



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113423431 A

(43) 申请公布日 2021.09.21

(21) 申请号 202080007805.2

朴沃龟 徐范硕 金世娜 薛旻娥  
宋真我

(22) 申请日 2020.01.02

(30) 优先权数据

62/788,039 2019.01.03 US

(74) 专利代理机构 北京嘉和天工知识产权代理  
事务所(普通合伙) 11269

代理人 缪策 甘玲

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.07.01

(51) Int.Cl.

A61K 47/68 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/IB2020/000019 2020.01.02

A61K 47/54 (2006.01)

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/141460 EN 2020.07.09

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

(71) 申请人 尹图赛利有限公司

地址 韩国大田市

(72) 发明人 朴泰教 禹成昊 金璇曈 朴秀浩

赵钟云 丁头焕 徐东勋 李在镐

李相光 尹尚铉 河智贤 李享傲

权利要求书27页 说明书138页 附图6页

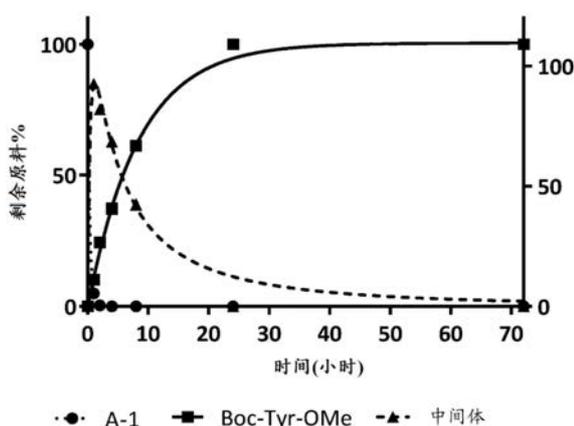
(54) 发明名称

包含可裂解接头的化合物及其用途

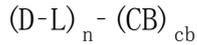
(57) 摘要

提供了一种包含可裂解接头的化合物、其用途、和用于制备所述化合物的中间体化合物,并且更特别地,本发明的包含可裂解接头的化合物可包含具有特异性功能或活性的活性剂(例如,药物、毒素、配体、用于检测的探针等),能够选择性地释放所述活性剂的-S(=O)(=N-)-官能团,和通过外部刺激触发化学反应、物理化学反应和/或生物反应的官能团,并且还可包含对所希望的靶标受体具有结合特异性的配体(例如,寡肽、多肽、抗体等)。

大肠杆菌bGal裂解 (pH 7.4)



1. 一种式 (I') 的缀合物:



(I')

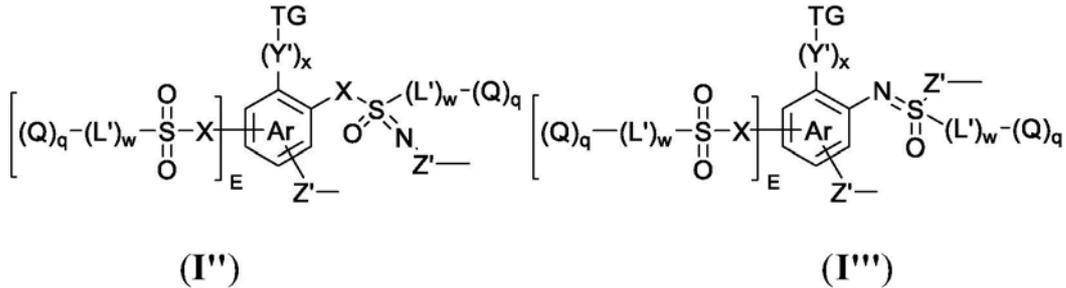
或其药学上可接受的盐,

其中:

CB是靶向部分;

cb和n各自独立地是值为1至约20、优选1至约10的整数;

每个D-L独立地是具有式 (I'') 或式 (I''') 的结构基团:



每个Q独立地是通过杂原子、优选O或N与L'连接的活性剂;

Z' 在每次出现时独立地是将式 (I'') 或式 (I''') 的结构连接至 (CB)<sub>cb</sub> 的连接基团、增溶基团、反应性基团 (例如, 前体基团)、固体表面 (例如, 颗粒)、稳定化基团、螯合剂、生物聚合物 (例如, 免疫球蛋白、核酸、蛋白质、寡肽、多肽、抗体、抗原性多肽的片段、或重复体)、活性剂或可检测部分, 条件是至少一次出现的Z' 将所述式 (I'') 或式 (I''') 的结构连接至 (CB)<sub>cb</sub>;

每个L' 独立地是经由选自O、S和N, 优选O或N的杂原子与-S(=O) (=N-) - 附接的间隔基部分, 并且被选择为使得在L' 与-S(=O) (=N-) - 之间的键的裂解促进在L' 与Q之间的键裂解以释放所述活性剂;

每个X独立地是-O-、-C(R<sup>b</sup>)<sub>2</sub>-或-N(R<sup>c</sup>)-, 优选-O-;

Ar表示环, 例如芳基、杂芳基、环烷基或杂环烷基, 优选芳基或杂芳基;

Y' 是-(CR<sup>b</sup>)<sub>2</sub>N(R<sup>a</sup>)-、-(CR<sup>b</sup>)<sub>2</sub>O-或-(CR<sup>b</sup>)<sub>2</sub>S-, 被定位成使得如果y是1, 则N、O或S原子与TG附接;

TG是触发基团, 所述触发基团当被活化时产生能够与所述-S(=O) (=N-) - 反应以置换(Q)<sub>q</sub>-(L')<sub>w</sub>并且形成包含X-S(=O) (=N-) - 和Ar的居间原子的5-6元环的N、O或S原子;

q是值为从1至约20、优选从1至约10的整数;

w、x和y各自独立地是值为0或1的整数;

E是值为0、1或2的整数;

每个R<sup>a</sup>和R<sup>c</sup>独立地是氢或低级烷基; 并且

每个R<sup>b</sup>独立地是氢或低级烷基; 或

两个R<sup>b</sup>与它们所附接的原子一起形成3-5元环、优选3-4元环;

条件是当w是0时, q是1。

2. 如权利要求1所述的缀合物, 其中X是-O-。

3. 如权利要求1或2所述的缀合物, 其中Ar是芳基。

4. 如权利要求3所述的缀合物, 其中Ar是苯基或萘基。

5. 如权利要求1-4中任一项所述的缀合物,其中E是O。

6. 如权利要求1-5中任一项所述的缀合物,其中至少一个Z' (例如,所述连接至(CB)<sub>cb</sub>的Z'),任选地每个Z',是包含以下中的至少两个的C<sub>10</sub>-C<sub>100</sub>直链或支链的饱和或不饱和亚烷基部分:

(i) 至少一个选自-NH-、-C(=O)、-O-、-S-和-P-的杂原子;

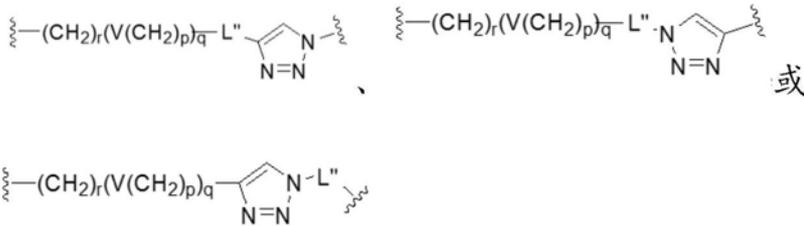
(ii) 至少一个亚杂芳基;

(iii) 至少一个氨基酸部分、糖键、肽键或酰胺键;和

(iv) 一个或多个选自由以下组成的组的取代基: C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基、C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳基、C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>COOH和-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>NH<sub>2</sub>, s是值为0至10的整数,并且p是值为1至约10的整数。

7. 如权利要求1-5中任一项所述的缀合物,其中至少一个Z' (例如,所述连接至(CB)<sub>cb</sub>的Z'),任选地每个Z',包含可通过点击化学反应产生的官能团,例如三唑。

8. 如权利要求1-5中任一项所述的缀合物,其中至少一个Z' (例如,所述连接至(CB)<sub>cb</sub>的Z'),任选地每个Z',包含:



其中:

每个V独立地是单键、-O-、-S-、-NR<sup>21</sup>-、-C(O)NR<sup>22</sup>-、-NR<sup>23</sup>C(O)-、-NR<sup>24</sup>SO<sub>2</sub>-、-SO<sub>2</sub>NR<sup>25</sup>-、-NR<sup>24</sup>-S(=O)(=N)-或-S(=O)(=N)-NR<sup>25</sup>-;

R<sup>21</sup>、R<sup>22</sup>、R<sup>23</sup>、R<sup>24</sup>和R<sup>25</sup>各自独立地是氢、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基(C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>)芳基或(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基(C<sub>3</sub>-C<sub>20</sub>)杂芳基;

r是值为1至约10的整数;

p是值为0至约10的整数;

q是值为1至约10的整数;并且

L''是单键。

9. 如权利要求1-5中任一项所述的缀合物,其中连接CB和Ar的Z'是包含在线性链中通过共价键彼此连接的(CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>、L<sup>c</sup>、(P<sup>1</sup>)<sub>a</sub>、W<sup>a1</sup>、W<sup>a2</sup>、W<sup>a3</sup>、Y<sup>1</sup>和Y<sup>2</sup>基团的连接基团,其中:

W<sup>a1</sup>、W<sup>a2</sup>和W<sup>a3</sup>各自独立地是-NH-、-C(O)-或-CH<sub>2</sub>-;

W<sup>b1</sup>是酰胺键或亚三唑基;

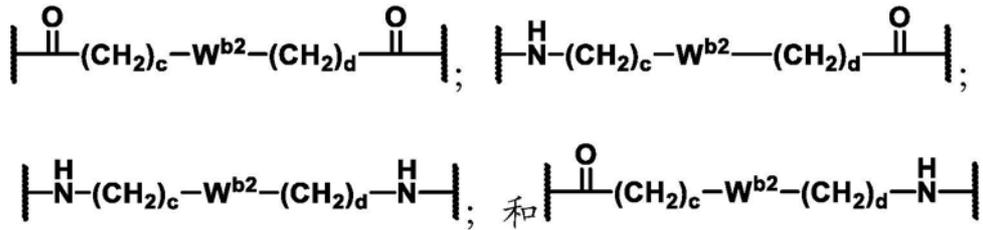
P<sup>1</sup>是酰胺键、氨基酸残基、或肽;

L<sup>c</sup>是亚烷基;

Y<sup>1</sup>是-(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>X'')<sub>o</sub>-或-(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-(X''CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>X)<sub>o</sub>-;

X''是-O-、-S-、-NH-或-CH<sub>2</sub>-;

Y<sup>2</sup>是单键或选自以下的基团:



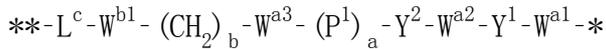
$\text{W}^{b2}$ 是酰胺键或亚三唑基;

a是0至10;

b、c和d各自独立地是值为1至约10的整数;并且

o和q各自独立地是值为1至约10的整数。

10. 如权利要求9所述的缀合物,其中所述连接CB和Ar的Z'是式(A)的连接基团:



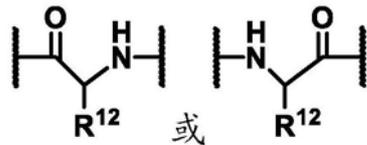
(A)

其中:

\*是与CB的附接点;并且

\*\*是与Ar的附接点。

11. 如权利要求9或10所述的缀合物,其中 $\text{P}^1$ 是



其中:

$\text{R}^{12}$ 是氢、烷基、氨基酸侧链、 $-(\text{CH}_2)_s\text{C}(=\text{O})\text{R}^{13}$ 或 $-(\text{CH}_2)_p\text{NR}^{14}\text{R}^{15}$ ;

p是值为1至约10的整数;

s是值为0至约10的整数;

$\text{R}^{13}$ 是OH或 $-\text{NH}(\text{CH}_2)_s, (\text{X}'''\text{CH}_2\text{CH}_2)_s, \text{Z}''-(\text{CB})_m$ ;

$\text{R}^{14}$ 和 $\text{R}^{15}$ 各自独立地是氢或 $-\text{C}(=\text{O})(\text{CH}_2)_s, (\text{X}'''\text{CH}_2\text{CH}_2)_s, \text{Z}''-(\text{CB})_m$ ;

$s''$ 是值为0至约10的整数;

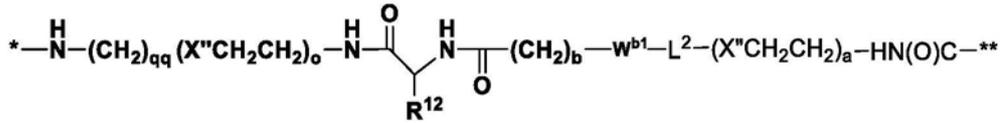
$s'$ 是值为1至约10的整数;

m是值为0或1的整数;

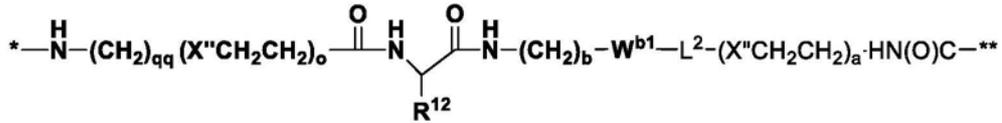
$\text{X}'''$ 是 $-\text{O}-, -\text{S}-, -\text{NH}-$ 或 $-\text{CH}_2-$ ;并且

$\text{Z}''$ 是将CB与 $\text{R}^{14}$ 或 $\text{R}^{15}$ 的其余部分连接的连接基团;或 $\text{Z}''$ 是包含反应性基团的连接基团。

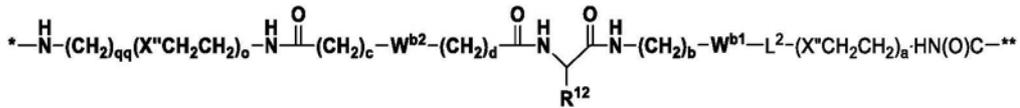
12. 如权利要求9-11中任一项所述的缀合物,其中至少一个Z'(例如,所述连接至 $(\text{CB})_{cb}$ 的Z'),任选地每个Z',是式(F)、(G)、(H)、(J)、(K)、(L)、(M)或(N)的连接基团:



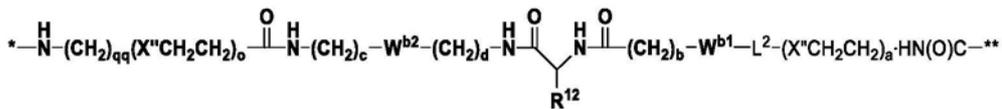
(F')



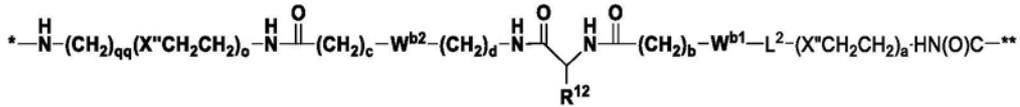
(G')



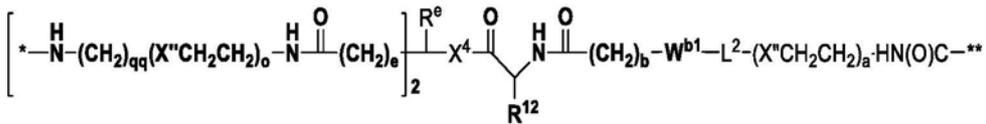
(H')



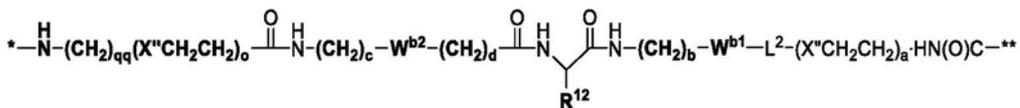
(J')



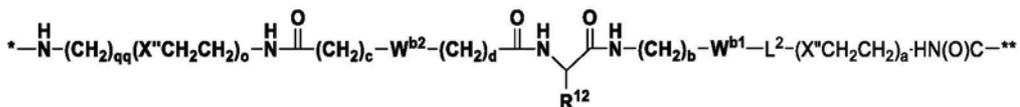
(K')



(L')



(M')



(N')

其中：

R<sup>e</sup>是烷基；

X<sup>''</sup>是-O-、-S-、-NH-或-CH<sub>2</sub>-；

X<sup>4</sup>是-NHC(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>g</sub>-NH-或-C(O)NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>h</sub>-NH-；

W<sup>b1</sup>和W<sup>b2</sup>各自独立地是-C(O)NH-、-NHC(O)-、或；

R<sup>12</sup>是氢、烷基、氨基酸侧链、-(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>C(O)R<sup>13</sup>或-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>NR<sup>14</sup>R<sup>15</sup>；

R<sup>13</sup>是OH或-NH(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>、(X<sup>''</sup>'CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>、Z<sup>''</sup>-(CB)<sub>m</sub>；

R<sup>14</sup>和R<sup>15</sup>各自独立地是氢或-C(O)(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>、(X<sup>''</sup>'CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>、Z<sup>''</sup>-(CB)<sub>m</sub>；

s和s'各自独立地是值为0至约10的整数；

m是值为0或1的整数；

X<sup>''</sup>'是-O-、-S-、-NH-或-CH<sub>2</sub>-；并且

Z<sup>''</sup>是将CB与R<sup>14</sup>或R<sup>15</sup>的其余部分连接的连接基团；或Z<sup>''</sup>是包含反应性基团的连接基团；

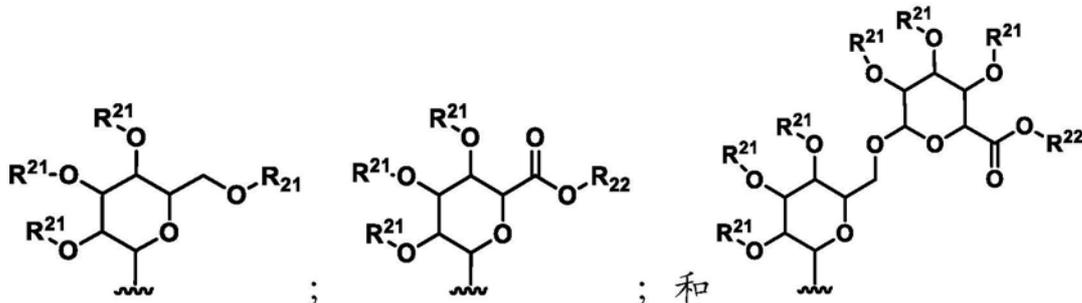
并且

b、c、d、e、g、h、o和q各自独立地是值为1至约10的整数；并且

s'是值为1至约10的整数。

13. 如权利要求1-12中任一项所述的缀合物，其中TG是可被亲核试剂条件、碱性试剂条件、光辐照、还原剂条件、酸性条件、酶促条件或氧化条件裂解的反应性化学部分或官能团。

14. 如权利要求1-13中任一项所述的缀合物，其中TG选自：



其中：

每个R<sup>21</sup>独立地是氢或乙酰基；并且

R<sup>22</sup>是氢或低级烷基。

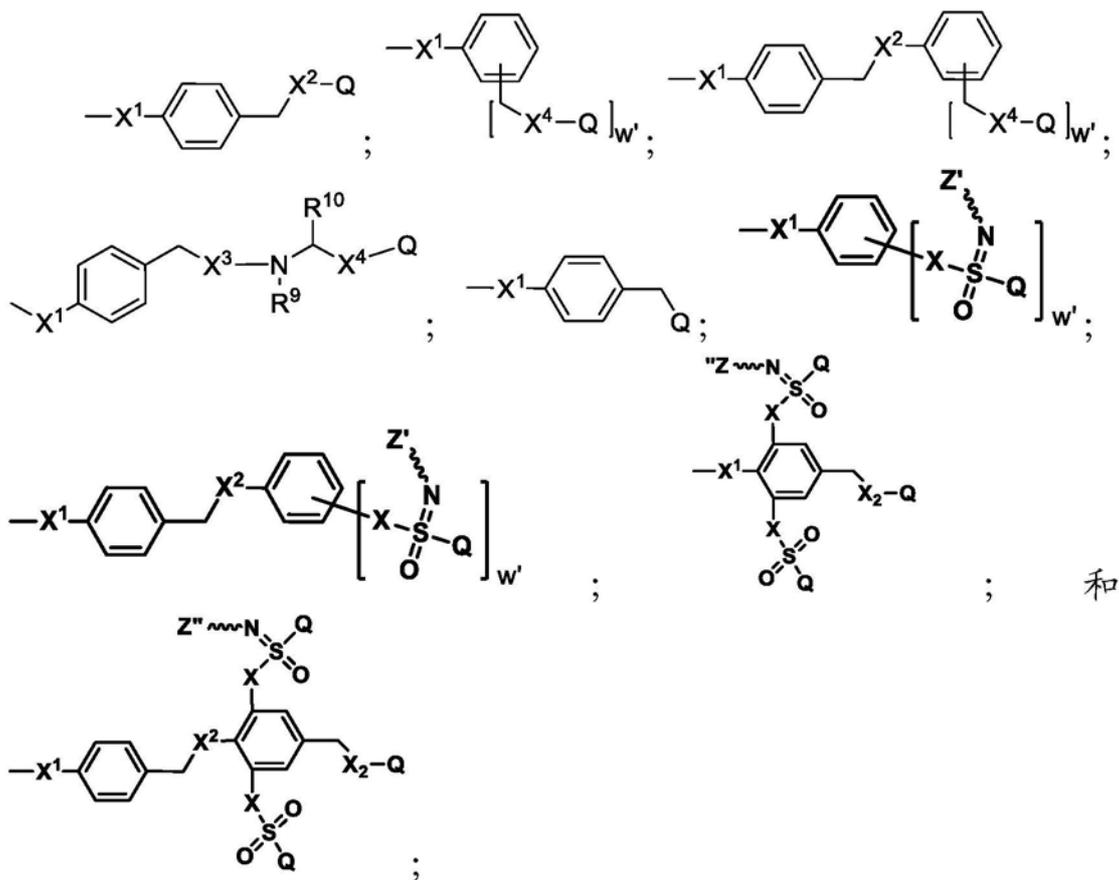
15. 如权利要求1-12中任一项所述的缀合物，其中x是0。

16. 如权利要求15所述的缀合物，其中TG选自-NO<sub>2</sub>、-C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C(O)-烷基和硝基苄基。

17. 如权利要求1-16中任一项所述的缀合物，其中Q是化学因子、生物因子、激素、寡核苷酸、药物、毒素、亲和配体、用于检测的探针、或其组合。

18. 如权利要求17中任一项所述的缀合物，其中Q是选自细胞因子、免疫调节化合物、抗癌剂、抗病毒剂、抗细菌剂、抗真菌剂、驱虫剂、或其组合的药物。

19. 如权利要求1-13中任一项所述的缀合物，其中(Q)<sub>q</sub>-(L')<sub>w</sub>选自：



其中：

$X^1$ 是 $-O-$ 或 $-NR^a-$ ；

$X^2$ 和 $X^4$ 各自独立地不存在或者是 $-C(O)-$ 或 $-C(O)O-$ ；

$X^3$ 是 $-OC(=O)-$ ；

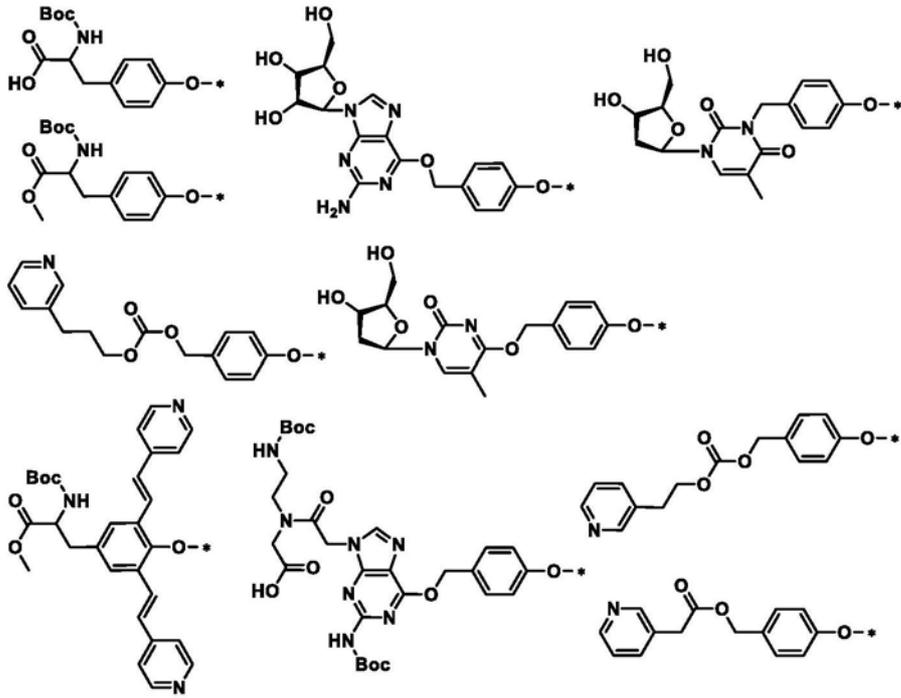
$w'$ 是值为1、2、3、4或5的整数；

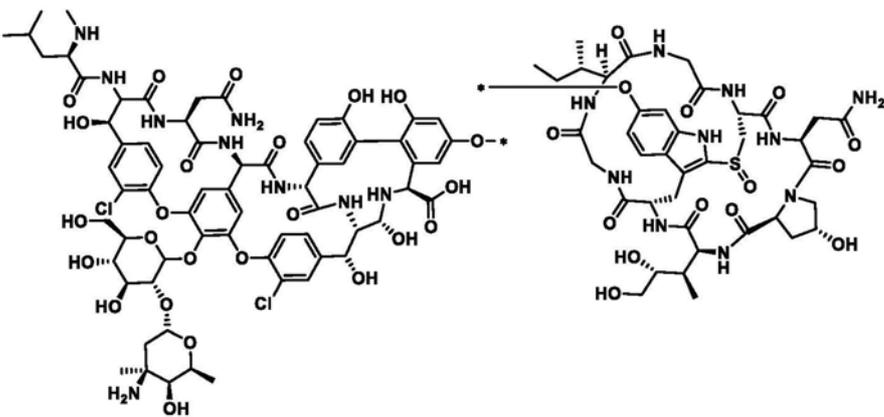
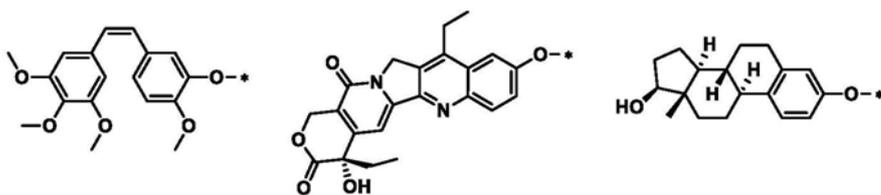
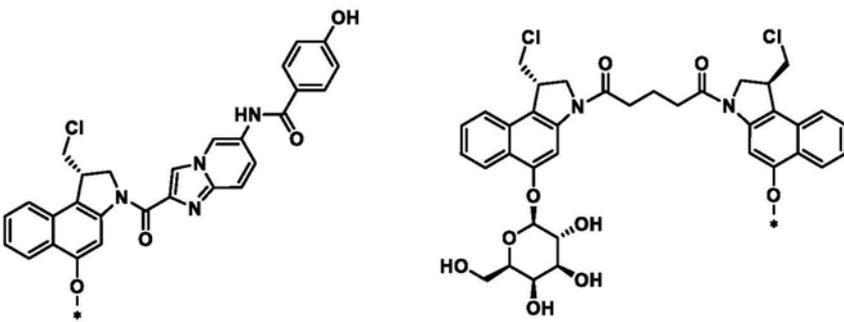
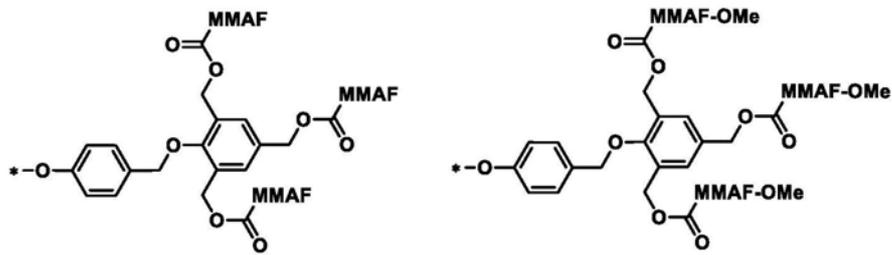
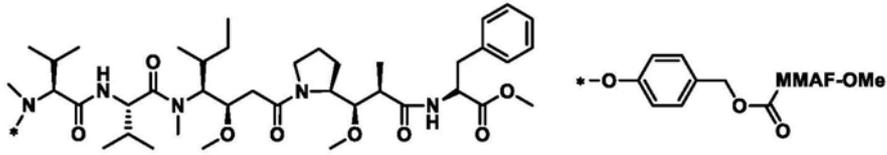
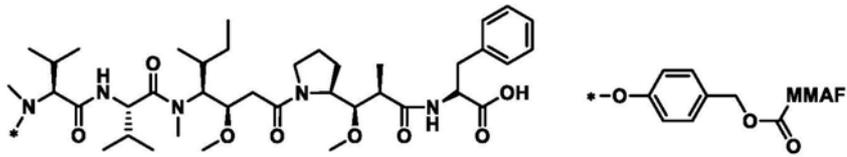
$R^9$ 和 $R^{10}$ 各自独立地是氢、烷基、芳基或杂芳基，其中烷基、芳基和杂芳基是未被取代的或被一个或多个例如选自烷基、 $-(CH_2)_uNH_2-$ 、 $-(CH_2)_uNR^{u1}R^{u2}$ 和 $-(CH_2)_uSO_2R^{u3}$ 的取代基取代；

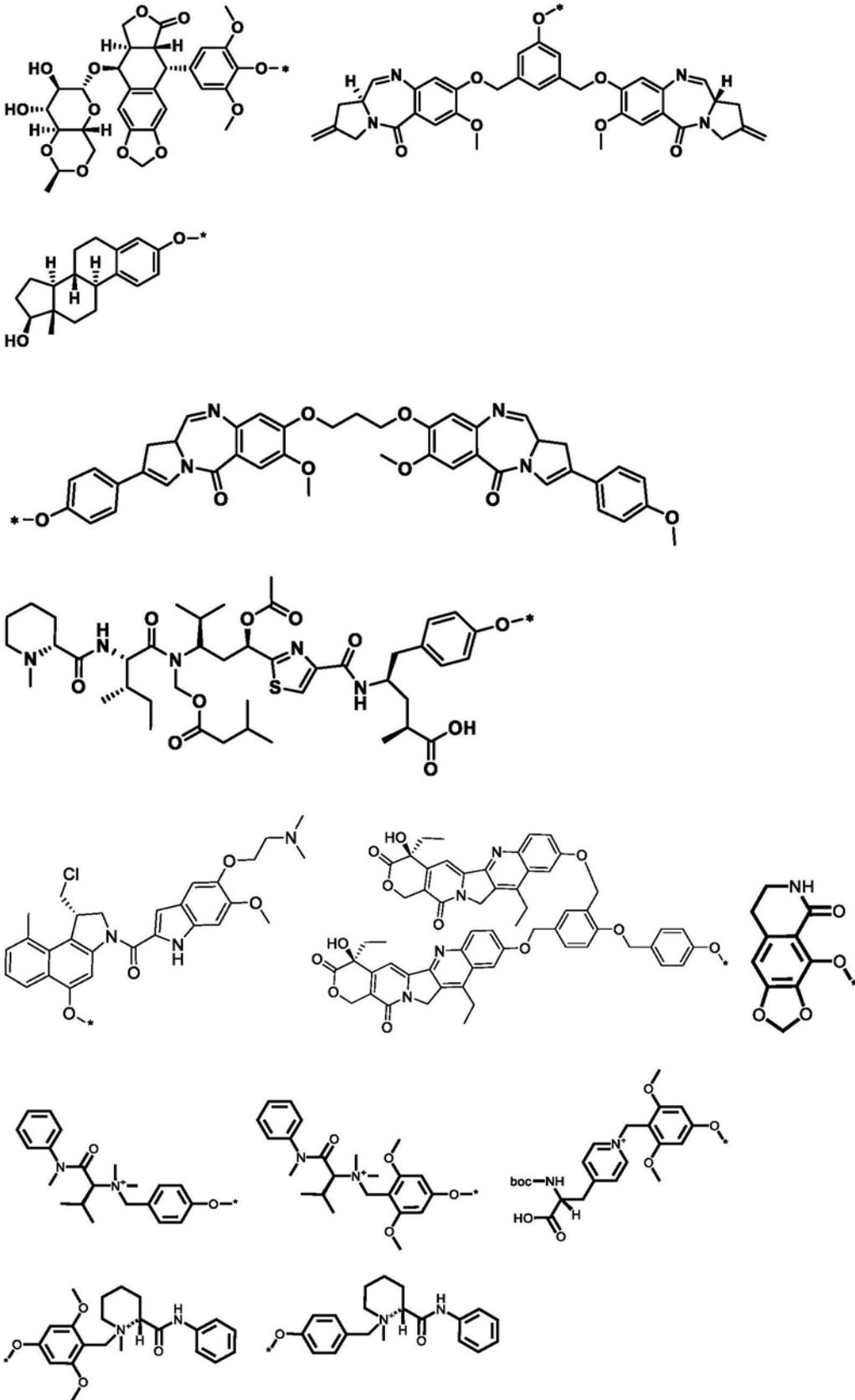
$R^{u1}$ 、 $R^{u2}$ 和 $R^{u3}$ 各自独立地是氢、烷基、芳基或杂芳基；并且

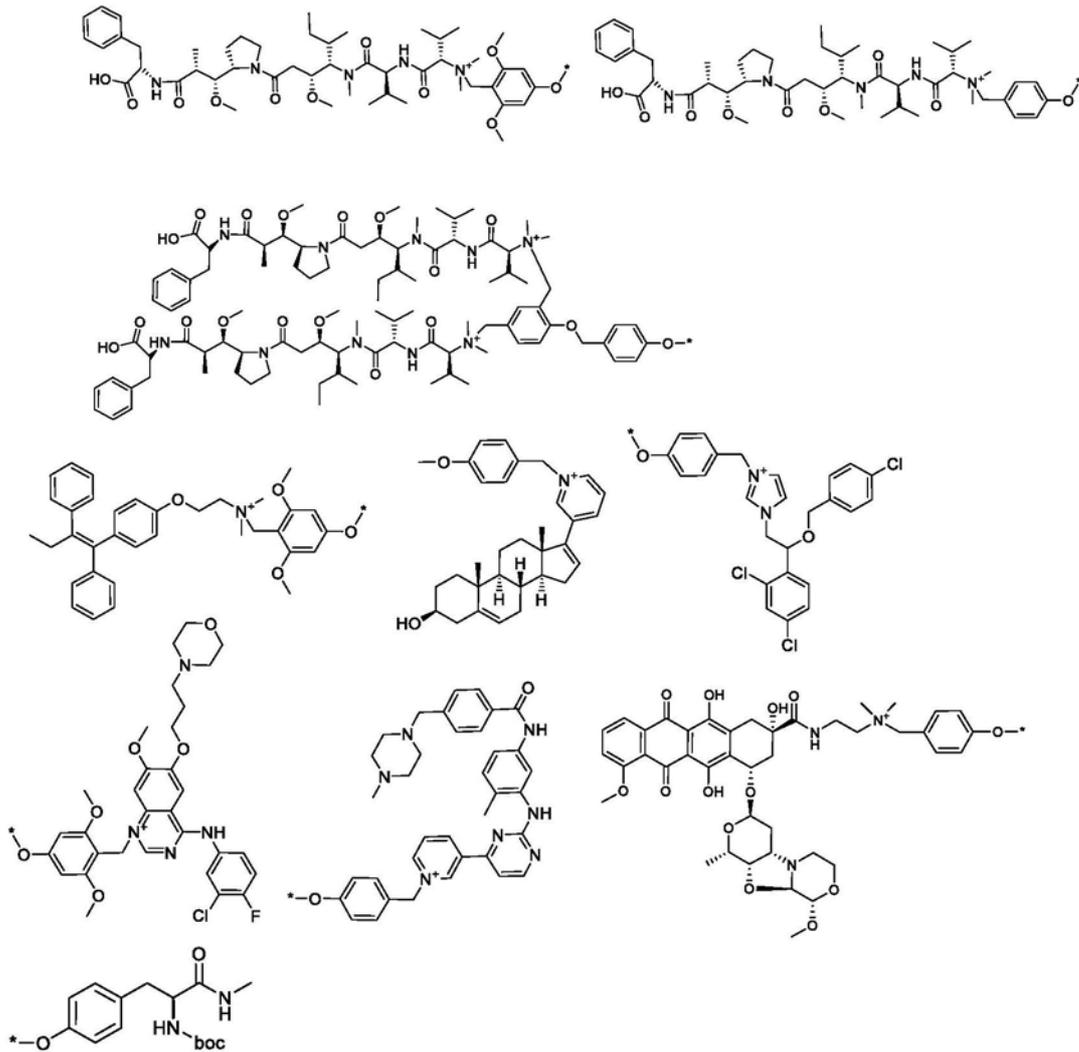
$u$ 是值为1至约10的整数。

20. 如权利要求19所述的缀合物，其中 $(Q)_q - (L')_w$ 选自：









其中\*表示(Q)<sub>q</sub>-(L')<sub>w</sub>与-S(=O)(=N-)-的附接点。

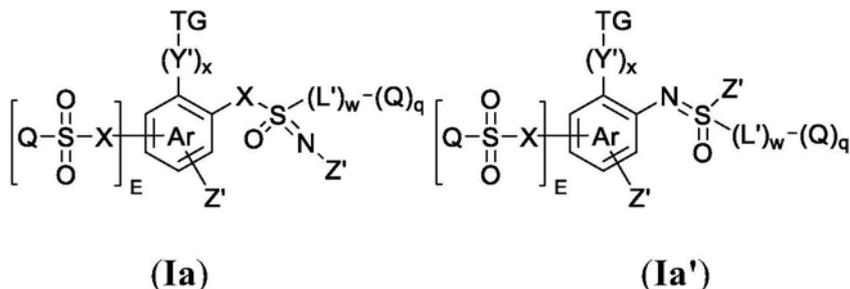
21. 如权利要求1-20中任一项所述的缀合物,其中所述靶向部分是纳米颗粒、免疫球蛋白、核酸、蛋白质、寡肽、多肽、抗体、抗原性多肽的片段、或重复体。

22. 如权利要求21所述的缀合物,其中所述靶向部分是选自以下的抗体:完整多克隆抗体、完整单克隆抗体、抗体片段、单链Fv(scFv)突变体、多特异性抗体、双特异性抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人类抗体、包含抗体的抗原决定簇部分的融合蛋白、和包含抗原识别位点的其他经修饰的免疫球蛋白分子。

23. 如权利要求21所述的缀合物,其中所述抗体选自莫罗单抗-CD3、阿昔单抗、利妥昔单抗、达利珠单抗、帕利珠单抗、英利昔单抗、曲妥珠单抗(赫赛汀)、依那西普、巴利昔单抗、吉妥珠单抗奥佐米星、阿仑珠单抗、异贝莫单抗替坦、阿达木单抗、阿法赛特、奥马珠单抗、依法利珠单抗、托西莫单抗-<sup>131</sup>I、西妥昔单抗、贝伐珠单抗、那他珠单抗、雷珠单抗、帕尼单抗、依库丽单抗、利纳西普、培塞利珠单抗、罗米司亭、AMG-531、CNT0-148、CNT0-1275、ABT-874、LEA-29Y、贝利木单抗、TACI-Ig、第二代抗CD20、ACZ-885、托珠单抗、阿替珠单抗、美泊利单抗、帕妥珠单抗、Humax CD20、曲美木单抗(CP-675 206)、替西木单抗、MDX-010、IDEC-114、伊曲木单抗奥佐米星、HuMax EGFR、阿柏西普、HuMax-CD4、Ala-Ala、ChAglyCD3、TRX4、卡妥索单抗、IGN101、MT-201、Pregovomab、CH-14.18、WX-G250、AMG-162、AAB-001、莫维珠单

抗、MEDI-524、依福谷单抗、Aurograb、瑞西巴库单抗、第三代抗CD20、LY2469298和维妥珠单抗。

24. 一种式 (Ia) 或式 (Ia') 的化合物:



或其药学上可接受的盐, 其中:

每个Q独立地是通过杂原子、优选O或N与L'连接的活性剂;

Z'在每次出现时独立地不存在, 是将所述式 (Ia) 或式 (Ia') 的结构连接至 (CB)<sub>cb</sub> 的连接基团、增溶基团、反应性基团 (例如, 前体基团)、固体表面 (例如, 颗粒)、稳定化基团、螯合剂、生物聚合物 (例如, 免疫球蛋白、核酸、蛋白质、寡肽、多肽、抗体、抗原性多肽的片段、或重复体)、活性剂或可检测部分, 条件是至少一次出现的Z'将所述式 (Ia) 或式 (Ia') 的结构连接至 (CB)<sub>cb</sub>;

每个L'独立地是经由选自O、S和N、优选O或N的杂原子与-S(=O)(=N-) - 附接的连接基团, 并且被选择为使得在L'与-S(=O)(=N-) - 之间的键的裂解促进在L'与Q之间的键裂解以释放所述活性剂;

每个X独立地是-O-、-CR<sup>a</sup><sub>2</sub>-或-NR'-, 优选-O-;

Ar表示环, 例如芳基、杂芳基、环烷基或杂环烷基, 优选芳基或杂芳基;

Y'是-(CR<sup>b</sup>)<sub>y</sub>N(R<sup>a</sup>)-、-(CR<sup>b</sup>)<sub>y</sub>O-或-(CR<sup>b</sup>)<sub>y</sub>S-, 被定位成使得如果y是1, 则N、O或S原子与TG附接;

TG是触发基团, 所述触发基团当被活化时产生能够与所述-S(=O)(=N-) - 反应以置换(Q)<sub>q</sub>-(L')<sub>w</sub>并且形成包含X-S(=O)(=N-) - 和Ar的居间原子的5-6元环的N、O或S原子;

q是值为从1至约20、优选从1至约10的整数;

w、x和y各自独立地是值为0或1的整数;

E是值为0、1或2的整数;

每个R<sup>a</sup>和R<sup>c</sup>独立地是氢或低级烷基; 并且

每个R<sup>b</sup>独立地是氢或低级烷基; 或

两个R<sup>b</sup>与它们所附接的碳原子一起形成3-5元环、优选3-4元环;

条件是当w是0时, q是1。

25. 如权利要求24所述的化合物, 其中X是-O-。

26. 如权利要求24或25所述的化合物, 其中Ar是芳基。

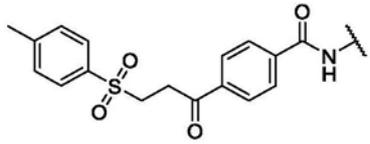
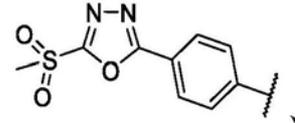
27. 如权利要求26所述的化合物, 其中Ar是苯基或萘基。

28. 如权利要求24-27中任一项所述的化合物, 其中E是0。

29. 如权利要求24-28中任一项所述的化合物, 其中至少一个Z' (例如, 所述连接至 (CB)<sub>cb</sub> 的Z'), 任选地每个Z', 是包含一个或多个选自以下的基团的连接基团: 异氰化物、异

硫氰化物、2-吡啶基二硫化物、卤代乙酰胺 (-NHC(O)CH<sub>2</sub>-卤基)、马来酰亚胺、二烯、烯烃、卤

化物、甲苯磺酸根 (TsO<sup>-</sup>)、醛、磺酸根 (R-SO<sub>3</sub><sup>-</sup>)、

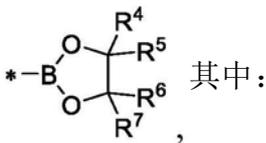


磷酸 (-P(=O)(OH)<sub>2</sub>)、酮、C<sub>8</sub>-C<sub>10</sub>环炔基、-OH、-NHOH、-NHNH<sub>2</sub>、-

SH、羧酸 (-COOH)、乙炔 (-C≡CH)、叠氮化物 (-N<sub>3</sub>)、氨基 (-NH<sub>2</sub>)、磺酸 (-SO<sub>3</sub>H)、炔酮衍生物 (-C(O)C≡C-R<sup>a</sup>) 和磷酸二氢根 (-OP(=O)(OH)<sub>2</sub>)。

30. 如权利要求24-29中任一项所述的化合物,其中x是0。

31. 如权利要求30所述的化合物,其中TG是-NO<sub>2</sub>、-OC(O)(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>C(O)R<sup>1</sup>、-NHNH<sub>2</sub>、-BR<sup>2</sup>R<sup>3</sup>或



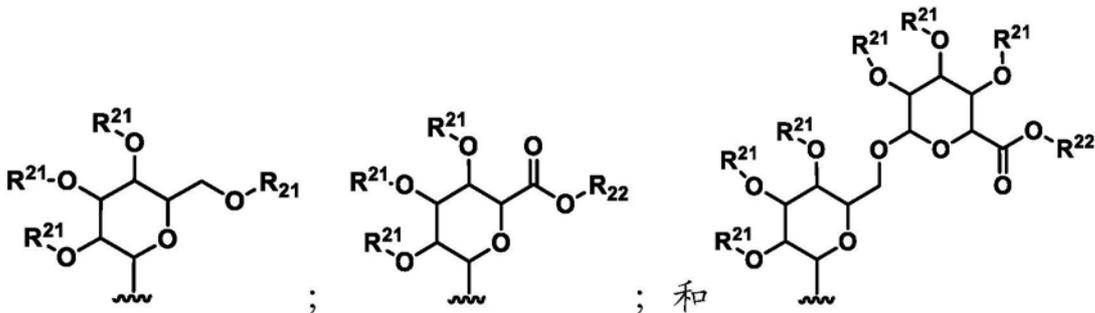
R<sup>1</sup>是C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;

R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>各自独立地是氢、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基或羟基;

R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>和R<sup>7</sup>各自独立地是氢或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;并且

r是值为1、2、3、4或5的整数。

32. 如权利要求24-29中任一项所述的化合物,其中TG选自:



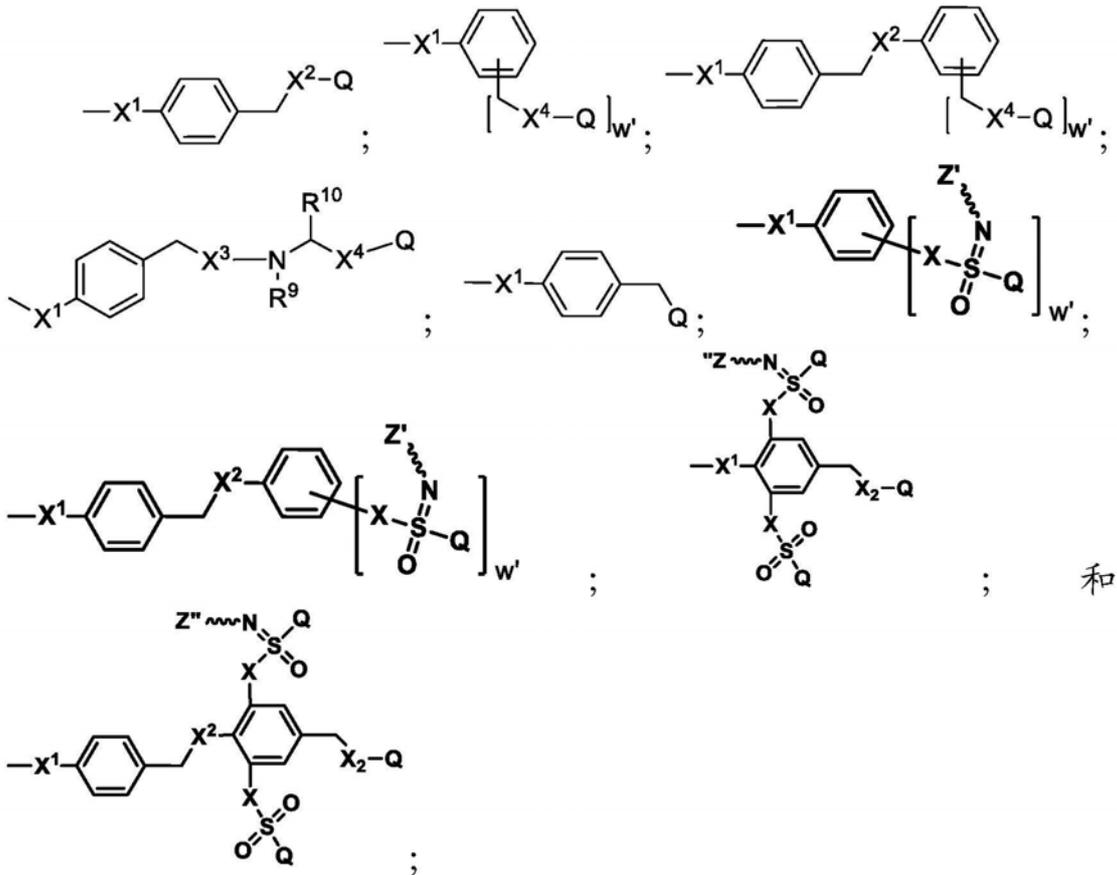
其中:

每个R<sup>21</sup>独立地是氢或乙酰基;并且

R<sup>22</sup>是氢或低级烷基。

33. 如权利要求24-29中任一项所述的化合物,其中TG选自-NO<sub>2</sub>、-C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C(O)-烷基和硝基苄基。

34. 如权利要求24-33中任一项所述的化合物,其中(Q)<sub>q</sub>-(L')<sub>w</sub>-选自:



其中：

$X^1$ 是 $-O-$ 或 $-NR^a-$ ；

$X^2$ 和 $X^4$ 各自独立地不存在或者是 $C(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 或 $-C(O)NH-$ ；

$X^3$ 是 $-OC(=O)-$ ；

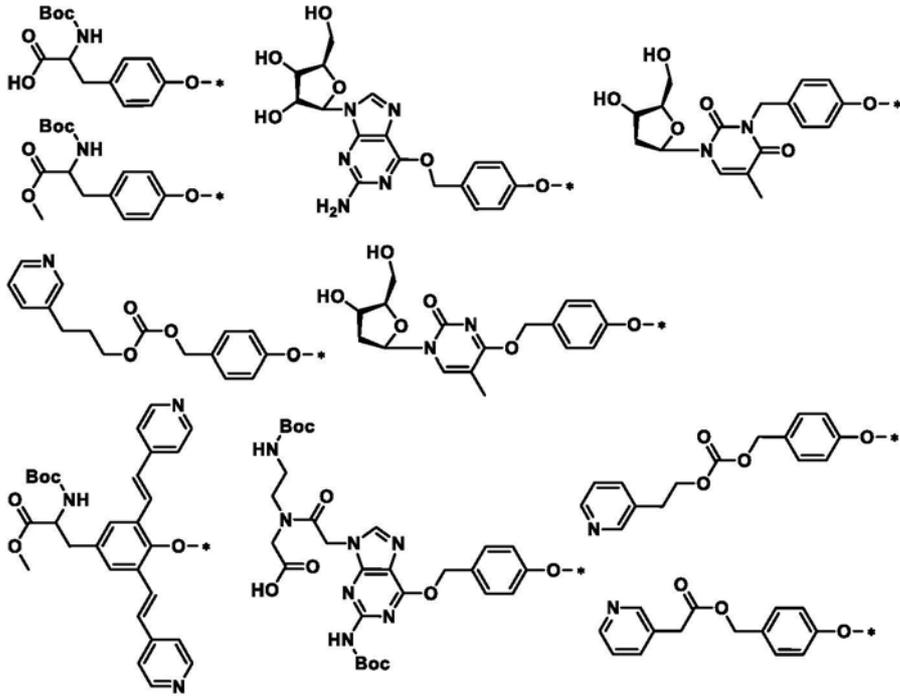
$w'$ 是值为1、2、3、4或5的整数；

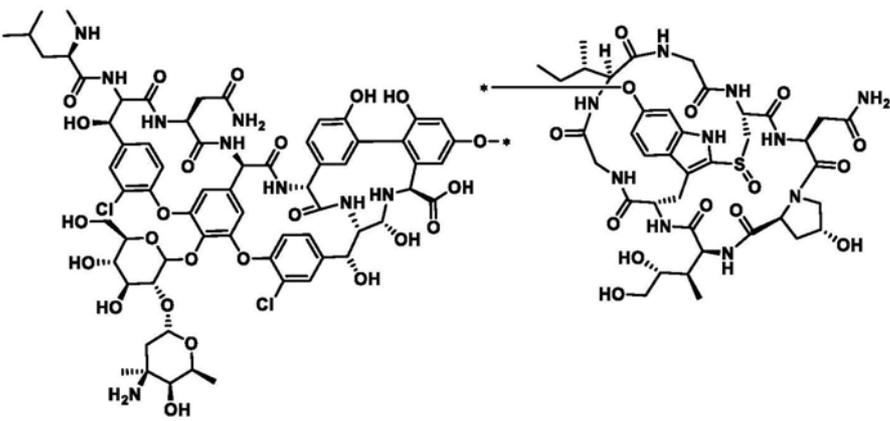
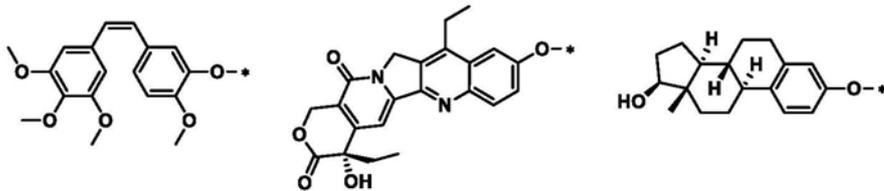
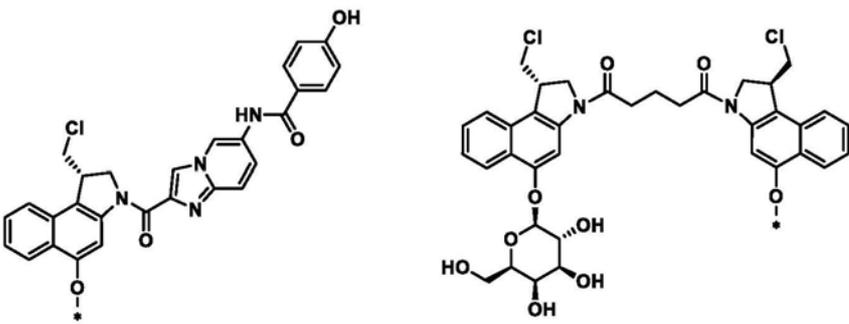
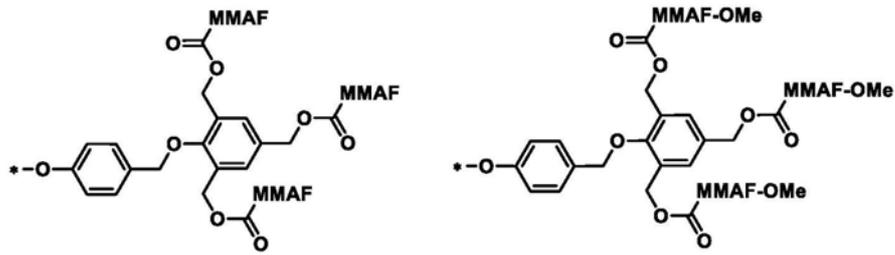
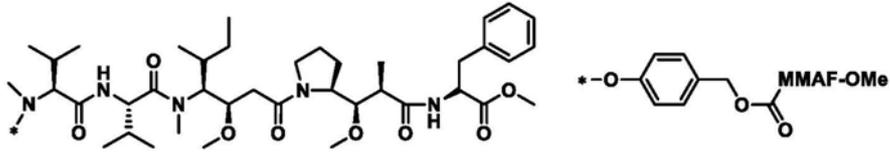
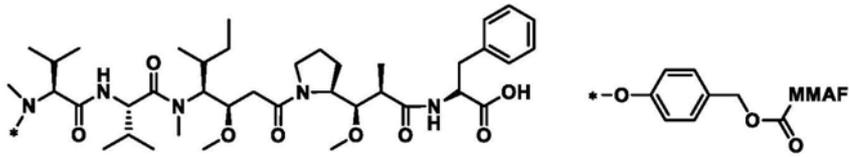
$R^9$ 和 $R^{10}$ 各自独立地是氢、烷基、芳基或杂芳基，其中烷基、芳基和杂芳基任选地被一个或多个例如选自烷基、 $-(CH_2)_uNH_2$ 、 $-(CH_2)_uNR^{u1}R^{u2}$ 和 $-(CH_2)_uSO_2R^{u3}$ 的取代基取代；

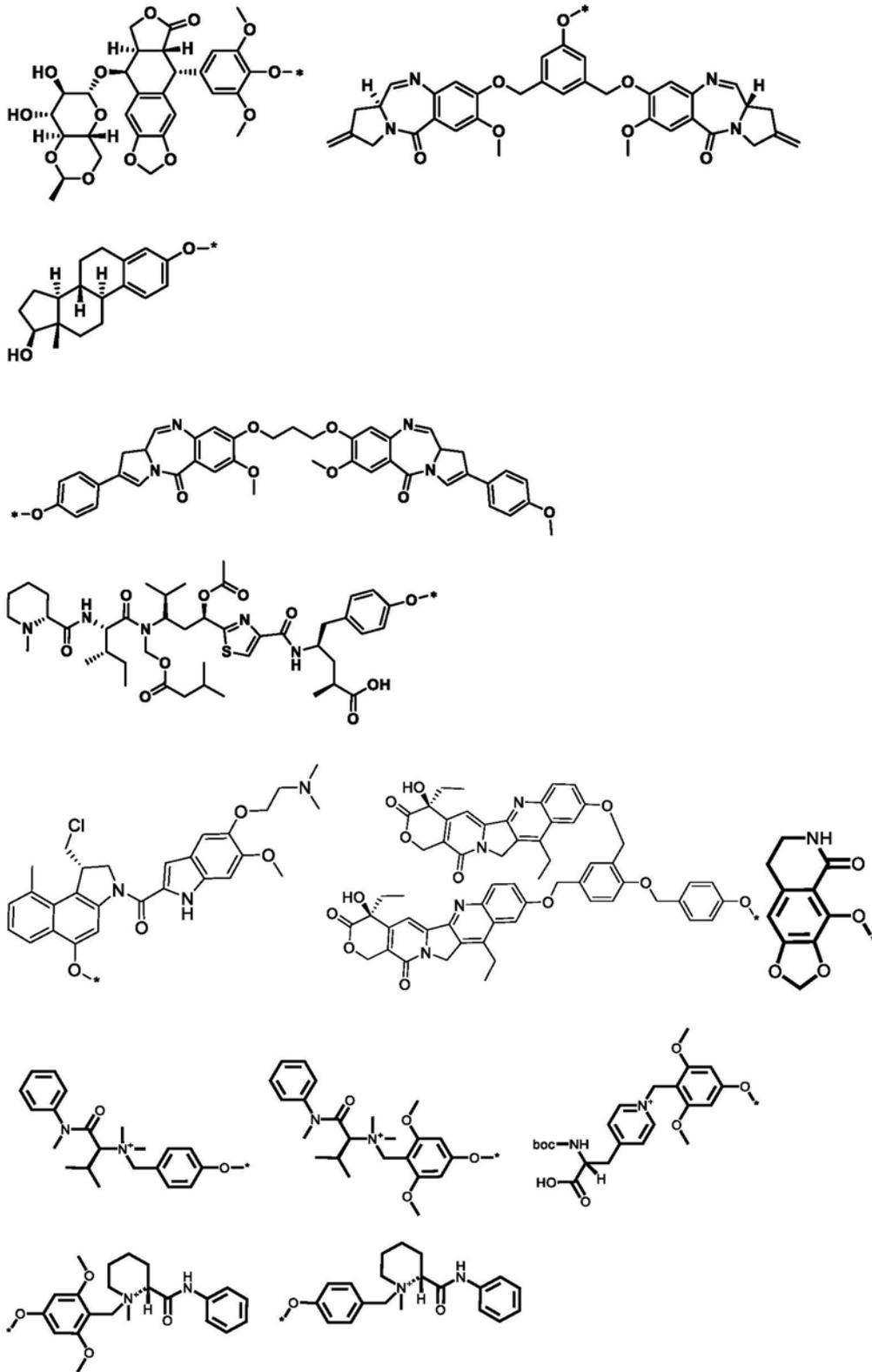
$R^{u1}$ 、 $R^{u2}$ 和 $R^{u3}$ 各自独立地是氢、烷基、芳基或杂芳基；并且

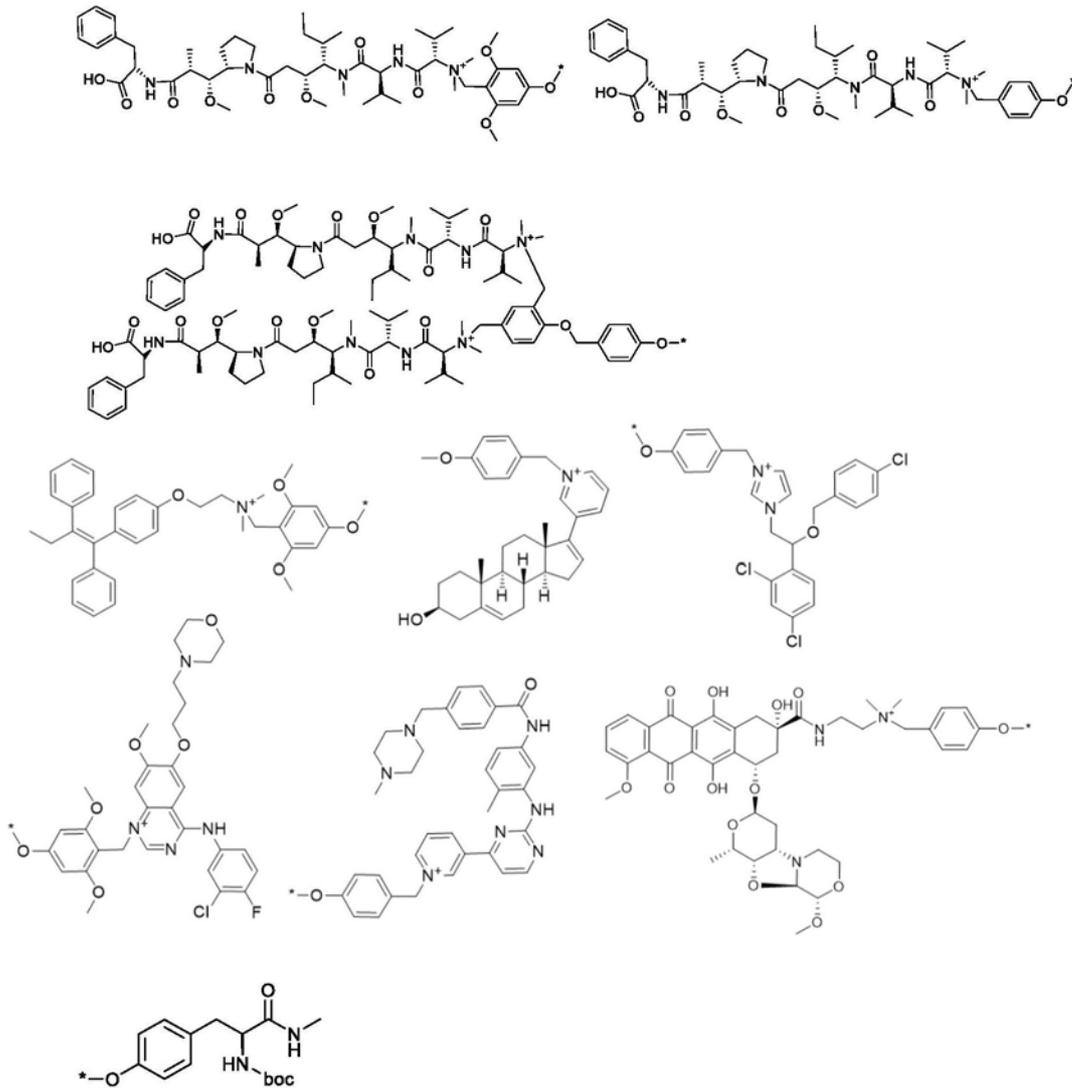
$u$ 是值为1至约10的整数。

35. 如权利要求34所述的化合物，其中 $(Q)_q-(L')_w$ 选自：









其中\*表示(Q)<sub>q</sub>-(L')<sub>w</sub>-与-S(=O)(=N)-的附接点。

36. 如权利要求24-35中任一项所述的化合物,其中Q是化学因子、生物因子、激素、寡核苷酸、药物、毒素、亲和配体、用于检测的探针、或其组合。

37. 如权利要求36所述的化合物,其中Q是选自细胞因子、免疫调节化合物、抗癌剂、抗病毒剂、抗细菌剂、抗真菌剂、驱虫剂、或其组合的药物。

38. 一种制备缀合物的方法,所述方法包括使如权利要求24-37中任一项所述的化合物与靶向部分反应。

39. 如权利要求38所述的方法,其中所述靶向部分是纳米颗粒、免疫球蛋白、核酸、蛋白质、寡肽、多肽、抗体、抗原性多肽的片段、或重复体。

40. 如权利要求39所述的方法,其中所述靶向部分是选自以下的抗体:完整多克隆抗体、完整单克隆抗体、抗体片段、单链Fv(scFv)突变体、多特异性抗体、双特异性抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人类抗体、包含抗体的抗原决定簇部分的融合蛋白、和包含抗原识别位点的其他经修饰的免疫球蛋白分子。

41. 如权利要求39所述的方法,其中所述抗体选自莫罗单抗-CD3、阿昔单抗、利妥昔单抗、达利珠单抗、帕利珠单抗、英利昔单抗、曲妥珠单抗(赫赛汀)、依那西普、巴利昔单抗、吉妥珠单抗奥佐米星、阿仑珠单抗、异贝莫单抗替坦、阿达木单抗、阿法赛特、奥马珠单抗、依

法利珠单抗、托西莫单抗-I<sup>131</sup>、西妥昔单抗、贝伐珠单抗、那他珠单抗、雷珠单抗、帕尼单抗、依库丽单抗、利纳西普、培塞利珠单抗、罗米司亭、AMG-531、CNTO-148、CNTO-1275、ABT-874、LEA-29Y、贝利木单抗、TACI-Ig、第二代抗CD20、ACZ-885、托珠单抗、阿替珠单抗、美泊利单抗、帕妥珠单抗、Humax CD20、曲美木单抗(CP-675 206)、替西木单抗、MDX-010、IDEC-114、伊曲木单抗奥佐米星、HuMax EGFR、阿柏西普、HuMax-CD4、Ala-Ala、ChAglyCD3、TRX4、卡妥索单抗、IGN101、MT-201、Pregovomab、CH-14.18、WX-G250、AMG-162、AAB-001、莫维珠单抗、MEDI-524、依福谷单抗、Aurograb、瑞西巴库单抗、第三代抗CD20、LY2469298和维妥珠单抗。

42. 一种药物组合物,所述药物组合物包含如权利要求1-23中任一项所述的缀合物和药学上可接受的载体或赋形剂。

43. 一种成像组合物,所述成像组合物包含如权利要求1-23中任一项所述的缀合物。

44. 一种用于成像的方法,所述方法包括使材料(例如,细胞)与如权利要求43所述的成像组合物接触。

45. 一种传感器化合物,所述传感器化合物包含如权利要求1-23中任一项所述的缀合物。

46. 一种检测方法,所述检测方法包括使材料与如权利要求45所述的传感器化合物接触。

47. 一种分子开关、分子机器或纳米机器,所述分子开关、分子机器或纳米机器包含如权利要求1-23中任一项所述的缀合物。

48. 一种用于移动分子装置的部分的方法,所述方法包括将以下混合在溶液中:

- (1) 如权利要求47所述的分子开关、分子机器或纳米机器;和
- (2) 活化触发基团的活化剂。

49. 一种用于将活性剂递送至细胞的方法,所述方法包括使所述细胞与如权利要求1-23中任一项所述的缀合物接触,其中所述靶向部分被选择以结合至与靶细胞相关的分子。

50. 如权利要求49所述的方法,其中所述细胞在有需要的受试者中,从而治疗疾病或疾患。

51. 如权利要求49或50所述的方法,其中所述靶细胞是癌细胞并且所述靶向部分被选择以结合至与所述癌细胞相关(而不与健康细胞相关或至少优先与肿瘤细胞而不是健康细胞相关)的分子。

52. 如权利要求50或51所述的方法,其中所述疾病或疾患是自身免疫性疾病、感染性疾病或肿瘤。

53. 一种用于治疗增生性疾病的方法,所述方法包括施用如权利要求1-23中任一项所述的缀合物。

54. 如权利要求53所述的方法,其中所述增生性疾病选自自身免疫性病征(例如,全身性红斑狼疮、类风湿性关节炎、移植物抗宿主病、重症肌无力或舍格伦综合征)、慢性炎性疾病(例如,牛皮癣、哮喘或克罗恩氏病)、过度增生性病征(例如,乳腺癌、肺癌)、病毒感染(例如,疱疹、乳头状瘤或HIV)、骨关节炎和动脉粥样硬化。

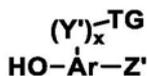
55. 如权利要求54所述的方法,其中所述增生性疾病是选自以下的癌症:癌、淋巴瘤、母细胞瘤、肉瘤、白血病或淋巴样恶性肿瘤。

56. 如权利要求55所述的方法,其中所述癌症是鳞状细胞癌(例如,上皮鳞状细胞癌)、

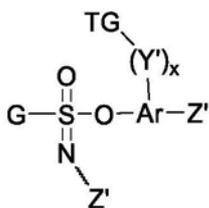
肺癌(例如,小细胞肺癌、非小细胞肺癌(“NSCLC”)、肺腺癌和肺鳞状癌)、腹膜癌、肝细胞癌、胃癌或胃部癌(例如,胃肠道癌)、胰腺癌、胶质母细胞瘤、宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、肝细胞瘤、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、子宫内膜或子宫癌、唾液腺癌、肾脏癌或肾癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝脏癌、肛门癌、阴茎癌、急性白血病、以及头/脑和颈癌。

57. 如权利要求56所述的方法,其中所述癌症是宫颈癌。

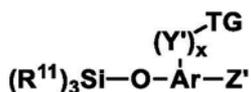
58. 一种式(IIa)、(IIb)或(IIc)的化合物:



(IIa)



(IIb)



(IIc)

或其药学上可接受的盐,其中:

G是卤素、咪唑或N-甲基咪唑鎓;

每个R<sup>11</sup>独立地是C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;

Ar表示环,例如芳基、杂芳基、环烷基或杂环烷基;

TG是触发基团,所述触发基团当被活化时产生能够形成包含X-S(=O)(=N-)-和Ar的居间原子的5-6元环的N、O或S原子;

Y'是-(CR<sup>b</sup>)<sub>y</sub>N(R<sup>a</sup>)-、-(CR<sup>b</sup>)<sub>y</sub>O-或-(CR<sup>b</sup>)<sub>y</sub>S-,被定位成使得如果y是1,则N、O或S原子与TG衔接;

O和Y'定位在Ar的相邻原子上;

x和y各自独立地是值为0或1的整数;

Z'不存在或者在每次出现时独立地是将式(IIa)、(IIb)或(IIc)的结构连接至(CB)<sub>cb</sub>的连接基团、增溶基团、反应性基团(例如,前体基团)、固体表面(例如,颗粒)、稳定化基团、螯合剂、生物聚合物(例如,免疫球蛋白、核酸、蛋白质、寡肽、多肽、抗体、抗原性多肽的片段或重复体)、活性剂或可检测部分,条件是至少一次出现的Z'将所述式(IIa)、(IIb)或(IIc)的结构连接至(CB)<sub>cb</sub>;并且

每个R<sup>a</sup>独立地是氢或烷基;并且

每个R<sup>b</sup>独立地是氢或烷基;或

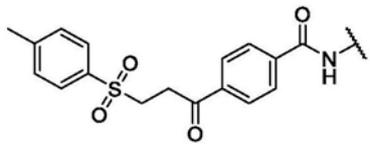
两个R<sup>b</sup>与它们所衔接的碳原子一起形成3-5元环,例如3元环。

59. 如权利要求58所述的化合物,其中Ar是芳基。

60. 如权利要求59所述的化合物,其中Ar是苯基或萘基。

61. 如权利要求58-60中任一项所述的化合物,其中至少一个Z' (例如,所述连接至(CB)<sub>cb</sub>的Z'),任选地每个Z',是包含一个或多个选自以下的基团的连接基团:异氰化物、异硫氰化物、2-吡啶基二硫化物、卤代乙酰胺(-NHC(O)CH<sub>2</sub>-卤基)、马来酰亚胺、二烯、烯烃、卤

化物、甲苯磺酸根(TsO<sup>-</sup>)、醛、磺酸根(R-SO<sub>3</sub><sup>-</sup>)、

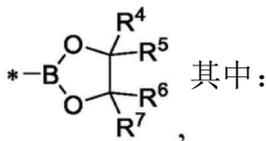


磷酸(-P(=O)(OH)<sub>2</sub>)、酮、C<sub>8</sub>-C<sub>10</sub>环炔基、-OH、-NHOH、-NHNH<sub>2</sub>、-

SH、羧酸(-COOH)、乙炔(-C≡CH)、叠氮化物(-N<sub>3</sub>)、氨基(-NH<sub>2</sub>)、磺酸(-SO<sub>3</sub>H)、炔酮衍生物(-C(O)C≡C-R<sup>a</sup>)和磷酸二氢根(-OP(=O)(OH)<sub>2</sub>)。

62. 如权利要求58-61中任一项所述的化合物,其中x是0。

63. 如权利要求62所述的化合物,其中TG是-NO<sub>2</sub>、-OC(O)(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>C(O)R<sup>1</sup>、-NHNH<sub>2</sub>、-BR<sup>2</sup>R<sup>3</sup>、



其中:

R<sup>1</sup>是C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;

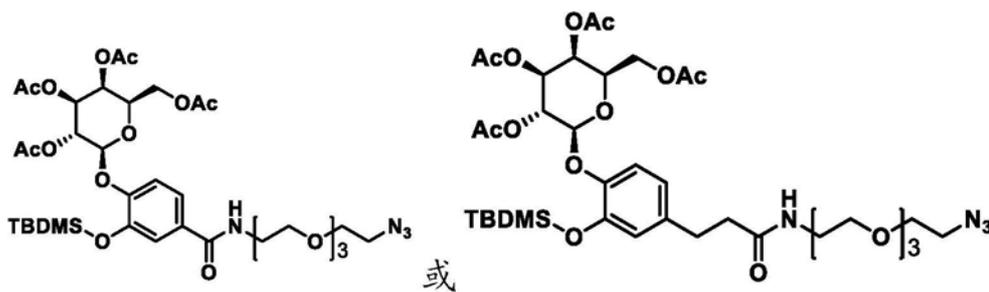
R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>各自独立地是氢、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基或羟基;

R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>和R<sup>7</sup>各自独立地是氢或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;并且

r是值为1、2、3、4或5的整数。

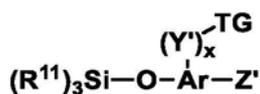
64. 如权利要求58-61中任一项所述的化合物,其中TG是触发基团,所述触发基团包括β-半乳糖苷、β-葡萄糖苷酸或β-半乳糖苷和β-葡萄糖苷酸的组合。

65. 如权利要求64所述的化合物,其中所述化合物是:



或其药学上可接受的盐。

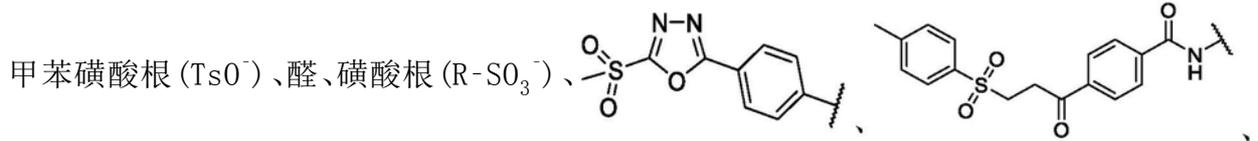
66. 一种用于制备化合物的方法,所述方法包括使式(IIc)的化合物:



(IIc)

或其药学上可接受的盐与磺酰基卤化物:

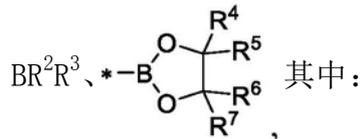




磷酸 (-P(=O)(OH)<sub>2</sub>)、酮、C<sub>8</sub>-C<sub>10</sub>环炔基、-OH、-NHOH、-NHNH<sub>2</sub>、-SH、羧酸 (-COOH)、乙炔 (-C≡CH)、叠氮化物 (-N<sub>3</sub>)、氨基 (-NH<sub>2</sub>)、磺酸 (-SO<sub>3</sub>H)、炔酮衍生物 (-C(O)C≡C-R<sup>a</sup>) 和磷酸二氢根 (-OP(=O)(OH)<sub>2</sub>)。

70. 如权利要求66-69中任一项所述的方法，其中x是0。

71. 如权利要求70所述的方法，其中TG是 -NO<sub>2</sub>、-OC(O)(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>C(O)R<sup>1</sup>、-NHOH、-NHNH<sub>2</sub>、-



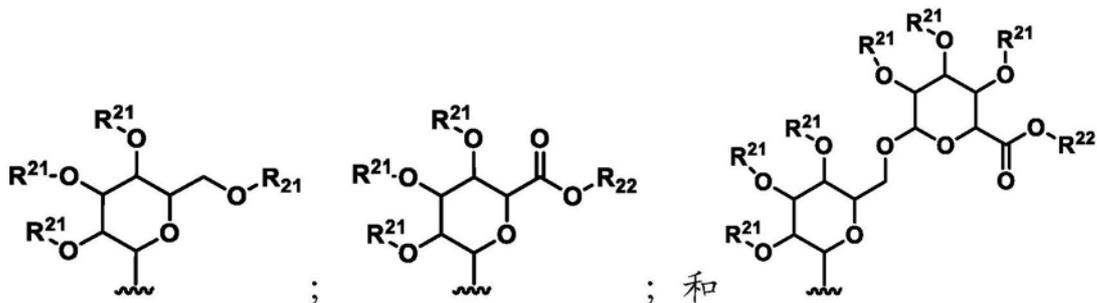
R<sup>1</sup>是C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基；

R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>各自独立地是氢、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基或羟基；

R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>和R<sup>7</sup>各自独立地是氢或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基；并且

r是值为1、2、3、4或5的整数。

72. 如权利要求66-69中任一项所述的方法，其中TG选自：



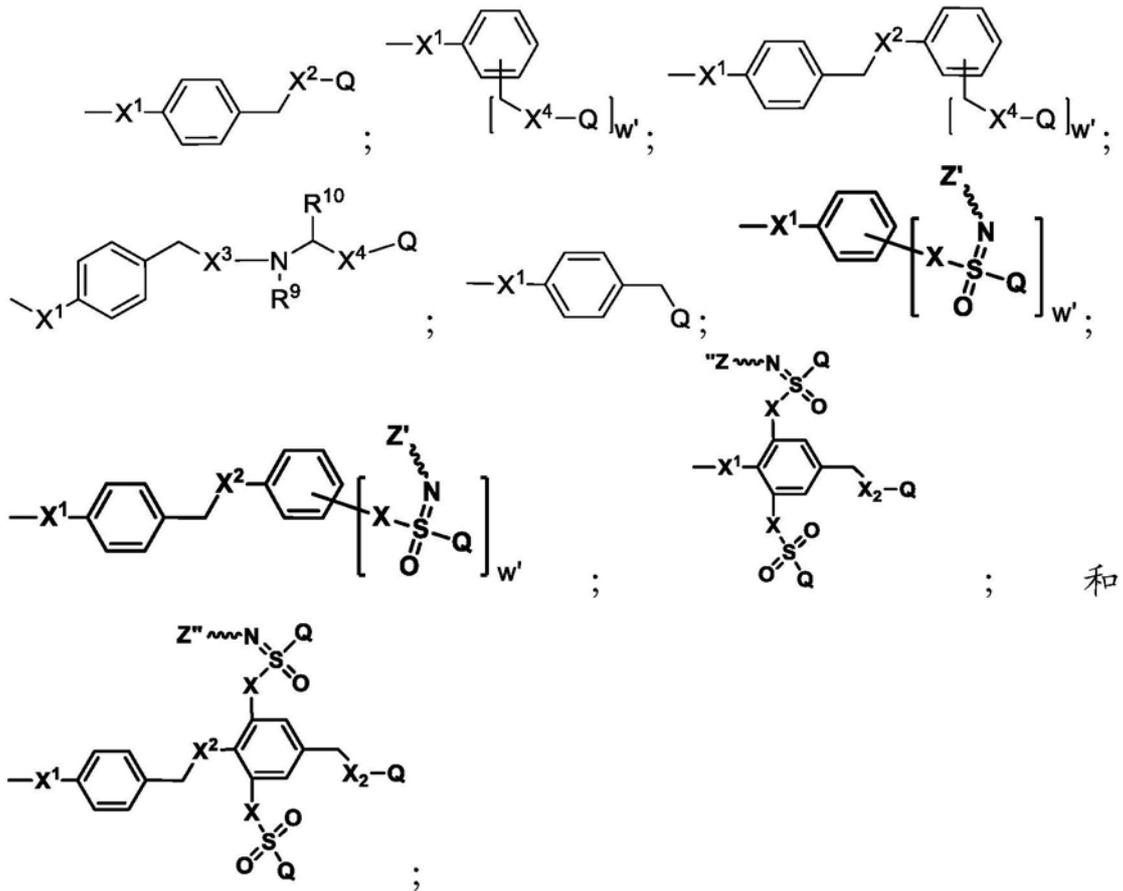
其中：

每个R<sup>21</sup>独立地是氢或乙酰基；并且

R<sup>22</sup>是氢或低级烷基。

73. 如权利要求66-69中任一项所述的方法，其中TG选自 -NO<sub>2</sub>、-C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C(O)-烷基和硝基苄基。

