



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116056765 A

(43) 申请公布日 2023.05.02

(21) 申请号 202180054610.8

(22) 申请日 2021.08.06

(30) 优先权数据

63/062,814 2020.08.07 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.03.03

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2021/045100 2021.08.06

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/032191 EN 2022.02.10

(71) 申请人 坦伯公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 约瑟·曼纽尔·梅西亚奥内托

内森·A·易

圣吉斯·斯里尼瓦桑

迈克尔·扎卡里安

杰西·M·麦克法兰

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262

专利代理师 高瑜 郑霞

(51) Int.Cl.

A61P 35/00 (2006.01)

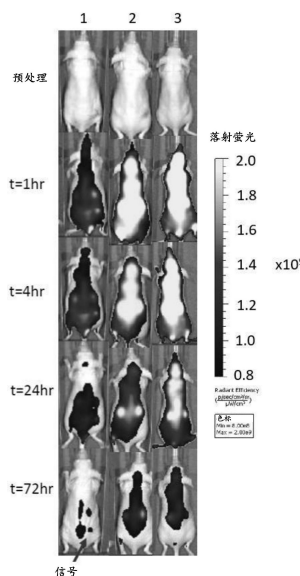
权利要求书7页 说明书127页 附图1页

(54) 发明名称

反式环辛烯生物正交剂及在癌症和免疫疗法中的用途

(57) 摘要

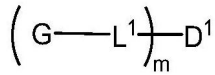
免疫调节剂的反式环辛烯缀合物可用于向受试者的目标位置的生物正交递送。这些组合和方法可在治疗癌症、肿瘤生长和免疫疗法中应用。



1. 一种缀合物,其包含与一个或多个生物正交部分连接的免疫调节剂有效负载,其中所述免疫调节剂有效负载选自以下组成的组:治疗性单克隆抗体、细胞因子、趋化因子、趋化因子拮抗剂、和免疫检查点抑制剂有效负载;或其药学上可接受的盐。

2. 如权利要求1所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中每个生物正交部分独立地包含反式环辛烯或四嗪。

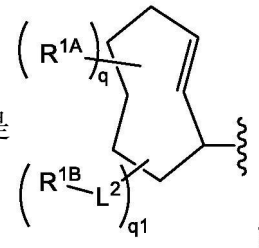
3. 如权利要求1或2所述的缀合物或其药学上可接受的盐,所述缀合物具有式(I)



(I)

其中

G是所述生物正交部分,并且G,在每次出现时,独立地是



L^1 在每次出现时独立地是接头;

m是1-150的整数;

D^1 是所述免疫调节剂有效负载;

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

q是0、1、或2;

q1是0或1;

R^{1B} 在每次出现时独立地选自自由以下组成的组: 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- $CO_2H)_2$;

R^{1c} 和 R^{1d} 在每次出现时独立地是氢或 C_{1-4} 烷基;

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

R^{1f} 在每次出现时独立地是氢、 C_{1-6} 烷基、或 C_{1-4} 亚烷基- CO_2H ;

n在每次出现时独立地是0、1、2或3;

L^2 ,在每次出现时,独立地选自自由以下组成的组: $-C(O)-$ 和 C_{1-3} 亚烷基;并且

G^1 ,在每次出现时,独立地是任选地取代的杂环基。

4. 如权利要求1-3中任一项所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述免疫调节剂有效负载是所述免疫检查点抑制剂有效负载。

5. 如权利要求4所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述免疫检查点抑制剂有效负载是免疫检查点抑制剂抗体有效负载。

6. 如权利要求5所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述免疫检查点抑制剂抗体有效负载是PD-1抑制剂有效负载。

7. 如权利要求6所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述PD-1抑制剂有效负载是纳武单抗、派姆单抗、匹地利珠单抗、信迪利单抗、或AMP-224有效负载。

8. 如权利要求5所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述免疫检查点抑制剂抗体有效负载是PD-L1抑制剂有效负载。

9. 如权利要求8所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述PD-L1抑制剂有效负载是阿特殊单抗、阿维鲁单抗、度伐单抗、或BMS-936559有效负载。

10. 如权利要求5所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述免疫检查点抑制剂抗体有效负载是CTLA4抑制剂有效负载。

11. 如权利要求10所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述CTLA4抑制剂有效负载是伊匹单抗或曲美木单抗有效负载。

12. 如权利要求4所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述免疫检查点抑制剂有效负载是吡啶胺2,3-双加氧酶(IDO)抑制剂有效负载。

13. 如权利要求12所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述IDO抑制剂有效负载是印朵目德或依多司他有效负载。

14. 如权利要求1-3中任一项所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述免疫调节剂有效负载是所述细胞因子有效负载。

15. 如权利要求14所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述细胞因子有效负载是干扰素、白细胞介素、肿瘤坏死因子、促红细胞生成素、MIP3a、ICAM、巨噬细胞集落刺激因子、促红细胞生成素(EPO)、粒细胞集落刺激因子(GCSF)或粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子有效负载。

16. 如权利要求1-3中任一项所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述免疫调节剂有效负载是所述趋化因子有效负载。

17. 如权利要求16所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述趋化因子有效负载是CCL27、CCL28、CCL2、CCL3、CCL5、CXCL1、CXCL2、CXCL5、CXCL6、CXCL8、CXCL9、CXCL10、CXCL11、CXCL12、或CXCL14有效负载。

18. 如权利要求1-3中任一项所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述免疫调节剂有效负载是所述趋化因子拮抗剂有效负载。

19. 如权利要求18所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述趋化因子拮抗剂有效负载是普乐沙福有效负载。

20. 如权利要求1-18中任一项所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述免疫调节剂有效负载包含多肽。

21. 如权利要求20所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述多肽包含一个或多个赖氨酸残余物。

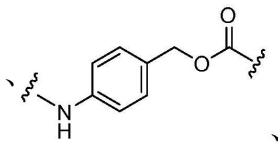
22. 如权利要求21所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述生物正交部分在每次出现时与所述一个或多个赖氨酸残余物中的一个连接。

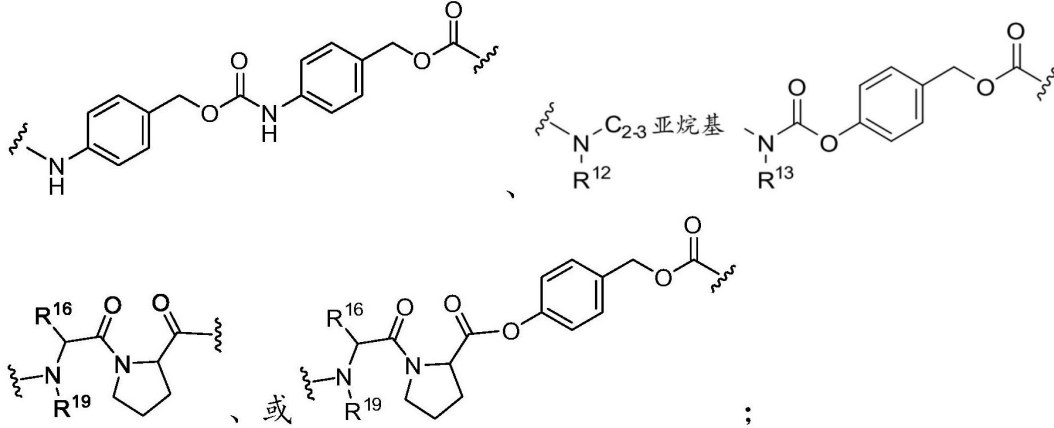
23. 如权利要求3-22中任一项所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中m是1-20。

24. 如权利要求3-23中任一项所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中

L¹是-OC(O)L⁴-或-OC₁₋₆亚烷基C(O)L⁴-;

L⁴是键、-N(R¹²)-C₂₋₃亚烷基-N(R¹³)C(O)-、-CH(NHC(O)R¹⁴)C₁₋₄亚烷基-S-S-C₁₋₄亚烷基-

OC(O)-、-NHNHC(O)CH(NHC(O)R¹⁵)CH₂C(O)-、-C₁₋₆亚烷基-CH(G^x)OC(O)-、

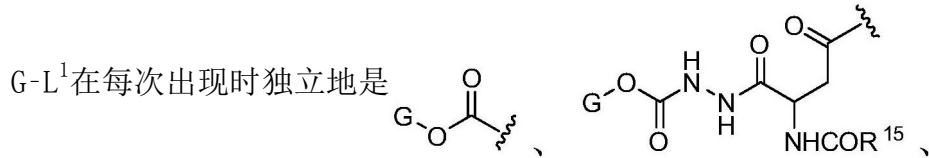


R¹²、R¹³、R¹⁴、R¹⁵和R¹⁹各自独立地是氢或C₁₋₄烷基;

R¹⁶是氢、C₁₋₄烷基、-C₁₋₄亚烷基-OH、-C₁₋₄亚烷基-OC₁₋₄烷基、-C₁₋₄亚烷基-CO₂H、或-C₁₋₄亚烷基-CONH₂;以及

G^x是任选地被1-5个独立地选自下组的取代基取代的苯基,该组由卤素、C₁₋₄烷基、C₁₋₄卤代烷基、C₁₋₄烷氧基、氰基、和硝基组成。

25. 如权利要求24所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中:



G¹是哌嗪基、吗啉基、哌啶基、氮杂环庚烷基、或吡咯烷基,通过环氮原子衔接并且任选地被1-4个独立地选自以下组成的组的取代基取代:C₁₋₄烷基、C₁₋₄卤代烷基、卤代、氰基、OH、-OC₁₋₄烷基、和氧代。

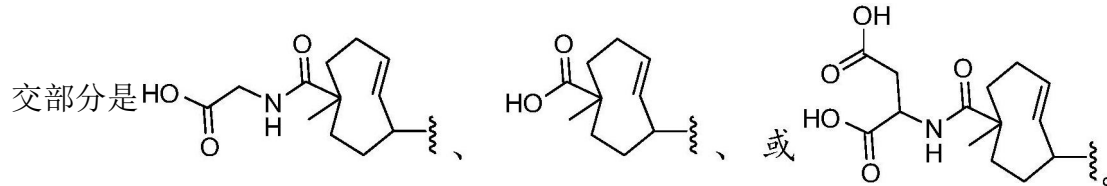
30. 如权利要求3-29中任一项所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中L²是-C(O)-。

31. 如权利要求30所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中

R^{1B}选自自由以下组成的组:OH、N(H)CH₂CO₂H、-N(H)CHR^{1e}CO₂H、-N(H)-CH₂CH₂-(N(CH₂CO₂H)CH₂CH₂)_n-N(CH₂CO₂H)₂、和-N(CH₂CO₂H)-CH₂CH₂-N(CH₂CO₂H)₂;并且

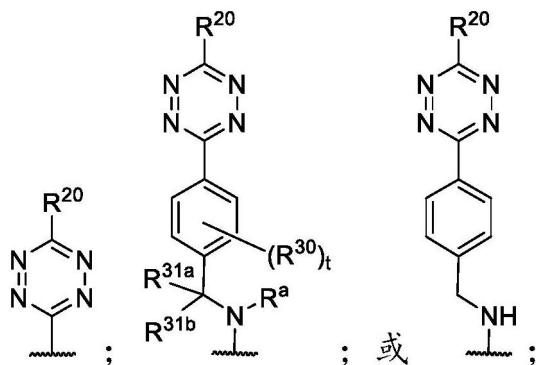
R^{1e}是-CH₂CO₂H。

32. 如权利要求1-31中任一项所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述生物正



33. 一种药物组合物,其包含如权利要求1-32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剂。

34. 一种治疗癌症或者增强或引发免疫应答的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的如权利要求1-32中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐、或如权利要求33所述的药物组合物、以及治疗性支持体组合物,所述治疗性支持体组合物包含生物相容性支持体和具有下式的含四嗪的基团



其中

R²⁰选自自由以下组成的组: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、CF₃、CF₂-R'、NO₂、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''、以及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;

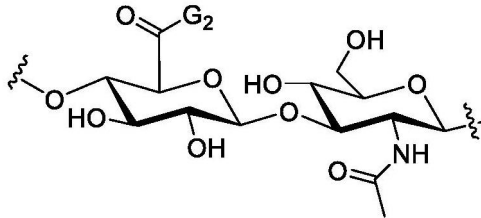
R³⁰是卤素、氰基、硝基、羟基、烷基、卤代烷基;烯基、炔基、烷氧基;卤代烷氧基;杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基或环烯基;

R^a、R^{31a}和R^{31b}各自独立地是氢、C₁-C₆-烷基或C₁-C₆-卤代烷基;以及

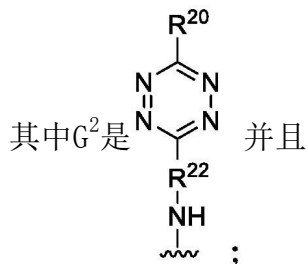
t是0、1、2、3或4。

35. 如权利要求34所述的方法,其中所述含四嗪的基团连接至或直接键合至透明质酸生物相容性支持体。

36. 如权利要求34或35所述的方法,其中所述治疗性支持体组合物包含经取代的具有式(II)的透明质酸单元,

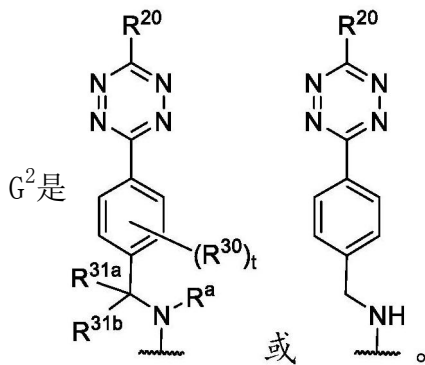


(II)

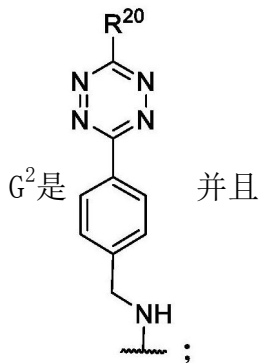


R²²是1至100个连接原子的接头。

37. 如权利要求36所述的方法,其中:



38. 如权利要求37所述的方法,其中



R²⁰是氢或C₁₋₄烷基。

39. 如权利要求34-38中任一项所述的方法,其中所述方法是治疗癌症的方法。

40. 如权利要求39所述的方法,其中所述癌症是黑素瘤、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/颈鳞状细胞癌、肛门/外阴癌、食管癌、胰腺癌、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、威尔姆氏瘤/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。

41. 如权利要求39或40所述的方法,其中所述癌症是实体瘤。

42. 如权利要求39或40所述的方法,其中所述癌症是软组织肉瘤。

43. 如权利要求42所述的方法,其中所述软组织肉瘤是纤维肉瘤、横纹肌肉瘤、或尤因肉瘤。

44. 如权利要求34-38中任一项所述的方法,其中所述方法是增强或引发免疫应答的方法。

45. 如权利要求44所述的方法,其中所述免疫应答是白细胞、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。

46. 如权利要求34-45中任一项所述的方法,所述方法进一步包括施用治疗有效量的另外的治疗剂,所述治疗剂选自以下组成的组:抗癌剂、免疫调节剂、或其反式环辛烯前药。

47. 一种试剂盒,其包含如权利要求1-32中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐、或如权利要求33所述的药物组合物、及其使用说明书。

48. 如权利要求45所述的试剂盒,其进一步包含如权利要求34-38中任一项所定义的治疗性支持体组合物。

反式环辛烯生物正交剂及在癌症和免疫疗法中的用途

相关申请

[0001] 本申请要求2020年8月7日提交的美国临时专利申请号63/062,814的优先权,将其通过引用以其全文并入本文。

技术领域

[0002] 本披露提供了反式环辛烯衍生物及在癌症和/或免疫疗法的受试者中用于生物正交递送的用途。

背景

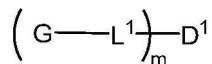
[0003] 增强免疫系统对抗肿瘤生长和癌症扩散的免疫疗法已得到临床验证。免疫疗法策略利用免疫细胞并且包括针对肿瘤抗原的单克隆抗体、免疫检查点抑制剂、疫苗接种、过继细胞疗法(例如,CAR-T细胞)和细胞因子施用。

[0004] 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(非相互作用)功能性,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使用,在这些领域中它们可用于促进分子、细胞、颗粒和表面的选择性操纵,以及体外和体内生物分子的标记和追踪。这些反应包括施陶丁格连接(Staudinger ligation)、叠氮化物-环辛炔环加成和反电子需求狄尔斯-阿尔德反应(inverse-electron-demand Diels-Alder reaction)。

概述

[0005] 本披露提供了一种缀合物,其包含与一个或多个生物正交部分连接的免疫调节剂有效负载、单克隆抗体有效负载或治疗性蛋白质有效负载,其中免疫调节剂有效负载选自由以下组成的组:细胞因子、趋化因子、趋化因子拮抗剂、和免疫检查点抑制剂有效负载;或其药学上可接受的盐。

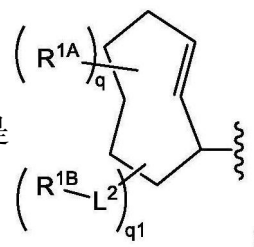
[0006] 在一方面,本发明提供了具有式(I)的缀合物或其药学上可接受的盐,



(I)

其中

G是生物正交部分,并且G在每次出现时独立地是



L^1 在每次出现时独立地是接头;

m是1-150的整数;

D^1 是免疫调节剂有效负载、单克隆抗体有效负载、或治疗性蛋白质有效负载;

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;

q是0、1或2；

q1是0或1；

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- $CO_2H)_2$ ；

R^{1c} 和 R^{1d} 在每次出现时独立地是氢或 C_{1-4} 烷基；

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

R^{1f} 在每次出现时独立地是氢、 C_{1-6} 烷基、或 C_{1-4} 亚烷基- CO_2H ；

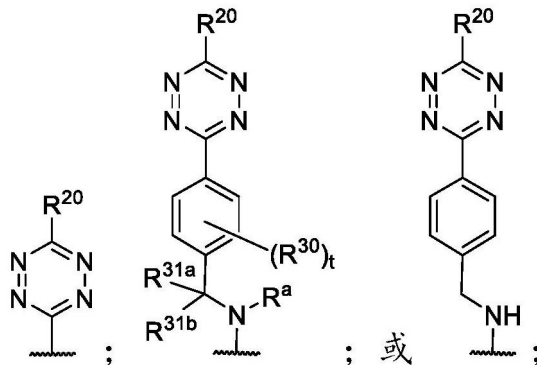
n在每次出现时独立地是0、1、2或3；

L^2 ，在每次出现时，独立地选自由以下组成的组： $-C(O)-$ 和 C_{1-3} 亚烷基；以及

G^1 ，在每次出现时，独立地是任选地取代的杂环基。

[0007] 在另一方面，本发明提供了一种药物组合物，该药物组合物包含该缀合物或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的载剂。

[0008] 在另一方面，本发明提供了一种治疗癌症或者增强或引发免疫应答的方法，该方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的缀合物、或其药学上可接受的盐或组合物，以及治疗性支持体组合物，该治疗性支持体组合物包含生物相容性支持体和具有下式的含四嗪的基团



其中

R^{20} 选自由以下组成的组：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' 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=S)R'$ 、 $OC(=O)R''$ 、 $SC(=O)R''$ 、 $OC(=S)R''$ 、 $SC(=S)R''$ 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R''$ 、 $S(=O)_2NR'R''$ 、 $C(=O)O-R'$ 、 $C(=O)S-R'$ 、 $C(=S)O-R'$ 、 $C(=S)S-R'$ 、 $C(=O)NR'R''$ 、 $C(=S)NR'R''$ 、 $NR'R''$ 、 $NR'C(=O)R''$ 、 $NR'C(=S)R''$ 、 $NR'C(=O)OR''$ 、 $NR'C(=S)OR''$ 、 $NR'C(=O)SR''$ 、 $NR'C(=S)SR''$ 、 $OC(=O)NR'R''$ 、 $SC(=O)NR'R''$ 、 $OC(=S)R'R''$ 、 $SC(=S)R'R''$ 、 $NR'C(=O)NR'R''$ 、以及 $NR'C(=S)NR'R''$ ；

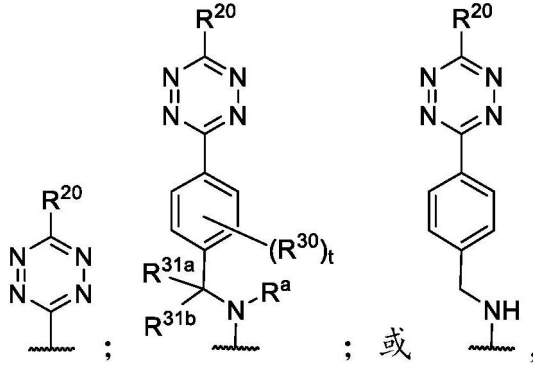
R' 和 R'' 在每次出现时独立地选自氢、芳基和烷基；

R'' 在每次出现时独立地选自芳基和烷基；

R^{30} 是卤素、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；

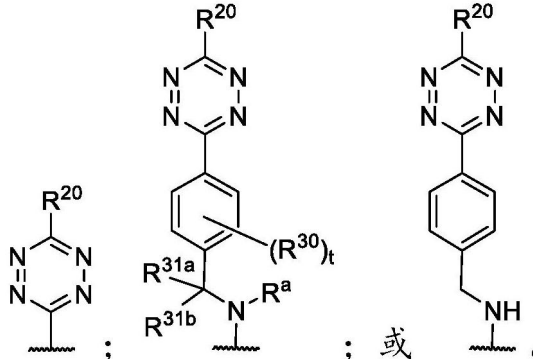
R^a 、 R^{31a} 和 R^{31b} 各自独立地是氢、 C_1 - C_6 -烷基或 C_1 - C_6 -卤代烷基；以及 t 是 0、1、2、3 或 4。

[0009] 在另一方面，本发明提供了一种药物组合，该药物组合包含如本文所定义的缀合物、或其药学上可接受的盐或组合物；和治疗性支持体组合物，该治疗性支持体组合物包含生物相容性支持体和具有下式的含四嗪的基团



用于在治疗癌症或者增强或引发免疫应答中使用。

[0010] 在另一方面，本发明提供了一种组合在制造用于治疗癌症或者增强或引发免疫应答的药物中的用途，该组合包含如本文所定义的缀合物或其药学上可接受的盐或组合物；和治疗性支持体组合物，该治疗性支持体组合物包含生物相容性支持体和具有下式的含四嗪的基团



[0011] 本披露的方面包括一种向受试者的目标位置递送有效量的免疫调节剂的方法，其中该方法包括向受试者施用如本文所定义的治疗性支持体组合物和缀合物。

[0012] 本披露的方面还包括一种试剂盒，该试剂盒包含缀合物、如本文所定义的治疗性支持体组合物以及任选地，如本文所定义的具有式 (III) 的化合物。

附图说明

[0013] 图1显示了在3只小鼠的右肋腹皮下注射以下的荧光图像：(1) SQL70生物聚合物，接着在一小时后以10mg/kg尾静脉注射 (TVI) TCO-Fab-Cy5.5 (Cy-5.5-修饰的TCO-修饰的兰尼单抗 (组1)，(2) SQL70生物聚合物，接着在一小时后以10mg/kg尾静脉注射 (TVI) Fab-Cy5.5 (Cy-5.5-修饰的兰尼单抗 (组2)，和 (3) 对照未经修饰的HA生物聚合物，接着在一小时后以10mg/kg尾静脉注射 (TVI) TCO-Fab-Cy5.5 (Cy-5.5-修饰的TCO-修饰的兰尼单抗 (组3)。

具体实施方式

[0014] 应理解的是,为清楚起见,在单独的实施例的上下文中描述的本发明的某些特征也可以在单个实施例中组合提供。相反,为简洁起见,在单一实施例的上下文中描述的本发明的多个特征也可单独提供或以任何合适的子组合提供。与本发明有关的实施例的所有组合明确地由本发明包含并且就如同每个和每一组合被单独地并明确地披露一样在本文中披露,程度为这样的组合包含为例如为稳定化合物(即,可被制备、分离、表征且测试生物活性的化合物)的化合物的主题。此外,各种实施例及其要素(例如,在描述这样的变量的实施例中列举的化学基团的要素)的所有子组合也明确地由本发明包含,并且就如同每个和每一这样的子组合被单独地并明确地在本文中披露一样在本文中披露。

A. 定义

[0015] 除非另有定义,本文使用的所有技术和科学术语具有与本领域普通技术人员通常所理解的相同的含义。在有矛盾的情况下,将以本文件(包括定义)为准。虽然类似或者等效于本文所述的那些的方法以及材料可以用于本发明的实践或者测试中,但是以下描述了优选的方法以及材料。本文提及的所有出版物、专利申请、专利和其他参考文献通过引用以其全文并入。本文披露的材料、方法以及实例仅是说明性的并且不旨在是限制性的。

[0016] 如本文所用,术语“包含(comprise(s))”、“包括(include(s))”、“具有(having)”、“有(has)”、“可以(can)”、“含有(contains)”及其变体旨在是不排除另外的行为或结构可能性的开放式过渡短语、术语或单词。单数形式“一个/种(a/an)”和“该(the)”包括复数个指示物,除非上下文中另外明确指明。本披露还设想其他实施例,这些实施例“包括”本文所提出的实施例或要素、“由其组成”和“基本上由其组成”,不管是否明确阐述。

[0017] 与数量结合使用的修饰语“约”包括所述值并具有上下文所指示的含义(例如,它至少包括与特定数量的测量相关的误差度)。修饰语“约”也应被视为披露由两个端点的绝对值所定义的范围。例如,表达“从约2至约4”也披露了“从2到4”的范围。术语“约”可以指指示数的正或负10%。例如,“约10%”可表示9%至11%的范围,并且“约1”可意指从0.9-1.1。从上下文中可以明显看出“约”的其他含义,例如四舍五入,因此,例如“约1”也可以意指从0.5至1.4。

[0018] 连接术语“或”包括通过该连接术语关联的一种或多种所列出的要素的任何和所有组合。例如,短语“包括A或B的设备”可以指包括A的设备(其中不存在B)、包括B的设备(其中不存在A)、或者A和B两者均存在的设备。短语“A、B、...以及N中的至少一个”或者“A、B、...N中的至少一个或其组合”在最广义的意义上定义为意指选自包括A、B、...以及N的组的一种或多种要素,也就是说,要素A、B、...或N中的一种或多种的任何组合包括单独的或与一种或多种其他要素组合的任一种要素,这些其他要素也可以包括组合的未列出的另外要素。

[0019] 以下更详细地描述特定官能团和化学术语的定义。出于本披露的目的,化学元素根据元素周期表,CAS版,Handbook of Chemistry and Physics[化学与物理手册],第75版,内封面进行鉴定,并且特定官能团通常如其中所述定义。另外,有机化学的通用原理以及具体的官能部分和反应性描述于Organic Chemistry[有机化学],Thomas Sorrell, University Science Books[大学科学书籍],索萨利托(Sausalito),1999;Smith和March, March's Advanced Organic Chemistry[马奇氏高级有机化学],第5版,John Wiley&Sons,

Inc. [约翰·威利父子出版社], 纽约, 2001; Larock, *Comprehensive Organic Transformations* [综合有机转化], VCH Publishers, Inc. [VCH出版社有限公司], 纽约, 1989; Carruthers, *Some Modern Methods of Organic Synthesis* [一些现代有机合成方法], 第3版, 剑桥大学出版社 (Cambridge University Press), 剑桥, 1987; 它们各自的全部内容通过援引并入本文。

[0020] 如本文所用的术语“烷氧基”是指通过氧原子附接至母体分子部分的如本文所定义的烷基基团。烷氧基的代表性实例包括但不限于: 甲氧基、乙氧基、丙氧基、2-丙氧基、丁氧基和叔丁氧基。

[0021] 如本文所用的术语“烷基”意指含有从1至30个碳原子的直链或支链的饱和烃链。术语“低级烷基”或“ C_1-C_6 -烷基”意指含有从1至6个碳原子的直链或支链烃。术语“ C_1-C_3 -烷基”意指含有从1至3个碳原子的直链或支链烃。烷基的代表性实例包括但不限于, 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、以及正癸基。

[0022] 如本文所用的术语“烯基”意指具有至少一个碳-碳双键的含有从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, 烯基基团可以被芳基基团如苯基取代。

[0023] 如本文所用, 术语“炔基”是指具有从2至30个碳原子, 如2至20或2至10个碳原子且具有至少1个三键不饱和位点的直链或支链的单价烃基基团。术语“炔烃”还包括具有从5至20个碳原子(如从5至10个碳原子)、具有单个或多个环且具有至少一个三键的非芳香族环烷基基团。这样的炔基基团的实例包括但不限于乙炔基 ($-C\equiv CH$) 和炔丙基 ($-CH_2C\equiv CH$) 以及环炔基部分, 如但不限于取代的或未取代的环辛炔部分。

[0024] 如本文所用的术语“烷氧基烷基”是指通过如本文所定义的烷基基团附接至母体分子部分的如本文所定义的烷氧基基团。

[0025] 如本文所用的, 术语“亚烷基”是指衍生自具有1至30个碳原子, 例如具有2至10个碳原子的直链或支链烃的二价基团。亚烷基的代表性实例包括但不限于 $-CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)CH_2-$ 、 $-C(CH_3)_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)CH_2CH_2-$ 、 $-C(CH_3)_2CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2C(CH_3)_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 、和 $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 。

[0026] 术语“氨基酸”是指天然和非天然氨基酸, 受保护的天然和非天然氨基酸, 以及以与天然存在的氨基酸相似的方式起作用的氨基酸类似物和氨基酸模拟物。天然编码的氨基酸包括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、甲硫氨酸、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, 即仅举例来说, α -碳与氢、羧基基团、氨基基团和R基团附接。此类类似物可具有经修饰的R基团(例如, 如正亮氨酸)或保留经修饰的肽主链, 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、甲硫氨酸甲基砷。

[0027] 如本文所用的术语“芳基”是指苯基基团或双环芳基或三环芳基稠合环系统。双环稠合环系统由附接至母体分子部分并与苯基基团稠合的苯基基团举例说明。三环稠合环系统由附接至母体分子部分并与两个其他苯基基团稠合的苯基基团举例说明。双环芳基的代表性实例包括但不限于萘基。三环芳基的代表性实例包括但不限于蒽基。单环、双环和三环

芳基通过这些环内包含的任何碳原子连接至母体分子部分,并且可以是未取代的或取代的。

[0028] 如本文所用的术语“叠氮化物”是指官能团 $-N_3$ 。

[0029] 如本文所用的术语“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环系统。环烷基的代表性实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、以及环癸基。“环烷基”还包括碳环环系统,其中环烷基基团附接至母体分子部分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。

[0030] 如本文所用的术语“环烯基”是指含有至少一个碳-碳双键且优选每个环具有从5-10个碳原子的非芳香族单环或多环的环系统。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。

[0031] 如本文所用的术语“环辛烯”是指具有8个碳原子且具有带双键的单环的取代的或未取代的非芳香族环状烷基基团。这样的环辛烯基团的实例包括但不限于取代的或未取代的反式环辛烯(TCO)。

[0032] 如本文所用的术语“氟烷基”意指其中一个、二个、三个、四个、五个、六个、七个或八个氢原子被氟替代的如本文所定义的烷基基团。氟烷基的代表性实例包括但不限于:2-氟乙基、2,2,2-三氟乙基、三氟甲基、二氟甲基、五氟乙基、和三氟丙基例如3,3,3-三氟丙基。

[0033] 如本文所用的术语“烷氧基氟烷基”是指通过如本文所定义的氟烷基基团附接至母体分子部分的如本文所定义的烷氧基基团。

[0034] 如本文所用的术语“氟烷氧基”意指如本文所定义的至少一个氟烷基基团通过氧原子附接至母体分子部分。氟烷氧基的代表性实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。

[0035] 如本文所用的术语“卤素”或“卤代”意指Cl、Br、I或F。

[0036] 如本文所用的术语“卤代烷基”意指其中一个、二个、三个、四个、五个、六个、七个或八个氢原子被卤素替代的如本文所定义的烷基基团。

[0037] 如本文所用的术语“卤代烷氧基”意指如本文所定义的至少一个卤代烷基基团通过氧原子附接至母体分子部分。

[0038] 如本文所用的术语“杂烷基”意指其中一个或多个碳原子已被选自S、Si、O、P和N的杂原子替代的如本文所定义的烷基基团。杂原子可以被氧化。杂烷基的代表性实例包括但不限于:烷基醚、烷基仲胺和烷基叔胺、和烷基硫化物。

[0039] 如本文所用的术语“杂芳基”是指芳香族单环或芳香族双环的环系统或芳香族三环的环系统。芳香族单环是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,独立地选自O、S和N的1、2、3或4个杂原子)的五元或六元环。该五元芳香族单环具有两个双键,并且该六元芳香族单环具有三个双键。双环杂芳基由以下举例说明:与母体分子部分附接并与如本文所定义的单环环烷基基团、如本文所定义的单环芳基基团、如本文所定义的单环杂芳基基团或如本文所定义的单环杂环稠合的单环杂芳基环。三环杂芳基基团由附接至母体分子部分并与如本文所定义的单环环烷基基团、如本文所定义的单环芳基基团、如本文所定义的单环杂芳基基团或如本文所定义的单环杂环中的两个稠合的单环杂芳基

环举例说明。单环杂芳基的代表性实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、以及2-氧代-1,2-二氢吡啶基。双环杂芳基的代表性实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、以及苯并吡唑基。三环杂芳基的代表性实例包括但不限于二苯并呋喃基和二苯并噻吩基。单环杂芳基、双环杂芳基和三环杂芳基通过这些环内包含的任何碳原子或任何氮原子连接至母体分子部分,并且可以是未取代的或取代的。

[0040] 如本文所用的术语“杂环”或“杂环的”意指单环杂环、双环杂环、或三环杂环。单环杂环是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、一个或两个双键和一个、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、两个或三个双键和一个、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、氮丙啶基、二氮杂环庚烷基、1,3-二噁烷基、1,3-二氧戊环基、1,3-二硫戊环基、1,3-二噻烷基、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、噁二唑啉基、噁二唑烷基、噁唑啉基、噁唑烷基、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、硫代吗啉基、1,1-二氧化硫代吗啉基(硫代吗啉砜)、噻喃基、以及三硫烷基。该双环杂环是与苯基基团稠合的单环杂环、或与单环环烷基稠合的单环杂环、或与单环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、或桥联的单环杂环系统,其中该环的两个非相邻原子通过1、2、3或4个碳原子的亚烷基桥连接,或通过两个、三个或四个碳原子的亚烯基桥连接。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-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[c]吡咯基、八氢吡咯并吡啶基、以及四氢异喹啉基。三环杂环由以下举例说明:与苯基基团稠合的双环杂环、或与单环环烷基稠合的双环杂环、或与单环环烯基稠合的双环杂环、或与单环杂环稠合的双环杂环,或双环杂环,其中该双环的两个不相邻的原子通过1、2、3或4个碳原子的亚烷基桥或二个、三个或四个碳原子的亚烯基桥连接。三环杂环的实例包括但不限于八氢-2,5-环氧并环戊二烯、六氢-2H-2,5-桥亚甲基环戊二烯并[b]呋喃、六氢-1H-1,4-桥亚甲基环戊二烯并[c]呋喃、氮杂-金刚烷(1-氮杂三环[3.3.1.1^{3,7}]癸烷)、以及氧杂-金刚烷(2-氧杂三环[3.3.1.1^{3,7}]癸烷)。单环杂环、双环杂环和三环杂环通过这些环内包含的任何碳原子或任何氮原子连接至母体分子部分,并且可以是未取代的或取代的。

[0041] 如本文所用的术语“羟基”意指-OH基团。

[0042] 如本文所用的术语“羟基烷基”意指其中一个、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如本文所定义的烷基基团。

[0043] 在一些情况下,烃基取代基(例如,烷基或环烷基)中的碳原子数由前缀“C_x-C_y-”或“C_{x-y}”表示,其中x是该取代基中碳原子的最小数目并且y是最大数目。因此,例如“C₁-C₃-烷基”和“C₁₋₃烷基”是指含有从1至3个碳原子的烷基取代基。两种惯例“C_x-C_y-”和“C_{x-y}”可以互换使用并且具有相同的含义。

[0044] 术语“取代的”是指可以进一步被一个或多个非氢取代基基团取代的基团。取代基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、酰基氨基、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、以及酰基。

[0045] 术语“四嗪”是指具有2个碳原子和4个氮原子且具有带三个双键的单环的取代的或未取代的芳香族环状基团。四嗪基团的实例包括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。

[0046] 术语“选择性递送”是指将药剂(例如有效负载)递送至需要治疗或诊断的器官或组织(或其部分),而不与其他非目标器官或组织(或其部分)显著结合。

[0047] 术语“有效负载”是指用于递送至受试者中的目标部位的药剂。有效负载包括治疗剂。

[0048] 如本文所用的“有效负载部分”是指有效负载D或D¹减去该有效负载与接头附接的亲核基团(例如NH、NC₁₋₄烷基、O、或S)或减去该有效负载与接头附接的亲电子基团(例如C(O)),即有效负载的剩余部分。

[0049] 术语“治疗剂”是指能够治疗和/或改善受试者中的病症或疾病或其一种或多种症状的药剂。本披露的治疗剂还包括治疗剂的前药形式。

[0050] 术语“诊断剂”是指有助于诊断病症或疾病的药剂。代表性诊断剂包括显像剂,如顺磁剂、光学探针、放射性核素等。顺磁剂是在外部施加的场下具有磁性的显像剂。顺磁剂的实例包括但不限于铁颗粒,包括铁纳米颗粒和铁微颗粒。光学探针是可以通过在一个辐射波长下激发并在第二不同的辐射波长下检测而检测到的荧光化合物。本披露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'-四甲基吡啶二碳菁高氯酸盐)、以及DiR(1,1'-双十八烷基-3,3,3',3'-四甲基吡啶三羧菁碘化物)。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。可用于本披露的实施例的放射性核素包括但不限于³H、¹¹C、¹³N、¹⁸F、¹⁹F、⁶⁰Co、⁶⁴Cu、⁶⁷Cu、⁶⁸Ga、⁸²Rb、⁹⁰Sr、⁹⁰Y、⁹⁹Tc、^{99m}Tc、¹¹¹In、¹²³I、¹²⁴I、¹²⁵I、¹²⁹I、¹³¹I、¹³⁷Cs、¹⁷⁷Lu、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、²¹¹At、Rn、Ra、Th、U、Pu、以及²⁴¹Am。

[0051] 术语“靶向剂”是指特异性地结合至靶标(例如目标器官或组织)、由此在靶向剂与特定靶标之间形成稳定缔合的化学或生物剂。“稳定缔合的”或“稳定的缔合”是指部分在标准生理条件下与另一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,如但不限于离子键、疏水相互作用、氢键、范德瓦尔斯力(例如伦敦色散力)、偶极-偶极相互作用等。靶向剂可以是特异性结合对的成员,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/抗生物素蛋白;生物素/链霉抗生物素蛋白;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。靶向剂包括特异性地结合(或基本上特异性地结合)特定临床上相关的靶受体或细胞表面靶标的配体。配体可以是对靶受体或细胞表面靶标具有特异性亲和力的抗体、肽、核酸、噬菌体、细菌、病毒或其他分子。受体和细胞表面靶标的实例包括但不限于PD-1、CTLA-4、HER2/neu、HER1/EGFR、VEGFR、BCR-ABL、SRC、JAK2、MAP2K、EML4-ALK、BRAF V600E、4-1BB、GITR、GSK3 β 、LT4-人mAb,其针对抑制性免疫检查点受体免疫球蛋白样转录物4(ILT4;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标。

[0052] 术语“目标器官或组织”是指正被靶向用于递送有效负载的器官或组织。用于靶向的代表性器官和组织包括可以被化学或生物靶向剂靶向的那些器官和组织,以及不能被化学或生物靶向剂靶向的那些器官和组织。

[0053] 术语“植入”是指手术植入到受试者的体内。

[0054] 术语“接触(contacting或contact)”是指使至少两种不同的物质接触以使得它们可以如非共价或共价结合相互作用或结合反应中彼此相互作用的过程。然而,应认识到,所得到的复合物或反应产物可以直接由所添加的试剂之间的相互作用或反应产生或可以在接触混合物中产生的来自一种或多种所添加的试剂或部分的中间体产生。

[0055] 术语“结合剂”是指具有能够与生物环境中的另一种结合剂的互补官能团形成共价键的官能团的试剂。生物环境中的结合剂之间的结合也可以被称为生物缀合。结合剂包括生物正交结合剂,其是具有生物正交官能团的结合剂。生物正交结合剂的生物正交官能团选择性地与另一生物正交结合配偶体的互补生物正交官能团反应。生物正交结合配偶体之间的选择性反应可以使与其他结合剂、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官能团的副反应最小化。生物正交结合剂的生物正交部分或官能团包括但不限于用于经由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。可用于本披露的结合剂可以与相应的结合剂具有高反应性,以使得反应是快速的。

[0056] 术语“官能化的”是指具有与该部分附接的官能团的部分,例如像具有与其附接的结合剂官能团(例如生物正交官能团)的部分。

[0057] 术语“施用”是指施用至受试者的任何适合的途径,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。

[0058] 如本文所用,术语“肠胃外”是指施用的方式,包括静脉内、肌肉内、腹膜内、胸骨内、皮下以及关节内注射和输注。

[0059] 术语“离去基团”是指具有吸电子能力的原子(或一组原子),其可以作为稳定的物质被代替,同时带走键合电子。合适的离去基团的实例包括卤化物(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)、以及硝基酚。

[0060] 术语“药学有效量”和“治疗有效量”是指足以治疗特定障碍或疾病或其一种或多种症状和/或预防该疾病或障碍或其一种或多种症状或降低该疾病或障碍或其一种或多种症状的发生或复发的风险的化合物的量。关于致瘤性增生性障碍,药学或治疗有效量包括足以(除其他方面外)引起肿瘤缩小或降低肿瘤生长速率的量。

[0061] 如本文所用,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)。可以向其施用本披露的一种或多种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,合适的受试者可以包括例如家畜像牛、绵羊、山羊、奶牛、猪等;家禽像鸡、鸭、鹅、火鸡等;和驯养动物,特别是宠物像狗和猫。对于诊断或研究应用,合适的受试者可以包括哺乳动物,例如啮齿动物(如小鼠、大鼠、仓鼠)、兔、灵长类动物和猪例如近交系猪等。

[0062] 如本文所用的术语“治疗(treating或treatment)”是指治疗患者(例如哺乳动物(特别是人))的疾病或医学病症或其一种或多种症状,包括:(a)改善疾病或医学病症或其一种或多种症状,例如消除或导致患者的疾病或医学病症或其一种或多种症状消退;(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的一种或多种症状。

[0063] 术语“生理条件”意在涵盖与活细胞相容的那些条件,例如主要是与活细胞相容的温度、pH、盐度等的水性条件。

[0064] 对于本文所述的化合物,其基团和取代基可根据原子和取代基的所允许化合价进行选择,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经历转化,例如通过重排、环化、消除等。

[0065] 在提供值的范围的情况下,应理解在该范围的上限与下限之间的每个居中值(到下限的十分之一单位,除非上下文中另外明确指明)以及在所陈述范围内的任何其他所陈述的值或居中值均被涵盖在本发明之内。这些较小范围的上限和下限可以独立地包括在这些较小范围内,并且也涵盖在本发明内,服从所陈述范围中任何特别排除的限值。在所陈述的范围包括一个或两个限值时,排除了那些被包括的限值的任一个或两个的范围也被包括在本发明之内。

[0066] 对于本文中数字范围的表述,明确地考虑了其具有相同精确度的每个居中数字。例如,对于6-9的范围,除了6和9之外还考虑数字7和8,并且对于范围6.0-7.0,明确考虑了数字6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、和7.0。

[0067] 这些化合物可以作为其中具有不对称或手性中心的立体异构体存在。这些立体异构体根据手性碳原子周围的取代基的构型是“R”或“S”。本文所用的术语“R”和“S”是如IUPAC 1974Recommendations for Section E, Fundamental Stereochemistry[用于部分E的推荐,基础立体化学], Pure Appl. Chem. [纯粹与应用化学], 1976, 45:13-30中所定义的构型。本披露考虑各种立体异构体及其混合物,并且这些具体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。这些化合物的单独立体异构体可由含有不对称或手性中心的可商购的起始材料合成制备,或通过制备外消旋混合物随后通过本领域普通技术人员熟知的拆分方法制备。这些拆分方法通过以下举例说明:(1)将对映异构体的混合物附接至手性助剂,通过重结晶或色谱法分离所得到的非对映异构体混合物并且从该助剂中任选释放光学纯产物,如Furniss, Hannaford, Smith, 和Tatchell, “Vogel’s Textbook of Practical Organic Chemistry[沃格尔实用有机化学教材]”, 第5版(1989), Longman Scientific&Technical[朗文科学技术出版社], 艾塞克斯CM20 2JE, 英格兰中所描述, 或(2)在手性色谱柱上直接分离光学对映异构体的混合物, 或(3)分步重结晶方法。

[0068] 应理解,这些化合物可以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。

[0069] 本披露也包括同位素标记的化合物,这些化合物与本文所叙述的那些化合物相同,但事实上,一个或多个原子被原子质量或质量数与通常见于自然界中的原子质量或质量数不同的原子替代。适合包含在本发明化合物中的同位素的实例是氢、碳、氮、氧、磷、硫、氟、以及氯,如但不限于对应地²H、³H、¹³C、¹⁴C、¹⁵N、¹⁸O、¹⁷O、³¹P、³²P、³⁵S、¹⁸F、以及³⁶Cl。用较重的同位素如氘(即²H)取代可以获得源于更大的代谢稳定性的某些治疗优点(例如增加的体内半衰期或减少的剂量需求),并且因此在一些情况下可以是优选的。该化合物可以掺入有正电子发射同位素以用于医学成像和正电子发射断层摄影术(PET)研究以确定受体的分布。可掺入具有式(I)、(II)或(III)的化合物中的合适的正电子发射同位素为¹¹C、¹³N、¹⁵O和¹⁸F。本文披露的同位素标记的化合物通常可以通过本领域技术人员已知的常规技术或通过所附实例中描述的那些方法类似的方法使用适当同位素标记的试剂代替非同位素标记的试剂来制备。

B. 缀合物

[0070] 在下文披露本发明的实施例。第一实施例表示为E1,后续实施例表示为E1.1、E1.1A、E1.2等。

[0071] E1.一种缀合物,其包含与一个或多个生物正交部分连接的免疫调节剂有效负载,其中所述免疫调节剂有效负载选自由以下组成的组:细胞因子、趋化因子、趋化因子拮抗剂、治疗性单克隆抗体、和免疫检查点抑制剂有效负载;或其药学上可接受的盐。生物正交部分包含生物正交官能团,例如反式环辛烯、四嗪、叠氮化物或炔炔。生物正交官能团是本领域熟知的,如在Randon,2020,Bioconjugate Chem. [生物缀合物化学],31(2):159-173中所述。

[0072] E1.1.一种缀合物,其包含与一个或多个生物正交部分连接的免疫调节剂有效负载,其中所述免疫调节剂有效负载是细胞因子有效负载或其药学上可接受的盐的抑制剂。

[0073] E1.1A.如E1.1所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述细胞因子有效负载的抑制剂是TNF- α 、英夫利昔单抗、赛妥珠单抗、TGF- β 、加尼舍替、非苏木单抗、M7824、CSF-1、培西达替尼或卡比拉单抗的抑制剂的有效负载。

[0074] E1.2.一种缀合物,其包含与一个或多个生物正交部分或其药学上可接受的盐连接的单克隆抗体有效负载。

[0075] E1.3.一种缀合物,其包含与一个或多个生物正交部分或其药学上可接受的盐连接的治疗性蛋白质有效负载。

[0076] E1.3A.如E1.3所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述治疗性蛋白质有效负载是基于抗体的药物、Fc融合蛋白、抗凝血剂、血液因子、骨形态发生蛋白、工程化蛋白支架、酶、生长因子、激素、干扰素、白细胞介素或血栓溶解剂的有效负载。

[0077] E1.3B.如E1.3所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述治疗性蛋白质有效负载是细胞因子、趋化因子、生长因子、激素、抗体或抗原的有效负载。

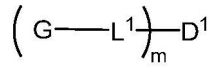
[0078] E1.3C.如E1.3所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述治疗性蛋白质有效负载是如下各项的有效负载:促红细胞生成素(EPO,例如天然EPO或合成EPO(参见例如US 2003/0191291),例如但不限于,例如PROCRIT®、EPREX®或EPOGEN®(阿法依泊

汀 (epoetin- α))、**ARANESP®** (阿法达贝泊汀 (darbepoietin- α))、**NEORECORMON®**、**EPOGIN®** (倍他依泊汀 (epoetin- β))等) ;生长激素 (例如生长素, 例如 **GENOTROPIN®**、**NUTROPIN®**、**NORDITROPIN®**、**SAIZEN®**、**SEROSTIM®**、**HUMATROPE®**等) ;治疗性单克隆抗体 (例如阿特殊单抗、阿维鲁单抗、贝伐单抗、塞普利单抗、西妥昔单抗、达雷木单抗、地努妥昔单抗、度伐单抗 (durvalumab)、埃罗妥珠单抗、伊匹单抗、艾萨妥昔单抗、莫加利珠单抗、奈昔木单抗、纳武单抗、奥滨尤妥株单抗、奥法木单抗、奥拉木单抗、帕尼单抗、派姆单抗、帕妥珠单抗、雷莫芦单抗、利妥昔单抗、曲妥单抗等) ;人类生长激素 (hGH) ;牛生长激素 (bGH) ;促卵泡激素 (FSH) ;干扰素 (例如, IFN- γ 、IFN- α 、IFN- β 、IFN- ω ; IFN- τ 、共有干扰素等) ;胰岛素 (例如, 诺和灵、优泌林、优泌乐、来得时、超缓释胰岛素等) ;胰岛素样生长因子 (例如, IGF-I、IGF-II) ;血液因子 (例如因子X、组织纤溶酶原激活剂 (TPA) 等, 例如但不限于例如 **ACTIVASE®** (阿替普酶) 组织纤溶酶原激活剂、**NOVOSEVEN®** (重组人因子Vila)、因子Vila、因子VIII (例如, **KOGENATE®**)、因子IX、 β -球蛋白、血红蛋白等) ;集落刺激因子 (例如, 粒细胞-CSF (G-CSF, 例如 **NEUPOGEN®** (非格司亭))、巨噬细胞-CSF (M-CSF)、粒细胞-巨噬细胞-CSF (GM-CSF)、培非格司亭 (Neulasta或pegfilgrastim)、粒细胞-单核细胞集落刺激因子、巨核细胞集落刺激因子等)、转化生长因子 (例如, TGF- β 、TGF- α) ;白细胞介素 (例如IL-1、IL-2 (例如 **Proleukin®**)、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IE-12等) ;生长因子 (例如表皮生长因子 (EGF)、血小板衍生生长因子 (PDGF, 例如 **REGRANEX®** (贝卡普勒明))、成纤维细胞生长因子 (FGF, 例如aFGF、bFGF, 例如 **FIB LAST®** (曲弗明))、神经胶质细胞系衍生生长因子 (GDNF)、神经生长因子 (NGF)、干细胞因子 (例如, **STEMGEN®** (安塞司亭))、角质形成细胞生长因子、肝细胞生长因子等) ;可溶性受体 (例如, 结合TNF- α 的可溶性受体, 如 **ENBREL®** (依那西普)、可溶性VEGF受体、可溶性白细胞介素受体、可溶性Y/ δ T细胞受体等) ;酶 (例如, α -葡糖苷酶、**CERAZYME®** (伊米昔酶、 β -葡糖脑苷脂酶、**CEREDASE®** (阿糖苷酶)) ;酶激活剂 (例如, 组织纤溶酶原激活剂) ;趋化因子 (例如, IP-10、Mig、Gro α /IL-8、调节正常T细胞表达和分泌因子 (RANTES)、MIP-1 α 、MIP-1 ρ 、MCP-1、PF-4等) ;血管生成剂 (例如, 血管内皮生长因子 (VEGF) ;抗血管生成剂 (例如, 可溶性VEGF受体) ;蛋白质疫苗;神经活性肽, 例如缓激肽、胆囊收缩素、胃泌素、分泌素、催产素、促性腺激素释放激素、 β -内啡肽、脑啡肽、物质P、生长抑素、甘丙肽、生长激素释放激素、铃蟾肽、华法林、强啡肽、神经降压素、胃动素、促甲状腺素、神经肽Y、黄体生成素、降钙素、胰岛素、胰高血糖素、加压素、血管紧张素II、促甲状腺素释放激素、血管活性肠肽、睡眠肽等;其他蛋白质, 例如血栓溶解剂、心钠素、骨形态发生蛋白、血小板生成素、松弛素、神经胶质原纤维酸性蛋白、促卵泡激素、人 α -1抗胰蛋白酶、白血病抑制因子、转化生长因子、组织因子、胰岛素样生长因子、黄体生成素、促卵泡激素、巨噬细胞激活因子、肿瘤坏死因子、中性粒细胞趋化因子、神经生长因子、金属蛋白酶组织抑制剂;血管活性肠肽、血管生成素、促血管素、纤维蛋白;水蛭素;白血病抑制因子;或IL-1受体拮抗剂 (例如 **Kineret®** (阿那白滞素)) 等。

[0079] E2. 如E1-E1.3C所述的缀合物或其药学上可接受的盐, 其中每个生物正交部分独

立地包含反式环辛烯或四嗪。

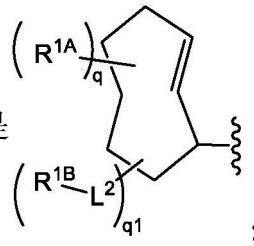
[0080] E3. 如E1-E2中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐,所述缀合物具有式(I)



(I)

其中

G是生物正交部分,并且G在每次出现时独立地是



L^1 在每次出现时独立地是接头;

m是1-150的整数;

D^1 是免疫调节剂有效负载、单克隆抗体有效负载、或治疗性蛋白质有效负载;

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;

q是0、1或2;

q_1 是0或1;

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- $CO_2H)_2$;

R^{1c} 和 R^{1d} 在每次出现时独立地是氢或 C_{1-4} 烷基;

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

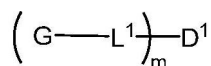
R^{1f} 在每次出现时独立地是氢、 C_{1-6} 烷基、或 C_{1-4} 亚烷基- CO_2H ;

n在每次出现时独立地是0、1、2或3;

L^2 ,在每次出现时,独立地选自由以下组成的组: $-C(O)-$ 和 C_{1-3} 亚烷基;并且

G^1 ,在每次出现时,独立地是任选地取代的杂环基。

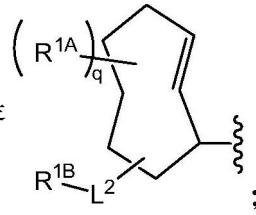
[0081] E3.1. 如E3所述的缀合物或其药学上可接受的盐,所述缀合物具有式(I)



(I)

其中

G是生物正交部分,并且G在每次出现时独立地是



L^1 在每次出现时独立地是接头;

m 是1-150的整数;

D^1 是所述免疫调节剂有效负载;

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;

q 是0或1;

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- $N(R^{1d})_2$ 、 $-N(R^{1c})CHR^{1e}CO_2H$ 、 $-N(R^{1c})-C_{1-6}$ 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、和 $-N(R^{1f})-C_{2-4}$ 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) $_2$;

R^{1c} 和 R^{1d} 在每次出现时独立地是氢或 C_{1-4} 烷基;

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

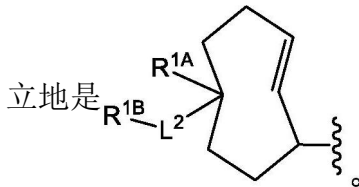
R^{1f} 在每次出现时独立地是氢、 C_{1-6} 烷基、或 C_{1-4} 亚烷基- CO_2H ;

n 在每次出现时独立地是0、1、2或3;

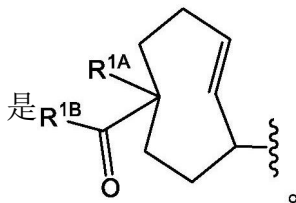
L^2 ,在每次出现时,独立地选自由以下组成的组: $-C(O)-$ 和 C_{1-3} 亚烷基;并且

G^1 ,在每次出现时,独立地是任性地取代的杂环基。

[0082] E3.1A.如E3或E3.1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是



[0083] E3.1B.如E3.1A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是



[0084] E3.2.如E1或E2-E3.1B中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述免疫调节剂有效负载是抗体有效负载。

[0085] E4.如E1或E2-E3.2中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述免疫调节剂有效负载是所述免疫检查点抑制剂有效负载。

[0086] E4.1.如E4所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述免疫检查点抑制剂有效负载是匹地利珠单抗、信迪利单抗、AMP-224、阿特珠单抗、度伐单抗、BMS-936559、曲美木

单抗、印朵目德 (indoximod)、依多司他 (epacadostat)、TIGIT抑制剂 (例如LAG-3, 如抗LAG-3抗体; TIM-3, 如抗TIM-3抗体)、B7分子或BTLA途径拮抗剂的有效负载。

[0087] E5. 如E4所述的缀合物或其药学上可接受的盐, 其中所述免疫检查点抑制剂有效负载是免疫检查点抑制剂抗体有效负载。

[0088] E6. 如E5所述的缀合物或其药学上可接受的盐, 其中所述免疫检查点抑制剂抗体有效负载是PD-1抑制剂有效负载。

[0089] E7. 如E6所述的缀合物或其药学上可接受的盐, 其中所述PD-1抑制剂有效负载是纳武单抗、派姆单抗、匹地利珠单抗、信迪利单抗或AMP-224有效负载。

[0090] E8. 如E5所述的缀合物或其药学上可接受的盐, 其中所述免疫检查点抑制剂抗体有效负载是PD-L1抑制剂有效负载。

[0091] E9. 如E8所述的缀合物或其药学上可接受的盐, 其中所述PD-L1抑制剂有效负载是阿特珠单抗、阿维鲁单抗、度伐单抗或BMS-936559有效负载。

[0092] E10. 如E5所述的缀合物或其药学上可接受的盐, 其中所述免疫检查点抑制剂抗体有效负载是CTLA4抑制剂有效负载。

[0093] E11. 如E10所述的缀合物或其药学上可接受的盐, 其中所述CTLA4抑制剂有效负载是伊匹单抗或曲美木单抗有效负载。

[0094] E12. 如E4所述的缀合物或其药学上可接受的盐, 其中所述免疫检查点抑制剂有效负载是吡啶胺2,3-双加氧酶 (IDO) 抑制剂有效负载。

[0095] E13. 如E12所述的缀合物或其药学上可接受的盐, 其中所述IDO抑制剂有效负载是印朵目德或依多司他有效负载。

[0096] E14. 如E1或E2-E3.2中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐, 其中所述免疫调节剂有效负载是细胞因子有效负载。

[0097] E15. 如E14所述的缀合物或其药学上可接受的盐, 其中所述细胞因子有效负载是干扰素、白细胞介素、肿瘤坏死因子、促红细胞生成素、MIP3a、ICAM、巨噬细胞集落刺激因子、促红细胞生成素 (EPO)、粒细胞集落刺激因子 (GCSF) 或粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子有效负载。

[0098] E15.1. 如E14所述的缀合物或其药学上可接受的盐, 其中所述白细胞介素有效负载选自IL-1至IL-40。

[0099] E15.2. 如E14所述的缀合物或其药学上可接受的盐, 其中所述白细胞介素有效负载是IL-2、IL-7、IL-12、IL-15、IL-18或IL-21。

[0100] E15.3. 如E14所述的缀合物或其药学上可接受的盐, 其中所述免疫调节剂有效负载是1型细胞因子。(IL-2、IL-12、TNF-B、IFN-g)。

