



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114929284 A

(43) 申请公布日 2022.08.19

(21) 申请号 202080080665.1

(22) 申请日 2020.10.02

(30) 优先权数据

62/911,060 2019.10.04 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.05.19

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2020/054137 2020.10.02

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/067861 EN 2021.04.08

(71) 申请人 西根公司

地址 美国华盛顿州

(72) 发明人 S·C·杰弗里 R·利斯基

J·考克兰

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

专利代理师 李勇

(51) Int.Cl.

A61K 47/68 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

权利要求书10页 说明书86页

序列表7页 附图1页

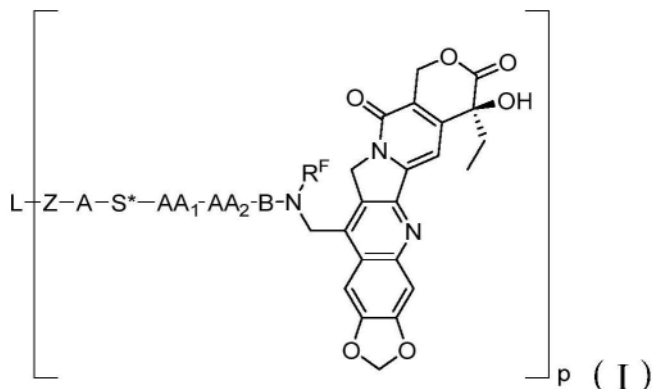
(54) 发明名称

喜树碱肽缀合物

(57) 摘要

本文提供喜树碱缀合物、喜树碱-接头化合物、喜树碱化合物、其中间体及其制备方法。本文还提供了用本文所述的缀合物治疗癌症和自身免疫性疾病的方法。

1. 一种具有式 (I) 的喜树碱缀合物:



或其药学上可接受的盐,其中

L是配体单元;

Z是延伸单元;

A是键或连接单元;

S*是键或分配剂;

AA₁是氨基酸;

AA₂是氨基酸;

B是选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp、D-Ala、Aib和pAbz的氨基酸;

R^F为H或C₁-C₆烷基;且

p为1至16。

2. 如权利要求1所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中AA₁是Val。

3. 如权利要求1所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中AA₁是Ala或D-Ala。

4. 如权利要求1-3中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中AA₂是Lys。

5. 如权利要求1-3中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中AA₂是Ala或D-Ala。

6. 如权利要求1-5中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中B是选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp和D-Ala的氨基酸。

7. 如权利要求1-6中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中B为D-Ala。

8. 如权利要求1-6中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中B为Arg、Lys、His、Asp或Glu。

9. 如权利要求1-6中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中B为Thr或Gln。

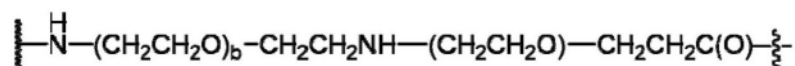
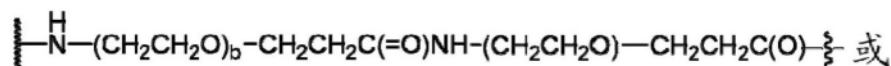
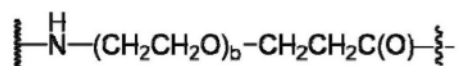
10. 如权利要求1-6中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中B为Phe、Val、Leu、Met或Trp。

11. 如权利要求1-10中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中R^F为H。

12. 如权利要求1-11中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中S*为

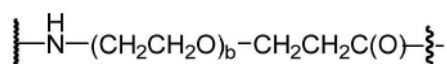
PEG单元。

13. 如权利要求12所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述PEG单元具有下式:



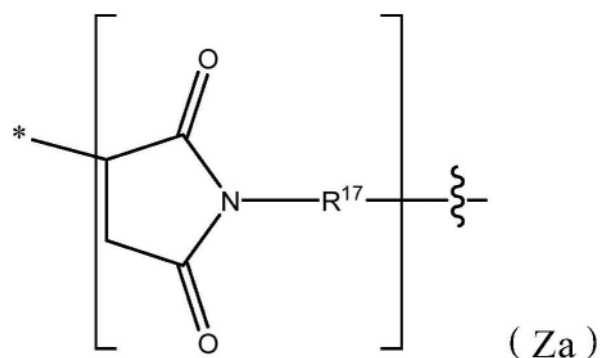
其中左边的波浪线表示连接至A的位点,右边的波浪线表示连接至AA₁的位点,且b为2至20的整数,或为2、4、8或12。

14. 如权利要求13所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述PEG单元具有下式:



其中左边的波浪线表示连接至A的位点,右边的波浪线表示连接至AA₁的位点,且b为2至20的整数,或为2、4、8或12。

15. 如权利要求1至14中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中Z具有式Za:



其中星号表示连接至配体单元(L)的位置;

波浪线表示连接至连接单元(A)的位置;且

R¹⁷为-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-、-C₃-C₈碳环-、-O-(C₁-C₈亚烷基)-、-亚芳基-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环)-、-(C₃-C₈碳环)-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₃-C₈杂环-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环)-、-(C₃-C₈杂环)-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-C(=O)-、-C₃-C₈碳环-C(=O)-、-O-(C₁-C₈亚烷基)-C(=O)-、-亚芳基-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-C(=O)-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环)-C(=O)-、-(C₃-C₈碳环)-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₃-C₈杂环-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环)-C(=O)-、-(C₃-C₈杂环)-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-NH-、-C₃-C₈碳环-NH-、-O-(C₁-C₈亚烷基)-NH-、-亚芳基-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-NH-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环)-NH-、-(C₃-C₈碳环)-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₃-C₈杂环-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环)-NH-、-(C₃-C₈杂环)-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-S-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-S-、-C₃-C₈

碳环-S-、-O- (C_1 - C_8 亚烷基)-S-、-亚芳基-S-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-亚芳基-S-、-亚芳基- C_1 - C_{10} 亚烷基-S-、- C_1 - C_{10} 亚烷基- (C_3 - C_8 碳环)-S-、- (C_3 - C_8 碳环)- C_1 - C_{10} 亚烷基-S-、- C_3 - C_8 杂环-S-、- C_1 - C_{10} 亚烷基- (C_3 - C_8 杂环)-S-或- (C_3 - C_8 杂环)- C_1 - C_{10} 亚烷基-S-;

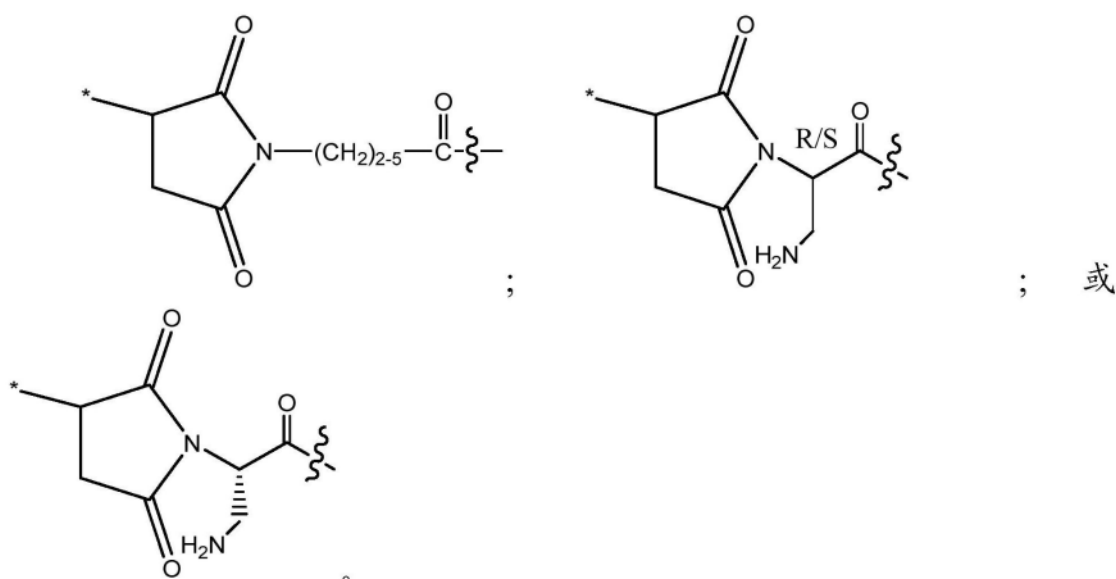
其中 R^{17} 任选被碱性单元(BU)取代,所述碱性单元(BU)为- $(CH_2)_xNH_2$ 、- $(CH_2)_xNHR^a$ 或- $(CH_2)_xNR^a_2$;

其中x为1-4的整数;且

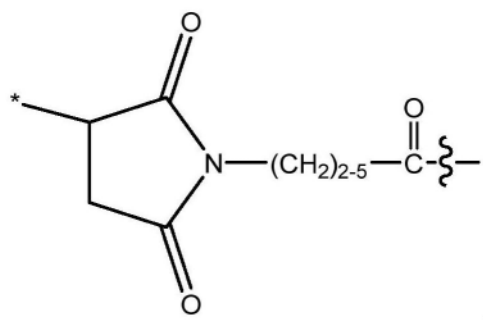
每个 R^a 独立地选自 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基,或两个 R^a 基团与它们所连接的氮结合以形成4-至6-元杂环烷基,或氮杂环丁烷基、吡咯烷基或哌啶基。

16. 如权利要求15所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中 R^{17} 是- (C_1 - C_5) 亚烷基-C(=O)-,其中 R^{17} 的亚烷基部分任选被所述碱性单元(BU)取代。

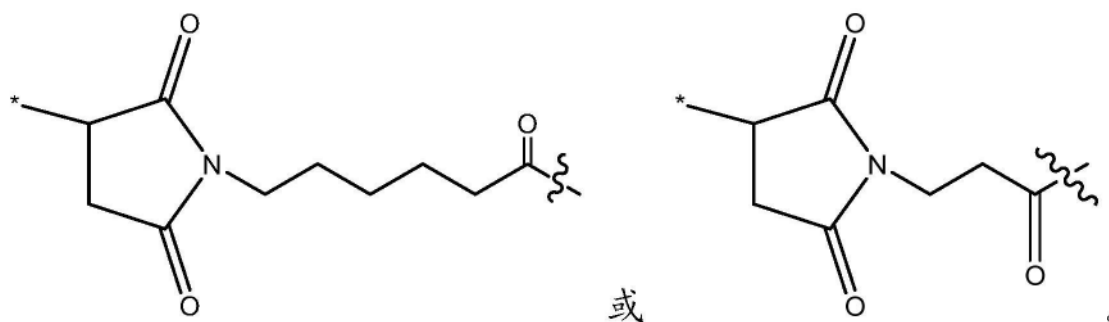
17. 如权利要求15或权利要求16所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中Z是:



18. 如权利要求17所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中Z是:

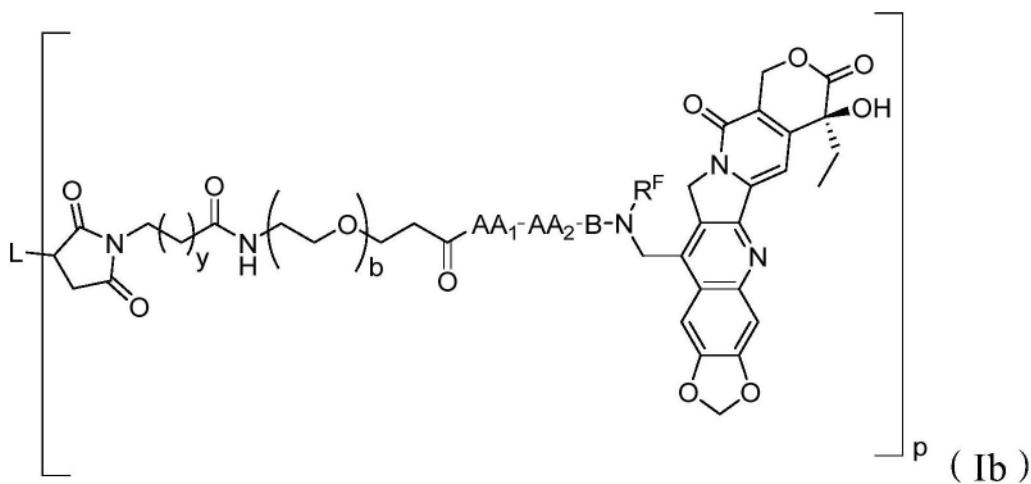


19. 如权利要求17所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中Z是:



20. 如权利要求1至19中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中A为键。

21. 如权利要求1所述的喜树碱缀合物,其具有式(Ib):



或其药学上可接受的盐,其中

L是配体单元;

AA₁是氨基酸;

AA₂是氨基酸;

B是选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp、D-Ala、Aib和pAbz的氨基酸;

R^F为氢或C₁-C₆烷基;

b为2至20的整数;

y为1至8或1至4的整数;或1或4;且

p为1至16。

22. 如权利要求21所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中y是1。

23. 如权利要求21或22所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中b为8。

24. 如权利要求21-23中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中AA₁-AA₂是Val-Lys。

25. 如权利要求21-24中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中B是选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp和D-Ala的氨基酸。

26. 如权利要求21-23中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中AA₁-AA₂-B是Ala-Ala-D-Ala。

27. 如权利要求21-26中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中 R^F 为H。

28. 如权利要求1至27中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中p为1至16,或为2至8,或为2,或为4,或为8。

29. 如权利要求1至28中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述配体单元是抗体或其抗原结合片段。

30. 如权利要求29所述的喜树碱缀合物或其可药学上可接受的盐,其中所述抗体是单克隆抗体或其抗原结合片段。

31. 如权利要求29或权利要求30所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述抗体是cAC10抗CD30抗体或其抗原结合片段。

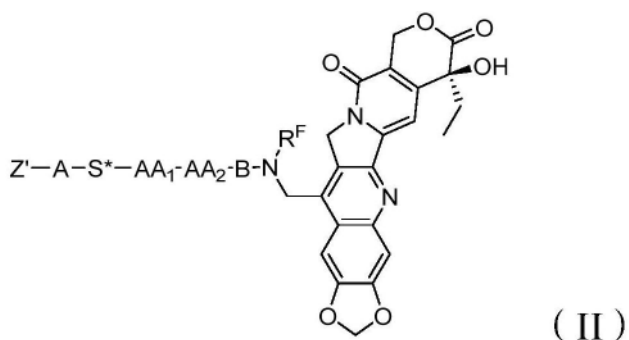
32. 如权利要求29-31中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述抗体或其抗原结合片段包含分别包含SEQ ID NO:1、2、3、4、5和6的氨基酸序列的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。

33. 如权利要求31所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含与SEQ ID NO:7的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列,且所述轻链可变区包含与SEQ ID NO:8的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列。

34. 如权利要求31所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,且所述轻链可变区包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。

35. 如权利要求31所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的氨基酸序列,且所述轻链包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列。

36. 一种具有式(II)的喜树碱-接头化合物:



或其药学上可接受的盐,其中

Z' 是延伸单元前体;

A是键或连接单元;

S^* 是键或分配剂;

AA_1 是氨基酸;

AA_2 是氨基酸;

B是选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp、D-Ala、Aib和pAbz的氨基酸;且

R^F 为H或 C_1-C_6 烷基。

37. 如权利要求36所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中 AA_1 为Val。

38. 如权利要求36所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中 AA_1 为Ala或D-Ala。

39. 如权利要求36-38中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中 AA_2 为Lys。

40. 如权利要求36-38中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中 AA_2 为Ala或D-Ala。

41. 如权利要求36-40中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中B为选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp和D-Ala的氨基酸。

42. 如权利要求36-41中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中B为D-Ala。

43. 如权利要求36-41中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中B为Arg、Lys、His、Asp或Glu。

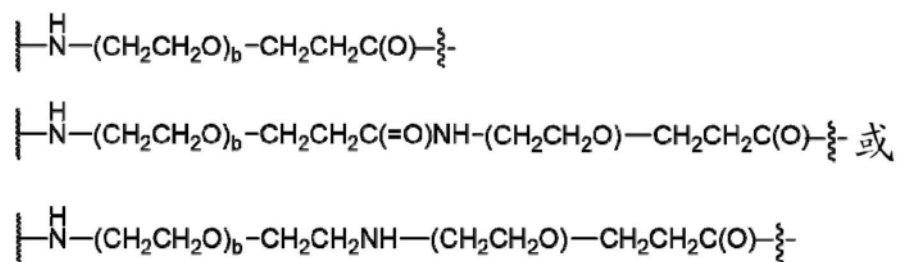
44. 如权利要求36-41中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中B为Thr或Gln。

45. 如权利要求36-41中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中B为Phe、Val、Leu、Met或Trp。

46. 如权利要求36-45中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^F 为H。

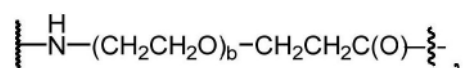
47. 如权利要求36-46中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中 S^* 为PEG单元。

48. 如权利要求47所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中所述PEG单元具有下式:



其中左边的波浪线表示连接至A的位点,右边的波浪线表示连接至 AA_1 的位点,且b为2至20的整数,或为2、4、8或12。

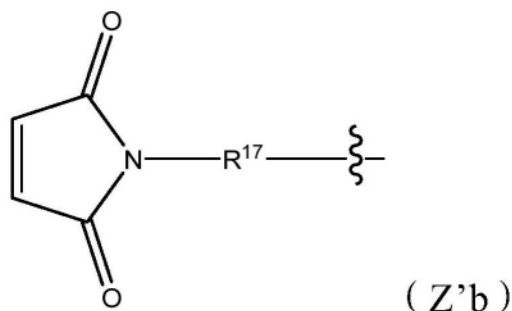
49. 如权利要求48所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中所述PEG单元具有下式:



其中左边的波浪线表示连接至A的位点,右边的波浪线表示连接至 AA_1 的位点,且b为2至20的整数,或为2、4、8或12。

50. 如权利要求36至49中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其

中Z' 具有式Z' b:



其中

R¹⁷为-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-、-C₃-C₈碳环-、-O-(C₁-C₈亚烷基)-、-亚芳基-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环)-、-(C₃-C₈碳环)-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₃-C₈杂环-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环)-、-(C₃-C₈杂环)-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-C(=O)-、-C₃-C₈碳环-C(=O)-、-O-(C₁-C₈亚烷基)-C(=O)-、-亚芳基-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-C(=O)-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环)-C(=O)-、-(C₃-C₈碳环)-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₃-C₈杂环-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环)-C(=O)-、-(C₃-C₈杂环)-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-NH-、-C₃-C₈碳环-NH-、-O-(C₁-C₈亚烷基)-NH-、-亚芳基-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-NH-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环)-NH-、-(C₃-C₈碳环)-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₃-C₈杂环-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环)-NH-、-(C₃-C₈杂环)-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-S-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-S-、-C₃-C₈碳环-S-、-O-(C₁-C₈亚烷基)-S-、-亚芳基-S-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-S-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-S-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环)-S-、-(C₃-C₈碳环)-C₁-C₁₀亚烷基-S-、-C₃-C₈杂环-S-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环)-S-或-(C₃-C₈杂环)-C₁-C₁₀亚烷基-S-;

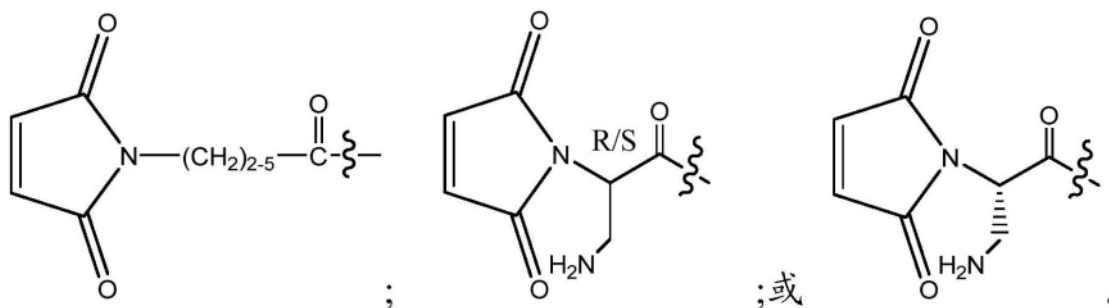
其中R¹⁷任选被碱性单元(BU)取代,所述碱性单元(BU)为-(CH₂)_xNH₂、-(CH₂)_xNHR^a或-(CH₂)_xNR^a₂;

其中x为1-4的整数;且

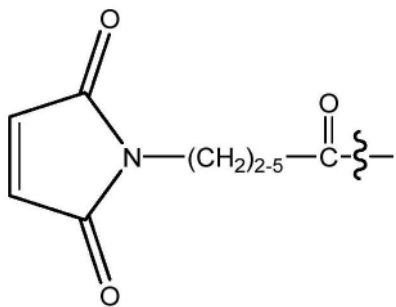
每个R^a独立地选自C₁₋₆烷基和C₁₋₆卤代烷基,或两个R^a基团与它们所连接的氮结合以形成4-至6-元杂环烷基环,或氮杂环丁烷基、吡咯烷基或哌啶基。

51.如权利要求50所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中R¹⁷为-(C₁-C₅)亚烷基-C(=O)-,其中R¹⁷的亚烷基部分任选被所述碱性单元(BU)取代。

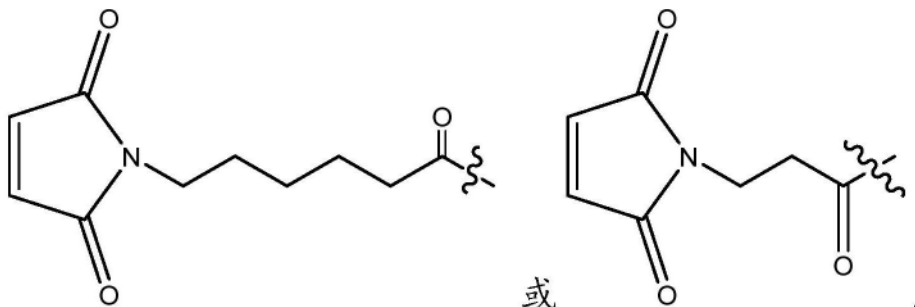
52.如权利要求50或权利要求51所述的喜树碱-接头化合物,或其药学上可接受的盐,其中Z' 为:



53. 如权利要求52所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中Z'为:

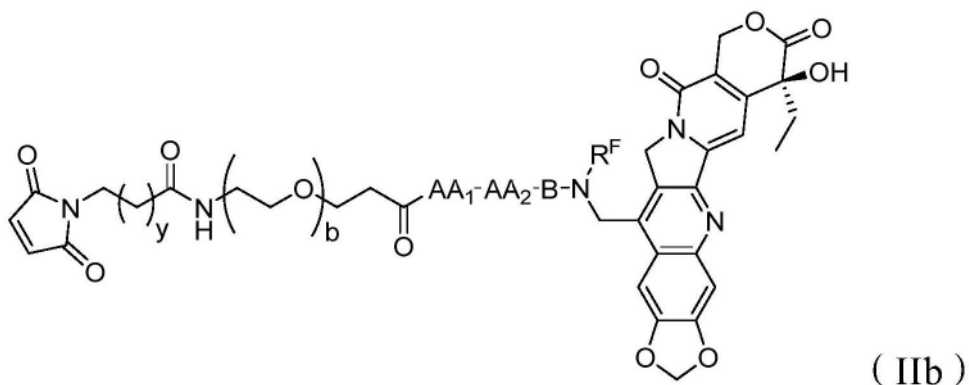


54. 如权利要求52所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中Z'为:



55. 如权利要求36-54中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中A为键。

56. 如权利要求36所述的喜树碱-接头化合物,其具有式(IIb):



或其药学上可接受的盐,其中

AA₁是氨基酸;

AA₂是氨基酸;

B是选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp、D-Ala、Aib和pAbz的氨基酸;

R^F为氢或C₁-C₆烷基;

b为2至20的整数;且

y为1至8或1至4的整数;或1或4。

57. 如权利要求56所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中y为1。

58. 如权利要求56或57所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中b为8。

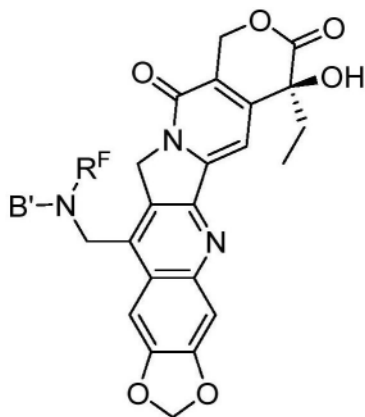
59. 如权利要求56-58中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中AA₁-AA₂为Val-Lys。

60. 如权利要求56-59中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中B为选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp和D-Ala的氨基酸。

61. 如权利要求56-58中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中AA₁-AA₂-B为Ala-Ala-D-Ala。

62. 如权利要求56-61中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中R^F为H。

63. 一种具有式(III)的喜树碱化合物:



或其药学上可接受的盐,其中

B' 是选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp、D-Ala、Aib和pAbz的氨基酸;且

R^F为H或C₁-C₆烷基。

64. 一种治疗有需要的受试者中的癌症的方法,其包括向所述受试者施用有效量的如权利要求1至35中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐或者如权利要求63所述的喜树碱化合物或其药学上可接受的盐。

65. 如权利要求64所述的方法,其中所述癌症是淋巴瘤、白血病或实体瘤。

66. 如权利要求64或权利要求65所述的方法,其中所述方法包括向所述个体施用有效量的另外的治疗剂、一种或多种化学治疗剂或放射治疗。

67. 一种在有需要的受试者中治疗自身免疫疾病的方法,其包括向所述受试者施用有效量的如权利要求1至35中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐或者如权利要求63所述的喜树碱化合物或其药学上可接受的盐。

68. 如权利要求67所述的方法,其中所述自身免疫性疾病是Th2淋巴细胞相关障碍、Th1淋巴细胞相关障碍或活化的B淋巴细胞相关障碍。

69. 一种在有需要的受试者中治疗癌症的方法,其包括使所述癌症细胞与如权利要求63所述的喜树碱化合物或其药学上可接受的盐接触。

70. 如权利要求69所述的方法,其中所述癌症是淋巴瘤、白血病或实体瘤。

71. 一种制备权利要求1-35中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐的方法,其包括使抗体或其抗原结合片段与如权利要求36-62中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐反应。

72. 一种药物组合物,其包含如权利要求1-35中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐和药学上可接受的载体。

73. 一种试剂盒,其包含如权利要求1-35中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,任选地包含另外的治疗剂。

74. 如权利要求1-35中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐或如权利要求63所述的喜树碱化合物或其药学上可接受的盐用于治疗疾病或障碍的用途。

75. 如权利要求1-35中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐或如权利要求63所述的喜树碱化合物或其药学上可接受的盐和药学上可接受的赋形剂、载体或稀释剂在制备用于治疗疾病或障碍的药物中的用途。

喜树碱肽缀合物

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2019年10月4日提交的美国临时申请第62/911060号的优先权,其全部内容在此通过引用并入本文。

[0003] 在ASCII文本文件上提交序列列表

[0004] 以下关于ASCII文本文件的提交的内容通过引用并入本文:序列列表的计算机可读形式(CRF)(文件名:761682002540SEQLIST.TXT,记录日期:2019年10月2日,大小:13KB)。

背景技术

[0005] 大量的兴趣围绕将单克隆抗体(mAb)用于细胞毒性剂靶向递送至肿瘤细胞。虽然已经评价了用于经由抗体递送的许多不同的药物种类,但是只有少数药物类别被证明作为抗体药物缀合物具有足够的活性,同时具有合适的毒性特征,以保证临床开发。一种受到关注的类别是喜树碱。

[0006] 通过通常经由接头将细胞毒性剂连接至抗体,抗体药物缀合物(ADC)的设计涉及多种因素的考虑,包括用于连接至接头的药物上缀合柄的存在和用于以条件稳定的方式将药物连接至抗体的接头技术。被认为缺乏适当缀合柄的某些药物类别被认为不适合用作ADC。尽管可能修饰这样的药物以包括缀合柄,但是这样的修饰可以负面地干扰药物的活性特征。

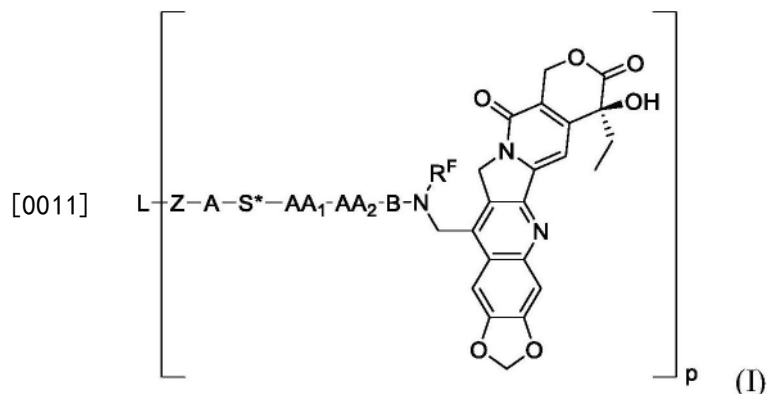
[0007] 包含酯和碳酸酯的接头也典型地用于含醇药物的缀合并产生具有可变稳定性和药物释放曲线的ADC。非最佳特性可导致降低的ADC效力、不足的缀合物的免疫特异性和由于药物从缀合物的非特异性释放而增加的毒性。

[0008] 因此,需要可用于靶向治疗的新的接头技术和缀合物。本发明解决了这些和其它需要。

发明内容

[0009] 本发明尤其提供喜树碱缀合物、喜树碱-接头化合物和喜树碱化合物、制备和使用其方法,以及可用于制备其的中间体。本发明的喜树碱缀合物在循环中是稳定的,但是一旦游离药物在肿瘤细胞附近或肿瘤细胞内从缀合物中释放就能够引起细胞死亡。

[0010] 在一个主要实施方案中,提供具有式(I)的喜树碱缀合物:



[0012] 或其药学上可接受的盐,其中

[0013] L是配体单元;

[0014] Z是延伸单元;

[0015] A是键或连接单元;

[0016] S*是键或分配剂;

[0017] AA₁是氨基酸;

[0018] AA₂是氨基酸;

[0019] B是选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp、D-Ala、Aib和pAbz的氨基酸;

[0020] R^F为H或C₁-C₆烷基;且

[0021] p为1至16。

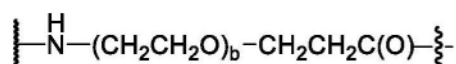
[0022] 在式(I)的喜树碱缀合物的一些实施方案中,AA₁是Val。在一些实施方案中,AA₁为Ala或D-Ala。

[0023] 在式(I)的喜树碱缀合物的一些实施方案中,AA₂是Lys。在一些实施方案中,AA₂为Ala或D-Ala。

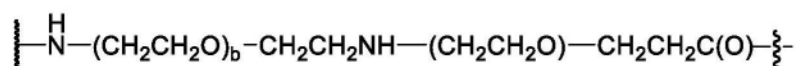
[0024] 在式(I)的喜树碱缀合物的一些实施方案中,B是选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp和D-Ala的氨基酸。在一些实施方案中,B是D-Ala。在一些实施方案中,B是Arg、Lys、His、Asp或Glu。在一些实施方案中,B为Thr或Gln。在一些实施方案中,B为Phe、Val、Leu、Met或Trp。

[0025] 在式(I)的喜树碱缀合物的一些实施方案中,R^F是H。

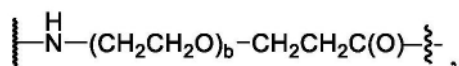
[0026] 在式(I)的喜树碱缀合物的一些实施方案中,S*是PEG单元。在一些实施方案中,PEG单元具有下式:



[0027] $\left| \text{---} \overset{\text{H}}{\text{N}} \text{---} (\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_b \text{---} \text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{NH} \text{---} (\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}) \text{---} \text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O}) \text{---} \right| \text{---}$ or

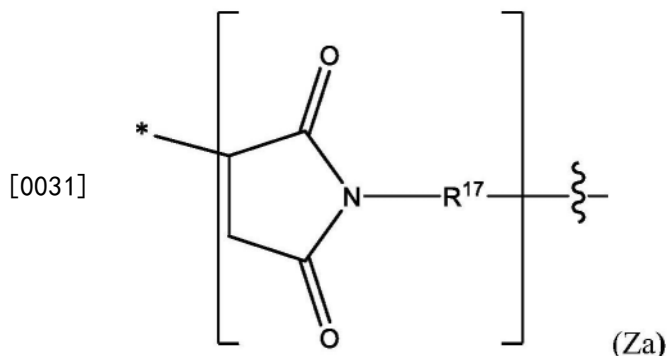


[0028] 其中左边的波浪线表示与A连接的位点,右边的波浪线表示与AA₁的连接位点,且b为2至20的整数,或为2、4、8或12。在一些实施方案中,PEG单元具有下式:



[0029] 其中左边的波浪线表示与A的连接位点,右边的波浪线表示与AA₁的连接位点,且b为2至20的整数,或为2、4、8或12。

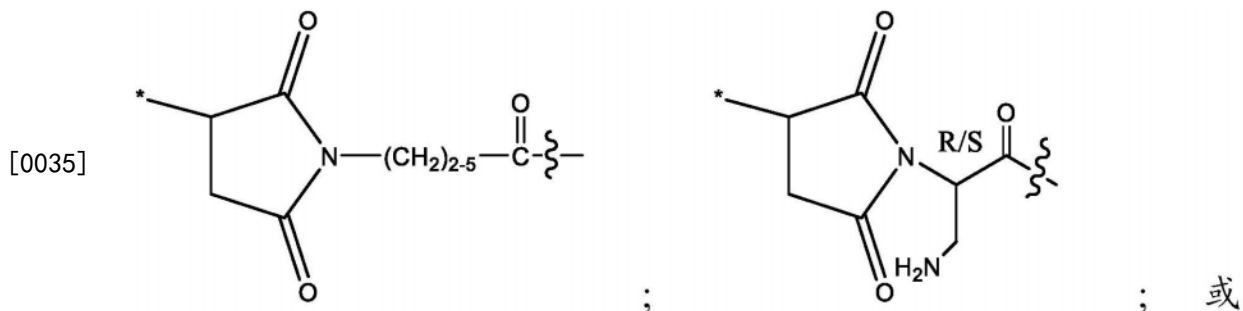
[0030] 在式(I)的喜树碱缀合物的一些实施方案中,Z具有式Za:



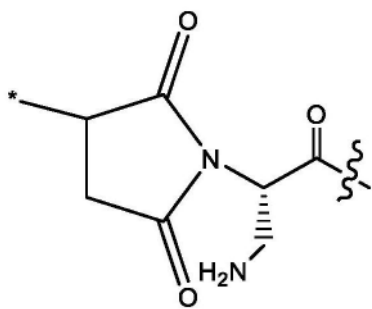
[0032] 其中星号表示连接至配体单元(L)的位置;波浪线表示连接到连接单元(A)的位置;且 R^{17} 为 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-、 $-C_1-C_{10}$ 杂亚烷基-、 $-C_3-C_8$ 碳环-、 $-O-(C_1-C_8)$ 亚烷基-、-亚芳基-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-亚芳基-、-亚芳基- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- (C_3-C_8) 碳环-、 $-(C_3-C_8)$ 碳环- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-、 $-C_3-C_8$ 杂环-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- (C_3-C_8) 杂环-、 $-(C_3-C_8)$ 杂环- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $C(=O)-$ 、 $-C_1-C_{10}$ 杂亚烷基- $C(=O)-$ 、 $-C_3-C_8$ 碳环- $C(=O)-$ 、 $-O-(C_1-C_8)$ 亚烷基- $C(=O)-$ 、-亚芳基- $C(=O)-$ 、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-亚芳基- $C(=O)-$ 、-亚芳基- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $C(=O)-$ 、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- (C_3-C_8) 碳环- $C(=O)-$ 、 $-(C_3-C_8)$ 碳环- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $C(=O)-$ 、 $-C_3-C_8$ 杂环- $C(=O)-$ 、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- (C_3-C_8) 杂环- $C(=O)-$ 、 $-(C_3-C_8)$ 杂环- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $C(=O)-$ 、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-NH-、 $-C_1-C_{10}$ 杂亚烷基-NH-、 $-C_3-C_8$ 碳环-NH-、 $-O-(C_1-C_8)$ 亚烷基-NH-、-亚芳基-NH-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-亚芳基-NH-、-亚芳基- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-NH-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- (C_3-C_8) 碳环-NH-、 $-(C_3-C_8)$ 碳环- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-NH-、 $-C_3-C_8$ 杂环-NH-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- (C_3-C_8) 杂环-NH-、 $-(C_3-C_8)$ 杂环- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-NH-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-S-、 $-C_1-C_{10}$ 杂亚烷基-S-、 $-C_3-C_8$ 碳环-S-、 $-O-(C_1-C_8)$ 亚烷基-S-、-亚芳基-S-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-亚芳基-S-、-亚芳基- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-S-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- (C_3-C_8) 碳环-S-、 $-(C_3-C_8)$ 碳环- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-S-、 $-C_3-C_8$ 杂环-S-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- (C_3-C_8) 杂环-S-、或 $-(C_3-C_8)$ 杂环- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-S-;

[0033] 其中 R^{17} 任选被碱性单元(BU)取代,所述碱性单元(BU)为 $-(CH_2)_xNH_2$ 、 $-(CH_2)_xNHR^a$ 或 $-(CH_2)_xNR^a_2$;其中x为1-4的整数;并且每个 R^a 独立地选自 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基,或两个 R^a 基团与它们所连接的氮结合以形成4至6元杂环烷基环,或氮杂环丁烷基,吡咯烷基或哌啶基基团。在一些实施方案中, R^{17} 为 $-(C_1-C_5)$ 亚烷基- $C(=O)-$,其中 R^{17} 的亚烷基部分任选地被碱性单元(BU)取代。

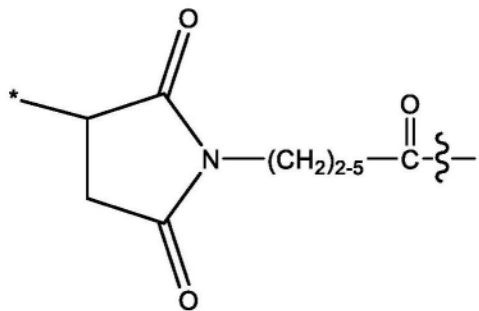
[0034] 在一些实施方案中,Z为:



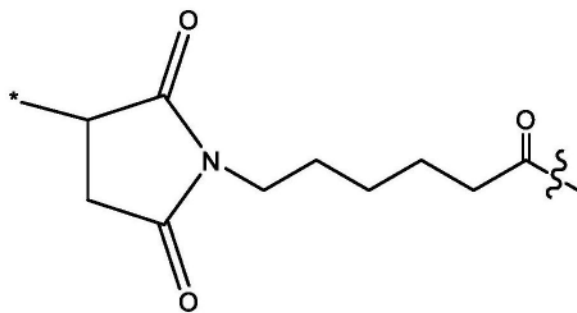
[0036]



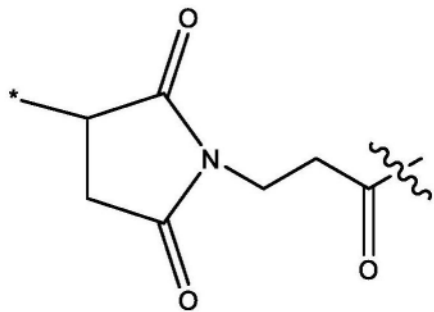
在一些实施方案中,Z为:



[0037] 在一些实施方案中,Z为:

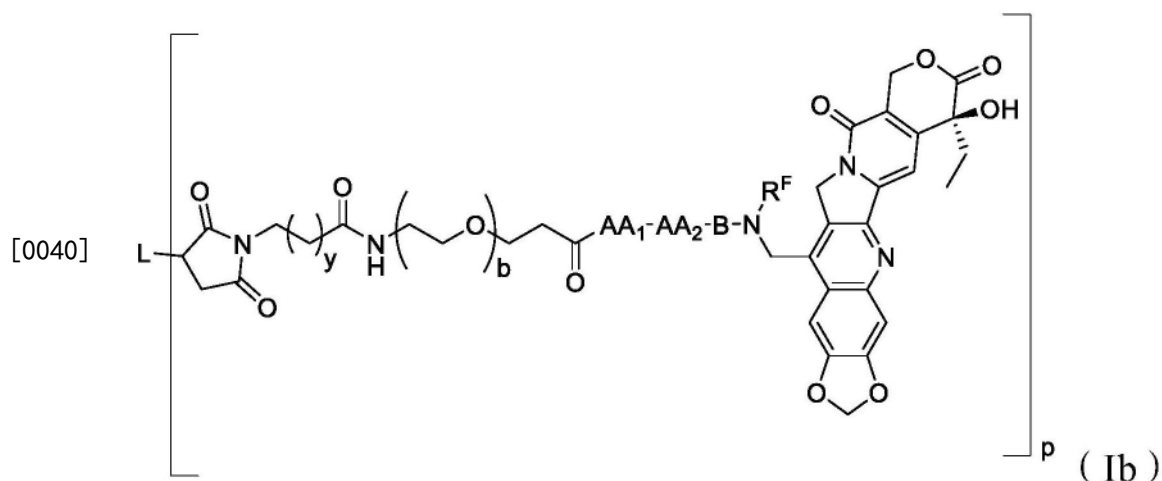


或



[0038] 在式(I)的喜树碱缀合物的一些实施方案中,A是键。

[0039] 在另一方面,提供了具有式(Ib)的喜树碱缀合物:



[0041] 或其药学上可接受的盐,其中

[0042] L是配体单元;

[0043] AA₁是氨基酸;

[0044] AA₂是氨基酸;

[0045] B是选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp、D-Ala、Aib和pAbz的氨基酸;

[0046] R^F为氢或C₁-C₆烷基;

[0047] b为2至20的整数;

[0048] y为1至8或1至4的整数;0或1或4;且

[0049] p为1至16。

[0050] 在式 (Ib) 的喜树碱缀合物的一些实施方案中,y为1。

[0051] 在式 (Ib) 的喜树碱缀合物的一些实施方案中,b为8。

[0052] 在式 (Ib) 的喜树碱缀合物的一些实施方案中,AA₁-AA₂为Val-Lys。

[0053] 在式 (Ib) 的喜树碱缀合物的一些实施方案中,B是选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp和D-Ala的氨基酸。

[0054] 在式 (Ib) 的喜树碱缀合物的一些实施方案中,AA₁-AA₂-B是Ala-Ala-D-Ala。

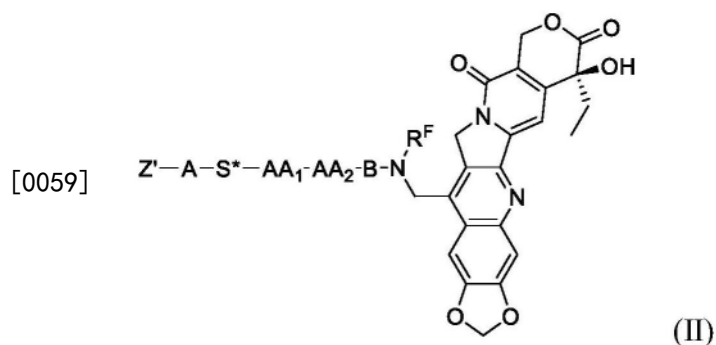
[0055] 在式 (Ib) 的喜树碱缀合物的一些实施方案中,R^F是H。

[0056] 在式 (I) 或式 (Ib) 的喜树碱缀合物的一些实施方案中,p为1至16,或为2至8,或为2,或为4,或为8。

[0057] 在式 (I) 或式 (Ib) 的喜树碱缀合物的一些实施方案中,配体单元是抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,抗体是单克隆抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,抗体是cAC10抗CD30抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含分别包含SEQ ID NO:1、2、3、4、5和6的氨基酸序列的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区,重链可变区包含与SEQ ID NO:7的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列,轻链可变区包含与SEQ ID NO:8的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区,重链可变区包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,轻链可变区包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗体包含重链和轻链,重链包含SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的氨基酸序列,轻链包含SEQ ID NO:11的氨基酸序

