



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118414169 A

(43) 申请公布日 2024. 07. 30

(21) 申请号 202280083958.4

(22) 申请日 2022.10.31

(30) 优先权数据

63/273,777 2021.10.29 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.06.18

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2022/078991 2022.10.31

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2023/077126 EN 2023.05.04

(71) 申请人 坦博公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 J·M·M·万托 M·扎卡里安

A·玛哈穆迪 J·M·麦克法兰

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

专利代理师 陈文平 张蕊蕊

(51) Int.Cl.

A61K 47/54 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

权利要求书21页 说明书85页

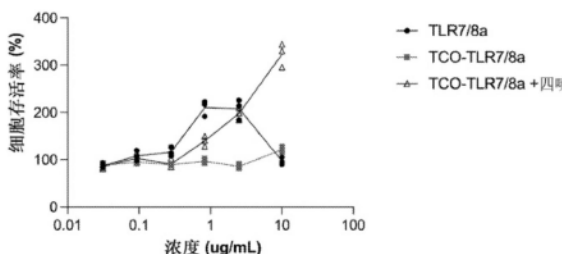
序列表(电子公布) 附图1页

(54) 发明名称

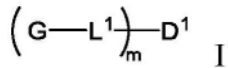
反式环辛烯缀合物

(57) 摘要

本公开总体涉及用于将有效载荷生物正交递送到受试者中的靶向位置的反式环辛烯缀合物。组合物和方法应用于癌症、肿瘤生长的治疗以及免疫疗法。



1. 一种式I的缀合物或其药学上可接受的盐:



其中

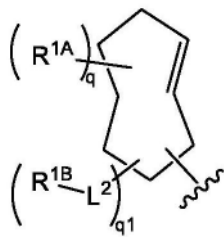
m为1至150的整数;

G在每次出现时独立地为任选取代的反式环辛烯部分;

D<sup>1</sup>为选自聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)的抑制剂、倍癌霉素、吡咯并苯并二氮杂草(PBD)、半星芒体、HTI-286、单克隆抗体、拓扑异构酶抑制剂、芦比替定、MSA-2、加地喹莫特、环丙沙星、丝裂霉素C、依托泊苷和依沙替康、或其衍生物或类似物的有效载荷;

L<sup>1</sup>在每次出现时独立地为接头。

2. 根据权利要求1所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中每个反式环辛烯部分独立地为:



其中:

R<sup>1A</sup>在每次出现时独立地选自由C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-4</sub>卤代烷基和C<sub>1-4</sub>烷氧基组成的组;

q为0、1或2;

q1为0或1;

R<sup>1B</sup>在每次出现时独立地选自由以下项组成的组: G<sup>1</sup>、-OH、-NR<sup>1c</sup>-C<sub>1-4</sub>亚烷基-G<sup>1</sup>、-NR<sup>1c</sup>-C<sub>1-4</sub>亚烷基-N(R<sup>1d</sup>)<sub>2</sub>、-NR<sup>1c</sup>-C<sub>1-6</sub>亚烷基-N(C<sub>1-4</sub>烷基)<sub>3</sub><sup>+</sup>、  
-N(R<sup>1c</sup>)CHR<sup>1e</sup>CO<sub>2</sub>H、-N(R<sup>1c</sup>)-C<sub>1-6</sub>亚烷基-CO<sub>2</sub>H、-N(R<sup>1f</sup>)-C<sub>2-4</sub>亚烷基-(N(C<sub>1-4</sub>亚烷基-CO<sub>2</sub>H)-C<sub>2-4</sub>亚烷基)<sub>n</sub>-N(C<sub>1-4</sub>亚烷基-CO<sub>2</sub>H)<sub>2</sub>、-N(R<sup>1c</sup>)CHR<sup>1e</sup>C(O)OC<sub>1-6</sub>烷基、  
-N(R<sup>1c</sup>)-C<sub>1-6</sub>亚烷基-C(O)OC<sub>1-6</sub>烷基、-N(R<sup>1f</sup>)-C<sub>2-4</sub>亚烷基-(N(C<sub>1-4</sub>亚烷基-C(O)OC<sub>1-6</sub>烷基)-C<sub>2-4</sub>亚烷基)<sub>n</sub>-N(C<sub>1-4</sub>亚烷基-C(O)OC<sub>1-6</sub>烷基)<sub>2</sub>、-N(R<sup>1c</sup>)-C<sub>1-6</sub>亚烷基-SO<sub>3</sub>H、  
-N(R<sup>1c</sup>)-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>1-3</sub>-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N((CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>1-3</sub>-C<sub>1-6</sub>亚烷基-CO<sub>2</sub>H)<sub>2</sub>和-N(R<sup>1c</sup>)-CH(CH<sub>2</sub>O-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>0-2</sub>-C<sub>1-6</sub>亚烷基-CO<sub>2</sub>H)<sub>2</sub>;

R<sup>1c</sup>和R<sup>1d</sup>在每次出现时独立地为氢或C<sub>1-4</sub>烷基;

R<sup>1e</sup>在每次出现时独立地为-C<sub>1-4</sub>亚烷基-CO<sub>2</sub>H、-C<sub>1-4</sub>亚烷基-CONH<sub>2</sub>或-C<sub>1-4</sub>亚烷基-OH;

R<sup>1f</sup>在每次出现时独立地为氢、C<sub>1-6</sub>烷基或C<sub>1-4</sub>亚烷基-CO<sub>2</sub>H;

n在每次出现时独立地为0、1、2或3;

L<sup>2</sup>在每次出现时独立地选自由-C(O)-和C<sub>1-3</sub>亚烷基组成的组;并且

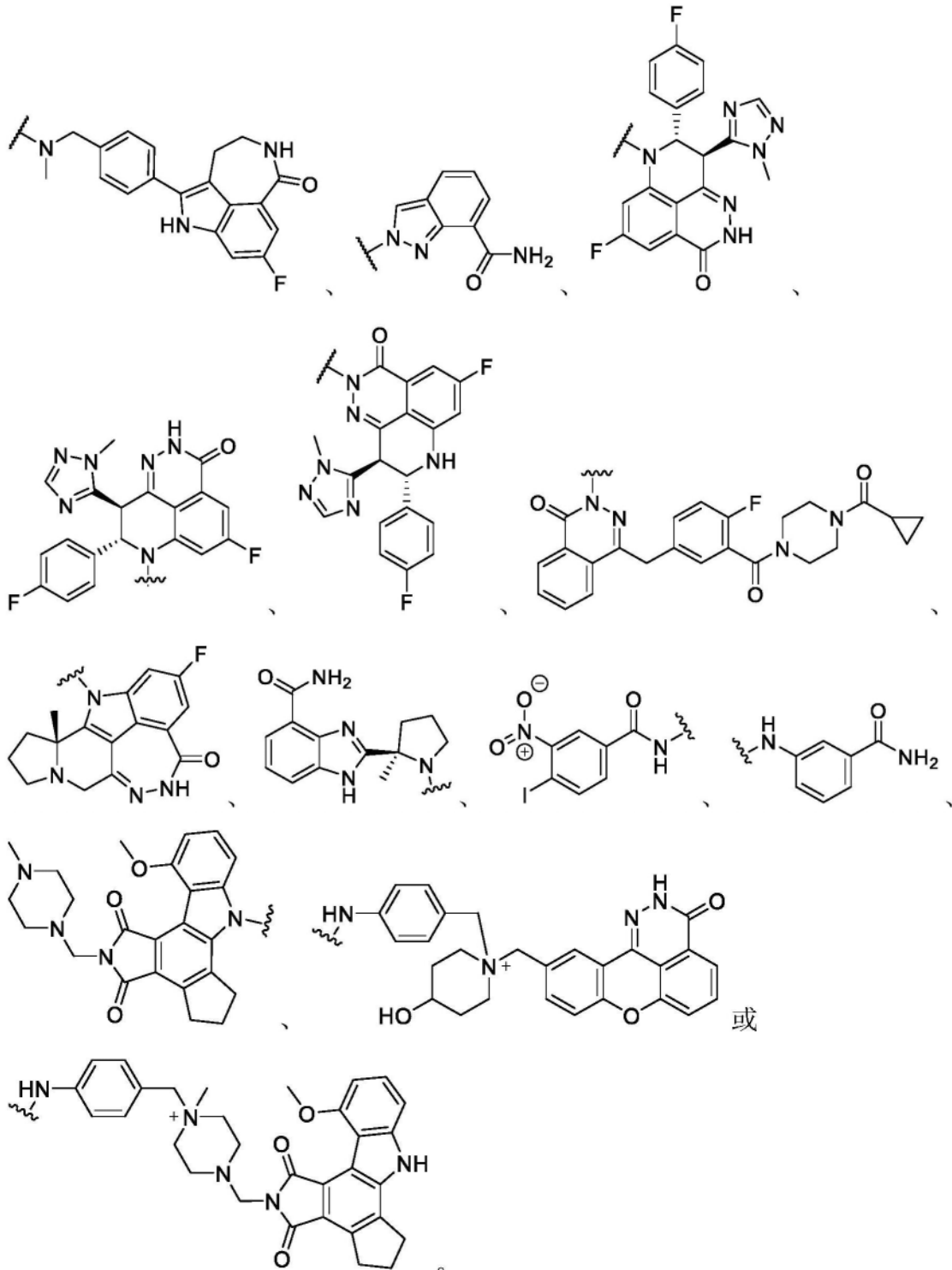
G<sup>1</sup>在每次出现时独立地为任选取代的杂环基。

3. 根据权利要求1至2中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述有效载荷是聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)的抑制剂、或其衍生物或类似物。

4. 根据权利要求3所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)的抑制剂为尼拉帕尼、他拉唑帕尼、奥拉帕尼、帕米帕尼、鲁卡帕尼、维利帕尼、伊

尼帕尼、3-氨基苯甲酰胺、CEP-9722、E7016、或其衍生物或类似物。

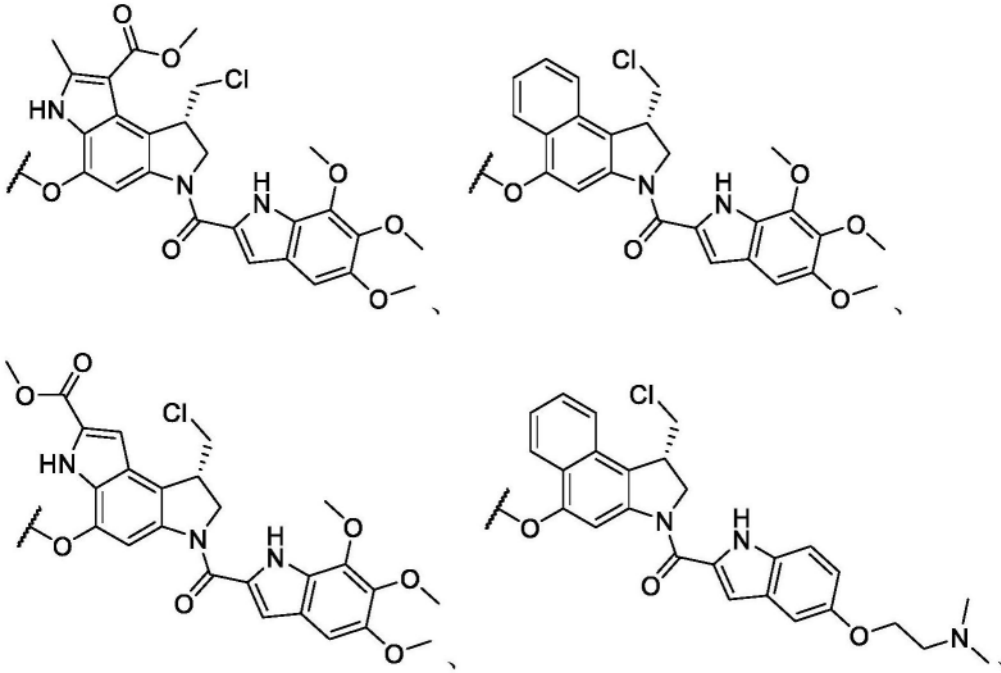
5. 根据权利要求3所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中D<sup>1</sup>为:

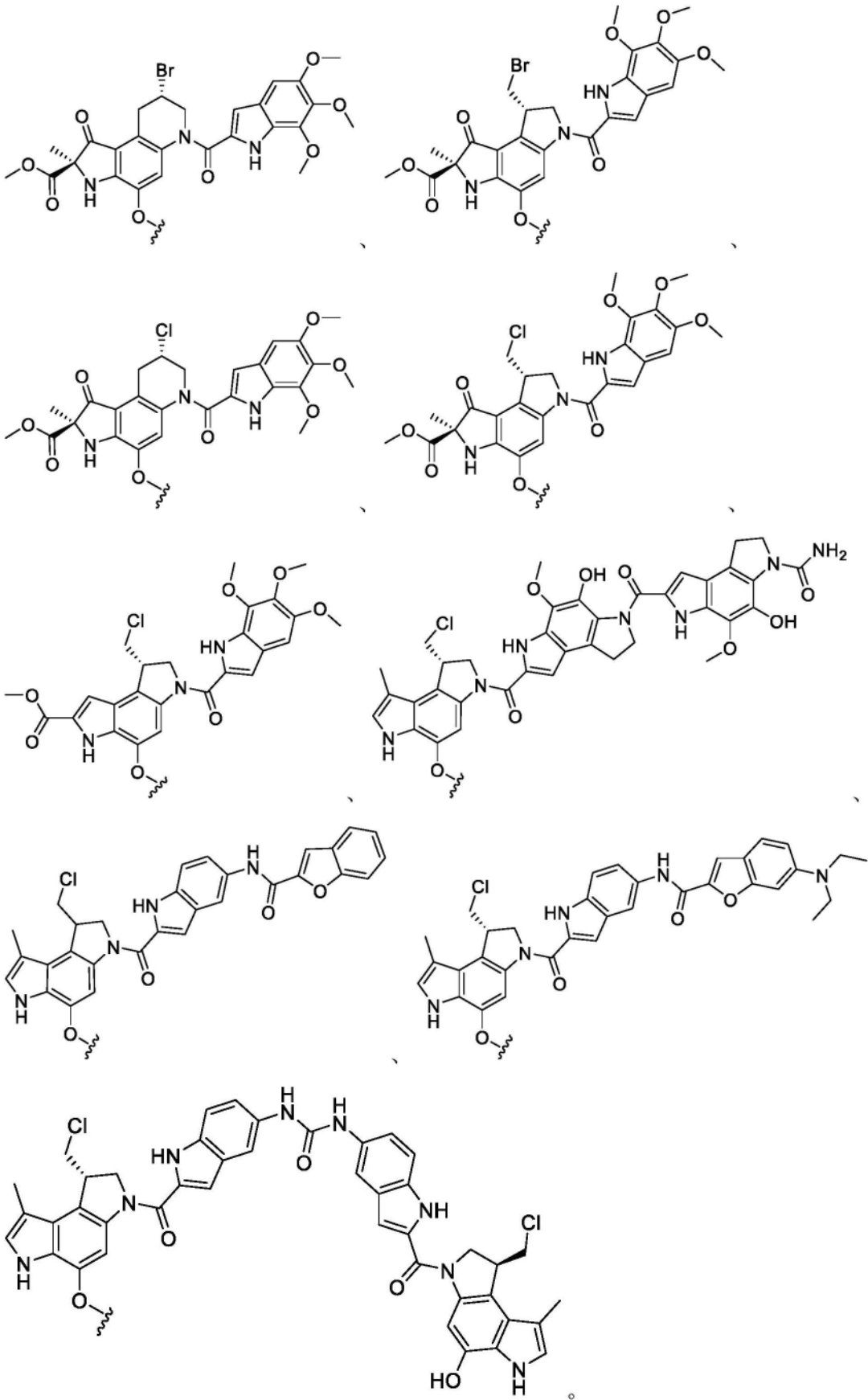


6. 根据权利要求1至2中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述有效载荷为倍癌霉素、或其衍生物或类似物。

7. 根据权利要求6所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述倍癌霉素为倍癌霉素A、倍癌霉素B1、倍癌霉素B2、倍癌霉素C1、倍癌霉素C2、倍癌霉素D、倍癌霉素SA、CC-1065、阿多来新、卡折来新、比折来新、或其衍生物或其类似物。

8. 根据权利要求6所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中D<sup>1</sup>为:

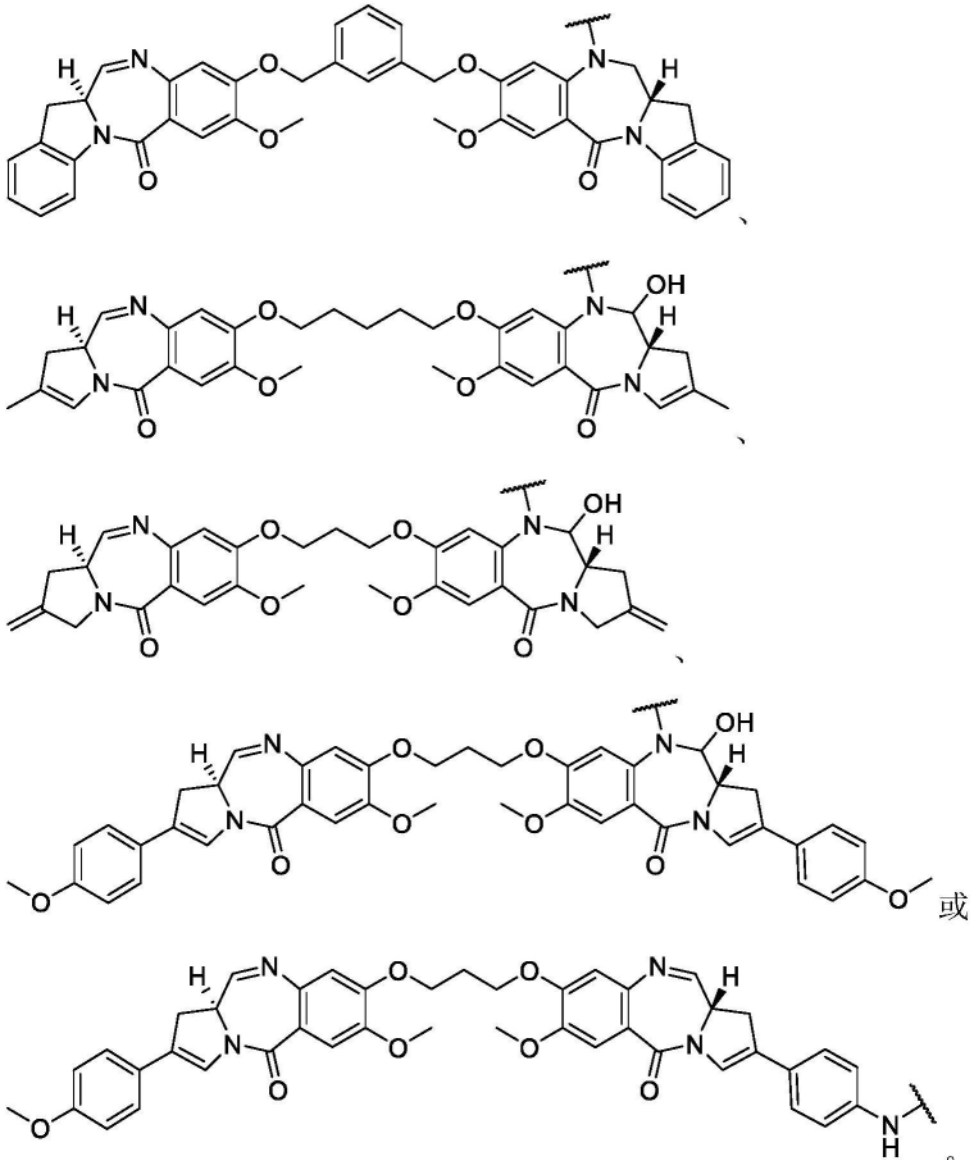




9. 根据权利要求1至2中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述有效载荷为吡咯并苯并二氮杂草(PBD)、或其衍生物或类似物。

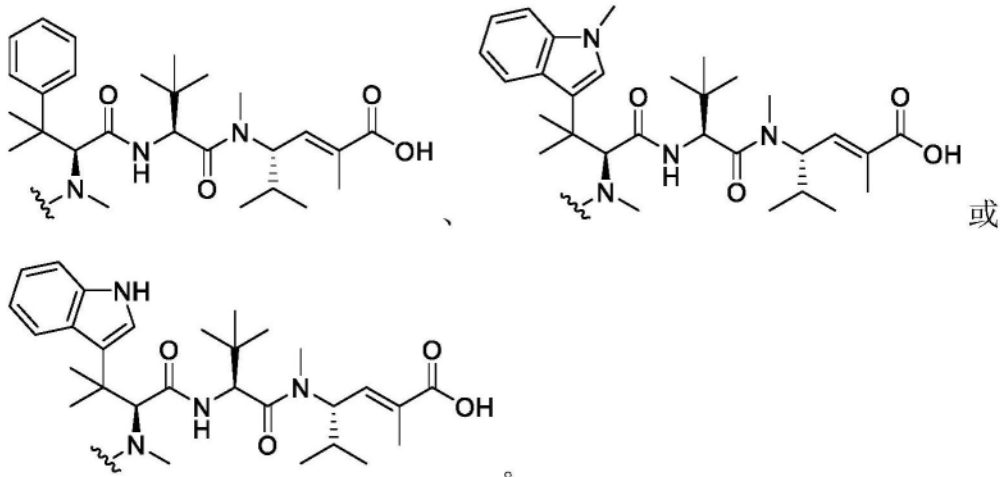
10. 根据权利要求9所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述吡咯并苯并二氮杂草(PBD)为[1,2]二氮杂草并[3,4-e]吡啶、或其衍生物或类似物:

11. 根据权利要求9所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中D<sup>1</sup>为:



12. 根据权利要求1至2中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述有效载荷为半星芒体、HTI-286、或其衍生物或类似物。

13. 根据权利要求12所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中D<sup>1</sup>为:



14. 根据权利要求1至2中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述有效载荷为抗CD3 ( $\alpha$ CD3) 单克隆抗体、或其衍生物或类似物。

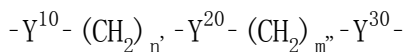
15. 根据权利要求14所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述抗CD3 ( $\alpha$ CD3) 单克隆抗体为OKT3、SP34、UCHT1、特普利珠单抗、奥特利兹单抗、维西珠单抗或福雷芦单抗、或其衍生物或类似物。

16. 根据权利要求1至15中任一项所述的缀合物,其中 $L^1$ 包括1至100个连接原子、1至50个连接原子、或5至50个连接原子、或10至50个连接原子、或1至40个连接原子、或1至30个连接原子、或1至20个连接原子、或1至10个连接原子、或1至5个连接原子、或5至30个连接原子、或10至30个连接原子、或5至40个连接原子、或5至50个连接原子、或10至50个连接原子。

17. 根据权利要求1至16中任一项所述的缀合物,其中 $L^1$ 包括一个或多个链杂原子以及一个或多个亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚芳基、杂亚芳基、环亚烷基或杂环亚烷基部分;其中每个亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚芳基、杂亚芳基、环亚烷基或杂环亚烷基部分可独立地任选地经一至五个独立地选自氧代、卤代、 $C_{1-4}$ 烷基、 $C_{1-4}$ 烷氧基和 $C_{1-4}$ 卤代烷基的取代基取代。

18. 根据权利要求1至16中任一项所述的缀合物,其中 $L^1$ 为亚烷基接头,其任选地包含一个或多个-O-、-S-、胺、酯、酰胺、氨基甲酸酯、碳酸酯或酮官能团。

19. 根据权利要求1至16中任一项所述的缀合物,其中 $L^1$ 为下式:



其中:

$Y^{10}$ 、 $Y^{20}$ 和 $Y^{30}$ 中的每一者独立地为键、 $-NR^{110}-$ 、 $-O-$ 、 $-S(O)_{0-2}-$ 、 $-NR^{110}C(O)-$ 、 $-C(O)NR^{110}-$ 、 $-NR^{110}S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2NR^{110}-$ 、 $-CR^{120}=N-NR^{110}-$ 、 $-NR^{110}-N=CR^{120}-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)O-$ 、亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚芳基、杂亚芳基、环亚烷基或杂环亚烷基;其中每个亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚芳基、杂亚芳基、环亚烷基或杂环亚烷基独立地任选地经一至五个独立地选自氧代、卤代、 $C_{1-4}$ 烷基、 $C_{1-4}$ 烷氧基和 $C_{1-4}$ 卤代烷基的取代基取代;

每个 $R^{110}$ 独立地为氢、 $C_{1-4}$ 烷基、 $C_{1-4}$ 卤代烷基、芳基、杂芳基、环烷基或杂环基;

每个 $R^{120}$ 独立地为氢、 $C_{1-4}$ 烷基、 $C_{1-4}$ 卤代烷基、芳基、杂芳基、环烷基或杂环基;并且

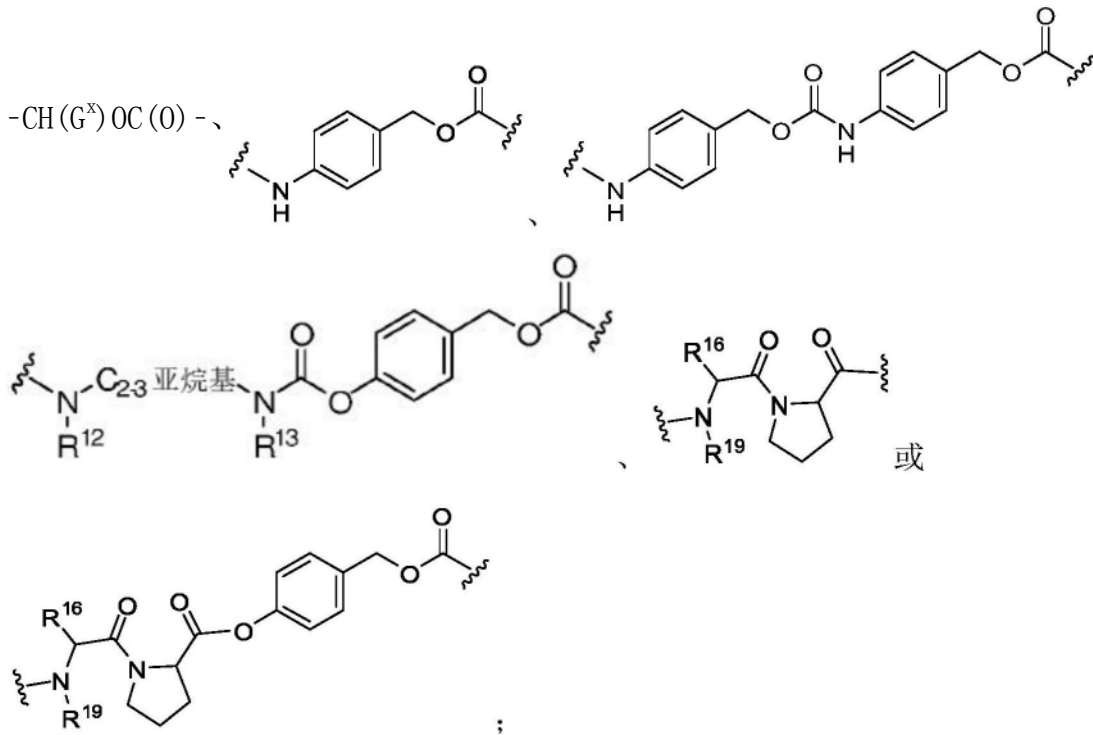
$n'$ 和 $m$ 各自独立地为0、1、2、3、4、5、6、7或8。

20. 根据权利要求1至19中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述接头包含一个或多个氨基酸。

21. 根据权利要求1至16中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中:

$L^1$ 为 $-OC(O)L^4-$ 或 $-OC_{1-6}$ 亚烷基 $C(O)L^4-$ ;

$L^4$ 为键、 $-N(R^{12})-C_{2-3}$ 亚烷基 $-N(R^{13})C(O)-$ 、 $-CH(NHC(O)R^{14})C_{1-4}$ 亚烷基 $-S-S-C_{1-4}$ 亚烷基 $-OC(O)-$ 、 $-NHNHC(O)CH(NHC(O)R^{15})CH_2C(O)-$ 、 $-C_{1-6}$ 亚烷基



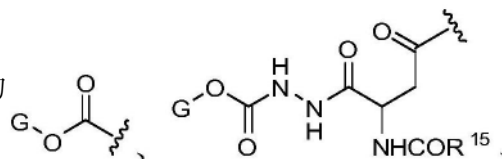
$R^{12}$ 、 $R^{13}$ 、 $R^{14}$ 、 $R^{15}$ 和 $R^{19}$ 各自独立地为氢或 $C_{1-4}$ 烷基;

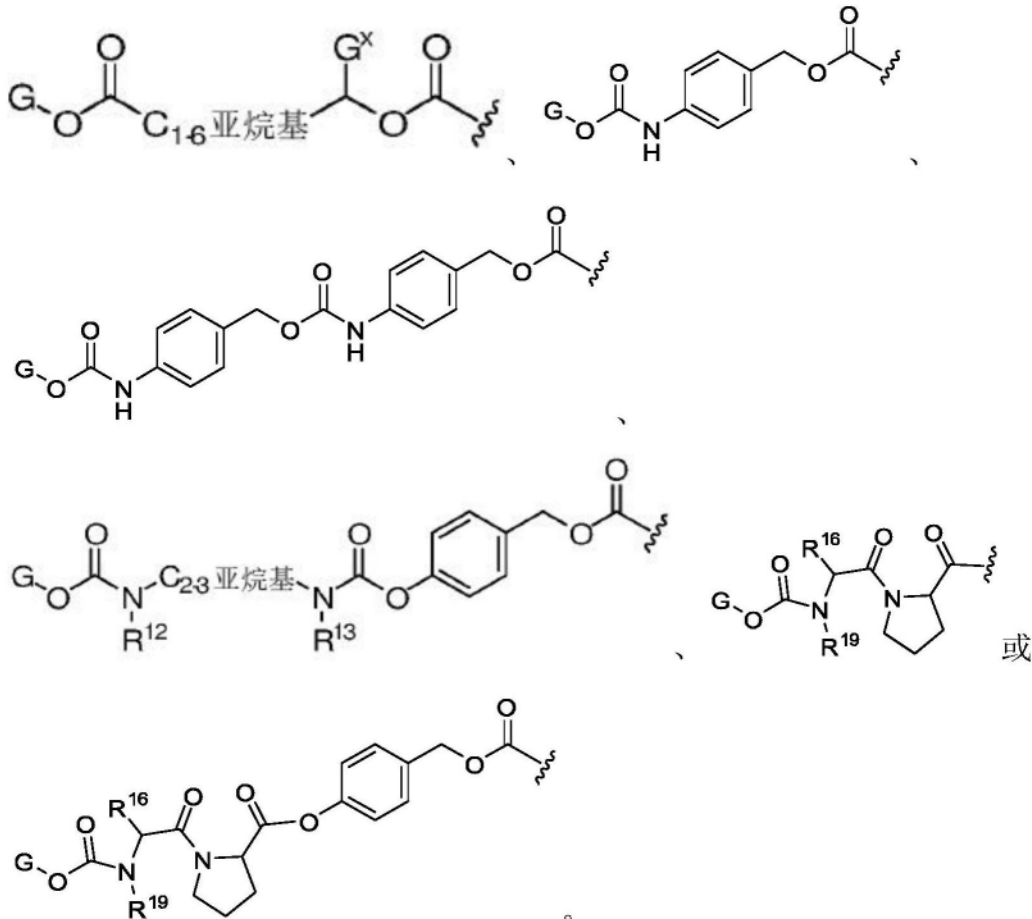
$R^{16}$ 为氢、 $C_{1-4}$ 烷基、 $-C_{1-4}$ 亚烷基 $-OH$ 、 $-C_{1-4}$ 亚烷基 $-OC_{1-4}$ 烷基、 $-C_{1-4}$ 亚烷基 $-CO_2H$ 或 $-C_{1-4}$ 亚烷基 $-CONH_2$ ;并且

$G^x$ 为任选地经1至5个独立地选自自由卤素、 $C_{1-4}$ 烷基、 $C_{1-4}$ 卤代烷基、 $C_{1-4}$ 烷氧基、氰基和硝基组成的组的取代基取代的苯基。

22. 根据权利要求1至16中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中:

$G-L^1$ 在每次出现时独立地为





23. 根据权利要求1至22中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中G-L<sup>1</sup>在每次出现时独立地为  $G-O-C(=O)-R$ 。

24. 根据权利要求4至23中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中:

R<sup>1B</sup>为G<sup>1</sup>、-OH、-NR<sup>1c</sup>-C<sub>1-4</sub>亚烷基-G<sup>1</sup>、-NR<sup>1c</sup>-C<sub>1-4</sub>亚烷基-N(R<sup>1d</sup>)<sub>2</sub>、

-N(R<sup>1c</sup>)CHR<sup>1e</sup>CO<sub>2</sub>H、-N(R<sup>1c</sup>)CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H或

-N(R<sup>1f</sup>)-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-(N(CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-N(CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H)<sub>2</sub>;

R<sup>1e</sup>为-CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H、-CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>OH或-CH(CH<sub>3</sub>)OH;并且

R<sup>1f</sup>为氢或-CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H。

25. 根据权利要求4至24中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中:

R<sup>1A</sup>为C<sub>1-4</sub>烷基;

R<sup>1B</sup>为G<sup>1</sup>、-OH、-NR<sup>1c</sup>-C<sub>1-4</sub>亚烷基-G<sup>1</sup>、-NR<sup>1c</sup>-C<sub>1-4</sub>亚烷基-N(R<sup>1d</sup>)<sub>2</sub>、

-N(R<sup>1c</sup>)CHR<sup>1e</sup>CO<sub>2</sub>H、-N(R<sup>1c</sup>)CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H或

-N(R<sup>1f</sup>)-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-(N(CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-N(CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H)<sub>2</sub>;

R<sup>1e</sup>为-C<sub>1-4</sub>亚烷基-CO<sub>2</sub>H;

R<sup>1f</sup>为氢或-C<sub>1-4</sub>亚烷基-CO<sub>2</sub>H;

G<sup>1</sup>为含有第一氮和任选的一个选自氮、氧和硫的额外杂原子的4元至8元单环杂环基,G<sup>1</sup>附接在所述第一氮处且任选地经1至4个独立地选自C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-4</sub>卤代烷基、卤代、氰基、-OH、-OC<sub>1-4</sub>烷基和氧代组成的组的取代基取代;并且

n为0、1或2。

26. 根据权利要求4至25中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中:

$R^{1A}$ 为 $CH_3$ ;

$R^{1e}$ 为 $-CH_2CO_2H$ ;

$R^{1f}$ 为氢或 $-CH_2CO_2H$ ;并且

$G^1$ 为哌嗪基、吗啉基、哌啶基、氮杂环庚烷基或吡咯烷基,通过环氮原子附接且任选地经1至4个独立地选自 $C_{1-4}$ 烷基、 $C_{1-4}$ 卤代烷基、卤代、氰基、 $-OH$ 、 $-OC_{1-4}$ 烷基和氧代组成的组的取代基取代。

27. 根据权利要求4至26中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中 $L^2$ 为 $-C(=O)-$ 。

28. 根据权利要求27所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中

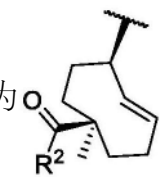
$R^{1B}$ 为 $-OH$ 、 $N(H)CH_2CO_2H$ 、 $-N(H)CHR^{1e}CO_2H$ 、

$-N(H)-CH_2CH_2-(N(CH_2CO_2H)CH_2CH_2)_n-N(CH_2CO_2H)_2$ 或

$-N(CH_2CO_2H)-CH_2CH_2-N(CH_2CO_2H)_2$ ;并且

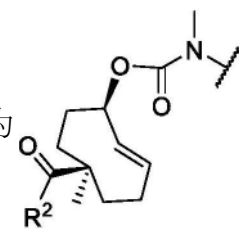
$R^{1e}$ 为 $-CH_2CO_2H$ 。

29. 根据权利要求1至22中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中

G在每次出现时独立地为  并且 $R^2$ 为 $-OH$ 、2-氨基乙烷磺酸、N连接的天然或非

天然氨基酸或任选取代的乙二胺;其中 $R^2$ 可任选地进一步经聚醚取代。

30. 根据权利要求1至22中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中

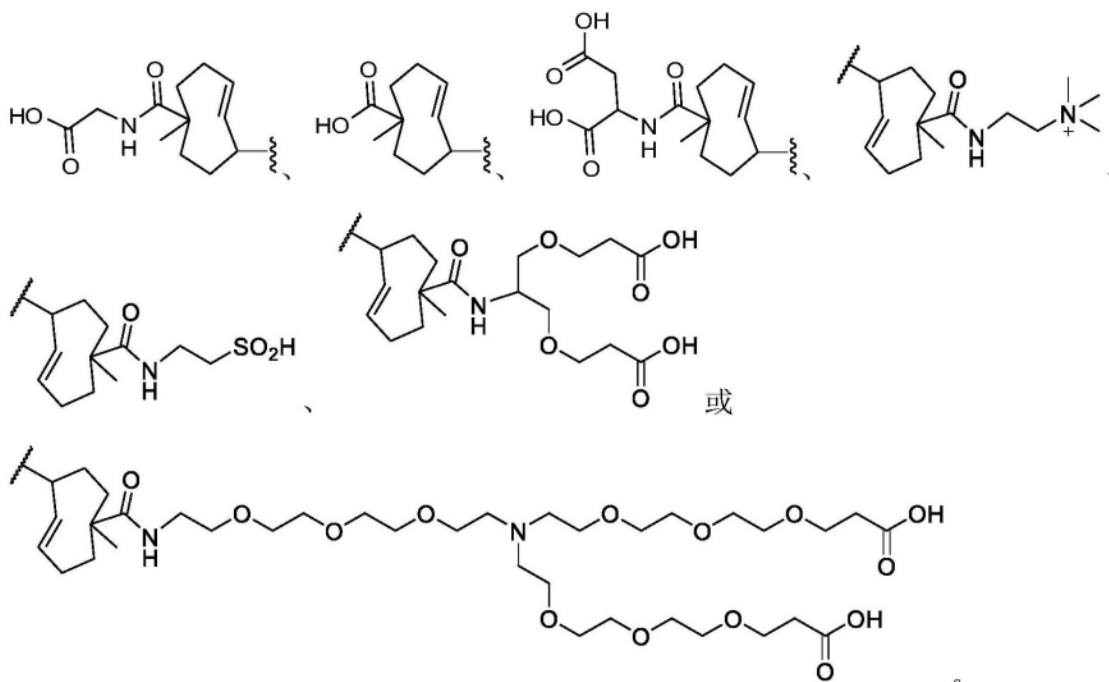
$G-L^1$ 在每次出现时独立地为  并且 $R^2$ 为 $-OH$ 、2-氨基乙烷磺酸、N连接的

天然或非天然氨基酸或任选取代的乙二胺;其中 $R^2$ 可任选地进一步经聚醚取代。

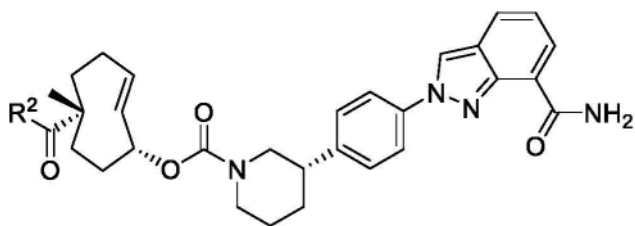
31. 根据权利要求1至30中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中m为1至20、或1至10、或1至5。

32. 根据权利要求1至30中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中m为1。

33. 根据权利要求1至31中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中G为



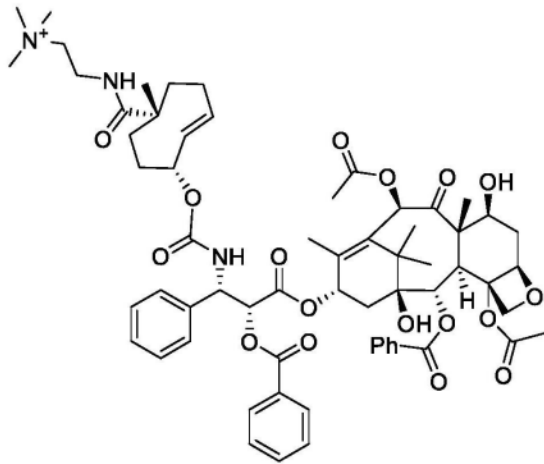
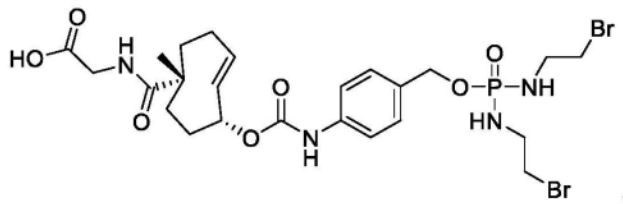
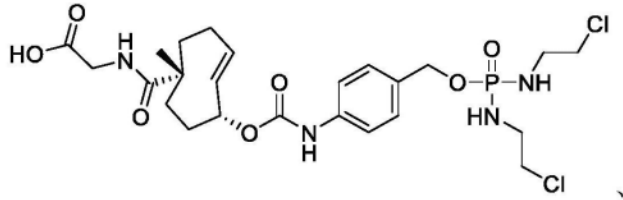
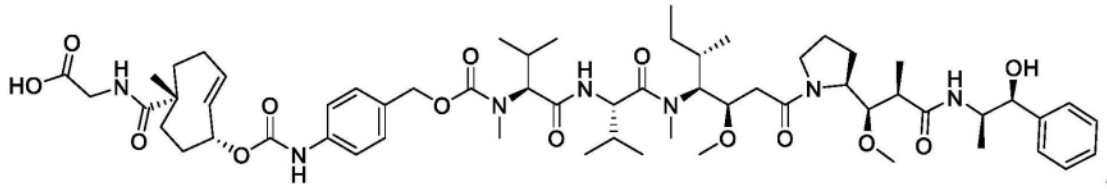
34. 一种式IIA的缀合物或其药学上可接受的盐,其中

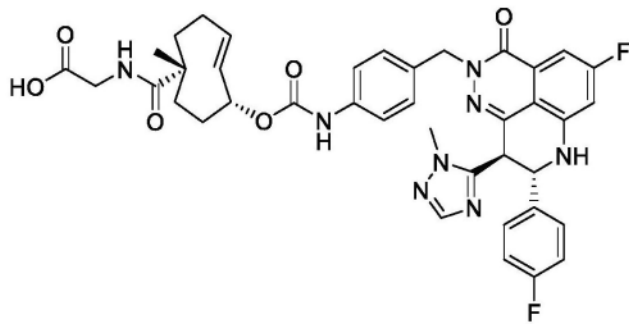
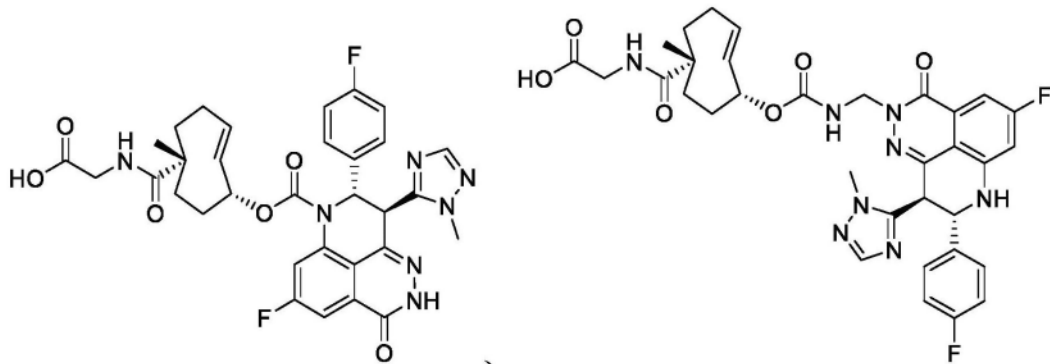
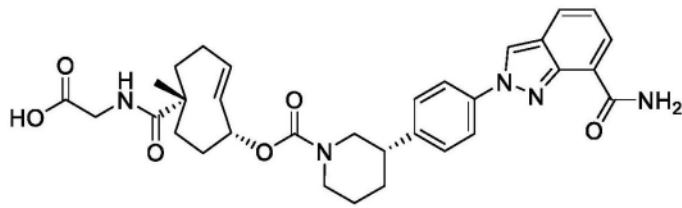
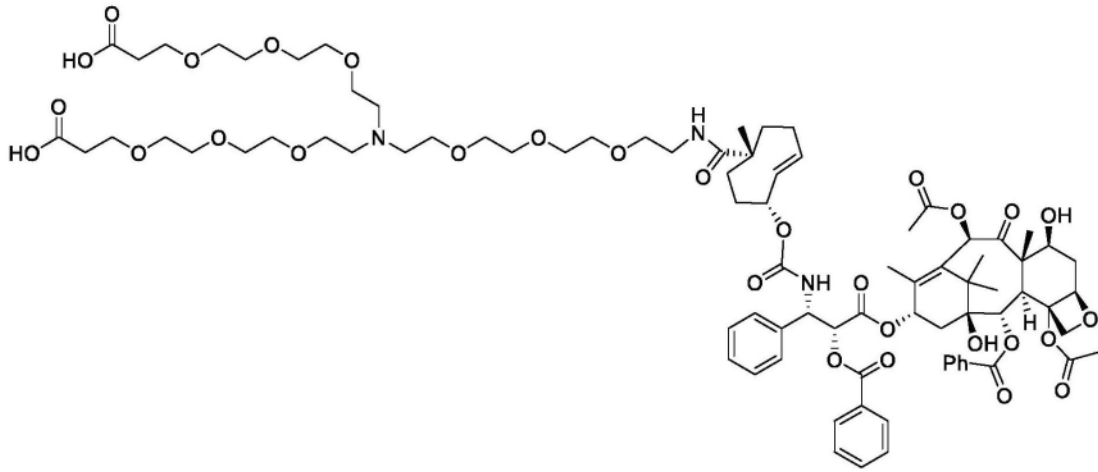


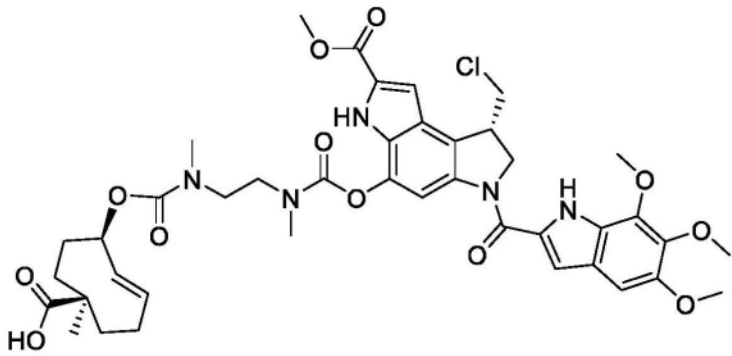
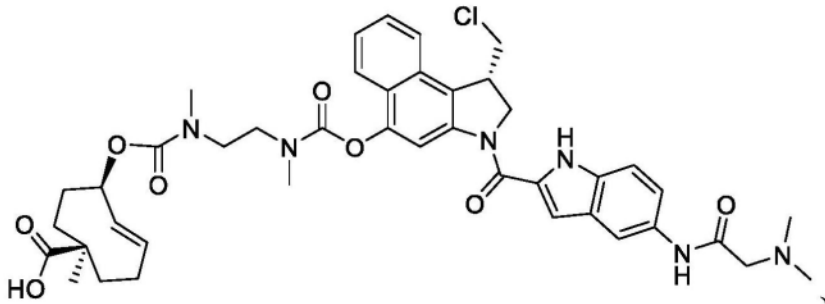
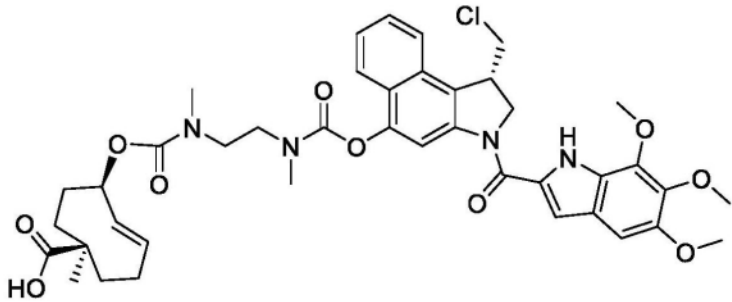
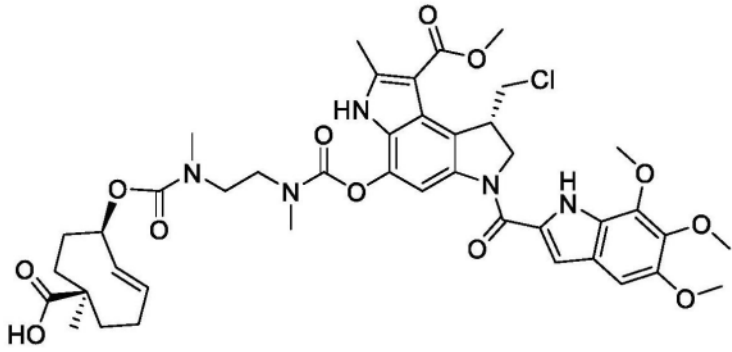
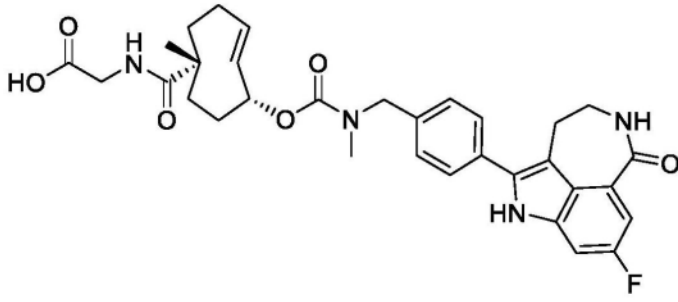
IIA

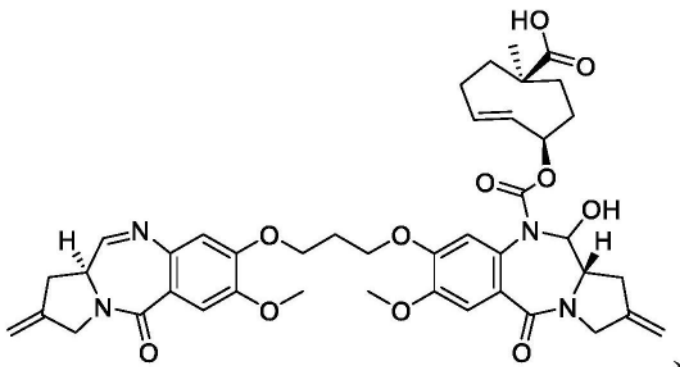
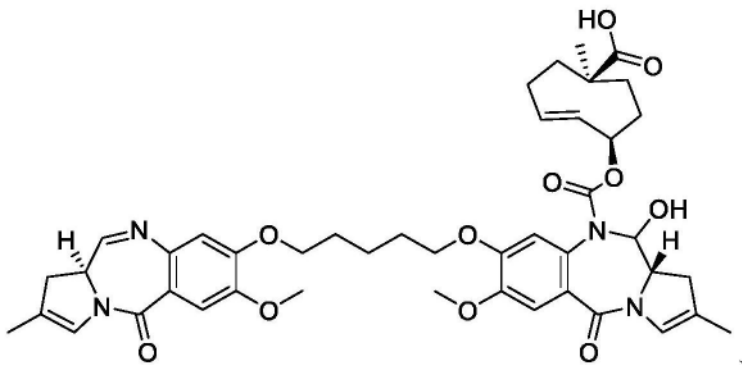
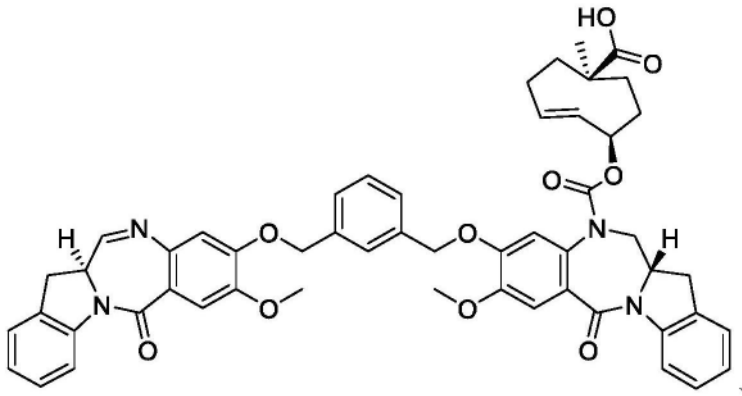
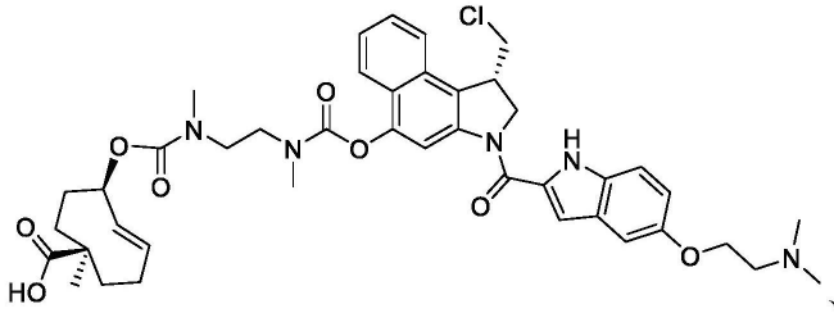
其中 $R^2$ 为-OH、2-氨基乙烷磺酸、N连接的天然或非天然氨基酸或任选取代的乙二胺;其中 $R^2$ 可任选地进一步经聚醚取代。

