M-1**（367 mg，1.1 mmol）和多西他賽（801 g，0.991 mmol）、EDCI（212 mg，1.1 mmol）及 DMAP（136 mg，1.1 mmol），加入無水 DMF（10 mL），室溫攪拌過夜。加入飽和碳酸氫鈉溶液和乙酸乙酯，水相用乙酸乙酯萃取，合併有機相，飽和食鹽水洗滌，無水硫酸鈉乾燥，過濾，濾液減壓濃縮，殘餘物用管柱層析色譜法純化得 732 mg 化合物 **1-Z01-M-2**，收率 66%。

MS-ESI：m/z 1111.4 $[M+H]^+$。

第三步

【0165】 在反應瓶中加入化合物 **1-Z01-M-2**（732 mg，0.658mmol）和濕鈀碳（10% wt，133 mg），加入四氫呋喃（18 mL）。氫氣置換 3 次，室溫攪拌反應 18 小時。反應混合物經矽藻土過濾，乙酸乙酯淋洗，濾液減壓濃縮，得 669mg 化合物 **1-Z01-M**，收率 99%。

MS-ESI：m/z 1021.4 $[M+H]^+$。

第四步

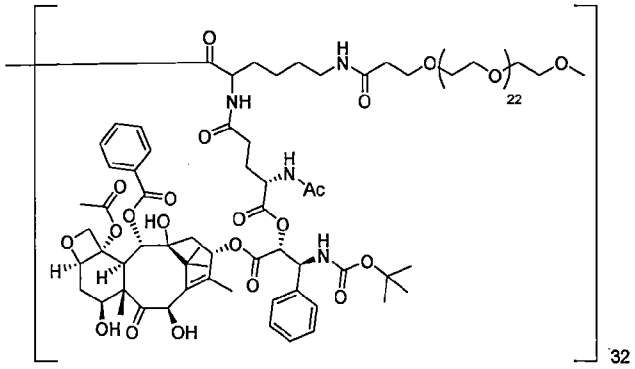
【0166】 在氮氣氛下，將化合物 **1-Z01-M**（500 mg，0.49 mmol）與 PyBOP（490 mg，0.943 mmol）用無水 DMF（7.5 mL）溶解攪拌均勻，然後將樹枝狀聚合物 **1**（543 mg，12.25 x 10^{-3} mmol）與 DIPEA（122 mg，

0.943 mmol）的無水 DMF（7.5 mL）溶液滴加到上述反應液中，反應 2 小時。將反應液用乙腈稀釋後，藉由超濾（10KD，Hydrosart®）裝置，用乙腈超濾純化，得到 0.64 g 粗品，用純水（100 mL）溶解，經濾膜（0.22 μm）過濾，凍乾後得到 0.63 g 化合物 **1-Z00-M**，收率 83 %。

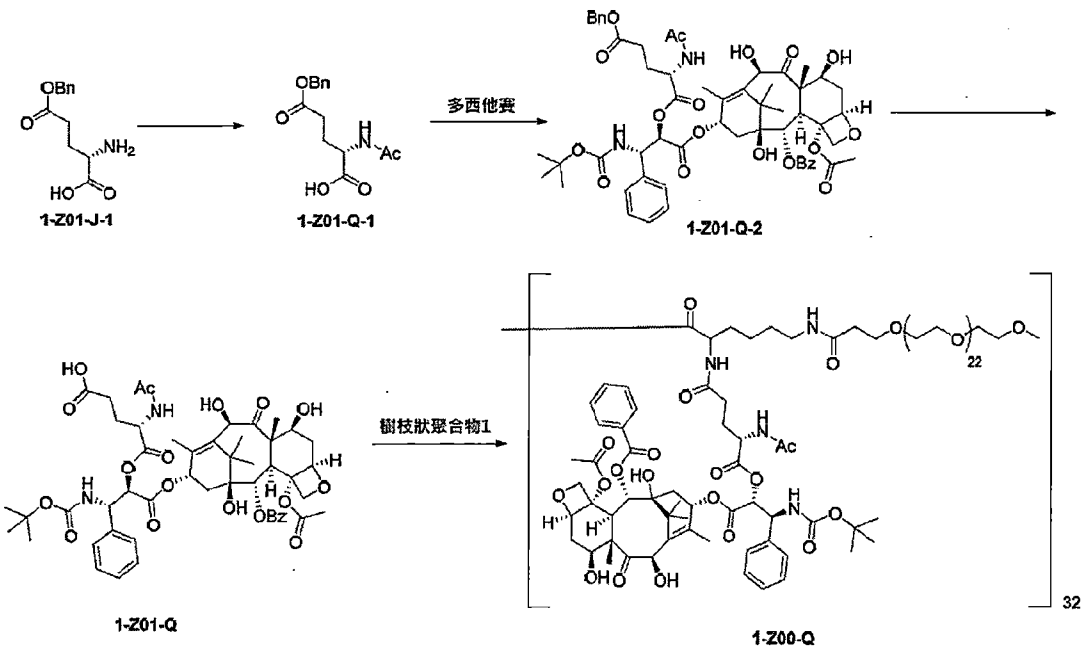
【0167】 ^{1}H NMR 指示 21 DTX/樹狀物。實際的分子量大約為 61.7 kDa（27.4 %重量%DTX）。

^{1}H NMR（400 MHz，CD_3OD）δ（ppm）8.00-8.22 (m, 45 H), 7.09-7.81 (m, 198 H), 5.95-6.30 (m, 21 H), 5.51-5.75 (m, 20 H), 5.13-5.45 (m, 62 H), 4.93-5.07 (s, 17 H) , 4.10-4.64 (m, 175 H), 3.40-4.08 (m, 3000 H), 3.33-3.37 (S, 91 H), 2.93-3.23 (m, 127 H), 2.12-2.63 (m, 217H), 0.79-2.10 (m, 1396 H)。

【0168】 實施例 8：化合物 **1-Z00-Q** 的製備



1-Z00-Q



第一步

【0169】將化合物 **1-Z01-J-1**（5 g，21.1 mmol，上海畢得醫藥）溶解到 DCM（50 mL）中，氮氣氛下，加入三乙胺（6.41 g, 63.3mmol），冰水浴冷卻，滴加乙酸酐（2.37 g，23.2 mmol），室溫反應過夜。反應液用水洗滌，合併水相，冰水浴下，用濃鹽酸調節 pH 為 1。用乙酸乙酯萃取三次，合併有機相，無水硫酸鈉乾燥，過濾，濃縮得 5.8 g 白色固體。加入乙酸乙酯和石油醚混合溶液打漿過夜，過濾得 4.9 g 化合物 **1-Z01-Q-1**，收率：83%。直接用於下步。

MS-ESI：m/z 280.2 $[M+H]^+$。

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.62 (br, 1 H), 8.14 (d, J = 8 Hz, 1 H), 7.40-7.31 (m, 5 H), 5.09 (s, 2 H), 4.24-4.18 (m, 1 H), 2.48-2.38 (m, 2 H), 2.05-2.00 (m, 1 H), 1.98-1.77 (m, 1 H), 1.97 (s, 3 H)。

第二步

【0170】將化合物 **1-Z01-Q-1**(377 mg，1.350mmol)、多西他賽 (1 g，1.239 mmol)和 DMAP(166 mg，1.363 mmol)稱入反應瓶中，氮氣氛下，

冰水浴下加入乾燥 DMF(10 ml)和 EDCI(261 mg，1.363 mmol)，加完後室溫反應過夜。反應液加入乙酸乙酯，有機相依次用飽和碳酸氫鈉溶液和飽和 NaCl 溶液洗滌，無水硫酸鈉乾燥，過濾，濃縮，殘餘物用管柱層析色譜法純化得 805 mg 化合物 **1-Z01-Q-2**，收率：60.8%。

MS-ESI：m/z 1069.5 $[M+H]^+$。

第三步

【0171】 將化合物 **1-Z01-Q-2** (1.1 g，1.029mmol)溶解入 THF (20 mL)中，加入濕鈀碳（10%wt，220 mg），氫氣置換三次，然後在室溫氫氣氛下攪拌過夜。反應混合物經矽藻土過濾，濾液減壓濃縮，真空乾燥得 962 mg 化合物 **1-Z01-Q**，收率：95.5%。

MS-ESI：m/z 979.4 $[M+H]^+$。

第四步

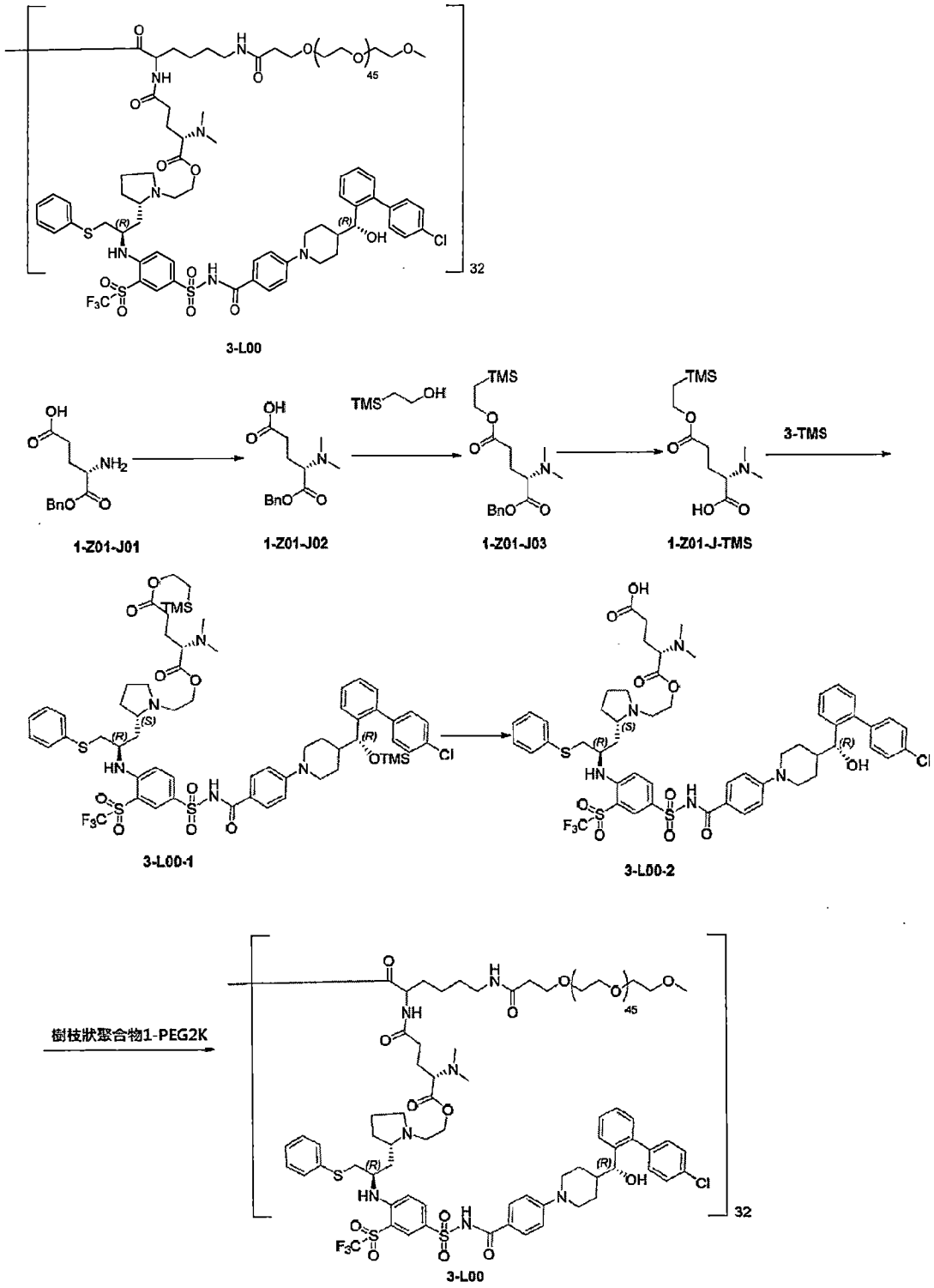
【0172】 在氮氣氛下，將化合物 **1-Z01-Q**（500 mg，0.511 mmol）與 PyBOP（513 mg，0.986 mmol）用無水 DMF（7.9 mL）溶解攪拌均勻，然後將樹枝狀聚合物 **1**（567 mg，12.8 x 10^{-3} mmol）與 DIPEA（127 mg，0.986mol）的無水 DMF（7.9 mL）溶液滴加到上述反應液中，反應 2 小時。將反應液用乙腈稀釋後，藉由超濾（10KD，Hydrosart®）裝置，用乙腈超濾純化，得到 0.625 g 粗品，用純水（100 mL）溶解，經濾膜（0.22 μm）過濾，凍乾後得到 0.62 g 化合物 **1-Z00-Q**，收率 74 %。

【0173】 ^1H NMR 指示 26 DTX/樹狀物。實際的分子量大約為 65.7 kDa（31.96 %重量%DTX）。

^1H NMR（400 MHz，CD_3OD）δ 8.00-8.22 (m, 55 H), 7.09-7.81 (m, 253 H), 5.95-6.31 (m, 26 H), 5.51-5.77 (m, 28 H), 5.13-5.45 (m, 91H), 4.92-5.08 (s, 41 H) , 4.10-4.64 (m, 225 H), 3.40-4.08 (m, 3000 H), 3.33-

3.37 (s, 91 H), 2.93-3.23 (m, 102 H), 2.12-2.63 (m, 310 H), 0.96-2.10 (m, 1119 H)。

【0174】 實施例 9：化合物 **3-L00** 的製備



第一步

【0175】將化合物 **1-Z01-J01**（5.0 g，18.3 mmol）溶於甲醇（100 mL），冷卻至 0 ℃，加入甲醛水溶液（10 mL，40 wt.%）和 $NaBH(OAc)_3$（20.0 g，91.6 mmol），室溫反應過夜。濃縮後經管柱層析色譜法純化，得 3.4 g 化合物 **1-Z01-J02**，收率：61%。

MS-ESI：m/z 266.1 $[M+H]^+$。

第二步

【0176】將化合物 **1-Z01-J02**（3.4 g，12.8mmol）、三甲基矽乙醇（3.0 g，26.0 mmol）、DMAP（780 mg，6.4 mmol）和 *N,N*-二異丙基乙胺（6.6 g，51.2 mmol）溶於無水四氫呋喃（30 mL）中。冷卻至 0 ℃，加入 HATU（6.3 g，16.6 mmol），室溫反應 16 小時。加水（50 mL）淬滅，乙酸乙酯萃取（50 mL×3），濃縮後經管柱層析色譜法純化得 4.0 g 化合物 **1-Z01-J03**，收率：85%。

MS-ESI：m/z 366.2 $[M+H]^+$。

第三步

【0177】將化合物 **1-Z01-J03**（4.0 g，10.9mmol）溶於無水四氫呋喃（40 mL），加入 Pd/C（200 mg，10 wt.%），氫氣置換三次，室溫反應 16 小時。過濾濃縮後得 3.6 g 粗品，加入無水四氫呋喃（30 mL）打漿 30 分鐘，過濾得到 1.6 g 化合物 **1-Z01-J-TMS**，收率：45%。

