



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 120282965 A

(43) 申请公布日 2025. 07. 08

(21) 申请号 202280066194.8

(22) 申请日 2022.10.28

(30) 优先权数据

63/322,914 2022.03.23 US

63/344,932 2022.05.23 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.03.29

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2022/038904 2022.10.28

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/009835 EN 2023.02.02

(71) 申请人 R·P·谢勒技术有限责任公司

地址 美国内华达州

(72) 发明人 D·拉布卡 P·M·德雷克

Y·C·金 R·M·巴菲尔德

M·鲍宗 A·奥贡科亚

S·丘普拉科夫

(74) 专利代理机构 北京华睿卓成知识产权代理

事务所(普通合伙) 11436

专利代理师 程淼

(51) Int.Cl.

C07D 487/06 (2006.01)

C07D 487/12 (2006.01)

A61K 31/5025 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

权利要求书9页 说明书120页 附图29页

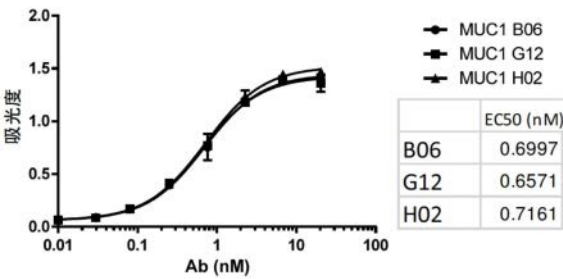
(54) 发明名称

黏蛋白-1特异性抗体缀合物及其使用方法

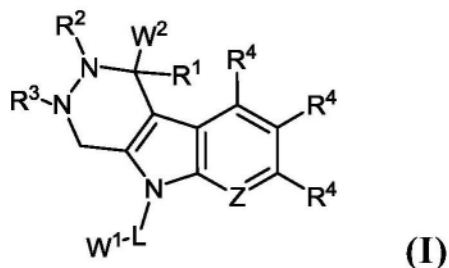
(57) 摘要

本公开内容提供了对MUC1特异性的抗体缀合物(例如,抗体-药物缀合物(ADC))。本公开内容还涵盖这样的缀合物的生产方法以及其使用方法。还提供了包含本公开内容的ADC的组合物,在一些情况下包括药物组合物。在某些方面,提供了使用ADC的方法,其包括向患有细胞增殖性疾病的个体施用治疗有效量的本公开内容的ADC。

20mer MUC1糖基化生物素



1. 一种式(I)的缀合物:



其中

Z为CR⁴或N;

R¹选自氢、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基;

R²和R³各自独立地选自氢、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、烷氧基、取代的烷氧基、氨基、取代的氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代的烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代的硫代烷氧基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基,或R²和R³任选地环状连接以形成5或6元杂环基;

每个R⁴独立地选自氢、卤素、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、烷氧基、取代的烷氧基、氨基、取代的氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代的烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代的硫代烷氧基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基;

L为接头;

W¹为药物;并且

W²为抗-MUC1抗体。

2. 根据权利要求1所述的缀合物,其中L包含:

$-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-(T^4-V^4)_d-(T^5-V^5)_e-(T^6-V^6)_f-$,

其中

a、b、c、d、e和f各自独立地为0或1,其中a、b、c、d、e和f之和为1至6;

T¹、T²、T³、T⁴、T⁵和T⁶各自独立地选自共价键、(C₁-C₁₂) 烷基、取代的(C₁-C₁₂) 烷基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基、(EDA)_w、(PEG)_n、(AA)_p、-(CR¹³OH)_m、4-氨基-哌啶(4AP)、间-氨基-苄氧基(MABO)、间-氨基-苄氧基羰基(MABC)、对-氨基-苄氧基(PABO)、对-氨基-苄氧基羰基(PABC)、对-氨基苄基(PAB)、对-氨基-苄氨基(PABA)、对-氨基-苯基(PAP)、对-羟基-苯基(PHP)、缩醛、肼、二硫化物和酯,其中EDA为乙二胺部分,PEG为聚乙二醇,并且AA为氨基酸残基或氨基酸类似物,其中每个w为1至20的整数,每个n为1至30的整数,每个p为1至20的整数,并且每个m为1至12的整数;