列。

[0058] 在另一个主要实施方案中,提供具有式(II)的喜树碱-接头化合物:



[0060] 或其药学上可接受的盐,其中

[0061] Z'是延伸单元前体;

[0062] A是键或连接单元;

[0063] S*是键或分配剂;

[0064] AA₁是氨基酸;

[0065] AA₂是氨基酸;

[0066] B是选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp、D-Ala、Aib和pAbz的氨基酸;且

[0067] R^F为H或C₁-C₆烷基。

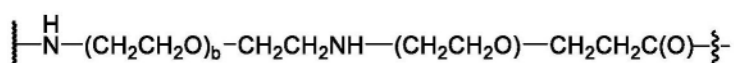
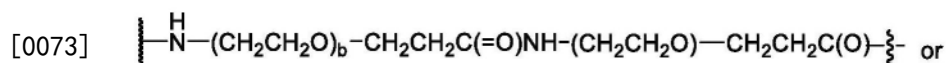
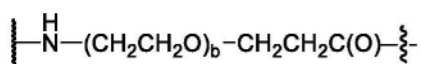
[0068] 在式(II)的喜树碱-接头化合物的一些实施方案中,AA₁是Val。在一些实施方案中,AA₁为Ala或D-Ala。

[0069] 在式(II)的喜树碱-接头化合物的一些实施方案中,AA₂是Lys。在一些实施方案中,AA₂为Ala或D-Ala。

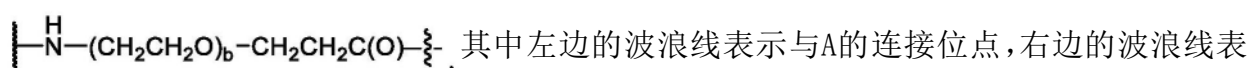
[0070] 在式(II)的喜树碱-接头化合物的一些实施方案中,B是选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp和D-Ala的氨基酸。在一些实施方案中,B是D-Ala。在一些实施方案中,B是Arg、Lys、His、Asp或Glu。在一些实施方案中,B为Thr或Gln。在一些实施方案中,B为Phe、Val、Leu、Met或Trp。

[0071] 在式(II)的喜树碱-接头化合物的一些实施方案中,R^F是H。

[0072] 在式(II)的喜树碱-接头化合物的一些实施方案中,S*是PEG单元。在一些实施方案中,PEG单元具有下式:

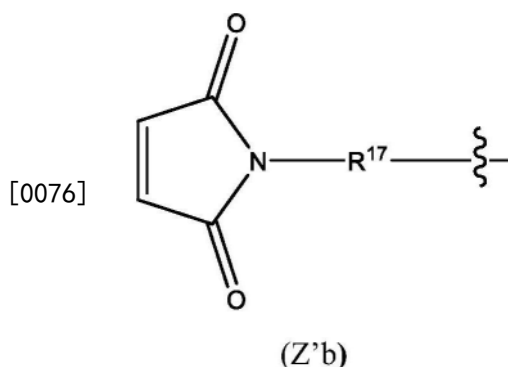


[0074] 其中左边的波浪线表示与A的连接位点,右边的波浪线表示与AA₁的连接位点,且b为2至20的整数,或为2、4、8或12。在一些实施方案中,PEG单元具有下式:

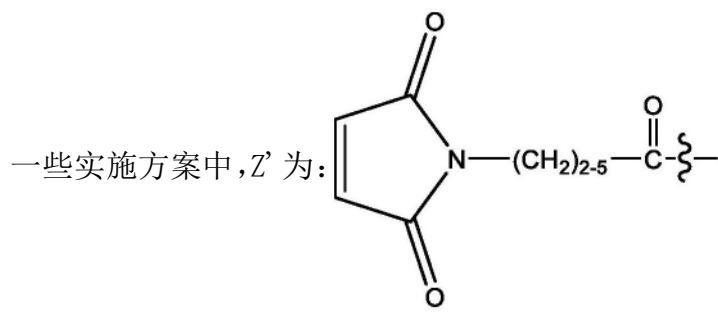


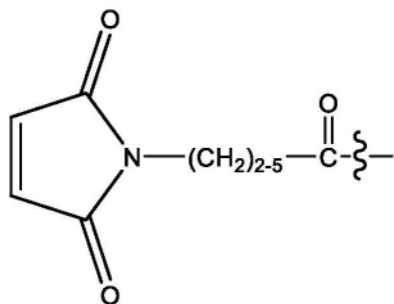
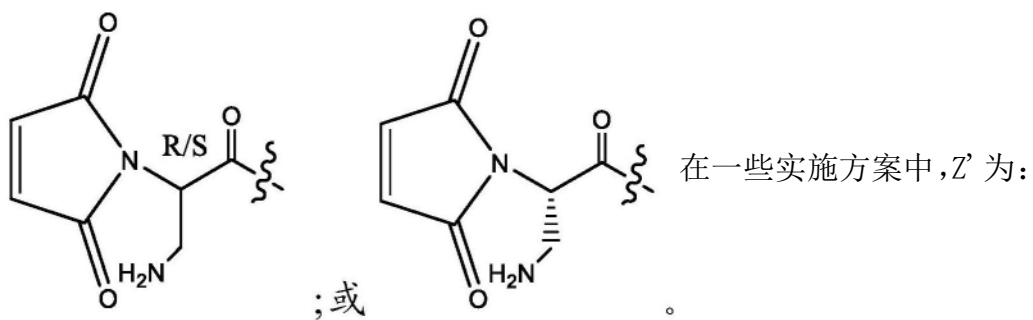
示与AA₁的连接位点,且b为2至20的整数,或为2、4、8或12。

[0075] 在式(II)的喜树碱-接头化合物的一些实施方案中,Z'具有式Z'b:

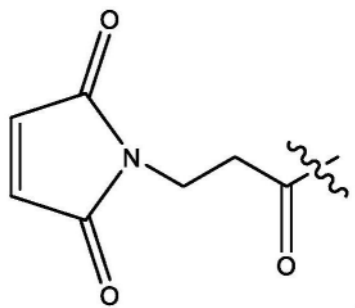
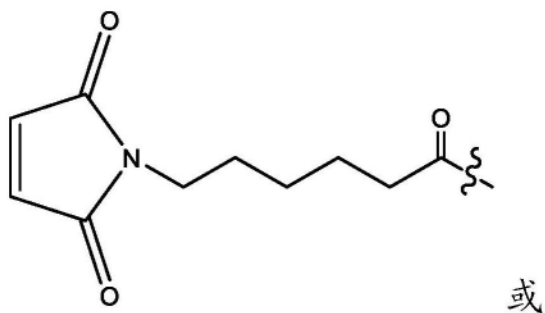


[0077] 其中R¹⁷为-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-、-C₃-C₈碳环-、-O-(C₁-C₈亚烷基)-、-亚芳基-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环)-、-(C₃-C₈碳环)-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₃-C₈杂环-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环)-、-(C₃-C₈杂环)-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-C(=O)-、-C₃-C₈碳环-C(=O)-、-O-(C₁-C₈亚烷基)-C(=O)-、-亚芳基-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-C(=O)-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环)-C(=O)-、-(C₃-C₈碳环)-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₃-C₈杂环-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环)-C(=O)-、-(C₃-C₈杂环)-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-NH-、-C₃-C₈碳环-NH-、-O-(C₁-C₈亚烷基)-NH-、-亚芳基-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-NH-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环)-NH-、-(C₃-C₈碳环)-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₃-C₈杂环-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环)-NH-、-(C₃-C₈杂环)-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-S-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-S-、-C₃-C₈碳环-S-、-O-(C₁-C₈亚烷基)-S-、-亚芳基-S-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-S-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-S-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环)-S-、-(C₃-C₈碳环)-C₁-C₁₀亚烷基-S-、-C₃-C₈杂环-S-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环)-S-、或-(C₃-C₈杂环)-C₁-C₁₀亚烷基-S-;其中R¹⁷任选被碱性单元(BU)取代,所述碱性单元(BU)为-(CH₂)_xNH₂、-(CH₂)_xNHR^a或-(CH₂)_xNR^a₂;其中x为1-4的整数;并且每个R^a独立地选自C₁₋₆烷基和C₁₋₆卤代烷基,或两个R^a基团与它们所连接的氮结合以形成4至6元杂环烷基环,或氮杂环丁烷基,吡咯烷基或哌啶基基团。在一些实施方案中,R¹⁷为-(C₁-C₅)亚烷基-C(=O)-,其中R¹⁷的亚烷基部分任选地被碱性单元(BU)取代。在



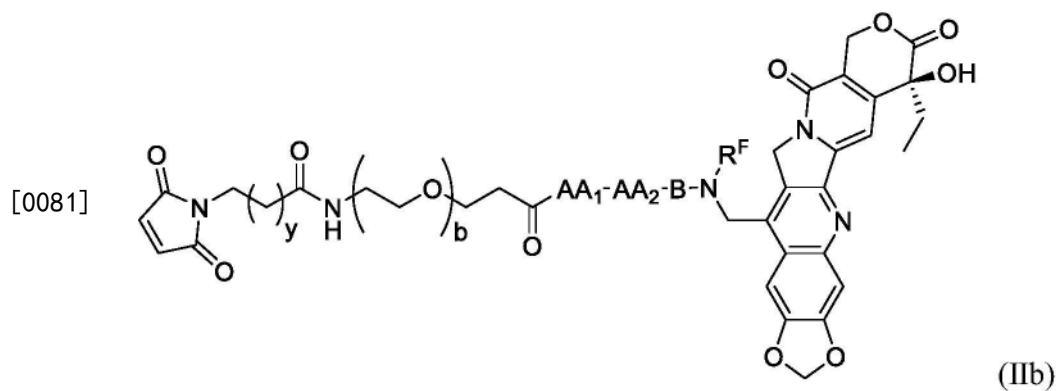


[0078] 在一些实施方案中, Z' 是:



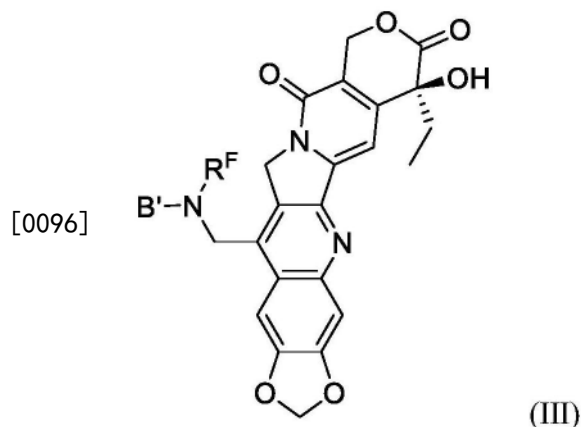
[0079] 在式 (II) 的喜树碱-接头化合物的一些实施方案中, A 是键。

[0080] 在另一方面, 提供了具有式 (IIb) 的喜树碱-接头化合物:



[0082] 或其药学上可接受的盐, 其中

- [0083] AA₁是氨基酸；
- [0084] AA₂是氨基酸；
- [0085] B是选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp、D-Ala、Aib和pAbz的氨基酸；
- [0086] R^F为氢或C₁-C₆烷基；
- [0087] b为2至20的整数；且
- [0088] y为1至8或1至4的整数；或1或4。
- [0089] 在式 (IIb) 的喜树碱缀合物的一些实施方案中，y是1。
- [0090] 在式 (IIb) 的喜树碱缀合物的一些实施方案中，B是8。
- [0091] 在式 (IIb) 的喜树碱缀合物的一些实施方案中，AA₁-AA₂是Val-Lys。
- [0092] 在式 (IIb) 的喜树碱缀合物的一些实施方案中，B是选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp和D-Ala的氨基酸。
- [0093] 在式 (IIb) 的喜树碱缀合物的一些实施方案中，AA₁-AA₂-B是Ala-Ala-D-Ala。
- [0094] 在式 (IIb) 的喜树碱缀合物的一些实施方案中，R^F是H。
- [0095] 在另一个主要实施方案中，提供了具有式 (III) 的喜树碱化合物：



- [0097] 或其药学上可接受的盐，其中
- [0098] B' 是选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp、D-Ala、Aib和pAbz的氨基酸；且
- [0099] R^F为H或C₁-C₆烷基。
- [0100] 在一些方面提供了治疗有需要的受试者中的癌症的方法，其包括向受试者施用有效量的式 (I) 的喜树碱缀合物或其任何变体，或其药学上可接受的盐，或式 (III) 的喜树碱化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中，癌症是淋巴瘤、白血病或实体瘤。在一些实施方案中，所述方法包括向受试者施用有效量的另外的治疗剂、一种或多种化疗剂或放射治疗。
- [0101] 在一些方面提供了治疗有需要的受试者中自身免疫性疾病的方法，其包括向受试者施用有效量的式 (I) 的喜树碱缀合物或其任何变体或其药学上可接受的盐或式 (III) 的喜树碱化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中，自身免疫性疾病是Th2淋巴细胞相关紊乱、Th1淋巴细胞相关紊乱或活化的B淋巴细胞相关紊乱。
- [0102] 在一些方面提供了治疗有需要的受试者中癌症的方法，其包括使癌细胞与式 (III) 的喜树碱化合物或其药学上可接受的盐接触。在一些实施方案中，癌症是淋巴瘤、白

血病或实体瘤。

[0103] 在一些方面提供了制备式(I)的喜树碱缀合物或其任何变体或其药学上可接受的盐的方法,其包括使抗体或其抗原结合片段与式(II)的喜树碱-接头化合物或其任何变体或其药学上可接受的盐反应。

[0104] 在一些方面,提供了包含式(I)的喜树碱缀合物或其任何变体或其药学上可接受的盐和药学上可接受的载体的药物组合物。

[0105] 在一些方面提供了试剂盒,其包含式(I)的喜树碱缀合物或其任何变体或其药学上可接受的盐,任选地包含另外的治疗剂。

[0106] 在一些方面提供了式(I)的喜树碱缀合物或其任何变体或其药学上可接受的盐或式(III)的喜树碱化合物或其药学上可接受的盐用于治疗疾病或紊乱的用途。

[0107] 在一些方面,提供了式(I)的喜树碱缀合物或其任何变体,或其药学上可接受的盐,或式(III)的喜树碱化合物或其药学上可接受的盐,以及药学上可接受的赋形剂、载体或稀释剂在制备用于治疗疾病或紊乱的药物中的用途。

[0108] 如上所述的其它主要实施方案是用作制备喜树碱缀合物的中间体的喜树碱-接头化合物,其中喜树碱-接头化合物由能够与提供配体单元的靶向配体形成共价键的喜树碱延伸单元前体(Z')和可释放接头(RL)(即-AA₁-AA₂-B-)组成。

[0109] 如上所述的其它主要实施方案是用作制备喜树碱缀合物的中间体的喜树碱-接头化合物,其中喜树碱-接头化合物由喜树碱和接头单元前体(Q')组成,其中接头单元前体由能够与提供配体单元的靶向配体形成共价键的延伸单元前体(Z')和可释放接头(RL)(即-AA₁-AA₂-B-)组成。

[0110] 在另一方面,本文提供了治疗癌症的方法,其包括向有需要的受试者施用本文所述的喜树碱缀合物。

[0111] 在另一方面,本文提供了使用本文所述的喜树碱-接头化合物或喜树碱治疗癌症的方法。

[0112] 在另一方面,本文提供了包含本文所述的喜树碱缀合物的试剂盒。

附图说明

[0113] 图1.在24h时,Ag1-8 ADC(DAR8)、Ag1-8k ADC(DAR8)和Ag1-8o ADC(DAR 8)在Karpas 299和L540c细胞中的体外药物释放。

具体实施方式

[0114] 除非另有说明,否则本文所用的以下术语和短语旨在具有以下含义。除非上下文另有说明,当本文使用商品名时,商品名包括商品名产品的产品制剂,通用药物和活性药物成分。

[0115] 本文所用的术语“抗体”以最广泛的含义使用,并且具体地涵盖完整的单克隆抗体、多克隆抗体、单特异性抗体、多特异性抗体(例如,双特异性抗体)和表现出所需生物活性的抗体片段。抗体的天然形式是四聚体,并由两对相同的免疫球蛋白链组成,每对具有一条轻链和一条重链。在每一对中,轻链和重链可变区(VL和VH)一起主要负责与抗原结合。轻链和重链可变区由被三个高变区中断的框架区组成,高变区也称为“互补决定区”或“CDR”。

恒定区可被免疫系统识别并与其相互作用。(参见,例如,Janeway et al.,2001, Immunol.Biology,5th Ed.,Garland Publishing,New York)。抗体可以是任何类型(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2),类别(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)或亚类。抗体可来源于任何合适的物种。在一些实施方案中,抗体是人或鼠来源的。抗体可以是例如人抗体,人源化抗体或嵌合抗体。

[0116] 如本文所用的术语“单克隆抗体”是指从基本上同源的抗体群体获得的抗体,即,除了可能少量存在的可能的天然存在的突变,包含该群体的个体抗体是相同的。单克隆抗体是高度特异性的,其针对单个的抗原位点。修饰语“单克隆”表示从基本上同质的抗体群体获得的抗体的特征,并且不应被解释为需要通过任何特定方法产生抗体。

[0117] “完整抗体”是包含抗原结合可变区以及轻链恒定结构域(CL)和重链恒定结构域C_H1、C_H2、C_H3和C_H4的抗体,其适用于抗体类别。恒定结构域可以是天然序列恒定结构域(例如人天然序列恒定结构域)或其氨基酸序列变体。

[0118] “抗体片段”包括完整抗体的一部分,包括其抗原结合区或可变区。抗体片段的实例包括Fab、Fab', F(ab')₂和Fv片段、双抗体、三抗体、四抗体、线性抗体、单链抗体分子、scFv、scFv-Fc、由抗体片段形成的多特异性抗体片段、由Fab表达文库产生的片段,或免疫特异性结合靶抗原(例如癌细胞抗原、病毒抗原或微生物抗原)的上述任一种的表位结合片段。

[0119] “抗原”是抗体特异性结合的实体。

[0120] 术语“特异性结合”和“特异性地结合”是指抗体或抗体衍生物将以高度选择性的方式与其靶抗原的相应表位结合,而不与多种其它抗原结合。通常,抗体或抗体衍生物以至少约 1×10^{-7} M,优选 10^{-8} M至 10^{-9} M、 10^{-10} M、 10^{-11} M或 10^{-12} M的亲和力结合,并以比其结合预定抗原或密切相关抗原以外的非特异性抗原(例如BSA、酪蛋白)大至少两倍的亲和力与预定抗原结合。

[0121] 术语“抑制(inhibit)”或“抑制(inhibition of)”意指减少可测量的量,或完全预防。

[0122] 术语“治疗有效量”是指有效治疗哺乳动物的疾病或紊乱的缀合物的量。在癌症的情况下,治疗有效量的缀合物可减少癌细胞的数目;减小肿瘤大小;抑制(即,在一定程度上减缓并且优选地停止)癌细胞浸润到周围器官中;抑制(即,在一定程度上减缓并且优选地停止)肿瘤转移;在一定程度上抑制肿瘤生长;和/或在一定程度上缓解与癌症相关的一种或多种症状。在药物可以抑制生长和/或杀死现有癌细胞的程度上,它可以是细胞抑制性的和/或细胞毒性的。对于癌症治疗,疗效可例如通过评估疾病进展时间(TTP)和/或测定响应率(RR)进行测量。

[0123] 术语“基本上”或“基本地”是指混合物或样品的大部分,即>50%,优选大于50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的群体。

[0124] 术语“细胞毒活性”是指药物或喜树碱缀合物或喜树碱缀合物的细胞内代谢物的细胞杀伤作用。细胞毒活性可表示为IC₅₀值,其为一半的细胞存活的每单位体积的浓度(摩尔或质量)。

[0125] 术语“细胞抑制活性”是指药物或喜树碱缀合物或喜树碱缀合物的细胞内代谢物

的抗增殖作用。

[0126] 本文所用的术语“细胞毒性剂”是指具有细胞毒活性并引起细胞破坏的物质。该术语旨在包括化疗剂和毒素如细菌、真菌、植物或动物来源的小分子毒素或酶活性毒素,包括其合成类似物和衍生物。

[0127] 术语“癌症”和“癌性的”是指或描述哺乳动物中通常以不受调节的细胞生长为特征的生理病症或紊乱。“肿瘤”包括一种或多种癌细胞。

[0128] 本文所用的“自身免疫性疾病”是指由个体自身的组织或蛋白质引起并针对个体自身的组织或蛋白质的疾病或紊乱。

[0129] 本文所用的“患者”是指施用本发明的喜树碱缀合物的受试者。患者包括但不限于人、大鼠、小鼠、豚鼠、非人灵长类动物、猪、山羊、牛、马、狗、猫、鸟和禽。通常,患者是大鼠、小鼠、狗、人或非人灵长类动物,更通常是人。

[0130] 除非上下文另有说明,术语“治疗(treat)”或“治疗(treatment)”是指治疗性治疗和预防性治疗,其中目的是抑制或减缓(减轻)不期望的生理变化或紊乱,如癌症的发展或扩散。对于本发明的目的,有益的或期望的临床结果包括但不限于症状的减轻、疾病程度的减少、疾病状态的稳定(即,不恶化)、疾病进展的延迟或减缓、疾病状态的改善或减轻,和缓解(部分或全部),无论是可检测的还是不可检测的。“治疗”还可以指与未接受治疗的预期存活相比延长存活。需要治疗的那些包括已经患有病症或紊乱的那些以及易于患有病症或紊乱的那些。

[0131] 在癌症的上下文中,术语“治疗”包括以下任何或全部:杀伤肿瘤细胞;抑制肿瘤细胞、癌细胞或肿瘤的生长;抑制肿瘤细胞或癌细胞的复制,减轻总体肿瘤负荷或减少癌细胞的数量,以及改善与该疾病相关的一种或多种症状。

[0132] 在自身免疫性疾病的上下文中,术语“治疗”包括以下任何或全部:抑制与自身免疫疾病状态相关的细胞的复制,所述包括但不限于产生自身免疫抗体的细胞包括但不限于产生自身免疫抗体的细胞、减轻自身免疫抗体负担和改善自身免疫疾病的一种或多种症状。

[0133] 如本文所用的术语“药学上可接受的形式”是指公开的化合物的形式,包括但不限于其药学上可接受的盐、酯、水合物、溶剂化物、多晶型物、异构体、前药及其同位素标记的衍生物。在一个实施方案中,“药学上可接受的形式”包括但不限于其药学上可接受的盐、酯、前药及其同位素标记的衍生物。在一些实施方案中,“药学上可接受的形式”包括但不限于其药学上可接受的异构体和立体异构体、前药及其同位素标记的衍生物。

[0134] 在某些实施方案中,药学上可接受的形式是药学上可接受的盐。本文所用的术语“药学上可接受的盐”是指化合物(例如药物,药物-接头或喜树碱缀合物)的药学上可接受的有机或无机盐。在一些方面,化合物可以含有至少一个氨基,并且因此可以与氨基形成酸加成盐。示例性的盐包括但不限于硫酸盐、三氟乙酸盐、柠檬酸盐、乙酸盐、草酸盐、氯化物、溴化物、碘化物、硝酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、酸式磷酸盐、异烟酸盐、乳酸盐、水杨酸盐、酸式柠檬酸盐、酒石酸盐、油酸盐、单宁酸盐、泛酸盐、酒石酸氢盐、抗坏血酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、龙胆酸盐、富马酸盐、葡糖酸盐、葡糖醛酸盐、糖二酸盐、甲酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐和双羟萘酸盐(即,1,1'-亚甲基-双-(2-羟基-3-萘甲酸盐))。药学上可接受的盐可以包括包含另一种分子如乙酸根离子、琥珀酸根离

子或其它抗衡离子。抗衡离子可以是稳定母体化合物上的电荷的任何有机或无机部分。此外,药学上可接受的盐可在其结构中具有多于一个带电原子。多个带电原子是药学上可接受的盐的一部分的情况可具有多个抗衡离子。因此,药学上可接受的盐可具有一个或多个带电原子和/或一个或多个抗衡离子。

[0135] 本文所用的“PEG单元”是由重复的乙烯-氧基亚单元(PEG或PEG亚单元)组成的有机部分,并且可以是多分散的,单分散的或离散的(即,具有离散数量的乙烯-氧基亚单元)。多分散PEG是大小和分子量的非均匀混合物,而单分散PEG通常从非均匀混合物中进行纯化,并因此提供单链长度和分子量。优选的PEG单元包含离散的PEG,以逐步方式而不是通过聚合方法合成的化合物。离散的PEG提供具有限定和特定链长的单个分子。

[0136] 本文提供的PEG单元包含一个或多个聚乙二醇链,每个聚乙二醇链包含一个或多个彼此共价连接的乙烯氧基亚单元。聚乙二醇链可以例如以直链、支链或星形构型连接在一起。通常,在结合到喜树碱缀合物中之前,至少一个聚乙二醇链在一端用被亲电基团取代的烷基部分衍生化,用于共价连接至亚甲基氨基甲酸酯单元的氨基甲酸酯氮。通常,用PEG封端单元修饰不参与与接头单元或接头单元前体的其余部分共价连接的各聚乙二醇链中的末端亚乙基氧基亚单元,所述PEG封端单元通常为任选取代的烷基,例如-CH₃、CH₂CH₃或CH₂CH₂CO₂H。优选的PEG单元具有单个聚乙二醇链,所述聚乙二醇链具有2至24个串联共价连接的-CH₂CH₂O-亚单位,并且在一端用PEG封端单元进行封端。

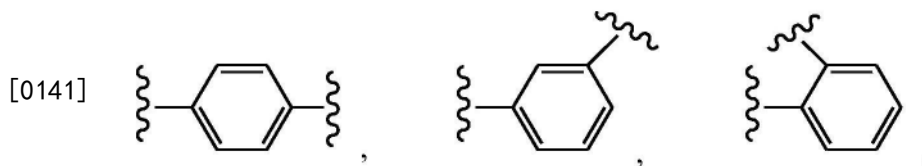
[0137] 除非另外指明,否则术语“烷基”本身或作为另一术语的一部分是指具有指定数目碳原子的取代或未取代的直链或支链,饱和或不饱和烃(例如,“-C₁-C₈烷基”或“-C₁-C₁₀”烷基分别是指具有1至8个或1至10个碳原子的烷基)。当未指明碳原子数时,烷基具有1至8个碳原子。代表性的直链“-C₁-C₈烷基”基团包括但不限于-甲基、-乙基、-正丙基、-正丁基、-正戊基、-正己基、-正庚基和-正辛基;而支链-C₃-C₈烷基包括但不限于-异丙基、-仲丁基、-异丁基、-叔丁基、-异戊基和-2-甲基丁基;不饱和的-C₂-C₈烷基包括,但不限于、-乙烯基、-烯丙基、-1-丁烯基、-2-丁烯基、-异丁烯基、-1-戊烯基、-2-戊烯基、-3-甲基-1-丁烯基、-2-甲基-2-丁烯基、-2,3-二甲基-2-丁烯基、-1-己基、2-己基、-3-己基、-乙炔基、-丙炔基、-1-丁炔基、-2-丁炔基、-1-戊炔基、-2-戊炔基和-3-甲基-1-丁炔基。有时烷基是未取代的。烷基可以被一个或多个基团取代。在其它方面,烷基将是饱和的。

[0138] 除非另外指明,否则“亚烷基”本身或作为另一术语的一部分,是指具有指定数目的碳原子(通常1-10个碳原子)并且具有通过从母体烷烃的相同或两个不同碳原子去除两个氢原子衍生的两个单价基团中心的取代或未取代的饱和的,支链或直链或环状烃基。典型的亚烷基包括但不限于:亚甲基(-CH₂-)、1,2-亚乙基(-CH₂CH₂-)、1,3-亚丙基(-CH₂CH₂CH₂-)、1,4-亚丁基(-CH₂CH₂CH₂CH₂-)等。在优选的方面,亚烷基是支链或直链烃(即,其不是环状烃)。

[0139] 除非另有说明,否则“芳基”本身或作为另一术语的一部分,是指通过从母体芳环体系的单个碳原子上去除一个氢原子而衍生的具有所述碳原子数,通常为6-20个碳原子的取代或未取代的单价碳环芳族烃基。一些芳基在示例性结构中表示为“AR”。典型的芳基包括但不限于衍生自苯、取代的苯、萘、蒽、联苯等的基团。示例性的芳基是苯基。

[0140] 除非另外指明,否则“亚芳基”本身或作为另一术语的一部分是如上文所定义的芳基,其具有两个共价键(即,其是二价的)并且可以处于如以下结构中所示的邻位、间位或对

位取向,其中苯基作为示例性基团:



[0142] 除非另外指明,否则“ C_3 - C_8 杂环”本身或作为另一术语的一部分,是指具有3到8个碳原子(也称为环成员)和1到4个独立地选自N、O、P或S的杂原子环成员并通过从母体环体系的环原子移除一个氢原子衍生的单价取代或未取代芳族或非芳族单环或双环体系。杂环中的一个或多个N、C或S原子可被氧化。本科杂原子的环可以是芳族或非芳族的。其中所有环原子都参与芳香性的杂环被称为杂芳基,否则被称为杂碳环。除非另外指明,否则杂环在产生稳定结构的任何杂原子或碳原子处连接至其侧基。因此,杂芳基可通过其芳环体系的芳族碳,称作C-连接的杂芳基,或通过其芳环体系中的非双键N原子(即, N^-),称作N-连接的杂芳基进行键合。因此,含氮杂环可以是C-连接的或N-连接的,并且包括吡咯部分,如吡咯-1-基(N-连接的)和吡咯-3-基(C-连接的),和咪唑部分,如咪唑-1-基和咪唑-3-基(均为N-连接的),以及咪唑-2-基、咪唑-4-基和咪唑-5-基部分(均为C-连接的)。

[0143] 除非另外指明,否则“ C_3 - C_8 杂芳基”是芳族 C_3 - C_8 杂环,其中下标表示杂环的环体系的碳总数或杂芳基的芳族环体系的芳族碳总数,并且不暗示环体系的大小或环耦合的存在或不存在。 C_3 - C_8 杂环的代表性实例包括但不限于吡咯烷基、氮杂环丁烷基、哌啶基、吗啉基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、苯并呋喃基、苯并噻吩、吲哚基、苯并吡啶基、吡咯基、噻吩基(噻吩)、呋喃基、噻唑基、咪唑基、吡唑基、嘧啶基、吡啶基、吡嗪基、哒嗪基、异噻唑基和异恶唑基。当明确给出时,杂环或杂芳基的环系的大小由环中原子的总数表示。例如,指定为5-或6-元杂芳基表示杂芳基的杂芳族环系中的芳族原子的总数(即5或6),但不暗示该环体系中的芳族杂原子或芳族碳的数目。耦合杂芳基由上下文明确地陈述或暗示,并且通常由耦合在一起以构成耦合杂芳族环系的每个芳族环中的芳族原子数表示。例如,5,6-元杂芳基是与芳族6-元环耦合的芳族5-元环,其中一个或两个环具有芳族杂原子或其中杂原子在两个环之间共享。

[0144] 与芳基或杂芳基耦合使得杂环保持非芳族并且通过与耦合环系的非芳族部分连接而成为更大结构的一部分的杂环是任选取代的杂环的实例,其中杂环被与芳基或杂芳基耦合的环取代。同样,通过与耦合环系的芳族部分连接而与作为较大结构的一部分的杂环或碳环耦合的芳基或杂芳基是任选取代的芳基或杂环的实例,其中芳基或杂环被与杂环或碳环耦合的环取代。

[0145] 除非另外指明,否则“ C_3 - C_8 杂环基”本身或作为另一术语的一部分是指上文所定义的 C_3 - C_8 杂环基,其中杂环的一个氢原子被键取代(即,其为二价)。除非另外指明,否则“ C_3 - C_8 亚杂芳基”本身或作为另一术语的一部分是指上文所定义的 C_3 - C_8 杂芳基,其中杂芳基的氢原子中的一个被键取代(即,其为二价的)。

[0146] 除非另外指明,否则“ C_3 - C_8 碳环”本身或作为另一术语的一部分是通过从母体环体系的环原子去除一个氢原子衍生的3元、4元、5元、6元、7元或8元单价,取代或未取代,饱和或不饱和非芳族单环或双环碳环。代表性的 C_3 - C_8 碳环包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环戊二烯基、环己基、环己烯基、1,3-环己二烯基、1,4-环己二烯基、环庚基、1,3-环庚二

烯基、1,3,5-环庚三烯基、环辛基和环辛二烯基。

[0147] 除非另外指明,否则“C₃-C₈碳环”本身或作为另一术语的一部分是指上文所定义的C₃-C₈碳环基团,其中另一碳环基团的氢原子被键取代(即,其为二价的)。

[0148] 除非另有说明,否则术语“杂烷基”本身或与另一术语组合是指完全饱和或含有1至3个不饱和度的稳定的直链或支链烃或其组合,其由所述数目的碳原子和1至10个,优选1至3个选自O、N、Si和S的杂原子组成,并且其中氮和硫原子可任选地被氧化,并且氮杂原子可任选地被季铵化。杂原子O、N和S可位于杂烷基的任何内部位置或位于烷基与分子的其余部分连接的位置。杂原子Si可以位于杂烷基的任何位置,包括烷基与分子的其余部分连接的位置。实例包括-CH₂=CH₂-O-CH₃、-CH₂-CH₂-NH-CH₃、-CH₂-CH₂-N(CH₃)-CH₃、-CH₂-S-CH₂-CH₃、-CH₂-CH₂-S(O)-CH₃、-NH-CH₂-CH₂-NH-C(O)-CH₂-CH₃、-CH₂-CH₂-S(O)₂-CH₃、-CH=CH-O-CH₃、-Si(CH₃)₃、-CH₂-CH=N-O-CH₃和-CH=CH-N(CH₃)-CH₃。至多两个杂原子可以是连续的,例如-CH₂-NH-OCH₃和-CH₂-O-Si(CH₃)₃。通常,C₁至C₄杂烷基或杂亚烷基具有1至4个碳原子和1或2个杂原子,并且C₁至C₃杂烷基或杂亚烷基具有1至3个碳原子和1或2个杂原子。在一些方面,杂烷基或杂亚烷基是饱和的。

[0149] 除非另外指明,否则术语“杂亚烷基”本身或与另一术语组合是指衍生自杂烷基(如上文所论述)的二价基团,如由-CH₂-CH₂-S-CH₂-CH₂-和-CH₂-S-CH₂-CH₂-NH-CH₂-所例示。对于杂亚烷基,杂原子也可以占据一个或两个链末端。此外,对于亚烷基和杂亚烷基连接基团,没有暗示连接基团的取向。

[0150] 除非另外指明,否则“氨基烷基”本身或与另一术语组合是指其中如本文所定义的烷基部分被氨基,烷基氨基,二烷基氨基或环烷基氨基取代的杂烷基。示例性的非限制性氨基烷基是-CH₂NH₂、-CH₂CH₂NH₂、-CH₂CH₂NHCH₃和-CH₂CH₂N(CH₃)₂,并且还包括(R)-或(S)-构型的支链物质,例如-CH(CH₃)NH₂和-C(CH₃)CH₂NH₂。或者,氨基烷基是如本文所定义的烷基部分,基团或取代基,其中除基团碳之外的sp³碳已被氨基或烷基氨基部分替代,其中其sp³氮替代烷基的sp³碳,条件是保留至少一个sp³碳。当提到氨基烷基部分作为较大结构或另一部分的取代基时,氨基烷基通过氨基烷基的烷基部分的碳基团共价连接至结构或部分。

[0151] 除非另外指明,否则“烷基氨基”和“环烷基氨基”本身或与另一术语组合意指如本文所述的烷基或环烷基基团,其中烷基或环烷基基团的基团碳已被氮基团替代,条件是保留至少一个sp³碳。在其中烷基氨基在其氮处被另一烷基部分取代的那些情况下,所得取代基团有时称为二烷基氨基部分、基团或取代基,其中取代氮的烷基部分是独立选择的。示例性且非限制性的氨基、烷基氨基和二烷基氨基取代基包括具有-N(R')₂结构的那些,其中这些实例中的R'独立地选自氢或C₁₋₆烷基,通常为氢或甲基,而在包含于杂环烷基中的环烷基胺中,两个R'与它们所连接的氮一起定义杂环。当两个R'均为氢或烷基时,该部分有时分别被描述为伯氨基团和叔胺基团。当一个R'为氢且另一个为烷基时,则该部分有时被描述为仲氨基团。伯和仲烷基氨基部分作为亲核试剂对含羰基的亲电中心更具反应性,而叔胺更具碱性。

[0152] “取代的烷基”和“取代的芳基”分别是指其中一个或多个氢原子,通常一个,各自独立地被取代基替代的烷基和芳基。典型的取代基包括但不限于-X、-R'、-OH、-OR'、-SR'、-N(R')₂、-N(R')₃、=NR'、-CX₃、-CN、-NO₂、-NR'C(=O)R'、-C(=O)R'、-C(=O)N(R')₂、-S(=O)₂R'、-S(=O)₂NR'、-S(=O)R'、-OP(=O)(OR')₂、-P(=O)(OR')₂、-PO₃⁻、PO₃H₂、-C(=

O) R'、-C(=S)R'、-CO₂R'、-CO₂⁻、-C(=S)OR'、-C(=O)SR'、-C(=S)SR'、-C(=O)N(R')₂、-C(=S)N(R')₂和-C(=NR)N(R')₂;其中每个X独立地选自卤素:-F、-Cl、-Br和-I,并且其中每个R'独立地选自-H、-C₁-C₂₀烷基、-C₆-C₂₀芳基、-C₃-C₁₄杂环、保护基团和前药部分。

[0153] 更典型地,取代基选自-X、-R'、-OH、-OR'、-SR'、-N(R')₂、-N(R')₃、=NR'、-NR'C(=O)R'、-C(=O)R'、-C(=O)N(R')₂、-S(=O)₂R'、-S(=O)₂NR'、-S(=O)R'、-C(=O)R'、-C(=S)R'、-C(=O)N(R')₂、-C(=S)N(R')₂和-C(=NR)N(R')₂,其中每个X独立地选自-F和-Cl,或选自-X、-R'、-OH、-OR'、-N(R')₂、-N(R')₃、-NR'C(=O)R'、-C(=O)N(R')₂、-S(=O)₂R'、-S(=O)₂NR'、-S(=O)R'、-C(=O)R'、-C(=O)N(R')₂、-C(=NR)N(R')₂、保护基团和前药部分,其中每个X是-F;并且其中每个R'独立地选自氢、-C₁-C₂₀烷基、-C₆-C₂₀芳基、-C₃-C₁₄杂环、保护基团前药部分。在一些方面,烷基取代基选自-N(R')₂、-N(R')₃和-C(=NR)N(R')₂,其中R'选自氢和-C₁-C₂₀烷基。在其它方面,烷基被一系列亚乙基氧基部分取代以定义PEG单元。如上所述的亚烷基、碳环、碳环、亚芳基、杂烷基、杂亚烷基、杂环、杂环基、杂芳基和杂亚芳基也可以被类似地取代。

[0154] 本文所用的“保护基团是指防止或降低其所连接的原子或官能团参与不需要的反应的能力的部分。原子或官能团的典型的保护基团在Greene (1999), “PROTECTIVE GROUPS IN ORGANIC SYNTHESIS, 3RD ED中给出。在一些情况下,使用杂原子如氧、硫和氮的保护基以最小化或避免它们与亲电化合物的不希望的反应。在其它情况下,保护基用于降低或消除未保护的杂原子的亲核性和/或碱性。被保护的氧的非限制性实例由-OR^{PR}给出,其中R^{PR}是羟基的保护基,其中羟基通常被保护为酯(例如乙酸酯,丙酸酯或苯甲酸酯)。羟基的其它保护基避免干扰有机金属试剂或其它高碱性试剂的亲核性,其中羟基通常被保护为醚,包括烷基或杂环烷基醚(例如甲基或四氢吡喃基醚)、烷氧基甲基醚(例如甲氧基甲基或乙氧基甲基醚)、任选取代的芳基醚和甲硅烷基醚(例如三甲基甲硅烷基(TMS)、三乙基甲硅烷基(TES)、叔丁基二苯基甲硅烷基(TBDPS)、叔丁基二甲基甲硅烷基(TBS/TBDMS)、三异丙基甲硅烷基(TIPS)和[2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]-甲基甲硅烷基(SEM))。氮保护基团包括如在-NHR^{PR}或-N(R^{PR})₂中用于伯胺或仲胺的那些,其中R^{PR}中的至少一个是氮原子保护基团或两个R^{PR}一起包含保护基团。

[0155] 当保护基能够防止或避免在分子中其它地方进行所需化学转化所需的反应条件下和当需要时在新形成的分子的纯化过程中保护基团的不想要的副反应或过早损失时,保护基是合适的,并且可以在不会不利地影响新形成的分子的结构或立体化学完整性的条件下去除。作为实例而非限制,合适的保护基可以包括先前描述的用于保护官能团的那些。合适的保护基团有时是用于肽偶联反应的保护基团。

[0156] 如本文所用的“吸电子基团(EWG)”是指官能团或电负性原子,所述官能团或电负性原子将电子密度从与其感应和/或通过共振键合的原子吸走,无论哪个更占优势(即,官能团或原子可以是感应吸电子的,但可以总体上是通过共振给电子的),并且倾向于稳定阴离子或富电子部分。吸电子效应通常以衰减的形式感应传递至连接到已被吸电子基团(EWG)缺电子的键合原子的其它原子,从而影响更远反应中心的亲电性。示例性吸电子基团包括但不限于-C(=O)、-CN、-NO₂、-CX₃、-X、-C(=O)OR'、-C(=O)N(R')₂、-C(=O)R'、-C(=O)X、-S(=O)₂R'、-S(=O)₂OR'、-S(=O)₂NHR'、-S(=O)₂N(R')₂、-P(=O)(OR')₂、-P(=O)(CH₃)NHR'、-NO、-N(R')₃⁺,其中X为-F、-Br、-Cl或-I,并且R'在一些方面中在每次出现时独

立地选自氢和 C_{1-6} 烷基,以及如本文所述的某些O-连接部分,如酰氧基。

[0157] 示例性EWG还可以包括芳基(例如,苯基),这取决于取代基和某些杂芳基(例如,吡啶)。因此,术语“吸电子基团”还包括进一步被吸电子基团取代的芳基或杂芳基。通常,芳基或杂芳基上的吸电子基团为 $-C(=O)$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-CX_3$ 和 $-X$,其中独立选择的 X 为卤素,通常为 $-F$ 或 $-Cl$ 。根据它们的取代基,烷基部分也可以是吸电子基团。

