



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119499399 A

(43) 申请公布日 2025. 02. 25

(21) 申请号 202411248905.0

A61K 31/454 (2006.01)

(22) 申请日 2022.06.02

A61P 35/00 (2006.01)

(30) 优先权数据

63/202,273 2021.06.03 US

63/282,585 2021.11.23 US

(62) 分案原申请数据

202280052606.2 2022.06.02

(71) 申请人 奥隆制药

地址 韩国大田广域市

申请人 百时美施贵宝公司

(72) 发明人 N·费雪金 P·U·帕克 C·白

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

专利代理师 封新琴

(51) Int. Cl.

A61K 47/68 (2017.01)

权利要求书3页 说明书70页

序列表(电子公布) 附图13页

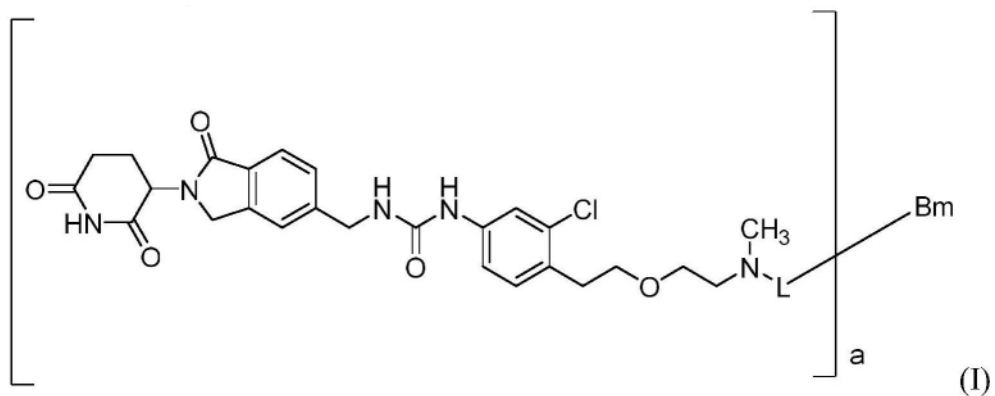
(54) 发明名称

新降解剂缀合物

(57) 摘要

本发明涉及新降解剂缀合物,提供新降解剂及新降解剂与结合部分的缀合物。亦提供包含所述缀合物的组合物。化合物及组合物可用于治疗有需要的个体的疾病或疾患,例如癌症。

1. 一种式 (I) 的缀合物:

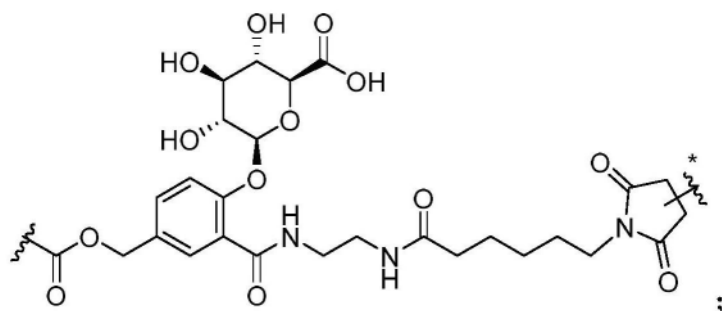


或其药学上可接受的盐;

其中:

a 为 1 至 10;

L 为



为与氮原子的连接点;

* 为与 Bm 的连接点; 且

Bm 为包含重链和轻链的抗体, 其中所述重链包含如 SEQ ID NO: 9 中所示的氨基酸序列, 所述轻链包含如 SEQ ID NO: 10 中所示的氨基酸序列。

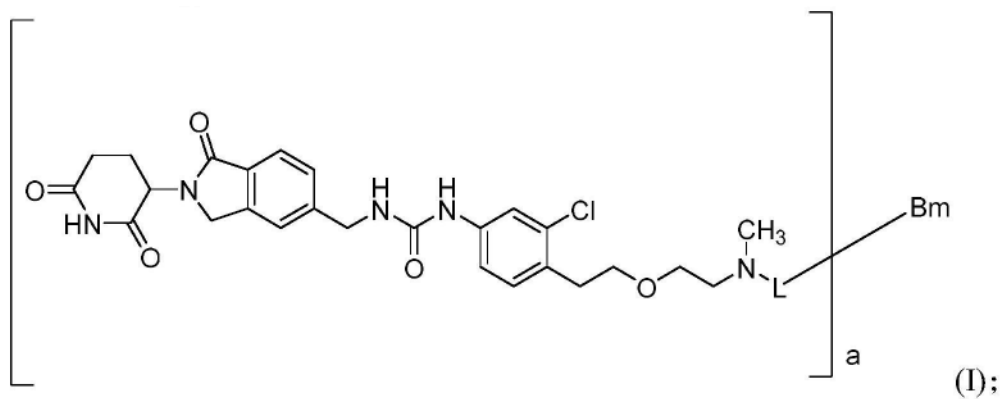
2. 根据权利要求 1 所述的缀合物, 其中所述缀合物为式 (I)。

3. 根据权利要求 1 所述的缀合物, 其中所述缀合物为式 (I) 的药学上可接受的盐。

4. 根据权利要求 1-3 中任一项所述的缀合物或其药学上可接受的盐, 其中 a 为 2 至 8。

5. 根据权利要求 4 所述的缀合物或其药学上可接受的盐, 其中 a 为 3 至 5。

6. 一种式 (I) 的缀合物:

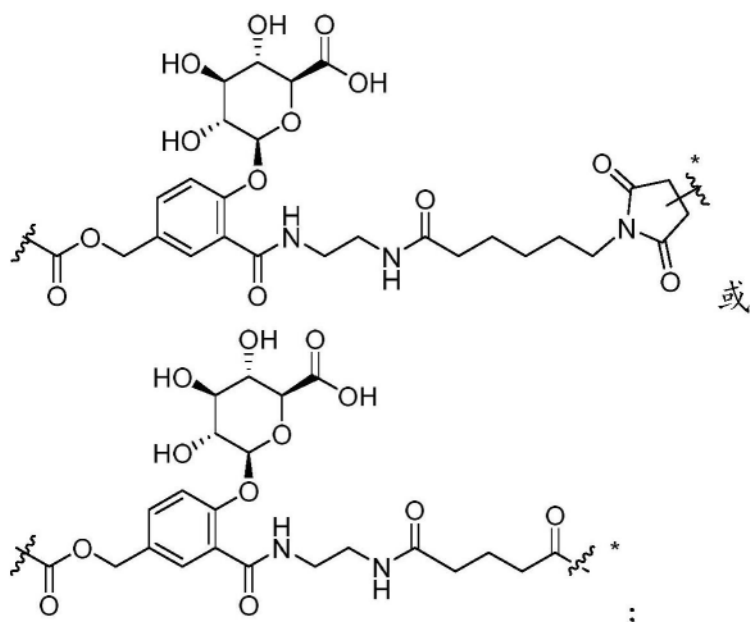


或其药学上可接受的盐；

其中：

a为1至10；

L为

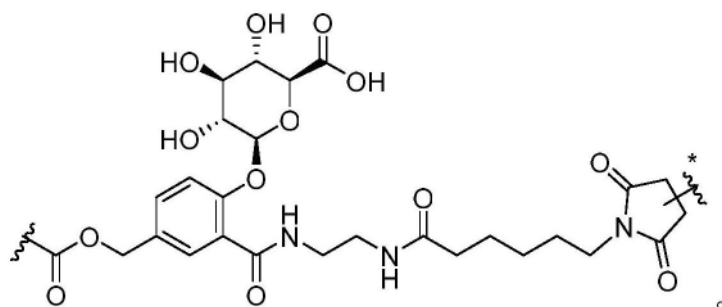


为与氮原子的连接点；

* 为与Bm的连接点；且

Bm为能够与CD33特异性结合的抗体或其抗原结合部分。

7. 根据权利要求6所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中a为2至8,并且L为



8. 根据权利要求7所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中a为3至5。

9. 根据权利要求6、7或8所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中B_m为抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分包含重链可变区(VH)互补决定区(CDR)1(VH-CDR1),其包含如SEQ ID NO:1中所示的氨基酸序列;VH-CDR2,其包含如SEQ ID NO:2中所示的氨基酸序列;VH-CDR3,其包含如SEQ ID NO:3中所示的氨基酸序列;轻链可变区(VL)CDR1(VL-CDR1),其包含如SEQ ID NO:5中所示的氨基酸序列;VL-CDR2,其包含如SEQ ID NO:6中所示的氨基酸序列;及VL-CDR3,其包含如SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列。

10. 根据权利要求6、7或8所述的缀合物或其药学上可接受的盐,其中B_m为抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分包含:VH,其包含如SEQ ID NO:4所列的氨基酸序列;及VL,其包含如SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列。

新降解剂缀合物

[0001] 本申请是申请日为2022年6月2日、中国申请号为202280052606.2、发明名称为“新降解剂缀合物”的发明申请的分案申请。

[0002] 对以电子方式提交的序列表的引用

[0003] 与本申请案一起提交的以电子方式提交的以ASCII文本文件的序列列表(名称4547_016PC02_Seqlisting_ST25;大小:24,777字节;且创建日期:2022年5月31日)的内容以引用方式整体并入本文。

技术领域

[0004] 本公开提供新降解剂(neoDegrader)缀合物,其中新降解剂缀合至结合部分。亦提供包含缀合物的组合物。缀合物及组合物可用于治疗有需要的个体的癌症。

背景技术

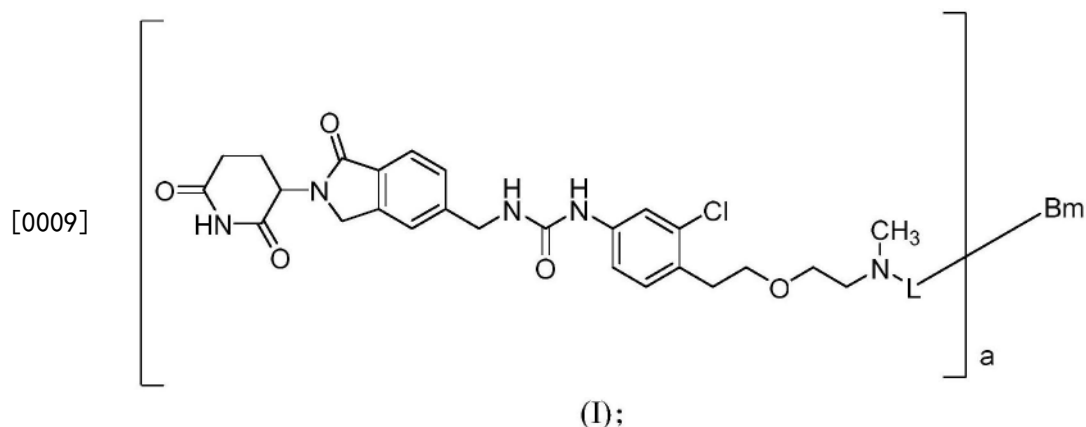
[0005] 蛋白质降解已通过免疫调节酰亚胺药物的有效性被证实为一种治疗策略。这些化合物具有结合cereblon (CRBN) 并促进由CRL4^{CRBN} E3泛素连接酶介导的底物蛋白的募集及泛素化的能力。据认为,免疫调节酰亚胺充当“分子胶”,作为疏水性贴片填充结合界面,重新编程(reprogram)连接酶与新底物之间的蛋白质相互作用。

[0006] 尽管这些化合物作为癌症的新颖疗法令人兴奋,但迄今为止,它们仅限于用于血液学恶性肿瘤,诸如多发性骨髓瘤及骨髓增生异常综合征(MDS)。扩展可通过降解其他致癌蛋白(其中许多被认为“不可成药的(undruggable)”)发挥作用的化合物的文库为药物开发的活跃领域。因此,持续需要可靶向这些替代性致癌蛋白且治疗多种癌症的新化合物。

发明内容

[0007] 用小分子GSPT1降解剂治疗癌症患者已被证明推动了临床反应,但与严重不良事件(AE)相关联。癌症常常在其表面上表达抗原,所述抗原在健康细胞上不表达或以低得多的水平表达。本发明基于以下发现:将GSPT1降解有效载荷分子与结合癌细胞上的细胞表面抗原的抗体组合可提高GSPT1降解剂的临床功效及耐受性。

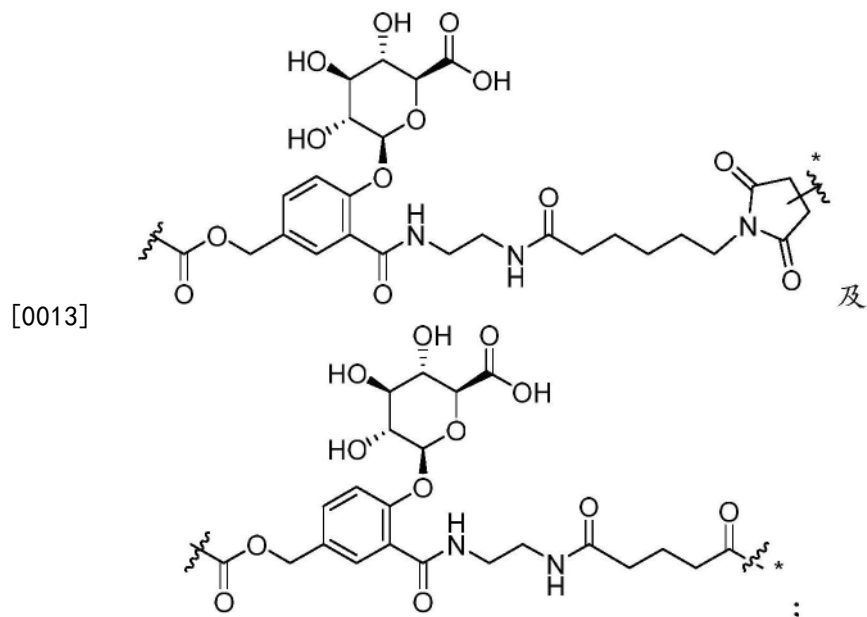
[0008] 在某些方面中,本公开提供一种式(I)的缀合物:



[0010] 或其药学上可接受的盐,其中:

[0011] a为1至10;

[0012] L为选自以下的接头:



[0014] 其中:

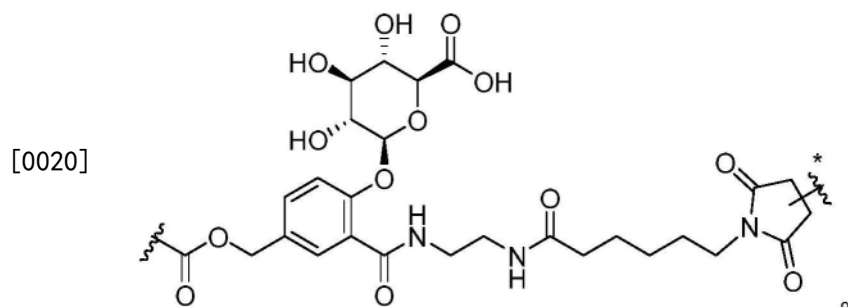
[0015] 为与氮原子的连接点;且

[0016] *为与Bm的连接点;且

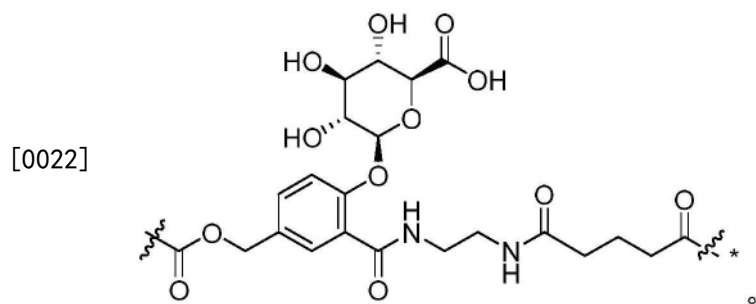
[0017] Bm为能够特异性结合蛋白质(例如作为细胞表面抗原的蛋白质)的结合部分。

[0018] 在某些方面中,结合部分为抗体、抗体片段或抗原结合片段。在一些方面中,a为2至8。

[0019] 在一些方面中,L为



[0021] 在一些方面中,L为



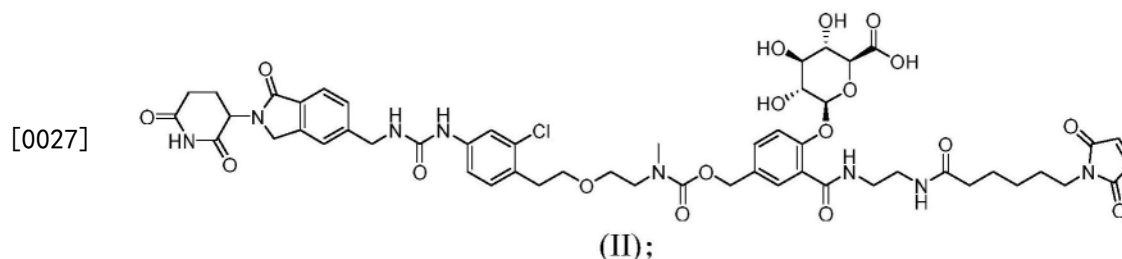
[0023] 在一些方面中, B_m为抗体或其抗原结合部分。在一些方面中, 结合部分结合的蛋白质为表面抗原。在一些方面中, 表面抗原包含5T4、ACE、ADRB3、AKAP-4、ALK、雄激素受体、AOC3、APP、Axin1、AXL、B7H3、B7-H4、BCL2、BCMA、bcr-abl、BORIS、BST2、C242、C4.4a、CA 125、CA6、CA9、CAIX、CCL11、CCR5、CD123、CD133、CD138、CD142、CD15、CD15-3、CD171、CD179a、CD18、CD19、CD19-9、CD2、CD20、CD22、CD23、CD24、CD25、CD27L、CD28、CD3、CD30、CD31、CD300LF、CD33、CD352、CD37、CD38、CD4、CD40、CD41、CD44、CD44v6、CD5、CD51、CD52、CD54、CD56、CD62E、CD62P、CD62L、CD70、CD71、CD72、CD74、CD79a、CD79b、CD80、CD90、CD97、CD125、CD138、CD141、CD147、CD152、CD154、CD326、CEA、CEACAM5、CFTR、凝集因子、cKit、密封蛋白3、密封蛋白18.2、CLDN6、CLEC12A、CLL-1、c113、c-MET、Crypto 1生长因子、CS1、CTLA-4、CXCR2、CXORF61、周期蛋白B1、CYP1B1、钙黏蛋白-3、钙黏蛋白-6、DLL3、E7、EDNRB、EFNA4、EGFR、EGFRvIII、ELF2M、EMR2、ENPP3、EPCAM、EphA2、Ephrin A4、Ephrin B2、EPHB4、ERBB2 (Her2/neu)、ErbB3、ERG (TMPRSS2 ETS融合基因)、ETBR、ETV6-AML、FAP、FCAR、FCRL5、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FLT3、叶酸受体 α 、叶酸受体 β 、FOLR1、Fos相关抗原1、岩藻糖基GM1、GCC、GD2、GD3、GloboH、GM3、GPC1、GPC2、GPC3、gp100、GPNMB、GPR20、GPC5D、GUCY2C、HAVCR1、HER2、HER3、HGF、HMI.24、HMMMAA、HPV E6、hTERT、ICAM、ICOS-L、IFN- α 、IFN- γ 、IGF-I受体、IGLL1、IL-2受体 (IL-2R α (即CD25)、IL-2R β (即CD122)、IL-2R γ (即CD132))、IL-4受体 (IL-4R、IL-2R γ /IL-13R α 1)、IL-13受体 (IL-13R α 1、IL-13R α 2、IL-4R)、IL-1受体 (IL-1 1Ra)、IL-12受体 (IL-12R β 1、IL-12R β 2)、IL-23受体 (IL-12R β 1、IL-23R)、IL-22受体 (IL-22R α 1、IL-22R α 2、IL-10R β)、IL-5受体 (IL-5R α 、CSF2RB)、IL-6受体 (IL-6R α 、gp130)、干扰素受体、整合素 (包括 α_4 、 $\alpha_v\beta_3$ 、 $\alpha_v\beta_5$ 、 $\alpha_v\beta_6$ 、 $\alpha_1\beta_4$ 、 $\alpha_4\beta_1$ 、 $\alpha_4\beta_7$ 、 $\alpha_5\beta_1$ 、 $\alpha_6\beta_4$ 、 $\alpha_{IIb}\beta_3$ 整合素)、整合素 α_v 、肠羧基酯酶、KIT、LAGE-1a、LAIR1、LAMP-1、LCK、豆荚蛋白、刘易斯Y、LFA-1 (CD11a)、L-选择素 (CD62L)、LILRA2、LIV-1、LMP2、LRRC15、LY6E、LY6K、LY75、MAD-CT-1、MAD-CT-2、MAGE A1、MelanA/MART1、间皮素、ML-IAP、MSLN、黏蛋白、MUC1、MUC16、mut hsp70-2、MYCN、肌肉生长抑制素、NA17、NaPi2b、NCA-90、NCAM、Nectin-4、NGF、NOTCH1、NOTCH2、NOTCH3、NOTCH4、NY-BR-1、NY-ESO-1、o-乙酰基-GD2、OR51E2、OY-TES1、p53、p53突变体、PANX3、PAP、PAX3、PAX5、p-CAD、PCTA-1/半乳糖凝集素8、PD-L1、PD-L2、PDGFR、PDGFR- β 、磷脂酰丝氨酸、PIK3CA、PLAC1、聚唾液酸、前列腺酶、prostelin、存活素及端粒酶、PRSS21、PSCA、PSMA、PTK7、RAGE-1、RANKL、Ras、Ras突变体、恒河猴因子、RhoC、RON、ROR1、ROR2、RU1、RU2、SART3、SLAMF7、SLC44A4、SLITRK6、精子蛋白17、鞘氨酸-1-磷酸盐、SSEA-4、SSX2、STEAP1、TAG72、TARP、TCR β 、TEM1/CD248、TEM7R、肌腱蛋白C、TF、TGF-1、TGF- β 2、TNF- α 、TGS5、Tie2、TIM-1、Tn Ag、TRAC、TRAIL-R1、TRAIL-R2、TROP-2、TRP-2、TRPV1、TSHR、肿瘤抗原CTAA16.88、酪氨酸酶、UPK2、VEGF、VEGFR1、VEGFR2、波形蛋白、WT1、XAGE1或其组合。

[0024] 在一些方面中, 表面抗原包含HER2、CD20、CD38、CD33、BCMA、CD138、EGFR、FGFR4、GD2、PDGFR、TEM1/CD248、TROP-2或其组合。在一些方面中, 表面抗原包含CD33。

[0025] 在一些方面中, 抗体为选自由以下组成的组: 利妥昔单抗 (rituximab)、曲妥珠单抗 (trastuzumab)、吉妥珠单抗 (gemtuzumab)、CD33AB、帕妥珠单抗 (pertuzumab)、奥比妥珠单抗 (obinutuzumab)、奥法木单抗 (ofatumumab)、奥拉单抗 (olaratumab)、恩妥昔单抗 (ontuximab)、伊沙妥昔单抗 (isatuximab)、沙西妥珠单抗 (Sacituzumab)、U3-1784、达雷妥尤单抗 (daratumumab)、STI-6129、林妥珠单抗 (lintuzumab)、huMy9-6、huMy9-6-IgG4-

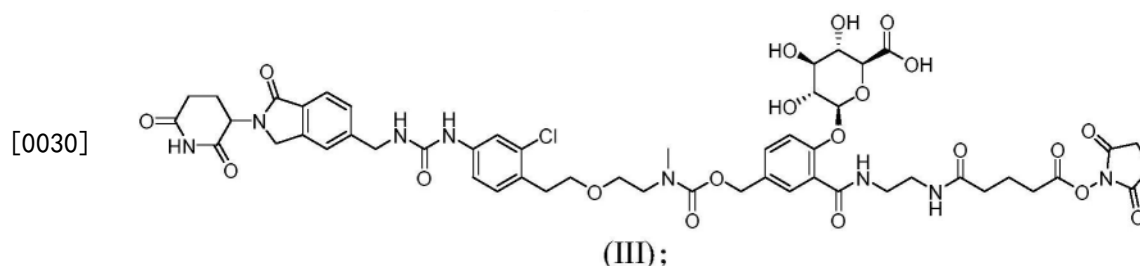
S228P、贝兰他单抗(balantamab)、英达妥昔单抗(indatuximab)、西妥昔单抗(cetuximab)、地妥昔单抗(dinutuximab)、抗CD38 A2抗体、HuAT13/5抗体、阿仑单抗(alemtuzumab)、替伊莫单抗(ibritumomab)、托西莫单抗(tositumomab)、贝伐单抗(bevacizumab)、帕尼单抗(panitumumab)、曲美木单抗(tremelimumab)、替西木单抗(ticilimumab)、卡妥索单抗(catumaxomab)、奥瑞戈伏单抗(oregovomab)及维妥珠单抗(veltuzumab)。在一些方面中,抗体为利妥昔单抗、曲妥珠单抗、帕妥珠单抗、huMy9-6、huMy9-6-IgG4-S228P、CD33AB、林妥珠单抗或吉妥珠单抗。在一些方面中,抗体或其抗原结合部分包含:重链可变区(VH)互补决定区(CDR)1(VH-CDR1),其包含如SEQ ID NO:1所列的氨基酸序列;VH-CDR2,其包含如SEQ ID NO:2所列的氨基酸序列;VH-CDR3,其包含如SEQ ID NO:3所列的氨基酸序列;轻链可变区(VL)CDR1(VL-CDR1),其包含如SEQ ID NO:5所列的氨基酸序列;VL-CDR2,其包含如SEQ ID NO:6所列的氨基酸序列;及VL-CDR3,其包含如SEQ ID NO:7所列的氨基酸序列。在一些方面中,抗体或其抗原结合部分包含:VH,其包含如SEQ ID NO:4所列的氨基酸序列;及VL,其包含如SEQ ID NO:8所列的氨基酸序列。在一些方面中,抗体包含:重链,其包含如SEQ ID NO:9所列的氨基酸序列;及轻链,其包含如SEQ ID NO:10所列的氨基酸序列。在一些方面中,抗体为CD33AB。

[0026] 在某些方面中,本公开提供一种式(II)的化合物:



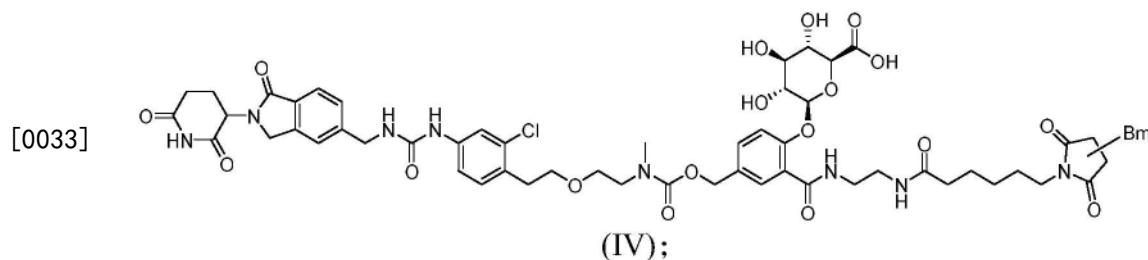
[0028] 或其药学上可接受的盐。

[0029] 在某些方面中,本公开提供一种式(III)的化合物:



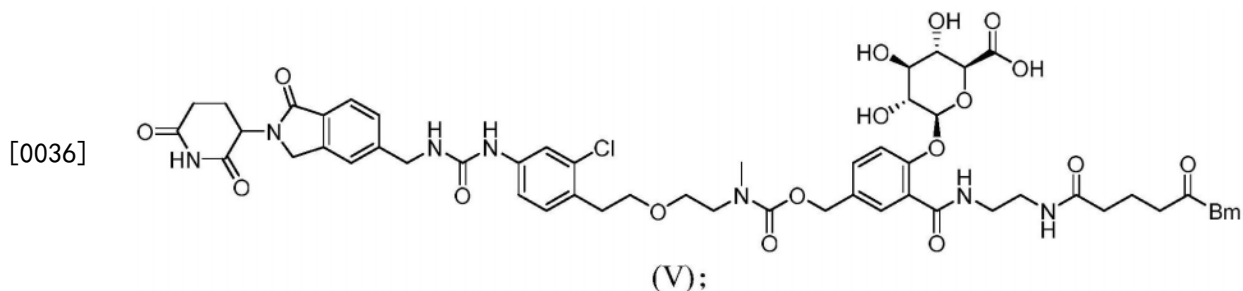
[0031] 或其药学上可接受的盐。

[0032] 在某些方面中,本公开提供一种式(IV)的化合物:



[0034] 或其药学上可接受的盐,其中Bm为特异性结合蛋白质(例如作为细胞表面抗原的蛋白质)的结合部分。

[0035] 在某些方面中,本公开提供一种式(V)的化合物:



[0037] 或其药学上可接受的盐,其中Bm为特异性结合蛋白质(例如作为细胞表面抗原的蛋白质)的结合部分。

[0038] 在某些方面中,本公开提供式(IV)或(V)的化合物,其中Bm为抗体或其抗原结合部分。在某些方面中,结合部分特异性结合的蛋白质为表面抗原。在一些方面中,表面抗原包含5T4、ACE、ADRB3、AKAP-4、ALK、雄激素受体、AOC3、APP、Axin1、AXL、B7H3、B7-H4、BCL2、BCMA、bcr-abl、BORIS、BST2、C242、C4.4a、CA 125、CA6、CA9、CAIX、CCL11、CCR5、CD123、CD133、CD138、CD142、CD15、CD15-3、CD171、CD179a、CD18、CD19、CD19-9、CD2、CD20、CD22、CD23、CD24、CD25、CD27L、CD28、CD3、CD30、CD31、CD300LF、CD33、CD352、CD37、CD38、CD4、CD40、CD41、CD44、CD44v6、CD5、CD51、CD52、CD54、CD56、CD62E、CD62P、CD62L、CD70、CD71、CD72、CD74、CD79a、CD79b、CD80、CD90、CD97、CD125、CD138、CD141、CD147、CD152、CD154、CD326、CEA、CEACAM5、CFTR、凝集因子、cKit、密封蛋白3、密封蛋白18.2、CLDN6、CLEC12A、CLL-1、c113、c-MET、Crypto 1生长因子、CS1、CTLA-4、CXCR2、CXORF61、周期蛋白B1、CYP1B1、钙黏蛋白-3、钙黏蛋白-6、DLL3、E7、EDNRB、EFNA4、EGFR、EGFRvIII、ELF2M、EMR2、ENPP3、EPCAM、EphA2、Ephrin A4、Ephrin B2、EPHB4、ERBB2 (Her2/neu)、ErbB3、ERG (TMPRSS2 ETS融合基因)、ETBR、ETV6-AML、FAP、FCAR、FCRL5、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FLT3、叶酸受体 α 、叶酸受体 β 、FOLR1、Fos相关抗原1、岩藻糖基GM1、GCC、GD2、GD3、GloboH、GM3、GPC1、GPC2、GPC3、gp100、GPNMB、GPR20、GPC5D、GUCY2C、HAVCR1、HER2、HER3、HGF、HMI.24、HMMWAA、HPV E6、hTERT、ICAM、ICOS-L、IFN- α 、IFN- γ 、IGF-I受体、IGLL1、IL-2受体(IL-2R α (即CD25)、IL-2R β (即CD122)、IL-2R γ (即CD132))、IL-4受体(IL-4R、IL-2R γ /IL-13R α 1)、IL-13受体(IL-13R α 1、IL-13R α 2、IL-4R)、IL-1受体(IL-1R α)、IL-12受体(IL-12R β 1、IL-12R β 2)、IL-23受体(IL-12R β 1、IL-23R)、IL-22受体(IL-22R α 1、IL-22R α 2、IL-10R β)、IL-5受体(IL-5R α 、CSF2RB)、IL-6受体(IL-6R α 、gp130)、干扰素受体、整合素(包括 α_4 、 $\alpha_v\beta_3$ 、 $\alpha_v\beta_5$ 、 $\alpha_v\beta_6$ 、 $\alpha_1\beta_4$ 、 $\alpha_4\beta_1$ 、 $\alpha_4\beta_7$ 、 $\alpha_5\beta_1$ 、 $\alpha_6\beta_4$ 、 $\alpha_{IIb}\beta_3$ 整合素)、整合素 α_V 、肠羧基酯酶、KIT、LAGE-1a、LAIR1、LAMP-1、LCK、豆荚蛋白、刘易斯Y、LFA-1 (CD11a)、L-选择素(CD62L)、LILRA2、LIV-1、LMP2、LRRC15、LY6E、LY6K、LY75、MAD-CT-1、MAD-CT-2、MAGE A1、MelanA/MART1、间皮素、ML-IAP、MSLN、黏蛋白、MUC1、MUC16、mut hsp70-2、MYCN、肌肉生长抑制素、NA17、NaPi2b、NCA-90、NCAM、Nectin-4、NGF、NOTCH1、NOTCH2、NOTCH3、NOTCH4、NY-BR-1、NY-ESO-1、o-乙酰基-GD2、OR51E2、OY-TES1、p53、p53突变体、PANX3、PAP、PAX3、PAX5、p-CAD、PCTA-1/半乳糖凝集素8、PD-L1、PD-L2、PDGFR、PDGFR- β 、磷脂酰丝氨酸、PIK3CA、PLAC1、聚唾液酸、前列腺酶、前列腺素、存活素及端粒酶、PRSS21、PSCA、PSMA、PTK7、RAGE-1、RANKL、Ras突变体、恒河猴因子、RhoC、RON、ROR1、ROR2、RU1、RU2、SART3、SLAMF7、SLC44A4、SLITRK6、精子蛋白17、鞘氨酸-1-磷酸盐、SSEA-4、SSX2、STEAP1、TAG72、TARP、TCR β 、TEM1/CD248、TEM7R、肌腱蛋白C、TF、TGF-1、TGF- β 2、TNF- α 、

TGS5、Tie2、TIM-1、Tn Ag、TRAC、TRAIL-R1、TRAIL-R2、TROP-2、TRP-2、TRPV1、TSHR、肿瘤抗原CTAA16.88、酪氨酸酶、UPK2、VEGF、VEGFR1、VEGFR2、波形蛋白、WT1、XAGE1或其组合。

[0039] 在一些方面中,表面抗原包含HER2、CD20、CD38、CD33、BCMA、CD138、EGFR、FGFR、GD2、PDGFR、TEM1/CD248、TROP-2或其组合。

[0040] 在一些方面中,抗体包含利妥昔单抗、曲妥珠单抗、吉妥珠单抗、帕妥珠单抗、奥比妥珠单抗、奥法木单抗、奥拉单抗、恩妥昔单抗、伊沙妥昔单抗、沙西妥珠单抗、U3-1784、达雷妥尤单抗、STI-6129、林妥珠单抗、huMy9-6、huMy9-6-IgG4-S228P、贝兰他单抗、英达妥昔单抗、西妥昔单抗、地妥昔单抗、抗CD38 A2抗体、HuAT13/5抗体、CD33AB、阿仑单抗、替伊莫单抗、托西莫单抗、贝伐单抗、帕尼单抗、曲美木单抗、替西木单抗、卡妥索单抗、奥瑞戈伏单抗或维妥珠单抗。

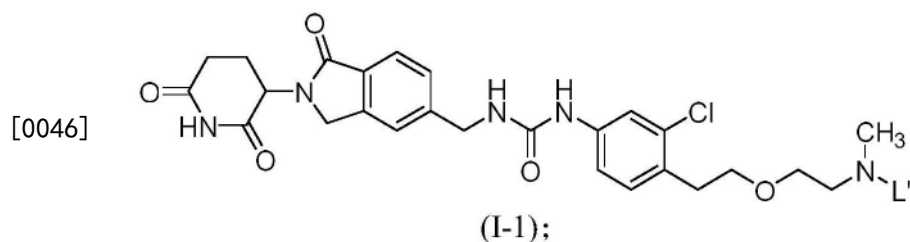
[0041] 在一些方面中,抗体为利妥昔单抗、曲妥珠单抗、帕妥珠单抗、huMy9-6、huMy9-6-IgG4-S228P、CD33AB、林妥珠单抗或吉妥珠单抗。在一些方面中,抗体或其抗原结合部分包含:VH-CDR1,其包含如SEQ ID NO:1所列的氨基酸序列;VH-CDR2,其包含如SEQ ID NO:2所列的氨基酸序列;VH-CDR3,其包含如SEQ ID NO:3所列的氨基酸序列;VL-CDR1,其包含如SEQ ID NO:5所列的氨基酸序列;VL-CDR2,其包含如SEQ ID NO:6所列的氨基酸序列;及VL-CDR3,其包含如SEQ ID NO:7所列的氨基酸序列。在一些方面中,抗体或其抗原结合部分包含:VH,其包含如SEQ ID NO:4所列的氨基酸序列;及VL,其包含如SEQ ID NO:8所列的氨基酸序列。在一些方面中,抗体包含:重链,其包含如SEQ ID NO:9所列的氨基酸序列;及轻链,其包含如SEQ ID NO:10所列的氨基酸序列。在一些方面中,抗体为CD33AB。

[0042] 在一些方面中,本公开提供一种药物组合物,其包含如上所述的缀合物或化合物或其药学上可接受的盐及一种或多种药学上可接受的载体。

[0043] 在一些方面中,本公开提供一种治疗有需要的个体的癌症或骨髓增生异常综合征(MDS)的方法,该方法包含向个体施用药学上可接受的量的如上所述的缀合物、化合物或组合物或其药学上可接受的盐。在一些方面中,癌症为实性瘤。在一些方面中,癌症为血液学癌症/血癌。在一些方面中,癌症为乳腺癌、胃癌、淋巴瘤、急性髓性白血病、多发性骨髓瘤、头颈癌、鳞状细胞癌和/或肝细胞癌。在一些方面中,癌症对Mylotarg具有难治性或抗性。

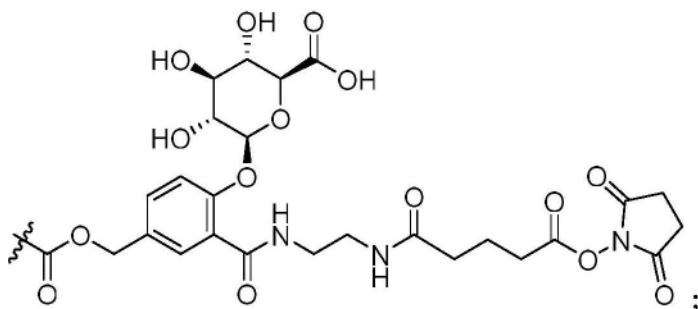
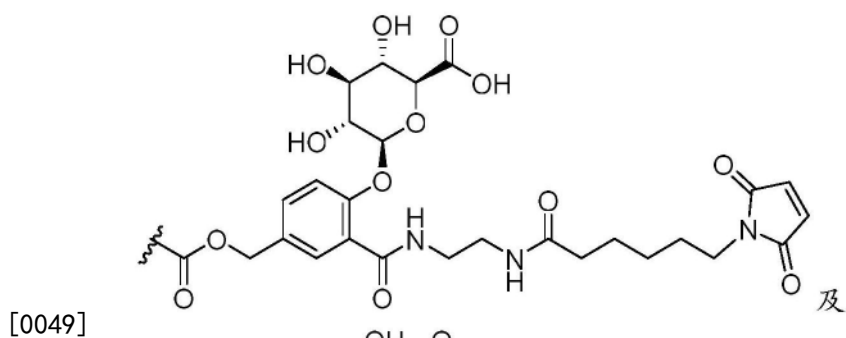
[0044] 在一些方面中,该方法进一步包含在缀合物或化合物或其药学上可接受的盐之前、之后或同时向个体施用药学上可接受的量的额外剂。在一些方面中,额外剂为细胞毒性剂或免疫反应调节剂。在一些方面中,免疫反应调节剂为检查点抑制剂。在一些方面中,检查点抑制剂包含PD-1抑制剂、PD-L1抑制剂、CTLA-4抑制剂、TIM3抑制剂和/或LAG-3抑制剂。

[0045] 在某些方面中,本公开提供一种制备式(I)的缀合物或其药学上可接受的盐的方法,该方法包含使结合部分与式(I-1)的化合物:



[0047] 或其药学上可接受的盐反应,其中:

[0048] L'为选自

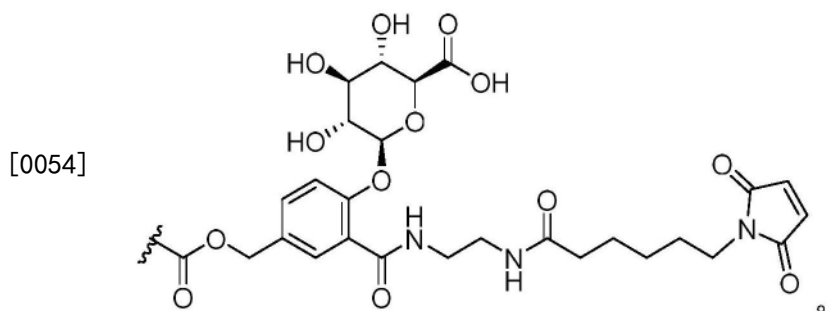


[0050] 其中：

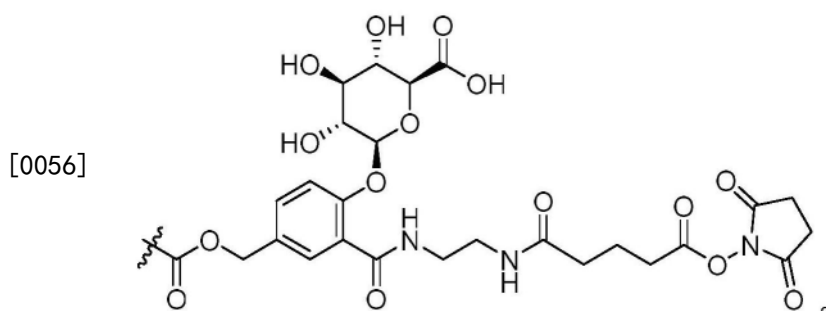
[0051]  为与氮原子的连接点。

[0052] 在一些方面中,该方法进一步包含在与式(I-1)的化合物反应之前还原结合部分。

[0053] 在一些方面中,L'为



[0055] 在一些方面中,L'为



[0057] 在一些方面中,式(I-1)的化合物与结合部分反应,该结合部分包含抗体或其抗原结合部分。

[0058] 在一些方面中,抗体或其抗原结合部分结合表面抗原。在一些方面中,表面抗原包含5T4、ACE、ADRB3、AKAP-4、ALK、雄激素受体、AOC3、APP、Axin1、AXL、B7H3、B7-H4、BCL2、BCMA、bcr-abl、BORIS、BST2、C242、C4.4a、CA 125、CA6、CA9、CAIX、CCL11、CCR5、CD123、CD133、CD138、CD142、CD15、CD15-3、CD171、CD179a、CD18、CD19、CD19-9、CD2、CD20、CD22、