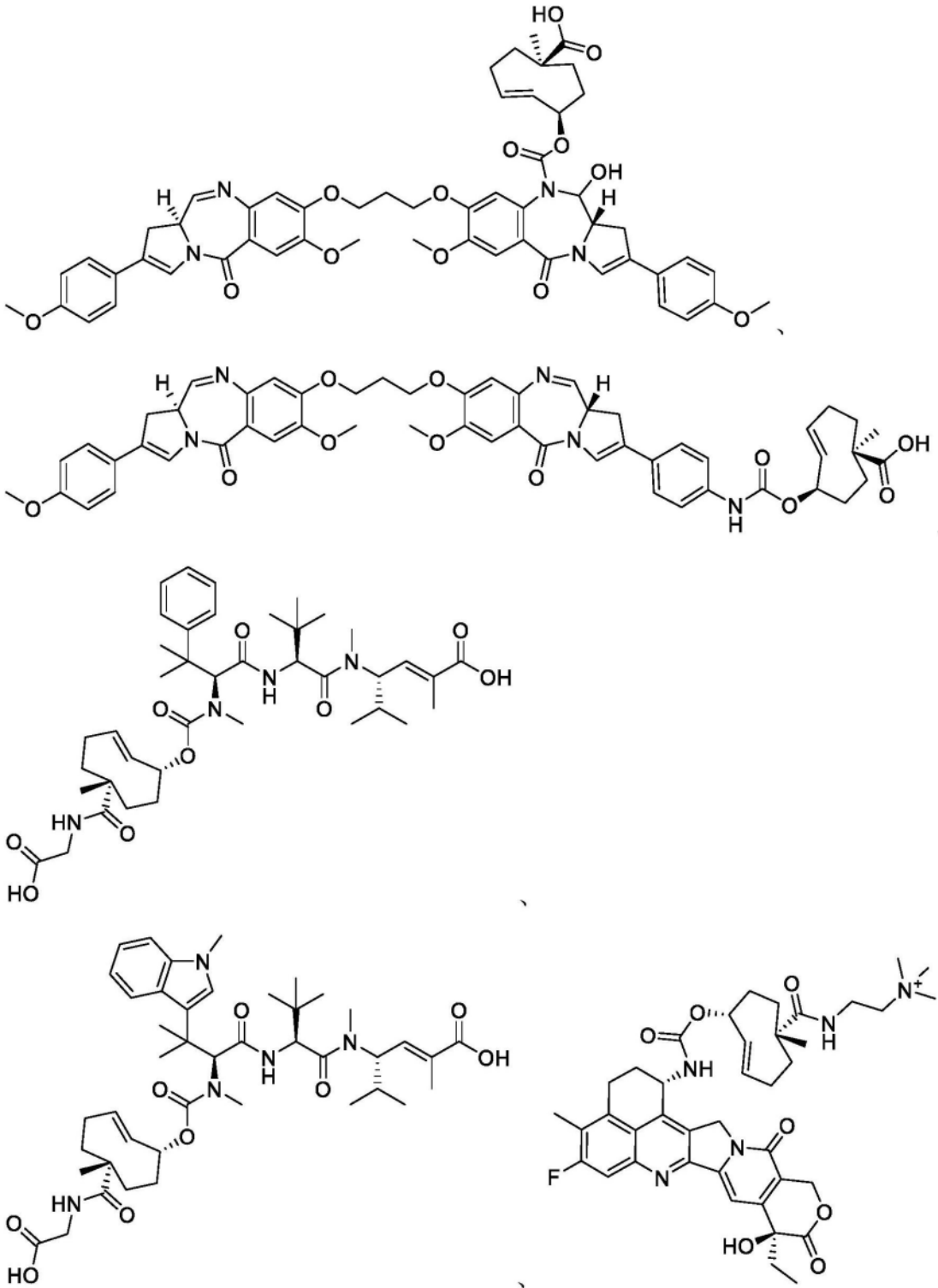
35. 一种缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述缀合物具有以下结构:

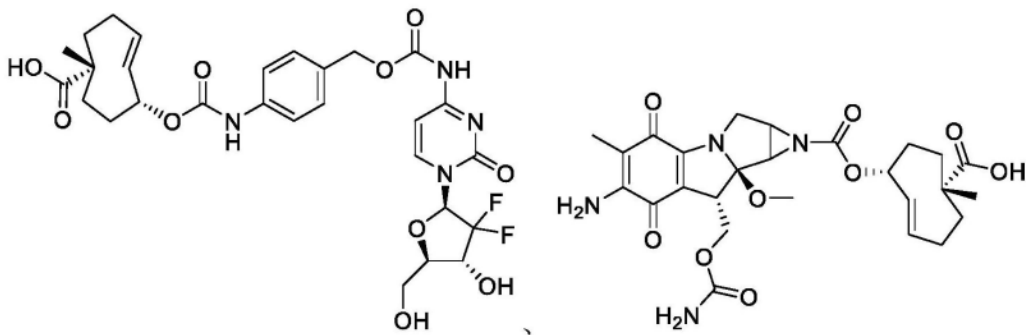
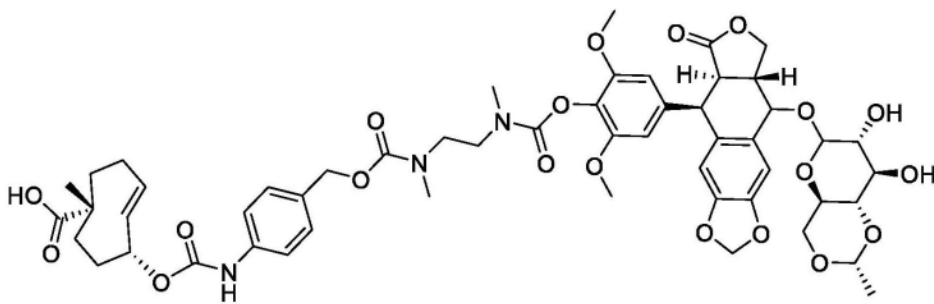
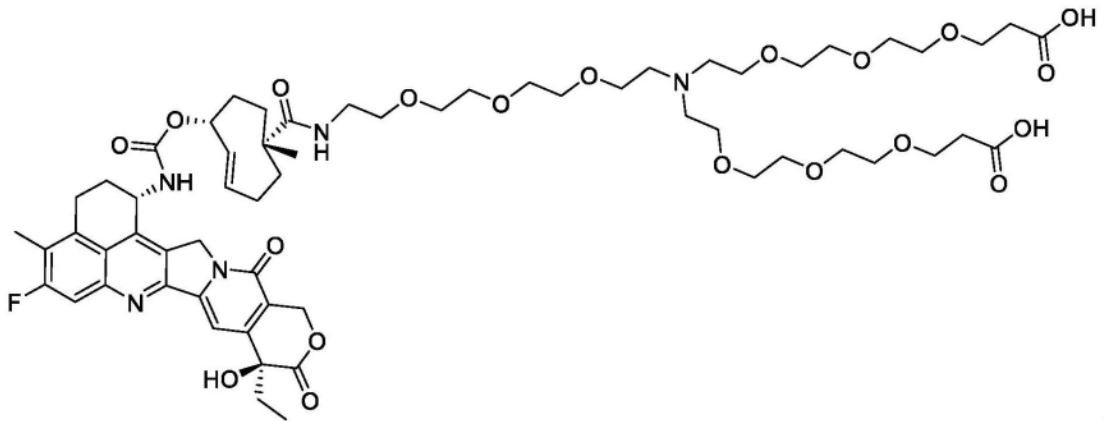
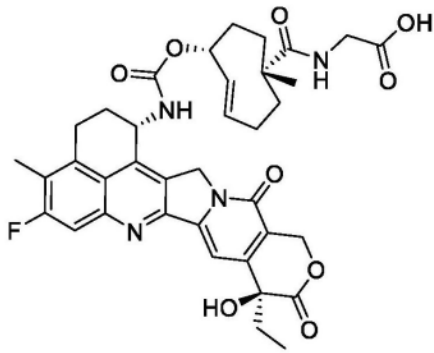


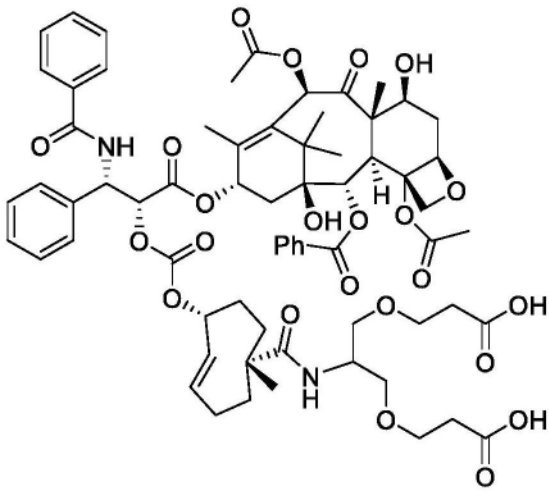
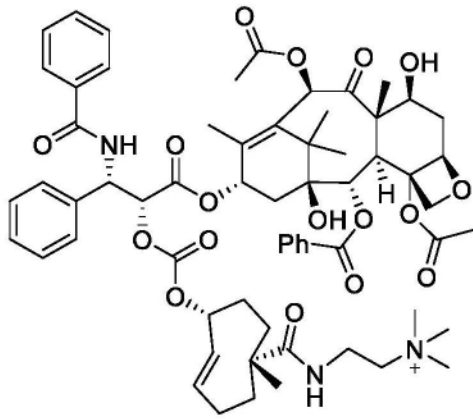
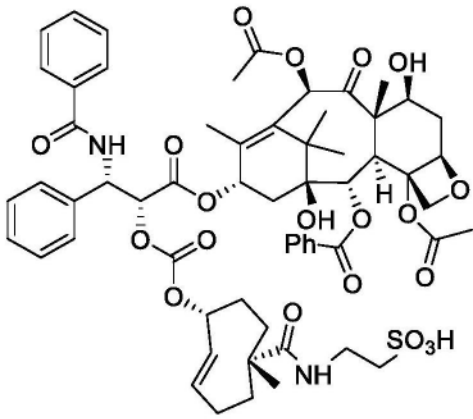
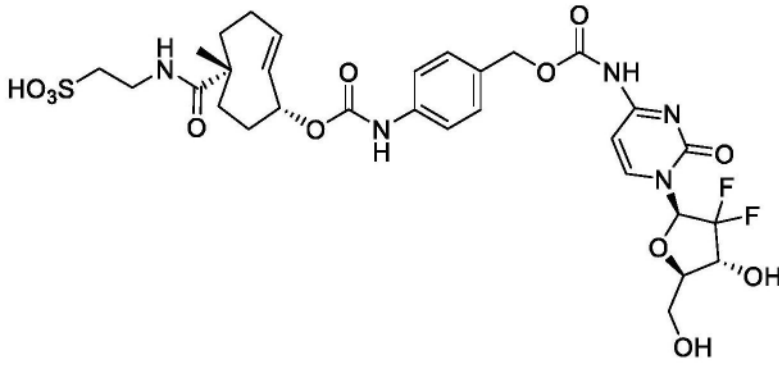


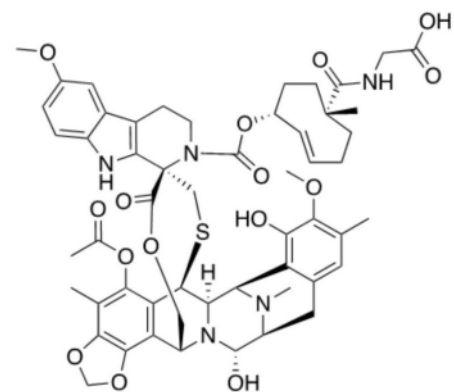
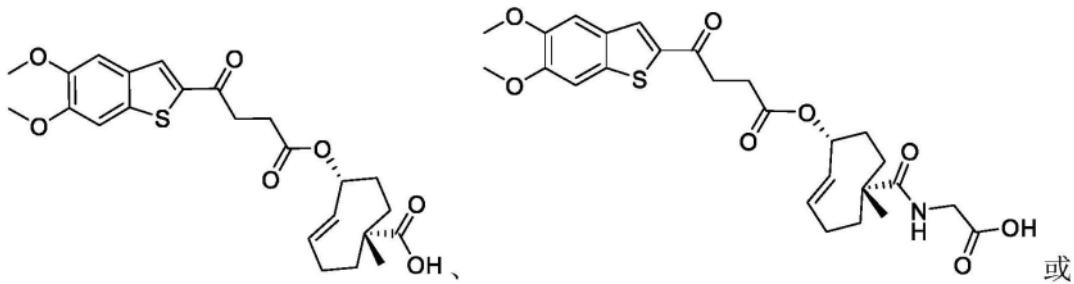
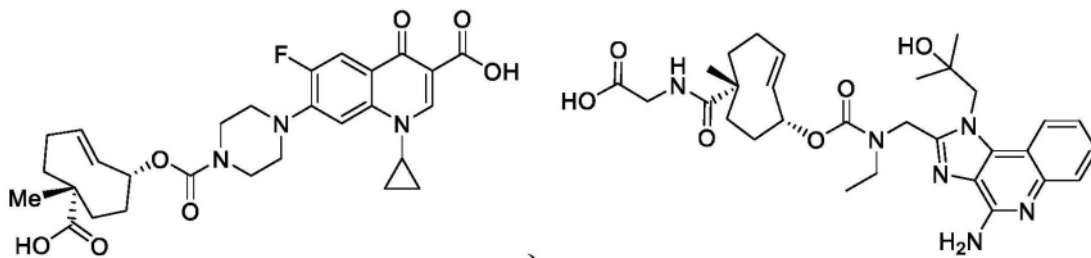
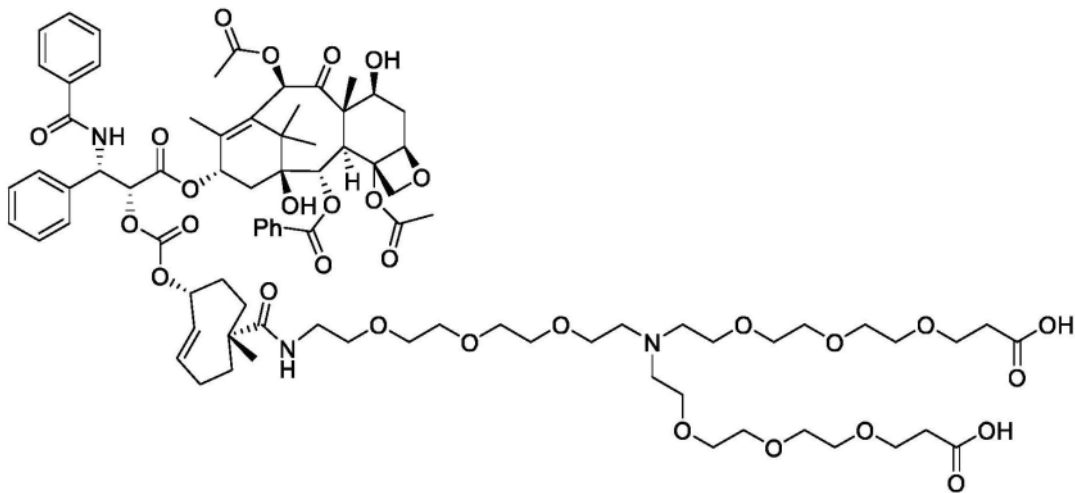






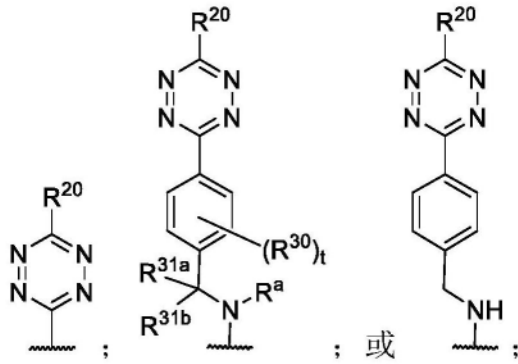






36. 一种药物组合物,其包含根据权利要求1至35中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐,以及药学上可接受的载体。

37. 一种治疗癌症的方法,所述方法包括向有此需要的受试者施用治疗有效量的根据权利要求1至35中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐,或根据权利要求36所述的药物组合物,以及治疗性支持组合物,所述治疗性支持组合物包含生物相容性支持物和下式的含四嗪基团:



其中

$R^{20}$  选自由以下项组成的组: 氢、卤素、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基、环烯基、 $CF_3$ 、 $CF_2-R'$ 、 $NO_2$ 、 $OR'$ 、 $SR'$ 、 $C(=O)R'$ 、

$C(=S)R'$ 、 $OC(=O)R''$ 、 $SC(=O)R''$ 、 $OC(=S)R''$ 、 $SC(=S)R''$ 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R''$ 、

$S(=O)_2NR'R''$ 、 $C(=O)O-R'$ 、 $C(=O)S-R'$ 、 $C(=S)O-R'$ 、 $C(=S)S-R'$ 、 $C(=O)NR'R''$ 、

$C(=S)NR'R''$ 、 $NR'R''$ 、 $NR'C(=O)R''$ 、 $NR'C(=S)R''$ 、 $NR'C(=O)OR''$ 、 $NR'C(=S)OR''$ 、

$NR'C(=O)SR''$ 、 $NR'C(=S)SR''$ 、 $OC(=O)NR'R''$ 、 $SC(=O)NR'R''$ 、 $OC(=S)R'R''$ 、 $SC(=S)R'R''$ 、

$NR'C(=O)NR''R''$  和  $NR'C(=S)NR''R''$ ;

$R'$  和  $R''$  在每次出现时独立地选自氢、芳基和烷基;

$R''$  在每次出现时独立地选自芳基和烷基;

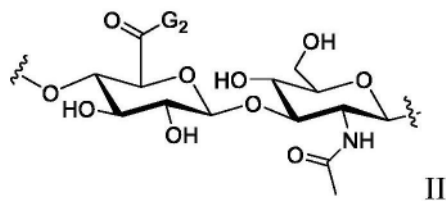
$R^{30}$  为卤素、氰基、硝基、羟基、烷基、卤代烷基; 烯基、炔基、烷氧基; 卤代烷氧基; 杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基或环烯基;

$R^a$ 、 $R^{31a}$  和  $R^{31b}$  各自独立地为氢、 $C_1-C_6$ -烷基或  $C_1-C_6$  卤代烷基; 并且

$t$  为 0、1、2、3 或 4。

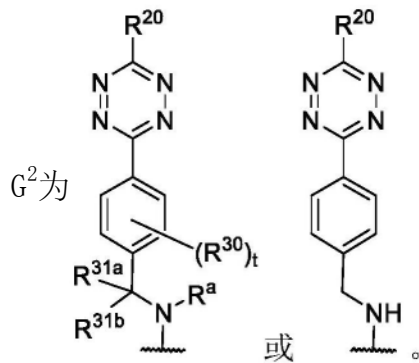
38. 根据权利要求 37 所述的方法, 其中所述含四嗪基团被连接或直接键合至透明质酸生物相容性支持物。

39. 根据权利要求 37 或 38 所述的方法, 其中所述治疗性支持组合物包含式 (II) 的取代的透明质酸单元,

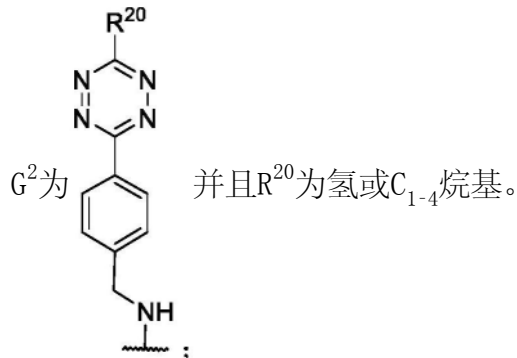


$R^{22}$  为 1 至 100 个连接原子的接头。

40. 根据权利要求 39 所述的方法, 其中:



41. 根据权利要求40所述的方法, 其中



42. 根据权利要求37至41中任一项所述的方法, 其中所述方法为治疗癌症的方法。

43. 根据权利要求42所述的方法, 其中所述癌症为黑色素瘤、肾癌、前列腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、乳腺癌、胶质母细胞瘤、肺癌、软组织肉瘤、纤维肉瘤、骨肉瘤、胰腺癌、胃癌、头/颈部鳞状细胞癌、肛门/外阴癌、食管癌、胰腺腺癌、宫颈癌、肝细胞癌、卡波西肉瘤、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、威尔姆斯肿瘤/神经母细胞瘤、膀胱癌、甲状腺腺癌、胰腺神经内分泌肿瘤、前列腺腺癌、鼻咽癌或皮肤T细胞淋巴瘤。

44. 根据权利要求42或43所述的方法, 其中所述癌症为实体瘤。

45. 根据权利要求42或43所述的方法, 其中所述癌症为软组织肉瘤。

46. 根据权利要求42所述的方法, 其中所述癌症为血液系统恶性肿瘤, 诸如骨髓增生异常综合征、急性骨髓性白血病、骨髓增生异常综合征、慢性粒细胞白血病、慢性粒单核细胞白血病、原发性骨髓纤维化、弥漫性大B细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞白血病、单克隆丙种球蛋白病、浆细胞骨髓瘤、滤泡性淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、经典霍奇金淋巴瘤、单克隆B细胞淋巴瘤增多症、淋巴组织增生性疾病NOS、T细胞淋巴瘤、前体B淋巴母细胞白血病、套细胞淋巴瘤、浆细胞瘤、伯基特淋巴瘤、T细胞白血病、毛细胞白血病、前体T淋巴母细胞白血病或结节性淋巴细胞为主的霍奇金淋巴瘤。

47. 根据权利要求37至41中任一项所述的方法, 其中所述方法为增强或引发免疫应答的方法。

48. 根据权利要求47所述的方法, 其中所述免疫应答为白血球、淋巴球、单核细胞和嗜酸性粒细胞中的一种或多种的增加。

49. 根据权利要求37至48中任一项所述的方法, 其进一步包括施用治疗有效量的选自自由抗癌剂或其反式环辛烯前药组成的组的额外治疗剂。

50. 一种试剂盒, 其包括根据权利要求1至35中任一项所述的缀合物或其药学上可接受

的盐,或根据权利要求36所述的药物组合物,以及其使用说明。

51.根据权利要求50所述的试剂盒,其进一步包括如权利要求37至41中任一项中所定义的治疗性支持组合物。

## 反式环辛烯缀合物

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请根据35U.S.C.§119(e)要求2021年10月29日提交的美国临时申请第63/273,777号的权益,该申请通过引用整体并入。

[0003] 参考电子序列表

[0004] 电子序列表的内容(2022-10-31\_Sequence\_Listing\_63XT-342804-W0.xml;大小:4,881字节;以及创建日期:2022年10月31日)在此通过引用整体并入本文。

### 技术领域

[0005] 本公开总体涉及用于将有效载荷生物正交递送到受试者中的靶向位置的反式环辛烯缀合物,该缀合物应用于例如癌症、肿瘤生长的治疗以及免疫疗法。

### 背景技术

[0006] 生物正交缀合或点击反应是生物系统中发现的选择性和正交性(不相互作用)功能,并且已在化学、化学生物学、分子诊断和医学领域的各种应用中得到使用,在这些应用中它们可用于促进分子、细胞、颗粒和表面的选择性操作,以及体外和体内生物分子的标记和追踪。这些反应包括Staudinger配位反应、叠氮化物-环辛炔环加成反应、以及逆电子需求的Diels-Alder反应。

### 发明内容

[0007] 本文提供了用于生物正交反应的缀合物,该缀合物包含经由接头共价键合至一个或多个任选取代反式环辛烯部分的有效载荷。在一些实施例中,有效载荷选自聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)的抑制剂、倍癌霉素、吡咯并苯并二氮杂草(PBD)、半星芒体、HTI-286和单克隆抗体、或其衍生物或类似物。

[0008] 在一些实施例中,提供了一种用于将有效量的有效载荷(即,聚(ADP-核糖)聚合酶的抑制剂(PARP抑制剂)、倍癌霉素、吡咯并苯并二氮杂草(PBD)、半星芒体、HTI-286和单克隆抗体、或其衍生物或类似物)递送至受试者中的靶位置,该方法包括在靶位置处向受试者施用本文所述的治疗性支持组合物,以及向受试者施用本文所述的缀合物或其药学上可接受的盐或组合物。

[0009] 在一些实施例中,提供了一种用于治疗癌症的方法,其包括向有此需要的受试者施用本文所述的治疗性支持组合物至靶位置,以及向受试者施用本文所述的缀合物或其药学上可接受的盐或组合物。

[0010] 在一些实施例中,癌症是转移性的。在一些实施例中,癌症为黑色素瘤、肾癌、前列腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、乳腺癌、胶质母细胞瘤、肺癌、软组织肉瘤、纤维肉瘤、骨肉瘤、胰腺癌、胃癌、头/颈部鳞状细胞癌、肛门/外阴癌、食管癌、胰腺腺癌、宫颈癌、肝细胞癌、卡波西肉瘤、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、威尔姆斯肿瘤/神经母细胞瘤、膀胱癌、甲状腺腺癌、胰腺神经内分泌肿瘤、前列腺腺癌、鼻咽癌或皮肤T细胞淋巴瘤。

[0011] 在一些实施例中,癌症为黑色素瘤、肾癌、前列腺癌、卵巢癌、乳腺癌、神经胶质瘤、肺癌、软组织癌、软组织肉瘤、骨肉瘤或胰腺癌。在一些实施例中,癌症为实体瘤。在一些实施例中,癌症为淋巴瘤或白血病。在一些实施例中,癌症为血液系统恶性肿瘤。

## 附图说明

[0012] 图1和图2示出实例20的反式环辛烯缀合物在四嗪活化剂不存在或存在情况下相对于未修饰的加地喹莫特对新鲜鼠脾细胞增殖的影响。在图1中,测试了高达10 $\mu$ g/mL的浓度。在图2中,测试了含或不含四嗪的高达50 $\mu$ g/mL的缀合物。

## 具体实施方式

[0013] 以下描述阐述了本技术的示例性实施例。然而,应当认识到,此类描述并非旨在限制本公开的范围,而是作为示例性实施例的描述来提供。

### [0014] 1. 定义

[0015] 应当理解,为了清楚起见,在单独实施例的背景下描述的某些特征还可以组合形式提供在单个实施例中。相反地,为了简便起见,在单个实施例的背景下描述的不同特征也可以单独地或以任何适合的子组合提供。与本发明有关的实施例的所有组合具体地涵盖并且公开于本文中,正如同每个组合单独且明确地公开一样,在某种程度上,此类组合涵盖例如作为稳定化合物的化合物(即,可以被制备、分离、表征和测试生物活性的化合物)的主题。另外,各个实施例及其元素(例如,描述此类变量的实施例中所列出的化学组的元素)的所有子组合也被具体地涵盖并且公开于本文中,就如同每个子组合和每个这种子组合在本文中单独且明确地公开一样。

### [0016] A. 定义

[0017] 除非另有定义,否则本文所用的所有技术术语和科学术语具有与本领域的普通技术人员通常所理解的含义相同的含义。在有冲突的情况下,将以本文件(包含定义)为准。虽然以下描述了优选的方法和材料,但是与本文所描述的那些类似或相当的方法和材料可以用于本公开的实施例或测试中。本文提及的所有出版物、专利申请、专利和其它参考文献通过引用以其整体并入本文。本文所公开的材料、方法和实例仅是说明性的,而不旨在是限制性的。

[0018] 如本文所用,术语“包含”、“包括”、“具有”、“有”、“可以”、“含有”及其变体旨在是不排除额外动作或结构的可能性的开放式过渡性短语、术语或词语。除非上下文另有明确说明,否则单数形式“一个(a)”、“一种(an)”和“所述(the)”包含复数指示物。本公开还设想了“包括”本文所呈现的实施例或元件、“由本文所呈现的实施例或元件组成”和“基本上由本文所呈现的实施例或元件组成”的其他实施例,无论是否明确地阐述。

[0019] 与数量相关的改性语“约”包含所述值,且具有由上下文决定的含义(例如,它至少包括与特定数量的测量相关的误差程度)。改性语“约”也应被认为公开了由两个端点的绝对值所定义的范围。例如,表述“约2至约4”也公开了范围“2至4”。术语“约”可以指所示数字的正负10%。例如,“约10%”可以表示9%至11%的范围,“约1”可以表示0.9至1.1。“约”的其他含义可从上下文中显而易见,诸如四舍五入,因此,例如“约1”也可以表示从0.5至1.4。

[0020] 连接词“或”包括由该连接词关联的一个或多个所列要素的任意组合及所有组合。

例如,短语“包括A或B的装置”可以指包括A但不存在B的装置、包括B但不存在A的装置、或者A和B均存在的装置。短语“A、B和N中的至少一个”或“A、B和N中的至少一个,或其组合”的定义最为广泛,是指从由A、B和N组成的组中选择一个或多个元素。也就是说,元素A、B或N中的一个或多个的任意组合,包括单独的任何元素或者与一个或多个其他元素的组合,这些其他元素还可以包括未列出的其他元素的组合。

[0021] 下面将更详细地描述特定功能团和化学术语的定义。为了本公开的目的,化学元素是根据《化学和物理手册》第75版内封面上的CAS版本元素周期表来标识,并且特定的功能组通常按照其中所描述的进行定义。此外,以下文献中描述了有机化学的一般原理以及特定的功能部分和反应性:Organic Chemistry,Thomas Sorrell,University Science Books,Sausalito,1999;Smith和March March's Advanced Organic Chemistry,第5版,John Wiley&Sons,Inc.,New York,2001;Larock,Comprehensive Organic Transformations,VCH Publishers,Inc.,New York,1989;Carruthers,Some Modern Methods of Organic Synthesis,第3版,Cambridge University Press,Cambridge,1987;上述文献中的每一者的全部内容均通过引用并入本文。

[0022] 本文所用的术语“烷氧基”是指如本文所定义的通过氧原子附加到母体分子部分上的烷基基团。烷氧基的代表性示例包括但不限于甲氧基、乙氧基、丙氧基、2-丙氧基、丁氧基和叔丁氧基。

[0023] 本文所用的术语“烷基”是指含有1至30个碳原子的直链或支链饱和烃链。术语“低级烷基”或“C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基”是指含有1至6个碳原子的直链或支链烃。术语“C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基”是指含有1至3个碳原子的直链或支链烃。烷基的代表性示例包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、异戊基、新戊基、正己基、3-甲基己基、2,2-二甲基戊基、2,3-二甲基戊基、正庚基、正辛基、正壬基和正癸基。

[0024] 本文所用的术语“烯基”是指具有带至少一个碳碳双键的2至30个碳原子的烃链。烯基基团可以是取代的或未取代的。例如,烯基基团可以经诸如苯基的芳基取代。

[0025] 本文所用的术语“炔基”是指具有2至30个碳原子(诸如2至20个或2至10个碳原子)并且具有至少1个三键不饱和位点的直链或支链单价烃基基团。术语“炔烃”还包括具有单环或多环并且具有至少一个三键的5至20个碳原子(例如5至10个碳原子)的非芳香族环烷基基团。此类炔基基团的示例包括但不限于乙炔基(-C≡CH)和炔丙基(-CH<sub>2</sub>C≡CH),以及环炔基部分,诸如但不限于取代或未取代的环辛炔部分。

[0026] 本文所用的术语“烷氧基烷基”是指如本文定义的通过如本文所定义的烷基附加到母体分子部分上的烷氧基基团。

[0027] 本文所用的术语“亚烷基”是指衍生自具有1至30个碳原子(例如2至10个碳原子)的直链或支链烃的二价基团。亚烷基的代表性示例包括但不限于-CH<sub>2</sub>-、-CH(CH<sub>3</sub>)-、-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、-CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-、-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、-CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-和-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-。

[0028] 术语“氨基酸”指天然和非天然氨基酸、受保护的天然和非天然氨基酸、以及功能类似于天然氨基酸的氨基酸类似物和氨基酸模拟物。天然编码氨基酸包括20种常见氨基酸(丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、蛋氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨

酸)以及吡咯烷和硒代半胱氨酸。氨基酸类似物是指具有与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构的化合物,即,仅作为实例, $\alpha$ -碳附接到氢、羧基基团、氨基基团和R基团。此类类似物可以具有经改性的R基团(例如,正亮氨酸作为示例)或保留经改性的肽骨架,同时保留与天然氨基酸相同的基本化学结构。氨基酸类似物的非限制性实例包括瓜氨酸、高丝氨酸、正亮氨酸、甲硫氨酸亚砷、甲硫氨酸甲砷、高苯丙氨酸、鸟氨酸、甲酰甘氨酸、苯基甘氨酸、对叠氮苯基甘氨酸、对叠氮苯基丙氨酸、对乙酰苯丙氨酸、4-(3-甲基-(1,2,4,5-四嗪))-苯基甘氨酸和4-(3-甲基-(1,2,4,5-四嗪))-苯丙氨酸。

[0029] 本文所用的术语“芳基”是指苯基基团或双环芳基或三环芳基稠环体系。双环稠环体系例如为附加到母体分子部分上并与苯基稠合的苯基基团。三环稠环体系例如为附加到母体分子部分上并与另外两个苯基稠合的苯基基团。双环芳基化合物的代表性示例包括但不限于萘基。三环芳基化合物的代表性示例包括但不限于蒽基。单环、双环和三环芳基化合物通过环内所含的任意碳原子与母体分子部分相连,并且可以是未取代的或取代的。

[0030] 本文所用的术语“叠氮化物”是指功能团-N<sub>3</sub>。

[0031] 本文所用的术语“环烷基”是指含有三至十个碳原子、零个杂原子和零个双键的碳环系统。环烷基的代表性示例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基、环壬基和环癸基。“环烷基”还包括碳环系统,其中环烷基基团附加到母体分子部分上并与如本文所定义的芳基基团、如本文所定义的杂芳基基团或如本文所定义的杂环稠合。

[0032] 本文所用的术语“环烯基”是指含有至少一个碳碳双键且优选具有5-10个碳原子的非芳香族单环或多环体系。示例性的单环环烯基环包括环戊烯基、环己烯基或环庚烯基。

[0033] 本文所用的术语“环辛烯”是指具有带双键的单环、具有8个碳原子的取代或未取代的非芳香环状烷基基团。此类环辛烯基团的示例包括但不限于取代或未取代的反式环辛烯(TCO)。

[0034] 本文所用的术语“氟烷基”是指如本文所定义的其中一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个或八个氢原子被氟取代的烷基基团。氟烷基的代表性示例包括但不限于2-氟乙基、2,2,2-三氟乙基、三氟甲基、二氟甲基、五氟乙基和三氟丙基(诸如3,3,3-三氟丙基)。

[0035] 本文所用的术语“烷氧基氟烷基”是指如本文所定义的通过如本文所定义的氟烷基基团附加到母体分子部分上的烷氧基基团。

[0036] 本文所用的术语“氟烷氧基”是指至少一个如本文所定义的氟烷基基团通过氧原子附加到母体分子部分上。氟烷氧基的代表性示例包括但不限于二氟甲氧基、三氟甲氧基和2,2,2-三氟乙氧基。

[0037] 本文所用的术语“卤素”或“卤代”是指Cl、Br、I或F。

[0038] 本文所用的术语“卤代烷基”是指如本文所定义的其中一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个或八个氢原子被卤素取代的烷基基团。

[0039] 本文所用的术语“卤代烷氧基”是指至少一个如本文所定义的卤代烷基基团通过氧原子附加到母体分子部分上。

[0040] 本文所用的术语“杂烷基”是指如本文所定义的其中一个或多个碳原子已被选自S、Si、O、P和N的杂原子替代的烷基基团。杂原子可以被氧化。杂烷基的代表性示例包括但不限于烷基醚、仲烷基胺和叔烷基胺、以及烷基硫化物。

[0041] 本文所用的术语“杂芳基”是指芳香族单环或芳香族双环体系或芳香族三环体系。

芳香单环为含有至少一个独立地选自N、O和S组成的组的杂原子(例如,1、2、3或4个独立地选自O、S和N的杂原子)的五元或六元环。五元芳香族单环具有两个双键,且六元芳香族单环具有三个双键。双环杂芳基基团被例示为附加到母体分子部分上并与本文定义的单环烷基基团、本文定义的单环芳基基团、本文定义的单环杂芳基基团或本文定义的单环杂环稠合的单环杂芳基环。三环杂芳基基团被例示为附加到母体分子部分上并与本文定义的单环烷基基团、本文定义的单环芳基基团、本文定义的单环杂芳基基团或本文定义的单环杂环中的两者稠合的单环杂芳基环。单环杂芳基的代表性示例包括但不限于吡啶基(包括吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基)、嘧啶基、吡嗪基、噻吩基、呋喃基、噻唑基、噻二唑基、异噻唑基、吡唑基和2-氧代-1,2-二氢吡啶基。双环杂芳基的代表性示例包括但不限于色烯基、苯并噻吩基、苯并二氧杂环戊烯基、苯并三唑基、喹啉基、噻吩并吡咯基、噻吩并噻吩基、咪唑并噻唑基、苯并噻唑基、苯并呋喃基、吲哚基、喹啉基、咪唑并吡啶、苯并噻二唑基和苯并吡唑基。三环杂芳基的代表性示例包括但不限于二苯并呋喃基和二苯并噻吩基。单环、双环和三环杂芳基化合物通过环内所含的任意碳原子或任意氮原子与母体分子部分相连,并且可以是未取代的或取代的。

[0042] 本文所用的术语“杂环”或“杂环的”意指单环杂环、双环杂环或三环杂环。单环杂环为含有至少一个独立地选自O、N和S组成的组的杂原子的三元、四元、五元、六元、七元或八元环。三元或四元环含有零个或一个双键和一个选自O、N和S组成的组的杂原子。五元环含有零个或一个双键和一个、两个或三个选自O、N和S组成的组的杂原子。六元环含有零个、一个或两个双键以及一个、两个或三个选自O、N和S组成的组的杂原子。七元和八元环含有零个、一个、两个或三个双键以及一个、两个或三个选自O、N和S组成的组的杂原子。单环杂环的代表性实例包括但不限于氮杂环丁烷基、氮杂环庚烷基、氮杂环丙烷基、二氮杂环庚烷基,1,3-二氧杂环己烷基,1,3-二氧杂环戊烷基,1,3-二硫杂环戊烷基,1,3-二硫杂环己烷基,1,3-二甲基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮、咪唑啉基、咪唑烷基、异噻唑啉基、异噻唑烷基、异噻唑啉基、异噻唑烷基、吗啉基、噻二唑啉基、噻二唑烷基、噻唑啉基、噻唑烷基、氧杂环丁烷基、哌嗪基、哌啶基、吡喃基、吡唑啉基、吡唑烷基、吡咯啉基、吡咯烷基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、四氢吡啶基、四氢噻吩基、噻二唑啉基、噻二唑烷基、1,2-噻嗪烷基、1,3-噻嗪烷基、噻唑啉基、噻唑烷基、硫吗啉基、1,1-二氧化硫吗啉基(硫代吗啉砜)、噻喃基和三噻烷基。所述双环杂环是与苯基基团稠合的单环杂环,或与单环烷基稠合的单环杂环,或与单环烯基稠合的单环杂环,或与单环杂环稠合的单环杂环,或螺杂环基团,或其中环上两个不相邻原子通过具有1、2、3或4个碳原子的亚烷基桥或具有二、三或四个碳原子的亚烯基桥连接的桥连单环杂环环系。双环杂环的代表性实例包括但不限于苯并吡喃基、苯并噻喃基、苯并二氢吡喃基、2,3-二氢苯并呋喃基、2,3-二氢苯并噻吩基、2,3-二氢异喹啉、2-氮杂螺[3.3]庚烷-2-基、氮杂双环[2.2.1]庚基(包括2-氮杂双环[2.2.1]庚-2-基)、2,3-二氢-1H-吲哚基、异吲哚啉基、八氢环戊并[c]吡咯基、八氢吡咯并吡啶基和四氢异喹啉基。三环杂环例如为与苯基基团稠合的双环杂环,或与单环烷基稠合的双环杂环,或与单环烯基稠合的双环杂环,或与单环杂环稠合的双环杂环,或其中双环的两个不相邻原子通过具有1、2、3或4个碳原子的亚烷基桥或具有二、三或四个碳原子的亚烯基桥连接的双环杂环。三环杂环化合物的示例包括但不限于八氢-2,5-环氧并环戊二烯、六氢-2H-2,5-亚甲基环戊二烯并[b]呋喃、六氢-1H-1,4-亚甲基环戊二烯并[c]呋喃、氮杂金刚烷(1-氮杂三环

[3.3.1.1<sup>3,7</sup>]癸烷)和氧杂-金刚烷(2-氧杂三环[3.3.1.1<sup>3,7</sup>]癸烷)。单环、双环和三环杂环通过环内含有的任意碳原子或氮原子与母体分子部分相连,并且可以是未取代的或取代的。

[0043] 本文所用的术语“羟基”是指-OH基团。

[0044] 本文所用的术语“羟基烷基”是指如本文所定义的其中一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个或八个氢原子被羟基基团替代的烷基基团。

[0045] 在一些情况下,烃基取代基(例如,烷基或环烷基)中的碳原子数用前缀“C<sub>x</sub>-C<sub>y</sub>-”或“C<sub>x-y</sub>”表示,其中x为取代基中的最小碳原子数,y为最大碳原子数。因此,例如“C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-烷基”和“C<sub>1-3</sub>烷基”是指含有1至3个碳原子的烷基取代基。两个约定“C<sub>x</sub>-C<sub>y</sub>-”和“C<sub>x-y</sub>”可互换使用,且含义相同。

[0046] 术语“取代”是指可以进一步经一个或多个非氢取代基团取代的基团。取代基团包括但不限于卤素、=O、=S、氰基、硝基、氟烷基、烷氧基氟烷基、氟烷氧基、烷基、烯基、炔基、卤代烷基、卤代烷氧基、杂烷基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基烷基、杂芳基烷基、芳基烷基、羟基、羟基烷基、烷氧基、烷氧基烷基、亚烷基、芳氧基、苯氧基、苄氧基、氨基、烷基氨基、酰氨基、氨基烷基、芳基氨基、磺酰基氨基、亚磺酰基氨基、磺酰基、烷基磺酰基、芳基磺酰基、氨基磺酰基、亚磺酰基、-COOH、酮、酰胺、氨基甲酸酯和酰基。

[0047] 术语“四嗪”是指具有带三个双键的单环的、具有2个碳原子和4个氮原子的取代或未取代的芳香环状基团。四嗪基团的示例包括1,2,3,4-四嗪和1,2,4,5-四嗪。如本文所用,1,2,4,5-四嗪被称为“Tz”基团。

[0048] 术语“选择性递送”是指将药剂(例如,有效载荷)递送至需要治疗或诊断的器官或组织(或其部分),而不会与其他非目标器官或组织(或其部分)显著结合。

[0049] 术语“有效载荷”是指用于递送至受试者的目标部位的药剂。有效载荷包括治疗剂。

[0050] 术语“治疗剂”是指能够治疗和/或改善受试者的病症或疾病或其一种或多种症状的药剂。本公开的治疗剂还包括治疗剂的前药形式。

[0051] 术语“诊断剂”是指帮助诊断病症或疾病的药剂。代表性的诊断剂包括诸如顺磁剂、光学探针、放射性核素等成像剂。顺磁剂是在外部施加的场下具有磁性的成像剂。顺磁剂的示例包括但不限于铁颗粒,其包括铁纳米颗粒和铁微粒。光学探针是可通过在一个波长的辐射下激发并在第二个不同的波长的辐射下检测来检测的荧光化合物。本公开的光学探针包括但不限于Cy5.5、Alexa 680、Cy5、DiD(1,1'-双十八烷基-3,3,3',3'-四甲基吡啶二羧花青高氯酸盐)和DiR(1,1'-双十八烷基-3,3,3',3'-四甲基吡啶三羧花青碘化物)。其他光学探针包括量子点。放射性核素是经历可检测的放射性衰变的元素。在本公开的实施例中有益的放射性核素包括但不限于<sup>3</sup>H、<sup>11</sup>C、<sup>13</sup>N、<sup>18</sup>F、<sup>19</sup>F、<sup>60</sup>Co、<sup>64</sup>Cu、<sup>67</sup>Cu、<sup>68</sup>Ga、<sup>82</sup>Rb、<sup>89</sup>Zr、<sup>90</sup>Sr、<sup>90</sup>Y、<sup>99</sup>Tc、<sup>99m</sup>Tc、<sup>111</sup>In、<sup>123</sup>I、<sup>124</sup>I、<sup>125</sup>I、<sup>129</sup>I、<sup>131</sup>I、<sup>137</sup>Cs、<sup>177</sup>Lu、<sup>186</sup>Re、<sup>188</sup>Re、<sup>211</sup>At、Rn、Ra、Th、U、Pu和<sup>241</sup>Am。

[0052] 术语“靶向剂”是指特异性地与靶标(例如,靶器官或组织)结合,从而在靶向剂与该特异性靶标之间形成稳定的缔合的化学或生物药剂。“稳定地缔合”或“稳定的缔合”是指在标准生理条件下,一个部分与另一个部分或结构结合或以其他方式缔合。键可以包括共价键和非共价相互作用,诸如但不限于离子键、疏水相互作用、氢键、范德华力(例如,

London色散力)、偶极-偶极相互作用等。靶向剂可以是特异性结合对的成员,诸如但不限于:受体/配体对的成员;受体的配体结合部分;抗体/抗原对的成员;抗体的抗原结合片段;半抗原;凝集素/碳水化合物对的成员;酶/底物对的成员;生物素/亲和素;生物素/链霉亲和素;地高辛/抗地高辛;DNA或RNA适体结合对的成员;肽适体结合对的成员;等等。靶向剂包括特异性结合(或基本上特异性结合)特定临床有关的靶受体或细胞表面靶的配体。配体可以是抗体、肽、核酸、噬菌体、细菌、病毒或对靶受体或细胞表面靶具有特异性亲和力的其他分子。受体和细胞表面靶点的示例包括但不限于PD-1、CTLA-4、HER2/neu、HER1/EGFR、VEGFR、4-1BB、GITR、LT4-针对抑制性免疫检查点受体免疫球蛋白样转录本4(ILT4)的人类mAb、白细胞免疫球蛋白样受体亚家族B成员2(LILRB2)、淋巴细胞免疫球蛋白样受体2(LIR2)、单核细胞/巨噬细胞免疫球蛋白样受体10(MIR-10)、CD85d或其他细胞受体或细胞表面靶点。本文公开的各种实施例中还包括额外的实例。

[0053] 术语“靶向器官或组织”是指作为有效载荷递送目标的器官或组织。代表性的靶向器官和组织包括化学或生物靶向剂能够靶向的器官和组织,以及化学或生物靶向剂不能靶向的器官和组织。

[0054] 术语“植入”是指通过手术植入受试者的体内。

[0055] 术语“接触”是指使至少两个不同物种接触以使得它们可以相互作用的过程,诸如在非共价或共价结合相互作用或结合反应中。然而,应当理解,所得复合物或反应产物可以直接由所加入试剂之间的相互作用或反应产生,或者由在接触混合物中产生的一种或多种所加入试剂或部分的中间体产生。

[0056] 术语“结合剂”是指具有能够与生物环境中另一结合剂的互补功能团形成共价键的功能团的药剂。生物环境中结合剂之间的结合也可称为生物缀合。结合剂包括生物正交结合剂,其是具有生物正交功能团的结合剂。生物正交结合剂的生物正交功能团选择性地与另一个生物正交结合伴侣体的互补生物正交功能团发生反应。生物正交结合伴侣体之间的选择性反应可以最大限度地减少与其他结合剂、生物化合物或其他非互补生物正交结合剂或非互补生物正交功能团的副反应。生物正交部分或生物正交结合剂的功能团包括但不限于通过点击化学反应形成三唑的叠氮化物和炔烃、反式环辛烯(TCO)和四嗪(Tz)(例如,1,2,4,5-四嗪)等。本公开中有用的结合剂可以与相应的结合剂具有高反应性,使得反应迅速。

[0057] 术语“功能化”是指具有附接到部分的功能团的部分,诸如例如具有附接到其的结合剂功能团(例如,生物正交功能团)的部分。

[0058] 术语“施用”是指向受试者施用的任何合适的途径,诸如但不限于口服施用、作为栓剂施用、局部接触、肠胃外、静脉内、腹膜内、肌肉内、病灶内、鼻内或皮下施用、鞘内施用、或向受试者植入缓释装置(例如,微型渗透泵)。

[0059] 本文使用的术语“肠胃外”是指施用方式,包括静脉内、肌肉内、腹膜内、胸骨内、皮下和关节内注射和输注。

[0060] 术语“离去基团”是指具有吸电子能力的原子(或原子团),其可以被替代成为稳定的物质,并带走成键电子。合适的离去基团的示例包括卤化物(例如,Br、Cl、I),磺酸酯(例如,三氟甲磺酸酯、甲磺酸酯、甲苯磺酸酯和对溴苯磺酸酯)和硝基苯酚。

[0061] 术语“药学有效量”和“治疗有效量”是指足以治疗特定紊乱或疾病或其一种或多

种症状和/或预防或降低疾病或紊乱或其一种或多种症状发生或复发的风险的化合物的量。对于致瘤性增殖性紊乱,药学或治疗有效量包括足以引起肿瘤缩小或降低肿瘤生长速度的量。

[0062] 本文使用的术语“受试者”、“患者”或“生物体”包括人类和哺乳动物(例如,小鼠、大鼠、猪、猫、狗和马)。可以施用本公开内容的药剂的典型受试者可以包括哺乳动物,特别是灵长类动物,尤其是人类。对于兽医应用而言,合适的受试者可以包括例如牲畜,诸如牛、羊、山羊、奶牛、猪等;家禽,诸如鸡、鸭、鹅、火鸡等;以及家养动物,特别是诸如狗和猫等宠物。对于诊断或研究应用而言,合适的受试者可以包括哺乳动物,诸如啮齿动物(例如,小鼠、大鼠、仓鼠)、兔子、灵长类动物和猪(诸如近交系猪)等。

[0063] 本文中使用的术语“治疗”或“疗法”是指对患者(诸如哺乳动物(特别是人类))的疾病或医学病症或其一种或多种症状进行治疗或疗法,包括:(a)改善患者的疾病或医学病症或其一种或多种症状,例如消除患者的疾病或医学病症或其一种或多种症状或导致其消退;(b)抑制疾病或医学病症或其一种或多种症状,例如通过减缓或阻止患者的疾病或医学病症或其一种或多种症状的发展;或(c)减轻患者的疾病或医学病症或其一种或多种症状。

[0064] 术语“生理条件”旨在涵盖与活细胞相容的条件,例如,与活细胞相容的温度、pH、盐度等主要水性条件。

[0065] 对于本文所述化合物,可以根据原子和取代基的允许价数来选择其基团和取代基,使得选择和取代产生稳定的化合物,例如该化合物不会自发地发生诸如通过重排、环化、消除等的转化。

[0066] 在提供了值范围的情况下,应当理解的是,介于所述范围的上限与下限之间的每个中间值(到下限的单位的十分之一,除非另外明确说明)以及所述范围中的任何其他所陈述或中间值均涵盖于本发明内。这些较小范围的上限和下限可以独立地包含在更小的范围中,并且也涵盖在本发明内,这受制于所陈述的范围中的任何明确排除的限值。在所陈述范围包括限制中的一个或两个的情况下,排除那些被包括在内的限制中的任一个或两个的范围也包括在本发明中。

[0067] 对于本文中数值范围的表述,明确考虑了其具有相同精度的每个中间数字。例如,对于6-9的范围,除了6和9之外,还考虑数字7和8,而对于6.0-7.0的范围,明确考虑数字6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9和7.0。

[0068] 化合物可以以立体异构体的形式存在,其中存在不对称或手性中心。根据手性碳原子周围取代基的构型,立体异构体为“R”或“S”。本文使用的术语“R”和“S”是如IUPAC 1974 Recommendations for Section E, Fundamental Stereochemistry, in Pure Appl. Chem., 1976, 45:13-30中所定义的构型。本公开考虑了各种立体异构体及其混合物,并且这些明确地包括在本发明的范围内。立体异构体包括对映异构体和非对映异构体以及对映异构体或非对映异构体的混合物。化合物的单个立体异构体可以从含有不对称或手性中心的市售起始材料通过合成制备,或者通过制备外消旋混合物,然后采用本领域普通技术人员熟知的拆分方法制备。这些拆分方法的示例包括:(1)将对映体混合物附接到手性助剂,通过重结晶或色谱法分离所得非对映体混合物,并任选地从助剂中释放出光学纯产物,如Furniss、Hannaford、Smith和Tatchell“Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry,”第5版(1989), Longman Scientific & Technical, Essex CM20 2JE, England中

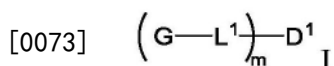
所述,或(2)在手性色谱柱上直接分离光学对映体混合物,或(3)分级重结晶法。

[0069] 应当理解,化合物可能具有互变异构形式以及几何异构体,并且这些也构成本发明的一个方面。

[0070] 本公开还包括同位素标记的化合物,其与本文所述的化合物相同,但是一个或多个原子被具有与自然界中通常发现的原子质量或质量数不同的原子质量或质量数的原子所取代。适合包含在本发明化合物中的同位素的实例为氢、碳、氮、氧、磷、硫、氟和氯,诸如但不限于分别为<sup>2</sup>H、<sup>3</sup>H、<sup>13</sup>C、<sup>14</sup>C、<sup>15</sup>N、<sup>18</sup>O、<sup>17</sup>O、<sup>31</sup>P、<sup>32</sup>P、<sup>35</sup>S、<sup>18</sup>F和<sup>36</sup>Cl。用诸如<sup>2</sup>H的较重同位素进行取代可以带来某些治疗优势,这是由于更高的代谢稳定性,例如增加的体内半衰期或减少的剂量要求,因此在某些情况下可能是优选的。该化合物可以包含正电子发射同位素,用于医学成像和正电子发射断层扫描(PET)研究,以确定受体的分布。可以结合的合适的正电子发射同位素是<sup>11</sup>C、<sup>13</sup>N、<sup>15</sup>O和<sup>18</sup>F。本文公开的同位素标记的化合物通常可以由本领域技术人员通过已知的常规技术或通过随附实例中描述的类似的工艺使用适当的同位素标记的试剂代替非同位素标记的试剂来制备。

[0071] B. 缀合物

[0072] 本文提供了用于生物正交反应的缀合物。在一些实施例中,提供式I的缀合物或其药学上可接受的盐:



[0074] 其中:

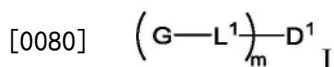
[0075] m为1至150的整数;

[0076] G在每次出现时独立地为任选取代的反式环辛烯部分;

[0077] D<sup>1</sup>为选自聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)的抑制剂、倍癌霉素、吡咯并苯并二氮杂草(PBD)、半星芒体、HTI-286、单克隆抗体、拓扑异构酶抑制剂、芦比替定、MSA-2、加地喹莫特、环丙沙星、丝裂霉素C、依托泊苷和依沙替康、或其衍生物或类似物的有效载荷;

[0078] L<sup>1</sup>在每次出现时均独立地为接头。

[0079] 本文提供了用于生物正交反应的缀合物。在一些实施例中,提供式I的缀合物或其药学上可接受的盐:



[0081] 其中

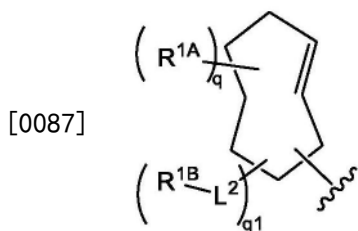
[0082] m为1至150的整数;

[0083] G在每次出现时独立地为任选取代的反式环辛烯部分;

[0084] D<sup>1</sup>为选自聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)的抑制剂、倍癌霉素、吡咯并苯并二氮杂草(PBD)、半星芒体、HTI-286和单克隆抗体、或其衍生物或类似物的有效载荷;

[0085] L<sup>1</sup>在每次出现时均独立地为接头。

[0086] 在本文所述缀合物的一些实施例中,每个反式环辛烯部分独立地为:



[0088] 其中:

[0089]  $R^{1A}$ 在每次出现时独立地选自由 $C_{1-4}$ 烷基、 $C_{1-4}$ 卤代烷基和 $C_{1-4}$ 烷氧基组成的组;

[0090]  $q$ 为0、1或2;

[0091]  $q_1$ 为0或1;

