



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 117440832 A

(43) 申请公布日 2024. 01. 23

(21) 申请号 202280033104.5 联宁生物制药美国有限公司

(22) 申请日 2022.03.02 (72) 发明人 朱同 A·B·哈萨诺夫 李辉
郭茂君 傅燕文 洪予丰

(66) 本国优先权数据 (74) 专利代理机构 北京市君合律师事务所
11517
专利代理师 顾云峰 张梦倩

PCT/CN2021/078886 2021.03.03 CN
PCT/CN2021/095379 2021.05.24 CN
PCT/CN2022/077512 2022.02.23 CN

(85) PCT国际申请进入国家阶段日 (51) Int.Cl.
2023.11.03 A61K 47/68 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/CN2022/078738 2022.03.02

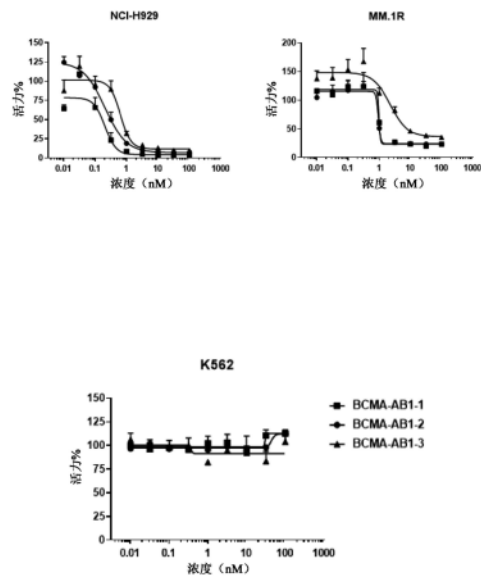
(87) PCT国际申请的公布数据
W02022/184082 EN 2022.09.09

(71) 申请人 索伦托药业有限公司
地址 美国加利福尼亚州
申请人 联宁(苏州)生物制药有限公司

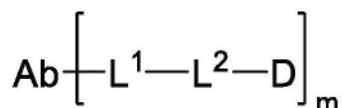
权利要求书19页 说明书100页
序列表6页 附图20页

(54) 发明名称
包括抗BCMA抗体的抗体-药物缀合物

(57) 摘要
本申请提供了,除其他外,与B细胞成熟抗原(BCMA) 特异性结合的抗体药物缀合物(ADC)。本申请进一步公开了药物组合物和用于治疗癌症的方法。



1.一种式(I)的抗体药物缀合物(ADC):



或其药学上可接受的盐,其中:

Ab是抗BCMA抗体、抗ROR1抗体、抗CD25抗体或抗Claudin 18抗体;

m 是1至8的整数;

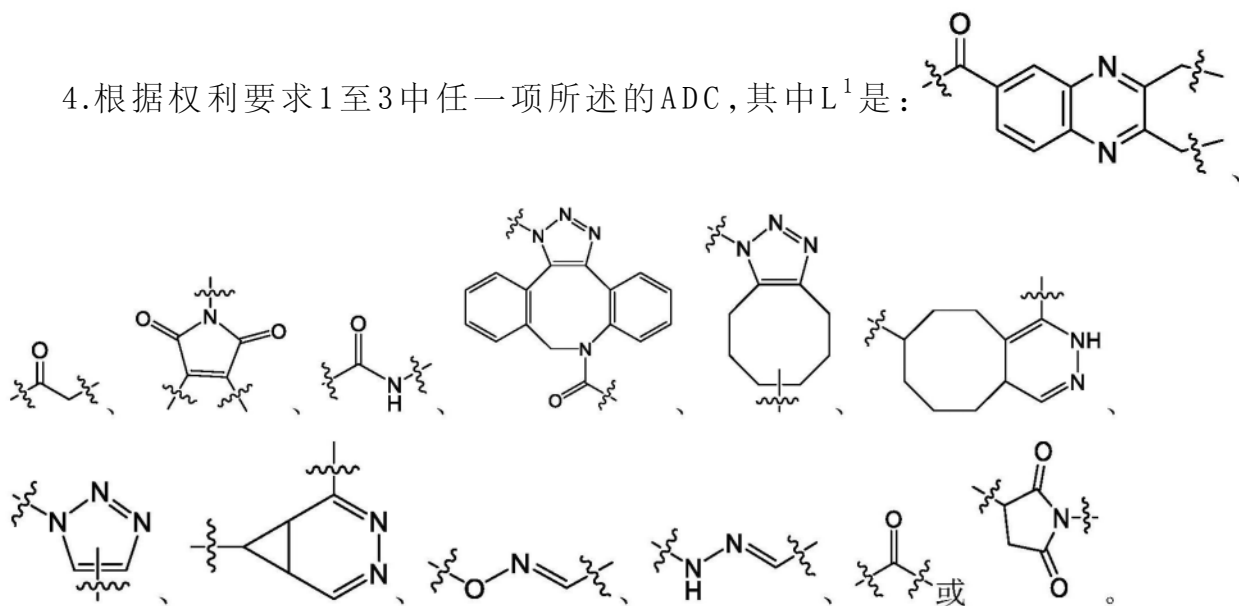
L¹是与所述抗BCMA抗体、所述抗ROR1抗体、所述抗CD25抗体或所述抗Claudin 18抗体结合的连接子；

L^2 是键、 $-C(O)-$ 、 $-NH-$ 、氨基酸单元、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-(CH_2)_n-$ 、 $-(4\text{-氨基苄氧基羰基})-$ 、
、
、
 $-(C(O)CH_2CH_2NH)-$ 或其组合；其中n是1至24的整数；并
 且

2. 根据权利要求1所述的ADC, 其中Ab是抗BCMA抗体。

3. 根据权利要求1或2所述的ADC, 其中L¹是与所述抗BCMA抗体的一个或两个硫或氮原子结合的连接子。

4.根据权利要求1至3中任一项所述的ADC,其中 L^1 是:

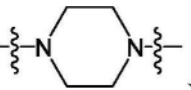


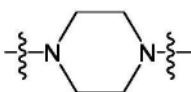
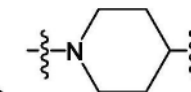
5. 根据权利要求1至4中任一项所述的ADC, 其中m是1、2、3、4、5、6、7或8。

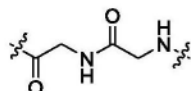
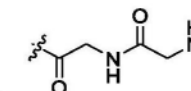
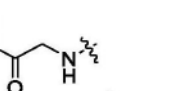
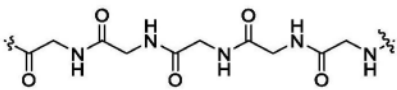
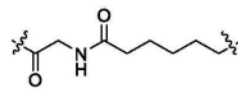
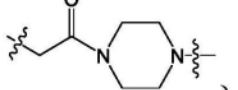
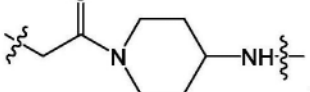
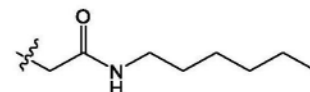
6. 根据权利要求5所述的ADC, 其中m是2至8。

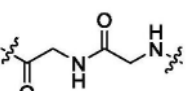
7. 根据权利要求1至6中任一项所述的ADC, 其中L²是键、-C(O)-、-NH-、Val、Phe、Lys、-(4-氨基苄氧基羰基)-、、 Gly、Ser、Thr、Ala、β-Ala、瓜氨酸(Cit)、-(CH₂)_n-、-(CH₂CH₂O)_n-或其组合。

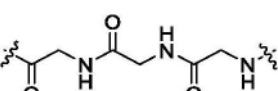
8. 根据权利要求7所述的ADC, 其中L²是键、-C(O)-、-NH-、Val、Phe、Lys、-(4-氨基苄氧基

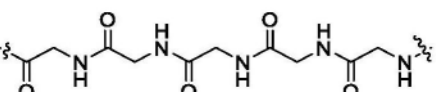
羰基)-、、、 $-(CH_2)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 或其组合。

9. 根据权利要求7所述的ADC, 其中 L^2 是键、 $-C(O)-$ 、 $-NH-$ 、Gly、Ser、Thr、Ala、 β -Ala、Cit、、、 $-(CH_2)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 或其组合。

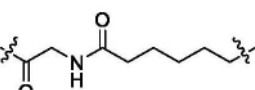
10. 根据权利要求7所述的ADC, 其中 L^2 是键、、、、、、、、、 $-(CH_2)_5-$ 或 $-C(O)-$ 。
 $(CH_2)_5-$ 。

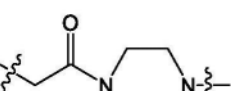
11. 根据权利要求10所述的ADC, 其中 L^2 是。

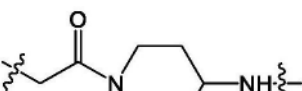
12. 根据权利要求10所述的ADC, 其中 L^2 是。

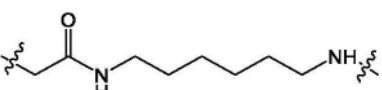
13. 根据权利要求10所述的ADC, 其中 L^2 是。

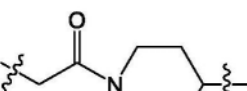
14. 根据权利要求10所述的ADC, 其中 L^2 是 $-C(O)-(CH_2)_5-$ 。

15. 根据权利要求10所述的ADC, 其中 L^2 是。

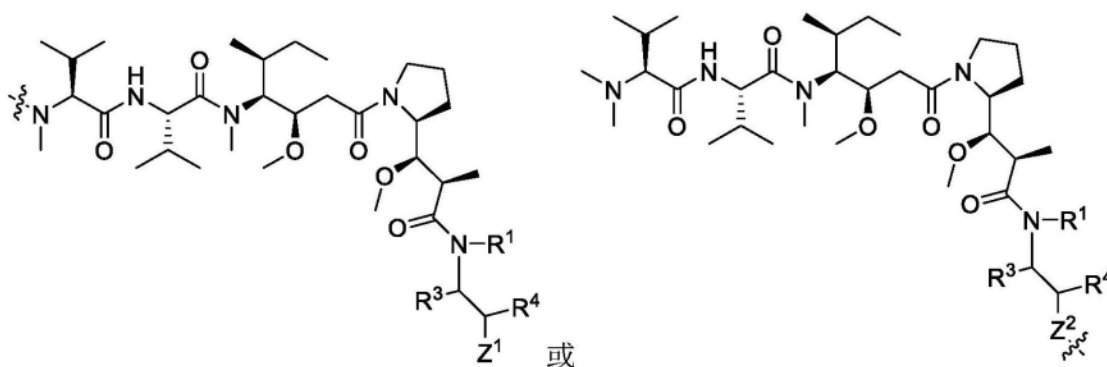
16. 根据权利要求10所述的ADC, 其中 L^2 是。

17. 根据权利要求10所述的ADC, 其中 L^2 是。

18. 根据权利要求10所述的ADC, 其中 L^2 是。

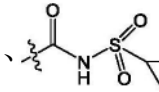
19. 根据权利要求10所述的ADC, 其中 L^2 是。

20. 根据权利要求1至19中任一项所述的ADC, 其中D是



其中：

R^1 是H或 $-C_1-C_6$ 烷基；

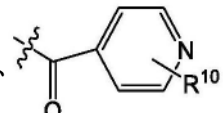
R^3 是H、卤素、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-Cl_3$ 、 $-CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OR^{3A}$ 、 $-NR^{3A}R^{3B}$ 、 $-(CH_2)_vOR^6$ 、经取代或未经取代的烷基或经取代或未经取代的杂烷基；

R^4 是H、卤素、 $-OR^{4A}$ 、 $-NR^{4A}R^{4B}$ 、经取代或未经取代的烷基或经取代或未经取代的杂烷基；

Z^1 是经取代或未经取代的芳基、经取代或未经取代的杂芳基、经取代或未经取代的环烷基或经取代或未经取代的杂环烷基；

Z^2 是经取代或未经取代的亚芳基、经取代或未经取代的亚杂芳基、经取代或未经取代的亚环烷基或经取代或未经取代的亚杂环烷基；

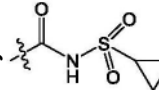
R^6 是H、经取代或未经取代的烷基、经取代或未经取代的环烷基、经取代或未经取代的杂环烷基、经取代或未经取代的芳基、经取代或未经取代的杂芳基、 $-CO(CH_2CH_2O)_wCH_2CH_2Y$ 、

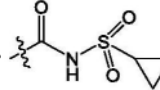
$CONH(CH_2CH_2O)_wCH_2CH_2Y$ 、带电荷的基团或糖衍生物，其中

v 是1至24的整数； w 是1至24的整数； Y 是 $-NH_2$ 、 $-OH$ 、 $-COOH$ 或 $-OCH_3$ ； R^{10} 是 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 或 $-COOH$ ；并且

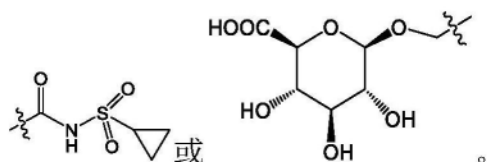
每个 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{4A} 和 R^{4B} 独立地是H或经取代或未经取代的烷基。

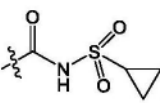
21. 根据权利要求20所述的ADC，其中 R^1 是H。

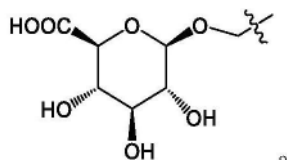
22. 根据权利要求20或21所述的ADC，其中 R^3 是H、 $-OR^{3A}$ 、 $-(CH_2)_vOR^6$ 、经取代或未经取代的烷基或经取代或未经取代的杂烷基。

23. 根据权利要求22所述的ADC，其中 R^3 是H、 $-OR^{3A}$ 、 $-(CH_2)_vOR^6$ 、未经取代的 C_1-C_6 烷基或经取代的 C_1-C_6 烷基。

24. 根据权利要求22所述的ADC，其中 R^3 是H、甲基、乙基、丙基、丁基、 $-CH_2OH$ 、 $-CH_2CH_2OH$ 、 $-CH_2N_3$ 、 $-CH_2CH_2N_3$ 、 $-CH_2OCH_3$ 、 $-CH_2OCH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2OCH_3$ 、 $-CH_2CH_2OCH_2CH_3$ 、



25. 根据权利要求24所述的ADC, 其中 R^3 是甲基、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{N}_3$ 、或



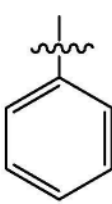
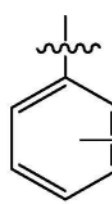
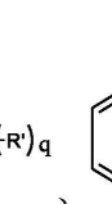
26. 根据权利要求20至25中任一项所述的ADC, 其中 R^4 是H、 $-\text{OR}^{4A}$ 、经取代或未经取代的烷基或经取代或未经取代的杂烷基。

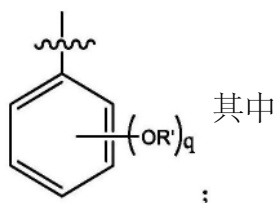
27. 根据权利要求26所述的ADC, 其中 R^4 是H、 $-\text{OH}$ 、甲基、乙基、丙基或丁基。

28. 根据权利要求27所述的ADC, 其中 R^4 是H或 $-\text{OH}$ 。

29. 根据权利要求20至28中任一项所述的ADC, 其中 Z^1 是经取代或未经取代的芳基。

30. 根据权利要求20至28中任一项所述的ADC, 其中 Z^2 是未经取代的亚芳基。

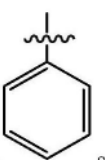
31. 根据权利要求29所述的ADC, 其中 Z^1 是 、、 或

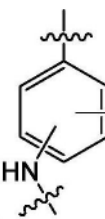
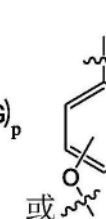


每个X独立地是Cl、Br、I或F；

每个 R' 独立地是 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 或 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ；并且

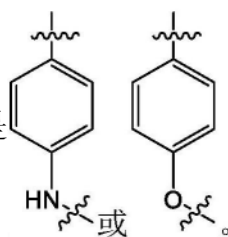
q是1至5的整数。

32. 根据权利要求31所述的ADC, 其中 Z^1 是 。

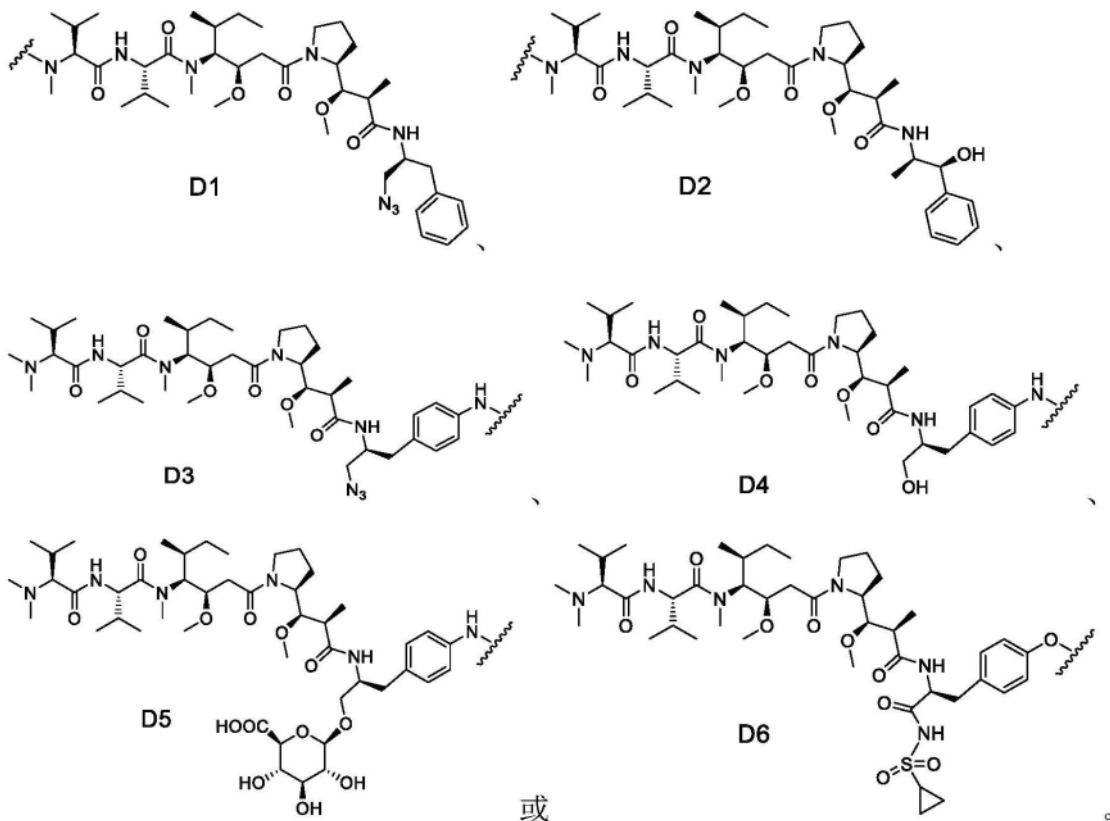
33. 根据权利要求30所述的ADC, 其中 Z^2 是 、 其中

每个G独立地是Cl、Br、I、F、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{OH}$ 或 $-\text{NH}_2$ ；并且p是0至4的整数。

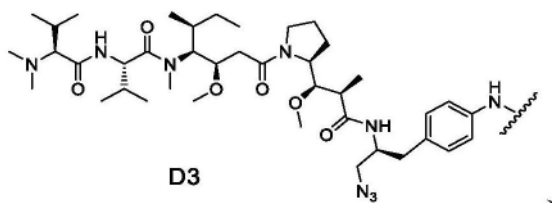
34. 根据权利要求33所述的ADC, 其中 Z^2 是

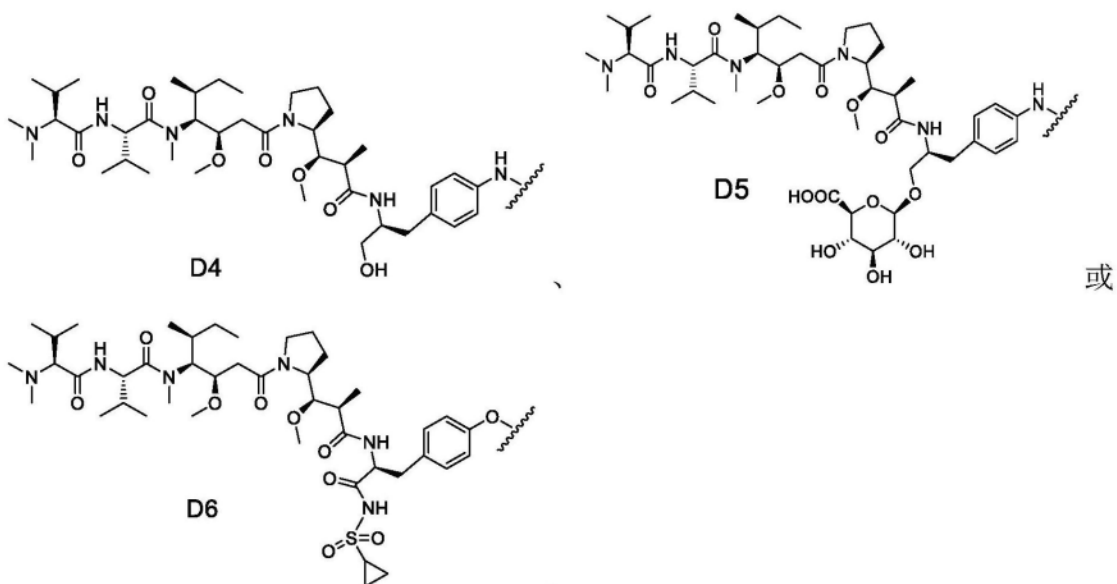


35. 根据权利要求1至34中任一项所述的ADC, 其中D是:

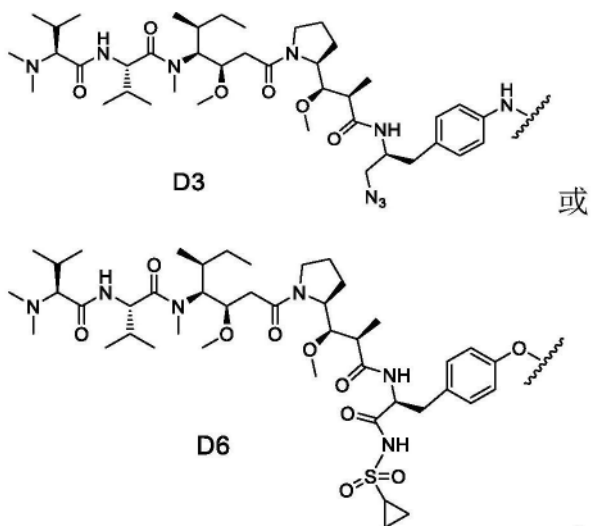


36. 根据权利要求35所述的ADC, 其中D是:

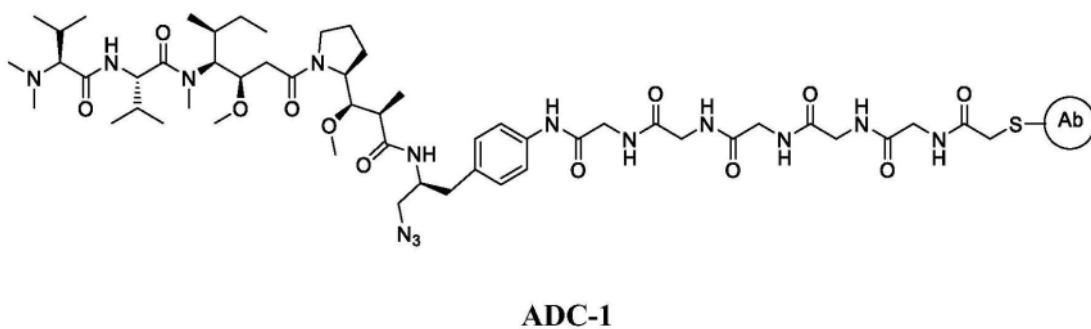


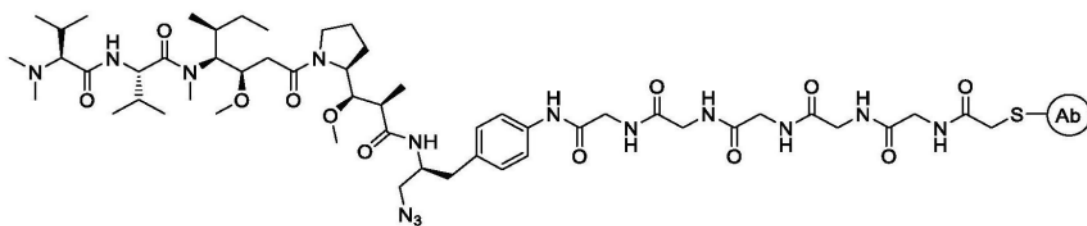


37. 根据权利要求36所述的ADC, 其中D是:

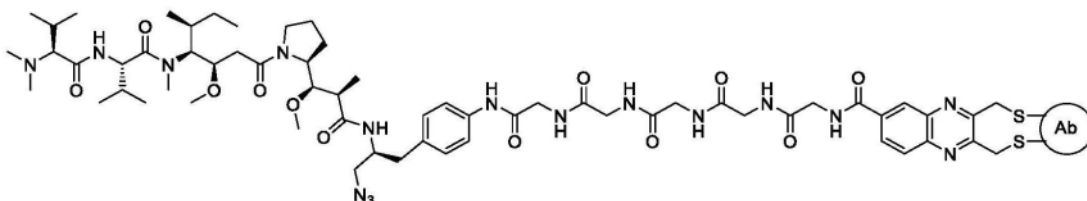


38. 根据权利要求1至37中任一项所述的ADC, 其中所述ADC是:

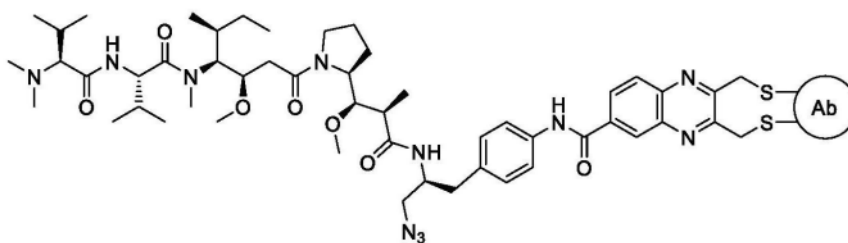




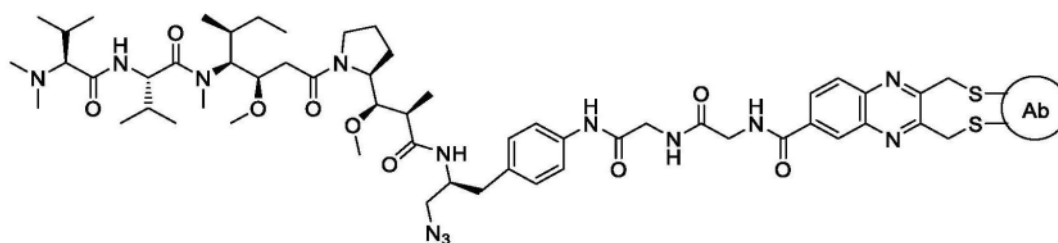
ADC-2



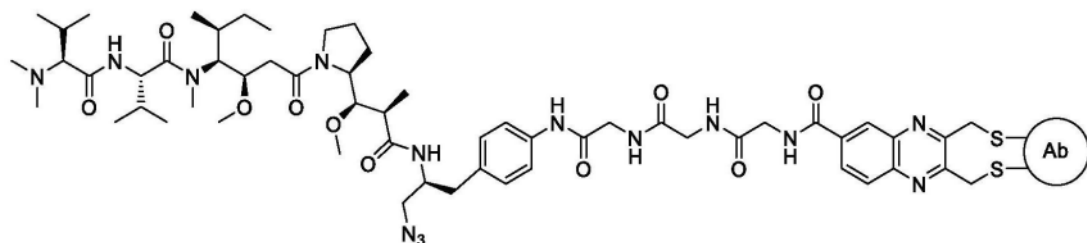
ADC-3



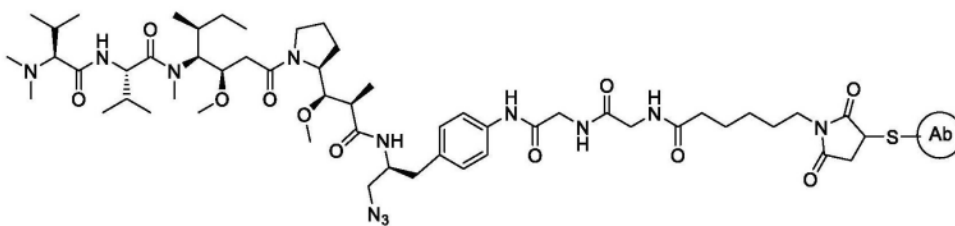
ADC-4



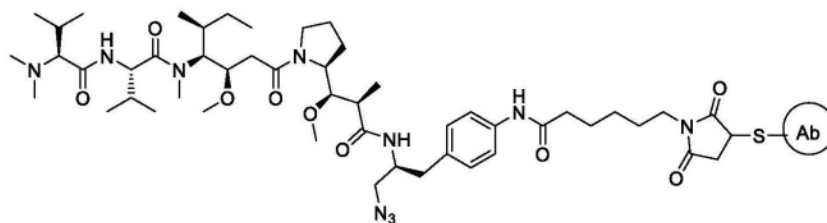
ADC-5



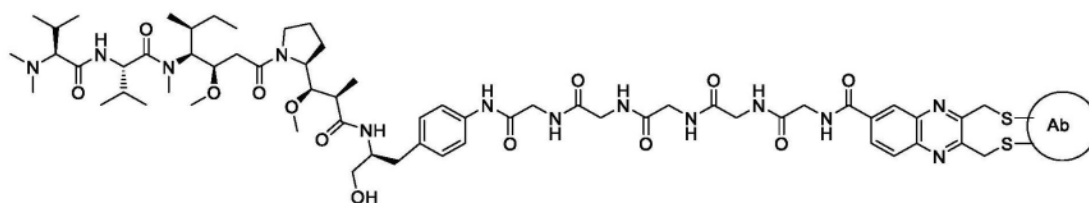
ADC-6



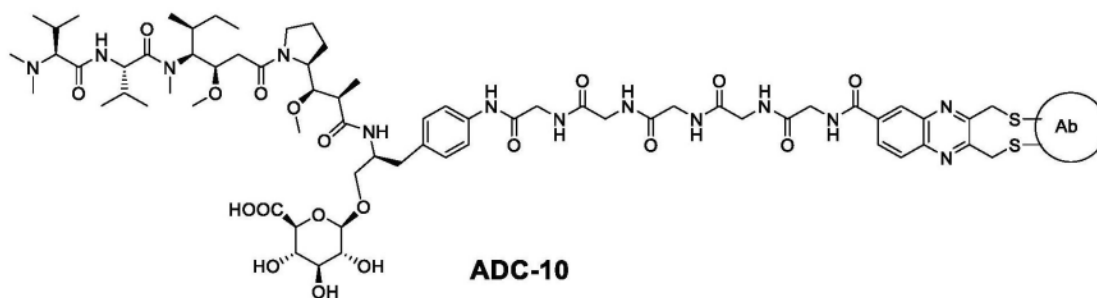
ADC-7



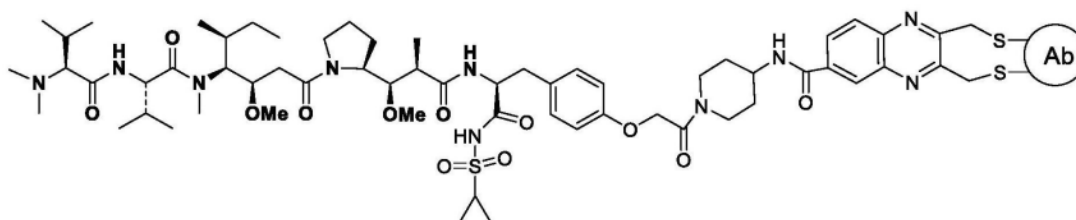
ADC-8



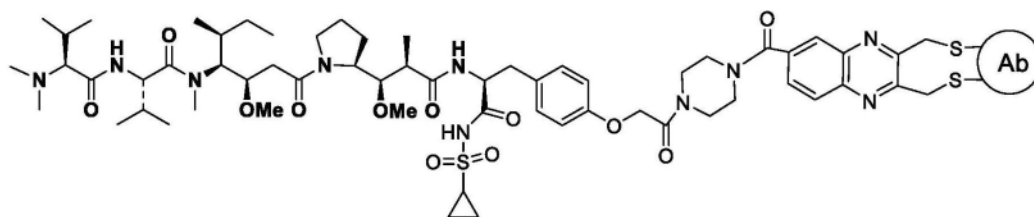
ADC-9



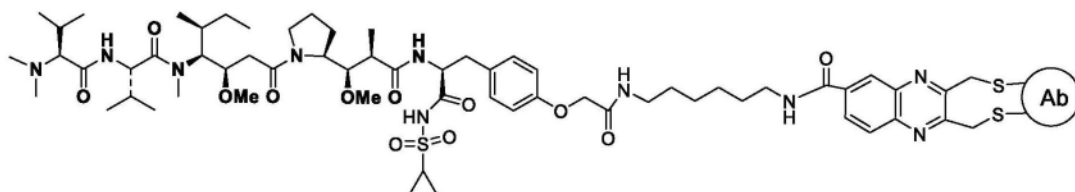
ADC-10



ADC-50

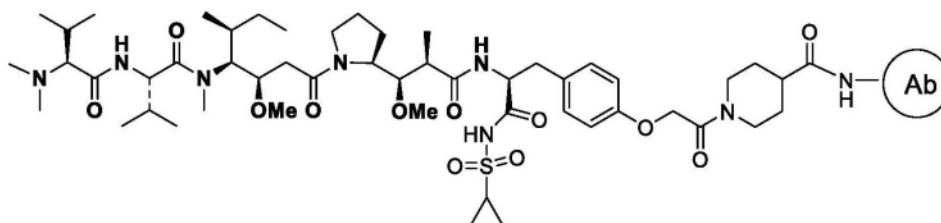


ADC-51



或

ADC-52



ADC-53

或其药学上可接受的盐。

39. 根据权利要求1至38中任一项所述的ADC, 其中所述抗BCMA抗体包括包含SEQ ID NO:1的序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:2的序列的VL CDR2、包含SEQ ID NO:3的序列的VL CDR3、包含SEQ ID NO:4的序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:5的序列的VH CDR2和包含SEQ ID NO:6的序列的VH CDR3。

40. 根据权利要求1至39中任一项所述的ADC, 其中所述抗BCMA抗体包括具有与SEQ ID NO:7具有至少95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列的VL。

41. 根据权利要求1至40中任一项所述的ADC, 其中所述抗BCMA抗体包括具有与SEQ ID NO:8具有至少95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列的VH。

42. 根据权利要求1至41中任一项所述的ADC, 其中所述抗BCMA抗体包括具有SEQ ID NO:7的序列的VL。

43. 根据权利要求1至42中任一项所述的ADC, 其中所述抗BCMA抗体包括具有SEQ ID NO:8的序列的VH。

44. 根据权利要求1至43中任一项所述的ADC, 其中所述抗BCMA抗体是IgG抗体, 任选地其中所述抗BCMA抗体是IgG1抗体。

45. 根据权利要求1至44中任一项所述的ADC, 其中所述抗BCMA抗体与人BCMA结合, 任选地其中所述人BCMA具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

46. 根据权利要求1至45中任一项所述的ADC, 其用于疗法。

47. 根据权利要求46所述的ADC,其用于治疗表达BCMA的癌症。

48. 一种治疗受试者的表达BCMA的癌症的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用根据权利要求1至45中任一项所述的ADC。

49. 根据权利要求1至45中任一项所述的ADC在制备药物中的用途。

50. 根据权利要求1至45中任一项所述的ADC在制备用于治疗表达BCMA的癌症的药物中的用途。

51. 根据权利要求47、48或50中任一项所述的供使用的ADC或方法,其中所述表达BCMA的癌症是多发性骨髓瘤。

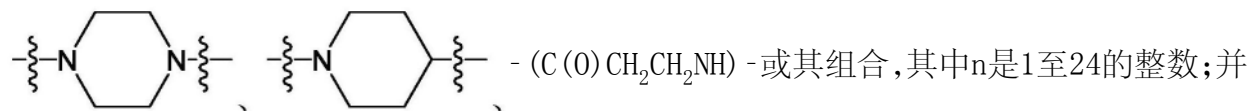
52. 一种制备根据权利要求1至47中任一项所述的ADC的方法,所述方法包括使抗BCMA抗体、抗ROR1抗体、抗CD25抗体或抗Claudin 18抗体与式(P-I)的分子:

$B-L^2-D$ (P-I),

或其药学上可接受的盐反应,其中:

B是能够与所述抗BCMA抗体、所述抗ROR1抗体、所述抗CD25抗体或所述抗Claudin 18抗体形成键的反应性部分;

L^2 是键、 $-C(O)-$ 、 $-NH-$ 、氨基酸单元、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-(CH_2)_n-$ 、 $-(4-氨基苄氧基羰基)-$ 、



且

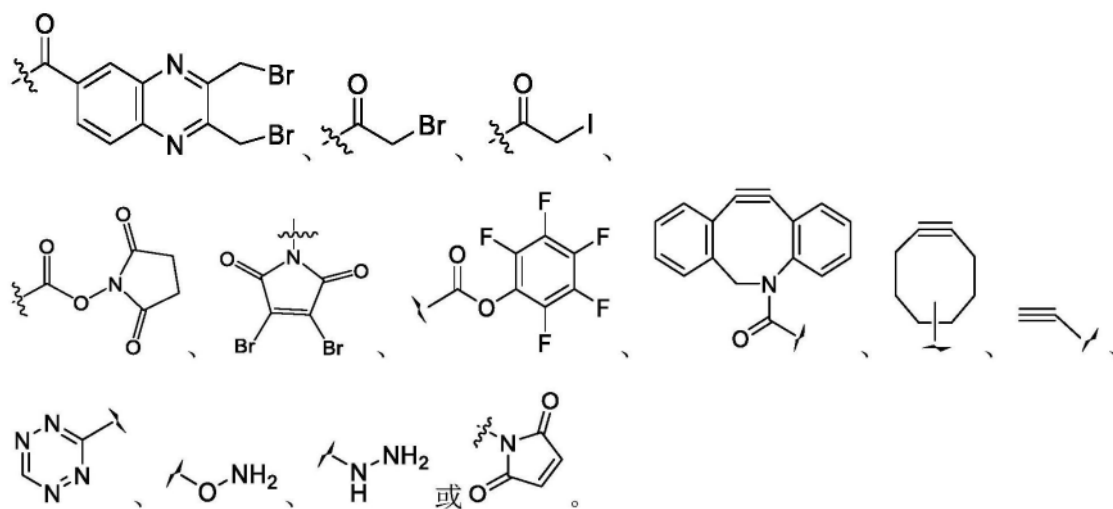
D是药物部分。

53. 根据权利要求52所述的方法,其中所述抗体用醛、叠氮化物、炔烃、四嗪、肼、烷氧基胺、反式环辛烯或环丙烯修饰。

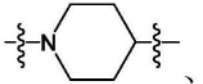
54. 根据权利要求52或53所述的方法,其中所述抗体是抗BCMA抗体。

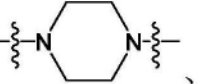
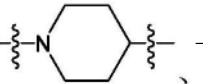
55. 根据权利要求54所述的方法,其中B是能够与所述抗BCMA抗体或经修饰的抗BCMA抗体的一个或两个巯基或氨基形成键的反应性部分。

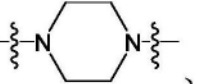
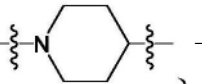
56. 根据权利要求55所述的方法,其中B是:

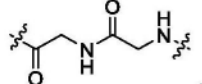
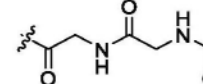
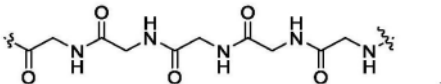
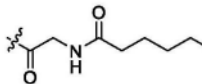
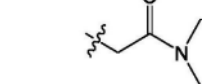
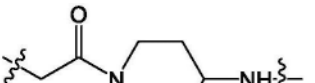
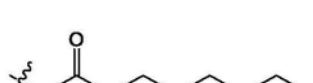
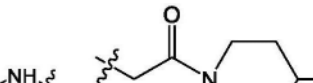
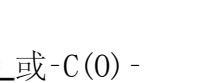


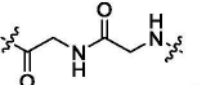
57. 根据权利要求52所述的方法,其中 L^2 是键、 $-C(O)-$ 、 $-NH-$ 、Val、Phe、Lys、 $-(4-氨基苄$

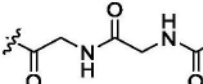
氧基羰基)-、Gly、Ser、Thr、Ala、 β -Ala、瓜氨酸(Cit)、、、 $(\text{CH}_2)_n$ -、 $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n$ -或其组合。

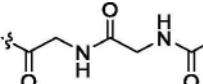
58. 根据权利要求52所述的方法, 其中 L^2 是键、 $-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{NH}-$ 、Val、Phe、Lys、 $-(4\text{-氨基苄氧基羰基})-$ 、、、 $(\text{CH}_2)_n$ -、 $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n$ -或其组合。

59. 根据权利要求52所述的方法, 其中 L^2 是键、 $-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{NH}-$ 、Gly、Ser、Thr、Ala、 β -Ala、Cit、、、 $(\text{CH}_2)_n$ -、 $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n$ -或其组合。

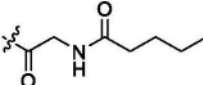
60. 根据权利要求52所述的方法, 其中 L^2 是键、、、、、、、、、或 $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_5-$ 。

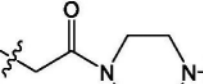
61. 根据权利要求60所述的方法, 其中 L^2 是。

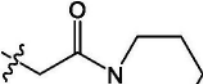
62. 根据权利要求60所述的方法, 其中 L^2 是。

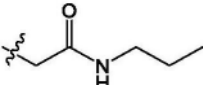
63. 根据权利要求60所述的方法, 其中 L^2 是。

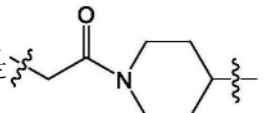
64. 根据权利要求60所述的方法, 其中 L^2 是 $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_5-$ 。

65. 根据权利要求60所述的方法, 其中 L^2 是。

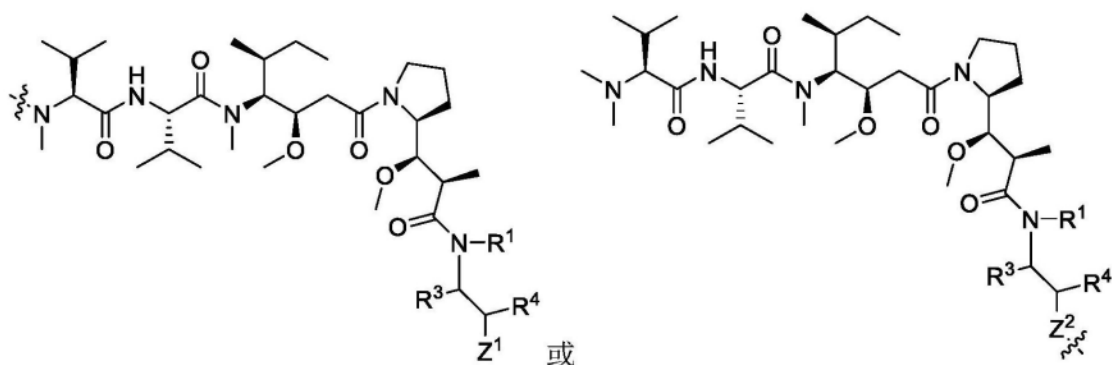
66. 根据权利要求60所述的方法, 其中 L^2 是。

67. 根据权利要求60所述的方法, 其中 L^2 是。

68. 根据权利要求60所述的方法, 其中 L^2 是。

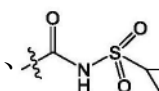
69. 根据权利要求60所述的方法, 其中 L^2 是 .

70. 根据权利要求52所述的方法, 其中D是:



其中:

R^1 是H或 $-C_1-C_8$ 烷基;

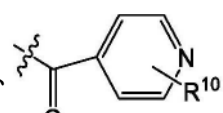
R^3 是H、卤素、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OR^{3A}$ 、 $-NR^{3A}R^{3B}$ 、 $-(CH_2)_vOR^6$ 、 经取代或未经取代的烷基或经取代或未经取代的杂烷基;

R^4 是H、卤素、 $-OR^{4A}$ 、 $-NR^{4A}R^{4B}$ 、经取代或未经取代的烷基或经取代或未经取代的杂烷基;

Z^1 是经取代或未经取代的芳基、经取代或未经取代的杂芳基、经取代或未经取代的环烷基或经取代或未经取代的杂环烷基;

Z^2 是经取代或未经取代的亚芳基、经取代或未经取代的亚杂芳基、经取代或未经取代的亚环烷基或经取代或未经取代的亚杂环烷基;

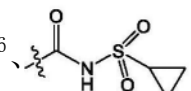
R^6 是H、经取代或未经取代的烷基、经取代或未经取代的环烷基、经取代或未经取代的杂环烷基、经取代或未经取代的芳基、经取代或未经取代的杂芳基、 $-CO(CH_2CH_2O)_wCH_2CH_2Y$ 、

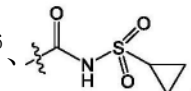
$CONH(CH_2CH_2O)_wCH_2CH_2Y$ 、 带电荷的基团或糖衍生物, 其中

v 是1至24的整数; w 是1至24的整数; Y 是 $-NH_2$ 、 $-OH$ 、 $-COOH$ 或 $-OCH_3$; R^{10} 是 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 或 $-COOH$; 并且

每个 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{4A} 和 R^{4B} 独立地是H或经取代或未经取代的烷基。

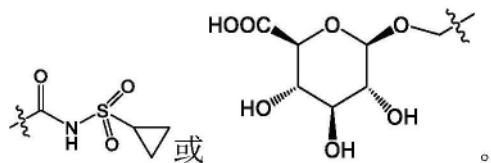
71. 根据权利要求70所述的方法, 其中 R^1 是H。

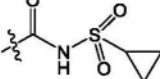
72. 根据权利要求70所述的方法, 其中 R^3 是H、 $-OR^{3A}$ 、 $-(CH_2)_vOR^6$ 、 经取代或未经取代的烷基或经取代或未经取代的杂烷基。

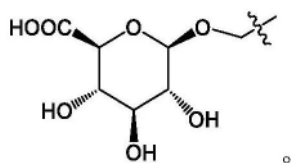
73. 根据权利要求72所述的方法, 其中 R^3 是H、 $-OR^{3A}$ 、 $-(CH_2)_vOR^6$ 、 未经取代

的C₁-C₆烷基或经取代的C₁-C₆烷基。

74. 根据权利要求73所述的方法, 其中R³是H、甲基、乙基、丙基、丁基、-CH₂OH、-CH₂CH₂OH、-CH₂N₃、-CH₂CH₂N₃、-CH₂OCH₃、-CH₂OCH₂CH₃、-CH₂CH₂OCH₃、-CH₂CH₂OCH₂CH₃、



75. 根据权利要求74所述的方法, 其中R³是甲基、-CH₂OH、-CH₂N₃、或



76. 根据权利要求70所述的方法, 其中R⁴是H、-OR^{4A}、经取代或未经取代的烷基或经取代或未经取代的杂烷基。

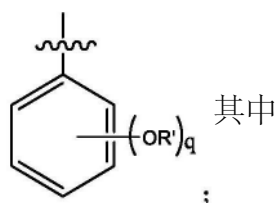
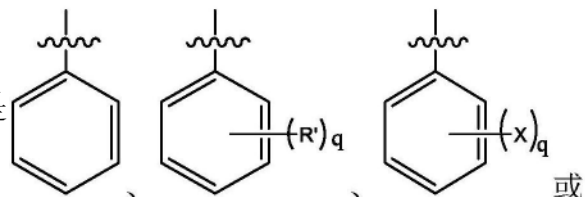
77. 根据权利要求76所述的方法, 其中R⁴是H、-OH、甲基、乙基、丙基或丁基。

78. 根据权利要求77所述的方法, 其中R⁴是H或-OH。

79. 根据权利要求70所述的方法, 其中Z¹是经取代或未经取代的芳基。

80. 根据权利要求70所述的方法, 其中Z²是未经取代的亚芳基。

81. 根据权利要求79所述的方法, 其中Z¹是

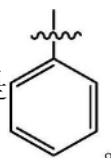


每个X独立地是Cl、Br、I或F;

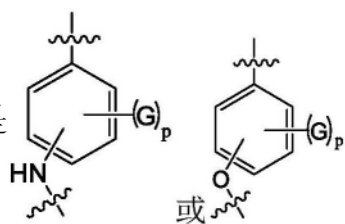
每个R'独立地是-CH₃、-CH₂CH₃或-CH₂CH₂CH₃; 并且

q是1至5的整数。

82. 根据权利要求81所述的方法, 其中Z¹是

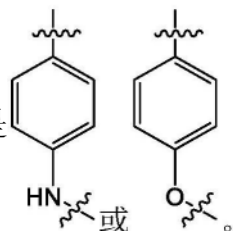


83. 根据权利要求80所述的方法, 其中 Z^2 是

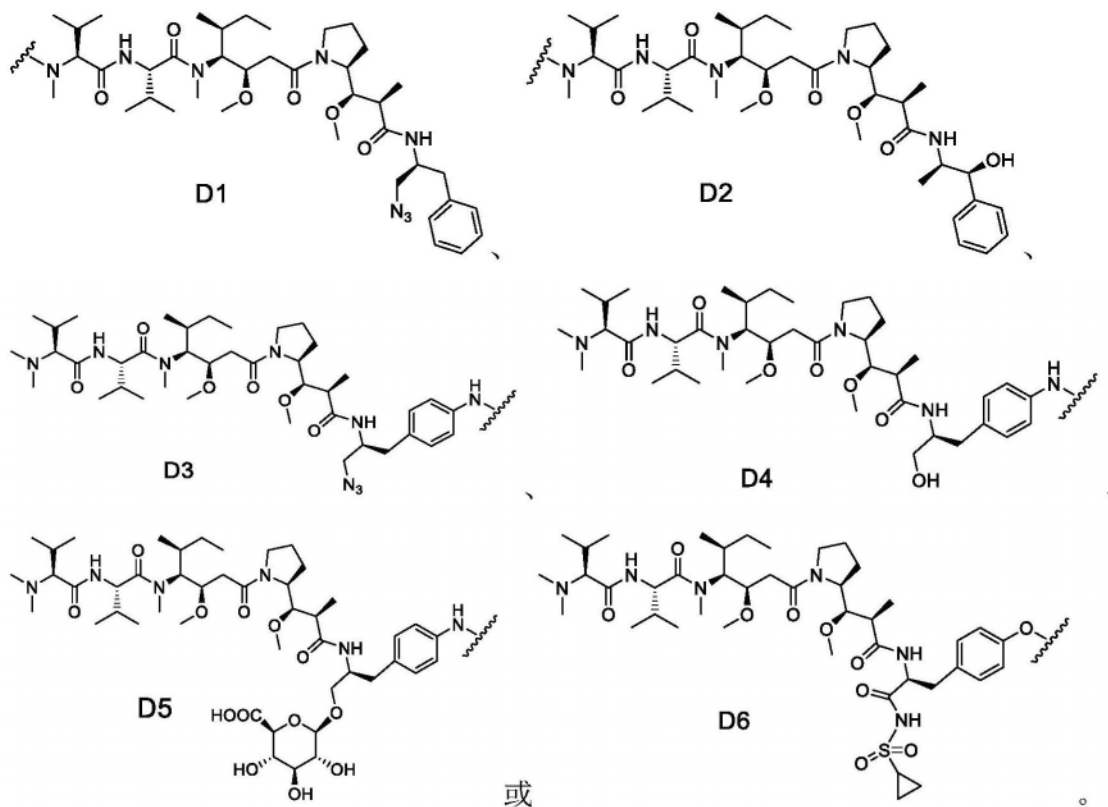


每个G独立地是Cl、Br、I、F、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、 $-OCH_3$ 、 $-OCH_2CH_3$ 、 $-OH$ 或 $-NH_2$; 并且p是0至4的整数。

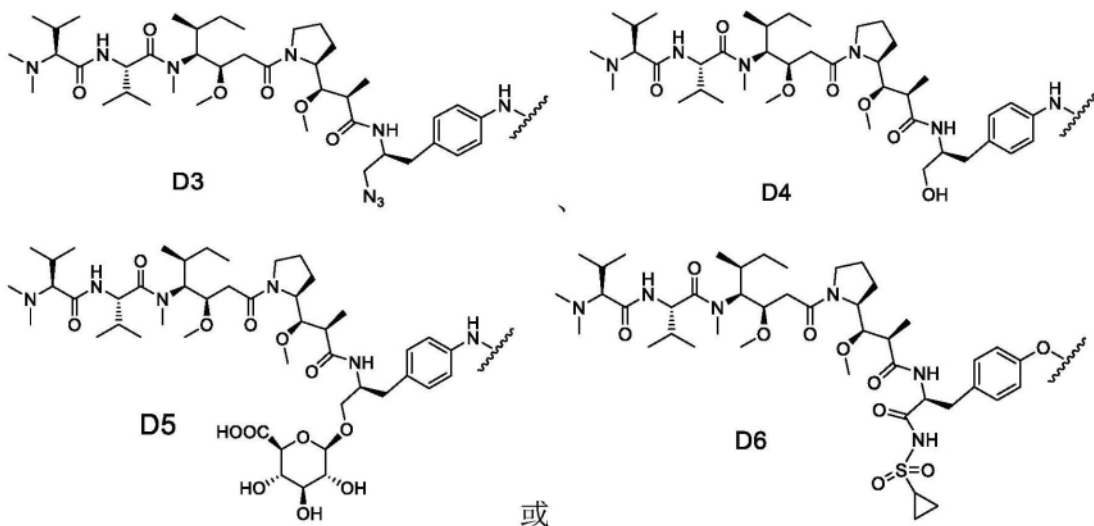
84. 根据权利要求83所述的方法, 其中 Z^2 是



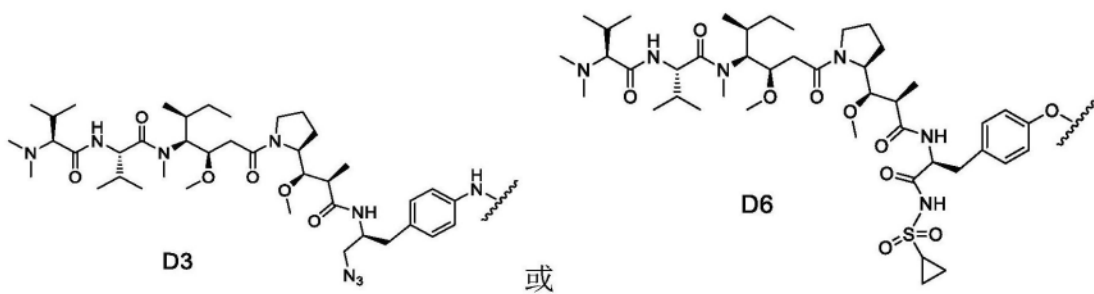
85. 根据权利要求52至84中任一项所述的方法, 其中D是:



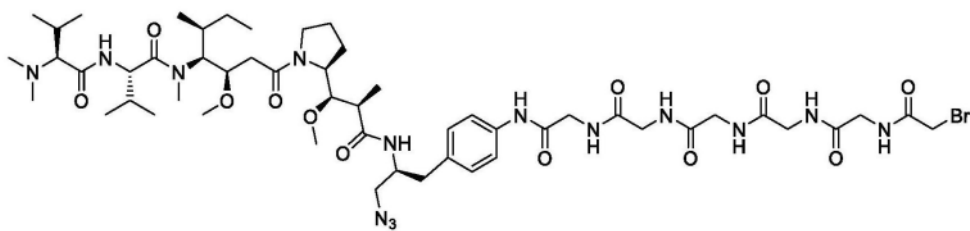
86. 根据权利要求85所述的方法, 其中D是:



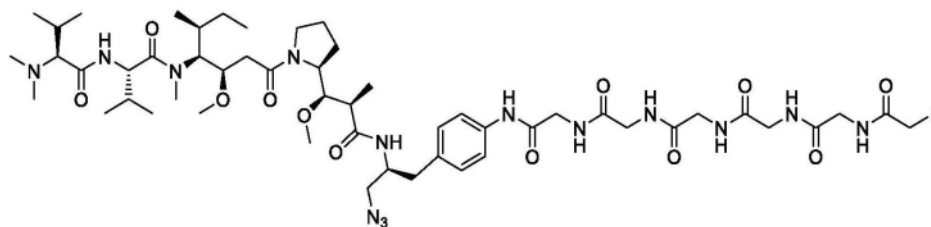
87. 根据权利要求86所述的方法, 其中D是:



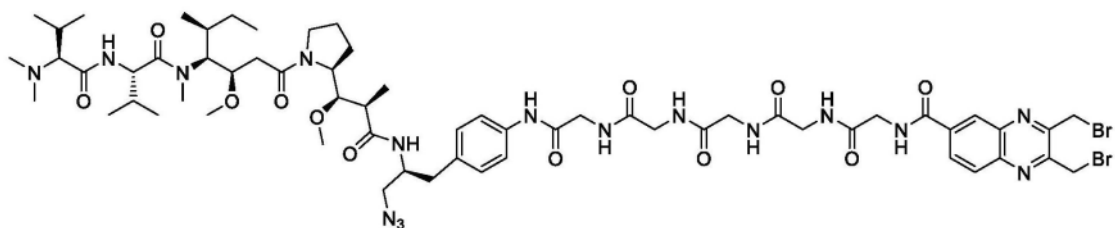
88. 根据权利要求52至87中任一项所述的方法, 其中所述B-L²-D是:



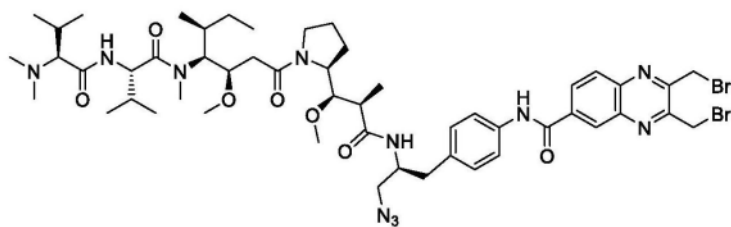
1



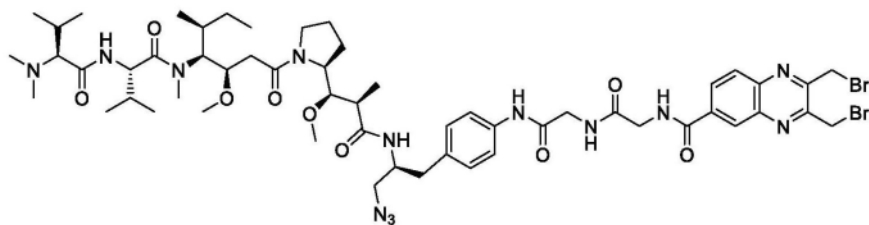
2



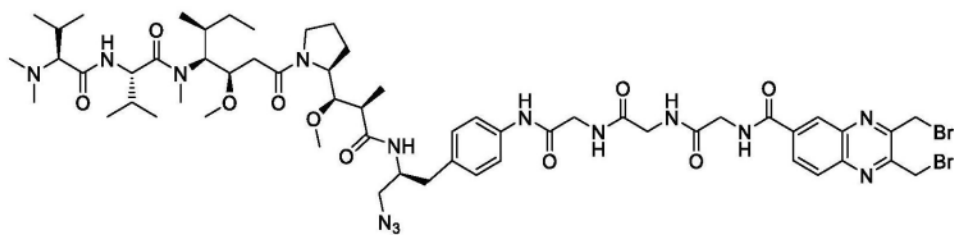
3



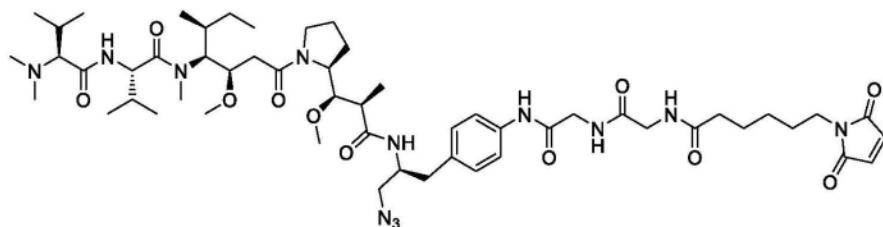
4



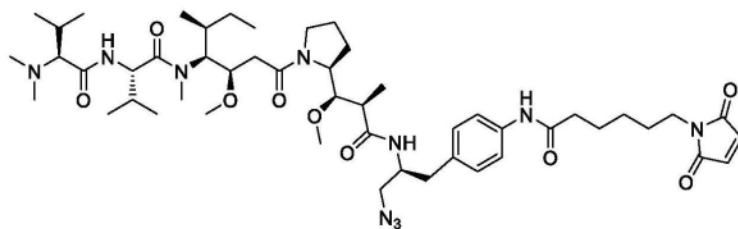
5



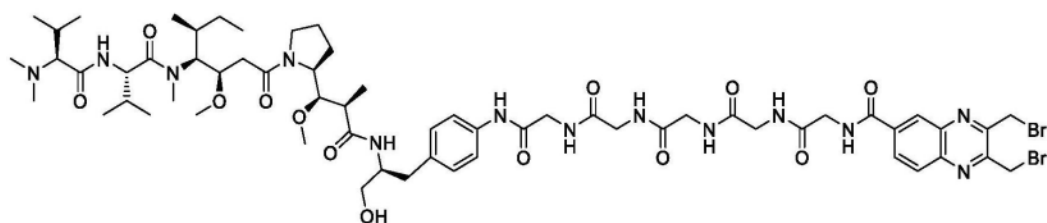
6



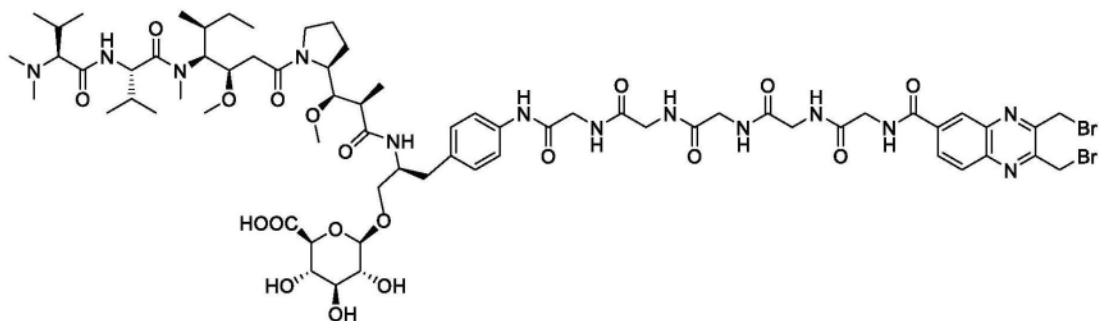
7



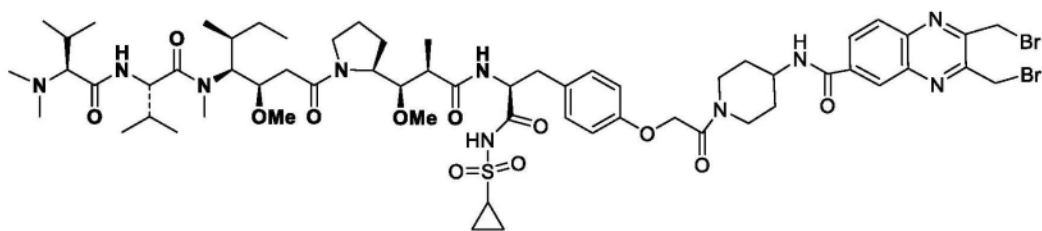
8



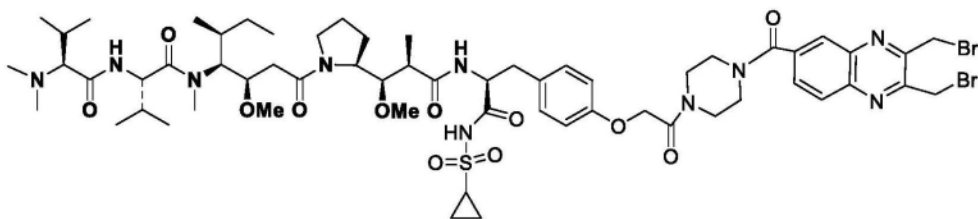
9



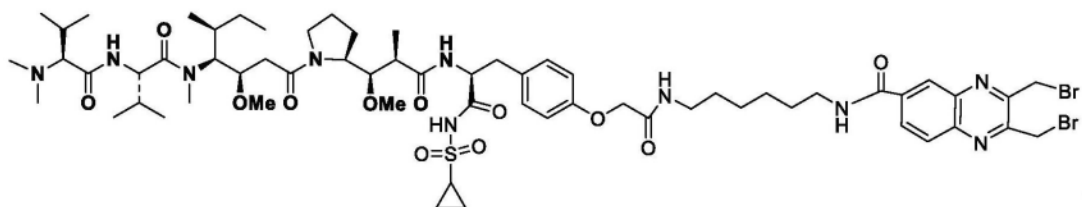
10



50

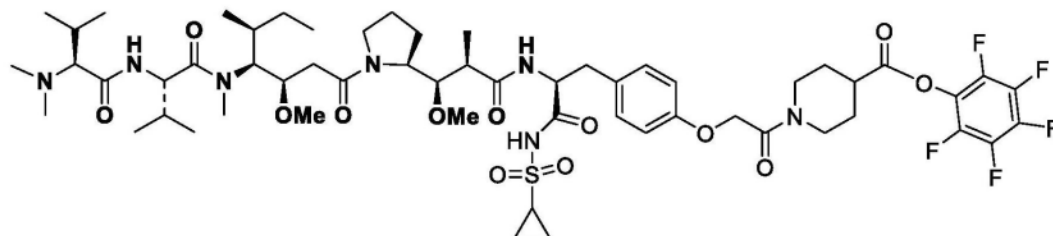


51



或

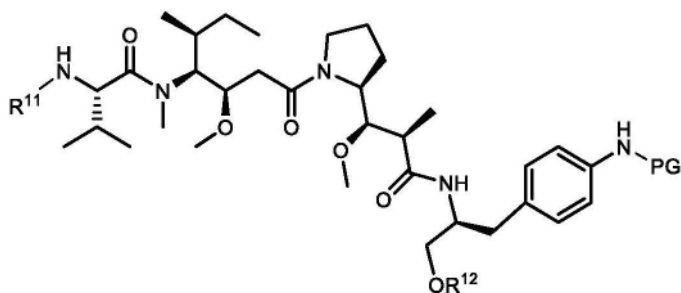
52



53

或其药学上可接受的盐。

89. 一种式 (II) 的化合物:



(II)

或其药学上可接受的盐,其中:

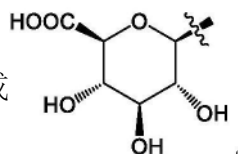
PG是氨基保护基团:

R¹¹是H或一个或多个氨基酸单元;