MS-ESI：m/z 276.1 $[M+H]^+$。

^1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 4.14-4.18 (m, 2H), 3.44-3.47 (m, 1H), 2.87(s, 6H), 2.66-2.70 (m,2H), 2.03-2.12 (m, 2H), 0.96-0.99 (m,2H), 0.04 (s, 9H)。

第四步

【0178】將化合物 **1-Z01-J-TMS**（118 mg，0.431mmol）、3-TMS（300 mg，0.287mmol）和 DMAP（17.5 mg，0.216 mmol）溶於無水二氯甲烷（10 mL），加入 DCC（88.8 mg，0.431 mmol），室溫反應 16 小時。過濾濃縮後經管柱層析色譜法純化得 373 mg 化合物 **3-L00-1**，收率：98%。

MS-ESI: m/z 650.8 $[1/2M+H]^+$。

第五步

【0179】將化合物 **3-L00-1**（373 mg，0.288mmol）溶於無水四氫呋喃（3 mL），加入 TBAF（2.9 mL，2.88 mmol，1.0 mol/L THF 溶液），室溫反應 2 小時。加水（10 mL）淬滅，乙酸乙酯萃取（10 mL×3），濃縮後經管柱層析色譜法純化得 238 mg 化合物 **3-L00-2**，收率：73%。

MS-ESI：m/z 564.5 $[1/2M+H]^+$。

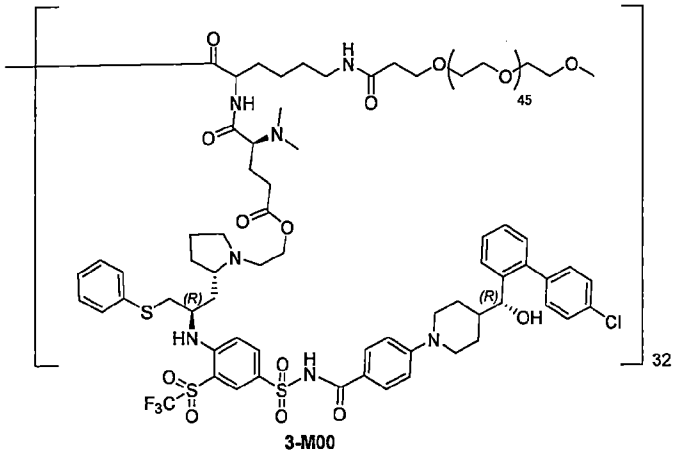
第六步

【0180】氮氣氛下，將化合物 **3-L00-2**（0.390 g，0.346 mmol）與 PyBOP（0.216 g，0.415 mmol）溶於無水 *N,N*-二甲基甲醯胺（5.4 mL），滴加樹枝狀聚合物 1-PEG2K（0.535 g，6.92μmol，根據文獻 Journal of Controlled Release, 2011, *152*, 241 - 248 合成）與 NMM（0.139 g，1.38 mmol）的無水 *N,N*-二甲基甲醯胺（5.4 mL）溶液，室溫反應 2 小時。將反應液用乙腈（11 mL）稀釋後，藉由超濾（10KD，Hydrosart®）裝置，用乙腈（0.55 L，25 V）超濾純化，得到 0.625 g 粗品。用純水溶解，經濾膜（0.22 μm）過濾，凍乾後得到 0.62 g 化合物 **3-L00**，收率：89 %。

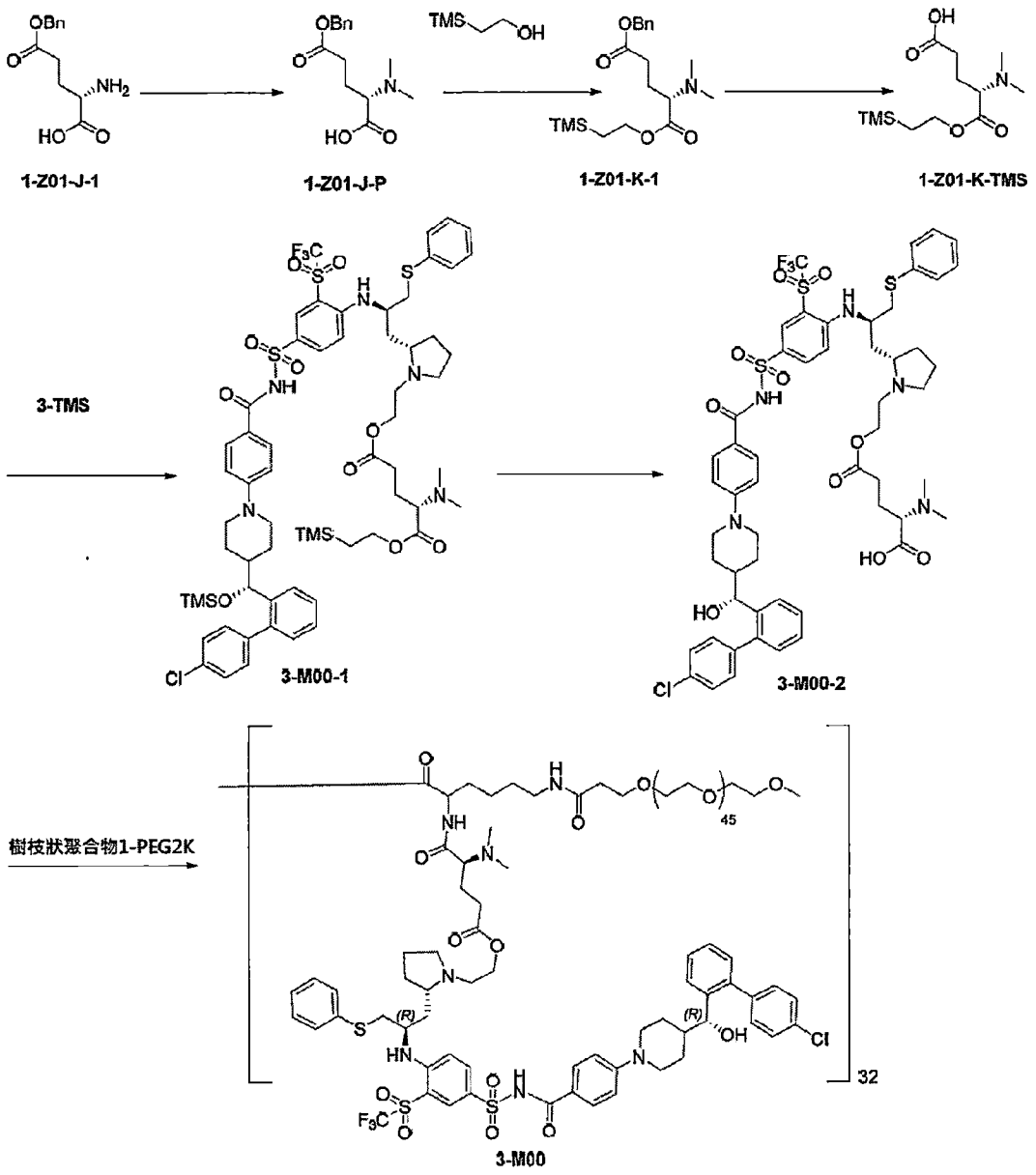
【0181】^{1}H NMR 指示 24 個藥物分子/樹狀物。實際的分子量大約為 100.2 kDa（23.22 %重量%化合物 3）。

^{1}H NMR (400 MHz,CD_3OD) δ6.40-8.51 (m, 498H),4.19-4.68 (m, 111H), 3.40-4.10 (m, 5900H), 3.33-3.36 (s, 106H), 2.79-3.20 (m, 112H), 2.22-2.74 (m, 246H), 0.61-1.92 (m, 643H)。

【0182】 實施例 10：化合物 **3-M00** 的製備



3-M00



第一步

【0183】將化合物 **1-Z01-J-1**（7 g，29.5 mmol）溶於甲醇（150 mL），加入甲醛水溶液（15 mL，40 wt.%）和 $NaBH(OAc)_3$（63 g, 295 mmol），室溫反應 1 小時。濃縮後經管柱層析色譜法純化得 5.9 g 化合物 **1-Z01-J-P**，收率：75%。

MS-ESI：m/z 266.2 $[M+H]^+$。

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.36-7.32 (m, 5H), 5.09 (s, 2H), 3.12 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 2.5-2.44 (m, 2H), 2.38 (s, 6H), 1.87-1.84 (m, 2H)。

第二步

【0184】 將化合物 **1-Z01-J-P**（4.2 g，15.8 mmol）、三甲基矽乙醇（2.24 g，19 mmol）、DMAP（0.193 g，1.58 mmol）和 *N,N*-二異丙基乙胺（6.1 g，47.5 mmol）溶於二氯甲烷（42 mL），冷卻至 0 ℃，加入 HATU（7.2 g，19 mmol），室溫反應 16 小時。加入飽和碳酸氫鈉溶液（150 mL）淬滅，二氯甲烷萃取（50 mL×3），濃縮後經管柱層析色譜法純化得 4.9 g 化合物 **1-Z01-K-1**，收率 86%。

MS-ESI：m/z 366.2 $[M+H]^+$。

第三步

【0185】 氮氣氛下，將化合物 **1-Z01-K-1**（900 mg，2.46 mmol）溶於四氫呋喃（18 mL），加入 Pd/C（180 mg，10 wt.%），氫氣置換三次，室溫反應 16 小時。過濾濃縮得 670 mg 化合物 **1-Z01-K-TMS**，收率：99%。

MS-ESI：m/z 276.1 $[M+H]^+$。

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4.22 (dd, J=10.0 Hz, J=8.4 Hz, 2H), 3.39 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 2.65-2.58 (m, 1H), 2.49 (s, 6H), 2.47-2.39 (m, 1H), 2.02 (dd, J=12.8 Hz, J=6.8 Hz, 2H), 1.04-1.00 (m,2H), 0.04 (s, 9H)。

第四步

【0186】 氮氣氛下，將化合物 3-TMS（800 mg，0.767 mmol）、**1-Z01-K-TMS**（316 mg，0.767 mmol）和 DMAP（46 mg，0.383 mmol）溶於二氯甲烷（16 mL），冷卻至 0 ℃，加入 DCC（237 mg，1.15 mmol），

室溫反應 18 小時。過濾濃縮後經管柱層析色譜法純化得 1.036 g 化合物 **3-M00-1**，收率：100%。

MS-ESI：m/z 650.8 $[1/2M+H]^+$。

第五步

【0187】 氮氣氛下，將化合物 **3-M00-1**（1.0 g，0.768 mmol）溶於四氫呋喃（10 mL），冷卻至 0 ℃，加 TBAF（7.7 mL，7.68 mmol，1.0 mol/L THF 溶液），室溫反應 1 小時。加水（30 mL）淬滅，乙酸乙酯萃取（50 mL×3），濃縮後經管柱層析色譜法純化得 670 mg 化合物 **3-M00-2**，收率：77%。

MS-ESI：m/z 1128.3 $[M+H]^+$。

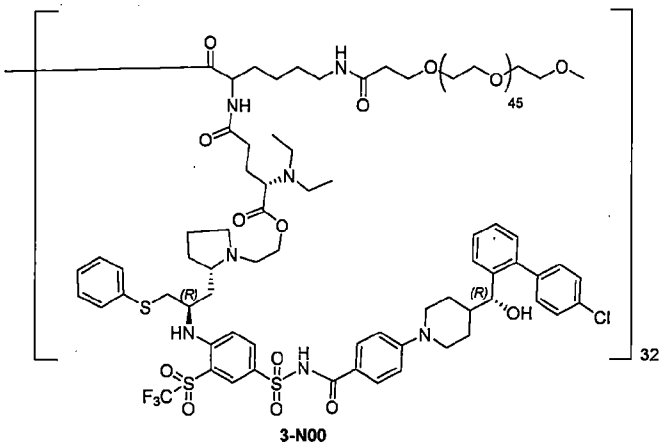
第六步

【0188】 氮氣氛下，將化合物 **3-M00-2**（0.400 g，0.355 mmol）與 PyBOP（0.222 g，0.426 mmol）溶於無水 *N,N*-二甲基甲醯胺（5.6 mL），滴加樹枝狀聚合物 1-PEG2K（0.548 g，7.10μmol）與 NMM（0.144 g，1.42 mmol）的無水 *N,N*-二甲基甲醯胺（5.6 mL）溶液，室溫反應 2 小時。將反應液用乙腈（11 mL）稀釋後，藉由超濾（10KD，Hydrosart®）裝置，用乙腈（0.55L，25 V）超濾純化，得到 0.614 g 粗品。用純水溶解，經濾膜（0.22 μm）過濾，凍乾後得到 0.61 g 化合物 **3-M00**，收率：88 %。

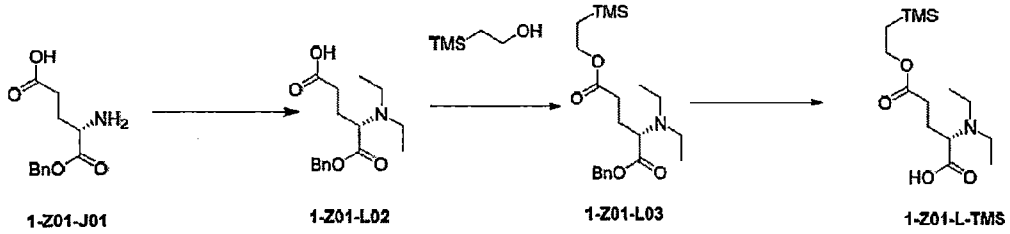
【0189】 ^{1}H NMR 指示 22 個藥物分子/樹狀物。實際的分子量大約為 98.0 kDa（21.77 %重量%化合物 3）。

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ6.40-8.52 (m, 440H)，4.13-4.70 (m, 137H), 3.40-4.10 (m, 5900H), 3.33-3.36 (s, 109H), 2.79-3.25 (m, 99H), 2.22-2.74 (m, 246H), 0.61-1.92 (m, 622H)。