[0101] E15.4. 如E14所述的缀合物或其药学上可接受的盐, 其中所述细胞因子有效负载选自自由以下组成的组: IFN- α 、IFN- β 、IFN- γ 、聚乙二醇化IFN- α 和载脂蛋白A-I与IFN- α 的融合蛋白、白细胞介素、IL-2、与免疫球蛋白共价结合的IL-2 (例如, 阿莫白介素-2-瑟妥珠单抗 (cergutuzumab amunaleukin)、R06874281)、与PEG分子共价结合的IL-2 (例如, NKTR-214)、IL-10、聚乙二醇化IL-10 (例如, 培伊洛白介素-10 (pegilodecakin))、IL-7、IL-12、IL-15、重组无糖基化IL-15、IL-15与IL-15R α 结合结构域的融合蛋白 (例如, RLI)、包含人IL-15的三重融合蛋白、IL-15R α 和载脂蛋白A-I的结合结构域、ALT-803 (与IgG1 Fc结构域

融合的IL-15)、IL-18、IL-21、肿瘤坏死因子、TNF- α 、TNF- β)、促红细胞生成素(EPO)、MIP3a、ICAM、巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、GM-CSF和拉-他利莫近(talimogene laherparepvec)。

[0102] E16. 如E1或E2-E3.2中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述免疫调节剂有效负载是所述趋化因子有效负载。

[0103] E17. 如E16所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述趋化因子有效负载是CCL27、CCL28、CCL2、CCL3、CCL5、CXCL1、CXCL2、CXCL3、CXCL5、CXCL6、CXCL8、CXCL9、CXCL10、CXCL11、CXCL12、或CXCL14有效负载。

[0104] E18. 如E1或E2-E3.2中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述免疫调节剂有效负载是所述趋化因子拮抗剂有效负载。

[0105] E19. 如E18所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述趋化因子拮抗剂有效负载是普乐沙福有效负载。

[0106] E19.1. 如E1或E2-E3.2中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述免疫调节剂是对细胞因子或细胞因子受体具有特异性的单克隆抗体。

[0107] E20. 如E1、E2-E18或E19.1中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述免疫调节剂有效负载包含多肽。

[0108] E21. 如E20所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述多肽包含一个或多个赖氨酸残余物。

[0109] E21.1. 如E20所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述多肽包含一个或多个赖氨酸、丝氨酸、苏氨酸或酪氨酸残余物。

[0110] E22. 如E21所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中该生物正交部分在每次出现时与所述一个或多个赖氨酸残余物中之一连接。

[0111] E22.1. 如E21.1所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中该生物正交部分在每次出现时独立地与一个或多个赖氨酸、丝氨酸、苏氨酸或酪氨酸残余物连接。

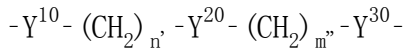
[0112] E22.2. 如E20-E22.1中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述多肽包含N-末端氨基酸,其中所述生物正交部分的出现与N-末端氨基酸相关。

[0113] E23. 如E3-E22.2中任一项所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中m是1-20。

[0114] 在本文所述的缀合物中,接头L可以具有1至100个连接原子,并且可以包括乙烯-氧基基团、胺、酯、酰胺、氨基甲酸酯、碳酸酯、以及酮官能团。例如,接头可具有从1至50个连接原子、或从5至50个连接原子、或从10至50个连接原子、或从1至40个连接原子、或从1至30个连接原子、或从1至20个连接原子、或从1至10个连接原子、或从1至5个连接原子、或从5至30个连接原子、或从10至30个连接原子、或从5至40个连接原子、或从5至50个连接原子、或从10至50个连接原子。

[0115] 式(I)中的接头可包含一个或多个(例如1-10或1-5个)链杂原子(例如O、N、S)和一个或多个(例如1-10或1-5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以独立地任选地被一至五个独立地选自以下的取代基取代:氧代、卤代、C₁₋₄烷基、C₁₋₄烷氧基、和C₁₋₄卤代烷基。

[0116] 在式(I)中,接头可具有下式:



其中:

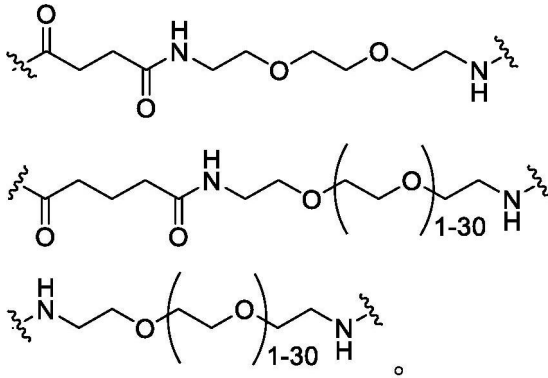
Y^{10} 、 Y^{20} 、和 Y^{30} 中的每个独立地是键、 $-NR^{110}-$ 、 $-O-$ 、 $-S(O)_{0-2}-$ 、 $-NR^{110}C(O)-$ 、 $-C(O)NR^{110}-$ 、 $-NR^{110}S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2NR^{110}-$ 、 $-CR^{120}=N-NR^{110}-$ 、 $-NR^{110}-N=CR^{120}-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)O-$ 、亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚芳基、杂亚芳基、环亚烷基或杂环亚烷基;其中每个亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚芳基、杂亚芳基、环亚烷基或杂环亚烷基独立地任选地被一至五个独立地选自以下的取代基取代:氧代、卤代、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、和 C_{1-4} 卤代烷基;

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

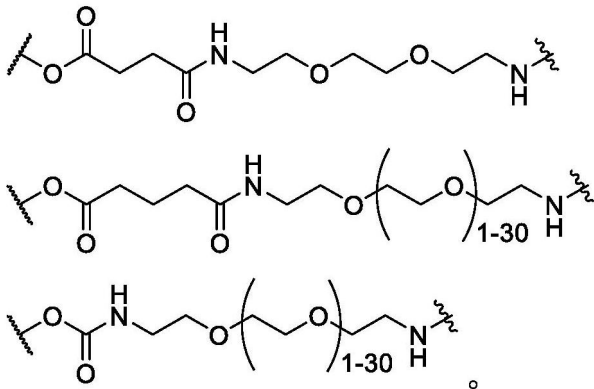
每个 R^{120} 独立地是氢、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 卤代烷基、芳基、杂芳基、环烷基或杂环基;并且 n' 和 m'' 各自独立地是0、1、2、3、4、5、6、7、或8。

[0117] 在某些实施例中,接头不是键。在某些实施例中,每个 R^{110} 独立地是氢、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 卤代烷基、芳基、杂芳基、环烷基或杂环基;并且每个 R^{120} 独立地是氢、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 卤代烷基、芳基、杂芳基、环烷基或杂环基。

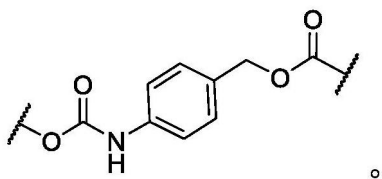
[0118] 代表性接头包括但不限于,以下所示的那些:



[0119] 代表性接头包括但不限于,以下所示的那些:



[0120] 式(I)中的接头可包含聚乙二醇(例如平均分子量为从300g/mol至10,000g/mol的PEG)、亚乙基-1,2-二基双(甲基氨基甲酸酯)、亚芳基(例如,亚苯基)、亚乙基-氧基、胺、酯、酰胺、氨基甲酸酯、酮(即甲酰基)或甲酸酯中的一个或多个。式(I)中的接头可包含



[0121] 在式(I)中,接头可包含一个或多个天然或非天然氨基酸,其可称为肽接头。在药物(D¹)包含氨基部分的情况下,可以使用由羧基单元组成的肽接头和构成蛋白质或肽序列的一个或多个氨基酸来将接头与其结合。接头还可以含有自毁式间隔物,其将药物和蛋白质肽序列间隔开。

[0122] 在式I中,接头L可以是由“A—Y—Z—X—W”代表的肽接头,其中“A”是羧基单元,“Y”和“Z”各自是一个或多个天然或非天然氨基酸并一起形成肽序列,并且“X”和“W”是任选的另外的具有从1至50个连接原子、或从5至10个连接原子、或从1至10个连接原子的接头,其使肽与药物D¹或生物正交部分间隔开。在某些实施例中,肽接头中的氨基酸中的一个或多个是N-甲基化的。

[0123] 在式(I)中,Y可以是至少一种选自由以下组成的组的氨基酸:丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、色氨酸和脯氨酸。Y可以是至少一种选自由以下组成的组的氨基酸:苯丙氨酸、丙氨酸、和缬氨酸。

[0124] 在式(I)中,Z可以是至少一种选自由以下组成的组的氨基酸:丙氨酸、赖氨酸、乙酰基或甲酰基保护的赖氨酸、精氨酸、甲苯磺酰基或硝基保护的精氨酸、组氨酸、鸟氨酸、乙酰基或甲酰基保护的鸟氨酸、和瓜氨酸。Z可以是至少一种选自由以下组成的组的氨基酸:丙氨酸、赖氨酸、和瓜氨酸。

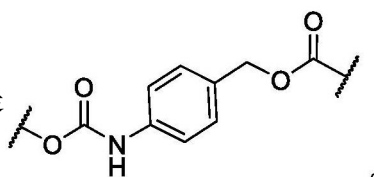
[0125] 优选的Y-Z组合包括缬氨酸-瓜氨酸;缬氨酸-丙氨酸;和丙氨酸-丙氨酸。

[0126] 在某些实施例中,A是-OC(O)-。

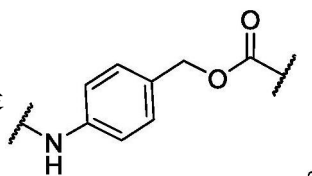
[0127] 在某些实施例中,X是-OC(O)-。

[0128] 在某些实施例中,W是-OC(O)-。在某些实施例中,X不存在并且W是-OC(O)-。

[0129] 在某些实施例中,—X—W是



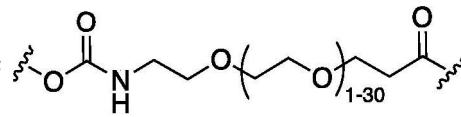
[0130] 在某些实施例中,—X—W是

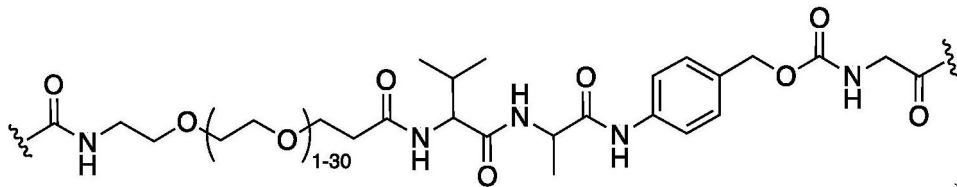
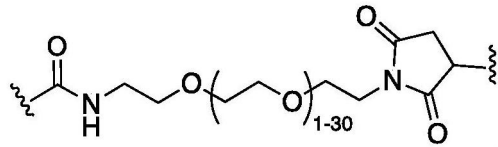
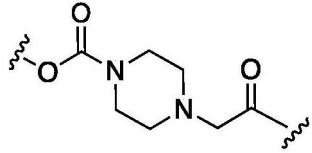
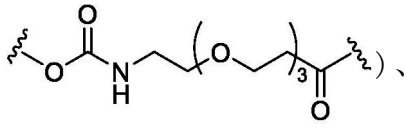


[0131] 在某些实施例中,特别定制肽接头以便其将被选择性切割(例如,酶促切割)释放药物,例如通过一种或多种肿瘤相关蛋白酶。

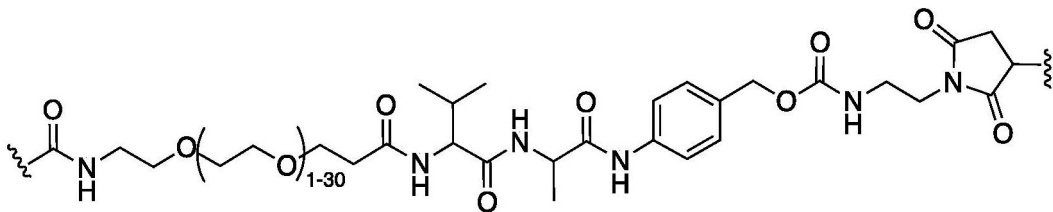
[0132] 在某些实施例中,肽接头具有二至四个氨基酸残基(即二肽、三肽或四肽)的链长。然而,应当理解,也可以适当地使用多达五个、六个、七个或八个氨基酸残基的肽接头。

[0133] 在某些实施例中,肽接头是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-N⁹-甲苯磺酰基-Arg、或Phe-N⁹-硝基-Arg。在某些实施例中,肽接头是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,肽接头是Val-Cit、Val-Ala、或Ala-Ala。

[0134] 在某些实施例中,式(I)中的接头L是: (例如

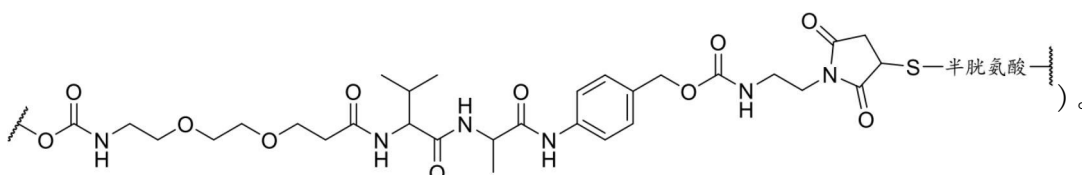
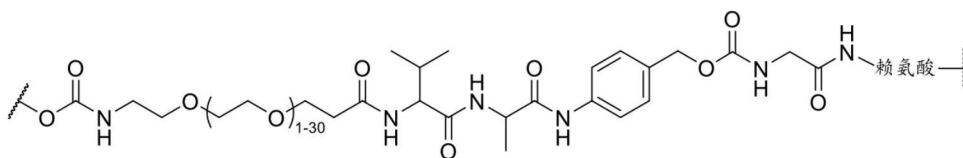
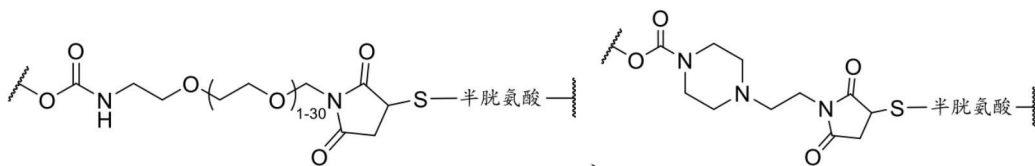
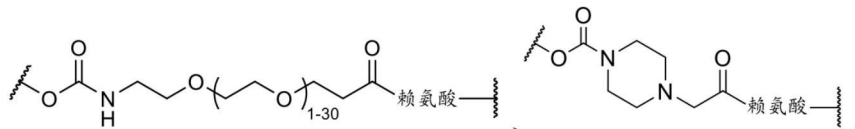


或



前述接头可

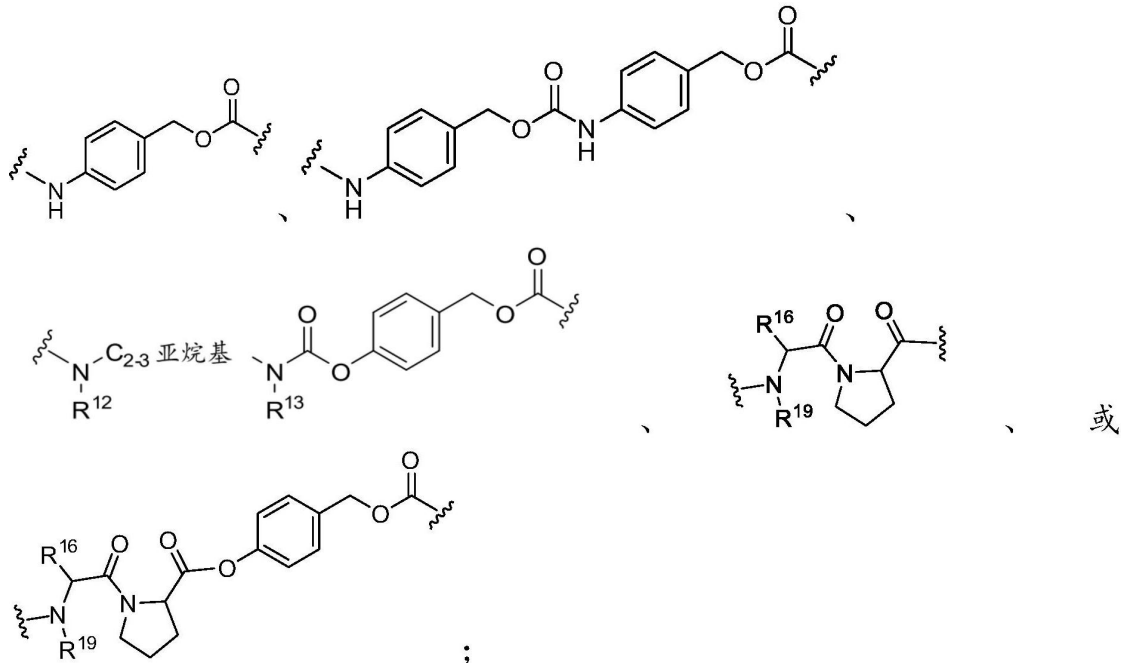
以在右侧附接到D¹的氨基酸侧链,例如赖氨酸或半胱氨酸(例如



[0135] E24. 如E3-E23中任一项所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中

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

L^4 是键、 $-N(R^{12})-C_{2-3}$ 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 $-CH(G^x)OC(O)-$ 、



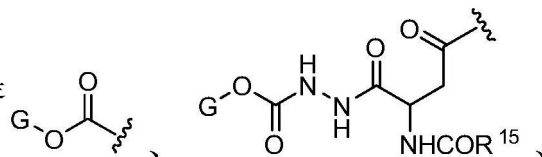
R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{19} 各自独立地是氢或 C_{1-4} 烷基;

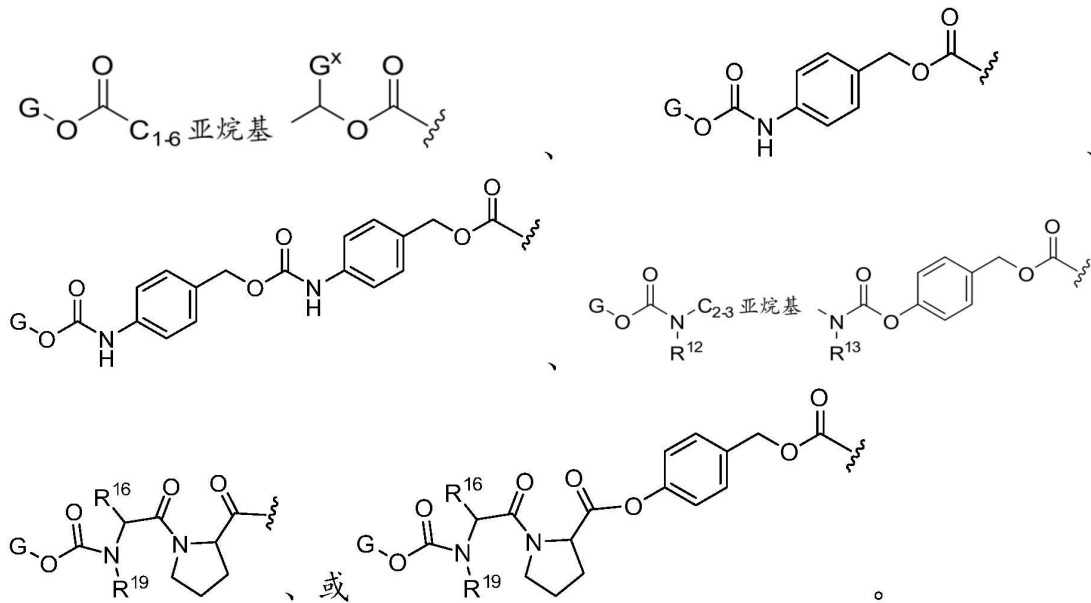
R^{16} 是氢、 C_{1-4} 烷基、 $-C_{1-4}$ 亚烷基 $-OH$ 、 $-C_{1-4}$ 亚烷基 $-OC_{1-4}$ 烷基、 $-C_{1-4}$ 亚烷基 $-CO_2H$ 、或 $-C_{1-4}$ 亚烷基 $-CONH_2$;以及

G^x 是任选地被1-5个独立地选自下组的取代基取代的苯基,该组由卤素、 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。

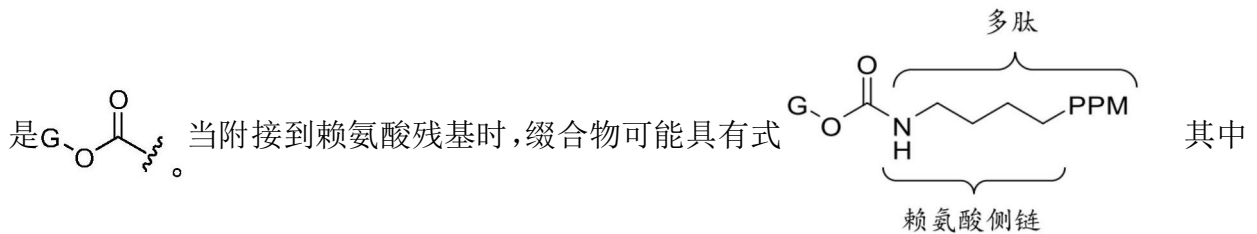
[0136] E25. 如权利要求E24所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中:

$G-L^1$ 在每次出现时独立地是





[0137] E26. 如E25所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中G-L¹在每次出现时独立地



PPM是具有赖氨酸残基和赖氨酸侧链的多肽部分,并且PPM还可以具有另外的赖氨酸,或与基团 缀合的其他氨基酸侧链。

[0138] E27. 如E3-E26中任一项所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中:

R^{1B}选自由以下组成的组:G¹、OH、-NR^{1c}-C₁₋₄亚烷基-G¹、-NR^{1c}-C₁₋₄亚烷基-N(R^{1d})₂、-N(R^{1c})CHR^{1e}CO₂H、-N(R^{1c})CH₂CO₂H、和-N(R^{1f})-CH₂CH₂-(N(CH₂CO₂H)CH₂CH₂)_n-N(CH₂CO₂H)₂;
R^{1e}是-CH₂CO₂H、-CH₂CH₂CO₂H、-CH₂CONH₂、-CH₂CH₂CONH₂、-CH₂OH、或-CH(CH₃)OH;并且
R^{1f}是氢或CH₂CO₂H。

[0139] E27.1. 如E3-E26中任一项所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中:

R^{1B}选自由以下组成的组:-NR^{1c}-C₂₋₄亚烷基-N(C₁₋₄烷基)₃⁺、-N(R^{1c})-C₁₋₆亚烷基-SO₃H、-N(R^{1c})-(CH₂CH₂O)₁₋₃-CH₂CH₂N((CH₂CH₂O)₁₋₃-C₁₋₆亚烷基-CO₂H)₂、和-N(R^{1c})-CH(CH₂O-(CH₂CH₂O)₀₋₂-C₁₋₆亚烷基-CO₂H)₂。

[0140] E27.2. 如E27.1所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中

R^{1B}选自由以下组成的组:-NR^{1c}-CH₂CH₂-N(CH₃)₃⁺、-N(R^{1c})-CH₂CH₂-SO₃H、-N(R^{1c})-(CH₂CH₂O)₃-CH₂CH₂N((CH₂CH₂O)₃-CH₂CH₂-CO₂H)₂、和-N(R^{1c})-CH(CH₂O-CH₂CH₂-CO₂H)₂。

[0141] E27.3. 如E27-E27.2中任一项所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中R^{1A}是C₁₋₄烷基。

[0142] E27.4. 如E27.3所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中R^{1A}是CH₃。

[0143] E27.5. 如E27-E27.4中任一项所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中R^{1c}是

氢。

[0144] E28. 如E3-E26中任一项所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中

R^{1A} 是 C_{1-4} 烷基;

R^{1B} 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- $N(R^{1d})_2$ 、 $-N(R^{1c})CHR^{1e}CO_2H$ 、 $-N(R^{1c})CH_2CO_2H$ 、和 $-N(R^{1f})-CH_2CH_2-(N(CH_2CO_2H)CH_2CH_2)_n-N(CH_2CO_2H)_2$;

R^{1e} 是 $-C_{1-4}$ 亚烷基- CO_2H ;

R^{1f} 是氢或 C_{1-4} 亚烷基- CO_2H ;

G^1 是含有第一氮和任选地一个另外的选自氮、氧和硫的杂原子的4至8元单环的杂环基, G^1 附接在所述第一氮处并且任选地被1-4个独立地选自以下组成的组的取代基取代: 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;以及

n 是0、1或2。

[0145] E29. 如E28所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中

R^{1A} 是 CH_3 ;

R^{1e} 是 $-CH_2CO_2H$;

R^{1f} 是氢或 CH_2CO_2H ;以及

G^1 是哌嗪基、吗啉基、哌啶基、氮杂环庚烷基、或吡咯烷基,通过环氮原子附接并且任选地被1-4个独立地选自以下组成的组的取代基取代: 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。

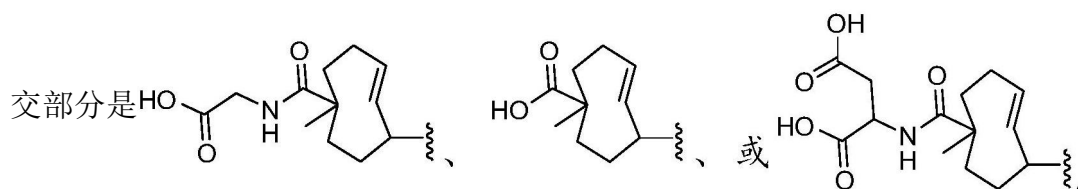
[0146] E30. 如E3-E29中任一项所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中 L^2 是 $-C(O)-$ 。

[0147] E31. 如E30所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中

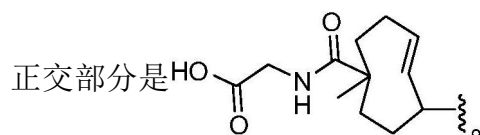
R^{1B} 选自由以下组成的组: OH 、 $N(H)CH_2CO_2H$ 、 $-N(H)CHR^{1e}CO_2H$ 、 $-N(H)-CH_2CH_2-(N(CH_2CO_2H)CH_2CH_2)_n-N(CH_2CO_2H)_2$ 、和 $-N(CH_2CO_2H)-CH_2CH_2-N(CH_2CO_2H)_2$;以及

R^{1e} 是 $-CH_2CO_2H$ 。

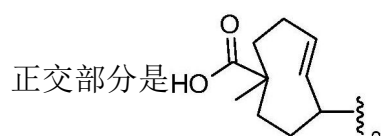
[0148] E32. 如E1-E31中任一项所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述生物正



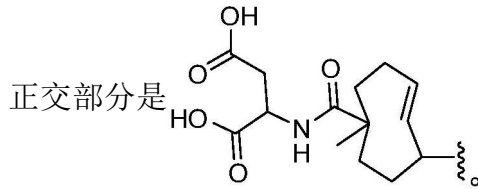
[0149] E32.1. 如E1-E31中任一项所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述生物



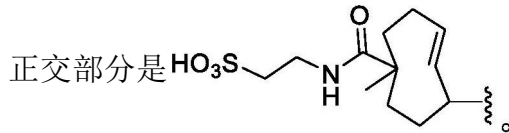
[0150] E32.2. 如E1-E31中任一项所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述生物



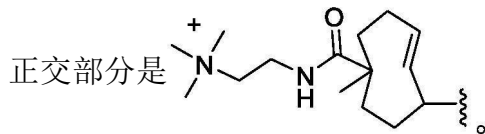
[0151] E32.3. 如E1-E31中任一项所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述生物



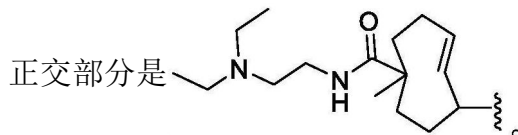
[0152] E32.4. 如E1-E31中任一项所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述生物



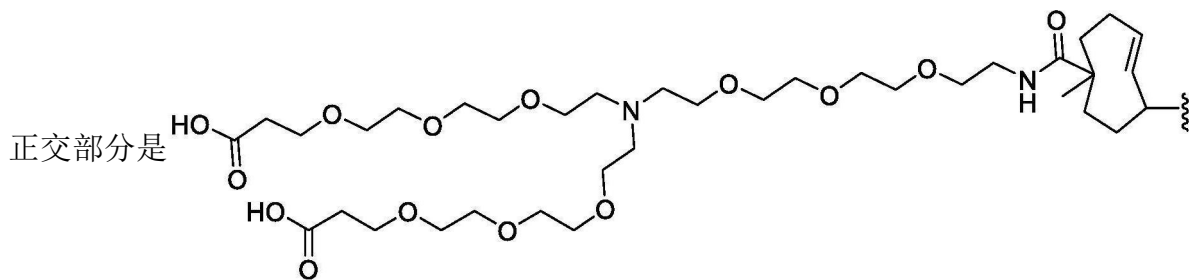
[0153] E32.5. 如E1-E31中任一项所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述生物



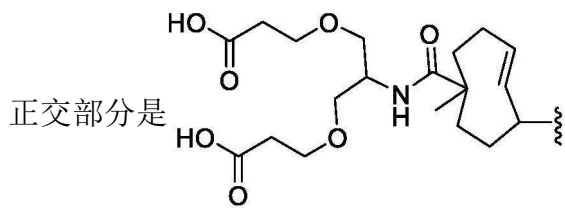
[0154] E32.6. 如E1-E31中任一项所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述生物



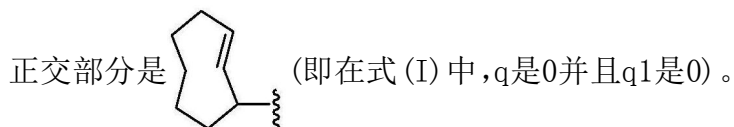
[0155] E32.7. 如E1-E31中任一项所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述生物



[0156] E32.8. 如E1-E31中任一项所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述生物



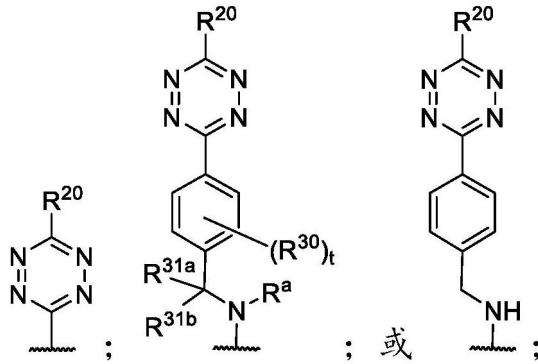
[0157] E32.9. 如E1-E31中任一项所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,其中所述生物



[0158] E33. 一种药物组合物,其包含如E1-32.9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剂。

[0159] E34. 一种治疗癌症或者增强或引发免疫应答的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的如E1-E32.9中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐、或如E33所述的药物组合物、以及治疗性支持体组合物,所述治疗性支持体组合物包含生物相容

性支持体和具有下式的含四嗪的基团



其中

R^{20} 选自由以下组成的组: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' 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=S)R'$ 、 $OC(=O)R''$ 、 $SC(=O)R''$ 、 $OC(=S)R''$ 、 $SC(=S)R''$ 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R''$ 、 $S(=O)_2NR'R''$ 、 $C(=O)O-R'$ 、 $C(=O)S-R'$ 、 $C(=S)O-R'$ 、 $C(=S)S-R'$ 、 $C(=O)NR'R''$ 、 $C(=S)NR'R''$ 、 $NR'R''$ 、 $NR'C(=O)R''$ 、 $NR'C(=S)R''$ 、 $NR'C(=O)OR''$ 、 $NR'C(=S)OR''$ 、 $NR'C(=O)SR''$ 、 $NR'C(=S)SR''$ 、 $OC(=O)NR'R''$ 、 $SC(=O)NR'R''$ 、 $OC(=S)R'R''$ 、 $SC(=S)R'R''$ 、 $NR'C(=O)NR''R''$ 、以及 $NR'C(=S)NR''R''$;

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;

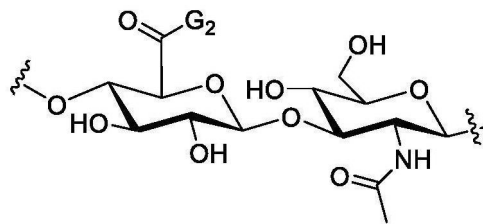
R^{30} 是卤素、氰基、硝基、羟基、烷基、卤代烷基;烯基、炔基、烷氧基;卤代烷氧基;杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基或环烯基;

R^a 、 R^{31a} 和 R^{31b} 各自独立地是氢、 C_1-C_6 -烷基或 C_1-C_6 -卤代烷基;以及

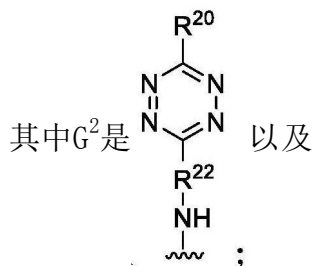
t 是0、1、2、3或4。

[0160] E35. 如E34所述的方法,其中所述含四嗪的基团连接至或直接键合至透明质酸生物相容性支持体。

[0161] E36. 如E34或E35所述的方法,其中所述治疗性支持体组合物包含经取代的具有式(II)的透明质酸单元,

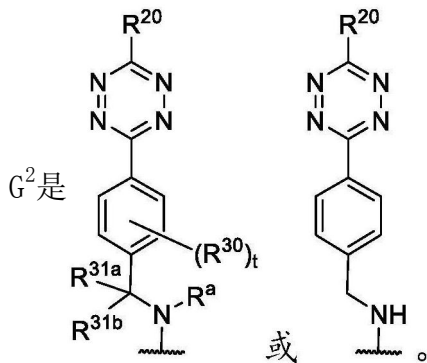


(II)



R^{22} 是1至100个连接原子的接头。

[0162] E37. 如E36所述的方法,其中:



[0163] E38. 如E37所述的方法,其中



R^{20} 是氢或 C_{1-4} 烷基。

[0164] E39. 如E34-E38中任一项所述的方法,其中所述方法是治疗癌症的方法。

[0165] E39.1. 如E39所述的方法,其中所述癌症是转移性的。

[0166] E40. 如E39或E39.1所述的方法,其中所述癌症是黑素瘤、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/颈鳞状细胞癌、肛门/外阴癌、食管癌、胰腺癌、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、威尔姆氏瘤/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。

[0167] E40.1. 如E39或E39.1所述的方法,其中所述癌症是黑素瘤、肾癌、前列腺癌、卵巢癌、乳腺癌、胶质瘤、肺癌、软组织癌、软组织肉瘤、骨肉瘤或胰腺癌。

[0168] E41. 如E39-E40.1中任一项所述的方法,其中所述癌症是实体瘤。

[0169] E42. 如E39-E40.1中任一项所述的方法,其中所述癌症是软组织肉瘤。

[0170] E43. 如E42所述的方法,其中所述软组织肉瘤是纤维肉瘤、横纹肌肉瘤、或尤因肉瘤。

[0171] E44. 如E34-E38中任一项所述的方法,其中所述方法是增强或引发免疫应答的方法。

[0172] E45. 如E44所述的方法,其中所述免疫应答是白细胞、淋巴细胞、单核细胞和嗜酸性粒细胞的一种或多种的增加。

[0173] E46. 如E34-E45所述的方法,所述方法进一步包括施用治疗有效量的另外的治疗剂,所述治疗剂选自由以下组成的组:抗癌剂、免疫调节剂、或其反式环辛烯前药。抗癌剂、

免疫调节剂和它们的反式环辛烯前药是本领域已知的,如下文所述并且通过引用并入E46中。

[0174] E47.一种试剂盒,其包含如E1-E32.9中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐、或如E33所述的药物组合物、及其使用说明书。

[0175] E48.如E45所述的试剂盒,所述试剂盒进一步包含如E34-E38中任一项所定义的治疗性支持体组合物。

[0176] E49.一种用于将有效量的如E1-E22.2中任一项所述的免疫调节剂有效负载递送至受试者的靶位点的方法,所述方法包括在靶位点向受试者施用如E34-E38中任一项所述的治疗性支持体组合物并且向受试者施用如E1-E33中任一项所述的缀合物、或其药学上可接受的盐或组合物。

1. 治疗性蛋白质

[0177] 用于本文所披露的缀合物的治疗性蛋白质通常旨在成为由折叠成三维形状的长链氨基酸组成的大分子。一般来说,治疗性蛋白质可根据其药理活性进行分类,可分为五类:(a) 替换有缺陷或异常的蛋白质;(b) 扩充现有途径;(c) 提供新的功能或活性;(d) 干扰分子或有机体;以及(e) 递送其他化合物或蛋白质,例如放射性核素、细胞毒性药物或效应蛋白。治疗性蛋白质也可以根据它们的分子类型进行分组,其中示例性类型包括基于抗体的药物、Fc融合蛋白、抗凝血剂、血液因子、骨形态发生蛋白、工程化蛋白支架、酶、生长因子、激素、干扰素、白细胞介素或血栓溶解剂。治疗性蛋白质也可以根据它们的分子活性机制进行分类,例如(a) 非共价结合靶标,例如mAb;(b) 影响共价键,例如酶;或(c) 在没有特定相互作用的情况下发挥活动,例如血清白蛋白。

[0178] 治疗性蛋白质类别的实例包括作为细胞因子、趋化因子、生长因子、激素、抗体和抗原的那些。另外的实例包括但不限于以下:促红细胞生成素(EPO,例如天然EPO或合成EPO(参见例如US 2003/0191291),例如但不限于,例如PROCRIT®、EPREX®或EPOGEN®(阿法依泊汀)、ARANESP®(阿法达贝泊汀)、NEORECORMON®、EPOGIN®(倍他依泊汀)等);生长激素(例如生长素,例如GENOTROPIN®、NUTROPIN®、NORDITROPIN®、SAIZEN®、SEROSTIM®、HUMATROPE®等);治疗性单克隆抗体(例如阿特殊单抗、阿维鲁单抗、贝伐单抗、塞普利单抗、西妥昔单抗、达雷木单抗、地努妥昔单抗、度伐单抗、埃罗妥珠单抗、伊匹单抗、艾萨妥昔单抗、莫加利珠单抗、奈昔木单抗、纳武单抗、奥滨尤妥株单抗、奥法木单抗、奥拉木单抗、帕尼单抗、派姆单抗、帕妥珠单抗、雷莫芦单抗、利妥昔单抗、曲妥单抗等);人类生长激素(hGH);牛生长激素(bGH);促卵泡激素(FSH);干扰素(例如,IFN- γ 、IFN- α 、IFN- β 、IFN- ω ; IFN- τ 、共有干扰素等);胰岛素(例如,诺和灵、优泌林、优泌乐、来得时、超缓释胰岛素等)、胰岛素样生长因子(例如,IGF-I、IGF-II);血液因子(例如因子X、组织纤溶酶原激活剂(TPA)等,例如但不限于例如ACTIVASE®(阿替普酶)组织纤溶酶原激活剂、NOVOSEVEN®(重组人因子Vila)、因子Vila、因子VIII(例如, KOGENATE®)、因子IX、 β -球蛋白、血红蛋白等);集落刺激因子(例如,粒细胞-CSF(G-CSF,例如NEUPOGEN®(非格司亭))、巨噬细胞-CSF(M-CSF)、粒细胞-巨噬细胞-CSF(GM-CSF)、培非格司亭(Neulasta或pegfilgrastim)、粒细胞-单核细胞集落刺激因子、巨核细胞集落刺激因子等)、转化生长因子(例如,TGF- β 、TGF- α);

白细胞介素(例如IL-1、IL-2(例如**Proleukin**®)、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IE-12等);生长因子(例如表皮生长因子(EGF)、血小板衍生生长因子(PDGF,例如**REGRANEX**®(贝卡普勒明))、成纤维细胞生长因子(FGF,例如aFGF、bFGF,例如**FIB LAST**®(曲弗明))、神经胶质细胞系衍生生长因子(GDNF)、神经生长因子(NGF)、干细胞因子(例如,**STEMGEN**®(安塞司亭))、角质形成细胞生长因子、肝细胞生长因子等);可溶性受体(例如,结合TNF- α 的可溶性受体,如**ENBREL**®(依那西普)、可溶性VEGF受体、可溶性白细胞介素受体、可溶性 γ/δ T细胞受体等);酶(例如, α -葡糖苷酶、**CERAZYME**®(伊米昔酶、 β -葡糖脑苷脂酶、**CEREDASE**®(阿糖苷酶));酶激活剂(例如,组织纤溶酶原激活剂);趋化因子(例如,IP-10、Mig、Gro α /IL-8、调节正常T细胞表达和分泌因子(RANTES)、MIP-1 α 、MIP-1 ρ 、MCP-1、PF-4等);血管生成剂(例如,血管内皮生长因子(VEGF);抗血管生成剂(例如,可溶性VEGF受体);蛋白质疫苗;神经活性肽,例如缓激肽、胆囊收缩素、胃泌素、分泌素、催产素、促性腺激素释放激素、 β -内啡肽、脑啡肽、物质P、生长抑素、甘丙肽、生长激素释放激素、铃蟾肽、华法林、强啡肽、神经降压素、胃动素、促甲状腺素、神经肽Y、黄体生成素、降钙素、胰岛素、胰高血糖素、加压素、血管紧张素II、促甲状腺素释放激素、血管活性肠肽、睡眠肽等;其他蛋白质,例如血栓溶解剂、心钠素、骨形态发生蛋白、血小板生成素、松弛素、神经胶质原纤维酸性蛋白、卵泡刺激素、人 α -1抗胰蛋白酶、白血病抑制因子、转化生长因子、组织因子、胰岛素样生长因子、黄体生成素、促卵泡激素、巨噬细胞激活因子、肿瘤坏死因子、中性粒细胞趋化因子、神经生长因子、金属蛋白酶组织抑制剂;血管活性肠肽、血管生成素、促血管素、纤维蛋白;水蛭素;白血病抑制因子;IL-1受体拮抗剂(例如**Kineret**®(阿那白滞素))等。将容易理解,上述治疗性蛋白质的天然形式作为本披露中的有效负载也是令人感兴趣的。

2. 细胞因子

[0179] 细胞因子可以通过直接的抗增殖或促凋亡活性,或间接地通过刺激免疫细胞对肿瘤细胞的细胞毒活性,限制肿瘤细胞生长。细胞因子有时被分类为1型或2型,如Lucey等人, Clin Microbiol Rev. [临床微生物学评论]1996;9(4):532-62所述。在这个命名法中,1型应答被定义为具有正常或升高水平的IL-2、IFN- γ 、TNF- β 、和/或IL-12的强烈细胞免疫应答,而2型应答被定义为一种或多种B细胞活性增加(例如,高丙种球蛋白血症、自身抗体产生或高IgE)以及IL-4、IL-5、IL-6、IL-10和/或IL-13水平升高的受损细胞应答。一般来说,1型细胞因子已显示可介导抗肿瘤应答。可用作免疫调节剂的细胞因子包括但不限于IFN- α 、IFN- β 、和IFN- γ 、白细胞介素(例如,IL-1至IL-40,特别是IL-7、IL-12、IL-15、IL-18、和IL-21)、肿瘤坏死因子(例如,TNF- α 和TNF- β)、促红细胞生成素(EPO)、MIP3a、ICAM、巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF),如US 2008/0014222中所述。在本发明的实施例中,该细胞因子是IL-2、共价结合至免疫球蛋白的IL-2(例如,阿莫白介素-2-瑟妥珠单抗、R06874281)或PEG分子(例如NKTR-214)、IL-10、聚乙二醇化IL-10(例如,培伊洛白介素-10(pegilodecakin))、IL-12、IL-15、重组非糖基化IL-15、IL-15与IL-15R α 的结合结构域的融合蛋白(例如,RLI)、三重融合蛋白(包含人IL-15、IL-15R α 的结合结构域和载脂蛋白A-I)、ALT-803(融合至IgG1 Fc结构域的i1-15)、IL-21、GM-CSF、拉-他利莫近、IFN- α 、聚乙二醇化IFN- α 、载脂蛋白A-I与IFN- α 的融

合蛋白。

[0180] 某些细胞因子的抑制剂、它们的同源受体激动剂和/或拮抗剂也可用作癌症疗法。细胞因子是分泌的或膜结合的蛋白质，它们充当细胞间信号传导的介质以调节免疫系统的稳态。它们由先天性和获得性免疫应答于微生物、自身抗原和肿瘤抗原而产生。特别是在PD-1途径阻断的情况下，TNF- α 抑制剂(例如英夫利昔单抗、赛妥珠单抗)、TGF- β 抑制剂(例如，加尼舍替、非苏木单抗、M7824)和CSF-1抑制剂(例如，培西达替尼、卡比拉单抗(cabiralizumab))可以在本发明的方法中使用。

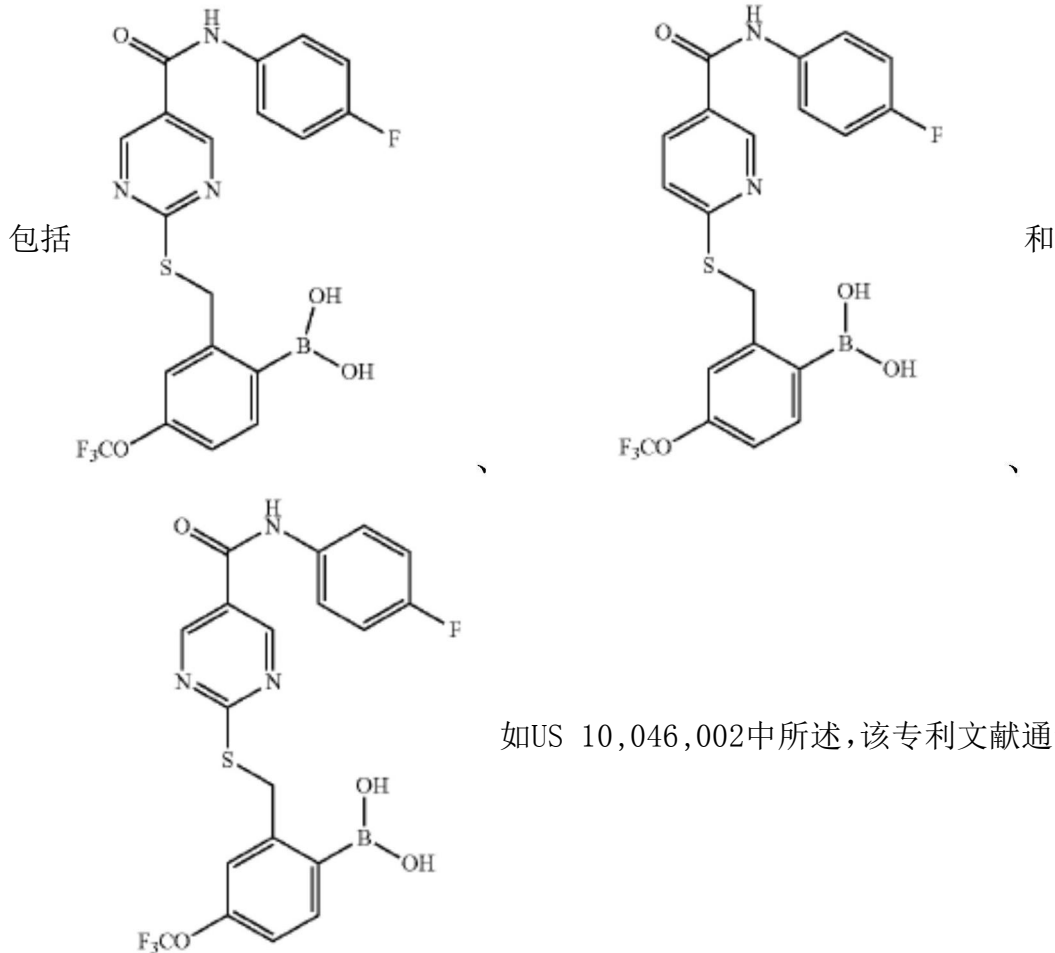
[0181] 使用细胞因子和细胞因子抑制剂的免疫疗法描述于Berraondo等人, *British Journal of Cancer* [英国癌症杂志] (2019) 120, 6-15中, 该文献通过引用并入本文。

3. 趋化因子

[0182] 趋化因子和/或趋化因子受体抑制剂可用作免疫调节剂; 它们是趋化蛋白, 这些蛋白具有将巨噬细胞、T细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞和其他细胞吸引到炎症、感染和/或肿瘤生长部位的潜力。这些蛋白通常具有低分子量(7-9kD)。趋化因子形成四个主要的结构亚类(C、CC、CXC和CX3C), 这些亚类通过其一级氨基酸结构进行分类, 其包含保守的半胱氨酸残基的各种组合。

[0183] 合适的免疫调节趋化因子是CCL27和CCL28、CC (CCL2、CCL3、CCL5) 和CXC (CXCL1、CXCL2、CXCL5、CXCL6、CXCL8、CXCL9、CXCL10、CXCL12)。

[0184] ELRCXC趋化因子(包括IL-8、GRO α 、GRO β 、GRO γ 、NAP-2、和ENA-78) (Strieter, 1995, *J Biol Chem* [生物化学杂志], 270:27348-57) 还涉及诱导肿瘤血管生成(新血管生长)。血管生成活性是由于ELRCXC-趋化因子结合并激活IL-8的CXCR2和可能地, CXCR1, 这些受体在周围血管的血管内皮细胞(EC)表面上表达。许多不同类型的肿瘤已示出会产生ELRCXC趋化因子。趋化因子的产生与更具侵袭性的表型(Inoue, 2000, *Clin Cancer Res* [临床癌症研究], 6:2104-2119) 和预后不良(Yoneda, 1998, *J Nat Cancer Inst* [美国国家癌症研究所杂志], 90:447-54) 相关。趋化因子是有效的趋化性因子, 并且尤其是ELRCXC趋化因子已示出可以诱导EC趋化性。因此, 认为这些趋化因子诱导了内皮细胞向它们在肿瘤中的产生部位的趋化性。这可能是肿瘤诱导血管生成的关键步骤。CXCR2抑制剂或CXCR2和CXCR1双重抑制剂将抑制ELRCXC趋化因子的血管生成活性并因此阻断肿瘤的生长。IL-8抗体(Arenberg, 1996, *J Clin Invest* [临床研究杂志], 97:2792-802)、ENA-78(Arenberg, 1998, *J Clin Invest* [临床研究杂志], 102:465-72) 和GRO α (Haghnegandar, 2000, *J Leukoc Biology* [白细胞生物学杂志], 67:53-62) 已经显示了这种抗肿瘤活性。CXC趋化因子抑制剂



如US 10,046,002中所述,该专利文献通过引用并入本

文。

4. 趋化因子拮抗剂

[0185] 适合与本发明的方法一起使用的免疫调节剂包括如下趋化因子或趋化因子受体拮抗剂,其对将抑制性免疫细胞募集到肿瘤微环境中进行抑制。例如但不排他地,本发明的方法可以使用减少骨髓抑制细胞和调节性T细胞浸润的CCR1、CCR2或CCR5拮抗剂。

[0186] 合适的CCR、CXCR和CCL抑制剂包括CCR1抑制剂(例如,CCX721、BL5923)、CCR2抑制剂(例如,CCX9588、PF-04136309、CCX872、RDC018、747、iCCR2)、CCL2抑制剂(例如,CNT0888)、CCR4抑制剂(例如,Affi 5、AF399/420/1802)、CCR5抑制剂(例如,马拉韦罗(Maraviroc))、CCR7抑制剂(例如,sirna、MSM R707)、CXCR2抑制剂(例如,那伐利星(Navarixin)、SB225002、瑞帕利辛(Reparixin)、SB265610、AZD5069)、CXCR4抑制剂(例如,AMD3100、AMD3465、LY2510924、BKT140、BMS-936564、PF-06747143、PRX177561、POL5551、USL311、CTCE-9908),如Poeta等人,Frontiers in Immunology[免疫学前沿](2019),第379篇论文,doi:10.3389/fimmu.2019.00379;Yu等人,Cancer Biol. Ther.[癌症生物学与治疗](2008)7:1037-43;以及Chi等人,Int. J Clin Exp Pathol.[国际临床和实验病理学杂志](2015)8:12533-40中所述。

5. 免疫检查点抑制剂

[0187] 免疫检查点抑制剂包括但不限于PD-1抑制剂(例如,纳武单抗、派姆单抗、匹地利珠单抗、信迪利单抗、AMP-224)、PD-L1抑制剂(例如,阿特珠单抗、阿维鲁单抗、度伐单抗、

BMS-936559)、CTLA4抑制剂(例如,伊匹单抗、曲美木单抗)、IDO抑制剂(例如,印朵目德、依多司他)、TIGIT抑制剂(例如,LAG-3,如抗LAG-3抗体,描述于US2015/0259420中,其通过引用并入本文;TIM-3,如抗TIM-3抗体,描述于US 2015/0218274中,其通过引用并入本文)和BTLA途径拮抗剂。

6. 细胞因子抑制剂

[0188] 细胞因子抑制剂是一组异质药物,其1)减少细胞因子的合成;2)降低其自由活性形式的浓度;3)阻断它们与特定受体的相互作用,或4)干扰细胞因子受体的信号传导。细胞因子抑制剂包括拮抗剂、可溶性受体、细胞因子结合蛋白和阻断其他细胞因子的细胞因子。这些试剂包括但不限于小分子、肽和较大的蛋白质,例如mAb。

[0189] 在一些实施例中,使用异型生物制剂、生物剂、天然或人工衍生的佐剂、基于细胞的疗法和/或检查点抑制剂(包括但不限于PD-1、PD-L1、CTLA-4、B7分子、TIGIT、Tim-3和/或Lag-3、吡啶胺2,3-双加氧酶(IDO)的抑制剂)来调节免疫应答。

[0190] 另外的治疗剂可以是免疫检查点抑制剂。免疫检查点抑制剂包括PD-1抑制剂(例如,纳武单抗、匹地利珠单抗、信迪利单抗)、PD-L1抑制剂(例如,阿特珠单抗、阿维鲁单抗、度伐单抗、BMS-936559)、CTLA4抑制剂(例如,伊匹单抗、曲美木单抗)或IDO抑制剂(例如,印朵目德、依多司他)。

C. 治疗性支持体组合物

[0191] 治疗性支持体组合物包含支持体。支持体可以是生物相容性支持体组合物,即,与受试者的身体相容。在一些情况下,支持体对受试者是无毒的并且基本上不与受试者中的组织或生物化合物反应。例如,支持体可以是水凝胶等。支持体能够植入到受试者体内并支持结合剂(例如,含四嗪的基团)以及在结合剂缀合物后的有效负载。代表性的支持体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、骨移植物材料、藻酸盐、纤维素、壳聚糖、透明质酸、硫酸软骨素、肝素等。支持体还包括颗粒,如纳米颗粒、微颗粒等。

[0192] 水凝胶可以是多糖水凝胶、藻酸盐、纤维素、透明质酸、壳聚糖、甲壳质(chitosin)、壳多糖、透明质酸、硫酸软骨素、肝素等。其他适合的基于糖的生物材料包括在Polymer Advanced Technology[聚合物先进技术],2014,25,448-460中描述的那些。可以用作支持体的聚合物可以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、聚丙交酯、聚碳酸酯、聚酰胺和聚醚、以及其共混物/复合材料/共聚物。代表性聚醚包括但不限于聚(乙二醇)(PEG)、聚丙二醇(PPG)、三嵌段普朗尼克($[\text{PEG}]_n - [\text{PPG}]_m - [\text{PEG}]_n$)、PEG二丙烯酸酯(PEGDA)、以及PEG二甲基丙烯酸酯(PEGDMA)。支持体还可以包括蛋白质和其他聚(氨基酸),如胶原、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。

[0193] 在一些实施例中,该支持体是水凝胶。在一些实施例中,该支持体是藻酸盐。在一些实施例中,该支持体是壳多糖。在一些实施例中,该支持体是透明质酸(例如,基本上无交联的非水凝胶透明质酸)。在一些实施例中,该支持体是甲壳质。

[0194] 在某些实施例中,该支持体是颗粒。本披露的颗粒可以具有2cm或更小、如1.5cm或更小、或者1cm或更小、或0.5cm或更小的直径。例如,这些颗粒可以是纳米颗粒或微颗粒。纳米颗粒包括具有纳米尺度(例如,1000nm或更小)的平均尺寸的颗粒。微颗粒是具有微米尺

度(例如,1000 μm 或更小)的平均尺寸的颗粒。“平均”意指算术平均值。在一些实施例中,这些纳米颗粒具有从1nm至1 μm ,如从10nm至1 μm 、或25nm至1 μm 、或50nm至1 μm 、或75nm至1 μm 、或100nm至1 μm 、或150nm至1 μm 、或200nm至1 μm 、或250nm至1 μm 、或300nm至1 μm 、或350nm至1 μm 、或400nm至1 μm 、或450nm至1 μm 、或500nm至1 μm 范围内的直径。在其他实施例中,微粒的直径范围为从1 μm 至1mm,例如从10 μm 至1mm、或25 μm 至1mm、或50 μm 至1mm、或75 μm 至1mm、或100 μm 至1mm、或150 μm 至1mm、或200 μm 至1mm、或250 μm 至1mm、或300 μm 至1mm、或350 μm 至1mm、或400 μm 至1mm、或450 μm 至1mm、或500 μm 至1mm。在另外的实施例中,可以组装直径大约为10-100nm的小颗粒以形成更大的复合物,例如大约为1-10 μm 的簇或组装体。本披露的颗粒可以是基本上球形的,以使得这些颗粒具有基本上圆形的截面。也可以使用其他颗粒形状,如但不限于椭圆柱体、立方体、圆柱体、圆锥体、针状物或其他不规则形状。

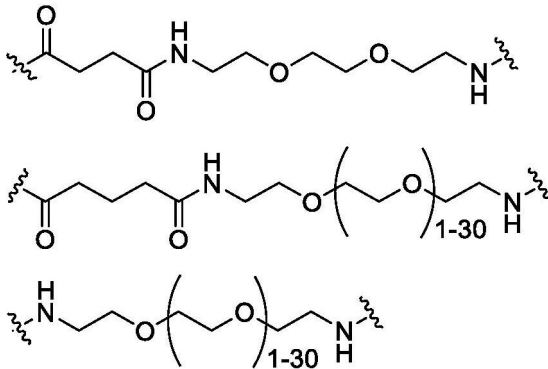
[0195] “颗粒”可以采取任何制造材料、分子、色氨酸、病毒、噬菌体等的形式。颗粒可以由以下材料构成,该材料如但不限于金属、陶瓷、塑料、玻璃、复合材料、聚合物、水凝胶等。例如,这些颗粒可以由惰性材料如藻酸盐或氧化铁制成。在一些实例中,这些颗粒可以是磁性的并且可以由顺磁、超顺磁或铁磁材料或响应于磁场的其他材料形成。此外,颗粒可以具有任何形状,例如球体、棒、非对称形状等。这些颗粒或复合物中的一组若干颗粒可以用具有特异性亲和力的受体进行官能化,以与临床上相关的底物结合或相互作用。受体可能是颗粒本身固有的。例如,颗粒本身可以是对某些底物具有固有亲和力的病毒或噬菌体。另外或可替代地,这些颗粒可以通过共价或以其他方式附接或缔合特异性地结合或以其他方式识别特定临床上相关底物的受体来进行官能化。官能化受体可以是对目标底物具有确定亲和力的抗体、肽、核酸、噬菌体、细菌、病毒或任何其他分子。可以用于“颗粒”和/或“载剂”的材料的实例包括聚乳酸、聚乙醇酸、PLGA聚合物、藻酸盐和藻酸盐衍生物、明胶、胶原、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、聚酸酐、聚磷嗪、聚(乙烯醇)、聚(环氧烷)、聚(烯丙胺)(PAM)、聚(丙烯酸酯)、修饰的苯乙烯聚合物、普卢兰尼克多聚醇、泊洛沙姆、聚(糖醛酸)、聚(乙烯吡咯烷酮)、以及上述中的任一种的共聚物或接枝共聚物。这些实例不限制它们的浓度、它们与不同试剂的交联、它们的施用方法、它们的定制降解情况以及本领域技术人员已知的其他特性。