R^{12} 是 H 或经取代的烷基、经取代的杂烷基、经取代的杂环烷基、 $-CO(CH_2CH_2O)_5CH_2CH_2U$ 或 $-CONH(CH_2CH_2O)_5CH_2CH_2U$; 其中

s是1至24的整数;并且U是-NH₂、-OH、-COOH或- OCH_3 。

90. 根据权利要求89所述的化合物, 其中R¹²是H或经取代的杂环烷基。



91. 根据权利要求90所述的化合物, 其中 R^{12} 是H或

92. 根据权利要求91所述的化合物, 其中 R^{12} 是H。

93. 根据权利要求89至92中任一项所述的化合物, 其中 R^{11} 是H或疏水性氨基酸。

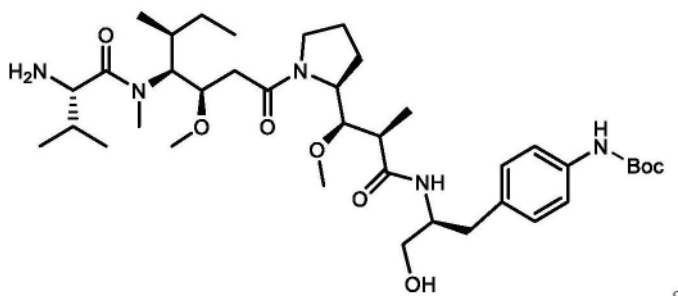
94. 根据权利要求89至93中任一项所述的化合物, 其中R¹¹是H、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、丙氨酸、L-正亮氨酸、脯氨酸、色氨酸、2-氨基异丁酸或3-环己基-L-丙氨酸。

95. 根据权利要求89至94中任一项所述的化合物, 其中R¹¹是H。

96. 根据权利要求89至95中任一项所述的化合物, 其中PG是Boc、Fmoc或CBZ。

97. 根据权利要求89至96中任一项所述的化合物, 其中PG是Boc。

98. 根据权利要求89至97中任一项所述的化合物, 其中所述化合物是:



包括抗BCMA抗体的抗体-药物缀合物

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2021年3月3日提交的国际申请第PCT/CN2021/078886号、于2021年5月24日提交的国际申请第PCT/CN2021/095379号以及于2022年2月23日提交的国际申请第PCT/CN2022/077512的优先权,所述国际申请的公开内容特此通过引用整体并入。

[0003] 在整个本申请中,引用了各种公开、专利和/或专利申请。所述公开、专利和/或专利申请的公开内容特此通过引用整体并入本申请,以更全面地描述本公开所涉及领域的现状。

[0004] 序列表

[0005] 本申请与电子格式的序列表一同提交。序列表以创建于2022年2月23日的标题为“2022-02-23_01223-0089-00PCT_Seq_List_ST25.txt”的文件的形式提供,所述文件大小为7,908字节。序列表的电子格式的信息通过引用其整体并入本文。

技术领域

[0006] 本公开涉及包含抗BCMA抗体的抗体药物缀合物(ADC)以及制备和使用其的方法。

[0007] 背景技术和发明内容

[0008] 抗体-药物缀合物(ADC)允许将药物部分靶向递送到肿瘤,并且在一些实施方式中,允许其在其中的细胞内累积,其中全身施用未经缀合的药物可能导致对正常细胞的不可接受的毒性水平(Polakakis P. (2005)《药理学最新观点(Current Opinion in Pharmacology)》5:382-387)。ADC是靶向化疗分子,其通过将有效的细胞毒性药物靶向表达抗原的肿瘤细胞而结合了抗体和细胞毒性药物的性质(Teicher, B.A. (2009)《当前癌症药物靶标(Current Cancer Drug Targets)》9:982-1004),由此通过最大化功效和最小化脱靶毒性来提高治疗指数(Carter, P.J. 和 Senter P.D. (2008)《癌症杂志(The Cancer Jour.)》14(3):154-169; Chari, R.V. (2008)《化学研究述评(Acc.Chem.Res.)》41:98-107)。

[0009] 本公开提供了包含通过连接子部分与药物部分缀合的抗BCMA抗体的ADC。在实施方式中,抗BCMA抗体与表达BCMA的癌细胞结合,并且允许癌细胞选择性摄取ADC。在实施方式中,本文所提供的ADC选择性地有效量的药物部分递送到肿瘤组织,并且降低与相关ADC相关的非特异性毒性。本文所描述的ADC化合物包含具有抗癌活性的化合物。

[0010] B细胞成熟抗原(BCMA),也被称为TNFRSF17和CD269(UniProt Q02223),是肿瘤坏死受体超家族的成员。BCMA是一种非糖基化III型跨膜蛋白,在分化的浆细胞上表达(Laabi 等人,1992《欧洲分子生物学学会杂志(The EMBO Journal)》11(11):3897-3904; Laabi 等人,1994《核酸研究(Nucleic Acids Research)》22(7):1147-1154; Madry 等人,1998《国际免疫学(International Immunology)》10(11):1693-1702),并且是一种参与B细胞发育和存活的细胞表面受体。

[0011] BCMA是TNF超家族的两个配体APRIL(一种增殖诱导配体)和BAFF的细胞表面受体。APRIL和BAFF分别是BCMA的高亲和力配体和低亲和力配体。APRIL是增殖诱导配体,并且BAFF是B淋巴细胞刺激剂。TACI是与APRIL和BAFF结合的负性调节因子。APRIL和BAFF与BCMA

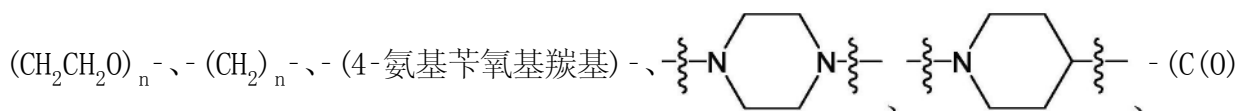
和/或TACI的协同结合诱导因子NF- κ B的转录,增加促存活Bcl-2家族成员的表达,并且下调促凋亡因子的表达,从而促进存活并抑制凋亡。这种复杂的相互作用促进了B细胞分化、增殖、存活和抗体产生(Rickert 2011《免疫学综述(Immunology Review)》244(1):115-133)。已知BCMA支持恶性人类B细胞的生长和存活,并且已经报道了在包含多发性骨髓瘤(MM)细胞在内的恶性人类B细胞中BCMA和TACI的表达上调(参见Mackay等人的综述“BAFF和APRIL: B细胞存活指南(BAFF and APRIL: a tutorial on B cell survival)”,2004《免疫学年度评论(Annual Review Immunology)》21:231-264)。另外,据报道,BCMA、APRIL和BAFF信号传导在B细胞肿瘤和多发性骨髓瘤中激活NF κ B。

[0012] 多发性骨髓瘤是一种克隆性B细胞淋巴瘤,其在骨髓的多个部位发生,然后通过循环扩散。据报道,BCMA表达(转录物和蛋白质两者)与多发性骨髓瘤的疾病进展相关。因此,与正常组织相比,BCMA在多发性骨髓瘤细胞中的表达水平显著更高,这使得BCMA成为免疫疗法的良好靶抗原。因此,其中药物与抗BCMA抗体缀合的抗体药物缀合物(ADC)可以提供非常靶向性的和有效的抗肿瘤活性。

[0013] 一方面,本文提供了一种包含单克隆抗体的抗体-药物缀合物(ADC)。另一方面,本文提供了包含抗BCMA抗体、抗ROR1抗体、抗CD25抗体或抗Claudin 18抗体的抗体-药物缀合物(ADC)。另一方面,本文提供了制备包含单克隆抗体的ADC的方法。另一方面,本文提供了制备包含抗BCMA抗体、抗ROR1抗体、抗CD25抗体或抗Claudin 18抗体的ADC的方法。另一方面,本文提供了前体化合物。本文还提供了用于使用本文所公开的ADC治疗癌症(如表达BCMA的癌症)的方法。

[0014] 在实施方式中,本公开提供了一种抗体药物缀合物(ADC),其具有与BCMA靶标结合的IgG抗体,缀合发生在所述IgG抗体的半胱氨酸位点处。在实施方式中,本公开提供了一种抗体药物缀合物(ADC),其具有与BCMA靶标结合的IgG抗体,缀合发生在所述IgG抗体的赖氨酸位点处。本公开进一步提供了一种用于治疗多发性骨髓瘤的方法,所述方法包括提供有效量的BCMAADC。

[0015] 一方面,本文提供了一种式(I)的抗体药物缀合物(ADC): $\text{Ab} \left[\text{L}^1 - \text{L}^2 - \text{D} \right]_m$ 或其药学上可接受的盐,其中:Ab是抗BCMA抗体、抗ROR1抗体、抗CD25抗体或抗Claudin 18抗体; m 是1至8的整数; L^1 是与所述抗BCMA抗体结合的连接子; L^2 是键、-C(O)-、-NH-、氨基酸单元、-

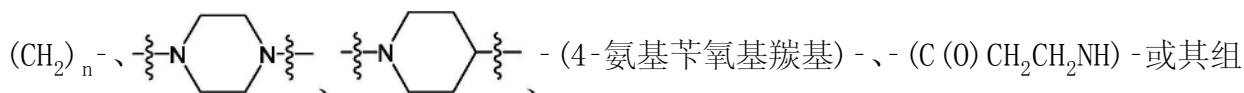


$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$) - 或其组合;其中 n 是1至24的整数;并且D是药物部分。

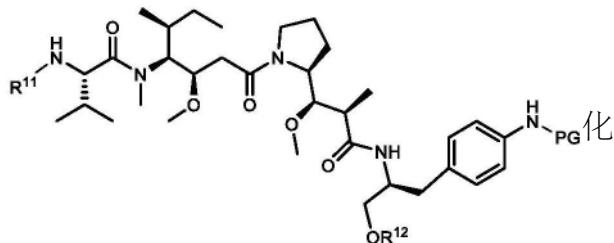
[0016] 一方面,本文提供了一种用于治疗有需要的受试者的表达BCMA的癌症的方法,所述方法包括向所述受试者施用本文所描述的ADC(包含在一方面、实施方式、表格、实施例或权利要求中)或其药学上可接受的盐。

[0017] 一方面,本文提供了一种制备式(I): $\text{Ab} \left[\text{L}^1 - \text{L}^2 - \text{D} \right]_m$ 的抗体药物缀合物(ADC)或其药学上可接受的盐的方法,所述方法包含使抗BCMA抗体、抗ROR1抗体、抗CD25抗体、抗Claudin 18抗体或经修饰的抗体与式(P-I): $\text{B} - \text{L}^2 - \text{D}$ 的分子或其药学上可接受的盐反应,其

中B是能够与所述抗BCMA抗体、所述抗ROR1抗体、所述抗CD25抗体、所述抗Claudin 18抗体或经修饰的抗体形成键的反应性部分； L^2 是键、 $-C(O)-$ 、 $-NH-$ 、氨基酸单元、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、



[0018] 另一方面，本文提供了一种式(II)：



合物，或其药学上可接受的盐，其中PG是氨基保护基团； R^{11} 是H或一个或多个氨基酸单元； R^{12} 是H或经取代的烷基、经取代的杂烷基、经取代的杂环烷基、 $CO(CH_2CH_2O)_sCH_2CH_2U$ 或 $-CONH(CH_2CH_2O)_sCH_2CH_2U$ ；并且其中s是1至24的整数；并且U是 $-NH_2$ 、 $-OH$ 、 $-COOH$ 或 $-OCH_3$ 。

[0019] 在本文所公开的任何实施方式中，所述单克隆抗体可以是抗BCMA抗体。

附图说明

[0020] 图1A-C示出了使用：A) NCI-H929 (BCMA+) 细胞；B) MM.1R (BCMA+) 细胞；以及C) K562 (BCMA-) 细胞进行的抗BCMA-AB1-1 (用实心正方形显示)、抗BCMA-AB1-2 (用实心圆圈显示) 和抗BCMA-AB1-3 (用实心三角形显示) 的体外功效研究的结果。

[0021] 图2A示出了使用NCI-H929 (BCMA+) 细胞；MM.1R (BCMA+) 细胞；以及K562 (BCMA-) 细胞进行的抗BCMA-AB1-3 (用实心圆显示)、抗BCMA-AB1-4 (用实心三角形显示)、抗BCMA-AB1-5 (用倒置的实心三角形显示)、抗BCMA-AB1-6 (用实心菱形显示)、抗BCMA-AB1-7 (用空心方块显示)、抗BCMA-AB1-8 (用空心圆显示) 和对照抗BCMA-AB1 (用实心方块显示) 的体外功效研究结果。

[0022] 图2B示出了使用NCI-H929 (BCMA+) 细胞；MM.1R (BCMA+) 细胞；以及K562 (BCMA-) 细胞进行的抗BCMA-AB2-3 (用实心圆显示)、抗BCMA-AB2-4 (用实心三角形显示)、抗BCMA-AB2-5 (用倒置的实心三角形显示)、抗BCMA-AB2-6 (用实心菱形显示)、抗BCMA-AB2-7 (用空心方块显示)、抗BCMA-AB2-8 (用空心圆显示) 和对照抗BCMA-AB2 (用实心方块显示) 的体外功效研究结果。

[0023] 图3示出了在抗BCMA-AB1-3 (2mg/kg：以倒置的空心三角形显示；4mg/kg：用空心三角形表示；8mg/kg：用实心方块表示) 和对照抗BCMA-AB1 (2mg/kg：用空心方块显示；4mg/kg：用X显示；8mg/kg：用实心三角形显示) 的SCID beige小鼠中NCI-H929异种移植物的体内功效研究的结果。PBS/媒剂 (用空心圆圈显示)。* $P < 0.0001$ ，对PBS/媒剂或抗BCMA-AB1在终点的肿瘤体积进行双因素方差分析 (two-way ANOVA)，Tukey检验。

[0024] 图4示出了抗BCMA-AB1-3 (2mg/kg：用实心方块显示；0.67mg/kg：用空心倒置三角形显示) 和抗BCMA-AB1 (2mg/kg：用空心方块显示) 的SCID beige小鼠中OPM2异种移植物的体内功效研究结果。PBS/媒剂 (用空心圆圈显示)。* $P < 0.0001$ ，对PBS/媒剂或抗BCMA-AB1在终点的肿瘤体积进行双因素方差分析 (two-way ANOVA)，Tukey检验。

[0025] 图5示出了在抗BCMA-AB1-3(1mg/kg:用空心三角形显示;2mg/kg:用空心倒置三角形显示;4mg/kg:用空心菱形显示;8mg/kg:用实心三角形显示)和iso-3(1mg/kg:用空心方块显示;2mg/kg:用右半黑色实心和左半开放正方形显示;4mg/kg:用左半黑色实心和右半开放正方形显示;8mg/kg:用实心方块显示)的SCID beige小鼠中NCI-H929异种移植物的体内功效研究的结果。PBS/媒剂(用空心圆圈显示)。* $P < 0.0001$,对PBS/媒剂或iso-3在终点的肿瘤体积进行双因素方差分析(two-way ANOVA),Tukey检验。

[0026] 图6示出了在抗BCMA-AB2-3(2mg/kg:用空心倒置三角形显示;4mg/kg:用实心三角形显示)和抗BCMA-AB2(4mg/kg:用实心圆显示)的SCID beige小鼠中NCI-H929异种移植物的体内功效研究的结果。PBS/媒剂(用空心圆圈显示)。* $P < 0.0001$,对PBS/媒剂或抗BCMA-AB2在终点的肿瘤体积进行双因素方差分析(two-way ANOVA),Tukey检验。

[0027] 图7A-M示出了大鼠体内毒性研究的结果。图7A示出了毒素处理的大鼠的体重变化。图7B-M示出了毒素处理的大鼠在第7天和第14天的血液学变化。图7B示出了毒素处理的大鼠在第7天和第14天的白细胞计数。图7C示出了毒素处理的大鼠在第7天和第14天的中性粒细胞计数。图7D示出了毒素处理的大鼠在第7天和第14天的中性粒细胞的变化百分比。图7E示出了毒素处理的大鼠在第7天和第14天的淋巴细胞计数。图7F示出了毒素处理的大鼠在第7天和第14天的嗜酸性粒细胞计数。图7G示出了毒素处理的大鼠在第7天和第14天的单核细胞计数。图7H示出了毒素处理的大鼠在第7天和第14天的网织红细胞计数。图7I示出了毒素处理的大鼠在第7天和第14天的网织红细胞的变化百分比。图7J示出了毒素处理的大鼠在第7天和第14天的红细胞计数。图7K示出了毒素处理的大鼠在第7天和第14天的血红蛋白浓度。图7L示出了毒素处理的大鼠在第7天和第14天的血细胞比容的变化百分比。图7M示出了毒素处理的大鼠在第7天和第14天的血小板计数。

[0028] 图8示出了使用NCI-H929(BCMA+)细胞和K562(BCMA-)细胞进行的ADC-50、ADC-51、ADC-52、ADC-53、ADC-3(在所有情况下都使用了抗BCMA AB1克隆)以及对照抗BCMA抗体(AB1克隆)、抗RSV抗体、与化合物3缀合的抗RSV抗体和D3毒素的体外功效研究的结果。

具体实施方式

[0029] 定义:

[0030] 除非另外定义,否则本文使用的技术和科学术语具有本领域普通技术人员通常理解的含义。通常,适合于本文所描述的细胞和组织培养、分子生物学、免疫学、微生物学、基因学、转基因细胞产生、蛋白质化学和核酸化学以及杂交的术语是本领域众所周知和常用的。除非另有指示,否则通常根据本领域众所周知以及如在本文中引用和讨论的各个一般和更具体的参考文献中所描述的常规方法进行本文提供的方法和技术。参见例如Sambrook等人《分子克隆:实验室手册(Molecular Cloning:A Laboratory Manual)》,第2版,纽约冷泉港,冷泉港实验室出版社(Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,N.Y.) (1989)以及Ausubel等人,《分子生物学实验指南(Current Protocols in Molecular Biology)》,格林出版协会(Greene Publishing Associates) (1992)。许多基础文本都描述了标准抗体产生过程,包含Borrebaeck(编辑)《抗体工程化(Antibody Engineering)》,第2版,纽约,弗里曼公司(Freeman and Company,NY),1995;McCafferty等人,《抗体工程化实用方法(Antibody Engineering,A Practical Approach)》英国牛津,牛

津出版社 (Oxford Press, Oxford, England) IRL, 1996; 以及 Paul (1995) 《抗体工程化方案 (Antibody Engineering Protocols)》新泽西, 托托瓦, 胡马纳出版社 (Humana Press, Towata, N.J.), 1995; Paul (编辑), 《基础免疫学 (Fundamental Immunology)》, 纽约, 瑞文出版社 (Raven Press, N.Y.), 1993; Coligan (1991) 《当代免疫学实验指南 (Current Protocols in Immunology)》纽约, 威利/格林 (Wiley/Greene, NY); Harlow 和 Lane (1989) 《抗体: 实验室手册 (Antibodies: A Laboratory Manual)》, 纽约, 冷泉港实验室出版社 (Cold Spring Harbor Press, NY); Stites 等人, (编辑) 《基础和临床免疫学 (Basic and Clinical Immunology)》(第4版) 加利福尼亚州, 洛思阿图斯, 朗格医学出版物 (Lange Medical Publications, Los Altos, Calif.) 以及其中引用的参考文献; 《编码单克隆抗体: 原理与实践 (Coding Monoclonal Antibodies: Principles and Practice)》(第2版) 纽约州, 纽约, 学术出版社 (Academic Press, New York, N.Y.), 1986 以及 Kohler 和 Milstein 《自然 (Nature)》256: 495-497, 1975。本文中所引用的所有参考文献都以全文引用的方式并入本文中。酶促反应和丰富/纯化技术也是众所周知的并且如本领域通常实现的或如本文所描述的根据制造商的说明书进行。与本文所描述的分析化学、合成有机化学以及医药和药物化学结合使用的术语和实验室程序和技术是本领域众所周知和常用的。标准技术可以用于化学合成、化学分析、药物制备、调配和递送以及患者的治疗。

[0031] 本文提供的标题不是对本公开的各个方面的限制, 所述方面可以通过整体参考本说明书来理解。

[0032] 除非本文中上下文另外要求, 否则单数术语应包含复数含义, 并且复数术语应包含单数含义。除非明确地并且肯定地限于一个指示物, 否则单数形式“一个/一种 (a 或 an)”和“所述”和任何词的单数用途包含多个指示物。

[0033] 应理解, 替代方案 (例如“或”) 在本文中的使用用于意指替代方案中的任一个或两个或其任何组合。

[0034] 在本文中使用的术语“和/或”将被视为意指在有或没有另一者的情况下明确公开了指定特征或组分中的每个特征或组分。例如, 本文中在如“A和/或B”等短语中使用的术语“和/或”旨在包含“A和B”、“A或B”、“A” (单独) 以及“B” (单独)。同样, 在如“A、B和/或C”等短语中使用的术语“和/或”旨在涵盖以下方面中的每个方面: A、B和C; A、B或C; A或C; A或B; B或C; A和C; A和B; B和C; A (单独); B (单独); 以及C (单独)。

[0035] 如本文所使用的, 术语“约 (about)”是指如由本领域普通技术人员所确定的在具体值或组合物的可接受的误差范围内的值或组合物, 这将部分地取决于如何测量或确定值或组合物, 即, 测量系统的限制。例如, 根据本领域的实践, “约 (about)”或“大约 (approximately)”可以意指在一个或大于一个标准偏差内。可替代地, 根据测量系统的限制, “约”或“大约”可以意指至多10% (即, $\pm 10\%$) 或更多的范围。例如, 约5mg可以包含在4.5mg与5.5mg之间的任何数字。此外, 具体地关于生物系统或过程, 该术语可以意指至多一个数量级或至多值的5倍。当在本公开中提供了特定值或组合物时, 除非另外陈述, 否则“约”或“大约”的含义应被假定在该特定值或组合物的可接受误差范围之内。在实施方式中, 约包含指定值。

[0036] 在本公开中, “包括 (comprises)”、“包括 (comprising)”、“含有 (containing)”和“具有 (having)”等可以具有在美国专利法中赋予其的含义并且可以指“包含 (includes)”、

“包含(including)”等。“基本上由...组成(consisting essentially of或consists essentially)”同样具有美国专利法中赋予的含义并且所述术语是开放性的,从而允许超出所叙述的存在,只要所叙述的基本或新颖特征不被超出所叙述的存在改变,但是排除现有技术实施方式。

[0037] 术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”以及本文所使用的其它相关术语可互换使用,以指代氨基酸残基的聚合物,其中在实施方式中,所述聚合物可以与不由氨基酸组成的部分缀合。所述术语适用于其中一个或多个氨基酸残基是对应的天然存在的氨基酸的人造化学模拟物的氨基酸聚合物,以及适用于天然存在的氨基酸聚合物和非天然存在的氨基酸聚合物。“融合蛋白”是指编码重组地表达为单个部分的两个或更多个单独蛋白质序列的嵌合蛋白。多肽包含已经历切割的成熟分子。这些术语涵盖天然和人工蛋白质、蛋白质片段和蛋白质序列的多肽类似物(如突变蛋白、变体、嵌合蛋白和融合蛋白)以及翻译后或以其它方式共价或非共价修饰的蛋白质。两个或更多个多肽(例如,3条多肽链)可以通过共价和/或非共价缔合彼此缔合以形成多聚体多肽复合物(例如,多特异性抗原结合蛋白质复合物)。多肽链的缔合还可以包含肽折叠。因此,取决于形成复合物的多肽链的数量,多肽复合物可以是二聚、三聚、四聚或更高阶复合物。

[0038] 如本文所使用的,术语“癌症”、“赘生物”和“肿瘤”可互换使用,并且呈单数或复数形式,是指经历了恶性转化的细胞,所述恶性转化使得它们对宿主生物体是病理性的。通过成熟的技术,特别是组织学检查,可以容易地将原发性癌细胞与非癌细胞区分开。如本文所使用的,癌细胞的定义不仅包含原代癌细胞,还包含源自癌细胞祖先的任何细胞。这包含转移的癌细胞,以及源自癌细胞的体外培养物和细胞系。当提及通常表现为实体瘤的一种类型的癌症时,“临床可检测的”肿瘤是基于肿瘤质量可检测的肿瘤;例如通过如计算机断层扫描(CT)扫描、磁共振成像(MRI)、X射线、超声波或体检触诊的程序,和/或由于可从患者获得的样品中的一种或多种癌症特异性抗原的表达而可检测的肿瘤。肿瘤可以是造血(或血液学(hematologic)或血液学的(hematological)或血液相关)癌症,例如,源自血细胞或免疫细胞的癌症,其可以被称为“液体肿瘤”。基于血液肿瘤的临床病状的具体实例包含白血病,如慢性髓细胞性白血病、急性髓细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病和急性淋巴细胞性白血病;浆细胞恶性肿瘤,如多发性骨髓瘤、MGUS和华氏巨球蛋白血症(Waldenstrom's macroglobulinemia);淋巴瘤,如非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma)、霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma);等等。

[0039] 所述癌症可以是其中存在异常数量的原始细胞或不需要的细胞增殖的任何癌症,或者被诊断为血液学癌症的任何癌症,包含淋巴样恶性肿瘤和髓系恶性肿瘤两者。髓系恶性肿瘤包含但不限于急性髓系(或髓细胞性或骨髓性或成髓细胞性)白血病(未分化或分化)、急性早幼粒细胞性(或早幼粒细胞性或早幼粒细胞性)白血病、急性粒单核细胞性(或骨髓单核细胞性)白血病、急性单核细胞性(或单核细胞性)白血病、红白血病和巨核细胞性(或巨核细胞性)白血病。这些白血病统称为急性髓系(或髓细胞性或骨髓性)白血病(AML)。髓系恶性肿瘤还包含骨髓增生性疾病(MPD),其包含但不限于慢性骨髓性(或髓系)白血病(CML)、慢性粒单核细胞白血病(CMML)、原发性血小板增多症(或血小板增多症)和真性血小板增多症(PCV)。髓系恶性肿瘤还包含骨髓发育不良(或骨髓增生异常综合征或MDS),其可以被称为难治性贫血(RA)、伴有过量原始细胞的难治性贫血(RAEB)和伴有转化中过量原始

细胞的难治性贫血 (RAEBT) ; 以及伴有或不伴有原因不明的骨髓化生的骨髓纤维化 (MFS) 。

[0040] 造血系统癌症还包含淋巴系统恶性肿瘤, 其可能影响淋巴结、脾脏、骨髓、外周血和/或结外部位。淋巴样癌包含B细胞恶性肿瘤, 其包含但不限于B细胞非霍奇金氏淋巴瘤 (B-NHL)。B-NHL可能是惰性的 (或低级别), 中等级别的 (或侵略性的) 或高级别的 (非常侵略性的)。惰性B细胞淋巴瘤包含滤泡性淋巴瘤 (FL); 小淋巴细胞淋巴瘤 (SLL); 边缘区淋巴瘤 (MZL), 包含具有绒毛淋巴细胞的淋巴结MZL、淋巴结外MZL、脾MZL和脾MZL; 淋巴浆细胞淋巴瘤 (LPL); 以及粘膜相关淋巴组织 (MALT或结外边缘区) 淋巴瘤。中等级别B-NHL包含伴或不伴白血病累及的套细胞淋巴瘤 (MCL)、弥漫性大细胞淋巴瘤 (DLBCL)、滤泡性大细胞淋巴瘤 (或3级或3B级) 和原发性纵隔淋巴瘤 (PML)。高级别B-NHL包含伯基特氏淋巴瘤 (BL)、伯基特样淋巴瘤、小无裂细胞淋巴瘤 (SNCL) 和淋巴母细胞淋巴瘤。其它B-NHL包含免疫母细胞性淋巴瘤 (或免疫细胞瘤)、原发性渗出性淋巴瘤、HIV相关 (或AIDS相关) 淋巴瘤和移植后淋巴增生性疾病 (PTLD) 或淋巴瘤。B细胞恶性肿瘤还包含但不限于慢性淋巴细胞白血病 (CLL)、前淋巴细胞白血病 (PLL)、华氏巨球蛋白血症 (WM)、毛细胞白血病 (HCL)、大颗粒淋巴细胞 (LGL) 白血病、急性淋巴细胞 (或淋巴细胞或成淋巴细胞) 白血病和Castleman病。NHL还可包含T细胞非霍奇金氏淋巴瘤 (T-NHL), 其包含但不限于未特别指明的T细胞非霍奇金氏淋巴瘤 (NOS)、外周T细胞淋巴瘤 (PTCL)、间变性大细胞淋巴瘤 (ALCL)、血管免疫母细胞性淋巴疾病 (AILD)、鼻部自然杀伤 (NK) 细胞/T细胞淋巴瘤、 γ/δ 淋巴瘤、皮肤T细胞淋巴瘤、蕈样肉芽肿和塞扎里综合征 (Sezary syndrome) 。

[0041] 造血系统癌症还包含霍奇金氏淋巴瘤 (或疾病), 包含经典型霍奇金氏淋巴瘤、结节性硬化性霍奇金氏淋巴瘤、混合细胞性霍奇金氏淋巴瘤、淋巴细胞优势型 (LP) 霍奇金氏淋巴瘤、结节性LP霍奇金氏淋巴瘤和淋巴细胞减少型霍奇金氏淋巴瘤。造血系统癌症还包含浆细胞疾病或癌症, 如多发性骨髓瘤 (MM), 包含郁积性MM、未确定 (或未知或不清楚) 重要性的单克隆丙种球蛋白病 (MGUS)、浆细胞瘤 (骨、髓外)、淋巴浆细胞淋巴瘤 (LPL)、华氏巨球蛋白血症、浆细胞白血病和原发性淀粉样变性 (AL)。造血系统癌症还可以包含另外造血细胞的癌症, 包含多形核白细胞 (或嗜中性白细胞)、嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞、树突状细胞、血小板、红细胞和自然杀伤细胞。包含造血细胞的组织在本文中被称作“造血细胞组织”, 包含骨髓; 外周血; 胸腺; 以及外周淋巴组织, 如脾、淋巴结、与粘膜相关的淋巴组织 (如肠相关的淋巴组织)、扁桃体、派尔氏结和阑尾, 以及与其它粘膜相关的淋巴组织, 例如支气管内膜。

[0042] 本文中使用的“抗体 (antibody/antibodies)”以及相关术语是指与抗原特异性结合的完整免疫球蛋白或其抗原结合部分。抗原结合部分可以通过重组DNA技术或通过完整抗体的酶促或化学切割产生。抗原结合部分尤其包含Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、结构域抗体 (dAb) 和互补决定区 (CDR) 片段、单链抗体 (scFv)、嵌合抗体、双功能抗体、三功能抗体、四功能抗体以及含有足以赋予与多肽特异性抗原结合的免疫球蛋白的至少一部分的多肽。

[0043] 抗体包含重组产生的抗体和抗原结合部分。抗体包含非人抗体、嵌合抗体、人源化抗体和全人抗体。抗体包含单特异性、多特异性 (例如, 双特异性、三特异性和高阶特异性)。抗体包含四聚体抗体、轻链单体、重链单体、轻链二聚体、重链二聚体。抗体包含F(ab')₂片段、Fab'片段和Fab片段。抗体包含单结构域抗体、单价抗体、单链抗体、单链可变片段 (scFv)、骆驼化 (camelized) 抗体、亲和体、二硫键连接的Fv (sdFv)、抗独特型抗体 (抗Id)、

微型抗体。抗体包含单克隆群体和多克隆群体。本文描述了抗BCMA抗体。

[0044] 如本文所使用的,术语“单克隆抗体”是指从基本上同质的抗体群体中获得的抗体,即包括所述群体的单个抗体是相同的和/或结合相同的表位,除了可能的变体抗体(例如含有天然存在的突变或在单克隆抗体制剂的生产期间产生的),此类变体通常以少量存在。与通常包含针对不同决定簇(表位)的不同抗体的多克隆抗体制剂相比,单克隆抗体制剂的每个单克隆抗体都针对抗原上的单个决定簇。因此,修饰语“单克隆”指示抗体的特征是从基本上同质的抗体群体中获得的,并且不应被解释为需要通过任何特定方法产生抗体。例如,要根据本发明使用的单克隆抗体可以通过多种技术制备,包括但不限于杂交瘤方法、重组DNA方法、噬菌体展示方法和利用含有人免疫球蛋白基因座的全部或一部分的转基因动物的方法,此类方法和用于制备单克隆抗体的其它示例性方法在本文中进行了描述。

[0045] 如本文中所使用的,“表位”以及相关术语是指通过抗原结合蛋白(例如,通过抗体或其抗原结合部分)结合的抗原的一部分。表位可以包括通过抗原结合蛋白结合的两个或更多个抗原的一部分。表位可以包括一个抗原或两个或更多个抗原的非连续部分(例如,在抗原的一级序列中不连续但在抗原的三级和四级结构的情境中彼此足够接近以由抗原结合蛋白结合的氨基酸残基)。通常,抗体的可变区,具体地是CDR与表位相互作用。本文描述了与BCMA多肽的表位结合的抗BCMA抗体和其抗原结合蛋白。

[0046] 本文中使用的“抗体片段”、“抗体部分”、“抗体的抗原结合片段”或“抗体的抗原结合部分”以及其它相关术语是指除了完整抗体之外包含完整抗体的一部分的分子,该部分结合完整抗体所结合的抗原。抗体片段的实例包含但不限于Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂;Fd;和Fv片段,以及dAb;双抗体;线性抗体;单链抗体分子(例如,scFv);包括足以赋予与多肽特异性抗原结合的抗体的至少一部分的多肽。抗体的抗原结合部分可以通过重组DNA技术或通过完整抗体的酶促或化学切割产生。抗原结合部分尤其包含Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、结构域抗体(dAb)和互补决定区(CDR)片段、嵌合抗体、双功能抗体、三功能抗体、四功能抗体以及包括足以赋予抗体片段抗原结合特性的免疫球蛋白的至少一部分的多肽。本文描述了抗BCMA抗体的抗原结合片段。

[0047] 抗原结合蛋白可以具有例如免疫球蛋白的结构。在一个实施方式中,“免疫球蛋白”是指四聚体分子。每个四聚体分子由两对相同的多肽链构成,每对具有一个“轻”链(约25kDa)和一个“重”链(约50-70kDa)。每条链的N末端限定了约100个到110个或更多个氨基酸的可变区,其主要负责抗原识别。每条链的羧基端部分限定了主要负责效应子功能的恒定区。人轻链被分类为κ或λ轻链。重链被分类为μ、δ、γ、α或ε,并且分别将抗体的同种型定义为IgM、IgD、IgG、IgA和IgE。在轻链和重链中,可变区和恒定区通过约12个或更多个氨基酸的“J”区接合,其中重链还包含约10个更多氨基酸的“D”区。通常参见《基础免疫学》第7章(Paul, W. 编辑,第2版纽约瑞文出版社(1989))(其出于所有目的以全文引用的方式并入)。每个轻/重链对的可变区形成抗体结合位点,使得完整的免疫球蛋白具有两个抗原结合位点。在一个实施方式中,抗原结合蛋白可以是一种合成分子,其结构与四聚体免疫球蛋白分子不同,但仍能与靶抗原结合或者与两种或更多种靶抗原结合。例如,合成抗原结合蛋白可以包含抗体片段、1-6个或更多个多肽链、多肽的非对称组合件或其它合成分子。术语“可变重链”、“V_H”或“VH”是指免疫球蛋白重链的可变区,包含Fv、scFv、dsFv或Fab;而术语“可变轻链”、“V_L”或“VL”是指免疫球蛋白轻链的可变区,包含Fv、scFv、dsFv或Fab。“可变区”或

“可变结构域”是指抗体与抗原结合所涉及的抗体重链或轻链的结构域。天然抗体的重链和轻链的可变结构域(分别为VH和VL)通常具有类似的结构,其中每个结构域包括四个保守框架区(FR)和三个高变区(HVR)。(参见例如,金特(Kindt)等人,Kuby免疫学(Kuby Immunology),第6版,W.H.弗里曼公司(W.H.Freeman and Co.),第91页(2007)。)单个VH或VL结构域可以足以赋予抗原结合特异性。此外,结合特定抗原的抗体可以使用来自于结合该抗原的抗体的VH或VL结构域分离出来,以分别筛选互补的VL或VH结构域的文库。参见例如,Portolano等人,《免疫学杂志(J. Immunol.)》150:880-887(1993);Clarkson等人,《自然(Nature)》352:624-628(1991)。本文描述了与BCMA特异性结合的具有免疫球蛋白样性质的抗原结合蛋白。

[0048] 抗体功能片段的实例包含但不限于完整抗体分子、抗体片段,如Fv、单链Fv(scFv)、互补决定区(CDR)、VL(轻链可变区)、VH(重链可变区)、Fab、F(ab)2'以及这些的任何组合或能够结合至靶抗原的免疫球蛋白肽的任何其它功能部分(参见例如,《基础免疫学(FUNDAMENTAL IMMUNOLOGY)》(编者:Paul,第4版2001)。如本领域技术人员所理解的,可以通过多种方法获得各种抗体片段,例如用酶(如胃蛋白酶)消化完整抗体;或从头合成。抗体片段通常通过化学方法或使用重组DNA方法从头合成。因此,如本文所使用的,术语抗体包含通过修饰完整抗体产生的抗体片段,或使用重组DNA方法从头合成的抗体片段(例如,单链Fv)或使用噬菌体展示文库鉴定的抗体片段(参见例如,McCafferty等人,(1990)《自然(Nature)》348:552)。术语“抗体”还包含二价或双特异性分子、双体、三体和四体。二价和双特异性分子描述于以下文献中:例如,Kostelny等人(1992)《免疫学杂志》148:1547, Pack和Pluckthun(1992)《生物化学(Biochemistry)》31:1579, Hollinger等人(1993),《美国国家科学院院刊(PNAS.USA)》90:6444, Gruber等人(1994)《免疫学杂志》152:5368, Zhu等人(1997)《蛋白质科学(Protein Sci.)》6:781, Hu等人(1996)《癌症研究(Cancer Res.)》56:3055, Adams等人.(1993)《癌症研究》53:4026, 以及McCartney等人,(1995)《蛋白质工程(Protein Eng.)》8:301。

[0049] 术语“抗原结合蛋白”、“抗原结合结构域”、“抗原结合区”或“抗原结合位点”以及本文所使用的相关术语是指包含与抗原结合的部分的蛋白质,以及任选地使所述抗原结合部分采用促进所述抗原结合蛋白与所述抗原结合的构象的支架或框架部分。抗原结合蛋白的实例包含抗体、抗体片段(例如,抗体的抗原结合部分)、抗体衍生物和抗体类似物。抗原结合蛋白可以包含例如具有移植CDR或CDR衍生物的替代性蛋白质支架或人工支架。此类支架包括但不限于包含例如引入突变以稳定抗原结合蛋白的三维结构的抗体源性支架以及包括例如生物相容性聚合物的完全合成支架。参见例如Korndorfer等人,2003,《蛋白质:结构、功能和生物信息学(Proteins:Structure,Function,and Bioinformatics)》,第53卷,第1期:121-129;Roque等人,2004,《生物技术进展(Biotechnol.Prog.)》20:639-654。另外,可以使用肽抗体模拟物(“PAM”)以及基于利用纤维蛋白连接素组分作为支架的抗体模拟物的支架。本文描述了与BCMA结合的抗原结合蛋白。

[0050] 在一个实施方式中,解离常数(K_D)可以BIACORE表面等离子体共振(SPR)测定来测量。表面等离子体共振是指允许通过例如使用BIACORE系统(新泽西州皮斯卡塔韦通用医疗集团Biacore生命科学事业部(Biacore Life Sciences division of GE Healthcare, Piscataway, NJ)检测生物传感器基质内的蛋白质浓度的变化来分析实时相互作用的光学

现象。

[0051] 本说明书中涉及抗BCMA抗原结合蛋白时使用的“特异性结合”意指抗原结合蛋白与人BCMA(hBCMA)结合,而不与其它人蛋白结合或不明显结合。然而,所述术语并不排除本发明的抗原结合蛋白也可以与其它形式的BCMA,例如灵长类动物BCMA具有交叉反应性的事实。例如,在一个实施方式中,抗原结合蛋白不与TACI或BAFF-R结合。在一个实施方式中,如果抗体以 10^{-5} M或更小、或 10^{-6} M或更小、或 10^{-7} M或更小、或 10^{-8} M或更小、或 10^{-9} M或更小、或 10^{-10} M或更小的解离常数 K_D 与抗原结合,那么所述抗体与靶抗原特异性地结合。

[0052] 除非另外指明,否则如本文所使用的术语“BCMA”是指来自任何脊椎动物来源(包含哺乳动物,如灵长类动物(例如,人类、食蟹猴(cyno)和啮齿动物(例如,小鼠和大鼠))的任何天然BCMA。术语涵盖“全长”未经处理的BCMA以及由细胞中处理产生的任何形式的BCMA。术语还涵盖天然存在的BCMA的变体,例如剪接变体、等位基因变体和同种型。示例性人BCMA蛋白的氨基酸序列显示在SEQ ID NO:16中。

[0053] 术语“表达BCMA的癌症”是指包含在其表面表达BCMA的细胞的癌症。

[0054] 术语“抗BCMA抗体”和“与BCMA结合的抗体”是指能够以足够的亲和力结合BCMA的抗体,以使得所述抗体可用作靶向BCMA的治疗剂。在一个实施方式中,抗BCMA抗体与不相关的非BCMA蛋白的结合程度小于如例如通过放射免疫测定(RIA)测量的抗体与BCMA的结合的约10%。在某些实施方式中,与BCMA结合的抗体的解离常数(K_D) $\leq 1\mu\text{M}$ 、 $\leq 100\text{nM}$ 、 $\leq 10\text{nM}$ 、 $\leq 5\text{nM}$ 、 $\leq 4\text{nM}$ 、 $\leq 3\text{nM}$ 、 $\leq 2\text{nM}$ 、 $\leq 1\text{nM}$ 、 $\leq 0.1\text{nM}$ 、 $\leq 0.01\text{nM}$ 或 $\leq 0.001\text{nM}$ (例如, 10^{-8} M或更小,例如 10^{-8} M至 10^{-13} M,例如 10^{-9} M至 10^{-13} M)。在某些实施方式中,抗BCMA抗体与在来自不同物种的BCMA中保守的BCMA的表位结合。

[0055] 本文中使用的术语“嵌合抗体”以及相关术语是指包括来自第一抗体的一个或多个区和来自一个或多个其它抗体的一个或多个区的抗体。在一个实施方式中,一个或多个CDR源自人抗体。在另一个实施方式中,所有CDR衍生自人抗体。在另一个实施方式中,来自多于一个人抗体的CDR在嵌合抗体中混合并匹配。例如,嵌合抗体可以包含来自第一人抗体的轻链的CDR1、来自第二人抗体的轻链的CDR2和CDR3以及来自第三抗体的重链的CDR。在另一个实例中,CDR来源于如人和小鼠、或人和兔、或人和山羊等不同的物种。本领域的技术人员应理解,其它组合是可能的。

[0056] 进一步地,框架区可以源自相同抗体之一、源自如人抗体等一个或多个不同抗体或源自人源化抗体。在嵌合抗体的一个实例中,重链和/或轻链的一部分与来自特定物种或属于特定抗体种类或亚类的抗体相同、同源或源自所述抗体,而所述链的其余部分与来自另一物种或属于另一抗体种类或亚类的抗体相同、同源或源自所述抗体。还包含表现出期望的生物活性(即,与靶抗原特异性地结合的能力)的此类抗体的片段。嵌合抗体可以从本文所描述的任何抗BCMA抗体的部分制备。

[0057] “效应子功能”是可归因于抗体的Fc区的随着抗体同种型而变化的那些生物活性。抗体效应子功能的实例包含:C1q结合和补体依赖性细胞毒性(CDC);Fc受体结合;抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC);吞噬作用;细胞表面受体(例如,B细胞受体)的下调;以及B细胞激活。

[0058] 如本文所使用的,术语“Fc”或“Fc区”是指在铰链区中开始或在铰链区之后开始并且在重链的C端结束的抗体重链恒定区的部分。Fc区包括CH和CH3区的至少一部分,并且可

以包含或可以不包含铰链区的一部分。两条各自携带半Fc区的多肽链可以二聚以形成Fc区。Fc区可以与Fc细胞表面受体以及免疫补体系统的一些蛋白质结合。Fc区表现出效应子功能,所述效应子功能包括包含补体依赖性细胞毒性(CDC)、抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)、抗体依赖性吞噬作用(ADP)、调理作用和/或细胞结合中的任何一种活性或两种或更多种活性的任何组合。Fc区可以结合Fc受体,包含Fc γ RI (例如,CD64)、Fc γ RII (例如,CD32)和/或Fc γ RIII (例如,CD16a)。

[0059] “人源化抗体”是指具有通过一种或多种氨基酸取代、缺失和/或添加而与源自非人物种的抗体的序列不同的序列的抗体,使得与非人物种抗体相比,在将人源化抗体施用于人类受试者时,所述人源化抗体不太可能诱导免疫应答和/或诱导较不严重的免疫应答。在一个实施方式中,非人物种抗体的重链和/或轻链的框架结构域和恒定结构域中的某些氨基酸发生突变以产生人源化抗体。在另一个实施方式中,来自人抗体的一个或多个恒定结构域与非人物种的一个或多个可变结构域融合。在另一个实施方式中,非人抗体的一个或多个CDR序列中的一个或多个氨基酸残基被改成降低在将非人抗体施用于人类受试者时所述非人抗体的可能的免疫原性,其中经过改变的氨基酸残基对于抗体与其抗原的免疫特异性结合不是关键性的,或者对氨基酸序列作出的改变是保守性改变,使得人源化抗体与抗原的结合并不比非人抗体与抗原的结合明显更差。如何制备人源化抗体的实例可以在美国专利第6,054,297号、第5,886,152号和第5,877,293号中找到。

[0060] 术语“人抗体”是指具有源自人免疫球蛋白序列的一个或多个可变区和恒定区的抗体。在一个实施方式中,所有可变结构域和恒定结构域都源自人免疫球蛋白序列(例如,全人抗体)。这些抗体可以通过各种方式制备,所述方式的实例如下描述,包含通过重组方法或通过用小鼠的所关注抗原进行免疫,所述小鼠经基因修饰以表达衍生自人重链和/或轻链编码基因的抗体。本文描述了全人抗BCMA抗体和其抗原结合蛋白。这种人抗体的定义明确排除了包括非人类抗原结合残基的人源化抗体。

[0061] 术语“分离”意指“人工”改变了其自然状态,或从其原始环境中被改变或去除,或两者皆有。当术语“分离的”应用于核酸或蛋白质时,表示所述核酸或蛋白质基本上不含在天然状态下与其缔合的其它细胞组分。它可以例如处于均质状态并且可以处于干燥状态或水溶液中。纯度和均质性通常使用分析化学技术(如聚丙烯酰胺凝胶电泳、高效液相色谱法或质谱法)确定。制剂中存在的主要蛋白质基本上得以纯化。例如,活生物体中天然存在的多核苷酸或多肽不是“分离的”,但是从其天然状态的共存物质中分离的相同多核苷酸或多肽是“分离的”,包含但不限于当此类多核苷酸或多肽被重新引入到细胞中时,即使所述细胞与从中分离多核苷酸或多肽的细胞是相同的物种或类型。

[0062] “CDR”被定义为抗体的互补决定区氨基酸序列,所述互补决定区氨基酸序列是免疫球蛋白重链和轻链的高变结构域。在免疫球蛋白的可变部分中有三个重链CDR(或CDR区)和三个轻链CDR。因此,如本文所使用的,“CDR”可以指所有三个重链CDR或者所有三个轻链CDR(如果合适的话,或者所有重链CDR和所有轻链CDR)。

[0063] CDR为抗体与抗原或表位的结合提供了大部分接触残基。本发明中所关注的CDR源自供体抗体的可变重链和轻链序列,并且包含天然CDR的类似物,所述类似物也共享或保留了与其来源的供体抗体相同的抗原结合特异性和/或中和能力。

[0064] 抗体的CDR序列可以通过Kabat编号系统(Kabat等人;《免疫学所关注的蛋白质序

列(Sequences of proteins of Immunological Interest)》(NIH,1987))来确定;可替代地,所述序列可以使用Chothia编号系统(Al-Lazikani等人,(1997)《分子生物学杂志(JMB)》273,927-948)、接触定义方法(MacCallum R.M.,和Martin A.C.R.以及Thornton J.M,(1996)《分子生物学杂志(Journal of Molecular Biology)》,262(5),732-745)或本领域技术人员已知的用于对抗体中的残基进行编号和确定CDR的任何其它已建立的方法来确定。

[0065] 技术人员可用的CDR序列的其它编号惯例包含“AbM”(巴斯大学)和“Contact”(伦敦大学学院)方法。使用Kabat、Chothia、AbM和Contact方法中的至少两种方法可以确定最小重叠区,以提供“最小结合单位”。最小结合单元可以是CDR的子部分。

[0066] “亲和力”是指分子(例如,抗体)的单个结合位点与其结合伴侣(例如,抗原)之间的非共价相互作用的总和的强度。除非另外指示,否则如本文所使用的,“结合亲和力”是指反映结合对的成员(例如,抗体和抗原)之间的1:1相互作用的内在结合亲和力。分子X对其配偶体Y的亲和力通常可以由解离常数(Kd)表示。亲和力可以通过本领域已知的常见方法来测量,包含本文所描述的那些方法。以下描述了用于测量结合亲和力的具体的说明性实施方式和示例性实施方式。

[0067] “亲和力成熟”抗体是指在一个或多个高变区(HVR)具有一个或多个变更的抗体,与不具有此类变更的亲本抗体相比,此类变更导致抗体对抗原的亲和力提高。

[0068] 如本文所使用的,术语“变体”多肽和多肽的“变体”是指包括具有相对于参考多肽序列插入、缺失和/或取代到氨基酸序列中的一个或多个氨基酸残基的氨基酸序列的多肽。多肽变体包含融合蛋白。相似的,变体多核苷酸包含相对于另一多核苷酸序列具有一个或多个核苷酸插入核苷酸序列中、从核苷酸序列中缺失和/或取代到核苷酸序列中的核苷酸序列。多核苷酸变体包含融合多核苷酸。

[0069] 如本文所使用的,术语“结构域”是指一种折叠的蛋白质结构,其具有独立于蛋白质的其余部分的三级结构。通常,结构域负责蛋白质的独立的功能性质,并且在许多情况下,可以被添加、去除或转移至其它蛋白质而不损失蛋白质的剩余部分和/或结构域的功能。“抗体单一可变结构域”是包括抗体可变结构域的序列特性的一种折叠的多肽结构域。因此,它包含完全抗体可变结构域和经修饰的可变结构域,例如其中一个或多个环已经被非抗体可变结构域特征的序列所替代,或已经被截短或包括N末端或C末端延伸的抗体可变结构域,以及至少保留全长结构域的结合活性和特异性的可变结构域的折叠片段。

[0070] 如本文所使用的,术语“细胞毒性剂”是指抑制或阻止细胞功能和/或造成细胞死亡或破坏的物质。细胞毒性剂包含但不限于放射性同位素(例如, ^{211}At 、 ^{131}I 、 ^{125}I 、 ^{90}Y 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{153}Sm 、 ^{212}Bi 、 ^{32}P 、 ^{212}Pb 和Lu的放射性同位素);化学治疗剂或药物(例如,甲氨蝶呤、亚德里亚霉素(adriamycin)、长春花生物碱(长春新碱、长春花碱、依托泊苷)、多柔比星、美法仑、丝裂霉素C、苯丁酸氮芥、柔红霉素或其它嵌入剂);生长抑制剂;酶和其片段,如溶核酶;抗生素;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,包含其片段和/或变体;以及以下所公开的各种抗肿瘤剂或抗癌剂。

[0071] “化学治疗剂”是指可用于治疗癌症的化学化合物。化学治疗剂的实例包含:烷化剂,如噻替派(thiotepa)和环磷酰胺(CYTOXAN®);烷基磺酸盐,如白消安、英丙舒凡和泊舒凡;氮丙啶类,如苯佐替派(benzodopa)、卡波醌、美妥替派(meturedopa)和乌瑞替派

(uredopa); 乙烯亚胺和甲基胺, 包含六甲蜜胺、三亚乙基密胺、三亚乙基磷酰胺、三亚乙基硫代磷酰胺和三羟甲密胺; 番荔枝内酯(尤其是布拉他辛和布拉他辛酮); δ -9-四氢大麻酚(屈大麻酚、MARINOL®); β -拉帕醌; 拉帕醇; 秋水仙碱; 桦木酸; 喜树碱(包含合成类似物拓扑替康(HYCAMTIN®)、CPT-11(伊立替康, CAMPTOSAR®)、乙酰喜树碱、东莨菪素和9-氨基喜树碱); 苔藓抑素; 卡利他汀; CC-1065(包含其阿多来新、卡折来新和比折来新合成类似物); 鬼臼毒素; 鬼臼酸; 替尼泊苷; 念珠藻环肽(具体地是念珠藻环肽1和念珠藻环肽8); 尾海兔素; 多卡米新(包含合成类似物KW-2189和CB1-TM1); 刺五加苷; 胰酶抑制素; 珊瑚素; 海绵抑制素; 氮芥类, 如苯丁酸氮芥、萘氮芥、氯磷酰胺(cholophosphamide)、雌氮芥、异环磷酰胺、氮芥(mechlorethamine)、盐酸甲氧氮芥、美法仑、新恩比兴(novembichin)、苯芥胆甾醇、泼尼莫司汀、曲磷胺、尿嘧啶氮芥; 亚硝基脲, 如卡莫司汀、氯脲霉素、福莫司汀、洛莫司汀、尼莫司汀和雷莫司汀; 抗生素, 如烯二炔类抗生素(例如, 加利车霉素, 尤其是加利车霉素 γ 1 和加利车霉素 ω 1(参见例如《应用化学英文国际版(Agnew, Chem.Intl.Ed.Engl.)》, 33:183-186(1994))); 达内霉素, 包含达内霉素A; 埃斯波霉素; 以及新制癌菌素发色团和相关的色素蛋白烯二炔抗生素发色基)、阿克拉霉素、放线菌素、安曲霉素、重氮丝氨酸、博来霉素、放线菌素、卡拉比星、洋红霉素、嗜癌菌素、色霉素、放线菌素D、柔红霉素、地托比星、6-二氮-5-氧代-L-正亮氨酸、多柔比星(包含吗啉代-多柔比星、氰基吗啉代-多柔比星、2-吡咯啉-多柔比星和去氧多柔比星)、表阿霉素、依索比星、伊达比星醇、马塞罗霉素、丝裂霉素例如丝裂霉素C、霉酚酸、诺拉霉素、橄榄霉素类、培洛霉素、泊非霉素(potfiromycin)、嘌呤霉素、三铁阿霉素、罗多比星、链黑菌素、链脲菌素、杀结核菌素、乌苯美司、净司他丁、佐柔比星; 抗代谢物类, 如氨甲蝶呤和5-氟尿嘧啶(5-FU); 叶酸类似物, 如二甲叶酸、氨甲蝶呤、蝶罗呤、三甲曲沙; 嘌呤类似物, 如氟达拉滨、6-巯基嘌呤、硫咪嘌呤、硫鸟嘌呤; 嘧啶类似物, 如安西他滨、阿扎胞苷、6-氮杂尿苷、卡莫氟、阿糖胞苷、双脱氧尿苷、去氧氟尿苷、依诺他滨、氟尿苷; 雄激素类, 如卡普睾酮、丙酸屈他雄酮、环硫雄醇、美雄烷、睾内酯; 抗肾上腺类, 如氨鲁米特、米托坦、曲洛司坦; 叶酸补充剂, 如亚叶酸; 醋葡萄糖内酯; 醛磷酰胺糖苷; 氨基乙酰丙酸; 恩尿嘧啶; 安吡啶; 百垂布西(bestrabucil); 比生群(bisantrene); 依达曲沙(edatraxate); 地磷酰胺(defofamine); 地美可辛(demecolcine); 二噻酮; 鸟氨酸; 醋酸鱼藤酮; 埃坡霉素; 依托葡萄糖酸; 硝酸镓; 羟基脲; 香菇多糖; 氯尼达宁; 美登木素生物碱例如美坦辛和安丝菌素; 米托胍酮; 米托蒽醌; 莫匹丹醇; 硝基丝氨酸; 喷司他丁; 蛋氨酸(phenamet); 吡柔比星; 洛索桑酮; 2-乙酰肼; 丙卡巴肼; **PSK®** 多糖复合体(俄勒冈州尤金市JHS天然产品公司(JHS Natural Products, Eugene, OR)); 雷佐生; 根霉素(rhizoxin); 西佐喃(sizofiran); 螺旋锗(spirogermanium); 细氮酮酸; 三唑酮; 2,2',2''-三氯三乙胺; 单端孢霉烯类(具体地是T-2毒素、疣孢菌素(verracurin)A、杆孢菌素A和蛇形菌素); 乌拉坦(urethan); 长春地辛(ELDISINE®、FILDESIN®); 达卡巴嗪; 甘露霉素; 米托溴醇; 米托乳醇; 哌泊溴烷; 盖克托辛(gacytosine); 阿拉伯糖苷("Ara-C"); 噻替派、紫杉烷, 例如紫杉醇(**TAXOL®**; 新泽西州普林斯顿的百时美施贵宝肿瘤学(Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.))、ABRAXANETM无聚氧乙烯蓖麻油、白蛋白工程化的紫杉醇纳米颗粒调配物(伊利诺斯州绍姆贝格的美国制药伙伴公司(American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Illinois))以及多西他赛(例如, **TAXOTERE®**; 法国安东尼的罗纳普朗克乐安公司(Rhone-Poulenc Rorer, Antony, France)); 苯丁酸氮芥

(chloranbucil); 吉西他滨(GEMZAR®); 6-硫鸟嘌呤(6-thioguanine); 巯基嘌呤(mercaptapurine); 氨甲蝶呤; 铂类似物如顺铂(cisplatin)和卡铂(carboplatin); 长春花碱(VELBAN®); 铂; 依托泊苷(etoposide) (VP-16); 异环磷酰胺(ifosfamide); 米托蒽醌(mitoxantrone); 长春新碱(vincristine) (ONCOVIN®); 奥沙利铂; 醛氢叶酸; 长春瑞滨(NAVELBINE®); 诺安特龙; 依达曲塞; 柔红霉素; 氨基蝶呤; 伊班膦酸盐; 拓扑异构酶抑制剂RFS2000; 二氟甲基鸟氨酸(DMFO); 类视黄醇, 如视黄酸; 卡培他滨(XELODA®); 以上中的任何一种的药学上可接受的盐、酸或衍生物; 以及上述两种或多种的组合, 如CHOP, 环磷酰胺、阿霉素、长春新碱和泼尼松龙的组合疗法的缩写; CVP, 环磷酰胺、长春新碱和泼尼松龙联合疗法的缩写; FOLFOX是奥沙利铂(ELOXATINTM)联合5-FU和醛氢叶酸治疗方案的缩写。

[0072] “抗体-药物缀合物”或“ADC”是与一种或多种异源分子(包括但不限于细胞毒剂)缀合的抗体。

[0073] 如本文所使用的, 术语“缀合的”在指两个部分时意指两个部分键合, 其中连接两个部分的键可以是共价的或非共价的。在实施方式中, 这两个部分彼此共价键合(例如, 直接共价键合或通过一个共价键合的中间体)。在实施方式中, 这两个部分是非共价键合的(例如, 通过离子键、范德华键/相互作用、氢键、极性键或其组合或混合物)。

[0074] “个体”或“受试者”是哺乳动物。哺乳动物包括但不限于驯养动物(例如牛、羊、猫、狗和马)、灵长类动物(例如, 人类和非人灵长类动物例如猴子)、兔子、和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)。在某些实施方式中, 个体或受试者是人。在某些实施方式中, 所述受试者是成人、青少年、儿童或婴儿。在一些实施方式中, 使用术语“个体”或“患者”并且旨在与“受试者”互换。

[0075] 相对于参考多肽序列的“氨基酸序列同一性百分比(%)”被定义为在比对序列并且引入空位(如果必要的话)以实现最大序列同一性百分比之后, 候选序列中与参考多肽序列中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分比。出于确定氨基酸序列同一性百分比的目的的比对可以以本领域的技术内的各种方式实现, 例如, 借助于Smith和Waterman, 1981, 《应用数学进展(Ads App.Math.)》2, 482的局部同源性算法, 借助于Needleman和Wunsch, 1970, 《分子生物学杂志》48, 443的局部同源性算法, 借助于Pearson和Lipman, 1988, 《美国国家科学院院刊(Proc.Natl Acad.Sci.USA)》88, 2444的相似性搜索算法, 或者借助于使用所述算法的计算机程序(例如, EMBOSS Needle或EMBOSS Water, 可在网址www.ebi.ac.uk/Tools/psa/获得)。本领域技术人员可以确定用于比对的适当参数, 包含对于在所比较的序列的全长上实现最大比对所需的任何算法。如本文所使用的, “序列同一性百分比”或“[序列]同一性百分比(%)”是通过在由两个序列之间的局部比对长度限定的比较窗口上比较两个最佳局部比对的序列来确定的。(这也可以被认为是同源性的百分比或“同源性百分比(%)”)。与参考序列相比, 比较窗口中的氨基酸序列可以包括添加或缺失(例如, 空位或突出端)以用于两个序列的最佳比对。两个序列之间的局部比对仅包含根据取决于用于进行比对的算法(例如, EMBOSS Water)的标准而被认为足够相似的每个序列的区段。“相同的”或“同一性百分比”, 是指两个或更多个序列或子序列是相同的, 或具有相同的指定百分比的氨基酸残基或核苷酸(即, 当在比较窗口或指定区内进行最大对应性比较和比对时, 在指定区内具有约60%同一性, 优选地65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、

94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性)。百分比同一性通过以下计算:确定在两个序列中出现相同核酸碱基或氨基酸残基的位置数以产生匹配的位置数、将匹配的位置数除以比较窗口中的总位置数并且将结果乘以100。用于比较的序列的最佳比对可以通过以下进行:Smith和Waterman的局部同源性算法,《应用数学进展(Add. APL. Math.)》2:482, 1981;Needleman和Wunsch的全局同源比对算法,《分子生物学杂志》48:443, 1970;Pearson和Lipman的相似性搜索方法,《美国国家科学院院刊》85:2444, 1988或检查。作为另外的实例,GAP和BESTFIT可以用于确定已经被鉴定用于比较的两个序列的最佳比对。通常,使用空位权重的默认值5.00和空位权重长度的默认值0.30。

[0076] 序列比较和两个多肽序列或两个多核苷酸序列之间同一性百分比的确定可以使用数学算法来实现。例如,两个多肽或两个多核苷酸序列的“同一性百分比”或“同源性百分比”可以通过使用GAP计算机程序(GCG Wisconsin Package, 10.3版本(加利福尼亚州圣地亚哥的Accelrys公司(Accelrys, San Diego, Calif.))使用其默认参数比较序列来确定。关于测试序列的如“包括与Y具有至少X%同一性的序列”的表达意指当如上描述与序列Y比对时,测试序列包括与Y的残基至少X%相同的残基。

[0077] 在一个实施方式中,测试抗体的氨基酸序列可以与构成本文所描述的多特异性抗原结合蛋白质复合物的多肽的任何氨基酸序列类似,但不完全相同。测试抗体与多肽之间的相似性可以为至少95%,或与构成本文所描述的多特异性抗原结合蛋白质复合物的任何多肽至少96%相同、或至少97%相同、或至少98%相同或至少99%相同。在一个实施方式中,类似多肽可以含有重链和/或轻链内的氨基酸取代。在一个实施方式中,氨基酸取代包括一个或多个保守氨基酸取代。“保守氨基酸取代”是其中一个氨基酸残基被具有化学性质(例如,电荷或疏水性)类似的侧链(R基团)的另一个氨基酸残基取代的氨基酸取代。通常,保守氨基酸取代不会实质上改变蛋白质的功能性质。在两个或更多个氨基酸序列因保守取代而彼此不同的情况下,可以向上调节序列同一性百分比或相似性程度以修正取代的保守性质。用于作出此调整的方法是本领域技术人员众所周知的。参见例如Pearson (1994)《分子生物学方法(Methods Mol. Biol.)》24:307-331,所述文献以全文引用的方式并入本文中。具有相似化学性质的侧链的氨基酸基团的实例包含:(1)脂肪族侧链:甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸;(2)脂肪族-羟基侧链:丝氨酸和苏氨酸;(3)含酰胺的侧链:天冬酰胺和谷氨酰胺;(4)芳香族侧链:苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸;(5)碱性侧链:赖氨酸、精氨酸和组氨酸;(6)酸性侧链:天冬氨酸和谷氨酸;以及(7)含硫侧链是半胱氨酸和甲硫氨酸。

[0078] 抗体可以从如含有具有各种抗原特异性的免疫球蛋白的血清或血浆等来源获得。如果对此类抗体进行亲和纯化,则可以富集具有特定的抗原特异性的抗体。此类经富集的抗体制剂通常由少于约10%的对于特定抗原具有特异性结合活性的抗体构成。使这些制剂经受若干轮亲和纯化可以增加对于抗原具有特异性结合活性的抗体的比例。以此方式制备的抗体通常被称为“单特异性的”。单特异性抗体制剂可以由对于具体抗原具有特异性结合活性的约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或99.9%的抗体构成。抗体可以使用如下文所描述的重组核酸技术产生。

[0079] 如本文所使用的,术语“载体”是指能够传播其连接到的另一个核酸的核酸分子。所述术语包含作为自我复制核酸结构的载体,以及被引入到宿主细胞的、整合到该宿主细

胞基因组中的载体。某些载体能够指导其可操作地连接到的核酸的表达。此类载体在本文中被称为“表达载体”。

[0080] 术语“宿主细胞”、“宿主细胞系”和“宿主细胞培养物”可互换地使用并且是指其中已经引入外源核酸的细胞,包含此类细胞的子代。宿主细胞包含“转化子”和“转化细胞”,所述转化子和转化细胞包含原代转化细胞和由其衍生的子代,而不考虑传代数量。子代的核酸含量可能与亲本细胞不完全相同,但可以含有突变。本文中包含具有与原始转化的细胞中筛选或选择的功能或生物活性相同的功能或生物活性的突变子代。

[0081] 术语“药学上可接受的盐”旨在包含根据本文所描述的化合物上发现的特定取代基用相对无毒的酸或碱制备的活性化合物的盐。当本公开的化合物含有相对酸性的官能团时,可以通过使中性形式的此类化合物与足够量的期望的碱(纯净的或于合适的惰性溶剂中)接触来获得碱加成盐。药学上可接受的碱加成盐的实例包含钠盐、钾盐、钙盐、铵盐、有机胺盐或镁盐或类似盐。当本公开的化合物含有相对碱性的官能团时,酸加成盐可以通过使中性形式的此类化合物与足够量的期望的酸纯净地或于适合的惰性溶剂中接触来获得。药学上可接受的酸加成盐的实例包含衍生自无机酸的那些酸加成盐,所述无机酸如盐酸、氢溴酸、硝酸、碳酸、一氢碳酸、磷酸、一氢磷酸、二氢磷酸、硫酸、一氢硫酸、氢碘酸或亚磷酸等;以及衍生自相对无毒的有机酸的盐,所述有机酸如乙酸、丙酸、异丁酸、顺丁烯二酸、丙二酸、苯甲酸、丁二酸、辛二酸、反丁烯二酸、乳酸、杏仁酸、邻苯二甲酸、苯磺酸、对甲苯基磺酸、柠檬酸、酒石酸、乙二酸、甲磺酸等。还包含如精氨酸盐等氨基酸的盐,以及如葡萄糖醛酸或半乳糖醛酸等有机酸的盐(参见,例如,Berge等人,“药用盐(Pharmaceutical Salts)”,《药物科学杂志(Journal of Pharmaceutical Science)》,1977,66,1-19)。本公开的某些特定化合物含有允许这些化合物转化为碱加成盐或酸加成盐的碱性官能团和酸性官能团两者。