V¹、V²、V³、V⁴、V⁵和V⁶各自独立地选自共价键、-CO-、-NR¹⁵-、-NR¹⁵(CH₂)_q-、-NR¹⁵(C₆H₄)-、-CONR¹⁵-、-NR¹⁵CO-、-C(O)O-、-OC(O)-、-O-、-S-、-S(O)-、-SO₂-、-SO₂NR¹⁵-、-NR¹⁵SO₂-和-P(O)OH-,其中每个q为1至6的整数;

每个R¹³独立地选自氢、烷基、取代的烷基、芳基和取代的芳基;

每个 R^{15} 独立地选自氢、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、羧基、羧基酯、酰基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基。

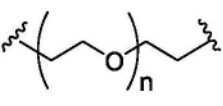
3. 根据权利要求2所述的缀合物, 其中:

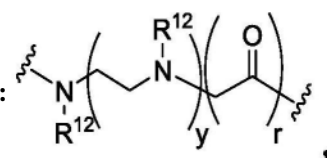
T^1 选自 (C_1-C_{12}) 烷基和取代的 (C_1-C_{12}) 烷基;

T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 和 T^6 各自独立地选自共价键、 (C_1-C_{12}) 烷基、取代的 (C_1-C_{12}) 烷基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基、 $(EDA)_w$ 、 $(PEG)_n$ 、 $(AA)_p$ 、 $-(CR^{13}OH)_m$ 、4-氨基-哌啶(4AP)、MABO、MABC、PABO、PABC、PAB、PABA、PAP、PHP、缩醛基、肼和酯; 并且

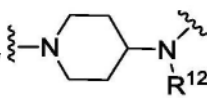
V^1 、 V^2 、 V^3 、 V^4 、 V^5 和 V^6 各自独立地选自共价键、 $-CO-$ 、 $-NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}(CH_2)_q-$ 、 $-NR^{15}(C_6H_4)-$ 、 $-CONR^{15}-$ 、 $-NR^{15}CO-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-SO_2NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}SO_2-$ 和 $-P(O)OH-$;

其中:

$(PEG)_n$ 为 , 其中n为1至30的整数;

EDA为具有以下结构的乙二胺部分: , 其中y为1至6的整数, 并且r

为0或1;

4-氨基-哌啶(4AP)为 , 并且

每个 R^{12} 独立地选自氢、烷基、取代的烷基、聚乙二醇部分、芳基和取代的芳基, 其中任何两个相邻的 R^{12} 基团可以环状连接以形成哌嗪基环。

4. 根据权利要求2至3中任一项所述的缀合物, 其中MABO、MABC、PABO、PABC、PAB、PABA、PAP和PHP各自任选地被糖苷取代。

5. 根据权利要求4所述的缀合物, 其中所述糖苷选自葡萄糖苷、半乳糖苷、葡萄糖苷、甘露糖苷、岩藻糖苷、O-GlcNAc和O-GalNAc。

6. 根据权利要求2至5中任一项所述的缀合物,

其中:

T^1 为 (C_1-C_{12}) 烷基并且 V^1 为 $-CO-$;

T^2 为氨基酸类似物并且 V^2 为 $-NH-$;

T^3 为 $(PEG)_n$ 并且 V^3 为 $-CO-$;

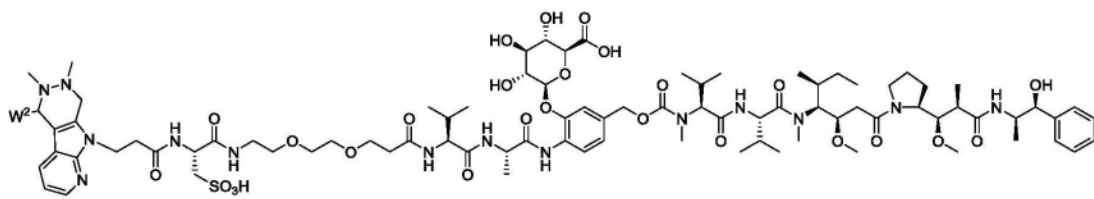
T^4 为AA并且 V^4 不存在;

T^5 为PABC并且 V^5 不存在; 并且

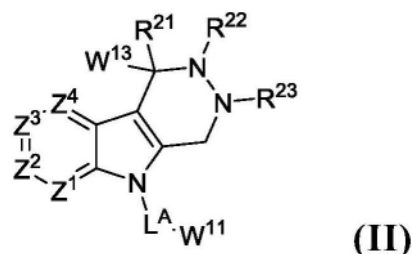
f为0。

7. 根据权利要求1至6中任一项所述的缀合物, 其中所述药物为一甲基澳瑞他汀E(MMAE)。

8. 根据权利要求1至7中任一项所述的缀合物,其中所述缀合物具有以下结构:



9. 一种式 (II) 的缀合物:



其中:

Z^1 、 Z^2 、 Z^3 和 Z^4 各自独立地选自 CR^{24} 、N和 $C-L^B-W^{12}$,其中至少一个 Z^1 、 Z^2 、 Z^3 和 Z^4 为 $C-L^B-W^{12}$;

R^{21} 选自氢、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基;

R^{22} 和 R^{23} 各自独立地选自氢、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、烷氧基、取代的烷氧基、氨基、取代的氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代的烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代的硫代烷氧基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基,或 R^{22} 和 R^{23} 任选地环状连接以形成5或6元杂环基;

每个 R^{24} 独立地选自氢、卤素、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、烷氧基、取代的烷氧基、氨基、取代的氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代的烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代的硫代烷氧基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基;

L^A 为第一接头;

L^B 为第二接头;

W^{11} 为第一药物;

W^{12} 为第二药物;并且

W^{13} 为抗-MUC1抗体。

10. 根据权利要求9所述的缀合物,其中 Z^1 为 CR^{24} 。

11. 根据权利要求9所述的缀合物,其中 Z^1 为N。

12. 根据权利要求9所述的缀合物,其中 Z^3 为 $C-L^B-W^{12}$ 。

13. 根据权利要求9至12中任一项所述的缀合物,其中 L^A 包含:

$-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-(T^4-V^4)_d-(T^5-V^5)_e-(T^6-V^6)_f-$,

其中

a、b、c、d、e和f各自独立地为0或1;

T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 和 T^6 各自独立地选自共价键、 (C_1-C_{12}) 烷基、取代的 (C_1-C_{12}) 烷基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基、

(EDA)_w、(PEG)_n、(AA)_p、-(CR¹³OH)_x-、4-氨基-哌啶(4AP)、间-氨基-苄氧基(MABO)、间-氨基-苄氧基羰基(MABC)、对-氨基-苄氧基(PABO)、对-氨基-苄氧基羰基(PABC)、对-氨基苄基(PAB)、对-氨基-苄氨基(PABA)、对-氨基-苯基(PAP)、对-羟基-苯基(PHP)、缩醛基、肼、二硫化物和酯,其中EDA为乙二胺部分,PEG为聚乙二醇,并且AA为氨基酸残基或氨基酸类似物,其中每个w为1至20的整数,每个n为1至30的整数,每个p为1至20的整数,并且每个x为1至12的整数;

V¹、V²、V³、V⁴、V⁵和V⁶各自独立地选自共价键、-CO-、-NR¹⁵-、-NR¹⁵(CH₂)_q-、-NR¹⁵(C₆H₄)-、-CONR¹⁵-、-NR¹⁵CO-、-C(O)O-、-OC(O)-、-O-、-S-、-S(O)-、-SO₂-、-SO₂NR¹⁵-、-NR¹⁵SO₂-和-P(O)OH-,其中每个q为1至6的整数;

每个R¹³独立地选自氢、烷基、取代的烷基、芳基和取代的芳基;并且

每个R¹⁵独立地选自氢、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、羧基、羧基酯、酰基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基。

14. 根据权利要求13所述的缀合物,其中MABO、MABC、PABO、PABC、PAB、PABA、PAP和PHP各自任选地被糖苷取代。

15. 根据权利要求14所述的缀合物,其中所述糖苷选自葡萄糖苷酸、半乳糖苷、葡萄糖苷、甘露糖苷、岩藻糖苷、O-GlcNAc和O-GalNAc。

16. 根据权利要求9至15中任一项所述的缀合物,

其中:

T¹为(C₁-C₁₂)烷基并且V¹为-CONH-;

T²为取代的(C₁-C₁₂)烷基并且V²为-CO-;

T³为AA并且V³不存在;

T⁴为PABC并且V⁴不存在;并且

e和f均为0。

17. 根据权利要求9至16中任一项所述的缀合物,其中L^B包含:-(T⁷-V⁷)_g-(T⁸-V⁸)_h-(T⁹-V⁹)_i-(T¹⁰-V¹⁰)_j-(T¹¹-V¹¹)_k-(T¹²-V¹²)_l-(T¹³-V¹³)_m-,其中

g、h、i、j、k、l和m各自独立地为0或1;