74. 如权利要求66-73中任一项所述的方法，其中(Q)<sub>q</sub>-(L')<sub>w</sub>-选自：



其中：

X<sup>1</sup>是-O-或-NR<sup>a</sup>-；

X<sup>2</sup>和X<sup>4</sup>各自独立地不存在或者是C(O)-、-C(O)O-或-C(O)NH-；

X<sup>3</sup>是-OC(=O)-；

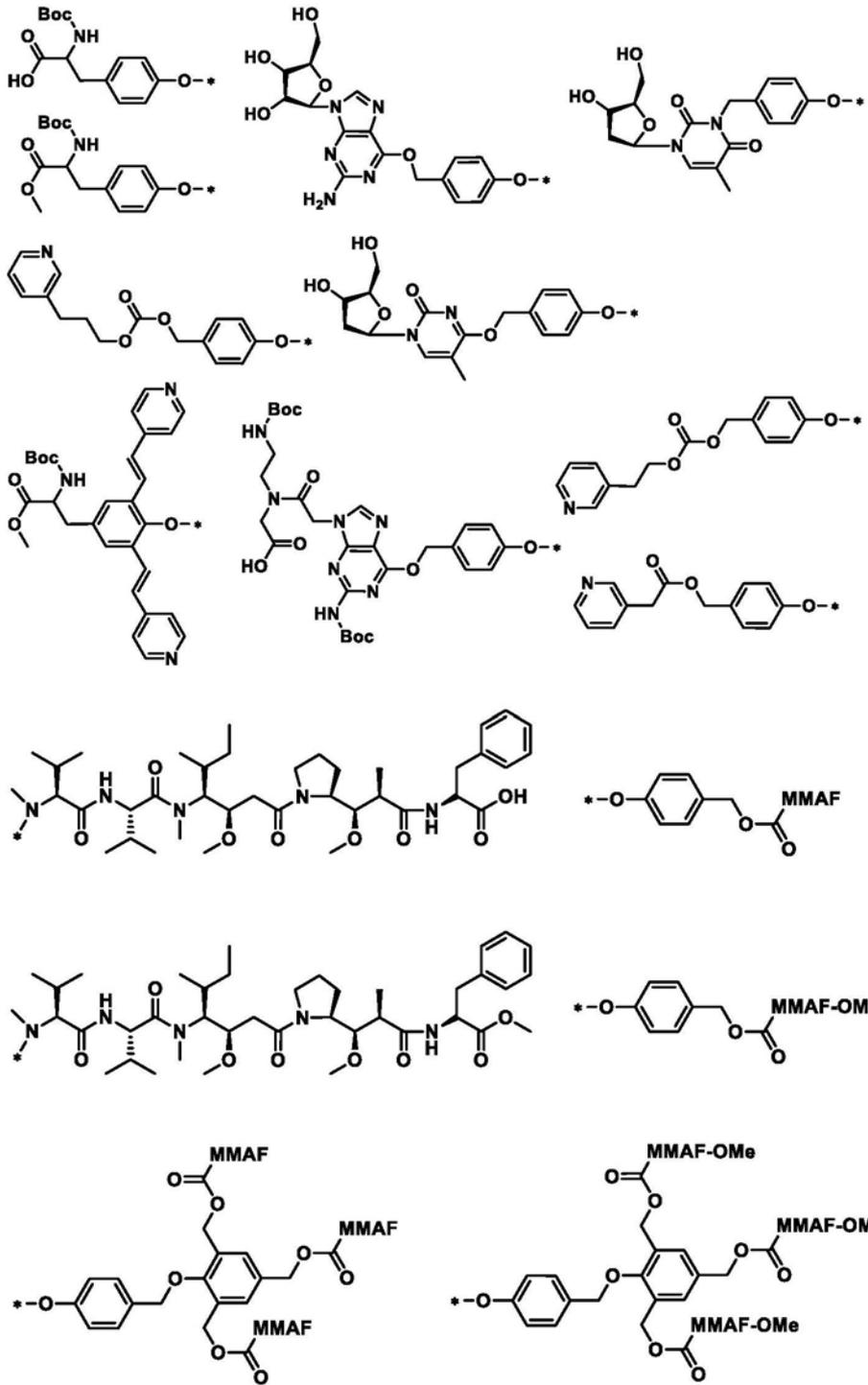
w'是值为1、2、3、4或5的整数；

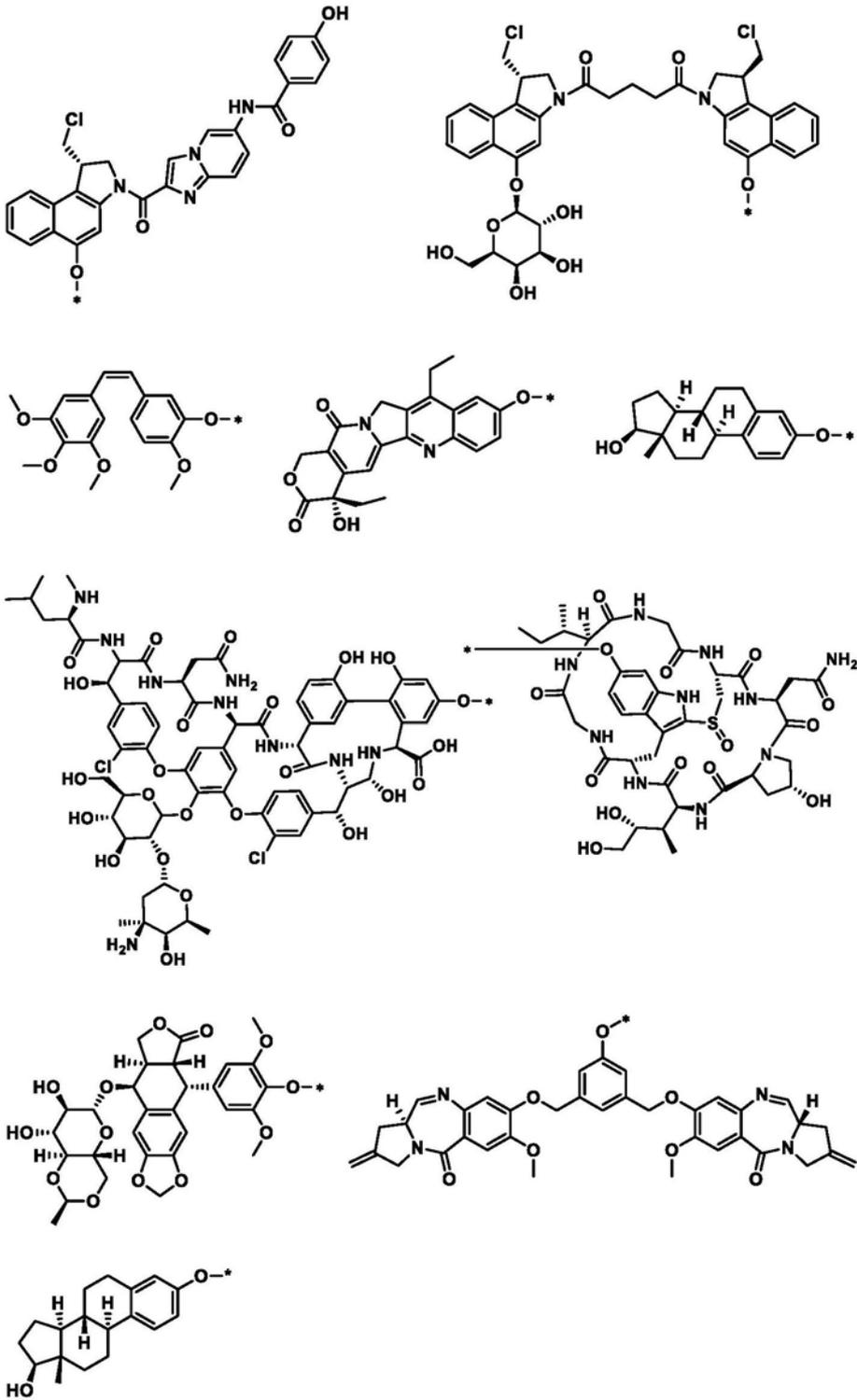
R<sup>9</sup>和R<sup>10</sup>各自独立地是氢、烷基、芳基或杂芳基，其中烷基、芳基和杂芳基任选地被一个或多个选自烷基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>NH<sub>2</sub>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>NR<sup>u1</sup>R<sup>u2</sup>和-(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>SO<sub>2</sub>R<sup>u3</sup>的取代基取代；

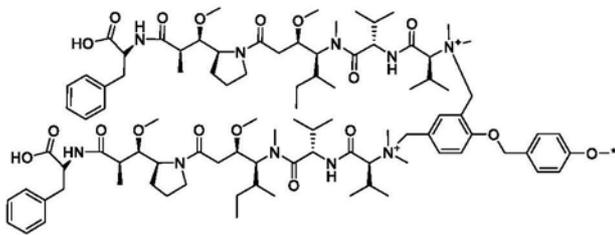
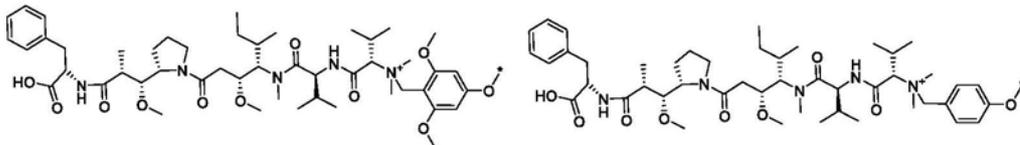
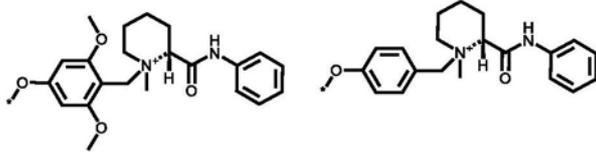
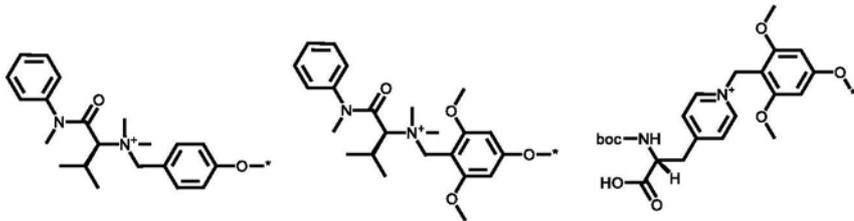
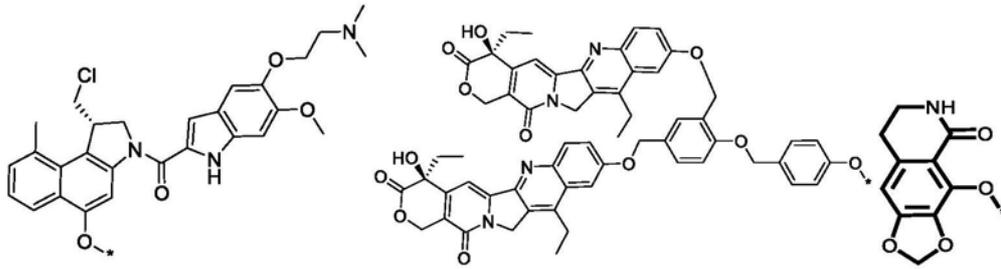
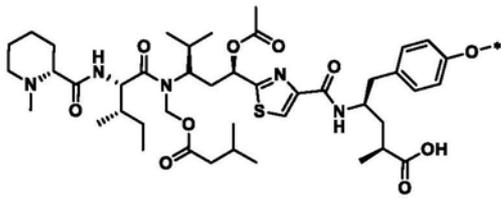
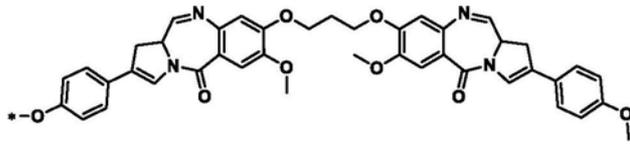
R<sup>u1</sup>、R<sup>u2</sup>和R<sup>u3</sup>各自独立地是氢、烷基、芳基或杂芳基；并且

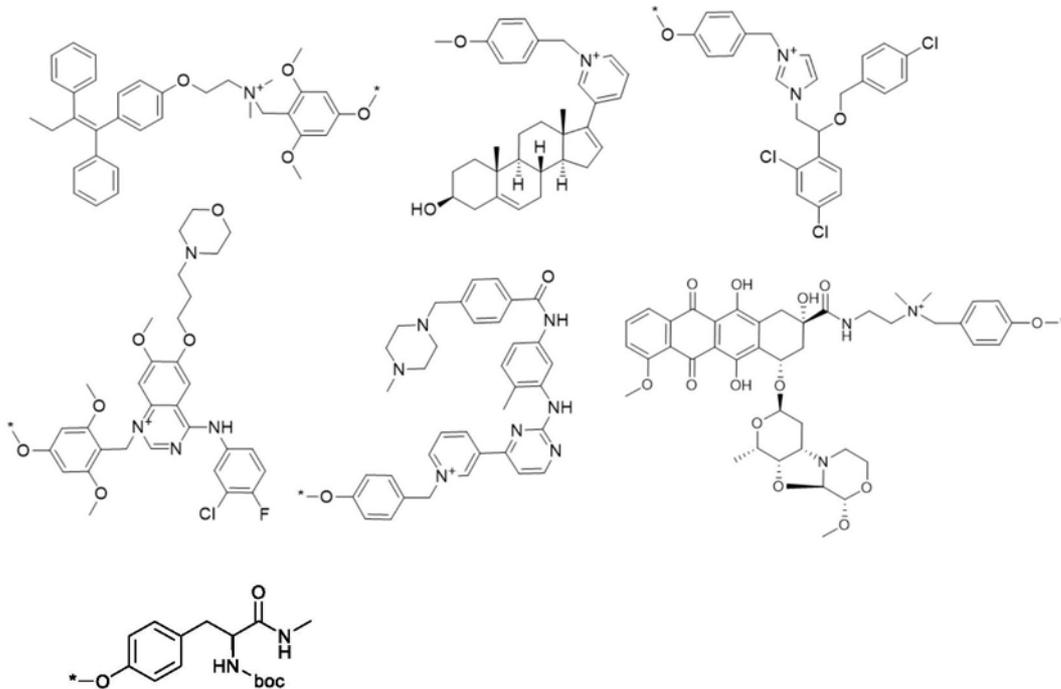
u是值为1至约10的整数。

75. 如权利要求74所述的方法，其中(Q)<sub>q</sub>-(L')<sub>w</sub>-选自：









其中\*表示Q-(L')<sub>w</sub>-与-S(=O)(=N-)-的附接点。

76. 如权利要求66-72中任一项所述的方法,其中Q是化学因子、生物因子、激素、寡核苷酸、药物、毒素、亲和配体、用于检测的探针或其组合。

77. 如权利要求76所述的方法,其中Q是选自细胞因子、免疫调节化合物、抗癌剂、抗病毒剂、抗细菌剂、抗真菌剂、驱虫剂或其组合的药物。

78. 如权利要求66-71中任一项所述的方法,其中使所述式(Iaa)的化合物进一步与靶向部分反应以提供所述式(I')的缀合物。

79. 如权利要求78所述的方法,其中所述靶向部分是纳米颗粒、免疫球蛋白、核酸、蛋白质、寡肽、多肽、抗体、抗原性多肽的片段或重复体。

80. 如权利要求79所述的方法,其中所述靶向部分是选自以下的抗体:完整多克隆抗体、完整单克隆抗体、抗体片段、单链Fv(scFv)突变体、多特异性抗体、双特异性抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人类抗体、包含抗体的抗原决定簇部分的融合蛋白和包含抗原识别位点的其他经修饰的免疫球蛋白分子。

81. 如权利要求79所述的方法,其中所述靶向部分是选自以下的抗体:莫罗单抗-CD3、阿昔单抗、利妥昔单抗、达利珠单抗、帕利珠单抗、英利昔单抗、曲妥珠单抗(赫赛汀)、依那西普、巴利昔单抗、吉妥珠单抗奥佐米星、阿仑珠单抗、异贝莫单抗替坦、阿达木单抗、阿法赛特、奥马珠单抗、依法利珠单抗、托西莫单抗-<sup>131</sup>I、西妥昔单抗、贝伐珠单抗、那他珠单抗、雷珠单抗、帕尼单抗、依库丽单抗、利纳西普、培塞利珠单抗、罗米司亭、AMG-531、CNT0-148、CNT0-1275、ABT-874、LEA-29Y、贝利木单抗、TACI-Ig、第二代抗CD20、ACZ-885、托珠单抗、阿替珠单抗、美泊利单抗、帕妥珠单抗、Humax CD20、曲美木单抗(CP-675 206)、替西木单抗、MDX-010、IDEC-114、伊曲木单抗奥佐米星、HuMax EGFR、阿柏西普、HuMax-CD4、Ala-Ala、ChAglyCD3、TRX4、卡妥索单抗、IGN101、MT-201、Pregovomab、CH-14.18、WX-G250、AMG-162、AAB-001、莫维珠单抗、MEDI-524、依福谷单抗、Aurograb、瑞西巴库单抗、第三代抗CD20、LY2469298和维妥珠单抗。

## 包含可裂解接头的化合物及其用途

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求2019年1月3日提交的美国临时专利申请号62/788,039的权益,所述临时专利申请的内容通过引用完全并入本文。

## 背景技术

[0003] 抗体-药物缀合物(ADC)正作为对一系列癌症具有功效的一类强大的抗肿瘤剂而兴起。ADC通常由三个不同的特征构成:细胞结合剂或靶向部分;接头;和细胞毒性剂。ADC的接头组分是开发靶向抗癌剂的重要特征,所述靶向抗癌剂具有希望的靶标特异性,即,在肿瘤细胞中具有高活性,但在健康细胞中具有低活性。

[0004] 因此,需要可用于制备ADC的改进的接头。

## 发明内容

[0005] 本文提供了式(I')的缀合物:

[0006]  $(D-L)_n - (CB)_{cb}$

[0007] (I')

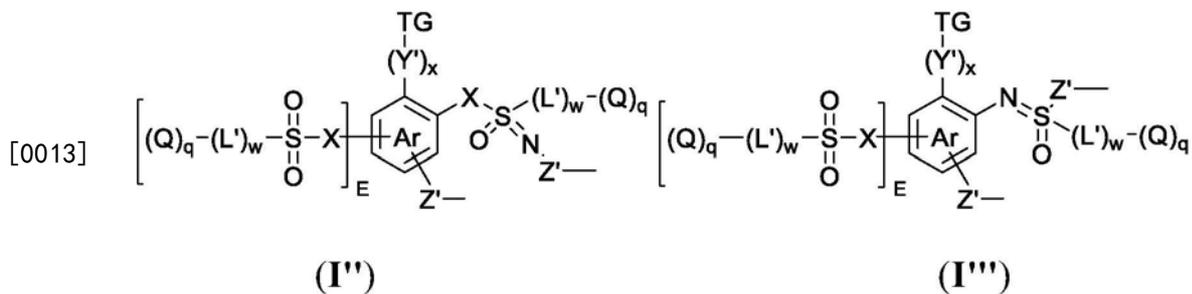
[0008] 或其药学上可接受的盐,

[0009] 其中:

[0010] CB是靶向部分;

[0011]  $cb$ 和 $n$ 各自独立地是值为1至约20、优选从1至约10的整数;

[0012] 每个D-L独立地是具有式(I'')或式(I''')的结构基团:



[0014] 每个Q独立地是通过杂原子、优选O或N与L'连接的活性剂;

[0015] Z'在每次出现时独立地是将式(I'')或式(I''')的结构连接至 $(CB)_{cb}$ 的连接基团、增溶基团、反应性基团(例如,前体基团)、固体表面(例如,颗粒)、稳定化基团、螯合剂、生物聚合物(例如,免疫球蛋白、核酸、蛋白质、寡肽、多肽、抗体、抗原性多肽的片段、或重复体)、活性剂或可检测部分,条件是至少一次出现的Z'将式(I'')或式(I''')的结构连接至 $(CB)_{cb}$ ;

[0016] 每个L'独立地是经由选自O、S和N,优选O或N的杂原子与-S(=O)(=N-)-附接的间隔基部分,并且被选择为使得在L'与-S(=O)(=N-)-之间的键的裂解促进在L'与Q之间的键裂解以释放所述活性剂;

[0017] 每个X独立地是-O-、-C(R<sup>b</sup>)<sub>2</sub>-或-N(R<sup>c</sup>)-,优选-O-;

[0018] Ar表示环,例如芳基、杂芳基、环烷基或杂环烷基,优选芳基或杂芳基;

[0019] Y' 是  $-(CR^b_2)_y N(R^a)-$ 、 $-(CR^b_2)_y O-$  或  $-(CR^b_2)_y S-$ ，被定位成使得如果 y 是 1，则 N、O 或 S 原子与 TG 附接；

[0020] TG 是触发基团，所述触发基团当被活化时产生能够与所述  $-S(=O)(=N)-$  反应以置换  $(Q)_q-(L')_w$  并且形成包含 X-S(=O)(=N)- 和 Ar 的居间原子的 5-6 元环的 N、O 或 S 原子；

[0021] q 是值为从 1 至约 20、优选从 1 至约 10 的整数；

[0022] w、x 和 y 各自独立地是值为 0 或 1 的整数；

[0023] E 是值为 0、1 或 2 的整数；

[0024] 每个  $R^a$  和  $R^c$  独立地是氢或低级烷基；并且

[0025] 每个  $R^b$  独立地是氢或低级烷基；或

[0026] 两个  $R^b$  与它们所附接的原子一起形成 3-5 元环、优选 3-4 元环；

[0027] 条件是当 w 是 0 时，q 是 1。

[0028] 在某些优选的实施方案中，E 是 0。

[0029] 在一些实施方案中，本发明涉及包含式 (I') 的化合物和载体（例如，药学上可接受的载体）的组合物（例如，药物组合物）。

[0030] 在某些实施方案中，本发明提供了式 (I') 的缀合物和包含此类缀合物的组合物，例如用于疗法、成像、作为传感器、作为分子开关、作为分子机器和/或作为纳米机器。

[0031] 在一些实施方案中，本发明提供了式 (I') 的缀合物及其药物组合物，用于将活性剂递送至细胞的方法，其中所述靶向部分被选择以结合至与靶细胞相关的分子。特别地，本发明的化合物、缀合物和组合物可用于在哺乳动物（例如，人）中抑制异常细胞生长或治疗增生性疾病，例如当靶细胞是癌细胞并且靶向部分被选择以结合至与所述癌细胞相关（而不与健康细胞相关或至少优先与肿瘤细胞而不是健康细胞相关）的分子。

[0032] 本发明的式 (I') 的缀合物及其药物组合物可用于治疗哺乳动物（例如，人）的疾患，例如癌症、类风湿性关节炎、多发性硬化、移植物抗宿主病 (GVHD)、移植排斥、狼疮、肌炎、感染、免疫缺陷如 AIDS、和炎性疾病。

## 附图说明

[0033] 图 1 示出了化合物 A-1 的酶促裂解测定的结果。

[0034] 图 2 示出了化合物 A-2 的酶促裂解测定的结果。

[0035] 图 3 示出了化合物 A-3 的酶促裂解测定的结果。

[0036] 图 4 示出了化合物 A-4 的酶促裂解测定的结果。

[0037] 图 5 示出了化合物 A-5 的酶促裂解测定的结果。

[0038] 图 6 示出了化合物 A-2 在各种血浆中的稳定性测试的结果。

[0039] 图 7 示出了化合物 A-2 在各种血浆中的稳定性测试的结果。

## 具体实施方式

[0040] 在一些实施方案中，本发明涉及包含可裂解接头的化合物和缀合物及其用途。本文公开的代表性化合物和缀合物包含具有希望的功能或活性的活性剂（例如，化学因子、生物因子、激素、寡核苷酸、药物、毒素、配体、用于检测的探针等）、在预定条件下经受化学反应（例如，物理化学反应和/或生物反应）以释放亲核杂原子的官能团、和  $-S(=O)(=N)-$  官

能团,所述-S(=O)(=N-)-官能团是邻近所述亲核杂原子定位的,使得它可在分子内环化反应中与亲核杂原子反应以释放所述活性剂。在一些实施方案中,本文公开的化合物和缀合物进一步包含针对所希望的靶标受体或与靶细胞相关的其他分子具有特异性的靶向部分(例如,寡肽、多肽、抗体等)。

#### [0041] 定义

[0042] 术语“烷基”的含义是本领域中所理解的。例如,单独使用或作为较大部分的一部分使用的“烷基”,例如“烷氧基”、“卤代烷基”、“环烷基”、“杂环烷基”等,可以是指完全饱和的直链或支链烃。典型地,直链或支链烷基是具有从1至约20碳原子、优选从1至约10碳原子的无环基团,除非另有定义。直链和支链烷基的例子包括但不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、正己基、正庚基和正辛基。 $C_1-C_6$ 直链或支链烷基也称为“低级烷基”基团。具有两个开放化合价的烷基有时称为具有“亚基(ene)”后缀,如在亚烷基中。示例性亚烷基包括亚甲基、亚乙基、亚丙基等。

[0043] 此外,术语“烷基”(或“低级烷基”)可包括“未被取代的烷基”和“被取代的烷基”两者,其中后者是指具有替代烃主链的一个或多个碳上的氢的取代基的烷基部分。如果未另外规定,则此类取代基可包括例如卤素、羟基、羰基(例如羧基、烷氧基羰基、甲酰基或酰基)、硫代羰基(例如硫酯、硫代乙酸根或硫代甲酸根)、烷氧基、磷酰基、磷酸根、膦酸根、次磷酸根、氨基、酰氨基、脒、亚胺、氰基、硝基、叠氮基、巯基、烷硫基、硫酸根、磺酸根、氨磺酰基、磺酰氨基、磺酰基、杂环基、芳烷基、或芳族或杂芳族部分。技术人员应理解,如果适当的话,在烃链上取代的部分本身可以被取代。例如,被取代的烷基的取代基可包括取代和未取代形式的烷基、氨基、叠氮基、亚氨基、酰胺基、磷酰基(包括膦酸根和次磷酸根)、磺酰基(包括硫酸根、磺酰氨基、氨磺酰基和磺酸根)、和甲硅烷基,以及醚、烷硫基、羰基(包括酮、醛、羧酸根和酯)、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 等。下面描述示例性被取代的烷基。环烷基可进一步被烷基、烯基、烷氧基、烷硫基、氨基烷基、经羰基取代的烷基、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 等取代。

[0044] 当术语“ $C_x-C_y$ ”与化学部分(例如酰基、酰氧基、烷基、烯基、炔基或烷氧基)结合使用时,可包括链中含有从x至y个碳的基团,其中“x”和“y”是选自1至约20的整数,并且其中x是值小于y的整数,并且x和y不是相同的值。例如,术语“ $C_x-C_y$ 烷基”是指被取代或未被取代的饱和烃基,包括链中含有从x至y数目的碳的基团的直链烷基和支链烷基,包括卤代烷基,例如三氟甲基和2,2,2-三氟乙基等。术语“ $C_2-C_y$ 烯基”和“ $C_2-C_y$ 炔基”是指长度和可能的取代与上面描述的烷基相似但分别含有至少一个双键或三键的被取代或未被取代的不饱和脂族基团。当应用于杂烷基时,“ $C_x-C_y$ ”指示基团在链中含有从x至y数目的碳和杂原子。当应用于碳环结构(例如芳基和环烷基)时,“ $C_x-C_y$ ”指示所述环在环中含有x至y数目的碳原子。

[0045] 术语“烷氧基”的含义是本领域中所理解的,并且例如可以是指具有与其附接的氧的烷基、优选低级烷基。代表性烷氧基包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、叔丁氧基等。

[0046] 术语“卤”、“卤基”和“卤素”在全文中可互换使用并且是指氟(fluorine或fluoro, F)、氯(chlorine或chloro, Cl)、溴(bromine或bromo, Br)或碘(iodine或iodo, I)。

[0047] 术语“环烷基”的含义是本领域中所理解的,并且例如可以是指完全饱和的被取代或未被取代的环烃。环烷基包括单环和双环的环。典型地,单环环烷基具有从3至约10个碳原子、更典型地3至8个碳原子,除非另有定义。双环环烷基的第二个环可选自饱和的、不饱和的和芳族的环。环烷基包括双环分子,其中一个、两个或三个或更多个原子是两个环共享

的。术语“稠合环烷基”是指双环环烷基，其中每个环与另一个环共享两个相邻原子。稠合双环环烷基的第二个环可选自饱和的、不饱和和芳族的环。“环烯基”基团是含有一个或多个双键的环烃。

[0048] 术语“芳基”的含义是本领域中所理解的，并且例如可以是指被取代或未被取代的单环芳族基团，环的每个原子是碳。优选地，所述环5至7元环、更优选6元环。术语“芳基”还包括具有两个或更多个环状的环的多环环系，其中两个毗邻的环共用两个或更多个碳，其中至少一个环是芳族的，例如另一个环状的环可以是环烷基、环烯基、环烷基、芳基、杂芳基和/或杂环基。芳基包括苯、萘、菲、苯酚、苯胺等。

[0049] 术语“杂环基”和“杂环”的含义是本领域中所理解的，并且例如可以是指被取代或未被取代的非芳族环结构，优选3至10元环、更优选3至7元环，其环结构包含至少一个杂原子、优选一至四个杂原子、更优选一个或两个杂原子。此类杂环还包括具有两个或更多个环状的环的多环环系，其中两个毗邻的环共用两个或更多个碳，其中至少一个环是杂环的，例如另一个环状的环可以是环烷基、环烯基、环烷基、芳基、杂芳基和/或杂环基。杂环基包括例如哌啶、哌嗪、吡咯烷、吗啉、内酯、内酰胺等。

[0050] 术语“杂芳基”的含义是本领域中所理解的，并且例如可以是指被取代或未被取代的芳族单环结构，优选5至7元环、更优选5至6元环，其环结构包含至少一个杂原子、优选一至四个杂原子、更优选一个或两个杂原子。术语“杂芳基”（“heteroaryl”和“hetaryl”）还包括具有两个或更多个环状的环的多环环系，其中两个毗邻的环共用两个或更多个碳，其中至少一个环是杂芳族的，例如另一个环状的环可以是环烷基、环烯基、环烷基、芳基、杂芳基和/或杂环基。杂芳基包括例如吡咯、呋喃、噻吩、咪唑、噁唑、噻唑、吡唑、吡啶、吡嗪、哒嗪和嘧啶等。

[0051] 术语“被取代的”是指具有取代基的部分，所述取代基替代所述部分的一个或多个碳或杂原子上的氢。技术人员应理解，“取代”或“被……取代”包括隐含的限制条件，即这样的取代符合被取代的原子和取代基的允许化合价，并且所述取代导致稳定的化合物，例如所述化合物不自发地经受例如重排、环化、消除等转化。如本文所用，术语“被取代的”预期包括有机化合物的所有允许的取代基。

[0052] 在一些实施方案中，允许的取代基包括有机化合物的无环和环状的、分支和未分支的、碳环和杂环的芳族和非芳族取代基。对于适当的有机化合物，允许的取代基可以是一个或多个并且是相同或不同的。出于本发明的目的，例如氮的杂原子可具有本文描述的有机化合物的氢取代基和/或任何允许的取代基，所述取代基满足杂原子的化合价。取代基可包括本文描述的任何取代基，例如卤素、羟基、羰基（例如羧基、烷氧基羰基、甲酰基或酰基）、硫代羰基（例如硫酯、硫代乙酸根或硫代甲酸根）、烷氧基、磷酰基、磷酸根、膦酸根、次磷酸根、氨基、酰氨基、脒、亚胺、氰基、硝基、叠氮基、巯基、烷硫基、硫酸根、磺酸根、氨磺酰基、磺酰氨基、磺酰基、杂环基、烷基、芳烷基、或芳族或杂芳族部分。技术人员应理解，如果适当的话，取代基本身可以被取代。除非特别阐述为“未被取代的”，否则本文对化学部分的提及的应理解为包括被取代的变体。例如，对“芳基”基团或部分的提及隐含地包括被取代的变体和未被取代的变体两者。

[0053] 预期施用的术语“受试者”包括例如人类（即，任何年龄群的男性或女性，例如小儿受试者（例如，婴儿、儿童、青少年）或成年受试者（例如，年轻成人、中年成人或老年成人））

和/或其他灵长类动物(例如,食蟹猴、恒河猴);哺乳动物,包括商业相关的哺乳动物,例如牛、猪、马、绵羊、山羊、猫和/或狗;和/或鸟类,包括商业相关的鸟类,例如鸡、鸭、鹅和/或火鸡。优选的受试者是人类。

[0054] 如本文所用,“预防”病症或疾患的治疗剂可以例如是指这样的化合物,所述化合物在统计样品中相对于未受治疗的对照样品降低受治疗的样品的病症或疾患的发生,或者相对于未受治疗的对照样品延迟病症或疾患的一种或多种症状的发作或减轻其严重程度。

[0055] 术语“治疗”包括预防性治疗和/或治疗性治疗。术语“预防性”或“治疗性”治疗是本领域公认的并且包括将一种或多种以下主题组合物施用宿主。如果在不希望的疾患(例如,宿主动物的疾病或其他不希望的疾患)的临床表现之前将其施用,则治疗是预防性的(即,它保护宿主对抗不希望的疾患的发展),而如果在不希望的疾患的表现之后将其施用,则治疗是治疗性的(即,它旨在减小、改善、或稳定存在的其不希望的疾患或其副作用)。

[0056] 在某些实施方案中,本文公开的化合物和缀合物可以单独使用或与另一种类型的治疗性化合物或药剂联合施用。如本文所用,短语“联合施用”是指两个或更多个不同治疗性化合物的任何形式的施用,使得先前施用的治疗性化合物在体内仍然有效时施用第二化合物(例如,两种化合物在受试者中同时有效,这可包括两种化合物的协同作用)。例如,可在同一配制品中或在分开的配制品中伴随地或顺序地施用不同治疗性化合物和缀合物。在某些实施方案中,可在1小时、12小时、24小时、36小时、48小时、72小时或1周内彼此施用不同治疗性化合物和缀合物。因此,接受此类治疗的受试者可以从不同治疗性化合物和缀合物的组合作用中受益。

[0057] 术语“异常细胞生长”和“增生性病症”在本申请中可互换使用。除非另外指出,否则如本文所用的“异常细胞生长”是指独立于正常调节机制的细胞生长(例如,失去接触抑制)。这包括例如以下的异常生长:(1)通过表达突变的酪氨酸激酶或过表达受体酪氨酸激酶而增殖的肿瘤细胞(肿瘤);(2)其中发生异常的酪氨酸激酶激活的其他增生性疾病的良性和恶性细胞;(3)通过受体酪氨酸激酶增殖的任何肿瘤;(4)通过异常的丝氨酸/苏氨酸激酶激活而增殖的任何肿瘤;和(5)其中发生异常的丝氨酸/苏氨酸激酶激活的其他增生性疾病的良性和恶性细胞。

[0058] 术语“癌症”和“癌的”是指或描述哺乳动物的生理状况,其特征典型地在于不受控制的细胞生长。“肿瘤”包含一个或多个癌细胞。癌症包括但不限于癌、淋巴瘤、母细胞瘤、肉瘤和白血病或淋巴样恶性肿瘤。此类癌症的更具体例子包括鳞状细胞癌(例如,上皮鳞状细胞癌)、肺癌(包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌(“NSCLC”)、肺腺癌和肺鳞状癌)、腹膜癌、肝细胞癌、胃癌(gastric cancer)或胃部癌(stomach cancer)(包括胃肠道癌)、胰腺癌、胶质母细胞瘤、宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、肝细胞瘤、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、子宫内膜或子宫癌、唾液腺癌、肾脏癌或肾癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝脏癌、肛门癌、阴茎癌、急性白血病、以及头/脑和颈癌。

[0059] 本发明的化合物和缀合物

[0060] 本公开提供了式(I')的缀合物:

[0061]  $(D-L)_n - (CB)_{cb}$

[0062] (I')

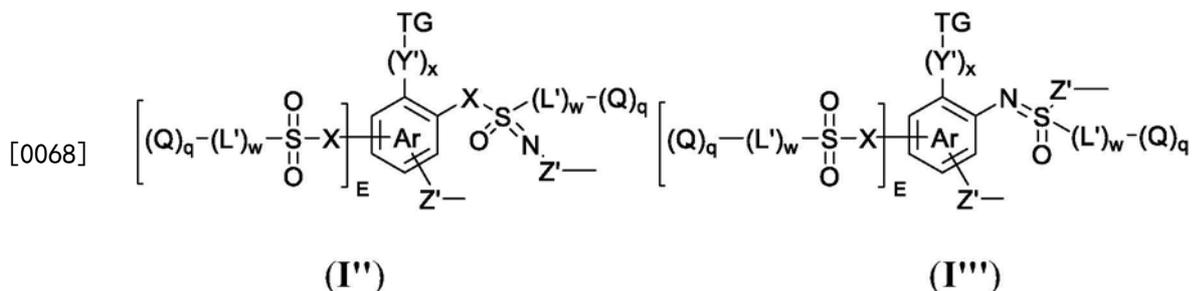
[0063] 或其药学上可接受的盐,

[0064] 其中：

[0065] CB是靶向部分；

[0066] cb和n各自独立地是值为1至约20、优选从1至约10的整数；

[0067] 每个D-L独立地是具有式(I'')或式(I''')的结构基团：



[0069] 每个Q独立地是通过杂原子、优选O或N与L'连接的活性剂；

[0070] Z'在每次出现时独立地是将式(I'')或式(I''')的结构连接至(CB)<sub>cb</sub>的连接基团、增溶基团、反应性基团(例如,前体基团)、固体表面(例如,颗粒)、稳定化基团、螯合剂、生物聚合物(例如,免疫球蛋白、核酸、蛋白质、寡肽、多肽、抗体、抗原性多肽的片段、或重复体)、活性剂或可检测部分,条件是至少一次出现的Z'将式(I'')或式(I''')的结构连接至(CB)<sub>cb</sub>；

[0071] 每个L'独立地是经由选自O、S和N,优选O或N的杂原子与-S(=O)(=N-)-附接的间隔基部分,并且被选择为使得在L'与-S(=O)(=N-)-之间的键的裂解促进在L'与Q之间的键裂解以释放所述活性剂；

[0072] 每个X独立地是-O-、-C(R<sup>b</sup>)<sub>2</sub>-或-N(R<sup>c</sup>)-,优选-O-；

[0073] Ar表示环,例如芳基、杂芳基、环烷基或杂环烷基,优选芳基或杂芳基；

[0074] Y'是-(CR<sup>b</sup>)<sub>2</sub>N(R<sup>a</sup>)-、-(CR<sup>b</sup>)<sub>2</sub>O-或-(CR<sup>b</sup>)<sub>2</sub>S-,被定位成使得如果y是1,则N、O或S原子与TG附接；

[0075] TG是触发基团,所述触发基团当被活化时产生能够与所述-S(=O)(=N-)-反应以置换(Q)<sub>q</sub>-(L')<sub>w</sub>并且形成包含X-S(=O)(=N-)-和Ar的居间原子的5-6元环的N、O或S原子；

[0076] q是值为从1至约20、优选从1至约10的整数；

[0077] w、x和y各自独立地是值为0或1的整数；

[0078] E是值为0、1或2的整数；

[0079] 每个R<sup>a</sup>和R<sup>c</sup>独立地是氢或低级烷基；并且

[0080] 每个R<sup>b</sup>独立地是氢或低级烷基；或

[0081] 两个R<sup>b</sup>与它们所附接的原子一起形成3-5元环、优选3-4元环；

[0082] 条件是当w是0时,q是1。

[0083] 在某些优选的实施方案中,E是0。

[0084] 每种活性剂可以是任何合适的活性剂,如下文更详细地描述。尽管许多传统的缀合方法要求具有某些官能团(例如胺或羟基)以形成稳定的键,但本文的公开内容提供了用于使用官能团(例如苯酚和叔胺)形成连接以在本文公开的缀合物中形成稳定键同时仍允许在活化触发基团的预定条件下释放的策略。

[0085] 许多合适的触发基团是本领域已知的,并且下面讨论了示例性触发基团和活化它们的条件,例如下面针对Y所描述的部分。一些触发基团包括N、O或S原子,但呈非亲核形式。

例如,NO<sub>2</sub>基团是在还原条件下被还原为可与-S(=O)(=N<sup>-</sup>)-反应的NH<sub>2</sub>或NHOH基团的触发基团,并且乙酸根基团是在水解条件下被水解为可与-S(=O)(=N<sup>-</sup>)-反应的羟基的触发基团。其他触发基团不包括N、O或S原子,但在被活化后会转化为亲核性N、O或S原子。例如,硼酸根基团是在氧化条件(例如过氧化物)下转化为可与-S(=O)(=N<sup>-</sup>)-反应的羟基的触发基团。优选地,触发基团被选择为使得活化它的条件选择性地这样活化,而不会裂解或降解缀合物的其他部分,例如靶向部分。一旦生成亲核性N、O或S原子,则所述原子分子内地攻击-S(=O)(=N<sup>-</sup>)-部分以形成环,从而驱逐(Q)<sub>q</sub>-L'<sub>w</sub>-H部分,其中H结合至先前与-S(=O)(=N<sup>-</sup>)-部分附接的Q或L'的杂原子。

[0086] 在其中w是0的实施方案中,q是1并且Q经由杂原子直接与-S(=O)(=N<sup>-</sup>)-附接。因此,活化触发基团产生亲核性杂原子,所述亲核杂原子分子内地攻击-S(=O)(=N<sup>-</sup>)-部分以形成环,从而驱逐活性剂Q-H,其中H结合至先前与-S(=O)(=N<sup>-</sup>)-附接的杂原子。

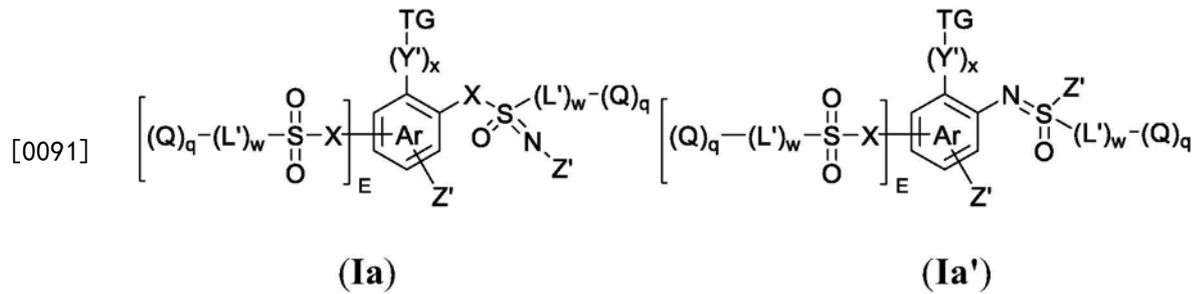
[0087] 在其中w是1的实施方案中,L'可以被选择为允许附接多次出现的Q(可以相同或不同)。因此,Q的每个实例都经由间隔基部分间接与-S(=O)(=N<sup>-</sup>)-附接。在此类实施方案中,活化触发基团产生亲核杂原子,所述亲核杂原子分子内地攻击-S(=O)(=N<sup>-</sup>)-部分以形成环,从而驱逐(Q)<sub>q</sub>-L'-H部分,其中H结合至先前与-S(=O)(=N<sup>-</sup>)-部分附接的L'中的杂原子。在此类实施方案中,释放的杂原子触发分子内反应,所述分子内反应驱逐所述一种或多种活性剂Q(例如,如果Q具有作为季铵与L'附接的叔胺)或Q-H。例如,所述杂原子可与由Q-H的羟基形成的酯部分进行分子内环化反应,从而形成环并且排出活性剂Q-H。可选地,所述杂原子可经受分子内互变异构化,其排出活性剂Q或Q-H。

[0088] Ar可以是任何合适的环,包括双环或其他多环的环,使得经受分子内环化的部分保持紧密相邻以促进触发基团活化后的反应。芳族环和杂芳族环的平面特征是优选的,因为在此类环上的取代基的刚性几何形状确保反应性部分的有利放置,尽管其他类型的环(例如环烯基或杂环烯基)可以实现相似的几何形状。五或六元环、和/或环中杂原子的数目或身份、和/或在环的其他上的取代基(例如,给电子取代基或吸电子取代基)可被选择为基于环的所得键角调节环化速率。类似地,当需要减慢分子内环化速率时,环烷基和杂环基的环的更灵活的构象可以是有用的。

[0089] Z'可以是任何合适的连接基团,所述连接基团将Ar连接至一个或多个CB基团。典型地,所述连接基团应是足够亲水性的,以促进缀合物的水溶性(增溶基团)并且阻止缀合物的聚集,例如通过包含例如聚乙二醇(PEG)部分、肽序列、带电荷部分(例如羧酸根、胺、含氮环等)等部分以平衡可能包含的任何烷基链的疏水特征。因为以模块化的方式制备缀合物通常是有利的,Z'可以含有连接单元,所述连接单元是从一个反应性部分与另一个缀合产生的官能团。代表性连接单元在下文中更详细地讨论(例如,与变量Z结合),并且常见的连接基团包括酰胺、三唑、胍、氨基甲酸根等。代表性Z'基团包括L<sup>1</sup>-Z基团,如下更详细地讨论。在一些实施方案中,与各CB附接的所有D-L基团都是相同的,而在其他实施方案中,每个CB可与两个或更多个不同的D-L基团附接。例如,一些D-L基团可具有在第一条件下被活化的触发基团,而其他D-L基团可具有在第二条件下被活化的触发基团,使得例如一种活性剂可在第一条件下被选择性地释放,但是第二活性剂可在第二条件下被选择性地释放。

[0090] 本公开还提供了可在式(I')中的D-L基团的形成中用作中间体或试剂的化合物,如在式(I'')或式(I''')中所描述。因此,在一些实施方案中,本文提供了式(Ia)或式(Ia')的

化合物:



[0092] 或其药学上可接受的盐,其中:

[0093] 每个Q独立地是通过杂原子、优选O或N与L'连接的活性剂;

[0094] Z'在每次出现时独立地不存在,是将式(Ia)或式(Ia')的结构连接至(CB)<sub>cb</sub>的连接基团、增溶基团、反应性基团(例如,前体基团)、固体表面(例如,颗粒)、稳定化基团、螯合剂、生物聚合物(例如,免疫球蛋白、核酸、蛋白质、寡肽、多肽、抗体、抗原性多肽的片段、或重复体)、活性剂或可检测部分,条件是至少一次出现的Z'将式(Ia)或式(Ia')的结构连接至(CB)<sub>cb</sub>;

[0095] 每个L'独立地是经由选自O、S和N、优选O或N的杂原子与-S(=O)(=N-)-附接的连接基团,并且被选择为使得在L'与-S(=O)(=N-)-之间的键的裂解促进在L'与Q之间的键裂解以释放所述活性剂;

[0096] 每个X独立地是-O-、-CR<sup>a</sup><sub>2</sub>-或-NR'-,优选-O-;

[0097] Ar表示环,例如芳基、杂芳基、环烷基或杂环烷基,优选芳基或杂芳基;

[0098] Y'是-(CR<sup>b</sup><sub>2</sub>)<sub>y</sub>N(R<sup>a</sup>)-、-(CR<sup>b</sup><sub>2</sub>)<sub>y</sub>O-或-(CR<sup>b</sup><sub>2</sub>)<sub>y</sub>S-,被定位成使得如果y是1,则N、O或S原子与TG附接;

[0099] TG是触发基团,所述触发基团当被活化时产生能够与所述-S(=O)(=N-)-反应以置换(Q)<sub>q</sub>-(L')<sub>w</sub>并且形成包含X-S(=O)(=N-)-和Ar的居间原子的5-6元环的N、O或S原子;

[0100] q是值为从1至约20、优选从1至约10的整数;

[0101] w、x和y各自独立地是值为0或1的整数;

[0102] E是值为0、1或2的整数;

[0103] 每个R<sup>a</sup>和R<sup>c</sup>独立地是氢或低级烷基;并且

[0104] 每个R<sup>b</sup>独立地是氢或低级烷基;或

[0105] 两个R<sup>b</sup>与它们所附接的碳原子一起形成3-5元环、优选3-4元环;

[0106] 条件是当w是0时,q是1。

[0107] 在一些实施方案中,Z'在每次出现时独立地是反应性基团(例如,前体基团)。

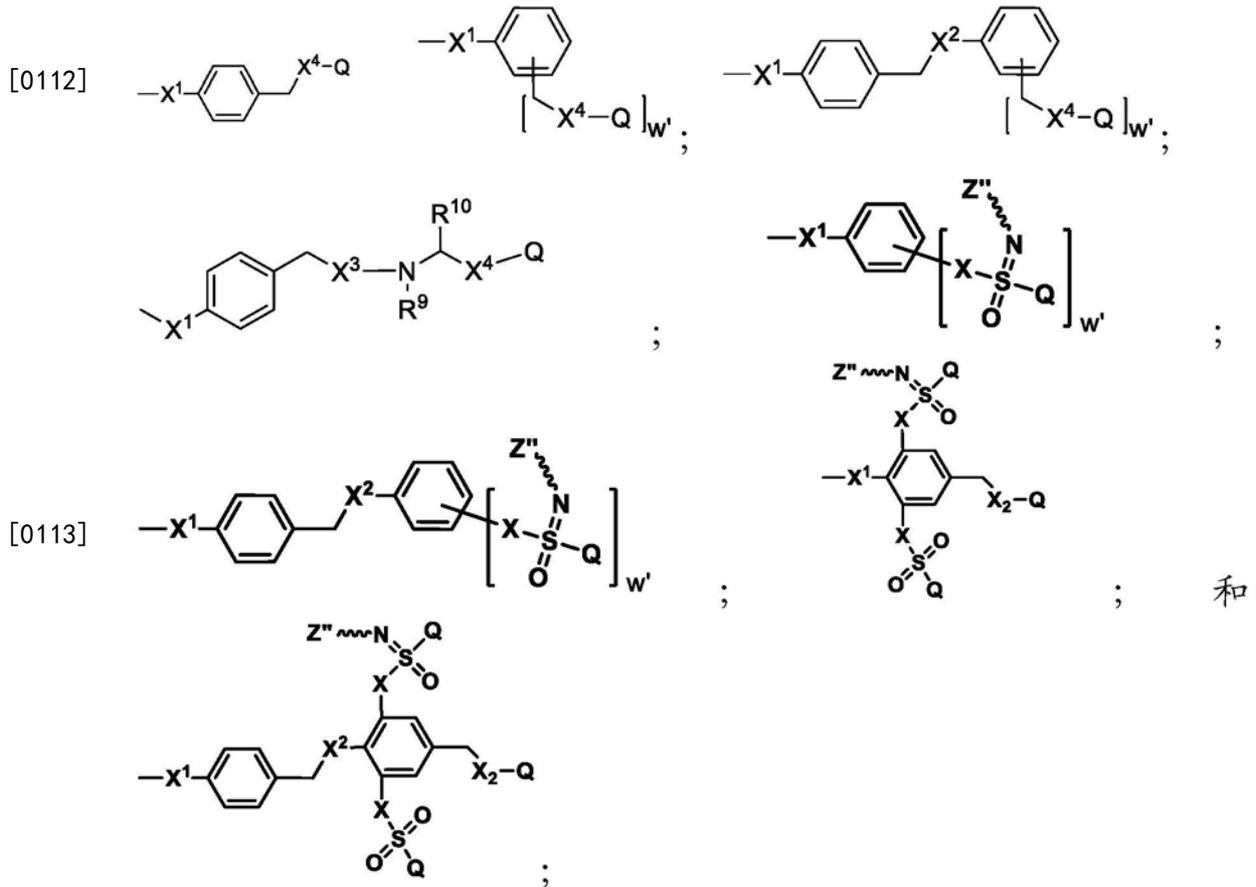
[0108] 在某些优选的实施方案中,E是0。

[0109] 在式(I')、(Ia)和(Ia')的某些实施方案中,-Y'是-(CH<sub>2</sub>)<sub>y</sub>NR''-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>y</sub>O-或-(CH<sub>2</sub>)<sub>y</sub>S-,其被定位为使得如果y是1,则N、O或S原子与TG附接;R''是氢或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;并且y是值为0或1的整数。在一些此类实施方案中,TG是β-半乳糖苷、β-葡萄糖苷酸、或β-半乳糖苷和β-葡萄糖苷酸的组合。

[0110] 在式(I')、(Ia)和(Ia')的一些实施方案中,(L')<sub>w</sub>将每个Q与-S(=O)(=N-)-连接;并且每个Q是通过杂原子、优选O或N与一个L'基团连接并且形成包含Q的杂原子的-O-、-

OC(O)-、-OC(O)O-或-OC(O)NH-键的活性剂。

[0111] 在其他实施方案中， $(Q)_q - (L')_w$  -选自：



[0114] 其中：

[0115] 每个Q独立地是通过杂原子、优选O或N与L'连接的活性剂；

[0116]  $X^4$ 不存在或形成包含Q的杂原子的-O-、-OC(O)-、-OC(O)O-或-OC(O)NH-键；

[0117]  $X^1$ 是-O-或-NR<sup>a</sup>-；

[0118]  $X^2$ 是-O-、-OC(O)-、-OC(O)O-或-OC(O)NH-；

[0119]  $X^3$ 是-OC(=O)-；

[0120]  $w'$ 是值为1、2、3、4或5的整数；

[0121] X是-O-、-C(R<sup>b</sup>)<sub>2</sub>-或-N(R<sup>c</sup>)-，优选-O-；

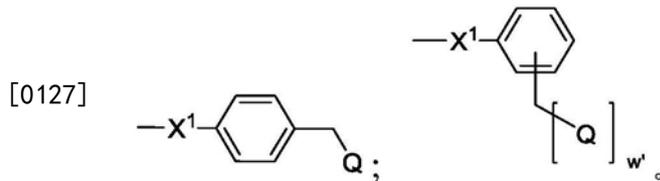
[0122] 每个Z''独立地是烷基、芳基或杂芳基，其中烷基、芳基和杂芳基是未被取代的或被一个或多个取代基取代；

[0123] R<sup>9</sup>和R<sup>10</sup>各自独立地是氢、烷基、芳基或杂芳基，其中烷基、芳基和杂芳基是未被取代的或被一个或多个例如选自烷基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>NH<sub>2</sub>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>NR<sup>u1</sup>R<sup>u2</sup>和-(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>SO<sub>2</sub>R<sup>u3</sup>的取代基取代；

[0124] R<sup>u1</sup>、R<sup>u2</sup>和R<sup>u3</sup>各自独立地是氢、烷基、芳基或杂芳基；并且

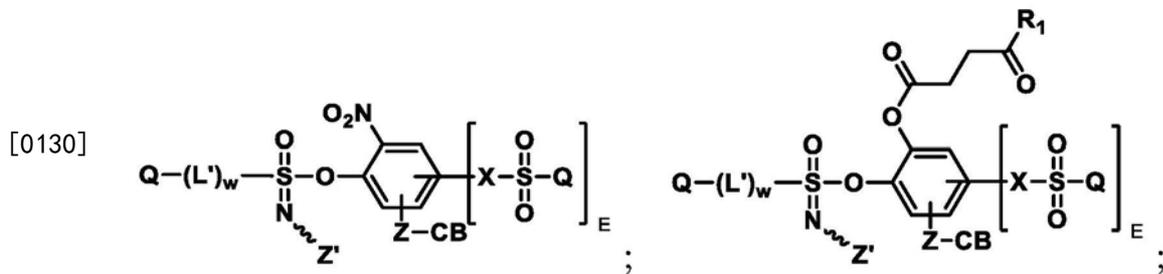
[0125] u是值为1至约10的整数。

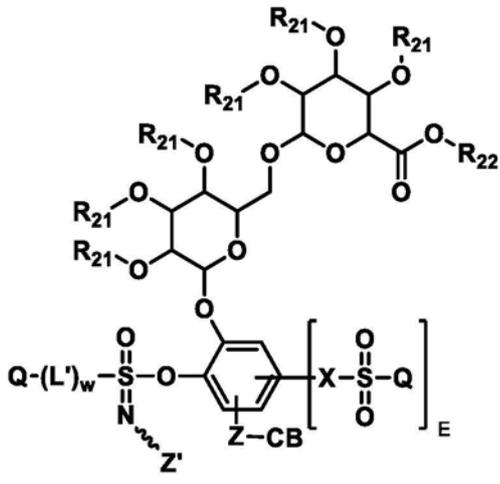
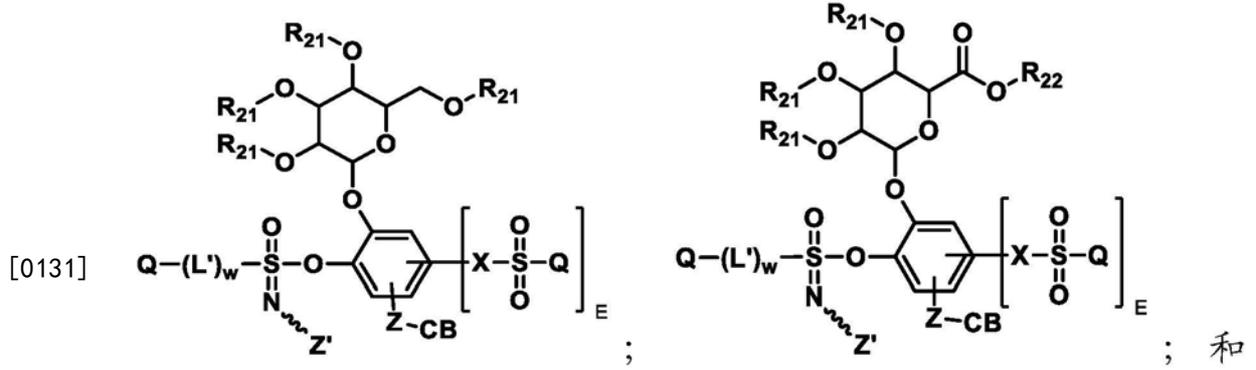
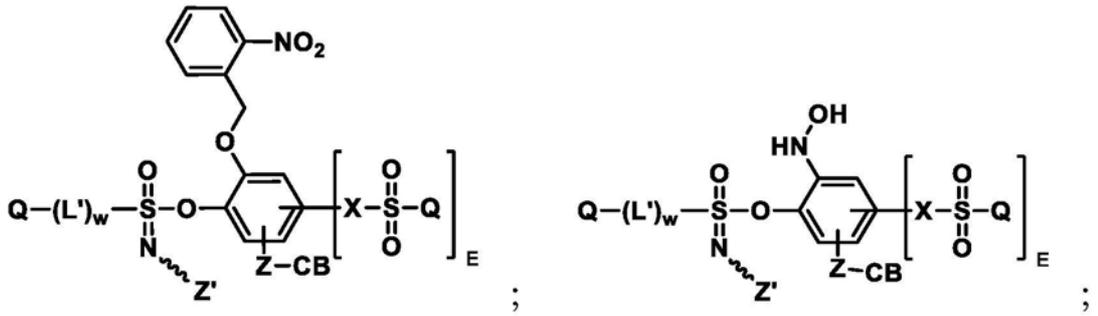
[0126] 在一些此类实施方案中， $(Q)_q - (L')_w$  -选自：



[0128] 此外,本发明提供了用于制备根据式(I')的缀合物或根据式(Ia)或式(Ia')的化合物的中间体,其中这些式中的 $(Q)_q - (L')_w$ 被例如卤素(优选氟)的离去基团替代以允许 $(Q)_q - (L')_w$ 的附接。

[0129] 在某些此类实施方案中, $Z'$ 包含反应性基团(例如,前体基团,如下面关于 $Z$ 更详细讨论的),所述反应性基团可用于将化合物附接至触发剂如CB(例如,以制备如上面更详细讨论的式(I')的化合物)、固体表面(例如,以形成珠粒、纳米颗粒、固体支撑的阵列、或传感器颗粒)或感兴趣的任何其他分子或支撑物。在某些优选的实施方案中,式(I')的化合物选自:



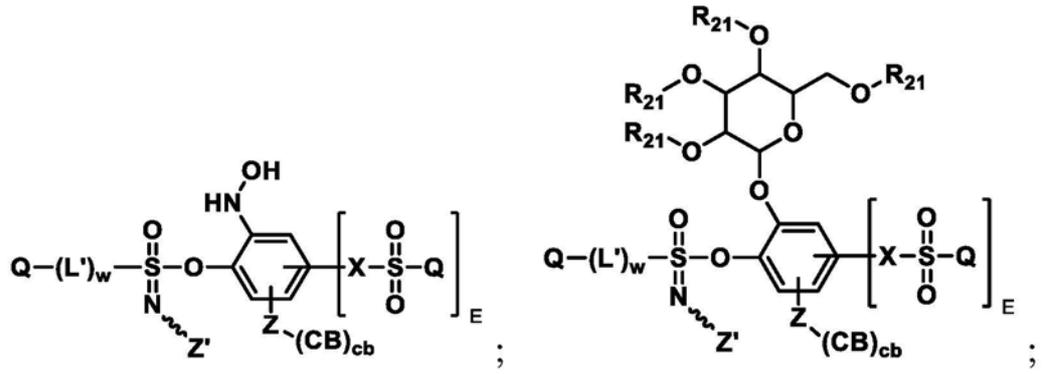


[0132] 其中：

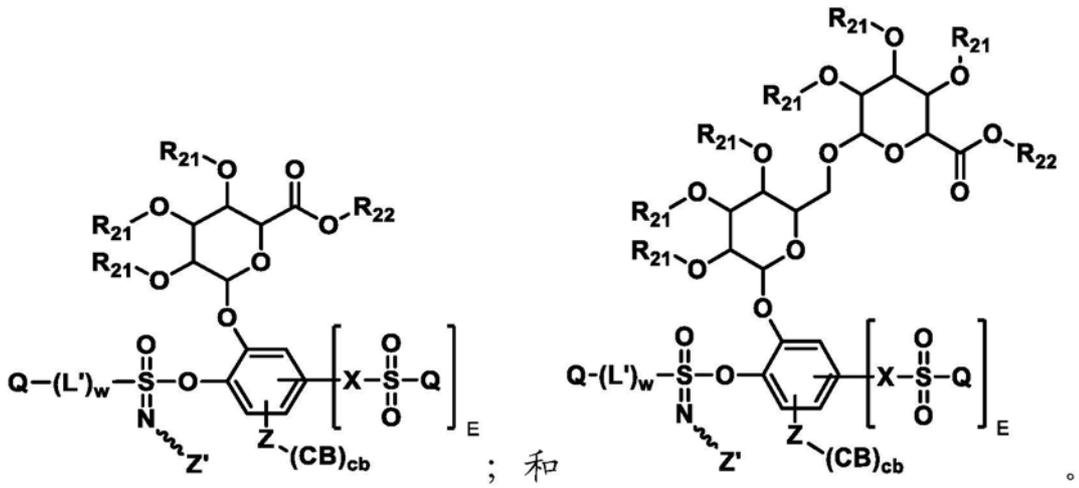
[0133] R<sup>1</sup>是C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基；并且

[0134] R<sup>21</sup>和R<sup>22</sup>各自独立地是氢或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。

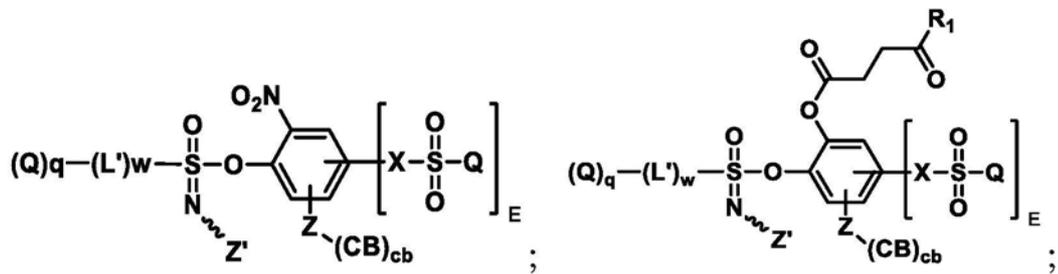
[0135] 在其他实施方案中，式(I')的化合物选自：



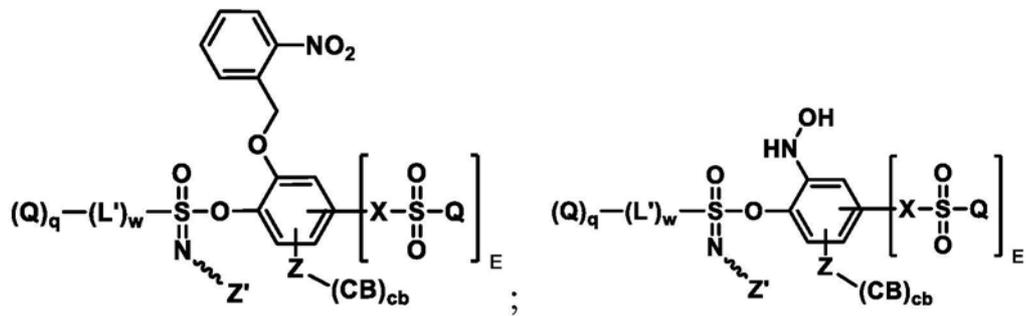
[0136]

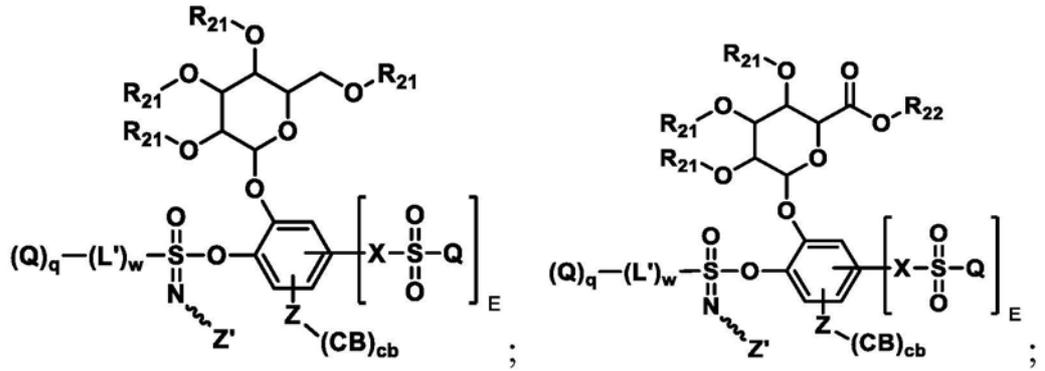


[0137] 在仍然其他实施方案中,式(I')的化合物选自:

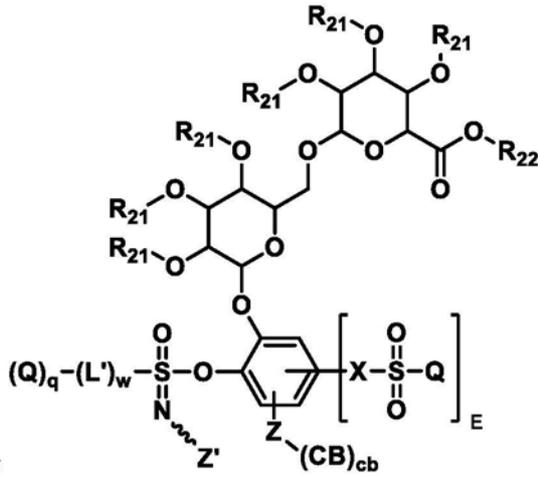


[0138]





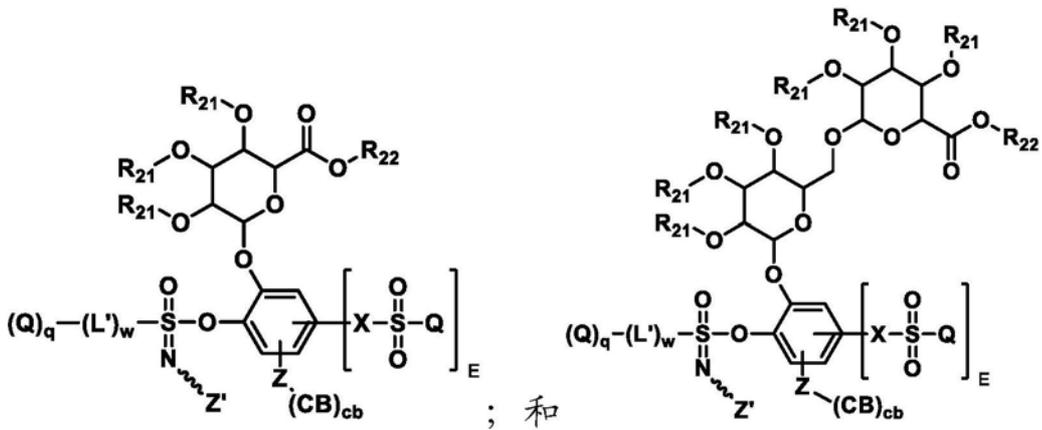
[0139]



和

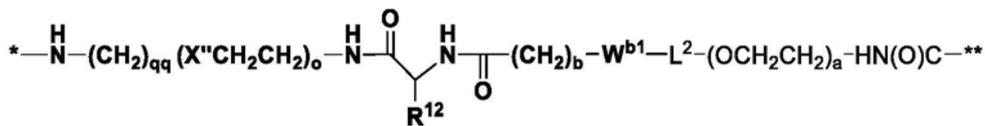
[0140] 在其他实施方案中,式(I')的化合物选自:

[0141]

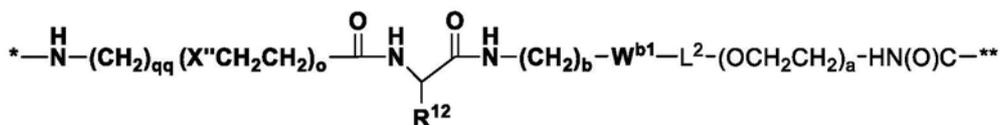


[0142] 在某些优选的实施方案中,Z是具有式(F)、(G)、(H)、(J)、(K)、(L)、(M)或(N)的连接基团:

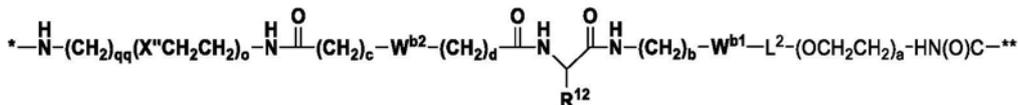
[0143]



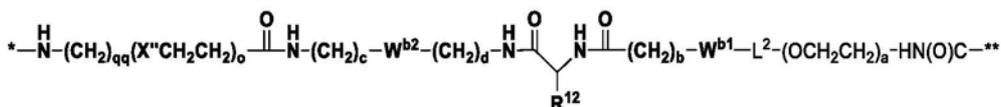
(F)



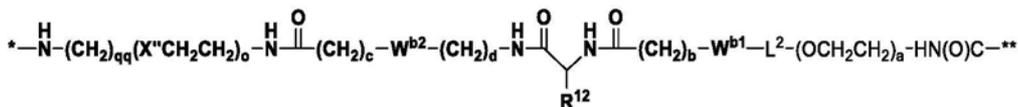
(G)



(H)

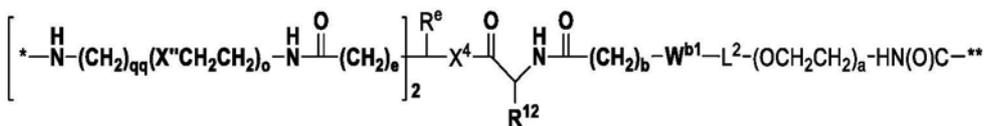


(J)

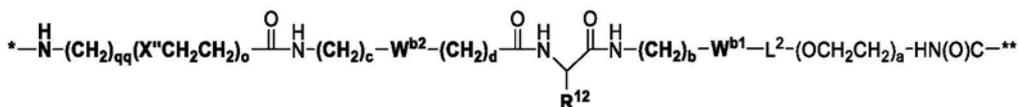


[0144]

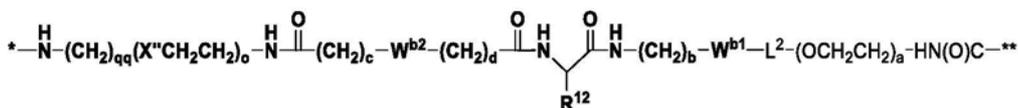
(K)



(L)



(M)



(N)

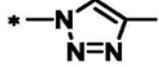
[0145] 其中：

[0146] \*是与CB的附接点；

[0147] \*\*是与Ar的附接点；

[0148] R<sup>e</sup>是烷基；[0149] X<sup>4</sup>是-O-、-S-、-NH-或-CH<sub>2</sub>-；

[0150]  $X^4$ 是  $-\text{NHC}(\text{O})-(\text{CH}_2)_g-\text{NH}-$  或  $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-(\text{CH}_2)_h-\text{NH}-$ ;

[0151]  $W^{b1}$ 和 $W^{b2}$ 各自独立地是  $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})-$ 、 或 ;

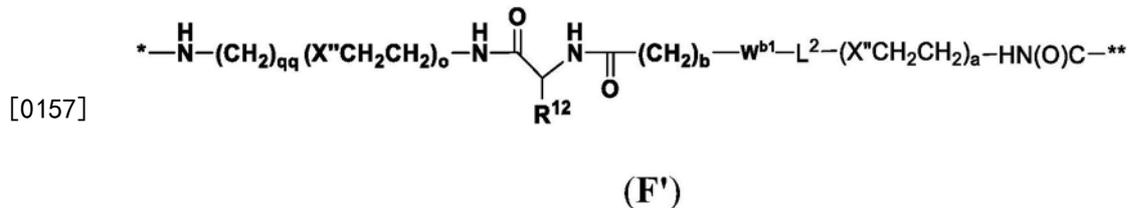
[0152]  $L^2$ 是任选存在的间隔基部分,并且可进一步被一个或多个取代基(例如 $C_1-C_6$ 烷基、 $C_5-C_{14}$ 芳基和 $C_3-C_8$ 杂芳基)取代,其中所述烷基、芳基和杂芳基可进一步例如被一个或多个选自自由以下组成的组的取代基取代: $C_1-C_{10}$ 烷基、 $-(\text{CH}_2)_u\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_u\text{NR}^{u1}\text{R}^{u2}$ 、 $-(\text{CH}_2)_u\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-(\text{CH}_2)_u\text{CO}_2\text{R}^{u1}$ 和 $-(\text{CH}_2)_u\text{SO}_2\text{R}^{u3}$ ,其中 $R^{u1}$ 、 $R^{u2}$ 和 $R^{u3}$ 各自独立地是氢、 $C_1-C_{15}$ 烷基、 $C_6-C_{20}$ 芳基或 $C_3-C_{10}$ 杂芳基;并且 $u$ 是值为1至约10的整数;

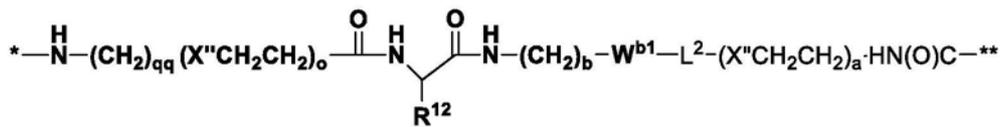
[0153]  $R^{12}$ 是氢、 $C_1-C_8$ 烷基、或氨基酸部分,例如天然氨基酸部分;

[0154]  $b$ 、 $c$ 、 $d$ 、 $e$ 、 $g$ 、 $h$ 、 $o$ 和 $qq$ 各自独立地是值为1至约10的整数;并且

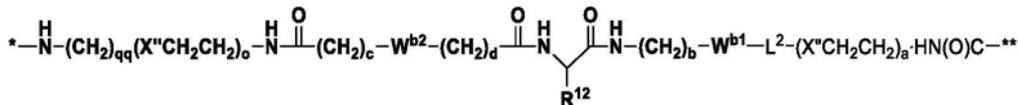
[0155]  $s'$ 是值为1至约10的整数。

[0156] 在其他实施方案中, $Z$ 是具有式(F')、(G')、(H')、(J')、(K')、(L')、(M')或(N')的结构连接基团:

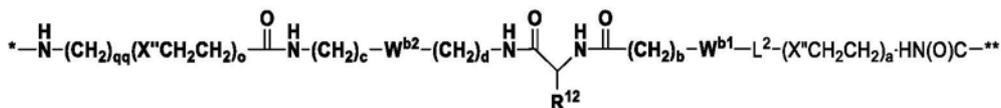




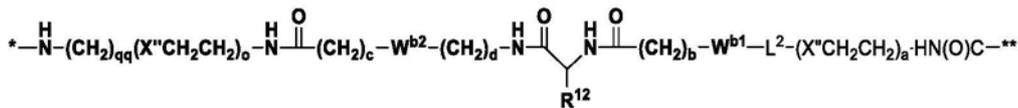
(G')



(H')

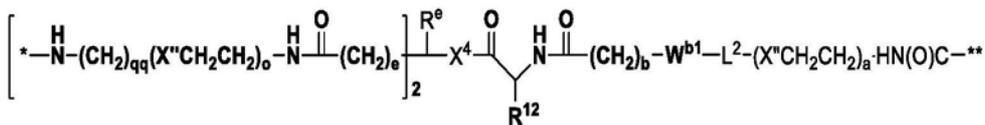


(J')

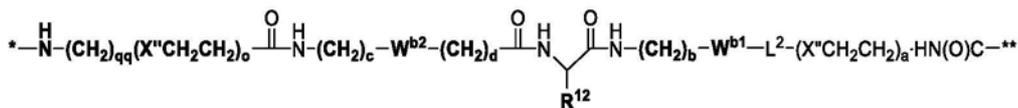


[0158]

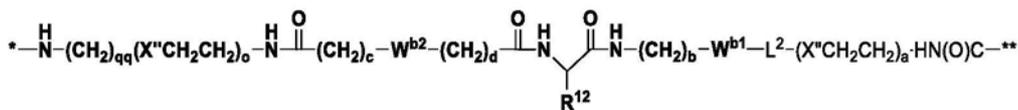
(K')



(L')

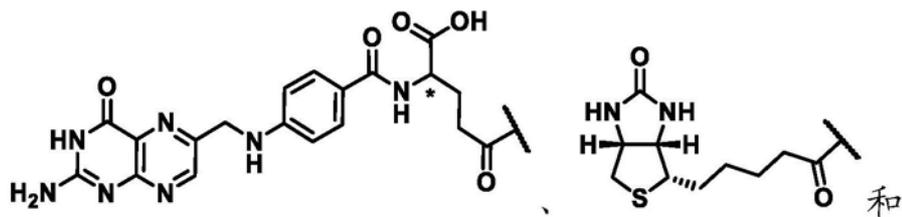


(M')

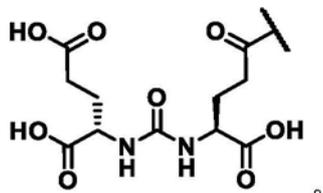


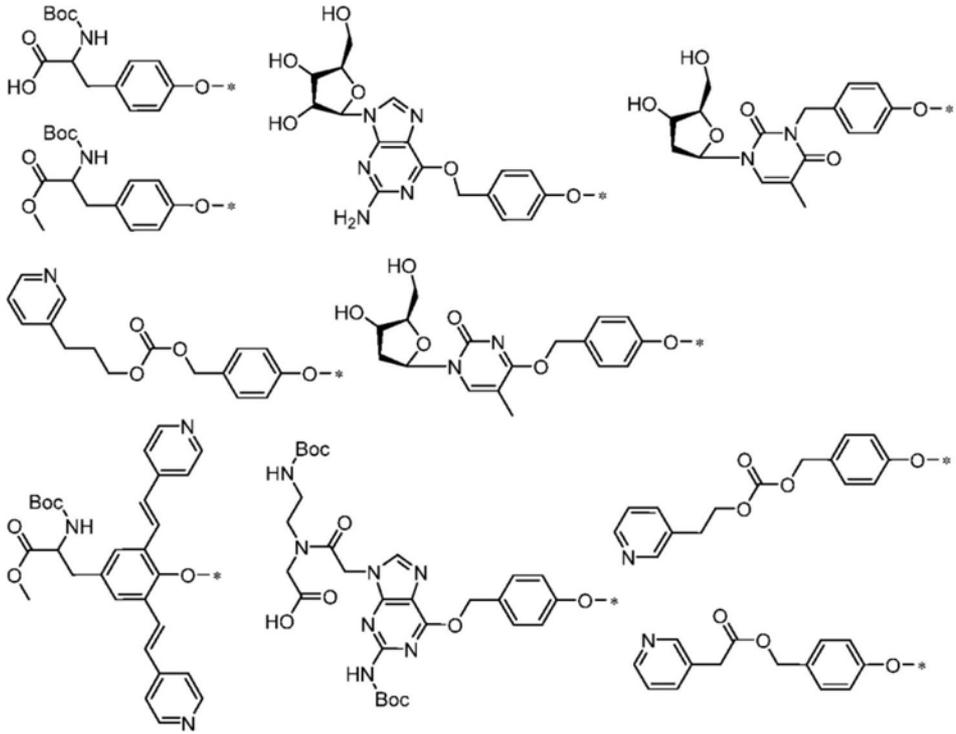
(N')

[0159] 在某些优选的实施案中, CB选自:

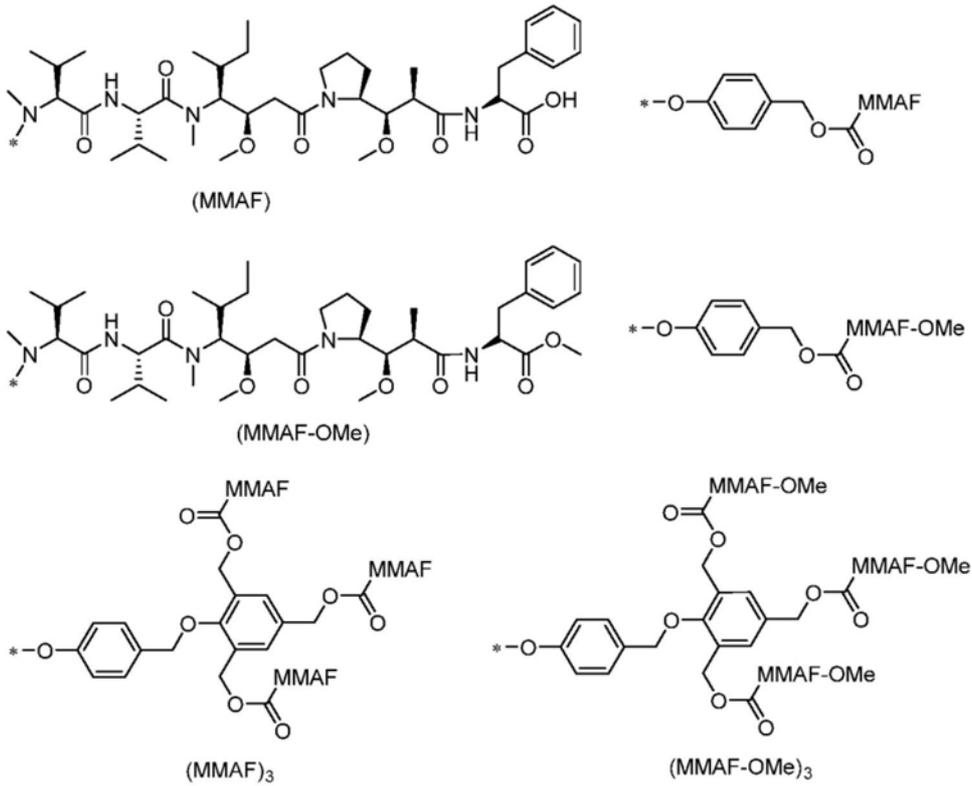


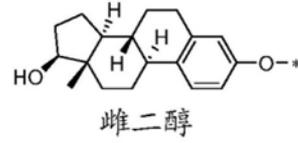
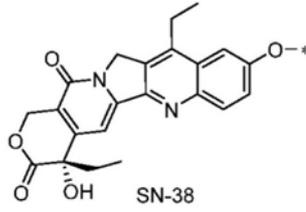
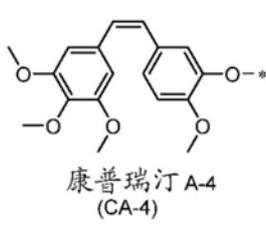
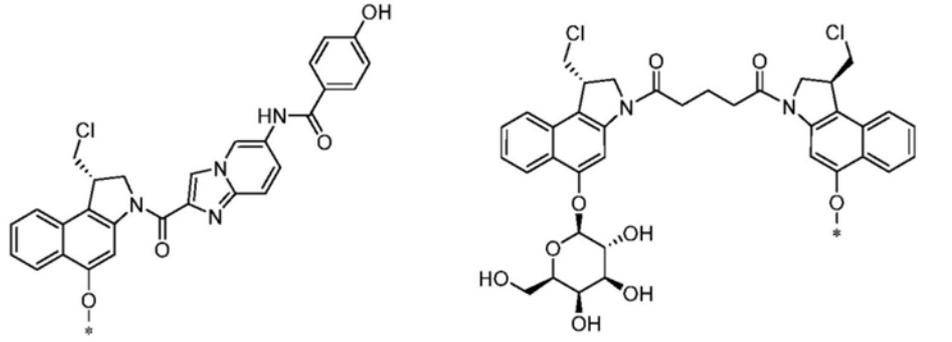
[0160]

[0161] 在某些优选的实施方案中， $(Q)_q - (L')_w$ 选自：

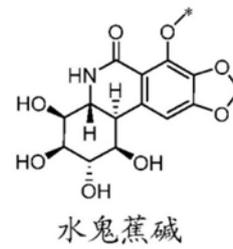
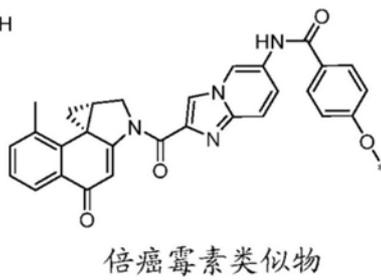
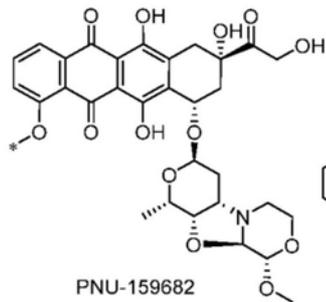
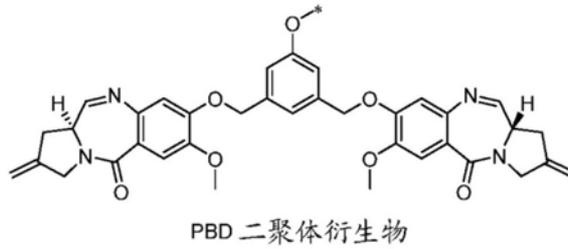
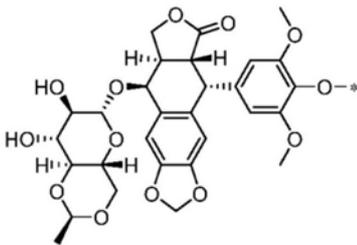
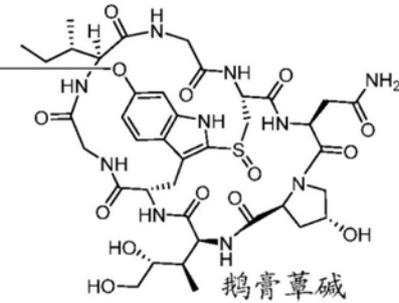
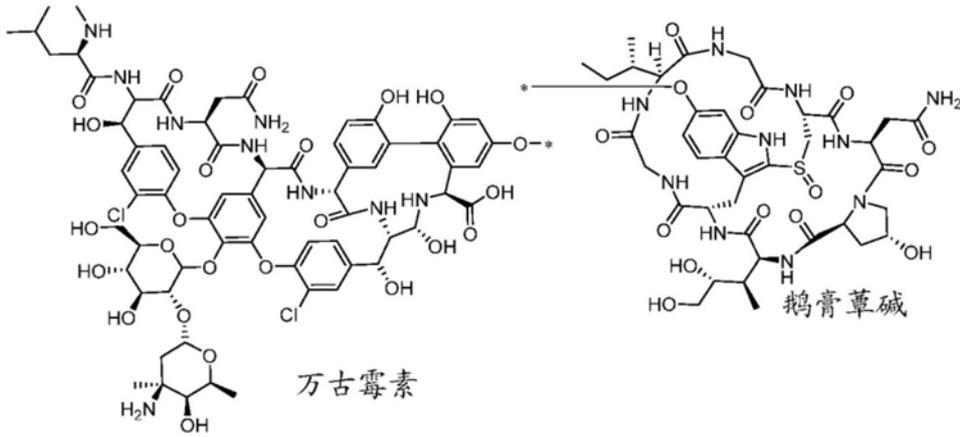