[0082] 因此,本公开的化合物可以以盐(如具有药学上可接受的酸)的形式存在。本公开包含此类盐。此类盐的非限制性实例包含盐酸盐、氢溴酸盐、磷酸盐、硫酸盐、甲磺酸盐、硝酸盐、马来酸盐、乙酸盐、柠檬酸盐、反丁烯二酸盐、丙酸盐、酒石酸盐(例如,(+)-酒石酸盐、(-)-酒石酸盐或它们的包括外消旋混合物的混合物)、丁二酸盐、苯甲酸盐和与氨基酸(如谷氨酸)的盐和季铵盐(例如,碘甲烷、碘乙烷等)。这些盐可以通过本领域的技术人员已知的方法制备。

[0083] 化合物的中性形式优选地通过使盐与碱或酸接触并且以常规方式分离母体化合物而再生。化合物的母体形式在某些物理性质(如在极性溶剂中的溶解度)方面可能不同于各种盐形式。

[0084] 除盐形式外,本公开还提供了前药形式的化合物。本文所描述的化合物的前药是易于在生理条件下经历化学变化从而提供本公开的化合物的那些化合物。本文所描述的化合物的前药可以在施用后在体内转化。另外,可以在离体环境中(如例如当与合适的酶或化学试剂接触时)通过化学或生化方法将前药转化为本公开的化合物。

[0085] 本公开的某些化合物可以非溶剂化形式以及溶剂化形式(包含水合形式)存在。通常,溶剂化形式等同于非溶剂化形式,并且被涵盖在本公开的范围内。本公开的某些化合物可以多种结晶或无定形形式存在。通常,所有物理形式对于由本公开所设想的用途是等效的,并且旨在处于本公开的范围内。

[0086] “药学上可接受的赋形剂”和“药学上可接受的载体”是指有助于向受试者施用活性剂和有助于受试者吸收的物质,并且所述物质可以包含在本公开的组合物中而不会对患者引起显著不良的毒理学作用。药学上可接受的赋形剂的非限制性实例包含水、NaCl、生理盐水溶液、乳酸化林格氏(Ringer's)液、普通蔗糖、普通葡萄糖、粘合剂、填充剂、崩解剂、润滑剂、包衣、甜味剂、调味剂、盐溶液(如林格氏溶液)、醇、油、明胶、碳水化合物(如乳糖、直链淀粉或淀粉)、脂肪酸酯、羧甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮和颜料等。此类制剂可以进行灭菌,并且如果需要的话,可以与助剂(如润滑剂、防腐剂、稳定剂、润湿剂、乳化剂、用于影响渗透压的盐、缓冲液、着色物质和/或芳香物质等)混合,所述助剂不与本公开的化合物发生有害反应。本领域的技术人员将认识到,其它药用赋形剂在本公开中是有用的。

[0087] 术语“药物调配物”是指呈允许其中所含有的活性成分的生物活性有效的形式并且不含对将施用调配物的受试者产生不可接受的毒性的另外的组分的制剂。

[0088] 术语“施用(administering或administered)”以及语法变体是指使用本领域技术人员已知的各种方法和递送系统中的任何一种将药剂物理引入到受试者。本文所公开的调配物的示例性施用途包含静脉内、肌肉内、皮下、腹膜内、脊髓或其它肠胃外施用途,例如通过注射或输注。如本文所使用的,短语“肠胃外施用”意指除了肠内施用和局部施用之外的施用模式(通常通过注射),并且包含但不限于静脉内、肌内、动脉内、鞘内、淋巴管内、病灶内、囊内、眶内、心内、皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内、硬膜外和胸骨内注射和输注以及体内电穿孔。在一些实施方式中,调配物通过非肠胃途径(例如,口服)施用。其它非肠胃外途径包含局部、表皮或粘膜施用途,例如,经鼻内、经阴道、经直肠、舌下或局部。施用也可以执行例如一次、多次和/或历时一个或多个延长的时段。

[0089] 术语药剂例如药物调配物的“有效量”是指以剂量计并且在所需的时间段内有效实现所期望的治疗或预防结果的量。

[0090] 本文所使用的缩写具有其在化学领域和生物学领域内的常规含义。本文所阐述的化学结构和式为根据化学领域中已知的化学价的标准规则构建的。

[0091] 对本公开化合物的描述受本领域技术人员已知的化学键合原理的限制。因此,在基团可以被多个取代基中的一个或多个取代的情况下,选择此类取代以便符合化学连接原理并且得到并非固有地不稳定和/或如本领域普通技术人员已知的将可能在环境条件下(例如水性、中性和几种已知的生理条件下)不稳定的化合物。例如,杂环烷基或杂芳基按照本领域技术人员已知的化学连接原理通过环杂原子与分子的其余部分连接,从而避免固有地不稳定的化合物。

[0092] 当取代基由它们的常规化学式(从左到右书写)指定时,它们同等地涵盖从右到左书写结构时产生的化学上相同的取代基,例如, $-\text{CH}_2\text{O}-$ 等价于 $-\text{OCH}_2-$ 。

[0093] 术语糖类意指碳水化合物(或糖)。在实施方式中,糖类是单糖。在实施方式中,糖类是多糖。糖类的最基本单位是碳水化合物的单体。通式是 $\text{C}_n\text{H}_{2n}\text{O}_n$ 。术语糖类衍生物意指用除羟基以外的取代基修饰的糖分子。实例包含糖基胺、糖磷酸酯和糖酯。其它糖类衍生物包含例如 β -D-葡萄糖醛酸基、D-半乳糖基和D-葡萄糖基。

[0094] 术语“带电基团”意指带有正电荷或负电荷的化学基团,如磷酸盐、膦酸盐、硫酸盐、磺酸盐、硝酸盐、羧酸盐、碳酸盐等。在一些实施方式中,在至少一个pH在5-9范围内的水

溶液中,带电基团至少50%被电离。在一些实施方式中,带电基团是阴离子带电基团。

[0095] 除非另外说明,否则术语“烷基”,其本身或作为另一个取代基的一部分,意指直链(即,无支链的)或支链碳链(或碳)或其组合,其可以是完全饱和的、单不饱和的或多不饱和的,并且可以包含单价、二价和多价基团。烷基可以包含指定数量的碳(例如, C_1-C_{10} 意指一个碳到十个碳)。烷基是未环化的链。饱和烃基的实例包含但不限于如以下的基团:甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基、仲丁基、甲基、例如正戊基、正己基、正庚基、正辛基等的同源物和异构体。不饱和烷基为具有一个或多个双键或三键的烷基。不饱和烷基的实例包含但不限于乙烯基、2-丙烯基、巴豆基、2-异戊烯基、2-(丁二烯基)、2,4-戊二烯基、3-(1,4-戊二烯基)、乙炔基、1-和3-丙炔基、3-丁炔基以及更高的同源物和异构体。烷氧基是通过氧连接子(-O-)与分子其余部分连接的烷基。烷基部分可以是烯基部分。烷基部分可以是炔基部分。烷基部分可以是完全饱和的。烯基可以包含多于一个双键和/或除一个或多个双键外的一个或多个三键。炔基可以包含多于一个三键和/或除一个或多个三键外的一个或多个双键。

[0096] 除非另外说明,否则术语“亚烷基”本身或作为另一取代基的一部分,意指衍生自烷基的二价基团,例如但不限于, $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 。通常,烷基(或亚烷基)将具有1到24个碳原子,其中具有10个或更少碳原子的那些基团在本文中是优选的。“低级烷基”或“低级亚烷基”是通常具有八个或更少碳原子的短链烷基或亚烷基。除非另外说明,否则术语“亚烯基”本身或作为另一取代基的一部分,意指衍生自烯烃的二价基团。

[0097] 除非另外说明,否则术语“杂烷基”,其本身或与另一术语组合,意指包含至少一个碳原子和至少一个杂原子(例如,O、N、P、Si或S)的稳定直链或支链或其组合,并且其中氮原子和硫原子可以任选地被氧化,并且氮杂原子可以任选地被季铵化。杂原子(例如,O、N、S、Si或P)可以被置于杂烷基的任何内部位置处或位于烷基与分子的其余部分连接的位置处。杂烷基是未环化的链。实例包含但不限于: $-CH_2-CH_2-O-CH_3$ 、 $-CH_2-CH_2-NH-CH_3$ 、 $-CH_2-CH_2-N(CH_3)-CH_3$ 、 $-CH_2-S-CH_2-CH_3$ 、 $-CH_2-S-CH_2-$ 、 $-S(O)-CH_3$ 、 $-CH_2-CH_2-S(O)_2-CH_3$ 、 $-CH=CH-O-CH_3$ 、 $-Si(CH_3)_3$ 、 $-CH_2-CH=N-OCH_3$ 、 $-CH=CH-N(CH_3)-CH_3$ 、 $-O-CH_3$ 、 $-O-CH_2-CH_3$ 和 $-CN$ 。多达两个或三个杂原子可以是连续的,例如 $-CH_2-NH-OCH_3$ 和 $-CH_2-O-Si(CH_3)_3$ 。杂烷基部分可以包含一个杂原子(例如,O、N、S、Si或P)。杂烷基部分可以包含两个任选地不同的杂原子(例如,O、N、S、Si或P)。杂烷基部分可以包含三个任选地不同的杂原子(例如,O、N、S、Si或P)。杂烷基部分可以包含四个任选地不同的杂原子(例如,O、N、S、Si或P)。杂烷基部分可以包含五个任选地不同的杂原子(例如,O、N、S、Si或P)。杂烷基部分可以包含至多8个任选地不同杂原子(例如,O、N、S、Si或P)。除非另外说明,否则术语“杂烯基”,其本身或与另一术语组合,意指包含至少一个双键的杂烷基。除一个或多个双键以外,杂烯基可以任选地包含多于一个双键和/或一个或多个三键。除非另外说明,否则术语“杂炔基”本身或与另一术语组合,意指包含至少一个三键的杂烷基。杂炔基可以任选地包含多于一个三键和/或除一个或多个三键外的一个或多个双键。

[0098] 类似地,除非另外说明,否则术语“亚杂烷基”,其本身或作为另一个取代基的一部分,意指衍生自杂烷基的二价基团,如(但不限于)通过 $-CH_2-CH_2-S-CH_2-CH_2-$ 和 $-CH_2-S-CH_2-CH_2-NH-CH_2-$ 所例示的。对于亚杂烷基,杂原子还可以占据链末端中的任一个或两个(例如,亚烷基氧基、亚烷基二氧基、亚烷基氨基、亚烷基二氨基等)。仍进一步地,对于亚烷基和亚

杂烷基连接基团,连接基团的式书写的方向并不暗示连接基团的朝向。例如,式 $-C(O)_2R'$ -表示 $-C(O)_2R'$ -和 $-R'C(O)_2-$ 两者。如上所述,本文所使用的杂烷基包含通过杂原子与分子的其余部连接分的那些基团,如 $-C(O)R'$ 、 $-C(O)NR'$ 、 $-NR'R$ 、 $-OR'$ 、 $-SR'$ 和/或 $-SO_2R'$ 。在叙述“杂烷基”随后叙述特定杂烷基,例如 $-NR'R$ 等的情况下,应当理解术语杂烷基和 $-NR'R$ 不是冗余的或相互排斥的。相反,叙述特定杂烷基以增加清晰性。因此,术语“杂烷基”在本文中不应被解释为排除如 $-NR'R$ 等特定杂烷基。

[0099] 除非另外说明,否则术语“环烷基”和“杂环烷基”,其本身或与其它术语组合,分别意指“烷基”和“杂烷基”的环状形式。环烷基和杂环烷基不是芳香族的。另外,对于杂环烷基,杂原子可以占据杂环与分子的其余部分连接的位置。环烷基的实例包含但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基、1-环己烯基、3-环己烯基、环庚基等。杂环烷基的实例包含但不限于1-(1,2,5,6-四氢吡啶基)、1-哌啶基、2-哌啶基、3-哌啶基、4-吗啉基、3-吗啉基、四氢呋喃-2-基、四氢呋喃-3-基、四氢噻吩-2-基、四氢噻吩-3-基、1-哌嗪基、2-哌嗪基等。“亚环烷基”和“亚杂环烷基”本身或作为另一取代基的一部分,意指分别衍生自环烷基和杂环烷基的二价基团。

[0100] 在实施方式中,术语“环烷基”意指单环、双环或多环环烷基环系。在实施方式中,单环环系是含有3到8个碳原子的环烷基,其中此类基团可以是饱和的或不饱和的,但不是芳香族的。在实施方式中,环烷基是完全饱和的。单环环烷基的实例包含环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、环庚基和环辛基。双环环烷基环系是桥接的单环或稠合的双环。在实施方式中,桥接的单环含有单环环烷基环,其中单环的两个非相邻碳原子通过介乎一个与三个之间的另外碳原子的亚烷基桥连接(即,形式为 $(CH_2)_w$ 的桥接基团,其中w为1、2或3)。双环系的代表性实例包含但不限于双环[3.1.1]庚烷、双环[2.2.1]庚烷、双环[2.2.2]辛烷、双环[3.2.2]壬烷、双环[3.3.1]壬烷和双环[4.2.1]壬烷。在实施方式中,稠合的双环环烷基环系含有与苯基、单环环烷基、单环环烯基、单环杂环基或单环杂芳基中的任一种稠合的单环环烷基环。在实施方式中,桥接或稠合的双环环烷基通过单环环烷基环内含有的任何碳原子与母体分子部分连接。在实施方式中,环烷基任选地被独立地为氧基或硫杂的一个或两个基团取代。在实施方式中,稠合的双环环烷基是与苯环、5或6元单环环烷基、5或6元单环环烯基、5或6元单环杂环基或5或6元单环杂芳基中的任一种稠合的5或6元单环环烷基环,其中稠合的双环环烷基任选地被独立地为氧基或硫杂的一个或两个基团取代。在实施方式中,多环环烷基环系为与以下中的任一种稠合的单环环烷基环(基础环): (i) 选自由以下基团组成的组的一个环系:双环芳香基、双环杂芳基、双环环烷基、双环环烯基和双环杂环基;或(ii)独立地选自由以下基团组成的组的两个其它环系:苯基、双环芳香基、单环或双环杂芳基、单环或双环环烷基、单环或双环环烯基以及单环或双环杂环基。在实施方式中,多环环烷基通过基环内含有的任何碳原子附接到母体分子部分。在实施方式中,多环环烷基环系为与以下中的任一种稠合的单环环烷基环(基础环): (i) 选自由以下基团组成的组的一个环系:双环芳香基、双环杂芳基、双环环烷基、双环环烯基和双环杂环基;或(ii)独立地选自由以下基团组成的组的两个其它环系:苯基、单环杂芳基、单环环烷基、单环环烯基以及单环杂环基。多环环烷基的实例包含但不限于十四氢菲基(tetradecahydrophenanthrenyl)、全氢吩噻嗪-1-基和全氢吩噻嗪-1-基。

[0101] 在实施方式中,环烷基是环烯基。术语“环烯基”根据其普通一般的含义使用。在实

施方式中,环烯基是单环、双环或多环环烯基环系。在实施方式中,单环环烯基环系是含有3到8个碳原子的环烯基,其中此类基团是不饱和的(即,含有至少一个环形碳碳双键),但不是芳香族的。单环环烯基环系的实例包含环戊烯基和环己烯基。在实施方式中,双环环烯基环是桥接的单环或稠合的双环。在实施方式中,桥接的单环含有单环环烯基环,其中单环的两个非相邻碳原子通过介于一个与三个之间的另外碳原子的亚烷基桥连接(即,形式为 $(CH_2)_w$ 的桥联基团,其中 w 为1、2或3)。双环环烯基的代表性实例包含但不限于降冰片烯基和双环[2.2.2]辛-2-烯基。在实施方式中,稠合的双环环烯基环系含有与苯基、单环环烷基、单环环烯基、单环杂环基或单环杂芳基中的任一种稠合的单环环烯基环。在实施方式中,桥接的或稠合的双环环烯基通过单环环烯基环内含有的任何碳原子与母体分子部分连接。在实施方式中,环烯基任选地被独立地为氧代或硫代的一个或两个基团取代。在实施方式中,多环环烯基环含有与以下中的任一种稠合的单环环烯基环(基础环):(i)选自由以下基团组成的组的一个环系:双环芳香基、双环杂芳基、双环环烷基、双环环烯基和双环杂环基;或(ii)独立地选自由以下基团组成的组的两个环系:苯基、双环芳香基、单环或双环杂芳基、单环或双环环烷基、单环或双环环烯基以及单环或双环杂环基。在实施方式中,多环环烯基通过基础环内含有的任何碳原子与母体分子部分连接。在实施方式中,多环环烯基环含有与以下中的任一种稠合的单环环烯基环(基础环):(i)选自由以下基团组成的组的一个环系:双环芳香基、双环杂芳基、双环环烷基、双环环烯基和双环杂环基;或(ii)独立地选自由以下基团组成的组的两个环系:苯基、单环杂芳基、单环环烷基、单环环烯基以及单环杂环基。

[0102] 在实施方式中,杂环烷基是杂环基。如本文所用,术语“杂环基”意指单环、双环或多环杂环。杂环基单环杂环是含有独立地选自由O、N和S组成的组的至少一个杂原子的3元、4元、5元、6元或7元环,其中环是饱和的或不饱和的,但不是芳香族的。3元或4元环含有选自由O、N和S组成的组的1个杂原子。5元环可以含有零个或一个双键以及选自由O、N和S组成的组的一个、两个或三个杂原子。6元或7元环含有零个、一个或两个双键以及选自由O、N和S组成的组的一个、两个或三个杂原子。杂环基单环杂环通过杂环基单环杂环内含有的任何碳原子或任何氮原子连接至母体分子部分。杂环基单环杂环的代表性实例包含但不限于氮杂环丁烷基、氮杂环庚烷基、氮丙啶基、二氮杂环庚烷基、1,3-二氧杂环己基、1,3-二氧杂戊烷基、1,3-二硫代戊基、1,3-二噻烷基、咪唑啉基、咪唑烷基、异噻唑啉基、异噻唑烷基、异噻唑基、异噻唑烷基、吗啉基、噁二唑啉基、噁二唑烷基、噁唑啉基、噁唑烷基、哌嗪基、哌啶基、吡喃基、吡唑啉基、噻唑烷基、吡咯啉基、吡咯烷基、四氢呋喃甲基、四氢噻吩基、噻二唑啉基、噻二唑啉烷基、噻唑啉基、四氢噻唑基、硫代吗啉基、1,1-氧硫代吗啉基(硫代吗啉砜)、硫代吡喃基和三噻烷基。杂环基双环杂环是与苯基、单环环烷基、单环环烯基、单环杂环或单环杂芳基中的任一种稠合的单环杂环。杂环基双环杂环通过双环环系的单环杂环部分内含有的任何碳原子或任何氮原子连接至母体分子部分。双环杂环基的代表性实例包含但不限于2,3-二氢苯并呋喃-2-基、2,3-二氢苯并呋喃-3-基、吡啶-1-基、吡啶-2-基、吡啶-3-基、2,3-二氢苯并噻吩-2-基、十氢喹啉基、十氢异喹啉基、八氢-1H-吡啶基和八氢苯并呋喃基。在实施方式中,杂环基任选地用独立地为氧代或硫代的一个或两个基团取代。在某些实施方式中,双环杂环基是与苯环稠合的5元或6元单环杂环、5元或6元单环烷基、5元或6元单环环烯基、5元或6元单环杂环基或5元或6元单环杂芳基,其中双环杂环基任选地被独立地为氧

代或硫代的一个或两个基团取代。多环杂环基环系为与以下中的任一种稠合的单环杂环基环(基础环): (i) 选自由以下基团组成的组的一个环系: 双环芳香基、双环杂芳基、双环环烷基、双环环烯基和双环杂环基; 或(ii) 独立地选自由以下基团组成的组的两个其它环系: 苯基、双环芳香基、单环或双环杂芳基、单环或双环环烷基、单环或双环环烯基以及单环或双环杂环基。多环杂环基通过基环内含有的任何碳原子或氮原子附接到母体分子部分。在实施方式中, 多环杂环基环系为与以下中的任一种稠合的单环杂环基环(基础环): (i) 选自由以下基团组成的组的一个环系: 双环芳香基、双环杂芳基、双环环烷基、双环环烯基和双环杂环基; 或(ii) 独立地选自由以下基团组成的组的两个其它环系: 苯基、单环杂芳基、单环环烷基、单环环烯基以及单环杂环基。多环杂环基的实例包含但不限于10H-吩噻嗪-10-基、9,10-二氢吡啶-9-基、9,10-二氢吡啶-10-基、10H-吩恶嗪-10-基、10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂卓-5-基、1,2,3,4-四氢吡啶并[4,3-g]异喹啉-2-基、12H-苯并[b]吩恶嗪-12-基和十二氢-1H-咔唑-9-基。

[0103] 除非另外说明, 否则术语“卤基”或“卤素”本身或作为另一个取代基的一部分, 意指氟、氯、溴或碘原子。另外, 如“卤代烷基”等术语旨在包含单卤代烷基和多卤代烷基。例如, 术语“卤代(C₁-C₄) 烷基”包含但不限于氟甲基、二氟甲基、三氟甲基、2,2,2-三氟乙基、4-氯丁基、3-溴丙基等。

[0104] 除非另外说明, 否则术语“酰基”意指-C(O)R, 其中R为经取代的或未经取代的烷基、经取代的或未经取代的环烷基、经取代的或未经取代的杂烷基、经取代的或未经取代的杂环烷基、经取代的或未经取代的芳基或经取代的或未经取代的杂芳基。

[0105] 除非另外说明, 否则术语“芳基”意指多元不饱和的芳香族烃取代基, 其可以是单环或稠合在一起(即, 稠环芳基)或共价连接的多个环(优选地, 1个到3个环)。稠合环芳基是指稠合在一起的多个环, 其中稠合环中的至少一个环为芳基环。术语“杂芳基”是指含有至少一个杂原子(如N、O或S)的芳基(或环), 其中氮原子和硫原子任选地被氧化, 并且一个或多个氮原子任选地被季铵化。因此, 术语“杂芳基”包含稠环杂芳基(即, 稠合在一起的多个环, 其中稠环中的至少一个环是杂芳环)。5,6-稠合环杂亚芳基是指稠合在一起, 其中一个环具有5个成员并且另一个环具有6个成员, 并且其中至少一个环为杂芳基环的两个环。同样, 6,6-稠合环杂亚芳基是指稠合在一起的两个环, 其中一个环具有6个成员并且另一个环具有6个成员, 并且其中至少一个环为杂芳基环。并且6,5-稠合环杂亚芳基是指稠合在一起的两个环, 其中一个环具有6个成员并且另一个环具有5个成员, 并且其中至少一个环为杂芳基环。杂芳基可以通过碳或杂原子与分子的其余部分连接。芳基和杂芳基的非限制性实例包含苯基、萘基、吡咯基、吡唑基、哒嗪基、三嗪基、嘧啶基、咪唑基、吡嗪基、嘌呤基、噻唑基、异噻唑基、噻唑基、呋喃基、噻吩基、吡啶基、嘧啶基、苯并噻唑基、苯并噻吩基、苯并咪唑基、苯并呋喃基、异苯并呋喃基、吲哚基、异吲哚基、苯并噻吩基、异喹啉基、喹啉基、喹啉基、1-萘基、2-萘基、4-联苯基、1-吡咯基、2-吡咯基、3-吡咯基、3-吡唑基、2-咪唑基、4-咪唑基、吡嗪基、2-噻唑基、4-噻唑基、2-苯基-4-噻唑基、5-噻唑基、3-异噻唑基、4-异噻唑基、5-异噻唑基、2-噻唑基、4-噻唑基、5-噻唑基、2-呋喃基、3-呋喃基、2-噻吩基、3-噻吩基、2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、2-嘧啶基、4-嘧啶基、5-苯并噻唑基、嘌呤基、2-苯并咪唑基、5-吲哚基、1-异喹啉基、5-异喹啉基、2-喹啉基、5-喹啉基、3-喹啉基和6-喹啉基。以上所指出的芳基和杂芳基环系中的每一个的取代基选自下文所描述的可接受取代基的组。单独或

作为另一取代基的一部分,“亚芳基”和“亚杂芳基”意指分别衍生于芳基和杂芳基的二价基团。杂芳基取代基可以是与环杂原子氮连接的-0-。

[0106] 稠环杂环烷基-芳基为与杂环烷基稠合的芳基。稠环杂环烷基-杂芳基为与杂环烷基稠合的杂芳基。稠环杂环烷基-环烷基为与环烷基稠合的杂环烷基。稠环杂环烷基-杂环烷基为与另一个杂环烷基稠合的杂环烷基。稠环杂环烷基-芳基、稠环杂环烷基-杂芳基、稠环杂环烷基-环烷基或稠环杂环烷基-杂环烷基可以各自独立地未被取代或经本文所描述的取代基中的一种或多种取代。

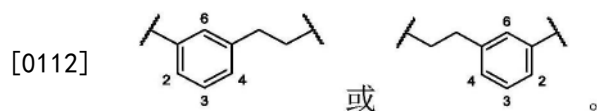
[0107] 螺环是其中相邻环通过单个原子附接的两个或更多个环。螺环内的单个环可以相同或不同。螺环中的单个环可以是取代的或未经取代的,并且可以具有与螺环集合中的其它单个环不同的取代基。螺环内的单个环的可能取代基是当不是螺环的一部分时的同一环的可能取代基(例如,环烷基环或杂环烷基环的取代基)。螺环可以是经取代的或未经取代的环烷基、经取代的或未经取代的亚环烷基、经取代的或未经取代的杂环烷基或经取代的或未经取代的亚杂环烷基,并且螺环基团内的单个环可以是紧接着的前一列表中的任何环,包含具有一种类型的所有环(例如,取代亚杂环烷基的所有环,其中每个环可以是相同或不同的经取代的亚杂环烷基)。当提及螺环环系时,杂环螺环意指其中至少一个环是杂环并且其中每个环可以是不同的环的螺环。当提及螺环环系时,经取代的螺环意指至少一个环是经取代的并且每个取代基可以任选地是不同的。

[0108] 符号“” (波浪线) 表示化学部分与分子或化学式的其余部分连接的点。

[0109] 如本文所使用的,术语“氧代”意指与碳原子双键键合的氧。

[0110] 如本文所使用的术语“烷基磺酰基”意指具有式-S(O₂)-R'的部分,其中R'是如以上所定义的取代的或未取代的烷基。R'可以具有指定数量的碳(例如,“C₁-C₄烷基磺酰基”)。

[0111] 术语“烷基亚芳基”是与亚烷基部分(在本文中也称为亚烷基连接子)共价键合的亚芳基部分。在实施方式中,烷基亚芳基具有下式:



[0113] 烷基亚芳基部分可以在亚烷基部分或亚芳基连接子(例如,在碳2、3、4或6)上用以下取代(例如,用取代基取代):卤素、氧代、-N₃、-CF₃、-CCl₃、-CBr₃、-CI₃、-CN、-CHO、-OH、-NH₂、-COOH、-CONH₂、-NO₂、-SH、-SO₂CH₃-SO₃H、-OSO₃H、-SO₂NH₂、-NHNH₂、-ONH₂、-NHC(O)NHNH₂、经取代或未经取代的C₁-C₅烷基或经取代或未经取代的2元到5元杂烷基)。在实施方式中,烷基亚芳基是未经取代的。

[0114] 以上术语中的每一个术语(例如,“烷基”、“杂烷基”、“环烷基”、“杂环烷基”、“芳基”和“杂芳基”)包含所指示的基团的经取代的形式和未经取代的形式两者。下文提供了针对每种类型的基团的优选取代基。

[0115] 烷基和杂烷基(包含通常被称作亚烷基、烯基、亚杂烷基、杂烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、环烯基和杂环烯基的那些基团)的取代基可以是选自但不限于以下的多种基团中的一个或多个:-OR'、=O、=NR'、=N-OR'、-NR'R''、-SR'、-halogen、-SiR'R''R'''、-OC(O)R'、-C(O)R'、-CO₂R'、-CONR'R''、-OC(O)NR'R''、-NR''C(O)R'、-NR'-C(O)NR''R'''、-NR''C(O)₂R'、-NR-C(NR'R''R''')=NR'''、-NR-C(NR'R'')=NR'''、-S(O)R'、-S(O)₂R'、-S(O)₂NR'R''、-

$\text{NR}(\text{SO}_2\text{R}')_m$ 、 $-\text{NR}'\text{NR}''\text{R}'''$ 、 $-\text{ONR}'\text{R}''$ 、 $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})\text{NR}''\text{NR}'''$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NR}'\text{SO}_2\text{R}''$ 、 $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})\text{R}''$ 、 $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})-\text{OR}''$ 、 $-\text{NR}'\text{OR}''$ ，数量在零到 $(2m+1)$ 的范围内，其中 m 是此类基团中的碳原子的总数。 R 、 R' 、 R'' 、 R''' 和 R'''' 各自优选地独立地指代氢、经取代或未经取代的杂烷基、经取代或未经取代的环烷基、经取代或未经取代的杂环烷基、经取代或未经取代的芳基(例如，被1-3个卤素取代的芳基)、经取代或未经取代的杂芳基、经取代或未经取代的烷基、烷氧基或硫代烷氧基或芳烷基。当本文所描述的化合物包含多于一个 R 基团时，例如，如当存在多于一个这些基团时独立地选择每个 R' 基团、 R'' 基团、 R''' 基团和 R'''' 基团那样，独立地选择 R 基团中的每一个。当 R' 和 R'' 附接在同一氮原子上时，其可以与氮原子组合以形成4元、5元、6元或7元环。例如， $-\text{NR}'\text{R}''$ 包含但不限于1-吡咯烷基和4-吗啉基。根据以上对取代基的讨论，本领域技术人员将理解术语“烷基”旨在包含含有与除氢基团以外的基团结合的碳原子的基团，如卤代烷基(例如， $-\text{CF}_3$ 和 $-\text{CH}_2\text{CF}_3$)和酰基(例如， $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{CF}_3$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{OCH}_3$ 等)。

[0116] 类似于所描述的针对烷基的取代基，芳基和杂芳基的取代基是变化的并且选自例如： $-\text{OR}'$ 、 $-\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{SR}'$ 、卤素、 $-\text{SiR}'\text{R}''\text{R}'''$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}'$ 、 $-\text{CONR}'\text{R}''$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{NR}''\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{NR}'-\text{C}(\text{O})\text{NR}''\text{R}'''$ 、 $-\text{NR}''\text{C}(\text{O})_2\text{R}$ 、 $-\text{NR}-\text{C}(\text{NR}'\text{R}''\text{R}''')=\text{NR}''''$ 、 $-\text{NR}-\text{C}(\text{NR}'\text{R}''\text{R}''')=\text{NR}''''$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}'$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{NRSO}_2\text{R}$ 、 $-\text{NR}'\text{NR}''\text{R}'''$ 、 $-\text{ONR}'\text{R}''$ 、 $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})\text{NR}''\text{NR}'''$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{R}'$ 、 $-\text{N}_3$ 、 $-\text{CH}(\text{Ph})_2$ 、氟代(C_1-C_4)烷氧基和氟代(C_1-C_4)烷基、 $-\text{NR}'\text{SO}_2\text{R}''$ 、 $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})\text{R}''$ 、 $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})-\text{OR}''$ 、 $-\text{NR}'\text{OR}''$ ，数量在零到芳环系上的开放价总数的范围内；并且其中 R' 、 R'' 、 R''' 和 R'''' 优选地独立地选自氢、经取代或未经取代的烷基、经取代或未经取代的杂烷基、经取代或未经取代的环烷基、经取代或未经取代的杂环烷基、经取代或未经取代的芳基和经取代或未经取代的杂芳基。当本文所描述的化合物包含多于一个 R 基团时，例如，如当存在多于一个这些基团时独立地选择各 R' 基团、 R'' 基团、 R''' 基团和 R'''' 基团那样，独立地选择 R 基团中的每一个。

[0117] 环(例如，环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环亚烷基、杂环亚烷基、亚芳基或杂亚芳基)的取代基可以被描绘为环上的而非环的特定原子上的取代基(通常被称为浮动取代基)。在此情况下，取代基可以与环原子中的任何环原子(遵循化学价规则)连接，并且在稠环或螺环的情况下，被描绘为与稠环或螺环的一个成员缔合的取代基(单环上的浮动取代基)可以是稠环或螺环中的任一个上的取代基(多个环上的浮动取代基)。当取代基与环而非特定原子连接(浮动取代基)并且取代基的下标是大于1的整数时，多个取代基可以位于同一原子、同一环、不同原子、不同稠环、不同螺环上，并且每个取代基可以任选地不同。在环与分子的其余部分的连接点不限于单个原子(浮动取代基)的情况下，连接点可以是环的任何原子，并且在稠环或螺环的情况下，可以是稠环或螺环中的任一个的任何原子(在遵循化学价规则的情况下)。在环、稠环或螺环含有一个或多个环杂原子并且所述环、稠环或螺环被示出为具有又一个浮动取代基(包含但不限于与分子的其余部分的连接点)的情况下，浮动取代基可以与杂原子键合。在环杂原子被示出为与具有浮动取代基的结构或式中的一个或多个氢结合(例如，具有与环原子相连的两个键和与氢相连的第三个键的环氮)的情况下，当杂原子与浮动取代基键合时，取代基将被理解为在遵循化学价规则的同时替换氢。

[0118] 两个或更多个取代基可以任选地连接以形成芳基、杂芳基、环烷基或杂环烷基。此类所谓的成环取代基通常(尽管不是必须的)与环状基础结构连接。在一个实施方式中，环形成取代基与基础结构的邻近成员连接。例如，与环状基础结构的邻近成员连接的两个环

形成取代基产生稠环结构。在另一个实施方式中,环形成取代基与基础结构的单个成员连接。例如,与环状基础结构的单个成员连接的两个环形成取代基产生螺环结构。在又一个实施方式中,环形成取代基与基础结构的非邻近成员连接。

[0119] 芳基或杂芳基环的相邻原子上的取代基中的两个取代基可以任选地形成式-T-C(O)-(CRR')_p-U-的环,其中T和U独立地为-NR'-、-O'-、-CRR'-或单键,并且p是0至3的整数。可替代地,芳基或杂芳基环的相邻原子上的取代基中的两个可以任选地被式-A-(CH₂)_r-B-的取代基替换,其中A和B独立地为-CRR'-、-O'-、-NR'-、-S'-、-S(O)-、-S(O)₂-、-S(O)₂NR'-或单键,并且r是1至4的整数。如此形成的新环的单键中的一个可以任选地被双键替换。可替代地,芳基或杂芳基环的相邻原子上的取代基中的两个取代基可以任选地被式-(CRR')_s-X'-(C''R''R''')_d-的取代基替换,其中s和d独立地为0到3的整数,并且X'为-O'-、-NR'-、-S'-、-S(O)-、-S(O)₂-或-S(O)₂NR'-。取代基R、R'、R''和R'''优选地独立地选自氢、经取代或未经取代的烷基、经取代或未经取代的杂烷基、经取代或未经取代的环烷基、经取代或未经取代的杂环烷基、经取代或未经取代的芳基和经取代或未经取代的杂芳基。

[0120] 如本文所使用的,术语“杂原子”或“环杂原子”旨在包含氧(O)、氮(N)、硫(S)、磷(P)和硅(Si)。

[0121] 如本文所使用的,“取代基”意指选自以下部分的基团:

[0122] (A) 氧代、卤素、-CCl₃、-CBr₃、-CF₃、-CI₃、-CH₂Cl、-CH₂Br、-CH₂F、-CH₂I、-CHCl₂、-CHBr₂、-CHF₂、-CHI₂、-CN、-OH、-NH₂、-COOH、-CONH₂、-NO₂、-SH、-SO₃H、-SO₄H、-SO₂NH₂、-NHNH₂、-ONH₂、-NHC(O)NHNH₂、-NHC(O)NH₂、-NHSO₂H、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-OCCl₃、-OCF₃、-OCBr₃、-OCl₃、-OCHCl₂、-OCHBr₂、-OCHI₂、-OCHF₂、-N₃、未经取代的烷基(例如,C₁-C₈烷基、C₁-C₆烷基或C₁-C₄烷基)、未经取代的杂烷基(例如,2元至8元杂烷基、2元至6元杂烷基或2元至4元杂烷基)、未经取代的环烷基(例如,C₃-C₈环烷基、C₃-C₆环烷基或C₅-C₆环烷基)、未经取代的杂环烷基(例如,3元至8元杂环烷基、3元至6元杂环烷基或5元至6元杂环烷基)、未经取代的芳基(例如,C₆-C₁₀芳基、C₁₀芳基或苯基)或未经取代的杂芳基(例如,5元至10元杂芳基、5元至9元杂芳基或5元至6元杂芳基);以及

[0123] (B) 被至少一个选自以下的取代基取代的烷基(例如,C₁-C₈烷基、C₁-C₆烷基或C₁-C₄烷基)、杂烷基(例如,2元至8元杂烷基、2元至6元杂烷基或2元至4元杂烷基)、环烷基(例如,C₃-C₈环烷基、C₃-C₆环烷基或C₅-C₆环烷基)、杂环烷基(例如,3元至8元杂环烷基、3元至6元杂环烷基或5元至6元杂环烷基)、芳基(例如,C₆-C₁₀芳基、C₁₀芳基或苯基)或杂芳基(例如,5元至10元杂芳基、5元至9元杂芳基或5元至6元杂芳基):

[0124] (i) 氧代、卤素、-CCl₃、-CBr₃、-CF₃、-CI₃、-CH₂Cl、-CH₂Br、-CH₂F、-CH₂I、-CHCl₂、-CHBr₂、-CHF₂、-CHI₂、-CN、-OH、-NH₂、-COOH、-CONH₂、-NO₂、-SH、-SO₃H、-SO₄H、-SO₂NH₂、-NHNH₂、-ONH₂、-NHC(O)NHNH₂、-NHC(O)NH₂、-NHSO₂H、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-OCCl₃、-OCF₃、-OCBr₃、-OCl₃、-OCHCl₂、-OCHBr₂、-OCHI₂、-OCHF₂、-N₃、未经取代的烷基(例如,C₁-C₈烷基、C₁-C₆烷基或C₁-C₄烷基)、未经取代的杂烷基(例如,2元至8元杂烷基、2元至6元杂烷基或2元至4元杂烷基)、未经取代的环烷基(例如,C₃-C₈环烷基、C₃-C₆环烷基或C₅-C₆环烷基)、未经取代的杂环烷基(例如,3元至8元杂环烷基、3元至6元杂环烷基或5元至6元杂环烷基)、未经取代的芳基(例如,C₆-C₁₀芳基、C₁₀芳基或苯基)或未经取代的杂芳基(例如,5元至10元杂芳基、5元至9元杂芳基或5元至6元杂芳基);以及

[0125] (ii) 被至少一个选自以下的取代基取代的烷基(例如, C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_4 烷基)、杂烷基(例如, 2元至8元杂烷基、2元至6元杂烷基或2元至4元杂烷基)、环烷基(例如, C_3 - C_8 环烷基、 C_3 - C_6 环烷基或 C_5 - C_6 环烷基)、杂环烷基(例如, 3元至8元杂环烷基、3元至6元杂环烷基或5元至6元杂环烷基)、芳基(例如, C_6 - C_{10} 芳基、 C_{10} 芳基或苯基)或杂芳基(例如, 5元至10元杂芳基、5元至9元杂芳基或5元至6元杂芳基):

[0126] (a) 氧代、卤素、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NHSO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCl_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-N_3$ 、未经取代的烷基(例如, C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_4 烷基)、未经取代的杂烷基(例如, 2元至8元杂烷基、2元至6元杂烷基或2元至4元杂烷基)、未经取代的环烷基(例如, C_3 - C_8 环烷基、 C_3 - C_6 环烷基或 C_5 - C_6 环烷基)、未经取代的杂环烷基(例如, 3元至8元杂环烷基、3元至6元杂环烷基或5元至6元杂环烷基)、未经取代的芳基(例如, C_6 - C_{10} 芳基、 C_{10} 芳基或苯基)或未经取代的杂芳基(例如, 5元至10元杂芳基、5元至9元杂芳基或5元至6元杂芳基); 以及

[0127] (b) 被至少一个选自以下的取代基取代的烷基(例如, C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_4 烷基)、杂烷基(例如, 2元至8元杂烷基、2元至6元杂烷基或2元至4元杂烷基)、环烷基(例如, C_3 - C_8 环烷基、 C_3 - C_6 环烷基或 C_5 - C_6 环烷基)、杂环烷基(例如, 3元至8元杂环烷基、3元至6元杂环烷基或5元至6元杂环烷基)、芳基(例如, C_6 - C_{10} 芳基、 C_{10} 芳基或苯基)或杂芳基(例如, 5元至10元杂芳基、5元至9元杂芳基或5元至6元杂芳基): 氧代、卤素、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NHSO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCl_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-N_3$ 、未经取代的烷基(例如, C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_4 烷基)、未经取代的杂烷基(例如, 2元至8元杂烷基、2元至6元杂烷基或2元至4元杂烷基)、未经取代的环烷基(例如, C_3 - C_8 环烷基、 C_3 - C_6 环烷基或 C_5 - C_6 环烷基)、未经取代的杂环烷基(例如, 3元至8元杂环烷基、3元至6元杂环烷基或5元至6元杂环烷基)、未经取代的芳基(例如, C_6 - C_{10} 芳基、 C_{10} 芳基或苯基)或未经取代的杂芳基(例如, 5元至10元杂芳基、5元至9元杂芳基或5元至6元杂芳基)。

[0128] 如本文所使用的, “尺寸受限的取代基(size-limited substituent/size-limited substituent group)”意指选自上文针对“取代基”所描述的所有取代基的基团, 其中每个经取代或未经取代的烷基是经取代或未经取代的 C_1 - C_{20} 烷基, 每个经取代或未经取代的杂烷基是经取代或未经取代的2元至20元杂烷基, 每个经取代或未经取代的环烷基是经取代或未经取代的 C_3 - C_8 环烷基, 每个经取代或未经取代的杂环烷基是经取代或未经取代的3元至8元杂环烷基, 每个经取代或未经取代的芳基是经取代或未经取代的 C_6 - C_{10} 芳基, 并且每个经取代或未经取代的杂芳基是经取代或未经取代的5元至10元杂芳基。

[0129] 如本文所使用的, “低级取代基(lower substituent/lower substituent group)”意指选自上文针对“取代基”所描述的所有取代基的基团, 其中每个经取代或未经取代的烷基是经取代或未经取代的 C_1 - C_8 烷基, 每个经取代或未经取代的杂烷基是经取代或未经取代的2元至8元杂烷基, 每个经取代或未经取代的环烷基是经取代或未经取代的 C_3 - C_7 环烷基, 每个经取代或未经取代的杂环烷基是经取代或未经取代的3元到7元杂环烷基, 每

个经取代或未经取代的芳基是经取代或未经取代的苯基,并且每个经取代或未经取代的杂芳基是经取代或未经取代的5元至6元杂芳基。

[0130] 在一些实施方式中,本文化合物中所述的每个经取代的基团被至少一个取代基取代。更具体地,在一些实施方式中,本文化合物中所描述的每个经取代的烷基、经取代的杂烷基、经取代的环烷基、经取代的杂环烷基、经取代的芳基、经取代的杂芳基、经取代的亚烷基、经取代的亚杂烷基、经取代的亚环烷基、经取代的亚杂环烷基、经取代的亚芳基和/或经取代的亚杂芳基被至少一个取代基取代。在其它实施方式中,这些基团中的至少一个或全部被至少一个尺寸受限的取代基取代。在其它实施方式中,这些基团中的至少一个或全部被至少一个低级取代基取代。

[0131] 在本文化合物的其它实施方式中,每个经取代或未经取代的烷基可以是经取代或未经取代的 C_1 - C_{20} 烷基,每个经取代或未经取代的杂烷基是经取代或未经取代的2元至20元杂烷基,每个经取代或未经取代的环烷基是经取代或未经取代的 C_3 - C_8 环烷基,每个经取代或未经取代的杂环烷基是经取代或未经取代的3元到8元杂环烷基,每个经取代或未经取代的芳基是经取代或未经取代的 C_6 - C_{10} 芳基,和/或每个经取代或未经取代的杂芳基是经取代或未经取代的5元至10元杂芳基。在本文化合物的一些实施方式中,每个经取代的或未经取代的亚烷基是经取代的或未经取代的 C_1 - C_{20} 亚烷基,每个经取代的或未经取代的亚杂烷基是经取代的或未经取代的2元至20元亚杂烷基,每个经取代的或未经取代的亚环烷基是经取代的或未经取代的 C_3 - C_8 亚环烷基,每个经取代的或未经取代的亚杂环烷基是经取代的或未经取代的3元至8元亚杂环烷基,每个经取代的或未经取代的亚芳基是经取代的或未经取代的 C_6 - C_{10} 亚芳基,和/或每个经取代的或未经取代的亚杂芳基是经取代的或未经取代的5元至10元亚杂芳基。

[0132] 在一些实施方式中,每个经取代或未经取代的烷基可以是经取代或未经取代的 C_1 - C_8 烷基,每个经取代或未经取代的杂烷基是经取代或未经取代的2元至8元杂烷基,每个经取代或未经取代的环烷基是经取代或未经取代的 C_3 - C_7 环烷基,每个经取代或未经取代的杂环烷基是经取代或未经取代的3元至7元杂环烷基,每个经取代或未经取代的芳基是经取代或未经取代的 C_6 - C_{10} 芳基和/或每个经取代或未经取代的杂芳基是经取代或未经取代的5元至9元杂芳基。在一些实施方式中,每个经取代的或未经取代的亚烷基是经取代的或未经取代的 C_1 - C_8 亚烷基,每个经取代的或未经取代的亚杂烷基是经取代的或未经取代的2元至8元亚杂烷基,每个经取代的或未经取代的亚环烷基是经取代的或未经取代的 C_3 - C_7 亚环烷基,每个经取代的或未经取代的亚杂环烷基是经取代的或未经取代的3元至7元亚杂环烷基,每个经取代的或未经取代的亚芳基是经取代的或未经取代的 C_6 - C_{10} 亚芳基,和/或每个经取代的或未经取代的亚杂芳基是经取代的或未经取代的5元至9元亚杂芳基。在一些实施方式中,化合物是下文实施例部分、附图或表格中所阐述的化学物种。

[0133] 在实施方式中,经取代或未经取代的部分(例如,经取代或未经取代的烷基、经取代或未经取代的杂烷基、经取代或未经取代的环烷基、经取代或未经取代的杂环烷基、经取代或未经取代的芳基、经取代或未经取代的杂芳基、经取代或未经取代的亚烷基、经取代或未经取代的亚杂烷基、经取代或未经取代的亚环烷基、经取代或未经取代的亚杂环烷基、经取代或未经取代的亚芳基和/或经取代或未经取代的亚杂芳基)是未经取代的(例如,分别为未经取代的烷基、未经取代的杂烷基、未经取代的环烷基、未经取代的杂环烷基、未经取

代的芳基、未经取代的杂芳基、未经取代的亚烷基、未经取代的亚杂烷基、未经取代的亚环烷基、未经取代的亚杂环烷基、未经取代的亚芳基和/或未经取代的亚杂烷基)。在实施方式中,经取代或未经取代的部分(例如,经取代或未经取代的烷基、经取代或未经取代的杂烷基、经取代或未经取代的环烷基、经取代或未经取代的杂环烷基、经取代或未经取代的芳基、经取代或未经取代的杂芳基、经取代或未经取代的亚烷基、经取代或未经取代的亚杂烷基、经取代或未经取代的亚环烷基、经取代或未经取代的亚杂环烷基、经取代或未经取代的亚芳基和/或经取代或未经取代的亚杂芳基)是经取代的(例如,分别为经取代的烷基、经取代的杂烷基、经取代的环烷基、经取代的杂环烷基、经取代的芳基、经取代的杂芳基、经取代的亚烷基、经取代的亚杂烷基、经取代的亚环烷基、经取代的亚杂环烷基、经取代的亚芳基和/或经取代的亚杂烷基)。

[0134] 在实施方式中,经取代的部分(例如,经取代的烷基、经取代的杂烷基、经取代的环烷基、经取代的杂环烷基、经取代的芳基、经取代的杂芳基、经取代的亚烷基、经取代的亚杂烷基、经取代的环亚烷基、经取代的杂环亚烷基、经取代的亚芳基和/或经取代的杂亚芳基)被至少一个取代基取代,其中如果经取代的部分被多个取代基取代,则每个取代基可以任选地不同。在实施方式中,如果经取代的部分被多个取代基取代,则每个取代基是不同的。

[0135] 在实施方式中,经取代的部分(例如,经取代的烷基、经取代的杂烷基、经取代的环烷基、经取代的杂环烷基、经取代的芳基、经取代的杂芳基、经取代的亚烷基、经取代的亚杂烷基、经取代的环亚烷基、经取代的杂环亚烷基、经取代的亚芳基和/或经取代的杂亚芳基)被至少一个尺寸受限的取代基取代,其中如果经取代的部分被多个尺寸受限的取代基取代,则每个尺寸受限的取代基可以任选地不同。在实施方式中,如果经取代的部分用多个尺寸受限的取代基取代,则每个尺寸受限的取代基不同。

[0136] 在实施方式中,经取代的部分(例如,经取代的烷基、经取代的杂烷基、经取代的环烷基、经取代的杂环烷基、经取代的芳基、经取代的杂芳基、经取代的亚烷基、经取代的亚杂烷基、经取代的环亚烷基、经取代的杂环亚烷基、经取代的亚芳基和/或经取代的杂亚芳基)被至少一个低级取代基取代,其中如果经取代的部分被多个低级取代基取代,则每个低级取代基可以任选地不同。在实施方式中,如果经取代的部分被多个低级取代基取代,则每个低级取代基是不同的。

[0137] 在实施方式中,经取代的部分(例如,经取代的烷基、经取代的杂烷基、经取代的环烷基、经取代的杂环烷基、经取代的芳基、经取代的杂芳基、经取代的亚烷基、经取代的亚杂烷基、经取代的环亚烷基、经取代的杂环亚烷基、经取代的亚芳基和/或经取代的杂亚芳基)被至少一个取代基、至少一个尺寸受限的取代基或低级取代基取代,其中如果经取代的部分被多个选自取代基、尺寸受限的取代基和低级取代基的基团取代,则每个取代基、尺寸受限的取代基和/或低级取代基可以任选地不同。在实施方式中,如果经取代的部分被选自取代基、尺寸受限的取代基和低级取代基的多个基团取代,则每个取代基、尺寸受限的取代基和/或低级取代基是不同的。

[0138] 本公开的某些化合物拥有不对称碳原子(光学中心或手性中心)或双键;就绝对立体化学而言可以被定义为呈氨基酸、和单独异构体的(R)-或(S)-或呈(D)-或(L)-形式的对映异构体、外消旋体、非对映异构体、互变异构体、几何异构体、立体异构形式涵盖在本公开的范围内。本公开的化合物不包含本领域中已知的太不稳定而无法进行合成和/或分离的

化合物。本公开旨在包含呈外消旋形式和光学纯形式的化合物。光学活性(R)-和(S)-或(D)-和(L)-异构体可以使用手性合成子或手性试剂来制备,或使用常规技术来解析。当本文所描述的化合物含有烯烃键或其它几何不对称中心时,并且除非另外指明,否则希望化合物包含E几何异构体和Z几何异构体两者。

[0139] 如本文所使用的,术语“异构体”是指具有相同数量和种类的原子,并且因此具有相同分子量但在原子的结构布置或配置方面不同的化合物。

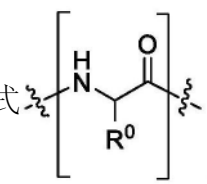
[0140] 如本文所使用的,术语“互变异构体”是指平衡存在并且容易由一种异构形式转化为另一种异构形式的两种或更多种结构异构体之一。

[0141] 对于本领域的技术人员将显而易见的是,本公开的某些化合物可以以互变异构形式存在,所述化合物的所有此类互变异构形式均处于本公开的范围。

[0142] 除非另有说明,本文描述的结构也旨在包含所述结构的所有立体化学形式;即,每个不对称中心的R构型和S构型。因此,本发明化合物的单一立体化学异构体以及对映异构体混合物和非对映异构体混合物均处于本公开的范围。

[0143] 应注意,在整个申请中,替代方案书写在马库什基团中,例如含有多于一个可能氨基酸的每个氨基酸位置中。特别设想了,马库什组的每个成员应单独考虑,由此包括另一个实施方式,并且马库什组不应被理解为单一单位。

[0144] “连接子”是指包含共价键或原子链的将抗体与药物部分共价连接的化学部分。在各个实施方式中,连接子包含二价基团。在各个实施方式中,连接子可以包含一个或多个氨基酸残基。

[0145] “氨基酸单元”具有下式  , 其中R⁰是氢、甲基、异丙基、异丁基、仲丁基、

苄基、对羟基苄基、-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、4-吡啶基甲基、苄基或环己基。在各个实施方式中,氨基酸单位不仅包含天然存在的氨基酸,还包含微量氨基酸和非天然存在的氨基酸类似物,如瓜氨酸、正亮氨酸、硒代甲硫氨酸、β-丙氨酸等。氨基酸单位可以用其标准的氨基酸三字母代码来表示(例如,Ala、Cys、Asp、Glu、Val、Phe、Lys等)。

[0146] 如本文所使用的,术语“生物缀合物”和“生物缀合连接子”是指生物缀合反应性基团或生物缀合反应性部分的原子或分子之间产生的缔合。缔合可以是直接的或间接的。例如,本文提供的第一生物缀合反应性基团(例如,-NH₂、-C(O)OH、-N-羟基琥珀酰亚胺或-马来酰亚胺)与第二生物缀合反应性基团(例如,巯基、含硫氨基酸、胺、含有氨基酸的胺侧链或羧酸盐)之间的缀合可以例如通过共价键或连接子(例如第二连接子的第一连接子)直接进行,或例如通过非共价键(例如静电相互作用(例如离子键、氢键、卤素键)、范德华(van der Waals)相互作用(例如,偶极-偶极、偶极诱导的偶极、伦敦分散)、环堆积(π效应)、疏水相互作用等)间接进行。在实施方式中,生物缀合物或生物缀合连接子是使用生物缀合化学(即两个生物缀合反应性基团的缔合)形成的,所述生物缀合化学包含但不限于亲核取代

(例如,胺和醇与酰基卤、活性酯的反应)、亲电取代(例如,烯胺反应)以及碳-碳和碳-杂原子多重键的加成(例如,迈克尔反应(Michael reaction)、狄尔斯-阿尔德加成(Diels-Alder addition))。这些和其它有用的反应在以下中进行了讨论:例如March,《高级有机化学(ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY)》,第3版,约翰威利父子公司(John Wiley&Sons),纽约(New York),1985;Hermanson,《生物缀合技术(BIOCONJUGATE TECHNIQUES)》,学术出版社(Academic Press),圣地亚哥(San Diego),1996;和Feeney等人,《蛋白质的修饰(MODIFICATION OF PROTEINS)》;化学进展系列,第一卷,198,美国化学学会(American Chemical Society),华盛顿特区(Washington,D.C.),1982。在实施方式中,第一生物缀合反应性基团(例如,马来酰亚胺部分)与第二生物缀合反应性基团(例如,巯基)共价连接。在实施方式中,第一生物缀合反应性基团(例如,卤代乙酰基部分)与第二生物缀合反应性基团(例如,巯基)共价连接。在实施方式中,第一生物缀合反应性基团(例如,吡啶基部分)与第二生物缀合反应性基团(例如,巯基)共价连接。在实施方式中,第一生物缀合反应性基团(例如,-N-羟基琥珀酰亚胺部分)与第二生物缀合反应性基团(例如,胺)共价连接。在实施方式中,第一生物缀合反应性基团(例如,氟苯基酯部分)与第二生物缀合反应性基团(例如,胺)反应以形成共价键。在实施方式中,第一生物缀合反应性基团(例如,-磺基-N-羟基琥珀酰亚胺部分)与第二生物缀合反应性基团(例如,胺)反应以形成共价键。

[0147] 用于本文的生物缀合化学的有用的生物缀合反应性部分包含,例如:

[0148] (a) 羧基以及其各种衍生物,包含但不限于N-羟基琥珀酰亚胺酯、N-羟基苯并三唑酯、酸性卤化物、酰基咪唑、硫代酯、对硝基苯基酯、烷基、烯基、炔基和芳香族酯;

[0149] (b) 羟基,所述羟基可以转化为酯、醚、醛等。

[0150] (c) 卤代烷基,其中卤素随后可以被如胺、羧酸根阴离子、硫醇阴离子、碳负离子或烷氧离子等亲核基团置换,从而导致新的基团在卤素原子的位点处共价附接;

[0151] (d) 亲二烯基,所述亲二烯基能够参与狄尔斯-阿尔德反应,例如马来酰亚胺基或马来酰亚胺基团;

[0152] (e) 醛基或酮基,所述醛基或酮基使得可以通过羰基衍生物(例如亚胺、脎、半卡巴脎或脎)的形成或通过如格氏(Grignard)加成或烷基锂加成等机制进行随后的衍生化;

[0153] (f) 磺酰卤素,所述磺酰卤素用于随后与胺反应,例如以形成磺酰胺;

[0154] (g) 巯基,所述巯基可以转化为二硫化物,与酰基卤反应,或与如金等金属键合,或与马来酰亚胺反应;

[0155] (h) 胺或巯基(例如,存在于半胱氨酸中),所述胺或巯基可以被例如酰化、烷基化或氧化;

[0156] (i) 烯烃,所述烯烃可以经历例如环加成、酰化、迈克尔加成等;

[0157] (j) 环氧化物,所述环氧化物可以与例如胺和羟基化合物反应;

[0158] (k) 亚磷酰胺和可用于核酸合成的其它标准官能团;

[0159] (l) 金属氧化硅键合;以及

[0160] (m) 与反应性磷基(例如膦)以形成例如磷酸二酯键的金属键合。

[0161] (n) 使用铜催化的环加成点击化学将叠氮化物连接到炔烃。

[0162] (o) 生物素缀合物可以与抗生物素蛋白或抗生蛋白链菌素(streptavidin)反应,以形成抗生物素蛋白-生物素复合物或抗生蛋白链菌素-生物素复合物。

[0163] 可以选择生物缀合反应性基团,使得其不参与或不干扰本文所描述的缀合物的化学稳定性。可替代地,可以通过保护基团的存在来保护反应性官能团不参与交联反应。在实施方式中,生物缀合物包括衍生自如马来酰亚胺等不饱和键与巯基的反应的分子实体。

[0164] “类似物 (Analog/analogue)” 根据其在化学和生物学内的一般和普通的含义使用,并且是指例如在一个原子被不同元素的原子替换中,或在特定官能团存在的情况下,或一个官能团被另一个官能团替换中,或参考化合物的一个或多个手性中心的绝对立体化学中,与另一化合物 (即,所谓的“参考”化合物) 在结构上类似但在组成上不同的化合物。因此,类似物是与参考化合物在功能和外观上类似或相当,但在结构或来源上不类似或不相当的化合物。

[0165] 如本文所使用的,常见的有机和细胞类型缩写定义如下:

[0166] Ac 乙酰基

[0167] ACN 乙腈

[0168] Ala 丙氨酸

[0169] Asn 天冬酰胺

[0170] aq. 水溶液

[0171] β -Ala β -丙氨酸

[0172] BOC或Boc叔丁氧基羰基

[0173] $^{\circ}\text{C}$ 以摄氏度为单位的温度

[0174] CBZ 苄氧羰基

[0175] Cit 瓜氨酸

[0176] DBU 1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一碳-7-烯

[0177] DCM 二氯甲烷

[0178] DIEA 二异丙基乙胺

[0179] DMF N,N'-二甲基甲酰胺

[0180] EDC 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺;

[0181] EOS 嗜酸性粒细胞

[0182] Et 乙基

[0183] EtOAc 乙酸乙酯

[0184] Eq 当量

[0185] Fmoc 9-苄基甲氧基羰基

[0186] g 克

[0187] Gly 甘氨酸

[0188] h 小时

[0189] HATU 2-(1H-7-氮杂苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脒六氟磷酸盐

[0190] HCT 血细胞比容

[0191] HGB 血红蛋白

[0192] HOBt N-羟基苯并三唑

[0193] HPLC 高效液相色谱法

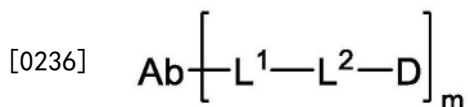
[0194] LC/MS 液相色谱法-质谱法

- [0195] LYM 淋巴细胞
- [0196] Lys 赖氨酸
- [0197] Me 甲基
- [0198] mg 毫克
- [0199] MeOH 甲醇
- [0200] mL 毫升
- [0201] $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ 微升
- [0202] MONO 单核细胞
- [0203] mol 摩尔
- [0204] mmol 毫摩尔
- [0205] $\mu\text{mol}/\text{umol}$ 微摩尔
- [0206] MS 质谱法
- [0207] NHS N-羟基琥珀酰亚胺
- [0208] NEUT 中性粒细胞
- [0209] PABC 对氨基苄氧基羰基
- [0210] Phe 苯丙氨酸
- [0211] Pip 哌啶
- [0212] PLT 血小板
- [0213] PyAOP (7-氮杂苯并三唑-1-基氧基) 六氟磷酸盐三吡咯烷磷鎓
- [0214] RBC 红细胞
- [0215] RET 网织红细胞
- [0216] RP-HPLC 反相HPLC
- [0217] rt 室温
- [0218] Ser 丝氨酸;
- [0219] t-Bu 叔丁基
- [0220] Tert,t 叔
- [0221] TFA 三氟乙酸
- [0222] Thr 苏氨酸
- [0223] Val 缬氨酸
- [0224] WBC 白细胞
- [0225] 组合物
- [0226] 抗体-药物缀合物
- [0227] 一方面,本文提供了一种抗体-药物缀合物(ADC),其包含单克隆抗体(Ab)、药物部分(D)和将所述单克隆抗体与所述药物部分共价连接的连接子部分。
- [0228] 另一方面,本文提供了一种式(I)的ADC:
- [0229] 或其药学上可接受的盐,其中:
- [0230] Ab是单克隆抗体;
- [0231] m是1至8的整数;
- [0232] L^1 是与所述单克隆抗体结合连接子;

[0233] L^2 是键、 $-C(O)-$ 、 $-NH-$ 、氨基酸单元、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-(CH_2)_n-$ 、 $-(4\text{-氨基苄氧基羰基})-$ 、 $-\text{N}(\text{C}_6\text{H}_{10})-$ 、 $-\text{N}(\text{C}_6\text{H}_{10})-$ 、 $-(C(O)CH_2CH_2NH)-$ 或其组合,其中n是1至24的整数;

[0234] D是药物部分。

[0235] 另一方面,本文提供了一种式(I)的抗体药物缀合物(ADC):



[0237] 或其药学上可接受的盐,其中:

[0238] Ab是抗BCMA抗体、抗ROR1抗体、抗CD25抗体或抗Claudin 18抗体;

[0239] m是1至8的整数;

[0240] L^1 是与所述抗BCMA抗体、所述抗ROR1抗体、所述抗CD25抗体或所述抗Claudin18抗体结合的连接子;

[0241] L^2 是键、 $-C(O)-$ 、 $-NH-$ 、氨基酸单元、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-(CH_2)_n-$ 、 $-(4\text{-氨基苄氧基羰基})-$ 、 $-\text{N}(\text{C}_6\text{H}_{10})-$ 、 $-\text{N}(\text{C}_6\text{H}_{10})-$ 、 $-(C(O)CH_2CH_2NH)-$ 或其组合;其中n是1至24的整数;并且

[0242] D是药物部分。

[0243] 在实施方式中,m是1至8的整数。在实施方式中,m是1。在实施方式中,m是2。在实施方式中,m是3。在实施方式中,m是4。在实施方式中,m是5。在实施方式中,m是6。在实施方式中,m是7。在实施方式中,m是8。

[0244] 在实施方式中,n是1至24的整数。在实施方式中,n是1。在实施方式中,n是2。在实施方式中,n是3。在实施方式中,n是4。在实施方式中,n是5。在实施方式中,n是6。在实施方式中,n是7。在实施方式中,n是8。在实施方式中,n是9。在实施方式中,n是10。在实施方式中,n是11。在实施方式中,n是12。在实施方式中,n是13。在实施方式中,n是14。在实施方式中,n是15。在实施方式中,n是16。在实施方式中,n是17。在实施方式中,n是18。在实施方式中,n是19。在实施方式中,n是20。在实施方式中,n是21。在实施方式中,n是22。在实施方式中,n是23。在实施方式中,n是24。

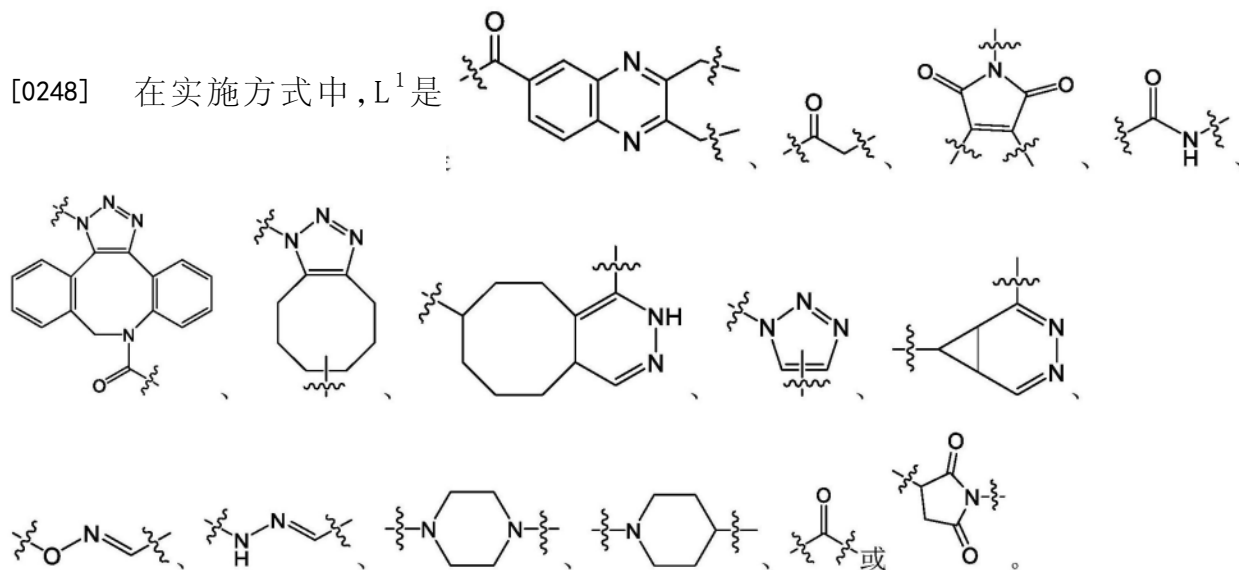
[0245] 在实施方式中,Ab是抗BCMA抗体、抗ROR1抗体、抗CD25抗体或抗Claudin 18抗体。在实施方式中,Ab是抗BCMA抗体。在实施方式中,Ab是抗ROR1抗体。在实施方式中,Ab是抗CD25抗体。在实施方式中,Ab是抗Claudin 18抗体。

[0246] 在实施方式中, L^1 是与所述抗BCMA抗体结合的连接子。在实施方式中, L^1 是与所述抗BCMA抗体上的一个或两个硫或氮原子结合的连接子。在实施方式中, L^1 是与所述抗BCMA抗体上的一个硫原子结合的连接子。在实施方式中, L^1 是与所述抗BCMA抗体上的两个硫原子结合的连接子。在实施方式中, L^1 是与所述抗BCMA抗体上的一个氮原子结合的连接子。在实施方式中, L^1 是与所述抗BCMA抗体上的两个氮原子结合的连接子。