[0196] 可以用特异性地结合(或基本上特异性地结合)至靶标(例如靶受体或细胞表面靶标,如临床上相关的受体或细胞表面靶标(例如抗原))的靶向剂(例如,配体或抗体)将这些颗粒或复合物中的一组若干颗粒官能化。该靶向剂可以直接附接至颗粒本身。该靶向剂可以是对靶受体或细胞表面靶标具有特异性亲和力的抗体、肽、核酸、噬菌体、细菌、病毒或任何其他分子。在一些情况下,该受体或细胞表面靶标是PD-1、CTLA-4、HER2/neu、HER1/EGFR、VEGFR、BCR-ABL、SRC、JAK2、MAP2K、EML4-ALK、BRAF V600E、4-1BB、GITR、GSK3 β 或其他细胞受体或细胞表面靶标。可以帮助检测这些颗粒(例如,体内检测)的其他化合物或分子(如荧光团或自发荧光或发光标志物)也可以附接至这些颗粒。如本文所述,这些配体和/或可检测标记可以直接附接至颗粒或通过生物正交官能团附接至颗粒。

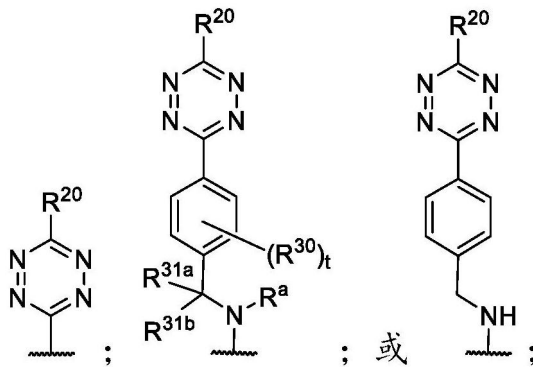
[0197] 在某些实施例中,该支持体是骨移植物材料,如骨移植物代用材料。骨移植物代用材料是与骨结构相似的材料。在一些情况下,骨移植物代用材料是可生物再吸收的,以使得骨移植物代用材料可以随时间推移在体内溶解或被吸收。骨移植物代用材料可以是骨传导性的,以使得它促进血管和新骨形成到骨移植物代用材料中。在一些情况下,骨移植物代用

材料是骨诱导性的,以使得通过从周围组织中主动募集间充质干细胞来促进新骨的形成。例如,生长因子如骨形态发生蛋白可以包括在骨移植物代用材料中。骨移植物代用材料包括但不限于羟基磷灰石、磷酸三钙、脱钙骨基质、牛胶原蛋白、硫酸钙、磷酸钙、松质骨碎片等、以及其组合。

[0198] 本披露的治疗性支持体组合物包括支持体和共价附接到支持体的第一结合剂。结合剂可以在支持体表面,如支持体的溶剂可及表面(例如,与周围溶剂接触的支持体表面)上附接至支持体。在一些情况下,结合剂直接附接至支持体。例如,结合剂可以例如通过共价键如酰胺、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体的表面。在一些情况下,结合剂通过酰胺键共价附接至支持体。在其他情况下,结合剂可以经由接头附接至支持体。任何适合的接头可以用于将结合剂连接至支持体。代表性接头可以具有从1至100个连接原子,并且可以包括乙烯-氧基基团、胺、酯、酰胺、氨基甲酸酯、碳酸酯、以及酮官能团。例如,接头可以具有从1至50个连接原子,或从5至50个连接原子,或从10至50个连接原子。代表性接头包括但不限于,以下所示的那些:



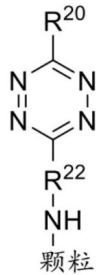
[0199] 在某些实施例中,这些治疗性支持体组合物包括支持体和具有下式的含四嗪的基团:



其中 R^{20} 选自由以下组成的组: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' 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=S)R'$ 、 $OC(=O)R''$ 、 $SC(=O)R''$ 、 $OC(=S)R''$ 、 $SC(=S)R''$ 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R''$ 、 $S(=O)_2NR'R''$ 、 $C(=O)O-R'$ 、 $C(=O)S-R'$ 、 $C(=S)O-R'$ 、 $C(=S)S-R'$ 、 $C(=O)NR'R''$ 、 $C(=S)NR'R''$ 、 $NR'R''$ 、 $NR'C(=O)R''$ 、 $NR'C(=S)R''$ 、 $NR'C(=O)OR''$ 、 $NR'C(=S)OR''$ 、 $NR'C(=O)SR''$ 、 $NR'C(=S)SR''$ 、 $OC(=O)NR'R''$ 、 $SC(=O)NR'R''$ 、 $OC(=S)R'R''$ 、 $SC(=S)R'R''$ 、 $NR'C(=O)NR''R''$ 、以及 $NR'C(=S)NR''R''$; 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} 是卤素、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} 各自独立地是氢、 C_1 - C_6 -烷基或 C_1 - C_6 -卤代烷基；并且 t 是0、1、2、3或4。

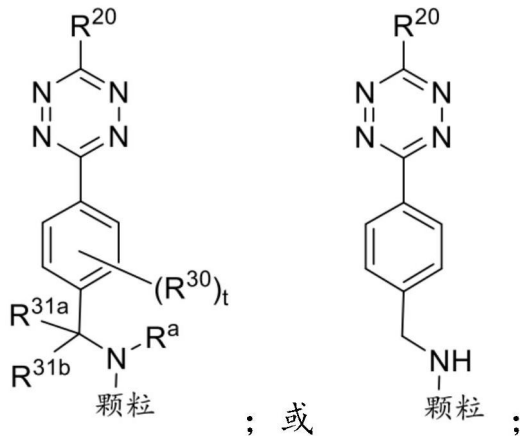
[0200] 在某些实施例中，这些治疗性支持体组合物具有式：



其中

R^{20} 选自由以下组成的组：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' 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=S)R'$ 、 $OC(=O)R''$ 、 $SC(=O)R''$ 、 $OC(=S)R''$ 、 $SC(=S)R''$ 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R''$ 、 $S(=O)_2NR'R''$ 、 $C(=O)O-R'$ 、 $C(=O)S-R'$ 、 $C(=S)O-R'$ 、 $C(=S)S-R'$ 、 $C(=O)NR'R''$ 、 $C(=S)NR'R''$ 、 $NR'R''$ 、 $NR'C(=O)R''$ 、 $NR'C(=S)R''$ 、 $NR'C(=O)OR''$ 、 $NR'C(=S)OR''$ 、 $NR'C(=O)SR''$ 、 $NR'C(=S)SR''$ 、 $OC(=O)NR'R''$ 、 $SC(=O)NR'R''$ 、 $OC(=S)R'R''$ 、 $SC(=S)R'R''$ 、 $NR'C(=O)NR'R''$ 、以及 $NR'C(=S)NR'R''$ ； 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；并且 R^{22} 是具有1至100个连接原子的接头，并且可以包括乙烯-氧基基团、胺、酯、酰胺、氨基甲酸酯、碳酸酯、以及酮官能团。例如，接头可以具有从1至50个连接原子，或从5至50个连接原子，或从10至50个连接原子。

[0201] 在某些实施例中，这些治疗性支持体组合物具有式：

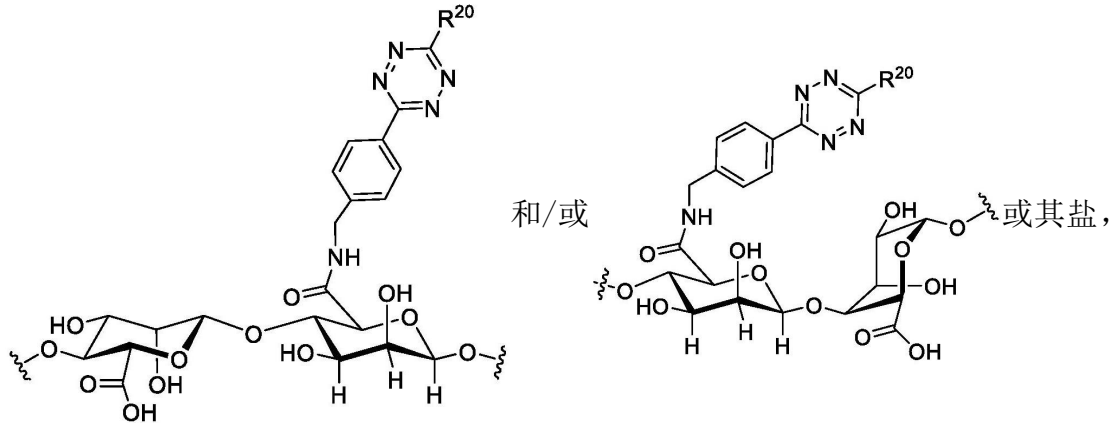


其中

R^{20} 选自由以下组成的组：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' 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=S)R'$ 、 $OC(=O)R''$ 、 $SC(=O)R''$ 、 $OC(=S)R''$ 、 $SC(=S)R''$ 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R''$ 、 $S(=O)_2NR'R''$ 、 $C(=O)O-R'$ 、 $C(=O)S-R'$ 、 $C(=S)O-R'$ 、 $C(=S)S-R'$ 、 $C(=O)NR'R''$ 、 $C(=S)NR'R''$ 、 $NR'R''$ 、 $NR'C(=O)R''$ 、 $NR'C(=S)R''$ 、 $NR'C(=O)OR''$ 、 $NR'C(=S)OR''$ 、 $NR'C(=O)SR''$ 、 $NR'C(=S)SR''$ 、 $OC(=O)NR'R''$ 、 $SC(=O)NR'R''$ 、 $OC(=S)R'R''$ 、 $SC(=S)R'R''$ 、 $NR'C(=O)NR'R''$ 、以及 $NR'C(=S)NR'R''$ ； 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} 是

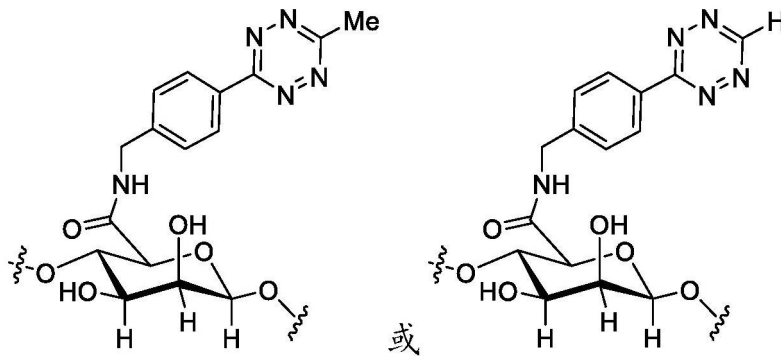
卤素、氰基、硝基、羟基、烷基、卤代烷基；烯基、炔基、烷氧基；卤代烷氧基；杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基或环烯基； R^a 、 R^{31a} 和 R^{31b} 各自独立地是氢、 C_1 - C_6 -烷基或 C_1 - C_6 -卤代烷基；并且t是0、1、2、3或4。

[0202] 在某些实施例中，这些治疗性支持体组合物包含经取代的具有下式的单元的藻酸盐：

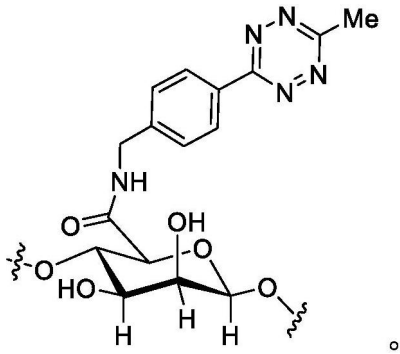


其中 R^{20} 选自由以下组成的组：氢、卤素、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基、环烯基、 CF_3 、 CF_2-R' 、 NO_2 、 OR' 、 SR' 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=S)R'$ 、 $OC(=O)R''$ 、 $SC(=O)R''$ 、 $OC(=S)R''$ 、 $SC(=S)R''$ 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R''$ 、 $S(=O)_2NR''$ 、 $C(=O)O-R'$ 、 $C(=O)S-R'$ 、 $C(=S)O-R'$ 、 $C(=S)S-R'$ 、 $C(=O)NR''$ 、 $C(=S)NR''$ 、 NR'' 、 $NR''C(=O)R''$ 、 $NR''C(=S)R''$ 、 $NR''C(=O)OR''$ 、 $NR''C(=S)OR''$ 、 $NR''C(=O)SR''$ 、 $NR''C(=S)SR''$ 、 $OC(=O)NR''$ 、 $SC(=O)NR''$ 、 $OC(=S)R''$ 、 $SC(=S)R''$ 、 $NR''C(=O)NR''$ 、以及 $NR''C(=S)NR''$ ； 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。

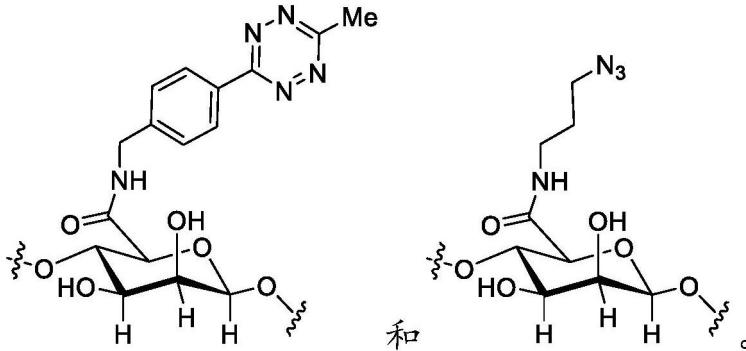
[0203] 在某些实施例中，这些治疗性支持体组合物包含具有下式的单元：



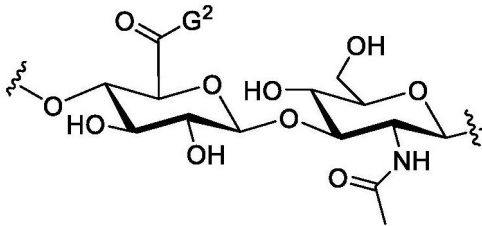
[0204] 在一些实施例中，这些治疗性支持体组合物包含具有下式的单元：



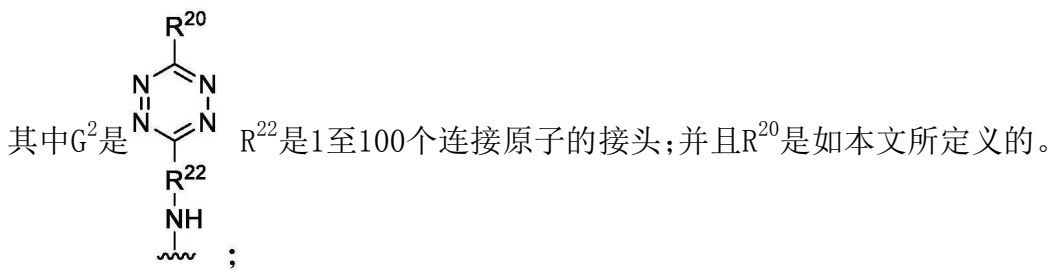
[0205] 在一些实施例中, 这些治疗性支持体组合物包含具有下式的单元:



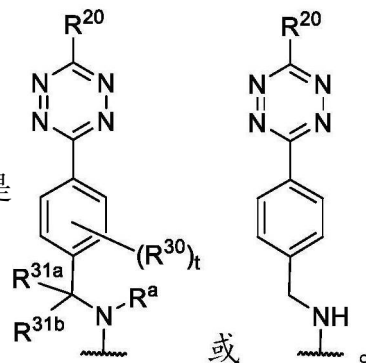
[0206] 在一些实施例中, 这些治疗性支持体组合物包含经取代的具有式 (II) 的单元的透明质酸:

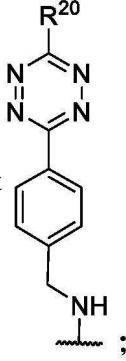


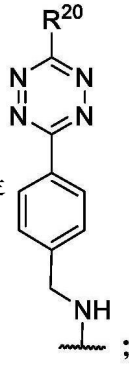
(II)



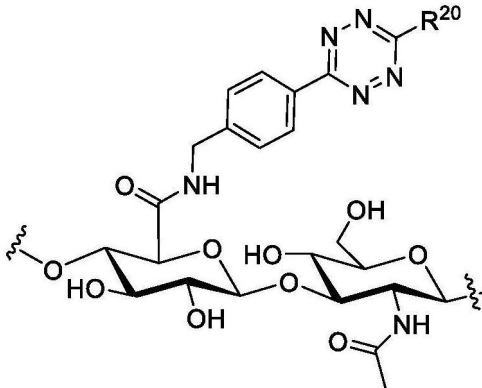
[0207] 在进一步的实施例中, G²是



[0208] 在仍进一步的实施例中, G^2 是  并且 R^{20} 是氢或 C_{1-4} 烷基。



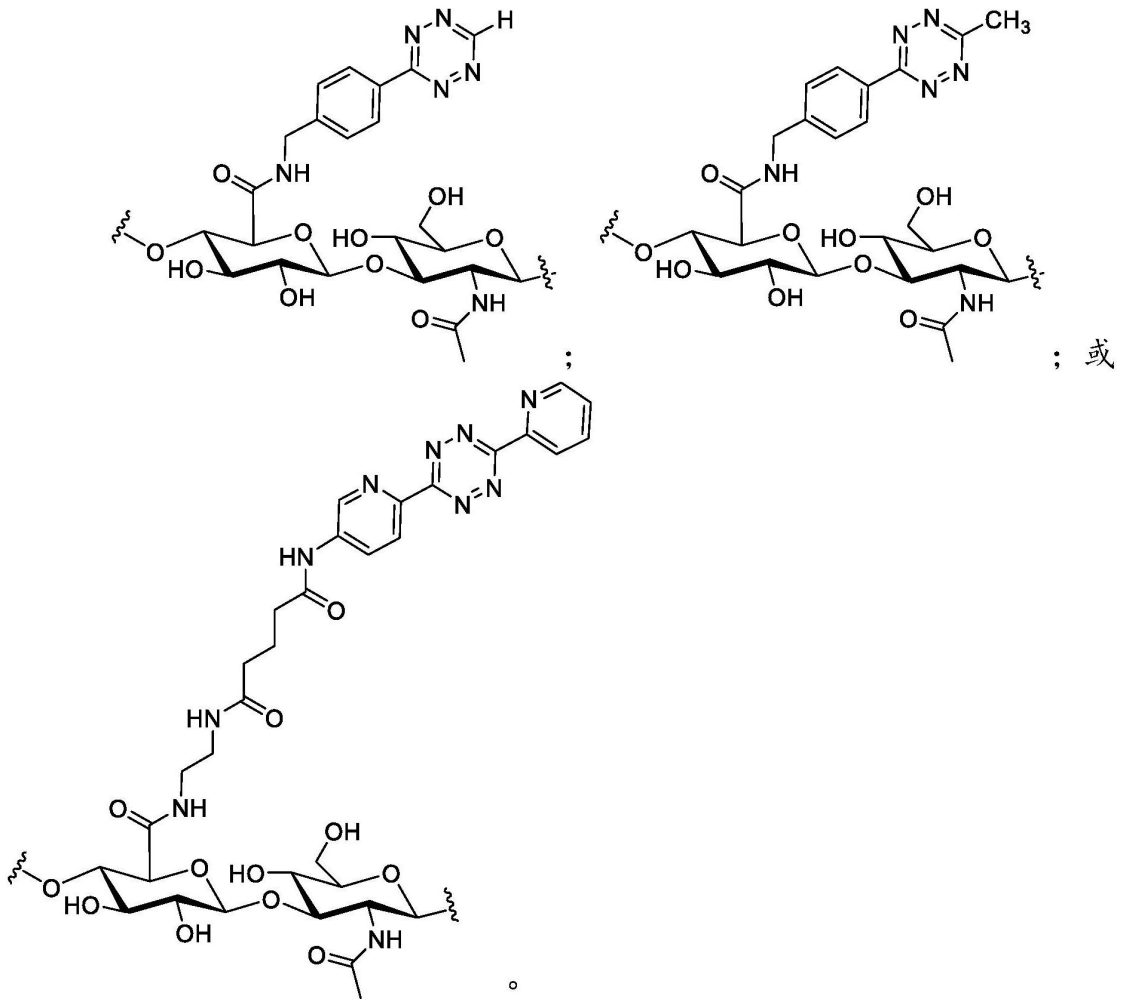
[0209] 具有式 (II) 的化合物包括具有式 (II-A) 的化合物:



(II-A)

其中 R^{20} 选自由以下组成的组: 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'' 、 $NR''C(=O)R''$ 、 $NR''C(=S)R''$ 、 $NR''C(=O)OR''$ 、 $NR''C(=S)OR''$ 、 $NR''C(=O)SR''$ 、 $NR''C(=S)SR''$ 、 $OC(=O)NR''$ 、 $SC(=O)NR''$ 、 $OC(=S)R''$ 、 $SC(=S)R''$ 、 $NR''C(=O)NR''$ 、以及 $NR''C(=S)NR''$; 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) 的另外的实施例中, R^{20} 是氢或 C_{1-4} 烷基。

[0210] 在一些实施例中, 这些治疗性支持体组合物包含具有下式的单元:



[0211] 另外的治疗性支持体组合物在WO 2017/044983、WO/2015/139025A1和WO/2014/205126A1中举例说明,这些专利的每一个通过引用以其全文并入本文。

[0212] 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和与透明质酸的葡萄糖醛酸单元连接或直接键合的含四嗪的基团。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至含四嗪的基团。

[0213] 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。含四嗪的基团能以约0.1%至约80%掺入透明质酸,如通过连接或缀合至含四嗪的基团的羧酸的%所测量的,例如,以约1%至约75%、约5%至约75%、约10%至约50%、或约40%至约75%掺入透明质酸,如通过连接或缀合至含四嗪的基团的羧酸的%所测量的。

D. 治疗方法

[0214] 本披露的方面包括用于将有效负载递送至受试者中的目标位置的方法。在某些实施例中,该方法包括将有效负载选择性地递送至受试者中的目标位置。有效负载的选择性递送包括将有效负载递送至目标位置(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负载的其他位置(例如,其他器官或组织或其部分)。有效负载的选择性递送可以通过使用本文所述的支持体组合物和官能化的有效负载来实现。

[0215] 在一些情况下,本披露的支持体组合物可以定位至受试者中所希望的目标位置。例如,本披露的方法可以包括向受试者施用如本文所述的支持体组合物。该支持体组合物可以在受试者中所希望的目标位置处施用至受试者。在一些情况下,支持体组合物可以在

受试者中所希望的目标位置处植入受试者中。在一些实施例中,支持体组合物可以如本文所述附接至靶向剂,并且该方法可以包括向受试者施用(例如全身施用)支持体组合物。在这些实施例中,附接至靶向剂的支持体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)定位于受试者中所希望的目标位置处,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)定位于所希望的靶标的表面(例如细胞表面)上。

[0216] 如本文所述,可以发生生物正交结合配偶体之间(例如,支持体组合物的四嗪结合剂与其官能化的有效负载的互补反式环辛烯结合剂之间)的选择性结合。由于将支持体组合物局部施用至如上所述的受试者中所希望的位置,因此支持体组合物的结合剂与其官能化的有效负载的互补结合剂之间的选择性结合将使有效负载定位至所希望的目标位置。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负载,以使得该官能化有效负载结合至支持体组合物以形成支持体复合物。例如,可以向受试者全身性地施用官能化的有效负载。在向受试者施用官能化的有效负载后,可以发生支持体组合物的结合剂与官能化的有效负载的互补结合剂之间的接触,以使得该结合剂及其互补结合剂彼此结合以形成支持体复合物,从而将有效负载选择性地递送至受试者中的目标位置。在一些实施例中,官能化的有效负载的选择性递送使得目标位置处有效负载的浓度大于受试者的其他地方(例如,受试者的非靶向区域处)的有效负载的浓度。

[0217] 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、尤因肉瘤以及软组织肉瘤和骨肉瘤的所有不同亚型。这些组合物可以用于治疗和/或诊断色素沉着绒毛结节性滑膜炎。

[0218] 本披露的组合物可用于治疗和/或诊断受试者的病症或疾病,该病症或疾病适合于通过施用有效负载(例如,母体药物(即,在缀合至组合物之前的药物))进行治疗或诊断。所谓“治疗”是指实现至少与困扰受试者的病症相关的症状的改善,其中在广义上使用的改善是指与所治疗的病症有关的参数(例如症状)的量级的至少一定程度的减小。因此,治疗还包括以下情形,其中病理学病症或至少与其相关的症状被完全抑制,例如防止发生,或停止,例如终止,以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。治疗可以包括缓解,即引起临床症状的消退。例如,在癌症的情况下,术语“治疗”包括以下中的任一项或全部:减少实体瘤的生长、抑制癌细胞的复制、降低总体肿瘤负荷、延长存活并改善与癌症相关的一种或多种症状。

[0219] 待治疗的受试者可以是需要治疗的受试者,其中待治疗的受试者是可以适合于使用母体药物治疗的受试者。因此,许多受试者可以适合于使用本文披露的组合物治疗。通常,这样的受试者是“哺乳动物”,其中人类是感兴趣的。其他受试者可以包括家养宠物(例如狗和猫)、家畜(例如,牛、猪、山羊、马等)、啮齿类动物(例如小鼠、豚鼠和大鼠,例如,在动物疾病模型中)、以及非人灵长类动物(例如黑猩猩和猴)。

[0220] 在某些实施例中,官能化的有效负载、治疗性支持体组合物、另外的治疗剂和方法可用于治疗、预防和/或诊断实体瘤,包括但不限于黑素瘤(例如,不可切除的转移性黑素瘤)、肾癌(如肾细胞癌)、前列腺癌(如转移性去势抗性前列腺癌)、卵巢癌(例如上皮性卵巢癌,如转移性上皮性卵巢癌)、子宫内膜癌、乳腺癌(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/颈鳞状细胞癌、肛门/外阴癌、食管癌、胰腺癌、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、威尔姆氏瘤/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。所披露的方法适合作为辅助/新辅助系统。例如,如本文所披露的颗粒可以在活组织检查期间中放置,一旦来自研究的结果返回,从业者就可以将适当的混合物递送至体内所希望的部位。这会使肿瘤的大小最小化,特别是在手术可切除的肿瘤的情况下。然后在手术结束时,外科医生可以在手术腔周围放置更多的颗粒并用另外剂量的治疗(例如通过所披露的方法进行的化学疗法)来治疗患者,以使可能在外科手术边缘被错过的任何癌细胞的风险最小化。

[0221] 在某些实施例中,所披露的方法提供在活组织检查时放置如本文所披露的颗粒的能力。当结果返回时,从业者可以将免疫调节剂(例如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)和具有较少副作用的增强免疫系统的佐剂以及与免疫治疗剂组合的化学治疗剂递送通过至活组织检查部位。这种组合方法将是对患者有益的。化学治疗剂会治疗实体瘤或特定位置,而免疫疗法的增强应答会有助于远处转移部位。例如,在某些实施例中,所披露的组合物和方法可以使用葱环类、紫杉烷类、吉西他滨和其他药剂或与葱环类、紫杉烷类、吉西他滨和其他药剂一起使用以增强一种或多种免疫调节剂例如伊匹单抗、纳武单抗、派姆单抗、阿维鲁单抗(也称为MSB0010718C;辉瑞公司(Pfizer))的功效。

1. 癌症

[0222] 所披露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,这些疾病可能包括持续的增殖信号传导、生长抑制因子的逃避、细胞死亡的抗性、无限复制的实现、血管生成的诱导以及侵袭和转移的激活。所披露的方法可以增强或引发受试者中针对癌症的免疫应答。该免疫应答可导致白细胞、淋巴细胞、单核细胞和嗜酸性粒细胞的一种或多种的增加。

[0223] 可以用所披露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、结直肠癌、皮肤T细胞淋巴瘤、弥漫性内在脑桥胶质瘤、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、胃肠癌、生殖细胞肿瘤、胶质瘤、肝细胞癌、组织细胞增生症、霍奇金淋巴瘤、下咽癌、眼内黑素瘤、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、黑素瘤、间皮瘤、口腔癌、多发性骨髓瘤、鼻咽癌、神经母细胞瘤、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、垂体癌、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、实体瘤、鳞状细胞癌、胃部癌、T细胞淋巴瘤、睾丸癌、咽喉癌、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、外阴癌和威尔姆氏瘤。

[0224] 在一些实施例中,可以用所披露的方法治疗的癌症是黑素瘤、肾癌、前列腺癌、卵巢癌、乳腺癌、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,该癌症是实体瘤。在一些实施例中,该癌症是软组织癌。在一些实施例中,该癌症是纤维肉瘤。在一些实施例中,该癌症是弥漫性内在脑桥胶质瘤。在一些实施例中,该癌症是转移性癌症。

[0225] 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产生或促成免疫原性细胞死亡(ICD)。例如,据报道,某些抗癌剂(如葱环类、环磷酰胺、奥沙利铂)可诱导ICD。Kroemer等人Annu.Rev.Immunol.[免疫学年鉴]2013(31),51-72。癌细胞的免疫原性凋亡可以通过激活树突状细胞(DC)和随后激活特定T细胞应答来诱导有效的抗肿瘤免疫应答。ICD的表征是分泌损伤相关分子模式(DAMP)。在ICD期间三种重要的DAMP暴露于细胞表面。钙网蛋白(CRT)是DAMP分子之一,通常在网内质网(ER)的腔中,在诱导免疫原性细胞凋亡后易位到垂死细胞表面,在那里它的作用是作为专职吞噬细胞的“吃掉我”信号。其他重要的表面暴露的DAMP是热休克蛋白(HSP),即HSP70和HSP90,其在应激条件下也易位到质膜。在细胞表面,基于与CD91和CD40等大量抗原呈递细胞(APC)表面受体的相互作用,它们具有免疫刺激作用,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细胞应答。其他重要的DAMP(作为ICD的表征)是分泌的两性蛋白(HMGB1)和ATP。HMGB1被认为是晚期凋亡标志物,并且它释放到细胞外空间似乎是肿瘤抗原的最佳释放和向树突状细胞呈递所必需的。它与几种模式识别受体(PRR,例如Toll样受体(TLR)2和4)结合,这些受体在APC上表达。最近发现的免疫原性细胞死亡期间中释放的DAMP是ATP,它在分泌时的作用是作为针对单核细胞的“找到我”信号并诱导它们吸引至细胞凋亡部位。Kroemer等人Curr.Op.Immunol.[免疫学当前观点]2008(20),504-511。

[0226] 因此,使用本发明的化合物和方法局部释放ICD诱导剂可以有利地与一种或多种免疫调节剂组合。

[0227] 在某些实施例,这些官能化的有效负载、治疗性支持体组合物和方法可以用于治疗、预防和/或诊断实体瘤,包括但不限于,黑素瘤(例如,不可切除的转移性黑素瘤)、肾癌(例如,肾细胞癌)、前列腺癌(例如,转移性去势抗性前列腺癌)、卵巢癌(例如,上皮性卵巢癌,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)、以及肺癌(例如,非小细胞肺癌)、软组织肉瘤、纤维肉瘤、骨肉瘤、胰腺癌等。

[0228] 所披露的方法适合作为辅助/新辅助系统。例如,如本文所披露的治疗性支持体组合物可以在活组织检查期间放置,一旦来自研究的结果返回,从业者就可以施用适当的混合物(具有式(I)的化合物和一种或多种任选的另外的治疗剂)以递送治疗至体内所希望部位。活组织检查的结果可能说明递送到肿瘤部位的治疗量和类型。例如,可以递送趋化因子(吸引癌细胞和/或免疫细胞的药剂)和具有较少副作用的增强免疫系统的佐剂以及化学治疗剂并将它们与免疫治疗剂组合。

[0229] 所披露的化合物和组合物可以在手术切除之前施用。所披露的方法可以在手术切除之前最小化肿瘤的大小。这会使肿瘤的大小最小化,特别是在手术可切除的肿瘤的情况下。所披露的缀合物、化合物和组合物可以在手术切除期间施用。所披露的缀合物、化合物和组合物可在手术切除后施用。可以在手术切除结束时将治疗性支持体组合物放置在手术腔周围,然后可以用进一步的治疗剂量来治疗受试者,以使在手术切缘可能遗漏任何癌细胞的风险最小化。

[0230] 所披露的方法可以包括官能化的有效负载在集中于一个位置处的多个全身剂量。所披露的方法可用于递送第二有效负载。如果肿瘤对第一有效负载具有抗性,则所披露的方法可用于施用第二官能化的有效负载。第二有效负载可以是TCO标记的吉西他滨或多西他赛有效负载。TCO标记的吉西他滨或多西他赛有效负载可以与阿霉素组合施用。第二官能

化的有效负载可以被用于第一前药的治疗性支持体组合物激活。

[0231] 本文所披露的官能化的有效负载可以用作佐剂。这种组合方法将是对患者有益的。化学治疗剂会治疗实体瘤或特定位置并可增强或引发免疫应答，而官能化的有效负载和/或单独药剂的免疫疗法的增强应答可能有助于远处转移部位。例如，在某些实施例中，所披露的组合物和方法可以使用葱环类、紫杉烷类、吉西他滨和其他药剂或与葱环类、紫杉烷类、吉西他滨和其他药剂一起使用以增强伊匹单抗、纳武单抗、派姆单抗、阿维鲁单抗（也称为MSB0010718C；辉瑞公司）的功效。

[0232] 所披露的方法可用于治疗弥漫性内在脑桥胶质瘤。弥漫性内在脑桥胶质瘤 (DIPG) 是儿科脑干肿瘤，该肿瘤可能是高度恶性的并且可能难以治疗。DIPG没有已知的治愈性治疗方法，并且在过去的40年里存活几率仍然很低。DIPG患者的中位总生存期仅为11个月，两年存活率低于10%。DIPG占儿童脑干肿瘤的75%-80%，每年影响美国估计200-300名儿童。这种破坏性疾病的罕见性和之前实验模型系统的缺乏阻碍了研究，并且在过去的40年里，存活几率一直保持不变。DIPG的诊断可以从临床症状开始，并可以通过MRI确认。该疾病可能始于几个月的全身症状，包括行为改变和学习困难、复视、眼球运动异常或受限、不对称微笑、失去平衡和虚弱。可替代地，严重的神经恶化可能发生得更快，在诊断前症状存在不足一个月。临床检查可显示多发性颅神经病变、长束迹象（例如反射亢进和阵挛）以及共济失调的三联征。脑干脑桥部分的扩张可能导致阻塞性脑积水和颅内压升高。

[0233] 对于维持生命功能（例如呼吸和心跳）至关重要的核心位于脑桥中，如果不进行治疗，DIPG可能会损害呼吸和心跳。

[0234] 所披露的方法可用于将分子有效负载递送至DIPG的位点。所披露的方法可以包括全身性地递送仅在肿瘤部位处被激活的药物。所披露的方法可用作新辅助或辅助疗法。生物材料可以在活组织检查期间放置。活组织检查的结果可能说明递送到肿瘤部位的治疗量和类型。所披露的化合物和组合物可以在手术切除之前施用。所披露的方法可以在手术切除之前最小化肿瘤的大小。所披露的化合物和组合物可以在手术切除期间施用。所披露的化合物和组合物可在手术切除后施用。可以在手术切除结束时将生物材料放置在手术腔周围，然后用进一步的治疗剂量来治疗受试者。所披露的可生物降解凝胶可以在活组织检查或手术时植入。所披露的方法可不需要额外的侵入性手术来递送另外剂量的所披露的化合物和组合物。

[0235] 所披露的方法可以包括官能化的有效负载在集中于一个位置处的多个全身剂量。所披露的方法可用于递送第二有效负载。如果肿瘤对第一有效负载具有抗性，则所披露的方法可用于施用第二官能化的有效负载。第二有效负载可以是TCO标记的吉西他滨或多西他赛有效负载。TCO标记的吉西他滨或多西他赛有效负载可以与阿霉素组合施用。第二官能化的有效负载可以被用于第一前药的治疗性支持体组合物激活。

2. 施用方式

[0236] 治疗的方法可以包括施用所披露的缀合物、化合物或组合物的任何数量的方式。施用方式可以包括片剂、丸剂、糖锭剂、硬和软凝胶胶囊、颗粒、球粒、皮肤贴剂、皮肤乳膏、皮肤凝胶、水性溶液、脂质溶液、油性溶液或其他溶液、乳液（例如水包油乳液）、脂质体、水性或油性悬浮液、糖浆、酏剂、固体乳液、固体分散体或可分散的粉末。为了制备用于口服施用的药物组合物，可以将本文所披露的缀合物、化合物或组合物与佐剂和赋形剂（例如阿拉

伯树胶、滑石粉、淀粉、糖类(例如甘露糖、甲基纤维素、乳糖)、明胶、表面活性剂、硬脂酸镁、水性或非水性溶剂、石蜡衍生物、交联剂、分散剂、乳化剂、润滑剂、保存剂、调味剂(例如醚油)、溶解度增强剂(例如苯甲酸苄酯或苄醇)或生物利用度增强剂(例如, **Gelucire®**))混合。在药物组合物中, 本文所披露的缀合物、化合物或组合物还可以分散在微粒(例如纳米微粒组合物)中。

[0237] 对于肠胃外施用, 可以将本文所披露的缀合物、化合物或组合物溶于或悬浮于生理学上可接受的稀释剂中, 例如水、缓冲液、含或不含增溶剂的油、表面活性剂、分散剂或乳化剂。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, 本文所披露的缀合物、化合物或组合物可以处于水性、脂质、油性或其他种类的溶液或悬浮液的形式进行施用, 或者甚至以脂质体或纳米悬浮液的形式施用。

[0238] 如本文所用, 术语“肠胃外”是指施用的方式, 该方式包括静脉内、肌肉内、腹膜内、胸骨内、皮下以及关节内注射和输注。

[0239] 治疗性支持体组合物优选在肿瘤部位局部施用, 例如通过注射或植入。鉴于受试者的状况和医学专家的判断, 官能化的有效负载, 例如具有式(I)或(III)的缀合物或化合物, 可以通过任何方便的途径施用。肠胃外施用是施用具有式(I)或(III)的缀合物或化合物的一种合适的方式。

[0240] 施用于受试者的组合物的量可以基于对母体药物的剂量和/或给药方案的指导来初始确定。一般来说, 这些组合物可以提供所结合药物的靶向递送和/或增强的血清半衰期, 从而在给药方案中提供减少的剂量或减少的施用中的至少一种。因此, 这些组合物可以相对于在与本披露的组合物缀合之前的母体药物在给药方案中提供减少的剂量和/或减少的施用。

[0241] 本披露的组合物可以通过任何适合的方式来递送, 包括口服、肠胃外和局部方法。例如, 经皮施用方法、通过局部途径, 可以配制成涂药棒、溶液、悬浮液、乳液、凝胶、乳膏、软膏、糊剂、凝胶剂、涂剂、粉末、以及气雾剂。

[0242] 药物配制品可以按单位剂型提供。在这种形式中, 药物配制品可以细分为含有适量的本披露的组合物单位剂量的单位剂型。单位剂型可以是包装的制剂, 该包装含有离散量的制剂, 如在小袋、小瓶或安瓿中的包装片剂、胶囊和粉末。此外, 单位剂型可以是胶囊、片剂、糖锭剂、扁囊剂或锭剂, 或它可以是适当数目的呈包装形式的任何这些单位剂型。

[0243] 本披露的组合物可以按任何适合的量存在, 并且可以取决于各种因素, 这些因素包括但不限于, 受试者的体重和年龄、疾病状态等。本披露的组合物适合剂量范围包括从0.1mg至10,000mg、或1mg至1000mg、或10mg至750mg、或25mg至500mg、或50mg至250mg。例如, 本披露的组合物适合剂量包括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。

[0244] 在一些实施例中, 施用组合物的多个剂量。组合物的施用频率可以取决于各种因素中的任一种而变化, 这些因素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, 每月一次、每月两次、每月三次、每隔一周(qow)、每周一次(qw)、每周两次(biw)、每周三次(tiw)、每周四次、每周五次、每周六次、每隔一天(qod)、每天(qd)、每天两次(qid)或每天三次(tid)施用组合物。

[0245] 本披露的组合物可以按任何适合的频率、间隔和持续时间施用。例如,本披露的组合物可以一小时一次,或一小时两次、三次或更多次,每天一次或每天两次、三次或更多次,或每2天、3天、4天、5天、6天或7天一次施用,以便向受试者提供所希望的剂量水平。当本披露的组合物每天施用超过一次时,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。本披露的组合物在持续一个小时、1至6个小时、1至12个小时、1至24个小时、6至12个小时、12至24个小时、一天、1至7天、一周、1至4周、一个月、1至12个月、一年或更长或甚至无限期地的时间里可以施用一次、两次或三次或更多次。

[0246] 本披露的组合物可以与另一种活性剂共同施用。共同施用包括彼此在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小时内施用本披露的组合物和活性剂。共同施用还包括同时或大致同时(例如,彼此在约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披露的组合物和活性剂。此外,本披露的组合物和活性剂可以各自每天一次,或每天两次、三次或更多次施用,以便提供每天的所希望的剂量水平。

[0247] 共同施用可以通过共同植入或共同注射来完成。

[0248] 在一些实施例中,共同施用可以通过共同配制来实现,例如制备包含本披露的组合物和活性剂两者的单一药物配制品。在其他实施例中,本披露的组合物和活性剂可以单独配制并共同施用至受试者。

[0249] 本披露的组合物和活性剂可以按任何适合的重量比存在,如从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)于配制品中。本披露的组合物和其他活性剂可以按任何适合的重量比存在,例如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)。本披露的组合物和活性剂的其他剂量和剂量比适用于本文所述的配制品和方法。

3. 组合法

[0250] 在一方面,本发明提供了一种治疗癌症或增强或引发免疫应答的方法,该方法包括向有需要的受试者施用: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;如本文所述的治疗性支持体组合物;和治疗有效量的另外的治疗剂,该治疗剂选自自由以下组成的组:抗癌剂、免疫调节剂、或其反式环辛烯前药。

[0251] 本发明还提供了一种药物组合,用于在治疗或预防癌症或者用于在增强或引发免疫应答中使用,该药物组合包含本文所述的缀合物,或其药学上可接受的盐或组合物;如本文所述的治疗性支持体组合物;和选自自由以下组成的组的另外的治疗剂:抗癌剂、免疫调节剂或其反式环辛烯前药。

[0252] 本发明还提供了一种药物组合用于治疗或预防癌症或者用于在增强或引发免疫应答中的用途,该药物组合包含本文所述的缀合物,或其药学上可接受的盐或组合物;治疗性支持体组合物;和治疗有效量的选自自由以下组成的组的另外的治疗剂:抗癌剂、免疫调节剂或其反式环辛烯前药。

[0253] 在本文所述的方法和用途中,药物组合的组分可以同时、分开或以任何顺序依次施用/使用,并且组分可以单独施用或作为固定组合施用。例如,根据本发明的疾病的进展延迟或治疗可以包括以联合治疗有效量或有效量,例如以对应于本文所述的量的日剂量,

同时或以任何顺序依次施用游离或药学上可接受的盐形式的第一活性成分以及施用游离或药学上可接受的盐形式的第二活性成分。组合的各个活性成分可以在治疗过程期间的不同时间单独施用或以分开的或单一的剂型并行施用。因此,本发明应理解为涵盖同时或交替治疗的所有此类方案,并且术语“施用”应相应地解释。因此,如本文所用的药物组合限定了用于组合施用的在一个剂量单位形式中的固定组合或分开的剂量形式,其中组合施用可以独立地在相同时间或在不同时间进行。作为另外的实例,治疗性支持体组合物和缀合物可以同时(例如,通过共注射或共植入)、分别或依次施用/使用,然后施用选自自由以下组成的组的另外的治疗剂:抗癌剂、免疫调节剂或其反式环辛烯前药。

[0254] 治疗癌症的方法和用途包括施用治疗性支持体组合物/使治疗性支持体组合物定位在肿瘤处。在本文所披露的方法和用途中,施用缀合物或其药学上可接受的盐或组合物;治疗性支持体组合物;和另外的治疗剂可以抑制肿瘤的生长。

[0255] 一种或多种另外的治疗剂可以与所披露的缀合物和组合物同时或依次施用。依次施用包括在所披露的缀合物和组合物之前或之后施用。可以在所披露的缀合物和组合物之前施用另外的治疗剂。可以在所披露的缀合物和组合物之后施用另外的治疗剂。可以与所披露的缀合物和组合物同时施用另外的治疗剂。在一些实施例中,另外的一种或多种治疗剂可以与所披露的缀合物在相同的组合物中施用。在其他实施例中,在施用另外的治疗剂和所披露的缀合物或组合物之间可能存在时间间隔。在一些实施例中,施用另外的治疗剂连同所披露的缀合物或组合物可以允许较低剂量的其他治疗剂和/或以较低频率的间隔施用。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能以比各自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了包含本披露的缀合物外,还包含一种或多种其他活性成分的那些。

a. 抗癌剂

[0256] 示例性抗癌剂包括但不限于醋酸阿比特龙、阿比曲特(Abitrexate)(甲氨蝶呤)、白蛋白结合型紫杉醇(Abraxane)(紫杉醇白蛋白稳定的纳米颗粒配制品)、ABVD、ABVE、ABVE-PC、AC、AC-T、Adcetris(贝伦妥单抗-维多汀)、ADE、阿多-曲妥珠单抗恩他新、阿霉素(盐酸阿霉素)、Adrucil(氟尿嘧啶)、二马来酸阿法替尼、Afinitor(依维莫司)、艾特乐(咪喹莫特)、阿地白介素、阿仑单抗、爱宁达(培美曲塞二钠)、阿乐喜(盐酸帕洛诺司琼)、Ambochlorin(苯丁酸氮芥)、Amboclorin(苯丁酸氮芥)、氨基乙酰丙酸、阿那曲唑、阿瑞匹坦、阿可达(帕米膦酸二钠)、瑞宁得(阿那曲唑)、阿诺新(依西美坦)、阿仑恩(奈拉滨)、三氧化二砷、阿泽那(奥法木单抗)、天冬酰胺酶菊欧文氏菌、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、蓓萨罗丁、百克沙(托西莫单抗和I 131碘托西莫单抗)、比卡鲁胺、博来霉素、硼替佐米、Bosulif(博舒替尼)、博舒替尼、贝伦妥单抗-维多汀、白消安、白舒非(白消安)、卡巴他塞、苹果酸卡博替尼、CAF、坎帕斯(阿仑单抗)、开普拓(盐酸伊立替康)、卡培他滨、CAPOX、卡铂、卡铂-紫杉酚、卡非佐米、康士得(比卡鲁胺)、CeeNU(洛莫司汀)、司比定(盐酸柔红霉素)、希瑞适(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、克拉芬(环磷酰胺)、氯法拉滨、克洛法里(氯法拉滨)、科罗拉(氯法拉滨)、CMF、Cometriq(苹果酸卡博替尼)、COPP、COPP-ABV、可美净(更生霉素)、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、赛德萨-U(阿糖胞苷)、癌得星(环磷酰胺)、达拉菲尼、达卡巴嗪、达克金(地西他滨)、更生霉素、

达沙替尼、盐酸柔红霉素、地西他滨、地加瑞克、地尼白介素-毒素连接物、地诺单抗、DepoCyt (脂质体阿糖胞苷)、DepoFoam (脂质体阿糖胞苷)、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)、氟优 (氟尿嘧啶)、埃立特 (拉布立酶)、艾伦斯 (盐酸表柔比星)、乐沙定 (奥沙利铂)、艾曲波帕乙醇胺、伊蒙德 (阿瑞吡坦)、恩扎鲁胺、盐酸表柔比星、EPOCH、爱必妥 (西妥昔单抗)、甲磺酸艾日布林、Erivedge (维莫德吉)、盐酸埃罗替尼、Erwinaze (天门冬酰胺酶菊欧文氏菌)、凡毕复 (磷酸依托泊苷)、依托泊苷、磷酸依托泊苷、Evacet (盐酸阿霉素脂质体)、依维莫司、易维特 (盐酸雷洛昔芬)、依西美坦、法乐通 (托瑞米芬)、法洛德 (氟维司群)、FEC、弗隆 (来曲唑)、非格司亭、福达华 (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 (甲酰四氢叶酸、氟尿嘧啶、奥沙利铂)、Folotyn (普拉曲沙)、FU-LV、氟维司群、加德西 (重组HPV四价疫苗)、Gazyva (奥比妥单抗)、吉非替尼、盐酸吉西他滨、吉西他滨-顺铂、吉西他滨-奥沙利铂、吉妥单抗奥唑米星、健择 (盐酸吉西他滨)、Gilotrif (二马来酸阿法替尼)、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、和美新 (盐酸托泊替康)、Hyper-CVAD、替伊莫单抗、依布替尼、ICE、Iclusig (盐酸普那替尼)、Ifex (异环磷酰胺)、异环磷酰胺 (Ifosfamide)、异环磷酰胺 (Ifosfamidum) (异环磷酰胺 (Ifosfamide))、甲磺酸伊马替尼、Imbruvica (伊布替尼)、咪喹莫特、Inlyta (阿昔替尼)、内含子A (重组干扰素 α -2b)、碘131托西莫单抗和托西莫单抗、伊匹单抗、易瑞沙 (吉非替尼)、盐酸伊立替康、Istodax (罗米地辛)、伊沙匹隆、Ixempra (伊沙匹隆)、Jakafi (磷酸鲁索替尼)、Jevtana (卡巴他赛)、Kadcyla (阿多-曲妥珠单抗恩他新)、Keoxifene (盐酸雷洛昔芬)、Kepivance (帕利夫明)、Kyprolis (卡非佐米)、二甲苯磺酸拉帕替尼、来那度胺、来曲唑、甲酰四氢叶酸钙、瘤可宁 (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、罗氮芥、利普安 (醋酸亮丙瑞林)、利普安储库 (醋酸亮丙瑞林)、利普安储库-Ped (醋酸亮丙瑞林)、利普安储库-3个月 (醋酸亮丙瑞林)、利普安储库-4个月 (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、梅格施 (醋酸甲地孕酮)、醋酸甲地孕酮、Mekinist (曲美替尼)、疏嘌呤、美司钠、Mesnex (美司钠)、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)、Mutamycin (丝裂霉素C)、马利兰 (白消安)、Mylosar (阿扎胞苷)、麦罗塔 (吉妥单抗奥佐米星)、纳米颗粒紫杉醇 (紫杉醇白蛋白稳定的纳米颗粒配制品)、诺维本 (酒石酸长春瑞滨)、奈拉滨、Neosar (环磷酰胺)、优保津 (非格司亭)、Nexavar (甲苯磺酸索拉非尼)、尼洛替尼、诺瓦得士 (柠檬酸他莫昔芬)、Nplate (罗米司亭)、奥滨尤妥单抗、奥法木单抗、高三尖杉酯碱、Oncaspar (培门冬酶)、Ontak (地尼白介素-毒素连接物)、OEPA、OPPA、奥沙利铂、紫杉醇、紫杉醇白蛋白稳定的纳米颗粒配制品、帕利夫明、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、聚乙二醇干扰素 α -2b、PEG-内含子 (聚乙二醇干扰素 α -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、普留净 (阿地白介素)、普罗利亚 (地诺单抗)、Promacta (艾曲波帕乙醇胺)、普罗文奇 (西普鲁塞-T)、巯基嘌呤 (巯嘌呤)、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 α -2b、瑞戈非尼、Revlimid (来那度胺)、Rheumatrex (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、Sclerosol 胸膜内气雾剂 (滑石)、西普鲁塞-T、甲苯磺酸索拉非尼、施达赛 (达沙替尼)、斯坦福V、无菌滑石粉 (滑石)、Steritalc (滑石)、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 α -2b)、昔诺韦 (沙利度胺)、Synribo (高三尖杉酯碱)、Tafinlar (达拉菲尼)、滑石、柠檬酸他莫昔芬、Tarabine PFS (阿糖胞苷)、特罗凯 (盐酸埃罗替尼)、Targretin (萆萨罗丁)、Tasigna (尼罗替尼)、紫杉酚 (紫杉醇)、泰索帝 (多西他赛)、Temodar (替莫唑胺)、替莫唑胺、坦罗莫司、沙利度胺、Thalomid (沙利度胺)、Toposar (依托泊苷)、盐酸托泊替康、托瑞米芬、Torisel (坦罗莫司)、托西莫单抗和131碘托西莫单抗、Totect (盐酸右雷佐生)、曲美替尼、曲妥珠单抗、Treanda (盐酸苯达莫司汀)、Trisenox (三氧化二砷)、泰克博 (二甲苯磺酸拉帕替尼)、凡德他尼、VAMP、维克替比 (帕尼单抗)、VelP、Velban (硫酸长春花碱)、万珂 (硼替佐米)、Velsar (硫酸长春花碱)、威罗非尼、VePesid (依托泊苷)、Viadur (醋酸亮丙瑞林)、维达扎 (阿扎胞苷)、硫酸长春花碱、Vincasar PFS (硫酸长春新碱)、硫酸长春新碱脂质体、酒石酸长春瑞滨、维莫德吉、Voraxaze (羧肽酶)、伏立诺他、福退癌 (盐酸帕唑帕尼)、维尔康沃林 (甲酰四氢叶酸钙)、赛可瑞 (克唑替尼)、希罗达 (卡培他滨)、Xelox、Xgeva (地诺单抗)、Xofigo (二氯化镭223)、安可坦 (恩杂鲁胺)、Yervoy (伊匹单抗)、Zaltrap (阿柏西普)、泽波拉夫 (威罗菲尼)、泽娃灵 (替伊莫单抗)、Zinecard (盐酸右雷佐生)、阿柏西普、诺雷德 (醋酸戈舍瑞林)、唑来膦酸、Zolinza (伏立诺他)、择泰 (唑来膦酸)、以及Zytiga (醋酸阿比特龙)。

[0257] 该抗癌剂可以是PBD二聚体、刺孢霉素、speromycin、微管溶素B、根霉素、尾海兔素、膜海鞘素B、喜树碱、CBI、坦罗莫司、放线菌素D、埃博霉素B、紫杉酚、念珠藻素、SN38、万珂、鸦胆亭、DAVLBH、DM1、叶下珠苷 (Phyllanthoside)、爱宁达、T2毒素、MMC、瓦他拉尼、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、托泊替康、博来霉素、阿霉素、顺铂、氮芥、依托泊苷或5-FU。

[0258] 在某些实施例中，抗癌剂是蒽环类。在某些实施例中，抗癌剂是紫杉烷。在某些实施例中，抗癌剂是吉西他滨。在某些实施例中，抗癌剂是阿霉素。在某些实施例中，抗癌剂是多西他赛。在某些实施例中，抗癌剂是SN38。在某些实施例中，抗癌剂是单甲基奥瑞斯他汀E。

b. 免疫调节剂

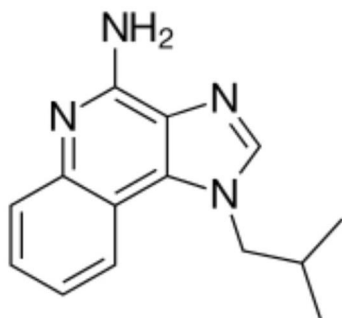
[0259] 另外的治疗剂可以是TLR或STING激动剂。其他的免疫调节剂包括细胞因子、趋化因子、趋化因子拮抗剂和免疫检查点抑制剂。

i. TLR激动剂

[0260] TLR激动剂是免疫调节剂。应答于病原相关分子模式 (PAMP) 的TLR介导的信号传导是转录调控事件的连续级联，其根据TLR激动剂、所涉及的细胞类型和抗原的致病性而变化。单个基因 (特别是促炎细胞因子，例如IL-1 (α 和 β)、IL-6、IL-18、TNF-C) 被瞬时诱导，这

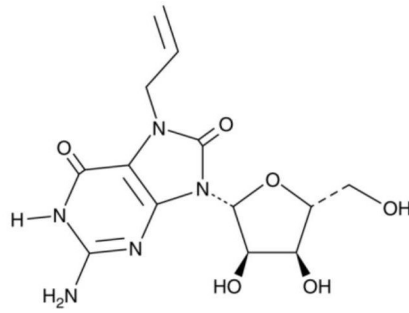
反映先天免疫系统必须能感知感染并协调适当的应答同时促进消退 (T.Ravasi, C.A.Wells, D.A.Hume, Bioessays [生物学论文集] 29, 1215 (2007年11月15日); J.C.Roach 等人, Proc Natl Acad Sci USA [美国国家科学院院刊] 104, 16245 (2007年10月9日); M.Gilchrist 等人, Nature [自然] 441, 173 (2006年5月11日))。

[0261] TLR激动剂包括但不限于以下的激动剂: TLR1/2异源二聚体 (例如Pam3CSK4, 即, 三棕榈酰基CysSerLysLysLysLys)、TLR3 (例如聚I:C、聚ICLC)、TLR4 (例如, 单磷酸脂质A、脂多糖、GLA-SE、G100)、TLR5 (例如, 鞭毛蛋白)、TLR2/6异源二聚体 (例如, 革兰氏阳性细菌、支原体和真菌的二酰基脂肽)、TLR7 (例如, 咪唑并[4,5-c]喹啉-4-胺 (例如咪喹莫特) 且如美国专利号4,689,338所述, 该专利通过引用并入本文; 以及聚核糖肌苷酸-聚核糖胞苷酸 (聚I:C)、TLR3 (聚腺苷酸-聚尿苷酸 (聚A:U))、TLR2 (肽聚糖)、TLR2和TLR4 (例如是卡介苗 (BCG))、

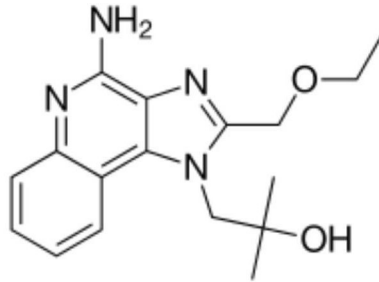


咪喹莫特

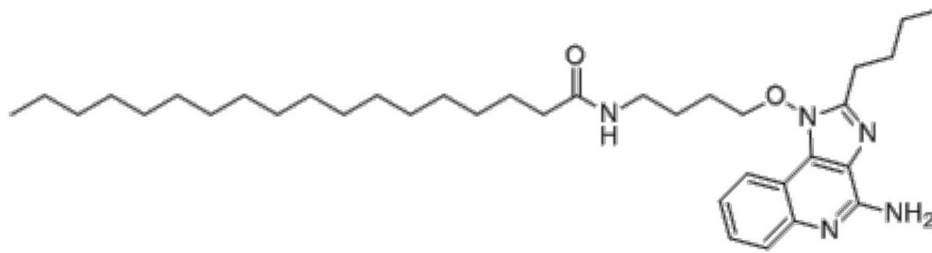
TLR7/8 (例如, 洛索立宾; 咪唑并[4,5-c]喹啉-4-胺例如瑞喹莫德 (R848) 和 MEDI9197)、



洛索立宾

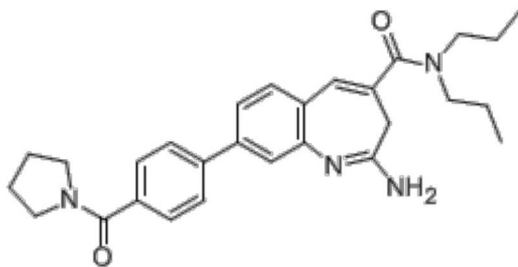


瑞嗒莫德



MEDI9197

TLR8 (例如, VTX-2337)