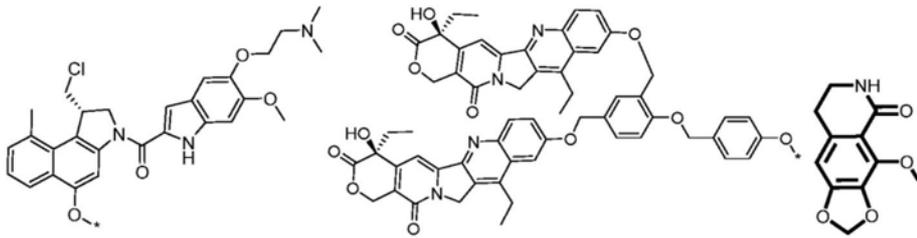
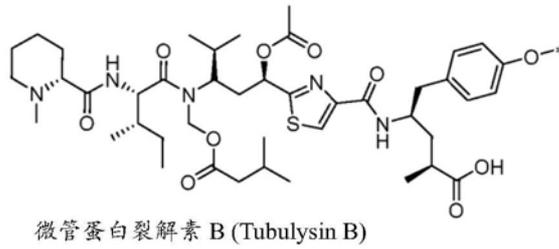
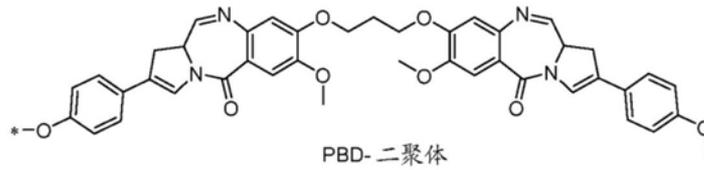
[0162]



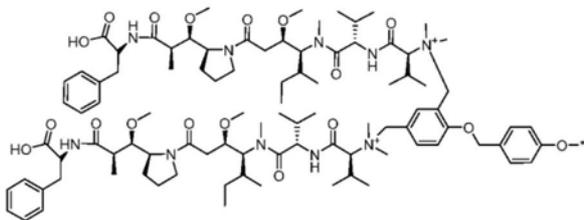
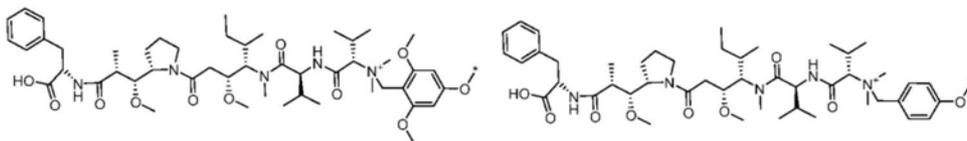
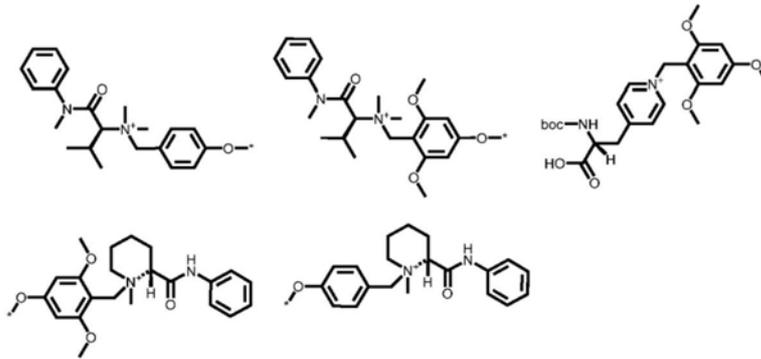


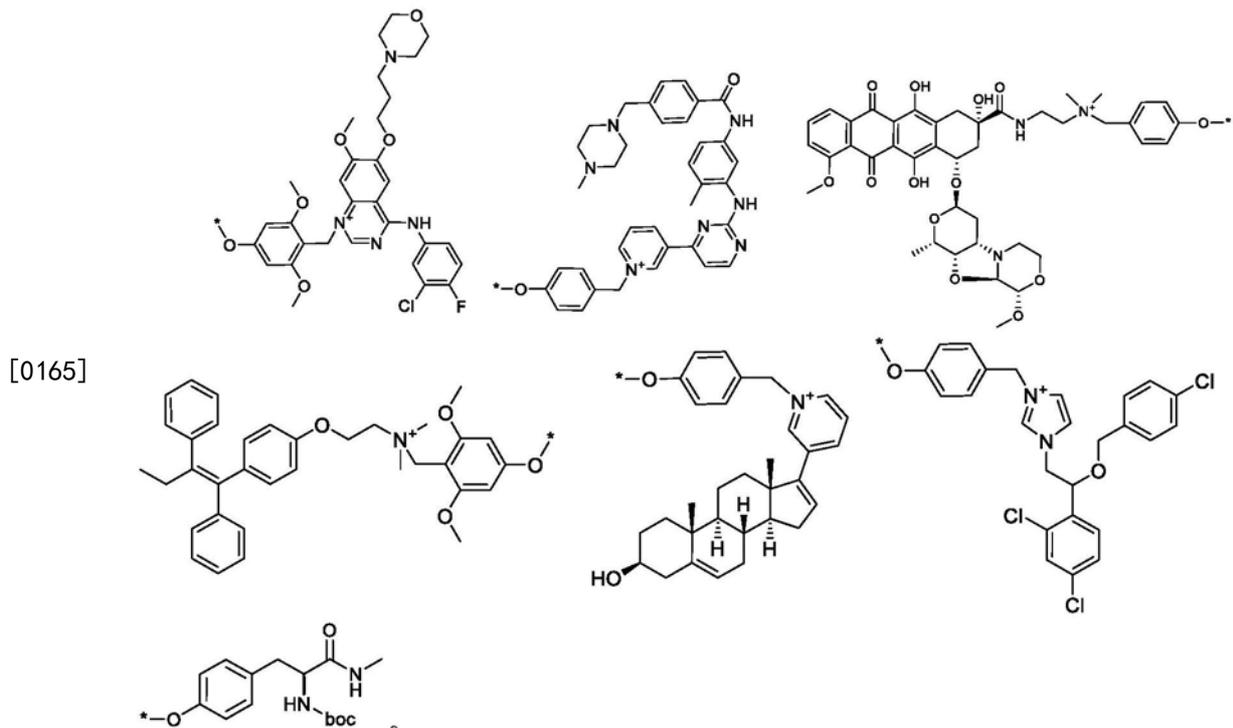
[0163]



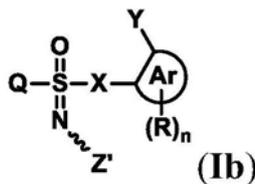


[0164]

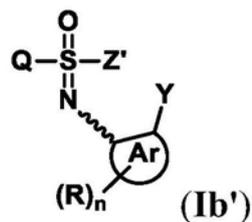




[0166] 本文还提供了式 (Ib) 或式 (Ib') 的化合物:



[0167]



[0168] 或其药学上可接受的盐,其中:

[0169] X是-O-、-CH<sub>2</sub>-或-NR'-;

[0170] R'是氢、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基、或C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>杂芳基;

[0171] Ar是C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub>芳族环、C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>杂芳族环、C<sub>2</sub>-C<sub>30</sub>稠合环、或C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub>芳族环-C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>杂芳族环;

[0172] R是在Ar上的取代基或-L<sup>1</sup>-Z-(CB)<sub>cb</sub>,优选-L<sup>1</sup>-Z-(CB)<sub>cb</sub>;

[0173] L<sup>1</sup>是C<sub>1</sub>-C<sub>200</sub>亚烷基或进一步包含肽键、氨基键、醚键、三唑键、四唑键、糖键、磺酰胺键、膦酸根键、磺基键或树枝状聚合物结构中的至少一者的C<sub>1</sub>-C<sub>200</sub>亚烷基;

[0174] Z是连接CB和L<sup>1</sup>的连接单元或反应性基团(例如,能够实现与CB的连接的前体基团);

[0175] Z'在每次出现时独立地不存在,是将式(Ib)或式(Ib')的结构连接至(CB)<sub>cb</sub>的连接基团、增溶基团、反应性基团(例如,前体基团)、固体表面(例如,颗粒)、稳定化基团、螯合

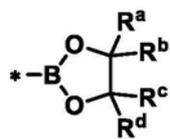
剂、生物聚合物(例如,免疫球蛋白、核酸、蛋白质、寡肽、多肽、抗体、抗原性多肽的片段、或重复体)、活性剂或可检测部分;

[0176] CB是靶向部分,例如具有将其与受体结合的特性的配体;

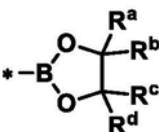
[0177] cb是值为0、1或2的整数;

[0178] n是值为1、2、3或4的整数;

[0179] Y是 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{OC}(\text{O})(\text{CH}_2)_r\text{C}(\text{O})\text{R}^1$ 、 $-\text{O}(\text{CH}_2)_r-\text{Ar}^1-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NHOH}$ 、 $-\text{NHNH}_2$ 、 $-\text{BR}^2\text{R}^3$ 、



或 $-\text{Y}'-\text{TG}$ , 优选地, Y是 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{OC}(\text{O})(\text{CH}_2)_r\text{C}(\text{O})\text{R}^1$ 、 $-\text{O}(\text{CH}_2)_r-\text{Ar}^1-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NHNH}_2$ 、-

$\text{BR}^2\text{R}^3$ 、 或 $-\text{Y}'-\text{TG}$ ;

[0180]  $\text{R}^1$ 是 $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ 烷基;

[0181] r是值为1、2、3、4或5的整数;

[0182]  $\text{Ar}^1$ 是 $\text{C}_6$ - $\text{C}_{20}$ 亚芳基;

[0183]  $\text{R}^2$ 和 $\text{R}^3$ 各自独立地是氢、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ 烷基、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ 烷氧基或羟基;

[0184]  $\text{R}^a$ 、 $\text{R}^b$ 、 $\text{R}^c$ 和 $\text{R}^d$ 各自独立地是氢或 $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ 烷基;

[0185]  $\text{Y}'$ 是 $-(\text{CH}_2)_x\text{NR}''$ 、 $-(\text{CH}_2)_x\text{O}$ -或 $-(\text{CH}_2)_x\text{S}$ -;

[0186]  $\text{R}''$ 是氢或 $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ 烷基;

[0187] x是值为0或1的整数;

[0188] TG是触发基团;

[0189] Q是 $-\text{Q}^1$ 或 $-\text{L}'-(\text{Q}^1)_w$ ;

[0190]  $\text{L}'$ 是一端具有 $-\text{O}$ -或 $-\text{NR}''$ '-并且另一端具有 $-\text{O}$ -、 $-\text{OC}(\text{O})$ -、 $-\text{O}(\text{CO})\text{O}$ -、 $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}''$ '-或 $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}^4\text{CH}_2\text{O}$ -的 $\text{C}_7$ - $\text{C}_{30}$ 烃间隔基,其中 $-\text{O}$ -、 $-\text{OC}(\text{O})$ -、 $-\text{O}(\text{CO})\text{O}$ -或 $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}''$ '-可进一步包含在 $\text{C}_7$ - $\text{C}_{30}$ 烃间隔基中,所述 $\text{C}_7$ - $\text{C}_{30}$ 烃间隔基是进一步被一个或多个取代基(例如 $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ 烷基、 $\text{C}_5$ - $\text{C}_{14}$ 芳基和 $\text{C}_3$ - $\text{C}_8$ 杂芳基)取代的,其中所述烷基、芳基和杂芳基可进一步例如被一个或多个选自由以下组成的组的取代基取代: $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷基、 $-(\text{CH}_2)_u\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_u\text{NR}^{u1}\text{R}^{u2}$ 、 $-(\text{CH}_2)_u\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-(\text{CH}_2)_u\text{CO}_2\text{R}^{u1}$ 和 $-(\text{CH}_2)_u\text{SO}_2\text{R}^{u3}$ ,其中 $\text{R}^{u1}$ 、 $\text{R}^{u2}$ 和 $\text{R}^{u3}$ 各自独立地是氢、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{15}$ 烷基、 $\text{C}_6$ - $\text{C}_{20}$ 芳基或 $\text{C}_3$ - $\text{C}_{10}$ 杂芳基;并且u是值为1至约10的整数;

[0191]  $\text{Q}^1$ 是包含至少一个 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}$ -、 $-\text{NR}_5\text{R}_6$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 或 $-\text{COOH}$ 官能团的活性剂;

[0192]  $\text{R}^4$ 是氢、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ 烷基、 $\text{C}_5$ - $\text{C}_{14}$ 芳基或 $\text{C}_3$ - $\text{C}_8$ 杂芳基,其中烷基、芳基和杂芳基是被取代或未被取代的;

[0193]  $\text{R}^5$ 和 $\text{R}^6$ 各自独立地是氢、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ 烷基、 $\text{C}_3$ - $\text{C}_9$ 环烷基或 $\text{C}_5$ - $\text{C}_{10}$ 杂芳基,其中杂芳基是被取代或未被取代的;

[0194]  $\text{R}''$ '和 $\text{R}''$ 各自独立地是氢或 $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ 烷基;并且

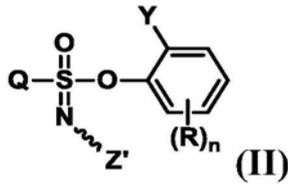
[0195] w是值为1、2、3、4或5的整数。

[0196] 在一些实施方案中,式(I)的化合物包含能够通过外部刺激诱导分子内环化的官能团(例如,Y)。在某些实施方案中,所述官能团是在相对于X的邻位引入的。

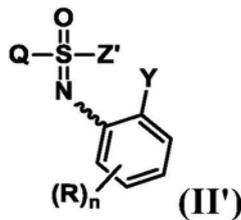
[0197] 在一些实施方案中, R' 是 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub> 芳基或 C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub> 杂芳基。

[0198] 在一些实施方案中, Ar 是 C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub> 芳族环、C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub> 杂芳族环、C<sub>2</sub>-C<sub>30</sub> 稠合环、或 C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub> 芳族环-C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub> 杂芳族环。例如, Ar 可以是苯环、萘环、吡啶环或喹诺酮环。优选地, Ar 是苯环或萘环。在一些实施方案中, 式 (Ib) 或式 (Ib') 的化合物是具有根据式 (II) 或式 (II') 的结构

的化合物:



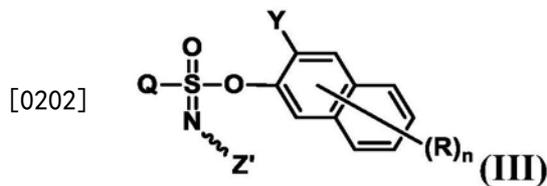
[0199]



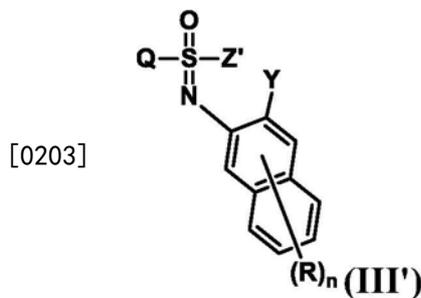
[0200] 或其药学上可接受的盐。

[0201] 在其他实施方案中, 式 (I) 的化合物是具有根据式 (III) 或式 (III') 的结构

的化合物:



[0202]



[0203]

[0204] 或其药学上可接受的盐。

[0205] 在一些实施方案中, 所述化合物是式 (Ib)、(Ib')、(II)、(II')、(III) 或 (III') 的化合物, 其中 R 选自氢、卤素 (hal)、醛、缩醛、缩酮、-R\*、-OR\*、-SR\*、-NR\*R\*\*、-C(卤)<sub>3</sub>、-CN、-OCN、-SCN、-N=C=O、-NCS、-NO、-NO<sub>2</sub>、-N<sub>3</sub>、-NC、-C(O)R\*、-OC(O)R\*、-OS(O)R\*、-S(O)<sub>2</sub>R\*、-S(O)<sub>2</sub>OR\*、-OS(O)OR\*、-OS(O)<sub>2</sub>OR\*、-S(O)NR\*R\*\*、-S(O)<sub>2</sub>NR\*R\*\*、-S(O)R\*、-OP(O)(OR\*)<sub>2</sub>、-P(O)(OR\*)<sub>2</sub>、-OP(OR\*)<sub>2</sub>、-OP(OR\*)N(R\*\*)、-OP(O)(OR\*)N(R\*\*)、-PR\*、-P(O)<sub>2</sub>、-P(O)R\*、-C(O)卤、-C(S)R\*、-CO<sub>2</sub>R\*、-C(S)OR\*、-C(O)SR\*、-C(S)SR\*、-C(O)NR\*R\*\*、-C(S)NR\*R\*\*、-C(=NR\*)NR\*R\*\*、-NR\*C(O)R\*\*、-NR\*S(O)<sub>2</sub>OR\*\*、-NR\*S(O)R\*\*、-NR\*C(O)NR\*\*、-SS-R\*、或 -R\*SSR\*\*, 其中: R\* 和 R\*\* 各自独立地是氢、C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub> 烷基、C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub> 芳基、C<sub>3</sub>-C<sub>15</sub> 杂环或 C<sub>3</sub>-C<sub>20</sub> 杂芳基。

[0206] 在一些实施方案中, 所述化合物是式 (Ib)、(Ib')、(II)、(II')、(III) 或 (III') 的

化合物,其中R是氢或 $*(L^a-A_1-L^b-L^c-Z)_m-CB$ ;其中:

[0207]  $L^a$ 是单键或 $C_1-C_{20}$ 亚烷基;

[0208]  $A^1$ 是 $-C(O)NR^*-$ 、 $-NR^*C(O)-$ 、 $-NR^*-$ 、 $-O-$ 、 $-PO_3^-$ 、 $-OPO_3^-$ 、 $-SO-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-S(=O)(=N)-$ 或 $-SO_3^-$ ;

[0209]  $L^b$ 是 $-(CH_2CH_2O)_a-$ 或 $-(CH_2)_a-$ ;

[0210]  $R^*$ 是氢、 $C_1-C_{18}$ 烷基、 $C_6-C_{20}$ 芳基、 $C_3-C_{15}$ 杂环或 $C_3-C_{20}$ 杂芳基;

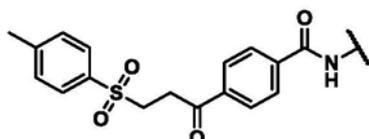
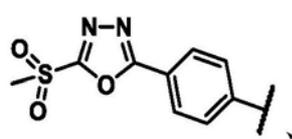
[0211]  $a$ 是值为1至约20的整数;

[0212]  $L^c$ 是单键或 $C_1-C_{20}$ 亚烷基;

[0213]  $n$ 是值为1或2的整数;并且

[0214]  $Z$ 是连接CB和 $L^c$ 的连接单元;或

[0215]  $Z$ 是前体,所述前体选自异氰化物、异硫氰化物、2-吡啶基二硫化物、卤代乙酰胺( $-NHC(O)CH_2-$ 卤)、马来酰亚胺、二烯、烯炔、卤化物、甲苯磺酸根( $TsO^-$ )、醛、磺酸根( $R-SO_3^-$ )、



磷酸( $-P(=O)(OH)_2$ )、酮、 $C_8-C_{10}$ 环炔基、-

$OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-SH$ 、羧酸( $-COOH$ )、乙炔( $-C\equiv CH$ )、叠氮化物( $-N_3$ )、氨基( $-NH_2$ )、磺酸( $-SO_3H$ )、炔酮衍生物( $-C(O)C\equiv C-R^a$ ,其中 $R^a$ 是 $C_1-C_{10}$ 烷基)和磷酸二氢根( $-OP(=O)(OH)_2$ );

[0216]  $Z'$ 在每次出现时独立地不存在,是将式(Ib)、(Ib')、(II)、(II')、(III)或(III')的结构连接至 $(CB)_{cb}$ 的连接基团、增溶基团、反应性基团(例如,前体基团)、固体表面(例如,颗粒)、稳定化基团、螯合剂、生物聚合物(例如,免疫球蛋白、核酸、蛋白质、寡肽、多肽、抗体、抗原性多肽的片段、或重复体)、活性剂或可检测部分;

[0217]  $CB$ 是靶向部分,例如能够与受体结合的配体;并且

[0218]  $m$ 是值为0、1或2的整数。

[0219] 在一些实施方案中,所述化合物是式(Ib)、(Ib')、(II)、(II')、(III)或(III')的化合物,其中R是氢或 $*-L^a-A_1-L^b-L^c-Z$ ;其中:

[0220]  $L^a$ 是单键或 $C_1-C_{20}$ 亚烷基;

[0221]  $A^1$ 是 $-C(O)NR^*-$ 、 $-NR^*C(O)-$ 、 $-NR^*-$ 、 $-O-$ 、 $-PO_3^-$ 、 $-PO_4^-$ 、 $-SO-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-S(=O)(=N)-$ 或 $-SO_3^-$ ;

[0222]  $L^b$ 是 $-(CH_2CH_2O)_a-$ 或 $-(CH_2)_a-$ ;

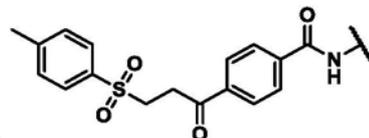
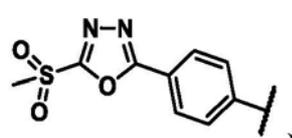
[0223]  $R^*$ 是氢、 $C_1-C_{18}$ 烷基、 $C_6-C_{20}$ 芳基、 $C_3-C_{15}$ 杂环或 $C_3-C_{20}$ 杂芳基;

[0224]  $a$ 是值为1至约20的整数;

[0225]  $L^c$ 是单键或 $C_1-C_{20}$ 亚烷基;

[0226]  $n$ 是值为1或2的整数;并且

[0227]  $Z$ 是前体,所述前体选自异氰化物、异硫氰化物、2-吡啶基二硫化物、卤代乙酰胺( $-NHC(O)CH_2-$ 卤)、马来酰亚胺、二烯、烯炔、卤化物、甲苯磺酸根( $TsO^-$ )、醛、磺酸根( $R-SO_3^-$ )、



磷酸( $-P(=O)(OH)_2$ )、酮、 $C_8-C_{10}$ 环炔基、-

OH、-NHOH、-NHNH<sub>2</sub>、-SH、羧酸(-COOH)、乙炔(-C≡CH)、叠氮化物(-N<sub>3</sub>)、氨基(-NH<sub>2</sub>)、磺酸(-SO<sub>3</sub>H)、炔酮衍生物(-C(O)C≡C-R<sup>a</sup>，其中R<sup>a</sup>是C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基)和磷酸二氢根(-OP(=O)(OH)<sub>2</sub>)；

[0228] Z'在每次出现时独立地不存在，是将式(Ib)、(Ib')、(II)、(II')、(III)或(III')的结构连接至(CB)<sub>cb</sub>的连接基团、增溶基团、反应性基团(例如，前体基团)、固体表面(例如，颗粒)、稳定化基团、螯合剂、生物聚合物(例如，免疫球蛋白、核酸、蛋白质、寡肽、多肽、抗体、抗原性多肽的片段、或重复体)、活性剂或可检测部分。

[0229] 在一些实施方案中，所述化合物是式(Ib)、(Ib')、(II)、(II')、(III)或(III')的化合物，其中R是\*(-L<sup>a</sup>-A<sub>1</sub>-L<sup>b</sup>-L<sup>c</sup>-Z)<sub>m</sub>-CB；其中：

[0230] L<sup>a</sup>是单键或C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>亚烷基；

[0231] A<sup>1</sup>是-C(O)NR\*-、-NR\*(O)-、-NR\*-、-O-、-PO<sub>3</sub><sup>-</sup>、-PO<sub>4</sub><sup>-</sup>、-SO-、-SO<sub>2</sub>-、-S(=O)(=N)-或-SO<sub>3</sub>-；

[0232] L<sup>b</sup>是-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>a</sub>-或-(CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>-；

[0233] R\*是氢、C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基、C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳基、C<sub>3</sub>-C<sub>15</sub>杂环或C<sub>3</sub>-C<sub>20</sub>杂芳基；

[0234] a是值为1至约20的整数；

[0235] L<sup>c</sup>是单键或C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>亚烷基；

[0236] n是值为1或2的整数；

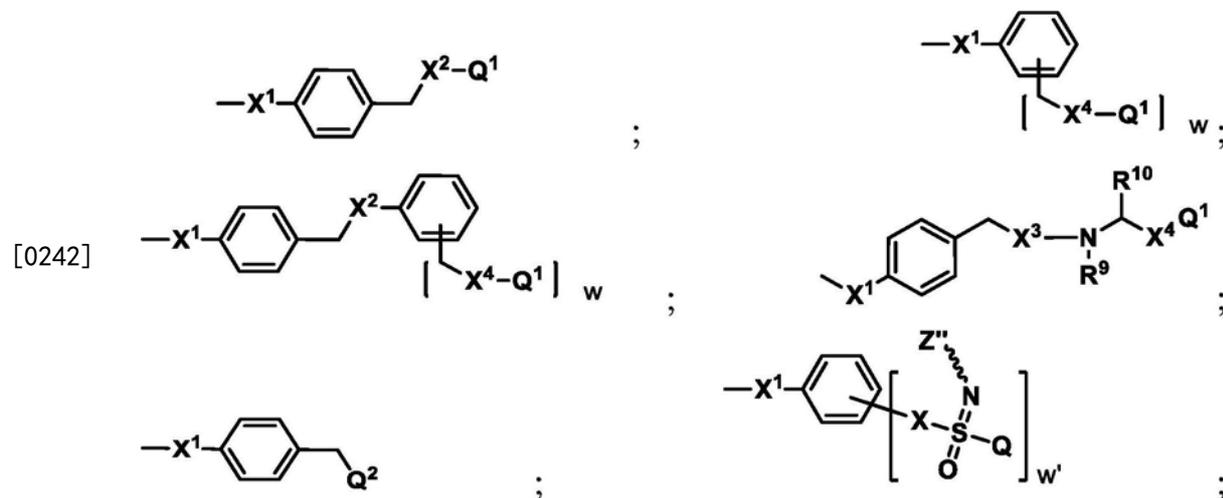
[0237] Z是连接CB和L<sup>c</sup>的连接单元；

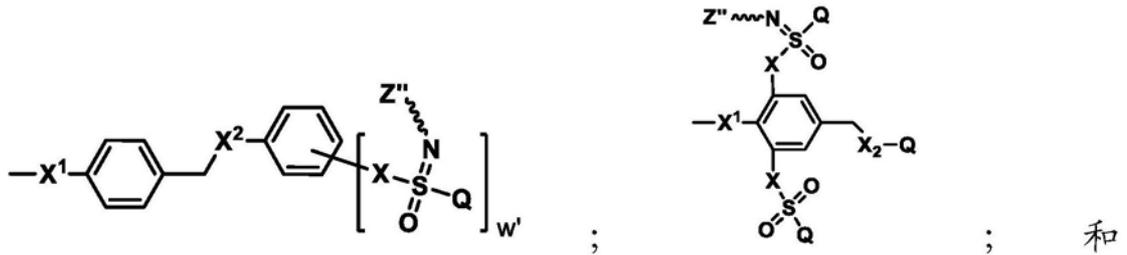
[0238] CB是靶向部分，例如具有将其与受体结合的特性的配体；并且

[0239] m是值为1至2的整数。

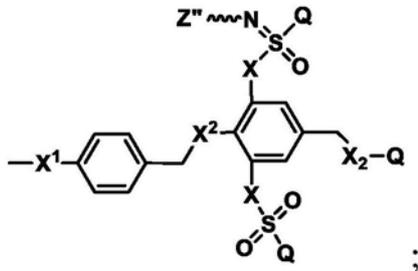
[0240] 在一些实施方案中，所述化合物是式(Ib)、(Ib')、(II)、(II')、(III)或(III')的化合物，其中L'是进一步包含-O-、-OC(O)-、-O(CO)O-或-OC(O)NR'''-的C<sub>7</sub>-C<sub>30</sub>烃间隔基。

[0241] 在一些实施方案中，所述化合物是式(Ib)、(Ib')、(II)、(II')、(III)或(III')的化合物，其中Q是选自以下的-L'-(Q<sup>1</sup>)<sub>w</sub>：





[0243]



[0244] 其中：

[0245] Q<sup>1</sup>是包含至少一个选自以下的官能团的活性剂：-OH、-NR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>、-SH和-COOH；

[0246] Q<sup>2</sup>是包含-NR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>的活性剂；

[0247] X<sup>1</sup>是-O-或-NR<sup>7</sup>'-；

[0248] X<sup>2</sup>和X<sup>4</sup>各自独立地不存在或者是选自-O-、-OC(O)-、-OC(O)O-和-OC(O)NH-；

[0249] X<sup>3</sup>是-OC(=O)-；

[0250] Z''是烷基、芳基或杂芳基，其中烷基、芳基和杂芳基是未被取代的或被一个或多个取代基取代；

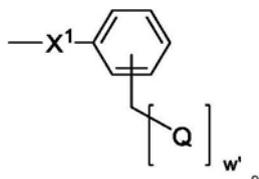
[0251] R<sup>5</sup>和R<sup>6</sup>是如上相同定义的；

[0252] R<sup>9</sup>和R<sup>10</sup>各自独立地是氢、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基或C<sub>3</sub>-C<sub>9</sub>杂芳基，R<sub>9</sub>和R<sub>10</sub>的烷基、芳基和杂芳基可进一步被一个或多个选自以下组成的组的取代基取代：C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>NH<sub>2</sub>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>NR<sup>u1</sup>R<sup>u2</sup>和-(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>SO<sub>2</sub>R<sup>u3</sup>，并且R<sup>u1</sup>、R<sup>u2</sup>和R<sup>u3</sup>各自独立地是氢、C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub>烷基、C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳基或C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>杂芳基；并且u是值为1至约10的整数；

[0253] R<sup>7</sup>'是氢或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基；并且

[0254] w是值为1、2、3、4或5的整数。

[0255] 在某些实施方案中，-L'- (Q<sup>1</sup>)<sub>w</sub>选自



[0256]

[0257] 选自-OH、-NR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>、-SH和-COOH的Q、Q<sup>1</sup>或Q<sup>2</sup>的至少一个官能团用作活性剂与L'的连接点。所述官能团可以作为酯、硫酯、碳酸根、氨基甲酸根、酰胺、磺酰胺、磺酸根、硫酸根、或其他合适的键的一部分而存在；即，当活性剂是缀合物的一部分时，-OH、-NR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>、-SH和-COOH部分本身不存在。

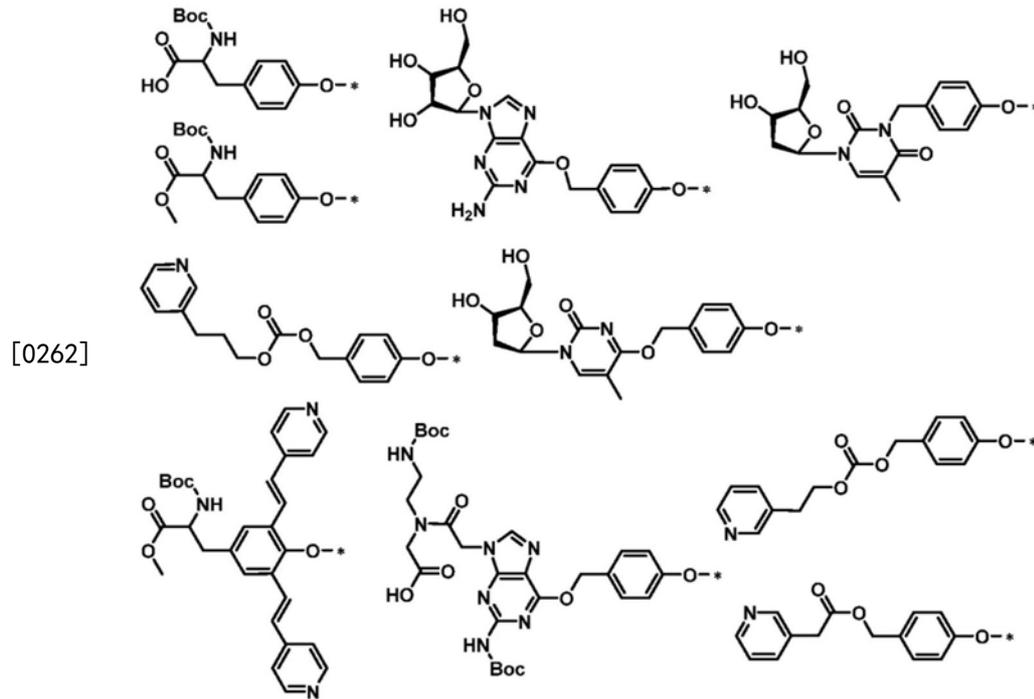
[0258] 在一些实施方案中，Q<sup>2</sup>是包含-NR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>的活性剂，其中所述活性剂能够以季胺结构结合，例如，活性剂中的-NR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>部分能够与L'形成季胺键。

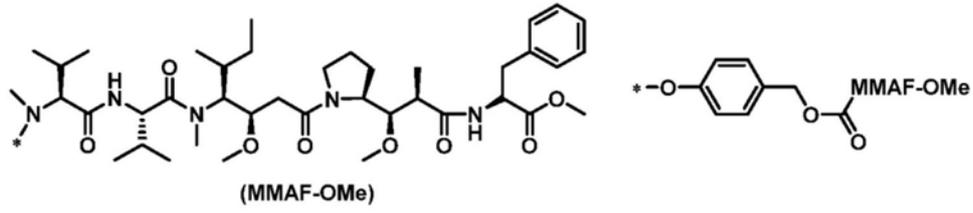
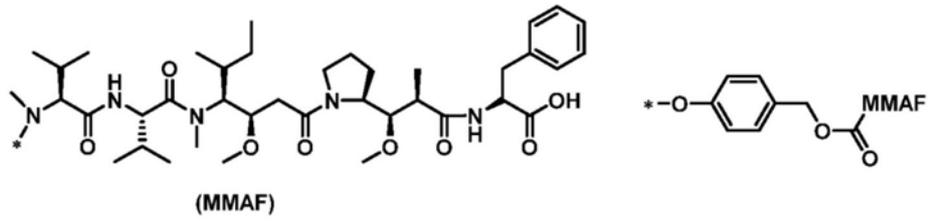
[0259] 在式(I'')、(Ia)、(Ib)、(Ib')、(II)、(II')、(III)或(III')的一些实施方案中，R<sup>4</sup>

是被取代的烷基、芳基或杂芳基。在一些此类实施方案中， $R^4$ 被一个或多个选自以下的取代基取代： $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $-(CH_2)_uNH_2$ 、 $-(CH_2)_uNR^{u1}R^{u2}$ 、 $-(CH_2)_uCO_2H$ 、 $-(CH_2)_uCO_2R^{u1}$ 和 $-(CH_2)_uSO_2R^{u3}$ ，其中 $R^{u1}$ 、 $R^{u2}$ 和 $R^{u3}$ 各自独立地是氢、 $C_1$ - $C_{15}$ 烷基、 $C_6$ - $C_{20}$ 芳基或 $C_3$ - $C_{10}$ 杂芳基；并且 $u$ 是值为1至约10的整数。

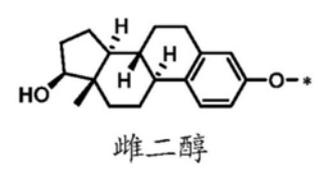
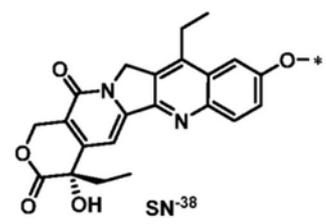
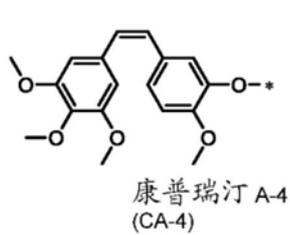
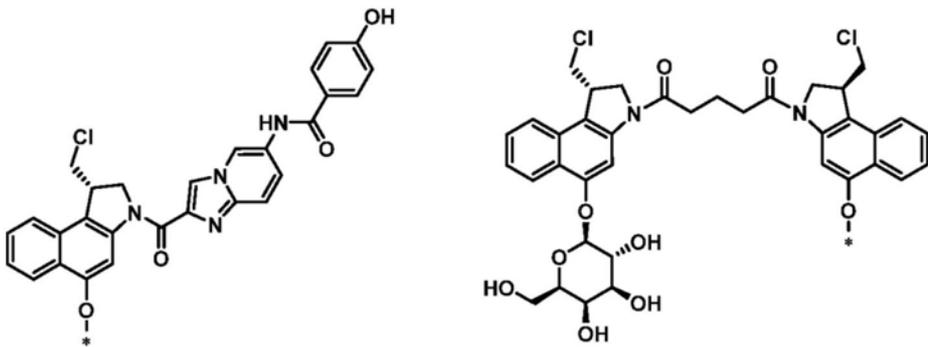
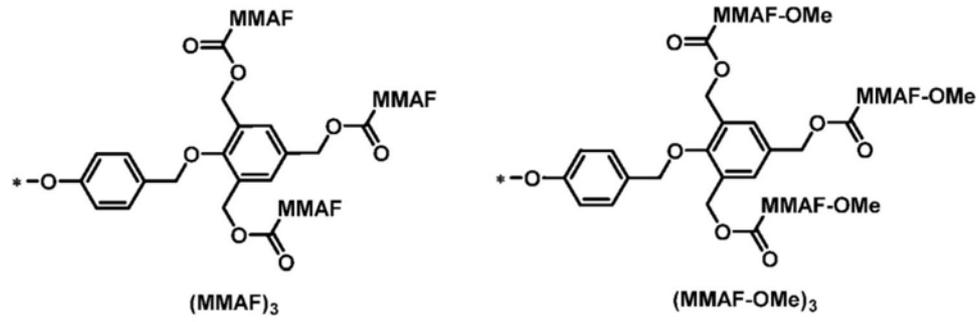
[0260] 在式(I'')、(Ia)、(Ib)、(Ib')、(II)、(II')、(III)或(III')的一些实施方案中， $R^5$ 和/或 $R^6$ 是被 $-NR^7R^8$ 取代的杂芳基，其中 $R^7$ 和 $R^8$ 各自独立地是氢、 $C_1$ - $C_6$ 烷基、 $C_3$ - $C_9$ 环烷基或 $C_5$ - $C_{14}$ 芳基。

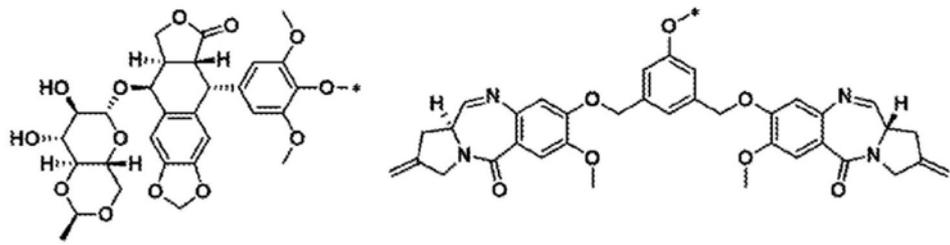
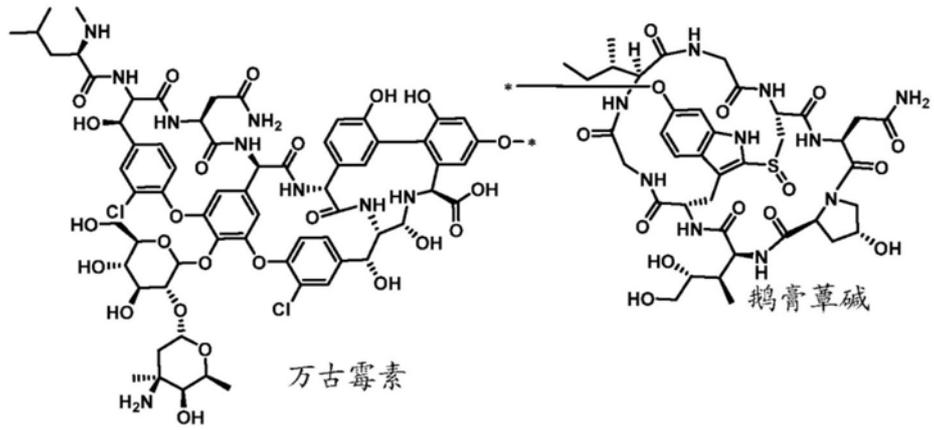
[0261] 在式(I'')、(Ia)、(Ib)、(Ib')、(II)、(II')、(III)或(III')的一些实施方案中， $Q$ 或 $-(L')_w$ - $(Q)_q$ 选自：



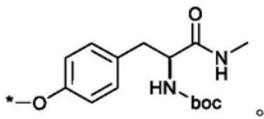
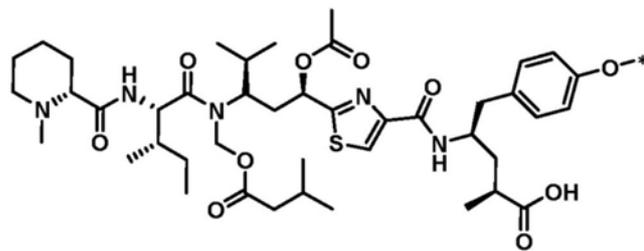
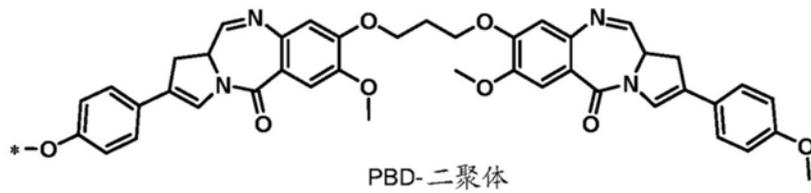
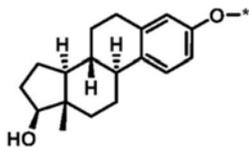


[0263]





[0264]



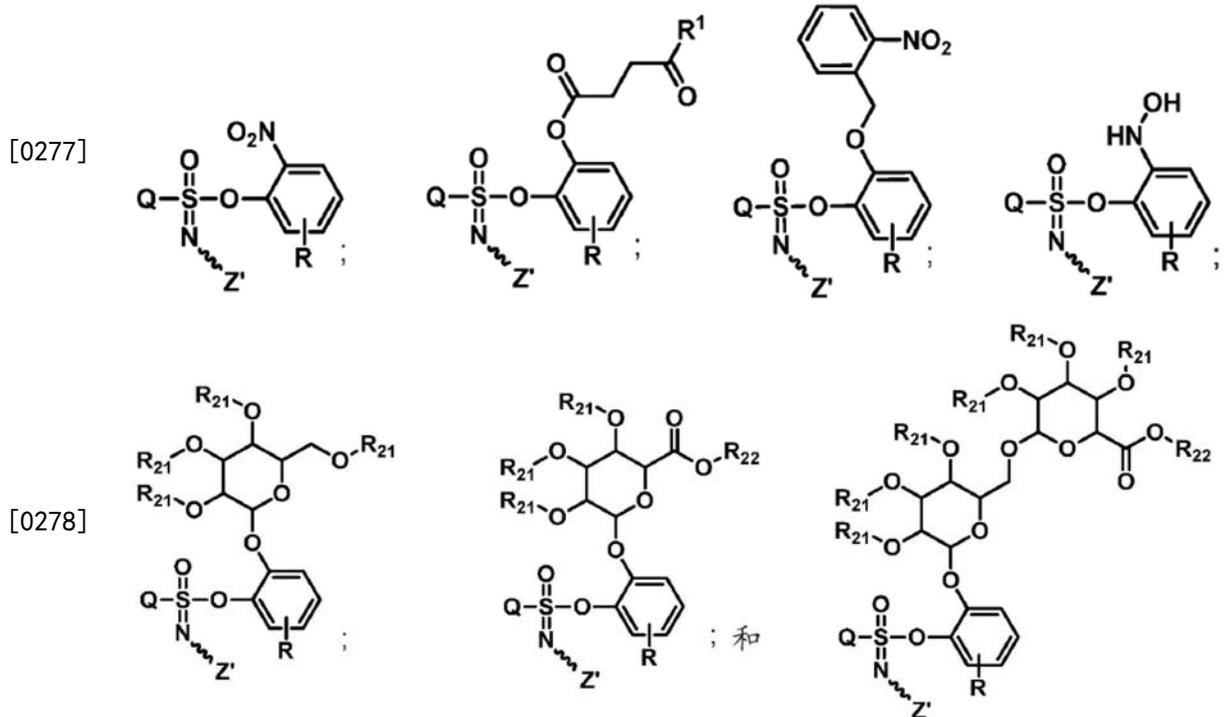
[0265] 在某些实施方案中,本文提供了式 (Ib)、(Ib')、(II)、(II')、(III) 或 (III') 的化合物,其中:

[0266] Y是-NO<sub>2</sub>、-OC(O)(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>C(O)R<sup>1</sup>、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>-Ar<sup>1</sup>-NO<sub>2</sub>、-NHOH、-BR<sup>2</sup>R<sup>3</sup>或-Y'-TG, 优选地, Y是-NO<sub>2</sub>、-OC(O)(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>C(O)R<sup>1</sup>、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>-Ar<sup>1</sup>-NO<sub>2</sub>、-BR<sup>2</sup>R<sup>3</sup>或-Y'-TG;

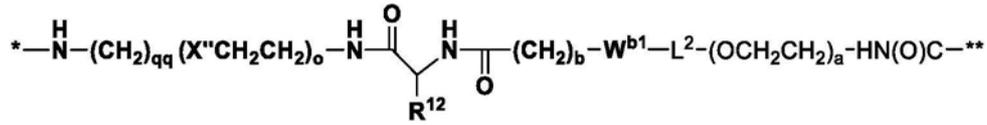
[0267] R<sup>1</sup>是C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;

[0268] r是值为1、2、3、4或5的整数;

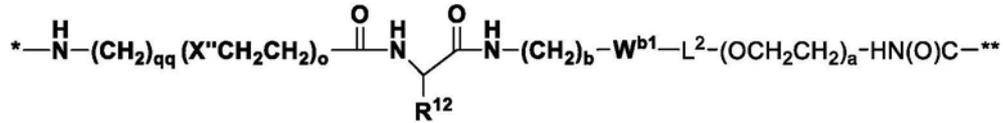
- [0269] Ar<sup>1</sup>是亚苯基、亚联苯基、或亚萘基；  
 [0270] R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>各自独立地是氢、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基或羟基；  
 [0271] Y'是-(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>NR''-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>O-或-(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>S-；  
 [0272] R''是氢或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基；  
 [0273] x是值为0或1的整数；  
 [0274] R''是氢或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基；并且  
 [0275] TG是触发基团，例如β-半乳糖苷、β-葡萄糖苷酸、或β-半乳糖苷和β-葡萄糖苷酸的组合。  
 [0276] 在某些实施方案中，式(Ib)、(Ib')、(II)、(II')、(III)或(III')的化合物选自：



- [0279] 其中：  
 [0280] R<sup>1</sup>是C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基；  
 [0281] R<sup>21</sup>和R<sup>22</sup>各自独立地是氢或乙酰基；  
 [0282] R是氢、\*-L<sup>a</sup>-A<sub>1</sub>-L<sup>b</sup>-L<sup>c</sup>-Z，或具有式(F)、(G)、(H)、(J)、(K)、(L)、(M)或(N)的结构  
 的基团：

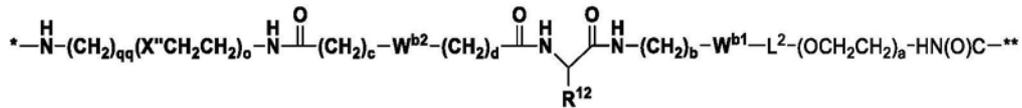


(F)

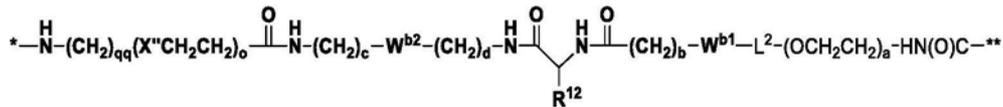


(G)

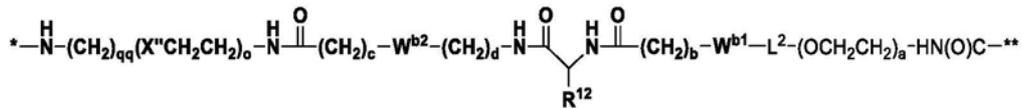
[0283]



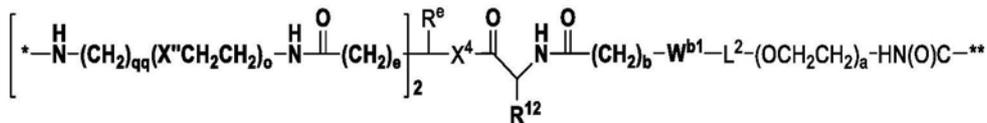
(H)



(J)

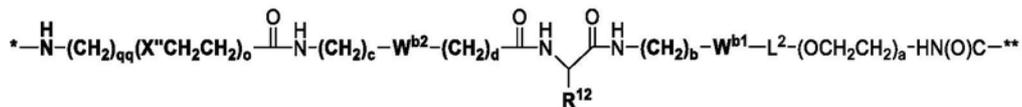


(K)

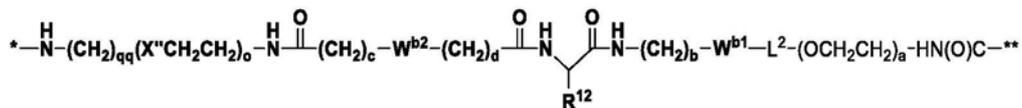


(L)

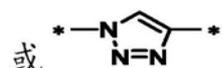
[0284]

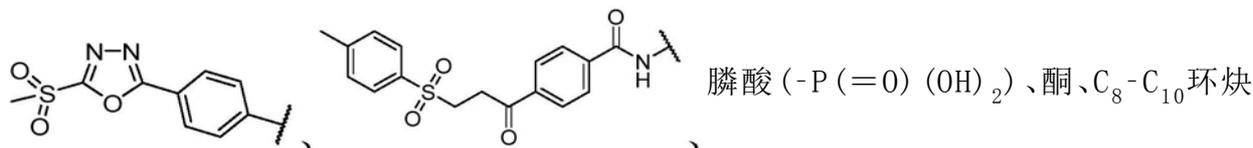


(M)



(N)

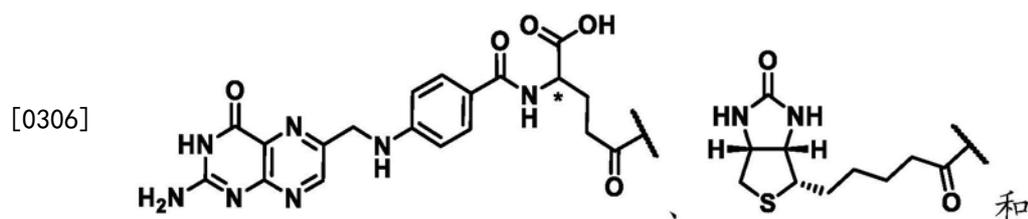
- [0285]  $L^a$ 是单键或 $C_1$ - $C_{20}$ 亚烷基；
- [0286]  $A^1$ 是 $-C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-NH-$ 、 $-O-$ 、 $-PO_3-$ 、 $-PO_4-$ 、 $-SO-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-S(=O)(=N)-$ 或 $-SO_3-$ ；
- [0287]  $L^b$ 是 $-(CH_2CH_2O)_a-$ 或 $-(CH_2)_a-$ ；
- [0288]  $a$ 是值为1至约20的整数；
- [0289]  $L^c$ 是 $C_1$ - $C_{20}$ 亚烷基；
- [0290]  $X''$ 是 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 或 $-CH_2-$ ；
- [0291]  $W^{b1}$ 和 $W^{b2}$ 各自独立地是 $-C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 或 ；
- [0292]  $R^{12}$ 是氢、 $C_1$ - $C_8$ 烷基、氨基酸部分、 $-(CH_2)_sCOR^{13}$ 或 $-(CH_2)_pNR^{14}R^{15}$ ；
- [0293]  $R^{13}$ 是 $OH$ 或 $-NH(CH_2)_s$ 、 $(X''CH_2CH_2)_sZ'$ ；
- [0294]  $R^{14}$ 和 $R^{15}$ 各自独立地是氢或 $-(C(O)(CH_2)_s(X''CH_2CH_2)_sZ')_m-CB$ ；
- [0295]  $X''$ 是 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 或 $-CH_2-$ ；
- [0296]  $R^e$ 是 $C_1$ - $C_8$ 烷基或 $-(L^1-Z)_m-CB$ ；
- [0297]  $X^4$ 是 $-NHC(O)-(CH_2)_g-NH-$ 或 $-C(O)NH-(CH_2)_h-NH-$ ；
- [0298]  $b$ 、 $c$ 、 $d$ 、 $e$ 、 $g$ 、 $h$ 、 $o$ 和 $q$ 各自独立地是值为1至约10的整数；
- [0299]  $p$ 是值为1至约10的整数；
- [0300]  $s$ 和 $s'$ 各自独立地是值为0至约10的整数；
- [0301]  $s'$ 是值为1至约10的整数；
- [0302]  $m$ 是值为0或1的整数；
- [0303]  $Z'$ 是异氰化物、异硫氰化物、2-吡啶基二硫化物、卤代乙酰胺( $-NHC(O)CH_2-$ 卤)、马来酰亚胺、二烯、烯烃、卤化物、甲苯磺酸根( $TsO^-$ )、醛、磺酸根( $R-SO_3^-$ )、



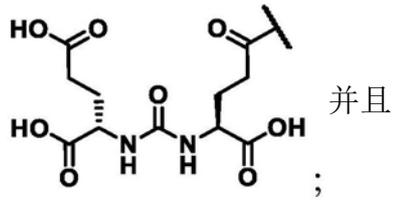
基、 $-OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-SH$ 、羧酸( $-COOH$ )、乙炔( $-C\equiv CH$ )、叠氮化物( $-N_3$ )、氨基( $-NH_2$ )、磺酸( $-SO_3H$ )、炔酮衍生物( $-C(O)C\equiv C-R^a$ ，其中 $R^a$ 是 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基)、或磷酸二氢根( $-OP(=O)(OH)_2$ )；

[0304]  $Z'$ 在每次出现时独立地不存在，是将式(Ib)或式(Ib')的结构连接至 $(CB)_{cb}$ 的连接基团、增溶基团、反应性基团(例如，前体基团)、固体表面(例如，颗粒)、稳定化基团、螯合剂、生物聚合物(例如，免疫球蛋白、核酸、蛋白质、寡肽、多肽、抗体、抗原性多肽的片段、或重复体)、活性剂或可检测部分；

[0305]  $CB$ 是选自以下的配体：

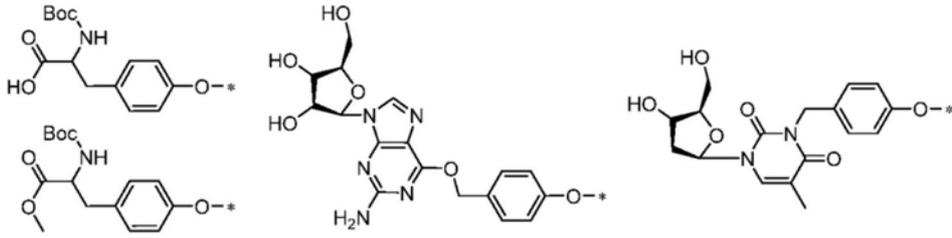


[0307]

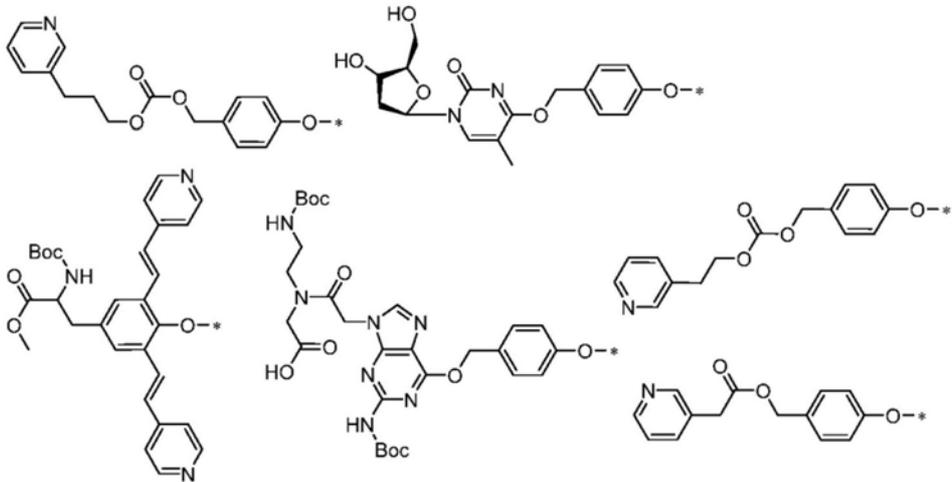


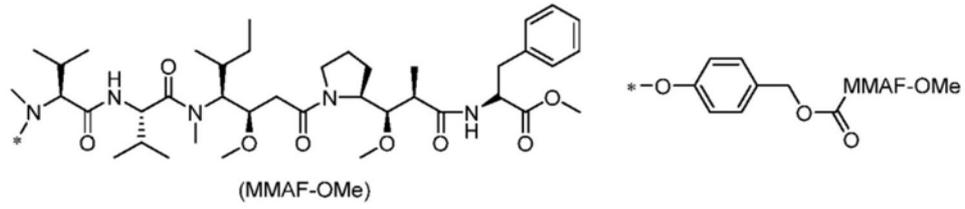
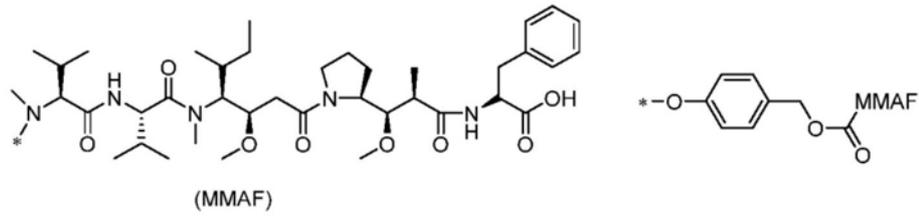
[0308]

Q选自:

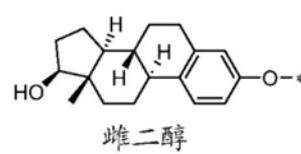
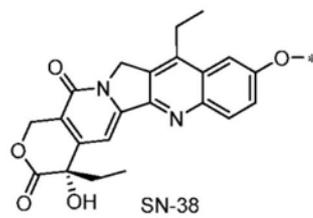
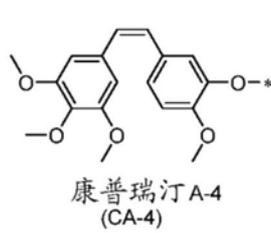
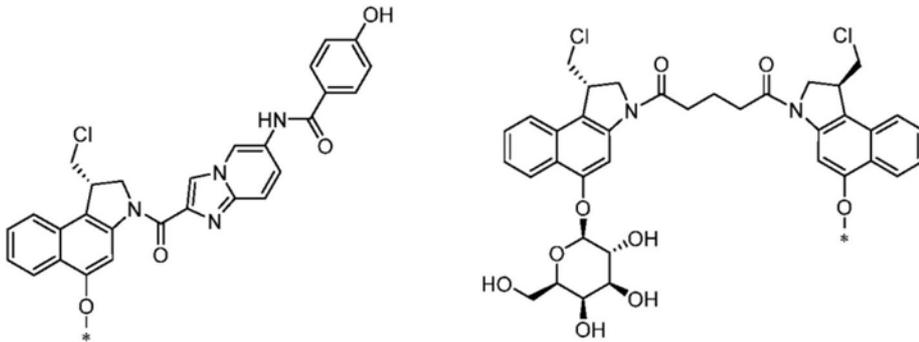
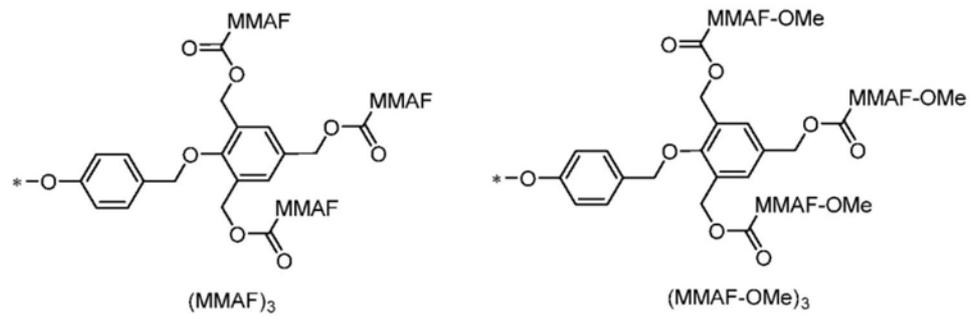


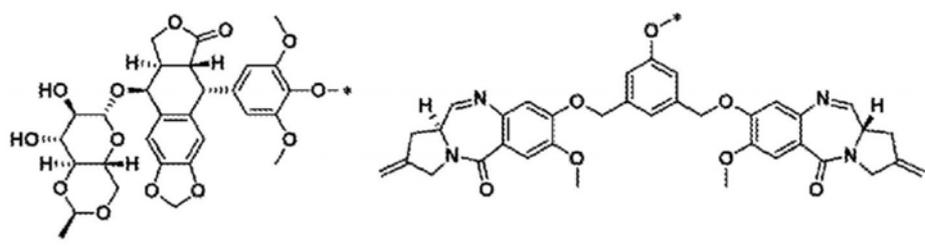
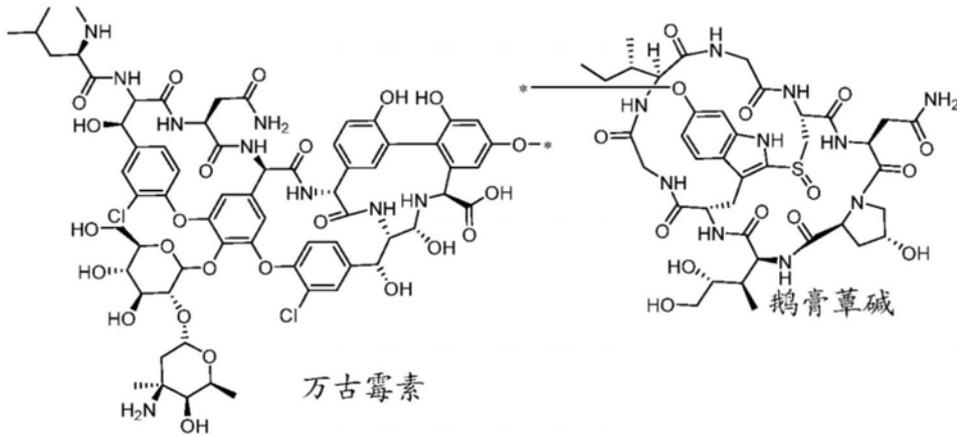
[0309]



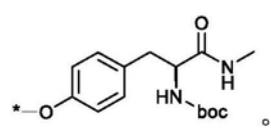
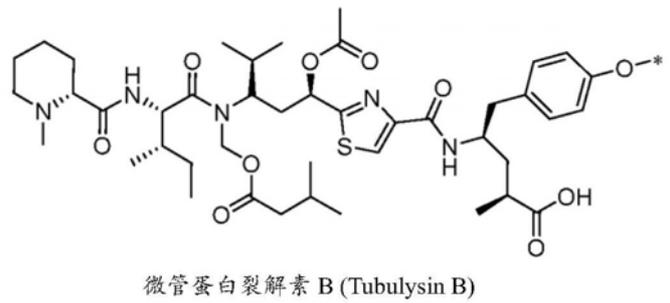
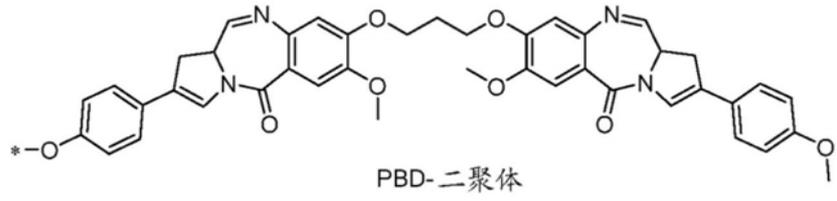
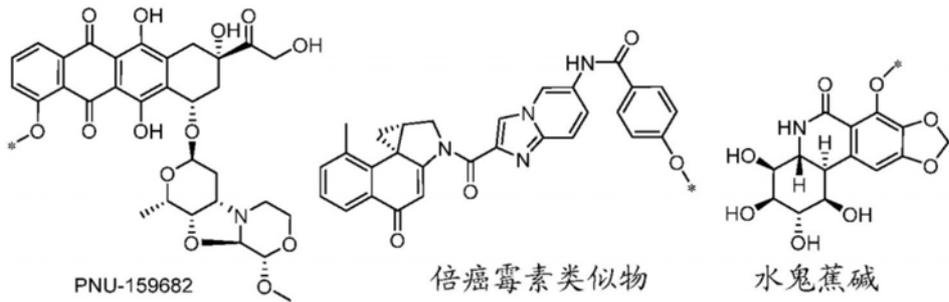


[0310]





[0311]



[0312] 活性剂的释放

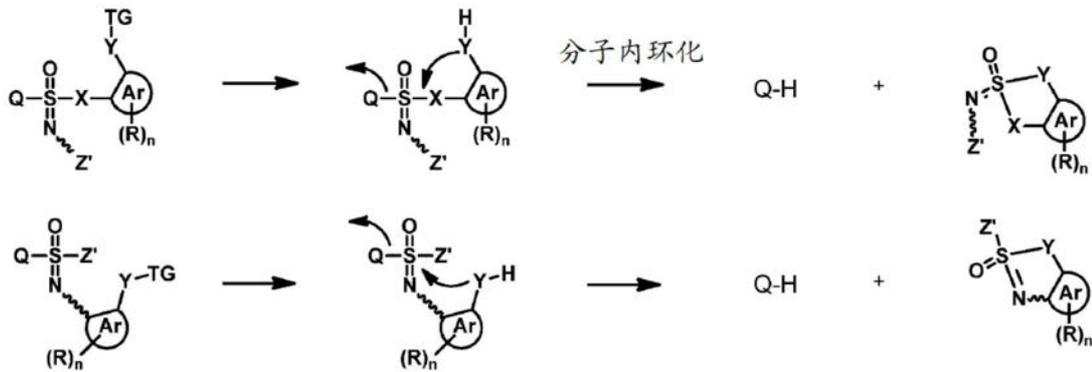
[0313] 如上所描述,在某些实施方案中,本文公开的化合物和缀合物能够在活化触发基

团的化学反应之后通过分子内环化反应解离一种或多种活性剂(由Q、Q<sup>1</sup>、Q<sup>2</sup>表示)。在某些实施方案中,所述化学反应是物理化学反应和/或生物化学反应。

[0314] 在一些实施方案中,本文公开的化合物和缀合物包含在Ar上相对于X(例如,O)相邻的原子处引入的亲核官能团(Y或Y')。典型地,所述亲核官能团被触发基团(TG)掩蔽,如下面进一步详述。活化后,所述触发基团释放亲核官能团以在分子内环化中与附近的-S(=O)(=N-)部分反应,最终释放一种或多种活性剂(Q、Q<sup>1</sup>或Q<sup>2</sup>)。在一些此类实施方案中,在化学反应、物理化学反应和/或生物化学反应之后通过分子内环化反应释放一种或多种活性剂(参见例如反应方案1),或者在分子内环化反应之后通过1,6-消除或1,4-消除释放活性剂(参见例如反应方案2)。

[0315] 举例来说,当Y是-Y'-TG时的机理在反应方案1中示出:

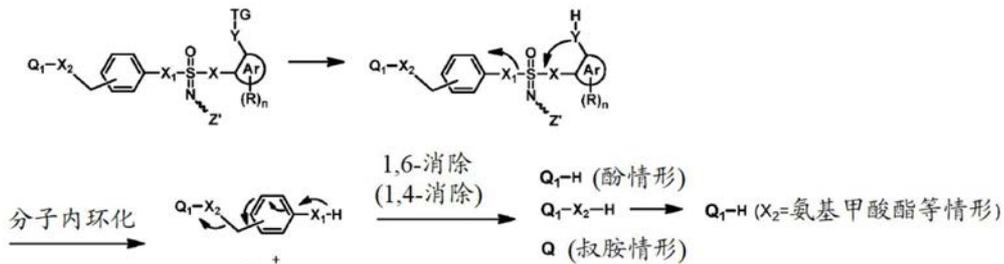
[0316] 反应方案1:



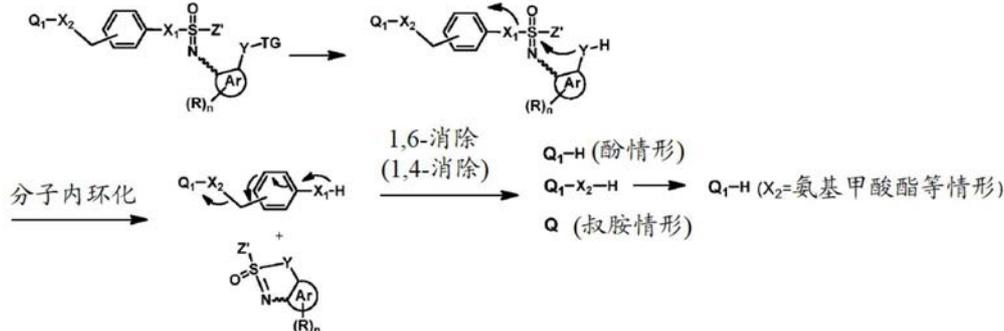
[0317]

[0318] 当Q是\*-X<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-CH<sub>2</sub>-X<sub>2</sub>-Q<sub>1</sub>时的机理在反应方案2中示出:

[0319] 反应方案2:



[0320]



[0321] 在一些实施方案中,Q<sup>1</sup>在释放时是包含至少一个选自以下的官能团的活性剂:-

OH、-NH-、-SH和-COOH。根据这些实施方案,如本文进一步所描述, $Q^1$ 通过-OH、-NH-、-SH和-COOH,例如通过选自酯、酰胺、硫酸酯、氨基甲酸根、尿素、脞、脞等的官能团与如本文所描述的化合物缀合。在一些此类实施方案中,使用 $Q^2$ 替代 $Q^1$ ,并且 $Q^2$ 是含胺基的药物。在其他实施方案中, $Q^2$ 是能够与铵单元结合的活性剂。在仍然其他实施方案中, $Q^2$ 能够在 $Q^2$ 释放的释放时以其具有胺基的原始形式解离,其中活性剂可以是药物、毒素、亲和配体、用于检测的探针、或其组合。

[0322] 在一些实施方案中,本文公开的化合物和缀合物是化学和生理上稳定的。在一些此类实施方案中,本文公开的化合物和缀合物以活性剂很少解离在血液中的状态到达所希望的靶细胞,从而选择性地释放药物。

#### [0323] 触发基团 (TG)

[0324] 在一些实施方案中,本发明的缀合物包含触发基团 (TG)。TG是能够通过例如生物反应的化学反应裂解、优选选择性裂解的基团。通常,触发基团用于掩蔽Y或Y'基团的亲核性质,从而为本文公开的化合物和缀合物提供稳定性(例如,通过防止在缀合物到达目标位置或经历预定触发条件之前自我牺牲(self-immolation)或分子内环化)。活化后,触发基团释放亲核性Y或Y'基团并且允许发生如上所描述的自我牺牲或分子内环化。

[0325] 在一些实施方案中,TG包含被TEV、胰蛋白酶、凝血酶、组织蛋白酶B、组织蛋白酶D、组织蛋白酶K、胱天蛋白酶1、基质金属蛋白酶(MMP)等识别的序列(例如肽序列)或部分,所述序列或部分可以被酶(例如,氧化还原酶、转移酶、水解酶、裂解酶、异构酶、连接酶等)水解和/或可包含选自磷酸二酯、磷脂、酯、 $\beta$ -半乳糖、 $\beta$ -葡萄糖、岩藻糖、寡糖等的部分。

[0326] 在一些实施方案中,TG包含可在亲核试剂条件下裂解的反应性化学部分或官能团(例如,甲硅烷基醚、2-N-酰基硝基苯磺酰胺、不饱和乙烯基硫醚、活化后的磺酰胺、丙二醛-吡啶衍生物、乙酰丙酰基酯、脞、或酰基脞)。

[0327] 在一些实施方案中,TG可包含可在碱性试剂条件下裂解的反应性化学部分或官能团(例如,2-氰基乙基酯、二琥珀酸乙二醇酯、2-磺酰基乙基酯、烷基硫酯、或苯硫基酯)。

[0328] 在一些实施方案中,TG可包含可通过光辐照裂解的反应性化学部分或官能团(例如,2-硝基苄基衍生物、苯酰基酯、苯磺酸8-喹啉酯、香豆素、磷酸三酯、双芳基脞、或bimane二-硫代丙酸衍生物)。

[0329] 在一些实施方案中,TG可包含可通过还原剂条件裂解的反应性化学部分或官能团(例如,羟胺、二硫化物、乙酰丙酸根、硝基、或4-硝基苄基衍生物)。

[0330] 在一些实施方案中,TG可包含可使用酸性条件裂解的反应性化学部分或官能团(例如,糖类、叔丁基氨基甲酸酯类似物、二烷基或二芳基二烷氧基硅烷、原酸酯、缩醛、乌头酰基、脞、 $\beta$ -硫代丙酸酯、氨基磷酸酯、亚胺、三苯甲基、乙烯基醚、聚缩酮、和2-(二苯基膦基)苯甲酸烷基酯衍生物;烷基酯、8-羟基喹啉酯、和吡啶甲酸酯)。

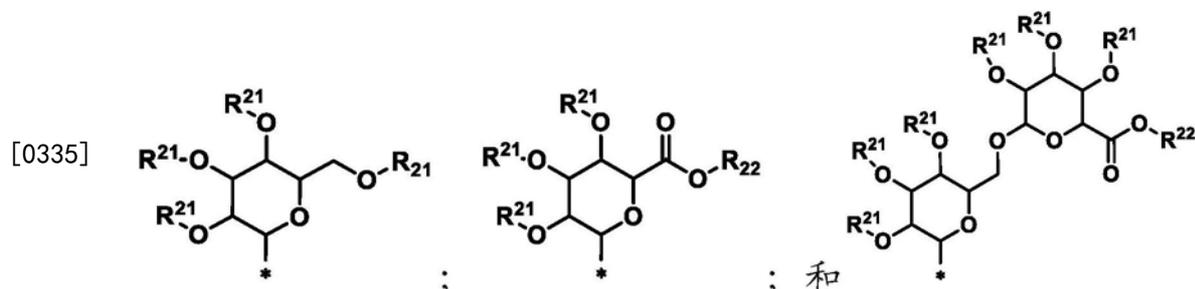
[0331] 在一些实施方案中,TG可包含可在氧化条件下裂解的反应性化学部分或官能团(例如,硼酸酯、邻二醇、对甲氧基苄基衍生物、或硒化合物)。

[0332] 在某些优选的实施方案中,TG包含可在酸性或酶促条件下裂解的糖。在某些优选的实施方案中,触发基团是可在还原条件下裂解的 $-NO_2$ 。在某些优选的实施方案中,触发基团是可在氧化条件下裂解的硼酸酯。在某些优选的实施方案中,触发基团是可在酸性、碱性或酶促条件下裂解的酯。在某些优选的实施方案中,触发基团是可在亲核条件下或在酸性

条件下裂解的脞在某些优选的实施方案中,触发基团是可在还原条件下裂解的羟胺。

### [0333] 糖触发基团

[0334] 在一些实施方案中,本文公开的化合物和缀合物包含糖触发基团,例如选自以下的触发基团:



[0336] 其中每个 $R^{21}$ 独立地是氢或被选择为使得 $O-R^{21}$ 是羟基保护基团(例如,乙酰基);并且 $R^{22}$ 是氢或低级烷基(例如, $C_1-C_6$ 烷基)。在某些实施方案中,所述羟基保护基团能够用于有机合成,包括但不限于:甲基醚、甲氧基甲基醚、甲硫基甲基醚、2-甲氧基乙氧基甲基醚、双(2-氯乙氧基)甲基醚、四氢吡喃基醚、四氢硫代吡喃基醚、4-甲氧基四氢吡喃基醚、4-甲氧基四氢硫代吡喃基醚、四氢呋喃基醚、1-乙氧基乙基醚、1-甲基-1-甲氧基乙基醚、2-(苯基硒基)乙基醚、叔丁基醚、烯丙基醚、苄基醚、邻硝基苄基醚、三苯基甲基醚、 $\alpha$ -萘基二苯基甲基醚、对甲氧基苯基二苯基甲基醚、9-(9-苯基-10-氧代)蒽基醚、三甲基甲硅烷基醚、异丙基二甲基甲硅烷基醚、叔丁基二甲基甲硅烷基醚、叔丁基二苯基甲硅烷基醚、三苄基甲硅烷基醚、三异丙基甲硅烷基醚、甲酸酯、乙酸酯、三氯乙酸酯、苯氧基乙酸酯、异丁酸酯、特戊酸酯、金刚酸酯、苯甲酸酯、2,4,6-三甲基苯甲酸酯、碳酸甲酯、碳酸2,2,2-三氯乙酯、碳酸烯丙酯、碳酸对硝基苯酯、碳酸苄酯、碳酸对硝基苄酯、S-苄基硫代碳酸酯、N-苄基氨基甲酸酯、硝酸酯、2,4-二硝基苯基次磺酸酯等,但不限于这些。

### [0337] 作为触发基团的保护基团

[0338] 在一些实施方案中,TG是能够通过化学反应、物理化学反应和/或生物反应裂解的基团。在某些实施方案中,TG是保护基团。在一些此类实施方案中,所述保护基团是胺基保护基团、醇保护基团、或硫醇保护基团。

### [0339] 胺保护基团

[0340] 在某些实施方案中,所述胺保护基团是能够用于有机合成的一般保护基团,包括但不限于:氨基甲酸间硝基苯酯、氨基甲酸3,5-二甲氧基苄酯、氨基甲酸邻硝基苄酯、氨基甲酸苯基(邻硝基苯基)甲酯、氨基甲酸烷基酯、氨基甲酸9-苄基甲酯、氨基甲酸2,2,2-三氯乙酯、氨基甲酸2-三甲基甲硅烷基乙酯(Teoc)、氨基甲酸叔丁酯(Boc)、氨基甲酸乙烯酯(Voc)、氨基甲酸烯丙酯(Alloc)、氨基甲酸1-异丙基烯丙酯(Ipaoc)、氨基甲酸8-喹啉酯、氨基甲酸N-羟基哌啶酯、氨基甲酸苄酯、氨基甲酸对甲氧基苄酯、氨基甲酸对硝基苄酯、二苯基甲基氨基甲酸酯、乙酰胺、氯乙酰胺、三氯乙酰胺、苯基乙酰胺、苯甲酰胺、N-苄邻二甲酰亚胺、N-2,3-二苯基马来酰亚胺、N-2,5-二甲基吡咯、N-1,1-二甲基硫代亚甲基胺、N-亚苄基胺、苯次磺酰胺、邻硝基苯次磺酰胺、三苯基甲基次磺酰胺、对甲苯磺酰胺、甲烷磺酰胺等,但不限于这些。

### [0341] 醇保护基团

[0342] 在某些实施方案中,所述醇保护基团是能够用于有机合成的一般保护基团,包括

但不限于：甲基醚、甲氧基甲基醚 (MOM醚)、苄氧基甲基醚 (BOM醚)、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基醚 (SEM醚)、苄硫基甲基醚 (PTM醚)、2,2-二氯-1,1-二氟乙基醚、对溴苯酰基醚、氯丙基甲基醚、异丙基醚、环己基醚、4-甲氧基苄基、2,6-二氯苄基醚、4-(二甲基氨基羰基)苄基醚、9-蒎基甲基醚、4-吡啶甲基醚、甲硫基甲基醚 (MTM醚)、2-甲氧基乙氧基甲基醚 (MEM醚)、双(2-氯乙氧基)甲基醚、四氢吡喃基醚 (THP醚)、四氢硫代吡喃基醚、4-甲氧基四氢吡喃基醚、4-甲氧基四氢硫代吡喃基醚、四氢呋喃基醚、1-乙氧基乙基醚、1-甲基-1-甲氧基乙基醚、2-(苄基硒基)乙基醚)、叔丁基醚、烯丙基醚、苄基醚、邻硝基苄基醚、三苯基甲基醚、 $\alpha$ -萘基二苯基甲基醚、对甲氧基苯基二苯基甲基醚、9-(9-苄基-10-氧代)蒎基醚、三甲基甲硅烷基醚 (TMS醚)、异丙基二甲基甲硅烷基醚、叔丁基二甲基甲硅烷基醚 (TBDMS醚)、叔丁基二苯基甲硅烷基醚、三苄基甲硅烷基醚、三异丙基甲硅烷基醚、甲酸酯、乙酸酯、三氯乙酸酯、苄氧基乙酸酯、异丁酸酯、特戊酸酯、金刚酸酯、苯甲酸酯、2,4,6-三甲基苯甲酸酯 (Mesitoate) 酯、碳酸甲酯、碳酸2,2,2-三氯乙酯、碳酸烯丙酯、碳酸对硝基苯酯、碳酸苄酯、碳酸对硝基苄酯、硫代碳酸S-苄酯、N-苄基氨基甲酸酯、硝酸酯、2,4-二硝基苯基次磺酸酯、二甲基膦基酯 (DMP酯)、二甲基硫代膦基酯 (MPT酯)、甲烷磺酸芳基酯、甲苯磺酸芳基酯等，但不限于这些。

#### [0343] 硫醇保护基团

[0344] 在某些实施方案中，所述硫醇保护基团能够用于有机合成，包括但不限于：S-苄基硫醚、S-对甲氧基苄基硫醚、S-邻或对羟基或乙酰氧基苄基硫醚、S-对硝基苄基硫醚、S-4-吡啶甲基硫醚、S-2-吡啶甲基N-氧化物硫醚、S-9-蒎基甲基硫醚、S-9-苄基甲基硫醚、S-甲氧基甲基单硫缩醛、A-乙酰基衍生物、S-苯甲酰基衍生物、S-(N-乙基氨基甲酸酯)、S-(N-甲氧基甲基氨基甲酸酯)等，但不限于这些。

#### [0345] 连接基团

[0346] 在一些实施方案中，本文公开的化合物和缀合物包含通过共价键连接每个CB和Ar的连接基团。典型的连接基团是稳定的不可水解部分，例如C<sub>10</sub>-C<sub>100</sub>直链或支链的饱和或不饱和亚烷基。在某些实施方案中，所述连接单元满足以下四个标准中的至少两个并且更优选至少三个：

[0347] (i) 亚烷基部分中的至少一个-CH<sub>2</sub>-被选自-NH-、-C(=O)、-O-、-S-和-P-的杂原子取代(即，替代)；

[0348] (ii) 亚烷基部分包含至少一个亚杂芳基；

[0349] (iii) 亚烷基部分包含至少一个氨基酸部分、糖键、肽键或酰胺键；和

[0350] (iv) 亚烷基可进一步被一个或多个选自由以下组成的组的取代基取代：C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基、C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳基C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>COOH和-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>NH<sub>2</sub>，其中s是值为0至10的整数，并且p是值为1至约10的整数。