[0092]  $R^{1B}$ 在每次出现时独立地选自由以下组成的组: $G^1$ 、 $-OH$ 、 $-NR^{1c}-C_{1-4}$ 亚烷基- $G^1$ 、 $-NR^{1c}-C_{1-4}$ 亚烷基- $N(R^{1d})_2$ 、 $-NR^{1c}-C_{1-6}$ 亚烷基- $N(C_{1-4}$ 烷基) $_3^+$ 、 $-N(R^{1c})CHR^{1e}CO_2H$ 、 $-N(R^{1c})-C_{1-6}$ 亚烷基- $CO_2H$ 、 $-N(R^{1f})-C_{2-4}$ 亚烷基- $(N(C_{1-4}$ 亚烷基- $CO_2H)-C_{2-4}$ 亚烷基) $_n$ - $N(C_{1-4}$ 亚烷基- $CO_2H)_2$ 、 $-N(R^{1c})CHR^{1e}C(O)OC_{1-6}$ 烷基、 $-N(R^{1c})-C_{1-6}$ 亚烷基- $C(O)OC_{1-6}$ 烷基、 $-N(R^{1f})-C_{2-4}$ 亚烷基- $(N(C_{1-4}$ 亚烷基- $C(O)OC_{1-6}$ 烷基)- $C_{2-4}$ 亚烷基) $_n$ - $N(C_{1-4}$ 亚烷基- $C(O)OC_{1-6}$ 烷基) $_2$ 、 $-N(R^{1c})-C_{1-6}$ 亚烷基- $SO_3H$ 、 $-N(R^{1c})-(CH_2CH_2O)_{1-3}-CH_2CH_2N((CH_2CH_2O)_{1-3}-C_{1-6}$ 亚烷基- $CO_2H)_2$ 和 $-N(R^{1c})-CH(CH_2O-(CH_2CH_2O)_{0-2}-C_{1-6}$ 亚烷基- $CO_2H)_2$ ;

[0093]  $R^{1c}$ 和 $R^{1d}$ 在每次出现时独立地为氢或 $C_{1-4}$ 烷基;

[0094]  $R^{1e}$ 在每次出现时独立地为 $-C_{1-4}$ 亚烷基- $CO_2H$ 、 $-C_{1-4}$ 亚烷基- $CONH_2$ 或 $-C_{1-4}$ 亚烷基- $OH$ ;

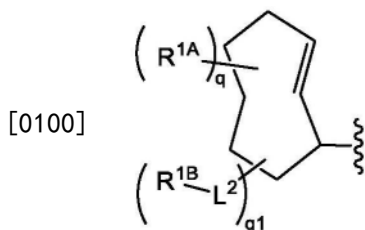
[0095]  $R^{1f}$ 在每次出现时独立地为氢、 $C_{1-6}$ 烷基或 $C_{1-4}$ 亚烷基- $CO_2H$ ;

[0096]  $n$ 在每次出现时独立地为0、1、2或3;

[0097]  $L^2$ 在每次出现时独立地选自由 $-C(O)-$ 和 $C_{1-3}$ 亚烷基组成的组;并且

[0098]  $G^1$ 在每次出现时独立地为任选取代的杂环基。

[0099] 在本文所述缀合物的一些实施例中,每个反式环辛烯部分( $G$ )独立地为:



[0101] 其中:

[0102]  $R^{1A}$ 在每次出现时独立地选自由 $C_{1-4}$ 烷基、 $C_{1-4}$ 卤代烷基和 $C_{1-4}$ 烷氧基组成的组;

[0103]  $q$ 为0、1或2;

[0104]  $q_1$ 为0或1;

[0105]  $R^{1B}$ 在每次出现时独立地选自由以下组成的组: $G^1$ 、 $-OH$ 、 $-NR^{1c}-C_{1-4}$ 亚烷基- $G^1$ 、 $-NR^{1c}-C_{1-4}$ 亚烷基- $N(R^{1d})_2$ 、 $-NR^{1c}-C_{1-6}$ 亚烷基- $N(C_{1-4}$ 烷基) $_3^+$ 、 $-N(R^{1c})CHR^{1e}CO_2H$ 、 $-N(R^{1c})-C_{1-6}$ 亚烷基- $CO_2H$ 、 $-N(R^{1f})-C_{2-4}$ 亚烷基- $(N(C_{1-4}$ 亚烷基- $CO_2H)-C_{2-4}$ 亚烷基) $_n$ - $N(C_{1-4}$ 亚烷基- $CO_2H)_2$ 、 $-N(R^{1c})CHR^{1e}C(O)OC_{1-6}$ 烷基、 $-N(R^{1c})-C_{1-6}$ 亚烷基- $C(O)OC_{1-6}$ 烷基、 $-N(R^{1f})-C_{2-4}$ 亚烷基- $(N(C_{1-4}$ 亚烷基- $C(O)OC_{1-6}$ 烷基)- $C_{2-4}$ 亚烷基) $_n$ - $N(C_{1-4}$ 亚烷基- $C(O)OC_{1-6}$ 烷基) $_2$ 、 $-N(R^{1c})-C_{1-6}$ 亚烷基- $SO_3H$ 、 $-N(R^{1c})-(CH_2CH_2O)_{1-3}-CH_2CH_2N((CH_2CH_2O)_{1-3}-C_{1-6}$ 亚烷基- $CO_2H)_2$ 和 $-N(R^{1c})-CH(CH_2O-$

$(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{0-2}-\text{C}_{1-6}$ -亚烷基- $\text{CO}_2\text{H}$ )<sub>2</sub>;

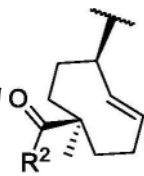
[0106]  $\text{R}^{1c}$ 和 $\text{R}^{1d}$ 在每次出现时独立地为氢或 $\text{C}_{1-4}$ 烷基;

[0107]  $\text{R}^{1e}$ 在每次出现时独立地为 $-\text{C}_{1-4}$ -亚烷基- $\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{C}_{1-4}$ -亚烷基- $\text{CONH}_2$ 或 $-\text{C}_{1-4}$ -亚烷基- $\text{OH}$ ;

[0108]  $\text{R}^{1f}$ 在每次出现时独立地为氢、 $\text{C}_{1-6}$ 烷基或 $\text{C}_{1-4}$ -亚烷基- $\text{CO}_2\text{H}$ ;

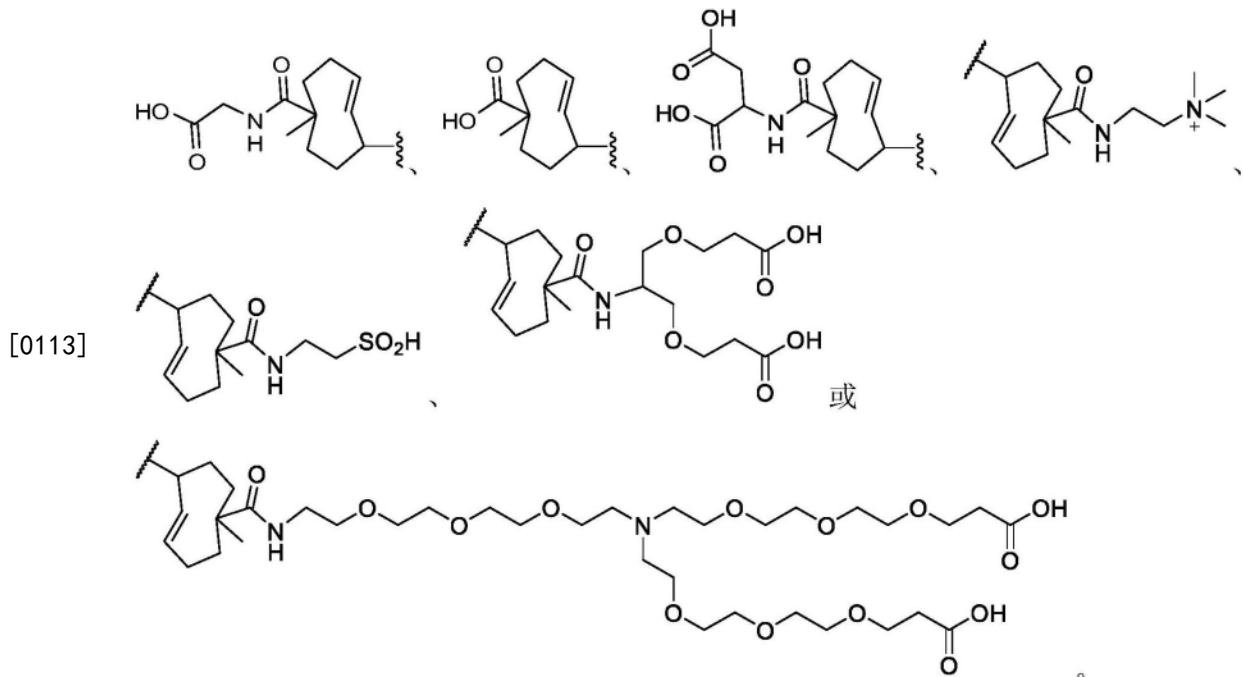
[0109]  $n$ 在每次出现时独立地为0、1、2或3;

[0110]  $\text{L}^2$ 在每次出现时独立地选自自由 $-\text{C}(\text{O})-$ 和 $\text{C}_{1-3}$ -亚烷基组成的组;并且 $\text{G}^1$ 在每次出现时独立地为任选取代的杂环基。

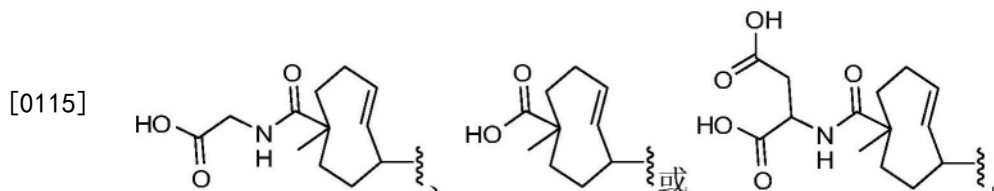
[0111] 在一些实施例中,反式环辛烯部分(G)为  , 且 $\text{R}^2$ 为 $-\text{OH}$ 、2-氨基乙磺酸、N

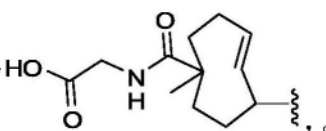
连接的天然或非天然氨基酸或任选取代的乙二胺;其中 $\text{R}^2$ 可任选进一步经聚醚取代。

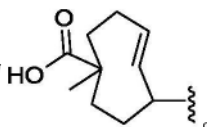
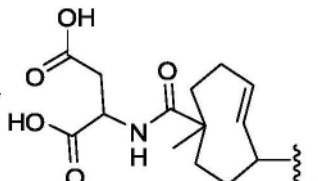
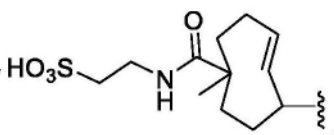
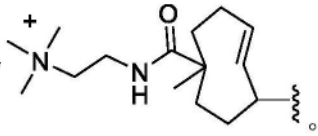
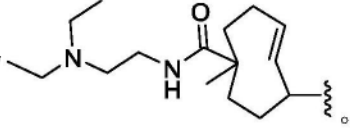
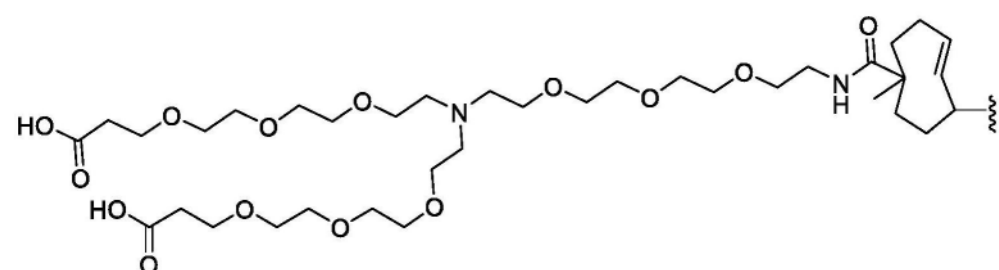
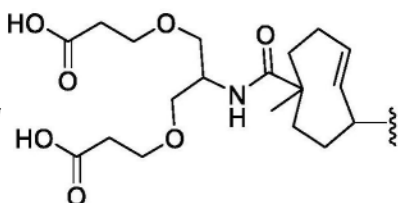
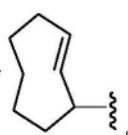
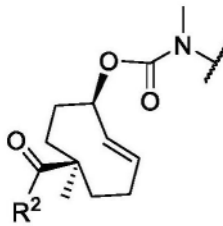
[0112] 在一些实施例中,反式环辛烯部分(G)为:



[0114] 在一些实施例中,反式环辛烯部分为:



[0116] 在一些实施例中,反式环辛烯部分为  。

- [0117] 在一些实施例中,反式环辛烯部分为 
- [0118] 在一些实施例中,反式环辛烯部分为 
- [0119] 在一些实施例中,反式环辛烯部分为 
- [0120] 在一些实施例中,反式环辛烯部分为 
- [0121] 在一些实施例中,反式环辛烯部分为 
- [0122] 在一些实施例中,反式环辛烯部分为
- [0123] 
- [0124] 在一些实施例中,反式环辛烯部分为 
- [0125] 在一些实施例中,反式环辛烯部分为 
- [0126] 在一些实施例中,G-L<sup>1</sup>在每次出现时独立地为  且R<sup>2</sup>为-OH、2-氨基乙磺酸、N连接的天然或非天然氨基酸或任选取代的乙二胺;其中R<sup>2</sup>可任选进一步经聚醚取代。

[0127] 在一些实施例中,m为1-20。在一些实施例中,m为1-10。在一些实施例中,m为1-5。在一些实施例中,m为20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1。在一些实施例中,m为1。

[0128] 还提供了药物组合物,其包含本文公开的缀合物或其药学上可接受的盐,以及药学上可接受的载体。

[0129] 有效载荷

[0130] 本文所用的术语“有效载荷”旨在指聚(ADP-核糖)聚合酶的抑制剂(PARP抑制剂)、倍癌霉素、吡咯并苯并二氮杂草(PBD)、半星芒体、HTI-286和单克隆抗体、或其衍生物或类似物。

[0131] 在某些实施例中,关于有效载荷所用的术语“衍生物”或“类似物”或“衍生自”意指原始未修饰的有效载荷的一个或多个原子(包括氢或非氢原子)被与一个或多个接头L<sup>1</sup>的共价键置换。D<sup>1</sup>有效载荷衍生自已知的有效载荷,并被修饰为经由接头L<sup>1</sup>共价键合至至少一个任选取代的反式环辛烯。即使在经过修饰以获得本文所述的化合物之后,D<sup>1</sup>有效载荷仍保持与原始未修饰的有效载荷中观察到的生物活性相当的生物活性。在某些实施例中,D<sup>1</sup>有效载荷表现出结合活性或抑制,其为原始未修饰的有效载荷中观察到的至少约98%、约95%、约90%、约85%、约80%、约75%、约70%、约65%、约60%、约55%或约50%。

[0132] 在某些实施例中,与原始未修饰的有效载荷的杂原子(例如,N、O或S)结合的氢原子被与接头L<sup>1</sup>的共价键置换。在某些实施例中,有效载荷上的卤素原子被替代以附接到化合物的其余部分。在某些实施例中,有效载荷上的氢原子被替代以附接到化合物的其余部分。在某些实施例中,氢原子位于杂原子上。在某些实施例中,氢原子位于氮上。在某些实施例中,氢原子位于氧上。在某些实施例中,氢原子位于碳上。

[0133] 在一些实施例中,至少一种有效载荷选自聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)的抑制剂、倍癌霉素、吡咯并苯并二氮杂草(PBD)、半星芒体、HTI-286、抗CD3( $\alpha$ CD3)单克隆抗体、芦比替定、MSA-2、加地喹莫特、环丙沙星、紫杉醇、吉西他滨、丝裂霉素C、依托泊苷、依沙替康和MMAE、或其衍生物或类似物。

[0134] 在一些实施例中,至少一种有效载荷选自聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)的抑制剂、倍癌霉素、吡咯并苯并二氮杂草(PBD)、半星芒体、HTI-286和抗CD3( $\alpha$ CD3)单克隆抗体、或其衍生物或类似物。

[0135] 在一些实施例中,至少一种有效载荷选自芦比替定、MSA-2、加地喹莫特、环丙沙星、紫杉醇、吉西他滨、丝裂霉素C、依托泊苷、依沙替康、Seco-倍癌霉素SA和MMAE、或其衍生物或类似物。

[0136] 本文用作有效载荷的单克隆抗体可以是完整的单克隆抗体或其片段(例如,抗原结合片段(Fab))。在一些实施例中,抗体为免疫细胞接合剂,因此会诱导或引发免疫反应。在一些实施例中,抗体或其片段靶向以下中的一种或多种:CD3(NCBI基因ID 916)、CD28(NCBI基因ID 940)、CD137(4-1BB)(NCBI基因ID 3604)、CD16(NCBI基因ID 2214)、NKG2D(NCBI基因ID 22914)、CD64(NCBI基因ID 2209)、GITR/TNFRSF18(NCBI基因ID 8487)、CD25(NCBI基因ID 3559)、CD40(NCBI基因ID 958)、CD4(NCBI基因ID 920)、CXCR4(NCBI基因ID 7852)、G-CSFR(NCBI基因ID 1441)、GM-CSFR(NCBI基因ID 1438)、CD122(NCBI基因ID 3560)、PD1(NCBI基因ID 5133)、CTLA4(NCBI基因ID 1493)、LAG3(NCBI基因ID 3902)、TIGIT

(NCBI基因ID 201633)、NCR1 (NCBI基因ID 9437)、TIM3 (NCBI基因ID 84868)、VISTA (NCBI基因ID 64115)、CD134 (NCBI基因ID 7293)、CD27 (NCBI基因ID 939)、CD40L (NCBI基因ID 959)、ICOS (NCBI基因ID 29851)、BAFFR (NCBI基因ID 115650)、LFA-1 (NCBI基因ID 3689) 或 BTLA (NCBI基因ID 151888)。

[0137] 在某些实施例中,有效载荷为靶向CD3的抗体或抗体片段,诸如OKT3、SP34、UCHT1、特普利珠单抗、奥特利兹单抗、维西珠单抗或福雷芦单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0138] 在某些实施例中,有效载荷为靶向CD28的抗体或抗体片段,诸如希拉利珠单抗 (theralizumab)、TGN1412或FR104,或由其衍生的抗体片段。

[0139] 在某些实施例中,有效载荷为靶向CD137 (4-1BB) 的抗体或抗体片段,诸如乌托鲁单抗、乌瑞芦单抗、LVGN6051或AGEN2373,或由其衍生的抗体片段。

[0140] 在某些实施例中,有效载荷为靶向CD16的抗体或抗体片段,诸如AFM13,或由其衍生的抗体片段。

[0141] 在某些实施例中,有效载荷为靶向NKG2D的抗体或抗体片段,诸如NNC0152-0002或JNJ-64304500,或由其衍生的抗体片段。

[0142] 在某些实施例中,有效载荷为靶向CD64的抗体或抗体片段,诸如H22,或由其衍生的抗体片段。

[0143] 在某些实施例中,有效载荷为靶向GITR/TNFRSF18的抗体或抗体片段,诸如MK-4166、TRX518、MS-986156、AMG-228或INCAGN01876,或由其衍生的抗体片段。

[0144] 在某些实施例中,有效载荷为靶向CD25的抗体或抗体片段,诸如达利珠单抗、RG6292、巴利昔单抗或HuMax-TAC,或由其衍生的抗体片段。

[0145] 在某些实施例中,有效载荷为靶向CD40的抗体或抗体片段,诸如伊卡利单抗、ABBV-323、布来鲁单抗 (ASKP-1240)、BI-655064、FFP-104、BMS986090、达西珠单抗或卢卡木单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0146] 在某些实施例中,有效载荷为靶向CD4的抗体或抗体片段,诸如MAX.16H5、IT1208、扎木单抗 (HuMax-CD4)、UB-421或MTRX1011A,或由其衍生的抗体片段。

[0147] 在某些实施例中,有效载荷为靶向CXCR4的抗体或抗体片段,诸如F50067,或由其衍生的抗体片段。

[0148] 在某些实施例中,有效载荷为靶向G-CSFR的抗体或抗体片段,诸如CSL324,或由其衍生的抗体片段。

[0149] 在某些实施例中,有效载荷为靶向GM-CSFR的抗体或抗体片段,诸如玛弗利木单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0150] 在某些实施例中,有效载荷为靶向CD122的抗体或抗体片段,诸如Hu-Mik (beta) 1,或由其衍生的抗体片段。

[0151] 在某些实施例中,有效载荷为靶向PD-1的抗体或抗体片段,诸如CC-90006、西米普利单抗、卡瑞利珠单抗或TSR-042,或由其衍生的抗体片段。

[0152] 在某些实施例中,有效载荷为靶向CTLA4的抗体或抗体片段,诸如曲美木单抗或伊匹单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0153] 在某些实施例中,有效载荷为靶向LAG3的抗体或抗体片段,诸如瑞拉利单抗 (BMS-986016)、GSK2831781、西米普利单抗 (REGN3767)、费维泽利单抗、埃拉利单抗或玛维泽利单

抗,或由其衍生的抗体片段。

[0154] 在某些实施例中,有效载荷为靶向TIGIT的抗体或抗体片段,诸如BMS-986207、替瑞利尤单抗、维博利单抗、艾替利单抗、多姆瓦那利单抗、ASP-8374、IBI939、BGB-A1217、COM902或M6223,或由其衍生的抗体片段。

[0155] 在某些实施例中,有效载荷为靶向NCR1的抗体或抗体片段,诸如hNKp46.02,或由其衍生的抗体片段。

[0156] 在某些实施例中,有效载荷为靶向TIM3的抗体或抗体片段,诸如考伯利单抗、Sym023、LY3321367、BMS-986258、SHR-1702、达巴托利单抗或INCAGN02390,或由其衍生的抗体片段。

[0157] 在某些实施例中,有效载荷为靶向VISTA的抗体或抗体片段,诸如SG7、K01401-020、CI-8993或JNJ-61610588,或由其衍生的抗体片段。

[0158] 在某些实施例中,有效载荷为靶向CD134的抗体或抗体片段,诸如KHK4083或ISB830,或由其衍生的抗体片段。

[0159] 在某些实施例中,有效载荷为靶向CD27的抗体或抗体片段,诸如伐立鲁单抗、MK-5890或CDX-527,或由其衍生的抗体片段。

[0160] 在某些实施例中,有效载荷为靶向CD40L的抗体或抗体片段,诸如达匹罗珠单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0161] 在某些实施例中,有效载荷为靶向ICOS的抗体或抗体片段,诸如MEDI-570、KY1044、JTX-2011或GSK3359609,或由其衍生的抗体片段。

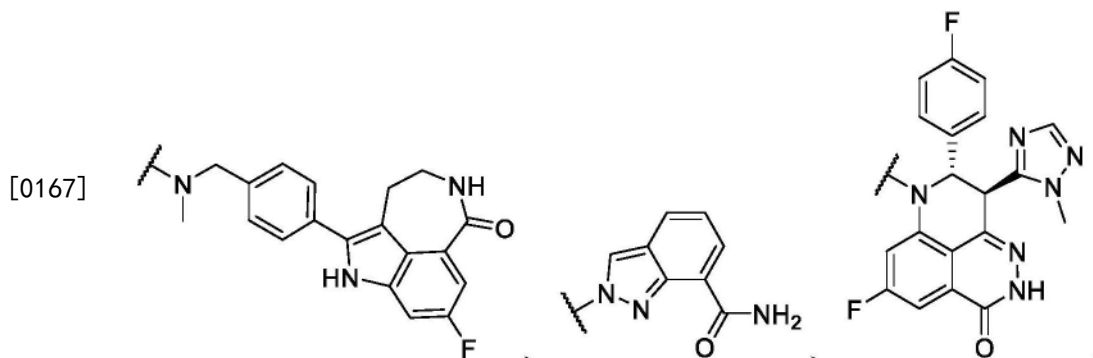
[0162] 在某些实施例中,有效载荷为靶向BAFFR的抗体或抗体片段,诸如伊利尤单抗,或由其衍生的抗体片段。

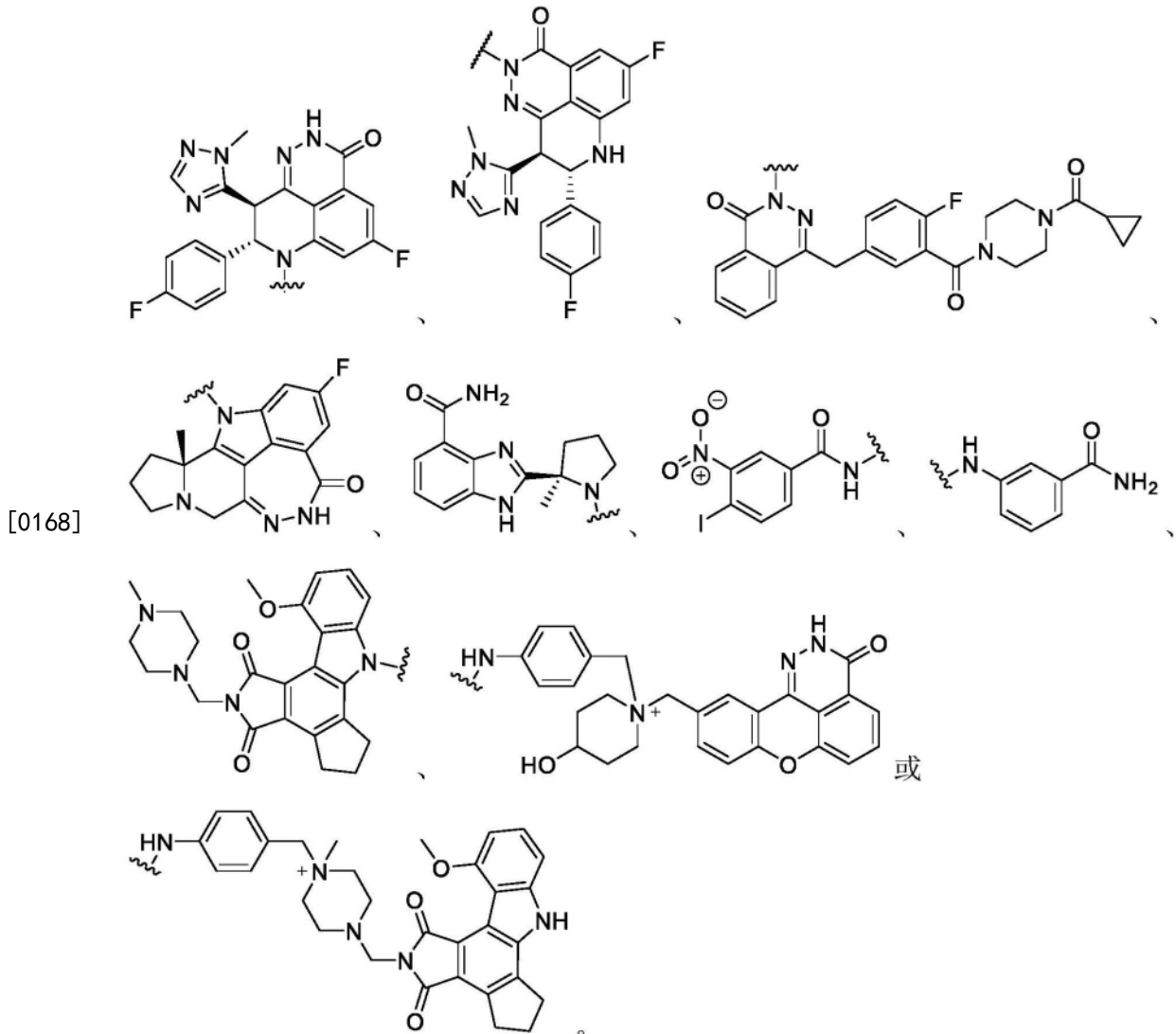
[0163] 在某些实施例中,有效载荷为靶向LFA-1的抗体或抗体片段,诸如依法利珠单抗,或由其得到的抗体片段。

[0164] 在某些实施例中,有效载荷为靶向BTLA的抗体或抗体片段,诸如伊卡托利单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0165] 在一些实施例中,有效载荷为聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)的抑制剂、或其衍生物或类似物。在一些实施例中,聚(ADP-核糖)聚合酶抑制剂(PARP抑制剂)为尼拉帕尼、他拉唑帕尼、奥拉帕尼、帕米帕尼、鲁卡帕尼、维利帕尼、伊尼帕尼、3-氨基苯甲酰胺、CEP-9722、E7016、或其衍生物或类似物。

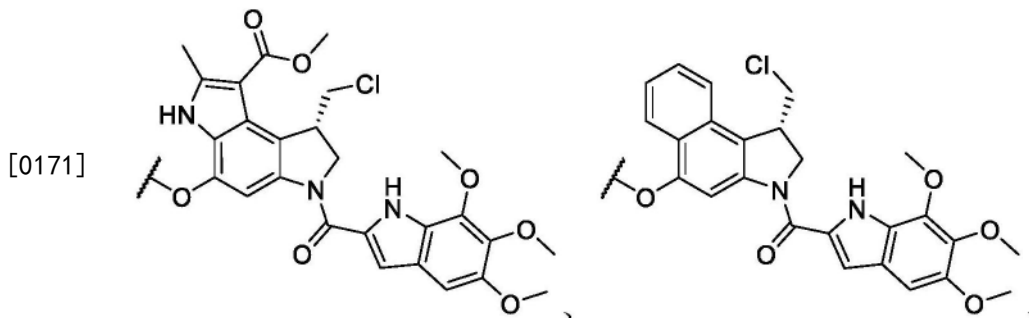
[0166] 在一些实施例中, $D^1$ 为:



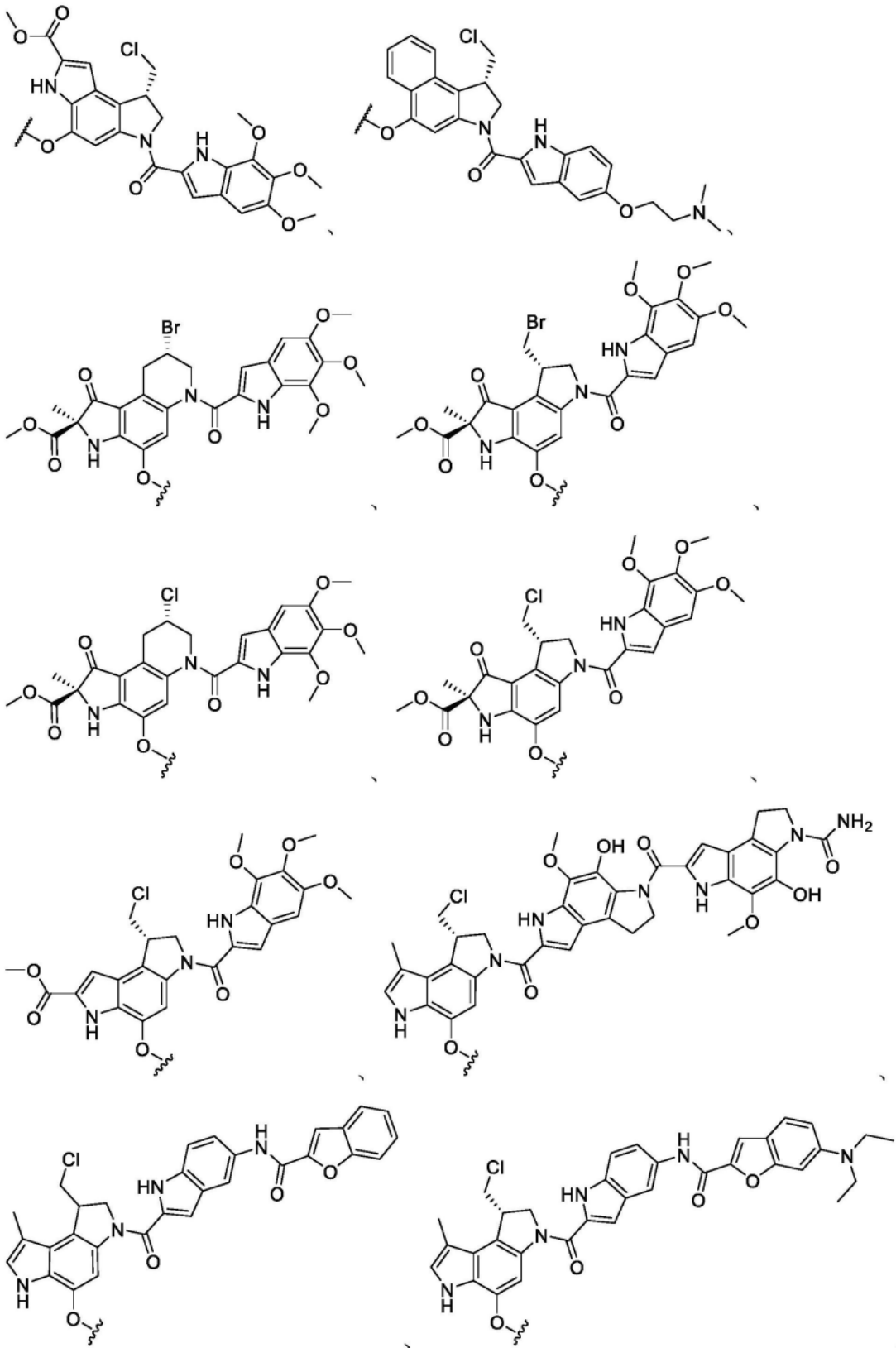


[0169] 在一些实施例中,有效载荷为多卡米星、或其衍生物或类似物。在一些实施例中,多卡米星为倍癌霉素A、倍癌霉素B1、倍癌霉素B2、倍癌霉素C1、倍癌霉素C2、倍癌霉素D、倍癌霉素SA、CC-1065、阿多来新、卡折来新、比折来新、或其衍生物或类似物。

[0170] 在一些实施例中, $D^1$ 为:

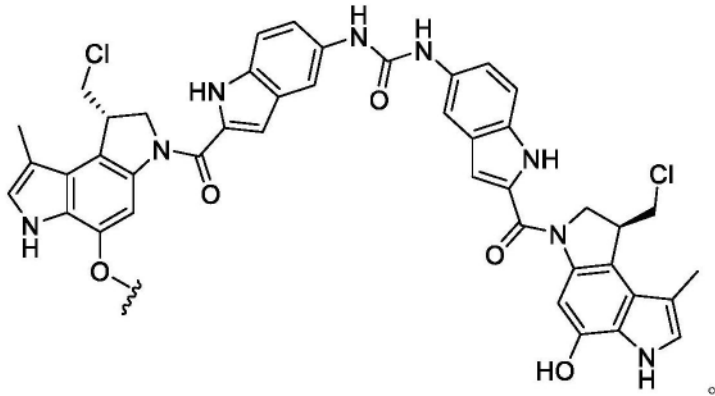


[0172]



或

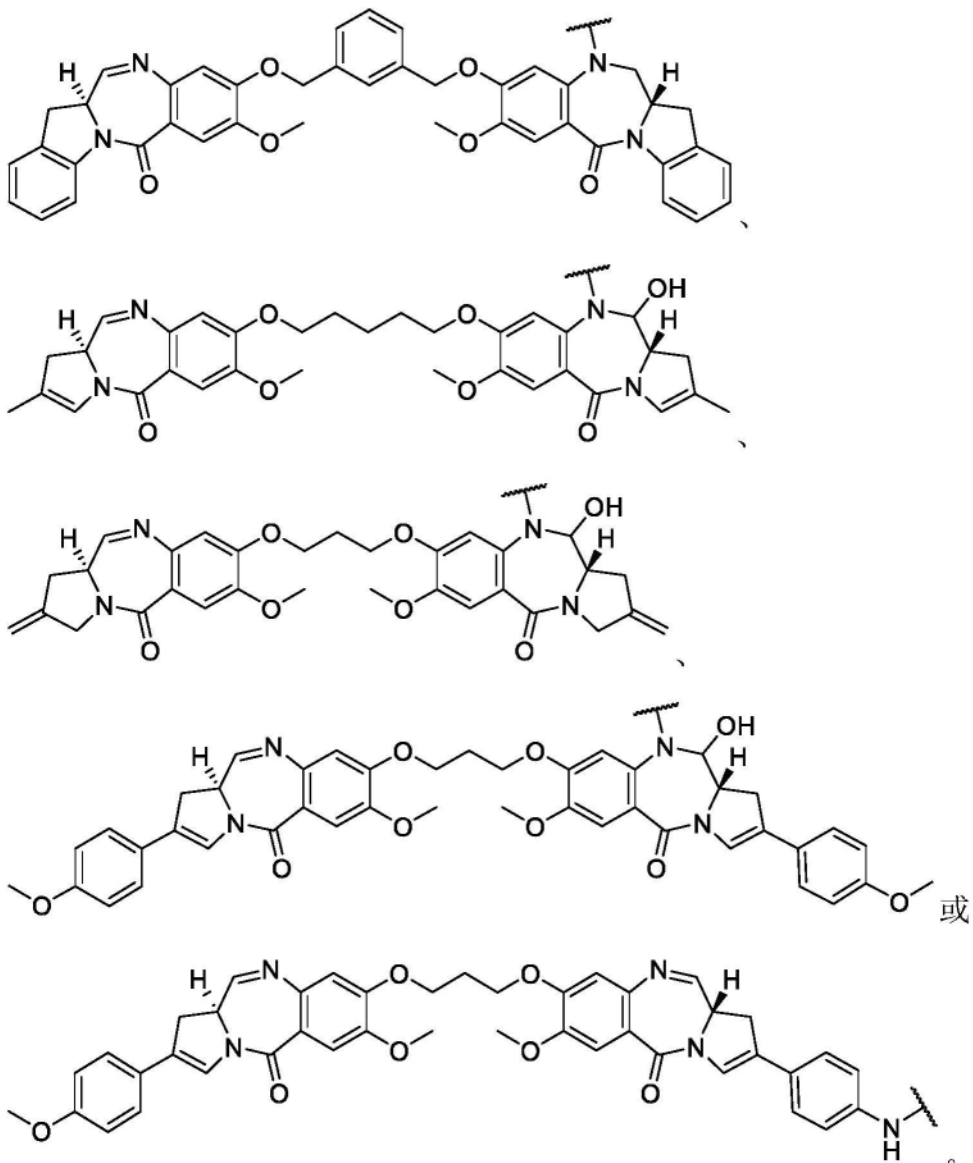
[0173]



[0174] 在一些实施例中,有效载荷为吡咯并苯二氮卓(PBD),或其衍生物或类似物。在一些实施例中,吡咯并苯二氮卓(PBD)为[1,2]二氮卓并[3,4-e]吡咯,或其衍生物或类似物。

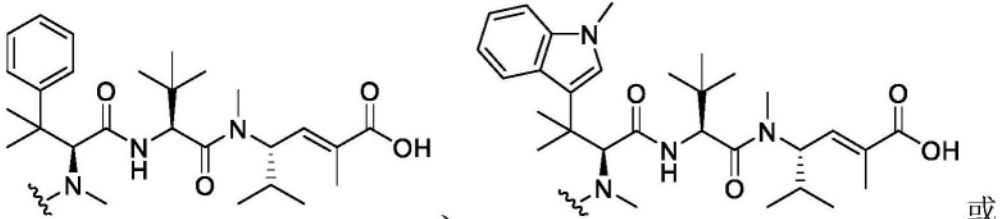
[0175] 在一些实施例中, $D^1$ 为:

[0176]

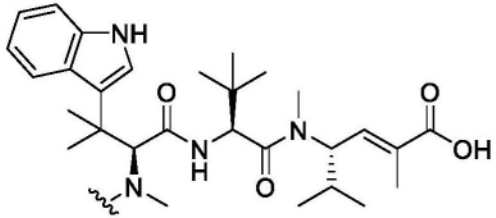


[0177] 在一些实施例中,有效载荷为微管蛋白聚合的抑制剂。在一些实施例中,有效载荷为半星芒体、HTI-286,或其衍生物或类似物。

[0178] 在一些实施例中,  $D^1$  衍生自:

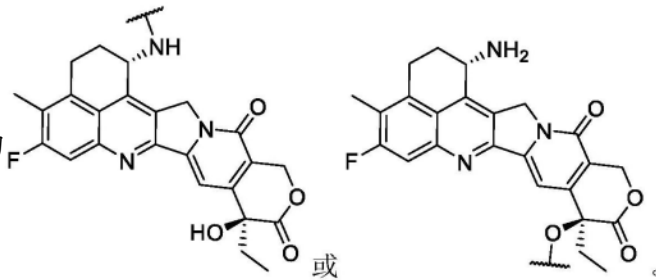


[0179]

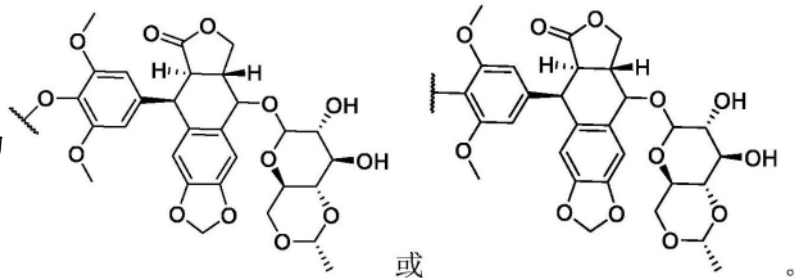


[0180] 在一些实施例中,  $D^1$  为拓扑异构酶抑制剂。在一些实施例中,  $D^1$  为喜树碱、或其衍生物或类似物。在一些实施例中,  $D^1$  为拓扑替康、伊立替康、西拉替康、可替康、依沙替康、勒托替康、吉马替康、贝洛替康或鲁比替康。

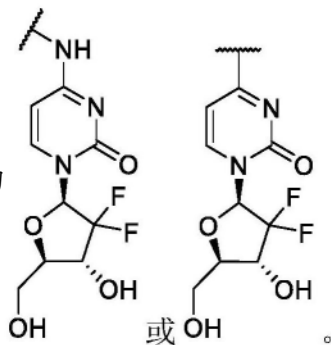
[0181] 在一些实施例中,  $D^1$  为



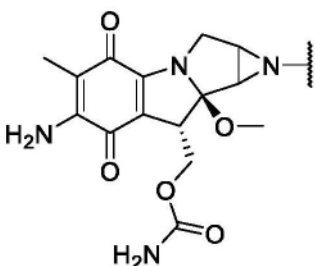
[0182] 在一些实施例中,  $D^1$  为



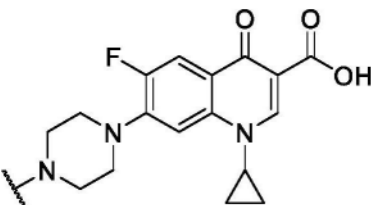
[0183] 在一些实施例中,  $D^1$  为



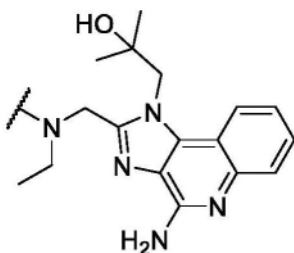
[0184]

在一些实施例中, D<sup>1</sup>为

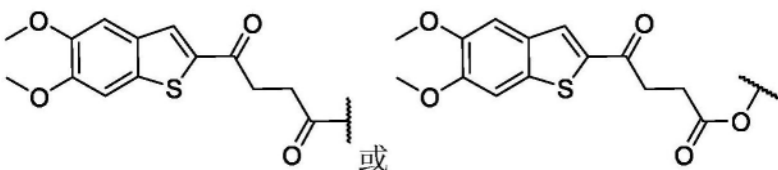
[0185]

在一些实施例中, D<sup>1</sup>为

[0186]

在一些实施例中, D<sup>1</sup>为

[0187]

在一些实施例中, D<sup>1</sup>为

[0188] 在一些实施例中,有效载荷包括多肽。在一些实施例中,多肽包括一个或多个赖氨酸、丝氨酸、苏氨酸或酪氨酸残基。在一些实施例中,接头L<sup>1</sup>与有效载荷上的赖氨酸、丝氨酸、苏氨酸或酪氨酸残基共价结合。在一些实施例中,多肽包含一个或多个赖氨酸残基。在一些实施例中,接头L<sup>1</sup>与有效载荷上存在的赖氨酸残基共价结合。

[0189] 在一些实施例中,有效载荷包含N末端氨基酸,其中接头L<sup>1</sup>与N末端氨基酸共价结合。

[0190] 在一些实施例中,m为1-20。

[0191] 在本文所述缀合物的一些实施例中,接头L<sup>1</sup>可以是键。

[0192] 在本文所述缀合物的一些实施例中,接头L<sup>1</sup>可以具有1至100个连接原子,并且可包括乙烯氧基、胺、酯、酰胺、氨基甲酸酯、碳酸酯和酮官能团。例如,接头可以具有1至50个连接原子、或5至50个连接原子、或10至50个连接原子、或1至40个连接原子、或1至30个连接原子、或1至20个连接原子、或1至10个连接原子、或1至5个连接原子、或5至30个连接原子、或10至30个连接原子、或5至40个连接原子、或5至50个连接原子、或10至50个连接原子。

[0193] 在本文所述缀合物的一些实施例中,式I中的接头L<sup>1</sup>可以包含一个或多个(例如1至10个或1至5个)链杂原子(例如O、N、S)以及一个或多个(例如,1至10个或1至5个)亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚芳基、杂亚芳基、环亚烷基或杂环亚烷基部分;其中每个亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚芳基、杂亚芳基、环亚烷基或杂环亚烷基部分可独立地任选地经一至五个独立地选自氧代、卤代、C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-4</sub>烷氧基和C<sub>1-4</sub>卤代烷基的取代基取代。

[0194] 在本文所述缀合物的一些实施例中,接头 $L^1$ 可以具有下式:

[0195]  $-Y^{10}-(CH_2)_{n'}-Y^{20}-(CH_2)_m-Y^{30}-$

[0196] 其中:

[0197]  $Y^{10}$ 、 $Y^{20}$ 和 $Y^{30}$ 中的每一者独立地为键、 $-NR^{110}-$ 、 $-O-$ 、 $-S(O)_{0-2}-$ 、 $-NR^{110}C(O)-$ 、 $-C(O)NR^{110}-$ 、 $-NR^{110}S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2NR^{110}-$ 、 $-CR^{120}=N-NR^{110}-$ 、 $-NR^{110}-N=CR^{120}-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)O-$ 、亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚芳基、杂亚芳基、环亚烷基或杂环亚烷基;其中每个亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚芳基、杂亚芳基、环亚烷基或杂环亚烷基独立地任选地经一至五个独立地选自氧代、卤代、 $C_{1-4}$ 烷基、 $C_{1-4}$ 烷氧基和 $C_{1-4}$ 卤代烷基的取代基取代;

[0198] 每个 $R^{110}$ 独立地为氢、 $C_{1-4}$ 烷基、 $C_{1-4}$ 卤代烷基、芳基、杂芳基、环烷基或杂环基;

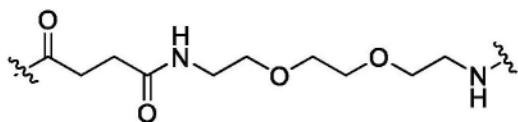
[0199] 每个 $R^{120}$ 独立地为氢、 $C_{1-4}$ 烷基、 $C_{1-4}$ 卤代烷基、芳基、杂芳基、环烷基或杂环基;并且

[0200]  $n'$ 和 $m$ 各自独立地为0、1、2、3、4、5、6、7或8。

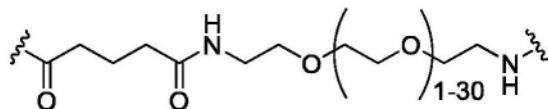
[0201] 在某些实施例中,接头 $L^1$ 不是键。在一些实施例中, $L^1$ 为可裂解的接头。在一些实施例中, $L^1$ 为不可裂解的接头。

[0202] 在某些实施例中,每个 $R^{110}$ 独立地为氢、 $C_{1-4}$ 烷基、 $C_{1-4}$ 卤代烷基、芳基、杂芳基、环烷基或杂环基;每个 $R^{120}$ 独立地为氢、 $C_{1-4}$ 烷基、 $C_{1-4}$ 卤代烷基、芳基、杂芳基、环烷基或杂环基。

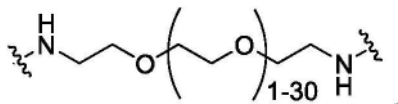
[0203] 代表性接头包括但不限于下面所示的接头:



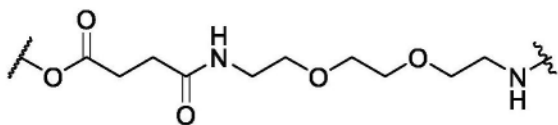
[0204]



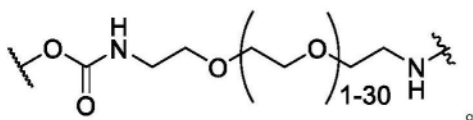
[0205]



[0206] 代表性接头包括但不限于下面所示的接头:

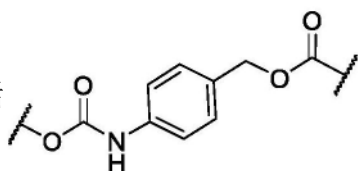


[0207]



[0208] 在本文所述缀合物的一些实施例中,式I中的接头可以包括聚乙二醇(例如,平均分子量为300g/mol至10,000g/mol的PEG)、乙烯-1,2-二基双(甲基氨基甲酸酯)、亚芳基(e.e.,亚苯基)、乙烯-氧基、胺、酯、酰胺、氨基甲酸酯、酮(即,甲酰基)或碳酸酯中的一种或

多种。式I中的接头可包括



[0209] 在本文所述缀合物的一些实施例中,接头 $L^1$ 可以包括一个或多个天然或非天然氨基酸,其可称为肽接头。当药物( $D^1$ )包含氨基部分时,接头可使用由羧酰基单元和构成蛋白质或肽序列的一个或多个氨基酸构成的肽接头与其键合。接头还可以包括自毁间隔物,其将药物与蛋白质肽序列隔开。

[0210] 在本文所述缀合物的一些实施例中,接头 $L^1$ 可以为由“A—Y—Z—X—W”表示的肽接头,其中“A”为羧酰基单元,“Y”和“Z”各自为一个或多个天然或非天然氨基酸并且共同形成肽序列,“X”和“W”为具有1至50个连接原子、或5至10个连接原子、或1至10个连接原子的任选额外接头,其将肽与药物、 $D^1$ 或生物正交部分隔开。在某些实施例中,肽接头中的一个或多个氨基酸是N-甲基化的。

[0211] 在一些实施例中,Y可以为选自由丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸、苯丙氨酸、色氨酸和脯氨酸组成的组中的至少一种氨基酸。在一些实施例中,Y可以为选自由苯丙氨酸、丙氨酸和缬氨酸组成的组的至少一种氨基酸。

[0212] 在一些实施例中,Z可以为选自由丙氨酸、赖氨酸、用乙酰基或甲酰基保护的赖氨酸、精氨酸、用甲苯磺酰基或硝基保护的精氨酸、组氨酸、鸟氨酸、用乙酰基或甲酰基保护的鸟氨酸和瓜氨酸组成的组的至少一种氨基酸。在一些实施例中,Z可以为选自由丙氨酸、赖氨酸和瓜氨酸组成的组的至少一种氨基酸。

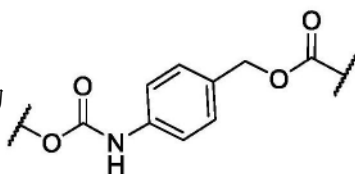
[0213] 在一些实施例中,Y-Z组合包括缬氨酸-瓜氨酸;缬氨酸-丙氨酸;以及丙氨酸-丙氨酸。

[0214] 在某些实施例中,A为-OC(O)-。

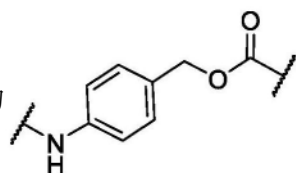
[0215] 在某些实施例中,X为-OC(O)-。

[0216] 在某些实施例中,W为-OC(O)-。在某些实施例中,X不存在且W为-OC(O)-。

[0217] 在某些实施例中,-X-W为



[0218] 在某些实施例中,-X-W为

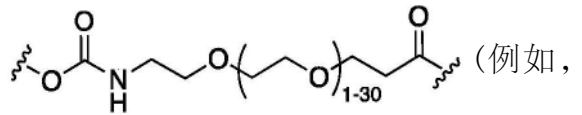


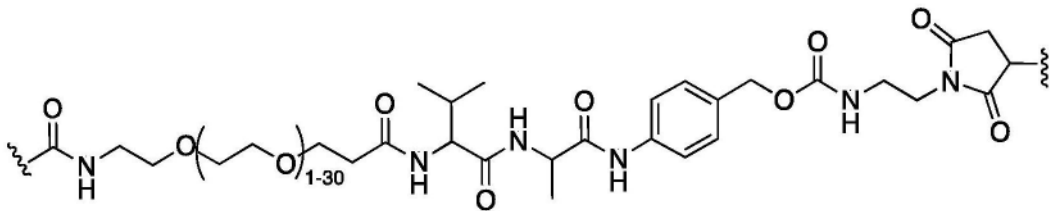
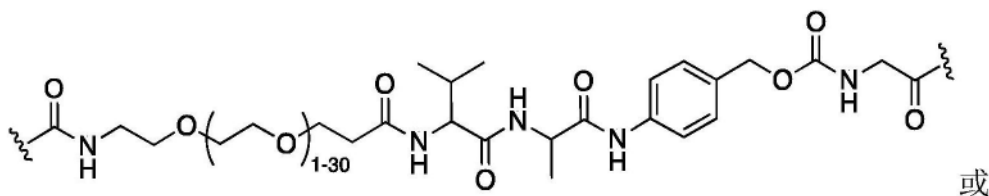
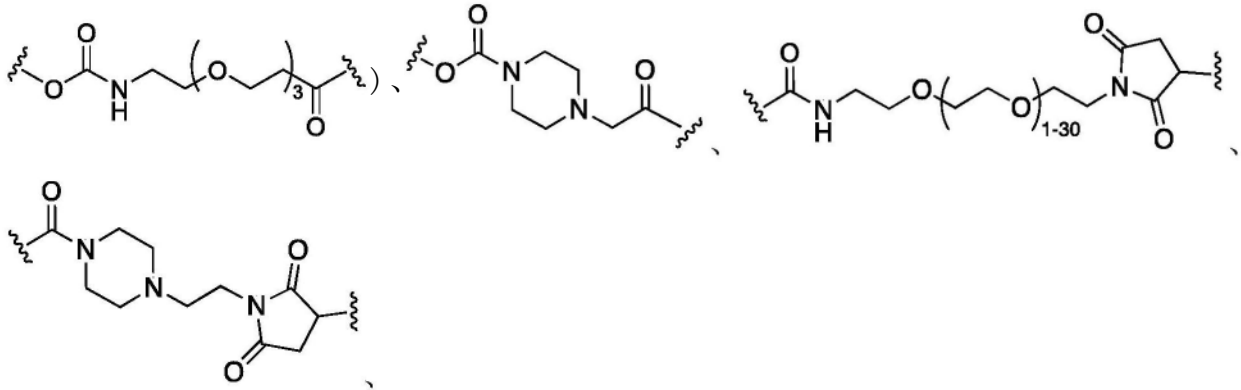
[0219] 在某些实施例中,肽接头经过特殊定制,使得它将被选择性地切割(例如,酶促切割)释放药物,诸如通过一种或多种肿瘤相关蛋白酶。