T⁷、T⁸、T⁹、T¹⁰、T¹¹、T¹²和T¹³各自独立地选自共价键、(C₁-C₁₂)烷基、取代的(C₁-C₁₂)烷基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基、(EDA)_w、(PEG)_n、(AA)_p、-(CR¹³OH)_x-、4-氨基-哌啶(4AP)、间-氨基-苄氧基(MABO)、间-氨基-苄氧基羰基(MABC)、对-氨基-苄氧基(PABO)、对-氨基-苄氧基羰基(PABC)、对-氨基苄基(PAB)、对-氨基-苄氨基(PABA)、对-氨基-苯基(PAP)、对-羟基-苯基(PHP)、缩醛基、肼、二硫化物和酯,其中EDA为乙二胺部分,PEG为聚乙二醇,AA为氨基酸残基或氨基酸类似物,其中每个w为1至20的整数,每个n为1至30的整数,每个p为1至20的整数,并且每个x为1至12的整数;

V⁷、V⁸、V⁹、V¹⁰、V¹¹、V¹²和V¹³各自独立地选自共价键、-CO-、-NR¹⁵-、-NR¹⁵(CH₂)_q-、-NR¹⁵(C₆H₄)-、-CONR¹⁵-、-NR¹⁵CO-、-C(O)O-、-OC(O)-、-O-、-S-、-S(O)-、-SO₂-、-SO₂NR¹⁵-、-NR¹⁵SO₂-和-P(O)OH-,其中每个q为1至6的整数;

每个R¹³独立地选自氢、烷基、取代的烷基、芳基和取代的芳基;并且

每个 R^{15} 独立地选自氢、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、羧基、羧基酯、酰基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基。

18. 根据权利要求17所述的缀合物, 其中MABO、MABC、PABO、PABC、PAB、PABA、PAP和PHP各自任选地被糖苷取代。

19. 根据权利要求17至18中任一项所述的缀合物, 其中所述糖苷选自葡萄糖苷酸、半乳糖苷、葡萄糖苷、甘露糖苷、岩藻糖苷、O-GlcNAc和O-GalNAc。

20. 根据权利要求17至19中任一项所述的缀合物,

其中:

T^7 不存在并且 V^7 为 $-NHC(=O)-$;

T^8 为 (C_1-C_{12}) 烷基并且 V^8 为 $-CONH-$;

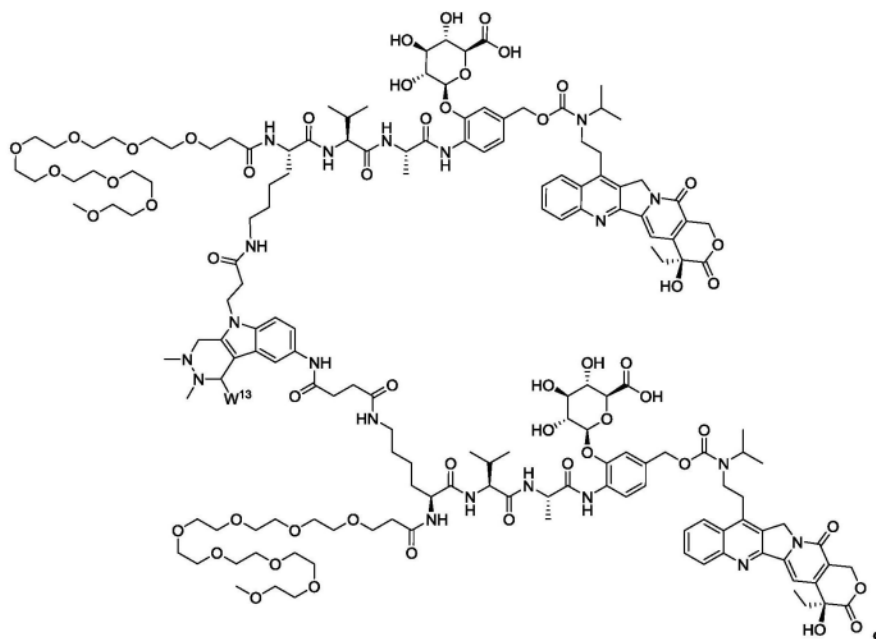
T^9 为取代的 (C_1-C_{12}) 烷基并且 V^9 为 $-C(=O)-$;