[0351] 在某些实施方案中，连接单元包含以下中的至少两个并且更优选至少三个：

[0352] (i) 至少一个选自-NH-、-C(=O)、-O-、-S-和-P-的杂原子；

[0353] (ii) 至少一个亚杂芳基；

[0354] (iii) 至少一个氨基酸部分、糖键、肽键或酰胺键；和

[0355] (iv) 亚烷基可进一步被一个或多个选自由以下组成的组的取代基取代：C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基、C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳基C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>COOH和-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>NH<sub>2</sub>，其中s是值为0至10的整数，并且p是值

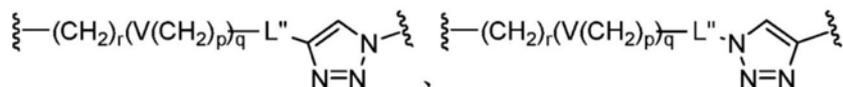
为1至约10的整数。

[0356] 在其他实施方案中,连接每个CB和Ar的连接基团包含通过点击化学反应产生的官能团。

[0357] 在可选实施方案中,连接单元包含能够参与点击化学反应的反应性官能团。

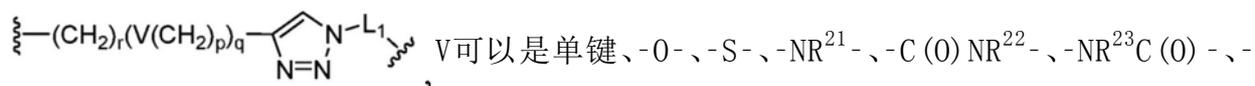
[0358] 点击化学反应是可在温和条件下进行的反应,并且对于在生物分子中不常发现的官能团(例如,叠氮化物基团、乙炔基团等)具有极高的选择性。因此,此反应可在复杂触发基团、靶向部分等的存在下进行。此外,点击化学具有高的反应特异性。例如,在叠氮化物基团与乙炔基团之间的点击化学反应选择性地进行,而不受分子中存在的其他官能团的干扰。例如,叠氮化物-乙炔点击化学可以高产率得到三唑部分。

[0359] 因此,在一些实施方案中,连接每个CB和Ar的连接基团包含



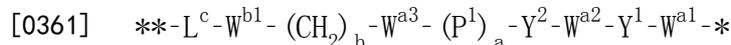
L''

或



NR<sup>24</sup>SO<sub>2</sub>-或-SO<sub>2</sub>NR<sup>25</sup>-、-NR<sup>24</sup>-S(=O)(=N)-或-S(=O)(=N)-NR<sup>25</sup>- , R<sup>21</sup>至R<sup>25</sup>可以各自独立地是氢、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基(C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>)芳基或(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基(C<sub>3</sub>-C<sub>20</sub>)杂芳基,r可以是值为1至约10的整数,p可以是值为0至约10的整数,q可以是值为1至约10的整数,并且L''可以是单键。

[0360] 在其他实施方案中,连接每个CB和Ar的连接单元是由式(A)表示的连接基团:



[0362] (A)

[0363] 其中:

[0364] \*是与CB的附接点;

[0365] \*\*是与Ar的附接点;

[0366] W<sup>a1</sup>、W<sup>a2</sup>和W<sup>a3</sup>各自独立地是-NH-、-C(=O)-或-(CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>;

[0367] W<sup>b1</sup>是酰胺键或亚三唑基;

[0368] P<sup>1</sup>是连接W<sup>a3</sup>和Y<sup>2</sup>的接头,并且是氨基酸部分、肽键或酰胺键;

[0369] L<sup>c</sup>是亚烷基;

[0370] Y<sup>2</sup>是单键、-W<sup>a4</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-W<sup>b2</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>d</sub>-W<sup>a5</sup>-或-W<sup>a6</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>e</sub>-CR<sup>eR<sup>f</sup></sup>-X-;

[0371] R<sup>e</sup>是C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基或CB-W<sub>a7</sub>-Y<sub>3</sub>-W<sub>c1</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>f</sub>-;

[0372] R<sup>f</sup>是B-W<sup>a7</sup>-Y<sup>3</sup>-W<sup>c1</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>f</sub>-;

[0373] X是-NHC(=O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>g</sub>-W<sup>a8</sup>-或-C(=O)NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>h</sub>-W<sup>a9</sup>-;

[0374] W<sup>a4</sup>、W<sup>a5</sup>、W<sup>a6</sup>、W<sup>a7</sup>、W<sup>a8</sup>和W<sup>a9</sup>各自独立地是-NH-、-C(=O)-或-CH<sub>2</sub>-;

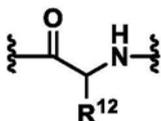
[0375] W<sup>b2</sup>是酰胺键或亚三唑基;

[0376] W<sup>c1</sup>是-NHC(=O)-或-C(=O)NH-;

[0377] Y<sup>3</sup>是-(CH<sub>2</sub>)<sub>i</sub>-(X'CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>j</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>k</sub>-;

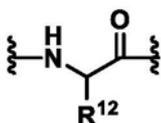
[0378] X'是-O-、-S-、-NH-或-CH<sub>2</sub>-;

- [0379] CB是如上相同定义的；  
 [0380] b、c、d、e、f、g、h、i和j各自独立地是值为1至约10的整数；  
 [0381] k和y各自独立地是值为0至约10的整数；  
 [0382]  $Y^1$ 是  $-(CH_2)_q-(CH_2CH_2X'')$  或  $-(CH_2)_q-(X''CH_2CH_2)_o-$ ；  
 [0383]  $X''$  是  $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$  或  $-CH_2-$ ；并且  
 [0384] o和q是值为1至约10的整数。  
 [0385] 在一些实施方案中， $P^1$ 包含至少一个由式(B)或(C)表示的单元：



(B)

[0386]



(C)

- [0387] 其中：  
 [0388]  $R^{12}$ 是氢、 $C_1-C_8$ 烷基、氨基酸侧链如天然氨基酸侧链(例如，H、甲基、异丙基、异丁基、仲丁基、S-甲基硫醚、苄基、吡啶、吡咯烷、羟基甲基、酷氨酰基、赖氨酰基、咪唑、甘氨酰基、谷氨酰基、氨基甲酰基丁酸、甲酰胺、天冬氨酸、1-羟基乙基和2-羟基乙基)、 $-(CH_2)_sCOR^{13}$ 或  $-(CH_2)_pNR^{14}R^{15}$ ；  
 [0389]  $R^{13}$ 是OH或  $-NH(CH_2)_s$ 、 $(X''CH_2CH_2)_s$ 、Z；  
 [0390]  $R^{14}$ 和 $R^{15}$ 各自独立地是氢或  $-(C(O)(CH_2)_s$ 、 $(X''CH_2CH_2)_s$ 、Z)  $-CB$ ；  
 [0391]  $X''$  是  $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$  或  $-CH_2-$ ；  
 [0392] Z和CB是如上相同定义的；  
 [0393] p是值为1至约10的整数；  
 [0394] s和s'是值为0至约10的整数；  
 [0395] s'是值为1至约10的整数；并且  
 [0396] m是值为0或1的整数。  
 [0397] 在式(B)或(C)的一些实施方案中：  
 [0398]  $R^{12}$ 是氢、烷基、氨基酸侧链、 $-(CH_2)_sC(O)R^{13}$ 或  $-(CH_2)_pNR^{14}R^{15}$ ；  
 [0399] p是值为1至约10的整数；  
 [0400] s是值为0至约10的整数；  
 [0401]  $R^{13}$ 是OH或  $-NH(CH_2)_s$ 、 $(X''CH_2CH_2)_s$ 、Z'  $-(CB)_m$ ；  
 [0402]  $R^{14}$ 和 $R^{15}$ 各自独立地是氢或  $-C(O)(CH_2)_s$ 、 $(X''CH_2CH_2)_s$ 、Z'  $-(CB)_m$ ；  
 [0403] s''是值为0至约10的整数；  
 [0404] s'是值为1至约10的整数；  
 [0405] m是值为0或1的整数；

[0406] X'' 是 -O-、-S-、-NH- 或 -CH<sub>2</sub>-; 并且

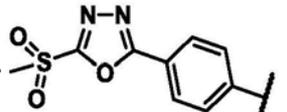
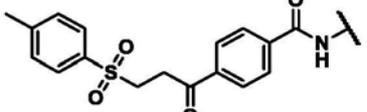
[0407] Z'' 是将 CB 与 R<sup>14</sup> 或 R<sup>15</sup> 的其余部分连接的连接基团; 或 Z'' 是包含反应性基团的连接基团。

[0408] 在式 (B) 或 (C) 的一些此类实施方案中:

[0409] R<sup>13</sup> 是 OH 或 -NH(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>, (X'' CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>, Z'';

[0410] R<sup>14</sup> 和 R<sup>15</sup> 各自独立地是氢或 -C(O)(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>, (X'' CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>, Z''; 并且

[0411] Z'' 是连接单元的反应性前体, 所述反应性前体选自异氰化物、异硫氰化物、2-吡啶基二硫化物、卤代乙酰胺 (-NHC(O)CH<sub>2</sub>- 卤)、马来酰亚胺、二烯、烯炔、卤化物、甲苯磺酸根

(TsO<sup>-</sup>)、醛、磺酸根 (R-SO<sub>3</sub><sup>-</sup>)、、 磷酸 (-P(=

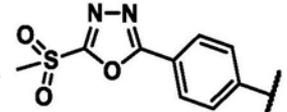
O)(OH)<sub>2</sub>)、酮、C<sub>8</sub>-C<sub>10</sub> 环炔基、-OH、-NHOH、-NHNH<sub>2</sub>、-SH、羧酸 (-COOH)、乙炔 (-C≡CH)、叠氮化物 (-N<sub>3</sub>)、氨基 (-NH<sub>2</sub>)、磺酸 (-SO<sub>3</sub>H)、炔酮衍生物 (-C(O)C≡C-R<sup>a</sup>, 其中 R<sup>a</sup> 是 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 烷基)、和磷酸二氢根 (-OP(=O)(OH)<sub>2</sub>)。

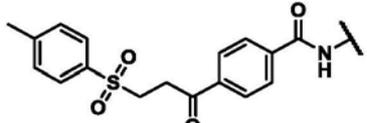
[0412] 在式 (B) 或 (C) 的其他此类实施方案中:

[0413] R<sup>13</sup> 是 OH 或 -NH(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>, (X'' CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>, Z'' CB;

[0414] R<sup>14</sup> 和 R<sup>15</sup> 各自独立地是氢或 -C(O)(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>, (X'' CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>, Z'' CB; 并且

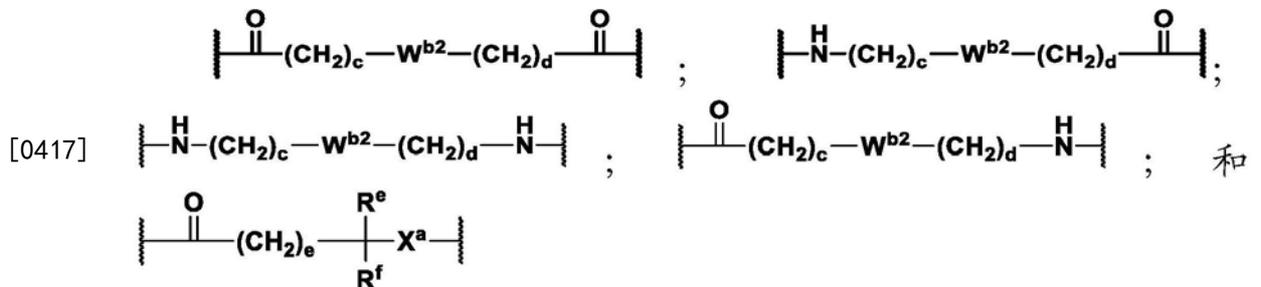
[0415] Z'' 是由前体形成的将 CB 与 R<sup>14</sup> 或 R<sup>15</sup> 的其余部分连接的连接单元, 所述前体选自异氰化物、异硫氰化物、2-吡啶基二硫化物、卤代乙酰胺 (-NHC(O)CH<sub>2</sub>- 卤)、马来酰亚胺、二烯、

烯炔、卤化物、甲苯磺酸根 (TsO<sup>-</sup>)、醛、磺酸根 (R-SO<sub>3</sub><sup>-</sup>)、

 磷酸 (-P(=O)(OH)<sub>2</sub>)、酮、C<sub>8</sub>-C<sub>10</sub> 环炔基、-OH、-NHOH、-NHNH<sub>2</sub>、-

SH、羧酸 (-COOH)、乙炔 (-C≡CH)、叠氮化物 (-N<sub>3</sub>)、氨基 (-NH<sub>2</sub>)、磺酸 (-SO<sub>3</sub>H)、炔酮衍生物 (-C(O)C≡C-R<sup>a</sup>, 其中 R<sup>a</sup> 是 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 烷基)、和磷酸二氢根 (-OP(=O)(OH)<sub>2</sub>)。

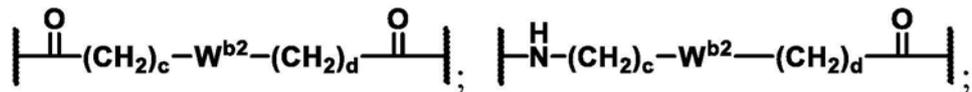
[0416] 在一些实施方案中, Y<sup>2</sup> 是单键或选自:



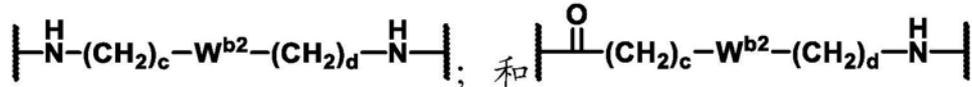
[0418] 其中:

[0419] W<sup>b2</sup> 是 -C(O)NH-、-NHC(O)-、 或  ;

- [0420]  $R^e$ 是 $C_1-C_8$ 烷基或 $-(L^{1'}-Z-)_mCB$ ;
- [0421]  $R^f$ 是 $B-W^{b2}$ 、 $-(CH_2)_i-$ 、 $(X''CH_2CH_2)_j-NH-C(=O)-(CH_2)_f-$ ;
- [0422]  $X^a$ 是 $-NHC(=O)-(CH_2)_g-NH-$ 或 $-C(O)NH-(CH_2)_h-NH-$ ;
- [0423]  $W^{b2'}$ 是 $-C(O)NH-$ 或 $-NHC(=O)-$ ;
- [0424]  $c$ 、 $d$ 、 $e$ 、 $f$ 、 $g$ 、 $h$ 、 $i$ 和 $j$ 各自独立地是值为1至约10的整数;
- [0425]  $X''$ 是 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 或 $-CH_2-$ ;并且
- [0426]  $L^{1'}$ 、 $Z$ 、 $m$ 和 $B$ 是如上相同定义的。
- [0427] 在某些实施方案中,连接每个CB和Ar的连接单元是包含通过共价键彼此连接的 $(CH_2)_b$ 、 $L^c$ 、 $(P^1)_a$ 、 $W^{a1}$ 、 $W^{a2}$ 、 $W^{a3}$ 、 $Y^1$ 和 $Y^2$ 基团的连接基团,其中:
- [0428]  $W^{a1}$ 、 $W^{a2}$ 和 $W^{a3}$ 各自独立地是 $-NH-$ 、 $-C(O)-$ 或 $-CH_2-$ ;
- [0429]  $W^{b1}$ 是酰胺键或亚三唑基;
- [0430]  $P^1$ 是酰胺键、氨基酸残基、或肽;
- [0431]  $L^c$ 是亚烷基;
- [0432]  $Y^1$ 是 $-(CH_2)_q-(CH_2CH_2X'')$ 或 $-(CH_2)_q-(X''CH_2CH_2X'')$ ;
- [0433]  $X''$ 是 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 或 $-CH_2-$ ;
- [0434]  $Y^2$ 是单键或选自以下的基团:

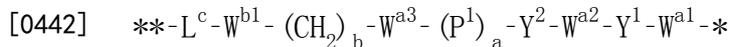


[0435]



- [0436]  $W^{b2}$ 是酰胺键或亚三唑基;
- [0437]  $a$ 是0至10;
- [0438]  $b$ 、 $c$ 和 $d$ 各自独立地是值为1至约10的整数;并且
- [0439]  $o$ 和 $q$ 各自独立地是值为1至约10的整数。
- [0440] 在一些实施方案中, $R^{12}$ 是天然氨基酸侧链。在其他实施方案中, $R^{12}$ 是非天然氨基酸侧链。

[0441] 在一些实施方案中,连接每个CB和Ar的连接单元是由式(A)表示的连接基团:



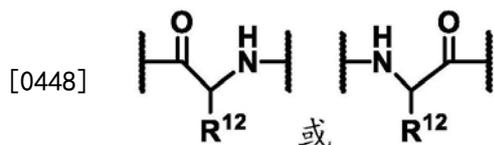
[0443] (A)

[0444] 其中:

[0445] \*是与CB的附接点;并且

[0446] \*\*是与Ar的附接点。

[0447] 在一些此类实施方案中, $P^1$ 是



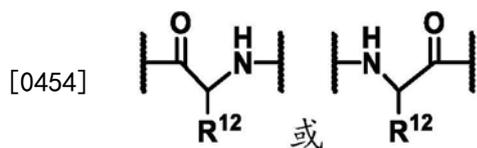
[0449] 其中:

[0450]  $R^{12}$ 是氢、烷基、氨基酸侧链、 $-(CH_2)_sCOOH$ 或 $-(CH_2)_pNH_2$ ;

[0451]  $p$ 是值为1至约10的整数;并且

[0452]  $s$ 和 $s'$ 各自独立地是值为0至约10的整数。

[0453] 在一些实施方案中, $P^1$ 是



[0455] 其中:

[0456]  $R^{12}$ 是氢、烷基、氨基酸侧链、 $-(CH_2)_sC(O)R^{13}$ 或 $-(CH_2)_pNR^{14}R^{15}$ ;

[0457]  $p$ 是值为1至约10的整数;

[0458]  $s$ 是值为0至约10的整数;

[0459]  $R^{13}$ 是OH或 $-NH(CH_2)_s(X''CH_2CH_2)_{s'}Z''-(CB)_m$ ;

[0460]  $R^{14}$ 和 $R^{15}$ 各自独立地是氢或 $-C(O)(CH_2)_s(X''CH_2CH_2)_{s'}Z''-(CB)_m$ ;

[0461]  $s'$ 是值为0至约10的整数;

[0462]  $s'$ 是值为1至约10的整数;

[0463]  $m$ 是值为0或1的整数;

[0464]  $X''$ 是 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 或 $-CH_2-$ ;并且

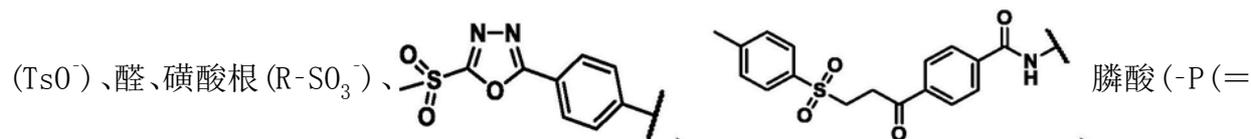
[0465]  $Z''$ 是将CB与 $R^{14}$ 或 $R^{15}$ 的其余部分连接的连接基团;或 $Z''$ 是包含反应性基团的连接基团。

[0466] 在 $P^1$ 的一些此类实施方案中:

[0467]  $R^{13}$ 是OH或 $-NH(CH_2)_s(X''CH_2CH_2)_{s'}Z''$ ;

[0468]  $R^{14}$ 和 $R^{15}$ 各自独立地是氢或 $-C(O)(CH_2)_s(X''CH_2CH_2)_{s'}Z''$ ;并且

[0469]  $Z''$ 是连接单元的反应性前体,所述反应性前体选自异氰化物、异硫氰化物、2-吡啶基二硫化物、卤代乙酰胺( $-NHC(O)CH_2-$ 卤)、马来酰亚胺、二烯、烯烃、卤化物、甲苯磺酸根



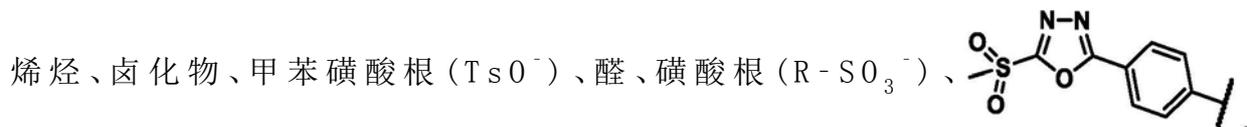
$O)(OH)_2$ )、酮、 $C_8-C_{10}$ 环炔基、 $-OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-SH$ 、羧酸( $-COOH$ )、乙炔( $-C\equiv CH$ )、叠氮化物( $-N_3$ )、氨基( $-NH_2$ )、磺酸( $-SO_3H$ )、炔酮衍生物( $-C(O)C\equiv C-R^a$ ,其中 $R^a$ 是 $C_1-C_{10}$ 烷基)、和磷酸二氢根( $-OP(=O)(OH)_2$ )。

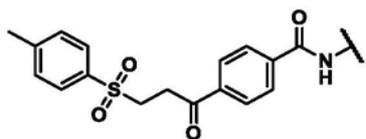
[0470] 在 $P^1$ 的其他此类实施方案中:

[0471]  $R^{13}$ 是OH或 $-NH(CH_2)_s(X''CH_2CH_2)_{s'}Z''CB$ ;

[0472]  $R^{14}$ 和 $R^{15}$ 各自独立地是氢或 $-C(O)(CH_2)_s(X''CH_2CH_2)_{s'}Z''CB$ ;并且

[0473]  $Z''$ 是由前体形成的将CB与 $R^{14}$ 或 $R^{15}$ 的其余部分连接的连接单元,所述前体选自异氰化物、异硫氰化物、2-吡啶基二硫化物、卤代乙酰胺( $-NHC(O)CH_2-$ 卤)、马来酰亚胺、二烯、

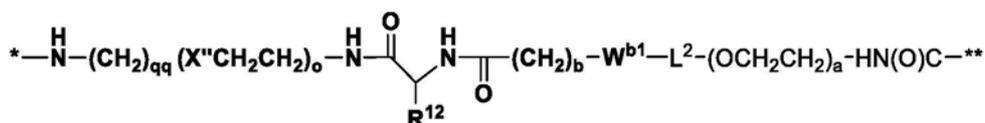




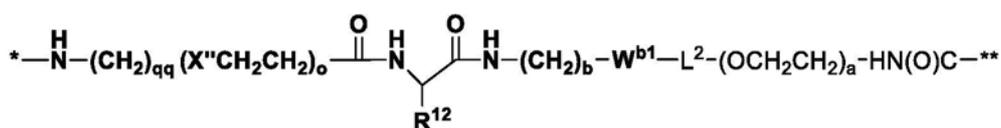
磷酸 ( $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})_2$ )、酮、 $\text{C}_8$ - $\text{C}_{10}$  环炔基、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NHOH}$ 、 $-\text{NHNH}_2$ 、-

$\text{SH}$ 、羧酸 ( $-\text{COOH}$ )、乙炔 ( $-\text{C}\equiv\text{CH}$ )、叠氮化物 ( $-\text{N}_3$ )、氨基 ( $-\text{NH}_2$ )、磺酸 ( $-\text{SO}_3\text{H}$ )、炔酮衍生物 ( $-\text{C}(\text{O})\text{C}\equiv\text{C}-\text{R}^a$ , 其中  $\text{R}^a$  是  $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$  烷基) 和磷酸二氢根 ( $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OH})_2$ )。

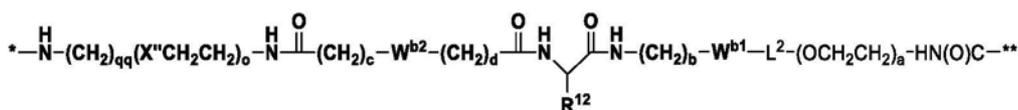
[0474] 在可选实施方案中, 连接CB和Ar的连接单元是由式(F)、(G)、(H)、(J)、(K)、(L)或(N)表示的连接基团:



(F)

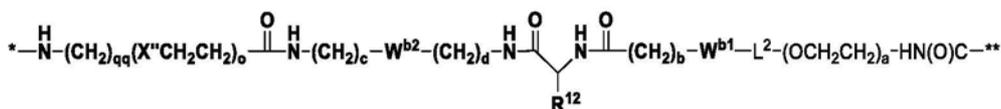


(G)

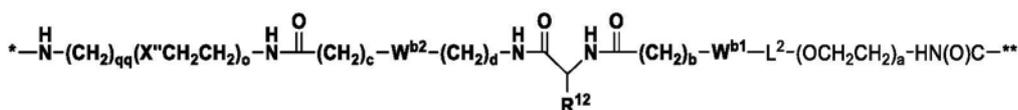


(H)

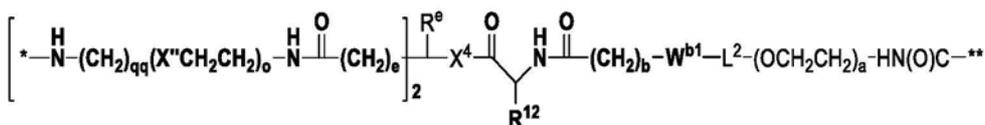
[0475]



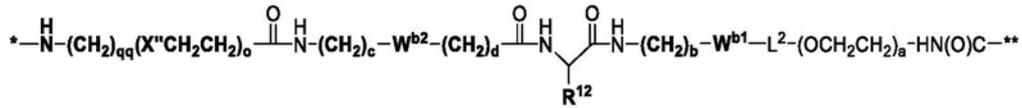
(J)



(K)

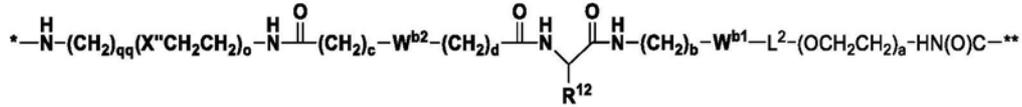


(L)



(M)

[0476]



(N)

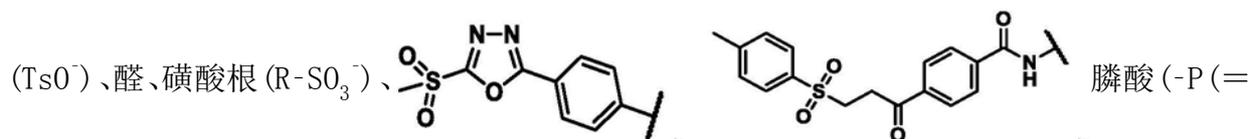
[0477] 其中:

[0478]  $\text{R}^e$ 是烷基;[0479]  $\text{X}^4$ 是  $-\text{NHC}(\text{O})-(\text{CH}_2)_g-\text{NH}-$  或  $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-(\text{CH}_2)_h-\text{NH}-$ ;[0480]  $e, g$ 和 $h$ 各自独立地是值为1至约10的整数;并且[0481]  $s'$ 是值为1至约10的整数。

[0482] 在式(F)、(G)、(H)、(I)、(J)、(K)、(L)或(M)的一些实施方案中:

[0483]  $\text{R}^{12}$ 是氢、烷基、氨基酸侧链、 $-(\text{CH}_2)_s\text{C}(\text{O})\text{R}^{13}$ 或 $-(\text{CH}_2)_p\text{NR}^{14}\text{R}^{15}$ ;[0484]  $p$ 是值为1至约10的整数;[0485]  $s$ 是值为0至约10的整数;[0486]  $\text{R}^{13}$ 是OH或 $-\text{NH}(\text{CH}_2)_s, (\text{X}'''\text{CH}_2\text{CH}_2)_s, \text{Z}''-(\text{CB})_m$ ;[0487]  $\text{R}^{14}$ 和 $\text{R}^{15}$ 各自独立地是氢或 $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_s, (\text{X}'''\text{CH}_2\text{CH}_2)_s, \text{Z}''-(\text{CB})_m$ ;[0488]  $s''$ 是值为0至约10的整数;[0489]  $s'$ 是值为1至约10的整数;[0490]  $m$ 是值为0或1的整数;[0491]  $\text{X}'''$ 是 $-\text{O}-, -\text{S}-, -\text{NH}-$ 或 $-\text{CH}_2-$ ;并且[0492]  $\text{Z}''$ 是将CB与 $\text{R}^{14}$ 或 $\text{R}^{15}$ 的其余部分连接的连接基团;或 $\text{Z}''$ 是包含反应性基团的连接基团。

[0493] 在式(F)、(G)、(H)、(I)、(J)、(K)、(L)或(M)的一些此类实施方案中:

[0494]  $\text{R}^{13}$ 是OH或 $-\text{NH}(\text{CH}_2)_s, (\text{X}'''\text{CH}_2\text{CH}_2)_s, \text{Z}''$ ;[0495]  $\text{R}^{14}$ 和 $\text{R}^{15}$ 各自独立地是氢或 $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_s, (\text{X}'''\text{CH}_2\text{CH}_2)_s, \text{Z}''$ ;并且[0496]  $\text{Z}''$ 是连接单元的反应性前体,所述反应性前体选自异氰化物、异硫氰化物、2-吡啶基二硫化物、卤代乙酰胺( $-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2-\text{卤}$ )、马来酰亚胺、二烯、烯烃、卤化物、甲苯磺酸根

$\text{O})(\text{OH})_2$ )、酮、 $\text{C}_8-\text{C}_{10}$ 环炔基、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NHOH}$ 、 $-\text{NHNH}_2$ 、 $-\text{SH}$ 、羧酸( $-\text{COOH}$ )、乙炔( $-\text{C}\equiv\text{CH}$ )、叠氮化物( $-\text{N}_3$ )、氨基( $-\text{NH}_2$ )、磺酸( $-\text{SO}_3\text{H}$ )、炔酮衍生物( $-\text{C}(\text{O})\text{C}\equiv\text{C}-\text{R}^a$ ,其中 $\text{R}^a$ 是 $\text{C}_1-\text{C}_{10}$ 烷基)、和磷酸二氢根( $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OH})_2$ )。

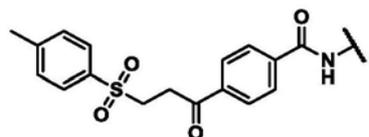
[0497] 在式(F)、(G)、(H)、(I)、(J)、(K)、(L)或(M)的一些此类实施方案中:

[0498]  $R^{13}$ 是OH或 $-NH(CH_2)_s$ , ( $X''(CH_2CH_2)_sZ''$ )CB;

[0499]  $R^{14}$ 和 $R^{15}$ 各自独立地是氢或 $-C(O)(CH_2)_s$ , ( $X''(CH_2CH_2)_sZ''$ )CB;并且

[0500]  $Z''$ 是由前体形成的将CB与 $R^{14}$ 或 $R^{15}$ 的其余部分连接的连接单元,所述前体选自异氰化物、异硫氰化物、2-吡啶基二硫化物、卤代乙酰胺( $-NHC(O)CH_2-$ 卤)、马来酰亚胺、二烯、

烯炔、卤化物、甲苯磺酸根( $TsO^-$ )、醛、磺酸根( $R-SO_3^-$ )、



磷酸( $-P(=O)(OH)_2$ )、酮、 $C_8-C_{10}$ 环炔基、 $-OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-NHNH_2$ 、

$SH$ 、羧酸( $-COOH$ )、乙炔( $-C\equiv CH$ )、叠氮化物( $-N_3$ )、氨基( $-NH_2$ )、磺酸( $-SO_3H$ )、炔酮衍生物( $-C(O)C\equiv C-R^a$ ,其中 $R^a$ 是 $C_1-C_{10}$ 烷基)、和磷酸二氢根( $-OP(=O)(OH)_2$ )。

[0501] 靶向部分

[0502] 本发明的化合物和缀合物还可包含配体或靶向部分CB。在一些实施方案中,所述配体或靶向部分是任何分子识别元件,所述分子识别元件可通过例如非共价键(例如氢键、金属配位、疏水力、范德华力、 $\pi-\pi$ 相互作用、卤素键、静电、和/或电磁效应)与至少一种其他分子发生特异性相互作用。在某些实施方案中,CB选自纳米颗粒、免疫球蛋白、核酸、蛋白质、寡肽、多肽、抗体、抗原性多肽的片段、重复体等。

[0503] 本发明的化合物和缀合物可包含一个或多个靶向部分。即,变量cb可具有选自1、2、3、4、5、1-10或1-20的整数值。

[0504] 在一些实施方案中,CB包含通过共价键(例如,肽键)缀合的两个或更多个独立选择的天然氨基酸或非天然氨基酸,并且可包含通过肽键缀合的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个天然氨基酸或非天然氨基酸。在一些实施方案中,配体包含较短的氨基酸序列(例如,天然蛋白质片段或合成多肽片段)以及全长蛋白质(例如,预先工程设计的蛋白质)。

[0505] 在一些实施方案中,CB选自与受体结合的抗体、激素、药物、抗体类似物(例如,非IgG)、蛋白质、寡肽、多肽等。在某些实施方案中,CB选择性地靶向特定器官、组织或细胞中的药物。在其他实施方案中,CB特异性地结合至如与正常细胞相比在癌细胞中过表达的受体,并且可以分类为单克隆抗体(mAb)或抗体片段和低分子非抗体。优选地,CB选自在文库筛选中鉴定的肽、肿瘤细胞特异性肽、肿瘤细胞特异性适体、肿瘤细胞特异性碳水化合物、肿瘤细胞特异性单克隆抗体、多克隆抗体、和抗体片段。

[0506] 示例性配体或靶向部分包括但不限于肉毒碱、肌醇、硫辛酸、吡哆醛、抗坏血酸、烟酸、泛酸、叶酸、核黄素、硫胺素、生物素、维生素 $B_{12}$ 、其他水溶性维生素(维生素B)、脂溶性维生素(维生素A、D、E、K)、RGD(Arg-Gly-Asp)、NGR(Asn-Gly-Arg)、转铁蛋白(transferrin)、VIP(血管活性肠肽)受体、APRPG(Ala-Pro-Arg-Pro-Gly)肽、TRX-20(硫氧还蛋白-20)、整合素、核仁素、氨基肽酶N(CD13)、内皮糖蛋白、血管上皮生长因子受体、低密度脂蛋白受体、转铁蛋白受体、生长抑素受体、蛙皮素、神经肽Y、促黄体激素释放激素受体、叶酸受体、表皮生长因子受体、转化生长因子、成纤维细胞生长因子受体、去唾液酸糖蛋白受体、半乳糖凝集素-3受体、E-选择素受体、透明质酸受体、前列腺特异性膜抗原(PSMA)、缩胆囊素A受体、缩

胆囊素B受体、网柄菌凝素结构域受体、粘蛋白受体、阿片样物质受体、纤溶酶原受体、缓激肽受体、胰岛素受体、胰岛素样生长因子受体、血管紧张素AT1受体、血管收缩素AT2受体、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子受体(GM-CSF受体)、半乳糖胺受体、 $\sigma$ -2受体、 $\delta$ 样3(DLL-3)、氨基肽酶P、黑素转铁蛋白、瘦素、破伤风毒素Tet1、破伤风毒素G23、RVG(狂犬病病毒糖蛋白)肽、HER2(人表皮生长因子受体2)、GPNMB(非转移性糖蛋白b)、Ley、CA6、CanAng、SLC44A4(溶质载体家族44成员4)、CEACAM5(癌胚抗原相关细胞粘附分子5)、连接素-4、碳酸酐酶9、TNNB2、5T4、CD30、CD37、CD74、CD70、PMEL17、EphA2(肝配蛋白A2受体)、Trop-2、SC-16、组织因子、ENPP-3(AGS-16)、SLITRK6(SLIT和NTRK样家族成员6)、CD27、Lewis Y抗原、LIV1、GPR161(G蛋白偶联受体161)、PBR(外周型苯二氮杂卓受体)、MERTK(Mer受体酪氨酸激酶)受体、CD71、LLT1(凝集素样转录物1或CLE2D)、白介素-22受体、 $\sigma$ 1受体、过氧化物酶体增殖物激活的受体、DLL3、C4.4a、cKIT、肝配蛋白A、CTLA4(细胞毒性T-淋巴细胞相关蛋白4)、FGFR2b(成纤维细胞生长因子受体2b)、N-乙酰胆碱受体、促性腺激素释放激素受体、胃泌素释放肽受体、骨形态发生蛋白1B型受体(BMP1B)、E16(LAT1、SLC7A5)、STEAP1(前列腺的六跨膜上皮抗原)、0772P(CA125、MUC16)、MPF(MSLN、间皮素)、Napi3b(SLC34A2)、Sema5b(脑信号蛋白5b)、ETBR(内皮素B型受体)、MSG783(RNF124)、STEAP2(前列腺2的六跨膜上皮抗原)、TrpM4(瞬时受体电位阳离子5通道亚家族M成员4)、CRIPTO(畸胎瘤来源的生长因子)、CD21、CD79b、FcRH2(IFGP4)、HER2(ErbB2)、NCA(CEACM6)、MDP(DPEP1)、IL20R- $\alpha$ (IN20Ra)、短蛋白聚糖(Brevican, BCAN)、EphB2R、ASLG659(B7h)、CD276、PSCA(前列腺癌干细胞抗原前体)、GEDA、BAFF-R(BR3)、CD22(BL-CAM)、CD79a、CXCR5、HLA-DOB、P2X5、CD72、LY64、FcRH1、IRTA2、TENB2、SSTR2、SSTR5、SSTR1、SSTR3、SSTR4、ITGAV(整合素, $\alpha$ 5)、ITGB6(整合素, $\beta$ 6)、MET、MUC1、EGFRvIII、CD33、CD19、IL2RA(白介素2受体, $\alpha$ )、AXL、BCMA、CTA(癌症睾丸抗原(cancer testis antigen))、CD174、CLEC14A、GPR78、CD25、CD32、LGR5(GPR49)、CD133(Prominin)、ASG5、ENPP3(膜外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶3)、PRR4(富含脯氨酸的蛋白质4)、GCC(鸟苷酸环化酶2C)、Liv-1(SLC39A6)、CD56、CanAg、TIM-1、RG-1、B7-H4、PTK7、CD138、密封蛋白(Claudins)、Her3(ErbB3)、RON(MST1R)、CD20、TNC(腱生蛋白C)、FAP、DKK-1、CD52、CS1(SLAMF7)、膜联蛋白A1、V-CAM、gp100、MART-1、MAGE-1(黑素瘤抗原编码基因-1)、MAGE-3(黑素瘤相关抗原3)、BAGE、GAGE-1、MUM-1(多发性骨髓瘤原癌基因1)、CDK4、TRP-1(gp75)、TAG-72(肿瘤相关糖蛋白-72)、神经节苷脂GD2、GD3、GM2、GM3、VEP8、VEP9、My1、VIM-D5、D156-22、OX40、RNAK、PD-L1、TNFR1、TNFR2等。

#### [0507] 靶标

[0508] 在一些实施方案中,分子识别元件的一个或多个靶标特异性地与一种或多种特定细胞或组织类型相关。在一些实施方案中,靶标特异性地与一种或多种特定疾病状态相关。在一些实施方案中,靶标特异性地与一个或多个特定发育阶段相关。例如,细胞类型特异性标志物在所述细胞类型中的表达水平典型地比在参考细胞群体中的大至少2倍。在一些实施方案中,细胞类型特异性标志物的存在水平比其在参考群体中的平均表达大至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、至少10倍、至少50倍、至少100倍、或至少1,000倍。细胞类型特异性标志物的检测或测量可以使感兴趣的一种或多种细胞类型与许多、大多数或所有其他类型的细胞区分开。在一些实施方案中,靶标可包含蛋白质、碳水化合物、脂质和/或核酸,如本文所描述。

[0509] 在一些实施方案中,如果物质特异性地结合至靶向部分,例如核酸靶向部分,则认为所述物质是“靶标的”。在一些实施方案中,靶向部分,例如核酸靶向部分,在严格条件下特异性地结合至靶标。

[0510] 在某些实施方案中,本文所描述的缀合物和化合物包含特异性地结合至与器官、组织、细胞、细胞外基质组分和/或细胞内区室相关的一个或多个靶标(例如,抗原)的靶向部分。在一些实施方案中,本文所描述的缀合物和化合物包含特异性地结合至与特定器官或器官系统相关的靶标的靶向部分。在一些实施方案中,本文所描述的缀合物和化合物包含特异性地结合至一种或多种细胞内靶标(例如,细胞器、细胞内蛋白)的靶向部分。在一些实施方案中,本文所描述的缀合物和化合物包含特异性地结合至与患病的器官、组织、细胞、细胞外基质组分和/或细胞内区室相关的靶标的靶向部分。在一些实施方案中,本文所描述的缀合物和化合物包含特异性地结合至与特定细胞类型(例如,内皮细胞、癌细胞、恶性细胞、前列腺癌细胞等)相关的靶标的靶向部分。

[0511] 在一些实施方案中,本文所描述的缀合物和化合物包含结合至对一种或多种特定组织类型(例如,相对于前列腺组织,对肝组织)具有特异性的靶标的靶向部分。在一些实施方案中,本文所描述的缀合物和化合物包含结合至对一种或多种特定细胞类型(例如,相对于B细胞,对T细胞)具有特异性的靶标的靶向部分。在一些实施方案中,本文所描述的缀合物和化合物包含结合至对一种或多种特定疾病状态(例如,相对于健康细胞,对肿瘤细胞)具有特异性的靶标的靶向部分。在一些实施方案中,本文所描述的缀合物和化合物包含结合至对一个或多个特定发育阶段(例如,相对于分化的细胞,对干细胞)具有特异性的靶标的靶向部分。

[0512] 在一些实施方案中,靶标可以是与一种或几种细胞类型、与一种或几种疾病和/或与一个或几个发育阶段排他性地或主要相关的标志物。细胞类型特异性标志物在所述细胞类型中的表达水平典型地比在参考细胞群体中的大至少2倍,所述参考细胞群体可以由大约相等量的例如含有来自多个(例如,5-10或更多)不同组织或器官的细胞的混合物组成。在一些实施方案中,细胞类型特异性标志物的存在水平比其在参考群体中的平均表达大至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、至少10倍、至少50倍、至少100倍、或至少1000倍。细胞类型特异性标志物的检测或测量可以使感兴趣的一种或多种细胞类型与许多、大多数或所有其他类型的细胞区分开。

[0513] 在一些实施方案中,靶标包含蛋白质、碳水化合物、脂质和/或核酸。在一些实施方案中,靶标包含蛋白质和/或其特征部分,例如肿瘤标志物、整合素、细胞表面受体、跨膜蛋白、细胞间蛋白、离子通道、膜转运蛋白、酶、抗体、嵌合蛋白、糖蛋白等。在一些实施方案中,靶标包含碳水化合物和/或其特征部分,例如糖蛋白、糖(例如,单糖、二糖、多糖)、糖萼(即,在大多数真核细胞的外表面上的富含碳水化合物的外围区域)等。在一些实施方案中,靶标包含脂质和/或其特征部分,例如油、脂肪酸、甘油酯、激素、类固醇(例如,胆固醇、胆汁酸)、维生素(例如,维生素E)、磷脂、鞘脂、脂蛋白等。在一些实施方案中,靶标包含核酸和/或其特征部分,例如DNA核酸;RNA核酸;修饰的DNA核酸;修饰的RNA核酸;包含DNA、RNA、修饰的DNA和修饰的RNA的任何组合的核酸。

[0514] 许多标志物是本领域已知的。典型的标志物包括细胞表面蛋白,例如受体。示例性受体包括但不限于转铁蛋白受体;LDL受体;生长因子受体,例如表皮生长因子受体家族成

员(例如,EGFR、Her2、Her3、Her4)或血管内皮生长因子受体、细胞因子受体、细胞粘附分子、整合素、选择素、和CD分子。标记物可以是唯一地或以更高的量存在于恶性细胞(例如肿瘤抗原)上的分子。

#### [0515] 纳米颗粒

[0516] 在一些实施方案中,靶向部分包含颗粒(例如,靶标颗粒),优选纳米颗粒,任选地附接至可特异性地或优选地与靶标结合的靶向分子的靶标纳米颗粒。在一些实施方案中,靶向颗粒本身引导本发明的化合物(例如通过富集在肿瘤细胞或组织中),并且其中没有另外的附接的靶向分子。

[0517] 本文中的“纳米颗粒”意指直径小于1000nm的任何颗粒。在一些实施方案中,治疗剂和/或靶向分子可与颗粒的主体缔合,例如在聚合物基质中。在一些实施方案中,靶向分子可与聚合物基质的表面共价缔合。在一些实施方案中,共价缔合是通过接头介导的。在一些实施方案中,治疗剂可与聚合物基质的表面缔合、包封在其中、被其包围和/或分散在其整个中。参见,例如美国专利号8,246,968,将其以其整体并入本文。

[0518] 通常,本发明的纳米颗粒包含任何类型的颗粒。根据本发明可以使用任何颗粒。在一些实施方案中,颗粒是可生物降解的和生物相容的。通常,生物相容性物质对细胞无毒。在一些实施方案中,如果将物质添加到细胞中导致小于细胞死亡的一定阈值,则认为所述物质是生物相容的。在一些实施方案中,如果将物质添加到细胞中不引起不利影响,则认为所述物质是生物相容的。通常,生物可降解物质是在治疗相关时间段(例如,数周、数月或数年)的过程中在生理条件下经受分解的物质。在一些实施方案中,可生物降解的物质是可被细胞机器分解的物质。在一些实施方案中,可生物降解物质是可通过化学过程分解的物质。在一些实施方案中,颗粒是既生物相容又可生物降解的物质。在一些实施方案中,颗粒是生物相容的但不可生物降解的物质。在一些实施方案中,颗粒是可生物降解但不生物相容的物质。

[0519] 通常希望使用在尺寸、形状和/或组成方面相对均匀的颗粒群,使得每个粒子具有相似的特性。例如,至少80%、至少90%或至少95%的颗粒的直径或最大尺寸可以落入平均直径或最大尺寸的5%、10%或20%。在一些实施方案中,颗粒群在尺寸、形状和/或组成方面可以是异质的。根据本发明,可以使用多种不同的颗粒。在一些实施方案中,颗粒是球体或球状体。在一些实施方案中,颗粒是球体或球状体。在一些实施方案中,颗粒是平坦的或板形的。在一些实施方案中,颗粒是立方体或长方体。在一些实施方案中,颗粒是卵形或椭圆。在一些实施方案中,颗粒是圆柱体、圆锥体或金字塔形。

[0520] 在一些实施方案中,颗粒是微颗粒(例如,微球体)。通常,“微颗粒”是指直径小于1000 $\mu\text{m}$ 的任何颗粒。在一些实施方案中,颗粒是皮米颗粒(例如,皮米球体)。通常,“皮米颗粒”是指直径小于1nm的任何颗粒。在一些实施方案中,颗粒是脂质体。在一些实施方案中,颗粒是胶束。

[0521] 颗粒可以是实心或空心的,并且可包含一个或多个层(例如,纳米壳、纳米环)。在一些实施方案中,每个层相对于其他一个或多个层具有独特的组成和独特的特性。例如,颗粒可具有核/壳结构,其中核是一个层,并且壳是第二层。颗粒可包括多个不同的层。在一些实施方案中,一个层可以是基本上交联的,第二层可以不是基本上交联的,依此类推。在一些实施方案中,一个、几个或所有不同的层可包含一种或多种待递送的治疗剂或诊断剂。在

一些实施方案中,一个层包含待递送的药剂,第二层不包含待递送的药剂,依此类推。在一些实施方案中,每个单独的层包含待递送的不同的一种药剂或一组药剂。

[0522] 在一些实施方案中,颗粒是多孔的,这意指所述颗粒含有孔或通道,所述孔或通道与颗粒的尺寸相比显著地更小。例如,颗粒可以是多孔二氧化硅颗粒,例如中孔二氧化硅纳米颗粒,或者可具有中孔二氧化硅包衣(Lin等人,2005,J.Am.Chem.Soc,17:4570)。颗粒可具有直径在从约1nm至约50nm范围内(例如直径在约1nm与20nm之间)的孔。颗粒体积的约10%与95%之间可以由在孔或通道内的空隙组成。

[0523] 颗粒可具有包衣层。例如,如果颗粒包含对细胞有毒的材料,则使用生物相容性包衣层可能是有利的。合适的包衣材料包括但不限于天然蛋白质(例如牛血清白蛋白(BSA))、生物相容性亲水聚合物(例如聚乙二醇(PEG)或PEG衍生物)、磷脂- (PEG)、二氧化硅、脂质、聚合物、碳水化合物(例如右旋糖酐)、可与本发明纳米颗粒缔合的其他纳米颗粒,等。可以通过多种方式来施用或组装包衣,例如通过浸渍、使用逐层技术、通过自组装、缀合等。自组装是指更高有序的结构自发组装过程,所述过程依赖于所述更高有序的结构组分(例如,分子)对彼此的自然吸引。它典型地通过分子的随机运动和基于尺寸、形状、组成或化学特性的键的形成而发生。

[0524] 聚合物的例子包括聚亚烷基(例如,聚乙烯)、聚碳酸酯(例如,聚(1,3-二噁烷-2-酮))、聚酸酐(例如,聚(癸二酸酐))、聚羧酸(例如,聚(3-羟基烷酸酯))、聚富马酸酯、聚己内酯、聚酰胺(例如,聚己内酰胺)、聚缩醛、聚醚、聚酯(例如,聚丙交酯、聚乙交酯)、聚(原酸酯)、聚乙烯醇、聚氨酯、聚磷腈、聚丙烯酸酯、聚甲基丙烯酸酯、聚氰基丙烯酸酯、聚脲、聚苯乙烯、和聚胺。在一些实施方案中,根据本发明的聚合物包括已被美国食品和药物管理局(U.S.Food and Drug Administration,FDA)在21C.F.R.§177.2600下批准用于人类的聚合物,包括但不限于聚酯(例如,聚乳酸、聚乙醇酸、聚(乳酸-共-乙醇酸)、聚己内酯、聚戊内酯、聚(1,3-二噁烷-2-酮));聚酸酐(例如,聚(癸二酸酐));聚醚(例如,聚乙二醇);聚氨酯;聚甲基丙烯酸酯;聚丙烯酸酯;和聚氰基丙烯酸酯。

[0525] 在一些实施方案中,颗粒可以是非聚合物颗粒(例如,金属颗粒、量子点、陶瓷颗粒、包含无机材料的聚合物、骨衍生材料、骨替代物、病毒颗粒等)。在一些实施方案中,待递送的治疗剂或诊断剂可与此类非聚合物颗粒的表面缔合。在一些实施方案中,非聚合物颗粒非聚合物组分聚集体,例如金属原子(例如,金原子)聚集体。在一些实施方案中,待递送的治疗剂或诊断剂可与非聚合物组分聚集体的表面缔合和/或包封在其中、被其包围和/或分散在其整个中。

[0526] 可以使用本领域已知的任何方法来制备颗粒(例如,纳米颗粒、微颗粒)。例如,可通过如以下的方法形成颗粒配制品:纳米沉淀、流动聚焦流体通道、喷雾干燥、单和双乳液溶剂蒸发、溶剂萃取、相分离、研磨、微乳液程序、微制造、纳米制造、牺牲层、简单和复杂的凝聚、以及其他合适的方法。可选地或另外地,已经描述了用于单分散半导体、导电、磁性、有机和其他纳米颗粒的水性和有机溶剂合成(Pellegrino等人,2005,Small,1:48;Murray等人,2000,Ann.Rev.Mat.Sci.,30:545;和Trindade等人,2001,Chem.Mat.,13:3843)。

[0527] 文献中描述了用于制造用于递送包封剂的微颗粒的方法(参见,例如Doubrow编辑,“Microcapsules and Nanoparticles in Medicine and Pharmacy,”CRC Press,Boca Raton,1992;Mathiowitz等人,1987,J.Control.Release,5:13;Mathiowitz等人,1987,

Reactive Polymers,  $\delta$ :275; 和 Mathiowitz 等人, 1988, J. Appl. Polymer Sci., 35:755)。

[0528] 核酸靶向部分

[0529] 在一些实施方案中, 靶向部分包含核酸靶向部分。

[0530] 通常, 核酸靶向部分是结合至与器官、组织、细胞、细胞外基质组分和/或细胞内区室(靶标)相关的组分的任何多核苷酸。

[0531] 在一些实施方案中, 核酸靶向部分是适体。适体典型地是结合至与特定器官、组织、细胞、细胞外基质组分和/或细胞内区室相关的特定靶标结构的多核苷酸。通常, 适体的靶向功能基于适体的三维结构。在一些实施方案中, 适体与靶标的结合典型地是由适体和靶标两者的二维和/或三维结构之间的相互作用介导的。在一些实施方案中, 适体与靶标的结合不仅仅基于适体的一级序列, 而且取决于适体和/或靶标的一种或多种三维结构。在一些实施方案中, 适体通过互补沃森-克里克(Watson-Crick)碱基配对与它们的靶标结合, 所述互补沃森-克里克碱基配对被破坏碱基配对的结构(例如, 发夹环)打断。

[0532] 在一些实施方案中, 核酸靶向部分是 spiegelmer (PCT 公开 W0 98/08856、W0 02/100442 和 W0 06/117217)。通常, spiegelmer 是可以特异性结合至靶标的合成镜像核酸(即, 镜像适体)。spiegelmer 的特征在于使其对核酸外切酶和核酸内切酶不敏感的结构特征。

[0533] 本领域普通技术人员将认识到, 根据本发明, 可以使用能够特异性结合至靶标的任何核酸靶向部分(例如, 适体或 spiegelmer)。在一些实施方案中, 根据本发明使用的核酸靶向部分可以靶向与疾病、病症和/或疾患相关的标志物。在一些实施方案中, 根据本发明要使用的核酸靶向部分可以靶向癌症相关靶标。在一些实施方案中, 根据本发明使用的核酸靶向部分可以靶向肿瘤标志物。可以使用根据本发明的核酸靶向部分来靶向任何类型的癌症和/或任何肿瘤标志物。仅给出几个例子, 核酸靶向部分可以靶向与前列腺癌、肺癌、乳腺癌、结直肠癌、膀胱癌、胰腺癌、子宫内膜癌、卵巢癌、骨癌、食道癌、肝癌、胃部癌、脑瘤、皮肤黑素瘤、和/或白血病相关的标志物。

[0534] 可根据任何可用的技术制备本发明的核酸(包括下面进一步更详细描述的要递送的核酸靶向核酸部分和/或功能性 RNA, 例如 RNAi 诱导实体、核酶、tRNA 等), 所述可用的技术包括但不限于化学合成、酶合成、较长前体的酶合成或化学合成等。

[0535] 合成 RNA 的方法是本领域已知的(参见例如 Gait, M. J. (编辑) Oligonucleotide synthesis: a practical approach, Oxford [Oxfordshire], Washington, D. C.: IRL Press, 1984; 和 Herdewijn, P. (编辑) Oligonucleotide synthesis: methods and applications, Methods in molecular biology, 第 288 卷 (Clifton, NJ.) Totowa, N. J.: Humana Press, 2005)。

[0536] 形成核酸核酸靶向部分的核酸可包含天然存在的核苷、修饰的核苷、其中在一个或多个核苷之间插入烃接头(例如, 亚烷基)或聚醚接头(例如, PEG 接头)的天然存在的核苷、其中一个或多个核苷之间插入烃或 PEG 接头的修饰的核苷、或其组合。在一些实施方案中, 核酸核酸靶向部分的核苷酸或修饰的核苷酸可以被烃接头或聚醚接头替代, 条件是所述核酸核酸靶向部分的结合亲和力和选择性不被取代而显著降低(例如, 针对靶标的核酸核酸靶向部分的解离常数不应大于约  $1 \times 10^{-3} \text{M}$ )。

[0537] 本领域普通技术人员应理解, 根据本发明的核酸可包含完全在天然存在的核酸中发现的类型的核苷酸, 或者可以替代地包含一种或多种核苷酸类似物, 或者具有在其他方

面与天然存在的核酸的结构不同的结构。美国专利号6,403,779;6,399,754;6,225,460;6,127,533;6,031,086;6,005,087;5,977,089;并且其中的参考文献公开了可以使用的各种各样的特定核苷酸类似物和修饰。参见Crooke, S. (编辑) *Antisense Drug Technology: Principles, Strategies, and Applications* (第1版), Marcel Dekker; ISBN:0824705661; 第1版(2001)以及其中的参考文献。例如, 2'-修饰包括卤素、烷氧基和烯丙氧基。在一些实施方案中, 2'-OH基团被选自H、OR、R、卤素、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NR<sub>2</sub>或CN的基团替代, 其中R是C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、烯基或炔基, 并且卤素是F、Cl、Br、或I。修饰的键的例子包括硫代磷酸根和5'-N-亚磷酰胺键。

[0538] 根据本发明, 可以使用包含多种不同核苷酸类似物、修饰的主链、或非天然存在的核苷间键的核酸。本发明的核酸可包括天然核苷(即, 腺苷、胸苷、鸟苷、胞苷、尿苷、脱氧腺苷、脱氧胸苷、脱氧鸟苷和脱氧胞苷)或修饰的核苷。修饰的核苷酸的例子包括碱基修饰的核苷(例如, 阿糖胞苷、肌苷、异鸟苷、水粉蕈素、假尿苷、2,6-二氨基嘌呤、2-氨基嘌呤、2-硫代胸苷、3-去氮杂-5-氮杂胞苷、2'-脱氧尿苷、3-硝基吡咯、4-甲基吡咯、4-硫代尿苷、4-硫代胸苷、2-氨基腺苷、2-硫代胸苷、2-硫代尿苷、5-溴胞苷、5-碘尿苷、肌苷、6-氮杂尿苷、6-氯嘌呤、7-去氮杂腺苷、7-去氮杂鸟苷、8-氮杂腺苷、8-叠氮基腺苷、苯并咪唑、M1-甲基腺苷、吡咯并-嘧啶、2-氨基-6-氯嘌呤、3-甲基腺苷、5-丙炔基胞苷、5-丙炔基尿苷、5-溴尿苷、5-氟尿苷、5-甲基胞苷、7-去氮杂腺苷、7-去氮杂鸟苷、8-氧代腺苷、8-氧代鸟苷、0(6)-甲基鸟嘌呤、和2-硫代胞苷)、化学或生物修饰的碱基(例如, 甲基化碱基)、修饰的糖(例如, 2'-氟核糖、2'-氨基核糖、2'-叠氮基核糖、2'-O-甲基核糖、L-对映体核苷阿拉伯糖、和己糖)、修饰的磷酸根基团(例如, 硫代磷酸根和5'-N-亚磷酰胺键)、及其组合。用于核酸化学合成的天然核苷酸和修饰的核苷酸单体是容易获得的。在一些情况下, 相对于仅由天然存在的核苷酸组成的核酸, 包含此类修饰的核酸显示出改进的特性。在一些实施方案中, 本文所描述的核酸修饰用于降低和/或防止被核酸酶(例如, 核酸外切酶、核酸内切酶等)消化。例如, 可通过在一条或两条链的3'端包含核苷酸类似物来稳定核酸的结构, 以便降低消化。

[0539] 修饰的核酸不需要沿着分子的整个长度均匀地修饰。不同的核苷酸修饰和/或主链结构可以存在于核酸的各个位置。本领域普通技术人员应理解, 核苷酸类似物或其他一种或多种修饰可以位于核酸的任何一个或多个位置, 使得所述核酸的功能基本上不受影响。仅给出一个例子, 修饰可以位于核酸靶向部分的任何位置, 使得所述核酸靶向部分特异性地结合至靶标的能力基本不受影响。修饰的区域可在一条或两条链的5'端和/或3'端。例如, 已经使用了修饰的核酸靶向部分, 其中在两条链的任一条的5'端和/或3'端的大约1-5个残基是核苷酸类似物和/或具有主链修饰。修改可以是5'末端或3'末端修饰。一条或两条核酸链可包含至少50%的未修饰的核苷酸、至少80%的未修饰的核苷酸、至少90%的未修饰的核苷酸或100%的未修饰的核苷酸。

[0540] 根据本发明的核酸可以例如包含对糖、核苷或核苷间键的修饰, 例如在美国专利申请公开2003/0175950、2004/0192626、2004/0092470、2005/0020525和2005/0032733中描述的那些。本发明包括使用具有其中描述的任何一种或多种修饰的任何核酸。例如, 已经报道了许多末端缀合物, 例如脂质如胆固醇、石胆酸、aluric酸、或长烷基支链, 以改进细胞摄取。可以使用例如使用本领域已知的任何适当的测定法来测试类似物和修饰, 例如, 以选择导致改进的治疗剂或诊断剂的递送、改进的核酸靶向部分与靶标的特异性结合的那些等。

在一些实施方案中,根据本发明的核酸可包含一个或多个非天然核苷键。在一些实施方案中,使在核酸靶向部分的3'端、5'端、或3'端和5'端两者处的一个或多个内部核苷酸反向以产生键,例如3'-3'键或5'-5'键。

[0541] 在一些实施方案中,根据本发明的核酸不是合成的,而是已从其天然环境中分离的天然存在的实体。

[0542] 可以使用任何方法来设计新型核酸靶向部分(参见例如,美国专利号6,716,583; 6,465,189;6,482,594;6,458,543;6,458,539;6,376,190;6,344,318;6,242,246;6,184,364;6,001,577;5,958,691;5,874,218;5,853,984;5,843,732;5,843,653;5,817,785;5,789,163;5,763,177;5,696,249;5,660,985;5,595,877;5,567,588;和5,270,163;以及美国专利申请公开2005/0069910、2004/0072234、2004/0043923、2003/0087301、2003/0054360、和2002/0064780)。

[0543] 可以设计和/或鉴定结合至蛋白质、碳水化合物、脂质和/或核酸的核酸靶向部分。在一些实施方案中,可以设计和/或鉴定核酸靶向部分用于结合至蛋白质和/或其特征部分的本发明复合物,例如肿瘤标志物、整合素、细胞表面受体、跨膜蛋白、细胞间蛋白、离子通道、膜转运蛋白、酶、抗体、嵌合蛋白等。在一些实施方案中,可以设计和/或鉴定核酸靶向部分用于结合至碳水化合物和/或其特征部分的本发明复合物,例如糖蛋白、糖(例如,单糖、二糖和多糖)、糖萼(即,在大多数真核细胞的外表面上的富含碳水化合物的外围区域)等。在一些实施方案中,可以设计和/或鉴定核酸靶向部分用于结合至脂质和/或其特征部分的本发明复合物,例如油、饱和脂肪酸、不饱和脂肪酸、甘油酯、激素、类固醇(例如,胆固醇、胆汁酸)、维生素(例如,维生素E)、磷脂、鞘脂、脂蛋白等。在一些实施方案中,可以设计和/或鉴定核酸靶向部分用于结合至核酸和/或其特征部分的本发明复合物,例如DNA核酸;RNA核酸;修饰的DNA核酸;修饰的RNA核酸;以及包含DNA、RNA、修饰的DNA、和修饰的RNA的任何组合的核酸;等。

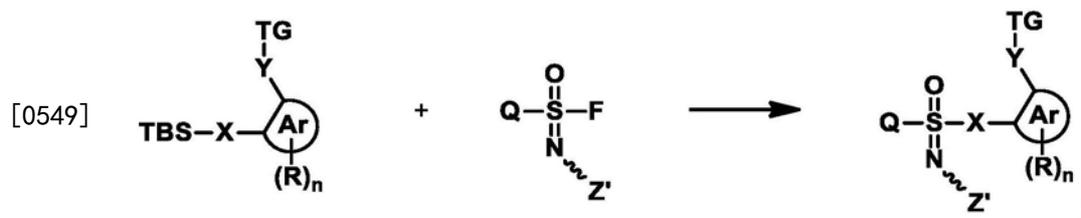
[0544] 可以使用任何可用方法来设计和/或鉴定核酸靶向部分(例如,适体或spiegelmer)。在一些实施方案中,通过从候选核酸混合物鉴定核酸靶向部分来设计和/或鉴定核酸靶向部分。

[0545] 制备本发明化合物的方法

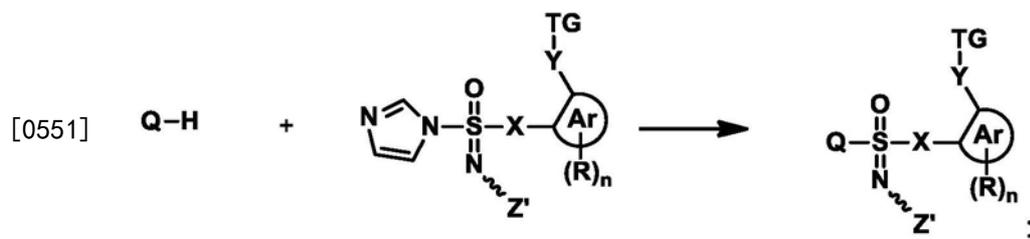
[0546] 本文公开的化合物和缀合物可通过简单的制备方法制备(参见例如,实施例1-78)。此类制备方法使得容易纯化。

[0547] 因此,本文还提供了用于制备本发明化合物的方法。例如,可以如反应方案3、4、5、6或7中任一项所示制备本发明的化合物:

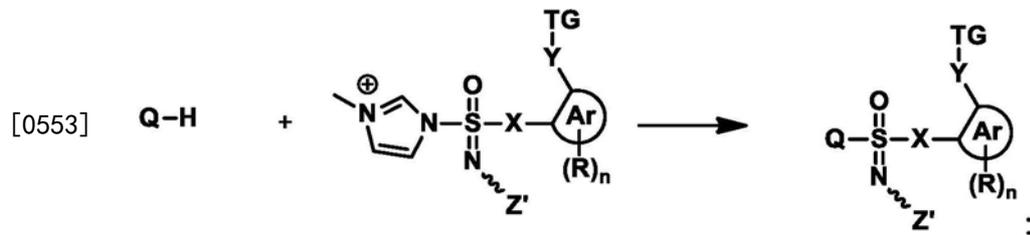
[0548] 反应方案3:



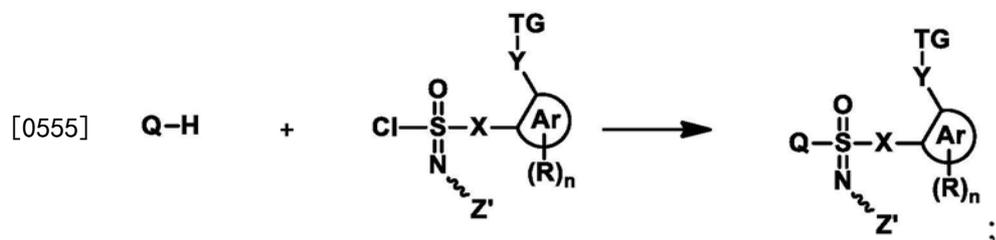
[0550] 反应方案4:



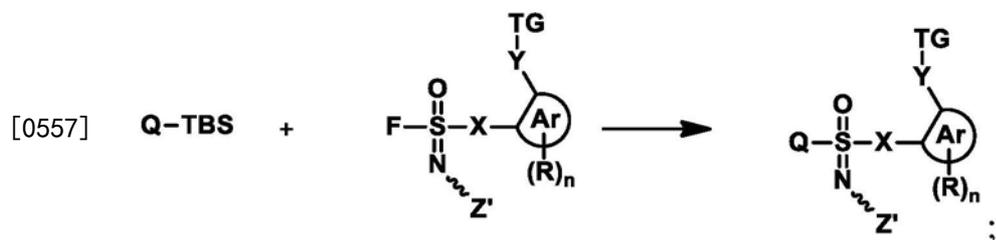
[0552] 反应方案5:



[0554] 反应方案6:

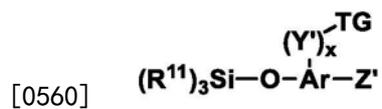


[0556] 反应方案7:



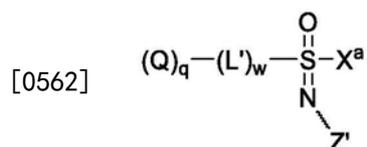
[0558] 其中X、Y、Ar、R、Z'和n是如上相同定义的。

[0559] 本文还提供了用于制备化合物的方法,所述方法包括使式(IIc)的化合物:

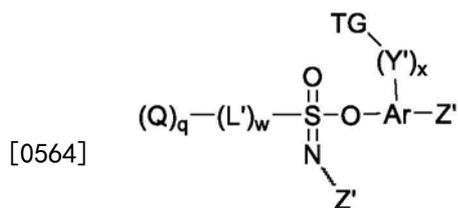


(IIc)

[0561] 或其药学上可接受的盐与磺酰基卤化物:



[0563] 反应以提供式(Iaa)的化合物:



(Iaa)

[0565] 或其药学上可接受的盐,其中:

[0566]  $X^a$ 是卤素;

[0567] 每个Q独立地是通过杂原子、优选O或N与L'连接的活性剂;

[0568]  $Z'$ 不存在或者在每次出现时独立地是将式(IIc)、磺酰基卤化物或(Iaa)的结构连接至 $(\text{CB})_{cb}$ 的连接基团、增溶基团、反应性基团(例如,前体基团)、固体表面(例如,颗粒)、稳定化基团、螯合剂、生物聚合物(例如,免疫球蛋白、核酸、蛋白质、寡肽、多肽、抗体、抗原性多肽的片段、或重复体)、活性剂或可检测部分,条件是至少一次出现的 $Z'$ 将式(IIc)、磺酰基卤化物或(Iaa)的结构连接至 $(\text{CB})_{cb}$ ;

[0569]  $L'$ 是经由选自O、S和N、优选O或N的杂原子与 $-\text{S}(=\text{O})(=\text{N}-)$  - 附接的连接基团,并且被选择为使得在 $L'$ 与 $-\text{S}(=\text{O})(=\text{N}-)$  - 之间的键的裂解促进在 $L'$ 与Q之间的键裂解以释放所述活性剂;

[0570] Ar表示环,例如芳基、杂芳基、环烷基或杂环烷基,优选芳基或杂芳基;

[0571]  $Y'$ 是 $-(\text{CR}^b_2)_y\text{N}(\text{R}^a)-$ 、 $-(\text{CR}^b_2)_y\text{O}-$ 或 $-(\text{CR}^b_2)_y\text{S}-$ ,使得如果 $y$ 是1,则所述N、O或S原子与TG附接;

[0572] O和 $Y'$ 定位在Ar的相邻原子上;

[0573] TG是触发基团,所述触发基团当被活化时产生能够与所述 $-\text{S}(=\text{O})(=\text{N}-)$  - 反应以置换 $(\text{Q})_q-(\text{L}')_w$ 并且形成包含 $X-\text{S}(=\text{O})(=\text{N}-)$  - 和Ar的居间原子的5-6元环的N、O或S原子;

[0574]  $q$ 是值为从1至约20、优选1至约10的整数;

[0575]  $w$ 、 $x$ 和 $y$ 各自独立地是值为0或1的整数;

[0576] 每个 $\text{R}^a$ 和 $\text{R}^c$ 独立地是氢或低级烷基;并且

[0577] 每个 $\text{R}^b$ 独立地是氢或低级烷基;或

[0578] 两个 $\text{R}^b$ 与它们所附接的碳原子一起形成3-5元环、优选3-4元环;

[0579] 条件是当 $w$ 是0时, $q$ 是1。

[0580] 连接基团的反应性基团可以是能够参与1,3-偶极环化加成反应、杂-狄尔斯-阿尔德反应(hetero-Diels-Alder reaction)、亲核取代反应、非醛醇型羰基反应、与碳-碳多键的加成、氧化反应、点击反应、或任何其他分子间偶联反应的部分。优选地,选择反应性基团以参与与生物分子中不常见的反应配偶体的选择性反应,例如1,3-偶极环化加成、杂-狄尔斯-阿尔德、肟/腙缩合、或点击反应。

[0581] 在某些优选的实施方案中,连接基团可包含炔或叠氮化物(其反应形成三唑)、炔和氧化腈(其反应形成异噁唑)、或羰基(例如醛或酮)或肟或羟胺(其反应形成肟或腙)。

[0582] 稳定化基团,例如PEG,限制了化学治疗剂或标志物通过可能存在于血液或非靶组织中的酶的清除和代谢。稳定化基团可用于阻止化学治疗剂或标志物的降解,并且还可提供试剂或标志物的其他物理特性,例如,增加配体药物缀合物的溶解度或降低配体药物缀

合物的聚集性质。稳定化基团还可以改善化学治疗剂或标志物在以配制或非配制形式储存期间的稳定性。理想情况下,稳定化基团可用于稳定治疗剂或标志物,如果当通过将试剂或标志物在人血中在37°C下储存2小时进行测试并且导致小于20%,优选小于10%,更优选小于5%和甚至更优选小于2%的试剂或标志物在给定的测定条件下被人血中存在的酶切割,则它起到保护试剂或标志物免于降解的作用。本发明还涉及含有这些接头的缀合物。

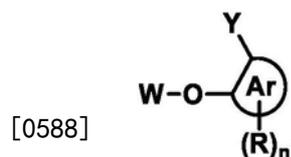
[0583] 合适的稳定化基团的例子包括非氨基酸,例如琥珀酸、二甘醇酸、马来酸、聚乙二醇、焦谷氨酸、乙酸、萘基羧酸、对苯二甲酸和戊二酸衍生物;以及非遗传编码的氨基酸或者在天冬氨酸的 $\beta$ -羧基基团或谷氨酸的 $\gamma$ -羧基基团处附接到肽的N末端的天冬氨酸或谷氨酸。

[0584] 在一些实施方案中,所述方法使用式(IIa)、(IIb)或(IIc)的中间体化合物以提供式(Iaa)的化合物,其中Ar、TG、Y'Z'和R<sup>a</sup>是如上面针对式(I')的缀合物或式(Ia)或式(Ia')的化合物所定义的。

[0585] 本发明进一步提供了在这些方法中有用的上面描述的化合物。

[0586] 中间体化合物

[0587] 在一些实施方案中,本文公开的化合物和缀合物可通过使用具有根据式(IV)的结构中间体化合物的方法来制备:



(IV)

[0589] 或其药学上可接受的盐,其中:

[0590] W是氢、-SiR<sup>16</sup>R<sup>17</sup>R<sup>18</sup>或-S(=O)(=N)-G;

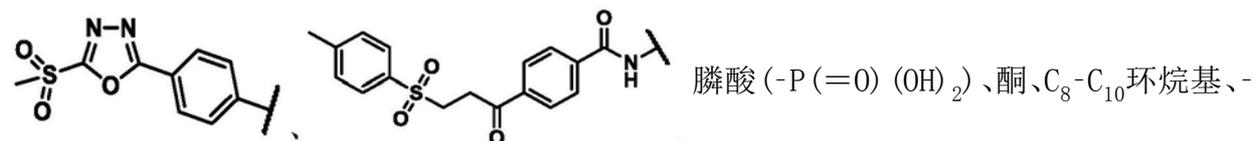
[0591] R<sup>16</sup>、R<sup>17</sup>和R<sup>18</sup>各自独立地是C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;

[0592] G是卤素(优选氟)、咪唑、或N-甲基咪唑鎓;

[0593] R是取代基或-L<sup>1</sup>-Z;

[0594] L<sup>1</sup>是任选地包含肽键、氨基键、醚键、三唑键、四唑键、糖键、磺酰胺键、磷酸酯键、磺基键或树枝状聚合物结构中的至少一者的C<sub>1</sub>-C<sub>200</sub>亚烷基;

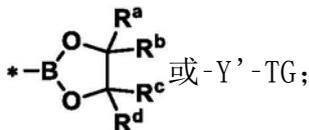
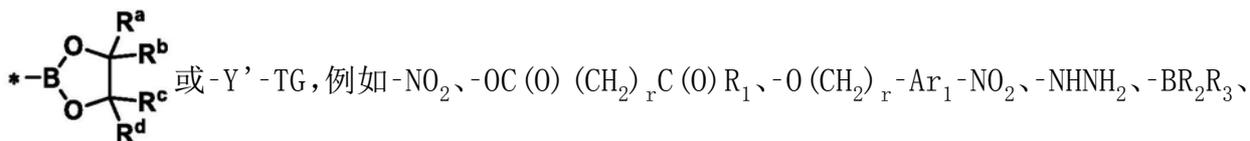
[0595] Z是前体,所述前体选自异氰化物、异硫氰化物、2-吡啶基二硫化物、卤代乙酰胺(-NHC(O)CH<sub>2</sub>-卤)、马来酰亚胺、二烯、烯炔、卤化物、甲苯磺酸根(TsO<sup>-</sup>)、醛、磺酸根(R-SO<sub>3</sub><sup>-</sup>)、



OH、-NHOH、-NHNH<sub>2</sub>、-SH、羧酸(-COOH)、乙炔(-C≡CH)、叠氮化物(-N<sub>3</sub>)、氨基(-NH<sub>2</sub>)、磺酸(-SO<sub>3</sub>H)、炔酮衍生物(-C(O)C≡C-R<sup>a</sup>,其中R<sup>a</sup>是C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基)、和磷酸二氢根(-OP(=O)(OH)<sub>2</sub>);

[0596] n是值为1至4的整数;

[0597] Y是-NO<sub>2</sub>、-OC(O)(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>C(O)R<sub>1</sub>、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>-Ar<sub>1</sub>-NO<sub>2</sub>、-NHOH、-NHNH<sub>2</sub>、-BR<sub>2</sub>R<sub>3</sub>、



[0598] R<sup>1</sup>是C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;

[0599] r是1至5的整数;

[0600] Ar<sup>1</sup>是C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>亚芳基;

[0601] R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>各自独立地是氢、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基或羟基;

[0602] R<sup>a</sup>、R<sup>b</sup>、R<sup>c</sup>和R<sup>d</sup>各自独立地是氢或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;

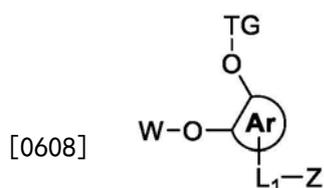
[0603] Y'是-(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>NR''-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>O-或-(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>S-;

[0604] R''是氢或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;

[0605] x是0或1的整数;并且

[0606] TG是触发基团。

[0607] 在一些实施方案中,本文公开的化合物和缀合物可通过使用具有根据式(V)的结构的中间体化合物的方法来制备:



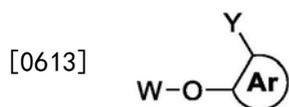
(V)

[0609] 或其药学上可接受的盐,其中:

[0610] W、L<sup>1</sup>和Z是如针对式(IV)相同定义的;并且

[0611] TG是触发基团,例如β-半乳糖苷、β-葡萄糖苷酸、或β-半乳糖苷和β-葡萄糖苷酸的组合。

[0612] 在其他实施方案中,本文公开的化合物和缀合物可通过使用具有根据式(VI)的结构的中间体化合物的方法来制备:



(VI)

[0615] 或其药学上可接受的盐,其中:

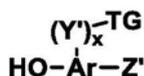
[0616] W是如针对式(IV)相同定义的;

[0617] Y是-NO<sub>2</sub>、-OC(O)(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>C(O)R<sup>1</sup>、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>-Ar<sup>1</sup>-NO<sub>2</sub>、-NHOH、-NHNH<sub>2</sub>、-BR<sup>2</sup>R<sup>3</sup>、或-O-TG;

[0618] R<sup>1</sup>是C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基,例如NO<sub>2</sub>、-OC(O)(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>C(O)R<sup>1</sup>、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>-Ar<sup>1</sup>-NO<sub>2</sub>、-NHOH、-NHNH<sub>2</sub>、-BR<sup>2</sup>R<sup>3</sup>、或-O-TG;

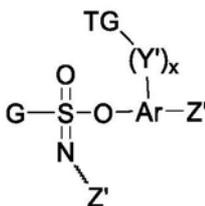
[0619] R<sup>1</sup>是C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;

- [0620] r是1至5的整数；  
 [0621] Ar<sup>1</sup>是亚苯基、亚联苯基、或萘；  
 [0622] R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>各自独立地是氢、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基或羟基；  
 [0623] R<sup>a</sup>、R<sup>b</sup>、R<sup>c</sup>和R<sup>d</sup>各自独立地是氢或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基；并且  
 [0624] TG是触发基团，β-半乳糖苷、β-葡萄糖苷酸、或β-半乳糖苷和β-葡萄糖苷酸的组合。  
 [0625] 本文还提供了式 (IIa)、(IIb) 或 (IIc) 的中间体化合物：



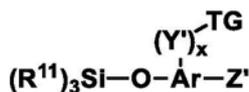
(IIa)

[0626]



(IIb)

[0627]



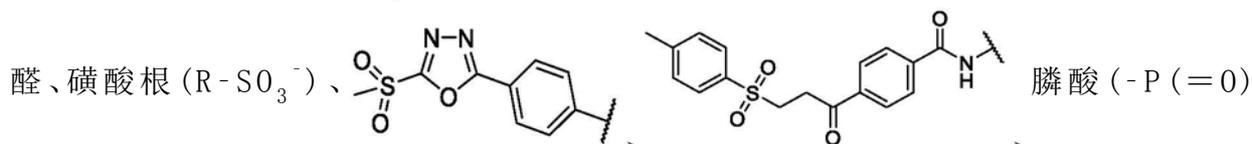
(IIc)

- [0628] 或其药学上可接受的盐，其中：  
 [0629] G是卤素、咪唑、或N-甲基咪唑鎓；  
 [0630] 每个R<sup>11</sup>独立地是C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基；  
 [0631] Ar表示环，例如芳基、杂芳基、环烷基、或杂环烷基；  
 [0632] TG是触发基团，所述触发基团当被活化时产生能够形成包含X-S(=O) (=N-) - 和Ar的居间原子的5-6元环的N、O或S原子；  
 [0633] Y'是-(CR<sup>b</sup><sub>2</sub>)<sub>y</sub>N(R<sup>a</sup>)-、-(CR<sup>b</sup><sub>2</sub>)<sub>y</sub>O-或-(CR<sup>b</sup><sub>2</sub>)<sub>y</sub>S-，被定位成使得如果y是1，则N、O或S原子与TG衔接；  
 [0634] O和Y'定位在Ar的相邻原子上；  
 [0635] x和y各自独立地是值为0或1的整数；  
 [0636] Z'不存在或者在每次出现时独立地是将式 (IIa)、(IIb) 或 (IIc) 的结构连接至(CB)<sub>cb</sub>的连接基团、增溶基团、反应性基团(例如，前体基团)、固体表面(例如，颗粒)、稳定化基团、螯合剂、生物聚合物(例如，免疫球蛋白、核酸、蛋白质、寡肽、多肽、抗体、抗原性多肽的片段、或重复体)、活性剂或可检测部分，条件是至少一次出现的Z'将式 (IIa)、(IIb) 或 (IIc) 的结构连接至(CB)<sub>cb</sub>；并且  
 [0637] 每个R<sup>a</sup>独立地是氢或烷基；并且  
 [0638] 每个R<sup>b</sup>独立地是氢或烷基；或  
 [0639] 两个R<sup>b</sup>与它们所衔接的碳原子一起形成3-5元环，例如3元环。

[0640] 在一些实施方案中,所述中间体化合物是式(IIa)、(IIb)或(IIc)的化合物,其中Ar、TG、Y'Z'和R<sup>a</sup>是如上面针对式(I')的缀合物或式(Ia)或(Ia')的化合物所定义的。

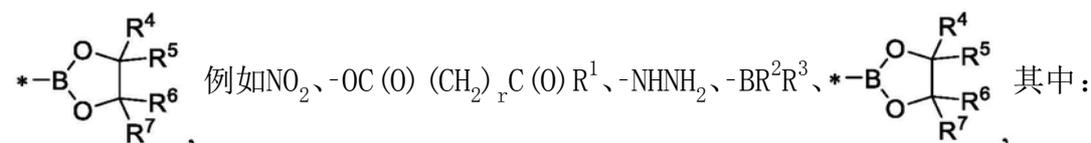
[0641] 在优选的实施方案中,所述中间体化合物是式(IIa)、(IIb)或(IIc)的化合物,其中Ar是芳基(例如,苯基或萘基)。

[0642] 在一些实施方案中,本文提供了一种中间体化合物,所述中间体化合物是式(IIa)、(IIb)或(IIc)的化合物,其中至少一个Z'(例如连接至(CB)<sub>cb</sub>的Z'),任选地每个Z',是包含一个或多个选自以下的基团的连接基团:异氰化物、异硫氰化物、2-吡啶基二硫化物、卤代乙酰胺(-NHC(O)CH<sub>2</sub>-卤基)、马来酰亚胺、二烯、烯烃、卤化物、甲苯磺酸根(TsO<sup>-</sup>)、



