



(12) 发明专利



(10) 授权公告号 CN 111558049 B

(45) 授权公告日 2024. 06. 21

(21) 申请号 202010418302.6
(22) 申请日 2014.12.19
(65) 同一申请的已公布的文献号
 申请公布号 CN 111558049 A
(43) 申请公布日 2020.08.21
(30) 优先权数据
 61/918,539 2013.12.19 US
(62) 分案原申请数据
 201480066385.X 2014.12.19
(73) 专利权人 西雅图基因公司
 地址 美国华盛顿州
(72) 发明人 R·克拉考斯基 S·杰弗瑞
 P·伯克
(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公
 司 31100
 专利代理师 杨昀
(51) Int.Cl.
 A61K 47/68 (2017.01)
 A61K 47/60 (2017.01)
 A61P 35/00 (2006.01)
 A61P 37/06 (2006.01)
(56) 对比文件
 CN 103025165 A,2013.04.03
 US 2008280937 A1,2008.11.13
 审查员 钟远林

权利要求书7页 说明书132页 附图4页

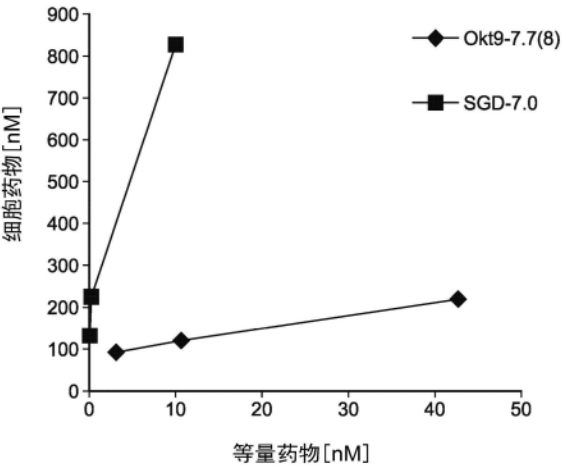
(54) 发明名称

与目标-药物偶联物并用的亚甲基氨基甲酸酯连接物

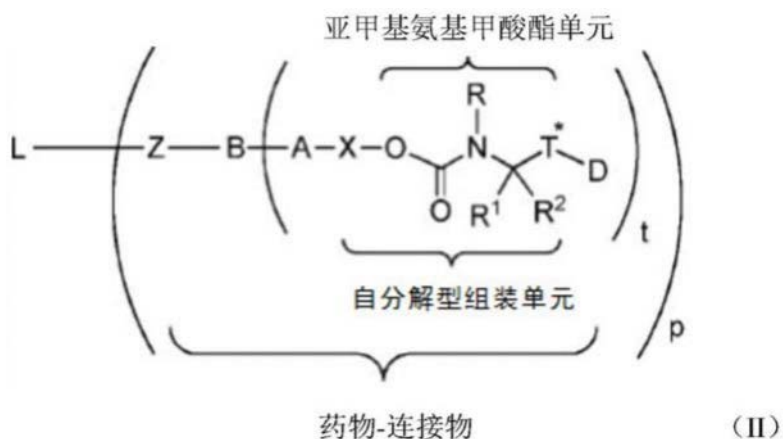
(57) 摘要

本发明提供了与目标-药物偶联物并用的亚甲基氨基甲酸酯连接物,具体提供了含亚甲基氨基甲酸酯单元的配体-药物偶联物和药物-连接物化合物。本发明包括但不限于,配体-药物偶联物,其中所述配体-药物偶联物包含具有用于药物与靶向配体偶联的亚甲基氨基甲酸酯单元的自分解型组装单元,制备和使用该配体-药物偶联物的方法,及其中间物。本发明的配体-药物偶联物在循环中稳定,又能够在游离药物从偶联物释放于肿瘤细胞附近或肿瘤细胞内时造成细胞死亡。

Lovo细胞化合物7.0释放



1. 一种配体-药物偶联物化合物,其具有式(II):



或其医药学上可接受的盐,其中

R、R¹和R²各自为H;

L为抗体,其中所述抗体特异性结合癌细胞的目标抗原以在所述癌细胞中胞内释放细胞毒性剂;

Z为延伸体单元;

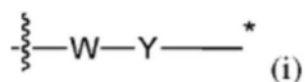
B为任意的分支单元,且当下标t大于1时存在且当下标t为1时不存在;

A为任意的连接体单元;

D为含脂族羟基官能团的细胞毒性剂的药物单元,其已将所述细胞毒性剂的脂族羟基官能团纳入所述亚甲基氨基甲酸酯单元中,

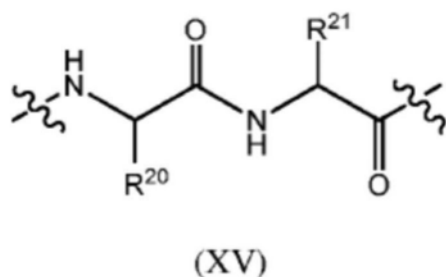
T*为来自纳入所述亚甲基氨基甲酸酯单元中的所述官能团的氧原子;

X具有式(i)的结构



其中根据存在或不存在的A和/或B而定,式(i)中波浪线指示W与A、B或Z的共价连接,且星号(*)指示Y与亚甲基氨基甲酸酯单元的氧原子的共价连接,

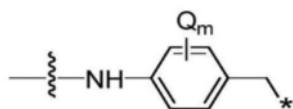
其中,W为肽残基,且其中,所述肽残基由式(XV)表示;



其中R²⁰为异丙基及R²¹为-(CH₂)₃NHCONH₂或甲基,

其中,邻接于式(XV)的羰基碳原子的波浪线指示与Y的共价连接,且邻接于氮原子的波浪线是式(i)的波浪线且指示与A、B或Z的共价连接;且

其中,Y具有如下所示的结构:



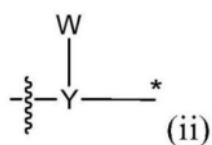
其中邻接氮原子的波浪线指示与式 (XV) 中的羰基碳原子的共价连接, 其中如此限定的酰胺键可通过肿瘤相关蛋白酶切割以起始所述细胞毒性剂的胞内释放; 以及

星号 (*) 为式 (i) 中的星号, 指示苄基碳原子与亚甲基氨基甲酸酯单元氧原子的共价连接;

Q 为 $-C_1-C_8$ 烷基或 $-O-(C_1-C_8)$ 烷基; 下标 m 为 0、1 或 2;

其中, 通过 W 和 Y 之间共价键的酶切割, Y 自我分解使得药物得以释放; 或者

其中 X 具有式 (ii) 的结构:

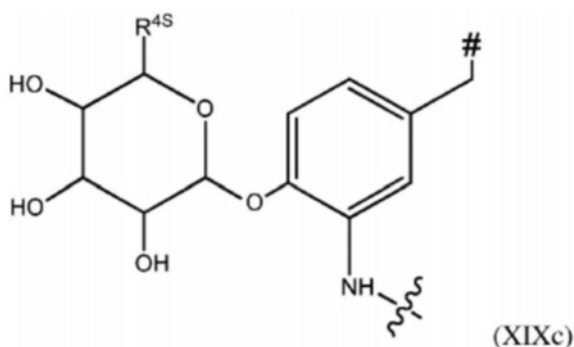


其中, 根据存在或不存在 A 和/或 B 而定, 式 (ii) 中波浪线指示 Y 与 A、B 或 Z 的共价连接, 且星号 (*) 指示 Y 与亚甲基氨基甲酸酯部分的氧原子的共价连接,

W 为活化单元, 其中所述活化单元为糖部分;

Y 为自分解型间隔体单元,

其中, 式 (ii) 是具有式 (XIXc) 结构的葡萄糖苷酸单元:



其中 R^{4S} 为 $-CO_2H$, 波浪线指示 Y 与 Z、A 或 B 的共价连接, 且井号 # 指示与亚甲基氨基甲酸酯单元的氧原子的共价连接,

其中, 通过 W 和 Y 之间共价键的酶切割, Y 自我分解使得药物得以释放;

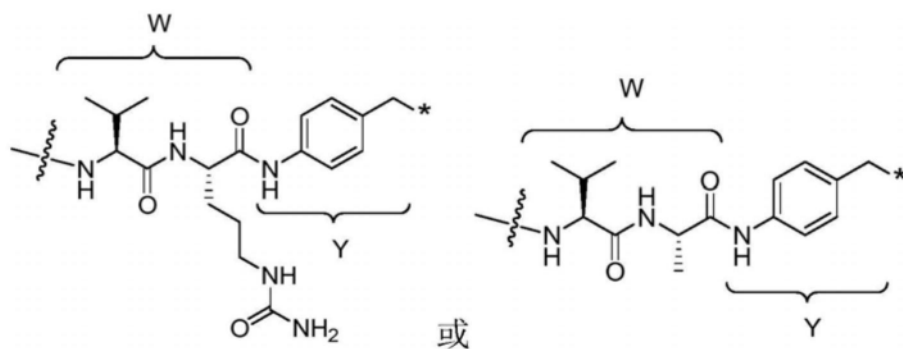
下标 t 在 1 至 4 范围内; 且

下标 p 为在 1 至 16 范围内的整数。

2. 如权利要求 1 所述的配体-药物偶联物化合物, 其中 B 不存在且下标 t 为 1。

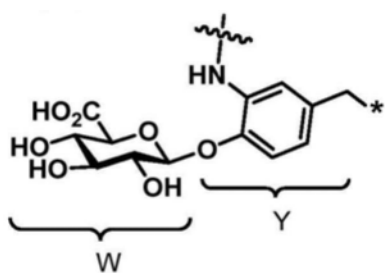
3. 如权利要求 1 所述的配体-药物偶联物化合物, 其中该肿瘤相关蛋白酶为组织蛋白酶 B。

4. 如权利要求 1 所述的配体-药物偶联物化合物, 其中 X 具有式 (i) 的结构, 其中该式中的 -W-Y- 由以下结构表示:



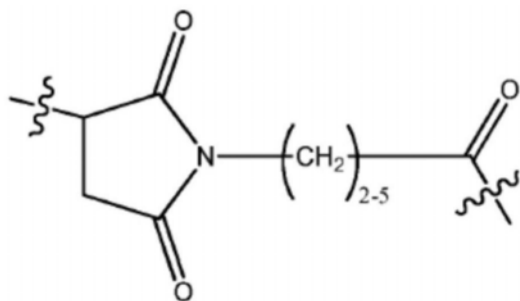
其中根据存在或不存在A和/或B而定,邻接于W的氮原子的波浪线指示Y与A、B或Z的共价连接,且星号(*)指示Y的苯甲基碳原子与亚甲基氨基甲酸酯单元的氧原子的共价连接。

5.如权利要求1所述的配体-药物偶联物化合物,其中X具有式(ii),其中该式的-Y(W)-由以下结构表示:



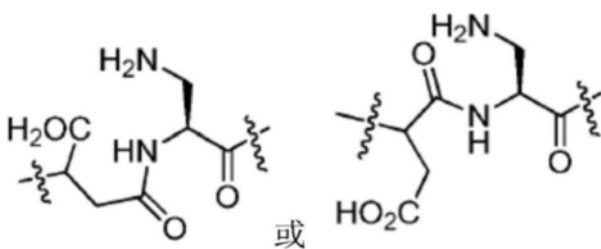
其中,根据存在或不存在A和/或B而定,邻接于Y的氮原子的波浪键指示Y与Z、A或B的共价连接,且该星号(*)指示Y的苯甲基碳原子与亚甲基氨基甲酸酯单元氧原子的共价连接。

6.如权利要求1至5中任一项所述的配体-药物偶联物化合物,其中Z由以下结构表示:



其中邻接于该丁二酰亚胺环系统的波浪线指示与来自抗体的硫原子的共价连接,且邻接于羰基碳原子的波浪线指示与A、B的共价连接,或与式(XIXc)葡萄糖苷酸单元或式(XV)肽部分氮原子的共价连接。

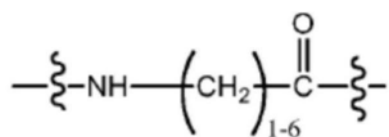
7.如权利要求1至5中任一项所述的配体-药物偶联物化合物,其中Z由以下结构表示:



,其中,邻接于羰基碳原子的波浪线指示与A、B的共价连接,或与式(XIXc)葡萄糖苷酸单元或式(XV)肽部分氮原子的共价连接,且另一波浪线指示与来自抗体的硫原子的共价连

接。

8. 如权利要求1至5中任一项所述的配体-药物偶联物化合物,其中存在A,且具有下式



其中邻接于羰基碳原子的波浪线指示与式(XIXc)葡萄糖苷酸单元或式(XV)肽部分氮原子的共价连接,且另一波浪线指示若B存在时与B的共价连接,或若B不存在时与Z的共价连接。

9. 如权利要求1至5中任一项所述的配体-药物偶联物化合物,其中A不存在。

10. 如权利要求1至5中任一项所述的配体-药物偶联物化合物,其中下标p在1至10范围内。

11. 如权利要求1至5中任一项所述的配体-药物偶联物化合物,其中下标p在1至8范围内。

12. 如权利要求11所述的配体-药物偶联物化合物,其中细胞毒性剂结合于FKBP以抑制mTOR或钙调神经磷酸酶效应物功能。

13. 如权利要求12所述的配体-药物偶联物化合物,其中细胞毒性剂为依维莫司、他克莫司或西罗莫司。

14. 如权利要求11所述的配体-药物偶联物化合物,其中所述细胞毒性剂与微管蛋白结合以破坏微管蛋白功能。

15. 如权利要求14所述的配体-药物偶联物化合物,其中细胞毒性剂为MMAE或奥瑞他汀T。

16. 一种药物-连接物化合物,其具有式(V)的结构:



或其医药学上可接受的盐;其中

D为药物单元,其对应于具有已纳入该所述的亚甲基氨基甲酸酯单元中的脂族羟基官能团的细胞毒性剂;

T*为氧,其来自纳入该所述亚甲基氨基甲酸酯单元中的该脂族羟基官能团;

R、R¹和R²为氢;

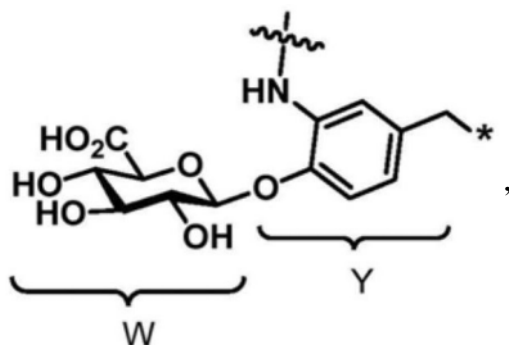
Z'为Z的前体且包含提供配体单元与Z的共价连接的官能团,其中配体单元来自抗体;

B为任选的分支单元,其在下标t大于1时存在且在下标t为1时不存在;

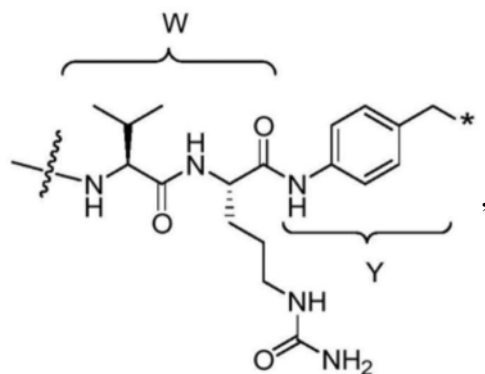
A为任选的连接体单元;且

下标t在1至4范围内,

其中X为-Y(W)-,其中-Y(W)-由以下结构表示:

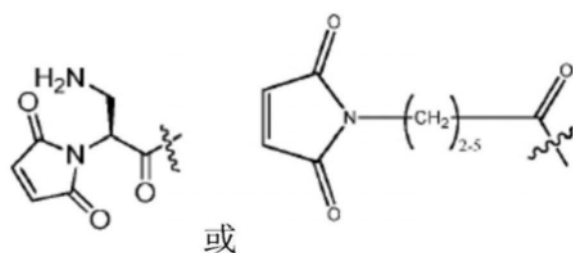


其中根据存在或不存在A和/或B而定,邻接于Y的氮原子的波浪线指示Y与Z'、A或B的共价连接,且星号(*)指示Y的苯甲基碳原子与亚甲基氨基甲酸酯单元的氧原子的共价连接,其中,通过W和Y之间共价键的酶切割,Y自我分解使得药物得以释放,或X是-W-Y,其中-W-Y由以下结构表示:



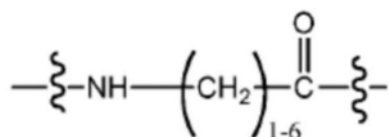
其中根据存在或不存在A和/或B而定,邻接于W的氮原子的波浪键指示W与Z'、A或B的共价连接,且星号(*)指示Y的苯甲基碳原子与该亚甲基氨基甲酸酯单元氧原子的共价连接。

17.如权利要求16的药物-连接物化合物,其中Z'具有下式:



其中视存在或不存在A和/或B而定,邻接于羰基碳原子的波浪线指示Z'与A、B或X的共价连接。

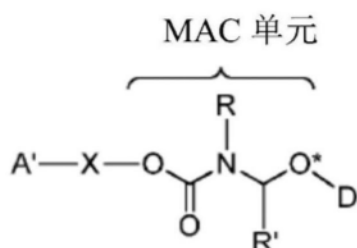
18.如权利要求16的药物-连接物化合物,其中A存在且具有下式



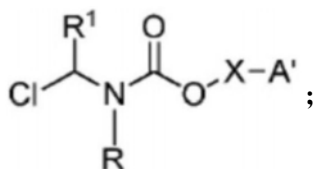
其中邻接于羰基碳原子的波浪线指示与式(XIXc)葡萄糖苷酸单元或式(XV)肽部分氮原子的共价连接;另一波浪线指示若B存在时与B的共价连接,或若B不存在时与Z的共价连接。

19.如权利要求16至18中任一项所述的药物-连接物化合物,其中B不存在且下标t为1。

20. 如权利要求16至18中任一项所述的药物-连接物化合物,其中B存在且下标t为2。
21. 如权利要求19所述的药物-连接物化合物,其中细胞毒性剂结合于FKBP以抑制mTOR或钙调神经磷酸酶效应物功能。
22. 如权利要求20所述的药物-连接物化合物,其中细胞毒性剂为依维莫司、他克莫司或西罗莫司。
23. 如权利要求19所述的药物-连接物化合物,其中所述细胞毒性剂与微管蛋白结合以破坏微管蛋白功能。
24. 如权利要求23所述的药物-连接物化合物,其中细胞毒性剂为奥瑞他汀。
25. 一种配体-药物偶联物组合物,其包含多个配体-药物偶联物化合物,其各自具有如权利要求1至15中任一项所述的结构,其中所述配体-药物偶联物化合物通过其p整数值进行区分;及医药学上可接受的载剂。
26. 如权利要求25所述的配体-药物偶联物组合物,其中每抗体平均存在2至10个药物-连接物部分。
27. 如权利要求25所述的配体-药物偶联物组合物,其中每抗体平均存在2至8个药物-连接物部分。
28. 如权利要求1至15中任一项所述的配体-药物偶联物化合物或如权利要求25至27中任一项所述的配体-药物偶联物组合物在制备用于治疗癌症的药物中的应用,其中癌症是造血癌症,且其中所述细胞毒性剂结合微管以破坏微管功能或结合FKBP以抑制mTOR或钙调神经磷酸酶效应物功能。
29. 如权利要求28所述的应用,其中所述癌症是淋巴瘤或白血病。
30. 一种制备权利要求16所述的药物-连接物化合物的中间物的方法,其中该中间物具有以下结构:



该方法包括:在足以用来自该细胞毒性剂官能团的氧杂原子取代氯原子的条件下,使具有游离脂族羟基官能团的细胞毒性剂与具有以下结构的N-氯甲胺接触:



其中A'为药物-连接物化合物的A的可选前体,且包含用于提供与该药物-连接物化合物的Z'共价连接的官能团;

X具有式(i)、式(ii)的结构或为其前体,其按需具有合适的保护且具有提供与A'或Z'的共价连接的官能团;

R为氢;且

R^1 为氢。

与目标-药物偶联物并用的亚甲基氨基甲酸酯连接物

[0001] 对相关申请案的交叉引用

[0002] 本非临时申请案根据35U.S.C.§119(e)主张申请于2013年12月19日提交的在审美国申请案第61/918,539号的优先权,该申请案以全文引用的方式纳入本文中。

背景技术

[0003] 已有大量关注围绕使用单克隆抗体(mAb)进行细胞毒性剂向肿瘤细胞的靶向递送。尽管已评估多个不同药物类别的通过抗体的递送,但仅几个药物类别已经证明具有保证临床发展的作为抗体药物偶联物的充分活性(同时具有适合的毒性概况)。一个此类类别为奥瑞他汀(auristatin),其与天然产物海兔毒素10(dolastatin 10)相关。代表性奥瑞他汀包括MMAE(N-甲基缬氨酸-缬氨酸-多拉索因(dolaisoleuine)-多拉普因(dolaproine)-降麻黄碱)和MMAF(N-甲基缬氨酸-缬氨酸-多拉索因-多拉普因-苯丙氨酸)。

[0004] 通过通常施用连接物将细胞毒性剂连接至抗体来设计抗体药物偶联物(ADC)涉及对多种因素的考虑,包括药物上的用于连接至连接物的偶联柄(conjugation handle)及以条件性稳定方式将药物连接至抗体的连接物技术的存在。被认为缺少适当偶联柄的某些药物类别已被视为不适合用作ADC。尽管可能修饰此类药物以使其包括偶联柄,但此类修改可负面地干扰药物的活性概况。

[0005] 包含酯及碳酸盐的连接物已通常用于结合含醇药物且产生具有可变稳定性和释药概况的ADC。不理想的概况可导致ADC的效能降低、该偶联物的免疫特异性不足,和毒性的增加,这归因于药物自偶联物的非特异性释放。尽管已显示某些酚醇可通过醚键直接连接至自分解型间隔体单元对酰氨基苯甲醇,但所述连接物策略不太可能对所有含醇药物有效,包括多种含脂族醇的药物(参见例如,Toki等J.Org.Chem.2002,67,1866-1872)。对此的一个原因可归因于含脂族醇的药物的较高pKa。

[0006] 因此,需要可用于连接迄今为止通常被认为大体上不适于用作ADC和配体药物偶联物(LDC)的药物的新连接物技术,包括需要将含芳族醇及含脂族醇的药物连接至除抗体以外的其他靶向配体的更通用的方法。本发明满足了这些及其他需要。

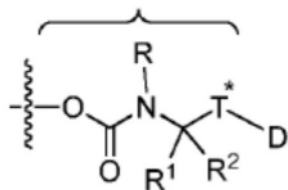
[0007] 发明概述

[0008] 本发明提供但不限于配体-药物偶联物,其中该配体-药物偶联物包含具有用于将药物偶联至靶向配体的亚甲基氨基甲酸酯单元的自分解型组装单元,其制备及使用方法及其中间物。本发明的配体-药物偶联物既在循环中稳定,又能够在从偶联物释放于肿瘤细胞附近或肿瘤细胞内时造成细胞死亡。

[0009] 在一个基本实施方式中,配体药物偶联物(LDC)或其组合物包含配体单元、药物单元及将配体单元连接至药物单元的连接物单元(Linker Unit),其中连接物单元包含具有亚甲基氨基甲酸酯单元及可活化的自分解型部分的自分解型组装单元,其中可活化的自分解型部分的活化导致游离药物从经历自我分解的LDC的释放,且其中亚甲基氨基甲酸酯单元共价连接至药物单元和可活化的自分解型部分,其中共价连接至药物单元的亚甲基氨基甲酸酯单元由式I的结构表示:

亚甲基氨基甲酸酯单元

[0010]



(I)

[0011] 或其医药学上可接受的盐,其中波浪线指示亚甲基氨基甲酸酯单元与可活化的自分解型部分(X)的共价连接;

[0012] D为药物单元,其具有已纳入亚甲基氨基甲酸酯单元中的官能团(例如羟基、巯基、酰胺或胺官能团);

[0013] T*为来自纳入所述亚甲基氨基甲酸酯单元中的所述官能团的杂原子(氧、硫、任选取代的氮);

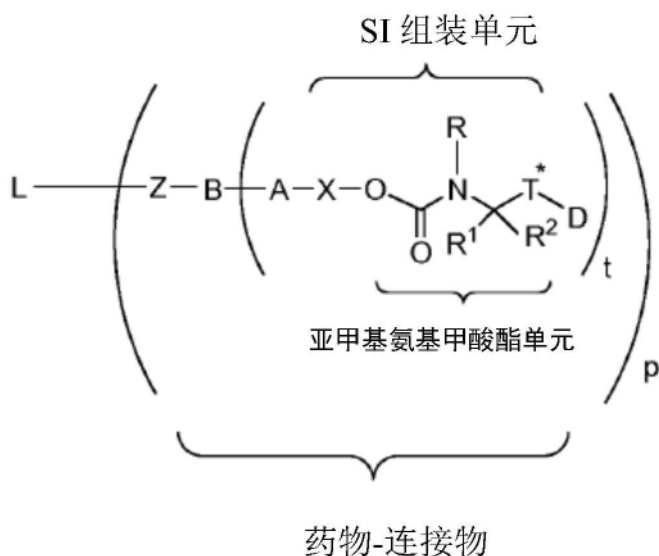
[0014] X为可活化的自分解型部分;

[0015] R、R¹及R²独立地为氢、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₆₋₁₄芳基或任选取代的C连接的C₃-C₈杂芳基,

[0016] 或R及R¹连同其所连接的氮及碳原子构成氮杂环丁基(azetidiny1)、吡咯烷基、哌啶基或高哌啶基部分,且R²为氢。

[0017] 在一些实施方式中,具有式I的亚甲基氨基甲酸酯单元的配体药物偶联物或其组合物由式II的结构表示:

[0018]



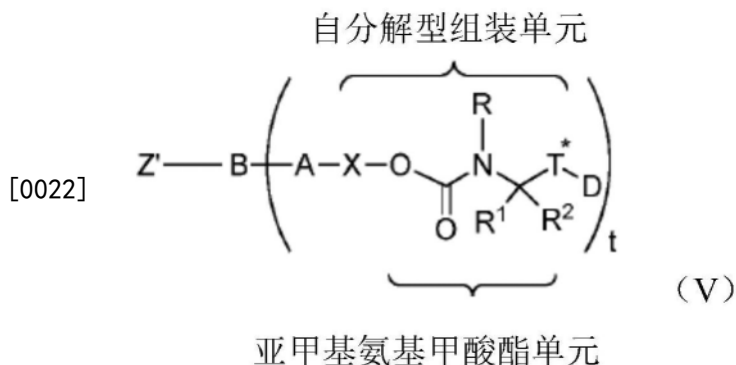
(II)

[0019] 或其医药学上可接受的盐;其中L为配体单元;Z为延伸体单元;B为任选的分支单元,且当t大于1时存在且当t为1时不存在;A为任选的连接体单元(Connector Unit);X为可活化的自分解型部分;下标t在1至4范围内;下标p为在1至16范围内的整数(对于个体LDC)或数值(对于LDC组合物中的LDC群体);且D、T*、R、R¹及R²如在式I中所定义。

[0020] 其他基本实施方式是适用作用于制备配体-药物偶联物的中间物的药物-连接物化合物,其中药物-连接物化合物包含药物单元及连接物单元,其中连接物单元包含能够形成至提供配体单元的靶向配体的共价键的延伸体单元前体(Z')、具有亚甲基氨基甲酸酯单

元及可活化的自分解型部分的自分解型组装单元,其中在纳入了药物-连接物化合物的LDC中的可活化的自分解型部分的活化导致游离药物通过自我分解从LDC释放,且其中亚甲基氨基甲酸酯单元共价连接至药物单元及可活化的自分解型部分。

[0021] 在一些实施方式中,具有式I的亚甲基氨基甲酸酯单元的药物-连接物化合物具有式V的结构:



[0023] 或其医药学上可接受的盐,其中Z'为延伸体单元(Z)的延伸体单元前体且包含提供配体单元至Z的共价连接的官能团;且B、A、X、R、R¹、R²、T*、D及下标t如对于式(II)所定义。

附图说明

[0024] 图1说明平均药物负荷为4的ADC组合物在大鼠及小鼠血浆中的离体稳定性,其中组合物的ADC包含亚甲基烷氧基氨基甲酸酯单元(MAC单元),该MAC单元纳入来自奥瑞他汀E的羟基官能团的氧杂原子。

[0025] 图2说明含四氢喹啉的游离药物BMN-673在通过葡萄糖醛酸酶的自分解型活化之后从N-乙酰基半胱氨酸(NAC)药物偶联物的有效释放,其中该化合物的环状苯胺氮纳入该偶联物的自分解型组装单元的亚甲基氨基甲酸酯单元中。

[0026] 图3说明来自通过配体药物偶联物的靶向递送的游离药物的细胞内累积,该配体药物偶联物具有连接至来自PARP抑制剂BMN-673的药物单元的变体MAC单元。

[0027] 发明详述

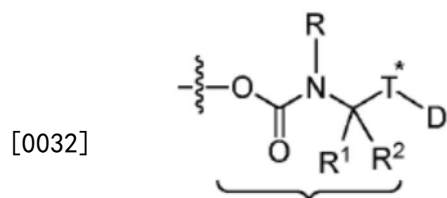
[0028] 综述

[0029] 本发明部分基于以下发现:将具有自分解型组装单元的药物-连接物部分连接至配体单元,允许通过该药物的羟基官能团合成条件性稳定的配体-药物偶联物(LDC),其中该自分解型组装单元包含可活化的自分解型部分(X)及亚甲基烷氧基(或芳氧基)氨基甲酸酯单元(在本文中还称为MAC单元),其纳入来自药物(例如,具有芳族醇或脂族醇的药物)的羟基官能团的氧杂原子,。所得LDC能够在活化时释放游离药物,其再生羟基官能团。

[0030] 其他实施方式部分基于以下发现:MAC单元可经调适以提供其他亚甲基氨基甲酸酯单元,用于与具有除羟基以外的官能团的药物一起使用,所述药物包括含有巯基、酰胺或胺官能团的药物。因此,本文所提供的示例性自分解型组装单元包含亚甲基氨基甲酸酯单元,其直接连接至来自具有不同离去基团能力的药物官能团的杂原子。在一些方面中,官能团为来自药物的羟基(包括一级、二级及三级脂族醇及芳族醇的羟基)、巯基(包括烷基巯基及芳基巯基)、酰胺(包括甲酰胺、磺酰胺及磷酰胺)或胺(包括环状或脂环一级脂族胺、二级脂族胺及三级脂族胺,或一级或二级芳基胺)以使得连接至亚甲基氨基甲酸酯单元的杂原

子(T*)为氧、硫或氮杂原子(其任选取代,例如当官能团为二级酰胺、三级胺、环状脂族胺或N取代的芳基胺时)。在这些情况下,自分解型组装单元的条件性活化释放H-T*-D,或在三级胺的情况下释放T*-D。MAC单元为一种类型的亚甲基氨基甲酸酯单元,其中用于含羟基药物的共价连接的官能团杂原子为来自药物的羟基官能团的氧原子。

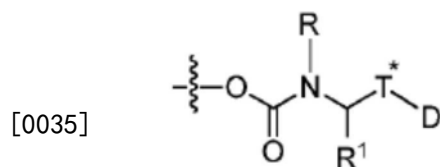
[0031] 在一些实施方式中,共价连接至LDC或药物-连接物化合物的自分解型组装单元中的药物单元的亚甲基氨基甲酸酯单元具有下式I:



亚甲基烷氧基(或芳氧基)氨基甲酸酯 (I)

[0033] 其中波浪线指示与自分解型组装单元的可活化的自分解型部分(X)的共价连接;D为药物单元,其具有已纳入LDC或药物-连接物化合物的药物-连接物部分中的官能团;T*为来自纳入亚甲基氨基甲酸酯单元中的所述官能团的氧、硫或任选取代的氮杂原子;R及R¹及R²独立地为氢、任选取代的C₁₋₆烷基、任选取代的C₆₋₁₄芳基或任选取代的C连接的C₃₋₈杂芳基,或R与R¹两者连同其所连接的氮及碳原子构成氮杂环丁基、吡咯烷基、哌啶基或高哌啶基部分(优选为吡咯烷基或哌啶基部分),且R²为氢。

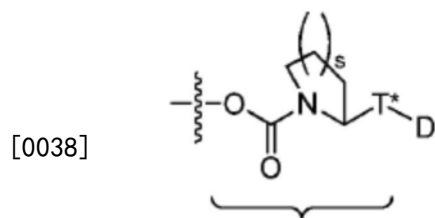
[0034] 示例性实施方式包括其中如式(Ia)中所阐述的R²为氢的实施方式



亚甲基烷氧基(或芳氧基)氨基甲酸酯 (Ia)

[0036] 且波浪线、T*、D、R及R¹如对于式I所定义。R及R¹优选为氢、任选取代的C₁₋₆烷基或任选取代的C₆₋₁₄芳基(更优选为氢、任选取代的C1-4烷基或任选取代的苯基,最佳为氢或任选取代的C₁₋₄烷基)。在式Ia的一些实施方式中,R及R¹为氢。在式Ia的其他实施方式中,R及R¹之一为PEG单元或碱性单元且另一者为氢或未经取代的C₁₋₄烷基。

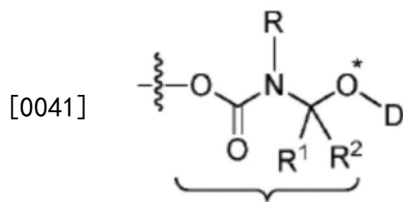
[0037] 示例性实施方式包括其中R¹及R²连同其所连接的氮及碳原子构成如下式(Ib)中所阐述的杂环基的实施方式:



亚甲基烷氧基(或芳氧基)氨基甲酸酯单元 (Ib)

[0039] 其中T*及D及波浪线是如对于式I所定义,且s为0、1、2或3(优选为0、1或2;更优选为1或2)。

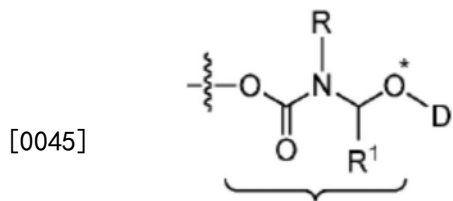
[0040] 在一些方面中,亚甲基氨基甲酸酯单元为MAC单元。在所述实施方式中,D为具有羟基官能团的药物单元,且共价连接至LDC或药物-连接物化合物的自分解型组装单元中的药物单元的MAC单元具有下式I':



[0042] 亚甲基烷氧基(或芳氧基)氨基甲酸酯 (I')

[0043] 其中波浪线、R、R¹及R²如对于式I所定义,D为药物单元,其具有已被纳入LDC或药物-连接物化合物的药物-连接物部分中的羟基官能团,且O*为来自纳入亚甲基氨基甲酸酯单元中的所述官能团的氧杂原子。在式I'的一些实施方式中,R¹及R²之一为碱性单元且另一者为氢或未经取代的C₁-C₄烷基。在式I'的其他实施方式中,R¹及R²之一为PEG单元且另一者为氢或未经取代的C₁-C₄烷基。

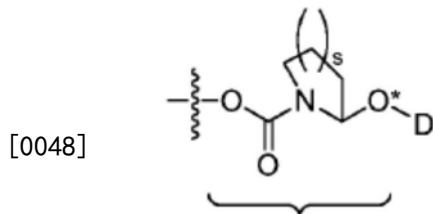
[0044] 示例性实施方式包括其中R²为氢的如式(Ia')中所阐述的实施方式



亚甲基烷氧基(或芳氧基)氨基甲酸酯 (Ia')

[0046] 其中波浪线、R及R¹如对于式I所定义,D为药物单元,其具有已被纳入LDC或药物-连接物化合物的药物-连接物部分中的羟基官能团,且O*为来自纳入亚甲基氨基甲酸酯单元中的所述官能团的氧杂原子。R及R¹优选独立地选为氢、任选取代的C₁₋₆烷基或任选取代的C₆₋₁₄芳基(更优选为氢、任选取代的C₁₋₄烷基或任选取代的苯基,最佳为氢或任选取代的C₁₋₄烷基)。在式Ia'的一些实施方式中,R¹及R²为氢。在式Ia'的其他实施方式中,R及R¹之一为PEG单元或碱性单元且另一者为氢或未经取代的C₁₋₄烷基。

[0047] 示例性实施方式包括其中R¹及R²连同其所连接的氮及碳原子构成如以下式(Ib')中所阐述的杂环基的实施方式:



亚甲基烷氧基(或芳氧基)氨基甲酸酯单元 (Ib')

[0049] 其中波浪线如对于式I所定义,D为药物单元,其具有已被纳入LDC或药物-连接物化合物的药物-连接物部分中的羟基官能团,O*为来自纳入亚甲基氨基甲酸酯单元中的官能团的氧杂原子,且下标s为0、1、2或3(优选为0、1或2;更优选为1或2)。

[0050] MAC单元为自分解型组装单元的末端。自分解型组装单元的主要功能为在起始自

分解型组装单元内的自分解型部分的自我分解的选择性(即条件性)活化事件之后释放游离药物(例如,H-O*-D)。自分解型组装单元经设计以具有除MAC单元以外的自分解型间隔体单元(Y),其为可活化的自分解型部分(X)的自分解型部分,及活化单元(W),其条件性地起作用以起始自分解型间隔体单元内的自我分解反应程序。自我分解的活化是通过导致Y的快速断裂以释放游离药物(例如,游离含醇药物)的分裂事件。纳入本发明的LDC中的药物可含有多个官能团,尽管在这些情况下药物单元与MAC单元的连接是通过来自所述多个官能团中的仅一者的杂原子进行。举例而言,在含醇药物的情况下,该药物可含有多于一个醇部分(即多于一个羟基官能团),尽管在这些情况下药物单元与MAC单元的连接是通过来自所述羟基官能团中的仅一者的氧杂原子进行。

[0051] 对于具有胺作为官能团(其氮成为亚甲基氨基甲酸酯单元的一部分)的药物单元的实施方式,应理解,T*如N*表示来自含伯胺化合物或包含-亚(杂)芳基-NH₂或-亚(杂)芳基-NH-部分的含(杂)芳基胺的药物(即,具有一级、二级或环状芳族胺官能团的药物)的-NH-部分,其中(杂)芳基或亚(杂)芳基包括任选取代的苯基或亚苯基或5元或6元杂芳基或杂亚芳基。因此,T*如N*指的是任选取代的氮。同样地,当药物单元具有酰胺作为官能团(其氮成为亚甲基氨基甲酸酯单元的一部分),T*如N*表示来自含一级酰胺的药物(即,具有NH₂C(=O)-的官能团)、二级酰胺(即,具有NH(R^N)C(=O)-的官能团)的部分-NH(C=O)- (其中R^N包括烷基、芳基、C连接的杂芳基、烷基(芳基)磺酰基及烷基(芳基)磷酰基)时,T*如N*也指任选取代的氮。对于具有杂碳环或杂碳环基中的氮的含二级胺的游离药物,包括含芳族胺的药物,其中其芳基或亚芳基经-NH-亚烷基-取代,其中亚烷基部分结合至芳基或亚芳基因此形成稠环系统,应进一步理解T*-D表示环胺结构。

[0052] 定义

[0053] 除非另外说明,否则如本文所用的以下术语及短语意在具有以下涵义。当本文中使用的商标名时,除非上下文另外指示,否则商标名包括商标名产品的产品制剂、通用药物及一种或多种活性医药成分。

[0054] 如本文所用,术语“抗体”在本文中以最广泛意义使用且特定地涵盖完整单克隆抗体、多克隆抗体、单特异性抗体、多特异性抗体(例如双特异性抗体),及展现所需生物活性的抗体片段。抗体的天然形式为四聚体且由相同的两对免疫球蛋白链组成,各对具有一个轻链及一个重链。在各对中,轻链可变区及重链可变区(VL及VH)一起主要负责结合至抗原。轻链及重链可变域由间杂有三个还称为“互补决定区”或“CDR”的高变区的构架区组成。恒定区可通过免疫系统识别且与免疫系统相互作用。(参见例如,Janeway等人,2001, Immunol.Biology,第5版,加兰出版公司(Garland Publishing),纽约)。抗体可为任何类型(例如IgG、IgE、IgM、IgD及IgA)、类别(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2)或子类。抗体可衍生自任何适合物种。在一些实施方式中,抗体源自人类或鼠类。举例而言,抗体可为人类抗体、人源化抗体或嵌合抗体。

[0055] 如本文所用,术语“单克隆抗体”是指自实质上均质的抗体群体获得的抗体,即构成该群体的个别抗体除可能少量存在的可能的天然存在的突变外为相同的。单克隆抗体针对单一抗原位点具高度特异性。修饰语“单克隆”指示抗体的特性是获自实质上均质的抗体群体,且不应理解为需要通过任何特定方法产生该抗体。

[0056] “完整抗体”为按抗体类别的需要包含抗原结合可变区以及轻链恒定域(CL)及重

链恒定域(CH1、CH₂、CH₃及CH₄)的抗体。恒定域可为天然序列恒定域(例如人类天然序列恒定域)或其氨基酸序列变体。

[0057] “抗体片段”包含完整抗体的一部分,包含其抗原结合区或可变区。抗体片段的示例包括与目标抗原(例如癌细胞抗原、病毒抗原或微生物抗原)免疫特异性结合的Fab、Fab'、F(ab')₂及Fv片段、双功能抗体、三功能抗体、四功能抗体、线性抗体、单链抗体分子、scFv、scFv-Fc、由一个或多个抗体片段(一个或多个由Fab表达基因库产生的片段)形成的多特异性抗体片段或以上中的任一种的表位-结合片段。

[0058] “抗原”为与抗体特异性结合的实体。

[0059] 术语“特异性结合”及“特异性地结合”表示抗体或抗体衍生物将以高选择性方式与目标抗原的其对应表位结合且不与众多其他抗原结合。通常,抗体或抗体衍生物以至少约 1×10^{-7} M,且优选 10^{-8} M至 10^{-9} M、 10^{-10} M、 10^{-11} M或 10^{-12} M的亲和力结合,且以至少两倍高于其结合至除预定抗原或紧密相关抗原的外的非特异性抗原(例如,BSA、酪蛋白)的亲和力的亲和力结合至预定抗原。

[0060] 术语“抑制”表示降低可测量的量或完全阻止。

[0061] 术语“治疗有效量”是指有效治疗哺乳动物的疾病或病症的偶联物的量。在癌症的情况下,偶联物的治疗有效量可减小癌细胞的数目;减小肿瘤大小;抑制(即在一定程度上减缓且优选阻止)癌细胞浸润入周边器官中;抑制(即,在一定程度上减缓且优选阻止)肿瘤转移;在一定程度上抑制肿瘤生长;和/或在一定程度上减轻一或多种与癌症相关的症状。到了药物可抑制所存在的癌细胞生长和/或杀死所存在的癌细胞的程度,其可具有细胞抑制性和/或细胞毒性。对于癌症疗法,可例如通过评估疾病进展时间(TTP)和/或测定反应率(RR)来度量功效。

[0062] 术语“实质性”或“实质上”是指群体、混合物或样品的大部分,即>50%,优选为群体的超过50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%。

[0063] 术语“细胞毒活性”是指药物或配体-药物偶联物或配体-药物偶联物的细胞内代谢物的细胞致死作用。细胞毒活性可以IC₅₀值表示,其为一半细胞存活时的每单位体积的浓度(摩尔或质量)。

[0064] 术语“细胞抑制活性”是指药物或配体-药物偶联物或配体-药物偶联物的细胞内代谢物的抗增殖作用。

[0065] 如本文所用,术语“细胞毒性剂”是指具有细胞毒活性且导致细胞破坏的物质。该术语意在包括化学治疗剂,及毒素,例如小分子毒素或源自细菌、真菌、植物或动物的酶促活性毒素,包括其合成类似物及衍生物。

[0066] 如本文所用,术语“细胞抑制剂”是指抑制细胞功能的物质,所述细胞功能包括细胞生长或增殖。细胞抑制剂包括抑制剂,例如蛋白质抑制剂,例如,酶抑制剂。细胞抑制剂具有细胞抑制活性。

[0067] 术语“癌症”及“癌性”是指或描述哺乳动物的通常以不受调控细胞生长为特征的生理病况或病症。“肿瘤”包含一种或多种癌细胞。

[0068] 本文中的“自体免疫疾病”为由个体的自身组织或蛋白质产生且针对个体的自身组织或蛋白质的疾病或病症。

[0069] “患者”的示例包括(但不限于)人类、大鼠、小鼠、天竺鼠、非人类灵长类动物、猪、山羊、牛、马、狗、猫、鸟及家禽。通常,患者为大鼠、小鼠、狗、人类或非人类灵长类动物,较通常为人类。

[0070] 除非上下文另外指示,否则术语“治疗”是指治疗性治疗及预防性,其中目的为抑制或减缓(减轻)不希望的生理变化或病症,例如癌症的进展或扩散。出于本发明的目的,有益或所需的临床结果包括(但不限于)症状缓解、疾病程度减轻、疾病病况稳定(即不恶化)、疾病进展延缓或减缓、疾病病况改善或减轻及病征缓解(部分或完全),所述结果为可侦测或不可侦测的。“治疗”还可表示相较于不接受治疗的预期存活期而延长存活期。需要治疗的患者包括已患有病况或病症的患者以及易于患上病况或病症的患者。

[0071] 在癌症的情况下,术语“治疗”包括以下情况中的任一种或所有:杀死肿瘤细胞;抑制肿瘤细胞、癌细胞或肿瘤的生长;抑制肿瘤细胞或癌细胞的复制;减轻总肿瘤负荷或减少癌细胞的数目;及改善与疾病相关的一种或多种症状。

[0072] 在自体免疫疾病的情况下,术语“治疗”包括以下情况中的任一种或所有:抑制与自体免疫疾病病况相关的细胞(包括(但不限于)产生自体免疫抗体的细胞)的复制、减轻自体免疫抗体负荷及改善自体免疫疾病的一种或多种症状。

[0073] 如本文所用,短语“医药学上可接受的盐”是指化合物(例如药物、药物-连接物或配体-药物偶联物)的医药学上可接受的有机或无机盐。在一些方面中,化合物可含有至少一个氨基,且因此酸加成盐可利用该氨基形成。示例性的盐包括(但不限于)硫酸盐、三氟乙酸盐、柠檬酸盐、乙酸盐、乙二酸盐、氯化物、溴化物、碘化物、硝酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、酸性磷酸盐、异烟碱酸盐、乳酸盐、柳酸盐、酸性柠檬酸盐、酒石酸盐、油酸盐、丹宁酸盐、泛酸盐、酒石酸氢盐、抗坏血酸盐、丁二酸盐、顺丁烯二酸盐、龙胆酸盐、反丁烯二酸盐、葡萄糖酸盐、葡萄糖醛酸盐、葡萄糖二酸盐、甲酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐及双羟萘酸盐(即1,1'-亚甲基-双(2-羟基-3-萘甲酸盐))。医药学上可接受的盐可涉及包括另一分子,例如乙酸根离子、丁二酸根离子或其他平衡离子。平衡离子可为使母体化合物上的电荷稳定的任何有机或无机部分。此外,医药学上可接受的盐在其结构中可具有多于一个带电原子。多个带电原子为医药学上可接受的盐的一部分的情况可具有多个平衡离子。因此,医药学上可接受的盐可具有一个或多个带电原子和/或一个或多个平衡离子。

[0074] 连接物单元为在配体药物偶联物中将药物单元连接至配体单元的双官能部分。本发明的连接物单元具有若干组分(例如,具有任选的碱性单元、任选的分支单元、任选的连接物单元的延伸体单元及自分解型组装单元)。

[0075] 如本文所用,“碱性单元”为分别由丁二酰亚胺或顺丁烯二酰亚胺系统组成的延伸体单元(Z)或延伸体单元前体(Z')的有机部分,或为R的情况,其为亚甲基氨基甲酸酯单元的氨基甲酸酯氮上的取代基,或为R¹或R²的情况,其为亚甲基氨基甲酸酯单元的亚甲基碳的取代基。当为延伸体单元的一部分时,碱性单元能够催化水分子与Z的丁二酰亚胺羰基-氮键之一的加成,且可在连接至延伸体单元的配体单元可容许的受控条件下起始。出于该目的,碱性单元(BU)的碱性官能团及其在Z中关于其丁二酰亚胺环系统的相对位置是根据其氢结合至该环系统的羰基的能力而选择的,以有效增加其亲电子性并进而提高其对水攻击(water attack)的敏感性。或者,选择这些变量,从而其亲核性是通过氢结合至BU的碱性官

能团而增加的水分子被导向至Z的丁二酰亚胺环系统的羰基。通常,通过任一机制起作用的此类碱性单元包含将其碱性氨基官能团连接至延伸体单元的剩余部分的1至6个相邻碳原子。为了通过氢结合增加Z中的丁二酰亚胺羰基的亲电子性,需要BU具有伯胺或仲胺官能团,而以所描述的方式增加水亲核性可以伯胺、仲胺或叔胺作为BU的碱性官能团进行。为了使碱性胺官能团具有所需接近度以协助通过任一机制的Z的丁二酰亚胺的水解,BU的含胺碳链通常与结合至对应延伸体单元前体Z'的顺丁烯二酰亚胺氮的任选取代的烷基部分的 α 碳连接。

[0076] 当为延伸体单元前体的一部分时,碱性单元的碱性胺官能团通常以盐形式受保护或受适合的保护基保护以避免顺丁烯二酰亚胺部分的过早水解或者碱性胺官能团的亲核氮与顺丁烯二酰亚胺部分环系统的羰基的直接连接。出于该目的的适合的保护基为酸不稳定保护基,例如烷氧基羰基。当为亚甲基氨基甲酸酯单元的一部分时,碱性单元中的将氨基甲酸酯氮连接至碱性官能团(和/或将亚甲基氨基甲酸酯单元的亚甲基碳连接至碱性官能团)的通常由2至6个相邻碳原子组成的部分经选择以具有与具有该碱性单元的亚甲基氨基甲酸酯单元的T*-D部分的所需接近性,以降低该部分因自发性溶剂分解而以H-T*-D形式过早损失的倾向。碱性单元的例示但非限制性示例为 $-(CH_2)_xNH_2$ 、 $-(CH_2)_xNHR^{Op}$ 或 $-(CH_2)_xN(R^{Op})_2$,其中x为在1至4范围内的整数,且 R^{Op} 在该示例中为 C_{1-6} 烷基。

[0077] 如本文所用,“PEG单元”为有机部分,其包含重复亚乙基-氧基亚单元且可为多分散、单分散或离散的(即具有离散数目的亚乙基-氧基亚单元)。多分散PEG为不同尺寸及分子量的异质混合物,而单分散PEG通常从异质混合物纯化且因此具有单一链长及分子量。优选PEG单元为离散PEG,即以逐步方式且不通过聚合方法合成的化合物。离散PEG提供具有限定且指定链长的单一分子。

[0078] 本文所提供的PEG单元包含一个或多个聚乙二醇链,其各包含一个或多个彼此共价连接的亚乙基氧基亚单元。聚乙二醇链可例如以直线、分支或星形构型连接在一起。通常,在纳入配体药物偶联物中之前,聚乙二醇链中的至少一者是在一端处衍生,其中烷基部分经亲电子基团取代以用于与其亚甲基氨基甲酸酯单元的氨基甲酸酯氮共价连接(即,表示R的情况)。在其他情况下,PEG单元为 R^1 或 R^2 的情况,其为亚甲基氨基甲酸酯单元的亚甲基碳的取代基。通常,不涉及与亚甲基氨基甲酸酯单元的氨基甲酸酯氮或亚甲基碳的共价连接各聚乙二醇链中的末端亚乙基氧基亚单元经PEG加帽单元修饰,该加帽单元通常为任选取代的烷基,例如 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 或 $-CH_2CH_2CO_2H$ 。优选PEG单元具有单个聚乙二醇链,其具有串联共价连接且在一端处以PEG加帽单元封端的8至24个 $-CH_2CH_2O-$ 亚单元。

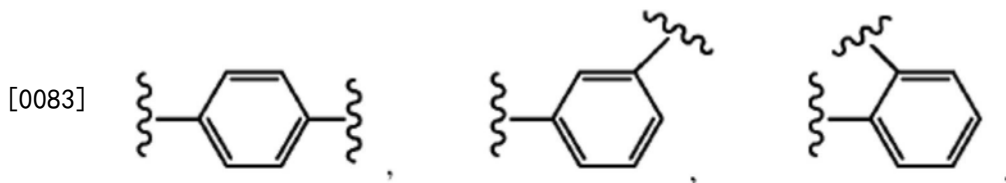
[0079] 除非另外指示,否则术语“烷基”本身或作为另一术语的一部分是指具有指定数目的碳原子的经取代或未经取代的直链或支链、饱和或不饱和烃(例如“ $-C_1-C_8$ 烷基”或“ $-C_1-C_{10}$ ”烷基分别是指具有1至8个或1至10个碳原子的烷基)。当未指定碳原子数目时,烷基具有1至8个碳原子。代表性直链“ $-C_1-C_8$ 烷基”基团包括(但不限于) $-$ 甲基、 $-$ 乙基、 $-$ 正丙基、 $-$ 正丁基、 $-$ 正戊基、 $-$ 正己基、 $-$ 正庚基及 $-$ 正辛基;而支链 $-C_1-C_8$ 烷基包括(但不限于) $-$ 异丙基、 $-$ 仲丁基、 $-$ 异丁基、 $-$ 叔丁基、 $-$ 异戊基及 $-2-$ 甲基丁基;不饱和 $-C_2-C_8$ 烷基包括(但不限于) $-$ 乙烯基、 $-$ 烯丙基、 $-1-$ 丁烯基、 $-2-$ 丁烯基、 $-$ 异丁烯基、 $-1-$ 戊烯基、 $-2-$ 戊烯基、 $-3-$ 甲基-1-丁烯基、 $-2-$ 甲基-2-丁烯基、 $-2,3-$ 二甲基-2-丁烯基、 $-1-$ 己基、 $-2-$ 己基、 $-3-$ 己基、 $-$ 乙炔基、 $-$ 丙炔基、 $-1-$ 丁炔基、 $-2-$ 丁炔基、 $-1-$ 戊炔基、 $-2-$ 戊炔基及 $-3-$ 甲基-1-丁炔基。有时,烷基未经取

代。烷基可经一个或多个基团取代。在其他方面中,烷基将为饱和的。

[0080] 除非另外指示,否则“亚烷基”本身或作为另一术语的一部分是指具有规定数目的碳原子(通常1-10个碳原子)且具有通过从母体烷烃的相同或两个不同碳原子移除两个氢原子而得到的两个单价基团中心的经取代或未经取代的,饱和、支链或直链或环烷基团。典型亚烷基包括(但不限于):亚甲基($-\text{CH}_2-$)、1,2-乙基($-\text{CH}_2\text{CH}_2-$)、1,3-丙基($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$)、1,4-丁基($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$)及其类似基团。在优选方面中,亚烷基为支链或直链烃(即其不为环烃)。

[0081] 除非另外指示,否则“芳基”本身或作为另一术语的一部分表示具有所述数目的碳原子(通常6-20个碳原子)的经取代或未经取代的单价碳环芳族烃基团,其通过从母体芳环系统的单个碳原子移除一个氢原子而衍生。一些芳基以如“Ar”的示例性结构表示。典型芳基包括(但不限于)衍生自苯、经取代的苯、萘、蒽、联苯基及其类似物的基团。示例性芳基为苯基。

[0082] 除非另外指示,否则“亚芳基”本身或作为另一术语的一部分是如上文所定义的芳基,其具有两个共价键(即,其为二价的)且可呈如以下结构中所示的邻位、间位或对位定向,以苯基作为示例性基团:



[0084] 除非另外指示,否则“ C_3 - C_8 杂环”本身或作为另一术语的一部分是指单价经取代或未经取代的芳族或非芳族单环或双环系统,其具有3至8个碳原子(还称为环成员)及独立地选自N、O、P或S的一至四个杂原子环成员,且是通过从母体环系统的环原子移除一个氢原子而衍生。可将杂环中的一个或多个N、C或S原子氧化。包括杂原子的环可为芳族环或非芳族环。其中所有原子或环原子涉及芳香性的杂环称为杂芳基,而在其它情况中称为杂碳环。除非另外指出,否则杂环在产生稳定结构的任何杂原子或碳原子处与其侧基连接。因而,杂芳基可通过其芳环系统的芳族碳结合,其称为C连接的杂芳基,或通过其芳环系统中的非双重结合的N原子(即,非 $=\text{N}-$)结合,其称为N连接的杂芳基。因此,含氮杂环可为C连接的或N连接的且包括吡咯部分,例如吡咯-1-基(N连接的)及吡咯-3-基(C连接的),及咪唑部分,例如咪唑-1-基及咪唑-3-基(两者均为N连接的),及咪唑-2-基、咪唑-4-基及咪唑-5-基部分(其均为C连接的)。

[0085] 除非另外指示,否则“ C_3 - C_8 杂芳基”为芳族 C_3 - C_8 杂环,其中下标指示杂环的环状环系统的碳总数或杂芳基的芳环系统的芳族碳总数且不暗示环系统的大小或环稠合的存在或不存在。 C_3 - C_8 杂环的代表性示例包括(但不限于)吡咯烷基、氮杂环丁基、哌啶基、吗啉基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、苯并呋喃基、苯并噻吩、吲哚基、苯并吡唑基、吡咯基、噻吩基(噻吩)、呋喃基、噻唑基、咪唑基、吡唑基、嘧啶基、吡啶基、吡嗪基、哒嗪基、异噻唑基及异噻唑基。当明确给出时,杂环或杂芳基的环系统的大小通过环中的原子总数指示。举例而言,指定为5元或6元杂芳基指示杂芳基的杂芳环系统中的芳族原子总数(即,5或6个),但不暗示在该环系统中的芳族杂原子或芳族碳的数目。稠合杂芳基由上下文照此明确陈述或暗示,且通常通过稠合在一起以构成稠合杂芳环系统的各芳环中的芳族原子数目指示。举例而

言,5,6-元杂芳基是稠合至芳族6元环的芳族5元环,其中所述环之一或两者具有一个或多个芳族杂原子或其中该两个环之间共享一个杂原子。

[0086] 稠合至芳基或杂芳基以使得其仍为非芳族且通过与稠环系统的非芳族部分连接而为较大结构的一部分的杂环是其中杂环经与芳基或杂芳基通过环稠合取代的任选取代的杂环的示例。同样地,稠合至杂环或碳环的通过与稠环系统的芳族部分连接而为较大结构的一部分的芳基或杂芳基是其中芳基或杂环经与杂环或碳环通过环稠合取代的任选取代的芳基或杂环的示例。

[0087] 除非另外指示,否则“C₃-C₈杂环基”本身或作为另一术语的一部分是指如上文所定义的C₃-C₈杂环,其中杂环的氢原子之一被键置换(即,其为二价的)。除非另外指示,否则“C₃-C₈杂亚芳基”本身或作为另一术语的一部分是指如上文所定义的C₃-C₈杂芳基,其中杂芳基的氢原子之一被键置换(即,其为二价的)。

[0088] 除非另外指示,否则“C₃-C₈碳环”本身或作为另一术语的一部分为通过从母体环系统的环原子移除一个氢原子而衍生的3元、4元、5元、6元、7元或8元单价经取代或未经取代的、饱和或不饱和非芳族单环或双环碳环。代表性-C₃-C₈碳环包括(但不限于)环丙基、环丁基、环戊基、环戊二烯基、环己基、环己烯基、1,3-环己二烯基、1,4-环己二烯基、环庚基、1,3-环庚二烯基、1,3,5-环庚三烯基、环辛基及环辛二烯基。

[0089] 除非另外指示,否则“C₃-C₈碳环基”本身或作为另一术语的一部分是指如上文所定义的C₃-C₈碳环基团,其中碳环基团的氢原子中的另一个被键置换(即,其为二价的)。

[0090] 除非另外指示,否则术语“杂烷基”本身或与另一术语组合(除非另外陈述,否则)表示完全饱和或含有1至3不饱和度的由所述数目碳原子及一至十个、优选选自O、N、Si及S的一至三个杂原子组成的稳定直链或支链烃或其组合,且其中氮及硫原子可任选被氧化,且氮杂原子可任选被季铵化。一个或多个杂原子O、N及S可位于杂烷基的任何内部位置处或烷基与分子的其余部分连接的位置处。杂原子Si可位于杂烷基的任何位置处,包括烷基与分子的其余部分连接的位置。示例包括-CH₂-CH₂-O-CH₃、-CH₂-CH₂-NH-CH₃、-CH₂-CH₂-N(CH₃)-CH₃、-CH₂-S-CH₂-CH₃、-CH₂-CH₂-S(O)-CH₃、-NH-CH₂-CH₂-NH-C(O)-CH₂-CH₃、-CH₂-CH₂-S(O)₂-CH₃、-CH=CH-O-CH₃、-Si(CH₃)₃、-CH₂-CH=N-O-CH₃及-CH=CH-N(CH₃)-CH₃。至多两个杂原子可以是连续的,例如-CH₂-NH-OCH₃及-CH₂-O-Si(CH₃)₃。通常,C₁至C₄杂烷基或杂亚烷基具有1至4个碳原子和1或2个杂原子,且C₁至C₃杂烷基或杂亚烷基具有1至3个碳原子和1或2个杂原子。在一些方面中,杂烷基或杂亚烷基为饱和的。

[0091] 除非另外指示,否则术语“杂亚烷基”本身或与另一术语组合表示衍生自杂烷基(如上文所论述)的二价基团,如通过-CH₂-CH₂-S-CH₂-CH₂-及-CH₂-S-CH₂-CH₂-NH-CH₂-所例示。对于杂亚烷基,杂原子还可占据任一或两个链末端。此外,对于亚烷基及杂亚烷基连接基团,并不暗示连接基团的定向。

[0092] 除非另外指示,否则“氨基烷基”本身或与另一术语组合表示杂烷基,其中如本文所定义的烷基部分经氨基、烷基氨基、二烷基氨基或环烷基氨基取代。示例性非限制性氨基烷基为-CH₂NH₂、-CH₂CH₂NH₂、-CH₂CH₂NHCH₃及-CH₂CH₂N(CH₃)₂且进一步包括支链种类,例如(R)-或(S)-构型中的-CH(CH₃)NH₂及-C(CH₃)CH₂NH₂。或者,氨基烷基是如本文所定义的烷基部分、基团或取代基,其中除基团碳的外的sp³碳已被氨基或烷基氨基部分置换,其中其sp³氮置换烷基的sp³碳,其条件为至少一个sp³碳保留。当将氨基烷基部分指代为较大结构或另一部分的

取代基时,氨基烷基是通过氨基烷基的烷基部分的碳基团共价连接至该结构或部分。

[0093] 除非另外指示,否则“烷基氨基”及“环烷基氨基”本身或与另一术语组合表示烷基或环烷基,如本文所描述,其中烷基或环烷基的基团碳已被氮基团置换,其条件为至少一个 sp^3 碳保留。在烷基氨基是在其氮处经另一烷基部分取代的这些情况下,所得经取代基团有时称为二烷基氨基部分、基团或取代基,其中取代氮的烷基部分独立地经选择。示例性且非限制性的氨基、烷基氨基及二烷基氨基取代基包括具有 $-N(R^{op})_2$ 结构的这些取代基,其中这些示例中的 R^{op} 独立地选自氢或 C_{1-6} 烷基,通常选自氢或甲基,而在包括于杂环烷基中的环烷基胺中,两个 R^{op} 与其所连接的氮一起定义杂环。当两个 R^{op} 均为氢或烷基时,该部分有时分别描述为伯氨基及叔氨基。当一个 R^{op} 为氢且另一个为烷基时,该部分有时描述为仲氨基。一级及二级烷基氨基部分作为针对含羰基亲电子中心的亲核试剂反应性较大,而叔胺较为碱性。

[0094] “经取代的烷基”及“经取代的芳基”分别表示烷基及芳基,其中一个或多个氢原子(通常为一个)各自独立地被取代基置换。典型取代基包括(但不限于)碱性单元、PEG单元、 $-X$ 、 $-R^{op}$ 、 $-OH$ 、 $-OR^{op}$ 、 $-SR^{op}$ 、 $-N(R^{op})_2$ 、 $-N(R^{op})_3$ 、 $=NR^{op}$ 、 $-CX_3$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-NR^{op}C(=O)R^{op}$ 、 $-C(=O)R^{op}$ 、 $-C(=O)N(R^{op})_2$ 、 $-S(=O)_2R^{op}$ 、 $-S(=O)_2NR^{op}$ 、 $-S(=O)R^{op}$ 、 $-OP(=O)(OR^{op})_2$ 、 $-P(=O)(OR^{op})_2$ 、 $-PO_3$ 、 $-PO_3H_2$ 、 $-C(=O)R^{op}$ 、 $-C(=S)R^{op}$ 、 $-CO_2R^{op}$ 、 $-CO_2^-$ 、 $-C(=S)OR^{op}$ 、 $-C(=O)SR^{op}$ 、 $-C(=S)SR^{op}$ 、 $-C(=O)N(R^{op})_2$ 、 $-C(=S)N(R^{op})_2$ 及 $-C(=NR)N(R^{op})_2$,其中各 X 独立地选自以下卤素: $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 及 $-I$;且其中各 R^{op} 独立地选自: $-H$ 、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_6-C_{20}$ 芳基、 $-C_3-C_{14}$ 杂环、保护基及前药部分。

[0095] 较通常地,取代基选自:碱性单元、PEG单元、 $-X$ 、 $-R^{op}$ 、 $-OH$ 、 $-OR^{op}$ 、 $-SR^{op}$ 、 $-N(R^{op})_2$ 、 $-N(R^{op})_3$ 、 $=NR^{op}$ 、 $-NR^{op}C(=O)R^{op}$ 、 $-C(=O)R^{op}$ 、 $-C(=O)N(R^{op})_2$ 、 $-S(=O)_2R^{op}$ 、 $-S(=O)_2NR^{op}$ 、 $-S(=O)R^{op}$ 、 $-C(=O)R^{op}$ 、 $-C(=S)R^{op}$ 、 $-C(=O)N(R^{op})_2$ 、 $-C(=S)N(R^{op})_2$ 及 $-C(=NR)N(R^{op})_2$,其中各 X 独立地选自 $-F$ 及 $-Cl$,或选自:碱性单元、PEG单元、 $-X$ 、 $-R^{op}$ 、 $-OH$ 、 $-OR^{op}$ 、 $-N(R^{op})_2$ 、 $-N(R^{op})_3$ 、 $-NR^{op}C(=O)R^{op}$ 、 $-C(=O)N(R^{op})_2$ 、 $-S(=O)_2R^{op}$ 、 $-S(=O)_2NR^{op}$ 、 $-S(=O)R^{op}$ 、 $-C(=O)R^{op}$ 、 $-C(=O)N(R^{op})_2$ 、 $-C(=NR)N(R^{op})_2$ 、保护基及前药部分,其中各 X 为 $-F$;且其中各 R^{op} 独立地选自:氢、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_6-C_{20}$ 芳基、 $-C_3-C_{14}$ 杂环、保护基及前药部分。在一些方面中,烷基取代基是选自 $-N(R^{op})_2$ 、 $-N(R^{op})_3$ 及 $-C(=NR)N(R^{op})_2$,其中 R^{op} 是如上文所定义,其可在 R^{op} 独立地选自氢及 $-C_1-C_{20}$ 烷基时提供碱性单元。在其他方面中,烷基被一系列亚乙基氧基部分取代以定义PEG单元。如上文所描述的亚烷基、碳环、碳环基、亚芳基、杂烷基、杂亚烷基、杂环、杂环基、杂芳基及杂亚芳基也可被类似地取代。

[0096] 如此处所用,“保护基”表示阻碍或降低其所连接的原子或官能团参与非所需反应的能力的部分。原子或官能团的典型保护基在Greene (1999),“《有机合成中的保护基团》(Protective groups in organic synthesis),第3版”,韦利科学出版社(Wiley Interscience)中给出。杂原子例如氧、硫及氮的保护基有时用于最小化或避免其与亲电子化合物的非所需反应。其他情况下,保护基是用于减小或消除无保护的杂原子的亲核性和/或碱度。受保护氧的非限制性示例通过 $-OR^{pr}$ 给出,其中 R^{pr} 为羟基的保护基,其中羟基通常以酯(例如,乙酸酯、丙酸酯或苯甲酸酯)的形式受保护。羟基的其他保护基避免干扰有机金属试剂或其他高碱性试剂的亲核性,其中羟基通常以醚的形式受保护,包括烷基或杂环烷基醚(例如,甲基或四氢吡喃基醚)、烷氧基甲基醚(例如,甲氧基甲基或乙氧基甲基醚)、任选取代的芳基醚,及甲硅烷基醚(例如,三甲基甲硅烷基(TMS)、三乙基甲硅烷基(TES)、叔丁

基二苯基甲硅烷基 (TBDPS)、叔丁基二甲基甲硅烷基 (TBS/TBDMS)、三异丙基甲硅烷基 (TIPS) 及 [2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]-甲基甲硅烷基 (SEM))。氮保护基包括如在 -NHR^{PR} 或 $\text{-N(R}^{\text{PR}})_2$ 中的用于伯胺或仲胺的那些, 其中 R^{PR} 中的至少一种为氮原子保护基或两个 R^{PR} 一起构成保护基。

[0097] 保护基在满足以下条件时提供适合的保护: 能够在实现分子中别处希望的化学转化所需的反应条件下, 和, 必要时在纯化新形成的分子的过程中, 防止或避免不希望的副反应或保护基的过早损失, 且可在不对新形成分子的结构或立体化学完整性产生有害影响的条件下被移除。借助于示例而非限制, 适合的保护基可包括先前对于保护官能团所描述的那些保护基。适合的保护基有时是用于肽偶合反应的保护基。

[0098] “芳族醇”本身或作为较大结构的一部分是指经羟基官能团 -OH 取代的芳环系统。因此, 芳族醇是指如本文所描述的任何芳基、杂芳基、亚芳基及杂亚芳基部分, 其具有结合至其芳环系统的芳族碳的羟基官能团。芳族醇可为较大部分的一部分, 如当其芳环系统为此部分的取代基时, 或可通过环稠合嵌入该较大部分中, 且可任选如本文所描述的包括一个或多个其他羟基取代基的部分取代。酚醇为具有酚基团作为芳环的芳族醇。

[0099] “脂族醇”本身或作为较大结构的一部分是指具有结合至羟基官能团 -OH 的非芳族碳的部分。含羟基碳可未经取代 (即, 甲基醇) 或可具有一个、两个或三个任选的经取代支链或非支链烷基取代基以在线性或环状结构内定义一级醇, 或二级或三级脂族醇。当为较大结构的一部分时, 醇可通过通过含羟基碳、通过如本文所描述的烷基或其他部分的碳结合至此含羟基碳或通过此烷基或其他部分的取代基而为此结构的取代基。脂族醇设想为非芳族环状结构 (即碳环及杂碳环, 其任选取代), 其中羟基官能团结合至其环状环系统的非芳族碳。

[0100] 如本文所用, “芳烷基”或“杂芳基烷基”表示其中芳基部分结合至烷基部分 (即芳基-烷基-) 的取代基、部分或基团, 其中烷基及芳基如上文所描述, 例如 $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-}$ 或 $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH(CH}_3\text{)CH}_2\text{-}$ 。芳烷基或杂芳基烷基通过其烷基部分的 sp^3 碳与较大结构或部分相关联。

[0101] 如本文所用, “吸电子基团”表示这样的官能团或阴电性原子: 其以电感方式和/或通过共振 (以两者中较占优势者 (即, 官能团或原子可以电感方式吸电子但可整体上通过共振而供给电子)) 将电子密度拉离其所结合的原子且倾向于稳定阴离子或富电子部分。吸电子作用通常以电感方式传输 (尽管以减弱形式) 至其它原子, 该其它原子连接至已通过吸电子基团 (EWG) 变为缺电子的结合的原子, 由此影响较远的反应性中心的亲电子性。示例性吸电子基团包括 (但不限于) -C(=O) 、 -CN 、 -NO_2 、 -CX_3 、 -X 、 $\text{-C(=O)OR}^{\text{OP}}$ 、 $\text{-C(=O)N(R}^{\text{OP}})_2$ 、 $\text{-C(=O)R}^{\text{OP}}$ 、 -C(=O)_x 、 $\text{-S(=O)}_2\text{R}^{\text{OP}}$ 、 $\text{-S(=O)}_2\text{OR}^{\text{OP}}$ 、 $\text{-S(=O)}_2\text{NHR}^{\text{OP}}$ 、 $\text{-S(=O)}_2\text{N(R}^{\text{OP}})_2$ 、 $\text{-P(=O)(OR}^{\text{OP}})_2$ 、 $\text{-P(=O)(CH}_3\text{)NHR}^{\text{OP}}$ 、 -NO 、 $\text{-N(R}^{\text{OP}})_3$, 其中 X 为 -F 、 -Br 、 -Cl 或 -I , 且在一些方面中, R^{OP} 在每次出现时独立地选自: 氢及 C_{1-6} 烷基, 及如本文所描述的某些 O -连接部分, 例如酰氧基。