T^{10} 为AA并且 V^{10} 不存在;

T^{11} 为PABC并且 V^{11} 不存在; 并且

1和m均为0。

21. 根据权利要求9所述的缀合物, 其中所述缀合物具有以下结构:



22. 根据权利要求1至21中任一项所述的缀合物, 其中所述抗-MUC1抗体为IgG1抗体。

23. 根据权利要求22所述的缀合物, 其中所述抗-MUC1抗体为IgG1 κ 抗体。

24. 根据权利要求1至23中任一项所述的缀合物, 其中所述抗-MUC1抗体包含式(III)的序列:

$X^1(fGly')X^2Z^2X^3Z^3$ (III),

其中

X^1 存在或不存在, 并且当存在时, 可以为任何氨基酸, 条件是当序列位于缀合物的N-端时, X^1 存在;

fGly' 为通过接头与药物偶联的氨基酸残基;

X^2 和 X^3 各自独立地为任何氨基酸；

Z^2 为脯氨酸或丙氨酸残基；并且

Z^3 为碱性氨基酸或脂肪族氨基酸。

25. 根据权利要求24所述的缀合物，其中所述序列为L (fGly') TPSR (SEQ ID NO:24)。

26. 根据权利要求24所述的缀合物，其中

Z^3 选自R、K、H、A、G、L、V、I和P；

X^1 选自L、M、S和V；并且

X^2 和 X^3 各自独立地选自S、T、A、V、G和C。

27. 根据权利要求1至26中任一项所述的缀合物，其中所述序列位于所述抗-MUC2抗体的重链恒定区的C-端。

28. 根据权利要求27所述的缀合物，其中所述重链恒定区包含式(III)的序列：

X^1 (fGly') $X^2 Z^2 X^3 Z^3$ (III)，

其中

X^1 存在或不存在，并且当存在时，可以为任何氨基酸，条件是当序列位于缀合物的N-端时， X^1 存在；

fGly'为通过接头与药物偶联的氨基酸残基；

X^2 和 X^3 各自独立地为任何氨基酸；

Z^2 为脯氨酸或丙氨酸残基；

Z^3 为碱性氨基酸或脂肪族氨基酸，并且

其中所述序列为氨基酸序列SLSLSPG (SEQ ID NO:187)的C-端。

29. 根据权利要求28所述的缀合物，其中所述重链恒定区包含序列SPGSL (fGly') TPSRGS (SEQ ID NO:188)。

30. 根据权利要求28所述的缀合物，其中

Z^3 选自R、K、H、A、G、L、V、I和P；

X^1 选自L、M、S和V；并且

X^2 和 X^3 各自独立地选自S、T、A、V、G和C。

31. 根据权利要求27至30中任一项所述的缀合物，其中所述抗-MUC1抗体的重链恒定区包含与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一的氨基酸序列，并且在第332位氨基酸处包含fGly'残基而不为C。

32. 根据权利要求1至26中任一项所述的缀合物，其中所述抗-MUC1抗体的重链恒定区包含与SEQ ID NO:58、62、66和70中任一项所示的氨基酸序列至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一的氨基酸序列，并且在第59位氨基酸处包含fGly'残基而不为C。

33. 根据权利要求1至26中任一项所述的缀合物，其中所述抗-MUC1抗体的重链恒定区包含与SEQ ID NO:59、63、67和71中任一项所示的氨基酸序列至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一的氨基酸序列，并且在第62位氨基酸处包含fGly'残基而不为C。

34. 根据权利要求1至26中任一项所述的缀合物，其中所述抗-MUC1抗体的重链恒定区

包含与SEQ ID NO:60、64、68和72中任一项所示的氨基酸序列至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一的氨基酸序列,并且在第92位氨基酸处包含fGly'残基而不为C。

35.根据权利要求1至26中任一项所述的缀合物,其中所述抗-MUC1抗体的重链恒定区包含与SEQ ID NO:61、65、69和73中任一项所示的氨基酸序列至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一的氨基酸序列,并且在第117位氨基酸处包含fGly'残基而不为C。