CD23、CD24、CD25、CD27L、CD28、CD3、CD30、CD31、CD300LF、CD33、CD352、CD37、CD38、CD4、CD40、CD41、CD44、CD44v6、CD5、CD51、CD52、CD54、CD56、CD62E、CD62P、CD62L、CD70、CD71、CD72、CD74、CD79a、CD79b、CD80、CD90、CD97、CD125、CD138、CD141、CD147、CD152、CD154、CD326、CEA、CEACAM5、CFTR、凝集因子、cKit、密封蛋白3、密封蛋白18.2、CLDN6、CLEC12A、CLL-1、c113、c-MET、Crypto 1生长因子、CS1、CTLA-4、CXCR2、CXORF61、周期蛋白B1、CYP1B1、钙黏蛋白-3、钙黏蛋白-6、DLL3、E7、EDNRB、EFNA4、EGFR、EGFRvIII、ELF2M、EMR2、ENPP3、EPCAM、EphA2、Ephrin A4、Ephrin B2、EPHB4、ERBB2 (Her2/neu)、ErbB3、ERG (TMPRSS2 ETS融合基因)、ETBR、ETV6-AML、FAP、FCAR、FCRL5、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FLT3、叶酸受体 α 、叶酸受体 β 、FOLR1、Fos相关抗原1、岩藻糖基GM1、GCC、GD2、GD3、GloboH、GM3、GPC1、GPC2、GPC3、gp100、GPNMB、GPR20、GPRC5D、GUCY2C、HAVCR1、HER2、HER3、HGF、HMI.24、HMWMAA、HPV E6、hTERT、ICOS-L、IFN- α 、IFN- γ 、IGF-I受体、IGLL1、IL-2受体 (IL-2R α (即CD25)、IL-2R β (即CD122)、IL-2R γ (即CD132))、IL-4受体 (IL-4R、IL-2R γ /IL-13R α 1)、IL-13受体 (IL-13R α 1、IL-13R α 2、IL-4R)、IL-1受体 (IL-1 1Ra)、IL-12受体 (IL-12R β 1、IL-12R β 2)、IL-23受体 (IL-12R β 1、IL-23R)、IL-22受体 (IL-22R α 1、IL-22R α 2、IL-10R β)、IL-5受体 (IL-5R α 、CSF2RB)、IL-6受体 (IL-6R α 、gp130)、干扰素受体、整合素 (包括 α_4 、 $\alpha_v\beta_3$ 、 $\alpha_v\beta_5$ 、 $\alpha_v\beta_6$ 、 $\alpha_1\beta_4$ 、 $\alpha_4\beta_1$ 、 $\alpha_4\beta_7$ 、 $\alpha_5\beta_1$ 、 $\alpha_6\beta_4$ 、 $\alpha_{IIB}\beta_3$ 整合素)、整合素 α_V 、肠羧基酯酶、KIT、LAGE-1a、LAIR1、LAMP-1、LCK、豆荚蛋白、刘易斯Y、LFA-1 (CD11a)、L-选择素 (CD62L)、LILRA2、LIV-1、LMP2、LRRC15、LY6E、LY6K、LY75、MAD-CT-1、MAD-CT-2、MAGE A1、MelanA/MART1、间皮素、ML-IAP、MSLN、黏蛋白、MUC1、MUC16、mut hsp70-2、MYCN、肌肉生长抑制素、NA17、NaPi2b、NCA-90、NCAM、Nectin-4、NGF、NOTCH1、NOTCH2、NOTCH3、NOTCH4、NY-BR-1、NY-ESO-1、o-乙酰基-GD2、OR51E2、OY-TES1、p53、p53突变体、PANX3、PAP、PAX3、PAX5、p-CAD、PCTA-1/半乳糖凝集素8、PD-L1、PD-L2、PDGFR、PDGFR- β 、磷脂酰丝氨酸、PIK3CA、PLAC1、聚唾液酸、前列腺酶、前列腺素、存活素及端粒酶、PRSS21、PSCA、PSMA、PTK7、RAGE-1、RANKL、Ras突变体、恒河猴因子、RhoC、RON、ROR1、ROR2、RU1、RU2、SART3、SLAMF7、SLC44A4、SLITRK6、精子蛋白17、鞘氨酸-1-磷酸盐、SSEA-4、SSX2、STEAP1、TAG72、TARP、TCR β 、TEM1/CD248、TEM7R、肌腱蛋白C、TF、TGF-1、TGF- β 2、TNF- α 、TGS5、Tie2、TIM-1、Tn Ag、TRAC、TRAIL-R1、TRAIL-R2、TROP-2、TRP-2、TRPV1、TSHR、肿瘤抗原CTAA16.88、酪氨酸酶、UPK2、VEGF、VEGFR1、VEGFR2、波形蛋白、WT1、XAGE1或其组合。

[0059] 在一些方面中，表面抗原包含HER2、CD20、CD38、CD33、BCMA、CD138、EGFR、FGFR4、GD2、PDGFR、TEM1/CD248、Trop-2或其组合。

[0060] 在一些方面中，抗体包含利妥昔单抗、曲妥珠单抗、吉妥珠单抗、帕妥珠单抗、奥比妥珠单抗、奥法木单抗、奥拉单抗、恩妥昔单抗、伊沙妥昔单抗、沙西妥珠单抗、U3-1784、达雷妥尤单抗、STI-6129、林妥珠单抗、huMy9-6、huMy9-6-IgG4-S228P、贝兰他单抗、英达妥昔单抗、西妥昔单抗、地妥昔单抗、抗CD38 A2抗体、CD33AB、HuAT13/5抗体、阿仑单抗、替伊莫单抗、托西莫单抗、贝伐单抗、帕尼单抗、曲美木单抗、替西木单抗、卡妥索单抗、奥瑞戈伏单抗或维妥珠单抗。

[0061] 在一些方面中，抗体为利妥昔单抗、曲妥珠单抗、帕妥珠单抗、huMy9-6、huMY9-6-IgG4-S228P、CD33AB、林妥珠单抗或吉妥珠单抗。在一些方面中，抗体或其抗原结合部分包含：VH-CDR1，其包含如SEQ ID NO:1所列的氨基酸序列；VH-CDR2，其包含如SEQ ID NO:2所列的氨基酸序列；VH-CDR3，其包含如SEQ ID NO:3所列的氨基酸序列；VL-CDR1，其包含如

SEQ ID NO:5所列的氨基酸序列;VL-CDR2,其包含如SEQ ID NO:6所列的氨基酸序列;及VL-CDR3,其包含如SEQ ID NO:7所列的氨基酸序列。在一些方面中,抗体或其抗原结合部分包含:VH,其包含如SEQ ID NO:4所列的氨基酸序列;及VL,其包含如SEQ ID NO:8所列的氨基酸序列。在一些方面中,抗体包含:重链,其包含如SEQ ID NO:9所列的氨基酸序列;及轻链,其包含如SEQ ID NO:10所列的氨基酸序列。

附图说明

[0062] 图1A描绘了代表性新降解剂缀合物对MV411 (CD33+) 肿瘤的体内活性。X轴显示给药后的天数。Y轴显示以溶媒、3.02mg/kg CD33AB-化合物 (Ia)、2.94mg/kg CD33AB-化合物 (Ib)、0.1mg/kg Mylotarg、50mg/kg x 21维奈托克 (Venetoclax) 或5mg/kg bid x 10CC-90009给药后的肿瘤体积(mm³)。

[0063] 图1B描绘了代表性新降解剂缀合物对MV411 (CD33+) 肿瘤的体内活性。X轴显示给药后的天数。Y轴显示以溶媒、3mg/kg CD33AB-化合物 (Ic)、2.83mg/kg CD33AB-化合物 (Ie)、3.02mg/kg CD33AB-化合物 (Ia)、2.99mg/kg CD33AB-化合物 (Ih)、2.94mg/kg CD33AB-化合物 (Ib)、0.1mg/kg Mylotarg、50mg/kg x 21维奈托克或5mg/kg bid x 10 CC-90009给药后的肿瘤体积(mm³)。

[0064] 图2描绘了CD33AB-化合物 (Ia)、CC-90009及Mylotarg对AML (CD33+) 细胞及非AML (CD33-) 细胞的体外活性。

[0065] 图3描绘了CD33AB-化合物 (Ia) 缀合物对MV4-11 (CD33+) 细胞的体外活性。X轴显示浓度。Y轴显示以非CD33结合抗体-新降解剂缀合物、CD33AB、新降解剂P1、维奈托克、CC-885、CC-90009、Mylotarg及CD33AB-化合物 (Ia) 给药后的%细胞活力。

[0066] 图4描绘了CD33AB-化合物 (Ia) 缀合物、Mylotarg及CC-90009对患者来源的原发性复发/难治性AML细胞的体外活性。

[0067] 图5描绘了CD33AB-化合物 (Ia) 缀合物、CC-90009及Mylotarg在正常红血球、骨髓及巨核细胞前驱细胞中的体外活性,如在聚落形成细胞 (CFC) 检定中所测量。

[0068] 图6描绘了CD33AB-化合物 (Ia) 对MV4-11 (CD33+) 肿瘤的体内活性。在左图中,X轴显示给药后的天数,且Y轴显示以溶媒、5mg/kg bid CD-90009、0.1mg/kg Mylotarg、50mg/kg qd维奈托克及3mg/kg CD33AB-化合物 (Ia) 给药后的肿瘤体积(mm³)。在右图中,X轴显示给药后的天数,且Y轴显示以溶媒、3mg/kg CD33非结合抗体新降解剂缀合物、8mg/kg阿扎胞苷 (azacitidine) 及50mg/kg维奈托克、1mg/kg CD33AB-化合物 (Ia) 及3mg/kg CD33AB-化合物 (Ia) 给药后的肿瘤体积(mm³)。

[0069] 图7描绘了CD33AB-化合物 (Ia) 在MV4-11及OCI-AML2细胞中的体内活性。

[0070] 图8为显示用CD33AB-化合物 (Ia) 缀合物体外处理MV4-11细胞后的GSPT1降解的西方墨点。当用CD33AB-化合物 (Ia) 缀合物处理时,GSPT1在12小时内完全降解。

[0071] 图9描绘了CD33AB-化合物 (Ia) 对GSPT1的持续体外影响 (上图) 及CD33AB-化合物 (Ia) 缀合物 (QD x1 IV) 的药物动力学 (下图)。

[0072] 图10A及图10B描绘了CD33AB-化合物 (Ia) 缀合物对Mylotarg不敏感的AML细胞 (AML-193 (图10A) 及Kasumi-6 (图10B)) 的体外活性。X轴显示浓度,且Y轴显示处理后细胞株的存活百分比。

[0087] 为使本说明书可更容易理解,首先定义某些术语。额外定义在整个实施方式中阐明。

[0088] 应注意,术语“一(个/种)(a/an)”实体是指一个或多个(种)该实体;例如,“一个核苷酸序列”应理解为表示一个或多个核苷酸序列。因此,术语“一个/种”、“一个或多个/种”及“至少一个/种”可在本文中互换使用。应进一步注意,可起草请求项以排除任何任选项用的要素。因此,此声明旨在用作结合请求项要素的描述使用诸如“只”、“仅”的排他性术语或使用负面限制的先行基础。

[0089] 此外,“和/或”在本文中使用时应视为对两个指定特征或组分中的各者在存在或不存在另一者的情况下的具体公开。因此,如在本文中诸如“A和/或B”的词组中使用的术语“和/或”旨在包括“A及B”、“A或B”、“A”(单独)及“B”(单独)。同样,如在诸如“A、B和/或C”的词组中使用的术语“和/或”旨在涵盖以下方面中的各者:A、B及C;A、B或C;A或C;A或B;B或C;A及C;A及B;B及C;A(单独);B(单独);及C(单独)。

[0090] 应当理解,本文中无论何处用语言“包含”描述方面,亦提供以“由……组成”和/或“基本上由……组成”描述的其他类似方面。

[0091] 除非另有定义,否则本文使用的所有技术及科学术语具有与本公开相关的一般本领域技术人员通常理解的相同含义。例如,the Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 第2版, 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 第3版, 1999, Academic Press; 及 the Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, 修订版, 2000, Oxford University Press, 为技术人员提供本公开中使用的许多术语的通用词典。

[0092] 单位、前缀及符号以其国际单位制(Système International de Unites, SI)接受的形式表示。数字范围包括定义范围的数字。在列举值的范围的情况下,应当理解,亦明确公开了在该范围的列举的上限与下限之间的各中间整数及其各分数,以及此类值之间的各子范围。任何范围的上限及下限皆可独立地包括在该范围的内部或排除于该范围之外,且包括任一个、零个或两个限值的各范围亦涵盖在本公开内。因此,本文所列举的范围应被理解为该范围内所有值(包括所列举的端点)的简写。例如,1至10的范围应被理解为包括由1、2、3、4、5、6、7、8、9及10组成的组中的任何数字、数字的组合或子范围。

[0093] 在明确列举值的情况下,应理解与所列举的值大致相同数量或量的值亦在本公开的范围内。在公开组合的情况下,该组合的要素的各子组合亦经明确公开且在本公开的范围内。相反,在单独公开不同要素或要素的群的情况下,亦公开了其组合。在公开的任何要素经公开为具有复数个替代方案的情况下,在此亦公开了其中各替代方案被单独排除或其他替代方案的任何组合排除的该公开的实施例;公开的多于一个要素可具有此类排除,且在此公开具有此类排除的要素的所有组合。

[0094] 如本文所用,术语“DAR”是指缀合物的药物抗体比,它为连接至各抗体的新降解剂-接头复合物的平均数。在某些方面中,本文所述的缀合物的DAR为1至10。在一些方面中,本文所述的缀合物的DAR为1至8。在一些方面中,本文所述的缀合物的DAR为1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3.0、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4.0、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、

7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8.0、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9.0、9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9或10。

[0095] 如本文所用,术语“抗体”亦指全长免疫球蛋白分子或全长免疫球蛋白分子的免疫活性部分,即含有免疫特异性结合感兴趣的靶标的抗原或其部分的抗原结合位点的分子,此类靶标包括但不限于癌细胞或产生与自体免疫疾病相关联的自体免疫抗体的细胞。本文所公开的免疫球蛋白可为免疫球蛋白分子的任何类型(例如,IgG、IgE、IgM、IgD及IgA)、类别(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2)或亚类。免疫球蛋白可来源于任何物种。然而,在一个方面中,免疫球蛋白为人类、鼠或兔来源的。

[0096] 术语“单域抗体”,也称为纳米抗体,为由单个单体可变抗体域组成的抗体片段,其分子量为约12kDa至约15kDa。单体抗体可基于重链可变域或轻链。单域抗体的实施例包括但不限于V_H片段及V_{NAR}片段。

[0097] “抗体片段”包含完整抗体的一部分,通常为其抗原结合区或可变区。抗体片段的实施例包括Fab、Fab'、F(ab')₂及Fv片段;双功能抗体(diabody);线性抗体;由Fab表达文库产生的片段、抗独特型(抗Id)抗体、CDR(互补决定区)及任何上述免疫特异性结合癌细胞抗原、病毒抗原或微生物抗原的表位结合片段,单链抗体分子;及由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0098] “完整抗体”为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及CH3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。

[0099] 如本文所用,术语“单克隆抗体”是指获自实质上均质的抗体群体的抗体,即构成该群体的个体抗体为相同的,除了可能以少量存在的天然发生的突变。单克隆抗体具有高度特异性,针对单个抗原位点。此外,与包括针对不同决定位(表位)的不同抗体的多克隆抗体制剂相比,各单克隆抗体为针对抗原上的单个决定位。除了它们的特异性之外,单克隆抗体的优势在于它们可被合成而不受其他抗体的污染。修饰语“单克隆”表示抗体的特征为为获自实质上均质的抗体群体,且不应解释为需要通过任何特定方法产生抗体。例如,根据本公开使用的单克隆抗体可通过杂交瘤方法制备,或者可通过重组DNA方法制备。“单克隆抗体”亦可自噬菌体抗体文库分离。

[0100] 本文中的单克隆抗体具体包括“嵌合”抗体,其中重链和/或轻链的一部分与来源于特定物种或属于特定抗体类别或亚类的抗体中的相应序列相同或同源,而链的其余部分与来源于另一物种或属于另一抗体类别或亚类的抗体以及此类抗体的片段中的相应序列相同或同源,只要它们表达出所要的生物活性即可。本文中感兴趣的嵌合抗体包括“灵长类化”抗体,其包含来源于非人类灵长类动物(例如,旧大陆猴、猿等)的可变域抗原结合序列及人类恒定区序列。

[0101] 已采用各种方法来生产单克隆抗体(MAb)。杂交瘤技术是指产生单种类型抗体的克隆细胞株,使用各种物种(包括小鼠(鼠)、仓鼠、大鼠及人类)的细胞。另一种制备MAb的方法使用基因工程,包括重组DNA技术。由这些技术制成的单克隆抗体包括嵌合抗体及人源化抗体等。嵌合抗体组合了来自多于一类物种的DNA编码区。例如,嵌合抗体可自小鼠衍生可变区,且自人类衍生恒定区。人源化抗体主要来自人类,尽管它含有非人类部分。像嵌合抗体一样,人源化抗体可含有完全人类恒定区。但与嵌合抗体不同,可变区可部分来源于人

类。人源化抗体的非人类合成部分常常来自鼠抗体中的CDR。无论如何,这些区对于允许抗体识别及结合特定抗原来说至关重要。虽然可用于诊断及短期治疗,但不可能长期向人施用鼠抗体而不增加有害免疫原性反应的风险。这种反应称为人类抗小鼠抗体(HAMA),当人类免疫系统将鼠抗体识别为外来物且对其进行攻击时就会发生。HAMA反应可导致中毒性休克或甚至死亡。

[0102] 嵌合及人源化抗体通过最小化所施用抗体的非人类部分来降低HAMA反应的可能性。此外,嵌合及人源化抗体可具有活化次级人类免疫反应的额外益处,诸如抗体依赖性细胞毒性。

[0103] 完整抗体可具有一种或多种“效应功能(effector function)”,其是指可归因于抗体的Fc区(天然序列Fc区或氨基酸序列变体Fc区)的那些生物活性。抗体效应功能的实施例包括C1q结合;补体依赖性细胞毒性;Fc受体结合;抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC);吞噬作用;细胞表面受体(例如,B细胞受体;BCR)下调等。

[0104] 根据其重链恒定域的氨基酸序列,完整抗体可分为不同的“类别”。完整抗体有五种主要类别:IgA、IgD、IgE、IgG及IgM,且其中一些可进一步分为“亚类”(同型),例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA及IgA2。对应于不同类别抗体的重链恒定域分别称为 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及 μ 。不同类别的免疫球蛋白的次单元结构及三维构型为众所周知的。

[0105] 术语“约”在本文中用于表示大约、大致、约或在……左右。当术语“约”与数字范围结合使用时,它通过将边界扩展到所述数值的上及的下来修饰该范围。一般而言,术语“约”可通过例如向上或向下(升高或降低)10%的变化来修饰高于及低于所述值的数值。

[0106] 术语“施用(administration)”、“施用(administering)”及其语法变体是指经由药学上可接受的途径将组合物,诸如本公开的EV(例如,外泌体(exosome))引入个体。通过任何合适的途径将组合物,诸如本公开的EV(例如,外泌体)引入个体,途径包括瘤内、口服、经肺、鼻内、肠胃外(静脉内、动脉内、肌肉内、腹膜内或皮下)、经直肠、淋巴内、鞘内、眼周或局部。施用包括自我施用及他人施用。合适的施用途径允许组合物或剂发挥其预期功能。例如,如果合适的途径为静脉内,则通过将组合物或剂引入个体的静脉来施用组合物。

[0107] 如本文所用,术语“抗体”涵盖天然或者部分或全部合成产生的免疫球蛋白及其片段。该术语亦涵盖具有与免疫球蛋白结合域同源的结合域的任何蛋白质。“抗体”进一步包括包含来自免疫球蛋白基因或其片段的框架区的特异性结合及识别抗原的多肽。术语抗体的使用意在包括完整抗体、多克隆抗体、单克隆抗体及重组抗体、其片段,且进一步包含单链抗体、人源化抗体、鼠抗体、嵌合、小鼠-人类、小鼠-灵长类、灵长类-人类单克隆抗体、抗个体遗传型抗体、抗体片段,例如像scFv、(scFv)₂、Fab、Fab'及F(ab')₂、F(ab1)₂、Fv、dAb及Fd片段、双功能抗体及抗体相关的多肽。抗体包括双特异性抗体及多特异性抗体,只要它们表达出所要的生物活性或功能即可。在本公开的一些方面中,生物活性分子为抗体或包含其抗原结合片段的分子。

[0108] 术语“抗体-药物缀合物”及“ADC”可互换使用,且是指例如与一种或多种治疗剂(有时在本文中称为剂、药物或活性药物成分)共价连接的抗体。在本公开的一些方面中,生物活性分子为抗体-药物缀合物。

[0109] 如本文所用,如应用于一个或多个感兴趣的值的术语“大约”是指与所述参考值相似的值。在某些方面中,术语“大约”是指在所述参考值的任一方向上(大于或小于)落在

10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%或更小范围内的一系列值,除非另有说明或自上下文中显而易见(除非此数字超过可能值的100%)。

[0110] “保守氨基酸取代”为其中氨基酸残基经具有相似侧链的氨基酸残基置换的取代。此项技术已经定义了具有相似侧链的氨基酸残基家族,包括碱性侧链(例如,赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、酸性侧链(例如,天冬氨酸、谷氨酸)、不带电荷的极性侧链(例如,甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸)、非极性侧链(例如,丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸)、 β -支链侧链(例如,苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)及芳族侧链(例如,酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。因此,如果多肽中的一个氨基酸经来自同一侧链家族的另一个氨基酸置换,则取代被认为保守的。在另一个方面中,一串氨基酸可经在侧链家族成员的次序和/或组成上不同的结构相似的串保守地置换。

[0111] 如本文所用,术语“保守的”是指多核苷酸序列或多肽序列的分别核苷酸或氨基酸残基,其为在被比较的二或更多个序列的相同位置中未改变地出现的残基。相对保守的核苷酸或氨基酸为在与比序列中其他地方出现的核苷酸或氨基酸相比更相关的序列中保守的核苷酸或氨基酸。

[0112] 在一些方面中,如果二或更多个序列彼此100%一致,则称它们为“完全保守的”或“一致的”。在一些方面中,如果二或更多个序列彼此至少约70%一致、至少约80%一致、至少约90%一致或至少约95%一致,则称它们为“高度保守的”。在一些方面中,如果二或更多个序列彼此至少约30%一致、至少约40%一致、至少约50%一致、至少约60%一致、至少约70%一致、至少约80%一致、至少约90%一致或至少约95%一致,则称它们为“保守的”。序列保守可应用于多核苷酸或多肽的整个长度,或者可应用于其一部分、区或特征部。

[0113] 如本文所用,术语“连接”及“缀合”可互换使用,各自是指包含新降解剂及结合部分的二或更多个部分的共价或非共价连接。在一些方面中,连接或缀合可包含接头。

[0114] 术语“氨基酸序列变体”是指具有在某种程度上不同于天然序列多肽的氨基酸序列的多肽。通常,氨基酸序列变体与天然抗体的至少一个受体结合域或与天然受体的至少一个配体结合域具有至少约70%序列一致性,且通常,它们与此类受体或配体结合域在序列上将为至少约80%,更通常至少约90%同源。氨基酸序列变体在天然氨基酸序列的氨基酸序列内的某些位置处具有取代、缺失和/或插入。氨基酸以常规名称、一字母及三字母代码命名。

[0115] “序列一致性”定义为在氨基酸序列变体中在比对序列且在必要时引入空位以达成最大百分比序列一致性之后一致的残基的百分比。用于比对的方法及计算器程序为本领域众所周知的。一种此类计算器程序为由Genentech, Inc.编写的“Align 2”,该程序于1991年12月10日与用户文件一起提交给美国版权局, Washington, D.C. 20559。

[0116] 术语“Fc受体”或“FcR”用于描述与抗体Fc区结合的受体。示范性FcR为天然序列人类FcR。此外, FcR可为这样的受体,其结合IgG抗体(γ 受体)且包括Fc. γ . RI、Fc. γ . RII及Fc. γ . RIII亚类的受体,包括这些受体的等位基因变体及替代剪接形式。Fc. γ . RII受体包括Fc. γ . RIIA(“活化受体”)及Fc. γ . RIIB(“抑制受体”),它们具有相似的、主要其细胞质域不同的氨基酸序列。活化受体Fc. γ . RIIA在其细胞质域中含有基于免疫受体酪氨酸的活化基序(immunoreceptor tyrosine-based activation motif; ITAM)。抑制受体Fc. γ . RIIB在其细胞质域中含有基于免疫受体酪氨酸的抑制基序(immunoreceptor tyrosine-

based inhibition motif; ITIM)。本文中的术语“FcR”涵盖其他FcR,包括将在未来确定的那些。该术语亦包括新生儿受体FcRn,其负责将母体IgG转移至胎儿。

[0117] “补体依赖性细胞毒性”或“CDC”是指分子在补体存在下裂解靶标的能力。补体活化途径由补体系统的第一组分(C1q)及与同源抗原复合的分子(例如,抗体)结合而起始。为了评估补体活化,可进行CDC检定。

[0118] “天然抗体”通常为约150,000道尔顿的异四聚体糖蛋白,由两条相同的轻(L)链及两条相同的重(H)链构成。各轻链通过一个共价二硫键连接至重链,而二硫键联的数量在不同免疫球蛋白同型的重链之间有所不同。各重链及轻链亦具有规则间隔的链内二硫桥。各重链在一端具有可变域(VH),其后为多个恒定域。各轻链在一端具有可变域(VL),且在其另一端具有恒定域。轻链的恒定域与重链的第一恒定域对齐,且轻链可变域与重链的可变域对齐。据信,特定的氨基酸残基形成轻链可变域与重链可变域之间的界面。

[0119] 术语“可变”是指如下实情,在抗体之间可变域的某些部分的序列有很大差异,且所述部分用于各特定抗体对其特定抗原的结合及特异性。然而,变异性未遍及抗体的可变域均匀分布。它集中在轻链及重链可变域中称为高变区的三个区段中。可变域的高度保守的部分称为框架区(FR)。天然重链及轻链的可变域各自包含四个FR,主要采用 β 褶皱板构型,由三个高变区连接,形成连接 β 褶皱板结构且在一些情况下形成其一部分的环。各链中的高变区通过FR紧密地保持在一起,且与来自另一条链的高变区一起,有助于形成抗体的抗原结合位点。恒定域不直接参与抗体与抗原的结合,但表达出各种效应功能,诸如抗体参与抗体依赖性细胞毒性(ADCC)。

[0120] 当在本文中使用时,术语“高变区”是指抗体中负责抗原结合的氨基酸残基。高变区通常包含来自“互补决定区”或“CDR”的氨基酸残基(例如,轻链可变域中的残基24-34(L1)、50-56(L2)及89-97(L3)及重链可变域中的残基31-35(H1)、50-65(H2)及95-102(H3); Kabat等人同上)和/或来自“高变环”的那些残基(例如,轻链可变域中的残基26-32(L1)、50-52(L2)及91-96(L3)及重链可变域中的残基26-32(H1)、53-55(H2)及96-101(H3))。“框架区”或“FR”残基为除本文定义的高变区残基之外的那些可变域残基。

[0121] 木瓜蛋白酶消化抗体产生两个相同的抗原结合片段,称为“Fab”片段,各片段具有单个抗原结合位点;及残余“Fc”片段,其名称反映了其易于晶体的能力。胃蛋白酶处理产生F(ab')₂片段,其具有两个抗原结合位点且仍然能够交联抗原。

[0122] “Fv”为含有完整抗原识别及抗原结合位点的最小抗体片段。该区由紧密、非共价缔合的一个重链可变域及一个轻链可变域的二聚体组成。在该构型中,各可变域的三个高变区相互作用以在VH-VL二聚体表面上界定一个抗原结合位点。六个高变区共同赋予抗体的抗原结合特异性。然而,即使单个可变域(或包含仅三个对抗原具有特异性的高变区的Fv之一半)亦具有识别及结合抗原的能力,但其亲和力低于整个结合位点。

[0123] Fab片段亦含有轻链的恒定域及重链的第一个恒定域(CH1)。Fab'片段与Fab片段的不同之处在于在重链CH1域的羧基末端添加了几个残基,包括来自抗体铰链区的一个或多个半胱氨酸。Fab'-SH为本文对其中恒定域的半胱氨酸残基带有至少一个游离硫醇基的Fab'的名称。F(ab')₂抗体片段最初为作为成对Fab'片段产生的,所述片段之间具有铰链半胱氨酸。抗体片段的其他化学缀合亦为已知的。

[0124] 来自任何脊椎动物物种的抗体的“轻链”可基于其恒定域的氨基酸序列,归类为两

种明显不同的类型之一,称为卡帕(κ)及拉目达(λ)。

[0125] “单链Fv”或“scFv”抗体片段包含抗体的VH及VL域,其中这些域存在于单个多肽链中。Fv多肽可进一步包含在VH与VL域之间的多肽接头,其使得scFv能够形成用于抗原结合的所要结构。

[0126] 术语“双功能抗体”是指具有两个抗原结合位点的小抗体片段,所述片段包含在同一多肽链(VH-VL)中相连接的可变轻域(VL)及可变重域(VH)。通过使用太短而不允许在同一链上的两个域之间配对的接头,所述域被迫与另一条链的互补域配对且产生两个抗原结合位点。

[0127] “人源化”形式的非人类(例如,啮齿动物)抗体为嵌合抗体,其含有来源于非人类免疫球蛋白的最小序列。人源化为一种将鼠抗原结合信息转移至非免疫原性人类抗体受体的方法,且已经产生了许多治疗上可用的药物。人源化方法通常首先将所有六个鼠互补决定区(CDR)转移至人类抗体框架上。这些CDR移植的抗体通常不保留其对抗原结合的原始亲和力,且事实上,亲和力通常严重减弱。除了CDR,亦必须并入选择的非人类抗体框架残基以保持适当的CDR构象。已显示将关键小鼠框架残基转移至人类受体以支持移植的CDR的结构构象使抗原结合及亲和力恢复。在大多数情况下,人源化抗体为人类免疫球蛋白(接受者抗体),其中来自接受者高变区的残基经来自非人类物种(给予者抗体)诸如小鼠、大鼠、兔或具有所要特异性、亲和力及能力的非人类灵长类动物的高变区的残基置换。在一些情况下,人类免疫球蛋白的框架区(FR)残基经相应非人类残基置换。此外,人源化抗体可包含在接受者抗体或给予者抗体中不存在的残基。进行这些修饰为为了进一步改进抗体性能。一般而言,人源化抗体将包含实质上所有的至少一个,且通常两个可变域,其中所有或实质上所有的高变环对应于非人类免疫球蛋白的高变环,且所有或实质上所有的FR为人类免疫球蛋白序列的FR。人源化抗体亦任选包含免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分,通常为人类免疫球蛋白的恒定区。

[0128] “分离的”抗体为已经自其自然环境的组分中鉴定及分离和/或回收的抗体。其自然环境的污染组分为会干扰抗体的诊断或治疗用途的材料,且可包括酶、激素及其他蛋白质或非蛋白质溶质。在某些方面中,将抗体纯化至(1)如通过Lowry方法确定的大于95重量%的抗体,或大于99重量%, (2)足以通过使用气相蛋白定序仪获得N末端或内部氨基酸序列的至少15个残基的程度,或(3)通过SDS-PAGE在还原或非还原条件下使用考马斯蓝或银染色的均质性。分离的抗体包括重组细胞内的原位抗体,因为抗体自然环境中的至少一种组分将不存在。然而,通常,分离的抗体将通过至少一个纯化步骤来制备。

[0129] “癌症”是指一组广泛的各种疾病,其特征在于体内异常细胞的生长不受控制。不受调控的细胞分裂及生长导致形成恶性肿瘤,其侵袭邻近组织且亦可透过淋巴系统或血流转移至身体的远程部位。如本文所用的“癌症”是指原发性、转移性及复发性癌症。

[0130] 如本文所用,术语“免疫反应”是指脊椎动物内针对外来因子的生物反应,该反应保护生物免受这些因子及由它们引起的疾病的影响。免疫反应通过免疫系统的细胞(例如,T淋巴球、B淋巴球、自然杀手(NK)细胞、巨噬细胞、嗜伊红白血球、肥大细胞、树突状细胞或嗜中性白血球)及由这些细胞中的任一者或肝脏产生的可溶性大分子(包括抗体、细胞因子及补体)的作用介导,导致选择性靶向、结合、损伤、破坏和/或消除脊椎动物体内侵袭病原体、感染病原体的细胞或组织、癌细胞或其他异常细胞,或者,在自体免疫或病理性发炎的

情况下,正常人类细胞或组织。免疫反应包括例如活化或抑制T细胞,例如效应T细胞或Th细胞,诸如CD4⁺或CD8⁺T细胞,或者抑制Treg细胞。如本文所用,术语“T细胞”及“T淋巴球”为可互换的且是指由胸腺产生或加工的任何淋巴球。在一些方面中,T细胞系CD4⁺T细胞。在一些方面中,T细胞系CD8⁺T细胞。在一些方面中,T细胞系NKT细胞。

[0131] “个体”包括任何人类或非人类动物。术语“非人类动物”包括但不限于脊椎动物诸如非人类灵长类动物、羊、狗及啮齿动物诸如小鼠、大鼠及豚鼠。在一些方面中,个体为人类。术语“个体”及“患者”在本文中可互换使用。

[0132] 术语“治疗有效量”或“治疗有效剂量”是指提供所要生物学、治疗和/或预防结果的剂(例如,本文所公开的新降解剂或新降解剂缀合物)的量。该结果可为减少、改善、改良、减轻、延迟和/或缓和疾病的一种或多种征象、症状或病因,或生物系统的任何其他所要改变。关于实性瘤,有效量包含足以引起肿瘤缩小和/或降低肿瘤生长速率(诸如抑制肿瘤生长)或预防或延迟其他不想要的细胞增殖的量。在一些方面中,有效量为足以延迟肿瘤发展的量。在一些方面中,有效量为足以预防或延迟肿瘤复发的量。有效量可以一或多次施用的形式施用。有效量的组合物可例如(i)减少癌细胞的数量;(ii)减小肿瘤大小;(iii)在一定程度上抑制、推迟、减缓且可阻止癌细胞向周围器官中的浸润;(iv)抑制(即在一定程度上减缓)且可阻止肿瘤转移;(v)抑制肿瘤生长;(vi)预防或延迟肿瘤的发生和/或复发;和/或(vii)在一定程度上缓解与癌症相关的一种或多种症状。

[0133] 在一些方面中,“治疗有效量”为经临床证明实现癌症诸如晚期实性瘤的显著减少或减缓该癌症进展(消退)的新降解剂或新降解剂缀合物的量。治疗剂促进疾病消退的能力可使用熟练从业人员已知的多种方法,诸如在临床试验期间在人类个体中,在预测在人体内的功效的动物模型系统中,或通过在外检中检定剂的活性来评估。

[0134] 如本文所用,术语“护理标准”是指被医学专家接受为对某种类型疾病的适当治疗且被医疗保健专业人员广泛使用的治疗。该术语可与以下任何术语互换使用:“最佳实践”、“标准医疗护理”及“标准疗法”。

[0135] 例如,“抗癌剂”促进个体的癌症消退或防止进一步的肿瘤生长。在某些方面中,治疗有效量的药物促进癌症消退至消除癌症的程度。

[0136] 关于治疗的术语“有效”及“有效性”包括药理学有效性及生理安全性。药理学有效性是指药物促进患者癌症消退的能力。生理安全性是指由施用药物引起的毒性水平或在细胞、器官和/或生物水平上的其他不利的生理效应(不良效应)。

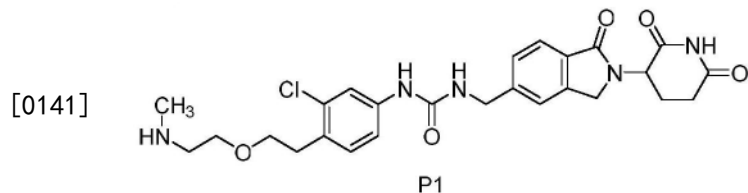
[0137] 如本文所用,术语“免疫检查点抑制剂”是指完全或部分减少、抑制、干扰或调节一种或多种检查点蛋白的分子。检查点蛋白调节T细胞活化或功能。许多检查点蛋白为已知的,诸如CTLA-4及其配体CD80及CD86;及PD-1及其配体PD-L1及PD-L2。Pardoll, D.M., Nat Rev Cancer 12(4):252-64(2012)。这些蛋白质负责T细胞反应的共刺激或抑制性相互作用。免疫检查点蛋白调节并维持自身耐受性以及生理免疫反应的持续时间及幅度。免疫检查点抑制剂包括抗体或来源于抗体。

[0138] 术语“治疗(treat)”或“治疗(treatment)”是指治疗性治疗及预防(prophylactic)或预防性(preventative)措施,其中目的为预防或减缓(减轻)非所要的生理变化或病症,诸如癌症的发展或蔓延。出于本公开的目的,有益的或所要的临床结果包括但不限于症状的缓和、疾病程度的减小、疾病状态稳定(即,不恶化)、疾病进展的延迟或减

缓、疾病状态的改善或改良、及缓解(无论是部分还是全部),无论是可检测的还是不可检测的。“治疗”亦可意谓与未接受治疗的预期存活期相比延长存活期。需要治疗者包括已经患有疾患或病症者以及容易患有疾患或病症者或要预防疾患或病症者。

[0139] II.新降解剂

[0140] 本公开提供一种式(P1)的新降解剂:

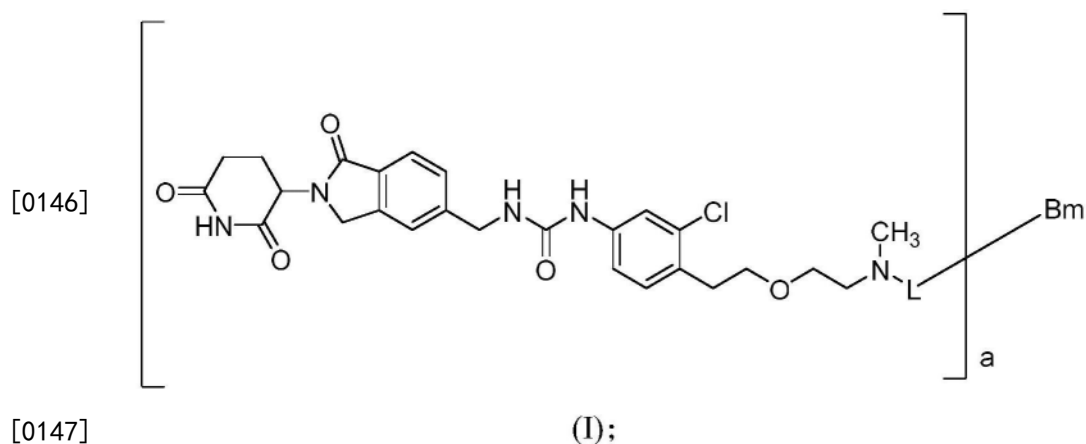


[0142] 在一些方面中,新降解剂为与E3泛素连接酶形成三元复合物的分子,该三元复合物能够靶向蛋白质以实现降解。

[0143] III.新降解剂缀合物

[0144] 本公开提供本文所公开的一种或多种新降解剂与结合部分的缀合物。这些缀合物可通过结合cereblon(CRBN),促进由CRL4^{CRBN} E3泛素连接酶介导的底物蛋白的募集及泛素化来降解蛋白质。这些剂充当“分子胶”,作为疏水性贴片填充结合界面,重新编程连接酶与新底物之间的蛋白质相互作用。

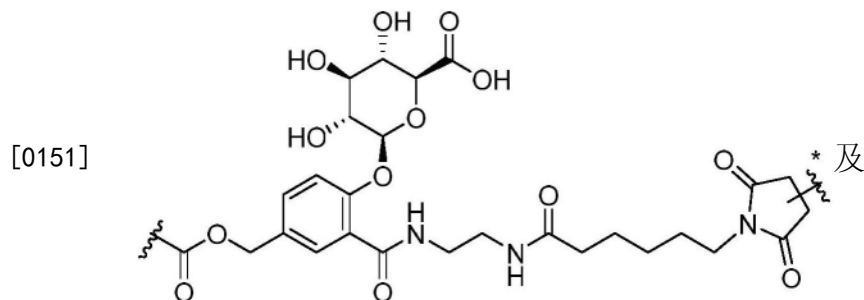
[0145] 在一些方面中,本公开提供一种式(I)的化合物:



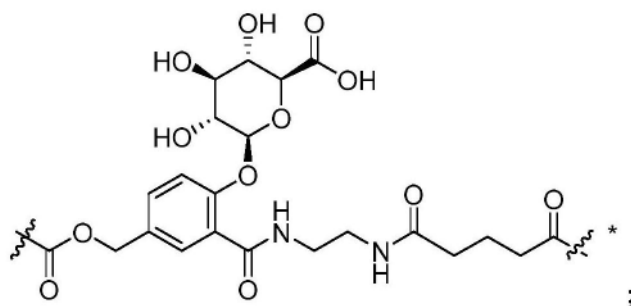
[0147] 或其药学上可接受的盐,其中:

[0148] a为1至10;

[0149] L为选自以下的接头:



[0152]



[0153] 其中:

[0154]  为与氮原子的连接点;且[0155]  为与Bm的连接点;且

[0156] 在一些方面中,本文所述的新降解剂缀合物具有针对肿瘤细胞株的体外抗增殖活性。在一些方面中,包含新降解剂及结合部分的新降解剂缀合物具有比单独的新降解剂或单独的结合部分高至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约95%或至少约100%的体外抗增殖活性。在一些方面中,包含新降解剂及结合部分的新降解剂缀合物具有为单独的新降解剂或单独的结合部分的至少约2倍、至少约3倍、至少约4倍、至少约5倍、至少约6倍、至少约7倍、至少约8倍、至少约9倍、至少约10倍的体外抗增殖活性。