VTX-2337

和TLR9 (例如, CpG ODN例如ODN D-SL01、MGN1703、CPG7909、SD-101、EMD 1201081)。CpG ODN是在特定序列背景(CpG基序)中含有未甲基化CpG二核苷酸的短合成单链DNA分子。与在基因组细菌DNA中发现的天然磷酸二酯(PO)骨架相反,CpG ODN具有部分或完全硫代磷酸酯化的(PS)骨架。基于结构特征和对人外周血单核细胞(PBMC)(特别是B细胞和浆细胞样树突状细胞(pDC))的活性,已经鉴定了三类主要的刺激性CpG ODN。CpG-A ODN的特征在于含有PO中心CpG的回文基序和经PS修饰的3'聚-G串。它们诱导来自pDC的高IFN- α 产生,但是为TLR9依赖性NF- κ B信号传导和促炎细胞因子(例如IL-6)产生的弱刺激物。

CpG-B ODN含有具有一个或多个CpG二核苷酸的完整PS骨架。它们强烈激活B细胞和TLR9依赖性NF- κ B信号传导,但弱刺激IFN- α 分泌。CpG-C ODN组合了类别A和类别B的特征。它们含有完整的PS骨架和含CpG的回文基序。C类CpG ODN诱导来自pDC的强IFN- α 产生以及B细胞刺激。

[0262] 另外的TLR9激动剂描述于WO 2019/115402、EP 2017281、US 2019/0160173、US 2019/0151345、US 2011/0311518、US 2011/0293565,它们各自通过引用并入本文。

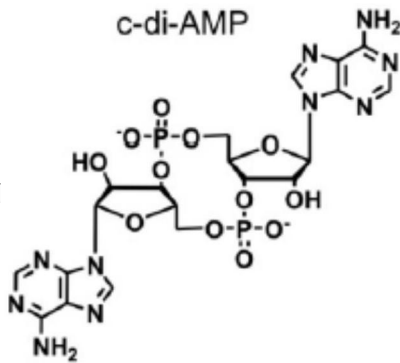
[0263] 单链和双链RNA可以用作TLR激动剂,如由Roers等人在Immunity[免疫力](2016) 44,739-754中所述,该文献通过引用并入本文。

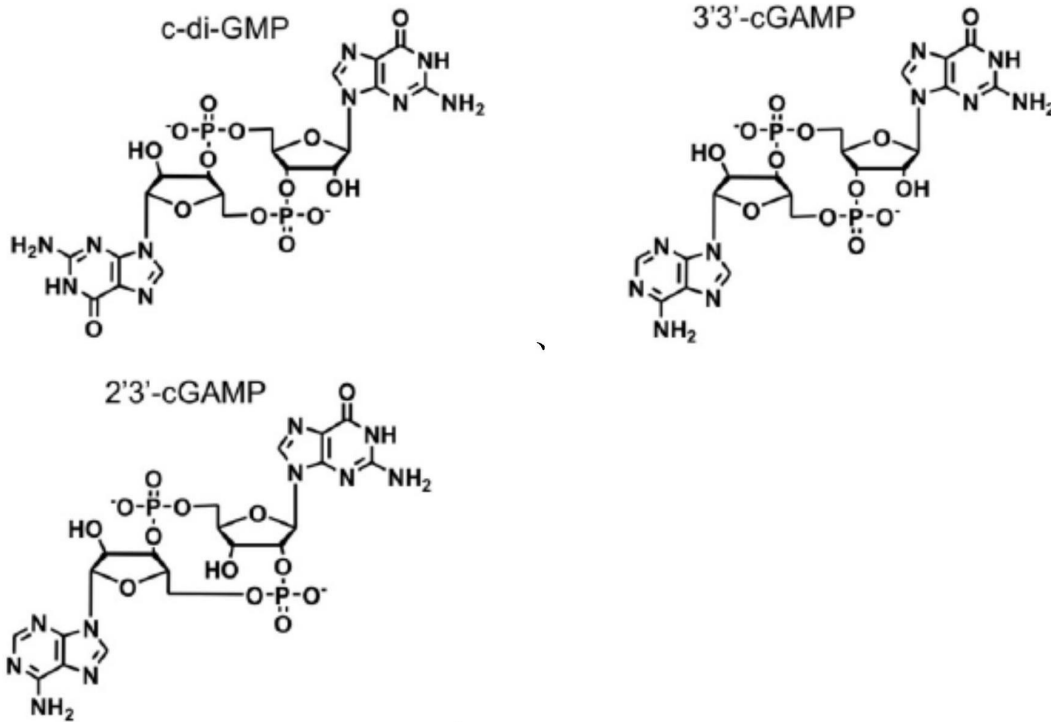
ii. STING激动剂

[0264] STING激动剂是负责在识别细胞的胞质溶胶中的环状二核苷酸后控制许多促炎宿主防御基因的免疫调节剂,包括I型干扰素和促炎细胞因子。然后,这些信号可以通过抗原的交叉呈递和T细胞引发以及其他机制来刺激获得性免疫系统(Barber GN. STING: infection, inflammation and cancer. [STING:感染、炎症和癌症]Nat Rev Immunol. [自然综述免疫学]2015;15(12):760-70)。TLR和STING激动剂还能够促进接受免疫疗法治的实体癌和癌症的抗肿瘤免疫应答(Berger G, Marloye M, Lawler SE. Immunotherapy. [免疫疗法]Trends Mol Med. [分子医学发展趋势]2019;25(5):412-427)。

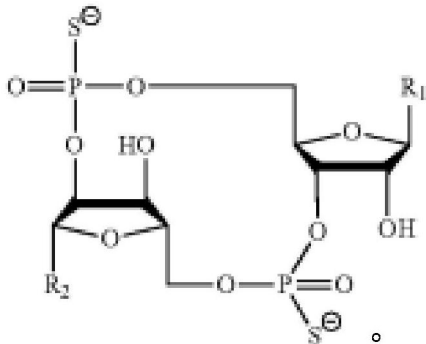
[0265] STING激动剂包括ADU-S100和2' 3' -cG^sA^sMP。STING激动剂包括环状二核苷酸及其

类似物,例如



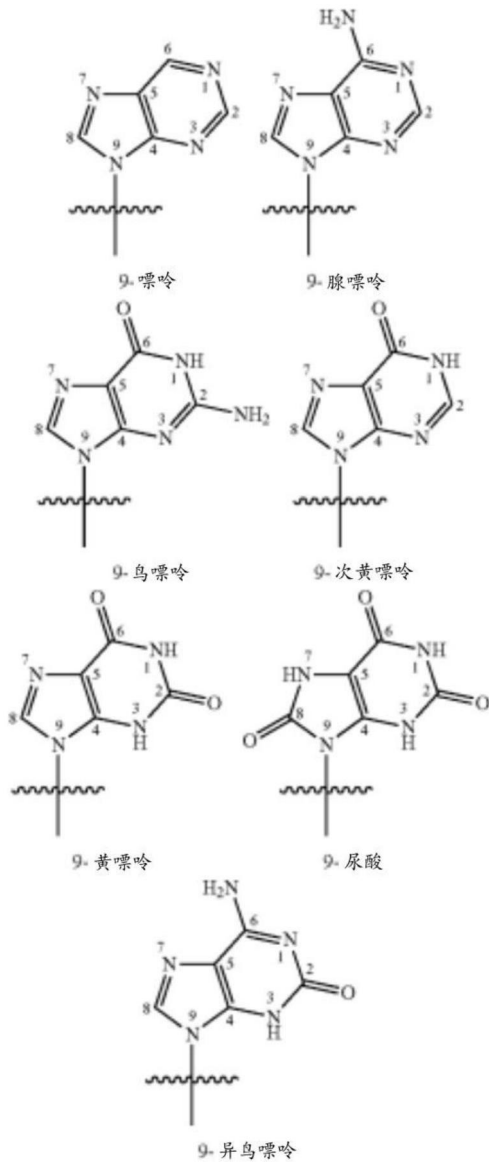


[0266] STING激动剂进一步包括修饰的环状二核苷酸。在一些实施例中，修饰的环状二核苷酸可能不存在于自然界中，或者可能是化学合成的。在一些实施例中，修饰的环状二核苷酸是具有下式的化合物：



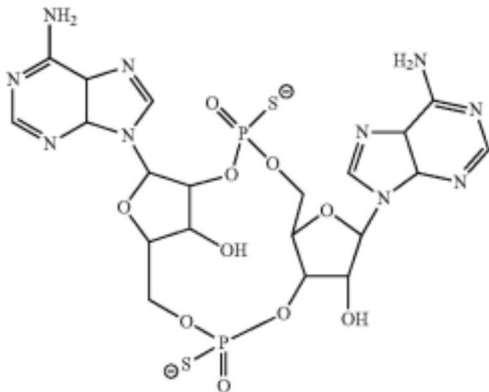
在一些实施例中， R_1 和 R_2 可以各自独立地为9-嘌呤、9-腺嘌呤、9-鸟嘌呤、9-次黄嘌呤、9-黄嘌呤、9-尿酸或9-异鸟嘌呤，其结构如下所示，其结构为：

9-嘌呤、9-腺嘌呤、9-鸟嘌呤、9-次黄嘌呤、9-黄嘌呤、9-尿酸或9-异鸟嘌呤，其结构如下所示，其结构为：

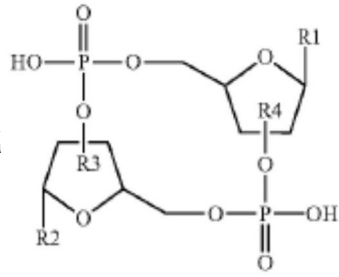


R_1 和 R_2 可以是相同的或不同的。在一些实施例

中,该化合物可以主要地以其 R_p . R_p 或 R_p . S_p .立体异构体、或前药、或药学上可接受的盐的形式提供,如US 2016/0287623中所述,该专利通过引用并入本文。在一些实施例中,该化合物可以主要地以 R_p . R_p 立体异构体的形式提供。在特定的实施例中,该化合物可以是具有下式的化合物或主要地处于其 R_p . R_p 立体异构体的形式:



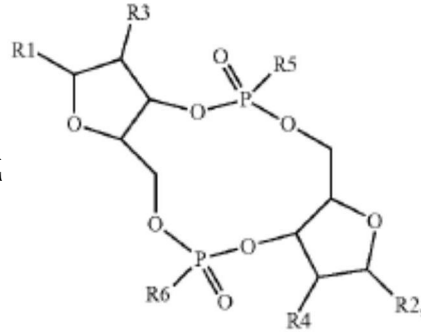
[0267] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如US 2017/

0333552中所述,该专利通过引用并入本文。

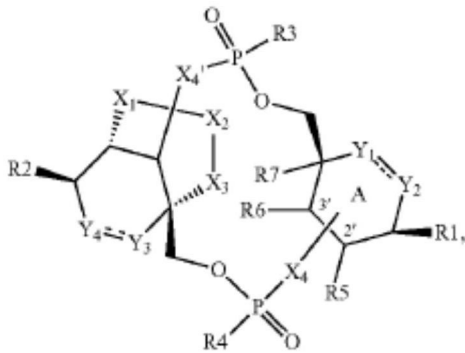
[0268] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如US

2018/0064745中所述,该专利通过引用并入本文。

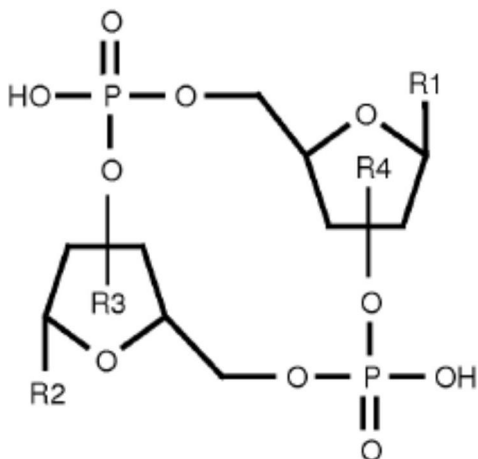
[0269] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如US 2019/0185511中所述,该专利

通过引用并入本文。

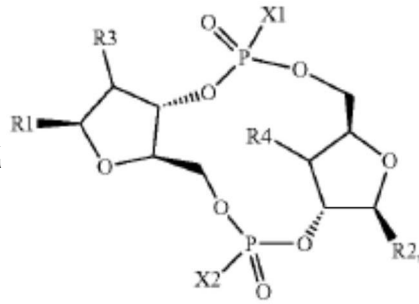
[0270] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如WO 2014/189806中所述,该专利

通过引用并入本文。

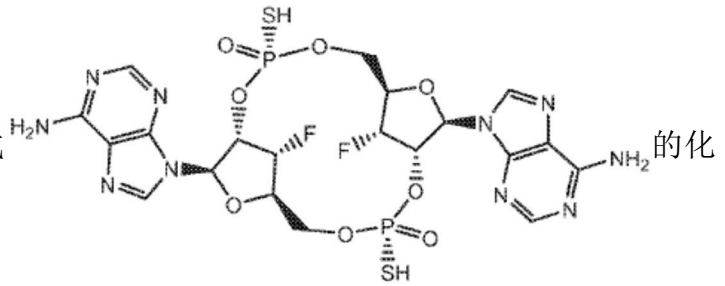
[0271] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如US

2019/0062365中所述,该专利通过引用并入本文。

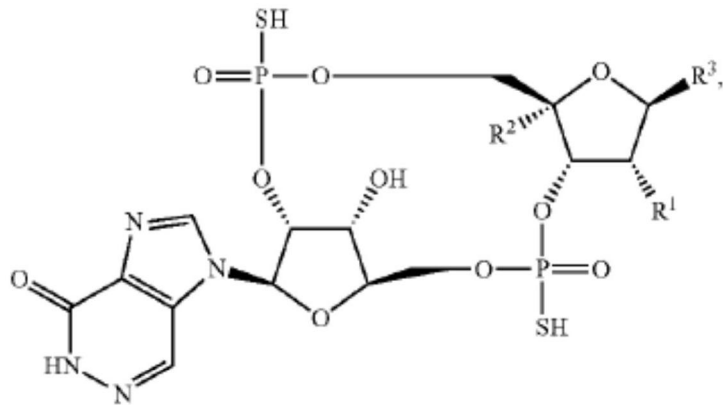
[0272] STING激动剂可以包括具有式



的化

合物,如W0 2018/198076中所述,该专利通过引用并入本文。

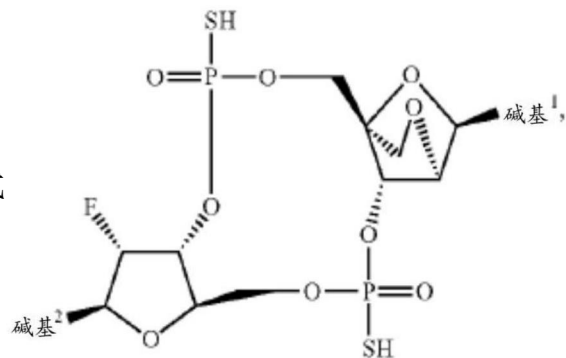
[0273] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如US2018/0092937中所述,

该专利通过引用并入本文。

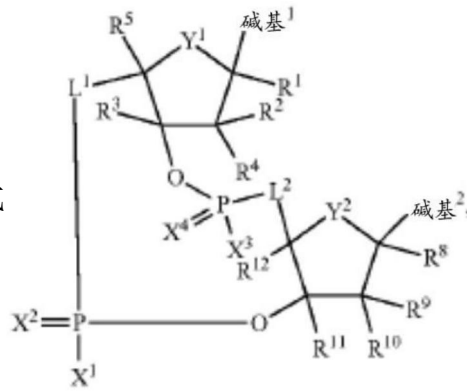
[0274] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,

如US 2018/0273578中所述,该专利通过引用并入本文。

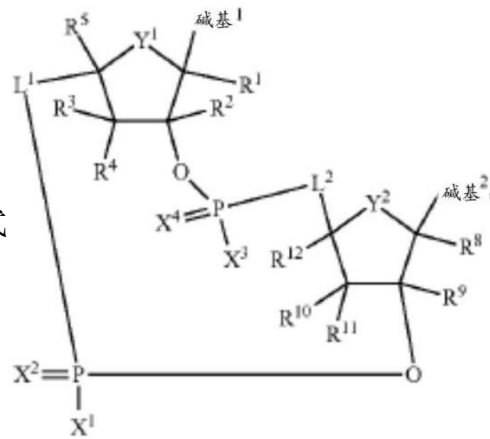
[0275] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如US

2019/0183917中所述,该专利通过引用并入本文。

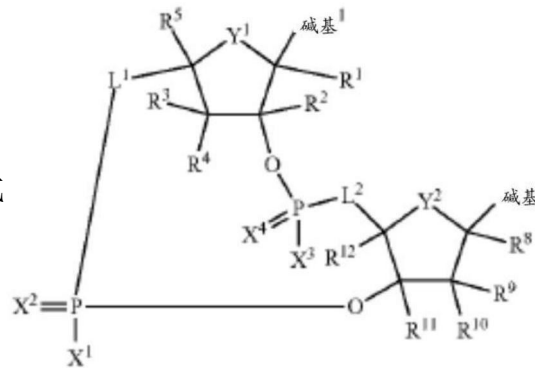
[0276] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如US

2019/0185509中所述,该专利通过引用并入本文。

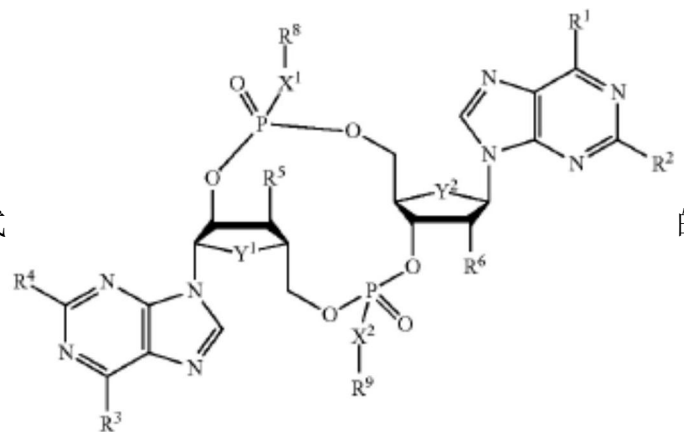
[0277] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,

如US 2019/0185510中所述,该专利通过引用并入本文。

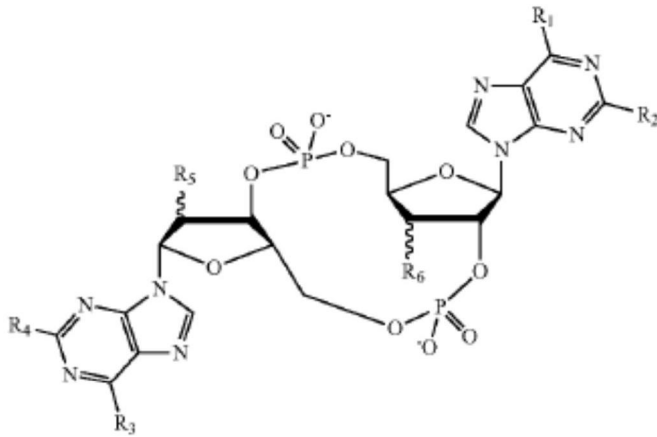
[0278] STING激动剂可以包括具有式



的

化合物,如US 2017/0233430中所述,该专利通过引用并入本文。

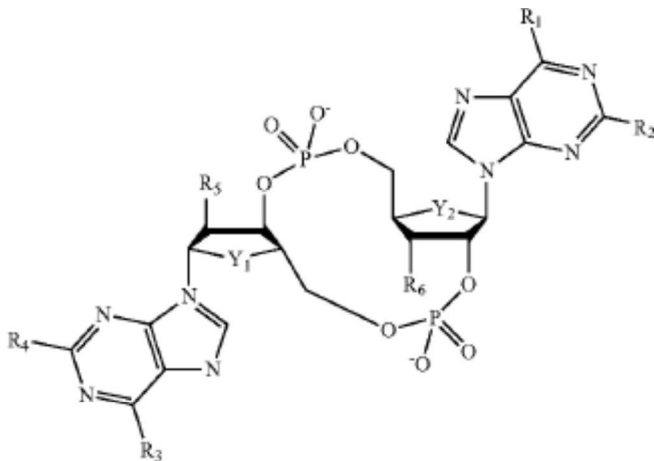
[0279] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如US 2018/0002369中

所述,该专利通过引用并入本文。

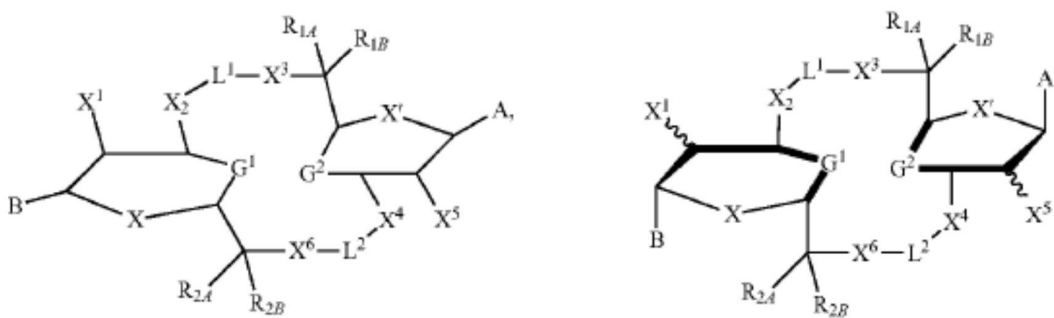
[0280] STING激动剂可以包括具有式

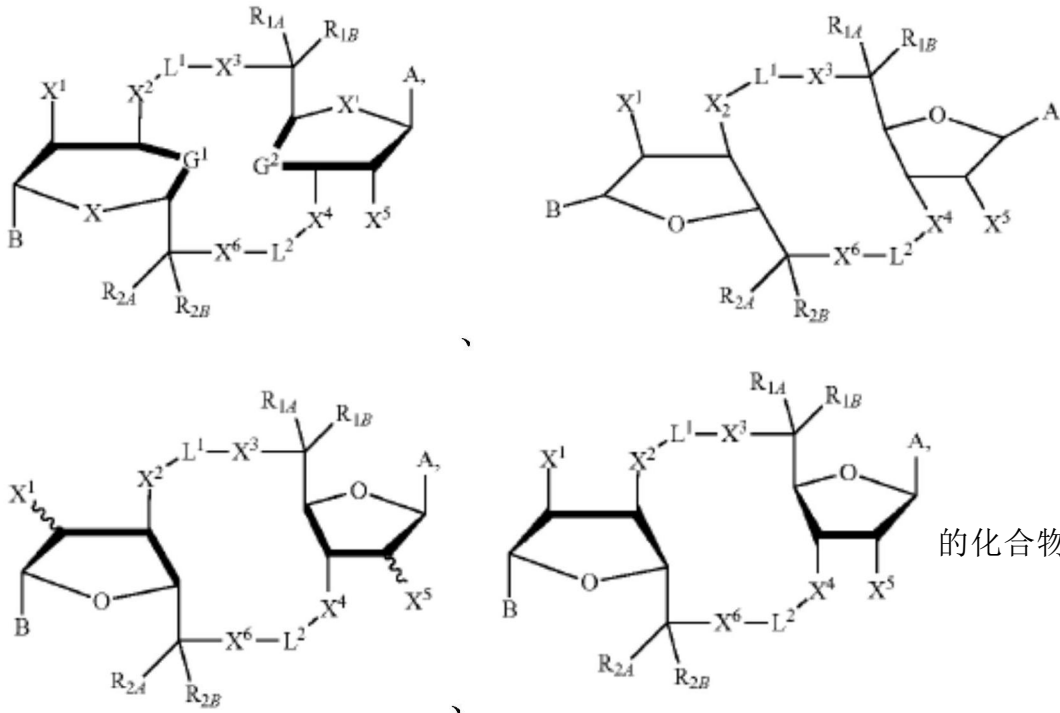


的化合物,如US 2018/0186828中

所述,该专利通过引用并入本文。

[0281] STING激动剂可以包括具有式

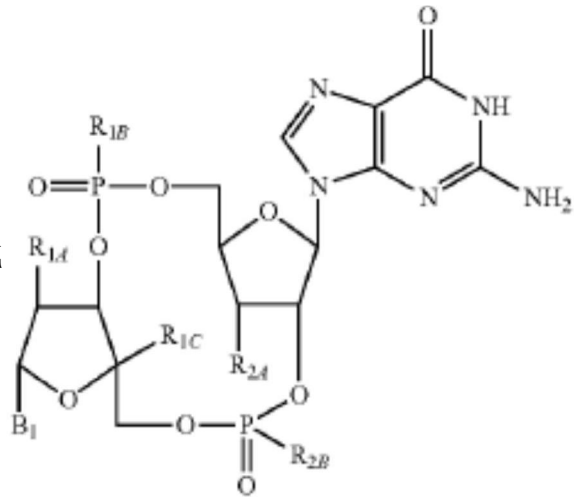




的化合物,如

US 2019/0016750中所述,该专利通过引用并入本文。

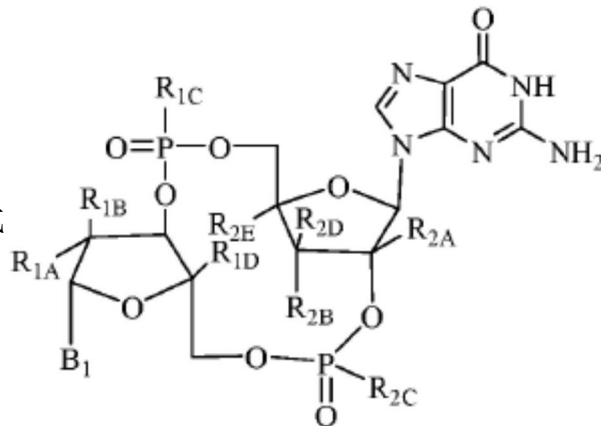
[0282] STING激动剂可以包括具有式



的化合

物,如US 2018/0162899中所述,该专利通过引用并入本文。

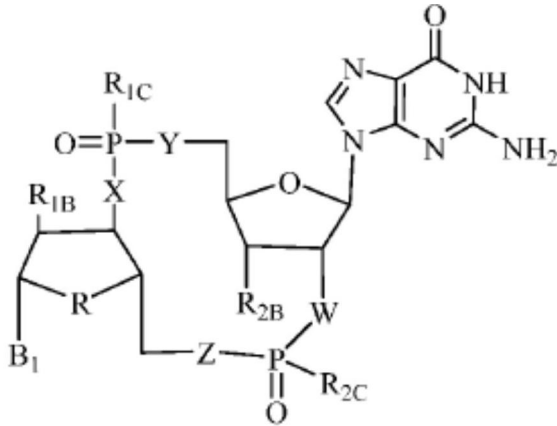
[0283] STING激动剂可以包括具有式



的化合

物,如WO 2018/138684中所述,该专利通过引用并入本文。

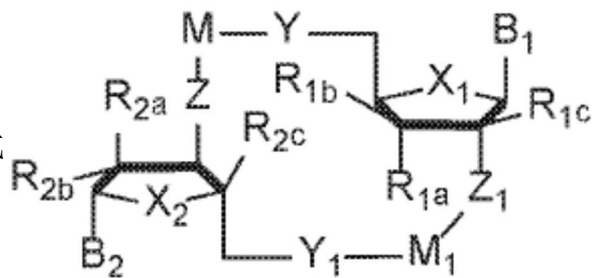
[0284] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如WO 2018/138685中所述,该

专利通过引用并入本文。

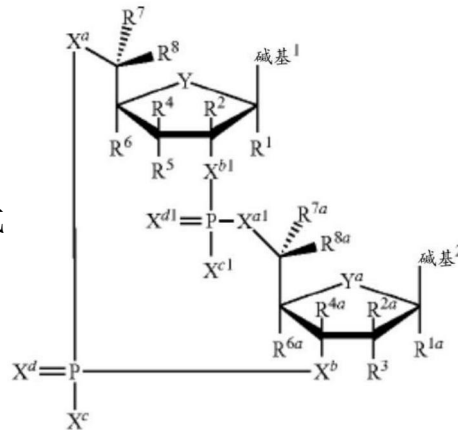
[0285] STING激动剂可以包括具有式



的化合

物,如WO 2019/118839中所述,该专利通过引用并入本文。

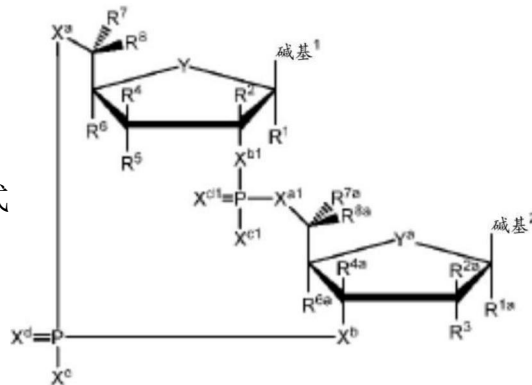
[0286] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如US

2017/0044206中所述,该专利通过引用并入本文。

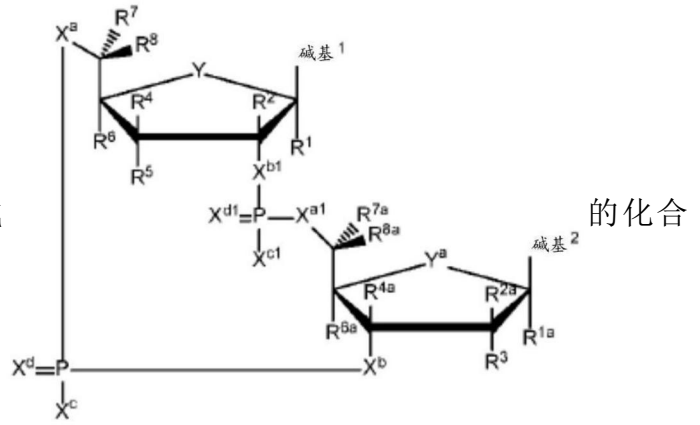
[0287] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如

WO 2018/118665中所述,该专利通过引用并入本文。

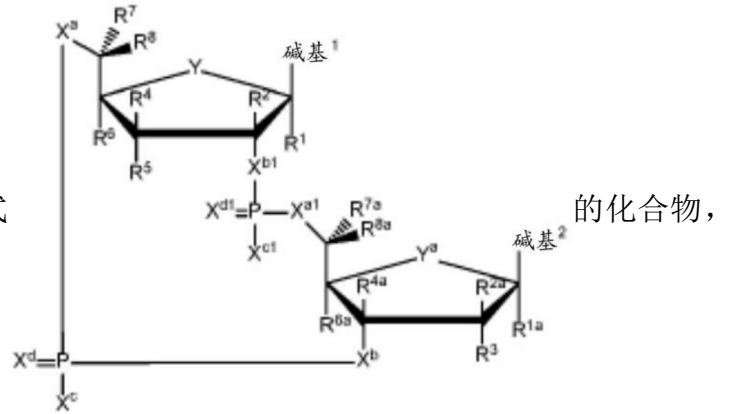
[0288] STING激动剂可以包括具有式



的化合

物,如WO 2018/208667中所述,该专利通过引用并入本文。

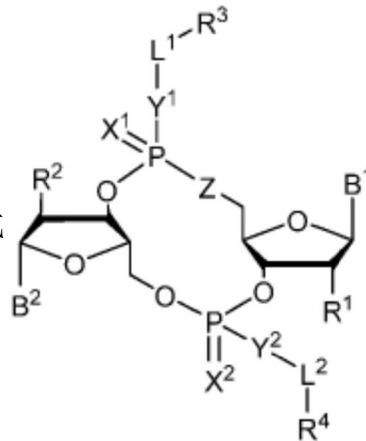
[0289] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,

如WO 2019/125974中所述,该专利通过引用并入本文。

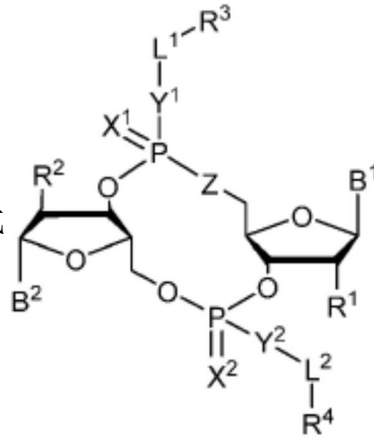
[0290] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如WO 2018/

009648中所述,该专利通过引用并入本文。

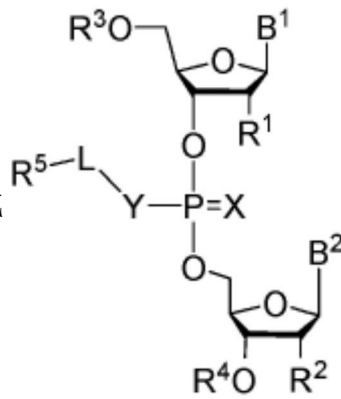
[0291] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如W0 2018/

009652中所述,该专利通过引用并入本文。

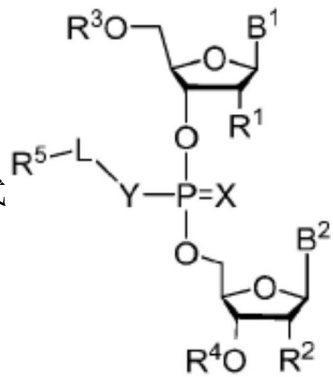
[0292] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如W0 2018/

013887中所述,该专利通过引用并入本文。

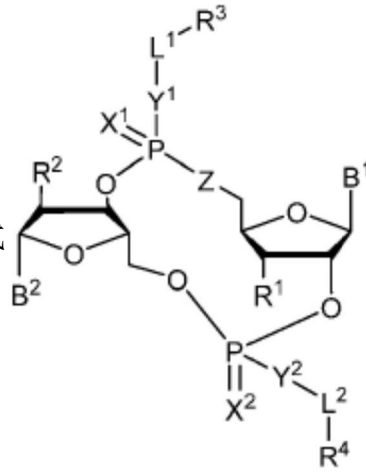
[0293] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如W0 2018/

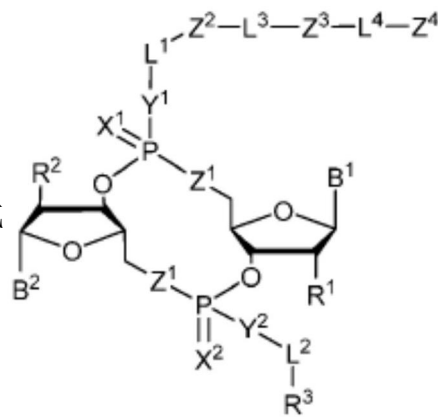
013908中所述,该专利通过引用并入本文。

[0294] STING激动剂可以包括具有式



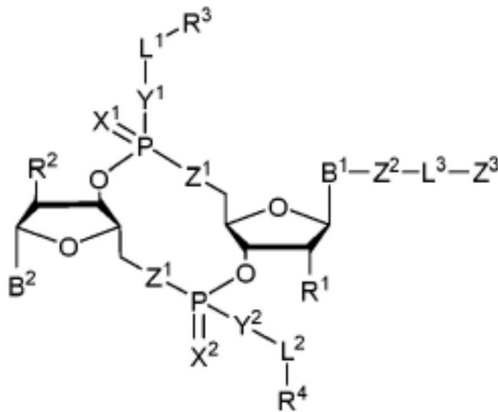
046511中所述,该专利通过引用并入本文。

[0295] STING激动剂可以包括具有式



2019/051488中所述,该专利通过引用并入本文。

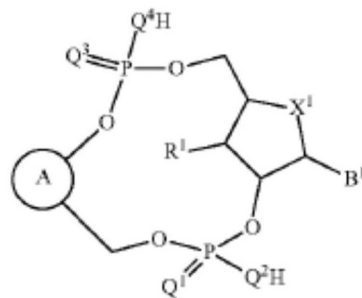
[0296] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如WO 2019/051489中所述,该专利

通过引用并入本文。

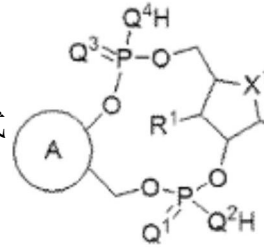
[0297] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如US 2019/

0192549中所述,该专利通过引用并入本文。

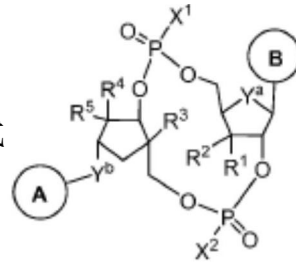
[0298] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如WO 2018/100558

中所述,该专利通过引用并入本文。

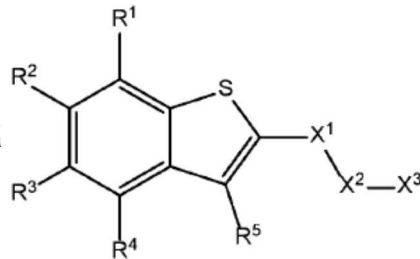
[0299] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如WO 2019/092660

中所述,该专利通过引用并入本文。

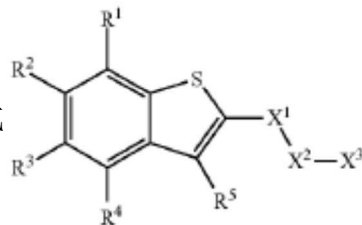
[0300] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如WO

2019/027858中所述,该专利通过引用并入本文。

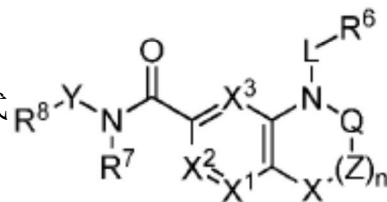
[0301] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如US 2018/

0093964中所述,该专利通过引用并入本文。

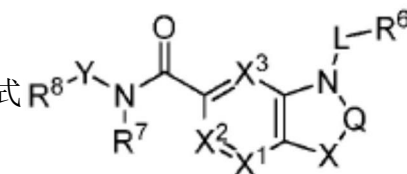
[0302] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,其中X、X¹-X³、

L、Q、Z、Y、n、和R⁶-R⁸是如WO 2018/234805中所述,该专利通过引用并入本文。

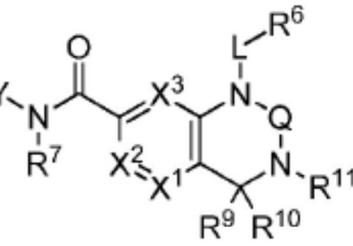
[0303] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,其中X、X¹-

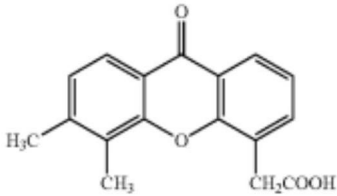
X³、L、Q、Y、和R⁶-R⁸是如WO 2018/234807中所述,该专利通过引用并入本文。

[0304] STING激动剂可以包括具有式 $R^8-Y-N(R^7)-C(=O)-C(X^2)=C(X^3)-N(L-R^6)-Q-N(R^{11})-C(R^9)(R^{10})$ 的化合物,其中 X^1-



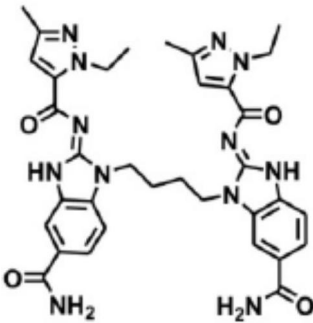
X^3 、L、Q、Y、和 R^6-R^{11} 式如WO 2018/234808中所述,该专利通过引用并入本文。

[0305] STING激动剂包括例如化合物DMXAA:



DMXAA。

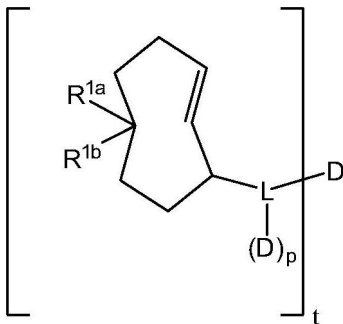
[0306] STING激动剂包括二酰胺基苯并咪唑,例如



c. 反式环辛烯官能化前药

[0307] 反式环辛烯官能化前药是本领域已知的,包括如W02018/187740、W0 2014/205126、W0 2015/139025、和W0 2017/044983(将其通过引用并入本文)中所述的抗癌剂的前药。使用反式环辛烯官能化前药的其他实施例如下。

[0308] E46.1A. 如E46所述的方法,其中反式环辛烯官能化前药具有式(III)



(III)

或其药学上可接受的盐,其中

R^{1a} 在每次出现时独立地选自由氢、 C_{1-4} 烷基和 C_{1-4} 卤代烷基组成的组;

R^{1b} 在每次出现时独立地选自由以下组成的组:氢、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 卤代烷基、 $C(O)OH$ 、 $C(O)OC_{1-4}$ 烷基、 $C(O)N(R^{1c})CHR^{1e}CO_2H$ 、 $C(O)N(R^{1c})CHR^{1e}C(O)OC_{1-4}$ 烷基、 $C(O)N(R^{1c})-C_{1-6}$ 亚烷

基-CO₂H、和C(O)N(R^{1c})-C₁₋₆亚烷基-C(O)OC₁₋₄烷基；

R^{1c}在每次出现时独立地是氢或C₁₋₄烷基；

R^{1e}在每次出现时独立地是-C₁₋₄亚烷基-CO₂H、-C₁₋₄亚烷基-CONH₂、或-C₁₋₄亚烷基-

OH；

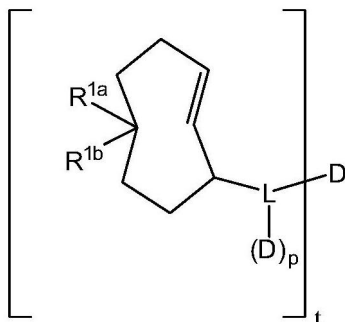
D在每次出现时独立地是有效负载，该有效负载选自由以下组成的组：抗癌剂有效负载、toll样受体 (TLR) 激动剂有效负载和干扰素基因刺激蛋白 (STING) 激动剂有效负载；

L在每次出现时独立地是接头；

t在每次出现时独立地是1、2、或3；并且

p在每次出现时独立地是0、1或2。

[0309] E46.1B. 用于如E46所述的方法中的具有式 (III) 的化合物或具有式 (III) 的化合物，其中反式环辛烯官能化前药具有式 (III)



(III)

或其药学上可接受的盐，其中

R^{1a}在每次出现时独立地选自由氢、C₁₋₄烷基和C₁₋₄卤代烷基组成的组；

R^{1b}在每次出现时独立地选自由以下组成的组：C(O)N(R^{1c})-C₁₋₆亚烷基-SO₃H、C(O)N(R^{1c})-C₂₋₆亚烷基-N(C₁₋₄烷基)₃⁺、C(O)N(R^{1c})-(CH₂CH₂O)₁₋₃-CH₂CH₂N((CH₂CH₂O)₁₋₃-C₁₋₆亚烷基-CO₂H)₂、和C(O)N(R^{1c})-CH(CH₂O-(CH₂CH₂O)₀₋₂-C₁₋₆亚烷基-CO₂H)₂；

R^{1c}在每次出现时独立地是氢或C₁₋₄烷基；

D在每次出现时独立地是有效负载，该有效负载选自由以下组成的组：抗癌剂有效负载、toll样受体 (TLR) 激动剂有效负载和干扰素基因刺激蛋白 (STING) 激动剂有效负载；

L在每次出现时独立地是接头；

t在每次出现时独立地是1、2、或3；以及

p在每次出现时独立地是0、1或2。

[0310] E46.2. 如E46.1A所述的方法，如E46.1B所述的化合物或药学上可接受的盐，或用于在如E46.1B所述的方法中使用的化合物或药学上可接受的盐，其中R^{1a}是氢。

[0311] E46.3. 如E46.1A所述的方法，如E46.1B所述的化合物或药学上可接受的盐，或用于在如E46.1B所述的方法中使用的化合物或药学上可接受的盐，其中R^{1a}是C₁₋₄烷基。

[0312] E46.4. 如E46.1A所述的方法，如E46.1B所述的化合物或药学上可接受的盐，或用于在如E46.1B所述的方法中使用的化合物或药学上可接受的盐，其中R^{1a}是CH₃。

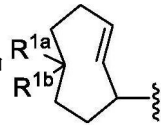
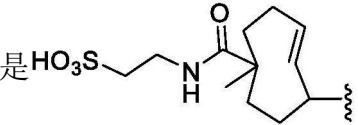
[0313] E46.5. 如E46.1A或E46.2至E46.4中任一项所述的方法，其中R^{1b}选自由以下组成的组：C(O)OH、C(O)OC₁₋₄烷基、C(O)N(R^{1c})CHR^{1e}CO₂H、C(O)N(R^{1c})CHR^{1e}C(O)OC₁₋₄烷基、C(O)N

(R^{1c})-C₁₋₆亚烷基-CO₂H、和C(O)N(R^{1c})-C₁₋₆亚烷基-C(O)OC₁₋₄烷基。

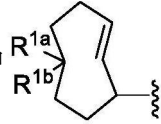
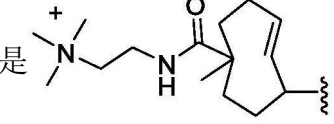
[0314] E46.6A. 如E46.1A或E46.2至E46.4中任一项所述的方法,其中R^{1b}选自由以下组成的组:C(O)OH、C(O)N(R^{1c})CHR^{1e}CO₂H、和C(O)N(R^{1c})CH₂CO₂H。

[0315] E46.6B. 如E46.1B至E46.4所述的化合物或药学上可接受的盐,或用于在如E46.1B至E46.4所述的方法中使用的化合物或药学上可接受的盐,其中R^{1b}选自由以下组成的组:-NR^{1c}-CH₂CH₂-N(CH₃)₃⁺、-N(R^{1c})-CH₂CH₂-SO₃H、-N(R^{1c})-(CH₂CH₂O)₃-CH₂CH₂N((CH₂CH₂O)₃-CH₂CH₂-CO₂H)₂、和-N(R^{1c})-CH(CH₂O-CH₂CH₂-CO₂H)₂。

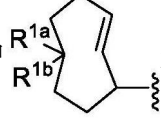
[0316] E46.6C. 如E46.1B所述的化合物或药学上可接受的盐,或用于在如E46.1B所述的

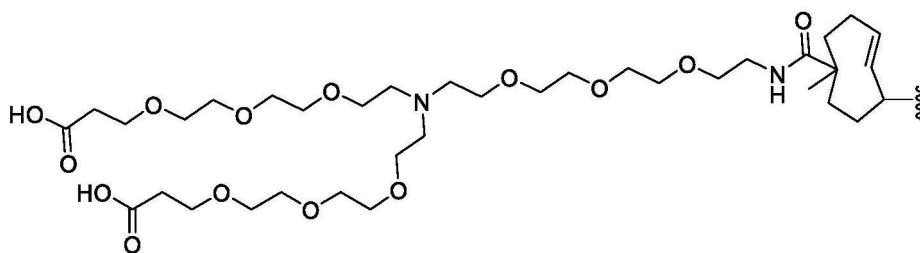
方法中使用的化合物或药学上可接受的盐,其中  是 。

[0317] E46.6D. 如E46.1B所述的化合物或药学上可接受的盐,或用于在如E46.1B所述的

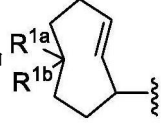
方法中使用的化合物或药学上可接受的盐,其中  是 。

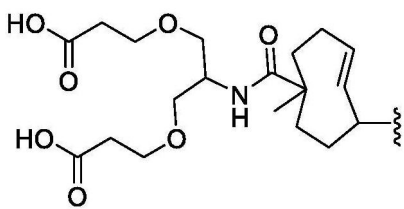
[0318] E46.6E. 如E46.1B所述的化合物或药学上可接受的盐,或用于在如E46.1B所述的

方法中使用的化合物或药学上可接受的盐,其中  是



[0319] E46.6F. 如E46.1B所述的化合物或药学上可接受的盐,或用于在如E46.1B所述的

方法中使用的化合物或药学上可接受的盐,其中  是



[0320] E46.7. 如E46.5或E46.6A所述的方法,其中R^{1e}是-CH₂CO₂H、-CH₂CH₂CO₂H、-CH₂CONH₂、-CH₂CH₂CONH₂、-CH₂OH、或-CH(CH₃)OH。

[0321] E46.8. 如E46.5或E46.6A所述的方法,其中R^{1e}是-C₁₋₄亚烷基-CO₂H。

[0322] E46.9. 如E46.5或E46.6A所述的方法,其中R^{1e}是-CH₂CO₂H。

[0323] E46.10. 如E46.1A或E46.2至E46.4中任一项所述的方法,其中R^{1b}是C(O)N(R^{1c})-

C_{1-6} 亚烷基- CO_2H 。

[0324] E46.11. 如E46.1A或E46.2至E46.4中任一项所述的方法,其中 R^{1b} 是 $C(O)N(R^{1c})CH_2CO_2H$ 。

[0325] E46.12. 如E46.1A至E46.11中任一项所述的方法,其中 R^{1c} 是氢。

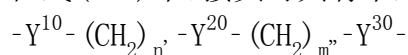
[0326] E46.13. 如E46.1A或E46.2至E46.4中任一项所述的方法,其中 R^{1b} 是氢。

[0327] E46.14. 如E46.1A或E46.2至E46.4中任一项所述的方法,其中 R^{1b} 是 $C(O)OH$ 。

[0328] 在本文所述的化合物中,接头L可以具有1至100个连接原子,并且可以包括乙烯-氧基基团、胺、酯、酰胺、氨基甲酸酯、碳酸酯、以及酮官能团。例如,接头可具有从1至50个连接原子、或从5至50个连接原子、或从10至50个连接原子、或从1至40个连接原子、或从1至30个连接原子、或从1至20个连接原子、或从1至10个连接原子、或从1至5个连接原子、或从5至30个连接原子、或从10至30个连接原子、或从5至40个连接原子、或从5至50个连接原子、或从10至50个连接原子。

[0329] 式(III)中的接头可包含一个或多个(例如1-10或1-5个)链杂原子(例如O、N、S)和一个或多个(例如1-10或1-5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以独立地任选地被一至五个独立地选自以下的取代基取代:氧代、卤代、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、和 C_{1-4} 卤代烷基。

[0330] 在式(III)中,接头可具有下式:



其中:

Y^{10} 、 Y^{20} 、和 Y^{30} 中的每个独立地是键、 $-NR^{110}-$ 、 $-O-$ 、 $-S(O)_{0-2}-$ 、 $-NR^{110}C(O)-$ 、 $-C(O)NR^{110}-$ 、 $-NR^{110}S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2NR^{110}-$ 、 $-CR^{120}=N-NR^{110}-$ 、 $-NR^{110}-N=CR^{120}-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)O-$ 、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被一至五个独立地选自以下的取代基取代:氧代、卤代、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、和 C_{1-4} 卤代烷基;

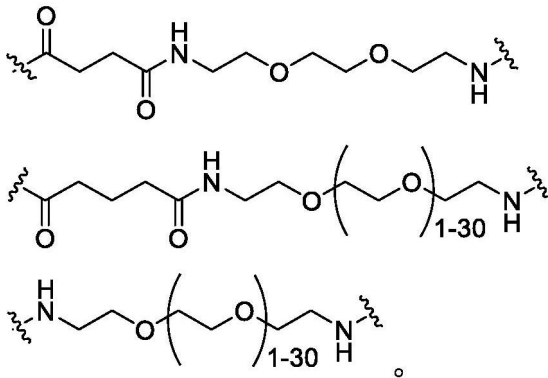
每个 R^{110} 独立地是氢、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 卤代烷基、芳基、杂芳基、环烷基或杂环基;

每个 R^{120} 独立地是氢、 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

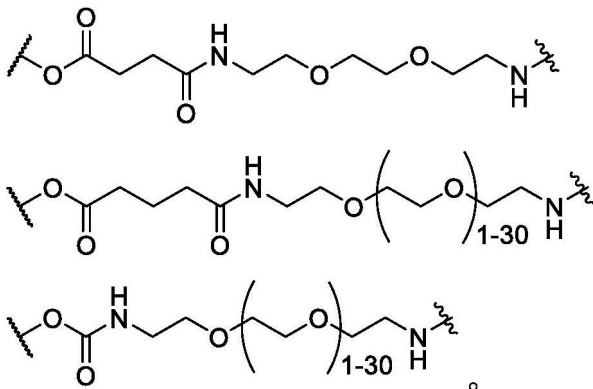
n' 和 m'' 各自独立地是0、1、2、3、4、5、6、7、或8。

[0331] 在某些实施例中,接头不是键。在某些实施例中,每个 R^{110} 独立地是氢、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 卤代烷基、芳基、杂芳基、环烷基或杂环基;并且每个 R^{120} 独立地是氢、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 卤代烷基、芳基、杂芳基、环烷基或杂环基。

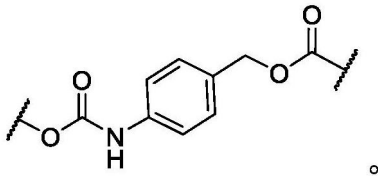
[0332] 代表性接头包括但不限于,以下所示的那些:



[0333] 代表性接头包括但不限于,以下所示的那些:



[0334] 式(III)中的接头可包含聚乙二醇(例如平均分子量为从300g/mol至10,000g/mol的PEG)、亚乙基-1,2-二基双(甲基氨基甲酸酯、亚芳基(例如,亚苯基)、亚乙基-氧基、胺、酯、酰胺、氨基甲酸酯、酮(即甲酰基)或甲酸酯中的一个或多个。式(III)中的接头可包含



[0335] 在式(III)中,接头可包含一个或多个天然或非天然氨基酸,其可称为肽接头。在药物(D)包含氨基部分的情况下,可以使用由羧酰基单元组成的肽接头和构成蛋白质或肽序列的一个或多个氨基酸来将接头与其结合。接头还可以含有自毁式间隔物,其将药物和蛋白质肽序列间隔开。

[0336] 在式III中,接头L可以是由“A—Y—Z—X—W”代表的肽接头,其中“A”是羧酰基单元,“Y”和“Z”各自是一个或多个天然或非天然氨基酸并一起形成肽序列,并且“X”和“W”是任选的另外的具有从1至50个连接原子、或从5至10个连接原子、或从1至10个连接原子的接头,其使肽与药物D或生物正交部分间隔开。在某些实施例中,肽接头中的氨基酸中的一个或多个是N-甲基化的。

[0337] 在式(III)中,Y可以是至少一种选自由以下组成的组的氨基酸:丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、色氨酸和脯氨酸。Y可以是至少一种选自由以下组成的组的氨基酸:苯基丙氨酸、丙氨酸、和缬氨酸。

[0338] 在式(III)中,Z可以是至少一种选自由以下组成的组的氨基酸:丙氨酸、赖氨酸、乙酰基或甲酰基保护的赖氨酸、精氨酸、甲苯磺酰基或硝基保护的精氨酸、组氨酸、鸟氨酸、

乙酰基或甲酰基保护的鸟氨酸、和瓜氨酸。Z可以是至少一种选自由以下组成的组的氨基酸：丙氨酸、赖氨酸、和瓜氨酸。

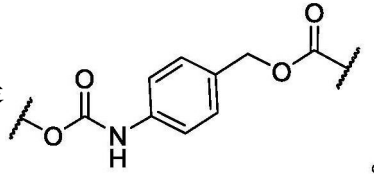
[0339] 优选的Y-Z组合包括缬氨酸-瓜氨酸；缬氨酸-丙氨酸；和丙氨酸-丙氨酸。

[0340] 在某些实施例中，A是-OC(O)-。

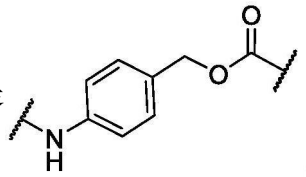
[0341] 在某些实施例中，X是-OC(O)-。

[0342] 在某些实施例中，W是-OC(O)-。在某些实施例中，X不存在并且W是-OC(O)-。

[0343] 在某些实施例中，-X-W是



[0344] 在某些实施例中，-X-W是

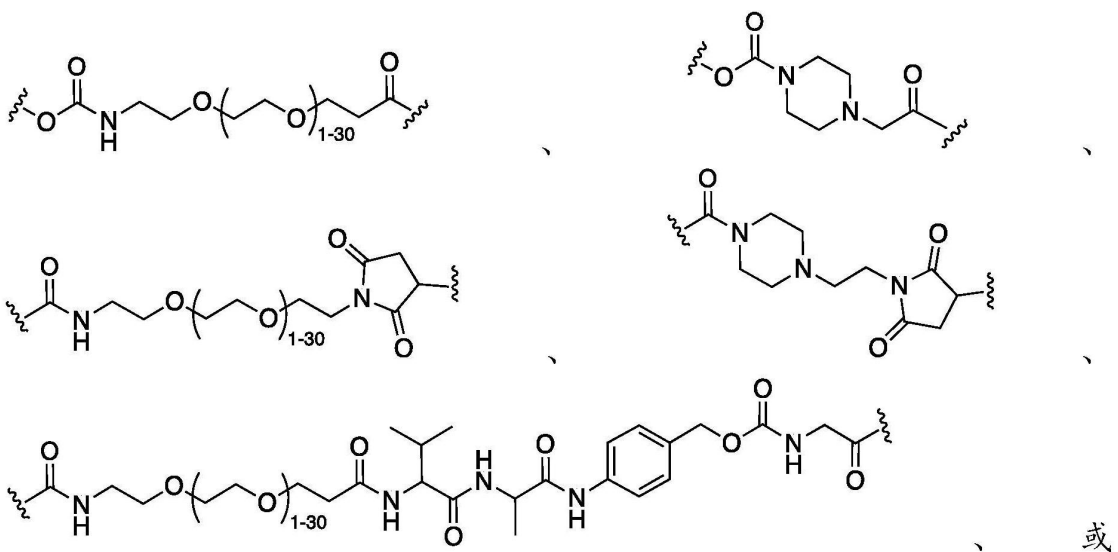


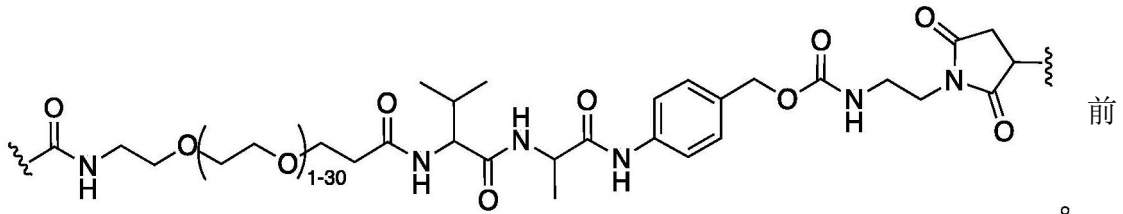
[0345] 在某些实施例中，特别定制肽接头以便其将被选择性切割（例如，酶促切割）释放药物，例如通过一种或多种肿瘤相关蛋白酶。

[0346] 在某些实施例中，肽接头具有二至四个氨基酸残基（即二肽、三肽或四肽）的链长。然而，应当理解，也可以适当地使用多达五个、六个、七个或八个氨基酸残基的肽接头。