[0220] 在某些实施例中,肽接头具有二至四个氨基酸残基的链长(即二肽、三肽或四肽)。然而,应理解,也可适当地采用最多五、六、七或八个氨基酸残基的肽接头。

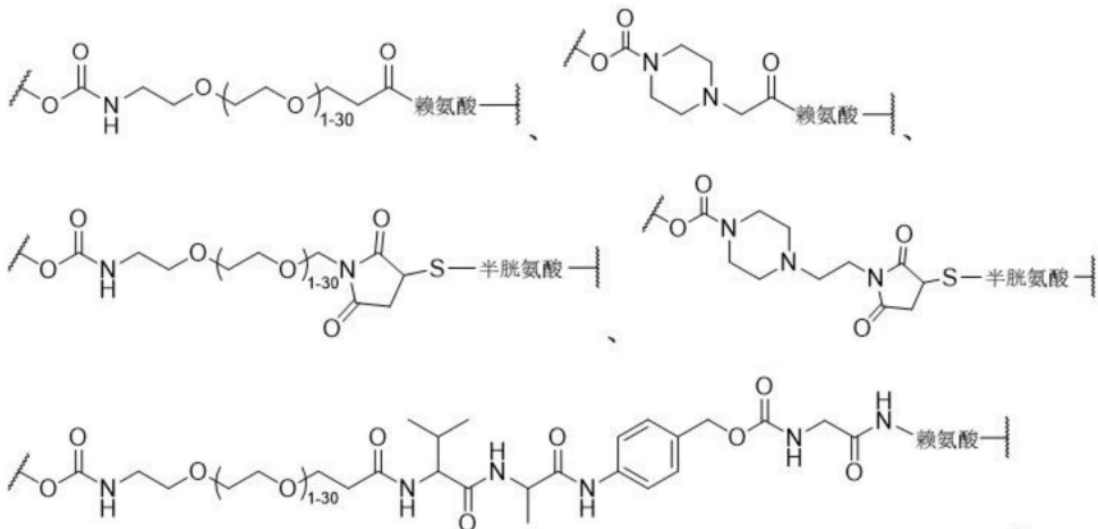
[0221] 在某些实施例中,肽接头为Phe-Lys、Val-Lys、Val-Ala、Ala-Ala、Phe-Phe-Lys、D-Phe-Phe-Lys、Gly-Phe-Lys、Ala-Lys、Val-Cit、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp-Cit、Phe-

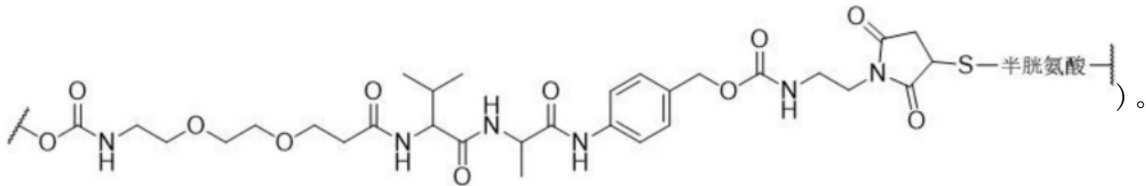
Ala、Gly-Phe-Leu-Gly[SEQ ID NO:1]、Ala-Leu-Ala-Leu[SEQ ID NO:2]、Phe-N<sup>9</sup>-甲苯磺酰基-Arg或Phe-N<sup>9</sup>-硝基-Arg。在某些实施例中,肽接头为Phe-Lys、Val-Lys、Val-Ala、Ala-Ala、Val-Val、Val-Cit或D-Phe-L-Phe-Lys。在某些实施例中,肽接头为Val-Cit、Val-Ala或Ala-Ala。

[0222] 在某些实施例中,式I中的接头L<sup>1</sup>为: (例如,



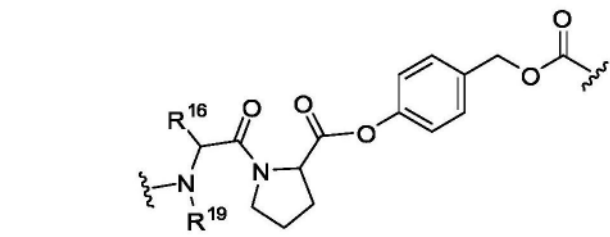
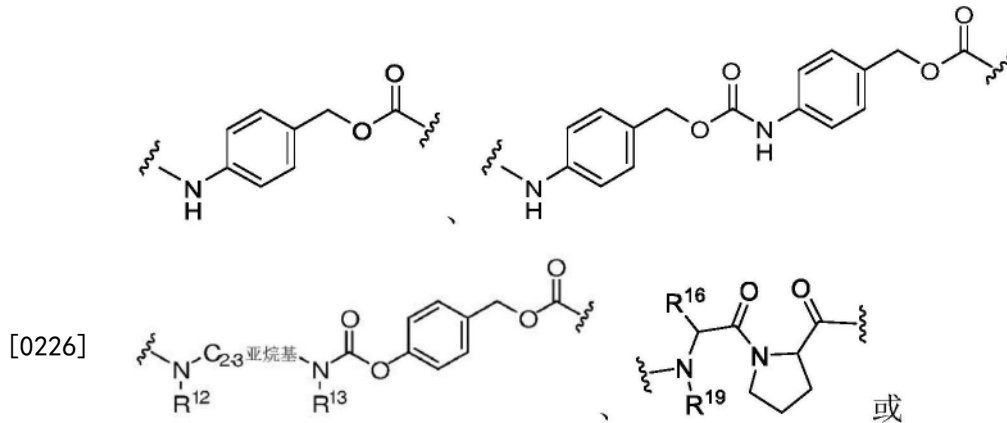
[0223] 前述接头可以在右侧上附接到D<sup>1</sup>的氨基酸侧链,诸如赖氨酸或半胱氨酸(例如,





[0224] 在一些实施例中,  $L^1$  为  $-OC(O)L^4-$  或  $-OC_{1-6}$  亚烷基  $C(O)L^4-$ ;

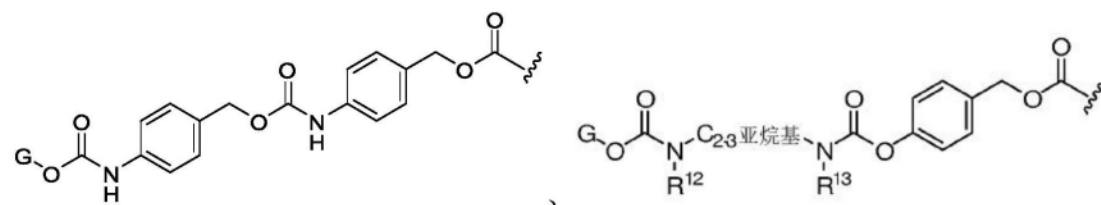
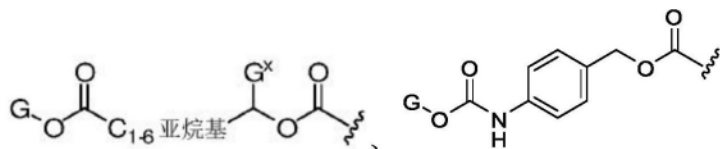
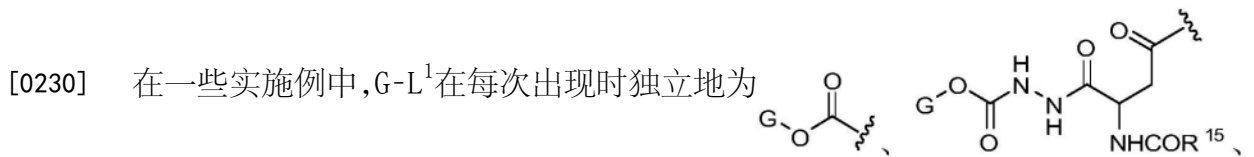
[0225]  $L^4$  为键、 $-N(R^{12})-C_{2-3}$  亚烷基  $-N(R^{13})C(O)-$ 、 $-CH(NHC(O)R^{14})C_{1-4}$  亚烷基  $-S-S-C_{1-4}$  亚烷基  $-OC(O)-$ 、 $-NHNHC(O)CH(NHC(O)R^{15})CH_2C(O)-$ 、 $-C_{1-6}$  亚烷基  $-CH(G^x)OC(O)-$ 、

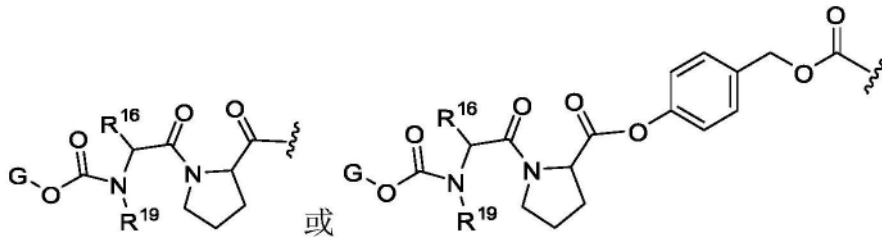


[0227]  $R^{12}$ 、 $R^{13}$ 、 $R^{14}$ 、 $R^{15}$  和  $R^{19}$  各自独立地为氢或  $C_{1-4}$  烷基;

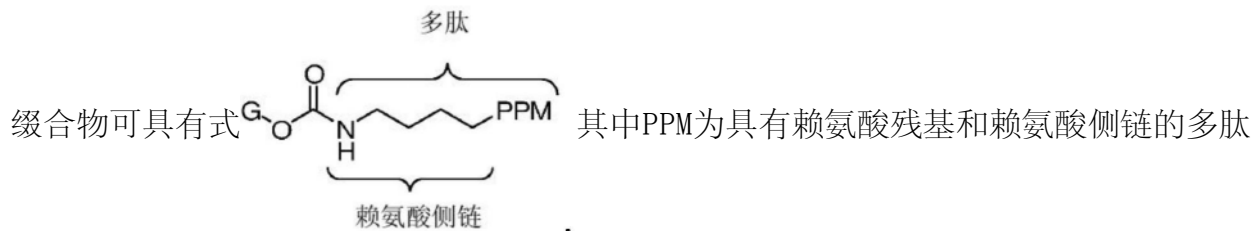
[0228]  $R^{16}$  为氢、 $C_{1-4}$  烷基、 $-C_{1-4}$  亚烷基  $-OH$ 、 $-C_{1-4}$  亚烷基  $-OC_{1-4}$  烷基、 $-C_{1-4}$  亚烷基  $-CO_2H$  或  $-C_{1-4}$  亚烷基  $-CONH_2$ ; 并且

[0229]  $G^x$  为任选地经 1 至 5 个独立地选自由卤素、 $C_{1-4}$  烷基、 $C_{1-4}$  卤代烷基、 $C_{1-4}$  烷氧基、氰基和硝基组成的组的取代基取代的苯基。





[0231] 在一些实施例中,  $G-L^1$  在每次出现时独立地为  $G-O-C(=O)-$  当附接至赖氨酸残基时,



部分,且 PPM 还可以具有额外赖氨酸或缀合至基团  $G-O-C(=O)-$  的其他氨基酸侧链。

[0232] 在一些实施例中,  $R^{1B}$  选自由以下项组成的组:  $G^1$ 、 $-OH$ 、 $-NR^{1c}-C_{1-4}$  亚烷基- $G^1$ 、 $-NR^{1c}-C_{1-4}$  亚烷基- $N(R^{1d})_2$ 、 $-N(R^{1c})CHR^{1e}CO_2H$ 、 $-N(R^{1c})CH_2CO_2H$  和  $-N(R^{1f})-CH_2CH_2-(N(CH_2CO_2H)CH_2CH_2)_n-N(CH_2CO_2H)_2$ ;

[0233]  $R^{1e}$  为  $-CH_2CO_2H$ 、 $-CH_2CH_2CO_2H$ 、 $-CH_2CONH_2$ 、 $-CH_2CH_2CONH_2$ 、 $-CH_2OH$  或  $-CH(CH_3)OH$ ; 并且

[0234]  $R^{1f}$  为氢或  $CH_2CO_2H$ 。

[0235] 在一些实施例中,  $R^{1B}$  选自由以下项组成的组:  $-NR^{1c}-C_{2-4}$  亚烷基- $N(C_{1-4}$  烷基) $_3^+$ 、 $-N(R^{1c})-C_{1-6}$  亚烷基- $SO_3H$ 、 $-N(R^{1c})-(CH_2CH_2O)_{1-3}-CH_2CH_2N((CH_2CH_2O)_{1-3}-C_{1-6}$  亚烷基- $CO_2H)_2$  和  $-N(R^{1c})-CH(CH_2O-(CH_2CH_2O)_{0-2}-C_{1-6}$  亚烷基- $CO_2H)_2$ 。

[0236] 在一些实施例中,  $R^{1B}$  选自由以下项组成的组:  $-NR^{1c}-CH_2CH_2-N(CH_3)_3^+$ 、 $-N(R^{1c})-CH_2CH_2-SO_3H$ 、 $-N(R^{1c})-(CH_2CH_2O)_3-CH_2CH_2N((CH_2CH_2O)_3-CH_2CH_2-CO_2H)_2$  和  $-N(R^{1c})-CH(CH_2O-CH_2CH_2-CO_2H)_2$ 。

[0237] 在一些实施例中,  $R^{1A}$  为  $C_{1-4}$  烷基。

[0238] 在一些实施例中,  $R^{1A}$  为  $CH_3$ 。

[0239] 在一些实施例中,  $R^{1c}$  为氢。

[0240] 在一些实施例中,  $R^{1A}$  为  $C_{1-4}$  烷基;

[0241]  $R^{1B}$  选自由以下项组成的组:  $G^1$ 、 $OH$ 、 $-NR^{1c}-C_{1-4}$  亚烷基- $G^1$ 、 $-NR^{1c}-C_{1-4}$  亚烷基- $N(R^{1d})_2$ 、 $-N(R^{1c})CHR^{1e}CO_2H$ 、 $-N(R^{1c})CH_2CO_2H$  和

[0242]  $-N(R^{1f})-CH_2CH_2-(N(CH_2CO_2H)CH_2CH_2)_n-N(CH_2CO_2H)_2$ ;

[0243]  $R^{1e}$  为  $-C_{1-4}$  亚烷基- $CO_2H$ ;

[0244]  $R^{1f}$  为氢或  $C_{1-4}$  亚烷基- $CO_2H$ ;

[0245]  $G^1$  为含有第一氮和任选的一个选自氮、氧和硫的额外杂原子的 4 元至 8 元单环杂环基,  $G^1$  附接在所述第一氮处且任选地经 1 至 4 个独立地选自  $C_{1-4}$  烷基、 $C_{1-4}$  卤代烷基、卤代、氰基、 $OH$ 、 $-OC_{1-4}$  烷基和氧代组成的组的取代基取代; 并且  $n$  为 0、1 或 2。

[0246] 在一些实施例中,  $R^{1A}$  为  $CH_3$ ;

[0247]  $R^{1e}$ 为 $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ ;

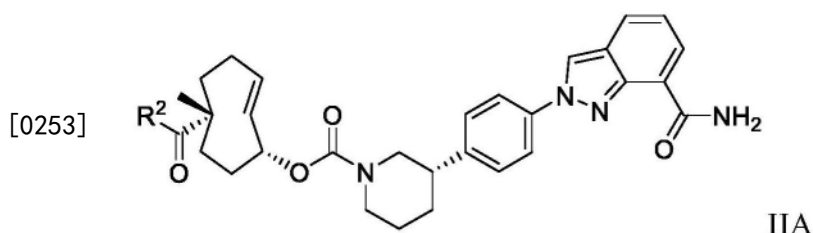
[0248]  $R^{1f}$ 为氢或 $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ ;并且

[0249]  $G^1$ 为哌嗪基、吗啉基、哌啶基、氮杂环庚烷基或吡咯烷基,通过环氮原子附接且任选地经1至4个独立地选自 $\text{C}_{1-4}$ 烷基、 $\text{C}_{1-4}$ 卤代烷基、卤代、氰基、 $\text{OH}$ 、 $-\text{OC}_{1-4}$ 烷基和氧代组成的组的取代基取代。

[0250] 在一些实施例中, $L^2$ 为 $-\text{C}(\text{O})-$ 。

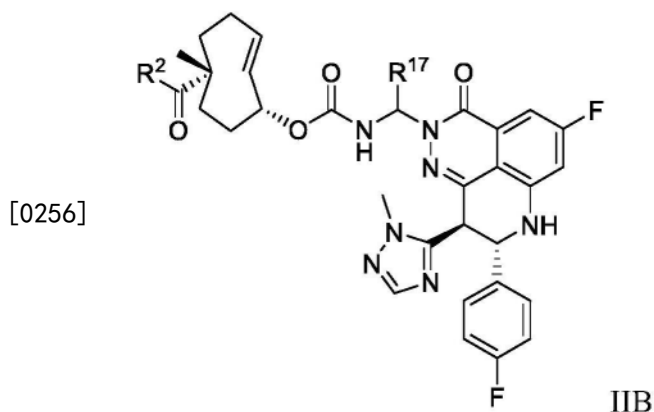
[0251] 在一些实施例中, $R^{1B}$ 选自自由以下项组成的组: $\text{OH}$ 、 $\text{N}(\text{H})\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{N}(\text{H})\text{CHR}^{1e}\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{N}(\text{H})-\text{CH}_2\text{CH}_2-(\text{N}(\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H})\text{CH}_2\text{CH}_2)_n$ 、 $-\text{N}(\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H})_2$ 和 $-\text{N}(\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H})-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H})_2$ ;并且 $R^{1e}$ 为 $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ 。

[0252] 在某些实施例中,提供了式IIA的缀合物:



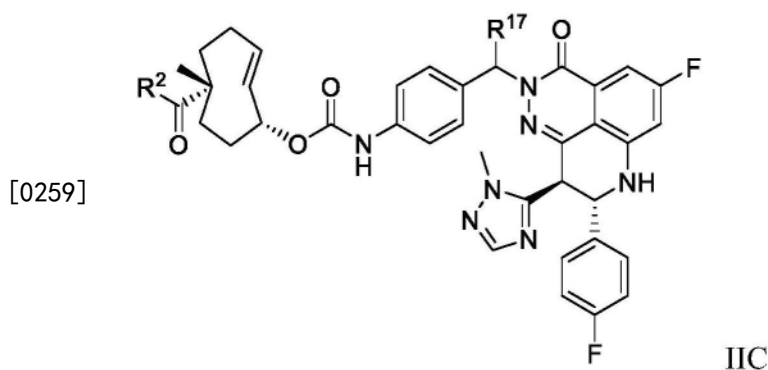
[0254] 或其药学上可接受的盐,其中 $R^2$ 为 $-\text{OH}$ 、2-氨基乙磺酸、N连接的天然或非天然氨基酸或任选取代的乙二胺;其中 $R^2$ 可任选进一步经聚醚取代。

[0255] 在某些实施例中,提供了式IIB的缀合物:



[0257] 或其药学上可接受的盐,其中 $R^2$ 为 $-\text{OH}$ 、2-氨基乙磺酸、N连接的天然或非天然氨基酸或任选取代的乙二胺;其中 $R^2$ 可任选地进一步经聚醚取代;并且 $R^{17}$ 为氢、任选取代的烷基或任选取代的芳基。

[0258] 在某些实施例中,提供了式IIC的缀合物:



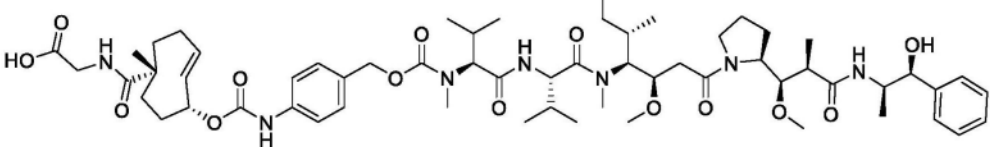
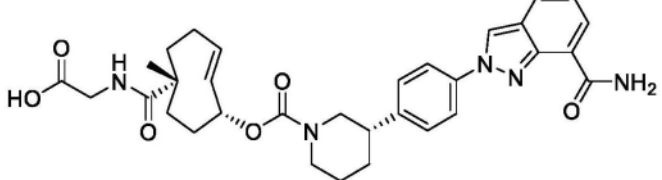
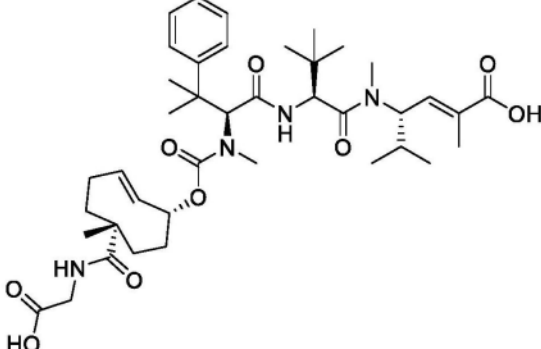
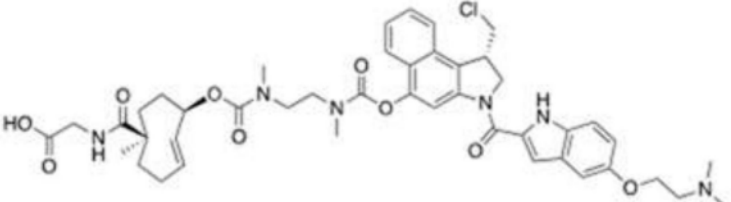
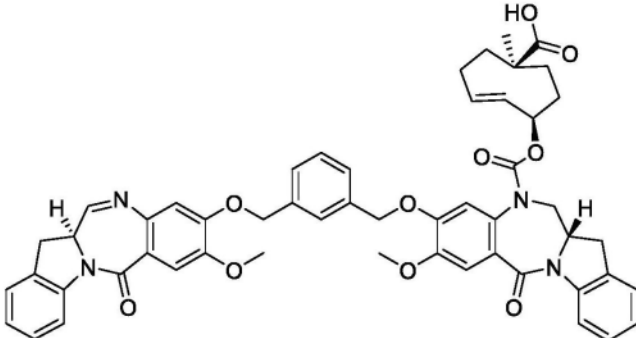
[0260] 或其药学上可接受的盐,其中 $R^2$ 为-OH、2-氨基乙磺酸、N连接的天然或非天然氨基酸或任选取代的乙二胺;其中 $R^2$ 可任选地进一步经聚醚取代;并且 $R^{17}$ 为氢、任选取代的烷基或任选取代的芳基。

[0261] 在一些实施例中, $R^{17}$ 为氢、烷基或芳基;其中烷基或芳基任选地经1至4个独立地选自 $C_{1-4}$ 烷基、 $C_{1-4}$ 卤代烷基、卤代、氰基、OH、-OC $_{1-4}$ 烷基和氧代组成的组的取代基取代。在一些实施例中, $R^{17}$ 为氢、烷基或芳基;其中烷基或芳基任选地经1至4个独立地选自 $C_{1-4}$ 烷基、 $C_{1-4}$ 卤代烷基、卤代、氰基、OH、-OC $_{1-4}$ 烷基和氧代组成的组的取代基取代。

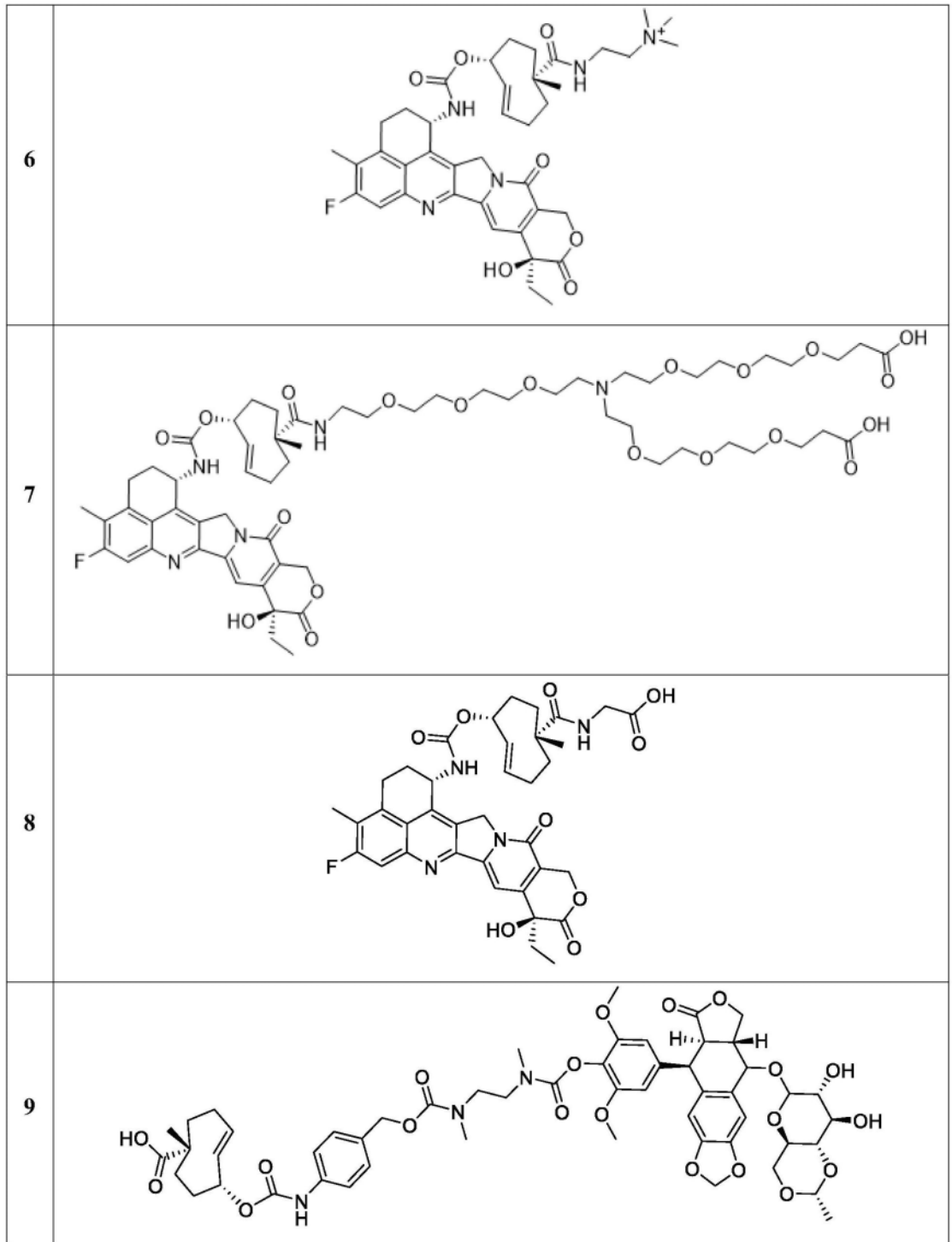
[0262] 在某些实施例中,提供了缀合物或其药学上可接受的盐,其中缀合物选自表1。

[0263] 表1

[0264]

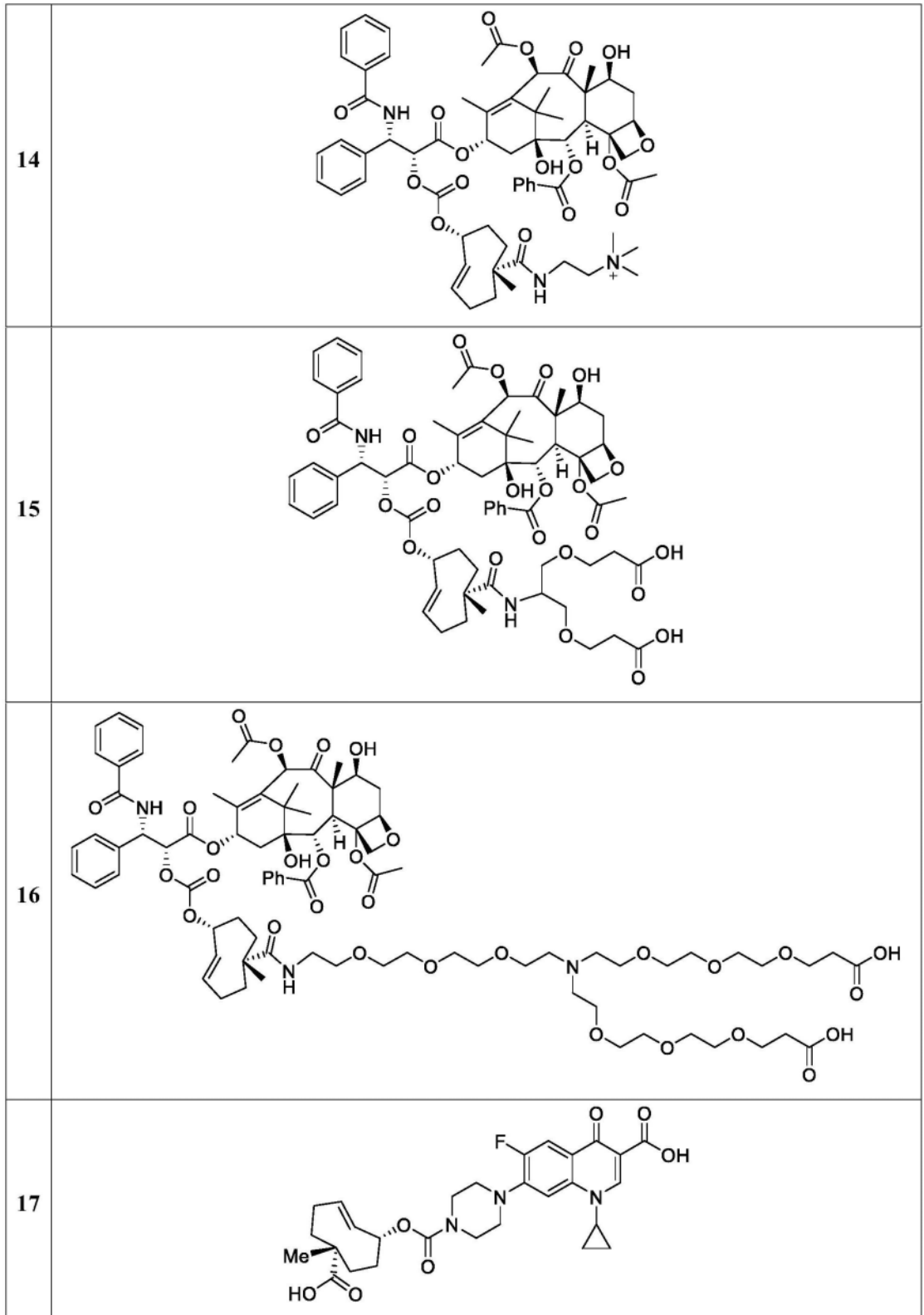
1	
2	
3	
4	
5	

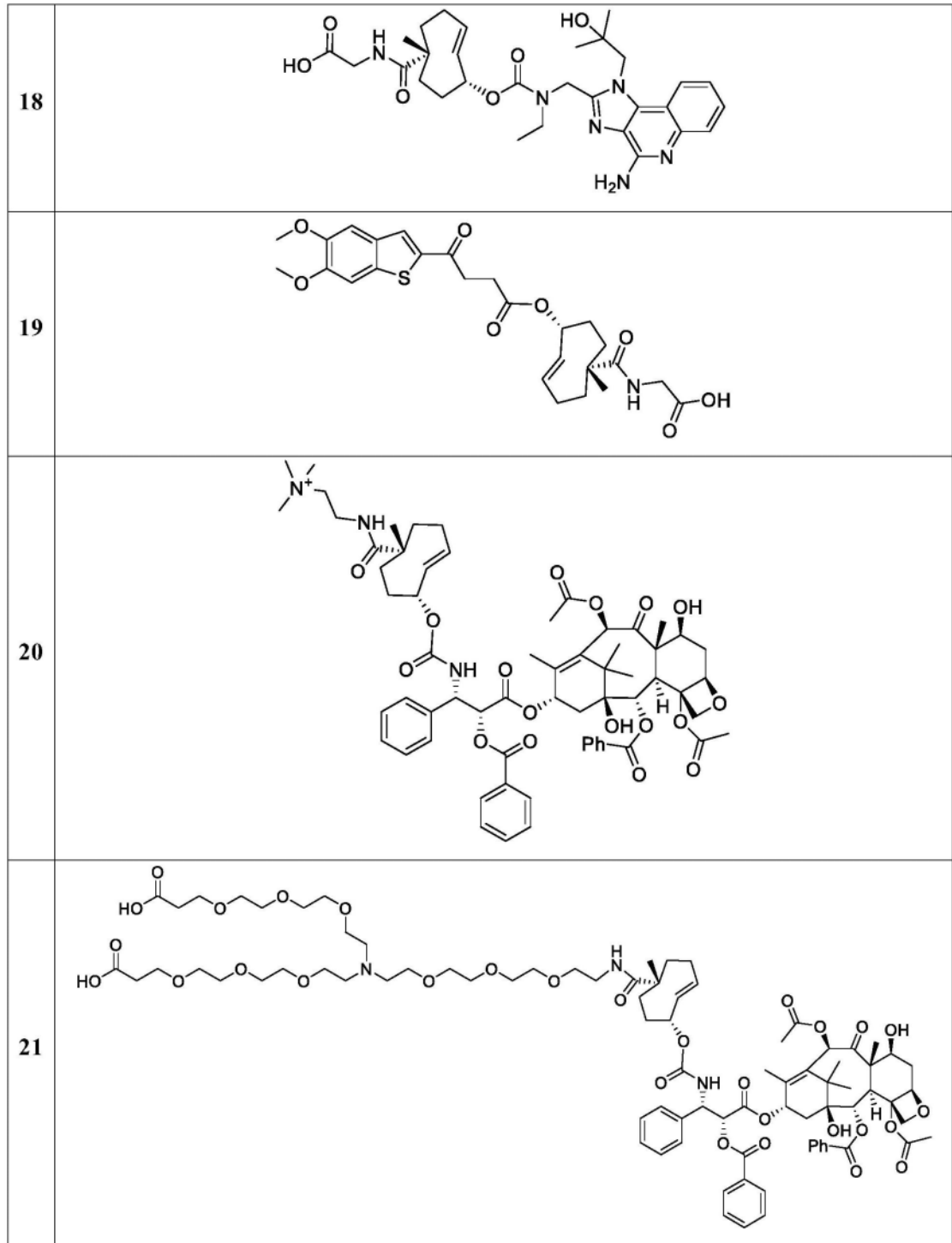
[0265]



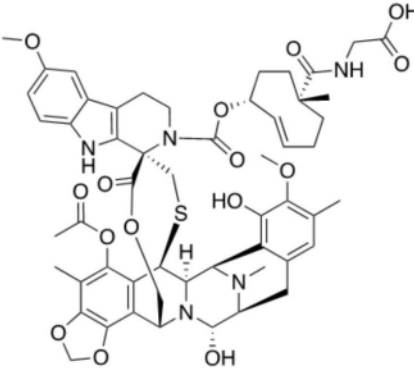
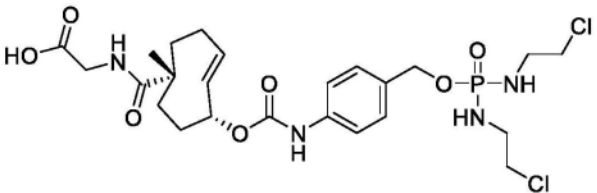
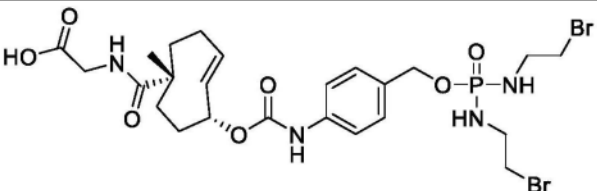
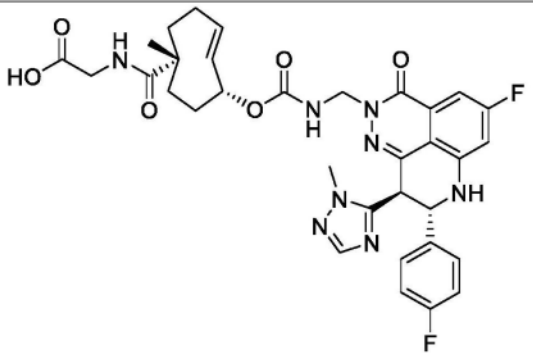
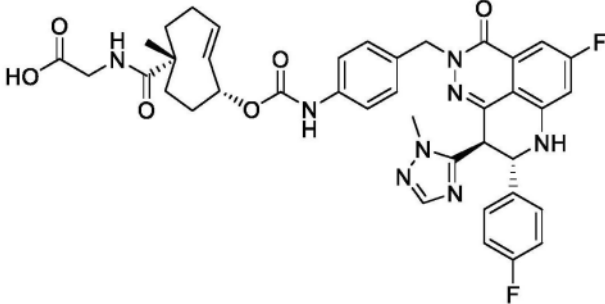


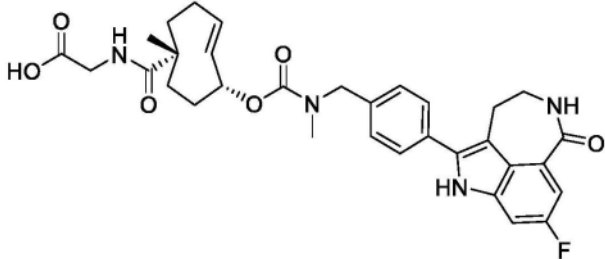
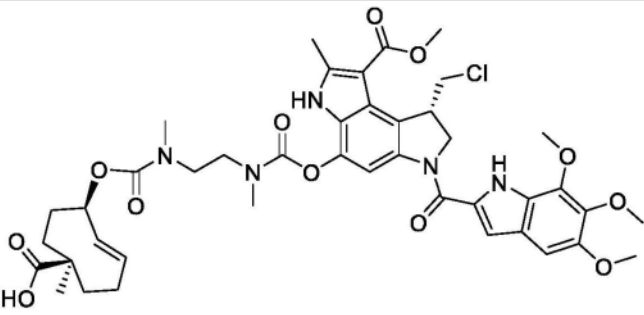
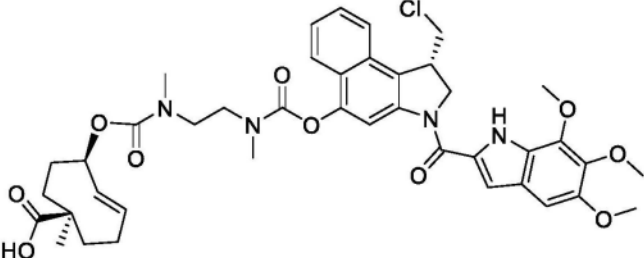
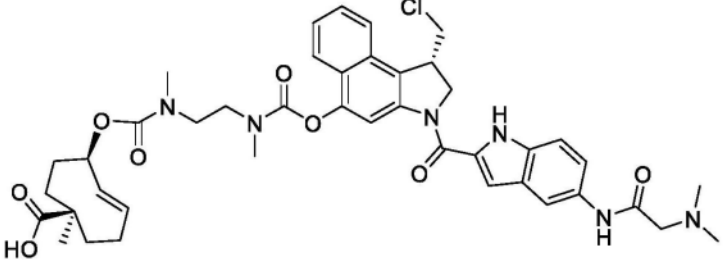
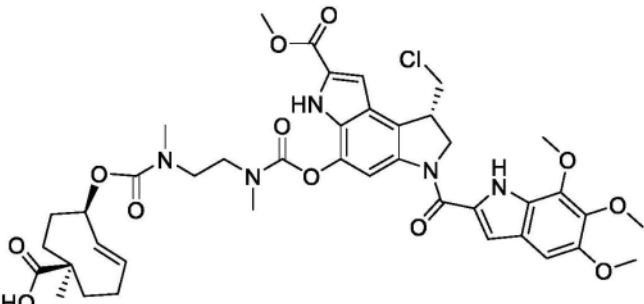
[0267]

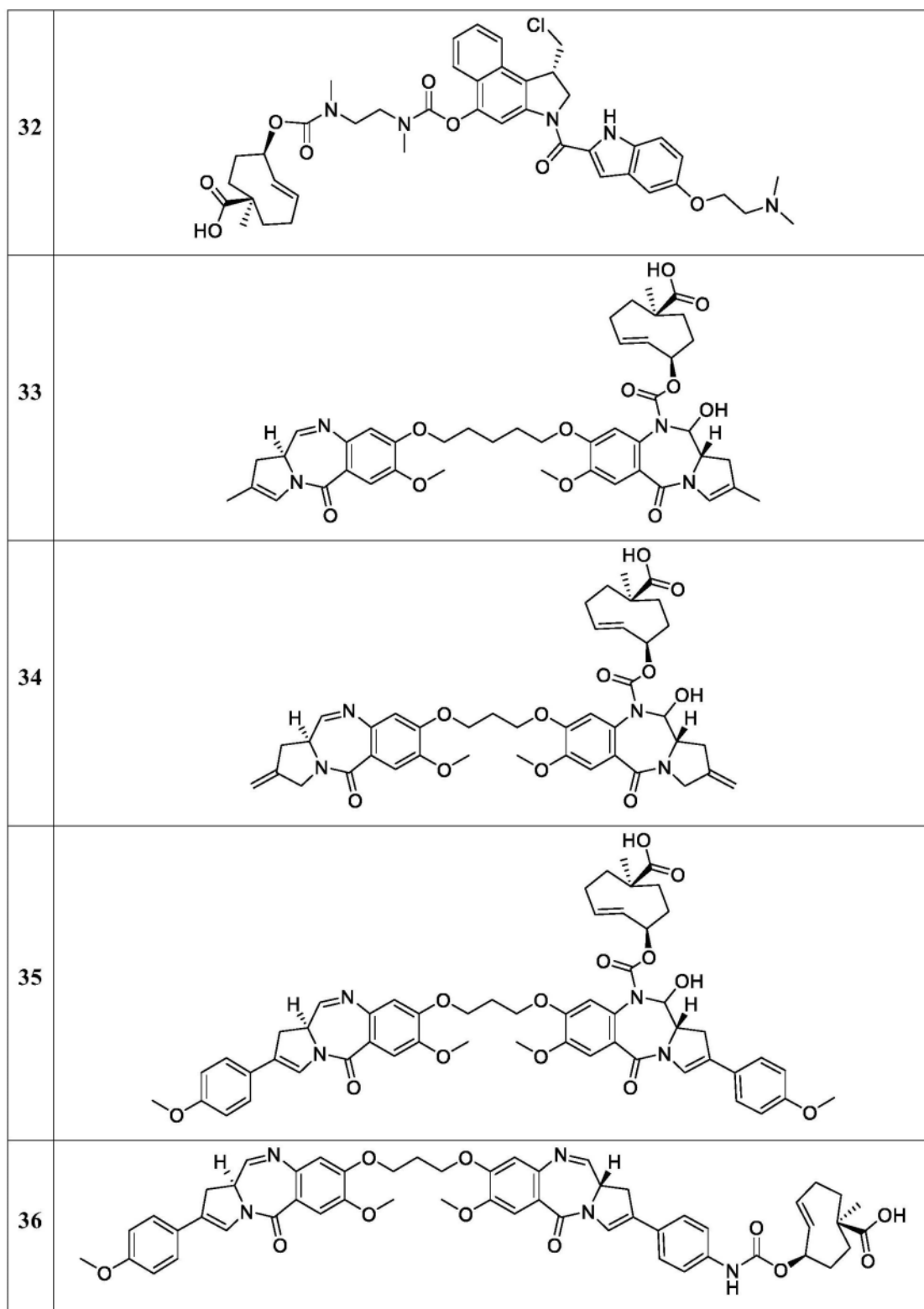


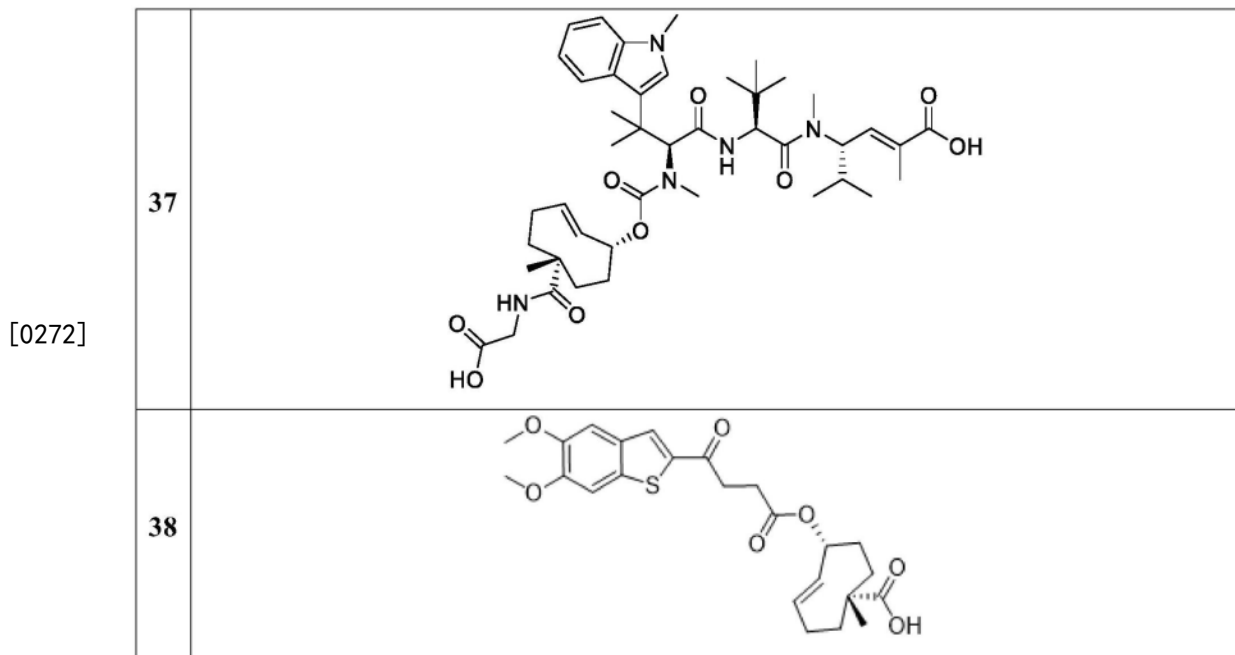


[0269]

22	
23	
24	
25	
26	

27	
28	
29	<p>[0270]</p> 
30	
31	





[0273] 在一些实施例中,提供了一种用于将有效量的有效载荷(即,聚(ADP-核糖)聚合酶的抑制剂(PARP抑制剂)、倍癌霉素、吡咯苯并二氮杂草(PBD)、半星芒体、HTI-286和单克隆抗体、或其衍生物或类似物)递送至受试者中的靶位置,该方法包括在靶位置处向受试者施用本文所述的治疗性支持组合物,以及向受试者施用本文所述的缀合物或其药学上可接受的盐或组合物。

#### [0274] C. 治疗性支持组合物

[0275] 治疗性支持组合物包含支持物。支持物可以为生物相容性的支持物组合物,即与受试者的身体相容。在某些情况下,支持物对受试者无毒,并且基本上不会与受试者的组织或生物化合物发生反应。例如,支持物可以为水凝胶等。支持物能够植入到受试者的体内并支持结合剂(例如,含四嗪的基团)以及结合剂缀合后的有效载荷。代表性的支持物包括但不限于聚合物、粘性或非粘性液体材料、凝胶、水凝胶、多糖水凝胶、交联聚合物基质、金属、陶瓷、塑料、骨移植材料、藻酸盐、纤维素、壳聚糖、透明质酸、硫酸软骨素、肝素等。支持物还包括颗粒,诸如纳米颗粒、微粒等。

[0276] 水凝胶可以为多糖水凝胶、海藻酸盐、纤维素、透明质酸、壳聚糖、壳多糖、几丁质、透明质酸、硫酸软骨素、肝素等。其他合适的糖基生物材料包括Polymer Advanced Technology, 2014, 25, 448-460中描述的那些。可用作支持物的聚合物包括但不限于聚磷腈、聚酞、聚缩醛、聚(原酸酯)、聚磷酸酯、聚己内酯、聚氨酯、聚交酯、聚碳酸酯、聚酰胺和聚醚、及其共混物/复合材料/共聚物。代表性的聚醚包括但不限于聚乙二醇(PEG)、聚丙二醇(PPG)、三嵌段Pluronic([PEG]<sub>n</sub>-[PPG]<sub>m</sub>-[PEG]<sub>n</sub>)、PEG二丙烯酸酯(PEGDA)和PEG二甲基丙烯酸酯(PEGDMA)。支持物还可以包括蛋白质和其他聚氨基酸,诸如胶原蛋白、明胶、弹性蛋白和弹性蛋白样多肽、白蛋白、纤维蛋白、聚(γ-谷氨酸)、聚(L-赖氨酸)、聚(L-谷氨酸)、聚(天冬氨酸)等。

[0277] 在一些实施例中,支持物为水凝胶。在一些实施例中,支持物为藻酸盐。在一些实施例中,支持物为几丁质。在一些实施例中,支持物为透明质酸(例如,基本上没有交联的非水凝胶透明质酸)。在一些实施例中,支持物为壳聚糖。

[0278] 在某些实施例中,支持物为颗粒。本公开的颗粒可以具有2cm或更小的直径,诸如1.5cm或更小、或1cm或更小、或0.5cm或更小。例如,颗粒可以为纳米颗粒或微米颗粒。纳米颗粒包括平均尺寸为纳米级(例如,1000nm或更小)的颗粒。微粒为平均尺寸为微米级(例如,1000 $\mu\text{m}$ 或更小)的颗粒。“平均”是指算术平均值。在一些实施例中,纳米颗粒的直径范围为1nm至1 $\mu\text{m}$ ,诸如10nm至1 $\mu\text{m}$ 、或25nm至1 $\mu\text{m}$ 、或50nm至1 $\mu\text{m}$ 、或75nm至1 $\mu\text{m}$ 、或100nm至1 $\mu\text{m}$ 、或150nm至1 $\mu\text{m}$ 、或200nm至1 $\mu\text{m}$ 、或250nm至1 $\mu\text{m}$ 、或300nm至1 $\mu\text{m}$ 、或350nm至1 $\mu\text{m}$ 、或400nm至1 $\mu\text{m}$ 、或450nm至1 $\mu\text{m}$ 、或500nm至1 $\mu\text{m}$ 。在其他实施例中,微粒的直径范围为1 $\mu\text{m}$ 至1mm,诸如10 $\mu\text{m}$ 至1mm、25 $\mu\text{m}$ 至1mm、50 $\mu\text{m}$ 至1mm、75 $\mu\text{m}$ 至1mm、100 $\mu\text{m}$ 至1mm、150 $\mu\text{m}$ 至1mm、200 $\mu\text{m}$ 至1mm、250 $\mu\text{m}$ 至1mm、300 $\mu\text{m}$ 至1mm、350 $\mu\text{m}$ 至1mm、400 $\mu\text{m}$ 至1mm、450 $\mu\text{m}$ 至1mm、500 $\mu\text{m}$ 至1mm。在进一步的实施例中,直径为10-100nm量级的小颗粒可以组装以形成更大的复合物,诸如1-10 $\mu\text{m}$ 量级的簇或组装体。本公开的颗粒可以基本上是球形的,使得颗粒具有基本上圆形的横截面。还可以使用其他颗粒形状,诸如但不限于椭圆形、立方体、圆柱形、圆锥形、针形或其他不规则形状。

[0279] “颗粒”可以采用任何制造材料、分子、密码子、病毒、噬菌体等的形式。颗粒可以由诸如但不限于金属、陶瓷、塑料、玻璃、复合材料、聚合物、水凝胶等材料组成。例如,颗粒可以由惰性材料制成,诸如藻酸盐或氧化铁。在一些示例中,颗粒可以是磁性的,并且可以由顺磁性、超顺磁性或铁磁性材料或对磁场作出响应的其他材料形成。此外,颗粒可以是任何形状,例如球体、棒状、非对称形状等。颗粒或复合物中的一组几个颗粒可以用具有特异性亲和力的受体进行功能化,以与临床相关底物结合或相互作用。受体可能是颗粒本身所固有的。例如,颗粒本身可能是对某些底物具有固有亲和力的病毒或噬菌体。另外地或可替代地,可以通过共价地或以其他方式附接或缔合特异性结合或以其他方式识别特定临床相关底物的受体来功能化颗粒。功能化受体可以为抗体、肽、核酸、噬菌体、细菌、病毒或任何其他对靶底物具有明确亲和力的分子。可用于“颗粒”和/或“载体”的材料的示例包括聚乳酸、聚乙醇酸、PLGA聚合物、藻酸盐和藻酸盐衍生物、明胶、胶原蛋白、纤维蛋白、透明质酸、富含层粘连蛋白的凝胶、琼脂糖、天然和合成多糖、聚氨基酸、多肽、聚酯、聚酐、聚磷嗪、聚乙烯醇、聚环氧烷、聚烯丙胺(PAM)、聚丙烯酸脂、改性苯乙烯聚合物、普朗尼克多元醇、聚氧乙烯醚、聚糖醛酸、聚乙烯吡咯烷酮以及上述任何物质的共聚物或接枝共聚物。这些示例不限制它们的浓度、它们与不同药剂的交联、它们的施用方法、它们的定制降解特征和本领域技术人员已知的其他特性。

[0280] 粒子或复合物中的一组若干颗粒可以用靶向剂(例如,配体或抗体)进行功能化,该靶向剂可以特异性地结合(或基本上特异性地结合)到靶标(例如,靶受体或细胞表面靶标,诸如临床相关的受体或细胞表面靶标(例如,抗原))。靶向剂可以直接附接到颗粒本身。靶向剂可以为抗体、肽、核酸、噬菌体、细菌、病毒或对靶受体或细胞表面靶具有特异性亲和力的任何其他分子。在一些情况下,受体或细胞表面靶标为PD-1、CTLA-4、HER2/neu、HER1/EGFR、VEGFR、4-1BB、GITR或其他细胞受体或细胞表面靶标。

[0281] 在一些实施例中,靶向剂为单克隆抗体。单克隆抗体可为完整的单克隆抗体或其片段(例如,抗原结合片段(Fab))。在某些实施例中,靶向剂为靶向以下中的一种或多种的抗体或抗体片段:CD25(NCBI基因ID 3559)、CEA(NCBI基因ID 634)、CEACAM5(NCBI基因ID 1048)、ASPH(NCBI基因ID 444)、EGFR(NCBI基因ID 1956)、EPCAM(NCBI基因ID 4072)、VEGFR(NCBI基因ID 3791)、PDGFR(NCBI基因ID 5159)、TROP2(NCBI基因ID 4070)、Nectin4(NCBI

基因ID 81607)、PSMA (NCBI基因ID 2346)、BCMA (NCBI基因ID 608)、CD22 (NCBI基因ID 933)、CD20 (NCBI基因ID 920)、CD19 (NCBI基因ID 930)、CD79b (NCBI基因ID 974)、CD38 (NCBI基因ID 952)、CD45 (NCBI基因ID 5788)、内皮糖蛋白 (NCBI基因ID 2022)、FGFR2 (NCBI基因ID 14183)、C4.4A (NCBI基因ID 27076)、紧密连接蛋白-18.2 (NCBI基因ID 51208)、MMP9 (NCBI基因ID 4318)、叶酸受体 (NCBI基因ID 2348)、DLL3 (NCBI基因ID 10683)、CD138 (NCBI基因ID 6382)、CD56 (NCBI基因ID 4684)、CD37 (NCBI基因ID 951)、CD74 (NCBI基因ID 972)、间皮素 (NCBI基因ID 10232)、IL-6R (NCBI基因ID 3570)、SLAMF7 (NCBI基因ID 57823)、BAFF (NCBI基因ID 10673)、MUC1 (NCBI基因ID 4582)、GPC3 (NCBI基因ID 2719)、HER2 (NCBI基因ID 2064)、HER3 (NCBI基因ID 2065)、CD30 (NCBI基因ID 943)、CD33 (NCBI基因ID 945)、CD123 (NCBI基因ID 3563)、GPNMB (NCBI基因ID 10457)、cMET (NCBI基因ID 4233)、CD142 (NCBI基因ID 2152)、NaPi2B (NCBI基因ID 10568)、GCC (NCBI基因ID 2984)、STEAP1 (NCBI基因ID 26872)、MUC16 (NCBI基因ID 94025)、CD70 (NCBI基因ID 970)、CD44 (NCBI基因ID 960)、(NCBI基因ID)、抗体片段 (NCBI基因ID)、vWF (NCBI基因ID 7450)、TNF (NCBI基因ID 7124)、IL-6R (NCBI基因ID 3570)、BCMA (NCBI基因ID 608)、ADAMTS5 (NCBI基因ID 11096)、CX3CR1 (NCBI基因ID 1524)、CXCR4 (NCBI基因ID 7852)、TfR1 (NCBI基因ID 7037)、VEGFR (NCBI基因ID 3791) 或PSMA (NCBI基因ID 2346)。