[0157] 在一些方面中,本文所述的新降解剂缀合物具有针对BT-474乳腺癌细胞株的体外抗增殖活性,例如与单独的新降解剂或单独的结合部分相比,更高的针对BT-474乳腺癌细胞株的体外抗增殖活性。在一些方面中,本文所述的新降解剂缀合物具有针对SK-BR-3乳腺癌细胞株的体外抗增殖活性,例如与单独的新降解剂或单独的结合部分相比,更高的针对SK-BR-3乳腺癌细胞株的体外抗增殖活性。在一些方面中,本文所述的新降解剂缀合物具有针对NCI-N87胃癌细胞株的体外抗增殖活性,例如与单独的新降解剂或单独的结合部分相比,更高的针对NCI-N87胃癌细胞株的体外抗增殖活性。在一些方面中,本文所述的新降解剂缀合物具有针对Daudi淋巴瘤细胞株的体外抗增殖活性,例如与单独的新降解剂或单独的结合部分相比,更高的针对Daudi淋巴瘤细胞株的体外抗增殖活性。在一些方面中,本文所述的新降解剂缀合物具有针对HL-60急性髓性白血病细胞株的体外抗增殖活性,例如与单独的新降解剂或单独的结合部分相比,更高的针对HL-60急性髓性白血病细胞株的体外抗增殖活性。在一些方面中,本文所述的新降解剂缀合物具有针对Ramos非霍奇金淋巴瘤细胞株的体外抗增殖活性,例如与单独的新降解剂或单独的结合部分相比,更高的针对Ramos非霍奇金淋巴瘤细胞株的体外抗增殖活性。在一些方面中,本文所述的新降解剂缀合物具有针对MV411 AML细胞株的体外抗增殖活性,例如与单独的新降解剂或单独的结合部分相比,更高的针对MV411 AML细胞株的体外抗增殖活性。在一些方面中,本文所述的新降解剂缀合物能够在人类血清存在下保持其抗增殖活性。本文所述的新降解剂缀合物可用于治疗癌症。

[0158] 在一些方面中,抗体新降解剂缀合物(AnDC)为本文所公开的一种或多种新降解剂与本文所公开的抗体或其抗原结合部分的缀合物。

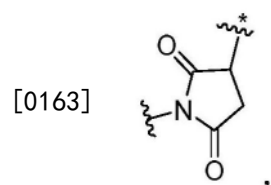
[0159] III.A. 接头

[0160] 本公开的新降解剂经由接头连接至结合部分。如本文所用,术语“接头”是指能够

将结合部分 (Bm) 连接至新降解剂P1的任何化学部分。

[0161] 在某些方面中,接头可含有异双官能团。在本公开中,术语“异双官能团”是指将接头连接至结合部分的化学部分,该化学部分为该接头的一部分。异双官能团的特征为在化学部分的任一端具有不同的反应性基团。与“Bm”的连接可透过化学或酶缀合或两者的组合来完成。化学缀合涉及结合部分表面上的可及的氨基酸残基与异双官能团上的反应柄的受控反应。化学缀合的实施例包括但不限于赖氨酸酰胺偶合、半胱氨酸偶合及经由通过基因工程并入的非天然氨基酸的偶合,其中具有所要反应柄的非天然氨基酸残基安装在“Bm”上。在酶缀合中,酶介导接头与结合部分上的可及的氨基残基的偶合。酶缀合的实施例包括但不限于使用分选酶(sortase)的转肽、使用微生物转谷氨酰胺酶的转肽及N-聚糖工程。化学缀合及酶缀合亦可顺序使用。例如,酶缀合亦可用于在“Bm”上安装独特的反应柄,以用于随后的化学缀合。

[0162] 在一些方面中,异双官能团为

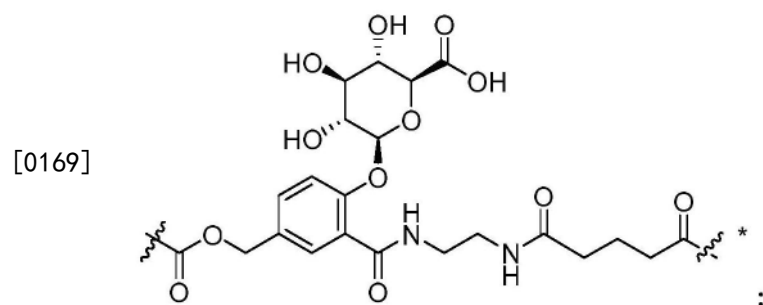
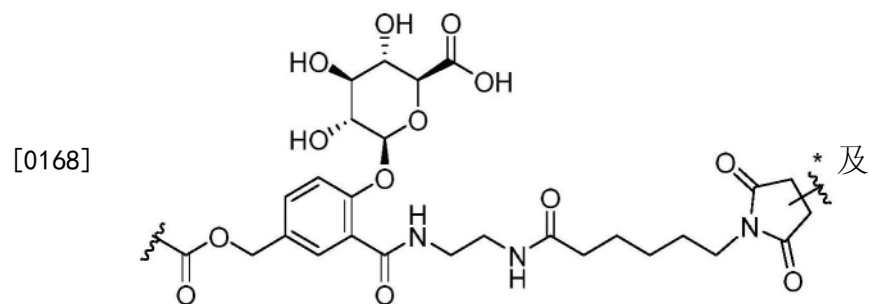


[0164] 其中

[0165]  为与接头剩余部分的连接点;且

[0166]  为与Bm的连接点。

[0167] 在某些方面中,L为 β -葡萄糖醛酸酶可裂解接头。在一些方面中,L为选自以下的 β -葡萄糖醛酸酶可裂解接头:



[0170] 其中:

[0171]  为与新降解剂P1的连接点;且

[0172]  为与结合部分的连接点。

[0173] III.B. 结合部分

[0174] 本公开提供新降解剂与结合部分的缀合物。如本文所用,术语“结合部分”是指识别及结合细胞表面标志物或受体的任何分子。在某些方面中,结合部分结合蛋白质,不限于多肽部分。除了将新降解剂靶向特定细胞、组织或位置之外,结合部分亦可具有某些治疗效果,诸如针对靶细胞或途径的抗增殖(细胞生长抑制(cytostatic)和/或细胞毒性)活性。在某些方面中,结合部分可包含或可经工程改造以包含至少一个化学反应性基团,诸如羧酸、胺、硫醇或化学反应性氨基酸部分或侧链。在一些方面中,结合部分可包含与给定靶细胞群的细胞表面分子诸如细胞表面受体或抗原结合或复合的靶向部分。在与受体特异性结合或复合后,细胞允许摄取靶向部分或新降解剂缀合物,然后将其内化至细胞中。

[0175] 在一些方面中,基团“Bm”可为可特异性结合细胞表面分子的部分。在一些方面中,基团“Bm”可为结合细胞表面受体或抗原的肽或蛋白质。

[0176] 在某些方面中,基团“Bm”可为抗体、抗体片段或抗原结合片段。抗体为由免疫系统产生的能够识别及结合特定抗原的蛋白质。靶抗原通常具有多个结合位点,也称为表位,由多个抗体上的CDR识别。特异性结合不同表位的各抗体具有不同结构。因此,一种抗原可具有多于一种相应抗体。术语“抗体”在本文中以最广泛意义使用,且具体涵盖单克隆抗体、单域抗体、多克隆抗体、多特异性抗体(例如,双特异性抗体)及抗体片段,只要它们表达出所要生物活性即可。抗体可为鼠抗体、人类抗体、人源化抗体、嵌合抗体或衍生自其他物种。

[0177] 可缀合至新降解剂的单克隆抗体为均质的针对特定抗原决定位(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)的抗体群体。可通过使用本领域已知的任何技术来制备针对感兴趣的抗原的单克隆抗体(mAb),该技术提供通过培养的连续细胞株产生抗体分子。这些技术包括但不限于杂交瘤技术、人类B细胞杂交瘤技术及EBV-杂交瘤技术。此类抗体可为任何免疫球蛋白类别,包括IgG、IgM、IgE、IgA及IgD,以及其任何亚类。产生用于本公开的mAb的杂交瘤可在体外或体内培养。

[0178] 可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、抗体片段或嵌合人类-小鼠(或其他物种)单克隆抗体。人类单克隆抗体可通过本领域已知的多种技术中的任一者来制备。

[0179] 抗体亦可为双特异性抗体。用于制备双特异性抗体的方法为本领域已知的。传统的全长双特异性抗体的产生为基于两个免疫球蛋白重链-轻链对的共表达,在此情况下两条链具有不同的特异性。由于免疫球蛋白重链及轻链的随机分配,这些杂交瘤(四源杂交瘤(quadromas))产生10种不同抗体分子的潜在混合物,其中仅一种具有正确的双特异性结构。通常使用亲和色谱步骤进行正确分子的纯化相当麻烦,且产物产率低。

[0180] 根据一种不同的方法,将具有所要结合特异性的抗体可变域(抗体-抗原结合位点)融合至免疫球蛋白恒定域序列。融合可为与免疫球蛋白重链恒定域,其包含铰链、 C_{H2} 及 C_{H3} 区的至少一部分。第一重链恒定区(C_{H1})可含有轻链结合所必需的位点,其存在于至少一种融合物中。将具有编码免疫球蛋白重链融合物及需要时免疫球蛋白轻链的序列的核酸插入至单独的表达载体中,且将其共转染至合适的宿主生物中。在用于构筑的不等比率的三条多肽链提供最佳产量时的方面中,此举提供了调节三条多肽片段的相互比例的极大灵活性。然而,当至少两条多肽链以相等比率表达导致高产率时或当所述比率没有特别意义时,将两条或所有三条多肽链的编码序列插入一个表达载体中为可能的。

[0181] 双特异性抗体可具有在一个臂中的具有第一结合特异性的杂合免疫球蛋白重链,及在另一臂中的杂合免疫球蛋白重链-轻链对(提供第二结合特异性)。这种不对称结构有助于自不需要的免疫球蛋白链组合分离所要的双特异性化合物,因为免疫球蛋白轻链在仅一半的双特异性分子中存在提供了简便的分离方式。使用此类技术,可制备双特异性抗体以用于在治疗或预防如本文所定义的疾病中与新降解剂缀合。

[0182] 杂合或双功能抗体可以生物学方式得到,即通过细胞融合技术,或以化学方式得到,尤其是利用交联剂或二硫键形成试剂,且可包含完整抗体或其片段。

[0183] 抗体可为免疫特异性结合癌细胞抗原、病毒抗原或微生物抗原的抗体或结合至肿瘤细胞或基质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”意谓片段、衍生物或类似物能够引出抗-抗个体遗传型抗体,其识别与片段、衍生物或类似物所来源的抗体所识别的抗原相同的抗原。具体地,在示范性方面中,免疫球蛋白分子的个体遗传型的抗原性可通过缺失特异性识别抗原的CDR序列的C末端的框架及CDR序列来增强。为了确定哪些CDR序列结合抗原,可通过本领域已知的任何结合检定方法将含有CDR序列的合成肽用于与抗原的结合检定。

[0184] 其他可用的抗体包括抗体片段,诸如但不限于F(ab')₂片段,其含有可变区、轻链恒定区及重链CH1域,可通过胃蛋白酶消化抗体分子产生;及Fab片段,其可通过还原F(ab')₂片段的二硫键生成。其他可用的抗体为抗体的重链及轻链二聚体,或其任何最小片段,诸如Fv或单链抗体(SCA),或具有与抗体相同特异性的任何其他分子。

[0185] 另外,可使用标准重组DNA技术制备的包含人类及非人部分的重组抗体,诸如嵌合抗体及人源化单克隆抗体,为可用的抗体。嵌合抗体为其中不同部分来源于不同动物物种的分子,诸如具有来源于鼠单克隆及人类免疫球蛋白恒定区的可变区的那些。人源化抗体为来自非人类物种的抗体分子,其具有来自非人类物种的一个或多个互补决定区(CDR)及来自人类免疫球蛋白分子的框架区。此类嵌合抗体及人源化单克隆抗体可通过本领域已知的重组DNA技术产生。

[0186] 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来产生完全人类抗体。以正常方式用选择的抗原例如本公开的多肽的全部或一部分使转基因小鼠免疫。可使用常规杂交瘤技术获得针对该抗原的单克隆抗体。转基因小鼠携带的人类免疫球蛋白转基因在B细胞分化期间重新排列,且随后发生类别转换及体细胞突变。因此,使用此一技术,有可能产生治疗上可用的IgG、IgA、IgM及IgE抗体。对于此种用于产生人类抗体的技术的概述,参见Lonberg及Huszar(1995, Int. Rev. Immunol. 13: 65-93)。其他人类抗体可自例如Abgenix, Inc. (Freemont, Calif.) 及Genpharm (San Jose, Calif.) 商购获得。

[0187] 可使用称为“引导选择(guided selection)”的技术生成识别选择的表位的完全人类抗体。在该方法中,使用选择的非人类单克隆抗体,例如小鼠抗体,引导选择识别相同表位的完全人类抗体。人类抗体亦可使用本领域已知的各种技术产生,包括噬菌体显示文库。

[0188] 抗体可为抗体的融合蛋白或其功能活性片段,例如在其中抗体经由共价键(例如肽键)在N末端或C末端融合至不为抗体的另一种蛋白质(或其部分,诸如蛋白质的至少10、20或50个氨基酸部分)的氨基酸序列。抗体或其片段可在恒定域的N末端共价连接至其他蛋

白质。

[0189] 抗体包括经任一修饰的类似物及衍生物,即通过任何类型分子的共价连接进行修饰,只要此种共价连接允许抗体保持其抗原结合免疫特异性即可。例如,但不限于,抗体的衍生物及类似物包括经进一步修饰的那些,例如通过糖基化、乙酰化、聚乙二醇化、磷酸化、酰胺化、通过已知保护基/阻隔基的衍生化、蛋白水解裂解、与细胞抗体单元或其他蛋白质的连接等。多种化学修饰中的任一者可通过已知技术进行,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。

[0190] 新降解剂缀合物中的抗体可包括在与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)的抗体。特别地,抗体包括在经鉴定为参与抗Fc域与FcRn受体之间的相互作用的氨基酸残基中具有修饰的抗体。可例如自Genentech (San Francisco, Calif.) 商购获得或通过本领域技术人员已知的任何方法例如像化学合成或重组表达技术产生对癌细胞抗原具有免疫特异性的抗体。可例如自GenBank数据库或与它类似的数据库、文献出版物或通过常规克隆及定序获得编码对癌细胞抗原具有免疫特异性的抗体的核苷酸序列。

[0191] 在某些方面中,新降解剂缀合物的抗体可为单克隆抗体,例如鼠单克隆抗体、嵌合抗体或人源化抗体。在一些方面中,抗体可为抗体片段,例如Fab片段。

[0192] 用于治疗或预防癌症的已知抗体可缀合至本文所述的新降解剂。可商购获得或通过本领域技术人员已知的任何方法例如像重组表达技术产生对癌细胞抗原具有免疫特异性的抗体。可例如自GenBank数据库或与它类似的数据库、文献出版物或通过常规克隆及定序获得编码对癌细胞抗原具有免疫特异性的抗体的核苷酸序列。可用于治疗癌症的抗体的实施例包括但不限于用于治疗转移性乳腺癌患者的人源化抗HER2单克隆抗体 **HERCEPTIN®** (曲妥珠单抗); **RITUXAN®** (利妥昔单抗; Genentech), 其为用于治疗非霍奇金淋巴瘤患者的嵌合抗CD20单克隆抗体; OvaRex (奥瑞戈伏单抗; AltaRex Corporation, MA), 其为用于治疗卵巢癌的鼠抗体; Panorex (依决洛单抗 (edrecolomab), Glaxo Wellcome, NC), 其为用于治疗结肠直肠癌的鼠IgG2a抗体; Cetuximab Erbitux (西妥昔单抗, Imclone Systems Inc., NY), 其为用于治疗表皮生长因子阳性癌症诸如头颈癌的抗EGFR IgG嵌合抗体; Vitaxin (依他珠单抗 (etaracizumab), MedImmune, Inc., MD), 其为用于治疗肉瘤的人源化抗体; Campath I/H (阿仑单抗, Leukosite, MA), 其为用于治疗慢性淋巴细胞性白血病 (CLL) 的人源化IgG1抗体; Smart MI95 (Protein Design Labs, Inc., CA), 其为用于治疗急性髓性白血病 (AML) 的人源化抗CD33 IgG抗体; LymphoCide (依帕珠单抗 (epratuzumab), Immunomedics, Inc., NJ), 其为用于治疗非霍奇金淋巴瘤的人源化抗CD22IgG抗体; Smart ID10 (Protein Design Labs, Inc., CA), 其为用于治疗非霍奇金淋巴瘤的人源化抗HLA-DR抗体; Oncolym (Techniclone, Inc., CA), 其为用于治疗非霍奇金淋巴瘤的放射性标记的鼠抗HLA-Dr10抗体; Allomune (BioTransplant, CA), 其为用于治疗霍奇金病或非霍奇金淋巴瘤的人源化抗CD2 mAb; Avastin (贝伐单抗, Genentech, Inc., CA), 其为用于治疗肺癌及结肠直肠癌的抗VEGF人源化抗体; Epratuzamab (Immunomedics, Inc., NJ 及 Amgen, CA), 其为用于治疗非霍奇金淋巴瘤的抗CD22抗体; 及CEAcide (Immunomedics, NJ), 其为用于治疗结肠直肠癌的人源化抗CEA抗体。

[0193] 可用于新降解剂缀合物的其他抗体包括但不限于曲妥珠单抗、吉妥珠单抗、帕妥珠单抗、奥比妥珠单抗、奥法木单抗、达雷妥尤单抗、STI-6129、林妥珠单抗、huMy9-6、贝兰他单抗、英达妥昔单抗、地妥昔单抗、抗CD38 A2抗体、HuAT13/5H3s抗体、替伊莫单抗、托西莫单抗、帕尼单抗、曲美木单抗、替西木单抗、卡妥索单抗及维妥珠单抗。在某些方面中，抗体选自由以下组成的组：利妥昔单抗、曲妥珠单抗、帕妥珠单抗、huMy9-6-IgG4-S228P、林妥珠单抗及吉妥珠单抗。

[0194] 可用于新降解剂缀合物的其他抗体包括但不限于针对以下抗原的抗体：CA125(卵巢)、CA15-3(癌)、CA19-9(癌)、L6(癌)、刘易斯Y(癌)、刘易斯X(癌)、 α -胎蛋白(癌)、CA 242(结肠直肠癌)、胎盘碱性磷酸酶(癌)、前列腺特异性抗原(前列腺)、前列腺酸性磷酸酶(前列腺)、表皮生长因子(癌)、MAGE-1(癌)、MAGE-2(癌)、MAGE-3(癌)、MAGE-4(癌)、抗运铁蛋白受体(癌)、p97(黑色素瘤)、MUC1-KLH(乳腺癌)、CEA(结肠直肠癌)、gp100(黑色素瘤)、MART1(黑色素瘤)、PSA(前列腺)、IL-2受体(T细胞白血病及淋巴瘤)、CD20(非霍奇金淋巴瘤)、CD52(白血病)、CD33(白血病)、CD22(淋巴瘤)、人类绒毛膜促性腺激素(癌)、CD38(多发性骨髓瘤)、CD40(淋巴瘤)、黏蛋白(癌)、P21(癌)、MPG(黑色素瘤)及Neu致癌基因产物(癌)。一些特定、可用的抗体包括但不限于BR96 mAb(Trail, P.A.等人Science(1993) 261, 212-215)、BR64(Trail, P.A.等人Cancer Research(1997) 57, 100-105)、针对CD40抗原的mAb诸如S2C6 mAb(Francisco, J.A.等人Cancer Res. (2000) 60:3225-3231)、针对CD70抗原的mAb诸如1F6 mAb及针对CD30抗原的mAb诸如AC10。可使用许多与肿瘤相关抗原结合的其他内化抗体，且已对其进行了综述。

[0195] 本发明缀合物可结合的其他抗原包括但不限于5T4、ACE、ADRB3、AKAP-4、ALK、雄激素受体、AOC3、APP、Axin1、AXL、B7H3、B7-H4、BCL2、BCMA、bcr-abl、BORIS、BST2、C242、C4.4a、CA 125、CA6、CA9、CAIX、CCL11、CCR5、CD123、CD133、CD138、CD142、CD15、CD15-3、CD171、CD179a、CD18、CD19、CD19-9、CD2、CD20、CD22、CD23、CD24、CD25、CD27L、CD28、CD3、CD30、CD31、CD300LF、CD33、CD352、CD37、CD38、CD4、CD40、CD41、CD44、CD44v6、CD5、CD51、CD52、CD54、CD56、CD62E、CD62P、CD62L、CD70、CD71、CD72、CD74、CD79a、CD79b、CD80、CD90、CD97、CD125、CD138、CD141、CD147、CD152、CD154、CD326、CEA、CEACAM5、CFTR、凝集因子、cKit、密封蛋白3、密封蛋白18.2、CLDN6、CLEC12A、CLL-1、c113、c-MET、Cripto蛋白、CS1、CTLA-4、CXCR2、CXORF61、周期蛋白B1、CYP1B1、钙黏蛋白-3、钙黏蛋白-6、DLL3、E7、EDNRB、EFNA4、EGFR、EGFRvIII、ELF2M、EMR2、ENPP3、EPCAM、EphA2、Ephrin A4、Ephrin B2、EPHB4、ERBB2 (Her2/neu)、ErbB3、ERG (TMPRSS2 ETS融合基因)、ETBR、ETV6-AML、FAP、FCAR、FCRL5、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FLT3、叶酸受体 α 、叶酸受体 β 、FOLR1、Fos相关抗原1、岩藻糖基GM1、GCC、GD2、GD3、GloboH、GM3、GPC1、GPC2、GPC3、gp100、GPNMB、GPR20、GPC5D、GUCY2C、HAVCR1、HER2、HER3、HGF、HMI.24、HMWMAA、HPV E6、hTERT、人类端粒酶反转录酶、ICAM、ICOS-L、IFN- α 、IFN- γ 、IGF-I受体、IGLL1、IL-2受体 (IL-2R α (即CD25)、IL-2R β (即CD122)、IL-2R γ (即CD132))、IL-4受体 (IL-4R、IL-2R γ / IL-13R α 1)、IL-13受体 (IL-13R α 1、IL-13R α 2、IL-4R)、IL-1受体 (IL-1 1Ra)、IL-12受体 (IL-12R β 1、IL-12R β 2)、IL-23受体 (IL-12R β 1、IL-23R)、IL-22受体 (IL-22R α 1、IL-22R α 2、IL-10R β)、IL-5受体 (IL-5R α 、CSF2RB)、IL-6受体 (IL-6R α 、gp130)、干扰素受体、整合素 (包括 α 4、 α v β 3、 α v β 5、 α v β 6、 α 1 β 4、 α 4 β 1、 α 4 β 7、 α 5 β 1、 α 6 β 4、 α I Ib β 3整合素)、整合素 α v、肠羧基酯酶、KIT、LAGE-1a、LAIR1、LAMP-1、LCK、豆荚蛋白、刘易斯Y、

LFA-1 (CD11a)、L-选择素 (CD62L)、LILRA2、LIV-1、LMP2、LRRC15、LY6E、LY6K、LY75、MAD-CT-1、MAD-CT-2、MAGE A1、MelanA/MART1、间皮素、ML-IAP、MSLN、黏蛋白、MUC1、MUC16、mut hsp70-2、MYCN、肌肉生长抑制素、NA17、NaPi2b、NCA-90、NCAM、Nectin-4、NGF、NOTCH1、NOTCH2、NOTCH3、NOTCH4、NY-BR-1、NY-ESO-1、*o*-乙酰基-GD2、OR51E2、OY-TES1、p53、p53突变体、PANX3、PAP、PAX3、PAX5、p-CAD、PCTA-1/半乳糖凝集素8、PD-L1、PD-L2、PDGFR、PDGFR- β 、磷脂酰丝氨酸、PIK3CA、PLAC1、聚唾液酸、前列腺酶、前列腺癌细胞、prostelin、绿脓杆菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、狂犬病、存活素及端粒酶、PRSS21、PSCA、PSMA、PTK7、RAGE-1、RANKL、Ras突变体、呼吸道融合病毒、恒河猴因子、RhoC、RON、ROR1、ROR2、RU1、RU2、SART3、SLAMF7、SLC44A4、sLe^x、SLITRK6、精子蛋白17、鞘氨酸-1-磷酸盐、SSEA-4、SSX2、STEAP1、TAG72、TARP、TCR β 、TEM1/CD248、TEM7R、肌腱蛋白C、TF、TGF-1、TGF- β 2、TNF- α 、TGS5、Tie 2、TIM-1、Tn Ag、TRAC、TRAIL-R1、TRAIL-R2、TROP-2、TRP-2、TRPV1、TSHR、肿瘤抗原CTAA16.88、酪氨酸酶、UPK2、VEGF、VEGFR1、VEGFR2、波形蛋白、WT1和/或XAGE1。

[0196] 结合与抗原呈递细胞相关的抗原的抗体, 诸如CD40、OX40L、Endoglin、DEC-205、4-1BBL、CD36、CD36、CD204、MARCO、DC-SIGN、CLEC9A、CLEC5A、Dectin 2、CLEC10A、CD206、CD64、CD32A、CD1A、HVEM、CD32B、PD-L1、BDCA-2、XCR-1及CCR2, 亦可缀合至新降解剂。

[0197] 新降解剂缀合物的抗体可结合活化淋巴球上表达的受体或受体复合物。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、细胞因子受体、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。合适的免疫球蛋白超家族成员的非限制性实施例为CD2、CD3、CD4、CD8、CD 19、CD22、CD28、CD79、CD90、CD 152/CTLA-4、PD-1及ICOS。合适的TNF受体超家族成员的非限制性实施例为CD27、CD40、CD95/Fas、CD134/OX40、CD137/4-1BB、TNF-R1、TNFR-2、RANK、TACI、BCMA、蚀骨细胞抑制因子、Apo2/TRAIL-R1、TRAIL-R2、TRAIL-R3、TRAIL-R4及APO-3。合适的整合素的非限制性实施例为CD11a、CD11b、CD11c、CD18、CD29、CD41、CD49a、CD49b、CD49c、CD49d、CD49e、CD49f、CD 103及CD 104。合适的凝集素的非限制性实施例为C-型、S-型及I-型凝集素。

[0198] 在一些方面中, 可用于本公开的抗体包括但不限于3F8、8H9、阿巴伏单抗 (abagovomab)、阿昔单抗 (abciximab) (**REOPRO[®]**)、阿比特珠单抗 (abiraterone)、安泽奇单抗 (abiraterone)、阿布鲁单抗 (abiraterone)、阿克托单抗 (actoxumab)、阿达木单抗 (adalimumab) (**HUMIRA[®]**)、阿德木单抗 (adecatumumab)、阿杜卡奴单抗 (aducanumab)、阿非西维单抗 (afasevikumab)、阿非莫单抗 (afelimomab)、阿夫土珠单抗 (afutuzumab)、培化阿珠单抗 (alacizumab)、ALD518、阿仑单抗 (**CAMPATH[®]**)、阿利库单抗 (alirocumab) (**PRALUENT[®]**)、阿妥莫单抗 (altumomab)、阿马妥昔单抗 (amatuximab)、麻安莫单抗 (anatumomab)、安德西昔单抗 (andecaliximab)、阿奈妥单抗 (anetumab)、阿尼鲁单抗 (anifrolumab)、安芦珠单抗 (anrukinzumab)、阿泊珠单抗 (apolizumab)、阿普卢妥单抗 (aprutumab)、阿西莫单抗 (arcitumomab) (**CEA-SCAN[®]**)、阿伐苏单抗 (ascrinivacumab)、阿塞珠单抗 (aselizumab)、阿度尤单抗 (atidortoxumab)、阿特立单抗 (atlizumab) (托西珠单抗 (tocilizumab)、**ACTEMRA[®]**、**ROACTEMRA[®]**)、阿替利珠单抗 (atezolizumab) (**TECENTRIQ[®]**)、阿替奴单抗 (atinumab)、阿托莫单抗 (atorolimumab)、阿维鲁单抗 (avelumab) (Bavencio)、阿妥昔珠单抗 (azintuxizumab)、贝兰他单抗、巴匹珠单抗

(bapineuzumab)、巴利昔单抗(basiliximab) (SIMULECT[®])、巴维昔单抗(bavituximab)、BCD-100、贝妥莫单抗(bectumomab) (LYMPHOSCAN[®])、贝戈洛单抗(begelomab)、贝兰妥单抗(belantamab)、贝利木单抗(belimumab) (BENLYSTA[®])、贝马里妥珠单抗(bemarituzumab)、贝那利珠单抗(benralizumab) (FASENRA[®])、贝迈奇单抗(bermekimab)、伯萨利单抗(bersanlimab)、柏替木单抗(bertilimumab)、贝索单抗(besilesomab) (SCINITIMUN[®])、贝伐单抗(AVASTIN[®])、贝佐洛单抗(bezlotoxumab) (ZINPLAVA[®])、比西单抗(biciromab) (FIBRISCINT[®])、比玛卢单抗(bimagrumab)、比美珠单抗(bimekizumab)、泊特埃单抗(birtamimab)、比伐珠单抗(bivatuzumab)、布来鲁单抗(bleselumab)、博纳吐单抗(blinatumomab)、布隆妥维单抗(blontuvetmab)、布索组单抗(blosozumab)、伯考赛珠单抗(bococizumab)、布雷库单抗(brazikumab)、本妥昔单抗(brentuximab)、布雷奴单抗(briakinumab)、柏达鲁单抗(brodalumab) (SILIQ[™])、布西珠单抗(brolucizumab) (BEOVU[®])、布朗妥珠单抗(brontictuzumab)、布洛舒单抗(burosumab) (CRYSVITA[®])、卡比利珠单抗(cabiralizumab)、卡普赛珠单抗(caplacizumab) (CABLIVI[®])、替卡利尤单抗(camidanlumab)、卡瑞利珠单抗(camrelizumab)、卡那单抗(canakinumab) (ILARIS[®])、坎妥珠单抗(cantuzumab)、卡罗单抗(capromab)、卡芦单抗(carlumab)、卡妥昔单抗(carotuximab)、卡妥索单抗(REMOVAB[®])、cBR96、CC49、维得利珠单抗(cedelizumab)、西米普利单抗(cemiplimab) (LIBTAYO[®])、瑟妥珠单抗(cergutuzumab)、西利单抗(certrelimab)、赛妥珠单抗(certolizumab)、西妥昔单抗(ERBITUX[®])、赛必妥单抗(cibisatamab)、西妥珠单抗(cirmtuzumab)、泊西他珠单抗(citatzumab)、西妥木单抗(cixutumumab)、克拉扎珠单抗(clazakizumab)、克立昔单抗(clenoliximab)、克立妥单抗(clivatuzumab)、考曲妥珠单抗(codrituzumab)、考非妥珠单抗(cofetuzumab)、考妥昔单抗(coltuximab)、可那木单抗(conatumumab)、康赛珠单抗(concizumab)、考韦昔单抗(cosfroviximab)、CR6261、克瑞组单抗(crenezumab)、立赞利珠单抗(crizanlizumab) (ADAKVEO[®])、克罗特度单抗(crotedumab)、古妥珠单抗(cusatuzumab)、达西组单抗(dacetuzumab)、达利珠单抗(daclizumab) (ZINBRYTA[®])、达罗托组单抗(dalotuzumab)、达匹利珠单抗(dapirolizumab)、达雷妥尤单抗(DARZALEX[®])、德屈库单抗(dectrekumab)、登赛珠单抗(demcizumab)、地宁妥珠单抗(denintuzumab)、地舒单抗(denosumab) (PROLIA[®])、迪妥昔珠单抗(depatuxizumab)、地洛妥单抗(derlotuximab)、地莫单抗(detumomab)、迪扎米珠单抗(dezamizumab)、地妥昔单抗(UNITUXIN[®])、地利伏单抗(diridavumab)、多玛洛珠单抗(domagrozumab)、多塔利单抗(dostarlimab)、阿托度单抗(dorlimomab)、得利西珠单抗(dorlixizumab)、曲齐妥单抗(droxitumab)、DS-8201、杜力妥珠单抗(duligotuzumab)、度匹鲁单抗(dupilumab) (DUPIXENT[®])、度伐利尤单抗(durvalumab) (IMFINZI[®])、度司妥单抗(dusigitumab)、依罗美昔单抗(ecromeximab)、依库珠单抗(eculizumab) (SOLIRIS[®])、埃巴单抗(edobacomab)、依决洛单抗(edrecolomab) (PANOREX[®])、依法利珠单抗(efalizumab) (RAPTIVA[®])、依芬

古单抗(efungumab) (**MYCOGRAB[®]**)、埃迪鲁单抗(eldelumab)、依来努单抗(elezanumab)、依更妥单抗(elgemtumab)、埃罗妥珠单抗(elotuzumab) (**EMPLICITI[®]**)、艾西莫单抗(elsilimomab)、依米妥珠单抗(emactuzumab)、依玛鲁单抗(emapalumab) (**GAMIFANT[®]**)、依玛妥珠单抗(emibetuzumab)、艾美赛珠单抗(emicizumab) (**HEMLIBRA[®]**)、恩泊妥单抗(enapotamab)、依那妥组单抗(enavatuzumab)、恩诺单抗(enfortumab) (**PADCEV[®]**)、恩莫单抗(enlimomab)、依诺妥珠单抗(enoblituzumab)、依库珠单抗(enokizumab)、依诺苏单抗(enoticumab)、恩妥昔单抗(ensituximab)、依匹莫单抗(epitumomab)、依普奈珠单抗(eptinezumab) (**VYEPTI[®]**)、依帕珠单抗(epratuzumab)、依瑞奈尤单抗(erenumab) (**AIMOVIG[®]**)、厄利珠单抗(erlizumab)、厄妥索单抗(ertumaxomab) (**REXOMUN[®]**)、埃达组单抗(etaracizumab) (**ABEGRIN[®]**)、艾替利单抗(etigilimab)、伊妥珠单抗(etrolizumab)、依维苏单抗(evinacumab)、依洛尤单抗(evolocumab) (**REPATHA[®]**)、艾韦单抗(exbivirumab)、法索单抗(fanolesomab) (**NEUTROSPEC[®]**)、法拉莫单抗(faralimomab)、法瑞西单抗(faricimab)、法妥组单抗(farletuzumab)、法司努单抗(fasinumab)、FBTA05、泛维珠单抗(felvizumab)、非扎奴单抗(fezakinumab)、菲巴妥珠单抗(fibatuzumab)、非拉妥组单抗(ficlatuzumab)、芬妥木单抗(figitumumab)、非利伏单抗(firivumab)、法兰妥单抗(flanvotumab)、夫来库单抗(fletikumab)、伏妥珠单抗(flotetuzumab)、芳妥珠单抗(fontolizumab) (**HUZAF[®]**)、福雷芦单抗(foralumab)、福拉韦单抗(foravirumab)、瑞玛奈珠单抗(fremanezumab) (**AJOVY[®]**)、非苏木单抗(fresolimumab)、弗洛西单抗(frovocimab)、夫卢维单抗(frunevetmab)、福拉奴单抗(fulranumab)、伏妥昔单抗(futuximab)、加那珠单抗(galcanezumab) (**EMGALITY[®]**)、加利昔单抗(galiximab)、甘妥单抗(gancotamab)、加尼妥单抗(ganitumab)、更汀芦单抗(gantenerumab)、加维莫单抗(gavilimomab)、格迪伏单抗(gedivumab)、吉妥珠单抗、吉伏组单抗(gevokizumab)、吉维单抗(gilvetmab)、瑾司鲁单抗(gimsilumab)、吉妥昔单抗(girentuximab)、格巴妥木单抗(glembatumumab)、戈利木单抗(golimumab) (**SIMPONI[®]**)、戈利昔单抗(gomiliximab)、古塞库单抗(guselkumab) (**TREMFYA[®]**)、huMy9-6、huMY9-6-IgG4-S228P、伊利尤单抗(ianalumab)、伊巴珠单抗(ibalizumab) (**TROGARZO[®]**)、IBI308、替伊莫单抗、伊库鲁单抗(icrucumab)、依达赛珠单抗(idarucizumab) (**PRAXBIND[®]**)、依法妥珠单抗(ifabotuzumab)、伊戈伏单抗(igovomab) (INDIMACIS-125)、伊达珠单抗(iladatuzumab)、IMAB362、伊玛鲁单抗(imalumab)、依玛利单抗(imaprelimab)、英西单抗(imciromab) (**MYOSCINT[®]**)、伊马曲单抗(imgatuzumab)、伊克拉单抗(inclacumab)、英达妥昔单抗、英度妥单抗(indusatumab)、伊奈利珠单抗(inebilizumab)、英夫利西单抗(infliximab) (**REMICADE[®]**)、英妥木单抗(intetumumab)、伊诺莫单抗(inolimomab)、伊珠单抗(inotuzumab)、iomab-B、伊匹单抗(ipilimumab)、伊妥木单抗(iratumumab)、伊沙妥昔单抗(**SARCLISA[®]**)、伊卡利单抗(iscalimab)、艾司妥单抗(istiratumab)、伊妥珠单抗(itolizumab)、依奇珠单抗(ixekizumab) (**TALTZ[®]**)、凯利昔单抗(keliximab)、拉贝珠单抗

(labetuzumab) (CEA-CIDETM)、拉妥珠单抗(lacnotuzumab)、拉迪拉珠单抗(ladiratuzumab)、兰帕利珠单抗(lampalizumab)、拉那利尤单抗(lanadelumab) (TAKHZYRO[®])、兰洛珠单抗(landogrozumab)、拉妥昔单抗(laprituximab)、拉韦昔单抗(larcaviximab)、来瑞组单抗(lebrikizumab)、来马索单抗(lemalesomab)、兰达丽珠单抗(lendalizumab)、伦韦单抗(lenvervimab)、仑兹鲁单抗(lenzilumab)、乐德木单抗(lerdelimumab)、乐利单抗(leronlimab)、来索伏单抗(lesofavumab)、来利珠单抗(letolizumab)、来沙木单抗(lexatumumab)、利韦单抗(libivirumab)、利法妥珠单抗(lifastuzumab)、利戈组单抗(ligelizumab)、利洛托单抗(lilotomab)、林妥珠单抗、利瑞鲁单抗(lirilumab)、洛迪赛珠单抗(lodelcizumab)、洛吉维单抗(lokiivetmab)、朗妥昔单抗(loncastuximab)、洛沃妥珠单抗(lorvotuzumab)、罗妥昔珠单抗(losatuxizumab)、卢卡木单抗(lucatumumab)、鲁利珠单抗(lulizumab)、鲁昔单抗(lumiliximab)、鲁妥珠单抗(lumretuzumab)、鲁帕妥单抗(lupartumab)、鲁吉珠单抗(lutikizumab)、马帕木单抗(mapatumumab)、马吉妥昔单抗(margetuximab)、马塔西单抗(marstacimab)、马司莫单抗(maslimomab)、马妥珠单抗(matuzumab)、马夫利列单抗(mavrilimumab)、美泊利珠单抗(mepolizumab) (NUCALA[®])、美替木单抗(metelimumab)、米拉组单抗(milatuzumab)、明瑞莫单抗(minretumomab)、米吉珠单抗(mirikizumab)、米维妥昔单抗(mirvetuximab)、米妥莫单抗(mitumomab)、莫妥昔单抗(modotuximab)、莫那利珠单抗(molalizumab)、莫格利珠单抗(mogamulizumab) (POTELIGEO[®])、莫罗木单抗(morolimumab)、莫妥珠单抗(mosunetuzumab)、莫维组单抗(motavizumab) (NUMAX[®])、莫塞妥莫单抗(moxetumomab) (LUMOXITI[®])、莫罗单抗-CD3(muromonab-CD3) (ORTHOCLONE OKT3[®])、纳可洛单抗(nacolomab)、那美芦单抗(namilumab)、那普妥莫单抗(naptumomab)、那妥昔单抗(naratuximab)、那呐妥单抗(narnatumab)、那他珠单抗(natalizumab) (TYSABRI[®])、那赛昔珠单抗(navicixizumab)、那韦伏单抗(navivumab)、那西妥单抗(naxitamab)、奈巴库单抗(nebacumab)、耐昔妥珠单抗(necitumumab) (PORTRAZZA[®])、奈莫利珠单抗(nemolizumab)、NEOD001、奈瑞莫单抗(nerelimomab)、奈伐苏单抗(nesvacumab)、尼塔奇单抗(netakimab)、尼妥珠单抗(nimotuzumab) (THERACIM[®])、尼塞韦单抗(nirsevimab)、纳武利尤单抗(nivolumab)、诺非妥莫单抗(nofetumomab)、奥托萨昔单抗(obiltoxaximab) (ANTHIM[®])、奥比妥珠单抗、奥卡妥珠单抗(ocaratuzumab)、奥克莱珠单抗(ocrelizumab) (OCREVUS[®])、奥度莫单抗(odulimumab)、奥法木单抗(ARZERRA[®])、奥拉单抗(LARTRUVO[®])、奥来鲁单抗(oleclumab)、奥仑达利珠单抗(olendalizumab)、奥洛组单抗(olokizumab)、奥马珠单抗(omalizumab) (XOLAIR[®])、奥博妥单抗(omburtamab)、OMS721、奥那妥组单抗(onartuzumab)、翁特殊单抗(ontecizumab)、昂妥昔珠单抗(ontuxizumab)、奥瓦利单抗(onvatilimab)、奥匹努单抗(opicinumab)、奥珀妥珠单抗(oportuzumab)、奥瑞戈伏单抗(OVAREX)、奥替苏单抗(orticumab)、奥昔组单抗(otelixizumab)、奥替利单抗(otilimab)、奥乐妥珠单抗(otlertuzumab)、奥塞芦单抗(oxelumab)、奥扎尼珠单抗(ozanezumab)、吉妥珠单抗(ozogamicin)、奥利组单抗(ozoralizumab)、帕昔单抗