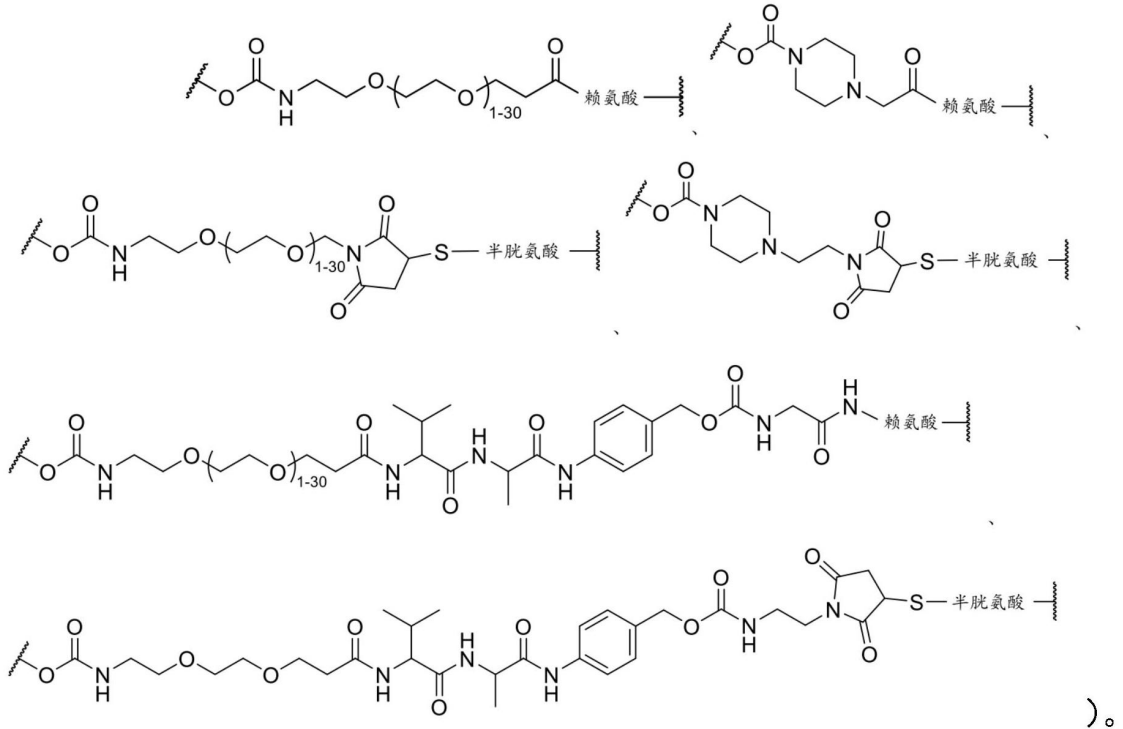
[0347] 在某些实施例中，肽接头是Phe-Lys、Val-Lys、Val-Ala、Ala-Ala、Phe-Phe-Lys、D-Phe-Phe-Lys、Gly-Phe-Lys、Ala-Lys、Val-Cit、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp-Cit、Phe-Ala、Gly-Phe-Leu-Gly[SEQ ID NO:1]、Ala-Leu-Ala-Leu[SEQ ID NO:2]、Phe-N⁹-甲苯磺酰基-Arg、或Phe-N⁹-硝基-Arg。在某些实施例中，肽接头是Phe-Lys、Val-Lys、Val-Ala、Ala-Ala、Val-Val、Val-Cit、或D-Phe-L-Phe-Lys。在某些实施例中，肽接头是Val-Cit、Val-Ala、或Ala-Ala。

[0348] 在某些实施例中，式(III)中的接头L是：



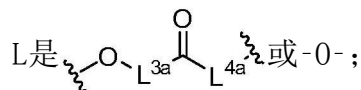


述接头可以在右侧附接到D的氨基酸侧链,例如赖氨酸或半胱氨酸(例如



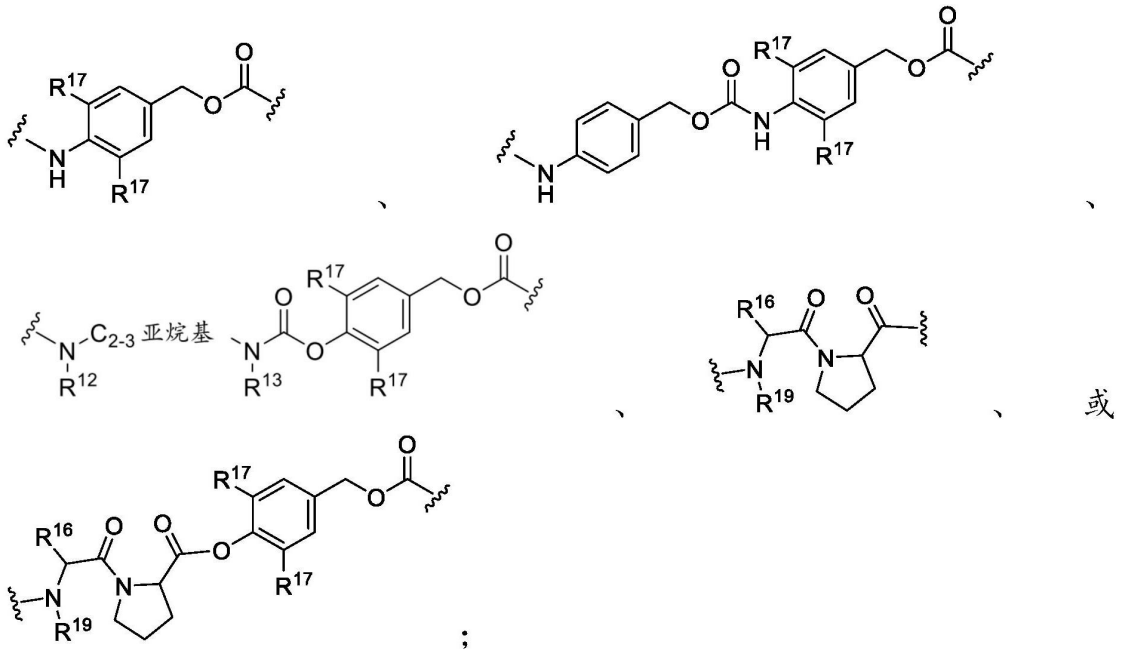
[0349] 在一些情况下,治疗剂通过酰胺键共价附接至接头;例如,治疗剂可以是含胺治疗剂以用于将治疗剂附接至接头的羰基基团,或者在其他情况下,治疗剂可以是含羧基的治疗剂以用于将治疗剂附接至接头的胺基团。在一些情况下,治疗剂和接头一起形成氨基甲酸酯基团;例如,治疗剂可以是含胺治疗剂以用于将治疗剂附接至接头的酰氧基基团。在一些情况下,治疗剂和接头一起形成碳酸酯基团;例如,治疗剂可以是含羟基的治疗剂以用于将治疗剂附接至接头的酰氧基基团。

[0350] E46.15A.如E46.1A、E46.2至E46.6、或E46.7至E46.14中任一项所述的方法,如E46.1B至E46.4或E46.6B至E46.6F中任一项所述的化合物或药学上可接受的盐,或用于在如E46.1B至E46.4或E46.6B至E46.6F中任一项所述的方法中使用的化合物或药学上可接受的盐,其中



L^{3a} 是键或 C_{1-6} 亚烷基;

L^{4a} 是键、 $-\text{NHN}:$ 、 $-\text{N}(\text{R}^{10})-\text{C}_{2-6}$ 亚烷基、 $-\text{N}(\text{R}^{11})-$ 、 $-\text{N}(\text{R}^{12})-\text{C}_{2-3}$ 亚烷基、 $-\text{N}(\text{R}^{13})\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{N}(\text{R}^{10})-\text{C}_{1-6}$ 亚烷基、 $-\text{C}(\text{O})\text{NHN}:$ 、 $-\text{NHNHC}(\text{O})\text{C}_{1-6}$ 亚烷基、 $-\text{C}(\text{O})\text{NHN}:$ 、 $-\text{CH}(\text{NHC}(\text{O})\text{R}^{14})\text{C}_{1-4}$ 亚烷基、 $-\text{S}-\text{S}-\text{C}_{1-4}$ 亚烷基、 $-\text{OC}(\text{O})-$ 、 $-\text{NHNHC}(\text{O})\text{CH}(\text{NHC}(\text{O})\text{R}^{15})\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}_{1-6}$ 亚烷基、 $-\text{CH}(\text{G}^x)\text{OC}(\text{O})-$ 、



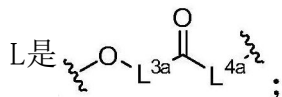
R^{10} 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、和 R^{19} 各自独立地是氢或 C_{1-4} 烷基；

R^{16} 是氢、 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- $CONH_2$ ；

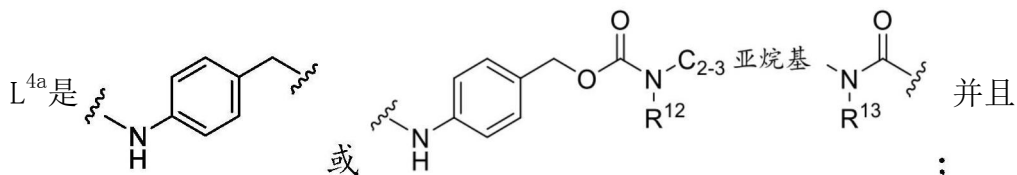
R^{17} 在每次出现时独立地是氢或 $-CH_2OC(O)-$ ；并且

G^x 是任选地被1-5个独立地选自下组的取代基取代的苯基，该组由卤素、 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。

[0351] E46.15B. 如E46.1A、E46.2至E46.6、或E46.7至E46.14中任一项所述的方法，如E46.1B至E46.4或E46.6B至E46.6F中任一项所述的化合物或药学上可接受的盐，或用于在如E46.1B至E46.4或E46.6B至E46.6F中任一项所述的方法中使用的化合物或药学上可接受的盐，其中



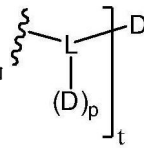
L^{3a} 是键；

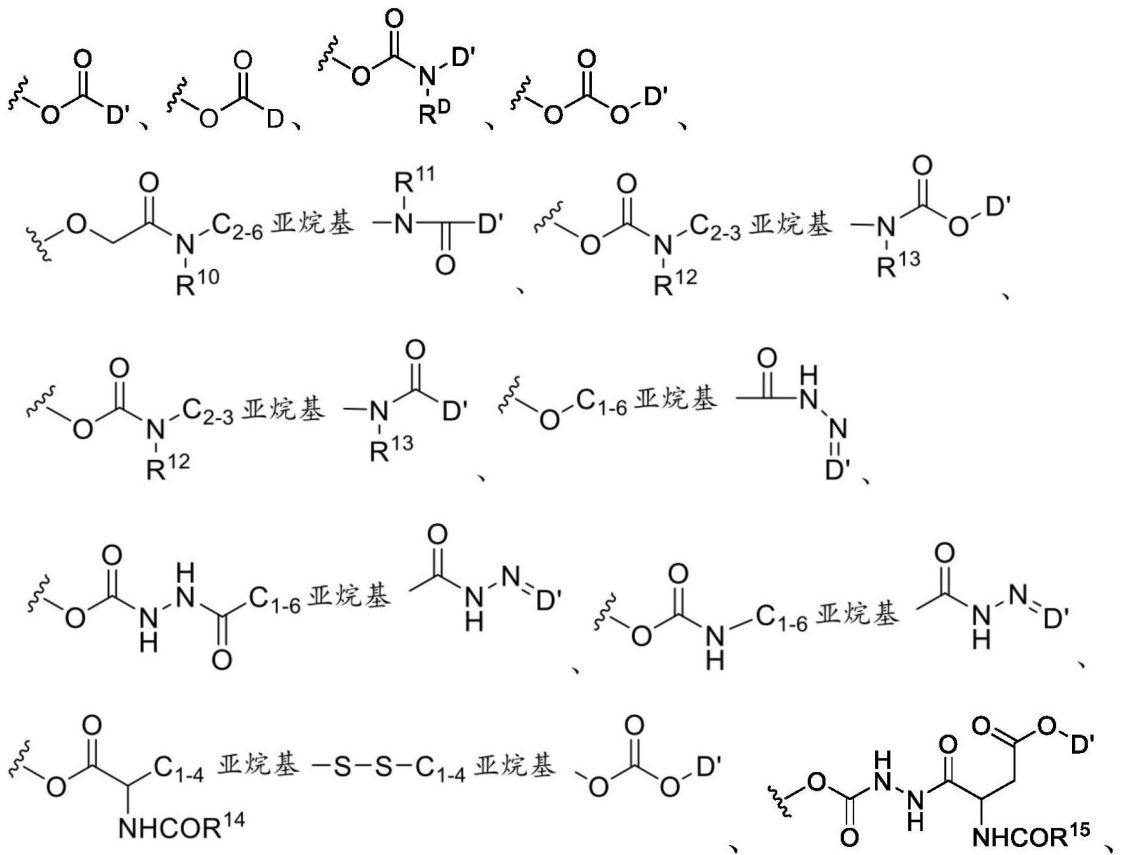


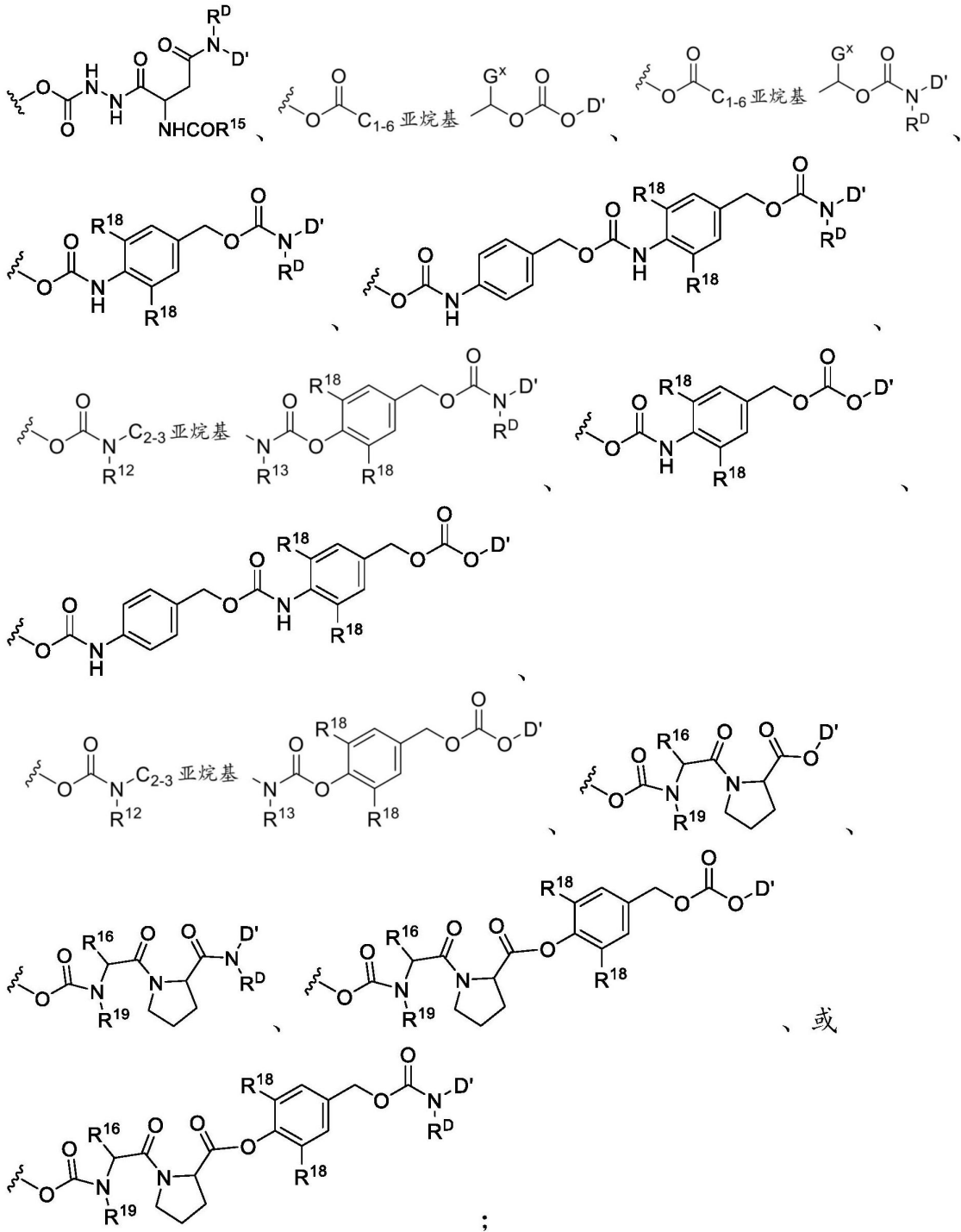
R^{12} 和 R^{13} 各自独立地是氢或 C_{1-4} 烷基。

[0352] E46.16. 如E46.1A、E46.2至E46.6、或E46.7至E46.15B中任一项所述的方法，如E46.1B至E46.4、E46.6B至E46.6F、或E46.15A至E46.15B中任一项所述的化合物或药学上可接受的盐，或用于在如E46.1B至E46.4、E46.6B至E46.6F、或E46.15A至E46.15B中任一项所述的方法中使用的化合物或药学上可接受的盐，其中t是1。

[0353] E46.17A. 如E46.16所述的方法，如E46.16所述的化合物或药学上可接受的盐，或

用于在如E46.16所述的方法中使用的化合物或药学上可接受的盐,其中  是

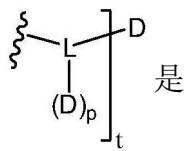


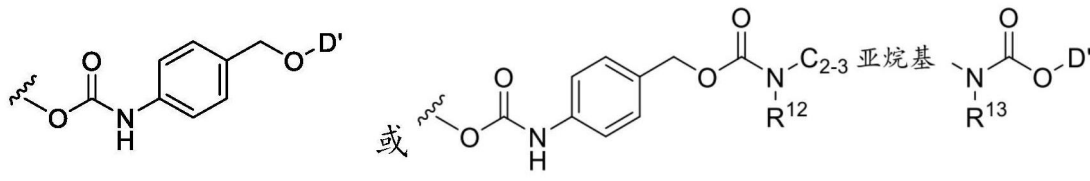


R¹⁸在每次出现时独立地是氢或-CH₂OC(O)NHD' ; R^D是有效负载的氮原子上的氢或C₁₋₄烷基;并且

D' 是有效负载部分(例如,环状二核苷酸有效负载部分、咪唑并[4,5-c]喹啉-4-胺有效负载部分、TLR激动剂有效负载部分、STING激动剂有效负载部分、抗癌剂有效负载部分)。

[0354] E46.17B.如E46.16所述的方法,如E46.16所述的化合物或药学上可接受的盐,或

用于在如E46.16所述的方法中使用的化合物或药学上可接受的盐,其中  是



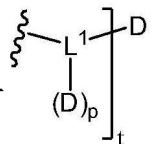
R^{12} 和 R^{13} 各自独立地是氢或 C_{1-4} 烷基;并且

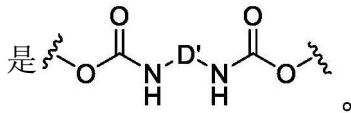
D' 是有效负载部分(例如抗癌剂有效负载部分)。

[0355] E46.18.如E46.1A、E46.2至E46.6A、或E46.7至E46.17B中任一项所述的方法,如E46.1B至E46.4、E46.6B至E46.6F、或E46.15A至E46.17B中任一项所述的化合物或药学上可接受的盐,或用于在如E46.1B至E46.4、E46.6B至E46.6F、或E46.15A至E46.17B中任一项所述的方法中使用的化合物或药学上可接受的盐,其中 p 是0。

[0356] E46.19.如E46.18所述的方法,如E46.18所述的化合物或药学上可接受的盐,或用于在如E46.18所述的方法中使用的化合物或药学上可接受的盐,其中 t 是2或3。

[0357] E46.20.如E46.19所述的方法,如E46.19所述的化合物或药学上可接受的盐,或用于在如E46.19所述的方法中使用的化合物或药学上可接受的盐,其中 t 是2并且

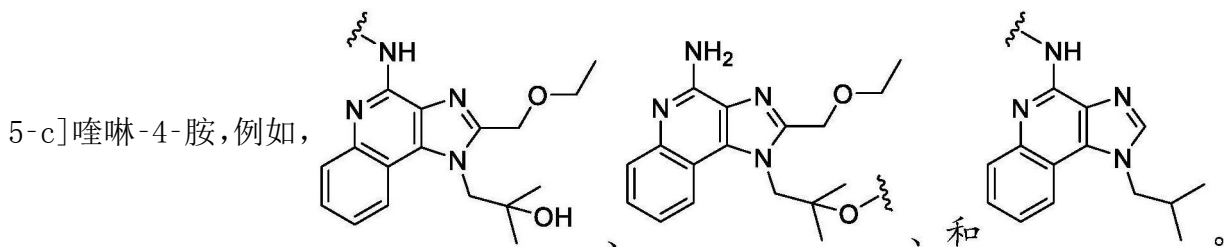
是  且



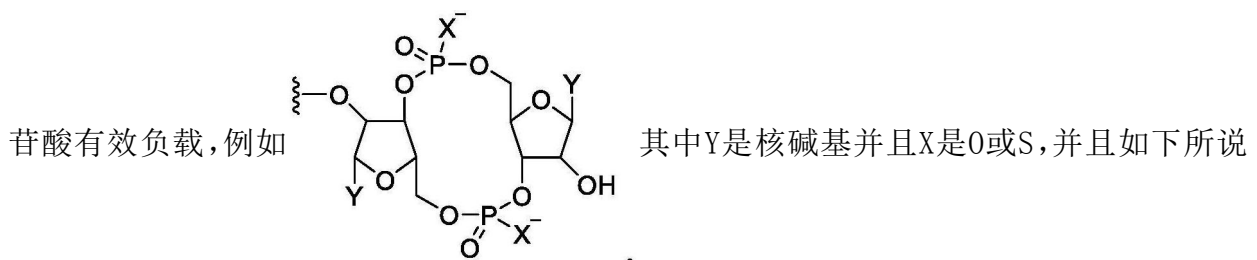
[0358] 本领域技术人员将认识到,与接头键合的有效负载 D 不是指有效负载分子本身,而是指有效负载分子与接头键合的部分。从前药释放有效负载 D ,释放了有效负载本身。

[0359] D 可以是本文所述的任何抗癌剂的抗癌剂有效负载。

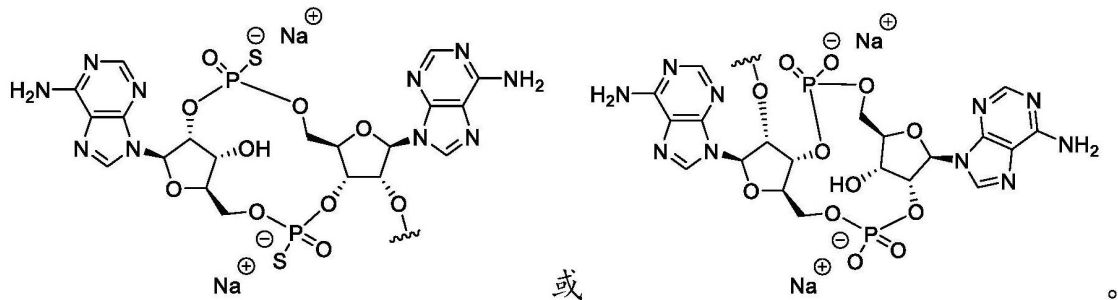
[0360] D 可以是本文所述的任何TLR激动剂的TLR激动剂有效负载。优选地, D 是咪唑并[4,



[0361] D 可以是本文所述的任何STING激动剂的STING激动剂有效负载。 D 可以是环状二核

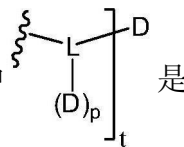


明。核碱基包括天然存在的嘌呤和嘧啶碱基,以及修饰的嘌呤和嘧啶碱基以及其他已被修饰的杂环碱基。这样的修饰包括甲基化嘌呤或嘧啶、酰化嘌呤或嘧啶等。核碱基修饰可以包括例如,脱氮嘌呤、N-1-甲基鸟苷、异鸟嘌呤、2-氨基嘌呤、1,3-二氮杂-2-氧吩噻嗪、1,3-二氮杂-2-氧代吩噻嗪、7-硝基-1,3-二氮杂-2-氧吩噻嗪、2,6-二氨基嘌呤、嘌呤、6-硫鸟嘌呤、次黄嘌呤、2-嘧啶酮、2-吡啶酮、4-巯基尿苷、咪唑-4-甲酰胺、N-取代的5-(羧基酰胺基)尿苷例如5-(N-苄基羧基酰胺基)-尿苷或5-氟-脱氧尿苷。有效负载D可以是

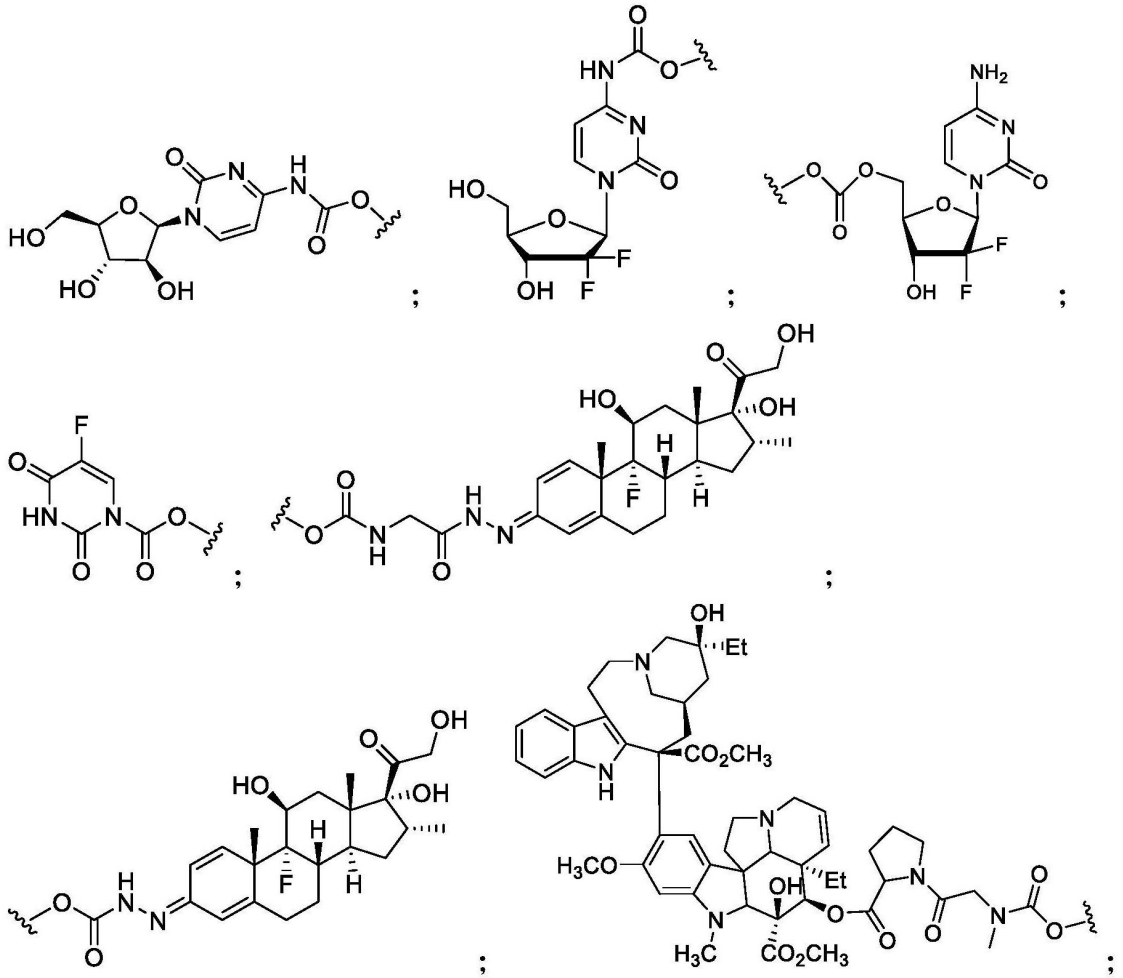


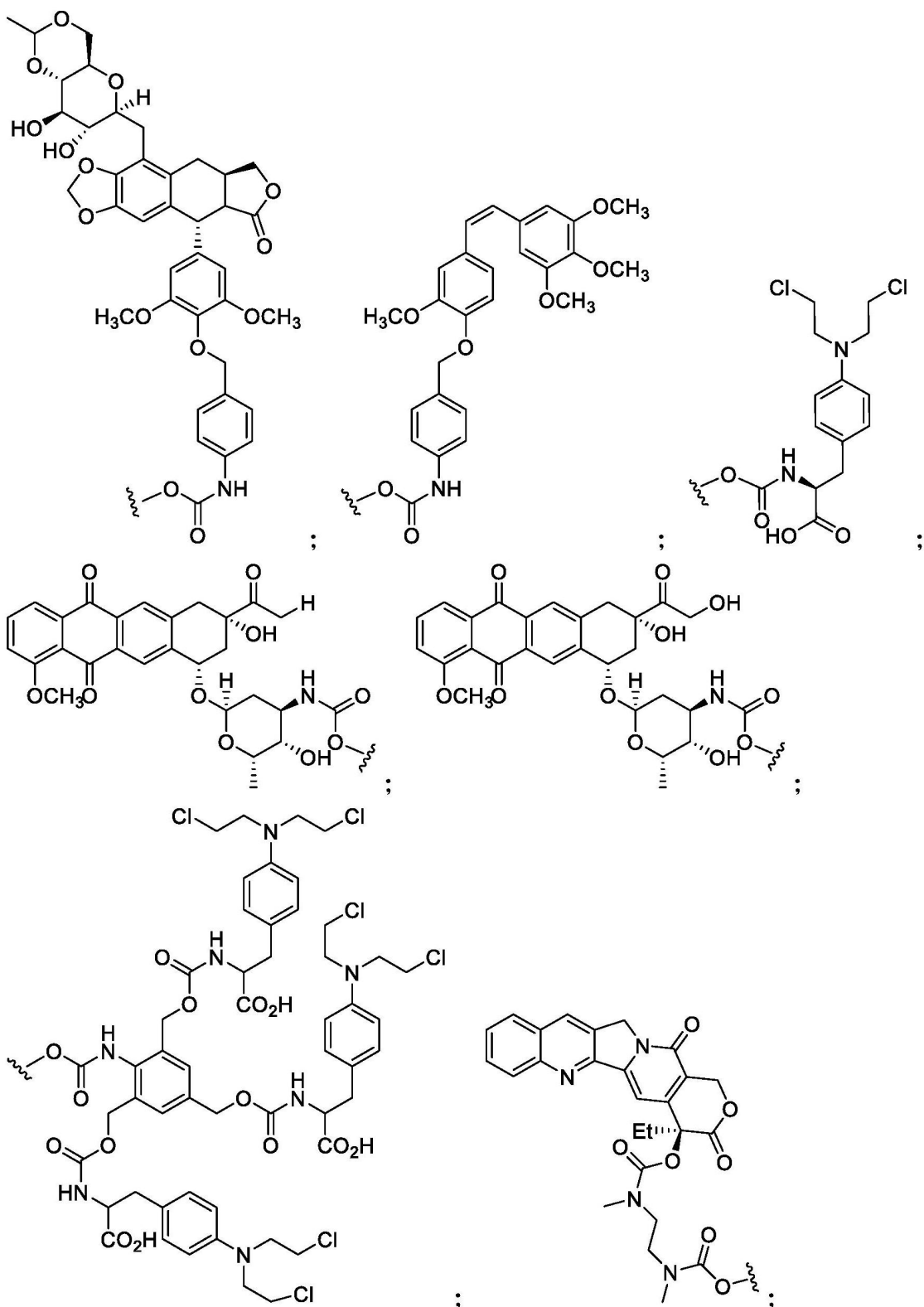
[0362] E46.21A. 如E46.1A、E46.2至E46.6、或E46.7至E46.15B中任一项所述的方法,如E46.1B至E46.4、E46.6B至E46.6F、或E46.15A至E46.15B中任一项所述的化合物或药学上可接受的盐,或用于在如E46.1B至E46.4、E46.6B至E46.6F、或E46.15A至E46.15B中任一项所

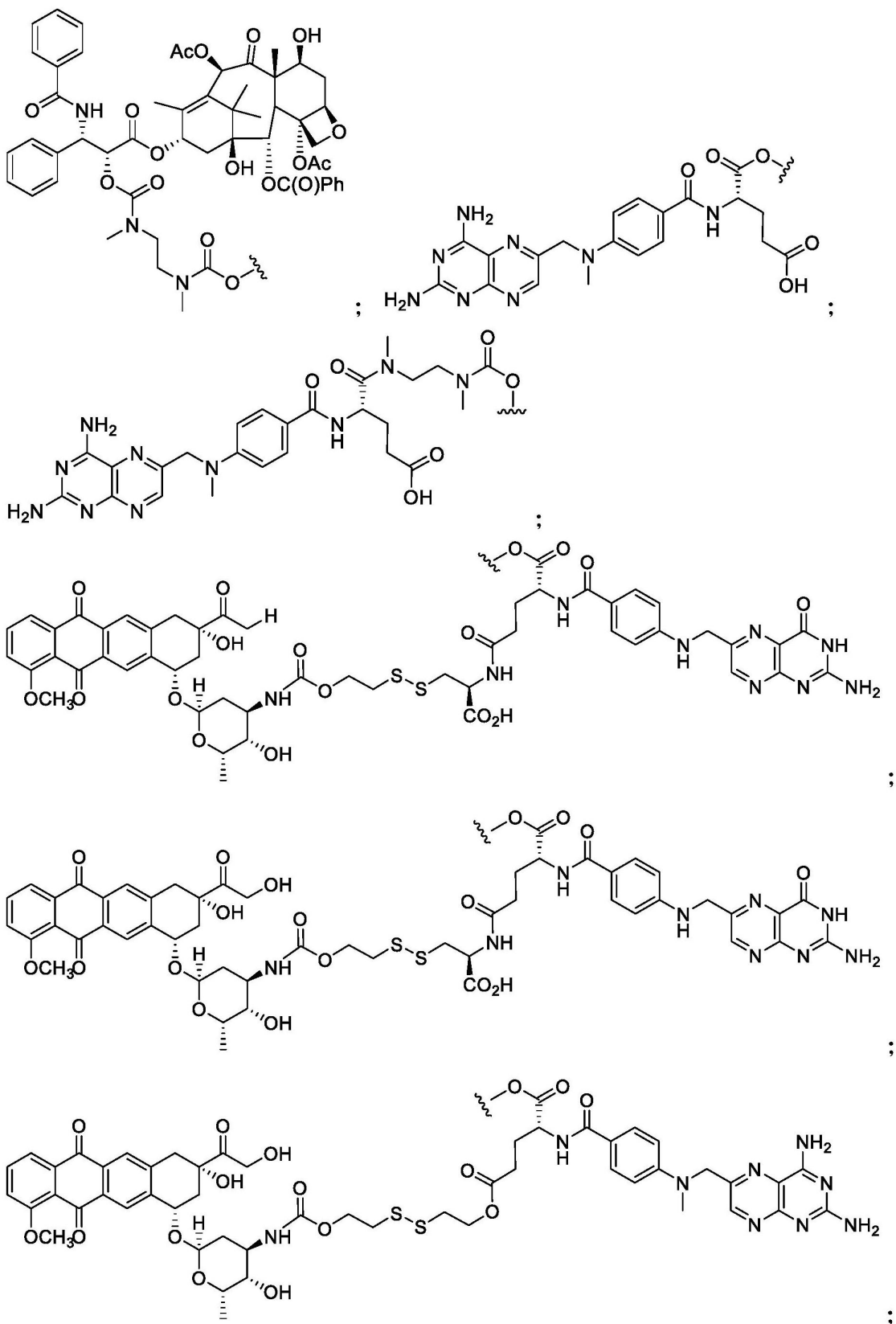
述的方法中使用的化合物或药学上可接受的盐,其中

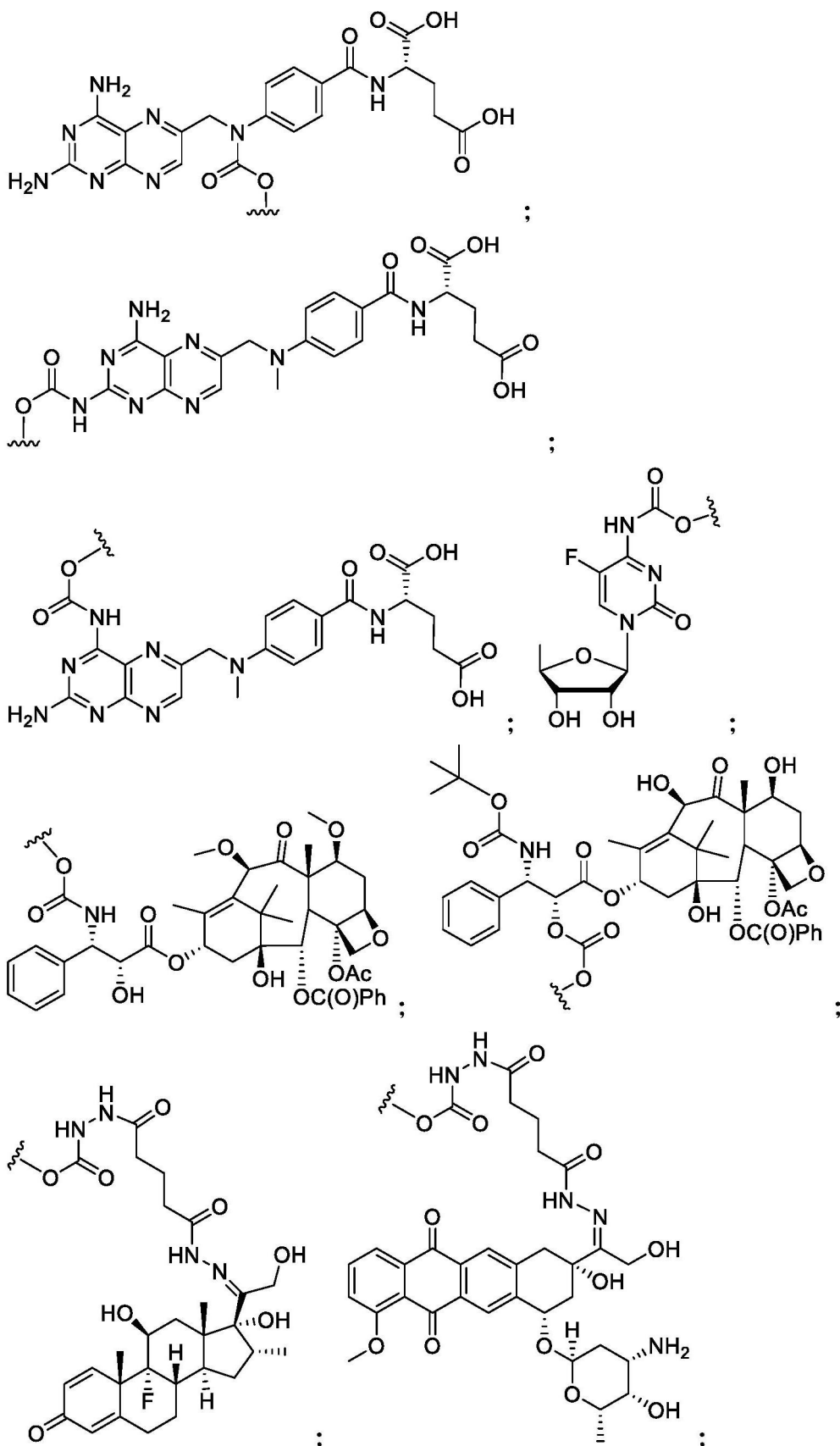


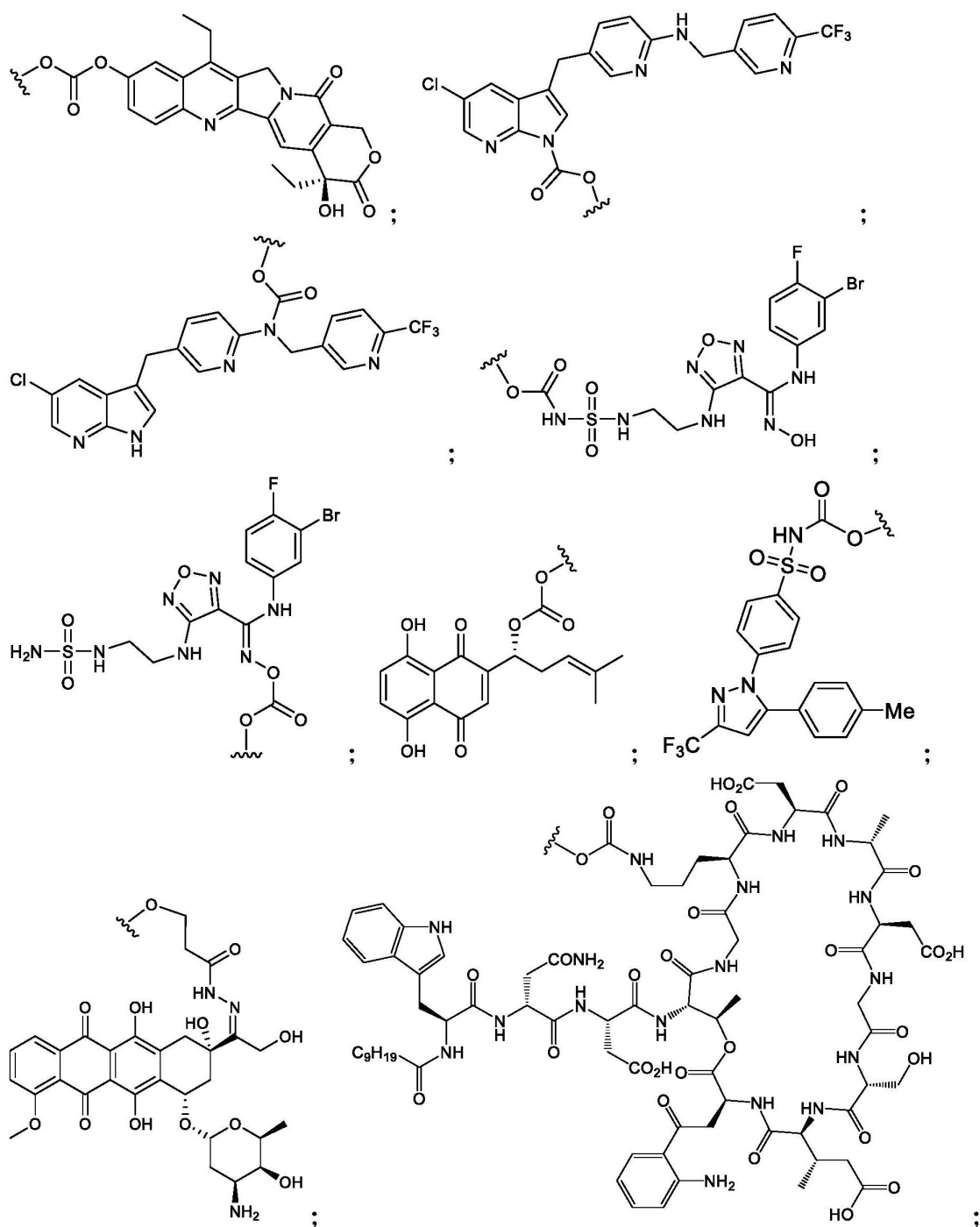
是

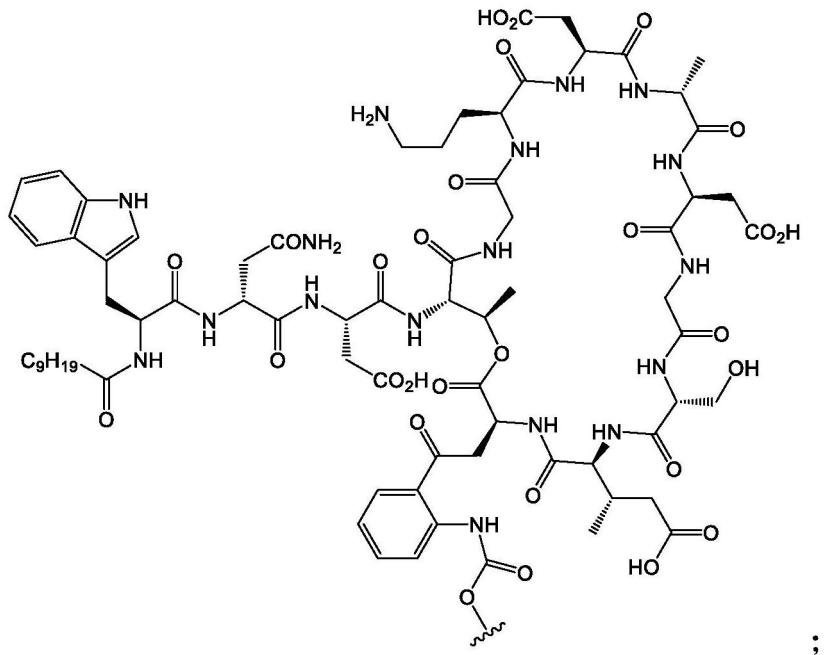




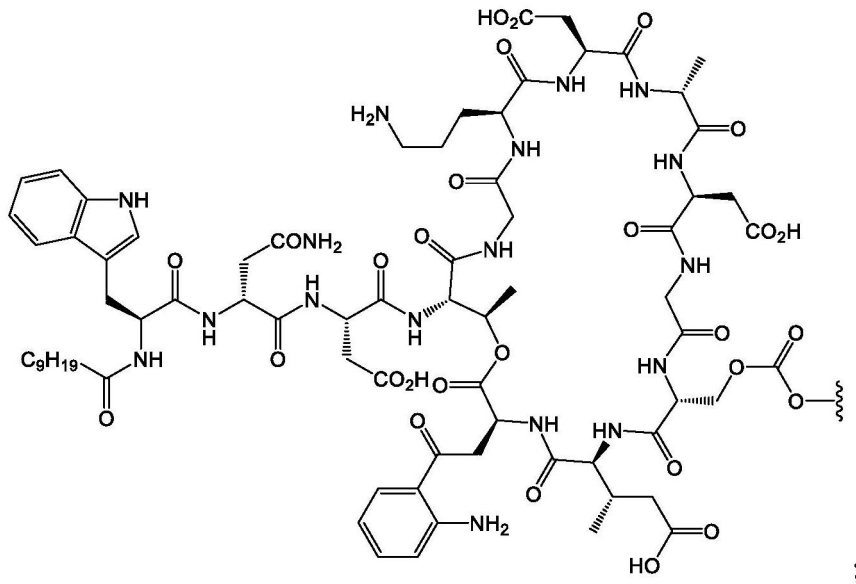




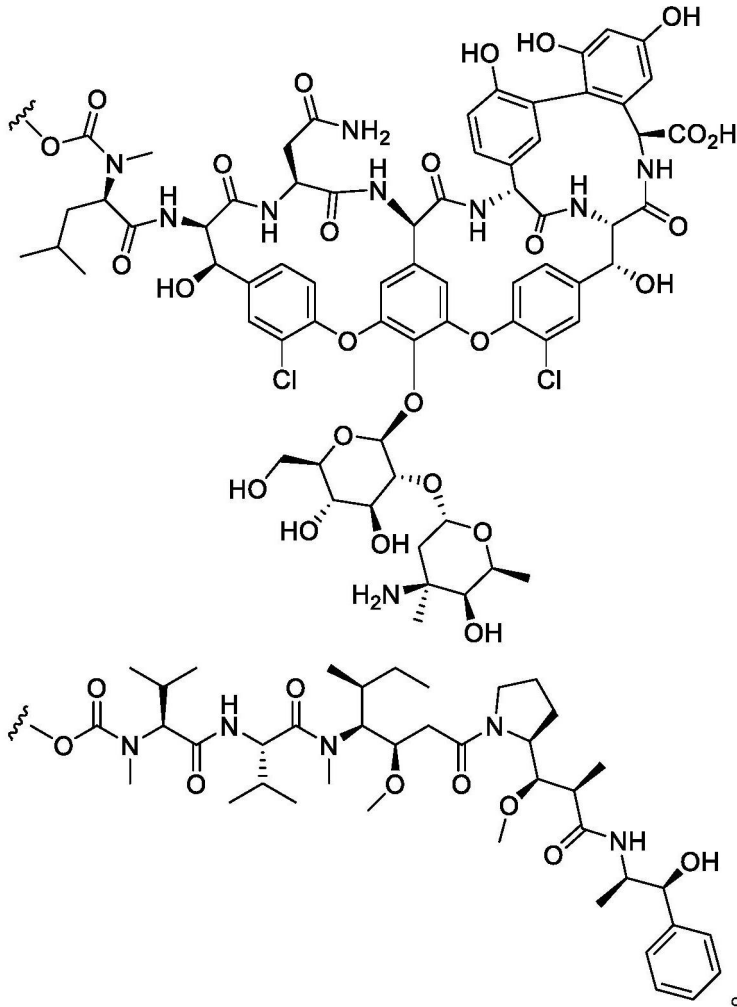




;

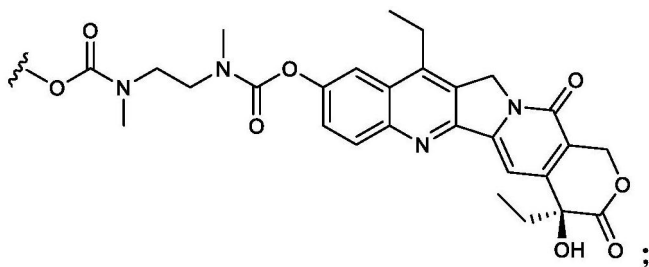


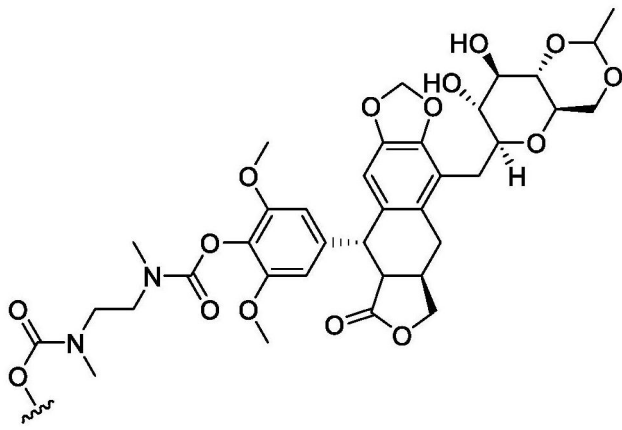
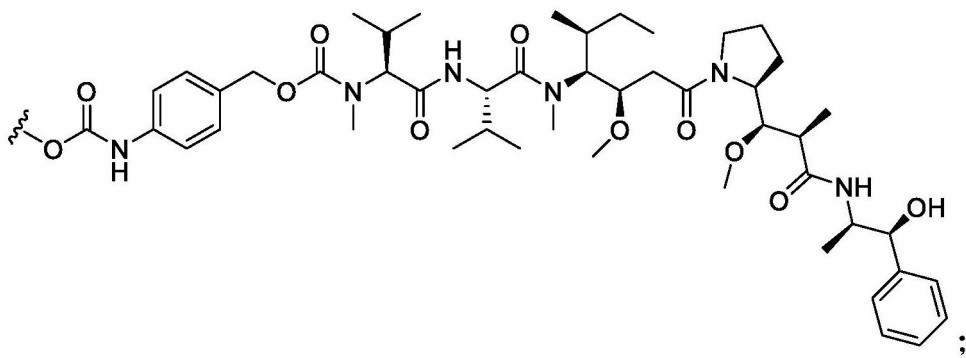
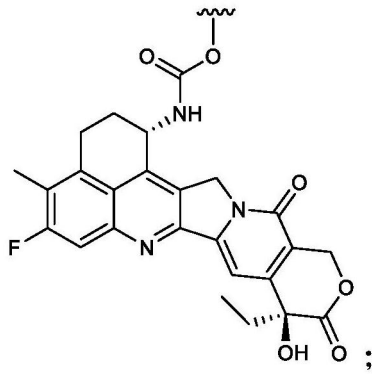
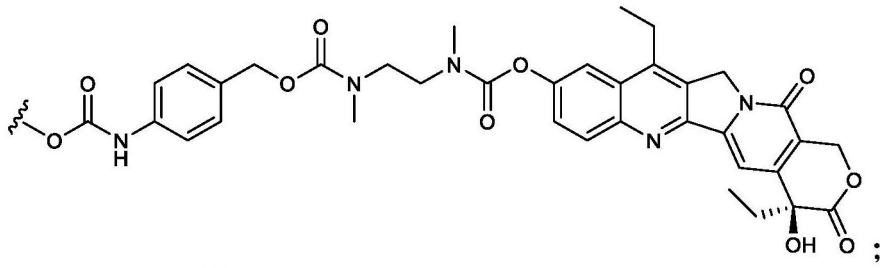
;



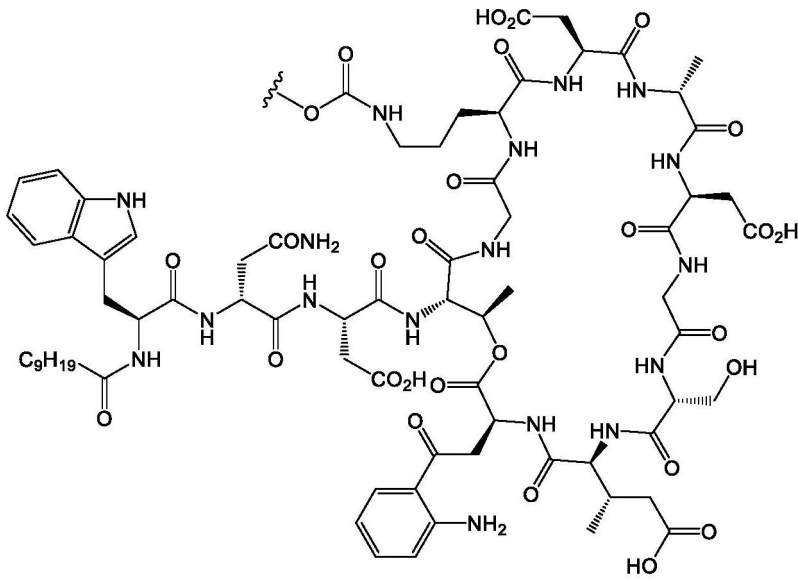
[0363] E46.21B. 如E46.1A、E46.2至E46.6、或E46.7至E46.15B中任一项所述的方法，如E46.1B至E46.4、E46.6B至E46.6F、或E46.15A至E46.15B中任一项所述的化合物或药学上可接受的盐，或用于在如E46.1B至E46.4、E46.6B至E46.6F、或E46.15A至E46.15B中任一项所

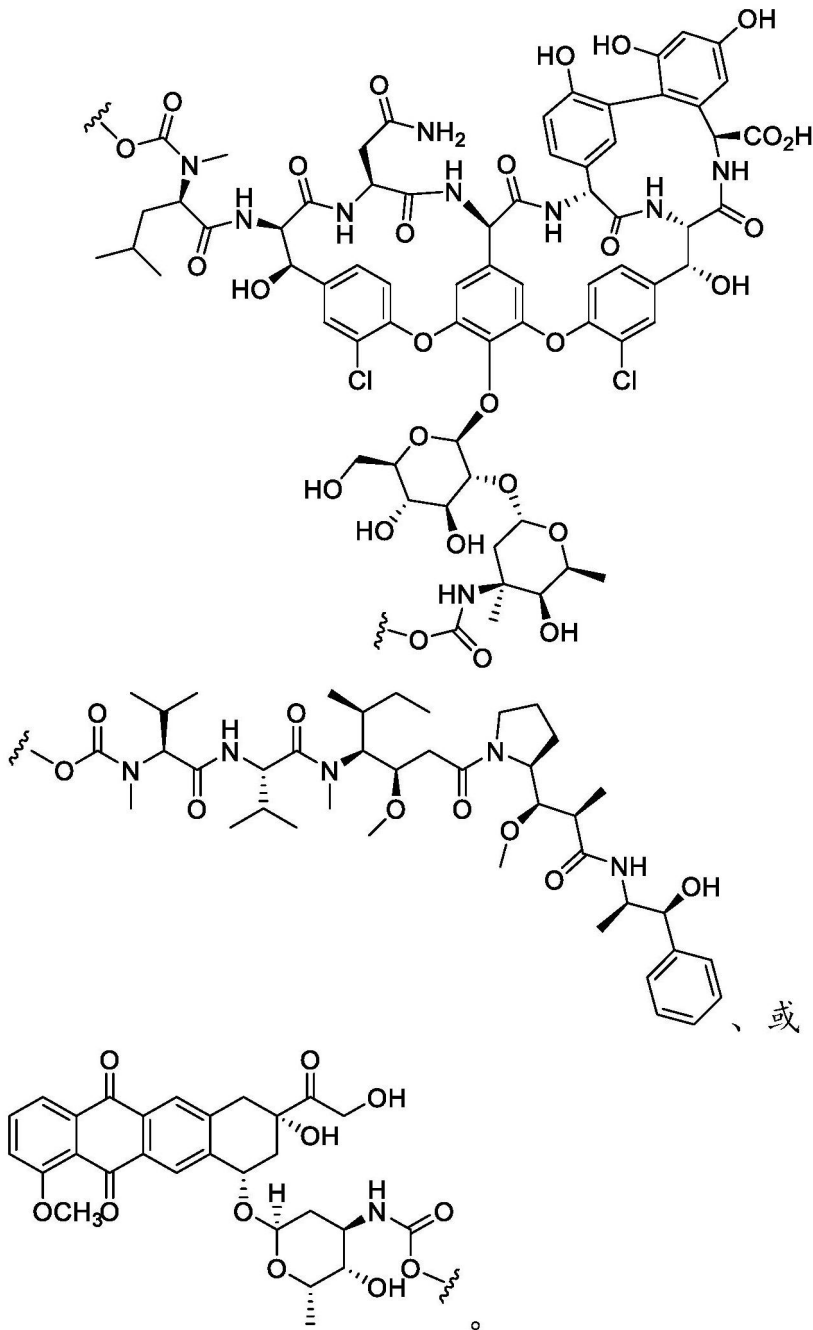
述的方法中使用的化合物或药学上可接受的盐，其中 $\left[\begin{array}{c} \text{---} \text{L} \text{---} \text{D} \\ | \\ \text{(D)}_p \end{array} \right]_t$ 是





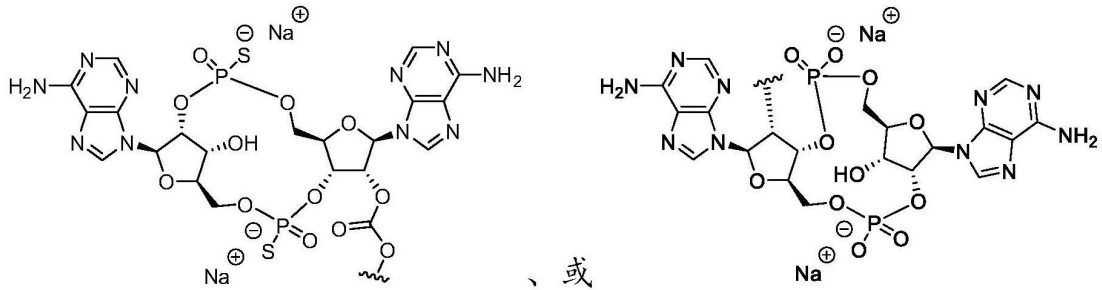
;





[0365] E46.23. 如E46.1A、E46.2至E46.6、或E46.7至E46.15B中任一项所述的方法，如E46.1B至E46.4、E46.6B至E46.6F、或E46.15A至E46.15B中任一项所述的化合物或药学上可接受的盐，或用于在如E46.1B至E46.4、E46.6B至E46.6F、或E46.15A至E46.15B中任一项所

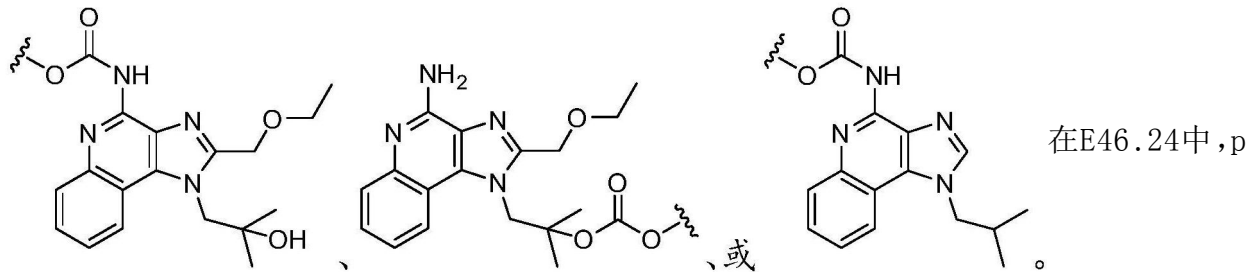
述的方法中使用的化合物或药学上可接受的盐，其中 $\left[\begin{array}{c} \text{---} \text{L} \text{---} \text{D} \\ | \\ \text{(D)}_p \end{array} \right]_t$ 是