[0282] 在某些实施例中,靶向剂为靶向CD25的抗体或抗体片段,诸如达利珠单抗、RG6292、巴利昔单抗或HuMax-TAC,或由其衍生的抗体片段。

[0283] 在某些实施例中,靶向剂为靶向CEA的抗体或抗体片段,诸如拉贝珠单抗、15-1-32、PR1A3或cT84.66,或由其衍生的抗体片段。

[0284] 在某些实施例中,靶向剂物靶向CEACAM5的抗体或抗体片段,诸如托塞米迪亚单抗或CC4,或由其衍生的抗体片段。

[0285] 在某些实施例中,靶向剂物靶向ASPH的抗体或抗体片段,诸如PAN-622,或由其衍生的抗体片段。

[0286] 在某些实施例中,靶向剂物靶向EGFR的抗体或抗体片段,诸如西妥昔单抗、奈昔妥珠单抗、尼妥珠单抗、马妥珠单抗、AMG595、迪妥昔单抗、达妥昔单抗、度戈妥珠单抗、伏妥昔单抗、GC1118、伊马曲单抗、帕尼单抗、卢卡木单抗、托木妥昔单抗,或拉妥昔单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0287] 在某些实施例中,靶向剂为靶向EPCAM的抗体或抗体片段,诸如奥妥珠单抗、西他土单抗、妥可单抗、卡妥索单抗、依决洛单抗或阿德木单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0288] 在某些实施例中,靶向剂为靶向VEGFR的抗体或抗体片段,诸如雷莫西单抗、雷莫卢单抗或武利那昔单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0289] 在某些实施例中,靶向剂为靶向PDGFR的抗体或抗体片段,诸如奥拉妥单抗或雷莫卢单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0290] 在某些实施例中,靶向剂物靶向TROP2的抗体或抗体片段,诸如沙西妥珠单抗或Pr1E11,或由其衍生的抗体片段。

[0291] 在某些实施例中,靶向剂物靶向Nectin4的抗体或抗体片段,诸如恩弗妥单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0292] 在某些实施例中,靶向剂为靶向PSMA的抗体或抗体片段,诸如J591或MLN591,或由

其衍生的抗体片段。

[0293] 在某些实施例中,靶向剂物靶向BCMA的抗体或抗体片段,诸如贝兰妥单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0294] 在某些实施例中,靶向剂为靶向CD22的抗体或抗体片段,诸如莫塞妥莫单抗、英妥珠单抗、依帕珠单抗或匹那妥珠单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0295] 在某些实施例中,靶向剂为靶向CD20的抗体或抗体片段,诸如乌妥昔单抗、奥法木单抗、利妥昔单抗、奥滨尤妥珠单抗、托西图单抗或替伊莫单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0296] 在某些实施例中,靶向剂为靶向CD19的抗体或抗体片段,诸如朗妥昔单抗、XMAB-5574、MOR208、考妥昔单抗、地宁妥珠单抗、他利妥莫单抗或MDX-1342,或由其衍生的抗体片段。

[0297] 在某些实施例中,靶向剂为靶向CD79b的抗体或抗体片段,诸如波拉珠单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0298] 在某些实施例中,靶向剂为靶向CD38的抗体或抗体片段,诸如艾萨妥昔单抗、达雷木单抗、MOR202或TAK-079,或由其衍生的抗体片段。

[0299] 在某些实施例中,靶向剂为靶向CD45的抗体或抗体片段,诸如I-131-BC8或Iomab-B,或由其衍生的抗体片段。

[0300] 在某些实施例中,靶向剂为靶向内皮糖蛋白的抗体或抗体片段,诸如卡妥昔单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0301] 在某些实施例中,靶向剂为靶向FGFR2的抗体或抗体片段,诸如贝玛妥珠单抗或阿普卢妥单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0302] 在某些实施例中,靶向剂为靶向C4.4A的抗体或抗体片段,诸如鲁帕妥单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0303] 在某些实施例中,靶向剂为靶向Claudin-18.2的抗体或抗体片段,诸如佐妥昔单抗或克劳迪昔单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0304] 在某些实施例中,靶向剂为靶向MMP9的抗体或抗体片段,诸如安德利昔单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0305] 在某些实施例中,靶向剂为靶向叶酸受体的抗体或抗体片段,诸如米妥昔单抗、法勒妥珠单抗、MORAb-202、MORAb-003或SP8166,或由其衍生的抗体片段。

[0306] 在某些实施例中,靶向剂为靶向DLL3的抗体或抗体片段,诸如洛伐妥珠单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0307] 在某些实施例中,靶向剂为靶向CD138的抗体或抗体片段,诸如英达妥昔单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0308] 在某些实施例中,靶向剂为靶向CD56的抗体或抗体片段,诸如洛沃妥珠单抗、普罗米单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0309] 在某些实施例中,靶向剂为靶向CD37的抗体或抗体片段,诸如BI 836826、奥乐妥珠单抗或那妥昔单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0310] 在某些实施例中,靶向剂为靶向CD74的抗体或抗体片段,诸如米拉珠单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0311] 在某些实施例中,靶向剂为靶向间皮素的抗体或抗体片段,诸如阿奈妥单抗、阿麦

妥单抗或MMOT-0530A,或由其衍生的抗体片段。

[0312] 在某些实施例中,靶向剂为靶向IL-6R的抗体或抗体片段,诸如托珠单抗或萨利霉素,或由其衍生的抗体片段。

[0313] 在某些实施例中,靶向剂为靶向SLAMF7的抗体或抗体片段,诸如依洛图珠单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0314] 在某些实施例中,靶向剂为靶向BAFF的抗体或抗体片段,诸如贝利尤单抗,或由其得到的抗体片段。

[0315] 在某些实施例中,靶向剂为靶向MUC1的抗体或抗体片段,诸如KL-6、MY.1E12、hMUC1-1H7、TAB004、huC242、克利妥珠单抗、8HuDS6、伽妥珠单抗、AR20.5或坎妥珠单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0316] 在某些实施例中,靶向剂为靶向GPC3的抗体或抗体片段,诸如考曲妥珠单抗、ECT204或MDX-1414,或由其衍生的抗体片段。

[0317] 在某些实施例中,靶向剂为靶向HER2的抗体或抗体片段,诸如帕妥珠单抗、曲妥珠单抗或玛格妥昔单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0318] 在某些实施例中,靶向剂为靶向HER3的抗体或抗体片段,诸如帕曲妥单抗、瑟瑞妥单抗、鲁妥珠单抗、依更妥单抗、AV-203、CDX-3379或GSK284933,或由其衍生的抗体片段。

[0319] 在某些实施例中,靶向剂为靶向CD30的抗体或抗体片段,诸如维布妥昔单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0320] 在某些实施例中,靶向剂为靶向CD33的抗体或抗体片段,诸如吉姆图珠单抗、BI 835858、伐达妥昔单抗或林妥珠单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0321] 在某些实施例中,靶向剂为靶向CD123的抗体或抗体片段,诸如KHK2823、他克妥珠单抗或G4723A,或由其衍生的抗体片段。

[0322] 在某些实施例中,靶向剂为靶向GPNMB的抗体或抗体片段,诸如格巴妥木单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0323] 在某些实施例中,靶向剂为靶向cMET的抗体或抗体片段,诸如特立妥珠单抗、奥那妥珠单抗或SAIT301,或由其衍生的抗体片段。

[0324] 在某些实施例中,靶向剂为靶向CD142的抗体或抗体片段,诸如替索妥单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0325] 在某些实施例中,靶向剂为靶向NaPi2B的抗体或抗体片段,诸如利法妥珠单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0326] 在某些实施例中,靶向剂为靶向GCC的抗体或抗体片段,例如英度妥单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0327] 在某些实施例中,靶向剂为靶向STEAP1的抗体或抗体片段,诸如万多妥珠单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0328] 在某些实施例中,靶向剂为靶向MUC16的抗体或抗体片段,诸如索非妥珠单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0329] 在某些实施例中,靶向剂为靶向CD70的抗体或抗体片段,诸如沃瑟妥珠单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0330] 在某些实施例中,靶向剂为靶向CD44的抗体或抗体片段,诸如比伐珠单抗,或由其

衍生的抗体片段。

[0331] 在某些实施例中,靶向剂为靶向vWF的抗体或抗体片段,诸如卡拉西单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0332] 在某些实施例中,靶向剂为靶向TNF的抗体或抗体片段,诸如奥利珠单抗、V565或PF-05230905,或由其衍生的抗体片段。

[0333] 在某些实施例中,靶向剂为靶向IL-6R的抗体或抗体片段,诸如沃巴利珠单抗,或由其衍生的抗体片段。

[0334] 在某些实施例中,靶向剂物靶向BCMA的抗体或抗体片段,诸如LCAR-B38M,或由其衍生的抗体片段。

[0335] 在某些实施例中,靶向剂为靶向ADAMTS5的抗体或抗体片段,诸如M6495,或由其衍生的抗体片段。

[0336] 在某些实施例中,靶向剂为靶向CX3CR1的抗体或抗体片段,诸如BI 655088,或由其衍生的抗体片段。

[0337] 在某些实施例中,靶向剂为靶向CXCR4的抗体或抗体片段,诸如AD-214或ALX-0651,或由其衍生的抗体片段。

[0338] 在某些实施例中,靶向剂为靶向TfR1的抗体或抗体片段,诸如TXB4,或由其衍生的抗体片段。

[0339] 在某些实施例中,靶向剂物靶向VEGFR的抗体或抗体片段,诸如CDP791,或由其衍生的抗体片段。

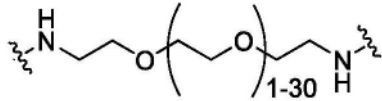
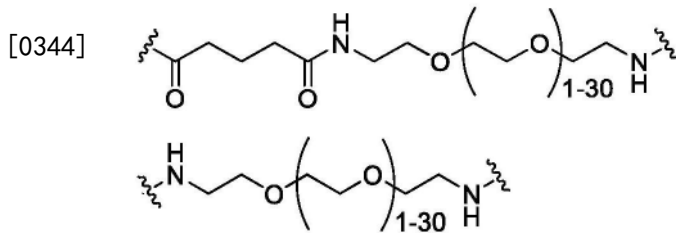
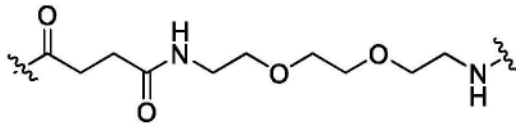
[0340] 在某些实施例中,靶向剂物靶向PSMA的抗体或抗体片段,诸如GY1,或由其衍生的抗体片段。

[0341] 还可以将可有助于检测颗粒(例如,体内检测)的其他化合物或分子(诸如荧光团或自发荧光或发光标志物)附接到颗粒。配体和/或可检测标记可以直接附接到颗粒或通过本文所述的生物正交功能团附接到颗粒。

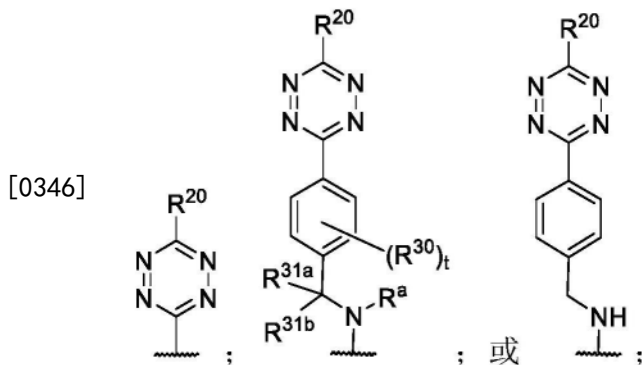
[0342] 在某些实施例中,支持物为骨移植材料,诸如骨移植基体材料。骨移植基体材料为一种结构类似于骨的材料。在某些情况下,骨移植基体材料是生物可吸收的,使得骨移植基体材料可以随着时间的推移溶解或被身体吸收。骨移植基体材料具有骨传导性,从而有利于血管和新骨在骨移植基体材料中形成。在某些情况下,骨移植替代材料具有骨诱导性,使得其通过从周围组织主动招募间充质干细胞来促进新骨的形成。例如,骨移植基体材料中可以包括生长因子,诸如骨形态发生蛋白。骨移植基体材料包括但不限于羟基磷灰石、磷酸三钙、脱矿骨基质、牛胶原蛋白、硫酸钙、磷酸钙、松质骨碎片等,及其组合。

[0343] 本公开的治疗性支持物组合物包括支持物和共价连接至支持物的第一结合剂。结合剂可以在支持物的表面(诸如支持物的溶剂可及的表面(例如,与周围溶剂接触的支持物的表面))上附接至支持物。在一些情况下,结合剂直接附接至支持物。例如,结合剂可以例如通过共价键诸如酰胺、胺、酯、氨基甲酸酯、脲、硫醚、硫代氨基甲酸酯、硫代碳酸酯、硫脲等共价附接至支持物的表面。在一些情况下,结合剂通过酰胺键共价附接至支持物。在其他情况下,结合剂可以经由接头连接至支持物。任何合适的接头可用于将结合剂连接至支持物。代表性接头可具有1至100个连接原子,并且可包括乙烯氧基团、胺、酯、酰胺、氨基甲酸酯、碳酸酯和酮官能团。例如,接头可具有1至50个连接原子、或5至50个连接原子或10至50

个连接原子。代表性接头包括但不限于下面所示的接头：

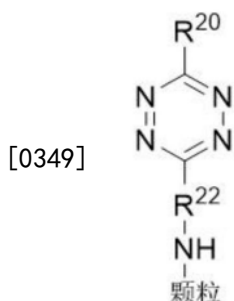


[0345] 在某些实施例中，治疗性支持组合物包含支持物和下式的含四嗪基团：



[0347] 其中 $R^{20}$ 选自由以下项组成的组：氢、卤素、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基、环烯基、 $CF_3$ 、 $CF_2-R'$ 、 $NO_2$ 、 $OR'$ 、 $SR'$ 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=S)R'$ 、 $OC(=O)R''$ 、 $SC(=O)R''$ 、 $OC(=S)R''$ 、 $SC(=S)R''$ 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R''$ 、 $S(=O)_2NR''$ 、 $C(=O)O-R'$ 、 $C(=O)S-R'$ 、 $C(=S)O-R'$ 、 $C(=S)S-R'$ 、 $C(=O)NR''$ 、 $C(=S)NR''$ 、 $NR''R''$ 、 $NR''C(=O)R''$ 、 $NR''C(=S)R''$ 、 $NR''C(=O)OR''$ 、 $NR''C(=S)OR''$ 、 $NR''C(=O)SR''$ 、 $NR''C(=S)SR''$ 、 $OC(=O)NR''$ 、 $SC(=O)NR''$ 、 $OC(=S)R''R''$ 、 $SC(=S)R''R''$ 、 $NR''C(=O)NR''R''$ 和 $NR''C(=S)NR''R''$ ； $R'$ 和 $R''$ 在每次出现时独立地选自氢、芳基和烷基；并且 $R''$ 在每次出现时独立地选自芳基和烷基； $R^{30}$ 为卤素、氰基、硝基、羟基、烷基、卤代烷基；烯基、炔基、烷氧基；卤代烷氧基；杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基或环烯基； $R_a$ 、 $R^{31a}$ 和 $R^{31b}$ 各自独立地为氢、 $C_1-C_6$ -烷基或 $C_1-C_6$ -卤代烷基；并且 $t$ 为0、1、2、3或4。

[0348] 在某些实施例中，治疗性支持组合物具有下式：

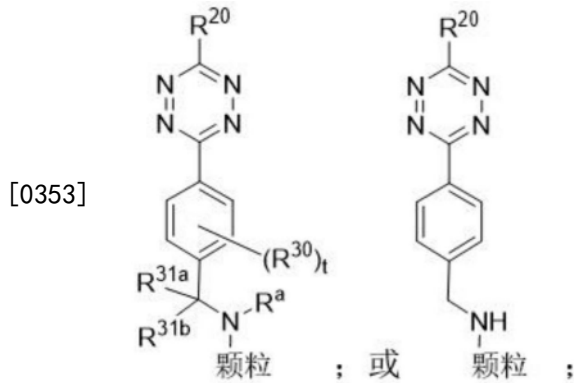


[0350] 其中

[0351]  $R^{20}$ 选自由以下项组成的组：氢、卤素、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基、环烯基、 $CF_3$ 、 $CF_2-R'$ 、 $NO_2$ 、 $OR'$ 、 $SR'$ 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=S)R'$ 、 $OC(=O)R''$ 、

SC(=O)R''、OC(=S)R''、SC(=S)R''、S(=O)R'、S(=O)<sub>2</sub>R''、S(=O)<sub>2</sub>NR''、C(=O)O-R'、C(=O)S-R'、C(=S)O-R'、C(=S)S-R'、C(=O)NR''、C(=S)NR''、NR''、NR'C(=O)R''、NR'C(=S)R''、NR'C(=O)OR''、NR'C(=S)OR''、NR'C(=O)SR''、NR'C(=S)SR''、OC(=O)NR''、SC(=O)NR''、OC(=S)R''、SC(=S)R''、NR'C(=O)NR''和NR'C(=S)NR'';R'和R''在每次出现时独立地选自氢、芳基和烷基;R''在每次出现时独立地选自芳基和烷基;并且R<sup>22</sup>为1至100个连接原子的接头,且可包括乙烯氧基团、胺、酯、酰胺、氨基甲酸酯、碳酸酯和酮官能团。例如,接头可具有1至50个连接原子、或5至50个连接原子或10至50个连接原子。

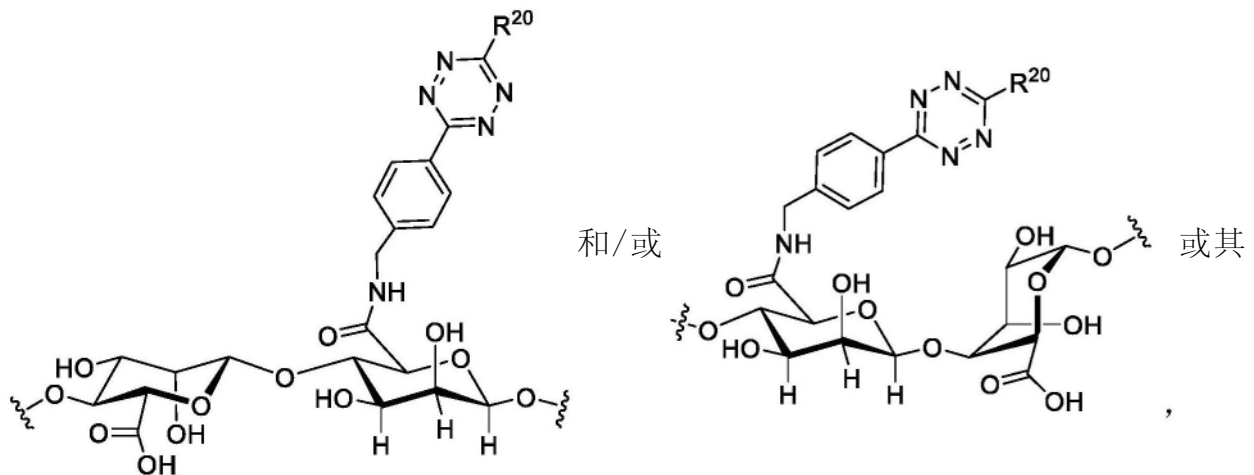
[0352] 在某些实施例中,治疗性支持组合物具有下式:



[0354] 其中

[0355] R<sup>20</sup>选自由以下项组成的组:氢、卤素、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基、环烯基、CF<sub>3</sub>、CF<sub>2</sub>-R'、NO<sub>2</sub>、OR'、SR'、C(=O)R'、C(=S)R'、OC(=O)R''、SC(=O)R''、OC(=S)R''、SC(=S)R''、S(=O)R'、S(=O)<sub>2</sub>R''、S(=O)<sub>2</sub>NR''、C(=O)O-R'、C(=O)S-R'、C(=S)O-R'、C(=S)S-R'、C(=O)NR''、C(=S)NR''、NR''、NR'C(=O)R''、NR'C(=S)R''、NR'C(=O)OR''、NR'C(=S)OR''、NR'C(=O)SR''、NR'C(=S)SR''、OC(=O)NR''、SC(=O)NR''、OC(=S)R''、SC(=S)R''、NR'C(=O)NR''和NR'C(=S)NR'';R'和R''在每次出现时独立地选自氢、芳基和烷基;R''在每次出现时独立地选自芳基和烷基;R<sup>30</sup>为卤素、氰基、硝基、羟基、烷基、卤代烷基;烯基、炔基、烷氧基;卤代烷氧基;杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基或环烯基;Ra、R<sup>31a</sup>和R<sup>31b</sup>各自独立地为氢、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-烷基或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-卤代烷基;并且t为0、1、2、3或4。

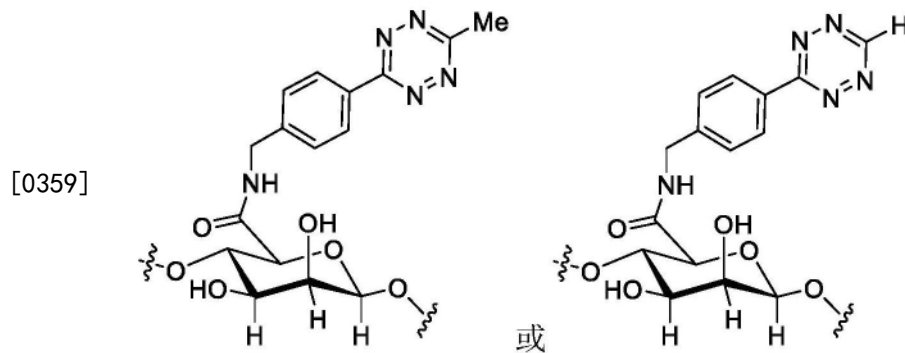
[0356] 在某些实施例中,治疗性支持组合物包括具有下式单元的取代的海藻酸盐:



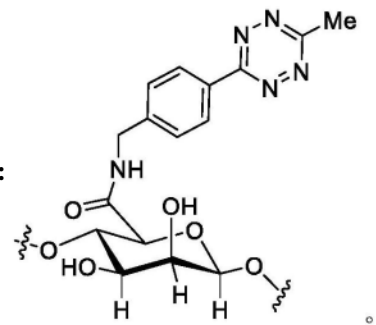
盐,

[0357] 其中R<sup>20</sup>选自自由以下项组成的组:氢、卤素、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基、环烯基、CF<sub>3</sub>、CF<sub>2</sub>-R'、NO<sub>2</sub>、OR'、SR'、C(=O)R'、C(=S)R'、OC(=O)R''、SC(=O)R''、OC(=S)R''、SC(=S)R''、S(=O)R'、S(=O)<sub>2</sub>R''、S(=O)<sub>2</sub>NR''、C(=O)O-R'、C(=O)S-R'、C(=S)O-R'、C(=S)S-R'、C(=O)NR''、C(=S)NR''、NR''、NR'C(=O)R''、NR'C(=S)R''、NR'C(=O)OR''、NR'C(=S)OR''、NR'C(=O)SR''、NR'C(=S)SR''、OC(=O)NR''、SC(=O)NR''、OC(=S)R''、SC(=S)R''、NR'C(=O)NR''和NR'C(=S)NR'';R'和R''在每次出现时独立地选自氢、芳基和烷基;并且R''在每次出现时独立地选自芳基和烷基。

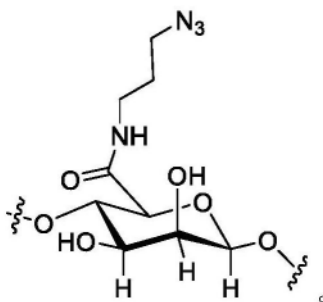
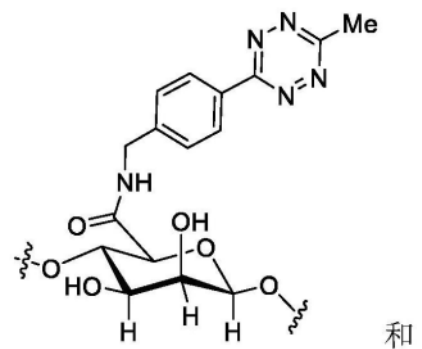
[0358] 在某些实施例中,治疗性支持组合物包含下式的单元:



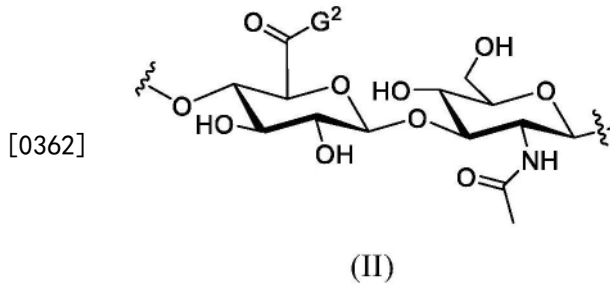
[0360] 在一些实施例中,治疗性支持组合物包含下式的单元:

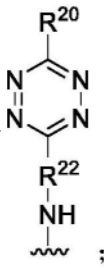


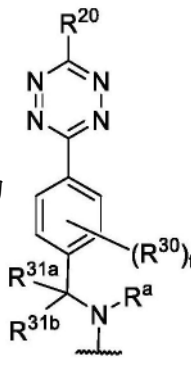
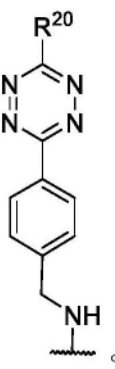
在一些实施例中,治疗性支持组合物包含下式的单元:

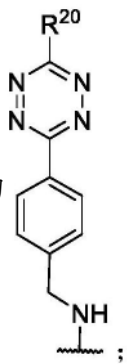


[0361] 在一些实施例中,治疗性支持组合物包含具有式(II)的单元的取代的透明质酸:

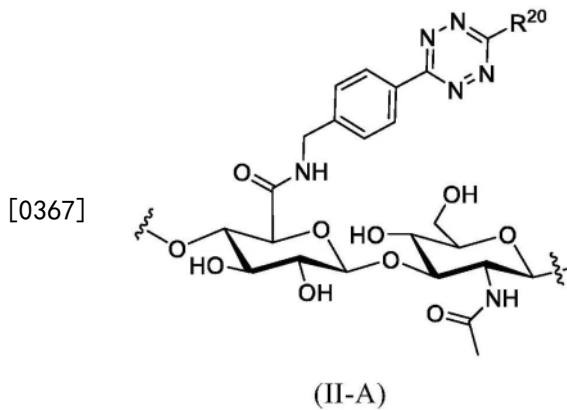


[0363] 其中 $G^2$ 为   $R^{22}$ 为1至100个连接原子的接头;并且 $R^{20}$ 如本文所定义。

[0364] 在进一步的实施例中, $G^2$ 为  或  。

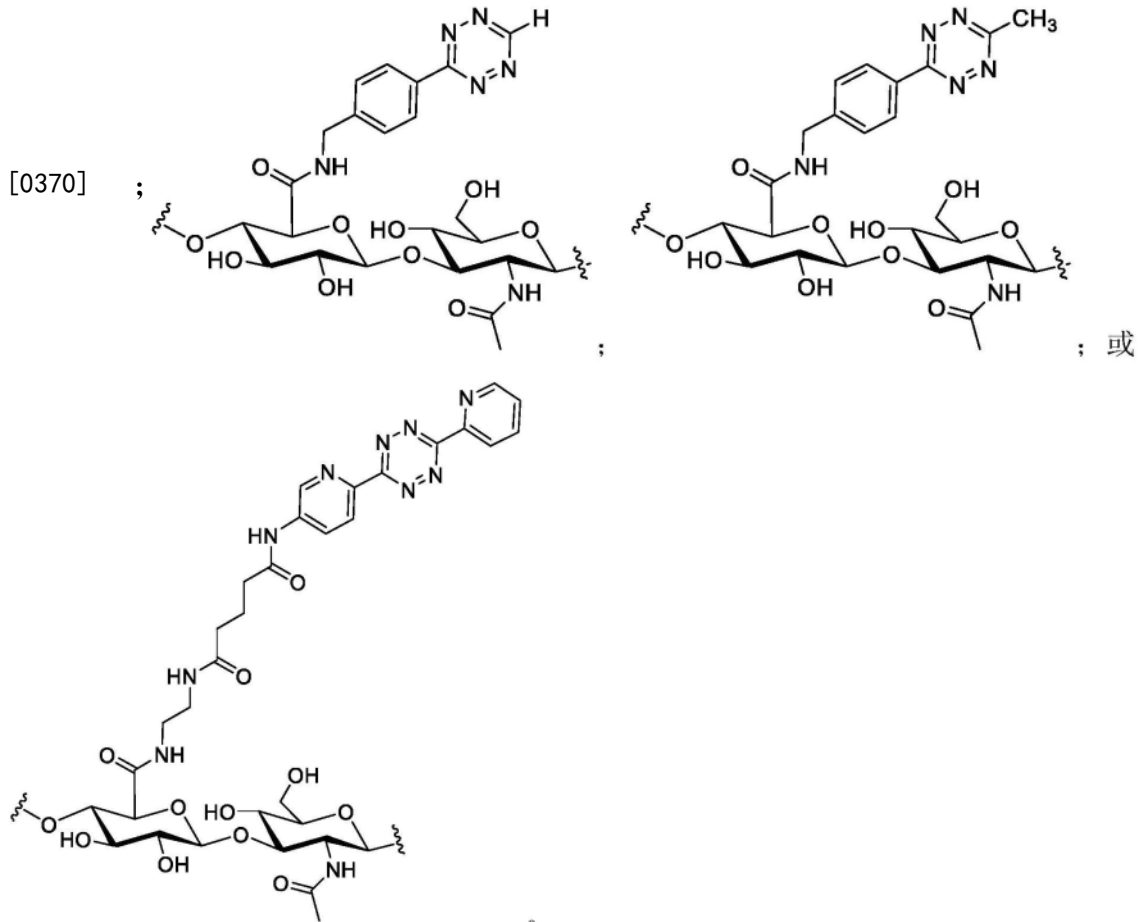
[0365] 在更进一步的实施例中, $G^2$ 为  并且 $R^{20}$ 为氢或 $C_{1-4}$ 烷基。

[0366] 式(II)的化合物包括式(II-A)的化合物:



[0368] 其中 $R^{20}$ 选自由以下项组成的组: 氢、卤素、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基、环烯基、 $CF_3$ 、 $CF_2-R'$ 、 $NO_2$ 、 $OR'$ 、 $SR'$ 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=S)R'$ 、 $OC(=O)R''$ 、 $SC(=O)R''$ 、 $OC(=S)R''$ 、 $SC(=S)R''$ 、 $S(=O)R''$ 、 $S(=O)_2R''$ 、 $S(=O)_2NR''$ 、 $C(=O)O-R'$ 、 $C(=O)S-R'$ 、 $C(=S)O-R'$ 、 $C(=S)S-R'$ 、 $C(=O)NR''$ 、 $C(=S)NR''$ 、 $NR''$ 、 $NR''C(=O)R''$ 、 $NR''C(=S)R''$ 、 $NR''C(=O)OR''$ 、 $NR''C(=S)OR''$ 、 $NR''C(=O)SR''$ 、 $NR''C(=S)SR''$ 、 $OC(=O)NR''$ 、 $SC(=O)NR''$ 、 $OC(=S)R''$ 、 $SC(=S)R''$ 、 $NR''C(=O)NR''$ 和 $NR''C(=S)NR''$ ;  $R'$ 和 $R''$ 在每次出现时独立地选自氢、芳基和烷基; 并且 $R''$ 在每次出现时独立地选自芳基和烷基。在根据式(II-A)的进一步实施例中, $R^{20}$ 为氢或 $C_{1-4}$ 烷基。

[0369] 在一些实施例中, 治疗性支持组合物包含下式的单元:



[0371] 额外治疗性支持组合物例示于W02017/044983、W0/2015/139025A1和W0/2014/205126A1中, 其各自的全部内容通过引用整体并入本文。

[0372] 透明质酸衍生物包括具有多个葡萄糖醛酸单元的透明质酸以及连接至或直接键合至该透明质酸的葡萄糖醛酸单元上的含四嗪基团。透明质酸还可以具有多个N-乙酰葡萄糖胺单元。在某些实施例中, 透明质酸的N-乙酰葡萄糖胺单元不连接或缀合到含四嗪的基团。

[0373] 含四嗪的基团可以通过葡萄糖醛酸单元的羧酸连接或直接键合。含四嗪基团可以掺入透明质酸中约0.1%至约80%, 如以连接或缀合至含四嗪基团的羧酸的%来衡量, 诸如约1%至约75%、约5%至约75%、约10%至约50%、或约40%至约75%, 如以连接或缀合至含四嗪基团的羧酸的%来衡量。

#### [0374] D. 治疗方法

[0375] 本公开的方面包括将有效载荷递送至受试者体内的靶位置的方法。在某些实施例中,该方法包括选择性地有效载荷递送到受试者体内的靶位置。有效载荷的选择性递送包括将有效载荷递送到靶位置(例如,器官或组织,或其部分),而不靶向受试者中不需要施用有效载荷的其他位置(例如,其他器官或组织,或其部分)。可以通过使用本文描述的支持组合物和官能化的有效载荷来实现有效载荷的选择性递送。

[0376] 在一些情况下,本公开内容的支持组合物可以定位至受试者的所期望靶位置。例如,本公开的方法可以包括向受试者施用本文所述的支持组合物。支持组合物可以在受试者中的所期望靶位置处施用于受试者。在一些情况下,支持组合物可以在受试者中的所期望靶位置处植入受试者中。在一些实施例中,支持组合物可以附接至本文所述的靶向剂,并且该方法可以包括向受试者施用支持组合物(例如,全身施用)。在这些实施例中,附接至靶向剂的支持组合物可以通过靶向剂与其靶标的特异性结合(例如,抗体-抗原相互作用等)定位在受试者中的所期望靶位置处,或者可以通过靶向剂与其靶标的特异性结合(例如,抗体-抗原相互作用等),定位在所期望靶标的表面(例如,细胞表面)上。

[0377] 如本文所述,生物正交结合伴侣之间(例如,支持组合物的四嗪结合剂与其官能化的有效载荷的互补反式环辛烯结合剂之间)可以发生选择性结合。由于如上所述将支持组合物局部施用于受试者中的所期望位置,因此支持组合物的结合剂与其官能化的有效载荷的互补结合剂之间的选择性结合将使有效载荷定位至所期望靶位置。因此,在某些实施例中,该方法包括向受试者施用官能化的有效载荷,使得官能化的有效载荷结合至支持组合物以形成支持复合物。例如,官能化的有效载荷可以全身施用于受试者。在向受试者施用官能化的有效载荷时,支持组合物的结合剂与官能化的有效载荷的互补结合剂之间可以发生接触,使得结合剂及其互补结合剂彼此结合以形成支持复合物,从而选择性地有效载荷递送至受试者中的靶位置。在一些实施例中,官能化的有效载荷的选择性递送导致靶位置处的有效载荷的浓度大于受试者中的其他地方(例如,受试者中的非靶区域处)的有效载荷的浓度。

[0378] 本文提供了一种治疗癌症的方法,包括向有此需要的受试者施用治疗有效量的本文所述的缀合物或其药学上可接受的盐,以及治疗性支持组合物。

[0379] 在一些实施例中,癌症是转移性的。在一些实施例中,癌症为黑色素瘤、肾癌、前列腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、乳腺癌、胶质母细胞瘤、肺癌、软组织肉瘤、纤维肉瘤、骨肉瘤、胰腺癌、胃癌、头/颈部鳞状细胞癌、肛门/外阴癌、食管癌、胰腺腺癌、宫颈癌、肝细胞癌、卡波西肉瘤、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、威尔姆斯肿瘤/神经母细胞瘤、膀胱癌、甲状腺腺癌、胰腺神经内分泌肿瘤、前列腺腺癌、鼻咽癌或皮肤T细胞淋巴瘤。

[0380] 在某些实施例中,该方法可用于治疗和/或诊断血液系统恶性肿瘤,诸如骨髓增生异常综合征、急性髓细胞白血病、骨髓增生异常综合征、慢性粒细胞白血病、慢性粒单核细胞白血病、原发性骨髓纤维化、弥漫性大B细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞白血病、单克隆丙种球蛋白病、浆细胞骨髓瘤、滤泡性淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、经典霍奇金淋巴瘤、单克隆B细胞淋巴瘤细胞增多症、淋巴增生性障碍NOS、T细胞淋巴瘤、前体B淋巴母细胞白血病、套细胞淋巴瘤、浆细胞瘤、伯基特淋巴瘤、T细胞白血病、毛细胞白血病、前体T淋巴母细胞白血病、结节性淋巴细胞为主的霍奇金淋巴瘤以及其他。

[0381] 在一些实施例中,癌症为黑色素瘤、肾癌、前列腺癌、卵巢癌、乳腺癌、神经胶质瘤、肺癌、软组织癌、软组织肉瘤、骨肉瘤或胰腺癌。

[0382] 在一些实施例中,癌症为实体瘤。

[0383] 在一些实施例中,癌症为软组织肉瘤。

[0384] 在一些实施例中,软组织肉瘤为纤维肉瘤、横纹肌肉瘤或尤文氏肉瘤。

[0385] 在一些实施例中,该方法还包括增强或引发免疫反应。在一些实施例中,免疫反应为白细胞、淋巴细胞、单核细胞和嗜酸性粒细胞中的一种或多种的增加。

[0386] 在一些实施例中,该方法还包括施用治疗有效量的选自抗癌剂、免疫调节剂或其反式环辛烯前药的额外治疗剂。抗癌剂、免疫调节剂及其反式环辛烯前药是本领域已知的。

[0387] 这种方法的适应症包括癌症,包括血液癌和实体癌。在某些实施例中,该方法可用于治疗和/或诊断软组织肉瘤:横纹肌肉瘤、纤维肉瘤、尤文氏肉瘤、以及软组织肉瘤的所有不同亚型以及骨肉瘤。该组合物可用于治疗和/或诊断色素绒毛结节性滑膜炎。

[0388] 本公开的组合物可用于治疗和/或诊断受试者的病症或疾病,该受试者可通过施用有效载荷(例如,母体药物(即,与组合物缀合之前的药物))来治疗或诊断。“治疗”是指至少实现与困扰受试者的病症相关的症状的改善,其中改善在广义上指至少减少与被治疗的病症相关的参数(例如,症状)的量级。因此,治疗还包括病理病症或至少与其相关的症状被完全抑制(例如,防止其发生)或停止(例如,终止)的情况,使得受试者不再患有该病症或至少不再患有表征该病症的症状。治疗可以包括抑制,即阻止临床症状的发展或进一步发展,例如减轻或完全抑制活动性疾病。治疗可能包括缓解,即导致临床症状消退。例如,在癌症的背景下,术语“治疗”包括以下任何一项或全部:减少实体肿瘤的生长、抑制癌细胞的复制、减少总体肿瘤负担、延长生存期和改善与癌症相关的一种或多种症状。

[0389] 待治疗的受试者可以是需要疗法的受试者,其中待治疗的受试者是适合使用母体药物进行治疗的受试者。因此,多种受试者均可使用本文公开的组合物进行治疗。一般来说,这类研究对象是“哺乳动物”,其中人类是研究对象。其他受试者可以包括家养宠物(例如,狗和猫)、牲畜(例如,牛、猪、山羊、马等)、啮齿动物(例如,小鼠、豚鼠和大鼠,例如,作为疾病的动物模型)以及非人类灵长类动物(例如,黑猩猩和猴子)。

[0390] 在某些实施例中,官能化的有效载荷、治疗性支持组合物、额外治疗剂以及方法可用于治疗、预防和/或诊断实体肿瘤,包括但不限于黑色素瘤(例如,不可切除的转移性黑色素瘤)、肾癌(例如,肾细胞癌)、前列腺癌(例如,转移性去势抵抗性前列腺癌)、卵巢癌(例如,上皮性卵巢癌,诸如转移性上皮性卵巢癌)、子宫内膜癌、乳腺癌(例如,三阴性乳腺癌)、胶质母细胞瘤(例如,多形性胶质母细胞瘤)和肺癌(例如,非小细胞肺癌)、软组织肉瘤、纤维肉瘤、骨肉瘤、胰腺癌、胃癌、头/颈部鳞状细胞癌、肛门/外阴癌、食管癌、胰腺腺癌、宫颈癌、肝细胞癌、卡波西肉瘤、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤淋巴瘤威尔姆斯肿瘤/神经母细胞瘤、膀胱癌、甲状腺腺癌、胰腺神经内分泌肿瘤、前列腺腺癌、鼻咽癌、皮肤T细胞淋巴瘤等。所公开的方法非常适合作为辅助/新辅助系统。例如,可以在活检期间放置本文公开的颗粒,一旦研究结果出来,医生就可以将适当的混合物递送到身体的所期望部位。这将最大限度地减少肿瘤的大小,特别是在可通过手术切除的肿瘤的情况下。然后在手术结束时,外科医生可以向手术腔周围放置更多颗粒并且用进一步的治疗剂量(例如,通过所公开的途径进行化疗)治疗患者以最大限度地降低可能在手术边缘遗漏的任何癌细胞的风险。

[0391] 在某些实施例中,所公开的方法提供了在活检时放置如本文所公开的颗粒的能力。当结果返回时,医生可以将免疫调节剂(诸如TLR激动剂、STING激动剂、趋化因子(吸引癌细胞和/或免疫细胞的药剂)和佐剂)递送到活检部位,以增强免疫系统并减少副作用,以及与免疫治疗剂相结合的化疗剂。这种组合方法对患者有益。化疗药物可以治疗实体肿瘤或特定位置,而免疫疗法的增强反应将有助于治疗远处转移部位。例如,在某些实施例中,所公开的组合物和方法可以采用或与蒽环类药物、紫杉烷类药物、吉西他滨和其他药物一起使用,以增强一种或多种免疫调节剂的功效,诸如伊匹单抗、纳武单抗、派姆单抗、阿维单抗(也称为MSB0010718C;辉瑞公司(Pfizer))。

[0392] 癌症

[0393] 所公开的方法可用于治疗或预防癌症,包括转移性癌症。癌症是一组相关疾病,可能包括持续的增殖信号、逃避生长抑制剂、抵抗细胞死亡、实现复制永生、诱导血管生成以及激活侵袭和转移。所公开的方法可以增强或引发受试者针对癌症的免疫反应。免疫反应可能导致白细胞、淋巴细胞、单核细胞和嗜酸性粒细胞中的一种或多种增加。

[0394] 可以通过所公开的方法治疗的癌症包括但不限于星形细胞瘤、肾上腺皮质癌、阑尾癌、基底细胞癌、胆管癌、膀胱癌、骨癌、脑癌、脑干癌、脑干胶质瘤、乳腺癌、宫颈癌、结肠癌、结肠直肠癌、皮肤T细胞淋巴瘤、弥漫性内因性脑桥神经胶质瘤、导管癌、子宫内膜癌、室管膜瘤、尤因肉瘤、食管癌、眼癌、纤维肉瘤、胆囊癌、胃癌、胃肠道癌、生殖细胞瘤、神经胶质瘤、肝细胞癌、组织细胞增多症、霍奇金淋巴瘤、下咽癌、眼内黑色素瘤、卡波西肉瘤、肾癌、喉癌、白血病、肝癌、肺癌、淋巴瘤、巨球蛋白血症、黑色素瘤、间皮瘤、口腔癌、多发性骨髓瘤、鼻咽癌、成神经细胞瘤、非霍奇金淋巴瘤、骨肉瘤、卵巢癌、胰腺癌、甲状旁腺癌、阴茎癌、咽癌、垂体瘤、前列腺癌、直肠癌、肾细胞癌、视网膜母细胞瘤、横纹肌肉瘤、肉瘤、皮肤癌、小细胞肺癌、小肠癌、软组织癌、软组织肉瘤、实体肿瘤、鳞状细胞癌、胃癌、T细胞淋巴瘤、睾丸癌、喉癌、胸腺瘤、甲状腺癌、滋养细胞肿瘤、尿道癌、子宫癌、子宫肉瘤、阴道癌、外阴癌和威尔姆斯肿瘤。

[0395] 在一些实施例中,可通过所公开的方法治疗的癌症为黑色素瘤、肾癌、前列腺癌、卵巢癌、乳腺癌、神经胶质瘤、肺癌、软组织癌、软组织肉瘤、骨肉瘤或胰腺癌。在一些实施例中,癌症为实体瘤。在一些实施例中,癌症为软组织癌。在一些实施例中,癌症为转移性的。在一些实施例中,癌症为弥漫性内生性脑桥神经胶质瘤。在一些实施例中,癌症为实体癌。

[0396] 不受特定理论的束缚,使用本发明的化合物和方法局部释放某些抗癌剂可以产生或促成免疫原性细胞死亡(ICD)。例如,据报道某些抗癌药物(例如,蒽环类药物、环磷酰胺、奥沙利铂)会诱发ICD。Kroemer等人,Annu. Rev. Immunol. 2013(31), 51-72。癌细胞的免疫原性凋亡可通过激活树突状细胞(DC)并随之激活特异性T细胞反应来诱导有效的抗肿瘤免疫反应。ICD的特征是分泌损伤相关分子模式(DAMP)。在ICD期间暴露于细胞表面的三种重要的DAMP。钙网蛋白(CRT)是DAMP分子之一,通常位于内质网(ER)腔内,在诱导免疫原性细胞凋亡后易位到垂死细胞表面,在那里它充当专业吞噬细胞的“吃我”信号。其他重要的表面暴露DAMP为热休克蛋白(HSP),即HSP70和HSP90,它们在应激条件下也会转移到质膜。在细胞表面上,它们具有免疫刺激作用,这是基于它们与许多抗原呈递细胞(APC)表面受体(如CD91和CD40)的相互作用,并且还促进源自肿瘤细胞的抗原在MHC I类分子上的交叉呈递,从而导致CD8+T细胞反应。其他重要的DAMP(ICD的特征)是分泌型两性蛋白(HMGB1)和ATP。

HMGB1被认为是晚期凋亡标志物,其释放到细胞外空间似乎是肿瘤抗原向树突状细胞最佳释放和呈递所必需的。它与几种模式识别受体 (PRR) 结合,诸如在APC上表达的Toll样受体 (TLR) 2和4。最近发现,免疫原性细胞死亡期间释放的DAMP为ATP,它在分泌时充当单核细胞的“找到我”信号,并诱导它们被吸引到凋亡部位。Kroemer等人, *Curr. Op. Immunol.* 2008 (20), 504-511。

[0397] 因此,使用本发明的化合物和方法局部释放ICD诱导剂可以有益地与一种或多种免疫调节剂组合。

[0398] 在某些实施例中,官能化的有效载荷、治疗性支持组合物和方法可用于治疗、预防和/或诊断实体肿瘤,包括但不限于黑色素瘤 (例如,不可切除的转移性黑色素瘤)、肾癌 (例如,肾细胞癌)、前列腺癌 (例如,转移性去势抵抗性前列腺癌)、卵巢癌 (例如,上皮性卵巢癌,诸如转移性上皮性卵巢癌)、乳腺癌 (例如,三阴性乳腺癌)、胶质母细胞瘤 (例如,多形性胶质母细胞瘤) 和肺癌 (例如,非小细胞肺癌)、软组织肉瘤、纤维肉瘤、骨肉瘤、胰腺癌等。

[0399] 所公开的方法非常适合作为辅助/新辅助系统。例如,可以在活检期间放置本文公开的治疗性支持组合物,一旦研究结果出来,医生就可以施用适当的混合物以将治疗递送到身体中的所期望部位 (式I的化合物和任选的额外治疗剂)。活检结果可以指示对肿瘤部位进行的治疗的数量和类型。例如,趋化因子 (吸引癌细胞和/或免疫细胞的药剂) 和佐剂可以与化疗药物一起递送并与免疫治疗药物组合,以增强免疫系统,并且副作用更少。

[0400] 所公开的化合物和组合物可以在手术切除之前施用。所公开的方法可在手术切除之前最小化肿瘤的尺寸。这将最大限度地减少肿瘤的大小,特别是在可通过手术切除的肿瘤的情况下。所公开的缀合物、化合物和组合物可以在手术切除期间施用。所公开的缀合物、化合物和组合物可以在手术切除后施用。可以在手术切除结束时将治疗性支持组合物放置在手术腔周围,然后可以对受试者进行进一步剂量的治疗,以最大限度地降低手术边缘可能遗漏的任何癌细胞的风险。

[0401] 所公开的方法可以包括集中在一个位置的功能化的有效载荷的多个全身剂量。所公开的方法可用于递送第二有效载荷。如果肿瘤对第一有效载荷具有抗性,则可以使用公开的方法来施用第二功能化的有效载荷。第二有效载荷可以为TCO标记的吉西他滨或多西他赛的有效载荷。TCO标记的吉西他滨或多西他赛有效载荷可与阿霉素联合使用。第二官能化的有效载荷可以通过用于第一前药的治疗性支持组合物来激活。

[0402] 本文公开的功能化有效载荷可以充当佐剂。这种组合方法对患者有益。化疗药物可以治疗实体肿瘤或特定位置,并可能增强或引发免疫反应,而功能化的有效载荷和/或单独药物的免疫疗法增强的反应可能有助于治疗远处转移部位。例如,在某些实施例中,所公开的组合物和方法可以采用或与葱环类药物、奥瑞他汀、长春花生物碱、紫杉烷、吉西他滨、喜树碱类似物和其他药物一起使用,以增强伊匹单抗、纳武单抗、派姆单抗、阿维单抗 (也称为MSB0010718C;辉瑞公司 (Pfizer))。

[0403] 所公开的方法可用于治疗弥漫性内在性脑桥神经胶质瘤。弥漫性内在性脑桥神经胶质瘤 (DIPG) 是一种儿童脑干肿瘤,可能高度恶性且难以治疗。目前尚无已知的DIPG治愈方法,过去四十年来生存几率一直很低。DIPG患者的中位总体生存期仅为11个月,两年生存率低于10%。DIPG占儿童脑干肿瘤的75-80%,每年在美国影响约200-300名儿童。这种毁灭性疾病的罕见性和之前缺乏实验模型系统阻碍了研究,并且在过去四十年中生存的几率一

直保持不变。DIPG的诊断可以从临床症状开始,并可通过MRI确认。该疾病可能以数月的全身症状开始,包括行为改变和学习困难、复视、眼球运动异常或受限、微笑不对称、失去平衡和虚弱。或者,严重的神经系统恶化可能发生得更快,症状在诊断前出现的时间不到一个月。临床检查可能发现多种脑神经病的三联征、长束征(诸如反射亢进和阵挛)以及共济失调。脑干桥脑部分扩张可能造成阻塞性脑积水和颅内压升高。

[0404] 对于呼吸和心跳等维持生命的功能至关重要的细胞核位于脑桥中,如果不进行治疗,呼吸和心跳可能会因DIPG而受损。

[0405] 所公开的方法可用于将分子有效载荷递送至DIPG的部位。所公开的方法可以包括全身递送仅在肿瘤部位处被激活的药物。所公开的方法可以用作新辅助疗法或辅助疗法。可以在活检期间放置生物材料。活检结果可以指示对肿瘤部位进行的治疗的数量和类型。所公开的化合物和组合物可以在手术切除之前施用。所公开的方法可在手术切除之前最小化肿瘤的尺寸。所公开的化合物和组合物可以在手术切除期间施用。所公开的化合物和组合物可以在手术切除后施用。可以在手术切除结束时,将生物材料放置在手术腔周围,然后用进一步剂量的治疗来治疗受试者。所公开的生物可降解凝胶可以在活检或手术时植入。所公开的方法可能不需要额外的侵入性手术来递送额外剂量的所公开的化合物和组合物。

[0406] 所公开的方法可以包括集中在一个位置的功能化的有效载荷的多个全身剂量。所公开的方法可用于递送第二有效载荷。如果肿瘤对第一有效载荷具有抗性,则可以使用公开的方法来施用第二功能化的有效载荷。第二有效载荷可以是紫杉醇、多西他赛、蒽环类、奥瑞他汀、长春花生物碱、紫杉烷、吉西他滨、喜树碱类似物或其他药剂的TCO标记的有效载荷。TCO标记的吉西他滨、紫杉醇或多西紫杉醇的有效载荷可以与阿霉素联合使用。第二官能化的有效载荷可以通过用于第一前药的治疗性支持组合物来激活。

[0407] 施用方式

[0408] 治疗方法可以包括施用所公开的缀合物、化合物或组合物的任意数量的模式。施用方式可以包括片剂、丸剂、糖衣丸、硬胶囊和软胶囊、颗粒、丸剂、皮肤贴剂、护肤霜、皮肤凝胶、水性、脂质性、油性或其他溶液、乳剂(诸如水包油乳剂)、脂质体、水性或油性混悬液、糖浆、酞剂、固体乳剂、固体分散体或可分散粉末。在药物组合物中,本文所公开的缀合物、化合物或组合物还可以分散在微粒中,例如,纳米颗粒组合物。

[0409] 对于肠胃外施用,本文所公开的缀合物、化合物或组合物可以溶解或悬浮于生理学上可接受的稀释剂中,诸如水、缓冲液、含有或不含有增溶剂、表面活性剂、分散剂或乳化剂的油。合适的油可以包括,例如,橄榄油、花生油、棉籽油、大豆油、蓖麻油和芝麻油。对于肠胃外施用,本文所公开的缀合物、化合物或组合物可以以水性、脂质性、油性或其他类型的溶液或悬浮液的形式施用,或甚至以脂质体或纳米悬浮液的形式施用。

[0410] 本文使用的术语“肠胃外”是指施用方式,包括静脉内、肌肉内、腹膜内、胸骨内、皮下和关节内注射和输注。

[0411] 治疗性支持组合物优选在肿瘤的部位处局部施用,诸如通过注射或植入。鉴于受试者的状况和医疗专业人员的判断,官能化的有效载荷(诸如式I或(III)的缀合物)可以通过任何方便的途径施用。肠胃外施用是施用式I的缀合物的合适方式。

[0412] 给予受试者的组合物的量可以最初基于母体药物的剂量和/或给药方案的指导来

确定。一般而言,组合物可提供靶向递送和/或增加结合药物的血清半衰期,从而在给药方案中提供至少减少的剂量或减少的施用之一。因此,相对于在本公开的组合物中缀合之前的母体药物,该组合物可以在给药方案中提供减少的剂量和/或减少的施用。

[0413] 药物制剂可以以单位剂量形式提供。以这种形式,药物制剂可以细分为含有适当量的本公开组合物的单位剂量。单位剂型可以为包装制剂,该包装含有离散量的制剂,诸如小袋、小瓶或安瓿瓶中的包装片剂、胶囊和粉末。