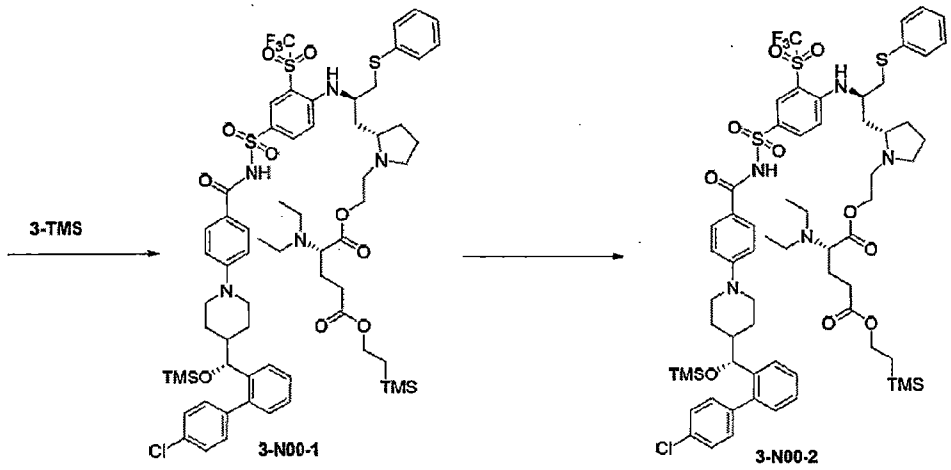
【0190】 實施例 11：化合物 **3-N00** 的製備



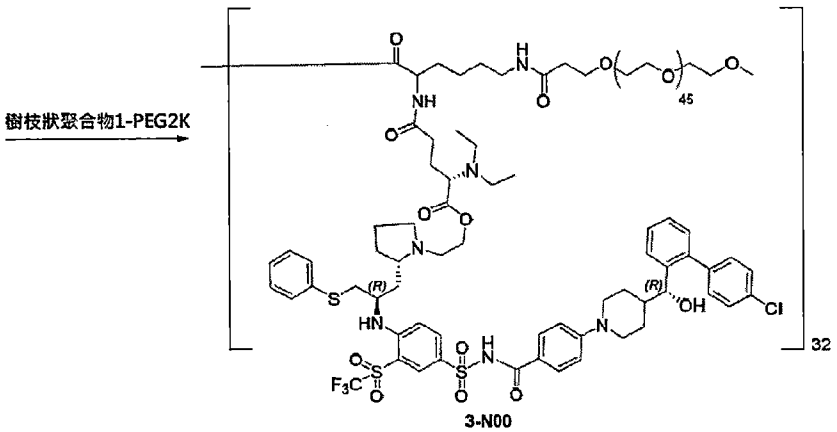
3-N00



1-Z01-J01　1-Z01-L02　1-Z01-L03　1-Z01-L-TMS



3-TMS　3-N00-1　3-N00-2



樹枝狀聚合物1-PEG2K

3-N00

第一步

【0191】將化合物 **1-Z01-J01**（10.0 g，36.6mmol）溶於甲醇（200 mL），冷卻至 0 ℃，加入乙醛水溶液（20 mL，40 wt.%），再加入 $NaBH(OAc)_3$（40.0 g，183.2 mmol），室溫反應過夜。濃縮後經管柱層析色譜法純化得 5.4 g 化合物 **1-Z01-L02**，收率：50.4%。

MS-ESI：m/z 294.1 $[M+H]^+$。

第二步

【0192】將化合物 **1-Z01-L02**（500 mg，1.7mmol）、三甲基矽乙醇（404 mg，3.4 mmol）、DMAP（104 mg，0.85 mmol）和 *N,N*-二異丙基乙胺（658 mg，5.1 mmol）溶於無水四氫呋喃（10 mL），冷卻至 0 ℃，加入 HATU（840 mg，2.2 mmol），室溫反應 16 小時。加水（20 mL）淬滅，乙酸乙酯萃取（20 mL×3），濃縮後經管柱層析色譜法純化得 476 mg 化合物 **1-Z01-L03**，收率：71%。

MS-ESI：m/z 394.2 $[M+H]^+$。

第三步

【0193】將化合物 **1-Z01-L03**（476 mg，1.2 mmol）溶於無水四氫呋喃（10 mL），加入 Pd/C（50 mg，10 wt.%），氫氣置換三次，室溫反應 16 小時。過濾濃縮後得 366 mg 化合物 **1-Z01-L-TMS**，收率：100%。

MS-ESI：m/z 304.2 $[M+H]^+$。

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 4.14-4.18 (m, 2H), 3.58-3.60 (m, 1H), 3.26-3.30 (m, 2H), 3.06-3.13 (m, 2H), 2.66-2.77 (m,2H), 2.00-2.06 (m, 2H), 1.33-1.38 (m,6H),0.94-0.99 (m,2H),0.04 (s, 9H)。

第四步

【0194】將化合物 **1-Z01-L-TMS**（366 mg，1.21mmol）、3-TMS（800 mg，0.767mmol）和 DMAP（47.0 mg，0.38 mmol）溶於無水二氯甲烷（25

mL），加入 DCC（246.0 mg，1.2 mmol），室溫反應 16 小時。過濾濃縮後經管柱層析色譜法純化得 1.0 g 化合物 **3-N00-1**，收率：98%。

MS-ESI：m/z 664.8 $[1/2M+H]^+$。

第五步

【0195】 將化合物 **3-N00-1**（1.0g，0.75mmol）溶於無水四氫呋喃（10 mL），加入 TBAF（7.5 mL，7.5 mmol，1.0 mol/L THF 溶液），室溫反應 2 小時。加水（20 mL）淬滅，乙酸乙酯萃取（50 mL×3），濃縮後經管柱層析色譜法純化得 740 mg 化合物 **3-N00-2**，收率：85%。

MS-ESI：m/z 578.7 $[1/2M+H]^+$。

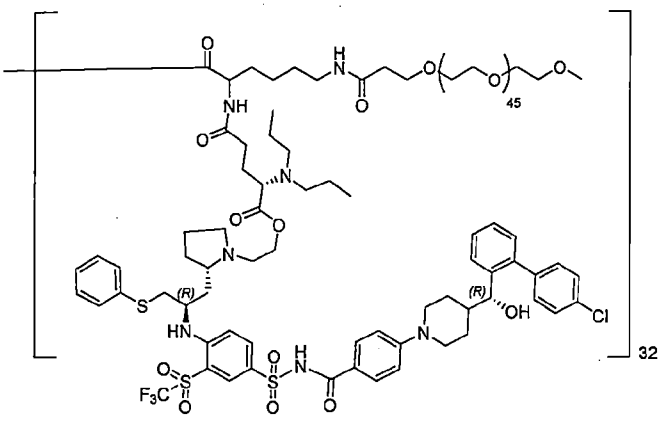
第六步

【0196】 氮氣氛下，將化合物 **3-N00-2**（0.400 g，0.346 mmol）與 PyBOP（0.215 g，0.414 mmol）溶於無水 *N,N*-二甲基甲醯胺（5.6 mL），滴加化合物樹枝狀聚合物 1-PEG2K（0.535 g，6.90μmol）與 NMM（0.139 g，1.38 mmol）的無水 *N,N*-二甲基甲醯胺（5.6 mL）溶液，室溫反應 2 小時。將反應液用乙腈（11 mL）稀釋後，藉由超濾（10KD，Hydrosart®）裝置，用乙腈（0.56L，25 V）超濾純化，得到 0.631 g 粗品。用純水溶解，經濾膜（0.22 μm）過濾，凍乾後得到 0.625 g 化合物 **3-N00**，收率：91 %。

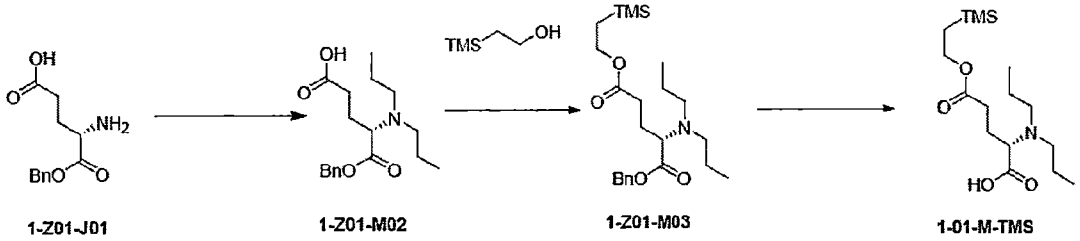
【0197】 ^{1}H NMR 指示 23 個藥物分子/樹狀物。實際的分子量大約為 99.8 kDa（22.36 %重量%化合物 3）。

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ6.40-8.52 (m, 477H)，4.19-4.68 (m, 184H), 3.40-4.10 (m, 5900H), 3.33-3.36 (s, 108H), 2.79-3.20 (m, 101H), 2.22-2.74 (m, 158H), 0.61-1.92 (m, 726H)。

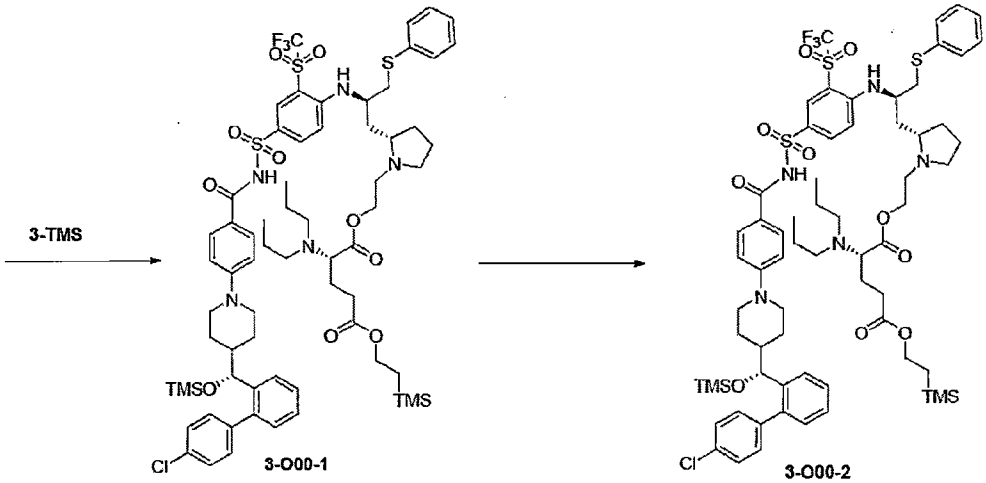
【0198】 實施例 12：化合物 **3-O00** 的製備



3-O00

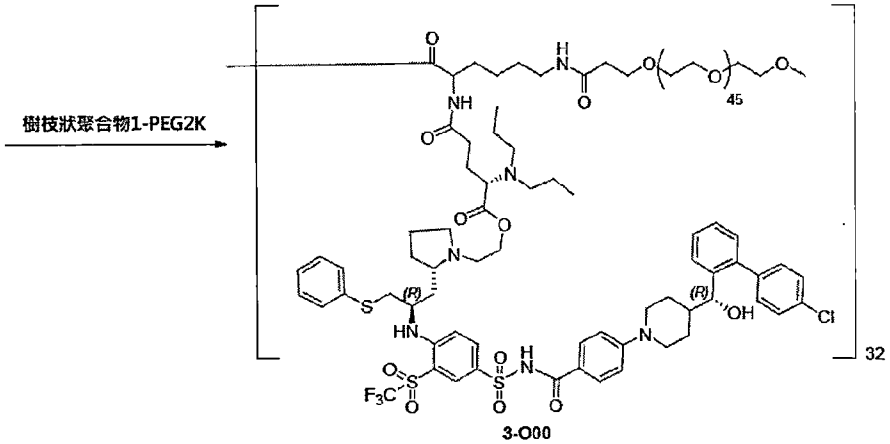


1-Z01-J01　　1-Z01-M02　　1-Z01-M03　　1-01-M-TMS



3-TMS

3-O00-1　　3-O00-2



樹枝狀聚合物1-PEG2K

3-O00

第一步

【0199】 將化合物 **1-Z01-J01**（5.0 g，21.1mmol）溶於甲醇（100 mL），冷卻至 0 ℃，加入丙醛（6.1 g，105.0mmol）和 $NaBH(OAc)_3$（31.1 g，105.0 mmol），室溫反應過夜。濃縮後經管柱層析色譜法純化得 5.0 g 化合物 **1-Z01-M02**，收率：74%。

MS-ESI：m/z 322.1 $[M+H]^+$。

第二步

【0200】 將化合物 **1-Z01-M02**（890 mg，2.8mmol）、三甲基矽乙醇（393.3 mg，3.3 mmol）、DMAP（33.8 mg，0.3 mmol）和 *N,N*-二異丙基乙胺（1.1 g，9.3 mmol）溶於無水二氯甲烷（20 mL），冷卻至 0 ℃，加入 HATU（1.3 g，3.3 mmol），室溫反應 16 小時。加水（40 mL）淬滅，乙酸乙酯萃取（20 mL×3），濃縮後經管柱層析色譜法純化得 1g 化合物 **1-Z01-M03**，收率：86%。

MS-ESI：m/z 422.2 $[M+H]^+$。

第三步

【0201】 將化合物 **1-Z01-M03**（1g，2.4 mmol）溶於無水四氫呋喃（30 mL），加入 Pd/C（200 mg，10 wt.%），氫氣置換三次，室溫反應 16 小時。過濾濃縮後得 766 mg 化合物 **1-Z01-M-TMS**，收率：100%。

MS-ESI：m/z 332.2 $[M+H]^+$。

^1H NMR (400 MHz,$CDCl_3$) δ 4.10-4.14 (m, 2H), 3.50-3.53 (m, 1H), 2.84-3.04 (m, 4H), 2.63-2.69 (m,2H), 1.95-2.01 (m, 2H), 1.69-1.77 (m,4H), 0.90-0.96 (m,8H), 0.04 (s, 9H)。

第四步

【0202】 將化合物 **1-Z01-M-TMS**（381.7 mg，1.2mmol）、3-TMS（800 mg，0.767mmol）和 DMAP（46.08mg，0.38 mmol）溶於無水二氯

甲烷（20 mL），加入 DCC（237.0 mg，1.2 mmol），室溫反應 16 小時。過濾濃縮後經管柱層析色譜法純化得 890 mg 化合物 **3-O00-1**，收率：86%。

MS-ESI：m/z 678.8 $[1/2M+H]^+$。

第五步

【0203】 將化合物 **3-O00-1**（890mg，0.66mmol）溶於無水四氫呋喃（10 mL），加入 TBAF（6.6 mL，6.6 mmol，1.0 mol/L THF 溶液），室溫反應 3 小時。加水（20 mL）淬滅，乙酸乙酯萃取（50 mL×3），濃縮後經管柱層析色譜法純化得 810 mg 化合物 **3-O00-2**，收率：100%。

MS-ESI：m/z 592.8 $[1/2M+H]^+$。

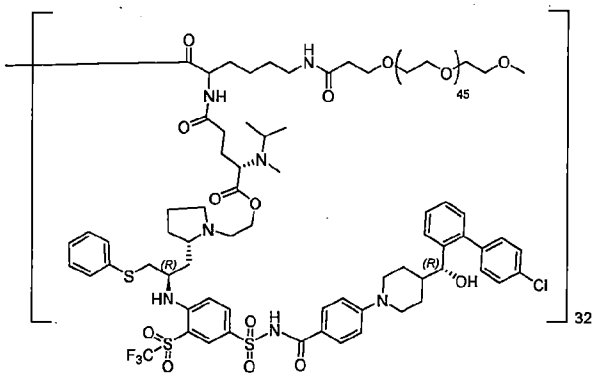
第六步

【0204】 氮氣氛下，將化合物 **3-O00-2**（0.409 g，0.346 mmol）與 PyBOP（0.216 g，0.415 mmol）溶於無水 *N,N*-二甲基甲醯胺（5 mL），滴加樹枝狀聚合物 1-PEG2K（0.52 g，6.8μmol）與 NMM（0.137 g，1.36 mmol）的無水 *N,N*-二甲基甲醯胺（5 mL）溶液，室溫反應 2 小時。將反應液用乙腈（10 mL）稀釋後，藉由超濾（10KD，Hydrosart®）裝置，用乙腈（0.5 L，25 V）超濾純化，得到 0.605 g 粗品。用純水溶解，經濾膜（0.22 μm）過濾，凍乾後得到 0.60 g 化合物 **3-O00**，收率：87%。