(OH)<sub>2</sub>)、酮、C<sub>8</sub>-C<sub>10</sub>环炔基、-OH、-NHOH、-NHNH<sub>2</sub>、-SH、羧酸(-COOH)、乙炔(-C≡CH)、叠氮化物(-N<sub>3</sub>)、氨基(-NH<sub>2</sub>)、磺酸(-SO<sub>3</sub>H)、炔酮衍生物(-C(O)C≡C-R<sup>a</sup>)、和磷酸二氢根(-OP(=O)(OH)<sub>2</sub>)。

[0643] 在其他实施方案中,所述中间体化合物是式(IIa)、(IIb)或(IIc)的化合物,其中x是0。在一些此类实施方案中,TG是-NO<sub>2</sub>、-OC(O)(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>C(O)R<sup>1</sup>、-NHOH、-NHNH<sub>2</sub>、-BR<sup>2</sup>R<sup>3</sup>、



[0644] R<sup>1</sup>是C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;

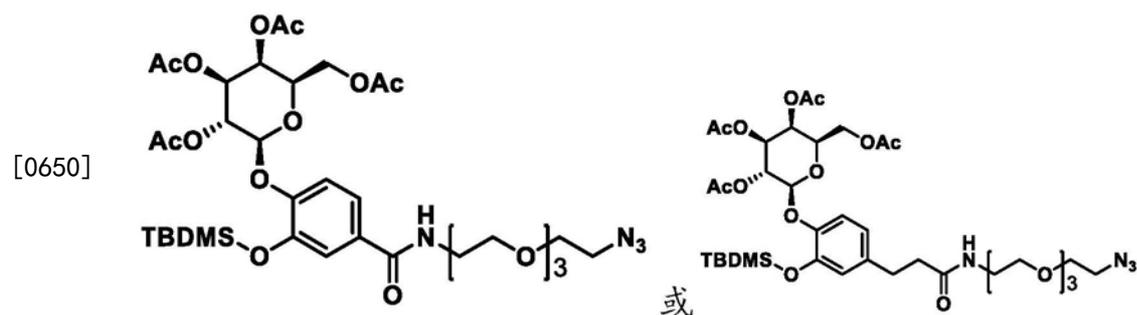
[0645] R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>各自独立地是氢、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基或羟基;

[0646] R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>和R<sup>7</sup>各自独立地是氢或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;并且

[0647] r是值为1、2、3、4或5的整数。

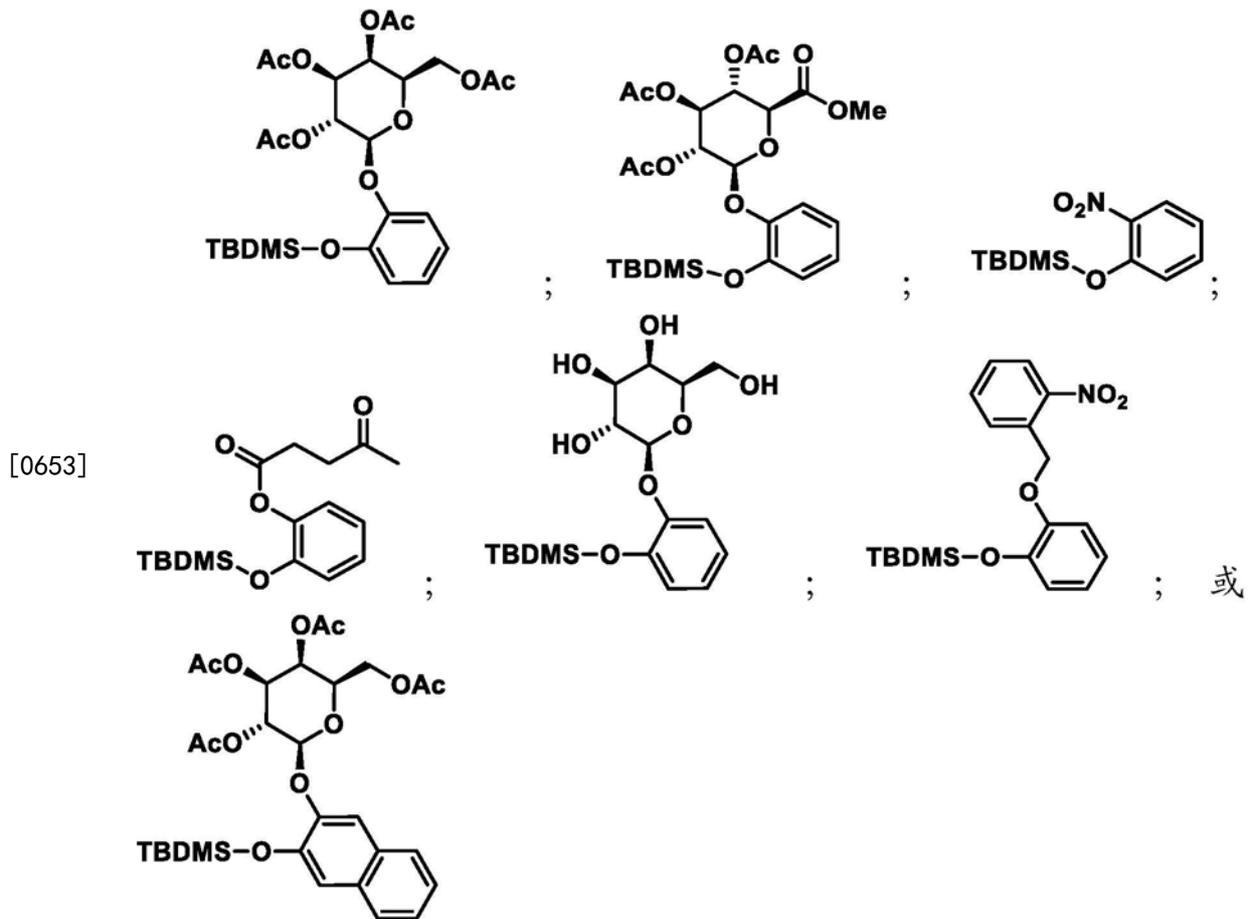
[0648] 在可选实施方案中,所述中间体化合物是式(IIa)、(IIb)或(IIc)的化合物,其中TG是包含β-半乳糖苷、β-葡萄糖苷酸、或β-半乳糖苷和β-葡萄糖苷酸的组合的触发基团。

[0649] 在特定实施方案中,所述中间体化合物是:



[0651] 或其药学上可接受的盐。

[0652] 在某些其他实施方案中,所述中间体化合物是:



[0654] 或其药学上可接受的盐。

[0655] 抗体-药物缀合物 (ADC)

[0656] 在一些实施方案中, CB是抗体, 并且Q是药物。因此, 本文公开的化合物和缀合物可用于将抗体与药物部分缀合以形成抗体-药物缀合物 (ADC)。由于ADC将一种或多种药物部分选择性地递送至靶标组织 (例如肿瘤相关抗原) 的能力, 抗体-药物缀合物 (ADC) 可以提高治疗疾病 (例如, 癌症) 的治疗功效。因此, 在某些实施方案中, 本发明提供了用于治疗性用途 (例如治疗癌症) 的ADC。

[0657] 本发明的ADC包含与一个或多个药物部分连接的抗体。ADC的特异性由抗体的特异性定义。在一个实施方案中, 抗体与一种或多种细胞毒性药物连接, 所述细胞毒性药物内部递送至癌细胞。

[0658] 下面提供了可用于本发明的ADC的药物的例子。术语“药物”、“药剂”和“药物部分”在本文中可互换使用。术语“连接的”和“缀合的”在本文中也可互换使用, 并且指示抗体和部分是共价连接的。

[0659] 在一些实施方案中, ADC具有下式 (式VII) :

[0660]  $(D-L)_n$ -Ab (VII)

[0661] 其中Ab是抗体并且 (D-L) 是接头-药物部分。所述接头-药物部分由接头L和药物部分D制成。药物部分可具有例如针对靶细胞的细胞抑制、细胞毒性或其他治疗活性。n是值为1至约20、优选从1至约10的整数。优选地, D-L具有式 (I'') 或式 (I''') 的结构:



替尼(格列卫(GLEEVEC);诺华公司);PTK787/ZK 222584(诺华公司);奥沙利铂(Eloxatin;赛诺菲公司(Sanofi));5-氟尿嘧啶(5-FU);亚叶酸;雷帕霉素(Sirolimus,RAPAMUNE;惠氏公司(Wyeth));拉帕替尼(TYKERB,GSK572016;葛兰素史克公司(GlaxoSmithKline));洛那法尼(SCH 66336);索拉非尼(BAY43-9006;拜耳实验室(Bayer Labs.));吉非替尼(IRESSA;阿斯利康公司(Astrazeneca));AG1478、AG1571(SU 5271;Sugen);烷基化剂(例如,噻替派或CYTOXAN®环磷酰胺);磺酸烷基酯(例如,白消安、英丙舒凡(improsulfan)或哌泊舒凡(piposulfan));氮杂环丙烷(例如,苯并多巴、卡波醌、美妥替哌(meturedopa)或乌瑞替哌(uredopa));乙烯亚胺、甲基三聚氰胺、六甲蜜胺、三亚乙基三聚氰胺、三亚乙基磷酰胺、三亚乙基硫代磷酰胺、三羟甲基三聚氰胺;多聚乙酰(acetogenin,例如,布拉他辛(bullatacin)或布拉他辛酮(bullatacinone));喜树碱,包括合成类似物拓扑替康;苔藓抑素;海绵他汀(callystatin);CC-1065(包括阿多来新、卡折来新或比折来新,其合成类似物);念珠藻素(例如,念珠藻素1或念珠藻素8);尾海兔素;倍癌霉素(包括合成类似物、KW-2189和CB1-TM1);软珊瑚醇(eleutherobin);水鬼蕉碱(pancratistatin);萨克丁特(sarcodictyin);海绵毒素;氮芥(例如,苯丁酸氮芥、萘氮芥、cholophosphamide、雌氮芥、异环磷酰胺、二氯甲基二乙胺、盐酸甲氧氮芥(mechlorethamine oxide hydrochloride)、美法仑、新恩比兴、苯芥胆甾醇、泼尼莫司汀(prednimustine)、曲磷胺或乌拉莫司汀);亚硝脲(例如,卡莫司汀、氯脲霉素(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀、尼莫司汀或雷莫司汀(ranimustine));抗生素(例如,格尔德霉素(geldanamycin),选自刺孢霉素 $\gamma$ 1I和刺孢霉素 $\omega$ I 1,或作为烯二炔抗生素的达内霉素(dynemicin),包括达内霉素A);二膦酸盐(例如,氯膦酸盐);埃斯波霉素(esperamicin)、新抑癌蛋白色蛋白或相关的色蛋白烯二炔抗生素色蛋白、阿克拉霉素、放线菌素(actinomycin)、安拉霉素(antramycin)、氮杂丝氨酸、博来霉素、放线菌素(cactinomycin)、卡柔比星(carabycin)、洋红霉素(carninomycin)、嗜癌菌素(carzinophilin)、色霉素(chromomycin)、更生霉素(dactinomycin)、道诺霉素(daunorubicin)、地托比星(detorubicin)、6-重氮-5-氧代-L-正亮氨酸、ADRLIMYCIN®多柔比星(ADRLIMYCIN®doxorubicin)(例如,吗啉代-多柔比星、氰基吗啉代-多柔比星、2-吡咯啉并-多柔比星(doxorubicin)、脂质体多柔比星或deoxy多柔比星)、表柔比星(epirubicin)、伊索比星(esorubicin)、马塞罗霉素、丝裂霉素(mitomycin)(例如,丝裂霉素C、霉酚酸、诺加霉素、橄榄霉素、培洛霉素、泊非霉素(potfiromycin)、嘌呤霉素、三铁阿霉素、罗多比星、链霉黑素(streptomigrin)、链脲菌素、杀结核菌素、乌苯美司、净司他丁或佐柔比星);抗代谢药(例如,5-氟尿嘧啶(5-FU));叶酸类似物(例如,二甲叶酸、氨甲蝶呤、蝶罗呤或三甲曲沙);嘌呤类似物(例如,氟达拉滨、6-巯基嘌呤、硫咪嘌呤或硫鸟嘌呤(thioguanine));嘧啶类似物(例如,安西他滨、阿扎胞苷、6-氮杂尿苷、卡莫氟、阿糖胞苷、二脱氧尿苷、去氧氟尿苷、依诺他滨或氟尿苷);雄激素(例如,卡鲁睾酮、屈他雄酮丙酸酯、环硫雄醇、美雄烷或睾内酯);抗肾上腺药(例如,氨鲁米特、米托坦或曲洛司坦);叶酸补充剂(例如,亚叶酸);醋葡醛内酯;醛磷酰胺糖苷;氨基乙酰丙酸;恩尿嘧啶;安吡啶;倍曲布西(bestrabucil);比生群(bisantrene);依达曲沙(edatraxate)、地磷酰胺(defofamine);秋水仙胺;地吡醌;依氟鸟氨酸(elfornithine);依利醋铵(elliptinium acetate);埃博霉素(epothilone);依托格鲁(etoglucid);硝酸镓;羟基脲;香菇多糖;罗尼达宁(lonidainine);美登木素生物碱(例如,美登素或安丝菌素;单端孢霉

烯(例如,T-2毒素、疣孢菌素A(verracurin A)、漆斑菌素A或蛇形菌素);米托蒽醌;米托蒽醌;莫哌达醇(mopidanmol);尼曲瑞林(nitraerine);喷司他丁;蛋氨酸芥(phenamet);吡柔比星;洛索蒽醌;2-乙基酰肼;甲苄肼;PSK®多糖;雷佐生;根霉素;西佐喃;锗螺胺;细交链孢菌酮酸;三亚胺醌;2,2',2''-三氯三乙胺;单端孢霉烯(特别是T-2毒素、疣孢菌素A、漆斑菌素A或蛇形菌素);氨基甲酸乙酯;长春地辛;达卡巴嗪;甘露醇氮芥;二溴甘露醇;二溴卫矛醇;哌泊溴烷;加西托星(gacytosine);阿拉伯糖苷('Ara-C');环磷酰胺;噻替派;紫杉烷(例如,TAXOL®紫杉醇(百时美施贵宝肿瘤公司(Bristol-Myers Squibb Oncology),新泽西州普林斯顿)、ABRAXANE™不含克列莫佛的白蛋白工程化的紫杉醇纳米颗粒配制品,美国制药伙伴公司(American Pharmaceutical Partners),Schaumber,I11.或TAXOTERE®多西他赛(Rhone-Poulenc Rorer, Antony, France));苯丁酸氮芥;吉西他滨;6-硫代鸟嘌呤;巯基嘌呤;铂类似物(例如,顺铂或卡铂);长春花碱;铂;依托泊苷,异环磷酰胺;米托蒽醌;长春新碱;NAVELBINE®长春瑞滨;诺肖林(novantrone);替尼泊苷;依达曲沙;柔毛霉素(daunomycin);氨基嘌呤;希罗达(xeloda);伊班膦酸盐;CPT-11;拓扑异构酶抑制剂RFS 2000;二氟甲基鸟氨酸(difluoromethylornithine,DFMO);类维生素A(例如,视黄酸);卡培他滨;以及其药学上可接受的盐、其溶剂化物、其酸或其衍生物。

#### [0682] 有丝分裂抑制剂

[0683] 在一些实施方案中,本发明的接头可用于将抗体与一种或多种有丝分裂抑制剂缀合以形成用于治疗癌症的ADC。如本文所用,术语“有丝分裂抑制剂”是指阻断对于癌细胞特别重要的有丝分裂或细胞分裂的细胞毒性和/或治疗剂。有丝分裂抑制剂破坏微管,使得通常通过影响微管聚合或微管解聚来防止细胞分裂。因此,在某些实施方案中,抗体与通过抑制微管蛋白聚合而破坏微管形成的一种或多种有丝分裂抑制剂缀合。在一个实施方案中,用于本发明的ADC中的有丝分裂抑制剂是Taxol®(紫杉醇)、Taxotere®(多西他赛)或Ixempra®(伊沙匹隆)。下面提供了可用于本文公开的ADC的有丝分裂抑制剂的例子。有丝分裂抑制剂的属包括上面描述的奥瑞他汀。

#### [0684] 奥瑞他汀

[0685] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种奥瑞他汀缀合。奥瑞他汀表示一组尾海兔素类似物,通常已显示所述尾海兔素类似物通过干扰微管动力学和GTP水解从而抑制细胞分裂的作用而具有抗癌活性。例如,奥瑞他汀E(美国专利号5,635,483)是海洋天然产物尾海兔素10的合成类似物,海洋天然产物尾海兔素10是通过结合至微管蛋白上的相同位点(与抗癌药物长春新碱相同地)而抑制微管蛋白聚合的化合物(G.R.Pettit, Prog.Chem.Org.Nat.Prod,70:1-79(1997))。尾海兔素10、奥瑞他汀PE和奥瑞他汀E是具有四个氨基酸的线性肽,所述四个氨基酸中的三个是尾海兔素类别的化合物所独有的。奥瑞他汀子类别的有丝分裂抑制剂的示例性实施方案包括但不限于单甲基奥瑞他汀D(MMAD或奥瑞他汀D衍生物)、单甲基奥瑞他汀E(MMAE或奥瑞他汀E衍生物)、单甲基奥瑞他汀F(MMAF或奥瑞他汀F衍生物)、奥瑞他汀F亚苯基二胺(AFP)、奥瑞他汀EB(AEB)、奥瑞他汀EFP(AEFP)、和5-苯甲酰基戊酸-AE酯(AEVB)。奥瑞他汀衍生物的合成和结构描述于美国专利申请公开号2003-0083263,2005-0238649和2005-0009751;国际专利公开号WO 04/010957、国际专利公开号WO 02/088172,和美国专利号6,323,315;6,239,104;6,034,065;5,780,588;5,665,

860;5,663,149;5,635,483;5,599,902;5,554,725;5,530,097;5,521,284;5,504,191;5,410,024;5,138,036;5,076,973;4,986,988;4,978,744;4,879,278;4,816,444;和4,486,414,将其中每个通过引用并入本文。

[0686] 尾海兔素

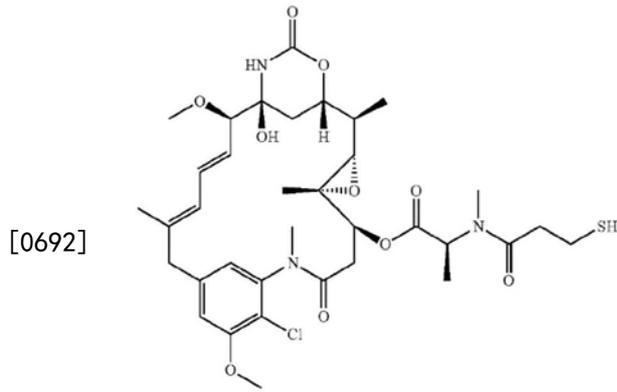
[0687] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种尾海兔素缀合以形成ADC。尾海兔素是从印度洋海兔 *Dolabella auricularia* 中分离的短肽化合物(参见Pettit等人, *J. Am. Chem. Soc.*, 1976, 98, 4677)。尾海兔素的例子包括尾海兔素10和尾海兔素15。尾海兔素15是从 *Dolabella auricularia* 衍生的七亚基缩肽,并且是结构上与抗微管蛋白剂尾海兔素10(从相同生物体获得的五亚基肽)有关的有效的抗有丝分裂剂。因此,在一个实施方案中,本发明的ADC包含抗体、如本文所描述的接头和至少一种尾海兔素。上面描述的奥瑞他汀是尾海兔素10的合成衍生物。

[0688] 美登木素生物碱

[0689] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种美登木素生物碱缀合以形成ADC。美登木素生物碱是最初从卫矛科、鼠李科和大戟科的高等植物科的成员以及一些苔藓物种中分离的有效的抗肿瘤剂(Kupchan等人, *J. Am. Chem. Soc.* 94:1354-1356 [1972]; Wani等人, *J. Chem. Soc. Chem. Commun* 390: [1973]; Powell等人, *J. Nat. Prod.* 46:660-666 [1983]; Sakai等人, *J. Nat. Prod.* 51:845-850 [1988]; 和Suwanborirux等人, *Experientia* 46:117-120 [1990])。有证据表明美登木素生物碱通过抑制微管蛋白(微管蛋白protein tubulin)的聚合从而防止微管的形成来抑制有丝分裂(参见例如,美国专利号No. 6,441,163和Remillard等人, *Science*, 189, 1002-1005 (1975))。使用细胞培养模型在体外并且使用实验室动物系统在体内,已显示美登木素生物碱抑制肿瘤细胞生长。此外,美登木素生物碱的细胞毒性是比常规化学治疗剂(例如氨甲蝶呤、道诺霉素和长春新碱)大1,000倍(参见例如美国专利号5,208,020)。

[0690] 美登木素生物碱包括美登素、美登醇、美登醇的C-3酯、以及其他美登醇类似物和衍生物(参见例如美国专利号5,208,020和6,441,163,将其中每个通过引用并入本文)。美登醇的C-3酯可以是天然存在的或合成衍生的。此外,天然存在的和合成的C-3美登醇酯两者可以被分类为与简单羧酸的C-3酯或与N-甲基-L-丙氨酸的衍生物的C-3酯,后者的细胞毒性大于前者。合成美登木素生物碱类似物描述于例如Kupchan等人, *J. Med. Chem.*, 21, 31-37 (1978)。

[0691] 用于本发明的ADC的合适的美登木素生物碱可以是天然来源分离的、合成生产的、或半合成生产的。此外,可以以任何合适的方式修饰美登木素生物碱,只要在最终的缀合物分子中保留足够的细胞毒性即可。下面提供了示例性美登木素生物碱(mertansine, DM1)的结构。



### Mertansine (DM1)

[0693] 美登木素生物碱的代表性例子包括但不限于DM1 (N2'-脱乙酰基-N2'-(3-巯基-1-氧代丙基)-美登素;也称为mertansine,药物美登木素生物碱1;ImmunoGen, Inc.;还参见Chari等人(1992) *Cancer Res* 52:127)、DM2、DM3 (N2'-脱乙酰基-N2'-(4-巯基-1-氧代戊基)-美登素)、DM4 (4-甲基-4-巯基-1-氧代戊基)-美登素)和美登醇(合成美登木素生物碱类似物)。美登木素生物碱其他例子描述于美国专利号8,142,784,将其通用引用并入本文。

[0694] 安丝菌素是一组已从各种细菌来源中分离的美登木素生物碱抗生素。这些化合物具有有效的抗肿瘤活性。代表性例子包括但不限于安丝菌素P1、安丝菌素P2、安丝菌素P3和安丝菌素P4。

### [0695] 植物生物碱

[0696] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种植物生物碱(例如紫杉烷或长春花生物碱)缀合。植物生物碱是从某些类型植物衍生制造的化学疗法治疗物。长春花生物碱是由长春花植物 *catharanthus rosea* 制成的,而紫杉烷是由紫杉太平洋红豆杉 (*Pacific Yew tree taxus*) 的树皮制成的。长春花生物碱和紫杉烷两者也称为抗微管剂,并且在下面更详细地描述。

### [0697] 紫杉烷

[0698] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种紫杉烷缀合。如本文所用的术语“紫杉烷”是指具有微管作用机理并且具有包含紫杉烷环结构和细胞抑制活性所需的立体特异性侧链的结构抗肿瘤剂类别。术语“紫杉烷”还包括多种已知的衍生物,包括亲水性衍生物和疏水性衍生物两者。紫杉烷衍生物包括但不限于国际专利申请号W0 99/18113中描述的半乳糖和甘露糖衍生物;W0 99/14209中描述的哌嗪和其他衍生物;W0 99/09021、W0 98/22451和美国专利号5,869,680中描述的紫杉烷衍生物;W0 98/28288中描述的6-硫代衍生物;美国专利号5,821,263中描述的次磺酰胺衍生物;和美国专利号5,415,869中描述的紫杉醇衍生物,将其中每个通过引用并入本文。紫杉烷化合物也先前已描述于美国专利号5,641,803、5,665,671、5,380,751、5,728,687、5,415,869、5,407,683、5,399,363、5,424,073、5,157,049、5,773,464、5,821,263、5,840,929、4,814,470、5,438,072、5,403,858、4,960,790、5,433,364、4,942,184、5,362,831、5,705,503和5,278,324,将所有这些通过引用明确地并入。紫杉烷的另外例子包括但不限于多西他赛 (**Taxotere**<sup>®</sup>; Sanofi Aventis)、紫杉醇 (**Abraxane**<sup>®</sup> 或 **Taxol**<sup>®</sup>; Abraxis Oncology)、和纳米颗粒紫杉醇 (

ABI-007/Abraxene<sup>®</sup>;阿博利斯科学公司(Abraxis Bioscience))。

[0699] 在一个实施方案中,本发明的接头可用于将抗体与至少一种多西他赛缀合。在一个实施方案中,本发明的接头可用于将抗体与至少一种紫杉醇缀合。

[0700] 长春花生物碱

[0701] 在一个实施方案中,本发明的接头可用于将抗体与至少一种长春花生物碱缀合。长春花生物碱是一类细胞周期特异性药物,所述细胞周期特异性药物通过作用于微管蛋白并且阻止微管形成来抑制癌细胞分裂的能力而发挥作用。可用于本发明的ADC的长春花生物碱的例子包括但不限于长春地辛硫酸酯、长春新碱、长春花碱和长春瑞滨。

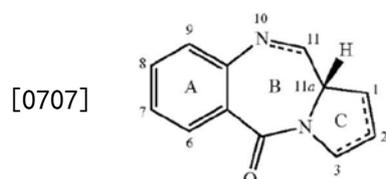
[0702] 抗肿瘤抗生素

[0703] 本发明的接头可用于将抗体与一种或多种用于治疗癌症的抗肿瘤抗生素缀合。如本文所用,术语“抗肿瘤抗生素”意指通过干扰DNA而阻断细胞生长的抗肿瘤药物并且由微生物制造。通常,抗肿瘤抗生素会破坏DNA链或减慢或停止DNA合成。可包含在本文公开的ADC中的抗肿瘤抗生素的例子包括但不限于下面更详细描述放线菌素(例如,吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂卓)、蒽环、卡奇霉素和倍癌霉素。

[0704] 放线菌素

[0705] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种放线菌素缀合。放线菌素是从链霉菌属的细菌中分离的抗肿瘤抗生素的子类别。放线菌素的代表性例子包括但不限于放线菌素D(Cosmegen[也称为放线菌素、更生霉素、放线菌素IV、放线菌素C1],灵北公司(Lundbeck, Inc.))、安曲霉素、契卡霉素A(chicamycin A)、DC-81、甲基氨茴霉素(mazethramycin)、新茴霉素A(neothramycin A)、新茴霉素B,porothramycin、prothracarcin B、SG2285、西班牙米星(sibanomicin)、西伯利亚霉素(sibiromycin)和托马霉素(tomaymycin)。在一个实施方案中,D是吡咯并苯并二氮杂卓(PBD)。的例子PBDs包括但不限于安曲霉素、契卡霉素A、DC-81、甲基氨茴霉素、新茴霉素A、新茴霉素B,porothramycin、prothracarcin B、SG2000(SJG-136)、SG2202(ZC-207)、SG2285(ZC-423)、西班牙米星、西伯利亚霉素和托马霉素。因此,在一个实施方案中,D是放线菌素,例如放线菌素D,或PBD,例如吡咯并苯并二氮杂卓(PBD)二聚体。

[0706] PBD的结构可以例如在以下找到:美国专利申请公开号2013/0028917和2013/0028919以及W0 2011/130598 A1,将其中每个通过引用以其整体并入本文。下面提供了PBD的通用结构。



[0708] PBD在取代基的数目、类型和位置,其芳族A环和吡咯并C环两者,和C环的饱和度上不同。在B环中,通常在作为负责将DNA烷基化的亲电子中心的N10-C11位置上存在亚胺(N=C)、甲醇胺(NH-CH(OH))或甲醇胺甲基醚(NH-CH(OMe))。所有已知的天然产物均具有在手性C11 $\alpha$ 位置的(S)-构型,这当从C环向A环观察时为它们提供右手侧扭转。可经由本文公开的接头与抗体缀合的PBD的另外例子可以例如在以下找到:美国专利申请公开号2013/0028917A1和2013/0028919A1、美国专利号7,741,319B2、以及W0 2011/130598 A1和W0

2006/111759 A1,将其中每个通过引用以其整体并入本文。

[0709] 葱环

[0710] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种葱环缀合。葱环是从链霉菌属的细菌中分离的抗肿瘤抗生素的子类别。代表性例子包括但不限于道诺霉素(柔红霉素(Cerubidine),贝德福德实验室(Bedford Laboratories))、多柔比星(亚德里亚霉素(Adriamycin),贝德福德实验室;也称为盐酸多柔比星、羟基道诺霉素和Rubex)、表柔比星(Ellence,辉瑞公司)、和伊达比星(Idamycin;辉瑞公司(Pfizer Inc.))。因此,在一个实施方案中,D是葱环,例如多柔比星。

[0711] 卡奇霉素

[0712] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种卡奇霉素缀合。卡奇霉素是从土壤生物体棘孢小单孢菌(*Micromonospora echinospora*)衍生的烯二炔抗生素的家族。卡奇霉素结合DNA的小沟并且诱导双链DNA断裂,从而导致细胞死亡,相对于其他化学治疗剂增加100倍(Damle等人(2003) *Curr Opin Pharmacol* 3:386)。已描述了可用作本发明中的药物缀合物的卡奇霉素的制备,参见美国专利号5,712,374;5,714,586;5,739,116;5,767,285;5,770,701;5,770,710;5,773,001;和5,877,296。可使用的卡奇霉素的结构类似物包括但不限于 $\gamma$ 1I、 $\alpha$ 2I、 $\alpha$ 3I、N-乙酰基- $\gamma$ 1I、PSAG和 $\theta$ 1 (Hinman等人, *Cancer Research* 53:3336-3342 (1993), Lode等人, *Cancer Research* 58:2925-2928 (1998) 以及前述美国专利号5,712,374;5,714,586;5,739,116;5,767,285;5,770,701;5,770,710;5,773,001;和5,877,296)。因此,在一个实施方案中,D是卡奇霉素。

[0713] 倍癌霉素

[0714] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种倍癌霉素缀合。倍癌霉素是从链霉菌属的细菌中分离的抗肿瘤抗生素的子类别。(参见Nagamura和Saito(1998) *Chemistry of Heterocyclic Compounds*,第34卷,第12期)。倍癌霉素结合DNA的小沟并且将在N3位置的核碱基腺嘌呤烷基化(Boger(1993) *Pure and Appl Chem* 65(6):1123;和Boger and Johnson(1995) *PNAS USA* 92:3642)。倍癌霉素的合成类似物包括但不限于阿多来新、比折来新和卡折来新。因此,在一个实施方案中,D是倍癌霉素。

[0715] 其他抗肿瘤抗生素

[0716] 除前述内容外,可用于本发明的ADC的另外抗肿瘤抗生素包括博来霉素(Blenoxane,百时美施贵宝公司(Bristol-Myers Squibb))、丝裂霉素、和普卡霉素(也称为光神霉素)。

[0717] 免疫调节剂

[0718] 在一些实施方案中,本发明的接头可用于将抗体与至少一种免疫调节剂缀合。如本文所用,术语“免疫调节剂”是指可以刺激或改变免疫反应的药剂。在一实施方案中,免疫调节剂是增强受试者免疫反应的免疫刺激剂。在一些实施方案中,免疫调节剂是免疫抑制剂,其防止或降低受试者的免疫反应。免疫调节剂可以调节髓样细胞(单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞、巨核细胞和粒细胞)或淋巴样细胞(T细胞、B细胞和自然杀伤(NK)细胞)及其任何进一步分化的细胞。代表性例子包括但不限于卡介苗(BCG)和左旋咪唑(Ergamisol)。可用于本发明的ADC的免疫调节剂的其他例子包括但不限于癌症疫苗、细胞因子和免疫调节基因疗法。

**[0719] 癌症疫苗**

[0720] 本发明的接头可用于将抗体与癌症疫苗缀合。如本文所用,术语“癌症疫苗”是指引起肿瘤特异性免疫反应的组合物(例如,肿瘤抗原和细胞因子)。通过施用癌症疫苗或者在本发明的情况下施用包含抗体和癌症疫苗的ADC,从受试者自身的免疫系统引起反应。在优选的实施方案中,所述免疫反应导致体内肿瘤细胞(例如,原发性或转移性肿瘤细胞)的根除。癌症疫苗的使用通常涉及施用特定的一个抗原或一组抗原,所述抗原例如存在于特定癌细胞的表面上或者存在于显示出有助于癌症形成的特定传染剂表面上。在一些实施方案中,癌症疫苗的使用是用于预防目的的,而在其他实施方案中,所述使用是用于治疗目的的。可用于本文公开的ADC的癌症疫苗的非限制性例子包括重组二价人乳头状瘤病毒(HPV)疫苗16型和18型疫苗(希瑞适(Cervarix),葛兰素史克公司),重组四价人乳头状瘤病毒(HPV)6、11、16和18型疫苗(加德西(Gardasil),默克公司(Merck&Company)),和 sipuleucel-T(普列威(Provenge),Dendreon)。因此,在一个实施方案中,D是作为免疫刺激剂或免疫抑制剂的癌症疫苗。

**[0721] 细胞因子**

[0722] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种细胞因子缀合。术语“细胞因子”通常是指由一个细胞群释放的蛋白质,所述蛋白质作为细胞间介质作用于另一细胞。细胞因子直接刺激在肿瘤位点的免疫效应细胞和基质细胞并且通过细胞毒性效应细胞增强肿瘤细胞识别(Lee和Margolin(2011)Cancers 3:3856)。大量的动物肿瘤模型研究已表明,细胞因子具有广泛的抗肿瘤活性,并且这已被转化为多种基于细胞因子的用于癌症疗法的方法(Lee和Margoli,同上)。近年来,已经看到许多细胞因子,包括GM-CSF、IL-7、IL-12、IL-15、IL-18和IL-21,并且进入针对晚期癌症患者的临床试验(Lee和Margoli,同上)。

[0723] 可用于本发明的ADC的细胞因子的例子包括但不限于甲状旁腺激素;甲状腺素;胰岛素;胰岛素原;松弛素;松弛素原;糖蛋白激素,例如促卵泡激素(FSH)、促甲状腺激素(TSH)和促黄体激素(LH);肝脏生长因子;成纤维细胞生长因子;泌乳素;胎盘催乳素;肿瘤坏死因子;苗勒抑制物质;小鼠促性腺激素相关肽;抑制素;激活素;血管内皮生长因子;整合素;促血小板生成素(TPO);神经生长因子,例如NGF;血小板生长因子;转化生长因子(TGF);胰岛素样生长因子-I和胰岛素样生长因子-II;红细胞生成素(EPO);骨诱导因子;干扰素,例如干扰素 $\alpha$ 、 $\beta$ 和 $\gamma$ ,集落刺激因子(CSF);粒细胞-巨噬细胞-C-SF(GM-CSF);和粒细胞-CSF(G-CSF);白介素(IL),例如IL-1、IL-1a、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-11、IL-12;肿瘤坏死因子;以及其他多肽因子,包括LIF和kit配体(KL)。如本文所用,术语细胞因子包括来自天然来源或来自重组细胞培养物的蛋白质以及天然序列细胞因子的生物学活性等同物。因此,在一个实施方案中,D是细胞因子。

**[0724] 集落刺激因子(CSF)**

[0725] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种集落刺激因子(CSF)缀合。集落刺激因子(CSF)是有助于骨髓制造红细胞的生长因子。由于一些癌症治疗方法(例如,化学疗法)可能影响白细胞(有助于抵抗感染),因此可能引入集落刺激因子来帮助支持白细胞水平并且增强免疫系统。也可在骨髓移植之后使用集落刺激因子以帮助新骨髓开始产生白细胞。可用于本文公开的ADC的CSF的代表性例子包括但不限于红细胞生成素(依泊汀(Epoetin))、非格司亭(Neopogen(也称为粒细胞集落刺激因子(G-CSF);安进公司(Amgen, Inc.))、沙格

司亭 (leukine (粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子和GM-CSF); 健赞公司 (Genzyme Corporation)、促巨核细胞生成素 (promegapoietin)、和奥普瑞白介素 (Oprelvekin) (重组IL-11; 辉瑞公司 (Pfizer, Inc.))。因此, 在一个实施方案中, D是CSF。

#### [0726] 基因疗法

[0727] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种核酸缀合 (直接地或经由载体间接地) 以用于基因疗法。基因疗法通常是指将遗传材料引入细胞中, 从而遗传材料被设计用于治疗疾病。由于它与免疫调节剂有关, 因此基因疗法被用于刺激受试者的抑制癌细胞增殖或杀死癌细胞的天然能力。在一个实施方案中, 本发明的ADC包含编码功能性治疗性基因的核酸, 所述基因用于替代与癌症相关的突变的或功能障碍的 (例如, 截短的) 基因。在其他实施方案中, 本发明的ADC包含核酸, 所述核酸编码治疗性蛋白质或在其他方面提供治疗性蛋白质的产生以治疗癌症。编码治疗性基因的核酸可以直接与抗体缀合, 或者可选地, 可通过载体与抗体缀合。可用于递送用于基因疗法的核酸的载体的例子包括但不限于病毒载体或脂质体。

#### [0728] 烷基化剂

[0729] 本发明的接头可用于将抗体与一种或多种烷基化剂缀合。烷基化剂是一类烷基与DNA附接的抗肿瘤化合物。可用于本发明的ADC的烷基化剂的例子包括但不限于磺酸烷基酯、乙烯亚胺 (ethylenimine)、甲基胺衍生物、环氧化物、氮芥、亚硝基脲、三嗪和胍。

#### [0730] 磺酸烷基酯

[0731] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种磺酸烷基酯缀合。磺酸烷基酯是具有通式:  $R-SO_2-O-R^1$  的烷基化剂的子类别, 其中R和 $R^1$ 典型地是烷基或芳基。磺酸烷基酯的代表性例子是白消安 (Myleran<sup>®</sup>, 葛兰素史克公司; Busulfex IV<sup>®</sup>, PDL生物制药公司 (PDL BioPharma, Inc.))。

#### [0732] 氮芥

[0733] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种氮芥缀合。此子类别的抗癌化合物的的代表性例子包括但不限于苯丁酸氮芥 (Leukeran<sup>®</sup>, 葛兰素史克公司)、环磷酰胺 (Cytosan<sup>®</sup>, 百时美施贵宝公司; Neosar, 辉瑞公司)、雌氮芥 (雌氮芥磷酸钠或 Estracyt<sup>®</sup>, 辉瑞公司)、异环磷酰胺 (Ifex<sup>®</sup>, 百时美施贵宝公司)、二氯甲基二乙胺 (Mustargen<sup>®</sup>, 灵北公司 (Lundbeck Inc.))、和美法仑 (Alkeran<sup>®</sup>或 L-Pam<sup>®</sup>或苯基丙氨酸氮芥; 葛兰素史克公司)。

#### [0734] 亚硝基脲

[0735] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种亚硝基脲缀合。亚硝基脲是脂溶性烷基化剂子类别。代表性例子包括但不限于卡莫司汀 (BCNU [也称为BiCNU, N,N-双(2-氯乙基)-N-亚硝基脲或1,3-双(2-氯乙基)-1-亚硝基脲], 百时美施贵宝公司)、福莫司汀 (也称为Muphoran<sup>®</sup>)、洛莫司汀 (CCNU或1-(2-氯-乙基)-3-环己基-1-亚硝基脲, 百时美施贵宝公司)、尼莫司汀 (也称为ACNU) 和链脲菌素 (Zanosar<sup>®</sup>, 梯瓦制药公司 (Teva Pharmaceuticals))。

#### [0736] 三嗪和胍

[0737] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种三嗪或胍缀合。三嗪和胍是含氮烷基化剂子类别。在一些实施方案中,这些化合物自发地分解或可以代谢以产生烷基重氮中间体,所述烷基重氮中间体促进烷基转移到核酸、肽和/或多肽,从而引起诱变、致癌或细胞毒性作用。代表性例子包括但不限于达卡巴嗪(DTIC-Dome,拜耳保健制药公司(Bayer Healthcare Pharmaceuticals Inc.))、甲苄胍(Mutalane<sup>®</sup>,西格玛托制药公司(Sigma-Tau Pharmaceuticals,Inc.))、和替莫唑胺(Temodar<sup>®</sup>,先灵葆雅公司(Schering Plough))。

#### [0738] 其他烷基化剂

[0739] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种乙烯亚胺、甲基胺衍生物或环氧化物缀合。乙烯亚胺是典型地含有至少一个氮杂环丙烷环的烷基化剂的子类别。环氧化物表示其特征为作为仅具有三个环原子的环状醚的烷基化剂的子类别。

[0740] 乙烯亚胺的代表性例子包括但不限于塞替派(thiopeta)(Thioplex,安进公司(Amgen))、地吡醌(也称为吡丙啶基苯醌(AZQ))和丝裂霉素C。丝裂霉素C是含有氮杂环丙烷环并且似乎交联DNA而诱导细胞毒性的天然产物(Dorr R T,等人Cancer Res.1985;45:3510;Kennedy KA,等人Cancer Res.1985;45:3541)。甲基胺衍生物及其类似物的代表性例子包括但不限于六甲蜜胺(Hexalen,MGI制药公司(MGI Pharma,Inc.)),其也称为六甲胺和六甲蜜胺(hexastat)。此类别的抗癌化合物的环氧化物的代表性例子包括但不限于二脱水半乳糖醇(dianhydrogalactitol)。二脱水半乳糖醇(1,2:5,6-二脱水卫矛醇)在化学上与氮杂环丙烷相关并且通常通过如上面描述的类似机理促进烷基的转移。二溴卫矛醇被水解为二脱水半乳糖醇并且因此是环氧化物的前体药物(Sellei C等人Cancer Chemother Rep.1969;53:377)。

#### [0741] 抗血管生成剂

[0742] 在一些实施方案中,本发明的接头可用于将抗体与至少一种抗血管生成剂缀合。抗血管生成剂抑制新血管的生长。抗血管生成剂以多种方式发挥其作用。在一些实施方案中,这些药剂干扰生长因子到达其靶标的的能力。例如,血管内皮生长因子(VEGF)是通过与细胞表面上的特定受体结合而引发血管生成的主要蛋白质之一。因此,阻止VEGF与其同源受体相互作用的某些抗血管生成剂阻止VEGF引发血管生成。在其他实施方案中,这些药剂干扰细胞内信号传导级联。例如,一旦已触发细胞表面上的特定受体,就会引发其他化学信号的级联以促进血管的生长。因此,已知促进某些有助于例如细胞增殖的细胞内信号传导级联的某些酶(例如,一些酪氨酸激酶)是用于癌症治疗的靶标。在其他实施方案中,这些药剂干扰细胞间信号传导级联。然而,在其他实施方案中,这些药剂使激活和促进细胞生长的特定靶标失效或通过直接干扰血管细胞生长而失效。已在多于300多种物质中发现血管生成抑制特性,具有多种直接或间接抑制作用。

[0743] 可用于本发明的ADC的抗血管生成剂的代表性例子包括但不限于血管抑素、ABX EGF、C1-1033、PKI-166、EGF疫苗、EKB-569、GW2016、ICR-62、EMD 55900、CP358、PD153035、AG1478、IMC-C225(Erbix, ZD1839(Iressa))、OSI-774、厄洛替尼(tarceva)、血管抑素、抑制蛋白、内皮抑素、BAY 12-9566以及与氟尿嘧啶或多柔比星一起、血管能抑素、羧基酰胺基三唑以及和紫杉醇一起、EMD121974、S-24、vitaxin、二甲基咕吨酮乙酸、IM862、白介素-12、白介素-2、NM-3、HuMV833、PTK787、RhuMab、血管酶(核糖酶)、IMC-1C11、新伐司他

(Neovostat)、marimstat、普马司他 (prinomastat)、BMS-275291、COL-3、MM1270、SU101、SU6668、SU11248、SU5416 (与紫杉醇一起、与吉西他滨和顺铂一起、以及与伊立替康和顺铂一起和与辐射一起)、tecogalan、替莫唑胺和PEG干扰素 $\alpha$ 2b、四硫钼酸盐、TNP-470、萨力多胺、CC-5013以及和与泰素帝一起、肿瘤抑素、2-甲氧基雌二醇、VEGF trap、mTOR抑制剂 (雷帕霉素、依维莫司 (Afinitor, 诺华制药公司 (Novartis Pharmaceutical Corporation)) 和替西罗莫司 (Torisel, 辉瑞公司))、酪氨酸激酶抑制剂 (例如, 厄洛替尼 (Tarceva, 基因技术公司 (Genentech, Inc.))、伊马替尼 (格列卫 (Gleevec), 诺华制药公司)、吉非替尼 (Iressa, 阿斯利康制药公司 (AstraZeneca Pharmaceuticals))、达沙替尼 (Sprycel, Bristol-Myers Squibb)、舒尼替尼 (Sutent, 辉瑞公司)、尼洛替尼 (Tasigna, 诺华制药公司)、拉帕替尼 (Tykerb, 葛兰素史克制药公司 (GlaxoSmithKline Pharmaceuticals))、索拉非尼 (Nexavar, 拜耳和奥尼克斯公司 (Bayer and Onyx))、磷酸肌醇3-激酶 (PI3K)。

#### [0744] 抗代谢药

[0745] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种抗代谢药缀合。抗代谢药是细胞内的正常物质非常相似的化学疗法治疗物类型。当细胞将抗代谢药掺入细胞代谢中时, 结果对细胞是负面的, 例如细胞无法分裂。抗代谢药根据其干扰的物质进行分类。可用于本发明的ADC的抗代谢药的例子包括但不限于叶酸拮抗剂 (例如, 氨甲蝶呤)、嘧啶拮抗剂 (例如, 5-氟尿嘧啶、Foxuridine、阿糖胞苷、卡培他滨和吉西他滨)、嘌呤拮抗剂 (例如, 6-巯基嘌呤和6-硫代鸟嘌呤) 和腺苷脱氨酶抑制剂 (例如, 克拉屈滨、氟达拉滨、奈拉滨和喷司他丁), 如下面更详细描述。

#### [0746] 抗叶酸剂

[0747] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种抗叶酸剂缀合。抗叶酸剂是结构上与叶酸盐相似的抗代谢药的子类别。代表性例子包括但不限于氨甲蝶呤、4-氨基-叶酸 (也称为氨基蝶呤和4-氨基蝶酸)、洛美曲索 (LMTX)、培美曲塞 (Alimpta, 伊莱利利公司 (Eli Lilly and Company)) 和三甲曲沙 (Neutrexin, Ben Venue Laboratories, Inc.)。

#### [0748] 嘌呤拮抗剂

[0749] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种嘌呤拮抗剂缀合。嘌呤类似物是结构上与称为嘌呤的化合物的组相似的抗代谢药的子类别。嘌呤拮抗剂的代表性例子包括但不限于咪唑硫嘌呤 (Azasan, Salix; Imuran, 葛兰素史克公司)、克拉屈滨 (Leustatin [也称为2-CdA], 杨森生物科技公司 (Janssen Biotech, Inc.))、巯基嘌呤 (Purinethol [也称为6-巯基乙醇], 葛兰素史克公司)、氟达拉滨 (Fludara, 健赞公司)、喷司他丁 (Nipent, 也称为2'-脱氧助间型霉素 (DCF))、6-硫代鸟嘌呤 (Lanvis [也称为硫代鸟嘌呤], 葛兰素史克公司)。

#### [0750] 嘧啶拮抗剂

[0751] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种嘧啶拮抗剂缀合。嘧啶拮抗剂是结构上与称为嘌呤的化合物的组相似的抗代谢药的子类别。嘧啶拮抗剂的代表性例子包括但不限于阿扎胞苷 (Vidaza, 新基公司 (Celgene Corporation))、卡培他滨 (希罗达, Roche Laboratories)、阿糖胞苷 (也称为胞嘧啶阿拉伯糖苷和阿拉伯糖基胞嘧啶, 贝德福德实验室)、地西他滨 (Dacogen, 卫材制药公司 (Eisai Pharmaceuticals))、5-氟尿嘧啶 (Aducril, 梯瓦制药公司; Efudex, 威朗制药公司 (Valeant Pharmaceuticals, Inc.))、5-氟-2'-脱氧尿苷5'-磷酸酯 (FdUMP)、5-氟尿苷三磷酸酯、和吉西他滨 (Gemzar, 伊莱利利公司)。

[0752] 含硼药剂

[0753] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种含硼药剂缀合。含硼药剂包括一类干扰细胞增殖的癌症治疗性化合物。含硼药剂的代表性例子包括但不限于borophycin和硼替佐米 (Velcade, Millenium Pharmaceuticals)。

[0754] 化学保护剂

[0755] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种化学保护剂缀合。化学保护药物是一类帮助保护身体免受化学疗法的特定毒性作用的化合物。化学保护剂可与多种化学疗法一起施用,以便保护健康细胞免受化学疗法药物的毒性作用,而同时允许所施用的化学治疗剂治疗癌细胞。代表性化学保护剂包括但不限于氨磷汀 (Ethyol, 医学免疫公司 (Medimmune, Inc.)) (其用于减轻与顺铂的累积剂量相关的肾毒性)、右雷佐生 (Totect, Apricus Pharma; Zinecard) (用于治疗由施用葱环导致的溢出 (Totect) 和用于治疗由施用抗肿瘤抗生素多柔比星引起的心脏相关并发症 (Zinecard))、和美司那 (Mesnex, 百时美施贵宝公司) (用于在用ifocfamide进行化学治疗的过程中预防出血性膀胱炎)。

[0756] 激素剂

[0757] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种激素剂缀合。激素剂(包括合成激素)是干扰内分泌系统内源性产生的激素的产生或活性的化合物。在一些实施方案中,这些化合物干扰细胞生长或产生细胞毒性作用。非限制性例子包括雄激素、雌激素、醋酸甲羟孕酮 (Provera, 辉瑞公司) 和孕激素。

[0758] 抗激素剂

[0759] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种抗激素剂缀合。“抗激素”剂是抑制某些内源激素的产生和/或阻止其功能的药剂。在一个实施方案中,抗激素剂干扰选自包含雄激素、雌激素、孕酮和促性腺激素 (gonadotropin-releasing hormone) 的组的激素的活性,从而干扰各种癌细胞的生长。抗激素剂的代表性例子包括但不限于氨鲁米特、阿那曲唑 (Arimidex, 阿斯利康制药公司)、比卡鲁胺 (Casodex, 阿斯利康制药公司)、醋酸环丙孕酮 (Cyprostat, 拜耳公司 (Bayer PLC))、地加瑞克 (Firmagon, 辉凌制药公司 (Ferring Pharmaceuticals))、依西美坦 (Aromasin, 辉瑞公司)、氟他胺 (Drogenil, 先灵葆雅公司 (Schering-Plough Ltd))、氟维司群 (Faslodex, 阿斯利康制药公司)、戈舍瑞林 (Zolodex, 阿斯利康制药公司), 来曲唑 (Femara, 诺华制药公司)、亮丙瑞林 (Prostap)、利普安 (lupron)、醋酸甲羟孕酮 (Provera, 辉瑞公司)、醋酸甲地孕酮 (Megace, 百时美施贵宝公司)、它莫西芬 (Nolvadex, 阿斯利康制药公司)、和曲普瑞林 (triptorelin) (Decapetyl, 辉凌公司 (Ferring))。

[0760] 皮质类固醇

[0761] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种皮质类固醇缀合。皮质类固醇可用于本发明的ADC以降低炎症。皮质类固醇的例子包括但不限于糖皮质激素,例如泼尼松 (Deltasone, 辉瑞公司的分支, 法玛西亚普强制药公司)。

[0762] 光活性治疗剂

[0763] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种光活性治疗剂缀合。光活性治疗剂包括在暴露于特定波长的电磁辐射后可部署以杀死受治疗的细胞的化合物。治疗上相关的化合物吸收穿透组织的波长的电磁辐射。在优选的实施方案中,所述化合物以无毒形式施用,所述

无毒形式在充分活化后能够产生对细胞或组织有毒的光化学作用。在其他优选的实施方案中,这些化合物被癌组织保留并且易于从正常组织清除。非限制性例子包括各种色原体和染料。

#### [0764] 寡核苷酸

[0765] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种寡核苷酸缀合。寡核苷酸由短核酸链制成,所述短核酸链通过干扰遗传信息的加工而起作用。在一些实施方案中,用于ADC的寡核苷酸是未修饰的单链和/或双链DNA或RNA分子,而在其他实施方案中,这些治疗性寡核苷酸是化学修饰的单链和/或双链DNA或RNA分子。在一个实施方案中,ADC中使用的寡核苷酸是相对短的(19-25个核苷酸),并且与细胞中存在的核酸靶标的池库中的独特核酸序列杂交。一些重要的寡核苷酸技术包括反义寡核苷酸(包括RNA干扰(RNAi))、适体、CpG寡核苷酸和核糖酶。

#### [0766] 反义寡核苷酸

[0767] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种反义寡核苷酸缀合。反义寡核苷酸被设计用于通过沃森-克里克杂交与RNA结合。在一些实施方案中,所述反义寡核苷酸与编码缀合抗体的区域、结构域、部分或区段的核苷酸互补。在一些实施方案中,所述反义寡核苷酸包含从约5至约100个核苷酸、从约10至约50个核苷酸、从约12至约35、并且从约18至约25个核苷酸。

[0768] 一旦寡核苷酸与靶标RNA结合,就可以利用多种机制来抑制RNA的功能。(Crooke ST. (1999). *Biochim. Biophys. Acta*, 1489, 30-42)。最佳表征的反义机制导致内源性细胞核糖核酸酶(例如RNA酶H或与RNA干扰机制相关的核糖核酸酶)切割靶标RNA。然而,通过非催化机制(例如对剪接或翻译阻滞的调节)抑制靶标基因的表达的寡核苷酸也可以是基因功能的有效且选择性的调节剂。

[0769] 最近受到广泛关注的另一种RNA酶依赖性反义机制是RNAi (Fire等人(1998). *Nature*, 391, 806-811; Zamore PD. (2002). *Science*, 296, 1265-1269.)。RNA干扰(RNAi)是转录后过程,其中双链RNA以序列特异性方式抑制基因表达。在一些实施方案中,通过引入相对较长的双链RNA(dsRNA)来实现RNAi作用,而在优选的实施方案中,通过引入较短的双链RNA(例如,小干扰RNA(siRNA)和/或微RNA(miRNA))来实现这种RNAi作用。在又一个实施方案中,RNAi也可通过引入产生与靶标基因互补的dsRNA的质粒来实现。在每个前述实施方案中,双链RNA被设计用于干扰细胞内特定靶标序列的基因表达。通常,所述机制涉及将dsRNA转化为将核糖核酸酶引导至同源mRNA靶标的短RNA(概述, Ruvkun, *Science* 2294:797 (2001)),所述核糖核酸酶然后降解相应的内源mRNA,从而导致基因表达的调节。值得注意的是,据报道dsRNA具有抗增殖特性,这也使得设想到治疗性应用(Aubel等人, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 88:906 (1991))。例如,已显示合成的dsRNA抑制小鼠的肿瘤生长(Levy等人 *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 62:357-361 (1969)),在白血病小鼠的治疗中是活性的(Zeleznick等人, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 130:126-128 (1969)),并且抑制小鼠皮肤中化学诱导的肿瘤发生(Gelboin等人, *Science* 167:205-207 (1970))。因此,在优选的实施方案中,本发明提供了反义寡核苷酸在用于治疗乳腺癌的ADC中的用途。在其他实施方案中,本发明提供了用于引发反义寡核苷酸治疗的组合物和方法,其中dsRNA在mRNA水平上干扰EGFR的靶细胞表达。如上所用的dsRNA是指天然存在的RNA、部分纯化的RNA、重组产生的

RNA、合成RNA,以及通过包含非标准核苷酸、非核苷酸材料、核苷酸类似物(例如,锁核酸(LNA))、脱氧核糖核苷酸及其任何组合而不同的改变的RNA。本发明的RNA仅需要与天然RNA足够相似,以使得其具有介导本文所描述的基于反义寡核苷酸的调节的能力。

#### [0770] 适体

[0771] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种适体缀合。适体是基于其结合其他分子的能力而从随机池中选择的核酸分子。像抗体一样,适体可以非凡的亲力和特异性结合靶标分子。在许多实施方案中,适体呈现复杂的序列依赖性三维形状,所述形状允许它们与靶标蛋白相互作用,产生与抗体-抗原相互作用类似的紧密结合的复合物,从而干扰所述蛋白的功能。适体紧密且特异性结合其靶标蛋白的特定能力突显了其作为靶向分子疗法的潜力。

#### [0772] CpG寡核苷酸

[0773] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种CpG寡核苷酸缀合。已知细菌和病毒DNA是人类先天免疫和特异性免疫两者的强激活剂。这些免疫学特征与在细菌DNA中发现的未甲基化的CpG二核苷酸基序相关。由于这些基序在人类中很少见,因此人类免疫系统已发展出识别这些基序作为感染的早期迹象并且随后引发免疫反应的能力。因此,可以利用含有这种CpG基序的寡核苷酸来引发抗肿瘤免疫反应。

#### [0774] 核糖酶

[0775] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种核糖酶缀合。核糖酶是长度范围为从约40至155个核苷酸的催化性RNA分子。核糖酶识别和切割特定RNA分子的能力使其成为治疗剂的潜在候选者。代表性例子包括血管酶。

#### [0776] 放射性核素剂(放射性同位素)

[0777] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种放射性核素剂缀合。放射性核素剂包括其特征为能够经受放射性衰变的不稳定核的药剂。成功的放射性核素治疗的基础取决于放射性核素的足够浓度和癌细胞对其的延长时间的保留。考虑的其他因素包括放射性核素半衰期、发射的粒子的能量、以及发射的粒子可行进的最大范围。在优选的实施方案中,所述治疗剂是放射性核素,所述放射性核素选自由以下组成的组:111In、177Lu、212Bi、213Bi、211At、62Cu、64Cu、67Cu、90Y、125I、131I、32P、33P、47Sc、111Ag、67Ga、142Pr、153Sm、161Tb、166Dy、166Ho、186Re、188Re、189Re、212Pb、223Ra、225Ac、59Fe、75Se、77As、89Sr、99Mo、105Rh、109Pd、143Pr、149Pm、169Er、194Ir、198Au、199Au和211Pb。还优选的是随着俄歇发射粒子而显著衰变的放射性核素。例如,Co-58、Ga-67、Br-80m、Tc-99m、Rh-103m、Pt-109、In-111、Sb-119、I-125、Ho-161、Os-189m和Ir-192。有用的发射 $\beta$ 粒子的核素的衰变能量优选是Dy-152、At-211、Bi-212、Ra-223、Rn-219、Po-215、Bi-211、Ac-225、Fr-221、At-217、Bi-213和Fm-255。有用的发射 $\alpha$ 粒子的放射性核素的衰变能量优选是2,000-10,000keV、更优选3,000-8,000keV、并且最优选4,000-7,000keV。使用的另外的潜在放射性同位素包括11C、13N、15O、75Br、198Au、95Ru、97Ru、103Ru、105Ru、107Hg、203Hg、121mTe、122mTe、125mTe、165Tm、167Tm、168Tm、197Pt、109Pd、105Rh、142Pr、143Pr、161Tb、166Ho、199Au、57Co、58Co、51Cr、59Fe、75Se、201Tl、225Ac、76Br、169Yb等。

#### [0778] 放射致敏剂

[0779] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种放射致敏剂缀合。如本文所用的术语“放

射致敏剂”被定义为待被放射致敏的细胞对电磁辐射的敏感性和/或促进可用电磁辐射治疗的疾病的治疗的分子、优选低分子量分子。放射致敏剂是使癌细胞对放射疗法更敏感,同时典型地对正常细胞的影响要小得多的药剂。因此,放射致敏剂可与放射标记的抗体或ADC组合使用。与单独用放射性标记的抗体或抗体片段进行治疗相比,添加放射致敏剂可以导致功效增强。放射致敏剂描述于D.M.Goldberg(编辑),*Cancer Therapy with Radiolabeled Antibodies*,CRC Press(1995)。放射致敏剂的例子包括吉西他滨、5-氟尿嘧啶、紫杉烷和顺铂。

[0780] 放射致敏剂可通过X射线的电磁辐射激活。X射线激活的放射致敏剂的代表性例子包括但不限于以下:灭滴灵、米索硝唑、去甲基醚醇硝唑(desmethylnisonidazole)、哌莫硝唑、依他硝唑、尼莫拉唑、丝裂霉素C、RSU 1069、SR 4233、E09、RB 6145、烟酰胺、5-溴脱氧尿苷(BUDR)、5-碘脱氧尿苷(IUDR)、溴脱氧胞苷、氟脱氧尿苷(FUDR)、羟基脲、顺铂、以及其治疗有效类似物和衍生物。可选地,可以使用光动力疗法(PDT)激活放射致敏剂。光动力放射致敏剂的代表性例子包括但不限于血卟啉衍生物、光卟啉(r)、苯卟啉衍生物、NPe6、初卟啉锡(tin etioporphyrin,SnET2)、脱镁叶绿酸a(pheorbide a)、细菌叶绿素a、萘酞菁(naphthalocyanine)、酞菁、酞菁锌、以及其治疗有效类似物和衍生物。

[0781] 拓扑异构酶抑制剂

[0782] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种拓扑异构酶抑制剂缀合。拓扑异构酶抑制剂是被设计用于干扰拓扑异构酶(拓扑异构酶I和II)的作用的化学疗法药剂,所述拓扑异构酶是在正常细胞周期中通过催化、然后断裂并且重新结合DNA链的磷酸二酯主链来控制DNA结构变化的酶。DNA拓扑异构酶I抑制剂的代表性例子包括但不限于喜树碱及其衍生物伊立替康(CPT-11,Camptosar,辉瑞公司)和拓扑替康(Hycamtin,葛兰素史克制药公司)。DNA拓扑异构酶II抑制剂的代表性例子包括但不限于安吡啶、道诺霉素、多柔比星(doxorubicin)、表鬼臼毒素、玫瑰树碱、表柔比星、依托泊苷、雷佐生和替尼泊苷。

[0783] 酪氨酸激酶抑制剂

[0784] 本发明的接头可用于将抗体与至少一种酪氨酸激酶抑制剂缀合。酪氨酸激酶是在细胞内的酶,其功能是将磷酸基团与氨基酸酪氨酸衔接。通过阻断蛋白酪氨酸激酶发挥功能的能力,可以抑制肿瘤的生长。可在本发明的ADC上使用的酪氨酸激酶的例子包括但不限于阿昔替尼、博舒替尼、西地尼布、达沙替尼、厄洛替尼、吉非替尼、伊马替尼、拉帕替尼、来他替尼、尼洛替尼、司马沙尼、舒尼替尼和凡德他尼。

[0785] 其他药剂

[0786] 可用于本发明的ADC的其他药剂的例子包括但不限于相思豆毒素(例如,相思豆毒素A链)、 $\alpha$ 毒素、油桐(Aleurites fordii)蛋白、鹅膏毒素(amatoxin)、巴豆毒素(crotonin)、麻风树毒蛋白(curcumin)、石竹素(dianthin)蛋白、白喉毒素(例如,白喉A链以及白喉毒素的无结合活性的片段)、脱氧核糖核酸酶(DNA酶)、白树毒素(gelonin)、曲霉裂解蛋白(mitogellin)、蒴莲素A链、观赏苦瓜(momordica charantia)抑制剂、新链丝菌素、豹蛙酶(onconase)、酚霉素(phenomycin)、美洲商陆(Phytolaca americana)蛋白(PAPI、PAPII和PAP-S)、商陆抗病毒蛋白、假单胞菌(Pseudomonas)外毒素、假单胞菌外毒素(例如,外毒素A链(来自绿脓假单胞菌(Pseudomonas aeruginosa))、局限曲菌素、蓖麻毒素(ricin)A链、核糖核酸酶(RNA酶)、肥皂草(saponaria officinalis)抑制剂、肥皂草素(saporin)、 $\alpha$ -八叠

球菌素、葡萄球菌 (Staphylococcal) 肠毒素-A、破伤风毒素、顺铂、卡铂、和奥沙利铂 (Eloxatin, Sanofi Aventis)、蛋白酶体抑制剂 (例如, PS-341 [硼替佐米或万珂 (Velcade)])、HDAC抑制剂 (vorinostat (Zolinza, 默克公司))、贝利司他 (belinostat)、恩替诺特 (entinostat)、莫替司他、和帕比司他 (panobinostat)、COX-2抑制剂、被取代的脲、热休克蛋白抑制剂 (例如, 格尔德霉素及其各种类似物)、肾上腺皮质抑制剂、以及单端孢霉烯 (tricothecene)。(参见例如, WO 93/21232)。其他药剂还包括天冬酰胺酶 (Espar, 灵北公司)、羟基脲、左旋咪唑、米托坦 (Lysodren, 百时美施贵宝公司)、和维甲酸 (Renova, 威朗制药公司)。

[0787] 应当注意的是, 前述组的可用于本发明的ADC的药物部分不是排他性的, 因为可在多于一种类别中找到某些药物例子, 例如, 安丝菌素既是有丝分裂抑制剂又是抗肿瘤抗生素。

[0788] 上面药物部分的所有立体异构体均被考虑用于本发明的化合物, 即在D的手性碳上的R和S构型的任何组合。

[0789] “可检测的部分”或“标志物”是指可通过光谱学、光化学、生物化学、免疫化学、放射性或化学手段检测的组合物。例如, 有用的标记包括<sup>32</sup>P、<sup>35</sup>S、荧光染料、电子致密试剂、酶 (例如, 通常用于ELISA的酶)、生物素-链霉亲和素、地高辛 (dioxigenin)、半抗原、以及抗血清或单克隆抗体可用的蛋白质、或具有与靶标互补的序列的核酸分子。可检测部分通常产生可测量信号, 例如, 放射性信号、颜色信号或荧光信号, 其可用于定量结合在样品中的可检测部分的量。信号的定量可通过例如闪烁计数、密度计、流动池分析、ELISA或通过质谱法对环状或随后消化的肽的直接分析 (可测定一种或多种肽) 来完成。本领域技术人员熟悉用于感兴趣的标记化合物的技术和检测手段。这些技术和方法在本领域是常规的和众所周知的。

[0790] 用于检测的探针是指 (i) 能够提供可检测信号的材料, (ii) 能够与第一探针或第二探针相互作用以改变由所述第一探针或第二探针提供的可检测信号 (例如荧光共振能量转移 (FRET)) 的材料, (iii) 能够稳定与抗原或配体的相互作用或增加结合亲和力的材料, (iv) 能够通过例如电荷、疏水性等物理参数影响电迁移或细胞侵袭作用的材料, 或 (v) 能够调节配体亲和力、抗原-抗体结合或离子复合物形成的材料。

[0791] 在某些实施方案中, FRET技术可用于区分完整分子与已暴露于活化触发基团的条件的分子, 例如通过将供体生色团附接至中心Ar环和受体生色团作为Q。

[0792] 在一些实施方案中, 本文提供了所公开的化合物作为成像剂 (例如, 荧光团或螯合剂) 的用途, 例如荧光素、罗丹明、镧系元素磷光体及其衍生物。荧光团的例子包括但不限于异硫氰酸荧光素 (FITC) (例如5-FITC)、荧光素亚酰胺 (FAM) (例如5-FAM)、曙红、羧基荧光素、赤藓红、Alexa Fluor.RTM. (例如, Alexa 350、405、430、488、500、514、532、546、555、568、594、610、633、647、660、680、700或750)、羧基四甲基罗丹明 (TAMRA) (例如5-TAMRA)、四甲基罗丹明 (TMR) 和磺基罗丹明 (SR) (例如SR101)。螯合剂的例子包括但不限于1,4,7,10-四氮杂环十二烷-N,N',N'',N'''-四乙酸 (DOTA)、1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三乙酸 (NOTA)、1,4,7-三氮杂环壬烷-1-戊二酸-4,7-乙酸 (NODAGA)、二亚乙基三胺五乙酸 (DTPA) 和1,2-双(邻氨基苯氧基)乙烷-N,N,N',N'-四乙酸 (BAPTA)。

[0793] 抗体

[0794] ADC的抗体可以是典型地但不一定特异性地结合在感兴趣的靶细胞的表面上表达的抗原的任何抗体。抗原不需要,但是在一些实施方案中,能够将其结合的ADC内化到细胞中。感兴趣的靶细胞可包括其中希望诱导凋亡的细胞。靶抗原可以是在感兴趣的靶细胞上表达的任何蛋白质、糖蛋白、多糖、脂蛋白等,但将典型地是在靶细胞而不是正常或健康细胞上独特表达或者与正常或健康细胞相比在靶细胞上过度表达的蛋白质,使得ADC选择性地靶向感兴趣的特定细胞,例如肿瘤细胞。如技术人员将理解的,所选择的特异性抗原以及因此的抗体将取决于所希望的感兴趣的靶细胞的身份。在特定的实施方案中,ADC的抗体是适合施用于人的抗体。

[0795] 抗体(Ab)和免疫球蛋白(Ig)是具有相同结构特征的糖蛋白。尽管抗体展现出针对特异性靶标的结合特异性,但是免疫球蛋白包括抗体和缺乏靶标特异性的其他抗体样分子两者。天然抗体和免疫球蛋白通常是约150,000道尔顿的杂四聚体糖蛋白,所述杂四聚体糖蛋白由两条相同轻(L)链和两条相同重(H)链构成。每条重链在一端具有可变结构域(VH),接着是多各恒定结构域。每条轻链在一端具有可变结构域(VL)并且在其另一端具有恒定结构域。

[0796] 对“VH”的提及是指抗体的免疫球蛋白重链(包括Fv、scFv或Fab的重链)的可变区。对“VL”的提及是指免疫球蛋白轻链(包括Fv、scFv、dsFv或Fab的轻链)的可变区。

[0797] 本文中的术语“抗体”以最广泛的意义使用并且是指与特定抗原特异性结合或者对其具有免疫反应性的免疫球蛋白分子,并且包括抗体的多克隆、单克隆、基因工程化形式以及在其他方面修饰形式(包括但不限于鼠嵌合抗体、人源化抗体、杂缀合物抗体(例如,双特异性抗体、双抗体、三抗体和四抗体))以及抗体的抗原结合片段(包括例如Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fab、Fv、rIgG和scFv片段)。术语“scFv”是指单链Fv抗体,其中来自传统抗体的重链和轻链的可变结构域已经连接形成一条链。

[0798] 抗体可以是鼠、人、人源化、嵌合的或衍生自其他物种。抗体是由免疫系统产生的能够识别并且结合特定抗原的蛋白质。(Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immuno Biology*, 第5版, Garland Publishing, New York)。靶抗原通常具有被在多个抗体上的CDR识别的许多结合位点,也称为表位。与不同表位特异性结合的每种抗体具有不同的结构。因此,一种抗原可具有多于一种对应的抗体。抗体包括全长免疫球蛋白分子或全长免疫球蛋白分子的免疫学活性部分,即含有与感兴趣的靶标的抗原或其一部分免疫特异性结合的抗原结合位点的分子,此类靶标包括但不限于癌细胞或产生与自身免疫疾病相关的自身免疫抗体的细胞。本文公开的免疫球蛋白可以是任何类型(例如, IgG、IgE、IgM、IgD和IgA)、类别(例如, IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)或子类别的免疫球蛋白分子。所述免疫球蛋白可以来源于任何物种。然而,在一个方面,所述免疫球蛋白是人、鼠或兔来源的。

[0799] 术语“抗体片段”是指全长抗体的一部分,通常是靶标结合或可变区。抗体片段的例子包括Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>和Fv片段。“Fv”片段是含有完整靶标识别和结合位点的最小抗体片段。此区域由以紧密的非共价缔合的一个重链可变结构域和一个轻链可变结构域的二聚体(VH-VL二聚体)组成。正是以这种构型,每个可变结构域的三个CDR相互作用以限定出在VH-VL二聚体的表面上的靶标结合位点。通常,六个CDR赋予靶标对抗体的结合特异性。然而,在某些情况下,即使是单个可变结构域(或Fv的一半,仅包含三个对靶标特异的

CDR)也可具有识别和结合靶标的能力。“单链Fv”或“scFv”抗体片段在单多肽链中包含抗体的VH结构域和VL结构域。通常,Fv多肽进一步包含在VH结构域与VL结构域之间的多肽接头,所述多肽接头使得scFv能够形成用于抗原结合的所希望的结构。“单结构域抗体”由对靶标展现出足够亲和力的单VH或VL结构域构成。在具体的实施方案中,所述单结构域抗体是骆驼化抗体(参见例如Riechmann,1999,Journal of Immunological Methods 231:25-38)。

[0800] Fab片段含有轻链的恒定结构域和重链的第一恒定结构域(CH1)。Fab'片段与Fab片段的区别在于在重链CH1结构域的羧基末端(包括来自抗体铰链区的一或多个半胱氨酸)添加几个残基。F(ab')<sub>2</sub>片段是通过在F(ab')<sub>2</sub>胃蛋白酶消化产物的铰链半胱氨酸处的二硫键的裂解产生的。抗体片段的另外化学偶联是本领域普通技术人员已知的。

[0801] 轻链可变结构域和重链可变结构域两者具有互补性决定区(CDR),也称为高变区。可变结构域的更高保守性的部分称为框架区(FR)。如本领域中已知的,描绘抗体的高变区的氨基酸位置/边界可以变化,这取决于上下文和本领域中已知的各种定义。可变结构域内的一些位置可以被视为杂合高变位置,因为这些位置可在一组标准下被认为处在高变区之内,而在一组不同的标准下被认为处在高变区之外。这些位置中的一个或多个也可在延伸的高变区中找到。每条链中的CDR通过FR区紧密保持在一起并且与来自另一条链的CDR一起促成抗体的靶标结合位点的形成(参见Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest(National Institute of Health,Bethesda,Md.1987)。如本文所用,除非另外指出,否则根据Kabat等人的免疫球蛋白氨基酸残基编号系统进行免疫球蛋白氨基酸残基的编号。

[0802] 在某些实施方案中,本公开的ADC的抗体是单克隆抗体。术语“单克隆抗体”(mAb)是指这样的抗体,所述抗体来源于单个拷贝或克隆,包括例如任何真核、原核、或噬菌体克隆,而不是产生它的方法。优选地,本公开的单克隆抗体存在于同质或基本同质的群体中。单克隆抗体包括能够特异性结合蛋白质的完整分子以及抗体片段(例如Fab片段和F(ab')<sub>2</sub>片段)两者。Fab片段和F(ab')<sub>2</sub>片段缺少完整抗体的Fc片段(从动物循环中更快地清除),并且可具有比完整抗体更少的非特异性组织结合(Wahl等人,1983,J.Nucl.Med 24:316)。可用于本公开的单克隆抗体可以使用本领域中已知的多种多样的技术来制备,所述技术包括使用杂交瘤、重组体、以及噬菌体展示技术或其组合。本公开的抗体包括嵌合、灵长类动物源化、人源化或人类抗体。

[0803] 尽管在大多数情况下,抗体仅由遗传编码的氨基酸构成,但在一些实施方案中,可以特异性地掺入非编码的氨基酸。Tian等人,2014,Proc Nat'l Acad Sci USA 111(5):1766-1771和Axup等人,2012,Proc Nat'l Acad Sci USA 109(40):16101-16106(将其全部内容通过引用并入本文)中讨论了可以掺入抗体中用于控制化学计量和附接位置的非编码的氨基酸以及用于制造此类修饰抗体的方法的例子。

[0804] 在某些实施方案中,本文描述的ADC的抗体是嵌合抗体。如本文所用的术语“嵌合”抗体是指具有衍生自非人免疫球蛋白(例如大鼠或小鼠抗体)和人免疫球蛋白恒定区(典型地选自人免疫球蛋白模板)的可变序列的抗体。用于产生嵌合抗体的方法是本领域中已知的。参见例如Morrison,1985,Science 229(4719):1202-7;Oi等人,1986,BioTechniques 4:214-221;Gillies等人,1985,J.Immunol.Methods 125:191-202;美国专利号5,807,715;4,816,567;和4,816,397,将所述专利通过引用以其整体并入本文。

[0805] 在某些实施方案中,本文描述的ADC的抗体是人源化抗体。非人(例如,鼠)抗体的“人源化”形式是含有衍生自非人免疫球蛋白的最小序列的嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白链或其片段(例如抗体的Fv、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>或其他靶标结合子结构域)。通常,人源化抗体将包含至少一个并且典型地两个可变结构域的基本上全部,所述CDR区的全部或基本上全部对应于非人免疫球蛋白的那些,并且FR区的全部或基本上全部是人免疫球蛋白序列的那些人源化抗体还可包含免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分,典型地是人免疫球蛋白共有序列的一部分。抗体人源化的方法是本领域已知的。参见例如Riechmann等人,1988,Nature 332:323-7;美国专利号5,530,101;5,585,089;5,693,761;5,693,762;和美国专利号6,180,370,Queen等人;EP 239400;PCT公开WO 91/09967;美国专利号5,225,539;EP 592106;EP 519596;Padlan,1991,Mol.Immunol.,28:489-498;Studnicka等人,1994,Prot.Eng.7:805-814;Roguska等人,1994,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 91:969-973;和美国专利号5,565,332,将其全部通过引用以其整体特此并入。

[0806] 在某些实施方案中,本文描述的ADC的抗体是人类抗体。完全“人”抗体对于人患者的治疗性治疗可能是希望的。如本文所用,“人类抗体”包括具有人免疫球蛋白的氨基酸序列的抗体,并且包括从人免疫球蛋白文库中或从针对一种或多种人免疫球蛋白转基因的动物中分离的并且不表达内源性免疫球蛋白的抗体。人类抗体可通过本领域中已知的多种方法来制造,所述方法包括使用衍生自人免疫球蛋白序列的抗体文库的噬菌体展示方法。参见美国专利号4,444,887;4,716,111;6,114,598;6,207,418;6,235,883;7,227,002;8,809,151和美国公开申请号2013/189218,将其内容通过引用以其整体并入本文。人类抗体也可以使用转基因小鼠来产生,所述转基因小鼠不能表达功能内源性免疫球蛋白,但是可以表达人免疫球蛋白基因。参见例如美国专利号5,413,923;5,625,126;5,633,425;5,569,825;5,661,016;5,545,806;5,814,318;5,885,793;5,916,771;5,939,598;7,723,270;8,809,051和美国公开申请号2013/117871,将其通过引用以其整体并入本文。此外,可以聘请例如Medarex(新泽西州普林斯顿)、阿斯泰来制药公司(Astellas Pharma,伊利诺伊州迪尔菲尔德)和再生元公司(Regeneron,纽约州塔里敦)的公司,以使用类似于上面描述的技术来提供针对所选择的抗原的人类抗体。可以使用称为“指导选择”的技术来生成识别所选择的表位的完全人类抗体。在这种方法中,使用所选择的非人单克隆抗体(例如,小鼠抗体)来指导识别相同表位的完全人类抗体的选择(Jespersen等人,1988,Biotechnology 12:899-903)。

[0807] 在某些实施方案中,本文描述的ADC的抗体是灵长类动物源化抗体。术语“灵长类动物源化抗体”是指包含猴可变区和人恒定区的抗体。用于生产灵长类动物源化抗体的方法是本领域中已知的。参见例如美国专利号5,658,570;5,681,722;和5,693,780,将所述专利通过引用以其整体并入本文。

[0808] 在某些实施方案中,本文描述的ADC的抗体是双特异性抗体或双可变结构域抗体(DVD)。双特异性和DVD抗体是单克隆的、通常是人或人源化的抗体,所述抗体具有针对至少两种不同抗原的结合特异性。DVD例如描述于美国专利号7,612,181,将其公开内容通过引用并入本文。

[0809] 在某些实施方案中,本文描述的ADC的抗体是衍生抗体。例如但不限于,衍生抗体典型地是通过糖基化、乙酰化、聚乙二醇化、磷酸化、酰胺化、通过已知的保护/阻断基团的衍生化、蛋白水解切割、与细胞配体或其他蛋白质的连接等修饰的。多种化学修饰中的任何

一种可通过已知技术进行,所述技术包括但不限于特异性化学裂解、乙酰化、甲酰化、衣霉素的代谢合成等。另外,所述衍生物可以含有一种或多种非天然氨基酸,例如使用ambrx技术(参见例如Wolfson,2006,Chem.Biol.13(10):1011-2)。

[0810] 在某些实施方案中,本文描述的ADC的抗体具有这样的序列,所述序列已被修饰以相对于相应的野生型序列改变至少一种恒定区介导的生物学效应子功能。例如,在一些实施方案中,可以修饰所述抗体以相对于未修饰的抗体降低至少一种恒定区介导的生物学效应子功能,例如降低与Fc受体(FcR)的结合。可通过使抗体的免疫球蛋白恒定区的区段在对于FcR相互作用必需的特定区域突变来降低FcR结合(参见例如Canfield和Morrison,1991,J.Exp.Med 173:1483-1491;和Lund等人,1991,J.Immunol.147:2657-2662)。

[0811] 在某些实施方案中,相对于未修饰的抗体,本文描述的ADC的抗体被修饰以获得或改进至少一种恒定区介导的生物学效应子功能,例如以增强Fc $\gamma$ R相互作用(参见例如US 2006/0134709)。例如,可根据本文所描述的方法生产具有结合Fc $\gamma$ RIIA、Fc $\gamma$ RIIB和/或Fc $\gamma$ RIIIA的亲和力大于相应的野生型恒定区的恒定区的抗体。

[0812] 在某些具体实施方案中,本文所描述的ADC的抗体是结合肿瘤细胞的抗体,例如针对细胞表面受体或肿瘤相关抗原(TAA)的抗体。试图发现用于癌症诊断和疗法的有效细胞靶标,研究人员寻求鉴定出如与一种或多种正常非癌细胞相比在一种或多种特定类型的癌细胞的表面上特异性表达的跨膜多肽或在其他方面肿瘤相关多肽。通常,与非癌细胞的表面相比,此类肿瘤相关多肽更丰富地在癌细胞的表面上表达。此类细胞表面受体和肿瘤相关抗原是本领域已知的,并且可以使用本领域众所周知的方法和信息制备用于产生抗体。

[0813] 示例性细胞表面受体和TAA

[0814] 本文所描述的ADC的抗体可以靶向的细胞表面受体和TAA的例子包括但不限于下表1中列出的各种受体和TAA。为方便起见,与这些抗原有关的信息(所有这些信息都是本领域已知的)在以下列出,并且遵循美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information,NCBI)国家中心的核酸和蛋白质序列鉴定惯例,包括名称、替代名称,Genbank登录号和一个或多个主要参考文献。对应于所列出的细胞表面受体和TAA的核酸和蛋白质序列可在公共数据库(例如GenBank)中获得。

[0815] 表1.