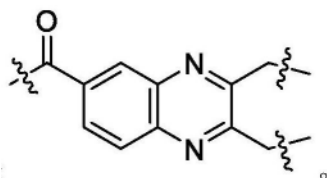
[0247] 在实施方式中, L^1 是与所述抗BCMA抗体上的一个半胱氨酸分子结合的连接子。在实施方式中, L^1 是与所述抗BCMA抗体上的两个半胱氨酸分子结合的连接子。在实施方式中, L^1 是与所述抗BCMA抗体上的一个赖氨酸分子结合的连接子。在实施方式中, L^1 是与所述抗

BCMA抗体上的两个赖氨酸分子结合的连接子。

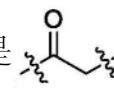
[0248] 在实施方式中, L^1 是



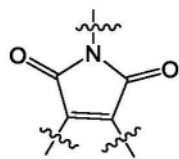
[0249] 在实施方式中, L^1 是



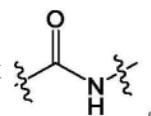
在实施方式中, L^1 是



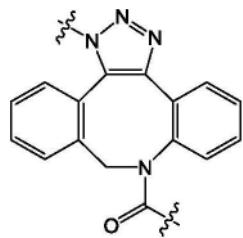
方式中, L^1 是



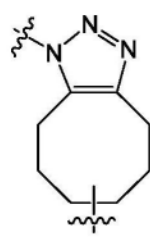
在实施方式中, L^1 是



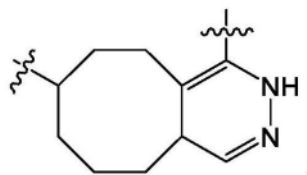
在实施方式中, L^1 是



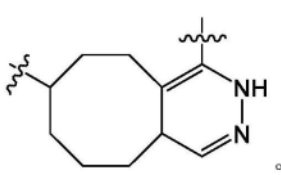
在实施方式中, L^1 是



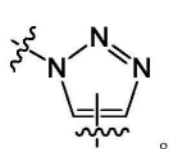
在实施方式中, L^1 是



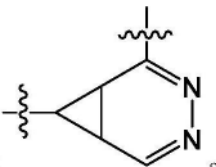
在实施方式中, L^1 是



在实施方式中, L^1 是



在实施方式中, L^1 是



在实施方式中, L^1 是

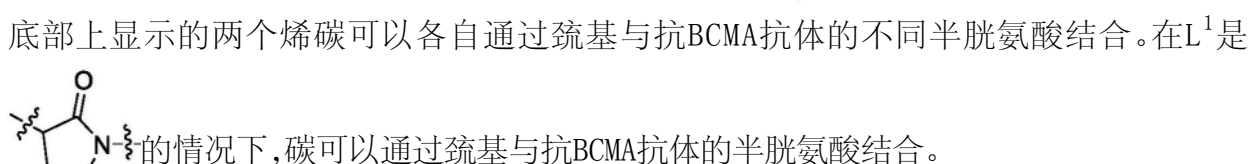
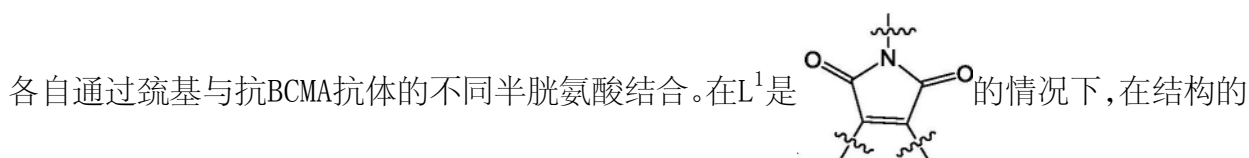
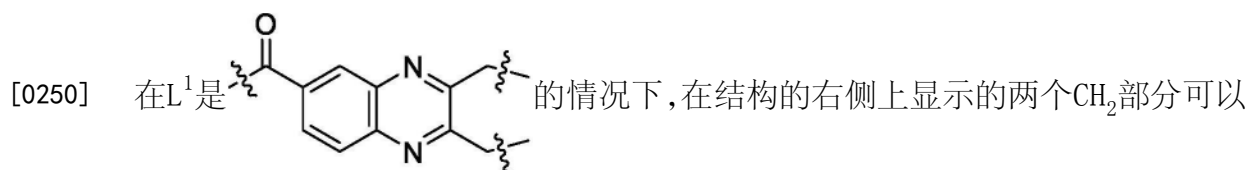
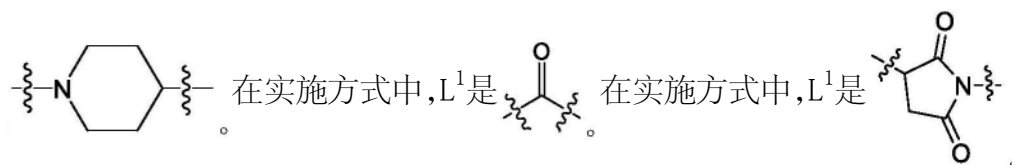
在实施方式中, L^1 是

方式中, L^1 是

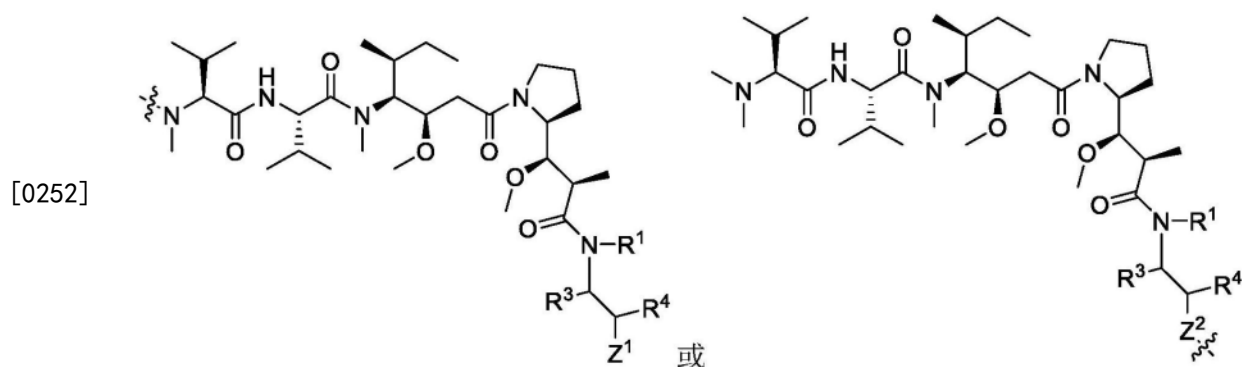


在实施方式中, L^1 是

在实施方式中, L^1 是

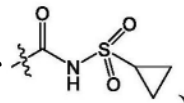


[0251] 在实施方式中, D是:



[0253] R^1 是H或 $-C_1-C_8$ 烷基;

[0254] R^3 是H、卤素、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-$

CH_2Br 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OR^{3A}$ 、 $-NR^{3A}R^{3B}$ 、 $-(CH_2)_vOR^6$ 、 经取代或未经取代的烷基

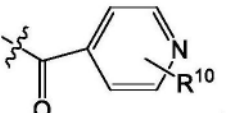
或经取代或未经取代的杂烷基;

[0255] R^4 是H、卤素、 $-OR^{4A}$ 、 $-NR^{4A}R^{4B}$ 、经取代或未经取代的烷基或经取代或未经取代的杂烷基;

[0256] Z^1 是经取代或未经取代的芳基、经取代或未经取代的杂芳基、经取代或未经取代的环烷基或经取代或未经取代的杂环烷基;

[0257] Z^2 是经取代或未经取代的亚芳基、经取代或未经取代的亚杂芳基、经取代或未经取代的亚环烷基或经取代或未经取代的亚杂环烷基;

[0258] R^6 是H、经取代或未经取代的烷基、经取代或未经取代的环烷基、经取代或未经取代的杂环烷基、经取代或未经取代的芳基、经取代或未经取代的杂芳基、 $-CO(CH_2CH_2O)$

$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Y}$ 、 $-\text{CONH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_w\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Y}$ 、 带电荷的基团或糖衍生物,其中

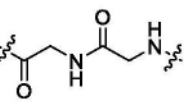
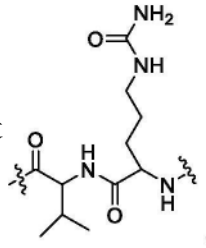
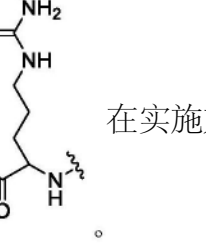
[0259] v 是1至24的整数; w 是1至24的整数; Y 是 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 或 $-\text{OCH}_3$; R^{10} 是 $-\text{OH}$ 、 $-\text{OCH}_3$ 或 $-\text{COOH}$;

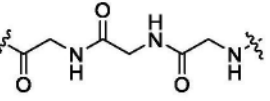
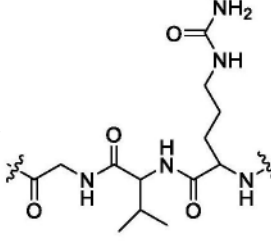
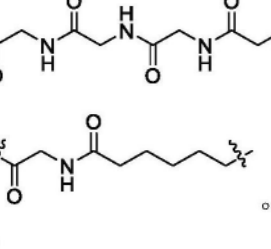
[0260] 每个 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{4A} 和 R^{4B} 独立地是H或经取代或未经取代的烷基。

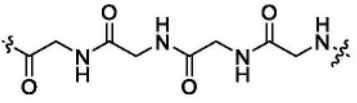
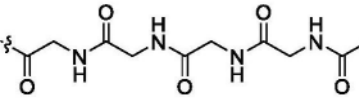
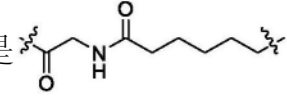
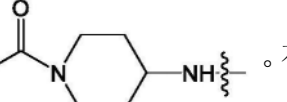
[0261] 在实施方式中, L^2 是键、 $-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{Val}-$ 、 $-\text{Phe}-$ 、 $-\text{Lys}-$ 、 $-(4\text{-氨基苄氧基羰基})-$ 、、、 $-\text{Gly}-$ 、 $-\text{Ser}-$ 、 $-\text{Thr}-$ 、 $-\text{Ala}-$ 、 $-\beta\text{-Ala}-$ 、 $-\text{瓜氨酸}-(\text{Cit})-$ 、 $-(\text{CH}_2)_n-$ 、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-$ 或其组合。

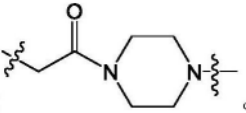
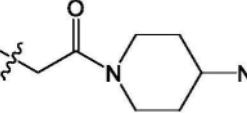
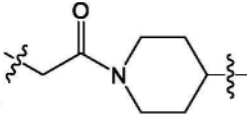
[0262] 在实施方式中, L^2 是键、 $-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{Val}-$ 、 $-\text{Phe}-$ 、 $-\text{Lys}-$ 、 $-(4\text{-氨基苄氧基羰基})-$ 、、、 $-(\text{CH}_2)_n-$ 、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-$ 或其组合。

[0263] 在实施方式中, L^2 是键、 $-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{Gly}-$ 、 $-\text{Ser}-$ 、 $-\text{Thr}-$ 、 $-\text{Ala}-$ 、 $-\beta\text{-Ala}-$ 、 $-\text{Cit}-$ 、、、 $-(\text{CH}_2)_n-$ 、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-$ 或其组合。

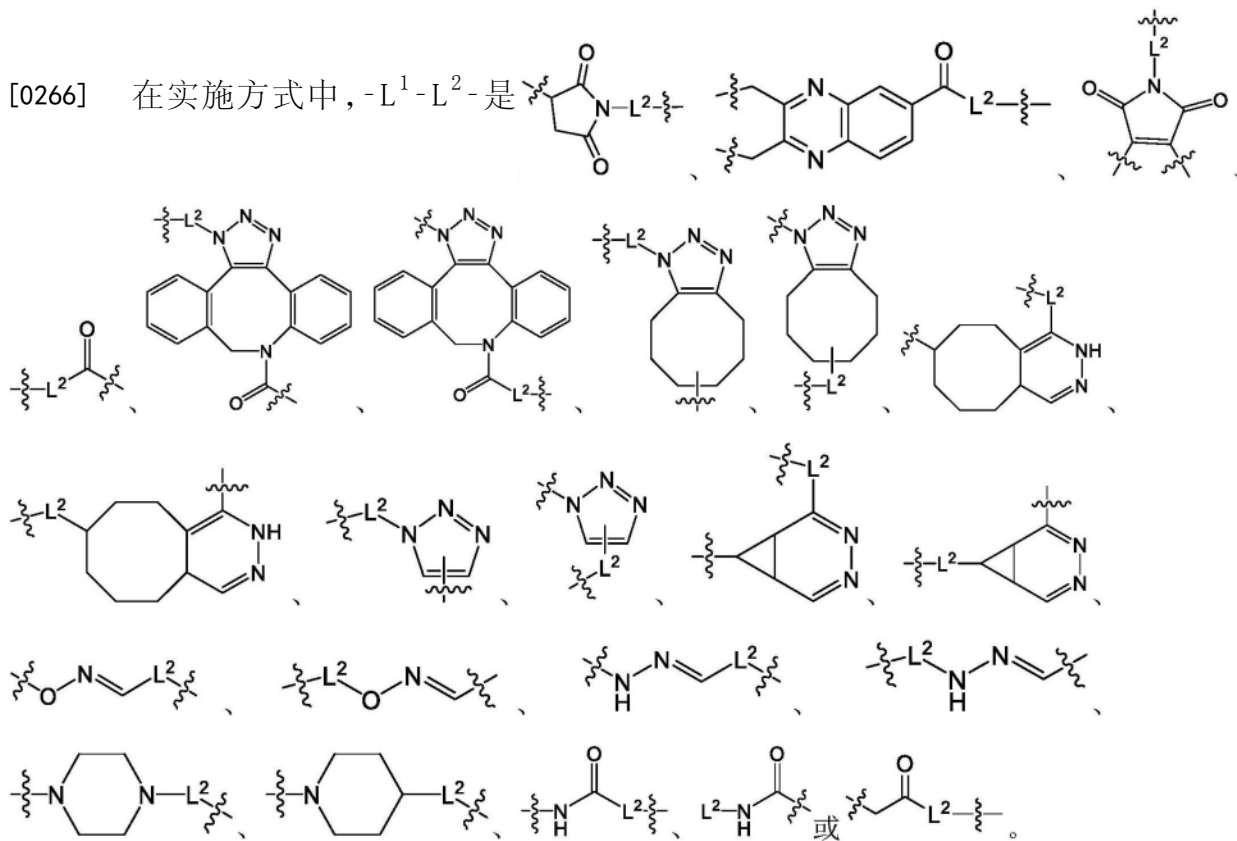
[0264] 在实施方式中, L^2 是。在实施方式中, L^2 是。在实施方式中, L^2 是。

中, L^2 是。在实施方式中, L^2 是。在实施方式中, L^2 是。

中, L^2 是。在实施方式中, L^2 是。在实施方式中, L^2 是。在实施方式中, L^2 是。

在实施方式中, L^2 是。在实施方式中, L^2 是。在实施方式中, L^2 是。

[0265] 在实施方式中, L^2 是键。在实施方式中, L^2 是 $-C(O)-$ 。在实施方式中, L^2 是 $-NH-$ 。在实施方式中, L^2 是 $-Val-$ 。在实施方式中, L^2 是 $-Phe-$ 。在实施方式中, L^2 是 $-Lys-$ 。在实施方式中, L^2 是 $-(4\text{-氨基苄氧基羰基})-$ 。在实施方式中, L^2 是 $-(CH_2)_n-$ 。在一些实施方式中, L^2 是 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 。在实施方式中, L^2 是 $-Gly-$ 。在实施方式中, L^2 是 $-Ser-$ 。在实施方式中, L^2 是 $-Thr-$ 。在实施方式中, L^2 是 $-Ala-$ 。在实施方式中, L^2 是 $-\beta\text{-Ala}-$ 。在实施方式中, L^2 是 $-Cit-$ 。



[0267] 在实施方式中, $-L^1-L^2-$ 是

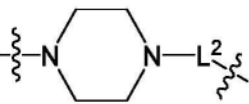
在实施方式中, $-L^1-L^2-$ 是

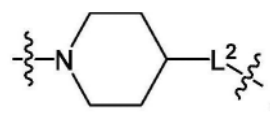
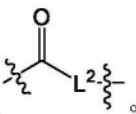
其中在结构的左侧上显示的两个 CH_2 部分可以各自与抗BCMA

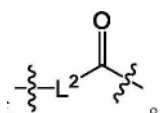
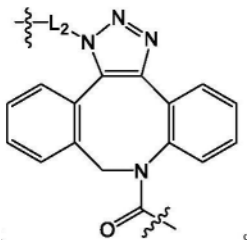
抗体的单独硫结合。在实施方式中, $-L^1-L^2-$ 是

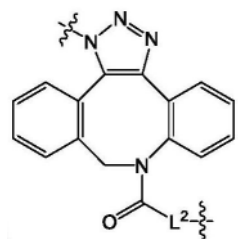
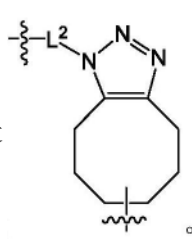
在实施方式中, $-L^1-L^2-$ 是

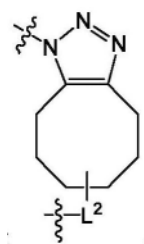
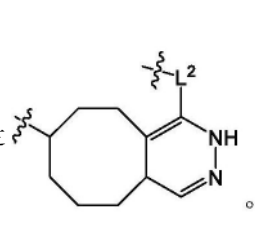
其中在结构的底部上显示的两个烯碳可以各自与抗BCMA抗体的单独的硫结

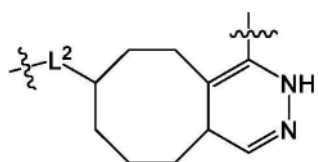
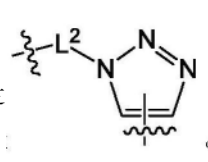
合。在实施方式中, $-L^1-L^2-$ 是  在实施方式中, $-L^1-L^2-$ 是

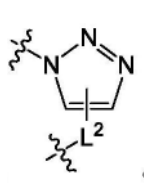
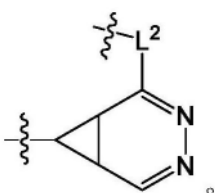
 在实施方式中, $-L^1-L^2-$ 是  在实施方式中, $-L^1-L^2-$ 是

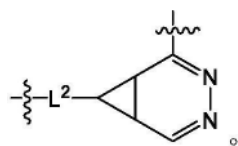
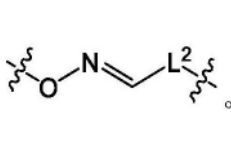
 在实施方式中, $-L^1-L^2-$ 是  在实施方式中, $-L^1-L^2-$ 是

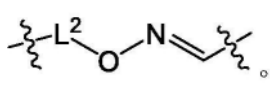
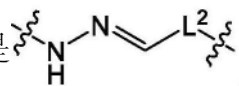
 在实施方式中, $-L^1-L^2-$ 是  在实施方式中, $-L^1-L^2-$ 是

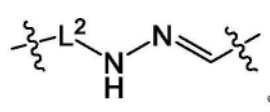
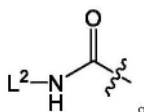
 在实施方式中, $-L^1-L^2-$ 是  在实施方式中, $-L^1-L^2-$ 是

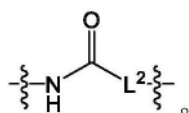
 在实施方式中, $-L^1-L^2-$ 是  在实施方式中, $-L^1-L^2-$ 是

 在实施方式中, $-L^1-L^2-$ 是  在实施方式中, $-L^1-L^2-$ 是

 在实施方式中, $-L^1-L^2-$ 是  在实施方式中, $-L^1-L^2-$ 是

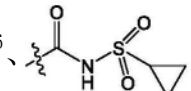
 在实施方式中, $-L^1-L^2-$ 是  在实施方式中, $-L^1-L^2-$ 是

 在实施方式中, $-L^1-L^2-$ 是  在实施方式中, $-L^1-L^2-$ 是

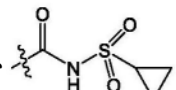


[0268] 在实施方式中, R^1 是 H。在实施方式中, R^1 是 C_1 - C_8 烷基。

[0269] 在实施方式中, R^1 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、戊基或己基。在实施方式中, R^1 是甲基。在实施方式中, R^1 是乙基。在实施方式中, R^1 是丙基。在实施方式中, R^1 是异丙基。在实施方式中, R^1 是丁基。在实施方式中, R^1 是异丁基。在实施方式中, R^1 是叔丁基。在实施方式中, R^1 是戊基。在实施方式中, R^1 是己基。

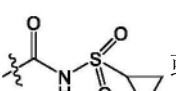
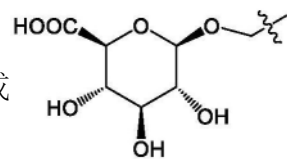
[0270] 在实施方式中, R^3 是 H、卤素、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OR^{3A}$ 、 $-NR^{3A}R^{3B}$ 、 $-(CH_2)_vOR^6$ 、 经取代或

未经取代的烷基 (例如, C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_4 烷基) 或经取代或未经取代的杂烷基 (例如, 2 元至 8 元杂烷基、2 元至 6 元杂烷基或 2 元至 4 元杂烷基)。

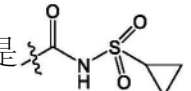
[0271] 在实施方式中, R^3 是 H、 $-OR^{3A}$ 、 $-(CH_2)_vOR^6$ 、 经取代的 (例如, 被至少一个

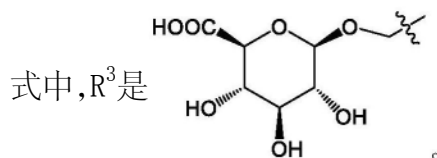
取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代) 或未经取代的烷基 (例如, C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_4 烷基), 或经取代的 (例如, 被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代) 或未经取代的杂烷基 (例如, 2 元至 8 元杂烷基、2 元至 6 元杂烷基或 2 元至 4 元杂烷基)。

[0272] 在实施方式中, R^3 是经取代的 (例如, 被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 烷基 (例如, C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_4 烷基)。在实施方式中, R^3 是未经取代的烷基 (例如, C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_4 烷基)。在实施方式中, R^3 是经取代的 (例如, 被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 杂烷基 (例如, 2 元至 8 元杂烷基、2 元至 6 元杂烷基或 2 元至 4 元杂烷基)。在实施方式中, R^3 是未经取代的杂烷基 (例如, 2 元至 8 元杂烷基、2 元至 6 元杂烷基或 2 元至 4 元杂烷基)。

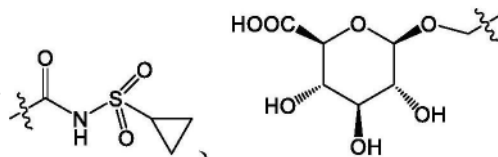
[0273] 在实施方式中, R^3 是甲基、乙基、丙基、丁基、 $-CH_2OH$ 、 $-CH_2CH_2OH$ 、 $-CH_2N_3$ 、 $-CH_2CH_2N_3$ 、 $-CH_2OCH_3$ 、 $-CH_2OCH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2OCH_3$ 、 $-CH_2CH_2OCH_2CH_3$ 、 或  在

实施方式中, R^3 是甲基。在实施方式中, R^3 是乙基。在实施方式中, R^3 是丙基。在实施方式中, R^3 是丁基。在实施方式中, R^3 是 $-CH_2OH$ 。在实施方式中, R^3 是 $-CH_2CH_2OH$ 。在一些实施方式中, R^3 是 $-CH_2N_3$ 。在实施方式中, R^3 是 $-CH_2CH_2N_3$ 。在一些实施方式中, R^3 是 $-CH_2OCH_3$ 。在实施方式中, R^3 是 $-CH_2OCH_2CH_3$ 。在实施方式中, R^3 是 $-CH_2CH_2OCH_3$ 。在实施方式中, R^3 是 $-CH_2CH_2OCH_2CH_3$ 。

在实施方式中, R^3 是 $-OH$ 。在实施方式中, R^3 是 H。在实施方式中, R^3 是  在实施方



[0274] 在实施方式中, R^3 是甲基、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、



或 $-\text{CH}_2\text{N}_3$ 。

[0275] 在实施方式中, v 是 1 至 24 的整数。在实施方式中, v 是 1。在实施方式中, v 是 2。在实施方式中, v 是 3。在实施方式中, v 是 4。在实施方式中, v 是 5。在实施方式中, v 是 6。在实施方式中, v 是 7。在实施方式中, v 是 8。在实施方式中, v 是 9。在实施方式中, v 是 10。在实施方式中, v 是 11。在实施方式中, v 是 12。在实施方式中, v 是 13。在实施方式中, v 是 14。在实施方式中, v 是 15。在实施方式中, v 是 16。在实施方式中, v 是 17。在实施方式中, v 是 18。在实施方式中, v 是 19。在实施方式中, v 是 20。在实施方式中, v 是 21。在实施方式中, v 是 22。在实施方式中, v 是 23。在实施方式中, v 是 24。

[0276] 在实施方式中, R^4 是 H、卤素、 $-\text{OR}^{4A}$ 、 $-\text{NR}^{4A}\text{R}^{4B}$ 、经取代或未经取代的烷基 (例如, C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_4 烷基) 或经取代或未经取代的杂烷基 (例如, 2 元至 8 元杂烷基、2 元至 6 元杂烷基或 2 元至 4 元杂烷基)。

[0277] 在实施方式中, R^4 是 H、 $-\text{OR}^{4A}$ 、经取代的 (例如, 被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代) 或未经取代的烷基 (例如, C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_4 烷基), 或经取代的 (例如, 被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代) 或未经取代的杂烷基 (例如, 2 元至 8 元杂烷基、2 元至 6 元杂烷基或 2 元至 4 元杂烷基)。

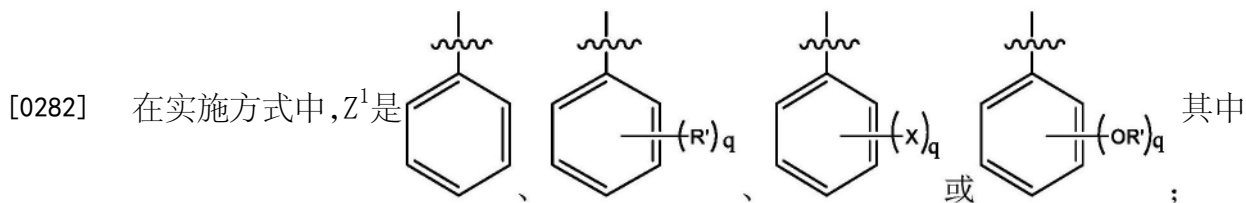
[0278] 在实施方式中, R^4 是经取代的 (例如, 被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 烷基 (例如, C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_4 烷基)。在实施方式中, R^4 是未经取代的烷基 (例如, C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_4 烷基)。在实施方式中, R^4 是经取代的 (例如, 被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 杂烷基 (例如, 2 元至 8 元杂烷基、2 元至 6 元杂烷基或 2 元至 4 元杂烷基)。在实施方式中, R^4 是未经取代的杂烷基 (例如, 2 元至 8 元杂烷基、2 元至 6 元杂烷基或 2 元至 4 元杂烷基)。

[0279] 在实施方式中, R^4 是 H、 $-\text{OH}$ 、甲基、乙基、丙基或丁基。在实施方式中, R^4 是甲基。在实施方式中, R^4 是乙基。在实施方式中, R^4 是丙基。在实施方式中, R^4 是丁基。在实施方式中, R^4 是 H。在实施方式中, R^4 是 $-\text{OH}$ 。

[0280] 在实施方式中, R^4 是 H 或 $-\text{OH}$ 。

[0281] 在实施方式中, Z^1 是经取代的 (例如, 被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 或未经取代的环烷基 (例如, C_3 - C_8 环烷基、 C_3 - C_6 环烷基或 C_5 - C_6 环烷基)。在实施方式中, Z^1 是经取代的 (例如, 被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 环烷基 (例如, C_3 - C_8 环烷基、 C_3 - C_6 环烷基或 C_5 - C_6 环烷基)。在实施方式中, Z^1 是未经取代的环烷基 (例如, C_3 - C_8 环烷基、 C_3 - C_6 环烷基或 C_5 - C_6 环烷基)。在实施方式中, Z^1 是经取代的 (例如, 被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 或未经取代的杂环烷基 (例如, 3 元至 8 元杂环烷基、3 元至 6 元杂环烷基或 5 元至 6 元杂环烷基)。在实施方式中, Z^1 是经取代的 (例如, 被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 杂环烷基 (例如, 3 元至 8 元杂环烷基、3 元至 6 元杂环烷基)。

基或5元至6元杂环烷基)。在实施方式中, Z^1 是未经取代的杂环烷基(例如,3元至8元杂环烷基、3元至6元杂环烷基或5元至6元杂环烷基)。在实施方式中, Z^1 是经取代的(例如,被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的)或未经取代的芳基(例如, C_6 - C_{10} 芳基、 C_{10} 芳基或苯基)。在实施方式中, Z^1 是经取代的(例如,被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的)芳基(例如, C_6 - C_{10} 芳基、 C_{10} 芳基或苯基)。在实施方式中, Z^1 是未经取代的芳基(例如, C_6 - C_{10} 芳基、 C_{10} 芳基或苯基)。在实施方式中, Z^1 是经取代的(例如,被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的)或未经取代的杂芳基(例如,5元至10元杂芳基、5元至9元杂芳基或5元至6元杂芳基)。在实施方式中, Z^1 是经取代的(例如,被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的)杂芳基(例如,5元至10元杂芳基、5元至9元杂芳基或5元至6元杂芳基)。在实施方式中, Z^1 是未经取代的杂芳基(例如,5元至10元杂芳基、5元至9元杂芳基或5元至6元杂芳基)。

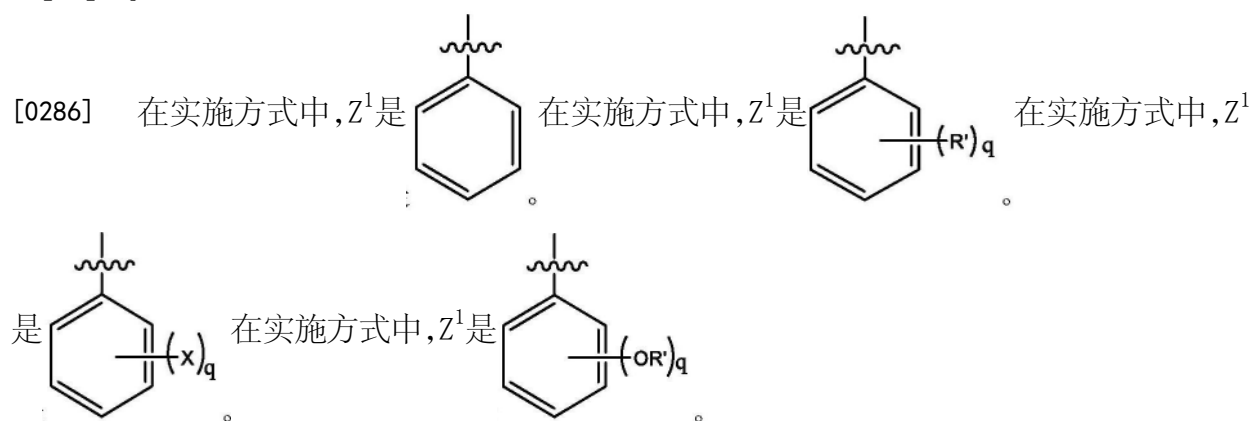


每个X独立地是Cl、Br、I或F;每个R'独立地是 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 或 $-CH_2CH_2CH_3$;并且q是1至5的整数。

[0283] 在实施方式中,q是1。在实施方式中,q是2。在实施方式中,q是3。在实施方式中,q是4。在实施方式中,q是5。

[0284] 在实施方式中,X是Cl。在实施方式中,X是Br。在实施方式中,X是I。在实施方式中,X是F。

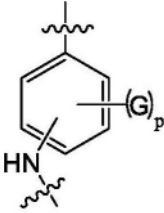
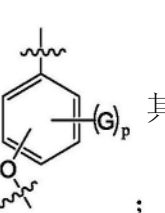
[0285] 在实施方式中,R'是 $-CH_3$ 。在实施方式中,R'是 $-CH_2CH_3$ 。在实施方式中,R'是 $-CH_2CH_2CH_3$ 。



[0287] 在实施方式中, Z^2 是经取代的(例如,被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的)或未经取代的亚环烷基(例如, C_3 - C_8 亚环烷基、 C_3 - C_6 亚环烷基或 C_5 - C_6 亚环烷基)。在实施方式中, Z^2 是经取代的(例如,被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的)或未经取代的亚杂环烷基(例如,3元至8元亚杂环烷基、3元至6元亚杂环烷基或5元至6元亚杂环烷基)。在实施方式中, Z^2 是经取代的(例如,被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的)或未经取代的亚芳基(例如, C_6 - C_{10} 亚芳基、 C_{10} 亚芳基或亚苯基)。在实施方式中, Z^2 是

经取代的(例如,被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的)或未经取代的亚杂芳基(例如,5元至10元亚杂芳基、5元至9元亚杂芳基或5元至6元亚杂芳基)。

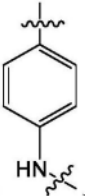
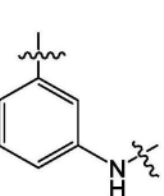
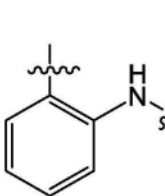
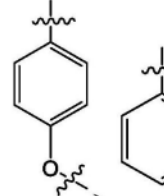
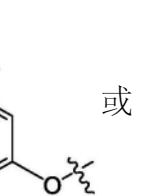
[0288] 在实施方式中, Z^2 是未经取代的亚芳基。

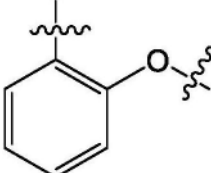
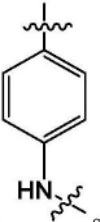
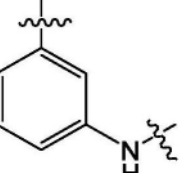
[0289] 在实施方式中, Z^2 是  或  ; 其中每个G独立地是Cl、Br、I、F、-

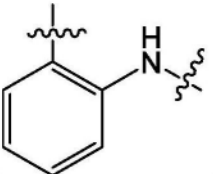
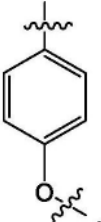
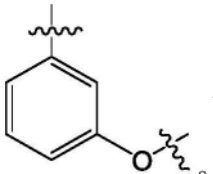
CH_3 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{OH}$ 或 $-\text{NH}_2$;并且p是0至4的整数。

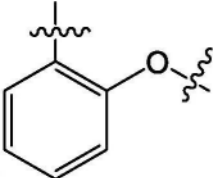
[0290] 在实施方式中,p是0。在实施方式中,p是1。在实施方式中,p是2。在实施方式中,p是3。在实施方式中,p是4。

[0291] 在实施方式中,G是Cl。在实施方式中,G是Br。在实施方式中,G是I。在实施方式中,G是F。在实施方式中,G是 $-\text{CH}_3$ 。在实施方式中,G是 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 。在实施方式中,G是 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ 。在实施方式中,G是 $-\text{OCH}_3$ 。在实施方式中,G是 $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$ 。在实施方式中,G是 $-\text{OH}$ 。在实施方式中,G是 $-\text{NH}_2$ 。

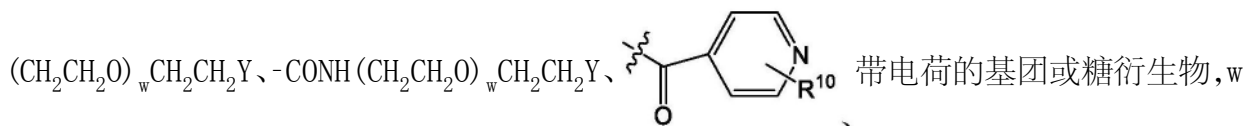
[0292] 在实施方式中, Z^2 是  或  或  或  或 

 在实施方式中, Z^2 是  在实施方式中, Z^2 是  在实施方式

中, Z^2 是  在实施方式中, Z^2 是  在实施方式中, Z^2 是  在

实施方式中, Z^2 是 

[0293] 在实施方式中, R^6 是H、经取代或未经取代的烷基、经取代或未经取代的环烷基、经取代或未经取代的杂环烷基、经取代或未经取代的芳基、经取代或未经取代的杂芳基、 $-\text{CO}$

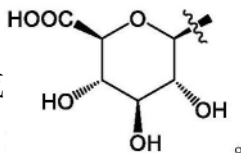


是1至24的整数;Y是 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 或 $-\text{OCH}_3$; R^{10} 是 $-\text{OH}$ 、 $-\text{OCH}_3$ 或 $-\text{COOH}$ 。

[0294] 在实施方式中, R^6 是H或经取代的(例如,被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的)或未经取代的烷基(例如, C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_4 烷基)、经取代的(例如,被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的)或未经取代的环烷基(例如, C_3 - C_8 环烷基、 C_3 - C_6 环烷基或 C_5 - C_6 环烷基)、经取代的(例如,被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的)或未经取代的杂环烷基(例如, 3元至8元杂环烷基、3元至6元杂环烷基或5元至6元杂环烷基)、经取代的(例如,被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的)或未经取代的芳基(例如, C_6 - C_{10} 芳基、 C_{10} 芳基或苯基)、经取代的(例如,被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的)或未经取代的杂芳基(例如, 5元至10元杂芳基、5元至9元杂芳基或5元至6元杂芳基)或糖衍生物。

[0295] 在实施方式中, R^6 是H、经取代的(例如,被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的)或未经取代的杂环烷基(例如, 3元至8元杂环烷基、3元至6元杂环烷基或5元至6元杂环烷基)。在实施方式中, R^6 是经取代的(例如,被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的)杂环烷基(例如, 3元至8元杂环烷基、3元至6元杂环烷基或5元至6元杂环烷基)。在实施方式中, R^6 是未经取代的杂环烷基(例如, 3元至8元杂环烷基、3元至6元杂环烷基或5元至6元杂环烷基)。

[0296] 在实施方式中, R^6 是H或经取代的(例如,被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的)杂环烷基(例如, 3元至8元杂环烷基、3元至6元杂环烷基或5元至6元杂环烷基)。



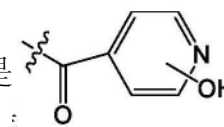
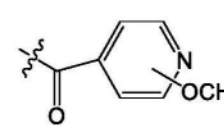
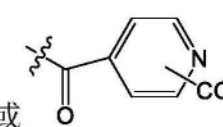
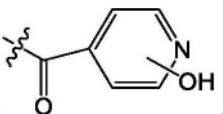
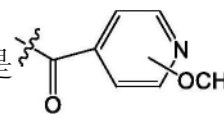
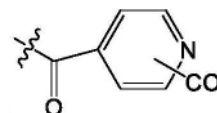
[0297] 在实施方式中, R^6 是H或

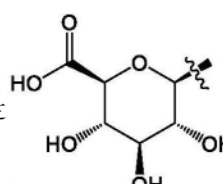
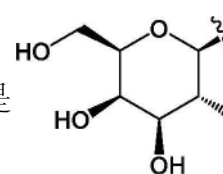
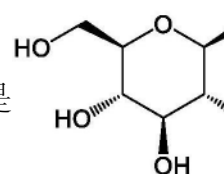
[0298] 在实施方式中, R^6 是 $-\text{CO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_w\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Y}$ 或 $-\text{CONH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_w\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Y}$, 其中w是1至24的整数并且Y是 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 或 $-\text{OCH}_3$ 。在实施方式中, R^6 是 $-\text{CO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_w\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ 。在实施方式中, R^6 是 $-\text{CO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_w\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 。在实施方式中, R^6 是 $-\text{CO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_w\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ 。在实施方式中, R^6 是 $-\text{CO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_w\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ 。在实施方式中, R^6 是 $-\text{CONH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_w\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ 。在实施方式中, R^6 是 $-\text{CONH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_w\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 。在实施方式中, R^6 是 $-\text{CONH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_w\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ 。在实施方式中, R^6 是 $-\text{CONH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_w\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ 。

[0299] 在实施方式中, w是1至24的整数。在实施方式中, w是1。在实施方式中, w是2。在实施方式中, w是3。在实施方式中, w是4。在实施方式中, w是5。在实施方式中, w是6。在实施方式中, w是7。在实施方式中, w是8。在实施方式中, w是9。在实施方式中, w是10。在实施方式中, w是11。在实施方式中, w是12。在实施方式中, w是13。在实施方式中, w是14。在实施方式中, w是15。在实施方式中, w是16。在实施方式中, w是17。在实施方式中, w是18。在实施方式中, w是19。在实施方式中, w是20。在实施方式中, w是21。在实施方式中, w是22。在实施方式中, w是23。在实施方式中, w是24。

[0300] 在实施方式中, Y是 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 或 $-\text{OCH}_3$ 。在实施方式中, Y是 $-\text{NH}_2$ 。在实施方式

中,Y是-OH。在实施方式中,Y是-COOH。在实施方式中,Y是-OCH₃。

[0301] 在实施方式中,R⁶是 、或 。在实施方式中,R⁶是 。在实施方式中,R⁶是 。在实施方式中,R⁶是 。

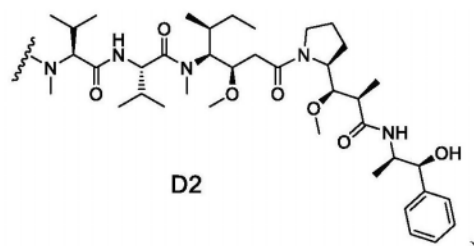
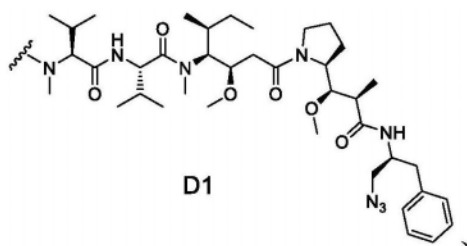
[0302] 在实施方式中,R⁶是糖衍生物。在实施方式中,R⁶是 。在实施方式中,R⁶是 。在实施方式中,R⁶是 。

[0303] 在实施方式中,每个R^{3A}、R^{3B}、R^{4A}和R^{4B}独立地是H或经取代或未经取代的烷基(例如,C₁-C₈烷基、C₁-C₆烷基或C₁-C₄烷基)。

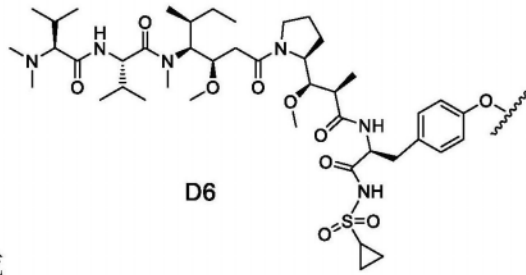
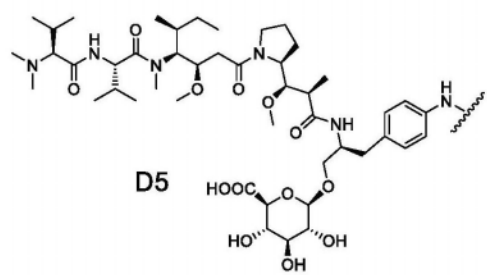
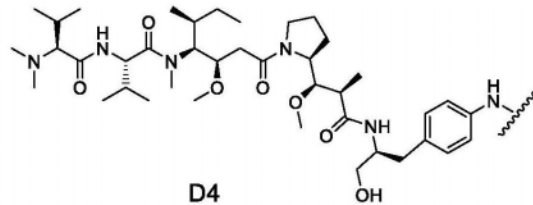
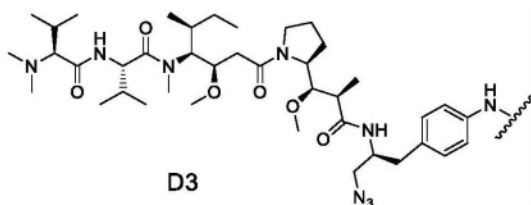
[0304] 在实施方式中,每个R^{3A}、R^{3B}、R^{4A}和R^{4B}独立地是H或经取代的(例如,被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的)或未经取代的烷基(例如,C₁-C₈烷基、C₁-C₆烷基或C₁-C₄烷基)。在实施方式中,每个R^{3A}、R^{3B}、R^{4A}和R^{4B}独立地是H。在实施方式中,每个R^{3A}、R^{3B}、R^{4A}和R^{4B}独立地是经取代的(例如,被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的)烷基(例如,C₁-C₈烷基、C₁-C₆烷基或C₁-C₄烷基)。在实施方式中,每个R^{3A}、R^{3B}、R^{4A}和R^{4B}独立地是未经取代的烷基(例如,C₁-C₈烷基、C₁-C₆烷基或C₁-C₄烷基)。

[0305] 在实施方式中,每个R^{3A}、R^{3B}、R^{4A}和R^{4B}独立地是H、甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基或戊基。在实施方式中,每个R^{3A}、R^{3B}、R^{4A}和R^{4B}独立地是H。在实施方式中,每个R^{3A}、R^{3B}、R^{4A}和R^{4B}独立地是甲基。在实施方式中,每个R^{3A}、R^{3B}、R^{4A}和R^{4B}独立地是乙基。在实施方式中,每个R^{3A}、R^{3B}、R^{4A}和R^{4B}独立地是丙基。在实施方式中,每个R^{3A}、R^{3B}、R^{4A}和R^{4B}独立地是异丙基。在实施方式中,每个R^{3A}、R^{3B}、R^{4A}和R^{4B}独立地是丁基。在实施方式中,每个R^{3A}、R^{3B}、R^{4A}和R^{4B}独立地是异丁基。在实施方式中,每个R^{3A}、R^{3B}、R^{4A}和R^{4B}独立地是叔丁基。在实施方式中,每个R^{3A}、R^{3B}、R^{4A}和R^{4B}独立地是戊基。

[0306] 在实施方式中,D是:



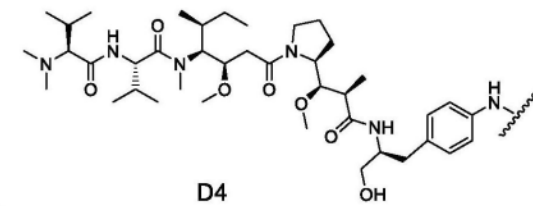
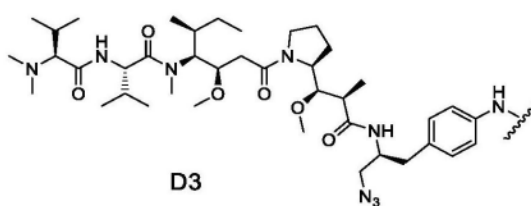
[0307]



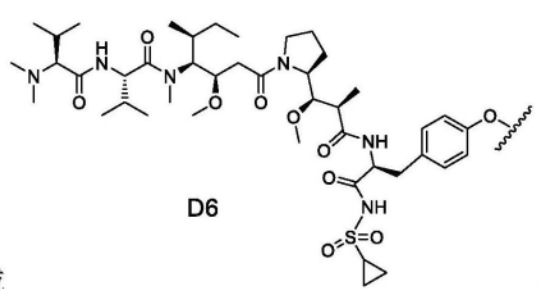
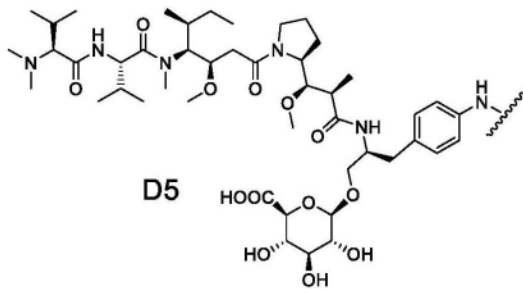
或

[0308]

在实施方式中,D是:



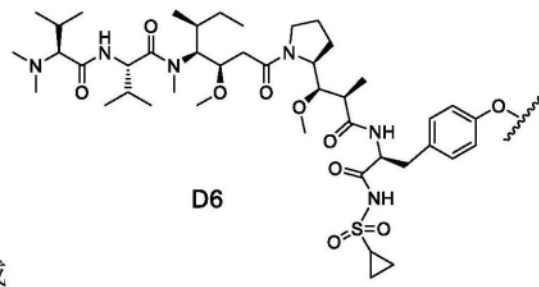
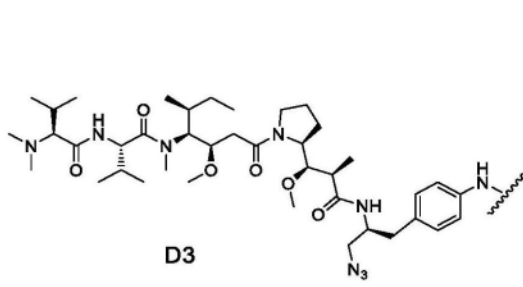
[0309]



或

[0310]

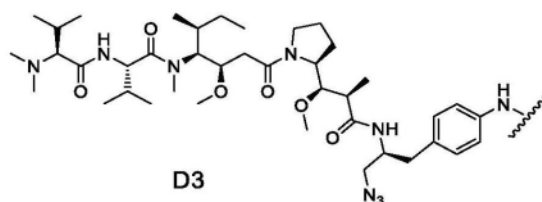
在实施方式中,D是:



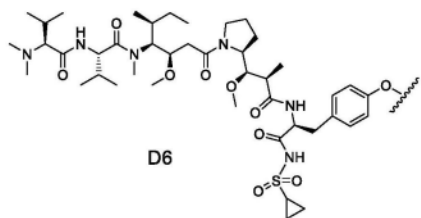
或

[0311]

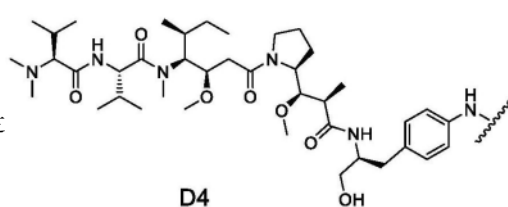
[0312] 在实施方式中,D是:



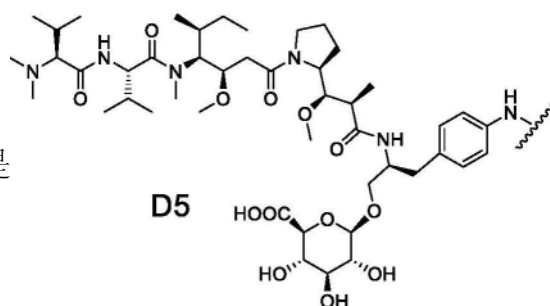
在实施方式中,D是



在实施方式中,D是

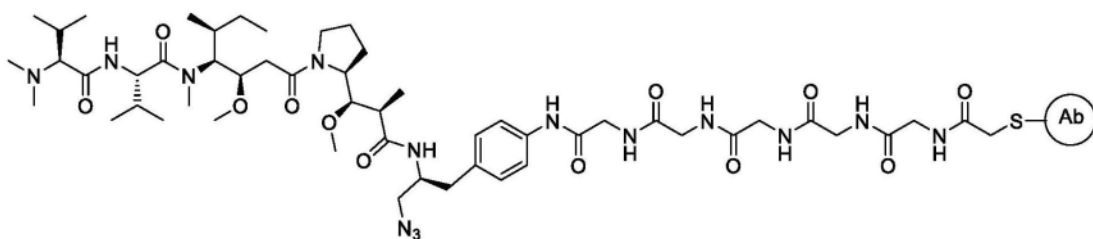


[0313] 在实施方式中,D是



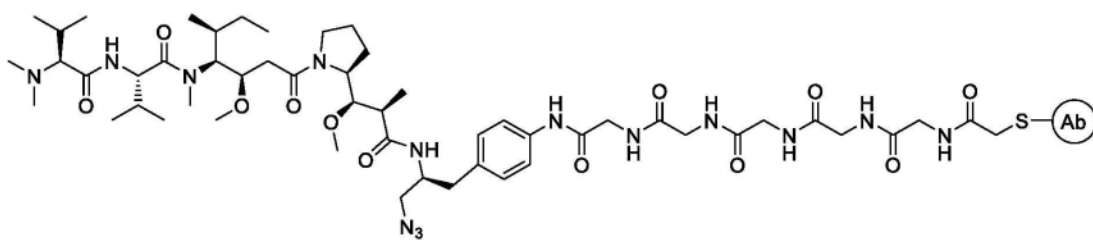
[0314] 在实施方式中,所述抗BCMA ADC是:

[0315]

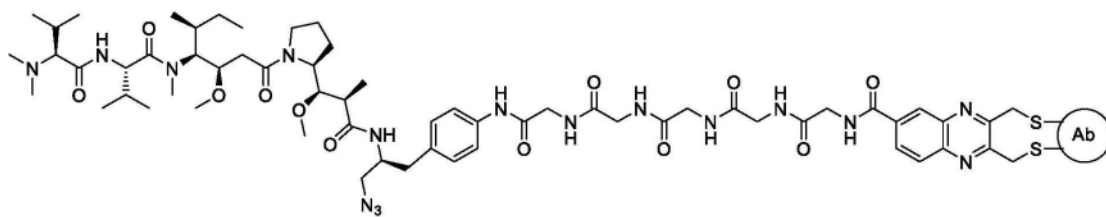


[0316] ADC-1 (与抗BCMA抗体缀合的化合物1;DAR 3.8)

[0317]

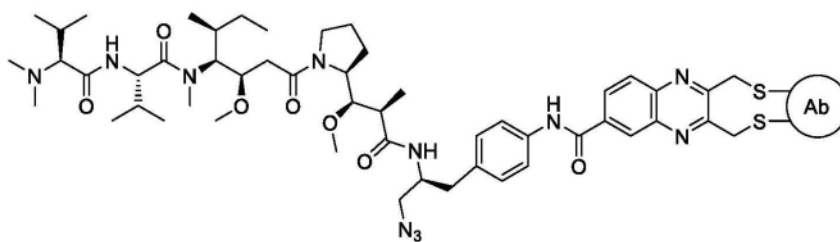


[0318] ADC-2 (与抗BCMA抗体缀合的化合物2;DAR 3.4)

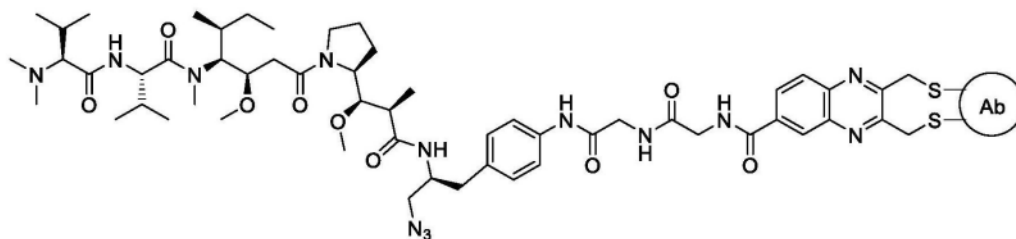


ADC-3

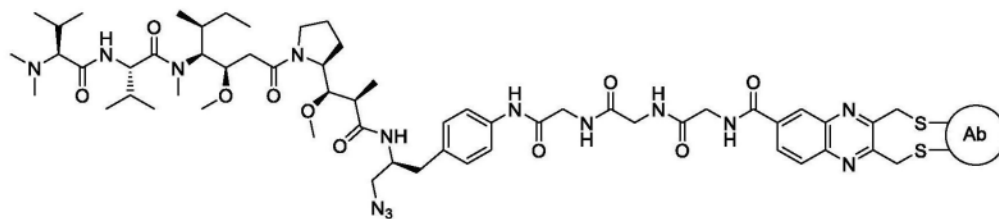
[0319]



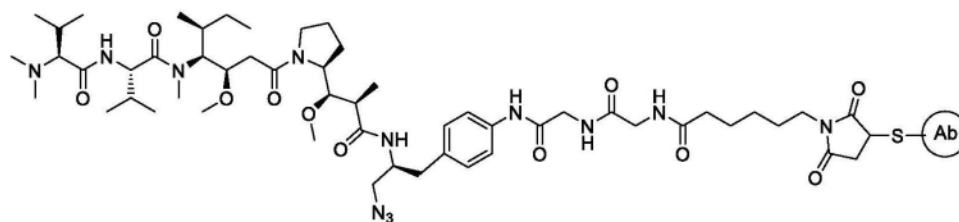
ADC-4



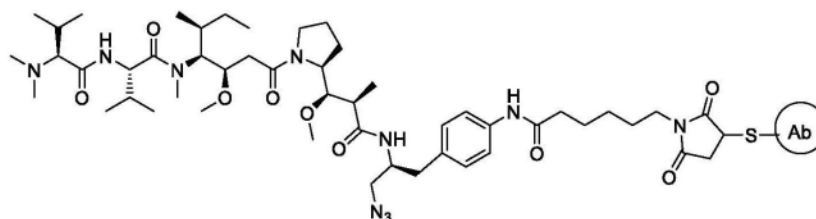
ADC-5



ADC-6

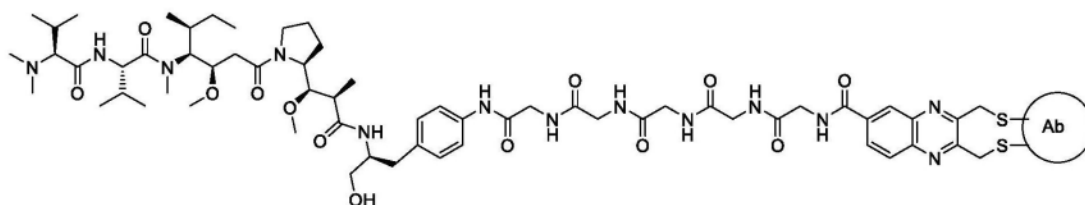


ADC-7

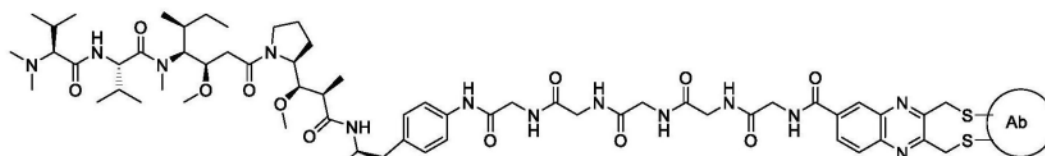


[0320]

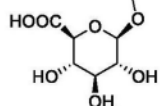
ADC-8

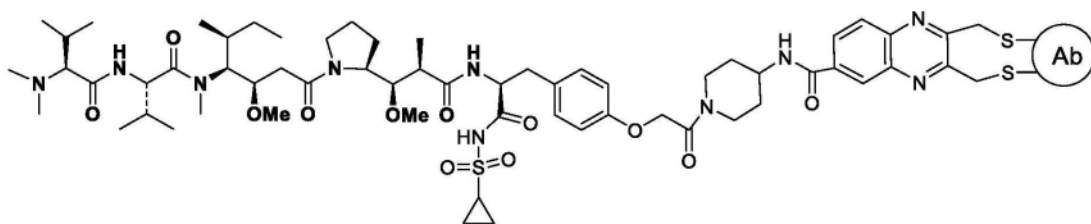


ADC-9

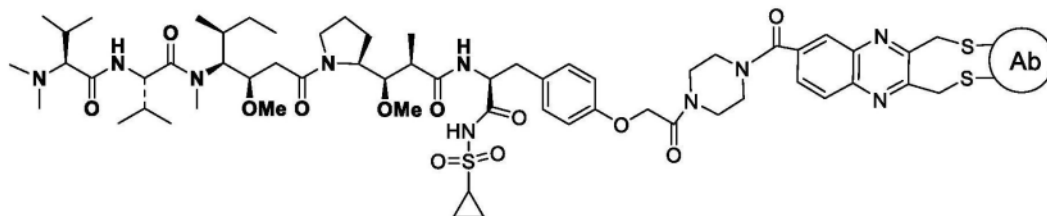


ADC-10



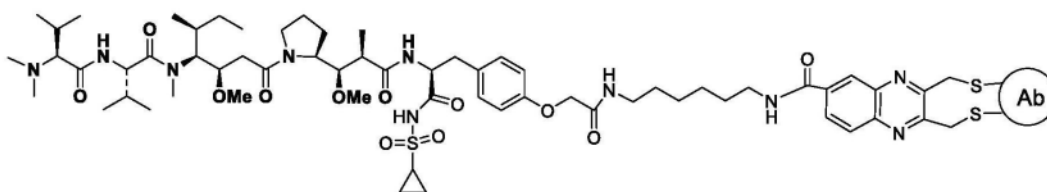


ADC-50



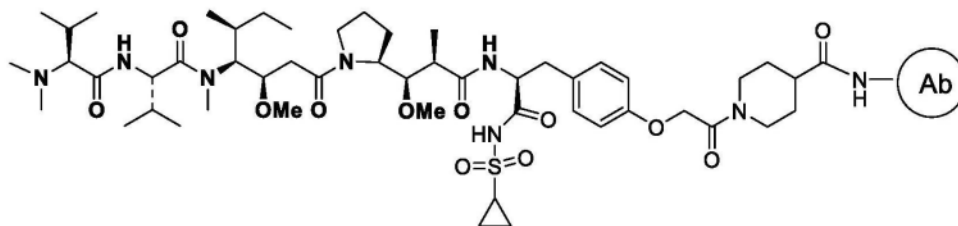
ADC-51

[0321]



或

ADC-52

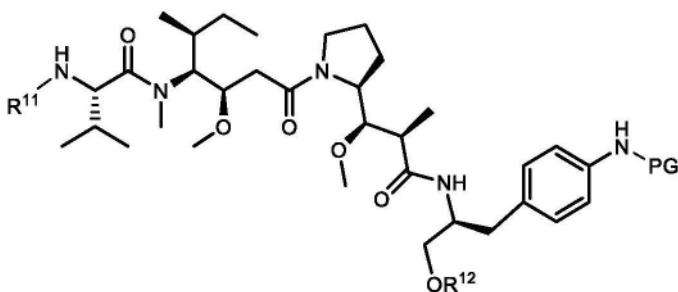


ADC-53

[0322] 或其药学上可接受的盐。

[0323] 前体

[0324] 另一方面,本文提供了一种式(II)化合物:



[0325]

(II)

[0326] 或其药学上可接受的盐,其中:

[0327] PG是氨基保护基团；

[0328] R^{11} 是H或一个或多个氨基酸单元；并且

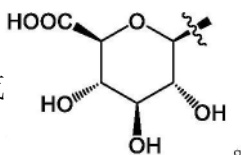
[0329] R^{12} 是H或经取代的烷基、经取代的杂烷基、经取代的杂环烷基、 $-\text{CO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_s\text{CH}_2\text{CH}_2\text{U}$ 或 $-\text{CONH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_s\text{CH}_2\text{CH}_2\text{U}$ ；其中

[0330] s 是1至24的整数；并且 U 是 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 或 $-\text{OCH}_3$ 。

[0331] 在实施方式中， R^{12} 是经取代的（例如，被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的）烷基（例如， C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_4 烷基）、经取代的（例如，被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的）或未经取代的杂环烷基（例如，3元至8元杂环烷基、3元至6元杂环烷基或5元至6元杂环烷基）、经取代的（例如，被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的）或未经取代的芳基（例如， C_6 - C_{10} 芳基、 C_{10} 芳基或苯基）、经取代的（例如，被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的）或未经取代的杂芳基（例如，5元至10元杂芳基、5元至9元杂芳基或5元至6元杂芳基）。

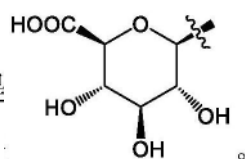
[0332] 在实施方式中， R^{12} 是H或经取代的（例如，被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的）杂环烷基（例如，3元至8元杂环烷基、3元至6元杂环烷基或5元至6元杂环烷基）。在实施方式中， R^{12} 是经取代的（例如，被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的）杂环烷基（例如，3元至8元杂环烷基、3元至6元杂环烷基或5元至6元杂环烷基）。

[0333] 在实施方式中， R^{12} 是H或



在实施方式中， R^{12} 是H。在实施方式中，

[0334] R^{12} 是



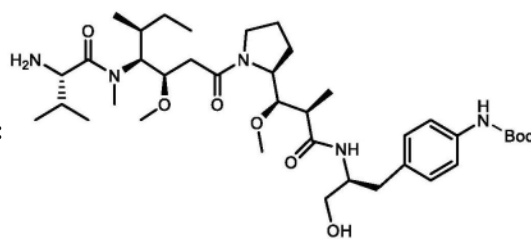
[0335] 在实施方式中， R^{11} 是H或氨基酸单元。在实施方式中， R^{11} 是H。在实施方式中， R^{11} 是两个氨基酸单元。在实施方式中， R^{11} 是三个氨基酸单元。在实施方式中， R^{11} 是四个氨基酸单元。在实施方式中， R^{11} 是五个氨基酸单元。

[0336] 在实施方式中， R^{11} 是H或一个或多个疏水性氨基酸。在实施方式中， R^{11} 是一个疏水性氨基酸。在实施方式中， R^{11} 是两个疏水性氨基酸。在实施方式中， R^{11} 是三个疏水性氨基酸。在实施方式中， R^{11} 是四个疏水性氨基酸。在实施方式中， R^{11} 是五个疏水性氨基酸。在实施方式中， R^{11} 是H。

[0337] 在实施方式中， R^{11} 是缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、丙氨酸、L-正亮氨酸、脯氨酸、色氨酸、2-氨基异丁酸或3-环己基-L-丙氨酸中的一种或多种。在实施方式中， R^{11} 是缬氨酸。在实施方式中， R^{11} 是异亮氨酸。在实施方式中， R^{11} 是亮氨酸。在实施方式中， R^{11} 是甲硫氨酸。在实施方式中， R^{11} 是苯丙氨酸。在实施方式中， R^{11} 是丙氨酸。在实施方式中， R^{11} 是L-正亮氨酸。在实施方式中， R^{11} 是脯氨酸。在实施方式中， R^{11} 是色氨酸。在实施方式中， R^{11} 是2-氨基异丁酸。在实施方式中， R^{11} 是3-环己基-L-丙氨酸。

[0338] 在实施方式中，PG是Boc、Fmoc或CBZ。在实施方式中，PG是Boc。在实施方式中，PG是Fmoc。在实施方式中，PG是CBZ。

[0339] 在实施方式中,所述式(II)化合物是:



[0340] 载药量

[0341] 载药量由 m 表示, m 是式(I)的抗体药物缀合物(ADC)和其变体中的每单克隆抗体的药物部分(即, D)的平均数。载药量可以在每个抗体1至20个药物部分的范围内。式(I)的ADC和其任何实施方式、变体或方面包含与1至20个药物部分的范围内缀合的抗体集合。在制备来自缀合反应的ADC中,每个抗体的药物部分平均数可以通过常规方法表征,如质谱、ELISA测定和HPLC。还可以确定ADC关于 m 的定量分布。在一些情况下,可以通过如反相HPLC或电泳等手段来实现从具有其它载药量的ADC中分离、纯化和表征其中 m 为特定值的均质ADC。在实施方式中,单克隆抗体是抗BCMA抗体、抗ROR1抗体、抗CD25抗体或抗Claudin 18抗体。在实施方式中,每抗BCMA抗体的药物部分(即, D)的平均数可以在每抗体1至20个药物部分的范围内。

[0342] 对于一些ADC, m 可能会受到抗体上附着位点数量的限制。例如,如本文所描述的一些示例性实施方式中,在连接是半胱氨酸的巯基时,抗体可以具有仅一个或几个半胱氨酸巯基,或者可以具有仅一个或几个具有充分反应性的巯基,可以通过其附接连接子。在实施方式中,ADC的平均载药量在1至约8或约3至约8的范围内。在实施方式中, L^1 能够与IgG抗体中游离半胱氨酸的巯基形成共价键。