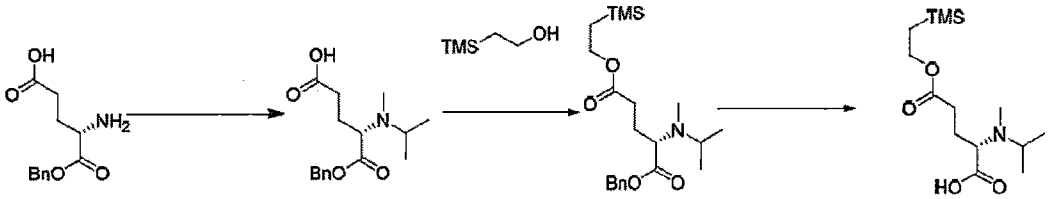
【0205】 ^{1}H NMR 指示 24 個藥物分子/樹狀物。實際的分子量大約為 101.5 kDa（22.92 %重量%化合物 3）。

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 6.40-8.51 (m, 496H)，4.19-4.68 (m, 126H), 3.40-4.10 (m, 5900H), 3.33-3.36 (s, 100H), 2.79-3.20 (m, 136H), 2.22-2.74 (m, 199H), 0.61-1.92 (m, 683H)。

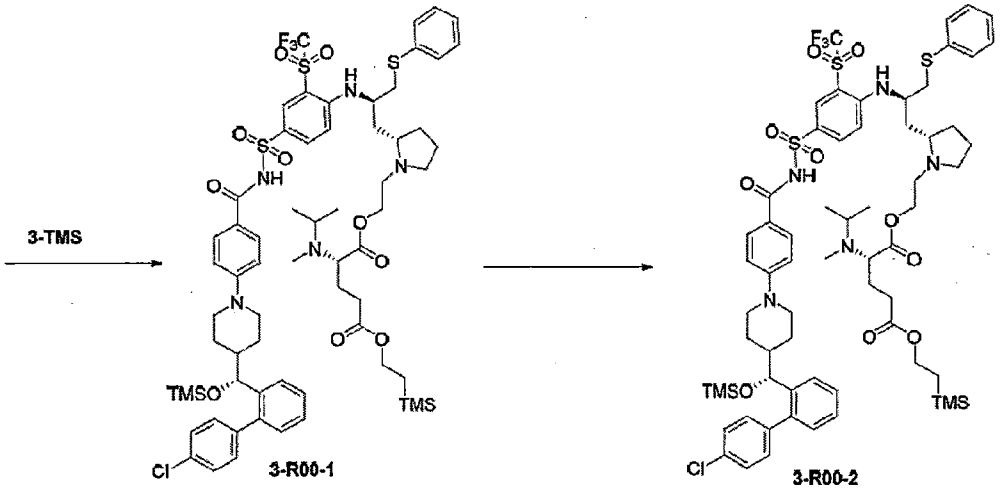
【0206】 實施例 13：化合物 **3-R00** 的製備



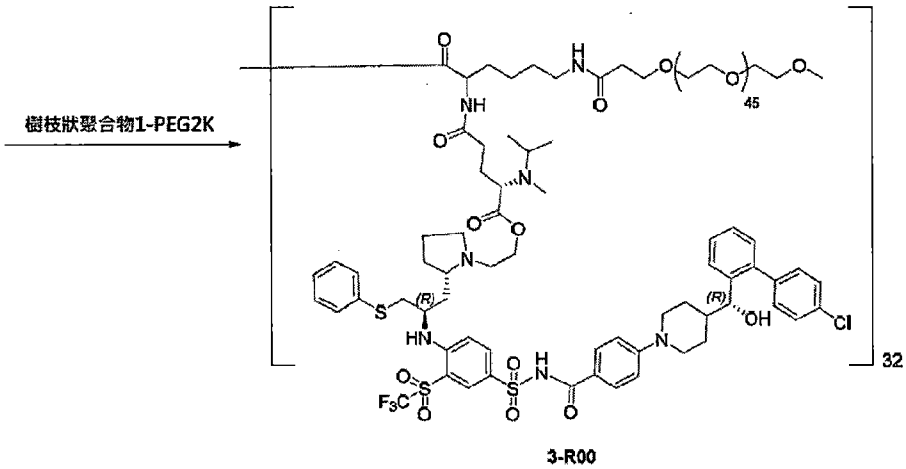
3-R00



1-Z01-J01　1-Z01-P02　1-Z01-P03　1-Z01-P-TMS



3-TMS　3-R00-1　3-R00-2



樹枝狀聚合物1-PEG2K

3-R00

第一步

【0207】將化合物 **1-Z01-J01**（5.01 g，18.3mmol）溶於甲醇（100 mL），冷卻至 0 ℃，加入丙酮（5.5 g，94.7mmol）和 $NaBH(OAc)_3$（11.9 g，56.13 mmol），室溫反應 2 小時。加入甲醛水溶液（14 mL，40 wt.%）和 $NaBH(OAc)_3$（8.26 g，38.96 mmol），室溫反應過夜。濃縮後經管柱層析色譜法純化得 5 g 化合物 **1-Z01-P02**，收率：93%。

MS-ESI：m/z 294.1 $[M+H]^+$。

第二步

【0208】將化合物 **1-Z01-P02**（2.58 g，8.8mmol）、三甲基矽乙醇（2 g，16.9 mmol）、DMAP（540 mg，4.43 mmol）及 *N,N*-二異丙基乙胺（2.98 g，23.1 mmol）溶於無水四氫呋喃（20 mL），加入 HATU（3.38 g，8.89 mmol），室溫反應 17 小時。加水（20 mL）淬滅，乙酸乙酯萃取（20mL×3），濃縮後經管柱層析色譜法純化得 3.09 g 化合物 **1-Z01-P03**，收率：89%。

MS-ESI：m/z 394.2 $[M+H]^+$。

第三步

【0209】將化合物 **1-Z01-P03**（3 g，7.62 mmol）溶於無水四氫呋喃（30 mL），加入 Pd/C（152 mg，10 wt.%），氫氣置換三次，室溫反應 15 小時。過濾濃縮後得 2.32 g 粗品 **1-Z01-P-TMS**。加入甲基第三丁基醚（20 mL）打漿 30 分鐘，過濾得 0.92 g 化合物 **1-Z01-P-TMS**，收率：39%。

MS-ESI：m/z 304.2 $[M+H]^+$。

^{1}HNMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 4.05-4.10 (m, 2H), 3.26-3.30 (m, 1H), 3.12-3.15 (m, 1H), 3.35-3.43 (m, 2H), 2.31 (s,3H), 1.75-1.85 (m, 2H), 1.03-1.07 (m,6H), 0.89-0.94 (m,2H),0.01 (s, 9H)。

第四步

【0210】將化合物 **1-Z01-P-TMS**（379 mg，1.25mmol）、3-TMS（805 mg，0.772mmol）及 DMAP（54.0 mg，0.44 mmol）溶於無水二氯甲烷（16 mL），加入 DCC（239.0 mg，1.16 mmol），室溫反應 16 小時。過濾濃縮後經管柱層析色譜法純化得 863 mg 化合物 **3-R00-1**，收率：84%。

MS-ESI：m/z 664.8 $[1/2M+H]^+$。

第五步

【0211】將化合物 **3-R00-1**（847 mg，0.64mmol）溶於無水四氫呋喃（6 mL），加入 TBAF（6 mL，6 mmol，1.0 mol/L THF 溶液），室溫反應 2 小時。加水（20 mL）淬滅，乙酸乙酯萃取（50 mL×3），濃縮後經管柱層析色譜法純化得 702 mg 化合物 **3-R00-2**，收率：95%。

MS-ESI：m/z 578.8 $[1/2M+H]^+$。

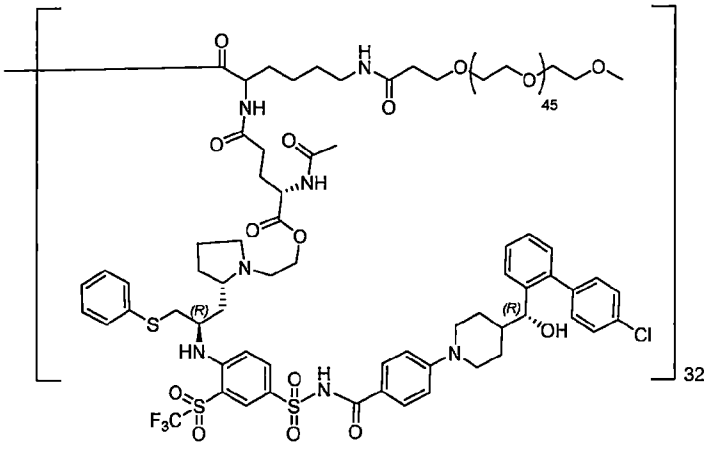
第六步

【0212】氮氣氛下，將化合物 **3-R00-2**（0.299 g，0.259 mmol）與 PyBOP（0.162 g，0.311 mmol）溶於無水 *N,N*-二甲基甲醯胺（4 mL），滴加化合物樹枝狀聚合物 1-PEG2K（0.400 g，5.177μmol）與 NMM（0.209 g，2.071 mmol）的無水 *N,N*-二甲基甲醯胺（4 mL）溶液，升至 38℃反應 3 小時。將反應液用乙腈稀釋後，藉由超濾（10KD，Hydrosart®）裝置，用乙腈（0.4 L，13 V）超濾純化，得到 0.470 g 粗品。用純水溶解，經濾膜（0.22 μm）過濾，凍乾後得到 0.465 g 化合物 **3-R00**，收率：88%。

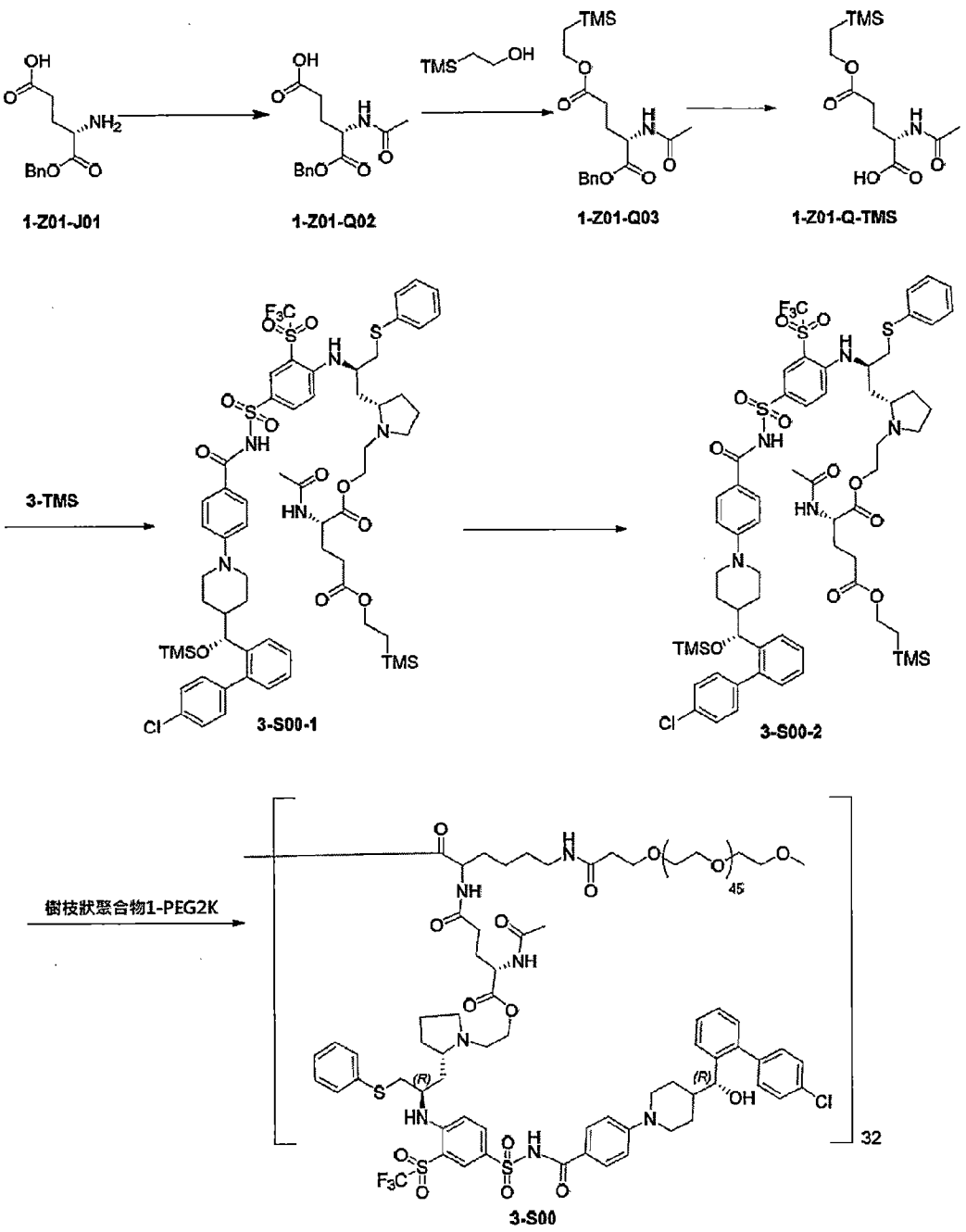
【0213】^{1}H NMR 指示 25 個藥物分子/樹狀物。實際的分子量大約為 102.0 kDa（23.76 %重量%化合物 3）。

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 6.40-8.51 (m, 514H)，4.13-4.72 (m, 123H), 3.40-4.10 (m, 5900H), 3.33-3.36 (s, 93H), 2.79-3.25 (m, 73H), 2.22-2.74 (m, 206H), 0.61-1.92 (m, 810H)。

【0214】 實施例 14：化合物 **3-S00** 的製備



3-S00



第一步

【0215】 氮氣氛下，將化合物 **1-Z01-J01**（5 g，18.3 mmol）溶於二氯甲烷（50 mL），加入三乙胺（5.5 g，54.9mmol），冷卻至 0 ℃，滴加乙酸酐（2 g，18.7 mmol），室溫反應過夜。用水洗（20mL×2），合併水相，用濃鹽酸調節 pH 為 1，用乙酸乙酯萃取（50mL×3），濃縮後得 4.7 g 化合物 **1-Z01-Q-02**，收率：91%。

MS-ESI：m/z 280.2 $[M+H]^+$。

第二步

【0216】 氮氣氛下，將化合物 **1-Z01-Q-02**（4.5 g，16.1mmol）和三甲基矽乙醇（5.7 g，48.3mmol）溶於二氯甲烷（5 mL），冷卻至 0 ℃，加入二氯亞碸（1.9 g，16.1mmol），室溫反應過夜。濃縮後經管柱層析色譜法純化得 1.6 g 化合物 **1-Z01-Q-03**，收率：26%。

MS-ESI：m/z 380.3 $[M+H]^+$。

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.39-7.28 (m, 5H), 6.20 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 5.14 (s, 2H), 4.61-4.63 (m, 1H), 4.19-4.04 (m, 2H), 2.21-2.26 (m, 3H), 2.02-1.94 (m, 4H), 1.02-0.90 (m, 2H), 0.05-0.02 (m, 9H)。

第三步

【0217】 將化合物 **1-Z01-Q-03**（0.9 g，2.3mmol）溶於四氫呋喃（10 mL），加入濕 Pd/C（180 mg，10wt.%），氫氣置換三次，室溫反應過夜。過濾濃縮後得 621 mg 化合物 **1-Z01-Q-TMS**，收率：93%。