在E46.23中, p是0并且L是-OC(O)-。

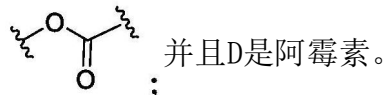
[0366] E46.24. 如E46.1A、E46.2至E46.6、或E46.7至E46.15B中任一项所述的方法, 如E46.1B至E46.4、E46.6B至E46.6F、或E46.15A至E46.15B中任一项所述的化合物或药学上可接受的盐, 或用于在如E46.1B至E46.4、E46.6B至E46.6F、或E46.15A至E46.15B中任一项所

述的方法中使用的化合物或药学上可接受的盐, 其中 $\left[\begin{array}{c} \text{---} \text{L} \text{---} \text{D} \\ | \\ \text{(D)}_p \end{array} \right]_t$ 是



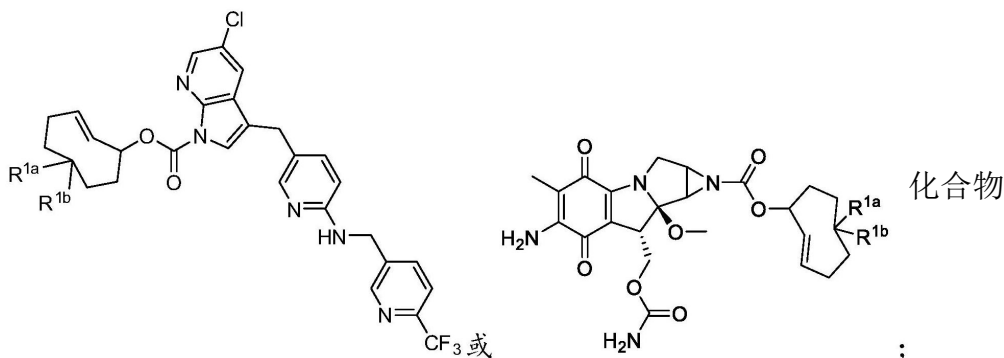
是0并且L是-OC(O)-。

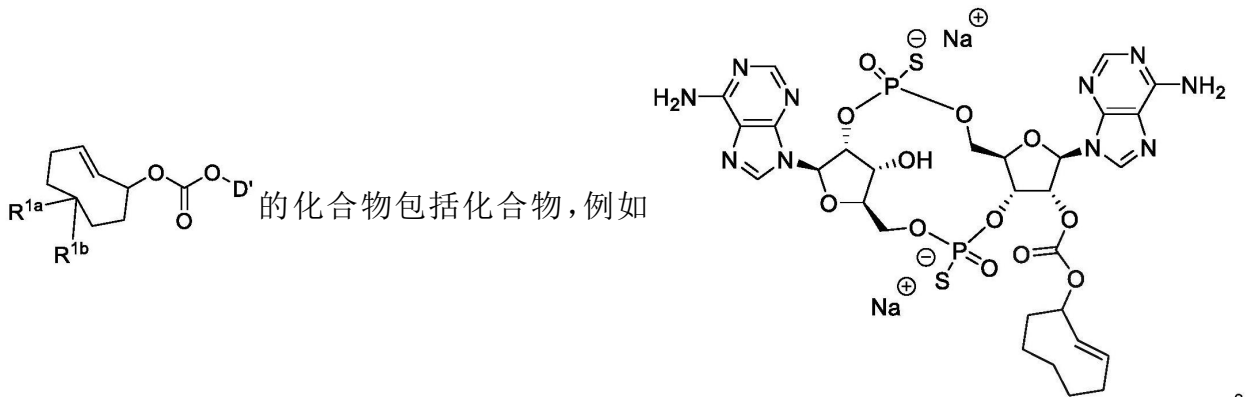
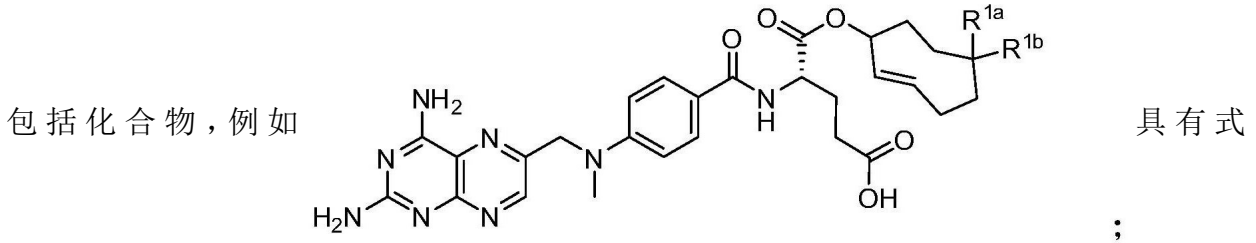
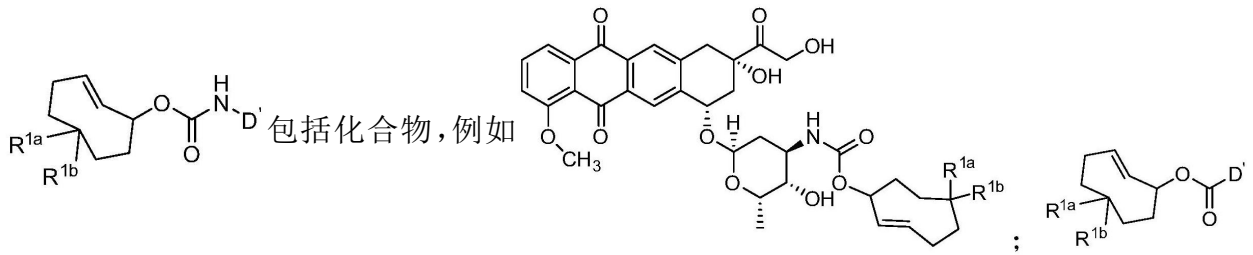
[0367] E.46.25. 如E46.18所述的方法, 如E46.18所述的化合物或药学上可接受的盐, 或用于在如E46.18所述的方法中使用的化合物或药学上可接受的盐, 其中t是1; L是



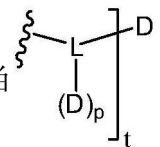
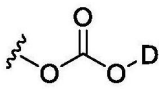
[0368] 根据“有效负载部分”的定义, 有效负载部分D'是指有效负载D或D¹减去其与接头附接的亲核基团(例如NH、NC₁₋₄烷基、O、或S)或减去其与接头附接的亲电子基团(例如C

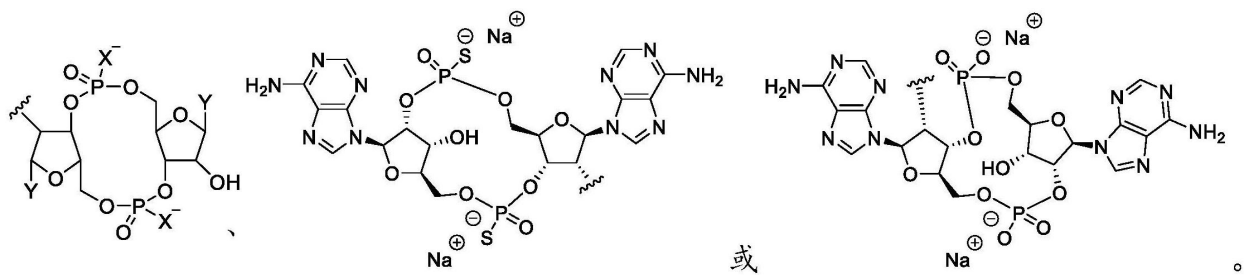
(O)), 即有效负载的剩余部分。例如, 具有式 $\begin{array}{c} \text{---} \text{O} \text{---} \text{C} \text{---} \text{D} \\ || \\ \text{O} \end{array}$ 的化合物包括化合物, 例如

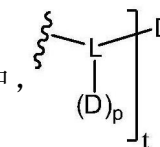



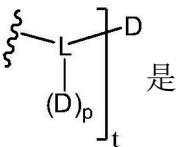


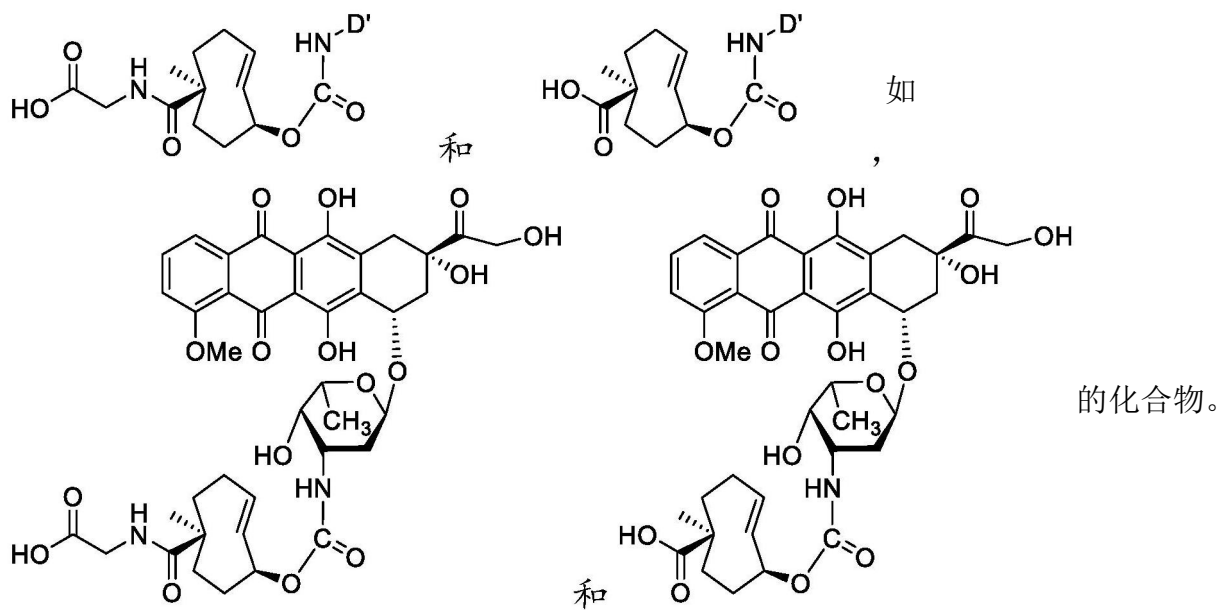
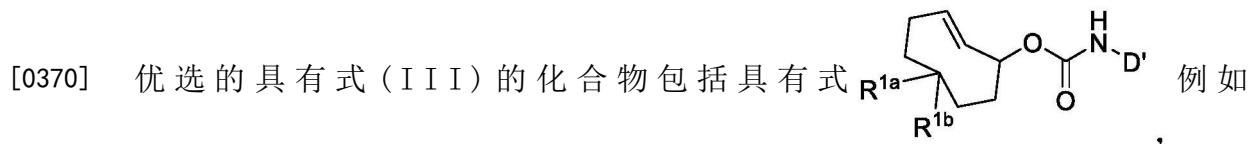
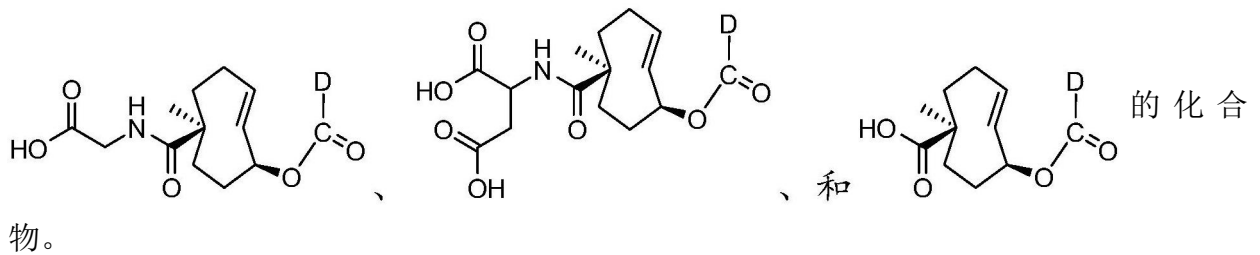
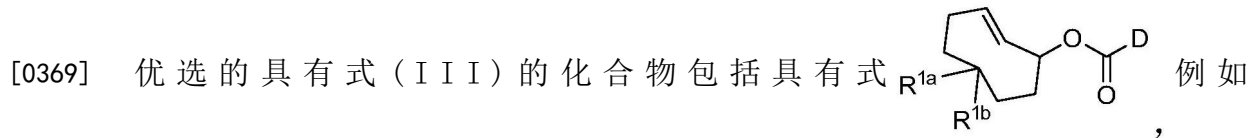
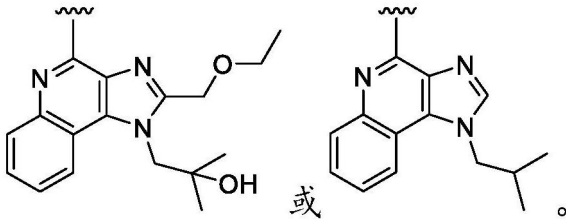
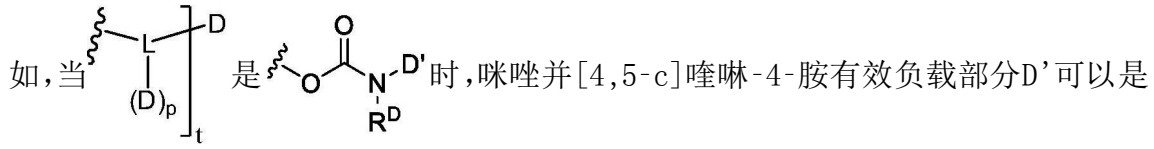
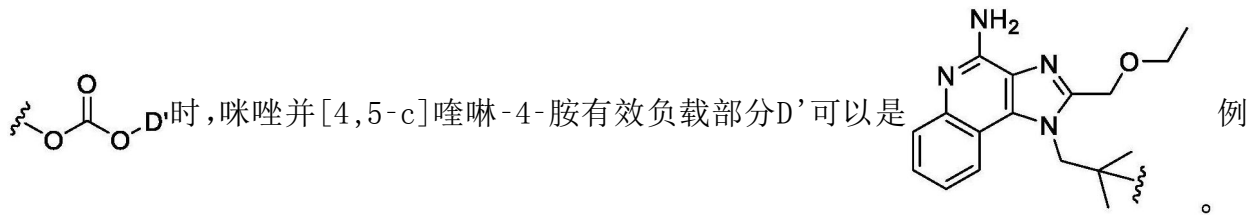
DH、NH₂-D'、HOOC-D'、或HO-D' 的释放,释放了有效负载分子本身。根据有效负载部分的前述定义,“环状二核苷酸有效负载部分”是环状二核苷酸有效负载减去其附接至接头的亲核基

团(典型地O)。例如,当  是  时,环状二核苷酸有效负载部分可以是

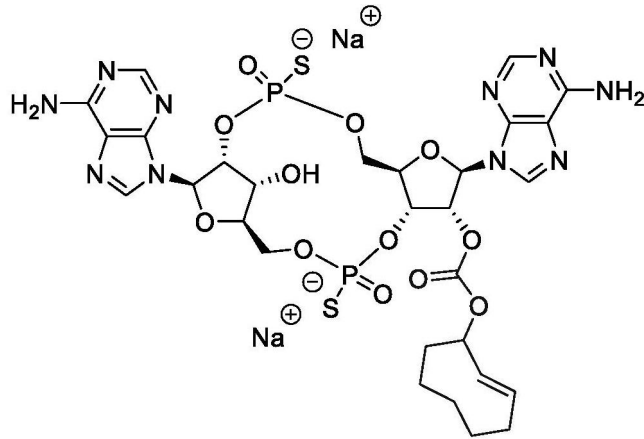


在本文所述的化合物中,  可以是  , 其中D'是环状二核苷酸有效负载

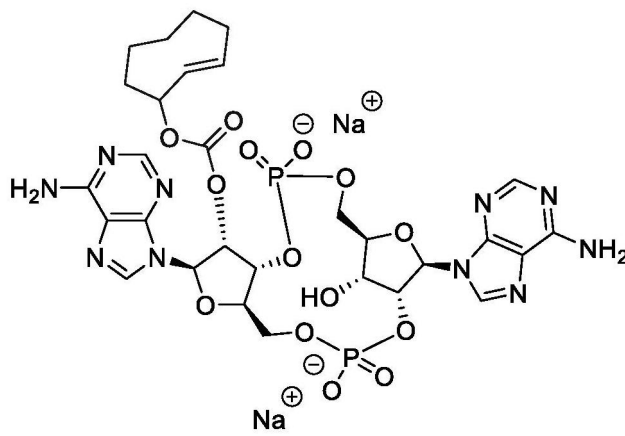
部分。根据有效负载部分的前述定义,“咪唑并[4,5-c]喹啉-4-胺有效负载部分”是咪唑并[4,5-c]喹啉-4-胺减去其附接至接头的亲核基团(典型地O或N)。例如,当  是



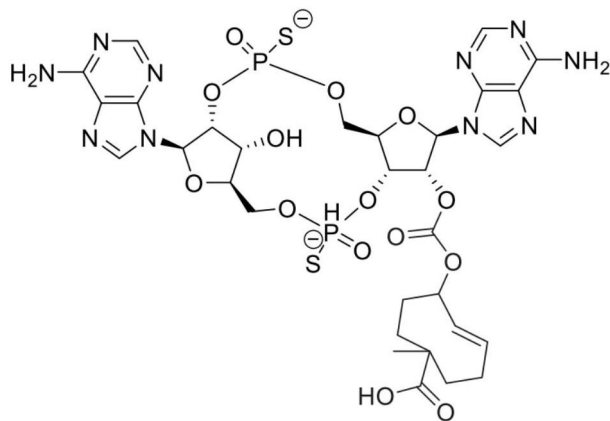
[0371] 具有式(III)的化合物包括



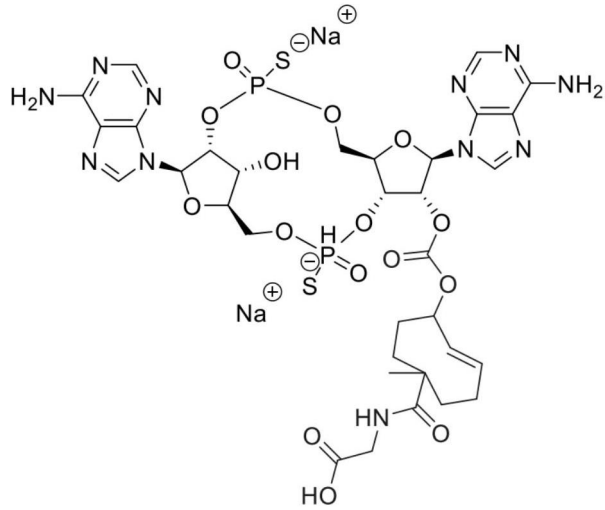
TCO-ADU-S100



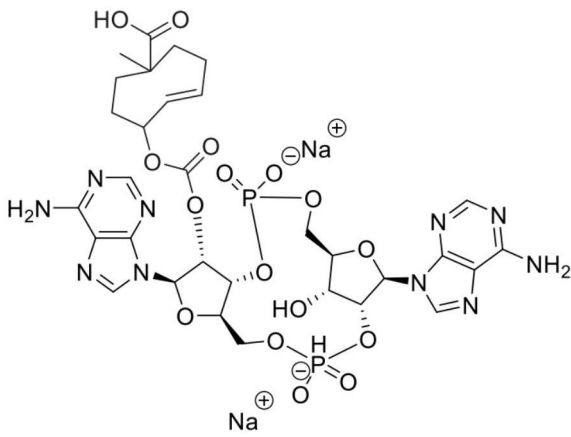
TCO-2'3'-cGAMP



ADU-S100-TCO-酸

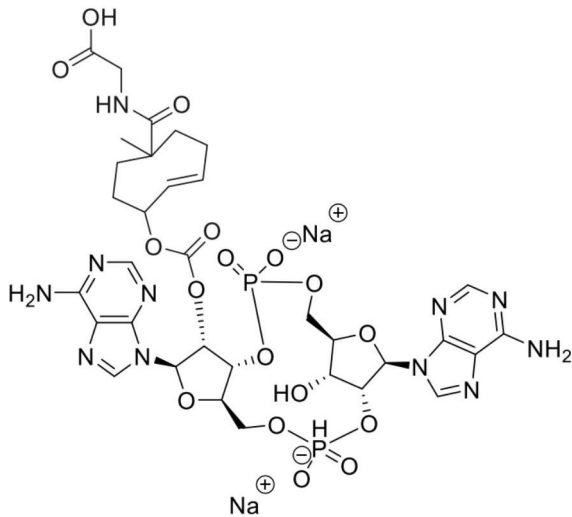


ADU-S100-TCO-甘氨酸



2'3'-cGAMP-TCO-酸

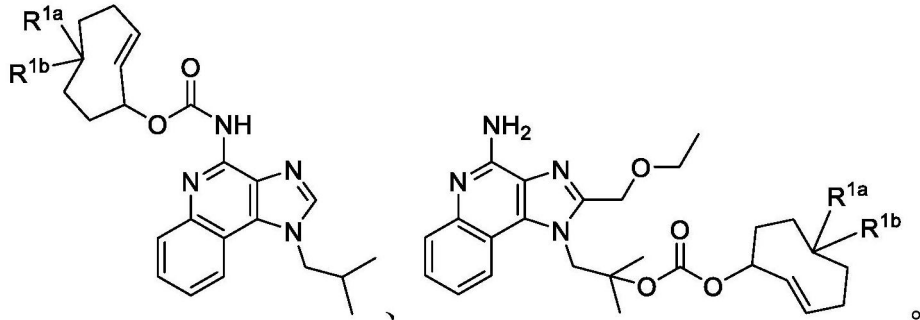
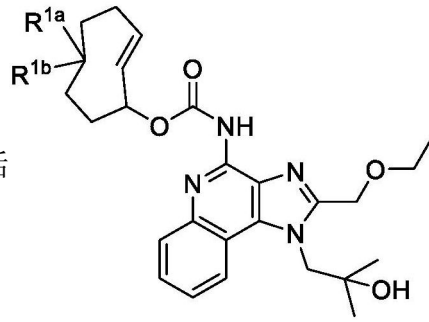
、或



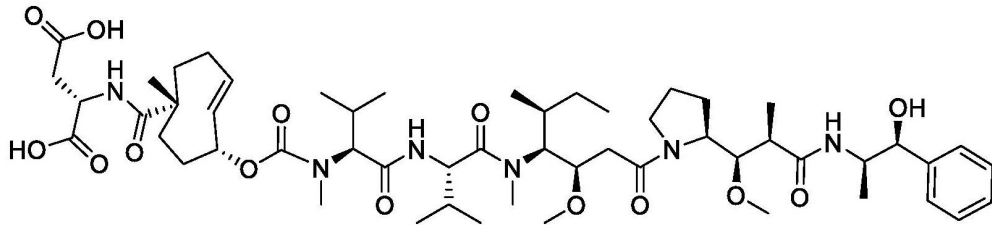
2'3'-cGAMP-TCO-甘氨酸

。

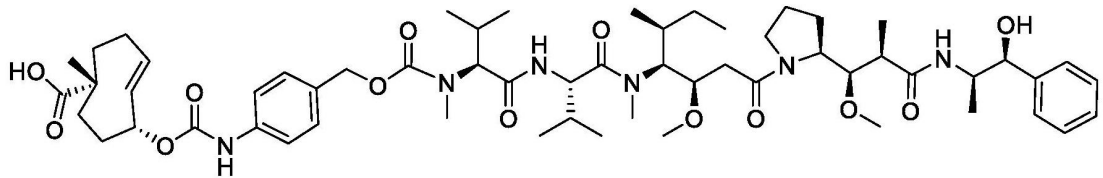
[0372] 具有式 (III) 的化合物包括



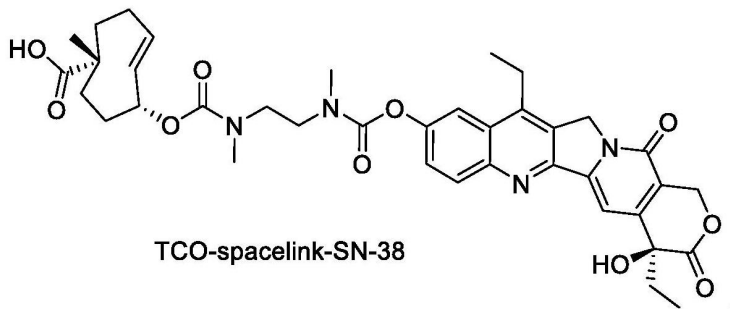
[0373] 具有式 (III) 的化合物包括



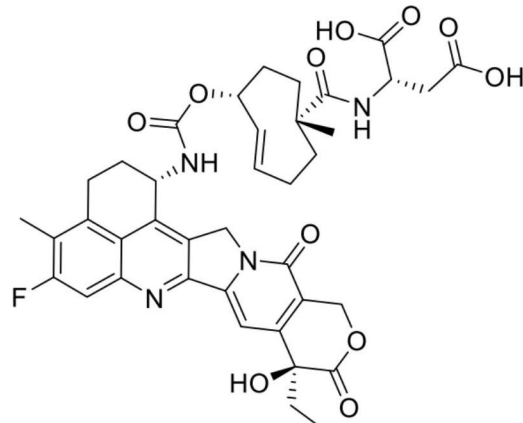
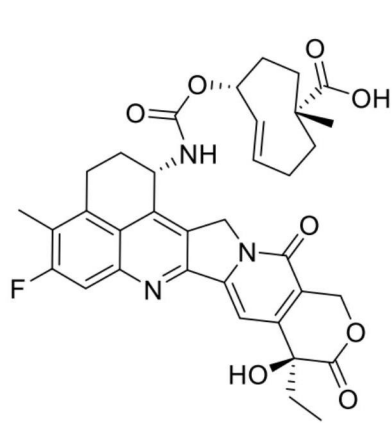
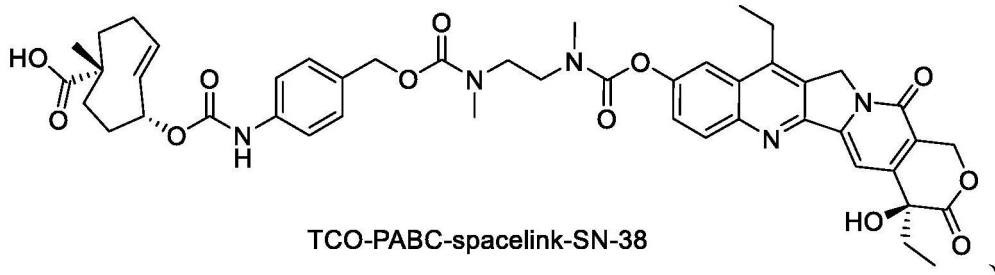
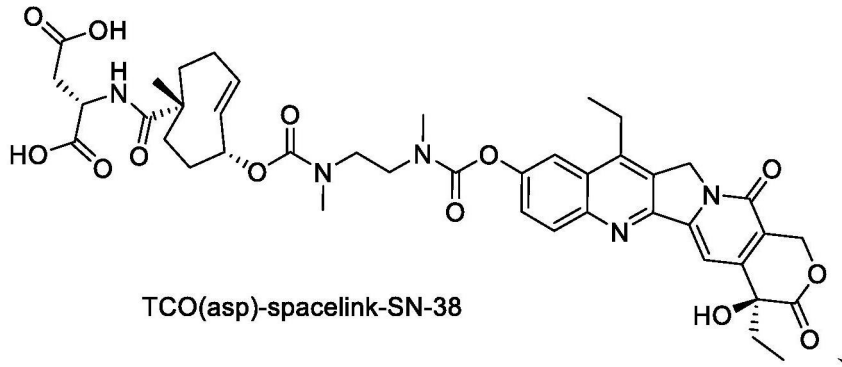
TCO(asp)-MMAE

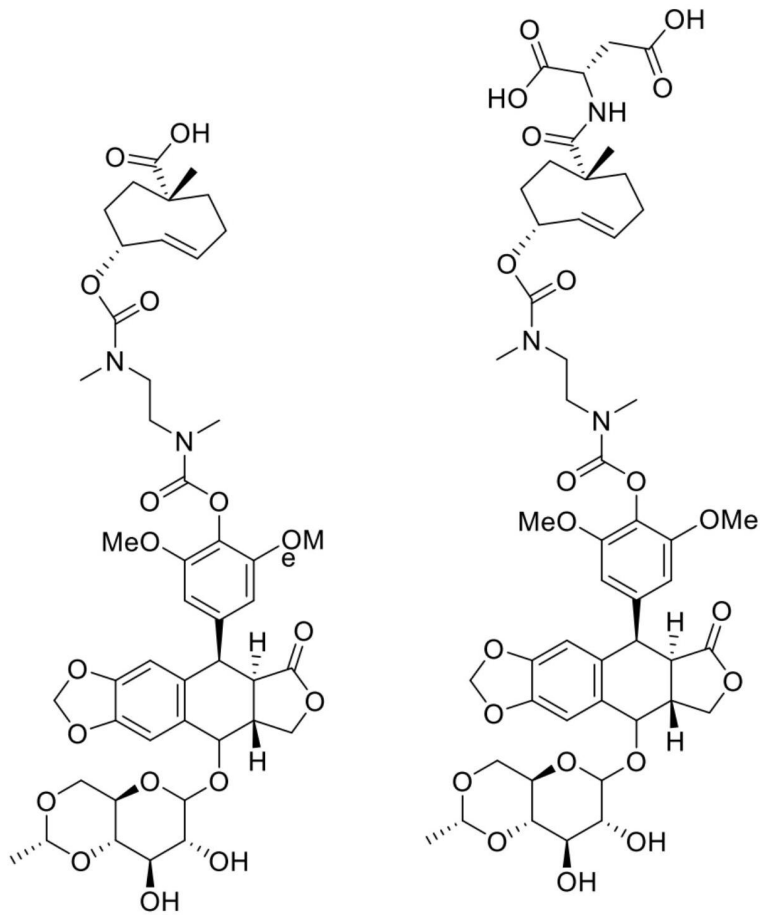


TCO-PABC-MMAE

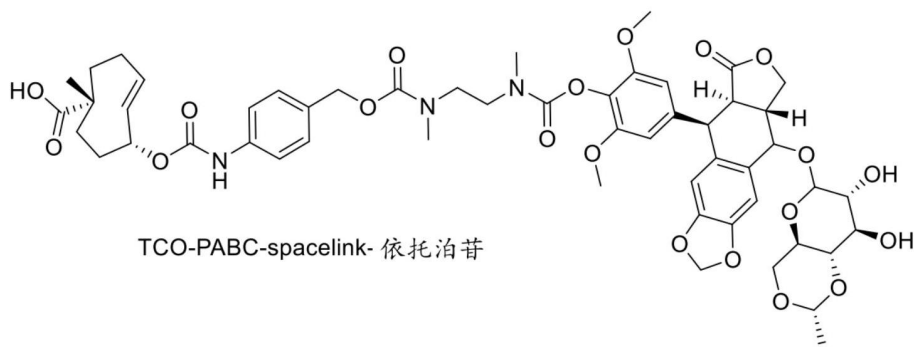


TCO-spacelink-SN-38

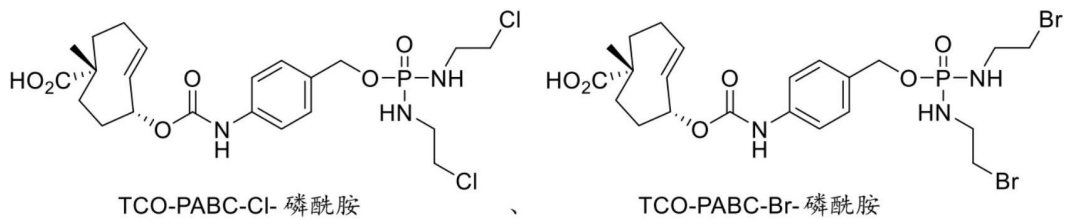




TCO-spacelink- 依托泊苷 、 TCO(asp)-spacelink- 依托泊苷 、

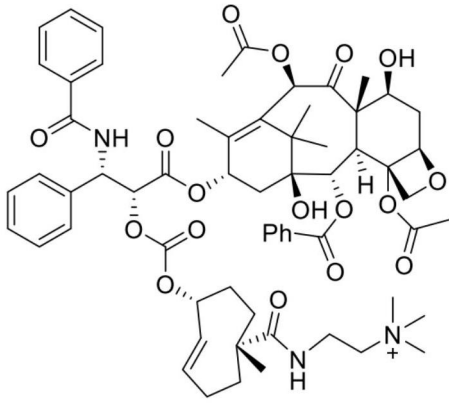


TCO-PABC-spacelink- 依托泊苷

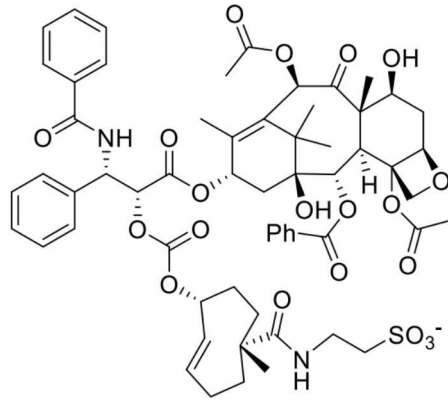


TCO-PABC-Cl- 磷酸胺 、

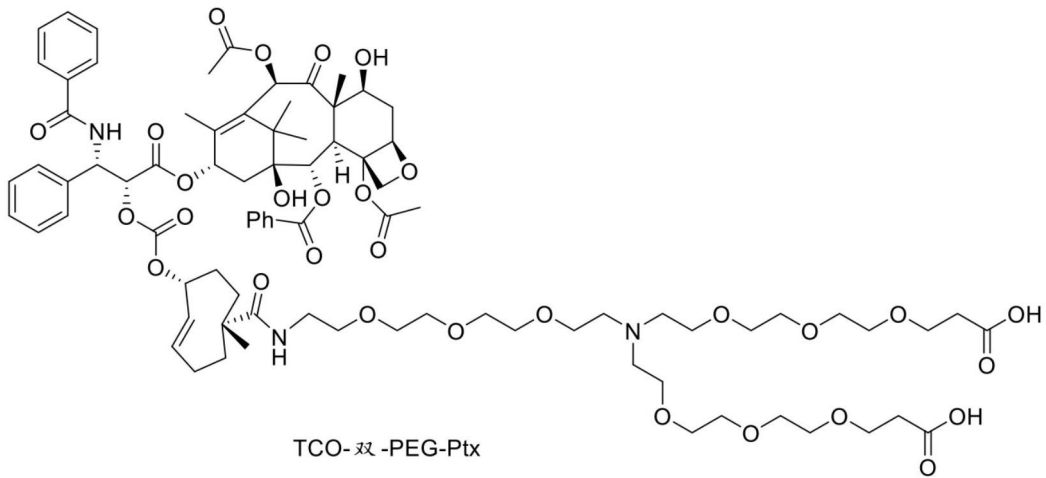
TCO-PABC-Br- 磷酸胺 、



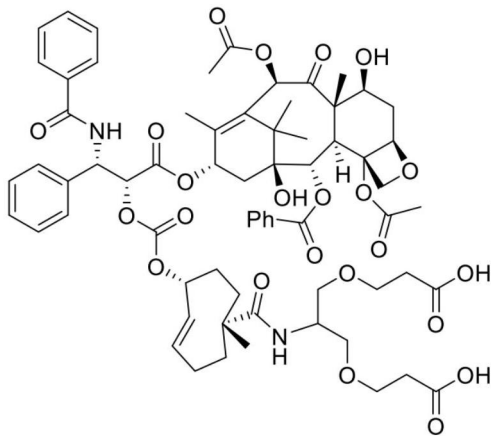
TCO-铵-Ptx



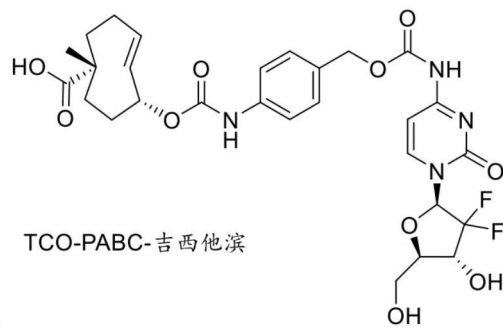
TCO-牛磺酸-Ptx



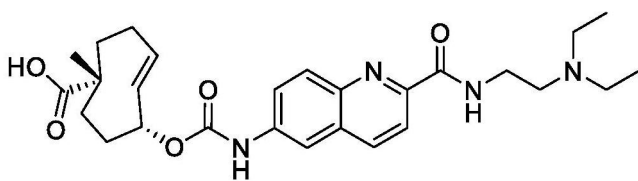
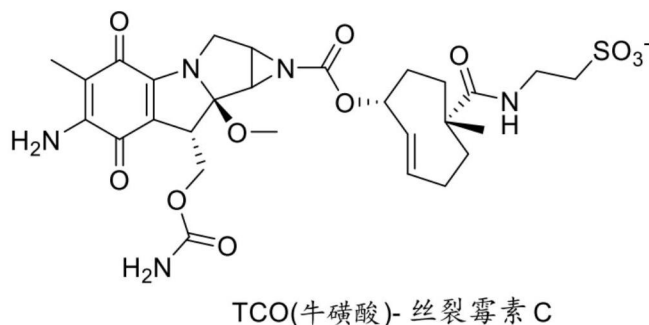
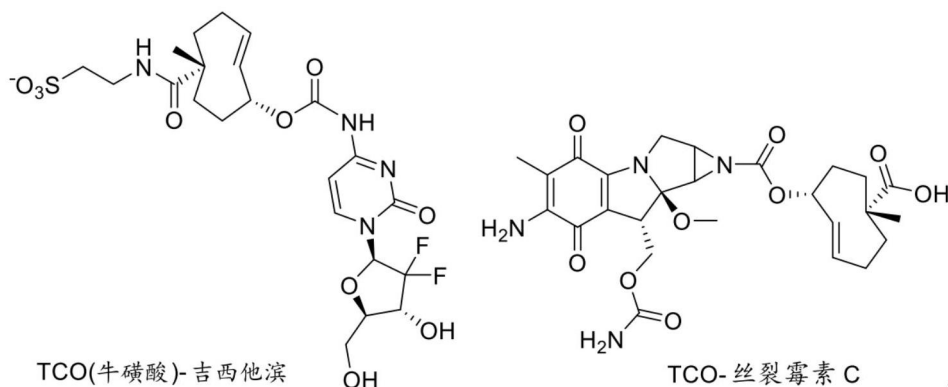
TCO-双-PEG-Ptx



TCO-双-酸-Ptx



TCO-PABC-吉西他滨



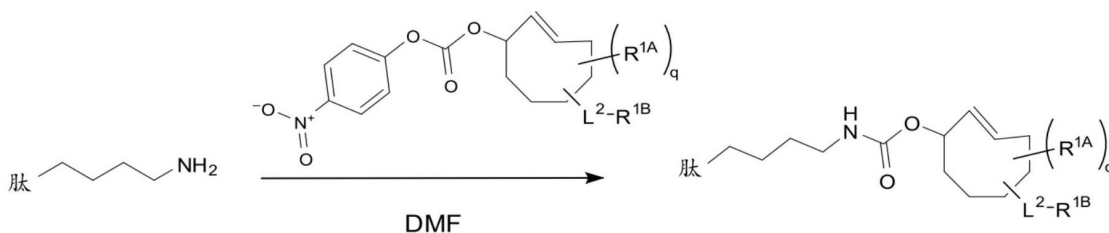
E. 合成方法

[0374] 可以结合以下合成方案和方法更好地理解本披露的化合物和缀合物,这些合成方案和方法说明了可以制备这些化合物的方式。

[0375] 具有式(I)的缀合物或具有式(III)的化合物可以通过使伯胺、仲胺或羟基与适当激活的接头反应来制备。应理解,接头上的反应性基团(例如,酯、碳酸酯、酰氯、羧酸)可以位于接头基团的任何选定位置上。相反地,接头可以具有亲核胺或羟基基团,该亲核胺或羟基基团可以与合适的基团(例如,醛、酮、酯、碳酸酯、羧酸或酰氯)反应。

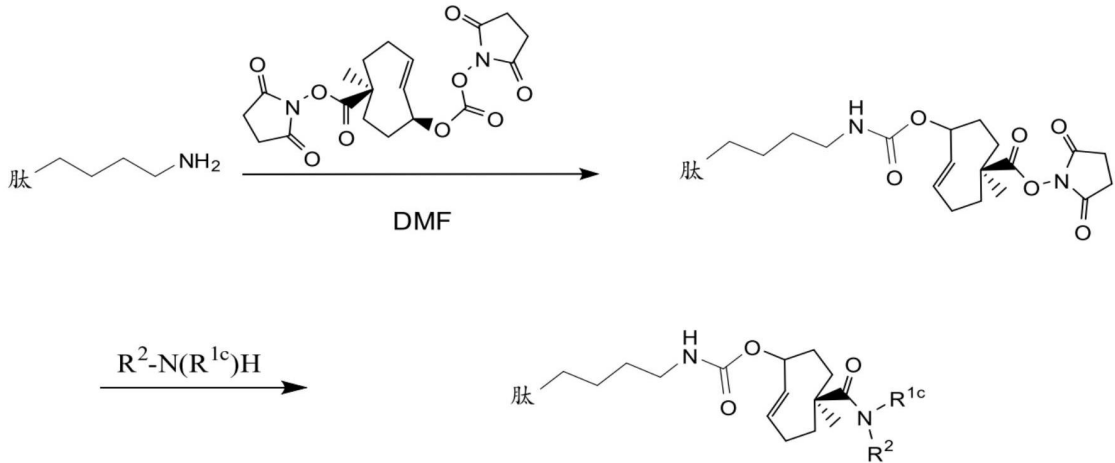
[0376] 在某些实施例中,如下文所示,为亲核加成而激活的反式环辛烯可以在碱存在下与适合的有效负载(D/D¹)或附接至接头的有效负载反应以提供官能化的有效负载。有效负载或接头可以包括与激活的TCO反应的伯胺、仲胺或羟基基团。在某些实施例中,离去基团(LG)是氯离去基团、对硝基酚离去基团、或N-羟基琥珀酰亚胺离去基团。用于该反应的示例性碱包括有机碱和无机碱,例如像三乙胺、吡啶、氢氧化钠、以及碳酸氢钠。

方案1A



[0377] 方案1A说明了将反式环辛烯与(多)肽(包括蛋白质(例如,单克隆抗体))的赖氨酸侧链缀合的一般方法。硝基苯酚碳酸酯可以在碱性条件下与氨基反应以提供反式环辛烯-缀合的(多)肽。更具体地,可以将抗体在水性缓冲液中的溶液与摩尔过量的碳酸盐试剂一起孵育。可以通过添加过量的胺(例如乙醇胺、牛磺酸等)来淬灭反应混合物。然后可以通过凝胶过滤纯化反式环辛烯-抗体缀合物。每个抗体分子结合的反式环辛烯分子的数量可以通过分光光度法测量来确定。

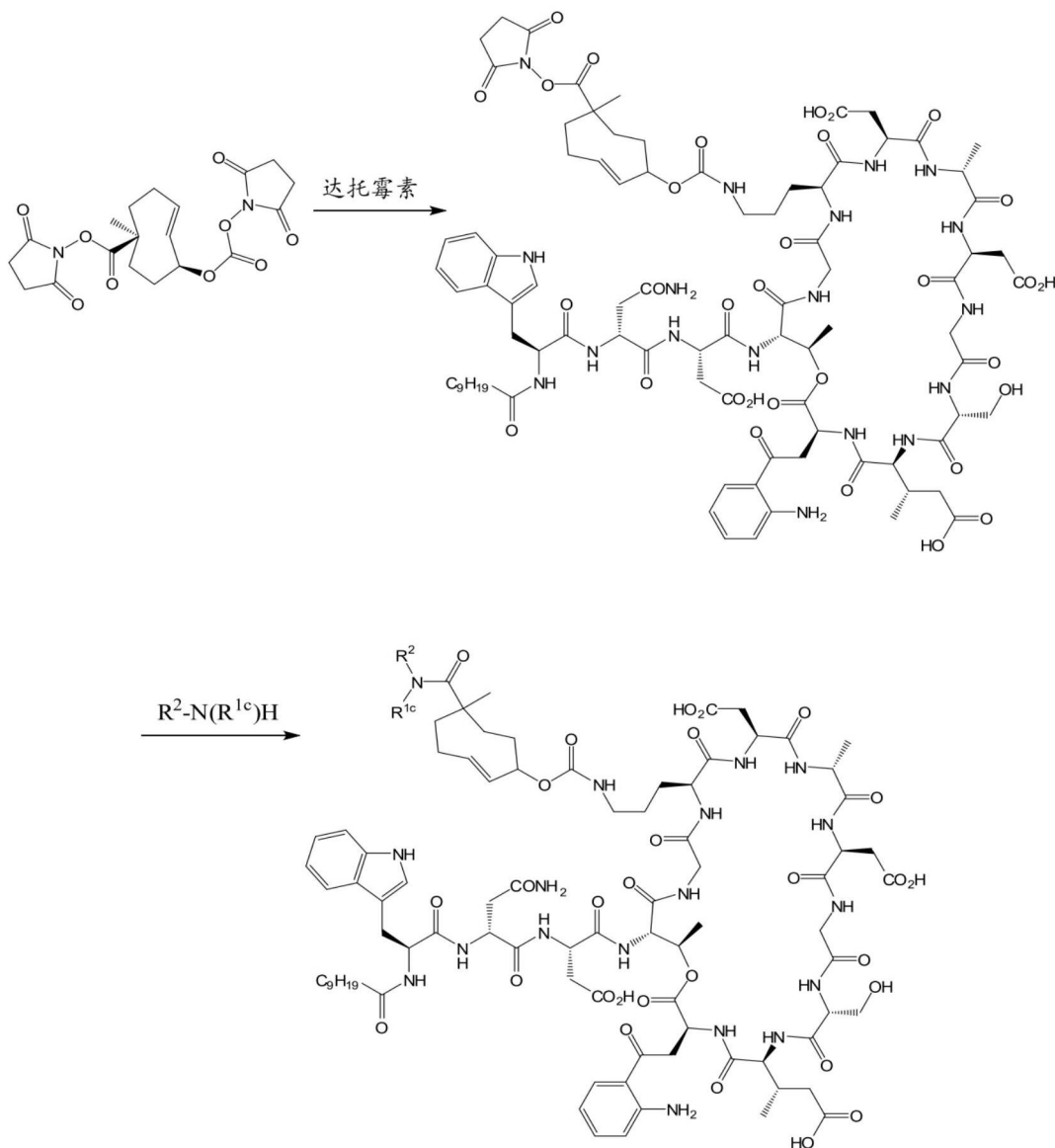
方案1B



[0378] 方案1B说明了将反式环辛烯与蛋白质或肽缀合的两步法。碳酸酯与赖氨酸侧链反应,然后在碱性条件下进一步与含氨基基团 $R^2-N(R^{1c})H$ 偶联可提供反式环辛烯官能化蛋白质/肽,其中 R^{1c} 是如本文所定义的并且 R^2 是 $-C_{1-6}$ 亚烷基- CO_2H 、 $-CHR^{1e}CO_2H$ 、 $-C_{1-6}$ 亚烷基- $C(O)OC_{1-4}$ 烷基、 $C(O)OC_{1-4}$ 烷基、或 $-CHR^{1e}C(O)OC_{1-4}$ 烷基。

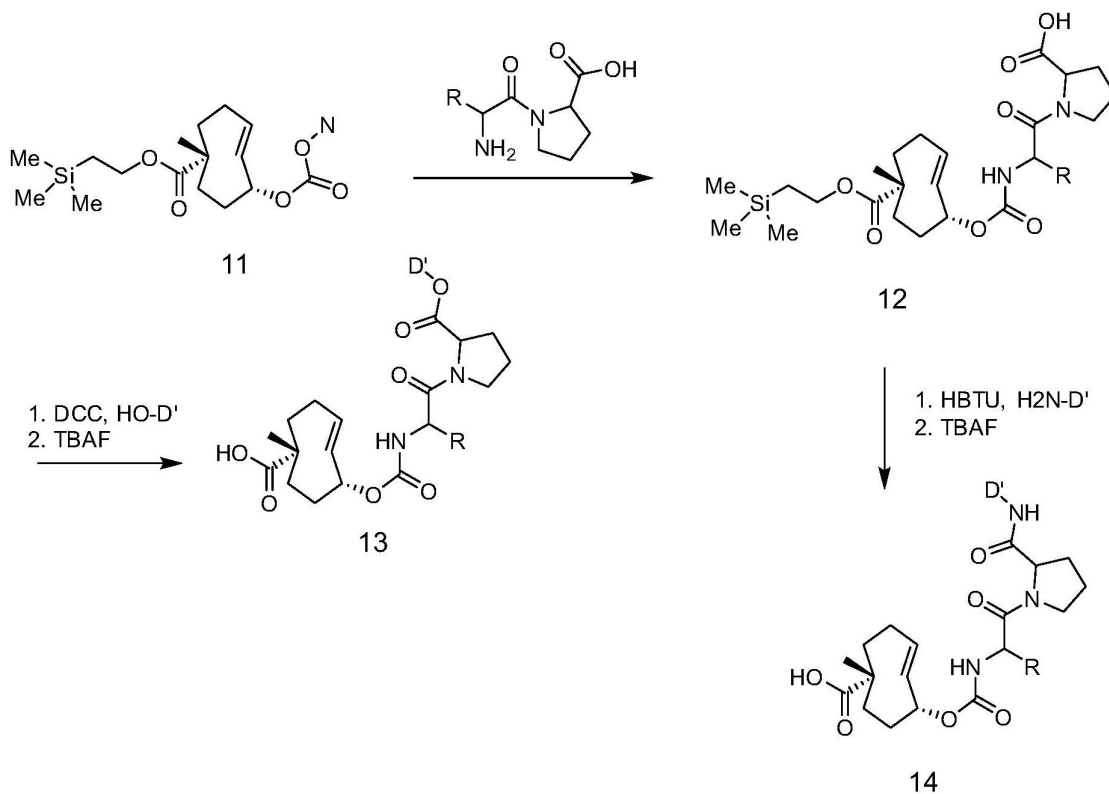
[0379] 含醇侧链和(多)肽N-末端氨基可以与方案1A和1B类似地反应以提供反式环辛烯缀合物。

方案2



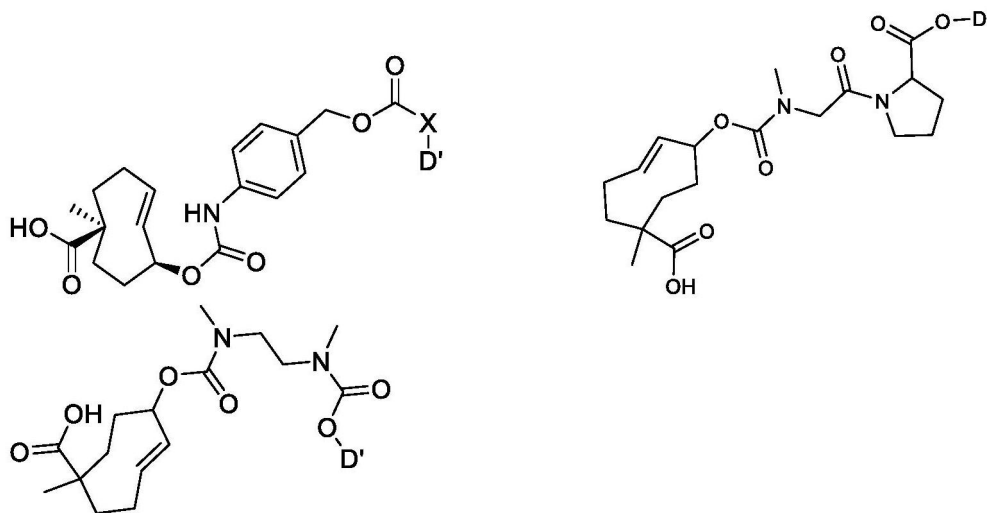
[0380] 方案2说明了碳酸酯与达托霉素鸟氨酸侧链之间的类似反应,然后在碱性条件下(例如 R^2 是 $-C_{1-6}$ 亚烷基- CO_2H 、 $-CHR^{1e}CO_2H$ 、 $-C_{1-6}$ 亚烷基- $C(O)OC_{1-4}$ 烷基、 $C(O)OC_{1-4}$ 烷基或 $-CHR^{1e}C(O)OC_{1-4}$ 烷基)进一步与含氨基基团 $R^2-N(R^{1c})H$ 偶联。

方案3



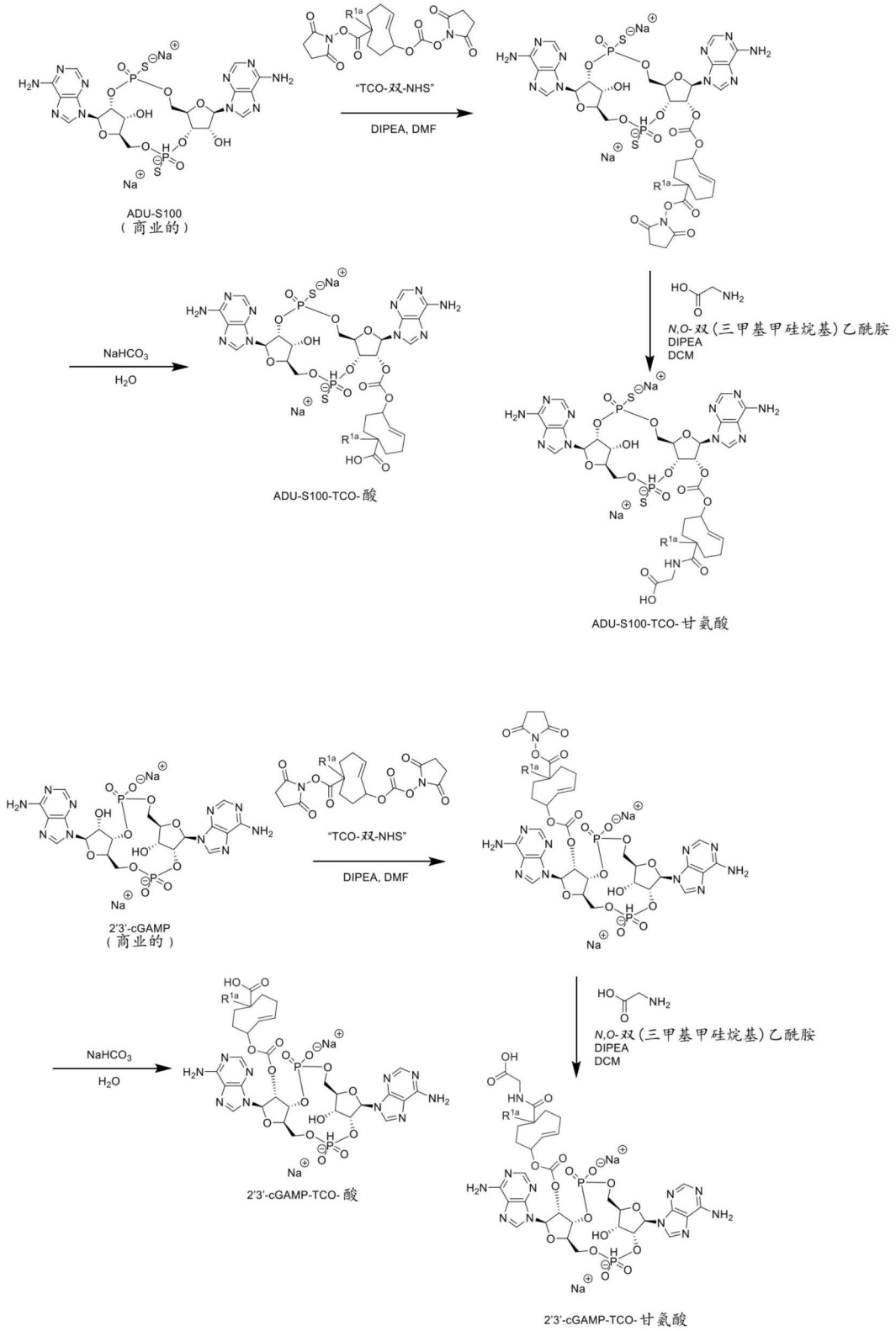
[0381] 方案3说明了将11转化为羧酸中间体,该羧酸中间体可以进一步被转化为带有有效负载的产物13和14。在方案3中,D'代表有效负载部分(例如免疫调节有效负载部分、抗癌剂有效负载部分、TLR激动剂有效负载部分)。