36.根据权利要求1至26中任一项所述的缀合物,其中所述fGly'残基位于所述抗-MUC1抗体的轻链恒定区中。

37.根据权利要求36所述的缀合物,其中所述轻链恒定区包含式(III)的序列:

$X^1(fGly')X^2Z^2X^3Z^3$ (III),

其中

X^1 存在或不存在,并且当存在时,可以为任何氨基酸,条件是当序列位于缀合物的N-端时, X^1 存在;

fGly'为通过接头与药物偶联的氨基酸残基;

X^2 和 X^3 各自独立地为任何氨基酸;

Z^2 为脯氨酸或丙氨酸残基;

Z^3 为碱性氨基酸或脂肪族氨基酸,并且

其中所述序列为氨基酸序列KVDNAL(SEQ ID NO:101)的C-端,和/或为序列QSGNSQ(SEQ ID NO:102)的N-端。

38.根据权利要求37所述的缀合物,其中所述轻链恒定区包含序列KVDNAL(fGly')TPSRQSGNSQ(SEQ ID NO:103)。

39.根据权利要求36所述的缀合物,其中

Z^3 选自R、K、H、A、G、L、V、I和P;

X^1 选自L、M、S和V;并且

X^2 和 X^3 各自独立地选自S、T、A、V、G和C。

40.根据权利要求1至26中任一项所述的缀合物,其中所述fGly'残基位于所述抗-MUC1抗体的重链CH1区中。

41.根据权利要求40所述的缀合物,其中所述轻链恒定区包含式(III)的序列:

$X^1(fGly')X^2Z^2X^3Z^3$ (III),

其中

X^1 存在或不存在,并且当存在时,可以为任何氨基酸,条件是当序列位于缀合物的N-端时, X^1 存在;

fGly'为通过接头与药物偶联的氨基酸残基;

X^2 和 X^3 各自独立地为任何氨基酸;

Z^2 为脯氨酸或丙氨酸残基;

Z^3 为碱性氨基酸或脂肪族氨基酸,并且

其中所述序列为氨基酸序列SWNSGA(SEQ ID NO:104)的C-端和/或为氨基酸序列GVHTFP(SEQ ID NO:105)的N-端。

42. 根据权利要求41所述的缀合物, 其中所述重链CH1区包含序列SWNSGAL (fGly') TPSRGVHTFP (SEQ ID NO:106)。

43. 根据权利要求42所述的缀合物, 其中

Z³选自R、K、H、A、G、L、V、I和P;

X¹选自L、M、S和V; 并且

X²和X³各自独立地选自S、T、A、V、G和C。

44. 根据权利要求1至26中任一项所述的缀合物, 其中所述fGly' 残基位于所述抗-MUC1抗体的重链CH2区中。

45. 根据权利要求1至26中任一项所述的缀合物, 其中所述fGly' 残基位于所述抗-MUC1抗体的重链CH3区中。

46. 根据权利要求1至45中任一项所述的缀合物, 其中所述抗-MUC1抗体与包含以下的抗-MUC1抗体竞争结合MUC1:

可变重链 (VH) 链, 其包含具有以下序列的VH链的重链CDR 1-3 (HCDR 1-3):

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDHTMHWIKQRP GKGLEWMGYFYPRDDSTNYNEKFKGRVTLT
ADKSTDTAYMELSS LRSEDTAVYYCARGRLRYALDYWGQGTTLVTVSS (SEQ ID NO:1); 和

可变轻链 (VL) 链, 其包含具有以下序列的VL链的轻链CDR1-3 (LCDR 1-3):

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVSSSYLYWYQQKPGQA PRLWIYGTSNLASGVPARFSGSGSGTD
YTLTISSLEPEDAAVYYCH QYAWSPPTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:2);

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVGSSNLYWYQQKPGQ APRLWIYRSTKLASGVPARFSGSGSGTD
YTLTISSLEPEDAAVYYC HQYRWSPTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:3); 或

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVSSSYLYWYQQKPGQA PRLWIIGTSNLASGVPARFSGSGSGTD
YTLTISSLEPEDAAVYYCHQ YSWSPPTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:4)。

47. 根据权利要求1至45中任一项所述的缀合物, 其中所述抗-MUC1抗体包含:

可变重链 (VH) 链, 其包含具有以下序列的VH链的重链CDR 1-3 (HCDR 1-3):