[0102] 视取代而定, 示例性 EWG 还可包括芳基 (例如苯基) 及某些杂芳基 (例如吡啶)。因此, 术语“吸电子基团”还包括进一步经吸电子基团取代的芳基或杂芳基。通常, 芳基或杂芳基上的吸电子基团为 -C(=O) 、 -CN 、 -NO_2 、 -CX_3 及 -X , 其中 X 独立地选自卤素, 通常选自 -F 或 -Cl 。视其取代基而定, 烷基部分也可作为吸电子基团。

[0103] 如本文所用, “供电子基团”表示这样的官能团或正电性原子: 其以电感方式和/或通过共振 (以两者中较占优势者 (即, 官能团或原子可通过共振供给电子但可整体上以电感

方式吸电子))增加其所结合的原子的电子密度,且倾向于稳定阳离子或缺电子系统。供电子作用通常通过共振传输至其它原子,该其它原子连接至已通过供电子基团(EWG)变为富电子的结合的原子,由此影响较远的反应性中心的亲核性。示例性供电子基团包括(但不限于)胺及如本文所描述的某些O-连接取代基,例如-OH及醚。视其取代基而定,芳基或杂芳基部分还可以是供电子基团。未经取代的烷基部分通常是供给电子的。

[0104] 如本文所用,“O-连接部分”表示通过该O-连接部分的氧原子直接连接至较大结构或部分的部分。O-连接部分可为单价部分,包括例如以下的部分:羟基(即-OH);乙酰氧基(即-OC(=O)CH₃);酰氧基(即-OC(=O)R),其中R为氢或烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基或杂环(任选取代);及芳氧基(芳基-O-);苯氧基(Ph-O-)及杂芳氧基(杂芳基-O)(任选取代);或甲硅烷氧基(即R^{3S}iO-),其中R独立地为烷基、芳基或杂芳基(任选取代);醚(即-OR),其中R如对于甲硅烷氧基所定义;及-OR^{PR},其中R^{PR}为如先前所定义的保护基。单价O-连接部分可以是供电子或吸电子的,这取决于所结合氧杂原子的电负性及其单对电子的可用性。举例而言,当-OH或醚的氧原子为碳原子的取代基时,其为电子供给部分,而类似经取代的酰氧基为吸电子部分。O-连接部分还可为二价(即=O)或缩酮部分,例如-X-(CH₂)_n-Y-,其中X及Y独立地为S及O,且n为2至3,以与X及Y所连接的碳形成螺环系统。

[0105] “离去基团能力”是关于含醇、巯基、胺或酰胺药物在自分解事件之后在释放游离药物的偶联物内从配体药物偶联物释放的能力。所述释放在无需受益于其药物单元所连接的亚甲基氨基甲酸酯单元的情况下(即,药物单元直接连接至自分解型部分且不具有介入的亚甲基氨基甲酸酯单元时)可变。良好离去基团通常为弱碱基,且从所述偶联物排出的官能团的酸性越大,偶联物碱基越弱。因此,含醇、巯基、胺或酰胺游离药物从药物单元的离去基团能力将与在不采用亚甲基氨基甲酸酯单元的情况下从偶联物(即,其中药物单元直接连接至自分解型部分的偶联物)排出的官能团的pKa相关。因此,该官能团的较低pKa将增加其离去基团能力。尽管其他因素可能有助于游离药物从不具有亚甲基氨基甲酸酯单元的益处的偶联物的释放,但与通过pKa值较高的官能团连接的药物相比,具有pKa值较低的官能团的游离药物通常是更好的离去基团。另一方面的考虑是,pKa值太低的官能团可导致不可接受的活性概况,这归因于经自发水解的药物单元的过早损失。对于采用亚甲基氨基甲酸酯单元的偶联物,具有允许游离药物的有效释放而不遭受不可接受的药物单元损失的pKa值的常用官能团(即氨基甲酸)在自我分解之后产生。

[0106] 如本文所用,“丁二酰亚胺部分”是指包含丁二酰亚胺环系统的有机部分,其存在于一种类型的延伸体单元(Z)中,该延伸体单元通常进一步包含结合至该环系统的酰亚胺氮的含亚烷基部分。丁二酰亚胺部分通常由配体单元的硫氢基至延伸体单元前体(Z')的顺丁烯二酰亚胺环系统的迈克尔(Michael)加成产生。因此,丁二酰亚胺部分包含巯基取代丁二酰亚胺环系统,且当存在于LDC中时,其酰亚胺氮被LDC的连接物单元的剩余部分取代且任选被存在于Z'的顺丁烯二酰亚胺环系统上的一个或多个取代基取代。

[0107] 如本文所用,“酸性-酰胺部分”是指丁二酸,其具有由丁二酰亚胺部分的硫代丁二酰亚胺环系统产生的酰胺取代基,该丁二酰亚胺部分已通过水解经历其羰基-氮键之一的断裂。产生丁二酸-酰胺部分的水解通过消除抗体-硫取代基来提供较不可能遭受其所结合的配体单元的过早损失的连接物单元。预期硫代丁二酰亚胺部分的丁二酰亚胺环系统的水解可提供酸性-酰胺部分的区位化学异构体,这归因于丁二酰亚胺环系统的两个羰基碳的

反应性的差异,其可至少部分归因于存在于延伸体单元前体的顺丁烯二酰亚胺环系统中的任何取代基且归因于由靶向配体引入的硫取代基。

[0108] 本文所用术语“前药”表示生物活性较低或无活性的化合物,其在体内通过化学或生物过程(即化学反应或酶促生物转化)转化为更具有生物活性的化合物。通常,生物活性化合物的生物活性通过用前药部分修饰所述化合物而减弱(即转变为前药)。在一些方面中,前药是II型前药,其在细胞外(例如消化液中)或体循环系统(例如血液中)经生物活化。示例性前药是酯和 β -D-吡喃葡萄糖苷。

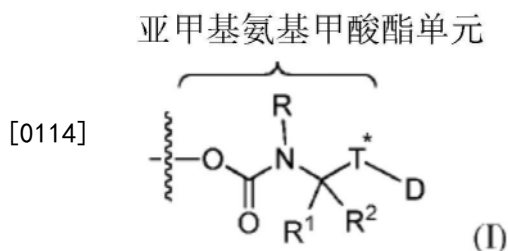
[0109] 实施方式

[0110] 下文描述本发明的多个实施方式,所述实施方式不意在以任何方式限制本发明,且随后为对构成偶联物的组分的更详细的讨论。本领域技术人员应理解,所鉴别的偶联物中的每个及其所选实施方式中的任一种旨在包括各组分及连接物的全部范畴。

[0111] 配体-药物偶联物

[0112] 在一组实施方式中,本文提供配体-药物偶联物(LDC)及其组合物,所述组合物包含这些LDC的群体(即LDC组合物)。

[0113] 在一个方面中,配体-药物偶联物包含配体单元、药物单元及将配体单元连接至药物单元的连接物单元,其中该连接物单元包含自分解型组装单元,其中配体单元通过所述自分解型组装单元连接至药物单元。药物单元直接连接至自分解型组装单元的亚甲基氨基甲酸酯单元,其中共价连接至配体-药物偶联物中的药物单元的亚甲基氨基甲酸酯单元具有式I的结构:



[0115] 或其医药学上可接受的盐;其中

[0116] D为药物单元,其具有已纳入亚甲基氨基甲酸酯单元中的官能团(例如,羟基、巯基、酰胺或胺官能团);

[0117] T*为来自纳入亚甲基氨基甲酸酯单元中的所述官能团的杂原子(例如,氧、硫、任选取代的氮);

[0118] R、R¹及R²独立地为氢、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₆₋₁₄芳基或任选取代的C₃-C₈杂芳基;

[0119] 或

[0120] R与R¹两者连同其所连接的氮及碳原子构成氮杂环丁基、吡咯烷基、哌啶基或高哌啶基部分(优选为吡咯烷基或哌啶基部分),且R²为氢;且

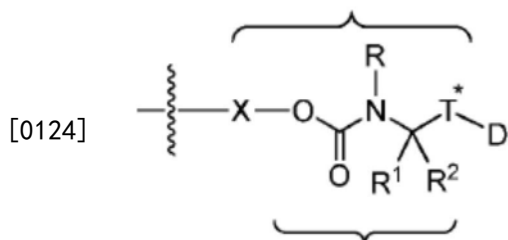
[0121] 波浪线指示式I结构与自分解型组装单元的剩余部分的共价连接(即,在LDC内的连接),且其中自分解型组装单元在所述自分解型组装单元的活化之后释放游离药物(即D-T*H)。

[0122] 在式I的一些实施方式中,R、R¹、R²之一为碱性单元或PEG单元,且其他者如上文所

定义。在式I的一些实施方式中,经释放的D-T*H就其T*H官能团而言具有在约9至约36之间的pKa。在式SI的其他实施方式中,经释放的D-T*H就其T*H官能团而言具有在约12至约36之间或约15至约36之间的pKa。

[0123] 通常,亚甲基氨基甲酸酯单元连接至可活化的自分解型部分X,如由式(SI)表示:

自分解型组装单元



亚甲基氨基甲酸酯单元 (SI)

[0125] 或其医药学上可接受的盐;

[0126] 其中波浪线指示LDC内的式SI结构的共价连接;

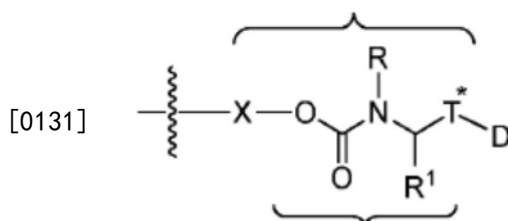
[0127] R、R¹、R²、T*及D如对于式I所定义;

[0128] X为可活化的自分解型部分;且其中所述的自分解型组装单元在X的活化之后释放游离药物(即D-T*H)。

[0129] 在式SI的一些实施方式中,R、R¹、R²之一为碱性单元或PEG单元,且其他者如对于式I所定义。在式I的一些实施方式中,经释放的D-T*H就其T*H官能团而言具有在约9至约36之间的pKa。在式SI的其他实施方式中,经释放的D-T*H就其T*H官能团而言具有在约12至约36之间或约15至约36之间的pKa。

[0130] 示例性实施方式包括其中R²为氢的如以下式SIa中所阐述的实施方式:

自分解型组装单元



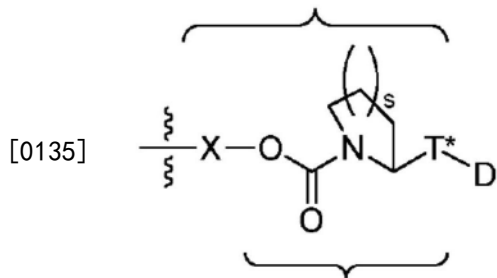
亚甲基氨基甲酸酯单元 (SIa)

[0132] 或其医药学上可接受的盐,其中波浪线、X、R、R¹、T*及D如对于式SI所定义。R及R¹优选为氢、任选取代的C₁₋₆烷基或任选取代的C₆₋₁₄芳基(更优选为氢、任选取代的C₁₋₄烷基或任选取代的苯基,最佳为氢或任选取代的C₁₋₄烷基)。

[0133] 在式SIa的一些优选实施方式中,R为未经取代的C₁₋₄烷基。在其他优选实施方式中,R及R¹之一为碱性单元或PEG单元,且另一者为氢或未经取代的C₁₋₄烷基。在其他优选实施方式中,R为氢、碱性单元或PEG单元,且R¹为氢。

[0134] 示例性实施方式包括其中R¹及R²连同其所连接的氮及碳原子构成杂环基(如以下式(SIb)中所阐述)的实施方式:

自分解型组装单元

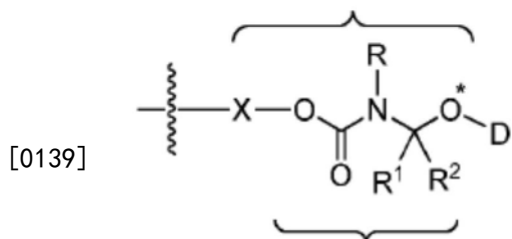


亚甲基氨基甲酸酯单元 (SIb)

[0136] 或其医药学上可接受的盐,其中波浪线、X、R、R²、T*及D如对于式SI所定义,且下标s为0、1、2或3。在式SIb的一些实施方式中,下标s为0、1或2;优选地,s为1或2。

[0137] 在一些实施方式中,亚甲基氨基甲酸酯单元为MAC单元。在那些实施方式中,D为药物单元,其具有已纳入亚甲基氨基甲酸酯单元中的羟基官能团。在所述实施方式中,共价连接至药物单元的自分解型组装单元由式SI'表示:

[0138] 自分解型组装单元



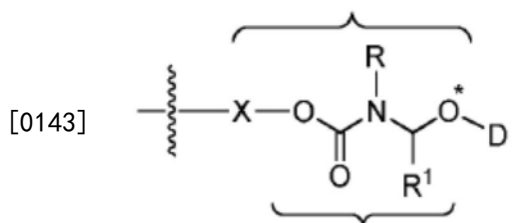
亚甲基氨基甲酸酯单元 (SI')

[0140] 或其医药学上可接受的盐;其中波浪线、X、R、R¹及R²如对于式SI所定义,D为药物单元,该药物单元具有羟基官能团(其随后纳入所述亚甲基氨基甲酸酯单元中),且O*为来自该羟基官能团的氧原子;且其中所述的自分解型组装单元在X的活化之后释放游离药物(即D-O*H)。

[0141] 在式SI'的一些实施方式中,经释放的D-O*H就其羟基官能团而言具有在约10至约19之间的pKa。在式I的其他实施方式中,经释放的D-O*H就其羟基官能团而言具有在约12至约19之间或15至约19之间的pKa。

[0142] 示例性实施方式包括其中R²为氢的如以下式SIa'中所阐述的实施方式:

自分解型组装单元



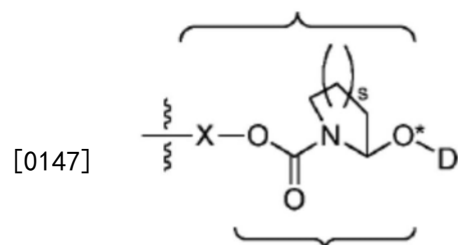
亚甲基氨基甲酸酯单元 (SIa')

[0144] 其中波浪线、X、R、R¹、O*及D如对于式SI'所定义。R及R¹优选为氢、任选取代的C₁₋₆烷基或任选取代的C₆₋₁₄芳基(更优选为氢、任选取代的C₁₋₄烷基或任选取代的苯基,最佳为氢

或任选取代的C₁₋₄烷基)。在式SIa'的一些实施方式中,R及R¹之一为碱性单元或PEG单元且另一者为氢或未经取代的C₁₋₄烷基。在其他实施方式中,R为氢、碱性单元或PEG单元,且R¹为氢。

[0145] 示例性实施方式包括其中R¹及R²连同其所连接的氮及碳原子构成如以下式(SIb')中所阐述的杂环基的实施方式:

[0146] 自分解型组装单元



亚甲基氨基甲酸酯单元 (SIb')

[0148] 其中波浪线、X、R²、O*及D如对于式SI'所定义,且下标s为0、1、2或3。优选地,下标s为0、1或2(更优选地,s为1或2)。

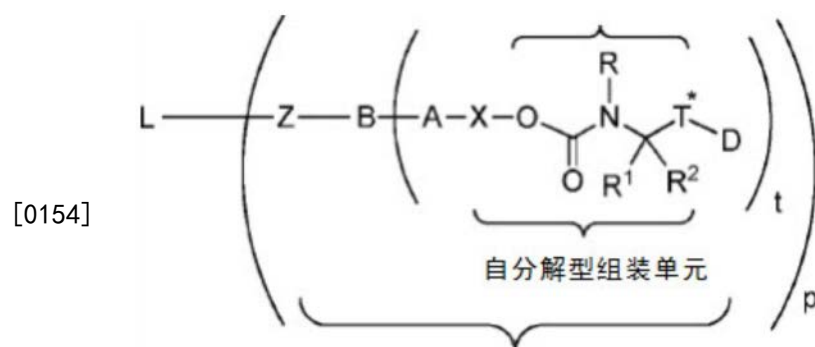
[0149] 在一个方面中,配体-药物偶联物包含配体单元、药物单元及将配体单元连接至药物单元的连接物单元,其中该连接物单元包含自分解型组装单元及延伸体单元。药物被纳入LDC的药物-连接物部分中,该纳入通过经该官能团的氧、硫或任选取代的氮杂原子将该药物的羟基、巯基、胺或酰胺官能团纳入该自分解型组装单元的亚甲基氨基甲酸酯单元中来进行。该自分解型组装单元随后通过延伸体单元与配体单元连接。

[0150] 在一些实施方式中,在药物-连接物部分内可存在1至4个自分解型组装单元,用于与配体单元连接的各位点(由下标t表示),并且每一配体单元1至16个药物-连接物部分(由下标p表示)。在存在连接至配体单元上的各连接位点的两个或更多个自分解型组装单元的实施方式中,存在分支单元以允许所需分支。

[0151] 在一些方面中,额外连接物单元(A)将延伸体单元(Z)或分支单元(B)(视B的存在或不存在而定)共价连接至自分解型组装单元。

[0152] 在一些实施方式中,配体-药物偶联物或其组合物,该组合物包含这些LDC的群体(即LDC组合物),由以下式II表示:

[0153] 亚甲基氨基甲酸酯单元



药物-连接物

(II)

[0155] 或医药学上可接受的盐;其中

[0156] D为药物单元,其具有已纳入亚甲基氨基甲酸酯单元中的官能团(例如,羟基、巯基、酰胺或胺官能团);

[0157] T*为来自纳入亚甲基氨基甲酸酯单元中的所述官能团的杂原子(例如,氧、硫、任选取代的氮);

[0158] R、R¹及R²独立地为氢、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₆₋₁₄芳基或任选取代的C连接的C₃-C₈杂芳基,或

[0159] R及R¹连同其所连接的氮及碳原子构成氮杂环丁基、吡咯烷基、哌啶基或高哌啶基部分,且R²为氢;

[0160] X为可活化的自分解型部分;

[0161] L为配体单元;

[0162] Z为延伸体单元;

[0163] B为任选的分支单元,其在t为2、3或4时存在且在t为1时不存在;

[0164] A为任选的连接体单元;

[0165] 下标s为1或2;

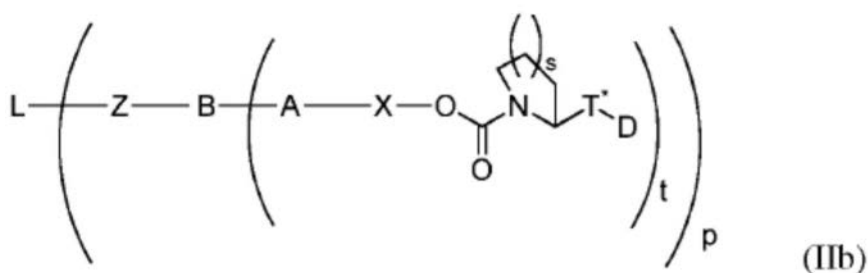
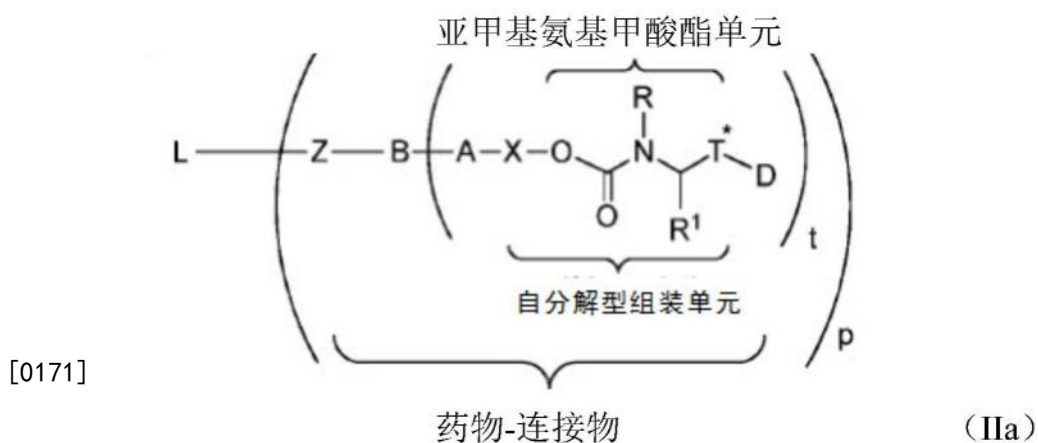
[0166] 下标t在1至4范围内;且

[0167] 下标p为在1至16范围内的整数(对于个体LDC)或数值(对于LDC群体);且其中所述的自分解型组装单元在X的活化之后释放游离药物(即D-T*H)。

[0168] 在式I的一些实施方式中,经释放的D-T*H就其T*H官能团而言具有在约9至约36之间的pKa。在式SI的其他实施方式中,经释放的D-T*H就其T*H官能团而言具有在约12至约36之间或约15至约36之间的pKa。

[0169] 在式II的一些实施方式中,R、R¹及R²之一为碱性单元或PEG单元,且其他者按照定义。在式II的一些实施方式中,R为碱性单元或PEG单元,且R¹及R²按照定义。

[0170] 示例性实施方式包括其中R²为氢的如式IIa中所阐述的实施方式,或R¹及R²连同其所连接的氮原子构成氮杂环丁基、吡咯烷基、哌啶基或高哌啶基的如式IIb中所阐述的实施方式:

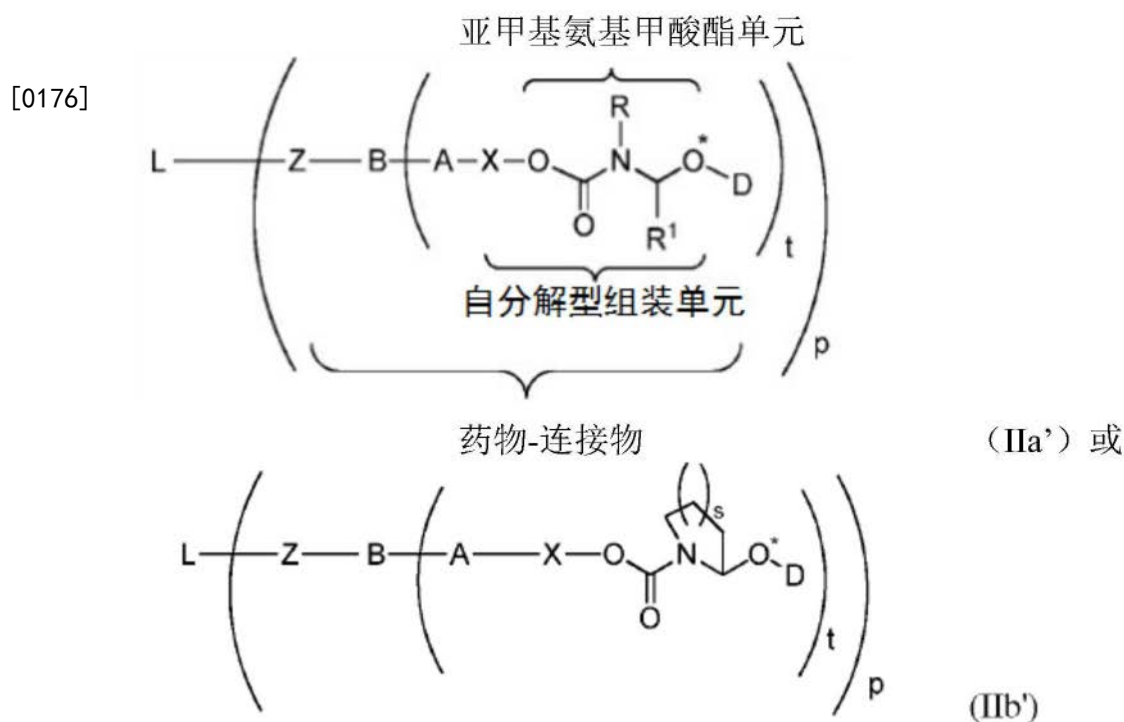
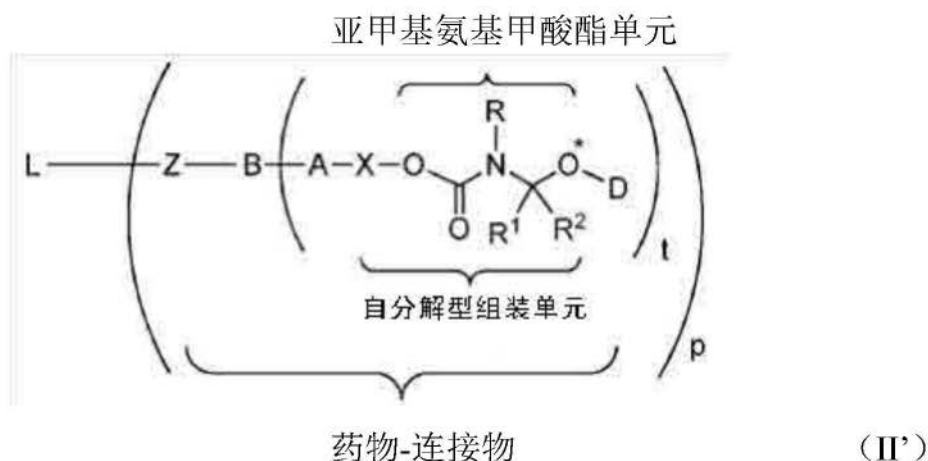


[0172] 或其医药学上可接受的盐,其中R、R¹、R²、L、Z、B、X、A、T*、D及下标t及p如对于式II所定义,且下标s为0、1、2或3。

[0173] 在式IIa中,R及R¹优选为氢、任选取代的C₁-C₆烷基或任选取代的C₆₋₁₄芳基(更优选为氢、任选取代的C₁-C₄烷基或任选取代的苯基,最佳为氢或任选取代的C₁-C₄烷基)。在式IIa的一些优选实施方式中,R为碱性单元或PEG单元且R¹为氢或未经取代的C₁-C₄烷基,或R为氢或未经取代的C₁-C₄烷基且R²为碱性单元或PEG单元。在式IIb中,下标s优选为0、1或2;s更优选为1或2。

[0174] 将在本发明中使用的药物包括含醇(例如芳族及脂族羟基)药物、含巯基药物、含胺(例如脂族及芳基胺)药物、含酰胺(例如甲酰胺)药物。因此,将药物单元连接至自分解型组装单元可例如通过引入药物来进行,所述药物的引入通过来自含醇药物的羟基官能团的氧杂原子、来自含巯基药物的巯基官能团的硫杂原子,或来自含胺或含酰胺药物的胺或酰胺官能团的任选取代的氮杂原子来进行。所述氧、硫或氮杂原子由T*指定。将理解,尽管药物的引入可通过醇官能性(即,通过羟基官能团的氧杂原子),但药物可具有不以此方式连接的其它醇官能性或巯基、胺或酰胺官能性。类似地,尽管药物的引入可通过其巯基、胺或酰胺官能性,但药物可具有不以此方式连接的其它醇、巯基、胺或酰胺官能性。

[0175] 式II、式IIa及式IIb中的亚甲基氨基甲酸酯单元可以是如下式II'、式IIa'及式IIb'所示的亚甲基烷氧基(芳氧基)氨基甲酸酯单元(MAC单元):



[0177] 或医药学上可接受的盐；其中

[0178] D是药物单元，该药物单元具有羟基官能团，其随后纳入所述的亚甲基烷氧基（芳氧基）氨基甲酸酯单元（MAC单元），来自该D的氧杂原子以O*表示；

[0179] R为氢、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₆₋₁₄芳基或任选取代的C连接的C₃-C₈杂芳基；

[0180] R¹及R²独立地为氢、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₆₋₁₄芳基或任选取代的C连接的C₃-C₈杂芳基，或

[0181] R及R¹连同其所连接的氮及碳原子构成氮杂环丁基、吡咯烷基、哌啶基或高哌啶基部分且R²为氢；

[0182] X为可活化的自分解型部分；

[0183] L为配体单元；

[0184] Z为延伸体单元；

[0185] B为任选的分支单元,其在t为2、3或4时存在且在t为1时不存在;

[0186] A为任选的连接体单元;

[0187] 下标s为1或2;

[0188] 下标t在1至4范围内;

[0189] 下标s为0、1、2或3,且下标p为在1至16范围内的整数(对于个体LDC)或数值(对于LDC群体);且其中所述的自分解型组装单元在X的活化之后释放游离药物(即D-O*H)。

[0190] 在式II'、式IIa'或式IIb'的一些实施方式中,经释放的D-O*H就其羟基官能团而言具有在约10至约19之间的pKa。在式II'、式IIa'或式IIb'的其他实施方式中,经释放的D-O*H就其羟基官能团而言具有在约12至约19之间或15至约19之间的pKa。

[0191] 在式II'的一些实施方式中,R、R¹及R²之一为碱性单元或PEG单元,且其他者按照定义。在式II'的其他优选实施方式中,R为碱性单元或PEG单元,且R¹及R²按照定义。

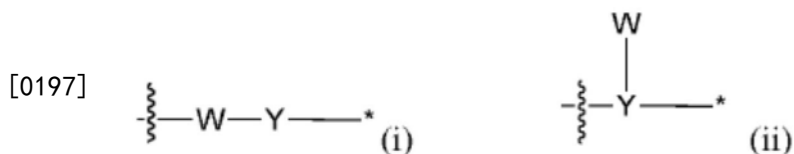
[0192] 在式IIa'的一些实施方式中,R及R¹为氢、任选取代的C₁-C₆烷基或任选取代的C₆₋₁₄芳基(优选为氢、任选取代的C₁-C₄烷基或任选取代的苯基,更优选为氢或任选取代的C₁-C₄烷基)。在式IIb'的一些实施方式中,下标s优选为0、1或2;更优选为1或2。

[0193] 在式IIa'的一些优选实施方式中,R为碱性单元或PEG单元且R¹为氢或未经取代的C₁-C₄烷基,或R为氢或未经取代的C₁-C₄烷基且R¹为碱性单元或PEG单元。

[0194] 在式II'或式IIa'的其他优选实施方式中,R及R¹连同其所连接的氮及碳原子构成吡咯烷基或哌啶基部分。

[0195] 本文中所提及的羟基官能团可为芳族醇或脂族醇的羟基官能团。脂族醇可为一级、二级或三级脂族醇。醇优选为脂族醇,更优选为一级或二级脂族醇。

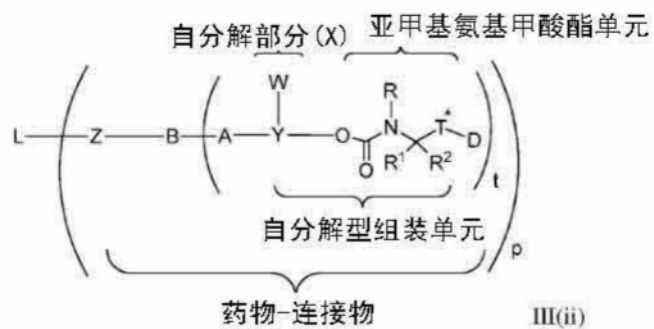
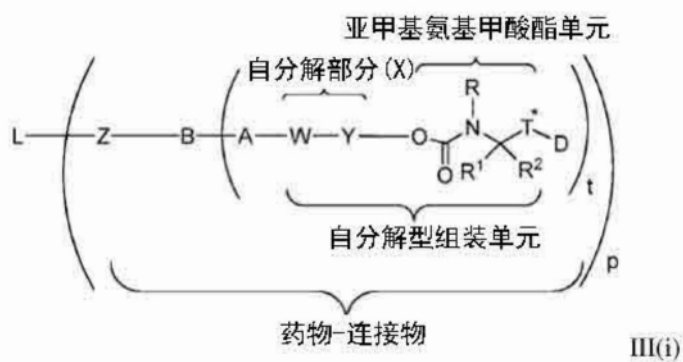
[0196] 除亚甲基氨基甲酸酯单元以外,自分解型组装单元还包含可活化的自分解型部分。可活化部分包含活化单元及自分解型间隔体单元。间隔体单元可包含一个或多个自分解型间隔体单元,其均能够自我分解(例如,1至4个)。活化单元起始间隔体单元或其亚单元内的自分解型反应程序,该反应程序导致游离药物的释放。活化单元或自分解型间隔体单元(A)的任一种可提供与LDC或其中间物内的A、B或Z共价连接的位点(视A和/或B的存在或不存在而定)。在一些实施方式中,自分解型组装单元的自分解型部分(X)如下通过式i或式ii呈现



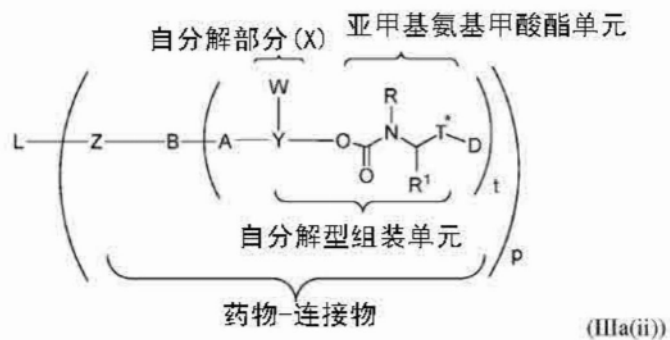
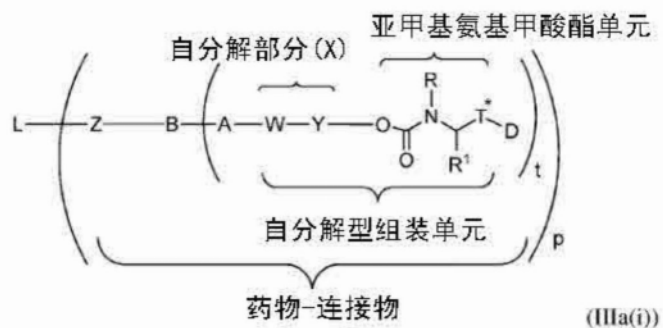
[0198] 其中W为活化单元;且Y为自分解型间隔体单元;且波浪线指示与偶联物的剩余部分(即,至A、B或Z(视存在或不存在A和/或B而定))的连接位点,且星号(*)指示与亚甲基氨基甲酸酯连接物的连接位点。

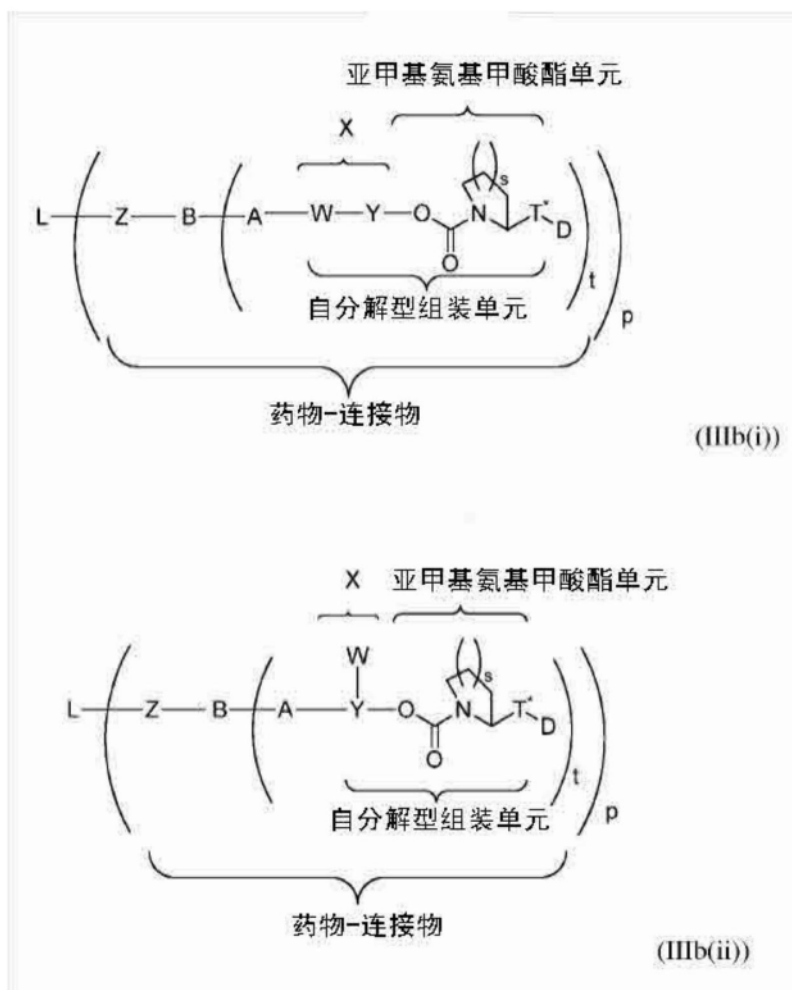
[0199] 在一些方面中,配体-药物偶联物(LDC)或其组合物(所述组合物包含这些LDC的群体(即LDC组合物))由式III(i)、式III(ii)、式IIIa(i)、式IIIa(ii)、式IIIb(i)、式IIIb(ii)表示:

[0200]



[0201]





[0202]

[0203] 或其医药学上可接受的盐；其中W为活化单元；Y为自分解型间隔体单元；且L、Z、B、A、R、R¹、R²、T*、D及下标t、s及p如对于式II、式IIa及式IIb所定义。

[0204] 在式III(i)、式III(ii)、式IIIa(i)、式IIIa(ii)、式IIIb(i)或式IIIb(ii)的一些实施方式中，经释放的D-T*H就其T*H官能团而言具有在约9至约36之间的pKa。在式III(i)、式III(ii)、式IIIa(i)、式IIIa(ii)、式IIIb(i)或式IIIb(ii)的其他实施方式中，经释放的D-T*H就其T*H官能团而言具有在约12至约36之间或约15至约36之间的pKa。

[0205] 在式III(i)或式III(ii)的一些实施方式中，R、R¹及R²之一为碱性单元或PEG单元，且其他者按照定义。在式III(i)或式III(ii)的其他优选实施方式中，R为碱性单元或PEG单元，且R¹及R²按照定义。在式III(i)或式III(ii)的其他优选实施方式中，R及R¹连同其所连接的氮及碳原子构成吡咯烷基或哌啶基部分，且R²为氢。

[0206] 在式IIIa(i)及式IIIa(ii)的一些实施方式中，R及R¹为氢、任选取代的C₁-C₆烷基或任选取代的C₆₋₁₄芳基（优选为氢、任选取代的C₁-C₄烷基或任选取代的苯基，更优选为氢或任选取代的C₁-C₄烷基）。在式IIIb(i)及式IIIb(ii)的一些实施方式中，优选地，下标s为0、1或2，优选为1或2。

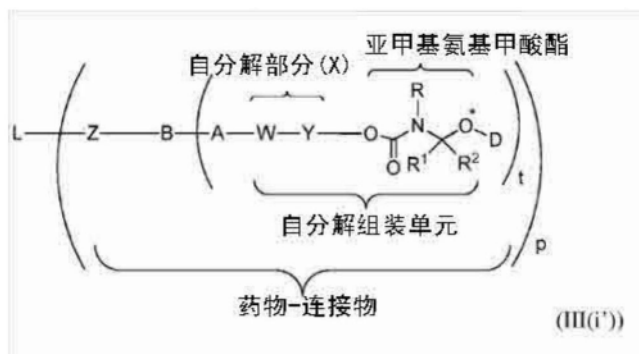
[0207] 在式IIIa(i)或式IIIa(ii)的一些优选实施方式中，R为碱性单元或PEG单元且R¹为氢或未经取代的C₁-C₄烷基，或R为氢或未经取代的C₁-C₄烷基且R²为碱性单元或PEG单元。

[0208] 在式IIIa(i)或式IIIa(ii)的其他优选实施方式中，R及R¹连同其所连接的氮及碳原子构成吡咯烷基或哌啶基部分。

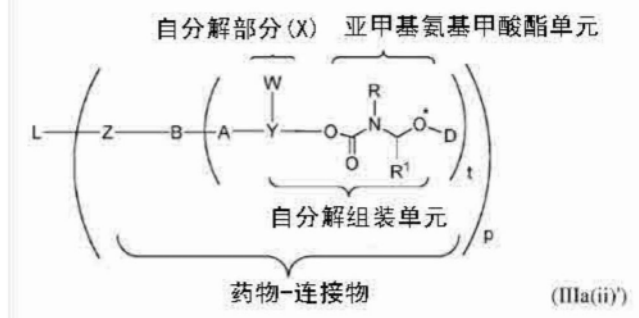
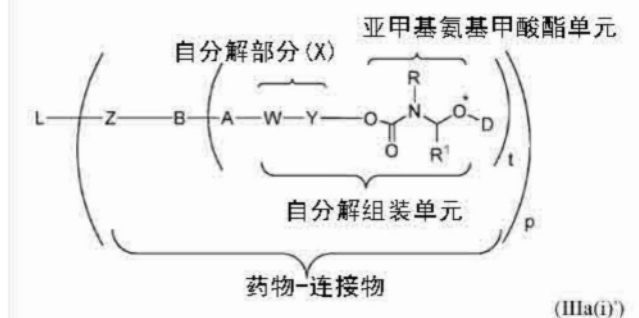
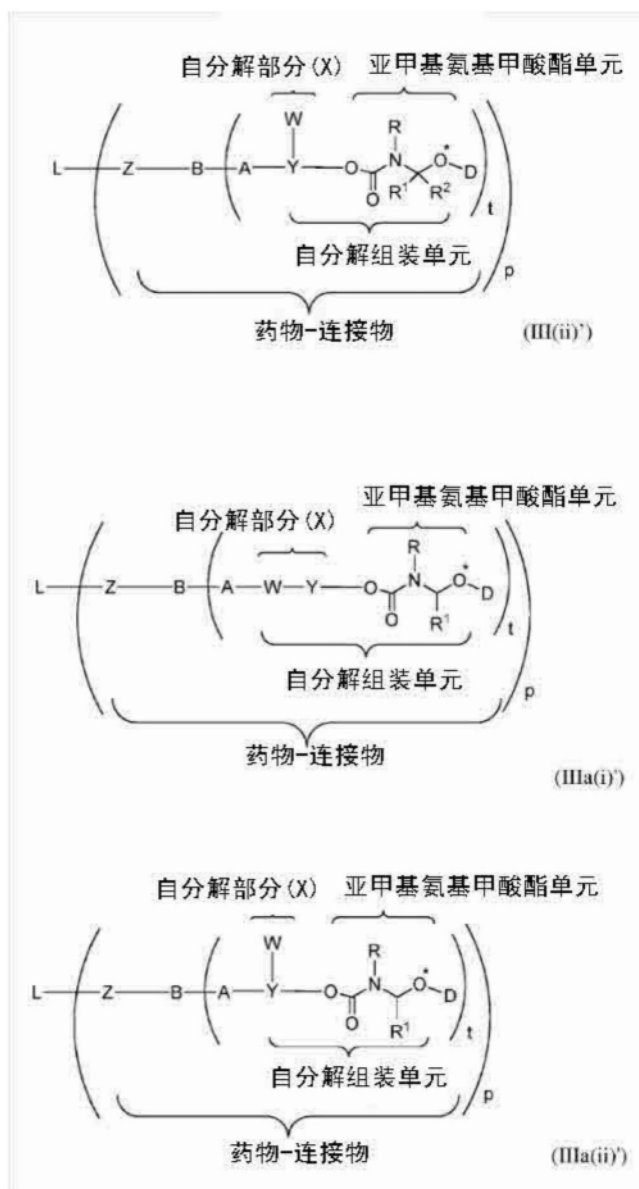
[0209] 在式IIIa(i)或式IIIa(ii)的其他优选实施方式中,R为氢或未经取代的C₁-C₄烷基且R¹为氢。在式IIIa(i)或式IIIa(ii)的其他优选实施方式中,R为碱性单元或PEG单元且R¹为氢。

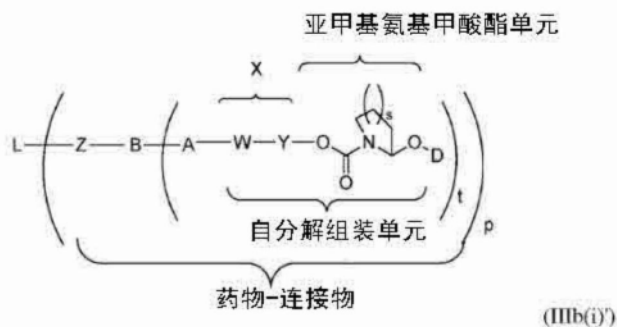
[0210] 式III(i)、式III(ii)、式IIIa(i)、式IIIa(ii)、式IIIb(i)或式IIIb(ii)中的亚甲基氨基甲酸酯单元可为如下式III(i)'、式III(ii)'、式IIIa(i)'、式IIIa(ii)'、式IIIb(i)'或式IIIb(ii)'所示的亚甲基烷氧基(芳氧基)氨基甲酸酯单元(MAC单元):

[0211]

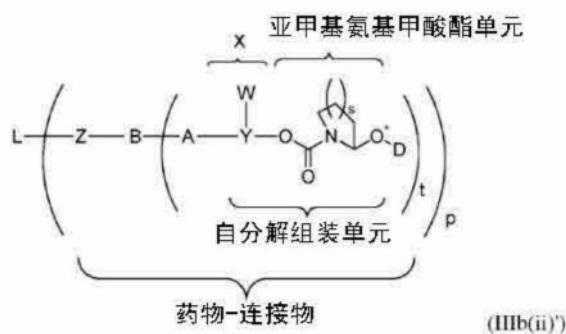


[0212]





[0213]



[0214] 或其医药学上可接受的盐;其中

[0215] D为药物单元,该药物单元具有羟基官能团,其随后纳入所述的亚甲基烷氧基(芳氧基)氨基甲酸酯单元(MAC单元)的药物单元,来自该D的氧杂原子是以O*表示;

[0216] L、Z、B、A、Y、W、R、R¹、R²及下标t、p及s如对于式III(i)、式III(ii)、式IIIa(i)、式IIIa(ii)、式IIIb(i)或式IIIb(ii)所定义。[0217] 在式III(i)'、式III(ii)'、式IIIa(i)'、式IIIa(ii)'、式IIIb(i)'或式IIIb(ii)'
的一些实施方式中,经释放的D-O*H就其羟基官能团而言具有在约10至约19之间的pKa。在式III(i)'、式III(ii)'、式IIIa(i)'、式IIIa(ii)'、式IIIb(i)'或式IIIb(ii)'
的其他实施方式中,经释放的D-O*H就其羟基官能团而言具有在约12至约19之间或15至约19之间的pKa。[0218] 在式III(i)'或式III(ii)'
的一些实施方式中,R、R¹及R²之一为碱性单元或PEG单元,且其他者按照定义。在式III(i)'或式III(ii)'
的其他优选实施方式中,R为碱性单元或PEG单元,且R¹及R²按照定义。[0219] 在式IIIa(i)'及式IIIa(ii)'
的一些实施方式中,R及R¹为氢、任选取代的C₁-C₆烷基或任选取代的C₆₋₁₄芳基(更优选为氢、任选取代的C₁-C₄烷基或任选取代的苯基,最佳为氢或任选取代的C₁-C₄烷基)。在式IIIb(i)'及式IIIb(ii)'
的一些实施方式中,R²优选为氢且下标s为0、1或2(优选为1或2)。[0220] 在式IIIa(i)'或式IIIa(ii)'
的一些优选实施方式中,R为碱性单元或PEG单元,且R¹为氢或未经取代的C₁-C₄烷基,或R为氢或未经取代的C₁-C₄烷基且R²为碱性单元或PEG单元。[0221] 在式IIIa(i)'或式IIIa(ii)'
的其他优选实施方式中,R及R¹连同其所连接的氮及碳原子确定吡咯烷基或哌啶基部分。

[0222] 在式IIIa(i)'或式IIIa(ii)'的其他优选实施方式中,R为氢或未经取代的C₁-C₄烷基且R¹为氢。在式IIIa(i)'或式IIIa(ii)'的其他优选实施方式中,R为碱性单元或PEG单元且R¹为氢。

[0223] 本文中所提及的羟基官能团可为芳族醇或脂族醇的羟基官能团。脂族醇可为一级、二级或三级脂族醇。醇优选为脂族醇,更优选为一级或二级脂族醇。

[0224] 在具有或包含式I、式SI、式II、式Ia、式SIa、式IIa、式III(i)、式III(ii)、式IIIa(i)或式IIIa(ii)的一些优选配体药物偶联物中,R¹为氢。

[0225] 在本文所描述的许多实施方式中,R可为氢、任选取代的C₁-C₆烷基(包括确定碱性单元或PEG单元的取代基)、任选取代的C₆₋₁₄芳基或任选取代的C连接的C₃-C₈杂芳基。R不必经取代但当经取代时,R优选经取代以便定义碱性单元或PEG单元。本文中考虑R为任选取代的C₁₋₆烷基,更优选为任选取代的C₁₋₄烷基的实施方式。烷基可未经取代或经取代。在经取代的一些方面中,其优选经碱性氨基官能团取代以确定碱性单元。在经取代的其他方面中,烷基优选经一系列亚乙基-氧基取代以确定PEG单元。碱性单元中的代表性碱性氨基官能团包括胺及C连接的或N连接的可被任选取代的含氮3元、4元、5元或6元杂环。代表性胺包括-N(R^{op})₂及-N(R^{op}),其中R^{3A}及R^{4a}独立地选自氢、-C₁-C₂₀烷基、-C₆-C₁₄芳基或-C₃-C₈杂环,优选为H或C₁₋₆烷基,更优选为氢或甲基。本发明人已出人意料地发现,碱性官能团在R烷基取代基上的加成(即,R为碱性单元)可使所得LDC具有额外的稳定性。

[0226] 在具有或包含式I、式Ia、式SI、式SIa、式II、式IIa、式III(i)、式III(ii)、式IIIa(i)、式IIIa(ii)、式I'、式Ia'、式SI'、式SIa'、式II'、式IIa'、式III(i)'、式III(ii)'、式IIIa(i)'或式IIIa(ii)'的配体药物偶联物中,R可为氢、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₆₋₁₄芳基或任选取代的C连接的C₃-C₈杂芳基。还考虑这些配体药物偶联物:其中R如本文所定义,但排除任选取代的C₆₋₁₄芳基,排除任选取代的C连接的杂芳基,或排除任选取代的C₆₋₁₄芳基及任选取代的C连接的杂芳基。还考虑这些配体药物偶联物:其中R如本文所定义,但排除任选取代的苯基。还考虑这些配体药物偶联物:其中R如本文所定义,但排除吸电子基团(即,R为氢、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₆₋₁₄芳基或任选取代的C连接的C₃-C₈杂芳基,限制条件为R不是吸电子基团)。还考虑这些配体药物偶联物:其中R如本文所定义,但R的任选的取代基不是吸电子基团。还考虑R未经取代的那些配体药物偶联物。还考虑这些配体药物偶联物:其中R及R¹连同其所连接的氮及碳原子构成吡咯烷基或哌啶基部分。可包括其中R如此段中所定义的这些配体药物偶联物与配体药物偶联物上的另一取代基的各种可能性中的任一种(例如,L、Z、B、A、X、R¹、R²、T*、D及下标s、p及t)的联合。

[0227] 在具有或包含式I、式Ib、式SI、式SIb、式II、式IIb、式III(i)、式III(ii)、式IIIb(i)、式IIIb(ii)、式I'、式Ib'、式SI'、式SIb'、式II'、式IIb'、式III(i)'、式III(ii)'、式IIIb(i)'或式IIIb(ii)'的配体药物偶联物中,R²可为氢、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₆₋₁₄芳基或任选取代的C连接的C₃-C₈杂芳基。还考虑其中R²仅为氢的那些配体药物偶联物。可包括其中R²仅为氢的该配体药物偶联物与配体药物偶联物上的另一取代基的各种可能性中的任一种(例如,L、Z、B、A、X、R、R¹、T*、D及下标s、p及t)的联合。

[0228] 具有式II、式IIa、式IIb、式II'、式IIa'、式IIb'、式III(i)、式III(ii)、式IIIa(i)、式IIIa(ii)、式IIIb(i)、式IIIb(ii)、式III(i)'、式III(ii)'、式IIIa(i)'、式IIIa(ii)'、式IIIb(i)'或式IIIb(ii)'的配体药物偶联物包括如下那些,其中:

- [0229] 1) t 在 1 至 4 范围内, p 为在 1 至 16 范围内的整数或数值, 且存在连接至各配体单元的 1 至 36 个药物单元,
- [0230] 2) t 为 1 且分支单元 B 不存在,
- [0231] 3) t 为 2 至 4 且分支单元 B 存在,
- [0232] 4) t 为 2, 且分支单元 B 存在,
- [0233] 5) p 为在 1 至 12 或 2 至 12 范围内的整数或数值, 且在此段的 1 至 4 中所阐述的实施方式中的任一种中, p 为在 1 至 12 或 2 至 12 范围内的整数或数值,
- [0234] 6) p 为在 1 至 10 或 2 至 10 范围内的整数或数值, 且在此段的 1 至 4 中所阐述的实施方式中的任一种中, p 为在 1 至 10 或 2 至 10 范围内的整数或数值,
- [0235] 7) p 为在 1 至 8 或 2 至 10 范围内的整数或数值, 且在此段的 1 至 4 中所阐述的实施方式中的任一种中, p 为在 1 至 8 或 2 至 10 范围内的整数或数值,
- [0236] 且具有式 II、式 IIa、式 II'、式 IIa'、式 III(i)、式 III(ii)、式 IIIa(i)、式 IIIa(ii)、式 III(i)'、式 III(ii)'、式 IIIa(i)' 或式 IIIa(ii)' 的 LDC 进一步包括如下那些, 其中
- [0237] 8) R 为氢、任选取代的 C_{1-6} 烷基、任选取代的 C_{6-14} 芳基或任选取代的 C 连接的 C_{3-8} 杂芳基, 且在此段的 1 至 7 中所阐述的实施方式中的任一种中, R 为氢、任选取代的 C_{1-6} 烷基、任选取代的 C_{6-14} 芳基或任选取代的 C 连接的 C_{3-8} 杂芳基,
- [0238] 9) R 为氢、任选取代的 C_{1-6} 烷基或任选取代的 C_{6-14} 芳基, 且在此段的 1 至 7 中所阐述的实施方式中的任一种中, R 为氢、任选取代的 C_{1-6} 烷基或任选取代的 C_{6-14} 芳基,
- [0239] 10) R 为氢、甲基、乙基或丙基, 且在此段的 1 至 7 中所阐述的实施方式中的任一种中, R 为氢、甲基、乙基或丙基,
- [0240] 11) R 为氢、甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基或异丁基, 且在此段的 1 至 7 中所阐述的实施方式中的任一种中, R 为氢、甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基或异丁基,
- [0241] 12) R 为氢或甲基, 且在此段的 1 至 7 中所阐述的实施方式中的任一种中, R 为氢或甲基,
- [0242] 13) R 如本文所定义但排除吸电子基团, 且在此段的 1 至 7 中所阐述的实施方式中的任一种中, R 排除吸电子基团,
- [0243] 14) R 如本文所定义但可存在于 R 上的任选的取代基排除吸电子基团, 且在此段的 1 至 7 中所阐述的实施方式中的任一种中, 可存在于 R 上的任选的取代基排除吸电子基团,
- [0244] 15) R 为 C_{1-4} 烷基或 C_{1-6} 烷基, 其任选被胺取代, 或为 C 连接的或 N 连接的含氮 3 元、4 元、5 元或 6 元杂环, 且在此段的 1 至 7 中所阐述的实施方式中的任一种中, R 为 C_{1-4} 烷基或 C_{1-6} 烷基, 其任选被胺取代, 或 C 连接的或 N 连接的含氮 3 元、4 元、5 元或 6 元杂环,
- [0245] 16) R 为 C_{1-4} 烷基或 C_{1-6} 烷基, 其任选被 $-N(R^{3a})(R^{4a})$ 取代, 其中 R^{3a} 及 R^{4a} 独立地选自氢、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_6-C_{14}$ 芳基或 $-C_3-C_8$ 杂环, 优选选自 H 或 C_{1-6} 烷基, 更优选选自氢或甲基, 且在此段的 1 至 7 中所阐述的实施方式中的任一种中, R 为 C_{1-4} 烷基或 C_{1-6} 烷基, 其任选被 $-N(R^{3a})(R^{4a})$ 取代, 其中 R^{3a} 及 R^{4a} 独立地选自氢、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_6-C_{14}$ 芳基或 $-C_3-C_8$ 杂环, 优选选自 H 或 C_{1-6} 烷基, 更优选选自氢或甲基,
- [0246] 17) R 为 C_{1-4} 烷基或 C_{1-6} 烷基, 其任选被碱性单元取代, 且在此段的 1 至 7 中所阐述的实施方式中的任一种中, R 为 C_{1-4} 烷基或 C_{1-6} 烷基, 其任选被碱性单元取代,
- [0247] 18) R 为任选取代的 C_1-C_4 烷基, 其中该任选取代的 C_1-C_4 烷基为任选取代的氨基烷

基(优选为二甲基氨基烷基;更优选为二甲氨基乙基),且在此段的1至7中所阐述的实施方式中的任一种中,R为任选取代的C₁-C₄烷基,其中该任选取代的C₁-C₄烷基为任选取代的氨基烷基(优选为二甲基氨基烷基;更优选为二甲氨基乙基),

[0248] 19) R为任选取代的C₁-C₄烷基,其中该任选取代的C₁-C₄烷基为未经取代的氨基烷基(优选为未经取代的二甲基氨基烷基;更优选为二甲氨基乙基),且在此段的1至7中所阐述的实施方式中的任一种中,R为任选取代的C₁-C₄烷基,其中该任选取代的C₁-C₄烷基为未经取代的氨基烷基(优选为未经取代的二甲基氨基烷基;更优选为二甲氨基乙基),

[0249] 20) R的烷基为饱和的,且在此段的1至17中所阐述的实施方式中的任一种中,R的烷基为饱和的,

[0250] 21) R为-CH₂CH₂N(R^{3a})(R^{4a}),其中R^{3a}及R^{4a}独立地选自氢或甲基,且在此段的1至7中所阐述的实施方式中的任一种中,R为-CH₂CH₂N(R^{3a})(R^{4a}),其中R^{3a}及R^{4a}独立地选自氢或甲基,

[0251] 22) R¹为氢、甲基、乙基或丙基,且在此段的1至21中所阐述的实施方式中的任一种中,R¹为氢、甲基、乙基或丙基,

[0252] 23) R¹为氢或甲基,且在此段的1至21中所阐述的实施方式中的任一种中,R¹为氢或甲基,

[0253] 24) R¹为氢,且在此段的1至21中所阐述的实施方式中的任一种中,R¹为氢,

[0254] 25) R¹为C₁₋₄烷基或C₁₋₆烷基,其任选被胺取代,或为C连接的或N连接的含氮3元、4元、5元或6元杂环,且在此段的1至21中所阐述的实施方式中的任一种中,R¹为C₁₋₄烷基或C₁₋₆烷基,其任选被胺取代,或C连接的或N连接的含氮3元、4元、5元或6元杂环,

[0255] 26) R¹为C₁₋₄烷基或C₁₋₆烷基,其任选被-N(R^{3a})(R^{4a})取代,其中R^{3a}及R^{4a}独立地选自氢、-C₁-C₂₀烷基、-C₆-C₁₄芳基或-C₃-C₈杂环,优选选自H或C₁₋₆烷基,更优选选自氢或甲基,且在此段的1至21中所阐述的实施方式中的任一种中,R为C₁₋₄烷基或C₁₋₆烷基,其任选被-N(R^{3a})(R^{4a})取代,其中R^{3a}及R^{4a}独立地选自氢、-C₁-C₂₀烷基、-C₆-C₁₄芳基或-C₃-C₈杂环,优选选自H或C₁₋₆烷基,更优选选自氢或甲基,

[0256] 27) R¹为C₁₋₄烷基或C₁₋₆烷基,其任选被碱性单元取代,且在此段的1至21中所阐述的实施方式中的任一种中,R¹为C₁₋₄烷基或C₁₋₆烷基,其任选被碱性单元取代,

[0257] 28) R¹为任选取代的C₁-C₄烷基,其中该任选取代的C₁-C₄烷基为任选取代的氨基烷基(优选为二甲基氨基烷基;更优选为二甲氨基乙基),且在此段的1至21中所阐述的实施方式中的任一种中,R¹为任选取代的C₁-C₄烷基,其中该任选取代的C₁-C₄烷基为任选取代的氨基烷基(优选为二甲基氨基烷基;更优选为二甲氨基乙基),

[0258] 29) R¹为任选取代的C₁-C₄烷基,其中该任选取代的C₁-C₄烷基为未经取代的氨基烷基(优选为未经取代的二甲基氨基烷基;更优选为二甲氨基乙基),且在此段的1至21中所阐述的实施方式中的任一种中,R¹为任选取代的C₁-C₄烷基,其中该任选取代的C₁-C₄烷基为未经取代的氨基烷基(优选为未经取代的二甲基氨基烷基;更优选为二甲氨基乙基),

[0259] 30) R¹的烷基为饱和的,且在此段的1至21中所阐述的实施方式中的任一种中,R¹的烷基为饱和的,

[0260] 31) R¹为-CH₂CH₂N(R^{3a})(R^{4a}),其中R^{3a}及R^{4a}独立地选自氢或甲基,且在此段的1至21中所阐述的实施方式中的任一种中,R¹为-CH₂CH₂N(R^{3a})(R^{4a}),其中R^{3a}及R^{4a}独立地选自氢或

甲基,

[0261] 32) R及R¹之一为PEG单元或碱性单元且另一者为氢或未经取代的C₁₋₄烷基,且在此段的1至7中所阐述的实施方式中的任一种中,R及R¹之一为PEG单元或碱性单元且另一者为氢或未经取代的C₁₋₄烷基,

[0262] 33) R²为氢,且在此段的1至32中所阐述的实施方式中的任一种中,R²为氢具有式II、式IIa、式IIb、式II'、式IIa'、式IIb'、式III(i)、式III(ii)、式IIIa(i)、式IIIa(ii)、式IIIb(i)、式IIIb(ii)、式III(i)'、式III(ii)'、式IIIa(i)'、式IIIa(ii)'、式IIIb(i)'或式IIIb(ii) '的LDC包括如下那些,其中:

[0263] 34) A存在,且在此段的1至33中所阐述的实施方式中的任一种中,A存在,

[0264] 35) A不存在,且在此段的1至33中所阐述的实施方式中的任一种中,A不存在,

[0265] 36) 配体单元为抗体,且在此段的1至35中所阐述的实施方式中的任一种中,配体单元为抗体,

[0266] 37) W由1至不超过12个氨基酸构成,且在此段的1至36中所阐述的实施方式中的任一种中,W由1至不超过12个氨基酸残基构成,

[0267] 38) W为糖或糖苷结合的碳水化合物,且在此段的1至36中所阐述的实施方式中的任一种中,W为糖或糖苷结合的碳水化合物,

[0268] 39) 可活化的自分解型部分(X)的活化是通过W内的酶分裂或在W与自分解型间隔体单元(Y)之间的肽键的酶促分裂达成,且在此段的1至36中所阐述的实施方式中的任一种中,可活化的自分解型部分的活化是通过W内的酶促分裂或在W与自分解型间隔体单元(Y)之间的肽键的酶促分裂达成,

[0269] 40) 可活化的自分解型部分的活化是通过二硫键还原(即,W由包含自分解型间隔体单元的硫原子取代基的可还原二硫官能团构成),且在此段的1至36中所阐述的实施方式中的任一种中,其中可活化的自分解型部分的活化是通过二硫键还原(即,W由包含自分解型间隔体单元的硫原子取代基的可还原二硫官能团构成),

[0270] 41) 活化单元为糖或糖苷-结合碳水化合物且在其LDC内的配体单元的连接是通过自分解型间隔体单元(Y),且在此段的1至36中所阐述的实施方式中的任一种中,活化单元为糖或糖苷-结合碳水化合物且在其LDC内的配体单元的连接是通过Y,

[0271] 42) 活化单元包含1至不超过12个氨基酸残基且配体单元的连接是通过活化单元进行,且在此段的1至36中所阐述的实施方式中的任一种中,其中活化单元包含1至不超过12个氨基酸残基且配体单元的连接是通过活化单元进行,

[0272] 43) T*或O*为共价连接至药物单元的亚甲基氨基甲酸酯单元的氧杂原子,其对应于来自含脂族醇药物的官能团的杂原子,且在此段的1至42中所阐述的实施方式中的任一种中,T*或O*为共价连接至药物单元的亚甲基氨基甲酸酯单元的氧杂原子,其对应于来自含脂族醇药物的官能团的杂原子,

[0273] 44) T*或O*为共价连接至药物单元的亚甲基氨基甲酸酯单元的氧杂原子,其对应于来自含芳族醇药物的官能团的杂原子,且在此段的1至42中所阐述的实施方式中的任一种中,T*或O*为共价连接至药物单元的亚甲基氨基甲酸酯单元的氧杂原子,其对应于来自含芳族醇药物的官能团的杂原子,

[0274] 45) T*或O*为共价连接至药物单元的亚甲基氨基甲酸酯单元的氧杂原子,其对应

于来自含芳族醇药物的官能团的杂原子,其中该芳族醇不为酚醇,且在此段的1至42中所阐述的实施方式中的任一种中,T*或O*为共价连接至药物单元的亚甲基氨基甲酸酯单元的氧杂原子,其对应于来自含芳族醇药物的官能团的杂原子,其中该芳族醇不为酚醇,

[0275] 46) D为共价连接至亚甲基氨基甲酸酯单元的药物单元,其具有氧杂原子作为T*或O*对应于药物的羟基官能团的该T*或O*,其中该羟基官能团为芳族羟基官能团,且R为任选取代的饱和C₁-C₆烷基,且在此段的1至7中所阐述的实施方式中的任一种中,D为共价连接至亚甲基氨基甲酸酯单元的药物单元,其具有氧杂原子作为T*或O*对应于药物的羟基官能团的该T*或O*,其中该羟基官能团为芳族羟基官能团,且R为任选取代的C₁-C₆饱和烷基,

[0276] 47) D为共价连接至亚甲基氨基甲酸酯单元的药物单元,其具有氧杂原子作为T*或O*对应于药物的羟基官能团的该T*或O*,其中该羟基官能团为芳族羟基官能团,且R为任选取代的C₁-C₄烷基,其中该任选取代的C₁-C₄烷基为任选取代的氨基烷基(优选为二甲基氨基烷基;更优选为二甲氨基乙基),且在此段的1至7中所阐述的实施方式中的任一种中,D为共价连接至亚甲基氨基甲酸酯单元的药物单元,其具有氧杂原子作为T*或O*对应于药物的羟基官能团的该T*或O*,且R为任选取代的C₁-C₄烷基,其中该任选取代的C₁-C₄烷基为任选取代的氨基烷基(优选为二甲基氨基烷基;更优选为二甲氨基乙基),

[0277] 48) D为共价连接至亚甲基氨基甲酸酯单元的药物单元,其具有氧杂原子作为T*或O*对应于药物的羟基官能团的该T*或O*,其中该羟基官能团为脂族羟基官能团,且R为任选取代的饱和C₁-C₆烷基,且在此段的1至7中所阐述的实施方式中的任一种中,D为共价连接至亚甲基氨基甲酸酯单元的药物单元,其具有氧杂原子作为T*或O*对应于羟基官能团的该T*或O*,其中该羟基官能团为药物的脂族羟基官能团,且R为任选取代的饱和C₁-C₆烷基,

[0278] 49) D为共价连接至亚甲基氨基甲酸酯单元的药物单元,其具有氧杂原子作为T*或O*对应于羟基官能团的该T*或O*,其中该羟基官能团为药物的脂族羟基官能团,且R为任选取代的C₁-C₄烷基,其中该任选取代的C₁-C₄烷基为任选取代的氨基烷基(优选为二甲基氨基烷基;更优选为二甲氨基乙基),且在此段的1至7中所阐述的实施方式中的任一种中,D为共价连接至亚甲基氨基甲酸酯单元的药物单元,其具有氧杂原子作为T*或O*对应于药物的羟基官能团的该T*或O*,且R为任选取代的C₁-C₄烷基,其中该任选取代的C₁-C₄烷基为任选取代的氨基烷基(优选为二甲基氨基烷基;更优选为二甲氨基乙基),

[0279] 50) T*为共价连接至药物单元的MAC单元的氧杂原子,其对应于来自含脂族醇或含芳族醇药物的羟基官能团的杂原子,且在此段的1至42中所阐述的实施方式中的任一种中,T*为共价连接至药物单元的MAC单元的氧杂原子,其对应于来自含脂族醇或含芳族醇药物的羟基官能团的杂原子,且其中由共价连接至药物单元的MAC单元构成的自分解型SI组装单元能够释放含脂族醇或芳族醇的药物,

[0280] 51) T*为共价连接至药物单元的亚甲基氨基甲酸酯单元的硫杂原子,其对应于来自含巯基药物的硫氢官能团的杂原子,且在此段的1至42中所阐述的实施方式中的任一种中,T*为共价连接至药物单元的亚甲基氨基甲酸酯单元的硫杂原子,其对应于来自含巯基药物的硫氢官能团的杂原子,且其中由共价连接至药物单元的亚甲基氨基甲酸酯单元构成的自分解型SI组装单元能够释放含巯基药物,

[0281] 52) T*为共价连接至药物单元的亚甲基氨基甲酸酯单元的任选取代的氮杂原子,其对应于含胺或含甲酰胺药物的酰胺或胺官能团的杂原子,且在此段的1至42中所阐述的

实施方式中的任一种中, T*为共价连接至药物单元的亚甲基氨基甲酸酯单元的氮杂原子, 其对应于含胺或含甲酰胺药物的胺或酰胺官能团的杂原子, 且其中由共价连接至药物单元的亚甲基氨基甲酸酯单元构成的自分解型SI组装单元能够释放含酰胺或含胺的药物,

[0282] 53) T*为将亚甲基氨基甲酸酯单元共价连接至药物单元的任选取代的氮杂原子, 其对应于药物的伯胺或仲胺官能团的杂原子, 且在此段的1至42中所阐述的实施方式中的任一种中, T*为将亚甲基氨基甲酸酯单元共价连接至药物单元的任选取代的氮杂原子, 其对应于药物的伯胺或仲胺官能团的杂原子, 且其中由共价连接至药物单元的亚甲基氨基甲酸酯单元构成的自分解型SI组装单元能够释放含伯胺或含仲胺的药物,

[0283] 54) T*为将亚甲基氨基甲酸酯单元共价连接至药物单元的任选取代的氮杂原子, 其对应于药物的一级或二级酰胺官能团的杂原子, 且在此段的1至42中所阐述的实施方式中的任一种中, T*为将亚甲基氨基甲酸酯单元共价连接至药物单元的任选取代的氮杂原子, 其对应于具有先前的一级或二级酰胺官能团的药物的杂原子, 且其中由共价连接至药物单元的亚甲基氨基甲酸酯单元构成的SI组装单元能够释放含一级酰胺或含二级酰胺的药物,

[0284] 55) T*或O*为共价连接至药物单元的亚甲基氨基甲酸酯单元的氧杂原子, 其对应于来自药物依维莫司(everolimus)、他克莫司(tacrolimus)或西罗莫司(sirolimus)的官能团的杂原子。