[0343] 用于衍生具有有效载荷的多肽的缀合方法可以通过与赖氨酸侧链形成酰胺键来实现。由于存在大量具有相似反应性的赖氨酸侧链氨基,这种缀合策略可以产生非常复杂的多相混合物。本文所提供的组合物和方法提供了通过赖氨酸进行的缀合,其中,在一些实施方式中,赖氨酸选择性的增强可以产生异质性较低的混合物。在实施方式中,ADC的平均载药量在1至约20、1至约8或约3至约8的范围内。在实施方式中, L^1 能够与IgG抗体中的赖氨酸的氨基形成共价键。

[0344] 在实施方式中,在缀合反应期间,少于药物部分的理论最大值的药物部分被缀合到抗体上。抗体通常不含许多可以与药物部分连接的游离的和反应性半胱氨酸巯基;实际上,抗体中的大多数半胱氨酸巯基残基作为二硫桥存在。在实施方式中,可以在部分或完全还原条件下用如二硫苏糖醇(DTT)或三羰基乙基膦(TCEP)等还原剂来还原抗体,以生成反应性半胱氨酸巯基。在实施方式中,使抗体经受变性条件以暴露例如赖氨酸或半胱氨酸等反应性亲核基团。

[0345] ADC的负载(药物/抗体比或“DAR”)可以用不同方式例如通过以下来控制:(i)限制药物-连接子中间体或连接子试剂相对于抗体的摩尔过量;(ii)限制缀合反应时间或温度;以及(iii)用于半胱氨酸巯基的部分或限制性还原条件。DAR也可以通过与抗体反应的基团的反应性来控制(例如,化合物1和化合物2产生相同的ADC结构,但是因为化合物1的反应性大于化合物2的反应性,ADC-1的DAR大于ADC-2的DAR,并且因此两种ADC的EC50和体内活性可能不同)。

[0346] 应当理解,在多于一个亲核基团与药物-连接子中间体或连接子试剂反应的情况

下,所得产物是ADC化合物的混合物,其中分布有一个或多个与抗体连接的药物部分。每抗体的平均药物数可以通过双重ELISA抗体测定从混合物计算,其取决于抗体且取决于药物。混合物中的单独ADC分子可以通过质谱法鉴定,并且通过HPLC例如疏水作用色谱法分离(参见例如,McDonagh等人(2006)《蛋白质工程设计与选择(Prot.Engr.Design&Selection)》19(7):299-307;Hamblett等人(2004)《临床癌症研究(Clin.Cancer Res.)》10:7063-7070;Hamblett,K.J.等人,“载药量对抗CD30抗体-药物缀合物的药理学、药代动力学和毒性的作用(Effect of drug loading on the pharmacology,pharmacokinetics,and toxicity of an anti-CD30 antibody-drug conjugate)”,摘要号624,《美国癌症研究协会(American Association for Cancer Research)》,2004年会,2004年3月27-31日,《美国癌症研究协会论文集(Proceedings of the AACR)》,第45卷,2004年3月;Alley,S.C.等人,“控制抗体-药物缀合物中药物附着的位置(Controlling the location of drug attachment in antibody-drug conjugates)”,摘要号627,《美国癌症研究协会》,2004年会,2004年3月27-31日,《美国癌症研究协会论文集》,第45卷,2004年3月)。在实施方式中,可以通过电泳或色谱法从缀合混合物中分离具有单一载药量的同质ADC。

[0347] 抗BCMA抗体

[0348] i. 示例性抗体和抗体序列

[0349] 在实施方式中,ADC包含与BCMA结合的抗体。据报道,BCMA在多发性骨髓瘤中上调,与BCMA表达的基线水平无关。本文所描述的ADC化合物包含抗BCMA抗体。

[0350] 在实施方式中,本文所提供的抗BCMA抗体包含半胱氨酸。在实施方式中,抗BCMA抗体通过半胱氨酸残基的巯基与药物结合。在实施方式中,抗BCMA抗体通过两个半胱氨酸残基的巯基与药物结合。

[0351] 在实施方式中,本文所提供的抗BCMA抗体包含赖氨酸。在实施方式中,抗BCMA抗体通过赖氨酸残基的氨基与药物结合。在实施方式中,抗BCMA抗体通过两个赖氨酸残基的氨基与药物结合。

[0352] 在实施方式中,本文所提供的ADC包括抗BCMA抗体,所述抗体包括轻链可变区和重链可变区,其中所述轻链可变区包括轻链互补决定区1(CDR1)、轻链CDR2和轻链CDR3,并且所述重链可变区包括重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3。

[0353] 在实施方式中,本文所提供的ADC包括抗BCMA抗体,所述抗体包括选自以下的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR: (a) 包括SEQ ID NO:1的序列的VL CDR1; (b) 包括SEQ ID NO:2的序列的VL CDR2; (c) 包括SEQ ID NO:3的序列的VL CDR3; (d) 包括SEQ ID NO:4的序列的VH CDR1; (e) 包括SEQ ID NO:5的序列的VH CDR2; 以及 (f) 包括SEQ ID NO:6的序列的VH CDR3。在实施方式中,所述ADC包括抗BCMA抗体,所述抗体包括选自以下的至少一个CDR: (a) 包括SEQ ID NO:1的序列的VL CDR1; (b) 包括SEQ ID NO:2的序列的VL CDR2; (c) 包括SEQ ID NO:3的序列的VL CDR3; (d) 包括SEQ ID NO:4的序列的VH CDR1; (e) 包括SEQ ID NO:5的序列的VH CDR2; 以及 (f) 包括SEQ ID NO:6的序列的VH CDR3。在实施方式中,所述ADC包括抗BCMA抗体,所述

抗体包括选自以下的至少三个CDR: (a) 包括SEQ ID NO:1的序列的VL CDR1; (b) 包括SEQ ID NO:2的序列的VL CDR2; (c) 包括SEQ ID NO:3的序列的VL CDR3; (d) 包括SEQ ID NO:4的序列的VH CDR1; (e) 包括SEQ ID NO:5的序列的VH CDR2; 以及 (f) 包括SEQ ID NO:6的序列的VH CDR3。在实施方式中, 所述ADC包括抗BCMA抗体, 所述抗体包括选自以下的至少四个CDR: (a) 包括SEQ ID NO:1的序列的VL CDR1; (b) 包括SEQ ID NO:2的序列的VL CDR2; (c) 包括SEQ ID NO:3的序列的VL CDR3; (d) 包括SEQ ID NO:4的序列的VH CDR1; (e) 包括SEQ ID NO:5的序列的VH CDR2; 以及 (f) 包括SEQ ID NO:6的序列的VH CDR3。在实施方式中, 所述ADC包括抗BCMA抗体, 所述抗体包括选自以下的至少五个CDR: (a) 包括SEQ ID NO:1的序列的VL CDR1; (b) 包括SEQ ID NO:2的序列的VL CDR2; (c) 包括SEQ ID NO:3的序列的VL CDR3; (d) 包括SEQ ID NO:4的序列的VH CDR1; (e) 包括SEQ ID NO:5的序列的VH CDR2; 以及 (f) 包括SEQ ID NO:6的序列的VH CDR3。在实施方式中, 所述ADC包括抗BCMA抗体, 所述抗体包括选自以下的至少六个CDR: (a) 包括SEQ ID NO:1的序列的VL CDR1; (b) 包括SEQ ID NO:2的序列的VL CDR2; (c) 包括SEQ ID NO:3的序列的VL CDR3; (d) 包括SEQ ID NO:4的序列的VH CDR1; (e) 包括SEQ ID NO:5的序列的VH CDR2; 以及 (f) 包括SEQ ID NO:6的序列的VH CDR3。

[0354] 在实施方式中,所述ADC包括抗BCMA抗体,所述抗体包括选自以下的一个CDR:(a)包括SEQ ID NO:1的序列的VL CDR1;(b)包括SEQ ID NO:2的序列的VL CDR2;(c)包括SEQ ID NO:3的序列的VL CDR3;(d)包括SEQ ID NO:4的序列的VH CDR1;(e)包括SEQ ID NO:5的序列的VH CDR2;以及(f)包括SEQ ID NO:6的序列的VH CDR3。在实施方式中,所述ADC包括抗BCMA抗体,所述抗体包括选自以下的两个CDR:(a)包括SEQ ID NO:1的序列的VL CDR1;(b)包括SEQ ID NO:2的序列的VL CDR2;(c)包括SEQ ID NO:3的序列的VL CDR3;(d)包括SEQ ID NO:4的序列的VH CDR1;(e)包括SEQ ID NO:5的序列的VH CDR2;以及(f)包括SEQ ID NO:6的序列的VH CDR3。在实施方式中,所述ADC包括抗BCMA抗体,所述抗体包括选自以下的三个CDR:(a)包括SEQ ID NO:1的序列的VL CDR1;(b)包括SEQ ID NO:2的序列的VL CDR2;(c)包括SEQ ID NO:3的序列的VL CDR3;(d)包括SEQ ID NO:4的序列的VH CDR1;(e)包括SEQ ID NO:5的序列的VH CDR2;以及(f)包括SEQ ID NO:6的序列的VH CDR3。在实施方式中,所述ADC包括抗BCMA抗体,所述抗体包括选自以下的四个CDR:(a)包括SEQ ID NO:1的序列的VL CDR1;(b)包括SEQ ID NO:2的序列的VL CDR2;(c)包括SEQ ID NO:3的序列的VL CDR3;(d)包括SEQ ID NO:4的序列的VH CDR1;(e)包括SEQ ID NO:5的序列的VH CDR2;以及(f)包括SEQ ID NO:6的序列的VH CDR3。在实施方式中,所述ADC包括抗BCMA抗体,所述抗体包括选自以下的五个CDR:(a)包括SEQ ID NO:1的序列的VL CDR1;(b)包括SEQ ID NO:2的序列的VL CDR2;(c)包括SEQ ID NO:3的序列的VL CDR3;(d)包括SEQ ID NO:4的序列的VH CDR1;(e)包括SEQ ID NO:5的序列的VH CDR2;以及(f)包括SEQ ID NO:6的序列的VH CDR3。在实施方式中,所述ADC包括抗BCMA抗体,所述抗体包括选自以下的六个CDR:(a)包括SEQ ID NO:1的序列的VL CDR1;(b)包括SEQ ID NO:2的序列的VL CDR2;(c)包括SEQ ID NO:3的序列的VL CDR3;(d)包括SEQ ID NO:4的序列的VH CDR1;(e)包括SEQ ID NO:5的序列的VH CDR2;以及(f)包括SEQ ID NO:6的序列的VH CDR3。

[0355] 在实施方式中,所述抗BCMA抗体包括包含SEQ ID NO:1的序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:2的序列的VL CDR2、包含SEQ ID NO:3的序列的VL CDR3、包含SEQ ID NO:4的序列的

VH CDR1、包含SEQ ID NO:5的序列的VH CDR2和包含SEQ ID NO:6的序列的VH CDR3。在实施方式中,所述抗BCMA抗体包括包含SEQ ID NO:1的序列的VL CDR1。在实施方式中,所述抗BCMA抗体包括包含SEQ ID NO:2的序列的VL CDR2。在实施方式中,所述抗BCMA抗体包括包含SEQ ID NO:3的序列的VL CDR3。在实施方式中,所述抗BCMA抗体包括包含SEQ ID NO:4的序列的VH CDR1。在实施方式中,所述抗BCMA抗体包括包含SEQ ID NO:5的序列的VH CDR2。在实施方式中,所述抗BCMA抗体包括包含SEQ ID NO:6的序列的VH CDR3。

[0356] 在实施方式中,所述ADC包括抗BCMA抗体,所述抗体包括(a)具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的轻链CDR1,具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链CDR2,具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的轻链CDR3,具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的重链CDR1,具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的重链CDR2,并且具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的重链CDR3;或者(b)具有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的轻链CDR1,具有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的轻链CDR2,具有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的轻链CDR3,具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的重链CDR1,具有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的重链CDR2,并且具有SEQ ID NO:14的氨基酸序列的重链CDR3。

[0357] 在实施方式中,所述抗BCMA抗体包括具有与SEQ ID NO:7或15具有至少95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列的VL。在实施方式中,所述抗BCMA抗体包括具有SEQ ID NO:7或15的序列的VL。在实施方式中,与SEQ ID NO:7或15具有至少95%、96%、97%、98%或99%同一性的VL序列包含相对于参考序列的取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但是包含所述序列的抗BCMA抗体保留了与BCMA结合的能力。在实施方式中,SEQ ID NO:7或15中总共有1至10个氨基酸被取代、插入和/或缺失。在实施方式中,SEQ ID NO:7或15中总共有1至5个氨基酸被取代、插入和/或缺失。在实施方式中,取代、插入或缺失发生在CDR之外的区中(即,在FR中)。在实施方式中,抗BCMA抗体包括SEQ ID NO:7或15的VL序列,并且包含所述序列的翻译后修饰。

[0358] 在实施方式中,所述抗BCMA抗体包括具有与SEQ ID NO:8具有至少95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列的VH。在实施方式中,所述抗BCMA抗体包括具有SEQ ID NO:8的序列的VH。在实施方式中,与SEQ ID NO:8具有至少95%、96%、97%、98%或99%同一性的VH序列包含相对于参考序列的取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但是包含所述序列的抗BCMA抗体保留了与BCMA结合的能力。在实施方式中,SEQ ID NO:8中总共有1至10个氨基酸被取代、插入和/或缺失。在实施方式中,SEQ ID NO:8中总共有1至5个氨基酸被取代、插入和/或缺失。在实施方式中,取代、插入或缺失发生在CDR之外的区中(即,在FR中)。在实施方式中,抗BCMA抗体包括SEQ ID NO:8的VH序列,并且包含所述序列的翻译后修饰。

[0359] 在实施方式中,所述抗BCMA抗体是IgG抗体。在实施方式中,所述抗BCMA抗体是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4抗体。在实施方式中,所述抗BCMA抗体是IgG1或IgG4抗体。在实施方式中,所述抗BCMA抗体是IgG1抗体。

[0360] 在实施方式中,所述抗BCMA抗体与人BCMA结合。在实施方式中,所述人BCMA具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

[0361] 在任一上述实施方式中,抗BCMA抗体是人源化的。在实施方式中,抗BCMA抗体包括如任何上述实施方式中的CDR,并且进一步包括人受体框架,例如人免疫球蛋白框架或人共有框架。在实施方式中,人源化抗BCMA抗体包括:(a)包括SEQ ID NO:1的序列的VL CDR1;(b)包括SEQ ID NO:2的序列的VL CDR2;(c)包括SEQ ID NO:3的序列的VL CDR3;(d)包括

SEQ ID NO:4的序列的VH CDR1; (e) 包括SEQ ID NO:5的序列的VH CDR2; 以及 (f) 包括SEQ ID NO:6的序列的VH CDR3。在其它实施方式中, 人源化抗BCMA抗体包括: (a) 包括SEQ ID NO:9的序列的VL CDR1; (b) 包括SEQ ID NO:10的序列的VL CDR2; (c) 包括SEQ ID NO:11的序列的VL CDR3; (d) 包括SEQ ID NO:12的序列的VH CDR1; (e) 包括SEQ ID NO:13的序列的VH CDR2; 以及 (f) 包括SEQ ID NO:14的序列的VH CDR3。

[0362] 在实施方式中, 所述抗BCMA抗体是单克隆抗体, 包含嵌合抗体、人源化抗体或人抗体。在一个实施方式中, 所述抗BCMA抗体是抗体片段, 例如, Fv、Fab、Fab'、scFv、双抗体或F(ab')₂片段。在另一个实施方式中, 抗体是基本上全长抗体例如IgG1抗体或如本文所定义的其它抗体类别或同种型。

[0363] ii. 抗体亲和力

[0364] 在实施方式中, 本文所提供的抗BCMA抗体以 $\leq 10\text{nM}$ 、或 $\leq 5\text{nM}$ 、或 $\leq 4\text{nM}$ 、或 $\leq 3\text{nM}$ 或 $\leq 2\text{nM}$ 的亲和力与人BCMA结合。在实施方式中, 抗BCMA抗体以 $\geq 0.0001\text{nM}$ 、或 $\geq 0.001\text{nM}$ 或 $\geq 0.01\text{nM}$ 的亲和力与人BCMA结合。熟练技术人员已知的标准测定可以用于确定结合亲和力。例如, 抗BCMA抗体是否“以 $\leq 10\text{nM}$ 、或 $\leq 5\text{nM}$ 、或 $\leq 4\text{nM}$ 、或 $\leq 3\text{nM}$ 或 $\leq 2\text{nM}$ 的亲和力结合”, 可以使用利用非线性曲线拟合程序的标准Scatchard分析来确定 (参见例如, Munson等人, 《分析生物化学 (Anal Biochem)》, 107:220-239, 1980)。

[0365] 在实施方式中, 本文所提供的抗BCMA抗体的解离常数 (K_d) $\leq 1\mu\text{M}$ 、 $\leq 100\text{nM}$ 、 $\leq 10\text{nM}$ 、 $\leq 1\text{nM}$ 、 $\leq 0.1\text{nM}$ 、 $\leq 0.01\text{nM}$ 或 $\leq 0.001\text{nM}$, 并且任选地 $\geq 10^{-13}\text{M}$ (例如, 10^{-8}M 或更小, 例如 10^{-8}M 至 10^{-13}M , 例如 10^{-9}M 至 10^{-13}M)。

[0366] 在实施方式中, 如以下测定所描述, K_d 是通过使用所关注抗体的Fab版本和其抗原执行的放射性标记的抗原结合测定 (RIA) 来测量的。Fab针对抗原的溶液结合亲和力是通过在滴定系列的未标记抗原的存在下用最小浓度的 (125I) 标记的抗原平衡Fab、然后将结合的抗原用抗Fab抗体包被的板捕获来测量的 (参见例如, Chen等人, 《分子生物学杂志》293: 865-881 (1999))。为了确立用于测定的条件, 将MICROTITER®多孔板 (赛默飞世尔科技公司 (Thermo Scientific)) 用在50mM碳酸钠 (pH 9.6) 中的5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 捕获性抗Fab抗体 (卡佩尔实验室 (Cappel Labs)) 包被过夜, 并且随后在室温 (大约23°C) 下用在PBS中的2% (w/v) 牛血清白蛋白阻断两到五小时。在非吸附性板 (Nunc#269620) 中, 将100pM或26pM [125I] 抗原与感兴趣Fab的连续稀释物混合 (例如, 与Presta等人, 《癌症研究》57:4593-4599 (1997) 中的对抗VEGF抗体Fab-12的评估相一致)。然后将所关注Fab温育过夜; 然而, 温育可以持续更长的时间 (例如, 至多约65小时) 以确保达到平衡。此后, 将混合物转移到捕获板以用于在室温下温育 (例如, 持续一小时)。然后去除溶液, 并将板用PBS中的0.1% 聚山梨酯20 (TWEEN-20®) 洗涤八次。当板已干燥时, 添加150 μL /孔的闪烁剂 (MICROSCINT-20TM; 帕卡德公司 (Packard)), 并且然后将板在TOPCOUNT™伽玛计数器 (帕卡德公司) 上计数十分钟。选择给出小于或等于最大结合的20%的每个Fab的浓度用于竞争性结合测定。

[0367] 根据另一个实施方式, K_d 是使用表面等离子体共振测定25°C下使用BIAcore®-2000或BIAcore®-3000 (新泽西州皮斯卡塔韦的BIAcore公司 (BIAcore, Inc., Piscataway, N.J.)) 用约10个反应单位 (RU) 的固定化抗原CM5芯片来测量的。简而言之, 根据供应商的说明书, 用N-乙基-N'-(3-二甲基氨基丙基)-碳二亚胺盐酸盐 (EDC) 和N-羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 来活化羧甲基化葡聚糖生物传感器芯片 (CM5, BIAcore公司)。用pH 4.8的

10mM乙酸钠将抗原稀释到5 μ g/ml (大约0.2 μ M),之后以5微升/分钟的流速注入,以实现偶联的蛋白质的约10个反应单位(RU)。在注入抗原之后,注入1M乙醇胺以阻断未反应的基团。对于动力学测量,在25 $^{\circ}$ C下将溶解于具有0.05%聚山梨酯20(TWEEN-20TM)表面活性剂(PBST)的PBS中的Fab的两倍连续稀释物(0.78nM至500nM)以大约25微升/分钟的流速注入。通过同时拟合缔合传感图和解离传感图,使用简单的一对一朗缪尔(Langmuir)结合模型(BIACORE[®]评估软件版本3.2)计算缔合速率(k_{on})和解离速率(k_{off})。平衡解离常数(K_d)被计算为比率 k_{off}/k_{on} 。参见例如,Chen等人,《分子生物学杂志》293:865-881(1999)。如果通过以上表面等离子体共振测定得到缔合速率超过106M⁻¹s⁻¹,则缔合速率可以通过使用荧光淬灭技术来确定,所述荧光淬灭技术在如在光谱仪(如配备有截流的分光光度计(阿维夫仪器(Aviv Instruments))或具有搅拌的比色皿的8000系列SLM-AMINCOTM分光光度计(ThermoSpectronic))中测量到的增加浓度的抗原存在的情况下测量在25 $^{\circ}$ C下在pH 7.2的PBS中的20nM抗抗原抗体(Fab形式)的荧光发射强度的增加或减少(激发=295nm;发射=340nm,16nm带通)。

[0368] iii. 抗体片段

[0369] 在实施方式中,本文所提供的抗BCMA抗体是抗体片段。抗体片段包含但不限于Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv和scFv片段,以及下文所描述的其它片段。关于某些抗体片段的综述,参见Hudson等人《自然医学(Nat. Med.)》9:129-134(2003)。关于scFv片段的综述,参见例如Pluckthün,《单克隆抗体的药理学(The Pharmacology of Monoclonal Antibodies)》,第113卷,Rosenburg和Moore编,(纽约,施普林格出版公司(Springer-Verlag, New York)),第269-315页(1994);还参见WO 93/16185;以及美国专利第5,571,894号和第5,587,458号。关于包括补救受体结合表位残基并具有增加的体内半衰期的Fab和F(ab')₂片段的讨论,参见美国专利第5,869,046号。

[0370] 双抗体是具有两个抗原结合位点的抗体片段,其可以是二价或双特异性的。参见例如,EP 404,097;WO 1993/01161;Hudson等人,《自然医学》9:129-134(2003);以及Hollinger等人,《美国国家科学院院刊》90:6444-6448(1993)。三抗体和四抗体还被描述于Hudson等人,《自然医学》,9:129-134(2003)中。

[0371] 单结构域抗体是包含抗体的全部或部分重链可变结构域或全部或部分轻链可变结构域的抗体片段。在实施方式中,单结构域抗体是人单结构域抗体(马萨诸塞州沃尔瑟姆的多曼蒂斯公司(Domantis, Inc., Waltham, MA);参见例如,美国专利第6,248,516B1号)。

[0372] 抗体片段可以通过各种技术制备,包含但不限于完整抗体的蛋白水解消化以及重组宿主细胞(例如,大肠杆菌或噬菌体)的生产,如本文所描述。

[0373] iv. 嵌合抗体和人源化抗体

[0374] 在实施方式中,本文所提供的抗BCMA抗体是嵌合抗体。某些嵌合抗体描述于例如美国专利第4,816,567号;以及Morrison等人,《美国国家科学院院刊》,81:6851-6855(1984)中。在一个实例中,嵌合抗体包含非人可变区(例如,源自小鼠、大鼠、仓鼠、兔或非人灵长类动物如猴子的可变区)和人恒定区。在另一个实例中,嵌合抗体是“类别转换”抗体,其中类别或子类已从亲本抗体改变。嵌合抗体包含其抗原结合片段。

[0375] 在实施方式中,嵌合抗体是人源化抗体。典型地,将非人抗体人源化以降低对人类的免疫原性,同时保留亲本非人抗体的特异性和亲和力。人源化抗体通常包含一个或多个

可变结构域,其中HVR,例如CDR(或其各部分)源自非人抗体,并且FR(或其各部分)源自人抗体序列。人源化抗体任选地还将包含人恒定区的至少一部分。在实施方式中,人源化抗体中的一些FR残基用来自非人抗体(例如,HVR残基衍生自的抗体)的对应残基取代,例如以恢复或改进抗体特异性或亲和力。

[0376] 人源化抗体和制备人源化抗体的方法在例如Almagro和Fransson,《生物科学里程碑前沿(Front.Biosci.)》13:1619-1633(2008)中综述并且进一步在例如以下中描述:Riechmann等人,《自然》332:323-329(1988);Queen等人,《美国国家科学院院刊》86:10029-10033(1989);美国专利第5,821,337号、第7,527,791号、第6,982,321号和第7,087,409号;Kashmiri等人,《方法(Methods)》36:25-34(2005)(描述了SDR(a-CDR)移植);Padlan,《分子免疫学(Mol.Immunol.)》28:489-498(1991)(描述了“表面重修”);Dall’Acqua等人,《方法》36:43-60(2005)(描述了“FR改组”);以及Osbourne等人,《方法》36:61-68(2005)和Klimka等人,《英国癌症杂志(Br.J.Cancer)》,83:252-260(2000)(描述了用于FR改组的“引导选择”方法)。

[0377] 可以用于人源化的人框架区包含但不限于:使用“最佳拟合”方法选择的框架区(参见例如,Sims等人,《免疫学杂志》151:2296(1993));源自轻链可变区或重链可变区的特定子组的人抗体的共有序列的框架区(参见例如,Carter等人《美国国家科学院院刊》,89:4285(1992);以及Presta等人,《免疫学杂志》,151:2623(1993));人成熟(体细胞突变的)框架区或人种系框架区(参见例如,Almagro和Fransson,《生物科学前沿(Front.Biosci.)》13:1619-1633(2008));以及从筛选FR文库得到的框架区(参见例如,Baca等人,《生物化学杂志(J.Biol.Chem.)》272:10678-10684(1997)和Rosok等人,《生物化学杂志》271:22611-22618(1996))。

[0378] v. 人抗体

[0379] 在实施方式中,本文所提供的抗BCMA抗体是人抗体。可以使用本领域已知的各种技术来产生人抗体。人抗体总体上描述于van Dijk和van de Winkel,《当代药理学观点(Curr.Opin.Pharmacol.)》5:368-74(2001)以及Lonberg,《当前免疫学观点(Curr.Opin.Immunol.)》20:450-459(2008)中。

[0380] 可以通过向已经被修饰为响应于抗原攻击以产生完整的人抗体或具有人可变区的完整抗体的转基因动物施用免疫原以制备人抗体。此类动物通常含有人免疫球蛋白基因座的全部或一部分,所述人免疫球蛋白基因座替代内源性免疫球蛋白基因座或者是染色体外存在的或随机整合到动物的染色体中。在此类转基因小鼠中,内源性免疫球蛋白基因座通常已经失活。关于从转基因动物中获得人抗体的方法的综述,参见Lonberg,《自然生物技术(Nat.Biotech.)》23:1117-1125(2005)。参见例如,描述了XENOMOUSE™技术的美国专利第6,075,181号和第6,150,584号;描述了HUMAB®技术的美国专利第5,770,429号;描述了K-MOUSE®技术的美国专利第7,041,870号以及描述了VELOCIMOUSE®技术的美国专利申请公开第US2007/0061900号。来自此类动物生成的完整抗体的人可变区可以被进一步修饰,例如,通过与不同的人恒定区组合。

[0381] 人抗体也可以通过基于杂交瘤的方法制备。用于产生人单克隆抗体的人骨髓瘤和小鼠-人异源骨髓瘤细胞系已经进行了描述。(参见例如,Kozbor《免疫学杂志》,133:3001(1984);Brodeur等人,《单克隆抗体产生技术和应用(Monoclonal Antibody Production

Techniques and Applications)》,第51-63页(纽约,马赛尔德克有限公司(Marcel Dekker, Inc., New York), 1987);和Boerner等人,《免疫学杂志》,147:86(1991)。)通过人B细胞杂交瘤技术产生的人抗体也描述于Li等人,《美国国家科学院院刊》,103:3557-3562(2006)中。另外的方法包含例如在美国专利第7,189,826号(描述了由杂交瘤细胞系生产单克隆人IgM抗体)和Ni,《现代免疫学(Xiandai Mianyixue)》,26(4):265-268(2006)(描述了人-人杂交瘤)中描述的那些方法。人杂交瘤技术(Trioma技术)还描述于以下中:Vollmers和Brandlein,《组织学与组织病理学(Histology and Histopathology)》,20(3):927-937(2005);以及Vollmers和Brandlein,《实验和临床药理学的方法和发现(Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology)》,27(3):185-91(2005)。

[0382] 也可以通过分离选自人源性噬菌体展示文库的Fv克隆可变结构域序列来生成抗体。此类可变结构域序列然后可以与期望的人恒定结构域组合。下文描述了用于从抗体文库中选择人抗体的技术。

[0383] vi. 文库源性抗体

[0384] 在实施方式中,本文所提供的抗BCMA抗体源自抗体文库。抗体可以通过筛选组合文库中的具有一种或多种期望活性的抗体来分离。例如,本领域已知多种方法用于产生噬菌体展示文库,并且从此类文库中筛选具有期望的结合特性的抗体。此类方法在例如Hoogenboom等人《分子生物学方法(Methods in Molecular Biology)》178:1-37(O'Brien等人编辑,新泽西州托托瓦,胡马纳出版社(Humana Press, Totowa, NJ), 2001)中综述并且进一步描述于以下中:McCafferty等人,《自然》348:552-554;Clackson等人,《自然》352:624-628(1991);Marks等人,《分子生物学杂志》222:581-597(1992);Marks和Bradbury,《分子生物学方法》248:161-175(Lo, 编辑,新泽西州托托瓦的胡马纳出版社,2003);Sidhu等人,《分子生物学杂志》338(2):299-310(2004);Lee等人,《分子生物学杂志》340(5):1073-1093(2004);Fellouse,《美国国家科学院院刊》101(34):12467-12472(2004);以及Lee等人,《免疫学方法杂志(J. Immunol. Methods)》284(1-2):119-132(2004)。

[0385] 在噬菌体展示方法中,通过聚合酶链式反应(PCR)分别克隆VH基因和VL基因,并在噬菌体文库中随机重组,然后可以如Winter等人,《免疫学年度评论(Ann. Rev. Immunol.)》,12:433-455(1994)所描述筛选抗原结合噬菌体。噬菌体通常展示抗体片段,或者作为单链Fv(scFv)片段或者作为Fab片段。来自经免疫的来源的文库提供了针对免疫原的高亲和力抗体,而不需要构建杂交瘤。可替代地,可以克隆天然库(例如,来自人的),以提供针对广泛的非自身抗原以及自身抗原的单一抗体来源,而无需任何免疫,如通过Griffiths等人,《欧洲分子生物学杂志》,12:725-734(1993)所描述的。最后,通过从干细胞克隆未重排的V-基因区段,并且使用含有随机序列的PCR引物编码高度可变的CDR3区并在体外完成重排,也可以合成制备天然文库,如Hoogenboom和Winter,《分子生物学杂志》,227:381-388(1992)所描述。描述人抗体噬菌体文库的专利出版物包含例如:美国专利第5,750,373号以及美国专利公开第2005/0079574号、第2005/0119455号、第2005/0266000号、第2007/0117126号、第2007/0160598号、第2007/0237764号、第2007/0292936号和第2009/0002360号。

[0386] 从人抗体文库中分离的抗体或抗体片段在本文中被视为是人抗体或人抗体片段。

[0387] vii. 多特异性抗体

[0388] 在实施方式中,本文所提供的抗BCMA抗体多特异性抗体,例如双特异性抗体。多特

异性抗体是具有针对至少两种不同位点的结合特异性的单克隆抗体。在实施方式中,结合特异性中的一种特异性是针对BCMA,并且另一种是针对任何其它抗原。在实施方式中,双特异性抗体可以与BCMA的两种不同表位结合。双特异性抗体还可以用于将细胞毒性剂定位到表达BCMA的细胞。双特异性抗体可以被制备为全长抗体或抗体片段。

[0389] 用于制备多特异性抗体的技术包含但不限于具有不同特异性的两种免疫球蛋白重链-轻链对的重组共表达(参见Milstein和Cuello,《自然》305:537(1983)、WO 93/08829以及Traunecker等人,《欧洲分子生物学学会会刊》10:3655(1991))以及“杵臼结构(knob-in-hole)”工程化(参见例如美国专利第5,731,168号)。多特异性抗体还可以通过以下来制备:工程化静电转向效应以用于制备抗体Fc-异二聚体分子(WO 2009/089004A1);交联两个或更多个抗体或片段(参见例如,美国专利第4,676,980号以及Brennan等人,《科学(Science)》,229:81(1985));使用亮氨酸拉链产生双特异性抗体(参见例如,Kostelny等人,《免疫学杂志》,148(5):1547-1553(1992));使用“双抗体”技术以用于制备双特异性抗体片段(参见例如,Hollinger等人,《美国国家科学院院刊》,90:6444-6448(1993));以及使用单链Fv(sFv)二聚体(参见例如,Gruber等人,《免疫学杂志》,152:5368(1994));以及制备三特异性抗体,如例如在Tutt等人《免疫学杂志》147:60(1991)中描述的。

[0390] 本文还包含具有三个或三个以上功能性抗原结合位点的工程化抗体,包含“章鱼抗体(Octopus antibody)”(参见例如,US2006/0025576A1)。

[0391] 本文的抗体或片段还包含“双重作用FAb”或“DAF”,其包含与BCMA以及另一种不同抗原结合的抗原结合位点。

[0392] viii. 抗体变体

[0393] 在实施方式中,考虑了本文提供的抗体的氨基酸序列变体。例如,可能期望改善抗体的结合亲和力和/或其它生物性质。抗体的氨基酸序列变体可以通过将适当的修饰引入到编码抗体的核苷酸序列中或通过肽合成为来制备。此类修饰包含例如抗体的氨基酸序列内的残基的缺失和/或插入和/或取代。只要最终构建体具有所期望的特性,例如,抗原结合,可以进行缺失、插入和取代的任何组合来获得最终构建体。

[0394] a) 取代变体、插入变体和缺失变体

[0395] 在实施方式中,本文所提供的抗BCMA抗体具有一个或多个氨基酸取代。取代型诱变的所关注位点包含HVR和FR。保守性取代示出于表1中的标题“优选取代”下。更多实质性改变示出于表1的标题“示例性取代”下,并且在以下关于氨基酸侧链类别的内容做了进一步描述。可以将氨基酸取代引入到所关注抗体中,并且筛选产物的期望活性,例如,保留的/改进的抗原结合、降低的免疫原性和/或改进的ADCC或CDC。

[0396] 表1. 示例性氨基酸取代.

[0397]

原始残基	示例性取代	优选取代
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp; Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 正亮氨酸	Leu
Leu (L)	正亮氨酸; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 正亮氨酸	Leu

[0398] 氨基酸可以根据共同的侧链性质进行分组：

[0399] (1) 疏水性：正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；

[0400] (2) 中性亲水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；

[0401] (3) 酸性：Asp、Glu；

[0402] (4) 碱性：His、Lys、Arg；

[0403] (5) 影响链定向的残基：Gly、Pro；

[0404] (6) 芳香族：Trp、Tyr、Phe。

[0405] 非保守取代将需要将这些类别中的一种类别的成员与另一种类别的成员交换。

[0406] 一类取代变体涉及取代亲本抗体 (例如, 人源化或人抗体) 的一个或多个高变区残基。通常, 选择用于进一步研究的一或多个所得变体将相对于亲本抗体在生物性质 (例如, 增加的亲和力、降低的免疫原性) 上具有修饰 (例如, 改进), 和/或将基本上保留亲本抗体的某些生物性质。示例性取代型变体是可以例如使用基于噬菌体展示的亲和力成熟技术 (如本文所描述的那些技术) 方便地生成的亲和力成熟抗体。简而言之, 一个或多个HVR残基发生突变, 并且变体抗体展示在噬菌体上并筛选特定的生物活性 (例如, 结合亲和力)。

[0407] 可以在HVR中进行变更 (例如, 取代), 例如, 以改进抗体亲和力。此类变更可以在

HVR“热点”中进行,即由在体细胞成熟过程期间以高频经历突变的密码子编码的残基(参见例如,Chowdhury,《分子生物学方法(Methods Mol.Biol.)》207:179-196(2008)),和/或在SDR(a-CDR)中进行,所得变体VH或VL针对结合亲和力进行测试。通过构建二级文库和从中重新选择来实现的亲和力成熟已经在例如Hoogenboom等人,《分子生物学方法》178:1-37(O'Brien等人编辑,新泽西州托托瓦,胡马纳出版社(Humana Press,Totowa,NJ),(2001))中进行了描述。在亲和力成熟的实施方式中,通过多种方法(例如,易错PCR、链改组或寡核苷酸定向诱变)中的任何方法将多样性引入到被选择用于成熟的可变基因中。然后产生二级文库。然后对文库进行筛选,以鉴定出具有期望的亲和力的任何抗体变体。用于引入多样性的另一种方法涉HVR指导的方法,其中若干个HVR残基(例如,一次4-6个残基)被随机化。抗原结合所涉及的HVR残基可以例如使用丙氨酸扫描诱变或建模特异性地鉴别出来。具体地,CDR-H3和CDR-L3通常是靶向的。

[0408] 在实施方式中,取代、插入或缺失可以发生在一或多个HVR中,只要此类变更不显著降低抗体与抗原结合的能力即可。例如,在HVR中可以进行基本上不降低结合亲和力的保守变更(例如,如本文所提供的保守取代)。此类改变可以在HVR“热点”或SDR之外。在以上所提供的变体VH和VL序列的实施方式中,每个HVR不改变,或含有不超过一个、两个或三个氨基酸取代。

[0409] 一种用于鉴定可以靶向诱变的抗体的残基或区的有用方法被称为“丙氨酸扫描诱变”,如Cunningham和Wells(1989)《科学》,244:1081-1085所描述的。在此方法中,靶残基的残基或组(例如,如arg、asp、his、lys和glu等带电荷的残基)被鉴定出来并被中性氨基酸或带负电荷的氨基酸(例如,丙氨酸或聚丙氨酸)置换,以确定抗体与抗原的相互作用是否受到影响。可以在氨基酸位置处引入另外的取代,从而证明对初始取代的功能敏感性。可替代地或另外地,使用抗原-抗体复合物的晶体结构,以鉴定抗体与抗原之间的接触点。此类接触残基和相邻残基可以作为取代候选项被靶向或消除。可以对变体进行筛选,以确定变体是否含有期望的性质。

[0410] 氨基酸序列插入包含长度范围为一个残基至含有一百个或更多个残基的多肽的氨基末端和/或羧基末端融合,以及单个或多个氨基酸残基的序列内插入。末端插入的实例包含具有N末端甲硫氨酰基残基的抗体。抗体分子的其它插入变体包含抗体的N末端或C末端与酶(例如,用于ADEPT)或增加抗体的血清半衰期的多肽的融合。

[0411] b)糖基化变体

[0412] 在一些实施方式中,本文所提供的抗BCMA抗体被改变以增加或减少抗体被糖基化的程度。针对抗体的糖基化位点的添加或缺失可以通过改变氨基酸序列使得一或多个糖基化位点得以产生或去除来方便地完成。

[0413] 在抗体包括Fc区的情况下,连接到其的碳水化合物可以改变。由哺乳动物细胞产生的天然抗体通常包括通常通过N键连接到Fc区的CH2结构域的Asn297的支链双触角寡糖。参见例如,Wright等人TIBTECH 15:26-32(1997)。寡糖可以包含各种碳水化合物,例如甘露糖、N-乙酰基葡萄糖胺(GlcNAc)、半乳糖和唾液酸,以及在双触角寡糖结构的“干”中连接到GlcNAc的岩藻糖。在实施方式中,可以对抗体中的寡糖进行修饰,以产生具有某些改进性质的抗体变体。

[0414] 在一个实施方式中,提供了具有缺少与Fc区(直接或间接)连接的岩藻糖的碳水化

合物结构的抗体变体。例如,此类抗体中的岩藻糖的量可以为1%至80%、1%至65%、5%至65%或20%至40%。岩藻糖的量是通过计算Asn297处的相对于如通过MALDI-TOF质谱法测量的与Asn 297连接的所有糖结构(例如,复合、杂合和高甘露糖结构)的总和的糖链内的岩藻糖的平均量确定的,例如,如WO 2008/077546中所描述的。Asn297是指位于Fc区中约位置297(Fc区残基的Eu编号)处的天冬酰胺残基;然而,由于抗体中的微小序列变化,Asn297还可以位于位置297上游或下游约±3个氨基酸处,即,位置294与300之间。此类岩藻糖基化变体可以具有改进的ADCC功能。参见例如,美国专利公开号US 2003/0157108(Presta,L.);US2004/0093621(日本协和发酵工业株式会社(Kyowa Hakko Kogyo Co.,Ltd))。与“去岩藻糖化”或“岩藻糖缺乏性”抗体变体相关的出版物的实例包含:US2003/0157108;WO 2000/61739;WO 2001/29246;US2003/0115614;US2002/0164328;US2004/0093621;US2004/0132140;US2004/0110704;US2004/0110282;US2004/0109865;WO 2003/085119;WO 2003/084570;WO 2005/035586;WO 2005/035778;WO2005/053742;WO2002/031140;Okazaki等人《分子生物学杂志》336:1239-1249(2004);Yamane-Ohnuki等人《生物技术与生物工程(Biotech.Bioeng.)》87:614(2004)。能够产生去岩藻糖化抗体的细胞系的实例包含缺乏蛋白岩藻糖基化的Lec13 CHO细胞(Ripka等人,《生物化学与生物物理学集刊(Arch.Biochem.Biophys.)》,249:533-545(1986);美国换了申请第US 2003/0157108A1号,Presta,L;以及WO 2004/056312 A1,Adams等人,尤其在实例11处);以及敲除细胞系,如 α -1,6-岩藻糖基转移酶基因、FUT8、敲除CHO细胞(参见例如,Yamane-Ohnuki等人《生物技术与生物工程(Biotech.Bioeng.)》87:614(2004);Kanda,Y.等人,《生物技术与生物工程》,94(4):680-688(2006);以及WO2003/085107)。

[0415] 抗体变体进一步设置有二等分的寡糖,例如,其中与抗体的Fc区连接的双触角寡糖被GlcNAc二等分。此类抗体变体可以具有降低的岩藻糖基化和/或改进的ADCC功能。此类抗体变体的实例描述于例如WO 2003/011878(Jean-Mairet等人);美国专利第6,602,684号(Umana等人);以及US2005/0123546(Umana等人)中。还提供了在寡糖中有至少一个半乳糖残基连接到Fc区的抗体变体。此类抗体变体可以具有改进的CDC功能。此类抗体变体描述于例如WO 1997/30087(Patel等人)、WO 1998/58964(Raju,S.)和WO 1999/22764(Raju,S.)中。

[0416] c)Fc区变体

[0417] 在实施方式中,可以将一种或多种氨基酸修饰引入到本文所提供的抗BCMA抗体的Fc区中,由此产生Fc区变体。Fc区变体可以包括在一或多个氨基酸位置处包括氨基酸修饰(例如,取代)的人Fc区序列(例如,人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc区)。

[0418] 在实施方式中,设想了具有一些但不是全部效应子功能的抗体变体,所述效应子功能使所述抗体变体成为这样的应用的令人期望的候选项:抗体在体内的半衰期具有重要性,但某些效应子功能(如补体和ADCC)是不必要的或有害的。可以进行体外和/或体内细胞毒性测定,以确认CDC和/或ADCC活性的降低/耗竭。例如,可以进行Fc受体(FcR)结合测定以确保抗体缺乏Fc γ R结合(因此可能缺乏ADCC活性),但是保留FcRn结合能力。用于介导ADCC的原代细胞NK细胞仅表达Fc γ RIII,而单核细胞表达Fc γ RI、Fc γ RII和Fc γ RIII。FcR在造血细胞上的表达总结在Ravetch和Kinet,《免疫学年度评论》9:457-492(1991)的第464页的表3中。在以下文献中描述了用于评估所关注的分子的ADCC活性的体外测定的非限制性实

例：美国专利第5,500,362号(参见例如,Hellstrom,I.等人《美国国家科学院院刊》83:7059-7063(1986))和Hellstrom,I等人,《美国国家科学院院刊》82:1499-1502(1985);第5,821,337号(参见Bruggemann,M.等人,《实验医学杂志(J.Exp.Med.)》166:1351-1361(1987))。可替代地,可以采用非放射性测定方法(参见例如,用于流式细胞术的ACTI™非放射性细胞毒性测定(加利福尼亚州山景城的细胞科技公司(CellTechnology,Inc.Mountain View,CA));和CytoTox96®非放射性细胞毒性测定(威斯康星州麦迪逊的普洛麦格公司(Promega,Madison,WI)))。用于此类测定的有用的效应细胞包含外周血单核细胞(PBMC)和自然杀伤(NK)细胞。可替代地或另外,可以在体内评估所关注的分子的ADCC活性,例如,在如Clynes等人,《美国国家科学院院刊》95:652-656(1998)中公开的动物模型等动物模型中。还可以进行C1q结合测定以确认抗体不能结合C1q并且因此缺乏CDC活性。参见例如WO 2006/029879和WO 2005/100402中的C1q和C3c结合ELISA。为了评估补体活化,可以进行CDC测定(参见例如,Gazzano-Santoro等人,《免疫学方法杂志》202:163(1996);Cragg,M.S.等人,《血液(Blood)》101:1045-1052(2003);以及Cragg,M.S.和M.J.Glennie,《血液》103:2738-2743(2004))。还可以使用本领域已知的方法进行FcRn结合和体内清除/半衰期确定(参见例如,Petkova,S.B.等人,《国际免疫学(Int'l Immunol.)》18(12):1759-1769(2006))。

[0419] 效应子功能降低的抗体包含取代了Fc区残基238、265、269、270、297、327和329中的一个或多个残基的抗体(美国专利第6,737,056号)。此类Fc突变体包含在氨基酸位置265、269、270、297和327中的两个或两个以上氨基酸位置处有取代的Fc突变体,包含将残基265和297取代为丙氨酸的所谓的“DANA”Fc突变体(美国专利第7,332,581号)。

[0420] 描述了具有改进的或减少的与FcR的结合能力的某些抗体变体。(参见例如,美国专利第6,737,056号;WO 2004/056312和Shields等人,《生物化学杂志》9(2):6591-6604(2001))。

[0421] US2005/0014934A1(Hinton等人)中描述了具有增加的半衰期和改进的与新生儿Fc受体(FcRn)的结合的抗体,所述FcRn负责将母体IgG转移到胎儿(Guyer等人,《免疫学杂志》117:587(1976)和Kim等人,《免疫学杂志》24:249(1994))。那些抗体包括其中具有改进了Fc区与FcRn的结合的一或多个取代的Fc区。此类Fc变体包含在以下Fc区残基中的一个或多个Fc区残基处具有取代的Fc变体:238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424或434,例如,Fc区残基434的取代(美国专利第7,371,826号)。

[0422] 还参见Duncan和Winter,《自然》322:738-40(1988);美国专利第5,648,260号;美国专利第5,624,821号;以及WO 94/29351中关于Fc区变体的其它实例。

[0423] ix. 抗体衍生物

[0424] 在实施方式中,本文所提供的抗BCMA抗体可以被进一步修饰,以包含本领域已知且容易获得的另外的非蛋白质部分。适合于抗体的衍生化的部分包含但不限于水溶性聚合物。水溶性聚合物的非限制性实例包含但不限于聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇的共聚物、羧甲基纤维素、葡聚糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚-1,3-二氧戊环、聚-1,3,6-三氧杂环己烷、乙烯/马来酸酐共聚物、聚氨基酸(均聚物或无规共聚物)和葡聚糖或聚(N-乙烯基吡咯烷酮)聚乙二醇、聚丙二醇均聚物、聚环氧丙烷/环氧乙烷共聚物、聚氧乙烯化多元醇(例

如,甘油)、聚乙烯醇以及其混合物。聚乙二醇丙醛由于其在水中的稳定性而可以在制造中具有优势。聚合物可以具有任何分子量并且可以是支链或非支链的。与抗体连接的聚合物的数量可以变化,并且如果连接多于一种聚合物,则聚合物可以是相同或不同的分子。用于衍生化的聚合物的数量和/或类型通常可以基于包含但不限于以下的考虑因素来确定:要改进的抗体的特定性质或功能、抗体衍生物是否将在定义的条件在疗法中使用等。

[0425] x. 重组方法和组合物

[0426] 可以使用重组方法和组合物产生抗体,例如,如美国专利第4,816,567号中所描述。本领域技术人员将熟悉用于抗体表达的合适宿主细胞。示例性宿主细胞包含真核细胞,例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或淋巴细胞(例如,Y0、NS0、Sp20细胞)。

[0427] 为了重组生产抗BCMA抗体,编码抗体(例如,如上文所描述的抗体)的核酸被分离,并且插入到一个或多个载体中,用于在宿主细胞中进一步克隆和/或表达。此类核酸可以使用常规程序(例如,通过使用能够与编码抗体的重链和轻链的基因特异性结合的寡核苷酸探针)容易地分离和测序。

[0428] 用于克隆或表达抗体编码载体的合适宿主细胞包含本文所描述的原核细胞或真核细胞。例如,抗体可以在细菌中产生,特别是在不需要糖基化和Fc效应子功能时。对于抗体片段和多肽在细菌中的表达,参见例如美国专利第5,648,237号;第5,789,199号;以及第5,840,523号。(还参见Charlton,《分子生物学方法》,第248卷(B.K.C.Lo,编辑,新泽西州托托瓦,胡马纳出版社,2003),第245-254页,描述了抗体片段在大肠杆菌中的表达)。表达后,可以从细菌细胞糊的可溶性级分中分离抗体,并且可以进一步纯化所述抗体。

[0429] 除原核生物外,如丝状真菌或酵母等真核微生物是抗体编码载体的合适克隆或表达宿主,含糖基化通路已“人源化”的真菌和酵母菌株,从而产生具有部分或完全人糖基化模式的抗体。参见Gerngross,《自然生物技术》22:1409-1414(2004)和Li等人,《自然生物技术》24:210-215(2006)。

[0430] 用于表达糖基化抗体的合适宿主细胞也源自多细胞生物体(无脊椎动物和脊椎动物)。无脊椎细胞的实例包含植物和昆虫细胞。已鉴定出许多杆状病毒株,所述杆状病毒株可以与昆虫细胞结合使用,特别是用于草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)细胞的转染。

[0431] 植物细胞培养物也可以用作宿主。参见例如美国专利第5,959,177号、第6,040,498号、第6,420,548号、第7,125,978号和第6,417,429号(描述了用于在转基因植物中产生抗体的PLANTIBODIES™技术)。

[0432] 脊椎动物细胞也可以用作宿主。例如,适于悬浮生长的哺乳动物细胞系可能是有用的。有用的哺乳动物宿主细胞系的其它实例是由SV40(COS-7)转化的猴肾CV1系;人胚胎肾系(例如在Graham等人,《普通病毒学期刊(J.Gen Virol.)》36:59(1977))中所描述的293或293细胞);小仓鼠肾细胞(BHK);小鼠支持细胞(例如在Mather,《生殖生物学(Biol.Reprod.)》23:243-251(1980))中所描述的TM4细胞);猴肾细胞(CV1);非洲绿猴肾细胞(VERO-76);人宫颈癌细胞(HELA);犬肾细胞(MDCK);水牛大鼠肝细胞(BRL 3A);人肺细胞(W138);人肝细胞(Hep G2);小鼠乳腺肿瘤(MMT 060562);TRI细胞,例如在Mather等人,《纽约科学院年鉴(Annals N.Y.Acad.Sci.)》383:44-68(1982)中所描述的;MRC 5细胞;以及FS4细胞。其它有用的哺乳动物宿主细胞系包含中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,其包含DHFR-CHO细胞(Urlaub等人,《美国国家科学院院刊》77:4216(1980));以及骨髓瘤细胞系,如Y0、NS0

和Sp2/0。对于适于抗体产生的某些哺乳动物宿主细胞系的评论,参见例如Yazaki和Wu,《分子生物学方法》,第248卷(B.K.C.Lo,编辑,新泽西州托托瓦,胡马纳出版社),第255-268页(2003);Dhara,V.G.等人,《生物制药(BioDrugs)》32:571-584(2018);Kunert,R.和Reinhart,D.《应用微生物学和生物技术(Applied microbiology and biotechnology)》,100(8):3451-3461(2016);Graham等人,《普通病毒学杂志》36\ :59(1977))Mather,《生殖生物学》23\ :243-251(1980)。

[0433] xi. 测定

[0434] 本文所描述的抗BCMA抗体可以通过本领域已知的各种测定来鉴定、筛选或表征其物理/化学性质和/或生物活性。

[0435] 在实施方式中,测试抗体的抗原结合活性,例如通过已知方法,如ELISA、BIAcore[®]、FACS或蛋白质印迹。

[0436] 在另一个实施方式中,竞争测定可以用于鉴定与本文所描述的任何抗体竞争与BCMA结合的抗体。在实施方式中,此类竞争性抗体与本文所描述抗体结合的相同表位(例如,线性或构象表位)结合。用于绘制抗体所结合的表位的详细示例性方法描述于Morris(1996)“表位作图方案(Epitope Mapping Protocols)”,《分子生物学方法》第66卷(新泽西州托托瓦,胡马纳出版社)中。

[0437] 在示例性竞争测定中,固定的BCMA在溶液中温育,所述溶液包含与BCMA结合的第一标记抗体和第二未标记抗体,所述第二未标记抗体被测试其与第一抗体竞争与BCMA结合的能力。第二抗体可以存在于杂交瘤上清液中。作为对照,固定的BCMA在包含第一种标记抗体但不包含第二种未标记抗体的溶液中温育。在允许第一抗体与BCMA结合的条件下温育之后,去除多余的未结合抗体,并且测量与固定的BCMA结合的标记的量。如果测试样品中与固定的BCMA相关的标记的量相对于对照样品显著减少,则表明第二抗体与第一抗体竞争与BCMA的结合。在实施方式中,固定的BCMA存在于细胞表面或从表面表达BCMA的细胞获得的膜制剂中。参见Harlow和Lane(1988)《抗体:实验室手册(Antibodies:A Laboratory Manual)》第14章(纽约冷泉港的冷泉港实验室出版社(Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor,NY))。

[0438] 制备抗体-药物缀合物的方法

[0439] 可以采用本领域技术人员已知的有机化学反应、条件和试剂通过若干种途径制备式(I)的ADC,所述途径包含:(1)抗体的亲核基团与二价连接子试剂(L¹)反应,通过共价键形成Ab-L¹,随后与药物部分D或药物-连接子分子D-L²反应;和(2)药物部分D的亲核基团与二价连接子试剂(L²和/或L¹)反应,通过共价键形成D-L²或D-L²-L¹,随后与抗体或还原抗体的亲核基团反应。若干此类方法由Agarwal等人,(2015),《生物缀合化学(Bioconjugate Chem.)》,26:176-192描述。

[0440] 在实施方式中,可以在部分或完全还原条件下用如二硫苏糖醇(DTT)或三羰基乙基膦(TCEP)等还原剂来还原抗体,以生成反应性半胱氨酸巯基。然后,链间半胱氨酸残基可以被烷基化,例如使用马来酰亚胺。可替代地,链间半胱氨酸残基可以进行桥接烷基化,例如使用双砜连接子或炔丙基二溴马来酰亚胺,随后进行Cu点击连接。在实施方式中,抗体可以通过赖氨酸氨基酸缀合。此类缀合可以是一步缀合或两步缀合。在实施方式中,一步缀合需要赖氨酸残基的ε-氨基通过酰胺键与含有氨基反应性基团的药物连接子分子(D-L²-L¹或

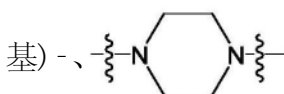
D-L¹) 缀合。在实施方式中,氨基反应性基团是活化酯。在实施方式中,抗体可以通过两步缀合来缀合。两步缀合需要第一步骤,其中含有氨基和巯基反应性官能团两者的双官能试剂与赖氨酸ε-氨基反应。在第二步骤中,药物连接子分子(D-L²-L¹或D-L¹)与双官能试剂的巯基反应性基团缀合。若干实例由Jain等人,(2015),《药学研究(Pharm.Res.)》,32:3526-3540提供。在实施方式中,第一步骤可以涉及用叠氮化物将抗体功能化,随后用炔烃修饰的连接子或药物-连接子分子(D-L²-L¹或D-L¹)进行点击化学反应。在实施方式中,第一步骤可以涉及用炔烃将抗体功能化,随后用叠氮化物修饰的连接子或药物-连接子分子(D-L²-L¹或D-L¹)进行点击化学反应。在实施方式中,第一步骤可以涉及用醛将抗体功能化,随后用烷氧基胺或肼修饰的连接子或药物-连接子分子(D-L²-L¹或D-L¹)进行点击化学反应。在实施方式中,第一步骤可以涉及用四嗪将抗体功能化,随后用反式环辛烯或环丙烯修饰的连接子或药物-连接子分子(D-L²-L¹或D-L¹)进行点击化学反应。在实施方式中,第一步骤可以涉及用反式环辛烯或环丙烯将抗体功能化,随后用四嗪修饰的连接子或药物-连接子分子(D-L²-L¹或D-L¹)进行点击化学反应。一些实例由Pickens等人,(2018),《生物缀合化学》,29:686-701;Li等人,(2018),《MAb》,10:712-719;以及Chio等人,(2020),《分子生物学方法》,2078:83-97描述。

[0441] 一方面,式(I)的ADC可以通过使单克隆抗体(Ab)与式(P-I)的分子:

[0442] B-L²-D

[0443] 或其药学上可接受的盐反应来制备,其中:

[0444] B是能够与所述单克隆抗体形成键的反应性部分;

[0445] L²是键、-C(O)-、-NH-、氨基酸单元、-(CH₂CH₂O)_n-、-(CH₂)_n-、(4-氨基苄氧基羰基)-、、-(C(O)CH₂CH₂NH)-或其组合,其中n是1至24的整数;

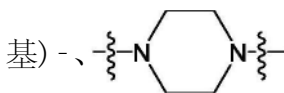
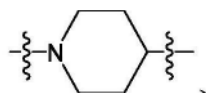
[0446] D是药物部分。

[0447] 一方面,式(I)的ADC可以通过使抗BCMA抗体、抗ROR1抗体、抗CD25抗体或抗Claudin 18抗体与式(P-I)的分子:

[0448] B-L²-D

[0449] 或其药学上可接受的盐反应来制备,其中:

[0450] B是能够与所述抗BCMA抗体、所述抗ROR1抗体、所述抗CD25抗体或所述抗Claudin 18抗体形成键的反应性部分;

[0451] L²是键、-C(O)-、-NH-、氨基酸单元、-(CH₂CH₂O)_n-、-(CH₂)_n-、(4-氨基苄氧基羰基)-、、-(C(O)CH₂CH₂NH)-或其组合,其中n是1至24的整数;D

是药物部分。

[0452] 在实施方式中,所述单克隆抗体用醛、叠氮化物、炔烃、四嗪、肼、烷氧基胺、反式环辛烯或环丙烯修饰。在实施方式中,所述单克隆抗体用醛修饰。在实施方式中,所述单克隆抗体用叠氮化物修饰。在实施方式中,所述单克隆抗体用四嗪修饰。在实施方式中,所述单克隆抗体用烷氧基胺修饰。在实施方式中,所述单克隆抗体用肼修饰。在实施方式中,所述单克隆抗体用反式环辛烯修饰。在实施方式中,所述单克隆抗体用环丙烯修饰。

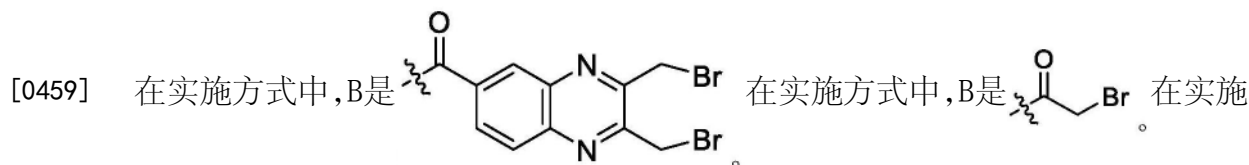
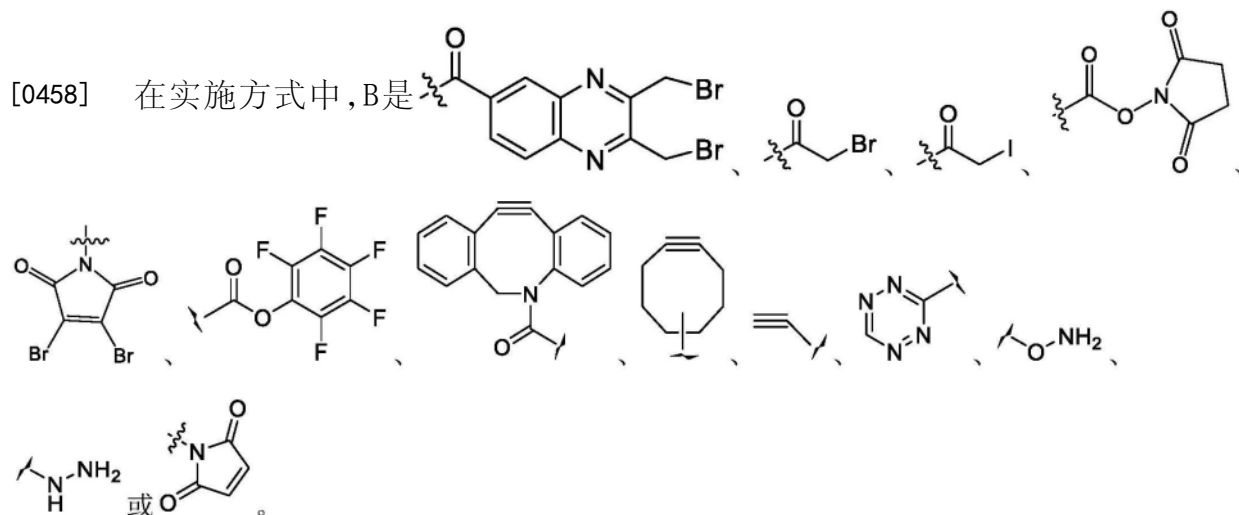
[0453] 在实施方式中,Ab是抗BCMA抗体、抗ROR1抗体、抗CD25抗体或抗Claudin 18抗体。在实施方式中,Ab是抗BCMA抗体。在实施方式中,Ab是抗ROR1抗体。在实施方式中,Ab是抗CD25抗体。在实施方式中,Ab是抗Claudin 18抗体。在实施方式中,B是能够与抗BCMA抗体形成键的反应性部分。在实施方式中,Ab是经修饰的抗BCMA抗体。

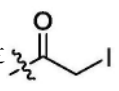
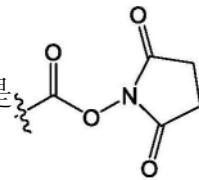
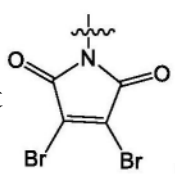
[0454] 在实施方式中,Ab用醛、叠氮化物、炔烃、四嗪、肼、烷氧基胺、反式环辛烯或环丙烯修饰。在实施方式中,Ab用醛修饰。在实施方式中,Ab用叠氮化物修饰。在实施方式中,Ab用四嗪修饰。在实施方式中,Ab用烷氧基胺修饰。在实施方式中,Ab用肼修饰。在实施方式中,Ab用反式环辛烯修饰。在实施方式中,Ab用环丙烯修饰。在实施方式中,经修饰的Ab是经修饰的抗BCMA抗体。

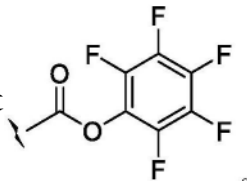
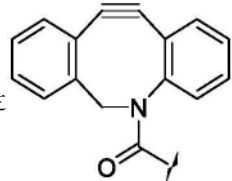
[0455] 在实施方式中,n是1至24的整数。在实施方式中,n是1。在实施方式中,n是2。在实施方式中,n是3。在实施方式中,n是4。在实施方式中,n是5。在实施方式中,n是6。在实施方式中,n是7。在实施方式中,n是8。在实施方式中,n是9。在实施方式中,n是10。在实施方式中,n是11。在实施方式中,n是12。在实施方式中,n是13。在实施方式中,n是14。在实施方式中,n是15。在实施方式中,n是16。在实施方式中,n是17。在实施方式中,n是18。在实施方式中,n是19。在实施方式中,n是20。在实施方式中,n是21。在实施方式中,n是22。在实施方式中,n是23。在实施方式中,n是24。

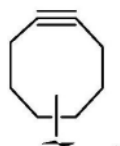
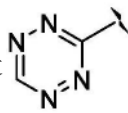
[0456] 在实施方式中,B是能够与所述抗BCMA抗体或经修饰的抗BCMA抗体的一个或两个巯基或氨基形成键的反应性部分。在实施方式中,所述抗BCMA抗体用叠氮化物、醛、炔烃、四嗪、肼、烷氧基胺、反式环辛烯或环丙烯修饰。

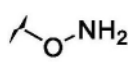
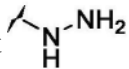
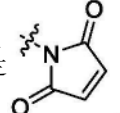
[0457] 在实施方式中,B是炔烃、叠氮化物、醛、四嗪、肼、烷氧基胺、反式环辛烯、环丙烯、活化酯、卤乙酰基、环炔、马来酰亚胺或双砜。在实施方式中,B是二溴马来酰亚胺。在实施方式中,B是环辛炔。在实施方式中,活化酯可以是例如五氟苯基酯、四氟苯基酯、三氟苯基酯、二氟苯基酯、单氟苯基酯、或N-羟基琥珀酰亚胺酯。

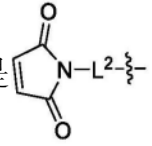
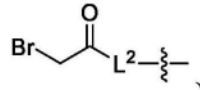
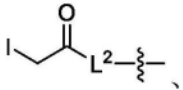
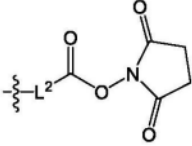
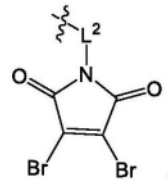
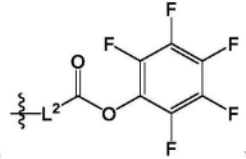
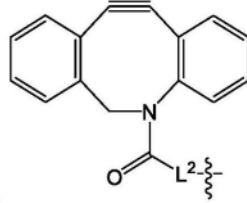
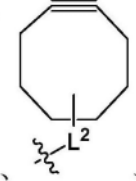
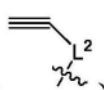
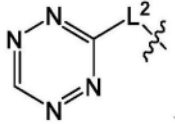
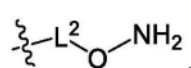
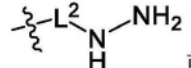
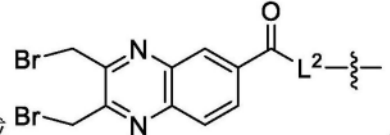