(pagibaximab)、帕利珠单抗 (palivizumab) (**SYNAGIS[®]**)、潘瑞鲁单抗 (pamrevlumab)、帕尼单抗 (**VECTIBIX[®]**)、潘科曼单抗 (pankomab)、帕巴库单抗 (panobacumab)、帕萨妥珠单抗 (parsatuzumab)、帕考珠单抗 (pascolizumab)、帕妥昔单抗 (pasotuxizumab)、帕替组单抗 (pateclizumab)、帕曲妥单抗 (patritumab)、PDR001、帕博利珠单抗 (pembrolizumab)、彭妥姆单抗 (pemtumomab) (**THERAGYN[®]**)、培拉凯珠单抗 (perakizumab)、帕妥珠单抗 (**OMNITARG[®]**)、培克珠单抗 (pexelizumab)、匹地利珠单抗 (pidilizumab)、匹那妥珠单抗 (pinatuzumab)、平妥莫单抗 (pintumomab)、普拉库单抗 (placulumab)、泊洛妥珠单抗 (polatuzumab) (Polivy)、普瑞鲁单抗 (prezalumab)、洛扎利珠单抗 (plozalizumab)、泊加珠单抗 (pogalizumab)、泊奈组单抗 (ponezumab)、珀韦昔单抗 (porgaviximab)、普尼珠单抗 (prasinezumab)、普利扎丽珠单抗 (prezalizumab)、普立昔单抗 (priliximab)、瑞托萨昔单抗 (pritoxaximab)、普托本单抗 (pritumumab)、PRO 140、奎利珠单抗 (quilizumab)、雷妥莫单抗 (racotumomab)、雷曲妥单抗 (radretumab)、雷韦单抗 (rafivirumab)、雷泮赛珠单抗 (ralpancizumab)、雷莫芦单抗 (ramucirumab)、雷奈维单抗 (ranevetmab)、兰尼单抗 (ranibizumab) (**LUCENTIS[®]**)、拉伐加单抗 (ravagalimab)、依库珠单抗 (ravulizumab) (**ULTOMIRIS[®]**)、雷昔库单抗 (raxibacumab)、瑞法奈珠单抗 (refanezumab)、瑞加韦单抗 (regavirumab)、REGN-EB3、瑞拉利单抗 (renatlimab)、壬托鲁单抗 (remtolumab)、瑞替珠单抗 (reslizumab) (**CINQAIR[®]**)、利妥木单抗 (rilotumumab)、利努苏单抗 (rinucumab)、瑞莎珠单抗 (risankizumab) (**SKYRIZI[®]**)、利妥昔单抗 (**RITUXAN[®]**)、利伐巴珠单抗 (rivabazumab)、核糖单抗 (rmab)、罗妥木单抗 (robatumumab)、罗来度单抗 (roledumab)、若奇单抗 (romilkimab)、罗莫珠单抗 (romosozumab) (**EVENITY[®]**)、罗利珠单抗 (rontalizumab)、洛曼妥珠单抗 (rosmantuzumab)、洛伐妥珠单抗 (rovalpituzumab)、罗维珠单抗 (rovelizumab) (**LEUKARREST[®]**)、洛利昔单抗 (rozanolixizumab)、卢利珠单抗 (ruplizumab) (ANTOVA)、SA237、沙西妥珠单抗、萨马珠单抗 (samalizumab)、沙马妥单抗 (samrotamab)、沙利鲁单抗 (sarilumab) (**KEVZARA[®]**)、萨特利珠单抗 (satralizumab)、沙妥莫单抗喷地肽 (satumomab pendetide)、司库奇尤单抗 (secukinumab) (**COSENTYX[®]**)、塞鲁单抗 (selicrelumab)、瑟瑞妥单抗 (seribantumab)、瑟托萨昔单抗 (setoxaximab)、赛图苏单抗 (setrusumab)、司韦单抗 (sevirumab)、SGN-CD19A、SHP647、西罗珠单抗 (sibrotuzumab)、西法木单抗 (sifalimumab)、司妥昔单抗 (siltuximab)、辛妥珠单抗 (simtuzumab)、西利珠单抗 (siplizumab)、斯妥尤单抗 (sirtratumab)、西鲁库单抗 (sirukumab)、索非妥珠单抗 (sofituzumab)、苏兰组单抗 (solanezumab)、索利托单抗 (solitomab)、索耐珠单抗 (sonepcizumab)、松妥组单抗 (sontuzumab)、斯巴达珠单抗 (spartalizumab)、司他芦单抗 (stamulumab)、STI-6129、硫索单抗 (sulesomab) (**LEUKOSCAN[®]**)、舒他伏单抗 (suptavumab)、苏替莫单抗 (sutimlimab)、舒维组单抗 (suvizumab)、苏托舒单抗 (suvrattoxumab)、他贝芦单抗 (tabalumab)、替组单抗 (tacatuzumab) (**AFP-CIDE[®]**)、他度组单抗 (tadocizumab)、塔妥珠单抗 (talacotuzumab)、他利珠单抗 (talizumab)、坦妥维单抗 (tamtuvetmab)、他尼组单抗 (tanezumab)、帕他莫单

抗(taplutumomab paptox)、他瑞妥单抗(tarextumab)、他利昔珠单抗(tavolimab)、替非组单抗(tefibazumab) (**AUREXIS[®]**)、替利单抗(telimomab)、特立妥珠单抗(telisotuzumab)、特度鲁单抗(tesidolumab)、泰坦单抗(tetraxetan)、特土洛单抗(tetulomab)、特那妥单抗(tenatumomab)、替奈昔单抗(teneliximab)、替妥木单抗(teprotumumab) (**TEPEZZA[®]**)、替利组单抗(teplizumab)、特折鲁单抗(tezepelumab)、TGN1412、替布利珠单抗(tibulizumab)、替西木单抗(**TREMELIMUMAB[®]**)、替加组单抗(tigatuzumab)、替米妥珠单抗(timigutuzumab)、替莫鲁单抗(timolumab)、替瑞利尤单抗(tiragolumab)、替古妥单抗(tiragotumab)、替雷利珠单抗(tislelizumab)、替索妥单抗(tisotumab)、替伊莫单抗(tiuxetan)、替拉珠单抗(til-drakizumab) (**ILUMYA[®]**)、TNX-650、托西珠单抗(阿特立单抗、**ACTEMRA[®]**)、托木妥昔单抗(tomuzotuximab)、托拉珠单抗(toralizumab)、托萨托舒单抗(tosatouxumab)、托西莫单抗(**BEXXAR[®]**)、托维妥单抗(tovetumab)、曲罗芦单抗(tralokinumab)、曲妥珠单抗(**HERCEPTIN[®]**)、TRBS07、曲利组单抗(tregalizumab)、曲美木单抗、曲戈卢单抗(trevogrumab)、西莫白介素单抗(tucotuzumab)、妥韦单抗(tuvirumab)、乌珠单抗(urtoxazumab)、优特克单抗(ustekinumab) (**STELERA[®]**)、乌妥昔单抗(ubl-tuximab)、乌洛鲁单抗(ulocuplumab)、乌瑞芦单抗(urelumab)、乌托鲁单抗(utomilumab)、伐达妥昔单抗(vadastuximab)、瓦纳利单抗(vanalimab)、万多妥珠单抗(vandortuzumab)、万替妥单抗(vantictumab)、伐努赛珠单抗(vanucizumab)、伐利昔单抗(vapaliximab)、伐利苏单抗(varisacumab)、伐立鲁单抗(varlilumab)、伐利组单抗(vatelizumab)、维得利珠单抗(vedolizumab)、维妥珠单抗、威帕利莫单抗(vepalimomab)、维森库单抗(vesencumab)、维西珠单抗(visilizumab) (**NUVION[®]**)、沃巴利珠单抗(vobarilizumab)、伏洛昔单抗(volociximab) (**HUMASPECT[®]**)、珀伽利珠单抗(vonlerolizumab)、伏派利单抗(vopratelimab)、沃瑟妥珠单抗(vorsetuzumab)、伏妥莫单抗(votumumab)、伏那吉珠单抗(vunakizumab)、珍妥珠单抗(xentuzumab)、XMAB-5574、扎妥木单抗(zalutumumab) (HuMEX-EGFr)、扎诺莫单抗(zanolimumab) (HuMAX-CD4)、扎妥昔单抗(zatuximab)、泽妥珠单抗(zenocutuzumab)、齐拉木单抗(ziralimumab)、佐妥昔单抗(zolbetuximab)或佐莫单抗(zolimomab)。

[0199] 在一些方面中,可用于本公开的结合部分包含抗CD33抗体或其抗原结合部分。CD33在大约90%的急性髓性白血病(AML)病例中表达,且已证明可用作治疗性抗体的靶标。大约三十年前已经报导了AML胚细胞上的高CD33表达。在85-90%的AML患者的胚细胞以及正常骨髓前驱细胞及骨髓细胞上检测到CD33。CD33仅限于造血细胞,但在正常造血干细胞上不存在,使其成为AML治疗的理想靶标。

[0200] 本公开的缀合物的抗CD33抗体能够特异性结合CD33。在一些方面中,本文所述的抗CD33抗体以高亲和力,例如以 10^{-6} M或更低、 10^{-7} M或更低、 10^{-8} M或更低、 10^{-9} M或更低、 10^{-10} M或更低、 10^{-11} M或更低、 10^{-12} M或更低、 10^{-12} M至 10^{-7} M、 10^{-11} M至 10^{-7} M、 10^{-10} M至 10^{-7} M或 10^{-9} M至 10^{-7} M的 K_D 结合人类CD33。

[0201] 在一些方面中,抗CD33抗体包含重链及轻链,其中重链包含重链可变区(VH),且轻链包含轻链可变区(VL);其中VH包含VH互补决定区(CDR)1(VH-CDR1)、VH-CDR2及VH-CDR3,

且VL包含VL-CDR1、VL-CDR2及VL-CDR3;其中VH-CDR3包含与SEQ ID NO:3具有至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的氨基酸序列。在一些方面中,抗CD33抗体包含VH-CDR2,其包含与SEQ ID NO:2的氨基酸序列具有至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的氨基酸序列。在一些方面中,抗CD33抗体包含VH-CDR1,其包含与SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的氨基酸序列。在一些方面中,抗CD33抗体包含VL-CDR1,其包含与SEQ ID NO:5的氨基酸序列具有至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的氨基酸序列。在一些方面中,抗CD33抗体包含VL-CDR2,其包含与SEQ ID NO:6的氨基酸序列具有至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的氨基酸序列。在一些方面中,抗CD33抗体包含VL-CDR3,其包含与SEQ ID NO:7的氨基酸序列具有至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的氨基酸序列。在一些方面中,CDR包含下表1中所示的序列。

[0202] 表1.CDR序列及可变区序列

[0203]	VH-CDR1 (SEQ ID NO: 1)	DSNIH
	VH-CDR2 (SEQ ID NO: 2)	YIYPYNGGTDYNQKFKN
	VH-CDR3 (SEQ ID NO: 3)	GNPWLAY
	VH (SEQ ID NO: 4)	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTITDSNIHWVRQAPGQSL EWIGYIYPYNGGTDYNQKFKNRATLTVDNPTNTAYMELSSLRSED TAFYYCVNGNPWLAYWGQGTLVTVSS
	VL-CDR1 (SEQ ID NO: 5)	RASESLDNYGIRFLT
	VL-CDR2 (SEQ ID NO: 6)	AASNQGS
	VL-CDR3 (SEQ ID NO: 7)	QQTKEVPWS
	VL (SEQ ID NO: 8)	DIQLTQSPSTLSASVGDRTITCRASESLDNYGIRFLTWFAQKPGK APKLLMYAASNQGSVPSPRFSFGSGSGTEFTLTISSLQPDFFATYYC QQTKEVPWSFGQGTKVEVK

[0204] 在一些方面中,抗CD33抗体重链可变区包含与SEQ ID NO:4的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的氨基酸序列。在一些方面中,抗CD33抗体轻链可变区包含与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的氨基酸序列。

[0205] 在一些方面中,抗CD33抗体包含:重链可变区,其包含与SEQ ID NO:4的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的序列;及轻链可变区,其包含与SEQ ID NO:8的氨基酸序

列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的序列。

[0206] 在一些方面中,抗CD33抗体重链包含与SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:11具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的氨基酸序列。在一些方面中,抗CD33抗体包含轻链,其包含与SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:12具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的氨基酸序列。

[0207] 表2.抗CD33抗体氨基酸序列。

[0208]

CD33AB 重链 (SEQ ID NO: 9)	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTITDSNIHWVRQAPGQSLEWIG YIYPYNGGTDYNQKFKNRATLTVDNPTNTAYMELSSLRSEDTAFYYCVN GNPWLAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWSNGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYA STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPP VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
CD33AB 轻链 (SEQ ID NO: 10)	DIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASESLDNYGIRFLTWFFQKPGKAPKLL MYAASNQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQTKEVPWS FGQGTKVEVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC
吉妥珠单抗 重链 (SEQ ID NO: 11)	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTITDSNIHWVRQAPGQSLEWIG YIYPYNGGTDYNQKFKNRATLTVDNPTNTAYMELSSLRSEDTAFYYCVN GNPWLAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD YFPEPVTVSWSNGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI TCNVDPHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL DSDGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
吉妥珠单抗 轻链 SEQ ID NO: 12)	DIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASESLDNYGIRFLTWFFQKPGKAPKLL MYAASNQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQTKEVPWS FGQGTKVEVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC

[0209] 在一些方面中,抗CD33抗体包含:重链,其包含与SEQ ID NO:9具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的氨基酸序列;及轻链,其包含与SEQ ID NO:10具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的氨基酸序列。术语“CD33AB”包含如SEQ ID NO:9所列的重链及如SEQ ID NO:10所列的轻链。

[0210] 在一些方面中,抗CD33抗体包含:重链,其包含与SEQ ID NO:11具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的氨基酸序列;及轻链,其包含与SEQ ID NO:12具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的氨基酸序列。

[0211] 在一些方面中,抗CD33抗体公开于美国专利第5,585,089号、US 5,693,762中,其各自明确以引用方式并入本文。

[0212] 在一些方面中,抗CD33抗体包含重链及轻链,其中重链包含重链可变区(VH),且轻链包含轻链可变区(VL);其中VH包含VH互补决定区(CDR)1(VH-CDR1)、VH-CDR2及VH-CDR3,且VL包含VL-CDR1、VL-CDR2及VL-CDR3;其中VH-CDR3包含与SEQ ID NO:15具有至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的氨基酸序列。在一些方面中,抗CD33抗体包含VH-CDR2,其包含与SEQ ID NO:14的氨基酸序列具有至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的氨基酸序列。在一些方面中,抗CD33抗体包含VH-CDR1,其包含与SEQ ID NO:13的氨基酸序列具有至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的氨基酸序列。在一些方面中,抗CD33抗体包含VL-CDR1,其包含与SEQ ID NO:18的氨基酸序列具有至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的氨基酸序列。在一些方面中,抗CD33抗体包含VL-CDR2,其包含与SEQ ID NO:19的氨基酸序列具有至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的氨基酸序列。在一些方面中,抗CD33抗体包含VL-CDR3,其包含与SEQ ID NO:20的氨基酸序列具有至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的氨基酸序列。在一些方面中,CDR包含下表3中所示的序列。

[0213] 表3.huMy9-6及huMy9-6-IgG4-S228P CDR序列及可变区序列

[0214]

VH-CDR1 (SEQ ID NO: 13)	SYYYIH
VH-CDR2 (SEQ ID NO: 14)	VIYPGNDDISYNQKFQG
VH-CDR3 (SEQ ID NO: 15)	EVRLRYFDV
VH (SEQ ID NO: 16)	QVQLQQPGAIEVVKPGASVKMSCKASGYTFTSYYYIHWIKQTPGQG LEWVGVIYPGNDDISYNQKFQGKATLTADKSSTTAYMQLSSLTSE DSAVYYCAREVRLRYFDVWGQGTTVTVSS
VL-CDR1 (SEQ ID NO: 17)	KSSQSVFFSSSQKNYLA
VL-CDR2 (SEQ ID NO: 18)	WASTRES
VL-CDR3 (SEQ ID NO: 19)	HQYLSSRT
VL (SEQ ID NO: 20)	EIVLTQSPGSLAVSPGERVTMSCKSSQSVFFSSSQKNYLA WYQQIPGQSPRLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFLTITSSVQPEDLAIYY CHQYLSSRTFGQGTKLEIK

[0215] 在一些方面中,抗CD33抗体重链可变区包含与SEQ ID NO:16的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的氨基酸序列。在一些方面中,抗CD33抗体轻链可变区包含与SEQ ID NO:20的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的氨基酸序列。

[0216] 在一些方面中,抗CD33抗体包含:重链可变区,其包含与SEQ ID NO:16的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的序列;及轻链可变区,其包含与SEQ ID NO:20的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的序列。

[0217] 在一些方面中,抗CD33抗体重链包含与SEQ ID NO:21具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的氨基酸序列。在一些方面中,抗CD33抗体包含轻链,其包含与SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:22具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的氨基酸序列。

[0218] 表4.huMy9-6-IgG4-S228P抗体氨基酸序列。

[0219]

重链 (SEQ ID NO: 21)	QVQLQQPGAIEVVKPGASVKMSCKASGYTFTSYIHWIKQTPGQGLEW VGVIYPGNDISYNQKFQGKATLTADKSSTTAYMQLSSLTSEDSAVYY CAREVRLRYFDVWGQGTITVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTKITYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEAL HNHYTQKSLSLGLK
轻链 (SEQ ID NO: 22)	EIVLTQSPGSLAVSPGERVTMSCKSSQSVFFSSQKNYLAWYQQIPGQS PRLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISVQPEDLAIIYCHQYLS SRTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0220] 在一些方面中,抗CD33抗体包含:重链,其包含与SEQ ID NO:21具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的氨基酸序列;及轻链,其包含与SEQ ID NO:22具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列一致性的氨基酸序列。抗CD33抗体包含如SEQ ID NO:21所列的重链及如SEQ ID NO:22所列的轻链。

[0221] “结合”分子靶标或感兴趣的抗原的抗体为能够以足够的亲和力结合该抗原以使该抗体可用于靶向表达该抗原的细胞的抗体。

[0222] 在本公开中,基团“Bm”可与多于一个新降解剂缀合。在一些方面中,“Bm”可与1至10个新降解剂缀合。在一些方面中,“Bm”可与1至9个新降解剂缀合。在一些方面中,“Bm”可与1至8个新降解剂缀合。在一些方面中,“Bm”可与1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个新降解剂缀合。在一些方面中,“Bm”可与7或8个新降解剂缀合。在一些方面中,“Bm”与5个新降解剂缀合。在一些方面中,“Bm”与6个新降解剂缀合。在一些方面中,“Bm”与7个新降解剂缀合。在一些方面中,“Bm”与8个新降解剂缀合。在一些方面中,“Bm”与9个新降解剂缀合。

[0223] IV. 组合物及使用方法

[0224] 本文所述的缀合物和/或化合物可为药学上或药学上可接受的盐的形式。在一些方面中,此类盐衍生自无机或有机酸或碱。

[0225] 合适的酸加成盐的实施例包括乙酸盐、己二酸盐、藻酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、硫酸氢盐、丁酸盐、柠檬酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、反丁烯二酸盐、葡庚糖酸盐(lucoheptanoate)、甘油磷酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、2-羟基乙磺酸盐、乳酸盐、顺丁烯二酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟碱酸盐、草酸盐、双羟萘酸盐(pamoate)、果冻酸盐(pectinate)、过硫酸盐、3-苯丙酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、甲苯磺酸盐及十一酸盐。

[0226] 合适的碱加成盐的实施例包括铵盐;碱金属盐,诸如钠盐及钾盐;碱土金属盐,诸

如钙盐及镁盐;与有机碱的盐,诸如二环己胺盐、N-甲基-D-葡萄糖胺;及与氨基酸诸如精氨酸、赖氨酸及类似者的盐。

[0227] 例如,Berge列出了以下FDA批准的市售盐:阴离子乙酸盐、苯磺酸盐(besylate/benzenesulfonate)、苯甲酸盐、碳酸氢盐、酒石酸氢盐、溴化物、依地酸钙(乙二胺四乙酸盐)、樟脑磺酸盐(camsylate/camphorsulfonate)、碳酸盐、氯化物、柠檬酸盐、二盐酸盐、依地酸盐(乙二胺四乙酸盐)、乙二磺酸盐(1,2-乙二磺酸盐)、硫酸月桂酯盐(estolate/lauryl sulfate)、乙磺酸盐(esylate/ethanesulfonate)、反丁烯二酸盐、葡庚糖酸盐(glucaptate/glucoheptonate)、葡萄糖酸盐、谷氨酰胺、对羟乙酰胺基苯肿酸盐(glycollylarsanilate/glycollamidophenylarsonate)、己基间苯二酚酸盐(hexylresorcinate)、海巴胺(hydrabamine)(N,N'-二(脱氢枞基)乙二胺)、氢溴酸盐、盐酸盐、羟基萘甲酸盐、碘化物、羟乙基磺酸盐(2-羟基乙磺酸盐)、乳酸盐、乳糖酸盐、苹果酸盐、顺丁烯二酸盐、苯乙醇酸盐、甲磺酸盐(mesylate/methanesulfonate)、甲基溴化物、甲基硝酸盐、甲基硫酸盐、黏酸盐、萘磺酸盐(2-萘磺酸盐)、硝酸盐、双羟基萘酸盐(pamoate/embonate)、泛酸盐、磷酸盐/二磷酸盐、聚半乳糖醛酸盐(polygalacturonate)、水杨酸盐、硬脂酸盐、次乙酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、单宁酸盐、酒石酸盐、茶氯酸盐(teoclolate)(8-氯茶酸盐(8-chlorotheophyllinate))及三乙碘化物;有机阳离子苄星(benzathine)(N,N'-二苄基乙二胺)、氯普鲁卡因、胆碱、二乙醇胺、乙二胺、葡甲胺(N-甲基葡萄糖胺)及普鲁卡因;及金属阳离子铝、钙、锂、镁、钾、钠及锌。

[0228] Berge另外列出了以下非FDA批准的市售(美国以外)盐:阴离子己二酸盐、海藻酸盐、氨基水杨酸盐、无水亚甲基柠檬酸盐、槟榔碱、天冬氨酸盐、硫酸氢盐、丁基溴化物、樟脑酸盐、二葡萄糖酸盐、二氢溴酸盐、二琥珀酸盐、甘油磷酸盐、半硫酸盐、氢氟酸盐、氢碘酸盐、亚甲基双(水杨酸盐)、萘二磺酸盐(1,5-萘二磺酸盐)、草酸盐、果冻酸盐、过硫酸盐、苯乙基巴比妥酸盐、苦味酸盐、丙酸盐、硫氰酸盐、甲苯磺酸盐及十一烷酸盐;有机阳离子苄乙胺(benethamine)(N-苄基苄乙胺)、克立咪唑(clemizole)(1-对氯苄基-2-吡咯烷-1'-基甲基苯并咪唑)、二乙胺、哌嗪及三木甲胺(tromethamine)(参(羟甲基)氨基甲烷);及金属阳离子钡及铋。

[0229] 包含本文所述的新降解剂缀合物的药物组合物亦可包含合适的载剂、赋形剂及助剂,其可根据施用方式而不同。

[0230] 在一些方面中,药物组合物可调配成合适的肠胃外剂型。所述调配物可通过本领域已知的各种方法制备。药物组合物可直接施用至血流中、肌肉中或直接施用至器官中。用于肠胃外施用的合适手段包括静脉内施用、动脉内施用、腹膜内施用、鞘内施用、心室内施用、尿道内施用、胸骨内施用、颅内施用、肌肉内施用及皮下施用。用于肠胃外施用的合适装置包括针式注射器、无针注射器及输注技术。

[0231] 肠胃外组合物通常为水溶液,其可含有赋形剂诸如盐、碳水化合物及缓冲剂。然而,组合物亦可调配成无菌非水溶液或成干燥形式以与合适的溶媒诸如无菌无热原水一起使用。

[0232] 在无菌条件下制备肠胃外组合物,例如通过冻干,可使用本领域技术人员熟知的标准技术容易地完成。

[0233] 用于肠胃外施用的组合物可调配成立即释放和/或修饰释放。修饰释放调配物包

括延迟释放、持续释放、脉冲释放、控制释放、靶向释放及程序化释放。因此,可将组合物调配成固体、半固体或触变液体,以作为提供活性剂的修饰释放的植入贮库施用。

[0234] 肠胃外调配物可与用于肠胃外剂型的其他合适的药学上可接受的赋形剂混合,诸如但不限于防腐剂。

[0235] 在另一方面中,药物组合物可调配成合适的口服剂型,诸如片剂、胶囊剂、散剂、丸剂、悬液剂、溶液、乳剂及类似者。可存在其他合适的载剂,诸如崩解剂、稀释剂、螯合剂、黏合剂、助滑剂、润滑剂、填充剂、增量剂、抗黏附剂及类似者。

[0236] 口服剂型亦可含有其他合适的药物赋形剂,诸如甜味剂、溶媒/润湿剂、着色剂、调味剂、防腐剂、增黏剂/增稠剂及类似者。

[0237] 本文所述的新降解剂缀合物可用于治疗各种癌症。本公开的某些缀合物就功效表达、药物动力学(例如,吸收、分布、代谢、排泄)、溶解性(例如,水溶性)、与其他药剂的相互作用(例如,药物代谢酶抑制作用)、安全性(例如,急性毒性、慢性毒性、遗传毒性、生殖毒性、心脏毒性、致癌性、中枢毒性)和/或稳定性(例如,化学稳定性、对酶的稳定性)而言可为优越的,且可用作药剂。

[0238] 本公开的新降解剂缀合物可用作药剂,诸如用于预防或治疗疾病的剂,疾病例如癌症,例如结肠直肠癌(例如,结肠直肠癌、直肠癌、肛门癌、家族性结肠直肠癌、遗传性非息肉病性结肠直肠癌、胃肠道间质瘤)、肺癌(例如,非小细胞肺癌、小细胞肺癌、恶性间皮瘤)、间皮瘤、胰腺癌(例如,胰腺导管癌、胰腺内分泌肿瘤)、咽癌、喉癌、食道癌、胃癌(stomach/gastric cancer)(例如,乳头状腺癌、黏液性腺癌、腺鳞癌)、十二指肠癌、小肠癌、乳腺癌(例如,侵袭性导管癌、非侵袭性导管癌、炎性乳腺癌)、卵巢癌(例如,卵巢上皮癌、性腺外生殖细胞肿瘤、卵巢生殖细胞肿瘤、卵巢低恶性潜能肿瘤(ovarian low-malignant potential tumor))、睾丸肿瘤、前列腺癌(例如,激素依赖性前列腺癌、非激素依赖性前列腺癌、去势抵抗性前列腺癌)、肝癌(例如,肝细胞癌、原发性肝癌、肝外胆管癌)、甲状腺癌(例如,甲状腺髓样癌)、肾癌(例如,肾细胞癌(例如,透明细胞肾细胞癌)、肾盂及输尿管移行细胞癌)、子宫癌(例如,宫颈癌、子宫体癌、子宫肉瘤)、妊娠绒毛膜癌、脑肿瘤(例如,髓母细胞瘤、神经胶质瘤、松果体星形细胞瘤、毛细胞星形细胞瘤、弥漫性星形细胞瘤、间变性星形细胞瘤、垂体腺瘤)、视网膜母细胞瘤、皮肤癌(例如,基底细胞瘤、恶性黑色素瘤)、肉瘤(例如,横纹肌肉瘤、平滑肌肉瘤、软组织肉瘤、梭形细胞肉瘤)、恶性骨肿瘤、膀胱癌、血液癌症(例如,多发性骨髓瘤、白血病(例如,急性髓性白血病)、恶性淋巴瘤、霍奇金病、慢性骨髓增生性疾病)、原发性不明的癌症;癌症生长抑制剂;癌症转移抑制剂;凋亡促进剂;用于治疗癌前病变(例如,骨髓增生异常综合征)的剂;及类似者。

[0239] 在某些方面中,本公开的新降解剂缀合物可用作治疗乳腺癌、胃癌、卵巢癌、子宫癌、肺癌、胰腺癌、肝癌、淋巴瘤或血液癌症的药剂。

[0240] 此外,本公开的新降解剂缀合物可与非药物疗法同时、在非药物疗法之前或在非药物疗法之后使用。准确地说,缀合物可与以下非药物疗法组合,诸如(1)手术,(2)使用血管紧张素II等的高血压化疗,(3)基因疗法,(4)热疗法,(5)冷冻疗法,(6)激光烧灼及(7)放射疗法。

[0241] 例如,通过在上述手术及类似者之前或之后使用本公开的新降解剂缀合物,可提供诸如防止出现耐药性、延长无疾病存活期、抑制癌症转移或复发、延长寿命及类似者的效

果。

[0242] 此外,有可能将用本公开的新降解剂缀合物的治疗与以下支持疗法组合:(i)施用抗生素(例如, β -内酰胺类诸如泛司博林(pansporin)及类似者,大环内酯类诸如克拉霉素及类似者),以用于各种感染性疾病的并发症,(ii)施用高热量输注、氨基酸制剂或一般维生素制剂,以改善营养不良,(iii)施用镇痛剂,以减轻疼痛,(iv)施用药剂,以用于改善副作用诸如恶心、呕吐、厌食、腹泻、白血球减少症、血小板减少症、血红蛋白浓度降低、脱发、肝病、肾病、DIC、发热及类似者,及(v)施用药剂,以用于抑制癌症的多重耐药性及类似者。

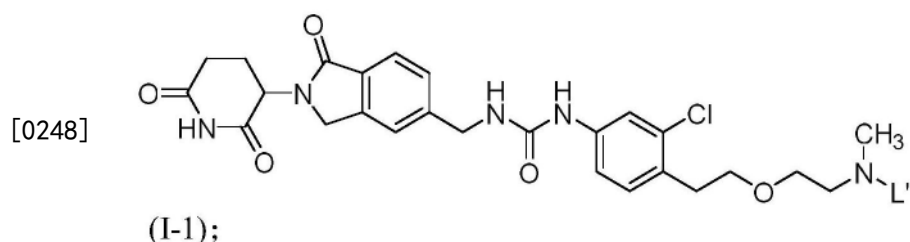
[0243] 在一些方面中,本公开的新降解剂或新降解剂缀合物可与标准护理疗法,例如一种或多种治疗剂(例如,抗癌剂和/或免疫调节剂)组合使用。因此,在某些方面中,治疗本文所公开的肿瘤的方法包含将本公开的新降解剂或新降解剂缀合物与一种或多种额外的治疗剂组合施用。在一些方面中,本公开的新降解剂或新降解剂缀合物可与一种或多种抗癌剂组合使用,例如,使得可靶向免疫途径的多个组件。在一些方面中,抗癌剂包含免疫检查点抑制剂(即,阻断透过特定免疫检查点途径的传讯)。可用于本发明方法的免疫检查点抑制剂的非限制性实施例包含CTLA-4拮抗剂(例如,抗CTLA-4抗体)、PD-1拮抗剂(例如,抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体)、TIM-3拮抗剂(例如,抗TIM-3抗体)或其组合。

[0244] 在一些方面中,本公开的新降解剂或新降解剂缀合物在施用额外的治疗剂之前或之后施用至个体。在其他方面中,本公开的新降解剂或新降解剂缀合物与额外的治疗剂同时施用至个体。在某些方面中,本公开的新降解剂或新降解剂缀合物及额外的治疗剂可作为药学上可接受的载剂中的单一组合物同时施用。在其他方面中,本公开的新降解剂或新降解剂缀合物及额外的治疗剂为作为单独的组合物同时施用。

[0245] 在一些方面中,可用本公开的新降解剂或新降解剂缀合物治疗的个体为非人类动物,诸如大鼠或小鼠。在一些方面中,可治疗的个体为人类。

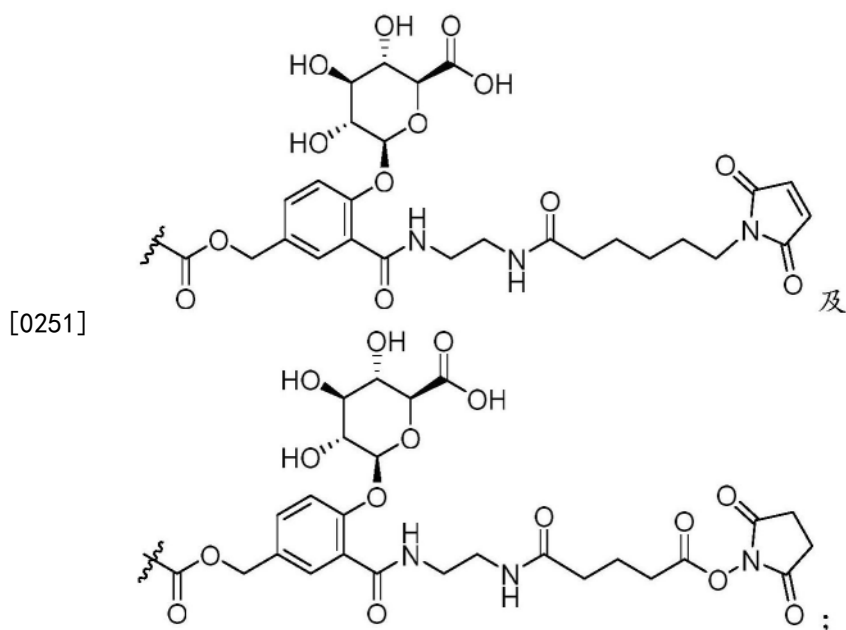
[0246] V. 制备新降解剂及组合物的方法

[0247] 本公开提供一种制备新降解剂缀合物的方法,该方法包含使结合部分与式(I-1)的化合物:



[0249] 或其药学上可接受的盐反应,其中:

[0250] L'为选自以下的接头前驱物:



[0252] 其中：

[0253] 为与氮原子的连接点。

[0254] 如本文所述，接头前驱物含有连接至结合部分的异双官能团。

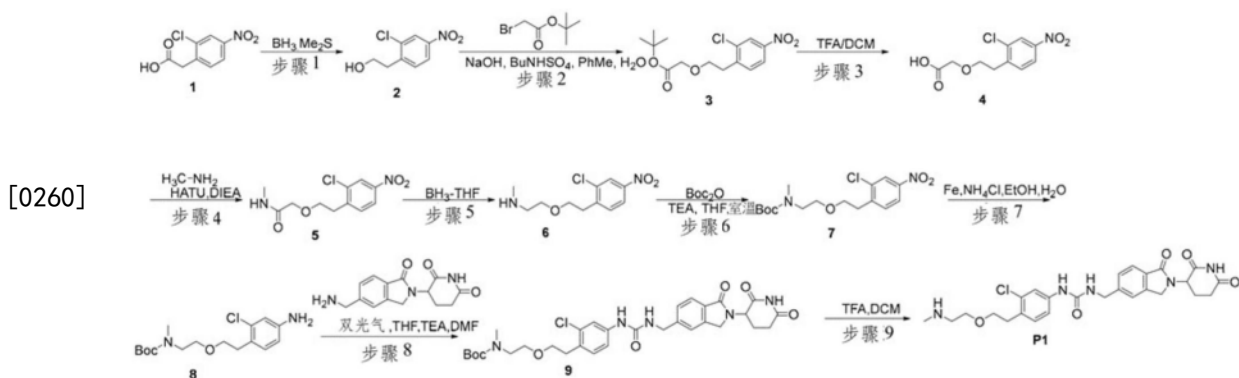
[0255] 在一些方面中，在结合部分与式 (I-1) 的化合物反应之前，对该结合部分进行预处理。在某些方面中，式 (I-1) 的化合物与结合部分反应，该结合部分包含抗体或其抗原结合部分。在结合部分为抗体的方面中，可在与式 (I-1) 的化合物反应之前对抗体进行预处理以减少链间二硫键。

[0256] 实施例

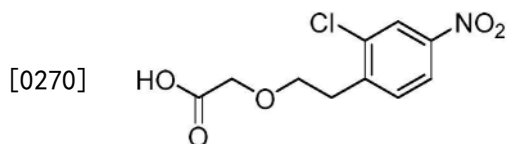
[0257] 一般合成方法及中间体

[0258] 本公开的化合物可由一般本领域技术人员根据本公开及此项技术的知识，和/或通过参考下文所示的方案及合成实施例来制备。示范性合成路线在以下方案及实施例中阐述。应当理解，出现在以下方案及实施例中的变量（例如“R”基团）应独立于出现在申请案中其他地方的变量来阅读。一般本领域技术人员将容易理解下文所示的方案及实施例如何说明本文所述的化合物的制备。

[0259] 方案中使用的缩写通常遵循本领域使用的惯例。说明书及实施例中使用的化学缩写定义如下：“Me”代表甲基；“Bu”代表丁基；“Ph”代表苯基；“TFA”代表三氟乙酸；“DCM”代表二氯甲烷；“HATU”代表N-[(二甲氨基)-1H-1,2,3-三唑并-[4,5-b]吡啶-1-基亚甲基]-N-甲基甲胺六氟磷酸盐N-氧化物；“THF”代表四氢呋喃；“BOC”或“Boc”代表三丁氧基羰基；“TEA”代表三乙胺；“EtOH”代表乙醇；“DMF”代表N,N-二甲基甲酰胺；“PE”代表石油醚；“EtOAc”代表乙酸乙酯；“DIEA”代表二异丙基乙胺；“MeOH”代表“甲醇”；h代表小时；min代表分钟；“Ac”代表乙酸盐；“EDCI”代表1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺；“HOBT”代表1-羟基苯并三唑水合物；“ACN”代表乙腈；“TCEP”代表(参(2-羧乙基)膦)；“DMA”代表N,N-二甲基乙酰胺；

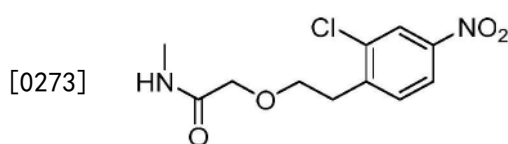


3.17-3.14(m, 2H), 1.45(s, 9H)。



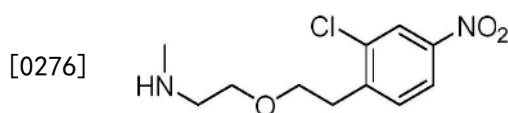
[0271] 步骤3:化合物4的合成

[0272] 在室温下,向经搅拌的2-[2-(2-氯-4-硝基苯基)乙氧基]乙酸三级丁酯(化合物3, 8.00g, 16.14mmol, 1.00当量, 63.7%)于DCM(80.00mL)中的溶液中逐滴添加TFA(16.00mL)。将所得混合物在室温下搅拌1h。将所得混合物在真空下浓缩。将所得混合物用水(500mL)稀释。将混合物用EtOAc(3x 500mL)萃取。将合并的有机层用盐水(200mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥。过滤后,将滤液在减压下浓缩。这产生呈黄色油状物的[2-(2-氯-4-硝基苯基)乙氧基]乙酸(6.5g,粗品)。LCMS(ESI):517(2M-H)⁻



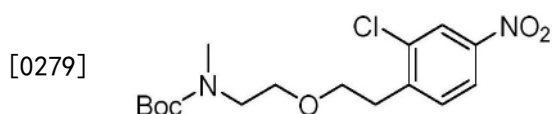
[0274] 步骤4:化合物5的合成

[0275] 在室温下,向经搅拌的[2-(2-氯-4-硝基苯基)乙氧基]乙酸(化合物4, 6.30g, 21.84mmol, 1.00当量, 90%)及HATU(12.46g, 32.76mmol, 1.50当量)在DMF(65.00mL)中的溶液中逐滴添加CH₃NH₂·HCl(1.77g, 26.21mmol, 1.20当量)及DIEA(15.20g, 117.8mmol, 4.00当量)。将所得混合物在室温下搅拌2h。将所得混合物用水稀释。将所得混合物用EtOAc(2x 100mL)萃取。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥。过滤后,将滤液在减压下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法(DCM:MeOH=10:1)纯化,得到呈黄色油状物的2-[2-(2-氯-4-硝基苯基)乙氧基]-N-甲基乙酰胺(10g,纯度:50%,产率:84%)。LCMS(ESI):273.28(M+H)⁺



[0277] 步骤5:化合物6的合成

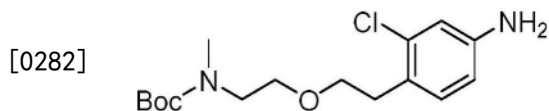
[0278] 在室温、氮气气氛下,向经搅拌的2-[2-(2-氯-4-硝基苯基)乙氧基]-N-甲基乙酰胺(化合物5, 3.3g, 12.10mmol, 1.00当量)于THF(35.00mL)中的溶液中逐滴添加BH₃·THF(于THF中1M)(12.10mL, 12.10mmol, 1.00当量)。将所得混合物在70℃、氮气气氛下搅拌2h。将反应应用MeOH淬灭。将残余物用1N HCl酸化至pH 6。将所得混合物用EtOAc(20mL)萃取。将水相用饱和NaHCO₃(饱和水溶液)碱化至pH 8。将所得混合物用EtOAc(3x 100mL)萃取,用盐水(50mL)洗涤且经无水Na₂SO₄干燥。过滤后,将滤液在减压下浓缩。这产生呈黄色油状物的[2-(2-氯-4-硝基苯基)乙氧基]乙基(甲基)胺(2.5g, 80%)。LCMS(ESI):259.26(M+H)⁺



[0280] 步骤6.化合物7的合成

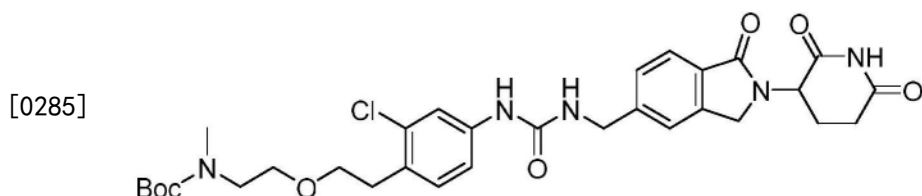
[0281] 在25℃下,向经搅拌的[2-[2-(2-氯-4-硝基苯基)乙氧基]乙基(甲基)胺(化合物

6, 2.50g, 9.69mmol, 1.00当量) 及Boc₂O (2.53g, 11.6mmol, 1.20当量) 于THF (40mL) 中的溶液中逐滴添加TEA (1.17g, 11.6mmol, 1.20当量)。将混合物在25℃下搅拌2h。将所得混合物在真空下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法 (DCM:MeOH=5:1) 纯化, 得到呈黄色油状物的N-[2-[2-(2-氯-4-硝基苯基) 乙氧基] 乙基]-N-甲基氨基甲酸三级丁酯 (1.70g, 50%)。LCMS (ESI): 359.36 (M+H)⁺