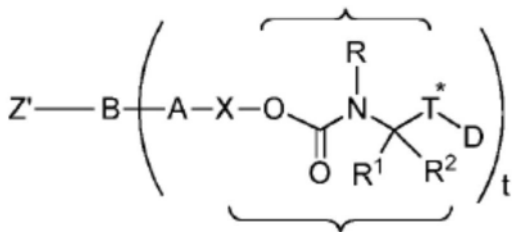
[0285] 药物-连接物化合物

[0286] 在一些方面中, 当设计配体-药物偶联物时, 将需要在结合至靶向配体之前合成完全药物-连接物。在所述实施方式中, 药物-连接物化合物充当中间化合物。药物-连接物化合物中的延伸体单元尚未共价连接至配体单元且因此具有用于结合至靶向配体的官能团(即, 延伸体单元前体Z')。在一个方面中, 药物-连接物化合物包含配体单元、药物单元及包含配体单元连接至药物单元所通过的自分解型组装单元的连接物单元。除SI组装单元以外, 连接物单元还包含延伸体单元前体(Z'), 其包含用于结合至配体单元的官能团且能够(直接或间接)将自分解型组装单元连接至配体单元。分支单元通常存在于需要将一种以上药物结合至配体单元的各连接位点的实施方式中。当需要在延伸体单元与自分解型组装单元之间添加较大距离时, 通常存在连接体单元。在一个方面中, 药物-连接物化合物具有亚甲基氨基甲酸酯单元, 该亚甲基氨基甲酸酯单元共价连接至具有如本文先前所定义的式I、式Ia、式Ib、式SI、式SIa、式SIb、式I'、式Ia'、式Ib'、式SI'、式SIa'或式SIb'的结构药物单元。

[0287] 在一个方面中, 药物-连接物化合物由药物单元及连接物单元构成, 其中该单元包含直接连接至延伸体单元前体(Z')或通过连接至药物-连接物化合物的连接物单元(即A和/或B)的一个或多个介入组分间接连接至Z'的自分解型组装单元的可活化的自分解型部分(X), 其中Z'包含能够形成至靶向配体的共价键的官能团及直接连接至SI组装单元的亚甲基氨基甲酸酯单元的药物单元。在一些实施方式中, 在各连接物单元或药物-连接物部分中在至配体单元的各连接位点处存在1至4个SI组装单元。在药物-连接物化合物的连接物单元中归因于连接物单元中的分支而存在两个或更多个SI组装单元的实施方式中, 存在分支单元B(或其前体B'(当分支单元变为直接连接至配体单元时))以允许达成该分支。在实施方式中, 示例性药物-连接物化合物由下式V表示:

亚甲基氨基甲酸酯单元

[0288]



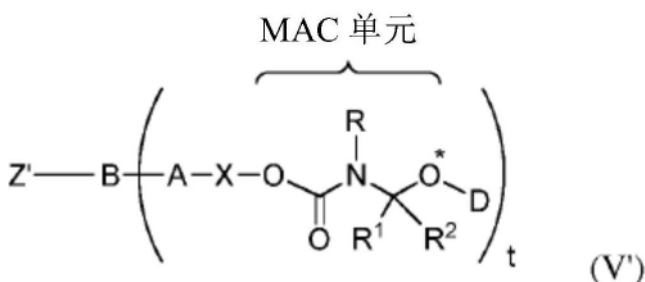
自分解型组装单元 (V)

[0289] 或其医药学上可接受的盐;其中D为药物单元,其具有已纳入所指示的亚甲基氨基甲酸酯单元中的羟基、巯基、胺或酰胺官能团;T*为氧、硫或任选取代的氮杂原子,其来自纳入所指示的亚甲基氨基甲酸酯单元中的该官能团;R、R¹及R²独立地为氢、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₆₋₁₄芳基或任选取代的C连接的C₃-C₈杂芳基,或R与R¹两者连同其所连接的氮及碳原子构成氮杂环丁基、吡咯烷基、哌啶基或高哌啶基部分(优选为吡咯烷基或哌啶基部分),且R²为氢;X为可活化的自分解型部分;Z'为延伸体单元(Z)的延伸体单元前体且包含提供配体单元至Z的共价连接的官能团;B为任选的分支单元,其在t为2、3或4时存在且在t为1时不存在;A为任选的连接体单元;且下标t在1至4范围内。

[0290] 在其他实施方式中,在式V的药物-连接物化合物中的式SI的自分解型组装单元经式SIa或式SIb的该自分解型组装单元置换以分别定义式Va及式Vb药物-连接物化合物。式V、式Va或式Vb中的R、R¹及R²的优选组合及子组合如对于式II、式IIa或式IIb所给出。

[0291] 在一些方面中,药物-连接物化合物具有如下式V'的结构:

[0292]



[0293] 或其医药学上可接受的盐;其中

[0294] D为药物单元,所述药物单元具有羟基官能团,其随后纳入所指示的亚甲基烷氧基(芳氧基)氨基甲酸酯单元(MAC单元)中,来自该D的氧原子是以O*表示;

[0295] R、R¹及R²独立地为氢、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₆₋₁₄芳基或任选取代的C连接的C₃-C₈杂芳基,或

[0296] R与R¹两者连同其所连接的氮及碳原子构成氮杂环丁基、吡咯烷基、哌啶基或高哌啶基部分(优选为吡咯烷基或哌啶基部分),且R²为氢;

[0297] X为可活化的自分解型部分;

[0298] Z'为延伸体单元(Z)的延伸体单元前体且包含提供配体单元至Z的共价连接的官能团;

[0299] B为任选的分支单元,其在t为2、3或4时存在且在t为1时不存在;

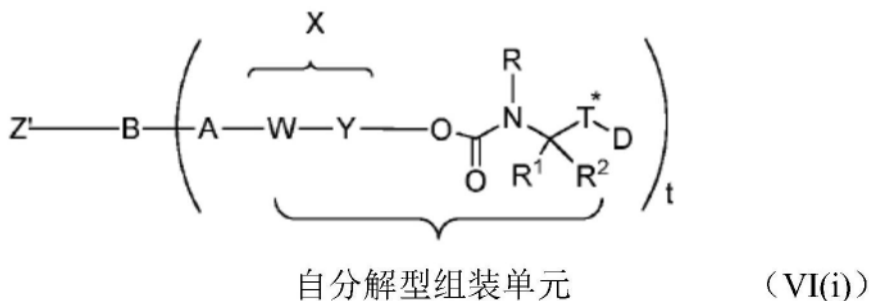
[0300] A为任选的连接体单元;且

[0301] 下标t在1至4范围内。

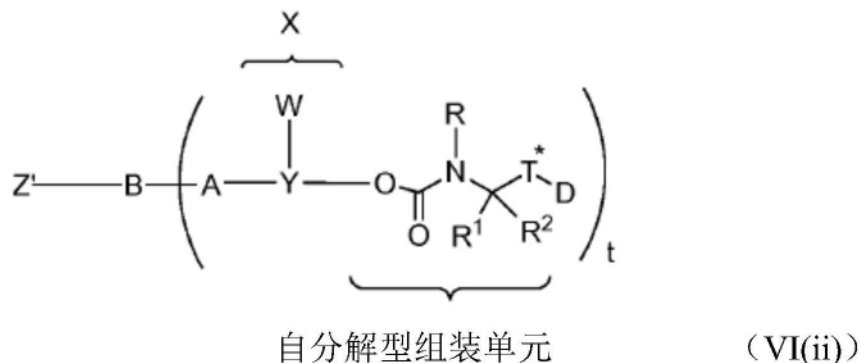
[0302] 在其他实施方式中,在式V'的药物-连接物化合物中的式SI'的自分解型组装单元经式SIa'或式SIb'的该自分解型组装单元替换以分别定义式Va'及式Vb'药物-连接物化合物。式V'、式Va'或式Vb'中的R、R¹及R²的优选组合及子组合如对于式II'、式IIa'或式IIb'所给出。

[0303] 关于提供式V'、式Va'或式Vb'的药物-连接物化合物的药物单元所提及的羟基官能团为芳族醇或脂族醇的羟基官能团。脂族醇可为一级、二级或三级脂族醇。醇优选为脂族醇,更优选为一级或二级脂族醇。

[0304] 自分解型组装单元由可活化的自分解型部分(X)及亚甲基氨基甲酸酯单元构成。在一些实施方式中,可活化部分由活化单元(W)及自分解型间隔体单元(Y)构成。活化单元起始间隔体单元内的自分解型反应序列,该反应序列导致游离药物自药物连接物化合物释放。活化单元或自分解型间隔体单元任一种可形成至药物-连接物化合物的剩余部分(即,至A、B或Z',视存在或不存在A和/或B而定)的共价连接的位点。在一些实施方式中,药物-连接物化合物包含连接至药物单元的自分解型组装单元且由式VI(i)或式VI(ii)表示:



[0305]



[0306] 或其医药学上可接受的盐;其中

[0307] A为任意的连接体单元;

[0308] W为活化单元;

[0309] Y为自分解型间隔体单元;

[0310] Z'为延伸体单元(Z)的延伸体单元前体且包含提供配体单元至Z的共价连接的官能团;

[0311] B为任意的分支单元,其在t为2、3或4时存在且在t为1时不存在;

[0312] R、R¹及R²独立地为氢、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₆₋₁₄芳基或任选取代的C₃-C₈杂芳基,或

[0313] R与R¹两者连同其所连接的氮及碳原子构成氮杂环丁基、吡咯烷基、哌啶基或高哌啶基部分(优选为吡咯烷基或哌啶基部分),且R²为氢;

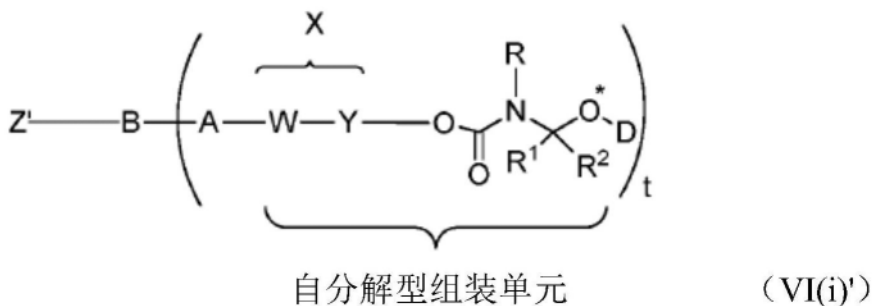
[0314] D为药物单元,所述药物单元具有羟基、巯基、胺或酰胺官能团,其随后纳入所指示的亚甲基烷氧基氨基甲酸酯单元中;

[0315] T*为氧、硫或任选取代的氮杂原子,其来自纳入所述的亚甲基氨基甲酸酯单元中的该官能团;且

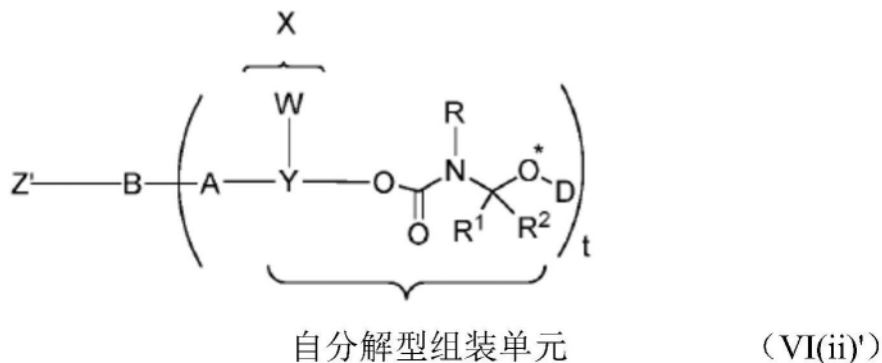
[0316] 下标t在1至4范围内。

[0317] 式VI(i)及式VI(ii)具有来自式Ia的亚甲基氨基甲酸酯单元。在药物-连接物化合物的其他实施方式中,该亚甲基氨基甲酸酯单元结构经式Ia的结构置换以分别定义式VIa(i)及式VIa(ii)的药物连接物化合物。在药物-连接物化合物的其他实施方式中,该亚甲基氨基甲酸酯单元结构经式Ib的结构置换以分别定义式VIb(i)及式VIb(ii)的药物连接物化合物。在式VI(i)、式VI(ii)、式VIa(i)、式VIa(ii)、式VIb(i)或式VIb(ii)中的R、R¹及R²的优选组合及子组合如对于式III(i)、式III(ii)、式IIIa(i)、式IIIa(ii)、式IIIb(i)或式IIIb(ii)所给出。

[0318] 在一些实施方式中,药物-连接物化合物包含连接至药物单元的自分解型组装单元且由式VI(i)'或式VI(ii)'表示:



[0319]



[0320] 或其医药学上可接受的盐;其中

[0321] A为任意的连接体单元;

[0322] W为活化单元;

[0323] Y为自分解型间隔体单元;

[0324] Z'为延伸体单元(Z)的前体且由提供配体单元至Z的共价连接的官能团构成;

[0325] B为任意的分支单元,其在t为2至4时存在且在t为1时不存在;

[0326] R、R¹及R²独立地为氢、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₆₋₁₄芳基或任选取代的C连接的C₃-C₈杂芳基,或

[0327] R与R¹两者连同其所连接的氮及碳原子构成氮杂环丁基、吡咯烷基、哌啶基或高哌啶基部分(优选为吡咯烷基或哌啶基部分),且R²为氢;

[0328] D为药物单元,所述药物单元具有羟基官能团,其随后纳入所指示的亚甲基烷氧基氨基甲酸酯单元中;

[0329] T*为氧杂原子,其来自纳入所述的亚甲基烷氧基(芳氧基)氨基甲酸酯单元(MAC单元)中的该官能团;且

[0330] 下标t为在1至4范围内的整数。

[0331] 式VI(i)'及式VI(ii)'具有式I'的MAC结构。在其他方面中,来自式III(i)'或式III(ii)'LDC中的式I'的MAC单元经来自式Ia'的MAC单元置换,其提供分别指定为式VIa(i)'及式VIa(ii)'药物连接物化合物的药物-连接物化合物。在其他方面中,来自式VI(i)'或式VI(ii)'中的式I'的MAC单元经来自式I'的MAC单元置换,其提供分别指定为式III(i)'及式III(ii)'药物连接物化合物的药物-连接物化合物。在式VI(i)'、式VI(ii)'、式VIa(i)'、式VIa(ii)'、式VIb(i)'或式VIb(ii)'中的R、R、R¹及R²的优选组合及子组合如对于式III(i)'、式III(ii)'、式IIIa(i)'、式IIIa(ii)'、式IIIb(i)'或式IIIb(ii)'所给出。

[0332] 如所述,药物-连接物化合物可充当本发明的LDC的中间化合物。因此,对于LDC所阐述的实施方式中的任一种还适用于本发明的药物-连接物化合物。换言之,用于B、A、X、R、R¹、R²、T*、D、O*及下标s及t的定义中的任一种及其组合适用于本发明的药物-连接物化合物且经考虑用于本发明的药物-连接物化合物。

[0333] 组分基团

[0334] 配体单元:

[0335] 在本发明的一些实施方式中,配体单元存在于(例如)配体药物偶联物中。配体单元(L-)为与目标部分特异性结合的靶向剂。在一组实施方式中,配体单元特异性且选择性地与细胞组分(细胞结合剂)或与其他所关注的目标分子结合。配体单元用以将配体药物偶联物的药物单元靶向及呈现至该配体单元归因于其靶向组分或分子的存在而与之相互作用的特定目标细胞群体,且允许游离药物在目标细胞内(即,细胞内)或在目标细胞附近(即,细胞外)的后续释放。配体包括(但不限于)蛋白质、多肽及肽。适合的配体单元包括例如抗体(例如全长抗体及其抗原结合片段)、干扰素、淋巴因子、激素、生长因子及菌落刺激因子、维生素、养分运送分子(例如但不限于运铁蛋白)或任何其他细胞结合分子或物质。在一些实施方式中,配体单元来自抗体或非抗体蛋白质靶向剂。

[0336] 在一组实施方式中,配体单元结合至延伸体单元(Z)。在一些实施方式中,配体单元是通过配体单元的杂原子结合至连接物单元的Z。可存在于配体单元上的用于该结合的杂原子包括硫(在一个实施方式中,其来自靶向配体的硫氢基)、氧(在一个实施方式中,其来自靶向配体的羧基或羟基)及任选取代的氮(在一个实施方式中,其来自靶向配体的伯胺或仲胺官能团或在另一实施方式中,其来自任选取代的酰胺氮)。那些杂原子可在配体的天然状态下(例如呈天然存在的抗体形式)存在于靶向配体上,或可通过化学修饰或生物工程改造引入靶向配体中。

[0337] 在一个实施方式中,配体单元具有硫氢基官能团,使得配体单元通过该硫氢基官能团的硫原子结合至连接物单元。

[0338] 在另一实施方式中,配体单元具有能够与药物-连接物化合物中间物的延伸体单元前体的活化酯(所述酯包括(但不限于)N-羟基丁二酰亚胺酯、五氟苯基酯及对硝基苯基酯)反应的一个或多个赖氨酸残基,且因此提供由配体单元的氮原子及连接物单元的延伸

体单元的C=O基团组成的酰胺键。

[0339] 在另一方面中,配体单元具有能够经化学修饰以引入一个或多个硫氢基的一个或多个赖氨酸残基。在那些实施方式中,配体单元通过硫氢基官能团的硫原子结合至连接物单元。可用于以该方式修饰赖氨酸的试剂包括(但不限于)S-乙酰基硫代乙酸N-丁二酰亚胺酯(SATA)及2-亚氨基硫烷盐酸盐(卓氏(Traut's)试剂)。

[0340] 在另一实施方式中,配体单元具有一个或多个能够经修饰以提供一个或多个硫氢基官能团的碳水化合物基团。配体药物偶联物中的经化学修饰的配体单元通过硫氢基官能团的硫原子结合至连接物单元组分(例如,延伸体单元)。

[0341] 在另一实施方式中,配体单元具有一个或多个能够经氧化以提供醛(-CHO)官能团的碳水化合物基团(参见例如,Laguzza等人,1989,J.Med.Chem.32(3):548-55)。在该实施方式中,对应的醛与延伸体单元前体上的反应性位点相互作用,以在延伸体单元与配体单元之间形成键。在延伸体单元前体上的能够与靶向配体上的含反应性羰基的官能团相互作用的反应性位点包括(但不限于)肼及羟胺。其他用于修饰蛋白质以用于附接连接物单元或药物-连接物化合物的方案已在Coligan等人,Current Protocols in Protein Science《新编蛋白质科学实验指南》,第2卷,约翰威利父子公司(John Wiley&Sons)(2002)(其以引用的方式纳入本文中)中描述。

[0342] 在一些方面中,配体单元能够通过与延伸体单元前体(Z')上的反应性官能团相互作用形成键来形成在延伸体单元(Z)与对应于靶向配体的配体单元之间的共价键。Z'的具有与靶向配体相互作用的该能力的官能团将视配体单元的性质而定。在一些实施方式中,反应性基团为在其经连接以形成配体单元之前存在于延伸体单元上的顺丁烯二酰亚胺。(即,延伸体单元前体的顺丁烯二酰亚胺部分)。配体单元与延伸体单元的共价连接通过配体单元的与Z'的顺丁烯二酰亚胺官能团相互作用以形成巯基取代丁二酰亚胺的硫氢基官能团实现。硫氢基官能团可在配体的天然状态下(例如呈天然存在的残基形式)存在于配体单元上,或可通过化学修饰或通过生物工程改造引入配体中。

[0343] 在另一实施方式中,配体单元来自抗体,且硫氢基是通过还原抗体的链间二硫键产生。因此,在一些实施方式中,连接物单元与来自一个或多个经还原的链间二硫键的半胱氨酸残基结合。

[0344] 在另一实施方式中,配体单元来自抗体,且硫氢基官能团是以化学方式引入抗体中,例如通过引入半胱氨酸残基。因此,在一些实施方式中,连接物单元是通过配体单元的经引入的半胱氨酸残基结合至药物单元。

[0345] 对于生物偶联物已观察到药物结合的位点可影响多个参数,包括结合容易性、药物-连接物稳定性、对所得生物偶联物的生物物理学特性的影响及体外细胞毒性。关于药物-连接物稳定性,药物-连接物部分至配体单元的结合位点可能会影响结合药物-连接物部分经历消除反应以导致游离药物过早释放以及药物连接物部分从LDC的配体转移至存在于LDC的环境中的替代性反应性巯基的能力,该巯基例如存在于血浆中的白蛋白、游离半胱氨酸、谷胱甘肽中的反应性巯基。用于在靶向配体上的结合的位点包括例如经还原的链间二硫键以及在工程改造位点处的选定半胱氨酸残基。在一些实施方式中,与使用来自经还原二硫键的巯基残基的结合方法相比,如本文所描述的用以形成配体-药物偶联物的结合方法使用在对消除反应较不敏感的基因工程改造位点(例如,根据如Kabat中所阐述的EU指

数的位置239)处的巯基残基。在其他实施方式中,如本文所描述的用以形成配体-药物偶联物的结合方法使用在对消除反应较敏感位点处的巯基残基(例如,由链间二硫键还原产生)。

[0346] 当配体药物偶联物包含非免疫反应性蛋白质、多肽或肽时,其配体单元来自于非免疫反应性蛋白质、多肽或肽,其包括(但不限于)运铁蛋白、表皮生长因子(“EGF”)、铃蟾素、胃泌素、胃泌素释放肽、血小板衍生长因子、IL-2、IL-6、转型生长因子(“TGF”,例如TGF- α 及TGF- β)、牛痘生长因子(“VGF”)、胰岛素及胰岛素样生长因子I及II、生长抑素、凝集素及来自低密度脂蛋白的脱辅基蛋白,而非来自抗体。

[0347] 特别优选的配体单元来自抗体。实际上,在本文所描述的实施方式中的任一种中,配体单元可来自抗体。适用的多克隆抗体为衍生自经免疫动物的血清的抗体分子的异质群体。适用的单克隆抗体为针对特定抗原决定簇(例如癌细胞抗原、病毒抗原、微生物抗原、蛋白质、肽、碳水化合物、化学物质、核酸或其片段)的抗体的均质群体。针对所关注抗原的单克隆抗体(mAb)可通过使用通过培养物中的连续细胞株而提供抗体分子的产生的本领域中已知的任何技术来制备。

[0348] 适用的单克隆抗体包括(但不限于)人类单克隆抗体、人源化单克隆抗体或嵌合人类-小鼠(或其他物种)单克隆抗体。抗体包括全长抗体及其抗原结合片段。可通过本领域中已知的大量技术中的任一种来制备人类单克隆抗体(例如Teng等人,1983,Proc.Natl.Acad.Sci.USA.80:7308-7312;Kozbor等人,1983,Immunology Today4:72-79;及Olsson等人,1982,Meth Enzymol192:3-16)。

[0349] 抗体可为与目标细胞(例如癌细胞抗原、病毒抗原或微生物抗原)免疫特异性结合的抗体或与肿瘤细胞或基质结合的其他抗体的功能活性片段、衍生物或类似物。就此而言,“功能活性”表示片段、衍生物或类似物能够免疫特异性结合至目标细胞。为了判定哪些CDR序列结合抗原,含有CDR序列的合成肽可与抗原一起通过本领域中已知的任何结合分析方法(例如,BIA核心分析)用于结合分析(参见例如,Kabat等人,1991,《免疫学热门蛋白质序列》(Sequences of Proteins of Immunological Interest),第五版,国立卫生研究院,马里兰州贝塞斯达;KabatE等人,1980,J.Immunology125(3):961-969)。

[0350] 其他适用的抗体包括抗体片段,例如(但不限于)F(ab')₂片段、Fab片段、Fv、单链抗体、双功能抗体、三功能抗体、四功能抗体、scFv、scFv-FV或具有与抗体相同的特异性的任何其他分子。

[0351] 另外,可使用标准重组DNA技术制备的包含人类与非人类部分两者的重组抗体(例如嵌合及人源化单克隆抗体)为适用抗体。嵌合抗体为不同部分是衍生自不同动物物种的分子,例如具有衍生自鼠类单克隆的可变区及人类免疫球蛋白恒定区的那些分子。(参见例如,美国专利第4,816,567号;及美国专利第4,816,397号,其以全文引用的方式纳入本文中。)人源化抗体为来自非人类物种的抗体分子,其具有一个或多个来自非人类物种的互补决定区(CDR)及来自人类免疫球蛋白分子的构架区。(参见例如,美国专利第5,585,089号,其以全文引用的方式纳入本文中。)所述嵌合及人源化单克隆抗体可通过本领域中已知的重组DNA技术例如使用在以下各者中描述的方法产生:国际公开案第W0 87/02671号;欧洲专利公开案第0 184187号;欧洲专利公开案第0 171 496号;欧洲专利公开案第0 173 494号;国际公开案第W0 86/01533号;美国专利第4,816,567号;欧洲专利公开案第012 023号;

Berter等人,1988,Science240:1041-1043;Liu等人,1987,Proc.Natl.Acad.Sci.USA84:3439-3443;Liu等人,1987,J.Immunol.139:3521-3526;Sun等人,1987,Proc.Natl.Acad.Sci.USA84:214-218;Nishimura等人,1987,Cancer.Res.47:999-1005;Wood等人,1985,Nature314:446-449;及Shaw等人,1988,J.Natl.Cancer Inst.80:1553-1559;Morrison,1985,Science229:1202-1207;Oi等人,1986,BioTechniques 4:214;美国专利第5,225,539号;Jones等人,1986,Nature321:552-525;Verhoeyan等人,1988,Science239:1534;及Beidler等人,1988,J.Immunol.141:4053-4060;以上中的每个以全文引用的方式纳入本文中。

[0352] 在一些情况下(例如,当针对非人类或嵌合抗体的免疫原性可发生时),完全人类抗体较为合乎需要且可使用不能表达内源性免疫球蛋白重链及轻链基因但可表达人类重链及轻链基因的转基因小鼠产生。

[0353] 抗体包括类似物及衍生物,其各自可经修饰,即通过共价连接任何类型的分子经修饰,只要所述共价连接允许抗体保留其抗原结合免疫特异性即可。举例而言(但不限于),抗体的衍生物及类似物包括已例如通过糖基化、乙酰化、聚乙二醇化、磷酸化、酰胺化、用已知保护/阻断基团衍生化、蛋白质裂解、与细胞抗体单元或其他蛋白质连接等而进一步经修饰的那些衍生物及类似物。大量化学修饰中的任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、在衣霉素存在下的代谢合成等。另外,类似物或衍生物可含有一种或多种非天然氨基酸。

[0354] 抗体可在与Fc受体相互作用的氨基酸残基中具有修饰(例如取代、缺失或添加)。特定言的,抗体可在识别为与抗Fc域与FcRn受体之间的相互作用有关的氨基酸残基中具有修饰(参见例如,国际公开第W0 97/34631号,其以全文引用的方式纳入本文中)。

[0355] 针对癌细胞抗原的具有免疫特异性的抗体可以商业方式获得或可通过本领域技术人员已知的任何方法(例如重组表达技术)产生。编码对癌细胞抗原具免疫特异性的抗体的核苷酸序列可例如自基因库(GenBank)数据库或与其类似的数据库、文献出版物或通过常规选殖及定序获得。

[0356] 在一特定实施方式中,可使用已知用于治疗癌症的抗体。

[0357] 在另一特定实施方式中,根据本发明的组合物及方法使用用于治疗自体免疫疾病的抗体。

[0358] 在某些实施方式中,适用的抗体可与表达于活化淋巴细胞上的受体或受体复合物结合。该受体或受体复合物可包含免疫球蛋白基因超家族成员、TNF受体超家族成员、整合素、细胞激素受体、趋化因子受体、主要组织相容性蛋白、凝集素或补体控制蛋白。

[0359] 在一些方面中,纳入配体药物偶联物中的抗体将特异性结合CD19、CD20、CD30、CD33、CD70、NTBA、 α -v- β -6、Liv-1或Lewis Y抗原。

[0360] 药物单元(D):

[0361] 药物单元(D)可来自具有羟基、巯基、胺或酰胺官能团的任何细胞毒性、细胞抑制或免疫抑制药物(在本文中还称为细胞毒性、细胞抑制或免疫抑制剂),其中该官能团的氧、硫或任选取代的氮杂原子能够纳入亚甲基氨基甲酸酯单元中且能够以游离药物的官能团的形式从亚甲基氨基甲酸酯单元释放。在一些方面中,该官能团提供在药物上的可用于与该连接物单元组分连接的唯一位点。所得药物-连接物部分为可从在由其配体单元所靶向

的位点处具有该部分的LDC释放活性游离药物以便发挥细胞毒性、细胞抑制或免疫抑制作用的药物-连接物部分。

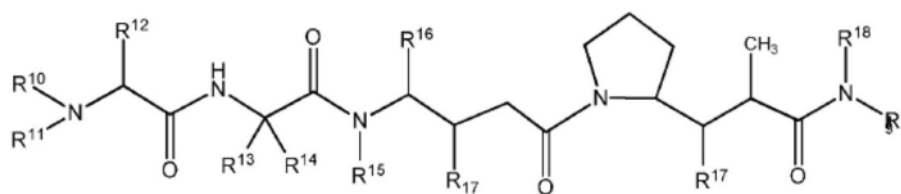
[0362] “游离药物”是指药物,因其在从药物-连接物部分释放后存在。游离药物与结合药物的不同之处在于,该药物的用于连接至自分解型组装单元的官能团不再与配体-药物偶联物的组分相关(除先前共享的杂原子的外)。举例而言,含醇药物的游离羟基官能团可表示为D-O*H,而在结合形式中,指定为O*的氧杂原子纳入自分解型组装单元的亚甲基氨基甲酸酯单元中。在自分解型部分的活化及游离药物的释放之后,至O*的共价键经氢原子置换以使得指定为O*的氧杂原子以-O-H形式存在于游离药物上。在另一示例中,O*来自含醇药物的前体的游离羟基官能团,该羟基官能团表示为D'-O*H。在来自该前体的O*纳入自分解型组装单元的亚甲基氨基甲酸酯单元中之后,自分解型组装单元中的D'-O*-该部分随后转化为D-O*-。

[0363] 具有羟基、硫氢基、胺或酰胺官能团或可经修饰以在不带来不可接受的生物活性损失的情况下具有所述官能团的适用于与亚甲基氨基甲酸酯单元连接的适用类别的细胞毒性或免疫抑制剂包括,例如,抗微管蛋白剂、DNA小沟结合剂、DNA复制抑制剂、烷基化剂、抗生素、抗叶酸剂、抗代谢物、化学疗法增感剂、拓扑异构酶抑制剂、长春花生物碱(vinca alkaloid)或其类似物。特别适用的类别的细胞毒性剂的示例包括例如DNA小沟结合剂、DNA烷基化剂及微管蛋白抑制剂。示例性细胞毒性剂包括例如奥瑞他汀、喜树碱(camptothecin)、倍癌霉素(duocarmycin)、依托泊苷(etoposide)、美登素(maytansine)及类美登素(maytansinoid)、紫杉烷(taxane)、苯并二氮平或含有苯并二氮平的药物(例如吡咯并[1,4]-苯并二氮平(PBD)、吲哚啉并苯并二氮平及噁唑啉并苯并二氮平)及长春花生物碱。

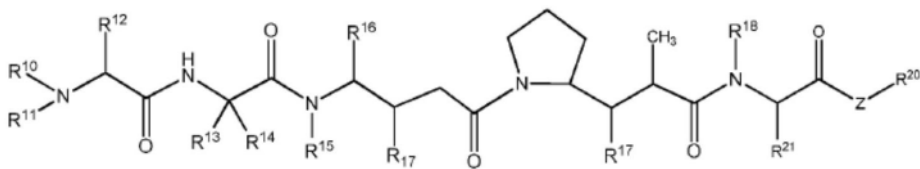
[0364] 在一些实施方式中,药物单元来自抗微管蛋白剂。抗微管蛋白剂的示例包括(但不限于)紫杉烷、长春花生物碱、美登素及类美登素、海兔毒素及奥瑞他汀。

[0365] 在某些实施方式中,细胞毒性剂来自美登素或类美登素。

[0366] 在一些实施方式中,药物单元来自奥瑞他汀,优选具有杂原子纳入MAC单元中的羟基官能团的那些奥瑞他汀。示例性优选奥瑞他汀包括具有以下结构之一的化合物:



[0367]



[0368] 其中R¹⁰及R¹¹独立地为氢或C₁-C₈烷基;R¹²为氢、C₁-C₈烷基、C₃-C₈环烷基、芳基、-X¹-芳基、-X¹-(C₃-C₈环烷基)、C₃-C₈杂环或-X¹-(C₃-C₈杂环);R¹³为氢、C₁-C₈烷基、C₃-C₈环烷基、芳基、-X¹-芳基、-X¹-(C₃-C₈环烷基)、C₃-C₈杂环及-X¹-(C₃-C₈杂环);R¹⁴为氢或甲基,或R¹³及R¹⁴与其所连接的碳一起构成C₃-C₈环烷基;R¹⁵为氢或C₁-C₈烷基;R¹⁶为氢、C₁-C₈烷基、C₃-C₈环

基、芳基、 $-X^1$ -芳基、 $-X^1$ -(C_3 - C_8 环烷基)、 C_3 - C_8 杂环及 $-X^1$ -(C_3 - C_8 杂环); R^{17} 独立地为氢、-OH、 C_1 - C_8 烷基、 C_3 - C_8 环烷基及 O -(C_1 - C_8 烷基); R^{18} 为氢或 C_1 - C_8 烷基; R^{19} 为 $-C(R^{19}A)_2-C(R^{19}A)_2$ -芳基、 $-C(R^{19}A)_2-C(R^{19}A)_2$ -(C_3 - C_8 杂环)或 $-C(R^{19}A)_2-C(R^{19}A)_2$ -(C_3 - C_8 环烷基),其中 $R^{19}A$ 各自独立地为氢、 C_1 - C_8 烷基、-OH或 $-O-C_1$ - C_8 烷基,其条件为至少一个 $R^{19}A$ 为-OH; R^{20} 为羟基烷基,包括 $-CH(CH_3)-OH$;Z为O、S、NH,且 X^1 为 C_1 - C_{10} 亚烷基。

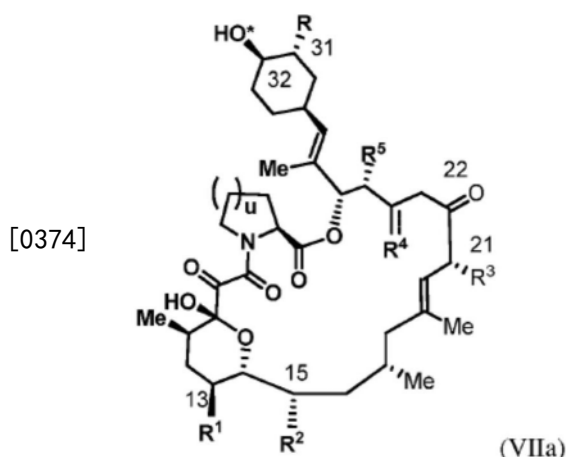
[0369] 具有氧杂原子能够纳入MAC单元中的羟基官能团的奥瑞他汀的合成及结构在美国专利申请公开案第2003-0083263号、第2005-0238649号、第2005-0009751号、第2009-0111756号及第2011-0020343号;国际专利公开案第W0 04/010957号、国际专利公开案第W0 02/088172号及美国专利第7,659,241号及第8,343,928号中描述;以上中的每个以全文引用的方式且出于所有目的纳入本文中。释放自本发明的LDC的示例性含醇奥瑞他汀结合微管蛋白,且由于该结合对所需细胞(即目标细胞)发挥细胞毒性或细胞抑制作用。

[0370] 具有杂原子纳入MAC单元中的羟基官能团的更优选奥瑞他汀为单甲基奥瑞他汀E及奥瑞他汀T。

[0371] 在一些实施方式中,药物单元来自苯并二氮平(包括含苯并二氮平药物(例如,吡咯并[1,4]苯并二氮平(PBD)、吲哚啉并苯并二氮平及噁唑啉并苯并二氮平),其具有或经修饰以具有适用于纳入药物单元中的羟基、胺、酰胺或巯基官能团,该药物单元通过该官能团的杂原子共价连接至亚甲基氨基甲酸酯单元。

[0372] 在其他方面中,药物单元为FKBP类的免疫亲和素(如Wiederrecht及EtzhoR^N“Immunophilins”Perspec. Drug Discov. Des. (1994)₂(1):57-84中所描述),在本文中称为FKBP免疫亲和素,其具有适用于纳入药物单元中的羟基官能团,该药物单元通过该官能团的氧杂原子共价连接至MAC单元。

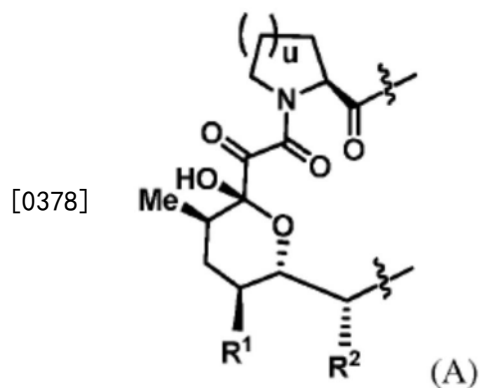
[0373] 在一组实施方式中,适用于纳入共价连接至MAC单元的药物单元中的免疫亲和素以游离药物形式与FKBP-12结合以抑制T细胞增殖所需的钙调神经磷酸酶的效应物功能。在一个实施方式中,能够纳入MAC单元中且以游离药物形式与FKBP-12结合以抑制钙调神经磷酸酶的效应物功能的FKBP免疫亲和素具有式VIIa的通式结构



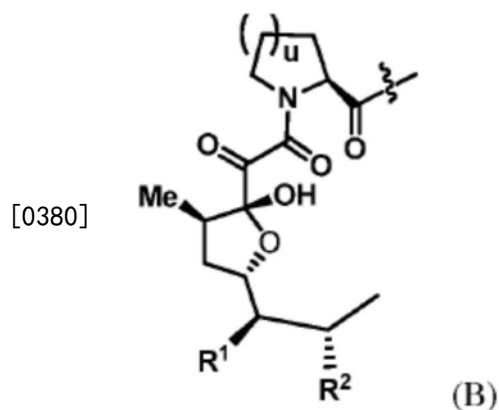
[0375] 其中u为0或1以定义脯胺酰基或哌啶甲酸部分,其中R、 R^1 及 R^2 独立地为-OH、任选取代的 C_1 - C_6 醚或任选取代的 C_1 - C_6 酯(优选地,R、 R^1 及 R^2 为-OMe); R^3 为任选取代的 C_1 - C_4 烷基(优选为甲基、乙基、 $-CH_2CH=CH_2$ 、 $-CH_2CH_2CH_2CH_3$); R^4 为氧基(即=O)或 α -构型或 β -构型中的-OH或 C_1 - C_6 酯(优选为=O或 α -OH);且 R^5 为氢或任选取代的 C_1 - C_4 烷基(优选为氢或甲基)。

[0376] 在式VIIa的优选实施方式中, u 为2, R 、 R^1 及 R^2 为-OMe, R^3 为乙基, R^4 为 α -OH, 且 R^5 为甲基; 或 u 为2, R 、 R^1 及 R^2 为-OMe, R^3 为甲基, R^4 为 α -OH, 且 R^5 为甲基; 或 u 为1, R 、 R^1 及 R^2 为-OMe, R^3 为-CH₂CH=CH₂, R^4 为 α -OH, 且 R^5 为甲基; 或 u 为2, R 、 R^1 及 R^2 为-OMe, R^3 为乙基, R^4 为 α -OH, 且 R^5 为氢; 或 u 为1, R 、 R^1 及 R^2 为-OMe, R^3 为乙基, R^4 为 α -OH, 且 R^5 为甲基; 或 u 为2, R 、 R^1 及 R^2 为-OMe, R^3 为-CH₂CH=CH₂, R^4 为 α -OH, 且 R^5 为甲基; 或 u 为2, R 为-OMe, R^1 为-OH, R^2 为甲基, R^3 为-CH₂CH=CH₂, R^4 为 α -OH, 且 R^5 为甲基。

[0377] 在其他实施方式中, 在式VIIa中的部分A

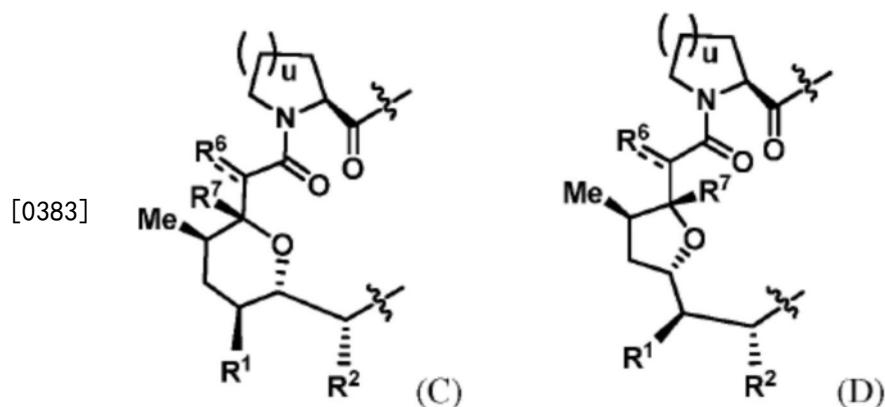


[0379] 经部分B置换



[0381] 为了定义式VIIb的FKBP免疫亲和素, 其中波浪线指示与巨环内酯的剩余部分的共价连接; u 、 R 、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 及 R^5 如对于式VIIa所定义。在式VIIb的优选实施方式中, u 为2, R 为-OMe; R^1 为-OH; R^2 为-OMe; R^3 为甲基、乙基或-CH₂CH=CH₂; R^4 为 α -OH; 且 R^5 为氢或甲基。

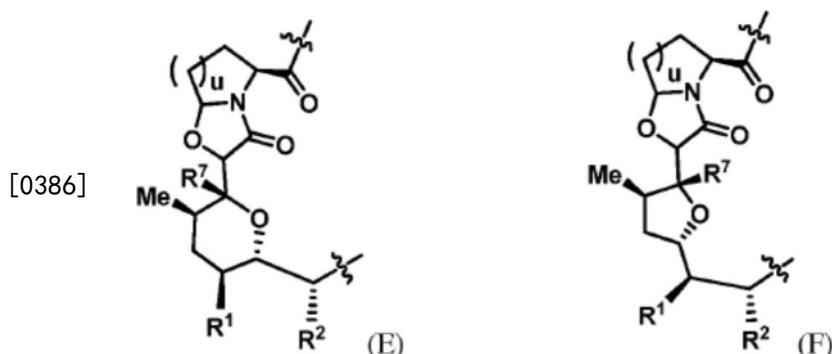
[0382] 在其他实施方式中, 式VIIa中的部分A经部分C或D置换



[0384] 为了分别定义式VIIc或式VIIId的FKBP免疫亲和素, 其中 R^6 为氢、氧基(即=O)、 α -

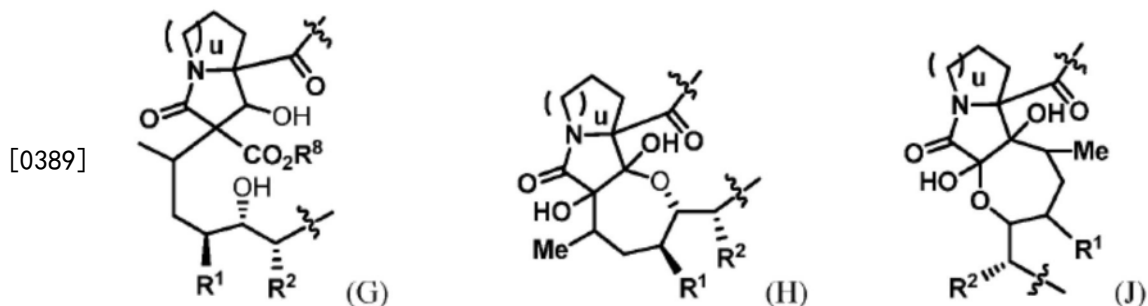
构型或 β -构型中的-OH、环氧化物(即-CH₂O-)、=N(R^{6'})或=C(R^{6'})₂, R⁷为-OH或-N(R^{6'})₂, 且u、R、R¹、R²、R³、R⁴及R⁵如对于式VIIa所定义, 其中在每次出现时, R^{6'}独立地选自氢及任选取代的C₁-C₄烷基。

[0385] 在其他实施方式中, 式VIIa中的部分A经部分E或F置换



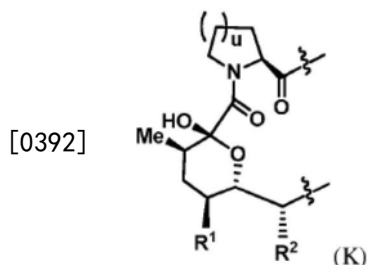
[0387] 以分别定义式VIIe或式VIIf的FKBP免疫亲和素, 其中u、R、R¹、R²、R³、R⁴及R⁵如在式VIIa中所定义且R⁷如在式VIc/Vid中所定义。在式VIIe中优选地, R、R¹及R²为-OMe, R³为甲基、乙基或-CH₂CH=CH₂, R⁴为 α -OH, R⁵为氢或甲基, 且R⁷为-OH; 且在式VIIf中优选地, u为2, R为-OMe, R¹为-OH, R²为-OMe, R³为甲基、乙基或-CH₂CH=CH₂, R⁴为 α -OH, R⁵为氢或甲基, 且R⁷为-OH。

[0388] 在其他实施方式中, 在式VIIa中的式A的部分经部分G、H或J置换



[0390] 为了分别定义式VIIg、式VIIh及式VIIj的FKBP免疫亲和素, 其中R¹、R²、R³、R⁴、R⁵及R⁶如在式VIIa中所定义; 且R⁸为氢或任选取代的C₁-C₆烷基。优选地在那些式中, u为2; R、R¹及R²为-OMe; R³为甲基、乙基或-CH₂CH=CH₂; R⁴为 α -OH; R⁵为氢或甲基; 且R⁸为甲基或乙基。

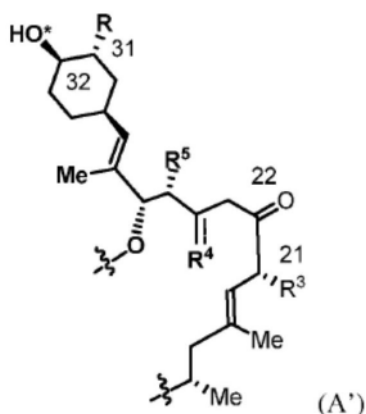
[0391] 在其他实施方式中, 式VIIa中的部分A经部分K置换



[0393] 为了定义式VIIk的FKBP免疫亲和素, 其中u、R、R¹、R²、R³、R⁴及R⁵如在式VIIa中所定义。

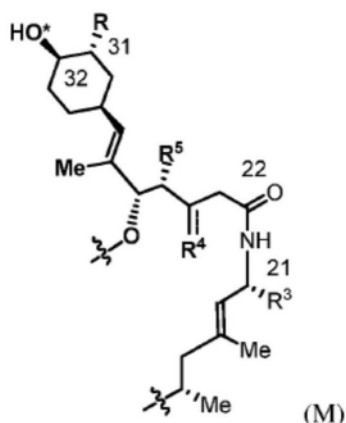
[0394] 在其他实施方式中, 式VIIa、式VIIb、式VIIc、式VIId、式VIIe、式VIIf、式VIIg、式VIIh、式VIIj或式VIIk中的部分A'

[0395]



[0396] 经部分M置换

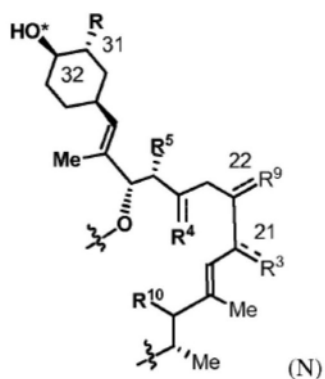
[0397]



[0398] 为了分别定义式VIIIm(i)、式VIIIm(ii)、式VIIIm(iii)、式VIIIm(iv)、式VIIIm(v)、式VIIIm(vi)、式VIIIm(vii)、式VIIIm(viii)、式VIIIm(ix)及式VIIIm(x)的FKBP免疫亲和素,其中所述可变基团如在其对应母体结构中所定义。优选部分M置换A'为对于定义式VIIIm(i)的FKBP免疫亲和素的式VIIa,其中R、R¹及R²为-OMe;R³为甲基、乙基或-CH₂CH=CH₂;R⁴为 α -OH;且R⁵为氢或甲基。

[0399] 在其他实施方式中,式VIIa、式VIIb、式VIIc、式VIId、式VIIe、式VIIIf、式VIIg、式VIIh、式VIIj或式VIIk中的部分A'经部分N置换

[0400]

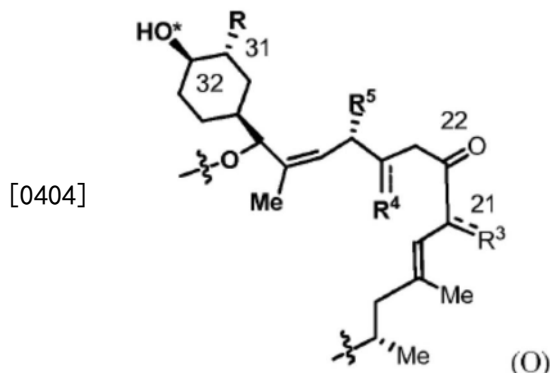


[0401] 为了定义式VIIIn(i)、式VIIIn(ii)、式VIIIn(iii)、式VIIIn(iv)、式VIIIn(v)、式VIIIn(vi)、式VIIIn(vii)、式VIIIn(viii)、式VIIIn(ix)及式VIIIn(x),其中R³为R^{3A}、R^{3B}(即C-21结合至R^{3A}及R^{3B}),其中 α -构型中的R^{3A}为任选取代的C₁-C₆烷基(优选为甲基、乙基、-CH₂CH=CH₂、-CH₂CH₂CH₂CH₃)且 β -构型中的R^{3B}为氢或-OH,或 α -构型中的R^{3A}为-OH且 β -构型中的R^{3B}为任选

取代的 C_1-C_6 烷基(优选为甲基、乙基、 $-CH_2CH=CH_2$ 、 $-CH_2CH_2CH_2CH_3$) ; R^9 为氧基或 α -构型或 β -构型中的-OH; 且 R^{10} 为氢或 α -构型或 β -构型中的氟基, 其条件为若 R^{3B} 为氢且 R^9 为氧基, 则 R^{10} 不为氢; 且剩余可变基团如在其对应母体结构中所定义。

[0402] 优选部分N置换A'为对于定义式VIIIn(i)的FKBP免疫亲和素的式VIa, 其中 R 、 R^1 及 R^2 为-OMe; R^{3A} 为甲基或乙基且 R^{3B} 为氢; R^4 为 α -OH; R^5 为氢或甲基; R^9 为氧基; 且 R^{10} 为 α -构型或 β -构型中的氟基或 R 、 R^1 及 R^2 为-OMe; R^{3A} 为甲基或乙基且 R^{3B} 为-OH或 R^{3A} 为-OH且 R^{3B} 为甲基或乙基; R^4 为 α -OH; R^5 为氢或甲基; R^9 为氧基; 且 R^{10} 为氢或 α -构型或 β -构型中的-OH。

[0403] 在其他实施方式中, 式VIIa、式VIIb、式VIIc、式VIId、式VIIe、式VIIf、式VIIg、式VIIh、式VIIj或式VIIk中的部分A'经部分O置换



[0405] 为了分别定义式VIIo(i)、式VIIo(ii)、式VIIo(iii)、式VIIo(iv)、式VIIo(v)、式VIIo(vi)、式VIIo(vii)、式VIIo(viii)、式VIIo(ix)及式VIIo(x)的FKBP免疫亲和素, 其中 R 、 R^3 、 R^4 及 R^5 如对于VIIIn-免疫亲和素所定义且剩余可变基团如在其对应母体结构中所定义。

[0406] 优选部分O置换A'为对于定义式VIIo(i)的FKBP免疫亲和素的式VIa, 其中 R 、 R^1 及 R^2 为-OMe; α -构型中的 R^{3A} 为任选取代的 C_1-C_6 烷基(优选为甲基、乙基、 $-CH_2CH=CH_2$ 、 $-CH_2CH_2CH_2CH_3$) ; β -构型中的 R^{3B} 为氢; R^4 为 α -OH; R^5 为氢或甲基。

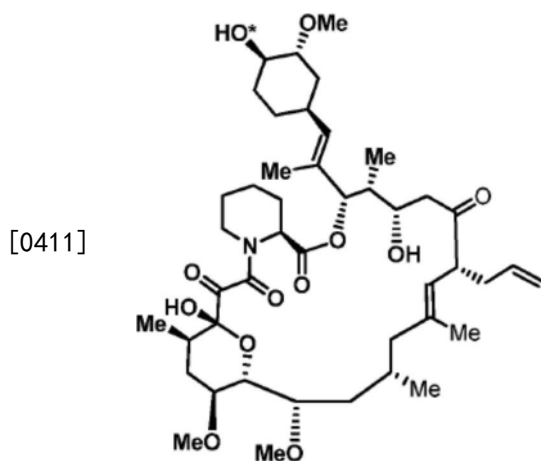
[0407] 在式VIIa的更优选实施方式中, u 为2, R 、 R^1 及 R^2 为-OMe, R^3 为 $-CH_2CH=CH_2$, R^4 为 α -OH, 且 R^5 为甲基; 或 u 为2, R 为-OMe, R^1 为-OH, R^2 为甲基, R^3 为 $-CH_2CH=CH_2$, R^4 为 α -OH, 且 R^5 为甲基。在式VIIb的更优选实施方式中, u 为2; R 为-OMe; R^1 为-OH; R^2 为甲基; R^3 为 $-CH_2CH=CH_2$; R^4 为 α -OH; 且 R^5 为甲基。在式VIIc的更优选实施方式中, u 为2; R 、 R^1 及 R^2 为-OMe; R^3 为 $-CH_2CH=CH_2$; R^4 为 α -OH; R^5 为甲基; R^6 为氢、 $=CH_2$ 或 α -构型或 β -构型中的-OH(优选为-OH); 且 R^7 为-OH。在式VIId的更优选实施方式中, u 为2; R 为-OMe; R^1 为-OH; R^2 为甲基; R^3 为 $-CH_2CH=CH_2$; R^4 为 α -OH; R^5 为甲基; R^6 为氢、 $=CH_2$ 或 α -构型或 β -构型中的-OH(优选为-OH); 且 R^7 为-OH。在式VIIe的更优选实施方式中, R 、 R^1 及 R^2 为-OMe; R^3 为 $-CH_2CH=CH_2$; R^4 为 α -OH; R^5 为甲基; 且 R^7 为-OH。在式VIIf的更优选实施方式中, u 为2; R 为-OMe; R^1 为-OH; R^2 为-OMe; R^3 为 $-CH_2CH=CH_2$; R^4 为 α -OH; R^5 为甲基; 且 R^7 为-OH。

[0408] 在VIIg、VIIh或VIIj的更优选实施方式中, R 、 R^1 及 R^2 为-OMe; R^3 为 $-CH_2CH=CH_2$; R^4 为 α -OH; R^5 为甲基; 且 R^8 为甲基。在式VIIk或式VIIm(i)的更优选实施方式中, u 为2; R 、 R^1 及 R^2 为-OMe; R^3 为 $-CH_2CH=CH_2$; R^4 为 α -OH。在式VIIIn(i)的更优选实施方式中, R 、 R^1 及 R^2 为-OMe; R^3 为乙基; R^4 为 α -OH; R^5 为甲基; R^9 为氧基; 且 R^{10} 为 α -构型或 β -构型中的-OH。在式VIIIn(i)的更优选实施方式中, R 、 R^1 及 R^2 为-OMe; α -构型中的 R^{3A} 为 $-CH_2CH=CH_2$ 、 $-CH_2CH_2CH_2CH_3$; β -构型中

的 R^{3B} 为氢; R^4 为 α -OH;且 R^5 为甲基。

[0409] 在其他更优选实施方式中,式I、式I'、式Ia、式Ia'、式II、式II'、式IIIa(i)、式IIIa(ii)、式IIIb(i)、式IIIb(ii)、式IIIc(i)、式IIIc(ii)、式Va、式Vb、式Vc、式Va'、式Vb'、式Vc'、式VIa、式VIb、式VIc、式VIa'、式VIb'、式VIc'、式VIa(i)、式VIa(ii)、式VIb(i)、式VIb(ii)、式VIc(i)、式VIc(ii)、式VIa(i)',式VIa(ii)',式VIb(i)',式VIb(ii)',式VIc(i)'及式VIc(ii)'中的任一种中的药物单元是来自式VIIa、式VIIb、式VIIc、式VIId、式VIIe、式VIIf、式VIIg、式VIIh、式VIIj、式VIIm(i)、式VIIm(ii)、式VIIm(iii)、式VIIm(iv)、式VIIm(v)、式VIIm(vi)、式VIIm(vii)、式VIIm(viii)、式VIIm(ix)、式VIIm(x)、式VIIIn(i)、式VIIIn(ii)、式VIIIn(iii)、式VIIIn(iv)、式VIIIn(v)、式VIIIn(vi)、式VIIIn(vii)、式VIIIn(viii)、式VIIIn(ix)、式VIIIn(x)、式VIIIo(i)、式VIIIo(ii)、式VIIIo(iii)、式VIIIo(iv)、式VIIIo(v)、式VIIIo(vi)、式VIIIo(vii)、式VIIIo(viii)、式VIIIo(ix)及式VIIIo(x)的FKBP免疫亲和素,其中来自该FKBP免疫亲和素中的任一种中的位置C-32处的羟基官能团的氧杂原子由式I、式I'、式Ia、式Ia'、式II、式II'、式IIIa(i)、式IIIa(ii)、式IIIb(i)、式IIIb(ii)、式IIIc(i)、式IIIc(ii)、式Va、式Vb、式Vc、式Va'、式Vb'、式Vc'、式VIa、式VIb、式VIc、式VIa'、式VIb'、式VIc'、式VIa(i)、式VIa(ii)、式VIb(i)、式VIb(ii)、式VIc(i)、式VIc(ii)、式VIa(i)',式VIa(ii)',式VIb(i)',式VIb(ii)',式VIc(i)'及式VIc(ii)'中的O*或T*表示。

[0410] 在特别优选的实施方式中,式I、式I'、式Ia、式Ia'、式II、式II'、式IIIa(i)、式IIIa(ii)、式IIIb(i)、式IIIb(ii)、式IIIc(i)、式IIIc(ii)、式Va、式Vb、式Vc、式Va'、式Vb'、式Vc'、式VIa、式VIb、式VIc、式VIa'、式VIb'、式VIc'、式VIa(i)、式VIa(ii)、式VIb(i)、式VIb(ii)、式VIc(i)、式VIc(ii)、式VIa(i)',式VIa(ii)',式VIb(i)',式VIb(ii)',式VIc(i)'及式VIc(ii)'中的任一种中的药物单元是来自FKBP免疫亲和素他克莫司(FK-506),其结构如下:

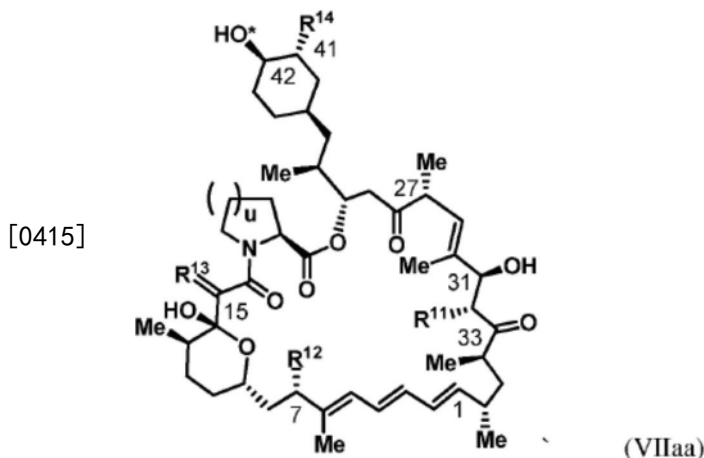


[0412] 其中,所述的O*为纳入该式中的任一种中的亚甲基氨基甲酸酯单元中的O*或T*杂原子,或来自另一具有羟基官能团(其氧杂原子能够纳入MAC单元中)的钙调神经磷酸酶效应物功能的巨环内酯抑制剂,或来自另一具有羟基官能团(其氧杂原子能够纳入MAC单元中)的钙调神经磷酸酶效应物功能的巨环内酯抑制剂。纳入MAC单元中的羟基官能团杂原子通过O*指示为他克莫司。

[0413] 在另一组实施方式中,适用于纳入药物单元与MAC单元的共价连接中的免疫亲和素以游离药物形式与FKBP-12结合以抑制增加的蛋白质合成以支持癌细胞增殖及存活所需

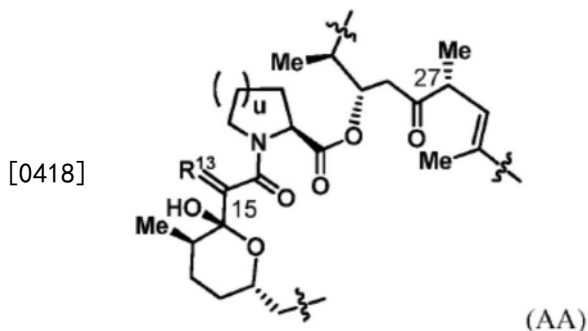
的雷帕霉素(rapamycin) (mTOR) 的哺乳动物目标的效应物功能。

[0414] 在一个实施方式中,能够纳入MAC单元中且以游离药物形式与FKBP-12结合以抑制mTOR的效应物功能的FKBP免疫亲和素具有式VIIaa的通式结构

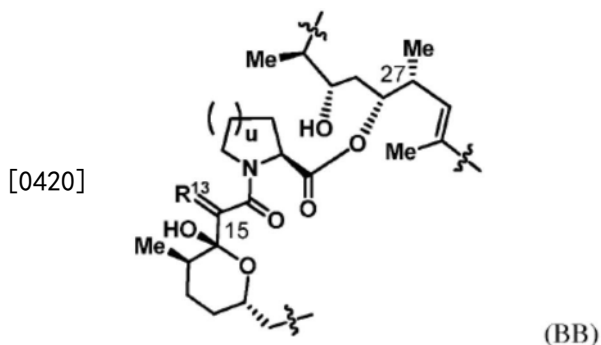


[0416] 其中u为1或2以定义脯胺酰基或哌啶甲酸部分; R^{14} 及 R^{12} 独立地为-OH、任选取代的 C_1 - C_6 醚或任选取代的 C_1 - C_6 酯(优选为-OH或任选取代的 C_1 - C_6 醚;更优选为-OH或-OCH₃); R^{11} 为氢、-OH、任选取代的 C_1 - C_6 醚或任选取代的 C_1 - C_6 酯(优选为氢、-OH或任选取代的 C_1 - C_6 醚;更优选为氢、-OH或-OCH₃);且 R^{13} 为0(即,在C15处定义=0)或CH₂(即在C15处定义=CH₂)。

[0417] 在其他实施方式中,式VIIaa中的部分AA



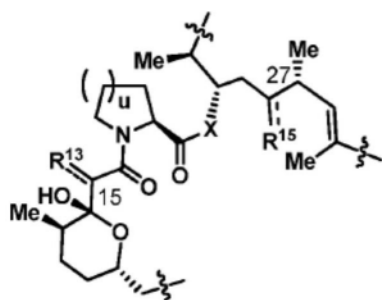
[0419] 经式BB的部分置换



[0421] 为了定义式VIIbb的FKBP免疫亲和素,其中u、R、 R^{11} 、 R^{12} 及 R^{13} 如对于式VIIaa所定义。在式VIIaa的优选实施方式中,u为2;R及 R^{12} 独立地为-OH或任选取代的 C_1 - C_6 醚(更优选为-OH或-OCH₃); R^{11} 为氢、-OH或任选取代的 C_1 - C_6 醚(更优选为氢、-OH或-OCH₃);且 R^{13} 为0(即在C-15处定义=0)或CH₂(即在C-15处定义=CH₂)(更优选地, R^{13} 为0)。

[0422] 在其他实施方式中,部分AA是通过式CC的部分置换

[0423]

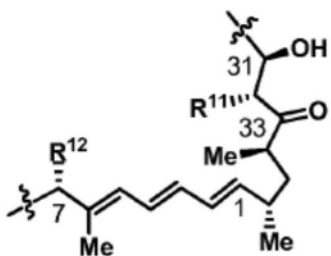


(CC)

[0424] 为了定义式VIIcc的FKBP免疫亲和素,其中u为1或2;X为O或 $-OCH_2CH_2S-$; R^{13} 为O、 NOR^{13} (即在C15处定义脞) 或 $NHNHR^{13}$ (即在C15处定义脞), 其中 R^{13} 独立地选自氢及任取代的 C_1-C_4 烷基; R^{13} 为 R^{13A} 、 R^{13B} (即, C-15结合至 R^{13A} 及 R^{13B}), 其中 α -构型中的 R^{13A} 为氢且 β -构型中的 R^{13B} 为-OH, 或 α -构型中的 R^{13A} 为-OH且 β -构型中的 R^{13B} 为氢; R^{15} 为O或 R^{15} 为 R^{15A} 、 R^{15B} (即, C-15结合至 R^{15A} 及 R^{15B}), 其中 α -构型中的 R^{15A} 为氢且 β -构型中的 R^{15B} 为-OH, 或 α -构型中的 R^{15A} 为-OH且 β -构型中的 R^{15B} 为氢。

[0425] 在其他实施方式中, 式VIIaa、式VIIbb或式VIIcc中的部分AA'

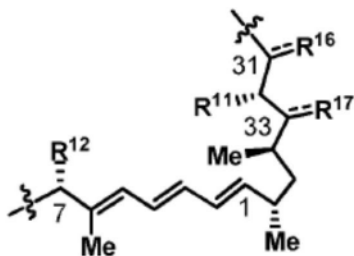
[0426]



(AA')

[0427] 是通过式DD的部分置换

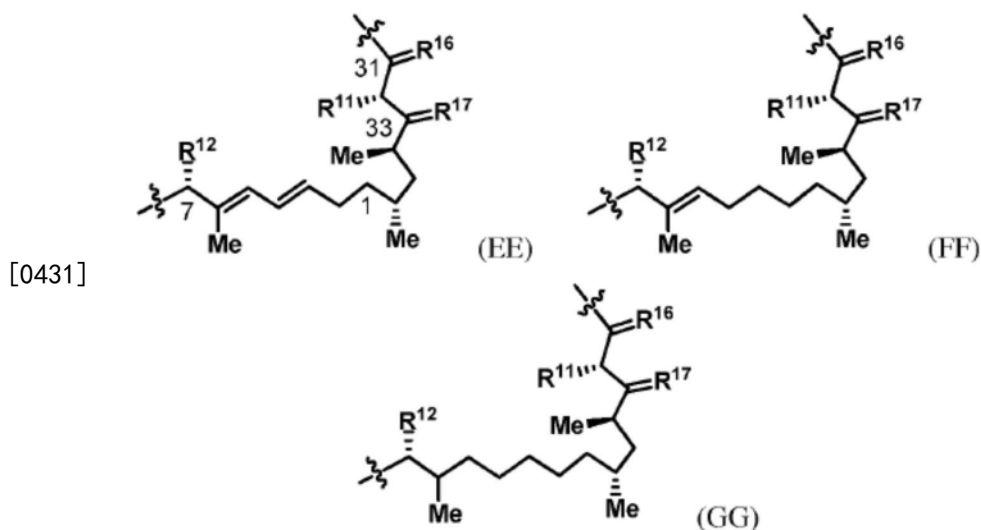
[0428]



(DD)

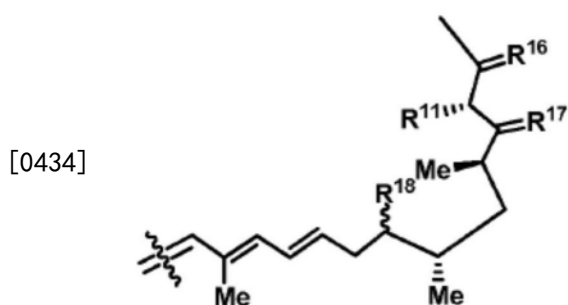
[0429] 为了分别定义式VIIdd (i)、式VIIdd (ii) 及式VIIdd (iii) 的FKBP免疫亲和素, 其中 R^{11} 及 R^{12} 如在式VIIaa中所定义, R^{16} 为O (即在C-31处定义=O) 或 R^{16} 为 R^{16A} 、 R^{16B} (即, C-31结合至 R^{16A} 及 R^{16B}), 其中 α -构型中的 R^{16A} 为氢且 β -构型中的 R^{16B} 为-OH或 α -构型中的 R^{16A} 为-OH且 β -构型中的 R^{16B} 为氢; R^{17} 为O (即在C-33处定义=O) 或 R^{17} 为 R^{17A} 、 R^{17B} (即, C-33结合至 R^{17A} 及 R^{17B}), 其中 α -构型中的 R^{17A} 为氢且 β -构型中的 R^{17B} 为-OH、任取代的 C_1-C_6 醚 (优选为 $-OR^{17B}$) 或任取代的O-连接氨基甲酸酯 (优选为 $-O(C=O)NHR^{17B}$), 或 α -构型中的 R^{17A} 为-OH、任取代的 C_1-C_6 醚 (优选为 $-OR^{17A}$) 或任取代的O-连接氨基甲酸酯 (优选为 $-O(C=O)NHR^{17B}$), 且 β -构型中的 R^{17B} 为氢, 其中 R^{17A} 及 R^{17B} 独立地为氢或 C_1-C_4 烷基 (优选为氢、甲基或乙基), 或 R^{16} 及 R^{17} 为N (在C-31及C-32处定义=N) 且连同其所连接的C-32及C-32碳定义吡唑杂环基; 且剩余可变基团如在其对应母体结构中所定义。

[0430] 在其他实施方式中, 式VIIaa、式VIIbb或式VIIcc中的部分AA'经式EE、式FF或式GG的部分置换



[0432] 为了由式EE分别定义式VIIee(i)、式VIIee(ii)及式VIIee(iii)的FKBP免疫亲和素,由式FF分别定义式VIIff(i)、式VIIff(ii)及式VIIff(iii)的FKBP免疫亲和素或由式GG定义式VIIff(i)、式VIIff(ii)及式VIIff(iii)的FKBP免疫亲和素,其中 R^{11} 及 R^{12} 如在式VIIaa中所定义; R^{16} 及 R^{17} 如在式DD中所定义且剩余可变基团如由其各自母体结构所定义。

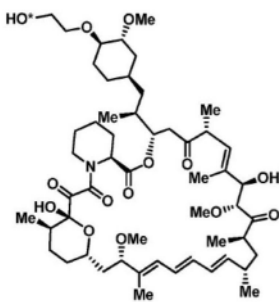
[0433] 在其他实施方式中,式VIIaa、式VIIbb或式VIIcc中的部分AA'经式HH或式JJ的部分置换



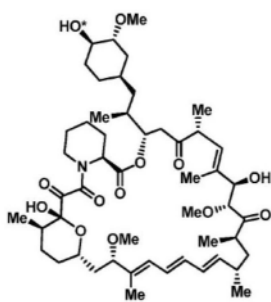
[0435] 为了由式HH分别定义式VIIhh(i)、式VIIhh(ii)及式VIIhh(iii)的FKBP免疫亲和素,或由式JJ分别定义式VIIjj(i)、式VIIff(ii)及式VIIff(iii)的FKBP免疫亲和素。

[0436] 在特别优选的实施方式中,式I、式I'、式Ia、式Ia'、式II、式II'、式IIIa(i)、式IIIa(ii)、式IIIb(i)、式IIIb(ii)、式IIIc(i)、式IIIc(ii)、式Va、式Vb、式Vc、式Va'、式Vb'、式Vc'、式VIa、式VIb、式VIc、式VIa'、式VIb'、式VIc'、式VIa(i)、式VIa(ii)、式VIb(i)、式VIb(ii)、式VIc(i)、式VIc(ii)、式VIa(i)',式VIa(ii)',式VIb(i)',式VIb(ii)',式VIc(i)'及式VIc(ii)中的任一种中的药物单元是来自FKBP免疫亲和素、依维莫司、西罗莫司(雷帕霉素)或其他具有羟基官能团(其氧杂原子能够纳入MAC单元中)的雷帕霉素(mTOR)的哺乳动物目标的巨环内酯抑制剂。纳入MAC单元中的羟基官能团杂原子由O*指示为具有以下结构的他克莫司、依维莫司及西罗莫司。