[0158] “离去基团能力”涉及对应于喜树碱缀合物中喜树碱的含醇、硫醇、胺或酰胺的化合物在缀合物内的自分解事件活化后作为游离药物从缀合物释放的能力。该释放可以是可变的,而没有其喜树碱连接的亚甲基氨基甲酸酯单元的益处(即,当喜树碱直接连接至自分解部分且不具有插入的亚甲基氨基甲酸酯单元时)。良好的离去基团通常是弱碱,并且从这样的缀合物中排出的官能团酸性越强,缀合物碱性越弱。因此,在不使用亚甲基氨基甲酸酯单元(即其中喜树碱直接连接至自分解部分的单元)的情况下,来自喜树碱的含醇、硫醇、胺或酰胺的游离药物的离去基团能力将与从缀合物中排出的药物的官能团的 pK_a 有关。因此,该官能团的较低的 pK_a 将增加其离去基团能力。尽管其它因素可能有助于从不具有亚甲基氨基甲酸酯单元益处的缀合物中释放游离药物,但通常具有较低的 pK_a 值的官能团的药物将通常是比较经由具有较高的 pK_a 值的官能团连接的药物更好的离去基团。另一个考虑是, pK_a 值太低的官能团可能由于喜树碱经由自发水解的过早损失而导致不可接受的活性特征。对于应用亚甲基氨基甲酸酯单元的缀合物,具有允许游离药物的有效的释放而不经受喜树碱的不可接受的损失的 pK_a 值的常见官能团(即氨基甲酸)在自分解时产生。

[0159] 如本文所用的“琥珀酰亚胺部分”是指包含琥珀酰亚胺环体系的有机部分,其存在于一种类型的延伸单元(Z)中,所述延伸单元(Z)通常还包含与该环体系的酰亚胺氮键合的含亚烷基部分。琥珀酰亚胺部分通常由配体单元的巯基与延伸单元前体(Z')的马来酰亚胺环体系的迈克尔加成产生。因此,琥珀酰亚胺部分由硫代琥珀酰亚胺环体系组成,并且当存在于喜树碱缀合物中时,其酰亚胺氮被喜树碱缀合物的接头单元的剩余部分取代,并且任选地被存在于 Z' 的马来酰亚胺环体系上的取代基取代。

[0160] 如本文所用,“酸-酰胺部分”是指具有酰胺取代基的琥珀酸,所述酰胺取代基由琥珀酰亚胺部分的硫代琥珀酰亚胺环体系通过水解使其羰基-氮键中的一个断裂而产生。导致琥珀酸-酰胺部分的水解提供接头单元,该接头单元不太可能经受通过消除抗体-硫代取代基而与之键合的配体单元的过早损失。预期硫代琥珀酰亚胺部分的琥珀酰亚胺环体系的水解提供酸-酰胺部分的区域化学异构体,这是由于琥珀酰亚胺环体系的两个羰基碳的反应性差异,至少部分归因于延伸单元前体的马来酰亚胺环体系中存在的任何取代基和靶向配体引入的硫代取代基。

[0161] 本文所用的术语“前药”是指生物活性较低或无活性的化合物,其通过化学或生物过程(即化学反应或酶促生物转化)在体内转化为生物活性较高的化合物。通常,通过用前药部分对化合物进行化学修饰,使生物活性化合物的生物活性降低(即,转化成前药)。在一些方面,前药是II型前药,其在细胞外被生物活化,例如在消化液中,或在身体循环系统中,例如在血液中。示例性前药为酯和 β -D-吡喃葡萄糖苷。

[0162] 在许多情况下,本文所述的缀合物、接头和组分的组装将是指反应性基团。“反应性基团”或RG是含有能够与接头单元或接头单元前体(例如,A)的组分或喜树碱形成键的反应性位点(RS)的基团。RS是反应性基团(RG)内的反应性位点。反应性基团包括形成二硫键

或硫醚键的巯基、醛基、酮基或形成脲键的胍基、形成肽键的羧基或氨基、形成酯键的羧基或羟基、形成磺酰胺键的磺酸、形成氨基甲酸酯键的醇和形成磺酰胺键或氨基甲酸酯键的胺。下表说明了反应性基团,反应性位点和在反应性位点反应后可形成的示例性官能团。该表不是限制性的。本领域技术人员将理解,表中提到的R'和R"部分实际上是与将RG转化为示例性官能团之一中提供的键形成相容的任何有机部分(例如烷基、芳基、杂芳基或取代的烷基、芳基或杂芳基)。还应当理解的是,当应用于本发明的实施方案时,根据具体情况,R'可以表示自稳定接头或任选的第二接头的一种或多种组分,并且根据具体情况,R"可以表示任选的第二接头、喜树碱、稳定单元或检测单元的一种或多种组分。

	RG	RS	示例性官能团
	1) R'-SH	-S-	R'-S-R" R'-S-S-R"
	2) R'-C(=O)OH	-C(=O)-	R'-C(=O)NH-R"
[0163]	3) R'-C(=O)ONHS	-C(=O)-	R'-C(=O)NH-R"
	4) R'S(=O) ₂ -OH	-S(=O) ₂ -	R'S(=O) ₂ NH-R"
	5) R'-CH ₂ -X (X is Br, I, Cl)	-CH ₂ -	R'-CH ₂ -S-R"
	6) R'-NH ₂	-N-	R'-NHC(=O)R"

[0164] 同位素标记的化合物也在本公开的范围内。如本文所用,“同位素标记的化合物”或“同位素衍生物”是指本文公开的化合物,包括其药用盐和前药,各自如本文所述,其中一个或多个原子被具有与通常在自然界中发现的原子质量或质量数不同的原子质量或质量数的原子替代。可并入本文公开的化合物中的同位素的实例包括氢,碳,氮,氧,磷,氟和氯的同位素,例如分别²H、³H、¹³C、¹⁴C、¹⁵N、¹⁸O、¹⁷O、³¹P、³²P、³⁵S、¹⁸F和³⁶Cl。

[0165] 通过同位素标记本公开的化合物,化合物可用于药物和/或底物组织分布测定。氘代(³H)和碳-14(¹⁴C)标记的化合物是特别优选的,因为它们易于制备和检测。此外,用较重的同位素例如氘(²H)取代可以提供由更大的代谢稳定性产生的某些治疗优势,例如增加的体内半衰期或降低的剂量需求,并且因此在一些情况下可以是优选的。目前公开的同位素标记的化合物,包括其药用盐、酯和前药,可以通过本领域已知的任何方式制备。还可以通过用¹³C替代通常丰富的¹²C来获得益处。(参见W02007/005643、W02007/005644、W02007/016361和W02007/016431)。

[0166] 例如,为了通过初级动力学同位素效应操纵化合物的氧化代谢,可将氘(2H)并入本文公开的化合物中。初级动力学同位素效应是由同位素核交换引起的化学反应速率的变化,这又是由该同位素交换后共价键形成所需的基态能量的变化引起的。较重同位素的交换通常导致化学键的基态能量降低,并因此导致速率限制的键断裂的速率降低。如果键断裂发生在沿着多产物反应的坐标的鞍点区域中或附近,则产物分布比可显著改变。为了说明:如果氘在不可交换的位置键合至碳原子,则kM/kD=2-7的速率差异是典型的。如果将该速率差异成功地应用于本文公开的对氧化敏感的化合物,则该化合物的体内特性可被显著

改变并导致改善的药代动力学性质。

[0167] 当发现和开发治疗剂时,本领域技术人员能够优化药代动力学参数,同时保持期望的体外性质。合理的是假定许多具有较差的药代动力学分布的化合物对氧化代谢敏感。目前可用的体外肝微粒体测定提供了关于这种类型的氧化代谢过程的有价值的信息,这又允许合理地设计通过对这种氧化代谢的抗性而具有改善的稳定性的本文公开的那些的氘代化合物。由此获得本文公开的化合物的药代动力学分布的显著改善,并且可以根据体内半衰期($t/2$)的增加、最大治疗效果下的浓度($C_{\max}$)、剂量响应曲线下的面积(AUC);且降低的清除率,剂量和材料成本定量表示。

[0168] 以下旨在说明上述内容:将具有多个潜在的氧化代谢进攻的位点,例如苄基氢原子和与氮原子键合的氢原子的化合物制备为一系列类似物,其中氢原子的各种组合被氘原子替代,使得这些氢原子中的一些、大部分或全部被氘原子替代。半衰期测定能够有利地和精确地测定对氧化代谢的抗性改善的程度。以这种方式,确定作为这种类型的氘-氢交换的结果,母体化合物的半衰期可以延长高达100%。

[0169] 本文公开的化合物中的氘-氢交换也可用于实现起始化合物的代谢物谱的有利的修改,以便减少或消除不期望的毒性代谢物。例如,如果毒性代谢物通过氧化性碳-氢(C-H)键裂解产生,则可以合理地假定氘代类似物将极大地减少或消除不想要的代谢物的产生,即使特定的氧化不是速率决定步骤。有关氘-氢交换的最新技术的更多信息可以在例如 Hanzlik等人., J.Org.Chem. 55, 3992-3997, 1990, Reider等人., J.Org.Chem. 52, 3326-3334, 1987, Foster, Adv. Drug Res. 14, 1-40, 1985, Gillette等人, Biochemistry 33 (10) 2927-2937, 1994, 和 Jarman等人. Carcinogenesis 16 (4), 683-688, 1993中找到。

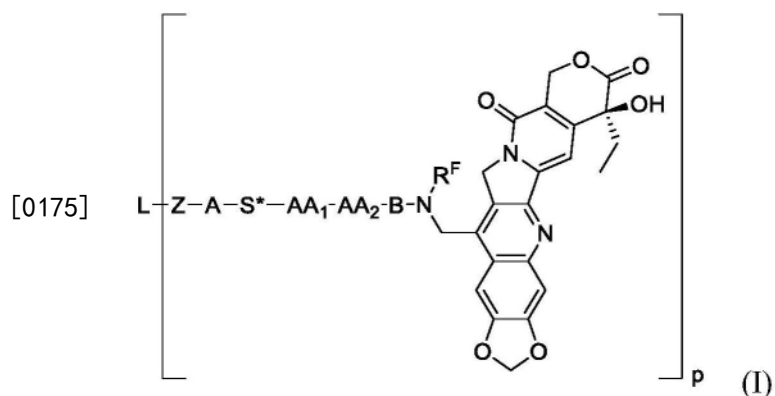
[0170] 本发明设想的取代基和变量的组合仅是导致形成稳定化合物的那些。如本文所用,术语“稳定的”是指具有足以允许制造的稳定性并且维持化合物的完整性持续足以用于本文详述的目的(例如治疗性或预防性施用于受试者)的时间段的化合物。

[0171] 本发明的化合物在其制备之后优选进行分离和纯化以获得含有按重量计等于或大于95%的量的组合物(“基本上纯的”),然后将其如本文所述使用或配制。在某些实施方案中,本发明的化合物的纯度大于99%。

[0172] 下面描述了本发明的许多实施方案,这些实施方案并不意味着以任何方式限制本发明,并且更详细地讨论构成缀合物的组分。本领域技术人员将理解,所鉴定的每种缀合物及其任何所选实施方案意在包括每种组分和接头的全部范围。

[0173] 喜树碱缀合物

[0174] 在一个方面,本文提供了具有式(I)的喜树碱缀合物:



[0176] 或其药学上可接受的盐,其中

[0177] L是配体单元:

[0178] Z是延伸单元:

[0179] A是键或连接单元:

[0180] S*是键或分配剂:

[0181] AA₁是氨基酸;

[0182] AA₉是氨基酸;

[0183] B是选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp、D-Ala、Aib和pAbz的氨基酸；

[0184] R^F 为 H 或 C_1-C_6 烷基; 且

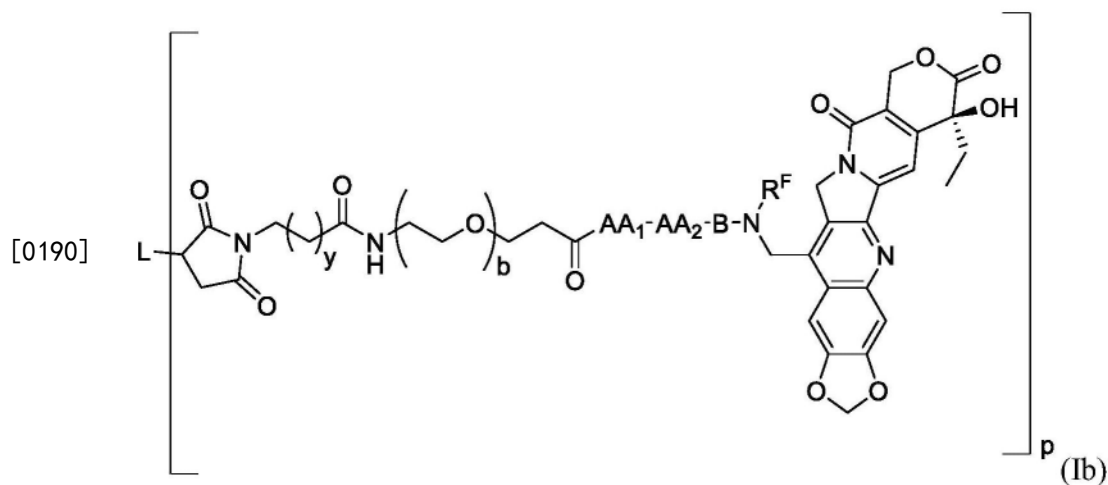
[0185] p为1至16。

[0186] 在这些实施方案的一些方面,p为1至16。在这些实施方案的一些方面,p为2、3、4、5、6、7、8、9或10。在某些方面,p为1至16,或为2至8,或为2,或为4,或为8。在这些实施方案的一些方面,p为2、3、4、5、6、7、8、9或10。在一些方面,p为2、4或8。在一些方面,p为8。

[0187] 在一组实施方案中, R^F 是 H。

[0188] 在一组实施方案中, R^F 是 C_1 - C_6 烷基。在一些实施方案中, R^F 是 C_1 - C_3 烷基, 例如甲基、乙基、正丙基或异丙基。在一些实施方案中, R^F 为 $-CH_3$ 。

[0189] 在一些实施方案中,喜树碱缀合物具有式(Ib):



[0191] 或其药学上可接受的盐,其中

[0192] L是配体单元:

[0193] AA₁是氨基酸；

[0194] AA₂是氨基酸；

[0195] B是选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp、D-Ala、Aib和pAbz的氨基酸；

[0196] R^F为氢或C₁-C₆烷基；

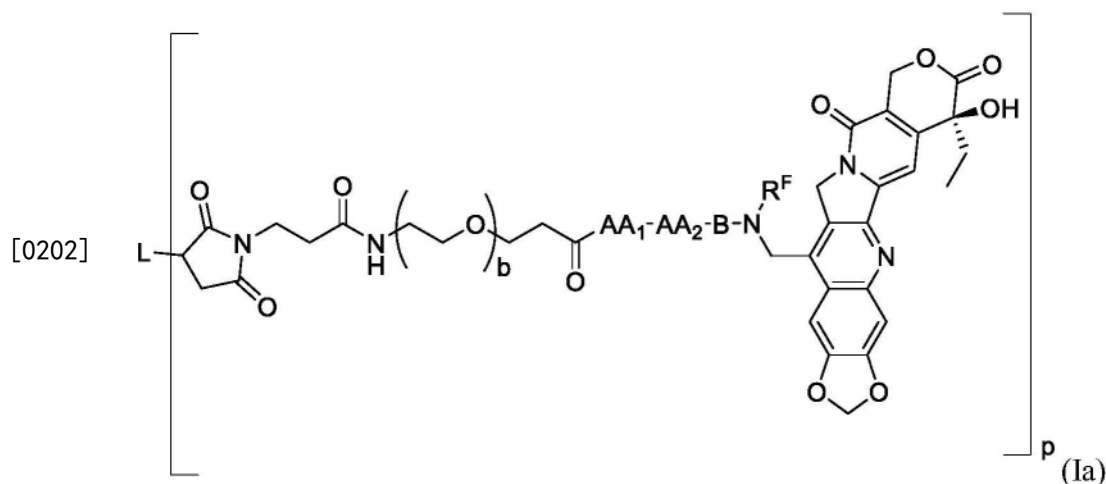
[0197] b为2至20的整数；

[0198] y为1至8或1至4的整数；0或1或4；且

[0199] p为1至16。

[0200] 在这些实施方案的一些方面，y是从1至8，或1至4的整数；或1或4。在这些实施方案的一些方面，y是1、2、3、4、5、6、7或8。

[0201] 在一些实施方案中，喜树碱缀合物具有式 (Ia)：



[0203] 或其药学上可接受的盐，其中

[0204] L是配体单元；

[0205] AA₁是氨基酸；

[0206] AA₂是氨基酸；

[0207] B是选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp、D-Ala、Aib和pAbz的氨基酸；

[0208] R^F为氢或C₁-C₆烷基；

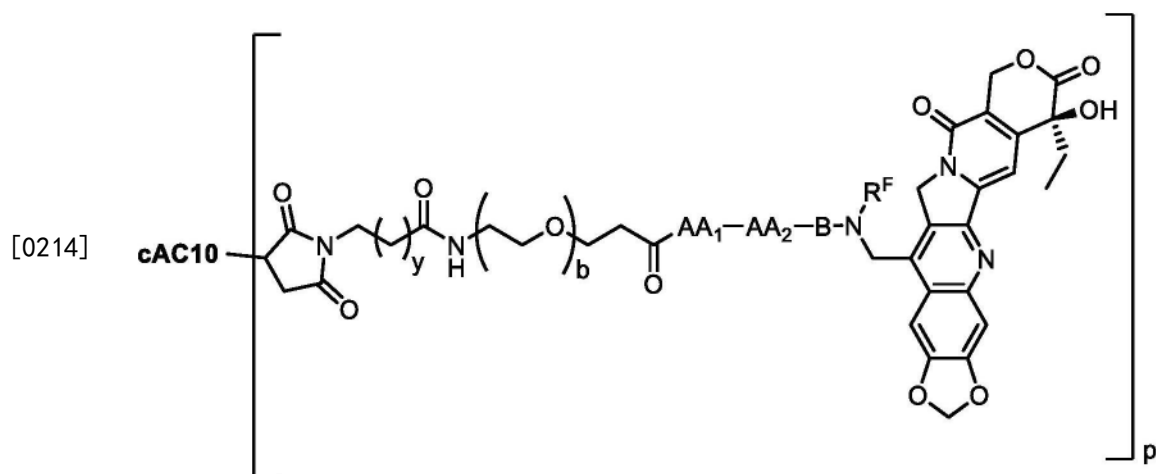
[0209] b为2至20的整数；且

[0210] p为1至16。

[0211] 在这些实施方案的一些方面，b是从2至20的整数。在这些实施方案的一些方面，b是2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。在这些实施方案的一些方面，b是从2至20，或从2至12，或从4至12。在这些实施方案的一些方面，b是2、4、6、8、10或12。在这些实施方案的一些方面，b是8。

[0212] 在这些实施方案的一些方面，p为1至16。在这些实施方案的一些方面，p为2、3、4、5、6、7、8、9或10。在某些方面，p为1至16，或为2至8，或为2，或为4，或为8。在这些实施方案的一些方面，p为2、3、4、5、6、7、8、9或10。在一些方面，p为2、4或8。在一些方面，p为8。

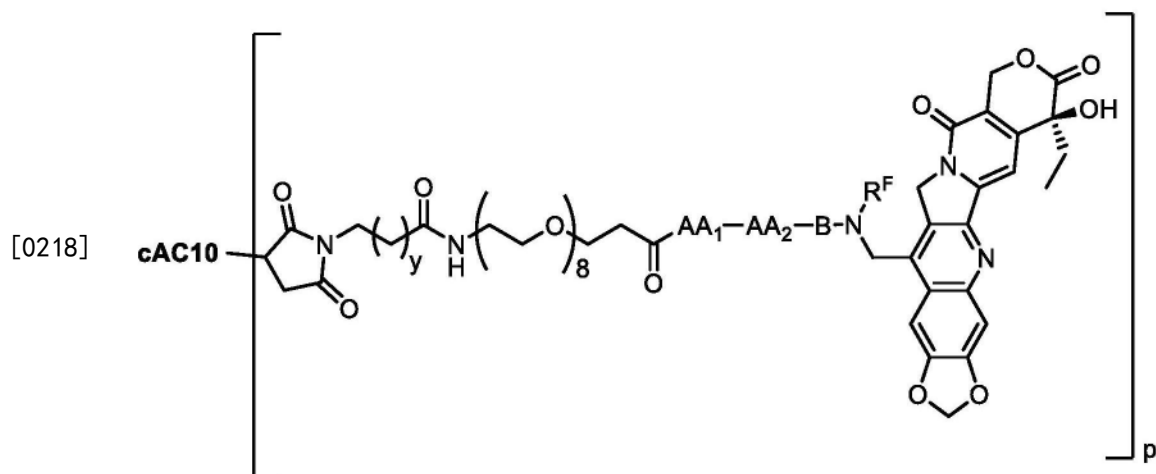
[0213] 在一些实施方案中，喜树碱缀合物具有下式：



[0215] 或其药学上可接受的盐；

[0216] 其中AA₁、AA₂、B和R^F如式(I)所定义；其中b为从2至20的整数；其中y为1至8或1至4的整数；0或1或4；并且其中p为2、4或8。在一些实施方案中，p为8。

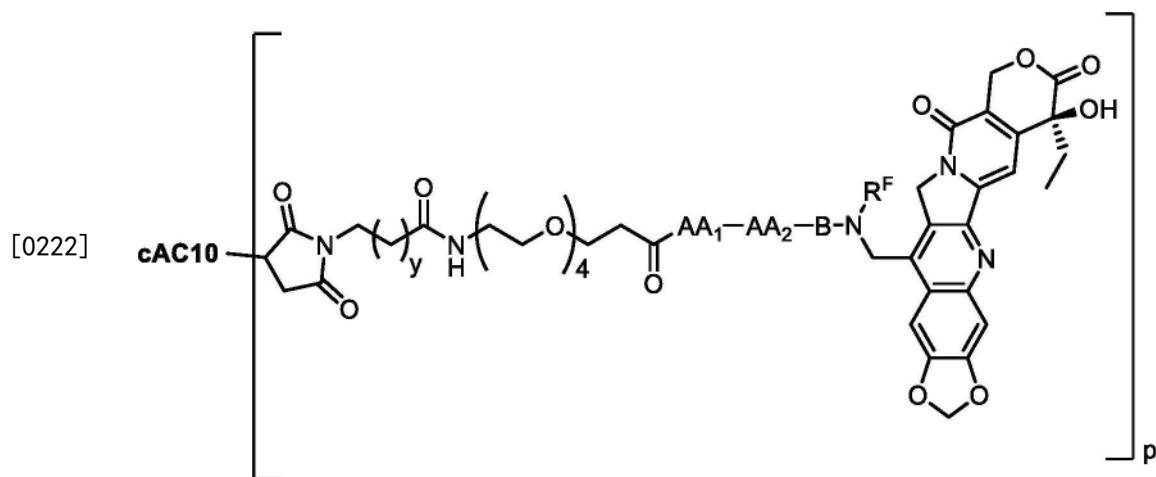
[0217] 在一些实施方案中，喜树碱缀合物具有下式：



[0219] 或其药学上可接受的盐；

[0220] 其中AA₁、AA₂、B和R^F如式(I)所定义；其中y为1至8或1至4的整数；0或1或4；并且其中p为2、4或8。在一些实施方案中，p为8。

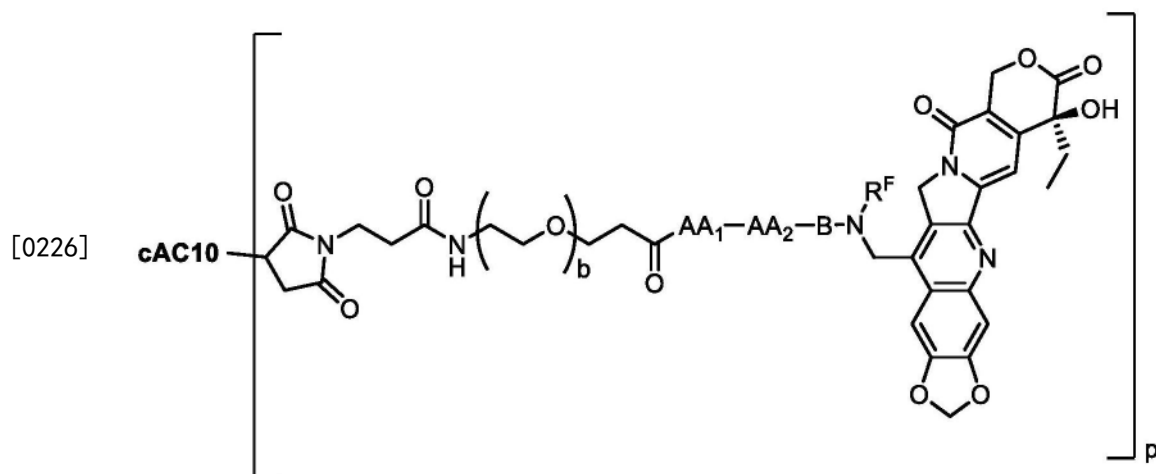
[0221] 在一些实施方案中，喜树碱缀合物具有下式：



[0223] 或其药学上可接受的盐；

[0224] 其中AA₁、AA₂、B和R^F如式(I)所定义；其中y为1至8或1至4的整数；0或1或4；并且其中p为2,4或8。在一些实施方案中，p为8。

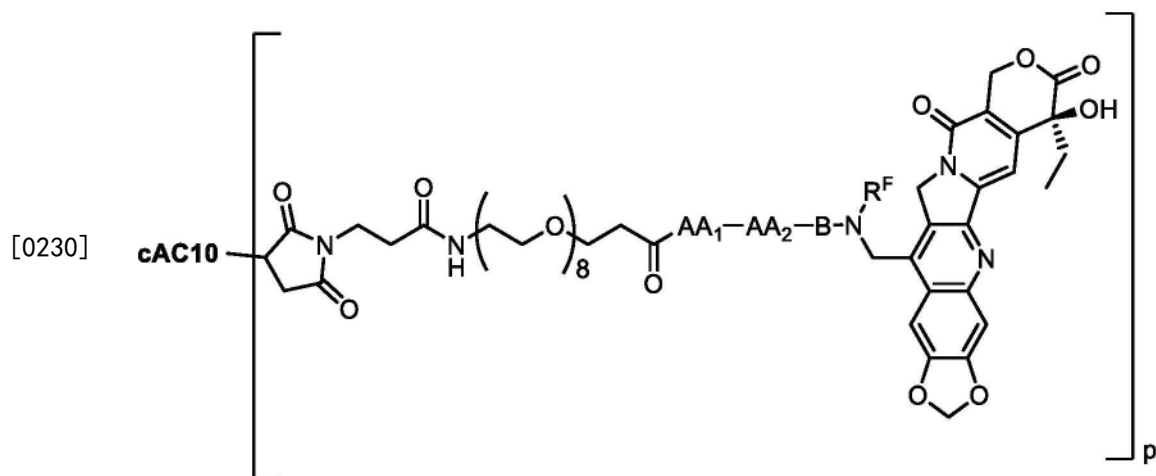
[0225] 在一些实施方案中，喜树碱缀合物具有下式：



[0227] 或其药学上可接受的盐；

[0228] 其中AA₁、AA₂、B和R^F如式(I)所定义；其中b是从2至20的整数；并且其中p为2、4或8。在一些实施方案中，p为8。

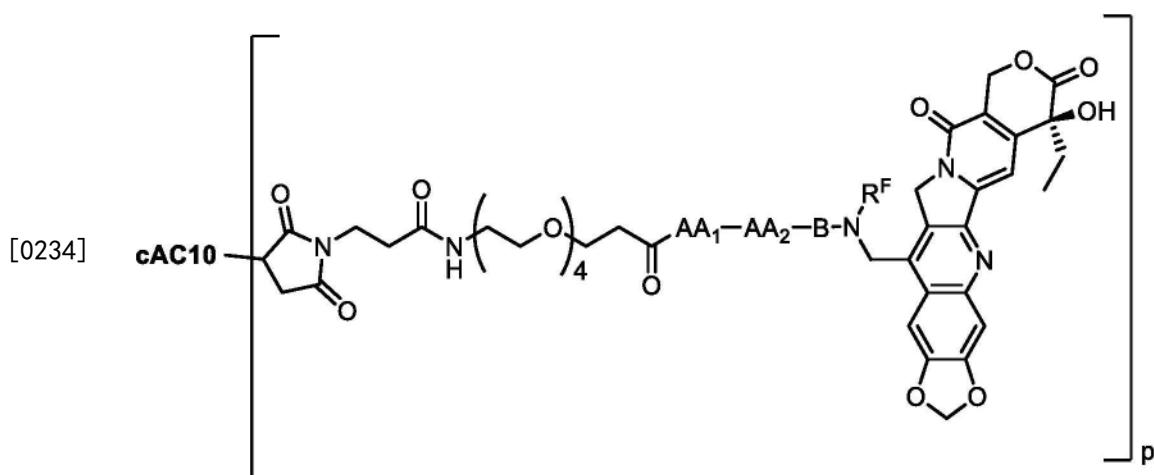
[0229] 在一些实施方案中，喜树碱缀合物具有下式：



[0231] 或其药学上可接受的盐；

[0232] 其中AA₁、AA₂、B和R^F如式(I)所定义；并且其中p为2、4或8。在一些实施方案中，p为8。

[0233] 在一些实施方案中，喜树碱缀合物具有下式：



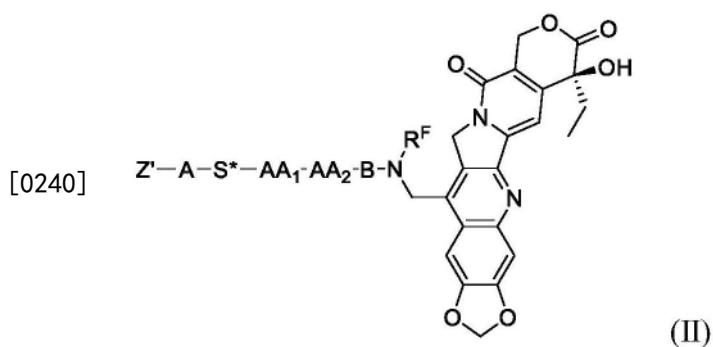
[0235] 或其药学上可接受的盐；

[0236] 其中AA₁、AA₂、B和R^F如式(I)所定义；并且其中p为2,4或8。在一些实施方案中,p为8。

[0237] 喜树碱-接头化合物

[0238] 在一些方面,当制备喜树碱缀合物时,需要在与靶向配体缀合之前合成全部药物-接头组合,或药物与接头的一部分的组合。在这样的实施方案中,本文所述的喜树碱-接头化合物是中间体化合物。在这些实施方案中,喜树碱-接头化合物中的延伸单元尚未共价连接至配体单元,并因此具有用于缀合至靶向配体的官能团(即,是延伸单元前体,Z')。在一个方面,喜树碱-接头化合物包含喜树碱和接头单元前体(Q'),所述接头单元前体包含可释放肽的接头(RL),配体单元通过所述接头连接至喜树碱。在一个方面,喜树碱-接头化合物包含喜树碱、B、AA₂、AA₁、S*、A和Z'。因此,除了RL(其为肽接头)之外,接头单元前体包含延伸单元前体(Z'),其包含用于缀合至配体单元并且能够(直接或间接)将RL连接至配体单元的官能团。在一些实施方案中,当需要在延伸单元或延伸单元前体与RL之间增加更多距离时,存在连接单元(A)。

[0239] 在一个方面,本文提供了具有式(II)的喜树碱缀合物:



[0241] 或其药学上可接受的盐,其中

[0242] Z' 是延伸单元前体;

[0243] A是键或连接单元;

[0244] S*是键或分配剂;

[0245] AA₁是氨基酸;

[0246] AA₂是氨基酸;

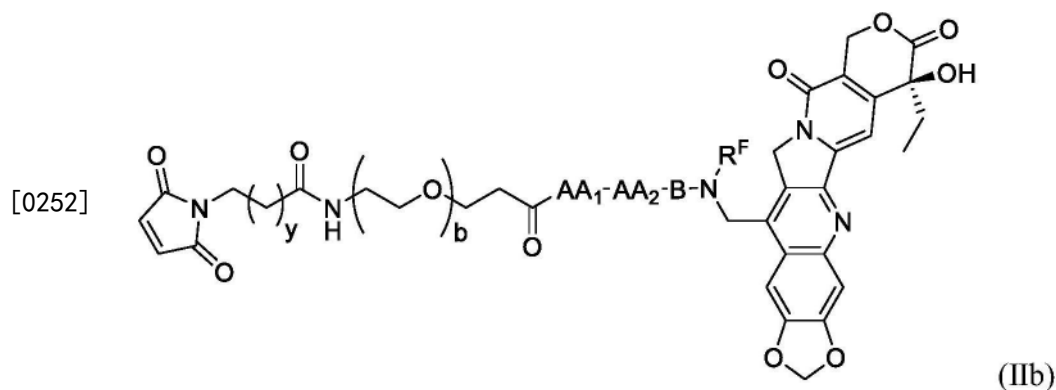
[0247] B是选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp、D-Ala、Aib和pAbz的氨基酸；且

[0248] R^F 为H或 C_1-C_6 烷基。

[0249] 在一组实施方案中， R^F 是H。

[0250] 在一组实施方案中， R^F 是 C_1-C_6 烷基。在一些实施方案中， R^F 是 C_1-C_3 烷基，例如甲基，乙基，正丙基或异丙基。在一些实施方案中， R^F 为 $-CH_3$ 。

[0251] 在一些实施方案中，喜树碱-接头化合物具有式(IIb)：



[0253] 或其药学上可接受的盐，其中

[0254] AA_1 是氨基酸；

[0255] AA_2 是氨基酸；

[0256] B是选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp、D-Ala、Aib和pAbz的氨基酸；

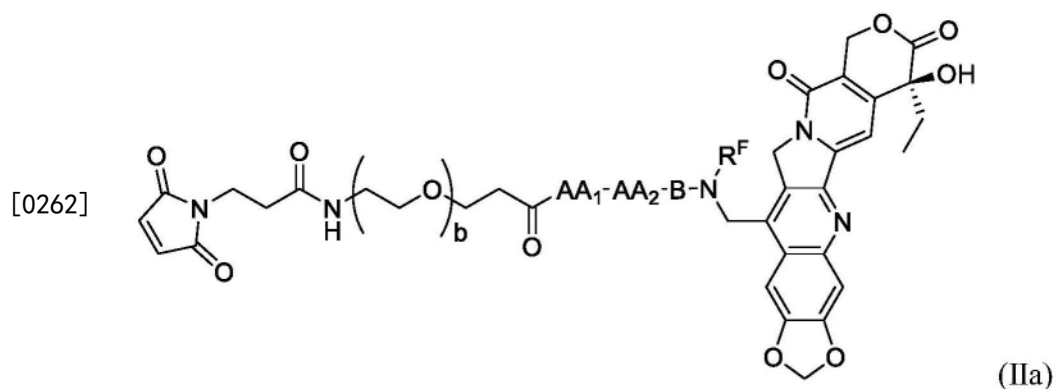
[0257] R^F 为氢或 C_1-C_6 烷基；

[0258] b为2至20的整数；且

[0259] y为1至8或1至4的整数；或1或4。

[0260] 在这些实施方案的一些方面，y是从1至8，或1至4的整数；或1或4。在这些实施方案的一些方面，y是1、2、3、4、5、6、7或8。

[0261] 在一些实施方案中，喜树碱-接头化合物具有式(IIa)：



[0263] 或其药学上可接受的盐，其中

[0264] AA_1 是氨基酸；

[0265] AA_2 是氨基酸；

[0266] B是选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp、D-Ala、Aib

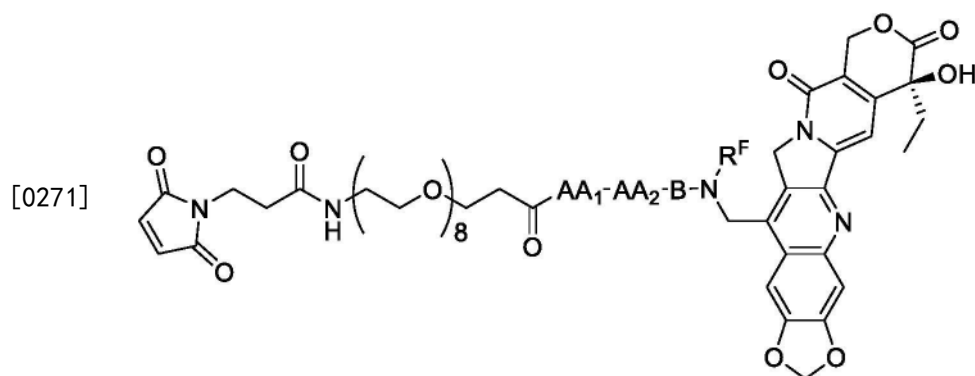
和pAbz的氨基酸；

[0267] R^F 为氢或 C_1-C_6 烷基；且

[0268] B是2-20的整数。

[0269] 在这些实施方案的一些方面，b是从2至20的整数。在这些实施方案的一些方面，b是2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。在这些实施方案的一些方面，b是从2至20，或从2至12，或从4至12。在这些实施方案的一些方面，b是2、4、6、8、10或12。在这些实施方案的一些方面，b是8。

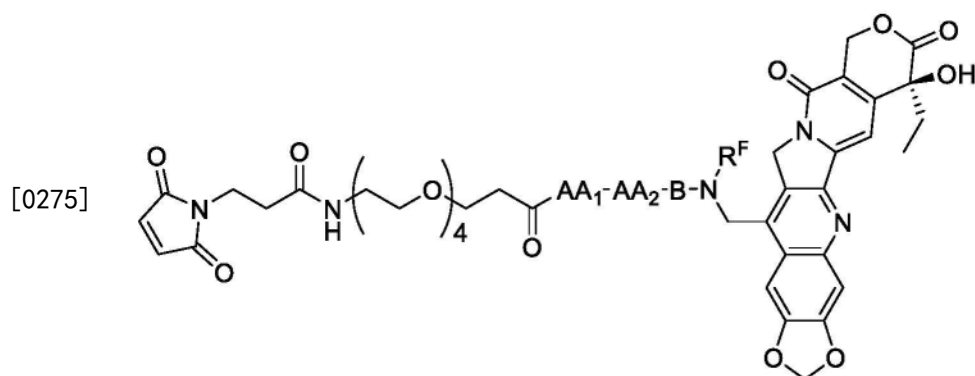
[0270] 在一些实施方案中，喜树碱-接头化合物具有下式：



[0272] 或其药学上可接受的盐；

[0273] 其中 AA_1 、 AA_2 、B，和 R^F 是如对于式(I)所定义的。

[0274] 在一些实施方案中，喜树碱-接头化合物具有下式：



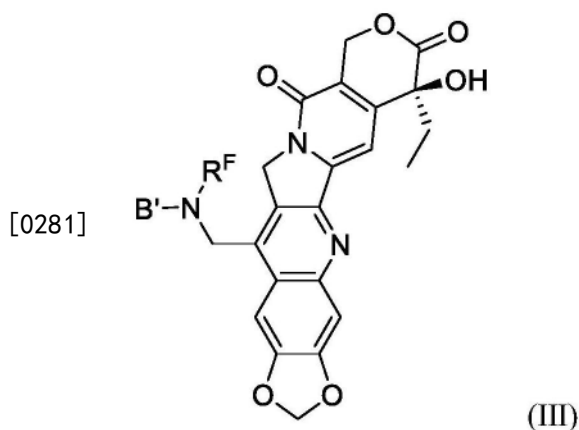
[0276] 或其药学上可接受的盐；

[0277] 其中 AA_1 、 AA_2 、B，和 R^F 是如对于式(I)所定义的。

[0278] 在喜树碱缀合物和/或喜树碱-接头化合物的上下文中，组装就其组分进行了充分描述。虽然本文还描述了一些程序，但是本领域技术人员将充分地理解组装的顺序和制备缀合物和化合物的一般条件。

[0279] 喜树碱化合物

[0280] 在一个方面，本文提供了具有式(III)的喜树碱化合物：



[0282] 或其药学上可接受的盐,其中

[0283] B' 是选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp、D-Ala、Aib和pAbz的氨基酸;且

[0284] R^F为H或C₁-C₆烷基。

[0285] 组分组

[0286] 配体单元:

[0287] 在本发明的一些实施方案中,存在配体单元。配体单元(L)是与靶部分特异性结合的靶向剂。在一组实施方案中,配体单元特异性地和选择性地与细胞组分(细胞结合剂)或其它目标靶分子结合。配体单元用于将喜树碱或含有喜树碱的药物组分靶向并呈递至特定靶细胞群体,配体单元由于其靶向的组分或分子的存在而与所述特定靶细胞群体相互作用,并允许随后在靶细胞内(即细胞内)或在靶细胞附近(即细胞外)释放游离药物。配体单元L包括但不限于蛋白质、多肽和肽。合适的配体单元包括例如抗体,例如全长抗体及其抗原结合片段、干扰素、淋巴因子、激素、生长因子和集落刺激因子、维生素、营养转运分子(例如但不限于转铁蛋白)或任何其它细胞结合分子或物质。在一些实施方案中,配体单元(L)是抗体或非抗体蛋白靶向剂。

[0288] 在一组实施方案中,配体单元与包含可释放的肽的接头的Q(接头单元)键合。如上所述,本文所述的缀合物中还可存在其它连接组分以用于在喜树碱药物化合物和配体单元(例如,延伸单元和任选的接头单元,A)之间提供额外的空间,或为组合物提供增加溶解度的属性(例如,分配剂,S*)。在这些实施方案的一些中,配体单元经由配体单元的杂原子与接头单元的Z键合。可存在于用于该键合的配体单元上的杂原子包括硫(在一个实施方案中,来自靶向配体的巯基)、氧(在一个实施方案中,来自靶向配体的羧基或羟基)和任选取代的氮(在一个实施方案中,来自靶向配体的伯胺或仲胺官能团或在另一个实施方案中,来自任选取代的酰胺氮)。这些杂原子可以以配体的天然状态存在于靶向配体上,例如在天然存在的抗体中,或者可以通过化学修饰或生物工程引入靶向配体中。

[0289] 在一个实施方案中,配体单元具有巯基官能团,使得配体单元经由巯基官能团的硫原子与接头单元键合。

[0290] 在又一个实施方案中,配体单元具有一个或多个其能够与喜树碱-接头化合物中间体的延伸单元前体的活化酯(这样的酯包括但不限于N-羟基琥珀酰亚胺,五氟苯基和对硝基苯基酯)反应赖氨酸残基,并因此提供由配体单元的氮原子和接头单元的延伸单元的C=O基团组成的酰胺键。

[0291] 在又另一方面,配体单元具有一个或多个能够化学修饰以引入一个或多个巯基的赖氨酸残基。在那些实施方案中,配体单元经由巯基官能团的硫原子与接头单元共价连接。可用于以这种方式修饰赖氨酸的试剂包括但不限于N-琥珀酰亚胺基S-乙酰硫代乙酸酯(SATA)和2-亚氨基硫杂环戊烷盐酸盐(Traut试剂)。

[0292] 在另一个实施方案中,配体单元具有一个或多个能够修饰以提供一个或多个巯基官能团的碳水化合物基团。喜树碱缀合物中的化学修饰的配体单元经由巯基官能团的硫原子与接头单元组分(例如延伸单元)键合。