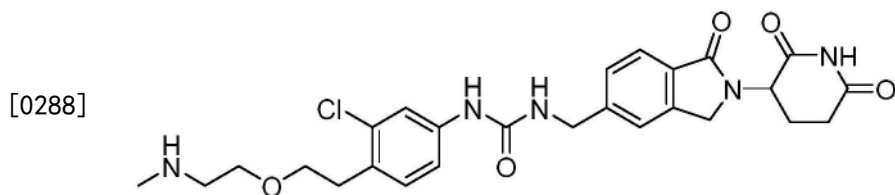
[0283] 步骤7: 化合物8的合成

[0284] 在25℃下, 向经搅拌的N-[2-[2-(2-氯-4-硝基苯基) 乙氧基] 乙基]-N-甲基氨基甲酸三级丁酯 (化合物7, 1.70g, 4.74mmol, 1.00当量) 及NH₄Cl (750mg, 14.2mmol, 3.00当量) 于EtOH (85mL) 及H₂O (17mL) 中的溶液中添加Fe (1.3g, 23.7mmol, 5.00当量)。将混合物在80℃下搅拌2h。将混合物冷却至室温。将所得混合物过滤, 且将滤饼用EtOH (3x 50mL) 洗涤。将滤液在减压下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法 (PE:EtOAc=4:1) 纯化, 得到呈黄色油状物的N-[2-[2-(4-氨基-2-氯苯基) 乙氧基] 乙基]-N-甲基氨基甲酸三级丁酯 (900mg, 58%)。LCMS (ESI): 329.33 (M+H)⁺



[0286] 步骤8: 化合物9的合成

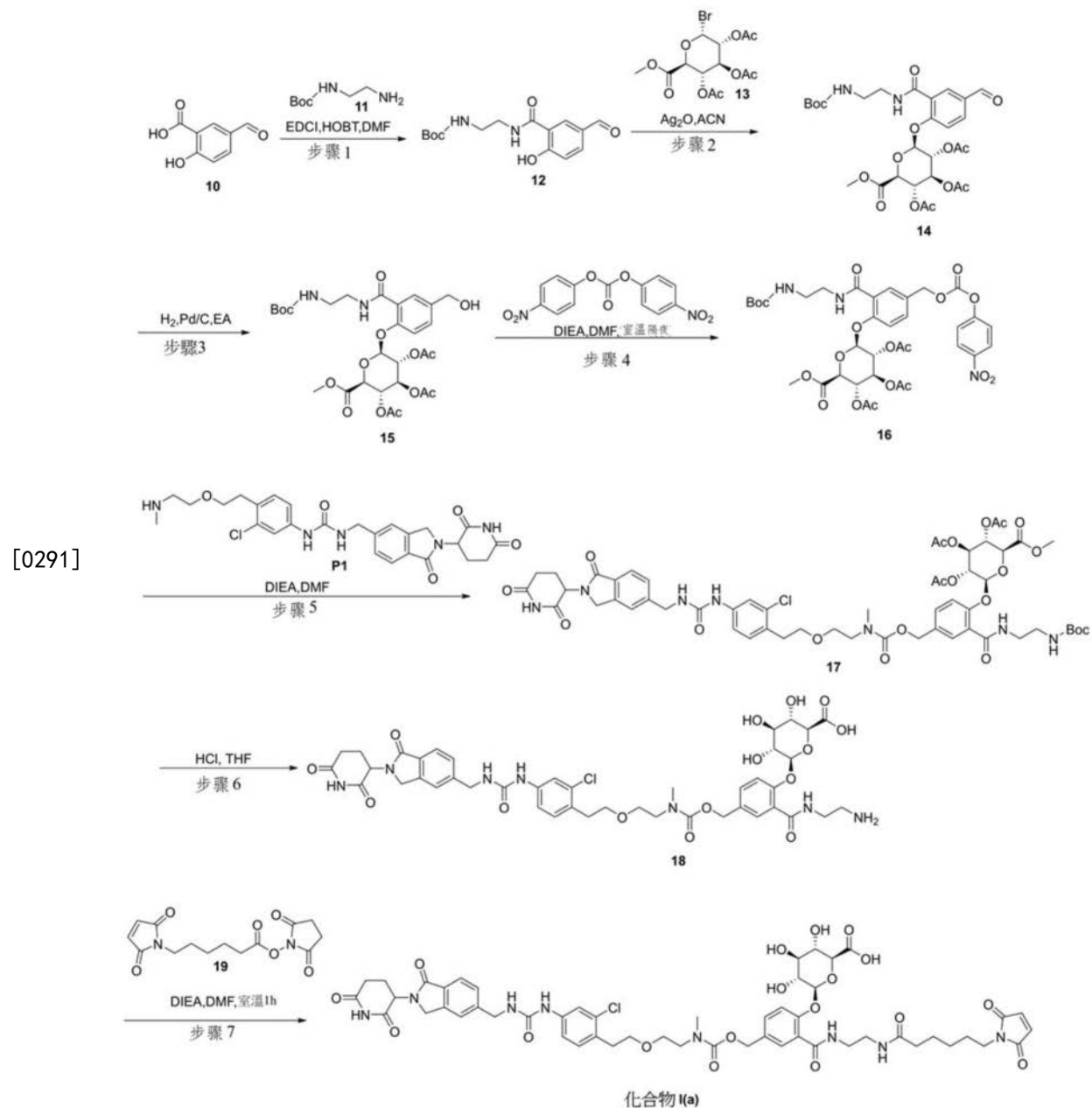
[0287] 在25℃下, 向经搅拌的N-[2-[2-(4-氨基-2-氯苯基) 乙氧基] 乙基]-N-甲基氨基甲酸三级丁酯 (化合物8, 500mg, 1.52mmol, 1.00当量) 于THF (10mL) 中的溶液中逐滴添加双光气 (601mg, 3.04mmol, 2.00当量)。将混合物在25℃下搅拌1h。将所得混合物在真空下浓缩且再溶解于DMF (5mL) 中。在25℃下, 向经搅拌的3-[5-(胺甲基)-1-氧代-3H-异吲哚-2-基] 哌啶-2,6-二酮 (INT1, 如下所述制备, 499mg, 1.82mmol, 1.20当量) 及TEA (1.56g, 15.45mmol, 10.00当量) 于DMF (20mL) 中的混合物中逐滴添加以上提及的溶液。将混合物在25℃下搅拌1h。将所得混合物用40mL冰水稀释。将所得混合物用EtOAc (3x 40mL) 萃取。将合并的有机层用盐水 (5x40 mL) 洗涤且经无水Na₂SO₄干燥。过滤后, 将滤液在减压下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法 (DCM:MeOH=10:1) 纯化, 得到呈白色固体的(2-(2-氯-4-(3-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基) 甲基) 氨基) 苯乙氧基) 乙基) (甲基) 氨基甲酸三级丁酯 (670mg, 70%)。LCMS: (ESI): 628.63 (M+H)⁺



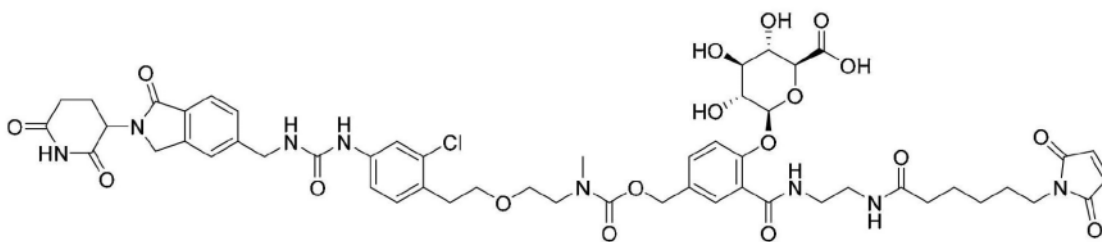
[0289] 步骤9: 新降解剂P1的合成

[0290] 在0℃下, 向经搅拌的N-[2-(2-[2-氯-4-([[(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代-

3H-异吲哚-5-基]甲基]氨基甲酰基)氨基]苯基]乙氧基)乙基]-N-甲基氨基甲酸三级丁酯(化合物9,670mg,1.07mmol,1当量)于DCM(10mL)中的溶液中逐滴添加TFA(2.5mL)。将混合物在25℃下搅拌1h。将所得混合物在真空中浓缩。将粗产物通过制备型HPLC在以下条件下纯化:柱,SunFire C18 OBD制备型柱,100 μ m,19x250 mm;流动相,水(0.05% TFA)及ACN(5%B相,30min内达到60%);检测器,UV 220nm。将收集的流份冻干,得到呈白色固体的1-(3-氯-4-[2-[2-(甲氨基)乙氧基]乙基]苯基)-3-[[2-(2,6-二氧代吡啶-3-基)-1-氧代-3H-异吲哚-5-基]甲基]脲(500mg,89%)。LCMS(ESI):528.53(M+H)⁺。¹H NMR(400MHz,甲醇-d₄) δ 7.77(d,J=8.0Hz,1H),7.57-7.53(m,2H),7.49(d,J=8.0Hz,1H),7.21(d,J=4.0Hz,2H),5.19-5.1(m,1H),4.55-4.41(m,4H),3.75-3.67(m,4H),3.21-3.15(m,2H),3.03-3.96(m,2H),2.96-2.84(m,1H),2.83-2.73(m,2H),2.69(s,3H),2.55-2.42(m,1H),2.21-2.12(m,1H)。

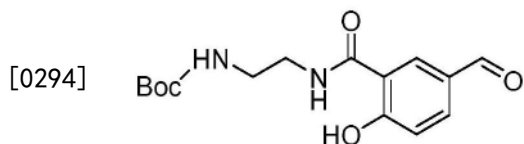


[0292] 方案2:新降解剂P1- β -葡萄糖醛酸苷接头复合物(化合物1a)的合成



化合物I(a)

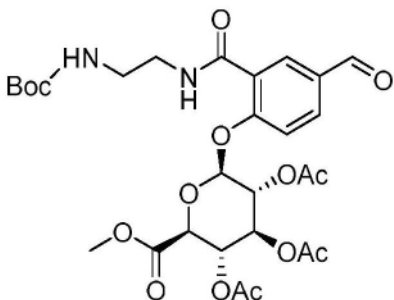
[0293] 实施例2:化合物(Ia)的合成



[0295] 步骤1:化合物12的合成

[0296] 在0℃、氮气气氛下,向经搅拌的5-甲酰基-2-羟基苯甲酸,10 (20g,120.38mmol, 1.00当量)于DMF (200mL)中的溶液中分批添加EDCI (28g,144.44mmol,1.20当量)、HOBT (20g,144.46mmol,1.20当量)及N-(2-胺乙基)氨基甲酸三级丁酯,11 (23g,144.46mmol, 1.20当量)。将所得混合物在室温、氮气气氛下搅拌隔夜。LCMS指示反应完成。将反应混合物用水淬灭且用乙酸乙酯(3x200 mL)萃取。将合并的有机物用盐水(200mL)洗涤,用Na₂SO₄干燥。过滤后,将滤液在真空下浓缩至干。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化,用PE/EA(2:3)溶析,得到呈白色固体的N-[2-[(5-甲酰基-2-羟基苯基)甲酰胺基]乙基]氨基甲酸三级丁酯,12 (23g,53%)。LCMS (ES, m/z): 209[M+H-100]⁺, 309[M+H]⁺, 331[M+Na]⁺。

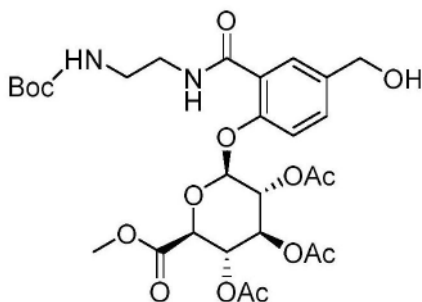
[0297]



[0298] 步骤2:化合物14的合成

[0299] 在0℃、氮气气氛下,向经搅拌的N-[2-[(5-甲酰基-2-羟基苯基)甲酰胺基]乙基]氨基甲酸三级丁酯,12 (23g,74.59mmol,1.00当量)于ACN (600mL)中的溶液中分批添加Ag₂O (34.57g,149.17mmol,2.00当量)及(2S,3S,4S,5R,6R)-3,4,5-三(乙酰氧基)-6-溴噁烷-2-羧酸甲酯,13 (32.6g,82.05mmol,1.10当量)。将所得混合物在室温、氮气气氛下搅拌隔夜。LCMS指示反应完成。过滤后,将滤液在真空下浓缩至干。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化,用PE/A(1:4)溶析,得到呈绿色固体的(2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-三(乙酰氧基)-6-[2-[(2-[(三级丁氧基羰基)氨基]乙基]氨基甲酰基)-4-甲酰基苯氧基]噁烷-2-羧酸甲酯,14 (38g, 76%)。LCMS (ES, m/z): 525[M+H-100]⁺, 625[M+H]⁺, 647[M+Na]⁺。

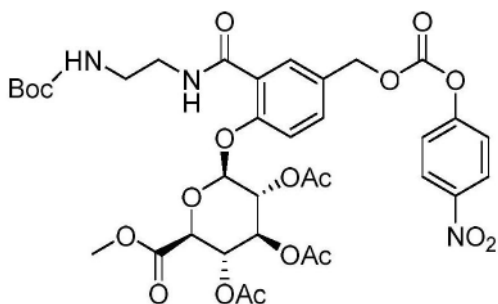
[0300]



[0301] 步骤3:化合物15的合成

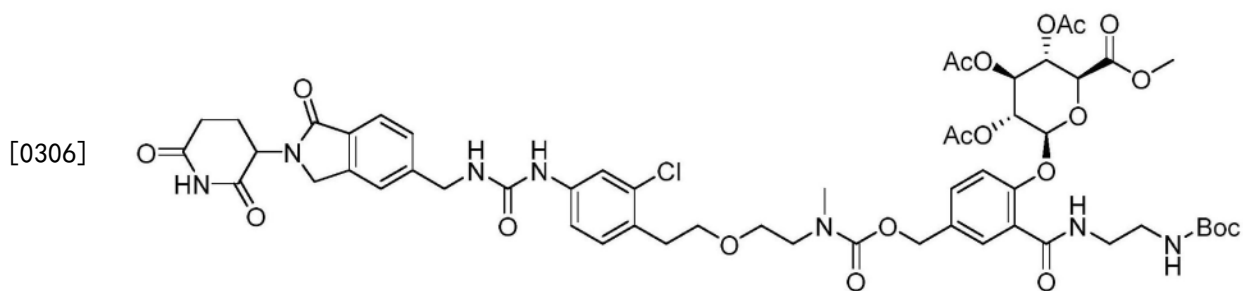
[0302] 在室温下,向经搅拌的 (2S,3S,4S,5R,6S) -3,4,5-参(乙酰氧基)-6-[2-({2-[(三级丁氧基羰基)氨基]乙基}氨基甲酰基)-4-甲酰基苯氧基]噁烷-2-羧酸甲酯,14 (20g, 32.02mmol, 1.00当量) 于EA (200mL) 中的溶液中分批添加Pd/C (4.0g, 10%)。将所得混合物在室温、氢气气氛下搅拌隔夜。LCMS指示反应完成。过滤后,将滤液在真空下浓缩至干。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化,用DCM/MeOH (19:1) 溶析,得到呈白色固体的 (2S,3S,4S,5R, 6S) -3,4,5-参(乙酰氧基)-6-[2-({2-[(三级丁氧基羰基)氨基]乙基}氨基甲酰基)-4-(羟甲基)苯氧基]噁烷-2-羧酸甲酯,15 (12.5g, 58%)。LCMS (ES, m/z) : 527 [M+H-100]⁺, 627 [M+H]⁺, 649 [M+Na]⁺。

[0303]



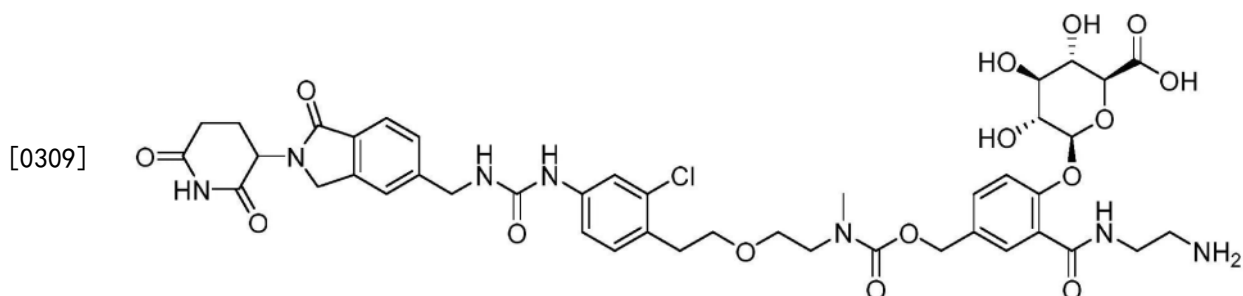
[0304] 步骤4:化合物16的合成

[0305] 在0℃、氮气气氛下,向经搅拌的 (2S,3S,4S,5R,6S) -3,4,5-参(乙酰氧基)-6-[2-({2-[(三级丁氧基羰基)氨基]乙基}氨基甲酰基)-4-(羟甲基)苯氧基]噁烷-2-羧酸甲酯, 15 (5.0g, 7.98mmol, 1.00当量) 于DMF (50mL) 中的溶液中分批添加双(4-硝基苯基)碳酸酯 (2.67g, 8.77mmol, 1.10当量) 及DIEA (2.0g, 15.94mmol, 2.00当量)。将所得混合物在室温、氮气气氛下搅拌隔夜。LCMS指示反应完成。将反应混合物通过反相快速色谱法在以下条件下纯化:柱,C18硅胶;流动相,含ACN的水 (0.1% FA), 40min内10%至70%梯度;检测器,UV 254nm。将收集的流份在真空下浓缩至干,得到呈白色固体的 (2S,3S,4S,5R,6S) -3,4,5-参(乙酰氧基)-6-[2-({2-[(三级丁氧基羰基)氨基]乙基}氨基甲酰基)-4-[(4-硝基苯氧基羰基)氧基]甲基]苯氧基]噁烷-2-羧酸甲酯,16 (5.3g, 78%)。LCMS (ES, m/z) : 692 [M+H-100]⁺, 792 [M+H]⁺, 814 [M+Na]⁺。



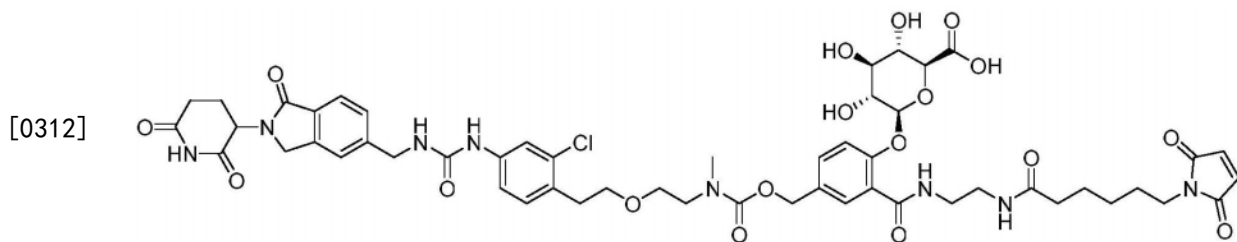
[0307] 步骤5:化合物17的合成

[0308] 在室温、氮气气氛下,向经搅拌的(2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-参(乙酰氧基)-6-[2-({2-[(三级丁氧基羰基)氨基]乙基}氨基甲酰基)-4-[(4-硝基苯氧基羰基)氧基]甲基]苯氧基]噁烷-2-羧酸甲酯,16(550mg,0.69mmol,1.00当量)及1-(3-氯-4-{2-[2-(甲氨基)乙氧基]乙基}苯基)-3-{[2-(2,6-二氧化代哌啶-3-基)-1-氧代-3H-异吡啶-5-基]甲基}脲,P1(367mg,0.69mmol,1.00当量)于DMF(6.0mL)中的溶液中分批添加DIEA(180mg,1.38mmol,2.00当量)。将所得混合物在室温下搅拌2h。LCMS指示反应完成。将反应混合物通过反相快速色谱法在以下条件下纯化:柱,C18硅胶;流动相,含ACN的水(0.1% FA),40min内10%至70%梯度;检测器,UV 254nm。将收集的流份在真空下浓缩,得到呈绿色固体的(2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-参(乙酰氧基)-6-[2-({2-[(三级丁氧基羰基)氨基]乙基}氨基甲酰基)-4-[(2-{2-氯-4-[(2-(2,6-二氧化代哌啶-3-基)-1-氧代-3H-异吡啶-5-基]甲基}氨基甲酰基)氨基]苯基}乙氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基)氧基)甲基]苯氧基]噁烷-2-羧酸甲酯,17(670mg,77%)。LCMS(ES,m/z):1080[M+H-100]⁺,1180[M+H]⁺,1202[M+Na]⁺。



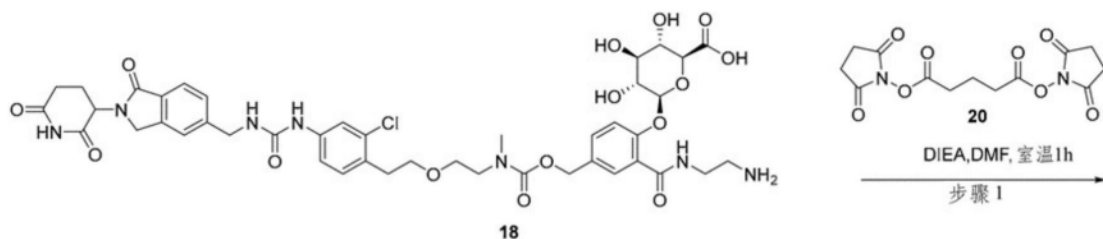
[0310] 步骤6:化合物18的合成

[0311] 在45℃、氮气气氛下,向经搅拌的(2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-参(乙酰氧基)-6-[2-((2-[(三级丁氧基羰基)氨基]乙基)氨基甲酰基)-4-[(2-((2-氯-4-([2-(2,6-二氧化代哌啶-3-基)-1-氧代-3H-异吡啶-5-基)甲基)氨基甲酰基)氨基]苯基)乙氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基)氧基)甲基]苯氧基}噁烷-2-羧酸甲酯,17(660mg,0.56mmol,1.00当量)于THF(12mL)中的溶液中分批添加HCl(12mL,6.0N)。将所得混合物在45℃、氮气气氛下搅拌4h。LCMS指示反应完成。将反应混合物通过反相快速色谱法在以下条件下纯化:柱,C18硅胶;流动相,含ACN的水(0.1% FA),30min内10%至40%梯度;检测器,UV 254nm。将收集的流份冻干,得到呈白色固体的(2S,3S,4S,5R,6S)-6-{2-[(2-胺乙基)氨基甲酰基]-4-[(2-((2-氯-4-([2-(2,6-二氧化代哌啶-3-基)-1-氧代-3H-异吡啶-5-基)甲基)氨基甲酰基)氨基]苯基)乙氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基)氧基)甲基]苯氧基}-3,4,5-三羟基噁烷-2-羧酸(320mg,54%),18。LCMS(ES,m/z):940[M+H]⁺,962[M+Na]⁺。

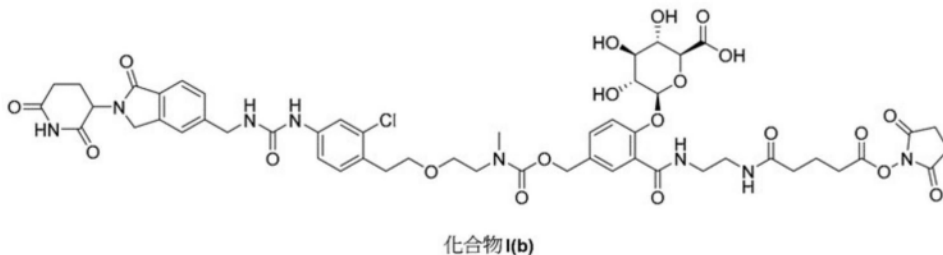


[0313] 步骤7: 化合物 (Ia) 的合成

[0314] 在室温、氮气气氛下,向经搅拌的(2S,3S,4S,5R,6S)-6-{2-[(2-胺乙基)氨基甲酰基]-4-[(2-[(2-氯-4-[(2-(2,6-二氧化吡啶-3-基)-1-氧代-3H-异吡啶-5-基)甲基)氨基甲酰基)氨基]苯基]乙氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯氧基}-3,4,5-三羟基噁烷-2-羧酸,18(100mg,0.11mmol,1.00当量)及6-(2,5-二氧化吡咯-1-基)己酸2,5-二氧化吡咯烷-1-酯,19(36mg,0.12mmol,1.10当量)于DMF(1.00mL)中的溶液中分批添加DIEA(27mg,0.21mmol,2.0当量)。将所得混合物在室温、氮气气氛下搅拌1h。LCMS指示反应完成。将反应混合物通过制备型HPLC在以下条件下纯化:Xselect CSH F-Phenyl OBD柱,19x250mm;流动相A:水(0.1%FA),流动相B:ACN;流速:25mL/min;检测器,UV 254nm。将收集的流份冻干,得到呈白色固体的(2S,3S,4S,5R,6S)-6-{4-[(2-[(2-氯-4-[(2-(2,6-二氧化吡啶-3-基)-1-氧代-3H-异吡啶-5-基)甲基)氨基甲酰基)氨基]苯基]乙氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-2-[(2-[6-(2,5-二氧化吡咯-1-基)己酰胺基]乙基)氨基甲酰基]苯氧基}-3,4,5-三羟基噁烷-2-羧酸,化合物(Ia)(46mg,37%)。LCMS(ES,m/z):568[M/2+H]⁺,1133[M+H]⁺,1155[M+Na]⁺。¹H-NMR(300MHz,DMSO-d₆):10.98(s,1H),8.87(br s,1H),8.30(t,J=6Hz,1H),7.86(t,J=3Hz,1H),7.77(s,1H),7.70-7.69(m,2H),7.51-7.42(m,3H),7.30-7.10(m,3H),6.99(s,2H),6.93(br s,1H),5.79-5.77(m,1H),5.36(d,J=4.2Hz,1H),5.13-5.02(m,4H),4.47-4.28(m,4H),3.95(d,J=9.0Hz,1H),3.540-3.49(m,4H),3.39-3.36(m,4H),3.24-3.22(m,2H),2.86-2.81(m,7H),2.62-2.51(m,1H),2.49-2.41(m,3H),2.06-1.99(m,3H),1.49-1.42(m,4H),1.23-1.16(m,2H)。

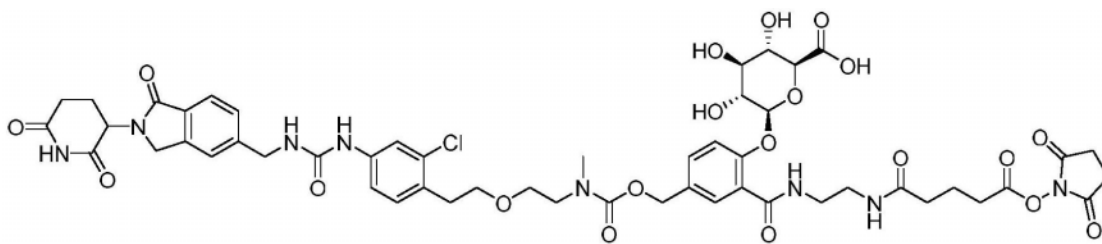


[0315]



[0316] 方案3:新降解剂P1- β -葡萄糖醛酸苷接头复合物(化合物(Ib))的合成

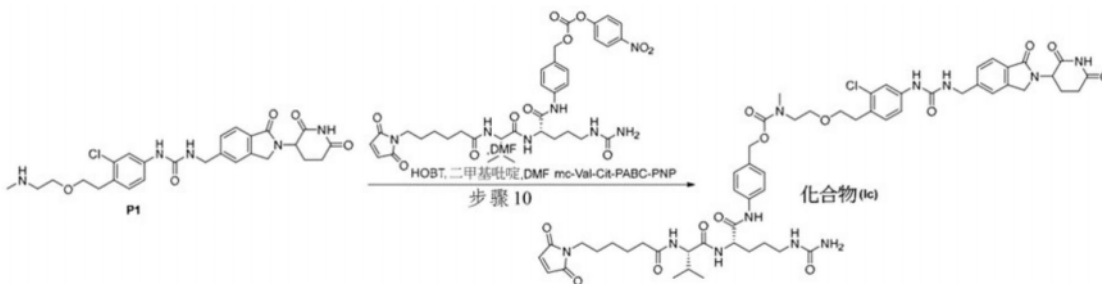
[0317]



[0318] 实施例3:化合物(Ib)的合成

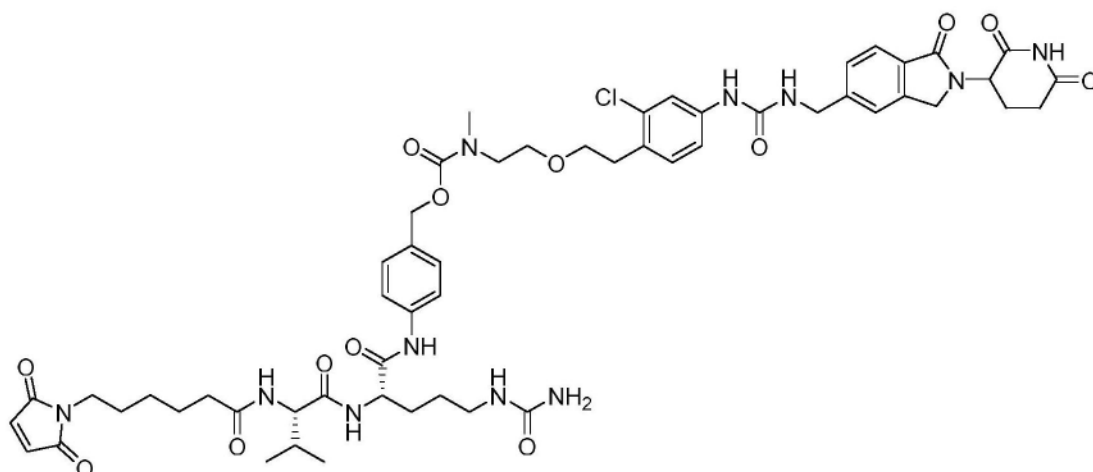
[0319] 在室温、氮气气氛下,向经搅拌的戊二酸双(2,5-二氧代吡咯烷-1-酯)(62mg, 0.19mmol, 1.2当量)及(2S,3S,4S,5R,6S)-6-{2-[(2-胺乙基)氨基甲酰基]-4-[(2-((2-氯-4-[(2-((2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代-3H-异吲哚-5-基)甲基)氨基甲酰基)氨基)苯基)乙氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯氧基}-3,4,5-三羟基噁烷-2-羧酸,9(150mg, 0.16mmol, 1.00当量)于DMF(3.00mL)中的溶液中分批添加DIEA(41mg, 0.32mmol, 2.00当量)。将所得混合物在室温、氮气气氛下搅拌1h。LCMS指示反应完成。将粗产物通过制备型HPLC在以下条件下纯化(柱:流动相A:水(0.05% TFA),流动相B:ACN;流速:60mL/min)。将溶液冻干,得到呈白色固体的(2S,3S,4S,5R,6S)-6-{4-[(2-((2-((2-氯-4-[(2-((2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代-3H-异吲哚-5-基)甲基)氨基甲酰基)氨基)苯基)乙氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-2-[(2-((2-((2,5-二氧代吡咯烷-1-基)氧基)-5-氧代戊酰胺基)乙基)氨基甲酰基]苯氧基)-3,4,5-三羟基噁烷-2-羧酸,化合物(Ib)(50mg, 26%)。LCMS(ES, m/z): 576[M/2+H]⁺, 1151[M+H]⁺, 1173[M+Na]⁺。¹H-NMR(300MHz, DMSO-d₆): 12.90(br s, 1H), 10.98(s, 1H), 8.78(s, 1H), 8.31(t, J=3.0Hz, 1H), 7.92(t, J=3.0Hz, 1H), 7.77(d, J=3.0Hz, 1H), 7.70-7.66(m, 2H), 7.51-7.43(m, 3H), 7.25-7.09(m, 3H), 6.82(t, J=3.0Hz, 1H), 5.80-5.20(m, 2H), 5.12-5.02(m, 4H), 4.47-4.27(m, 4H), 3.98(d, J=9.3Hz, 1H), 3.52-3.44(m, 5H), 3.30-3.05(m, 7H), 2.97-2.73(m, 9H), 2.72-2.62(m, 3H), 2.45-2.35(m, 1H), 2.30-2.15(m, 2H), 2.05-1.90(m, 1H), 1.90-1.70(m, 2H)。

[0320]



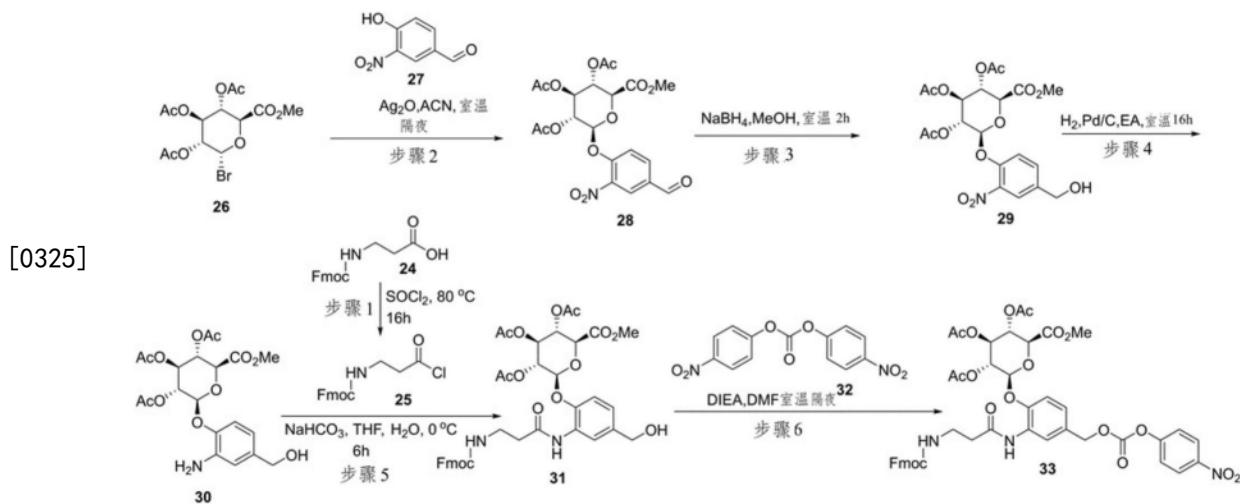
[0321] 方案4:化合物(Ic)的制备

[0322]



[0323] 实施例4:化合物(1c)的合成

[0324] 在室温下,向经搅拌的1-(3-氯-4-[2-[2-(甲氨基)乙氧基]乙基]苯基)-3-[[2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代-3H-异吲哚-5-基]甲基]脲(新降解剂P1,200mg,0.38mmol,1.00当量)及二甲基吡啶(81mg,0.76mmol,2.00当量)于DMF(10mL)中的混合物中分批添加HOBt(26mg,0.19mmol,0.50当量)及碳酸[4-[(2S)-5-(氨基甲酰基氨基)-2-[(2S)-2-[6-(2,5-二氧代吡咯-1-基)己酰胺基]-3-甲基丁酰胺基]戊酰胺基]苯基]甲酯4-硝基苯酯(279mg,0.38mmol,1.00当量)。将反应混合物在40℃、氮气气氛下搅拌12小时。将反应冷却至室温后,用水(30mL)淬灭反应。将所得混合物用DCM(3x 30mL)萃取。将合并的有机层用水(2x 30mL)、盐水(30mL)洗涤,经Na₂SO₄干燥。过滤后,将滤液在真空下浓缩至干。将残余物通过反相柱(C18,流动相A:含0.1% FA的水,B:ACN)纯化。将收集的流份在真空下浓缩至干。将粗产物(60mg)通过制备型HPLC在以下条件下纯化(柱:Xselect CSH OBD柱30x150 mm 5um,n;流动相A:水(0.1% FA),流动相B:ACN;流速:60mL/min;梯度:7min内33B至50B;220nm;RT1:5.27min)。将收集的流份冻干,得到呈白色固体的N-[2-(2-[2-氯-4-[[[2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代-3H-异吲哚-5-基]氨基甲酰基]氨基]苯基]乙氧基)乙基]-N-甲基氨基甲酸[4-[(2S)-5-(氨基甲酰基氨基)-2-[(2S)-2-[6-(2,5-二氧代吡咯-1-基)己酰胺基]-3-甲基丁酰胺基]戊酰胺基]苯基]甲酯(23.8mg,5%)。LCMS (ESI):1126.11 (M+H)⁺。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ10.99(s,1H),10.00(s,1H),8.88(s,1H),8.12-8.08(m,1H),7.85-7.81(m,2H),7.70-7.67(m,2H),7.60-7.58(m,1H),7.51(s,1H),7.47-7.44(m,1H),7.28-7.25(m,2H),7.18-7.12(m,2H),7.00(s,2H),6.90(br s,1H),5.97-5.95(m,1H),5.42(s,2H),5.12-5.05(m,1H),4.98(s,2H),4.42-4.32(m,4H),4.18-4.15(m,1H),3.56-3.40(m,4H),3.37-3.36(m,3H),3.05-2.90(m,3H),2.89-2.85(m,5H),2.72-2.55(m,2H),2.40-2.33(m,2H),2.25-2.15(m,2H),2.00-1.87(m,2H),1.74-1.57(m,2H),1.50-1.42(m,5H),1.22-1.10(m,3H),0.85-0.80(m,6H)。



[0326] 方案5A:新降解剂P1- β -葡萄糖醛酸苷接头复合物的合成

[0327] 步骤1.化合物25的合成

[0328] 在室温下,向经搅拌的3-[[(9H-芴-9-基甲氧基) 羰基]氨基]-丙酸(化合物24, 5.00g, 16.06mmol, 1.00当量)于 SOCl_2 (25mL) 中的混合物中。将所得混合物在80 °C下搅拌16h。可通过LCMS(以MeOH的衍生物MS=326)检测所要产物。LCMS指示反应完成。将所得混合物在真空下浓缩,得到呈黄色油状物的N-(3-氯-3-氧代丙基)氨基甲酸9H-芴-9-基甲酯(化合物25, 7.5g, 粗品)。粗产物未经进一步纯化直接用于下一步。 $^1\text{H-NMR}$ 分析表明它为所要产物(以MeOH的衍生物)。 $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3) δ 7.81-7.77 (m, 2H), 7.63-7.59 (m, 2H), 7.46-7.40 (m, 2H), 7.40-7.31 (m, 2H), 5.33 (s, 1H), 4.42 (d, $J=3.0\text{Hz}$, 2H), 4.24 (t, $J=6.0\text{Hz}$, 1H), 3.74-3.67 (m, 3H), 3.50 (d, $J=3.0\text{Hz}$, 2H), 2.59 (t, $J=6.0\text{Hz}$, 2H)。

[0329] 步骤2.化合物28的合成

[0330] 在室温、 N_2 气氛下,向经搅拌的4-甲酰基-2-硝基苯酚(化合物27, 4.21g, 25.19mmol, 1.00当量)及 Ag_2O (7.00g, 30.20mmol, 1.20当量)于ACN (100mL, 190.24mmol, 75.00当量)中的溶液中分批添加化合物26 (10.00g, 25.17mmol, 1.00当量)。将所得混合物在室温、 N_2 气氛下搅拌隔夜。LCMS指示反应完成。将所得混合物过滤,将滤饼用DCM (50mLx3)洗涤。将滤液在减压下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化,用PE/EA (PE:EA=1:2) 溶析,得到呈白色固体的(2S, 3S, 4S, 5R, 6S)-3,4,5-参(乙酰氧基)-6-(4-甲酰基-2-硝基苯氧基)噁烷-2-羧酸甲酯(化合物28, 10.5g, 86%)。 $^1\text{H-NMR}$ 分析表明它为所要产物。LCMS (ES, m/z): 484[M+1]⁺。 $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3) δ 10.00 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.13-8.09 (m, 1H), 7.52 (d, $J=3.0\text{Hz}$, 1H), 5.47-5.29 (m, 4H), 4.37-4.35 (m, 1H), 3.75-3.73 (m, 3H), 2.17-2.06 (m, 9H)。

[0331] 步骤3.化合物29的合成

[0332] 在RT、 N_2 气氛下,向经搅拌的(2S, 3S, 4S, 5R, 6S)-3,4,5-参(乙酰氧基)-6-(4-甲酰基-2-硝基苯氧基)噁烷-2-羧酸甲酯(化合物28, 6.00g, 12.41mmol, 1.00当量)于MeOH (50mL)中的溶液中分批添加 NaBH_4 (0.47g, 12.42mmol, 1.00当量)。将所得混合物在室温、 N_2 气氛下搅拌2h。LCMS指示反应完成。在室温下用水淬灭反应。将所得物通过 Na_2SO_4 干燥。将所得混合物过滤,将滤饼用DCM洗涤。将所得混合物在真空下浓缩,得到呈固体的(2S, 3S, 4S, 5R, 6S)-3,4,5-参(乙酰氧基)-6-[4-(羟甲基)-2-硝基苯氧基]噁烷-2-羧酸甲酯(化合物29, 5.5g, 91%)。LCMS (ES, m/z): 486[M+H]⁺。