方式中,B是  在实施方式中,B是  在实施方式中,B是  在

实施方式中,B是  在实施方式中,B是  在实施方式中,B是

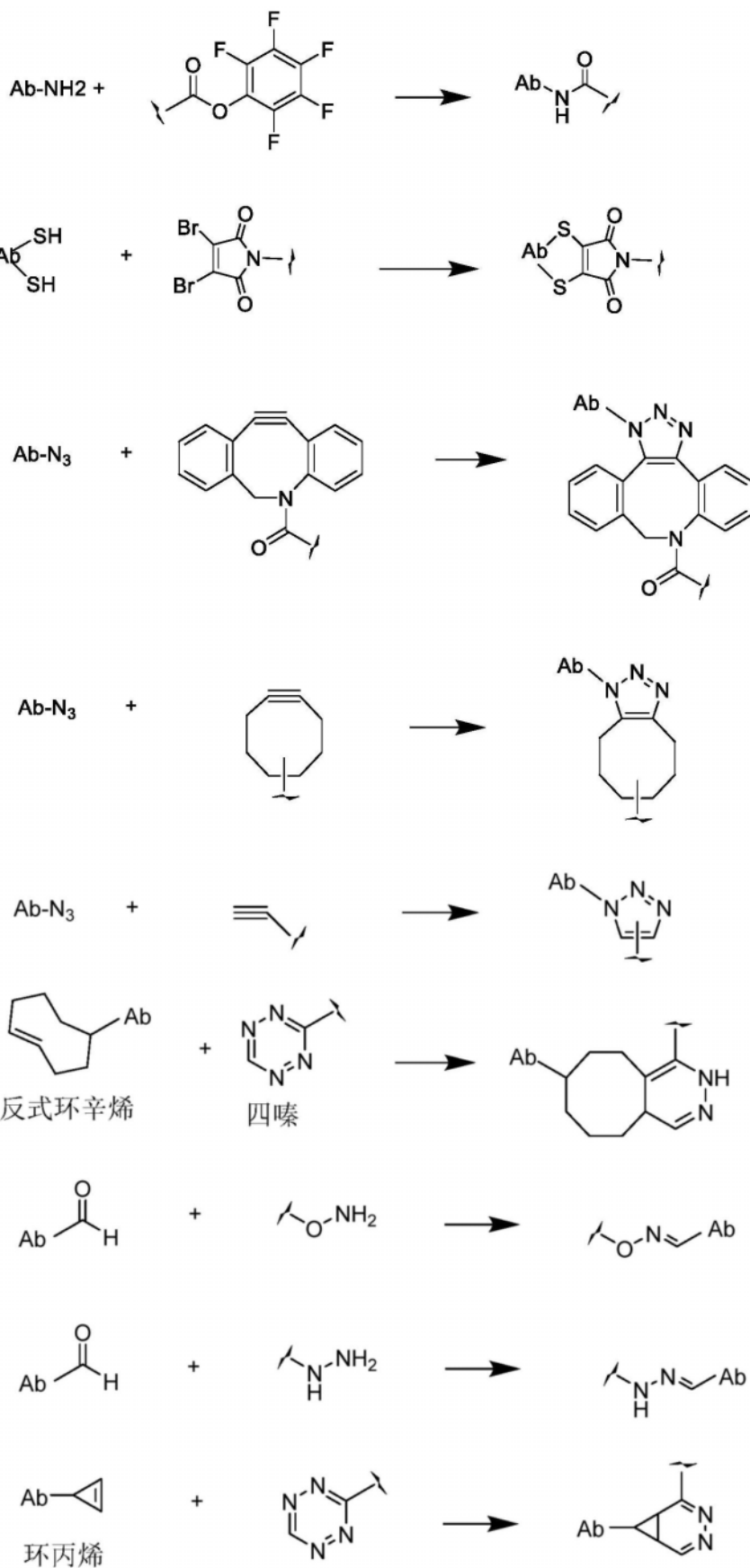
 在实施方式中,B是  在实施方式中,B是  在实施方式中,B是

 在实施方式中,B是  在实施方式中,B是  。

[0460] 在实施方式中,B-L²-是 、、、、
、、、、、、
、 或 。

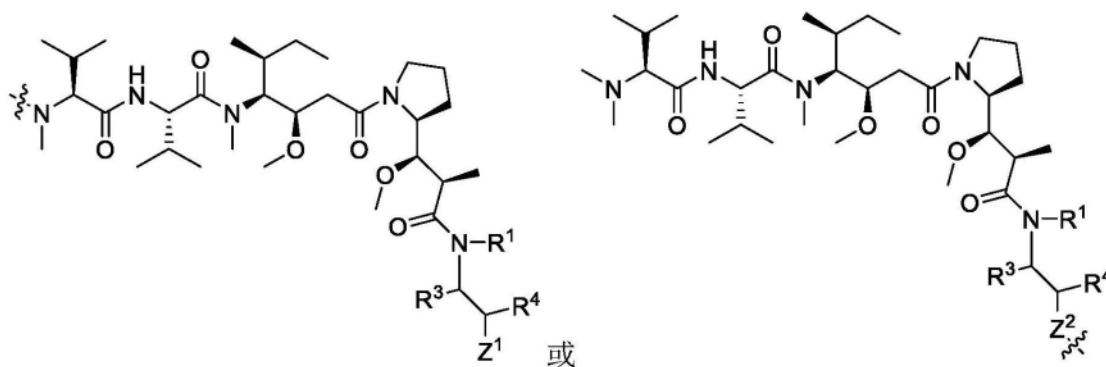
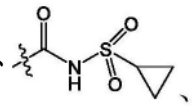
[0461] 在实施方式中,单克隆抗体、经修饰的单克隆抗体或抗BCMA未修饰或修饰的抗体(Ab)与以下反应性B部分发生缀合反应:

[0462]

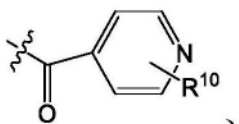
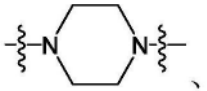
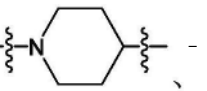
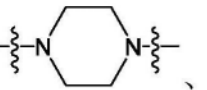
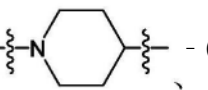


[0463] 在实施方式中,D是:

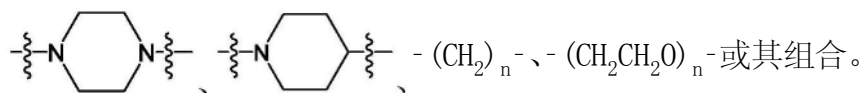
[0464]

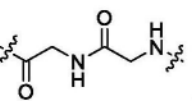
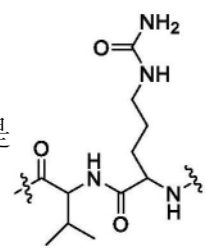
[0465] R^1 是H或 $-C_1-C_8$ 烷基;[0466] R^3 是H、卤素、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OR^{3A}$ 、 $-NR^{3A}R^{3B}$ 、 $-(CH_2)_vOR^6$ 、、经取代或未经取代的烷基或经取代或未经取代的杂烷基;

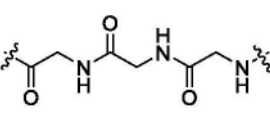
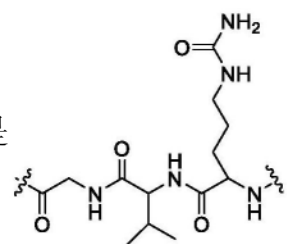
基或经取代或未经取代的杂烷基;

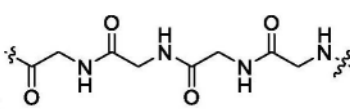
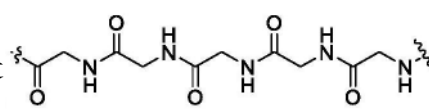
[0467] R^4 是H、卤素、 $-OR^{4A}$ 、 $-NR^{4A}R^{4B}$ 、经取代或未经取代的烷基或经取代或未经取代的杂烷基;[0468] Z^1 是经取代或未经取代的芳基、经取代或未经取代的杂芳基、经取代或未经取代的环烷基或经取代或未经取代的杂环烷基;[0469] Z^2 是经取代或未经取代的亚芳基、经取代或未经取代的亚杂芳基、经取代或未经取代的亚环烷基或经取代或未经取代的亚杂环烷基;[0470] R^6 是H、经取代或未经取代的烷基、经取代或未经取代的环烷基、经取代或未经取代的杂环烷基、经取代或未经取代的芳基、经取代或未经取代的杂芳基、 $-CO(CH_2CH_2O)_wCH_2CH_2Y$ 、 $-CONH(CH_2CH_2O)_wCH_2CH_2Y$ 、、带电荷的基团或糖衍生物,其中[0471] v 是1至24的整数; w 是1至24的整数; Y 是 $-NH_2$ 、 $-OH$ 、 $-COOH$ 或 $-OCH_3$; R^{10} 是 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 或 $-COOH$;并且[0472] 每个 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{4A} 和 R^{4B} 独立地是H或经取代或未经取代的烷基。[0473] 在实施方式中, L^2 是如以下所描述的可切割或不可切割连接子:美国专利第US 9,884,127号、第US 9,981,046号、第US 9,801,951号、第US10,117,944号、第US10,590,165号和第US10,590,165号以及美国专利公开第US2017/0340750号和第US2018/0360985号,所有这些文献都通过引用整体并入本文。[0474] 在实施方式中, L^2 是键、 $-C(O)-$ 、 $-NH-$ 、 $-Val-$ 、 $-Phe-$ 、 $-Lys-$ 、 $-(4-氨基苄氧基羰基)-$ 、 $-Gly-$ 、 $-Ser-$ 、 $-Thr-$ 、 $-Ala-$ 、 $-\beta-Ala-$ 、 $-瓜氨酸(Cit)-$ 、、、 $(CH_2)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 或其组合。基) $-(CH_2)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 或其组合。[0475] 在实施方式中, L^2 是键、 $-C(O)-$ 、 $-NH-$ 、 $-Val-$ 、 $-Phe-$ 、 $-Lys-$ 、 $-(4-氨基苄氧基羰基)-$ 、、、 $(CH_2)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 或其组合。基) $-(CH_2)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 或其组合。

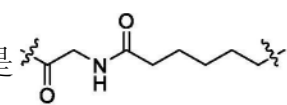
[0476] 在实施方式中, L^2 是键、 $-C(O)-$ 、 $-NH-$ 、Gly、Ser、Thr、Ala、 β -Ala、 $-Cit-$ 、

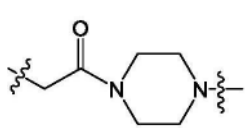
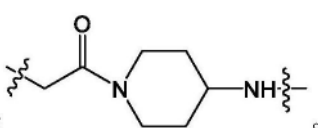


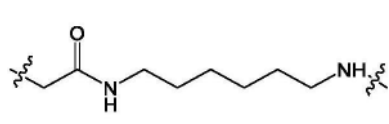
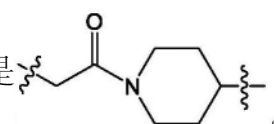
[0477] 在实施方式中, L^2 是  在实施方式中, L^2 是  在实施方式

中, L^2 是  在实施方式中, L^2 是  在实施方式中, L^2 是

 在实施方式中, L^2 是  在实施方

式中, L^2 是 $-C(O)-(CH_2)_5-$ 。在实施方式中, L^2 是  在实施方式中, L^2 是

 在实施方式中, L^2 是  在实施方式中, L^2 是

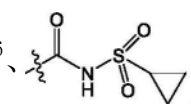
 在实施方式中, L^2 是 。

[0478] 在实施方式中, L^2 是键。在实施方式中, L^2 是 $-C(O)-$ 。在实施方式中, L^2 是 $-NH-$ 。在实施方式中, L^2 是 $-Val-$ 。在实施方式中, L^2 是 $-Phe-$ 。在实施方式中, L^2 是 $-Lys-$ 。在实施方式中, L^2 是 $-(4\text{-氨基苄氧基羰基})-$ 。在实施方式中, L^2 是 $-(CH_2)_n-$ 。在一些实施方式中, L^2 是 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 。在实施方式中, L^2 是 $-Gly-$ 。在实施方式中, L^2 是 $-Ser-$ 。在实施方式中, L^2 是 $-Thr-$ 。在实施方式中, L^2 是 $-Ala-$ 。在实施方式中, L^2 是 β -Ala。在实施方式中, L^2 是 $-Cit-$ 。

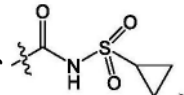
[0479] 在实施方式中, R^1 是 H。在实施方式中, R^1 是 C_1-C_8 烷基。

[0480] 在实施方式中, R^1 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、戊基或己基。在实施方式中, R^1 是甲基。在实施方式中, R^1 是乙基。在实施方式中, R^1 是丙基。在实施方式中, R^1 是异丙基。在实施方式中, R^1 是丁基。在实施方式中, R^1 是异丁基。在实施方式中, R^1 是叔丁基。在实施方式中, R^1 是戊基。在实施方式中, R^1 是己基。

[0481] 在实施方式中, R^3 是 H、卤素、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-Cl_3$ 、 $-CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、

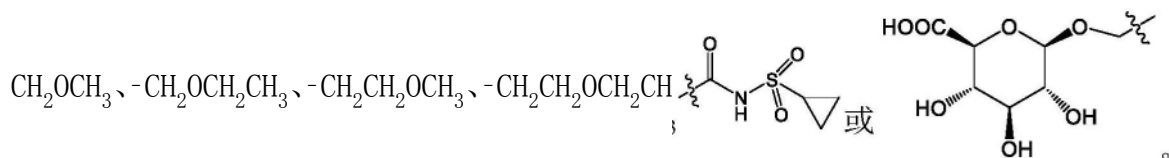
$-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OR^{3A}$ 、 $-NR^{3A}R^{3B}$ 、 $-(CH_2)_vOR^6$ 、 经取代或

未经取代的烷基(例如, C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_4 烷基)或经取代或未经取代的杂烷基(例如, 2元至8元杂烷基、2元至6元杂烷基或2元至4元杂烷基)。

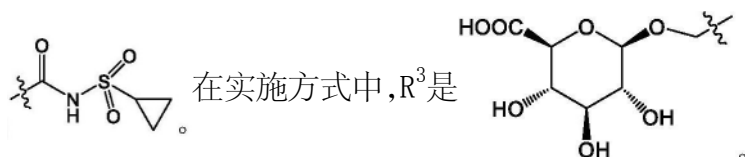
[0482] 在实施方式中, R^3 是H、 $-OR^{3A}$ 、 $-(CH_2)_vOR^6$ 、经取代的(例如, 被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代)或未取代的烷基(例如, C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_4 烷基), 或经取代的(例如, 被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代)或未经取代的杂烷基(例如, 2元至8元杂烷基、2元至6元杂烷基或2元至4元杂烷基)。

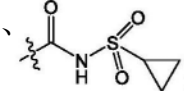
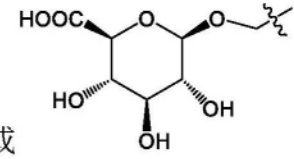
[0483] 在实施方式中, R^3 是经取代的(例如, 被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的)烷基(例如, C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_4 烷基)。在实施方式中, R^3 是未经取代的烷基(例如, C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_4 烷基)。在实施方式中, R^3 是经取代的(例如, 被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的)杂烷基(例如, 2元至8元杂烷基、2元至6元杂烷基或2元至4元杂烷基)。在实施方式中, R^3 是未经取代的杂烷基(例如, 2元至8元杂烷基、2元至6元杂烷基或2元至4元杂烷基)。

[0484] 在实施方式中, R^3 是甲基、乙基、丙基、丁基、 $-CH_2OH$ 、 $-CH_2CH_2OH$ 、 $-CH_2N_3$ 、 $-CH_2CH_2N_3$ 、



[0485] 在实施方式中, R^3 是甲基。在实施方式中, R^3 是乙基。在实施方式中, R^3 是丙基。在实施方式中, R^3 是丁基。在实施方式中, R^3 是 $-CH_2OH$ 。在实施方式中, R^3 是 $-CH_2CH_2OH$ 。在一些实施方式中, R^3 是 $-CH_2N_3$ 。在实施方式中, R^3 是 $-CH_2CH_2N_3$ 。在一些实施方式中, R^3 是 $-CH_2OCH_3$ 。在实施方式中, R^3 是 $-CH_2OCH_2CH_3$ 。在实施方式中, R^3 是 $-CH_2CH_2OCH_3$ 。在实施方式中, R^3 是 $-CH_2CH_2OCH_2CH_3$ 。在实施方式中, R^3 是 $-OH$ 。在实施方式中, R^3 是



[0486] 在实施方式中, R^3 是甲基、 $-CH_2OH$ 、 $-CH_2N_3$ 、或 。

[0487] 在实施方式中, R^4 是H、卤素、 $-OR^{4A}$ 、 $-NR^{4A}R^{4B}$ 、经取代或未经取代的烷基(例如, C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_4 烷基)或经取代或未经取代的杂烷基(例如, 2元至8元杂烷基、2元至6元杂烷基或2元至4元杂烷基)。

[0488] 在实施方式中, R^4 是H、 $-OR^{4A}$ 、经取代的(例如, 被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代)或未取代的烷基(例如, C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_4 烷基), 或经取代的(例如, 被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代)或未经取代的杂烷基(例如, 2元至8元杂烷基、2元至6元杂烷基或2元至4元杂烷基)。

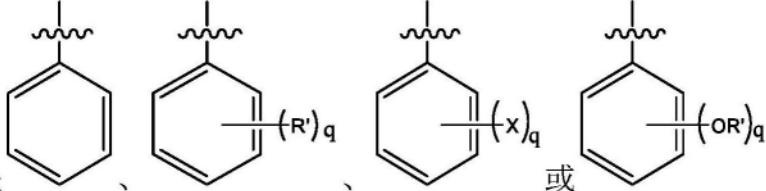
[0489] 在实施方式中, R^4 是经取代的(例如, 被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低

级取代基取代的) 烷基 (例如, C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_4 烷基)。在实施方式中, R^4 是未经取代的烷基 (例如, C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_4 烷基)。在实施方式中, R^4 是经取代的 (例如, 被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 杂烷基 (例如, 2元至8元杂烷基、2元至6元杂烷基或2元至4元杂烷基)。在实施方式中, R^4 是未经取代的杂烷基 (例如, 2元至8元杂烷基、2元至6元杂烷基或2元至4元杂烷基)。

[0490] 在实施方式中, R^4 是 H、-OH、甲基、乙基、丙基或丁基。在实施方式中, R^4 是甲基。在实施方式中, R^4 是乙基。在实施方式中, R^4 是丙基。在实施方式中, R^4 是丁基。在实施方式中, R^4 是 H。在实施方式中, R^4 是 -OH。

[0491] 在实施方式中, R^4 是 H 或 -OH。

[0492] 在实施方式中, Z^1 是经取代的 (例如, 被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 或未经取代的环烷基 (例如, C_3 - C_8 环烷基、 C_3 - C_6 环烷基或 C_5 - C_6 环烷基)。在实施方式中, Z^1 是经取代的 (例如, 被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 环烷基 (例如, C_3 - C_8 环烷基、 C_3 - C_6 环烷基或 C_5 - C_6 环烷基)。在实施方式中, Z^1 是未经取代的环烷基 (例如, C_3 - C_8 环烷基、 C_3 - C_6 环烷基或 C_5 - C_6 环烷基)。在实施方式中, Z^1 是经取代的 (例如, 被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 或未经取代的杂环烷基 (例如, 3元至8元杂环烷基、3元至6元杂环烷基或5元至6元杂环烷基)。在实施方式中, Z^1 是经取代的 (例如, 被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 杂环烷基 (例如, 3元至8元杂环烷基、3元至6元杂环烷基或5元至6元杂环烷基)。在实施方式中, Z^1 是未经取代的杂环烷基 (例如, 3元至8元杂环烷基、3元至6元杂环烷基或5元至6元杂环烷基)。在实施方式中, Z^1 是经取代的 (例如, 被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 或未经取代的芳基 (例如, C_6 - C_{10} 芳基、 C_{10} 芳基或苯基)。在实施方式中, Z^1 是经取代的 (例如, 被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 芳基 (例如, C_6 - C_{10} 芳基、 C_{10} 芳基或苯基)。在实施方式中, Z^1 是未经取代的芳基 (例如, C_6 - C_{10} 芳基、 C_{10} 芳基或苯基)。在实施方式中, Z^1 是经取代的 (例如, 被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 或未经取代的杂芳基 (例如, 5元至10元杂芳基、5元至9元杂芳基或5元至6元杂芳基)。在实施方式中, Z^1 是经取代的 (例如, 被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 杂芳基 (例如, 5元至10元杂芳基、5元至9元杂芳基或5元至6元杂芳基)。在实施方式中, Z^1 是未经取代的杂芳基 (例如, 5元至10元杂芳基、5元至9元杂芳基或5元至6元杂芳基)。

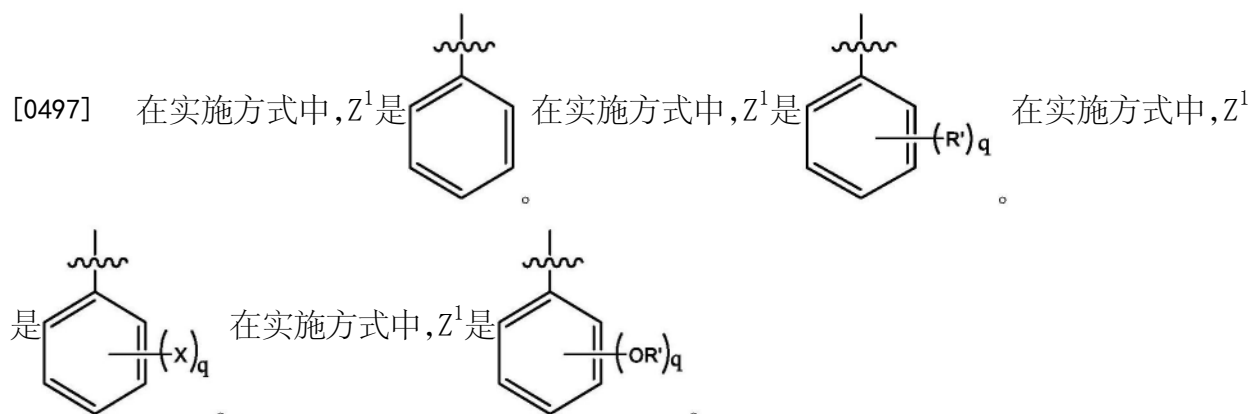
[0493] 在实施方式中, Z^1 是  其中

每个 X 独立地是 Cl、Br、I 或 F；每个 R' 独立地是 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 或 $-CH_2CH_2CH_3$ ；并且 q 是 1 至 5 的整数。

[0494] 在实施方式中, q 是 1。在实施方式中, q 是 2。在实施方式中, q 是 3。在实施方式中, q 是 4。在实施方式中, q 是 5。

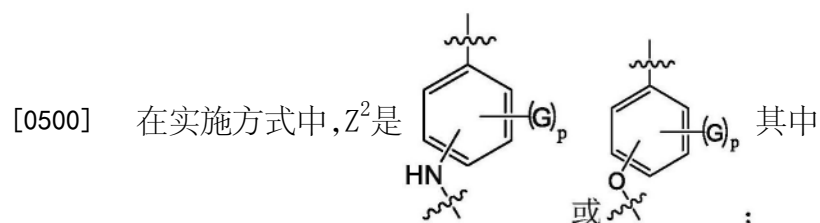
[0495] 在实施方式中, X 是 Cl。在实施方式中, X 是 Br。在实施方式中, X 是 I。在实施方式中, X 是 F。

[0496] 在实施方式中, R' 是 -CH₃。在实施方式中, R' 是 -CH₂CH₃。在实施方式中, R' 是 -CH₂CH₂CH₃。



[0498] 在实施方式中, Z² 是经取代的 (例如, 被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 或未经取代的亚环烷基 (例如, C₃-C₈亚环烷基、C₃-C₆亚环烷基或 C₅-C₆亚环烷基)。在实施方式中, Z² 是经取代的 (例如, 被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 或未经取代的亚杂环烷基 (例如, 3元至8元亚杂环烷基、3元至6元亚杂环烷基或5元至6元亚杂环烷基)。在实施方式中, Z² 是经取代的 (例如, 被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 或未经取代的亚芳基 (例如, C₆-C₁₀亚芳基、C₁₀亚芳基或亚苯基)。在实施方式中, Z² 是经取代的 (例如, 被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 或未经取代的亚杂芳基 (例如, 5元至10元亚杂芳基、5元至9元亚杂芳基或5元至6元亚杂芳基)。

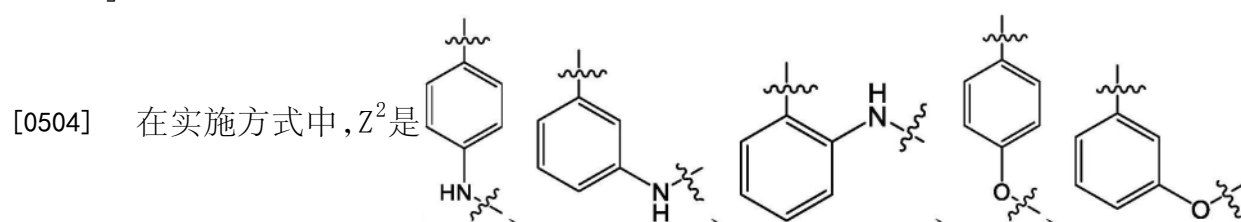
[0499] 在实施方式中, Z² 是未经取代的亚芳基。

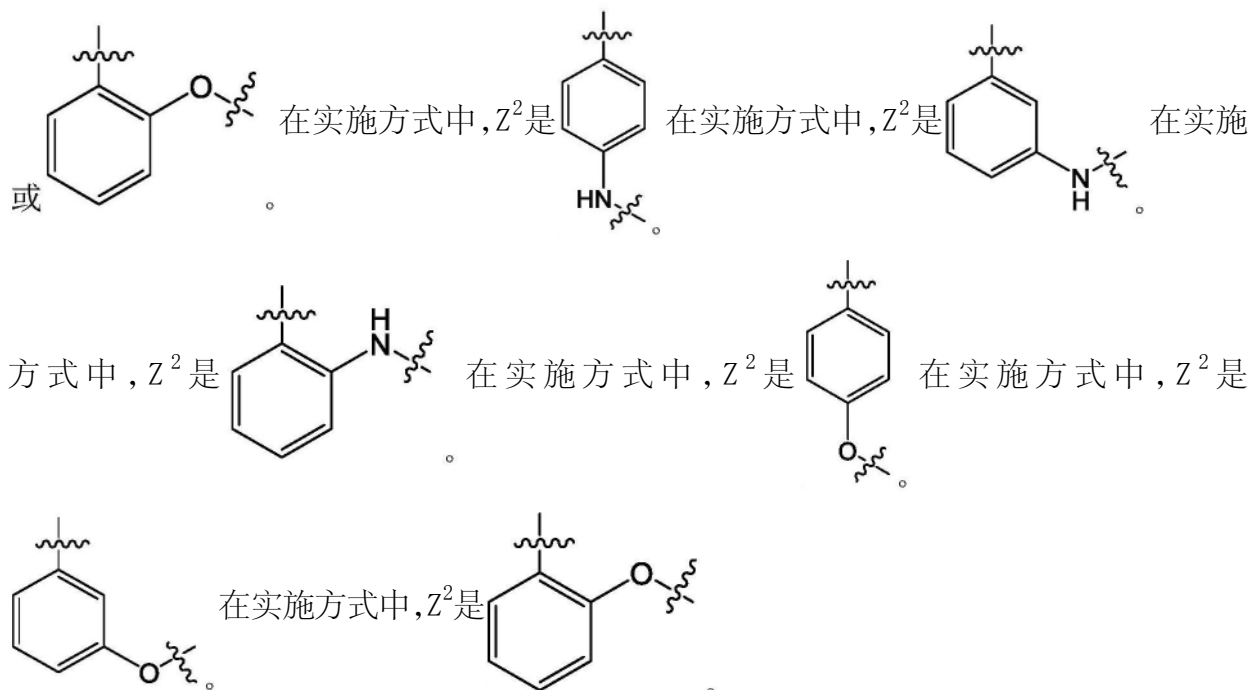


[0501] 每个 G 独立地是 Cl、Br、I、F、-CH₃、-CH₂CH₃、-CH₂CH₂CH₃、-OCH₃、-OCH₂CH₃、-OH 或 -NH₂; 并且 p 是 0 至 4 的整数。

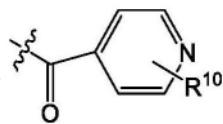
[0502] 在实施方式中, p 是 0。在实施方式中, p 是 1。在实施方式中, p 是 2。在实施方式中, p 是 3。在实施方式中, p 是 4。

[0503] 在实施方式中, G 是 Cl。在实施方式中, G 是 Br。在实施方式中, G 是 I。在实施方式中, G 是 F。在实施方式中, G 是 -CH₃。在实施方式中, G 是 -CH₂CH₃。在实施方式中, G 是 -CH₂CH₂CH₃。在实施方式中, G 是 -OCH₃。在实施方式中, G 是 -OCH₂CH₃。在实施方式中, G 是 -OH。在实施方式中, G 是 -NH₂。





[0505] 在实施方式中, R^6 是 H、经取代或未经取代的烷基、经取代或未经取代的环烷基、经取代或未经取代的杂环烷基、经取代或未经取代的芳基、经取代或未经取代的杂芳基、-CO

$(CH_2CH_2O)_wCH_2CH_2Y$ 、 $-CONH(CH_2CH_2O)_wCH_2CH_2Y$ 、 带电荷的基团或糖衍生物, w

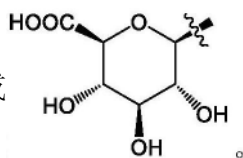
是 1 至 24 的整数; Y 是 $-NH_2$ 、 $-OH$ 、 $-COOH$ 或 $-OCH_3$; R^{10} 是 $-OH$ 、 $-OCH_3$ 或 $-COOH$ 。

[0506] 在实施方式中, R^6 是 H 或经取代的 (例如, 被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 或未经取代的烷基 (例如, C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_4 烷基)、经取代的 (例如, 被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 或未经取代的环烷基 (例如, C_3 - C_8 环烷基、 C_3 - C_6 环烷基或 C_5 - C_6 环烷基)、经取代的 (例如, 被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 或未经取代的杂环烷基 (例如, 3 元至 8 元杂环烷基、3 元至 6 元杂环烷基或 5 元至 6 元杂环烷基)、经取代的 (例如, 被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 或未经取代的芳基 (例如, C_6 - C_{10} 芳基、 C_{10} 芳基或苯基)、经取代或未经取代的杂芳基 (例如, 5 元至 10 元杂芳基、5 元至 9 元杂芳基或 5 元至 6 元杂芳基) 或糖衍生物。

[0507] 在实施方式中, R^6 是 H、经取代的 (例如, 被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 或未经取代的杂环烷基 (例如, 3 元至 8 元杂环烷基、3 元至 6 元杂环烷基或 5 元至 6 元杂环烷基)。在实施方式中, R^6 是经取代的 (例如, 被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 杂环烷基 (例如, 3 元至 8 元杂环烷基、3 元至 6 元杂环烷基或 5 元至 6 元杂环烷基)。在实施方式中, R^6 是未经取代的杂环烷基 (例如, 3 元至 8 元杂环烷基、3 元至 6 元杂环烷基或 5 元至 6 元杂环烷基)。

[0508] 在实施方式中, R^6 是 H 或经取代的 (例如, 被取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 杂环烷基 (例如, 3 元至 8 元杂环烷基、3 元至 6 元杂环烷基或 5 元至 6 元杂环烷基)。

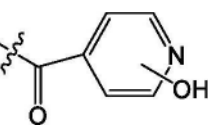
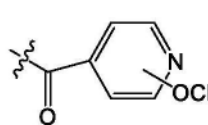
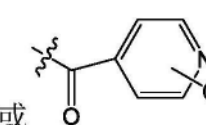
[0509] 在实施方式中, R^6 是 H 或

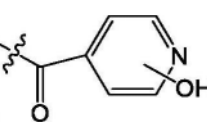
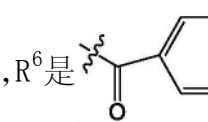


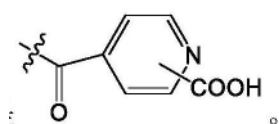
[0510] 在实施方式中, R^6 是 $-CO(CH_2CH_2O)_wCH_2CH_2Y$ 或 $-CONH(CH_2CH_2O)_wCH_2CH_2Y$, 其中 w 是 1 至 24 的整数并且 Y 是 $-NH_2$ 、 $-OH$ 、 $-COOH$ 或 $-OCH_3$ 。在实施方式中, R^6 是 $-CO(CH_2CH_2O)_wCH_2CH_2NH_2$ 。在实施方式中, R^6 是 $-CO(CH_2CH_2O)_wCH_2CH_2OH$ 。在实施方式中, R^6 是 $-CO(CH_2CH_2O)_wCH_2CH_2COOH$ 。在实施方式中, R^6 是 $-CO(CH_2CH_2O)_wCH_2CH_2OCH_3$ 。在实施方式中, R^6 是 $-CONH(CH_2CH_2O)_wCH_2CH_2NH_2$ 。在实施方式中, R^6 是 $-CONH(CH_2CH_2O)_wCH_2CH_2OH$ 。在实施方式中, R^6 是 $-CONH(CH_2CH_2O)_wCH_2CH_2COOH$ 。在实施方式中, R^6 是 $-CONH(CH_2CH_2O)_wCH_2CH_2OCH_3$ 。

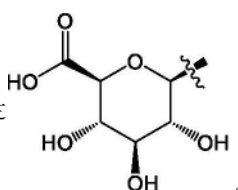
[0511] 在实施方式中, w 是 1 至 24 的整数。在实施方式中, w 是 1。在实施方式中, w 是 2。在实施方式中, w 是 3。在实施方式中, w 是 4。在实施方式中, w 是 5。在实施方式中, w 是 6。在实施方式中, w 是 7。在实施方式中, w 是 8。在实施方式中, w 是 9。在实施方式中, w 是 10。在实施方式中, w 是 11。在实施方式中, w 是 12。在实施方式中, w 是 13。在实施方式中, w 是 14。在实施方式中, w 是 15。在实施方式中, w 是 16。在实施方式中, w 是 17。在实施方式中, w 是 18。在实施方式中, w 是 19。在实施方式中, w 是 20。在实施方式中, w 是 21。在实施方式中, w 是 22。在实施方式中, w 是 23。在实施方式中, w 是 24。

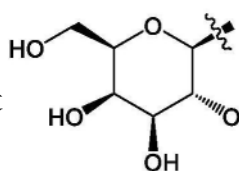
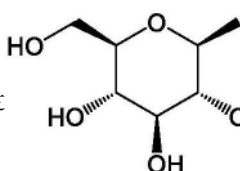
[0512] 在实施方式中, Y 是 $-NH_2$ 、 $-OH$ 、 $-COOH$ 或 $-OCH_3$ 。在实施方式中, Y 是 $-NH_2$ 。在实施方式中, Y 是 $-OH$ 。在实施方式中, Y 是 $-COOH$ 。在实施方式中, Y 是 $-OCH_3$ 。

[0513] 在实施方式中, R^6 是 、 或 。在实

施方式中, R^6 是 。在实施方式中, R^6 是 。在实施方式中, R^6 是



[0514] 在实施方式中, R^6 是糖衍生物。在实施方式中, R^6 是 。在实施方式

中, R^6 是 。在实施方式中, R^6 是 。

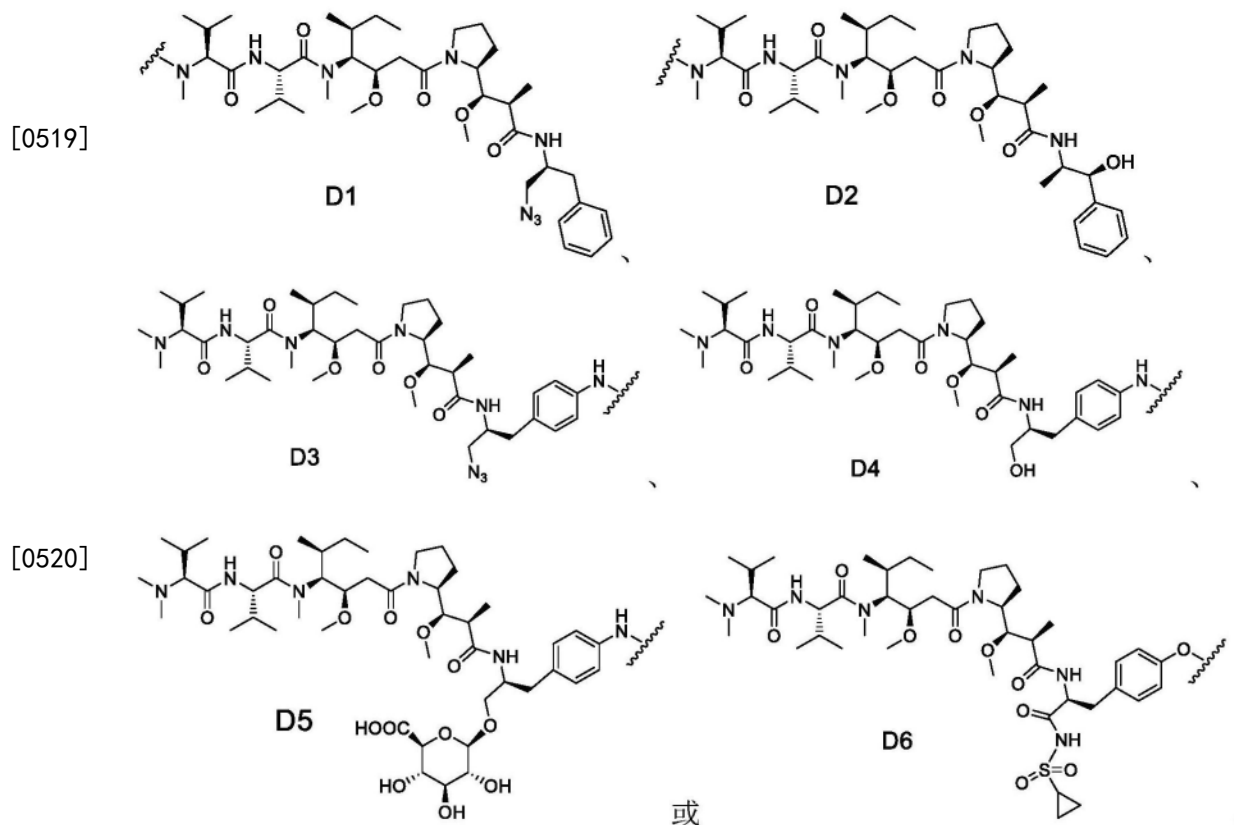
[0515] 在实施方式中, 每个 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{4A} 和 R^{4B} 独立地是 H 或经取代或未经取代的烷基 (例如, C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_4 烷基)。

[0516] 在实施方式中, 每个 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{4A} 和 R^{4B} 独立地是 H 或经取代的 (例如, 被至少一个取代

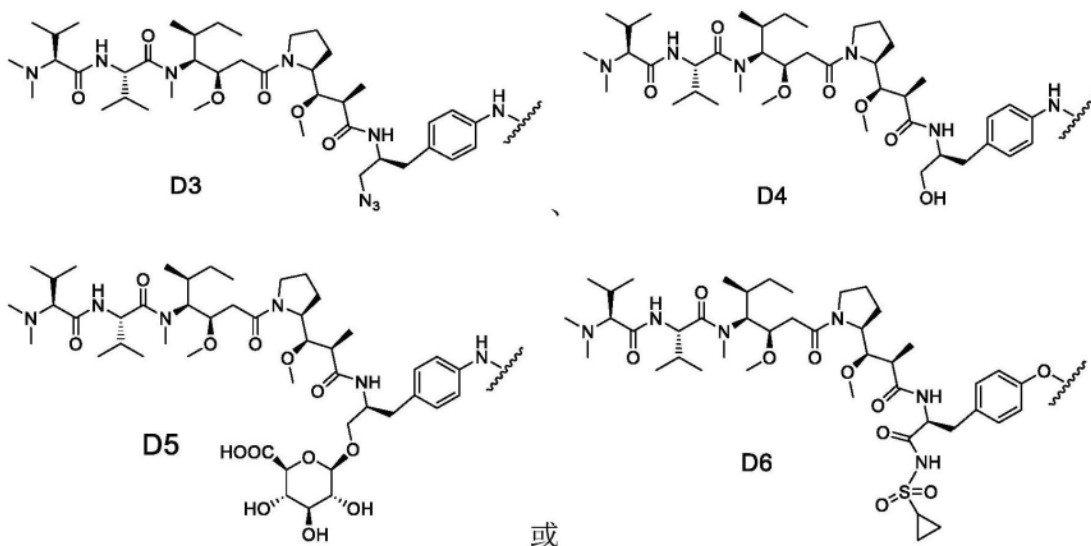
基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 或未经取代的烷基(例如, C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_4 烷基)。在实施方式中, 每个 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{4A} 和 R^{4B} 独立地是H。在实施方式中, 每个 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{4A} 和 R^{4B} 独立地是经取代的(例如, 被至少一个取代基、尺寸受限的取代基或低级取代基取代的) 烷基(例如, C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_4 烷基)。在实施方式中, 每个 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{4A} 和 R^{4B} 独立地是未经取代的烷基(例如, C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_4 烷基)。

[0517] 在实施方式中, 每个 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{4A} 和 R^{4B} 独立地是H、甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基或戊基。在实施方式中, 每个 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{4A} 和 R^{4B} 独立地是H。在实施方式中, 每个 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{4A} 和 R^{4B} 独立地是甲基。在实施方式中, 每个 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{4A} 和 R^{4B} 独立地是乙基。在实施方式中, 每个 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{4A} 和 R^{4B} 独立地是丙基。在实施方式中, 每个 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{4A} 和 R^{4B} 独立地是异丙基。在实施方式中, 每个 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{4A} 和 R^{4B} 独立地是丁基。在实施方式中, 每个 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{4A} 和 R^{4B} 独立地是异丁基。在实施方式中, 每个 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{4A} 和 R^{4B} 独立地是叔丁基。在实施方式中, 每个 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{4A} 和 R^{4B} 独立地是戊基。

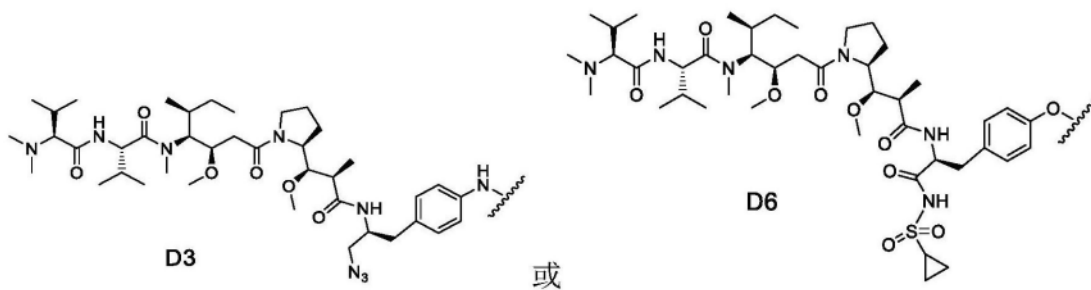
[0518] 在实施方式中, D是:



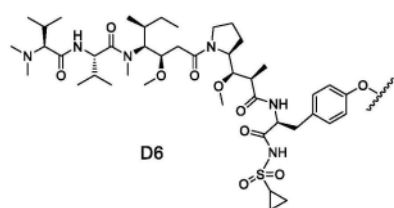
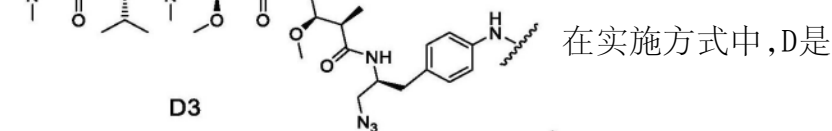
[0521] 在实施方式中, D是:



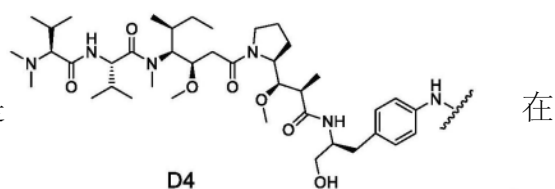
[0522] 在实施方式中,D是:



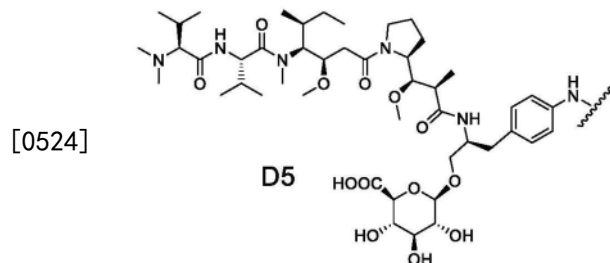
[0523] 在实施方式中,D是:



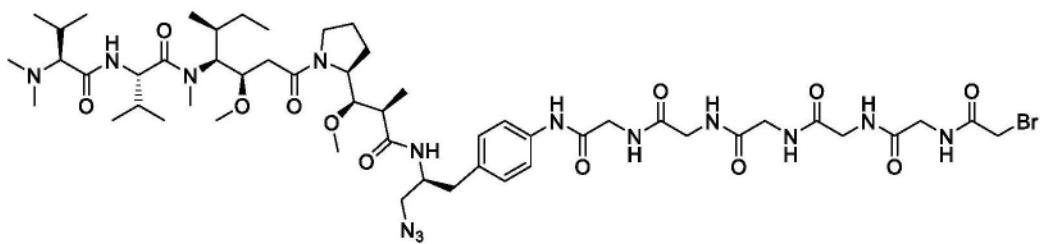
在实施方式中,D是



实施方式中,D是

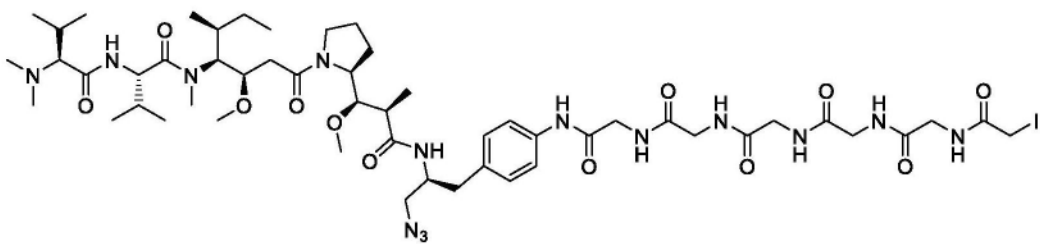


[0525] 在实施方式中,式 (P-I) 的分子是下式的分子:

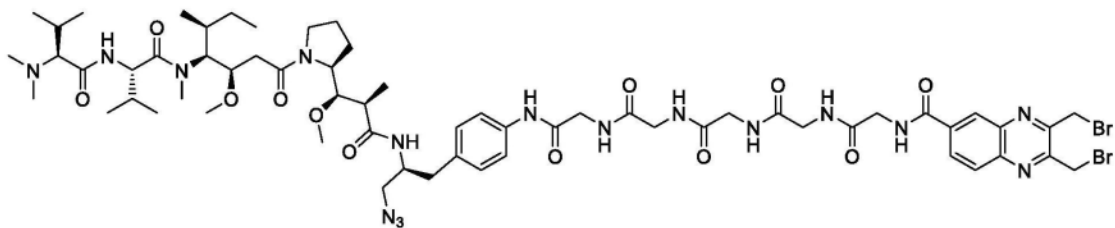


[0526]

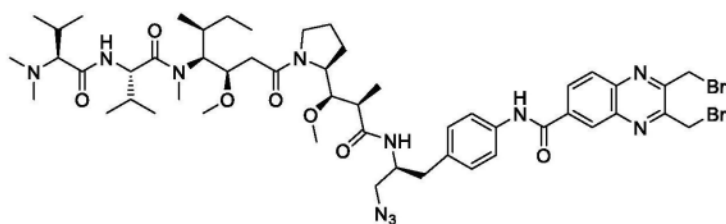
1



2

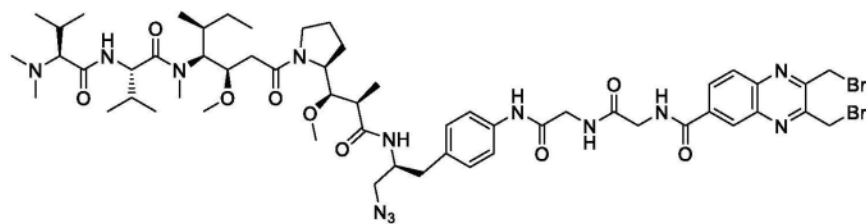


3

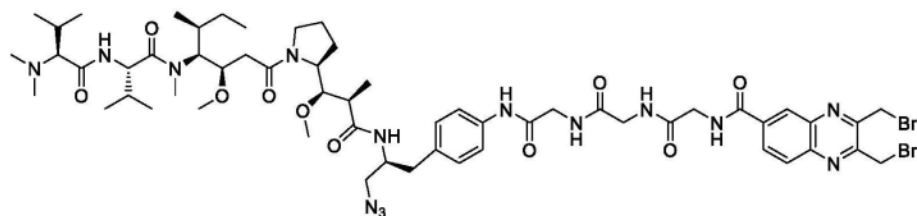


4

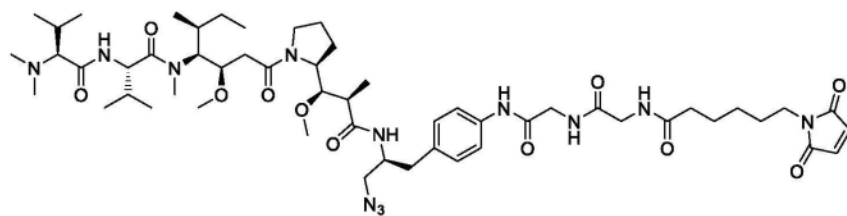
[0527]



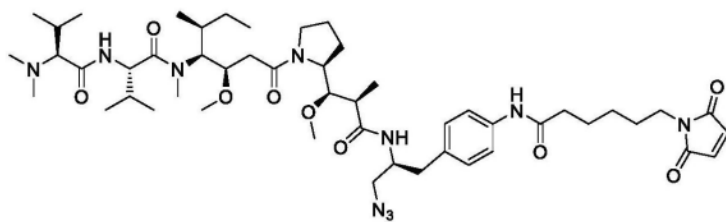
5



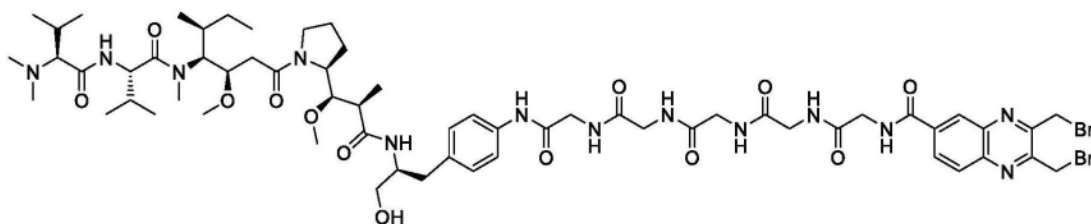
6



7

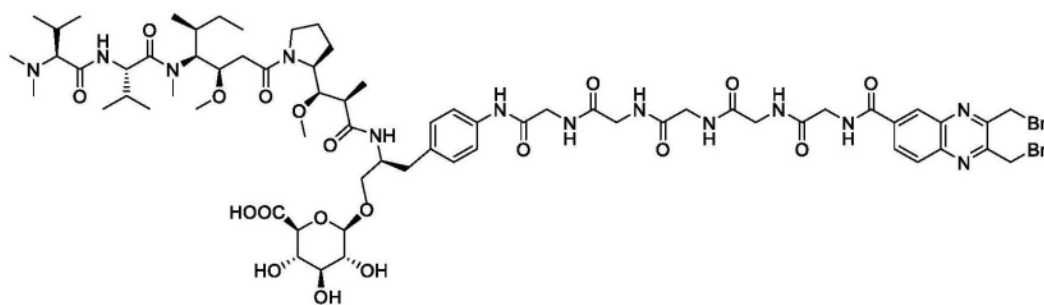


8

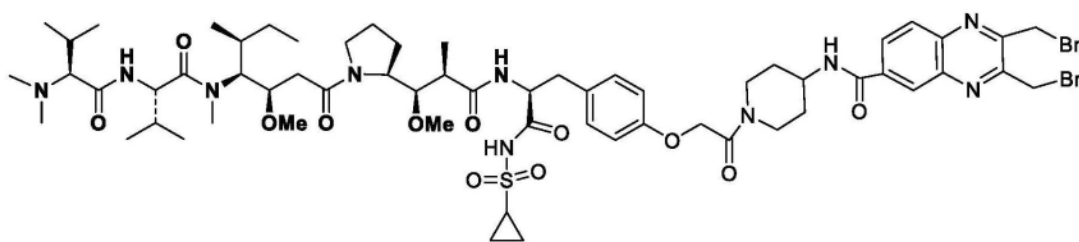


9

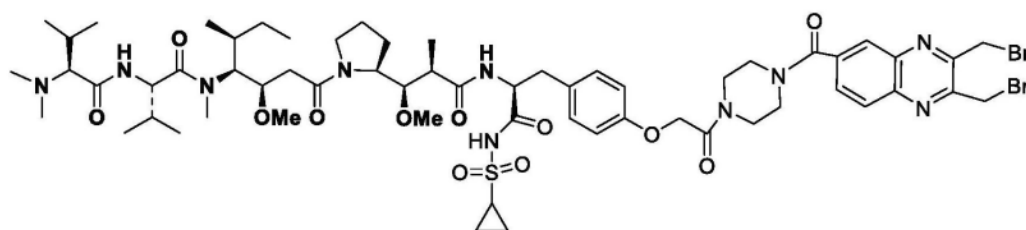
[0528]



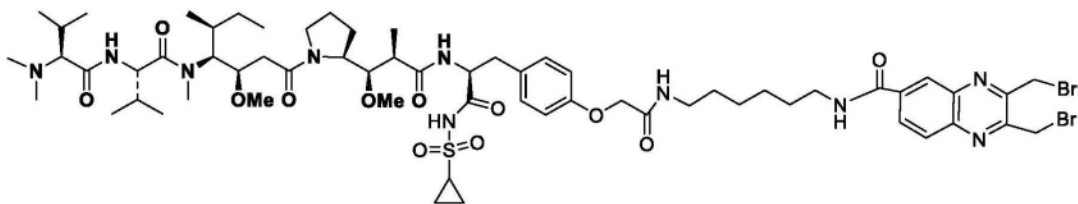
10



50



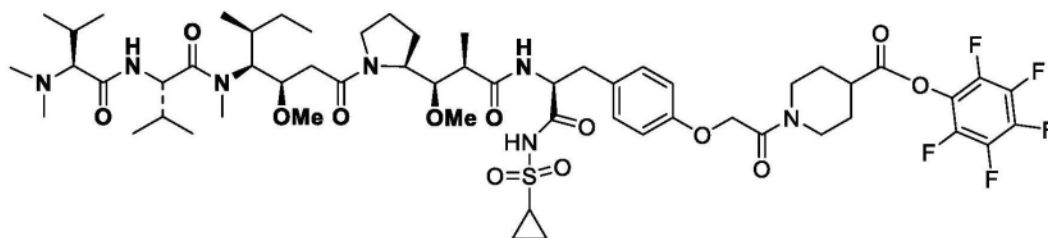
51



或

[0529]

52



53

[0530] 或其药学上可接受的盐。

[0531] 药物组合物

[0532] 一方面,本文提供了一种药物组合物,其包含如本文所描述的ADC,包含实施方式,以及药学上可接受的载体。在实施方式中,如本文所描述的ADC以治疗有效量被包含在内。

[0533] 在实施方式中,所述药物组合物被调配为如本文所描述的片剂、粉剂、胶囊、丸剂、扁囊剂或锭剂。所述药物组合物可以被调配为用于口服施用的片剂、胶囊、丸剂、扁囊剂或锭剂。所述药物组合物可以被调配成溶解在溶液中,用于通过例如静脉内施用的技术进行施用。如本文所描述,所述药物组合物可以被调配用于口服施用、栓剂施用、局部施用、静脉内施用、腹膜内施用、肌肉内施用、病变内施用、鞘内施用、鼻内施用、皮下施用、植入、透皮施用或经粘膜施用。

[0534] 所述ADC和其药物组合物特别适用于肠胃外施用,即皮下(s.c.)、鞘内、腹膜内、肌肉内(i.m.)或静脉内(i.v.)。在实施方式中,所述ADC和其药物组合物通过静脉或皮下施用。

[0535] 所述组合物可以含有接近生理条件所需的药学上可接受的辅助物质,如pH调节剂和缓冲剂等。本发明的抗原结合蛋白在此类药物调配物中的浓度可以变化很大,即从小于约0.5重量%,通常为或至少约1重量%至高达约15重量%或20重量%,并且将根据所选择的特定施用模式主要基于流体体积、粘度等来选择。

[0536] 用于制备可胃肠外施用的组合物的实际方法是本领域的技术人员已知的或将显而易见的,并且更详细地描述于例如《雷明顿药物科学(Remington's Pharmaceutical Science)》,第15版,宾夕法尼亚州伊斯顿市,马克出版公司(Mack Publishing Company, Easton, Pa.)。关于本发明的可静脉施用的抗原结合蛋白制剂的制备,参见Lasmar U和Parkins D“生物制药产品的调配物(The formulation of Biopharmaceutical products)”,《今日制药科学与技术(Pharma.Sci.Tech.today)》,第129-137页,第3卷(2000年4月3日);Wang, W“液体蛋白质药物的不稳定性、稳定性和提调配(Instability, stabilisation and formulation of liquid protein pharmaceuticals)”,《国际药剂学

杂志 (Int. J. Pharm 185)》(1999) 129-188; 蛋白质药物的稳定性A和B部分 (Stability of Protein Pharmaceuticals Part A and B) 编辑 Ahern T.J., Manning M.C., 纽约州, 纽约, 普莱纽姆出版社 (New York, N.Y.: Plenum Press) (1992); Akers, M.J. “肠胃外调配物中赋形剂-药物相互作用 (Excipient-Drug interactions in Parenteral Formulations)”, 《药物科学杂志 (J. Pharm Sci)》91 (2002) 2283-2300; Imamura, K 等人 “糖的种类对干燥状态下蛋白质稳定性的作用 (Effects of types of sugar on stabilization of Protein in the dried state)”, 《药物科学杂志》92 (2003) 266-274; Izutsu, K, Kojima, S. “赋形剂结晶度和其在冷冻干燥期间的蛋白质结构稳定作用 (Excipient crystallinity and its protein-structure-stabilizing effect during freeze-drying)”, 《药理学和药理学杂志 (J. Pharm. Pharmacol)》, 54 (2002) 1033-1039; Johnson, R, “甘露醇-蔗糖混合物-蛋白质过氧化物酶19g19n的通用调配物 (Mannitol-sucrose mixtures-versatile formulations for protein peroxidase 19g19n)”, 《药物科学杂志》, 91 (2002) 914-922; 以及 Ha, E, Wang W, Wang Y. j. “聚山梨醇酯80中过氧化物形成与蛋白质稳定性 (Peroxide formation in polysorbate 80 and protein stability)”, 《药物科学杂志》, 91, 2252-2264, (2002), 所述文献的全部内容通过引用并入本文并且读者可以特别参考所述文献。

[0537] 在实施方式中, 所述药物组合物可以包含本文所描述的化合物的光学异构体、非对映异构体、对映异构体、异构体、多晶型物、水合物、溶剂化物或产物、或药学上可接受的盐。如上文所描述, 包含在所述药物组合物中的本文所描述的化合物 (包含其药学上可接受的盐) 可以与载体部分共价连接。在实施方式中, 包含在所述药物组合物中的本文所描述的化合物 (包含其药学上可接受的盐) 不与载体部分共价连接。本文所描述的共价和非共价连接的化合物的组合可以处于本文的药物组合物中。

[0538] 使用方法

[0539] 一方面, 本文提供了治疗有需要的受试者的疾病的方法, 所述方法包括施用有效量的抗体药物缀合物 (ADC), 所述ADC包含IgG抗体、缀合连接子部分 (L^1), 所述缀合连接子部分与所述IgG抗体的半胱氨酸残基的巯基或赖氨酸残基的氨基结合, 并且与和 L^1 或任选地另一个连接子 L^2 共价结合的药物部分结合。在实施方式中, 所述IgG抗体与BCMA结合。

[0540] 一方面, 本文所提供的ADC用于抑制表达BCMA的细胞的增殖的方法, 所述方法包括在允许ADC的抗BCMA抗体结合在所述细胞的表面的条件下将所述细胞暴露于所述ADC, 由此抑制所述细胞的增殖。在实施方式中, 所述方法是体外或体内方法。在实施方式中, 所述细胞是B细胞。

[0541] 可以使用可从普洛麦格公司 (Promega) (威斯康星州麦迪逊 (Madison, WI)) 商购获得的CellTiter-GloTM 发光细胞活力测定来测定体外细胞增殖的抑制。所述测定基于存在的ATP (其是代谢活性细胞的指标) 的定量来确定培养物中活细胞的数量。参见Crouch等人 (1993) 《免疫学方法杂志 (J. Immunol. Meth.)》160: 81-88; 美国专利第6602677号。所述测定可以在96孔或384孔形式中进行, 使其适合自动化高通量筛选 (HTS)。参见Cree等人 (1995) 《抗癌药物 (AntiCancer Drugs)》6: 398-404。测定程序涉及将单一试剂 (CellTiter-Glo[®] 试剂) 直接添加到培养的细胞中。这导致细胞溶解并且产生由荧光素酶反应产生的发光信号。发光信号与存在的ATP的量 (其与培养物中存在的活细胞的数量成正比) 成比例。数据可以由光度计或CCD照相机成像装置记录。发光输出以相对光单位 (RLU) 形式表示。

[0542] 另一方面,提供了一种用作药物的ADC。在另外的方面,提供了一种用于治疗方法的ADC。另一方面,本文提供了一种治疗有需要的受试者的疾病的方法,所述方法包含施用有效量的如本文所描述的ADC的药物组合物。

[0543] 在实施方式中,所述疾病是癌症。在实施方式中,所述癌症与BCMA的过表达相关。在实施方式中,本文提供了一种用于治疗患有表达BCMA的癌症的个体的方法中的ADC,所述方法包括对向所述个体施用有效量的所述ADC。在一个此类实施方式中,所述方法进一步包括向个体施用有效量的至少一种另外的治疗剂。

[0544] 在另外的方面,本公开提供了ADC在制造或制备药物中的用途。在实施方式中,所述药物用于治疗表达BCMA的癌症。在另一实施方式中,药剂是用于在治疗表达BCMA的癌症的方法中使用,所述方法包括向患有表达BCMA的癌症的个体施用有效量的药物。在一个此类实施方式中,所述方法进一步包括向个体施用有效量的至少一种另外的治疗剂。

[0545] 在实施方式中,本文提供的方法用于治疗哺乳动物的癌症。在实施方式中,本文提供的方法用于治疗人的癌症。

[0546] 在实施方式中,所述癌症是选自以下组成的组的B细胞介导的或浆细胞介导的疾病或抗体介导的疾病或病症:多发性骨髓瘤(MM)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、非分泌性多发性骨髓瘤、隐匿性多发性骨髓瘤、意义未明的单克隆丙种球蛋白病(MGUS)、孤立性浆细胞瘤(骨、髓外)、淋巴浆细胞淋巴瘤(LPL)、华氏巨球蛋白血症、浆细胞白血病-原发性淀粉样变性(AL)、重链疾病、系统性红斑狼疮(SLE)、POEMS综合征/骨硬化性骨髓瘤、I型和II型冷球蛋白血症、轻链沉积病、古德帕斯彻综合征、特发性血小板减少性紫癜(ITP)、急性肾小球肾炎、天疱疮和类天疱疮疾病以及获得性大疱性表皮松解症;或任何具有BCMA表达的非霍奇金淋巴瘤B细胞白血病或霍奇金氏淋巴瘤(HL)。

[0547] 在实施方式中,所述癌症选自以下组成的组:多发性骨髓瘤(MM)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、孤立性浆细胞瘤(骨、髓外)和华氏巨球蛋白血症。

[0548] 在实施方式中,所述癌症是多发性骨髓瘤(MM)。

[0549] 序列表:

[0550] 人BCMA序列SEQ ID NO:16

[0551] MLQMAGQCSQNEYFDSLHACIPCQLRCSSNTPLTTCQRYCNASVTNSVKGTNAILWTCLGLSLIISLAVFVLMFLLRKINSEPLKDEFKNTGSGLLGMANIDLEKSRTGDEIILPRGLEYTVEECTCEDCIKSKPKVDS DHCFPLPAMEEGATILVTTKTNDYCKSLPAALSATEIEKSISAR.