MS-ESI：m/z 290.3 $[M+H]^+$。

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.75 (d, J = 6.9 Hz, 1H), 4.54-4.42 (m, 1H), 4.22-4.07 (m, 2H), 2.56-2.32 (m, 2H), 2.24-2.12 (m, 1H), 2.09-1.90 (m, 4H), 1.03-0.90 (m, 2H), 0.00 (s, 9H)。

第四步

【0218】 氮氣氛下，將化合物 **1-Z01-Q-TMS**（400mg，1.3 mmol）溶於二氯甲烷（20 mL），加入 DMAP（56 mg，0.46mmol）、3-TMS（962 mg，0.92mmol）和 DCC（285 mg, 1.3mmol），室溫反應過夜。補加 **1-Z01-Q-TMS**（150 mg，0.5 mmol）和 DCC（143 mg，0.6 mmol），室溫

反應過夜。過濾濃縮後經管柱層析色譜法純化得 560mg 化合物 **3-S00-1**，收率：33%。

MS-ESI：m/z 1314.3 $[M+H]^+$。

第五步

【0219】 氮氣氛下，將化合物 **3-S00-1**（560 mg，0.426mmol）溶於四氫呋喃（8 mL），加入 TBAF（4.3 ml，4.3 mmol，1.0 mol/L THF 溶液），反應 2 小時。加水（10 ml）淬滅，乙酸乙酯萃取（50mL×3），濃縮後經管柱層析色譜法純化得 420 mg 化合物 **3-S00-2**，收率：86%。

MS-ESI：m/z 1142.3 $[M+H]^+$。

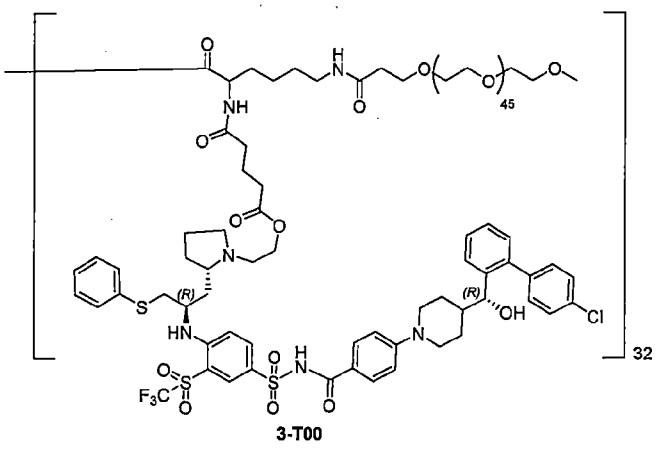
第六步

【0220】 氮氣氛下，將化合物 **3-S00-2**（0.074 g，0.065 mmol）與 PyBOP（0.041 g，0.078 mmol）溶於無水 *N,N*-二甲基甲醯胺（1 mL），滴加樹枝狀聚合物 1-PEG2K（0.100 g，1.30μmol）與 NMM（0.026 g，0.258 mmol）的無水 *N,N*-二甲基甲醯胺（1 mL）溶液，室溫反應 2 小時。將反應液用乙腈稀釋後，藉由超濾（10KD，Hydrosart®）裝置，用乙腈（0.3L，25 V）超濾純化，濃縮得到 0.124 g 粗品。用純水溶解，經濾膜（0.22 μm）過濾，凍乾後得到 0.12 g 化合物 **3-S00**，收率：87%。

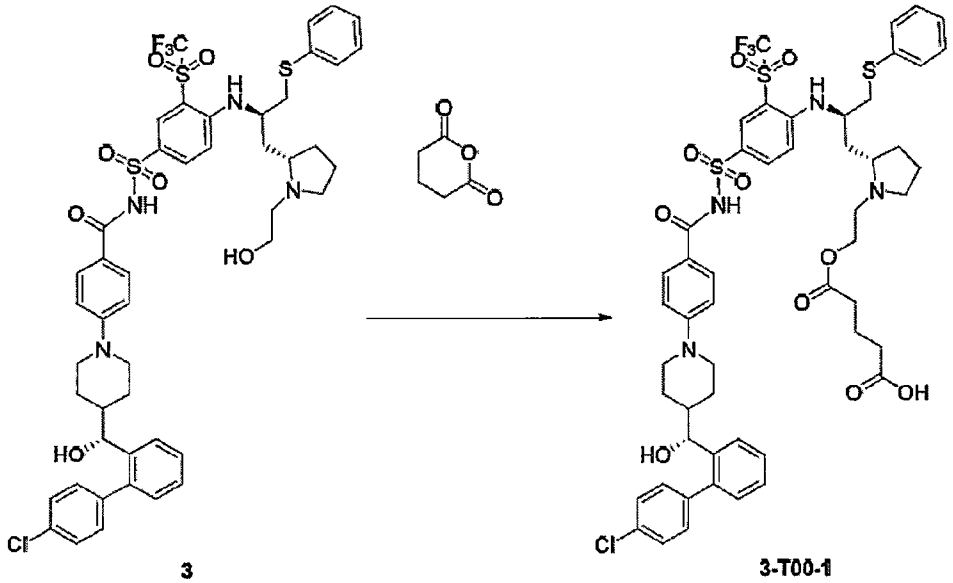
【0221】 ^{1}H NMR 指示 30 個藥物分子/樹狀物。實際的分子量大約為 107.3 kDa（27.12 %重量%化合物 3）。

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 6.40-8.52 (m, 609H)，4.19-4.68 (m, 184H), 3.40-4.10 (m, 5900H), 3.33-3.36 (s, 102H), 2.79-3.20 (m, 102H), 2.22-2.74 (m, 146H), 0.61-1.92 (m, 767H)。

【0222】 實施例 15：化合物 **3-T00** 的製備



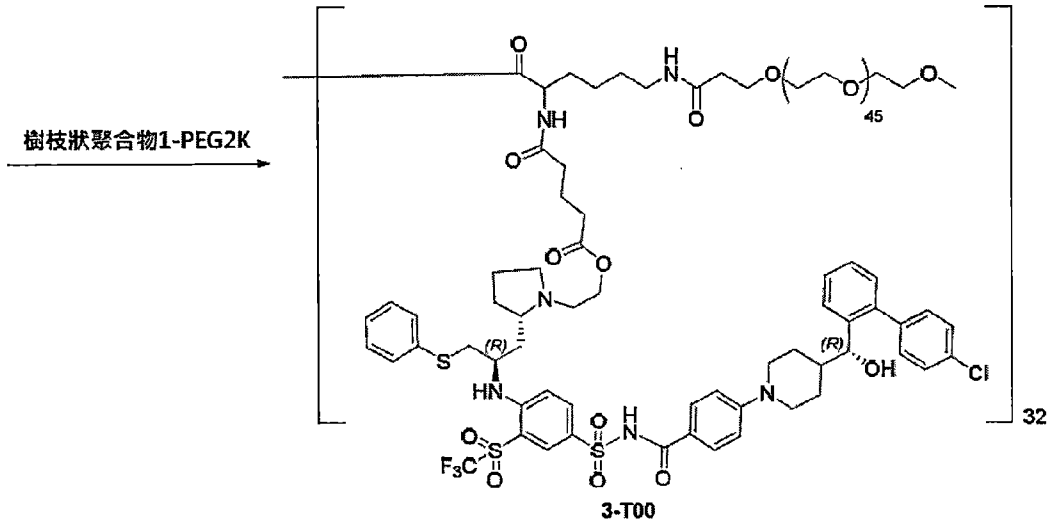
3-T00



3

3-T00-1

樹枝狀聚合物1-PEG2K



3-T00

第一步

【0223】 氮氣氛下，將化合物 **3**（1.0 g，1.02 mmol）溶於二氯甲烷（20 mL），滴加 NMM（322 mg，3.18 mmol）和 *N,N*-二異丙基乙胺（89

mg，0.69 mmol）的二氯甲烷（5 mL）溶液，加入戊二酸酐（141 mg，1.23 mmol），室溫反應 20 小時。加入戊二酸酐（94 mg，0.82 mmol），室溫反應 3 小時。濃縮後經管柱層析色譜法純化得 1.030 g 化合物 **3-T00-1**，收率：92%。

MS-ESI：m/z 1085.2 $[M+H]^+$。

第二步

【0224】 氮氣氛下，將化合物 **3-T00-1**（0.352 g，0.325 mmol）與 PyBOP（0.203 g，0.390 mmol）溶於無水 *N,N*-二甲基甲醯胺（5 mL），滴加樹枝狀聚合物 1-PEG2K（0.500 g，6.50μmol）與 NMM（0.131 g，1.300 mmol）的無水 *N,N*-二甲基甲醯胺（5 mL）溶液，室溫反應 2 小時。將反應液用乙腈稀釋後，藉由超濾（10KD，Hydrosart®）裝置，用乙腈（0.5L，25 V）超濾純化，濃縮得到 0.585 g 粗品。用純水溶解，經濾膜（0.22 μm）過濾，凍乾後得到 0.580 g 化合物 **3-T00**，收率：84 %。

【0225】 ^{1}H NMR 指示 31 個藥物分子/樹狀物。實際的分子量大約為 106.6 kDa（28.19 %重量%化合物 3）。

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 6.40-8.52 (m, 623H)，4.19-4.67 (m, 173H), 3.40-4.10 (m, 5900H), 3.33-3.36 (s, 95H), 2.75-3.10 (m, 73H), 2.22-2.74 (m, 217H), 0.61-1.92 (m, 613H)。

生物學評價

【0226】 測試例 1：單次靜脈注射給予大鼠不同化合物的藥物代謝動力學研究

1、供試品

【0227】 多西他賽（G1）、本公開化合物 1-Z00（G2）、1-Z00-J（G3）、1-Z00-K（G4）、1-Z00-M（G5）、1-C00（G6）。

【0228】 樣品製備方法：

（1）多西他賽配製：取市售多西他賽注射液（0.5 mL：20 mg），以生理鹽水稀釋至 4 mg/mL；

（2）其他待測化合物配製：化合物以終濃度為 5%的 DMSO 溶解，然後以生理鹽水稀釋至 4 mg/mL。

2、試驗動物

【0229】 雌性 SD 大鼠，體重 160-180 g，6 週齡，SPF 級

3、試驗方法

【0230】 靜脈給藥後（給藥劑量：10 mg/kg）於不同時間點取血（G1 組：0、0.0833、0.5、1、4、8、24 h；G2-6 組：0、0.0833、1、4、8、24、48、96、168 h），於 EDTAK2 抗凝，分離血漿樣品，加入酯酶抑制劑 DDVP，-80℃凍存，檢測多西他賽水平（N=3）。

【0231】 表 1 分組及給藥方案

組別	受試物	數量 雌性	劑量 (mg/kg)	濃度 (mg/mL)	給藥體積 (mL/kg)	給予方式	採集樣本
G1	多西他賽	3	10	2	5	IV	血漿
G2	1-Z00	3	10	2	5	IV	血漿
G3	1-Z00-J	3	10	2	5	IV	血漿
G4	1-Z00-K	3	10	2	5	IV	血漿
G5	1-Z00-M	3	10	2	5	IV	血漿
G6	1-C00	3	10	2	5	IV	血漿

4、實驗結果

【0232】 如下表 2 和圖 1 所示，在經靜脈給藥後，10 mg/kg 1-Z00-J 組、1-Z00-K 組、1-Z00-M 組 AUC_{0-t} 均顯著優於其他組藥物，且 1-Z00-J 組、1-Z00-M 組血漿清除率更低，顯示具有較好的緩釋作用。

【0233】 表 2 各組 PK 參數

PK 參數		多西他賽 G1	1-Z00 G2	1-Z00-JG3	1-Z00-K G4	1-Z00-M G5	1-C00 G6
劑量	$mg \cdot kg^{-1}$	10					
K_{el}	h^{-1}	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
$t_{1/2}$	h	2.1	44.1	22.1	42.3	29.7	39.0
C_{max}	$ng \cdot mL^{-1}$	1985.3	1637.7	9081.0	5064.0	16178.0	620.7
C_0	$ng \cdot mL^{-1}$	2838.9	1526.5	8109.7	4083.4	16061.6	710.0
AUC_{0-t}	$h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	1395.2	27892.4	180709.7	142123.3	513567.1	5750.3
AUC_{0-inf}	$h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	1484.4	29544.1	181546.3	153479.4	522896.4	6093.5
$AUMC_{0-t}$	$h \cdot h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	1669.3	1104019.6	3946180.0	5110841.0	17722784.5	254075.5
$AUMC_{0-inf}$	$h \cdot h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	2663.5	1490217.7	4115545.4	7750227.2	19714299.7	327079.5
CL	$mL \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$	115.5	5.7	0.9	1.1	0.3	28.6
MRT_{IV}	h	1.8	50.6	23.3	51.1	37.9	56.8
Vd_{SS}	$L \cdot kg^{-1}$	12.1	17.5	1.4	3.4	0.7	102.4

5、實驗結論

【0234】 相比於普通多西他賽注射液的血漿快速清除和低暴露量，1-Z00-J、1-Z00-K、1-Z00-M 均體現出顯著的緩釋作用和更高的暴露量。相比於 1-C00 和 1-Z00，本公開化合物均顯著提高藥物暴露量，藥物清除率更低。

【0235】 測試例 2：單次靜脈注射給予比格犬不同化合物的藥物代謝動力學研究

1、供試品

【0236】 本公開化合物 1-B00，1-Z00，1-Z00-J，多西他賽

樣品製備方法：

【0237】 1-B00，1-Z00，1-Z00-J：84 mg/瓶的受試物，加入適宜體積生理鹽水，得到濃度為 0.6 mg/mL 的給藥溶液，用於靜脈注射給藥。

【0238】 84 mg/瓶的市售多西他賽，加入終體積 5% DMSO+30% PEG300+5% Tween 80+60%去離子水溶解得到 0.6mg/ml 的給藥製劑，用於靜脈注射給藥。

2、試驗動物

【0239】 比格犬，Non-naïve 級別，來源為美迪西普亞儲備動物庫：999M-004。

3、試驗方法

【0240】 給藥方式：給藥前稱重，根據體重，計算給藥量。藉由緩慢靜脈注射給藥。經頸靜脈或其它合適方式採血，每個樣品採集約 1 mL。於給藥前及給藥後不同時間點採集血漿樣品，檢測血漿中游離多西他賽水平。多西他賽組於給藥前及給藥後 0.083 h、0.5 h、1 h、2 h、4 h、6 h、8 h、24 h 採集；其他受試物組給藥前及給藥後 0.083 h、1 h、4 h、8 h、24 h、48 h、72 h、96 h、120 h、144 h、168 h 採集。

【0241】 表 3 給藥方案

組別	受試物	數量 雄性 +雌性	劑量 (mg/kg)	濃度 (mg/mL)	給藥體積 (mL/kg)	給予方式	採集樣本
1	1-B00	1+1	3	0.6	5	IV	血漿
2	1-Z00	1+1	3	0.6	5	IV	血漿
3	1-Z00-J	1+1	3	0.6	5	IV	血漿
4	多西他賽	1+1	3	0.6	5	IV	血漿