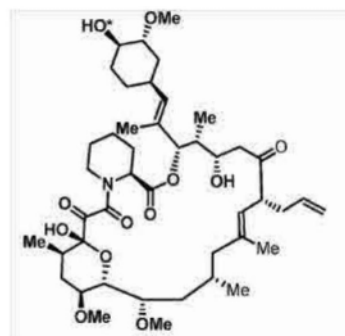
[0437]



依维莫司



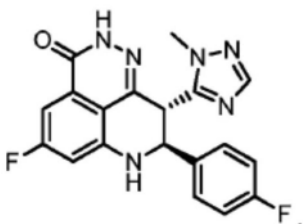
西罗莫司 (雷柏霉素)



他克莫司 (FK-506)

[0438] 在其他实施方式中,ADC或药物-连接物化合物的药物单元表示含四氢喹啉药物,其通过其胺官能团(即其苯胺氨基)纳入亚甲基氨基甲酸酯单元中。在本文所述的式I、式Ia、式II、式IIIa(i)、式IIIa(ii)、式IIIb(i)、式IIIb(ii)、式IIIc(i)、式IIIc(ii)、式Va、式Vb、式Vc、式VIa、式VIb、式VIc、式VIa(i)、式VIa(ii)、式VIb(i)、式VIb(ii)、式VIc(i)或式VIc(ii)的实施方式中的任一种中,T*表示对应于含四氢喹啉游离药物的环胺(即苯胺)氮且因此由T*涵盖为任选取代的氮。在实施方式中,具有由四氢喹啉部分(其具有能够纳入亚甲基氨基甲酸酯单元中的苯胺氮)构成的结构的PARP抑制剂是优选的。在一个此类实施方式中,PARP抑制剂具有以下结构:

[0439]



[0440] 在一些方面中,药物单元为含醇药物,其中该醇的羟基官能团通过该官能团的氧原子纳入自分解型组装单元的亚甲基氨基甲酸酯单元中。在一些所述方面中,药物的醇为脂族醇(例如,伯醇、仲醇或叔醇)。在其他所述方面中,药物为芳族醇。在其他实施方式中,药物包含胺(例如,一级或二级脂族或芳族胺)官能团,其通过该胺的任选取代的氮杂原子变为纳入自分解型组装单元的亚甲基氨基甲酸酯单元中。在其他实施方式中,药物为含巯基药物,且纳入自分解型组装单元的亚甲基氨基甲酸酯单元中是通过该含巯基药物的巯基官能团的硫原子。在其他方面中,药物包含酰胺官能团,且在自分解型组装单元的亚甲基氨基甲酸酯单元中的纳入是通过该酰胺(例如甲酰胺)的任选取代的氮杂原子进行。

[0441] 存在多种可用于确定配体-药物偶联物是否对细胞株发挥细胞抑制或细胞毒性作用的不同分析。在一个用于确定配体-药物偶联物是否对细胞株发挥细胞抑制或细胞毒性作用的示例中,使用胸苷纳入分析。举例而言,细胞在96孔培养板的每孔5,000个细胞的密度下培养72小时时间段,且在72小时时间段最后8小时期间暴露于 $0.5\mu\text{Ci}^3\text{H}$ -胸苷,且在存在及不存在配体-药物偶联物的情况下测量培养物的细胞中的 ^3H -胸苷纳入。若培养物的细胞与在相同条件下培养但不与配体-药物偶联物接触的同细胞株的细胞相比具有降低的 ^3H -胸苷纳入,则配体-药物偶联物对细胞株具有细胞抑制或细胞毒性作用。

[0442] 在另一示例中,为确定配体-药物偶联物是否对细胞株发挥细胞抑制或细胞毒性作用,通过测定细胞中染料(例如中性红、锥虫蓝或ALAMARTM蓝)的吸收来测量细胞生存力

(参见例如,Page等人,1993,Intl.J.of Oncology 3:473-476)。在该分析中,在含有染料的培养基中孵育细胞,洗涤细胞,且以分光光度法测量剩余染料,其反映细胞对染料的吸收。还可使用蛋白质结合染料磺酰罗丹明B(sulforhodamineB,SRB)来测量细胞毒性(Skehan等人,1990,J.Nat'l Cancer Inst.82:1107-12)。优选配体-药物偶联物包括对细胞株具有低于1000ng/ml、优选低于500ng/ml、更优选低于100ng/ml、甚至最佳低于50或甚至低于10ng/ml的 IC_{50} 值(其定义为杀死50%细胞的mAb浓度)的那些配体-药物偶联物。

[0443] 用于将药物连接至连接物部分以提供连接物药物化合物及将所述化合物结合至配体部分以提供连接物药物偶联物的通用程序本领域中已知且可与本文所描述的方法组合使用。参见例如,美国专利第8,163,888号、第7,659,241号、第7,498,298号,美国公开案第US20110256157号及国际申请案第W02011023883号及第W02005112919号。

[0444] 延伸体单元(Z)或(Z')

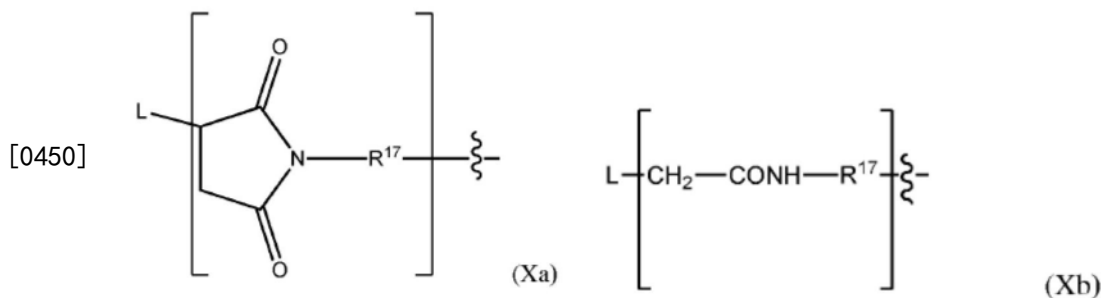
[0445] 延伸体单元(Z)为LDC或药物-连接物化合物或其他中间物的用以将配体单元连接至自分解型组装单元的组分。在该方面中,在连接至配体单元之前的延伸体单元(即延伸体单元前体Z')具有可与靶向配体的官能团形成键的官能团。在连接物单元内存在分支的方面中,与自分解型组装单元的连接是通过分支单元B(任选由介入连接物单元A)。在需要提供自分解型组装单元与延伸体单元之间的较大距离的方面中,视存在或不存在B而定,自分解型组装单元与B或Z的连接可通过连接物单元(A)进行。

[0446] 在一些方面中,延伸体单元前体(Z')具有亲电子基团,其能够与存在于配体单元(例如抗体)上的反应性亲核基团相互作用以提供配体单元与连接物单元的延伸体单元之间的共价键。具有该能力的抗体上的亲核基团包括(但不限于)巯氢基、羟基及氨基官能团。抗体的亲核基团的杂原子对延伸体单元前体上的亲电子基团具反应性且提供配体单元与连接物单元或药物-连接物部分的延伸体单元之间的共价键。用于该目的的适用的亲电子基团包括(但不限于)顺丁烯二酰亚胺、卤乙酰氨基基团及NHS酯。亲电子基团提供用于抗体连接的合宜位点以形成LDC或配体-连接物中间物。

[0447] 在另一实施方式中,延伸体单元前体具有反应性位点,其具有对存在于配体单元(例如抗体)上的亲电子基团具反应性的亲核基团。抗体上的用于该目的的适用的亲电子基团包括(但不限于)醛及酮羰基基团。延伸体单元前体的亲核基团的杂原子可与抗体上的亲电子基团反应且形成至抗体的共价键。延伸体单元前体上的用于该目的的适用的亲核基团包括(但不限于)酰肼、羟胺、氨基、肼、缩氨基硫脲(thiosemicarbazone)、肼羧酸根及芳基酰肼。抗体上的亲电子基团提供用于抗体连接的合宜位点以形成LDC或配体-连接物中间物。

[0448] 在一些实施方式中,配体单元的硫原子结合至延伸体单元的丁二酰亚胺环系统,该丁二酰亚胺环系统是通过靶向配体的巯基官能团与对应延伸体单元前体的顺丁烯二酰亚胺部分的反应形成。在其他实施方式中,配体单元的巯基官能团与 α 卤乙酰胺部分反应以通过其卤素取代基的亲核位移提供硫结合延伸体单元。

[0449] 实施方式的代表性延伸体单元包括在以下式Xa及式Xb的方括号内的那些延伸体单元:



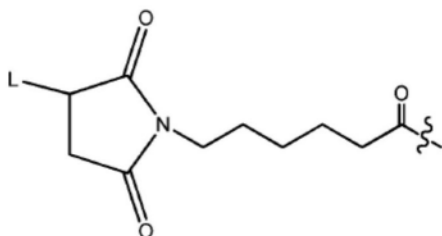
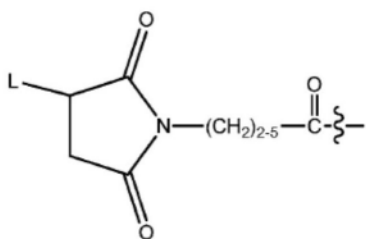
[0451] 其中若B不存在,则波浪线指示与分支单元(B)或连接物单元(A)的连接,或若A和B不存在,则波浪线指示自分解型组装单元(X),且 R^{17} 为 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-、 $-C_1-C_{10}$ 杂亚烷基-、 $-C_3-C_8$ 碳环基-、 $-O-(C_1-C_8)$ 烷基-、 $-$ 亚芳基-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-亚芳基-、 $-$ 亚芳基- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- (C_3-C_8) 碳环基-、 $-(C_3-C_8)$ 碳环基- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-、 $-C_3-C_8$ 杂环基-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- (C_3-C_8) 杂环基-、 $-(C_3-C_8)$ 杂环基- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $C(=O)-$ 、 $-C_1-C_{10}$ 杂亚烷基- $C(=O)-$ 、 $-C_3-C_8$ 碳环基- $C(=O)-$ 、 $-O-(C_1-C_8)$ 烷基- $C(=O)-$ 、 $-$ 亚芳基- $C(=O)-$ 、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-亚芳基- $C(=O)-$ 、 $-$ 亚芳基- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $C(=O)-$ 、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- (C_3-C_8) 碳环基- $C(=O)-$ 、 $-(C_3-C_8)$ 碳环基- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $C(=O)-$ 、 $-C_3-C_8$ 杂环基- $C(=O)-$ 、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- (C_3-C_8) 杂环基- $C(=O)-$ 、 $-(C_3-C_8)$ 杂环基- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $C(=O)-$ 、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-NH-、 $-C_1-C_{10}$ 杂亚烷基-NH-、 $-C_3-C_8$ 碳环基-NH-、 $-O-(C_1-C_8)$ 烷基-NH-、 $-$ 亚芳基-NH-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-亚芳基-NH-、 $-$ 亚芳基- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-NH-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- (C_3-C_8) 碳环基-NH-、 $-(C_3-C_8)$ 碳环基- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-NH-、 $-C_3-C_8$ 杂环基-NH-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- (C_3-C_8) 杂环基-NH-、 $-(C_3-C_8)$ 杂环基- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-NH-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-S-、 $-C_1-C_{10}$ 杂亚烷基-S-、 $-C_3-C_8$ 碳环基-S-、 $-O-(C_1-C_8)$ 烷基-S-、 $-$ 亚芳基-S-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-亚芳基-S-、 $-$ 亚芳基- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-S-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- (C_3-C_8) 碳环基-S-、 $-(C_3-C_8)$ 碳环基- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-S-、 $-C_3-C_8$ 杂环基-S-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- (C_3-C_8) 杂环基-S-或 $-(C_3-C_8)$ 杂环基- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-S-。

[0452] 在一些方面中,式Xa的 R^{17} 基团任选被碱性单元(BU)取代,该碱性单元例如氨基烷基部分,例如 $-(CH_2)_xNH_2$ 、 $-(CH_2)_xNHR^a$ 及 $-(CH_2)_xNR^a_2$,其中x为1至4的整数且 R^a 各自独立地选自 C_{1-6} 烷基及 C_{1-6} 卤代烷基,或两个 R^a 基团与其所连接的氮组合以形成氮杂环丁基、吡咯烷基或哌啶基。

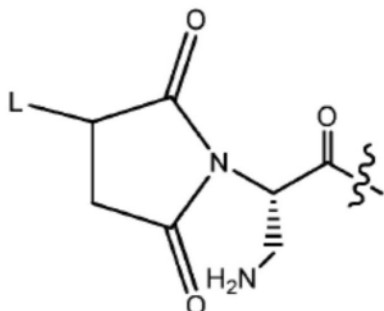
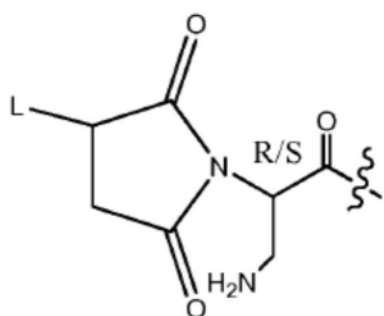
[0453] 示例性延伸体单元为式Xa或式Xb的延伸体单元,其中 R^{17} 为 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $C(=O)-$ 、 $-C_1-C_{10}$ 杂亚烷基- $C(=O)-$ 、 $-C_3-C_8$ 碳环基- $C(=O)-$ 、 $-O-(C_1-C_8)$ 烷基- $C(=O)-$ 、 $-$ 亚芳基- $C(=O)-$ 、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-亚芳基- $C(=O)-$ 、 $-$ 亚芳基- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $C(=O)-$ 、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- (C_3-C_8) 碳环基- $C(=O)-$ 、 $-(C_3-C_8)$ 碳环基- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $C(=O)-$ 、 $-C_3-C_8$ 杂环基- $C(=O)-$ 、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- (C_3-C_8) 杂环基- $C(=O)-$ 或 $-(C_3-C_8)$ 杂环基- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $C(=O)-$ 。

[0454] 另一示例性延伸体单元为式Xa的该延伸体单元,其中 R^{17} 为 $-C_2-C_5$ 亚烷基- $C(=O)-$,其中亚烷基任选碱性单元(BU)取代,该碱性单元例如任选取代的氨基烷基,例如 $-(CH_2)_xNH_2$ 、 $-(CH_2)_xNHR^{op}$ 及 $-(CH_2)_xN(R^{op})_2$,其中x为1至4的整数且 R^{op} 各自独立地选自 C_{1-6} 烷基及 C_{1-6} 卤代烷基,或两个 R^{op} 基团与其所连接的氮组合以形成氮杂环丁基、吡咯烷基或哌啶基。在合成期间,碱性单元的碱性氨基官能团可受保护基保护。

[0455] 与配体单元结合的延伸体单元的示例性实施方式如下:

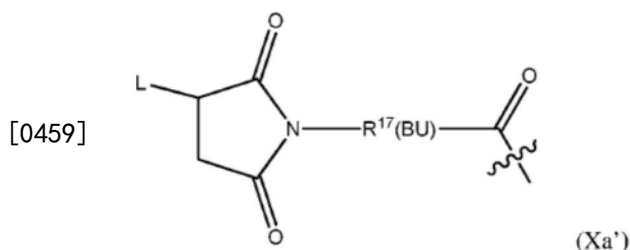


[0456]



[0457] 其中,邻接羰基的波浪线指示与式II、式IIa、式IIb、式II'、式IIa'或式IIb'中的自分解型组装单元的B、A或X的连接,或与式III(i)、式IIa(i)、式IIb(i)、式III(i)、式IIIa(i)'或式IIIb(i)'的B、A或W的连接,或与式III(ii)、式IIa(ii)、式IIb(ii)、式III(ii)'、式IIIa(ii)'或式IIIb(ii)'的B、A或Y的连接,视存在或不存在A和/或B而定。

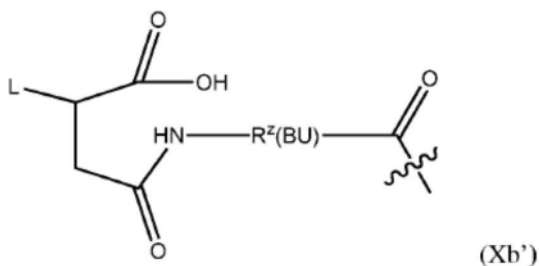
[0458] 在一些优选实施方式中,延伸体单元(Z)由丁二酰亚胺部分构成,该丁二酰亚胺部分在结合至L时由式Xa'的结构表示:



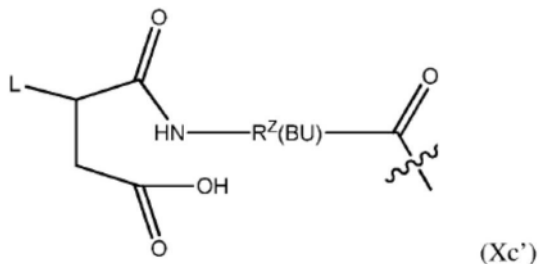
[0460] 其中邻接结合至R¹⁷的羰基的波浪线指示与式II、式IIa、式IIb、式II'、式IIa'或式IIb'中的自分解型组装单元的B、A或X的连接,或与式III(i)、式IIa(i)、式IIb(i)、式III

(i)、式IIIa(i)'或式IIIb(i)'的B、A或W的连接,或与式III(ii)、式IIa(ii)、式IIb(ii)、式III(ii)'、式IIIa(ii)'或式IIIb(ii)'的B、A或Y的连接,视存在或不存在A和/或B而定, R^{17} 为 $-C_2-C_5$ 亚烷基- $C(=O)-$,其中亚烷基经碱性单元(BU)取代,其中BU为 $-(CH_2)_xNH_2$ 、 $-(CH_2)_xNHR^{op}$ 或 $-(CH_2)_xN(R^{op})_2$,其中x为1至4的整数且 R^a 各自独立地选自 C_{1-6} 烷基及 C_{1-6} 卤代烷基,或 R^{op} 连同其所连接的氮限定氮杂环丁基、吡咯烷基或哌啶基。

[0461] 应理解,配体取代丁二酰亚胺可以一种或多种水解形式存在。以下例示那些形式用于结合至L的Xa'的水解,其中表示来自该水解的区位异构体的结构为式Xb'及式Xc'。因此,在其他优选实施方式中,延伸体单元(Z)由酸性-酰胺部分构成,该部分在结合至L时由以下表示:



[0462]

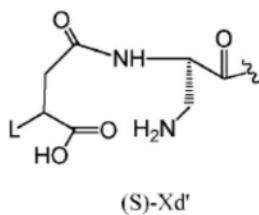
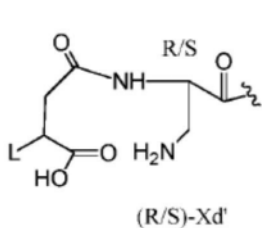


[0463] 邻接结合至 R^{17} 的羰基的波浪线如对于Xa'所定义,视存在或不存在A和/或B而定;且

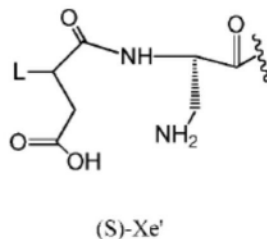
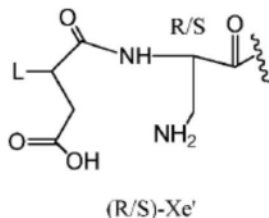
[0464] R^Z 为 $-C_2-C_5$ 亚烷基- $C(=O)-$,其中亚烷基经碱性单元(BU)取代,

[0465] 其中BU为 $-(CH_2)_xNH_2$ 、 $-(CH_2)_xNHR^{op}$ 或 $-(CH_2)_xN(R^{op})_2$,其中x为1至4的整数且 R^{op} 各自独立地选自 C_{1-6} 烷基及 C_{1-6} 卤代烷基,或 R^{op} 连同其所连接的氮两者确定氮杂环丁基、吡咯烷基或哌啶基。

[0466] 在一些实施方式中,延伸体单元(Z)由酸性-酰胺部分构成,该部分在结合至L时由式Xd'或式Xe'的结构表示:



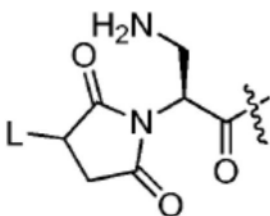
[0467]



[0468] 其中邻接羰基的波浪线如对于Xa'所定义。

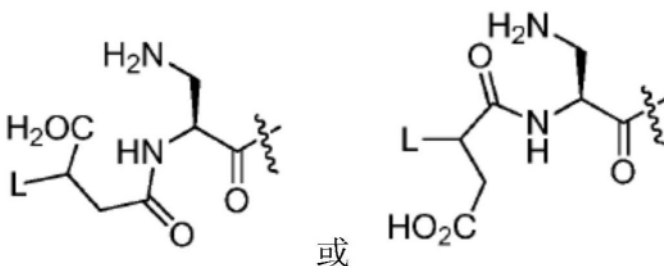
[0469] 在优选实施方式中,延伸体单元(Z)包含丁二酰亚胺部分,该部分在结合至L时由以下的结构表示:

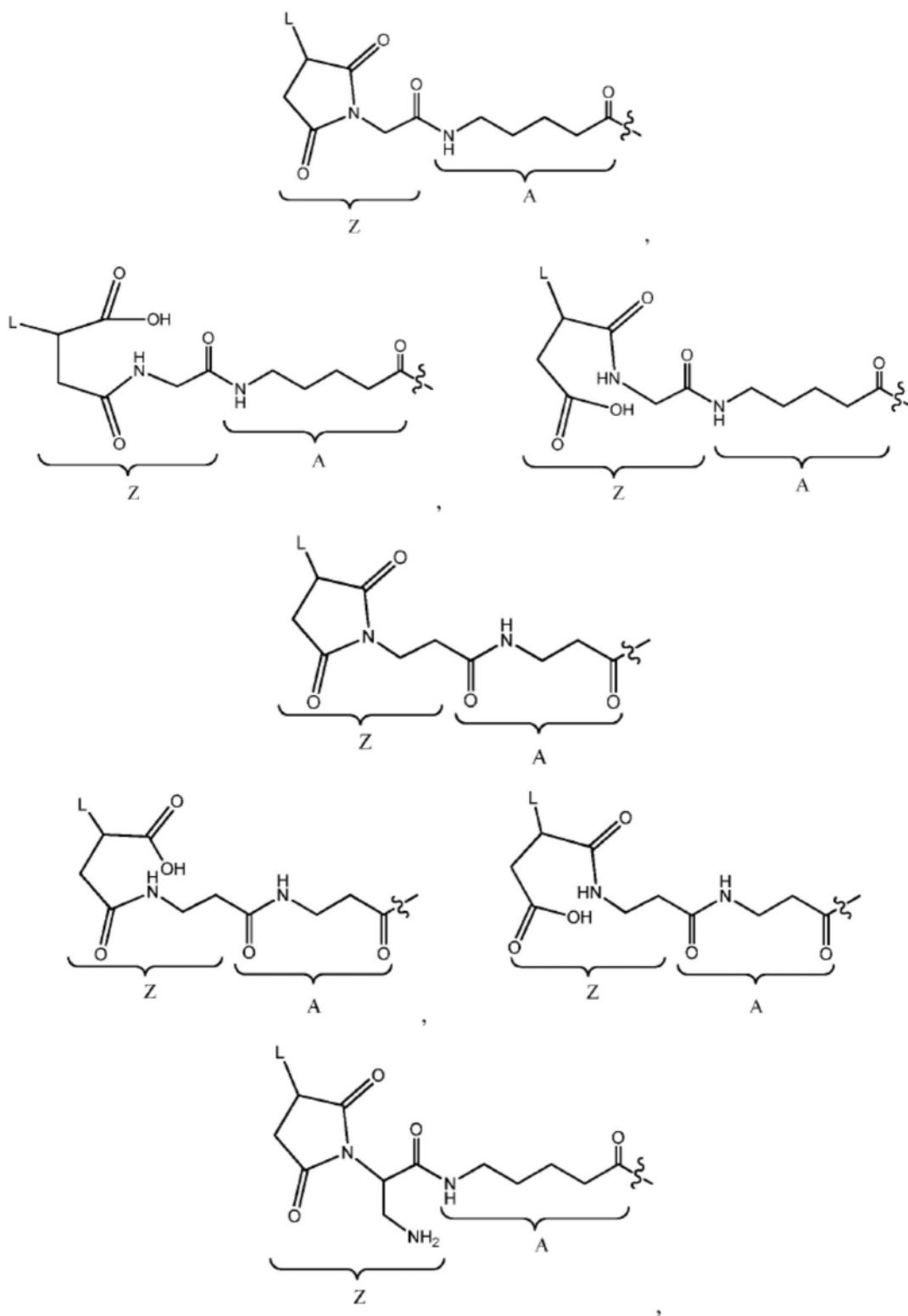
[0470]

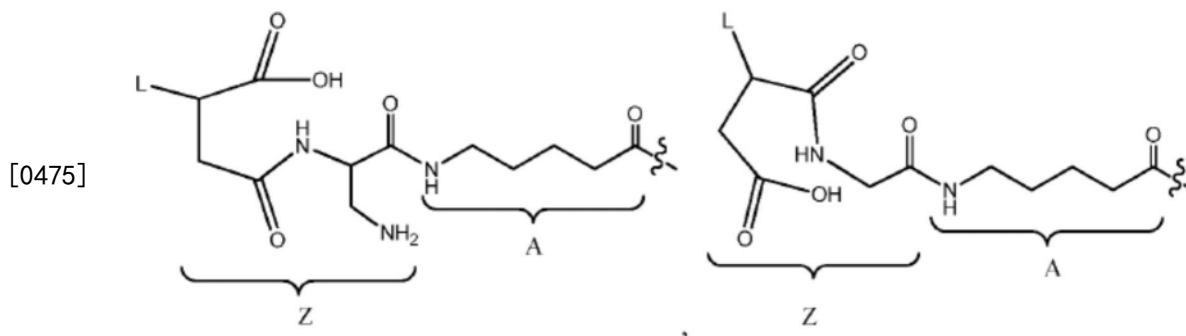


[0471] 或包含酸-酰胺部分,该部分在结合至L时由以下的结构表示:

[0472]

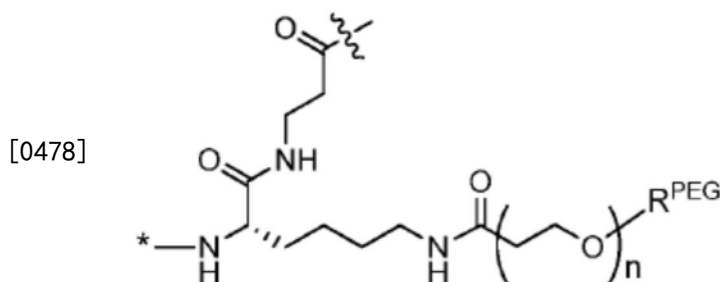
[0473] 结合至配体单元(L)及连接物单元(A)的示例性延伸体单元具有以下结构,其包含来自Xa、Xa'、Xb'或Xc'的结构,其中-R^Z-或-R^Z(BU)-为-CH₂-、-CH₂CH₂-或-CH(CH₂NH₂)-:





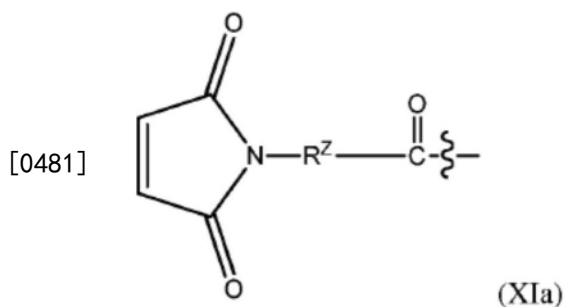
[0476] 其中邻接羰基的波浪线如对于Xa'所定义。

[0477] 结合至配体单元(L)及连接体单元(A)的其他延伸体单元具有以上结构,其中上述Z-A结构中的A经具有以下结构的连接物单元置换:



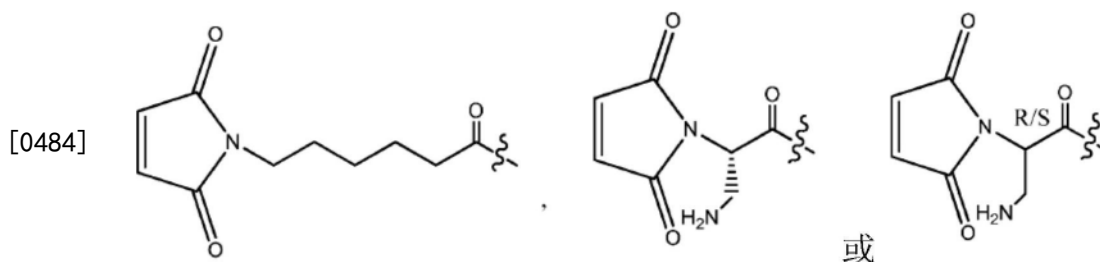
[0479] 其中n在8至24范围内; R^{PEG} 为PEG单元封端基团,优选为 $-CH_3$ 或 $-CH_2CH_2CO_2H$,星号(*)指示与结构上对应于式Xa、式Xa'、式Xb'或式Xc'的延伸体单元的共价连接,且波浪线指示与自分解型组装单元的X的共价连接。

[0480] 在结合至配体单元之前的示例性延伸体单元(即延伸体单元前体)包含顺丁烯二酰亚胺部分且由包括式XIa的该结构的结构表示:



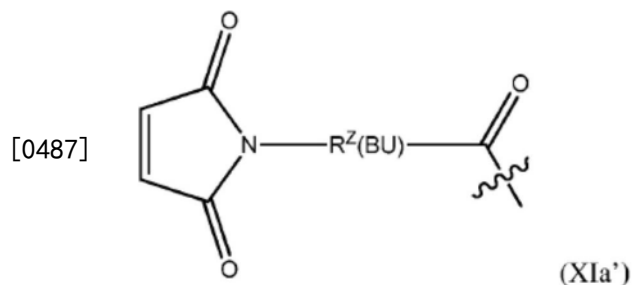
[0482] 其中邻接羰基的波浪线如对于Xa'所定义;且 R^Z 为 $-(CH_2)_2-5-$,其任选碱性单元取代,该碱性单元例如任选取代的氨基烷基,例如 $-(CH_2)_xNH_2$ 、 $-(CH_2)_xNHR^{op}$ 及 $-(CH_2)_xN(R^{op})_2$,其中x为1至4的整数且 R^{op} 各自独立地选自 C_{1-6} 烷基及 C_{1-6} 卤代烷基,或两个 R^{op} 基团与其所连接的氮组合以形成氮杂环丁基、吡咯烷基或哌啶基。

[0483] 在式XIa的一些优选实施方式中,延伸体单元前体(Z')由以下结构之一表示:



[0485] 其中邻接羰基的波浪线如对于Xa'所定义。

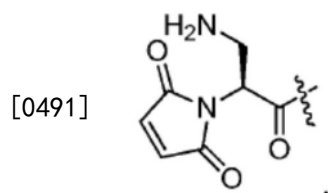
[0486] 在其他优选实施方式中,延伸体单元前体(Z')包含顺丁烯二酰亚胺部分且由式XIa'的结构表示:



[0488] 其中邻接结合至R¹⁷的羰基的波浪线如对于Xa'所定义;且

[0489] R^Z为-C₂-C₅亚烷基-C(=O)-,其中亚烷基经碱性单元(BU)取代,其中BU为-(CH₂)_xNH₂、-(CH₂)_xNHR^{op}或-(CH₂)_xN(R^{op})₂,其中x为1至4的整数且R^{op}各自独立地选自C₁₋₆烷基及C₁₋₆卤代烷基,或R^{op}连同其所连接的氮两者定义氮杂环丁基、吡咯烷基或哌啶基。

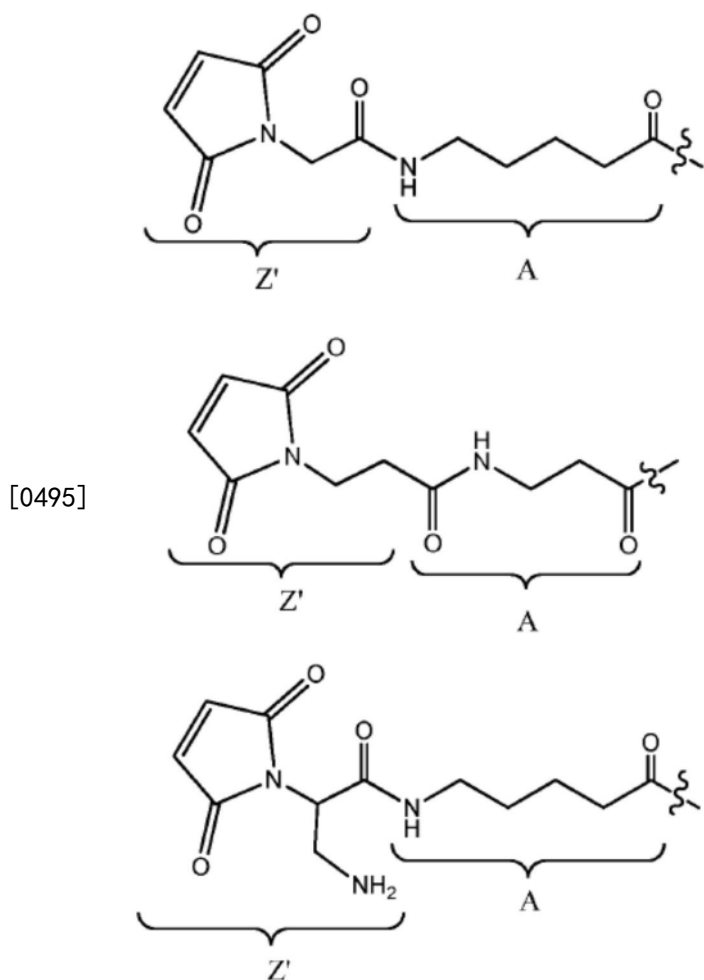
[0490] 在更优选实施方式中,延伸体单元前体(Z')包含顺丁烯二酰亚胺部分且由以下的结构表示:



[0492] 其中邻接羰基的波浪线如对于Xa'所定义。

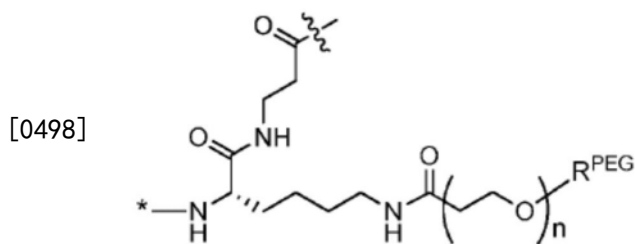
[0493] 在具有BU部分的延伸体单元中,应理解该部分的氨基官能团在合成期间可受氨基保护基保护,例如酸性不稳定保护基(例如BOC)。

[0494] 共价连接至连接物单元的包含来自XIa或XIa'的结构(其中-R^Z-或-R^Z(BU)-为-CH₂-、-CH₂CH₂-或-CH(CH₂NH₂)-)的示例性延伸体单元前体具有以下结构:



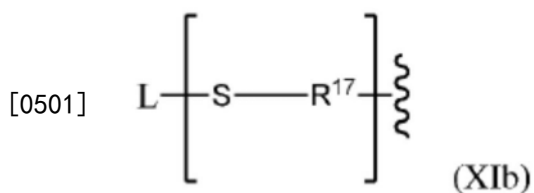
[0496] 其中邻接羰基的波浪线如对于Xa'所定义。

[0497] 结合连接体单元(A)的其他延伸体单元具有以上结构,其中上述Z'-A结构中的A经具有以下结构的连接物单元置换:



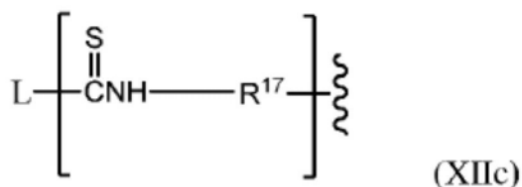
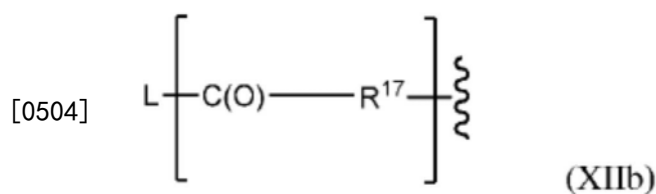
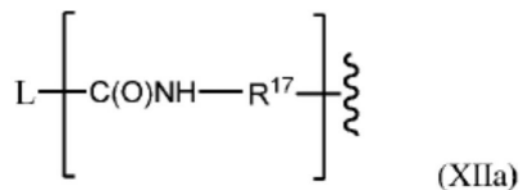
[0499] 其中n在8至24范围内;R^{PEG}为PEG单元封端基团,优选为-CH₃或-CH₂CH₂CO₂H,星号(*)指示与结构上对应于式XIa或式XIa'的延伸体单元前体的共价连接,且波浪线指示与自分解型组装单元的X的共价连接。

[0500] 在另一实施方式中,延伸体单元是通过配体单元的硫原子与延伸体单元的硫原子之间的二硫键连接至配体单元。此实施方式的代表性延伸体单元在式XIb的方括号内描绘:



[0502] 其中若B不存在,则波浪线指示与分支单元(B)、连接体单元(A)的连接,或若A及B不存在,则波浪线指示与自分解型组装单元的自分解型部分(X)的连接(如本文所定义),且 R^{17} 为- C_1 - C_{10} 亚烷基-、- C_1 - C_{10} 杂亚烷基-、- C_3 - C_8 碳环基-、-0-(C_1 - C_8 烷基)-、-亚芳基-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-亚芳基-、-亚芳基- C_1 - C_{10} 亚烷基-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-(C_3 - C_8 碳环基)-、-(C_3 - C_8 碳环基)- C_1 - C_{10} 亚烷基-、- C_3 - C_8 杂环基-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-(C_3 - C_8 杂环基)-、-(C_3 - C_8 杂环基)- C_1 - C_{10} 亚烷基-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-C(=O)-、- C_1 - C_{10} 杂亚烷基-C(=O)-、- C_3 - C_8 碳环基-C(=O)-、-0-(C_1 - C_8 烷基)-C(=O)-、-亚芳基-C(=O)-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-亚芳基-C(=O)-、-亚芳基- C_1 - C_{10} 亚烷基-C(=O)-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-(C_3 - C_8 碳环基)-C(=O)-、-(C_3 - C_8 碳环基)- C_1 - C_{10} 亚烷基-C(=O)-、- C_3 - C_8 杂环基-C(=O)-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-(C_3 - C_8 杂环基)-C(=O)-、-(C_3 - C_8 杂环基)- C_1 - C_{10} 亚烷基-C(=O)-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-NH-、 C_1 - C_{10} 杂亚烷基-NH-、- C_3 - C_8 碳环基-NH-、-0-(C_1 - C_8 烷基)-NH-、-亚芳基-NH-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-亚芳基-NH-、-亚芳基- C_1 - C_{10} 亚烷基-NH-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-(C_3 - C_8 碳环基)-NH-、-(C_3 - C_8 碳环基)- C_1 - C_{10} 亚烷基-NH-、- C_3 - C_8 杂环基-NH-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-(C_3 - C_8 杂环基)-NH-、-(C_3 - C_8 杂环基)- C_1 - C_{10} 亚烷基-NH-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-S-、- C_1 - C_{10} 杂亚烷基-S-、- C_3 - C_8 碳环基-S-、-0-(C_1 - C_8 烷基)-S-、-亚芳基-S-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-亚芳基-S-、-亚芳基- C_1 - C_{10} 亚烷基-S-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-(C_3 - C_8 碳环基)-S-、-(C_3 - C_8 碳环基)- C_1 - C_{10} 亚烷基-S-、- C_3 - C_8 杂环基-S-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-(C_3 - C_8 杂环基)-S-或-(C_3 - C_8 杂环基)- C_1 - C_{10} 亚烷基-S-。

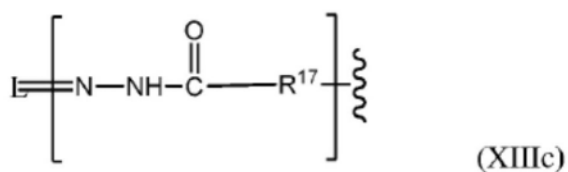
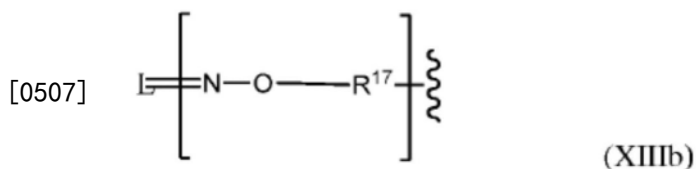
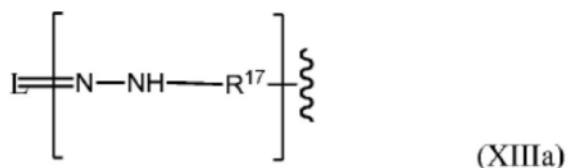
[0503] 在另一实施方式中,延伸体单元前体的反应性基团含有可与配体单元的伯氨基或仲氨基形成键的反应性位点。该反应性位点的示例包括(但不限于)活化酯,例如丁二酰亚胺酯、4-硝基苯酯、五氟苯酯、四氟苯酯、酸酐、酸氯化物、磺酰氯、异氰酸酯及异硫氰酸酯。此实施方式的代表性延伸体单元在式XIIa、式XIIb及式XIIc的方括号内描绘:



[0505] 其中波浪线指示与分支单元(B)、连接体单元(A)或自分解型组装单元的自分解型部分(X)的连接,且 R^{17} 为- C_1 - C_{10} 亚烷基-、- C_1 - C_{10} 杂亚烷基-、- C_3 - C_8 碳环基-、-0-(C_1 - C_8 烷基)-、-亚芳基-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-亚芳基-、-亚芳基- C_1 - C_{10} 亚烷基-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-(C_3 - C_8 碳环基)-、-(C_3 - C_8 碳环基)- C_1 - C_{10} 亚烷基-、- C_3 - C_8 杂环基-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-(C_3 - C_8 杂环基)-、-

(C₃-C₈杂环基)-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-C(=O)-、-C₃-C₈碳环基-C(=O)-、-O-(C₁-C₈烷基)-C(=O)-、-亚芳基-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-C(=O)-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环基)-C(=O)-、-(C₃-C₈碳环基)-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₃-C₈杂环基-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环基)-C(=O)-、-(C₃-C₈杂环基)-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-NH-、-C₃-C₈碳环基-NH-、-O-(C₁-C₈烷基)-NH-、-亚芳基-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-NH-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环基)-NH-、-(C₃-C₈碳环基)-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₃-C₈杂环基-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环基)-NH-、-(C₃-C₈杂环基)-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-S-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-S-、-C₃-C₈碳环基-S-、-O-(C₁-C₈烷基)-S-、-亚芳基-S-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-S-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-S-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环基)-S-、-(C₃-C₈碳环基)-C₁-C₁₀亚烷基-S-、-C₃-C₈杂环基-S-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环基)-S-或-(C₃-C₈杂环基)-C₁-C₁₀亚烷基-S-。

[0506] 在另一方面中,延伸体单元前体的反应性基团含有反应性亲核试剂,其能够与存在于配体上或引入至配体中的亲电子试剂反应。举例而言,靶向配体上的碳水化合物部分可使用例如过碘酸钠的试剂适度氧化,且所得的氧化碳水化合物的亲电子官能团(-CHO)可用含有反应性亲核试剂的延伸体单元前体缩合,该反应性亲核试剂例如酰肼、肟、伯胺或仲胺、肼、缩氨基硫脲、肼羧酸根或芳基酰肼,例如由Kaneko,T.等人(1991) Bioconjugate Chem.2:133-41所描述的那些。此实施方式的代表性延伸体单元在式XIIIa、式XIIIb及式XIIIc的方括号内描绘:



[0508] 其中波浪线指示与分支单元或自分解型组装单元或连接体单元的连接,如本文所定义,且R¹⁷为-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-、-C₃-C₈碳环基-、-O-(C₁-C₈烷基)-、-亚芳基-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环基)-、-(C₃-C₈碳环基)-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₃-C₈杂环基-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环基)-、-(C₃-C₈杂环基)-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-C(=O)-、-C₃-C₈碳环基-C(=O)-、-O-(C₁-C₈烷基)-C(=O)-、-亚芳基-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-C(=O)-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环基)-C(=O)-、-(C₃-C₈碳环基)-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₃-C₈杂环基-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环基)-C(=O)-、-(C₃-C₈

杂环基)-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-NH-、-C₃-C₈碳环基-NH-、-O-(C₁-C₈烷基)-NH-、-亚芳基-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-NH-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环基)-NH-、-(C₃-C₈碳环基)-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₃-C₈杂环基-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环基)-NH-、-(C₃-C₈杂环基)-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-S-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-S-、-C₃-C₈碳环基-S-、-O-(C₁-C₈烷基)-S-、-亚芳基-S-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-S-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-S-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环基)-S-、-(C₃-C₈碳环基)-C₁-C₁₀亚烷基-S-、-C₃-C₈杂环基-S-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环基)-S-或-(C₃-C₈杂环基)-C₁-C₁₀亚烷基-S-。

[0509] 在本发明的一些方面中,延伸体单元的质量不超过约1000道尔顿、不超过约500道尔顿、不超过约200道尔顿,为约30、50或100道尔顿至约1000道尔顿、约30、50或100道尔顿至约500道尔顿或约30、50或100道尔顿至约200道尔顿。

[0510] 任选的分支单元(B):

[0511] 在以下情况下,在配体-药物偶联物中包括分支单元(B):连接物单元中需要有多多个自分解型组装单元,且因此需要有多多个药物单元用于连接至LDC的配体单元的各药物-连接物部分,且最终需要使LDC中的药物单元的数目增加超出其配体单元中的连接位点的数目。分支单元提供B与延伸体单元(Z)或其前体(Z')及两个、三个或四个自分解型(SI)组装单元之间的共价键,任选各自通过独立选择的介入连接体单元A。本领域技术人员将了解,分支单元以一定方式设计以允许连接物单元内的所需分支。举例而言,为了充当用于两个药物单元(即t为2)的分支单元,分支单元在偶联物内具有至少一个第一、第二及第三连接位点(即,至Z的第一连接位点,及用于连接至各A或X的第二及第三连接位点,视存在或不存在各A而定)。换言之,分支单元必须为至少三官能。

[0512] 在本发明中考虑下标t为3或4的那些LDC及药物-连接物化合物。在所述方面中,分支单元将在偶联物内具有四个或五个共价连接位点。在一些方面中,分支单元包含一个或多个(例如,1至10个,优选为1至5个,例如1、2、3、4或5个)天然或非天然氨基酸、氨基醇、氨基醛或多胺残基或其组合,其共同提供用于分支的所需官能团。在一些实施方式中,分支单元包含三官能残基且可具有双功能性的侧接残基以提供第一及第二连接位点。在具有分支以在单个连接物单元中容纳3个或4个药物单元的实施方式中,分支单元通常包含2个或3个三官能分支残基,且可进一步包含双功能性的侧接和/或插入残基。

[0513] 应了解,当提及天然或非天然氨基酸、氨基醇、氨基醛或多胺存在于配体药物偶联物或其中间物(例如药物连接物化合物)中时(无论其是否为分支单元或LDC的其他组分或其药物-连接物中间物的一部分),氨基酸、氨基醇、氨基醛或多胺将以残基形式存在。举例而言,在分支单元为两个氨基酸的实施方式中,该两个氨基酸将以之间存在一肽键的残基形式存在。

[0514] 在分支单元包含氨基醇的实施方式中,氨基醇将以残基的形式存在,其中例如其氨基是通过该其他残基/组分的含羰基官能团结合至LDC或其药物-连接物中间物的分支单元或另一组分的另一残基,而其羟基是以醚的形式结合至LDC或其药物-连接物中间物的分支单元或另一组分的另一残基,或通过该残基的含羰基官能团结合。

[0515] 在分支单元包含氨基醛的实施方式中,氨基醛将以残基的形式存在,其中例如,其氨基是通过该其他残基/组分的含羰基官能团结合至LDC或其中间物的分支单元或另一组

分的另一残基,而其醛官能团经转化为亚氨基官能团或通过其后续还原以在结合至偶联物的分支单元或另一组分的另一残基的氨基时提供氮-碳键。氨基醛是通过将其羧酸官能团还原成醛(即-CHO)官能团衍生自天然或非天然氨基酸。

[0516] 为具有第三官能团以充当分支单元中的三官能分支残基,分支单元内的氨基酸或其他含氨酸残基可具有官能化侧链或可经官能化侧链取代以提供此类分支残基所需的必需的三个连接点。举例而言,丝氨酸具有三个官能团,即酸、氨基及羟基官能团,且其可出于充当分支单元的目的视为经合并的氨基酸及氨基醇残基。酪氨酸还含有羟基,在此情况下在其酚侧链中,且还可出于其以三官能分支残基形式纳入分支单元中的目的视为类似于丝氨酸。

[0517] 在另一示例中,当分支单元的二官能分支残基为半胱氨酸时,其氨基及羧酸基团将以残基形式以先前对于含氨基酸或氨酸讨论的方式存在,以提供分支残基的三个必需连接点中的两者,同时其巯基在以二硫键形式结合至连接物单元的-X-D或-A-X-D部分时将以残基形式存在,或例如在半胱氨酸巯基官能团与连接物单元前体的含顺丁烯二酰亚胺部分反应时以硫-碳键形式存在。在一些情况下,残基巯基在结合至分支单元的另一残基或连接物单元的另一组分时呈其氧化形式(即-S(=O)-或-S(=O)₂-)。在另一示例中,赖氨酸的 α 氨基及羧酸基团将以残基形式存在以提供分支单元的分支残基所需的三个必需连接点中的两者,而其呈其残基形式的 ϵ 氨基提供第三连接点。组氨酸还可视为具有两个氨基的氨基酸,其中第二氨基为含咪唑侧链的NH。

[0518] 在另一示例中,当分支单元的二官能分支残基为天冬氨酸或谷氨酸时,氨基酸的呈其残基形式的 α 氨基及C端羧酸基团提供分支单元的分支残基所需的三个必需连接点中的两者,而其呈其残基形式的 β 或 γ 羧酸基团提供第三连接点。在天然存在的氨基酸为分支单元的残基,但不天然含有官能化氨基酸侧链,但又需要作为分支单元内的三官能分支残基的那些情况下,应理解,该氨基酸结构在呈残基形式时经修饰以具有除其氨基及羧酸官能团以外的额外官能团以便提供必需的第三连接点。举例而言,具有脂族侧链的氨基酸可在该侧链的碳处经羟基、氨基、醛、巯基、羧酸基团或其他官能团或经该官能团中的任一种取代的其他部分(例如芳基或芳基烷基)取代以提供具有三个必需连接点的非天然氨基酸。如上文对于引入官能团的氨基酸及残基形式所描述,所述非天然氨基酸纳入分支单元中。

[0519] 类似地,当氨基醛或氨基醇以三官能分支残基形式纳入分支单元中时,该氨基醛或氨基醇将具有第三官能团以连同其氨基及醛官能团提供必需的三个连接点。在那些情况下,氨基醛或氨基醇可在结构上对应于具有功能化侧链的天然氨基酸或具有引入如上文所描述天然氨基酸的侧链中的官能团的非天然氨基酸,其中将天然或非天然氨基酸的羧酸还原成羟基或醛官能团。

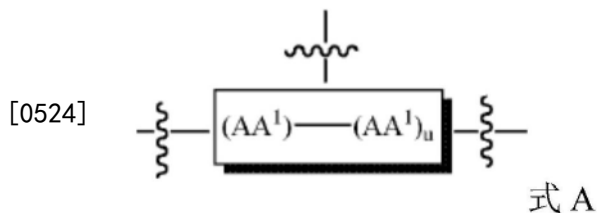
[0520] 以三官能分支残基形式纳入分支单元中的氨基酸可为 α 、 β 或 γ 氨基酸或其他含氮的酸化合物,且若其含有天然或非天然氨基酸侧链所结合的手性碳,则可呈其D-或L-异构体形式。当分支单元由一种以上天然或非天然氨基酸、氨基醇、氨基醛或多胺残基;氨基酸、氨基醇、氨基醛、多胺残基或其组合组成时,其中那些残基中的至少一种为三官能分支残基,该残基是通过共价键连接在一起以形成分支单元。

[0521] 视具体情况而定,该氨基酸、氨基醇或氨基醛可为非天然的且可经修饰以具有用于连接至偶联物或中间化合物的组分的官能化侧链(如上文对于分支单元的分支残基所描

述)。示例性官能化氨基酸、氨基醇或氨基醛包括例如叠氮基或炔基官能化氨基酸、氨基醇或氨基醛(例如使用点击化学修饰而具有用于连接的叠氮基或炔基的氨基酸、氨基醇或氨基醛)。使存在于氨基酸上的官能团,例如胺部分、羧酸部分及侧链部分(例如氨基部分、羟基、另一羧酸、巯基、叠氮基或炔基)单独活化及反应的方法在本领域中熟知。

[0522] 分支单元可包含1个或多个(通常为1至5个或1至4个或1至3个或1或2个)氨基酸、任选取代的 C_{1-20} 杂亚烷基(优选为任选取代的 C_{1-12} 杂亚烷基)、任选取代的 C_{3-8} 杂环基、任选取代的 C_{6-14} 亚芳基、任选取代 C_3-C_8 碳环基或其组合。在一些实施方式中,分支单元包含不超过2个或不超过一个任选取代的 C_{1-20} 杂亚烷基、任选取代的 C_{3-8} 杂环基、任选取代的 C_{6-14} 亚芳基或任选取代的 C_3-C_8 碳环基。任选的取代基包括(=O)、-X、-R、-OR、-SR、-NR²、-NR³、=NR、-CX₃、-CN、-OCN、-SCN、-N=C=O、-NCS、-NO、-NO₂、=N₂、-N₃、-NRC(=O)R、-C(=O)R、-C(=O)NR²、-SO₃⁻、-SO₃H、-S(=O)₂R、-OS(=O)₂OR、-S(=O)₂NR、-S(=O)R、-OP(=O)(OR)₂、-P(=O)(OR)₂、-PO=3、-PO₃H₂、-AsO₂H₂、-C(=O)R、-C(=O)_x、-C(=S)R、-CO₂R、-CO₂⁻、-C(=S)OR、-C(=O)SR、-C(=S)SR、-C(=O)NR²、-C(=S)NR²,或-C(=NR)NR²,其中X各自独立地为卤素:-F、-Cl、-Br或-I;且R各自独立地为氢或-C₁-C₂₀烷基、-C₆-C₂₀芳基或-C₃-C₁₄杂环,其任选取代,或保护基或前药部分。优选任选的取代基为(=O)、-X、-R、-OR、-SR及-NR²。应理解,充当分支残基的所述部分将经官能团取代以提供必需连接位点。

[0523] 分支单元或分支单元的分支残基可为直链或支链,且可由式A表示:



[0525] 其中AA¹为分支单元的亚单元,其独立地选自氨基酸、任选取代的 C_{1-20} 杂亚烷基(优选为任选取代的 C_{1-12} 杂亚烷基)、任选取代的 C_{3-8} 杂环基、任选取代的 C_{6-14} 亚芳基或任选取代的 C_3-C_8 碳环基;且下标u独立地选自0至4;且波浪线指示在配体-药物偶联物或其药物-连接物中间物内的共价连接位点。任选取代的杂亚烷基、杂环、亚芳基或碳环基将具有用于分支单元的亚单元之间的及在具有该分支单元的配体-药物偶联物或其药物-连接物中间物内的连接的官能团。

[0526] 在一些实施方式中,AA¹的至少一种情况为氨基酸。下标u可为0、1、2、3或4。在一些实施方式中,AA¹为氨基酸且u为0。在一些实施方式中,分支单元由不超过2个任选取代的 C_{1-20} 杂亚烷基、任选取代的 C_{3-8} 杂环基、任选取代的 C_{6-14} 亚芳基或任选取代的 C_3-C_8 碳环基构成。在一些方面中,其中分支单元具有式A,分支单元包含不超过1个任选取代的 C_{1-20} 杂亚烷基、任选取代的 C_{3-8} 杂环基、任选取代的 C_{6-14} 亚芳基或任选取代的 C_3-C_8 碳环基。

[0527] 分支单元或其氨基酸亚单元可为 α 、 β 或 γ 氨基酸且可为天然或非天然。氨基酸可为D-或L-异构体。在分支单元内或与LDC或其药物-连接物中间物的其他组分的连接可例如通过氨基、羧基或其他官能团。使官能团单独活化及反应的方法在本领域中熟知。

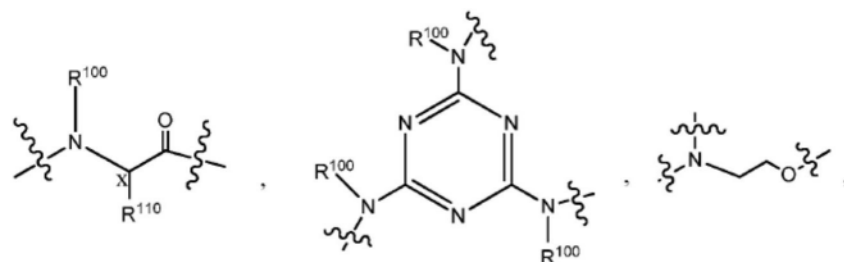
[0528] 分支单元或其氨基酸亚单元可独立地选自含巯基氨基酸的D-或L-异构体。含巯基氨基酸可为例如半胱氨酸、高半胱氨酸或青霉胺。

[0529] 分支或其氨基酸亚单元可独立地选自以下氨基酸的L-或D-异构体:丙氨酸(包括

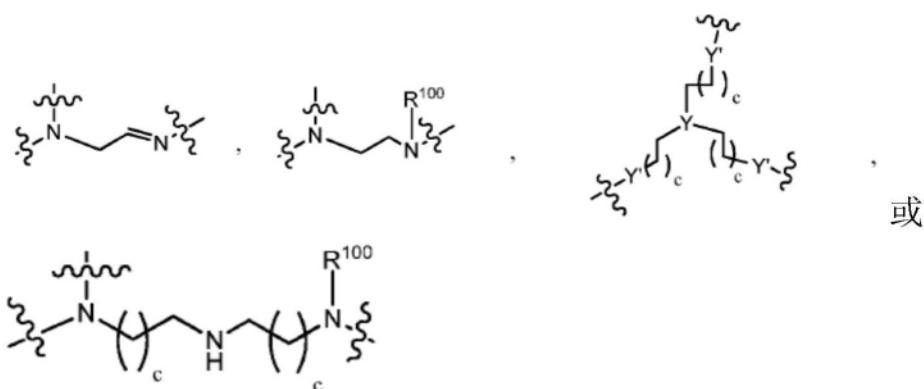
β -丙氨酸)、精氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、半胱氨酸、组氨酸、甘氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、苯丙氨酸、赖氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、丝氨酸、酪氨酸、苏氨酸、色氨酸、脯氨酸、鸟氨酸、青霉素、B-丙氨酸、氨基炔酸、氨基烷二酸、杂环基-羧酸、瓜氨酸、他汀 (statine)、二氨基烷酸及其衍生物。

[0530] 优选氨基酸包括半胱氨酸、高半胱氨酸、青霉素、鸟氨酸、赖氨酸、丝氨酸、苏氨酸、谷氨酰胺、丙氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、硒代半胱氨酸、脯氨酸、甘氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、缬氨酸及丙氨酸。

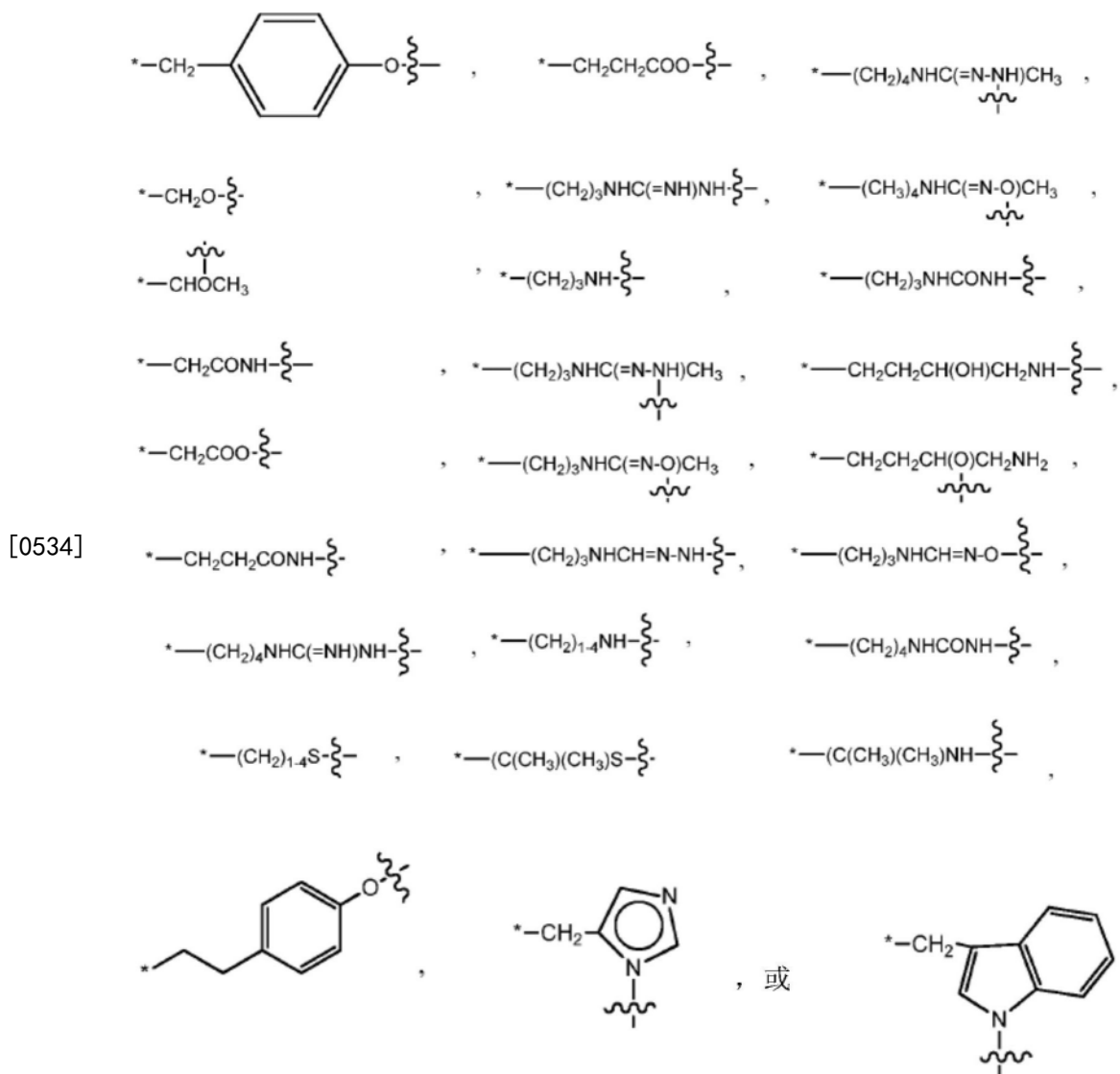
[0531] 在分支单元能够将两个自分解型组装单元连接至延伸体单元 (各自任选由独立经选择的连接物单元A) 的一些实施方式中, 分支单元一旦经组装即具有如下指示的式:



[0532]



[0533] 其中波浪线指示与连接物单元的组分 (即至延伸体单元Z或其前体Z') 和与一个或多个自分解型组装单元或一个或多个介入连接体单元的连接位点, 且其中 R^{110} 为



[0535] 其中星号指示与由x标记的碳的连接,且波浪线指示连接位点之一; R^{100} 各自独立地选自氢或 $\text{-C}_1\text{-C}_3$ 烷基,优选为氢或 CH_3 ;

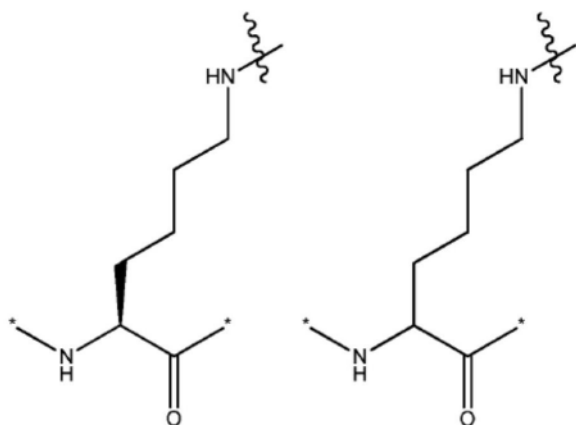
[0536] Y独立地选自N或CH;

[0537] Y'各自独立地选自NH、O或S;且

[0538] 下标c为独立地选自1至10的整数,优选为1至3。

[0539] 示例性分支单元或分支单元中的三官能分支残基为如下所示的赖氨酸,其中波浪线及星号指示LDC或其药物-连接物中间物的连接物单元内的共价键:

[0540]



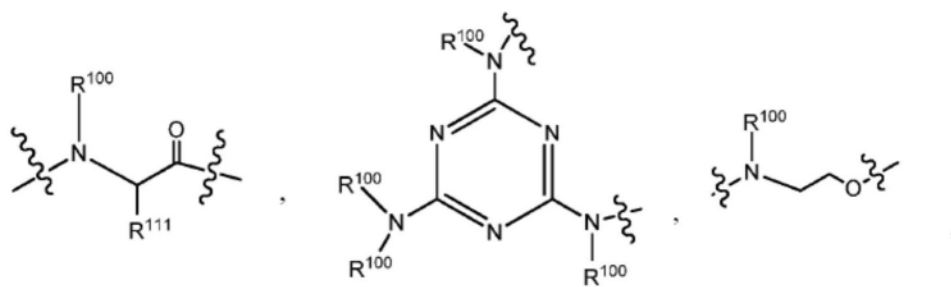
[0541] 在本发明的一些方面中,分支单元的质量不超过约1000道尔顿、不超过约500道尔顿、不超过约200道尔顿,为约10、50或100道尔顿至约1000道尔顿,约10、50或100道尔顿至约500道尔顿或约10、50或100道尔顿至约200道尔顿。

[0542] 连接体单元(A)

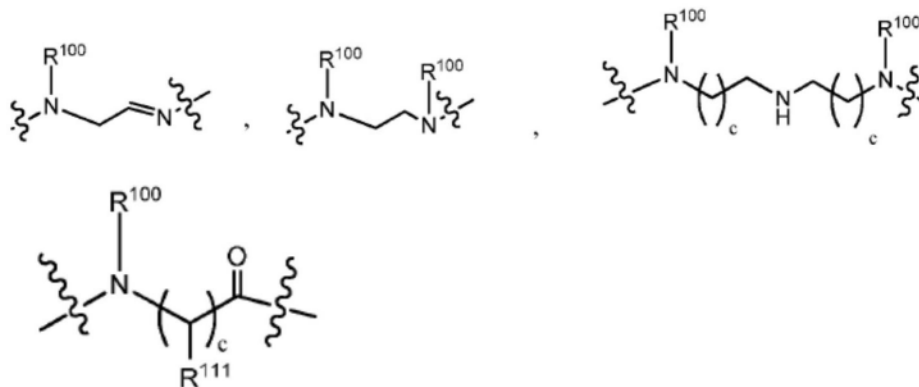
[0543] 在需要在延伸体单元(Z)或其前体(Z')与自分解型组装单元的自分解型部分(X)之间添加额外距离的情况下,连接体单元A包括在配体-药物偶联物或药物-连接物化合物内。在一些方面中,附加距离将辅助X内的活化。因此,当存在时,连接体单元(A)延伸连接物单元的构架。在该方面中,当B不存在时,连接体单元(A)在一个末端处与任选存在任选的分支单元或延伸体单元(或其前体)共价结合且在其其他末端处共价结合至自分解型组装单元的自分解型部分(X)。在一组实施方式中,自分解型部分(X)由自分解型间隔体单元(Y)及活化单元(W)构成以使得A与Y结合。在另一组实施方式中,自分解型部分由自分解型间隔体单元(Y)及活化单元(W)构成以使得A与W结合。

[0544] 本领域技术人员将了解,连接体单元可为任何用以提供自分解型单元至连接物单元的剩余部分的连接的基团。连接体单元可例如包含一个或多个(例如,1至10个,优选为1、2、3或4个)天然或非天然氨基酸、氨基醇、氨基醛、二氨基残基。在一些方面中,连接体单元为单个天然或非天然氨基酸、氨基醇、氨基醛或二氨基残基。能够充当连接物单元的示例性氨基酸为 β -丙氨酸。

[0545] 在一些方面中,连接体单元具有如下指示的式:



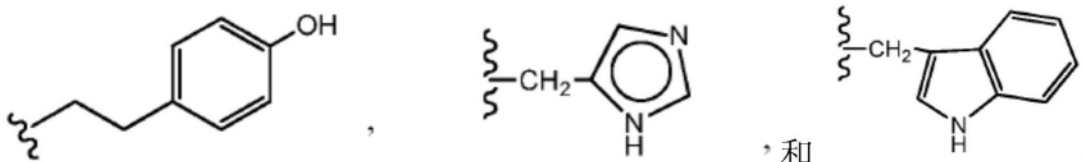
[0546]



或

[0547] 其中波浪线指示连接物单元在配体药物偶联物或其药物-连接物中间物内的连接；其中 R^{111} 独立地选自：氢、对羟基苯甲基、甲基、异丙基、异丁基、仲丁基、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CONH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{COOH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCOCH}_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCHO}$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCOCH}_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCHO}$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCONH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{NH}_2$ 、2-吡啶基甲基-、3-吡啶基甲基-、4-吡啶基甲基-、

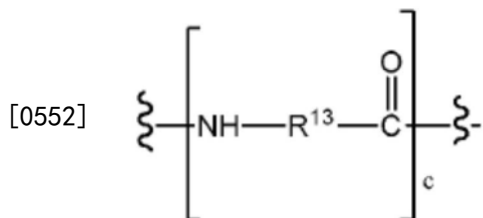
[0548]



[0549] 其中波浪线指示与该连接物单元的剩余部分的共价连接。

[0550] R^{100} 各自独立地选自氢或 $-\text{C}_1-\text{C}_3$ 烷基，优选为氢或 CH_3 ；且 c 独立地为在1至10，优选1至3范围内的经选择的整数。

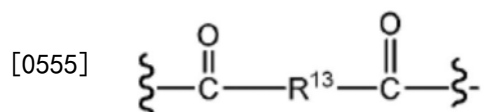
[0551] 具有用于连接至自分解型组装单元的自分解型部分(X)的活化单元(W)或自分解型间隔体单元(Y)的羰基的代表性连接体单元如下：



[0553] 其中在各情况下， R^{13} 独立地选自： $-\text{C}_1-\text{C}_6$ 亚烷基-、 $-\text{C}_3-\text{C}_8$ 碳环基-、-亚芳基-、 $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ 杂亚烷基-、 $-\text{C}_3-\text{C}_8$ 杂环基-、 $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ 亚烷基-亚芳基-、-亚芳基- $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ 亚烷基-、 $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ 亚烷基- $-(\text{C}_3-\text{C}_8$ 碳环基)-、 $-(\text{C}_3-\text{C}_8$ 碳环基)- $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ 亚烷基-、 $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ 亚烷基- $-(\text{C}_3-\text{C}_8$ 杂环基)-及-

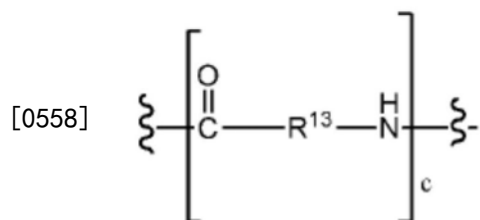
(C₃-C₈杂环基)-C₁-C₁₀亚烷基-,且下标c为在1至4范围内的整数。在一些实施方式中,R¹³为-C₁-C₆亚烷基且c为1。

[0554] 具有用于连接至自分解型组装单元的自分解型部分(X)的活化单元(W)或间隔体单元(Y)的羰基的代表性连接体单元如下:



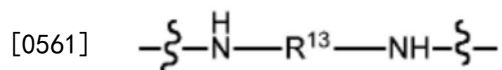
[0556] 其中R¹³为-C₁-C₆亚烷基-、-C₃-C₈碳环基-、-亚芳基-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-、-C₃-C₈杂环基-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环基)-、-(C₃-C₈碳环基)-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环基)-或-(C₃-C₈杂环基)-C₁-C₁₀亚烷基-。在一些实施方式中,R¹³为-C₁-C₆亚烷基。

[0557] 具有连接至自分解型组装单元的自分解型部分(X)的活化单元(W)或间隔体单元(Y)的NH部分的代表性连接体单元如下:



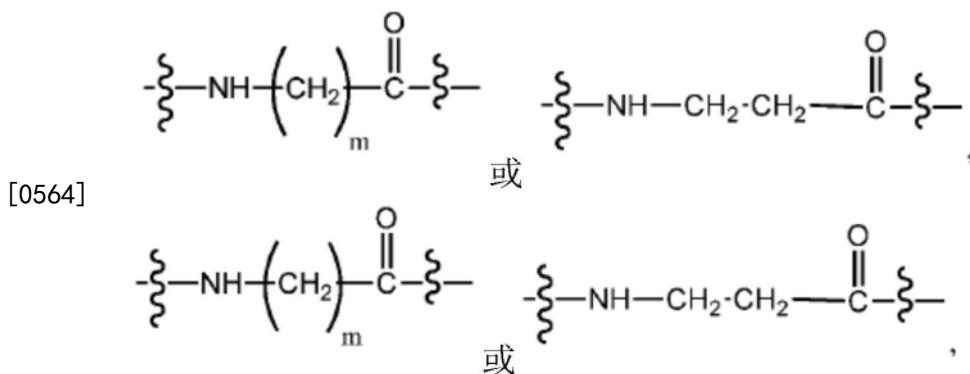
[0559] 其中在各情况下,R¹³独立地选自:-C₁-C₆亚烷基-、-C₃-C₈碳环基-、-亚芳基-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-、-C₃-C₈杂环基-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环基)-、-(C₃-C₈碳环基)-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环基)-及-(C₃-C₈杂环基)-C₁-C₁₀亚烷基-,且下标c为1至14。在一些实施方式中,R¹³为-C₁-C₆亚烷基且下标c为1。

[0560] 具有连接至自分解型组装单元的自分解型部分(X)的活化单元(W)或间隔体单元(Y)的NH部分的代表性连接体单元如下:



[0562] 其中R¹³为-C₁-C₆亚烷基-、-C₃-C₈碳环基-、-亚芳基-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-、-C₃-C₈杂环基-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环基)-、-(C₃-C₈碳环基)-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环基)-或-(C₃-C₈杂环基)-C₁-C₁₀亚烷基-或-C(=O)C₁-C₆亚烷基-或-C₁-C₆亚烷基-C(=O)-C₁-C₆亚烷基。

[0563] 连接体单元的所选择的实施方式包括具有以下结构的那些连接体单元:

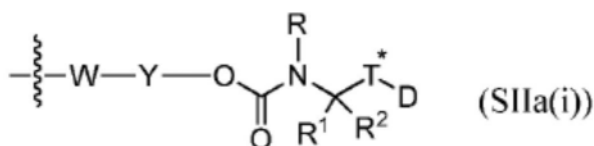


[0565] 其中邻接于氮的波浪线指示直接或通过B间接共价连接至延伸体单元(Z) (或其前体Z'), 且邻接于羰基的波浪线指示共价连接至自分解型组装单元的自分解型部分(X)的活化单元(W)或间隔体单元(Y), 或邻接于羰基的波浪线指示直接或通过B间接共价连接至延伸体单元(Z) (或其前体Z'), 且邻接于氮的波浪线指示共价连接至自分解型组装单元的自分解型部分(X)的活化单元(W)或间隔体单元(Y); 且m为在1至6、优选2至6、更优选2至4范围内的整数。

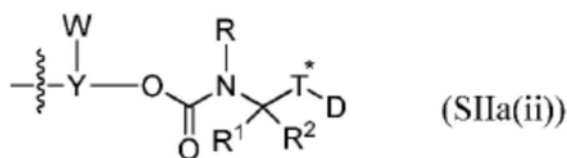
[0566] 自分解型组装单元

[0567] 自分解型组装单元将药物单元连接至偶联物的剩余部分或其药物-连接物中间物。自分解型组装单元的主要功能为在配体单元所靶向的位点处条件性释放游离药物。在该情况下, 自分解型组装单元包含可活化的自分解型部分(X)及亚甲基氨基甲酸酯连接物。可活化的自分解型部分包含活化单元(W)及自分解型间隔体单元(Y)。自分解型间隔体单元可为单个单元或可包含两个或更多个自分解型亚单元。活化W以诱发Y的自我分解是通过在活化单元处的裂解且通常发生在W与Y之间的键处。裂解可为酶促的(例如, 肿瘤相关蛋白酶或糖苷酶, 例如葡萄糖醛酸酶)或通过二硫键还原(例如, 二硫键裂解(例如通过谷胱甘肽-SH))发生。在裂解之后, 自分解型反应序列起始, 其导致游离药物释放。在一组实施方式中, 自分解型组装单元可通过活化单元连接至配体药物偶联物的配体单元的剩余部分。在另一组实施方式中, 自分解型组装单元可通过自分解型间隔体单元连接至配体药物偶联物的连接物单元的剩余部分。

[0568] 在某些实施方式中, 连接至药物单元的自分解型组装单元由式SIIa(i)或式SIIa(ii)表示:



[0569]



[0570] 其中

[0571] W为活化单元;

[0572] Y为自分解型间隔体单元；

[0573] D为药物单元，其表示在官能团纳入所述的亚甲基烷氧基氨基甲酸酯单元中之前具有官能团的药物；

[0574] T*为任选取代的杂原子，其来自纳入所述亚甲基氨基甲酸酯单元中的该官能团；

[0575] R、R¹及R²如本文中先前所定义；且

[0576] 波浪线指示与LDC或药物-连接物化合物的剩余部分的连接点，其中自分解型组装单元在活化单元的活化之后释放游离药物。

[0577] 如本文所述，活化单元的活化是通过该单元的裂解，其中裂解为酶促的（例如，通过肿瘤相关蛋白酶或糖苷酶，例如葡萄糖醛酸酶（例如 β -葡萄糖醛酸酶））或通过二硫键还原反应（例如，通过谷胱甘肽-SH的二硫键裂解）。

[0578] 在本发明的一些方面中，自分解型组装单元的质量不超过约5000道尔顿、不超过约4000道尔顿、不超过约3000道尔顿、不超过约2000道尔顿、不超过约1000道尔顿、不超过约800道尔顿或不超过约500道尔顿。在一些方面中，自分解型组装单元的质量为约100道尔顿、或约200道尔顿、或约300道尔顿至约5000道尔顿；约100道尔顿、或约200道尔顿、或约300道尔顿至约4000道尔顿；约100道尔顿、或约200道尔顿、或约300道尔顿至约3000道尔顿；约100道尔顿、或约200道尔顿、或约300道尔顿至约2000道尔顿；约100道尔顿、或约200道尔顿、或约300道尔顿至约1000道尔顿；约100道尔顿、或约200道尔顿、或约300道尔顿至约800道尔顿；或约100道尔顿、或约200道尔顿、或约300道尔顿至约500道尔顿。

[0579] 本领域技术人员应理解，药物-连接物化合物的组分可以与配体-药物偶联物相同的方式连接，其中与对应LDC相比，配体单元不存在，且当存在时延伸体单元(Z)经其对应延伸体单元前体(Z')置换。

[0580] 活化单元(W)

[0581] W为活化单元且可称为“触发剂”或“可活化”触发剂（即，能够活化）；其在经活化时在间隔体单元（以单个单元形式或具有2个或更多个自分解型亚单元）中起始自分解型反应程序。在一些方面中，活化单元为通过可裂解键连接至自分解型间隔体单元的有机部分。因此，在所述实施方式中，W的结构和/或序列经选择以使得可裂解键形成有自分解型间隔体单元。在本文所讨论的各种实施方式中，W的性质可变化。举例而言，W可经设计以使得可裂解键通过存在于目标位点处的酶的作用裂解或在二硫键的情况下，通过还原事件裂解。可裂解的键包括例如二硫键、酰胺键及糖苷键。

[0582] 在一些实施方式中，活化单元将包含一个氨基酸或多个氨基酸的一个或多个相邻或非相邻序列（例如，以使得W具有1至不超过12个氨基酸）。活化单元可包含例如单肽、二肽、三肽、四肽、五肽、六肽、七肽、八肽、九肽、十肽、十一肽或十二肽单元或由其组成。在一些方面中，在酶（例如，肿瘤相关蛋白酶）存在下，活化单元(W)与自分解型间隔体单元(Y)之间的酰胺连接经裂解，其最终导致游离药物归因于Y的自我分解而释放。

[0583] 各氨基酸可为天然或非天然的和/或D-或L-异构体，其条件理所当然为在裂解起始Y中的自我分解之后形成可裂解键。在一些实施方式中，活化单元将仅包含天然氨基酸。在一些方面中，活化单元将具有在相邻序列中的1至不超过12个氨基酸。

[0584] 在一些实施方式中，氨基酸各自独立地选自：丙氨酸、精氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、组氨酸、甘氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、苯丙氨酸、赖氨酸、亮氨酸、丝氨酸、酪氨酸、苏氨酸、

异亮氨酸、脯氨酸、色氨酸、缬氨酸、半胱氨酸、甲硫氨酸、硒代半胱氨酸、鸟氨酸、青霉胺、 β -丙氨酸、氨基烷酸、氨基炔酸、氨基烷二酸、氨基苯甲酸、氨基-杂环基-烷酸、杂环基-羧酸、瓜氨酸、他汀、二氨基烷酸及其衍生物。在一些实施方式中,氨基酸各自独立地选自:丙氨酸、精氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、组氨酸、甘氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、苯丙氨酸、赖氨酸、亮氨酸、丝氨酸、酪氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、色氨酸、缬氨酸、半胱氨酸、甲硫氨酸及硒代半胱氨酸。在一些实施方式中,氨基酸各自独立地选自:丙氨酸、精氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、组氨酸、甘氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、苯丙氨酸、赖氨酸、亮氨酸、丝氨酸、酪氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、色氨酸及缬氨酸。在一些实施方式中,各氨基酸是选自蛋白型或非蛋白型氨基酸。

[0585] 在另一实施方式中,氨基酸各自独立地选自以下L-(天然)氨基酸:丙氨酸、精氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、组氨酸、甘氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、苯丙氨酸、赖氨酸、亮氨酸、丝氨酸、酪氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、色氨酸及缬氨酸。

[0586] 在另一实施方式中,氨基酸各自独立地选自该天然氨基酸的以下D-异构体:丙氨酸、精氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、组氨酸、甘氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、苯丙氨酸、赖氨酸、亮氨酸、丝氨酸、酪氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、色氨酸及缬氨酸。

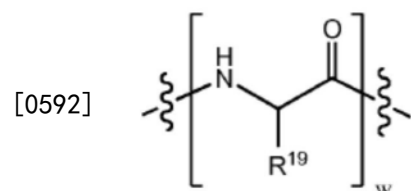
[0587] 在某些实施方式中,活化单元仅包含天然氨基酸。在其他实施方式中,活化单元仅包含非天然氨基酸。在一些实施方式中,活化单元包含连接至非天然氨基酸的天然氨基酸。在一些实施方式中,活化单元包含连接至天然氨基酸的D-异构体的天然氨基酸。

[0588] 示例性活化单元包括具有-Val-Cit-、-Phe-Lys-或-Val-Ala-的二肽。

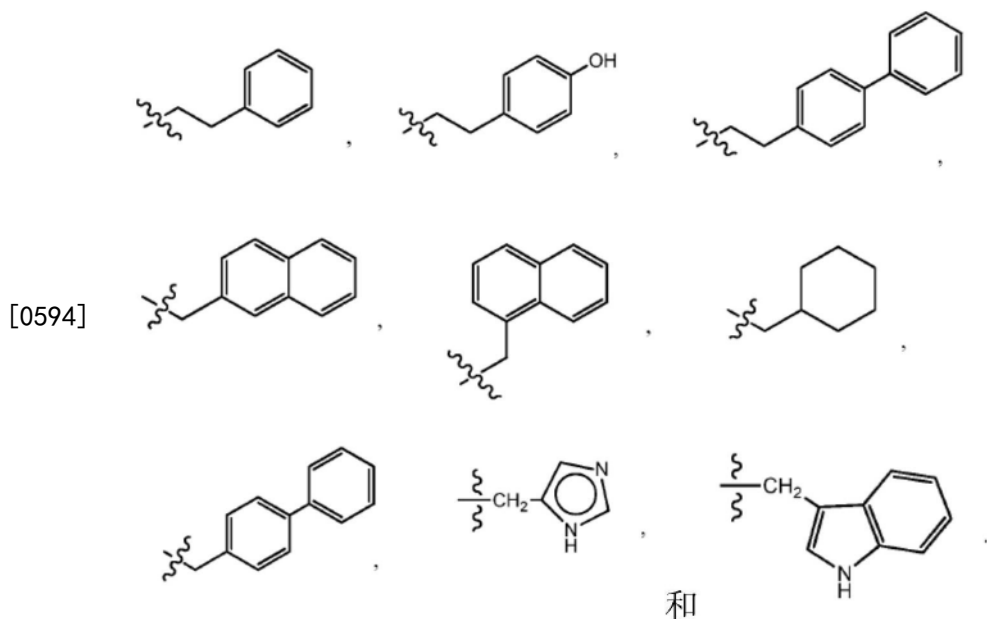
[0589] 适用活化单元在其由特定酶(例如肿瘤相关蛋白酶)酶促裂解的选择性方面可经设计且优化。在一些实施方式中,使活化单元与自分解型间隔体单元之间的连接(通过介入官能团或键)裂解以起始自分解型间隔体单元中的自我分解是通过组织蛋白酶B、C或D或纤维蛋白酶溶酶蛋白酶催化。

[0590] 在一些实施方式中,活化单元将由 $-(AA-)_1-12-$ 或 $-(AA-AA-)_1-6$ 表示,其中AA在每次出现时独立地选自天然或非天然氨基酸。在一个方面中,AA在每次出现时独立地选自天然氨基酸。

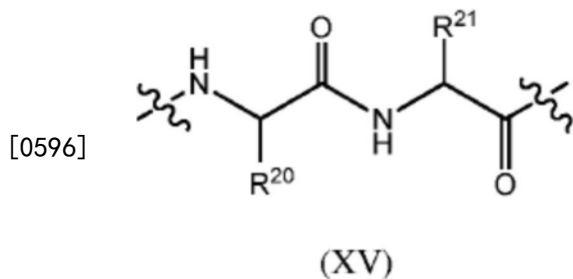
[0591] 在一些实施方式中,活化单元具有如下在方括号中指示的式,邻接于羰基的波浪线与自分解型间隔体单元连接且另一波浪线与延伸体单元(Z)(或其前体Z')连接,其为直接连接或通过介入连接物单元(A)和/或分支单元(B)间接连接,且下标w为在1至12范围内的整数:



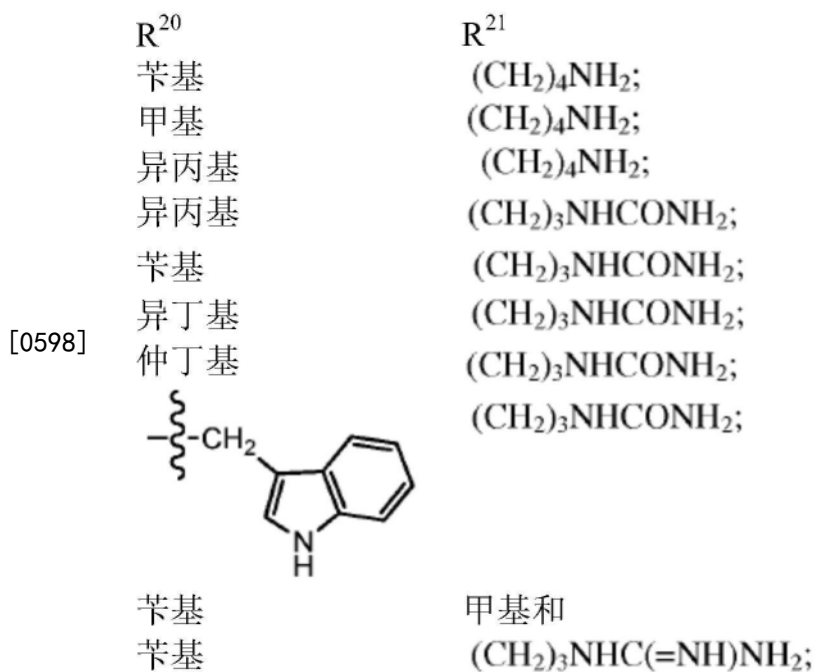
[0593] 其中 R^{19} 在各情况下独立地选自:氢、甲基、异丙基、异丁基、仲丁基、苯甲基、对羟基苯甲基、 $-CH_2OH$ 、 $-CH(OH)CH_3$ 、 $-CH_2CH_2SCH_3$ 、 $-CH_2CONH_2$ 、 $-CH_2COOH$ 、 $-CH_2CH_2CONH_2$ 、 $-CH_2CH_2COOH$ 、 $-(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$ 、 $-(CH_2)_3NH_2$ 、 $-(CH_2)_3NHC(=O)CH_3$ 、 $-(CH_2)_3NHCHO$ 、 $-(CH_2)_4NHC(=NH)NH_2$ 、 $-(CH_2)_4NH_2$ 、 $-(CH_2)_4NHC(=O)CH_3$ 、 $-(CH_2)_4NHCHO$ 、 $-(CH_2)_3NHCONH_2$ 、 $-(CH_2)_4NHCONH_2$ 、 $-CH_2CH_2CH(OH)CH_2NH_2$ 、2-吡啶基甲基、3-吡啶基甲基、4-吡啶基甲基、苯基、环己基、



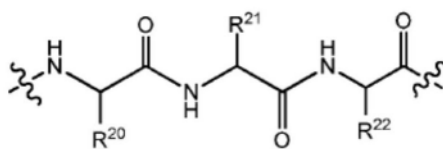
[0595] 示例性活化单元由式 (XV)、式 (XVI) 及式 (XVII) 表示



[0597] 其中 R^{20} 及 R^{21} 为如下:



[0599]

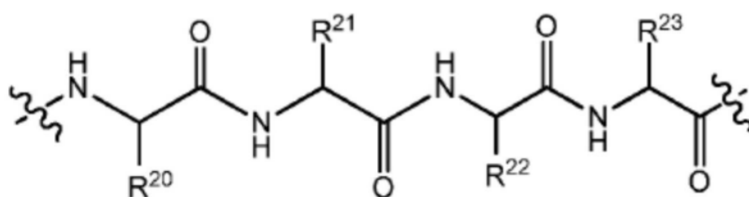


(XVI)

[0600] 其中 R^{20} 、 R^{21} 及 R^{22} 为如下:

R^{20}	R^{21}	R^{22}
苄基	苄基	$(CH_2)_4NH_2$;
异丙基	苄基	$(CH_2)_4NH_2$; 和
H	苄基	$(CH_2)_4NH_2$;

[0601]



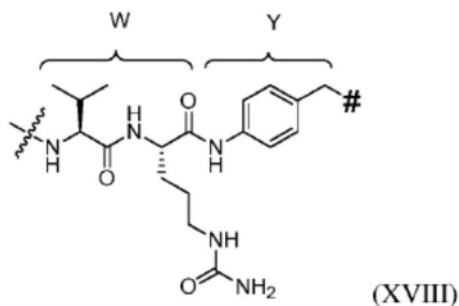
(XVII)

[0602] 其中 R^{20} 、 R^{21} 、 R^{22} 及 R^{23} 为如下:

R^{20}	R^{21}	R^{22}	R^{23}
H	苄基	异丁基	H; 和
甲基	异丁基	甲基	异丁基

[0604] 在一些所述方面中,自分解型部分X为 $\text{---}\text{W}\text{---}\text{Y}\text{---}$ 且由式XVIII的结构表示:

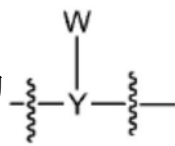
[0605]



(XVIII)

[0606] 其中波浪线指示与延伸体单元Z(或其前体Z')的直接或通过连接体单元(A)或分支单元(B)或A及B之间接共价连接,且井号(#)指示苯甲基碳至亚甲基氨基甲酸酯单元的共价连接。

[0607] 在其他方面中,自我分解自通过糖苷单元的糖苷酶裂解经活化。糖苷单元为自分解型部分(X)的另一示例,其中X具有如下所示的 $\text{---}\text{Y}(\text{W})\text{---}$ 的结构



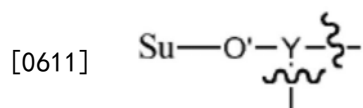
线指示与延伸体单元Z(或其前体Z')的直接或通过连接体单元(A)或分支单元(B)或A及B之

间接共价连接,且另一波浪线指示与自分解型组装单元的剩余部分(即,亚甲基氨基甲酸酯单元或MAC单元)的共价连接。

[0608] 糖苷单元通常包含通过氧糖苷键连接至自分解型间隔子Y的糖部分(Su),该糖苷单元的结构由-Y(W)-表示。氧糖苷键的裂解引发自分解反应序列,其导致游离药物的释放。在所述实施方式中,糖表示活化单元,因为其通过可裂解键连接至自分解型间隔子,且该键的裂解起始自我分解反应序列。

[0609] 在一些方面中,可活化的自分解型部分(X)由-Y(W)-表示且自通过葡萄糖苷酸单元(其为示例性糖苷单元)的 β -葡萄糖醛酸酶的裂解经活化。葡萄糖苷酸单元包含活化单元及自分解型间隔体单元。葡萄糖苷酸单元包含糖部分(Su),其通过氧糖苷键连接至自分解型间隔体单元。氧糖苷键的裂解起始自我分解反应序列,从而导致游离药物的释放。在所述实施方式中,糖表示活化单元,因为其通过可裂解键连接至自分解型间隔体单元,且该键的裂解起始自我分解反应序列。

[0610] 在一些实施方式中,糖苷单元或葡萄糖苷酸单元包含通过氧糖苷键(-O'-)连接至自分解型间隔体单元(Y)的糖部分(Su),其具有式:

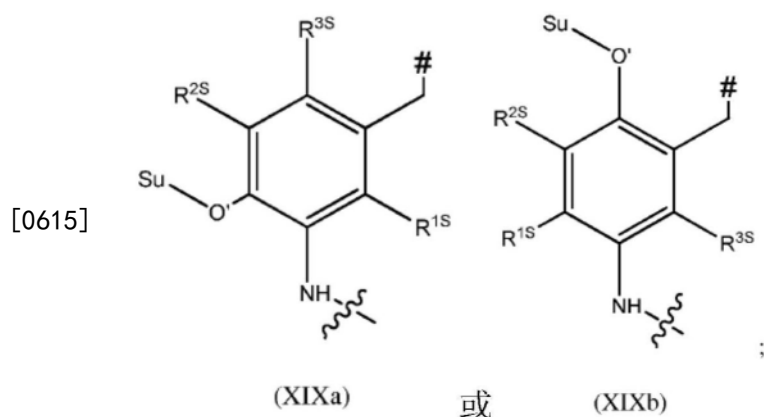


[0612] 其中波浪线指示与亚甲基氨基甲酸酯单元及至延伸体单元(Z)或其前体(Z')的直接或通过连接体单元或分支单元或连接体单元及分支单元之间接共价连接,视具体情况而定。

[0613] 氧糖苷键(-O'-)通常为 β -葡萄糖醛酸酶-裂解位点(即,Su来自葡萄糖苷酸),例如可由人类、溶酶体 β -葡萄糖醛酸酶裂解的糖苷键。

[0614] 可活化的自分解型部分X具有的结构 其可由糖苷酶裂解以起始自分解

型反应序列,且可由式XIXa或式XIXb表示:



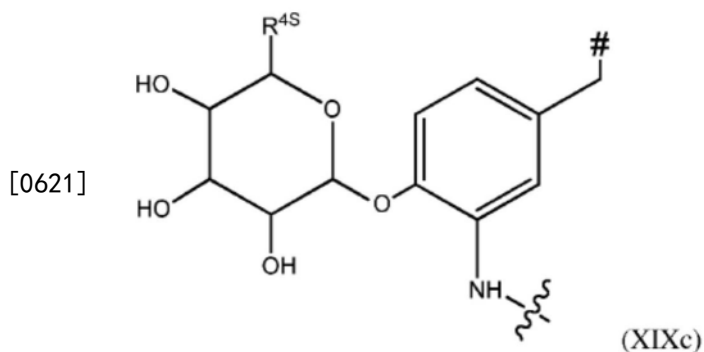
[0616] 其中Su为糖部分,-O'-表示氧糖苷键; R^{1S} 、 R^{2S} 及 R^{3S} 独立地为氢、卤素、-CN、-NO₂或其他吸电子基团,或供电子基团;且

[0617] 其中波浪线指示与延伸体单元(Z)(或其前体(Z'))的(直接或通过连接体单元或分支单元或连接体单元及分支单元之间接)连接;

[0618] 且#指示与亚甲基氨基甲酸酯单元的(直接或通过介入官能团或其他部分间接地)连接。

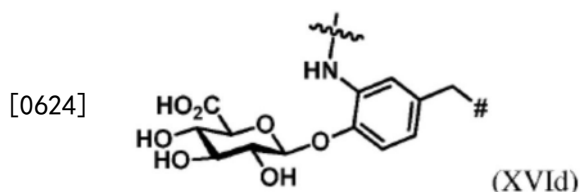
[0619] 在优选实施方式中, R^{1S} 、 R^{2S} 及 R^{3S} 独立地选自氢、卤素、-CN或-NO₂。在其他优选实施方式中, R^{1S} 、 R^{2S} 及 R^{3S} 各自为氢。在其他优选实施方式中, R^{2S} 为吸电子基团,优选为NO₂,且 R^{1S} 及 R^{3S} 各自为氢。

[0620] 在一些所述方面中,能够糖苷酶裂解以起始自分解型反应序列的可活化自分解型基团由式XIXc表示:



[0622] 其中 R^{4S} 为CH₂OH或-CO₂H,波浪线指示与延伸体单元(Z)(或其前体Z')的直接或通过连接体单元或分支单元或连接体单元及分支单元之间共价连接,且井号(#)指示与亚甲基氨基甲酸酯单元的共价连接。

[0623] 在可活化的自分解型部分由葡萄糖苷酸单元构成的一些实施方式中,其由下式XVIId表示:

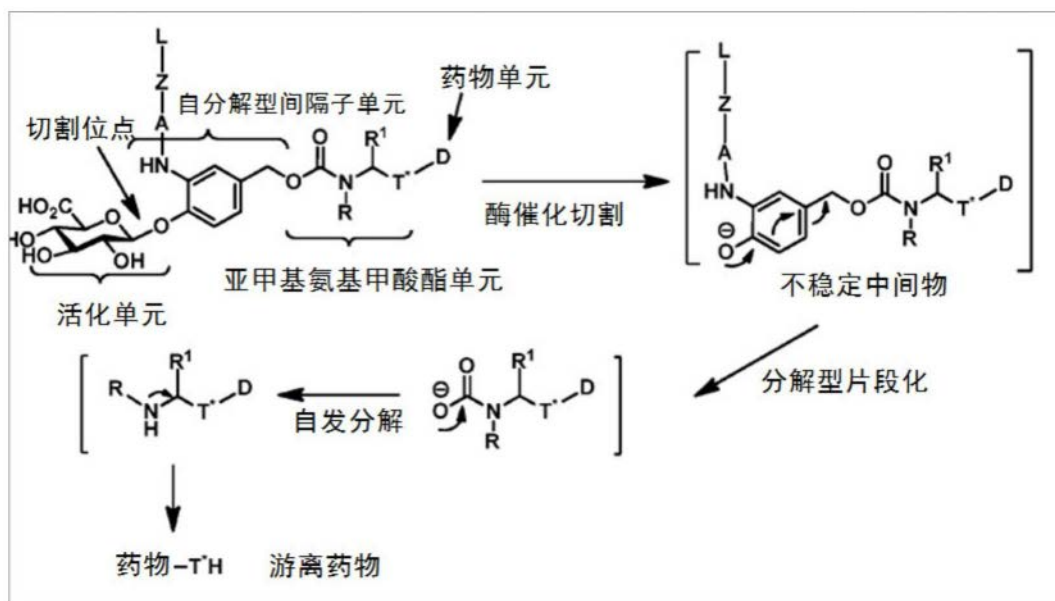


[0625] 其中波浪线指示与延伸体单元(Z)(或其前体Z')的直接或通过连接体单元或分支单元或连接体单元及分支单元之间共价连接,且井号(#)指示Y的苯甲基碳至亚甲基氨基甲酸酯单元的共价连接。

[0626] 在不受理论束缚的情况下,流程1a描绘自药物单元的游离药物释放机制,该药物单元与LDC中的具有自分解型部分(其具有如式XVIId中的-Y(W)-结构)的亚甲基氨基甲酸酯单元连接,而流程1b描绘自不具有介入亚甲基氨基甲酸酯单元的益处的LDC的游离药物释放的类似机制。

[0627] 流程1a:

[0628]

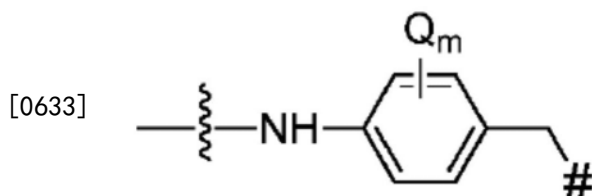


[0629] 在一些实施方式中,起始自我分解反应序列的裂解事件为二硫键的裂解。在一些所述方面中,还原剂(例如谷胱甘肽-SH)将作用以裂解二硫键,由此起始自我分解反应序列。因此,在所述实施方式中,活化单元为化学部分,其含有参与活化单元与自分解型间隔体单元之间的可裂解二硫键的硫原子。

[0630] 自分解型间隔体单元(Y)

[0631] 自分解型间隔体单元为可经历自我分解反应序列(即分裂)从而导致游离药物释放的化学部分。通常有两种类型的自分解型间隔体单元。第一种可称为电子级联自分解型间隔体单元。在此类自分解型间隔体单元内的电子级联由于移动结合电子对而引起消除反应。电子对的重排之后发生亚甲基氨基甲酸酯单元的自发性分解,最终导致游离药物自药物单元释放。活化单元的活化起始消除反应(例如,1,6-或1,4-消除反应)。第二种类型的自分解型间隔体单元为环化自分解型间隔体单元。环化自分解型间隔体单元通过在分子内环化反应之后导致亚甲基氨基甲酸酯单元的自发性分解起作用,由此导致游离药物释放。活化单元的活化起始环化反应。因此,自分解型间隔体单元为化学部分,其能够在活化单元的活化之后经受分裂或环化反应,由此该分裂或环化反应导致亚甲基氨基甲酸酯单元的自发性分解及游离药物的释放。

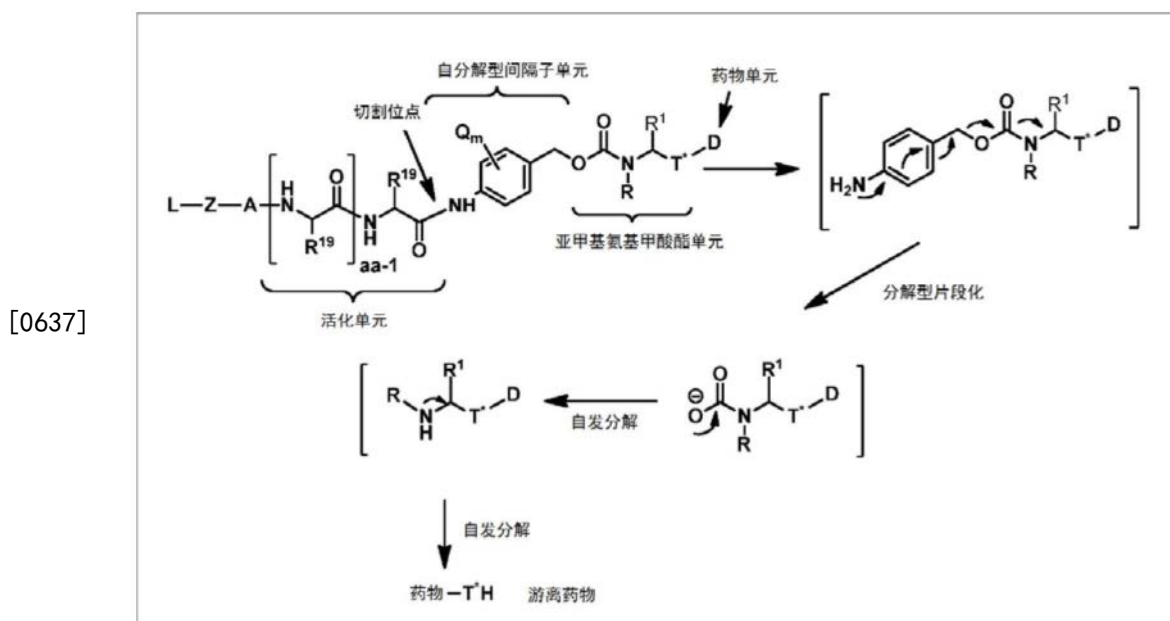
[0632] 在一些方面中,自分解型间隔体单元为化学部分,其能够直接或间接地通过连接体单元或分支单元或连接体单元及分支单元将三个在空间上相异的化学部分(例如,活化单元(W)、亚甲基氨基甲酸酯单元及延伸子(Z)(或其前体Z'))共价连接在一起。在其他方面中,自分解型间隔体单元为能够将两个在空间上相异的化学部分(例如,活化单元及亚甲基氨基甲酸酯单元)共价连接在一起的化学部分,其中至延伸体单元的连接是通过该活化单元。在一些该种实施方式中,示例性自分解型间隔体单元为具有如下所示的结构 of PAB基团:



[0634] 其中波浪线指示与活化单元的共价连接,且井号(#)指示PAB基团的苯甲基碳至亚甲基氨基甲酸酯单元的共价连接,Q为 $-C_1-C_8$ 烷基、 $-O-(C_1-C_8$ 烷基)或其他供电子基团、-卤素、-硝基或-氰基或其他吸电子基团(优选地,Q为 $-C_1-C_8$ 烷基、 $-O-(C_1-C_8$ 烷基)、卤素、硝基或氰基);且m为在0至4范围内的整数(即,中心亚芳基不具有其他取代基或具有1至4个其他取代基)。在优选实施方式中,m为0。在其他优选实施方式中,m为1或2,且各Q为经独立地选择的供电子基团。

[0635] 流程2描绘自分解型间隔体单元(Y)的示例性PAB基团的药物释放的可能机制,该自分解型间隔体单元(Y)通过亚甲基氨基甲酸酯单元直接连接至-D,其中自分解型部分具有-W-Y-的结构。

[0636] 流程2



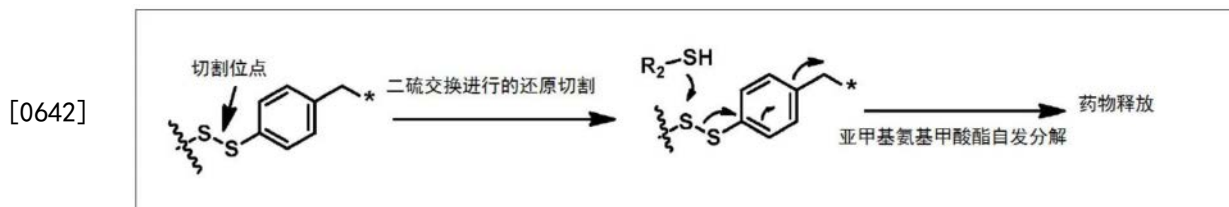
[0638] 其中Q为 $-C_1-C_8$ 烷基或 $-O-(C_1-C_8$ 烷基)或其他供电子基团,或-卤素、-硝基、-氰基或其他吸电子基团(Q优选为 $-C_1-C_8$ 烷基、 $-O-(C_1-C_8$ 烷基)、卤素、硝基或氰基);且m为在0-4范围内的整数;且 R^{19} (其经独立地选择)及aa如对于基于肽的活化单元所定义。

[0639] 自分解型间隔体单元的其他示例包括(但不限于)芳族化合物,其在电子方面类似于PAB基团,例如2-氨基咪唑-5-甲醇衍生物(参见例如,Hay等人,1999,Bioorg.Med.Chem.Lett.9:2237),及邻位或对位氨基苯甲基乙醛以及五环杂环及N-杂环季铵盐。还可使用在酰胺键水解之后经历环化的自分解型间隔体单元,例如经取代及未经取代的4-氨基丁酸酰胺(参见例如,Rodrigues等人,1995,Chemistry Biology2:223)、经适当取代的双环[2.2.1]及双环[2.2.2]环系统(参见例如,Storm等人,1972,J.Amer.Chem.Soc.94:5815)、2-氨基苯基丙酸酰胺(参见例如,Amsberry等人,1990,J.Org.Chem.55:5867)及基于三甲基锁的间隔子。在甘氨酸的 α 位置处经取代的含胺药物的

消除(参见例如,Kingsbury等人,1984,J.Med.Chem.27:1447)也是适用于示例性配体药物偶联物的自分解型间隔体单元的示例,正如噻吩。(参见例如,Senter,P等人,1990,J.Org.Chem.55:2975)。

[0640] 示例性自分解型间隔体单元进一步包括例如噻吩基,其硫氢基硫参与二硫键,所述二硫键释放游离药物,如下文在流程3中所示:

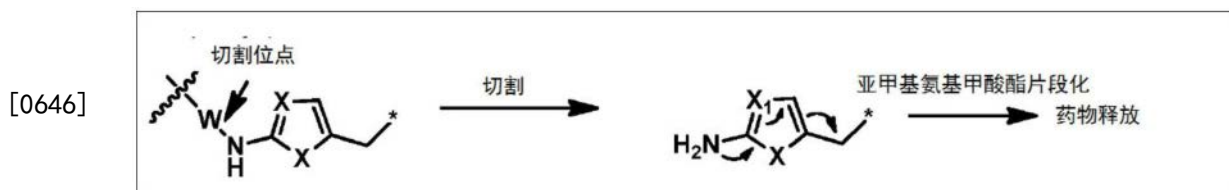
[0641] 流程3



[0643] 其中波浪线指示与延伸体单元(Z)(或其前体Z')的直接或通过连接体单元或分支单元或连接体单元及分支单元之间间接连接位点,且星号(*)指示Y的苯甲基碳至亚甲基氨基甲酸酯单元的连接位点。

[0644] 示例性自分解型间隔体单元进一步包括例如释放药物的5-环杂环,如下文在流程4中所示。

[0645] 流程4



[0647] 其中X为C、O或S,W为活化单元,波浪线指示与延伸体单元(Z)(或其前体Z')的直接或通过连接体单元或分支单元或连接体单元及分支单元之间间接连接的位点,且星号指示与亚甲基氨基甲酸酯单元的连接位点。

[0648] 在本发明的一些方面中,自分解型间隔体单元的质量不超过约1000道尔顿、不超过约500道尔顿、不超过约400道尔顿、不超过约300道尔顿,或为约10、50或100至约1000道尔顿,约10、50或100至约500道尔顿,约10、50或100道尔顿至约400道尔顿,约10、50或100道尔顿至约300道尔顿或约10、50或100道尔顿至约200道尔顿。

[0649] 下标“p”

[0650] 在本发明的一个方面中,下标p表示个体配体药物偶联物(LDC)的配体单元上的药物连接物部分的数目,且为优选在1至16、1至12、1至10或1至8范围内的整数。个别LDC还可称为LDC化合物。在本文中的实施方式中的任一种中,可存在1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16个结合至个别LDC的配体单元的药物连接物部分。在本发明的另一方面中,一组实施方式描述一群个体配体药物偶联物,所述配体药物偶联物除结合至各配体单元(即,LDC组合物)的药物连接物部分的数目外实质上相同,因此p表示结合至LDC组合物的配体单元的药物-连接物部分的平均数目。在该组实施方式中,p为在1至约16、1至约12、1至约10或1至约8、2至约16、2至约12、2至约10或2至约8范围内的数值。在一些方面中,p值是指平均药物负荷以及组合物中占主导地位的ADC的药物负荷。

[0651] 在一些方面中,结合将通过链间二硫键,且将存在结合至配体分子的1至约8个药

物连接物分子。在一些方面中,结合将通过引入的半胱氨酸残基以及链间二硫键,且将存在结合至配体分子的1至10或1至12或1至14或1至16个药物连接物分子。在一些方面中,结合将通过引入的半胱氨酸残基且将存在结合至配体分子的2或4个药物连接物分子。

[0652] 配体-药物偶联物混合物及组合物

[0653] 本发明提供配体-药物偶联物混合物及包含本文所描述的配体-药物偶联物中的任一种的药物组合物。混合物及药物组合物包含多个偶联物。在一些方面中,混合物或组合物中的偶联物中的每个相同或实质上相同,然而,药物-连接物在混合物或组合物中的配体上的分布以及药物负荷可变化。举例而言,用于将药物-连接物结合至作为靶向配体的抗体的结合技术可产生关于药物-连接物在混合物和/或组合物内的抗体配体单元上的分布和/或关于药物-连接物在混合物和/或组合物内的配体分子上的负荷为异质的组合物或混合物。在一些方面中,药物-连接物在抗体分子的混合物或组合物中的每一所述分子上的负荷为在1至14范围内的整数。

[0654] 在那些方面中,当以整体形式提及组合物时,药物-连接物的负荷为1至约14范围内的数值。在组合物或混合物内,还可存在较小百分比的非结合抗体。混合物或组合物中的每一配体单元的药物-连接物平均数目(即,平均药物-负荷)为重要属性,因为其决定可递送至目标细胞的药物最大量。当LDC中的连接物单元不分支时,所述LDC的混合物或组合物中的药物-连接物的平均数目表示平均药物负荷,且为可在1至约14、优选约2至约10或约8范围内变化的数值。平均药物负荷可为1、2或约2、3或约3、4或约4、5或约5、6或约6、7或约7、8或约8、9或约9、10或约10、11或约11、12或约12、13或约13、14或约14、15或约15、16或约16。当LDC中的连接物单元分支时,所述LDC的混合物或组合物中的药物连接物的平均数目具有对应于非分支LDC的范围,但平均药物负荷将视各连接物单元中的分支点的数目而定为平均药物-连接物负荷的某个倍数。

[0655] 在一些方面中,混合物及药物组合物包含多个(即,一群)偶联物,然而,所述偶联物相同或实质性相同,且其关于药物-连接物在混合物和/或组合物内的配体分子上的分布和/或关于药物-连接物在混合物和/或组合物内的配体分子上的负荷为实质上均质的。在一些所述方面中,药物-连接物在抗体配体单元上的负荷为2或4。在组合物或混合物内,还可存在较小百分比的非结合抗体。平均药物负荷在所述实施方式中为约2或约4。通常,所述组合物及混合物由使用位点特异性结合技术产生且结合归因于引入的半胱氨酸残基。

[0656] 在来自结合反应的制剂中的每一配体单元的药物单元或药物-连接物平均数目可通过传统方式表征,所述方式例如质谱分析、ELISA分析、HPLC(例如HIC)。还可根据p确定配体-药物偶联物的定量分布。在一些情况下,均质配体-药物偶联物的分离、纯化及表征可通过例如逆相HPLC或电泳的方式进行。

[0657] 在一些方面中,组合物为包含本文所描述的配体-药物偶联物及医药学上可接受的载剂的药物组合物。在一些方面中,药物组合物将呈液体形式。在一些方面中,其将为冻干粉末。

[0658] 组合物(包括药物组合物)可以纯化形式提供。如本文所用,“纯化”表示在分离时分离物含有以分离物的重量计至少95%,且在另一方面中至少98%的偶联物。

[0659] 使用方法

[0660] 癌症治疗

[0661] 该配体-药物偶联物适用于抑制肿瘤细胞或癌细胞的增殖、在肿瘤或癌细胞中引起细胞凋亡、或用于治疗患者的癌症。因此,该配体-药物偶联物可在用于治疗癌症的多种设置中使用。该配体-药物偶联物可用于将药物递送至肿瘤细胞或癌细胞。在不受理论束缚的情况下,在一个实施方式中,配体-药物偶联物的配体单元与癌细胞或肿瘤细胞相关抗原结合或缔合,且配体-药物偶联物可在肿瘤细胞或癌细胞内部通过受体介导的内吞作用或其他内化机制而被吸收(内化)。抗原可连接至肿瘤细胞或癌细胞或可为与肿瘤细胞或癌细胞缔合的细胞外基质蛋白质。一旦进入细胞内,药物即通过活化单元的活化作用在细胞内释放。在一替代实施方式中,游离药物在肿瘤细胞或癌细胞外部自配体-药物偶联物释放,且游离药物随后穿透细胞。

[0662] 在一个实施方式中,配体单元与肿瘤细胞或癌细胞结合。

[0663] 在另一实施方式中,配体单元结合至位于肿瘤细胞或癌细胞表面上的肿瘤细胞或癌细胞抗原。

[0664] 在另一实施方式中,配体单元结合至作为与肿瘤细胞或癌细胞缔合的细胞外基质蛋白质的肿瘤细胞或癌细胞抗原。

[0665] 配体单元对特定肿瘤细胞或癌细胞的特异性对于测定可接受有效治疗的肿瘤或癌症具有重要性。举例而言,靶向存在于造血癌症中的癌细胞抗原的配体-药物偶联物可适用于治疗血液恶性疾病(例如,抗CD30、抗CD70、抗CD19、抗CD33结合配体单元(例如抗体)可适用于治疗血液恶性疾病)。靶向存在于实体肿瘤上的癌细胞抗原的配体-药物偶联物可适用于治疗所述实体肿瘤。

[0666] 可用配体-药物偶联物治疗的癌症包括(但不限于)造血癌症,例如淋巴瘤(霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin Lymphoma)及非霍奇金氏淋巴瘤)及白血病及实体肿瘤。造血癌症的示例包括滤泡性淋巴瘤、多形性大细胞淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、急性骨髓母细胞白血病、慢性骨髓细胞性白血病、慢性淋巴球性白血病、扩散型大B细胞淋巴瘤及多发性骨髓瘤。实体肿瘤的示例包括纤维肉瘤、黏液肉瘤、脂肪肉瘤、软骨肉瘤、成骨性肉瘤、脊髓瘤、血管肉瘤、内皮肉瘤、淋巴管肉瘤、淋巴内皮肉瘤、滑膜瘤、间皮瘤、尤文氏肿瘤(Ewing's tumor)、平滑肌肉瘤、横纹肌肉瘤、结肠癌、结肠直肠癌、肾脏癌、胰脏癌、骨癌、乳癌、卵巢癌、前列腺癌、食道癌、胃癌、口腔癌、鼻咽癌、鳞状细胞癌、基底细胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳头状癌、乳头状腺癌、囊腺癌、髓性癌、支气管癌、肾细胞癌、肝癌、胆管癌、绒膜癌、精原细胞瘤、胚胎癌、威尔姆斯氏肿瘤(Wilms'tumor)、子宫颈癌、子宫癌、睾丸癌、小细胞肺癌、膀胱癌、肺癌、上皮癌、神经胶质瘤、多形性胶质母细胞瘤、星形细胞瘤、神经管胚细胞瘤、颅咽管瘤、室管膜瘤、松果体瘤、血管母细胞瘤、听神经瘤、少突神经胶质瘤、脑膜瘤、皮肤癌、黑色素瘤、神经母细胞瘤及视网膜母细胞瘤。

[0667] 在优选实施方式中,所治疗的癌症为以上所列淋巴瘤及白血病中的任一种。

[0668] 癌症的多形式治疗

[0669] 包括(但不限于)肿瘤、癌转移的癌症或以细胞生长不受控为特征的其他疾病或病症可通过给予配体-药物偶联物来治疗或抑制。

[0670] 在其他实施方式中,提供用于治疗癌症的方法,其包括向有需要的患者给予有效量的配体-药物偶联物及化学治疗剂。在一个实施方式中,化学治疗剂为已发现治疗癌症不难的该治疗剂。在另一实施方式中,化学治疗剂为已发现治疗癌症较难的该治疗剂。可向也

已经历手术作为癌症的治疗的患者给予配体-药物偶联物。

[0671] 在一些实施方式中,患者还接受其他治疗,例如放射疗法。在一特定实施方式中,配体-药物偶联物与化学治疗剂或放射疗法同时给予。在另一特定实施方式中,在给予配体-药物偶联物之前或之后给予化学治疗剂或放射疗法。

[0672] 化学治疗剂可历经一系列阶段给予。可给予任何一种化学治疗剂或其组合,例如一种或多种护理化学治疗剂的标准物。

[0673] 另外,提供以配体-药物偶联物作为化学疗法或放射疗法的替代方法来治疗癌症的方法,其中该化学疗法或放射疗法已证实或可证实对于所治疗的个体而言毒性过大而例如产生不可接受或不堪忍受的副作用。所治疗的患者可任选另一癌症疗法治疗,例如手术、放射疗法或化学疗法,视发现哪一疗法可接受或可忍受而定。

[0674] 自体免疫疾病治疗

[0675] 配体-药物偶联物适用于杀死产生自体免疫疾病的细胞或抑制其非所需复制,或适用于治疗自体免疫疾病。因此,配体-药物偶联物可在用于治疗患者的自体免疫疾病的多种装置中使用。配体-药物偶联物可用于将药物递送至目标细胞。在不受理论束缚的情况下,在一个实施方式中,配体-药物偶联物与促发炎性或不当经刺激的免疫细胞的表面上的抗原缔合,且配体-药物偶联物随后在目标细胞内部通过受体介导内饮作用溶解。一旦进入细胞内,连接物单元即发生裂解,从而导致药物或药物单元的释放。随后,所释放的药物在细胞溶质中自由迁移且诱发细胞毒性或细胞抑制活性。在一替代实施方式中,药物在目标细胞外部自配体-药物偶联物释放,且药物或药物单元随后穿透细胞。

[0676] 在一个实施方式中,配体单元结合至自体免疫抗原。在一个方面中,抗原位于与自体免疫病况有关的细胞的表面上。

[0677] 在一个实施方式中,配体单元结合至与自体免疫疾病病况相关的活化淋巴细胞。

[0678] 在另一实施方式中,配体-药物偶联物杀死产生与特定自体免疫疾病相关的自体免疫抗体的细胞或抑制其增殖。

[0679] 可用配体-药物偶联物治疗的特定类型的自体免疫疾病包括(但不限于):Th2淋巴细胞相关病症(例如异位性皮肤炎、异位性哮喘、鼻结膜炎、过敏性鼻炎、欧门氏症候群(Omenn's syndrome)、全身性硬化症及移植物抗宿主疾病);Th1淋巴细胞相关病症(例如类风湿性关节炎、多发性硬化症、牛皮癣、休格连氏症候群(Sjorgren's syndrome)、桥本氏甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis)、格雷弗氏病(Grave's disease)、原发性胆汁性肝硬化、韦格纳氏肉芽肿病(Wegener's granulomatosis)及肺结核);及活化B淋巴细胞相关病症(例如,全身性红斑狼疮症、古巴士德氏症候群(Goodpasture's syndrome)、类风湿性关节炎及I型糖尿病)。

[0680] 自体免疫疾病的多药疗法

[0681] 还公开用于治疗自体免疫疾病的方法,其包括向有需要的患者给予有效量的配体-药物偶联物及已知用于治疗自体免疫疾病的另一治疗剂。

[0682] 组合物和给予方法

[0683] 本发明提供包含本文所描述的配体-药物偶联物及医药学上可接受的载剂的药物组合物。配体-药物偶联物可呈允许该化合物向患者给予以用于治疗与配体单元所结合的抗原的表达相关的病症的任何形式。举例而言,偶联物可呈液体或固体形式。优选给予途径

为胃肠外。胃肠外给予包括皮下注射、静脉内、肌肉内、胸骨内注射或输注技术。在一个方面中,组合物是胃肠外给予。在一个方面中,偶联物是静脉内给予。给予可通过任何适宜途径,例如通过输注或快速注射。

[0684] 药物组合物可经调配以便使得化合物在向患者给予组合物之后为生物可用的。组合物可呈一个或多个剂量单位的形式。

[0685] 用于制备药物组合物的材料在所用量下可为无毒的。本领域普通技术人员将显而易见,药物组合物中的一种或多种活性成分的最佳剂量将视多种因素而定。相关因素包括(但不限于)动物的类型(例如人类)、化合物的特定形式、给予方式及所用组合物。

[0686] 组合物可例如呈液体形式。液体可适用于通过注射递送。在用于通过注射给予的组合物中,还可包括表面活性剂、防腐剂、湿润剂、分散剂、悬浮剂、缓冲液、稳定剂及等渗剂中的一种或多种。

[0687] 液体组合物(无论其为溶液、悬浮液或其他类似形式)还可包括以下各者中的一种或多种:无菌稀释剂,例如注射用水、盐水溶液(优选为生理盐水)、林格氏溶液(Ringer's solution)、等张氯化钠、不挥发性油(例如合成甘油单酯或甘油二酯,其可充当溶剂或悬浮介质)、聚乙二醇、丙三醇、环糊精、丙二醇或其他溶剂;抗微生物剂,例如苯甲醇或对羟基苯甲酸甲酯;抗氧化剂,例如抗坏血酸或亚硫酸氢钠;螯合剂,例如乙二胺四乙酸;缓冲液,例如氨基酸、乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐;清洁剂,例如非离子型表面活性剂、多元醇;及用于调节张力的剂,例如氯化钠或右旋糖。胃肠外组合物可封闭于由玻璃、塑料或其他材料制成的安瓿、抛弃式注射器或多剂量小瓶中。生理盐水为示例性佐剂。可注射组合物优选为无菌的。

[0688] 有效治疗特定病症或病况的偶联物的量将视该病症或病况的性质而定,且可通过标准临床技术来确定。另外,可任选使用体外或活体内分析来帮助鉴别最佳剂量范围。待用于组合物的精确剂量还将视给予途径及疾病或病症的严重性而定,且应根据医师的判断及各患者的情况来决定。

[0689] 组合物包含有效量的化合物,使得将获得适合剂量。通常,此量为以组合物的重量计至少约0.01%的化合物。

[0690] 对于静脉内给予,组合物可包含每公斤动物体重约0.01mg至约100mg的配体-药物偶联物。在一个方面中,组合物可包括每公斤动物体重约1mg至约100mg的配体-药物偶联物。在另一方面中,给予量将在每公斤体重约0.1mg至约25mg化合物范围内。视所用的药物而定,剂量可为甚至更低的,例如为每公斤个体体重1.0 μ g至5.0mg、4.0mg、3.0mg、2.0mg或1.0mg或1.0 μ g至500.0 μ g。

[0691] 通常,向患者给予的偶联物剂量通常为每公斤个体体重约0.01mg至约100mg或每公斤个体体重1.0 μ g至5.0mg。在一些实施方式中,向患者给予的剂量在每公斤个体体重约0.01mg至约15mg之间。在一些实施方式中,向患者给予的剂量在每公斤个体体重约0.1mg与约15mg之间。在一些实施方式中,向患者给予的剂量在每公斤个体体重约0.1mg与约20mg之间。在一些实施方式中,所给予的剂量在每公斤个体体重约0.1mg至约5mg或约0.1mg至约10mg之间。在一些实施方式中,所给予的剂量在每公斤个体体重约1mg至约15mg之间。在一些实施方式中,所给予的剂量在每公斤个体体重约1mg至约10mg之间。在一些实施方式中,历经治疗周期所给予的剂量在每公斤个体体重约0.1mg至4mg、甚至更优选0.1mg至3.2mg或

甚至更优选0.1mg至2.7mg之间。

[0692] 术语“载剂”是指与化合物一起给予的稀释剂、佐剂或赋形剂。所述医药学上的载剂可为液体,如水及油,包括石油、动物、植物或合成来源的油,例如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油。载剂可为盐水、阿拉伯胶(gum acacia)、明胶、淀粉糊剂、滑石、角蛋白、胶态二氧化硅、尿素。另外,可使用助剂、稳定剂、增稠剂、润滑剂及着色剂。在一个实施方式中,当向患者给予时,化合物或组合物及医药学上可接受的载剂为无菌的。

[0693] 当静脉内给予化合物时,水为示例性载剂。还可使用盐水溶液及右旋糖水溶液及甘油溶液作为液体载剂,特别用于可注射溶液。适合的医药学上的载剂还包括赋形剂,例如淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、稻米、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、甘油单硬脂酸酯、滑石、氯化钠、干燥脱脂牛奶、甘油、丙烯、乙二醇、水、乙醇。若需要,本发明组合物还可含有少量湿润剂或乳化剂或pH缓冲剂。

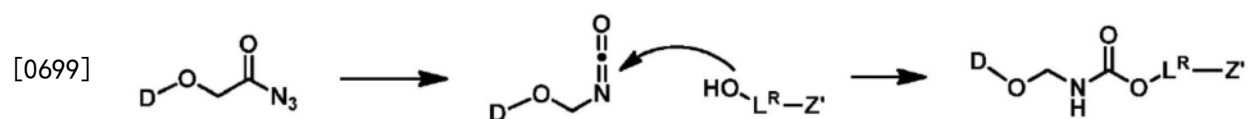
[0694] 在一实施方式中,根据常规程序将偶联物调配成适合于向动物、特别人类静脉内给予的药物组合物。通常,用于静脉内给予的载剂或媒剂为无菌等张缓冲水溶液。必要时,组合物还可包括助溶剂。用于静脉内给予的组合物可任选包含局部麻醉剂(例如利多卡因(lignocaine))以减轻注射位点的疼痛。通常,所述成分是单独地或以单位剂型混合在一起提供,例如呈于指示活性剂量的气密密封容器(例如安瓿或药囊)中的干燥冻干粉末或无水浓缩物形式。当通过输注给予偶联物时,其可例如用含有无菌医药级水或盐水的输注瓶来配药。当通过注射给予偶联物时,可提供注射用无菌水或盐水的安瓿以使得所述成分可在给予前混合。

[0695] 药物组合物通常经调配为无菌、实质上等张的,且完全符合美国食品药品监督管理局的所有良好制造实践(Good Manufacturing Practice,GMP)法规。

[0696] 制备配体-药物偶联物的方法

[0697] 本文所描述的配体-药物偶联物可以抗体、连接物及药物单元的连续建构或以通过组装各部分随后进行完整组装步骤的汇集方式制备。库尔提斯(Curtius)重排反应或氯胺合成可用于提供亚甲基氨基甲酸酯连接物,其为本文所描述的所有偶联物的共同特征。

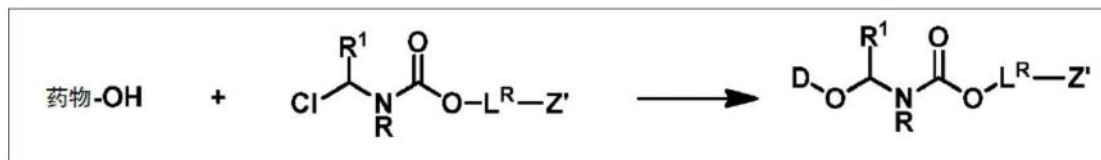
[0698] 流程5:通过库尔提斯重排反应制备示例性药物-连接物:



[0700] 流程5说明包含游离药物的酰基叠氮基衍生物的库尔提斯重排反应的合成策略,其中D为药物单元,其表示具有氢原子纳入亚甲基烷氧基氨基甲酸酯单元中的羟基官能团,该亚甲基烷氧基氨基甲酸酯单元由于重排形成,Z'为延伸体单元前体且L^R为连接物单元的剩余部分(例如,-Y(W)-A或-Y-W-A-,其中Y与氨基甲酸酯氧结合且A与Z'结合)。该策略可作为用于获取区位选择性的方式应用于含有多种醇或其他杂原子的药物,存在许多烷基化的互补方法以形成酰基叠氮基,例如:卤基酯烷基化、卤基酸烷基化或用乙基或甲基重氮乙酸的金属碳烯插入,参见Doyle,M.等人《用于重氮化合物的有机合成的现代催化方法》(Modern Catalytic Methods for Organic Synthesis with Diazo Compounds);威力出版社(Wiley):纽约,1998。酰基叠氮基随后用至少一化学计算量的含醇连接物单元中间物加热,该中间物例如结构1.1。(参见示例)。

[0701] 流程6:通过N-氯甲胺合成制备示例性药物-连接物:

[0702]

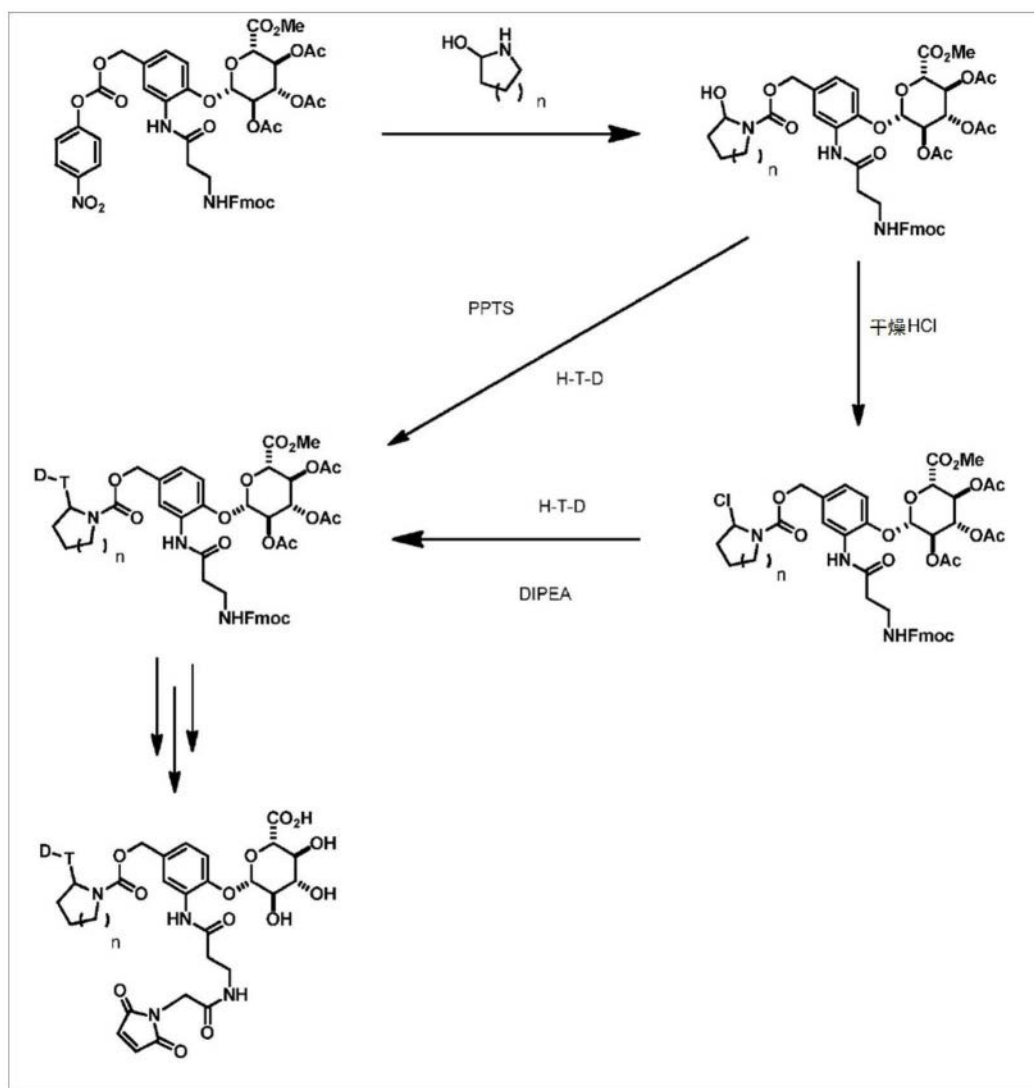


[0703] N-氯甲胺合成为库尔提斯重排反应的替代方案,因为其允许引入未经修饰的醇或其他含杂原子药物,其使用可能与形成流程5的酰基叠氮基所需的条件不相容,且其通过与反应性N-氯甲胺(例如结构1.5)缩合来进行(参见示例)。该方法还较适合于引入某些类型的亚甲基氨基甲酸酯单元,如例如由流程7所示。

[0704] 流程7说明本发明的示例性药物-连接物化合物的合成,所述药物-连接物化合物具有包含式Ib的亚甲基氨基甲酸酯的自分解型组装单元。对硝基-苯基碳酸盐与环状胺醇(aminol)的反应提供氨基甲酸酯,其随后转化为氯环烷基胺用于与来自游离药物的巯基、羟基、胺或酰胺官能团的亲核试剂烷基化。或者,氨基甲酸酯可在药物部分存在下用酸处理以组装所示的药物-连接物中间物。烷基化产物在所得游离胺与3-顺丁烯二酰亚氨基丙酸N-羟基丁二酰亚胺酯的缩合之后去保护,其引入共价连接至连接物单元的延伸体单元前体,由此提供药物-连接物化合物。所得药物-连接物化合物随后与含巯基靶向配体缩合以提供具有由-Y(W)-自分解型部分及式Ib的亚甲基氨基甲酸酯单元构成的自分解型组装单元的配体药物偶联物。

[0705] 流程7

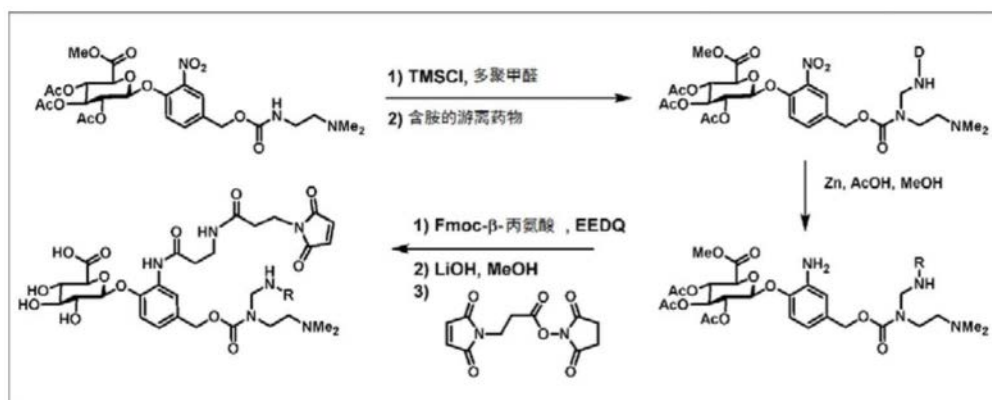
[0706]



[0707] 对于具有亚甲基氨基甲酸酯单元(其中T*为来自一级脂族胺的氮杂原子或来自二级脂族(环状或非环状)的经取代杂原子)药物连接物化合物及配体药物偶联物,归因于来自游离药物的胺官能团的氮杂原子的过量或非所需过度烷基化,根据流程6或流程7所提供的一般性程序进行的与氯甲烷的直接烷基化可能为不适合的。在这些情况下,可使用由流程8实施的方法。

[0708] 流程8.