[0293] 在又另一个实施方案中,配体单元具有一个或多个可被氧化以提供醛(-CHO)官能团的碳水化合物基团(参见例如Laguzza, et al., 1989, J. Med. Chem. 32 (3) :548-55):在这些实施方案中,相应的醛与延伸单元前体上的反应性位点相互作用以在延伸单元和配体单元之间形成键。能够与靶向配体单元上的反应性含羰基官能团相互作用的延伸单元前体上的反应性位点包括但不限于肟和羟胺。在Coligan等人, Current Protocols in Protein Science, vol. 2, John Wiley & Sons (2002) (在此通过引用并如本文)中描述了修饰用于连接接头单元(Q)或相关种类的蛋白质的其它方案。

[0294] 在一些方面,配体单元能够通过与延伸单元前体(Z')上的反应性官能团相互作用形成键,以在延伸单元(Z)和对应于靶向配体的配体单元之间形成共价键。具有与靶向配体相互作用的能力的Z'的官能团将取决于配体单元的性质。在一些实施方案中,反应性基团是马来酰亚胺,其在连接形成配体单元(即延伸单元前体的马来酰亚胺部分)之前存在于延伸单元上。配体单元与延伸单元的共价连接通过配体单元的巯基官能团与Z'的马来酰亚胺官能团相互作用以形成硫代琥珀酰亚胺来实现。巯基官能团可以以配体单元的天然状态存在于配体单元上,例如在天然存在的残基中,或者可以经由化学修饰或通过生物工程引入配体单元中。

[0295] 在另一个实施方案中,配体单元是抗体,并通过还原抗体的链间二硫化物产生巯基。因此,在一些实施方案中,接头单元与来自还原的链间二硫化物的半胱氨酸残基缀合。

[0296] 在另一个实施方案中,配体单元是抗体,并且例如通过引入半胱氨酸残基将巯基官能团化学引入抗体。因此,在一些实施方案中,接头单元(具有或不具有连接的喜树碱)通过配体单元的引入的半胱氨酸残基与配体单元缀合。

[0297] 已观察到生物缀合物的药物缀合位点可影响许多参数,包括缀合的容易性、药物-接头稳定性、对所得生物缀合物的生物物理特性的影响和体外细胞毒性。关于药物-接头稳定性,药物-接头部分与配体单元的缀合位点可影响缀合的药物-接头部分进行消除反应的能力,在一些情况下,导致游离药物的过早释放。靶向配体上的缀合位点包括,例如,还原的链间二硫化物以及工程化位点上的选择的半胱氨酸残基。在一些实施方案中,与使用来自还原的二硫键的硫醇残基的缀合方法相比,形成本文所述的喜树碱缀合物的缀合方法在对消除反应较不敏感的遗传工程化位点处(例如根据Kabat中给出的EU索引的位置239)使用硫醇残基。在其它实施方案中,形成如本文所述的喜树碱缀合物的缀合方法在对消除反应更敏感的位点(例如由链间二硫化物还原产生)使用硫醇残基。

[0298] 在一些实施方案中,喜树碱缀合物包含非免疫反应性蛋白质、多肽或肽作为其配体单元。因此,在一些实施方案中,配体单元是非免疫反应性蛋白质、多肽或肽。实例包括但不限于转铁蛋白、表皮生长因子(“EGF”)、铃蟾肽、胃泌素、胃泌素释放肽、血小板衍生生长

因子、IL-2、IL-6、转化生长因子(“TGF”)如TGF- α 和TGF- β 、痘苗生长因子(“VGF”)、胰岛素和胰岛素样生长因子I和II、生长抑素、凝集素和来自低密度脂蛋白的脱辅基蛋白。

[0299] 特别优选的配体单元来自抗体。事实上,在本文所述的任何实施方案中,配体单元可以来自抗体。有用的多克隆抗体是来源于免疫动物血清的抗体分子的异质群体。有用的单克隆抗体是针对特定抗原决定簇(例如,癌细胞抗原、病毒抗原、微生物抗原、蛋白质、肽、碳水化合物、化学品、核酸或其片段)的抗体的同质群体。针对目的抗原的单克隆抗体(mAb)可通过使用本领域已知的任何技术制备,所述技术提供通过培养物中的连续细胞系产生抗体分子。

[0300] 有用的单克隆抗体包括但不限于人单克隆抗体、人源化单克隆抗体或嵌合人-小鼠(或其它物种)单克隆抗体。抗体包括全长抗体及其抗原结合片段。人单克隆抗体可通过本领域已知的多种技术中的任一种制备(例如,Teng等人,1983,Proc.Natl.Acad.Sci.USA.80:7308-7312;Kozbor等人,1983,Immunology Today 4:72-79;和Olsson等人,1982,Meth.Enzymol.92:3-16)。

[0301] 抗体可以是与靶细胞免疫特异性结合(例如癌细胞抗原、病毒抗原或微生物抗原)的抗体或与肿瘤细胞或基质结合的其它抗体的功能活性片段,衍生物或类似物。在这方面,“功能活性”是指该片段、衍生物或类似物能够免疫特异性地结合靶细胞。为了确定哪些CDR序列结合抗原,可以通过本领域已知的任何结合测定法(例如BIA核心测定法)将含有CDR序列的合成肽用于使用抗原的结合测定法(参见例如Kabat等人,1991,Sequences of Proteins of Immunological Interest,Fifth Edition,National Institute of Health,Bethesda,Md;Kabat E等人,1980,J.Immunology 125(3):961-969)。

[0302] 其它有用的抗体包括抗体片段,例如但不限于F(ab')₂片段、Fab片段、Fvs、单链抗体、双抗体、三抗体、四抗体、scFv、scFv-Fv,或具有与抗体相同特异性的任何其它分子。

[0303] 另外,可以使用标准重组DNA技术制备的重组抗体,如嵌合和人源化单克隆抗体,包括人和非人部分,是有用的抗体。嵌合抗体是其中不同部分来源于不同动物物种的分子,例如具有来源于鼠单克隆和人免疫球蛋白恒定区的可变区的那些。(参见,例如,美国专利第4816567号;和美国专利第4816397号,其通过全文引用并入本文)。人源化抗体是来自非人物种,具有一个或多个来自非人物种的互补决定区(CDR)和来自人免疫球蛋白分子的框架区的抗体分子。(参见,例如,美国专利第5585089号,其通过全文引用并入本文)。此类嵌合和人源化单克隆抗体可以通过本领域已知的重组DNA技术产生,例如使用国际公布号W087/02671;欧洲专利公开号0184187;欧洲专利公开号0171496;欧洲专利公开第0173494号;国际公布第W086/01533号;美国专利第4816567;欧洲专利公布No.012023;Berter等人,1988,Science 240:1041-1043;Liu等人,1987,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 84:3439-3443;Liu等人,1987,J.Immunol.139:3521-3526;Sun等人,1987,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 84:214-218;Nishimura等人,1987,Cancer.Res.47:999-1005;Wood等人,1985,Nature 314:446-449;和Shaw等人.,1988,J.Natl.Cancer Inst.80:1553-1559;Morrison,1985,Science 229:1202-1207;Oi等人,1986,BioTechniques 4:214;美国专利第522539号;Jones等人,1986,Nature 321:552-525;Verhoeyan等人,1988,Science 239:1534;和Beidler等人,1988,J.Immunol.141:4053-4060中描述的方法,其中的每一个通过全文引用并入本文中。

[0304] 在一些情况下(例如,当可能发生针对非人或嵌合抗体的免疫原性时),完全地人抗体是更期望的,并且可以使用不能表达内源免疫球蛋白重链和轻链基因但可以表达人重链和轻链基因的转基因小鼠来产生。

[0305] 抗体包括修饰的类似物和衍生物,即通过共价连接任何类型的分子,只要这种共价连接允许抗体保持其抗原结合免疫特异性。例如,但不作为限制,抗体的衍生物和类似物包括已经被进一步修饰的那些,例如,通过糖基化、乙酰化、PEG化、磷酸化、酰胺化、通过已知的保护/封闭基团的衍生化、蛋白水解裂解,与细胞抗体单元或其它蛋白质的连接等。许多化学修饰中的任一种可以通过已知的技术进行,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,类似物或衍生物可以含有一个或多个非天然氨基酸。

[0306] 抗体可在与Fc受体相互作用的氨基酸残基中具有修饰(例如取代、缺失或添加)。特别地,抗体可以具有被鉴定为参与抗Fc结构域和FcRn受体之间的相互作用的氨基酸残基的修饰(参见,例如,国际公布第W097/34631号,其通过全文引用并入本文)。

[0307] 在一些实施方案中,本公开的抗体可以根据它们包含的特定CDR进行描述或指定。给定CDR或FR的精确的氨基酸序列边界可使用许多众所周知的方案中的任一种容易地确定,包括Kabat等人(1991),“Sequences of Proteins of Immunological Interest,”5th Ed.Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD(“Kabat”编号方案);Al-Lazikani等人,(1997) JMB 273,927-948(“Chothia”编号方案);MacCallum等人,J.Mol.Biol.262:732-745(1996),“Antibody-antigen interactions:Contact anaLysis and binding site topography,”J.Mol.Biol.262,732-745.”(“Contact”编号方案);Lefranc MP等人,“IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains,”Dev Comp Immunol,2003Jan;27(1):55-77(“IMGT”编号方案);Honegger A and Plückthun A,“Yet another编号方案for immunoglobulin variable domains:an automatic modeling and anaLysis tool,”J Mol Biol,2001Jun 8;309(3):657-70, (“Aho”编号方案);and Martin等人,“Modeling antibody hypervariable loops:a combined algorithm,”PNAS,1989,86(23):9268-9272, (“AbM”编号方案)中描述的那些。给定CDR的边界可以根据用于识别的方案而变化。在一些实施方案中,给定抗体或其区域(例如,其可变区)的“CDR”或“互补决定区”或个别指定的CDR(例如,CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3)应理解为涵盖如任何上述方案所定义的(或指定的)CDR。例如,当陈述特定CDR(例如,CDR-H3)在给定V_H或V_L区氨基酸序列中含有相应CDR的氨基酸序列时,应理解此类CDR在可变区内具有如任何上述方案所定义的相应的CDR(例如,CDR-H3)的序列。可以指定用于鉴定一个或多个特定CDR的方案,例如由Kabat、Chothia、AbM或IMGT方法定义的CDR。

[0308] 对癌细胞抗原具有免疫特异性的抗体可商购或通过本领域技术人员已知的任何方法如重组表达技术产生。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以例如从GenBank数据库或与其类似的数据库、文献出版物或通过常规克隆和测序获得。

[0309] 在一个具体的实施方案中,可以使用已知的用于治疗癌症的抗体。

[0310] 在另一个具体的实施方案中,根据本发明的组合物和方法使用用于治疗自身免疫性疾病的抗体。

[0311] 在某些实施方案中,有用的抗体可以与在活化淋巴细胞上表达的受体或受体复合物结合。所述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、整合蛋白、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。

[0312] 在一些方面,并入喜树碱缀合物中的抗体将与CD19、CD30、CD33、CD70或LIV-1特异性结合。

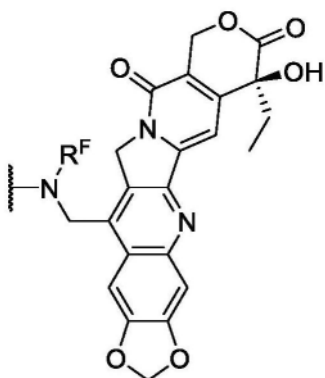
[0313] 在一些方面,并入喜树碱缀合物中的抗体与CD30特异性结合。在另一方面,并入喜树碱缀合物中的抗体是cAC10抗CD30抗体,其描述于国际专利公开第W002/43661号中。在一些实施方案中,抗CD30抗体是cAC10,其描述于国际专利公布号W002/43661中。cAC10也称为brentuximab。在一些实施方案中,抗CD30抗体包含cAC10的CDR。在一些实施方案中,CDR如Kabat编号方案所定义。在一些实施方案中,CDR如Chothia编号方案所定义。在一些实施方案中,CDR如IMGT编号方案所定义。在一些实施方案中,CDR如AbM编号方案所定义。在一些实施方案中,抗CD30抗体包含分别包含SEQ ID NO:1、2、3、4、5和6的氨基酸序列的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。在一些实施方案中,抗CD30抗体包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含与SEQ ID NO:7的氨基酸序列具有至少95%,至少96%,至少97%,至少98%,至少99%或100%同一性的氨基酸序列,所述轻链可变区包含与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少95%,至少96%,至少97%,至少98%,至少99%或100%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗CD30抗体重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的氨基酸序列,且所述轻链可变区包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列。

[0314] 在一些方面,并入喜树碱缀合物中的抗体与CD70特异性结合。在另一方面,并入喜树碱缀合物中的抗体是h1F6抗CD70抗体,其描述于国际专利公开第W02006/113909号中。在一些实施方案中,抗CD70抗体包含h1F6的CDR。在一些实施方案中,CDR如Kabat编号方案所定义。在一些实施方案中,CDR如Chothia编号方案所定义。在一些实施方案中,CDR如IMGT编号方案所定义。在一些实施方案中,CDR如AbM编号方案所定义。在一些方面,并入喜树碱缀合物中的抗体特异性结合CD48。在另一方面,结合到喜树碱缀合物中的抗体是hMEM102抗CD48抗体,其描述于国际专利公开第W02016/149535号中。在一些实施方案中,抗CD48抗体包含hMEM102的CDR。在一些实施方案中,CDR如Kabat编号方案所定义。在一些实施方案中,CDR如Chothia编号方案所定义。在一些实施方案中,CDR如IMGT编号方案所定义。在一些实施方案中,CDR如AbM编号方案所定义。在一些方面,并入喜树碱缀合物中的抗体与NTB-A特异性结合。在另一方面,并入喜树碱缀合物中的抗体是h20F3抗NTB-A抗体,其描述于国际专利公开第W02017/004330号中。在一些实施方案中,抗NTB-A抗体包含h20F3的CDR。在一些实施方案中,CDR如Kabat编号方案所定义。在一些实施方案中,CDR如Chothia编号方案所定义。在一些实施方案中,CDR如IMGT编号方案所定义。在一些实施方案中,CDR如AbM编号方案所定义。

[0315] 喜树碱:

[0316] 本文所述的各个方面和实施方案中使用的喜树碱由下式表示:

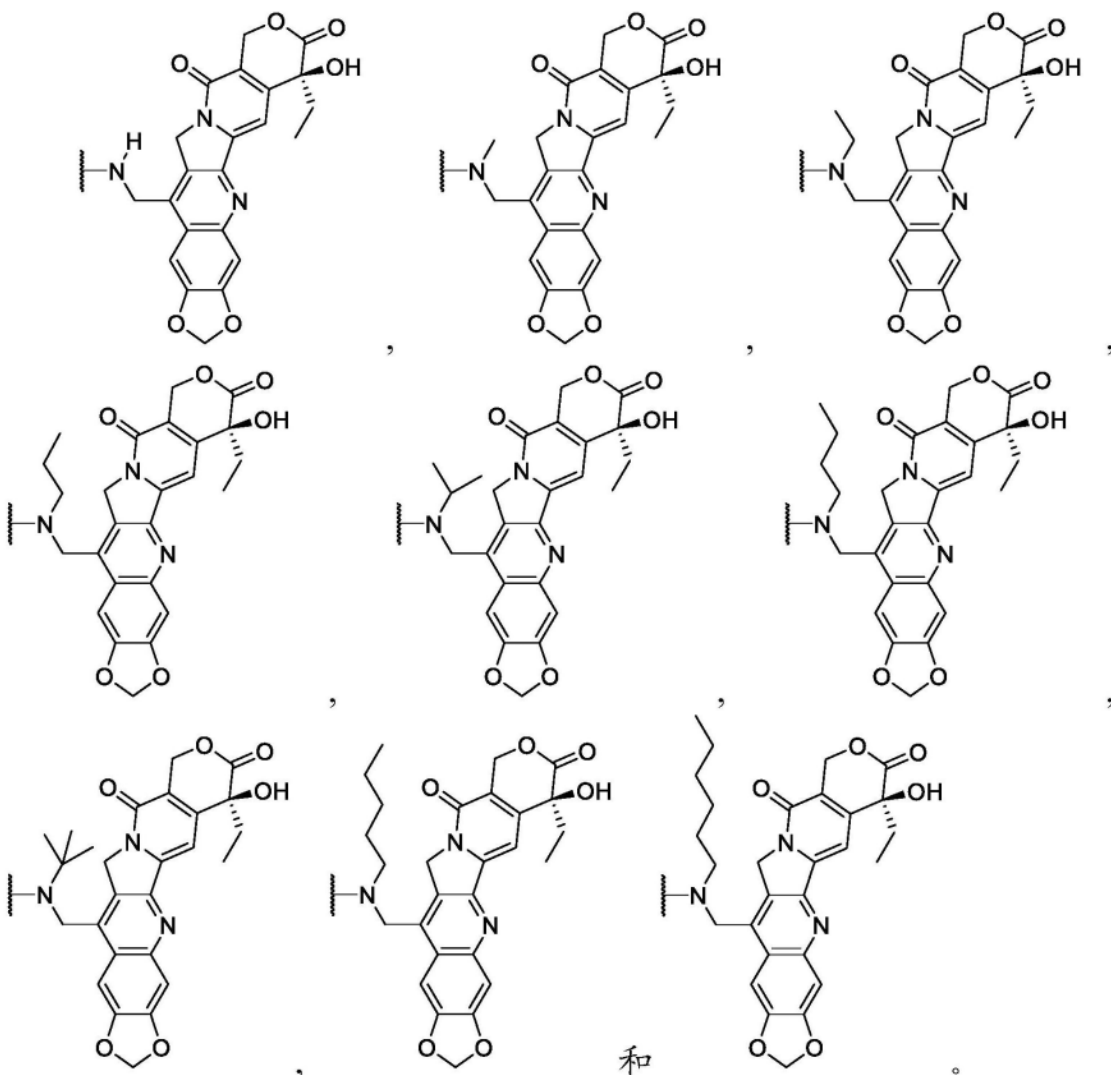
[0317]



[0318] 其中波浪线表示与B或B'的连接,并且 R^F 是H或 C_1-C_6 烷基。

[0319] 在一个具体实施方案中,喜树碱选自:

[0320]



[0321] 喜树碱能够作为游离药物从缀合物中释放。所得的药物-接头部分是可以从喜树碱缀合物释放活性游离药物的部分,所述喜树碱缀合物在由其配体单元靶向的位点处具有活性游离药物部分以发挥细胞毒性、细胞抑制或免疫抑制作用。

[0322] “游离药物”是指一旦从药物-接头部分释放就存在的药物。在一些实施方案中,游离药物包括可释放肽的接头(RL)的片段。在一些实施方案中,包括肽可释放接头基团的片段的游离药物是生物活性的。包括肽可释放接头片段的游离药物经由可释放接头的断裂从

药物-接头部分的剩余部分释放,并在释放之后具有活性。在一些实施方案中,游离药物与缀合药物的不同之处在于用于与自分解组装单元连接的药物的官能团不再与喜树碱缀合物的组分(除了先前共享的杂原子之外)缔合。

[0323] 在一些实施方案中,喜树碱是生物活性的。在一些实施方案中,这样的喜树碱可用于抑制拓扑异构酶、杀伤肿瘤细胞、抑制肿瘤细胞、癌细胞或肿瘤的生长、抑制肿瘤细胞或癌细胞的复制、减轻总体肿瘤负荷或减少癌细胞的数量,或改善与癌症或自身免疫疾病相关的一种或多种症状的方法中。这些方法包括例如使癌细胞与喜树碱化合物接触。

[0324] 接头单元(Q)或接头单元前体(Q')

[0325] 如上所述,在一些实施方案中,接头单元(Q)具有式-Z-A-S*-RL-,其中Z是延伸单元,A是键或接头单元,S*是键或分配剂,并且RL是可释放肽的接头(例如,-AA₁-AA₂-B-)。在一些实施方案中,接头单元前体(Q')具有式-Z'-A-S*-RL-,其中Z'是延伸单元前体,A是键或接头单元,S*是键或分配剂,并且RL是可释放肽的接头(例如,-AA₁-AA₂-B-)。

[0326] 延伸单元(Z)或延伸单元前体(Z'):

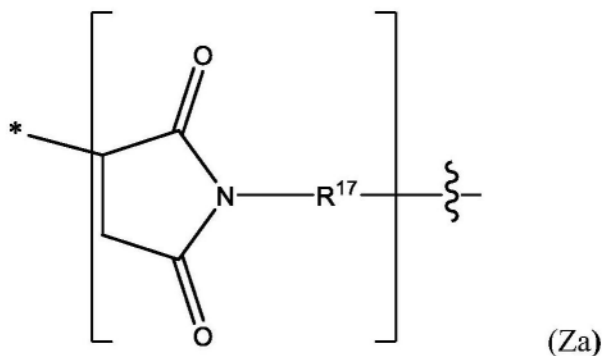
[0327] 延伸单元(Z)是喜树碱缀合物或其它中间体的组分,其作用是将配体单元与缀合物的其余部分连接。就此而言,延伸单元在与配体单元(即延伸单元前体Z')连接之前具有可与靶向配体的官能团形成键的官能团。

[0328] 在一些方面,延伸单元前体(Z')具有能够与配体单元(例如,抗体)上存在的反应性亲核基团相互作用以在配体单元和延伸单元之间提供共价键的亲电基团。具有该能力的抗体上的亲核基团包括但不限于巯基、羟基和氨基官能团。抗体的亲核基团的杂原子与延伸单元前体上的亲电基团反应,并在配体单元和延伸单元之间提供共价键。用于该目的的有用的亲电基团包括但不限于马来酰亚胺、卤代乙酰胺基团和NHS酯。亲电子基团为抗体连接提供了方便的位点以形成喜树碱缀合物或配体单元-接头中间体。

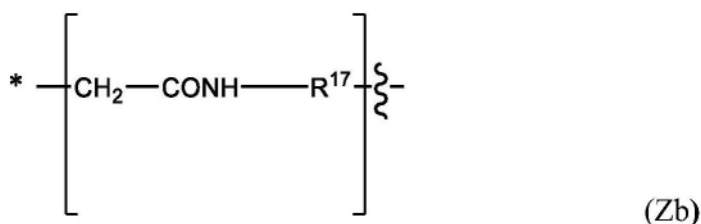
[0329] 在另一个实施方案中,延伸单元前体具有反应位点,所述反应位点具有与配体单元(例如抗体)上存在的亲电基团反应的亲核基团。为此目的,抗体上有用的亲电子基团包括但不限于醛和酮羰基。延伸单元前体的亲核基团的杂原子可与抗体上的亲电基团反应并与抗体形成共价键。用于该目的的延伸单元前体上的有用的亲核基团包括但不限于酰肼、羟胺、氨基、肼、缩氨基硫脲、肼羧酸酯和芳基酰肼。抗体上的亲电基团为抗体连接提供了方便的位点以形成喜树碱缀合物或配体单元-接头中间体。

[0330] 在一些实施方案中,配体单元的硫原子与延伸单元的琥珀酰亚胺环体系键合,所述延伸单元的琥珀酰亚胺环体系通过靶向配体的硫醇官能团与相应延伸单元前体的马来酰亚胺部分的反应形成。在其它实施方案中,配体单元的硫醇官能团与 α 卤代乙酰胺部分反应以通过其卤素取代基的亲核取代提供硫键合的延伸单元。

[0331] 那些实施方案的代表性延伸单元包括式Za和Zb的方括号内的那些:



[0332]



[0333] 其中星号表示连接至配体单元(L)的位置；

[0334] 其中波浪线表示与A的连接；且

[0335] R^{17} 为- C_1 - C_{10} 亚烷基-、- C_1 - C_{10} 杂亚烷基-、- C_3 - C_8 碳环-、-O- (C_1 - C_8 亚烷基)-、-亚芳基-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-亚芳基-、-亚芳基- C_1 - C_{10} 亚烷基-、- C_1 - C_{10} 亚烷基- (C_3 - C_8 碳环)-、- (C_3 - C_8 碳环)- C_1 - C_{10} 亚烷基-、- C_3 - C_8 杂环-、- C_1 - C_{10} 亚烷基- (C_3 - C_8 杂环)-、- (C_3 - C_8 杂环)- C_1 - C_{10} 亚烷基-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-C(=O)-、 C_1 - C_{10} 杂亚烷基-C(=O)-、- C_3 - C_8 碳环-C(=O)-、-O- (C_1 - C_8 亚烷基)-C(=O)-、-亚芳基-C(=O)-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-亚芳基-C(=O)-、-亚芳基- C_1 - C_{10} 亚烷基-C(=O)-、- C_1 - C_{10} 亚烷基- (C_3 - C_8 碳环)-C(=O)-、- (C_3 - C_8 碳环)- C_1 - C_{10} 亚烷基-C(=O)-、- C_3 - C_8 杂环-C(=O)-、- C_1 - C_{10} 亚烷基- (C_3 - C_8 杂环)-C(=O)-、- (C_3 - C_8 杂环)- C_1 - C_{10} 亚烷基-C(=O)-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-NH-、 C_1 - C_{10} 杂亚烷基-NH-、- C_3 - C_8 碳环-NH-、-O- (C_1 - C_8 亚烷基)-NH-、-亚芳基-NH-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-亚芳基-NH-、-亚芳基- C_1 - C_{10} 亚烷基-NH-、- C_1 - C_{10} 亚烷基- (C_3 - C_8 碳环)-NH-、- (C_3 - C_8 碳环)- C_1 - C_{10} 亚烷基-NH-、- C_3 - C_8 杂环-NH-、- C_1 - C_{10} 亚烷基- (C_3 - C_8 杂环)-NH-、- (C_3 - C_8 杂环)- C_1 - C_{10} 亚烷基-NH-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-S-、 C_1 - C_{10} 杂亚烷基-S-、- C_3 - C_8 碳环-S-、-O- (C_1 - C_8 亚烷基)-S-、-亚芳基-S-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-亚芳基-S-、-亚芳基- C_1 - C_{10} 亚烷基-S-、- C_1 - C_{10} 亚烷基- (C_3 - C_8 碳环)-S-、- (C_3 - C_8 碳环)- C_1 - C_{10} 亚烷基-S-、- C_3 - C_8 杂环-S-、- C_1 - C_{10} 亚烷基- (C_3 - C_8 杂环)-S-或- (C_3 - C_8 杂环)- C_1 - C_{10} 亚烷基-S-。

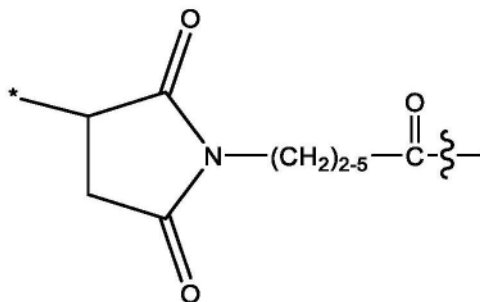
[0336] 在一些方面，式Za的 R^{17} 基团任选被碱性单元(BU)例如氨基烷基部分，例如- $(CH_2)_xNH_2$ -、- $(CH_2)_xNHRa$ 和- $(CH_2)_xNRa_2$ 取代，其中x为1-4的整数且各Ra独立地选自 C_{1-6} 烷基和 Cl_{1-6} 卤代烷基，或两个Ra基团与它们所连接的氮组合以形成氮杂环丁烷基、吡咯烷基或哌啶基。

[0337] 示例性的延伸单元为式Za或Zb的延伸单元，其中 R^{17} 为- C_1 - C_{10} 亚烷基-C(=O)-、- C_1 - C_{10} 杂亚烷基-C(=O)-、- C_3 - C_8 碳环-C(=O)-、-O- (C_1 - C_8 亚烷基)-C(=O)-、-亚芳基-C(=O)-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-亚芳基-C(=O)-、-亚芳基- C_1 - C_{10} 亚烷基-C(=O)-、- C_1 - C_{10} 亚烷基- (C_3 - C_8 碳环)-C(=O)-、- (C_3 - C_8 碳环)- C_1 - C_{10} 亚烷基-C(=O)-、- C_3 - C_8 杂环-C(=O)-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-

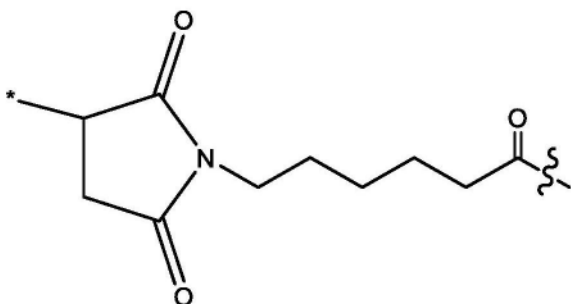
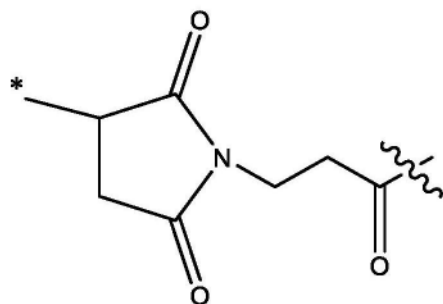
基- $(C_3-C_8\text{杂环})-C(=O)-$ 或 $-(C_3-C_8\text{杂环})-C_1-C_{10}\text{亚烷基}-C(=O)-$ 。

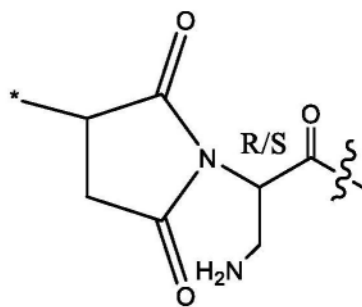
[0338] 另一示例性的延伸单元是式Za的延伸单元,其中 R^{17} 是 $-C_1-C_5\text{亚烷基}-C(=O)-$,其中亚烷基任选被碱性单元(BU),例如任选取代的氨基烷基,例如 $-(CH_2)_xNH_2$ 、 $-(CH_2)_xNHRa$ 和 $-(CH_2)_xN(Ra)_2$ 取代,其中x是1-4的整数,并且每个Ra独立地选自 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基,或者两个Ra基团与它们所连接的氮结合以形成氮杂环丁烷基、吡咯烷基或哌啶基。在合成期间,碱性单元的碱性氨基官能团可以被保护基团保护。

[0339] 延伸单元Z的典型实施方案如下:

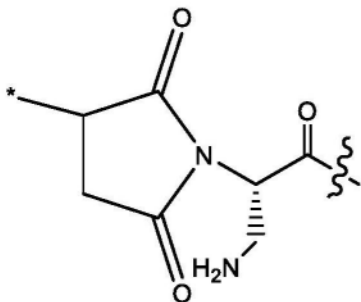


[0340]



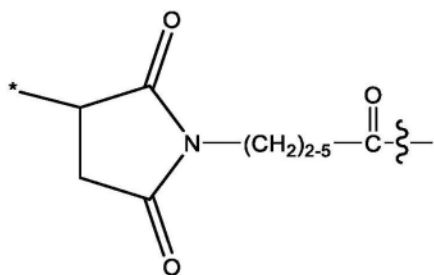


[0341]

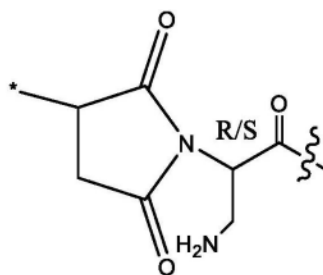


[0342] 其中星号表示与配体单元(L)连接的位置;波浪线表示与A连接。

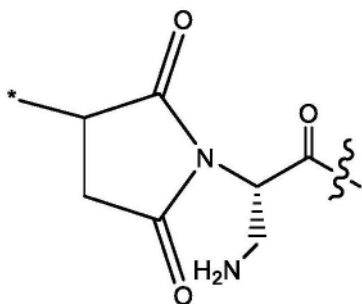
[0343] 在式(I)的喜树碱缀合物的一些实施方案中,Z是



,

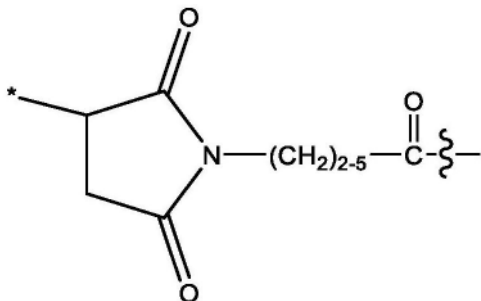


或



在一些实施方案中,Z是

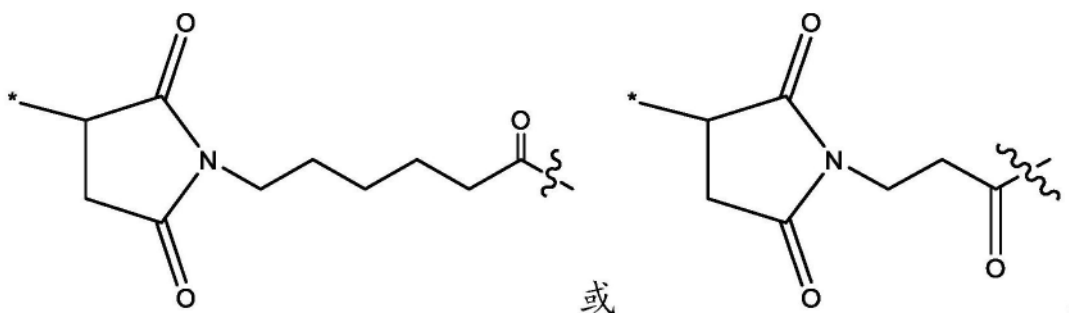
。



在一些实施方案中,Z是

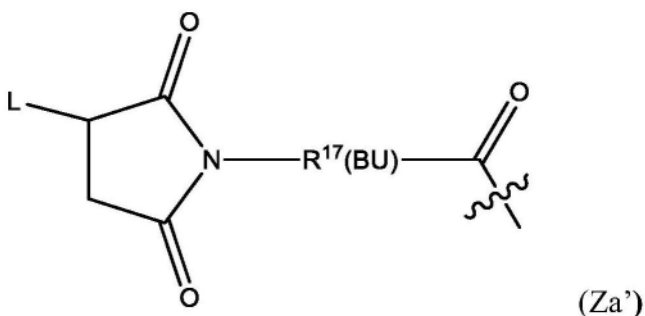
。

[0344]



[0345] 在一些优选的实施方案中,延伸单元(Z)包含琥珀酰亚胺部分,其当键合至L时由式Za'的结构表示:

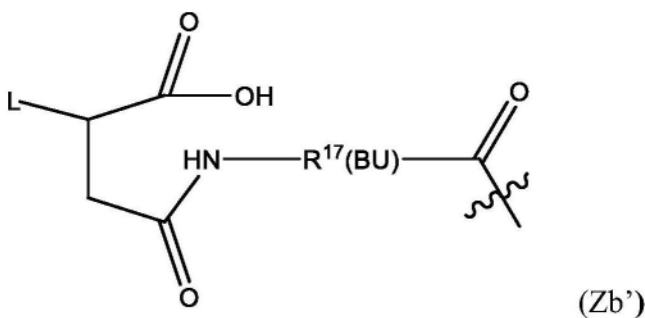
[0346]



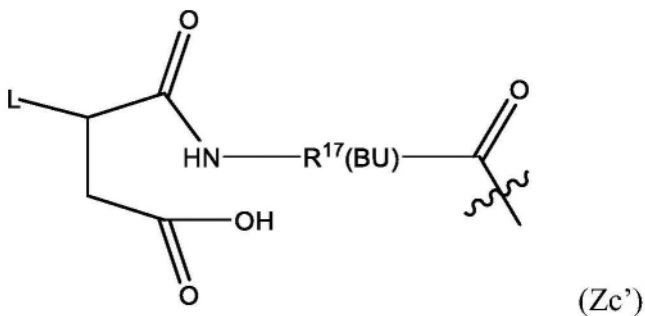
[0347] 其中与羰基相邻的波浪线表示与A的连接; R^{17} 是 $-C_1-C_5$ 亚烷基-,其中所述亚烷基被碱性单元(BU)取代,其中BU是 $-(CH_2)_xN_{H_2}-$ 、 $-(CH_2)_xNHRa$ 或 $-(CH_2)_xN(Ra)_2$,其中x为1-4的整数且各Ra独立地选自 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基,或两个Ra与它们所连接的氮一起定义氮杂环丁烷基、吡咯烷基或哌啶基。

[0348] 应当理解,配体单元取代的琥珀酰亚胺可以以水解形式存在。下文针对键合至L的Za'的水解来示例那些形式,其中表示来自所述水解的区域异构体的结构为式Zb'和Zc'。因此,在其他优选的实施方案中,延伸单元(Z)由酸-酰胺部分组成,所述酸-酰胺部分当键合至L时由以下表示:

[0349]



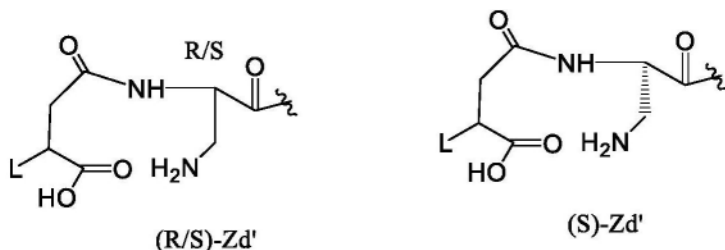
[0350]



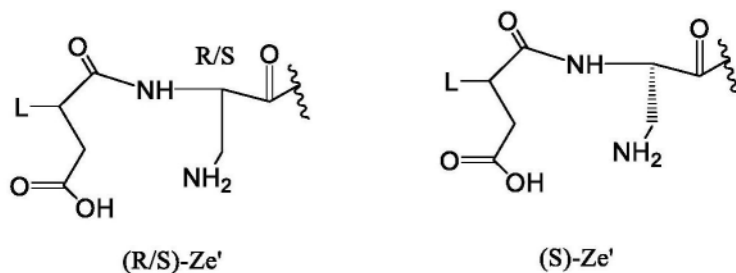
[0351] 与键合至 R^{17} 的羰基相邻的波浪线如对于Za'所定义;且 R^{17} 为 $-C_1-C_5$ 亚烷基-,其中

所述亚烷基被碱性单元(BU)取代,其中BU为 $-(CH_2)_xNH_2$ 、 $-(CH_2)_xNHRa$ 或 $-(CH_2)_xN(RA)_2$,其中x为1-4的整数且各Ra独立地选自 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基,或两个Ra与它们所连接的氮一起定义氮杂环丁烷基吡咯烷基或哌啶基。

[0352] 在一些实施方案中,延伸单元(Z)包含酸-酰胺部分,其当键合至L时由式Zd'或Ze'的结构表示:

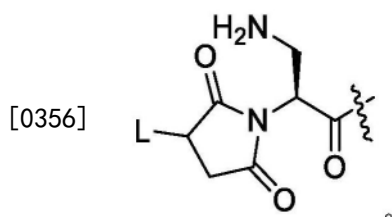


[0353]

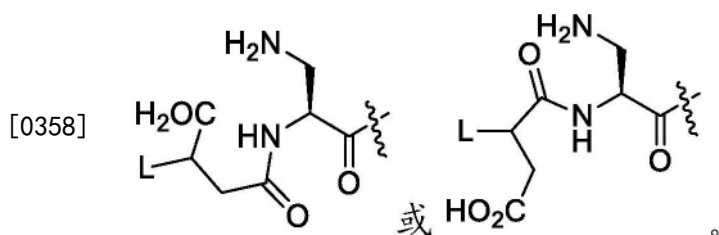


[0354] 其中与羰基相邻的波浪线如对于Za'所定义。

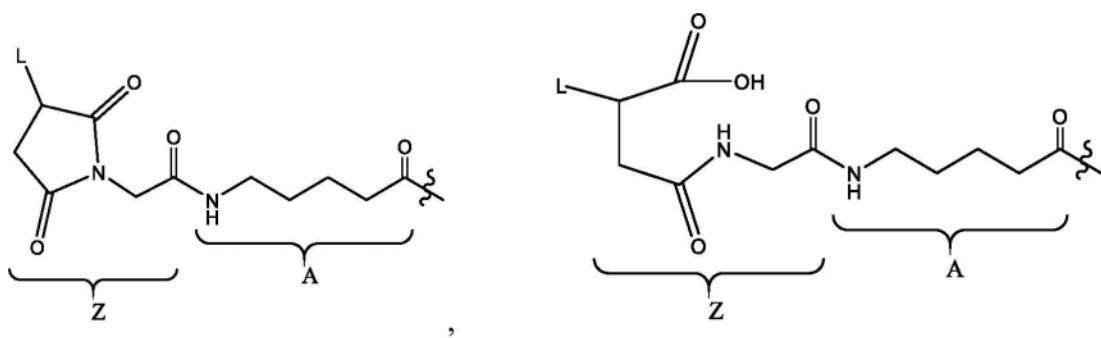
[0355] 在优选的实施方案中,延伸单元(Z)由琥珀酰亚胺部分组成,当与L键合时,所述琥珀酰亚胺部分由以下结构表示:



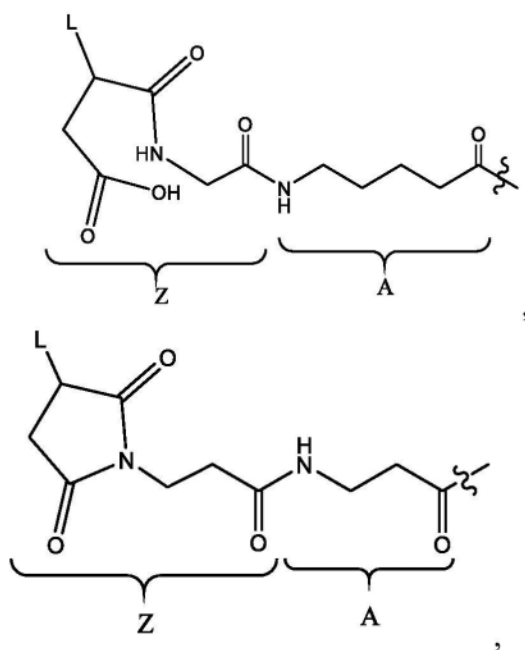
[0357] 其由马来酰亚胺基-氨基-丙酰基(mDPR)类似物(3-氨基-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸衍生物)产生,或包含酸-酰胺部分,所述酸-酰胺部分当键合至L时由以下结构表示:

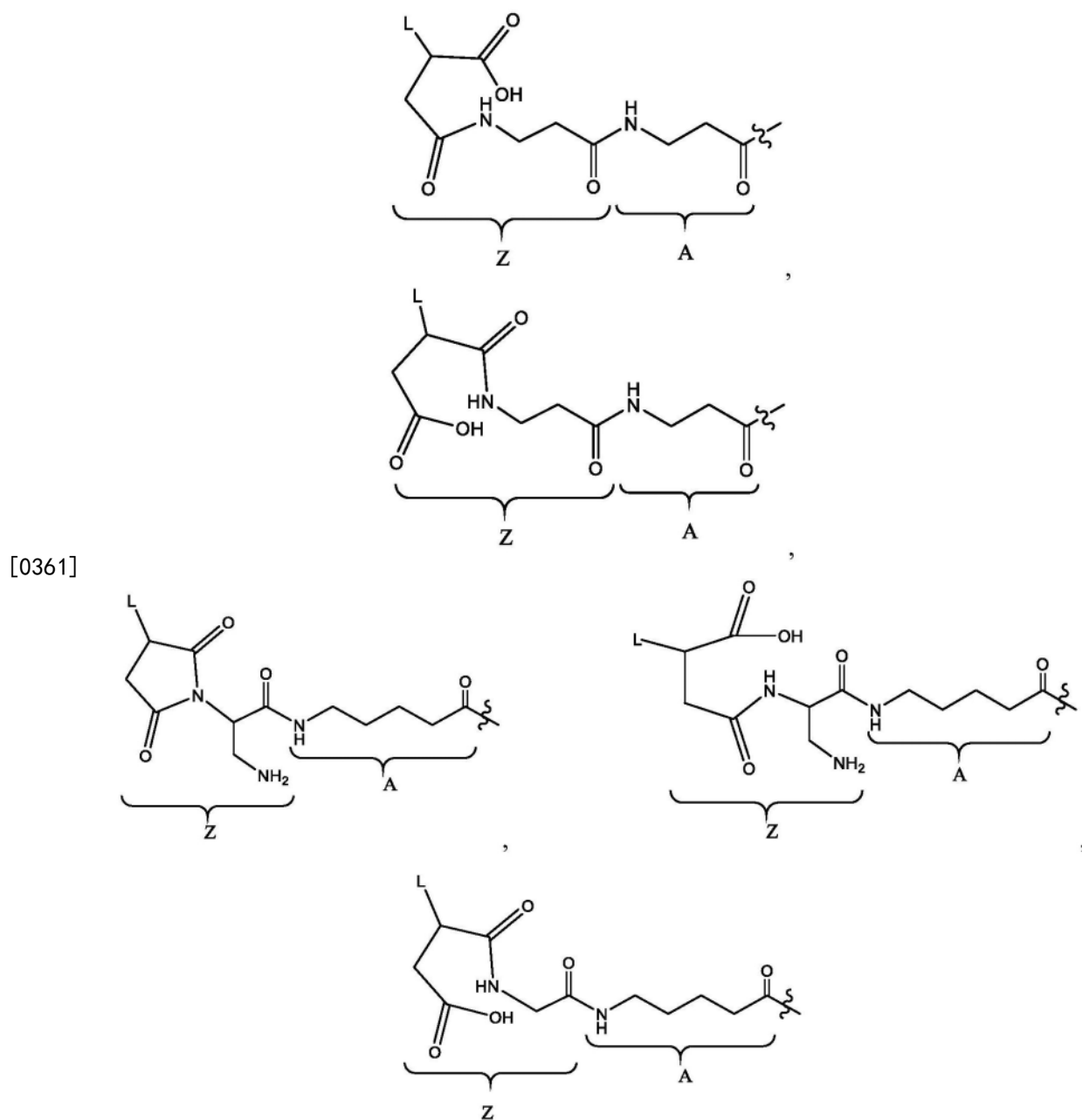


[0359] 与配体单元(L)和A键合的示例性延伸单元具有以下结构,其由来自Za、Za'、ZB'或Zc'的结构组成,其中 $-R^{17}$ -或 $-R^{17}(BU)-$ 为 $-CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 或 $-CH(CH_2NH_2)-$:



[0360]

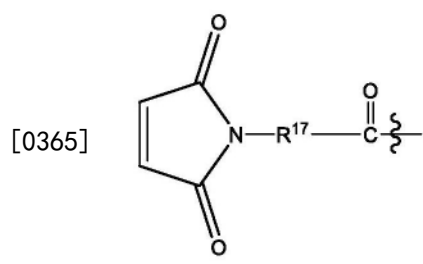




[0362] 其中与羰基相邻的波浪线表示与S*的连接。

[0363] 在一组实施方案中,Z-A-包含马来酰亚胺基-链烷酸组分或mDPR组分。参见例如W02013/173337。在一组实施方案中,Z-A-是马来酰亚胺丙酰基组分。

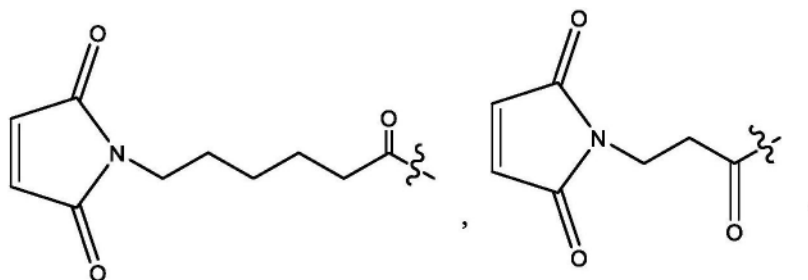
[0364] 在缀合至配体单元之前的示例性延伸单元(即延伸单元前体)由马来酰亚胺部分组成并且由包括式Z' A的结构的结构表示:



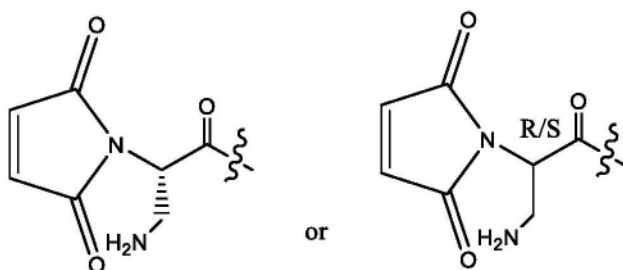
[0366] 其中与羰基相邻的波浪线表示与A的连接;并且R¹⁷是-(CH₂)₁₋₅-,任选地被碱性单

元如任选取代的氨基烷基取代,例如 $-(CH_2)_xNH_2$ 、 $-(CH_2)_xNHR^a$ 和 $-(CH_2)_xN(R^a)_2$,其中 x 是1-4的整数并且每个 R^a 独立地选自 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基,或两个 R^a 基团与它们所连接的氮结合以形成氮杂环丁烷基、吡咯烷基或哌啶基基团。

[0367] 在式Z' a的一些优选实施方案中,延伸单元前体(Z')由以下结构之一表示:

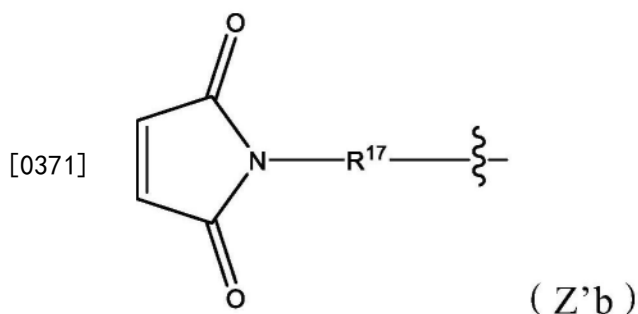


[0368]



[0369] 其中与羰基相邻的波浪线表示与A的连接。

[0370] 在其它优选的实施方案中,延伸单元前体(Z')包含马来酰亚胺部分并且由式Z' b的结构表示:



[0372] 其中波浪线表示与A的连接;且

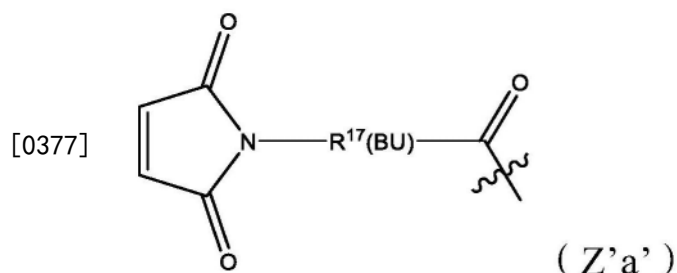
[0373] R^{17} 为 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-、 $-C_1-C_{10}$ 杂亚烷基-、 $-C_3-C_8$ 碳环-、 $-O-(C_1-C_8$ 亚烷基)-、-亚芳基-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-亚芳基-、-亚芳基- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $(C_3-C_8$ 碳环)-、 $-(C_3-C_8$ 碳环)- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-、 $-C_3-C_8$ 杂环-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $(C_3-C_8$ 杂环)-、 $-(C_3-C_8$ 杂环)- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $C(=O)-$ 、 $-C_1-C_{10}$ 杂亚烷基- $C(=O)-$ 、 $-C_3-C_8$ 碳环- $C(=O)-$ 、 $-O-(C_1-C_8$ 亚烷基)- $C(=O)-$ 、-亚芳基- $C(=O)-$ 、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-亚芳基- $C(=O)-$ 、-亚芳基- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $C(=O)-$ 、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $(C_3-C_8$ 碳环)- $C(=O)-$ 、 $-(C_3-C_8$ 碳环)- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $C(=O)-$ 、 $-C_3-C_8$ 杂环- $C(=O)-$ 、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $(C_3-C_8$ 杂环)- $C(=O)-$ 、 $-(C_3-C_8$ 杂环)- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $C(=O)-$ 、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-NH-、 $-C_1-C_{10}$ 杂亚烷基-NH-、 $-C_3-C_8$ 碳环-NH-、 $-O-(C_1-C_8$ 亚烷基)-NH-、-亚芳基-NH-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-亚芳基-NH-、-亚芳基- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-NH-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $(C_3-C_8$ 碳环)-NH-、 $-(C_3-C_8$ 碳环)- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-NH-、 $-C_3-C_8$ 杂环-NH-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $(C_3-C_8$ 杂环)-NH-、 $-(C_3-C_8$ 杂环)- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-NH-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-S-、 $-C_1-C_{10}$ 杂亚烷基-S-、 $-C_3-C_8$

碳环-S-、-O- (C_1 - C_8 亚烷基)-S-、-亚芳基-S-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-亚芳基-S-、-亚芳基- C_1 - C_{10} 亚烷基-S-、- C_1 - C_{10} 亚烷基- (C_3 - C_8 碳环)-S-、- (C_3 - C_8 碳环)- C_1 - C_{10} 亚烷基-S-、- C_3 - C_8 杂环-S-、- C_1 - C_{10} 亚烷基- (C_3 - C_8 杂环)-S-、或- (C_3 - C_8 杂环)- C_1 - C_{10} 亚烷基-S-其中 R^{17} 任选被碱性单元(BU)取代,所述碱性单元(BU)为- $(CH_2)_xNH_2$ 、- $(CH_2)_xNHR^a$ 或- $(CH_2)_xNR^a_2$;

[0374] 其中 x 为1-4的整数;且

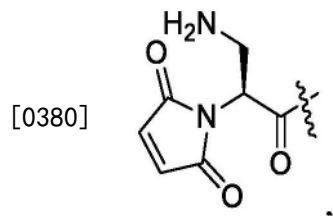
[0375] 每个 R^a 独立地选自 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基,或两个 R^a 基团与它们所连接的氮结合以形成4-至6-元杂环烷基环,或氮杂环丁烷基、吡咯烷基或哌啶基。

[0376] 在其它优选的实施方案中,延伸单元前体(Z')包含马来酰亚胺部分并且由式 $Z' a'$ 的结构表示:



[0378] 其中与键合至 R^{17} 的羰基相邻的波浪线表示与A的连接;且 R^{17} 为- C_1 - C_5 亚烷基-,其中所述亚烷基被碱性单元(BU)取代,其中BU为- $(CH_2)_xNH_2$ 、- $(CH_2)_xNHR^a$ 或- $(CH_2)_xN(R^a)_2$,其中 x 为1-4的整数且各 R^a 独立地选自 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基,或两个 R^a 与它们所连接的氮一起定义氮杂环丁烷基、吡咯烷基或哌啶基。

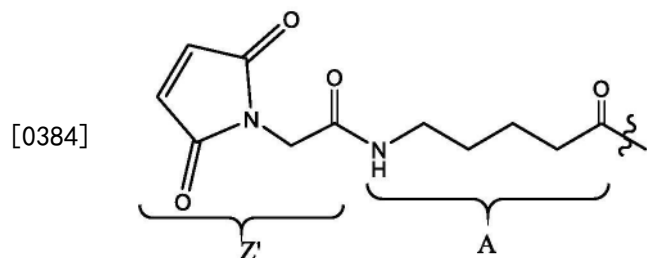
[0379] 在更优选的实施方案中,延伸单元前体(Z')由马来酰亚胺部分组成并且由以下结构表示:

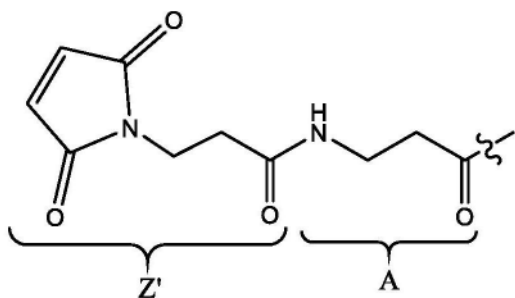


[0381] 其中与羰基相邻的波浪线表示与A的连接。

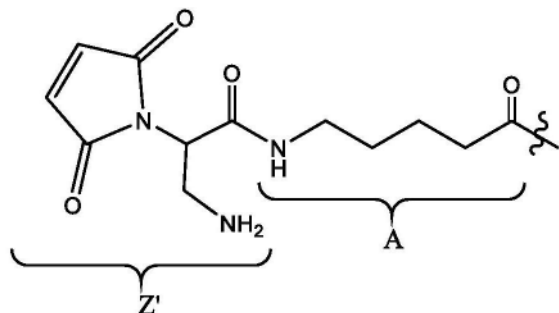
[0382] 在具有BU部分的延伸单元中,应理解该部分的氨基官能团可在合成期间被氨基保护基保护,例如酸不稳定保护基(例如BOC)。

[0383] 与A共价连接的示例性延伸单元前体具有以下结构,其由来自 $Z' a$ 的结构组成,其中- R^{17} -或- $R^{17}(BU)$ -为- CH_2 -、- CH_2CH_2 -或- $CH(CH_2NH_2)$ -:



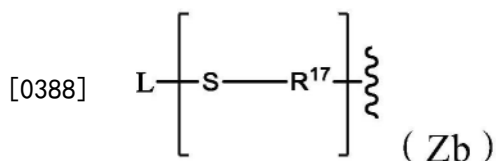


[0385]



[0386] 其中与羰基相邻的波浪线表示与S*的连接。

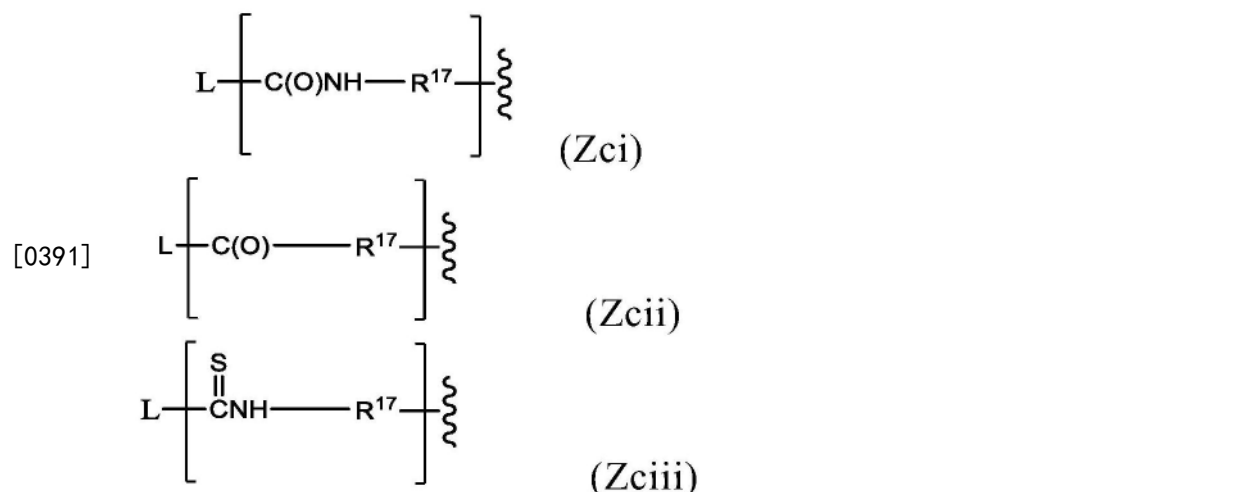
[0387] 在另一个实施方案中,延伸单元通过配体单元的硫原子和延伸单元的硫原子之间的二硫键与配体单元连接。该实施方案的代表性延伸单元描述于式Zb的方括号内:



[0389] 其中波浪线表示与A的连接且R¹⁷是-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-、-C₃-C₈碳环-、-O-(C₁-C₈亚烷基)-、-亚芳基-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环)-、-(C₃-C₈碳环)-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₃-C₈杂环-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环)-、-(C₃-C₈杂环)-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-C(=O)-、-C₃-C₈碳环-C(=O)-、-O-(C₁-C₈亚烷基)-C(=O)-、-亚芳基-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-C(=O)-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环)-C(=O)-、-(C₃-C₈碳环)-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₃-C₈杂环-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环)-C(=O)-、-(C₃-C₈杂环)-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-NH-、-C₃-C₈碳环-NH-、-O-(C₁-C₈亚烷基)-NH-、-亚芳基-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-NH-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环)-NH-、-(C₃-C₈碳环)-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₃-C₈杂环-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环)-NH-、-(C₃-C₈杂环)-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-S-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-S-、-C₃-C₈碳环-S-、-O-(C₁-C₈亚烷基)-S-、-亚芳基-S-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-S-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-S-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环)-S-、-(C₃-C₈碳环)-C₁-C₁₀亚烷基-S-、-C₃-C₈杂环-S-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环)-S-、或-(C₃-C₈杂环)-C₁-C₁₀亚烷基-S-。

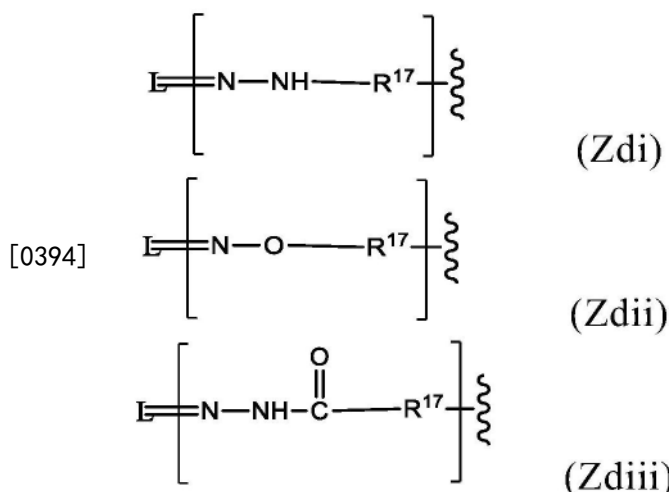
[0390] 在又一个实施方案中,延伸单元前体的反应性基团含有可与配体单元的伯氨基或仲氨基形成键的反应性位点。这些反应性位点的实例包括但不限于活化酯如琥珀酰亚胺酯、4-硝基苯基酯、五氟苯酯、四氟苯酯、酸酐、酰氯、磺酰氯、异氰酸酯和异硫氰酸酯。该实

实施方案的示例性延伸单元描述于式Zci、Zcii和Zciii的方括号内：



[0392] 其中波浪线表示与A的连接且R¹⁷是-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-、-C₃-C₈碳环-、-O-(C₁-C₈亚烷基)-、-亚芳基-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环)-、-(C₃-C₈碳环)-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₃-C₈杂环-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环)-、-(C₃-C₈杂环)-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-C(=O)-、-C₃-C₈碳环-C(=O)-、-O-(C₁-C₈亚烷基)-C(=O)-、-亚芳基-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-C(=O)-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环)-C(=O)-、-(C₃-C₈碳环)-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₃-C₈杂环-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环)-C(=O)-、-(C₃-C₈杂环)-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-NH-、-C₃-C₈碳环-NH-、-O-(C₁-C₈亚烷基)-NH-、-亚芳基-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-NH-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环)-NH-、-(C₃-C₈碳环)-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₃-C₈杂环-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环)-NH-、-(C₃-C₈杂环)-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-S-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-S-、-C₃-C₈碳环-S-、-O-(C₁-C₈亚烷基)-S-、-亚芳基-S-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-S-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-S-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环)-S-、-(C₃-C₈碳环)-C₁-C₁₀亚烷基-S-、-C₃-C₈杂环-S-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环)-S-，或-(C₃-C₈杂环)-C₁-C₁₀亚烷基-S-。

[0393] 在又一方面，延伸单元前体的反应性基团含有能够与配体单元上存在或引入配体单元的亲电体反应的反应性亲核体。例如，靶向配体上的碳水化合物部分可以使用试剂如高碘酸钠温和地氧化，并且氧化的碳水化合物的所得亲电官能团(-CHO)可以与含有反应性亲核试剂如酰肼、肟、伯胺或仲胺、肼、缩氨基硫脲、肼羧酸酯或芳基酰肼如Kaneko, T. 等人. (1991) Bioconjugate Chem. 2:133-41。该实施方案的示例性延伸单元描述于式Zdi、Zdii和Zdiii的方括号内：



[0395] 其中波浪线表示与A的连接且R¹⁷是-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-、-C₃-C₈碳环-、-O-(C₁-C₈亚烷基)-、-亚芳基-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环)-、-(C₃-C₈碳环)-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₃-C₈杂环-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环)-、-(C₃-C₈杂环)-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-C(=O)-、-C₃-C₈碳环-C(=O)-、-O-(C₁-C₈亚烷基)-C(=O)-、-亚芳基-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-C(=O)-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环)-C(=O)-、-(C₃-C₈碳环)-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₃-C₈杂环-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环)-C(=O)-、-(C₃-C₈杂环)-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-NH-、-C₃-C₈碳环-NH-、-O-(C₁-C₈亚烷基)-NH-、-亚芳基-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-NH-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环)-NH-、-(C₃-C₈碳环)-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₃-C₈杂环-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环)-NH-、-(C₃-C₈杂环)-C₁-C₁₀亚烷基-NH-、-C₁-C₁₀亚烷基-S-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-S-、-C₃-C₈碳环-S-、-O-(C₁-C₈亚烷基)-S-、-亚芳基-S-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-S-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-S-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环)-S-、-(C₃-C₈碳环)-C₁-C₁₀亚烷基-S-、-C₃-C₈杂环-S-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环)-S-，或-(C₃-C₈杂环)-C₁-C₁₀亚烷基-S-。

[0396] 在本发明的一些方面，延伸单元具有不超过约1000道尔顿、不超过约500道尔顿、不超过约200道尔顿、约30、50或100道尔顿至约1000道尔顿、约30、50或100道尔顿至约500道尔顿，或从约30、50或100道尔顿至约200道尔顿的质量。

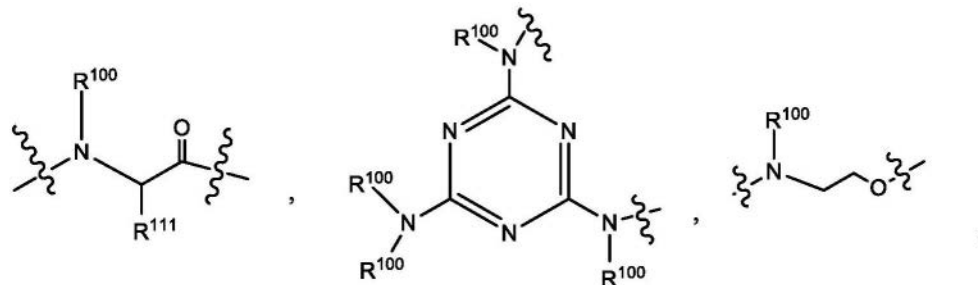
[0397] 连接单元：

[0398] 在一些实施方案中，A是键或连接单元。A用于将延伸单元(Z)或延伸单元前体(Z')结合至分配剂(S*)。在一些实施方案中，A是直接连接组分的键。在一些实施方案中，A是包含在喜树碱缀合物或喜树碱-接头化合物中的接头单元，以分别增加延伸单元(Z)或其前体(Z')与肽可释放接头(RL)之间的额外距离。在一些方面，额外距离将有助于RL内的激活。因此，接头单元延伸接头单元或接头单元前体的框架。在这方面，连接单元在一个末端与延伸单元(或其前体)共价键合，并且在其另一末端与分配剂共价键合。当分配剂不存在时(即，S*是键)，接头单元在一个末端与延伸单元(或其前体)共价键合并且在其另一末端与A_{Al}共价键合。

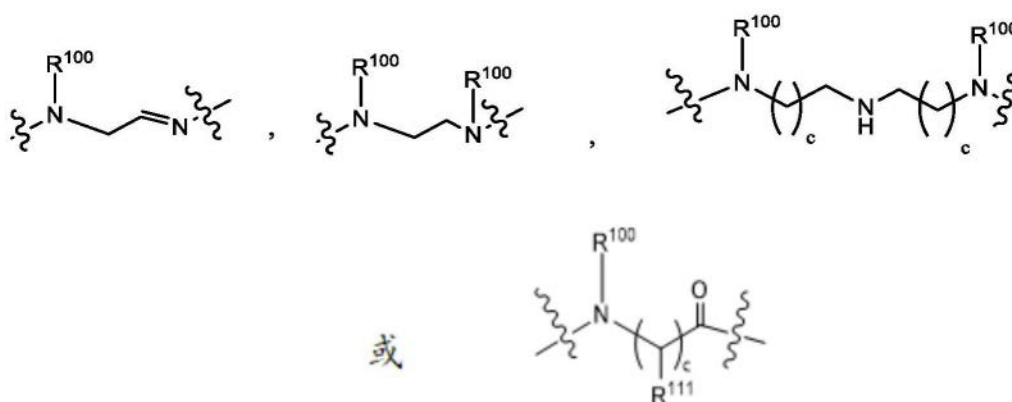
[0399] 本领域技术人员将理解，连接单元可以是用于提供S*与延伸单元或延伸单元前体

的连接的任何基团。接头单元可以例如由一个或多个(例如1-10个,优选1、2、3或4个)天然或非天然氨基酸、氨基醇、氨基醛或二氨基残基组成。在一些方面,接头单元是单个天然或非天然氨基酸、氨基醇、氨基醛或二氨基残基。能够作为接头单元的示例性氨基酸是β-丙氨酸。

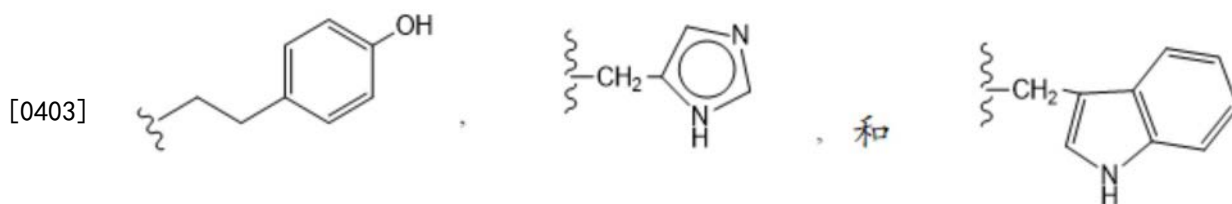
[0400] 在一些方面,接头单元具有如下所示的式:



[0401]

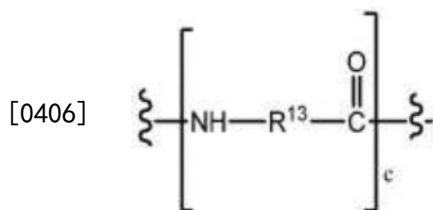


[0402] 其中波浪线表示连接单元在喜树碱缀合物或喜树碱接头化合物内的连接;并且其中 R^{111} 独立地选自氢、对羟基苄基、甲基、异丙基、异丁基、仲丁基、-CH₂OH、-CH(OH)CH₃、-CH₂CH₂SCH₃、-CH₂CONH₂、-CH₂COOH、-CH₂CH₂CONH₂、-CH₂CH₂COOH、-(CH₂)₃NHC(=NH)NH₂、-(CH₂)₃NH₂、-(CH₂)₃NHCOCH₃、-(CH₂)₃NHCHO、-(CH₂)₄NHC(=NH)NH₂、-(CH₂)₄NH₂、-(CH₂)₄NHCOCH₃、-(CH₂)₄NHCHO、-(CH₂)₃NHCONH₂、-(CH₂)₄NHCONH₂、-CH₂CH₂CH(OH)CH₂NH₂、2-吡啶基甲基-、3-吡啶基甲基-、



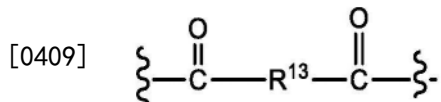
[0404] 并且每个 R^{100} 独立地选自氢和-C₁-C₃烷基,优选氢或CH₃;下标c为独立选自1-10,优选1-3的整数。

[0405] 具有用于连接至S*的羰基的代表性连接单元如下:



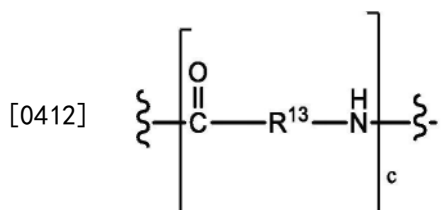
[0407] 其中在每种情况下, R^{13} 独立地选自 $-C_1-C_6$ 亚烷基-、 $-C_3-C_8$ 碳环-、-亚芳基-、 $-C_1-C_{10}$ 杂亚烷基-、 $-C_3-C_8$ 杂环-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-亚芳基-、-亚芳基- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $(C_3-C_8$ 碳环)-、 $-(C_3-C_8$ 碳环)- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $(C_3-C_8$ 杂环)-和 $-(C_3-C_8$ 杂环)- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-, 并且下标 c 为 1 至 4 的整数。在一些实施方案中, R^{13} 为 $-C_1-C_6$ 亚烷基且 c 为 1。

[0408] 具有用于连接至 S^* 的羰基的另一代表性连接单元如下:



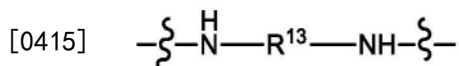
[0410] 其中 R^{13} 为 $-C_1-C_6$ 亚烷基-、 $-C_3-C_8$ 碳环-、-亚芳基-、 $-C_1-C_{10}$ 杂亚烷基-、 $-C_3-C_8$ 杂环-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-亚芳基-、-亚芳基- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $(C_3-C_8$ 碳环)-、 $-(C_3-C_8$ 碳环)- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $(C_3-C_8$ 杂环)-或 $-(C_3-C_8$ 杂环)- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-。在一些实施方案中, R^{13} 为 $-C_1-C_6$ 亚烷基。

[0411] 具有与 S^* 连接的 NH 部分的代表性接头单元如下:



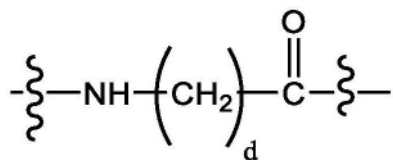
[0413] 其中在每种情况下, R^{13} 独立地选自 $-C_1-C_6$ 亚烷基-、 $-C_3-C_8$ 碳环-、-亚芳基-、 $-C_1-C_{10}$ 杂亚烷基-、 $-C_3-C_8$ 杂环-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-亚芳基-、-亚芳基- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $(C_3-C_8$ 碳环)-、 $-(C_3-C_8$ 碳环)- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $(C_3-C_8$ 杂环)-和 $-(C_3-C_8$ 杂环)- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-, 并且下标 c 为 1 至 14。在一些实施方案中, R^{13} 为 $-C_1-C_6$ 亚烷基且下标 c 为 1。

[0414] 具有连接至 S^* 的 NH 部分的另一个代表性接头单元如下:



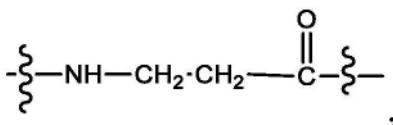
[0416] 其中 R^{13} 为 $-C_1-C_6$ 亚烷基-、 $-C_3-C_8$ 碳环-、-亚芳基-、 $-C_1-C_{10}$ 杂亚烷基-、 $-C_3-C_8$ 杂环-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-亚芳基-、-亚芳基- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $(C_3-C_8$ 碳环)-、 $-(C_3-C_8$ 碳环)- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-、 $-C_1-C_{10}$ 亚烷基- $(C_3-C_8$ 杂环)-、 $-(C_3-C_8$ 杂环基)- $-C_1-C_{10}$ 亚烷基-、 $-C(=O)-C_1-C_6$ 亚烷基-或 $-C_1-C_6$ 亚烷基- $-C(=O)-C_1-C_6$ 亚烷基-。

[0417] 连接单元的所选实施例包括具有以下结构的那些:



[0418]

或



[0419] 其中与氮相邻的波浪线表示共价连接延伸单元 (Z) (或其前体 Z'), 并且与羰基相邻的波浪线表示与 S^* 的连接; 且 d 是 1-6, 优选 2-6, 更优选 2-4 的整数。

[0420] 肽可释放接头(RL)：

[0421] 肽可释放接头(RL)是 $-AA_1-AA_2-B-$ 。在一些方面，在酶(例如，肿瘤相关蛋白酶)的存在下，断裂 AA_1 和 AA_2 之间或 AA_2 和B之间的酰胺键，最终导致游离药物的释放。

[0422] 每个 AA_1 和 AA_2 可以是天然或非天然氨基酸和/或其D-或L-异构体。

[0423] 氨基酸在本文中可以用它们的全称(例如，丙氨酸)，三字母代码(例如，Ala)或一字母代码(例如，A)表示。

[0424] 在一些实施方案中，每个 AA_1 和 AA_2 独立地选自丙氨酸、精氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、组氨酸、甘氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、苯丙氨酸、赖氨酸、亮氨酸、丝氨酸、酪氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、色氨酸、缬氨酸、半胱氨酸、甲硫氨酸、硒代半胱氨酸、鸟氨酸、青霉素、 β -丙氨酸、氨基链烷酸、氨基炔酸、氨基链烷二酸、氨基苯甲酸、氨基-杂环-链烷酸、杂环-羧酸、瓜氨酸、抑胃酶氨酸、二氨基链烷酸及其衍生物。在一些实施方案中， AA_1 和 AA_2 各自独立地选自丙氨酸、精氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、组氨酸、甘氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、苯丙氨酸、赖氨酸、亮氨酸、丝氨酸、酪氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、色氨酸、缬氨酸、半胱氨酸、甲硫氨酸和硒代半胱氨酸。在一些实施方案中， AA_1 和 AA_2 各自独立地选自丙氨酸、精氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、组氨酸、甘氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、苯丙氨酸、赖氨酸、亮氨酸、丝氨酸、酪氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、色氨酸和缬氨酸。在一些实施方案中， AA_1 和 AA_2 各自选自蛋白原性或非蛋白原性氨基酸。

[0425] 在另一个实施方案中， AA_1 和 AA_2 各自独立地选自以下L-(天然)氨基酸：丙氨酸、精氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、组氨酸、甘氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、苯丙氨酸、赖氨酸、亮氨酸、丝氨酸、酪氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、色氨酸和缬氨酸。

[0426] 在另一个实施方案中， AA_1 和 AA_2 各自独立地选自这些天然氨基酸的以下D-异构体：丙氨酸、精氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、组氨酸、甘氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、苯丙氨酸、赖氨酸、亮氨酸、丝氨酸、酪氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、色氨酸和缬氨酸。

[0427] 在某些实施方案中， AA_1 是天然氨基酸。在某些实施方案中， A_{A1} 是非天然氨基酸。在某些实施方案中， AA_1 是天然氨基酸的D-异构体。

[0428] 在一些实施方案中， AA_1 选自丙氨酸、精氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、组氨酸、甘氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、苯丙氨酸、赖氨酸、亮氨酸、丝氨酸、酪氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、色氨酸、缬氨酸、半胱氨酸、甲硫氨酸、硒代半胱氨酸、鸟氨酸、青霉素、 β -丙氨酸、氨基链烷酸、氨基炔酸、氨基链烷二酸、氨基苯甲酸、氨基-杂环-链烷酸、杂环-羧酸、瓜氨酸、抑胃酶氨酸、二氨基链烷酸及其衍生物。在一些实施方案中， AA_1 选自丙氨酸、精氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、组氨酸、甘氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、苯丙氨酸、赖氨酸、亮氨酸、丝氨酸、酪氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、色氨酸、缬氨酸、半胱氨酸、甲硫氨酸和硒代半胱氨酸。在一些实施方案中， AA_1 选自丙氨酸、精氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、组氨酸、甘氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、苯丙氨酸、赖氨酸、亮氨酸、丝氨酸、酪氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、色氨酸和缬氨酸。在一些实施方案中， AA_1 选自蛋白原性和非蛋白原性氨基酸。在一些实施方案中， AA_1 是Val。在一些实施方案中， AA_1 为Ala或D-Ala。

[0429] 在某些实施方案中， AA_2 是天然氨基酸。在某些实施方案中， AA_2 是非天然氨基酸。在某些实施方案中， AA_2 是天然氨基酸的D-异构体。

[0430] 在一些实施方案中， AA_2 选自丙氨酸、精氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、组氨酸、甘氨酸

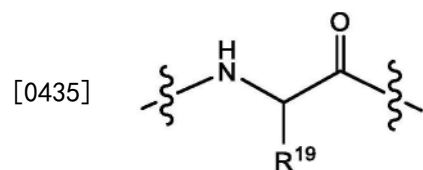
酸、谷氨酸、谷氨酰胺、苯丙氨酸、赖氨酸、亮氨酸、丝氨酸、酪氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、色氨酸、缬氨酸、半胱氨酸、甲硫氨酸、硒代半胱氨酸、鸟氨酸、青霉素、 β -丙氨酸、氨基链烷酸、氨基炔酸、氨基链烷二酸、氨基苯甲酸、氨基-杂环-链烷酸、杂环-羧酸、瓜氨酸、胃酶氨酸、二氨基链烷酸及其衍生物。在一些实施方案中, AA_2 选自丙氨酸、精氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、组氨酸、甘氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、苯丙氨酸、赖氨酸、亮氨酸、丝氨酸、酪氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、色氨酸、缬氨酸、半胱氨酸、甲硫氨酸和硒代半胱氨酸。在一些实施方案中, AA_2 选自丙氨酸、精氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、组氨酸、甘氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、苯丙氨酸、赖氨酸、亮氨酸、丝氨酸、酪氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、色氨酸和缬氨酸。在一些实施方案中, AA_2 选自蛋白原性和非蛋白原性氨基酸。在一些实施方案中, AA_2 是 Lys。在一些实施方案中, AA_2 为 Ala 或 D-Ala。

[0431] 在某些实施方案中, B 选自 Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp、D-Ala、Aib 和 pAbz。“Aib”是氨基异丁酸。“PABZ”是 4-氨基苯甲酸。在某些实施方案中, B 选自 Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp 和 D-Ala。在一些实施方案中, B 选自 D-Ala、Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Phe、Val、Leu、Met 和 Trp。在一些实施方案中, B 为 Ala。在一些实施方案中, B 是 D-丙氨酸。在一些实施方案中, B 是 Arg、Lys、His、Asp 或 Glu。在一些实施方案中, B 为 Thr 或 Gln。在一些实施方案中, B 为 Phe、Val、Leu、Met 或 Trp。在一些实施方案中, B 为 Ala、Phe、Val、Leu、Met 或 Trp。在一些实施方案中, B 为 D-Ala 或 Aib。

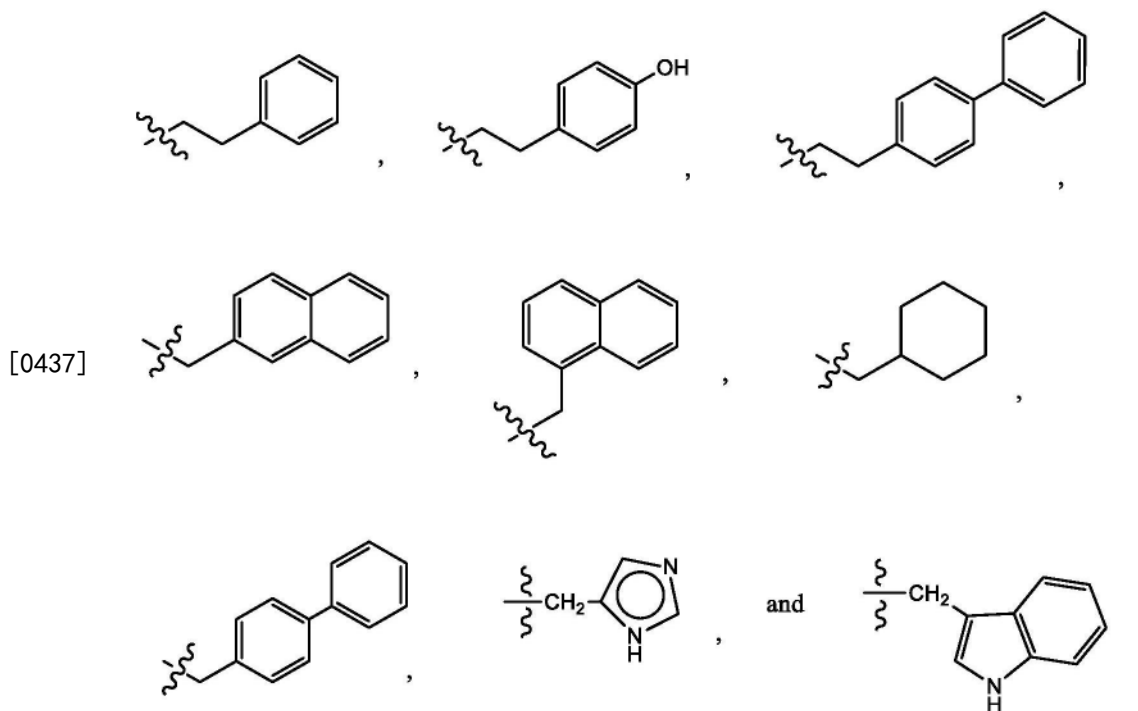
[0432] 在某些实施方案中, B' 选自 Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp、D-Ala、Aib 和 pAbz。在某些实施方案中, B' 选自 Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp 和 D-Ala。在一些实施方案中, B' 选自 D-Ala、Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Phe、Val、Leu、Met 和 Trp。在一些实施方案中, B' 是 Ala。在一些实施方案中, B' 是 D-丙氨酸。在一些实施方案中, B' 是 Arg、Lys、His、Asp 或 Glu。在一些实施方案中, B' 是 Thr 或 Gln。在一些实施方案中, B' 为 Phe、Val、Leu、Met 或 Trp。在一些实施方案中, B' 是 Ala、Phe、Val、Leu、Met 或 Trp。在一些实施方案中, B' 是 D-Ala 或 Aib。

[0433] 可设计有用的肽可释放接头并优化其对特定酶(例如肿瘤相关蛋白酶)的酶促断裂的选择性。在一些实施方案中, 键的断裂由组织蛋白酶 B、C 或 D 或纤溶酶蛋白酶催化。

[0434] 在一些实施方案中, AA_1 具有如下所示的式:

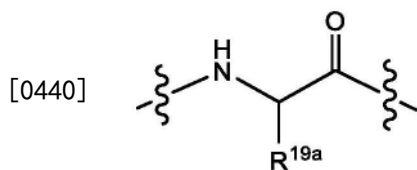


[0436] 其中 R^{19} 选自氢、甲基、异丙基、异丁基、仲丁基、苄基、对羟基苄基、 $-CH_2OH$ 、 $-CH(OH)CH_3$ 、 $-CH_2CH_2SCH_3$ 、 $-CH_2CONH_2$ 、 $-CH_2COOH$ 、 $-CH_2CH_2CONH_2$ 、 $-CH_2CH_2COOH$ 、 $-(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$ 、 $-(CH_2)_3NH_2$ 、 $-(CH_2)_3NHCOCH_3$ 、 $-(CH_2)_4NHC(=NH)NH_2$ 、 $-(CH_2)_4NHCHO$ 、 $-(CH_2)_4NHCHO$ 、 $-(CH_2)_3NHCONH_2$ 、 $-(CH_2)_4NHCONH_2$ 、 $-CH_2CH_2CH(OH)CH_2NH_2$ 、2-吡啶基甲基-、3-吡啶基甲基-、