[0816]

4-1BB
5AC
5T4
$\alpha$ -甲胎蛋白
血管生成素 2
ASLG659
TCL1
BMPR1B
短蛋白聚糖(BCAN, BEHAB)
C2-42 抗原
C5
CA-125
CA-125(仿制)
CA-IX(碳酸酐酶 9)
CCR4
CD140a
CD152
CD19
CD20
CD200
CD21 (C3DR) 1)
CD22(B 细胞受体 CD22-B 同种型)

[0817]

CD221
CD23(gE 受体)
CD28
CD30(TNFRSF8)
CD33
CD37
CD38(环状 ADP 核糖水解酶)
CD4
CD40
CD44 v6
CD51
CD52
CD56
CD70
CD72(Lyb-2, B 细胞分化抗原 CD72)
CD74
CD79a(CD79A, CD79 $\alpha$ , 免疫球蛋白相关 $\alpha$ )Genbank 登录号 NP_001774.10)
CD79b (CD79B, CD79 $\beta$ , B29)
CD80
CEA
CEA 有关抗原
ch4D5
CLDN18.2
CRIPTO(CR, CR1, CRGF, TDGF1 畸胎瘤来源的生长因子)
CTLA-4
CXCR5
DLL4
DR5
E16 (LAT1, SLC7A5) EGFL7
EGFR
EpCAM
EphB2R(DRT, ERK, Hek5, EPHT3, Tyro5)
Episialin
ERBB3
ETBR(内皮素 B 型受体)
FCRH1(Fc 受体样蛋白 1)
FcRH2(IFGP4, IRTA4, SPAP1, SPAP1B, SPAP1C, 含有 SH2 结构域的磷酸酶锚定蛋白)
纤连蛋白额外结构域-B

[0818]

叶酸受体 1
卷曲受体
GD2
[0260]
GD3 神经节苷脂
GEDA
GPNMB
HER1
HER2 (ErbB2)
HER2/neu
HER3
HGF
HLA-DOB
HLA-DR
人离散因子受体激酶
IGF-1 受体
IgG4
IL-13
IL20R $\alpha$ (IL20Ra, ZCYTOR7)
IL-6
ILGF2
ILFR1R
整合素 $\alpha$
整合素 $\alpha 5\beta 1$
整合素 $\alpha v\beta 3$
IRTA2(免疫球蛋白超家族受体易位相关 2, 基因染色体 1q21)
Lewis-Y 抗原
LY64 (RP105)
MCP-1
MDP (DPEP1)
MPF(MSLN, SMR, 间皮素, 巨核细胞强化因子)
MS4A1
MSG783(RNF124, 假设蛋白 FLJ20315)
MUC1
粘蛋白 CanAg
Napi3(NAPI-3B, NPTIIb, SLC34A2, II 型钠依赖型磷酸酯转运蛋白 3b)
NCA (CEACAM6)
P2X5(嘌呤能受体 P2X 配体门控离子通道 5)

PD-1
PDCD1
PDGF-R $\alpha$
前列腺特异性膜抗原
PSCA(前列腺干细胞抗原前体)
PSCA hlg
RANKL
RON
SDC1
Sema 5b
SLAMF7 (CS-1)
STEAP1
STEAP2(HGNC_8639, PCANAP1, STAMP1, STEAP2, STMP, 前列腺癌相关基因 1)
TAG-72
TEM1
[0819] 腱生蛋白 C
TENB2(TMEFF2, 土莫调节素, TPEF, HPP1, TR)
TGF- $\beta$
TRAIL-E2
TRAIL-R1
TRAIL-R2
TrpM4(BR22450, FLJ20041, TRPM4, TRPM4B, 瞬时受体电位阳离子通道超家族 M 成员 4)
TA CTAA16.88
TWEAK-R
TYRP1(糖蛋白 75)
VEGF
VEGF-A
EGFR-1
VEGFR-2
波形蛋白

[0820] 示例性抗体

[0821] 待用于本公开的ADC的示例性抗体包括但不限于3F8 (GD2)、阿巴伏单抗 (Abagovomab, CA-125 (仿制))、阿德木单抗 (Adecatumumab, EpCAM)、阿夫土珠 (Afutuzumab, CD20)、培阿珠单抗 (Alacizumab pegol, VEGFR2)、ALD518 (IL-6)、Alemtuzumab (CD52)、喷替酸阿妥莫单抗 (Altumomab pentetate, CEA)、阿麦妥昔单抗 (Amatuximab, 间皮素)、马安那莫单抗 (Anatumomab mafenatox, TAG-72)、阿泊珠单抗 (Apolizumab, HLA-DR)、阿西莫单抗 (Arcitumomab, CEA)、巴维昔单抗 (Bavituximab, 磷脂酰丝氨酸)、贝妥莫单抗 (Bectumomab, CD22)、贝利木单抗 (BAFF)、贝索单抗 (Besilesomab, CEA有关抗原)、贝伐珠单抗 (VEGF-A)、莫比伐珠单抗 (Bivatuzumab mertansine, CD44v6)、博纳吐单抗

(Blinatumomab,CD19)、本妥昔单抗(Brentuximab vedotin, (CD30 (TNFRSF8))、莫坎妥珠单抗(Cantuzumab mertansine,粘蛋白CanAg)、坎妥单抗瑞伐坦(Cantuzumab ravtansine, MUC1)、卡罗单抗喷地肽(Capromab pendetide,前列腺癌细胞)、卡鲁单抗(Carlumab,MCP-1)、卡妥索单抗(EpCAM,CD3)、CC49(Tag-72)、cBR96-DOX ADC (Lewis-Y抗原)、西妥昔单抗(EGFR)、泊西他珠单抗(Citatuzumab bogatox,EpCAM)、西妥木单抗(Cixutumumab,IGF-1受体)、Clivatuzumab tetraxetan (MUC1)、可那妥木单抗(Conatumumab,TRAIL-E2)、达西珠单抗(Dacetuzumab,CD40)、达洛珠单抗(Dalotuzumab,胰岛素样生长因子1受体)、Deratumumab ((CD38 (环状ADP核糖水解酶))、登西珠单抗(Demcizumab,DLL4)、地诺单抗(Denosumab,RANKL)、地莫单抗(Detumomab,B-淋巴瘤细胞)、卓齐妥单抗(Drozitumab,DR5)、杜昔单抗(Dusigitumab,ILGF2)、依美昔单抗(Ecromeximab,D3神经节苷脂)、依库丽单抗(C5)、依决洛单抗(Edrecolomab,EpCAM)、艾洛珠单抗(Elotuzumab,SLAMF7)、艾西莫单抗(Elsilimomab,IL-6)、Enavatuzumab (TWEAK受体)、Enoticumab (DLL4)、恩司昔单抗(Ensituximab,5AC)、西依匹莫单抗(Epitumomab cituxetan,Episialin)、依帕珠单抗(Epratuzumab,CD22)、厄妥索单抗(Ertumaxomab, (HER2/neu,CD3))、Etancizumab (整合素 $\alpha$ v $\beta$ 3)、法勒珠单抗(Farletuzumab,叶酸受体1)、FBTA05 (CD20)、Ficlatuzumab (HGF)、芬妥木单抗(Figitumumab,IGF-1受体)、Flanvotumab ((TYRP1 (糖蛋白75))、夫苏木单抗(Fresolimumab,TGF-1)、加利昔单抗(Galiximab,CD80)、Ganitumab (IGF-I)、吉妥珠单抗奥佐米星(CD33)、Girentuximab ((碳酸酐酶9 (CA-IX))、Glebatumumab vedotin (GPNMB)、异贝莫单抗替坦(CD20) Icrucumab (VEGFR-1)、Igovomab (CA-125)、IMAB362 (CLDN18.2)、英戈士珠单抗(Imgatuzumab,EGFR)、Indatuximab ravtansine (SDC1)、英妥木单抗(Intetumumab,CD51)、奥英妥珠单抗(Inotuzumab ozogamicin,CD22)、易普利姆玛(Ipilimumab,CD152)、伊拉妥木单抗(Iratumumab, (CD30 (TNFRSF8))、拉贝珠单抗(Labetuzumab,CEA)、派姆单抗(Lambrolizumab,PDCD1)、来沙木单抗(Lexatumumab,TRAIL-R2)、林妥珠单抗(Lintuzumab,CD33)、Lorvotuzumab mertansine (CD56)、鲁卡木单抗(Lucatumumab,CD40)、鲁昔单抗(Lumiliximab, (CD23 (IgE受体))、马帕木单抗(Mapatumumab,TRAIL-R1)、Margetuximab (ch4DS)、马妥珠单抗(Matuzumab,EGFR)、米拉珠单抗(Milatuzumab,CD74)、米妥莫单抗(Mitumomab,GD3神经节苷脂)、莫加珠单抗(Mogamulizumab,CCR4)、Moxetumomab pasudotox (CD22)、他那可单抗(Nacolomab tafenatox,C2-42抗原)、伊那莫单抗(Naptumomab estafenatox,5T4)、纳瑞特单抗(Narnatumab,RON)、那他珠单抗(整合素 $\alpha$ 4)、耐昔妥珠单抗(Necitumumab,EGFR)、Nesvacumab (血管生成素2)、尼妥珠单抗(Nimotuzumab,EGFR)、纳武单抗(Nivolumab, IgG4)、奥卡拉珠单抗(Ocaratuzumab,CD20)、奥法木单抗(Ofatumumab,CD20)、奥拉单抗(Olaratumab,PDGF-R $\alpha$ )、奥那妥珠单抗(Onartuzumab,人离散因子受体激酶)、昂妥昔珠单抗(Ontuxizumab,TEM1)、蒙托-奥珀妥珠单抗(Oportuzumab monato,EpCAM)、奥戈伏单抗(Oregovomab,CA-125)、奥乐妥珠单抗(Otlertuzumab,CD37)、帕尼单抗(EGFR) Pankomab (MUC1的肿瘤特异性糖基化)、帕萨妥珠单抗(Parsatuzumab,EGFL7)、帕曲妥单抗(Patritumab,HER3)、Pemtumomab (MUC1)、帕妥珠单抗(HER2/neu)、匹地利珠单抗(Pidilizumab,PD-1)、维汀-匹那妥珠单抗(Pinatuzumab vedotin,CD22)、普托木单抗(Pritumumab,波形蛋白)、雷考妥莫单抗(Racotumomab,N-乙醇酰基神经氨酸)、雷曲妥单抗

(Radretumab, 纤连蛋白额外结构域-B)、雷莫芦单抗 (Ramucirumab, VEGFR2)、瑞洛妥木单抗 (Rilotumumab, HGF)、利妥昔单抗 (CD20)、洛巴妥木单抗 (Robatumumab, IGF-1受体)、萨玛利珠单抗 (Samalizumab, CD200)、Satumomab pendetide (TAG-72)、瑟瑞妥单抗 (Seribantumab, ERBB3)、西罗珠单抗 (Sibrotuzumab, FAP)、SGN-CD19A (CD19)、SGN-CD33A (CD33)、司妥昔单抗 (Siltuximab, IL-6)、索利托单抗 (Solitomab, EpCAM)、索耐珠单抗 (Sonepcizumab, 鞘氨醇-1-磷酸酯)、Tabalumb (BAFF)、替他珠单抗 (Tacatumumab tetraxetan,  $\alpha$ -甲胎蛋白)、帕他普莫单抗 (Taplitumomab paptox, CD19)、替妥莫单抗 (Tenatumomab, 腱生蛋白C)、特普妥木单抗 (Teprotumumab, CD221)、TGN1412 (CD28)、替西木单抗 (CTLA-4)、替加妥珠单抗 (Tigatumumab, TRAIL-R2)、TNX-650 (IL-13)、托维妥单抗 (Tovetumab, CD40a)、曲妥珠单抗 (HER2/neu)、TRBS07 (GD2)、曲美木单抗 (CTLA-4)、土库珠单抗西莫介白素 (Tucotuzumab celmoleukin, EpCAM)、乌利妥昔单抗 (Ublituximab, MS4A)、乌瑞鲁单抗 (Urelumab, 4-1BB)、凡德他尼 (VEGF)、万替妥单抗 (Vantictumab, 卷曲受体)、伏洛昔单抗 (Volociximab, 整合素 $\alpha 5\beta 1$ )、玛汀-沃瑟妥珠单抗 (Vorsetuzumab mafodotin, CD70)、伏妥莫单抗 (Votumumab, 肿瘤抗原CTAA16.88)、扎鲁木单抗 (Zalutumumab, EGFR)、扎诺利木单抗 (Zanolimumab, CD4)、和扎妥昔单抗 (Zatuximab, HER1)。

#### [0822] 制造抗体的方法

[0823] 可通过在宿主细胞中重组表达免疫球蛋白轻链和重链基因来制备ADC的抗体。例如,为了重组表达抗体,用一个或多个携带编码抗体的免疫球蛋白轻链和重链的DNA片段的重组表达载体转染宿主细胞,使得轻链和重链在宿主细胞中表达,并且任选地,分泌到培养宿主细胞的培养基中,可以从其中回收抗体。使用标准重组DNA方法来获得抗体重链和轻链基因,将这些基因掺合到重组表达载体中并且将载体引入宿主细胞中,例如在Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第二版 (Sambrook, Fritsch和Maniatis (编辑), Cold Spring Harbor, N.Y., 1989)、Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel, F.M.等人, 编辑, Greene Publishing Associates, 1989) 和美国专利号4,816,397中描述的那些。

[0824] 在一个实施方案中, Fc变体抗体与它们的野生型等同物类似,但是它们的Fc结构域发生改变。为了产生编码此类Fc变体抗体的核酸,可以合成编码野生型抗体的Fc结构域(称为“野生型Fc结构域”)或Fc结构域的一部分的DNA片段,并且将其用作诱变模板以使用常规诱变技术产生本文所描述的抗体;可选地,可以直接合成编码所述抗体的DNA片段。

[0825] 一旦获得编码野生型Fc结构域的DNA片段,就可通过标准重组DNA技术进一步操纵这些DNA片段,例如以将恒定区基因转化为全长抗体链基因。在这些操纵中,将编码CH的DNA片段可操作地连接至编码另一种蛋白质的另一种DNA片段,例如抗体可变区或柔性接头。如在此上下文中所用的术语“可操作地连接”旨在意指连接两个DNA片段,使得由这两个DNA片段编码的氨基酸序列保留在框架内。

[0826] 为了表达Fc变体抗体,将如上面所描述获得的编码部分或全长轻链和重链的DNA插入表达载体中,使得所述基因可操作地连接至转录和翻译控制序列。在此上下文中,术语“可操作地连接”旨在意指将抗体基因连接到载体中,使得所述载体内的转录和翻译控制序列发挥其预期的调节抗体基因的转录和翻译的功能。表达载体和表达控制序列被选择为与所用的表达宿主细胞相容。可以将变体抗体轻链基因和抗体重链基因插入单独的载体中,或更典型地,将两个基因插入相同的表达载体中。

[0827] 通过标准方法(例如,将抗体基因片段和载体上的互补限制性位点连接,或如果不存在限制性位点则平端连接)将所述抗体基因插入表达载体中。在插入变异Fc结构域序列之前,表达载体可以已经携带抗体可变区序列。另外地或可选地,所述重组表达载体可以编码促进抗体链从宿主细胞分泌的信号肽。可以将抗体链基因克隆到载体中,使得所述信号肽在框内连接至抗体链基因的氨基末端。所述信号肽可以是免疫球蛋白信号肽或异源信号肽(即,来自非免疫球蛋白的蛋白质的信号肽)。

[0828] 除了抗体链基因之外,所述重组表达载体还携带调节序列,所述调节序列控制抗体链基因在宿主细胞中的表达。术语“调节序列”旨在包括控制抗体链基因的转录或翻译的启动子、增强子和其他表达控制元件(例如,聚腺苷酸化信号)。此类调节序列描述于例如Goeddel, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185(Academic Press, San Diego, Calif., 1990)。本领域技术人员应理解,表达载体的设计(包括调节序列的选择)可以取决于例如待转化的宿主细胞的选择、所希望的蛋白质的表达水平等因素。用于哺乳动物宿主细胞表达的合适调节序列包括在哺乳动物细胞中指导高水平蛋白质表达的病毒元件,例如来源于以下的启动子和/或增强子:巨细胞病毒(CMV)(例如CMV启动子/增强子)、猴病毒40(SV40)(例如SV40启动子/增强子)、腺病毒,(例如,腺病毒主要晚期启动子(AdMLP))和多瘤病毒。对于病毒调节元件及其序列的进一步描述,参见例如美国专利号5,168,062, Stinski, 美国专利号4,510,245, Bell等人, 和美国专利号4,968,615, Schaffner等人。

[0829] 除了抗体链基因以及调节序列之外,所述重组表达载体携带还可以携带另外的序列,例如在宿主细胞中调节载体复制的序列(例如,复制起点)和选择性标记基因。所述选择性标记基因有助于选择其中已引入载体的宿主细胞(参见例如美国专利号4,399,216、4,634,665和5,179,017,均为Axel等人的)。例如,典型地,所述选择性标记基因对其中已经引入载体的宿主细胞赋予对药物(例如G418、嘌呤霉素、杀稻瘟菌素、潮霉素或氨基蝶呤)的抗性。合适的选择性标记基因包括二氢叶酸还原酶(DHFR)基因(用于在用甲氨蝶呤选择/扩增的DHFR宿主细胞中使用)和neo基因(用于G418选择)。对于轻链和重链的表达,通过标准技术将编码重链和轻链的一个或多个表达载体转染到宿主细胞中。术语“转染”的各种形式旨在涵盖通常用于将外源DNA引入原核或真核宿主细胞中的多种多样的技术,例如电穿孔、脂质转染、磷酸钙沉淀、DEAE-右旋糖酐转染等。

[0830] 可在原核或真核宿主细胞中表达抗体。在某些实施方案中,抗体的表达在真核细胞(例如,哺乳动物宿主细胞)中进行,以最佳地分泌正确折叠和具有免疫活性的抗体。用于表达重组抗体的示例性哺乳动物宿主细胞包括中国仓鼠卵巢(Chinese Hamster Ovary, CHO细胞)(包括DHFR-CHO细胞,描述于Urlaub和Chasin, 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220, 与DHFR选择性标记一起使用,例如,如描述于Kaufman和Sharp, 1982, Mol. Biol. 159:601-621)、NS0骨髓瘤细胞、COS细胞、293细胞和SP2/0细胞。当将编码抗体基因的重组表达载体引入哺乳动物宿主细胞中时,通过将所述宿主细胞培养持续足以允许在宿主细胞中表达所述抗体或将所述抗体分泌到其中生长宿主细胞的培养基中的时间段来生产抗体。可以使用标准蛋白质纯化方法从培养基中回收抗体。宿主细胞还可以用来生产完整抗体的部分,如Fab片段或scFv分子。

[0831] 在一些实施方案中,ADC的抗体可以是双功能抗体。可通过标准化学交联方法,通

过将使一种抗体与第二抗体交联来生产其中一条重链和一条轻链针对一种抗原具有特异性并且另一条重链和轻链针对第二种抗原具有特异性的此类抗体。双功能抗体还可通过表达被工程化以编码双功能抗体的核酸来制造。

[0832] 在某些实施方案中,可通过使轻链和/或重链CDR中的氨基酸残基突变来生产双特异性抗体,即,使用同一结合位点结合一种抗原和第二不相关抗原的抗体。示例性第二抗原包括促炎细胞因子(例如淋巴毒素、干扰素- $\gamma$ 或白介素-1)。可以例如通过使抗原结合位点外围的氨基酸残基突变来生产双特异性抗体(参见例如Bostrom等人,2009,Science 323:1610-1614)。双功能抗体可通过表达被工程化以编码双特异性抗体的核酸来制造。

[0833] 抗体也可通过化学合成来生产(例如,通过在Solid Phase Peptide Synthesis,第2版,1984The Pierce Chemical Co.,Rockford,Ill.中描述的方法)。也可以使用无细胞平台来生成抗体(参见例如Chu等人,Biochemia No.2,2001(Roche Molecular Biologicals))。

[0834] 用于重组表达Fc融合蛋白的方法描述于Flanagan等人,Methods in Molecular Biology,第378卷:Monoclonal Antibodies:Methods and Protocols。

[0835] 一旦已通过重组表达产生抗体,就可通过本领域中已知用于纯化免疫球蛋白分子的任何方法将其纯化,例如通过色谱法(例如,离子交换,亲和力、特别是在蛋白质A或蛋白质G选择后对抗原的亲和力,和尺寸分析柱色谱法)、离心、差别溶解度、或通过用于蛋白质纯化的任何其他标准技术。

[0836] 一旦分离,就可以将抗体(如果希望)例如通过高效液相色谱法(参见例如Fisher,Laboratory Techniques In Biochemistry And Molecular Biology(Work和Burdon,编辑,Elsevier,1980))或通过在SuperdexTM75柱(Pharmacia Biotech AB,瑞典乌普萨拉)上的凝胶过滤色谱法进一步纯化。

[0837] 成像化合物和传感器

[0838] 在某些实施方案中,本文提供了所公开的化合物在成像组合物中和作为传感器的用途。

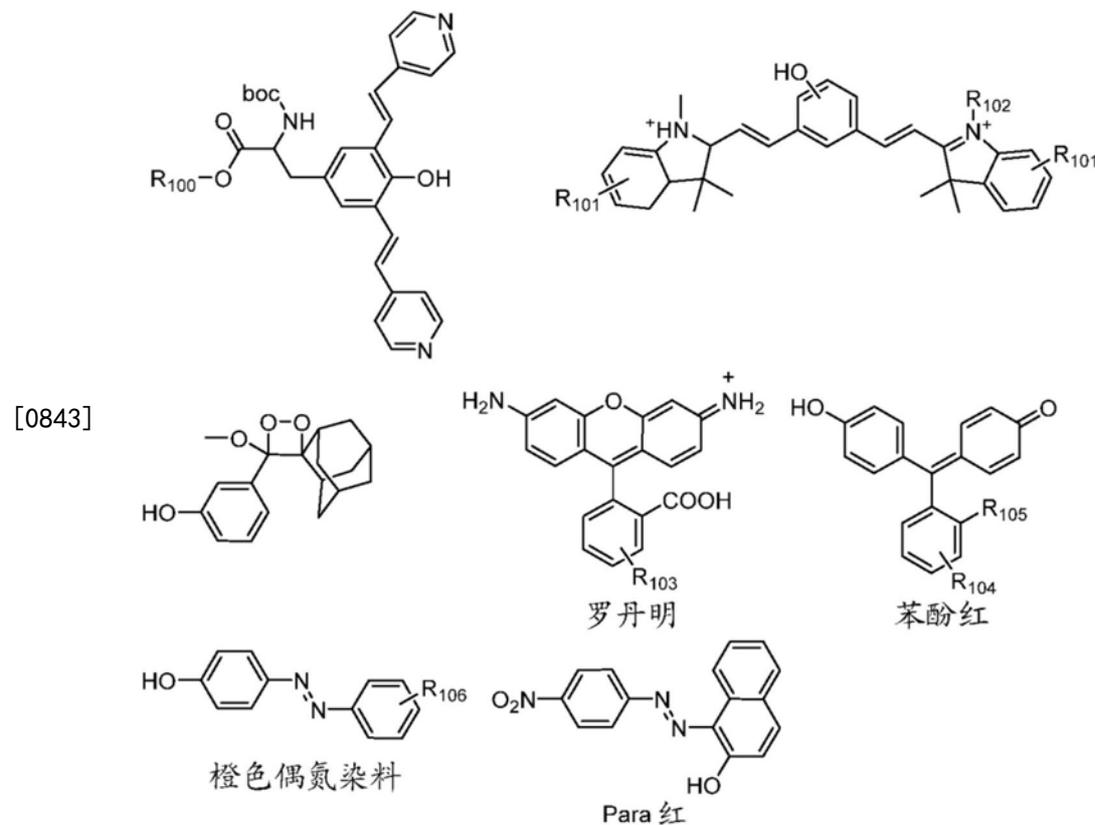
[0839] 所述传感器可以是生物传感器、化学传感器或分子开关。生物传感器能够通过使特定材料(例如,癌细胞、病毒、各种化学物等)与具有选择特异性的生物受体(被设计成能够吸附例如DNA、RNA、抗体、酶蛋白、细胞、生物膜、激素受体等生物材料并且与其反应的部分)反应并且使用信号转换器(使用各种方法将特定材料与生物受体之间的反应转化为电信号的装置)执行测量来鉴定特定材料的存在或量,并且可以用于医疗、环境、加工工业、军事(化学战)、研究、食品等(参见例如,Biosensors and Bioelectronics,2016,32-45;Pol.J.Environ.Stud.2015,19-25;Analytica Chimica Acta 568(2006)200-210;Biosensors and Bioelectronics 2017,217-231;ACS Appl.Mater.Interfaces 2015,7,20190-20199;Journal of Coastal Life Medicine 2016;4(3):200-202;Artificial Cells,Blood Substitutes,and Biotechnology,39:281-288;Journal of Controlled Release 159(2012)154-163)。

[0840] 化学传感器在例如临床诊断、医学研究、化学材料测量、环境测量等许多领域中通过使用例如电、电阻、电位差等电学特性和例如颜色、荧光等光学特性的方法快速并且准确地监测特定材料,并且包括气体传感器(氢气、氧气、一氧化碳)、离子传感器(阳离子、阴离

子、气体敏感离子)、组分传感器(气相、液相、发光组分)、湿度传感器(相对湿度、绝对湿度、冷凝)、粉尘/烟灰传感器(浮尘、污尘、烟灰、浊度)等(参见例如Chem.Soc.Rev.,2015,44,3358;Journal of the Korean Chemical Society,2010,451-459;Chem.Sci.,2015,6,1150-1158;KR 10-1549347;J.Phys.Chem.B 2016,120,7053-7061;ACS Appl.Mater.Interfaces 2015,7,704-712;J.Am.Chem.Soc.2011,133,10960-10965;J.Am.Chem.Soc.2012,134,20412-20420;Org.Lett.2014,16,1680-1683;J.Org.Chem.2013,78,702-705;J.Org.Chem.2015,80,12129-12136;ACS Macro Lett.2014,3,1191-1195;New J.Chem.,2012,36,386-393;Chem.Commun.,2010,46,6575-6577;2013)。

[0841] 分子开关是可在两个或更多个稳定状态之间可逆地切换的分子。所述分子可以响应于环境刺激而在多个状态之间切换,所述环境刺激例如化学环境(例如pH)的变化、光辐照(例如特定波长的光)、温度、电流、微环境、或配体的存在。在一些情况下,多个状态之间的切换可以取决于刺激的组合。最老的合成分子开关形式是pH指示剂,其根据pH显示不同的颜色。合成分子开关可以应用于分子计算机或响应性药物递送系统。分子开关在生物学中也很重要,因为许多生物学功能都基于它们,例如变构调节和视觉。

[0842] 此类生物传感器、化学传感器和分子开关还可包含额外的光反应性部分,例如罗丹明、苯酚红、橙色偶氮染料、papa红、非磺化花青、磺化花青、化学发光氟化物传感器(1,2-二氧杂环丁烷衍生物)、和D2A染料(NIR荧光染料)。可选地,所述光反应性部分可选自具有与以下类似的官能团和结构的化合物:



[0844] 其中:

[0845]  $R_{100}$  是H或 $C_1-C_6$ 烷基;

[0846]  $R_{101}$ 是H或 $SO_3H$ ;  $R_{102}$ 是 $C_1-C_6$ 烷基或 $-(CH_2)_zCOOH$ ;

[0847]  $z$ 是3至8的整数;

[0848]  $R_{103}$ 和 $R_{104}$ 各自独立地是H或 $C_1-C_6$ 烷基;并且

[0849]  $R_{105}$ 和 $R_{106}$ 各自独立地是氢、 $COOH$ 或 $SO_3H$ 。

[0850] 另外的光反应性部分是本领域中已知的。参见例如Org.Lett.2014,16,1680-1683;J.Am.Chem.Soc.2011,133,10960-10965;Dye Lasers,第3版。(Springer-Verlag, Berlin,1990);J.Am.Chem.Soc.2012,134,20412-20420)。

[0851] 治疗方法

[0852] 靶标定向治疗

[0853] 缀合物的靶向部分可以被细胞识别,从而提供所谓的靶标定向治疗。

[0854] 在一些实施方案中,所述缀合物包含活性剂,其用于在靶标定向治疗中使用以治疗自身免疫性疾病。在一些此类实施方案中,活性剂选自:环孢霉素、环孢霉素A、吗替麦考酚酯(mycophenylate mofetil)、西罗莫司、他克莫司、依那西普(enanercept)、泼尼松、咪唑硫嘌呤、氨甲蝶呤环磷酰胺、氨基己酸、氯喹、羟基氯喹、氢化可的松、地塞米松、氯氨布西、DHEA、达那唑、溴麦角环肽、美洛昔康、英利昔单抗等。

[0855] 在一些实施方案中,所述化合物包含活性剂Q,其用于在靶标定向治疗中使用以用于治疗感染性疾病。在一些此类实施方案中,Q选自: $\beta$ -内酰胺系列(盘尼西林G、盘尼西林V、氯洒西林、双氯西林、甲氧西林、萘夫西林、苯唑西林、氨比西林、阿莫西林、巴氨西林、阿洛西林、羧苄西林、美洛西林、哌拉西林、替卡西林)、氨基糖苷系列(阿米卡星、庆大霉素、卡那霉素、新链丝菌素、奈替米星、链霉素、妥布霉素)、大环内酯系列(阿奇霉素、克拉霉素、红霉素、林可霉素、克林霉素)、四环素系列(地美环素、强力霉素、米诺环素、四环素)、喹诺酮系列(西诺沙星、萘啶酸)、氟喹诺酮系列(环丙沙星、依诺沙星、格雷沙星、左氧氟沙星、洛美沙星、诺氟沙星、氧氟沙星、司帕沙星、曲伐沙星(trovafloxacin))、多肽系列(杆菌肽、粘菌素、多粘菌素B)、磺酰胺系列(磺胺异恶唑、磺胺甲恶唑、磺胺嘧啶、磺胺甲二唑、磺乙酰胺)、其他抗生素(甲氧苄啶、磺胺甲噁唑、氯霉素、万古霉素、灭滴灵、奎奴普丁、达福普丁、利福平、壮观霉素、呋喃妥因)、通用抗病毒剂(碘苷、阿糖腺苷、阿昔洛韦、泛昔洛韦、盘尼昔洛韦(penciclovir)、伐昔洛韦、格西昔洛韦(ganciclovir)、膦甲酸(foscarnet)、利巴韦林、金刚烷胺、金刚乙胺、西多福韦、反义寡核苷酸、免疫球蛋白、干扰素(interferons))、HIV感染治疗剂(替诺福韦、恩曲他滨、齐多夫定、地达诺新、扎西他滨、司他夫定、拉米夫定、奈韦拉平、德拉维拉丁(delaviridine)、沙奎那韦、利托那韦、茚地那韦、奈非那韦)等。

[0856] 在一些实施方案中,本文公开的化合物和缀合物包含活性剂Q,其用于在用于将活性剂递送至细胞以治疗肿瘤的方法中使用,其中所述靶向部分被选择为与靶细胞(即,癌细胞)结合。特别地,本发明的化合物、缀合物和组合物可用于在哺乳动物(例如,人)中抑制异常细胞生长或治疗增生性疾病,例如当靶细胞是癌细胞并且靶向部分被选择以结合至与所述癌细胞相关(而不与健康细胞相关或至少优先与肿瘤细胞而不是健康细胞相关)的分子。

[0857] 在一些此类实施方案中,所述活性剂选自:细胞毒性或免疫调节剂、抗癌剂、抗管蛋白剂、细胞毒性剂等。优选地,所述细胞毒性或免疫调节剂包括抗微管蛋白剂、奥瑞他汀、DNA小沟结合剂、DNA转录抑制剂、烷基化剂、蒽环、抗生素(antibiotic)、抗叶酸剂、抗代谢药、钙调蛋白抑制剂、化学疗法致敏剂、倍癌霉素、依托泊苷、氟化嘧啶、离子载体、莱希菌

素、美登木素生物碱、亚硝基脲、顺氯氨铂、成孔化合物、嘌呤抗代谢药、嘌呤霉素、辐射致敏剂、雷帕霉素、类固醇、紫杉烷、拓扑异构酶抑制剂、长春花生物碱等；抗癌剂包括氨甲蝶呤、他克唑 (taxol)、L-天冬酰胺酶、巯基嘌呤、硫代鸟嘌呤、羟基脲、阿糖胞苷、环磷酰胺、异环磷酰胺、亚硝基脲、顺铂、卡铂、丝裂霉素、达卡巴嗪、甲基苄肼 (procarbazine)、拓扑替康、氮芥、癌得星 (cytoxan)、依托泊苷、5-氟尿嘧啶、BCNU、伊立替康、喜树碱、博来霉素、多柔比星、伊达比星、道诺霉素、更生霉素、普卡霉素、米托蒽醌、天冬酰胺酶、长春花碱、长春新碱、长春瑞滨、紫杉醇、多西他赛等；抗微管蛋白剂包括紫杉烷 (例如, 紫杉醇、多西他赛)、T67、长春花生物碱 (例如, 长春新碱、长春花碱、长春地辛、长春瑞滨)、巴卡丁 (baccatin) 衍生物、紫杉烷衍生物、埃博霉素 (例如, 埃博霉素A、埃博霉素B)、诺考达唑、秋水仙碱、秋水仙胺、雌氮芥、羧酸肽、西马多丁 (cemadotin)、美登木素生物碱、康布瑞汀 (combrestatin)、圆皮海绵内酯 (discodermolide)、软珊瑚醇、奥瑞他汀衍生物 (AFP、MMAF、MMAE) 等；细胞毒性剂包括雄激素、安曲霉素 (AMC)、天冬酰胺酶、5-氮杂胞苷、咪唑硫嘌呤、博来霉素、白消安、丁硫氨酸亚砷胺 (buthionine sulfoximine)、卡奇霉素、卡奇霉素衍生物、喜树碱、卡铂、卡莫司汀 (BSNU)、CC-1065、chlorambucin、顺铂、秋水仙碱、环磷酰胺、阿糖胞苷、胞苷阿拉伯糖苷、细胞松弛素B、达卡巴嗪、更生霉素 (放线菌素)、道诺霉素、钨烯咪胺 (decarbazine)、DM1、DM4、多西他赛、多柔比星、依托泊苷、雌激素、5-氟脱氧尿苷、5-氟尿嘧啶、吉西他滨、短杆菌肽D、羟基脲、伊达比星、异环磷酰胺、伊立替康、洛莫司汀 (CCNU)、美登素、二氯甲基二乙胺、美法仑、6-巯基嘌呤、氨甲蝶呤、光神霉素、丝裂霉素C、米托蒽醌、硝基咪唑、紫杉醇、沙海葵毒素 (palytoxin)、普卡霉素、甲基苄肼 (procarbazine)、根霉素、链脲霉素、鬼臼噻吩甙 (tenoposide)、6-硫代鸟嘌呤、硫代TEPA、拓扑替康、长春花碱、长春新碱、长春瑞滨、VP-16、VM-26；DNA小沟结合剂 (例如, 烯二炔、莱希菌素、CBI化合物)、倍癌霉素、紫杉烷 (例如, 紫杉醇、多西他赛)、嘌呤霉素、长春花生物碱、CC-1065、SN-38、拓扑替康、吗啉代-多柔比星、根霉素、氰基吗啉代-多柔比星、棘霉素 (echinomycin)、康普瑞汀 (combretastatin)、纺锤菌素、埃博霉素A、埃博霉素B、雌氮芥、念珠藻素、西马多丁、美登木素生物碱、圆皮海绵内酯、软珊瑚醇、米托蒽醌等。

#### [0858] 细胞增殖和凋亡

[0859] 本文公开的化合物和缀合物可以用于诱导细胞凋亡的方法中。

[0860] 细胞凋亡失调牵涉到多种疾病有关, 包括例如自身免疫性疾病 (例如, 全身性红斑狼疮、类风湿性关节炎、移植物抗宿主病、重症肌无力、或舍格伦综合征)、慢性炎症疾患 (例如, 牛皮癣、哮喘或克罗恩氏病)、过度增生性疾病 (例如, 乳腺癌、肺癌)、病毒感染 (例如, 疱疹、乳头状瘤、或HIV), 和其他疾患, 例如骨关节炎和动脉粥样硬化。本文所描述的化合物、缀合物和组合物可用于治疗或减轻这些疾病中的任何一种。此类治疗通常涉及向患有疾病的受试者施用足以提供治疗益处的量的本文所描述的化合物、缀合物或组合物。所施用的化合物、缀合物或组合物的抗体的身份将取决于所治疗的疾病-因此所述抗体应结合在抑制作用会有益的细胞类型中表达的细胞表面抗原。所获得的治疗益处还将取决于所治疗的特定疾病。在某些情况下, 当作为单一疗法施用时, 本文公开的化合物和组合物可以治疗或减轻疾病本身或疾病的症状。在其他情况下, 本文公开的化合物和组合物可以是总体治疗方案的一部分, 包括其他药剂, 所述其他药剂与本文公开的抑制剂或化合物和组合物一起治疗或减轻所治疗的疾病或疾病的症状。可辅助本文公开的化合物和组合物而施用

或与其一起施用的可用于治疗或减轻特定疾病的药剂对于本领域技术人员将是显而易见的。

[0861] 尽管绝对治愈在任何治疗方案中始终都是理想的,但是不需要实现治愈来提供治疗益处。治疗益处可包括中止或减缓疾病的进程、使疾病消退而不治愈、和/或减轻或减缓疾病的症状的进程。与统计平均值相比延长的生存期和/或改善的生活质量也可以被认为是治疗益处。

[0862] 一类具体的涉及细胞凋亡失调并且在全球范围内作为显著健康负担的疾病是癌症。在具体的实施方案中,本文公开的化合物和组合物可用于治疗癌症。癌症可以是例如实体瘤或血液肿瘤。可用本文公开的化合物和组合物治疗的癌症包括但不限于膀胱癌、脑癌、乳腺癌、骨髓癌、宫颈癌、慢性淋巴细胞性白血病、结直肠癌、食道癌、肝细胞癌、淋巴瘤细胞性白血病、滤泡性淋巴瘤、T细胞或B细胞起源的淋巴恶性肿瘤、黑素瘤、骨髓性白血病、骨髓瘤、口腔癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、慢性淋巴细胞性白血病、骨髓瘤、前列腺癌、小细胞肺癌和脾癌症。本文公开的化合物和组合物在癌症的治疗中可能尤其有益,因为所述抗体可用于特异性地靶向肿瘤细胞,从而潜在地避免或减轻可能与未缀合抑制剂的全身施用相关的不希望的副作用和/或毒性。一个实施方案涉及一种治疗涉及固有细胞凋亡失调的疾病的方法,所述方法包括向患有涉及细胞凋亡失调的疾病的受试者施用有效提供治疗益处的本文公开的量的化合物和组合物,其中本文公开的化合物和组合物的配体结合在其固有细胞凋亡失调的细胞上的细胞表面受体。一个实施方案涉及一种治疗癌症的方法,所述方法包括向患有癌症的受试者施用有效提供治疗益处的量的本文公开的化合物和组合物,其中所述配体能够结合在癌细胞的表面上表达的细胞表面受体或肿瘤相关抗原。

[0863] 在致癌性癌症的背景下,与所治疗的癌症的类型和阶段的统计平均值相比,除包括上面讨论的作用外,治疗益处还可以具体包括阻止或减缓肿瘤生长的进程、使肿瘤生长消退、根除一个或多个肿瘤和/或增加患者生存率。在一个实施方案中,所治疗的癌症是致癌性癌症。

[0864] 本文公开的化合物和缀合物可以作为单一疗法施用以提供治疗益处,或者可以辅助其他化学治疗剂和/或辐射疗法施用或与其一起施用。其中本文公开的化合物和组合物可用作辅助疗法的化学治疗剂可以是靶向的(例如,ADC、蛋白激酶抑制剂等)或非靶向的(例如,非特异性细胞毒性剂,例如放射性核苷酸、烷基化剂和插层剂)。可与辅助地施用的本文公开的化合物和组合物一起的非靶向化学治疗剂包括但不限于氨甲蝶呤、他克唑、L-天冬酰胺酶、巯基嘌呤、硫代鸟嘌呤、羟基脲、阿糖胞苷、环磷酰胺、异环磷酰胺、亚硝基脲、顺铂、卡铂、丝裂霉素、达卡巴嗪、甲基苄肼、拓扑替康、氮芥、癌得星、依托泊苷、5-氟尿嘧啶、BCNU、伊立替康、喜树碱、博来霉素、多柔比星、伊达比星、道诺霉素、更生霉素、普卡霉素、米托蒽醌、天冬酰胺酶(asperaginase)、长春花碱、长春新碱、长春瑞滨、紫杉醇、卡奇霉素和多西他赛。

[0865] 可不作为单一疗法以有效治疗癌症的本文公开的化合物和缀合物可以辅助其他化学治疗剂或辐射疗法施用或与其一起施用以提供治疗益处。一个实施方案涉及一种方法,其中以有效使肿瘤细胞对标准化学疗法和/或辐射疗法敏感的量施用本文公开的化合物或组合物。因此,在治疗癌症的上下文中,“治疗益处”包括将辅助其他化学治疗剂和/或辐射疗法的或与其一起的本文公开的化合物和组合物施用在尚未开始这种疗法的或已开

始但尚未展现出抗性迹象的患者中或者在已开始展现出抗性迹象的患者中,作为使肿瘤对化学疗法和/或辐射疗法敏感的手段。

[0866] 药物组合物及其施用

[0867] 本文公开的化合物和缀合物可用于治疗有需要的个体。在某些实施方案中,所述个体是哺乳动物,例如人或非人哺乳动物。当施用于例如人的动物时,所述组合物或化合物优选以药物组合物的形式施用,所述药物组合物包含例如公开的化合物和药学上可接受的载体。

[0868] 药学上可接受的载体是本领域中众所周知的,并且包括例如水溶液,例如水或生理缓冲盐水或其他溶剂或媒介物,例如乙二醇、甘油、油如橄榄油、或可注射有机酯。在优选的实施方案中,当此类药物组合物用于人施用时,特别是用于侵入性施用途径(即,规避通过上皮屏障输送或扩散的途径,例如注射或植入)时,所述水溶液是无热原的或基本上无热原的。可以例如选择赋形剂以实现药剂的延迟释放或选择性地靶向一种或多种细胞、组织或器官。所述药物组合物可以呈剂量单位形式,例如片剂、胶囊(包括洒胶囊(sprinkle capsule)和明胶胶囊)、颗粒、用于重构的冻干剂、粉末、溶液、糖浆、栓剂、注射液等。所述组合物也可以存在于透皮递送系统(例如,皮肤贴剂)中。所述组合物也可以存在于适用于局部施用的溶液(例如软膏或乳膏)中。

[0869] 药学上可接受的载体可以含有生理上可接受的药剂,所述生理上可接受的药剂例如起稳定化合物(例如本发明化合物)、增加其溶解度或增加其吸收的作用。此类生理上可接受的药剂包括例如碳水化合物(例如葡萄糖、蔗糖或右旋糖酐)、抗氧化剂(例如抗坏血酸或谷胱甘肽)、螯合剂、低分子量蛋白质或其他稳定剂或赋形剂。药学上可接受的载体(包括生理上可接受的药剂)的选择取决于例如组合物的施用途径。药物组合物的制剂可以是自乳化药物递送系统或自微乳化药物递送系统。所述药物组合物(制剂)也可以是脂质体或其他聚合物基质,其中可能已掺入例如本发明的化合物。例如,包含磷脂或其他脂质的脂质体是无毒的、生理学上可接受的和可代谢的载体,所述载体相对容易制造和施用。

[0870] 短语“药学上可接受的”在本文中用来指这样的化合物、材料、组合物和/或剂型,它们在合理的医学判断范围内适合用于与人类和动物组织接触而没有过多的毒性、刺激、过敏反应或其他问题或并发症,与合理的益处/风险比相称的。

[0871] 如本文所用的短语“药学上可接受的载体”意指药学上可接受的材料、组合物或媒介物,例如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、溶剂或包封材料。每种载体必须是在与配制品的其他成分相容并且对患者无害的意义上“可接受的”。可用作药学上可接受的载体的材料的一些例子包括:(1)糖,例如乳糖、葡萄糖和蔗糖;(2)淀粉,例如玉米淀粉和马铃薯淀粉;(3)纤维素及其衍生物,例如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和乙酸纤维素;(4)粉状西黄蓍胶;(5)麦芽;(6)明胶;(7)滑石;(8)赋形剂,例如可可脂和栓剂蜡;(9)油,例如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油;(10)二醇,例如丙二醇;(11)多元醇,例如甘油、山梨醇、甘露醇和聚乙二醇;(12)酯,例如油酸乙酯和月桂酸乙酯;(13)琼脂;(14)缓冲剂,例如氢氧化镁和氢氧化铝;(15)海藻酸;(16)无热原水;(17)等渗盐水;(18)林格氏溶液;(19)乙醇;(20)磷酸盐缓冲溶液;以及(21)用于药物配制品的其他无毒相容物质。

[0872] 可以多种施用途径中的任何一种将药物组合物(制剂)施用于受试者,所述施用途径包括例如口服(例如,如在水性或非水性溶液或悬浮液中的灌药、片剂、胶囊(包括洒胶囊

和明胶胶囊)、大丸剂、粉末、颗粒剂、用于施用于舌头的糊剂);通过口腔黏膜的吸收(例如,经舌下);经肛门、直肠或阴道(例如,作为子宫托、乳膏或泡沫);肠胃外(包括肌肉内、静脉内、皮下或鞘内,作为例如无菌溶液或悬浮液);经鼻;腹腔内;皮下;透皮(例如作为施用于皮肤的贴剂);和局部(例如,作为施用于皮肤的乳膏、软膏或喷雾剂,或作为滴眼剂)。所述化合物也可以被配制用于吸入。在某些实施方案中,可以将化合物简单地溶解或悬浮在无菌水中。适当的施用途径和适用于其的组合物的细节可在例如美国专利号6,110,973、5,763,493、5,731,000、5,541,231、5,427,798、5,358,970和4,172,896以及其中引用的专利中找到。

[0873] 这些配制品可方便地以单位剂量形式存在并且可通过药学领域中众所周知的任何方法来制备。可与载体材料组合以生产单一剂量形式的活性成分的量将取决于待治疗的宿主和具体施用方式而变化。可与载体材料组合以生产单一剂量形式的活性成分的量将总体上是产生治疗作用的化合物的量。总体上,在百分之一百中,此量的范围将是约1%至约99%的活性成分、优选从约5%至约70%、最优选从约10%至约30%。

[0874] 用于制备这些配制品或组合物的方法包括使例如本发明化合物的活性化合物与载体和任选地一种或多种辅助成分结合的步骤。通常,所述配制品是通过以下方式制备的:使本发明化合物与液体载体或细碎的固体载体或两者均匀地且紧密地结合,并且然后(如果需要)将产物成型。

[0875] 适于口服施用的本发明配制品可以呈胶囊(包括洒胶囊和明胶胶囊)、扁囊剂、丸剂、片剂、锭剂(使用矫味基质,通常是蔗糖和阿拉伯胶或西黄蓍胶)、冻干剂、粉末、颗粒剂的形式;或者作为水性或非水性液体中的溶液或悬浮液;或者作为水包油型或油包水型液体乳液;或者作为酞剂或糖浆;或者作为软锭剂(使用惰性基质,例如明胶和甘油、或蔗糖和阿拉伯胶)和/或作为漱口剂等,各剂型含有预定量的本发明化合物作为活性成分。化合物、缀合物或其组合物也可以作为大丸剂、栓剂或糊剂来施用。

[0876] 为制备用于口服施用的固体剂型(胶囊(包括洒胶囊和明胶胶囊)、片剂、丸剂、糖衣丸、粉末、颗粒剂等),将活性成分与一种或多种药学上可接受的载体(例如柠檬酸钠或磷酸二钙)和/或以下中的任何一种混合:(1)填充剂或扩充剂(extender),例如淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇和/或硅酸;(2)粘合剂,例如羧甲基纤维素、海藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖和/或阿拉伯胶;(3)保湿剂,例如甘油;(4)崩解剂,例如琼脂-琼脂、碳酸钙、马铃薯或木薯淀粉、海藻酸、某些硅酸盐和碳酸钠;(5)溶液阻滞剂(solution retarding agent),例如石蜡;(6)吸收促进剂,例如季铵化合物;(7)润湿剂,例如鲸蜡醇和单硬脂酸甘油酯;(8)吸附剂,例如高岭土和膨润土;(9)润滑剂,例如滑石、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、月桂基硫酸钠及其混合物;(10)络合剂,例如改性和未改性的环糊精;以及(11)着色剂。在胶囊(包括洒胶囊和明胶胶囊)、片剂和丸剂的情况下,所述药物组合物还可包含缓冲剂。相似类型的固体组合物也可在使用这样的赋形剂如乳糖或奶糖以及高分子量聚乙二醇等的软和硬填充的明胶胶囊中用作填充剂。

[0877] 片剂可以通过任选地与一种或多种辅助成分压缩或模制来制备的。可以使用粘合剂(例如,明胶或羟丙基甲基纤维素)、润滑剂、惰性稀释剂、防腐剂、崩解剂(例如,羧基乙酸钠或交联的羧甲基纤维素钠)、表面活性剂或分散剂来制备压缩片剂。可通过在合适的机器中模制用惰性液体稀释剂润湿的粉状化合物的混合物来制备模制片剂。

[0878] 所述药物组合物的片剂和其他固体剂型(例如糖衣丸、胶囊(包括酒胶囊和明胶胶囊)、丸剂、和颗粒剂)可以任选地被刻痕或用包衣和外壳来制备,所述包衣和外壳例如肠包衣和药物配制领域中众所周知的其他包衣。也可使用例如为提供所希望的释放特征而不同比例的羟丙基甲基纤维素、其他聚合物基质、脂质体和/或微球来配制它们以便提供其中的活性成分的缓慢释放或受控释放。可通过以下方式将它们灭菌:例如通过用细菌截留过滤器进行过滤,或通过即将使用前掺入呈可溶解于无菌水或一些其他可注射无菌介质中的无菌固体组合物的形式的灭菌剂。任选地,这些组合物也可以任选地含有遮光剂并且可以是仅或者优先在胃肠道的某个部分中任选地以延迟的方式释放一种或多种活性成分的组合物。可以使用的包埋组合物的例子包括聚合物物质和蜡。活性成分也可以呈微包封的形式,如果适当的话,含有一种或多种上面所描述的赋形剂。

[0879] 可用于口服施用的液体剂型包括药学上可接受的乳液、用于重构的冻干剂、微乳液、溶液、悬浮液、糖浆和酞剂。除所述活性成分之外,所述液体剂型还可以含有在本领域中常用的惰性稀释剂,例如水或其他溶剂、环糊精及其衍生物、增溶剂和乳化剂,例如乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苯甲醇、苯甲酸苄酯、丙二醇、1,3-丁二醇、油(特别是棉籽油、花生油、玉米油、胚芽油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油)、甘油、四氢呋喃醇、聚乙二醇和山梨聚糖的脂肪酸酯、以及其混合物。

[0880] 除惰性稀释剂之外,所述口服组合物还可包含辅助剂,例如润湿剂、乳化剂和悬浮剂、甜味剂、矫味剂、着色剂、芳香剂和防腐剂。

[0881] 除活性化合物之外,悬浮液还可以含有悬浮剂,如例如乙氧基化异硬脂醇、聚氧乙烯山梨醇和山梨聚糖酯、微晶纤维素、偏氢氧化铝、膨润土、琼脂-琼脂和西黄蓍胶、以及其混合物。

[0882] 用于直肠、阴道或尿道施用的药物组合物的配制品可以呈现为栓剂,所述栓剂可通过将一种或多种活性化合物与一种或多种合适的无刺激性赋形剂或载体(包含例如可可脂、聚乙二醇、栓剂蜡或水杨酸盐)混合来制备,并且所述栓剂在室温下是固体但在体温下是液体,并且因此其将在直肠或阴道腔中融化并且释放活性化合物。

[0883] 用于向嘴部施用的药物组合物的配制品可以以漱口剂、口服喷雾剂或口服软膏的形式存在。

[0884] 可选地或另外地,可以将组合物配制用于经由导管、支架、丝或其他管腔内装置的递送。经由此类装置的递送可能对于递送至膀胱、尿道、输尿管、直肠或肠是尤其有用的。

[0885] 适用于阴道施用的配制品还包括阴道栓、卫生棉条、乳膏、凝胶、糊剂、泡沫或喷雾剂配制品,其含有如本领域中已知适当的此类载体。

[0886] 用于局部或透皮施用的剂型包括粉末、喷雾剂、软膏、糊剂、乳膏、洗剂、凝胶、溶液、贴剂和吸入剂可在无菌条件下将活性化合物与药学上可接受的载体以及与任何可能需要的防腐剂、缓冲剂或推进剂混合。

[0887] 除活性化合物之外,软膏、糊剂、乳膏和凝胶还可以含有赋形剂,例如动物和植物脂肪、油、蜡、石蜡、淀粉、西黄蓍胶、纤维素衍生物、聚乙二醇、硅酮、膨润土、硅酸、滑石和氧化锌、或其混合物。

[0888] 除活性化合物之外,粉末和喷雾剂还可以含有赋形剂,例如乳糖、滑石、硅酸、氢氧化铝、硅酸钙以及聚酰胺粉末、或这些物质的混合物。喷雾剂可以另外含有惯用的推进剂,

例如氯氟烃和未被取代的挥发性烃,例如丁烷和丙烷。

[0889] 透皮贴剂具有以下附加优点:向身体受控递送本发明化合物。此类剂型可通过将活性化合物溶解或分散于适当介质中来制备。吸收促进剂还可以用于增加所述化合物跨越皮肤的通量。这种通量的速率可通过提供速率控制膜或将所述活性化合物分散在聚合物基质或凝胶中来控制。

[0890] 眼科配制品、眼软膏、粉末、溶液等也被考虑是在本发明的范围内。示例性眼科配制品描述于美国公开号2005/0080056、2005/0059744、2005/0031697和2005/004074;和美国专利号6,583,124,将其内容通过引用并入本文。如果希望,液体眼科配制品具有与泪液、房水或玻璃体液相似的特性,或与此类流体相容。

[0891] 如本文所用,短语“肠胃外施用(parenteral administration和administered parenterally)”意指除了肠内和局部施用以外的施用方式,通常是通过注射,并且包括但并不局限于静脉内、肌内、动脉内、鞘内、囊内、眼眶内、心内、真皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊髓内以及胸骨内注射和输注。

[0892] 适合于肠胃外施用的药物组合物可包含与以下组合的一种或多种活性化合物:一种或多种药学上可接受的无菌等渗水性或非水性溶液、分散液、悬浮液或乳液,或者在正要使用之前可被重构为无菌可注射溶液或分散液的无菌粉末,它们可以含有抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂、溶质(使配制品与预期接收者的血液等渗)、或悬浮剂或增稠剂。

[0893] 可用于本发明药物组合物的合适水性和非水性载体的例子包括水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇、聚乙二醇等)及其合适的混合物,植物油如橄榄油,和可注射有机酯如油酸乙酯。例如可通过使用包衣材料(例如卵磷脂)、在分散液的情况下通过维持所需要的粒度、以及通过使用表面活性剂来维持适当的流动性。

[0894] 这些组合物还可以含有辅助剂,例如防腐剂、润湿剂、乳化剂和分散剂。可通过包含各种抗菌剂和抗真菌剂(例如,对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚山梨酸等)来确保防止微生物的作用。还可希望的是在组合物中包含等渗剂,例如糖、氯化钠等。此外,可通过包含延迟吸收的试剂(例如单硬脂酸铝和明胶)来实现可注射药物形式的延长吸收。

[0895] 在一些情况下,为了延长药物的作用,希望减缓来自皮下或肌内注射的药物的吸收。这可通过使用水溶性不佳的结晶或非结晶材料的液体悬浮液来实现。然后,药物的吸收速率取决于其溶解速率,而溶解速率进而可能取决于晶体尺寸以及晶型。可选地,胃肠外施用的药物形式的延迟吸收通过将药物溶解或悬浮在油媒介物中来实现。

[0896] 通过在可生物降解的聚合物(例如聚丙交酯-聚乙交酯)中形成主题化合物的微包封基质来制造可注射储库形式(Injectable depot form)。取决于药物与聚合物的比率以及所使用的特定聚合物的性质,可以控制药物释放的速率。其他可生物降解的聚合物的例子包括聚(原酸酯)和聚(酸酐)。可注射的储库配制品也可通过将药物包埋到与身体组织相容的脂质体或微乳液中来制备。

[0897] 为了用于本发明的方法,活性化合物可以本身或作为含有例如0.1%至约99.5%(更优选约0.5%至约90.0%)的活性成分与药学上可接受的载体的组合的药物组合物给予。

[0898] 在本发明的一些实施方案中,本发明的化合物与一种或多种另外的化合物/药剂联合施用。

[0899] 在某些此类实施方案中,所述联合施用是同时进行的。在某些此类实施方案中,本发明的化合物与一种或多种另外的化合物共同配制。在某些其他此类实施方案中,本发明的化合物与一种或多种另外的化合物分开但同时施用。在某些此类实施方案中,联合施用是顺序的,与本发明化合物的施用一起的,或者在一种或多种另外的化合物的施用之前或之后数分钟或数小时时进行的。

[0900] 引入本发明化合物的方法也可通过可再充的或可生物降解的装置提供。近年来,已经开发出各种缓慢释放聚合物装置并且在体内进行了测试,以用于药物(包括蛋白质样生物药物)的控制递送。包括可生物降解的聚合物和不可降解的聚合物两者的多种生物相容性聚合物(包括水凝胶)可用于形成植入物,以用于在特定靶标位点持续释放化合物。

[0901] 可以改变药物组合物中活性成分的实际剂量水平,以便获得在不对患者有不可接受的毒性情况下有效实现对于具体患者、组合物和施用方式而言希望的治疗反应的量的活性成分。

[0902] 所选择的剂量水平将取决于多种因素,包括所使用的特定化合物、缀合物、或化合物和/或缀合物的组合或其酯、盐或酰胺的活性,施用途径,施用时间,所使用的一种或多种特定化合物的排泄速率,治疗的持续时间,与所使用的一种或多种特定化合物组合使用的其他药物、化合物和/或材料,年龄,性别,体重,状况,总体健康状况以及所治疗的患者的既往病史,以及医学领域中众所周知的类似因素。

[0903] 具有本领域普通技术的医师或兽医可以容易地确定并且开出治疗有效量的所需药物组合物。例如,医师或兽医可以以低于为实现所希望的治疗效果所需的水平的药物组合物或化合物的剂量开始,并且逐渐增加剂量直至获得所希望的效果。“治疗有效量”是指足以引起所希望的治疗效果的化合物的浓度。通常应理解,化合物的有效量将根据受试者的体重、性别、年龄和病史而变化。影响有效量的其他因素可包括但不限于患者疾患的严重程度、所治疗的病症、化合物的稳定性以及(如果希望的话)与本发明化合物一起施用的另一种类型的治疗剂。可通过多次施用药剂来递送较大的总剂量。确定功效和剂量的方法是本领域技术人员已知的(Isselbacher等人(1996)Harrison's Principles of Internal Medicine第13版,1814-1882,将其通过引用并入本文)。

[0904] 通常,用于本发明的组合物和方法中的活性化合物的合适的日剂量将是有效产生治疗效果的最低剂量的化合物的量。这样的有效剂量将通常取决于上面描述的因素。

[0905] 如果希望,所述活性化合物或缀合物的有效日剂量可在一整天中以单位剂型作为一、二、三、四、五、六或更多个亚剂量来施用,所述亚剂量是以适当的间隔分开施用的。在本发明的某些实施方案中,活性化合物可以每天施用两次或三次。在优选的实施方案中,活性化合物将每天施用一次。

[0906] 接受这种治疗的患者是任何有需要的动物,包括灵长类动物,特别是人,以及其他哺乳动物,例如马、牛、猪和绵羊;以及一般的家禽和宠物。

[0907] 在某些实施方案中,本文公开的化合物或缀合物可以单独使用或与另一种类型的治疗剂联合施用。如本文所用,短语“联合施用”是指两个或更多个不同治疗性化合物或缀合物的任何形式的施用,使得先前施用的治疗性化合物或缀合物在体内仍然有效时施用第二化合物或缀合物(例如,两种化合物或缀合物在患者中同时有效,这可包括两种化合物或缀合物的协同作用)。例如,可在同一配制品中或在分开的配制品中伴随地或顺序地施用不

同治疗性化合物或缀合物。在某些实施方案中,可在1小时、12小时、24小时、36小时、48小时、72小时或1周或多周内彼此施用不同治疗性化合物或缀合物。因此,接受此类治疗的个体可以从不同治疗性化合物或缀合物的组合作用中受益。

[0908] 本发明包括本文公开的化合物或缀合物的药学上可接受的盐的用途。在某些实施方案中,本发明的考虑的盐包括但不限于烷基、二烷基、三烷基、或四烷基铵盐在某些实施方案中,本发明的考虑的盐包括但不限于L-精氨酸、苯乙苄胺(benenthamine)、苯乍生、甜菜碱、氢氧化钙、胆碱、地阿诺(deanol)、二乙醇胺、二乙胺、2-(二乙基氨基)乙醇、乙醇胺、乙二胺、N-甲葡糖胺、海巴明哈胺(hydrabamine)、1H-咪唑、锂、L-赖氨酸、镁、4-(2-羟基乙基)吗啉、哌嗪、钾、1-(2-羟基乙基)吡咯烷、钠、三乙醇胺、氨丁三醇(tromethamine)和锌盐。在某些实施方案中,本发明的考虑的盐包括但不限于Na、Ca、K、Mg、Zn、或其他金属的盐。

[0909] 药学上可接受的酸加成盐也可以作为各种溶剂化物(例如与水、甲醇、乙醇、二甲基甲酰胺等)存在。也可以制备此类溶剂化物的混合物。此类溶剂化物的来源可以来自结晶溶剂,是制备或结晶溶剂中固有的,或对于此类溶剂是外来的。

[0910] 组合物中还可以存在润湿剂,乳化剂和润滑剂,例如月桂基硫酸钠和硬脂酸镁,以及着色剂、脱模剂、包衣剂、甜味剂、矫味和芳香剂、防腐剂和抗氧化剂。

[0911] 药学上可接受的抗氧化剂的例子包括:(1)水溶性抗氧化剂,例如抗坏血酸、半胱氨酸盐酸盐、硫酸氢钠、焦亚硫酸钠、亚硫酸钠等;(2)油溶性抗氧化剂,例如抗坏血酸棕榈酸酯、丁基化羟基茴香醚(BHA)、丁基化羟基甲苯(BHT)、卵磷脂、没食子酸丙酯、 $\alpha$ -生育酚等;以及(3)金属螯合剂,例如柠檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨醇、酒石酸、磷酸等。

[0912] 现在总体上描述了本发明,参考以下实施例将更容易理解本发明,所述实施例仅是出于说明本发明的某些方面和实施方案的目的而包括的并且不旨在限制本发明。

[0913] 范例

[0914] 合成方案

[0915] 缩写

[0916] AcO:乙酰基

[0917] AcOH:乙酸

[0918] EA:乙酸乙酯

[0919] DCM:二氯甲烷

[0920] m-CPBA:间氯过氧苯甲酸

[0921] TBDMSOTf:三氟甲烷磺酸叔丁基二甲基甲硅烷基酯

[0922] TBDMS:叔丁基二甲基甲硅烷基

[0923] DMF:二甲基甲酰胺

[0924] EDCI:1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺

[0925] HOBt:1-羟基苯并三唑水合物

[0926] ACN:乙腈

[0927] TBDMS-Cl:叔丁基二甲基甲硅烷基氯

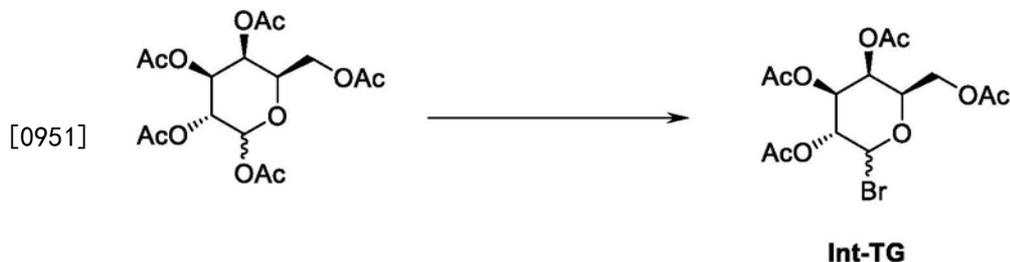
[0928] DBU:1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一碳-7-烯

[0929] THF:四氢呋喃

[0930] DCC:N,N'-二环己基碳二亚胺

- [0931] DMAP:4-二甲基氨基吡啶  
 [0932] NHS:N-羟基琥珀酰亚胺  
 [0933] DIPEA:二异丙基乙胺  
 [0934] TEA:三乙胺  
 [0935] DEAD:偶氮二甲酸二乙酯  
 [0936] Boc:叔丁氧基羰基  
 [0937] LAH:氢化铝锂  
 [0938] CDI:1,1'-羰基二咪唑  
 [0939] BEMP:2-叔丁基亚氨基-2-二乙基氨基-1,3-二甲基全氢-1,3,2-二氮杂磷  
 [0940] TPSCl:三苯基氯硅烷  
 [0941] tfa:三氟乙酰基  
 [0942] PyBop:六氟磷酸苯并三唑-1-基-氧基三吡咯并磷  
 [0943] HBTU:六氟磷酸N,N,N',N'-四甲基-0-(1H-苯并三唑-1-基)脲鎓  
 [0944] TFA:三氟乙酸  
 [0945] DIC:N,N'-二异丙基碳二亚胺  
 [0946] DMPA:2,2-二甲氧基-2-苯基乙酰苯  
 [0947] TBAF:四-正丁基氟化铵  
 [0948] AgOTf:三氟甲烷磺酸银  
 [0949] (BimC4A)<sub>3</sub>:5,5',5''-[2,2',2''-次氨基三(亚甲基)三(1H-苯并咪唑-2,1-二基)]  
 三戊酸三钾水合物

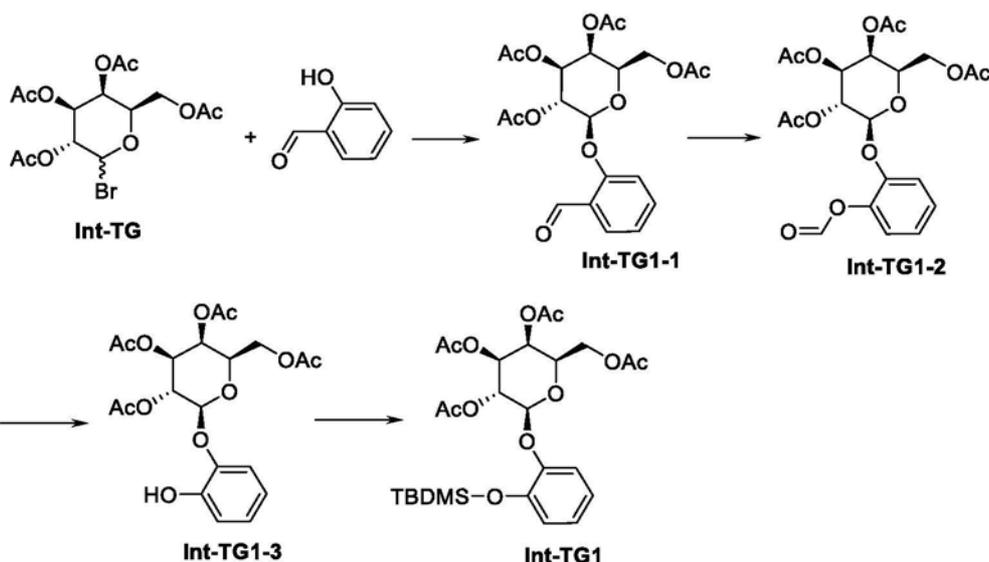
[0950] [实施例1] Int-TG的制备



[0952] 在N<sub>2</sub>气氛下在0℃下将β-D-半乳糖五乙酸酯(Alfa, CAS 4163-60-4, 5.0g, 12.81mmol)溶解于含33% HBr的AcOH(20mL)中。将混合物升温至室温。在室温下搅拌4小时后,将混合物在减压下浓缩,并且然后添加EA(1000mL)和饱和碳酸氢钠(1000mL)。将有机层经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,提供化合物Int-TG(5.2g, 99%)。

[0953] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ6.70(d, J=4.0Hz, 1H), 5.52(d, J=2.4Hz, 1H), 5.41(dd, J=7.6, 2.8Hz, 1H), 5.05(dd, J=6.4, 4.0Hz, 1H), 4.49(t, J=6.4Hz, 1H), 4.22-4.09(m, 2H), 2.16-2.01(m, 12H)。

[0954] [实施例2] 化合物Int-TG1的制备



[0955]

## [0956] 化合物Int-TG1-1的制备

[0957] 在 $N_2$ 气氛下向水杨基醛(奥德里奇公司(Aldrich), CAS 90-02-8, 148mg, 1.22mmol)和化合物Int-TG(0.5g, 1.22mmol)在乙腈(10mL)中的溶液中添加干燥的分子筛(2.5g)和 $Ag_2O$ (845mg, 3.65mmol)。在室温下搅拌1小时后,添加蒸馏水(50mL)和EA(50mL X 2)。将有机层经无水 $Na_2SO_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,提供化合物Int-TG1-1(441mg, 81%)。

[0958]  $^1H$  NMR(400MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ 10.37(s, 1H), 7.88(t,  $J=7.6$ Hz, 1H), 7.21(t,  $J=7.4$ Hz, 1H), 7.14(t,  $J=8.4$ Hz, 1H), 5.62(m, 1H), 5.48(m, 1H), 5.16(d,  $J=7.2$ Hz, 2H), 4.27-4.23(m, 1H), 4.18-4.09(m, 2H), 2.21(s, 3H), 2.07(s, 6H), 2.03(s, 3H)。

## [0959] 化合物Int-TG1-2的制备

[0960] 在 $0^\circ C$ 下在 $N_2$ 气氛下向化合物Int-TG1-1(260mg, 0.575mmol)在DCM(3mL)中的溶液中添加m-CPBA(283mg, 1.149mmol)。5小时后,将混合物在减压下浓缩。添加EA(50mL X 2)和碳酸氢钠水溶液(30mL)。将所得有机层经无水 $Na_2SO_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩,提供化合物Int-TG1-2(270mg, 定量)。化合物Int-TG1-2不经纯化而直接用于下一个反应中。

[0961]  $^1H$  NMR(400MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ 8.18(s, 1H), 7.90(d,  $J=8.0$ Hz, 1H), 7.64(d,  $J=8.0$ Hz, 1H), 7.46(t,  $J=7.6$ Hz, 1H), 7.15(d,  $J=8.4$ Hz, 1H), 5.51(m, 2H), 5.11(d,  $J=8.8$ Hz, 1H), 5.04(d,  $J=8.0$ Hz, 1H), 4.24(m, 1H), 4.16(m, 1H), 4.08(m, 1H), 2.18(s, 3H), 2.09(s, 3H), 2.07(s, 3H), 2.02(s, 3H)。EI-MS  $m/z$ : 491( $M^+Na$ )。

## [0962] 化合物Int-TG1-3的制备

[0963] 在 $0^\circ C$ 下在 $N_2$ 气氛下向化合物Int-TG1-2在 $CHCl_3$ (3mL)中的溶液中添加胼-水合物(21 $\mu$ L, 0.427mmol)。在 $0^\circ C$ 搅拌0.5小时后,添加EA(30mL X 2)和1M HCl水溶液(10mL)。将所得有机层经无水 $Na_2SO_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩,提供化合物Int-TG1-3(161mg, 86%)。

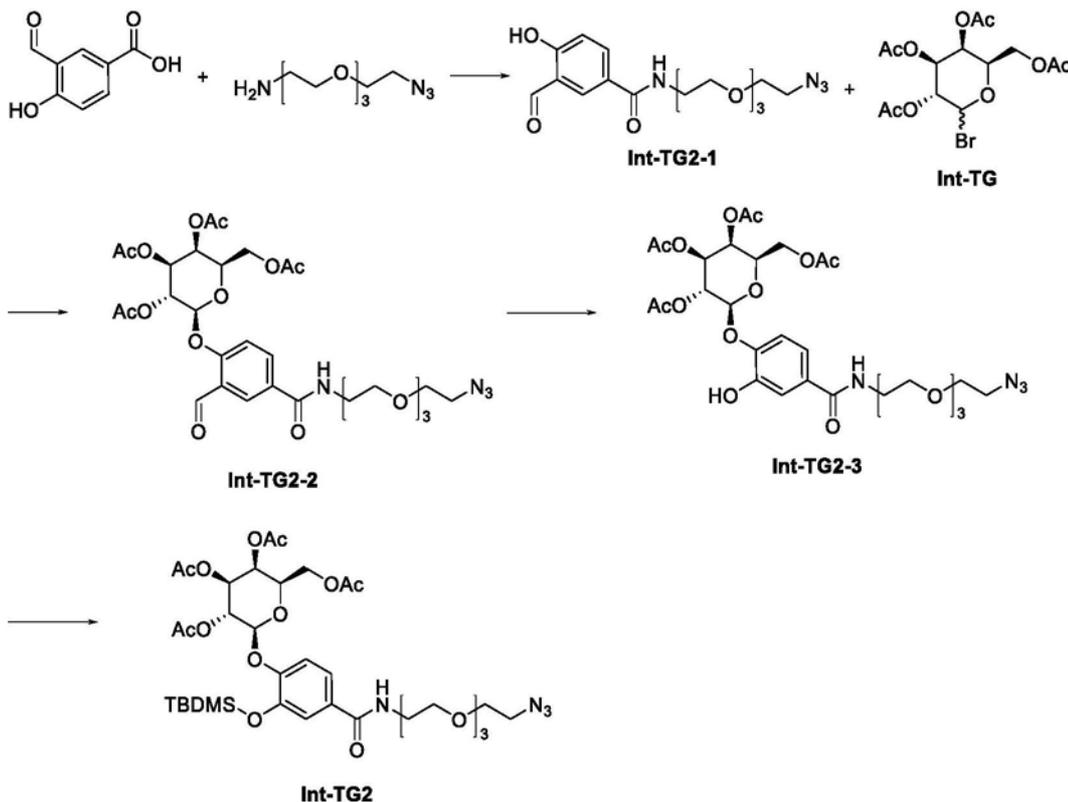
[0964]  $^1H$  NMR(400MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ 7.03(t,  $J=8.0$ Hz, 1H), 6.98-6.95(m, 2H), 6.83(t,  $J=7.6$ Hz, 1H), 6.02(s, 1H), 5.47(d,  $J=3.2$ Hz, 2H), 5.13(dd,  $J=10.8, 2.8$ Hz, 1H), 4.93(d,  $J=7.6$ Hz, 1H), 4.26(m, 1H), 4.19-4.09(m, 2H), 4.06(m, 1H), 2.21(s, 3H), 2.13(s, 3H), 2.08(s, 3H), 2.03(s, 3H)。EI-MS  $m/z$ : 463( $M^+Na$ )。

## [0965] 化合物Int-TG1的制备

[0966] 在0℃下在N<sub>2</sub>气氛下向化合物Int-TG1-3 (161mg, 0.366mmol) 在DCM (3mL) 中的溶液中添加Et<sub>3</sub>N (102μL, 0.732mmol) 和TBDMS-OTf (126μL, 0.549mmol)。将混合物在室温下搅拌2小时。然后添加DCM (30mL X 2) 和1M HCl水溶液 (10mL)。将所得有机层经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 提供化合物Int-TG1 (147mg, 91%)。

[0967] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ7.02 (d, J=7.6Hz, 1H), 6.95-6.84 (m, 3H), 5.48-5.43 (m, 2H), 5.15 (d, J=8.0Hz, 1H), 5.10 (d, J=10.4Hz, 1H), 4.21-4.11 (m, 2H), 4.03-3.99 (m, 1H), 2.19 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 2.00 (s, 3H), 0.99 (s, 9H), 0.20 (s, 3H), 0.16 (s, 3H)。EI-MS m/z: 555 (M<sup>+</sup>)。

[0968] [实施例3] 化合物Int-TG2的制备



[0969]

[0970] 化合物Int-TG2-1的制备

[0971] 在0℃下在N<sub>2</sub>气氛下向3-乙酰基-4-羟基苯甲酸 (3g, 18.06mmol) 和11-叠氨基-3,6,9-三氧杂十一烷-1-胺 (奥德里奇公司, CAS 134179-38-7, 5.98g, 23.48mmol) 在DMF (20mL) 中的溶液中添加EDCI (5.19g, 27.09mmol)、HOBt (4.15g, 27.09mmol) 和Et<sub>3</sub>N (10.1mL, 72.24mmol)。将混合物在室温下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌过夜。将反应物用EA (60mL X 2) 和柠檬酸 (60mL) 猝灭。将有机层用碳酸氢钠水溶液 (80mL) 萃取。将所得有机层经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 提供化合物Int-TG2-1 (2.56g, 39%)。

[0972] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ11.26 (s, 1H), 9.96 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.98-7.96 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.04-7.02 (d, J=9.2Hz, 1H), 6.91 (s, 1H), 3.68-3.61 (m, 14H), 3.37-3.34 (m, 2H), EI-MS m/z: 367 (M<sup>+</sup>)。

[0973] 化合物Int-TG2-2的制备

[0974] 在室温下在N<sub>2</sub>气氛下向化合物Int-TG2-1 (1.41g, 3.85mmol) 和化合物Int-TG (1.74g, 4.24mmol) 在无水ACN (20mL) 中的溶液中添加分子筛 (8g) 和Ag<sub>2</sub>O (2.68g,

11.55mmol)。将混合物在室温下搅拌3小时,然后通过 Celite® 过滤。将有机层经  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,提供化合物 Int-TG2-2 (1.88g, 70%)。

[0975]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  10.35 (s, 1H), 8.20-8.17 (m, 2H), 7.26 (s, 1H), 7.20-7.18 (d,  $J=9.2\text{Hz}$ , 1H), 6.96 (s, 1H), 5.63-5.58 (m, 1H), 5.50-5.49 (m, 1H), 5.23-5.21 (m, 1H), 5.18-5.14 (m, 1H), 4.24-4.14 (m, 3H), 3.69-3.64 (m, 14H), 3.37-3.35 (m, 2H), 2.21 (s, 3H), 2.08-2.07 (m, 6H), 2.03 (s, 3H)。EI-MS  $m/z$ : 697 ( $\text{M}^+$ )。

#### [0976] 化合物 Int-TG2-3 的制备

[0977] 在  $0^\circ\text{C}$  下在  $\text{N}_2$  气氛下向化合物 Int-TG2-2 (1.69g, 2.42mmol) 在 DCM (15mL) 中的溶液中添加 m-CPBA (2.4g, 9.70mmol)。在  $0^\circ\text{C}$  下搅拌7小时后,通过添加饱和碳酸氢钠 (40mL X 2) 猝灭混合物。将混合物分离并且将有机层用盐水洗涤,经  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥,过滤,并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,提供化合物 Int-TG2-3 (1.25g, 76%)。

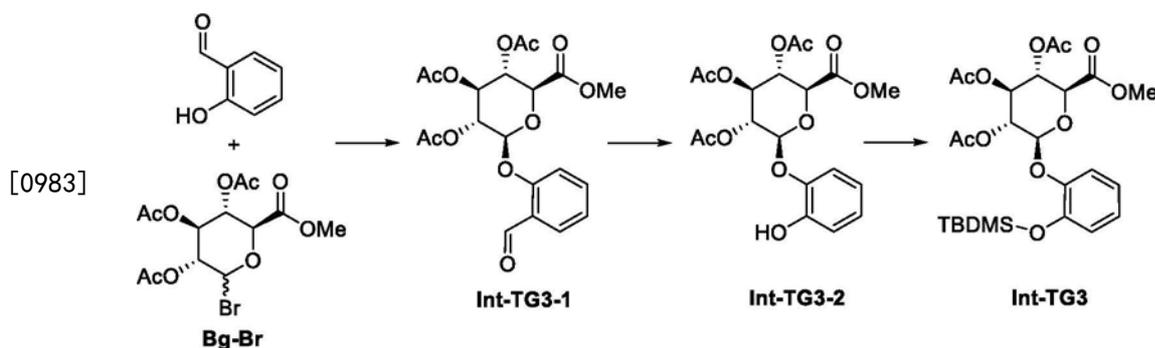
[0978]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.36-7.33 (m, 2H), 7.01-6.99 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H), 6.71 (m, 1H), 6.06 (s, 1H), 5.49-5.44 (m, 2H), 5.15-5.12 (m, 1H), 4.99-4.97 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 1H), 4.24-4.09 (m, 3H), 3.69-3.63 (m, 14H), 3.37-3.34 (m, 2H), 2.20 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), EI-MS  $m/z$ : 685 ( $\text{M}^+$ )。

#### [0979] 化合物 Int-TG2 的制备

[0980] 在  $0^\circ\text{C}$  下在  $\text{N}_2$  气氛下向化合物 Int-TG2-3 (750mg, 1.09mmol) 在 DCM (10mL) 中的溶液中添加 TBDMS-OTf (504 $\mu\text{L}$ , 2.19mmol) 和  $\text{Et}_3\text{N}$  (458 $\mu\text{L}$ , 3.29mmol)。将混合物在室温下搅拌过夜,并且然后通过添加柠檬酸 (20mL) 猝灭。将有机层用盐水 (20mL) 洗涤,经  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥,过滤,并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,提供化合物 Int-TG2 (799mg, 91%)。

[0981]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.35 (d,  $J=2.4\text{Hz}$ , 1H), 7.30 (dd,  $J=8.4, 2.0\text{Hz}$ , 1H), 7.02 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 1H), 6.65 (t,  $J=5.2\text{Hz}$ , 1H), 5.49-5.44 (m, 2H), 5.20 (d,  $J=7.6\text{Hz}$ , 1H), 5.12 (dd,  $J=10.0, 3.6\text{Hz}$ , 1H), 4.20-4.11 (m, 2H), 4.06-4.03 (m, 1H), 3.69-3.62 (m, 15H), 3.37 (t,  $J=5.2\text{Hz}$ , 2H), 2.19 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 1.01 (s, 9H), 0.22 (s, 3H), 0.18 (s, 3H)。EI-MS  $m/z$ : 799 ( $\text{M}^+$ )。

#### [0982] [实施例4] 化合物 Int-TG3 的制备



#### [0984] 化合物 Int-TG3-1 的制备

[0985] 在室温下向水杨基醛 (奥德里奇公司, 200mg, 1.64mmol) 和化合物 Bg-Br (813mg, 1.64mmol) 在乙腈 (12mL) 中的溶液中添加干燥的分子筛 (1.0g) 和  $\text{Ag}_2\text{O}$  (1.42g, 4.92mmol)。将混合物搅拌过夜并且添加蒸馏水 (50mL) 和 EA (50mL X 2)。将有机层经无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥,过

滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,提供化合物Int-TG-3-1 (218mg, 30%)。

[0986]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 10.35 (s, 1H), 7.86 (dd,  $J=6.0, 1.6\text{Hz}$ , 1H), 7.56 (td,  $J=7.6, 1.6\text{Hz}$ , 1H), 7.20 (t,  $J=7.6\text{Hz}$ , 1H), 7.13 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 5.39-5.31 (m, 3H), 5.27-5.25 (m, 1H), 5.24-4.19 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 2.07-2.04 (m, 9H)。EI-MS  $m/z$ : 461 ( $\text{M}^+\text{Na}$ )。

[0987] 化合物Int-TG3-2的制备

[0988] 在 $0^\circ\text{C}$ 下在 $\text{N}_2$ 气氛下向化合物Int-TG3-1 (217.6mg, 0.50mmol) 在DCM (10mL) 中的溶液中添加m-CPBA (367.1mg, 1.50mmol)。将混合物在室温下搅拌过夜并且添加40mL DCM。将有机层用饱和碳酸氢钠 (10mL) 洗涤并且经无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥, 过滤, 并且在减压下浓缩。

[0989] 将残余物溶解在 $\text{CHCl}_3$  (5mL) 中。添加胍 (36.2 $\mu\text{L}$ , 0.74mmol)。30分钟后, 添加DCM (20mL X 2) 和水 (10mL)。将所得有机层经无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥, 过滤并且在减压下浓缩, 并且将残余物通过柱色谱法纯化, 提供化合物Int-TG1-3-2 (195mg, 92%)。

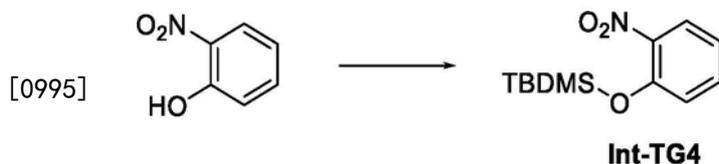
[0990]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 7.09 (t,  $J=8.0\text{Hz}$ , 1H), 7.00-6.95 (m, 2H), 6.83 (td,  $J=6.8, 1.6\text{Hz}$ , 1H), 5.38-5.24 (m, 4H), 4.19-4.13 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 2.06-2.02 (m, 9H)。EI-MS  $m/z$ : 449 ( $\text{M}^+\text{Na}$ )。

[0991] 化合物Int-TG3的制备

[0992] 在 $0^\circ\text{C}$ 下在 $\text{N}_2$ 气氛下向化合物Int-TG3-2 (194mg, 0.46mmol) 在DCM (5mL) 中的溶液中添加 $\text{Et}_3\text{N}$  (190.8 $\mu\text{L}$ , 1.37mmol) 和TBDMS-OTf (209.8 $\mu\text{L}$ , 0.91mmol)。在 $0^\circ\text{C}$ 下搅拌1小时后, 添加DCM (30mL X 2) 和水 (10mL)。将所得有机层经无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥, 过滤, 并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 提供化合物Int-TG3 (188.6mg, 76%)。

[0993]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 7.00 (dd,  $J=6.0, 1.6\text{Hz}$ , 1H), 6.94-6.88 (m, 2H), 6.84 (dd,  $J=6.0, 2.0\text{Hz}$ , 1H), 5.38-5.21 (m, 5H), 3.72 (s, 3H), 2.03 (d,  $J=6.8\text{Hz}$ , 9H), 0.98 (s, 9H), 0.18 (s, 3H), 0.15 (s, 3H)。EI-MS  $m/z$ : 563 ( $\text{M}^+\text{Na}$ )。