[0414] 在一些实施例中,提供了一种试剂盒,其包含如本文所述的缀合物或其药学上可接受的盐,或包含其的药物组合物,以及其使用说明。

[0415] 在一些实施例中,试剂盒进一步包含治疗性支持组合物。

[0416] 本公开的组合物可以任何合适的量存在,并且可以取决于各种因素,包括但不限于受试者的体重和年龄、疾病状态等。本公开的组合物的合适剂量范围包括0.1mg至10,000mg、或1mg至1000mg、或10mg至750mg、或25mg至500mg、或50mg至250mg。例如,本公开的组合物的合适剂量包括1mg、5mg、10mg、20mg、30mg、40mg、50mg、60mg、70mg、80mg、90mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、350mg、400mg、450mg、500mg、550mg、600mg、650mg、700mg、750mg、800mg、850mg、900mg、950mg或1000mg。

[0417] 在一些实施例中,施用多剂量的组合物。组合物的施用频率可以根据多种因素而变化,例如,症状的严重程度、受试者的状况等。例如,在一些实施例中,组合物每月施用一次、每月施用两次、每月施用三次、每隔一周施用一次(qow)、每周施用一次(qw)、每周施用两次(biw)、每周施用三次(tiw)、每周施用四次、每周施用五次、每周施用六次、每隔一天施用一次(qod)、每天施用一次(qd)、每天施用两次(qid)或每天施用三次(tid)。

[0418] 本公开的组合物可以以任何合适的频率、间隔和持续时间施用。例如,本公开的组合物可以每小时施用一次,或每小时施用两次、三次或更多次,每天施用一次,或每天施用两次、三次或更多次,或每2天、3天、4天、5天、6天或7天施用一次,以向受试者提供所期望的剂量水平。当本公开的组合物每天施用一次以上时,代表性间隔包括5分钟、10分钟、15分钟、20分钟、30分钟、45分钟和60分钟,以及1小时、2小时、4小时、6小时、8小时、10小时、12小时、16小时、20小时和24小时。本公开的组合物可以施用一次、两次或三次或更多次,施用时间为一小时、1至6小时、1至12小时、1至24小时、6至12小时、12至24小时、一天、1至7天、一周、1至4周、一个月、1至12个月、一年或更长时间,或者甚至无限期。

[0419] 本公开的组合物可以与另一种活性剂共同施用。共同施用包括在彼此的0.5小时、1小时、2小时、4小时、6小时、8小时、10小时、12小时、16小时、20小时或24小时内施用本公开的组合物和活性剂。共同施用还包括同时或近似同时(例如,彼此间隔约1分钟、5分钟、10分钟、15分钟、20分钟或30分钟内)或以任何顺序依次施用本公开的组合物和活性剂。此外,本公开的组合物和活性剂可以每天分别施用一次,或每天施用两次、三次或更多次,以提供每日所期望的剂量水平。

[0420] 共同施用可以通过共同植入或共同注射来实现。

[0421] 在一些实施例中,共同施用可以通过共同配制来实现,例如,制备包括本公开的组合物和活性剂的单一药物制剂。在其他实施例中,本公开的组合物和活性剂可以单独配制并共同施用给受试者。

[0422] 本公开的组合物和活性剂可以以任何合适的重量比存在于制剂中,诸如1:100至

100:1 (w/w)、或1:50至50:1、或1:25至25:1、或1:10至10:1、或1:5至5:1 (w/w)。本公开的组合物和其他活性剂可以以任何合适的重量比存在,诸如1:100 (w/w)、1:75、1:50、1:25、1:10、1:5、1:4、1:3、1:2、1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、10:1、25:1、50:1、75:1或100:1 (w/w)。本公开的组合物和活性剂的其它剂量和剂量比也适用于本文描述的制剂和方法。

#### [0423] 联合疗法

[0424] 在一个方面,本发明提供了一种治疗癌症或增强或引发免疫反应的方法,其包括向有此需要的受试者施用:治疗有效量的本发明的缀合物(例如,式I),或其药学上可接受的盐或组合物;本文所述的治疗性支持组合物;以及治疗有效量的选自由抗癌剂、免疫调节剂或其反式环辛烯前药组成的组的额外治疗剂。

[0425] 本发明还提供了一种包含以下的药物组合:本文所述的缀合物或其药学上可接受的盐,或其组合物;本文所述的治疗性支持组合物;以及选自由抗癌剂、免疫调节剂或其反式环辛烯前药组成的组的额外治疗剂,该药物组合用于治疗或预防癌症或者用于增强或引发免疫反应。

[0426] 本发明还提供了包含以下的药物组合:本文所述的缀合物或其药学上可接受的盐,或组合物;治疗性支持组合物;以及治疗有效量的选自由抗癌剂、免疫调节剂或其反式环辛烯前药组成的组的额外治疗剂,用于治疗或预防癌症或者用于增强或引发免疫反应的用途。

[0427] 在本文所述的方法和用途中,药物组合中的组分可以同时、单独或依次以任何顺序施用/使用,并且各组分可以单独施用或作为固定组合施用。例如,根据本发明,延迟疾病的进展或治疗可以包括同时或以任何顺序,以联合施用的治疗有效量或有效量,例如,以对应于本文所述量的日剂量,依次施用游离或药学上可接受的盐形式的第一活性成分和施用游离或药学上可接受的盐形式的第二活性成分。组合中的单个活性成分可以在治疗过程中的不同时间分开施用,或以分开的或单一的剂量形式同时施用。因此,本公开应理解为涵盖所有此类同时或交替治疗方案,并且术语“施用”应作相应解释。因此,如本文所用的药物组合定义为一个剂量单位形式的固定组合,或用于组合施用的单独剂型,其中组合施用可以独立地在同一时间或在不同时间进行。作为进一步的实例,治疗性支持组合物和缀合物可以同时(例如,通过共注射或共植入)、单独或顺序施用/使用,然后施用选自由抗癌剂、免疫调节剂或其反式环辛烯前药组成的组的额外治疗剂。

[0428] 治疗癌症的方法和用途包括在肿瘤处施用/定位治疗性支持组合物。在本文公开的方法和用途中,施用缀合物或其药学上可接受的盐,或组合物;治疗性支持组合物;并且额外治疗剂可以抑制肿瘤的生长。

[0429] 额外治疗剂可以与所公开的缀合物和组合物同时或顺序施用。顺序施用包括在公开的缀合物和组合物之前或之后施用。可以在所公开的缀合物和组合物之前施用额外治疗剂。可以在所公开的缀合物和组合物之后施用额外治疗剂。可以与所公开的缀合物和组合物同时施用额外治疗剂。在一些实施例中,可以将额外的一种或多种治疗剂在与所公开的缀合物相同的组合物中施用。在其他实施例中,在施用额外治疗剂和所公开的缀合物或组合物之间可以存在时间间隔。在一些实施例中,与所公开的缀合物或组合物一起施用额外治疗剂可以允许其他治疗剂的较低剂量和/或以较低频率间隔施用。当与一种或多种其他活性成分组合使用时,本发明的缀合物或组合物和其他活性成分可以以比单独使用时更低

的剂量使用。因此,本发明的药物组合物包括除本公开的缀合物之外还含有一种或多种其他活性成分的药物组合物。

#### [0430] 抗癌剂

[0431] 示例性抗癌剂包括但不限于醋酸阿比特龙、阿比特龙(甲氨蝶呤)、Abraxane(紫杉醇白蛋白稳定的纳米颗粒制剂)、ABVD、ABVE、ABVE-PC、AC、AC-T、Adcetris(维布妥昔单抗维多汀)、ADE、Ado-曲妥珠单抗美坦新、阿霉素(盐酸多柔比星)、Aducril(氟尿嘧啶)、马来酸阿法替尼、Afinitor(依维莫司)、Aldara(咪喹莫特)、阿地白介、阿仑单抗、Alimta(培美曲塞二钠)、Aloxi(盐酸帕洛诺司琼)、安博氯林(苯丁酸氮芥)、氨基乙酰丙酸、阿那曲唑、阿瑞匹坦、Aredia(帕米膦酸二钠)、瑞宁得(阿那曲唑)、Aromasin(依西美坦)、Arranon(奈拉滨)、三氧化二砷、Arzerra(奥法木单抗)、菊花天冬酰胺酶、阿瓦斯汀(贝伐单抗)、阿西替尼、阿扎胞苷、BEACOPP、盐酸苯达莫司汀、BEP、贝伐单抗、贝沙罗汀、Bexxar(托西莫单抗和I131碘托西莫单抗)、比卡鲁胺、博莱霉素、硼替佐米、博舒替尼(博舒替尼)、博舒替尼、维布妥昔单抗-维多汀、白消安、Busulfex(白消安)、卡巴他赛、卡博替尼-S-苹果酸、CAF、Campath(阿仑单抗)、Camptosar(盐酸伊立替康)、卡培他滨、CAPOX、卡铂、卡铂-紫杉醇、卡非佐米、Casodex(比卡鲁胺)、CeeNU(洛莫司汀)、Cerubidine(盐酸柔红霉素)、Cervarix(重组HPV二价)疫苗、西妥昔单抗、苯丁酸氮芥、苯丁酸氮芥-泼尼松、CHOP、顺铂、Clafen(环磷酰胺)、氯法拉滨、Clofarex(氯法拉滨)、Clolar(氯法拉滨)、CMF、Cometriq(卡博替尼-S-苹果酸)、COPP、COPP-ABV、Cosmegen(放线菌素)、克唑替尼、CVP、环磷酰胺、Cyfos(异环磷酰胺)、阿糖胞苷、阿糖胞苷脂质体、Cytosar-U(阿糖胞苷)、Cytosan(环磷酰胺)、达拉非尼、达卡巴嗪、Dacogen(地西他滨)、放线菌素、达沙替尼、盐酸柔红霉素、地西他滨、地加瑞克、地尼白介素(Denileukin Diftitox)、地诺单抗(Denosumab)、DepoCyt(阿糖胞苷脂质体)、DepoFoam(阿糖胞苷脂质体)、盐酸右雷佐生、多西他赛、Doxil(盐酸阿霉素脂质体)、盐酸阿霉素、盐酸阿霉素脂质体、Dox-SL(盐酸阿霉素脂质体)、DTIC-Dome(达卡巴嗪)、Efudex(氟尿嘧啶)、Elitek(拉布立酶)、Ellence(盐酸表阿霉素)、Eloxatin(奥沙利铂)、艾曲波帕奥拉明、Emend(阿瑞匹坦)、恩杂鲁胺、盐酸表阿霉素、EPOCH、爱必妥(西妥昔单抗)、甲磺酸艾日布林、Erivedge(Vismodegib)、盐酸厄洛替尼、Erwinaze(天冬酰胺酶欧文氏菊)、依托泊磷(磷酸依托泊苷)、依托泊苷、磷酸依托泊苷、Evacet(盐酸多柔比星脂质体)、依维莫司、Evista(盐酸雷洛昔芬)、依西美坦、Fareston(托瑞米芬)、Faslodex(氟维司群)、FEC、Femara(来曲唑)、非格司亭、Fludara(磷酸氟达拉滨)、磷酸氟达拉滨、Fluoroplex(氟尿嘧啶)、氟尿嘧啶、Folex(甲氨蝶呤)、Folex PFS(甲氨蝶呤)、Folfiri、Folfiri-贝伐单抗、Folfiri-西妥昔单抗、Folfirinox、Folfox(亚叶酸、氟尿嘧啶、奥沙利铂)、Folotyn(普拉曲沙)、FU-LV、氟维司群、Gardasil(重组HPV四价疫苗)、Gazyva(奥妥珠单抗)、吉非替尼、盐酸吉西他滨、吉西他滨-顺铂、吉西他滨-奥沙利铂、吉妥珠单抗奥佐米星、Gemzar(盐酸吉西他滨)、吉洛替夫(马来酸阿法替尼)、格列卫(甲磺酸伊马替尼)、羧肽酶、醋酸戈舍瑞林、Halaven(甲磺酸艾日布林)、赫赛汀(曲妥珠单抗)、重组HPV二价疫苗、重组HPV四价疫苗、Hycamtin(盐酸拓扑替康)、Hyper-CVAD、替伊莫单抗(Ibritumomab Tiuxetan)、伊布替尼(Ibrutinib)、ICE、Iclusig(盐酸帕纳替尼)、Ifex(Ifosfamide)、Ifosfamide、Ifosfamidum(异环磷酰胺)、甲磺酸伊马替尼、Imbruvica(伊布替尼)、Imiquimod、Inlyta(阿昔替尼)、Intron A(重组干扰素Alfa-2b)、Iodine131托西莫单抗和托西莫单抗、伊匹木单抗、Iressa

(吉非替尼)、盐酸伊立替康、Istodax(罗米地辛)、Ixabepilone、Ixempra(Ixabepilone)、Jakafi(磷酸鲁索替尼)、Jevtana(卡巴他赛)、Kadcyla(Ado-曲妥珠单抗美坦新)、Keoxifene(盐酸雷洛昔芬)、Kepivance(帕利弗明)、Kyprolis(卡非佐米)、二甲苯磺酸拉帕替尼、来那度胺、来曲唑、亚叶酸钙、Leukeran(苯丁酸氮芥)、醋酸亮丙瑞林、Levulan(氨基乙酰丙酸)、Linfolizin(苯丁酸氮芥)、LipoDox(盐酸阿霉素脂质体)、脂质体阿糖胞苷、洛莫司汀、Lupron(醋酸亮丙瑞林)、Lupron Depot(醋酸亮丙瑞林)、Lupron Depot-Ped(醋酸亮丙瑞林)、Lupron Depot-3 Month(醋酸亮丙瑞林)、Lupron Depot-4 Month(醋酸亮丙瑞林)、Marqibo(硫酸长春新碱脂质体)、Matulane(盐酸丙卡巴肼)、盐酸氮芥、Megace(醋酸甲地孕酮)、醋酸甲地孕酮、Mekinist(曲美替尼)、巯嘌呤、Mesna、Mesnex(Mesna)、Methazolastone(替莫唑胺)、甲氨蝶呤、甲氨蝶呤LPF(甲氨蝶呤)、Mexate(甲氨蝶呤)、Mexate-AQ(甲氨蝶呤)、丝裂霉素C、Mitozytrex(丝裂霉素C)、MOPP、Mozobil(普乐沙福)、Mustargen(盐酸氮芥)、变霉素(丝裂霉素C)、Myleran(白消安)、Mylosar(阿扎胞苷)、Mylotarg(吉妥珠单抗奥佐米星)、纳米颗粒紫杉醇(紫杉醇白蛋白稳定纳米颗粒制剂)、Navelbine(酒石酸长春瑞滨)、Nelarabine、Neosar(环磷酰胺)、Neupogen(非格司亭)、Nexavar(甲苯磺酸索拉非尼)、尼洛替尼、Nolvadex(柠檬酸他莫昔芬)、Nplate(罗米司亭)、奥妥珠单抗、奥法妥木单抗、奥马西他辛甲琥珀酸酯、Oncaspar(聚门冬酰胺酶)、Ontak(Denileukin Diftitox)、OEPa、OPPA、奥沙利铂、紫杉醇、紫杉醇白蛋白稳定纳米颗粒制剂、Palifermin、盐酸帕洛诺司琼、帕米膦酸二钠、帕尼单抗、Paraplat(卡铂)、Paraplatin(卡铂)、盐酸帕唑帕尼、培门冬酶、Peginterferon Alfa-2b、PEG-Intron(Peginterferon Alfa-2b)、培美曲塞二钠、Perjeta(帕妥珠单抗)、帕妥珠单抗、Platinol(顺铂)、Platinol-AQ(顺铂)、普乐沙福、泊马度胺、Pomalyst(泊马度胺)、盐酸帕纳替尼、普拉曲沙、泼尼松、盐酸丙卡巴肼、Proleukin(Aldesleukin)、Prolia(地诺单抗)、Promacta(伊屈泼帕乙醇胺)、Provence(西普鲁塞-T)、嘌呤醇(Mercaptopurine)、二氯化镭223、盐酸雷洛昔芬、拉布立酶、R-CHOP、R-CVP、重组HPV二价疫苗、重组HPV四价疫苗、重组干扰素Alfa-2b、瑞戈非尼、来那度胺、风湿曲(甲氨蝶呤)、美罗华(利妥昔单抗)、利妥昔单抗、罗米地辛、罗米司亭、红比霉素(盐酸柔红霉素)、磷酸鲁索替尼、硬化剂胸膜内气雾剂(Talc)、西普鲁塞-T、甲苯磺酸索拉非尼、Sprycel(达沙替尼)、Stanford V、无菌滑石粉(滑石粉)、Steritalc(滑石粉)、Stivarga(瑞戈非尼)、苹果酸舒尼替尼、索坦(苹果酸舒尼替尼)、Sylatron(聚乙二醇干扰素Alfa-2b)、Synovir(沙利度胺)、Synribo(高三尖杉酯碱(Omacetaxine Mepesuccinate))、Tafinlar(达拉菲尼)、滑石粉、柠檬酸他莫昔芬、Tarabine PFS(阿糖胞苷)、Tarceva(盐酸厄洛替尼)、Targretin(贝沙罗汀)、Tasigna(尼洛替尼)、Taxol(紫杉醇)、Taxotere(多西他赛)、替莫达(替莫唑胺)、替莫唑胺、替西罗莫司、沙利度胺、沙利度胺(沙利度胺)、托泊沙(依托泊苷)、盐酸托泊替康、托瑞米芬、Torisel(替西罗莫司)、托西莫单抗和1131碘托西莫单抗、Totect(盐酸右雷佐生)、Trametinib、曲妥珠单抗、Treanda(盐酸苯达莫司汀)、Trisenox(三氧化二砷)、Tykerb(二甲苯磺酸拉帕替尼)、凡德他尼、VAMP、Vectibix(帕尼单抗)、VelP、Velban(硫酸长春碱)、Velcade(硼替佐米)、Velsar(硫酸长春碱)、Vemurafenib、VePesid(依托泊苷)、Viadur(醋酸亮丙瑞林)、Vidaza(阿扎胞苷)、硫酸长春花碱、Vincasar PFS(硫酸长春新碱)、硫酸长春新碱、硫酸长春新碱脂质体、酒石酸长春瑞滨、Vismodegib、Voraxaze(葡萄糖卡匹酶)、Vorinostat、Votrient(帕唑帕尼) 盐酸

盐)、Wellcovorin(亚叶酸钙)、Xalkori(克唑替尼)、Xeloda(卡培他滨)、Xelox、Xgeva(狄诺塞麦)、Xofigo(二氯化镭223)、Xtandi(恩杂鲁胺)、Yervoy(伊匹单抗)、Zaltrap(Ziv-Aflibercept)、Zelboraf(威罗菲尼)、Zevalin(替伊莫单抗)、Zinecard(盐酸右雷佐生)、Ziv-Aflibercept、Zoladex(醋酸戈舍瑞林)、唑来膦酸、Zolinza(伏立诺他)、Zometa(唑来膦酸)和Zytiga(醋酸阿比特龙)。

[0432] 抗癌剂可以为PBD二聚体、卡奇霉素、精孢霉素、微管溶菌素B、根霉素、多拉司他汀、地德宁B、喜树碱、CBI、替西罗莫司、放线菌素D、埃博霉素B、紫杉醇、隐藻素、SN38、万珂、布氏丁、DAVLBH、DM1、叶绿素苷、力比泰、T2毒素、MMC、凡他拉尼、长春瑞滨、布雷菲德菌素、舒尼替尼、柔红霉素、司马沙尼、特罗凯、易瑞沙、伊立替康、LY-541503、格尔德霉素、吉西他滨、甲氨蝶呤、格列卫、拓扑替康、博来霉素、阿霉素、顺铂、N-芥子气、依托泊苷或5-FU。

[0433] 在某些实施例中,抗癌剂为蒽环类药物。在某些实施例中,抗癌剂为紫杉烷。在某些实施例中,抗癌剂为吉西他滨。在某些实施例中,抗癌剂为阿霉素。在某些实施例中,抗癌剂为多西他赛。在某些实施例中,抗癌剂为SN38。在某些实施例中,抗癌剂为单甲基奥里斯他汀E。在某些实施例中,抗癌剂为烷化剂、抗代谢物(叶酸拮抗剂、嘌呤拮抗剂、嘧啶拮抗剂)、抗生素、紫杉烷、长春花生物碱或喜树碱类似物。

[0434] 7.化合物的合成

[0435] 缀合物可以使用本文公开的方法及其常规修改来制备,这根据本文的公开内容和本领域公知的方法将是显而易见的。除了本文中的教导之外,还可以使用常规和众所周知的合成方法。本文所述的典型化合物的合成可以按照以下实施例所述完成。如果可用,试剂和起始材料可以从商业渠道购买,例如,从Sigma Aldrich或其他化学品供应商处购买。

[0436] 应当理解,当给出典型或优选的工艺条件(即反应温度、时间、反应物的摩尔比、溶剂、压力等)时,除非另有说明,否则也可以使用其他工艺条件。最佳反应条件可能随所用的具体反应物或溶剂而变化,但本领域技术人员可以通过常规优化流程确定此类条件。

[0437] 此外,可能需要常规的保护基来防止某些功能团发生不良反应。适合于各种官能团的保护基以及适合于保护和脱保护特定官能团的条件是本领域所熟知的。例如,Wuts, P.G.M.、Greene, T.W.和Greene, T.W. (2006). *Greene's protective groups in organic synthesis*. Hoboken, N.J., Wiley-Interscience, 以及其中引用的参考文献中描述了许多保护基团。

[0438] 此外,本公开的缀合物可以含有一个或多个手性中心。因此,如果需要,此类缀合物可以制备或分离为纯立体异构体,即,单独的对映异构体或非对映异构体或立体异构体富集的混合物。除非另有说明,否则所有此类立体异构体(和富集的混合物)均包括在本公开的范围。纯立体异构体(或富集的混合物)可以使用例如本领域熟知的光学活性起始材料或立体选择性试剂来制备。替代性地,可以使用例如手性柱色谱、手性拆分剂等分离此类缀合物的外消旋混合物。

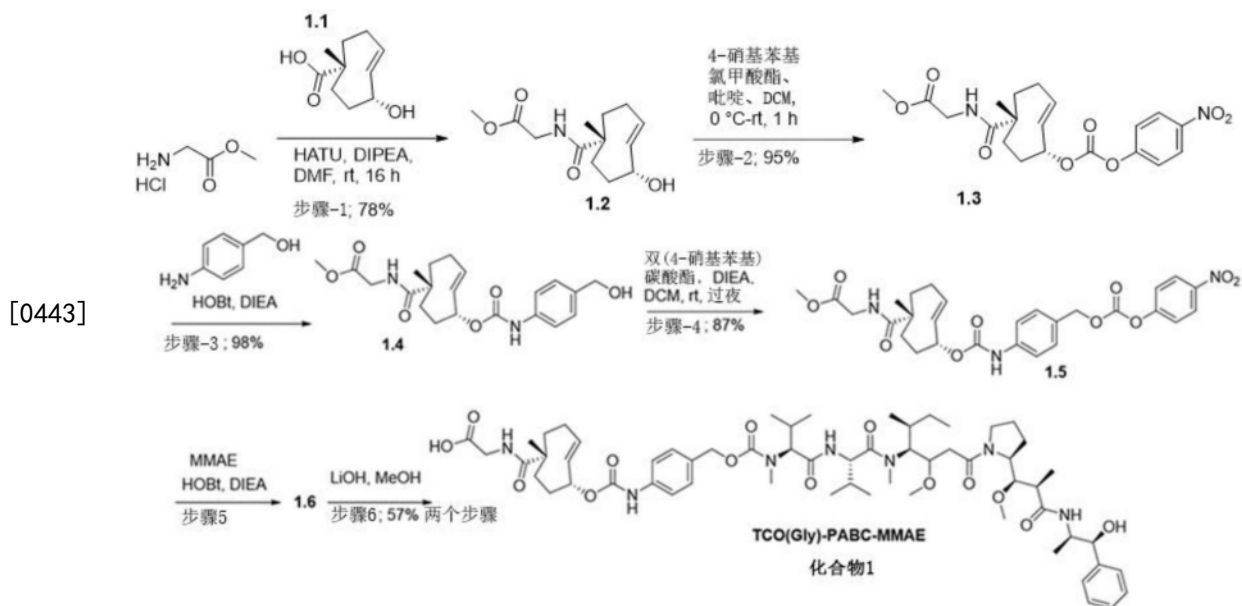
[0439] 用于以下反应的起始材料为通常已知的化合物或者可以通过已知的程序或其明显的修改来制备。例如,许多起始材料可从商业供应商(诸如Aldrich Chemical Co. (美国威斯康星州密尔沃基)、Bachem(美国加利福尼亚州托兰斯)、Emka-Chemce或Sigma(美国密苏里州圣路易斯))获得。其他起始材料可以通过描述在诸如以下的标准参考文本中的程序或其明显修改来制备:Fieser and Fieser's *Reagents for Organic Synthesis*, 第1至15

卷(John Wiley, and Sons, 1991)、Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, 第1至5卷及补充(Elsevier Science Publishers, 1989) organic Reactions, 第1至40卷(John Wiley, and Sons, 1991)、March's Advanced Organic Chemistry, (John Wiley, and Sons, 第5版, 2001), 以及Larock's Comprehensive Organic Transformations (VCH Publishers Inc., 1989)。

[0440] 实例

[0441] 以下实施例用于说明本公开的具体实施例。本领域技术人员应当理解, 以下实施例中公开的技术代表了在本公开的实践中能够良好发挥作用的技术, 因此可以被认为构成了其实践的具体模式。然而, 本领域技术人员根据本公开内容应当认识到, 可以对所公开的具体实施例进行许多改变并且仍获得相同或相似的结果而不脱离本公开的精神和范围。

[0442] 实例1: TCO(Gly)-PABC-MMAE(化合物1)的合成



[0444] 甲基((1R, 6R, E)-6-羟基-1-甲基环辛-4-烯-1-羰基)甘氨酸酯(1.2)。步骤-1: 向甘氨酸甲酯(5.1g, 32.6mmol, 2.0eq.)在DMF(100.0mL)和DIPEA(14.9mL, 85.5mmol, 5.3eq.)中的混合物中顺序添加(1R, 6R, E)-6-羟基-1-甲基环辛-4-烯-1-甲酸(1.1)(3.0g, 16.3mmol, 1.0eq)和HATU(12.4g, 32.6mmol, 2.0eq.)。将混合物在室温搅拌过夜, 用EtOAc(400mL)和水(400mL)稀释。将水层用EtOAc(400mL)萃取一次。将合并的有机层用 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥并过滤。将滤液浓缩并通过快速色谱法(220g, ISCO柱)纯化, 用己烷中的EtOAc的梯度(0至100%)和己烷中的100%EtOAc的等度洗脱, 得到3.25g(78%产率)甲基((1R, 6R, E)-6-羟基-1-甲基环辛-4-烯-1-羰基)甘氨酸酯。

[0445] 甲基((1R, 6R, E)-1-甲基-6-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)环辛-4-烯-1-羰基)甘氨酸甲酯(1.3)。步骤-2: 向化合物1.2(1.0g, 4.0mmol, 1.0eq.)在无水DCM(30mL)中的溶液中添加吡啶(0.9g, 12mmol, 3.0eq.)。将混合物在冰浴中冷却。历时两分钟, 向该混合物中添加氯甲酸对硝基苯酯(1.0g, 5mmol, 1.3eq.)在DCM(5mL)中的溶液。将混合物在室温搅拌1h并用EtOAc和水分配。将有机相用碳酸氢钠水溶液、水洗涤, 然后用硫酸钠干燥, 过滤并浓缩。将所得残余物溶解在最少量的DCM中, 并通过硅胶柱快速色谱法(40g, ISCO)纯化, 利用DCM中的EtOAc(0-20%)作为洗脱剂的分阶式梯度, 得到1.6g(95%)甲基((1R, 6R, E)-1-甲

基-6-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)环辛-4-烯-1-羰基)甘氨酸酯(+ESI)  $[M+H]^+ = 421.1$

[0446] 甲基((1R,6R,E)-6-(((4-(羟基甲基)苯基)氨基甲酰基)氧基)-1-甲基环辛-4-烯-1-羰基)甘氨酸酯(1.4)。步骤-3:向化合物-1.3(138mg,0.33mmol,1.0eq.)、(4-氨基苯基)甲醇(40.4mg,0.33mmol,1.0eq.)和HOBt(111mg,0.66,2.0eq)在DMF(2.0mL)中的溶液中顺序添加DIEA(85mg,0.66mmol,2.0eq.)。将混合物在室温搅拌过夜并通过LCMS进行监测。反应完成后,将混合物直接加载到C18快速色谱法(25g,Agela)中,利用水中的乙腈的分阶式梯度(0至60%,持续16min;以水中的~40%乙腈洗脱出产物)。收集馏分并用EtOAc(~200mL)稀释。将水层用EtOAc(每次100mL)再萃取两次。将合并的有机层用 $Na_2SO_4$ 干燥,过滤并浓缩,得到130mg(98%)甲基((1R,6R,E)-6-(((4-(羟基甲基)苯基)氨基甲酰基)氧基)-1-甲基环辛-4-烯-1-羰基)甘氨酸酯。(+ESI)  $[M+Na]^+ = 427.3$ 。

[0447] 甲基((1R,6R,E)-1-甲基-6-(((4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酰基)氧基)环辛-4-烯-1-羰基)甘氨酸酯(1.5)。步骤-4:向化合物1.4(130mg,0.32mmol,1.0eq.)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(108mg,0.35mmol,1.1eq.)在干燥DCM(8mL)中的溶液中添加DIEA(83mg,0.64mmol,2.0eq.)。将混合物在室温搅拌过夜,用DCM(30mL)稀释,用 $NaHCO_3$ (20mL)洗涤两次,用 $Na_2SO_4$ 干燥,过滤并在减压下浓缩。将粗品通过快速色谱法进行纯化,使用EtOAc和己烷的梯度(0至80%;产物洗脱约70%)作为洗脱剂,得到160mg(87%)甲基((1R,6R,E)-1-甲基-6-(((4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酰基)氧基)环辛-4-烯-1-羰基)甘氨酸酯。(+esi)  $[M+H]^+ = 570.2$ (小离子)。 $^1H$  NMR(400MHz,DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 9.80(s,1H),8.32(d,J=9.1Hz,2H),7.79(t,J=5.8Hz,1H),7.57(d,J=9.2Hz,2H),7.53(d,J=8.4Hz,2H),7.40(d,J=8.6Hz,2H),5.91(ddd,J=14.3,9.9,3.9Hz,1H),5.79-5.67(m,1H),5.24(s,2H),5.15(s,1H),3.80-3.65(m,2H),3.60(s,3H),2.30-2.03(m,3H),2.02-1.93(m,1H),1.92-1.78(m,2H),1.70(d,J=13.4Hz,1H),1.58(dd,J=14.4,6.2Hz,1H),1.05(s,3H)。

[0448] 甲基((1R,6R,E)-6-(((4-(((2S)-1-(((2S)-1-(((4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙烷-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)(甲基)氨基甲酰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酰基)氧基)-1-甲基环辛-4-烯-1-羰基)甘氨酸酯(1.6)。步骤-5:向化合物1.5(40mg,0.07mmol,1.0eq.)和(2S)-N-((4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙烷-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰氨基)丁酰胺(50mg,0.07mmol,1.0eq)和HOBt(27mg,0.14mmol,2.0eq.;80%纯)在DMF(1.0mL)中的溶液中,添加DIPEA(14mg,0.14mmol,2.0eq.)。将混合物在室温搅拌过夜并通过LCMS进行监测。消耗化合物1.5后,将混合物直接加载到C18匣(25g,Agela)上,并用乙腈和水(0至100%;化合物洗脱出约65%)的阶式梯度进行纯化。收集馏分并部分浓缩以除去大部分乙腈并直接将其用于下一步而无需完全干燥。(+esi)  $[M+H]^+ = 1248.6$ 。

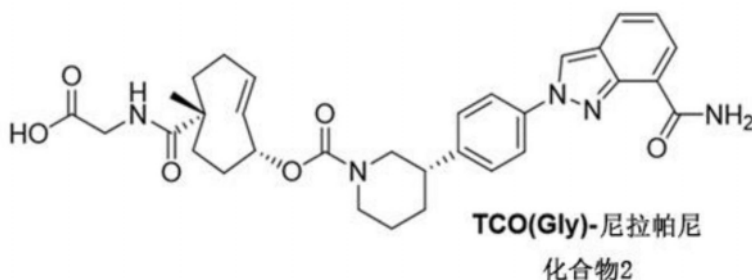
[0449] ((1R,6R,E)-6-(((4-(((2S)-1-(((2S)-1-(((4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙烷-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-

3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)(甲基)氨基甲酰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酰基)氧基)-1-甲基环辛-4-烯-1-羰基)甘氨酸(TCO(Gly)-PABC-MMAE)。步骤-6:将来自上述步骤的水中的化合物1.6用MeOH(3.0mL)稀释。向混合物中添加LiOH(7mg,0.28mmol,4eq.)。将混合物在室温搅拌1h并通过LCMS进行监测。反应完成后,将混合物部分浓缩以除去大部分MeOH并用HCl(1N)酸化至pH 3以观察到粘性固体。将水溶液用EtOAc(10mL)萃取四次。将合并的有机层用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩。将产物转移至40mL小瓶中并重新溶解在乙腈和水的混合物(1:1;8mL)中并冻干,得到45mg(两步产率57%)的((1R,6R,E)-6-(((4-((((2S)-1-(((2S)-1-(((4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙烷-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)(甲基)氨基甲酰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酰基)氧基)-1-甲基环辛-4-烯-1-羰基)甘氨酸。(+esi)[M+H]<sup>-</sup>=1134.8。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,甲醇-d<sub>4</sub>)δ7.98-7.71(m,2H),7.57-7.44(m,2H),7.44-7.27(m,4H),7.26-7.16(m,1H),6.10-5.97(m,1H),5.74(d,J=16.7Hz,1H),5.26-5.12(m,3H),5.06(d,J=13.2Hz,1H),4.80-4.50(m,5H),4.45-4.15(m,4H),4.13-4.02(m,1H),3.91-3.65(m,5H),3.61-3.39(m,5H),3.36(s,3H),3.25-3.08(m,2H),3.02-2.85(m,2H),2.60-2.38(m,2H),2.36-2.13(m,4H),2.13-1.77(m,6H),1.77-1.53(m,3H),1.51-1.26(m,5H),1.26-1.09(m,8H),1.09-0.69(m,15H)。

[0450] 实例2:TCO(gly)-尼拉帕利(化合物2)的合成



[0451]

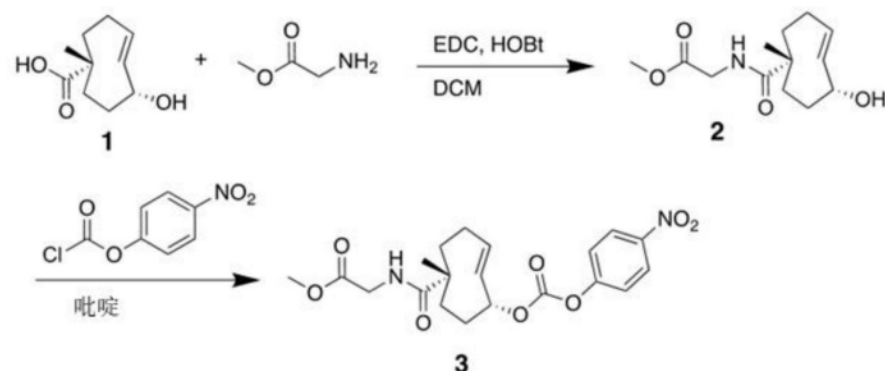


[0452] ((1R,6R,E)-6-((2-甲氧基-2-氧代乙基)氨基甲酰基)-6-甲基环辛-2-烯-1-基(s)-3-(4-(7-氨基甲酰基-2H-吡唑-2-基)苯基)哌啶-1-羧酸甘氨酸酯(2.1)。步骤-1:向化合物-1.3(39mg,0.09mmol,1.0eq.)、尼拉帕利(30mg,0.09mmol,1.0eq.)和HOBT(111mg,0.66,2.0eq)在DMF(1.0mL)中的溶液中顺序添加DIEA(12mg,0.19mmol,2.0eq.)。将混合物在室温搅拌过夜并通过LCMS进行监测。反应完成后,将混合物直接加载到C18快速色谱法(12g,ISCO)中,利用水中的乙腈的分阶式梯度(0至100%,持续12min;以水中的~70%乙腈洗脱出产物)。收集馏分并部分浓缩以除去大部分乙腈并直接将其用于下一步而无需完全干燥。(+ESI)[M+H]<sup>+</sup>=602.6。

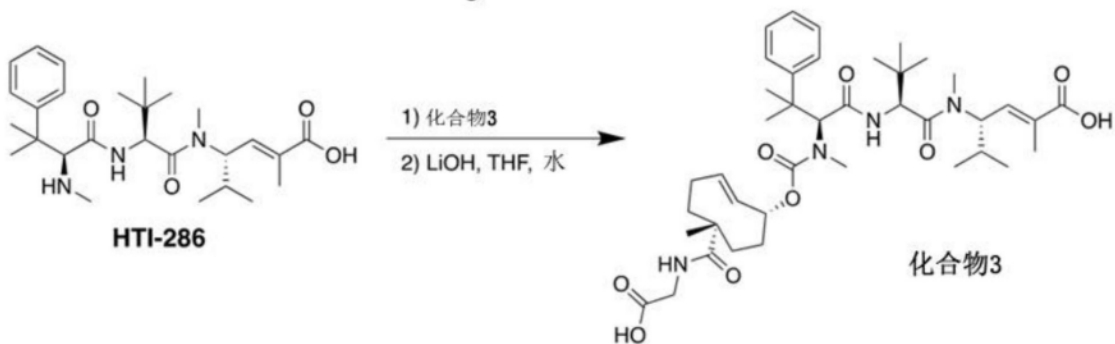
[0453] ((1R,6R,E)-6-(((S)-3-(4-(7-氨基甲酰基-2H-吡唑-2-基)苯基)哌啶-1-羰基)

氧基)-1-甲基环辛-4-烯-1-羧基)甘氨酸(TCO(Gly)-尼拉帕利)。步骤-2:将来自上述步骤的水中的化合物2.1用MeOH(3.0mL)稀释。向混合物中添加LiOH(9mg,0.37mmol,4eq.)。将混合物在室温搅拌1h并通过LCMS进行监测。反应完成后,将混合物部分浓缩以除去大部分MeOH并用HCl(1N)酸化至pH 3。收集沉淀物并干燥,得到40mg(两步产率73%)的白色粉末状((1R,6R,E)-6-(((4-(((2S)-1-(((2S)-1-(((4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙烷-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)(甲基)氨基甲酰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酰基)氧基)-1-甲基环辛-4-烯-1-羧基)甘氨酸。(esi)  $[M+H]^+ = 588.7$ 。 $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  9.03 (s, 1H), 8.19 (d, J=7.0Hz, 1H), 8.06 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.75-7.62 (m, 1H), 7.57 (s, 2H), 7.29 (t, J=7.7Hz, 1H), 5.92 (s, 1H), 5.75 (d, J=16.7Hz, 1H), 5.22 (s, 1H), 4.43-4.08 (m, 3H), 3.81 (d, J=15.3Hz, 2H), 3.23-2.79 (m, 4H), 2.33 (s, 2H), 2.25-1.80 (m, 6H), 1.80-1.53 (m, 2H), 1.18 (s, 3H)。

[0454] 实例3: Gly-TCO-HTI-286缀合物(化合物3)



[0455]



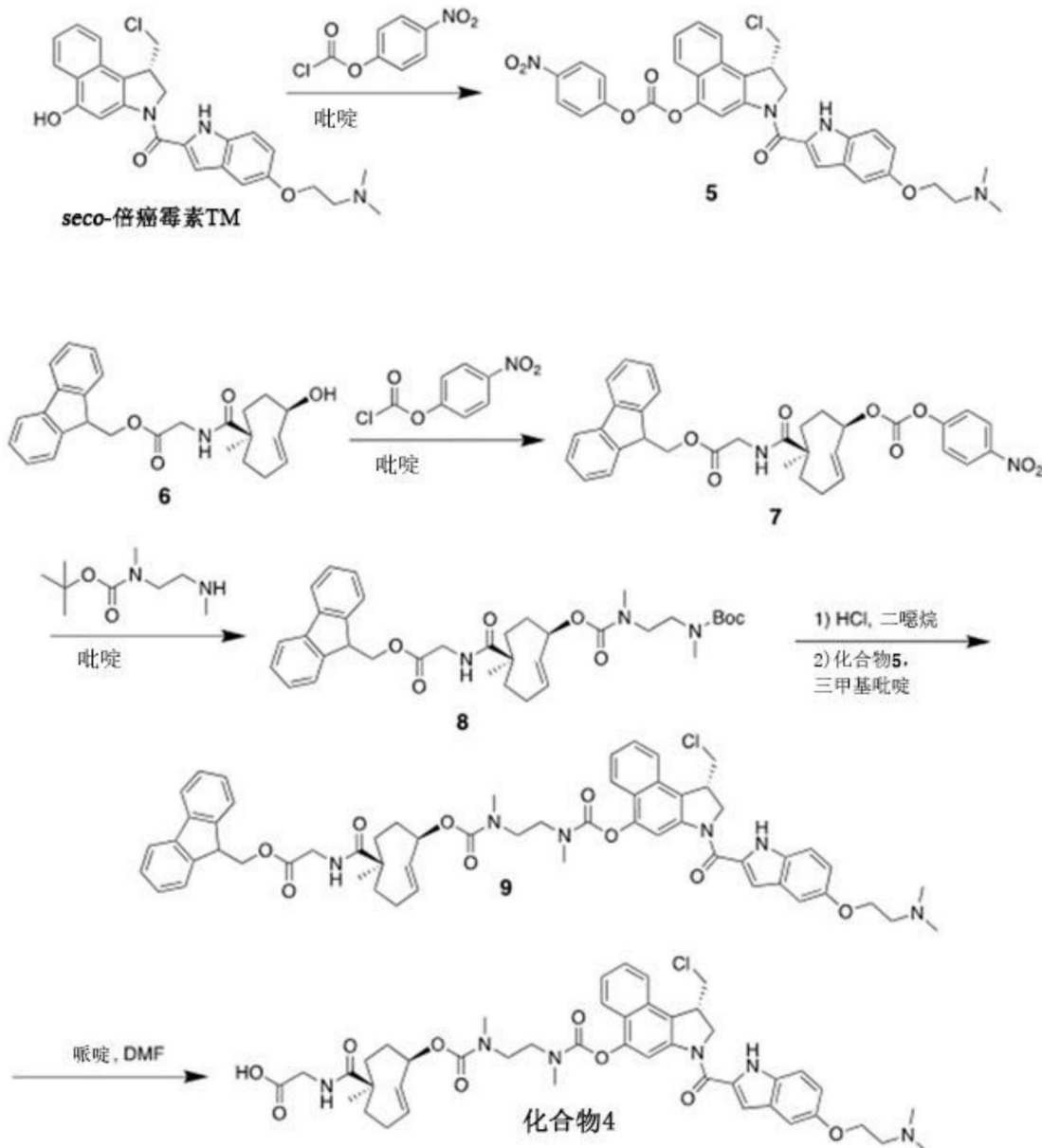
[0456] Gly(OMe)-TCO(2)。将反式环辛烯1、甘氨酸甲酯、DIPEA和HOBT在DCM中的溶液装入配有磁力搅拌棒的圆底烧瓶中。向该溶液中添加EDC并且将所得混合物在环境温度搅拌1h。通过HPLC观察到起始材料被消耗。将反应混合物在乙酸乙酯与柠檬酸盐缓冲液(pH 4.5)之间分配。然后将有机层用柠檬酸盐缓冲液(2x)洗涤,随后用碳酸氢钠(2x)和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤,且将滤液在减压下浓缩。将所得残余物通过快速色谱法纯化,得到中间体2。

[0457] Gly(OMe)-TCO-碳酸对硝基苯酯(3)。将中间体2和吡啶在DCM中的溶液装入配有磁力搅拌棒的圆底烧瓶中。向该溶液中添加氯甲酸对硝基苯酯并且将所得混合物在环境温度搅拌。通过HPLC观察到起始材料被消耗。将反应混合物在乙酸乙酯与柠檬酸盐缓冲液(pH 4.5)之间分配。然后将有机层用柠檬酸盐缓冲液(2x)洗涤,随后用碳酸氢钠(3x)和盐水洗

涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤,且将滤液在减压下浓缩。将所得残余物通过快速色谱法纯化,得到碳酸酯3。

[0458] Gly-TCO-HTI-286 (4)。向配有磁力搅拌棒的圆底烧瓶中的HTI-286和吡啶在DMF中的溶液中添加碳酸酯3。将反应混合物在环境温度搅拌直至起始原料被消耗,如通过HPLC所监测的。向反应混合物中添加氢氧化锂(在水中的溶液)和THF。将混合物在环境温度再搅拌一时间段。然后将反应混合物在减压下浓缩并且将所得残余物通过反相色谱法(10-100% MeCN/水,含有0.1%甲酸)纯化,得到所期望产物化合物3。

[0459] 实例4:Gly-TCO-spacelink-Duo™缀合物(化合物4)



[0461] Seco-倍癌毒素TM-PNP碳酸酯(5)。向*seco*-倍癌毒素TM在DCM中的溶液中添加吡啶和氯甲酸对硝基苯酯。将反应混合物在环境温度搅拌直至起始原料被消耗,如通过HPLC所监测的。然后将反应混合物在乙酸乙酯与柠檬酸盐缓冲液之间分配。将有机层用柠檬酸盐缓冲液(2x)洗涤,随后用碳酸氢钠(3x)和盐水洗涤。然后将有机层经硫酸钠干燥,过滤,并将滤液在减压下浓缩,得到碳酸酯5,其无需进一步纯化即可使用。

[0462] Gly(OFm)-TCO-碳酸对硝基苯酯(7)。将醇6和吡啶在DCM中的溶液装入配有磁力搅拌棒的圆底烧瓶中。向该溶液中添加氯甲酸对硝基苯酯并且将所得混合物在环境温度搅拌。通过HPLC观察到起始材料被消耗。然后将反应混合物在乙酸乙酯与缓冲液(pH4.5)之间分配。将有机层用柠檬酸盐缓冲液(2x)洗涤,随后用碳酸氢钠(3x)和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤,且将滤液在减压下浓缩。将所得残余物通过快速色谱法纯化,得到碳酸酯7。

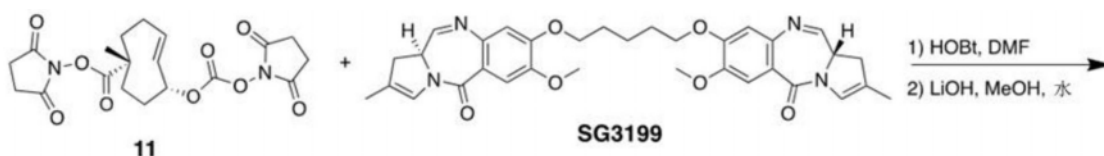
[0463] Gly(OFm)-TCO-N-Boc-spacelink氨基甲酸酯(8)。将碳酸酯7和吡啶在DCM中的溶液装入配有磁力搅拌棒的圆底烧瓶中。向该溶液中添加N-Boc-N,N'-二甲基-1,2-二氨基乙烷,并且将所得混合物在环境温度搅拌。通过HPLC观察到起始材料被消耗。然后将反应混合物在乙酸乙酯与柠檬酸盐缓冲液(pH 4.5)之间分配。将有机层用柠檬酸盐缓冲液(2x)洗涤,随后用碳酸氢钠(3x)和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤,且将滤液在减压下浓缩。将所得残余物通过快速色谱法纯化,得到氨基甲酸酯8。

[0464] Gly(OFm)-TCO-spacelink-Duo™(9)。将氨基甲酸酯8在二噁烷中的溶液装入配有磁力搅拌棒的圆底烧瓶中。向该溶液中添加HCl(4M,在二噁烷中),并且将所得混合物在环境温度搅拌。通过HPLC观察到起始材料被消耗。然后将反应混合物在减压下浓缩,并且所得残余物无需进一步纯化即可使用。

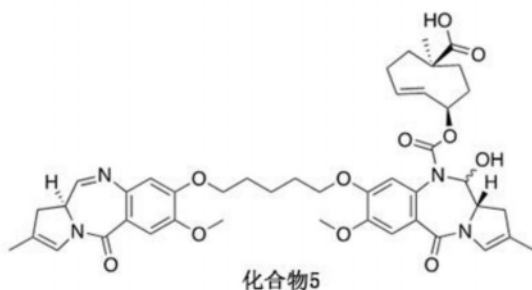
[0465] 将残余物重新悬浮在DCM中并且将碳酸酯5添加至溶液中。向混合物中添加2,6-二甲基吡啶,并且将所得反应混合物在环境温度搅拌直至碳酸酯耗尽。然后将反应混合物在减压下浓缩,并且将所得残余物通过快速色谱法纯化,得到氨基甲酸酯9。

[0466] Gly-TCO-spacelink-Duo™(10)。将氨基甲酸酯9在DMF中的溶液装入配有磁力搅拌棒的圆底烧瓶中。向该溶液中添加哌啶并且将所得混合物在环境温度搅拌。通过HPLC观察到起始材料被消耗。然后将反应混合物在减压下浓缩并且将所得残余物通过反相色谱法(10-100%MeCN/水,含有0.1%甲酸)纯化,得到所期望产物化合物4。

[0467] 实例5:TCO-PBD缀合物(化合物5)



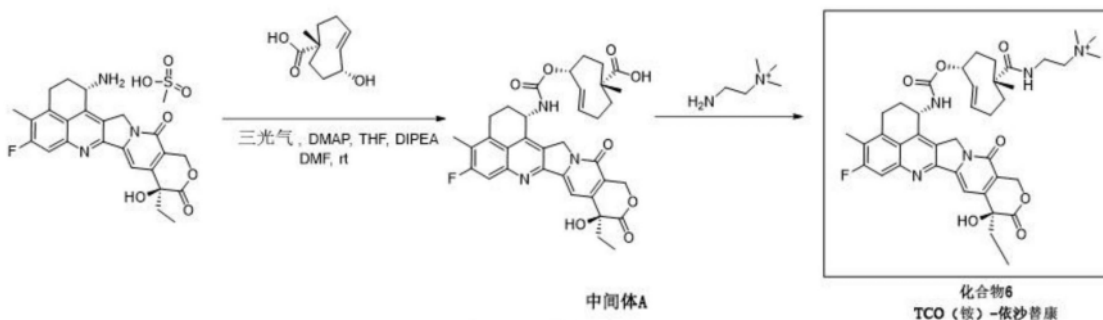
[0468]



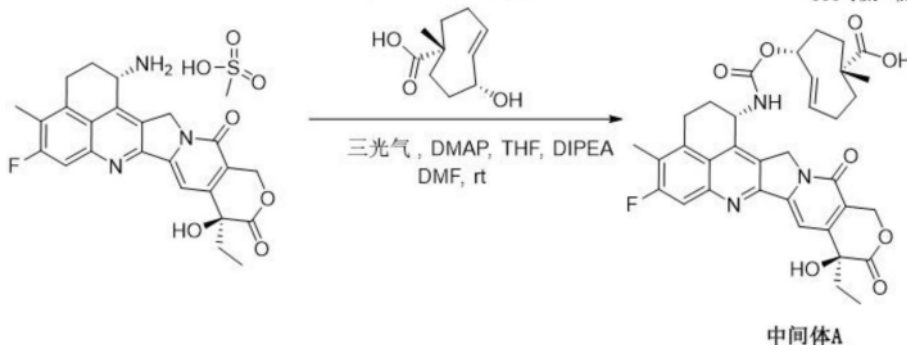
[0469] TCO-PBD(12)。向SG3199在DMF中的溶液中添加双-NHS-TCO 11和HOBT。将反应混合物在环境温度避光搅拌直至起始材料被消耗。向反应混合物中添加氢氧化锂(在水中的溶液)和甲醇,并且将所得溶液在环境温度再搅拌一段时间。然后将反应混合物在减压下浓缩并且将所得残余物通过反相色谱法(10-100%MeCN/水,含有0.1%甲酸铵)纯化,得到所期

望产物化合物5。

[0470] 实例6:TCO(铵)-依沙替康缀合物(化合物6)

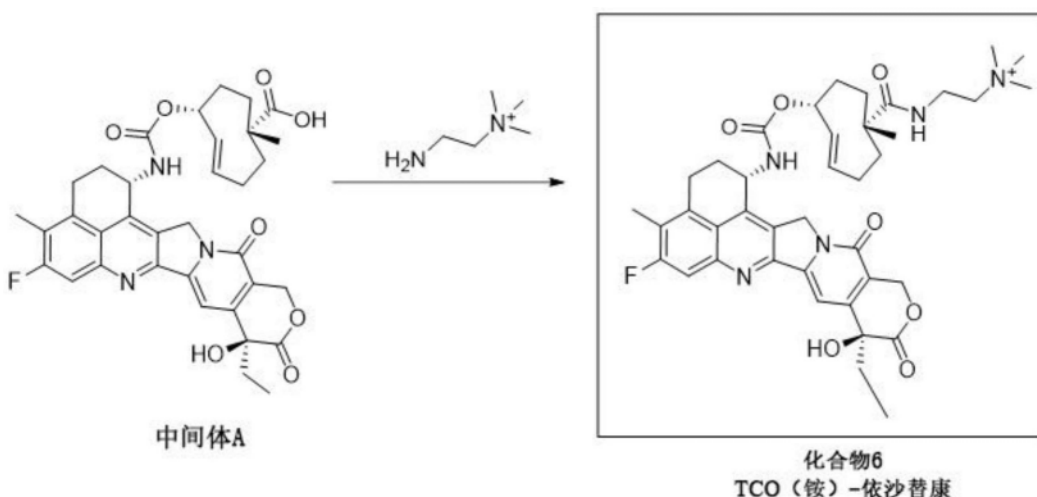


[0471]



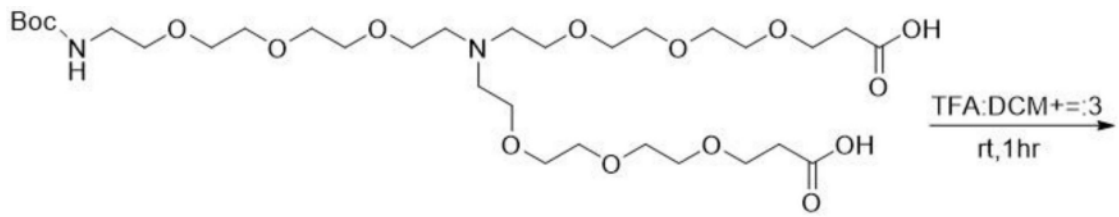
[0472] 向三光气(177mg, 0.6mmol)在THF(10mL)中的混合物中添加(1R,6R,E)-6-羟基-1-甲基环辛-4-烯-1-羧酸(220mg, 1.20mmol)和DMAP(292mg, 2.40mmol)。将混合物在室温搅拌30min。将混合物添加到(1S,9S)-1-氨基-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]中氮茚并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮甲磺酸酯(700mg, 1.32mmol)和DIPEA(510mg, 3.96mmol)在DMF(10mL)中的混合物中。将所得混合物在室温搅拌12hr。将混合物浓缩并通过制备型HPLC(CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O(FA))0%至70%纯化,得到中间体A(110mg, 产率14%)。LCMS: (m/z, C<sub>35</sub>H<sub>36</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>8</sub>) = 646.3[M+H]<sup>+</sup>

[0473]