方案4

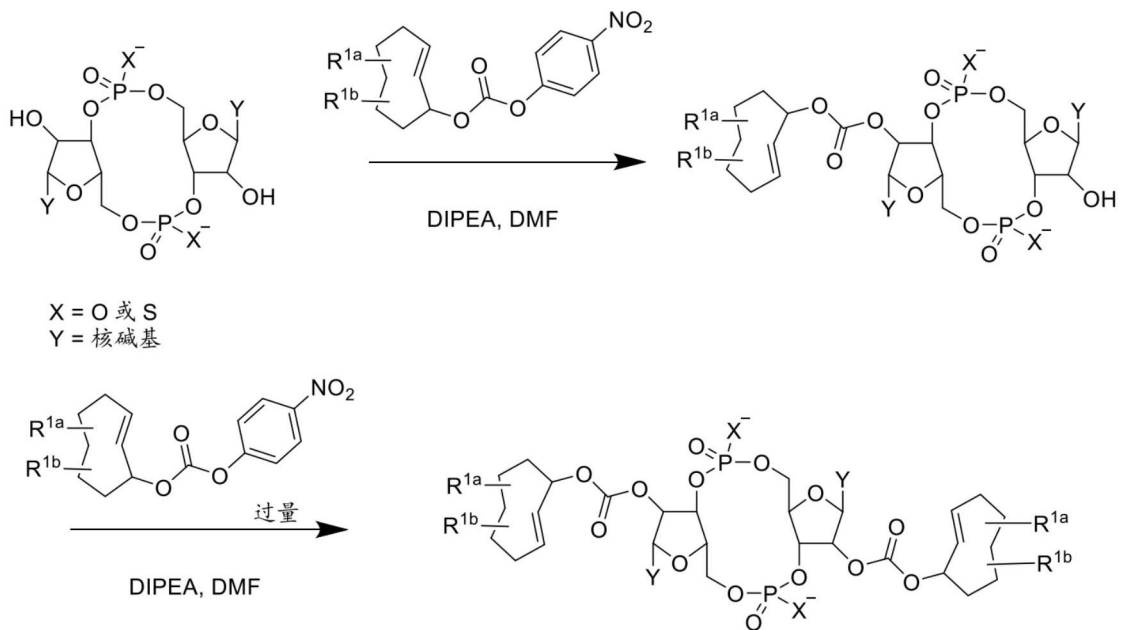


[0382] 可以使用11制备的其他羧酸包括方案4中示出的那些。

方案5

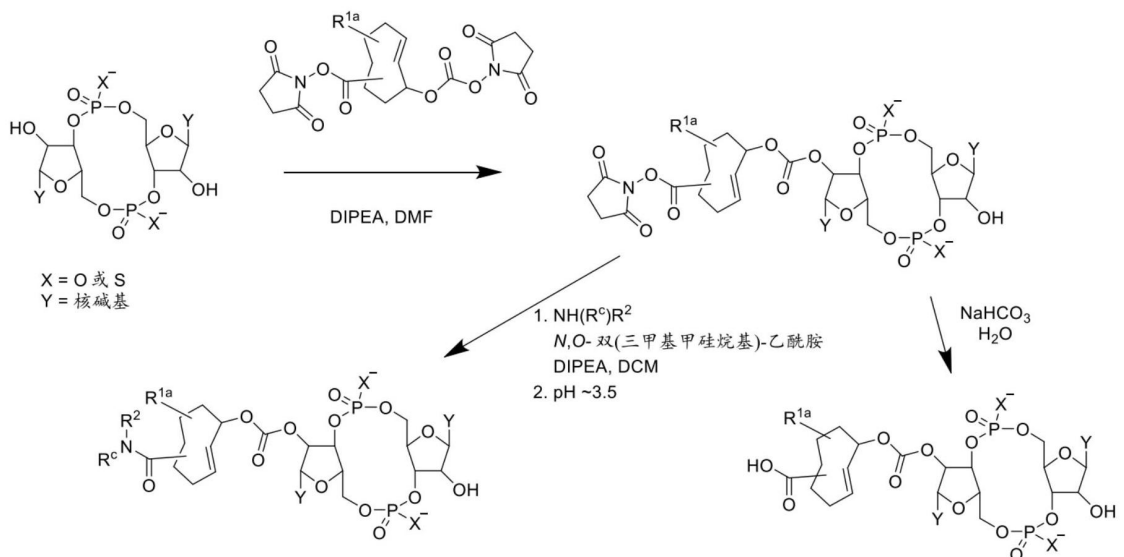


[0384] 方案6示出了制备代表性STING激动剂TCO缀合物的合成方法。
方案7



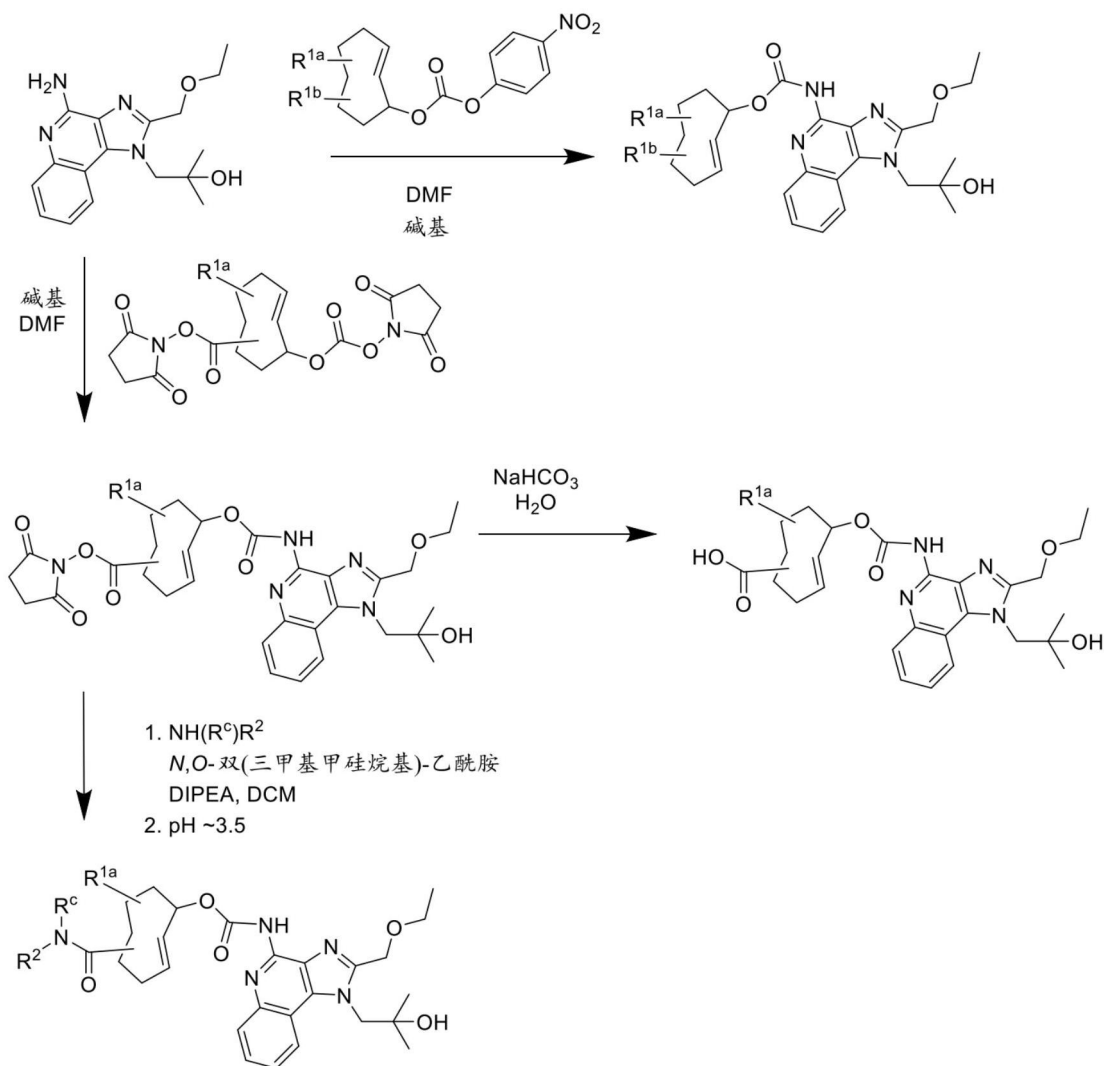
[0385] 方案7说明了一种将环状二核苷酸缀合至反式环辛烯(如在式(I)中所示)的通用方法。该说明的方法通过使环状二核苷酸分子与硝基苯基碳酸酯取代的反式环辛烯在碱的存在下反应以形成单取代或双取代的环状二核苷酸(取决于反式环辛烯试剂的量)来进行。

方案8



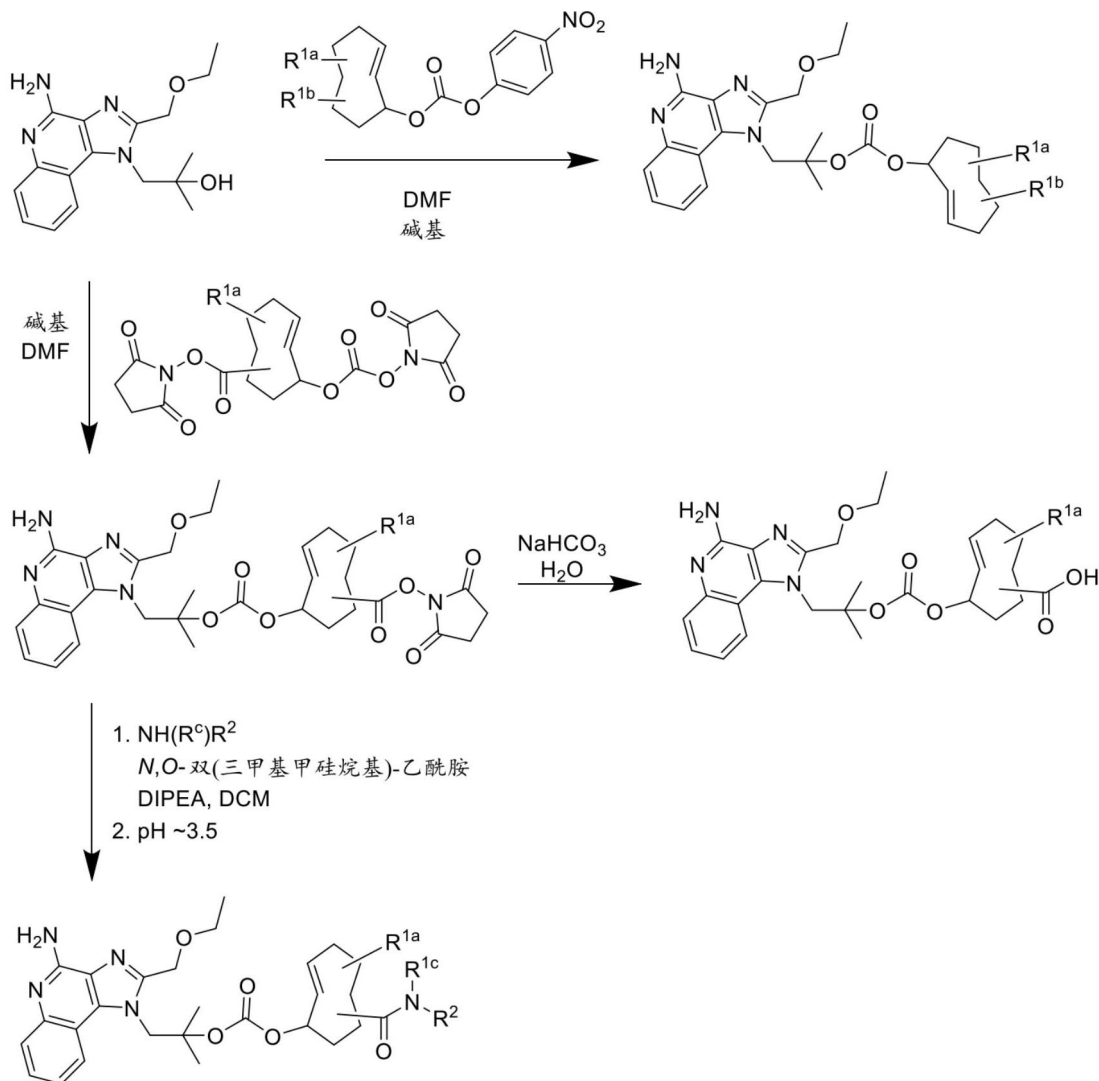
[0386] 方案8说明了一种将环状二核苷酸缀合至反式环辛烯的通用方法,其中 R^2 是 $-\text{C}_{1-6}$ 亚烷基- CO_2H 、 $-\text{CHR}^{1e}\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{C}_{1-6}$ 亚烷基- $\text{C}(\text{O})\text{OC}_{1-4}$ 烷基、 $\text{C}(\text{O})\text{OC}_{1-4}$ 烷基、或 $-\text{CHR}^{1e}\text{C}(\text{O})\text{OC}_{1-4}$ 烷基,其对应于式(I)中的 R^{1b} ,而 R^{1b} 是 $\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{1c})-\text{C}_{1-6}$ 亚烷基- CO_2H 、 $\text{C}(\text{O})\text{OH}$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{1c})\text{CHR}^{1e}\text{CO}_2\text{H}$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{1c})-\text{C}_{1-6}$ 亚烷基- $\text{C}(\text{O})\text{OC}_{1-4}$ 烷基、 $\text{C}(\text{O})\text{OC}_{1-4}$ 烷基、或 $\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{1c})\text{CHR}^{1e}\text{C}(\text{O})\text{OC}_{1-4}$ 烷基中之一。方案8中说明的过程可以经改进,类似于方案7使用过量反式环辛烯试剂来提供双缀合的环状二核苷酸。

方案9



[0387] 方案9和10说明了按照与方案7和8类似的程序,将咪唑并[4,5-c]喹啉-4-胺缀合至反式环辛烯(如式(I)中所示)的代表性合成方法。

方案10



[0388] 所披露的化合物可以通过立体定向合成或通过拆分以外消旋形式或作为单独的对映异构体或非对映异构体来制备。例如，可以通过标准技术将这些化合物拆分成它们的组分对映异构体或非对映异构体，如通过与光学活性碱形成盐而形成立体异构体对，然后分步结晶并再生游离酸。还可以通过形成立体异构酯或酰胺来拆分这些化合物，随后色谱分离并除去手性助剂。可替代地，可以使用手性HPLC柱来拆分这些化合物。这些对映异构体也可以使用脂肪酶从相应酯的外消旋体的动力学拆分获得。

[0389] 本文所述的化合物可以呈盐，例如药学上可接受的盐的形式。术语“药学上可接受的盐”包括活性化合物的盐，这些活性化合物取决于本文所述的化合物上发现的特定取代基用相对无毒的酸或碱制备。这些化合物的中性形式可以通过使该盐与碱或酸接触并且以常规方式分离母体化合物而再生。化合物的母体形式在某些物理性质（如在极性溶剂中的溶解度）方面不同于各种盐形式，但在其他方面，这些盐出于本披露的目的等效于化合物的母体形式。药学上可接受的盐的实例在Berge等人，1977，“Pharmaceutically Acceptable Salts. [药学上可接受的盐]” J. Pharm. Sci. [药物科学杂志]第66卷，第1至19页中进行了讨论。

[0390] 例如，如果化合物是阴离子或具有可以是阴离子的官能团（例如， $-\text{COOH}$ 可以是 $-\text{COO}^-$ ），则盐可用合适的阳离子形成。适合的无机阳离子的实例包括但不限于碱金属离子，

如 Na^+ 和 K^+ ;碱土金属阳离子,如 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} ;以及其他阳离子。适合的有机阳离子的实例包括但不限于铵离子(即 NH_4^+)和取代的铵离子(例如 NH_3R_1^+ 、 NH_2R_2^+ 、 NHR_3^+ 、 NR_4^+)。一些合适的取代的铵离子的实例是衍生自如下的那些:乙胺、二乙胺、二环己胺、三乙胺、丁胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌嗪、苄胺、苯基苄胺、胆碱、葡甲胺和氨丁三醇、以及氨基酸(如赖氨酸和精氨酸)。

[0391] 如果化合物是阳离子或具有可以是阳离子的官能团(例如, $-\text{NH}_2$ 可以是 $-\text{NH}_3^+$),则盐可用适合的阴离子形成。合适的无机阴离子的实例包括但不限于衍生自以下无机酸的那些:盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、亚硫酸、硝酸、亚硝酸、磷酸和亚磷酸。

[0392] 合适的有机阴离子的实例包括但不限于衍生自以下有机酸的那些:2-乙酰氧基苯甲酸、乙酸、抗坏血酸、天冬氨酸、苯甲酸、樟脑磺酸、肉桂酸、柠檬酸、依地酸、乙二磺酸、乙磺酸、富马酸、葡庚糖酸、葡糖酸、谷氨酸、乙醇酸、羟基马来酸、羟基萘羧酸、羟乙基磺酸、乳酸、乳糖酸、月桂酸、马来酸、苹果酸、甲磺酸、粘液酸、油酸、草酸、棕榈酸、扑酸、泛酸、苯乙酸、苯磺酸、丙酸、丙酮酸、水杨酸、硬脂酸、琥珀酸、对氨基苯磺酸、酒石酸、甲苯磺酸、以及戊酸。合适的聚合有机阴离子的实例包括但不限于衍生自以下聚合酸的那些:鞣酸、羧甲基纤维素。

[0393] 可方便或可期望制备、纯化和/或处理呈化学上受保护的形式的活性化合物。术语“化学上受保护的形式”在本文中以常规化学意义使用,且属于其中一个或多个反应性官能团受保护以免在特定条件(例如,pH、温度、辐射、溶剂等)下发生不希望的化学反应的化合物。在实践中,采用熟知的化学方法来可逆地致使官能团不具有反应性,否则该官能团在特定条件下将具有反应性。在化学上受保护的形式中,一个或多个反应性官能团是受保护或保护基团(也称作被掩蔽或掩蔽基团或被阻断或阻断基团)的形式。通过保护反应性官能团,可以在不影响受保护基团的情况下进行涉及其他未保护的反应性官能团的反应;通常在后续步骤中可以在基本上不影响分子的其余部分的情况下除去保护基团。参见,例如 Protective Groups in Organic Synthesis[有机合成中的保护基团](T.Green和P.Wuts;第3版;John Wiley and Sons[约翰威利父子出版公司],1999);J.F.W.McOmie,“Protective Groups in Organic Chemistry[有机化学中的保护基团]”,Plenum Press[普莱纽姆出版社],伦敦和纽约1973;“The Peptides[肽]”;第3卷(编辑:E.Gross和J.Meienhofer),Academic Press[学术出版社],伦敦和纽约1981;“Methoden der organischen Chemie[有机化学方法]”,Houben-Weyl,第4版,卷15/1,Georg Thieme Verlag[乔治蒂姆出版社],斯图加特1974;H.-D.Jakubke和H.Jescheit,“Aminosäuren, Peptide, Proteine[氨基酸、肽、蛋白质]”,Verlag Chemie[化学出版社],魏因海姆迪尔菲尔德比奇和巴塞尔(Weinheim,Deerfield Beach,and Basel)1982;Jochen Lehmann,“Chemie der Kohlenhydrate:Monosaccharide and Derivate[碳水化合物化学:单糖和衍生物]”,Georg Thieme Verlag[乔治蒂姆出版社],斯图加特(Stuttgart)1974。

[0394] 多种这样的“保护”、“阻断”或“掩蔽”方法广泛使用且在有机合成中是熟知的。例如,可以衍生具有两个非等效反应性官能团(其二者在特定条件下都具有反应性)的化合物以使这些官能团中的一个“受保护”,因此在特定条件下不具有反应性;这样保护之后,可以将该化合物用作实际上仅有一个反应性官能团的反应物。在所希望的反应(涉及另一官能团)完成之后,可以使受保护基团“去保护”以使其回到其最初官能度。

[0395] 可以将羟基基团保护为醚(-OR)或酯(-OC(O)R),例如保护为:叔丁基醚;苄基醚、二苯甲基(二苯基甲基)醚或三苯甲基(三苯基甲基)醚;三甲基甲硅烷基或叔丁基二甲基甲硅烷基醚;或乙酰基酯(-OC(O)CH₃、-OAc)。

[0396] 可以将醛或酮基团分别保护为缩醛(RCH(OR)₂)或缩酮(R₂C(OR)₂),其中通过与例如伯醇反应来使羰基基团(R₂C=O)转化为二醚(R₂C(OR)₂)。醛或酮基团容易通过在酸存在下使用大量的水进行水解而再生。

[0397] 例如,胺基团可以被保护为酰胺(-NRC(O)R)或聚氨酯(-NRC(O)OR),例如保护为:甲基酰胺(-NHC(O)CH₃);苄氧基酰胺(-NHC(O)OCH₂C₆H₅、-NH-Cbz);叔丁氧基酰胺(-NHC(O)OC(CH₃)₃、-NH-Boc);2-联苯基-2-丙氧基酰胺(-NHCO(O)C(CH₃)₂C₆H₄C₆H₅、-NH-Bpoc)、9-芴基甲氧基酰胺(-NH-Fmoc)、6-硝基藜芦氧基酰胺(-NH-Nvoc)、2-三甲基甲硅烷基乙氧基酰胺(-NH-Teoc)、2,2,2-三氯乙氧基酰胺(-NH-Troc)、烯丙氧基酰胺(-NH-Alloc)、2-(苄基磺酰基)乙氧基酰胺(-NH-Psec);或在合适情况下(例如环胺),保护为硝基氧基团(>N-O<))。

[0398] 羧酸基团可以被保护为酯,例如保护为:烷基酯(例如甲基酯;叔丁基酯);卤代烷基酯(例如卤代烷基酯);三烷基甲硅烷基烷基酯;或芳基烷基酯(例如苄基酯;硝基苄基酯);或酰胺,例如甲基酰胺。

[0399] 例如,硫醇基团可以被保护为硫醚(-SR),例如保护为:苄基硫醚;乙酰胺基甲基醚(-S-CH₂NHC(O)CH₃)。

[0400] 本文所述的化合物也可以通过附加适当的官能团来进行修饰以增强选择性生物学性质。这样的修饰在本领域中是已知的并且包括增加生物渗透至给定生物系统(例如,血液、淋巴系统、中枢神经系统)、增加口服可用性、增加溶解性以便允许通过注射来施用、改变代谢和/或改变排泄速率的那些修饰。这些修饰的实例包括但不限于用聚乙二醇酯化、用新戊酸酯或脂肪酸取代基衍生化、转化成氨基甲酸酯、芳环的羟基化、以及芳环中的杂原子取代。

[0401] 在某些实施例中,这些产物可以进一步修饰,例如通过操纵取代基。这些操纵可以包括但不限于本领域技术人员通常已知的还原、氧化、有机金属交叉偶联、烷基化、酰化、以及水解反应。在一些情况下,可以改变进行前述反应方案的顺序以促进反应或避免不想要的反应产物。

[0402] 如本文所述的化合物可以通过本领域中已知的任何纯化方案来纯化,包括色谱法,如HPLC、制备型薄层色谱法、快速柱色谱法、以及离子交换色谱法。可以使用任何适合的固定相,包括正相和反相以及离子型树脂。在某些实施例中,所披露的化合物经由硅胶和/或氧化铝色谱法进行纯化。参见,例如Introduction to Modern Liquid Chromatography [现代液相色谱法导论],第2版,L.R.Snyder和J.J.Kirkland编,John Wiley and Sons[约翰威利父子出版公司],1979;以及Thin Layer Chromatography [薄层色谱法],E.Stahl编,Springer-Verlag[施普林格出版公司],纽约,1969。

F. 配制品

[0403] 组合物(例如,支持体组合物、缀合物、反式环辛烯前药)可以呈任何适合的形式(例如呈药学上可接受的配制品的形式)提供,并且可以被配制用于任何适合的施用途径,例如口服、局部或肠胃外施用。当组合物以液体注射剂的形式提供(例如在将它们静脉内或直接施用到组织中的那些实施例中)时,该组合物可以作为即用型剂型或作为可以包含药

学上可接受的载剂和赋形剂的可复原的储存稳定的粉末或液体提供。

[0404] “药学上可接受的赋形剂”、“药学上可接受的稀释剂”、“药学上可接受的载剂”、或“药学上可接受的佐剂”意指在制备药物组合物中有用的赋形剂、稀释剂、载剂、和/或佐剂，其通常是安全的、无毒的并且在生物学上或其他方面都不是不希望的，并且包括兽医学用途和/或人类药物用途可接受的赋形剂、稀释剂、载剂和佐剂。如本文所用的“药学上可接受的赋形剂、稀释剂、载剂和/或佐剂”包括一种或多种此类赋形剂、稀释剂、载剂和佐剂。

[0405] 用于配制组合物的方法可以从容易获得的那些方法改编。例如，组合物可以按包括治疗有效量的组合物和药学上可接受的载剂(例如盐水)的药物配制品形式提供。药物配制品可以任选地包括其他添加剂(例如缓冲剂、稳定剂、防腐剂等)。在一些实施例中，这些配制品适合施用至哺乳动物，如适合施用至人类的那些。

[0406] 本披露的组合物可以按多种口服、肠胃外和局部剂型来制备。口服制剂包括适用于受试者摄取的片剂、丸剂、粉末、糖锭剂、胶囊、液体、锭剂、扁囊剂、凝胶、糖浆、浆液、悬浮液等。

[0407] 本披露的组合物还可以通过注射，即静脉内、肌内、皮内、皮下、十二指肠内或腹膜内施用。用于肠胃外给予的药物配制品包括在水溶形式中的活性化合物的含水溶液剂。另外，可以将该活性化合物的悬浮液制备为合适的油性注射悬浮液。合适的亲脂性溶剂或媒剂包括脂肪油(如芝麻油)、或合成的脂肪酸酯(如油酸乙酯或甘油三酯)、或脂质体。水性注射悬浮液可包含增加悬浮液的粘度的物质，如羧甲基纤维素钠、山梨醇、或葡聚糖。任选地，悬浮液还可含有合适的稳定剂或增加化合物的溶解度的药剂，以允许制备高度浓缩的溶液。对于注射，本发明的试剂可以在水性溶液中进行配制，优选地在生理相容性缓冲液中，例如汉克斯(Hanks')溶液、格林斯(Ringer's)溶液、或生理盐水缓冲液。

[0408] 在一些情况下，本文所述的这些组合物可以通过吸入，例如鼻内施用。

[0409] 在一些情况下，本披露的组合物可以经皮施用。

[0410] 在一些情况下，这些组合物可以通过眼内、阴道内和直肠内途径施用，包括栓剂、吹入剂、粉末和气雾剂配制品(例如类固醇吸入剂，参见Rohatagi, J.Clin.Pharmacol. [临床药理学杂志]35:1187-1193,1995;Tjwa, Ann.Allergy Asthma Immunol. [过敏、哮喘和免疫学年鉴]75:107-111,1995)。

[0411] 因此，本披露还提供包括如本文所述的组合物和药学上可接受的载剂或赋形剂的药物配制品。

[0412] 为了由本披露的组合物制备药物配制品，药学上可接受的载剂可以是固体或液体。固体形式制剂包括粉末、片剂、丸剂、胶囊、扁囊剂、栓剂、以及可分散颗粒。固体载剂可以是一种或多种物质，其还可以用作稀释剂、调味剂、结合剂、防腐剂、片剂崩解剂或包囊材料。有关配制和施用技术的细节见于例如Remington's Pharmaceutical Sciences [雷明顿的药物科学], Maack Publishing Co [麦克出版有限公司], 宾夕法尼亚州伊斯顿(雷明顿的("Remington's"))中。

[0413] 在一些实施例中，本发明的药物组合物是疫苗，其包含缀合物或其药学上可接受的盐、药学上可接受的载剂和任选地抗原。用于在本文提供的免疫原性组合物中使用的抗原能以有效量(例如，有效用于治疗或预防方法的量)提供。例如，本发明的免疫原性组合物可用于治疗或预防疾病或病症，例如感染和癌症。示例性抗原包括但不限于肿瘤抗原和感

染性疾病抗原。用于在本文提供的免疫原性组合物中使用的抗原通常是对于宿主而言外源的大分子(例如,多肽、多糖、多核苷酸)。抗原可以是期望在受试者中引发或增强免疫反应性的任何靶表位、分子(包括生物分子)、分子复合物(包括含有生物分子的分子复合物)、亚细胞装配体、细胞或组织。通常,术语抗原可以指感兴趣的多肽抗原。但是,如本文所用的抗原也可以指编码感兴趣的多肽抗原的重组构建体(例如表达构建体)。在某些优选的实施例中,抗原可以是以下、可以衍生自以下、或可以与以下发生免疫交叉反应:感染性病原体,和/或与感染、癌症、自身免疫性疾病、过敏症、哮喘或其中刺激抗原特异性免疫应答将是希望的或有益的任何其他病症相关的表位、生物分子、细胞或组织。

[0414] 在某些实施例中,肿瘤抗原或癌症抗原与本文提供的免疫原性组合物联合使用。在某些实施例中,肿瘤抗原是含肽的肿瘤抗原,例如多肽肿瘤抗原或糖蛋白肿瘤抗原。在某些实施例中,肿瘤抗原是含糖的肿瘤抗原,例如糖脂肿瘤抗原或神经节苷脂肿瘤抗原。在某些实施例中,肿瘤抗原是表达含多肽的肿瘤抗原的含多核苷酸的肿瘤抗原,例如RNA运载体构建体或DNA运载体构建体,例如质粒DNA。在某些实施例中,肿瘤抗原是完整的、活的或死亡的或透化的癌细胞。适合与本文提供的免疫原性组合物联合使用的肿瘤抗原涵盖多种分子,例如(a)含多肽的肿瘤抗原,包括多肽(其长度范围为例如8-20个氨基酸,但是超出该范围的长度也是常见的)、脂多肽和糖蛋白,(b)含糖的肿瘤抗原,包括多糖、黏蛋白、神经节苷脂、糖脂和糖蛋白,以及(c)表达抗原多肽的多核苷酸。

[0415] 在某些实施例中,肿瘤抗原是例如(a)与癌细胞相关的全长分子,(b)其同源物和修饰形式,包括具有缺失、添加和/或取代部分的分子,和(c)其片段。在某些实施例中,肿瘤抗原以重组形式提供。在某些实施例中,肿瘤抗原包括例如由CD8⁺淋巴细胞识别的I类限制性抗原或由CD4⁺淋巴细胞识别的II类限制性抗原。

[0416] 在某些实施例中,肿瘤抗原包括但不限于(a)癌-睾丸抗原,例如NYESO-1、SSX2、SCP1以及RAGE、BAGE、GAGE和MAGE家族多肽,例如GAGE-1、GAGE-2、MAGE-1、MAGE-2、MAGE-3、MAGE-4、MAGE-5、MAGE-6和MAGE-12(其可用于例如治疗黑素瘤、肺癌、头颈癌、NSCLC、乳腺癌、胃肠道癌和膀胱肿瘤),(b)突变抗原,例如p53(与各种实体瘤(例如结直肠癌、肺癌、头颈癌)相关)、p21/Ras(与例如黑素瘤、胰腺癌和结直肠癌相关)、CDK4(与例如黑素瘤相关)、MUM1(与例如黑素瘤相关)、胱天蛋白酶-8(与例如头颈癌相关)、CIA 0205(与例如膀胱癌相关)、HLA-A2-R1 701、 β 连环蛋白(与例如黑素瘤相关)、TCR(与例如T细胞非霍奇金淋巴瘤相关)、BCR-ab1(与例如慢性髓细胞性白血病相关)、磷酸丙糖异构酶、KIA 0205、CDC-27和LDLR-FUT,(c)过表达抗原,例如半乳凝素4(与例如结直肠癌相关)、半乳凝素9(与例如霍奇金病相关)、蛋白酶3(与例如慢性髓细胞性白血病相关)、WT 1(与例如多种白血病相关)、碳酸酐酶(与例如肾癌相关)、醛缩酶A(与例如肺癌相关)、PRAME(与例如黑素瘤相关)、HER-2/neu(与例如乳腺癌、结肠癌、肺癌和卵巢癌相关)、甲胎蛋白(与例如肝癌相关)、KSA(与例如结直肠癌相关)、胃泌素(与例如胰腺癌和胃癌相关)、端粒酶催化蛋白、MUC-1(与例如乳腺癌和卵巢癌有关)、G-250(与例如肾细胞癌相关)、p53(与例如乳腺癌、结肠癌相关)和癌胚抗原(与例如乳腺癌、肺癌和胃肠道癌(如结直肠癌)相关),(d)共有抗原,例如黑素瘤黑素细胞分化抗原,如MART-1/Melan A、gp 100、MC1 R、黑素细胞刺激素受体、酪氨酸酶、酪氨酸酶相关蛋白-1/TRP1和酪氨酸酶相关蛋白-2/TRP2(与例如黑素瘤相关),(e)前列腺相关抗原,例如PAP、PSA、PSMA、PSHP1、PSM-P1、PSM-P2(与例如前列腺癌相关),(f)免疫球蛋白独特

型(例如与骨髓瘤和B细胞淋巴瘤相关),以及(g)其他肿瘤抗原,例如含多肽和糖的抗原,包括(i)糖蛋白,例如唾液酸Tn和唾液酸Lex(与例如乳腺癌和结直肠癌相关)以及各种黏蛋白;糖蛋白与载体蛋白偶联(例如MUC-1与KLH偶联);(ii)脂多肽(例如,与脂质部分连接的MUC-1);(iii)多糖(例如,Globo H合成己糖),其与载体蛋白(例如,KLH)偶联;(iv)神经节苷脂,例如GM2、GM12、GD2、GD3(与例如脑癌、肺癌、黑素瘤相关),其也与载体蛋白(例如,KLH)偶联。

[0417] 在某些实施例中,肿瘤抗原包括但不限于p15、Hom/MeI-40、H-Ras、E2A-PRL、H4-RET、IGH-IGK、MYL-RAR、爱泼斯坦-巴尔二氏病毒抗原、EBNA、人乳头瘤病毒(HPV)抗原(包括E6和E7)、乙型和丙型肝炎病毒抗原、人类嗜T淋巴细胞病毒抗原、TSP-180、p185erbB2、p180erbB-3、c-met、nm-23H1、TAG-72-4、CA 19-9、CA 72-4、CAM 17.1、NuMa、K-ras、p16、TAGE、PSCA、CT7、43-9F、5T4、791Tgp72、 β -HCG、BCA225、BTAA、CA 125、CA15-3(CA 27.29\BCAA)、CA 195、CA 242、CA-50、CAM43、CD68\KP1、C0-029、FGF-5、Ga733(EpCAM)、HTgp-175、M344、MA-50、MG7-Ag、MOV18、NB/70K、NY-CO-1、RCAS1、SDCCAG16、TA-90(Mac-2结合蛋白\亲环蛋白C相关蛋白)、TAAL6、TAG72、TLP、TPS等。

G. 试剂盒

[0418] 本披露的方面包括具有如本文所述的组合物的试剂盒。

[0419] 试剂盒可以包括具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物、以及治疗性支持体组合物。试剂盒可以包括具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物、和具有式(II)或式(III)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物。

[0420] 试剂盒可以包括具有式(II)或式(III)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物、和一种或多种免疫调节剂或其药学上可接受的盐或组合物、以及任选地治疗性支持体组合物。试剂盒可以包括如本文所述治疗性支持体组合物和一种或多种免疫调节剂或其药学上可接受的盐或组合物。

[0421] 治疗性支持体组合物、一种或多种免疫调节剂、和具有式(I)、(II)、和/或(III)的化合物可以在包装中的独立容器中。一种或多种治疗性支持体组合物可以提供于试剂盒中。

[0422] 本文所述的试剂盒可包括配置为包含组合物(例如,治疗性支持体组合物和/或一种或多种免疫调节剂)的包装。类似地,一种或多种具有式(I)、(II)、和/或(III)的化合物可以在试剂盒中提供。包装可以是密封包装,如无菌密封包装。“无菌”意指基本上不存在微生物(如真菌、细菌、病毒、孢子形式等)。在一些情况下,包装可以被配置成任选在气密和/或真空密闭下密封,例如不透水蒸气的包装。

[0423] 在某些实施例中,试剂盒包括可以用作如本文所述的可释放接头的释放剂的试剂。释放试剂可以是本文所述的释放剂中的任何一种,如但不限于化学释放剂(例如,酸、碱、氧化剂、还原剂等)、溶剂等。试剂盒中的释放试剂可以按任何便利的形式提供,如但不限于气体、溶液、固体、颗粒、粉末、悬浮液等。释放试剂可以包装在与试剂盒中的一种或多种组合物分开的容器中。

[0424] 除以上组分以外,这些主题试剂盒可以进一步包括用于实施这些主题方法的说明书。这些说明书可以按多种形式存在于这些主题试剂盒中,这些形式中的一种或多种可以存在于试剂盒中。这些说明书可以存在的一种形式是作为适合的介质或衬底(例如,一张或

多张纸,信息打印在这些纸上)上的、在试剂盒的包装中、在包装插入物中等的打印信息。这些说明书的另一种形式将是上面已经记录或存储信息的计算机可读介质,例如CD、DVD、蓝光光碟(Blu-Ray)、计算机可读存储器(例如,闪存)等。这些说明书可以存在的又另一种形式是可以在远离的地方经由因特网来获取信息而使用的网址。任何方便的手段可以存在于这些试剂盒中。

H. 实例

[0425] 本披露具有多个方面,这些方面通过以下非限制性实例说明。提出以下实例以便向本领域普通技术人员提供如何制备和使用本发明的完整披露和描述,并且不旨在限制诸位发明人看待其发明的范围,它们也不旨在表示以下实验是进行的全部或仅有的实验。缩写:

ACN 乙腈
dapto 达托霉素
DCM 二氯甲烷
DIPEA 二异丙基乙胺
DMF N,N-二甲基甲酰胺
DMSO 二甲亚砜
doxo 阿霉素
Et 乙基
EtOAc 乙酸乙酯
FCC 快速柱色谱
h或hr 小时
HA 透明质酸
HAT 四嗪修饰的透明质酸
HMT 四嗪修饰的水凝胶
HOAt 1-羟基-7-氮杂苯并三唑
LCMS 液相色谱法-质谱法
Me 甲基
MeCN 乙腈
MeOH 甲醇
MeTz 甲基四嗪
min 分钟
MTD 最大耐受剂量
NHS N-羟基琥珀酰亚胺
PBS 磷酸盐缓冲盐水
Ph 苯基
ppm 百万分率
rt/RT 室温
SEM 平均值标准误差
TAG 四嗪修饰的激活型凝胶

TCO 反式环辛烯

TEA 三乙胺

THF 四氢呋喃

TFA 三氟乙酸

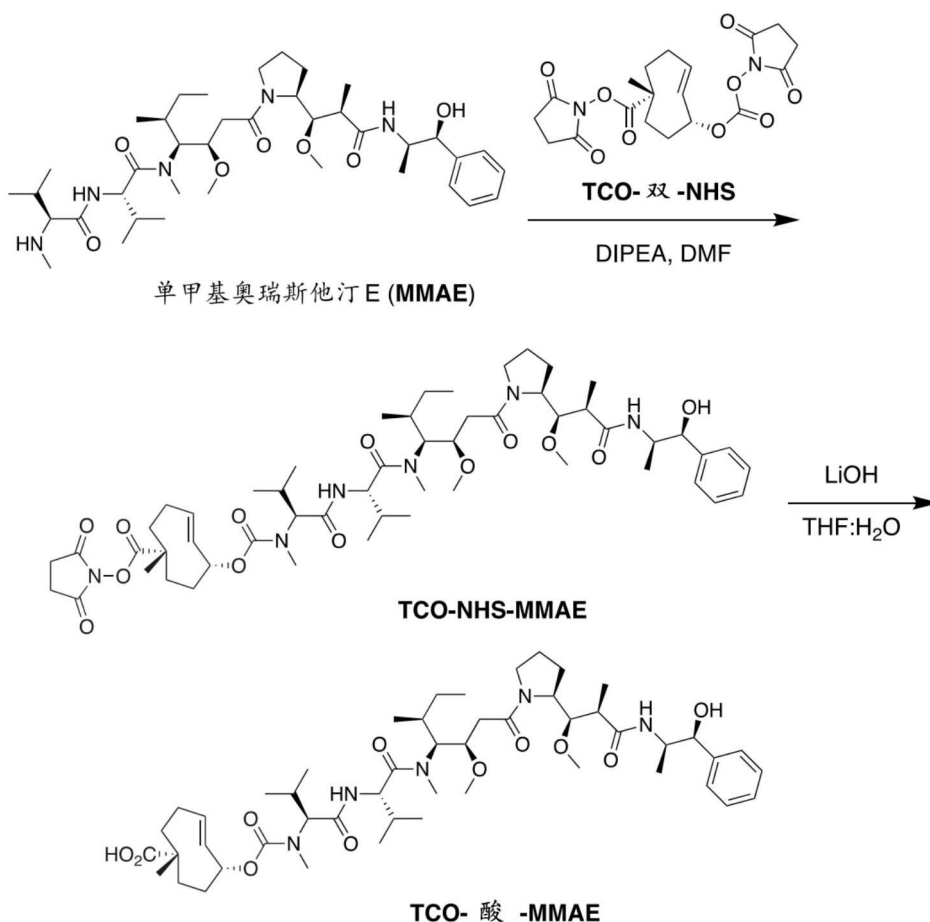
实例1

反式环辛烯-抗体缀合物(预示性实例)

[0426] 将抗体(2.5mg/mL)在水性缓冲液(50mM磷酸钾、50mM氯化钠、2mM乙二胺四乙酸二钠盐)(pH 6.5)中的溶液与摩尔过量的在二甲基乙酰胺(DMA)中的反式环辛烯衍生的碳酸盐一起孵育。使反应在环境温度下进行,并在完成后通过凝胶过滤柱纯化。使用已知的抗体消光系数通过分光光度法确定缀合物的浓度。

实例2

TCO-单甲基奥瑞斯他汀E(TCO-MMAE)缀合物的合成

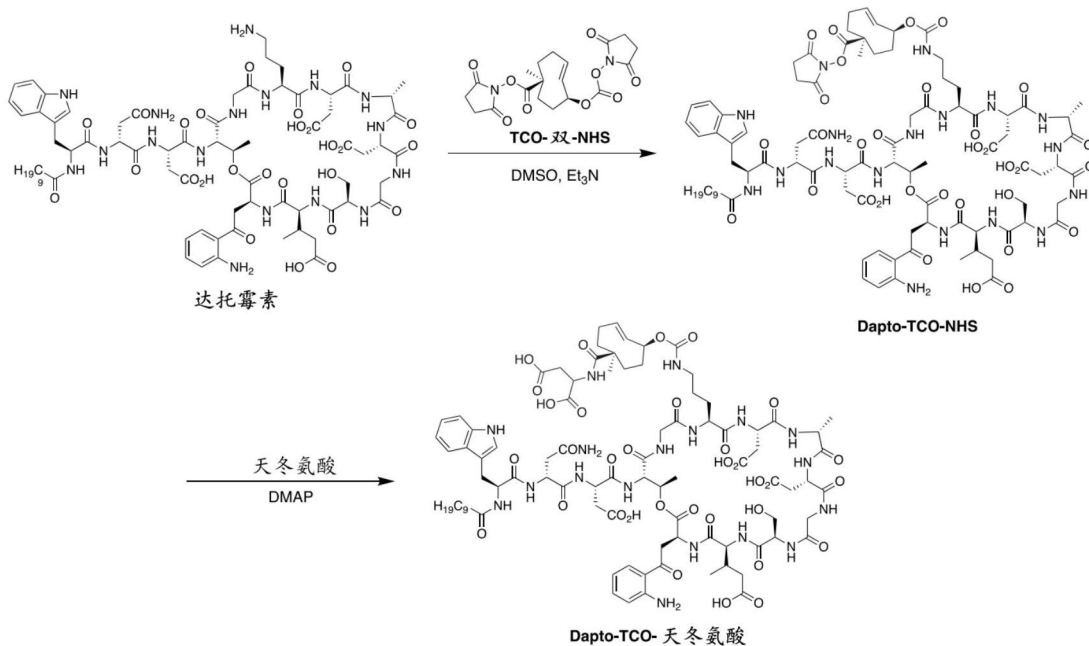


[0427] TCO-MMAE缀合物的制备.在rt,向在DMF(2mL)中的单甲基奥瑞斯他汀E(170mg, 0.24mmol)中添加TCO-双-NHS(100mg,0.24mmol)和DIPEA(93mg,0.72mmol)。将溶液在rt搅拌20h,添加乙腈(ACN,8mL)并且将混合物通过制备型HPLC(ACN/水,0至100%,甲酸0.1%)纯化以给出TCO-NHS-MMAE(88mg,36%)。在rt,向在THF(2mL)和H₂O(2mL)中的TCO-NHS-MMAE(78mg,0.076mmol)中添加LiOH(9.2mg,0.38mmol)。将溶液在rt下搅拌20h。除去溶剂后,添加HCl(水性,0.5N)至pH约3。将混合物通过制备型HPLC(ACN/水,0至100%,甲酸0.1%)纯化以给出TCO-酸-MMAE(54mg,76%,两种异构体)。LCMS:(ESI+)928[M+H]。

[0428] TCO-酸-MMAE的合成代表了多肽N-末端氨基的官能化。

实例3

Dapto-TCO-氨基酸合成

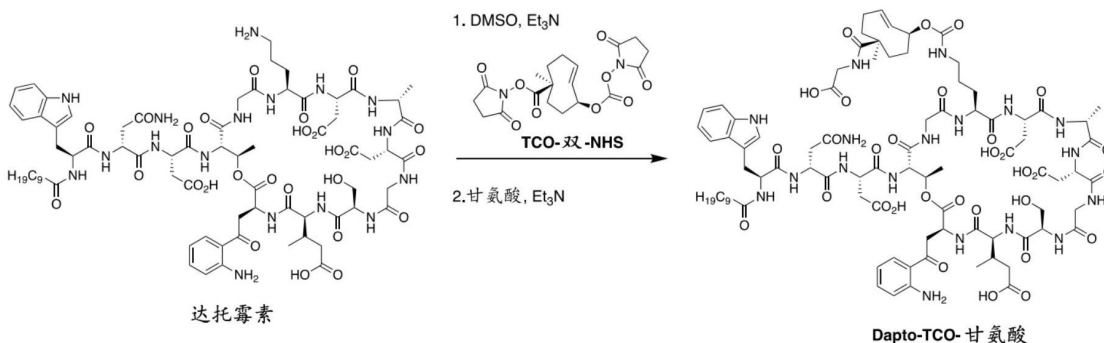


[0429] 实例方案:向DMSO中添加达托霉素(100mg,0.062mmol)、TCO-双-NHS(62.5mg,0.149mmol)和三乙胺(62.5μL,45.3mg,0.448mmol)并且在RT搅拌过夜以产生Dapto-TCO-NHS.LCMS:(ESI⁻)1926.8[M-H]。向Dapto-TCO-NHS(126.1mg,0.0654mmol)中添加天冬氨酸(104.5mg,0.785mmol)和4-二甲基氨基吡啶(150.9mg,1.235mmol)并且在37℃下搅拌18h。通过HPLC纯化以得到Dapto-TCO-天冬氨酸。产量:100mg,0.0514mmol.LCMS:(ESI⁻)1944.8[M-H]。

[0430] 这种方法已用于生产甘氨酸和天冬氨酸修饰的TCO前药,并且通常也可用于掺入其他氨基酸货物。

实例4

达托霉素-TCO-甘氨酸缀合物

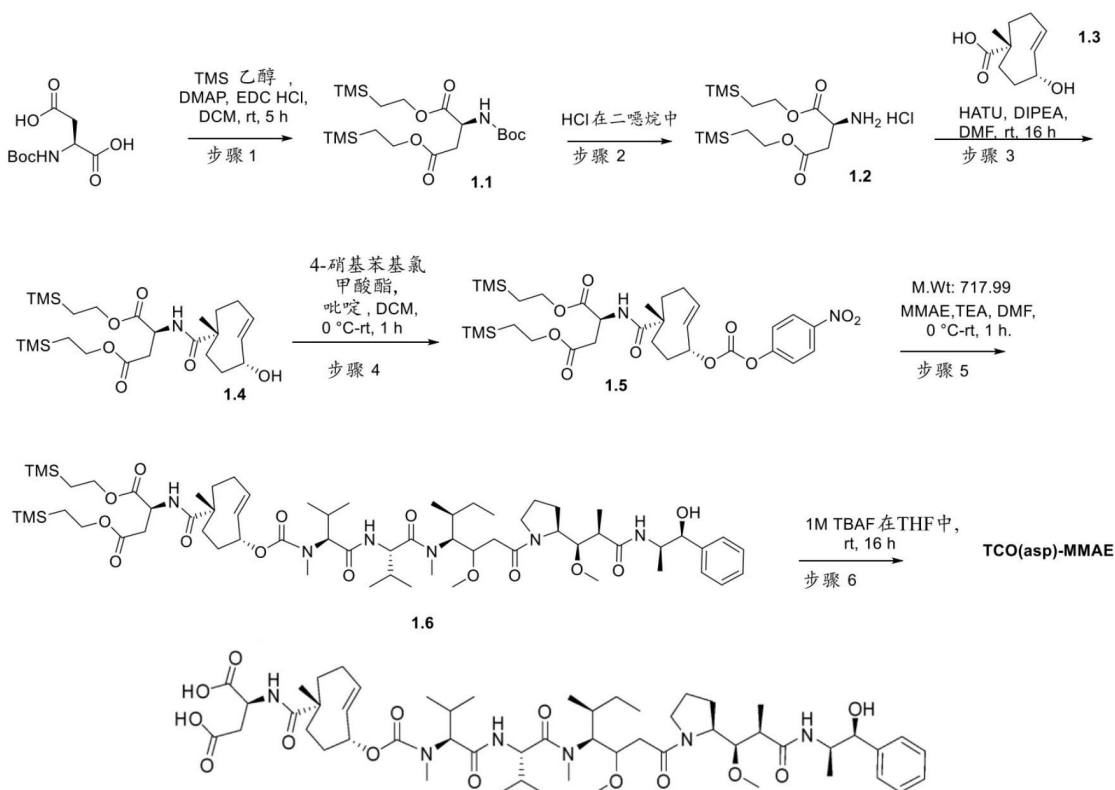


[0431] 达托霉素(537mg,0.33mmol)、TCO-双-NHS(350mg,0.83mmol)和三乙胺(0.350mL,2.51mmol)在DMSO(11mL)中。在RT搅拌过夜。然后加热至37℃。添加甘氨酸(300mg,4.00mmol)和三乙胺(1.8mL,13mmol)并搅拌18h。添加8mL水并通过HPLC纯化。产量:Dapto-TCO-甘氨酸-373mg,0.20mmol,59.6%。

[0432] Dapto-TCO-甘氨酸和Dapto-TCO-天冬氨酸的合成是多肽赖氨酸侧链衍生化的代表。

实例5

MMAE-TCO-Asp缀合物



[0433] 双(2-(三甲基甲硅烷基)乙基)(叔丁氧羰基)-L-天冬氨酸酯(1.1)。步骤-1:向Boc-Asp-OH(10.0g,42.9mmol,1.0eq.,Combi-blocks公司QA-1348)、DIEA(37.3mL,214.0mmol,5.0eq.)、2-(三甲基甲硅烷基)乙烷-1-醇(12.2g,103.0mmol,2.4eq.)、和DMAP(1.1g,8.6mmol,0.2eq.)在DCM(200.0mL)(在冰浴中冷却)中的混合物中添加EDC(23.0g,120.0mmol,2.8eq.)。将混合物在rt下搅拌过夜,用DCM(100.0mL)稀释,并用水性HCl(0.5M)洗涤直至有机层中的pH变成中性。将有机层进一步用饱和NaHCO₃溶液洗涤,用Na₂SO₄干燥并过滤。将滤液浓缩并通过快速色谱法(ISCO柱,220g)、使用在己烷中的EtOAc梯度(0-30%)纯化以得到13.0g(70%)的呈无色油状物的双(2-(三甲基甲硅烷基)乙基)(叔丁氧羰基)-L-天冬氨酸酯。¹H-NMR(300MHz,CDCl₃):5.50(br d,J=8.79Hz,1H),4.61-4.48(m,1H),4.30-4.14(m,4H),3.04-2.93(m,1H),2.83-2.73(m,1H),1.45(s,9H),1.06-0.94(m,4H),0.004(s,9H),0.03(s,9H)。

[0434] 双(2-(三甲基甲硅烷基)乙基)L-天冬氨酸盐酸盐(1.2)。步骤-2:向化合物-1.1(10.4g,24.0mmol)在干DCM(30mL)(在冰浴中冷却)中的溶液中添加HCl(100mL,2.0M HCl在乙醚中)。在rt下搅拌90min后,向混合物中添加更多HCl(100mL,4.0M HCl在二噁烷中)。LCMS监测反应完成后,将混合物浓缩至干。悬浮在EtOAc中并重新浓缩。获得11.4g(约20wt%溶剂)的呈焦油状残余物的2-(三甲基甲硅烷基)乙烷-1-醇。(+esi)[M+H]⁺=334。

[0435] 双(2-(三甲基甲硅烷基)乙基)((1R,6R,E)-6-羟基-1-甲基环辛-4-烯-1-羰基)-L-天冬氨酸酯(1.4)。步骤-3:向化合物-1.2(11.0g,80%纯,23.9mmol,2.0eq.)在DMF

(100.0mL)中的溶液中依次添加DIPEA(11.0mL,62.7mmol,5.3eq.)、(1R,6R,E)-6-羟基-1-甲基环辛-4-烯-1-羧酸(1.3)(2.2g,11.9mmol,1.0eq.)、和HATU(9.1g,23.9mmol,2.0eq.)。将混合物在RT下搅拌过夜,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Na₂SO₄干燥并过滤。将滤液浓缩,并通过快速色谱法(220g,ISCO柱)、用在己烷中的EtOAc梯度(0-70%)和在己烷中的70% EtOAc等度洗脱来纯化以得到3.96g(75%纯,50%产率)的呈粘性油状物的双(2-(三甲基甲硅烷基)乙基)((1R,6R,E)-6-羟基-1-甲基环辛-4-烯-1-羧基)-L-天冬氨酸酯。(+esi)[M+H]⁺=500.4。

[0436] 双(2-(三甲基甲硅烷基)乙基)((1R,6R,E)-1-甲基-6-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)环辛-4-烯-1-羧基)-L-天冬氨酸酯(1.5)。步骤-4:向化合物1.4(4.0g,7.9mmol,1.0eq.)在无水DCM(113mL)中的溶液中添加吡啶(1.88g,23.8mmol,3.0eq.)。向该混合物(在冰浴中冷却)中缓慢添加氯甲酸对硝基苯酯(2.1g,10.3mmol,1.3eq.)在DCM(28mL)中的溶液。将混合物在RT下搅拌12h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。将残余物溶解于极少量的DCM中,并通过快速色谱法在220g硅胶柱(ISCO)(以己烷中的EtOAc的逐步梯度(0-40%)作为洗脱剂)上纯化,得到2.91g(44%产率,所需产物在约30% EtOAc中洗脱,与对硝基苯酚共洗脱)的粘性油状物。

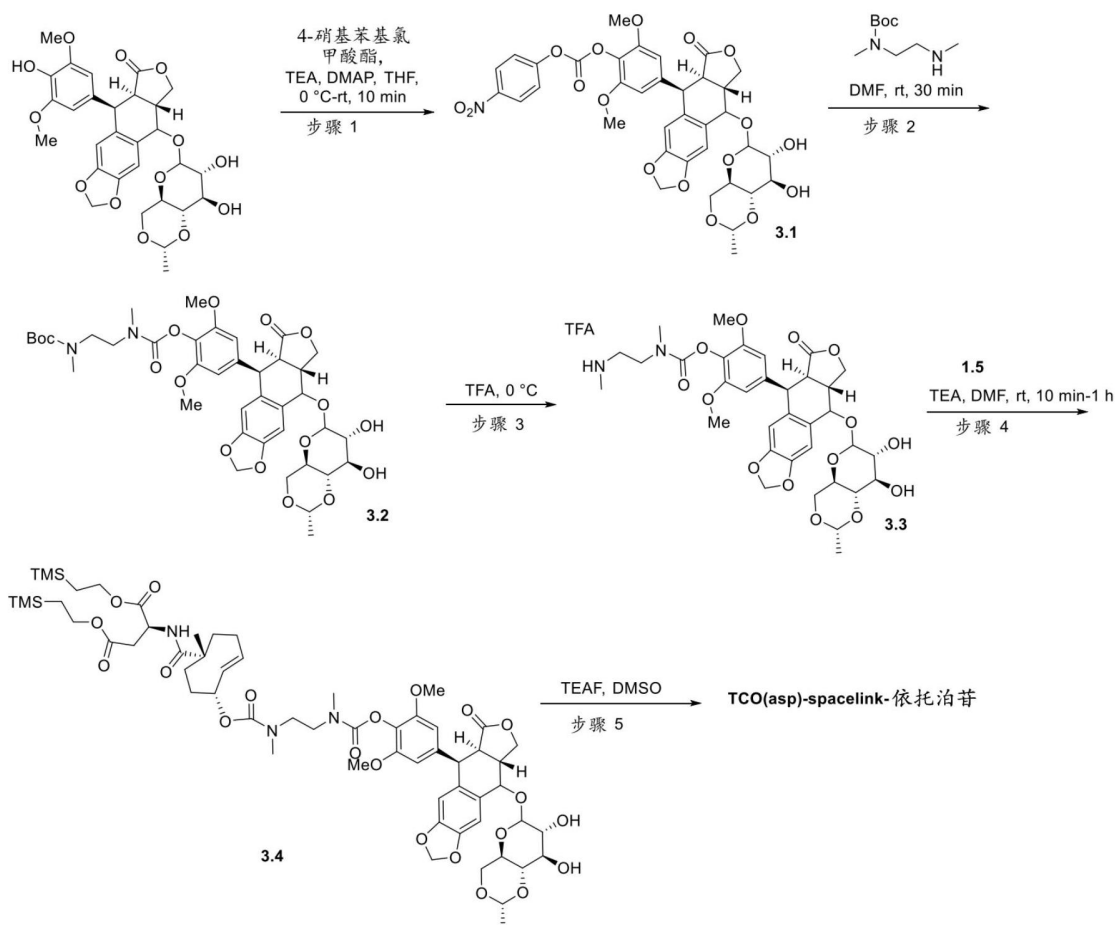
[0437] 双(2-(三甲基甲硅烷基)乙基)((1R,6R,E)-6-((((2S)-1-(((2S)-1-((4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)(甲基)氨基甲酰基)氧基)-1-甲基环辛-4-烯-1-羧基)-L-天冬氨酸酯(1.6)。步骤5:向双(2-(三甲基甲硅烷基)乙基)((1R,6R,E)-1-甲基-6-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)环辛-4-烯-1-羧基)-L-天冬氨酸酯(1.5,296mg,0.45mmol,1.0eq.) (冷却至0°C)中添加(2S)-N-((4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-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(352mg,0.49mmol,1.1eq.,单甲基奥瑞斯他汀E,Advanced ChemBlock公司)、DIPEA(173mg,1.34mmol,3.0eq.)、和HOBt(173mg,0.89mmol,2.0eq.)。将混合物在RT下搅拌过夜并用EtOAc稀释。将混合物用水(两次)和NH₄Cl水溶液洗涤,用Na₂SO₄干燥并过滤。将滤液在减压下浓缩并通过C18快速色谱法(100g,ISCO金盖C18快速柱)、使用乙腈和水的梯度(0至100%)纯化以得到499mg(90%)的呈油状物的双(2-(三甲基甲硅烷基)乙基)((1R,6R,E)-6-((((2S)-1-(((2S)-1-((4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-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)-1-甲基环辛-4-烯-1-羧基)-L-天冬氨酸酯。(+esi)[M+H]⁺=1244.3。

[0438] ((1R,6R,E)-6-((((2S)-1-(((2S)-1-((4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-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)-1-甲基环辛-4-烯-1-羧基)-L-天冬氨酸(TCO(asp)-MMAE)。步骤6:向在THF(10.0mL)中的双(2-(三甲基甲硅烷基)乙基)((1R,6R,E)-6-

(((2S)-1-(((2S)-1-(((4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-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)-1-甲基环辛-4-烯-1-羰基)-L-天冬氨酸酯(1.6,500mg,0.4mmol,1.0eq.)中添加入TBAF(1.0M在THF中)。将混合物在RT下搅拌过夜,并使用乙腈和水的梯度(0至100%)通过C18快速色谱法(100g,ISCO金盖C18快速柱)直接纯化,得到300mg固体,其含有约4摩尔当量的四丁基铵物质。将混合物溶解于EtOAc(20mL),用水(用稀HCl调节pH至3-5)洗涤六次,用Na₂SO₄干燥并过滤。浓缩滤液得到玻璃状固体,用乙醚处理并浓缩得到不含四丁基铵副产物的粉状固体。(-esi) [M-H]⁻ = 1042.1。

实例6

TCO(asp)-spacelink-依托泊苷



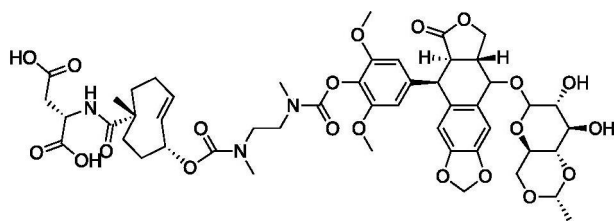
[0439] 4-((5R,5aR,8aR)-9-(((2R,4aR,7R,8R,8aS)-7,8-二羟基-2-甲基六氢吡喃[3,2-d][1,3]二噁英-6-基)氧基)-6-氧代-5,5a,6,8,8a,9-六氢咪喃[3',4':6,7]萘[2,3-d][1,3]二氧-5-基)-2,6-二甲氧基苯基(4-硝基苯基)甲酸酯(3.1)。步骤1:将依托泊苷(1.5g, 2.5mmol, 1.0eq.), 依托泊苷, Combi-blocks公司QA-7668)溶解于干燥的THF中。添加三乙胺(1.1mL, 7.6mmol, 3.0eq.)和DMAP(31mg, 0.25mmol, 0.1eq.)。将反应冷却至0°C。将PNP-氯甲酸酯(0.62g, 3.1mmol, 1.2eq.)溶解于THF并进行滴加。将该反应在室温下搅拌。通过TLC评估完成后,添加1mL的乙酸并将反应搅拌2min。过滤沉淀,减压浓缩滤液。将粗产物通过硅胶柱色谱法(使用在己烷中的0-100% EtOAc梯度)纯化以得到所需产物(2.25g, 82%产率,