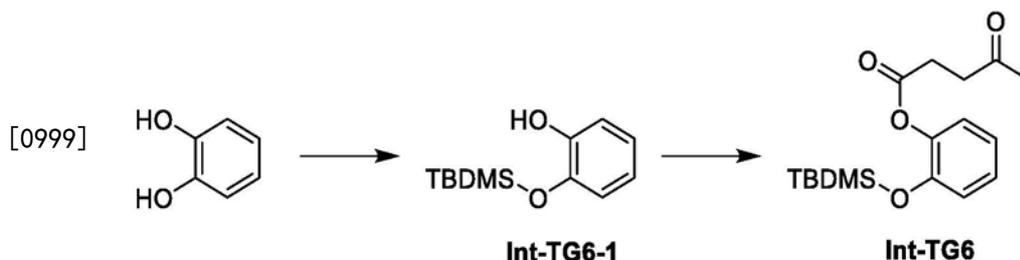
[0994] [实施例5] 化合物Int-TG4的制备



[0996] 在室温下在 $\text{N}_2$ 气氛下向2-硝基苯酚 (500mg, 3.59mmol) 在无水吡啶 (20mL) 中的溶液中添加TBDMS-Cl (650mg, 4.31mmol)。将混合物在室温下搅拌过夜并且添加DCM (30mL X 2) 和水 (20mL)。将所得有机层用2N HCl水溶液洗涤, 经无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥, 过滤, 并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 提供化合物Int-TG4 (410mg, 94%)。

[0997]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 7.80 (dd,  $J=6.8, 0.8\text{Hz}$ , 1H), 7.43 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 1H), 7.04-6.97 (m, 2H), 1.01 (s, 9H), 0.26 (s, 6H)。

[0998] [实施例6] 化合物Int-TG6的制备



[1000] 化合物Int-TG6-1的制备

[1001] 在0℃下在N<sub>2</sub>气氛下向1,2-二羟基苯(1.0g,9.08mmol)在DMF(15mL)中的溶液中添加TBDMS-Cl(1.64g,10.88mmol)和咪唑(1.24g,18.21mmol)。将混合物在室温下搅拌2小时。添加EA(30mL X 2)和蒸馏水(20mL)。将所得有机层用盐水洗涤,经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,提供化合物Int-TG6-1(1.27g,64%)。

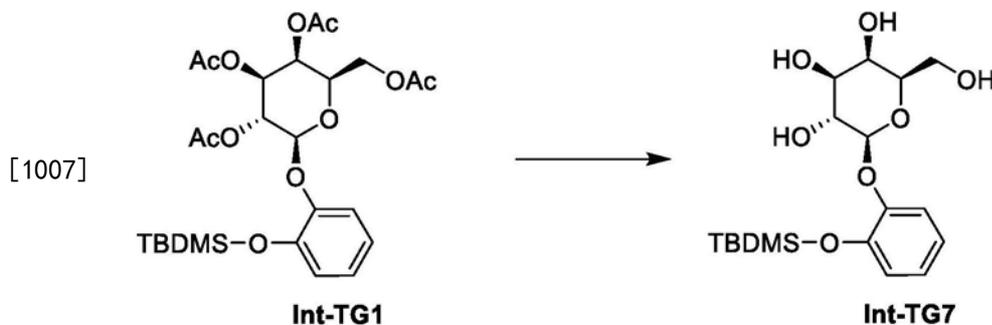
[1002] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ6.94(d,J=8.0Hz,1H),6.89-6.82(m,2H),6.76(t,J=7.6Hz,1H),5.48(s,1H),1.02(s,9H),0.28(s,6H)。

[1003] 化合物Int-TG6的制备

[1004] 向Int-TG6-1(300mg,1.34mmol)和乙酰丙酸(310.5mg,2.67mmol)在1,4-二噁烷(12mL)中的溶液中添加DCC(551.7mg,2.67mmol)和DMAP(13.07mg,0.11mmol)。将混合物在室温下搅拌3小时。添加蒸馏水(50mL)和EA(50mL X 2),并且将有机层经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,提供化合物Int-TG6(380.1mg,88%)。

[1005] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ7.09(td,J=6.0,1.6Hz,1H),7.03(dd,J=6.4,1.6Hz,1H),6.95-6.88(m,2H),2.84(s,4H),2.22(s,3H),0.98(s,9H),0.20(s,6H)。

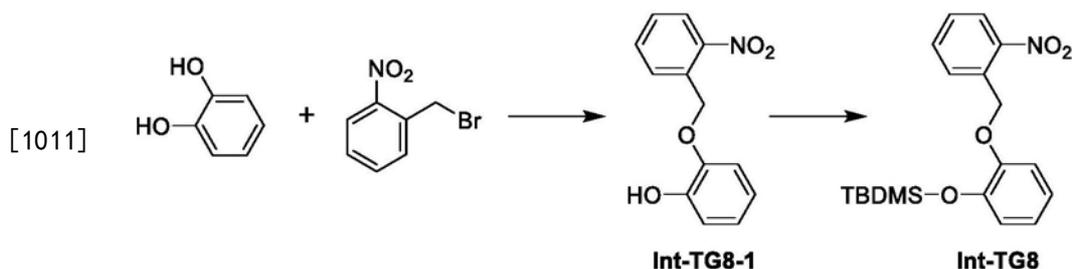
[1006] [实施例7]化合物Int-TG7的制备



[1008] 将化合物Int-TG1(80mg,0.14mmol)溶解在无水甲醇(2mL)中,在0℃下向其中添加K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(99.7mg,0.72mmol)。将混合物在0℃下搅拌1小时。将残余物用EA(10mL X 2)稀释,将有机层用1N HCl水溶液(2mL)和水(10mL)洗涤。将所得有机层经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,并且在减压下浓缩。使残余物经受制备型TLC,提供化合物Int-TG7(17.4mg,31%)。

[1009] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ7.12(d,J=8.0Hz,1H),6.95-6.85(m,3H),4.74(d,J=7.2Hz,1H),4.05(d,J=3.2Hz,1H),3.97(dd,J=6.0,5.6Hz,1H),3.90-3.85(m,2H),3.68(dd,J=6.8,2.8Hz,1H),3.63(t,J=5.6Hz,1H),3.48(s,1H),1.03(s,9H),0.20(d,J=12.0Hz,6H)。EI-MS m/z:409(M<sup>+</sup>+Na)。

[1010] [实施例8]化合物Int-TG8的制备



[1012] 化合物Int-TG8-1的制备

[1013] 向儿茶酚 (500mg, 0.454mmol) 和 2-硝基苄基溴 (333.5mg, 1.54mmol) 在丙酮 (30mL) 中的溶液中添加  $K_2CO_3$  (401.6mg, 2.91mmol)。将混合物回流 15 小时。冷却至室温后, 将混合物在减压下浓缩并且用 EA (50mL X 2) 和 1N NaOH 水溶液 (20mL) 稀释。将所得有机层经无水  $Na_2SO_4$  干燥, 过滤, 并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 提供化合物 Int-TG8-1 (300.3mg, 79%)。

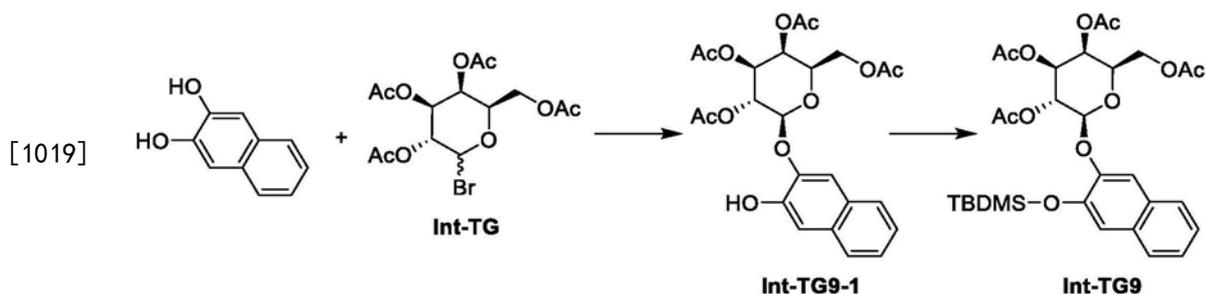
[1014]  $^1H$  NMR (400MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  8.19 (dd,  $J=6.8, 1.2$ Hz, 1H), 7.75 (d,  $J=7.6$ Hz, 1H), 7.69 (td,  $J=7.2, 1.2$ Hz, 1H), 7.53 (td,  $J=6.8, 1.6$ Hz, 1H), 6.99 (dd,  $J=7.2, 1.2$ Hz, 1H), 6.93 (td,  $J=5.2, 2.4$ Hz, 1H), 6.85-6.79 (m, 2H), 5.64 (s, 1H), 5.58 (s, 2H)。

[1015] 化合物Int-TG8的制备

[1016] 在  $0^\circ C$  下在  $N_2$  气氛下向化合物 Int-TG8-1 (300mg, 1.22mmol) 在 DCM (5mL) 中的溶液中添加  $Et_3N$  (342 $\mu$ L, 2.50mmol) 和 TBDMS-OTf (421.8 $\mu$ L, 1.83mmol)。将混合物在室温下搅拌 3 小时并且用 DCM (30mL X 2) 和 2N HCl 水溶液 (10mL) 稀释。将所得有机层经无水  $Na_2SO_4$  干燥, 过滤, 并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 提供化合物 Int-TG8 (410mg, 94%)。

[1017]  $^1H$  NMR (400MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  8.19 (dd,  $J=6.8, 1.2$ Hz, 1H), 8.01 (dd,  $J=8.0, 0.8$ Hz, 1H), 7.67 (td,  $J=6.4, 1.2$ Hz, 1H), 7.48 (t,  $J=7.6$ Hz, 1H), 6.92-6.87 (m, 4H), 5.49 (s, 2H), 1.01 (s, 9H), 0.18 (s, 6H)。

[1018] [实施例9] 化合物Int-TG9的制备



[1020] 化合物Int-TG9-1的制备

[1021] 在室温下在氮气下向 2,3-二羟基萘 (930mg, 5.83mmol) 和化合物 Int-TG (1.0g, 2.43mmol) 在丙酮 (10mL) 中的溶液中添加 NaOH (230mg, 5.75mmol)。将混合物在室温下搅拌过夜并且在减压下浓缩。将混合物用蒸馏水 (20mL) 和 EA (30mL X 2) 稀释, 将有机层经无水  $Na_2SO_4$  干燥, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 提供化合物 Int-TG9-1 (560mg, 47%)。

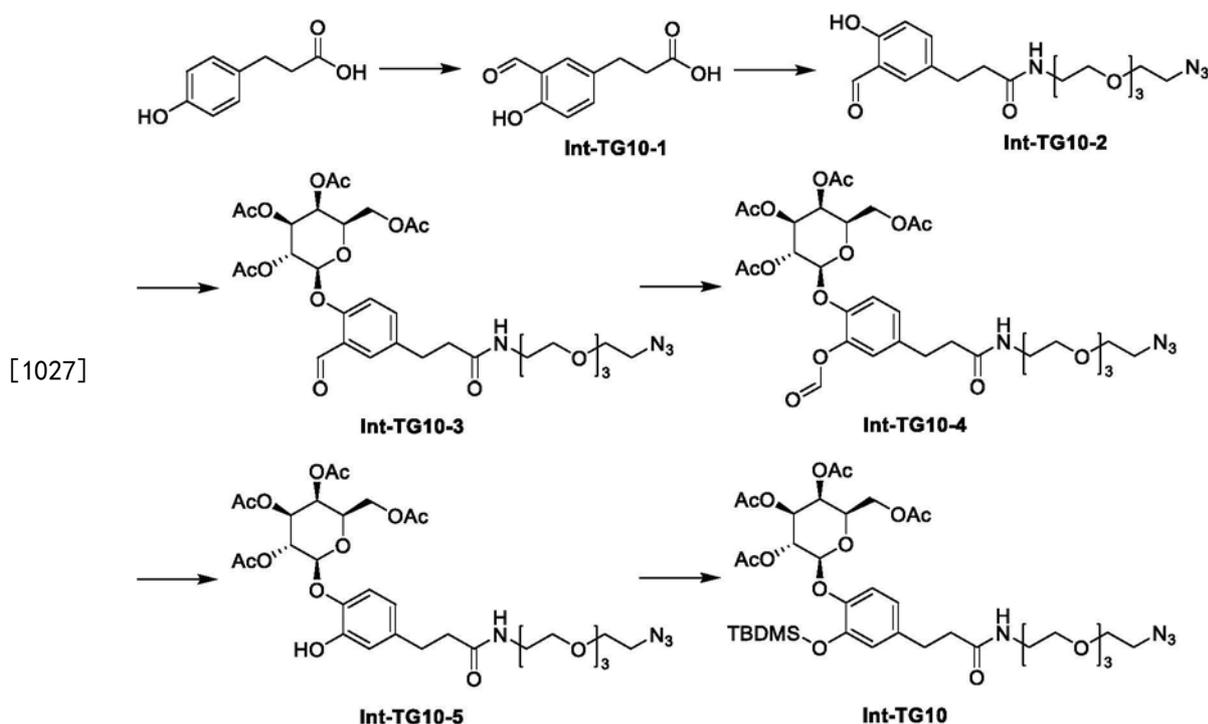
[1022]  $^1H$  NMR (400MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  7.67 (t,  $J=9.2$ Hz, 2H), 7.39-7.29 (m, 4H), 6.07 (s, 1H), 5.53-5.50 (m, 2H), 5.18 (dd,  $J=7.2, 3.6$ Hz, 1H), 5.10 (d,  $J=7.6$ Hz, 1H), 4.31-4.11 (m, 3H), 2.21 (s, 3H), 2.12 (d,  $J=8.8$ Hz, 6H), 2.05 (s, 3H)。

## [1023] 化合物Int-TG9的制备

[1024] 在0℃下在N<sub>2</sub>气氛下向化合物Int-TG9-1 (200mg, 0.41mmol) 在DCM (7mL) 中的溶液中添加TBDMS-OTf (0.12mL, 0.53mmol) 和Et<sub>3</sub>N (0.11mL, 0.82mmol)。在室温下搅拌过夜后, 将混合物用DCM (30mL X 2) 稀释并且用蒸馏水 (10mL) 萃取。将所得有机层经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 提供化合物Int-TG9 (230mg, 96%)。

[1025] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ7.67-7.63 (m, 2H), 7.36-7.33 (m, 3H), 7.20 (s, 1H), 5.52 (dd, J=8.4, 2.0Hz, 1H), 5.47 (d, J=3.2Hz, 1H), 5.31 (d, J=8.0Hz, 1H), 5.15 (dd, J=6.8, 3.6Hz, 1H), 4.23-4.13 (m, 3H), 2.20 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.02 (d, J=3.6Hz, 6H), 1.03 (s, 9H), 0.26 (s, 3H), 0.22 (s, 3H)。

## [1026] [实施例10] 化合物Int-TG10的制备



## [1028] 化合物Int-TG10-1的制备

[1029] 向3-(4-羟基苯基)丙酸 (500mg, 3.01mmol) 在CHCl<sub>3</sub> (10mL) 中的溶液中添加4M NaOH (7.5mL, 30mmol), 并且将所得混合物回流6小时。反应完成后, 将混合物用4M HCl酸化并且浓缩以除去CHCl<sub>3</sub>。添加EA (30mL X 3)、H<sub>2</sub>O (20mL) 和盐水 (20mL) 以进行萃取, 并且将所得有机层经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 提供化合物Int-TG10-1 (408mg, 产物: SM=4:6, 根据HPLC)。

[1030] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ10.90 (s, 1H), 9.87 (s, 1H), 7.41-7.38 (m, 2H), 6.94 (d, J=9.6Hz, 1H), 2.96 (t, J=7.4Hz, 2H), 2.69 (t, J=7.4Hz, 2H)。

## [1031] 化合物Int-TG10-2的制备

[1032] 向化合物Int-TG10-1 (408mg, 2.1mmol) 在DMF (10mL) 中的溶液中添加NHS (363mg, 3.15mmol) 和EDCI (604mg, 3.15mmol), 并且将所得混合物在室温下搅拌过夜。将溶解在DMF (3mL) 中的11-叠氮基-3,6,9-三氧杂十一烷-1-胺 (636mg, 2.5mmol) 和DIPEA (3.66mL, 21mmol) 添加至混合物, 并且将所得混合物在室温下搅拌1小时。反应完成后, 将混合物用4M

HCl酸化,用EA (30mL X 5) 稀释并且用H<sub>2</sub>O (30mL) 和盐水 (30mL) 洗涤。将所得有机层经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,提供化合物Int-TG10-2 (288mg, 50%纯度,根据HPLC)。

[1033] EI-MS m/z: 395 (M<sup>+</sup>)。

[1034] 化合物Int-TG10-3的制备

[1035] 在N<sub>2</sub>气氛下向化合物Int-TG10-2 (288mg, 0.73mmol) 和化合物Int-TG (303mg, 0.74mmol) 在ACN (10mL) 中的溶液中添加分子筛 (1.5g)。在室温下搅拌10分钟后,向其中添加Ag<sub>2</sub>O (508mg, 2.19mmol)。将混合物在室温下搅拌3小时并且用H<sub>2</sub>O (5mL) 稀释,接着通过Celite®过滤。将滤液用EA (20mL X 2)、H<sub>2</sub>O (20mL) 和盐水 (20mL) 洗涤。将所得有机层经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,提供化合物Int-TG10-3 (195mg)。

[1036] EI-MS m/z: 725 (M<sup>+</sup>)。

[1037] 化合物Int-TG10-4的制备

[1038] 在0℃下在N<sub>2</sub>气氛下向化合物Int-TG10-3 (195mg, 0.27mmol) 在DCM (5mL) 中的溶液中添加70% m-CPBA (133mg, 0.54mmol)。将混合物在0℃下搅拌3小时。然后,进一步向其中添加70% m-CPBA (66mg, 0.27mmol), 并且将混合物在0℃下搅拌过夜。将反应物用饱和NaHCO<sub>3</sub> (20mL X 3) 猝灭并且用DCM (20mL) 稀释。将有机层用盐水 (20mL) 洗涤并且经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,在减压下浓缩。化合物Int-TG10-4不经纯化而直接用于下一个反应 (199mg, 粗品)。

[1039] EI-MS m/z: 741 (M<sup>+</sup>)。

[1040] 化合物Int-TG10-5的制备

[1041] 在0℃下在N<sub>2</sub>气氛下向化合物Int-TG10-4 (199mg, 0.27mmol) 在CHCl<sub>3</sub> (4mL) 中的溶液中添加NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> · H<sub>2</sub>O (133mg, 0.54mmol)。在室温下搅拌30分钟后,将混合物用EA (20mL) 和饱和柠檬酸 (20mL) 猝灭。将所得有机层经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,提供化合物Int-TG10-5 (146mg)。

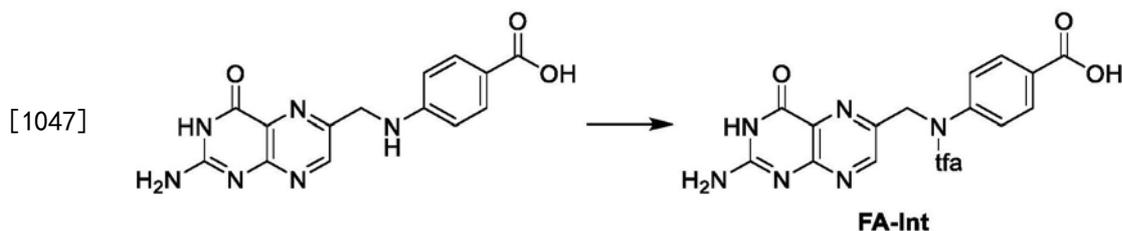
[1042] EI-MS m/z: 713 (M<sup>+</sup>)。

[1043] 化合物Int-TG10的制备

[1044] 在0℃下在N<sub>2</sub>气氛下向化合物Int-TG10-5 (146mg, 0.21mmol) 在DMF (2mL) 中的溶液中添加TEA (133μL, 0.62mmol) 和TBDMS-OTf (94μL, 0.41mmol)。将混合物在0℃下搅拌20分钟,并且继续在室温下搅拌3小时。将混合物用EA (20mL)、饱和柠檬酸 (20mL) 和盐水 (30mL) 萃取。将所得有机层经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,接着进行制备型TLC,提供化合物Int-TG10 (32mg, 19%)。

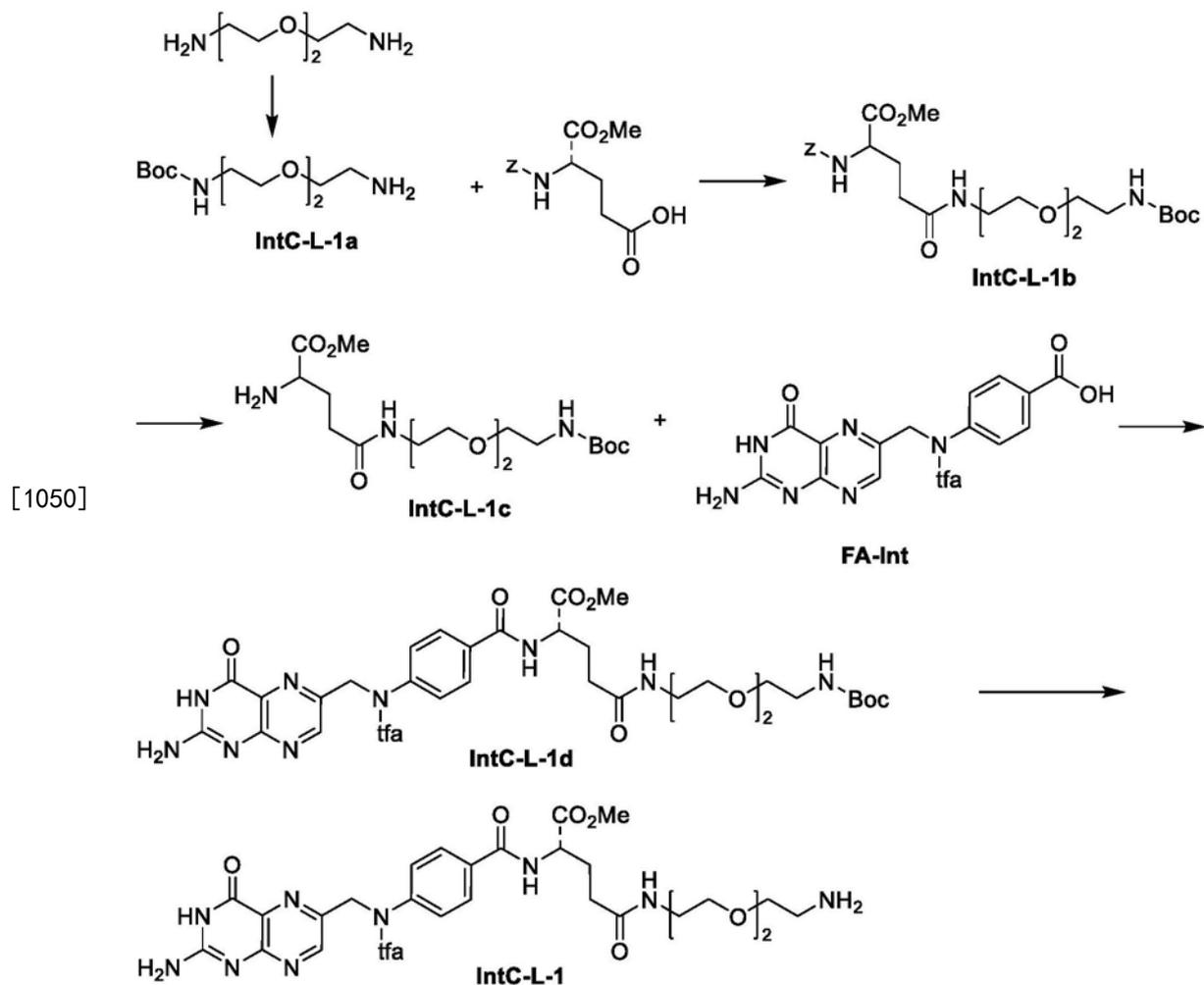
[1045] EI-MS m/z: 827 (M<sup>+</sup>)。

[1046] [实施例11] 化合物FA-Int的制备



[1048] 利用与通过引用整体并入本文的美国专利申请公开号2007/0276018中所述方法类似的方法获得化合物FA-Int。

[1049] [实施例12] 化合物IntC-L-1的制备



[1051] 化合物IntC-L-1a的制备

[1052] 在N<sub>2</sub>气氛下向2,2-(亚乙基二氧基)双(乙胺) (50g, 337.4mmol) 在DCM (300mL) 中的溶液中添加溶解在DCM (200mL) 中的Boc<sub>2</sub>O (14.7g, 67.47mmol)。将混合物在室温下搅拌过夜并且用H<sub>2</sub>O (500mL) 和盐水 (150mL X 3) 猝灭。将有机层经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 并且在减压下浓缩。浓缩后, 化合物IntC-L-1a不经纯化而直接用于下一个反应 (13.01g, 78%)。

[1053] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 5.20 (s, 1H), 3.62-3.62 (m, 4H), 3.55-3.51 (m, 4H), 3.35-3.25 (m, 2H), 2.90-2.87 (m, 2H), 1.45 (s, 9H)。

[1054] 化合物IntC-L-1b的制备

[1055] 在0℃下在N<sub>2</sub>气氛下向化合物IntC-L-1a (6g, 24.16mmol) 和z-L-Glu-OMe (5.94g, 20.13mmol) 在DMF (30mL) 中的溶液中添加PyBOP (15.72g, 30.20mmol) 和DIPEA (10.52mL, 60.39mmol)。将混合物在室温下搅拌2小时。将EA (20mL X 6)、H<sub>2</sub>O (20mL) 和盐水 (200mL) 添加到混合物。将有机层经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 提供化合物IntC-L-1b (10.6g, 定量)。

[1056] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.40-7.28 (m, 5H), 6.32 (s, 1H), 5.80 (s, 1H), 5.11 (s, 2H),

5.02 (s, 1H), 4.36 (s, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.60 (s, 4H), 3.54 (s, 4H), 3.44-3.43 (m, 2H), 3.38-3.21 (m, 2H), 2.30-2.20 (m, 3H), 2.04-2.00 (m, 1H), 1.76 (s, 1H), 1.44 (s, 9H)。EI-MS  $m/z$ : 526 ( $M^+$ )。

[1057] 化合物IntC1-L-1c的制备

[1058] 在室温下在 $H_2$ 下向化合物IntC1-L-1b (3g, 5.71mmol) 在MeOH (25mL) 中的溶液中添加Pd/C (900mg)。将混合物搅拌3小时并且通过Celite®过滤, 并且然后在减压下浓缩。化合物IntC1-L-1c不经进一步纯化而直接用于下一步骤 (2.23g, 粗品)。

[1059]  $^1H$  NMR (400MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  6.56 (s, 1H), 5.20 (s, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.61 (s, 4H), 3.57-3.55 (m, 4H), 3.53-3.50 (m, 1H), 3.48-3.44 (m, 4H), 2.40-2.32 (m, 2H), 2.18-2.10 (m, 1H), 1.88-1.81 (m, 1H), 1.44 (s, 9H)。EI-MS  $m/z$ : 392 ( $M^+$ )。

[1060] 化合物IntC1-L-1d的制备

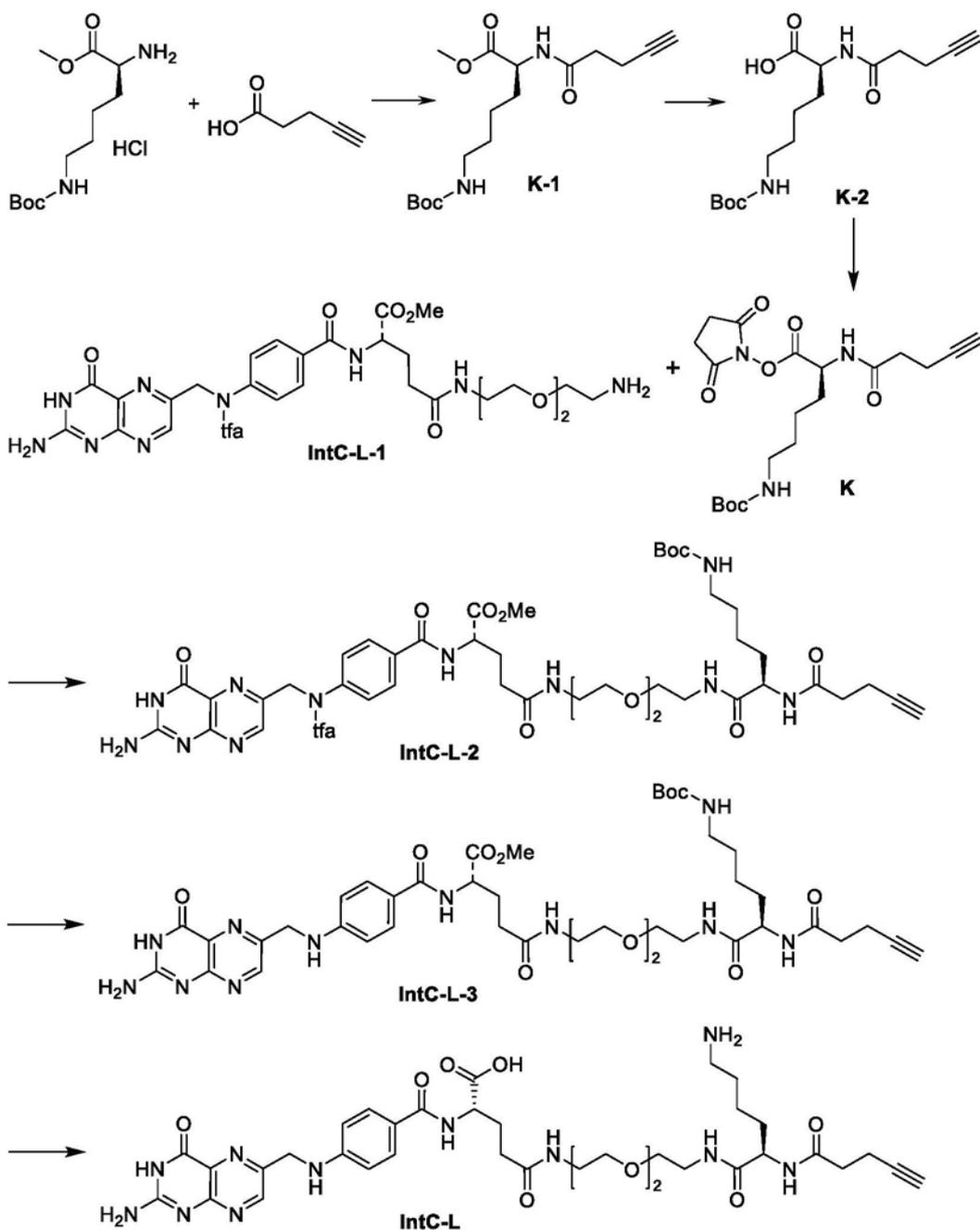
[1061] 在 $0^\circ C$ 下在 $N_2$ 气氛下向化合物IntC1-L-1c (2.23g, 5.71mmol) 和化合物FA-Int (2.12g, 5.19mmol) 在DMF (15mL) 中的溶液中添加HBTU (2.36g, 6.23mmol) 和DIPEA (1.36mL, 7.78mmol)。将混合物在室温下搅拌2.5小时并且添加EA (100mL  $\times$  7) 和 $H_2O$  (100mL)。将有机层经无水 $Na_2SO_4$ 干燥, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 提供化合物IntC1-L-1d (4.06g, 定量)。

[1062]  $^1H$  NMR (400Hz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$  8.89 (d,  $J=7.6Hz$ , 1H), 8.63 (s, 1H), 7.90 (d,  $J=8Hz$ , 2H), 7.64 (d,  $J=8.4Hz$ , 2H), 6.76-6.75 (m, 1H), 5.12 (s, 1H), 4.41-4.36 (m, 1H), 3.64 (s, 3H), 3.47 (s, 4H), 3.39-3.35 (m, 4H), 3.20-3.12 (m, 2H), 3.07-3.02 (m, 2H), 2.23 (t,  $J=7.4Hz$ , 2H), 2.09-2.06 (m, 1H), 1.96-1.91 (m, 1H), 1.36 (s, 9H)。EI-MS  $m/z$ : 782 ( $M^+$ )。

[1063] 化合物IntC1-L-1的制备

[1064] 在 $0^\circ C$ 下向化合物IntC1-L-1d (4.68g, 5.99mmol) 在DCM (50mL) 中的溶液中逐滴添加TFA (10mL)。使反应物升温至室温并且搅拌3小时。将混合物在减压下浓缩并且不经进一步纯化而直接用于下一步骤 (4.08g, 粗品)。

[1065] [实施例13] 化合物IntC-L的制备



[1066]

[1067] 化合物K-1的制备

[1068] 在0℃下在N<sub>2</sub>气氛下向L-Lys(Boc)-OMe(3g, 10.11mmol)和4-戊炔酸(992mg, 10.11mmol)在DMF(30mL)中的溶液中一次性添加PyBop(7.89g, 15.16mmol),接着添加DIPEA(5.26mL, 30.32mmol)。将混合物在室温下搅拌过夜。将EA(80mL X 4)和饱和柠檬酸(60mL)添加到混合物并且将有机层用NaHCO<sub>3</sub>(120mL)、盐水(100mL)洗涤,经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,提供化合物K-1(3.29g, 95%)。

[1069] EI-MS m/z: 341 (M<sup>+</sup>)。[1070] 化合物K-2的制备

[1071] 在0℃下在N<sub>2</sub>气氛下向化合物K-1(3.29g, 9.66mmol)在MeOH(15mL)中的溶液中添加溶解在H<sub>2</sub>O(15mL)中的LiOH·H<sub>2</sub>O(2.03g, 48.32mmol)。

[1072] 将混合物在0℃下搅拌30分钟,并且升温至室温持续2小时。将混合物用饱和柠檬

酸水溶液酸化,并且将EA (40mL X 2) 添加到混合物。将有机层用H<sub>2</sub>O (30mL) 和盐水 (30mL) 洗涤,经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩。化合物K-2不经进一步纯化而直接用于下一步骤 (3.15g,粗品)。

[1073] EI-MS m/z:327 (M<sup>+</sup>)。

[1074] 化合物K的制备

[1075] 在N<sub>2</sub>气氛下向化合物K-2 (3.69g, 11.31mmol) 在DMF (20mL) 中的溶液中添加NHS (1.69mg, 14.7mmol) 和EDCI (2.93g, 15.26mmol)。将混合物在室温下搅拌过夜并且浓缩。残余物化合物K不经进一步纯化而直接用于下一步骤 (4.79g,粗品)。

[1076] EI-MS m/z:446 (M<sup>+</sup>+Na)。

[1077] 化合物IntC-L-2的制备

[1078] 在N<sub>2</sub>气氛下向化合物IntC-L-1 (4.08g, 5.99mmol) 和化合物K (4.79g, 11.31mmol) 在DMF (25mL) 中的溶液中添加DIPEA (5.21mL, 29.93mmol)。将混合物在室温下搅拌过夜。将H<sub>2</sub>O (70mL) 和盐水 (60mL) 添加到混合物中并且用EA (70mL X 7) 萃取。并且将有机层经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,提供化合物IntC-L-2 (1.12g, 19%)。

[1079] EI-MS m/z:991 (M<sup>+</sup>)。

[1080] 化合物IntC-L-3的制备

[1081] 在0°C下在N<sub>2</sub>气氛下向化合物IntA-L-2 (1.12g, 1.13mmol) 在MeOH (27mL) 中的溶液中添加溶解在H<sub>2</sub>O (10mL) 中的LiOH·H<sub>2</sub>O (356mg, 8.48mmol)。将混合物在0°C下搅拌30分钟,并且升温至室温持续3小时。将混合物用2M HCl酸化并且在减压下浓缩。残余物化合物IntC-L-3不经进一步纯化而直接用于下一步骤 (996mg,粗品)。

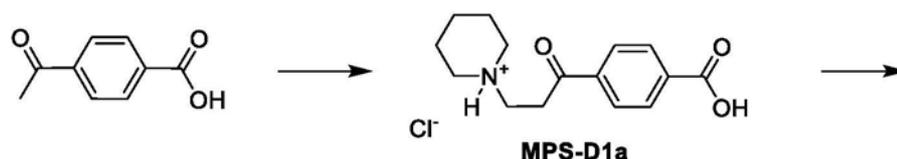
[1082] EI-MS m/z:880 (M<sup>+</sup>)。

[1083] 化合物IntC-L的制备

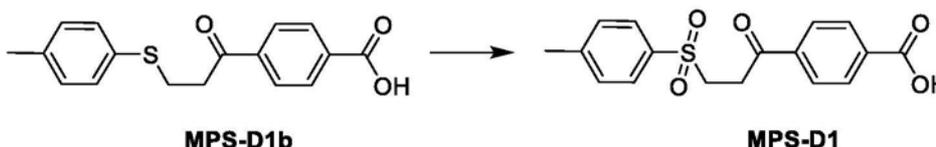
[1084] 在0°C下在N<sub>2</sub>气氛下向化合物IntC-L-3 (996mg, 1.13mmol) 在DCM (30mL) 中的溶液中添加TFA (8mL)。在0°C下搅拌1小时后,将混合物在减压下浓缩。将残余物溶解在DMSO (5mL) 中并且通过制备型HPLC纯化,产生化合物IntC-L (409mg, 32%)。

[1085] EI-MS m/z:780 (M<sup>+</sup>)。

[1086] [实施例14] 化合物MPS-D1的制备



[1087]



[1088] 化合物MPS-D1a的制备

[1089] 在室温下在N<sub>2</sub>气氛下向4-乙酰基苯甲酸 (9g, 54.82mmol) 在EtOH (50mL) 中的溶液中添加哌啶盐酸盐 (6.66g, 54.82mmol)、多聚甲醛 (4.95g, 164.5mmol) 和浓HCl (0.6mL)。将混合物在100°C下搅拌16小时并且冷却至室温。向混合物中逐滴添加丙酮 (90mL)。将混合物

在0℃下搅拌1小时。将固体过滤并且用二乙醚(30mL X 2)洗涤,提供化合物MPS-D1a(6.11g,38%)。

[1090]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz,DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 8.08(s,4H),5.73(s,1H),3.65(t,J=7.2Hz,2H),3.35(t,J=7.2Hz,2H),3.31(m,6H),1.74(s,4H)。

[1091] 化合物MPS-D1b的制备

[1092] 在室温下向MPS-D1a(6.11g,20.52mmol)在EtOH(40mL)和MeOH(26mL)中的溶液中添加4-甲氧基苯硫醇(2.55g,20.52mmol)和哌啶(0.3mL,3.08mmol)。将混合物在100℃下搅拌16小时,然后冷却至0℃并且另外搅拌1小时。将固体过滤并且用醚(30mL X 2)洗涤,提供化合物MPS-D1b(5.56g,90%)。

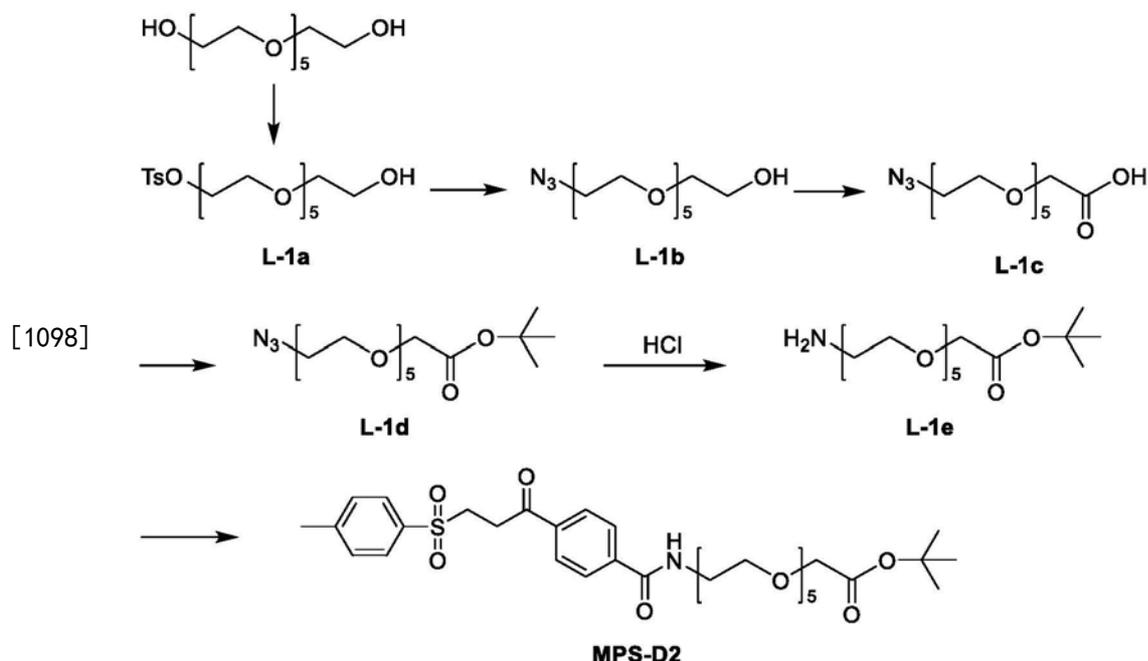
[1093]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz,CDCl $_3$ )  $\delta$ 8.04-7.99(m,4H),7.27(d,J=8.4Hz,2H),7.15(d,J=7.6Hz,2H),3.39-3.36(m,2H),3.25-3.21(m,2H),2.27(s,3H)。

[1094] 化合物MPS-D1的制备

[1095] 在0℃下在N $_2$ 气氛下向MPS-D1b(5.56g,18.51mmol)在MeOH(90mL)和蒸馏水(90mL)中的溶液中添加过硫酸氢钾制剂(oxone)(25.03g,40.72mmol)。在室温下搅拌14小时后,将混合物用蒸馏水(100mL)和氯仿(150mL X 3)猝灭。将有机层用盐水(200mL)洗涤,经无水Na $_2$ SO $_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩,提供化合物MPS-D1(5.29g,86%)。

[1096]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz,CDCl $_3$ )  $\delta$ 8.04-7.99(m,4H),7.81(d,J=8.4Hz,2H),7.46(d,J=8.4Hz,2H),3.63(t,J=7.2Hz,2H),3.41(t,J=7.2Hz,2H),2.44(s,3H)。EI-MS m/z:333(M $^+$ )。

[1097] [实施例15]化合物MPS-D2的制备



[1099] 化合物L-1a的制备

[1100] 在N $_2$ 气氛下向六乙二醇(5.0g,17.71mmol)在无水DCM(178mL)中的溶液中添加KI(294mg,1.77mmol)和Ag $_2$ O(4.92g,19.48mmol)。将混合物在室温下搅拌过夜。反应完成后,将混合物通过Celite®过滤并且用DCM(100mL)洗涤。将滤液在减压下浓缩。通过柱色谱法

纯化残余物,提供化合物L-1a (5.98g,73%)。

[1101]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 7.80 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H), 7.35 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H), 4.16 (t,  $J=4.8\text{Hz}$ , 2H), 3.71-3.58 (m, 22H), 2.88 (br, 1H), 2.45 (s, 3H)。

[1102] 化合物L-1b的制备

[1103] 在 $\text{N}_2$ 气氛下向化合物L-1a (5.98g, 13.7mmol) DMF (30mL) 的溶液中添加 $\text{NaN}_3$  (1.34g, 20.55mmol)。将混合物在 $110^\circ\text{C}$ 下搅拌1小时并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,提供化合物L-1b (4.1g, 97%)。

[1104]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 3.72-3.60 (m, 22H), 3.39 (t,  $J=4.8\text{Hz}$ , 2H), 2.78 (br, 1H)。

[1105] 化合物L-1c的制备

[1106] 在 $-5^\circ\text{C}$ 下在 $\text{N}_2$ 气氛下向化合物L-1b (2g, 6.51mmol) 在丙酮 (56mL) 中的溶液中缓慢地逐滴添加Jones试剂溶液 (5mL)。将混合物在室温下搅拌2小时并且通过Celite®过滤,并且将滤液在减压下浓缩。将滤液用DCM (20mL $\times$ 2) 和水 (5mL) 稀释。将有机层经无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤,并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,提供化合物L-1c (1.85g, 89%)。

[1107]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 4.15 (s, 2H), 3.76-3.67 (m, 18H), 3.40 (t,  $J=4.8\text{Hz}$ , 2H)。

[1108] 化合物L-1d的制备

[1109] 在 $\text{N}_2$ 气氛下向化合物L-1c (500mg, 1.56mmol) 在DCM (10mL) 中的溶液中添加t-BuOH (305 $\mu\text{L}$ , 3.11mmol)、DIC (292.5 $\mu\text{L}$ , 1.87mmol) 和DMAP (19mg, 0.16mmol)。将混合物在室温下搅拌4小时并且用DCM (30mL $\times$ 2) 稀释。将有机层用水 (5mL) 洗涤,经无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤,并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,提供化合物L-1d (278.5mg, 47%)。

[1110]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 4.01 (s, 2H), 3.70-3.66 (m, 18H), 3.38 (t,  $J=4.8\text{Hz}$ , 2H), 1.47 (s, 9H)。

[1111] 化合物L-1e的制备

[1112] 在 $\text{N}_2$ 气氛下向化合物L-1d (278mg, 0.74mmol) 在EtOH (5mL) 中的溶液中添加Pd/C (236mg, 0.11mmol) 和4M-HCl (在1,4-二噁烷中)。将混合物在室温下搅拌1小时。将混合物通过Celite®过滤以除去Pd/C,并且浓缩,提供化合物L-1e (255.3mg, 89.2%)。

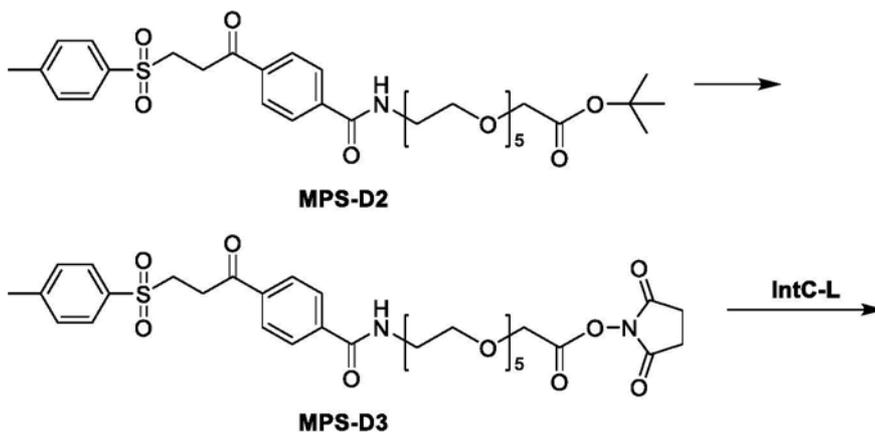
[1113]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ 8.32 (s, 1H), 3.98 (s, 2H), 3.55-3.40 (m, 18H), 3.86 (t,  $J=5.6\text{Hz}$ , 2H), 2.70-2.64 (m, 2H), 1.42 (s, 9H)。

[1114] 化合物MPS-D2的制备

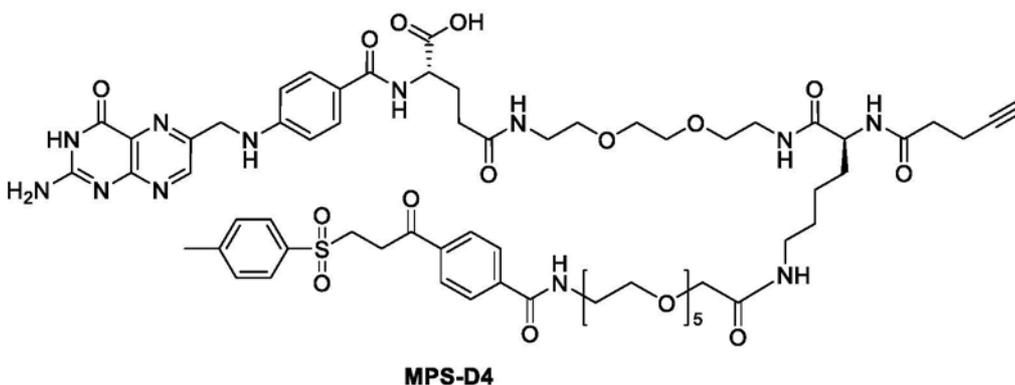
[1115] 在氮气下向化合物L-1e (255.3mg, 0.66mmol) 和化合物MPS-D1 (240.6mg, 0.72mmol) 在DMF (6mL) 中的溶液中添加HBTU (300mg, 0.79mmol) 和DIPEA (229.3 $\mu\text{L}$ , 1.32mmol)。将混合物在室温下搅拌2小时并且用EA (20mL $\times$ 2) 和水 (5mL) 稀释。将有机层经无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤,并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,提供化合物MPS-D2 (306mg, 71%)。

[1116]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 7.95 (s, 4H), 7.82 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 2H), 7.38 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 2H), 7.33-7.30 (m, 1H), 3.98 (s, 2H), 3.68-3.63 (m, 18H), 3.55-3.53 (m, 2H), 3.49-3.47 (m, 2H), 2.95 (s, 1H), 2.88 (s, 1H), 2.46 (s, 3H), 1.46 (s, 9H)。EI-MS  $m/z$ : 666 ( $\text{M}^+$  + 1)。

[1117] [实施例16] 化合物MPS-D4的制备



[1118]



[1119] 化合物MPS-D3的制备

[1120] 在0℃下向化合物MPS-D2 (120mg, 0.18mmol) 在DCM (8mL) 中的溶液中添加TFA (4mL)。在N<sub>2</sub>气氛下使反应物经2小时升温至室温。反应完成后,通过使用甲苯作为助溶剂将混合物在减压下浓缩三次,从而除去TFA。然后,将混合物再次溶解在DMF中,并且向其中添加NHS (31mg, 0.27mmol) 和EDCI (52mg, 0.27mmol)。将混合物在室温下搅拌过夜。反应完成后,化合物MPS-D3不经进一步纯化而直接用于下一步骤 (127mg, 粗品)。

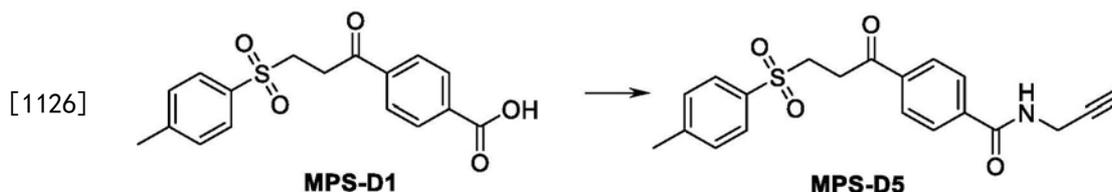
[1121] EI-MS m/z: 707 (M<sup>+</sup>)。

[1122] 化合物MPS-D4的制备

[1123] 在N<sub>2</sub>气氛下向化合物IntC-L (60mg, 0.08mmol) 和化合物MPS-D3 (82mg, 0.12mmol) 在DMF (6mL) 中的溶液中添加DIPEA (112μL, 0.64mmol)。将混合物搅拌30分钟并且溶解在DMSO (3mL) 中并且通过HPLC纯化,产生化合物MPS-D4 (77mg, 73%)。

[1124] EI-MS m/z: 1373 (M<sup>+</sup>)。

[1125] [实施例17] 化合物MPS-D5的制备

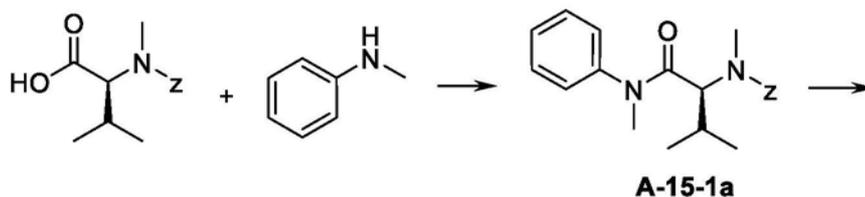


[1127] 在室温下在N<sub>2</sub>气氛下向化合物MPS-D1 (500mg, 1.50mmol) 在DMF (8mL) 中的溶液中添加炔丙胺 (106μL, 1.65mmol)。将反应物冷却至0℃并且向其中添加PyBop (1.17g, 2.26mmol) 和DIPEA (524μL, 3.01mmol)。将混合物在室温下搅拌2小时并且用EA (30mL × 2) 和

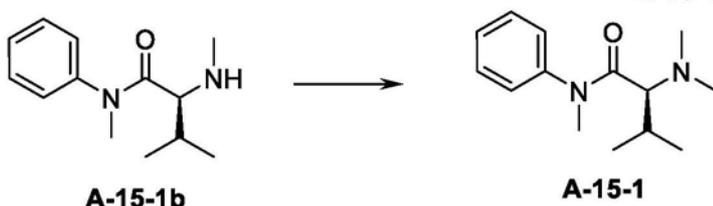
蒸馏水 (20mL) 稀释。将有机层萃取并且用盐水 (50mL) 洗涤, 经无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥, 过滤, 并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 提供化合物MPS-D5 (510mg, 92%)。

[1128]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.11 (t,  $J=5.2\text{Hz}$ , 1H), 7.98-7.89 (m, 4H), 7.79 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 2H), 7.43 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H), 4.05-4.03 (m, 2H), 3.60 (t,  $J=7.6\text{Hz}$ , 2H), 3.39 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 2H), 3.12 (s, 1H), 2.38 (s, 3H)。

[1129] [实施例18] 化合物A-15-1的制备



[1130]



[1131] 化合物A-15-1a的制备

[1132] 在室温下在 $\text{N}_2$ 气氛下向z-缬氨酸 (1.01g, 3.81mmol) 和N-甲基苯胺 (412 $\mu\text{L}$ , 3.81mmol) 在DCM (15mL) 中的溶液中添加DCC (1.18g, 5.71mmol) 和DMAP (92mg, 0.76mmol), 接着在室温下搅拌3小时。将混合物通过Celite®过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 提供化合物A-15-1a (1.05g, 78%)。

[1133] EI-MS  $m/z$ : 584 ( $\text{M}^+$ )。

[1134] 化合物A-15-1b的制备

[1135] 在氮气下将化合物A-15-1a (1.05g, 2.96mmol) 溶解在MeOH (15mL) 中, 添加Pd/C (378mg, 0.18mmol)。在室温下在 $\text{H}_2$ 下搅拌2小时后, 将混合物通过Celite®过滤并且用MeOH (30mL) 洗涤。将滤液浓缩, 提供化合物A-15-1b (560mg, 86.0%)。

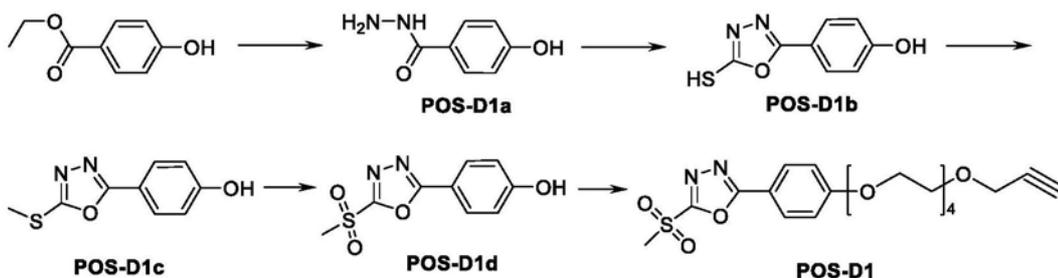
[1136]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.45-7.41 (m, 2H), 7.38-7.36 (m, 1H), 7.19 (d,  $J=7.6\text{Hz}$ , 1H), 3.32 (s, 3H), 2.88 (d,  $J=6.0\text{Hz}$ , 1H), 2.33 (s, 3H), 1.73 (q,  $J=6.8\text{Hz}$ , 1H), 0.86 (d,  $J=6.8\text{Hz}$ , 3H), 0.80 (d,  $J=6.8\text{Hz}$ , 3H)。

[1137] 化合物A-15-1的制备

[1138] 在 $\text{N}_2$ 气氛下向化合物A-15-1b (220mg, 0.99mmol) 在DMF (8mL) 中的溶液中添加37% 甲醛 (223 $\mu\text{L}$ , 2.99mmol) 和AcOH (1.14mL, 19.8mmol)。在室温下搅拌5分钟后, 添加 $\text{NaCNBH}_3$  (125mg, 1.98mmol)。将混合物在室温下搅拌2小时并且用饱和 $\text{NaHCO}_3$  (15mL X 2) 猝灭。向混合物中添加EA (20mL X 2) 和盐水 (20mL)。将有机层经无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥, 过滤, 并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 提供化合物A-15-1 (189mg, 81%)。

[1139] EI-MS  $m/z$ : 235 ( $\text{M}^+$ )。

[1140] [实施例19] 化合物POS-D1的制备



[1141]

[1142] 化合物POS-D1a的制备

[1143] 在 $N_2$ 气氛下向4-羟基苯甲酸乙酯 (20g, 120.35mmol) 在EtOH (60mL) 中的溶液中添加 $NH_2NH_2 \cdot H_2O$  (88mL, 1805.4mmol)。将混合物在回流下搅拌过夜。反应完成后, 将混合物冷却至室温, 并且在减压下浓缩, 接着进行EtOH湿磨, 从而获得化合物POS-D1a (17.539g, 96%)。

[1144]  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.50 (s, 1H), 7.68 (d,  $J=8.4$ Hz, 2H), 6.78 (d,  $J=8.8$ Hz, 2H), 4.37 (s, 2H)。EI-MS  $m/z$ : 431 ( $M^+$ )。

[1145] 化合物POS-D1b的制备

[1146] 在 $N_2$ 气氛下向化合物POS-D1a (17.54g, 115.28mmol) 在EtOH (200mL) 和DMF (100mL) 中的溶液中添加 $CS_2$  (45mL, 749.32mmol) 和KOH (6.5g, 115.28mmol)。在85°C下搅拌18小时后, 向混合物中添加EA (500mL) 和 $H_2O$  (500mL), 然后用1M HCl酸化。将有机层用 $H_2O$  (500mL) 和盐水 (500mL) 洗涤, 经无水 $Na_2SO_4$ 干燥, 过滤, 并且在减压下浓缩。使残余物经受醚/己烷湿磨, 提供化合物POS-D1b (20.7g, 93%)。

[1147]  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.44 (s, 1H), 7.72 (d,  $J=8.4$ Hz, 2H), 6.94 (d,  $J=8.0$ Hz, 2H)。EI-MS  $m/z$ : 195 ( $M^+$ )。

[1148] 化合物POS-D1c的制备

[1149] 在0°C下向化合物POS-D1b (5g, 25.75mmol) 在THF (100mL) 中的溶液中逐滴添加 $Et_3N$  (4.3mL, 30.9mmol) 和MeI (1.76mL, 28.33mmol)。在0°C下搅拌10分钟后, 将混合物升温至室温。并且然后将混合物搅拌2小时并且用EA (100mL X 2) 稀释。将有机层用 $H_2O$  (100mL) 和盐水 (100mL) 洗涤, 经无水 $Na_2SO_4$ 干燥, 过滤, 并且在减压下浓缩。使残余物经受醚湿磨, 提供化合物POS-D1c (5.15g, 96%)。

[1150]  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.80 (d,  $J=8.4$ Hz, 2H), 6.94 (d,  $J=8.4$ Hz, 2H), 2.74 (s, 3H)。EI-MS  $m/z$ : 209 ( $M^+$ )。

[1151] 化合物POS-D1d的制备

[1152] 在0°C下在 $N_2$ 气氛下向化合物POS-D1c (3.2g, 15.37mmol) 在EtOH (150mL) 中的溶液中添加70% m-CPBA (11.4g, 46.11mmol)。在室温下搅拌5小时后, 进一步添加70% m-CPBA (11.4g, 46.11mmol)。然后将混合物在室温下搅拌过夜并且用 $H_2O$  (500mL)、饱和 $NaHCO_3$  (300mL) 猝灭, 用EA (500mL X 2) 稀释。将有机层用盐水 (300mL) 洗涤, 经无水 $Na_2SO_4$ 干燥, 过滤并且在减压下浓缩。使残余物经受己烷/EA = 1:1 (100mL) 湿磨, 提供化合物POS-D1d (3.2mg, 89%)。

[1153]  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.95 (d,  $J=8.8$ Hz, 2H), 7.01 (d,  $J=8.8$ Hz, 2H), 3.69 (4s, 3H)。EI-MS  $m/z$ : 241 ( $M^+$ )。

[1154] 化合物POS-D1的制备

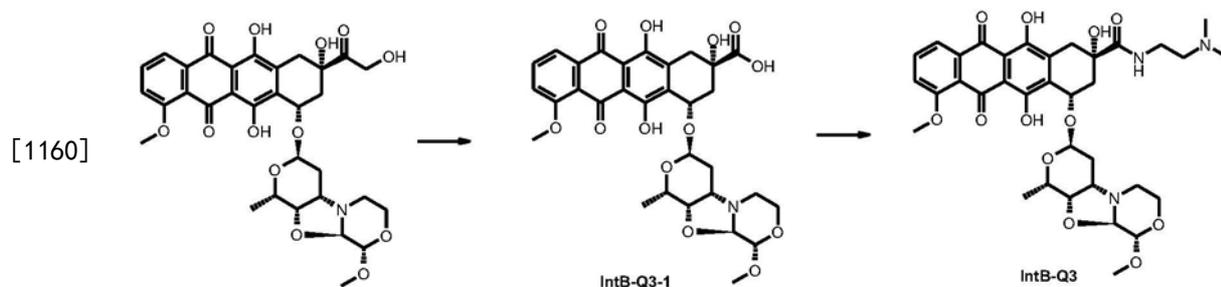
[1155] 在0℃下向四乙二醇(17.3ml, 0.10mol)在THF(50mL)中的溶液中逐滴添加NaH(2.6g, 0.065mmol)。混合物在0℃下搅拌1小时后,添加溴丙炔(5.95g, 0.05mol)。将混合物在室温下搅拌过夜并且用冰/水猝灭,用EA(100mL X 2)稀释。将有机层用H<sub>2</sub>O(100mL)和盐水(100mL)洗涤,经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩。通过用醚湿磨残余物,获得3,6,9,12-四氧杂十五-14-炔-1-醇(5.87g, 51%)。

[1156] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ4.21(s, 2H), 3.73-3.66(m, 14H), 3.59-3.61(m, 2H), 2.60(s, 1H), 2.42(t, J=2.4Hz, 1H)。

[1157] 将3,6,9,12-四氧杂十五-14-炔-1-醇(660mg, 2.84mmol)和化合物D-4-5(310mg, 1.29mmol)溶解在THF(8mL)和DMF(0.8mL)中,并且添加PPh<sub>3</sub>(667mg, 2.58mmol)。将混合物冷却至0℃。向其中添加2.2M DEAD(1.17mL, 2.58mmol),并且将混合物在0℃下搅拌3小时。反应完成后,添加EA(15mL X 2)和蒸馏水(15mL),并且将有机层萃取并且用盐水(20mL)洗涤。将所得有机层经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,并且在减压下浓缩,提供化合物POS-D1(205mg, 30%)。

[1158] EI-MS m/z: 455 (M<sup>+</sup>)。

[1159] [实施例20]化合物IntB-Q3的制备



[1161] 化合物IntB-Q3-1的制备

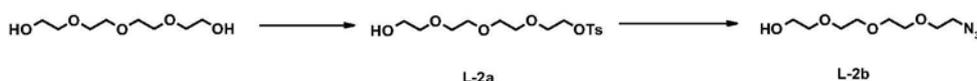
[1162] 在室温下向PNU-1529682(52mg, 0.081mmol)在MeOH(5ml)/蒸馏水(3mL)中的溶液中添加NaIO<sub>4</sub>(18mg, 0.081mmol)。搅拌2小时后,将混合物在减压下浓缩,产生粗化合物IntB-Q3-1(51mg, 99%)。EI-MS m/z: 628 (M<sup>+</sup>)。

[1163] 化合物IntB-Q3的制备

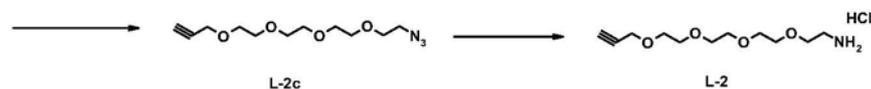
[1164] 在室温下向化合物IntB-Q3-1(51mg, 0.081mmol)在无水DCM(5mL)中的溶液中添加2-(二甲基氨基)乙胺(6.1μL, 0.089mmol)和TEA(34μL, 0.243mmol)、TBTU(52mg, 0.162mmol)。搅拌1小时后,将混合物用DCM(2x8mL)稀释。将有机层用H<sub>2</sub>O(8mL)洗涤,经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法纯化,产生化合物IntB-Q3(38mg, 67%)。

[1165] EI-MS m/z: 698 (M<sup>+</sup>)。

[1166] [实施例21]化合物L-2的制备



[1167]



[1168] 利用与Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry, 2012, 50 (19), 3986-3995中描述的合成类似的合成途径来合成化合物L-2。

[1169] 化合物L-2a的制备

[1170] 产率30%

[1171]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.80 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H), 7.34 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H), 4.16 (t,  $J=4.8\text{Hz}$ , 2H), 3.74-3.58 (m, 14H), 2.45 (s, 3H)。

[1172] 化合物L-2b的制备

[1173] 产率68%

[1174]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3.74-3.61 (m, 14H), 3.40 (t,  $J=4.8\text{Hz}$ , 2H), 2.45 (t,  $J=6.0\text{Hz}$ , 1H)。

[1175] 化合物L-2c的制备

[1176] 产率63%

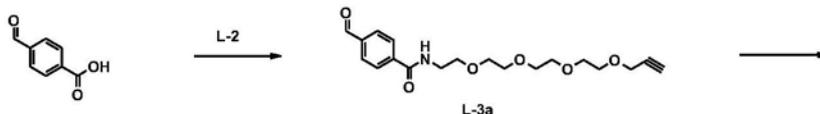
[1177]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.21 (d,  $J=2.4\text{Hz}$ , 2H), 3.72-3.67 (m, 14H), 3.39 (t,  $J=5.2\text{Hz}$ , 2H), 2.43 (t,  $J=2.4\text{Hz}$ , 1H)。

[1178] 化合物L-2的制备

[1179] 产率76%

[1180]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.20 (d,  $J=2.4\text{Hz}$ , 2H), 3.71-3.61 (m, 12H), 3.51 (t,  $J=4.8\text{Hz}$ , 2H), 2.87 (t,  $J=5.6\text{Hz}$ , 2H), 2.43 (t,  $J=2.4\text{Hz}$ , 1H)。

[1181] [实施例22] 化合物L-3的制备



[1182]



[1183] 利用与Journal of Organic Chemistry, 2002, 67, 5032-5035中描述的合成类似的合成途径来合成化合物L-3。

[1184] 化合物L-3a的制备

[1185] 产率92%

[1186]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  10.08 (s, 1H), 7.97 (q,  $J=8.8\text{Hz}$ , 8.8Hz, 4H), 7.16 (brs, 1H), 4.14 (d,  $J=2.4\text{Hz}$ , 2H), 3.70-3.62 (m, 16H), 2.41 (t,  $J=2.4\text{Hz}$ , 1H)。EI-MS  $m/z$ : 384 ( $\text{M}^+$ )

[1187] 化合物L-3b的制备

[1188] 产率69%

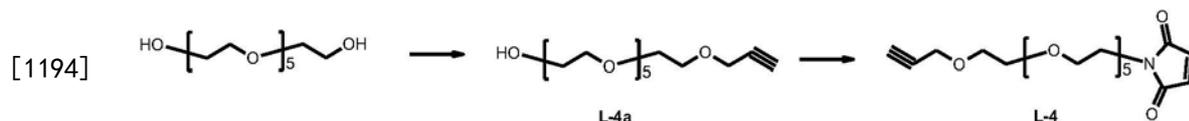
[1189]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.82 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 2H), 7.60 (d,  $J=7.6\text{Hz}$ , 2H), 6.88 (brs, 1H), 5.47 (brs, 1H), 4.14 (d,  $J=2.4\text{Hz}$ , 2H), 3.70-3.63 (m, 16H), 2.42 (brs, 1H), 2.19 (s, 3H)。EI-MS  $m/z$ : 404 ( $\text{M}^+$ )

[1190] 化合物L-3的制备

[1191] 产率81%

[1192]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.19 (d,  $J=7.2\text{Hz}$ , 2H), 7.92 (d,  $J=7.6\text{Hz}$ , 2H), 7.07 (brs, 1H), 4.16 (s, 2H), 3.70-3.49 (m, 16H), 2.42 (brs, 1H), 2.19 (s, 3H)。EI-MS  $m/z$ : 402 ( $\text{M}^{+1}$ )

[1193] [实施例23] 化合物L-4的制备



[1195] 利用与Journal of Medicinal Chemistry, 52 (19), 5816-5825; 2009中描述的合成类似的合成途径来合成化合物L-4。

[1196] 化合物L-4a的制备

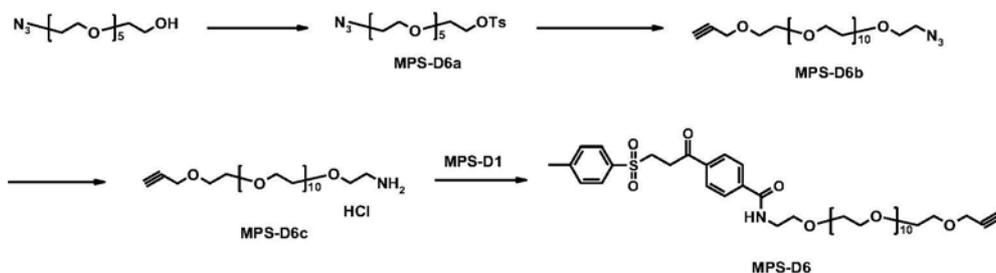
[1197] 产率55%

[1198]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 4.21 (d,  $J=2.0\text{Hz}$ , 2H), 3.72-3.60 (m, 24H), 2.79 (brs, 1H), 2.43 (t,  $J=2.4\text{Hz}$ , 1H)。

[1199] 化合物L-4的制备

[1200] EI-MS  $m/z$ : 400 ( $\text{M}^{+1}$ )

[1201] [实施例24] 化合物MPS-D6的制备



[1203] 经由与实施例17和实施例21中描述的合成类似的合成途径来合成化合物MPS-D6。

[1204] 化合物MPS-D6a的制备产率91%

[1205]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 7.80 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H), 7.35 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H), 4.16 (t,  $J=4.8\text{Hz}$ , 2H), 3.70-3.61 (m, 20H), 3.39 (t,  $J=4.8\text{Hz}$ , 2H), 2.45 (s, 3H)。EI-MS  $m/z$ : 462 ( $\text{M}^{+1}$ )

[1206] 化合物MPS-D6b的制备

[1207] 产率93%; EI-MS  $m/z$ : 610 ( $\text{M}^{+1}$ )

[1208] 化合物MPS-D6c的制备

[1209] 产率54%。EI-MS  $m/z$ : 584 ( $\text{M}^{+1}$ )

[1210] 化合物MPS-D6的制备

[1211] 产率72%; EI-MS  $m/z$ : 899 ( $\text{M}^{+1}$ )

[1212] [实施例25] 化合物MPS-D7的制备



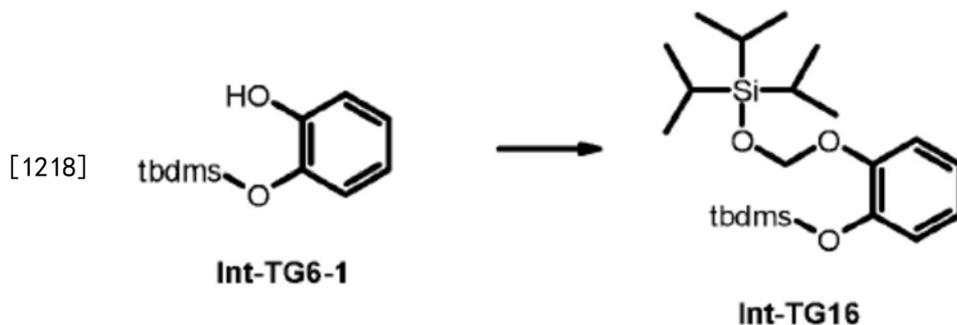
[1214] 经由如在实施例17中描述的类似合成途径来合成化合物MPS-D7。

[1215] 产率80%; EI-MS  $m/z$ : 546 ( $\text{M}^{+1}$ )

[1216]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.11-7.94 (m, 4H), 7.83 (d,  $J=7.6\text{Hz}$ , 2H), 7.44 (brs, 1H),

7.38 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 2H), 4.15 (s, 2H), 3.69-3.65 (m, 14H), 3.58-3.48 (m, 4H), 2.80 (s, 1H), 2.46 (s, 3H)。

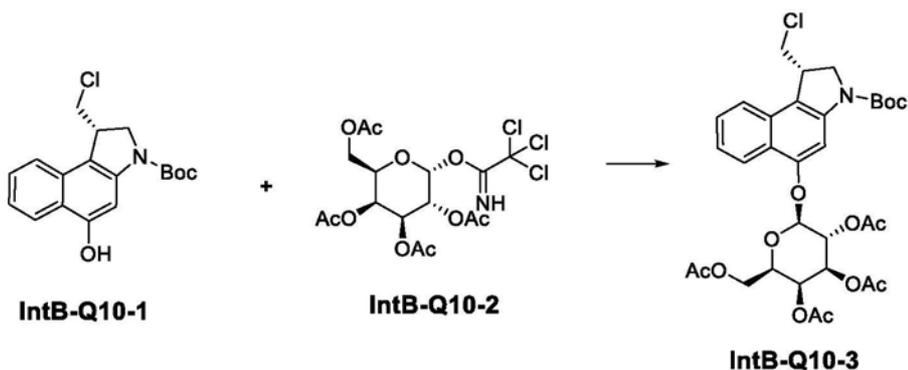
[1217] [实施例26]化合物Int-TG16的制备



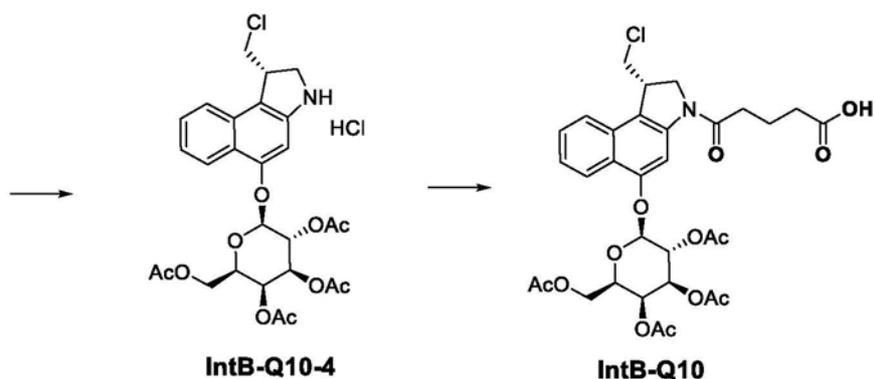
[1219] 在 $\text{N}_2$ 气氛下向化合物Int-TG6-1 (300mg, 1.34mmol) 和TOM-C1 (310 $\mu\text{L}$ , 1.34mmol) 在DCM (2mL) 中的溶液中添加DIPEA (291 $\mu\text{L}$ , 1.67mmol)。在室温下搅拌2小时后,进一步向其中添加TOM-C1 (310 $\mu\text{L}$ , 1.34mmol) 和DIPEA (466 $\mu\text{L}$ , 2.67mmol)。将混合物在室温下搅拌过夜。反应完成后,通过制备型HPLC纯化混合物,提供化合物Int-TG16 (165mg, 30%)。

[1220]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.22-7.20 (m, 1H), 6.92-6.87 (m, 3H), 5.43 (s, 2H), 1.21-1.08 (m, 21H), 1.03 (s, 9H), 0.19 (s, 6H)。

[1221] [实施例27]化合物IntB-Q10的制备



[1222]



[1223] 化合物IntB-Q10-1的制备

[1224] 经由与Mol. Pharmaceutics 2015, 12, 1813-1835中描述的合成类似的合成途径来合成化合物IntB-Q10-1。

[1225] 化合物IntB-Q10-2的制备

[1226] 经由与Angew. Chem. Int. Ed. 2010, 49, 7336-7339和国际专利申请公开W0 2015/

110935A1 (其通过引用整体并入本文) 中描述的合成类似的合成途径来合成化合物IntB-Q10-2。

[1227] 化合物IntB-Q10-3的制备

[1228] 在0℃下在N<sub>2</sub>气氛下向化合物IntB-Q10-1 (80mg, 0.239mmol) 和化合物IntB-Q10-2 (118mg, 0.239mmol) 在DCM (10mL) 中的溶液中添加分子筛和BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> (14.8μL, 0.12mmol)。搅拌2小时后, 将混合物通过Celite®过滤, 用DCM (50mL) 洗涤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 提供呈白色泡沫的化合物IntB-Q10-3 (105mg, 66%)。

[1229] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ8.12 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.89 (brs, 1H), 7.63 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.50 (m, 1H), 7.35 (m, 1H), 5.70 (m, 1H), 5.51 (s, 1H), 5.33 (m, 1H), 5.20 (m, 1H), 4.23 (m, 3H), 4.11 (m, 2H), 3.93 (m, 2H), 3.42 (t, J=10.8Hz, 1H), 2.18 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 2.00 (s, 3H), 1.55 (s, 9H)。EI-MS m/z: 564.4 (M<sup>+</sup>)。

[1230] 化合物IntB-Q10-4的制备

[1231] 将化合物IntB-Q10-3 (100mg, 0.15mmol) 溶解在DCM (2mL) 中并且然后在0℃下在N<sub>2</sub>气氛下向溶液中添加1, 4-二噁烷 (1mL) 中的4N HCl。搅拌4小时后, 将反应混合物在减压下浓缩。

[1232] 在N<sub>2</sub>下将反应混合物在室温下搅拌4小时。化合物IntB-Q10-4不经进一步纯化而直接用于下一步骤 (90mg, 99%)。

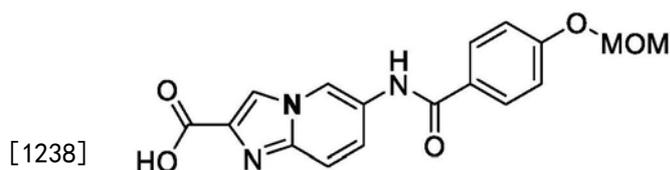
[1233] EI-MS m/z: 564.2 (M<sup>+</sup>)。

[1234] 化合物IntB-Q10的制备

[1235] 在室温下在N<sub>2</sub>气氛下向化合物IntB-Q10-4 (90mg, 0.149mmol) 在THF (5mL) 中的溶液中添加戊二酸酐 (18.8μL, 0.164mmol)、Et<sub>3</sub>N (52μL, 0.373mmol) 和4-DMAP (2mg, 0.015mmol)。将反应混合物在室温下搅拌2小时并且通过制备型HPLC纯化, 得到呈白色固体的化合物IntB-Q10 (30mg, 30%)。

[1236] EI-MS m/z: 678.3 (M<sup>+</sup>)。

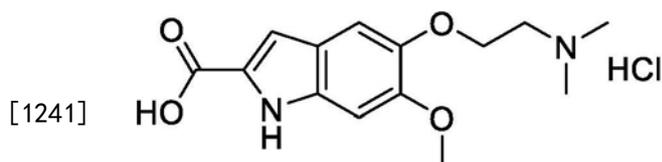
[1237] [实施例28] 化合物IntB-Q13的制备



**IntB-Q13**

[1239] 经由与Mol. Pharmaceutics 2015, 12, 1813-1835中描述的合成类似的合成途径来合成化合物IntB-Q13。

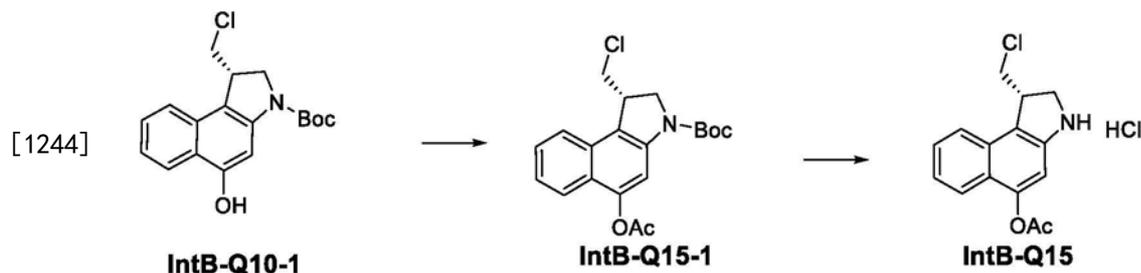
[1240] [实施例29] 化合物IntB-Q14的制备



**IntB-Q14**

[1242] 经由与国际专利申请公开WO 2015/038426A1 (其全部内容通过引用并入本文) 中描述的合成类似的合成途径来合成化合物IntB-Q14。

[1243] [实施例30] 化合物IntB-Q15的制备



[1245] 化合物IntB-Q15-1的制备

[1246] 在0℃下在N<sub>2</sub>气氛下向化合物IntB-Q10-1 (55mg, 0.016mmol) 在DCM (2mL) 中的溶液中添加乙酰氯 (26.8μL, 0.032mmol) 和吡啶 (30μL, 0.032mmol)。搅拌30分钟后, 将反应物升温至室温并进一步搅拌1小时。将混合物用EA (20mL) 稀释并用H<sub>2</sub>O (10mL) 洗涤。分离出呈浅黄色泡沫的化合物IntB-Q15-1 (50mg, 80%)。

[1247] EI-MS m/z: 398.2 (M<sup>+</sup>+Na)。

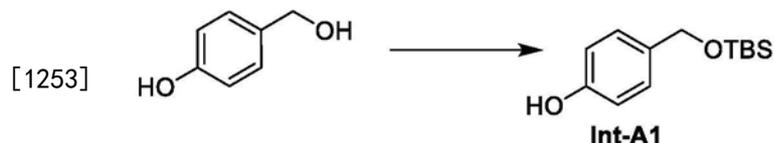
[1248] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.02 (brs, 1H) 7.79 (d, J=8.0Hz, 1H) , 7.72 (t, J=8.8Hz, 1H) , 7.51 (m, 1H) , 7.38 (m, 1H) , 4.16 (m, 1H) , 4.04 (m, 1H) , 3.92 (m, 1H) , 3.71 (m, 1H) , 3.36 (m, 1H) , 2.27, (s, 3H) , 1.54 (s, 9H)。

[1249] 化合物IntB-Q15的制备

[1250] 经由与实施例6中描述的合成类似的合成途径来合成化合物IntB-Q15。

[1251] 产率99%; EI-MS m/z: 276.2 (M<sup>+</sup>)。

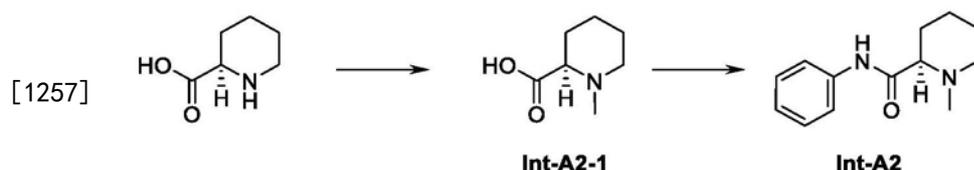
[1252] [实施例31] 化合物Int-A1的制备



[1254] 在室温下在氮气下向4-羟基苯甲醇 (1.24g, 0.01摩尔) 在DMF (15mL) 中的溶液中添加叔丁基二甲基甲硅烷基氯 (1.8g, 0.012mmol) 和咪唑 (1.7g, 0.025mmol)。将反应混合物搅拌16小时后, 向混合物中添加H<sub>2</sub>O (30mL)。所得混合物用EA (2x30mL) 萃取。将合并的有机层经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 提供化合物Int-A1 (2.19g, 92%)。

[1255] <sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.16 (d, J=6.9Hz, 2H) , 6.74 (d, J=6.9Hz, 2H) , 5.69 (s, 1H) , 4.66 (s, 2H) , 0.93 (s, 9H) , 0.09 (s, 6H)

[1256] [实施例32] 化合物Int-A2的制备



[1258] 化合物Int-A2-1的制备

[1259] 在室温下向D-哌啶酸(10g, 77.42mmol)在MeOH(400mL)中的溶液中添加多聚甲醛(4.66g, 154.8mmol)和5wt%Pd/C(1.65g, 15.48mmol), 并且在注入H<sub>2</sub>气体的同时将混合物在相同温度下搅拌16小时。反应完成后, 将混合物通过Celite®过滤, 并且然后在减压下浓缩。浓缩后, 化合物Int-A2-1不经纯化而直接用于下一个反应(11.37g, 定量)。