[0709]



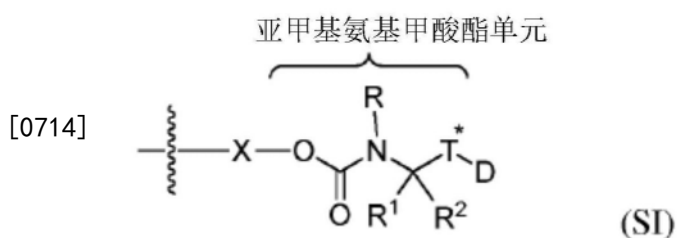
[0710] 在流程8中,中间物氨基甲酸酯制备为已具有碱性单元(即,二甲氨基乙基部分)作

为式Ia亚甲基氨基甲酸酯单元的R取代基。氨基甲酸酯的氮与甲醛缩合,且所得中间物用含脂族胺药物的胺官能团淬灭。亚甲基氨基甲酸酯的缩合形式共价连接至式Ia的药物单元,其中R¹为氢且R为二甲氨基乙基。苯基硝基随后通过示例8的通用方法还原以提供用于连续引入连接体单元(A)及延伸体单元前体(Z')的柄。

[0711] 编号的实施方式

[0712] 下述实施方式进一步示例本发明,并非旨在以任何方式限制本发明。

[0713] 1.一种配体-药物偶联物化合物,其包含配体单元、药物单元及连接物单元,其中该连接物单元包含具有亚甲基氨基甲酸酯单元和可活化的自分解型部分的自分解型(SI)组装单元,其中该亚甲基氨基甲酸酯单元共价连接至该药物单元,且其中共价连接至该药物单元的该SI组装单元由式SI的结构表示:



[0715] 或其医药学上可接受的盐,其中

[0716] 波浪线指示与该连接物单元的其余部分的共价连接;

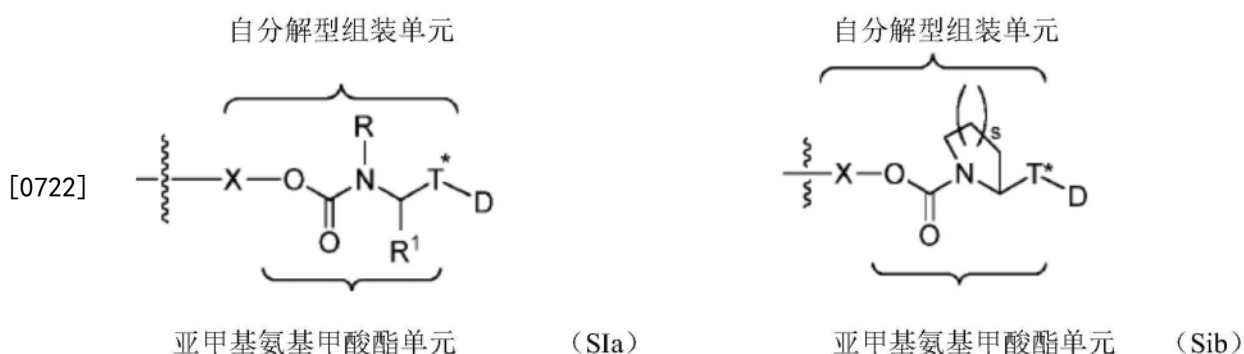
[0717] D为该药物单元,其具有已纳入亚甲基氨基甲酸酯单元中的羟基、巯基、酰胺或胺官能团;

[0718] T*为来自纳入所述亚甲基氨基甲酸酯单元中的所述官能团的氧、硫、任选取代的氮杂原子;

[0719] X为可活化的自分解型部分;

[0720] R、R¹及R²独立地为氢、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₆₋₁₄芳基或任选取代的C连接的C₃-C₈杂芳基,或R及R¹连同其所连接的氮及碳原子构成氮杂环丁基、吡咯烷基、哌啶基或高哌啶基部分,且R²为氢。

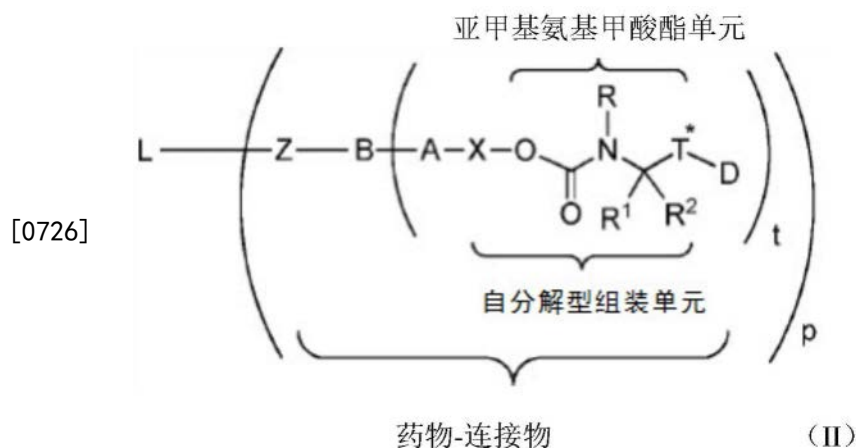
[0721] 2.如实施方式1所述的配体-药物偶联物化合物,其中共价连接至该药物单元的该SI组装单元由式SIa或式SIb的结构表示:



[0723] 或其医药学上可接受的盐,其中s为0、1、2或3。

[0724] 3.如实施方式2所述的配体-药物偶联物化合物,其中R及R¹独立地选自氢、任选取代的C₁-C₆烷基或任选取代的C₆₋₁₄芳基,且下标s为0、1或2。

[0725] 4.如实施方式1所述的配体-药物偶联物化合物,其具有式II:



[0727] 或其医药学上可接受的盐,其中

[0728] L为配体单元;

[0729] Z为延伸体单元;

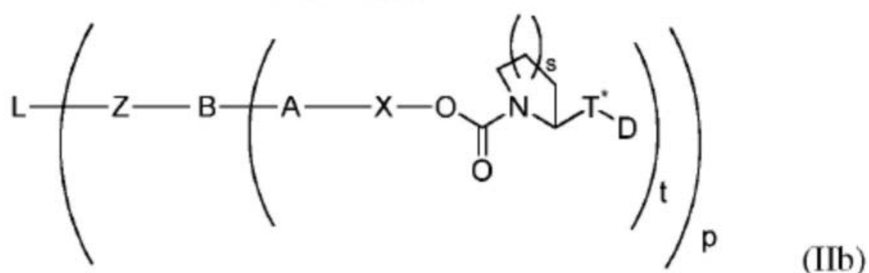
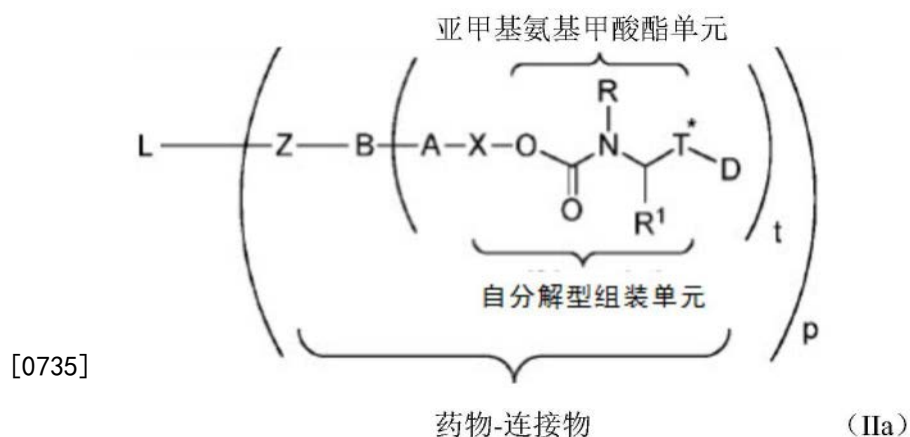
[0730] B为任选的分支单元,且当t大于1时存在且当t为1时不存在;

[0731] A为任选的连接体单元;

[0732] 下标t在1至4范围内;且

[0733] 下标p为在1至16范围内的整数。

[0734] 5.如实施方式4所述的配体-药物偶联物化合物,其具有式IIa或式IIb:



[0736] 或其医药学上可接受的盐,其中s为0、1、2或3。

[0737] 6.如实施方式4所述的配体-药物偶联物化合物,其中R及R¹独立地选自氢、任选取代的C₁-C₆烷基或任选取代的C₆₋₁₄芳基,且下标s为0、1或2。

[0738] 7.如实施方式5所述的配体-药物偶联物化合物,其中R及R¹独立地选自氢、任选取代的C₁-C₆烷基或任选取代的C₆₋₁₄芳基,且下标s为0、1或2。

[0739] 8.如实施方式4至7中任一项所述的配体-药物偶联物化合物,其中R¹未经取代。

[0740] 9. 如实施方式4至7中任一项所述的配体-药物偶联物化合物,其中 R^1 及 R^2 未经取代。

[0741] 10. 如实施方式4或5所述的配体-药物偶联物化合物,其中R及 R^1 及 R^2 未经取代。

[0742] 11. 如实施方式4至9中任一项所述的配体-药物偶联物化合物,其中所述任选的取代基独立地选自: $-X$ 、 $-R^{op}$ 、 $-OH$ 、 $-OR^{op}$ 、 $-SR^{op}$ 、 $-N(R^{op})_2$ 、 $-N(R^{op})_3$ 、 $=NR^{op}$ 、 $-CX_3$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-NR^{op}C(=O)R^{op}$ 、 $-C(=O)R^{op}$ 、 $-C(=O)N(R^{op})_2$ 、 $-S(=O)_2R^{op}$ 、 $-S(=O)_2NR^{op}$ 、 $-S(=O)R^{op}$ 、 $-OP(=O)(OR^{op})_2$ 、 $-P(=O)(OR^{op})_2$ 、 $-PO_3^{=}$ 、 PO_3H_2 、 $-C(=O)R^{op}$ 、 $-C(=S)R^{op}$ 、 $-CO_2R^{op}$ 、 $-CO_2^-$ 、 $-C(=S)OR^{op}$ 、 $-C(=O)SR^{op}$ 、 $-C(=S)SR^{op}$ 、 $-C(=O)N(R^{op})_2$ 、 $-C(=S)N(R^{op})_2$ 及 $-C(=NR^{op})N(R^{op})_2$,其中X各自独立地选自卤素: $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 及 $-I$;且 R^{op} 各自独立地选自 $-H$ 、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_6-C_{20}$ 芳基、 $-C_3-C_{14}$ 杂环、保护基及前药部分。

[0743] 12. 如实施方式11所述的配体-药物偶联物化合物,其中所述任选的取代基是选自: $-X$ 、 $-R^{op}$ 、 $-OH$ 、 $-OR^{op}$ 、 $-SR^{op}$ 、 $-N(R^{op})_2$ 、 $-N(R^{op})_3$ 、 $=NR^{op}$ 、 $-NR^{op}C(=O)R^{op}$ 、 $-C(=O)R^{op}$ 、 $-C(=O)N(R^{op})_2$ 、 $-S(=O)_2R^{op}$ 、 $-S(=O)_2NR^{op}$ 、 $-S(=O)R^{op}$ 、 $-C(=O)R^{op}$ 、 $-C(=S)R^{op}$ 、 $-C(=O)N(R^{op})_2$ 、 $-C(=S)N(R^{op})_2$ 及 $-C(=NR^{op})N(R^{op})_2$,其中X各自独立地选自 $-F$ 及 $-Cl$;且 R^{op} 各自独立地选自氢、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_6-C_{20}$ 芳基、 $-C_3-C_{14}$ 杂环、保护基及前药部分。

[0744] 13. 如实施方式11所述的配体-药物偶联物化合物,其中所述任选的取代基是选自: $-X$ 、 $-R^{op}$ 、 $-OH$ 、 $-OR^{op}$ 、 $-N(R^{op})_2$ 、 $-N(R^{op})_3$ 、 $-NR^{op}C(=O)R^{op}$ 、 $-C(=O)N(R^{op})_2$ 、 $-S(=O)_2R^{op}$ 、 $-S(=O)_2NR^{op}$ 、 $-S(=O)R^{op}$ 、 $-C(=O)R^{op}$ 、 $-C(=O)N(R^{op})_2$ 及 $-C(=NR^{op})N(R^{op})_2$,其中X为 $-F$ 。

[0745] 14. 如实施方式11所述的配体-药物偶联物化合物,其中所述任选的取代基选自 $-N(R^{op})_2$ 、 $-N(R^{op})_3$ 及 $-C(=NR)N(R^{op})_2$ 。

[0746] 15. 如实施方式1至9中任一项所述的配体-药物偶联物化合物,其中R为 C_{1-6} 烷基,其任选被碱性基团取代。

[0747] 16. 如实施方式1至9中任一项所述的配体-药物偶联物化合物,其中R为饱和 C_{1-6} 烷基,其任选被碱性基团取代。

[0748] 17. 如实施方式1至9中任一项所述的配体-药物偶联物化合物,其中R为碱性单元,其中该碱性单元的碱性官能团为胺或含氮3元、4元、5元或6元杂环,其是C连接或N连接的并可任选被取代。

[0749] 18. 如实施方式17所述的配体-药物偶联物化合物,其中R为碱性单元,其中该碱性单元的该碱性官能团为 $-N(R^{op})_2$,其中 R^{op} 独立地选自氢及 C_{1-6} 烷基。

[0750] 19. 如实施方式17所述的配体-药物偶联物化合物,其中R为碱性单元,其中该碱性单元的该碱性官能团为 $-N(R^{op})_2$,其中 R^{op} 独立地选自氢及甲基。

[0751] 20. 如实施方式17所述的配体-药物偶联物化合物,其中R为碱性单元,其中该碱性单元的该碱性官能团为 $-N(R^{op})_2$,其中各 R^{op} 为甲基。

[0752] 21. 如实施方式17所述的配体-药物偶联物化合物,其中R为碱性单元,其中该碱性单元为 $-CH_2CH_2N(R^{op})_2$,其中 R^{op} 独立地选自氢及甲基。

[0753] 22. 如实施方式15至21中任一项所述的配体-药物偶联物化合物,其中 R^1 为氢。

[0754] 23. 如实施方式1至22中任一项所述的配体-药物偶联物化合物,其中D为药物单元,其对应于药物,所述药物具有已纳入该亚甲基氨基甲酸酯单元中的羟基官能团以使得T*表示来自该官能团的杂氧原子。

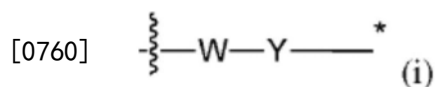
[0755] 24. 如实施方式23所述的配体-药物偶联物化合物,其中D为对应于含脂族醇药物的药物单元,其中该偶联物内的D的连接通过该脂族醇的羟基官能团的氧杂原子,以使得T*表示来自该官能团的该氧原子。

[0756] 25. 如实施方式23所述的配体-药物偶联物化合物,其中D为对应于含芳族醇药物的药物单元,其中该偶联物内的D生物连接通过该芳族醇的氧原子,以使得T*表示来自该官能团的该氧原子。

[0757] 26. 如实施方式25所述的配体-药物偶联物化合物,其中该芳族醇不为酚醇。

[0758] 27. 如实施方式4至26中任一项所述的配体-药物偶联物化合物,其中B不存在且下标t为1。

[0759] 28. 如实施方式4至27中任一项所述的配体-药物偶联物化合物,其中表示该连接物单元内的该所述可活化的自分解型部分(X)的结构由式(i)表示



[0761] 其中视存在或不存在A和/或B而定,波浪线指示W至A、B或Z的共价连接,且星号(*)指示Y至该亚甲基氨基甲酸酯部分的共价连接,且其中;

[0762] W为活化单元;且

[0763] Y为自分解型间隔体单元,

[0764] 其中Y的自我分解的活化导致游离药物的释放。

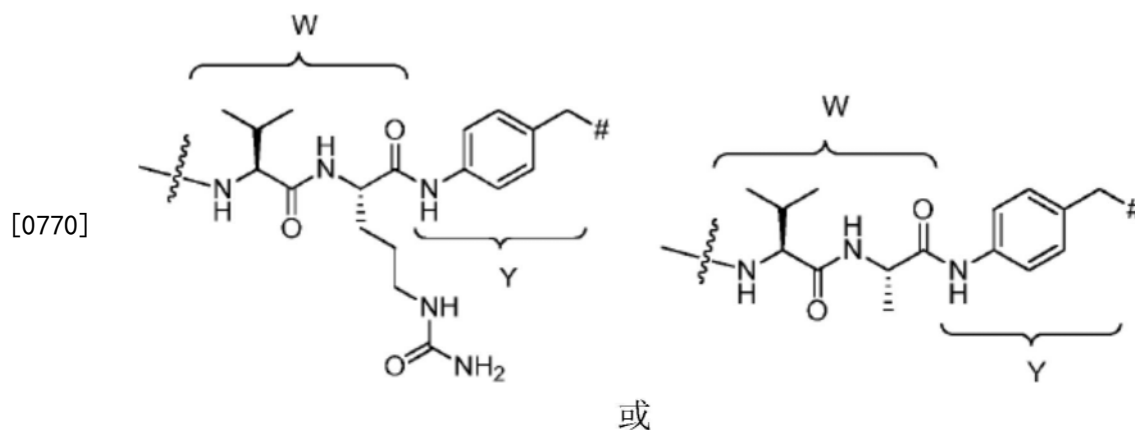
[0765] 29. 如实施方式28所述的配体-药物偶联物化合物,其中通过W与Y之间共价键的酶促裂解来活化Y的自我分解。

[0766] 30. 如实施方式29所述的配体-药物偶联物化合物,其中通过肿瘤相关蛋白酶进行酶促裂解。

[0767] 31. 如实施方式30所述的配体-药物偶联物化合物,其中该肿瘤相关蛋白酶为组织蛋白酶B。

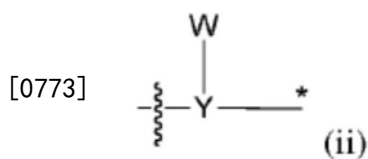
[0768] 32. 如实施方式30所述的配体-药物偶联物化合物,其中W为-Val-Cit-、-Phe-Lys-或-Val-Ala-。

[0769] 33. 如实施方式30所述的配体-药物偶联物化合物,其中-W-Y-由以下结构表示:



[0771] 其中视存在或不存在A和/或B而定,W的至氮的波浪键指示与Z、A或B的共价连接,且井号(#)指示Y的苯甲基碳至该亚甲基氨基甲酸酯单元的共价连接。

[0772] 34. 如实施方式4至27中任一项所述的配体-药物偶联物化合物, 其中表示该连接物单元内的该所述可活化的自分解型部分 (X) 的结构由式 (ii) 表示



[0774] 其中视存在或不存在A和/或B而定, 波浪线指示Y至A、B或Z的共价连接, 且星号 (*) 指示Y至该亚甲基氨基甲酸酯部分的共价连接, 且其中;

[0775] W为活化单元; 且

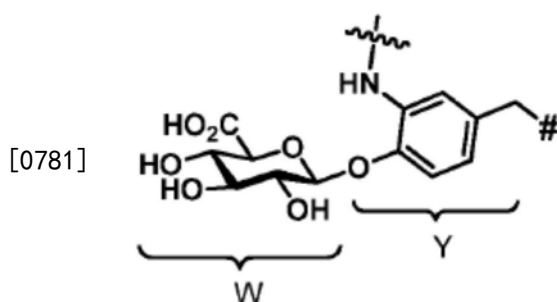
[0776] Y为自分解型间隔体单元, 其中Y的自我分解的活化导致游离药物的释放。

[0777] 35. 如实施方式34所述的配体-药物偶联物化合物, 其中通过W与Y之间共价键的酶促裂解来活化Y的自我分解, 其中通过糖苷酶进行酶促裂解。

[0778] 36. 如实施方式35所述的配体-药物偶联物化合物, 其中该糖苷酶为葡萄糖醛酸酶。

[0779] 37. 如实施方式35所述的配体-药物偶联物化合物, 其中W为通过糖苷键连接至Y的糖部分, 该糖苷键能够被糖苷酶裂解, 以活化Y的自我分解作用。

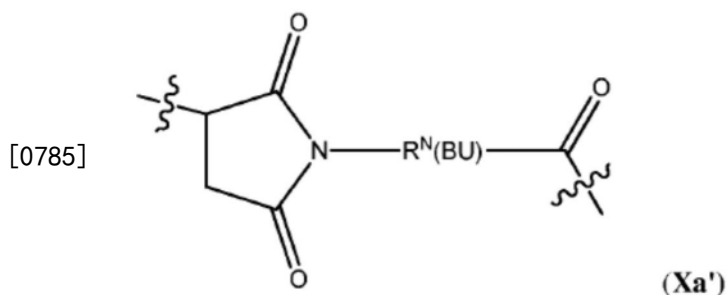
[0780] 38. 如实施方式33所述的配体-药物偶联物化合物, 其中-Y(W)-由以下结构表示:



[0782] 其中视存在或不存在A和/或B而定, 波浪键指示与Z、A或B的共价连接, 且该井号 (#) 指示Y的苯甲基碳至该亚甲基氨基甲酸酯单元的共价连接。

[0783] 39. 如实施方式4至38中任一项所述的配体-药物偶联物化合物, 其中该延伸体单元 (Z) 包含丁二酰亚胺部分或酸-酰胺部分, 其中该部分与该配体单元的硫原子连接。

[0784] 40. 如实施方式39所述的配体-药物偶联物化合物, 其中该延伸体单元 (Z) 由丁二酰亚胺部分构成且由式Xa'的结构表示:



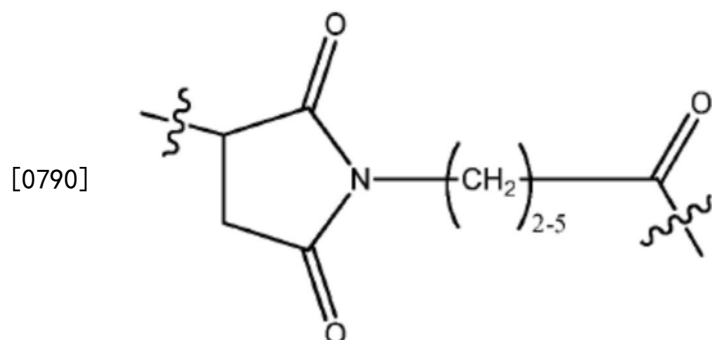
[0786] 其中邻接于该丁二酰亚胺环系统的波浪线指示与该配体单元的硫原子的共价连接;

[0787] 邻接于羰基的波浪线指示在该连接物内的连接;

[0788] 且R^N为-C₂-C₅亚烷基, 其中该亚烷基任选碱性单元 (BU) 取代, 其中BU为-(CH₂)

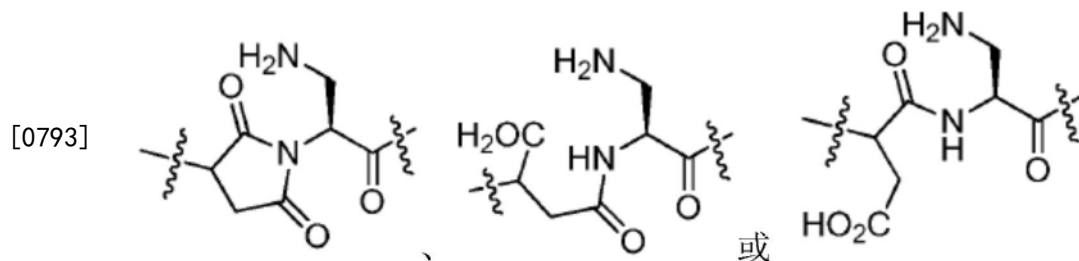
$x\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_x\text{NHR}^{\text{op}}$ 或 $-(\text{CH}_2)_x\text{N}(\text{R}^{\text{op}})_2$,其中 x 为自1至4的整数且 R^{op} 为 C_{1-6} 烷基。

[0789] 41.如实施方式39所述的配体-药物偶联物化合物,其中该延伸体单元(Z)包含丁二酰亚胺部分且由以下结构表示:



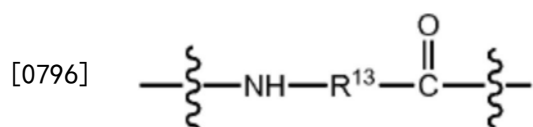
[0791] 其中邻接于该丁二酰亚胺环系统的波浪线指示与该配体单元的硫原子的共价连接,且邻接于羰基的波浪线指示在该连接物内的连接。

[0792] 42.如实施方式39所述的配体-药物偶联物化合物,其中该延伸体单元(Z)包括丁二酰亚胺部分或酸-酰胺部分且由以下结构表示:



[0794] 43.如实施方式2至42中任一项所述的配体-药物偶联物化合物,其中存在连接物单元(A)。

[0795] 44.如实施方式43所述的配体-药物偶联物化合物,其中A为:

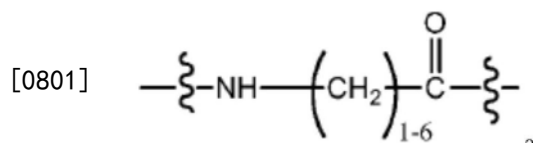


[0797] 其中邻接于羰基的波浪线指示与该自分解型组装单元的该可活化的自分解型部分X的共价连接,且

[0798] 另一波浪线指示若B存在时与B的连接,或若B不存在时与Z的连接;且

[0799] R^{13} 为 $-\text{C}_1-\text{C}_6$ 亚烷基-、 $-\text{C}_3-\text{C}_8$ 碳环基-、-亚芳基-、 $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ 杂亚烷基-、 $-\text{C}_3-\text{C}_8$ 杂环基-、 $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ 亚烷基-亚芳基-、-亚芳基- $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ 亚烷基-、 $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ 亚烷基- $(\text{C}_3-\text{C}_8$ 碳环基)-、 $(\text{C}_3-\text{C}_8$ 碳环基)- $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ 亚烷基-、 $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ 亚烷基- $(\text{C}_3-\text{C}_8$ 杂环基)-或 $(\text{C}_3-\text{C}_8$ 杂环基)- $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ 亚烷基-。

[0800] 45.如实施方式44所述的配体-药物偶联物化合物,其中A具有下式



[0802] 46.如实施方式4至42中任一项所述的配体-药物偶联物化合物,其中A不存在。

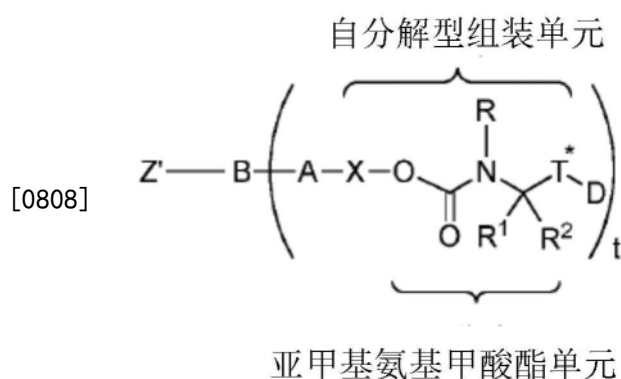
[0803] 47. 如实施方式4至46中任一项所述的配体-药物偶联物化合物, 其中p在1至10范围内。

[0804] 48. 如实施方式4至46中任一项所述的配体-药物偶联物化合物, 其中p在1至8范围内。

[0805] 49. 如实施方式1至48中任一项所述的配体-药物偶联物化合物, 其中该配体单元对应于靶向抗体。

[0806] 50. 一种药物-连接物化合物, 其中该化合物包含药物单元及连接物单元, 其中该连接物单元包含具有亚甲基氨基甲酸酯单元及可活化的自分解型部分的自分解型组装单元, 其中该药物单元共价连接至该亚甲基氨基甲酸酯单元,

[0807] 其中该药物-连接物化合物具有式V的结构:



[0809] 或其医药学上可接受的盐; 其中

[0810] D为药物单元, 其具有已纳入该所述的亚甲基氨基甲酸酯单元中的羟基、巯基、胺或酰胺官能团;

[0811] T*为氧、硫或任选取代的氮杂原子, 其来自纳入该所述亚甲基氨基甲酸酯单元中的该官能团;

[0812] R、R¹及R²独立地为氢、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₆₋₁₄芳基或任选取代的C连接C₃-C₈杂芳基, 或R与R¹两者连同其所连接的氮及碳原子构成氮杂环丁基、吡咯烷基、哌啶基或高哌啶基部分(优选为吡咯烷基或哌啶基部分), 且R²为氢;

[0813] X为可活化的自分解型部分;

[0814] Z'为延伸体单元(Z)的延伸体单元前体且包含提供配体单元至Z的共价连接的官能团;

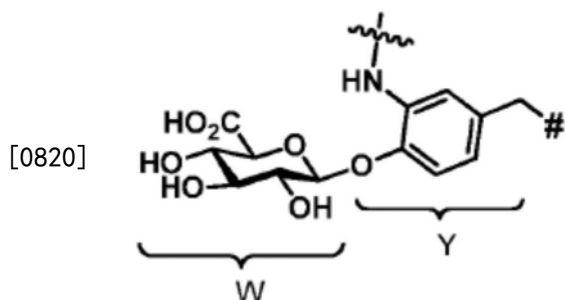
[0815] B为任选的分支单元, 其在t大于1时存在且在t为1时不存在;

[0816] A为任选的连接体单元; 且

[0817] 下标t在1至4范围内。

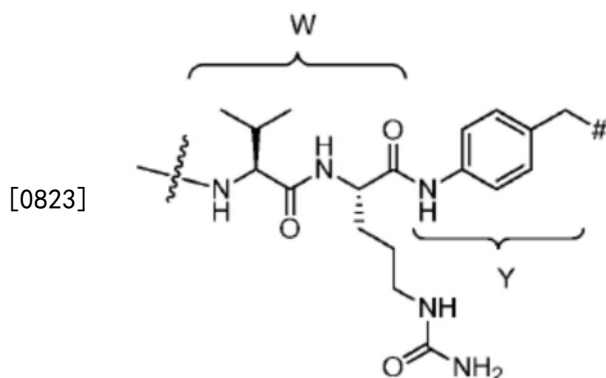
[0818] 51. 如实施方式50的药物-连接物化合物, 其中D为药物单元, 其对应于具有已纳入该自分解型组装单元的该亚甲基氨基甲酸酯单元中的羟基官能团的药物; 且T*为来自该官能团的氧原子。

[0819] 52. 如实施方式50或51的药物-连接物化合物, 其中X为-Y(W)-, 其中-Y(W)-由以下结构表示:



[0821] 其中视存在或不存在A和/或B而定,邻接于Y的氮的波浪键指示与Z'、A或B的共价连接,且井号(#)指示Y的苯甲基碳至该亚甲基氨基甲酸酯单元的共价连接。

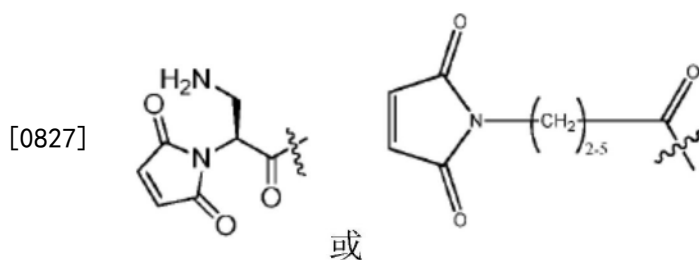
[0822] 53.如实施方式50或51的药物-连接物化合物,其中X为-W-Y,其中-W-Y-由以下结构表示:



[0824] 其中视存在或不存在A和/或B而定,邻接于W的氮杂原子的波浪键指示与Z'、A或B的共价连接,且井号(#)指示Y的苯甲基碳至该亚甲基氨基甲酸酯单元的共价连接。

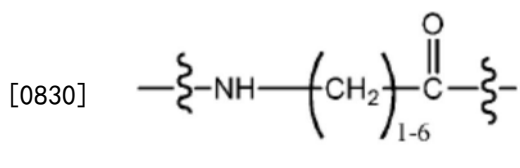
[0825] 54.如实施方式50至53中任一项所述的药物-连接物化合物,其中Z'包含顺丁烯二酰亚胺部分。

[0826] 55.如实施方式54的药物-连接物化合物,其中Z'具有下式:



[0828] 其中视存在或不存在A和/或B而定,邻接于羰基的波浪线指示与A、B或X的共价连接。

[0829] 56.如实施方式50至55中任一项所述的药物-连接物化合物,其中A存在且具有下式



[0831] 57.如实施方式50至56中任一项所述的药物-连接物化合物,其中B不存在且t为1。

[0832] 58. 如实施方式50至56中任一项所述的药物-连接物化合物, 其中B存在且t为2。

[0833] 59. 一种配体-药物偶联物组合物, 其包含多个偶联物化合物, 其中各自具有如实施方式1至49中任一项所述的配体-药物偶联物化合物的结构, 其中所述偶联物化合物通过其p整数值进行区分; 及医药学上可接受的载剂。

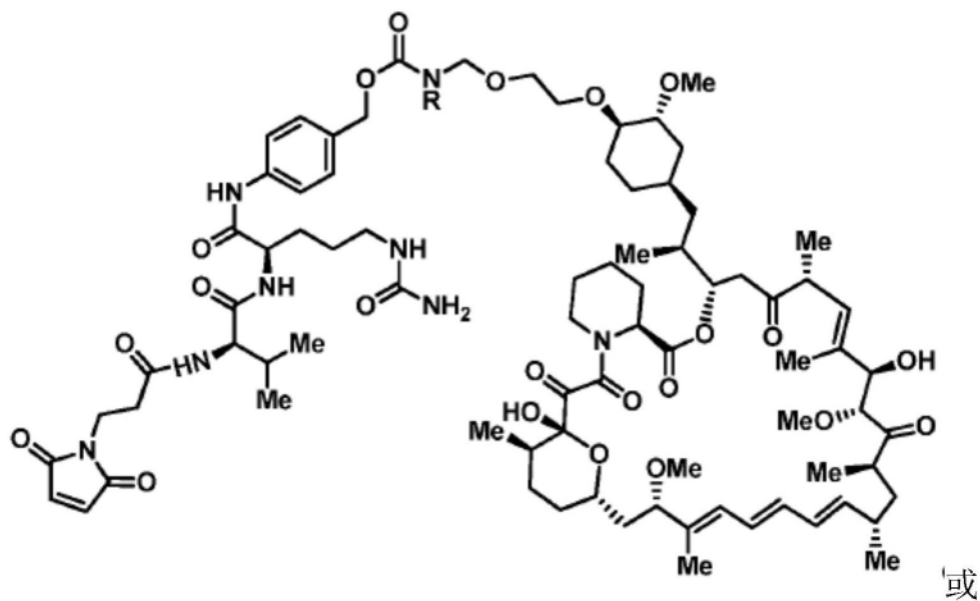
[0834] 60. 如实施方式59所述的配体-药物偶联物组合物, 其中每一配体单元平均存在2至10个药物-连接物。

[0835] 61. 如实施方式59所述的配体-药物偶联物组合物, 其中每一配体单元平均存在2至8个药物-连接物。

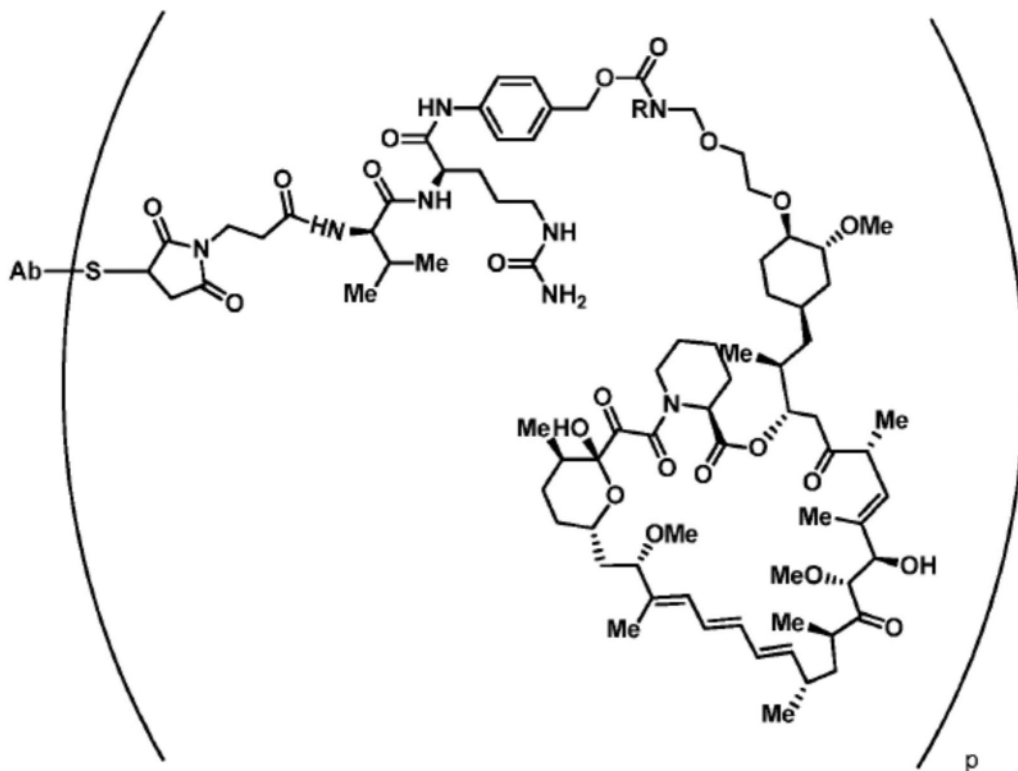
[0836] 62. 如实施方式1至49中任一项所述的配体-药物偶联物化合物、如实施方式50至58中任一项所述的药物-连接物化合物或如实施方式59至61中任一项所述的配体-药物偶联物组合物, 其中该药物单元在结构上对应于具有羟基官能团且其氧杂原子能够纳入亚甲基氨基甲酸酯单元中的化合物, 其中该化合物与FKBP结合以抑制mTOR或钙调神经磷酸酶效应物功能。

[0837] 63. 如实施方式62所述的配体-药物偶联物化合物、药物-连接物化合物或配体-药物偶联物组合物, 其中该FKBP结合化合物为依维莫司、他克莫司或西罗莫司。

[0838] 64. 如实施方式62所述的配体-药物偶联物化合物、药物-连接物化合物或配体-药物偶联物组合物, 其中该化合物或组合物具有以下结构

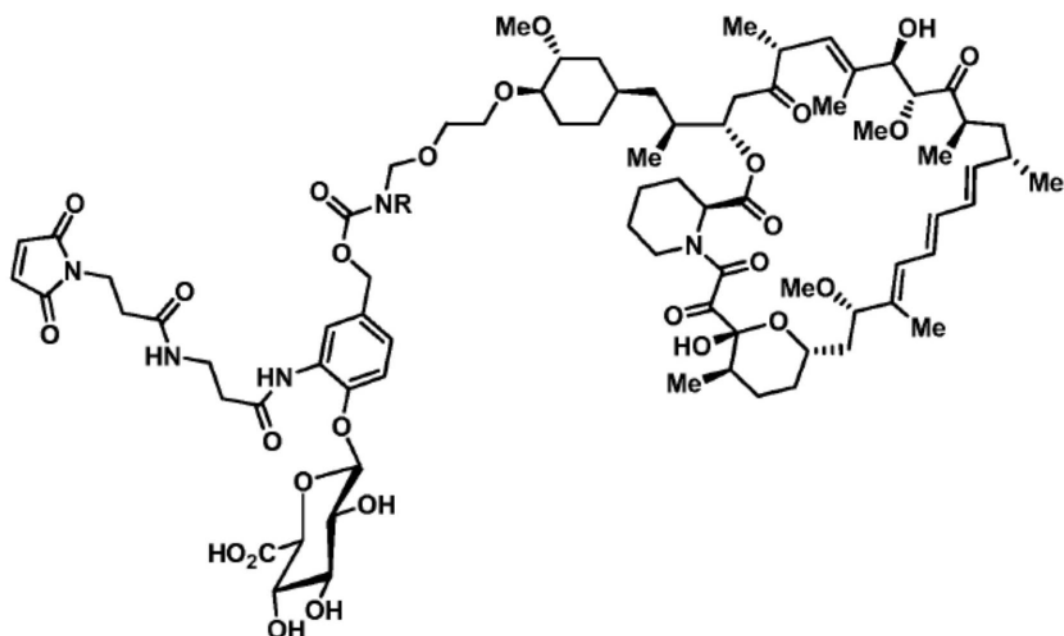


[0839]



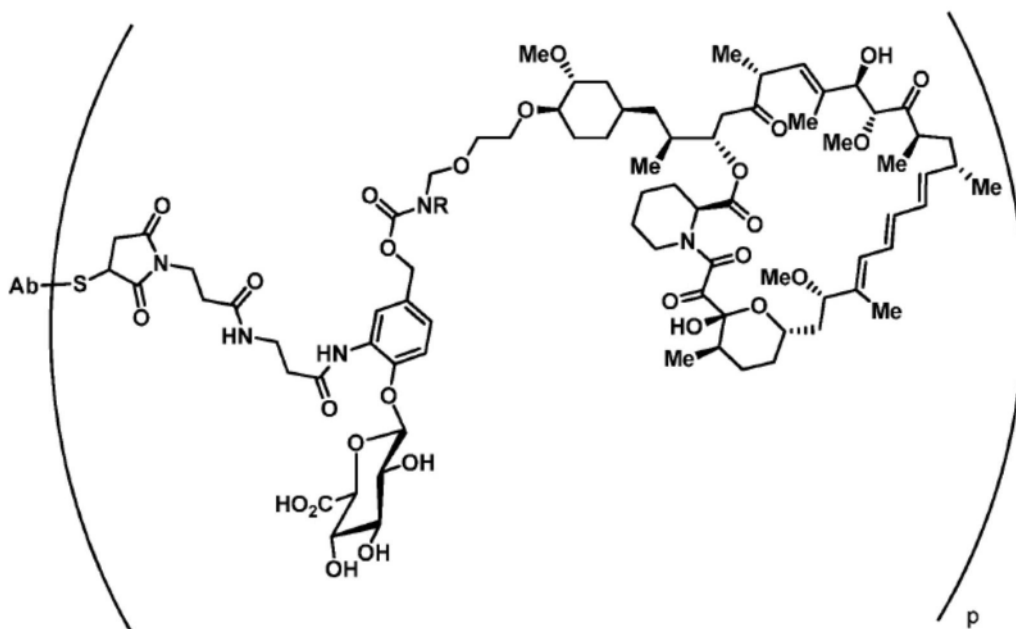
[0840] 其中Ab-S-部分为来自靶向抗体的配体单元；R为氢、乙基或-CH₂CH₂N(CH₃)₂，且p在1至20、1至16或1至8范围内。

[0841] 65. 如实施方式62所述的配体-药物偶联物化合物、药物-连接物化合物或配体-药物偶联物组合物，其中该化合物或组合物具有以下结构：



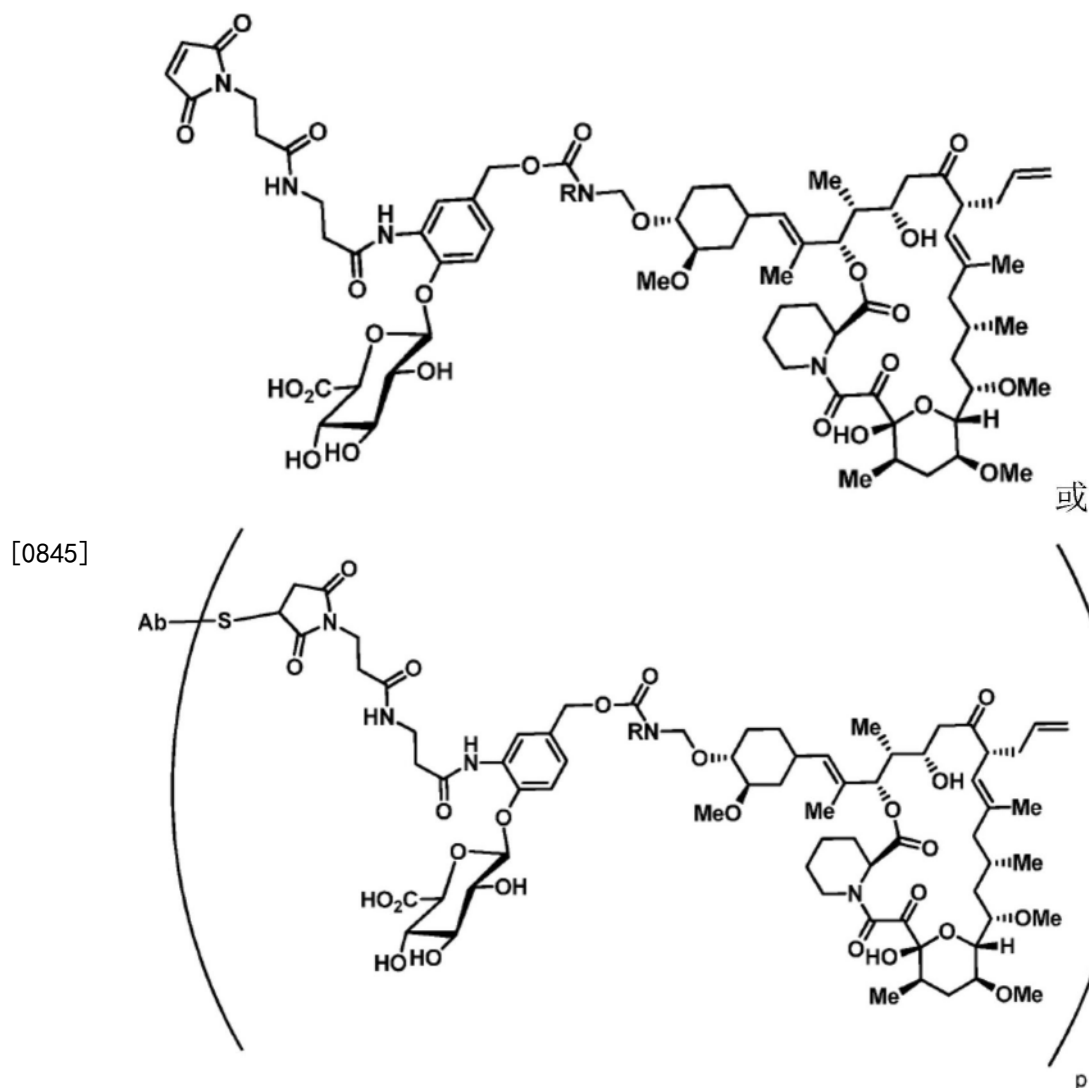
[0842]

或



[0843] 其中该Ab-S-部分为来自靶向抗体的配体单元；R为氢、乙基或-CH₂CH₂N(CH₃)₂，且p在1至20、1至16或1至8范围内。

[0844] 66. 如实施方式62所述的配体-药物偶联物化合物、药物-连接物化合物或配体-药物偶联物组合物，其中该化合物或组合物具有以下结构：



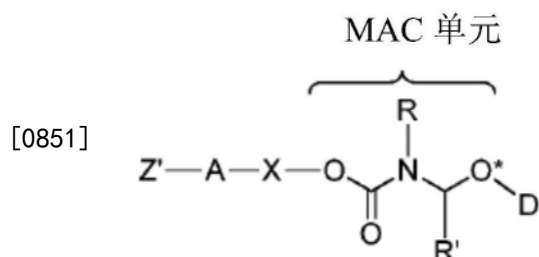
[0846] 其中该Ab-S-部分为来自靶向抗体的配体单元；R为氢、乙基或 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ；且p在1至20、1至16或1至8范围内。

[0847] 67. 如实施方式1至49中任一项所述的配体-药物偶联物化合物、如实施方式50至58中任一项所述的药物-连接物化合物或如实施方式59至61中任一项所述的配体-药物偶联物组合物，其中该药物单元在结构上对应于具有羟基官能团且其氧杂原子能够纳入亚甲基氨基甲酸酯单元中的奥瑞他汀，其中该化合物与微管蛋白结合以破坏微管蛋白功能。

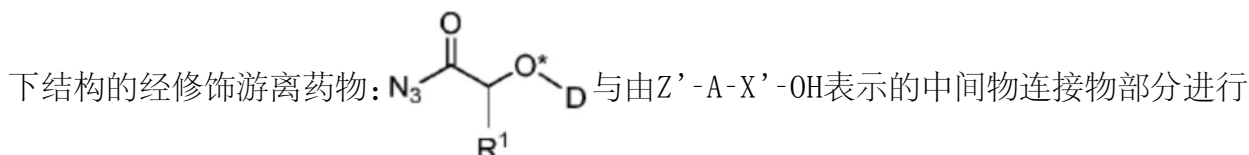
[0848] 68. 如实施方式67所述的配体-药物偶联物化合物、药物-连接物化合物或配体-药物偶联物组合物，其中该奥瑞他汀为MMAE或奥瑞他汀T。

[0849] 69. 一种治疗癌症或自体免疫疾病的方法，其包括向有需要的个体给予有效量的如实施方式1至49中任一项所述的配体-药物偶联物或如实施方式59至65中任一项所述的配体-药物偶联物组合物。

[0850] 70. 一种制备具有以下结构的药物-连接物化合物的方法：



[0852] 该方法包括：在足以通过库尔提斯重排反应提供所述MAC单元的条件下使具有以



接触，

[0853] 其中D为药物单元，其具有已纳入该MAC中的羟基官能团，来自该羟基官能团的氧杂原子以O*表示，

[0854] Z'为配体-药物偶联物中的延伸体单元(Z)的延伸体单元前体且包含能够与靶向配体结合的官能团；

[0855] A为任意的连接体单元；

[0856] X为可活化的自分解型部分；

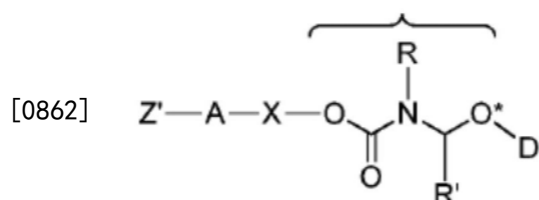
[0857] X'为X的自分解型部分前体且具有参与该库尔提斯重排反应的羟基官能团；

[0858] R为氢；且

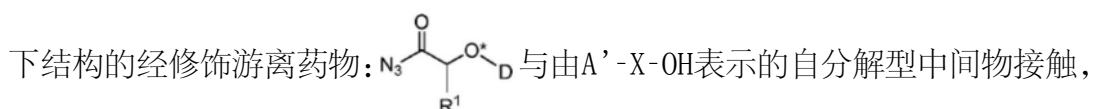
[0859] R¹为氢，或C₁-C₆烷基、C₆-C₁₄芳基或C连接的杂芳基，其按需任选用合适的保护基取代。

[0860] 71.一种制备药物-连接物化合物的中间物的方法，其中该中间物具有以下结构

[0861] MAC 单元



[0863] 该方法包括：在足以通过库尔提斯重排反应提供所述MAC单元的条件下使具有以



[0864] 其中D为药物单元，其具有已纳入该MAC中的羟基官能团，来自该羟基官能团的氧杂原子是以O*表示，

[0865] A'为连接体单元(A)的连接体单元前体，且包含用于与该药物-连接物化合物的该连接物单元的其余部分形成键的官能团；

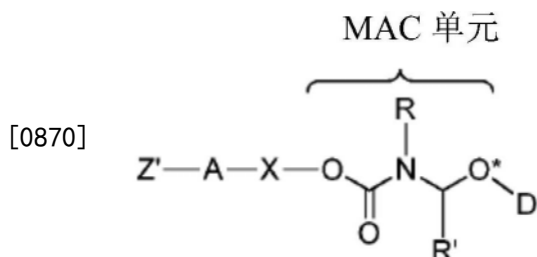
[0866] X为可活化的自分解型部分；

[0867] R为氢；且

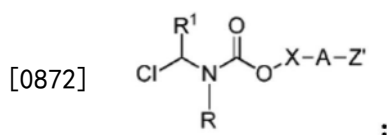
[0868] R¹为氢，或C₁-C₆烷基、C₆-C₁₄芳基或C连接的杂芳基，其按需任选用合适的保护基取

代。

[0869] 72. 一种制备药物-连接物化合物的方法, 其中该化合物具有以下结构



[0871] 该方法包括: 在足以用来自该游离药物官能团的氧杂原子取代氯原子的条件下使具有游离羟基官能团的药物与具有以下结构的N-氯甲胺接触:



[0873] 其中Z'为该药物-连接物化合物的延伸体单元(Z)的延伸体单元前体, 且包含用于连接靶向配体的官能团;

[0874] A为任选的连接体单元;

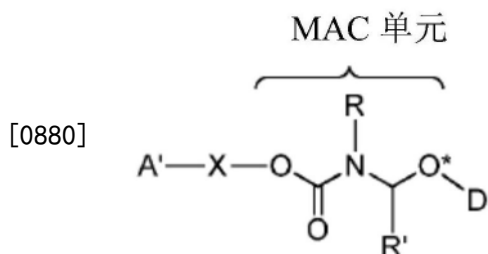
[0875] X为可活化的自分解型部分;

[0876] R为氢, 或C₁-C₆烷基、C₆-C₁₄芳基或C连接的杂芳基, 其任选用合适的保护基取代; 且

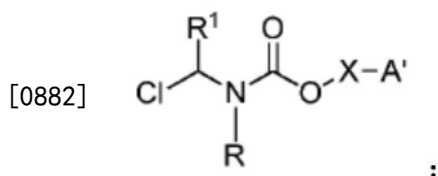
[0877] R¹为氢, 或C₁-C₆烷基、C₆-C₁₄芳基或C连接的杂芳基, 其按需任选用合适的保护基取代,

[0878] 或R及R¹连同其所连接的氮及碳原子构成吡咯烷基或哌啶基部分。

[0879] 73. 一种制备药物-连接物化合物的中间物的方法, 其中该中间物具有以下结构



[0881] 该方法包含: 在足以用来自该游离药物官能团的氧杂原子取代氯原子的条件下使具有游离羟基官能团的药物与具有以下结构的N-氯甲胺接触:



[0883] 其中Z'为该药物-连接物化合物的延伸体单元(Z)的延伸体单元前体, 且包含用于连接靶向配体的官能团;

[0884] A'为连接体单元(A)的连接体单元前体, 且包含用于与该药物-连接物化合物的该连接物单元的其余部分形成键的官能团;

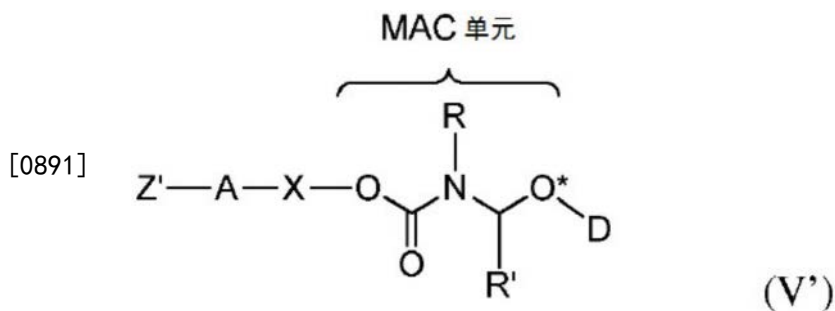
[0885] X为可活化的自分解型部分;

- [0886] R为氢,或C₁-C₆烷基、C₆-C₁₄芳基或C连接的杂芳基,其任选用合适的保护基取代;且
- [0887] R¹为氢,或C₁-C₆烷基、C₆-C₁₄芳基或C连接的杂芳基,其按需任选用合适的保护基取代,
- [0888] 或R及R¹连同其所连接的氮及碳原子构成吡咯烷基或哌啶基部分。

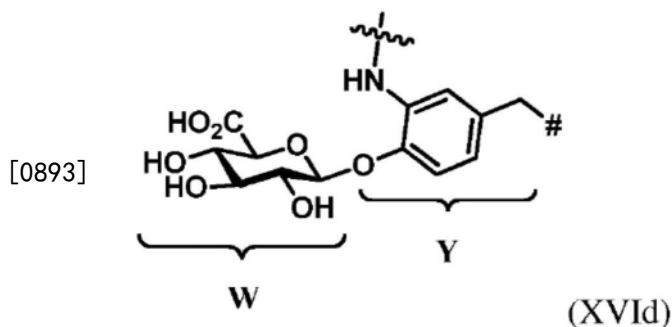
实施例

[0889] 综述:

[0890] 实施例1及实施例2描述具有共价连接至式Ia'的亚甲基烷氧基氨基甲酸酯单元的药物单元(D)的药物-连接物化合物的替代性制备,其中药物单元来自奥瑞他汀E。所得药物-连接物化合物具有式V'的一般性结构:



[0892] 其中R及R'为氢且可活化部分X为-Y(W)-,其中-Y(W)-具有式XVIId的结构:

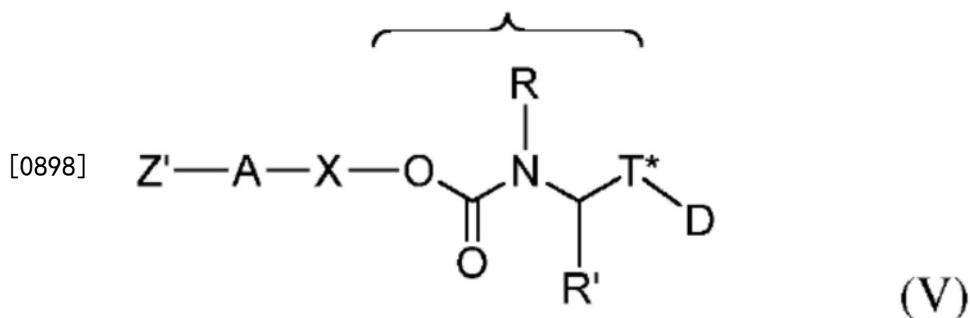


[0894] 其中至自分解型间隔体单元(Y)的氮杂原子的波浪线指示与连接体单元(A)的共价连接,且井号(#)指示Y的苯甲基碳至MAC单元的共价连接,其中O*为来自游离药物的羟基官能团的氧杂原子。

[0895] 实施例3、实施例4及实施例5描述药物-连接物化合物的合成,其中药物单元分别来自雷公藤内酯(triptolide)、依维莫司及他克莫司(FK-506),其中游离药物的羟基官能团用于结合以使得其氧杂原子变为纳入式Ia'MAC单元中。对于这些药物中的两者(他克莫司及雷公藤内酯),羟基官能团为位阻二级羟基官能团。

[0896] 实施例6描述具有共价连接至式Ia的亚甲基氨基甲酸酯单元的药物单元(D)的药物-连接物化合物的合成,其中药物单元来自含四氢喹啉化合物(BMN-673)。所得药物-连接物化合物具有式V的一般性结构:

[0897] 亚甲基氨基甲酸酯单元



[0899] 其中R及R'为氢且可活化部分X为具有式XVIId结构的-Y(W)-,且其中T*代表已纳入亚甲基氨基甲酸酯单元中的来自BMN-673的四氢喹啉环系统中的胺官能团(-NH-)的环化氮杂原子。该实施例说明MAC单元的经调适用于结合含胺药物的变体,在此情况下其中T*为环状苯胺氮。

[0900] 实施例7描述制备各自由MAC单元构成的模型自分解型组装单元及其共价连接至对应于含硫醇药物、含一级、二级及三级脂族醇药物及含酚醇药物的模型药物化合物的药物单元的变体,其中各自分解型组装单元能够在自分解型组装单元内的自我分解起始之后释放模型药物化合物。

[0901] 实施例8描述模型配体药物偶联物中的药物-连接物部分的自分解型组装单元中的MAC单元及其变体对自发性水解的体外稳定性,及由系栓至MAC单元的氨基甲酸酯氮的碱性单元产生的在pH 7.0下的半衰期的预料之外增加。

[0902] 实施例9描述N-乙酰基半胱氨酸(NAC)偶联物对其亚甲基氨基甲酸酯单元的自发性水解的体外稳定性,其中N-乙酰基半胱氨酸酰基部分为配体单元的替代物。

[0903] 实施例10描述ADC对其亚甲基氨基甲酸酯单元的自发性水解的体外稳定性。

[0904] 实施例11描述含硫醇药物、含一级、二级及三级脂族醇药物及含芳族醇药物的药物或模型化合物自具有由MAC单元或其变体构成的自分解型组装单元的NAC-偶联物的释放,其在该单元的葡萄糖醛酸酶活化之后进行。

[0905] 实施例12描述含四氢喹啉化合物(BMN-673)的有效释放,该化合物的芳族胺氮对应于共价连接至来自NAC偶联物(其由自分解型组装单元构成)的药物单元的亚甲基氨基甲酸酯单元的任选取代氮杂原子,该有效释放是在起始由该亚甲基氨基甲酸酯单元构成的自分解型组装单元内的自我分解的条件性活化之后发生。

[0906] 实施例13描述抗体药物偶联物对其抗体配体单元靶向的癌细胞的细胞毒性,该抗体配体单元各自具有条件性释放细胞毒性游离药物的MAC单元。

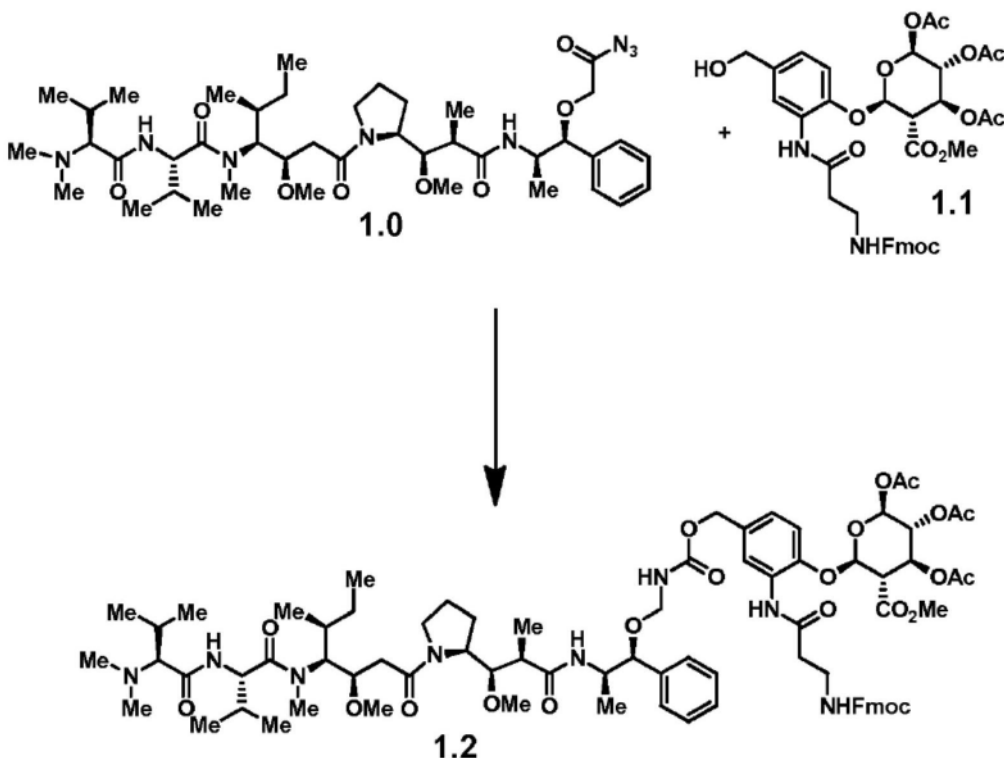
[0907] 总体信息:

[0908] 除非另外指示,否则以下信息适用于在此部分中描述的合成程序。所有市售的无水溶剂未经进一步纯化即使用。在硅胶60F254铝薄片(EMD Chemicals,Gibbstown,NJ)上进行分析型薄层层析法。在Chromatotron设备(Harris Research,Palo Alto,CA)上进行放射层析。在Biotage Isolera One急骤纯化系统(Charlotte,NC)上进行管柱层析。在经设置具有Varian ProStar 330PDA检测器的Varian ProStar 210溶剂递送系统上进行分析性HPLC。经C12 Phenomenex Synergi 2.0×150mm,4μm,80Å 逆相管柱洗脱样品。由乙腈及水两者组成的酸性移动相含有0.05%三氟乙酸或0.1%甲酸。用注射后1分钟时5%至11分钟时95%酸性乙腈,随后等浓度95%乙腈至15分钟(流动速率=1.0mL/分钟)的线性梯度来洗脱

化合物。LC-MS是在接合至配备有具有Waters 2996光电二极管数组检测器的C12Phenomenex Synergi 2.0×150mm, 4μm 80Å 逆相管柱的Waters 2695分离模块的Waters Xevo G2 ToF质谱仪上进行。酸性洗脱剂由经10分钟含5%至95%乙腈的0.1%甲酸水溶液, 随后等浓度95%乙腈维持5分钟(流动速率=0.4mL/分钟)的线性梯度组成。UPLC-MS是在接合至配备有Acquity UPLC BEH C18 2.1×50mm, 1.7μm逆相管柱的Acquity超效能LC的Waters SQ质量检测器上进行。酸性移动相(0.1%甲酸)由3%乙腈/97%水至100%乙腈(除非另外指示, 否则流动速率=0.5mL/分钟)的梯度组成。在经设置具有Varian ProStar 330PDA检测器的Varian ProStar 210溶剂递送系统上进行制备型HPLC。产物经C12 Phenomenex Synergi 10.0×250mm, 4μm, 80Å 逆相管柱纯化, 该管柱用含0.1%三氟乙酸的水(溶剂A)及含0.1%三氟乙酸的乙腈(溶剂B)洗脱。纯化方法由以下溶剂A与溶剂B的梯度组成: 90:10维持0至5分钟; 90:10至10:90维持5分钟至80分钟; 随后等浓度10:90维持5分钟。在254nm下监视流动速率为4.6mL/分钟。

[0909] 实施例1: 使用库尔提斯重排反应合成包含MAC连接物的奥瑞他汀E药物-连接物化合物

[0910] 通过库尔提斯重排反应合成 (2S, 3R, 4S, 5S, 6S) -6-(2-(3-(((9H-芴-9-基) 甲氧基) 羰基)) 氨基) 丙酰氨基) -4-((7S, 8R, 11R, 12R) -12-((S) -1-((3R, 4S, 5S) -4-((S) -2-((S) -2-(二甲氨基) -3-甲基丁酰氨基) -N, 3-二甲基丁酰氨基) -3-甲氧基-5-甲基庚酰) 吡咯烷-2-基) -8, 11-二甲基-3, 10-二氧化代-7-苯基-2, 6, 13-三噁-4, 9-二氮杂十四烷基) 苯氧基) -5-(甲氧基羰基) 四氢-2H-吡喃-2, 3, 4-三乙酸三酯 (1.2)

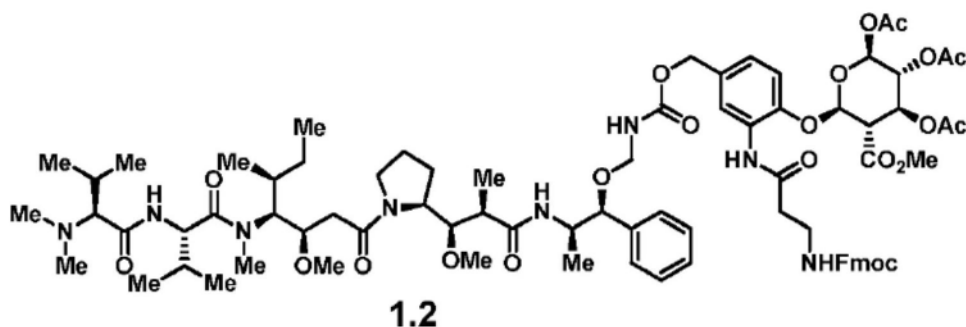


[0911]

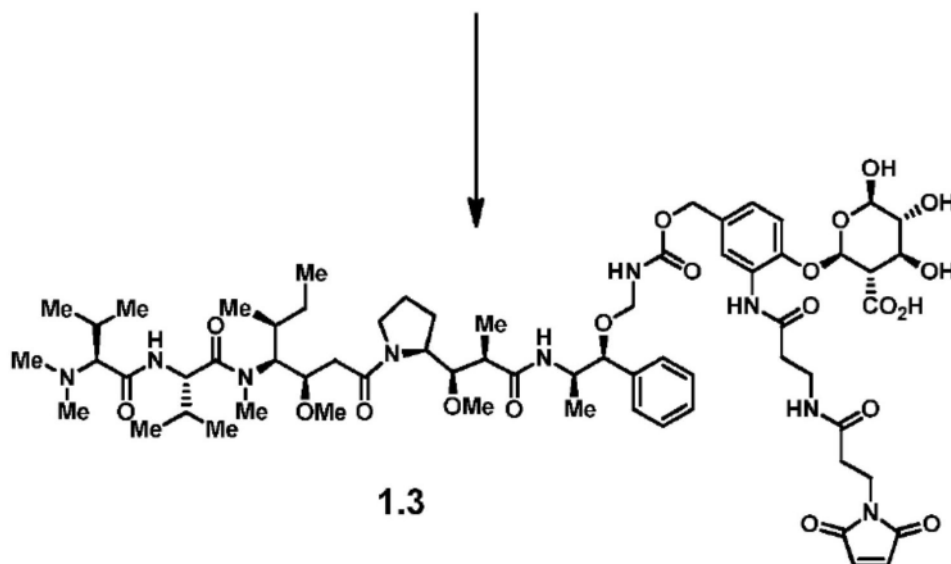
[0912] 在室温下向含合成自对应游离奥瑞他汀醇(对于1.1的合成, 参见Jeffrey等人, Org.Lett. (2010) 12:277) 的叠氮基酮1.0 (30mg, 37μmol) 的DMF (250μmol), 向该溶液添加 1.1 (90mg, 120μmol), 随后添加5μL二月桂酸二丁锡。随后在60℃下搅拌反应混合物1小时,

此时LC/MS显示反应完成。随后,通过制备型HPLC(梯度5-95乙腈/水0.05%TFA)直接纯化反应物以产生22mg 1.2。MS(m/z):C₈₀H₁₁₀N₈O₂₀的计算值[M+H]⁺1535.77,实验值1535.80。

[0913] 合成(2S,3S,4S,5R,6R)-2-(4-(((7S,8R,11R,12R)-12-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(二甲氨基)-3-甲基丁酰氨基)-N,3-二甲丁酰氨基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-8,11-二甲基-3,10-二氧化-7-苯基-2,6,13-三噁-4,9-二氮十四基)-2-(3-(3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰氨基)丙酰氨基)苯氧基)-4,5,6-三羟基四氢-2H-吡喃-3-羧酸(1.3):



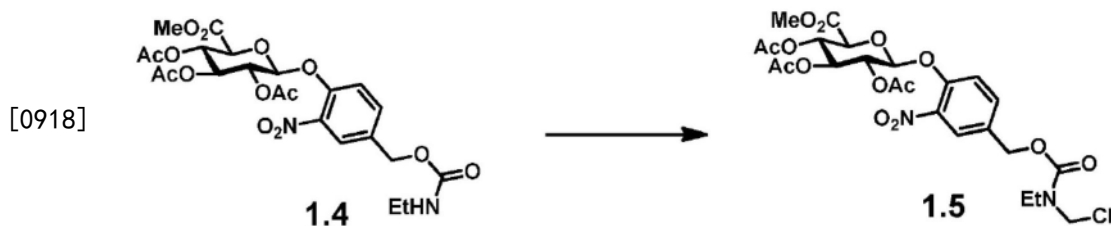
[0914]



[0915] 向1.2(15mg,10μmol)的MeOH:水1:1溶液中添加LiOH(5mg)。在室温下剧烈搅拌所得反应混合物10分钟,此时LC/MS显示反应完成。随后通过制备型HPLC(梯度5-95乙腈/水0.05%TFA)直接纯化反应混合物以产生8mg去保护1.2。随后,向含有8mg去保护1.2的小瓶添加DMF(100μL)随后添加20μL Hünig氏碱及10mg(40mmol)3-顺丁烯二酰亚氨基丙酸N-羧基丁二酰亚胺酯。随后在室温下搅拌反应物10分钟,此时LC/MS指示反应完成。随后,通过制备型HPLC(梯度5-95乙腈/水0.05%TFA)直接纯化反应物以产生7mg 1.3,60产率。MS(m/z):C₆₅H₉₇N₉O₂₀的计算值[M+H]⁺1324.68,实验值1324.60。

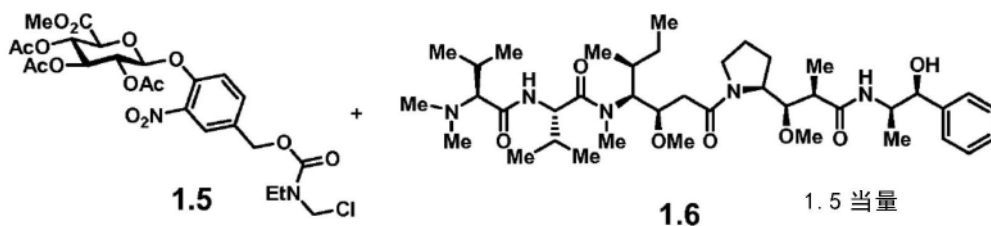
[0916] 实施例2:通过N-氯甲胺合成来合成包含MAC连接物的奥瑞他汀E药物-连接物化合物

[0917] 合成(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-(((氯甲基)(乙基)氨甲酰基)氧基)甲基)-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(1.5):

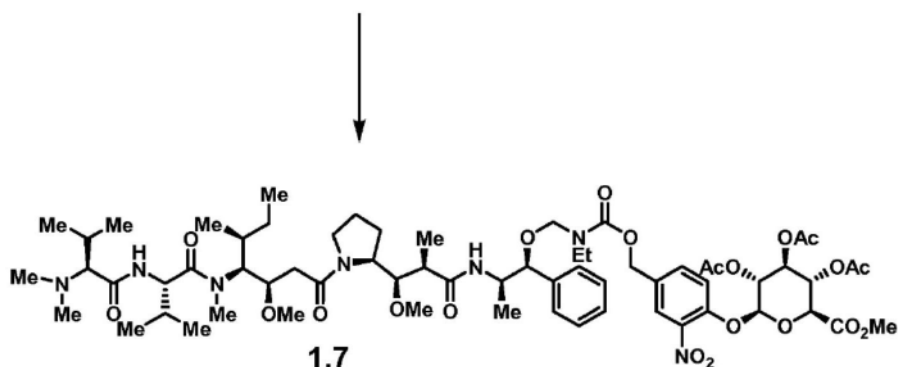


[0919] 向1.4 (400mg, 0.36mmol) (对于1.4的制备参见Bosslet等人, 1998, J. Med. Chem. 41:3572) 于DCM (4mL) 中的溶液中添加多聚甲醛 (32mg, 0.54mmol) 及TMSCl (0.212mL, 1.1mmol)。在室温下搅拌反应物额外2小时, 伴以通过利用甲醇作为稀释剂进行监视, 且随后通过LC/MS形成甲醇加合物。随后, 过滤反应物且450mg粗制1.5在真空中干燥, 其随后不经进一步纯化即用于后续反应 (参见来自BaRNes等人, 2009, Org. Lett. 11:273的程序)。MS (m/z): 甲醇加合物C₂₅H₃₂N₂O₁₅的计算值[M+H]⁺+601.18, 实验值601.21。

[0920] 通过N-氯甲胺取代合成 (2R, 3S, 4R, 5R, 6R) -2-(4-((7S, 8R, 11R, 12R) -12-((S) -1-((3R, 4S, 5S) -4-((S) -2-((S) -2-(二甲氨基) -3-甲基丁酰氨基) -N, 3-二甲丁酰氨基) -3-甲氧基-5-甲基庚酰基) 吡咯烷-2-基) -4-乙基-8, 11-二甲基-3, 10-二氧代-7-苯基-2, 6, 13-三噁-4, 9-二氮十四基) -2-硝基苯氧基) -6-(甲氧基羰基) 四氢-2H-吡喃-3, 4, 5-三基三乙酸酯 (1.7)

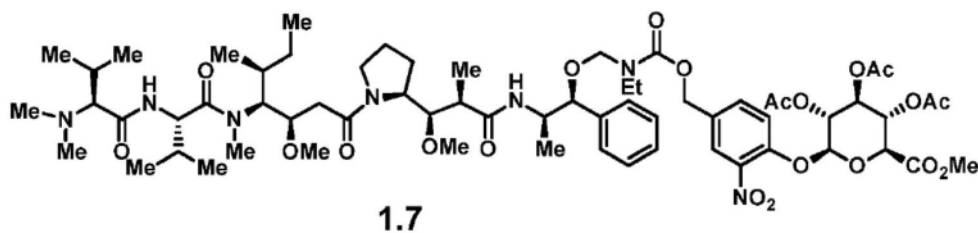


[0921]

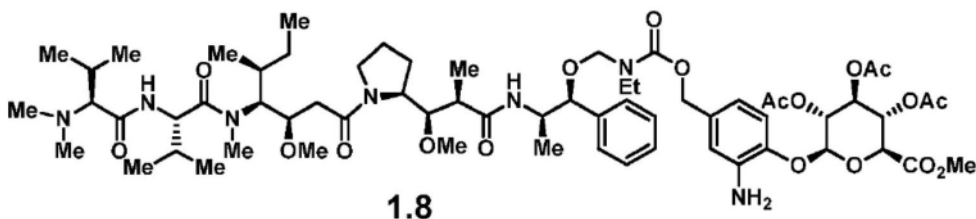


[0922] 向1.5 (60mg, 100μmol) 于DCM (300μL) 中的溶液中添加1.6 (110mg, 150μmol) 及Hünig氏碱 (50μL)。在室温下搅拌反应物额外90分钟, 此时LC/MS显示反应完成。随后通过制备型HPLC (梯度5-95乙腈/水0.05% TFA) 直接纯化反应物以产生45mg 1.7。MS (m/z): C₆₄H₉₇N₇O₂₁的计算值[M+H]⁺+1300.67, 实验值1300.71。