[0552] 序列表

[0553] 表2:

	轻链可变区:	重链可变区:
[0554]	BCA7-2C5 SEQ ID NO: 7 QSVLTQPASVSGSPGQSVTISCTGTSSAH GGHYYVSWYQQHPGKAPKLMYDVSN	BCA7-2C5 SEQ ID NO: 8 EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFT SSTAWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKS

	RPSGVSNRFGSGSKSGNTASLTISGLQAED EADYYCGSYTSSGSYVFGTGTKLTVL	DGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLFL QMNSLKTEDTAVYYCAKGGGTYGYWG QGTTVTVSS
[0555]	BCA7-2E1 SEQ ID NO: 15 QSALTQPASVSGSPGQSVTISCTGTSSDG GGHTYVSWYQQHPGKAPKLMYDVSNR PSWVSNRFGSGSKSGNTASLTISGLQAED ADYYCGSYTSSGSYVFGTGTKLTVL	BCA7-2E1 SEQ ID NO: 8 EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFT SSTAWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKS DGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLFL QMNSLKTEDTAVYYCAKGGGTYGYWG QGTTVTVSS

[0556] 表3:

	CDR 1、2 和 3:	
	<u>BCA7-2C5:</u> 2C5 (VL-CDR1) SEQ ID NO: 1 TGTSSAHGGHYVVS 2C5 (VL-CDR2) SEQ ID NO: 2 DVSNRPS 2C5 (VL-CDR3) SEQ ID NO: 3 GSYTSSGSYV 2C5 (VH-CDR1) SEQ ID NO: 4 TAWMS 2C5 (VH-CDR2) SEQ ID NO: 5 RIKSKSDGGTTDYAAPVKG 2C5 (VH-CDR3) SEQ ID NO: 6 AKGGGTYGY	
[0557]	<u>BCA7-2E1:</u> 2E1 (VL-CDR1) SEQ ID NO: 9 TGTSSDGGGHTYVS 2E1 (VL-CDR2) SEQ ID NO: 10 DVSNRPS 2E1 (VL-CDR3) SEQ ID NO: 11 GSYTSSGSYV 2E1 (VH-CDR1) SEQ ID NO: 12 TAWMS 2E1 (VH-CDR2) SEQ ID NO: 13 RIKSKSDGGTTDYAAPVKG 2E1 (VH-CDR3) SEQ ID NO: 14 AKGGGTYGY	

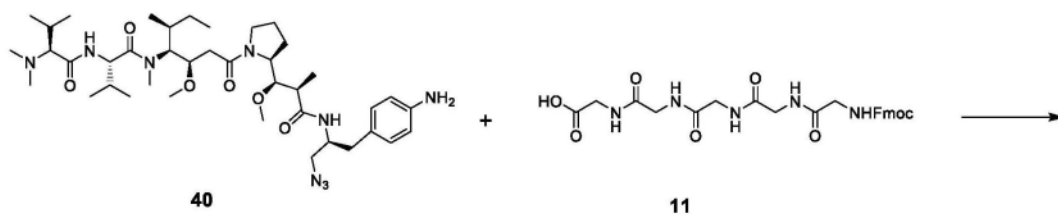
[0558] 实施例

[0559] 以下实施例旨在是说明性的并且可以用于进一步理解本公开的实施方式并且不应被解释为以任何方式限制本发明教导的范围。

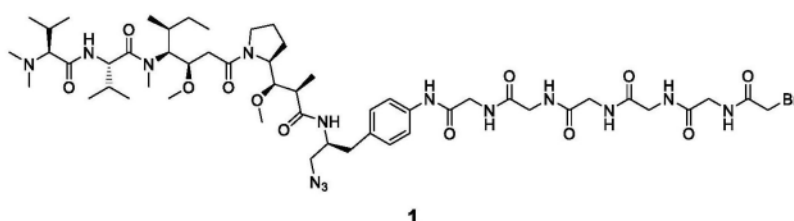
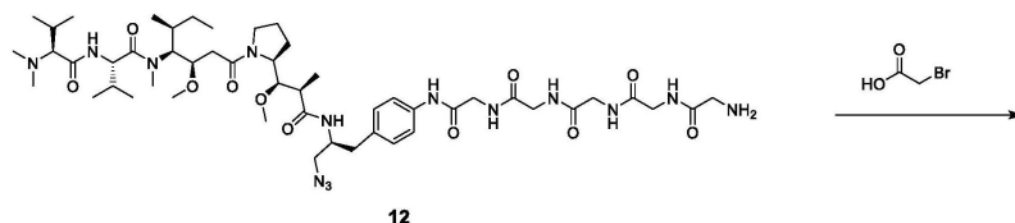
[0560] 实施例中描述的化学反应可以容易地适应于制备许多本公开的其它化合物,并且用于制备本公开的化合物的替代方法被视作在本公开的范围内。例如,通过对本领域技术人员而言显而易见的修饰,例如通过利用本领域已知的除所描述的试剂之外的其它合适的试剂或通过对反应条件、试剂和起始材料进行常规修改,可以成功地进行根据本公开的非示例性化合物的合成。可替代地,本文所公开或本领域中已知的其它反应将被认为适用于制备本公开的其它化合物。美国专利第10,590,165号和第9,981,046号中公开了化合物40和相关化合物的合成,所述美国专利整体并入本文中。

[0561] 合成实施例

[0562] 实施例S1:化合物1的合成



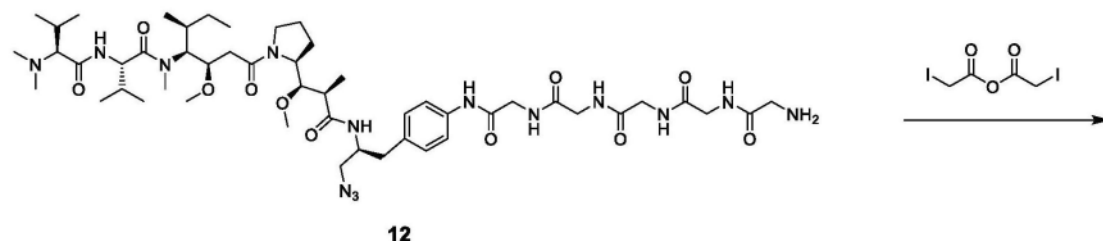
[0563]



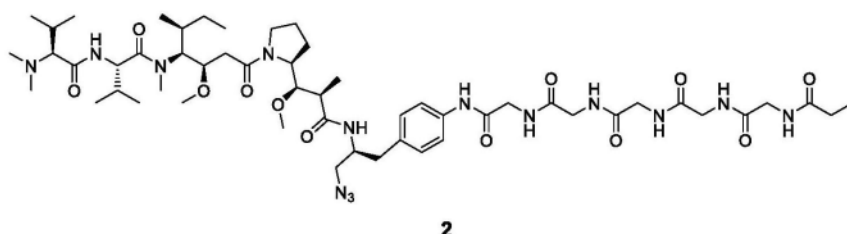
[0564] 向于2mL DMF中的化合物40 (TFA盐, 250mg, 0.25mmol) 中添加HATU (103mg, 0.27mmol)、DIEA (188μL, 1.08mmol) 和酸11 (142mg, 0.27mmol) 于2mL DMF中的溶液。将混合物搅拌30分钟, 然后添加160μL DBU并搅拌10分钟。混合物通过HPLC纯化, 以得到化合物12 (214mg)。MS m/z 1057.6 (M+H)。

[0565] 向于0.5mL DMF中的化合物12 (TFA盐, 6.2mg, 4.8μmol) 中添加溴乙酸 (1.5mg, 10.6μmol)、DIC (0.6mg, 4.8μmol) 和DIEA (4μL) 于0.5mL DCM中的溶液。将混合物搅拌5分钟, 然后通过HPLC纯化, 以得到化合物1 (2.9mg)。MS m/z 1177.6 (M+H)。

[0566] 实施例S2: 化合物2的合成

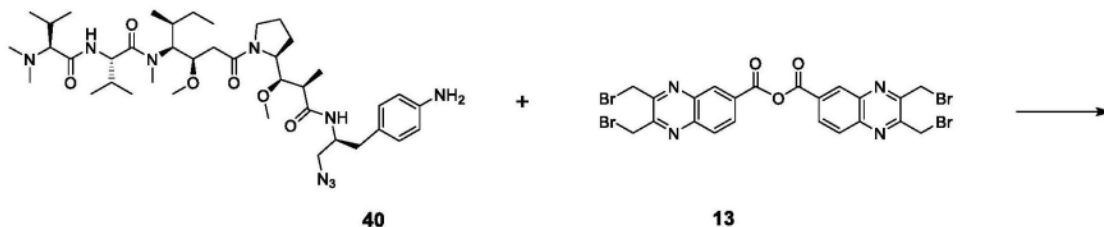


[0567]



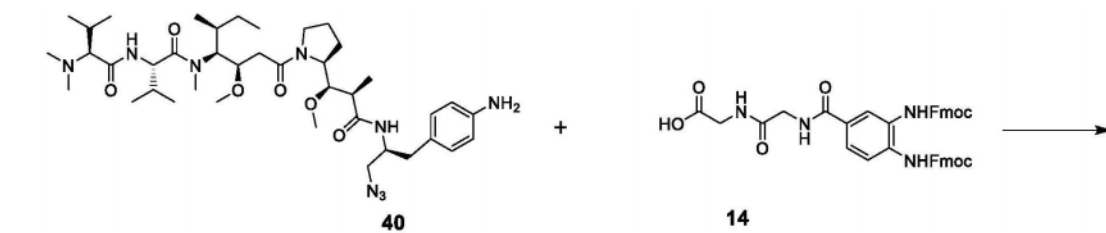
[0568] 向于0.5mL DMF中的化合物12 (TFA盐, 6.2mg, 4.8μmol) 中添加碘代乙酸酐 (2.0mg, 5.6μmol) 和DIEA (4μL) 于0.5mL DCM中的溶液。将混合物搅拌5分钟, 然后通过HPLC纯化, 以得到化合物2 (5.6mg)。MS m/z 1224.7 (M+H)。

[0572] 实施例S4:化合物4的合成

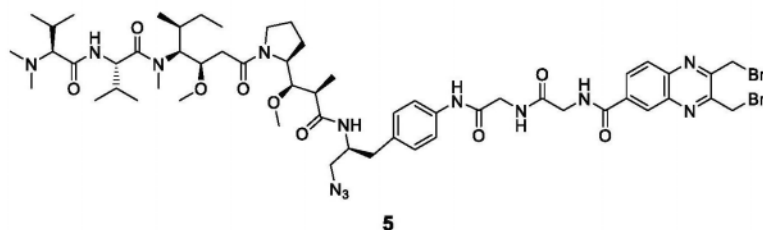
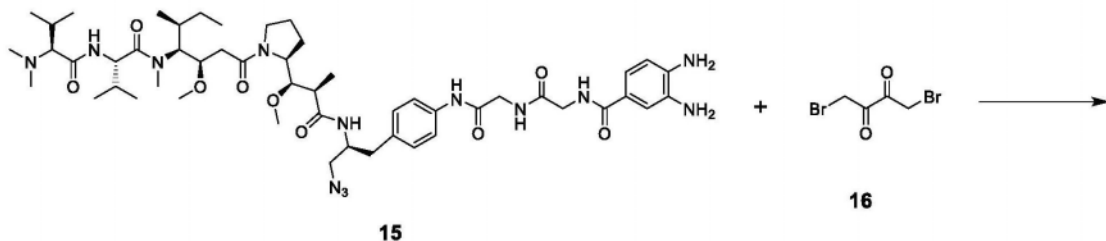
CN(C)C(=O)NC(=O)[C@H](C)C(=O)N[C@@H](CO)[C@H](CC)[C@H]1CCCC1C(=O)N[C@@H](C)[C@H](C)C(=O)N[C@@H](CN=[N+]=[N-])Cc2ccc(cc2)NC(=O)c3ccc4nc5c(ncn5Br)cc(Br)c4

4

[0575] 实施例S5:化合物5的合成



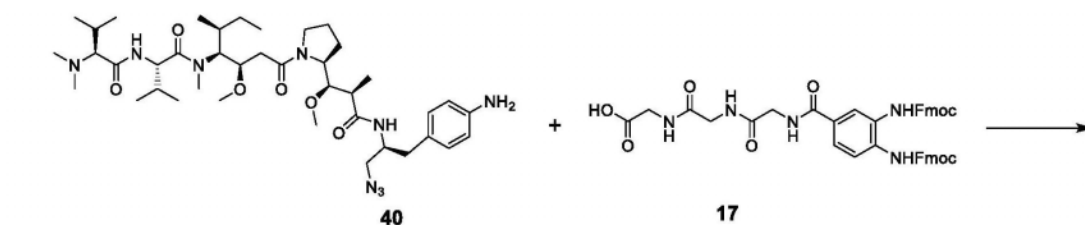
[0576]



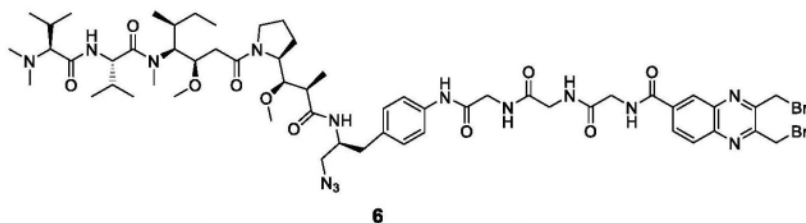
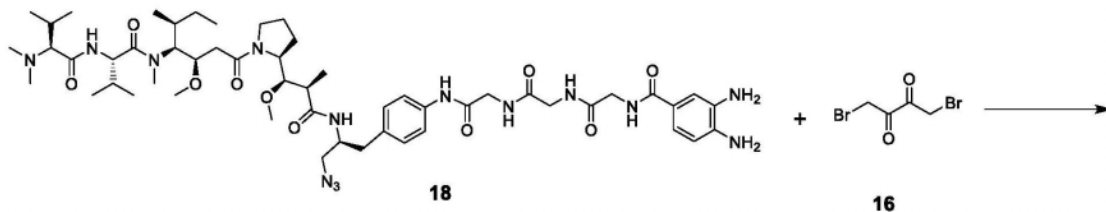
[0577] 向于2mL DMF中的化合物40(TFA盐, 57mg, 64.8 μ mol)中添加化合物14(55mg, 77.8 μ mol)、DIEA(34 μ L, 0.2mmol)和PyAOP(40mg, 76.8 μ mol)。将混合物搅拌10分钟,然后添加210 μ L哌啶并搅拌20分钟。混合物通过HPLC纯化,以得到化合物15(65mg)。MS m/z 1020.7 (M+H)。

[0578] 向于2mL乙腈和1mL水中的化合物15(TFA盐, 44mg, 35 μ mol)中添加溴化物16(17mg, 70 μ mol)。将混合物搅拌5分钟,然后通过HPLC纯化,以得到化合物5(47.9mg)。MS m/z 1226.6 (M+H)。

[0579] 实施例S6: 化合物6的合成



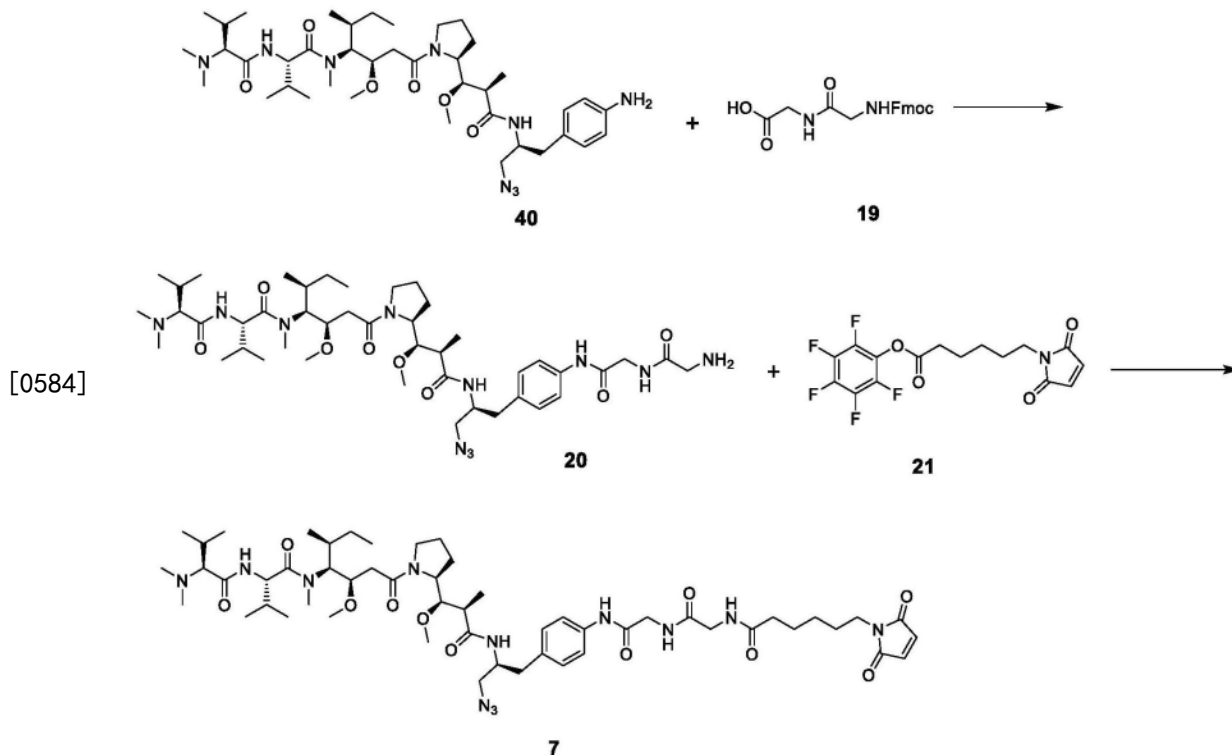
[0580]



[0581] 向于2mL DMF中的化合物40 (TFA盐, 57mg, 64.8 μ mol) 中添加化合物17 (60mg, 77.8 μ mol)、DIEA (34 μ L, 0.2mmol) 和PyAOP (40mg, 76.8 μ mol)。将混合物搅拌10分钟, 然后添加210 μ L哌啶并搅拌20分钟。混合物通过HPLC纯化, 以得到化合物18 (65mg)。MS m/z 1077.7 (M+H)。

[0582] 向于2mL乙腈和1mL水中的化合物18 (TFA盐, 43mg, 33 μ mol) 中添加溴化物16 (17mg, 70 μ mol)。将混合物搅拌10分钟, 然后通过HPLC纯化, 以得到化合物6 (37.1mg)。MS m/z 1226.6 (M+H)。

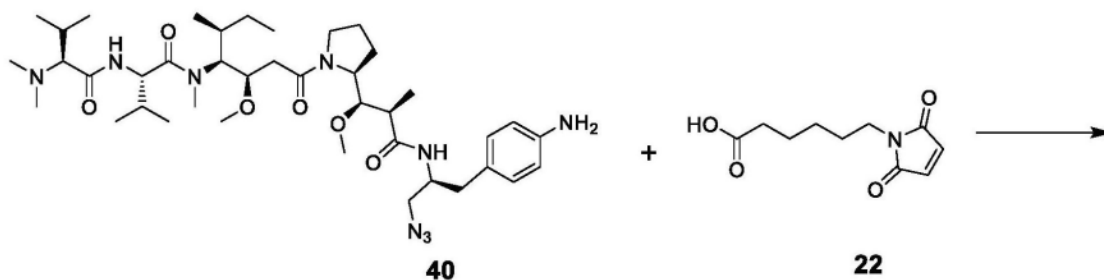
[0583] 实施例S7:化合物7的合成



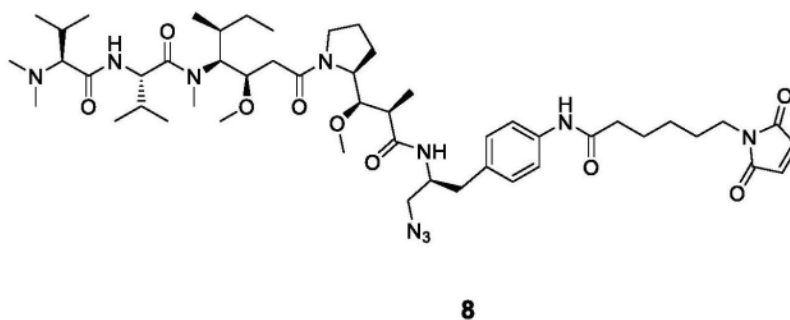
[0585] 向于1mL DMF中的化合物40 (TFA盐, 20mg, 20 μ mol) 中添加化合物19 (7.1mg, 20 μ mol)、DIEA (13.9 μ L, 80 μ mol) 和HATU (7.6mg, 20 μ mol) 于1mL DMF中的溶液。将混合物搅拌16小时, 然后添加20 μ L DBU并搅拌20分钟。混合物通过HPLC纯化, 以得到化合物20 (16.9mg)。MS m/z 886.6 (M+H)。

[0586] 向于2mL DMF中的化合物20 (TFA盐, 8.9mg, 8 μ mol) 中添加化合物21 (3.3mg, 8.8 μ mol)。将混合物搅拌5分钟, 然后通过HPLC纯化, 以得到化合物7 (8.7mg)。MS m/z 1079.7 (M+H)。

[0587] 实施例S8:化合物8的合成

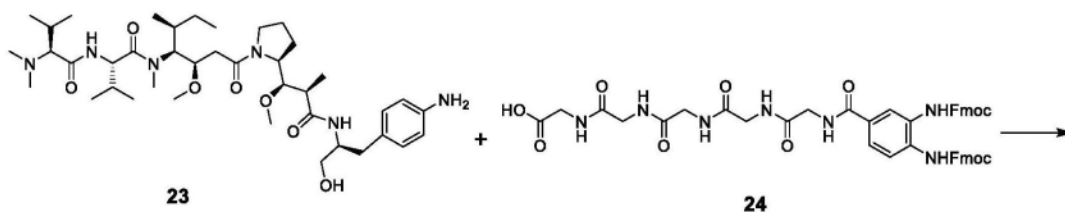


[0588]

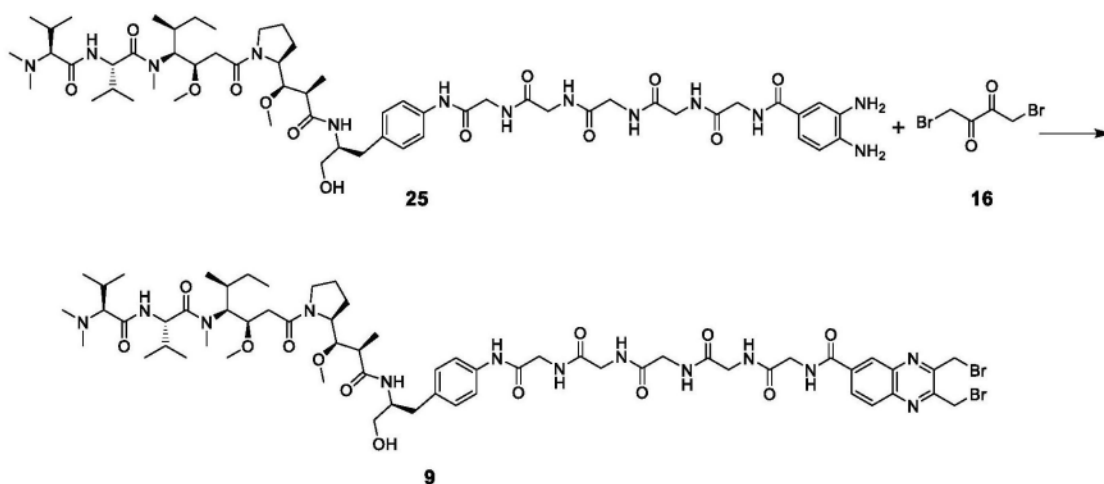


[0589] 向于2mL DMF中的化合物40 (TFA盐, 57mg, 64.8 μ mol) 中添加酸22 (16.4mg, 77.8 μ mol)、DIEA (34 μ L, 0.2mmol) 和PyAOP (40.5mg, 77.7 μ mol)。将混合物搅拌10分钟, 然后通过HPLC纯化, 以得到化合物8 (55.5mg)。MS m/z 965.6 (M+H)。

[0590] 实施例S9: 化合物9的合成



[0591]

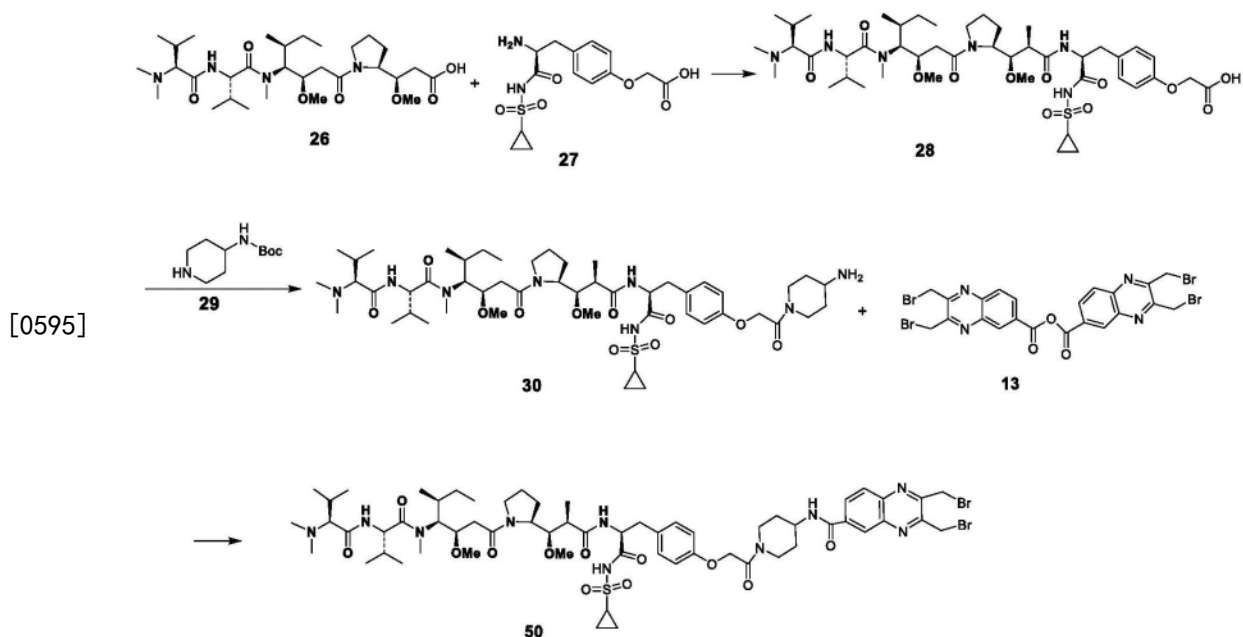


[0592] 向于2mL DMF中的化合物23 (TFA盐, 49mg, 50mmol) 中添加化合物24 (50mg, 57mmol)、DIEA (34mL, 0.2mmol) 和PyAOP (31mg, 60mmol)。将混合物在室温下搅拌10分钟, 然后添加200 μ L哌啶并搅拌20分钟。混合物通过HPLC纯化, 以得到化合物25 (43mg)。

[0593] 向于2mL乙腈和1mL水中的化合物25 (TFA盐, 40mg) 中添加溴化物16 (17mg,

70mmol)。将混合物搅拌10分钟,然后通过HPLC纯化,以得到化合物9(32mg)。MS m/z 1373.5 (M+H)。

[0594] 实施例S10:化合物50的合成

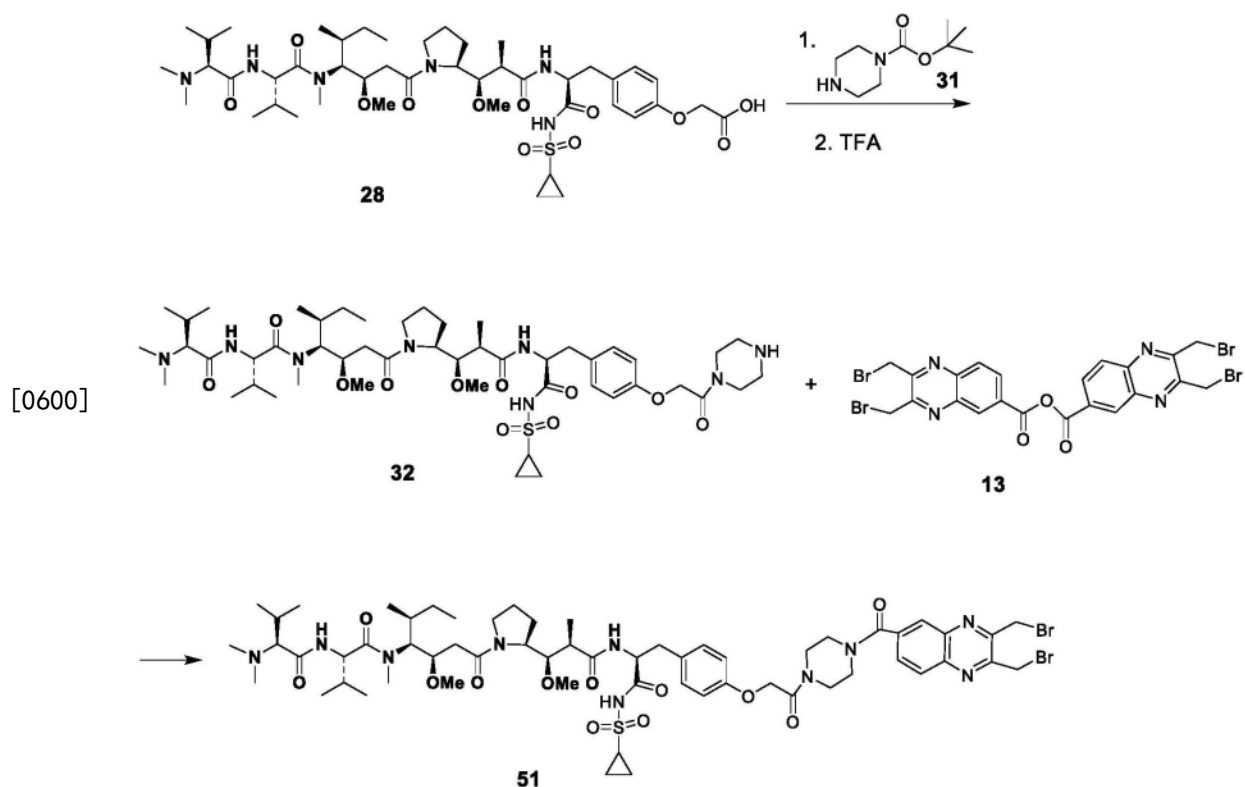


[0596] 向于2mL DMF中的化合物26的TFA盐(100mg, 0.14mmol)中添加HATU(53mg, 0.14mmol)和DIEA(22mg, 0.19mmol),搅拌,随后添加化合物27(64mg, 0.14mmol)。将溶液搅拌15分钟。将反应混合物通过HPLC纯化,以得到呈白色粉末的化合物28(67mg)。MS m/z 923.09 (M+H)。

[0597] 向化合物28 (TFA盐, 31mg, 0.030mmol)、化合物29(6.4mg, 0.030mmol)和HATU(11.4mg, 0.030mmol)于2mL DMF中的溶液中添加DIEA(10mg, 0.075mmol)。将混合物搅拌10分钟并通过HPLC纯化。将所得白色粉末用在DCM中的30%TFA处理30分钟,并且通过HPLC纯化,以得到呈白色粉末的化合物30(34mg)。MS m/z 1020.3 (M+H)。

[0598] 向化合物30 (TFA盐, 34mg, 0.030mmol)和化合物13(32mg, 0.045mmol)于2mL DMF中的溶液中添加DIEA(10mg, 0.075mmol)。将溶液搅拌5分钟,并且通过HPLC纯化,以得到呈白色粉末的化合物50(16mg)。MS m/z 1361.6 (M+H)。

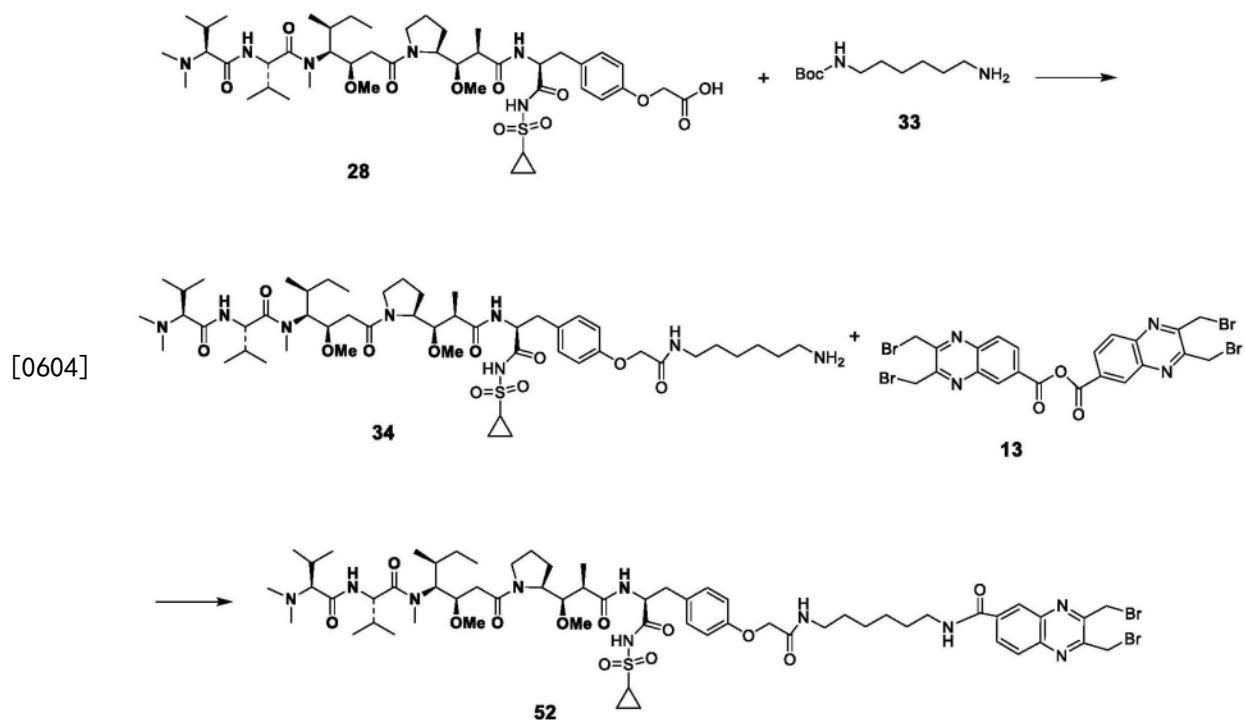
[0599] 实施例S11:化合物51的合成



[0601] 向化合物28的TFA盐 (30mg, 0.029mmol)、化合物31 (5.4mg, 0.029mmol) 和HATU (11mg, 0.029mmol) 于2mL DMF中的溶液中添加DIEA (9.3mg, 0.073mmol)。在搅拌10分钟之后, 将混合物通过HPLC纯化。然后将干燥的白色粉末用TFA于DCM中的50%溶液处理2小时, 以得到呈白色粉末的化合物32 (24mg)。MS m/z 992.1 (M+H)。

[0602] 向化合物32 (24mg, 0.020mmol) 的TFA盐和化合物13 (21mg, 0.029mmol) 于2mL DMF中的溶液中添加DIEA (10mg, 0.075mmol)。将溶液搅拌5分钟, 并且通过HPLC纯化, 以得到呈白色粉末的化合物51 (12.3mg)。MS m/z 1333.7 (M+H)。

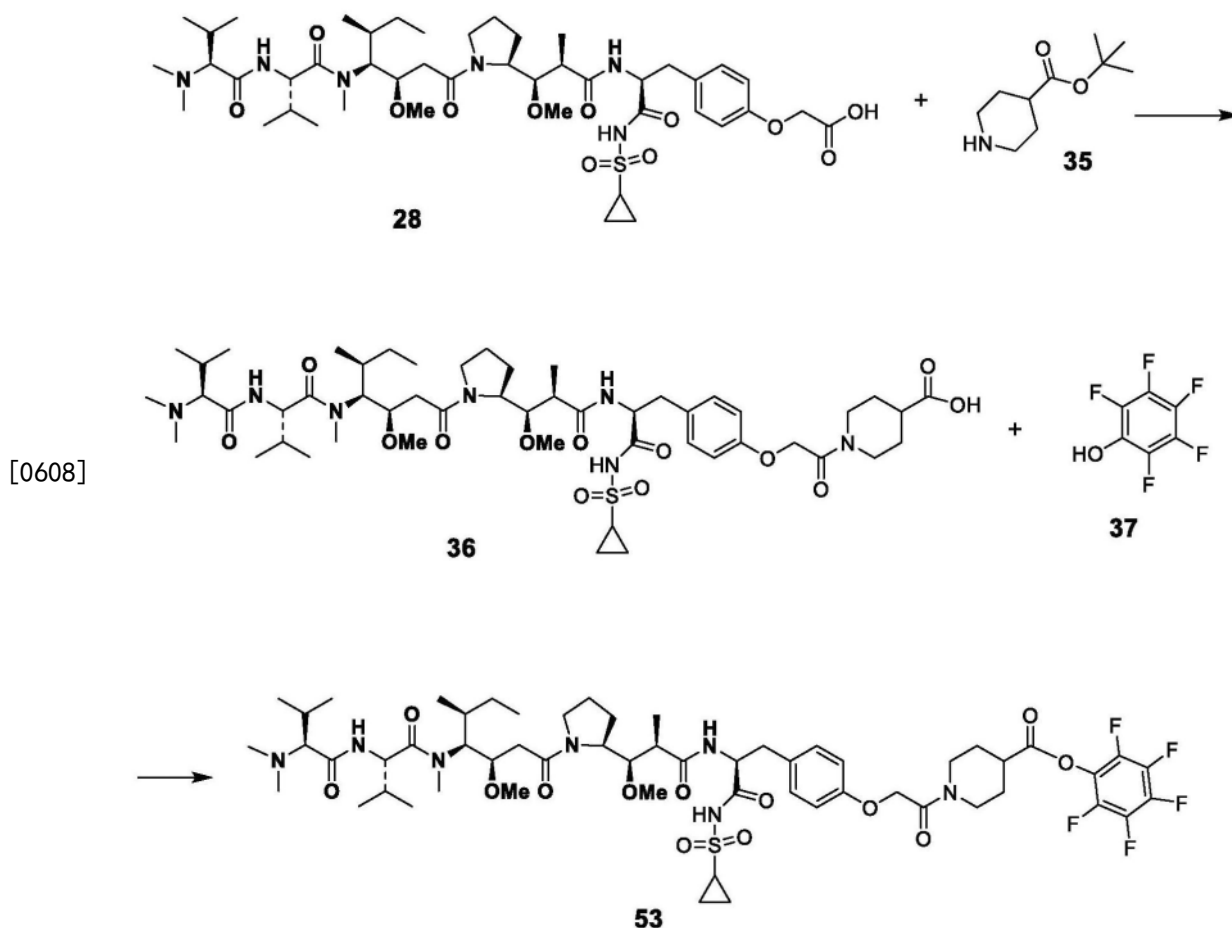
[0603] 实施例S12: 化合物52的合成



[0605] 向化合物28的TFA盐(50mg, 0.048mmol)、化合物33(11mg, 0.051mmol)和HATU(19mg, 0.049mmol)于2mL DMF中的溶液中添加DIEA(16mg, 0.13mmol)。在搅拌10分钟之后, 将混合物通过HPLC纯化。然后将干燥的白色粉末用TFA于DCM中的30%溶液处理1小时, 以得到呈白色粉末的化合物34(33mg)。MS m/z 1022.4 (M+H)。

[0606] 向化合物10的TFA盐(33mg, 0.029mmol)和化合物13(31mg, 0.044mmol)于2mL DMF中的溶液中添加DIEA(9mg, 0.073mmol)。将溶液搅拌5分钟, 并且通过HPLC纯化, 以得到呈白色粉末的化合物52(12.3mg)。MS m/z 1363.7 (M+H)。

[0607] 实施例S13: 化合物53的合成



[0609] 向化合物28的TFA盐(78mg, 0.076mmol)、化合物35(14mg, 0.076mmol)和HATU(29mg, 0.076mmol)于2mL DMF中的溶液中添加DIEA(25mg, 0.19mmol)。在搅拌10分钟之后, 将混合物通过HPLC纯化。然后将干燥的白色粉末用TFA于DCM中的50%溶液处理2小时, 并且通过HPLC纯化, 以得到呈白色粉末的化合物36(42mg)。MS m/z 1035.1 (M+H)。

[0610] 将化合物36的TFA盐(42mg, 0.037mmol)、化合物37(10mg, 0.055mmol)和EDC·HCl(32mg, 0.165mmol)于5mL DCM中的溶液搅拌2小时, 并且通过HPLC纯化, 以得到呈白色粉末的化合物53(13mg)。MS m/z 1200.8 (M+H)。

[0611] 抗体-药物缀合物(ADC)的制备

[0612] 通过将化合物1-9和50-53与抗BCMA抗体的克隆1(BCA7-2C5或AB1)或克隆2(BCA7-2E1或AB2)缀合来制备抗体-药物缀合物(ADC)。BCA7-2C5和BCA7-2E1是人IgG1抗体。对于一般的缀合程序, 没有指明克隆, 例如, 抗BCMA化合物1(也被称为抗BCMA-1、BCMA-1或ADC-1)。在具体实验中, 指明了具体克隆, 例如, 抗BCMA-AB1化合物1(也被称为抗BCMA-AB1-1、BCMA-AB1-1或ADC-AB1-1)。

[0613] 实施例S14: 抗体-药物缀合物(ADC)抗BCMA化合物1的制备。

[0614] 此实施例中使用的抗BCMA抗体具有与WIPO公开号W0 2020/176549中描述的BCA7-2C5抗体几乎相同的抗体序列。此实施例中使用的抗BCMA抗体的重链序列与WIPO公开号W0 2020/176549中描述的BCA7-2C5抗体的重链序列相同。此实施例中使用的抗BCMA抗体的轻链序列与WIPO公开号W0 2020/176549中描述的BCA7-2C5抗体的轻链具有一个氨基酸差异。WIPO公开号W0 2020/176549(SEQ ID NO:16)中描述的BCA7-2C5抗体的轻链中的第三个氨

氨酸从丙氨酸变为缬氨酸(参见上表2中的SEQ ID NO:7)。将亲和纯化的抗BCMA抗体通过缓冲液交换以5mg/mL的浓度配制到缀合缓冲液(50mM磷酸钠缓冲液,pH 7.0-7.2,4mM EDTA)中。向此抗体储备液的一部分中添加20倍摩尔过量的新鲜制备的10mM三(2-羧乙基)膦(TCEP)水溶液。将所得混合物在4-8℃下孵育过夜。然后用新鲜的缀合缓冲液通过若干轮离心过滤去除过量的TCEP。对回收的还原的抗体材料进行UV-Vis定量,随后确认足够的游离巯基与抗体的比率(SH/Ab)。简而言之,将1mM等分试样的新鲜制备的Ellman试剂(5,5'-二硫代双-(2-硝基苯甲酸))缀合缓冲液与等体积的纯化抗体溶液混合。测量412nm处的所得吸光度,并且使用 $14,150\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 的消光系数确定还原的半胱氨酸含量。在这些条件下,测得SH/Ab比率为约6。

[0615] 为了引发毒素-连接子材料与抗BCMA抗体的缀合,将化合物1新鲜溶解在3:2乙腈/水混合物中至浓度为5mM。然后在添加4.5倍摩尔过量的化合物1之前,将丙二醇添加到一部分还原的纯化的(去除TCEP的)抗BCMA抗体中,使丙二醇的最终浓度为30% (v/v)。彻底混合并在环境温度下孵育2小时之后,通过HIC-HPLC色谱法分析粗缀合反应,以在280nm波长检测下确认反应完成(起始抗体峰消失)。然后通过凝胶过滤色谱法,使用配备有用PBS平衡的Superdex 200pg柱(通用电气医疗集团(GE Healthcare))的AKTA系统,对所得ADC-1缀合物进行纯化。基于HIC-HPLC色谱图的比较峰面积积分,计算出平均药物与抗体比(DAR)为3.8。经使用分析SEC-HPLC确定,所得ADC-1中高分子量(HMW)聚集体的百分比较低(<5%)。

[0616] 实施例S15:抗体-药物缀合物(ADC)抗BCMA化合物2、抗BCMA化合物3、抗BCMA化合物4、抗BCMA化合物5、抗BCMA化合物6、抗BCMA化合物9、抗BCMA化合物50、抗BCMA化合物51和抗BCMA化合物52的制备。

[0617] 如实施例S14所概述,分别使用化合物2、3、4、5、6、9、50、51或52代替1,制备另外的ADC抗BCMA化合物2、抗BCMA化合物3、抗BCMA化合物4、抗BCMA化合物5、抗BCMA化合物6、抗BCMA化合物9、抗BCMA化合物50、抗BCMA化合物51和抗BCMA化合物52。根据HIC-HPLC分析,ADC-52的所得平均DAR为3.5,ADC-2和ADC-50的DAR为3.4,ADC 3-6和ADC 51的DAR为3.2-3.3。

[0618] 实施例S16:抗体-药物缀合物(ADC)抗BCMA化合物7的制备。

[0619] 将亲和纯化的抗BCMA抗体通过缓冲液交换以5mg/mL的浓度配制到缀合缓冲液中。向此抗体储备液的一部分中添加2.5倍摩尔过量的新鲜制备的10mM三(2-羧乙基)膦(TCEP)水溶液。将所得混合物在37℃下孵育2小时。在将化合物7新鲜溶解在无水二甲基亚砜(DMSO)中至5mM之后,将此混合物的一部分添加到5倍摩尔过量的还原的抗BCMA抗体溶液中。彻底混合并在环境温度下孵育2小时之后,通过HIC-HPLC色谱法分析粗缀合反应,以在280nm波长检测下确认反应完成(起始抗体峰消失)。所得ADC-7缀合物的纯化和分析以与ADC-1-6缀合物相同的方式进行。根据HIC-HPLC分析,ADC-7的所得平均DAR为4.0。

[0620] 实施例S17:抗体-药物缀合物(ADC)抗BCMA化合物8的制备。

[0621] 使用化合物8代替化合物1,如实施例S10所概述制备ADC抗BCMA化合物8。根据HIC-HPLC分析,ADC-8的所得平均DAR为3.6。

[0622] 实施例S18:抗体-药物缀合物(ADC)抗BCMA化合物53的制备。

[0623] 以分批或连续流动的方式向0.5-50mg/mL抗体于pH 6.0-9.0具有0-30%有机溶剂的缓冲液中的溶液中添加0.1-10当量活化的药物连接子缀合物53。反应在0-40℃下进

行,持续0.5-50小时,同时轻轻搅拌或振荡,通过HIC-HPLC监测。所得粗ADC产物经历了脱盐、缓冲液更换/调配和任选地纯化等必要的下游步骤。所得ADC-53缀合物的纯化和分析以与ADC-1-6缀合物相同的方式进行。根据HIC-HPLC分析,ADC-53的所得平均DAR为1.5。

[0624] 生物实施例

[0625] 使用两种不同的抗BCMA抗体克隆-BCA7-2C5 (AB1) 和BCA7-2E1 (AB2) 来评估抗体-药物缀合物 (ADC) 的体外和体内功效。

[0626] 实施例B1:抗体-药物缀合物 (ADC) 抗BCMA化合物1 (抗BCMA-1)、抗BCMA化合物2 (抗BCMA-2)、抗BCMA化合物3 (抗BCMA-3)、抗BCMA化合物4 (抗BCMA-4)、抗BCMA化合物5 (抗BCMA-5)、抗BCMA化合物6 (抗BCMA-6)、抗BCMA化合物7 (抗BCMA-7) 和抗BCMA化合物8 (抗BCMA-8) 的体外功效。

[0627] 使用以下人类癌细胞系评估ADC抗BCMA化合物1、抗BCMA化合物2、抗BCMA化合物3、抗BCMA化合物4、抗BCMA化合物5、抗BCMA化合物6、抗BCMA化合物7和抗BCMA化合物8的体外功效:购自美国模式培养物保藏中心 (ATCC; 弗吉尼亚州马纳萨斯) 的K562、MM.1R和NCI-H929。细胞在补充有10%热灭活胎牛血清 (FBS; 美国纽约州康宁的康宁公司 (Corning; Corning, NY, USA)) 和1X青霉素-链霉素 (康宁公司) 的RPMI-1640培养基 (马萨诸塞州沃尔瑟姆的吉博科赛默飞世尔 (Gibco ThermoFisher; Waltham, MA)) 中培养,并在5%CO₂湿润环境维持在37°C。

[0628] 体外测定如下进行:通过以300g离心5分钟采集肿瘤细胞,并将其铺板在96孔透明底部白壁上 (50μL完全培养基中5,000至10,000个细胞/孔),并维持在37°C。然后将细胞用50μL测试样品一式两份进行处理,该测试样品在完全培养基中连续稀释配制成2X最终浓度,并在37°C下孵育至多120小时。处理之后,使用制造商方案中描述的Cell Titer-Glo® 2.0细胞活力测定 (美国威斯康星州麦迪逊的普洛麦格公司) 确定癌细胞生长的抑制。使用铂金-埃尔默公司的Envision 2104酶标仪 (马萨诸塞州沃尔瑟姆 (Waltham, MA)) 测量发光。

[0629] 使用Microsoft Excel (美国华盛顿州雷德蒙德 (Redmond, WA, USA)) 将数据相对于未经处理的对照归一化,并且使用GraphPad Prism软件 (第8版; 美国加利福尼亚州拉荷亚市) 进行分析。半最大有效浓度 (EC₅₀) 来源于使用非线性回归分析拟合4参数logistic方程产生的剂量应答曲线。

[0630] 图1-2和表4-6示出了抗BCMA-1、抗BCMA-2、抗BCMA-3、抗BCMA-4、抗BCMA-5、抗BCMA-6、抗BCMA-7和抗BCMA-8的细胞活力。

[0631] 使用标准细胞活力测定,针对表达BCMA的NCI-H929和MM.1R以及BCMA阴性K562癌细胞系,评估本文所描述的ADC的体外细胞毒性活性和靶向特异性。如图1所示,抗BCMA-AB1-1至-3 (其中AB1是BCMA的BCA7-2C5克隆并且AB2是BCMA的BCA7-2E1克隆) 剂量依赖性降低了NCI-H929和MM.1R细胞活力,并且在5天测定中没有显示出针对K562细胞的活性。在与抗BCMA抗体具有不同缀合化学的ADC中,针对表达BCMA的细胞系,观察到通过EC50测定的约0.2至2nM的效力范围 (表4)。

[0632] 虽然ADC-1和ADC-2具有相同的结构,但它们具有不同的EC₅₀值,这可能是由于其DAR值不同。ADC-1表现出比ADC-2更低的DAR值,这可能是由于与化合物2相比,化合物1与抗体的反应性更高。不受特定理论的束缚,可能因为与ADC-2相比,ADC-1中每抗体有更多的有效载荷,所以ADC-1更有效 (即,具有更低的EC₅₀)。

[0633] 表4总结了人肿瘤细胞中抗BCMA-AB1-1至-3的EC₅₀值 (nM)。

[0634] 表4: 抗BCMA-AB1-化合物1至化合物3在人肿瘤细胞中的EC₅₀值 (nM)

	测试样品	细胞系		
		NCI-H929	MM.1R	K562
[0635]	BCMA-AB1-1	0.1679	1.01937	> 100
	BCMA-AB1-2	0.3162	0.9873	> 100
	BCMA-AB1-3	0.6989	2.282	> 100

[0636] 在4天测定中,在抗BCMA-AB1-3至-8中评估了Gly肽连接子长度和与抗BCMA抗体的缀合化学对ADC活性的作用。所有C-1ock缀合的ADC均表现出对NCI-H929和MM.1R的剂量依赖性细胞杀伤(图2A)。在更敏感的NCI-H929细胞系中,含有Gly2、Gly3或Gly4(分别为抗BCMA-AB1-5、-6和-3)连接子的ADC表现出一位数的纳摩尔效力(EC₅₀为约2-5nM),与此相比,缺乏Gly连接子的抗BCMAADC(抗BCMA-AB1-4)表现出两位数的纳摩尔效力(EC₅₀=13.14nM)(表5)。

[0637] 表5总结了人肿瘤细胞中抗BCMA-AB1-化合物3至化合物8的EC₅₀值 (nM)。

[0638] 表5: 抗BCMA-AB1-3至-8在人肿瘤细胞中的EC₅₀值 (nM)

	测试样品	细胞系		
		NCI-H929	MM.1R	K562
[0639]	BCMA-AB1	> 1000	> 1000	> 1000
	BCMA-AB1-3	2.206	10.0	> 1000
	BCMA-AB1-4	13.14	> 1000	> 1000
	BCMA-AB1-5	3.041	20.48	> 1000
	BCMA-AB1-6	2.383	16.58	> 1000
	BCMA-AB1-7	2.643	37.74	> 1000
	BCMA-AB1-8	5.150	348.2	> 1000

[0640] 在NCI-H929细胞中,缺乏Gly连接子的马来酰亚胺缀合的抗BCMA-AB1-8 ADC产生了与Gly2肽连接子ADC抗BCMA-AB1-7相当的活性。正如预期的那样,未经缀合的抗BCMA抗体对任何细胞系都没有观察到明显的细胞毒性活性,因此表明抗BCMA ADC的细胞杀伤作用是由小分子有效载荷的存在所驱动的。化合物3-8与不同的抗BCMA抗体克隆(其中AB2是BCA7-2E1)的缀合,抗BCMA-AB2中也观察到类似的趋势(图2B和表6)。

[0641] 此实施例中使用的抗BCMA抗体具有WIPO公开号WO 2020/176549中描述的BCA7-2E1抗体的抗体序列。表6总结了人肿瘤细胞中抗BCMA-AB2-化合物3至化合物8的EC₅₀值 (nM)。

[0642] 表6: 抗BCMA-AB2-3至-8在人肿瘤细胞中的EC₅₀值 (nM)

	测试样品	细胞系		
		NCI-H929	MM.1R	K562
[0643]	BCMA-AB2	> 1000	> 1000	> 1000
	BCMA-AB2-3	7.312	55.34	> 1000
	BCMA-AB2-4	59.01	> 1000	> 1000
	BCMA-AB2-5	10.03	142.7	> 1000
	BCMA-AB2-6	9.44	129.3	> 1000
	BCMA-AB2-7	19.43	259.4	> 1000
	BCMA-AB2-8	29.72	> 1000	> 1000

[0644] 表5和表6的比较表明,与化合物3-8缀合于抗BCMA-AB2克隆的ADC相比,化合物3-8缀合于抗BCMA-AB1克隆的ADC更有效。最有效的ADC是含有化合物3的ADC-3。BCMA-AB1-3是从ADC 1-9中选出的先导ADC。

[0645] 实施例B2: 抗体-药物缀合物(ADC) 抗BCMA化合物50(ADC-50)、抗BCMA化合物51(ADC-51)、抗BCMA化合物52(ADC-52)、抗BCMA化合物53(ADC-53)和抗BCMA化合物3(ADC-3)的体外功效。

[0646] 将ADC抗BCMA化合物50、抗BCMA化合物51、抗BCMA化合物52和抗BCMA化合物53的体外功效与抗BCMA化合物3进行比较。将抗BCMA-AB1克隆与化合物50、51、52、53或3缀合,并且使用以下人类癌细胞系评估ADC: 购自美国模式培养物保藏中心(ATCC; 弗吉尼亚州马纳萨斯)的BCMA阴性K562和BCMA阳性NCI-H929。

[0647] 细胞培养方法: 将细胞系在补充有10-20%胎牛血清(FBS; 目录号MT35011CV; 康宁公司)和1X青霉素-链霉素(目录号30-002-CI; 康宁公司)的RPMI-1640培养基(目录号10-041-CV; 康宁公司)中培养,并且于37℃下维持在5%CO₂湿润环境中。使用Countess或Countess II自动细胞计数器通过台盼蓝排斥法进行活细胞计数。

[0648] 体外测定如下进行: 通过去除一部分细胞培养悬浮液来收获细胞,随后以300g离心5分钟,随后在细胞培养基中重悬(如上文细胞培养方法中所描述),活细胞计数(如上文细胞培养方法中所描述),然后以2,500个细胞/孔的密度接种到384孔白壁透明底板(目录号3765; 康宁公司)生长培养基中。板维持在37℃。板的外围孔仅包含培养基,用于细胞活力测定的背景扣除。在完全生长培养基中以5倍连续稀释制备2X最终浓度的测试样品的工作溶液。细胞处理以技术上的一式三份或两份进行,并且维持在37℃进行120小时测定。在处理之后,根据制造商的说明书,通过CellTiter-Glo 2.0测定(目录号G9243; 美国威斯康星州麦迪逊市的普洛麦格公司)确定细胞活力。CellTiter Glo试剂与代谢活性细胞中的ATP反应,以产生与活细胞数量成正比的发光读数。简而言之,在添加CellTiter Glo试剂之前,将板从培养箱中取出并平衡至室温。使用Tecan Spark微孔板读数器(瑞士门内多夫的Tecan公司(Tecan; Mannedorf, Switzerland))测量发光。

[0649] 数据分析: 对于细胞毒性测定,从原始发光数据中减去背景,即仅含培养基的外围孔的平均发光,并且使用Excel(新墨西哥州阿尔伯克基的微软公司(Microsoft; Albuquerque, NM))相对于未经处理的对照进行归一化。使用GraphPad Prism 8.0将归一化数据拟合四参数logistic方程进行非线性回归分析,基于此确定剂量-应答关系和EC50值。

[0650] 图8和表7示出了ADC-50、ADC-51、ADC-52、ADC-53、ADC-3和对照(RSV化合物3、BCMA抗体、RSV抗体和D3)的细胞活力。其中ADC-50、ADC-51、ADC-52、ADC-53和ADC-3是抗BCMA-AB1克隆的ADC。

[0651] 使用标准细胞活力测定,针对BCMA阳性NCI-H929和BCMA阴性K562癌细胞系,评估本文所描述的ADC的体外细胞毒性活性和靶向特异性。如图8所示,用ADC-50、ADC-51、ADC-52、ADC-53和ADC-3(其中使用了BCMA的BCA7-2C5克隆)进行的处理剂量依赖性地降低了NCI-H929细胞活力,并且在5天测定中没有显示出针对K562细胞的活性。针对BCMA阳性NCI-H929细胞系,观察到由EC₅₀确定的效力范围为约0.17至1.9nM(表7)。

[0652] ADC-53(PFP连接)与ADC-50(C-lock连接)之间的缀合化学比较,揭示了其EC₅₀分别为0.398nM和0.76nM,效力下降了2倍以上,尽管与ADC-50(DAR约3.4)相比,ADC-53的DAR较低(DAR约1.5)。C-lock缀合物(ADC-50、ADC-51、ADC-52)之间的连接子化学比较,揭示了一位数的纳摩尔(ADC-51)和亚纳摩尔(ADC-50、ADC-52)的EC₅₀。ADC-3与ADC-50、ADC-51和ADC-52的比较,揭示了ADC-52显示出比ADC-3增强了约2倍的效力。同种型对照RSV化合物3的活性比BCMA靶向ADC低>500x,表明细胞毒性是由BCMA靶向驱动的。在BCMA阴性K562细胞中,在高达1μM的浓度下,抗体或任何BCMA靶向ADC都没有显示出细胞毒性(图8)。相比之下,无论BCMA表达水平如何,单独的D3有效载荷以剂量依赖的方式抑制所有细胞系的细胞增殖,其中平均EC₅₀为0.88-1.53nM,这表明抗BCMA ADC的细胞杀伤作用是由小分子有效载荷的存在驱动的。

[0653] 表7总结了抗BCMA-AB1-化合物50至-化合物53和抗BCMA-AB1-化合物3在人肿瘤细胞中的EC₅₀值(nM)。

[0654] 表7:抗BCMA-AB1-化合物50至-化合物53和抗BCMA-AB1-化合物3在人肿瘤细胞中的EC₅₀值(nM)

样品	H929 (+)	K562 (-)
ADC-50	0.7620	>1000
ADC-51	1.928	>1000
ADC-52	0.169	>1000
ADC-53	0.3977	>1000
ADC-3	0.3683	>1000
RSV-化合物3	>1000	178.300
BCMA抗体	>1000	>1000
RSV抗体	>1000	>1000
D3	1.079	1.523

[0656] 实施例B3:抗体-药物缀合物(ADC)抗BCMA化合物3的体内功效。

[0657] 6周龄的雌性CB17 SCID beige小鼠购自查尔斯河实验室(Charles River Laboratories)。

[0658] 人多发性骨髓瘤细胞系NCI-H929和OPM2在补充有10%FBS、100单位/ml青霉素和100μg/ml链霉素的RPMI 1640培养基中于37℃在5%CO₂湿润环境中培养和扩增,持续2-3周的时间,然后收获用于植入。在植入前,通过台盼蓝染料排斥测定确定的细胞活力>90%。通过s.c.注射将100μl PBS-基质胶1:1(v/v)混合物中的500万个OPM2或NCI-H929细胞接种到

每只小鼠的右上侧。

[06659] 肿瘤体积测量在肿瘤细胞接种后第14天开始,并且每周进行两次。使用数字卡尺测量,将最长纵向直径作为长,将最宽横向直径作为宽。然后通过以下公式计算肿瘤体积(TV): $TV = [长 \times (宽)^2] / 2$,并且在Excel中进行分析。

[06660] 当实验I、III和IV中NCI-H929肿瘤异种移植物的平均肿瘤大小分别达到约400、200和150mm³,或实验II中OPM2肿瘤异种移植物的平均肿瘤大小达到约240mm³时,开始处理。

[06661] 当肿瘤大小达到2000mm³时,对小鼠实施安乐死。

[06662] 随机化荷瘤小鼠,通过腹膜内注射向小鼠施用抗BCMA抗体(BCMA-AB1或BCMA-AB2)、与化合物3缀合的抗BCMA抗体(BCMA-AB1-3或BCMA-AB2-3)或在PBS中稀释的与化合物3缀合的同种型抗体(iso-3)。处理方案包括:实验I中,8mg/kg一次、4mg/kg Q1W×2和2mg/kg biw×4的抗BCMA-AB1或抗BCMA-AB1-化合物3(图3);实验II中,2mg/kg biw×4和0.67mg/kg biw×4的抗BCMA-AB1或抗BCMA-AB1化合物3(图4);实验III中,1、2、4和8mg/kg一次的抗BCMA-AB1-化合物3或iso-3(图5);以及实验IV中,4mg/kg biw×4的抗BCMA-AB2或2和4mg/kg biw×4的抗BCMA-AB2-化合物3(图6)。

[06663] 在Excel中分析肿瘤测量的原始数据。使用GraphPad Prism 8.0软件绘制肿瘤生长曲线,并且数值以平均值±SEM呈现。

[06664] 在实验I的NCI-H929肿瘤异种移植模型中(如图3所示),抗BCMA-AB1-化合物3(BCMA-AB1-3)的所有处理方案显著抑制了肿瘤生长,并且比抗BCMA-AB1的处理方案好得多($p < 0.0001$,抗BCMA-AB1-3 vs PBS; $p < 0.0001$,BCMA-AB1-3 vs BCMA-AB1;在终点对肿瘤体积进行双因素方差分析(two-way ANOVA),Tukey检验)。虽然BCMA-AB1减缓了肿瘤生长,但肿瘤仍然可以达到接近PBS对照组的平均大小。BCMA-AB1-3的所有方案都诱导了显著和延长的肿瘤消退,并且在初始处理后约两周内消除了所有肿瘤。

[06665] 在实验II的OPM2肿瘤异种移植模型中(如图4所示),BCMA-AB1-3显著地且剂量依赖性地抑制肿瘤生长,并且比BCMA-AB1好得多($p < 0.0001$,BCMA-AB1-3 vs PBS; $p < 0.001$,BCMA-AB1-3 2mg/kg vs BCMA-AB1-3 0.67mg/kg; $p < 0.0001$,BCMA-AB1-3 2mg/kg vs BCMA-AB1 2mg/kg;在终点对肿瘤体积进行双因素方差分析(two-way ANOVA),Tukey检验)。BCMA-AB1-3的高剂量方案还诱导了显著和延长的肿瘤消退,并且在初始处理后约两周内消除了所有肿瘤。

[06666] 在实验III的NCI-H929肿瘤异种移植模型中(如图5所示),BCMA-AB1-3的单剂量方案以剂量依赖性方式显著抑制肿瘤生长,但iso-3没有效力($p < 0.0001$,BCMA-AB1-3 vs PBS; $p < 0.0001$,BCMA-AB1-3 vs iso-3;在终点对肿瘤体积进行双因素方差分析(two-way ANOVA),Tukey检验)。高剂量的BCMA-AB1-3诱导了显著和延长的肿瘤消退,并且在初始处理后约两周内消除了所有肿瘤。

[06667] 在实验IV的NCI-H929肿瘤异种移植模型中(如图6所示),BCMA-AB2-3的2和4mg/kg治疗方案两者均显著抑制肿瘤生长($p < 0.0001$,BCMA-AB2-3 vs PBS;在终点对肿瘤体积进行双因素方差分析(two-way ANOVA),Tukey检验)。两个BCMA-AB2-3方案都诱导了显著和延长的肿瘤消退,并且在初始处理后约两周内消除了所有肿瘤。

[06668] 实施例B4:SD大鼠中的有效载荷的毒性

[06669] 一个由3只雄性大鼠和3只雌性大鼠构成的对照组,给药0.9%NaCl(“媒剂”或

“CNTL”)。三个各自由3只雄性大鼠和3只雌性大鼠构成的组,给药单剂的有效载荷L047-082。第1组给药0.25mg/kg的有效载荷L047-082。第2组给药0.5mg/kg的有效载荷L047-082。第3组给药1.0mg/kg的有效载荷L047-082。

[0670] 三个各自由3只雄性大鼠和3只雌性大鼠构成的组,给药单剂的有效载荷L032-060。第1组给药0.25mg/kg的有效载荷L032-060。第2组给药0.5mg/kg的有效载荷L032-060。第3组给药1.0mg/kg的有效载荷L032-060。

[0671] 四个各自由3只雄性大鼠和3只雌性大鼠构成的组,给药单剂的有效载荷L044-023C。第1组给药0.5mg/kg的有效载荷L044-023C。第2组给药1.0mg/kg的有效载荷L044-023C。第3组给药2.0mg/kg的有效载荷L044-023C。第4组给药4.0mg/kg的有效载荷L044-023C。

[0672] 所有大鼠在给药前测量一次体重,并且在单次有效载荷剂量后每周测量两次。大鼠体重如图7A所示,分为雄性(M)和雌性(F)。图7A还示出了L047-082、L032-060和L044-023C的结构。

[0673] 对于L047-082有效载荷,6只大鼠中有4只在用0.5mg/kg处理后死亡,6只大鼠中有5只在用1mg/kg处理后死亡。对于L032-060有效载荷,6只中有6只在用1mg/kg处理后死亡。对于L044-023C有效载荷,即使在用4mg/kg处理后也没有大鼠死亡。

[0674] 血液学测试在给药后第7天和第14天进行。进行了以下测试:白细胞计数、中性粒细胞计数、中性粒细胞变化百分比、淋巴细胞计数、嗜酸性粒细胞计数、单核细胞计数、网织红细胞计数、网织红细胞变化百分比、红细胞计数、血红蛋白浓度、血细胞比容变化百分比、血小板计数。

[0675] 血液学测试的结果如图7B-7M所示。“($\times 10^3$ 个细胞/ μL)”表示细胞计数,表示为每微升血液中的数千个细胞。“(%)”表示在指定时间相对于基线的变化百分比。“(#)”表示细胞计数/ μL 。“($\times 10^6$ 个细胞/ μL)”表示细胞计数,表示为每微升血液中的数百万个细胞。“(g/dL)”表示克/分升。细胞类型缩写的定义如上文所提供。

[0676] L047-082有效载荷似乎毒性最大,其中在给药后7天,中性粒细胞计数、嗜酸性粒细胞计数、单核细胞计数、网织红细胞计数和血小板计数非常低。给药后14天观察到某种恢复。L044-023C有效载荷似乎即使在4mg/kg剂量下毒性也最小。

[0677] 尽管出于清楚理解的目的,已经通过图示和实施例的方式详细描述了前述发明,但是这些描述和实施例不应被解释为限制本发明的范围。本文引用的所有专利和科学文献的公开内容通过引用明确地整体并入本文。

序列表

- <110> 索伦托药业有限公司(SORRENTO THERAPEUTICS, INC.)
 联宁(苏州)生物制药有限公司(LEVENA (SUZHOU)
 BIOPHARMA CO., LTD.)
 联宁生物制药美国有限公司(LEVENA BIOPHARMA US, INC.)
- <120> 包括抗BCMA抗体的抗体-药物缀合物
- <130> 01223-0089-00PCT
- <150> PCT/CN2021/078886
- <151> 2021-03-03
- <150> PCT/CN2021/095379
- <151> 2021-05-24
- <150> PCT/CN2022/077512
- <151> 2022-02-23
- <160> 16
- <170> PatentIn 3.5版
- <210> 1
- <211> 14
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> BCA7-2C5 (VL - CDR1)
- <400> 1
- Thr Gly Thr Ser Ser Ala His Gly Gly His Tyr Tyr Val Ser
- 1 5 10
- <210> 2
- <211> 7
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> BCA7-2C5 (VL - CDR2)
- <400> 2
- Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser
- 1 5
- <210> 3
- <211> 10
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>

<223> BCA7-2C5 (VL - CDR3)

<400> 3

Gly Ser Tyr Thr Ser Ser Gly Ser Tyr Val

1 5 10

<210> 4

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> BCA7-2C5 (VH - CDR1)

<400> 4

Thr Ala Trp Met Ser

1 5

<210> 5

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> BCA7-2C5 (VH - CDR2)

<400> 5

Arg Ile Lys Ser Lys Ser Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala Pro

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> BCA7-2C5 (VH - CDR3)

<400> 6

Ala Lys Gly Gly Gly Thr Tyr Gly Tyr

1 5

<210> 7

<211> 110

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> BCA7-2C5轻链可变序列

<400> 7

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

<210> 8

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> BCA7-2C5重链可变序列;BCA7-2E1重链可变序列

<400> 8

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

Thr Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 9

<211> 14

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> BCA7-2E1 (VL - CDR1)
<400> 9
Thr Gly Thr Ser Ser Asp Gly Gly Gly His Thr Tyr Val Ser
1 5 10
<210> 10
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> BCA7-2E1 (VL - CDR2)
<400> 10
Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser
1 5
<210> 11
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> BCA7-2E1 (VL - CDR3)
<400> 11
Gly Ser Tyr Thr Ser Ser Gly Ser Tyr Val
1 5 10
<210> 12
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> BCA7-2E1 (VH - CDR1)
<400> 12
Thr Ala Trp Met Ser
1 5
<210> 13
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> BCA7-2E1 (VH - CDR2)

<400> 13

Arg Ile Lys Ser Lys Ser Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala Pro

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 14

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> BCA7-2E1 (VH - CDR3)