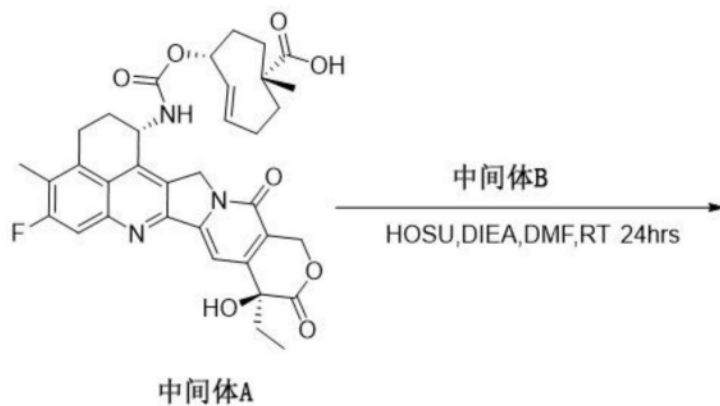
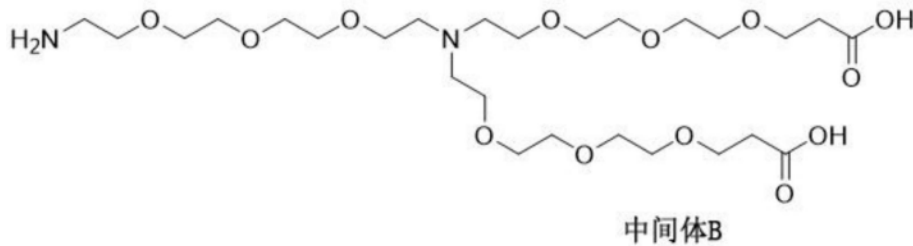


[0474] 向中间体A(65mg, 100μmol)和HOSU(18mg, 150μmol)在DMF(5mL)中的溶液中添加DIEA(38mg, 300μmol)。将混合物在室温搅拌30min,且然后添加2-氨基-N,N,N-三甲基乙-1-铵(21mg, 110μmol)。将混合物在25℃再搅拌24hr。将混合物浓缩并通过制备型HPLC(CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O, 含0.01%甲酸)0%至70%纯化,得到化合物6(21mg, 29%)。

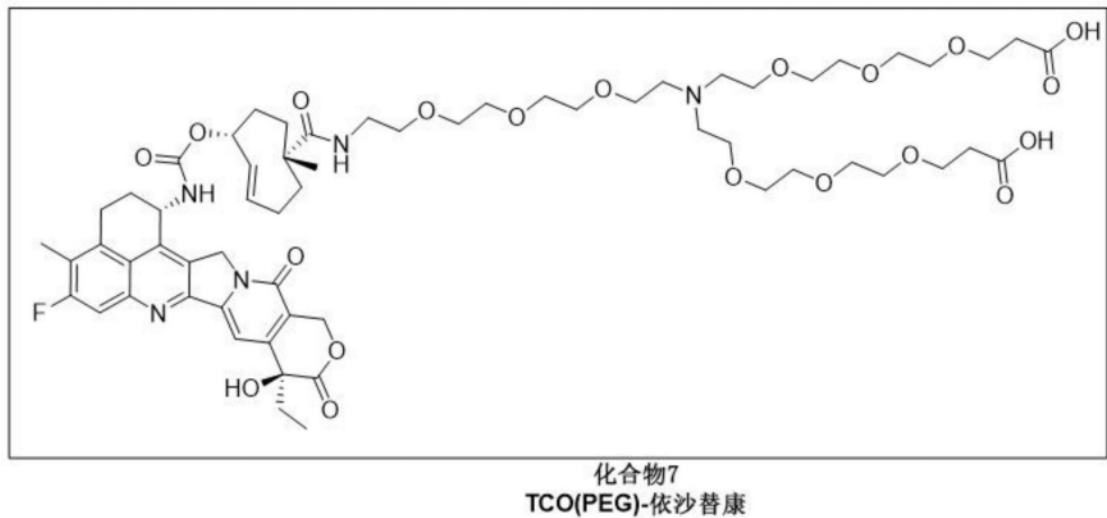
[0475] 实例7:TCO(PEG)-依沙替康缀合物(化合物7)



[0476]

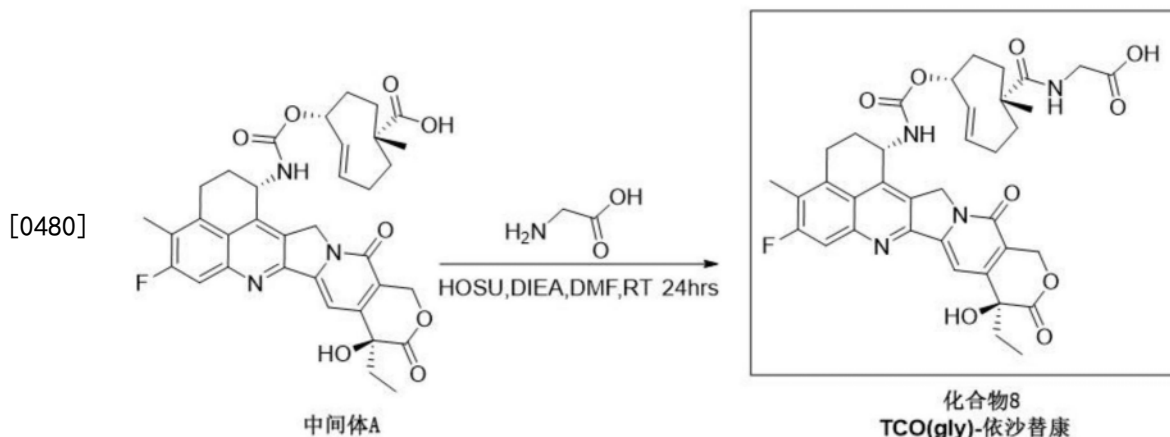


[0477]



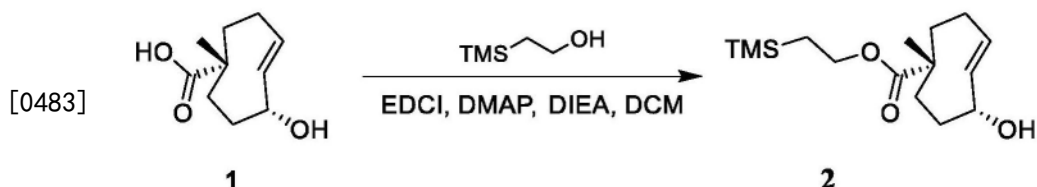
[0478] 将13-(2,2-二甲基-4-氧代-3,8,11,14-四氧杂-5-氮杂十六烷-16-基)-4,7,10,16,19,22-六氧杂-13-氮杂二十五烷二酸(42mg, 60 $\mu$ mol)在TEA:DCM(1:5)(5mL)中的溶液在0 $^{\circ}$ C搅拌1hr。将混合物浓缩,得到粗中间体B。然后向中间体A(65mg, 100 $\mu$ mol)和HOSU(18mg, 150 $\mu$ mol)在DMF(5mL)中的溶液中添加DIEA(38mg, 300 $\mu$ mol)。将混合物在25 $^{\circ}$ C搅拌30min。然后添加上述粗中间体B(21mg, 110 $\mu$ mol)。将混合物在25 $^{\circ}$ C搅拌24hr。将混合物浓缩并通过制备型HPLC(CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O, 含0.05% TFA)(0%至70%)纯化,得到化合物7(20mg, 27.2%)。

[0479] 实例8:TCO(gly)-依沙替康缀合物(化合物8)



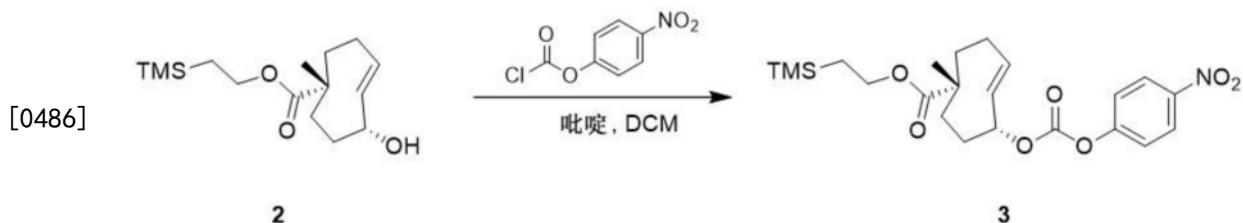
[0481] 向中间体A (65mg, 100 $\mu$ mol) 和HOSU (18mg, 150 $\mu$ mol) 在DMF (5mL) 中的溶液中添加DIEA (38mg, 300 $\mu$ mol)。将混合物在25 $^{\circ}$ C搅拌30min。然后添加甘氨酸 (16mg, 200 $\mu$ mol) 和NaHCO<sub>3</sub> (17mg, 200 $\mu$ mol)。将混合物在25 $^{\circ}$ C搅拌5hr。将混合物浓缩并通过制备型HPLC (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O, 含0.01%甲酸) 0%至70%) 纯化, 得到化合物8 (32mg, 45.2%)。

[0482] 实例9:TCO-PABC-spacelink-依托泊苷(化合物9)



[0484] 在0 $^{\circ}$ C向1 (1.70g, 9.23mmol) 在DCM (20.0mL) 中的溶液中添加2-三甲基甲硅烷基乙醇 (1.64g, 13.8mmol) 和DMAP (1.69g, 13.8mmol)、EDCI (2.65g, 13.8mmol)、DIEA (1.79g, 13.8mmol)。将混合物在25 $^{\circ}$ C搅拌16hr。TLC (石油醚:乙酸乙酯=1:1, R<sub>f</sub>=0.4) 表明化合物1被完全消耗。将反应混合物在减压下浓缩以去除溶剂。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=5/1) 纯化。获得中间体2 (1.80g, 68.6%产率)。

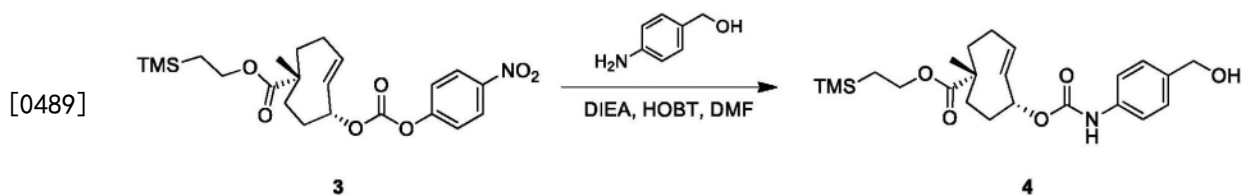
[0485] <sup>1</sup>H NMR: (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ 6.15-6.00 (m, 1H), 5.63 (dd, J=2.0, 16.4Hz, 1H), 4.48 (s, 1H), 4.13-4.08 (m, 2H), 2.31-2.15 (m, 3H), 1.94-1.81 (m, 4H), 1.58-1.56 (m, 2H), 1.09 (s, 3H), 0.98-0.94 (m, 2H), 0.03 (s, 9H)。



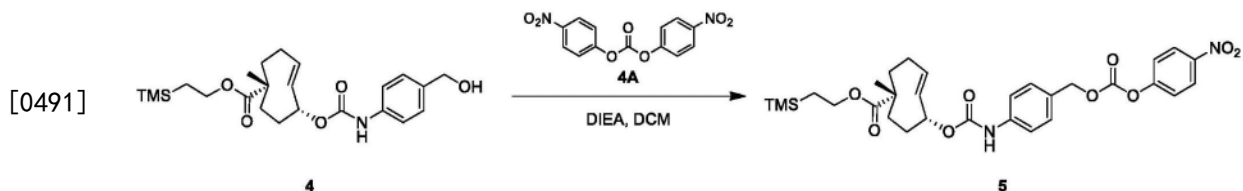
[0487] 向中间体2 (1.80g, 6.33mmol) 在DCM (40.0mL) 中的溶液中添加(4-硝基苯基)碳酰氯 (5.10g, 25.3mmol) 和吡啶 (2.50g, 31.6mmol)。将混合物在25 $^{\circ}$ C搅拌12hr。TLC (石油醚:乙酸乙酯=3:1, R<sub>f</sub>=0.4) 表明中间体2被完全消耗并且形成主要的新斑点。将反应混合物在减压下浓缩以去除溶剂。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=3/1) 纯化。获得中间体3 (1.80g, 63.3%产率)。

[0488] <sup>1</sup>H NMR: (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ 8.29 (dd, J=9.2, 3.2Hz, 2H), 7.40 (dd, J=9.2, 2.8Hz,

2H), 6.11-6.03 (m, 1H), 5.64 (dd,  $J=2.4, 16.4\text{Hz}$ , 1H), 5.29 (s, 1H), 4.15-4.10 (m, 2H), 2.40-2.17 (m, 4H), 1.98-1.92 (m, 3H), 1.71-1.65 (m, 1H), 1.14 (s, 3H), 1.03-0.95 (m, 2H), 0.09 (s, 9H)。

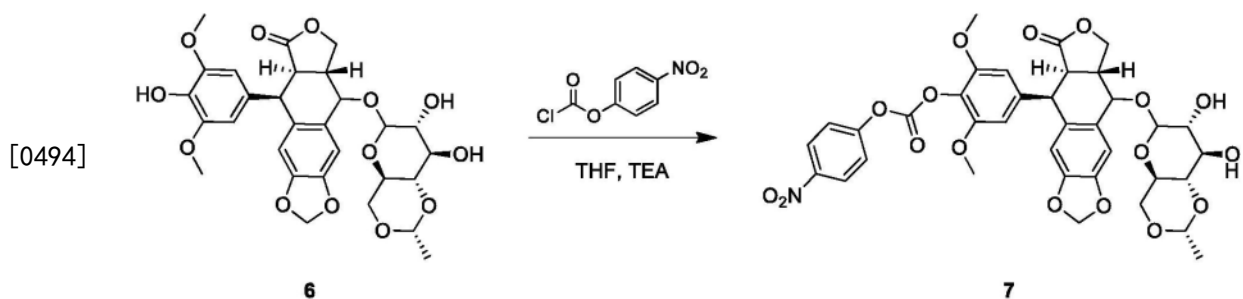


[0490] 向(4-氨基苯基)甲醇(2.47g, 20.0mmol)在DMF(15.0mL)中的溶液中添加HOBT(811mg, 6.01mmol)、DIEA(2.59g, 20.0mmol)和中间体3(1.80g, 4.00mmol)。将混合物在20℃搅拌12hr。TLC(石油醚:乙酸乙酯=3:1,  $R_f=0.2$ )表明中间体3完全消耗并且形成一个主要的新斑点。将反应混合物在减压下浓缩以去除溶剂。将残余物用 $\text{H}_2\text{O}$ (100mL)稀释并用EtOAc(30.0mL\*4)萃取,将合并的有机相用盐水(30.0mL)洗涤并经无水硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩,得到残余物。将残余物通过柱色谱法( $\text{SiO}_2$ , 石油醚/乙酸乙酯=5/1至3/1)纯化。获得中间体4(1.60g, 92.2%产率)。



[0492] 向中间体4(1.40g, 3.23mmol)在DCM(20.0mL)中的溶液中添加DIEA(1.25g, 9.69mmol)和4A(1.96g, 6.46mmol)。将混合物在25℃搅拌2hr。LCMS(ES20203-16-P1C, 产物:  $RT=1.214\text{min}$ )显示检测到具有期望质量的主峰。将混合物用DCM(100mL)稀释,用1M HCl(30.0mL\*2)和盐水(20.0mL\*2)洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法( $\text{SiO}_2$ , 石油醚/乙酸乙酯=10/1至5/1)纯化。获得中间体5(1.40g, 67.2%产率)。

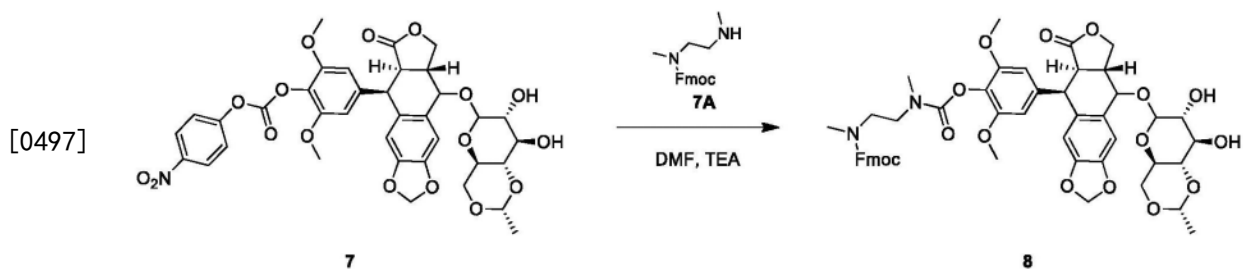
[0493]  $^1\text{H NMR}$ : (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.30-8.26 (m, 2H), 7.48-7.36 (m, 6H), 6.79 (s, 1H), 6.01-5.93 (m, 1H), 5.66 (dd,  $J=2.8, 16.8\text{Hz}$ , 1H), 5.30 (s, 1H), 5.26 (s, 2H), 4.15-4.11 (m, 2H), 2.32-2.21 (m, 2H), 2.21-2.13 (m, 2H), 1.93-1.81 (m, 3H), 1.70-1.61 (m, 1H), 1.14 (s, 3H), 1.03-0.96 (m, 2H), 0.05 (s, 9H)。



[0495] 向中间体6(2.00g, 3.40mmol)在THF(70.0mL)中的溶液中添加TEA(5.16g, 51.0mmol)和(4-硝基苯基)氯甲酸酯(1.03g, 5.10mmol) THF(30.0mL)。将混合物在25℃搅拌2hr。LCMS(ES19514-19-p2a2, 产物:  $RT=0.866\text{min}$ )显示检测到具有期望质量的主峰。将混合物用200mL异丙醚处理,且然后将混合物过滤,并且收集滤饼,得到产物。粗产物无需进

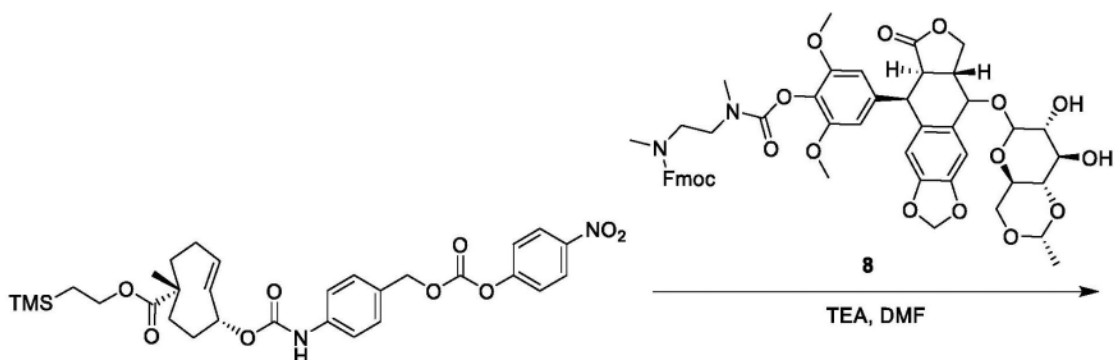
一步纯化即可用于下一步骤。获得中间体7 (2.00g, 粗品)。

[0496] LCMS:  $[M+H]^+$ +754.0

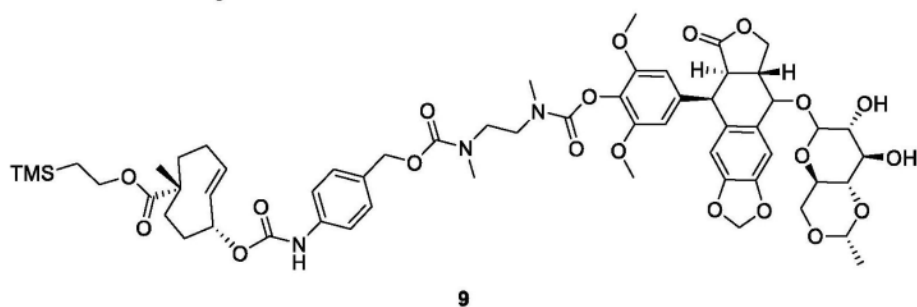


[0498] 向中间7 (1.00g, 930 $\mu$ mol) 和7A (432mg, 1.39mmol) 在DMF (10.0mL) 中的溶液中添加 TEA (188mg, 1.86mmol)。将混合物在25 $^{\circ}$ C 搅拌0.5hr。LCMS (ES20203-20-P1B, 产物: RT=1.005min) 显示检测到具有所期望质量的主峰。将混合物倒入水 (100mL) 中, 分离出固体, 且然后将混合物过滤, 并且将固体用水 (20.0mL\*2) 洗涤并用EtOAc (60.0mL) 溶解, 且将有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=20/1至5/1) 纯化。获得中间体8 (600mg, 69.8% 产率)。

[0499] LCMS:  $[M+H]^+$ +925.3

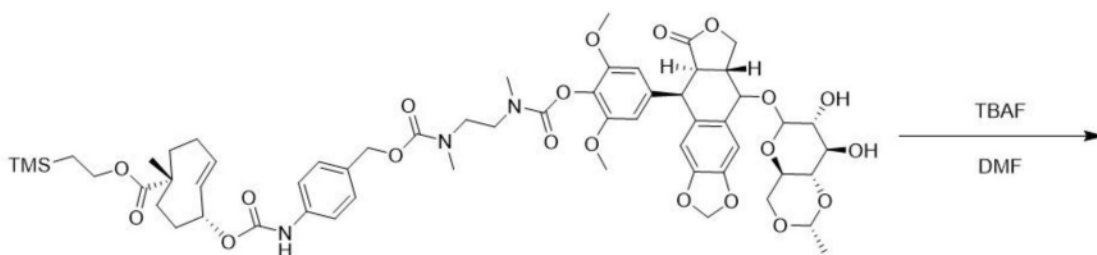


[0500]



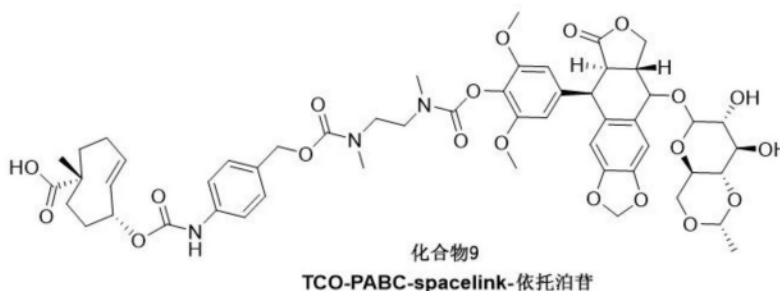
[0501] 在20 $^{\circ}$ C 向中间体5 (170mg, 280 $\mu$ mol)、中间体8 (300mg, 260 $\mu$ mol) 在DMF (5.0mL) 中的混合物中添加TEA (363mg, 3.59mmol)。将混合物在20 $^{\circ}$ C 搅拌12hr。LCMS (ES20203-21-P1A, 产物: RT=1.093min) 显示检测到具有所期望质量的主峰。将混合物过滤并且将滤液通过制备型HPLC (Welch XB-C18 7 $\mu$ m 110  $\text{\AA}$  250\*50mm; 流动相: [水 (0.01mol/L NH<sub>3</sub>HCO<sub>3</sub> 在H<sub>2</sub>O中) - ACN]; B%: 55% 至75%, 保留时间: 37min, 流速60mL/min) 纯化。获得中间体9 (180mg, 59.7% 产率)。

[0502] 注: 中间体8的Fmoc基团原位去除, 并且使所得胺与碳酸硝基苯酯一锅反应。



9

[0503]

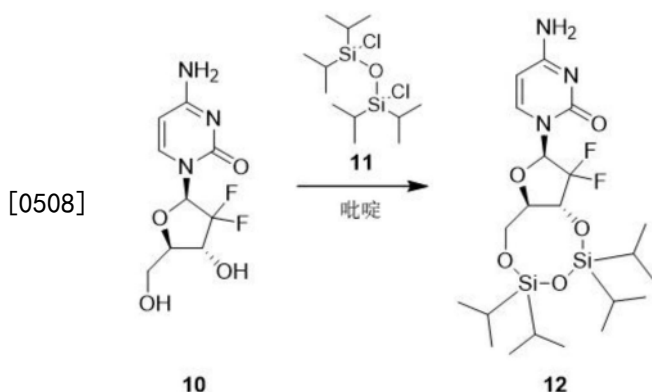


[0504] 在20℃向中间体9 (300mg, 258 $\mu$ mol) 在DMF (10.0mL) 中的混合物中添加TBAF (1M, 1.29mmol)。将混合物在20℃搅拌3hr。LCMS显示检测到具有期望质量的主峰。将混合物过滤并通过制备型HPLC (Welch XB-C18 7 $\mu$ m110 Å 250\*50mm; 流动相: [水 (0.1% TFA在H<sub>2</sub>O中) - ACN]; B% : 38% 至58%, 保留时间: 20min, 20mL/min) 纯化。获得化合物9 (120mg, 41.8% 产率)

[0505] LCMS: [M+Na]<sup>+</sup>1084.3

[0506] <sup>1</sup>H NMR: (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  9.80-9.61 (m, 1H), 7.52-7.38 (m, 2H), 7.34-7.19 (m, 3H), 6.74 (s, 1H), 6.55 (s, 2H), 6.00 (d, J=5.6Hz, 2H), 5.95-5.84 (m, 1H), 5.75-5.65 (m, 1H), 5.15 (s, 1H), 5.00 (s, 2H), 4.75-4.66 (m, 2H), 4.43 (d, J=3.2Hz, 1H), 4.38 (d, J=7.2Hz, 1H), 4.29 (t, J=8.8Hz, 1H), 4.14 (dd, J=3.2, 9.6Hz, 1H), 3.94 (d, J=2.4Hz, 1H), 3.77-3.73 (m, 1H), 3.68 (d, J=4.4Hz, 5H), 3.33 (s, 2H), 3.25 (s, 6H), 2.80 (s, 6H), 2.49-2.40 (m, 2H), 2.26-2.16 (m, 2H), 2.07-1.93 (m, 2H), 1.90-1.78 (m, 3H), 1.63-1.54 (m, 2H), 1.34-1.28 (m, 1H), 1.22 (d, J=5.2Hz, 3H), 1.02 (s, 3H), 0.94 (t, J=7.2Hz, 2H)。

[0507] 实例10: TCO-PABC-吉西他滨 (化合物10)

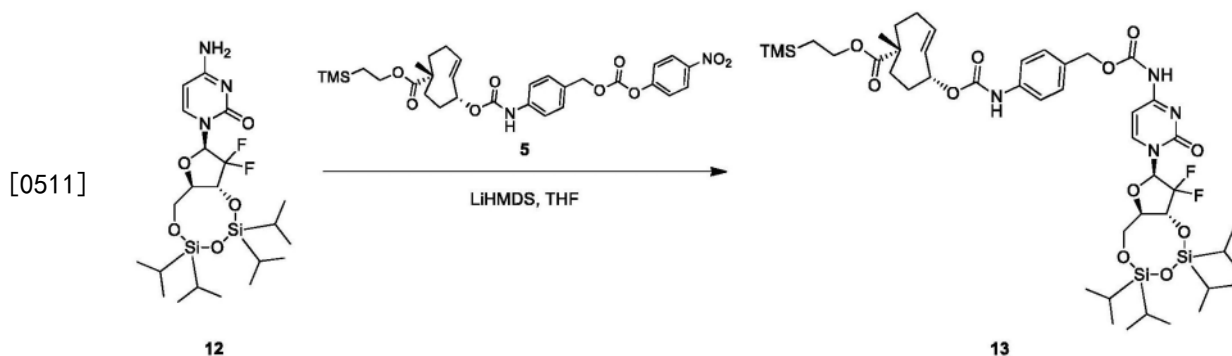


[0508]

[0509] 在0℃向中间体10 (500mg, 1.90mmol) 在吡啶 (30.0mL) 中的溶液中添加化合物11 (629mg, 1.99mmol)。将混合物在25℃搅拌12hr。LCMS表明化合物10完全消耗并且检测到具有期望质量的主峰。将反应混合物在减压下浓缩以去除溶剂。将残余物通过柱色谱法

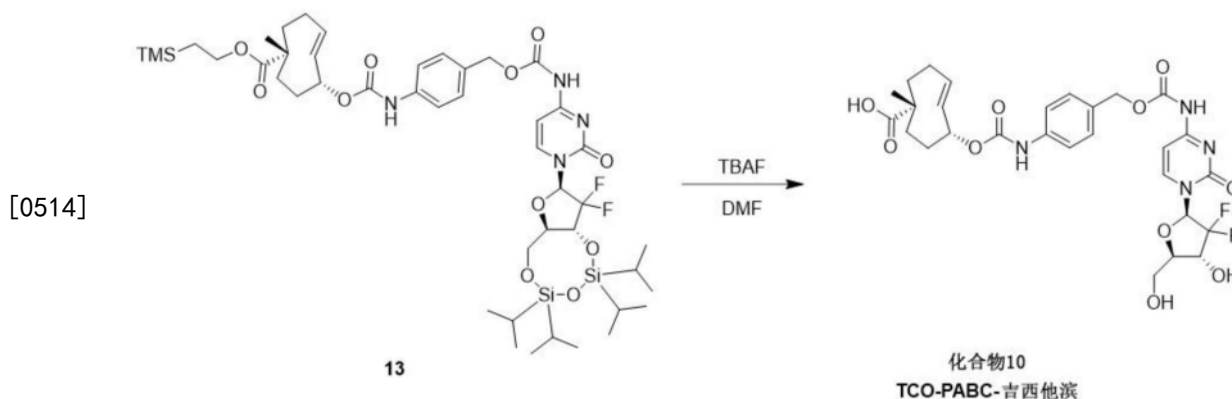
(SiO<sub>2</sub>, DCM/MeOH=20/1) 纯化。获得中间体12(800mg, 83.3%产率)。

[0510] LCMS: [M+H]<sup>+</sup>+506.1



[0512] 在-30℃向中间体12(304mg, 600μmol)和化合物5(300mg, 501μmol)在THF(20.0mL)中的混合物中添加LiHMDS(1M, 1.50mmol)。将混合物在-30℃搅拌0.5hr。然后将化合物5(300mg, 501μmol)在THF(20.0mL)中的溶液滴加到反应中并在-30℃搅拌1hr。LCMS显示检测到具有所期望质量的主峰。将混合物通过添加饱和氯化铵溶液(100mL)来猝灭并用H<sub>2</sub>O(100mL)稀释,将混合物用EtOAc(40.0mL\*3)萃取,将合并的有机相用盐水(20.0mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=20/1至5/1)纯化。获得中间体13(260mg, 53.8%产率)。

[0513] LCMS: [M+Na]<sup>+</sup>+987.3

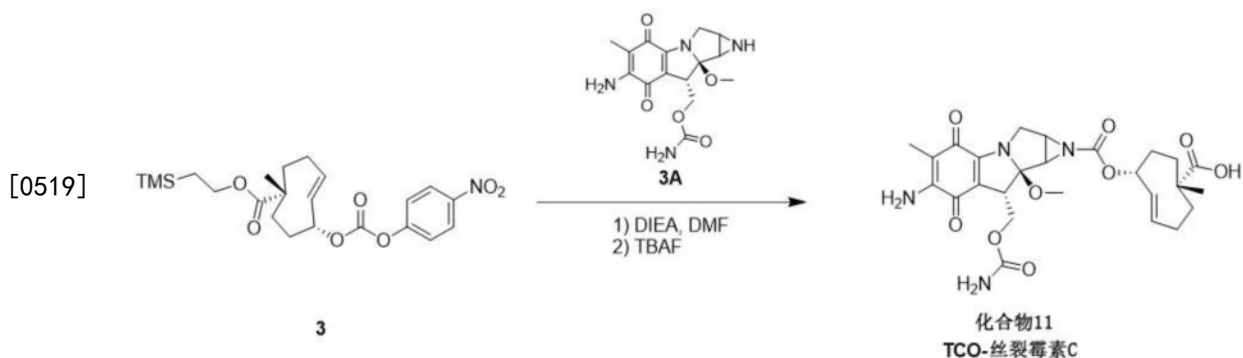


[0515] 在20℃向中间体13(260mg, 270μmol)在DMF(10.0mL)中的混合物中添加TBAF(1M, 2.15mmol)。将混合物在20℃搅拌2hr。LCMS显示检测到具有所期望质量的主峰。将混合物过滤并在减压下浓缩。将残余物通过制备型HPLC(柱:Welch Xtimate C18100\*40mm\*3μm;流动相:[水(TFA)-ACN];B%:26%至66%, 8min)纯化。获得化合物10(105mg, 62.5%产率)

[0516] LCMS: [M+H]<sup>+</sup>+623.2

[0517] HNMR: (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ12.63-11.69 (m, 1H), 11.19-10.72 (m, 1H), 9.91-9.66 (m, 1H), 8.23 (d, J=7.8Hz, 1H), 7.49 (d, J=8.5Hz, 2H), 7.34 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.11 (d, J=7.6Hz, 1H), 6.44-6.24 (m, 1H), 6.20-6.10 (m, 1H), 5.99-5.82 (m, 1H), 5.76-5.65 (m, 1H), 5.16 (s, 1H), 5.12 (s, 2H), 4.29-4.10 (m, 1H), 3.92-3.86 (m, 1H), 3.81 (d, J=13.2Hz, 1H), 3.66 (dd, J=3.6, 12.4Hz, 1H), 2.22 (d, J=6.0Hz, 2H), 2.09-1.78 (m, 6H), 1.65-1.57 (m, 1H), 1.03 (s, 3H)。

[0518] 实例11:TCO-丝裂霉素C(化合物11)

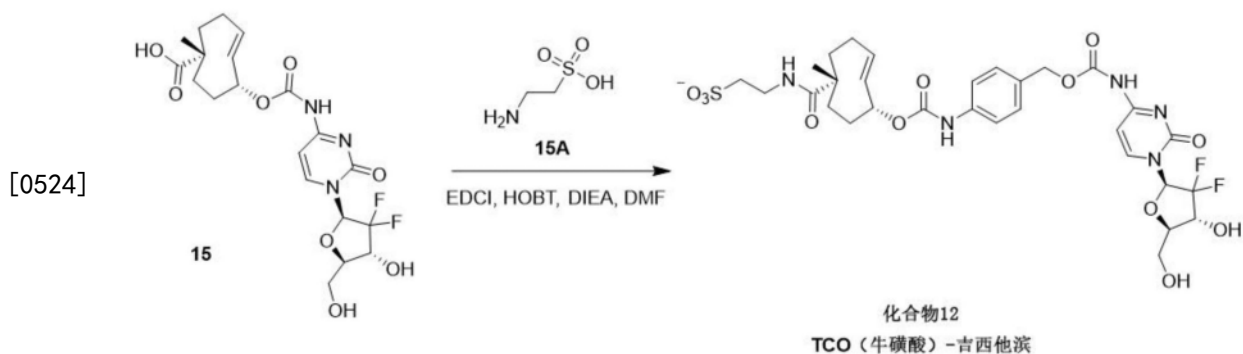


[0520] 在0℃向中间体3A(350mg, 1.05mmol)、DIEA(345mg, 2.67mmol)和DMAP(109mg, 890μmol)在DMF(5.0mL)中的混合物中添加中间体3(400mg, 890μmol)在DMF(5.0mL)中的溶液。将混合物在20℃搅拌12hr。然后在0℃向反应混合物中添加TBAF(1M, 4.45mmol)并在20℃搅拌2hr。LCMS显示检测到具有期望质量的主峰。将反应混合物用冰水(100mL)稀释,然后用DCM(100mL\*4)萃取,并且将有机层干燥,过滤并在减压下浓缩,得到残余物。将水相通过在0℃添加1M HCl 100mL和在0℃添加NaClO溶液100mL来猝灭。将残余物通过制备型HPLC(Welch XB-C18 7μm110 Å 250\*50mm;流动相:[水(0.01mol/L NH<sub>3</sub>HCO<sub>3</sub>在H<sub>2</sub>O中)-ACN];B%:10%至30%-40min,保留时间:20min,20mL/min)纯化。获得化合物11(102mg, 20.8%产率)。

[0521] LCMS: [M+H]<sup>+</sup>545.2

[0522] <sup>1</sup>HNMR: (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ7.25-6.97 (m, 2H), 6.67-6.31 (m, 2H), 5.99-5.79 (m, 1H), 5.65-5.53 (m, 1H), 5.10-5.04 (m, 1H), 5.02-4.95 (m, 1H), 4.35-4.28 (m, 1H), 4.04-3.95 (m, 1H), 3.68 (d, J=4.8Hz, 1H), 3.53 (d, J=6.4Hz, 2H), 3.14 (s, 3H), 2.58-2.56 (m, 1H), 2.24-2.01 (m, 4H), 1.88-1.72 (m, 3H), 1.68 (s, 3H), 1.60-1.52 (m, 1H), 0.97 (s, 3H)。

[0523] 实例12:TCO-(牛磺酸)-吉西他滨(化合物12)

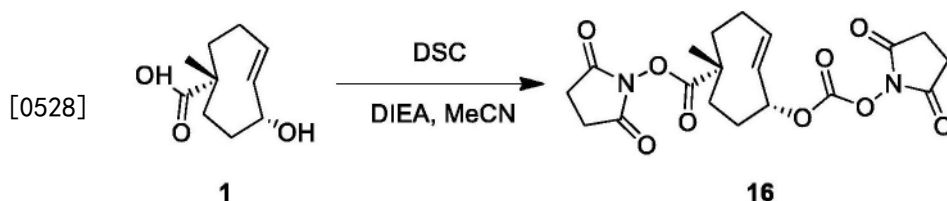


[0525] 在20℃向中间体15(200mg, 422μmol)和中间体15A(106mg, 845μmol)在DMF(2.0mL)中的混合物中添加EDCI(162mg, 845μmol)、HOBT(114mg, 845μmol)和DIEA(164mg, 1.27mmol)。将混合物在20℃搅拌12hr。LCMS显示检测到具有期望质量的主峰。将混合物过滤并在减压下浓缩。将残余物通过制备型HPLC(柱:Welch Xtimate C18 100\*40mm\*3μm;流动相:[水(TFA)-ACN];B%:10%至40%, 8min)纯化。获得化合物12(102mg, 39.8%产率)。

[0526] <sup>1</sup>HNMR: (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.23 (d, J=7.6Hz, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.06 (d, J=7.6Hz, 1H), 6.17 (t, J=7.6Hz, 1H), 5.99-5.86 (m, 1H), 5.68 (d, J=16.4Hz, 1H), 5.16 (s, 1H), 4.27-4.12 (m, 1H), 3.88 (d, J=8.4Hz, 1H), 3.82 (s, 1H), 3.66 (s, 3H), 3.30-3.26 (m, 2H), 2.55 (s, 1H), 2.26-2.14 (m, 2H), 2.11-1.79 (m, 5H), 1.66 (d, J=12.8Hz, 1H), 1.51-1.38 (m, 1H),

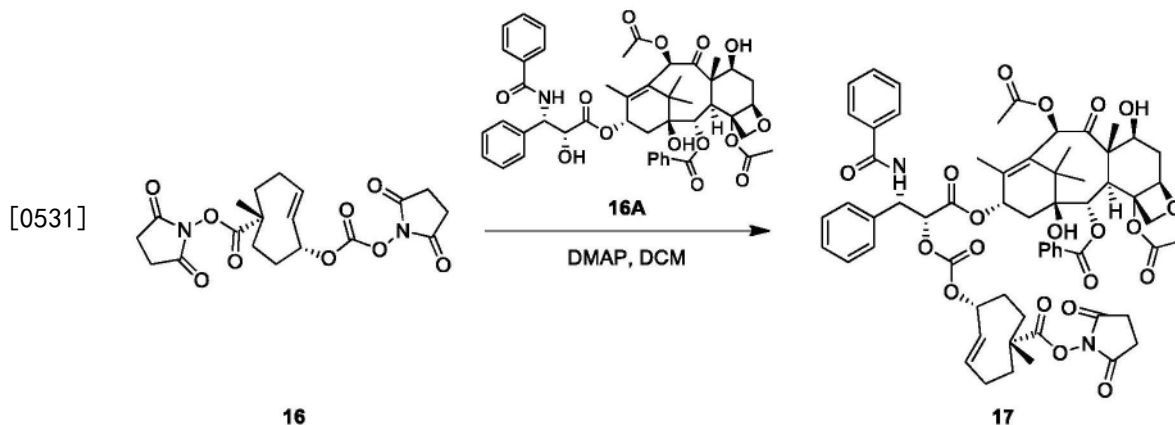
1.31-1.12(m, 1H), 1.00(s, 3H)。

[0527] 实例13:TCO-(牛磺酸)-Ptx(化合物13)

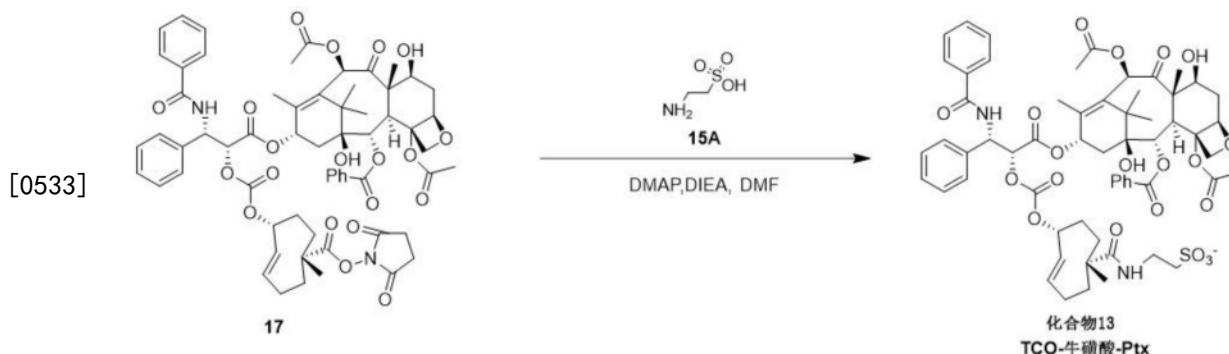


[0529] 将DIEA(491mg, 3.80mmol)添加至化合物1(100mg, 540 $\mu$ mol)和DSC(598mg, 2.33mmol)在MeCN(2.0mL)中的搅拌悬浮液中,并且将混合物在20 $^{\circ}$ C搅拌12hr。TLC(石油醚:乙酸乙酯=1:1,  $R_f$ =0.3)显示形成了主要的新斑点。将混合物倒入水(50.0mL)中,用EA(30.0mL\*3)萃取,将合并的有机相用盐水(30.0mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法(石油醚/乙酸乙酯=10/1至1/1)纯化。获得中间体16(130mg, 56.7%产率)。

[0530]  $^1$ HNMR:(400MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ 6.14-6.01(m, 1H), 5.63(dd,  $J$ =2.4, 16.8Hz, 1H), 5.29(s, 1H), 2.87-2.81(m, 8H), 2.51-2.26(m, 4H), 2.20-1.94(m, 4H), 1.28(s, 3H)。



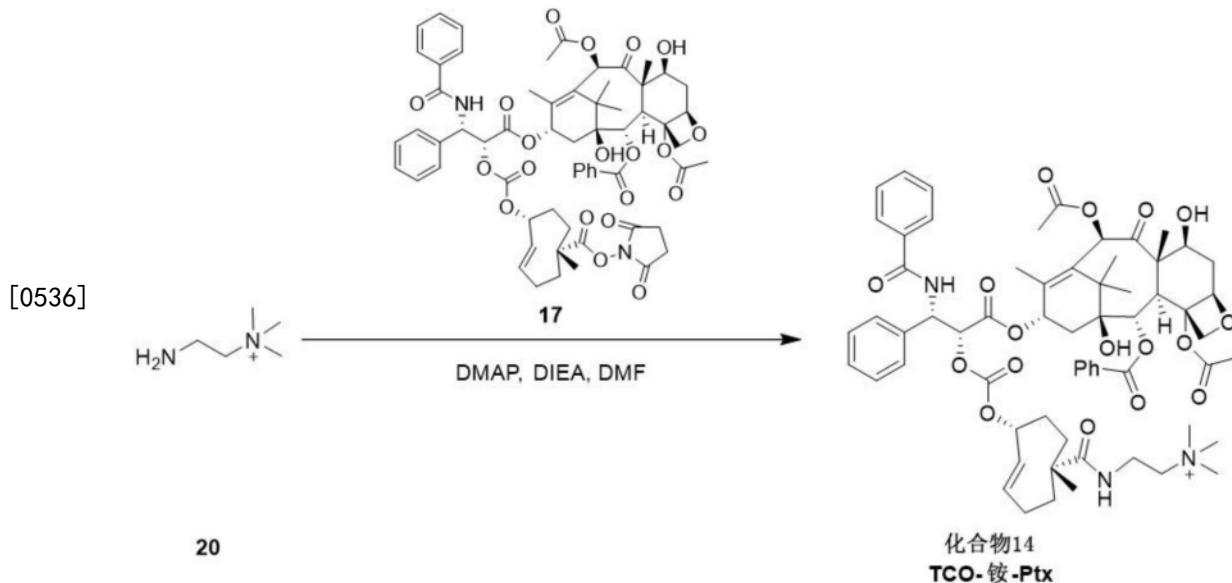
[0532] 向中间体16A(106mg, 124 $\mu$ mol)和DMAP(34.0mg, 275 $\mu$ mol)在DCM(2.0mL)中的混合物中添加中间体16(58.0mg, 137 $\mu$ mol)。将混合物在20 $^{\circ}$ C搅拌12hr。LCMS显示检测到具有所期望质量的主峰。将混合物减压浓缩。将残余物通过制备型TLC(DCM/MeOH=10/1,  $R_f$ =0.4)纯化。获得中间体17(130mg, 79.5%产率)。LCMS:  $[M-CO_2-OSu]^+$  1020.9。



[0534] 将中间体17(50.0mg, 43.1 $\mu$ mol)、中间体15A(16.2mg, 129 $\mu$ mol)、DMAP(10.5mg, 86.1 $\mu$ mol)和DIEA(33.4mg, 258 $\mu$ mol)在DMF(5.0mL)中的混合物在20 $^{\circ}$ C搅拌12hr。LCMS显示检测到具有所期望质量的主峰。将混合物过滤并在减压下浓缩。将残余物通过制备型HPLC

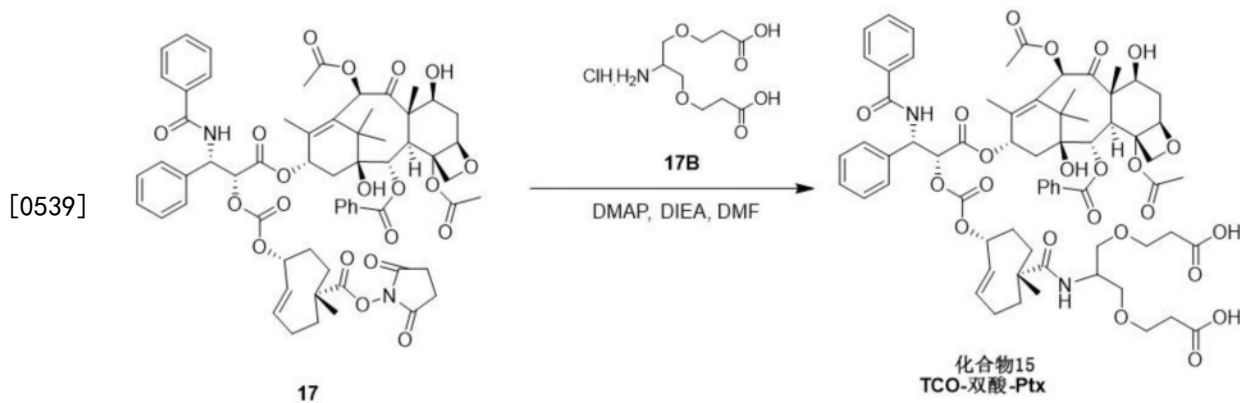
(柱: Boston Green ODS 150\*30mm\*5 $\mu$ m; 流动相: [水 (TFA) - ACN]; B%: 40% 至 70%, 10min) 纯化并通过制备型HPLC (柱: YMC-Actus Triart C18, 250\*30mm, 5 $\mu$ m, 120 Å; 流动相: [水 - ACN]; B%: 20% 至 70% - 40min. 保留时间: 22min, 20ml/min) 进一步纯化。获得化合物13 (6.80mg, 12.0% 产率)。LCMS:  $[M+H]^+$  1171.2

[0535] 实例14: TCO-铵-Ptx (化合物14)



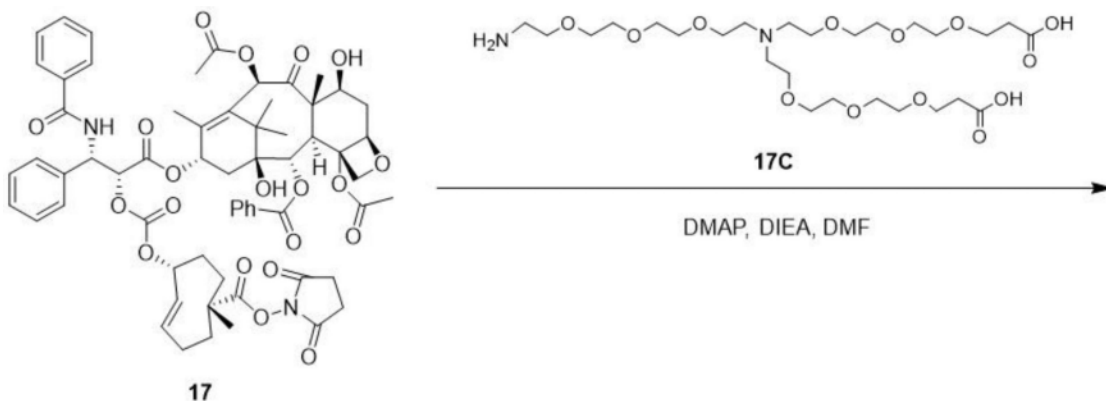
[0537] 将中间体17 (50.0mg, 43.1 $\mu$ mol)、中间体20 (18.0mg, 129 $\mu$ mol, HCl)、DIEA (33.4mg, 258 $\mu$ mol) 和DMAP (10.5mg, 86.1mmol) 在DMF (1.0mL) 中的混合物在20 $^{\circ}$ C 搅拌12hr。LCMS显示检测到具有所期望质量的主峰。将混合物过滤并在减压下浓缩。将残余物通过制备型HPLC (柱: Welch Xtimate C18 150\*25mm\*5 $\mu$ m; 流动相: [水 (TFA) - ACN]; B%: 33% 至 63%, 保留时间: 11min) 纯化。获得化合物14 (24.0mg, 45.3% 产率)。LCMS:  $[M]^+$  1148.4

[0538] 实例15: TCO-双酸-Ptx (化合物15)

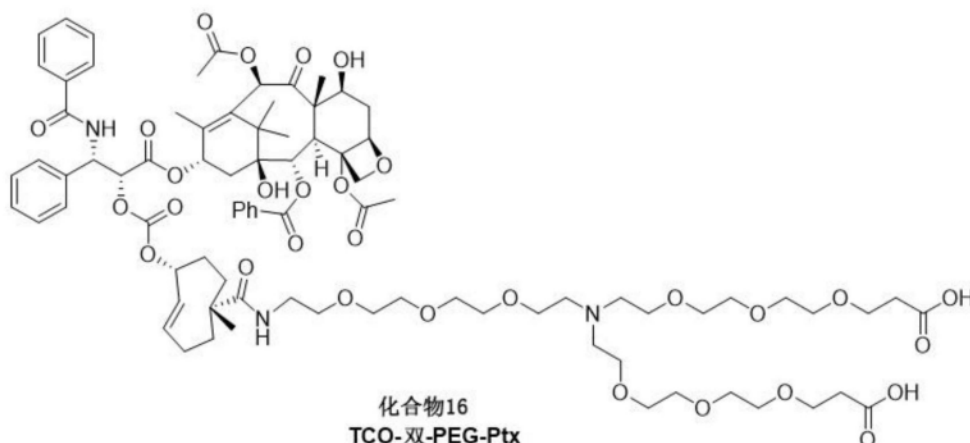


[0540] 将中间体17 (40.0mg, 34.5 $\mu$ mol)、中间体17B (37.4mg, 138 $\mu$ mol, HCl)、DMAP (8.42mg, 68.9 $\mu$ mol) 和DIEA (26.7mg, 207 $\mu$ mol) 在DMF (1.0mL) 中的混合物在20 $^{\circ}$ C 搅拌12hr。LCMS显示检测到具有所期望质量的主峰。将混合物过滤并在减压下浓缩。将残余物通过制备型HPLC (柱: Welch Xtimate C18 100\*40mm\*3 $\mu$ m; 流动相: [水 (TFA) - ACN]; B%: 32% 至 62%, 8min), 然后将混合物用NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O调节为pH=8~9, 然后冻干。化合物15 (14mg, 30.6% 产率)。LCMS:  $[M+H]^+$  1282.4

## [0541] 实例16:TCO-双-PEG-Ptx(化合物16)



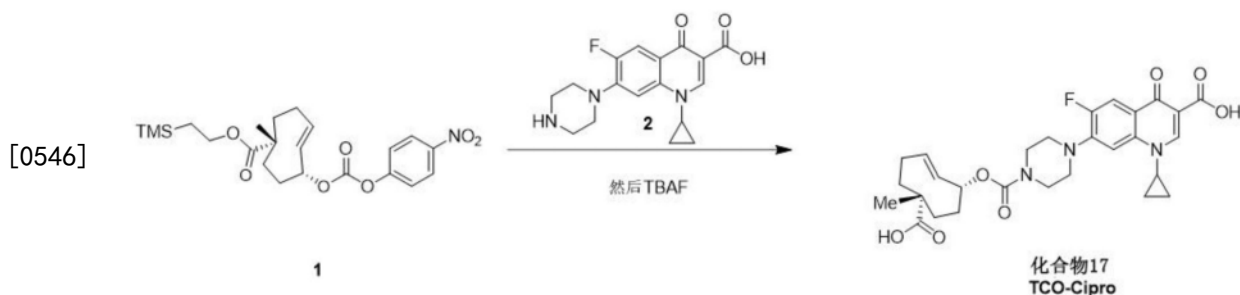
[0542]



[0543] 将中间体17 (40.0mg, 34.5 $\mu$ mol)、中间体17C (41.4mg, 68.9 $\mu$ mol)、DMAP (8.42mg, 68.9 $\mu$ mol) 和DIEA (4.45mg, 34.5 $\mu$ mol) 在DMF (5.0mL) 中的混合物在20 $^{\circ}$ C搅拌12hr。LCMS检测到具有所期望质量的主峰。将混合物过滤并在减压下浓缩。将混合物通过制备型HPLC (柱:YMC-Actus Triart C18 150\*30mm\*5 $\mu$ m;流动相:[水(TFA)-ACN];B%:43%至63%, 10.5min) 纯化并通过制备型HPLC (柱:YMC-Actus Triart C18, 250\*10mm, 5 $\mu$ m, 120  $\text{\AA}$ ;流动相:[水-ACN];B%:30%至60% -50min, 保留时间:30min, 2mL/min) 进一步纯化。获得化合物16 (10.8mg, 14.3%产率)。