[0333] 步骤4. 化合物30的合成

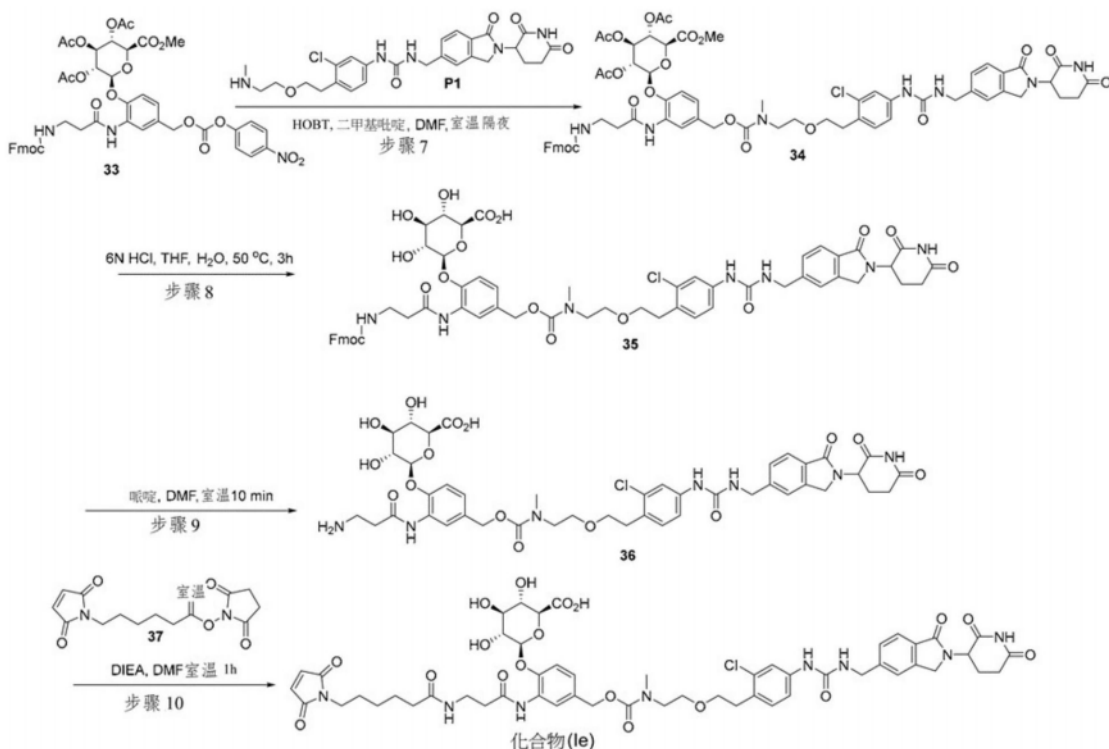
[0334] 在室温下,向经搅拌的(2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-参(乙酰氧基)-6-[4-(羟甲基)-2-硝基苯氧基]噁烷-2-羧酸甲酯(化合物29,5.50g,11.33mmol,1.00当量)于EA(60mL)中的混合物中分批添加Pd/C(1.10g,10%)。将所得混合物在室温、H₂气氛下搅拌16h。LCMS指示反应完成。将所得混合物过滤,将滤饼用DCM及MeOH洗涤。将滤液在真空下浓缩,得到呈固体的(2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-参(乙酰氧基)-6-[2-氨基-4-(羟甲基)苯氧基]噁烷-2-羧酸甲酯(化合物30,4.0g,77%)。粗产物未经进一步纯化直接用于下一步。LCMS(ES,m/z):456[M+H]⁺。

[0335] 步骤5. 化合物31的合成

[0336] 在0℃、N₂气氛下,向经搅拌的(2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-参(乙酰氧基)-6-[2-氨基-4-(羟甲基)苯氧基]噁烷-2-羧酸甲酯(化合物30,1.00g,2.19mmol,1.00当量)及NaHCO₃(0.20g,2.40mmol,1.1当量)于THF(10mL)中的溶液中分批添加化合物25(0.87g,2.62mmol,1.20当量)。将所得混合物在0℃、N₂气氛下搅拌6h。LCMS指示反应完成。在室温下用水淬灭反应。将所得混合物用DCM萃取。将合并的有机层在减压下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化,用PE/EA(EA=100%)溶析,得到呈淡黄色固体的(2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-参(乙酰氧基)-6-[2-(3-[[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]-丙酰胺基)-4-(羟甲基)苯氧基]噁烷-2-羧酸甲酯(化合物31,1.1g,66%)。LCMS(ES,m/z):749[M+H]⁺。

[0337] 步骤6. 化合物33的合成

[0338] 在0℃、N₂气氛下,向经搅拌的(2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-参(乙酰氧基)-6-[2-(3-[[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]丙酰胺基)-4-(羟甲基)苯氧基]噁烷-2-羧酸甲酯(化合物31,1.50g,2.00mmol,1.00当量)及碳酸双(4-硝基苯酯)(化合物32,0.68g,2.24mmol,1.12当量)于DMF(15mL)中的混合物中分批添加DIEA(0.52g,4.01mmol,2.00当量)。将所得混合物在室温、氮气气氛下搅拌隔夜。LCMS指示反应完成。将反应混合物通过反相快速色谱法在以下条件下纯化:柱,C18硅胶;流动相,含ACN的水(0.1% FA),40min内10%至90%梯度;检测器,UV 254nm。将收集的流份在真空中浓缩至干,得到呈黄色固体的(2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-参(乙酰氧基)-6-[2-(3-[[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]丙酰胺基)-4-[[(4-硝基苯氧基羰基)氧基]甲基]苯氧基]噁烷-2-羧酸甲酯(化合物33,1.4g,48%)。LCMS(ES,m/z):914[M+H]⁺。



[0339]

[0340] 方案5B:新降解剂P1- β -葡萄糖醛酸苷接头复合物的合成

[0341] 步骤7. 化合物34的合成

[0342] 在室温、 N_2 气氛下,向经搅拌的(2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-三(乙酰氧基)-6-[2-(3-[[[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]丙酰胺基]-4-[[[(4-硝基苯氧基羰基)氧基]甲基]苯氧基]噁烷-2-羧酸甲酯(化合物33,1.00g,1.09mmol,1.00当量)及1-(3-氯-4-[2-[2-(甲氨基)乙氧基]乙基]苯基)-3-[[2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代-3H-异吲哚-5-基]甲基]脲(新降解剂P1,0.58g,1.09mmol,1.00当量)于DMF(10mL)中的混合物中分批添加HOBt(1.18g,8.72mmol,8.00当量)及2,4-二甲基吡啶(1.07g,8.72mmol,8.00当量)。将所得混合物在室温、 N_2 气氛下搅拌16h。LCMS指示反应完成。将所得混合物进一步纯化。将残余物通过反相快速色谱法在以下条件下纯化:柱,C18硅胶;流动相,含ACN的水(0.1% FA),40min内10%至80%梯度;检测器,UV 254nm。将收集的流份在真空下浓缩,得到呈固体的(2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-三(乙酰氧基)-6-[4-[[[2-(2-[2-氯-4-[[[2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代-3H-异吲哚-5-基]甲基]氨基甲酰基]氨基]苯基]乙氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基]氧基)甲基]-2-(3-[[[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]丙酰胺基]苯氧基]噁烷-2-羧酸甲酯(化合物34,800mg,56%)。LCMS(ES,m/z):1302[M+H]⁺。

[0343] 步骤8. 化合物35的合成

[0344] 在室温、 N_2 气氛下,向经搅拌的(2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-三(乙酰氧基)-6-[4-[[[2-(2-[2-氯-4-[[[2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代-3H-异吲哚-5-基]甲基]氨基甲酰基]氨基]苯基]乙氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基]氧基)甲基]-2-(3-[[[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]丙酰胺基]苯氧基]噁烷-2-羧酸甲酯(化合物34,800.00mg,0.61mmol,1.00当量)于THF(80mL)中的混合物中分批添加HCl(6N,80mL)。将所得混合物在50℃、氮气气氛下搅拌3h。LCMS指示反应完成。将所得混合物在真空下浓缩。将残余物通过反相快速色谱法在以下条件下纯化:柱,C18硅胶;流动相,含ACN的水(0.1% FA),40min内0%至80%梯

度;检测器,UV 254nm。将收集的流份冻干,得到呈白色固体的(2S,3S,4S,5R,6S)-6-[4-[[[2-(2-[2-氯-4-[[[2-(2,6-二氧化哌啶-3-基)-1-氧代-3H-异吡啶-5-基]甲基]氨基甲酰基)氨基]苯基]乙氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基]氧基)甲基]-2-(3-[[[9H-芴-9-基甲氧基]羰基]氨基]丙酰胺基)苯氧基]-3,4,5-三羟基噁烷-2-羧酸(化合物35,230mg,32%)。LCMS(ES,m/z):1162[M+H]⁺。

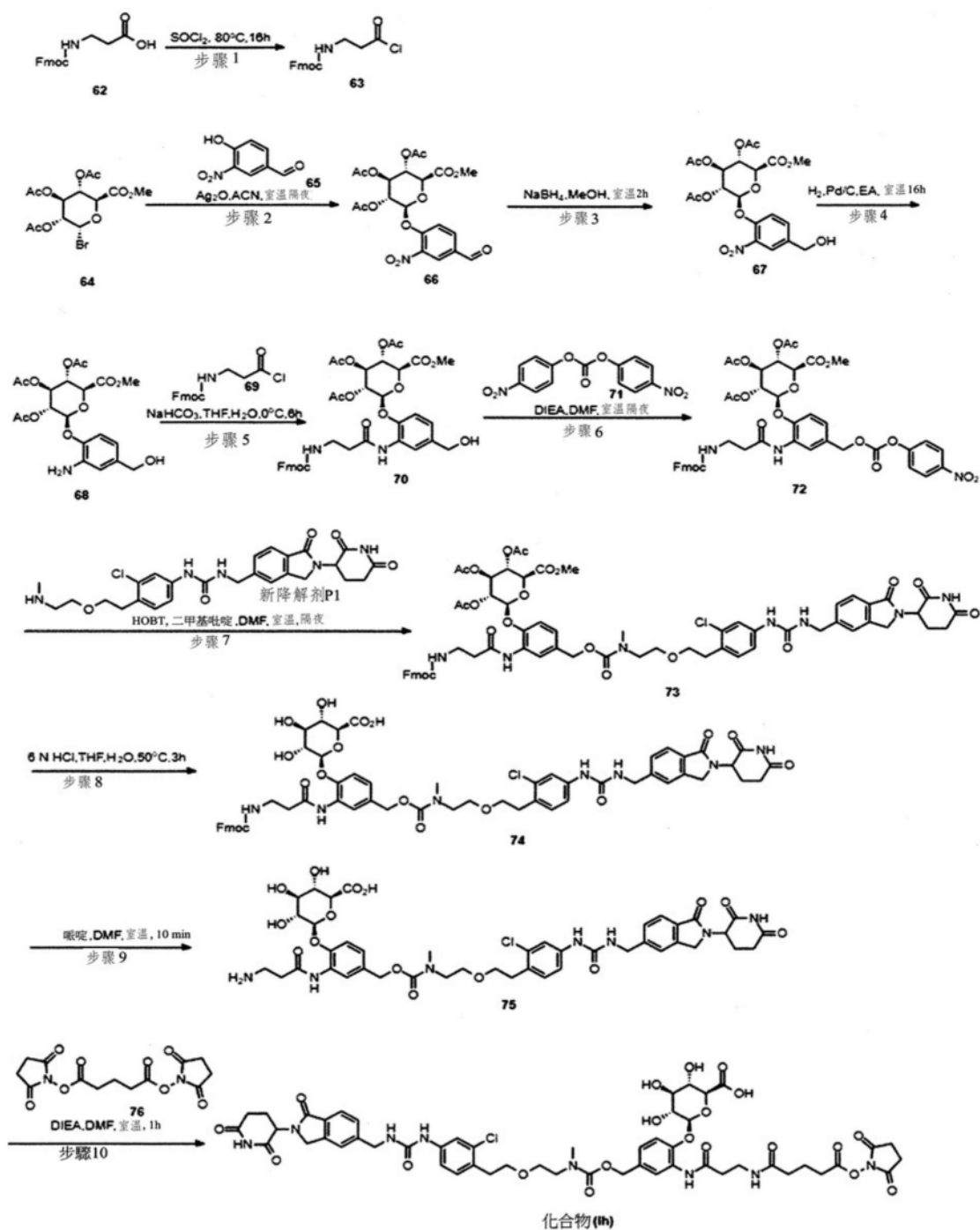
[0345] 步骤9.化合物36的合成

[0346] 在室温、氮气气氛下,向经搅拌的(2S,3S,4S,5R,6S)-6-[4-[[[2-(2-[2-氯-4-[[[2-(2,6-二氧化哌啶-3-基)-1-氧代-3H-异吡啶-5-基]甲基]氨基甲酰基)氨基]苯基]乙氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基]氧基)甲基]-2-(3-[[[9H-芴-9-基甲氧基]羰基]氨基]丙酰胺基)苯氧基]-3,4,5-三羟基噁烷-2-羧酸(化合物35,230mg,0.2mmol,1.00当量)于DMF(2mL)中的溶液中分批添加哌啶(0.4mL)。将所得混合物在室温、氮气气氛下搅拌10min。LCMS指示反应完成。将所得混合物直接通过制备型HPLC在以下条件的情况下进行进一步纯化(柱:XSelect CSH制备型C18 OBD柱,19x250 mm,5um;流动相A:水(0.05% TFA),流动相B:ACN;流速:25mL/min;梯度:7min内20B至40B;220nm;RT 1:5.78min),得到呈白色固体的(2S,3S,4S,5R,6S)-6-[2-(3-氨基丙酰胺基)-4-[[[2-(2-[2-氯-4-[[[2-(2,6-二氧化哌啶-3-基)-1-氧代-3H-异吡啶-5-基]甲基]氨基甲酰基)氨基]苯基]-乙氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基]氧基)甲基]苯氧基]-3,4,5-三羟基噁烷-2-羧酸(化合物36,35mg,18%)。LCMS(ES,m/z):940[M+H]⁺。

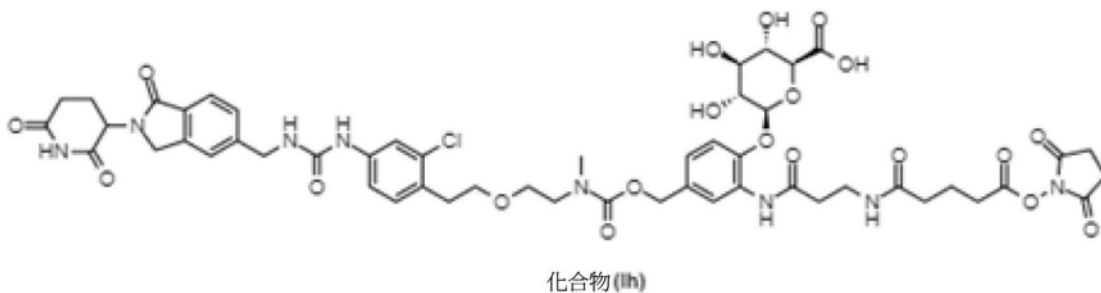
[0347] 步骤10.化合物(Ie)的合成

[0348] 在室温、氮气气氛下,向经搅拌的(2S,3S,4S,5R,6S)-6-[2-(3-氨基丙酰胺基)-4-[[[2-(2-[2-氯-4-[[[2-(2,6-二氧化哌啶-3-基)-1-氧代-3H-异吡啶-5-基]甲基]氨基甲酰基)氨基]苯基]乙氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基]氧基)甲基]苯氧基]-3,4,5-三羟基噁烷-2-羧酸(化合物36,30mg,0.03mmol,1.00当量)于DMF(3mL)中的溶液中分批添加DIEA(13mg,0.10mmol,3.00当量)及化合物37(30mg,0.10mmol,3.00当量)。将所得混合物在室温、氮气气氛下搅拌1h。LCMS指示反应完成。将所得混合物通过制备型HPLC在以下条件的情况下纯化(柱:Xselect CSH OBD柱30x 150mm 5um,流动相A:水(0.1% FA),流动相B:ACN;流速:60mL/min;梯度:10min内21B至36B;220nm;RT 1:11.15min)。将收集的流份冻干,得到呈白色固体的(2S,3S,4S,5R,6S)-6-[4-[[[2-(2-[2-氯-4-[[[2-(2,6-二氧化哌啶-3-基)-1-氧代-3H-异吡啶-5-基]甲基]氨基甲酰基)氨基]苯基]乙氧基)乙基]-(甲基)氨基甲酰基]氧基)甲基]-2-[3-[6-(2,5-二氧化吡咯-1-基)己酰胺基]丙酰胺基]苯氧基]-3,4,5-三羟基噁烷-2-羧酸(化合物(Ie),10.5mg,28%)。LCMS(ES,m/z):1133[M+H]⁺。¹H-NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ10.9(s,1H),9.13(s,1H),8.16(s,1H),7.92-7.68(m,4H),7.52(s,1H),7.44(d,J=3.0Hz,1H),7.18-6.99(m,7H),5.76(s,1H),5.20-5.10(m,2H),4.98(br s,2H),4.76-4.74(m,1H),4.42-4.33(m,4H),3.65(br s,1H),3.58-3.54(m,5H),3.35(d,J=6Hz,2H),2.90-2.83(m,7H),2.57-2.55(m,3H),2.45-2.30(m,1H),2.02-1.98(m,4H),1.48-1.42(m,5H),1.40-1.20(m,3H)。

[0349]

[0350] 方案6:新降解剂P1- β -葡萄糖醛酸苷接头复合物(化合物(Ih))的合成

[0351]



[0352] 实施例6:化合物(Ih)的合成

[0353] 步骤1.化合物63的合成

[0354] 在室温下,向经搅拌的3-[[(9H-苈-9-基甲氧基)羰基]氨基]丙酸(化合物62, 5.00g, 16.06mmol, 1.00当量)的混合物中添加 SOCl_2 (25mL)。将所得混合物在80℃下搅拌16h。可通过LCMS(以MeOH的衍生物 $\text{MS}=326$)检测所要产物。LCMS指示反应完成。将所得混合物在真空下浓缩,得到呈黄色油状物的N-(3-氯-3-氧代丙基)氨基甲酸9H-苈-9-基甲酯(化合物63, 7.5g, 粗品)。粗产物未经进一步纯化直接用于下一步。 ^1H -NMR分析表明它为所要产物(以MeOH的衍生物)。 ^1H -NMR (300MHz, CDCl_3) δ 7.81-7.77 (m, 2H), 7.63-7.59 (m, 2H), 7.46-7.40 (m, 2H), 7.40-7.31 (m, 2H), 5.33 (s, 1H), 4.42 (d, $J=3.0\text{Hz}$, 2H), 4.24 (t, $J=6.0\text{Hz}$, 1H), 3.74-3.67 (m, 3H), 3.50 (d, $J=3.0\text{Hz}$, 2H), 2.59 (t, $J=6.0\text{Hz}$, 2H)。

[0355] 步骤2. 化合物66的合成

[0356] 在室温、 N_2 气氛下,向经搅拌的4-甲酰基-2-硝基苯酚(化合物65, 4.21g, 25.19mmol, 1.00当量)及 Ag_2O (7.00g, 30.20mmol, 1.20当量)于ACN (100mL, 190.24mmol, 75.00当量)中的溶液中分批添加(2S, 3S, 4S, 5R, 6R)-3, 4, 5-参(乙酰氧基)-6-溴噁烷-2-羧酸甲酯(化合物64, 10.00g, 25.17mmol, 1.00当量)。将所得混合物在室温、 N_2 气氛下搅拌隔夜。LCMS指示反应完成。将所得混合物过滤,将滤饼用DCM (50mL x 3)洗涤。将滤液在减压下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化,用PE/EA (PE:EA=1:2)溶析,得到呈白色固体的(2S, 3S, 4S, 5R, 6S)-3, 4, 5-参(乙酰氧基)-6-(4-甲酰基-2-硝基苯氧基)噁烷-2-羧酸甲酯(化合物66, 10.5g, 86%)。 ^1H -NMR分析表明它为所要产物。LCMS (ES, m/z): 484 $[\text{M}+1]^+$ 。 ^1H -NMR (300MHz, CDCl_3) δ 10.00 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.13-8.09 (m, 1H), 7.52 (d, $J=3.0\text{Hz}$, 1H), 5.47-5.29 (m, 4H), 4.37-4.35 (m, 1H), 3.75-3.73 (m, 3H), 2.17-2.06 (m, 9H)。

[0357] 步骤3. 化合物67的合成

[0358] 在室温、 N_2 气氛下,向经搅拌的(2S, 3S, 4S, 5R, 6S)-3, 4, 5-参(乙酰氧基)-6-(4-甲酰基-2-硝基苯氧基)噁烷-2-羧酸甲酯(化合物66, 6.00g, 12.41mmol, 1.00当量)于MeOH (50mL)中的溶液中分批添加 NaBH_4 (0.47g, 12.42mmol, 1.00当量)。将所得混合物在室温、 N_2 气氛下搅拌2h。LCMS指示反应完成。在室温下用水淬灭反应。将所得物通过 Na_2SO_4 干燥。将所得混合物过滤,将滤饼用DCM洗涤。将所得混合物在真空下浓缩,得到呈固体的(2S, 3S, 4S, 5R, 6S)-3, 4, 5-参(乙酰氧基)-6-[4-(羟甲基)-2-硝基苯氧基]噁烷-2-羧酸甲酯(化合物67, 5.5g, 91%)。LCMS (ES, m/z): 486 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0359] 步骤4. 化合物68的合成

[0360] 在室温下,向经搅拌的(2S, 3S, 4S, 5R, 6S)-3, 4, 5-参(乙酰氧基)-6-[4-(羟甲基)-2-硝基苯氧基]噁烷-2-羧酸甲酯(化合物67, 5.50g, 11.33mmol, 1.00当量)于EA (60mL)中的混合物中分批添加Pd/C (1.10g, 10%)。将所得混合物在室温、 H_2 气氛下搅拌16h。LCMS指示反应完成。将所得混合物过滤,将滤饼用DCM及MeOH洗涤。将滤液在真空下浓缩,得到呈固体的(2S, 3S, 4S, 5R, 6S)-3, 4, 5-参(乙酰氧基)-6-[2-氨基-4-(羟甲基)苯氧基]噁烷-2-羧酸甲酯(化合物68, 4.0g, 77%)。粗产物未经进一步纯化直接用于下一步。LCMS (ES, m/z): 456 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0361] 步骤5. 化合物70的合成

[0362] 在0℃、 N_2 气氛下,向经搅拌的(2S, 3S, 4S, 5R, 6S)-3, 4, 5-参(乙酰氧基)-6-[2-氨基-4-(羟甲基)苯氧基]噁烷-2-羧酸甲酯(化合物68, 1.00g, 2.19mmol, 1.00当量)及 NaHCO_3 (0.20g, 2.40mmol, 1.1当量)于THF (10mL)中的溶液中分批添加N-(3-氯-3-氧代丙基)氨基

甲酸9H-苻-9-基甲酯(化合物69,0.87g,2.62mmol,1.20当量)。将所得混合物在0℃、N₂气氛下搅拌6h。LCMS指示反应完成。在室温下用水淬灭反应。将所得混合物用DCM萃取。将合并的有机层在减压下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化,用PE/EA(EA=100%)溶析,得到呈淡黄色固体的(2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-参(乙酰氧基)-6-[2-(3-[[(9H-苻-9-基甲氧基)羰基]氨基]-丙酰胺基)-4-(羟甲基)苯氧基]噁烷-2-羧酸甲酯(化合物70,1.1g,66%)。LCMS(ES,m/z):749[M+H]⁺。

[0363] 步骤6.化合物72的合成

[0364] 在0℃、N₂气氛下,向经搅拌的(2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-参(乙酰氧基)-6-[2-(3-[[(9H-苻-9-基甲氧基)羰基]氨基]丙酰胺基)-4-(羟甲基)苯氧基]噁烷-2-羧酸甲酯(化合物70,1.50g,2.00mmol,1.00当量)及碳酸双(4-硝基苯酯)(化合物71,0.68g,2.24mmol,1.12当量)于DMF(15mL)中的混合物中分批添加DIEA(0.52g,4.01mmol,2.00当量)。将所得混合物在室温、氮气气氛下搅拌隔夜。LCMS指示反应完成。将反应混合物通过反相快速色谱法在以下条件下纯化:柱,C18硅胶;流动相,含ACN的水(0.1% FA),40min内10%至90%梯度;检测器,UV 254nm。将收集的流份在真空中浓缩至干,得到呈黄色固体的(2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-参(乙酰氧基)-6-[2-(3-[[(9H-苻-9-基甲氧基)羰基]-氨基]丙酰胺基)-4-[[(4-硝基苯氧基羰基)氧基]甲基]苯氧基]噁烷-2-羧酸甲酯(化合物72,1.4g,48%)。LCMS(ES,m/z):914[M+H]⁺。

[0365] 步骤7.化合物73的合成

[0366] 在室温、N₂气氛下,向经搅拌的(2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-参(乙酰氧基)-6-[2-(3-[[(9H-苻-9-基甲氧基)羰基]氨基]丙酰胺基)-4-[[(4-硝基苯氧基羰基)氧基]甲基]苯氧基]噁烷-2-羧酸甲酯(化合物72,1.00g,1.09mmol,1.00当量)及1-(3-氯-4-[2-[2-(甲氨基)乙氧基]乙基]苯基)-3-[[2-(2,6-二氧化哌啶-3-基)-1-氧代-3H-异吡啶-5-基]甲基]脲(新降解剂P1,0.58g,1.09mmol,1.00当量)于DMF(10mL)中的混合物中分批添加HOBT(1.18g,8.72mmol,8.00当量)及2,4-二甲基吡啶(1.07g,8.72mmol,8.00当量)。将所得混合物在室温、N₂气氛下搅拌16h。LCMS指示反应完成。将所得混合物进一步纯化。将残余物通过反相快速色谱法在以下条件下纯化:柱,C18硅胶;流动相,含ACN的水(0.1% FA),40min内10%至80%梯度;检测器,UV 254nm。将收集的流份在真空中浓缩,得到呈固体的(2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-参(乙酰氧基)-6-[4-[[[2-(2-[2-氯-4-[[[2-(2,6-二氧化哌啶-3-基)-1-氧代-3H-异吡啶-5-基]甲基]氨基甲酰基)氨基]苯基]乙氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基]氧基]甲基]-2-(3-[[(9H-苻-9-基甲氧基)羰基]氨基]丙酰胺基)苯氧基]噁烷-2-羧酸甲酯(化合物73,800mg,56%)。LCMS(ES,m/z):1302[M+H]⁺。

[0367] 步骤8.化合物74的合成

[0368] 在室温、N₂气氛下,向经搅拌的(2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-参(乙酰氧基)-6-[4-[[[2-(2-[2-氯-4-[[[2-(2,6-二氧化哌啶-3-基)-1-氧代-3H-异吡啶-5-基]甲基]氨基甲酰基)氨基]苯基]乙氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基]氧基]甲基]-2-(3-[[(9H-苻-9-基甲氧基)羰基]氨基]丙酰胺基)苯氧基]噁烷-2-羧酸甲酯(化合物73,800.00mg,0.61mmol,1.00当量)于THF(80mL)中的混合物中分批添加HCl(6N,80mL)。将所得混合物在50℃、氮气气氛下搅拌3h。LCMS指示反应完成。将所得混合物在真空中浓缩。将残余物通过反相快速色谱法在以下条件下纯化:柱,C18硅胶;流动相,含ACN的水(0.1% FA),40min内0%至80%梯

度;检测器,UV 254nm。将收集的流份冻干,得到呈白色固体的(2S,3S,4S,5R,6S)-6-[4-[[[2-(2-[2-氯-4-[[[2-(2,6-二氧化哌啶-3-基)-1-氧代-3H-异吡啶-5-基]甲基]氨基甲酰基)氨基]苯基]乙氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基]氧基)甲基]-2-(3-[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基)丙酰胺基)苯氧基]-3,4,5-三羟基噁烷-2-羧酸(化合物74,230mg,32%)。LCMS(ES,m/z):1162[M+H]⁺。

[0369] 步骤9.化合物75的合成

[0370] 在室温、氮气气氛下,向经搅拌的(2S,3S,4S,5R,6S)-6-[4-[[[2-(2-[2-氯-4-[[[2-(2,6-二氧化哌啶-3-基)-1-氧代-3H-异吡啶-5-基]甲基]氨基甲酰基)氨基]苯基]乙氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基]氧基)甲基]-2-(3-[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基)丙酰胺基)苯氧基]-3,4,5-三羟基噁烷-2-羧酸,74(230mg,0.2mmol,1.00当量)于DMF(2mL)中的溶液中分批添加哌啶(0.4mL)。将所得混合物在室温、氮气气氛下搅拌10min。LCMS指示反应完成。将所得混合物直接通过制备型HPLC在以下条件的情况下进行进一步纯化(柱:XSelect CSH制备型C18 OBD柱,19x250 mm,5um;流动相A:水(0.05% TFA),流动相B:ACN;流速:25mL/min;梯度:7min内20B至40B;220nm;RT1:5.78min),得到呈白色固体的(2S,3S,4S,5R,6S)-6-[2-(3-氨基丙酰胺基)-4-[[[2-(2-[2-氯-4-[[[2-(2,6-二氧化哌啶-3-基)-1-氧代-3H-异吡啶-5-基]甲基]氨基甲酰基)氨基]苯基]乙氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基]氧基)甲基]苯氧基]-3,4,5-三羟基噁烷-2-羧酸(化合物75,35mg,18%)。LCMS(ES,m/z):940[M+H]⁺。

[0371] 步骤10.化合物(Ih)的合成

[0372] 在室温、氮气气氛下,向经搅拌的(2S,3S,4S,5R,6S)-6-[2-(3-氨基丙酰胺基)-4-[[[2-(2-[2-氯-4-[[[2-(2,6-二氧化哌啶-3-基)-1-氧代-3H-异吡啶-5-基]甲基]氨基甲酰基)氨基]苯基]乙氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基]氧基)甲基]苯氧基]-3,4,5-三羟基噁烷-2-羧酸(化合物75,110mg,0.12mmol,1.00当量)及戊二酸双(2,5-二氧化吡咯烷-1-酯)(化合物76,46mg,0.14mmol,1.2当量)于DMF(2.0mL)中的溶液中分批添加DIEA(30mg,0.23mmol,2.0当量)。将所得混合物在室温、氮气气氛下搅拌1h。LCMS指示反应完成。将反应混合物通过制备型HPLC在以下条件的情况下纯化(柱:Kinetex EVO制备型C18,30*150,5um;流动相A:水(0.05% TFA),流动相B:ACN;流速:60mL/min;梯度:7min内21% B至41% B,41% B;波长:254nm;RT1(min):5.8。将收集的流份冻干,得到呈白色固体的(2S,3S,4S,5R,6S)-6-{4-[[[2-(2-[2-氯-4-[[[2-(2,6-二氧化哌啶-3-基)-1-氧代-3H-异吡啶-5-基]甲基]氨基甲酰基)氨基]苯基]乙氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基]氧基)甲基]-2-(3-{5-[(2,5-二氧化吡咯烷-1-基)氧基]-5-氧代戊酰胺基}丙酰胺基)苯氧基}-3,4,5-三羟基噁烷-2-羧酸(化合物(Ih),48mg,34%)。LCMS(ES,m/z):1151[M+H]⁺,1173[M+Na]⁺。¹H-NMR(300MHz,DMSO-d₆):12.80(br s,1H),10.98(s,1H),9.08(s,1H),8.79(s,1H),8.18(s,1H),7.96(s,1H),7.68-7.66(m,2H),7.51(s,1H),7.44(d,J=8.1Hz,1H),7.25-7.00(m,4H),6.82-6.80(m,1H),5.86(s,1H),5.39-5.30(m,2H),5.14-5.07(m,1H),4.97(s,2H),4.84(d,J=7.2Hz,1H),4.47-4.27(m,4H),3.90(d,J=9.6Hz,1H),3.56-3.48(m,4H),3.45-3.36(m,6H),2.95-2.80(m,8H),2.75-2.65(m,3H),2.62-2.55(m,2H),2.49-2.35(m,1H),2.21-2.16(m,2H),2.01-1.95(m,1H),1.85-1.80(m,2H)。

[0373] 实施例7:新降解剂缀合物的制备及表征的一般程序

[0374] 方案7:CD33AB-化合物(Ia)的合成

[0375] CD33AB-化合物(Ia)的合成

[0376] 将2.25摩尔当量的TCEP添加至7.8mg/mL CD33AB于50mM EPPS、5mM EDTA pH 7.0中的溶液中,且将混合物在37℃下孵育2小时。将部分还原的抗体冷却至环境温度后,添加8摩尔当量的化合物(Ia)作为于DMA中的储备溶液,使得抗体的最终浓度为7.0mg/mL,且DMA的最终浓度为10% (v/v)。将反应在环境温度下孵育1小时。通过使用Zeba 40K去盐柱进行凝胶过滤,然后使用Slide-a-Lyzer盒(10K MWCO) .进行透析,将所得缀合物纯化至20mM琥珀酸钠、8%蔗糖、0.01% Tween-20pH 5.5调配缓冲液中。通过SEC发现经纯化的AnDC具有100%的单体,通过还原RPLC-MS发现平均载药量为3.1药物/抗体,且通过RPLC发现<1.5%未缀合化合物(Ia)。

[0377] 方案8:CD33AB-化合物(Ib)的合成

[0378] CD33AB-化合物(Ib)的合成

[0379] 将3.8摩尔当量的化合物(Ib)呈于DMA中的储备溶液添加至CD33AB于50mM EPPS pH8.0缓冲液中的溶液中,使得抗体的最终浓度为6.4mg/mL,且DMA的最终浓度为10% (v/v)。将反应在环境温度下孵育3小时。通过使用Zeba 40K去盐柱进行凝胶过滤,然后使用Slide-a-Lyzer盒(10K MWCO) .进行透析,将所得缀合物纯化至20mM琥珀酸钠、8%蔗糖、0.01% Tween-20pH 5.5调配缓冲液中。通过SEC发现经纯化的AnDC具有100%的单体,通过完整RPLC-MS发现平均载药量为3.1药物/抗体,且通过RPLC发现<1.5%未缀合化合物(Ib)。

[0380] 浓度及单体通过粒径筛析色谱法,使用7.8x 300mM TSKGel 3000SWXL柱及5 μ m颗粒(Tosoh Bioscience),用400mM高氯酸钠、50mM磷酸钠、5% (v/v) 异丙醇流动相等度溶析,以0.5mg/mL运行30min来确定。根据抗体标准曲线定量新降解剂缀合物,在214nm处检测。

[0381] 通过疏水相互作用色谱法,使用4.6x 35mm TSKgel丁基-NPR柱及2.5 μ m颗粒确定药物与抗体比(DAR)。流动相A为1.5M硫酸铵、25mM磷酸钠pH 7.0。流动相B为25mM磷酸钠pH 7.0、25% (v/v) 异丙醇。将分析物在12min内以0-100% B的线性梯度溶析,流速为0.6mL/min。检测为在214nm处。

[0382] 通过混合模式色谱法,使用4.6x 250mm HISEP柱及2.5 μ m颗粒(Supelco) 确定游离接头有效载荷。流动相A为100mM乙酸铵。流动相B为100% 乙腈。将分析物在25min内以25-40%B的梯度溶析,然后在2min内以40-100% B的梯度溶析,流速为0.7mL/min。柱温度为35℃。使用外标准曲线,在254nm处检测,定量游离接头有效载荷。

[0383] 可使用上述程序制备额外的新降解剂缀合物,用赖氨酸或半胱氨酸反应性缀合柄取代适当的接头-新降解剂。

[0384] 实施例8:用抗CD33抗体-新降解剂缀合物治疗急性髓性白血病(AML)

[0385] 测试无胸腺裸鼠(Cr1:NU(NCr)-Foxn1^{nu}, Charles River) 中的CD33AB-新降解剂化合物。将50% Matrigel中的1 x 10⁷个MV411人类急性单核球白血病细胞(ATCC®CRL-5991TM)皮下注射于小鼠侧腹(0.1mL/小鼠)。一旦肿瘤达到100-150mm³的平均大小,便向小鼠给药抗CD33抗体-新降解剂缀合物、非靶向新降解剂缀合物及溶媒对照。

[0386] CD33AB-化合物(Ia)、CD33AB-化合物(Ib)的储备溶液用溶媒稀释,以获得0.302mg/mL及0.294mg/mL给药溶液,其在根据各动物的体重调整的10mL/kg(每20g小鼠0.2mL)的给药体积中提供3.02mg/kg及2.94mg/kg。该给药策略确保向各测试组提供相同量

的有效载荷。Mylotarg在0.9%氯化钠溶液中稀释至0.01mg/mL,其在10mL/kg(每20克小鼠0.2mL)的给药体积中提供3mg/kg。维奈托克于由60% PG、30% PEG400、10%乙醇构成的溶剂中经由超声波处理经调配,以获得5mg/mL给药悬浮液,其在以10mL/kg的体积施用递送50mg/kg。对CC-90009进行离心以收集底部粉末;然后添加N-甲基-2-吡咯烷酮(NMP)、PEG400及盐水,且逐一充分混合,以获得于5% NMP、45% PEG400及50%盐水中的0.5mg/mL给药溶液,其在以10mL/kg的体积施用递送5mg/kg。

[0387] 将小鼠如下分为6个治疗组(N=9/组):1)溶媒;2)CD33AB-化合物(Ia)(3.02mg/kg,iv,qd x 1);3)CD33AB-化合物(Ib)(2.94mg/kg,iv,qd x 1);4)Mylotarg(0.1mg/kg,iv,qd x 1);5)维奈托克(50mg/kg,po,qd x 21);6)CC-90009(5mg/kg,ip,bid x 10)。第1-4组的测试物品呈单个剂量(qd x 1)静脉内(iv)以根据体重调整的体积(0.200mL/20g小鼠)施用。维奈托克为口服(po)施用,而CC-90009为腹膜内(ip)施用,按各动物的BW调整,给药体积为10mL/kg(每20g小鼠0.2mL)。

[0388] 每周两次使用卡尺测量肿瘤,且当各动物的肿瘤达到终点体积($2,000\text{mm}^3$)或在研究的最后一天(第45天)(以先到者为准)时,对各动物实施安乐死。MTV(n)定义为研究最后一天,肿瘤未达到终点体积的剩余动物数量(n)的中位肿瘤体积。

[0389] 如图1A所示,与溶媒相比,两种新降解剂缀合物随时间推移提供较慢的肿瘤生长。

[0390] 为了进一步确认活性,并且评估替代缀合及接头释放方式,分别在临床试验中以临床给药水平测试了一组基于CD33AB的缀合物,且将其与Mylotarg(临床上批准的CD33靶向ADC)及CC-90009(小分子GSPT1降解剂)进行比较。如图1B所示,且与体外观察结果一致,用基于CD33AB的缀合物在体内治疗CD33阳性AML模型肿瘤(MV4-11),释放新降解剂P1导致肿瘤消退,其中在含有 β -葡萄糖苷酸释放触发剂及半胱氨酸缀合的缀合物的情况下见到最稳健的效果。 β -glu接头的两种变体(化合物(Ie)相对于化合物(Ia))的比较表明,与化合物(Ie)相比,化合物(Ia)缀合物表达出持久性更长的响应。

[0391] 实施例9:用抗CD33抗体-新降解剂缀合物治疗人类白血病模型

[0392] 为了确认在一系列CD33阳性及CD33阴性模型中的活性,对CD33AB-化合物(Ia)缀合物在一组体外人类白血病模型(包括CD33阳性AML及CD33阴性恶性肿瘤)中诱导肿瘤细胞杀伤的功效进行了评估。使用一组CD33阳性急性髓性白血病细胞株及一组非AML CD33阴性细胞测量测试物品(TA)的细胞毒性。将预定浓度的细胞铺板至96孔盘中,且在 $37^\circ\text{C}/5\%\text{CO}_2$ 下孵育隔夜后,将各测试物品(TA)的系列稀释液添加至细胞中。将细胞与测试物品一起孵育72小时,且用CellTiter-Glo®试剂(Promega)检测活力。将各细胞株的发光值标准化,且使用Prizm软件计算IC50。结果如图2所示。虽然缀合物在几个CD33+细胞中显示出良好的活性,但有利的是,缀合物在CD33阴性细胞模型中为无活性的。

[0393] 实施例10:抗CD33抗体-新降解剂缀合物的细胞毒性

[0394] 使用MV4-11 CD33阳性急性髓性白血病细胞测量缀合物的细胞毒性。将细胞铺板于96孔盘中的检定培养基,且将于检定培养基中制备的CD33AB-化合物I(a)缀合物、维奈托克、Mylotarg、CC-885、CC-90009、CD33AB(未缀合抗体)或非结合AnDC对照的系列稀释液添加至细胞中。将细胞孵育72小时,然后用细胞计数试剂盒-8(Dojindo)或CellTiter-Glo®试剂(Promega)检测细胞活力。如图3所示,结果表明该缀合物表达出与CC885或Mylotarg CD33阳性AML细胞相当的总体体外功效,在一些情况下功效优异。

[0395] 实施例11:抗CD33抗体-新降解剂缀合物在AML患者源性细胞中的活性

[0396] 在几个AML患者初代胚细胞中体外评估了CD33AB-化合物(Ia)缀合物。将自成年AML患者最后一次治疗后收集的冷冻骨髓样品解冻且铺板至含有缀合物、Mylotarg或CC-90009的连续稀释液的96孔盘中。将各盘在37°C/5% CO₂下孵育48小时,然后将每个孔中的红血球裂解,且将剩余细胞用blast标记抗体(先前确定各给予者的最佳blast抗体)及膜联蛋白V染色。将样品通过流式细胞仪进行分析。肿瘤细胞存活为通过各样品中存活肿瘤细胞的绝对计数来确定,且通过未处理的孔中的计数来标准化。如图4所示,与标准护理治疗(Mylo-targ)或探索性小分子GSPT1降解剂(CC-90009)相比,抗CD33抗体-新降解剂缀合物在患者源性细胞中表达出优异的活性(如通过细胞毒性所测量)。

[0397] 实施例12:抗CD33抗体-新降解剂缀合物对人类前驱细胞CFC增殖的活性

[0398] 由于CD33在正常骨髓前驱细胞群中表达,且正常细胞骨髓抑制为所观察到的Mylo-targ的不良事件(AE),因此在聚落形成检定中测量了CD33AB-化合物(Ia)缀合物、Mylo-targ及CC-90009对正常红血球、骨髓及巨核细胞前驱细胞的活性。在实验当天将正常人类骨髓轻密度细胞解冻,洗涤且铺板至24孔盘中的补充有rhIL-3(10ng/mL)、rhGM-CSF(10ng/mL)及rhSCF(50ng/mL)的XVivo 15培养基中。将CD33AB-化合物I(a)缀合物、Mylo-targ及CC-90009添加至各孔中,且将细胞孵育72小时。孵育后,对于骨髓及红血球前驱细胞,将400uL各细胞悬浮液添加至含有补充有rhIL-3(10ng/mL)、rhSCF(50ng/mL)、rhGM-CSF(10ng/mL)及rhEpo(3U/mL)的基于甲基纤维素的培养基中。对于巨核细胞前驱细胞,将细胞添加至35mm培养皿中,该培养皿含有半固体、基于胶原蛋白的基质,补充有hIL-3(10ng/mL)、rhIL-6(10ng/mL)及(50ng/mL)。孵育14天后,用显微镜评估骨髓及红血球前驱细胞的聚落。聚落按大小分为几类:CFU-E(聚落形成单位-红血球;这种聚落形成细胞产生含有少于200个红血球母细胞的小聚落)及BFU-E-红血球前驱细胞(爆式聚落形成单位-红血球;这是一种更原始的聚落形成细胞,且它产生含有超过200个红血球母细胞的更大的聚落)、CFU-GM-颗粒球-单核球前驱细胞(聚落形成单位-颗粒球、巨噬细胞;这种骨髓聚落形成细胞能够产生具有40个或更多个颗粒球-单核球和/或巨噬细胞的聚落)及CFU-GEMM-多能前驱细胞(聚落形成单位-颗粒球、红血球、巨噬细胞、巨核细胞;这种原始聚落形成细胞能够产生含有红血球以及20个或更多个颗粒球、巨噬细胞及巨核细胞的聚落)。