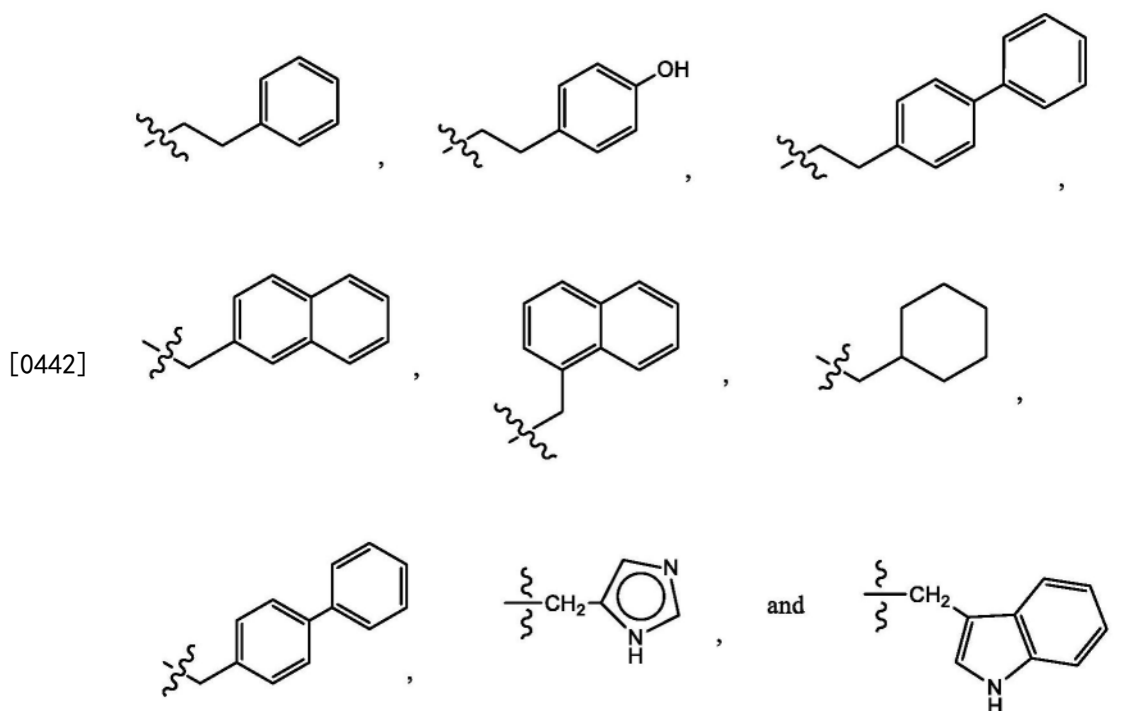


[0438] 在一些方面, R^{19} 为氢、甲基、异丙基、异丁基、仲丁基、 $-(CH_2)_3NH_2$ 或 $-(CH_2)_4NH_2$ 。在一些方面, R^{19} 是氢、甲基、异丙基或 $-(CH_2)_4NH_2$ 。

[0439] 在一些实施方案中, AA_2 具有如下所示的式:



[0441] 其中 R^{19a} 选自氢、甲基、异丙基、异丁基、仲丁基、苄基、对羟基苄基、 $-CH_2OH$ 、 $-CH(OH)CH_3$ 、 $-CH_2CH_2SCH_3$ 、 $-CH_2CONH_2$ 、 $-CH_2COOH$ 、 $-CH_2CH_2CONH_2$ 、 $-CH_2CH_2COOH$ 、 $-(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$ 、 $-(CH_2)_3NH_2$ 、 $-(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$ 、 $-(CH_2)_4NHC(=NH)NH_2$ 、 $-(CH_2)_4NHCHO$ 、 $-(CH_2)_4NHCHO$ 、 $-(CH_2)_3NHCONH_2$ 、 $-(CH_2)_4NHCONH_2$ 、 $-CH_2CH_2CH(OH)CH_2NH_2$ 、2-吡啶基甲基、3-吡啶基甲基、4-吡啶基甲基、苯基、环己基,



[0443] 在一些方面, R^{19a} 为氢、甲基、异丙基、异丁基、仲丁基、 $-(CH_2)_3NH_2$ 或 $-(CH_2)_4NH_2$ 。在一些方面, R^{19a} 为氢、甲基、异丙基或 $-(CH_2)_4NH_2$ 。

[0444] 在某些实施方案中, AA_1 和 AA_2 都是天然氨基酸。在其它实施方案中, AA_1 和 AA_2 都是非天然氨基酸。在一些实施例中, AA_1 是天然氨基酸并且 AA_2 是非天然氨基酸。在一些实施例中, AA_2 是天然氨基酸并且 AA_1 是非天然氨基酸。在一些实施方案中, AA_1 是天然氨基酸并且 AA_2 是天然氨基酸的 D-异构体。在一些实施方案中, AA_2 是天然氨基酸并且 AA_1 是天然氨基酸的 D-异构体。

[0445] 在另一个实施方案中, AA_1 和 AA_2 独立地选自 Ala, D-Ala, Lys 和 Val。在另一个实施方案中, $-AA_1-AA_2-$ 为 $-Ala-Ala-$ 、 $-Ala-D-Ala-$ 、 $-Ala-Lys-$ 、 $-Ala-Val-$ 、 $-D-Ala-Ala-$ 、 $-D-Ala-D-Ala-$ 、 $-D-Ala-Lys-$ 、 $-D-Ala-Val-$ 、 $-Lys-Ala-$ 、 $-Lys-Lys-$ 、 $-Lys-Val-$ 、 $-Val-Ala-$ 、 $-Val-D-Ala-$ 、 $-Val-Lys-$ 或 $-Val-Val-$ 。在另一个实施方案中, $-AA_1-AA_2-$ 为 $-Ala-Ala-$ 、 $-Ala-D-Ala-$ 、 $-D-Ala-Ala-$ 、 $-Val-Ala-$ 或 $-Val-Lys-$ 。在另一个实施方案中, $-AA_1-AA_2-$ 为 $-Ala-Ala-$ 、 $-Ala-D-Ala-$ 、 $-D-Ala-Ala-$ 或 $-Val-Lys-$ 。

[0446] 在另一个实施方案中, AA_1 , AA_2 和 B 独立地选自 Ala 和 D-Ala。在一些实施方案中, $-AA_1-AA_2-B-$ 为 $-Ala-Ala-Ala-$ 、 $-D-Ala-Ala-Ala-$ 、 $-Ala-Ala-D-Ala-$ 、 $-D-Ala-D-Ala-Ala-$ 、 $-D-Ala-Ala-D-Ala-$ 、 $-D-Ala-Ala-D-Ala-$ 或 $-D-Ala-D-Ala-D-Ala-$ 。在一些实施方案中, $-AA_1-AA_2-B-$ 为 $-Ala-Ala-Ala-$ 、 $-D-Ala-Ala-Ala-$ 、 $-Ala-D-Ala-Ala-$ 或 $-Ala-Ala-D-Ala-$ 。

[0447] 在另一个实施方案中, AA_1 是 Val, AA_2 是 Lys, 且 B 选自 Arg, Lys, His, Asp, Glu, Thr, Gln, Ala, Phe, Val, Leu, Met, Trp, D-Ala, Aib 和 pAbz。在一些实施方案中, $-AA_1-AA_2-B-$ 为 $-Val-Lys-Arg-$ 、 $-Val-Lys-Lys-$ 、 $-Val-Lys-His-$ 、 $-Val-Lys-Asp-$ 、 $-Val-Lys-Glu-$ 、 $-Val-Lys-Thr-$ 、 $-Val-Lys-Gln-$ 、 $-Val-Lys-Ala-$ 、 $-Val-Lys-Phe-$ 、 $-Val-Lys-Val-$ 、 $-Val-Lys-Leu-$ 、 $-Val-Lys-Met-$ 、 $-Val-Lys-Trp-$ 、 $-Val-Lys-D-Ala-$ 、 $-Val-Lys-Aib-$ 或 $-Val-Lys-pAbz-$ 。在另一个实施方案中, AA_1 是 Val, AA_2 是 Lys, B 选自 Arg, Lys, His, Asp, Glu, Thr, Gln, Ala, Phe, Val, Leu, Met, Trp 和 D-Ala。在一些实施方案中, $-AA_1-AA_2-B-$ 是 $-Val-Lys-Arg-$ 、 $-$

Val-Lys-Lys-、-Val-Lys-Asp-、-Val-Lys-Glu-、-Val-Lys-Thr-、-Val-Lys-Gln-、-Val-Lys-Ala-、-Val-Lys-Phe-、-Val-Lys-Val-、-Val-Lys-Leu-、-Val-Lys-Met-、-Val-Lys-Trp-或-Val-Lys-

[0448] 分配剂:

[0449] 在一些实施方案中,S*为键或分配剂。本文所述的喜树碱缀合物或喜树碱-接头化合物还可包括分配剂。分配剂部分可用于例如掩蔽特定喜树碱或其它接头单元(或接头单元前体)组分的疏水性。

[0450] 代表性的分配剂包括聚乙二醇(PEG)单元、环糊精单元、聚酰胺、亲水肽、多糖和树枝状聚合物。

[0451] 当聚乙二醇(PEG)单元、环糊精单元、聚酰胺、亲水性肽、多糖或树枝状大分子包括在S*中时,这些基团可以作为'线内'组分或作为侧链或支链组分存在。

[0452] 聚乙二醇(PEG)单元

[0453] 多分散PEG,单分散PEG和离散PEG可用作本发明化合物中的分配剂的一部分。多分散PEG是大小和分子量的非均匀混合物,而单分散PEG通常从非均匀混合物中纯化,并因此提供单链长度和分子量。优选的PEG是离散的PEG,是以逐步方式而不是通过聚合方法合成的化合物。离散的PEG提供具有限定和特定链长的单个分子。

[0454] 本文提供的PEG包含一个或多个聚乙二醇链。聚乙二醇链由至少两个环氧乙烷($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$)亚单元组成。聚乙二醇链可以例如以直链,支链或星形构型连接在一起。通常,至少一个PEG链在一端或两端衍生化,用于共价连接至接头单元或接头单元前体的剩余部分上的适当位点。接头单元或接头单元前体内的示例性连接是通过非条件性可断裂的连接或通过条件性可断裂的连接。示例性的连接是通过酰胺键、醚键、酯键、腙键、肟键、二硫键、肽键或三唑键。在一些方面,接头单元或接头单元前体内的连接是通过非条件性可裂解的连接。在一些方面,连接基单元或连接基单元前体内的连接不是经由酯键、腙键、肟键或二硫键。在一些方面,连接基单元或连接基单元前体内的连接不是经由腙键。

[0455] 条件性可断裂的键是指当在血浆中循环时基本上不对断裂敏感但在细胞内或肿瘤内环境中对断裂敏感的键。非条件可断裂键是在任何生物环境中对断裂基本上不敏感的键。腙的化学水解,二硫化物的还原和肽键或糖苷键的酶促裂解是条件性可裂解键的实例。

[0456] 本领域技术人员可利用多种PEG连接方法[参见例如Goodson等人.(1990) Bio/Technology 8:343 (PEGylation of interleukin-2 at its glycosylation site after site-directed mutagenesis);EP0401384(coupling PEG to G-CSF);Malik等人.,(1992) Exp.Hematol.20:1028-1035 (PEGylation of GM-CSF using tresyl chloride);ACT公开第W0 90/12874号 (PEGylation of erythropoietin containing a recombinantly introduced cysteine residue using a cysteine-specific mPEG derivative);美国专利第5757078号 (PEGylation of EP0 peptides);美国专利第5672662号 (Poly(ethylene glycol) and related polymers monosubstituted with propionic or butanoic acids and functional derivatives thereof for biotechnical applications);美国专利第6077939号 (PEGylation of an N-terminal.alpha.-carbon of a peptide);Veronese et al.,(1985) Appl.Biochem.Bioechnol 11:141-142 (PEGylation of an N-terminal.alpha.-carbon of a peptide with PEG-硝基碳酸苯酯("PEG-NPC") or PEG-

trichlorophenylcarbonate);和Veronese (2001) *Biomaterials* 22:405-417 (Review article on peptide and protein PEGylation)]。

[0457] 例如,PEG可以通过反应性基团与氨基酸残基共价结合。反应性基团是活化的PEG分子可以结合的那些基团(例如,游离氨基或羧基)。例如,N-末端氨基酸残基和赖氨酸(K)残基具有游离氨基;且C-末端氨基酸残基具有游离羧基。硫醇基团(例如,如在半胱氨酸残基上发现的)也可用作连接PEG的反应性基团。此外,已经描述了用于在多肽的C-末端特异性引入活化基团(例如酰肼,醛和芳族氨基)的酶辅助方法(参见Schwarz等人.(1990) *Methods Enzymol.* 184:160;Rose等人(1991) *Bioconjugate Chem.* 2:154;和Gaertner等人(1994) *J. Biol. Chem.* 269:7224]。

[0458] 在一些实施方案中,可以使用具有不同反应性部分的甲氧基化PEG(“mPEG”)将PEG分子连接至氨基。此类反应性部分的非限制性实例包括琥珀酰亚胺基琥珀酸酯(SS)、琥珀酰亚胺基碳酸酯(SC)、mPEG-亚氨酸酯、对硝基碳酸苯酯(NPC)、琥珀酰亚胺基丙酸酯(SPA)和氰尿酸氯。此类mPEG的非限制性实例包括mPEG-琥珀酰亚胺基琥珀酸酯(mPEG-SS)、mPEG2-琥珀酰亚胺基琥珀酸酯(mPEG2-SS);mPEG-琥珀酰亚胺基碳酸酯(mPEG-SC)、mPEG2-琥珀酰亚胺基碳酸酯(mPEG2-SC);mPEG-亚氨酸酯,mPEG-对硝基碳酸苯酯(mPEG-NPC)、mPEG-亚氨酸酯;mPEG2-对硝基碳酸苯酯(mPEG2-NPC);mPEG-琥珀酰亚胺基丙酸酯(mPEG-SPA);mPEG2-琥珀酰亚胺基丙酸酯(mPEG--SPA);mPEG-N-羟基琥珀酰亚胺(mPEG-NHS);mPEG2-N-羟基琥珀酰亚胺(mPEG2--NHS);mPEG-氰尿酸氯;mPEG2-氰尿酸氯;mPEG2-赖氨酸-NPC和mPEG2-Lys-NHS。

[0459] 通常,构成PEG单元的至少一个PEG链被官能化,使得其能够共价连接至其它接头单元(或接头单元前体)组分。

[0460] 官能化包括例如经由胺、硫醇、NHS酯、马来酰亚胺、炔烃、叠氮化物、羰基或另一官能团。在一些实施方案中,PEG单元还包含非PEG材料(即,不包含-CH₂CH₂O-的材料),其提供与其它接头单元(或接头单元前体)组分的偶联或促进两条或更多条PEG链的偶联。

[0461] 接头单元中PEG单元(或其它分配剂)的存在可对所得喜树碱缀合物的药代动力学具有两种潜在影响。所需的影响是清除率的降低(以及随之而来的暴露量的增加),这是由暴露的喜树碱缀合物的疏水元件或喜树碱本身诱导的非特异性相互作用的降低引起的。第二个影响是不希望的,并且是有时由于喜树碱缀合物的分子量增加而引起的体积和分布速率的降低。增加PEG亚单位的数目增加缀合物的流体动力学半径,通常导致降低的扩散性。反过来,降低的扩散性通常降低喜树碱缀合物渗透到肿瘤中的能力(Schmidt和Wittrup, *Mol Cancer Ther* 2009;8:2861-2871);由于这两种竞争性药代动力学效应,需要使用PEG,其足够大以降低喜树碱缀合物清除率,从而增加血浆暴露,但不会大到使其扩散率大大减小到干扰喜树碱缀合物到达预期靶细胞群体的能力的程度。参见实施例(例如US2016/0310612的实施例1、18和21),其通过引用并入本文,用于选择特定药物-接头的最佳PEG大小的方法。

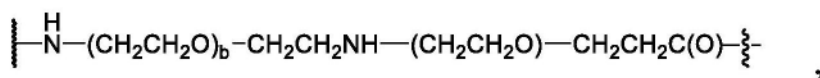
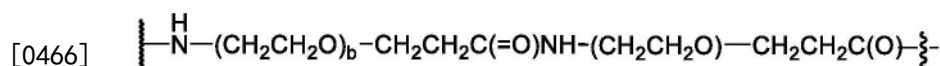
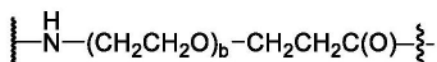
[0462] 在一组实施方案中,PEG单元包含一个或多个线性PEG链,其各自具有至少2个亚单位、至少3个亚单位、至少4个亚单位、至少5个亚单位、至少6个亚单位、至少7个亚单位、至少8个亚单位、至少9个亚单位、至少10个亚单位、至少11个亚单位、至少12个亚单位、至少13个亚单位、至少14个亚单位、至少15个亚单位、至少16个亚单位、至少17个亚单位、至少18个亚

单位、至少19个亚单位、至少20个亚单位、至少21个亚单位、至少22个亚单位、至少23个亚单位或至少24个亚单位。在优选的实施方案中,PEG单元包含总共至少4个亚单位、至少6个亚单位、至少8个亚单位、至少10个亚单位或至少12个亚单位的组合。在一些这样的实施方案中,PEG单元包含不多于总共约72个亚单位,优选不多于总共约36个亚单位。

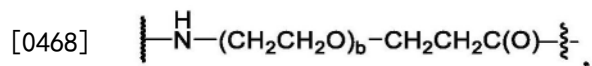
[0463] 在另一组实施方案中,PEG单元包含总共4至72、4至60、4至48、4至36或4至24个亚单位、5至72、5至60、5至48、5至36或5至24个亚单位、6至72、6至60、6至48、6至36或6至24个亚单位、7至72、7至60、7至48、7至36或7至24个亚单位、8至72、8至60、8至48、8至36或8至24个亚单位、9至72、9至60、9至48、9至36或9至24个亚单位、10至72、10至60、10至48、10至36或10至24个亚单位、11至72、11至60、11至48、11至36或11至24个亚单位、12至72、12至60、12至48、12至36或12至24个亚单位、13至72、13至60、13至48、13至36或13至24个亚单位、14至72、14至60、14至48、14至36或14至24个亚单位、15至72、15至60、15至48、15至36或15至24个亚单位、16至72、16至60、16至48、16至36或16至24个亚单位、17至72、17至60、17至48、17至36或17至24个亚单位、18至72、18至60、18至48、18至36或18至24个亚单位、19至72、19至60、19至48、19至36或19至24个亚单位、20至72、20至60、20至48、20至36或20至24个亚单位、21至72、21至60、21至48、21至36或21至24个亚单位、22至72、22至60、22至48、22至36或22至24个亚单位、23至72、23至60、23至48、23至36或23至24个亚单位,或24至72、24至60、24至48、24至36或24个亚单位。

[0464] 在一些实施方案中,分配剂是包含2至20,或2至12,或4至12,或4、8或12个-CH₂CH₂O-亚单位的线性PEG单元。在一些实施方案中,线性PEG单元在PEG单元的一端连接至AA₁且在PEG单元的另一端连接至A。在一些实施方案中,PEG单元经由与AA₁形成酰胺键的-CH₂CH₂C(O)-基团(例如,-(CH₂CH₂O)N-CH₂CH₂C(O)-AA₁)连接至AA₁并且经由与A形成酰胺键的-NH-基团(例如,-A-NH-(CH₂CH₂O)N-)连接至A。

[0465] 连接至RL和A的PEG单元的示例性实施方案如下所示:



[0467] 且在具体实施方案中,PEG单元是:



[0469] 其中左边的波浪线表示与A的连接位点,右边的波浪线表示与RL的连接位点,并且每个b独立地选自2至72、4至72、6至72、8至72、10至72、12至72、2至24、4至24、6至24或8至24、2至12、4至12、6至12和8至12。在一些实施方案中,下标b为2、4、8、12或24。在一些实施方案中,下标b为2。在一些实施方案中,下标b为4。在一些实施方案中,下标b为8。在一些实施方案中,下标b为12。

[0470] 如本文所用,术语“PEG2”、“PEG4”、“PEG8”和“PEG12”是指PEG单元的具体实施方案,其包含PEG亚单元的数目(即,预定数目“b”)。例如,“PEG2”是指包含2个PEG亚单位的PEG

单元的实施方案,“PEG4”是指包含4个PEG亚单位的PEG单元的实施方案,“PEG8”是指包含8个PEG亚单位的PEG单元的实施方案,“PEG12”是指包含12个PEG亚单位的PEG单元的实施方案。

[0471] 如本文所述,选择PEG亚单位的数目,使得其提高所得喜树碱缀合物的清除率,但不显著影响缀合物渗透到肿瘤中的能力。在实施方案中,选择使用的PEG亚单位的数目优选具有2个亚单位至约24个亚单位,4个亚单位至约24个亚单位,更优选约4个亚单位至约12个亚单位。

[0472] 在本公开的优选实施方案中,PEG单元为约300道尔顿至约5千道尔顿;从约300道尔顿至约4千道尔顿;从约300道尔顿至约3千道尔顿;从约300道尔顿至约2千道尔顿;或约300道尔顿至约1千道尔顿。在一些这样的方面,PEG单元具有至少6个亚单位或至少8、10或12个亚单位。在一些这样的方面,PEG单元具有至少6个亚单位或至少8、10或12个亚单位但不超过72个亚单位,优选不超过36个亚单位。

[0473] 应当理解,当提及PEG亚单位,并且取决于上下文时,亚单位的数目可以表示平均数,例如,当提及喜树碱缀合物或喜树碱-接头化合物的群体时,并且使用多分散PEG。

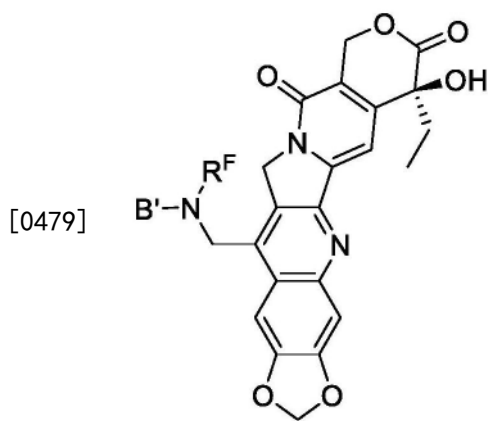
[0474] 下标“p”

[0475] 下标p表示单个喜树碱缀合物的配体单元上的喜树碱-接头部分的数目,并且优选为1至16、1至12、1至10或1至8的整数。在本文的任何实施方案中,可以有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16个喜树碱-接头部分与单个喜树碱缀合物的配体单元缀合。在本发明的一个方面,一组实施方案描述了除了与每个配体单元结合的喜树碱接头化合物部分的数目之外基本上相同的单个喜树碱缀合物群体(即喜树碱缀合物组合物)。群体可以通过结合至喜树碱缀合物的配体单元的喜树碱连接基化合物部分的平均数来描述(例如,药物-抗体比率(“DAR”))。在该组实施方案中,平均数为1至约16、1至约12、1至约10,或1至约8、2至约16、2至约12、2至约10,或2至约8的数。在一些方面,平均值为约2。在一些方面,平均值为约4。在一些方面,平均值为约8。在一些方面,平均值为约16。在一些方面,平均值为2。在一些方面,平均值为4。在一些方面,平均值为8。在一些方面,平均值为16。在一些方面,群体可以通过组合物中占优势的ADC的药物负载来描述。

[0476] 在一些方面,缀合将经由链间二硫化物进行,并且将有1至约8个喜树碱接头化合物分子缀合至配体分子。在一些方面,缀合将经由引入的半胱氨酸残基以及链间二硫化物,并且将存在1至10个或1至12个或1至14个或1至16个缀合至配体分子的喜树碱接头化合物分子。在一些方面,缀合将经由引入的半胱氨酸残基,并且将有2或4个喜树碱接头化合物分子缀合至配体分子。

[0477] 部分释放的游离药物

[0478] 在一些实施方案中是这样的化合物,其中已将缀合物中的RL单元断裂,留下具有与其结合的RL的一部分的药物部分。在一些实施方案中,部分释放的游离药物为式(III)的化合物:



[0480] 或其药学上可接受的盐,其中B' 是选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp、D-Ala、Aib和pAbz的氨基酸;且R^F是H或C₁-C₆烷基。

[0481] 在一些实施方案中,式(III)的化合物是生物活性化合物。在一些实施方案中,此类化合物可用于抑制拓扑异构酶、杀死肿瘤细胞、抑制肿瘤细胞、癌细胞或肿瘤的生长、抑制肿瘤细胞或癌细胞的复制、减轻总体肿瘤负荷或减少癌细胞的数目,或改善与癌症或自身免疫疾病相关的一种或多种症状的方法中。所述方法包括例如使癌细胞与式(III)化合物接触。

[0482] 喜树碱缀合物混合物和组合物

[0483] 本发明提供喜树碱缀合物混合物和包含本文所述的任何喜树碱缀合物的药物组合物。所述混合物和药物组合物包含多种缀合物。在一些方面,混合物或组合物中的每种缀合物是相同的或基本上相同的,然而,药物-接头在混合物或组合物中的配体上的分布以及药物负载可以变化。例如,用于将药物-接头与作为靶向配体的抗体偶联的偶联技术可产生这样的组合物或混合物,其相对于混合物和/或组合物中喜树碱接头化合物在抗体(配体单元)上的分布是非均匀的。在一些方面,喜树碱接头化合物在这些分子的混合物或组合物中负载在每个抗体分子上是1-14的整数。

[0484] 在这些方面,当提及组合物作为整体时,药物-接头的负载为1至约14的数。在组合物或混合物中,还可以存在小百分比的未缀合抗体。混合物或组合物中每个配体单元的药物-接头的平均数(即平均药物负载)是重要的属性,因为它决定了可以递送至靶细胞的药物的最大量。平均药物负载可以是1、2或约2、3或约3、4或约4、5或约5、6或约6、7或约7、8或约8、9或约9、10或约10、11或约11、12或约12、13或约13、14或约14、15或约15、16或约16。

[0485] 在一些方面,混合物和药物组合物包含多种(即群体)缀合物,然而,就药物接头在混合物和/或组合物内的配体分子上的分布和就药物接头在混合物和/或组合物内的配体分子上的负载而言,缀合物是相同的或基本上相同的并且是基本上均匀的。在一些这样的方面,药物-接头在抗体配体单元上的负载是2或4。在组合物或混合物中,还可以存在小百分比的未缀合抗体。这些实施方案中的平均药物负载为约2或约4。通常,这样的组合物和混合物由使用位点特异性缀合技术产生,并且缀合是由于引入的半胱氨酸残基。

[0486] 来自缀合反应的制剂中每个配体单元的喜树碱或喜树碱-接头化合物的平均数(例如,药物-抗体比率(“DAR”))可以通过常规方法表征,例如质谱法,ELISA测定,HPLC(例如,HIC)。还可以测定喜树碱缀合物在p方面的定量分布。在一些情况下,均匀的喜树碱缀合物的分离、纯化和表征可通过诸如反相HPLC或电泳的方式实现。

[0487] 在一些方面,所述组合物是包含本文所述的喜树碱缀合物和药学上可接受的载体的药物组合物。在一些方面,药物组合物是液体形式。在一些方面,药物组合物是固体。在一些方面,药物组合物是冻干的粉末。

[0488] 组合物,包括药物组合物,可以以纯化的形式提供。如本文所用,“纯化的”是指当分离时,分离物含有按分离物的重量计至少95%,并且在另一方面至少98%的缀合物。

[0489] 使用方法

[0490] 癌症的治疗

[0491] 本文所述的喜树碱缀合物可用于抑制肿瘤细胞或癌细胞的增殖、引起肿瘤或癌细胞的细胞凋亡,或用于治疗患者的癌症。因此,本文提供了在有需要的受试者中治疗癌症的方法,所述方法包括向所述受试者施用一种或多种本文所述的喜树碱缀合物。

[0492] 因此,喜树碱缀合物可用于治疗癌症的各种环境中。喜树碱缀合物可用于将药物递送至肿瘤细胞或癌细胞。在不受理论束缚的情况下,在一个实施方案中,喜树碱缀合物的配体单元与癌细胞或肿瘤细胞相关抗原结合或缔合,并且喜树碱缀合物可以通过受体介导的胞吞作用或其它内化机制被吸收(内化)在肿瘤细胞或癌细胞内。抗原可以附着于肿瘤细胞或癌细胞,或者可以是与肿瘤细胞或癌细胞相关的细胞外基质蛋白。一旦进入细胞,药物通过细胞内的肽断裂释放。在另一个实施方案中,游离药物从喜树碱缀合物释放到肿瘤细胞或癌细胞外,游离药物随后穿透细胞。

[0493] 在一个实施方案中,配体单元与肿瘤细胞或癌细胞结合。

[0494] 在另一个实施方案中,配体单元与肿瘤细胞或癌细胞表面上的肿瘤细胞或癌细胞抗原结合。

[0495] 在另一个实施方案中,配体单元与肿瘤细胞或癌细胞抗原结合,所述抗原是与肿瘤细胞或癌细胞相关的胞外基质蛋白。

[0496] 配体单元对特定肿瘤细胞或癌细胞的特异性对于确定最有效治疗的肿瘤或癌症是重要的。例如,靶向造血系统癌症中存在的癌细胞抗原的喜树碱缀合物可用于治疗血液恶性肿瘤(例如,抗CD30、抗CD70、抗CD19、抗CD33结合配体单元(例如,抗体)可用于治疗血液恶性肿瘤)。靶向存在于实体瘤上的癌细胞抗原的喜树碱缀合物可用于治疗此类实体瘤。

[0497] 可用喜树碱缀合物治疗的癌症包括但不限于造血系统癌症,例如淋巴瘤(霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤)和白血病和实体瘤。造血系统癌症的实例包括滤泡性淋巴瘤,间变性大细胞淋巴瘤,套细胞淋巴瘤,急性髓细胞性白血病,慢性髓细胞性白血病,慢性淋巴细胞性白血病,弥漫性大B细胞淋巴瘤和多发性骨髓瘤。实体瘤的实例包括纤维肉瘤,黏液肉瘤,脂肪肉瘤,软骨肉瘤,骨肉瘤,脊索瘤,血管肉瘤,内皮肉瘤,淋巴管肉瘤,淋巴管内皮肉瘤,滑膜瘤,间皮瘤,尤因氏瘤,平滑肌肉瘤,横纹肌肉瘤,结肠癌,结直肠癌,肾癌,胰腺癌,骨肿瘤,乳腺癌,卵巢癌,前列腺癌,食管癌,胃癌,口腔癌,鼻癌,喉癌,鳞状细胞癌,基底细胞癌,腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳头状癌、乳头状腺癌、囊腺癌、髓样癌、支气管癌、肾细胞癌、肝癌、胆管癌、绒毛膜癌、精原细胞瘤、胚胎癌、肾母细胞瘤、宫颈癌、子宫癌、睾丸癌、小细胞肺癌、膀胱癌、肺癌、上皮癌、胶质瘤、多形性胶质母细胞瘤、星形细胞瘤、髓母细胞瘤,颅咽管瘤、室管膜瘤、松果体瘤、血管母细胞瘤、声神经瘤、少突胶质瘤、脑膜瘤、皮肤癌、黑色素瘤、神经母细胞瘤和视网膜母细胞瘤。

[0498] 在优选的实施方案中,所治疗的癌症是上列淋巴瘤和白血病中的任一种。

[0499] 多模态癌症治疗

[0500] 癌症,包括但不限于肿瘤,转移或其它以不受控制的细胞生长为特征的疾病或病症,可以通过施用喜树碱缀合物来治疗或抑制。

[0501] 在其它实施方案中,提供了治疗癌症的方法,包括向有需要的患者施用有效量的喜树碱缀合物和化疗剂。在一个实施方案中,化疗剂是对癌症的治疗尚未发现是难治性的化疗剂。在另一个实施方案中,化疗剂是已经发现用其治疗癌症是难治性的化疗剂。喜树碱缀合物可以施用于也进行手术治疗癌症的患者。

[0502] 在一些实施方案中,患者还接受另外的治疗,例如放射疗法。在一个具体的实施方案中,喜树碱缀合物与化疗剂或放疗同时施用。在另一个具体的实施方案中,在施用喜树碱缀合物之前或之后施用化疗剂或放射疗法。

[0503] 化疗剂可以在一系列疗程中施用。可以施用任何一种化学治疗剂或化学治疗剂的组合,例如护理标准化学治疗剂。

[0504] 另外,提供用喜树碱缀合物治疗癌症的方法作为化学疗法或放射疗法的替代物,其中化学疗法或放射疗法已证明或可证明对所治疗的受试者毒性太大,例如导致不可接受的或无法忍受的副作用。被治疗的患者可以任选地用另一种癌症治疗如手术,放射疗法或化学疗法进行治疗,这取决于发现哪种治疗是可接受的或可承受的。

[0505] 自身免疫性疾病的治疗

[0506] 喜树碱缀合物可用于杀死或抑制产生自身免疫性疾病的细胞的不需要的复制或用于治疗自身免疫性疾病。

[0507] 因此,喜树碱缀合物可用于治疗患者的自身免疫性疾病的各种情况。喜树碱缀合物可用于将药物递送至靶细胞。不受理论的束缚,在一个实施方案中,喜树碱偶联物与促炎或不适当刺激的免疫细胞表面上的抗原结合,然后喜树碱偶联物通过受体介导的胞吞作用被摄入靶细胞内。一旦进入细胞,接头单元被断裂,导致喜树碱的释放。然后释放的喜树碱在细胞溶质中自由迁移并诱导细胞毒性或细胞抑制活性。在另一个实施方案中,药物在靶细胞外从喜树碱偶联物中裂解,喜树碱随后穿透细胞。

[0508] 在一个实施方案中,配体单元结合自身免疫抗原。在一个方面,抗原在涉及自身免疫病症的细胞的表面上。

[0509] 在一个实施方案中,配体单元结合与自身免疫疾病状态相关的活化淋巴细胞。

[0510] 在另一个实施方案中,喜树碱缀合物杀死或抑制产生与特定自身免疫疾病相关的自身免疫抗体的细胞的增殖。

[0511] 可用喜树碱缀合物治疗的特定类型的自身免疫疾病包括但不限于Th2淋巴细胞相关病症(例如特应性皮炎、特应性哮喘、鼻结膜炎、过敏性鼻炎、Omenn综合征、系统性硬化症和移植物抗宿主疾病);Th1淋巴细胞相关病症(例如类风湿性关节炎、多发性硬化、银屑病、斯耶格伦综合征、桥本甲状腺炎、格雷夫病、原发性胆汁性肝硬化、韦格纳肉芽肿病和结核病);和活化的B淋巴细胞相关病症(例如,系统性红斑狼疮、古德帕斯丘综合征、类风湿性关节炎和I型糖尿病)。

[0512] 自身免疫性疾病的多药物治疗

[0513] 还公开了用于治疗自身免疫性疾病的方法,包括向有需要的患者施用有效量的喜树碱缀合物和已知用于治疗自身免疫性疾病的另一种治疗剂。

[0514] 组合物和施用方法

[0515] 本发明提供包含本文所述的喜树碱缀合物和药学上可接受的载体的药物组合物。喜树碱缀合物可以是允许将化合物施用于患者以治疗与配体单元结合的抗原的表达相关的疾病的任何形式。例如,缀合物可以是液体或固体形式。优选的施用途径是肠胃外施用。肠胃外施用包括皮下注射、静脉内、肌内、胸骨内注射或输注技术。在一个方面,肠胃外施用组合物。在一个方面,静脉内施用缀合物。施用可以通过任何方便的途径,例如通过输注或快速浓注。

[0516] 药物组合物可以配制成允许化合物在向患者施用组合物时是生物可利用的。组合物可以采取一个或多个剂量单位的形式。

[0517] 用于制备药物组合物的材料在所用量下可以是无毒的。对于本领域普通技术人员显而易见的是,药物组合物中活性成分的最佳剂量将取决于多种因素。相关因素包括但不限于动物(例如人)的类型,化合物的具体形式,施用方式和所用的组合物。

[0518] 组合物可以是例如液体形式。液体可用于通过注射递送。在通过注射施用的组合物中,还可以包括表面活性剂、防腐剂、润湿剂、分散剂、悬浮剂、缓冲剂、稳定剂和等渗剂中的一种或多种。

[0519] 液体组合物,无论它们是溶液、悬浮液或其他类似形式,还可以包括以下中的一种或多种:无菌稀释剂,例如注射用水、盐水溶液,优选生理盐水、林格氏溶液、等渗氯化钠、不挥发性油,例如可用作溶剂或悬浮介质的合成的甘油一酯或甘油二酯、聚乙二醇、甘油、环糊精、丙二醇或其它溶剂;抗菌剂,例如苯甲醇或对羟基苯甲酸甲酯;抗氧化剂如抗坏血酸或亚硫酸氢钠;螯合剂如乙二胺四乙酸;缓冲剂,例如氨基酸、乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐;洗涤剂,例如非离子表面活性剂、多元醇;且用于调节张力的试剂,例如氯化钠或葡萄糖。肠胃外组合物可以封装在由玻璃、塑料或其它材料制成的安瓿、一次性注射器或多剂量小瓶中。生理盐水是示例性佐剂。可注射组合物优选是无菌的。

[0520] 有效治疗特定疾病或病症的缀合物的量将取决于疾病或病症的性质,并且可以通过标准临床技术确定。此外,可任选地使用体外或体内测定来帮助确定最佳剂量范围。用于组合物中的精确剂量还将取决于施用途径和疾病或病症的严重性,并且应根据从业者的判断和每个患者的情况来决定。

[0521] 所述组合物包含有效量的化合物以获得合适的剂量。通常,该量为组合物重量的至少约0.01%的化合物。

[0522] 对于静脉内施用,组合物可包含约0.01至约100mg喜树碱缀合物/kg动物体重。在一个方面,组合物可以包括约1至约100mg喜树碱缀合物/kg动物体重。在另一方面,施用的量将在约0.1至约25mg/kg体重的化合物的范围内。取决于使用的药物,剂量可以甚至更低,例如1.0 μ g/kg至5.0mg/kg、4.0mg/kg、3.0mg/kg、2.0mg/kg或1.0mg/kg,或1.0 μ g/kg至500.0 μ g/kg受试者体重。

[0523] 通常,施用于患者的缀合物的剂量通常为约0.01mg/kg至约100mg/kg受试者体重或1.0 μ g/kg至5.0mg/kg受试者体重。在一些实施方案中,施用于患者的剂量为约0.01mg/kg至约15mg/kg受试者体重。在一些实施方案中,施用于患者的剂量为约0.1mg/kg至约15mg/kg受试者体重。在一些实施方案中,施用于患者的剂量为约0.1mg/kg至约20mg/kg受试者体重。在一些实施方案中,施用的剂量为约0.1mg/kg至约5mg/kg或约0.1mg/kg至约10mg/kg受

试者体重。在一些实施方案中,施用的剂量为约1mg/kg至约15mg/kg受试者体重。在一些实施方案中,施用的剂量为约1mg/kg至约10mg/kg受试者体重。在一些实施方案中,施用的剂量为在治疗周期中受试者体重的约0.1至4mg/kg,甚至更优选0.1至3.2mg/kg,或甚至更优选0.1至2.7mg/kg。

[0524] 术语“载体”是指与化合物一起施用的稀释剂,佐剂或赋形剂。这样的药物载体可以是液体,例如水和油,包括石油、动物、植物或合成来源的油,例如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油。载体可以是盐水、阿拉伯胶、明胶、淀粉糊、滑石、角蛋白、胶态二氧化硅、尿素。此外,可以使用助剂、稳定剂、增稠剂、润滑剂和着色剂。在一个实施方案中,当向患者施用,化合物或组合物和药学上可接受的载体是无菌的。

[0525] 当静脉内施用化合物时,水是示例性载体。盐水溶液和葡萄糖水溶液和甘油溶液也可用作液体载体,特别是用于可注射溶液。合适的药物载体还包括赋形剂如淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、大米、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石、氯化钠、脱脂奶粉、甘油、丙烯、乙二醇、水、乙醇。如果需要,本发明的组合物还可以含有少量的润湿剂或乳化剂,或pH缓冲剂。

[0526] 在一个实施方案中,根据常规方法将缀合物配制成为适于静脉内施用于动物,特别是人的药物组合物。通常,用于静脉内施用的载体或媒介物是无菌等渗缓冲水溶液。必要时,组合物还可以包括增溶剂。用于静脉内施用的组合物可任选地包含局部麻醉剂如利多卡因以减轻注射部位的疼痛。通常,所述成分以单位剂型单独提供或混合在一起提供,例如,作为密封容器如安瓿或小药囊中的冻干粉末或无水浓缩物、指示活性剂的量。当缀合物通过输注施用,其可以例如用含有无菌药物级水或盐水的输注瓶分配。当缀合物通过注射施用,可提供一安瓿无菌注射用水或盐水,以便在施用前混合各成分。

[0527] 药物组合物通常配制为无菌的、基本上等渗的并且完全符合美国食品和药物管理局的所有良好生产规范(GMP)规定。

[0528] 制备喜树碱缀合物的方法

[0529] 本文所述的喜树碱缀合物可以以抗体、接头和药物单元的系列构建物制备,或通过组装部分随后完整的组装步骤,以汇集的方式制备。

[0530] 在一组实施方案中,本文提供的喜树碱-接头化合物与合适的配体单元组合以促进喜树碱-接头化合物共价连接至配体单元。在一些实施方案中,配体单元是具有至少2个、至少4个、至少6个或8个硫醇的抗体,所述硫醇由于减少链间二硫键而可用于连接接头化合物。在一些实施方案中,喜树碱-接头化合物通过抗体上引入的半胱氨酸部分与配体单元连接。

[0531] 用于治疗用途的试剂盒

[0532] 在一些方面,提供了用于癌症治疗和自身免疫疾病治疗的试剂盒。此类试剂盒可包括包含本文所述的喜树碱缀合物的药物组合物。

[0533] 在一些实施方案中,试剂盒可包括用于本文所述的任何治疗方法的说明书。所包括的说明书向受试者提供施用药物组合物的说明以实现预期活性,例如治疗受试者的疾病或病症如癌症。在一些实施方案中,与本文所述的药物组合物的使用相关的说明书可包括关于预期治疗的剂量、给药方案和施用途径的信息。容器可以是单位剂量、散装包装(例如,多剂量包装)或亚单位剂量。本公开的试剂盒中提供的说明书通常是标签或包装插页上的

书面说明书。标签或包装插页指示药物组合物用于治疗,延迟发作和/或减轻受试者的疾病或障碍。

[0534] 在一些实施方案中,本文提供的试剂盒在合适的包装中。合适的包装包括但不限于小瓶、瓶、罐、软包装等。还考虑了与特定装置如吸入器、鼻施用装置或输注装置组合使用的包装。在一些实施方案中,试剂盒可以具有无菌入口(例如,容器可以是静脉内溶液袋或具有可被皮下注射针头刺穿的塞子的小瓶)。

[0535] 在一些实施方案中,本文提供的试剂盒包括可用于治疗本文所述的自身免疫疾病的癌症的另外的治疗剂。

[0536] 一般合成方法

[0537] 本公开的化合物可以通过如下文一般描述和下文实施例中更具体描述的多种方法(例如下文实施例中提供的方案)以及本领域已知的方法制备。在国际专利申请号PCT/US19/25968中描述了示例性方法。在以下方法描述中,当在所描述的式中使用,符号应理解为表示上文关于本文的式描述的那些基团。