[0923] 合成 (2R, 3S, 4R, 5R, 6R) -2-(2-氨基-4-((7S, 8R, 11R, 12R) -12-((S) -1-((3R, 4S, 5S) -4-((S) -2-((S) -2-(二甲氨基) -3-甲基丁酰氨基) -N, 3-二甲丁酰氨基) -3-甲氧基-5-甲基庚酰基) 吡咯烷-2-基) -4-乙基-8, 11-二甲基-3, 10-二氧代-7-苯基-2, 6, 13-三噁-4, 9-二氮十四基) 苯氧基) -6-(甲氧基羰基) 四氢-2H-吡喃-3, 4, 5-三基三乙酸酯 (1.8):

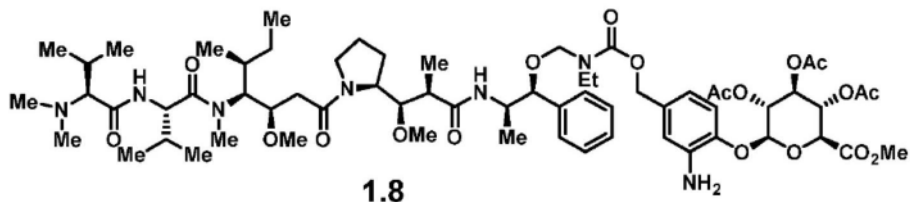


[0924]

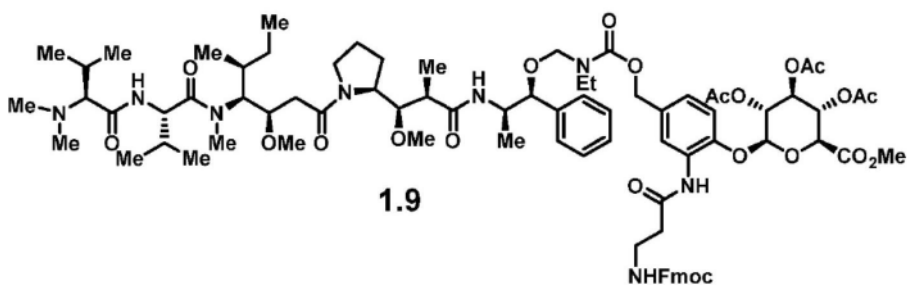


[0925] 向室温下的含1.7 (10mg, 66 μ mol) 的MeOH (200 μ L) 添加钯金属 (10mg, 66 μ mol) 及氯化铵 (10mg, 100 μ mol)。声处理反应混合物10分钟, 此时LC/MS显示反应完成。随后向反应物添加Hünig氏碱 (50 μ L), 该反应物随后通过烧结漏斗过滤。随后将反应混合物溶解于水中且通过制备型HPLC (梯度5-95乙腈/水0.05% TFA) 纯化以产生22mg 1.8。MS (m/z): C₆₄H₉₉N₇O₁₉的计算值 [M+H]⁺ 1448.75, 实验值 1448.71。

[0926] 合成 (2R, 3S, 4R, 5R, 6R) - 2 - (2-氨基-4 - ((7S, 8R, 11R, 12R) - 12 - ((S) - 1 - ((3R, 4S, 5S) - 4 - ((S) - 2 - ((S) - 2 - (二甲氨基) - 3-甲基丁酰氨基) - N, 3-二甲丁酰氨基) - 3-甲氧基-5-甲基庚酰基) 吡咯烷-2-基) - 4-乙基-8, 11-二甲基-3, 10-二氧化-7-苯基-2, 6, 13-三噁-4, 9-二氮十四基) 苯氧基) - 6 - (甲氧基羰基) 四氢-2H-吡喃-3, 4, 5-三基三乙酸酯 (1.9)



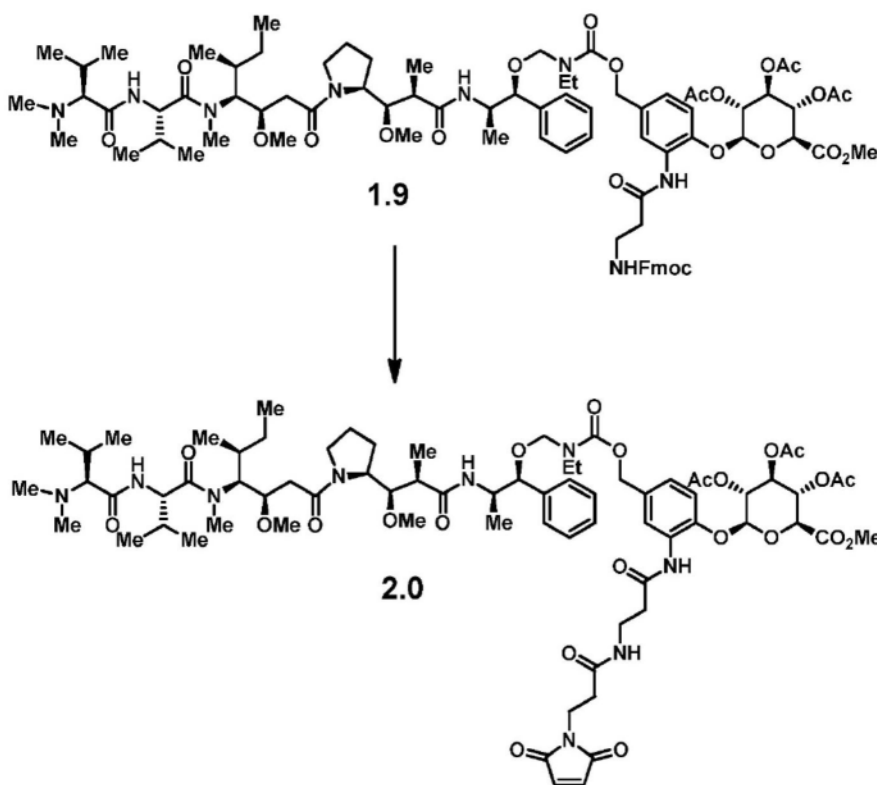
[0927]



[0928] 向配备有搅拌棒的1打兰小瓶添加100 μ L DCM随后添加5mg (4.0 μ mol) 1.8、Fmoc β -丙氨酸 (3mg, 14 μ mol) 及5mg (21 μ mol) N-乙氧羰基-2-乙氧基-1, 2-二氢喹啉。随后在室温下

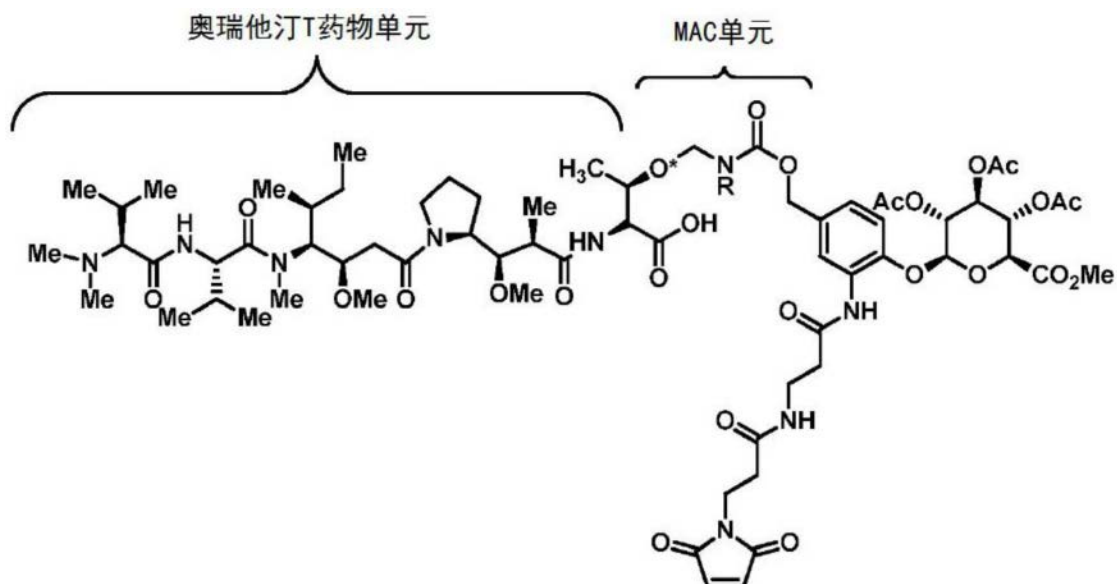
搅拌反应混合物3h,此时LC/MS指示反应完成。通过制备型HPLC (梯度5-95乙腈/水0.05% TFA) 直接纯化反应物以产生5mg 1.9, 83%。MS (m/z): C₈₂H₁₁₄N₈O₂₂的计算值[M+H]⁺ 1563.80, 实验值1563.84。

[0929] 合成 (2R,3R,4R,5S,6R) -6-(4-((7S,8R,11R,12R)-12-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(二甲氨基)-3-甲基丁酰氨基)-N,3-二甲丁酰氨基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-4-乙基-8,11-二甲基-3,10-二氧代-7-苯基-2,6,13-三噁-4,9-二氮十四基)-2-(3-(3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰氨基)丙酰氨基)苯氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸, (2.0)

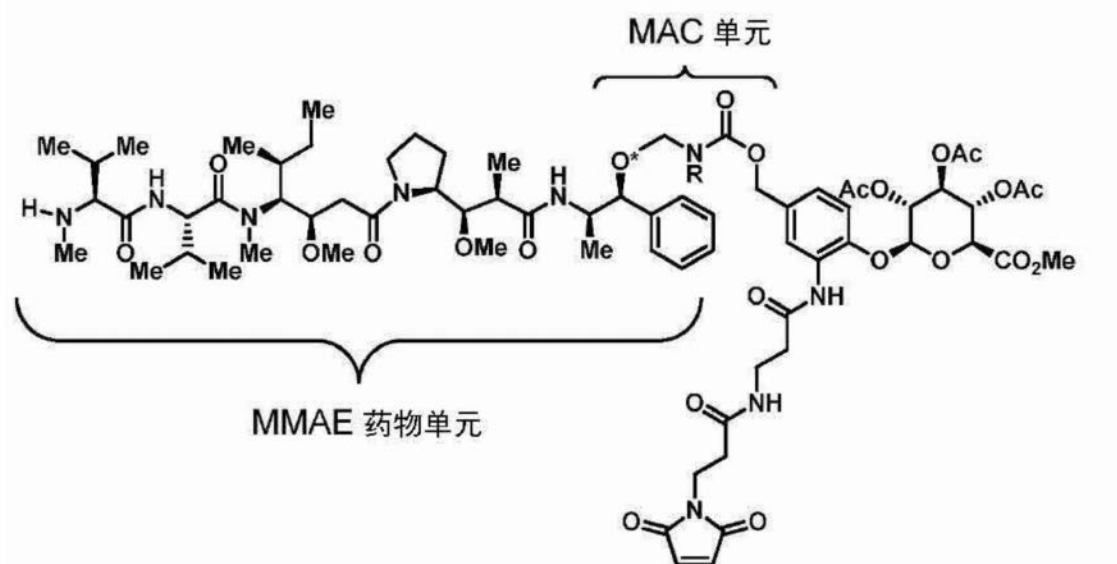


[0931] 向1.9 (5mg, 3 μ mol) 的MeOH:水1:1溶液中添加LiOH (5mg)。随后在室温下剧烈搅拌所得反应混合物10分钟,此时LC/MS显示反应完成。随后,通过制备型HPLC (梯度5-95乙腈/水0.05% TFA) 直接纯化反应混合物以产生4mg去保护1.9。向含有4mg去保护1.9的小瓶添加DMF (100 μ L) 随后添加Hünig氏碱 (20 μ L) 及3-顺丁烯二酰亚氨基丙酸N-羟基丁二酰亚胺酯 (10mg, 40 μ mol)。在室温下搅拌反应物10分钟,此时LC/MS指示反应完成。随后通过首先用3mL 2% TFA:水淬灭通过制备型HPLC (HPLC梯度5-95乙腈/水0.05% TFA) 直接纯化反应混合物以产生4.0mg 2.0。MS (m/z): C₆₇H₁₀₁N₉O₂₀的计算值[M+H]⁺ 1351.72, 实验值1351.65。

[0932] 类似于实施例1及实施例2,制备具有以下结构的包含MAC的单甲基奥瑞他汀E (MMAE) 及奥瑞他汀T药物-连接物化合物:

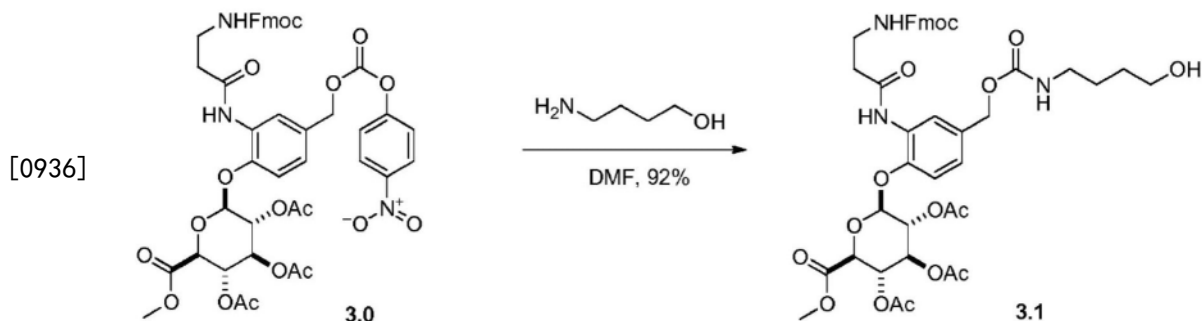


[0933]



[0934] 其中R为氢或乙基,且O*为来自奥瑞他汀T或MMAE的二级羟基官能团的MAC单元的氧杂原子。

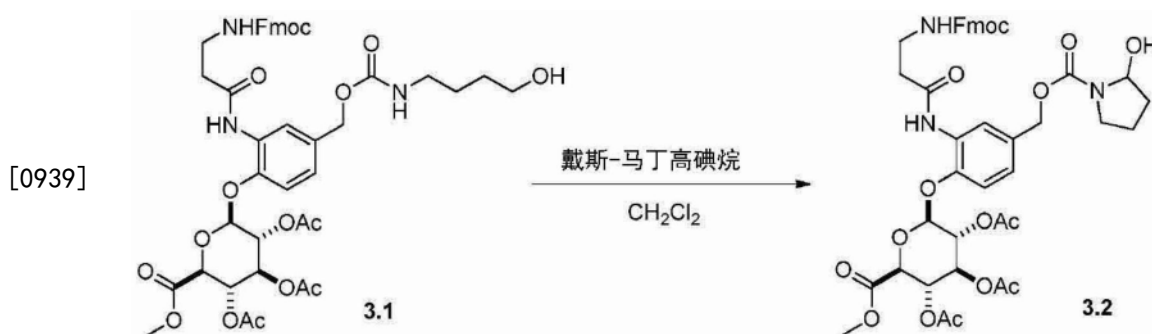
[0935] 实施例3:合成具有环状MAC单元模型自分解型组装单元及其条件性自我分解



[0937] 合成(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-(3-(((9H-苄-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰氨基)-4-((((4-羟丁基)氨甲酰基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(3.1)

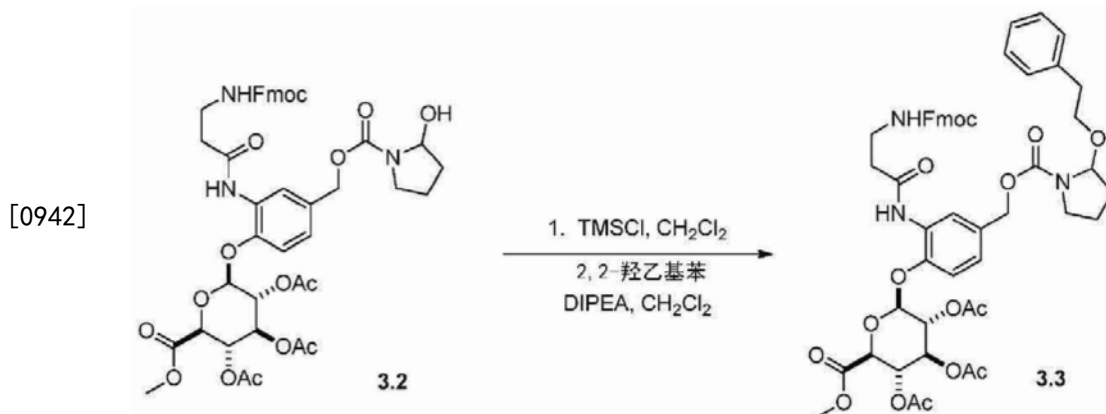
[0938] 向对硝基苯基碳酸酯3.0(300mg,0.33mmol)于DMF(5mL)中的混合物添加4-氨基

丁-1-醇(58mg,0.66mmol)。添加4-氨基丁-1-醇之后,如通过UPLC-MS所判断,反应完成。将混合物倒入乙酸乙酯(100mL)中,将其用水(3×50mL)及盐水(1×50mL)洗涤。将有机相经硫酸钠脱水、倾析且浓缩为残余物,该残余物在用乙酸乙酯洗脱的2mm放射层析仪板上通过放射层析纯化。在减压下浓缩含产物洗脱份以得到260mg(92%) 3.1:1H NMR(CDC13) δ 8.40(s, 1H), 8.07(s, 1H), 7.75(d, 2H, J=7.9Hz), 7.60(d, 2H, J=7.4Hz), 7.38(t, 2H, J=7.4Hz), 7.29(m, 2H), 7.01(d, 1H, J=2.0Hz), 6.91(d, 1H, J=6.2Hz), 5.73(bs, 1H), 5.4(t, 1H, J=9.4Hz), 5.29(m, 2H), 5.05-5.03(m, 3H), 4.95(m, 1H), 4.38(五重峰, 2H, J=7.5Hz), 4.23(t, 1H, J=7.1Hz), 4.16(d, 1H, J=9.7Hz), 3.73(s, 3H), 3.65-3.50(m, 7H), 3.21(m, 2H), 2.73(m, 2H), 2.06-2.04(m, 9H), 1.65-1.59(m, 4H); UPLC-MS(m/z) (AP+) 864.44 (M+H), t_R =1.44分钟(流动速率0.7mL/分钟)。



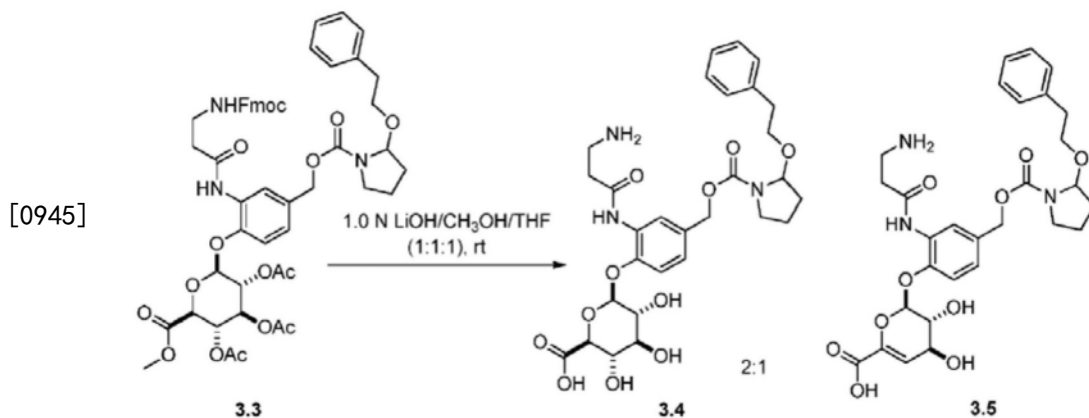
[0940] (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-(3-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰氨基)-4-(((2-羟基吡咯烷-1-羰基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(3.2):

[0941] 向醇3.1(50mg,0.056mmol)于二氯甲烷(2mL)中的混合物添加戴斯-马丁高碘烷(30mg,0.067mmol)。搅拌反应混合物3h,随后在用含50%乙酸乙酯的己烷、随后100%乙酸乙酯洗脱的1mm放射层析仪板上直接纯化以得到19.4mg(39%) 3.2:1H NMR(CD3OD) δ 8.04(d, 2H, J=6.3Hz), 7.78(d, 2H, J=7.4Hz), 7.63(d, 2H, J=7.5Hz), 7.37(t, 2H, J=7.4Hz), 7.25(q, 2H, J=7.4Hz), 7.22(m, 2H), 7.11(t, 2H, J=8.2Hz), 5.49(t, 1H, J=10.2Hz), 5.46(bs, 1H), 5.40(d, 1H, J=7.9Hz), 5.19(t, 1H, J=9.8Hz), 5.06-5.00(m, 2H), 4.76(d, 1H, J=10.1Hz), 4.37-4.30(m, 2H), 4.25(t, 1H, J=6.2Hz) 3.69(s, 3H), 3.55-3.45(m, 4H), 2.65(五重峰, 2H, J=6.7Hz), 2.07-1.95(m, 11H), 1.24(m, 3H); UPLC-MS(m/z) (AP+) 884.41 (M+Na+), t_R =1.48分钟(流动速率0.7mL/分钟)。



[0943] 合成 (2S,3R,4S,5S,6S) -2-(2-(3-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰氨基)-4-(((2-苄氧基吡咯烷-1-羰基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯 (3.3) :

[0944] 向吡咯烷醇3.2 (19.4mg, 22.4 μ mol) 于二氯甲烷 (2mL) 中的混合物添加TMSCl (20 μ L), 且搅拌反应混合物1h。在减压 (包括高真空) 下浓缩混合物10分钟。将所得残余物溶解于二氯甲烷 (1mL)、随后2-苯乙醇 (10 μ L) 连同DIPEA (10 μ L) 中。在紧接添加醇及DIPEA之后, 如通过UPLC-MS所判断, 反应完成。将混合物直接抽吸至1mm放射层析仪板上且用含50%乙酸乙酯的己烷洗脱以得到13.8mg (63%) 3.3: ^1H NMR (CD₃OD) δ 8.13 (bs, 1H), 8.08 (bs, 1H), 7.76 (d, 2H, J=7.4Hz), 7.61 (d, 2H, J=7.4Hz), 7.35 (t, 2H, J=7.4Hz), 7.27-7.03 (m, 8H), 5.48 (t, 1H, J=9Hz), 5.37 (d, 1H, J=7.9Hz), 5.3-5.17 (m, 3H), 5.05-4.99 (m, 2H), 4.44 (d, 1H, J=9.8Hz), 4.34-4.30 (m, 2H), 4.22 (bs, 1H), 3.79-3.67 (m, 1H), 3.66 (s, 3H), 3.64-3.55 (m, 2H), 3.49 (bs, 1H), 3.30 (m, 1H), 2.79 (bs, 1H), 2.66 (m, 3H), 2.01 (s, 6H), 1.96 (s, 3H), 1.81 (m, 2H), 1.75-1.65 (m, 2H); 分析型UPLC-MS: MS (m/z) (ESI+) 988.48 (M+Na⁺), tr=1.65 分钟 (流动速率0.7mL/分钟)。

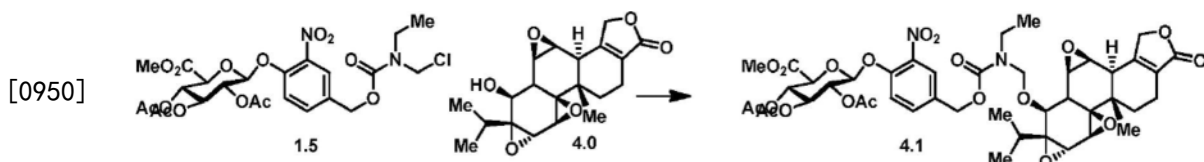


[0946] 合成 (2S,3S,4S,5R,6S) -6-(2-(3-氨基丙酰氨基)-4-(((2-苄氧基吡咯烷-1-羰基)氧基)甲基)苯氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸 (3.4)

[0947] 向吡咯烷3.3 (50mg) 于甲醇 (2mL) 及THF (2mL) 中的混合物逐滴添加1.0N氢氧化锂的水溶液 (2mL)。在环境温度下搅拌反应混合物1h。通过UPLC-MS检测反应混合物揭示对所需产物3.4的约2:1混合物完成去保护以消除产物3.5。通过逐滴添加乙酸将反应混合物中和至pH 7。在减压下浓缩混合物且将所得残余物溶解在去离子水 (2mL) 中且过滤。直接使用此溶液以使用在实施例4中描述的条件评估体外稳定性: 分析性UPLC-MS: MS (m/z) 604.35 (M+H⁺), tr (3.4) = 0.88 分钟 (流动速率0.7mL/分钟)。

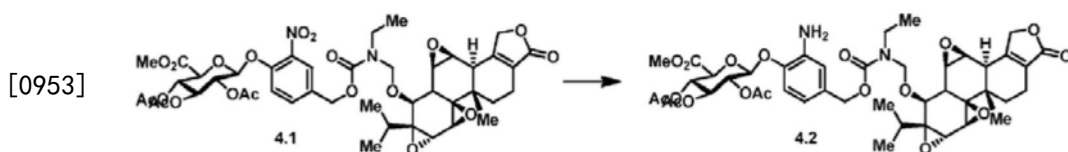
[0948] 实施例4: 合成包含MAC单元的雷公藤内酯药物-连接物化合物

[0949] 合成 (2S,3R,4S,5S,6S) -2-(4-(((乙基(((5bS,5cS,6aR,7S,7aR,8aS,8bS,9aS,9bS)-7a-异丙基-9b-甲基-3-氧代-1,3,5,5b,5c,6a,6b,7,7a,8a,8b,9b-十二氢-2H三(环氧乙烷并)[2',3':4b,5;2'',3'':6,7;2''',3'''':9,10]啡啉并[1,2-c]呋喃-7-基)氧基)甲基)氨基甲酰基)氧基)甲基)-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯 (4.1) :



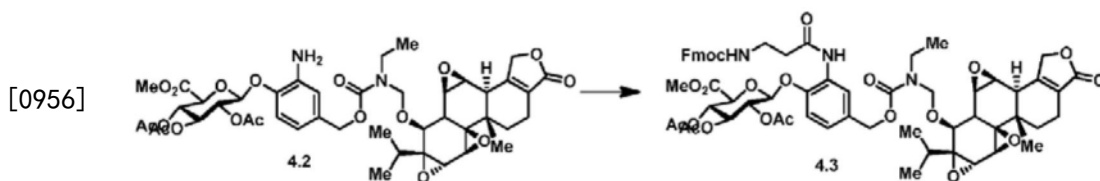
[0951] 在来自实施例2的用于制备化合物1.7的氯胺程序之后:利用109mg (0.17mmol)、250mg (0.13mmol)的1.5、7.0及65 μ l (4.30mmol)Hünig氏碱得到85mg 7.1, 72%产率。分析型UPLC-MS: t_r = 2.21分钟。MS(m/z): $C_{44}H_{52}N_2O_{20}$ 的计算值[M+H]⁺929.31, 实验值929.29。

[0952] 合成 (2S, 3R, 4S, 5S, 6S) - 2- (2-氨基-4- (((乙基 (((5bS, 5cS, 6aR, 7S, 7aR, 8aS, 8bS, 9aS, 9bS) - 7a-异丙基-9b-甲基-3-氧代-1, 3, 5, 5b, 5c, 6a, 6b, 7, 7a, 8a, 8b, 9b-十二氢-2H-三 (环氧乙烯并) [2', 3': 4b, 5; 2'', 3'': 6, 7; 2''', 3''' : 9, 10] 啡啉并[1, 2-c]呋喃-7-基) 氧基) 甲基) 氨甲酰基) 氧基) 甲基) 苯氧基) - 6- (甲氧基羰基) 四氢-2H-吡喃-3, 4, 5-三基三乙酸酯 (4.2)

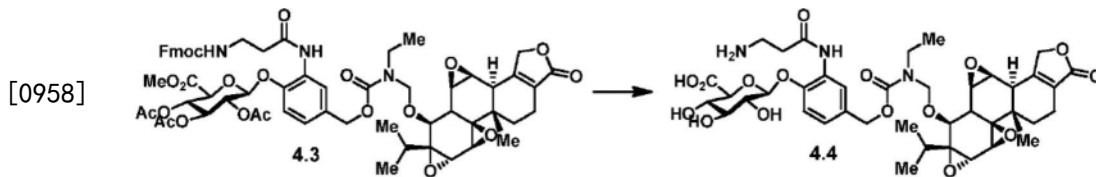


[0954] 向配备有氩气球囊的25mL圆底烧瓶加入370 μ L MeOH、85mg (0.1mmol) 4.1及5mg 10% Pd/C。随后使反应混合物真空, 将其吹扫且通过球囊用氢冲洗3次。在配备有氢球囊的情况下, 在室温下剧烈搅拌反应混合物1h, 此时LC/MS指示反应完成。随后过滤反应混合物且通过制备型HPLC (梯度5-95乙腈/水0.05% TFA) 纯化以产生35mg 4.2, 44%产率。分析型UPLC-MS: t_r = 2.14分钟。MS(m/z): $C_{44}H_{54}N_2O_{18}$ 的计算值[M+H]⁺899.34, 实验值899.37。

[0955] 合成 (2S, 3R, 4S, 5S, 6S) - 2- (2- (3- (((9H-苄-9-基) 甲氧基) 羰基) 氨基) 丙酰氨基) - 4- (((乙基 (((5bS, 5cS, 6aR, 7S, 7aR, 8aS, 8bS, 9aS, 9bS) - 7a-异丙基-9b-甲基-3-氧代-1, 3, 5, 5b, 5c, 6a, 6b, 7, 7a, 8a, 8b, 9b-十二氢-2H-三 (环氧乙烯并) [2', 3': 4b, 5; 2'', 3'': 6, 7; 2''', 3''' : 9, 10] 啡啉并[1, 2-c]呋喃-7-基) 氧基) 甲基) 氨甲酰基) 氧基) 甲基) 苯氧基) - 6- (甲氧基羰基) 四氢-2H-吡喃-3, 4, 5-三基三乙酸酯 (4.3) :



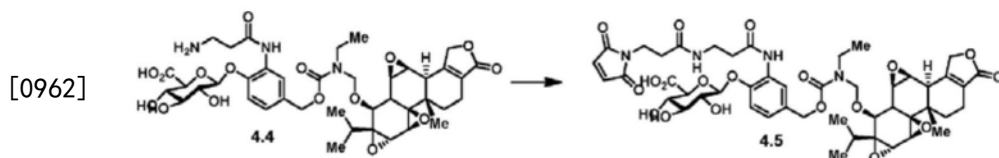
[0957] 向配备有搅拌棒的1打兰小瓶添加200 μ L DCM, 随后添加6mg (7.0 μ mol) 4.2、Fmoc β -丙氨酸 (8mg, 28 μ mol) 及7mg (0.28 μ mol) N-乙氧羰基-2-乙氧基-1, 2-二氢喹啉。随后在室温下搅拌反应混合物额外3h, 此时LC/MS指示反应完成。通过制备型HPLC (梯度5-95乙腈/水0.05% TFA) 直接纯化反应物以产生6mg 4.3, 75%。分析型UPLC-MS: t_r = 2.34分钟。MS(m/z): $C_{62}H_{69}N_3O_{21}$ 的计算值[M+H]⁺1192.44, 实验值1192.45。



[0959] 合成 (2S,3S,4S,5R,6S) -6-(2-(3-氨基丙酰氨基)-4-(((乙基(((5bS,5cS,6aR,7S,7aR,8aS,8bS,9aS,9bS)-7a-异丙基-9b-甲基-3-氧代-1,3,5,5b,5c,6a,6b,7,7a,8a,8b,9b-十二氢-2H-三(环氧乙烯基)[2',3':4b,5;2'',3'':6,7;2''',3'''':9,10]啡啉并[1,2-c]呋喃-7-基)氧基)甲基)氨甲酰基)氧基)甲基)苯氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸(4.4)

[0960] 在实施例2中的用于获得化合物2.0的去保护方法之后:将化合物4.3(4.0mg, 3 μ mol)转化为2.8mg 4.4, 95%产率。分析型UPLC-MS: t_r = 1.14分钟。MS(m/z): $C_{40}H_{51}N_3O_{16}$ 的计算值[M+H]⁺830.33, 实验值830.32。

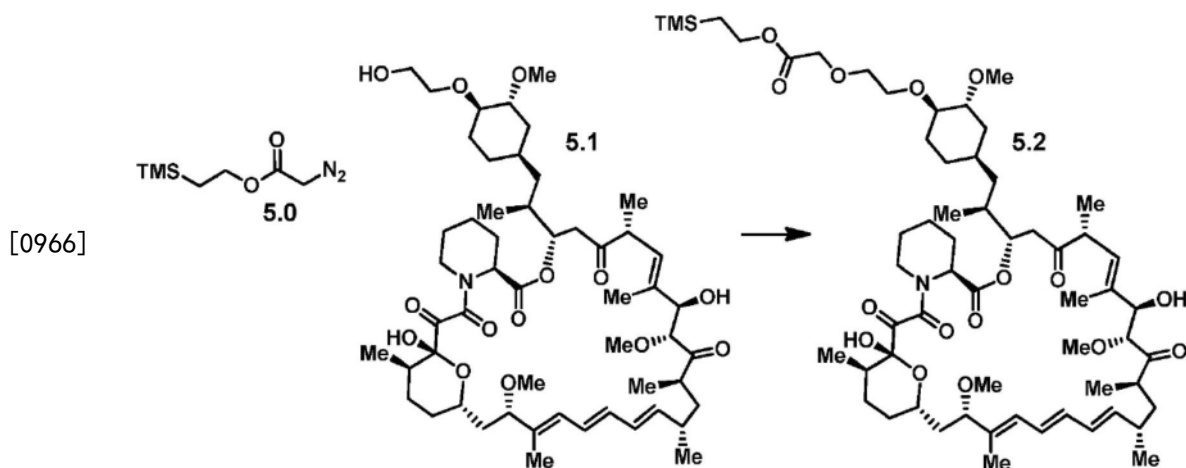
[0961] 合成 (2S,3S,4S,5R,6S) -6-(2-(3-(3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰氨基)丙酰氨基)-4-(((乙基(((5bS,5cS,6aR,7S,7aR,8aS,8bS,9aS,9bS)-7a-异丙基-9b-甲基-3-氧代-1,3,5,5b,5c,6a,6b,7,7a,8a,8b,9b-十二氢-2H-三(环氧乙烯基)[2',3':4b,5;2'',3'':6,7;2''',3'''':9,10]啡啉并[1,2-c]呋喃-7-基)氧基)甲基)氨甲酰基)氧基)甲基)苯氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸(4.5):



[0963] 向含有2mg 4.4(2 μ mol)的1打兰小瓶添加100 μ L DMF,随后添加20 μ L(0.1mmol)Hünig氏碱及2.5mg(9 μ mol)3-顺丁烯二酰亚氨基丙酸酸N-羟基丁二酰亚胺酯。随后在室温下搅拌反应混合物额外10分钟,此时LC/MS指示反应完成。通过用2%TFA:水(3mL)首先淬灭通过制备型HPLC(梯度5-95乙腈/水0.05%TFA)直接纯化反应物以产生1.8mg, 90%产率的4.5。分析型UPLC-MS: t_r = 1.61分钟。MS(m/z): $C_{47}H_{56}N_4O_{19}$ 的计算值[M+H]⁺981.35, 实验值981.38。

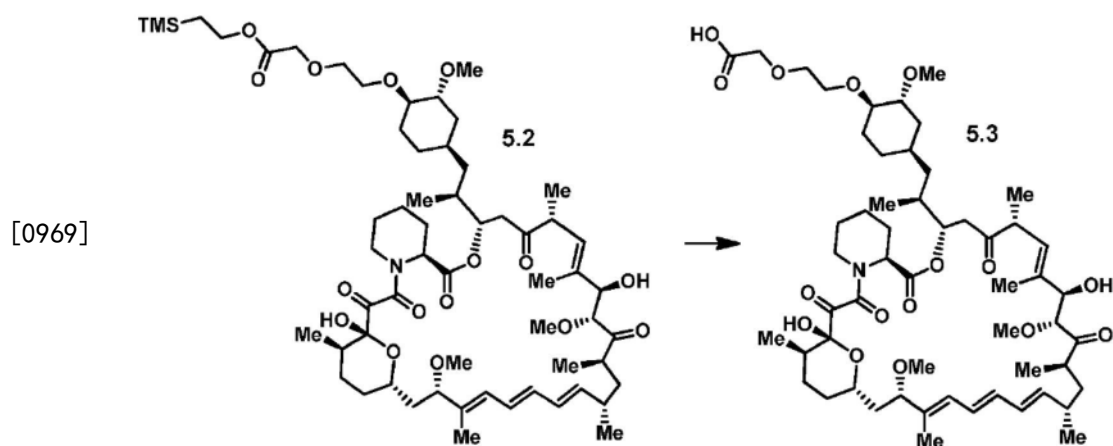
[0964] 实施例5:合成包含MAC单元的依维莫司药物-连接物化合物

[0965] 合成2-(三甲基甲硅烷基)乙基2-(2-{[(1R,2R,4R)-4-[(2S)-2-[(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28E,30S,32S,35R)-1,18-二羟基-19,30-二甲氧基-15,17,21,23,29,35六甲基-2,3,10,14,20-戊氧代-11,36-二氧杂-4-氮杂三环[30.3.1.0^{4,9}]三十六基-16,24,26,28-四烯-12-基]丙基]-2-甲氧基环己基]氧代}乙氧基)乙酸酯(5.1):



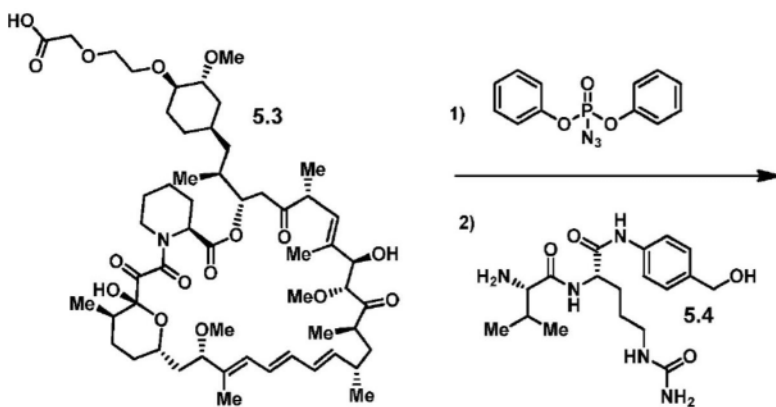
[0967] 向配备有隔垫螺钉盖及搅拌棒的1打兰小瓶加入1mL无水DCM、2mg (1 μ mol) 二乙酸铍及100mg (0.1mmol) 依维莫司 (5.1)。伴以在室温下搅拌向反应混合物逐滴添加40 μ L (0.2mmol) 三甲基-重氮乙酸乙酯 (5.0)。1小时后,LC/MS指示反应完成。随后,添加1mL MeOH且将反应物过滤且在真空中干燥。随后通过制备型TLC (己烷:乙酸乙酯,1:1,rf=0.50) 纯化所得油状物以产生73mg,68%产率的5.2。分析型UPLC-MS: t_r =1.92分钟。MS (m/z): $C_{60}H_{97}NO_{16}Si$ 的计算值[M+H]⁺1116.66,实验值1116.66。

[0968] 合成2-(2-{[(1R,2R,4R)-4-[(2S)-2-[(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28E,30S,32S,35R)-1,18-二羟基-19,30-二甲氧基-15,17,21,23,29,35-六甲基-2,3,10,14,20-戊氧代-11,36-二氧杂-4-氮杂三环[30.3.1.04,9]三十六基-16,24,26,28-四烯-12-基]丙基]-2-甲氧基环己基]氧代}乙氧基)乙酸 (5.3):

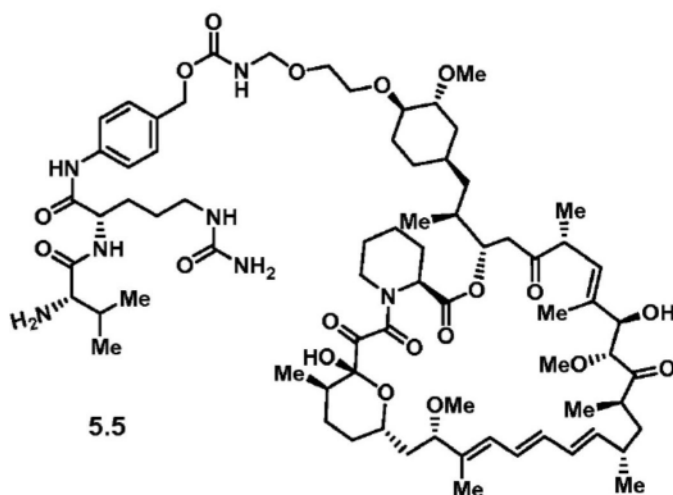


[0970] 向配备有隔垫螺钉盖及搅拌棒的1打兰小瓶加入1mL无水DMF、70mg (63 μ mol) 的5.2及52mg (1.89mmol) 的三(二甲氨基)二氟三甲基硅酸铈。通过LC/MS监视在室温下的经搅拌反应物且在20分钟之后完成。随后用5mL 10M磷酸盐缓冲盐水处理反应混合物且用乙醚提取3 \times 5mL。在真空中干燥有机层。随后通过制备型TLC (DCM:MeOH:AcOH,8.9:1:0.1,rf=0.45) 纯化所得油状物以产生57mg,89%产率的5.3。分析型UPLC-MS: t_r =1.79分钟。MS (m/z): $C_{55}H_{85}NO_{16}$ 的计算值[M+H]⁺1016.59,实验值1016.61。

[0971] 合成N-[(2-{[(1R,2R,4R)-4-[(2S)-2-[(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28E,30S,32S,35R)-1,18-二羟基-19,30-二甲氧基-15,17,21,23,29,35-六甲基-2,3,10,14,20-戊氧代-11,36-二氧杂-4-氮杂三环[30.3.1.04,9]三十六基-16,24,26,28-四烯-12-基]丙基]-2-甲氧基环己基]氧基}乙基)甲基)氨基甲酸{4-[(2R)-2-[(2R)-2-氨基-3-甲基丁酰氨基]-5(氨甲酰基氨基)戊酰氨基]苯基}甲酯 (5.5):

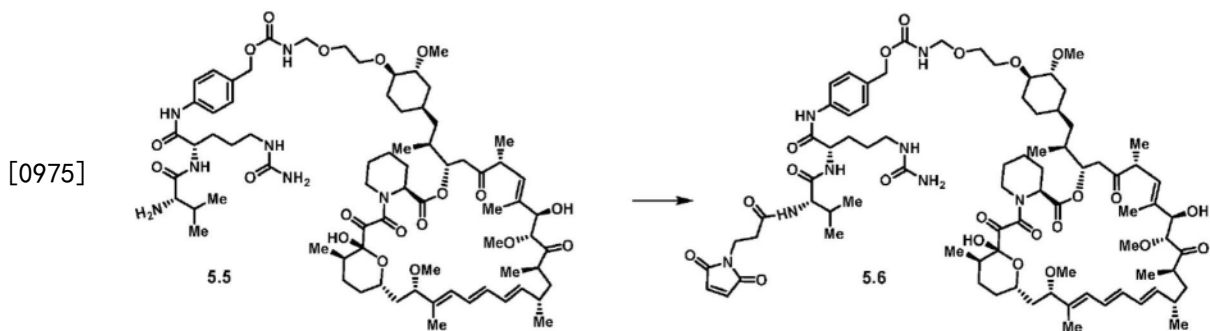


[0972]



[0973] 向含有15mg (15 μ mol) 5.3的1打兰小瓶添加300 μ L DMF,随后添加8 μ L (30 μ mol) 叠氮磷酸二苯酯及6 μ L (45 μ mol) Hünig氏碱。在室温下搅拌所得混合物1h,此时在60 $^{\circ}$ C下向反应混合物添加44mg (75 μ mol) 5.4及2 μ L (3 μ mol) 二月桂酸二丁锡。在60 $^{\circ}$ C下搅拌反应物额外2h,此时LC/MS指示反应完成。用100 μ L二乙基胺淬灭反应混合物,且随后通过制备型HPLC(梯度5-95乙腈/水0.05% TFA)直接纯化以产生10mg,47%产率的5.5。分析型UPLC-MS: t_r =1.49分钟。MS(m/z): $C_{73}H_{113}N_7O_{19}$ 的计算值[M+H]⁺1392.81,实验值1392.80。

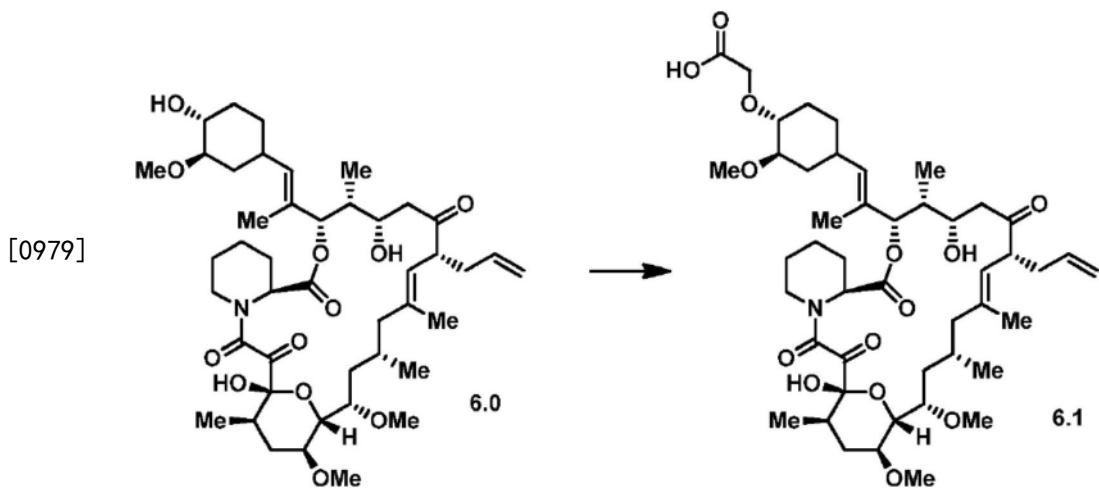
[0974] 合成N-[(2-[(1R,2R,4R)-4-[(2S)-2-[(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28E,30S,32S,35R)-1,18-二羟基-19,30-二甲氧基-15,17,21,23,29,35-六甲基-2,3,10,14,20-戊氧代-11,36-二氧杂-4-氮杂三环[30.3.1.04,9]三十六基-16,24,26,28-四烯-12-基]丙基]-2-甲氧基环己基]氧代}乙氧基)甲基]氨基甲酸{4-[(2R)-5-(氨甲酰基氨基)-2-[(2R)-2-[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰氨基]-3-甲基丁酰氨基]戊酰氨基]苯基}甲酯(5.6):



[0976] 向含有8mg (5 μ mol) 5.5的1打兰小瓶添加100 μ L DMF,随后添加20 μ L (0.15mmol) Hünig氏碱及3-顺丁烯二酰亚氨基丙酸5mg (18 μ mol) N-羟基丁二酰亚胺酯。随后在室温下搅拌反应物额外30分钟,此时LC/MS指示反应完成。通过用2% TFA:水 (3mL) 首先淬灭通过制备型HPLC (梯度5-95乙腈/水0.05% TFA) 直接纯化反应物以产生5mg, 62%产率的9.3。分析型UPLC-MS: t_r = 1.69分钟。MS (m/z): $C_{80}H_{118}N_8O_{22}$ 的计算值[M+H]⁺1543.84, 实验值1543.86。

[0977] 实施例6: 合成包含MAC单元的他克莫司药物-连接物化合物

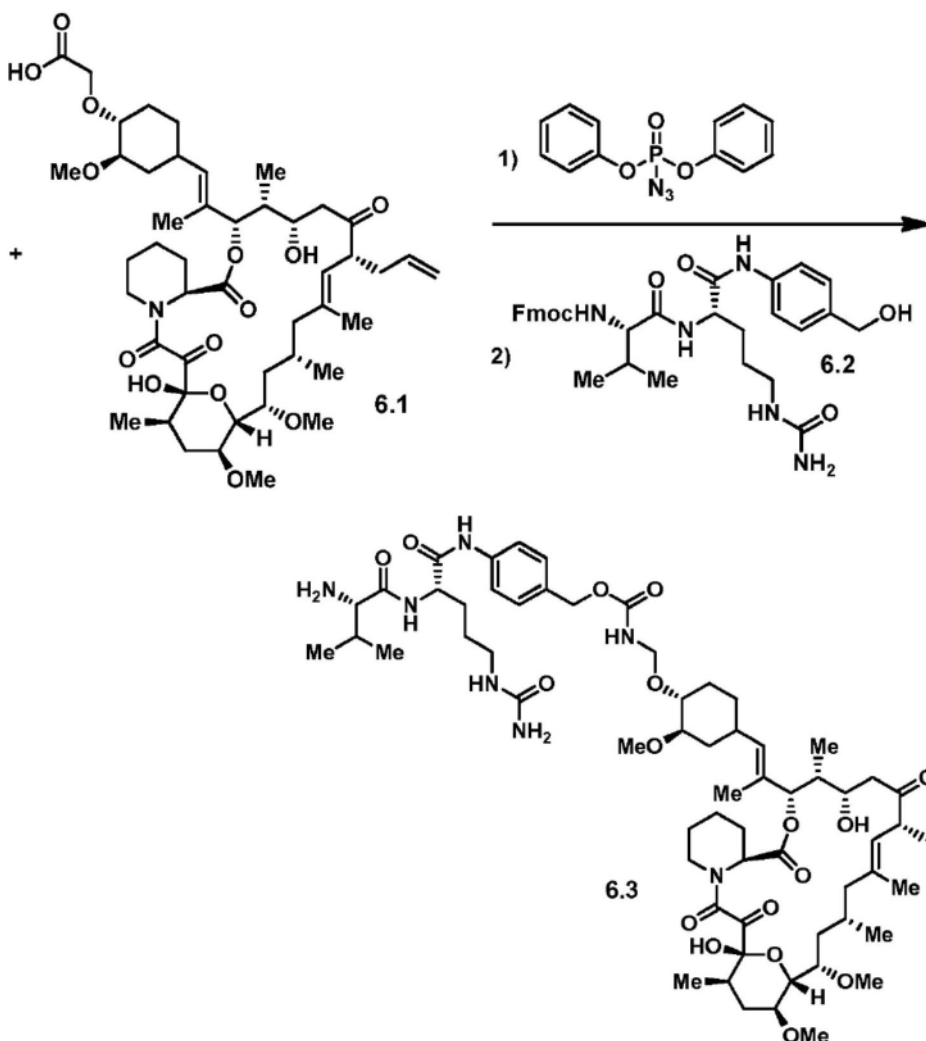
[0978] 合成2- {[(1R, 2R) -4- [(1E) -2- [(1R, 9S, 12S, 13R, 14S, 17R, 18E, 21S, 23S, 24R, 25S, 27R) -1, 14-二羟基-23, 25-二甲氧基-13, 19, 21, 27-四甲基-2, 3, 10, 16-四氧代-17-(丙-2-烯-1-基)-11, 28-二氧杂-4-氮杂三环[22.3.1.04, 9]二十八-18-烯-12-基]丙-1-烯-1-基]-2-甲氧基环己基]氧代} 乙酸 (6.3):



[0980] 向配备有隔垫螺钉盖及氩气球囊的4打兰小瓶加入3mL无水DCM, 13mg (60 μ mol) 二乙酸铍及500mg (0.6mmol) 的FK-506 (6.1)。随后, 通过注射泵在39 $^{\circ}$ C下向搅拌反应混合物逐滴添加含200 μ L (1.2mmol) 重氮乙酸第三丁酯的200 μ LDCM。在1小时之后LC/MS指示反应完成, 接着添加1mL MeOH。随后过滤反应混合物且在真空中干燥。用4mL DCM及三氟乙酸 (5:1) 溶液处理所得油状物。去保护反应物在1h之后完成, 如由LC/MS所述。随后在真空中干燥所得反应混合物且通过制备型TLC (10% MeOH:DCM, r_f = 0.20) 纯化以产生378mg, 71%产率的6.1。分析型UPLC-MS: t_r = 1.89分钟。MS (m/z): $C_{46}H_{71}NO_{14}$ 的计算值[M+H]⁺862.49, 实验值862.52。

[0981] 合成N- ([(1R, 2R) -4- [(1E) -2- [(1R, 9S, 12S, 13R, 14S, 17R, 18E, 21S, 23S, 24R, 25S, 27R) -1, 14-二羟基-23, 25-二甲氧基-13, 19, 21, 27-四甲基-2, 3, 10, 16-四氧代-17-(丙-2-烯-1-基)-11, 28-二氧杂-4-氮杂三环[22.3.1.04, 9]二十八-18-烯-12-基]丙-1-

烯-1-基]-2-甲氧基环己基]氧代}甲基)氨基甲酸{4-[(2S)-2-[(2S)-2-氨基-3-甲基丁酰氨基]-5(氨甲酰基氨基)戊酰氨基]苯及}甲酯(6.3):

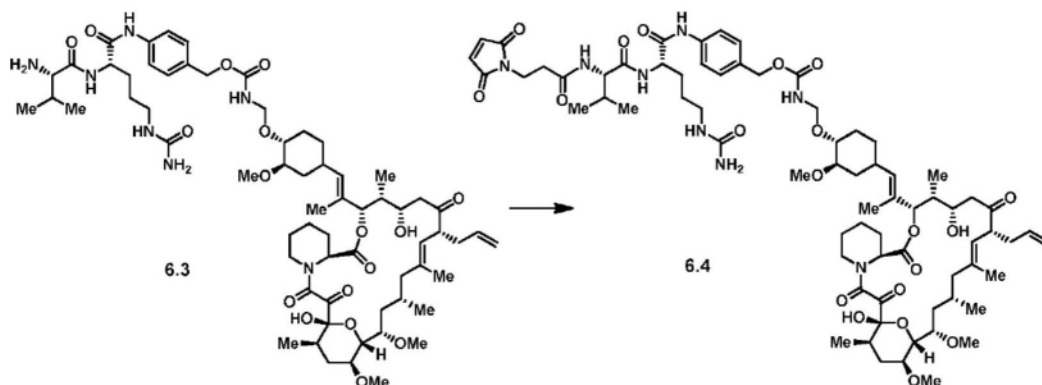


[0982]

[0983] 向含有50mg (58 μ mol) 6.1的4打兰小瓶添加300 μ L DMF,随后添加23 μ L (87 μ mol) 叠氮磷酸二苯酯及14 μ L (1.2mmol) Hünig氏碱。随后在室温下搅拌反应混合物1h。随后,在60 $^{\circ}$ C下添加52mg (87 μ mol) 6.2及2 μ L (3 μ mol) 二月桂酸二丁锡。随后在60 $^{\circ}$ C下搅拌反应物额外2h,此时LC/MS指示反应完成。在用100 μ L二乙基胺淬灭之后,通过制备型HPLC (梯度5-95乙腈/水0.05% TFA) 直接纯化反应混合物以产生15mg, 21%产率的6.3。分析型UPLC-MS: t_r = 1.82分钟。MS (m/z): $C_{74}H_{114}N_{10}O_{22}$ 的计算值[M+H]⁺ 1238.71, 实验值1238.70。

[0984] 合成N-({[(1R,2R)-4-[(1E)-2[(1R,9S,12S,13R,14S,17R,18E,21S,23S,24R,25S,27R)-1,14-二羟基-23,25-二甲氧基-13,19,21,27-四甲基-2,3,10,16-四氧代-17-(丙-2-烯-1-基)-11,28-二氧杂-4-氮杂三环[22.3.1.04,9]二十八-18-烯-12-基]丙-1-烯-1-基]-甲氧基环己基]氧代}氧代)氨基甲酸{4-[(2S)-5-(氨甲酰基氨基)-2-[(2S)-2-[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰氨基]-3-甲基丁酰氨基]戊酰氨基]苯基}甲酯(6.4):

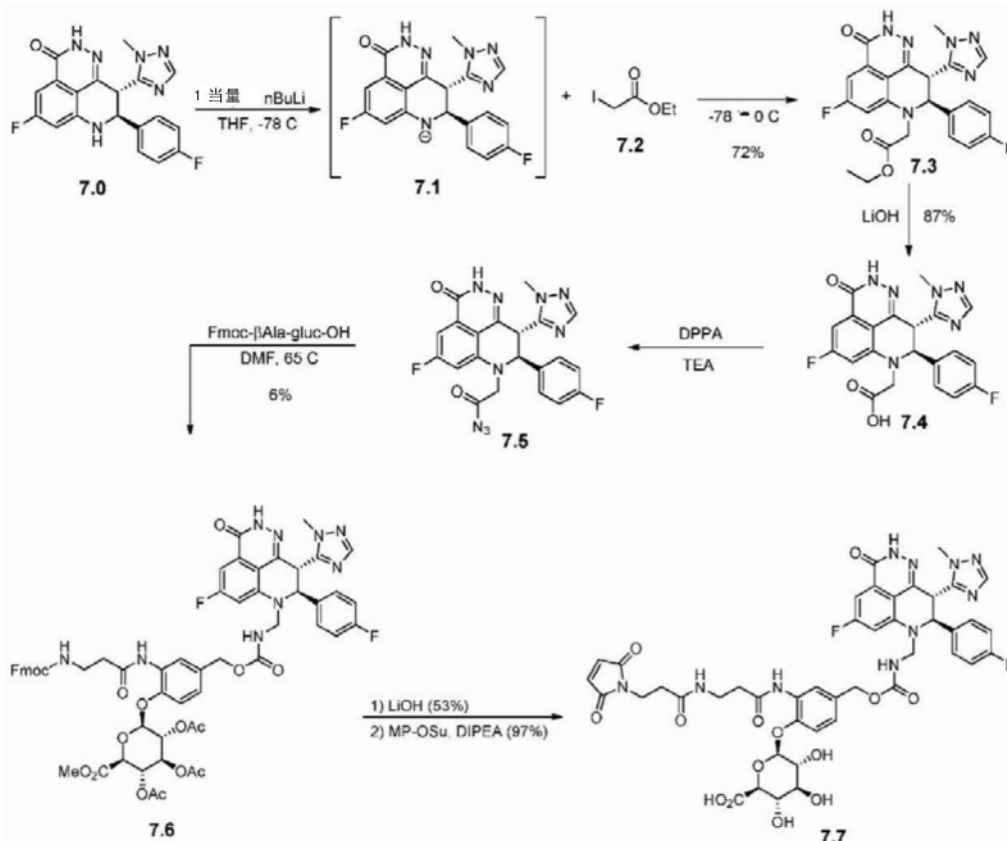
[0985]



[0986] 向含有4mg (3 μ mol) 6.3的1打兰小瓶添加100 μ L DMF,随后添加20 μ L (0.1mmol) Hünig氏碱及2.5mg (9 μ mol) 3-顺丁烯二酰亚氨基丙酸N-羟基丁二酰亚胺酯。随后,在室温下搅拌反应物额外30分钟,此时LC/MS指示反应完成。通过用2% TFA:水 (3mL) 首先淬灭反应通过制备型HPLC (梯度5-95乙腈/水0.05% TFA) 直接纯化反应物以产生3.4mg, 85% 产率的6.4。分析型UPLC-MS: $t_r = 1.78$ 分钟。MS (m/z): $C_{71}H_{104}N_8O_{20}$ 的计算值[M+H]⁺1389.74, 实验值1389.77。根据实施例8的方法测定37 $^{\circ}$ C、pH7.4的0.1M PBS缓冲液中的半衰期是10小时。

[0987] 实施例7: 合成包含MAC单元变体的含四氢喹啉药物-连接物化合物

[0988]



[0989] 合成乙基2-((8S,9R)-5-氟基-8-(4-氟苯基)-9-(1-甲基-1H-1,2,4-三唑-5-基)-3-氧代-8,9-二氢-2H-吡啶并[4,3,2-de]酞嗪-7(3H)-基)乙酸酯 (7.3):

[0990] 向火焰干燥烧瓶加入含 (8S,9R)-5-氟基-8-(4-氟苯基)-9-(1-甲基-1H-1,2,4-三唑-5-基)-8,9-二氢-2H-吡啶并[4,3,2-de]酞嗪-3(7H)-酮 (7.0, 49mg, 129 μ mol) 的2.2mL无水THF。在-80 $^{\circ}$ C、N₂下搅拌溶液,且逐滴添加呈2.5M溶液形式的正丁基锂 (77 μ L, 188 μ mol) 且

在-80℃下搅拌所得反应物额外10分钟。随后以于1mL无水THF中的溶液的形式添加碘乙酸乙酯(7.2, 31μL, 258μmol)。随后,在氮气、0℃下搅拌反应混合物直至LC/MS揭示向产物的转化完成。随后将反应混合物冷却至-80℃且用饱和氯化铵淬灭,用二氯甲烷稀释且用碳酸氢钠洗涤。随后用二氯甲烷萃取含水层,且用盐水洗涤合并的有机物、经硫酸钠干燥且浓缩至干燥。通过用甲醇:二氯甲烷混合物洗脱的Biotage管柱经二氧化硅纯化粗产物以得到7.3(43mg, 72%)。分析型UPLC-MS: t_r = 1.79分钟, m/z (ES+) 实验值467.55。

[0991] 合成2-((8S, 9R)-5-氟基-8-(4-氟苯基)-9-(1-甲基-1H-1,2,4-三唑-5-基)-3-氧代-8,9-二氢-2H-吡啶并[4,3,2-de]酞嗪-7(3H)-基)乙酸(7.4):

[0992] 向烧瓶加入43mg酯7.3(92μmol),其随后溶解于THF(1.5mL)及MeOH(1.5mL)中。在N₂下搅拌所得溶液且冷却至0℃。随后逐滴添加溶解在H₂O(1.5mL)中的单水合氢氧化锂(7.8mg, 184μmol)。随后,使反应物升温至室温且搅拌2小时。随后用乙酸(10.5μL, 184μmol)淬灭反应且在减压下冷凝。将残余物溶解在极少DMSO中且通过制备型LC纯化以得到7.4(35mg, 87%)。分析型UPLC-MS: t_r = 1.47分钟, m/z (ES+) 实验值439.42。

[0993] 合成2-((8S, 9R)-5-氟基-8-(4-氟苯基)-9-(1-甲基-1H-1,2,4-三唑-5-基)-3-氧代-8,9-二氢-2H-吡啶并[4,3,2-de]酞嗪-7(3H)-基)乙酰基叠氮化物(7.5):

[0994] 向烧瓶加入游离羧酸(7.4, 28mg, 64μmol),随后将其溶解于无水THF(1.3mL)中。添加三乙胺(22μL, 160μmol)且在室温下在氮气下搅拌所得反应混合物10分钟。

[0995] 随后添加叠氮磷酸二苯酯(14μL, 64μmol)且在室温下搅拌所得反应混合物2小时,此时UPLC/MS揭示向产物的转化。随后在减压下浓缩物质以得到粗酞基叠氮化物7.5,其未经进一步表征即继续使用。分析型LC-MS: t_r = 12.80分钟, m/z (ES+) 实验值436.16(M+H-N₂)。

[0996] 合成(2S, 3R, 4S, 5S, 6S)-2-(2-(3-(((9H-苄-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰氨基)-4-((((((8S, 9R)-5-氟基-8-(4-氟苯基)-9-(1-甲基-1H-1,2,4-三唑-5-基)-3-氧代-8,9-二氢-2H-吡啶并[4,3,2-de]酞嗪-7(3H)-基)甲基)氨甲酰基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(7.6):

[0997] 向含有含酞基叠氮化物(7.5, 64μmol)的无水DMF(0.3mL)的烧瓶添加先前所描述的(Bioconjugate Chem. 2006, 17, 831-840)含葡萄糖苷酸化合物Fmoc-βAla-葡萄糖苷酸苯甲醇(96mg, 128μmol)。随后,将反应混合物加热至65℃且在该温度下搅拌以促进酞基叠氮化物至异氰酸酯的重排,伴以后续截留以形成氨基甲酸酯官能团。2小时之后,添加催化性二月桂酸二丁锡。在65℃下继续搅拌5小时导致向产物的适度转化。将反应物稀释在乙腈及二甲亚砜中且通过制备型HPLC纯化以得到7.6(4.4mg, 6%)。分析型UPLC-MS: t_r = 2.27分钟, m/z (ES+) 实验值1185.29。

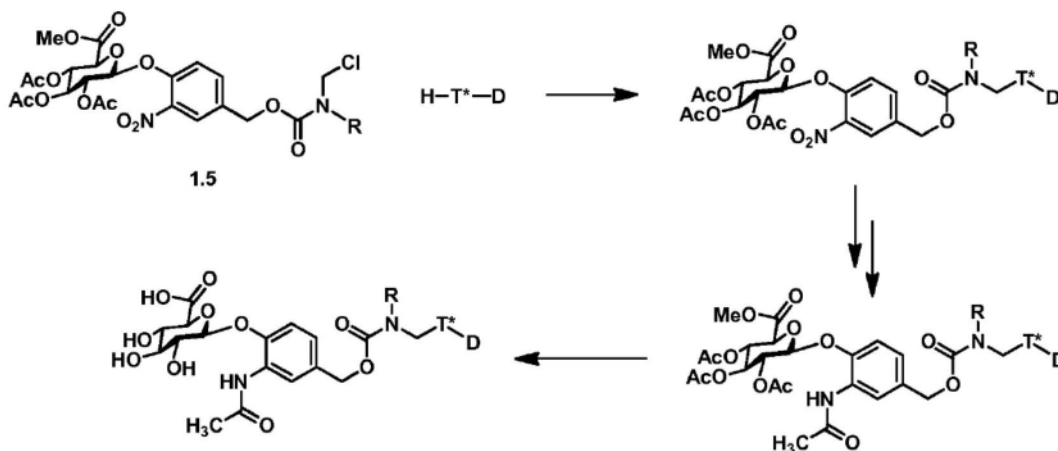
[0998] 合成(2S, 3S, 4S, 5R, 6S)-6-(2-(3-(3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰氨基)丙酰氨基)-4-((((((8S, 9R)-5-氟基-8-(4-氟苯基)-9-(1-甲基-1H-1,2,4-三唑-5-基)-3-氧代-8,9-二氢-2H-吡啶并[4,3,2-de]酞嗪-7(3H)-基)甲基)氨甲酰基)氧基)甲基)苯氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸(7.7):

[0999] 将加入4.4mg受保护葡萄糖苷酸连接物中间物7.6(3.7μmol)的烧瓶溶解于THF(0.13mL)及MeOH(0.13mL)中。在N₂下搅拌所得溶液且冷却至0℃。随后逐滴添加溶解在H₂O(0.13mL)中的LiOH·H₂O(0.9mg, 22μmol)。随后使反应物升温至室温且搅拌额外4小时。随后用乙酸(1.3μL, 22μmol)淬灭反应混合物且在减压下冷凝。将所获得的残余物溶解在极少

DMSO中且通过制备型LC纯化以得到去保护葡萄糖苷酸连接物(1.6mg, 53%)。分析型UPLC-MS: $t_r=1.20$ 分钟, m/z (ES+) 实验值822.49。将顺丁烯二酰亚胺丙酰NHS酯(0.8mg, $2.9\mu\text{mol}$)溶解于无水DMF(0.19)中且添加至含有总体去保护葡萄糖苷酸连接物(1.6mg, $1.9\mu\text{mol}$)的烧瓶中。随后添加DIPEA($1.7\mu\text{L}$, $9.5\mu\text{mol}$)且在氮气下在室温下搅拌反应物3小时。随后,将反应物稀释在乙腈及二甲亚砜中且通过制备型HPLC纯化以得到药物-连接物7.7(2mg, 97%)。分析型UPLC-MS: $t_r=1.41$ 分钟, m/z (ES+) 实验值973.43。

[1000] 实施例8:制备具有释放含羟基及含巯基化合物作为模型游离药物的自分解型组装单元的药物-连接物模型系统。

[1001] 根据以下流程通过N-氯甲胺合成制备具有与纳入模型药物结构的药物单元的共价连接的示例性自分解型组装单元,其中各所制备的自分解型组装单元由结构XVIId的自分解型部分(即, -PABA(gluc)-)及MAC单元构成:



[1002]

[1003] 其中, R及D-T*-H游离药物中的用于合成且在PABA(gluc)自分解型部分活化之后释放的变体如下在表1中:

[1004] 表1作为模型游离药物的含羟基化合物和含巯基化合物,其MAC单元取代具有变化

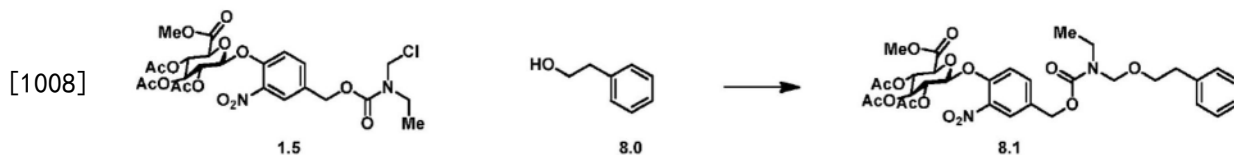
D-T*-H		R
		-CH ₂ CH ₃
		-PEG
		-CH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₂

[1005]

[1006] 用1.5烷基化来自D-T*-H的亲核试剂的通用程序:向配备有搅拌棒、隔垫及氩气球囊且加入5mL无水DCM的圆底烧瓶中通过注射器一次添加1mmol D-T*-H、5mmol Hünig氏碱、随后2mmol N-氯甲胺化合物1.5。通过LC/MS监视反应直至起始物质D-T*-H耗尽;反应通常在2h内完成。通过旋转蒸发在真空中干燥反应混合物。随后通过Biotage FCC用乙酸乙酯及

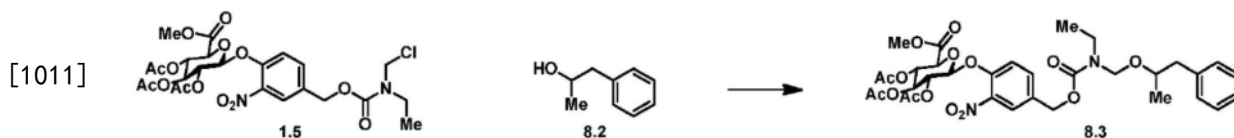
己烷梯度纯化所得油状物。

[1007] 合成 (2S,3R,4S,5S,6S) -2-(4-(((乙基(苯乙氧基甲基)氨基甲酰基)氧基)甲基)-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯 (8.1) :



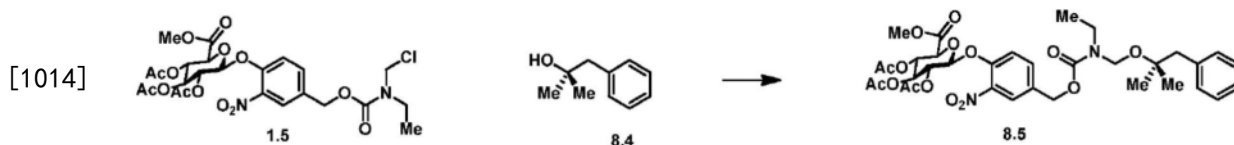
[1009] 在通用烷基化程序之后:利用 (621mg, 1.05mmol) 1.5、(250 μ L, 2.1mmol) 8.0及 (939 μ L, 5.25mmol) Hünig氏碱提供615mg 8.1, 85%产率。MS (m/z): C₃₂H₃₈N₂O₁₅的计算值 [M+H]⁺ 691.23, 实验值691.25, ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ = 7.80 (s, 1H), 7.52 (dd, J = 9.2, 8.1Hz, 1H), 7.37-7.30 (m, 1H), 7.27 (t, J = 3.5, 2H), 7.23-7.14 (m, 3H), 5.38-5.27 (m, 3H), 5.20 (d, J = 5.9, 1H), 5.12 (d, J = 5.4, 2H), 4.71 (d, J = 14.0, 2H), 4.20 (d, J = 11.3, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.65 (dt, J = 12.5, 3.5, 2H), 3.39-3.26 (m, 2H), 2.80 (m, 2H), 2.11 (s, 3H), 2.06 (s, 6H), 1.14-1.06 (m, 3H)。