[0544] LCMS:  $[M+H]^+$ 1282.4

## [0545] 实例17:TCO-Cipro(化合物17)

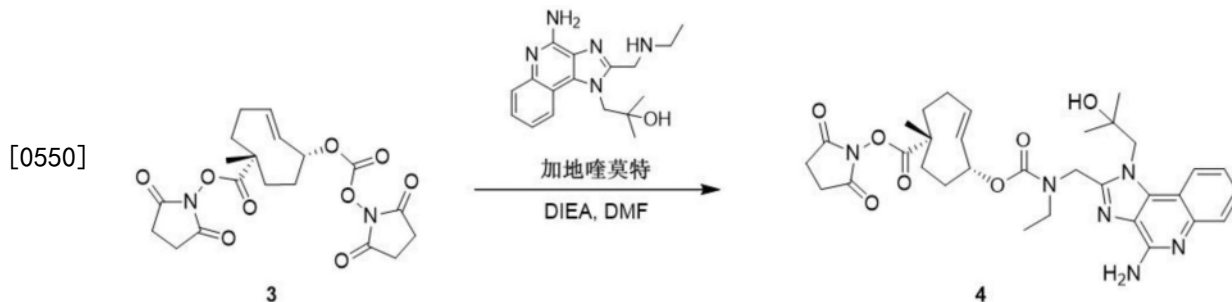


[0547] 向中间体2 (环丙沙星, 180mg, 489 $\mu$ mol) 在DMF (0.3mL) 中的溶液中添加DMF (0.6mL) 中的DIEA (172mg, 232 $\mu$ L) 和中间体1 (200mg, 445 $\mu$ mol), 将混合物在25 $^{\circ}$ C搅拌12hr, 然后将DMF (0.3mL) 中的HOBt (120mg, 890 $\mu$ mol) 添加到在25 $^{\circ}$ C搅拌2hr的溶液中, 然后将TBAF (1M,

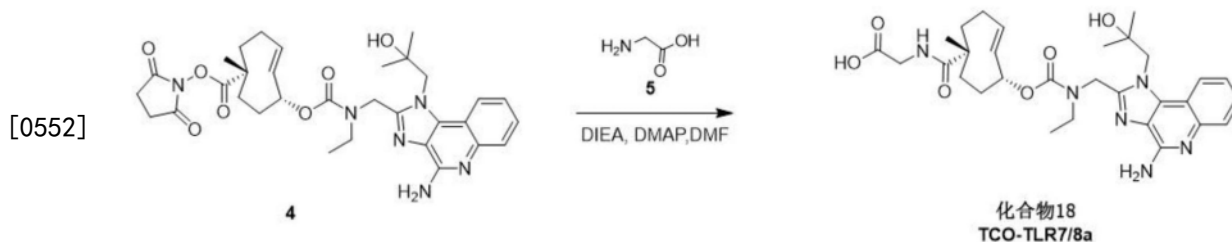
3.5mL) 添加到溶液中, 将混合物在25℃搅拌10hr。LCMS显示反应物被消耗并且一个主峰为所期望产物。将残余物通过制备型HPLC (TFA条件) 纯化, 得到化合物17 (106mg, 44.0%产率)。

[0548]  $^1\text{H NMR}$ : (400MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$ ppm 15.20 (br s, 1H), 12.02 (br s, 1H), 8.68 (s, 1H), 7.95 (d,  $J=13.05\text{Hz}$ , 1H), 7.61 (d,  $J=7.53\text{Hz}$ , 1H), 5.78-5.90 (m, 1H), 5.66-5.74 (m, 1H), 5.16 (br s, 1H), 3.73-3.87 (m, 2H), 3.60 (br s, 3H), 3.36-3.40 (m, 4H), 2.14-2.25 (m, 2H), 2.03-2.12 (m, 1H), 1.90-1.97 (m, 1H), 1.72-1.88 (m, 3H), 1.57-1.64 (m, 1H), 1.31-1.36 (m, 2H), 1.19 (br s, 2H), 1.02 (s, 3H)。LCMS:  $[\text{M}+\text{H}]^+542.1$

[0549] 实例18: TCO-TLR7/8a (化合物18)



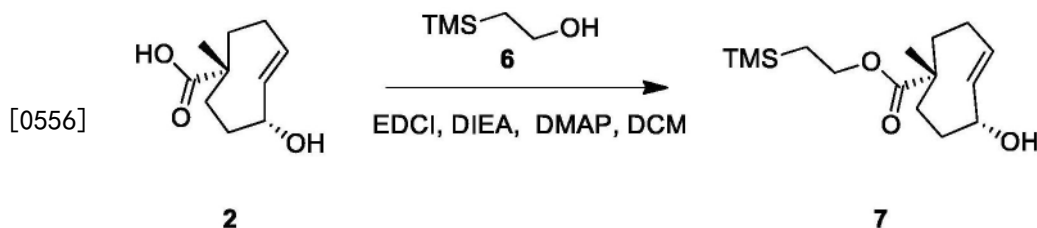
[0551] 向加地喹莫特 (100mg, 319 $\mu\text{mol}$ ) 在DMF (1mL) 中的溶液中添加DIEA (82.5mg, 638 $\mu\text{mol}$ ) 和中间体3 (202mg, 479 $\mu\text{mol}$ )。将混合物在25℃下搅拌4小时。LC-MS显示加地喹莫特已完全消耗, 并且检测到一个具有期望质量的主峰。中间体4 (200mg, 粗品) 无需进一步纯化即可用于下一步。



[0553] 向中间体4 (200mg, 322 $\mu\text{mol}$ ) 在DMF (4mL) 中的溶液中添加中间体5 (242mg, 3.22mmol) 和DIEA (250mg, 1.93mmol) 以及DMAP (236mg, 1.93mmol)。将混合物在25℃搅拌16hr。中间体4已完全消耗, 并且检测到一个具有期望质量的主峰。将产物通过制备型HPLC (0.1% TFA条件) 纯化, 得到化合物18 (200mg, 53.4%产率)。

[0554]  $^1\text{H NMR}$ : (400MHz, MeOD)  $\delta$  1.02-2.31 (m, 20H), 3.52-3.90 (m, 4H), 4.90-5.27 (m, 5H), 5.40-6.04 (m, 2H), 7.29-7.40 (m, 1H), 7.52-7.64 (m, 1H), 7.67-7.82 (m, 2H), 8.51 (br d,  $J=8.38\text{Hz}$ , 1H)。HRMS:  $[\text{M}+\text{H}]^+583.3102$ 。

[0555] 实例19: TCO-STINGa (化合物19)

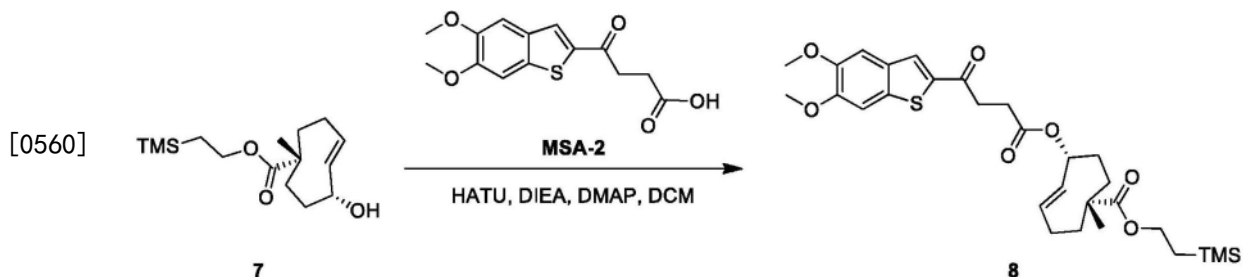


[0557] 向中间体2 (2.0g, 10.8mmol) 在DCM (10mL) 中的溶液中添加DIEA (4.21g, 32.5mmol)

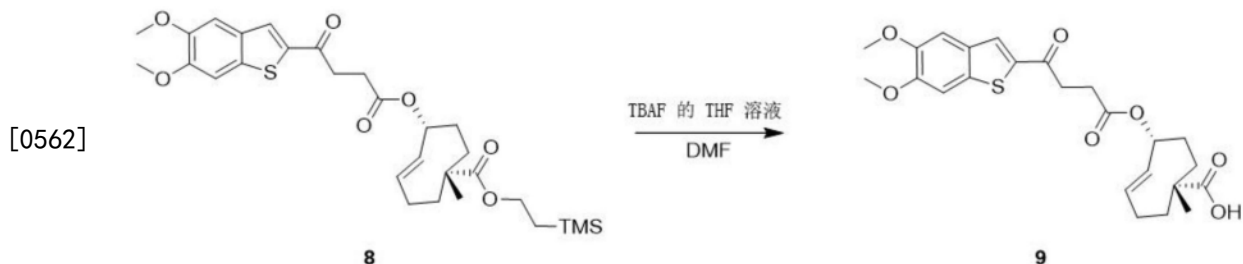
和EDCI (4.16g, 21.7mmol) 以及DMAP (2.65g, 21.7mmol) 和中间体6 (1.54g, 13.0mmol)。将混合物在25℃搅拌16hr。TLC表明中间体2已完全消耗并形成一个新斑点。将反应混合物在DCM (10mL) 和H<sub>2</sub>O (10mL) 之间分配。将有机相分离, 用盐水 (10mL) 洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩, 以得到残余物。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=20/1至10/1) 纯化, 得到中间体7 (800mg, 25.9%产率)。

[0558] 注: 化合物7在0℃存储12hr后, TLC显示与纯化合物7相比, 形成了一个新斑点。

[0559] <sup>1</sup>HNMR: (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.03-0.07 (m, 9H), 0.94-1.00 (m, 2H), 1.10 (s, 3H), 1.56 (br dd, J=15.57, 6.07Hz, 2H), 1.77-2.00 (m, 5H), 2.14-2.35 (m, 3H), 4.05-4.17 (m, 2H), 4.48 (br s, 1H), 5.64 (dd, J=16.63, 2.38Hz, 1H), 5.98-6.14 (m, 1H)。

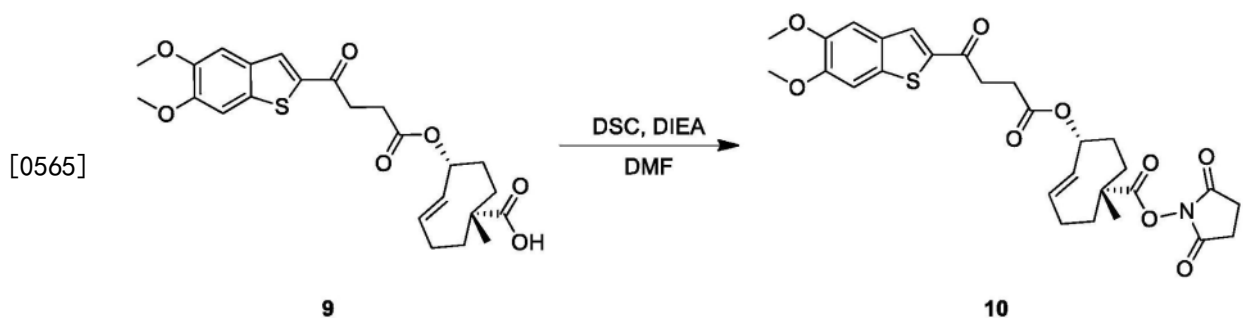


[0561] 向MSA-2 (250mg, 849μmol) 在DCM (10mL) 中的溶液中添加中间体7 (725mg, 2.55mmol) 和DIEA (329mg, 2.55mmol) 以及DMAP (156mg, 1.27mmol) 和HATU (646mg, 1.70mmol)。将混合物在25℃下搅拌2小时。LC-MS显示MSA-2已完全消耗, 并且检测到一个具有期望质量的主峰。将残余物通过制备型HPLC (0.1% TFA条件) 纯化, 得到中间体8 (210mg, 44.1%产率)。



[0563] 向中间体8 (200mg, 357μmol) 在DMF (2mL) 中的溶液中添加TBAF (1M, 1.43mL, 1.43mmol)。将混合物在25℃下搅拌2小时。LC-MS显示中间体8已完全消耗, 并且检测到一个具有期望质量的主峰。将残余物通过制备型HPLC (0.1% TFA条件) 纯化, 得到中间体9 (88mg, 53.6%产率)。

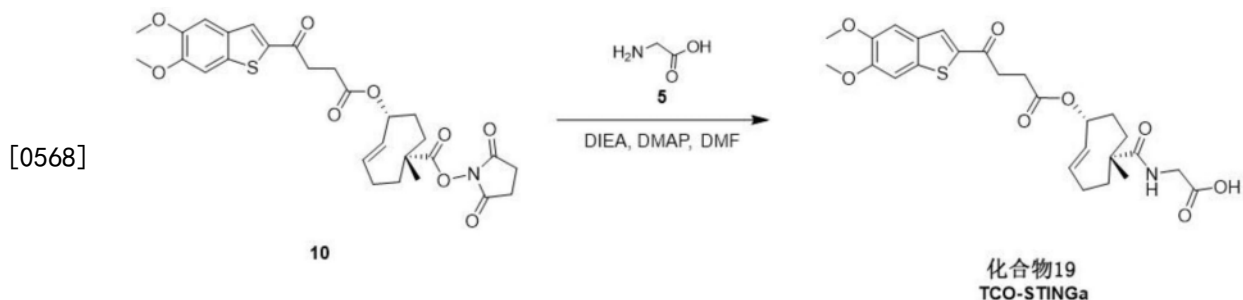
[0564] LCMS: [M+Na]<sup>+</sup>+483.0



[0566] 向中间体9 (88mg, 191μmol) 在DMF (0.2mL) 中的溶液中添加DSC (97.9mg, 382μmol)

和DIEA (49.4mg, 382 $\mu$ mol)。将混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌16小时。LC-MS显示中间体9已完全消耗,并且检测到一个具有所期望质量的主峰。将残余物通过制备型HPLC(0.1% TFA)纯化,得到中间体10(60mg, 56.3%产率)。

[0567] LCMS:  $[M+H]^+$  558.0

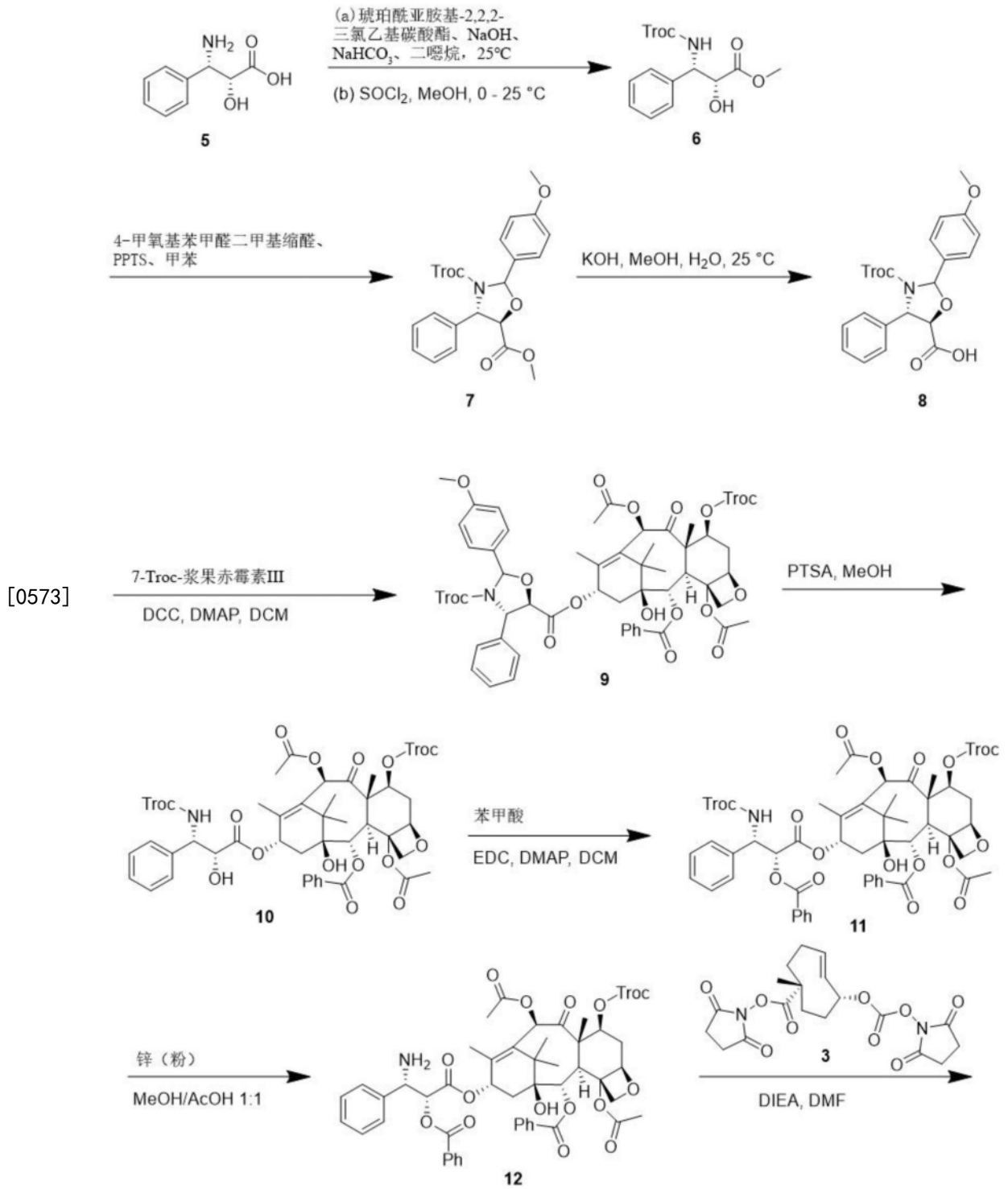


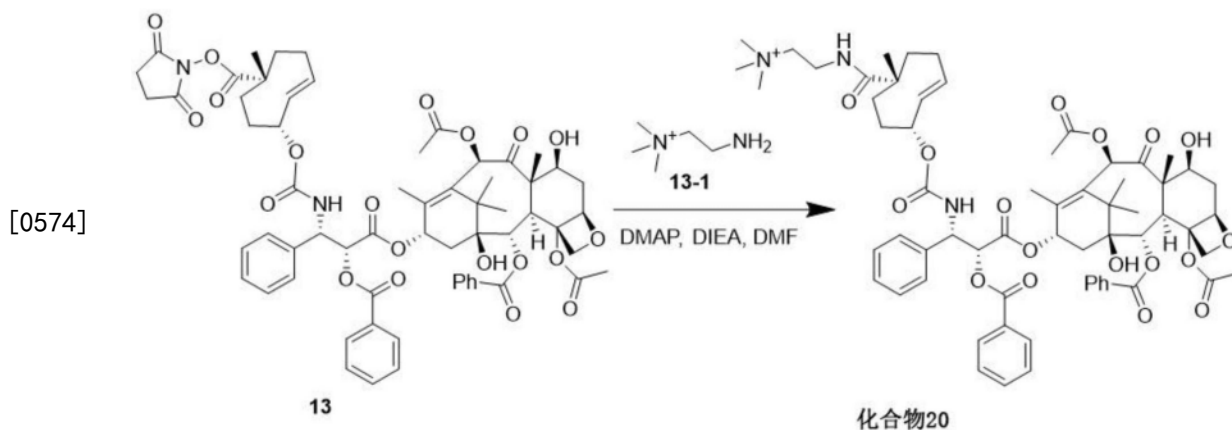
[0569] 向中间体10(60mg, 107.60 $\mu$ mol)在DMF(1mL)中的溶液中添加中间体5(80.7mg, 1.08mmol)和DIEA(139mg, 1.08mmol)以及DMAP(131mg, 1.08mmol)。将混合物在25 $^{\circ}$ C搅拌24hr。LC-MS显示剩余~20%的中间体10,然后添加中间体5(80.7mg, 1.08mmol),将混合物在25 $^{\circ}$ C搅拌24hr。LC-MS显示中间体10被完全消耗并且检测到一个具有所期望质量的主峰。将粗品通过制备型HPLC(0.1%TFA条件)纯化,得到化合物19(30mg, 80%纯度)(含有DIEA残余物),然后通过制备型HPLC(0.1%TFA条件)再纯化,得到化合物19(10mg, 17.9%产率)。

[0570]  $^1\text{H}$ NMR: (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.14(s, 3H), 1.16-1.31(m, 1H), 1.58-1.65(m, 1H), 1.62-1.62(m, 1H), 1.81-1.89(m, 3H), 1.96-2.12(m, 3H), 2.19-2.25(m, 1H), 2.20-2.33(m, 1H), 2.88(br t,  $J=6.38\text{Hz}$ , 2H), 3.35(br t,  $J=6.32\text{Hz}$ , 2H), 3.46-3.69(m, 11H), 3.96(s, 3H), 3.98(s, 3H), 5.27(br s, 1H), 5.60(dd,  $J=16.45, 2.06\text{Hz}$ , 1H), 5.82-5.95(m, 1H), 6.16(br s, 1H), 7.93(s, 1H)。

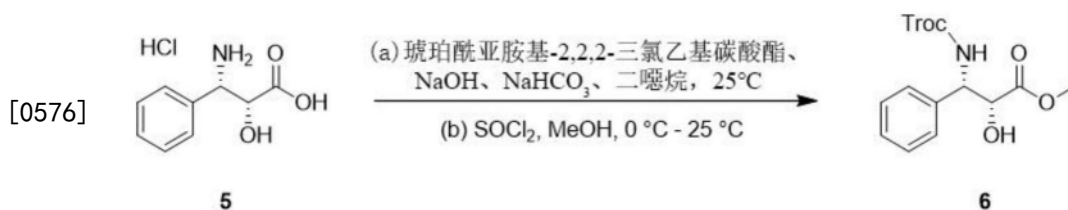
[0571] LCMS:  $[M+Na]^+$  540.1

[0572] 实例20:化合物20的合成





[0575] 用于制备中间体6的一般程序



[0577] 向中间体5 (150g, 689mmol, HCl) 在NaOH (1M, 1.38L) 和NaHCO<sub>3</sub> (1M, 1.38L) 中的溶液中添加二噁烷 (1L) 中的 (2,5-二氧代吡咯烷-1-基) 2,2,2-碳酸三氯乙酯 (210g, 723mmol)。将混合物在25°C下搅拌2小时。将反应混合物减压浓缩以除去二噁烷。用MTBE (5L) 萃取残余物, 然后用饱和KHSO<sub>4</sub>水溶液调节水相的pH为~4, 并用EtOAc (5L) 萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并减压浓缩, 得到残余物。向上述粗产物的MeOH (2L) 溶液中加入SOCl<sub>2</sub> (90.2g, 758mmol), 并将混合物在25°C下搅拌2小时。LC-MS显示反应已完成, 检测到一个具有期望质量的主峰。用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液调节反应混合物的pH~9-10, 然后用EtOAc (5L) 萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并减压浓缩, 得到粗品。将粗品通过PE (10V<sub>o</sub>l) 沉淀, 得到中间体6 (190g, 74.4%产率)。

[0578] <sup>1</sup>H NMR: (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 3.25 (br s, 1H) 3.85 (s, 3H) 4.64-4.83 (m, 2H) 5.30 (dd, J = 9.51, 1.13Hz, 1H) 5.92 (br d, J = 9.38Hz, 1H) 7.30-7.45 (m, 5H)。

[0579] LCMS (m/z) : 391.9/393.9 (M+H)<sup>+</sup>。

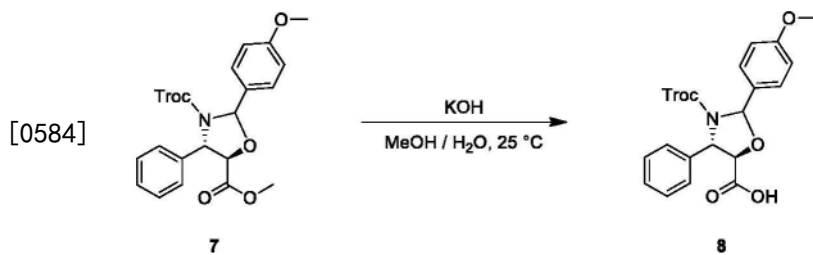
[0580] 用于制备中间体7的一般程序



[0582] 向中间体6 (185g, 499mmol) 在甲苯 (1.9L) 中的溶液中添加4-甲基苯磺酸吡啶 (3.90g, 15.4mmol) 和4-甲氧基苯甲醛二甲基缩醛 (121g, 666mmol)。将混合物在110°C下搅拌4小时。LC-MS显示检测到一个具有期望质量的主峰。然后使反应混合物冷却至25°C。将反应混合物减压浓缩以除去甲苯。将残余物用H<sub>2</sub>O (500mL) 稀释, 然后用EtOAc (500mL) 萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩, 得到中间体7 (285g, 粗品), 将其按原

样继续使用。

[0583] 用于制备中间体8的一般程序

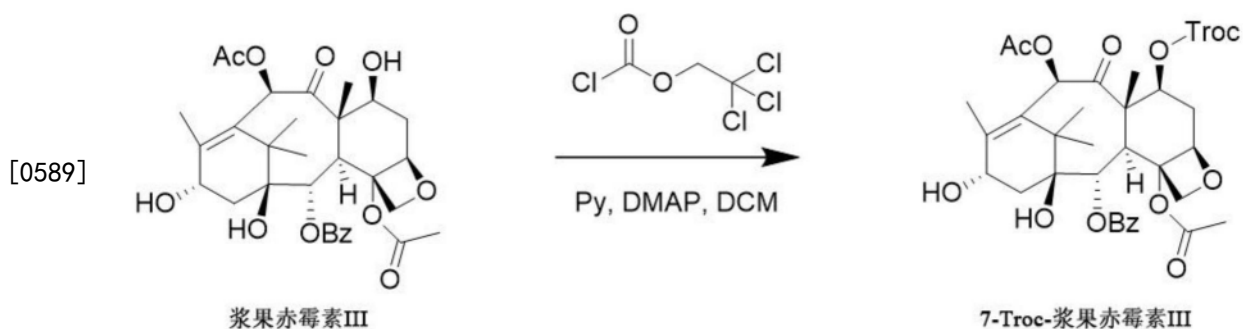


[0585] 向中间体7 (285g, 粗品) 在MeOH (2000mL) 中的溶液中添加H<sub>2</sub>O (1000mL) 中的KOH (42.5g, 758mmol)。将混合物在25℃下搅拌1小时。LC-MS显示中间体7已完全消耗, 并且检测到一个具有期望质量的主峰。将反应混合物减压浓缩以除去MeOH。用MTBE (5L) 萃取残留物。将水相层用饱和KHSO<sub>4</sub> (1L) 水溶液稀释, 用EtOAc (5L) 萃取, 合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并减压浓缩, 得到粗品。将粗品通过PE (10V<sub>o</sub>l) 沉淀, 得到中间体8 (95.0g, 34.3%产率)。

[0586] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, MeOD) : δ3.82 (s, 3H) 4.41-4.47 (m, 1H) 4.50-4.56 (m, 1H) 4.60 (d, J = 4.88Hz, 1H) 5.47 (d, J = 4.75Hz, 1H) 6.46 (s, 1H) 6.86-6.94 (m, 2H) 7.34-7.46 (m, 7H)。

[0587] LCMS (m/z) : 495.9 (M+Na)<sup>+</sup>。

[0588] 用于制备7-Troc-浆果赤霉素III的一般程序



[0590] 向浆果赤霉素III (30.0g, 51.1mmol) 的DCM (300mL) 溶液加入DMAP (625mg, 5.11mmol)、吡啶 (14.2g, 179mmol) 和2,2,2-三氯乙基氯甲酸酯 (15.2g, 71.6mmol)。将混合物在25℃下搅拌0.5小时。LC-MS显示浆果赤霉素III完全消耗, 检测到一个具有期望质量的主峰。将残余物用水 (300mL) 稀释并用DCM (300mL) 萃取并用水 (200mL) 和盐水 (200mL) 洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩, 得到7-Troc-浆果赤霉素III (45.0g, 34.3%产率)。

[0591] LCMS (m/z) : 761.5/763.5 (M+Na)<sup>+</sup>。

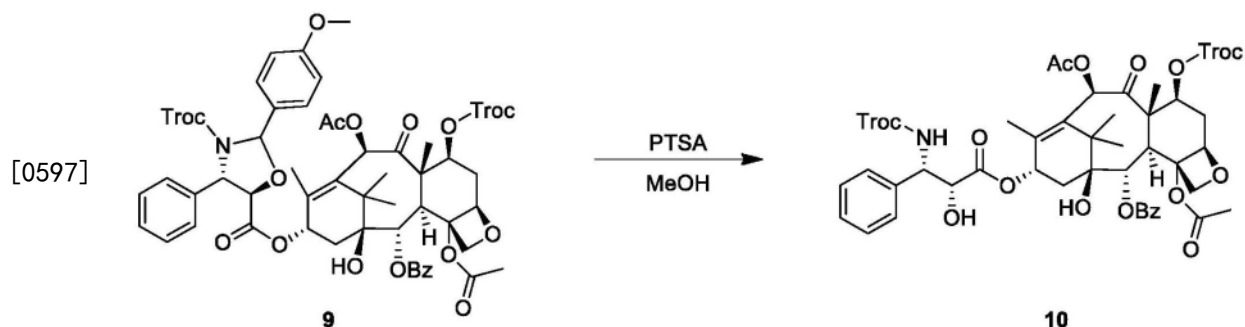
[0592] 用于制备中间体9的一般程序



[0594] 向7-Troc-浆果赤霉素III (26.0g, 34.1mmol) 和中间体8 (32.4g, 68.2mmol) 在DCM (1000mL) 中的溶液中添加DMAP (4.20g, 34.1mmol) 和DCC (21.1g, 102mmol)。将混合物在0℃下搅拌1小时。LC-MS显示中间体8已完全消耗, 并且检测到一个具有期望质量的主峰。将反应混合物过滤。将原油用饱和NH<sub>4</sub>Cl水溶液 (100mL) 和水 (1000mL) 洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩, 得到中间体9 (35.0g, 粗品)。

[0595] LCMS (m/z) : 1240.0/1242.0 (M+Na)<sup>+</sup>。

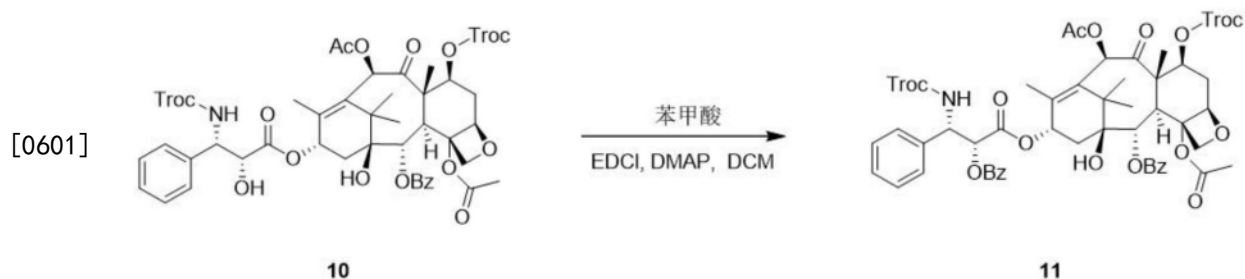
[0596] 用于制备中间体10的一般程序



[0598] 向中间体9 (80.0g, 65.6mmol) 在MeOH (350mL) 中的溶液中添加4-甲基苯磺酸; 水合物 (24.9g, 131mmol)。将混合物在25℃搅拌16hr。LC-MS显示剩余~50%的中间体9, 并且检测到一个具有期望质量的主峰。将反应混合物过滤、浓缩并通过制备型HPLC (水 (0.1% TFA) -ACN) 纯化残余物。将洗脱液减压浓缩以除去溶剂, 然后用EtOAc (500mL) 萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩, 得到中间体10 (13.0g, 17.9%产率)。

[0599] LCMS (m/z) : 1120.2 (M+Na)<sup>+</sup>。

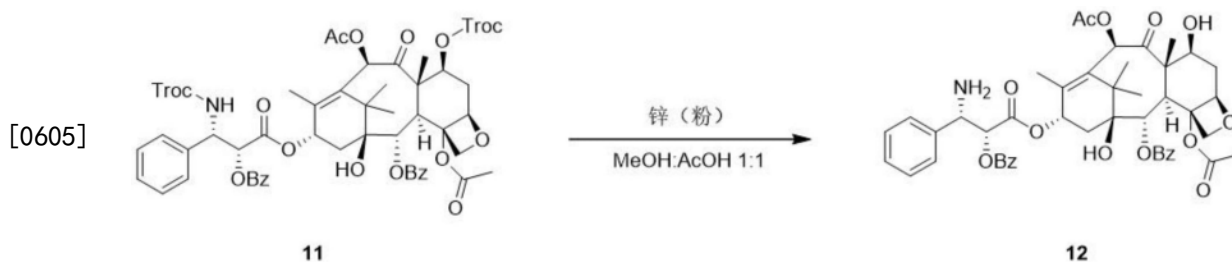
[0600] 用于制备中间体11的一般程序



[0602] 向中间体10 (13.0g, 11.8mmol) 和DMAP (722mg, 5.90mmol) 以及EDCI (2.70g, 14.2mmol) 和苯甲酸 (1.70g, 14.2mmol) 在DCM (260mL) 中的溶液中。将混合物在25℃下搅拌1小时。LC-MS显示中间体10已完全消耗, 并且检测到一个具有期望质量的主峰。将反应混合物用饱和柠檬酸水溶液 (100mL)、饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液 (100mL) 和水 (200mL) 洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩, 得到中间体11 (11.0g, 77.3%产率)。

[0603] LCMS (m/z) : 1204.1 (M+H)<sup>+</sup>。

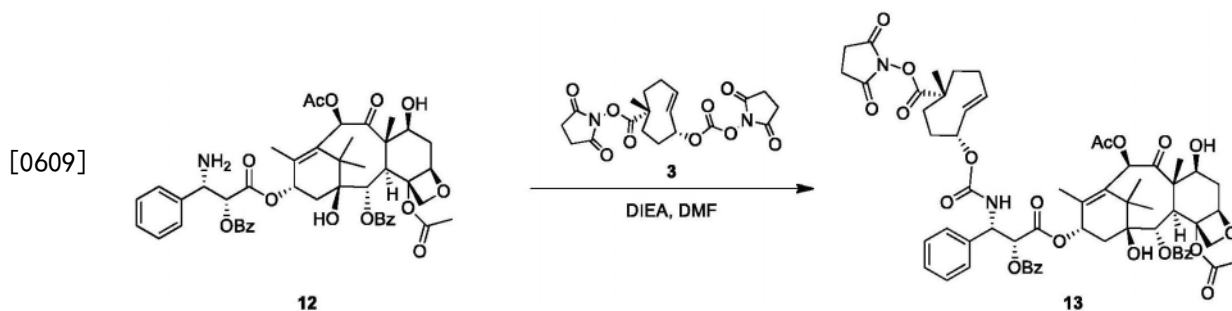
[0604] 用于制备中间体12的一般程序



[0606] 向中间体11 (20.0g, 16.6mmol) 在MeOH (200mL) 和AcOH (200mL) 中的溶液中添加Zn粉 (21.6g, 331mmol)。将混合物在25℃搅拌1hr。LC-MS显示中间体11已完全消耗, 并且检测到一个具有期望质量的主峰。将反应混合物过滤并用H<sub>2</sub>O (500mL) 稀释, 然后用EtOAc (100mL\*3) 萃取。将合并的有机层用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液 (200mL) 和盐水 (100mL) 洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并减压浓缩, 得到粗产物。将残余物通过制备型HPLC (水 (0.1% TFA) -ACN) 纯化, 得到中间体12 (5.0g, 21%产率)。

[0607] LCMS (m/z) : 854.3 (M+H)<sup>+</sup>。

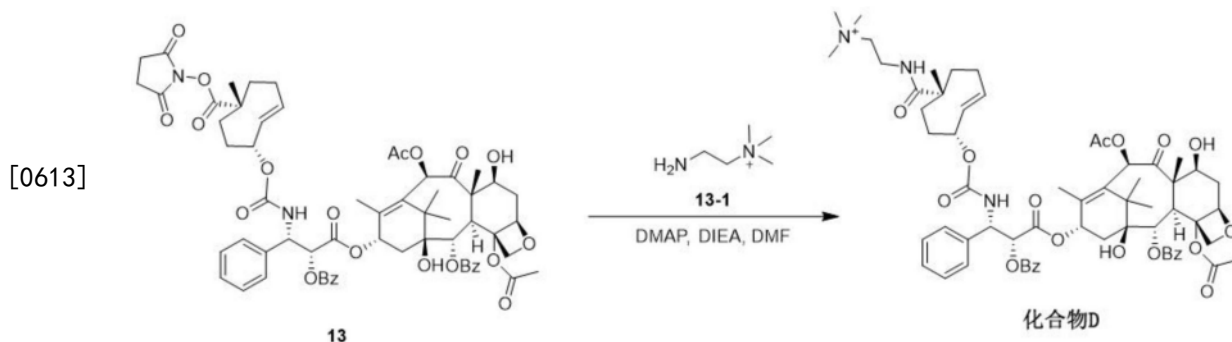
[0608] 用于制备中间体13的一般程序



[0610] 向中间体12 (5.00g, 5.90mmol)、DIEA (1.50g, 11.7mmol) 和3 (3.90g, 8.80mmol) 在DMF (50mL) 中的溶液中。将混合物在25℃搅拌16hr。LC-MS显示剩余~50%的中间体12, 并且检测到一个具有期望质量的主峰。将残余物通过制备型HPLC (水 (0.1% TFA) -ACN) 纯化, 得到中间体13 (505mg, 7.4%产率)。

[0611] LCMS (m/z) : 1161.4 (M+H)<sup>+</sup>。

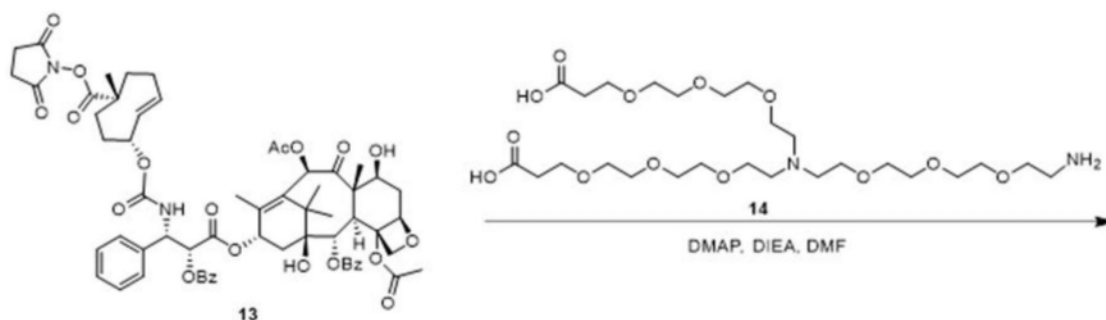
[0612] 制备化合物20的一般流程



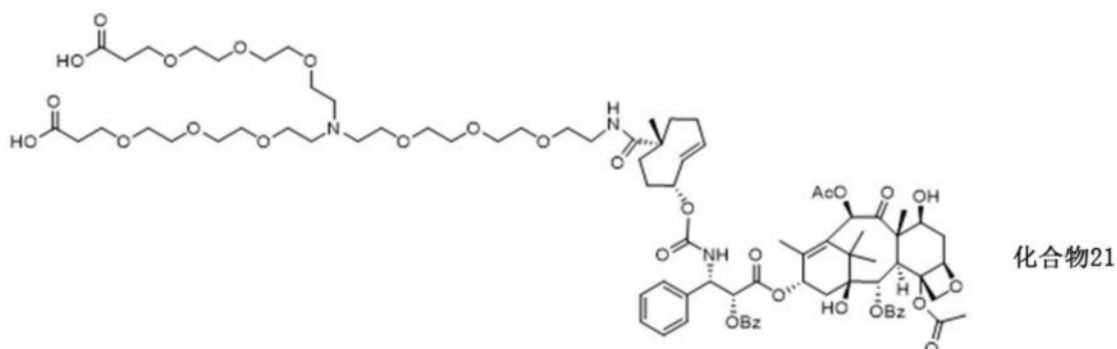
[0614] 向化合物中间体13 (150mg, 0.13mmol) 在DMF (1.50mL) 中的溶液中添加DMAP (94.7mg, 0.78mmol) 和化合物中间体13-1 (66.7mg, 0.65mmol) 以及DIEA (100mg, 0.78mmol)。将混合物在25℃搅拌16hr。LC-MS显示中间体13已完全消耗, 并且检测到一个具有期望质量的主峰。将残余物通过制备型HPLC (水 (0.1% TFA) -ACN) 纯化, 得到化合物20 (75.0mg, 50.5%产率)。

[0615] LCMS(m/z):1148.5(M)<sup>+</sup>。

[0616] 实例21:用于制备化合物21的一般程序



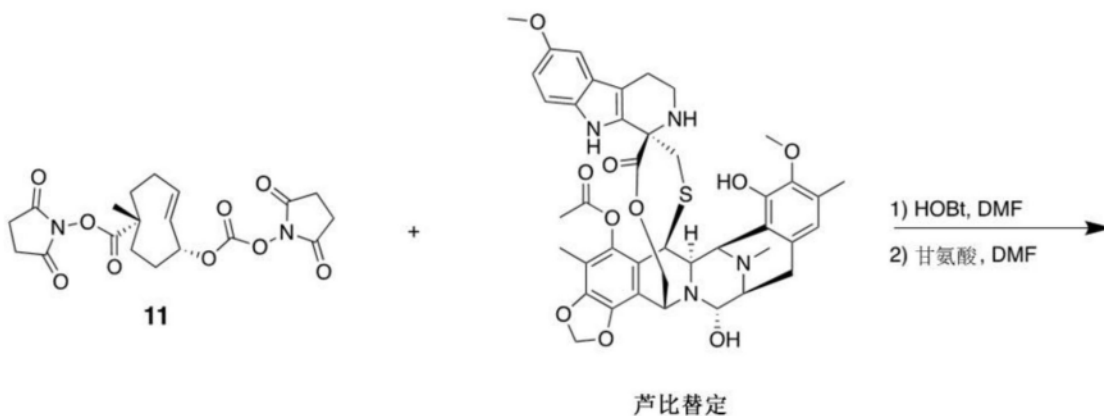
[0617]



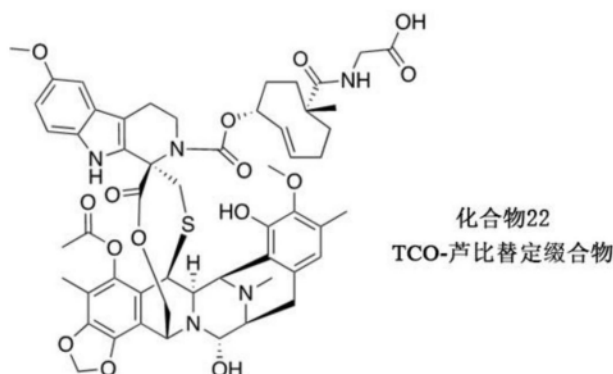
[0618] 向中间体13 (350mg, 0.30 $\mu$ mol)、DMAP (221mg, 1.81mmol) 和中间体14 (249mg, 0.39mmol, HCl) 在DMF (0.3mL) 中的溶液中。将混合物在25 $^{\circ}$ C下搅拌16小时。LC-MS显示中间体13已完全消耗, 并且检测到一个具有所期望质量的主峰。将残余物通过制备型HPLC (水 (0.1% TFA) -ACN) 纯化, 得到化合物21 (205mg, 41.3%产率)。

[0619] LCMS(m/z):1646.5(M+H)<sup>+</sup>。

[0620] 实例22:TCO-芦比替定缀合物(化合物22)

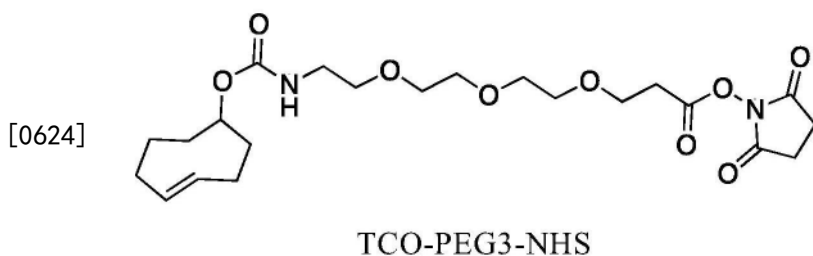


[0621]



[0622] TCO-芦比替定(化合物22)。向芦比替定在DMF中的溶液中添加NHS-TCO 11和HOBt。将反应混合物在环境温度避光搅拌直至起始材料被消耗。向反应混合物中添加甘氨酸和任选的碱,并且将所得溶液在环境温度下再搅拌一段时间。然后将反应混合物在减压下浓缩并且将所得残余物通过反相色谱法(10-100%MeCN/水,含有0.1%甲酸铵)纯化,得到所期望产物化合物22。

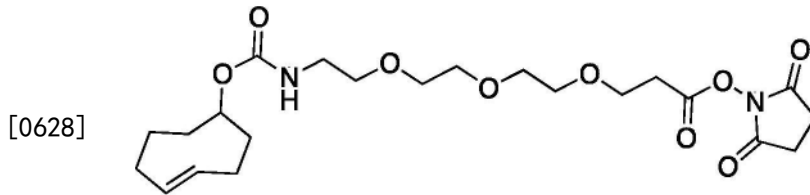
[0623] 实例23:抗CD3-Fab-TCO治疗性缀合物



[0625] 根据制造商的方案使用商业试剂盒(Pierce<sup>TM</sup> Fab Preparation Kit#44985)由OKT3来制备Fab,并通过蛋白G树脂(BioVision#6511-25)来纯化。向纯化的Fab中添加在DMSO中制备的10mM TCO-PEG3-NHS。这两种组分以3:1的药物与蛋白质摩尔比在25℃反应2小时,然后将其用PBS(pH 7.4)进行透析,以从蛋白质组分中去除过量的TCO-PEG3-NHS化合物。通过SDS-Page和LCMS分析所得的治疗性靶向部分的溶液,以确认治疗性靶向部分的形成。构想约1至2个TCO将平均共价键合至每个Fab,如通过LCMS所确认。

[0626] 实例24:抗CD3 Fab-PEG3-TCO缀合物制备

[0627] 通过质粒构建、HEK293细胞表达和纯化合成了抗CD3抗体2C11的Fab。通过以下方式来制备Fab-TCO缀合物:使TCO-PEG3-NHS(结构如下所示,购自SiChem;目录编号SC-8406)与Fab上的一级胺结合,形成稳定的酰胺键。



TCO-PEG3-NHS

[0629] 2C11的Fab的合成

[0630] 载体构建:合成编码序列(如下所列)并亚克隆到表达载体中。将构建的质粒转化大肠杆菌进行增殖。NucleoBond Xtra Maxi Plus EF试剂盒用于大规模质粒生成。经纯化的质粒经琼脂糖凝胶检查并通过测序确认。

[0631] 2C11-Fab HC序列:

[0632] EVQLVESGGGLVQPGKSLKLSCEASGFTFSGYGMHWVRQAPGRGLESVAYITSSSINIKYADAVKGRF TVSRDNAKNLLFLQMNILKSEDTAMYICARFDWDKKNYWGQGMVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDITGSSVTLGCL VKGYFPEPVTLTWNSSGLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKI (SEQ ID NO.1)。

[0633] 2C11-Fab LC序列:

[0634] DIQMTQSPSSLPASLGDRVTINCQASQDISNYLNWYQQKPKAPKLLIYYTNKLADGVPSRFSGSGSG RDSSFTISSLESEDIGSYQCQQYINYPWTFGPGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDI NVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNREK (SEQ ID NO.2)。

[0635] 蛋白质表达:将含有Fab重链和轻链的构建体与PEI共转染到HEK293细胞中。在转染后7天收获培养基。

[0636] 蛋白质纯化:通过离心和过滤收获表达靶Fab的条件培养基,然后加载到CaptureSelect LC-kappa(鼠)亲和柱(Mabselect Prism)上。加样缓冲液为PBS(pH 8.0),用PBS(pH 8.0)洗涤,随后用含有0.2% Triton x-100/114的PBS(pH 8.0)洗涤,随后用PBS(pH 8.0)洗涤。将蛋白质用含有150mM NaCl的50mM柠檬酸钠缓冲液(pH 3.0)洗脱。将收集的溶液用1M Tris、1M精氨酸缓冲液(pH 9.0)中和。亲和纯化的蛋白质通过凝胶过滤和Superdex S-200柱层析进一步纯化。通过SDS-PAGE、SEC-HPLC和内毒素测量对纯化的Fab进行分析。

[0637] 缀合物制备:将Fab蛋白用PBS、pH 7.4透析过夜,并从开始后约4小时进行一次缓冲液交换。在DMSO中制备10mM TCOt-PEG3-NHS。这两种组分以3:1的药物与蛋白质摩尔比在25℃反应2小时,然后将其用PBS(pH 7.4)进行透析,以从蛋白质组分中去除过量的TCO-PEG3-NHS化合物。LCMS分析证明每个Fab的平均荷载为1.9个TCO-PEG3。

[0638] 生化实例

[0639] 生化实施例1:TLR7/8a(加地喹莫特);对新鲜小鼠脾细胞增殖的影响



[0641] 从C57BL/6小鼠的脾脏中分离出淋巴细胞。研磨脾脏并使用DBPS通过70 $\mu$ m细胞过滤器来过滤细胞。将红细胞裂解,并且将细胞用DPBS洗涤。将分离的淋巴细胞悬浮在培养基中。将细胞以50,000个细胞/孔以90 $\mu$ L/孔铺板在96孔板中,然后在37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub>、95%的空气和100%的相对湿度下孵育过夜。第二天,制备化合物并且将10 $\mu$ L化合物培养基一式三份添加到96孔板的孔中。测试了以下条件:未修饰的加地喹莫特;TCO-gly-加地喹莫特;TCO-gly-加地喹莫特加四嗪。使用以下浓度的加地喹莫特和TCO-Gly-加地喹莫特:10 $\mu$ g/mL、2.5 $\mu$ g/mL、0.83 $\mu$ g/mL、0.28 $\mu$ g/mL、0.093 $\mu$ g/mL和0.031 $\mu$ g/mL。将DMSO培养基添加至空白和对照孔中,使DMSO的最终浓度为0.1%。将板孵育48小时。然后按照制造商的说明(Promega-G7573),通过CellTiter-Glo发光测定来分析板以评估细胞存活性。受试化合物的抑制率(IR)按下式确定:IR(%) = (1 - (RLU化合物 - RLU空白) / (RLU对照 - RLU空白)) \* 100%。在Excel中计算不同剂量的受试化合物的抑制作用,且然后用于绘制抑制曲线和评估相关参数,诸如Min(%)、Max(%)和IC<sub>50</sub>。数据由GraphPad Prism解释。

[0642] 如图1和图2所示,用未修饰的加地喹莫特处理导致浓度依赖性增殖/细胞存活率变化。图1示出了最高测试浓度为10 $\mu$ g/mL的实验结果。图2示出了在四嗪(浓度高达50 $\mu$ g/mL)不存在或存在情况下使用TCO-gly-加地喹莫特进行的重复实验。在各种浓度下,TCO-gly-加地喹莫特对细胞存活性没有影响至具有最小影响。即使在最高剂量50 $\mu$ g/mL下,其活性也极低。这表明活性的有效减弱。另一方面,在四嗪存在情况下,用TCO-gly-加地喹莫特处理导致细胞存活性/增殖率的浓度依赖性增加。与未修饰的加地喹莫特相比,浓度超过5 $\mu$ g/mL的TCO-gly-加地喹莫特在四嗪存在情况下显示出甚至更高的增殖活性,这表明与未修饰的药物相比具有潜在的优越活性。

[0643] 本文所述的治疗性支持组合物可以如W02018/187740中所述制备。在W02018/187740中同样可以找到用于结合支持组合物测试和使用缀合物的方法。

[0644] 除非另外定义,否则本文中使用的所有技术术语和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的相同的含义。

[0645] 本文中说明性地描述的发明可以合适地在缺乏本文中未具体披露的一个或多个元件、一个或多个限制的情况下实践。因此,例如,“包括”、“包含”、“含有”等术语应被广泛地理解,而不受限制。另外,本文所采用的术语和表达已被用作说明书的术语且不被限制,并且此类术语和表达的使用并不旨在排除所示和所述的特征的任何等效物或其部分,但应当认识到,在所要求保护的本发明的范围内可以进行各种修改。

[0646] 本文提及的所有出版物、专利申请、专利和其他参考文献均明确以引用的方式全文并入,其程度与单独以引用的方式并入相同。如有冲突,以本说明书(包括定义)为准。

[0647] 应当理解,尽管已结合上述实施例描述了本公开,但是前述描述和示例旨在说明而非限制本公开的范围。本公开范围内的其他方面、优点和修改对于本公开所属领域的技

术人员而言将是显而易见的。

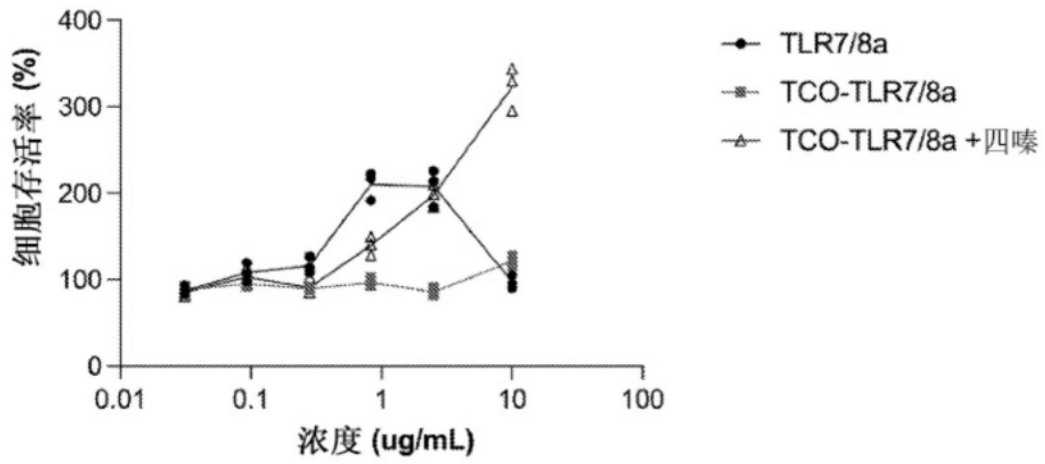


图1

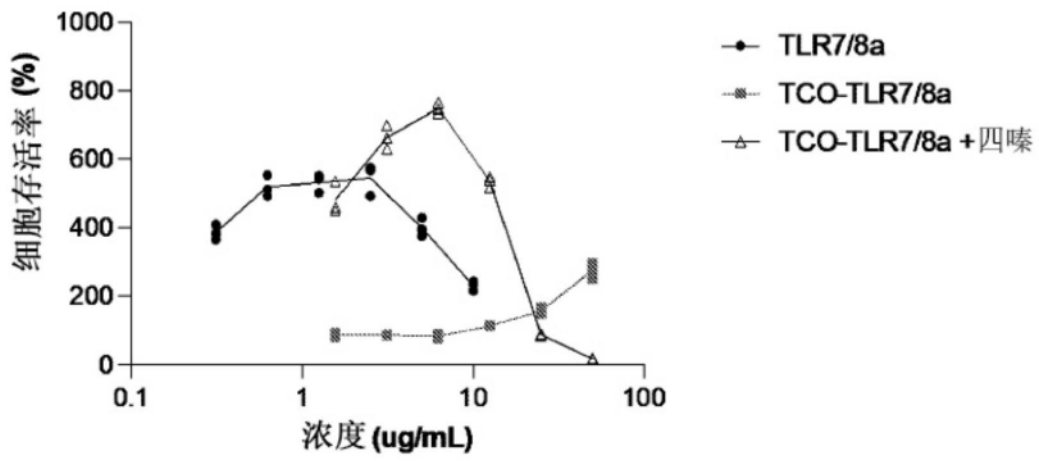


图2