4、試驗結果

【0242】 各組藥物代謝動力學數據如下表 4 及圖 2、圖 3 所示。

【0243】 表 4 藥物代謝動力學數據

PK 參數		平均			
		1-B00	1-Z00	1-Z00-J	多西他賽
劑量	$mg \cdot kg^{-1}$	3	3	3	3
K_{el}	h^{-1}	0.0225	0.0140	0.0460	0.0515
$t_{1/2}$	h	31.0	50.1	15.9	13.5
AUC_{0-168}	$h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	4078	10324	25819	1892
AUC_{0-inf}	$h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	4228	11295	26633	2039
$AUMC_{0-t}$	$h \cdot h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	200865	590202	846908	3854
$AUMC_{0-inf}$	$h \cdot h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	232853	822734	948715	10234
CL	mL/min/kg	11.9	4.40	1.90	24.6
MRT_{PO}	h	54.6	72.8	35.5	5.02
Vdss	L/kg	38.7	19.4	4.00	7.39

【0244】 從試驗結果可以看出，1-Z00-J 相比於多西他賽及 1-Z00，體內暴露量更高，藥物清除率更低。

【0245】 測試例 3：人源肺癌細胞 A549 皮下異種移植腫瘤模型在 BALB/C nude 小鼠中的藥效學、藥效伴隨血液學評價

1、供試品

【0246】 多西他賽，1-Z00，1-Z00-J

【0247】 樣品製備方法如下表 5：

【0248】表 5 供試品和對照品溶液的配製

供試品/對照品	儲存液 (mg/kg)	工作液 (mg/mL)	配製	配製後狀態	配製頻率	配製後儲存
對照組（6% DMSO+94% 生理鹽水）	-	-	取 0.24 ml DMSO，加入 3.76 mL 生理鹽水，震盪混勻。	溶液	現用現配	4℃
多西他賽（DTX）（第 1 次給藥使用的配方）	20	2	10 mg/瓶的受試物，加入 0.3 mL DMSO，渦旋溶解得到 33.33 mg/mL 的工作儲備液，加入 4.7mL 生理鹽水稀釋得到 2 mg/mL 的給藥製劑，用於靜脈注射給藥。	溶液	現用現配	4℃
多西他賽（DTX）（第 2,3,4 次給藥使用的配方）	20	2	10 mg DTX 加入 0.5ml DMSO，取 0.3 mL 20.0 mg/mL 的澄清 DMSO 儲備液加到 1200 μL PEG300 中，混合均勻；加入 150 μL Tween-80，混合均勻；然後繼續加入 1350 μL 生理鹽水定容至 3 mL。	溶液	現用現配	4℃
1-Z00 (99.3%)	20	2	10 mg/瓶的受試物，加入 0.3 mL DMSO，渦旋溶解得到 33.33 mg/mL 的工作儲備液，加入 4.667ml 生理鹽水稀釋得到 2 mg/mL 的給藥製劑，用於靜脈注射給藥。	溶液	現用現配	4℃
1-Z00-J (99.8%)	10	1	取 2mL 濃度為 2 mg/mL 的 1-Z00-J ，加入 2mL 載體稀釋，渦旋混勻後得到 1mg/mL 的給藥製劑，用於靜脈注射給藥。	溶液	現用現配	4℃

2、實驗動物

【0249】 BALB/C nude 小鼠，雌性，6-7 週（腫瘤細胞接種時的小鼠週齡），體重 16.5–22.6 g，購自江蘇集萃藥康生物科技（GemPharmatech Co,Ld），動物合格證編號： 320727210100243463。飼養環境：SPF 級。

3、實驗方法

3.1 細胞培養

【0250】 於 10% 胎牛血清的 F12K 培養液（Gibco）中培養 A549 細胞（中國科學院典型培養物保藏委員會細胞庫/中國科學院上海生命科學研究院細胞資源中心 (cellbank.org.cn，SIBS)），待其生長至指數生長期時收集細胞並用 PBS 重新懸浮至適合濃度，以用於小鼠皮下腫瘤接種。

3.2 動物造模和隨機分組

【0251】 雌性小鼠右側皮下接種 5×10^6 A549 細胞(接種體積 0.1 mL/小鼠）。接種當天定義為第 0 天，待腫瘤平均體積 142.96 mm^3 時（細胞接種後第 13 天），根據腫瘤大小隨機分組如下表 6（給藥體積為 10 μL/g）：

【0252】 表 6 藥物在人源肺癌細胞 A549 皮下移植腫瘤模型中的抗腫瘤作用實驗設計

組別	動物數	給藥組	劑量 (mg/kg)	給藥方式	計劃給藥週期	實際給藥週期
1	6	溶媒對照組 (G1)	0	i.v.	QW×3-4 劑	QW×4 劑
2	9	多西他賽 (G2)	20	i.v.	QW×3-4 劑	QW×4 劑
3	12	1-Z00 (G3)	20	i.v.	QW×3-4 劑	QW×4 劑
4	12	1-Z00-J (G4)	10	i.v.	QW×3-4 劑	QW×4 劑

3.3 實驗觀察和數據收集

【0253】 腫瘤接種後，常規監測包括了腫瘤生長及治療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，體重增加或降低情況（體重每週測量 2 次），眼睛、被毛及其它異常情況。實驗過程中觀察到的臨床症狀均記錄在原始數據中。腫瘤體積計算公式：腫瘤體積（mm^3）= 1/2 ×（a × b^2）（其中 a 表示長徑，b 表示短徑）。實驗中使用 StudyDirectorTM(版本號 3.1.399.19，供應商 Studylog System,Inc., S.San Francisco, CA, USA）軟體收集數據，包括腫瘤的長短徑的測量和動物體重的稱量，原始數據由天平和遊標卡尺測量後直接導入軟體，數據的任何變動都將被記錄在此軟體中。

3.4 實驗過程中動物體重下降的處理

【0254】 當單隻動物的體重下降超過 15%時（BWL ≥ 15 %），給予相應單隻動物/該組動物停藥期，直到其體重下降恢復至 15 %以內（BWL <15 %）。

【0255】 當單隻小鼠體重下降> 20%，按照動物福利對其實施安樂死。

3.5 藥效評價標準

【0256】 相對腫瘤增殖率，T/C(%)，即在某一時間點，治療組和對照組相對腫瘤體積或瘤重的百分比值。計算公式為：T/C % = TRTV / CRTV × 100%(TRTV：治療組平均 RTV；CRTV：對照組平均 RTV；RTV=Vt/V0，V0 為分組時該動物的瘤體積，Vt 為治療後該動物的瘤體積）。

【0257】 相對腫瘤抑制率，TGI(%)，計算公式為：TGI% =（1-T/C）× 100%（T 和 C 分別為治療組和對照組在某一特定時間點的相對腫瘤體積（RTV）或瘤重（TW））。

3.6 實驗終點

【0258】 末次給藥後，根據表 7 設計的時間點收集血漿（使用 EDTA 抗凝管（採血時加入酯酶抑制劑 DDVP）），在該小鼠的最終時間點血漿收集完畢後，將其安樂死，取腫瘤，速凍保存。

【0259】 表 7 實驗取樣時間點

組別	動物數	時間點	血漿	腫瘤	血常規
G1	6	24 h	√	√(24 h)	√(24 h)
G2	2	5 min, 1 h	√√	√(1h)	NA
	2	4 h, 24 h	√√	√(24 h)	√(24 h)
G3,4	3	5 min, 4 h	√√	√(4 h)	NA
	3	1 h, 24 h	√√	√(24 h)	√(24 h)
	3	8 h, 96 h	√√	√(96 h)	√(96 h)
	3	48 h, 168 h	√√	√(168 h)	NA

3.7 統計分析

【0260】 所有實驗結果以平均瘤體積 ± SEM（平均標準誤差）表示。不同組間的統計分析選擇最佳藥物治療點（通常是在最後一次給藥後）。用雙因素方差分析方法比較治療組腫瘤體積與對照組相比有無顯著性差異。$p < 0.05$ 為具有顯著性差異。所有的統計分析和圖形繪製都在 R 語言環境中進行（3.3.1 版）。非特別說明的情況下，所有檢驗均為雙尾檢驗，p 值小於 0.05 時被認為具有統計顯著性。

4、實驗結果

4.1 藥物在人源肺癌細胞 A549 皮下移植腫瘤模型中的抗腫瘤作用研究結果

【0261】溶媒對照組（Vehicle）小鼠在給藥開始後第 21 天平均腫瘤體積為 1620.93 mm^3。

【0262】多西他賽 20 mg/kg 組在給藥開始後第 21 天平均腫瘤體積為 564.93 mm^3，相較對照組統計學上有顯著性差異（$p < 0.001$），相對腫瘤抑制率 TGI (%)為 66.24 %。

【0263】1-Z00 20 mg/kg 組在給藥開始後第 21 天平均腫瘤體積為 576.02 mm^3，相較對照組統計學上有顯著性差異（$p < 0.001$），相對腫瘤抑制率 TGI (%)為 64.85 %。

【0264】1-Z00-J 10 mg/kg 組在給藥開始後第 21 天平均腫瘤體積為 285.12 mm^3，相較對照組統計學上有顯著性差異（$p < 0.001$），相對腫瘤抑制率 TGI (%)為 83.02 %。

【0265】各治療組和對照組腫瘤生長情況見下表 8、表 9 和圖 4。

【0266】表 8 在人源肺癌細胞 A549 皮下移植腫瘤模型中各組小鼠腫瘤體積隨治療時間的變化

給藥開始天數	腫瘤體積（mm^3）（$\bar{x}$±S）			
	第 1 組，溶媒對照組	第 2 組，多西他賽，20mg/kg	第 3 組，1-Z00，20mg/kg	第 4 組，1-Z00-J，10mg/kg
0	143.34±7.82	142.49±6.17	142.84±7.03	142.52±7.5
3	231.32±29.22	187.27±18.12	215.84±17.99	223.45±25.73
7	472.18±66.41	294.09±32.19	313.97±22.48	330.43±45.11
10	637.59±53.01	362.73±41.13	403.11±31.07	369.83±46.8
14	960.02±63.06	460.59±68.72	527.36±39.14	383.93±44.18
17	1280.58±45.5	502.25±84.97	568.88±43.78	365.17±42.85
21	1620.93±97.74	564.93±108.61	576.02±46.05	285.12±31.79

註：數據以“平均值 ± 標準誤差”表示。

【0267】 表 9 在人源肺癌細胞 A549 皮下移植腫瘤模型中各組藥效分析表

實驗組	給藥開始後第 21 天				
	腫瘤體積 ($\bar{x}$ ± S)	相對腫瘤體積 ($\bar{x}$ ± S)	TGI (%)	T/C (%)	P 值（相較於對照組）
第 1 組，溶媒對照組	1620.93±97.74	11.45±0.88	-	-	-
第 2 組，多西他賽，20mg/kg	564.93±108.61	3.87±0.61	66.24	33.76	<0.001
第 3 組，1-Z00，20mg/kg	576.02±46.05	4.02±0.25	64.85	35.15	<0.001
第 4 組，1-Z00-J，10mg/kg	285.12±31.79	1.94±0.12	83.02	16.98	<0.001

註：1. 數據以“平均值 ± 標準誤差”表示；

2. T/C % = TRTV / CRTV × 100%； TGI% = (1-T/C) ×100%。

3. P 值：用雙因素方差分析方法比較治療組腫瘤體積與對照組腫瘤體積得到。

4.2 藥物在人源肺癌細胞 A549 皮下移植腫瘤模型中的藥效伴隨血液學研究結果

【0268】 如下表 10 所示，與溶媒對照組相比，靜脈注射 20mg/kg 多西他賽組小鼠血液中白細胞、淋巴細胞、單核細胞等下降 2-3 倍，顯示出多西他賽的明顯淋巴系統毒性。與靜脈注射 20mg/kg 多西他賽組相比，10 mg/kg 靜脈注射 1-Z00-J 對淋巴系統安全性顯著提高。

【0269】 表 10 在人源肺癌細胞 A549 皮下移植腫瘤模型中的藥效伴隨血液學分析表

組別		白細胞係數 WBC(10^9/L)	淋巴細胞 LYMPH#(10^9/L)	單核細胞 MONO#(10^9/L)	中性粒細胞 NEUT# (10^9/L)	嗜酸性粒細胞 EO#(10^9/L)
溶媒對照組	6	6.57±1.34	4.58±1.15	0.39±0.12	1.5±0.41	0.10±0.02
多西他賽 20 mg/kg	2	2.52±0.08	1.58±0.39	0.11±0.02	0.81±0.47	0.02±0.02
1-Z00 20 mg/kg	3	5.25±1.33	3.26±1.10	0.37±0.14	1.52±0.32	0.09±0.03
1-Z00-J 10 mg/kg	3	5.45±2.08	3.85±1.63	0.40±0.25	1.41±0.24	0.07±0.04

註：數據以“平均值 ± 標準差”表示。

5、實驗結論

【0270】 相比於普通多西他賽注射液和 1-Z00，1-Z00-J 在一半劑量下具有顯著優效。同時，1-Z00-J 分子相較多西他賽注射液的血液學毒性如淋巴細胞、中心粒細胞減少等毒性表現顯著降低。

【0271】 測試例 4：單次靜脈注射給予比格犬不同化合物的藥物代謝動力學研究

1、供試品

【0272】 本公開化合物：3-L00、3-M00、3-N00、3-O00、3-R00 和 3-T00。

【0273】 樣品製備方法：

【0274】 80 mg/瓶的受試物 3-L00、3-M00、3-N00、3-O00 和 3-R00，加入終體積 5% DMSO、95%生理鹽水，渦旋溶解得到 1.5 mg/ml 的給藥製劑。

【0275】 3-T00：120 mg/瓶的受試物，加入終體積 5% DMSO、95%生理鹽水，渦旋溶解得到 1.5 mg/ml 的給藥製劑。

2、試驗動物

【0276】 比格犬，Non-naïve 級別，來源為美迪西普亞儲備動物庫：999M-004。

3、試驗方法

【0277】 給藥方式：給藥前稱重，根據體重，計算給藥量，給藥方案如下表 11。採血時間點為給藥後 0.083 h、1 h、4 h、8 h、24 h、48 h、72 h、96 h。給藥後在特定時間點經頸靜脈或其它合適方式採血，每個樣品採集約 1 mL。將收集的血液樣本置於 EDTA-K2 抗凝型採血管中，每組血液樣本均需加酯酶抑制劑進行特殊處理。在 EDTA-K2 抗凝的採血管中加入 1/40 採血體積的 200 mM DDVP（如採血量為 1 mL，則加入 25 μL 200 mM DDVP）。血液樣本採集後放置於冰上，並於 1 小時內離心分離血漿(離心條件：離心力 2200g，10 分鐘，2-8℃)。隨後測定血漿中的藥物濃度，計算藥物代謝動力學數據，血漿樣本在檢測前存放於-70℃冰箱內。

【0278】 表 11 給藥方案

受試物	數量 雄性	劑量 (mg/kg)	濃度 (mg/mL)	給藥體積 (mL/kg)	給予方式	採集樣本
3-L00	2	3	1.5	2	IV	血漿
3-M00	2	3	1.5	2	IV	血漿
3-N00	2	3	1.5	2	IV	血漿
3-O00	2	3	1.5	2	IV	血漿
3-R00	2	3	1.5	2	IV	血漿
3-T00	3	3	1.5	2	IV	血漿