<400> 14

Ala Lys Gly Gly Gly Thr Tyr Gly Tyr

1 5

<210> 15

<211> 110

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> BCA7-2E1轻链可变序列

<400> 15

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln

1 5 10 15

Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Gly Gly Gly His

20 25 30

Thr Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser Trp Val Ser Asn Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Thr Ser Ser

85 90 95

Gly Ser Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 16

<211> 184

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 16

Met	Leu	Gln	Met	Ala	Gly	Gln	Cys	Ser	Gln	Asn	Glu	Tyr	Phe	Asp	Ser
1				5					10					15	
Leu	Leu	His	Ala	Cys	Ile	Pro	Cys	Gln	Leu	Arg	Cys	Ser	Ser	Asn	Thr
			20					25						30	
Pro	Pro	Leu	Thr	Cys	Gln	Arg	Tyr	Cys	Asn	Ala	Ser	Val	Thr	Asn	Ser
			35					40						45	
Val	Lys	Gly	Thr	Asn	Ala	Ile	Leu	Trp	Thr	Cys	Leu	Gly	Leu	Ser	Leu
			50					55						60	
Ile	Ile	Ser	Leu	Ala	Val	Phe	Val	Leu	Met	Phe	Leu	Leu	Arg	Lys	Ile
65					70					75					80
Asn	Ser	Glu	Pro	Leu	Lys	Asp	Glu	Phe	Lys	Asn	Thr	Gly	Ser	Gly	Leu
					85					90					95
Leu	Gly	Met	Ala	Asn	Ile	Asp	Leu	Glu	Lys	Ser	Arg	Thr	Gly	Asp	Glu
					100					105					110
Ile	Ile	Leu	Pro	Arg	Gly	Leu	Glu	Tyr	Thr	Val	Glu	Glu	Cys	Thr	Cys
					115					120					125
Glu	Asp	Cys	Ile	Lys	Ser	Lys	Pro	Lys	Val	Asp	Ser	Asp	His	Cys	Phe
					130					135					140
Pro	Leu	Pro	Ala	Met	Glu	Glu	Gly	Ala	Thr	Ile	Leu	Val	Thr	Thr	Lys
145						150				155					160
Thr	Asn	Asp	Tyr	Cys	Lys	Ser	Leu	Pro	Ala	Ala	Leu	Ser	Ala	Thr	Glu
					165					170					175
Ile	Glu	Lys	Ser	Ile	Ser	Ala	Arg								
															180

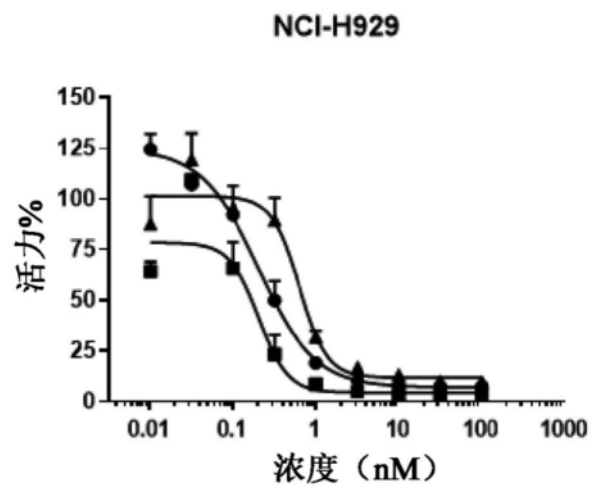


图1A

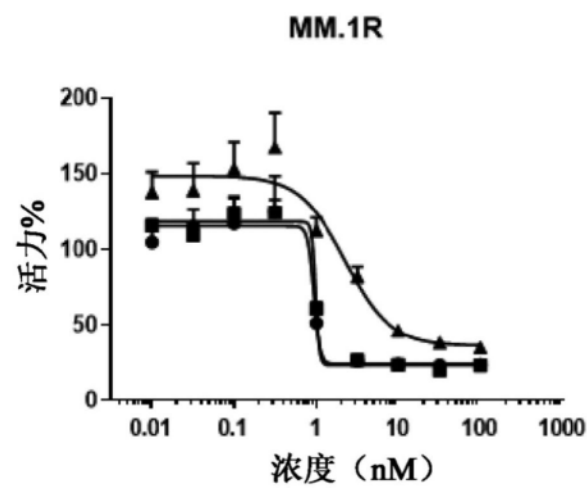


图1B

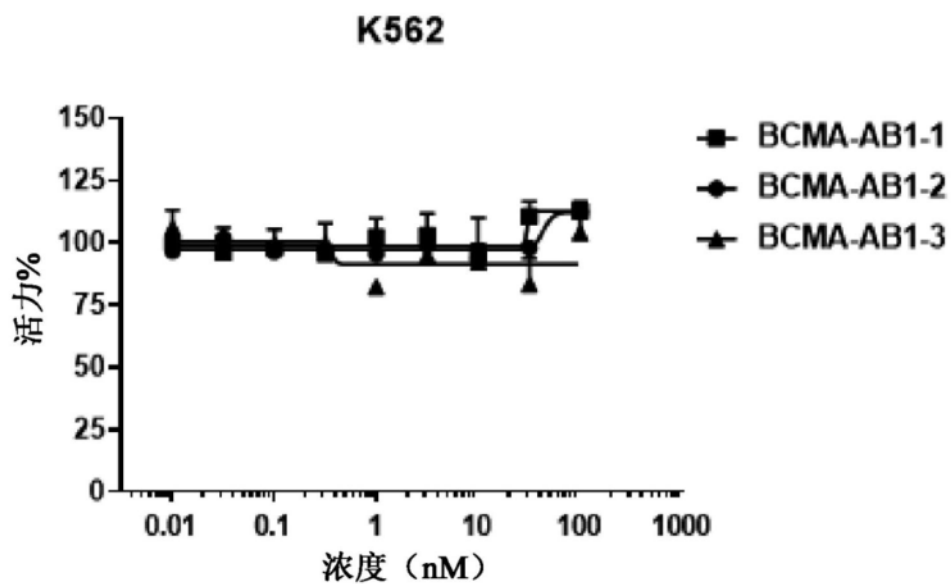


图1C

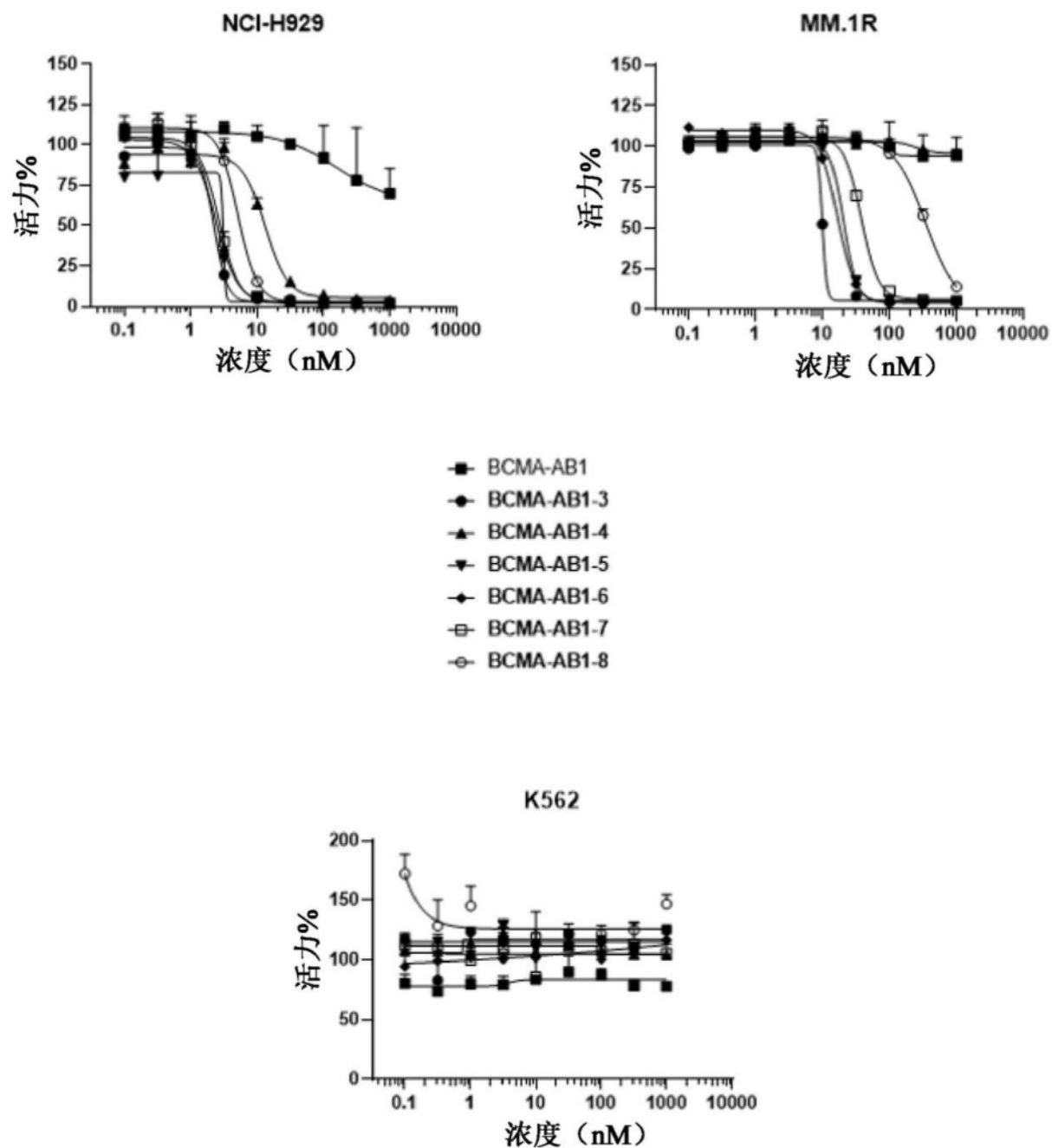


图2A

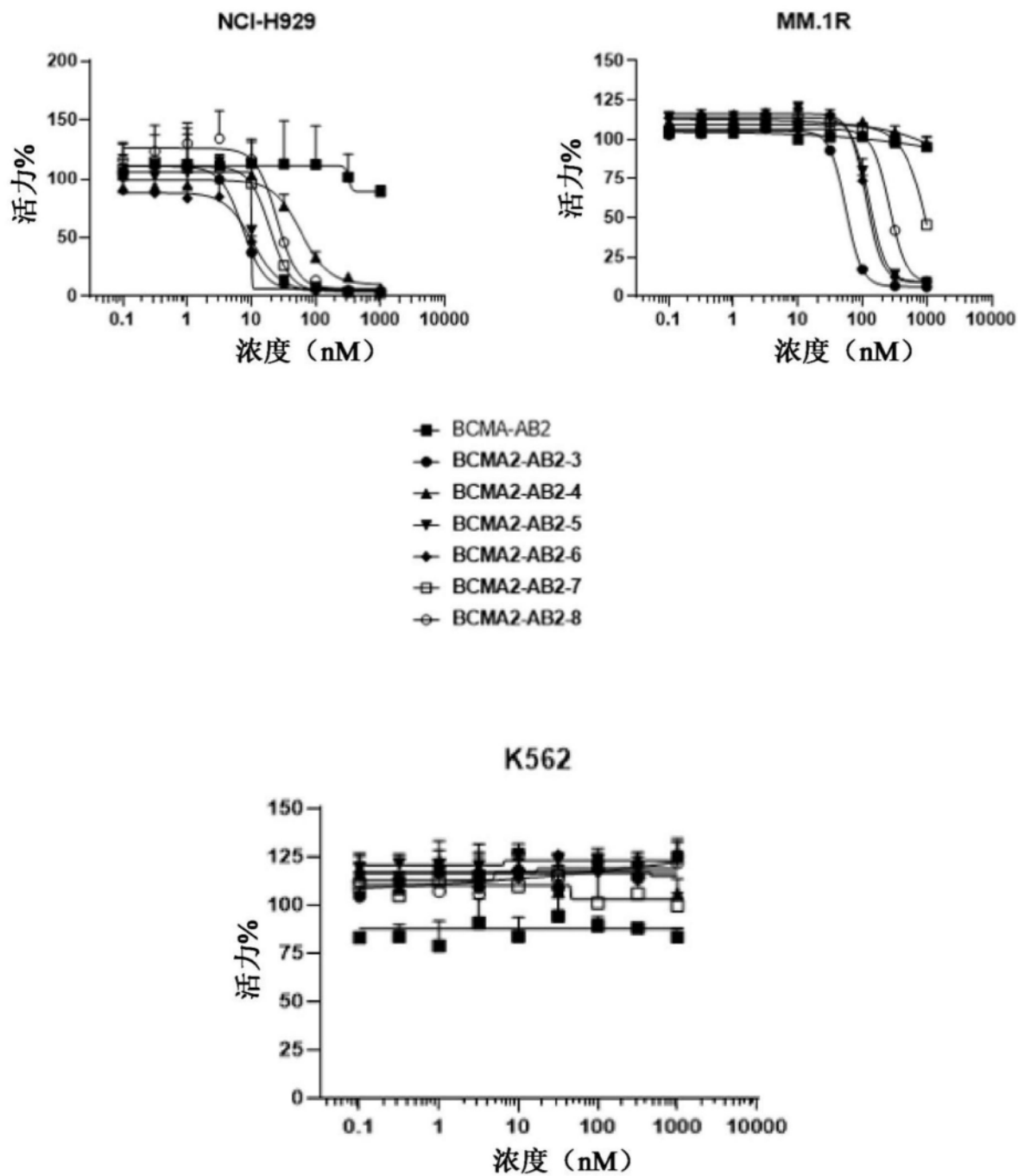


图2B

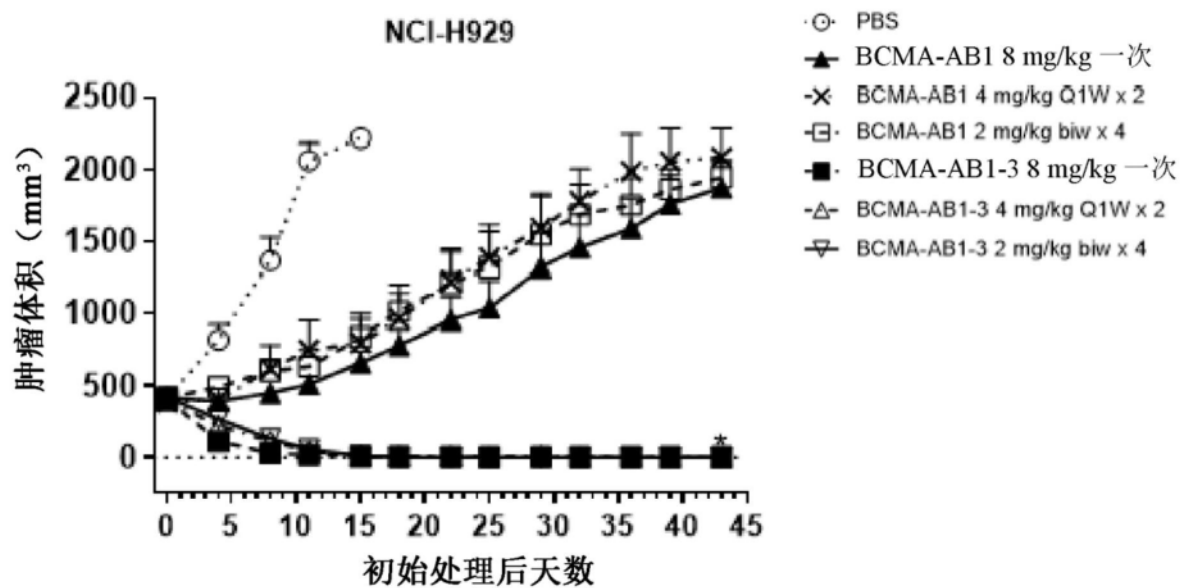


图3

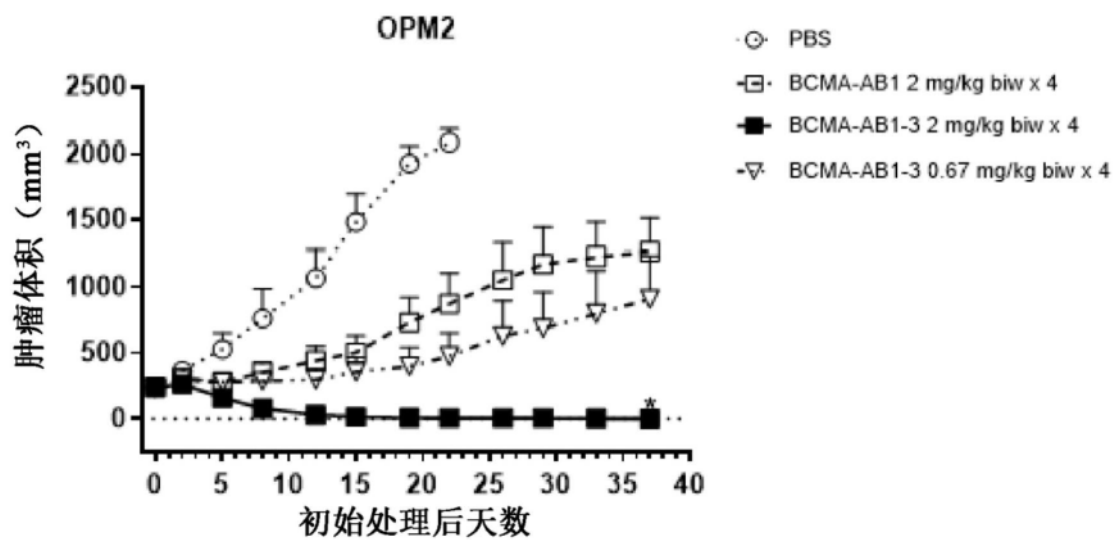


图4

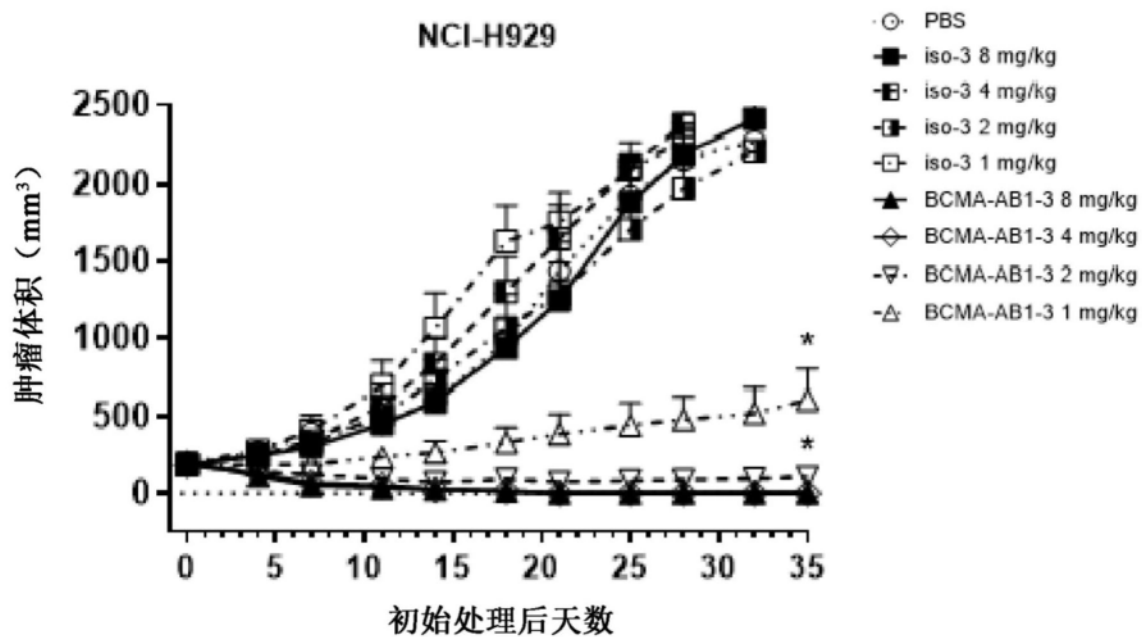


图5

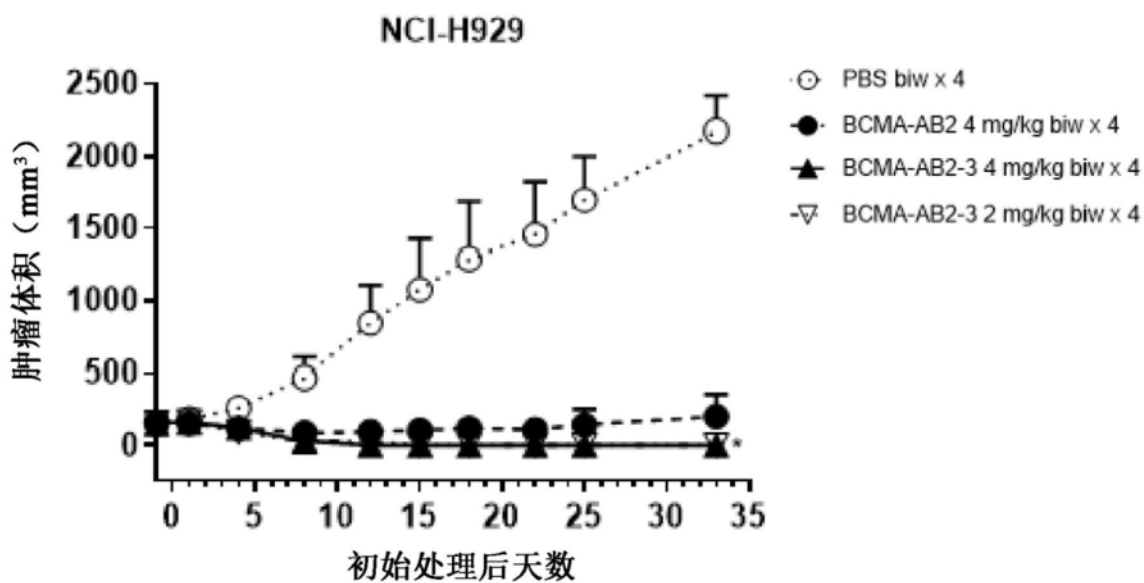
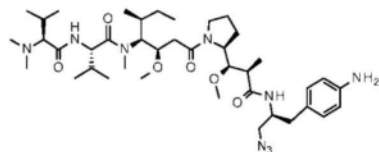
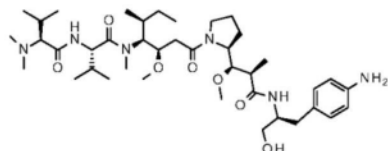


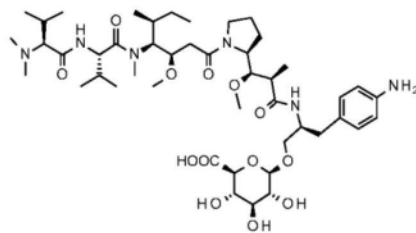
图6



L047-082

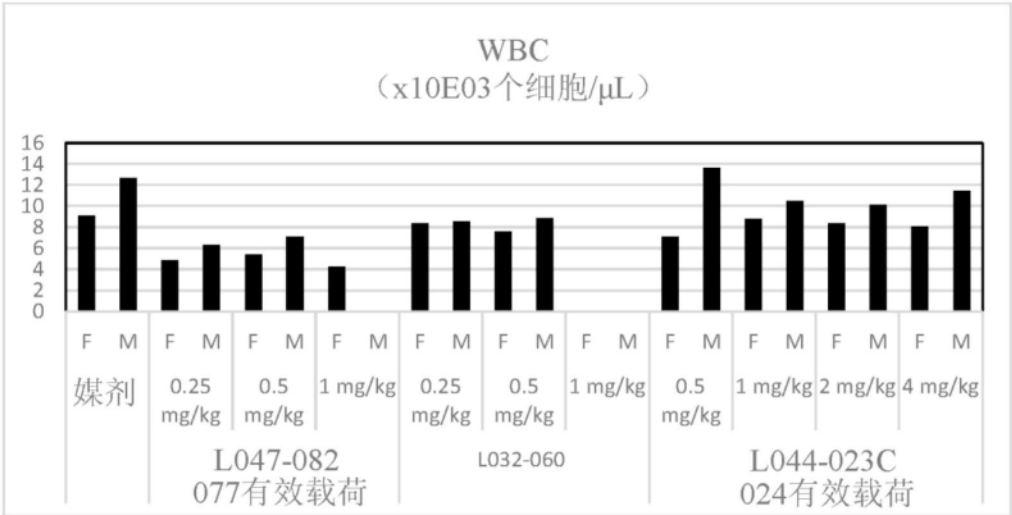


L032-060

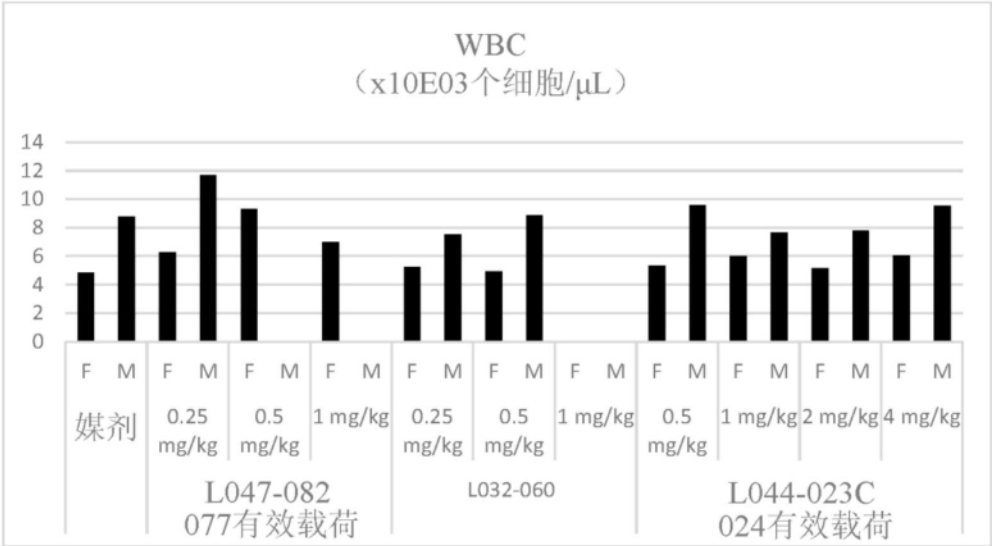


L044-023C

图7A

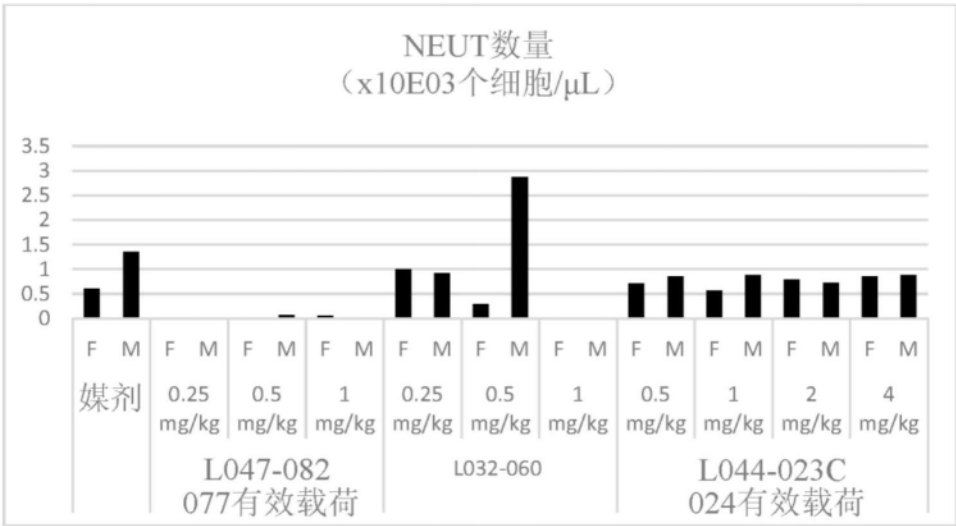


7天后

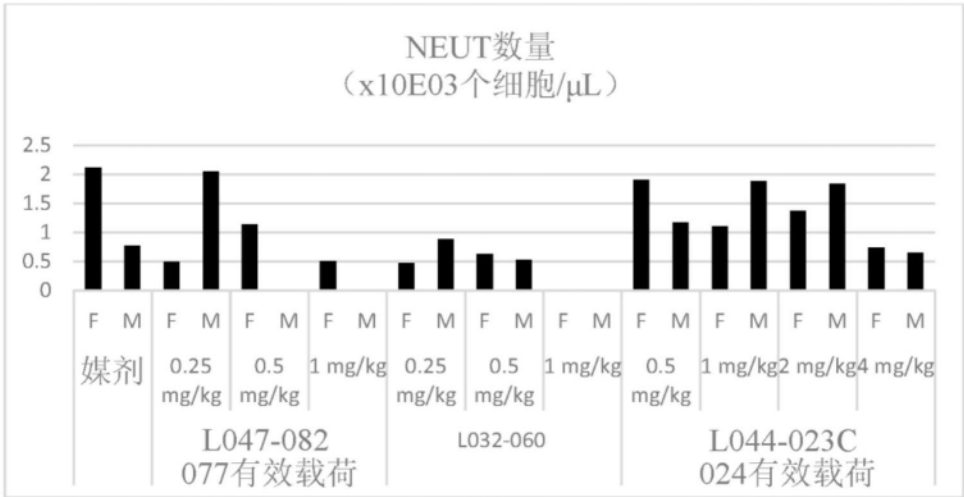


14天后

图7B



7天后



14天后

图7C

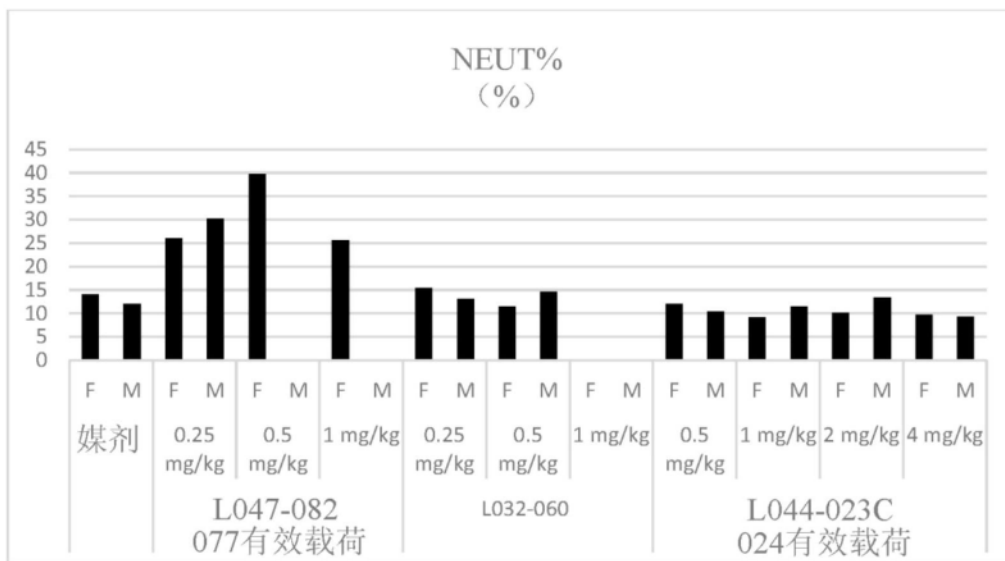
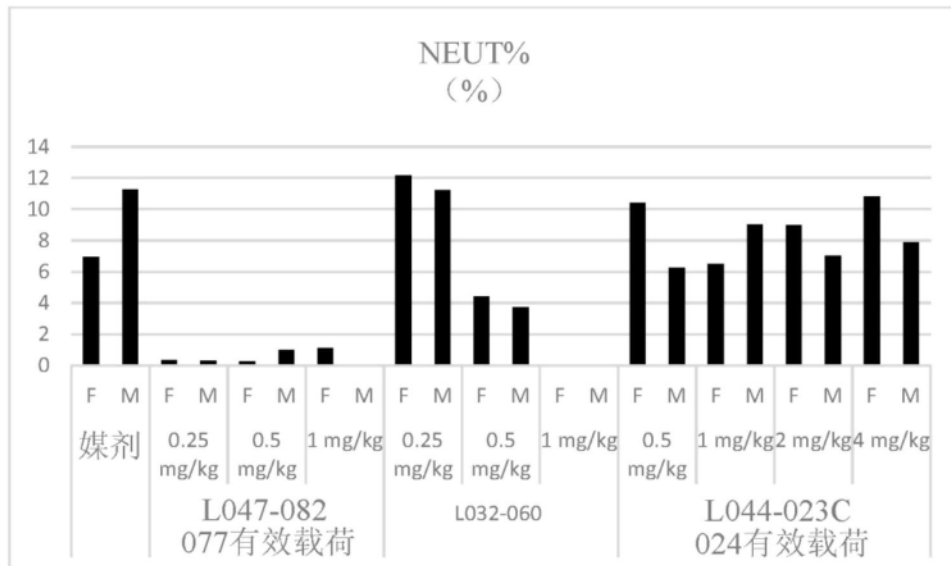
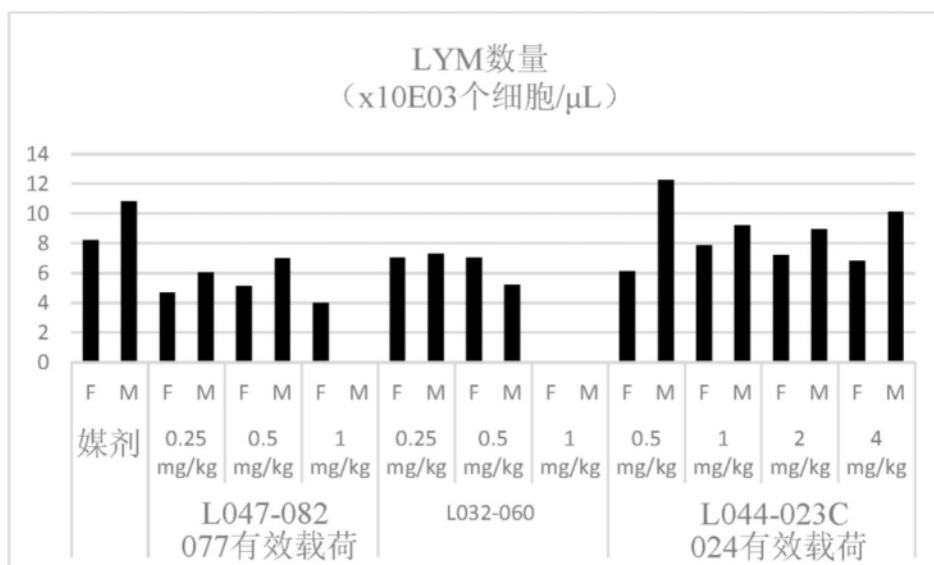
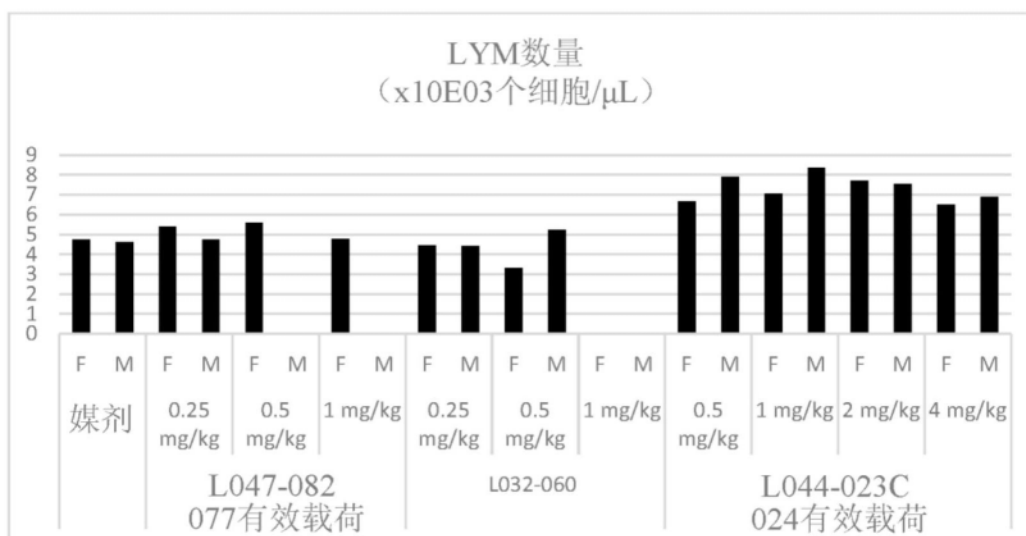


图7D



7天后



14天后

图7E

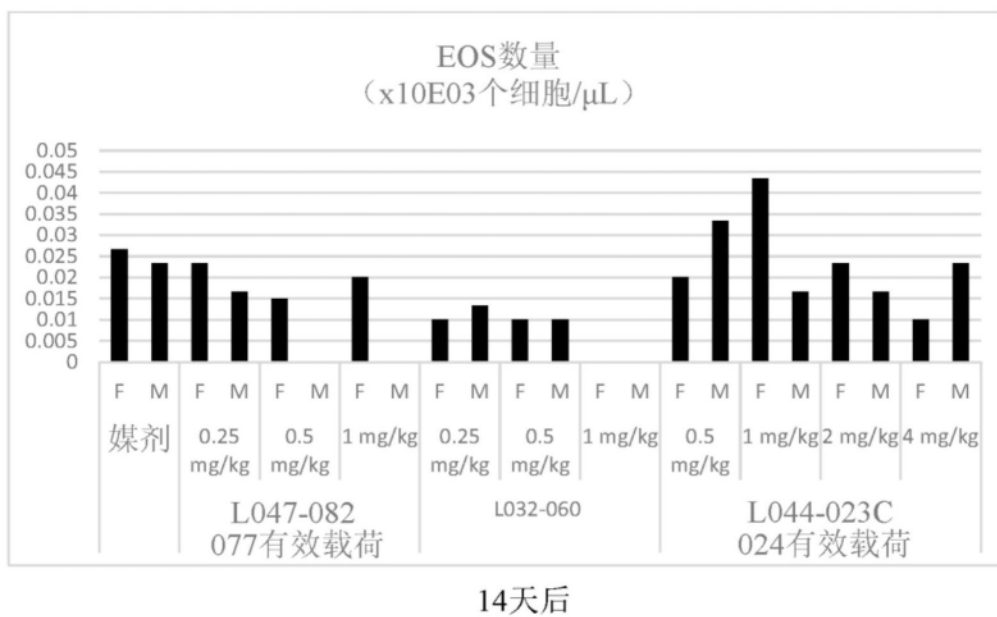
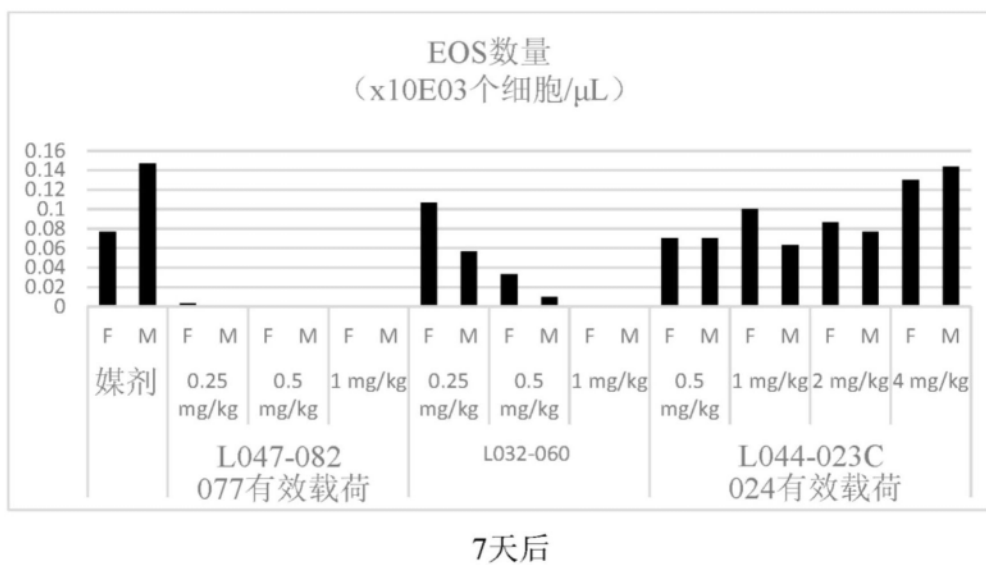


图7F

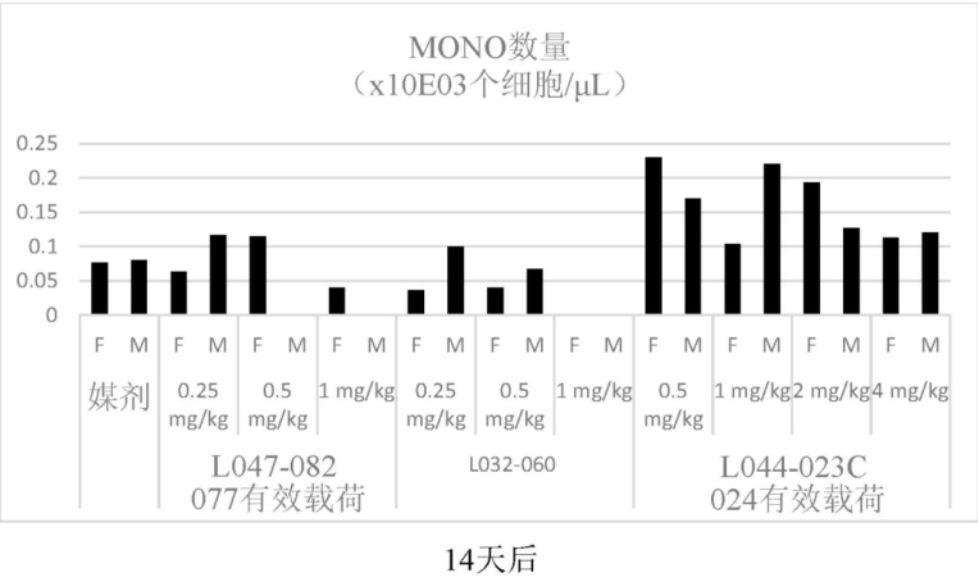
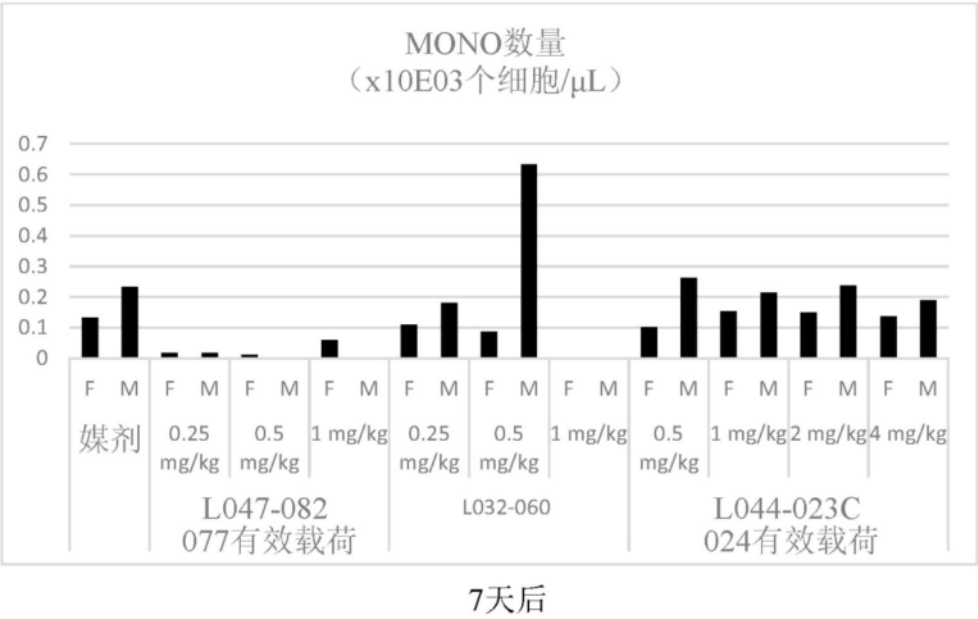


图7G

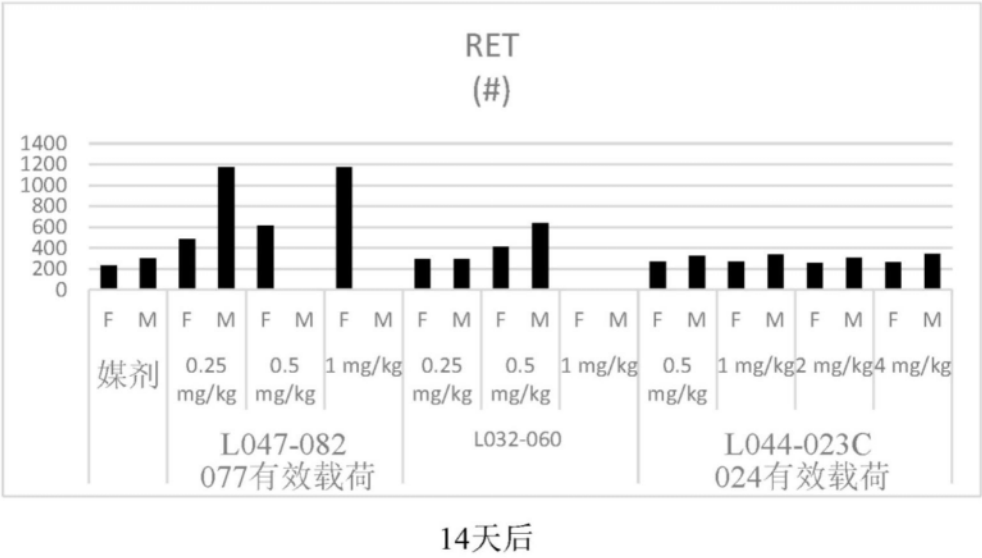
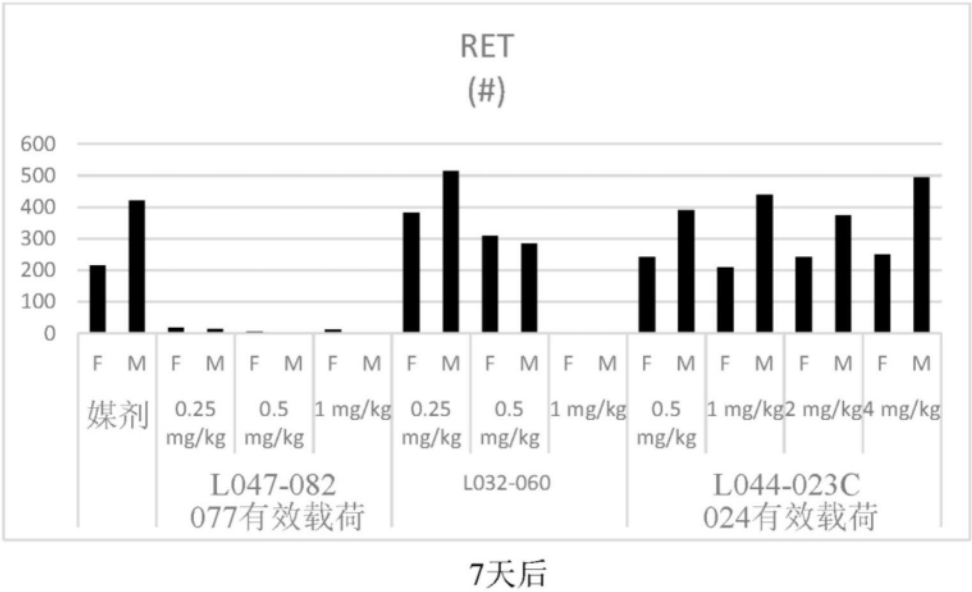


图7H

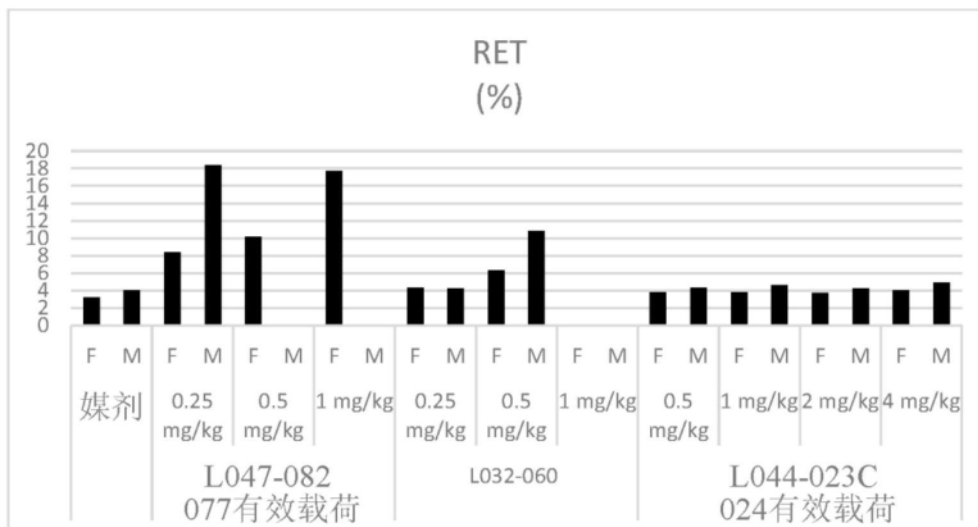
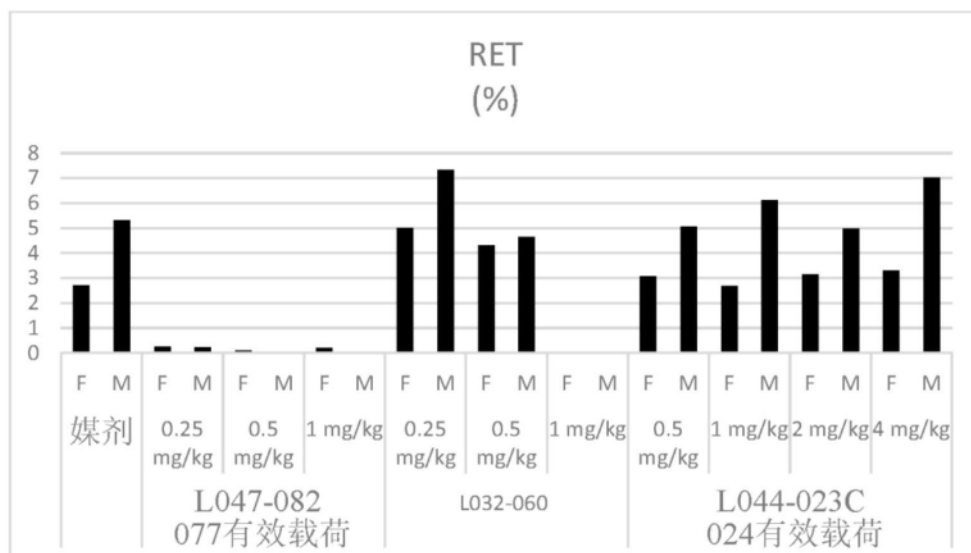


图7I

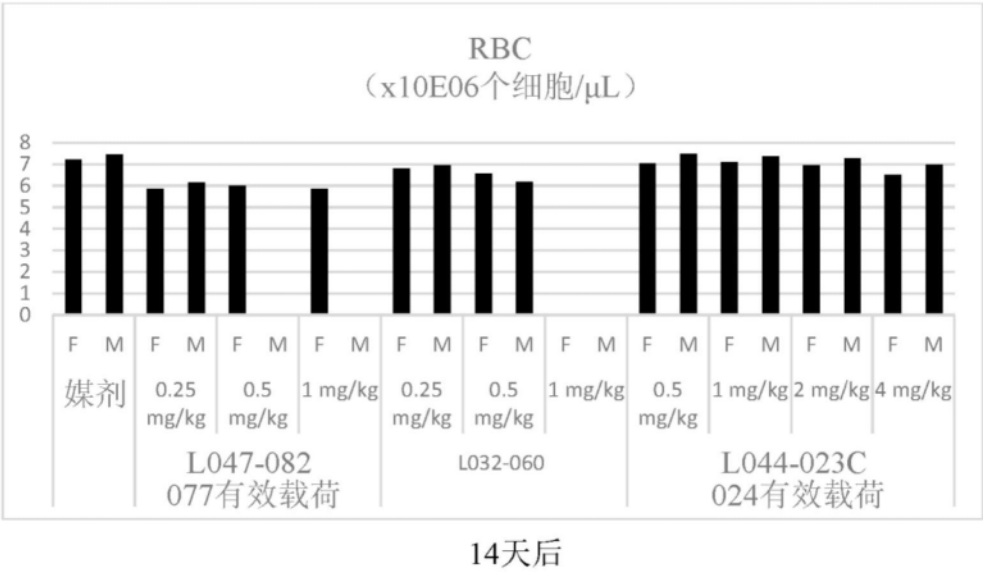
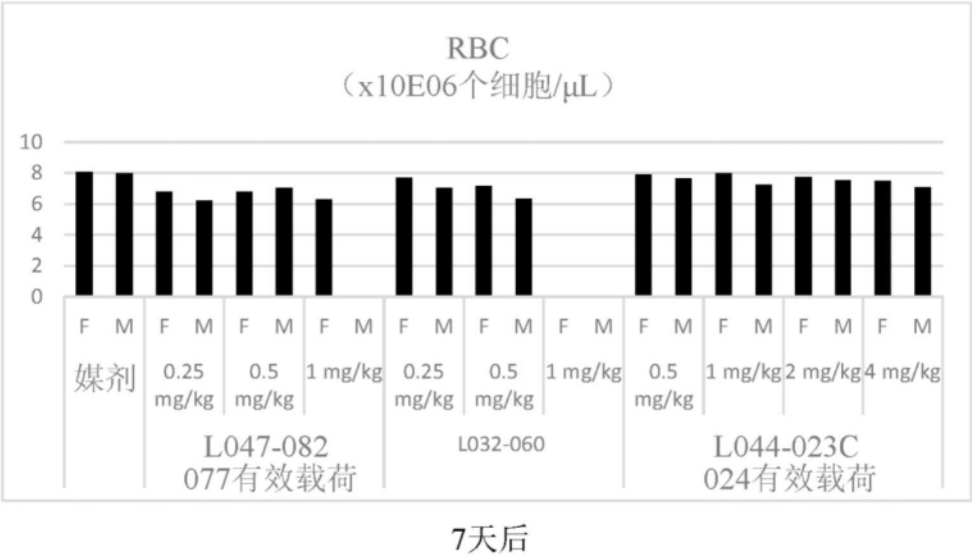
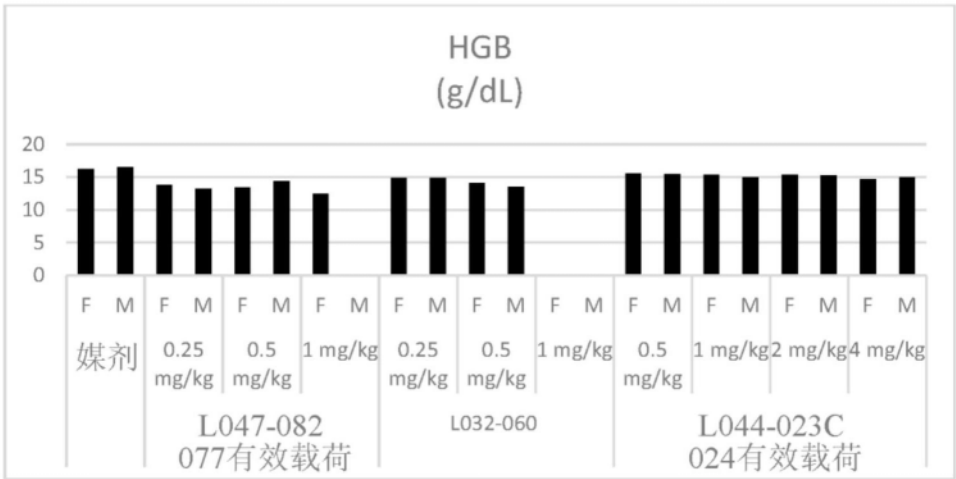
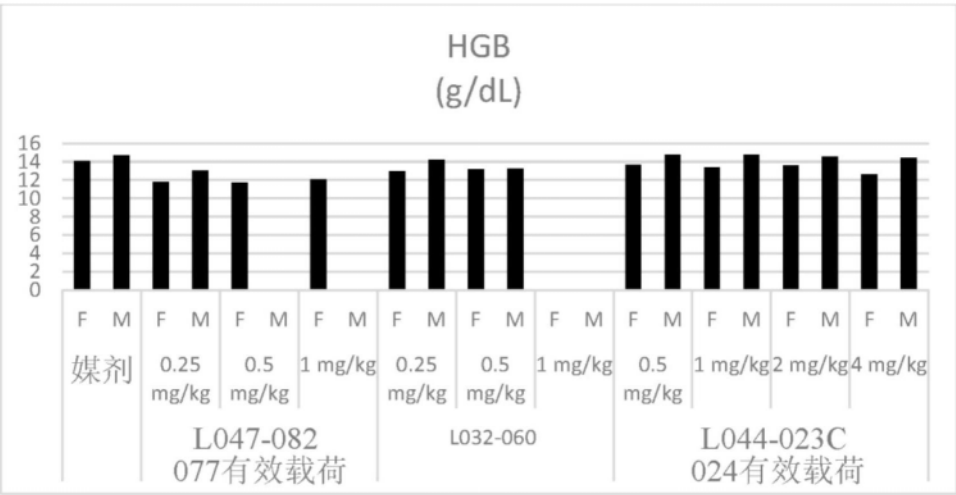


图7J



7天后



14天后

图7K

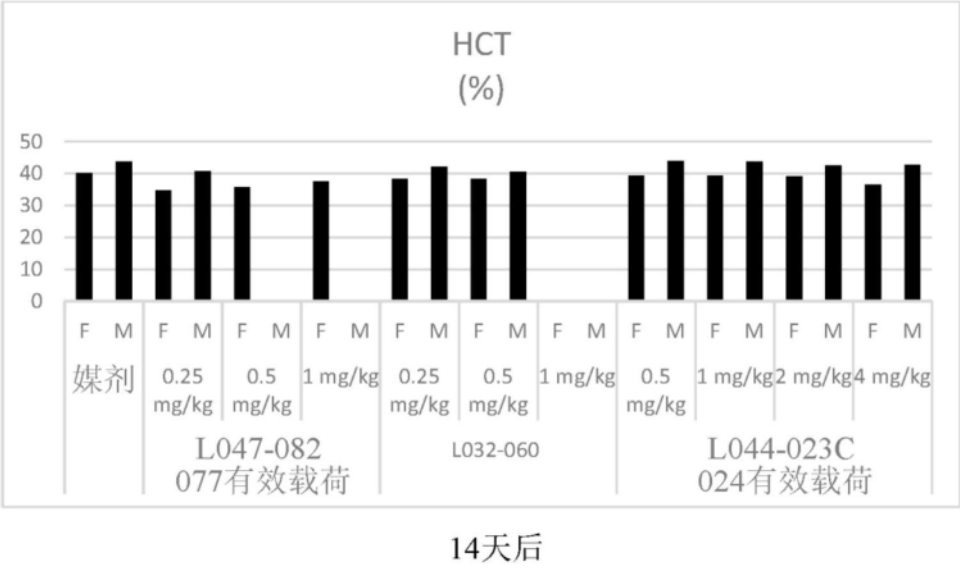
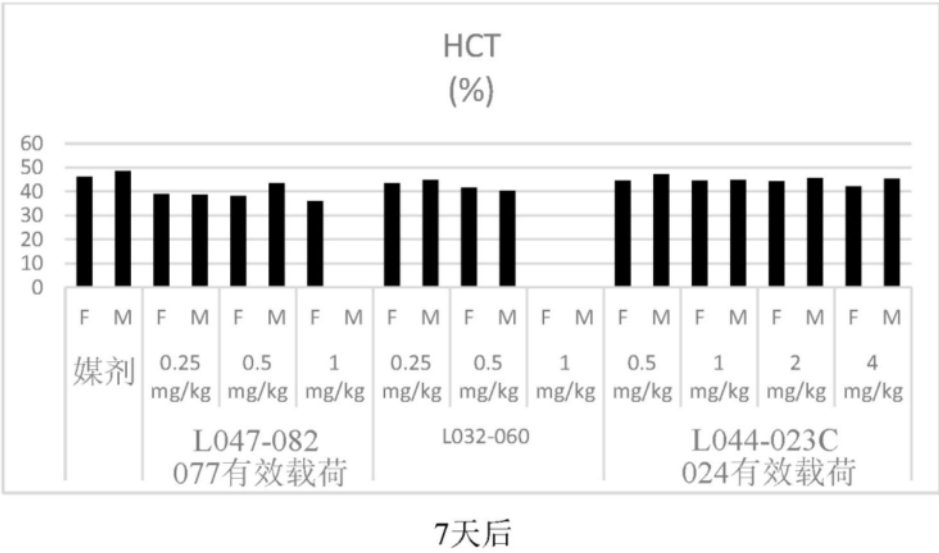


图7L

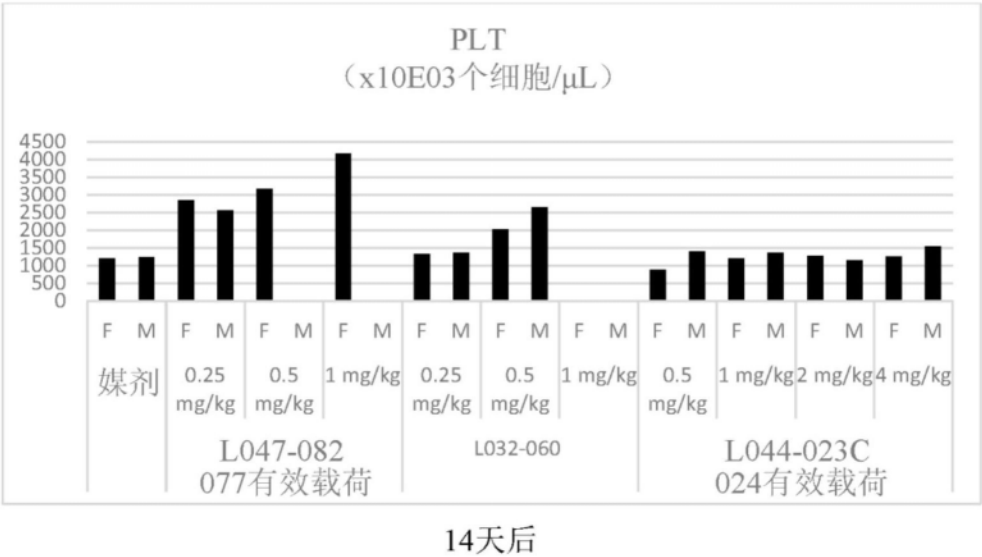
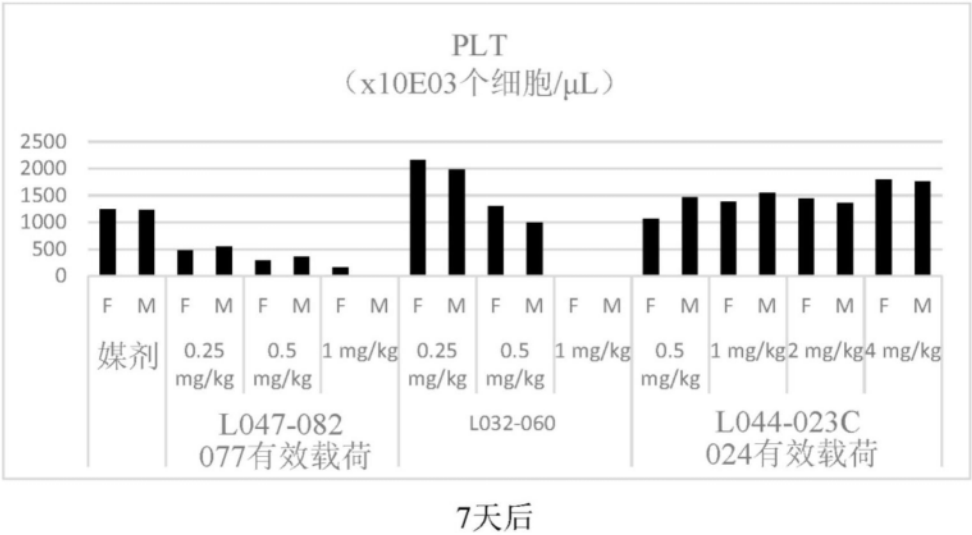
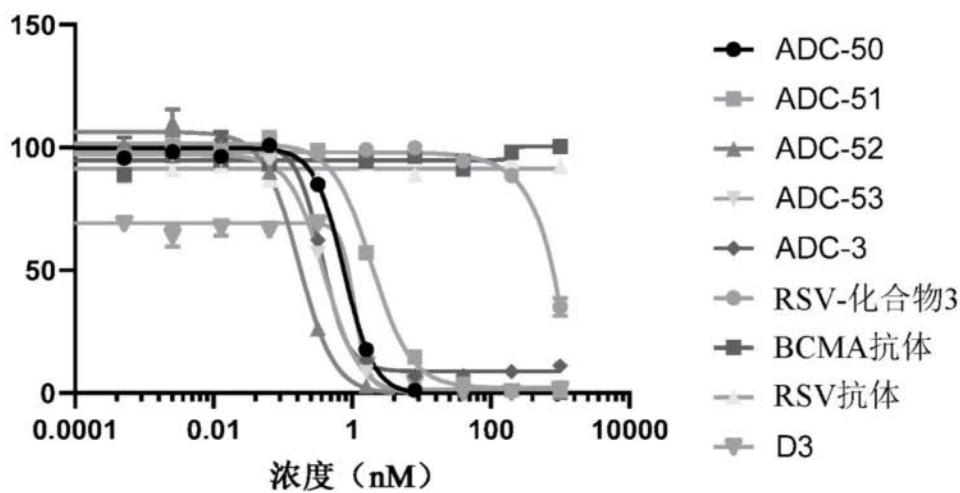


图7M

H929 (+)



K562 (-)

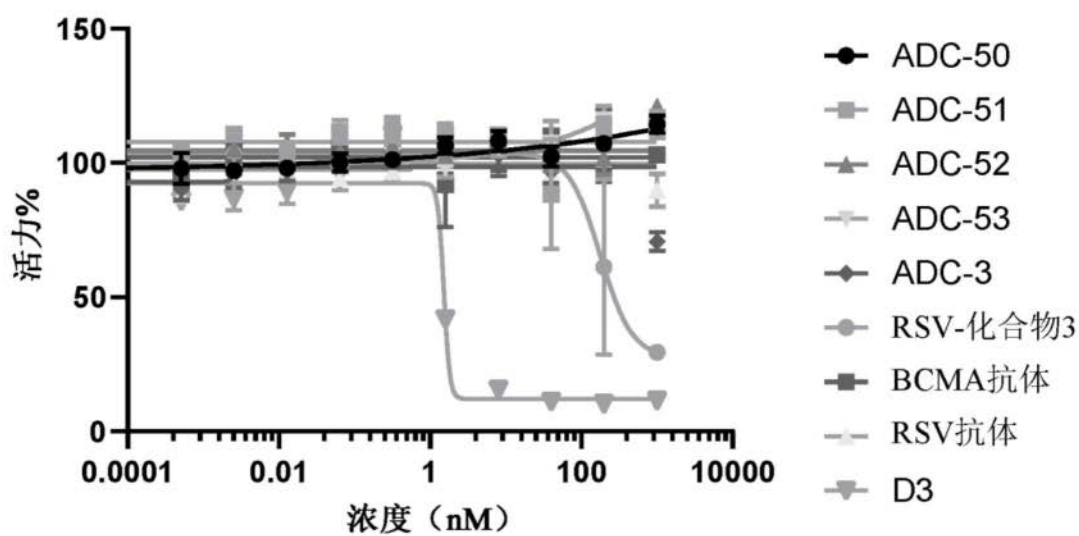


图8