[0399] 对于巨核细胞,在孵育14天后,将细胞转移至载玻片上,固定,且用CD41抗体及碱性磷酸盐检测系统染色。聚落按大小分为三类:CFU-Mk(3-20)、CFU-Mk(21-49)、CFU-Mk(≥ 50)。结果通过未处理样品中的聚落数进行标准化,且使用Prizm软件计算IC₅₀。结果如图5所示。

[0400] 实施例13:与当前护理标准相比,抗CD33抗体-新降解剂缀合物在AML肿瘤中的活性

[0401] 将皮下肿瘤模型MV4-11人类急性髓细胞白血病细胞(0.1mL中的 1×10^6 个细胞)皮下接种至雌性无胸腺裸鼠的右侧腹中。当肿瘤达到150mm³大小时开始,通过向侧尾静脉静脉内注射、腹膜内注射、口服管饲法或其组合来用TA处理小鼠。每周两次测量肿瘤大小及小鼠体重。如图6所示,CD33AB-化合物(Ia)缀合物表达出优于最佳护理选择的功效。

[0402] 实施例14:抗CD33抗体-新降解剂缀合物在散播性AML模型中的活性

[0403] 由于AML为一种经常在患者全身散播的疾病,在多个骨髓壁龛(niche)中有病变且

在血流中循环,因此研究了CD33AB-化合物(Ia)缀合物在散播性AML体内模型中的活性。

[0404] 将散播性模型MV4-11细胞(0.2mL中的 3×10^6 个细胞)静脉内注射至雌性NCG小鼠的侧尾静脉中。肿瘤细胞注射后十三天开始处理。每天检查小鼠的发病率、死亡率及临床观察结果。每周测量体重两次。通过在生物发光成像前10分钟注射5 μ L/g D-荧光素,每周一次在麻醉下进行肿瘤发展的成像分析。

[0405] 将散播性模型OCI-AML2人类急性髓细胞白细胞细胞(0.2mL中的 1×10^7 个细胞)静脉内注射至雌性NOG小鼠的侧尾静脉中。肿瘤细胞注射后九天开始处理。每天检查小鼠的发病率、死亡率及临床观察结果。每周测量体重两次。通过在生物发光成像前10分钟注射5 μ L/g D-荧光素,每周一次在麻醉下进行肿瘤发展的成像分析。

[0406] 如图7所示,在两种模型(MV4-11及OCI-AML2)中都观察到了稳健的单剂量反应,其中荧光素信号持续消退,荧光素信号为肿瘤细胞杀伤的标志物。

[0407] 实施例15:CD33AB-化合物(Ia)缀合物对GSPT1的降解

[0408] 通过西方墨点监测GSPT1的降解,证实了CD33AB-化合物(Ia)缀合物的作用机制。自CD33AB-化合物(Ia)缀合物、新降解剂P1、CC-90009或Mylotarg处理6、12及18小时的MV4-11 CD33阳性AML细胞制备全细胞裂解物,然后通过电泳分离蛋白质且将其转移至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上。GSPT1通过可商购获得的兔抗GSPT1抗体(Abcam)探测,然后通过抗兔HRP缀合的二抗(Cell Signaling Technology)探测,且通过化学发光底物(ThermoFisher)检测。然后剥离PVDF膜且用 β -肌动蛋白-HRP缀合抗体(Cell Signaling Technology)重新探测。结果如图8所示。这些数据支持新降解剂P1与CD33AB的缀合增强了细胞驱动选择性GSPT1降解的胞内暴露。对于缀合物及小分子、新降解剂P1及CC-90009,在给药后短短6小时内观察到GSPT1水平的类似剂量依赖性降低。与使用新降解剂P1及CC-90009观察到的短暂耗竭相比(在12h时间点显示GSPT1水平反弹),使用缀合物的处理显示出至给药后18h的持久耗竭。这些数据支持在给药后延长活性有效载荷暴露的可能性,与更长反应持续时间及更低给药频率的可能性一致。

[0409] 实施例16:抗CD33抗体-新降解剂缀合物的药物动力学及药效学功效

[0410] 相对于先前观察到的建立肿瘤消退的剂量评估CD33AB-化合物(Ia)缀合物的暴露及药效学活性。将皮下肿瘤模型MV4-11人类急性髓细胞白血病细胞(0.1mL中的 1×10^6 个细胞)皮下接种至雌性无胸腺裸鼠的右侧腹中。用0.5mg/kg、1mg/kg及3mg/kg CD33AB-化合物(Ia)静脉内侧尾静脉注射处理小鼠。在给药前、给药后10分钟、30分钟、1小时、6小时、24小时、72小时及120小时时间点自皮下MV4-11肿瘤模型小鼠收集终末心脏穿刺血液及肿瘤。将血液加工成EDTA血浆,且将肿瘤在液氮中快速冷冻。

[0411] 药物动力学分析:通过LC-MS/MS对血浆样品中的缀合物有效载荷水平进行量化。该过程包含 β -葡萄糖醛酸酶消化以自缀合物中释放新降解剂P1有效载荷,然后进行蛋白质沉淀提取以收集游离及释放的有效载荷,以及使用MRM采集进行LC-MS/MS分析。根据线性、特异性、留存效应、准确度及精密度,该方法为合格的且符合小分子分析的非GLP生物分析定量LC-MS/MS的验收标准。使用WinNonLin(V8.3)计算相关药物动力学参数。

[0412] 药效学分析-使用具有蛋白酶及磷酸酶抑制剂的RIPA裂解缓冲液对肿瘤组织进行均质化,且使用多克隆兔抗GSPT1抗体(Abcam ab126090)进行西方墨点法。与体外观察到的GSPT1持久耗竭一致,单个体内剂量的缀合物足以维持降低的GSPT1水平长达120h(图9,顶

部)。此外,新降解剂P1与CD33AB的缀合导致P1的持久半衰期超过64h(图9,底部),支持有效载荷的持久暴露及较小给药频率的可能性。

[0413] 实施例17:抗CD33新降解剂缀合物对Mylotarg不敏感细胞株的活性

[0414] 使用一组已知对Mylotarg不敏感的CD33阳性急性髓性白血病细胞株(AML193及Kasumi-6)测量测试物品(TA)的体外细胞毒性。将预定浓度的细胞铺板至96孔盘中,且在37℃/5% CO₂下孵育隔夜后,将各测试物品(TA)的系列稀释液添加至细胞中。将细胞与测试物品一起孵育72小时,且用CellTiter-Glo®试剂(Promega)检测活力。将各细胞株的发光值标准化,且使用Prizm软件计算IC50。

[0415] 如图10A及图10B所示,缀合物对两种细胞株均具有良好的活性。

[0416] 应当理解,[实施方式]部分,而不是[发明内容]及[发明摘要]部分,旨在用于解释权利要求书。[发明内容]及[发明摘要]部分可阐述如发明人所设想的本公开的一个或多个但不是所有示范性方面,且因此不旨在以任何方式限制本公开及所附权利要求书。

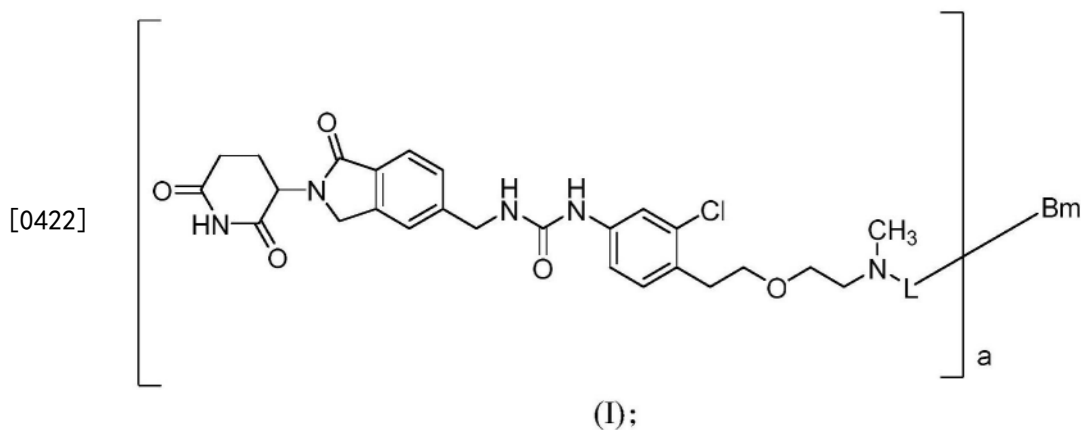
[0417] 上文已借助于说明特定功能的实施方案及其关系的功能建构区块描述了本公开。为了便于描述,本文已经任意定义了这些功能建构区块的边界。可定义替代边界,只要适当地执行特定功能及其关系即可。

[0418] 具体方面之前文描述将如此充分地公开本公开的一般性质,以使得其他人可在不偏离本公开的一般概念的情况下,通过应用本领域技术人员知识,无需过度实验,容易地修改和/或改写这些具体方面的各种应用。因此,基于本文所呈现的教导及指导,此类改写及修改旨在处于所公开方面的等同物的含义及范围内。应当理解,本文中的措辞或术语为出于描述而非限制的目的,使得本说明书的术语或措辞将由本领域技术人员根据教导及指导来解释。

[0419] 本公开的广度及范围不应受任何上述示范性方面的限制,而应仅根据以下项书及其等同物来定义。

[0420] 本公开涉及下述实施方案:

[0421] 1.一种式(I)的缀合物:

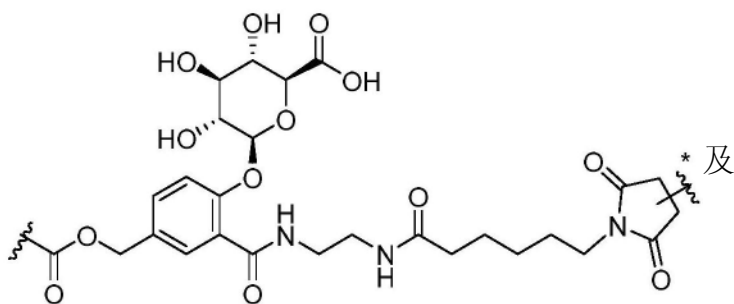


[0423] 或其药学上可接受的盐,其中:

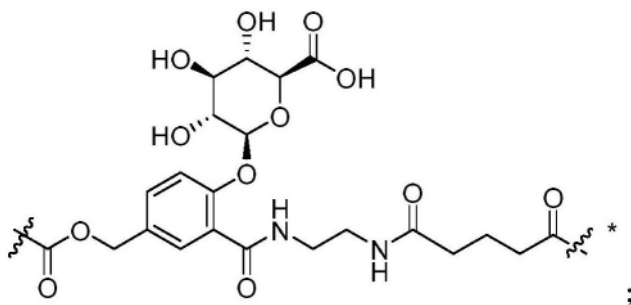
[0424] a为1至10;

[0425] L为选自以下的接头:

[0426]



[0427]



[0428] 其中:

[0429] 为与氮原子的连接点;且

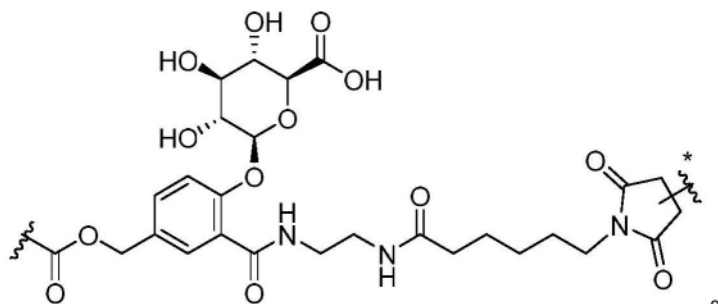
[0430] * 为与Bm的连接点;且

[0431] Bm为能够特异性结合作为细胞表面抗原的蛋白质的结合部分。

[0432] 2. 如项1的缀合物或其药学上可接受的盐,其中a为2至8。

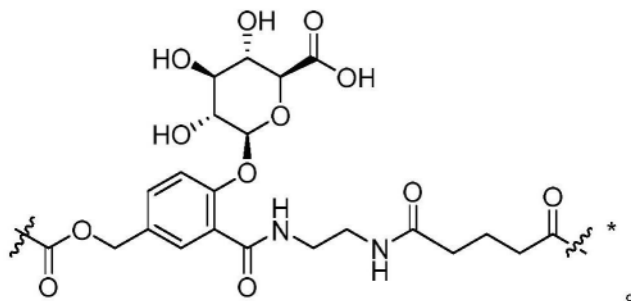
[0433] 3. 如项1或2的缀合物或其药学上可接受的盐,其中L为

[0434]



[0435] 4. 如项1或2的缀合物或其药学上可接受的盐,其中L为

[0436]



[0437] 5. 如项1至4中任一项的缀合物或其药学上可接受的盐,其中Bm为抗体或其抗原结合部分。

[0438] 6. 如项1至5中任一项的缀合物,其中该表面抗原为选自由以下组成的组: 5T4、

ACE、ADRB3、AKAP-4、ALK、雄激素受体、AOC3、APP、Axin1、AXL、B7H3、B7-H4、BCL2、BCMA、bcr-ab1、BORIS、BST2、C242、C4.4a、CA 125、CA6、CA9、CAIX、CCL11、CCR5、CD123、CD133、CD138、CD142、CD15、CD15-3、CD171、CD179a、CD18、CD19、CD19-9、CD2、CD20、CD22、CD23、CD24、CD25、CD27L、CD28、CD3、CD30、CD31、CD300LF、CD33、CD352、CD37、CD38、CD4、CD40、CD41、CD44、CD44v6、CD5、CD51、CD52、CD54、CD56、CD62E、CD62P、CD62L、CD70、CD71、CD72、CD74、CD79a、CD79b、CD80、CD90、CD97、CD125、CD138、CD141、CD147、CD152、CD154、CD326、CEA、CEACAM5、CFTR、凝集因子、cKit、密封蛋白3、密封蛋白18.2、CLDN6、CLEC12A、CLL-1、c113、c-MET、Crypto 1生长因子、CS1、CTLA-4、CXCR2、CXORF61、周期蛋白B1、CYP1B1、钙黏蛋白-3、钙黏蛋白-6、DLL3、E7、EDNRB、EFNA4、EGFR、EGFRvIII、ELF2M、EMR2、ENPP3、EPCAM、EphA2、Ephrin A4、Ephrin B2、EPHB4、ERBB2 (Her2/neu)、ErbB3、ERG (TMPRSS2 ETS融合基因)、ETBR、ETV6-AML、FAP、FCAR、FCRL5、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FLT3、叶酸受体 α 、叶酸受体 β 、FOLR1、Fos相关抗原1、岩藻糖基GM1、GCC、GD2、GD3、GloboH、GM3、GPC1、GPC2、GPC3、gp100、GPNMB、GPR20、GPRC5D、GUCY2C、HAVCR1、HER2、HER3、HGF、HMI.24、HMWMAA、HPV E6、hTERT、ICAM、ICOS-L、IFN- α 、IFN- γ 、IGF-I受体、IGLL1、IL-2受体 (IL-2R α (即, CD25)、IL-2R β (即, CD122)、IL-2R γ (即, CD132))、IL-4受体 (IL-4R、IL-2R γ / IL-13R α 1)、IL-13受体 (IL-13R α 1、IL-13R α 2、IL-4R) IL-1受体 (IL-1 α 1Ra)、IL-12受体 (IL-12R β 1、IL-12R β 2)、IL-23受体 (IL-12R β 1、IL-23R)、IL-22受体 (IL-22R α 1、IL-22R α 2、IL-10R β)、IL-5受体 (IL-5R α 、CSF2RB)、IL-6受体 (IL-6R α 、gp130)、干扰素受体、整合素 (包括 α_4 、 $\alpha_v\beta_3$ 、 $\alpha_v\beta_5$ 、 $\alpha_v\beta_6$ 、 $\alpha_1\beta_4$ 、 $\alpha_4\beta_1$ 、 $\alpha_4\beta_7$ 、 $\alpha_5\beta_1$ 、 $\alpha_6\beta_4$ 、 $\alpha_{IIB}\beta_3$ 整合素)、整合素 α_V 、肠羧基酯酶、KIT、LAGE-1a、LAIR1、LAMP-1、LCK、豆荚蛋白、刘易斯Y、LFA-1 (CD11a)、L-选择素 (CD62L)、LILRA2、LIV-1、LMP2、LRRC15、LY6E、LY6K、LY75、MAD-CT-1、MAD-CT-2、MAGE A1、MelanA/MART1、间皮素、ML-IAP、MSLN、黏蛋白、MUC1、MUC16、mut hsp70-2、MYCN、肌肉生长抑制素、NA17、NaPi2b、NCA-90、NCAM、Nectin-4、NGF、NOTCH1、NOTCH2、NOTCH3、NOTCH4、NY-BR-1、NY-ESO-1、o-乙酰基-GD2、OR51E2、OY-TES1、p53、p53突变体、PANX3、PAP、PAX3、PAX5、p-CAD、PCTA-1/半乳糖凝集素8、PD-L1、PD-L2、PDGFR、PDGFR- β 、磷脂酰丝氨酸、PIK3CA、PLAC1、聚唾液酸、前列腺酶、prostein、存活素及端粒酶、PRSS21、PSCA、PSMA、PTK7、RAGE-1、RANKL、Ras突变体、恒河猴因子、RhoC、RON、ROR1、ROR2、RU1、RU2、SART3、SLAMF7、SLC44A4、SLITRK6、精子蛋白17、鞘氨酸-1-磷酸盐、SSEA-4、SSX2、STEAP1、TAG72、TARP、TCR β 、TEM1/CD248、TEM7R、肌腱蛋白C、TF、TGF-1、TGF- β 2、TNF- α 、TGS5、Tie2、TIM-1、Tn Ag、TRAC、TRAIL-R1、TRAIL-R2、TROP-2、TRP-2、TRPV1、TSHR、肿瘤抗原CTAA16.88、酪氨酸酶、UPK2、VEGF、VEGFR1、VEGFR2、波形蛋白及WT1、XAGE1。

[0439] 7. 如项1至5中任一项的缀合物或其药学上可接受的盐, 其中该表面抗原为选自由以下组成的组: HER2、CD20、CD38、CD33、BCMA、CD138、EGFR、FGFR4、GD2、PDGFR、TEM1/CD248及TROP-2。

[0440] 8. 如项1至5中任一项的缀合物或其药学上可接受的盐, 其中该表面抗原为CD33。

[0441] 9. 如项5的缀合物或其药学上可接受的盐, 其中该抗体为选自由以下组成的组: 利妥昔单抗 (rituximab)、曲妥珠单抗 (trastuzumab)、吉妥珠单抗 (gemtuzumab)、CD33AB、帕妥珠单抗 (pertuzumab)、奥比妥珠单抗 (obinutuzumab)、奥法木单抗 (ofatumumab)、奥拉单抗 (olaratumab)、恩妥昔单抗 (ontuximab)、伊沙妥昔单抗 (isatuximab)、沙西妥珠单抗 (Sacituzumab)、U3-1784、达雷妥尤单抗 (daratumumab)、STI-6129、林妥珠单抗

(lintuzumab)、huMy9-6、huMy9-6-IgG4-S228P、贝兰他单抗(balantamab)、英达妥昔单抗(indatuximab)、西妥昔单抗(cetuximab)、地妥昔单抗(dinutuximab)、抗CD38 A2抗体、HuAT13/5抗体、阿仑单抗(alemtuzumab)、替伊莫单抗(ibritumomab)、托西莫单抗(tositumomab)、贝伐单抗(bevacizumab)、帕尼单抗(panitumumab)、曲美木单抗(tremelimumab)、替西木单抗(ticilimumab)、卡妥索单抗(catumaxomab)、奥瑞戈伏单抗(oregovomab)及维妥珠单抗(veltuzumab)。

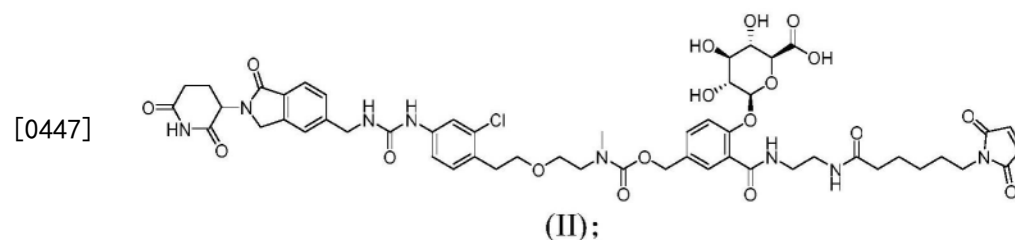
[0442] 10. 如项5的缀合物或其药学上可接受的盐,其中该抗体为利妥昔单抗、曲妥珠单抗、帕妥珠单抗、huMy9-6、huMy9-6-IgG4-S228P、CD33AB、林妥珠单抗或吉妥珠单抗。

[0443] 11. 如项5的缀合物或其药学上可接受的盐,其中该抗体或其抗原结合部分包含:重链可变区(VH)互补决定区(CDR)1(VH-CDR1),其包含如SEQ ID NO:1所列的氨基酸序列;VH-CDR2,其包含如SEQ ID NO:2所列的氨基酸序列;VH-CDR3,其包含如SEQ ID NO:3所列的氨基酸序列;轻链可变区(VL)CDR1(VL-CDR1),其包含如SEQ ID NO:5所列的氨基酸序列;VL-CDR2,其包含如SEQ ID NO:6所列的氨基酸序列;及VL-CDR3,其包含如SEQ ID NO:7所列的氨基酸序列。

[0444] 12. 如项12的缀合物或其药学上可接受的盐,其中该抗体或其抗原结合部分包含:VH,其包含如SEQ ID NO:4所列的氨基酸序列;及VL,其包含如SEQ ID NO:8所列的氨基酸序列。

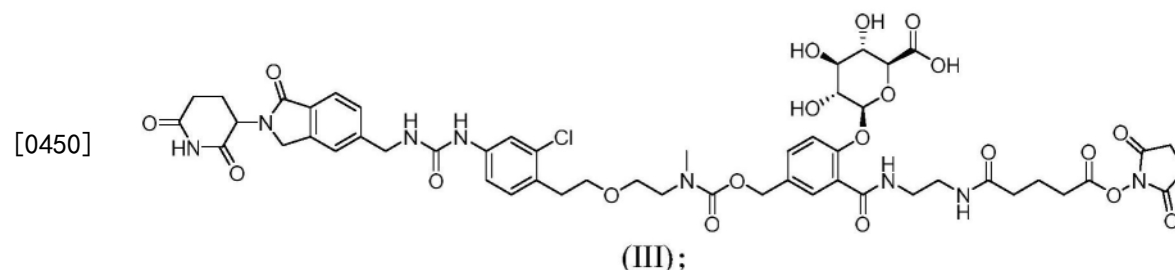
[0445] 13. 如项11的缀合物或其药学上可接受的盐,其中该抗体包含:重链,其包含如SEQ ID NO:9所列的氨基酸序列;及轻链,其包含如SEQ ID NO:10所列的氨基酸序列。

[0446] 14. 一种式(II)的化合物:



[0448] 或其药学上可接受的盐。

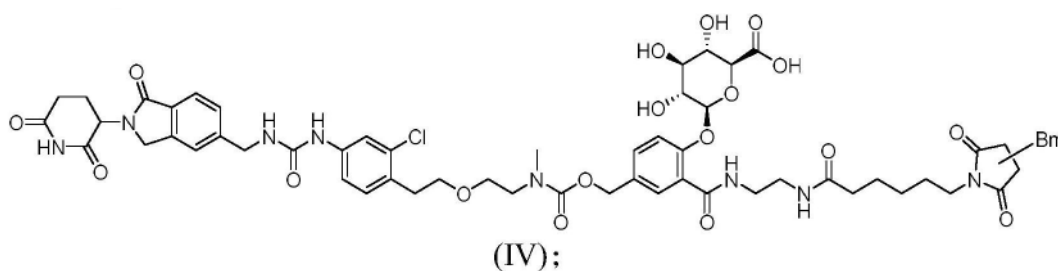
[0449] 15. 一种式(III)的化合物:



[0451] 或其药学上可接受的盐。

[0452] 16. 一种式(IV)的缀合物:

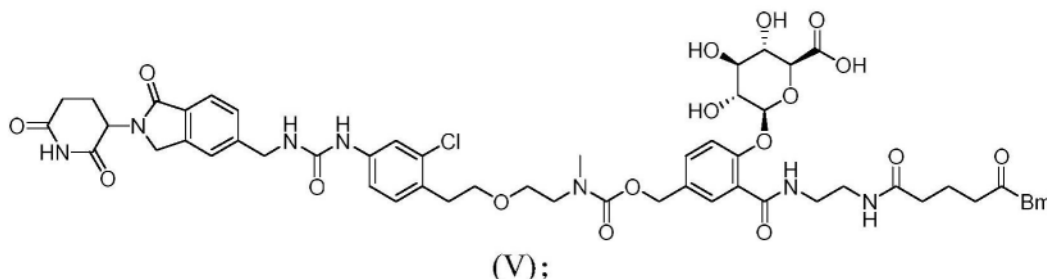
[0453]



[0454] 或其药学上可接受的盐,其中Bm为特异性结合作为细胞表面抗原的蛋白质的结合部分。

[0455] 17.一种式(V)的缀合物:

[0456]



[0457] 或其药学上可接受的盐,其中Bm为特异性结合作为细胞表面抗原的蛋白质的结合部分。

[0458] 18.如项16或17的缀合物或其药学上可接受的盐,其中Bm为抗体或其抗原结合部分。

[0459] 19.如项16至18中任一项的缀合物,其中该表面抗原为选自由以下组成的组:5T4、ACE、ADRB3、AKAP-4、ALK、雄激素受体、AOC3、APP、Axin1、AXL、B7H3、B7-H4、BCL2、BCMA、bcr-ab1、BORIS、BST2、C242、C4.4a、CA 125、CA6、CA9、CAIX、CCL11、CCR5、CD123、CD133、CD138、CD142、CD15、CD15-3、CD171、CD179a、CD18、CD19、CD19-9、CD2、CD20、CD22、CD23、CD24、CD25、CD27L、CD28、CD3、CD30、CD31、CD300LF、CD33、CD352、CD37、CD38、CD4、CD40、CD41、CD44、CD44v6、CD5、CD51、CD52、CD54、CD56、CD62E、CD62P、CD62L、CD70、CD71、CD72、CD74、CD79a、CD79b、CD80、CD90、CD97、CD125、CD138、CD141、CD147、CD152、CD154、CD326、CEA、CEACAM5、CFTR、凝集因子、cKit、密封蛋白3、密封蛋白18.2、CLDN6、CLEC12A、CLL-1、c113、c-MET、Crypto 1生长因子、CS1、CTLA-4、CXCR2、CXORF61、周期蛋白B1、CYP1B1、钙黏蛋白-3、钙黏蛋白-6、DLL3、E7、EDNRB、EFNA4、EGFR、EGFRvIII、ELF2M、EMR2、ENPP3、EPCAM、EphA2、Ephrin A4、Ephrin B2、EPHB4、ERBB2 (Her2/neu)、ErbB3、ERG (TMPRSS2 ETS融合基因)、ETBR、ETV6-AML、FAP、FCAR、FCRL5、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FLT3、叶酸受体 α 、叶酸受体 β 、FOLR1、Fos相关抗原1、岩藻糖基GM1、GCC、GD2、GD3、GloboH、GM3、GPC1、GPC2、GPC3、gp100、GPNMB、GPR20、GPC5D、GUCY2C、HAVCR1、HER2、HER3、HGF、HMI.24、HMWMAA、HPV E6、hTERT、ICAM、ICOS-L、IFN- α 、IFN- γ 、IGF-I受体、IGLL1、IL-2受体(IL-2R α (即CD25)、IL-2R β (即CD122)、IL-2R γ (即CD132))、IL-4受体(IL-4R、IL-2R γ /IL-13R α 1)、IL-13受体(IL-13R α 1、IL-13R α 2、IL-4R) IL-1受体(IL-1R α)、IL-12受体(IL-12R β 1、IL-12R β 2)、IL-23受体(IL-12R β 1、IL-23R)、IL-22受体(IL-22R α 1、IL-22R α 2、IL-10R β)、IL-5受体(IL-5R α 、CSF2RB)、IL-6受体(IL-6R α 、gp130)、干扰素受体、整合素(包括 α_4 、 $\alpha_v\beta_3$ 、 $\alpha_v\beta_5$ 、 $\alpha_v\beta_6$ 、 $\alpha_1\beta_4$ 、 $\alpha_4\beta_1$ 、 $\alpha_4\beta_7$ 、 $\alpha_5\beta_1$ 、 $\alpha_6\beta_4$ 、 $\alpha_{IIb}\beta_3$ 整合素)、整合素 α_v 、肠羧基酯酶、KIT、LAGE-1a、LAIR1、LAMP-1、LCK、豆荚蛋白、刘易斯Y、

LFA-1 (CD11a)、L-选择素 (CD62L)、LILRA2、LIV-1、LMP2、LRRC15、LY6E、LY6K、LY75、MAD-CT-1、MAD-CT-2、MAGE A1、MelanA/MART1、间皮素、ML-IAP、MSLN、黏蛋白、MUC1、MUC16、mut hsp70-2、MYCN、肌肉生长抑制素、NA17、NaPi2b、NCA-90、NCAM、Nectin-4、NGF、NOTCH1、NOTCH2、NOTCH3、NOTCH4、NY-BR-1、NY-ESO-1、 α -乙酰基-GD2、OR51E2、OY-TES1、p53、p53突变体、PANX3、PAP、PAX3、PAX5、p-CAD、PCTA-1/半乳糖凝集素8、PD-L1、PD-L2、PDGFR、PDGFR- β 、磷脂酰丝氨酸、PIK3CA、PLAC1、聚唾液酸、前列腺酶、prostelin、存活素及端粒酶、PRSS21、PSCA、PSMA、PTK7、RAGE-1、RANKL、Ras突变体、恒河猴因子、RhoC、RON、ROR1、ROR2、RU1、RU2、SART3、SLAMF7、SLC44A4、SLITRK6、精子蛋白17、鞘氨酸-1-磷酸盐、SSEA-4、SSX2、STEAP1、TAG72、TARP、TCR β 、TEM1/CD248、TEM7R、肌腱蛋白C、TF、TGF-1、TGF- β 2、TNF- α 、TGS5、Tie2、TIM-1、Tn Ag、TRAC、TRAIL-R1、TRAIL-R2、TROP-2、TRP-2、TRPV1、TSHR、肿瘤抗原CTAA16.88、酪氨酸酶、UPK2、VEGF、VEGFR1、VEGFR2、波形蛋白、WT1及XAGE1。

[0460] 20. 如项16至18中任一项的缀合物或其药学上可接受的盐, 其中该表面抗原为选自自由以下组成的组: HER2、CD20、CD38、CD33、BCMA、CD138、EGFR、FGFR、GD2、PDGFR、TEM1/CD248及TROP-2。

[0461] 21. 如项18的缀合物或其药学上可接受的盐, 其中该抗体包含利妥昔单抗、曲妥珠单抗、吉妥珠单抗、帕妥珠单抗、奥比妥珠单抗、奥法木单抗、奥拉单抗、恩妥昔单抗、伊沙妥昔单抗、沙西妥珠单抗、U3-1784、达雷妥尤单抗、STI-6129、林妥珠单抗、huMy9-6、huMY9-6-IgG4-S228P、贝兰他单抗、英达妥昔单抗、西妥昔单抗、地妥昔单抗、抗CD38A2抗体、HuAT13/5抗体、CD33AB、阿仑单抗、替伊莫单抗、托西莫单抗、贝伐单抗、帕尼单抗、曲美木单抗、替西木单抗、卡妥索单抗、奥瑞戈伏单抗或维妥珠单抗。

[0462] 22. 如项21的缀合物或其药学上可接受的盐, 其中该抗体为利妥昔单抗、曲妥珠单抗、帕妥珠单抗、huMy9-6、huMy9-6-IgG4-S228P、CD33AB、林妥珠单抗或吉妥珠单抗。

[0463] 23. 如项18的缀合物或其药学上可接受的盐, 其中该抗体或其抗原结合部分包含: VH-CDR1, 其包含如SEQ ID NO:1所列的氨基酸序列; VH-CDR2, 其包含如SEQ ID NO:2所列的氨基酸序列; VH-CDR3, 其包含如SEQ ID NO:3所列的氨基酸序列; VL-CDR1, 其包含如SEQ ID NO:5所列的氨基酸序列; VL-CDR2, 其包含如SEQ ID NO:6所列的氨基酸序列; 及VL-CDR3, 其包含如SEQ ID NO:7所列的氨基酸序列。

[0464] 24. 如项19的缀合物或其药学上可接受的盐, 其中该抗体或其抗原结合部分包含: VH, 其包含如SEQ ID NO:4所列的氨基酸序列; 及VL, 其包含如SEQ ID NO:8所列的氨基酸序列。

[0465] 25. 如项22的缀合物或其药学上可接受的盐, 其中该抗体包含: 重链, 其包含如SEQ ID NO:9所列的氨基酸序列; 及轻链, 其包含如SEQ ID NO:10所列的氨基酸序列。

[0466] 26. 一种药物组合物, 其包含如项1至25中任一项的缀合物或化合物或其药学上可接受的盐及一种或多种药学上可接受的载剂。

[0467] 27. 一种治疗有需要的个体的癌症的方法, 该方法包含向该个体施用药学上可接受的量的如项1至20中任一项的缀合物、化合物或组合物或其药学上可接受的盐。

[0468] 28. 如项27的方法, 其中该癌症为实性瘤。

[0469] 29. 如项27的方法, 其中该癌症为血液学癌症/血癌。

[0470] 30. 如项27的方法, 其中该癌症为乳腺癌、胃癌、淋巴瘤、急性髓性白血病、多发性

骨髓瘤、头颈癌、鳞状细胞癌和/或肝细胞癌。

[0471] 31. 如项27至30中任一项的方法, 其中该癌症对Mylotarg具有难治性或抗性。

[0472] 32. 一种治疗有需要的个体的骨髓增生异常综合征 (MDS) 的方法, 该方法包含向该个体施用药学上可接受的量的如项1至20中任一项的缀合物、化合物或组合物或其药学上可接受的盐。

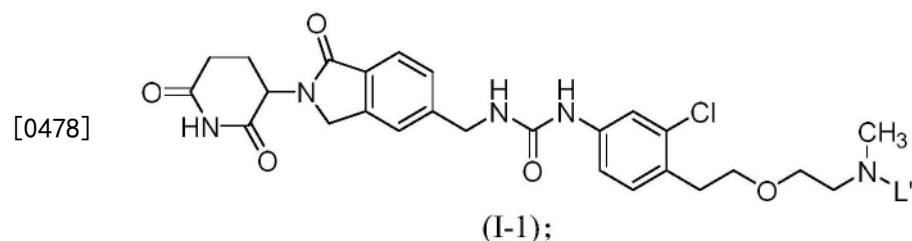
[0473] 33. 如项27至32中任一项的方法, 其进一步包含在如项1至26中任一项的缀合物、化合物或组合物或其药学上可接受的盐之前、之后或同时向该个体施用药学上可接受的量的额外剂。

[0474] 34. 如项33的方法, 其中该额外剂为细胞毒性剂或免疫反应调节剂。

[0475] 35. 如项34的方法, 其中该免疫反应调节剂为检查点抑制剂。

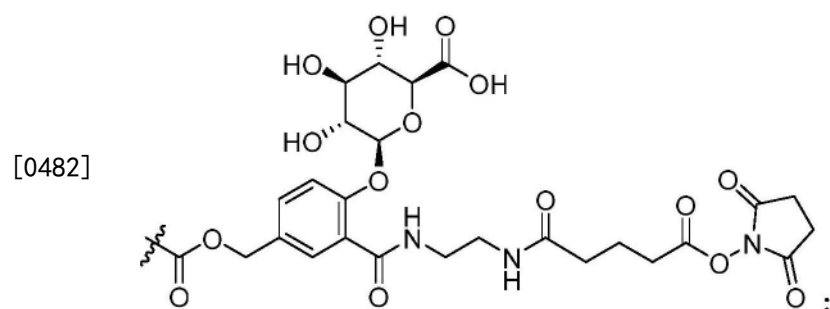
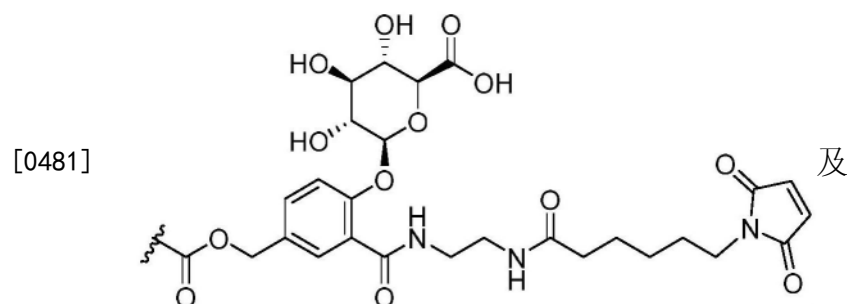
[0476] 36. 如项35的方法, 其中该检查点抑制剂包含PD-1抑制剂、PD-L1抑制剂、CTLA-4抑制剂、TIM3抑制剂和/或LAG-3抑制剂。

[0477] 37. 一种制备如项1的缀合物或其药学上可接受的盐的方法, 该方法包含使结合部分与式 (I-1) 的化合物:



[0479] 或其药学上可接受的盐反应, 其中:

[0480] L' 为选自



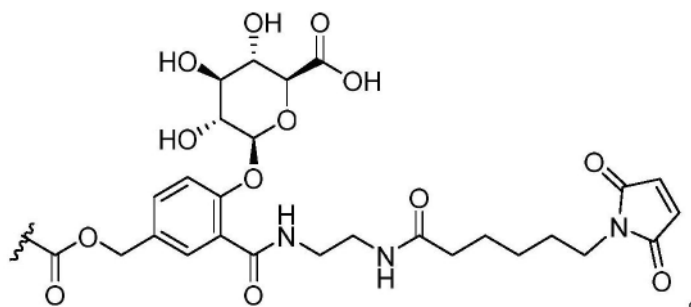
[0483] 其中:

[0484]  为与氮原子的连接点。

[0485] 38. 如项37的方法, 其进一步包含在与该式 (I-1) 的化合物反应之前还原该结合部分。

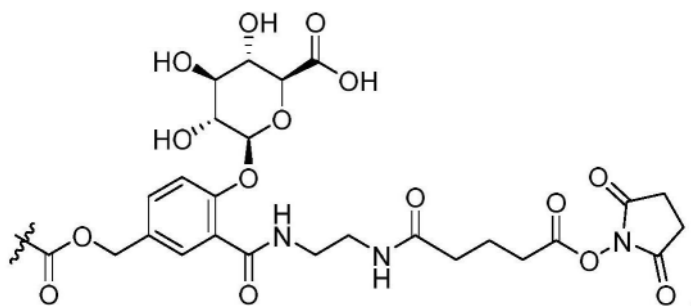
[0486] 39. 如项37或38的方法, 其中L'为

[0487]



[0488] 40. 如项37或38的方法, 其中L'为

[0489]



[0490] 41. 如项37至40中任一项的方法, 其中该式(I-1)的化合物与结合部分反应, 该结合部分包含抗体或其抗原结合部分。

[0491] 42. 如项37至41中任一项的方法, 其中该结合部分能够特异性结合选自以下组成的组的表面抗原: 5T4、ACE、ADRB3、AKAP-4、ALK、雄激素受体、AOC3、APP、Axin1、AXL、B7H3、B7-H4、BCL2、BCMA、bcr-abl、BORIS、BST2、C242、C4.4a、CA 125、CA6、CA9、CAIX、CCL11、CCR5、CD123、CD133、CD138、CD142、CD15、CD15-3、CD171、CD179a、CD18、CD19、CD19-9、CD2、CD20、CD22、CD23、CD24、CD25、CD27L、CD28、CD3、CD30、CD31、CD300LF、CD33、CD352、CD37、CD38、CD4、CD40、CD41、CD44、CD44v6、CD5、CD51、CD52、CD54、CD56、CD62E、CD62P、CD62L、CD70、CD71、CD72、CD74、CD79a、CD79b、CD80、CD90、CD97、CD125、CD138、CD141、CD147、CD152、CD154、CD326、CEA、CEACAM5、CFTR、凝集因子、cKit、密封蛋白3、密封蛋白18.2、CLDN6、CLEC12A、CLL-1、c113、c-MET、Crypto1生长因子、CS1、CTLA-4、CXCR2、CXORF61、周期蛋白B1、CYP1B1、钙黏蛋白-3、钙黏蛋白-6、DLL3、E7、EDNRB、EFNA4、EGFR、EGFRvIII、ELF2M、EMR2、ENPP3、EPCAM、EphA2、Ephrin A4、Ephrin B2、EPHB4、ERBB2 (Her2/neu)、ErbB3、ERG (TMPRSS2 ETS融合基因)、ETBR、ETV6-AML、FAP、FCAR、FCRL5、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FLT3、叶酸受体 α 、叶酸受体 β 、FOLR1、Fos相关抗原1、岩藻糖基GM1、GCC、GD2、GD3、GloboH、GM3、GPC1、GPC2、GPC3、gp100、GPNMB、GPR20、GPC5D、GUCY2C、HAVCR1、HER2、HER3、HGF、HMI.24、HMWMAA、HPV E6、hTERT、ICAM、ICOS-L、IFN- α 、IFN- γ 、IGF-I受体、IGLL1、IL-2受体 (IL-2R α (即CD25)、IL-2R β (即CD122)、IL-2R γ (即CD132))、IL-4受体 (IL-4R、IL-2R γ /IL-13R α 1)、IL-13受体 (IL-13R α 1、IL-13R α 2、IL-4R)、IL-1受体 (IL-1 1Ra)、IL-12受体 (IL-12R β 1、IL-12R β 2)、IL-23受体 (IL-12R β 1、IL-23R)、IL-22受体 (IL-22R α 1、IL-22R α 2、IL-10R β)、IL-5受体 (IL-5R α 、CSF2RB)、IL-6受体 (IL-6R α 、gp130)、干扰素受体、整合素 (包括 α_4 、 $\alpha_v\beta_3$ 、 $\alpha_v\beta_5$ 、 $\alpha_v\beta_6$ 、 $\alpha_1\beta_4$ 、 $\alpha_4\beta_1$ 、 $\alpha_4\beta_7$ 、 $\alpha_5\beta_1$ 、 $\alpha_6\beta_4$ 、 $\alpha_{IIB}\beta_3$ 整合素)、整合素 α_v 、肠羧基酯酶、KIT、LAGE-1a、LAIR1、LAMP-1、LCK、豆荚蛋白、刘易斯Y、LFA-1 (CD11a)、L-选择素 (CD62L)、LILRA2、LIV-1、LMP2、LRRC15、