4、試驗結果

【0279】 3-L00、3-M00、3-N00、3-O00、3-R00 和 3-T00 在比格犬中的藥物代謝動力學（PK）結果見圖 5 和表 12 所示。

【0280】 表 12 藥物代謝動力學數據

化合物	劑量 （mg/kg）	C_{max} (ng/ml)	AUC_{all} (h*ng/ml)	$T_{1/2}$ (h)	Cl (ml/min/kg)
3-L00	3	8740	67100	6.5	0.744
3-M00	3	1840	25800	13.9	1.92
3-N00	3	7670	64000	12.5	0.713
3-O00	3	2710	55100	45.6	0.73
3-R00	3	6500	54600	6.68	0.911
3-T00	3	120	1680	33.4	23.6

【0281】 試驗結果表明，本公開樹枝狀聚合物 3-L00、3-M00、3-N00、3-O00、3-R00 的暴露量（AUC）明顯高於 3-T00，具有明顯的緩釋效果。

本公開樹枝狀聚合物藉由樹枝狀聚合物聯合側鏈具有氮連接的烷基連接子，與全碳鏈連接子相比，可以促進小分子釋放。

【0282】 測試例 5：單次靜脈注射給予比格犬化合物 3、3-M00 和 3-O00 對血小板數量的影響

1、供試品

【0283】 本公開化合物：化合物 3、3-M00 和 3-O00。

【0284】 樣品製備方法：

【0285】 120 mg/瓶的受試物化合物 3，加入終體積 5% DMSO、5% 吐溫 80、90%生理鹽水，渦旋溶解得到 1.5 mg/ml 的給藥製劑。

【0286】 80 mg/瓶的受試物 3-M00 和 3-O00，加入終體積 5% DMSO、95%生理鹽水，渦旋溶解得到 1.5 mg/ml 的給藥製劑。

2、試驗動物

【0287】 比格犬，Non-naïve 級別，來源為美迪西普亞儲備動物庫：999M-004。

3、試驗方法

【0288】 給藥方式：給藥前稱重，根據體重，計算給藥量，給藥方案如下表 13。藉由緩慢靜脈注射給藥。經頸靜脈或其它合適方式採血，每個樣品採集約 1 mL。給藥前及給藥後 24 h 採集全血，進行血液學檢測。

【0289】 表 13 化合物 3、3-M00 和 3-O00 給藥方案

受試物	數量 雄性	劑量 (mg/kg)	濃度 (mg/mL)	給藥體積 (mL/kg)	給予方式	採集樣本
化合物 3	3	3	1.5	2	IV	全血
3-M00	2	3	1.5	2	IV	全血
3-O00	2	3	1.5	2	IV	全血

4、試驗結果

【0290】 表 14 化合物 3、3-M00 和 3-O00 對比格犬血小板（PLT）數量的影響

化合物	第 1 天 (給藥前)	第 2 天 (給藥後 24 h)	第 1 天 (給藥前)	第 2 天 (給藥後 24 h)	犬 PLT 給藥 24 h 後相比於給藥前數量的變化（%）
	PLT 10^9/L	PLT 10^9/L	PLT 10^9/L 平均值	PLT 10^9/L 平均值	
化合物 3	355.00	34.00	355.00	34.00	-90.42
3-M00	460.00	255.00	405.5	226	-44.27
	351.00	197.00			
3-O00	330.00	230.00	306.5	193.5	-36.87
	283.00	157.00			

【0291】 試驗結果表明，本公開樹枝狀聚合物 3-M00 和 3-O00 可以明顯減少小分子化合物 3 中靶的血小板減少。在本試驗中，小分子化合物 3 處理組的 3 隻比格犬對單次靜脈注射 3 mg/kg 化合物 3 不耐受，導致 2 隻動物死亡。而樹枝狀聚合物 3-M00 和 3-O00 處理組比格犬未死亡，進一步表明本公開樹枝狀聚合物明顯改善了小分子化合物 3 的安全性。

【0292】 測試例 6：3-L00、3-M00、3-N00、3-O00、3-R00 和 3-T00 對人急性淋巴細胞白血病 RS4;11 小鼠皮下移植瘤的療效

1、供試品

【0293】 3-L00、3-M00、3-N00、3-O00、3-R00 和 3-T00。

【0294】 樣品製備方法：

【0295】 3-L00、3-M00、3-N00、3-O00、3-R00 和 3-T00：每瓶加入 0.25 mL DMSO 溶解化合物後得到 20 mg/ml 的工作儲備液， 再加入 4.75 mL 生理鹽水渦旋溶解得到 1 mg/ml 的給藥製劑。

2、試驗細胞和動物

【0296】 人急性淋巴細胞白血病 RS4;11 購自 American Type Culture Collection。RS4;11 細胞用 10-cm 培養皿培養，培養條件為 RPMI 1640 培養液(Gibco)中加 10%胎牛血清(Gibco)以及青、鏈黴素，於 37℃、含 5% CO_2 的培養箱中培養。一週 2 次傳代，當細胞呈指數生長期時，收集細胞，計數，接種。

【0297】 NOD-Scid 小鼠，5 週，♀，購自北京華阜康生物科技股份有限公司。生產許可證號：SCXK（京）2019-0008；動物合格證號 110322211100992176，110322211101069023。飼養環境：SPF 級。

【0298】 本實驗動物的使用及福利遵照“國際實驗動物評估和認可委員會（AAALAC）”的規定執行。每天監測動物的健康狀況及死亡情況，例行檢查包括觀察受試物和藥物對動物日常行為表現的影響如行為活動、體重變化、外觀體徵等。

3、試驗方法

【0299】 每隻小鼠皮下接種 1×10^7 RS4;11 細胞，待腫瘤長到 150~200 mm^3，根據腫瘤體積分組，靜脈注射(IV)藥物，每週 1 次(QW)，共 4 次，注射體積 0.1 mL/10g 體重；給藥劑量和給藥方案見下表 15。實驗指標為考察藥物對腫瘤生長的影響，具體指標為 T/C%或腫瘤生長抑制率(TGI%)。

【0300】 每週二次用遊標卡尺測量腫瘤直徑，腫瘤體積（V）計算公式為：

$V=1/2\times a\times b^2$　其中 a、b 分別表示長、寬。

$T/C(\%)=(T-T_0)/(C-C_0)\times100$

其中 T、C 為實驗結束時的腫瘤體積；T_0、C_0 為實驗開始時的腫瘤體積。

【0301】 腫瘤生長抑制率% (TGI%)=100-T/C(%)。

【0302】 表 15 給藥方案

分組	給藥	途徑
3-L00，10 mg/kg	D0、7、14、20	IV
3-M00，10 mg/kg	D0、7、14、20	IV
3-N00，10 mg/kg	D0、7、14、20	IV
3-O00，10 mg/kg	D0、7、14、20	IV
3-R00，10 mg/kg	D0、7、14、20	IV
3-T00，10 mg/kg	D0、7、14、20	IV

註：隨機分組，第一次給藥時間為 D0；IV：靜脈注射。

4、試驗結果

【0303】 表 16 化合物對荷人急性淋巴細胞白血病 RS4;11 小鼠皮下移植瘤的療效

分組	腫瘤抑制率（TGI）%
3-L00，10 mg/kg	70.9
3-M00，10 mg/kg	63.2
3-N00，10 mg/kg	71.5
3-O00，10 mg/kg	67.6
3-R00，10 mg/kg	73.3
3-T00，10 mg/kg	0.36

【0304】 試驗結果表明，在荷人急性淋巴細胞白血病 RS4;11 小鼠皮下移植瘤模型中， 3-T00 無法有效釋放小分子化合物 3，不具有抗腫瘤活性；而 3-L00、3-M00、3-N00、3-O00、3-R00 的連接子可以有效促進小分子化合物 3 的釋放，具有顯著的抗腫瘤活性。

【符號說明】

無。

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 1. 一種大分子，其包含：

i）具有表面胺基的樹枝狀聚合物 D，其中至少兩個不同的端基共價連接於該樹枝狀聚合物的表面胺基：

ii）第一端基，其為包含羥基、胺基或者巯基的藥學活性劑或其殘基 A；

iii）第二端基，其為藥物代謝動力學修飾劑；

其中該第一端基藉由連接子-X_1-L-X_2-共價連接於該樹枝狀聚合物的表面胺基，X_1 為連接子與藥學活性劑或其殘基 A 的連接基，X_2 為連接子與樹枝狀聚合物 D 的連接基，X_1 和 X_2 均為-C(O)-，L 為 C_{1-10} 直鏈或支鏈伸烷基，其中該 C_{1-10} 直鏈或支鏈伸烷基被選自氘、羥基、C_{3-7} 環烷基、C_{1-6} 烷氧基、鹵烷基、鹵烷氧基、鹵素、硝基、氰基、醯基、巯基、亞磺醯基、磺醯基、-NR_1R_2、芳基、雜芳基和雜環基中的一個或多個取代基取代；

R_1、R_2 各自獨立地選自氫、羥基、C_{1-6} 烷基、環烷基、C_{1-6} 烷氧基。

【請求項2】 一種大分子，其包含：

i）具有表面胺基的樹枝狀聚合物 D，其中至少兩個不同的端基共價連接於該樹枝狀聚合物的表面胺基：

ii）第一端基，其為包含羥基、胺基或者巯基的藥學活性劑或其殘基 A；

iii）第二端基，其為藥物代謝動力學修飾劑；

其中該第一端基藉由連接子-X_1-L-X_2-共價連接於該樹枝狀聚合物的表面胺基，X_1 為連接子與藥學活性劑的連接基，X_2 為連接子與樹枝狀聚合物的連接基，X_1 和 X_2 均為-C(O)-，L 為 C_{1-10} 直鏈或支鏈伸烷基，該 C_{1-10} 直鏈或支鏈伸烷基被選自氘、鹵素、-OR_1、-SR_1、-NR_1R_2 和-C(O)R_3 中的一個或多個取代基取代；

R_1、R_2各自獨立地選自氫、羥基、C_{1-6}烷基、C_{3-7}環烷基、C_{1-6}烷氧基和 $C(O)R_4$，該 C_{1-6}烷基、C_{3-7}環烷基和 C_{1-6}烷氧基任選被選自羥基、鹵素、C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、C_{1-6}鹵烷基、C_{1-6}鹵烷氧基、硝基、氰基、胺基和 C_{1-6}烷基胺基中的一個或多個取代基取代；

R_3、R_4各自獨立地選自氫、C_{1-6}烷基、C_{1-6}鹵烷基和 C_{1-6}烷氧基。

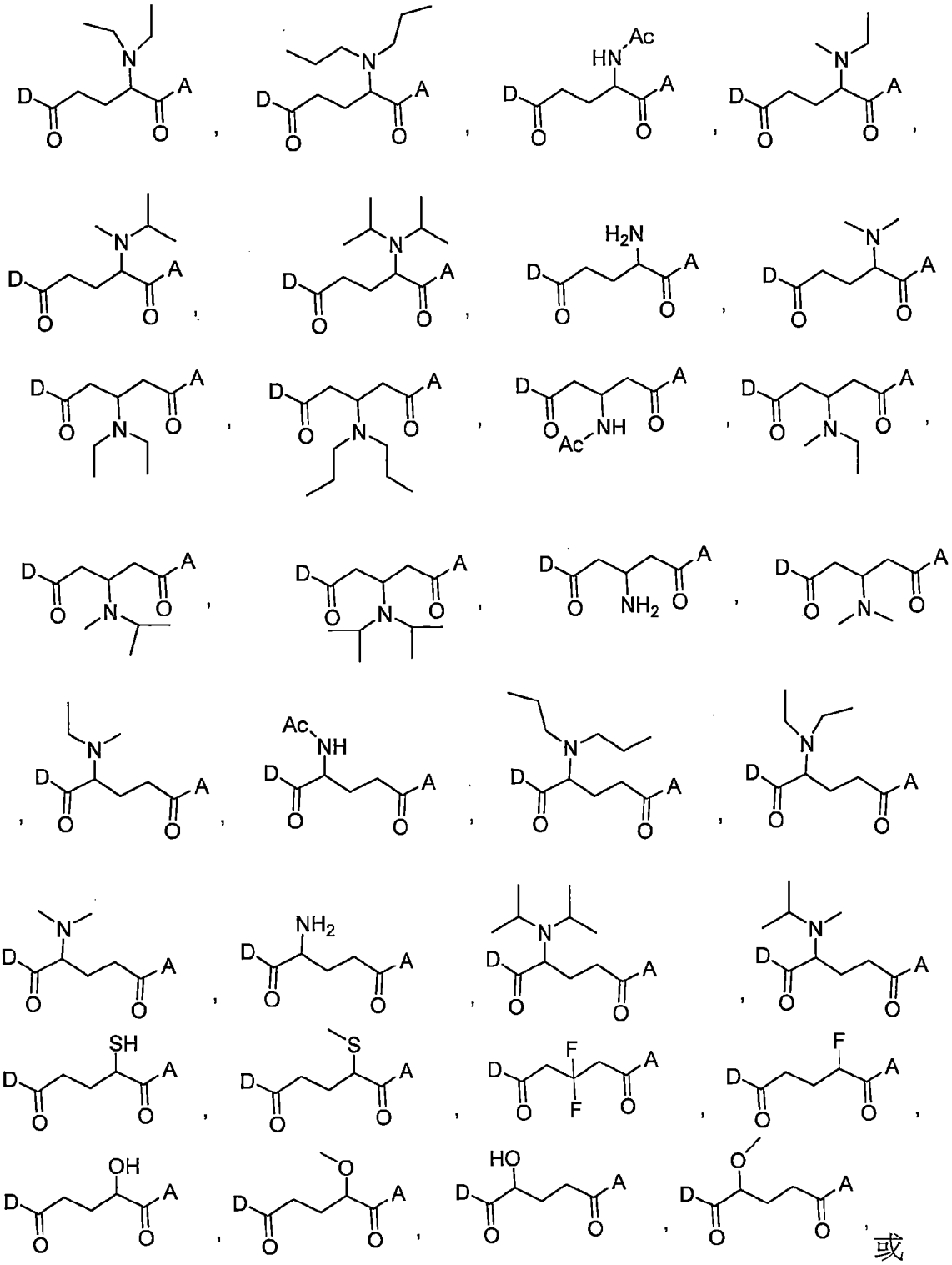
【請求項3】如請求項 2 所述的大分子，其中該 C_{1-10}直鏈或支鏈伸烷基被選自鹵素、$-OR_1$、$-SR_1$、$-NR_1R_2$中的一個或多個取代基取代，其中 R_1、R_2各自獨立地選自氫、C_{1-6}烷基、C_{3-7}環烷基、C_{1-6}烷氧基和 $C(O)R_4$，該 C_{1-6}烷基、C_{3-7}環烷基和 C_{1-6}烷氧基任選被選自羥基、鹵素、C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基、C_{1-6}鹵烷基、C_{1-6}鹵烷氧基、胺基和 C_{1-6}烷基胺基中的一個或多個取代基取代，R_4選自氫、C_{1-6}烷基、C_{1-6}鹵烷基和 C_{1-6}烷氧基。

【請求項4】如請求項 1 至 3 中任一項所述的大分子，其中該 C_{1-10}直鏈或支鏈伸烷基被一個或多個$-NR_1R_2$取代，其中 R_1、R_2各自獨立地選自氫、C_{1-6}烷基、C_{3-7}環烷基、C_{1-6}烷氧基和 $C(O)R_4$，該 C_{1-6}烷基、C_{3-7}環烷基和 C_{1-6}烷氧基任選被選自羥基、鹵素、C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基、C_{1-6}鹵烷基、C_{1-6}鹵烷氧基、胺基和 C_{1-6}烷基胺基中的一個或多個取代基取代，R_4選自氫、C_{1-6}烷基、C_{1-6}鹵烷基和 C_{1-6}烷氧基。