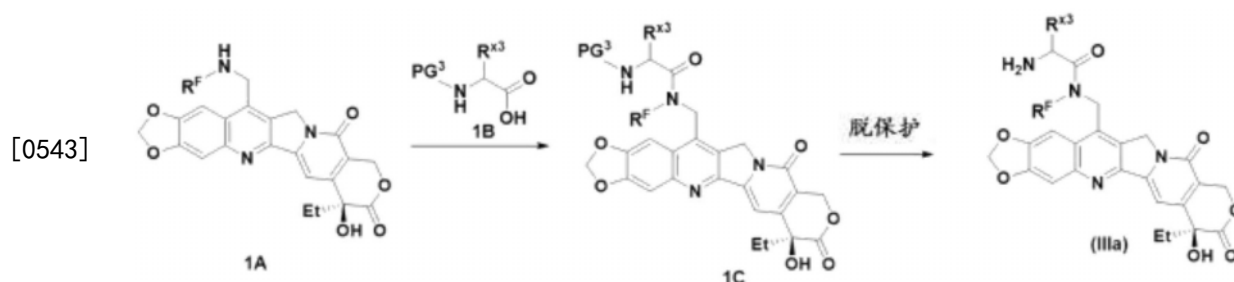
[0538] 在以下制备中描述的中间体可以含有许多氮,羟基和酸保护基团如酯。可变保护基在每次出现时可以相同或不同,这取决于具体的反应条件和要进行的具体转化。保护和脱保护条件是本领域技术人员熟知的并且描述于文献中。参见例如:Greene和Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, (T.Greene和P.Wuts, eds., 2d ed.1991)。

[0539] 为了清楚起见,某些立体化学中心未指定,并且在以下方案中省略了某些取代基,并且不旨在以任何方式限制方案的教导。此外,单独的异构体、对映异构体和非对映异构体可以由本领域普通技术人员在本发明化合物的合成中的任何方便的点通过诸如选择性结晶技术或手性色谱法的方法分离或拆分(参见例如J.Jacques等人, "Enantiomers, Racemates, and Resolutions", John Wiley and Sons, Inc., 1981, 以及E.L.Eliel和S.H.Wilen, "Stereochemistry of Organic Compounds", Wiley-Interscience, 1994)。

[0540] 本发明的化合物或其盐可以通过本领域已知的多种方法制备,其中一些在以下实施例中说明。所描述的每种途径的具体合成步骤可以以不同的方式组合,以制备本发明的化合物或其盐。每个步骤的产物可以通过本领域熟知的常规方法回收,包括萃取、蒸发、沉淀、色谱法、过滤、研磨和结晶。试剂和原料是本领域普通技术人员容易获得的。其它可以通过有机和杂环化学的标准技术制备,其类似于已知的结构类似的化合物的合成和在随后的实施例中描述的方法,包括任何新的方法。

[0541] 化学式(IIIa)的化合物可以根据方案1(其中 R^F 是如针对化学式(I)所定义的)或在此详述的任何应用变体来制备;PG3为氨基保护基(例如Boc),且 R^{x3} 为氨基酸侧链。

[0542] 方案1

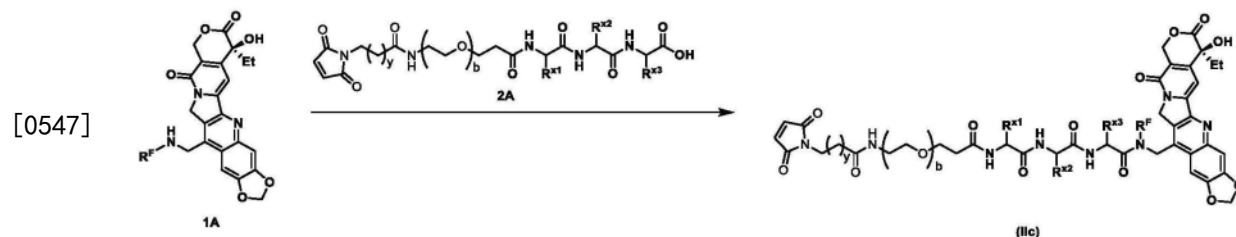


[0544] 通式1A的胺与通式1B的羧酸偶联得到通式1C的酰胺,其可以脱保护得到式(IIIa)

的化合物。在一些实施方案中, R^{x3} 含有保护基(例如Boc保护的Lys), 其中所述保护基在形成通式1C的化合物之后去除。

[0545] 式(IIC)化合物可根据方案2或本文详述的任何应用变化形式制备, 其中 R^F 、 b 和 y 如式(Ib)所定义的; 并且 R^{x1} 、 R^{x2} 和 R^{x3} 是氨基酸侧链。

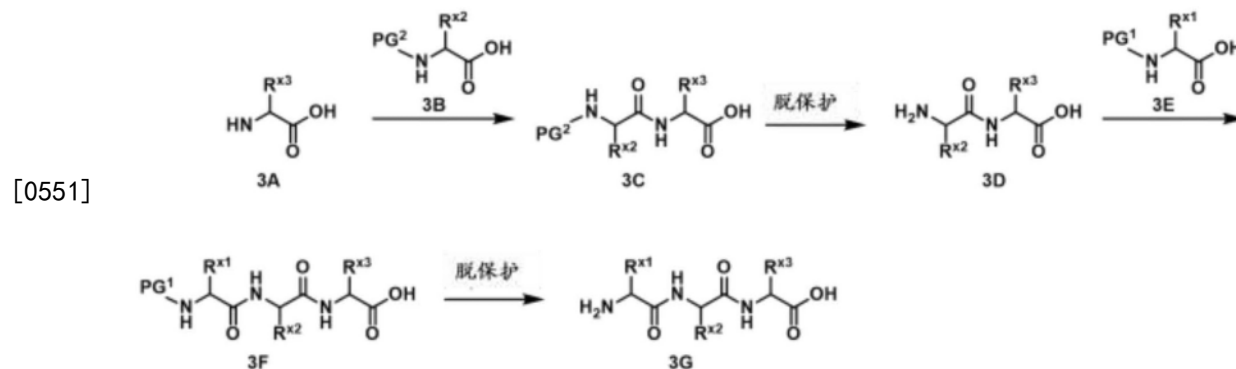
[0546] 方案2



[0548] 通式1A的胺与通式2A的羧酸的偶联产生式(IIC)的喜树碱-接头化合物。在一些实施方案中, R^{x1} 、 R^{x2} 和 R^{x3} 各自任选地含有保护基, 所述保护基可以相同或不同并且在形成式(IIC)的喜树碱-接头化合物之后去除。

[0549] 式3G的化合物可以根据方案3制备, 其中 R^{x1} 、 R^{x2} 和 R^{x3} 是氨基酸侧链; 且 PG^1 和 PG^2 是氨基保护基(例如Fmoc)。

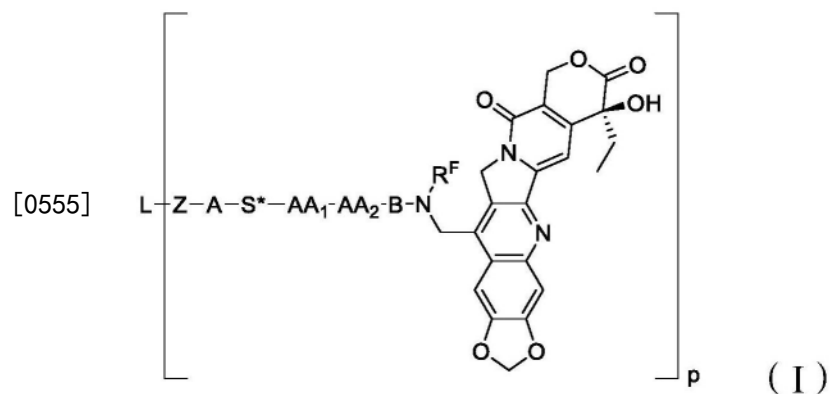
[0550] 方案3



[0552] 通式3A的氨基酸与通式3B的受保护氨基酸的偶联产生通式3C的化合物, 将其脱保护以产生通式3D的二肽。通式3D的氨基酸与通式3E的受保护的氨基酸的偶联产生通式3F的化合物, 将其脱保护以产生通式3G的三肽。在一些实施方案中, R^{x1} 、 R^{x2} 和 R^{x3} 各自任选地含有保护基, 所述保护基可以相同或不同并且在胺和羧酸偶联后去除。

[0553] 典型实施例

[0554] 实施方案1: 一种具有式(I)的喜树碱缀合物:



[0556] 或其药学上可接受的盐,其中

[0557] L是配体单元;

[0558] Z是延伸单元;

[0559] A是键或连接单元;

[0560] S*是键或分配剂;

[0561] AA₁是氨基酸;

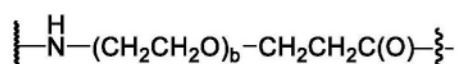
[0562] AA₂是氨基酸;

[0563] B是选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp、D-Ala、Aib和pAbz的氨基酸;

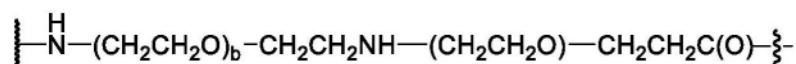
[0564] R^F为H或C₁-C₆烷基;且

[0565] p为1至16。

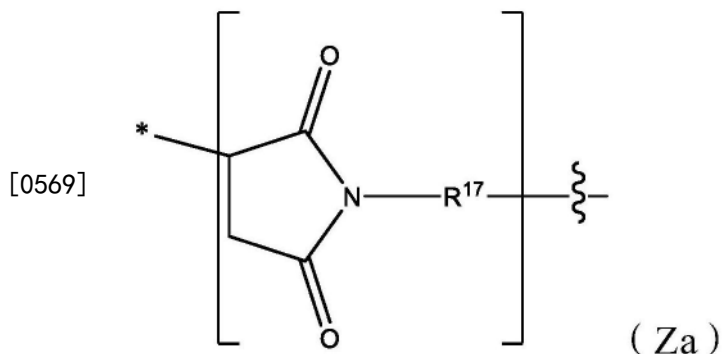
[0566] 实施方案2:如实施方案1所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中AA₁是Val。实施方案3:如实施方案1所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中AA₁是Ala或D-Ala。实施方案4:如实施方案1-3中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中AA₂为Lys。实施方案5:如实施方案1-3中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中AA₂为Ala或D-Ala。实施方案6:如实施方案1-5中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中B为选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp和D-Ala的氨基酸。实施方案7:如实施方案1-6中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中B为D-Ala。实施方案8:如实施方案1-6中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中B为Arg、Lys、His、Asp或Glu。实施方案9:如实施方案1-6中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中B为Thr或Gln。实施方案10:如实施方案1-6中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中B为Phe、Val、Leu、Met或Trp。实施方案11:如实施方案1-10中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中R^F为H。实施方案12:如实施方案1-11中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中S*为PEG单元。实施方案13:如实施方案12所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述PEG单元具有下式:



[0567] $\left| \text{---} \text{N}^{\text{H}} \text{---} (\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_b \text{---} \text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{NH} \text{---} (\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}) \text{---} \text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O}) \text{---} \right\} \text{---}$ or



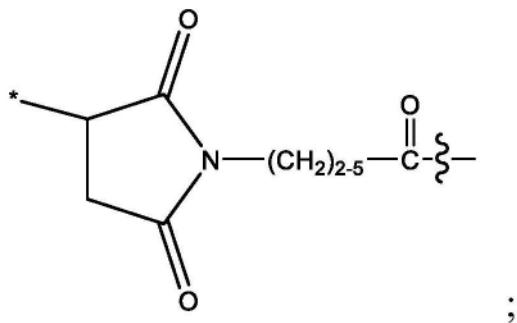
[0568] 其中左边的波浪线表示与A的连接位点,右边的波浪线表示与AA₁的连接位点,且b为2至20的整数,或为2、4、8或12。实施方案14:如实施方案13所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述PEG单元具有下式: $\left| \text{---} \text{N}^{\text{H}} \text{---} (\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_b \text{---} \text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O}) \text{---} \right\} \text{---}$, 其中左边的波浪线表示与A的连接位点,右边的波浪线表示与AA₁的连接位点,且b为2至20的整数,或为2、4、8或12。实施方案15:如实施方案1至14中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中Z具有式Za:

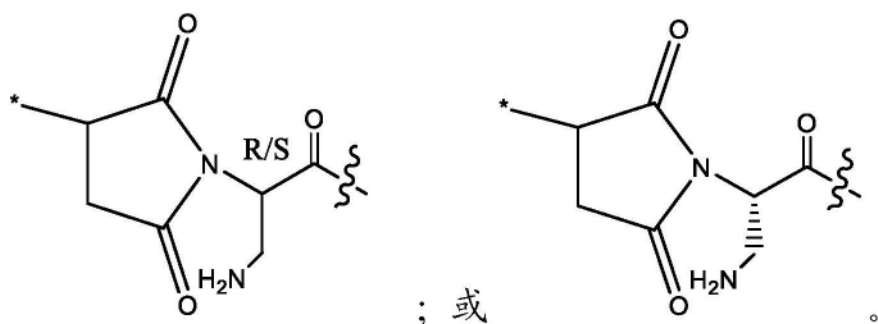


[0570] 其中星号表示连接至配体单元(L)的位置;

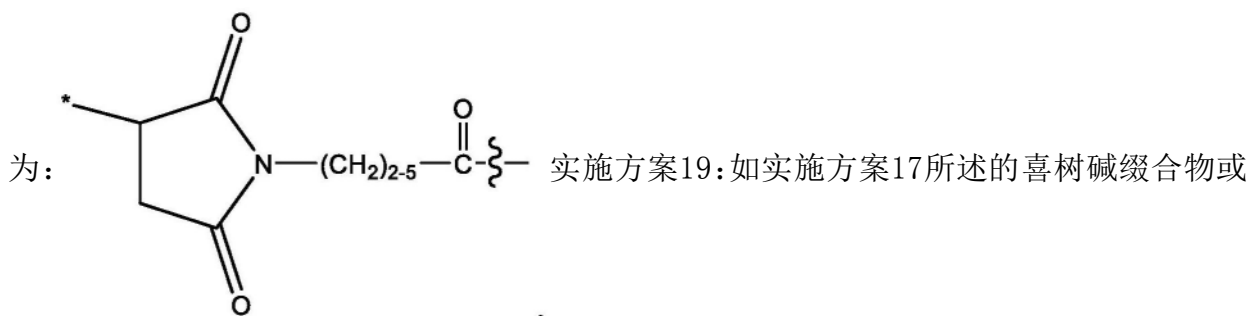
[0571] 波浪线表示连接到连接单元(A)的位置;且

[0572] R^{17} 为- C_1 - C_{10} 亚烷基-、- C_1 - C_{10} 杂亚烷基-、- C_3 - C_8 碳环-、-O-(C_1 - C_8 亚烷基)-、-亚芳基-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-亚芳基-、-亚芳基- C_1 - C_{10} 亚烷基-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-(C_3 - C_8 碳环)-、-(C_3 - C_8 碳环)- C_1 - C_{10} 亚烷基-、- C_3 - C_8 杂环-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-(C_3 - C_8 杂环)-、-(C_3 - C_8 杂环)- C_1 - C_{10} 亚烷基-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-C(=O)-、- C_1 - C_{10} 杂亚烷基-C(=O)-、- C_3 - C_8 碳环-C(=O)-、-O-(C_1 - C_8 亚烷基)-C(=O)-、-亚芳基-C(=O)-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-亚芳基-C(=O)-、-亚芳基- C_1 - C_{10} 亚烷基-C(=O)-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-(C_3 - C_8 碳环)-C(=O)-、-(C_3 - C_8 碳环)- C_1 - C_{10} 亚烷基-C(=O)-、- C_3 - C_8 杂环-C(=O)-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-(C_3 - C_8 杂环)-C(=O)-、-(C_3 - C_8 杂环)- C_1 - C_{10} 亚烷基-C(=O)-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-NH-、- C_1 - C_{10} 杂亚烷基-NH-、- C_3 - C_8 碳环-NH-、-O-(C_1 - C_8 亚烷基)-NH-、-亚芳基-NH-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-亚芳基-NH-、-亚芳基- C_1 - C_{10} 亚烷基-NH-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-(C_3 - C_8 碳环)-NH-、-(C_3 - C_8 碳环)- C_1 - C_{10} 亚烷基-NH-、- C_3 - C_8 杂环-NH-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-(C_3 - C_8 杂环)-NH-、-(C_3 - C_8 杂环)- C_1 - C_{10} 亚烷基-NH-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-S-、- C_1 - C_{10} 杂亚烷基-S-、- C_3 - C_8 碳环-S-、-O-(C_1 - C_8 亚烷基)-S-、-亚芳基-S-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-亚芳基-S-、-亚芳基- C_1 - C_{10} 亚烷基-S-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-(C_3 - C_8 碳环)-S-、-(C_3 - C_8 碳环)- C_1 - C_{10} 亚烷基-S-、- C_3 - C_8 杂环-S-、- C_1 - C_{10} 亚烷基-(C_3 - C_8 杂环)-S-、或-(C_3 - C_8 杂环)- C_1 - C_{10} 亚烷基-S-;其中 R^{17} 任选被碱性单元(BU)取代,所述碱性单元(BU)为-(CH₂)_xNH₂、-(CH₂)_xNHR^a或-(CH₂)_xNR^a₂;其中x为1-4的整数;并且每个R^a独立地选自C₁₋₆烷基和C₁₋₆卤代烷基,或两个R^a基团与它们所连接的氮结合以形成4至6元杂环烷基环,或氮杂环丁烷基、吡咯烷基或哌啶基基团。实施方案16:如实施方案15所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中 R^{17} 为-(C_1 - C_5)亚烷基-C(=O)-,其中 R^{17} 的亚烷基部分任选地被碱性单元(BU)取代。实施方案17:如实施方案15或实施方案16所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中Z为:

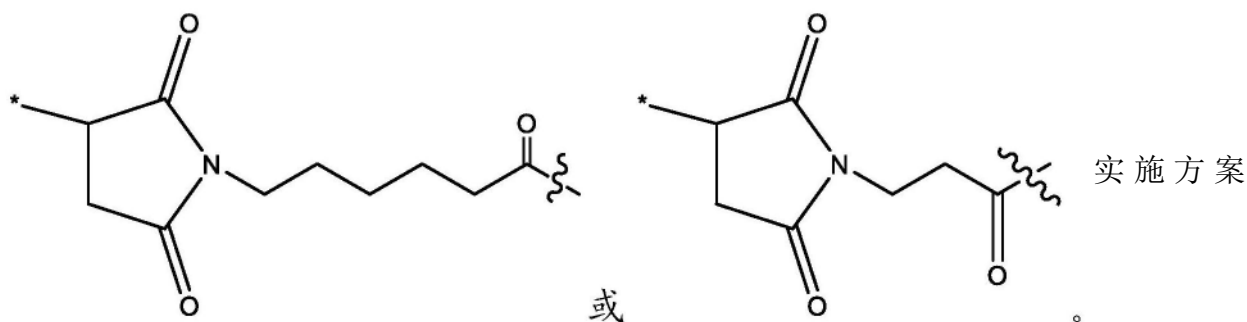




[0573] 实施方案18:如实施方案17所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中Z

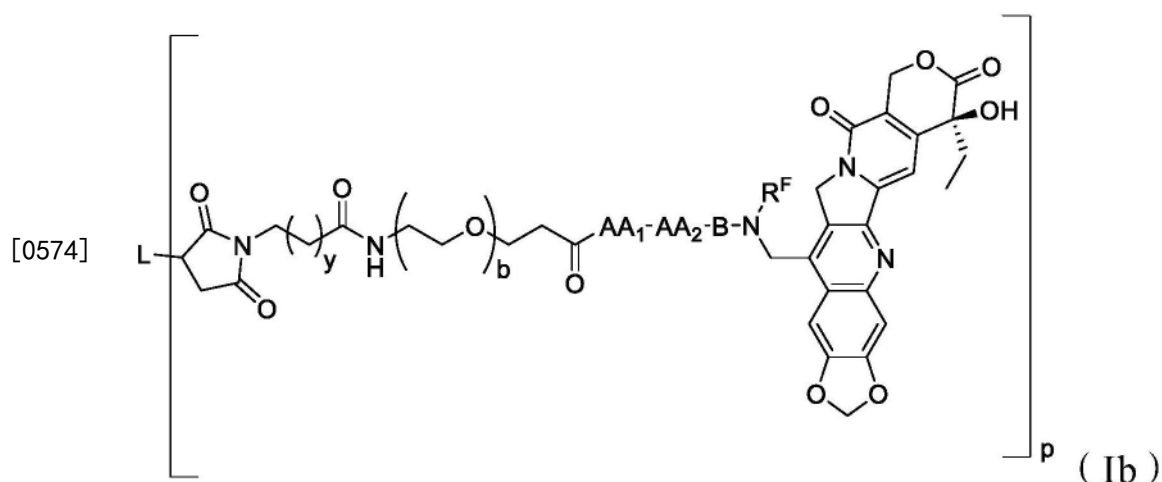


其药学上可接受的盐,其中Z为:



20:如实施方案1至19中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中A为键。实

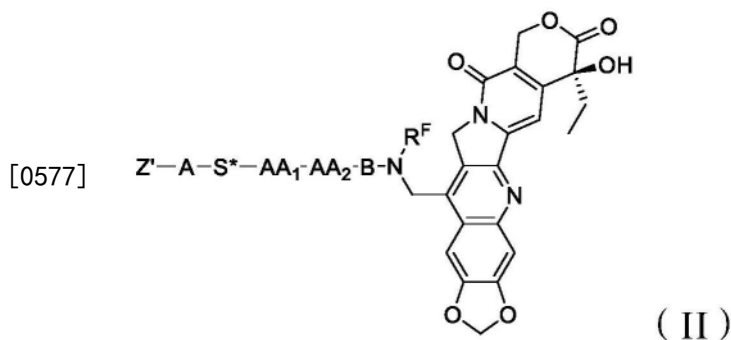
施方案21:如实施方案1所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其具有式(Ib):



[0575] 或其药学上可接受的盐,其中L是配体单元;AA₁是氨基酸;

[0576] AA₂是氨基酸;B是选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp、D-Ala、Aib和pAbz的氨基酸;R^F为氢或C1-C6烷基;b为2至20的整数;y为1至8或1至4的

整数;0或1或4;且p为1至16。实施方案22:如实施方案21所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中y为1。实施方案23:如实施方案21或22所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中b为8。实施方案24:如实施方案21-23任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中AA₁-AA₂是Val-Lys。实施方案25:如实施方案21-24中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中B为选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp和D-Ala的氨基酸。实施方案26:如实施方案21-23任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中AA₁-AA₂-B是Ala-Ala-D-Ala。实施方案27:如实施方案21-26中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中R^F为H。实施方案28:如实施方案1至27中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中p为1至16,或为2至8,或为2,或为4,或为8。实施方案29:如实施方案1至28中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述配体单元是抗体或其抗原结合片段。实施方案30:如实施方案29所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述抗体为单克隆抗体或其抗原结合片段。实施方案31:如实施方案29或实施方案30所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述抗体是cAC10抗CD30抗体或其抗原结合片段。实施方案32:如实施方案29-31中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述抗体或其抗原结合片段包含分别包含SEQ ID NO:1、2、3、4、5和6的氨基酸序列的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。实施方案33:如实施方案31所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含与SEQ ID NO:7的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列,所述轻链可变区包含与SEQ ID NO:8的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列。实施方案34:如实施方案31所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的轻链可变区。实施方案35:如实施方案31所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述抗体包含含有SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的轻链。实施方案36:具有式(II)的喜树碱-接头化合物:

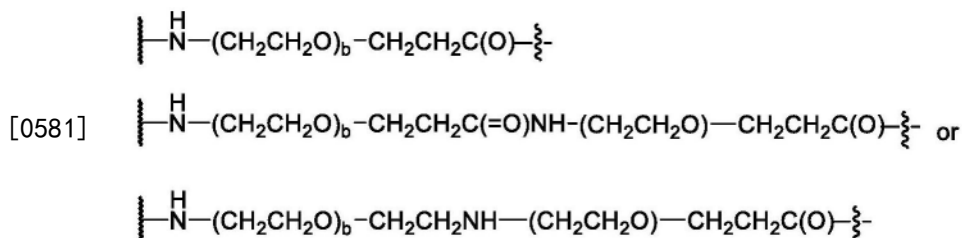


[0578] 或其药学上可接受的盐,其中Z'是延伸单元前体;

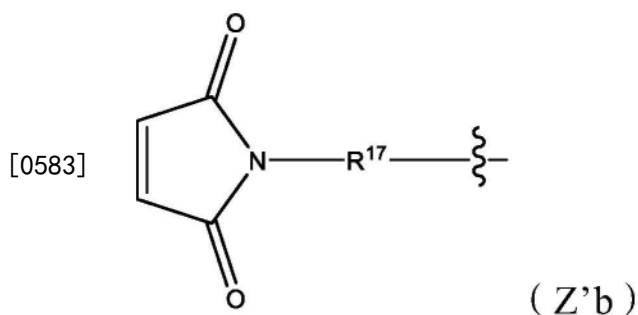
[0579] A是键或连接单元;S*是键或分配剂;AA₁是氨基酸;

[0580] AA₂是氨基酸;B是选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp、D-Ala、Aib和pAbz的氨基酸;且R^F是H或C₁-C₆烷基。实施方案37:如实施方案36所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中AA₁是Val。实施方案38:如实施方案36所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中AA₁是Ala或D-Ala。实施方案39:如实施方案36-38中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中AA₂为Lys。实

实施方案40:如实施方案36-38中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中AA₂为Ala或D-Ala。实施方案41:如实施方案36-40中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中B为选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp和D-Ala的氨基酸。实施方案42:如实施方案36-41中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中B为D-Ala。实施方案43:如实施方案36-41中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中B为Arg、Lys、His、Asp或Glu。实施方案44:如实施方案36-41中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中B为Thr或Gln。实施方案45:如实施方案36-41中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中B为Phe、Val、Leu、Met或Trp。实施方案46:如实施方案36-45中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中R^F为H。实施方案47:如实施方案36-46中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中S*为PEG单元。实施方案48:如实施方案47所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中所述PEG单元具有下式:



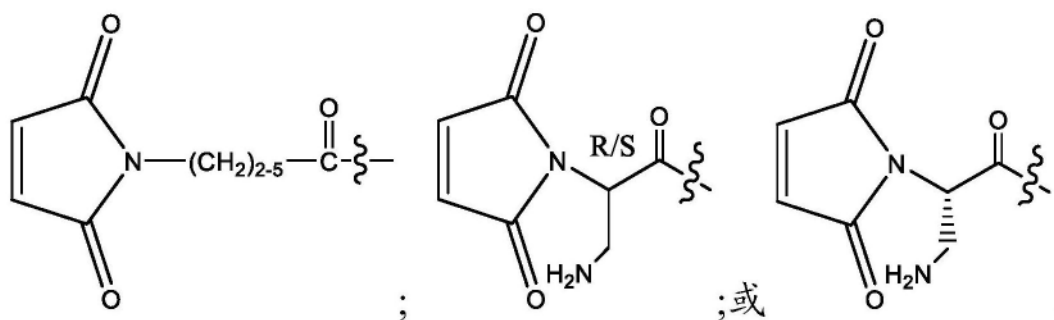
[0582] 其中左边的波浪线表示与A的连接位点,右边的波浪线表示与AA₁的连接位点,且b为2至20的整数,或为2、4、8或12。实施方案49:如实施方案48所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中所述PEG单元具有下式: $\left| \text{---} \text{N}^{\text{H}} \text{---} (\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_b \text{---} \text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O}) \text{---} \right\} \text{---}$, 其中左边的波浪线表示与A的连接位点,右边的波浪线表示与AA₁的连接位点,且b为2至20的整数,或为2、4、8或12。实施方案50:如实施方案36至49中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中Z' 具有式Z' b:



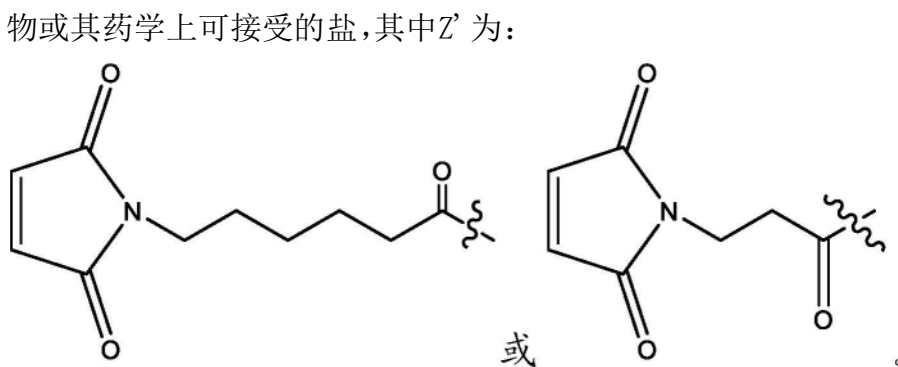
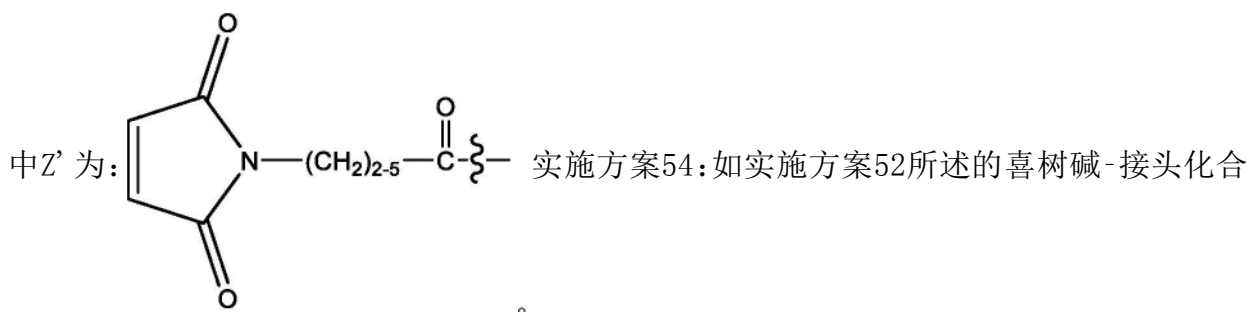
[0584] 其中

[0585] R¹⁷为-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-、-C₃-C₈碳环-、-O-(C₁-C₈亚烷基)-、-亚芳基-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环)-、-(C₃-C₈碳环)-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₃-C₈杂环-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈杂环)-、-(C₃-C₈杂环)-C₁-C₁₀亚烷基-、-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀杂亚烷基-C(=O)-、-C₃-C₈碳环-C(=O)-、-O-(C₁-C₈亚烷基)-C(=O)-、-亚芳基-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-亚芳基-C(=O)-、-亚芳基-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀亚烷基-(C₃-C₈碳环)-C(=O)-、-(C₃-C₈碳环)-C₁-C₁₀亚烷基-C(=O)-、-

C_3-C_8 杂环-C(=O)-、- C_1-C_{10} 亚烷基-(C_3-C_8 杂环)-C(=O)-、-(C_3-C_8 杂环)- C_1-C_{10} 亚烷基-C(=O)-、- C_1-C_{10} 亚烷基-NH-、 C_1-C_{10} 杂亚烷基-NH-、- C_3-C_8 碳环-NH-、-O-(C_1-C_8 亚烷基)-NH-、-亚芳基-NH-、- C_1-C_{10} 亚烷基-亚芳基-NH-、-亚芳基- C_1-C_{10} 亚烷基-NH-、- C_1-C_{10} 亚烷基-(C_3-C_8 碳环)-NH-、-(C_3-C_8 碳环)- C_1-C_{10} 亚烷基-NH-、- C_3-C_8 杂环-NH-、- C_1-C_{10} 亚烷基-(C_3-C_8 杂环)-NH-、-(C_3-C_8 杂环)- C_1-C_{10} 亚烷基-NH-、- C_1-C_{10} 亚烷基-S-、 C_1-C_{10} 杂亚烷基-S-、- C_3-C_8 碳环-S-、-O-(C_1-C_8 亚烷基)-S-、-亚芳基-S-、- C_1-C_{10} 亚烷基-亚芳基-S-、-亚芳基- C_1-C_{10} 亚烷基-S-、- C_1-C_{10} 亚烷基-(C_3-C_8 碳环)-S-、-(C_3-C_8 碳环)- C_1-C_{10} 亚烷基-S-、- C_3-C_8 杂环-S-、- C_1-C_{10} 亚烷基-(C_3-C_8 杂环)-S-、或-(C_3-C_8 杂环)- C_1-C_{10} 亚烷基-S-；其中 R^{17} 任选被碱性单元(BU)取代，所述碱性单元(BU)为 $-(CH_2)_xNH_2$ 、 $-(CH_2)_xNHR^a$ 或 $-(CH_2)_xNR^a_2$ ；其中x为1-4的整数；并且每个 R^a 独立地选自 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基，或两个 R^a 基团与它们所连接的氮结合以形成4至6元杂环烷基环，或氮杂环丁烷基、吡咯烷基或哌啶基基团。实施方案51：如实施方案50所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐，其中 R^{17} 为 $-(C_1-C_5)$ 亚烷基-C(=O)-，其中 R^{17} 的亚烷基部分任选地被碱性单元(BU)取代。实施方案52：如实施方案50或实施方案51所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐，其中 Z' 为：

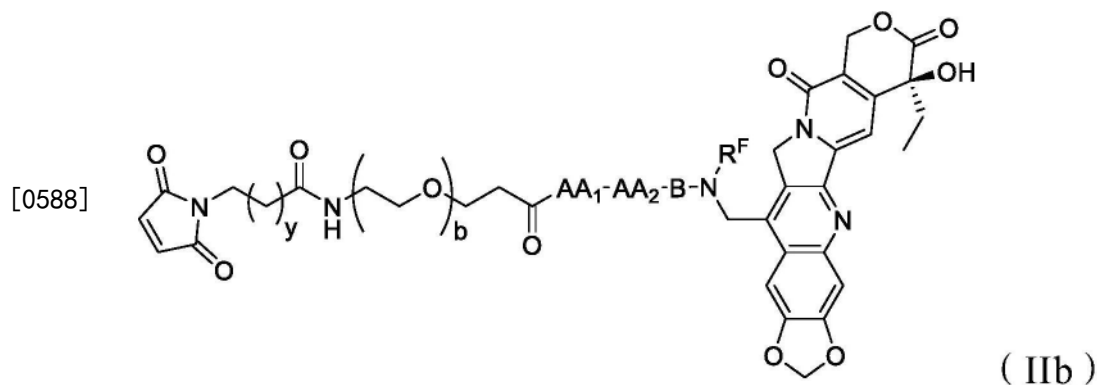


[0586] 实施方案53：如实施方案52所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐，其

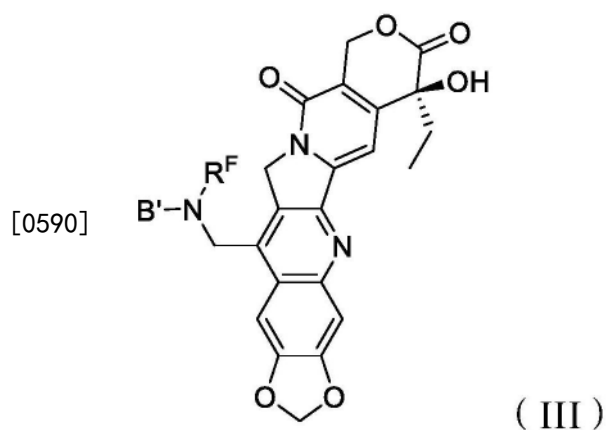


[0587] 实施方案55：如实施方案36至54中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐，其中A为键。实施方案56：如实施方案36所述的喜树碱-接头化合物，其具有式

(IIb) :



[0589] 或其药学上可接受的盐,其中AA₁是氨基酸;AA₂是氨基酸;B是选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp、D-Ala、Aib和pAbz的氨基酸;R^F为氢或C₁-C₆烷基;b为2至20的整数;y为1至8或1至4的整数;或1或4。实施方案57:如实施方案56所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中y为1。实施方案58:如实施方案56或57所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中b为8。实施方案59:如实施方案56-58中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中AA₁-AA₂是Val-Lys。实施方案60:如实施方案56-59中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中B为选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp和D-Ala的氨基酸。实施方案61:如实施方案56-58中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中AA₁-AA₂-B为Ala-Ala-D-Ala。实施方案62:如实施方案56-61中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐,其中R^F为H。实施方案63:一种具有式(III)的喜树碱化合物:



[0591] 或其药学上可接受的盐,其中B'是选自Arg、Lys、His、Asp、Glu、Thr、Gln、Ala、Phe、Val、Leu、Met、Trp、D-Ala、Aib和pAbz的氨基酸;且R^F是H或C₁-C₆烷基。实施方案64:一种治疗有需要的受试者中的癌症的方法,其包括向所述受试者施用有效量的如实施方案1至35中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐或如实施方案63所述的喜树碱化合物或其药学上可接受的盐。实施方案65:如实施方案64所述的方法,其中所述癌症是淋巴瘤、白血病或实体瘤。实施方案66:如实施方案64或实施方案65所述的方法,其中所述方法包括向所述受试者施用有效量的另外的治疗剂,一种或多种放射疗法。实施方案67:一种治疗有需要的受试者中的自身免疫疾病的方法,其包括向所述受试者施用有效量的如实施方

案1至35中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐或如实施方案63所述的喜树碱化合物或其药学上可接受的盐。实施方案68:如实施方案67所述的方法,其中所述自身免疫性疾病是Th2淋巴细胞相关障碍、Th1淋巴细胞相关障碍或活化的B淋巴细胞相关障碍。实施方案69:一种治疗有需要的受试者中的癌症的方法,其包括使所述癌细胞与实施方案63的喜树碱化合物或其药学上可接受的盐接触。实施方案70:如实施方案69所述的方法,其中所述癌症是淋巴瘤、白血病或实体瘤。实施方案71:一种制备实施方案1至35中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐的方法,其包括使抗体或其抗原结合片段与实施方案36至62中任一项所述的喜树碱-接头化合物或其药学上可接受的盐反应。实施方案72:一种药物组合物,其包含实施方案1至35中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐和药学上可接受的载体。实施方案73:一种试剂盒,其包含如实施方案1至35中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐,任选地包含另外的治疗剂。实施方案74:如实施方案1至35中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐或如实施方案63所述的喜树碱化合物或其药学上可接受的盐用于治疗疾病或病症的用途。实施方案75:如实施方案1至35中任一项所述的喜树碱缀合物或其药学上可接受的盐或实施方案63的喜树碱化合物或其药学上可接受的盐和药学上可接受的赋形剂、载体或稀释剂在制备用于治疗疾病或病症的药物中的用途。

[0592] 实施例

[0593] 实验步骤

[0594] 合成的缩写

[0595]

AcOH	乙酸
Boc	叔丁氧羰基保护基
DCM	二氯甲烷
DIPEA	N, N-二异丙基乙胺
DMA	N,N-二甲基乙酰胺
DMF	N,N-二甲基甲酰胺
EtOAc	乙酸乙酯
EtOH	乙醇
Fmoc	9-芴基甲基氨基甲酸酯
HATU	1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1, 2, 3-三唑并[4, 5-b]吡啶鎓 3-氧化物六氟磷酸盐
己烷	己烷
HPLC	高效液相色谱
MeCN	乙腈
MeOH	甲醇
MP	3-马来酰亚胺丙酰基
MS	质谱
OSu	N-羟基琥珀酰亚胺
PEG	聚乙二醇
PPTS	吡啶鎓对甲苯磺酸
Prep	制备型
TFA	三氟乙酸
TSTU	N,N,N',N'-四甲基-O - (N-琥珀酰亚胺基) 脲鎓四氟硼酸盐
UPLC	超高效液相色谱

[0596] 材料和方法

[0597] 除非另外指明, 否则以下材料和方法适用于本部分中所述的合成程序。使用所有市售无水溶剂而无需进一步纯化。原料、试剂和溶剂购自商业供应商 (Sigma Aldrich 和 Fischer)。利用 Biotage Isolera One 快速纯化系统 (Charlotte, NC) 通过快速柱色谱纯化产物。在与 Waters acuity UPLC 系统接口的 Waters 单四检测器质谱仪上进行 UPLC-MS。UPLC 方法描述如下。在配置有 Waters 2998PDA 检测器的 Waters 2454 二元梯度模块溶剂输送系统上进行制备型 HPLC。除非另外指明, 否则产物用 Phenomenex Max-RP 4 μ m Synergi 80 Å 250mm 反相柱的适当直径的柱纯化, 用 0.05% 三氟乙酸水溶液和 0.05% 三氟乙酸乙腈溶液洗脱。

[0598] 一般方法:

[0599] 柱-Waters CORTECS C18 1.6 μ m, 2.1x50mm, 反相柱

[0600] 溶剂 A-0.1% 甲酸水溶液

[0601] 溶剂 B-含 0.1% 甲酸的乙腈

[0602]

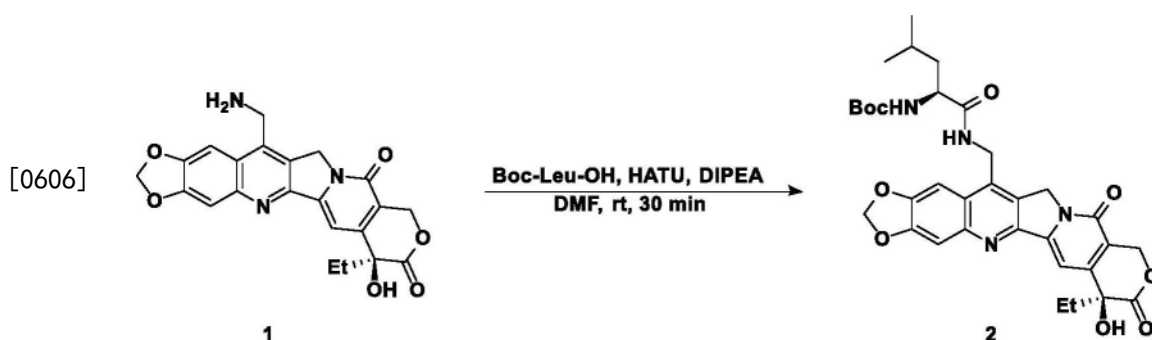
时间 (min)	流量 (mL/min)	A%	B%	梯度
起始	0.6	97	3	

1.70	0.6	40	60	线性
2.00	0.6	5	95	线性
2.50	0.6	5	95	线性
2.80	0.6	97	3	线性
3.00	0.6	97	3	线性
2.80	0.6	97	3	线性