LY6E、LY6K、LY75、MAD-CT-1、MAD-CT-2、MAGE A1、MelanA/MART1、间皮素、ML-IAP、MSLN、黏蛋白、MUC1、MUC16、mut hsp70-2、MYCN、肌肉生长抑制素、NA17、NaPi2b、NCA-90、NCAM、Nectin-4、NGF、NOTCH1、NOTCH2、NOTCH3、NOTCH4、NY-BR-1、NY-ESO-1、o-乙酰基-GD2、OR51E2、OY-TES1、p53、p53突变体、PANX3、PAP、PAX3、PAX5、p-CAD、PCTA-1/半乳糖凝集素8、PD-L1、PD-L2、PDGFR、PDGFR- β 、磷脂酰丝氨酸、PIK3CA、PLAC1、聚唾液酸、前列腺酶、prostein、存活素及端粒酶、PRSS21、PSCA、PSMA、PTK7、RAGE-1、RANKL、Ras突变体、恒河猴因子、RhoC、RON、ROR1、ROR2、RU1、RU2、SART3、SLAMF7、SLC44A4、SLITRK6、精子蛋白17、鞘氨酸-1-磷酸盐、SSEA-4、SSX2、STEAP1、TAG72、TARP、TCR β 、TEM1/CD248、TEM7R、肌腱蛋白C、TF、TGF-1、TGF- β 2、TNF- α 、TGS5、Tie2、TIM-1、Tn Ag、TRAC、TRAIL-R1、TRAIL-R2、TROP-2、TRP-2、TRPV1、TSHR、肿瘤抗原CTAA16.88、酪氨酸酶、UPK2、VEGF、VEGFR1、VEGFR2、波形蛋白、WT1及XAGE1。

[0492] 43. 如项42的方法, 其中该表面抗原为选自由以下组成的组: HER2、CD20、CD38、CD33、BCMA、CD138、EGFR、FGFR4、GD2、PDGFR、TEM1/CD248及Trop-2。

[0493] 44. 如项41的方法, 其中该抗体包含利妥昔单抗、曲妥珠单抗、吉妥珠单抗、帕妥珠单抗、奥比妥珠单抗、奥法木单抗、奥拉单抗、恩妥昔单抗、伊沙妥昔单抗、沙西妥珠单抗、U3-1784、达雷妥尤单抗、STI-6129、林妥珠单抗、huMy9-6、huMy9-6-IgG4-S228P、贝兰他单抗、英达妥昔单抗、西妥昔单抗、地妥昔单抗、抗CD38 A2抗体、CD33AB、HuAT13/5抗体、阿仑单抗、替伊莫单抗、托西莫单抗、贝伐单抗、帕尼单抗、曲美木单抗、替西木单抗、卡妥索单抗、奥瑞戈伏单抗或维妥珠单抗。

[0494] 45. 如项41的方法, 其中该抗体为利妥昔单抗、曲妥珠单抗、帕妥珠单抗、huMy9-6、huMy9-6-IgG4-S228P、CD33AB、林妥珠单抗或吉妥珠单抗。

[0495] 46. 如项41的方法, 其中该抗体或其抗原结合部分包含: VH-CDR1, 其包含如SEQ ID NO:1所列的氨基酸序列; VH-CDR2, 其包含如SEQ ID NO:2所列的氨基酸序列; VH-CDR3, 其包含如SEQ ID NO:3所列的氨基酸序列; VL-CDR1, 其包含如SEQ ID NO:5所列的氨基酸序列; VL-CDR2, 其包含如SEQ ID NO:6所列的氨基酸序列; 及VL-CDR3, 其包含如SEQ ID NO:7所列的氨基酸序列。

[0496] 47. 如项46的方法, 其中该抗体或其抗原结合部分包含: VH, 其包含如SEQ ID NO:4所列的氨基酸序列; 及VL, 其包含如SEQ ID NO:8所列的氨基酸序列。

[0497] 48. 如项47的方法, 其中该抗体包含: 重链, 其包含如SEQ ID NO:9所列的氨基酸序列; 及轻链, 其包含如SEQ ID NO:10所列的氨基酸序列。

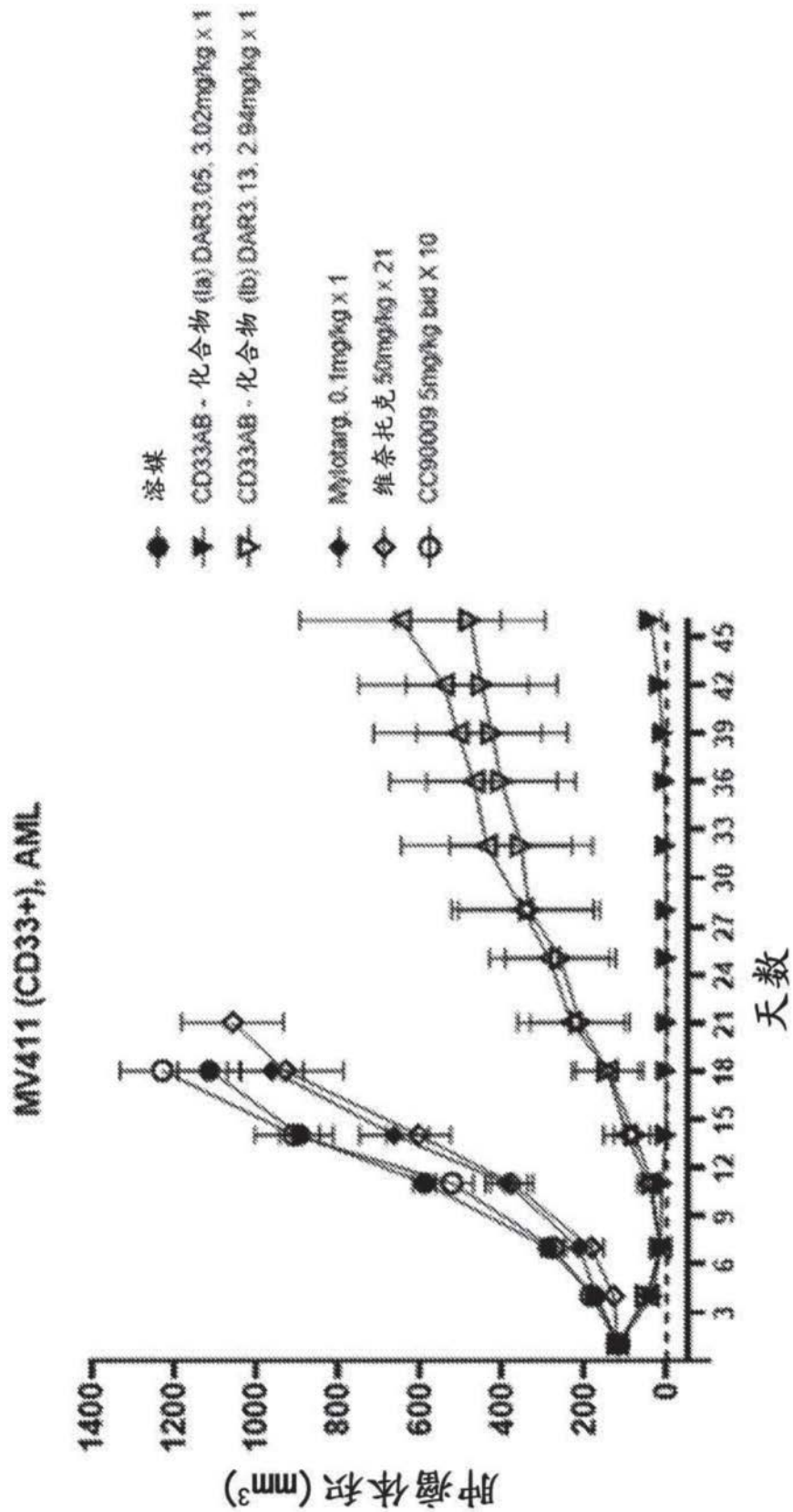


图1A

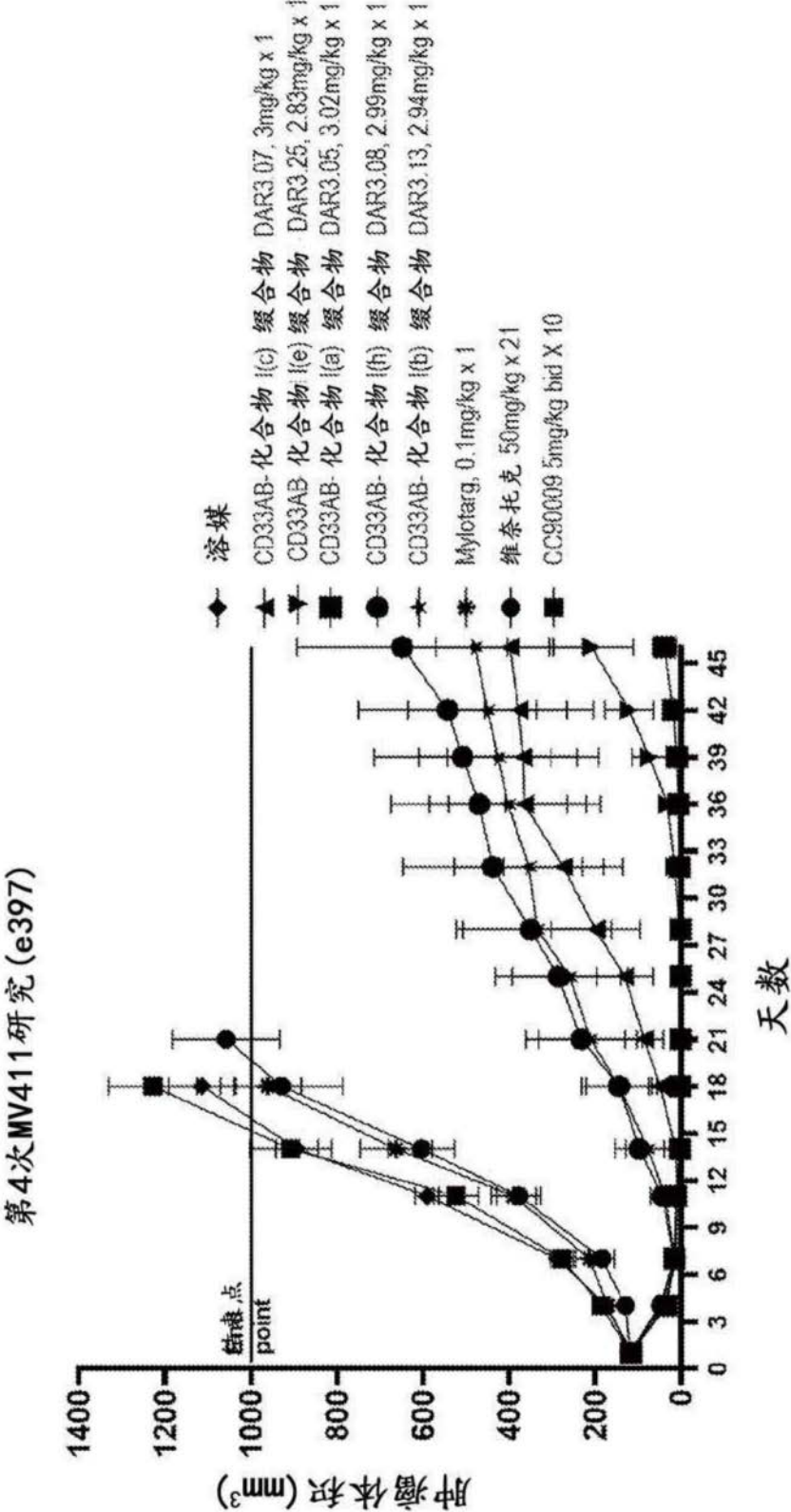


图1B

CD33+ AML 细胞					非AML (CD33-) 细胞				
细胞系	CC-90009 IC50 (M)	CD33AB- 化合物 I(a) 缓合物 IC50 (M)	Mylotarg IC50 (M)		细胞系	CC-90009 IC50 (M)	CD33AB- 化合物 I(a) 缓合物 IC50 (M)	Mylotarg IC50 (M)	
MV-4-11	1.20E-08	9.00E-11	7.00E-11		RS4;11	4.50E-09	>2.00E-08	5.60E-10	
ML-2	9.10E-09	9.00E-11	2.00E-11		CCRF-CEM	8.04E-09	>2.00E-08	8.56E-09	
HL-60	7.84E-09	1.10E-10	9.00E-11		TALL-1	4.12E-09	>2.00E-08	2.92E-09	
SKNO-1	4.94E-09	1.60E-10	4.00E-11		NALM-16	9.60E-09	>2.00E-08	8.02E-09	
F-36P	3.69E-09	2.00E-10	>2.00E-08		Molt-4	1.13E-08	>2.00E-08	4.30E-10	
Kasumi-6	>2.00E-08	3.40E-10	>2.00E-08		LC4-1	1.31E-08	>2.00E-08	1.47E-09	
OCI-AML-4	8.26E-09	3.60E-10	1.00E-10		Reh	1.37E-08	>2.00E-08	5.80E-10	
Molm-13	>2.00E-08	3.60E-10	3.00E-11		Loucy	4.07E-09	>2.00E-08	3.31E-09	
AML-193	9.59E-09	4.30E-10	>2.00E-08		ATN-1	>2.00E-08	>2.00E-08	8.03E-09	
EoL-1	1.18E-08	5.20E-10	3.00E-11		SUP-T1	>2.00E-08	>2.00E-08	8.61E-09	
HNT-34	1.33E-09	1.01E-09	5.20E-10		SUP-B15	>2.00E-08	>2.00E-08	1.78E-09	
Kasumi-3	1.16E-09	1.12E-08	>2.00E-08		Jurkat, 克隆 E6-1	>2.00E-08	>2.00E-08	1.02E-08	
OCI-AML-1	6.44E-09	>2.00E-08	9.00E-11		THP-1	>2.00E-08	>2.00E-08	2.57E-09	
KG-1a	1.27E-08	>2.00E-08	>2.00E-08		ARH-77	>2.00E-08	>2.00E-08	8.91E-09	
NOMO-1	>2.00E-08	>2.00E-08	>2.00E-08		SKM-1	>2.00E-08	>2.00E-08	4.50E-10	
KASUMI-1	>2.00E-08	>2.00E-08	>2.00E-08		Kopn-8	>2.00E-08	>2.00E-08	4.10E-10	
OCI-M1	>2.00E-08	>2.00E-08	>2.00E-08		CMK-86	8.01E-09	>2.00E-08	>2.00E-08	
PLB-985	1.72E-08	>2.00E-08	>2.00E-08		CMK-11-5	5.74E-09	>2.00E-08	>2.00E-08	
			>2.00E-08		KU812	1.49E-08	>2.00E-08	>2.00E-08	
			>2.00E-08		TF-1a	8.15E-09	>2.00E-08	>2.00E-08	
			>2.00E-08		GDM-1	6.91E-09	>2.00E-08	>2.00E-08	

效率
高效
中等
低效

图2

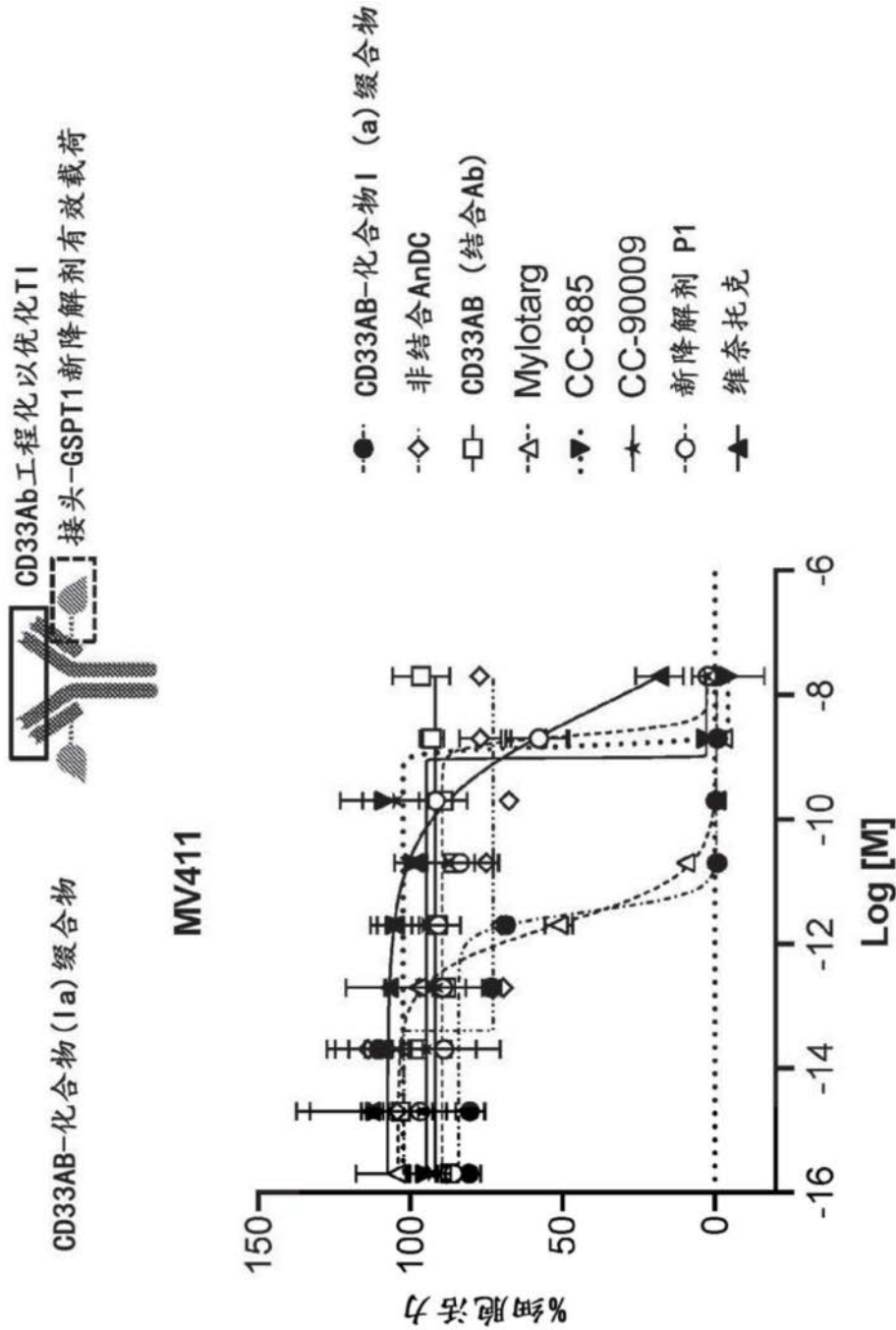


图3

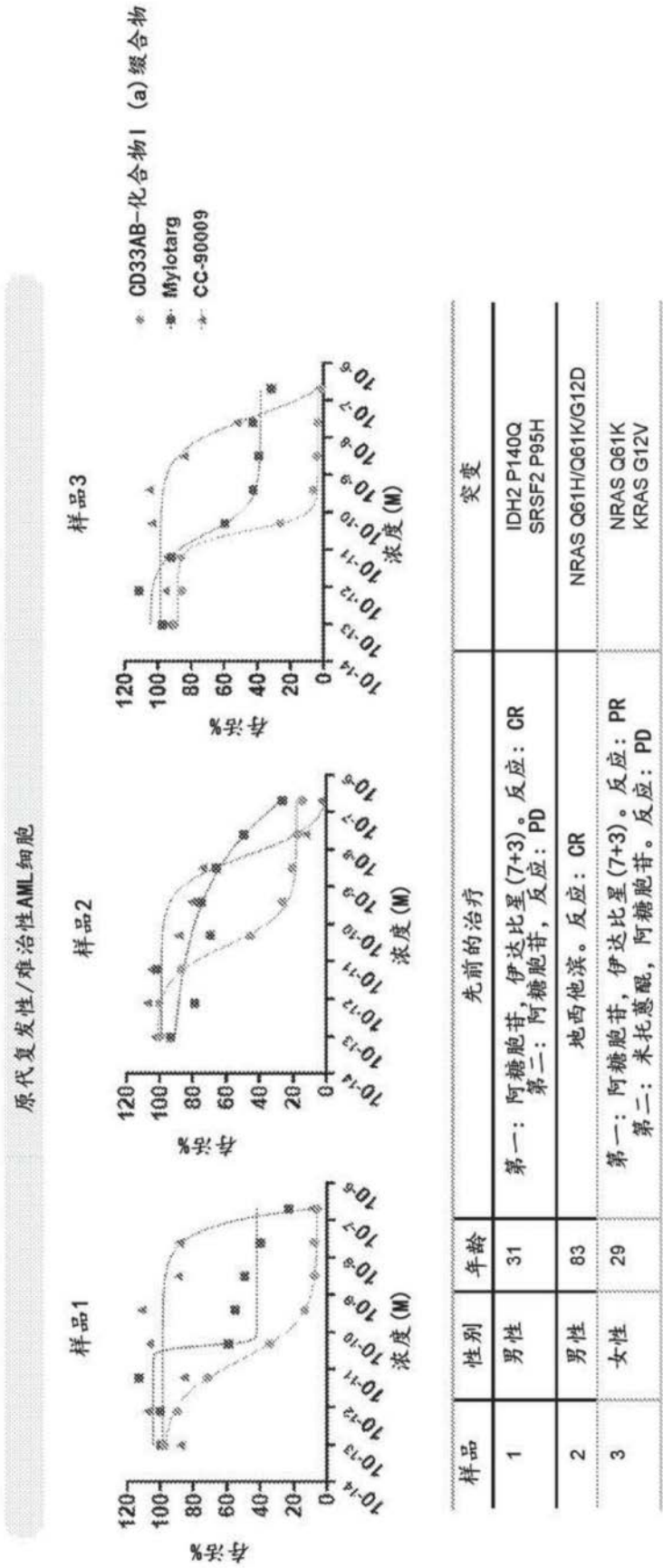


图4

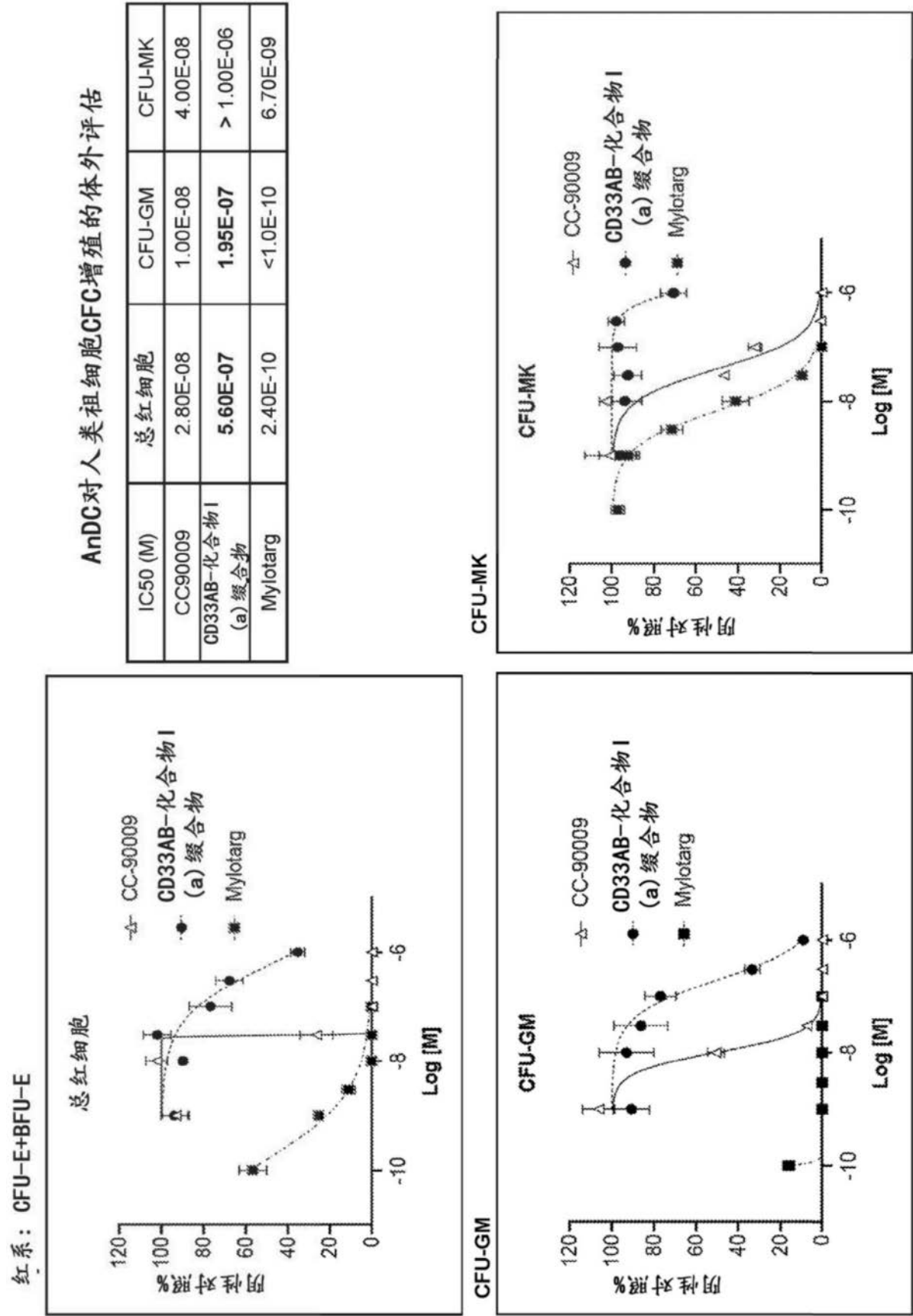


图5

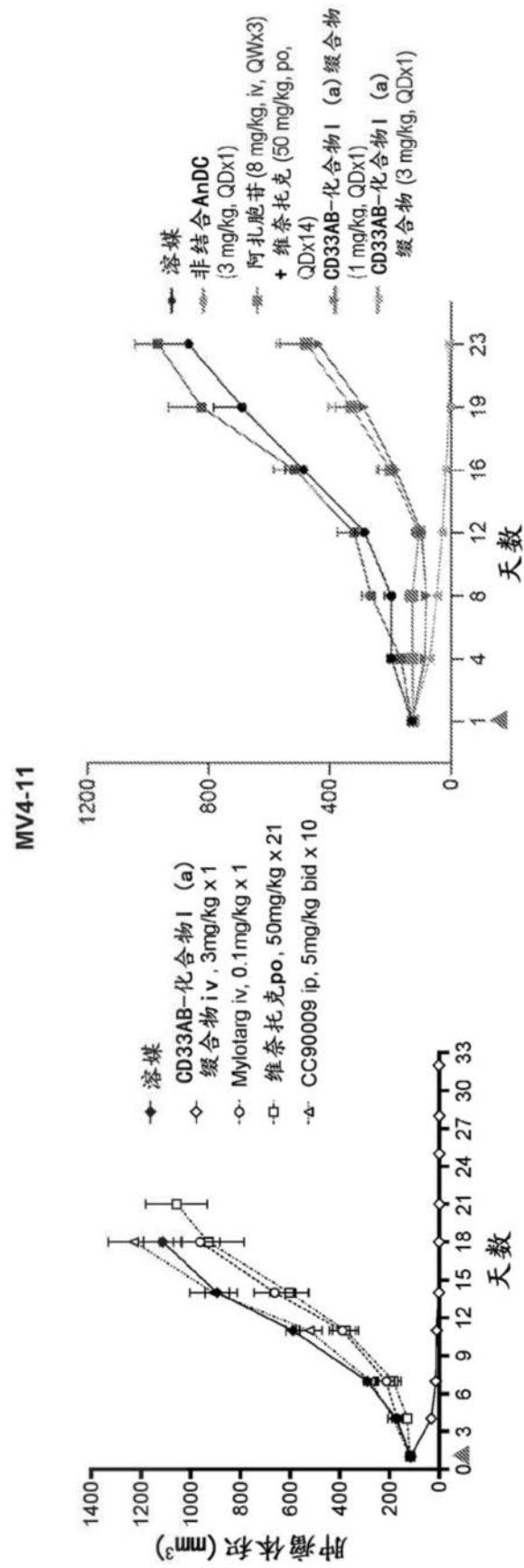


图6

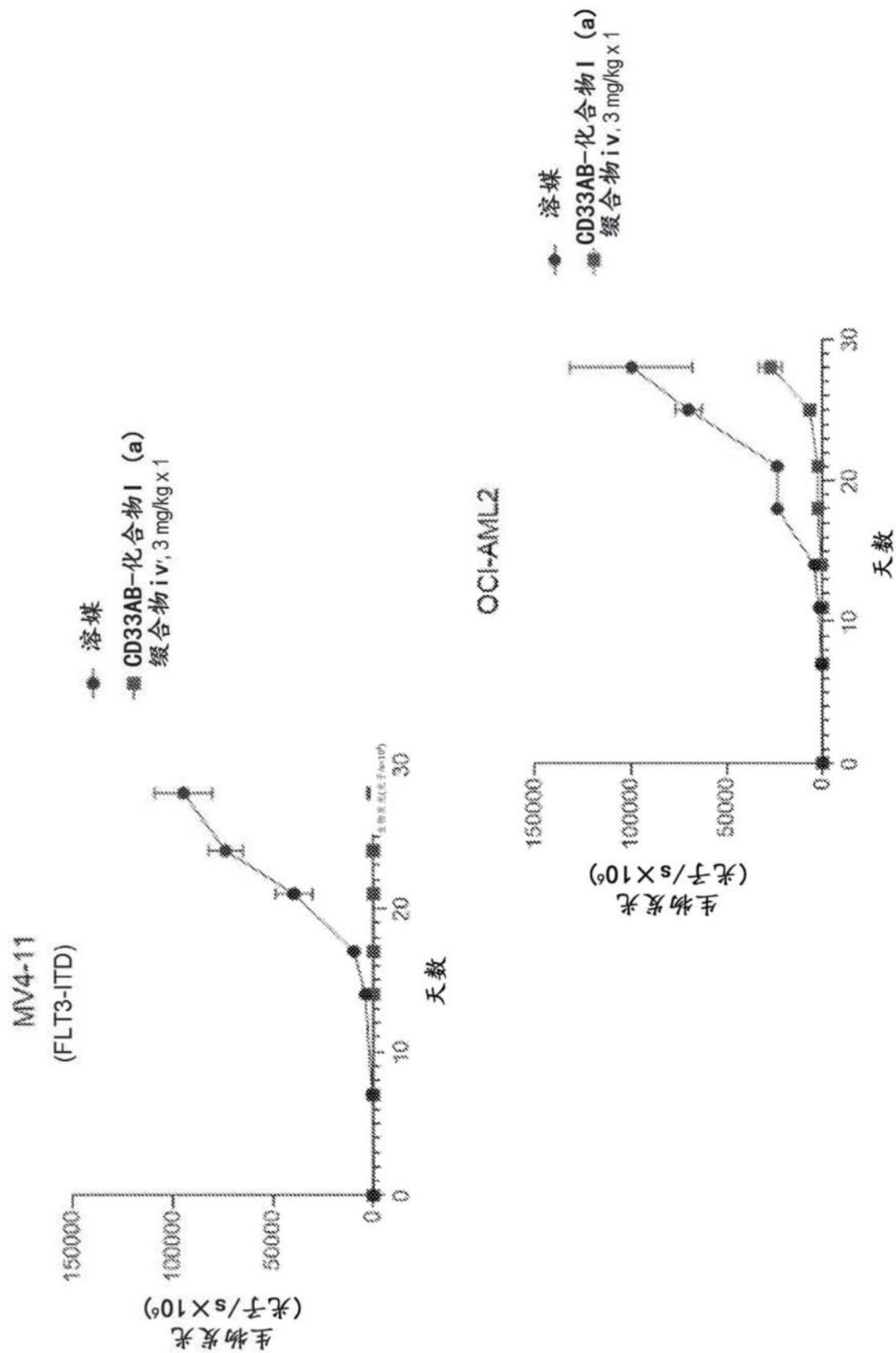


图7

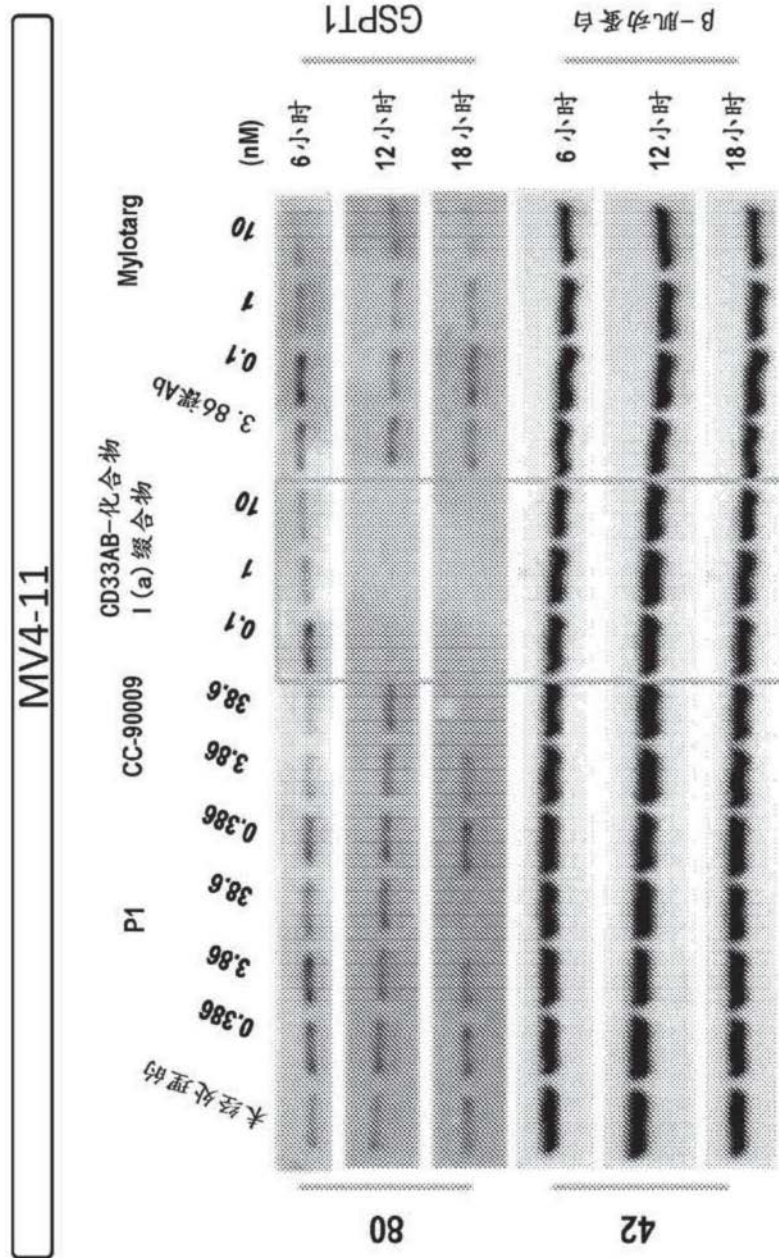


图8

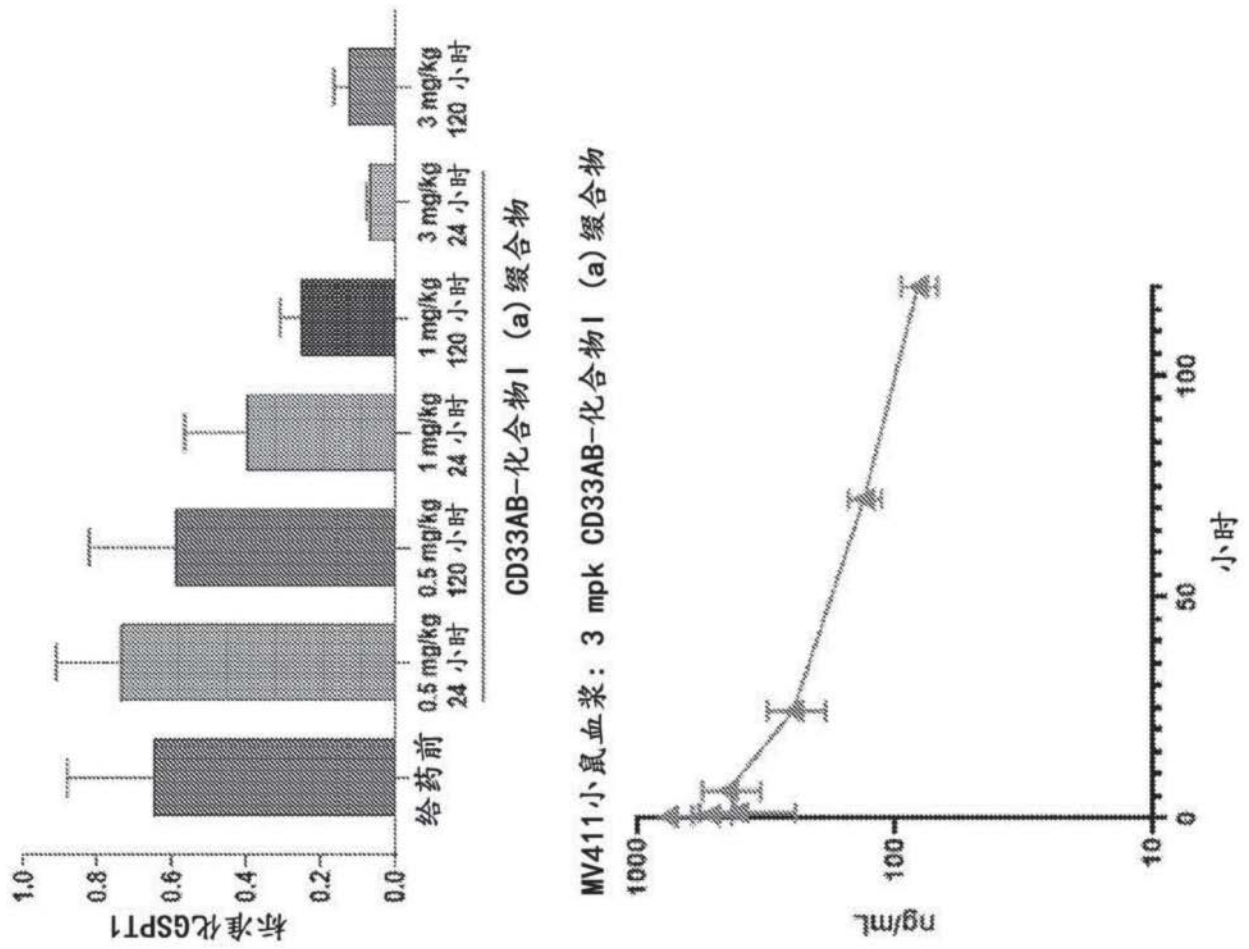


图9

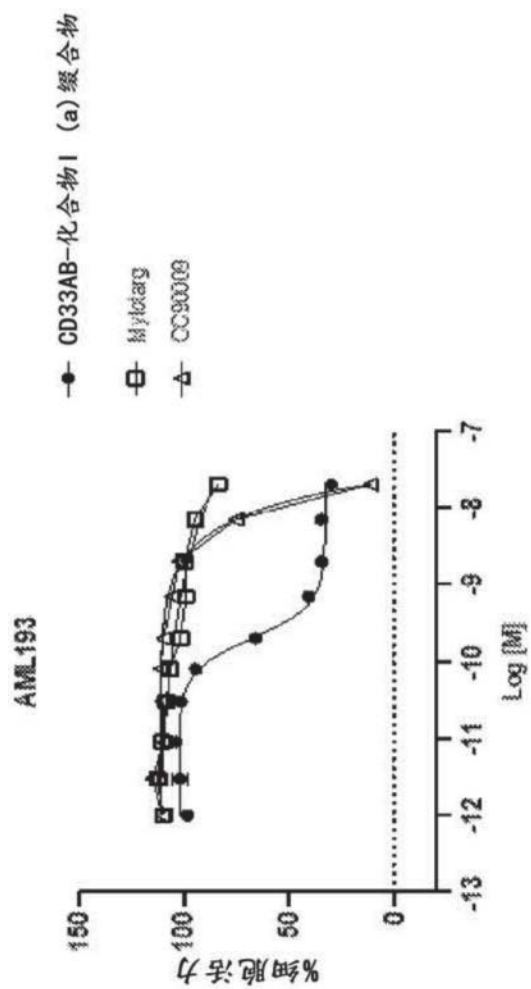


图10A

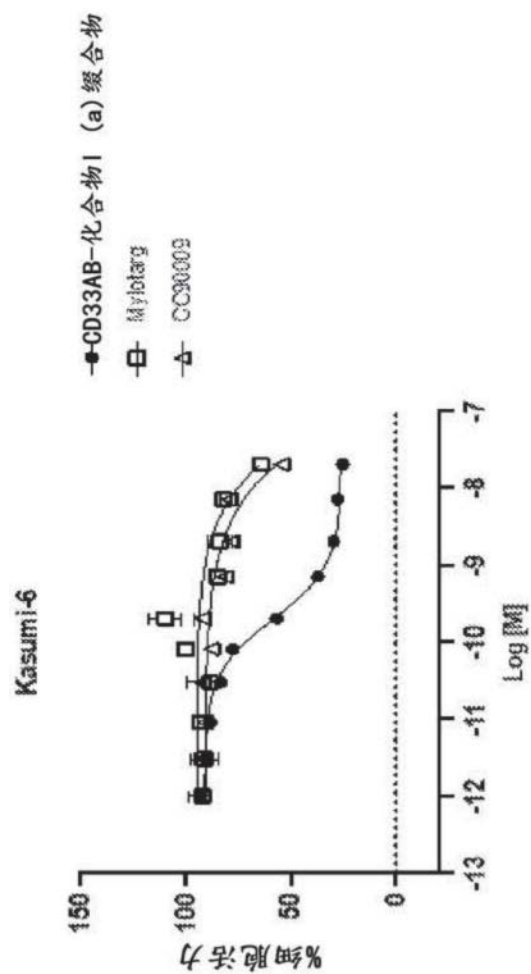


图10B