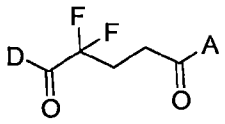
【請求項5】如請求項 1 至 4 中任一項所述的大分子，其中該 C_{1-10}直鏈或支鏈伸烷基被一個或多個$-NR_1R_2$取代，其中 R_1、R_2各自獨立地選自氫、C_{1-6}烷基和 $C(O)R_4$，R_4選自氫、C_{1-6}烷基、C_{1-6}鹵烷基和 C_{1-6}烷氧基，較佳 R_1、R_2各自獨立地選自氫和 C_{1-6}烷基，且 R_1、R_2不同時為氫。

【請求項6】如請求項 1 至 5 中任一項所述的大分子，其中該 C_{1-10}直鏈或支鏈伸烷基為 C_{1-6}直鏈或支鏈伸烷基。

【請求項7】如請求項1所述的大分子，其中連接子-X_1-L-X_2-中，X_1為-C(O)-，與藥學活性劑或其殘基A連接；X_2為-C(O)-，與樹枝狀聚合物D的表面胺基連接形成醯胺鍵；大分子結構如下：



或

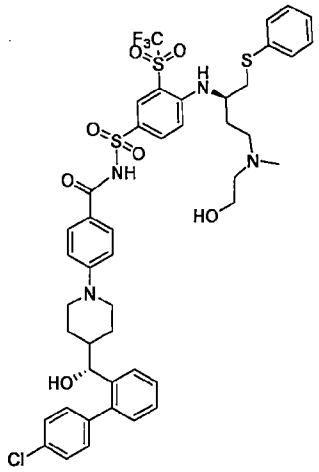


。

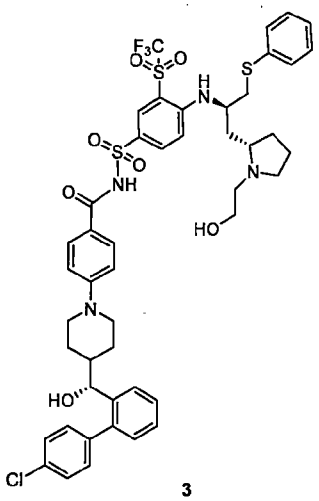
【請求項8】如請求項 1 至 7 中任一項所述的大分子，其中該藥學活性劑選自麻醉劑、抗酸劑、抗體、抗感染藥、生物製品、心血管藥物、造影劑、利尿劑、補血藥、免疫抑制劑、激素和類似物、營養製品、眼科藥物、疼痛治療劑、呼吸藥物、佐劑、同化劑、抗關節炎藥、抗驚厥藥、抗組胺藥、消炎藥、抗潰瘍藥、行為矯正藥物、腫瘤藥物、中樞神經系統藥物、避孕藥、糖尿病治療藥物、生育藥物、生長促進劑、止血藥、免疫刺激劑、肌肉鬆弛藥、肥胖治療劑、骨質疏鬆症藥物、肽、鎮靜劑和安定藥、尿道酸化劑或維生素，較佳腫瘤藥物。

【請求項9】如請求項 1 至 7 中任一項所述的大分子，其中該藥學活性劑選自紫杉烷類藥物、喜樹鹼衍生物、核苷類藥物、蒽環類藥物、海鞘素衍生物、蛋白酶體抑制劑、微管抑制劑、BCL-2 抑制劑、BCL-X_L 抑制劑、選擇性核輸出抑制劑、抗代謝藥物、酪胺酸激酶抑制劑、PLK1 抑制劑、CDK4/6 抑制劑、BTK 抑制劑、非甾體激素受體拮抗劑和類固醇，較佳紫杉烷類藥物、喜樹鹼衍生物、BCL-2 抑制劑和 BCL-X_L 抑制劑。

【請求項10】如請求項 1 至 7 中任一項所述的大分子，其中該藥學活性劑選自多西他賽、伊立替康、吉西他濱、卡培他濱、地西他濱、阿紮胞苷、多柔比星、表柔比星、曲貝替定、盧比替定、硼替佐米、艾日布林、塞利尼索、維奈托克、特西他賽、培美曲塞、卡巴他賽、卡博替尼、昂凡色替、以下化合物 2 和化合物 3，或這些藥物分子的結構改造物，



2



3 。

【請求項11】如請求項 1 至 7 中任一項所述的大分子，其中該藥學活性劑為多西他賽、化合物 2、化合物 3，或它們的結構改造物。

【請求項12】如請求項 1 至 11 中任一項所述的大分子，其中該藥物代謝動力學修飾劑選自聚乙二醇、聚乙基噁唑啉、聚乙烯基吡咯烷酮、聚丙二醇、葉酸鹽或關於細胞表面受體的配體的葉酸鹽衍生物，較佳聚乙二醇。

【請求項13】如請求項 12 所述的大分子，其中聚乙二醇具有 220 至 5500Da 範圍內的分子量，較佳 1000-5500Da，更佳 1000-2500Da，最佳 1000-2300Da 的分子量。

【請求項14】如請求項 1 至 13 中任一項所述的大分子，其中該樹枝狀聚合物 D 選自聚賴胺酸、聚賴胺酸類似物、聚醯胺基胺(PAMAM)、聚乙烯亞胺(PEI)或聚醚羥胺(PEHAM)樹枝狀聚合物，較佳聚賴胺酸或者聚賴胺酸類似物。

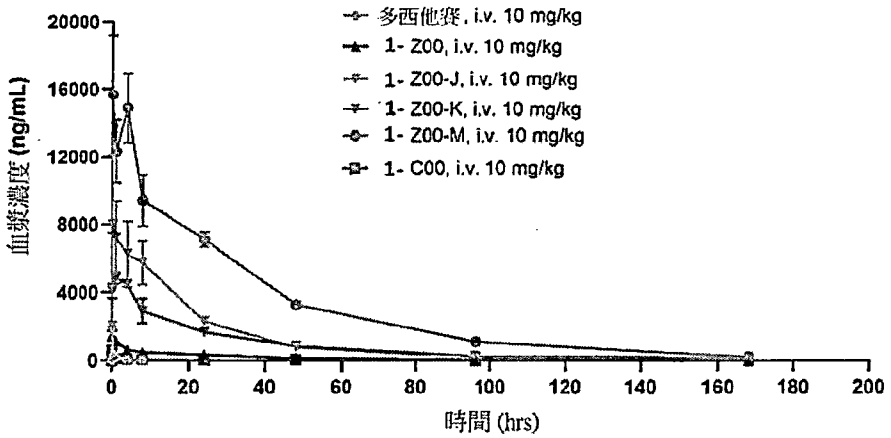
【請求項15】如請求項 14 所述的大分子，其中該聚賴胺酸或聚賴胺酸類似物包含核心和 2-7 代賴胺酸或賴胺酸類似物。

【請求項16】如請求項 14 所述的大分子，其中該樹枝狀聚合物 D 選自 $BHALys[Lys]_{16}$、$BHALys[Lys]_{32}$ 或 $BHALys[Lys]_{64}$。

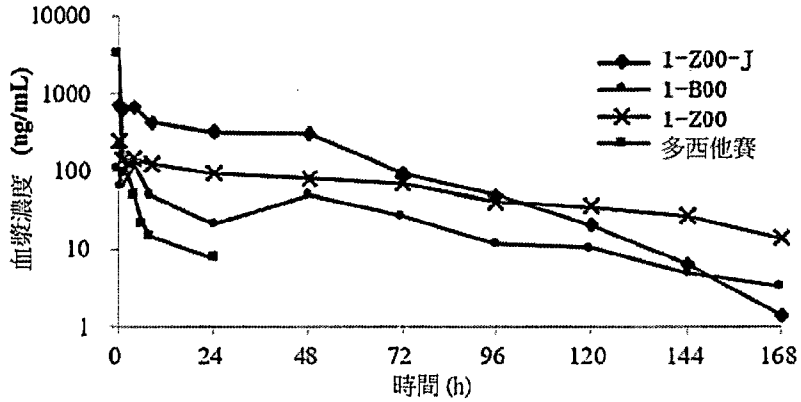
【請求項17】一種醫藥組成物，其包含如請求項 1 至 16 中任一項所述的大分子和藥學上可接受的載體。

【請求項18】一種如請求項 8 至 11 中任一項所述的大分子在製備治療腫瘤的藥物中的用途。

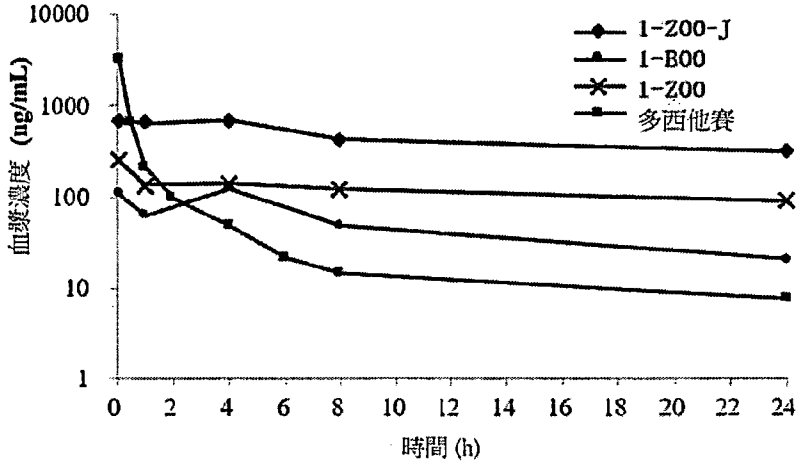
【發明圖式】


多西他賽, i.v. 10 mg/kg
1- Z00, i.v. 10 mg/kg
1- Z00-J, i.v. 10 mg/kg
1- Z00-K, i.v. 10 mg/kg
1- Z00-M, i.v. 10 mg/kg
1- C00, i.v. 10 mg/kg
血漿濃度 (ng/mL)
20000
16000
12000
8000
4000
0
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
200
時間 (hrs)

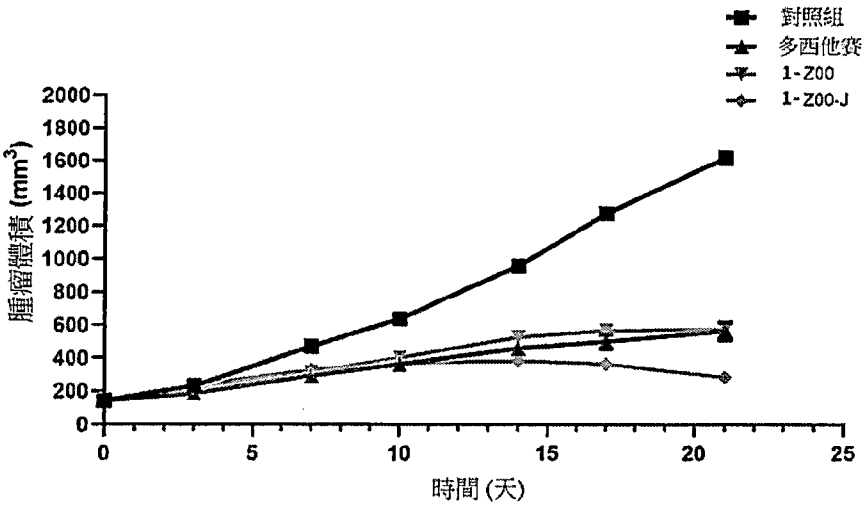
【圖1】


1-Z00-J
1-B00
1-Z00
多西他賽
血漿濃度 (ng/mL)
10000
1000
100
10
1
0
24
48
72
96
120
144
168
時間 (h)

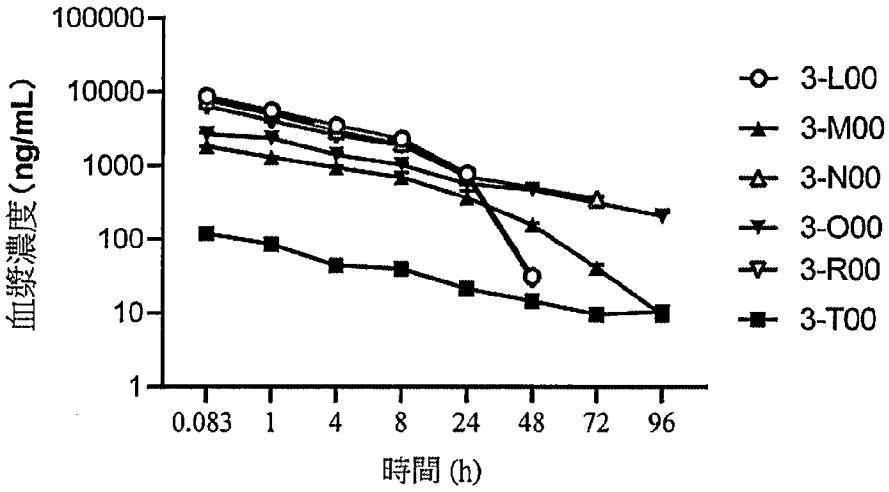
【圖2】


1-Z00-J
1-B00
1-Z00
多西他賽
血漿濃度 (ng/mL)
10000
1000
100
10
1
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22
24
時間 (h)

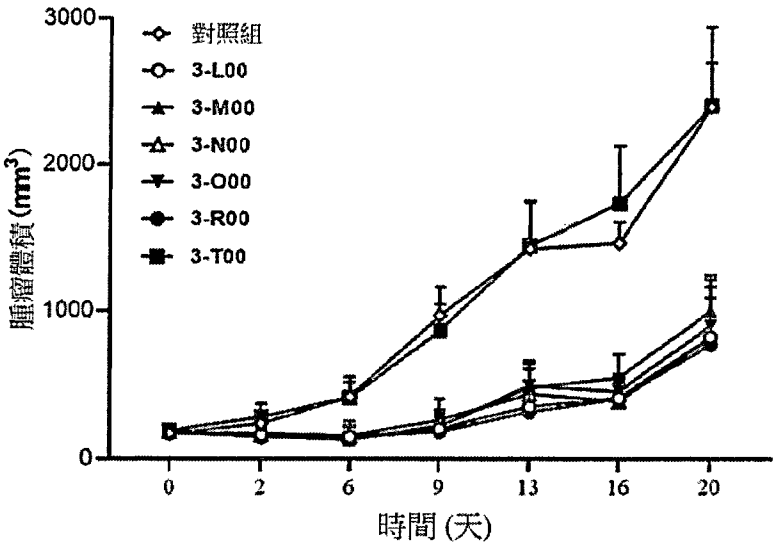
【圖3】


對照組
多西他賽
1-Z00
1-Z00-J
腫瘤體積 (mm3)
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0
5
10
15
20
25
時間 (天)

【圖4】


血漿濃度 (ng/mL)
100000
10000
1000
100
10
1
0.083
1
4
8
24
48
72
96
時間 (h)
3-L00
3-M00
3-N00
3-O00
3-R00
3-T00

【圖5】


3000
2000
1000
0
腫瘤體積 (mm3)
對照組
3-L00
3-M00
3-N00
3-O00
3-R00
3-T00
0
2
6
9
13
16
20
時間 (天)

【圖6】