[1010] 合成 (2S,3R,4S,5S,6S) -2-(4-(((乙基(((1-苯基丙-2基)氧基)甲基)氨基甲酰基)氧基)甲基)-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯 (8.3) :



[1012] 在通用烷基化程序之后:利用 (105mg, 0.175mmol) 1.5、(47 μ L, 0.35mmol) 8.2及 (156.6 μ L, 0.87mmol) Hünig氏碱提供111mg 8.3, 90%产率。MS (m/z): C₃₃H₄₀N₂O₁₅的计算值 [M+H]⁺ 705.68, 实验值705.65, ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ = 7.80 (s, 1H), 7.52 (dd, J = 9.2, 8.1Hz, 1H), 7.37-7.10 (m, 5H), 5.38-5.27 (m, 3H), 5.25-5.01 (m, 3H), 4.80-4.63 (m, 2H), 4.19 (d, J = 14.0, 2H), 4.20 (d, J = 8.78, 1H), 3.73 (d, J = 2.74, 3H), 3.3-3.03 (m, 2H), 2.80 (m, 2H), 2.60 (dd, J = 13.11, 4.64, 1H), 2.11 (s, 3H), 2.06 (s, 6H), 1.14-1.06 (t, J = 7.37, 3H)。

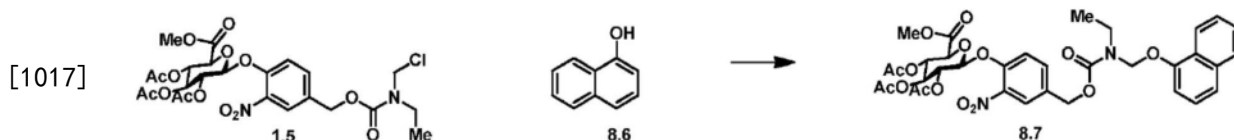
[1013] 合成 (2S,3R,4S,5S,6S) -2-(4-(((乙基(((2-甲基-1-苯基丙-2-基)氧基)甲基)氨基甲酰基)氧基)甲基)-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯 (8.5) :



[1015] 在通用烷基化程序之后:利用 (534mg, 0.885mmol) 1.5、(260 μ L, 0.17mmol) 7.5及 (795 μ L, 4.4mmol) Hünig氏碱提供390mg 7.6, 61%产率。MS (m/z): C₃₄H₄₂N₂O₁₅的计算值 [M+H]⁺ 719.26, 实验值719.24, ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ = 7.80 (d, J = 7.21Hz, 1H), 7.52 (dd, J = 9.7, 8.4Hz, 1H), 7.40-7.29 (m, 1H), 7.25-7.13 (m, 5H), 5.37-5.26 (m, 3H), 5.12-5.09 (m, 2H), 4.81 (d, J = 32.0, 2H), 4.18 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.41-3.31 (m, 2H), 2.81-2.72 (d, J = 16.9, 2H), 2.11 (m, 3H), 2.11 (s, 3H), 2.05 (s, 6H), 1.19-1.10 (m, 9H)。

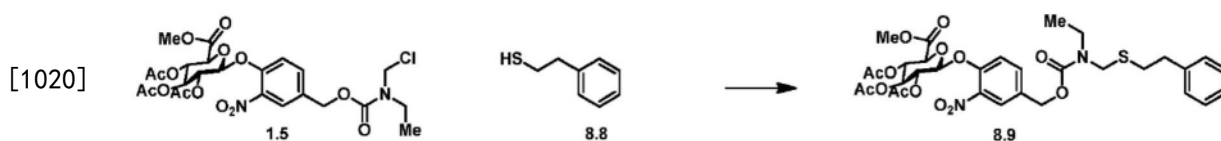
[1016] 合成 (2S,3R,4S,5S,6S) -2-(4-(((乙基((萘-1-基氧基)甲基)氨基甲酰基)氧基)甲

基)-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(8.7):



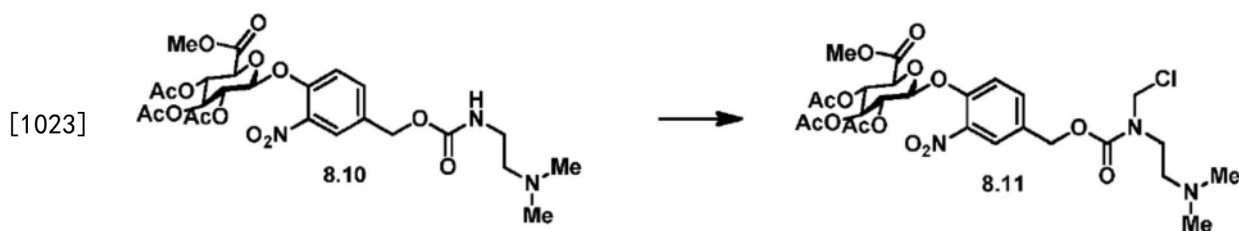
[1018] 在通用烷基化程序之后:利用(791mg,1.3mmol)1.5、(377mg,2.6mmol)8.6及(1.7ml,6.5mmol)Hünig氏碱提供768mg8.7,82%产率。MS(m/z):C₃₄H₃₆N₂O₁₅的计算值[M+H]⁺+713.39,实验值713.37,1H NMR(400MHz,CDC13)δ=8.19(dd,J=16.3,8.5Hz,1H),7.80(d,J=7.21H),7.47(m,3H),7.34(t,J=10.52H),7.25(m,1H),7.18(m,2H),6.9(dd,J=39.5,6.7Hz,1H)5.49(d,J=14.9,2H),5.30(m,3H),5.21-5.02(m,3H),4.18(m,1H),3.73(s,3H),3.64-3.49(m,2H),2.31(s,2H),2.12(s,3H),2.06(s,6H),1.32-1.18(m,3H)。

[1019] 合成(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-(((乙基(苯乙基硫基)甲基)氨甲酰基)氧基)甲基)-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(8.9):



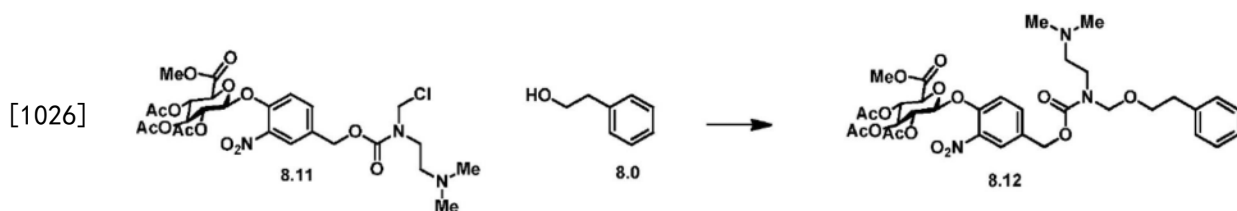
[1021] 在通用烷基化程序之后:利用(43mg,0.070mmol)1.5、(19μL,0.140mmol)8.8及(62μL,6.5mmol)Hünig氏碱提供42mg 8.9,86%产率。MS(m/z):C₃₂H₃₈N₂O₁₄S的计算值[M+H]⁺+707.20,实验值707.18,1H NMR(400MHz,CDC13)δ=7.79(s,1H),7.50(dd,J=10.2,8.7Hz,1H),7.37-7.08(m,6H),5.38-5.26(m,3H),5.17-5.08(m,3H),4.47(d,J=31.3,2H),4.17(d,J=9.6,2H),4.20(d,J=11.3,1H),3.73(s,3H),3.40(m,2H),2.90-2.75(m,2H),2.11(s,3H),2.06(d,J=2.8,6H),1.14(t,J=6.6,3H)。

[1022] 合成(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-(((2-(二甲氨基)乙基)氨甲酰基)氧基)甲基)-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(8.11)



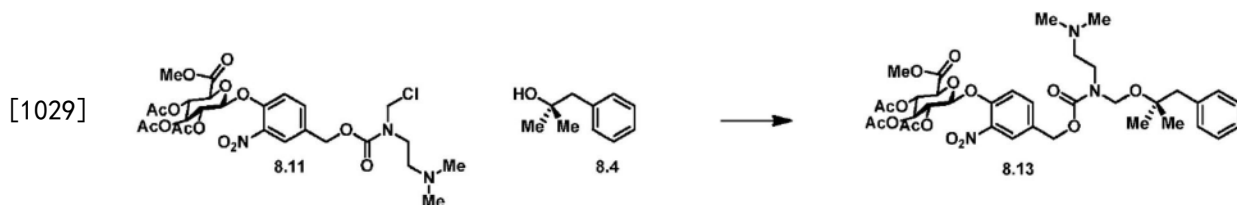
[1024] 化合物8.11使用用于1.5的程序合成。利用(150mg,0.2mM)8.10(对于合成8.10参见Bosslet等人,1998,J.Med.Chem.41:3572)提供155mg8.11,95%产率。用MeOH制备分析型UPLC样品以淬灭8.1中的反应性氯化物。分析型UPLC-MS:t_r=1.40分钟,MS(m/z):C₂₇H₃₇N₃O₁₅的计算值[M+Na]⁺+666.21,实验值666.19。

[1025] 合成(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-(((2-(二甲氨基)乙基)(苯乙氧基甲基)氨甲酰基)氧基)甲基)-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(8.12):



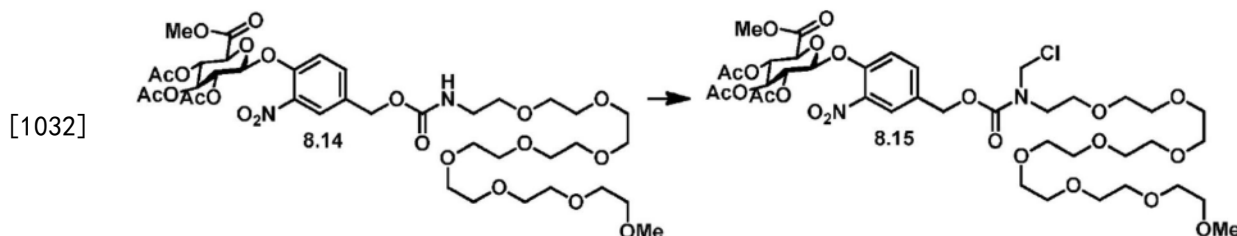
[1027] 在通用烷基化程序之后:利用(97mg,0.150mmol) 8.11、(37 μ L,0.30mmol) 8.0及(102 μ L,1.1mmol) Hünig氏碱提供76mg 8.12,72%产率。¹H NMR (400MHz,CDCl₃) δ =7.84-7.77(m,1H),7.53(dd,J=46.5,9.6Hz,1H),7.35(t,J=8.2,1H),7.30-7.14(m,5H),5.38-5.26(m,3H),5.21(t,J=6.21,3H),5.12(d,J=7.86,2H),4.76(d,J=15.7,2H),4.22(dd,J=13.2,7.4,1H),3.73(s,3H),3.70-3.54(m,5H),3.0(t,J=5.9,1H),2.83(t,J=6.6,2H),2.78(s,6H),2.59(s,2H),2.12(s,3H),2.06(d,J=2.19,6H)。

[1028] 合成(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-(((2-(二甲氨基)乙基) ((2-甲基-1-苯基丙-2-基)氧基)甲基)氨基甲酰基)氧基)甲基)-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(8.13):



[1030] 在通用烷基化程序之后:利用(150mg,0.23mmol) 8.11、(104 μ L,0.69mmol) 8.4及(102 μ L,1.1mmol)的Hünig氏碱提供118mg 8.13,67%产率。MS(m/z):C₃₆H₄₇N₄O₁₅的计算值[M+H]⁺+762.30,实验值762.32,¹H NMR (400MHz,CDCl₃) δ =7.80(d,J=24.61H),7.53(dd,J=12.3,8.4Hz,1H),7.34(t,J=11.1,1H),7.26-7.13(m,5H),5.38-5.26(m,3H),5.21-5.09(m,3H),4.47(d,J=27.2,2H),4.20(t,J=9.74,1H),3.73(s,3H),3.55(td,J=27.2,7.72H),2.84(t,J=9.7,1H),2.76(t,J=14.9,2H),2.84(t,J=9.0,1H),2.51(s,3H),2.12(s,3H),2.05(s,9H),1.16(d,J=12.2,6H)。

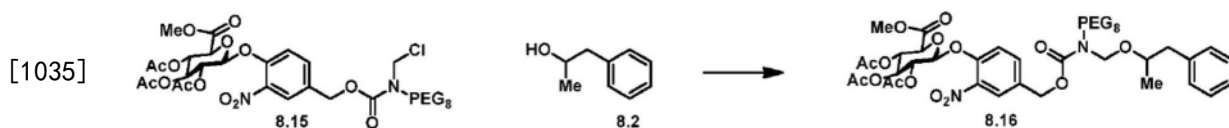
[1031] 合成(2S,3S,4S,5R,6S)-2-(甲氧基羰基)-6-(4-(4-(甲氧基甲基)-3-氧代-2,7,10,13,16,19,22,25,28-壬氧杂-4-氮杂二十九基)-2-硝基苯氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(8.15)



[1033] 化合物8.15是使用用于1.5的程序合成。利用(500mg,0.56mM) 8.14(对于合成8.14参见Bosslet等人,1998,J.Med.Chem.41:3572)提供516mg 8.15,98%产率。用MeOH制备分析型UPLC样品以淬灭8.15中的反应性氯化物。分析型UPLC-MS: t_r =1.91分钟,MS(m/z):C₄₀H₆₂N₂NO₂₃的计算值[M+Na]⁺+961.36,实验值921.40。

[1034] 合成(2S,3S,4S,5R,6S)-2-(甲氧基羰基)-6-(2-硝基-4-(3-氧代-4-(((1-苯基

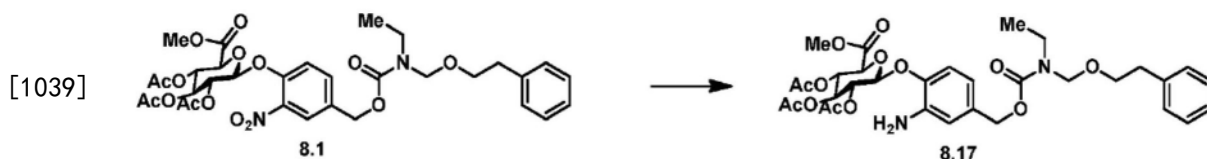
丙-2-基)氧基)甲基)-2,7,10,13,16,19,22,25,28-壬氧杂-4-氮杂二十九基)苯氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(8.16):



[1036] 在通用烷基化程序之后:利用(60mg,0.064mmol)8.15、(17 μ L,0.128mmol)8.2及(41 μ L,0.32mmol)的Hünig氏碱提供51mg8.16,84%产率。MS(m/z): $C_{48}H_{70}N_2O_{23}$ 的计算值[M+H]⁺1043.44,实验值1043.47, ¹H NMR(400MHz,CDC13) δ =7.79(s,1H),7.53(t,J=8.0Hz,1H),7.35(dd,J=9.9,6.1Hz,1H),7.26-7.07(m,5H),5.38-5.27(m,3H),5.20-5.16(m,3H),4.80-4.70(m,1H),4.20(m,1H),3.73(s,3H),3.66-3.49(m,32H),3.45(t,J=7.08,1H),3.37(s,3H),3.21(m,1H),2.78(m,1H),2.64(dd,J=13.1,5.7,1H),2.12(s,3H),2.05(d,J=2.12,6H),1.14(m,3H)。

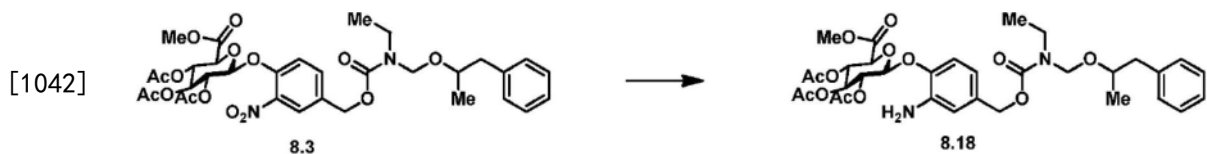
[1037] 用于将芳基硝基还原为芳基胺的通用程序:向配备有搅拌棒及橡胶隔垫的1打兰小瓶加入1mmol芳基硝基化合物及10:1MeOH:AcOH(v/v%)以达成0.2M的最终浓度。随后以一勺添加20mmol活化锌,且在室温下剧烈搅拌所得混合物。通过LC/MS监视反应直至其完成,该完成通常在30分钟内发生。随后过滤反应混合物且用过量MeOH洗涤所得固体。随后在真空中用甲苯将滤液共沸至干燥。随后通过Biotage FCC用乙酸乙酯及己烷梯度纯化粗油状物。

[1038] 合成(2S,3S,4R,5R,6S)-6-(2-氨基-4-(((乙基(苯乙氧基甲基)氨甲酰基)氧基)甲基)苯氧基)-5-羟基-2-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4-二基二乙酸盐(8.17):



[1040] 在通用还原程序之后:用锌(96mg,1.5mmol)处理含8.1(52mg,0.075mmol)的400 μ L MeOH:AcOH。纯化反应混合物产生43mg8.17,86%产率。MS(m/z): $C_{32}H_{40}N_2O_{13}$ 的计算值[M+H]⁺661.25,实验值661.23, ¹H NMR(400MHz,CDC13) δ =7.30-7.25(m,2H),7.23-7.13(m,3H),6.86(dd,J=13.6,7.02,1H),6.66(m,2H),5.38-5.27(m,3H),5.00(m,3H),4.77(d,J=15.5,2H),4.15(d,J=9.6,1H),3.80(m,2H),3.74(s,3H),3.68(t,J=7.02,1H),3.60(m,1H),3.36-3.24(m,1H),2.90-2.79(m,1H),2.07(s,3H),2.05(d,J=3.86H),1.09(q,3H)。

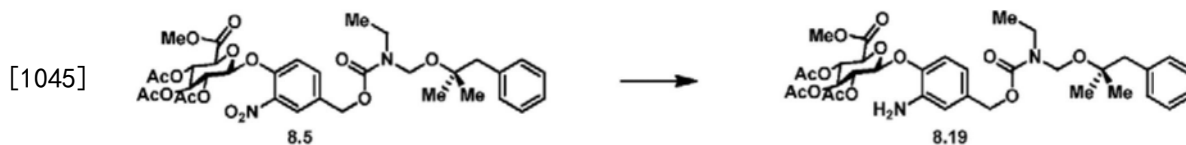
[1041] 合成(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-氨基-4-(((乙基((1-苯基丙-2-基)氧基)甲基)氨甲酰基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(8.18):



[1043] 在通用还原程序之后:用锌(88mg,1.4mmol)处理含8.3(49mg,0.070mmol)的350 μ L MeOH:AcOH。纯化反应混合物产生44mg8.18,93%产率。MS(m/z): $C_{33}H_{42}N_2O_{13}$ 的计算值[M+H]⁺675.27,实验值675.28, ¹H NMR(400MHz,CDC13) δ =7.92(s,1),7.41-6.85(m,7H),5.44-5.21(m,3H),5.1(m,3H),4.77(d,J=5.8,2H),4.18(d,J=8.7,1H),3.74(d,J=5.8,2H),3.73-

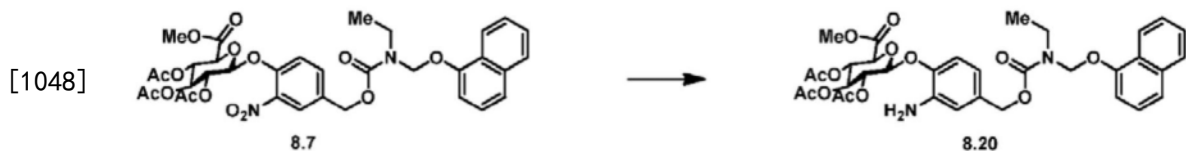
3.45 (m, 2H), 3.34-3.23 (m, 2H), 2.89-2.78 (m, 2H), 2.45 (s, 1H), 2.21 (s, 2H), 2.00 (m, 9H), 1.09 (t, J=6.7, 3H)。

[1044] 合成 (2S, 3R, 4S, 5S, 6S) -2- (2-氨基-4-(((乙基((2-甲基-1-苯基丙-2-基)氧基)甲基)氨甲酰基)氧基)甲基)苯氧基)-6- (甲氧基羰基) 四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯 (8.19) :



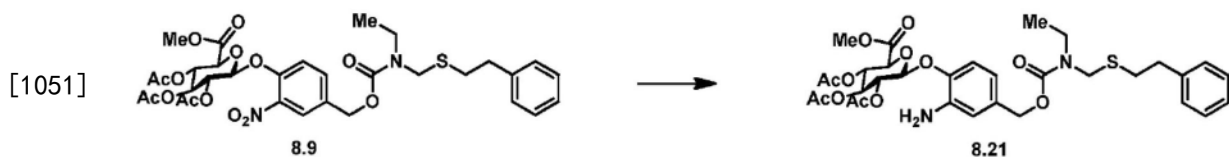
[1046] 在通用还原程序之后:用锌 (90mg, 1.42mmol) 处理含化合物 8.5 (56mg, 0.074mmol) 的 390 μ L MeOH:AcOH。纯化反应混合物产生 44mg 8.19, 93% 产率。MS (m/z): $C_{34}H_{44}N_2O_{13}$ 的计算值 [M+H]⁺+689.28, 实验值 689.30, ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ =7.26-7.14 (m, 5H), 6.86 (t, J=7.0, 1H), 7.47 (m, 2H), 5.38-5.26 (m, 3H), 5.00 (s, 3H), 4.87-4.74 (d, J=38.0, 2H), 4.14 (m, 1H), 3.80 (m, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.49 (s, 6H), 3.35 (m, 2H), 2.77 (d, J=22.0, 2H), 2.08 (s, 3H), 2.05 (d, J=4.8, 6H), 1.13 (t, J=6.7, 3H)。

[1047] 合成 (2S, 3R, 4S, 5S, 6S) -2- (2-氨基-4-(((乙基((萘-1-基氧基)甲基)氨甲酰基)氧基)甲基)苯氧基)-6- (甲氧基羰基) 四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯 (8.20) :



[1049] 在通用还原程序之后:用锌 (160mg, 2.50mmol) 处理含 8.7 (89mg, 0.125mmol) 的 630 μ L MeOH:AcOH。纯化反应混合物产生 78mg 8.20, 88% 产率。MS (m/z): $C_{34}H_{38}N_2O_{13}$ 的计算值 [M+H]⁺+683.24, 实验值 683.21, ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ =8.23 (m, 1H), 7.80 (m, 1H), 7.48 (m, 2H), 7.36-7.27 (m, 1H), 7.26-6.40 (m, 5H), 4.4 (d, J=36.02H), 5.38-5.27 (m, 3H), 5.00 (m, 3H), 4.15 (m, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.66-3.45 (m, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.05 (m, 9H), 3.60 (m, 1H), 1.25 (dt, J=30.0, 7.84, 1H)。

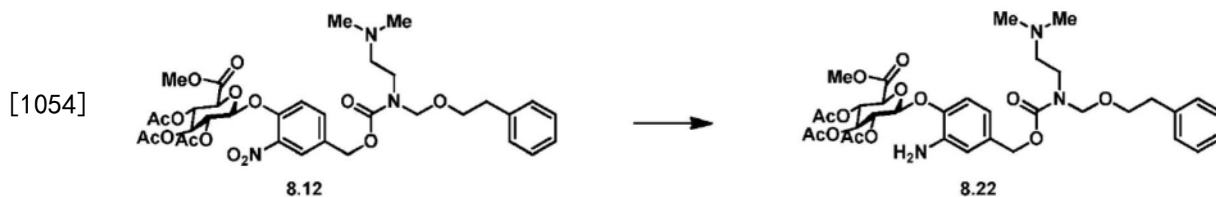
[1050] 合成 (2S, 3R, 4S, 5S, 6S) -2- (2-氨基-4-(((乙基((苯乙基硫基)甲基)氨甲酰基)氧基)甲基)苯氧基)-6- (甲氧基羰基) 四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯 (8.21) :



[1052] 在通用还原程序之后:用锌 (81mg, 1.27mmol) 处理含 8.9 (45mg, 0.064mmol) 的 320 μ L MeOH:AcOH。纯化反应混合物产生 38mg 8.21, 84% 产率。MS (m/z): $C_{34}H_{40}N_2O_{12}S$ 的计算值 [M+H]⁺+677.23, 实验值 677.20, ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ =7.81 (s, 1H), 7.51 (dd, J=18.1, 8.6Hz, 1H), 7.35-7.27 (m, 3H), 7.25-7.08 (m, 3H), 5.38-5.27 (m, 3H), 5.14 (m, 3H), 4.49 (d, J=34.0, 2H), 4.20 (d, J=7.90, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.50 (s, 2H), 3.46-3.37 (m, 2H), 3.95-2.71 (m, 3H), 2.13 (s, 3H), 2.06 (d, J=2.8, 6H), 1.15 (t, J=6.6, 3H)。

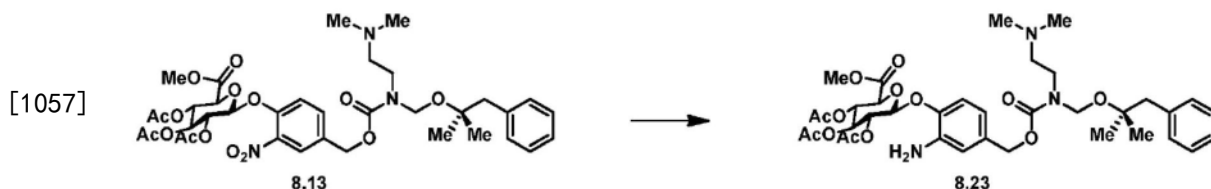
[1053] 合成 (2S, 3R, 4S, 5S, 6S) -2- (2-氨基-4-(((2- (二甲氨基) 乙基) (苯乙氧基甲基) 氨甲酰基)氧基)甲基)苯氧基)-6- (甲氧基羰基) 四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

(8.22) :



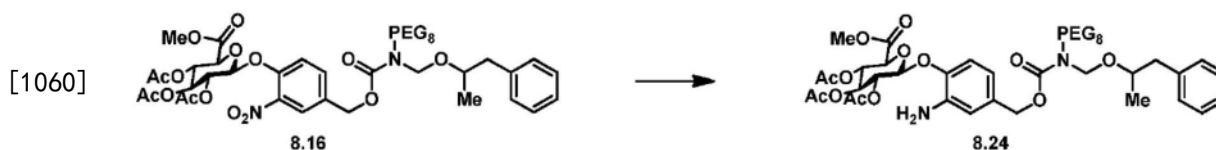
[1055] 在通用还原程序之后:用锌(97mg,1.52mmol)处理含化合物8.12(51mg,0.070mmol)的380 μ L MeOH:AcOH。纯化反应混合物产生40mg8.22,78%产率。MS(m/z): $C_{34}H_{45}N_3O_{13}$ 的计算值[M+H]⁺+704.30,实验值704.27,1H NMR(400MHz,DMSO) δ =7.29-7.11(m,5H),6.82(t,J=6.8,1H),6.62(d,J=1.8,1H),6.50(t,J=7.3,1H),5.52-5.42(m,2H),5.13-5.01(m,2H),4.72-4.63(m,5H),3.62(s,3H),3.54(m,2H),3.24(m,2H),2.75(m,2H),2.40-2.29(m,2H),2.16(s,3H),2.09(s,3H),2.02(s,3H),1.99(s,6H)。

[1056] 合成(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-氨基-4-(((2-(二甲氨基)乙基)((2-甲基-1-苯基丙-2-基)氧基)甲基)氨基甲酰基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(8.23):



[1058] 在通用还原程序之后:用锌(84mg,1.31mmol)处理含8.13(50mg,0.066mmol)的330 μ L MeOH:AcOH。纯化反应混合物产生46mg8.23,92%产率。MS(m/z): $C_{36}H_{49}N_3O_{13}$ 的计算值[M+H]⁺+732.33,实验值732.29,1H NMR(400MHz,CDC13) δ =7.39(s,1H),7.42(m,2H),7.19-7.11(m,4H),6.89(d,J=8.4Hz,1H),5.40-5.25(m,3H),5.15-4.98(m,3H),4.85(d,J=32.0Hz,2H),3.73(s,2H),2.89(m,2H),2.77(t,J=24.0,2H),2.11(m,15H),1.21(s,6H)。

[1059] 合成(2S,3S,4S,5R,6S)-2-(甲氧基羰基)-6-(2-氨基-4-(3-氧代-4-(((1-苯基丙-2-基)氧基)甲基)-2,7,10,13,16,19,22,25,28-壬氧杂-4-氮杂二十九基)苯氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(8.24):

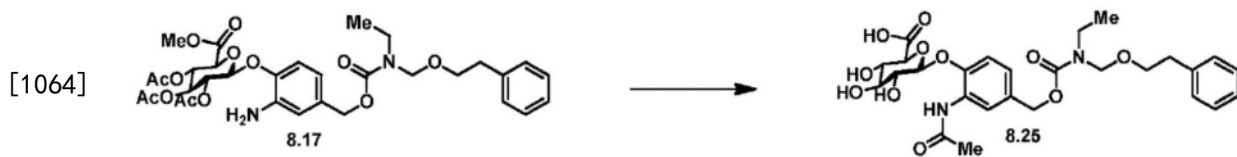


[1061] 向配备有隔垫螺钉顶及氩气球囊的1打兰小瓶加入8.16(56mg,0.048mmol)、二氯化锡(54mg,0.288mmol)、吡啶(37 μ L,480mmol)及240 μ L乙醇。搅拌反应物16h,此时LC/MS显示起始物质的消耗。经硅藻土栓塞过滤反应混合物且通过急骤管柱层析纯化滤液以产生呈清澈油状物的22mg8.24,44%。MS(m/z): $C_{34}H_{44}N_2O_{13}$ 的计算值[M+H]⁺+1013.46,实验值1013.43。

[1062] 用于在氢氧化锂芳基葡萄糖苷酸去保护之后形成乙酰胺的通用程序。在室温下向配备有搅拌棒及内衬有PTFE盖的1打兰小瓶添加1mmol苯胺葡萄糖苷酸、5mmol乙酸酐、6mmol Hunig氏碱及5mL二氯甲烷。通过LC/MS监视反应物至完成,该完成通常在1小时内发生。随后,在真空中用甲苯将反应混合物共沸至干燥。随后在室温下用1mL 1:1MeOH及饱和LiOH水溶

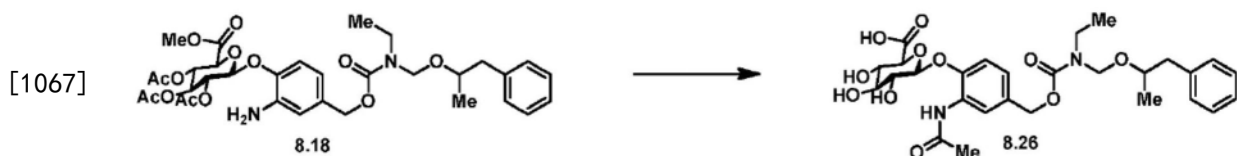
液处理粗油状物。通过LC/MS监视水解去保护反应且其通常在1小时内完成。随后使用制备型HPLC(梯度5-95乙腈/水0.05%TFA)纯化反应混合物。

[1063] 合成(2S,3S,4S,5R,6S)-6-(2-乙酰氨基-4-(((乙基(苯乙氧基甲基)氨基甲酰基)氧基)甲基)苯氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸(8.25):



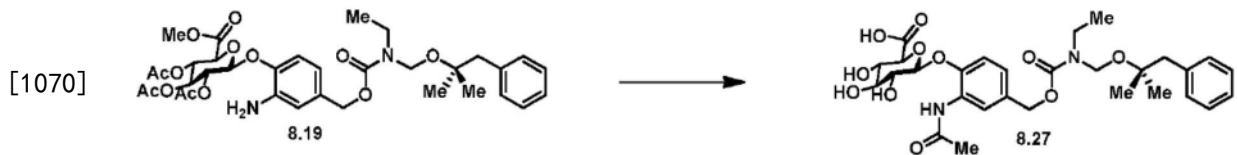
[1065] 在通用程序之后:化合物8.17(63mg,0.090mmol)转化为40mg8.25,80%产率。MS(m/z): $C_{27}H_{34}N_2O_{11}$ 的计算值[M+H]⁺563.22,实验值563.18。

[1066] 合成(2S,3S,4S,5R,6S)-6-(2-乙酰氨基-4-(((乙基(((1-苯基丙-2-基)氧基)甲基)氨基甲酰基)氧基)甲基)苯氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸(8.26):



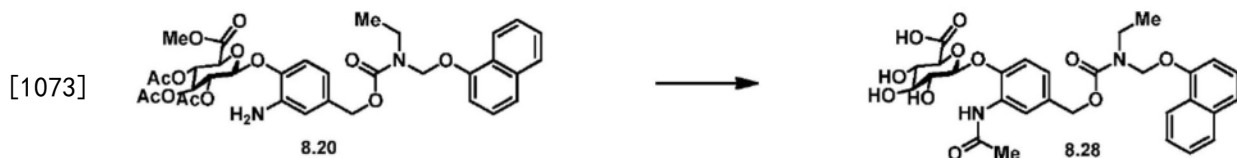
[1068] 在通用程序之后:化合物8.16(56mg,0.078mmol)转化为33mg8.24,73%产率。MS(m/z): $C_{28}H_{36}N_2O_{11}$ 的计算值[M+H]⁺577.23,实验值577.25。

[1069] 合成(2S,3S,4S,5R,6S)-6-(2-乙酰氨基-4-(((乙基(((2-甲基-1-苯基丙-2-基)氧基)甲基)氨基甲酰基)氧基)甲基)苯氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸(8.27):



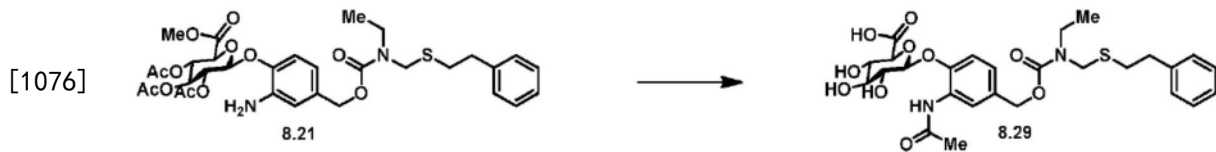
[1071] 在通用程序之后:化合物8.19(29mg,0.040mmol)转化为18mg8.27,78%产率。MS(m/z): $C_{29}H_{38}N_2O_{11}$ 的计算值[M+H]⁺591.25,实验值591.27。

[1072] 合成(2S,3S,4S,5R,6S)-6-(2-乙酰氨基-4-(((乙基((萘-1-基氧基)甲基)氨基甲酰基)氧基)甲基)苯氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸(8.28):



[1074] 在通用程序之后:化合物8.20(197mg,0.270mmol)转化为103mg8.28,66%产率。MS(m/z): $C_{29}H_{32}N_2O_{11}$ 的计算值[M+H]⁺585.20,实验值585.23。

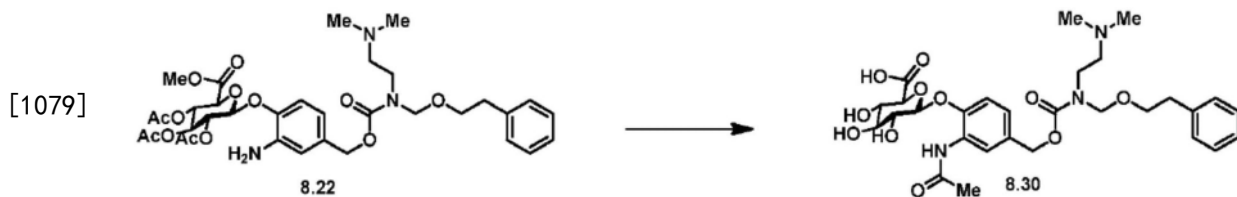
[1075] 合成(2S,3S,4S,5R,6S)-6-(2-乙酰氨基-4-(((乙基((苯乙基硫基)甲基)氨基甲酰基)氧基)甲基)苯氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸(8.29):



[1077] 在通用程序之后:化合物8.21(48mg,0.067mmol)转化为32mg8.29,71%产率。MS

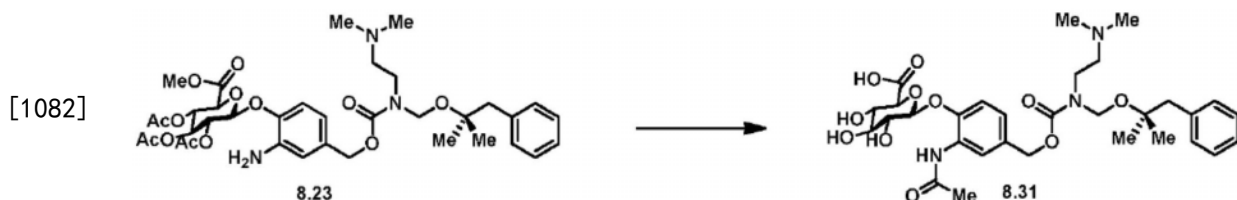
(m/z): $C_{27}H_{34}N_2O_{10}S$ 的计算值 $[M+H]^+$ 579.79, 实验值 579.76。

[1078] 合成 (2S, 3S, 4S, 5R, 6S) -6- (2-乙酰氨基-4- (((2- (二甲氨基) 乙基) (苯乙氧基甲基) 氨基) 酰基) 氧基) 甲基) 苯氧基) -3, 4, 5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸 (8.30) :



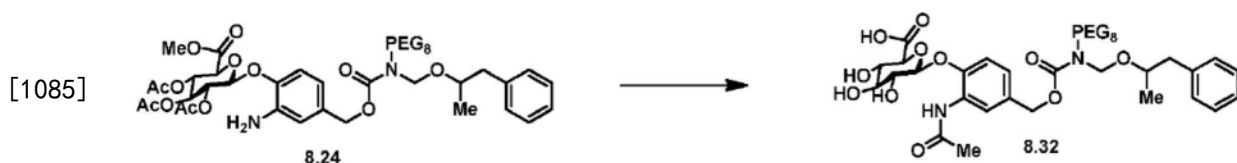
[1080] 在通用程序之后: 化合物 8.22 (45mg, 0.062mmol) 转化为 28mg 8.30, 75% 产率。MS (m/z): $C_{29}H_{39}N_3O_{11}$ 的计算值 $[M+H]^+$ 606.26, 实验值 606.25。

[1081] 合成 (2S, 3S, 4S, 5R, 6S) -6- (2-乙酰氨基-4- (((2- (二甲氨基) 乙基) ((2-甲基-1-苯基丙-2-基) 氧基) 甲基) 氨基) 酰基) 氧基) 甲基) 苯氧基) -3, 4, 5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸 (8.31) :



[1083] 在通用程序之后: 化合物 8.23 (50mg, 0.066mmol) 转化为 31mg 8.31, 72% 产率。MS (m/z): $C_{31}H_{43}N_3O_{11}$ 的计算值 $[M+H]^+$ 634.29, 实验值 634.32。

[1084] 合成 (2S, 3S, 4S, 5R, 6S) -6- (2-乙酰氨基-4- (3-氧代-4- (((1-苯基丙-2-基) 氧基) 甲基) -2, 7, 10, 13, 16, 19, 22, 25, 28-壬氧杂-4-氮杂二十九基) 苯氧基) -3, 4, 5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸 (8.32) :



[1086] 在通用程序之后: 化合物 7.26 (52mg, 0.050mmol) 转化为 28mg 7.34, 62% 产率。MS (m/z): $C_{29}H_{32}N_2O_{11}$ 的计算值 $[M+H]^+$ 915.43, 实验值 915.41。

[1087] 实施例 8: 具有各自包含 MAC 单元或其变体的自分解型组装单元的模型系统对自发性水解的体外稳定性

[1088] 实施例 8 的最终 N-乙酰基产物含有自分解型组装单元, 其各自具有共价连接至来自模型药物化合物的药物单元的式 I 的亚甲基氨基甲酸酯单元, 该式 I 的亚甲基氨基甲酸酯单元已被乙酰基代替延伸体单元加帽断开。因而, 化合物表示模型药物-连接物化合物。这些部分对自发性水解的稳定性使用以下通用程序测定。

[1089] 用于测试药物-连接物稳定性的通用程序: 在 37°C 下将实施例 8 的最终 N-乙酰基产物在小瓶中溶解于 1mL 10X 磷酸盐缓冲盐水中。通过将经孵育化合物溶液的 2μL 等分试样添加至 HPLC 小瓶中的 100μL MeOH 中来制备 LC/MS 样品。持续 7 天每 24 小时测试各偶联物。

[1090] 对于具有式 I 的亚甲基氨基甲酸酯单元 (以 R 作为乙基或 PEG) 的模型药物-连接物化合物, 二级脂族醇 (替代含脂族醇游离药物) 提供在 7 天之后未显示降解迹象的模型药物-

连接物化合物(分别为8.26及8.32)。来自具有亚甲基氨基甲酸酯单元(以R作为乙基)的含巯基模型药物化合物的模型药物-连接物化合物(8.29)在7天之后也未显示降解迹象。以R作为乙基且来自萘酚(替代含芳族醇药物)的药物单元提供具有共价连接至药物单元的MAC单元的具有极好稳定性的模型药物-连接物化合物(8.28),其在研究过程期间与来自二级脂族醇的对应模型药物-连接物化合物(8.26)不可区分。该结果为出乎意料的,因为合并芳族醇的氧杂原子的MAC单元可能不如合并二级醇的MAC单元水解稳定,归因于其较低pKa及因此芳基-OH与脂族-OH相比的优选离去基团能力。相反,替代含一级及二级脂族醇的游离药物的一级及三级脂族醇提供以乙基作为R的具有适合的稳定性但不同于对于来自二级醇的模型药物连接物化合物所观测到的程度的模型药物-连接物化合物(分别为8.25及8.27)。出乎意料地,当R为二甲氨基乙基而非乙基时,一级及三级醇模型药物化合物提供经显示具有与来自二级脂族醇的模型药物-连接物化合物(8.26)相同的极好稳定性的模型药物-连接物化合物(8.25及8.27)。

[1091] 我们相信,药物连接物的稳定性可通过用如本文所定义的碱性单元(包括但不限于二甲基氨基烷基部分)取代该药物连接物的亚甲基氨基甲酸酯单元的氨基甲酸酯氮来改进。

[1092] 实施例9:具有自分解型组装单元的药物-连接物化合物对其亚甲基氨基甲酸酯单元的自发性水解的体外稳定性。

[1093] 用以下方式评估由分别在实施例4、实施例5、实施例6及实施例7的连接物-药物化合物4.5(雷公藤内酯)、5.6(依维莫司)、6.4(他克莫司)及7.7(BMN-673)内的对应部分表示的药物-连接物部分中的MAC单元变体的稳定性。

[1094] 为了评估化合物7.7的体外稳定性,此药物-连接物化合物经转化为其N-乙酰半胱氨酸偶联物(NAC-7.7),其提供模型LDC,其中NAC充当靶向抗体配体单元的替代物。出于该目的,将药物-连接物化合物的8mM DMSO储备液的八微升稀释在磷酸盐-缓冲盐水中(0.39mL)。在各药物-连接物化合物中的顺丁烯二酰亚胺部分随后用N-乙酰半胱氨酸(0.8μL,100mM储备液)淬灭,且将该物质储存在37℃保温箱中。在14天的各种时间点下抽取等分试样且通过UPLC-MS分析药物-连接物完整性。

[1095] 对于模型药物连接物化合物4.5、5.6、6.4及模型偶联物NAC-7.7,在37℃下于PBS中孵育14天之后未注意到药物-连接物降解的迹象。在NAC-7.7的情况下,观测到来自丁二酰亚胺部分的水解的对应酸-酰胺。出乎意料地,合并二级脂族醇作为含二级脂族醇游离的替代物的模型药物-连接物化合物(8.26)具有与药物-连接物化合物6.4的可接受稳定性相比增加的稳定性,其衍生自含二级脂族醇游离药物(他克莫司)。此外,衍生自含一级脂族醇游离药物(依维莫司)的药物-连接物化合物5.6经发现具有与模型药物-连接物化合物(8.23)相比更优选的水解稳定性,其衍生自一级脂族醇作为含一级脂族醇游离药物的替代物。

[1096] 因此,各模型药物化合物提供具有稳定性可接受的亚甲基氨基甲酸酯单元的药物-连接物部分,该稳定性的程度似乎独立于杂原子T*的特性,且因此独立于其结合所通过的药物上的官能团,但还可依赖于药物单元的其余结构。用经碱性部分N-取代的亚甲基氨基甲酸酯单元所达成的结果提供具有优越稳定性的药物连接物部分。

[1097] 实施例10:具有自分解型组装单元的抗体药物偶联物对其亚甲基氨基甲酸酯单元

的自发性水解的离体稳定性。

[1098] 在市售大鼠及小鼠血浆(Bioreclamation)的200 μ L无菌等分试样中以1mg/mL孵育如在实施例13中制备的具有四个来自药物-连接物化合物1.3的药物-连接物部分的ADC(即,具有约4的平均药物负荷的ADC组合物)。在各时间点处在37 $^{\circ}$ C下孵育等分试样且在-80 $^{\circ}$ C下冷冻。在孵育完成之后,解冻样品且将50 μ L净IgSelect树脂(GE Healthcare)添加至各等分试样。样品在4 $^{\circ}$ C下旋转至少三小时且转移至真空集管上的96孔过滤器板(Seahorse)。树脂用3 \times PBS(Gibco)洗涤三次且通过用IgG洗脱缓冲液(Pierce)的两个50 μ L等分试样离心洗脱。纯化ADC经15 μ L 1M三(pH 7.4)中和且使用PNGaseF(New England Biolabs)在37 $^{\circ}$ C下去糖基化一小时。在与QTOF(Agilent)质谱仪串联的多聚羟乙基A SEC管柱(PolyLC)上解析各样品的40 μ L注射液以使得可以天然、完整状态分析ADC(参见Valliere-Douglass, John等人“Native Intact Mass Determination of Antibodies Conjugated with Monomethyl Auristatin E and F at Interchain Cysteine Residues(在链间半胱氨酸残基处与单甲基奥瑞他汀E和F偶联的抗体的本体完整质量测定)”Analytical Chemistry 2012, 84, 2843-2849)。将完整ADC的原始质谱去卷积,且整合在各去卷积峰下的面积以判定各样品的平均药物-抗体比率。图1显示通过以上质谱分析方法在数天中随时间推移所测定的随药物-抗体比率变化的AE药物偶联物的血浆稳定性。

[1099] 质谱数据证实,已发生的任何药物损失是归因于来自该配体单元的药物-连接物的完全消除且非归因于可归因于MAC单元的水解不稳定性的连接物降解。质谱数据还表明,在延伸体单元的丁二酰亚胺部分的丁二酰亚胺环系统完全水解为对应酸-酰胺部分之后,药物:抗体比率保持恒定。

[1100] 本文所描述的具有自分解型组装单元(其具有共价连接至在结构上对应于药物或模型药物的药物单元的亚甲基氨基甲酸酯单元)的各种构建体的稳定性数据在表4中概述。

[1101] 表4. 自分解型组装单元稳定性概述

[1102]	药物或模型药物 (氨基甲酸酯 R)	构建体 (药物官能团)	LC/MS 显示的相对降解半衰期
	1.3 (H)	cAC10-AE 偶联物 (2 $^{\circ}$ OH)*	未显示
	4.5 (Et)	雷公藤内酯-连接物化合物(2 $^{\circ}$ OH)	未显示
	5.6 (H)	依维莫司-连接物化合物 (2 $^{\circ}$ OH)	7 天
	6.4 (H)	他克莫司-连接物化合物(1 $^{\circ}$ OH)	未显示
	7.7 (H)	NAC-(BMN-673) 偶联物 (2 $^{\circ}$ NH)	未显示
	8.25 (Et)	模型药物-连接物化合物(1 $^{\circ}$ OH)	7 天
	8.30 (BU)**	模型药物-连接物化合物(1 $^{\circ}$ OH)	未显示
	8.26 (Et)	模型药物-连接物化合物(2 $^{\circ}$ OH)	未显示
	8.32 (PEG ₈)	模型药物-连接物化合物(2 $^{\circ}$ OH)	未显示
	8.27 (Et)	模型药物-连接物化合物(3 $^{\circ}$ OH)	7 天
	8.31 (BU)	模型药物-连接物化合物(3 $^{\circ}$ OH)	未显示
	8.28 (Et)	模型药物-连接物化合物(Ar- OH)	未显示
	8.29 (Et)	模型药物-连接物化合物(1 $^{\circ}$ SH)	未显示

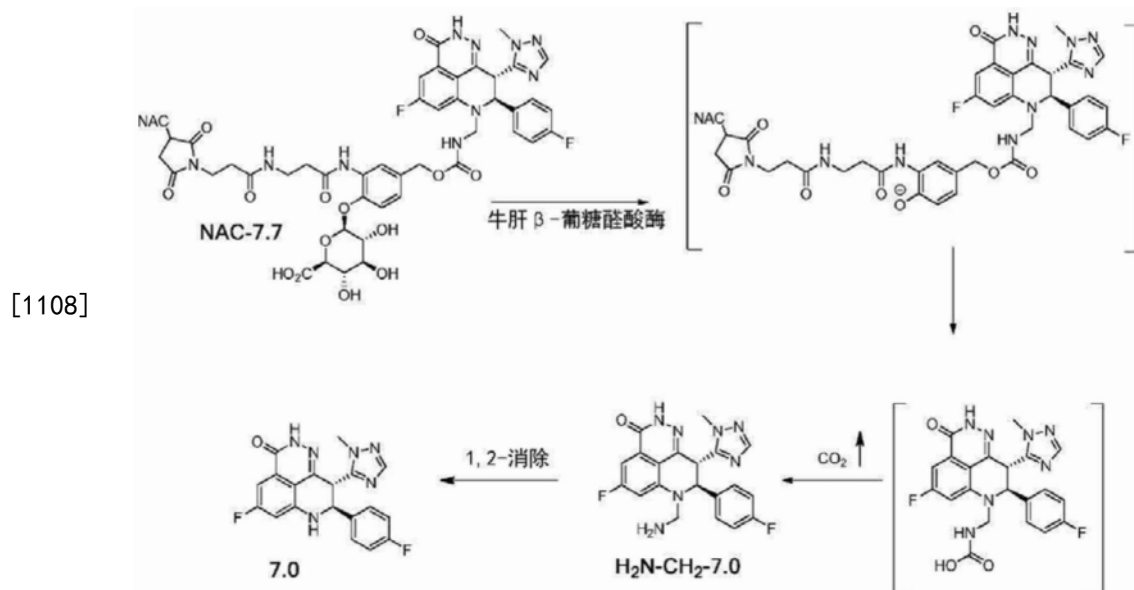
[1103] *在大鼠或小鼠血浆中于37℃孵育,所有其他在0.1M PBS, pH 7.4, 37℃中

[1104] **BU为-CH₂CH₂-N(CH₃)₂

[1105] 实施例11.含巯基药物、含一级、二级及三级脂族醇药物的游离药物或模型化合物自具有由MAC单元或其变体构成的自分解型组装单元的NAC偶联物的释放,这在该单元的葡萄糖醛酸酶活化之后进行。

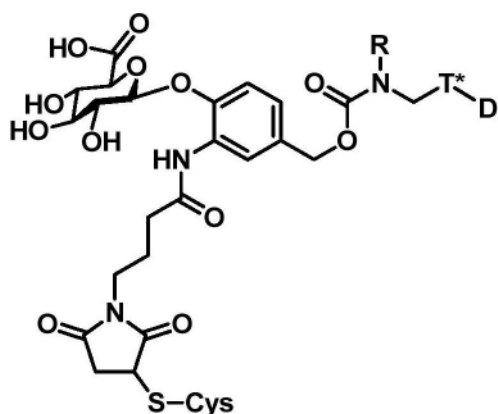
[1106] 用以下方式评估游离药物自衍生自实施例7的药物-连接物化合物的NAC-7.7偶联物的释放:通过将B型-1β-葡萄糖醛酸酶(牛肝, 1,644,000个单元/克固体)溶解于pH 5 100mM 乙酸钠缓冲剂中至0.5mg/mL的有效浓度来制备酶储备液。将化合物7.7的8mM药物-连接物储备液的五微升添加至12.5μL DMSO、26.3μL磷酸盐-缓冲盐水及6.75μL 100mM N-乙酰半胱氨酸。经淬灭连接物随后用0.45mL酶储备液稀释。随后以在1、10、20及40分钟下取得的多个时间点于37℃下孵育酶促反应。各时间点样品由稀释在5体积冰冷甲醇中的20μL反应物组成,且将其冷却至-20℃直至所有样品均被抽取。随后在12,000g下离心样品5分钟且通过UPLC-MS分析20μL上清液。在20分钟的酶分解之后,药物-连接物完全耗尽。至40分钟,大部分物质为游离药物,其指示从连接物系统的有效完全药物释放。

[1107] 与自MAC单元快速释放游离药物而在自分解型组装单元的自我分解之后不产生可侦测中间物的cAC10-2.0偶联物相反,NAC-7.7偶联物显示中间物NH₂-CH₂-7.0的堆积,该中间物的结构在以下流程中显示。



[1109] 还研究了替代“游离药物”从纳入来自实施例8的药物-连接物部分的NAC偶联物的释放。这些化合物是通过在用于制备模型药物连接物化合物8.23-8.30的氨基中间物中,用引入顺丁烯二酰亚胺延伸体单元前体的N-3-(丙酰基)-顺丁烯二酰亚胺替换N-乙酰基封端基团来制备。顺丁烯二酰亚胺部分随后用如先前所描述的N-乙酰基-半胱氨酸淬灭以用于制备NAC-7.7。衍生自实施例8的氨基中间物的NAC-偶联物具有以下一般性结构

[1110]



[1111] 其中T*为来自含一级醇或硫醇化合物的羟基或硫氢基官能团的氧或硫杂原子或为来自含二级或三级醇化合物的羟基官能团或来自表3的含酚化合物的氧杂原子。R的变化形式至完全D-T*-H释放的时间及所释放的化合物在表5中显示。

[1112] 表5. 在自我分解的活化之后的游离药物释放效率

D-T*-H (对应模型药物-连接物化合物)	R	100% 释放的时间 (分钟)
伯醇 (8.25)	-CH ₂ CH ₃	15
伯醇 (8.30)	-CH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₂	15
仲醇 (8.26)	-CH ₂ CH ₃	45
[1113]		
仲醇 (8.32)	-PEG ₈	15
叔醇 (8.27)	-CH ₂ CH ₃	15
叔醇 (8.31)	-CH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₂	15
芳族醇 (8.28)	-CH ₂ CH ₃	25
硫醇 (8.29)	-CH ₂ CH ₃	40

[1114] 实施例12: 归因于抗体药物偶联物的自分解型组装单元的条件性活化的释放自抗体药物偶联物的MAC单元的细胞毒性游离药物向目标癌细胞的细胞内递送。

[1115] 与当与等量未标靶游离药物接触时相比, 与负荷有8种药物的具有实施例7的药物-连接物部分且以实施例13的方式制备的cOKT9-7.7偶联物(其标靶CD70+细胞)接触的Lovo细胞(人类结肠腺癌细胞株)经发现具有较大量的细胞内游离药物(即, 化合物7.0), 如图3中所示。这些结果指示, ADC靶向所需细胞且在其细胞内化之后有效释放游离药物。

[1116] 实施例13: 具有MAC单元的ADC的制备及其体外细胞毒性

[1117] 靶向抗体配体cAC10及h1F6分别在US 8,257,706及US 2009/0148942中描述。

cAC10标靶CD30+细胞,其包括Karpas 299、L540cy及L-428。h1F6标靶CD70+细胞,其包括786-0、L-428及Caki-1。

[1118] 对于均质药物负荷为8的ADC组合物,靶向抗体配体的链间二硫键的完全还原是通过US 2003/00883263的方法实现。简言之,含靶向抗体(5-10mg/mL)的具有1mM乙二胺四乙酸(EDTA)的磷酸盐缓冲盐水用10eq.三(2-羧基乙基)膦(TCEP)处理,使用磷酸氢二钾中和至pH 7.4且在37℃下孵育45分钟。低分子量药剂的分离是通过在Sephadex G25管柱上的尺寸排阻层析达成。

[1119] 部分还原靶向抗体配体以得到平均药物负荷为约4的ADC组合物是使用US2005/0238649的方法实现。简言之,含抗体的具有1mM EDTA的磷酸盐缓冲盐水(pH 7.4)用2.1eq.TCEP处理且随后在37℃下孵育约45分钟。硫醇/Ab值是通过自溶液的280nm下的吸光度测定经还原抗体浓度及通过与DTNB反应测定硫醇浓度及测定412nm下的吸光度来检查。

[1120] 药物-连接物化合物是使用US 2005/0238649的方法结合至完全及部分经还原的靶向抗体配体。简言之,将含药物-连接物化合物的DMSO连同过量DMSO添加至含经还原抗体的具有EDTA的PBS以达成15%的总反应共溶剂。在环境温度下30分钟后,将过量n-乙酰基半胱氨酸添加至混合物以淬灭所有未反应的顺丁烯二酰亚氨基团。反应混合物是通过使用Sephadex G25树脂脱盐纯化为PBS缓冲剂。

[1121] 在280nm下测定所得ADC组合物的蛋白质浓度。结合药物是通过使用疏水性相互作用(HIC)HPLC分析来量化。

[1122] 在下表中所提及的cAC10-1006及hF16-1006分别为嵌合AC10抗体及人源化F16抗体,其通过具有式XVIII的val-cit-PABA自分解型部分的氨基甲酸酯官能团在其N末端处结合至单甲基奥瑞他汀E(MMAE)且用作对照物。针对多个细胞株测试所得ADC以测定体外活性,其所产生的结果在表5及表6中概述。

[1123] 表6用MAC连接物制备的ADC的体外细胞毒性活性;值代表 IC_{50} ,单位ng/mL。

[1124]	ADC	Dr/Ab	Karpas 299 CD30+ CD70-	L540cy CD30+ CD70 (低)	786-0 CD70+	Caki-1 CD70+
	h1F6-1.3	3.6	>1000	>1000*	>1000**	19
	cAC10-1.3	3.7	0.8	3	>1000	>1000
	cAC10-1006	4.0	1	8	>1000	>1000
	h1F6-1006	4.0	>1000	>1000	>1000**	7

[1125] 表6用MAC连接物制备的ADC的体外细胞毒性活性;值代表 IC_{50} ,单位ng/mL。

[1126]	ADC	Dr/Ab	Karpas 299 CD30+ CD70-	L540cy CD30+ CD70-	L-428 CD30 (中) CD70 (低)	HEL92.1.7 CD30- CD70-
	cAC10-2.0	8.0	0.4	3	65	>1000
	cAC10-1006	4.0	0.6	9	>1000*	>1000
	h1F6-1006	4.0	>1000	>1000	>1000*	>1000

[1127] *已知对MMAE具有抗性的细胞系

[1128] **已知对奥瑞他汀具有抗性的细胞系

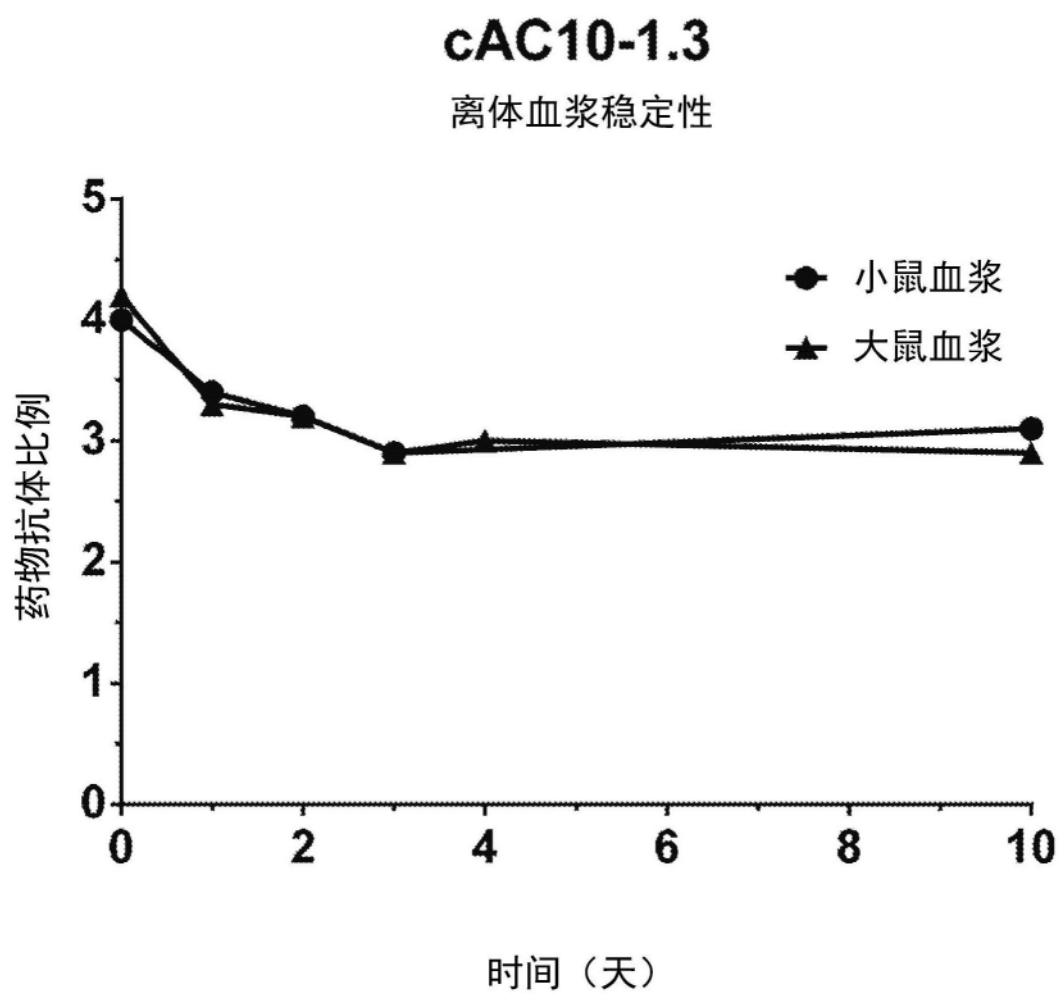


图1

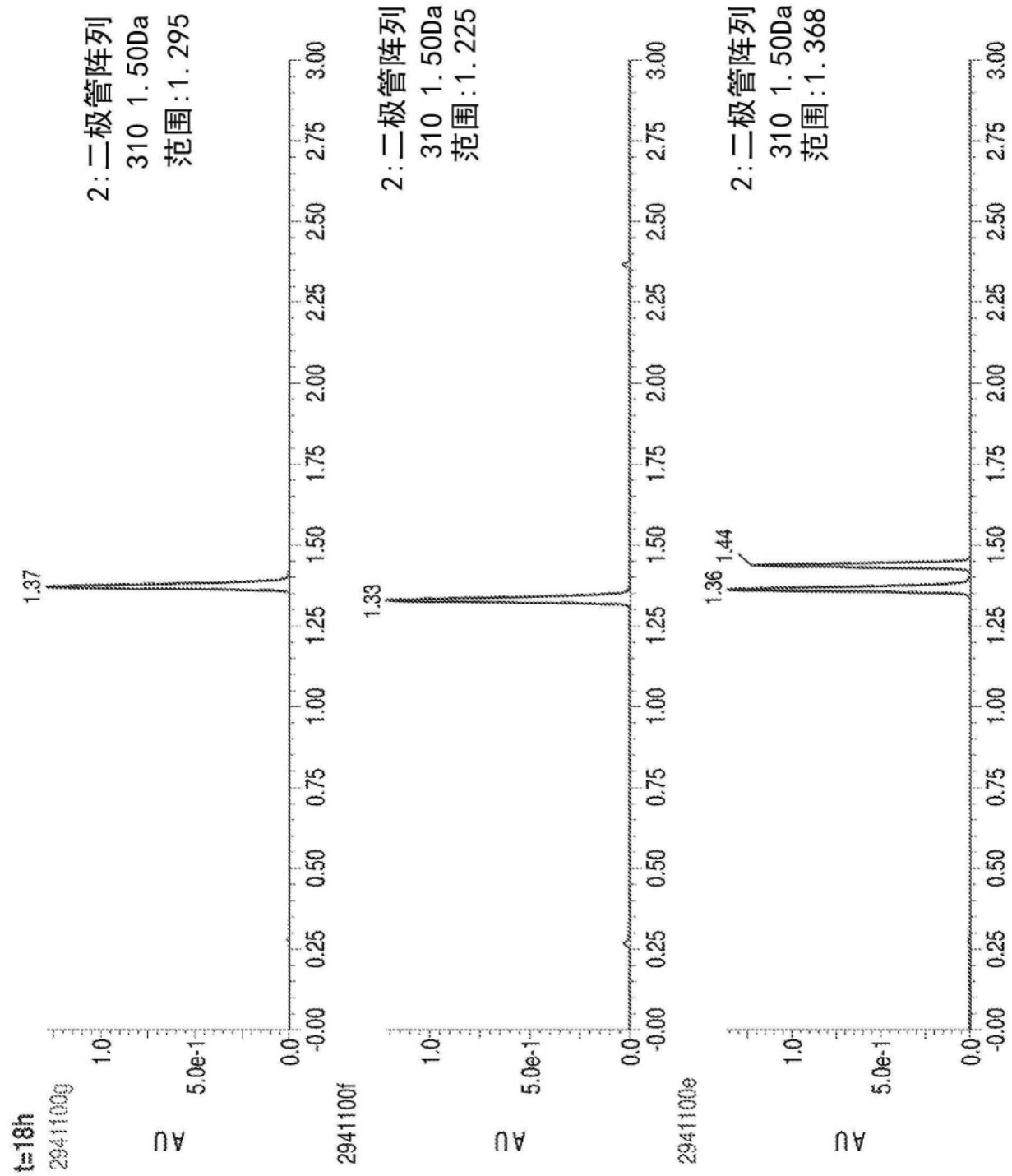


图2A

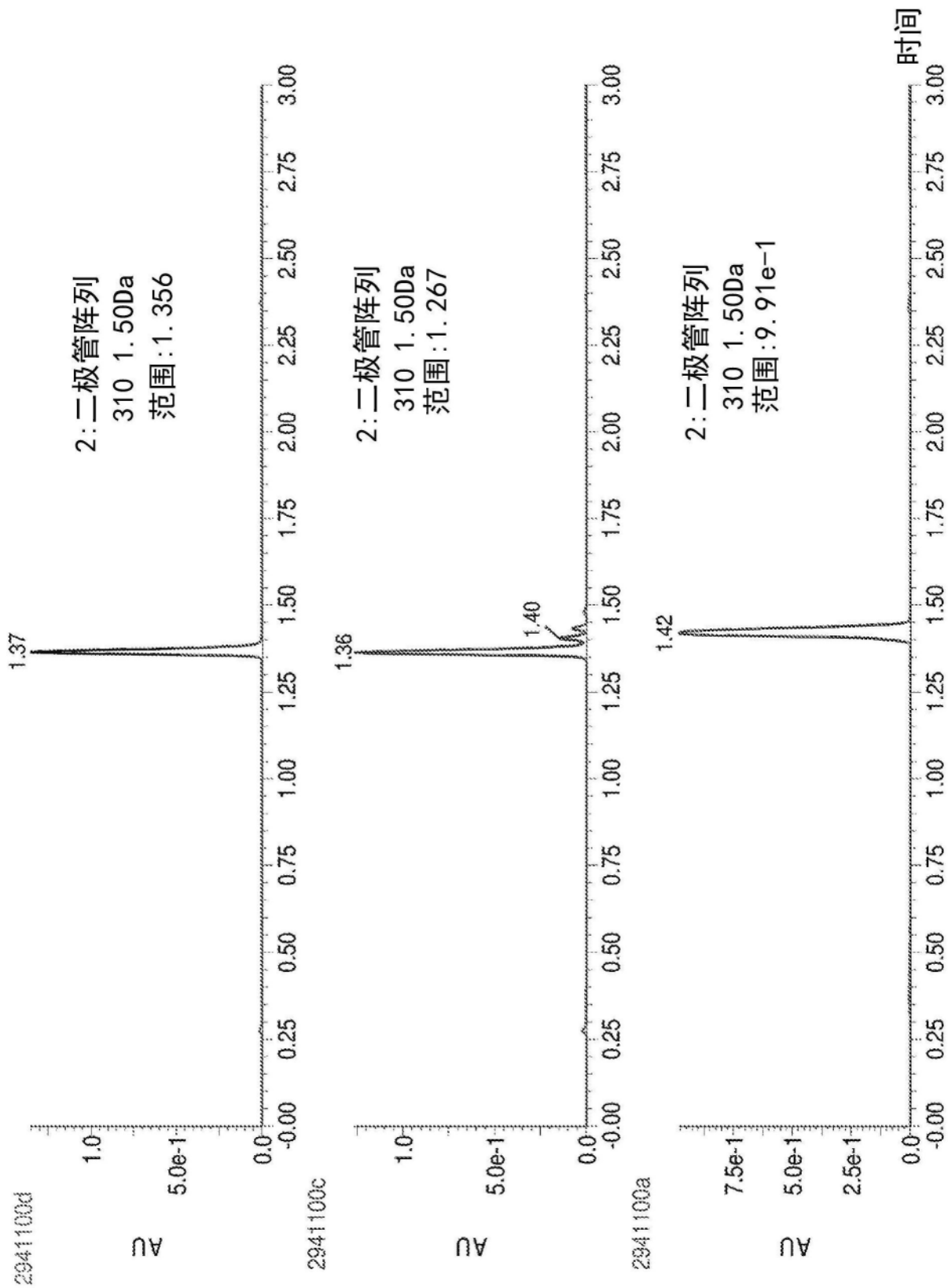


图2B

Lovo细胞化合物7.0释放

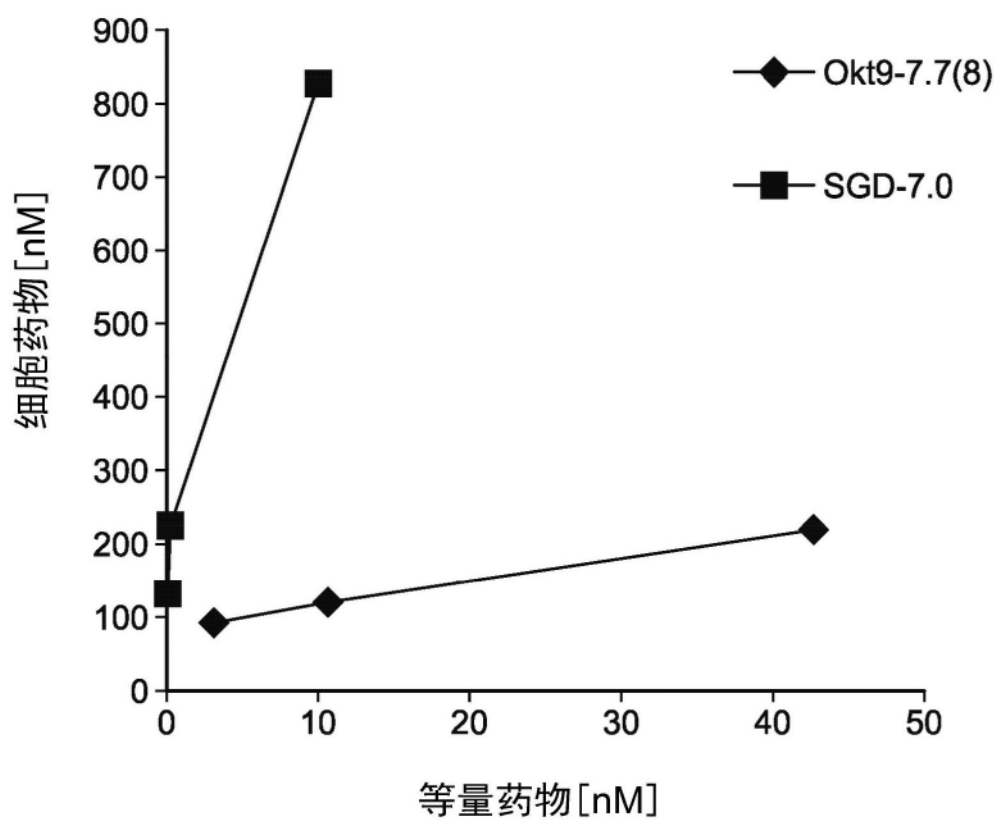


图3