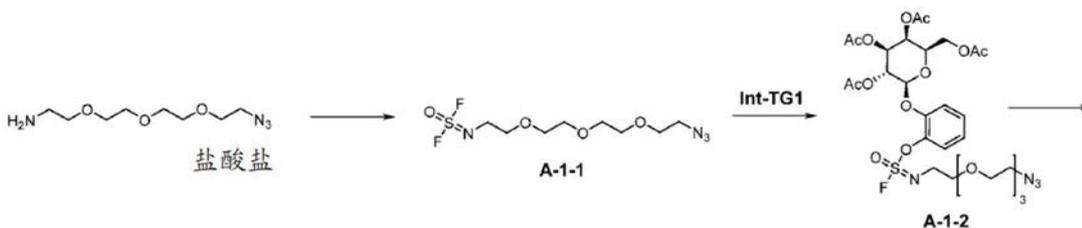
[1260] EI-MS m/z: 144 (M<sup>+</sup>)。

[1261] 化合物Int-A2的制备

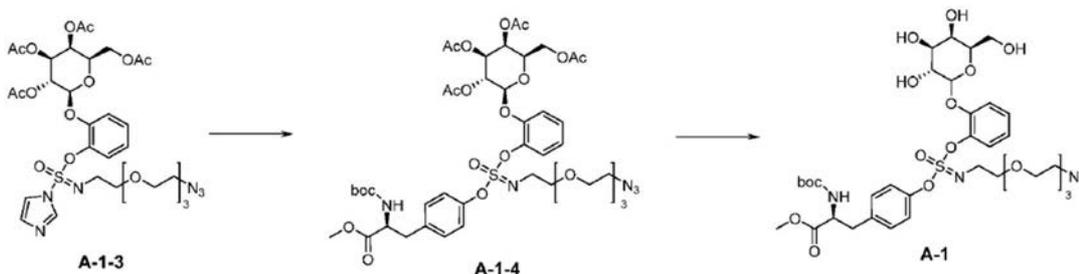
[1262] 在0°C下在氮气下向化合物Int-A2-1(1g, 6.98mmol)和苯胺(0.7mL, 7.68mmol)在DMF(10mL)中的溶液中添加DIC(1.3mL, 8.38mmol)和DMAP(171mg, 1.4mmol)。过夜后, 将反应混合物用H<sub>2</sub>O(30mL)稀释并用EA(2x 30mL)萃取。将合并的有机层经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 产生化合物Int-A2(870mg, 58%)。

[1263] <sup>1</sup>H-NMR(600MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ8.52(s, 1H), 7.58-7.52(m, 2H), 7.34-7.28(m, 2H), 7.11-7.05(m, 1H), 2.98-2.96(m, 1H), 2.59-2.53(m, 1H), 2.34(s, 3H), 2.18-2.03(m, 2H), 1.78-1.47(m, 5H), EI-MS m/z: 219 (M<sup>+</sup>)。

[1264] [实施例33]化合物A-1的制备



[1265]



[1266] 化合物A-1-1的制备

[1267] 在室温下向11-叠氮基-3,6,9-三氧杂十一烷-1-胺(Aldrich, CAS 134179-38-7, 1.17g, 4.59mmol)在ACN(15mL)中的溶液中添加三乙胺(1.92mL, 13.78mmol)。经由气球引入亚硫酸四氟气体(CAS 13709-54-1), 并且将混合物在相同温度下搅拌3小时。然后将混合物在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 提供化合物A-1-1(1.04g, 75%)。

[1268] EI-MS m/z: 303 (M<sup>+</sup>)。

[1269] 化合物A-1-2的制备

[1270] 在室温下向化合物A-1-1(1.04g, 3.44mmol)和化合物Int-TG1(1.91g, 3.44mmol)在ACN(20mL)中的溶液中添加DBU(103μL, 0.69mmol)。将混合物搅拌2小时后, 混合物用柠檬酸水溶液(30mL)稀释并用EA(2x 30mL)萃取。将所得有机层经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 提供化合物A-1-2(2.16g, 87%)。

[1271] EI-MS m/z: 723 (M<sup>+</sup>)。

[1272] 化合物A-1-3的制备

[1273] 将化合物A-1-2 (600mg, 0.83mmol) 溶解在ACN (8mL) 中, 向其中添加咪唑 (169mg, 2.49mmol) 和 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (270mg, 0.83mmol), 并且将所得混合物回流18小时。反应完成后, 添加 $\text{H}_2\text{O}$  (20mL) 和EA (2x20mL) 以进行萃取, 并且将所得有机层经无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥, 过滤, 并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 提供化合物A-1-3 (486mg, 76%)。

[1274] EI-MS  $m/z$ : 771 ( $\text{M}^+$ )。

[1275] 化合物A-1-4的制备

[1276] 在 $0^\circ\text{C}$ 下在氮气下向化合物A-1-3 (200mg, 0.26mmol) 在DCM (8mL) 中的溶液中添加三氟甲磺酸甲酯 (36 $\mu\text{L}$ , 0.31mmol)。将反应混合物在室温下搅拌2小时后, 在减压下浓缩混合物。将所得混合物溶解在无水ACN (6mL) 中, 然后向其中添加BOC-酪氨酸-OH (115mg, 0.39mmol) 和 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (85mg, 0.26mmol)。将混合物搅拌16小时, 添加EA (2x15mL) 和 $\text{H}_2\text{O}$  (15mL) 以进行萃取, 并且将有机层经无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥, 过滤并且在减压下浓缩。通过制备型HPLC分离并纯化残余物, 提供化合物A-1-4 (66mg, 26%)。

[1277] EI-MS  $m/z$ : 998 ( $\text{M}^+$ )。

[1278] 化合物A-1的制备

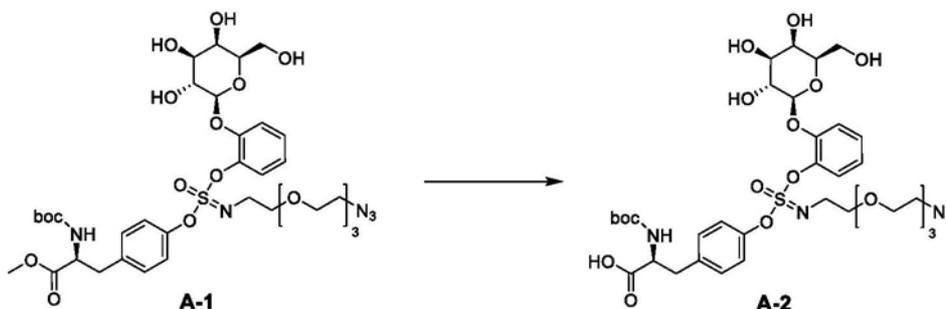
[1279] 在 $0^\circ\text{C}$ 下在氮气下向化合物A-1-4 (2mg, 2 $\mu\text{mol}$ ) 在MeOH (1.5mL) 中的溶液中添加 $\text{K}_2\text{CO}_3$  (2mg, 10 $\mu\text{mol}$ )。

[1280] 将混合物搅拌30分钟, 并且然后通过制备型HPLC分离并纯化, 提供化合物A-1 (1.3mg, 78%)。

[1281] EI-MS  $m/z$ : 852 ( $\text{M}^+ + \text{Na}$ )。

[1282] [实施例34] 化合物A-2的制备

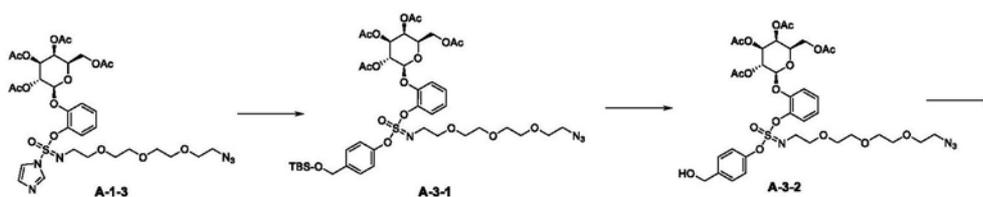
[1283]



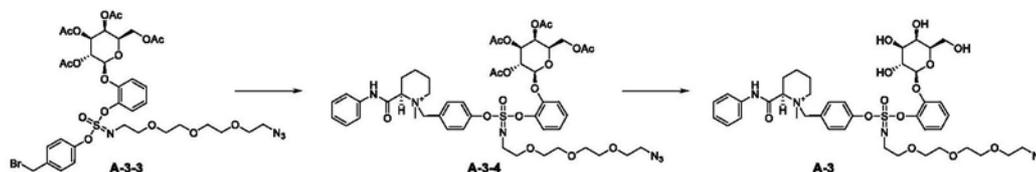
[1284] 在氮气下将化合物A-1 (61mg, 0.061mmol) 溶解在MeOH (1.5mL) 和蒸馏水 (1.5mL) 中, 并且然后冷却至 $0^\circ\text{C}$ 。冷却后, 向其中添加 $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$  (18mg, 0.43mmol), 并且将混合物搅拌2小时。反应完成后, 用2N HCl将混合物调节至具有pH 4。通过制备型HPLC分离并纯化混合物, 提供化合物A-2 (31mg, 63%)。

[1285] EI-MS  $m/z$ : 816 ( $\text{M}^+$ )。

[1286] [实施例35] 化合物A-3的制备



[1287]

[1288] 化合物A-3-1的制备

[1289] 在0℃下在氮气下向化合物A-1-3 (137mg, 0.18mmol) 在DCM (5mL) 中的溶液中添加三氟甲磺酸甲酯 (24μL, 0.216mmol)。将反应混合物在室温下搅拌2小时后, 通过在减压下浓缩除去反应溶剂, 并且然后向其中添加无水ACN (5mL)。在室温下向反应混合物中添加化合物Int-A-1 (64mg, 0.27mmol) 和Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (29mg, 0.09mmol)。将混合物搅拌3小时, 并且然后添加H<sub>2</sub>O (10mL) 和EA (2x 10mL) 以进行萃取。将所得有机层经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 并且在减压下浓缩。通过制备型HPLC分离并纯化残余物一次, 提供化合物A-3-1 (44mg, 26%)。

[1290] EI-MS m/z: 941 (M<sup>+</sup>)。[1291] 化合物A-3-2的制备

[1292] 在0℃下在氮气下向化合物A-3-1 (44mg, 0.047mmol) 在THF (5mL) 中的溶液中添加含1M TBAF的THF (71μL, 0.071mmol)。将反应混合物搅拌1.5小时, 添加EA (2x 10mL) 和H<sub>2</sub>O (10mL) 以进行萃取。将所得有机层经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 提供化合物A-3-2 (27mg, 70%)。

[1293] EI-MS m/z: 827 (M<sup>+</sup>)。[1294] 化合物A-3-3的制备

[1295] 在0℃下在氮气下向化合物A-3-2 (27mg, 0.033mmol) 在无水DCM (2mL) 中的溶液中添加含1M PBr<sub>3</sub>的DCM (39μL, 0.039mmol)。2小时后, 将反应混合物用H<sub>2</sub>O (6mL) 稀释并用EA (2x 8mL) 萃取。将有机层经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 提供化合物A-3-3 (18mg, 62%)。

[1296] EI-MS m/z: 889 (M<sup>+</sup>)。[1297] 化合物A-3-4的制备

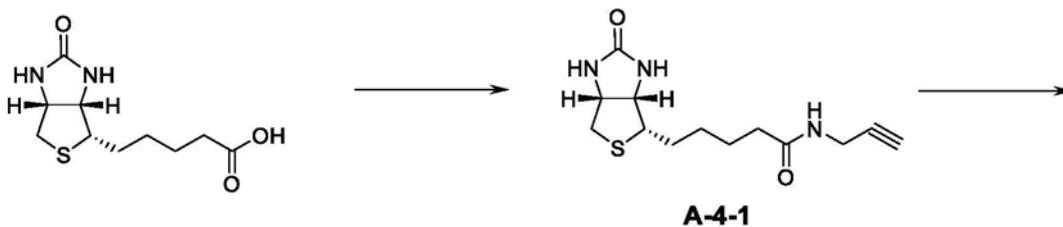
[1298] 在室温下向化合物A-3-3 (18mg, 0.02mmol) 和化合物Int-A-2 (7mg, 0.03mmol) 在DMF (1.5mL) 中的溶液中添加DIPEA (11μL, 0.061mmol)。将反应混合物搅拌16小时后, 使混合物经受制备型HPLC, 提供化合物A-3-4 (13mg, 65%)。

[1299] EI-MS m/z: 1027 (M<sup>+</sup>)。[1300] 化合物A-3的制备

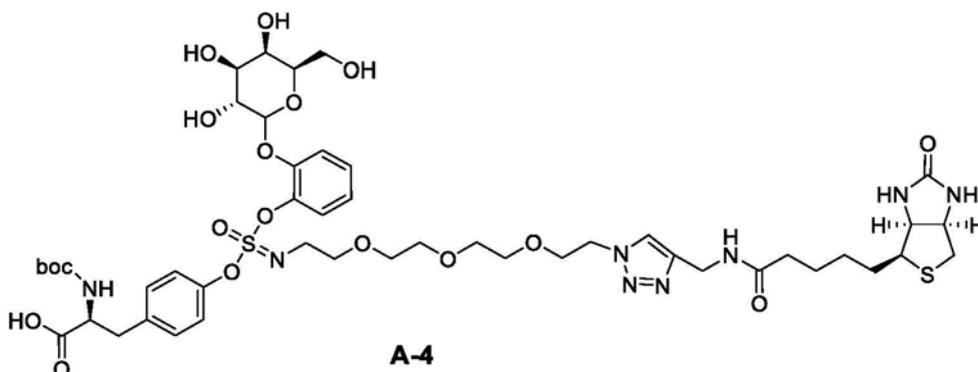
[1301] 在0℃下在氮气下向化合物A-3-4 (13mg, 0.013mmol) 在MeOH (2mL) 中的溶液中添加K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (9mg, 0.063mmol)。30分钟后, 使残余物经受制备型HPLC, 提供化合物A-3 (7.7mg, 71%)。

[1302] EI-MS m/z: 859 (M<sup>+</sup>)。

[1303] [实施例36] 化合物A-4的制备



[1304]



[1305] 化合物A-4-1的制备

[1306] 在0℃下在氮气下将D-生物素(100mg, 0.409mmol)和炔丙胺(31μL, 0.491mmol)溶解在DMF(4mL)中, 并且向其中添加EDCI(118mg, 0.614mmol)、HOBt(94mg, 0.614mmol)和三甲胺(171μL, 1.23mmol)。反应完成后, 添加EA(2x10mL)和H<sub>2</sub>O(10mL), 将有机层经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 提供化合物A-4-1(11mg, 10%)。

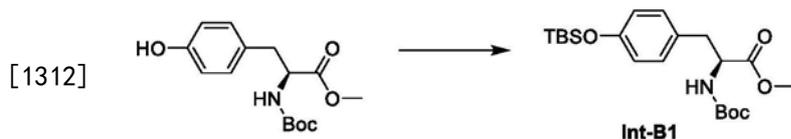
[1307] EI-MS m/z: 282 (M<sup>+</sup>)。

[1308] 化合物A-4的制备

[1309] 在室温下向化合物A-2(7.9mg, 9.68μmol)和化合物A-4-1(4mg, 11.62mmol)在EtOH(2mL)和H<sub>2</sub>O(0.5mL)中的溶液中添加1M抗坏血酸钠(97μL, 96.8mmol)和0.1M CuSO<sub>4</sub>(19.4μL, 19.4mmol)。反应完成后, 使混合物经受制备型HPLC, 提供化合物A-4(6mg, 57%)。

[1310] EI-MS m/z: 1097 (M<sup>+</sup>)。

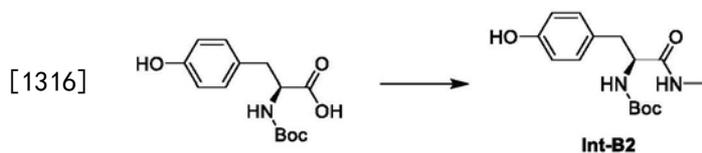
[1311] [实施例37] 化合物Int-B1的制备



[1313] 在0℃下在氮气下向Boc-L-酪氨酸甲酯(1.5g, 5.08mmol)在DCM中的溶液中添加DIPEA(937μL, 5.59mmol)、DMAP(62mg, 0.51mmol)和TBDMSCl(2.296g, 15.24mmol)。将反应混合物在室温下搅拌2.5小时。反应完成后, 在减压下浓缩混合物。通过柱色谱法纯化残余物, 提供化合物Int-B1(2g, 99%)。

[1314] <sup>1</sup>H NMR(600MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ6.97(d, J=7.8Hz, 2H), 6.76(d, J=7.8Hz, 2H), 4.94(m, 1H), 4.52(m, 1H), 3.69(s, 3H), 2.99(m, 2H), 1.41(s, 9H), 0.97(s, 9H), 0.25(s, 6H)。

[1315] [实施例38] 化合物Int-B2的制备

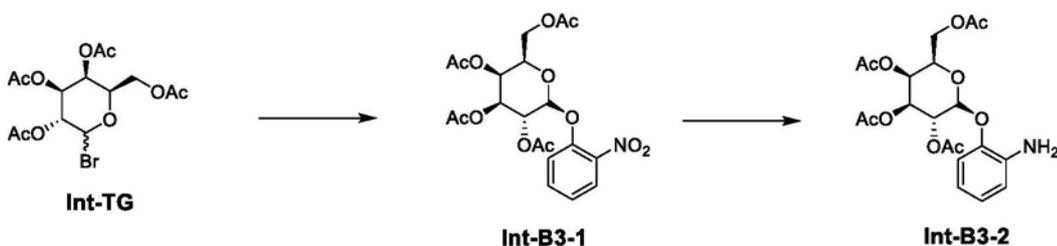


[1317] 在氮气下将Boc-L-酪氨酸(2g, 7.1mmol)和甲胺盐酸盐(575.3mg, 8.5mmol)溶解在DMF(20mL)中。在室温下向其中添加4-DMAP(433mg, 3.55mmol)和DCC(2.2g, 10.65mmol)。将混合物在室温下搅拌3小时。反应完成后,添加EA(30mL x 3)和H<sub>2</sub>O(20mL)以进行萃取,并且然后将所得有机层经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,提供化合物Int-B2(1.27g, 60%)。

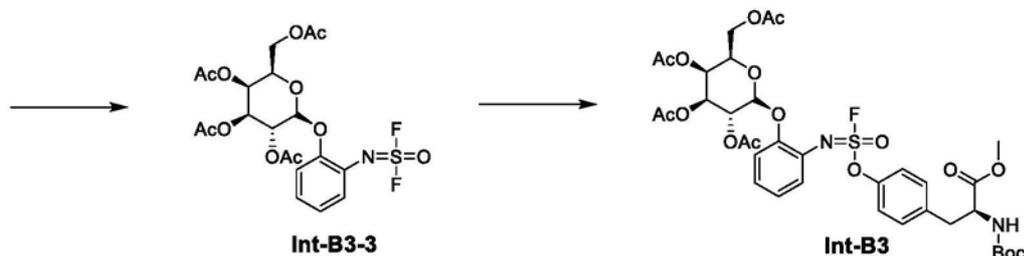
[1318] <sup>1</sup>H NMR(600MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ6.94(d, J=8.4Hz, 2H), 6.57(d, J=8.4Hz, 2H), 3.95-3.91(m, 1H), 2.74(dd, J=13.8Hz, 1H), 2.56-2.52(m, 1H), 2.51(d, J=4.8Hz, 3H), 1.25(s, 9H)。

[1319] EI-MS m/z: 317.24(M<sup>+</sup>+Na)。

[1320] [实施例39]化合物Int-B3的制备



[1321]



[1322] 化合物Int-B3-1的制备

[1323] 在室温下在N<sub>2</sub>气氛下向2-硝基苯酚(436mg, 3.14mmol)和化合物Int-TG(1.29g, 3.14mmol)在无水ACN(16mL)中的溶液中添加分子筛(3g)和Ag<sub>2</sub>O(2.18g, 9.41mmol)。将混合物在室温下搅拌3小时,然后通过Celite®过滤。将有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,提供化合物Int-B3-1(1.19g, 81%)。

[1324] EI-MS m/z: 470.5(M<sup>+</sup>)。

[1325] 化合物Int-B3-2的制备

[1326] 在N<sub>2</sub>气氛下在室温下将化合物Int-B3-1(1.09g, 2.32mmol)溶解在THF(11mL)中,并且向其中添加Zn粉(1.21g, 18.57mmol)。在0℃下逐滴添加6N HCl(284μL, 18.57mmol)。将混合物在室温下搅拌3小时。反应完成后,将混合物过滤并且在减压下浓缩。添加饱和NaHCO<sub>3</sub>(20mL)和EA(20mL x 3)以进行萃取,并且将有机层经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,并且在减压下浓缩。化合物Int-B3-2不经进一步纯化即直接用于下一步骤(909mg, 89%)。

[1327] <sup>1</sup>H NMR(600MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ6.94-6.89(m, 2H), 6.71-6.66(m, 2H), 5.51(m, 1H), 5.47(d, J=3Hz, 1H), 5.13(dd, J=7.8, 3.6Hz, 1H), 4.97(d, J=7.8Hz, 1H), 4.25(m, 1H), 4.17(m,

1H), 4.06 (m, 1H), 2.19 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.02 (s, 3H)。

[1328] EI-MS  $m/z$ : 440.21 ( $M^+$ )。

[1329] 化合物Int-B3-3的制备

[1330] 将化合物Int-B3-2 (94mg, 0.214mmol) 溶解在ACN (5mL) 中, 并且向其中添加TEA (60  $\mu$ L, 0.428mmol)。将 $SO_2F_4$ 气体注入反应混合物中, 并且将所得混合物在室温下搅拌1小时。反应完成后, 添加DCM (10mL  $\times$  3) 和盐水 (10mL) 以进行萃取, 并且将所得有机层经无水 $Na_2SO_4$ 干燥, 过滤, 并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 提供化合物Int-B3-3 (87mg, 78%)。

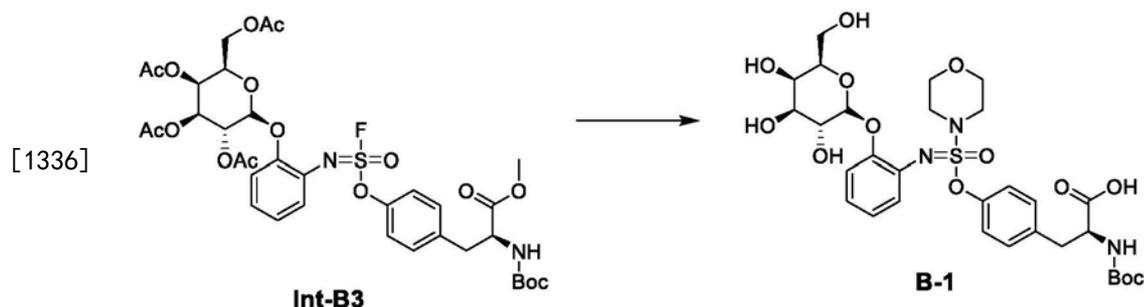
[1331] EI-MS  $m/z$ : 546.28 ( $M^+$ )。

[1332] 化合物Int-B3的制备

[1333] 将化合物Int-B3-3 (87mg, 0.17mmol) 和化合物Int-B1 (85mg, 0.21mmol) 溶解在ACN (5mL) 中, 并且向其中添加DBU (5 $\mu$ L, 0.033mmol)。将混合物在氮气下在室温下搅拌2小时。反应完成后, 添加 $H_2O$  (10mL) 和EA (10mL  $\times$  3) 以进行萃取, 并且将有机层经无水 $Na_2SO_4$ 干燥, 过滤, 并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 得到化合物Int-B3 (104mg, 78%)。

[1334] EI-MS  $m/z$ : 821.44 ( $M^+$ )。

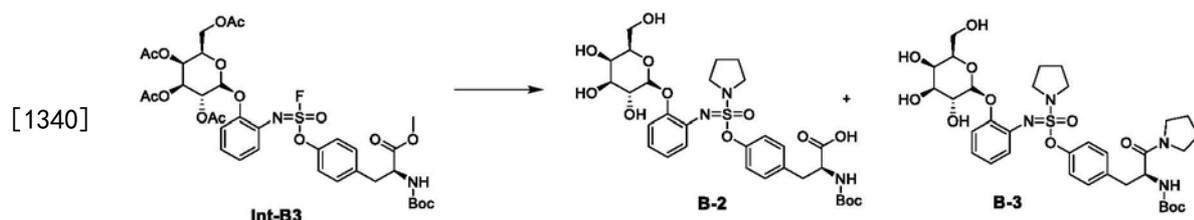
[1335] [实施例40] 化合物B-1的制备



[1337] 将化合物Int-B3 (85mg, 0.106mmol) 溶解在ACN (1.2mL) 中, 并且在室温下在氮气下添加DBU (20 $\mu$ L, 0.132mmol) 和吗啉 (19.5 $\mu$ L, 0.224mmol)。将混合物在室温下搅拌7天, 向其中添加LiOH (265 $\mu$ L, 1.06mmol), 并且将混合物在相同温度下搅拌1小时。反应完成后, 通过添加2N HCl溶液将反应物调节至具有pH 4, 并且然后使残余物经受制备型HPLC, 提供化合物B-1 (6.5mg, 9%)。

[1338]  $^1H$  NMR (600MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.29 (m, 4H), 7.08 (m, 1H), 6.99 (m, 2H), 6.86 (m, 1H), 4.85-4.78 (m, 1H), 4.61 (m, 1H), 4.05-3.96 (m, 1H), 3.70-3.64 (m, 4H), 3.62-3.39 (m, 6H), 3.04 (m, 1H), 2.88 (m, 1H), 1.33 (s, 9H)。EI-MS  $m/z$ : 684.46 ( $M^+$ )。

[1339] [实施例41] 化合物B-2和B-3的制备



[1341] 化合物B-2的制备

[1342] 在室温下在氮气下向化合物Int-B2 (9mg, 0.11mmol) 在DMSO (0.5mL) 中的溶液中添

加DBU (10 $\mu$ L, 0.066mmol)、吡咯烷 (10 $\mu$ L, 0.12mmol)。将反应混合物在80 $^{\circ}$ C下加热12小时。反应完成后,通过添加2N HCl溶液将反应物调节至具有pH 4,并且然后使残余物经受制备型HPLC,得到化合物B-2 (1.8mg, 24%)。

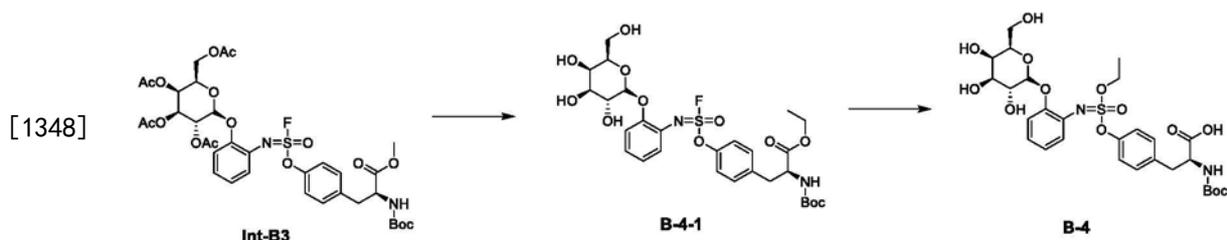
[1343] EI-MS  $m/z$ : 668.54 ( $M^{+}$ )。

[1344] 化合物B-3的制备

[1345] 经由如上所述的类似合成途径来合成化合物B-3 (产率17%)。

[1346] EI-MS  $m/z$ : 721.61 ( $M^{+}$ )。

[1347] [实施例42] 化合物B-4的制备



[1349] 化合物B-4-1的制备

[1350] 在0 $^{\circ}$ C下在氮气下向化合物Int-B3 (60mg, 0.076mmol) 在EtOH (2mL) 中的溶液中添加含3M乙醇钠的乙醇 (0.10mL, 0.30mmol)。将反应混合物在0 $^{\circ}$ C下搅拌5分钟后,用2N HCl溶液将反应物调节至具有3至4的pH。在减压下浓缩混合物。通过制备型HPLC纯化残余物,提供化合物B-4-1 (25mg, 51%)。

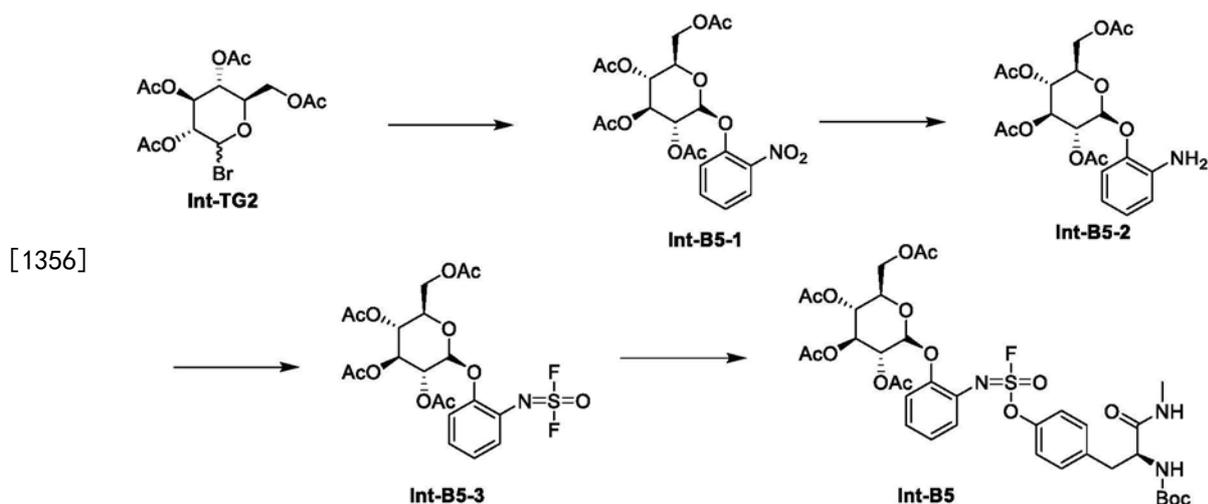
[1351] EI-MS  $m/z$ : 667.48 ( $M^{+}+Na$ )。

[1352] 化合物B-4的制备

[1353] 经由如上所述的类似合成途径来合成化合物B-4 (产率10%)。

[1354] EI-MS  $m/z$ : 643.36 ( $M^{+}$ )。

[1355] [实施例43] 化合物Int-B5的制备



[1357] 化合物Int-B5-1的制备

[1358] 以与实施例12的化合物Int-B3-1的制备方法类似的方式,使化合物Int-TG2 (实施例3, 1.79g, 4.35mmol) 和2-硝基苯酚 (605mg, 4.35mmol) 反应,从而提供化合物Int-B5-1 (1.43g, 70%)。

[1359]  $^1H$  NMR (600MHz, CDC13)  $\delta$  7.80 (m, 1H), 7.53 (m, 1H), 7.35 (m, 1H), 7.22 (m, 1H), 5.31

(m, 2H), 5.18 (m, 1H), 5.13 (m, 1H), 4.29-4.22 (m, 2H), 3.87 (brs, 1H), 2.13 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.05 (s, 6H)。

[1360] 化合物Int-B5-2的制备

[1361] 以与实施例12的化合物Int-B3-2的制备方法类似的方式,使化合物Int-B5-1 (1.43g, 3.05mmol) 反应,从而提供化合物Int-B5-2 (1.21g, 90%)。

[1362]  $^1\text{H NMR}$  (600MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.94-6.88 (m, 2H), 6.71 (d,  $J=6.6\text{Hz}$ , 1H), 6.67 (t,  $J=7.8\text{Hz}$ , 1H), 5.33 (m, 1H), 5.18 (m, 1H), 4.99 (m, 1H), 4.32 (dd,  $J=12, 4.8\text{Hz}$ , 1H), 4.19 (dd,  $J=12, 2.4\text{Hz}$ , 1H), 3.86-3.74 (m, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.04 (s, 3H)。

[1363] EI-MS  $m/z$ : 440.46 ( $\text{M}^+$ )。

[1364] 化合物Int-B5-3的制备

[1365] 以与实施例12的化合物Int-B3-3的制备方法类似的方式,使化合物Int-B5-2 (1.21g, 2.75mmol) 反应,从而提供化合物Int-B5-3 (1.1g, 77%)。

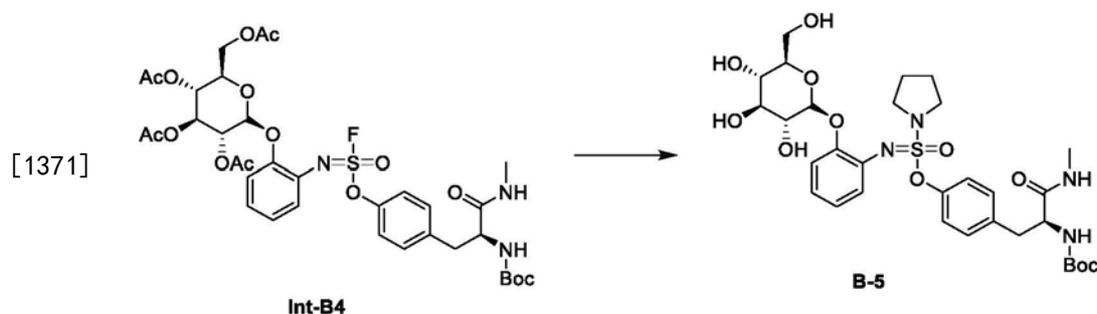
[1366]  $^1\text{H NMR}$  (600MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.19-7.05 (m, 4H), 5.32 (m, 1H), 5.20 (t,  $J=9.6\text{Hz}$ , 1H), 5.10 (d,  $J=6.6\text{Hz}$ , 1H), 4.29 (dd,  $J=12.6, 5.4\text{Hz}$ , 1H), 4.19 (d,  $J=12\text{Hz}$ , 1H), 3.87 (m, 1H), 2.07 (s, 6H), 2.05 (s, 3H), 2.04 (s, 3H)。

[1367] 化合物Int-B5的制备

[1368] 以与实施例12的化合物Int-B3的制备方法类似的方式,使化合物Int-B5-3 (100mg, 0.19mmol) 反应,从而提供化合物Int-B5-3 (112mg, 74%)。

[1369]  $^1\text{H NMR}$  (600MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.28-7.26 (m, 4H), 7.19-7.03 (m, 4H), 5.29 (m, 2H), 5.19 (m, 1H), 5.05-4.96 (m, 2H), 4.29 (m, 2H), 4.19 (m, 1H), 3.81 (m, 1H), 3.08 (m, 2H), 2.75 (s, 3H), 2.08-2.02 (m, 12H), 1.52 (s, 9H); EI-MS  $m/z$ : 798.54 ( $\text{M}^+$ )。

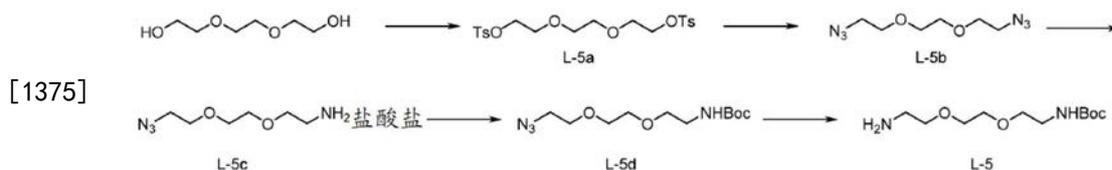
[1370] [实施例44] 化合物B-6的制备



[1372] 以与实施例13的化合物B-1的制备方法类似的方式,使化合物Int-B4 (制备实施例15, 23mg, 0.029mmol) 和吡咯烷 (4.7 $\mu\text{L}$ , 0.058mmol) 反应,从而提供化合物B-5 (3.9mg, 46%)。

[1373]  $^1\text{H NMR}$  (600MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  7.81 (m, 1H), 7.25-7.20 (m, 4H), 7.09 (t,  $J=7.8\text{Hz}$ , 1H), 7.03 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 1H), 6.93-6.86 (m, 2H), 5.08 (s, 1H), 5.00 (d,  $J=5.4\text{Hz}$ , 1H), 4.89-4.84 (m, 2H), 4.53-4.52 (t,  $J=5.4\text{Hz}$ , 1H), 4.08 (m, 1H), 3.68 (m, 1H), 3.46-3.40 (m, 6H), 3.29-3.27 (m, 4H), 3.17 (brs, 1H), 2.92 (d,  $J=10.2\text{Hz}$ , 1H), 2.74 (t,  $J=11.4\text{Hz}$ , 1H), 2.56 (d,  $J=3.6\text{Hz}$ , 3H), 1.86 (d,  $J=6.0\text{Hz}$ , 4H), 1.28 (s, 9H); EI-MS  $m/z$ : 681.51 ( $\text{M}^+$ )。

[1374] [实施例45] 化合物L-5的制备



[1376] 化合物L-5a的制备

[1377] 在0℃下在N<sub>2</sub>气氛下向三乙二醇(40g, 266.7mmol)在无水DCM(600mL)中的溶液中添加对甲苯磺酰氯(101g, 533.4mmol)和KOH(120g, 2133.4mmol)。将反应混合物在N<sub>2</sub>气氛下在室温下搅拌17小时。反应完成后,添加H<sub>2</sub>O(300mL)并且用DCM(400mL x 4)萃取。将有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,并且在减压下浓缩。化合物L-5a不经纯化而直接用于下一个反应(122g, 100%, 白色固体)。

[1378] <sup>1</sup>H NMR (600MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ7.79 (d, J=7.8Hz, 4H), 7.34 (d, J=7.8Hz, 4H), 4.14 (t, J=4.8Hz, 4H), 3.71-3.58 (m, 4H), 3.53 (s, 3H), 2.45 (s, 6H)。

[1379] 化合物L-5b的制备

[1380] 在室温下在N<sub>2</sub>气氛下向化合物L-5a(122g, 266.7mmol)在DMF(320mL)中的溶液中添加NaN<sub>3</sub>(51g, 798mmol)。将反应混合物在60℃下搅拌15小时。反应完成后,添加H<sub>2</sub>O(300mL),并且用EA(300mL x 3)萃取混合物。将有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,得到呈无色液体的化合物L-5b(49.8g, 93%)。

[1381] <sup>1</sup>H NMR (600MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ3.69-3.68 (m, 8H), 3.40 (t, J=4.2Hz, 4H)。

[1382] 化合物L-5c的制备

[1383] 在0℃下在N<sub>2</sub>气氛下向化合物L-5b(42.9g, 214.3mmol)在EA(245mL)、二乙醚(245mL)和5% HCl(495mL)中的溶液中添加三苯基膦(56.2g, 214.3mmol)。将反应混合物在室温下搅拌15小时。去除有机层后,将有机层用DCM洗涤并且在减压下浓缩。化合物L-5c(43.8g, 97%, 白色油状物)不经进一步纯化即直接使用。

[1384] 化合物L-5d的制备

[1385] 在室温下在N<sub>2</sub>气氛下向化合物L-5c(10.7g, 51mmol)在无水DCM(250mL)中的溶液中添加Et<sub>3</sub>N(14mL, 102mmol)和BOC<sub>2</sub>O(12g, 56.1mmol)。反应混合物在室温下搅拌2小时后,在减压下浓缩混合物。通过柱色谱法纯化残余物,得到呈无色油状物的化合物L-5d(13.9g, 99%)。

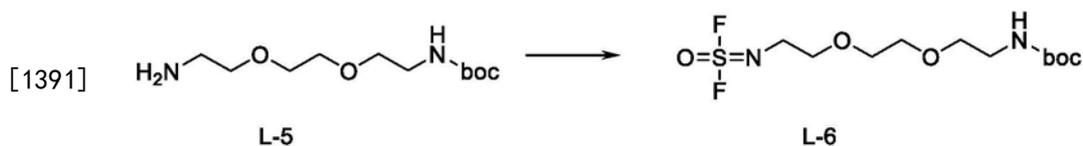
[1386] <sup>1</sup>H NMR (600MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ5.08 (brs, 1H), 3.69-3.64 (m, 6H), 3.55 (t, J=5.4Hz, 2H), 3.40 (t, J=5.4Hz, 2H), 3.32 (d, J=3.6Hz, 2H), 1.44 (s, 9H)。

[1387] 化合物L-5的制备

[1388] 在室温下在N<sub>2</sub>气氛下向化合物L-5d(5.7g, 20.8mmol)在无水THF(55mL)中的溶液中添加三苯基膦(6.5g, 25mmol)。搅拌17小时后,向其中添加H<sub>2</sub>O(10mL),并且将混合物在室温下进一步搅拌5小时。反应完成后,在减压下浓缩混合物。通过柱色谱法纯化残余物,提供呈浅黄色液体的化合物L-5(3.7g, 65%)。

[1389] <sup>1</sup>H NMR (600MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ5.25 (brs, 1H), 3.62 (s, 4H), 3.56-3.53 (m, 4H), 3.32 (d, J=4.2Hz, 2H), 2.90 (t, J=5.4Hz, 2H), 2.03 (s, 2H), 1.44 (s, 9H)。

[1390] [实施例46] 化合物L-6的制备



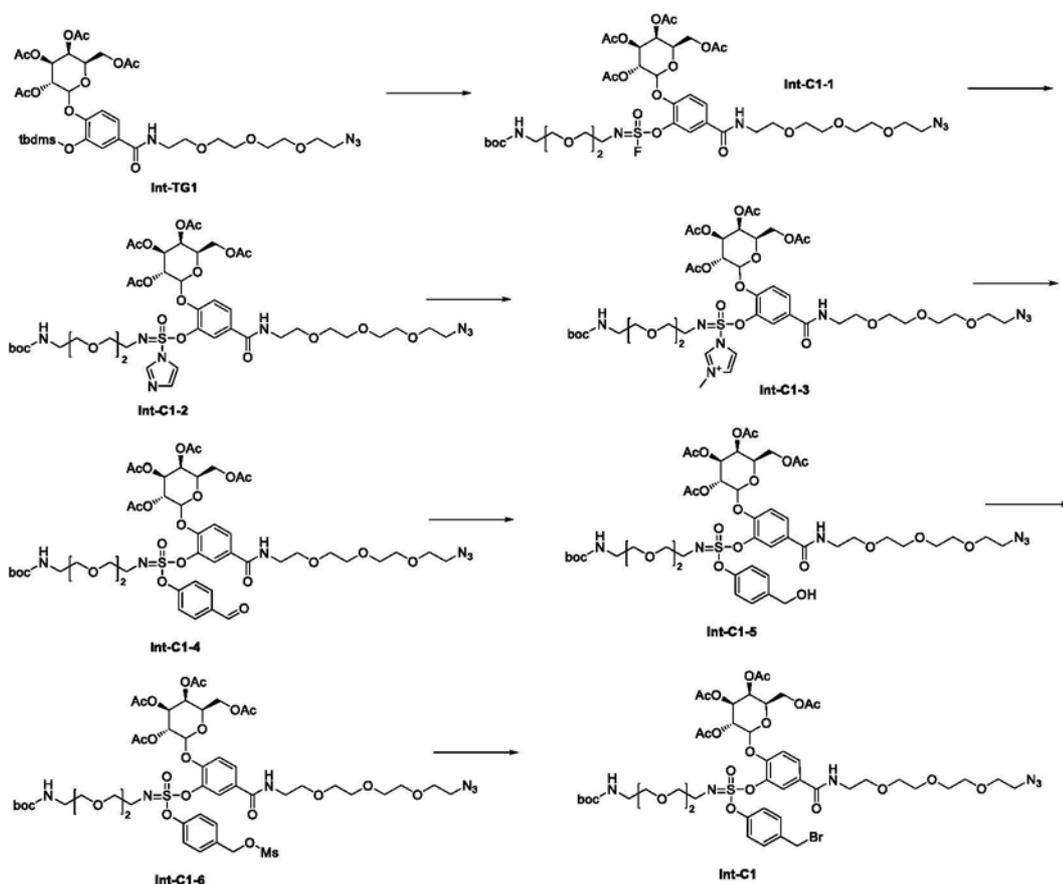
[1392] 化合物亚氨基硫-1的制备

[1393] 在室温下用Et<sub>3</sub>N (4.06mL, 29.15mmol) 处理化合物L-5 (3.62g, 14.58mmol) 在无水ACN (30mL) 中的均相溶液。经由气球引入亚硫酰四氟气体持续2小时。反应完成后, 在真空中浓缩混合物。通过柱色谱法 (EA:HEX=1:2) 纯化残余物, 得到呈淡黄色油状物的化合物L-6 (3.43g, 71%)。

[1394] <sup>1</sup>H NMR (400Hz, CDCl<sub>3</sub>) δ4.96 (brs, 1H), 3.67-3.61 (m, 6H), 3.56-3.52 (m, 4H), 3.35-3.30 (m, 2H), 1.45 (s, 9H)。

[1395] EI-MS m/z: 333 (M<sup>+</sup>)。

[1396] [实施例47] 化合物Int-C1的制备



[1398] 化合物Int-C1-1的制备

[1399] 在室温下在N<sub>2</sub>气氛下用DBU (16.7μL, 0.11mmol) 处理化合物L-6 (186mg, 0.56mmol) 和Int-TG1 (447.1mg, 0.56mmol) 在无水ACN (3mL) 中的均相溶液并搅拌2.5小时。反应完成后, 添加EA (50mL X2) 和盐水 (40mL), 并且将所得有机层经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 并且在真空中浓缩。通过柱色谱法 (EA:HEX=5:1至EA:MeOH=1%) 纯化残余物, 得到呈无色粘性油状物的化合物Int-C1-1 (436.3mg, 78%)。

[1400] <sup>1</sup>H NMR (400Hz, CDCl<sub>3</sub>) δ7.88-7.78 (m, 2H), 7.25-7.18 (m, 1H), 7.04-6.96 (m, 1H), 5.59-5.53 (m, 1H), 5.49-5.47 (m, 1H), 5.22-5.10 (m, 2H), 5.10-5.04 (brs, 1H), 4.26-4.09

(m, 3H), 3.70-3.62 (m, 20H), 3.61-3.53 (m, 4H), 3.38-3.28 (m, 4H), 2.21-2.19 (m, 3H), 2.10-2.04 (m, 6H), 2.03-2.01 (m, 3H), 1.44 (s, 9H)。

[1401] EI-MS  $m/z$ : 998 ( $M^+$ )。

[1402] 化合物Int-C1-2的制备

[1403] 在室温下在 $N_2$ 气氛下用 $Cs_2CO_3$  (36.4mg, 0.11mmol) 处理Int-C1-1 (222.9mg, 0.22mmol) 和咪唑 (45.7mg, 0.67mmol) 在无水ACN (5mL) 中的均相溶液并且加热至回流过夜。反应物用 $H_2O$  (20mL) 猝灭后, 用EA (30mL X 2) 萃取混合物。将有机层经无水 $Na_2SO_4$ 干燥, 过滤并且在真空中浓缩。通过柱色谱法 (EA:MeOH=1%至2%) 纯化残余物, 得到呈淡黄色粘性油状物的化合物Int-C1-2 (142.1mg, 61%)。

[1404] EI-MS  $m/z$ : 1046 ( $M^+$ )。

[1405] 化合物Int-C1-3的制备

[1406] 在 $0^\circ C$ 下在 $N_2$ 气氛下用三氟甲磺酸甲酯 (33.9 $\mu$ L, 0.30mmol) 处理Int-C1-2 (142.1mg, 0.14mmol) 在无水DCM (2.5mL) 中的均相溶液并使其静置30分钟。将混合物在室温下搅拌2小时后, 在 $25^\circ C$ 下在真空中浓缩反应混合物。Int-C1-3未经纯化而直接用于下一个反应。

[1407] EI-MS  $m/z$ : 1061 ( $M^+$ )。

[1408] 化合物Int-C1-4的制备

[1409] 在室温下在 $N_2$ 气氛下用 $Cs_2CO_3$  (44.3mg, 0.14mmol) 处理Int-C1-3 (144.1mg, 0.14mmol) 和4-羟基苯甲醛 (24.9mg, 0.20mmol) 在无水ACN (3mL) 中的均相溶液并搅拌2小时。用EA (20mL X 2) 和盐水 (10mL) 萃取反应混合物。将所得有机层经无水 $Na_2SO_4$ 干燥, 过滤并且在真空中浓缩。通过柱色谱法 (EA:HEX=5:1至EA:MeOH=1%) 纯化残余物, 得到呈白色粘性油状物的化合物Int-C1-4 (108.7mg, 73%, 经2个步骤)。

[1410] EI-MS  $m/z$ : 1100 ( $M^+$ )。

[1411] 化合物Int-C1-5的制备

[1412] 在 $0^\circ C$ 下在 $N_2$ 气氛下用 $NaBH_4$  (7.5mg, 0.198mmol) 处理Int-C1-4 (108.7mg, 0.099mmol) 在无水THF (2mL) 中的均相溶液并使其静置2小时。用 $H_2O$  (10mL) 猝灭反应物并且用EA (15mL X 2) 萃取混合物。将所得有机层经无水 $Na_2SO_4$ 干燥, 过滤, 并且在真空中浓缩。通过柱色谱法 (EA:HEX=5:1至EA:MeOH=2%) 纯化残余物, 得到呈白色粘性油状物的化合物Int-C1-5 (79mg, 73%)。

[1413] EI-MS  $m/z$ : 1102 ( $M^+$ )。

[1414] 化合物Int-C1-6的制备

[1415] 在 $0^\circ C$ 下在 $N_2$ 气氛下用甲磺酰氯 (4.5 $\mu$ L, 0.058mmol) 和 $Et_3N$  (16.3 $\mu$ L, 0.117mmol) 处理Int-C1-5 (42.8mg, 0.039mmol) 在无水THF (2mL) 中的均相溶液并使其静置20分钟。在 $0^\circ C$ 下用DIPEA (6.8 $\mu$ L, 0.039mmol) 处理反应混合物后, 将混合物在室温下搅拌1小时。向其中进一步添加甲磺酰氯 (1.5 $\mu$ L, 0.019mmol)、 $Et_3N$  (2.7 $\mu$ L, 0.019mmol) 和DIPEA (3.3 $\mu$ L, 0.019mmol), 并且将混合物在室温下搅拌1小时。将反应物用 $H_2O$  (10mL) 猝灭, 并且用EA (15mL X 2) 萃取混合物。将有机层经无水 $Na_2SO_4$ 干燥, 过滤并且在真空中浓缩。通过柱色谱法 (EA:HEX=5:1至EA:MeOH=1%) 纯化残余物, 得到呈白色粘性油状物的化合物Int-C1-6 (39.7mg, 87%)。

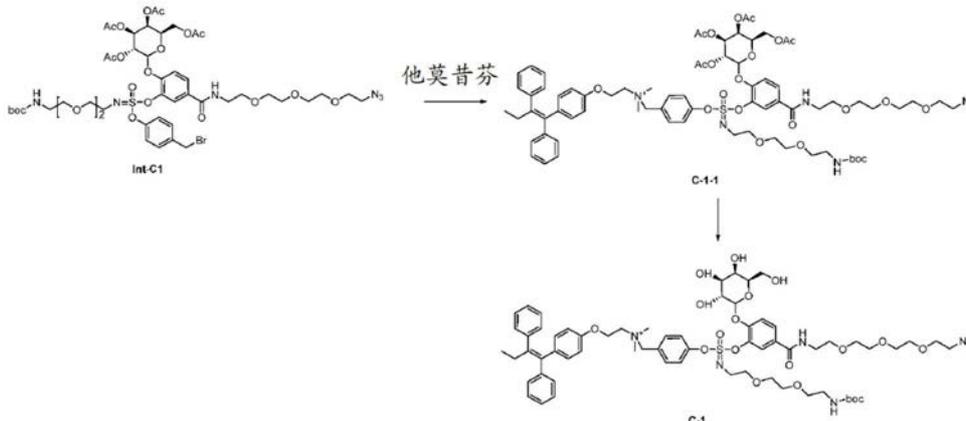
[1416] EI-MS  $m/z$ :1180 ( $M^+$ )。

[1417] 化合物Int-C1的制备

[1418] 在室温下在 $N_2$ 气氛下用LiBr (25.1mg, 0.289mmol) 处理Int-C1-6 (68.2mg, 0.058mmol) 在无水THF (2mL) 中的均相溶液并搅拌2小时。将反应物用 $H_2O$  (10mL) 猝灭并用DCM (15mL X 3) 萃取混合物。将有机层经无水 $Na_2SO_4$ 干燥, 过滤, 并且在真空中浓缩。通过柱色谱法 (EA:HEX=5:1至EA:MeOH=1%) 纯化残余物, 得到呈无色粘性油状物的化合物Int-C1 (57.9mg, 86%)。

[1419] EI-MS  $m/z$ :1165 ( $M^+$ )。

[1420] [实施例48] 化合物C-1的制备



[1421]

[1422] 化合物C-1-1的制备

[1423] 在室温下在 $N_2$ 气氛下用DIPEA (9.2 $\mu$ L, 0.053mmol) 处理他莫昔芬 (7.9mg, 0.021mmol) 和Int-C1 (20.5mg, 0.018mmol) 在DMF (1mL) 中的均相溶液并搅拌2小时。通过制备型HPLC纯化反应物, 得到呈白色固体的化合物C-1-1 (11.7mg, 46%)。

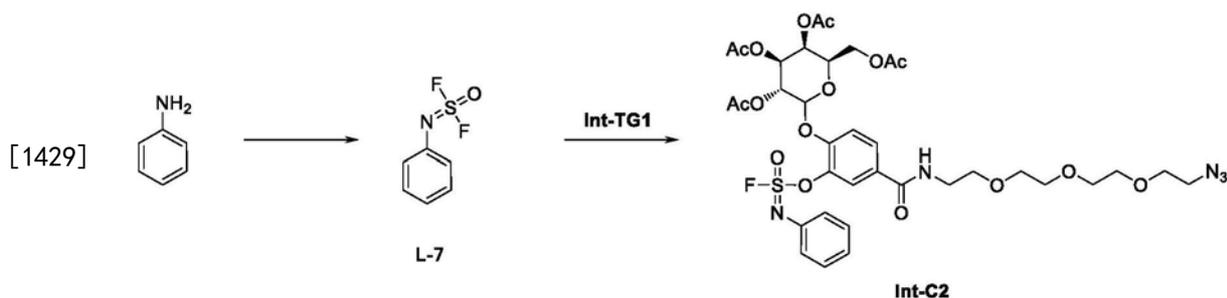
[1424] EI-MS  $m/z$ :1456 ( $M^+$ )。

[1425] 化合物C-1的制备

[1426] 在 $0^\circ C$ 下在 $N_2$ 气氛下用 $K_2CO_3$  (5.6mg, 0.04mmol) 处理C-1-1 (11.7mg, 0.008mmol) 在MeOH (1mL) 中的均相溶液并使其静置1小时。将反应物用乙酸 (5滴) 酸化并且通过制备型HPLC纯化残余物, 得到呈白色固体的化合物C-1 (9.1mg, 88%)。

[1427] EI-MS  $m/z$ :1288 ( $M^+$ )。

[1428] [实施例49] 化合物Int-C2的制备



[1430] 化合物L-7的制备

[1431] 在室温下向苯胺 (3g, 32.2mmol) 在无水ACN (20mL) 中的溶液中添加 $Et_3N$  (13.5mL, 96.6mmol)。经由气球引入亚硫酸四氟气体, 并且将混合物在室温下搅拌2小时。在真空中浓

缩混合物。通过柱色谱法纯化残余物,得到化合物L-7 (1.59g, 23%)。

[1432]  $^1\text{H}$  NMR (400Hz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 7.48-7.43 (m, 2H), 7.34-7.31 (m, 1H), 7.27-7.25 (m, 2H)。

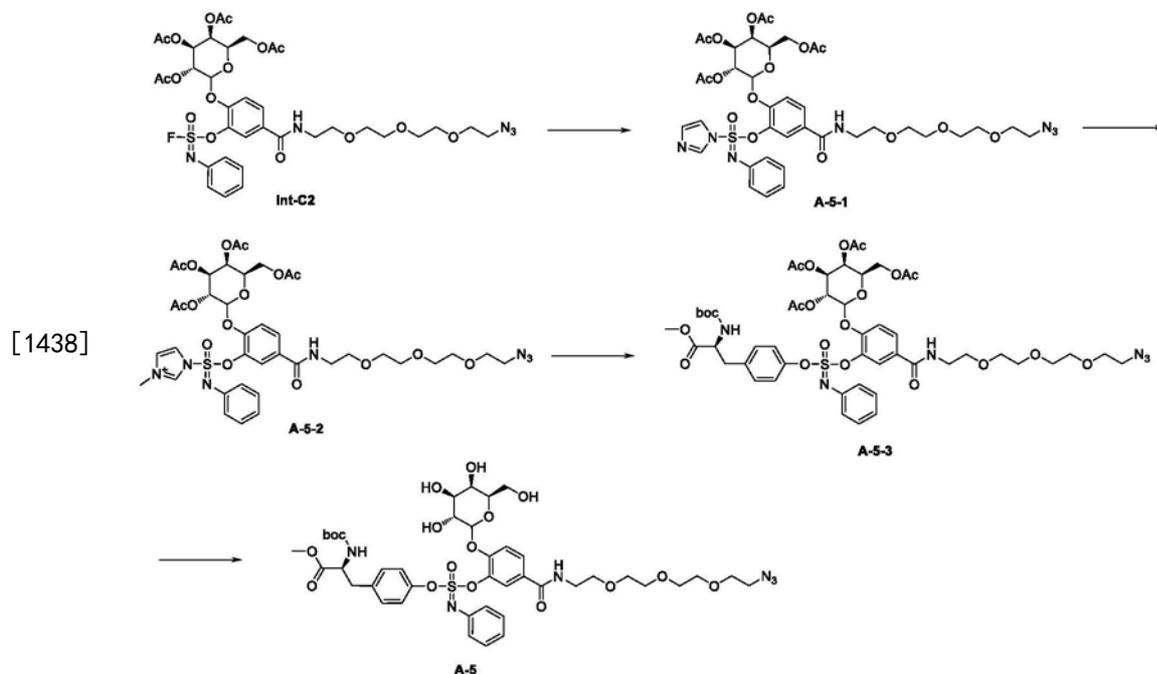
[1433] 化合物Int-C2的制备

[1434] 在室温下在 $\text{N}_2$ 气氛下用DBU (17.2 $\mu\text{L}$ , 0.17mmol) 处理Int-TG1 (460mg, 0.58mmol) 和L-7 (153mg, 0.87mmol) 在无水ACN (5mL) 中的均相溶液并搅拌2小时。将反应物用水 (10mL) 猝灭, 并且用EA (10mL X 2) 萃取混合物。将有机层经无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥, 过滤, 并且在真空中浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 得到化合物Int-C2 (450mg, 93%)。

[1435] EI-MS  $m/z$ : 842 ( $\text{M}^{+1}$ )。

[1436]  $^1\text{H}$  NMR (400Hz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 7.83-7.78 (m, 2H), 7.38-7.28 (m, 2H), 7.22-7.12 (m, 3H), 6.96 (s, 1H), 5.59-5.52 (m, 1H), 5.47-5.45 (m, 1H), 5.21-5.16 (m, 1H), 5.15-5.08 (m, 1H), 4.22-4.18 (m, 2H), 3.70-3.56 (m, 14H), 3.35-3.31 (m, 2H), 2.18 (d,  $J=4.8\text{Hz}$ , 3H), 2.06-2.02 (m, 9H)。

[1437] [实施例50] 化合物A-5的制备



[1439] 化合物A-5-1的制备

[1440] 在室温下向Int-C2 (238mg, 0.28mmol) 在无水ACN (6mL) 中的均相溶液中添加咪唑 (58mg, 0.84mmol) 和 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (46mg, 0.14mmol)。将反应混合物在回流下加热18小时。将反应混合物用 $\text{H}_2\text{O}$  (20mL) 稀释后, 用EA (2x10mL) 萃取混合物。将合并的有机层经无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥, 过滤并浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 产生化合物A-5-1 (118mg, 47%)。EI-MS  $m/z$ : 890 ( $\text{M}^{+1}$ )。

[1441] 化合物A-5-2的制备

[1442] 在 $0^\circ\text{C}$ 下在 $\text{N}_2$ 下向化合物A-5-1 (118mg, 0.13mmol) 在无水DCM (4mL) 中的溶液中添加三氟甲磺酸甲酯 (18 $\mu\text{L}$ , 0.16mmol)。将反应混合物在室温下搅拌2小时。反应完成后, 在减压下浓缩混合物。将残余物溶解在无水ACN (4mL) 中, 在室温下向其中添加Boc-L-酪氨酸甲酯 (59mg, 0.20mmol) 和 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (22mg, 0.07mmol)。搅拌16小时后, 用 $\text{H}_2\text{O}$  (15mL) 稀释反应混合

物。用EA (2x15mL) 萃取混合物。将合并的有机层经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并浓缩。将残余物溶解在DMSO (1mL) 中并通过制备型HPLC纯化, 得到化合物A-5-3 (32mg, 22%)。EI-MS m/z: 1118 (M<sup>+</sup>)。

[1443] 化合物A-5的制备

[1444] 在0℃下在N<sub>2</sub>下向化合物A-5-3 (32mg, 28.6μmol) 在MeOH (4mL) 中的溶液中添加K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (20mg, 143.2μmol) 持续0.5小时。反应完成后, 通过制备型HPLC纯化混合物, 得到化合物A-5 (19.6mg, 72%)。

[1445] EI-MS m/z: 950 (M<sup>+</sup>)。

[1446] 生物学和生物化学研究

[1447] [实施例51] 酶促裂解测定的动力学研究

[1448] 将化合物A-1、A-2、A-3、A-4或A-5溶解在DMSO中并且与PBS缓冲溶液混合以制备500μM储备溶液 (1%DMSO)。将甲基苯基砒 (MPS, CAS编号3112-85-4, 内标) 溶解在PBS缓冲溶液中以制备500μM溶液。将790μL的PBS缓冲液 (pH 7.4)、10μL的化合物A-1、A-2、A-3、A-4或A-5的溶液 (500μM) 和200μL的MPS溶液混合。将酶溶液 (18μL的1mg/mL) 添加到882μL反应混合物中。

[1449] 当与人β-半乳糖苷酶比较时, 添加116μL酶溶液 (0.1mg/mL), 并且将化合物A-1、A-2、A-3、A-4或A-5的溶液 (140μL)、MPS (140μL) 和缓冲溶液 (pH 7.4, 533μL) 混合。

[1450] 将反应混合物在37℃下温育。将大肠杆菌β-半乳糖苷酶 (Sigma G4155) 用于反应混合物中。将酶反应溶液分别在反应前0min时和反应后预定时间时等分, 其中每等分试样是70μL。然后, 通过HPLC定量分析将剩余的化合物A-1、A-2、A-3、A-4或A-5、MPS以及通过酶反应释放的材料。酶促裂解研究的结果示于表2以及图1-5中。

[1451] 表2.

[1452]

本发明的化合物	TG释放, t <sub>1/2</sub> (min)	Q部分释放, t <sub>1/2</sub> (min)
A-1	13.86	401
A-2	37.97	999.2
A-3	58.76	71.79
A-4	47.07	1419
A-5	6.53	399.4

[1453] [实施例52] 小鼠、大鼠、狗和人血浆稳定性测试

[1454] 将化合物A-2或A-3和用作内标的MPS溶解在DMSO中以达到60mM的浓度。然后, 将人血浆 (Biochemed 752PR-SC-PMG)、小鼠血浆 (Biochemed 029-APSC-MP)、大鼠血浆 (Biochemed 031-APSC-MP) 和比格犬血浆 (Biochemed 013-APSC-MP) 中的每一者与化合物溶液和MPS混合以达到300μM的最终浓度 (最终0.5%DMSO)。将所得血浆混合物在37℃下温育。在反应前和在第1天、第2天、第4天和第7天后取得等分试样。每个等分试样是300μL。为完成反应, 添加两倍体积的乙腈, 接着进行短暂的涡旋并且浓缩以用于血浆蛋白沉淀。收集在离心后获得的每种上清液, 并且通过HPLC分析。在长达7天内在小鼠和人血浆中检测到并且定量化合物A-2和A-3 (>95%)。这项研究证明了β-半乳糖苷接头在血浆中的优异稳定性。血浆稳定性研究的结果示于表3和表4以及图6和图7中。

[1455] 表3. 化合物A-2的血浆稳定性。

[1456]	时间(天)	剩余底物(%),小鼠血浆	剩余底物(%),人血浆
	0	100	100
	1	102	100
	2	100	104
	4	97	99
	7	95	101

[1457] 表4. 化合物A-3的血浆稳定性。

[1458]	时间(天)	剩余底物(%),小鼠血浆	剩余底物(%),人血浆
	0d	100	100
	1d	94	97
[1459]	2d	90	98
	7d	92	99

[1460] 通过引用并入

[1461] 将在本文中提及的所有出版物和专利都通过引用以其整体特此并入,如同指明每个单独的出版物或专利被具体地并且单独地通过引用并入。在冲突的情况下,将以本申请(包括本文中的任何定义)为准。

[1462] 等效方案

[1463] 尽管已经讨论了本发明的特定实施方案,但是以上说明书是说明性的而不是限制性的。在阅读本说明书和下面的权利要求书后,本发明的许多变化对本领域技术人员将变得显而易见。本发明的全部范围应通过参考权利要求书,连同其等效方案的全部范围,以及说明书连同此类变化来确定。

### 大肠杆菌bGal裂解 (pH 7.4)

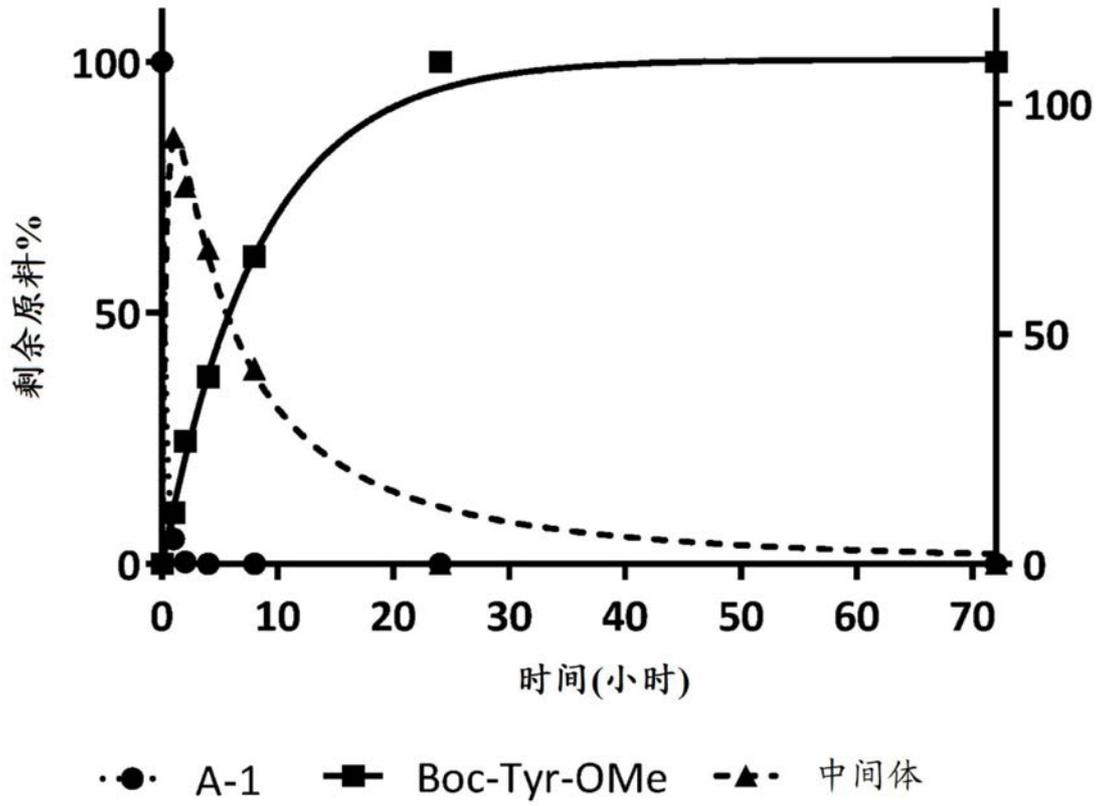


图1

### 大肠杆菌bGal裂解 (pH 7.4)

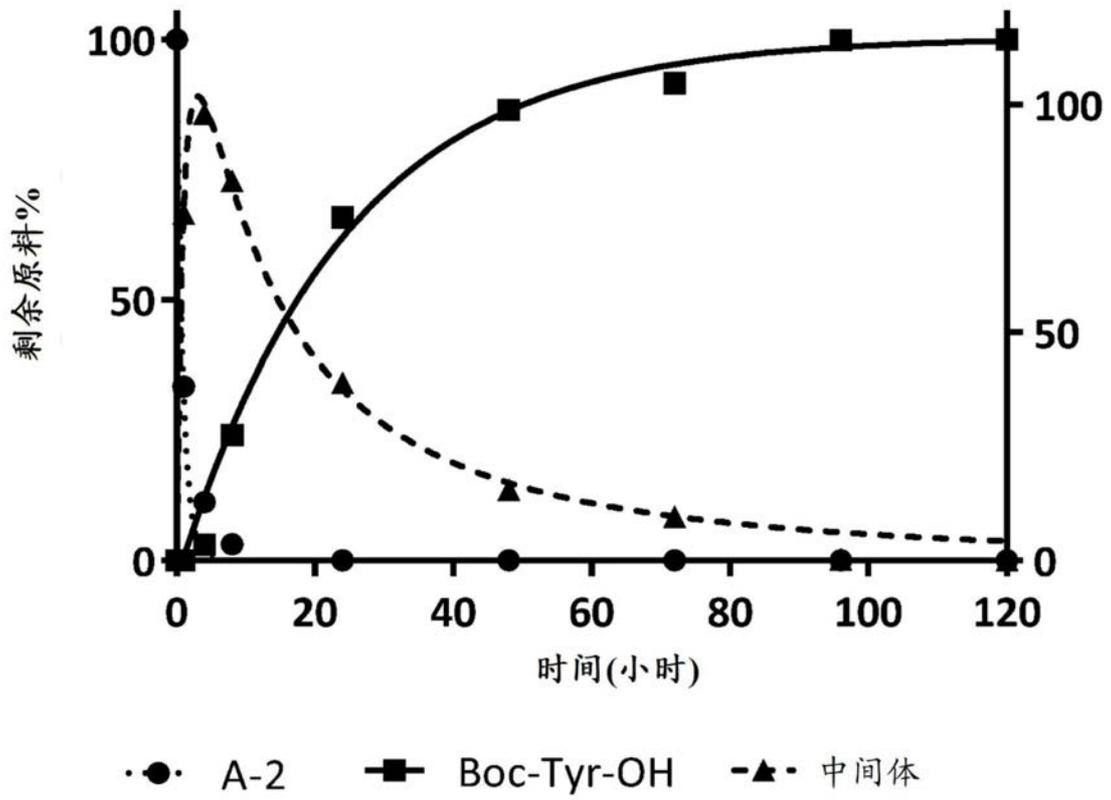


图2

大肠杆菌bGal裂解 (pH 7.4)

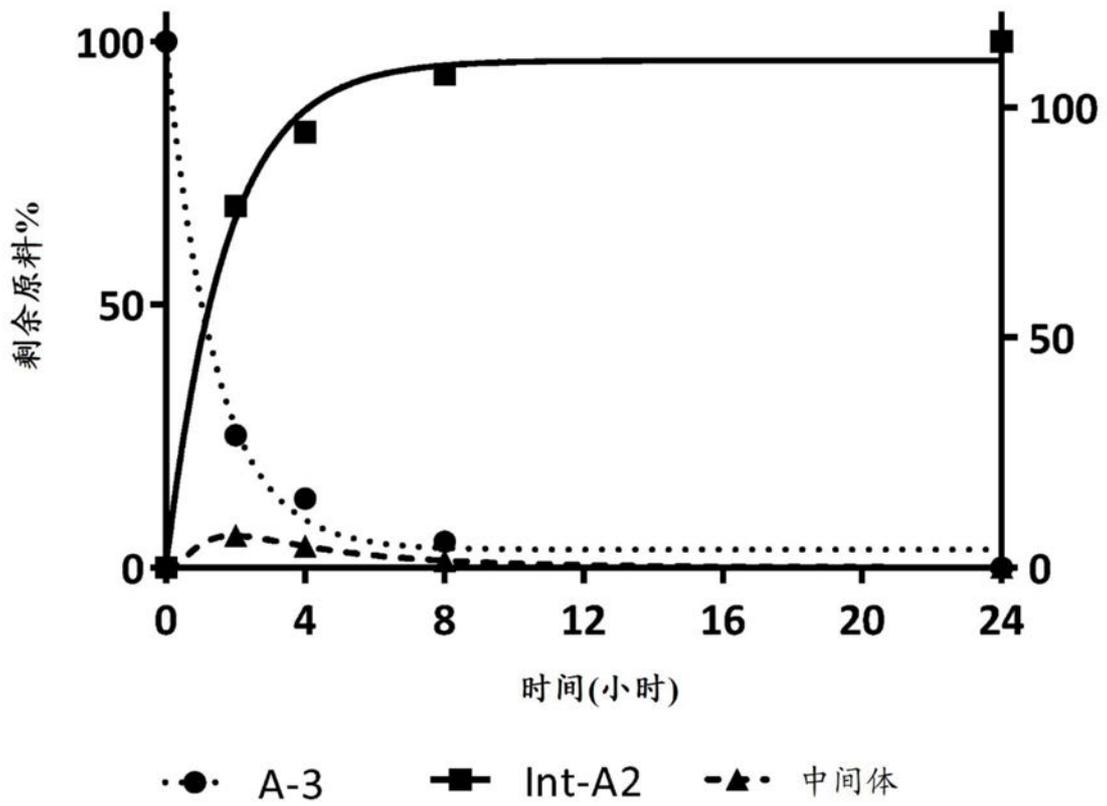


图3

大肠杆菌bGal裂解 (pH 7.4)

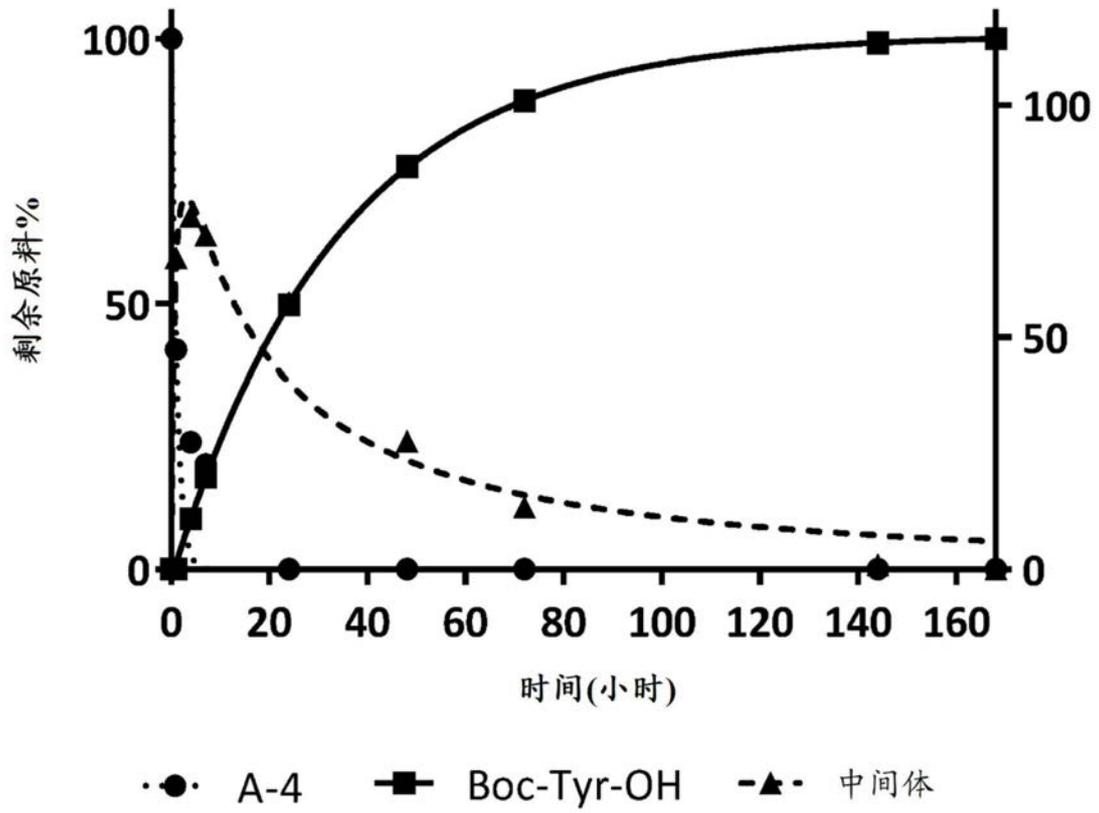


图4

大肠杆菌bGal裂解 (pH 7.4)

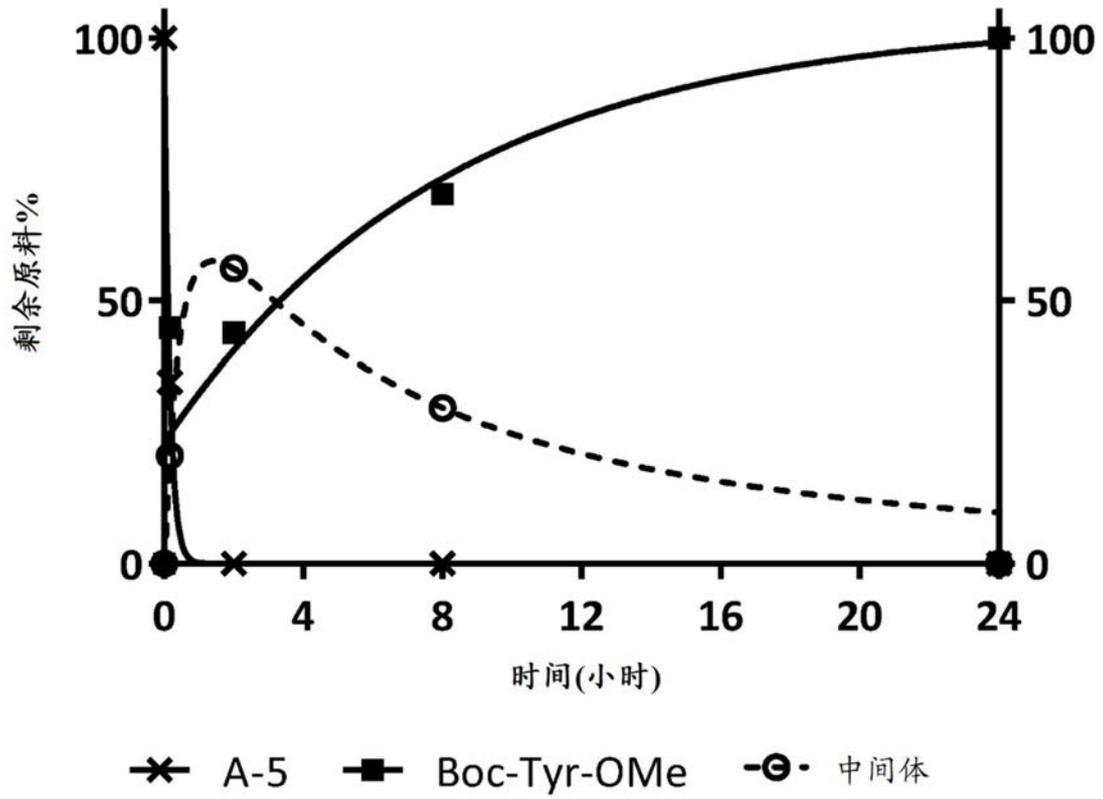


图5

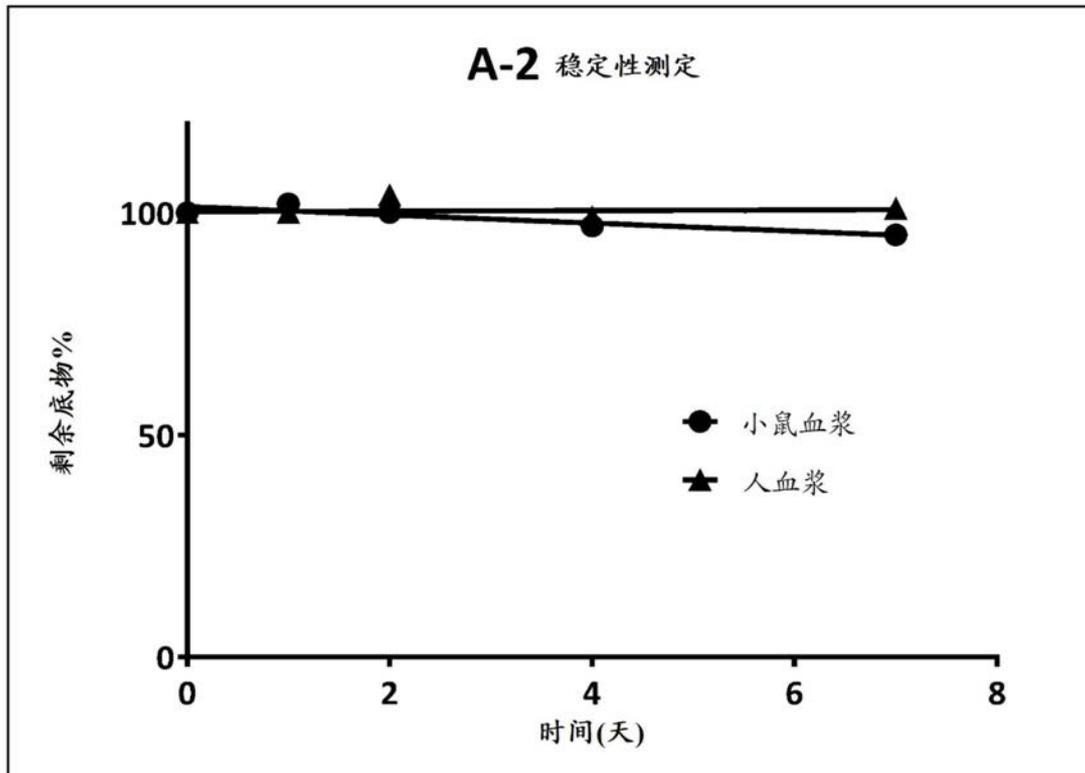


图6

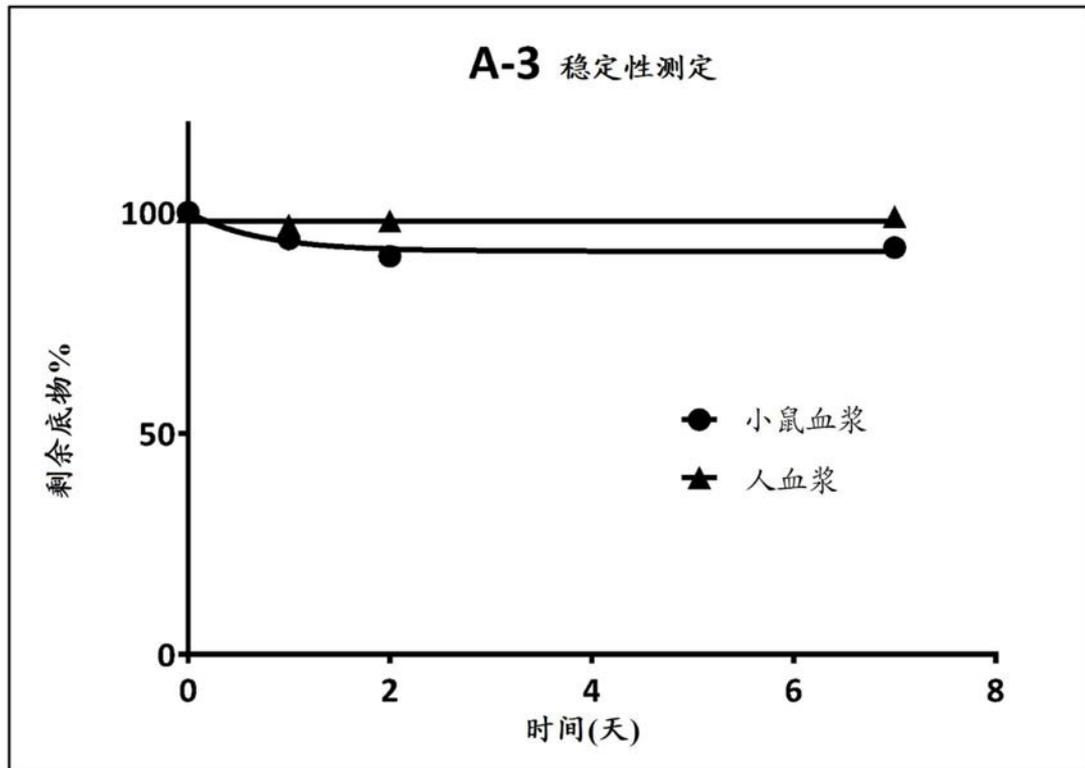


图7