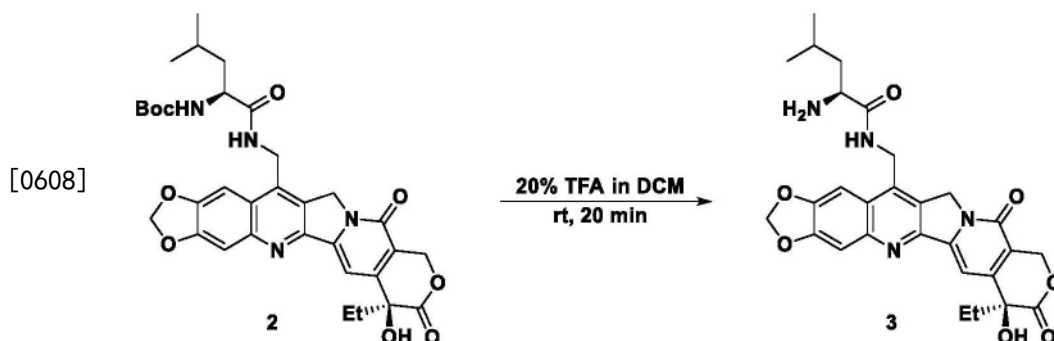
[0603] 喜树碱化合物制剂

[0604] 以下实施例中提供的喜树碱化合物可用于制备本文所述的喜树碱-接头化合物以及喜树碱缀合物。

[0605] 实施例S1



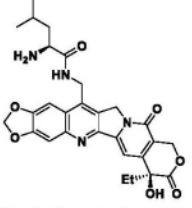
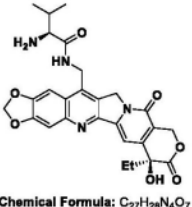
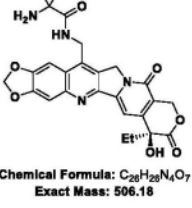
[0607] 向溶于无水DMF的(44 μ L)的Boc-Leu-OH(4.44mg,0.0178mmol)中添加溶于无水DMF的(68 μ L)的HATU(6.77mg,0.0178mmol)。添加DIPEA(5.8 μ L,0.036mmol)并将反应在室温搅拌20分钟。添加溶于无水DMF(50 μ L)中的化合物1(MAD-MDCPT)(5.00mg,0.0119mmol)并将反应搅拌30分钟,此时观察到完全转化。将反应用NaOH(5 μ L)淬灭并浓缩。粗反应混合物通过制备型HPLC 10 $\times$ 250mm Synergi Max-RP 5-60-95%MeCN的0.1%甲酸水溶液纯化。将含有所需产物的级分真空浓缩,得到化合物2,为黄色固体(3.48mg,0.00548mmol,46%)。Rt=1.87min一般方法UPLC。 $C_{33}H_{39}N_4O_9$ 的MS(m/z) [M+H]⁺计算值635.27,实测值为635.49。



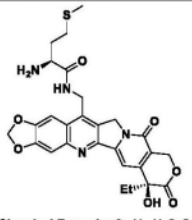
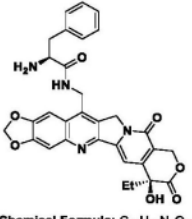
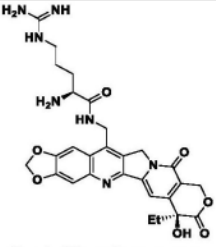
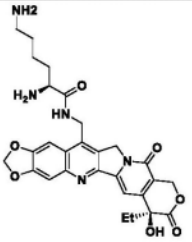
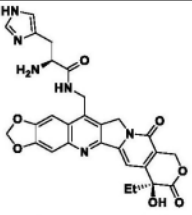
[0609] 将化合物2(3.48mg,0.00548mmol)溶于20%TFA的DCM溶液(1mL)中。将反应在室温下搅拌20分钟,此时通过UPLC-MS观察到完全转化。将反应真空浓缩并通过制备型HPLC 10 $\times$ 250mm Synergi Max RP 5-60-95%MeCN的0.1%甲酸水溶液纯化。将含有所需产物的级分通过冻干浓缩,得到化合物3,为无色固体(1.92mg,3.59 μ mol,66%)。Rt=1.13min一般方法UPLC。 $C_{28}H_{31}N_4O_7$ 的MS(m/z) [M+H]⁺计算值535.22,实测值535.55。

[0610] 表S1.使用与化合物3的制备类似的程序制备化合物3a-n。

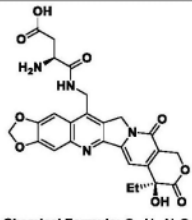
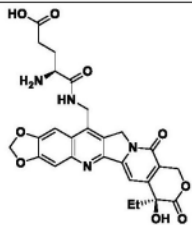
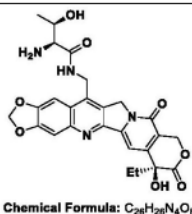
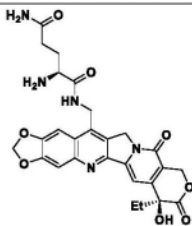
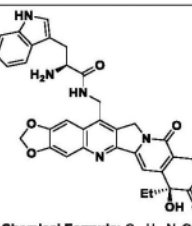
[0611]

编号	结构	母体精确质量	MS 计算 值 (m/z) [M + H] ⁺	MS 观测值 (m/z)	RT (min)
3	 Chemical Formula: C ₂₈ H ₃₀ N ₄ O ₇ Exact Mass: 534.21	534.21	535.22	535.55	1.13
3a	 Chemical Formula: C ₂₆ H ₂₄ N ₄ O ₇ Exact Mass: 492.16	492.16	493.17	493.55	0.98
3b	 Chemical Formula: C ₂₇ H ₂₈ N ₄ O ₇ Exact Mass: 520.20	520.20	521.21	521.58	1.06
3c	 Chemical Formula: C ₂₆ H ₂₄ N ₄ O ₇ Exact Mass: 492.16	492.16	493.17	493.55	0.96
3d	 Chemical Formula: C ₂₈ H ₂₈ N ₄ O ₇ Exact Mass: 506.18	506.18	507.19	507.52	0.99

[0612]

3e	 Chemical Formula: C₂₇H₂₈N₄O₇S Exact Mass: 552.17	552.17	553.18	553.59	1.09
3f	 Chemical Formula: C₃₁H₂₈N₄O₇ Exact Mass: 568.20	568.20	569.21	569.50	1.15
3g	 Chemical Formula: C₂₉H₃₁N₇O₇ Exact Mass: 577.23	577.23	578.24	578.62	0.90
3h	 Chemical Formula: C₂₈H₃₁N₅O₇ Exact Mass: 549.22	549.22	550.23	550.78	1.13
3i	 Chemical Formula: C₂₈H₂₈N₆O₇ Exact Mass: 558.19	558.19	559.20	559.42	1.09

[0613]

3j	 Chemical Formula: C₂₆H₂₄N₄O₉ Exact Mass: 536.15	536.15	537.16	537.59	0.97
3k	 Chemical Formula: C₂₇H₂₆N₄O₉ Exact Mass: 550.17	550.17	551.18	551.97	0.94
3l	 Chemical Formula: C₂₆H₂₆N₄O₉ Exact Mass: 522.18	522.18	523.19	523.52	1.01
3m	 Chemical Formula: C₂₇H₂₇N₅O₈ Exact Mass: 549.19	549.19	550.20	550.59	0.98
3n	 Chemical Formula: C₃₃H₂₈N₅O₇ Exact Mass: 607.21	607.21	608.22	608.89	1.11

[0614] 实施例S2

[0615] MP-PEG8-Ala-Ala-Ala-OH的固相肽合成:

[0616] 预先装载在2-氯三苯甲基树脂上的0.7mmol/g未保护的丙氨酸购自Millipore Sigma。将树脂(0.357克,0.25mmol)添加到反应容器中。树脂用DMF洗涤3次并完全排干。通过在DMF中振摇30分钟使树脂溶胀,并排出。使用一般偶联方法将Fmoc-Ala-OH偶联到树脂上。使用一般的脱保护方法将Fmoc脱保护。使用一般偶联方法将Fmoc-Ala-OH偶联到树脂上,然后进行一般脱保护方法。MP-PEG8-OH(3-马来酰亚胺丙酰基-NH-(CH₂CH₂O)₈-CH₂CH₂C(O)-OH)使用一般偶联方法偶联。然后将树脂用DCM洗涤3次,然后用Et₂O洗涤3次,并在高真

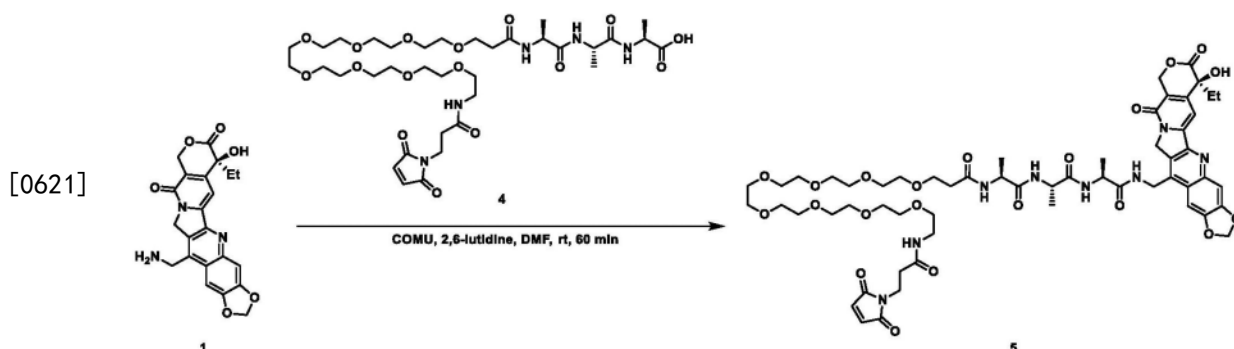
空下放置过夜。通过在3mL六氟异丙醇和7mL DCM中旋转1小时,将肽断裂。然后将树脂过滤并用DCM冲洗3次,然后将溶液真空浓缩,得到粗化合物4,为无色无定形固体(212.3mg, 0.2634mmol, 105%)。Rt=0.93min一般方法UPLC。 $C_{35}H_{60}N_5O_{16}$ 的MS (m/z) $[M+H]^+$ 计算值806.89,实测值806.87。

[0617] 一般Fmoc脱保护程序

[0618] 将20%哌啶的DMF (5mL) 溶液添加到树脂中,振摇1分钟,排干液体。向树脂中添加另外5mL20%哌啶的DMF溶液,振摇30分钟,排干液体。将树脂用DMF洗涤4次并完全排干。

[0619] 一般偶联程序

[0620] 制备Fmoc氨基酸 (0.75mmol)、HATU (0.75mmol)、DIPEA (1.5mmol) 的DMF (5mL) 溶液。将溶液添加到树脂中,并振摇60分钟。排出反应容器并用DMF洗涤4次。



[0622] 将化合物4 (38.3mg, 0.0475mmol) 溶解于无水DMF (0.38mL) 中。添加COMU (15.2mg, 0.0356mmol) 的DMF (0.15mL) 溶液,然后添加2,6-二甲基吡啶 (8.25 μ L, 0.0712mmol)。将反应搅拌10分钟以使酸完全活化为NHS酯。将化合物1 (5.0mg, 0.0119mmol) 的DMF (0.050mL) 溶液添加至反应。5分钟后观察到完全转化。将反应用乙醇 (25 μ L) 淬灭并通过制备型HPLC纯化 (5-60-95%MeOH/H₂O, 0.1%甲酸)。将含有所需产物的级分真空浓缩,得到化合物5,为黄色固体 (12.3mg, 0.00740mmol, 31%)。Rt=1.24min一般方法UPLC。 $C_{57}H_{77}N_8O_{21}$ 的MS (m/z) $[M+H]^+$ 计算值1209.52,实测值1209.83。

[0623] 表S2. 使用与改变丙氨酸肽序列的化合物5类似的程序制备化合物5a-c。PEG8是-NH-(CH₂CH₂O)₈-CH₂CH₂C(O)-。

编号	Z'	S*	AA ₁	AA ₂	B	R ^F	母体精确质量	MS 计算值 (m/z) $[M+H]^+$	MS 观测值 (m/z)	RT (min)
5	MP	PEG8	Ala	Ala	Ala	H	1208.51	1209.52	1209.83	1.24
5a	MP	PEG8	D-Ala	Ala	Ala	H	1208.51	1209.52	1210.12	1.24
5b	MP	PEG8	Ala	D-Ala	Ala	H	1208.51	1209.52	1210.22	1.25
5c	MP	PEG8	Ala	Ala	D-Ala	H	1208.51	1209.52	1210.22	1.24

[0625] 实施例S3

[0626] MP-PEG8-Val-Lys-D-Ala-OH的固相肽合成:

[0627] 预先装载在2-氯三苯甲基树脂上的0.75mmol/g未保护的D-丙氨酸购自Iris Biotech, Resin。将树脂 (0.333克, 0.25mmol) 添加到反应容器中。树脂用DMF洗涤3次并完全

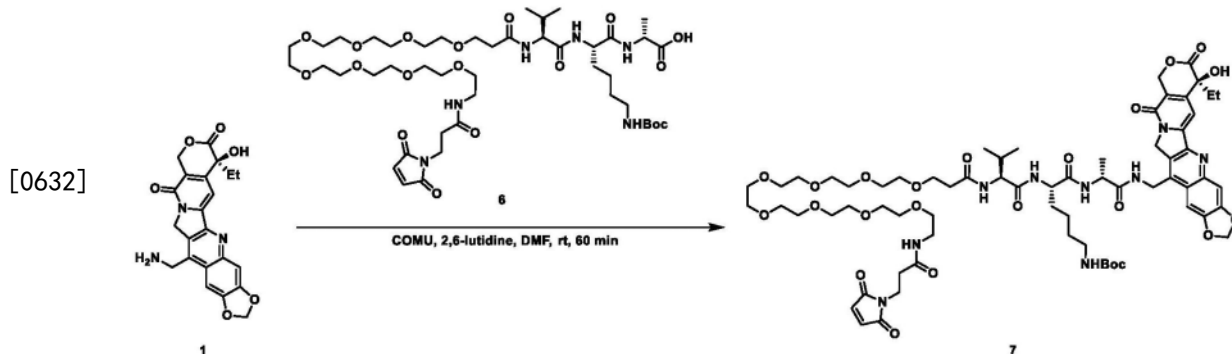
排干。通过在DMF中振摇30分钟使树脂溶胀,并排出。使用一般偶联方法将Fmoc-Lys(Boc)-OH偶联到树脂上。使用一般的脱保护方法将Fmoc脱保护。使用一般偶联方法将Fmoc-Val-OH偶联到树脂上,随后进行一般脱保护方法。使用一般偶联程序偶联MP-PEG8-OH。然后将树脂用DCM洗涤3次,然后用Et₂O洗涤3次,并在高真空下放置过夜。通过在3mL六氟异丙醇和7mLDCM中旋转1小时,将肽断裂。然后过滤树脂,用DCM冲洗3次,然后真空浓缩溶液,得到粗化合物6,为无色无定形固体(215.7mg,0.2176mmol,87%)。Rt=1.31min一般方法UPLC。C₄₅H₇₉N₆O₁₈的MS(m/z) [M+H]⁺计算值991.54,实测值992.15。

[0628] 一般Fmoc脱保护程序

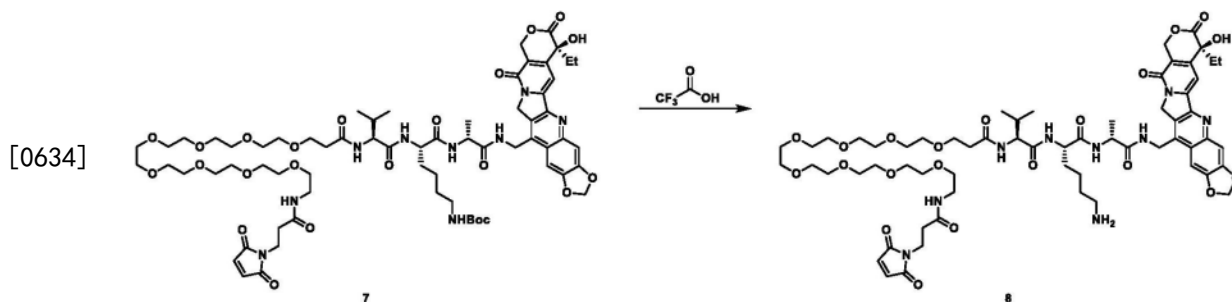
[0629] 将20%哌啶的DMF(5mL)溶液添加到树脂中,振摇1分钟,排干液体。向树脂中添加另外5mL20%哌啶的DMF溶液,振摇30分钟,排干液体。将树脂用DMF洗涤4次并完全排干。

[0630] 一般偶联程序

[0631] 制备Fmoc氨基酸(0.75mmol)、HATU(0.75mmol)、DIPEA(1.5mmol)的DMF(5mL)溶液。将溶液添加到树脂中,并振摇60分钟。排出反应容器并用DMF洗涤4次。



[0633] 将化合物6(47.04mg,0.0475mmol)溶解于无水DMF(0.47mL)中。添加COMU(15.2mg,0.0356mmol)的DMF(0.15mL)溶液,然后添加2,6-二甲基吡啶(8.25μL,0.0712mmol)。将反应搅拌10分钟以使酸完全活化为NHS酯。将化合物1(5.0mg,0.0119mmol)的DMF(0.050mL)溶液添加至反应。10分钟后观察到完全转化。将反应用乙醇(25μL)淬灭并通过制备型HPLC纯化(5-60-95%MeOH/H₂O,0.1%甲酸)。将含有所需产物的级分真空浓缩,得到化合物7,为黄色固体(1.9mg,0.00136mmol,12%)。Rt=1.53min一般方法UPLC。C₆₇H₉₆N₉O₂₃的MS(m/z) [M+H]⁺计算值1394.66,实测值1395.11。



[0635] 将化合物7溶解在DCM中的20%TFA中。通过UPLC-MS监测反应完成。10分钟后观察到完全转化。将反应物在真空中浓缩,在20%MeCN的0.1%甲酸水溶液中重构,并通过制备型HPLC10 x 250mm Synergi Max-RP 5-35-95%MeCN的0.1%甲酸水溶液纯化。将含有所需产物的级分冻干,得到化合物8,为黄色粉末(1.66mg,0.00128mmol,91%)。Rt=1.27min—

般方法UPLC。 $C_{62}H_{88}N_9O_{21}$ 的MS (m/z) $[M+H]^+$ 计算值1294.61,实测值1294.81。

[0636] 表S3. 使用与改变B处的氨基酸的化合物8的类似的程序制备化合物8a-8o。化合物8o含有PEG4,其为-NH- $(CH_2CH_2O)_4$ - $CH_2CH_2C(O)-$ 。

[0637]

编 号	Z'	S*	AA ₁	AA ₂	B	R ^F	母体精 确质量	MS 计 算值 (m/z) [M + H] ⁺	MS 观测 者 (m/z)	RT (mi n)
8	MP	PEG8	Val	Lys	D-Ala	H	1293.60	1294.61	1294.81	1.27
8a	MP	PEG8	Val	Lys	pAbz	H	1341.60	1342.61	1343.02	1.11
8b	MP	PEG8	Val	Lys	Aib	H	1307.61	1308.62	1309.07	1.28
8c	MP	PEG8	Val	Lys	Trp	H	1408.64	1409.65	1410.34	1.35
8d	MP	PEG8	Val	Lys	Thr	H	1323.61	1324.62	1324.98	1.21

[0638]

8e	MP	PEG8	Val	Lys	Lys	H	1350.66	1351.67	1351.94	1.14
8f	MP	PEG8	Val	Lys	Met	H	1353.60	1354.61	1355.15	1.30
8g	MP	PEG8	Val	Lys	Phe	H	1369.63	1370.64	1370.96	1.34
8h	MP	PEG8	Val	Lys	His	H	1359.62	1360.63	1361.16	1.21
8i	MP	PEG8	Val	Lys	Gln	H	1350.62	1351.63	1352.04	1.16
8j	MP	PEG8	Val	Lys	Leu	H	1335.65	1336.66	1337.10	1.39
8k	MP	PEG8	Val	Lys	Ala	H	1293.60	1294.61	1294.91	1.26
8l	MP	PEG8	Val	Lys	Val	H	1321.63	1322.64	1322.94	1.31
8m	MP	PEG8	Val	Lys	Asp	H	1337.59	1338.60	1338.85	1.24
8n	MP	PEG8	Val	Lys	Arg	H	1378.66	1379.67	1380.17	1.23
8o	MP	PEG4	Val	Lys	Glu	H	1175.50	1176.51	1176.44	1.11

[0639] 喜树碱缀合方法

[0640] 在50%丙二醇(PG) 1XPBS混合物中制备完全或部分还原的ADC。将一半PG添加到还原的mAb中,将一半PG添加到1mMDMSO喜树碱药物-接头储备液中。将PG/药物-接头混合物以25%的部分添加到还原的mAb中。在完成药物-接头的添加后,通过用活性炭(1mg活性炭对1mgmAb)处理去除过量的药物-接头。然后通过过滤去除炭,并使用NAP5或PD10柱将所得ADC缓冲液交换到5%海藻糖的1X PBS pH7.4溶液中。根据该方法制备的ADC和它们的药物-抗体比提供于表S4中。

[0641] 表S4. 与抗体连接的药物-接头的平均数称为药物-抗体比(DAR)数。

[0642]	ADC	DAR
	Ag1-5	4.0
	Ag1-5a	7.9
	Ag1-5b	8.1
	Ag1-5c	8.2
[0643]	Ag1-8	8.9
	Ag1-8a	7.9
	Ag1-8b	8.9
	Ag1-8c	7.9
	Ag1-8d	8.6
	Ag1-8e	8.3
	Ag1-8f	4.1
	Ag1-8k	6.5
	Ag1-8m	8.3
	Ag1-8n	3.9
	Ag1-8o	7.9

[0644] 生物学实施例

[0645] 实施例B1: 体外小分子和ADC评估

[0646] 对多种癌细胞系评估体外效力。在IDEXX Bioresearch通过STR图谱鉴定所有细胞系,并在复苏后培养不超过2个月。将对数期生长中培养的细胞在含有150 μ l补充有20%FBS的RPMI 1640的96孔板中接种24小时。以4x工作浓度制备抗体-药物缀合物在细胞培养基中的系列稀释液,并将50 μ l各稀释液添加到96孔板中。在添加测试品后,将细胞与测试品一起在37 $^{\circ}$ C下培养4天。96小时后,通过**CellTiter-Glo[®]** (Promega, Madison, WI) 评估增长抑制,并在平板读数器上测量发光。一式三份测定的IC₅₀值在本文中定义为导致细胞生长相对于未处理的对照减少50%的浓度。

[0647] 在下表中,ADC和喜树碱游离药物的IC₅₀值分别以ng/mL和mmol/mL浓度给出。在暴露于ADC96小时后通过CellTiter-Glo染色测定细胞活力。ND=未确定。Ag1是靶向癌细胞上普遍存在且易于内化的抗原的抗体。

[0648] 表1A-1B. 喜树碱ADC和喜树碱化合物作为游离药物的体外效力(IC₅₀值)。

[0649] 表1A. Ag1ADC靶向肾癌细胞(786-O)、胰腺癌细胞(BxPC3)、MDR(-)和MDR(+)急性早幼粒细胞白血病细胞(分别为HL-60和HL60/RV)、霍奇金淋巴瘤细胞(L540cy)、多发性骨髓瘤细胞(MM.1R)、急性髓性白血病细胞(MOLM13)、黑素瘤细胞(SK-MEL-5)和B淋巴细胞癌细胞(SU-DHL-4和U266)。化合物8p为MP-PEG4-Val-Glu-Glu-MAD-MDCPT。

[0650]

ADC	786-O		BxPC3		HL-60		HL60/RV	
Ag1-5	>1K	88	>1K	74	>1K	ND	>1K	100
Ag1-5a	>1K	ND	>1K	91	>1K	86	>1K	ND
Ag1-5b	275	37	67	44	442	0	>1K	100
Ag1-5c	190	37	58	45	243	20	>1K	ND
Ag1-8	28	16	27	21	114	3	>1K	96
Ag1-8a	>1K	57	>1K	49	921	ND	>1K	ND
Ag1-8b	456	30	53	38	>1K	ND	>1K	96
Ag1-8c	>1K	79	>1K	50	>1K	ND	>1K	ND
Ag1-8d	59	26	108	37	94	4	>1K	ND
Ag1-8e	440	ND	140	43	>1K	ND	>1K	ND
Ag1-8f	>1K	70	398	47	573	33	>1K	100
Ag1-8k	716	47	90	48	161	6	>1K	ND
Ag1-8m	21	15	25	41	128	4	27	2
Ag1-8n	746	18	306	41	>1K	ND	>1K	64
Ag1-8o	43	19	101	43	166	6	58	2
Ag1-8p	13	ND	31	ND	52	ND	13	ND
ADC	L540cy		MM.1R		MOLM-13			
Ag1-5	28	3	75	20	156	4		
Ag1-5a	>1K	83	45	30	257	17		
Ag1-5b	16	2	11	1	96	0		
Ag1-5c	6	3	3	1	40	1		
Ag1-8	4	2	2	1	29	0		
Ag1-8a	19	2	9	3	205	2		
Ag1-8b	>1K	56	>1K	61	219	3		
Ag1-8c	117	12	18	5	217	1		
Ag1-8d	4	2	3	0	29	0		
Ag1-8e	17	2	21	6	156	1		
Ag1-8f	18	2	10	0	123	0		
Ag1-8k	6	3	5	1	60	2		
Ag1-8m	3	2	4	0	57	0		

[0651]

Ag1-8n	16	2	21	3	152	4
Ag1-8o	4	2	3	0	36	0
Ag1-8p	3	ND	ND	ND	14	ND
ADC	SK-MEL-5		SU-DHL-4		U-266	
Ag1-5	>1K	94	19	9	>1K	61
Ag1-5a	>1K	98	>1K	78	>1K	33
Ag1-5b	>1K	56	3	3	29	20
Ag1-5c	554	4	2	3	9	21
Ag1-8	129	25	1	1	8	20
Ag1-8a	150	13	1	3	50	37
Ag1-8b	231	40	>1K	58	14	22
Ag1-8c	>1K	86	7	1	44	27
Ag1-8d	78	35	1	3	22	19
Ag1-8e	>1K	ND	15	4	87	38
Ag1-8f	>1K	ND	3	1	133	7
Ag1-8k	>1K	50	1	3	14	21
Ag1-8m	87	32	2	2	13	22
Ag1-8n	>1K	58	12	2	97	29
Ag1-8o	194	33	1	3	23	20
Ag1-8p	ND	ND	ND	ND	ND	ND

[0652] 表1B. 靶向肾癌细胞 (786-0)、胰腺癌细胞 (BxPC3)、MDR (-) 和MDR (+) 急性早幼粒细胞白血病细胞 (分别为HL-60和HL60/RV)、霍奇金淋巴瘤细胞 (L540cy)、多发性骨髓瘤细胞 (MM.1R)、急性髓性白血病细胞 (MOLM13)、伯基特淋巴瘤细胞 (Ramos)、黑素瘤细胞 (SK-MEL-5) 和B淋巴细胞癌细胞 (SU-DHL-4和U266) 的喜树碱游离药物。

[0653]

编号	786-O		BxPC3		HL-60		HL60/RV	
3	>1K	ND	9	5	30	2	194	0
3a	381	ND	42	7	106	2	416	14
3b	>1K	ND	12	11	23	2	857	ND
3c	>1K	98	36	4	101	2	>1K	125
3d	>1K	ND	10	7	25	2	840	ND
3e	>1K	ND	19	10	92	2	370	11
3f	>1K	99	39	10	88	2	>1K	ND
3g	>1K	97	18	5	191	3	51	2

[0654]

3h	>1K	69	42	6	552	ND	128	0
3i	22	2	331	35	>1K	95	>1K	100
3j	26	3	648	ND	>1K	ND	>1K	100
3k	21	2	>1K	ND	>1K	ND	>1K	ND
3l	>1K	95	64	25	298	1	>1K	100
3m	51	1	160	25	823	ND	>1K	ND
3n	83	8	143	23	526	ND	>1K	100
3o	>1K	ND	13	17	731	ND	>1K	ND
No.	L540cy		MM.1R		MOLM-13		Ramos	
3	5	2	4	0	8	0	2	0
3a	12	2	8	0	23	0	6	1
3b	6	2	4	1	5	0	1	1
3c	14	2	5	1	21	0	4	1
3d	4	2	3	0	5	0	1	0
3e	13	2	6	1	16	1	4	1
3f	34	2	9	0	14	0	4	1
3g	4	2	6	0	57	0	6	1
3h	7	2	13	0	97	0	12	0
3i	321	2	147	0	996	ND	197	0
3j	687	ND	318	ND	588	ND	99	1
3k	415	ND	576	ND	>1K	71	451	ND
3l	27	2	22	0	45	0	8	1
3m	76	1	30	0	125	0	34	0
3n	185	2	74	0	80	0	18	1
3o	7	2	5	0	79	0	1	0
编号	SK-MEL-5		SU-DHL-4		U-266			
3	15	7	3	0	6	14		
3a	49	9	8	0	20	15		
3b	14	8	2	0	8	15		
3c	47	7	5	0	12	14		
3d	14	5	3	0	4	15		
3e	27	6	5	0	12	15		
3f	45	8	5	1	17	17		
3g	34	1	6	1	15	16		
3h	60	0	14	0	36	20		
3i	414	50	255	2	452	ND		
3j	910	ND	145	1	436	12		

[0655]

3k	>1K	ND	667	ND	>1K	ND
3l	109	9	16	0	57	15
3m	208	13	71	0	86	15
3n	330	23	27	1	62	15
3o	18	10	2	1	4	14

[0656] 实施例B2:聚集水平

[0657] 表2. 基于肽的喜树碱药物-接头的ADC聚集水平。通过体积排阻色谱法 (SEC) 测定ADC聚集。当亲水性肽序列和/或PEG4单元包括在基于肽的喜树碱药物-接头构建体中时, 观察到较低水平的聚集。

[0658] 表2

[0659]

ADC	药物-接头描述	% 聚集
Ag1-5	MP-PEG8-Ala-Ala-Ala-MAD-MDCPT	5
Ag1-5a	MP-PEG8-Ala-D-Ala-Ala-MAD-MDCPT	13
Ag1-5b	MP-PEG8-D-Ala-Ala-Ala-MAD-MDCPT	12
Ag1-5c	MP-PEG8-Ala-Ala-D-Ala-MAD-MDCPT	<5
Ag1-8	MP-PEG8-Val-Lys-D-Ala-MAD-MDCPT	<5
Ag1-8a	MP-PEG8-Val-Lys-pAbz-MAD-MDCPT	51
Ag1-8b	MP-PEG8-Val-Lys-Aib-MAD-MDCPT	29
Ag1-8c	MP-PEG8-Val-Lys-Trp-MAD-MDCPT	22
Ag1-8d	MP-PEG8-Val-Lys-Thr-MAD-MDCPT	<5
Ag1-8e	MP-PEG8-Val-Lys-Lys-MAD-MDCPT	<5
Ag1-8f	MP-PEG8-Val-Lys-Met-MAD-MDCPT	53
Ag1-8k	MP-PEG8-Val-Lys-Ala-MAD-MDCPT	<5
Ag1-8m	MP-PEG8-Val-Lys-Asp-MAD-MDCPT	5
Ag1-8n	MP-PEG8-Val-Lys-Arg-MAD-MDCPT	<5
Ag1-8o	MP-PEG4-Val-Lys-Glu-MAD-MDCPT	<5

[0660] 实施例B3:药物释放研究

[0661] 在24h时在ALCL系Karpas299和HL细胞系L540cy中研究Ag1-8ADC (DAR8)、Ag1-8kADC (DAR8) 和Ag1-8oADC (DAR8) 的体外药物释放。将Karpas 299 (CD30阳性, T细胞淋巴瘤) 和L540cy (CD30阳性, 霍奇金淋巴瘤) 细胞以5E6个细胞/mL (总共5E6个细胞) 接种于新鲜培养基 (分别为RPMI+10%FBS, RPMI+20%FBS) 中。铺板后, 以100ng/mL培养物对细胞施用Ag1-8ADC (DAR8)、Ag1-8kADC (DAR8) 或Ag1-8oADC (DAR8)。将处理的细胞在37℃孵育并在给药后24小时收获。收获后, 将细胞沉淀, 用PBS洗涤并在小体积的PBS中冷冻。对于分析质谱 (LC-MS/MS) 样品制备, 在含有内标物的冷甲醇中提取细胞并在冰上孵育。孵育后, 将样品离心, 去除上清液 (含有提取的小分子) 并在氮气下干燥。将干燥的样品在含有0.1%甲酸的90%水中重构, 并注入与Sciex 6500+三重四极质谱仪连接的Supelco Discovery C18 (3μm, 2.1x50mm) 柱中。

[0662] 如图1所示, 在用Ag1-8 (DAR8) 处理24h后的Karpas299和L540cy细胞中, 存在化合

物3c并且化合物1低于测定的检测极限。游离药物化合物1(在3个样品中的2个中可检测到)和化合物3a在用Ag1-8kADC (DAR8) 处理24h后存在于Karpas299细胞中。在用Ag1-8k (DAR8) 处理24小时后的L540cy细胞中,存在化合物3a并且化合物1低于测定的检测极限。游离药物化合物1和化合物3k在用Ag1-80 (DAR8) 处理24小时后存在于Karpas299细胞中。在用Ag1-80 (DAR8) 处理24小时后的L540cy细胞中,存在化合物3k且化合物1低于测定的检测极限。

[0663] 在CD30+亲代DEL和CD30/MDR+DEL-BVR细胞系上的差异活性

[0664] 喜树碱缀合物对CD30+亲代DEL和CD30/MDR+DEL-BVR细胞系的不同活性。亲代DEL淋巴瘤细胞系在维布妥昔单抗存在下培养以诱导MDR表型的过表达,产生DEL维布妥昔单抗抗性系(DEL-BVR)。

[0665] 体内模型方法

[0666] 所有实验根据动物护理和使用委员会在由实验动物护理评估和认可协会充分认可的设施中进行。在786-0、L540cy和Karpas/Karpas-BVR、De1BVR、Karpas 299、L428、DEL-15和L82异种移植模型中进行功效实验。肿瘤细胞作为细胞悬浮液皮下植入免疫受损的SCID或裸小鼠中。在肿瘤移植后,当平均肿瘤体积达到约100mm³时,将小鼠随机分成研究组(每组5只小鼠)。ADC或对照通过腹膜内注射给药一次。使用公式(L×W²)/2确定作为时间函数的肿瘤体积。当肿瘤体积达到750mm³时,将动物安乐死。显示持久消退的小鼠在植入后10-12周后终止。

[0667] 动物植入有L540cy细胞。7天后,将动物分成平均肿瘤大小为100mm³的组,然后用单剂量的3或10mg/kg的喜树碱ADC治疗。在另一个实验中,用单剂量的1或3mg/kg的喜树碱ADC治疗动物。在研究过程中评估动物的肿瘤大小和生命体征。

[0668] 动物植入有786-0细胞。在第10天,将动物分成平均肿瘤大小为100mm³的组,然后用单剂量的10mg/kg的喜树碱ADC治疗。在研究过程中评估动物的肿瘤大小和生命体征。

[0669] 动物植入有CD30+Karpas299和CD30-Karpas299-维布妥昔单抗抗性(Karpas299-BVR)细胞的1:1混合物。8天后,将动物分成平均肿瘤大小为100mm³的组,然后用单剂量的10mg/kg的喜树碱ADC治疗。在另一个实验中,用单剂量的3或10mg/kg的喜树碱ADC治疗动物。在研究过程中评估动物的肿瘤大小和生命体征。

[0670] 动物植入有De1BVR细胞。在第7天,将动物分成平均肿瘤大小为100mm³的组,然后用单剂量的0.3或1mg/kg的喜树碱ADC治疗。在研究过程中评估动物的肿瘤大小和生命体征。

[0671] 动物植入有De1BVR细胞。在第7天,将动物分成平均肿瘤大小为100mm³的组,然后用单剂量的1或2mg/kg的喜树碱ADC或用单剂量的0.6或1mg/kg的喜树碱ADC治疗。在研究过程中评估动物的肿瘤大小和生命体征。

[0672] 动物植入有Karpas299细胞。7天后,将动物分成平均肿瘤大小为100mm³的组,然后用单剂量的非结合对照,以1、3或10mg/kg的h00或喜树碱ADC,以单剂量或多剂量进行治疗。在研究过程中评估动物的肿瘤大小和生命体征。

[0673] 动物植入有L428细胞。7天后,将动物分成平均肿瘤大小为100mm³的组,然后以1、3或10mg/kg的喜树碱ADC,以单剂量或多剂量治疗。在研究过程中评估动物的肿瘤大小和生命体征。

[0674] 动物植入有DEL-15细胞。7天后,将动物分成平均肿瘤大小为100mm³的组,然后用

单剂量的0.1、0.3或1mg/kg喜树碱ADC治疗。在研究过程中评估动物的肿瘤大小和生命体征。

[0675] 动物植入有L82细胞。7天后,将动物分成平均肿瘤大小为100mm³的组,然后用单剂量的1mg/kg的喜树碱ADC治疗。在研究过程中评估动物的肿瘤大小和生命体征。

[0676] 本研究的结果显示所测试的ADC在这些动物模型中具有活性。

[0677] 序列表

[0678]

SEQ ID NO	描述	序列
1	cAC10 CDR-H1	DYYIT
2	cAC10 CDR-H2	WIYPGSGNTKYNEKFKG
3	cAC10 CDR-H3	YGNWTFAY
4	cAC10 CDR-L1	KASQSVDFDGD SYMN
5	cAC10 CDR-L2	AASNLES
6	cAC10 CDR-L3	QQSNEDPWT
7	cAC10 VH	QIQ LQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYITWVKQKPGQGLEWIGWIYPGSGNTKY NEKFKGKATLTVDTSSTAFMQLSSLTSED TAVYFCANYGNWTFAYWGQGTQVTVSA
8	cAC10 VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDFDGD SYMNWYQQKPGQPPKVLIIYAASNLES GIPARFSGSGGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQQSNEDPWTFGGGTKLEIK

[0679]

9	cAC10 HC	QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYITWVKQKPGQGLEWIGWIYPGSGNTKY NEKFKGKATLTVDTSSSTAFAFQLSSLTSEDVAVYFCANYGNYWFAYWGQGTQVTVSAAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
10	cAC10 HC v2	QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYITWVKQKPGQGLEWIGWIYPGSGNTKY NEKFKGKATLTVDTSSSTAFAFQLSSLTSEDVAVYFCANYGNYWFAYWGQGTQVTVSAAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
11	cAC10 LC	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDFDGDSYMNWYQQKPGQPPKVLIIAASNLES GIPARFSGSGGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQQSNEDPWTFGGGKLEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

序列表

<110> 西雅图基因公司

<120> 喜树碱肽缀合物

<130> 761682002540

<140> 未指认

<141> 同时随附

<160> 11

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 1

[0001] Asp Tyr Tyr Ile Thr
1 5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 2

Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 3

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 3

Tyr Gly Asn Tyr Trp Phe Ala Tyr

1

5

<210> 4

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 4

Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Phe Asp Gly Asp Ser Tyr Met Asn

1

5

10

15

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

[0002]

<400> 5

Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser

1

5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 6

Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Trp Thr

1

5

<210> 7

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 7

Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Tyr Ile Thr Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Phe
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ala Asn Tyr Gly Asn Tyr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ala
 115

<210> 8

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

[0003]

<220>

<223> 合成构建体

<400> 8

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Phe Asp
 20 25 30
 Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45
 Lys Val Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
 65 70 75 80
 Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
 85 90 95
 Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 9

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 9

Gln	Ile	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Pro	Glu	Val	Val	Lys	Pro	Gly	Ala
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asp	Tyr
			20					25						30	
Tyr	Ile	Thr	Trp	Val	Lys	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile
		35					40					45			
Gly	Trp	Ile	Tyr	Pro	Gly	Ser	Gly	Asn	Thr	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe
	50					55					60				
Lys	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Thr	Ser	Ser	Ser	Thr	Ala	Phe
65					70					75					80
Met	Gln	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys
				85					90						95
Ala	Asn	Tyr	Gly	Asn	Tyr	Trp	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln
			100					105						110	
Val	Thr	Val	Ser	Ala	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu
		115					120					125			
Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys
					135						140				
Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser
145					150					155					160
Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser
				165					170					175	
[0004]	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser
			180						185					190	
Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn
		195					200					205			
Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His
	210					215					220				
Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val
225					230					235					240
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr
				245					250					255	
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu
		260						265				270			
Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
		275					280					285			
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
	290					295					300				
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
305					310					315					320
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
				325					330					335	
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
		340						345					350		
Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu
		355					360					365			
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
	370						375					380			

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 10

<211> 446

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 10

[0005] Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Tyr Ile Thr Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Phe
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ala Asn Tyr Gly Asn Tyr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 210 215 220
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255

```

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
      260                      265                      270
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
      275                      280                      285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
      290                      295                      300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
      305                      310                      315                      320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
      325                      330                      335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
      340                      345                      350
Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
      355                      360                      365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
      370                      375                      380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
      385                      390                      395                      400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
      405                      410                      415
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
      420                      425                      430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
      435                      440                      445

```

[0006]

<210> 11

<211> 218

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 11

```

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1          5          10          15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Phe Asp
      20          25          30
Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
      35          40          45
Lys Val Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
      50          55          60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
      65          70          75          80
Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
      85          90          95
Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
      100         105         110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
      115         120         125

```

[0007] Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

24小时下Karpas 299和 L540cy细胞中的体外药物释放

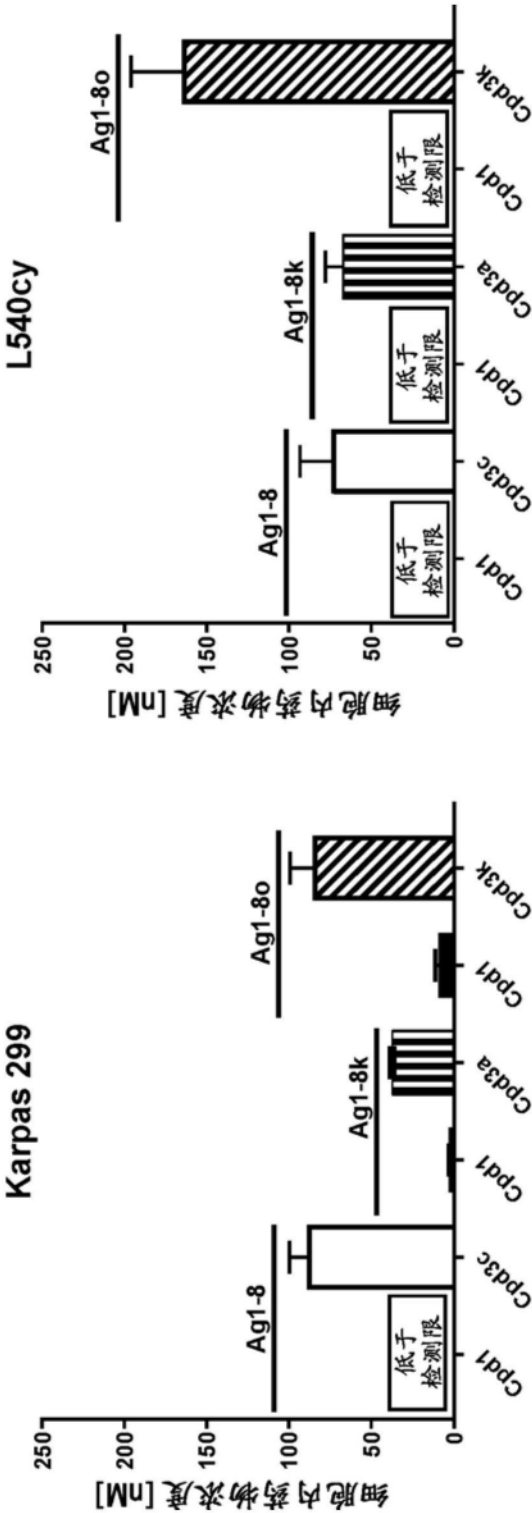


图1