70%纯),其仍被未反应的依托泊昔污染(约30%,如通过¹H NMR评估)。

[0440] 叔丁基(4-((5R,5aR,8aR)-9-(((2R,4aR,7R,8R,8aS)-7,8-二羟基-2-甲基六氢吡喃[3,2-d][1,3]二噁英-6-基)氧基)-6-氧代-5,5a,6,8,8a,9-六氢呋喃[3',4':6,7]萘[2,3-d][1,3]二氧-5-基)-2,6-二甲氧基苯基)乙烷-1,2-二基双(甲基氨基甲酸酯)(3.2)。步骤2:将化合物3.1溶解于DMF(10mL)并添加单-Boc保护的N,N-二甲基亚乙基-二胺(532mg,2.82mmol,1.1eq)。将反应搅拌30分钟。完成后,减压除去DMF并将粗产物通过快速色谱法(使用在己烷中的0-100% EtOAc梯度)纯化以给出所需产物(1.1g,53%产率)。(esi)M+NH₃+H⁺=820.8。

[0441] 4-((5R,5aR,8aR)-9-(((2R,4aR,7R,8R,8aS)-7,8-二羟基-2-甲基六氢吡喃[3,2-d][1,3]二噁英-6-基)氧基)-6-氧代-5,5a,6,8,8a,9-六氢呋喃[3',4':6,7]萘[2,3-d][1,3]二氧-5-基)-2,6-二甲氧基苯基甲基(2-(甲基氨基)乙基)氨基甲酸酯2,2,2-三氟乙酸酯(3.3)。步骤2:将来自上一步骤的化合物3.2(460mg,0.573mmol)溶解于DCM(10mL)并冷却至0°C。添加TFA(3mL)并将反应混合物搅拌1小时并浓缩至干。该材料无需进一步纯化而直接用于下一步骤。

[0442] 双(2-(三甲基甲硅烷基)乙基)((1R,6R,E)-6-(((2-(((4-((5R,5aR,8aR)-9-(((2R,4aR,7R,8R,8aS)-7,8-二羟基-2-甲基六氢吡喃[3,2-d][1,3]二噁英-6-基)氧基)-6-氧代-5,5a,6,8,8a,9-六氢呋喃[3',4':6,7]萘[2,3-d][1,3]二氧-5-基)-2,6-二甲氧基苯氧基)羰基)(甲基)氨基)乙基)(甲基)氨基甲酰基)氧基)-1-甲基环辛-4-烯-1-羰基)-L-天冬氨酸酯(3.4)。步骤4:将化合物3.3(464mg,0.579mmol,1.1eq)溶解于DMF(3.0mL)。添加HOBT(202mg,1.05mmol,2eq)和DIPEA(0.275mL,1.58mmol,3eq)。将化合物1.5(350mg,0.526mmol,1.0eq)溶解于DCM(2.0mL)并添加至上述溶液。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。将反应用EtOAc和氯化铵水溶液分配。将有机层用水洗涤,用硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将该材料用色谱法分析4X,首先使用己烷:丙酮梯度,然后使用己烷:EtOAc梯度,然后使用DCM:EtOAc梯度,最后使用DCM:ACN梯度。最终的色谱法清除了紧邻洗脱的杂质,所需化合物在大约70%ACN:30% DCM中洗脱。将级分合并并浓缩以产生所需靶物质(94mg,17%产率)。(esi)M+H⁺=1228.1。

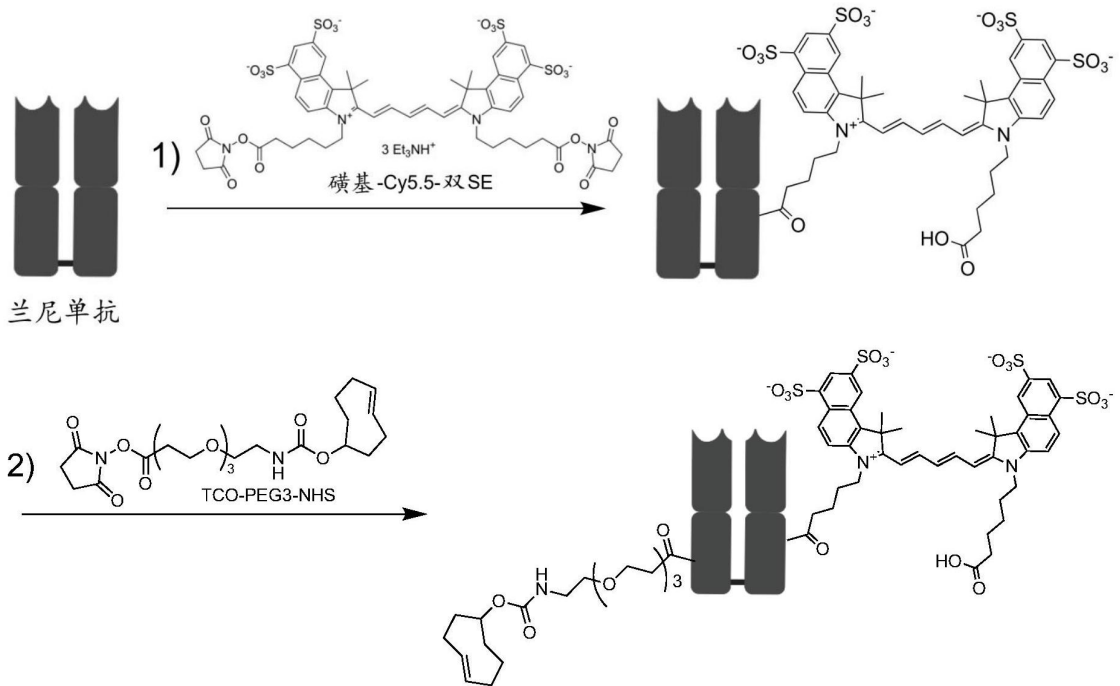


[0443] ((1R,6R,E)-6-(((2-(((4-((5R,5aR,8aR)-9-(((2R,4aR,7R,8R,8aS)-7,8-二羟基-2-甲基六氢吡喃[3,2-d][1,3]二噁英-6-基)氧基)-6-氧代-5,5a,6,8,8a,9-六氢呋喃[3',4':6,7]萘[2,3-d][1,3]二氧-5-基)-2,6-二甲氧基苯氧基)羰基)(甲基)氨基)乙基)(甲基)氨基甲酰基)氧基)-1-甲基环辛-4-烯-1-羰基)-L-天冬氨酸(TCO(asp)-spacelink-依托泊昔)。步骤5:将化合物3.4溶解于DMSO(1.0mL)。一次性添加四乙基氟化铵x H₂O(78.2mg,0.524mmol)。将反应搅拌105分钟并根据有利的LC-MS曲线进行处理。将反应用EtOAc和水分配,用稀HCl酸化至pH 4。将有机相用水(2X)洗涤,然后用硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物通过制备型HPLC(在含有0.1%甲酸的H₂O中的ACN梯度)纯化。合并含有纯化

合物的级分并冻干以获得白色冻干物(42mg,55%产率)。(esi) $[M-H]^- = 1026.2$ 。

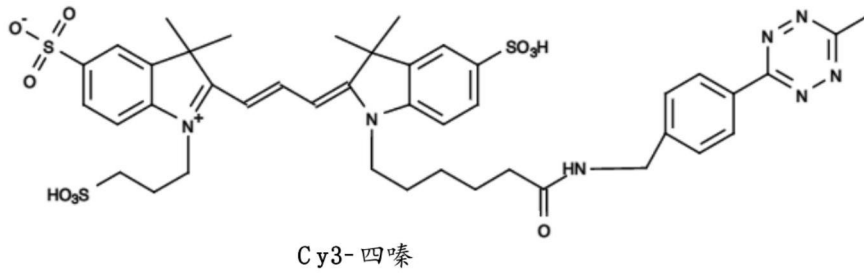
实例7

兰尼单抗-Cy5.5-TCO缀合物



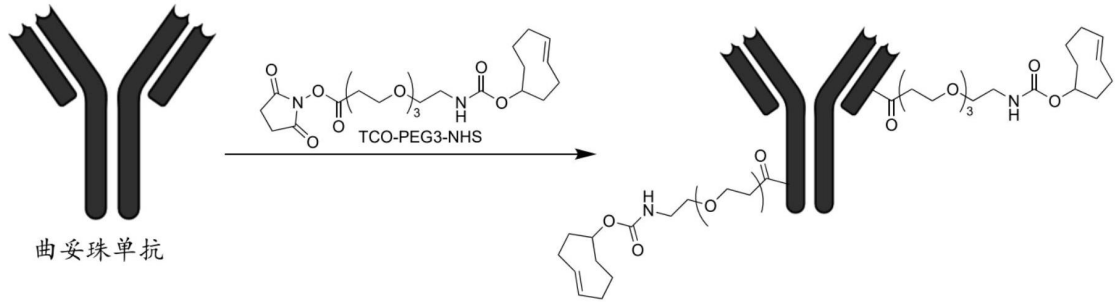
[0444] 将在PBS中的兰尼单抗溶液的pH用碳酸氢盐缓冲液(1M)调节至pH 8.5。将荧光染料磺化的Cy5.5-双琥珀酰亚胺酯(BisSE)(AAT BioQuest公司目录号158)溶解在DMSO中至10mM并添加到蛋白质溶液(75 μ g染料/mg蛋白质,总计750 μ g,约2.5当量)中。将反应混合物在室温下旋转1小时。根据制造商的说明,使用PBS平衡的PD-10脱盐柱通过缓冲液交换纯化产物。收集产物并通过测量UV吸光度并使用标记度计算器(Degree of Labeling Calculator)(<https://www.aatbio.com/tools/degree-of-labeling-calculator>)计算蛋白质浓度和标记率。标记比率为1.5。保留1mg并用PBS稀释至3.1mg/mL,然后用0.22 μ m注射器过滤器过滤以对产物进行灭菌。内毒素测得为3.8EU/mL。剩余的材料用于制备TCO缀合物。

[0445] 将在PBS中的兰尼单抗-Cy5.5缀合物溶液(0.71mL,8.5mg/mL)的pH用碳酸氢盐缓冲液(1M)调节至pH 8.5。将反式环辛烯-PEG3-NHS(SiChem#SC-8406)(10mM在DMSO中)添加到溶液(约38 μ g试剂/mg蛋白质,总计约225 μ g,约3.8当量)中。将反应混合物在室温下旋转1小时。根据制造商的说明,使用PBS平衡的PD-10脱盐柱通过缓冲液交换纯化产物。收集产物。用Cy3-四嗪(AAT Bioquest公司,目录号910)处理缀合物样品并使用标记度计算器(Degree of Labeling Calculator)(<https://www.aatbio.com/tools/degree-of-labeling-calculator>)计算蛋白质浓度和标记率。标记比率为1.8。通过用0.22 μ m注射器过滤器进行过滤将溶液灭菌。最终产物产生0.71mL的溶液,其中蛋白质浓度为5.4mg/mL。内毒素测得为6.5EU/mL。



实例8

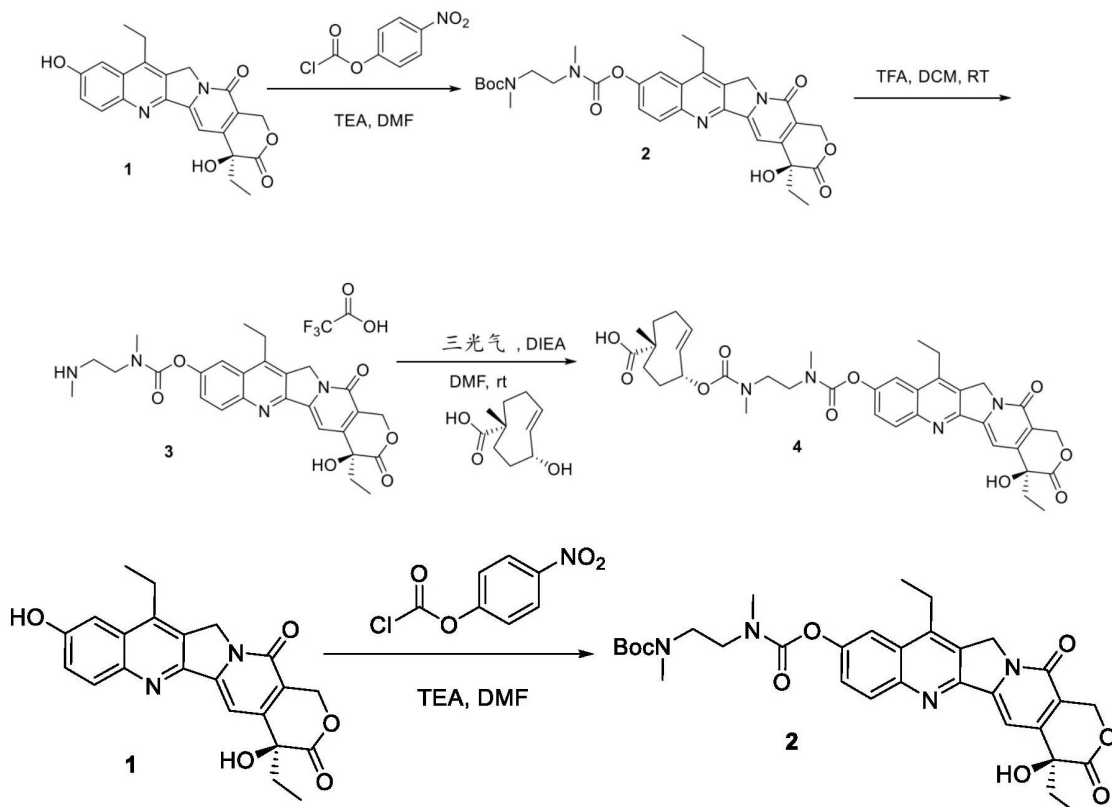
反式环辛烯-曲妥单抗缀合物



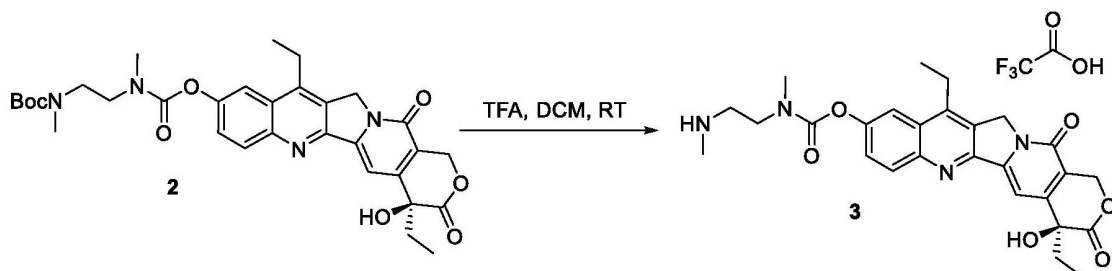
[0446] 将抗体例如曲妥单抗 (2.51mg/mL) 在水性缓冲液 (50mM磷酸钾、50mM氯化钠、2mM乙二胺四乙酸二钠盐PBS) (pH 7.46.5) 中的溶液与5倍摩尔过量的在二甲基乙酰胺 (DMA) 中的反式环辛烯-NHS酯衍生的碳酸盐一起孵育。使反应在环境温度下进行1小时。然后将反应混合物应用于NAP-10柱, 用PBS平衡, 然后用pH 7.4的新鲜PBS洗脱, 完成后, 通过凝胶过滤柱纯化。使用已知的抗体消光系数通过分光光度法确定缀合物的浓度。TCO有效浓度的量化可以通过用适当的四嗪官能化荧光染料处理缀合物样品, 然后通过SDS-PAGE分离和测量与蛋白质条带相关的荧光信号来测量。

实例9

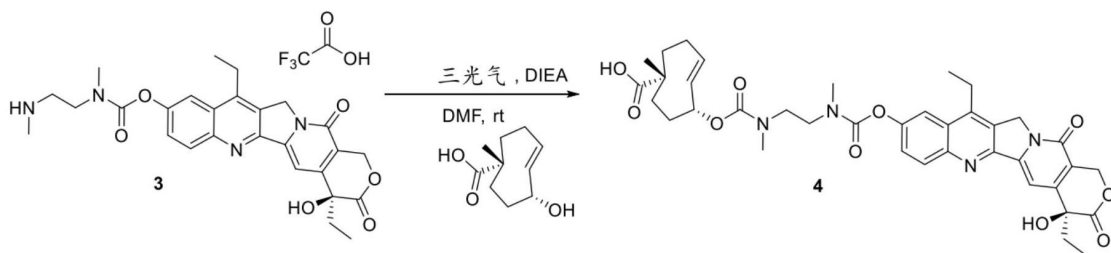
TCO-spacelink-SN-38



[0447] (S)-叔丁基(4,11-二乙基-4-羟基-3,14-二氧-3,4,12,14-四氢-1H-吡喃[3',4':6,7]中氮茛[1,2-b]喹啉-9-基)乙烷e-1,2-二基双(甲基氨基甲酸酯)。向7-乙基-10-羟基喜树碱(SN-38, 660mg, 1.68mmol)在DMF(30mL)中的溶液中添加4-硝基苯基氯甲酸酯(336mg, 1.68mmol)和Et₃N(708μL, 504mg, 5.04mmol)。将混合物在室温搅拌1.5hr。向混合物中添加Et₃N(708μL, 504mg, 5.04mmol)和4-硝基苯基氯甲酸酯(336mg, 1.68mmol)。将混合物再搅拌20min并添加叔丁基甲基[2-(甲基氨基)乙基]氨基甲酸酯(948mg, 5.04mmol)在DMF(10.68mL)中的溶液。将混合物在室温搅拌1h并添加水(20mL)。将反应混合物用EtOAc(4*50ml)萃取。将有机相用水(3*20mL)洗涤,干燥(Na₂SO₄)并浓缩。将残余物用硅胶色谱法(DCM至在DCM中的10% MeOH)纯化以给出呈微黄色固体的所需产物(343mg, 产率:41%)。LCMS:(m/z, C₄H₉N₄O₈) = 607.2[M+H]⁺。



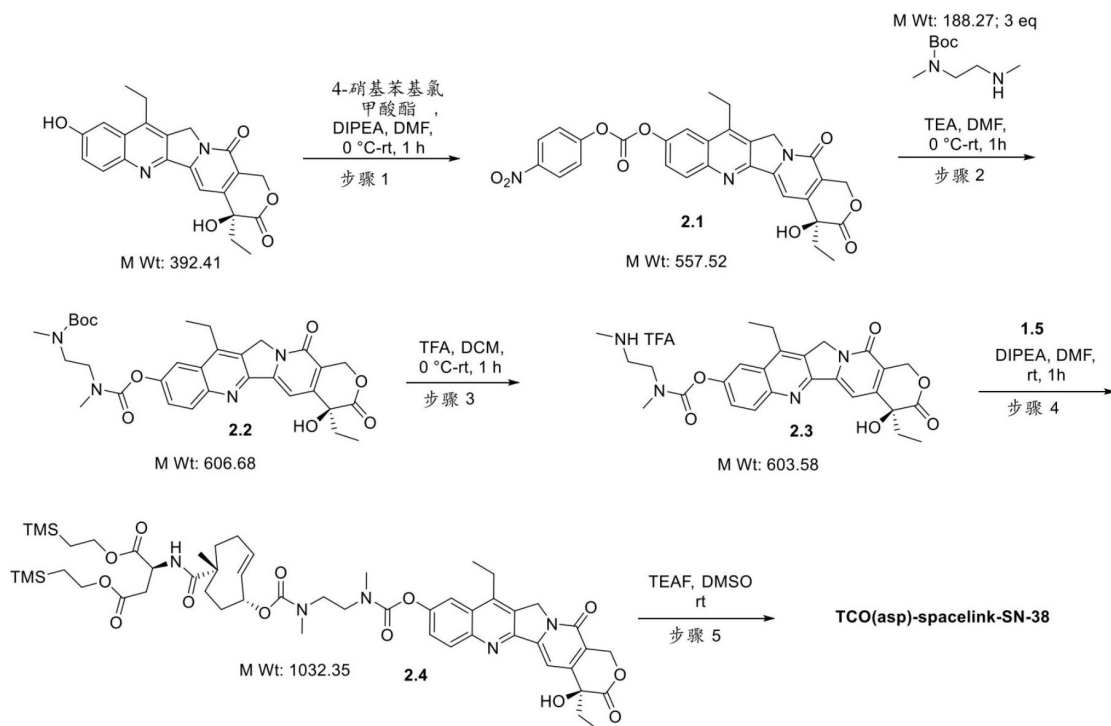
[0448] (S)-4,11-二乙基-4-羟基-3,14-二氧-3,4,12,14-四氢-1H-吡喃[3',4':6,7]中氮茛[1,2-b]喹啉-9-基甲基(2-(甲基氨基)乙基)氨基甲酸酯2,2,2-三氟乙酸酯。向化合物2(343mg, 0.57mmol)在DCM(3mL)中的搅拌混合物中添加TFA(0.5mL)。将混合物在室温搅拌2hr。将所得混合物浓缩并真空干燥以给出呈白色固体的粗制化合物3(280mg)。该残余物不经进一步纯化即用于下一步骤。LCMS:(m/z, C₂₉H₃₁N₄F₃O₈) = 507.1[M+H]⁺。



[0449] TCO-spacelink-SN-38. 向三光气 (47.5mg, 0.16mmol) 在DMF (4mL) 中的搅拌混合物中添加 (1R,6R,E)-6-羟基-1-甲基环辛-4-烯-1-羧酸 (82.8mg, 0.45mmol) 和DIPEA (116.0mg, 0.9mmol)。将混合物在室温下搅拌30min。将混合物添加到化合物3 (280.0mg, 0.45mmol) 和DIPEA (116.0mg, 0.9mmol) 在DMF (3mL) 中的混合物中。将所得的混合物在室温下搅拌12小时。将混合物通过制备型HPLC ((CH₃CN/H₂O (FA)) 0%至70%) 纯化以给出所需产物 (105mg, 产率32%)。LCMS: (m/z, C₃₉H₄₆N₄O₁₂) = 717.4 [M+H]⁺。

实例10

TCO (asp) -spacelink-SN-38



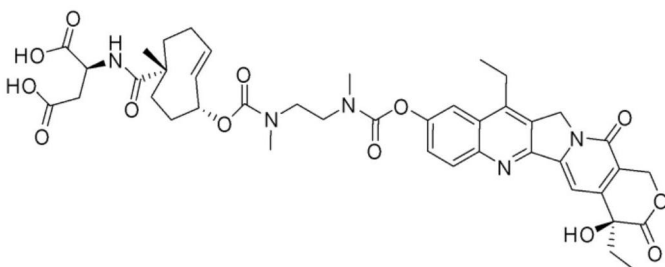
[0450] (S)-4,11-二乙基-4-羟基-3,14-二氧-3,4,12,14-四氢-1H-吡喃[3',4':6,7]中氮茛[1,2-b]喹啉-9-基(4-硝基苯基)甲酸酯(2.1)。步骤-1: 在0°C下, 将4-硝基苯基氯甲酸酯(771mg, 3.82mmol) 添加到SN-38 (1.25g, 3.19mmol, Advanced ChemBlocks公司目录号10250, 批次10602) 和DIPEA (1.25mL, 7.50mmol) 在DMF (20mL) 中的混合物中。将混合物在室温搅拌1h。通过TLC显示反应完成后, 将混合物用EtOAc稀释, 用水、盐水洗涤, 并经Na₂SO₄干燥, 浓缩, 并通过硅胶(使用在己烷中的0-100%EtOAc梯度) 纯化以得到所需产物。

[0451] (S)-叔丁基(4,11-二乙基-4-羟基-3,14-二氧-3,4,12,14-四氢-1H-吡喃[3',4':6,7]中氮茛[1,2-b]喹啉-9-基)乙烷-1,2-二基双(甲基氨基甲酸酯)(2.2)。步骤-2: 将来自上文的化合物(2.1) 溶解于DMF (10mL) 并添加单-Boc保护的N,N-二甲基亚乙基-二胺(1.76g, 9.37mmol, 2.5eq)。将反应搅拌30分钟。完成后, 减压除去DMF并将粗产物通过快速

色谱法(乙酸乙酯100%)纯化以给出所需产物(1.3g,经2步57%产率)。(+esi) $[M+H]^+ = 607.5$ 。

[0452] (S)-4,11-二乙基-4-羟基-3,14-二氧-3,4,12,14-四氢-1H-吡喃[3',4':6,7]中氮茛[1,2-b]喹啉-9-基甲基(2-(甲基氨基)乙基)氨基甲酸酯2,2,2-三氟乙酸酯(2.3)。步骤3:将来自上文的化合物2.2(514mg,0.847mmol)溶解于DCM(10mL)并冷却至0°C。添加TFA(2.0mL)并将混合物搅拌20分钟,然后回到室温持续1小时。将反应混合物浓缩至干,重新溶解在二氯乙烷中并重新浓缩。该粗材料不需进行另外的纯化即可用于后续步骤。

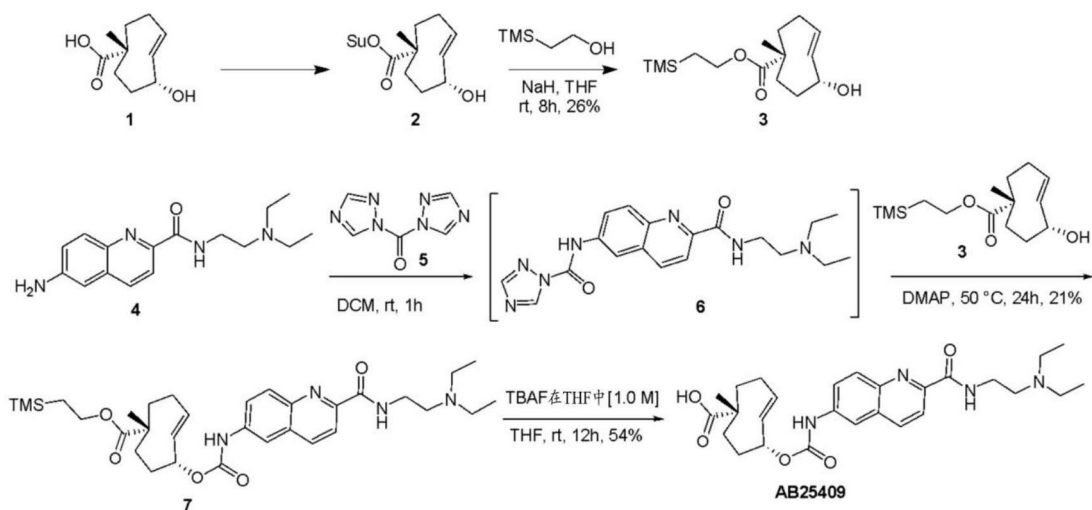
[0453] 双(2-(三甲基甲硅烷基)乙基)((1R,6R,E)-6-(((2-(((S)-4,11-二乙基-4-羟基-3,14-二氧-3,4,12,14-四氢-1H-吡喃[3',4':6,7]中氮茛[1,2-b]喹啉-9-基)氧基)羰基)(甲基)氨基)乙基)(甲基)氨基甲酰基)氧基)-1-甲基环辛-4-烯-1-羰基)-L-天冬氨酸酯(2.4)。步骤4:将化合物2.3(513mg,0.827mmol,1.1eq)溶解于DMF(5.0mL)。添加DIPEA(0.393μL,2.26mmol,3eq)和HOBT(288mg,1.50mmol,2eq)。然后将中间体1.5(500mg,0.752mmol,1.0当量)作为极少量DCM中的溶液添加。将反应混合物在室温下搅拌过夜,然后用EtOAc和氯化铵水溶液分配。将有机相用水洗涤,用硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物溶解于极少量DCM中并加载到40g硅胶柱(ISCO)上用于使用己烷中的0-100% EtOAc梯度通过快速色谱法纯化。将所需级分在100% EtOAc下洗脱,紧接在缺少二胺间隔物的紧邻洗脱的杂质($M+H^+ = 918.5$,156mg,23%产率)之后。将含有最新洗脱峰和目标化合物的级分合并并浓缩,得到产物(406mg,52.3%产率)。(+esi) $[M+H]^+ = 1032.4$ 。



[0454] ((1R,6R,E)-6-(((2-(((S)-4,11-二乙基-4-羟基-3,14-二氧-3,4,12,14-四氢-1H-吡喃[3',4':6,7]中氮茛[1,2-b]喹啉-9-基)氧基)羰基)(甲基)氨基)乙基)(甲基)氨基甲酰基)氧基)-1-甲基环辛-4-烯-1-羰基)-L-天冬氨酸(TCO(asp)-spacelink-SN-38,)。步骤5:将化合物2.4(272mg,0.263mmol)溶解于在配有带隔膜衬里的盖子的40mL小瓶中的DMSO(3.0mL)中。添加四乙基氟化铵 $\cdot x H_2O$ (393mg,2.63mmol)。反应物立即变成深绿色。2小时后,将反应用含有0.1% TFA的乙腈稀释并然后加载到平衡的C18快速金柱(ISCO,15.5g)上并在水(w/0.1% TFA)中的10%-100% ACN(w/0.1% TFA)梯度洗脱。将所需产物在约45% ACN中洗脱。将含有产物的两个级分冷干两天,并通过HPLC进行表征,指示存在一些其他紧邻洗脱的杂质。使用相同的流动相条件通过制备型HPLC进一步纯化产物。合并纯级分并浓缩以获得呈橙色冻干物的所需产物。 1H NMR指示存在过量水,所以将样品悬浮于乙腈中并浓缩至干,产生容易转移的橙色粉末(62mg,单三氟乙酸盐产率25%)。 1H NMR指示存在TFA。 $(-esi) [M-H]^- = 830.5$ 。

实例11

AB25409



[0455] 化合物2的一般制备程序化合物2根据文献程序 (Chem. Sci. [化学科学], 2021, 12, 1259) 制备。

[0456] 化合物3的一般制备程序向火焰干燥的圆底烧瓶中装入氢氧化钠 (60%, 399mg, 9.96mmol, 3.0eq.) 和干THF (10mL)。将混合物冷却至0°C并在0°C下滴加TMS-乙醇 (3.33mL, 23.2mmol, 7.0eq)。将混合物搅拌30min并在氮气氛下、在0°C下经由注射器缓慢添加化合物2 (934mg, 3.32mmol, 1eq.) 在无水的THF (3mL) 中的溶液。将反应加温至rt并继续搅拌8h。通过TLC监测反应的起始材料消耗。通过将反应混合物倒入冰水 (20mL) 中来淬灭反应并用乙酸乙酯 (3×50mL) 萃取。将合并的萃取物用饱和NH₄Cl洗涤并经Na₂SO₄干燥。浓缩后, 将残余物通过快速色谱法 (使用在己烷中的乙酸乙酯梯度 (0-20%)) 纯化以给出与TMS-乙醇混合的化合物3。然后将化合物在40°C的高真空中保持30min, 以给出化合物3 (405mg, 26%)。TLC: PE/EA=1/4。R_f (化合物2)=0.2。

R_f (产物, 3)=0.5

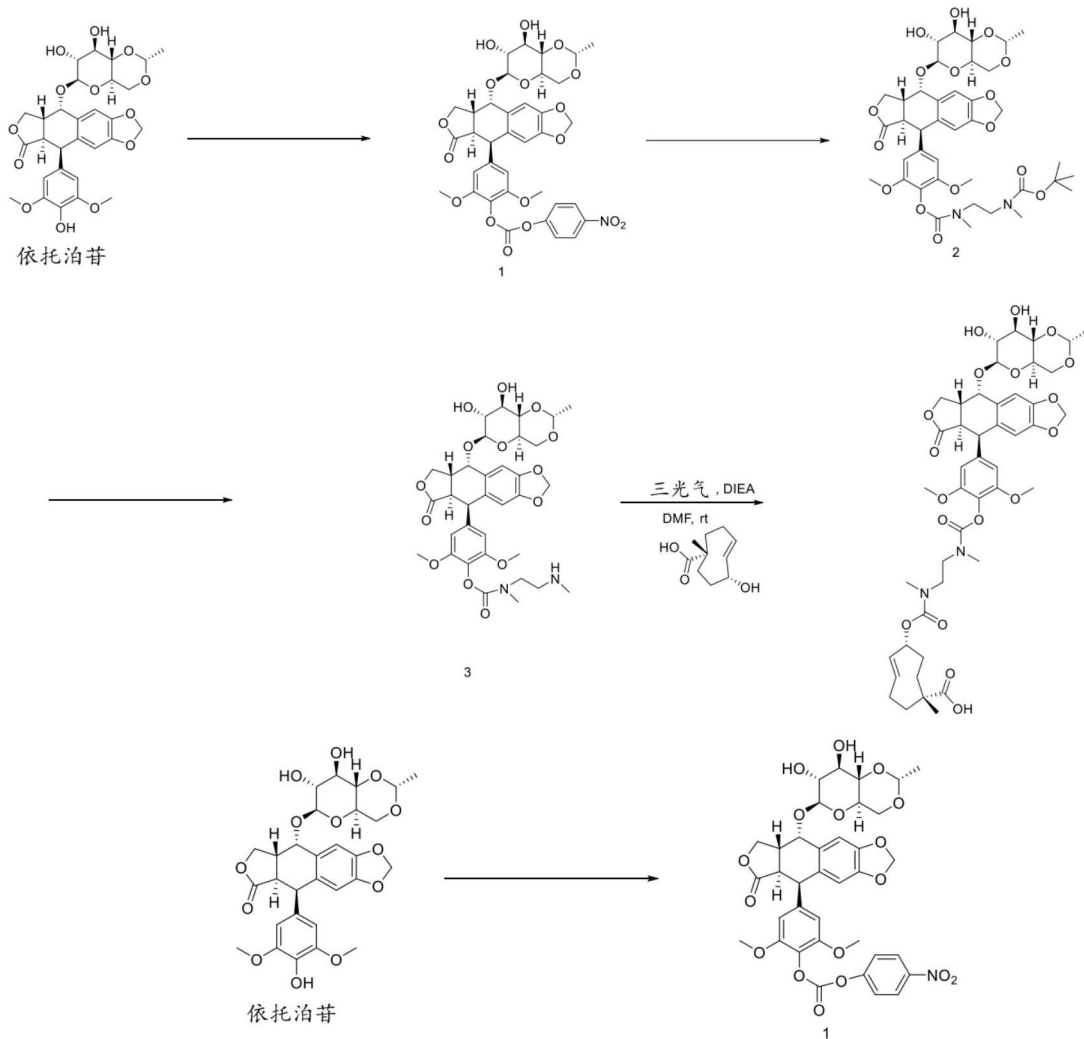
[0457] 化合物7的一般制备程序向化合物4 (109mg, 0.38mmol, 1.0eq) 在干DCM (2mL) 中的溶液中添加化合物5 (63mg, 0.38mmol, 1.0eq)。将该反应混合物搅拌1h。反应混合物的LCMS分析显示在m/z=381.90处出现峰, 这证实了中间化合物6的形成。向上述反应混合物中添加DMAP (93mg, 0.76mmol, 2.0eq), 接着添加化合物3 (108mg, 0.38mmol, 1.0eq.) 在THF (1mL) 中的溶液。将所得反应混合物在50°C加热24h。通过HPLC和LCMS监测反应。将反应混合物浓缩以给出粗产物, 将其通过硅胶快速色谱法 (使用在DCM中的MeOH梯度 (0-5%)) 纯化以给出化合物7 (47mg, 21%)。TLC: MeOH/DCM=0.05/1。R_f (化合物4)=0.2。R_f (化合物6)=0.3。R_f (产物, 7)=0.4。化合物6的LCMS: 381.90 [M+H]⁺。化合物7的LCMS: 596.90 [M+H]⁺

[0458] 化合物AB25409的一般制备程序向化合物7 (47mg, 0.079mmol, 1.0eq) 在THF (3mL) 中的溶液中添加TBAF (1.0M在THF中, 1.2mL, 1.2mmol, 15eq)。将反应混合物在rt下搅拌15h。通过LCMS和HPLC监测反应。除去溶剂。将粗制混合物通过制备型HPLC (使用在含有0.1% TFA的水中的5%至100% ACN) 纯化。冻干后, 获得呈浅黄色固体的所需化合物AB25409 (21mg, 54%)。LCMS: 497.0 [M+H]⁺; ¹H NMR (400MHz, CD3OD) δ 9.85 (s, 1H), 8.34 (d, J=8.2Hz, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.14 (d, J=8.4Hz, 1H), 8.07 (d, J=9.0Hz, 1H), 7.86 (d, J=8.4Hz, 1H), 5.99-6.14 (m, 1H), 5.71-5.77 (m, 1H), 5.29 (s, 1H), 3.86 (br t, J=5.9Hz, 2H), 3.45 (br t, J=5.4Hz, 2H), 3.30-3.35 (m, 4H), 2.27-2.31 (m, 2H), 2.05-2.23 (m, 3H), 1.70-2.02 (m, 3H),

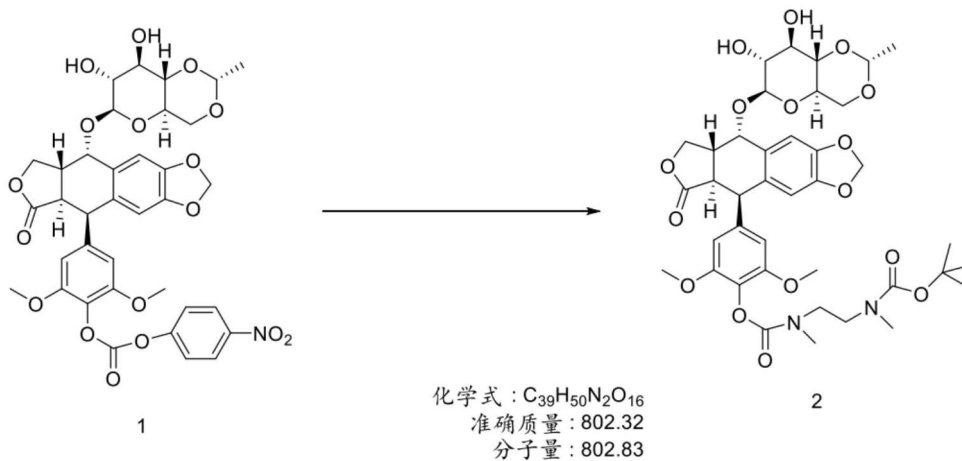
1.36 (t, J=7.3Hz, 6H) , 1.15 (s, 3H) ppm。

实例12

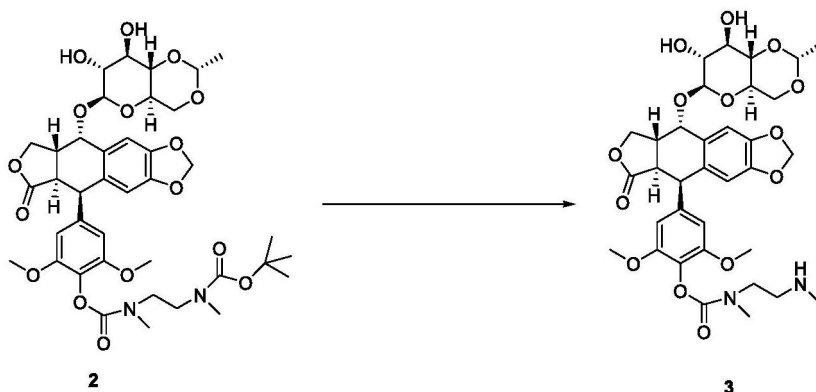
TCO-spacelink-依托泊苷



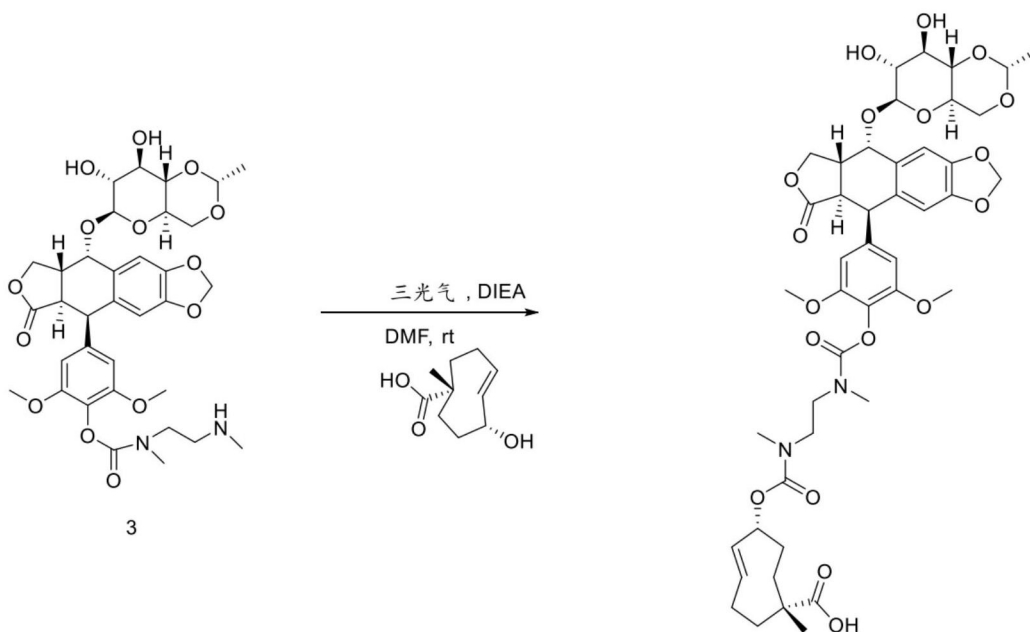
[0459] 4-((5R,5aR,8aR,9S)-9-(((2R,4aR,6R,7R,8R,8aS)-7,8-二羟基-2-甲基六氢吡喃[3,2-d][1,3]二噁英-6-基)氧基)-6-氧代-5,5a,6,8,8a,9-六氢咪喃[3',4':6,7]萘[2,3-d][1,3]二氧-5-基)-2,6-二甲氧基苯基(4-硝基苯基)甲酸酯。向依托泊苷(1.0g, 1.7mmol)和TEA(2.5g, 25mmol)在无水THF(35mL)中的溶液中添加4-硝基苯基氯甲酸酯(0.39g, 1.95mmol)在无水THF(15mL)中的溶液。将反应混合物在室温下搅拌过夜。将混合物过滤并在减压下浓缩。将残余物通过快速柱色谱法(硅胶, DCM/CH₃CN 2/1)纯化以给出化合物1(0.78g, 60%产率)。LCMS: (m/z, C₃₆H₃₅N₀O₁₇) = 754.2[M+H]⁺; 观察值754.1。



[0460] 叔丁基 4-((5R,5aR,8aR,9S)-9-(((2R,4aR,6R,7R,8R,8aS)-7,8-二羟基-2-甲基六氢吡喃[3,2-d][1,3]二噁英-6-基)氧基)-6-氧代-5,5a,6,8,8a,9-六氢呋喃[3',4':6,7]萘[2,3-d][1,3]二氧-5-基)-2,6-二甲氧基苯基)乙烷-1,2-二基双(甲基氨基甲酸酯)。向依托泊苷碳酸盐化合物1 (1.2g, 1.6mmol) 在DMF (10mL) 中的溶液中添加N-Boc, N, N'-二甲基-亚乙基二胺 (450mg, 2.37mmol)、DIPEA (0.68mL, 3.98mmol)、和DMAP (250mg, 2.04mmol) 并将反应混合物在60℃搅拌3hr。将混合物通过反相色谱法 (C18, ACN/H₂O (FA) 0%-100%) 纯化以给出化合物2 (650mg, 产率51%)。LCMS: (m/z, C₃₉H₅₀N₂O₁₆) = 825.3 [M+Na]⁺; 观察值 826.1。



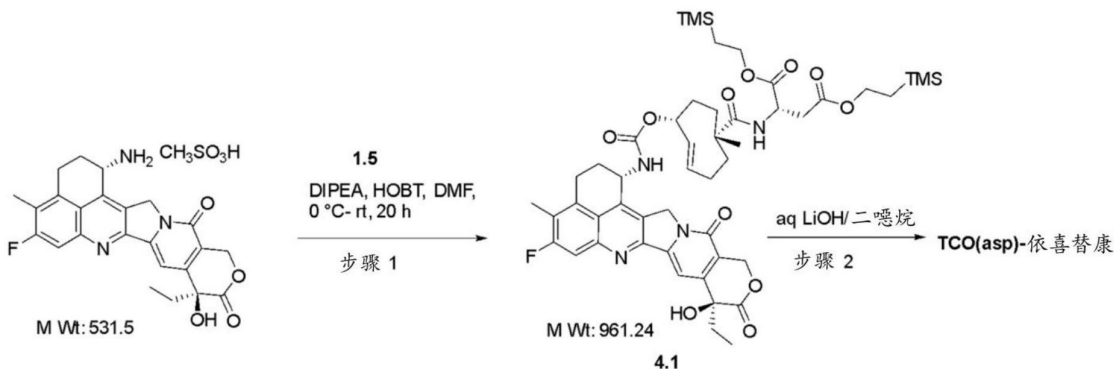
[0461] 4-((5R,5aR,8aR,9S)-9-(((2R,4aR,6R,7R,8R,8aS)-7,8-二羟基-2-甲基六氢吡喃[3,2-d][1,3]二噁英-6-基)氧基)-6-氧代-5,5a,6,8,8a,9-六氢呋喃[3',4':6,7]萘[2,3-d][1,3]二氧-5-基)-2,6-二甲氧基苯基)甲基(2-(甲基氨基)乙基)氨基甲酸酯。向化合物2 (650mg, 0.81mmol) 在DCM (10mL) (在冰水浴中冷却) 中的溶液中添加TFA (1mL)。将混合物在0℃搅拌6hr。将反应混合物在真空下浓缩。将残余物通过反相色谱法 (C18, ACN/H₂O (FA) 0%-100%) 纯化以给出化合物3 (350mg, 产率61%)。LCMS: (m/z, C₃₄H₄₂N₂O₁₄) = 703.3 [M+H]⁺; 观察值 703.1。



[0462] TC0-spacelink-依托泊苷.向TC0 (80mg, 0.434mmol) 在THF (5mL) 中的溶液中添加三光气 (52.5mg, 0.177mmol) 和DMAP (130mg, 1.07mmol).将混合物在室温下搅拌30min.将混合物添加到化合物3 (300mg, 0.427mmol) 和DIPEA (117mg, 0.9mmol) 在DMF (2mL) 中的溶液中并在室温搅拌5min.将混合物加温至50℃并再搅拌2hr.向混合物中添加EtOAc (20mL) 和HCl (10mL, 1N在H₂O中).将有机相分离并浓缩.将残余物通过反相色谱法 (C18, ACN/H₂O (FA) 0%-100%) 纯化以给出TC0-spacelink-依托泊苷 (105mg, 产率26.9%). LCMS: (m/z, C45H56N2O18) = 911.4 [M-H]⁻; 观察值911.3.

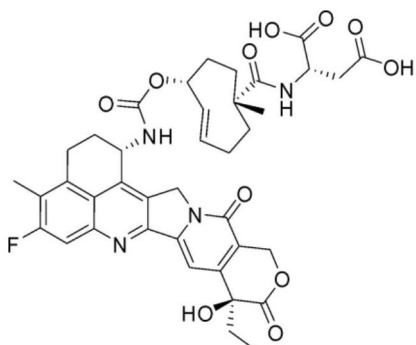
实例13

TC0 (asp) - 依喜替康



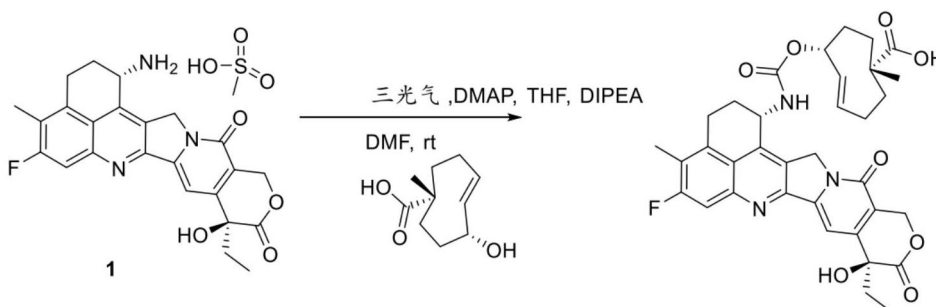
[0463] 双(2-(三甲基甲硅烷基)乙基)((6R,E)-6-(((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃[3',4':6,7]中氮茚[1,2-b]喹啉-1-基)氨基甲酰基)氧基)-1-甲基环辛-4-烯-1-羰基)-L-天冬氨酸酯(4.1).步骤1: 将化合物1.5 (250mg, 0.376mmol, 1.0eq) 溶解于DMF (约5mL) 并在冰水浴中冷却至0℃.向溶液中添加Exetecan甲磺酸盐 (220mg, 0.414mmol, 1.1eq, Advanced Chemblocks公司目录号10484, 批次100981)、DIPEA (200μL, 1.1mmol, 3eq)、和湿HOBT (144mg, 0.752mmol, 2eq, 约80%纯度).将所得浆料在环境条件下加温至室温.20小时后,通过LCMS对反应进行的分析表明起始材料几乎完全消耗.将反应用EtOAc和水分配.将有机相用水(2X)、水性氯化铵

(1X) 和盐水洗涤。存在一些不溶性固体,将其通过过滤除去。将有机相经硫酸钠干燥,过滤并且浓缩。将所得深棕色/黑色油状残留物溶解在极少量的DCM中,并加载到己烷冲洗硅胶柱(24g,金盖ISCO)上,并用己烷中的0-100% EtOAc洗脱,得到呈粘性灰色/绿色固体的所需化合物(240mg,66%产率)。(ESI) $[M+H]^+ = 962.2$ 。



[0464] ((6R,E)-6-(((1S,9S)-5-氟-9-羟基-4,9-二甲基-10,13-二氧-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃[3',4':6,7]中氮茛[1,2-b]喹啉-1-基)氨基甲酰基)氧基)-1-甲基环辛-4-烯-1-羧基)-L-天冬氨酸(TCO(asp)-Exetecan)。步骤2:将化合物4.1(150mg,0.156mmol,1.0eq)溶解于1,4-二噁烷(约5mL)。向溶液中添加2.0M水性LiOH(500μL,1.00mmol,6.4eq)。1小时后通过LCMS进行的分析表明存在起始材料、单酯中间体、产物和副产物。添加另外的500μL的相同的LiOH溶液。再过30分钟后,LCMS表明起始材料已耗尽,反应中所需化合物和副产物的比例大致相等。将反应混合物首先用乙酸酸化,然后用稀HCl将pH调节至1-2。将产物用EtOAc(5X)萃取。合并有机萃取物,用硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将灰白色固体通过制备型HPLC进行纯化,产生两种具有相同质谱和相似¹H NMR谱的独立化合物。早期洗脱峰标记为峰2(16mg,13%产率)。(ESI) $[M-H]^- = 759.4$ 。HPLC(*tr*=8.73min)。晚期洗脱峰标记为峰1(20mg,17%产率)。(ESI) $[M-H]^- = 759.4$ 。HPLC(*tr*=8.96min)。

实例14



[0465] TCO-依喜替康.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)。将混合物在室温下搅拌30min。将混合物添加到化合物1(700mg,1.32mmol)和DIPEA(510mg,3.96mmol)在DMF(10mL)中的混合物中。将所得的混合物在室温下搅拌12小时。将混合物通过制备型HPLC(CH₃CN/H₂O(FA)0%至70%)纯化以给出所需产物(110mg,产率14%)。LCMS:(*m/z*,C35H36FN3O8) = 646.3 $[M+H]^+$ 。

实例C1

SQL70靶向Fab-TCO缀合物的体内成像。

[0466] 单克隆抗体和抗体药物缀合物被广泛用于治疗不同类型的癌症。这些药物的治疗潜力受限于它们的全身毒性。在此,我们评估了一种靶向版本的生物药物,称为TCO-Fab,其是静脉内(IV)施用的,并在与皮下(SC)注射的靶向生物聚合物发生反应后局部保留。

研究目的

[0467] 本研究的目的是为将生物聚合物靶向剂与适当官能化的生物药物结合使用提供概念验证。生物药物将使用体内成像追踪到生物聚合物的注射部位。

研究设计

[0468] 在六周大的雌性nu/nu小鼠的右肋腹SC注射100 μ L的SQL70生物聚合物(第1组和第2组)或对照生物聚合物(第3组,用作阴性对照)。

[0469] SQL70生物聚合物注射后一小时,通过尾静脉注射(TVI)给动物静脉给药10mg/kg的TCO-Fab-Cy5.5(第1组)或10mg/kg的Fab-Cy5.5(第2组,作为阴性对照)。

[0470] 在给予对照生物聚合物后一小时,通过TVI向动物给药10mg/kg的TCO-Fab-Cy5.5(第3组)作为阴性对照。三个治疗组详见表1。

表1-治疗组

组	第 1 天皮下注射	静脉药物	剂量水平 (mg/kg/ 剂)	给药天数
1	100 μ L SQL70	TCO-Fab-Cy5.5	10	1
2	100 μ L SQL70	Fab-Cy5.5	10	1
3	100 μ L 对照生物 聚合物	TCO-Fab-Cy5.5	10	1

供测品

a. TCO-Fab-Cy5.5- (兰尼单抗-Cy5.5-TCO缀合物)

供应商:储存:4 $^{\circ}$ C,避光

描述:呈红色的澄清溶液。

配制:蛋白质浓度如25mM柠檬酸钠、100mM氯化钠、pH 5.5中所示;无菌;准备注射。

b. Fab-Cy5.5- (兰尼单抗-Cy5.5缀合物)

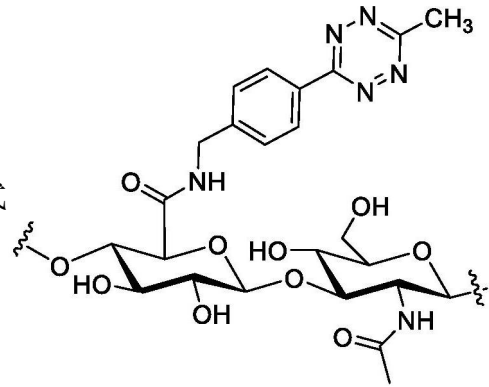
供应商:储存:4 $^{\circ}$ C,避光

描述:呈蓝色的澄清溶液。

配制:蛋白质浓度如25mM柠檬酸钠、100mM氯化钠、pH 5.5中所示;无菌;准备注射。

c. SQL70生物聚合物

具有约10-15kD MW和约30%修饰的如式



中进

行修饰的四嗪修饰的透明质酸钠

供应商:储存:4°C,避光

描述:深粉色注射液

配制:无菌且已配制在氯化钠/磷酸钠缓冲液中,浓度为63.2mg/mL。

d.对照生物聚合物(透明质酸)

供应商:储存:4°C

描述:白色吸湿性固体。

配制:需要在pH 7.4 (63.2mg/mL浓度)的盐水中一次性配制。将在生化防护面罩里面/无菌条件下通过0.2- μ m注射器过滤器对该产物进行过滤。配制后,对照生物聚合物在4°C下是稳定的。请准备新鲜溶液或最多在使用前提前1天准备。

给药

[0471] 如表1中所述,按照指定的剂量、途径和时间施用测试物品和媒介物溶液。给药体积是根据前一个测量日个体小鼠的实际BW确定的。

实时成像

[0472] 在生物聚合物注射后对小鼠进行成像以确定基线值。在IV注射后1h、4h、24h和72h对小鼠进行成像。(注意:时间是基于不同测试物品的IV注射而不是生物聚合物的SC注射。)

[0473] 对于Cy5.5,使用的荧光过滤器是680nm激发和720nm发射。

[0474] 在IV注射后72小时(一旦最后一个实时成像时间点完成后),从注射部位取出组织进行离体成像。生物聚合物注射部位被定义为每只动物的感兴趣区域。

[0475] 对于Cy5.5,使用的荧光过滤器将是680nm激发和720nm发射。

[0476] 小鼠对治疗剂没有不良反应。在整个研究过程中,所有小鼠都健康且活跃。第1组中的一只小鼠(10mg/kg TCO-Fab-Cy5.5)在SQL70注射部位与第2组和第3组的受试者相比显示出信号(图1)。当药物穿过身体时,可以在肝脏、肾脏和膀胱中看到荧光信号。

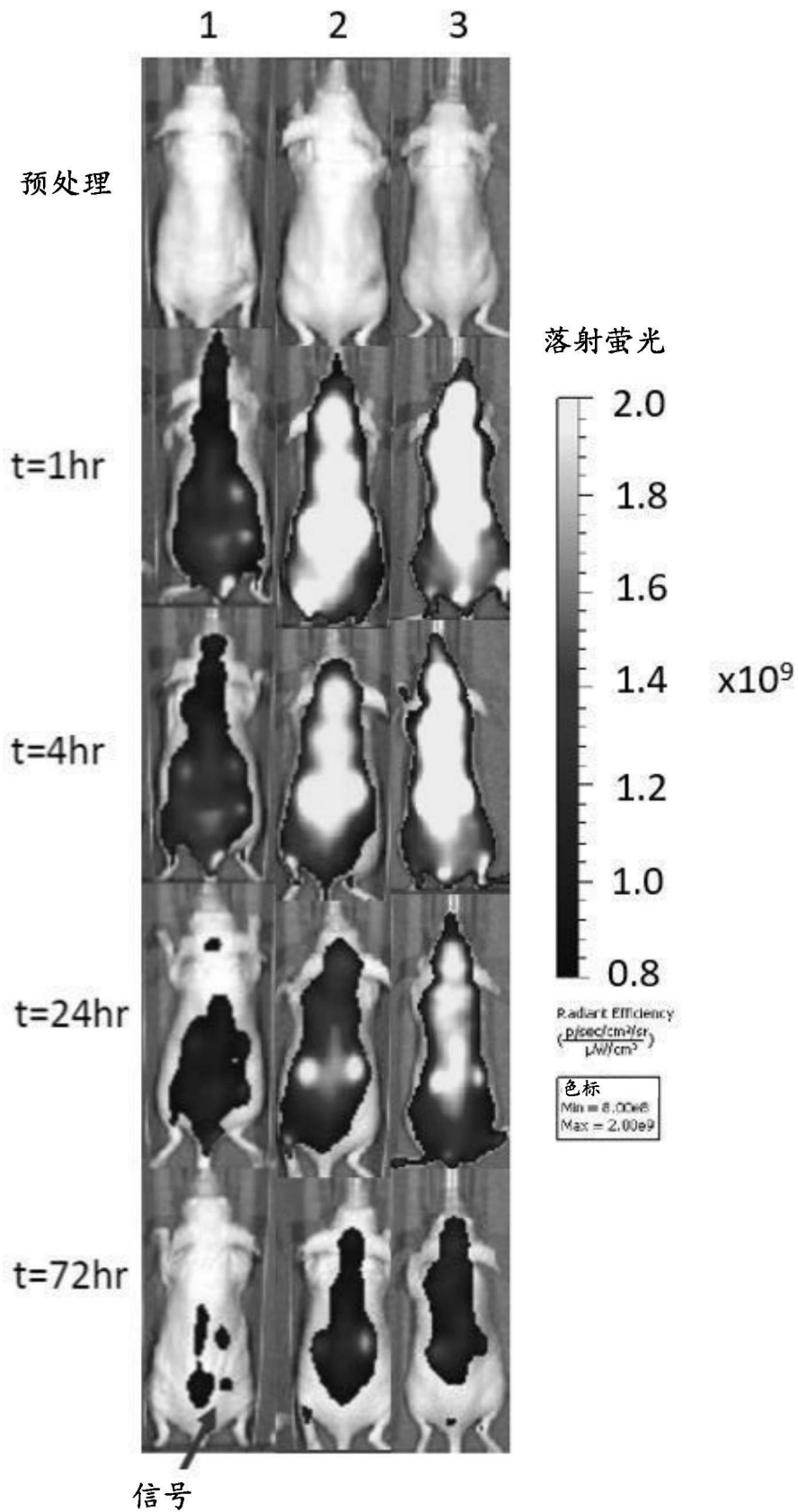


图1