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDHTMHWIKQRP GKGLEWMGYFYPRDDSTNYNEKFKGRVTLT
ADKSTDTAYMELSS LRSEDTAVYYCARGRLRYALDYWGQGTTLVTVSS (SEQ ID NO:1); 和

可变轻链 (VL) 链, 其包含具有以下序列的VL链的轻链CDR 1-3 (LCDR 1-3):

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVSSSYLYWYQQKPGQA PRLWIYGTSNLASGVPARFSGSGSGTD
YTLTISSLEPEDAAVYYCH QYAWSPPTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:2);

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVGSSNLYWYQQKPGQ APRLWIYRSTKLASGVPARFSGSGSGTD
YTLTISSLEPEDAAVYYC HQYRWSPTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:3); 或

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVSSSYLYWYQQKPGQA PRLWIIGTSNLASGVPARFSGSGSGTD
YTLTISSLEPEDAAVYYCHQ YSWSPPTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:4)。

48. 根据权利要求46或47所述的缀合物, 其中所述VH多肽包含与SEQ ID NO:1中所示的氨基酸序列具有至少80%同一性的氨基酸序列。

49. 根据权利要求46至48中任一项所述的缀合物, 其中所述VL多肽包含与SEQ ID NO:2、3或4中所示的氨基酸序列具有至少80%同一性的氨基酸序列。

50. 根据权利要求46至49中任一项所述的缀合物, 其中:

HCDR1包含氨基酸序列DHTMH (SEQ ID NO:17);

HCDR2包含氨基酸序列YFYPRDDSTNYNEKFKG (SEQ ID NO:18);
HCDR3包含氨基酸序列GLRYALDY (SEQ ID NO:9);
LCDR1包含氨基酸序列RASSSVSSSYLY (SEQ ID NO:10);
LCDR2包含氨基酸序列GTSNLAS (SEQ ID NO:11);并且
LCDR3包含氨基酸序列HQYAWSPPT (SEQ ID NO:12),根据Kabat定义。

51.根据权利要求46至49中任一项所述的缀合物,其中:

HCDR1包含氨基酸序列DHTMH (SEQ ID NO:17);
HCDR2包含氨基酸序列YFYPRDDSTNYNEKFKG (SEQ ID NO:18);
HCDR3包含氨基酸序列GLRYALDY (SEQ ID NO:9);
LCDR1包含氨基酸序列RASSSVGSSNLY (SEQ ID NO:13);
LCDR2包含氨基酸序列RSTKLAS (SEQ ID NO:14);并且
LCDR3包含氨基酸序列HQYRWSPT (SEQ ID NO:15),根据Kabat定义。

52.根据权利要求46至49中任一项所述的缀合物,其中:

HCDR1包含氨基酸序列DHTMH (SEQ ID NO:17);
HCDR2包含氨基酸序列YFYPRDDSTNYNEKFKG (SEQ ID NO:18);
HCDR3包含氨基酸序列GLRYALDY (SEQ ID NO:9);
LCDR1包含氨基酸序列RASSSVSSSYLY (SEQ ID NO:10);
LCDR2包含氨基酸序列GTSNLAS (SEQ ID NO:11);并且
LCDR3包含氨基酸序列HQYSWSPPT (SEQ ID NO:16),根据Kabat定义。

53.一种药物组合物,其包含:

根据权利要求1至52中任一项所述的缀合物;和
药学上可接受的赋形剂。

54.一种方法,其包括:

向受试者施用有效量的根据权利要求1至52中任一项所述的缀合物。

55.一种治疗受试者的癌症的方法,所述方法包括:

向受试者施用治疗有效量的根据权利要求53所述的药物组合物,其中所述施用有效治疗受试者的癌症。

56.根据权利要求55所述的方法,其中所述癌症为乳腺癌、卵巢癌、肺癌或胃癌。

57.根据权利要求56所述的方法,其中所述癌症的特征在于表达糖基化MUC1的癌细胞。

58.根据权利要求56所述的方法,其中所述缀合物结合至糖基化的MUC1。

59.根据权利要求55至58中任一项所述的方法,其中所述乳腺癌为雌激素、孕激素和HER2三阴性的。

60.根据权利要求59所述的方法,其中三阴性乳腺癌为转移性三阴性乳腺癌。

61.根据权利要求59或60所述的方法,其中三阴性乳腺癌为复发性或难治性三阴性乳腺癌。

62.一种将药物递送至受试者的靶点的方法,所述方法包括:

向受试者施用根据权利要求53所述的药物组合物,其中所述施用有效地从受试者体内靶点处的缀合物中释放治疗有效量的药物。

黏蛋白-1特异性抗体缀合物及其使用方法

[0001] 相关专利申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2021年7月30日提交的美国临时申请号63/227,666、于2022年3月23日提交的美国临时申请号63/322,914和于2022年5月23日提交的美国临时申请号63/344,932的优先权的权益,其中每一项的公开内容通过引用并入本文。

[0003] 通过引用并入以电子方式提交的材料

[0004] 序列列表以序列列表XML随本文提供,“RDWD-045WO_SEQ_LIST”创建于2022年10月13日且大小为164KB。序列列表XML的内容通过引用以其整体并入本文。

背景技术

[0005] 蛋白质-小分子治疗缀合物领域已经取得了巨大进步,提供了许多临床有益的药物,并有望在未来几年提供更多。蛋白质-缀合物治疗药物可以提供多个优点,例如,由于特异性、功能多样性和相对较低的脱靶活性,导致较少的副作用。蛋白质的化学修饰可通过使它们更有效、更稳定或更多模态来扩展这些优势。

[0006] 许多标准的化学转化通常用于产生和操纵蛋白质的翻译后修饰。有许多方法可以选择性地修饰某些氨基酸的侧链。例如,可通过用水溶性碳二亚胺试剂初始激活并随后与胺反应来靶向羧酸侧链(天冬氨酸和谷氨酸)。类似地,可以通过使用活化酯或异硫氰酸酯来靶向赖氨酸,且可以通过马来酰亚胺和 α -卤代羰基来靶向半胱氨酸硫醇。

[0007] 发明化学改变的蛋白质治疗药物或试剂的一个重大障碍为以生物学上的活性的、同质的形式生产蛋白质。药物或可检测标记与多肽的缀合可能难以控制,从而产生具有不同的附着的药物分子数量和化学缀合位置的缀合物的异质混合物。在一些情况下,期望使用合成有机化学的工具来控制缀合位点和/或与多肽缀合的药物或可检测标记,以在多肽上指导精确地和可选择地形成化学键。

[0008] 黏蛋白-1(Mucin-1)(也称为黏蛋白1或MUC1)为黏蛋白家族的成员。黏蛋白为O-糖基化蛋白质,其在上皮表面形成保护性粘液屏障中起重要作用。MUC1在上皮细胞的顶端表面表达,上皮细胞排列在许多不同组织的粘膜表面,包括肺、乳腺、胃和胰腺。这种蛋白质被蛋白水解裂解成形成异二聚体复合物的 α 和 β 亚基。N-端 α 亚基在细胞粘附中起作用,且C-端 β 亚基参与细胞信号传导。这种蛋白的过度表达、异常的细胞内定位和糖基化的改变与癌相关。

[0009] 本领域需要靶向MUC1的安全且有效的药剂来治疗MUC1相关病症,例如癌症。

发明内容

[0010] 本公开内容提供了对MUC1特异性的抗体缀合物(如,抗体-药物缀合物(ADC))。本公开内容还包括这种缀合物的生产方法,以及其使用方法。下文更详细地描述了每个实施方案。还提供了包含本公开内容的ADC的组合物,在一些情况下包括药物组合物。在某些方面,提供了使用所述ADC的方法,包括向具有细胞增殖性疾病的个体施用治疗有效量的本公开内容的ADC。

附图说明

[0011] 图1示出了通过尺寸排阻色谱法 (SEC) 测定的抗MUC1抗体MUC1gB06、MUC1 G12和MUC1 H02分别为大于99%、大于99%和大于98%单体。

[0012] 图2A-2C示出了抗MUC1抗体MUC1 gB06、MUC1 G12和MUC1H02与重组20mer MUC1糖基化生物素结合,但不与重组60mer MUC1非糖基化生物素或诱饵肽结合,如通过ELISA评估的。

[0013] 图3A-3B示出了抗MUC1抗体MUC1 gB06、MUC1 G12和MUC1H02与未涂布的链霉亲和素或Maxisorp板的结合水平。

[0014] 图4示出了显示所示抗体与命名细胞系结合的叠加直方图,一式三份进行测试。

[0015] 图5示出了显示所示抗体与命名细胞系结合的交错直方图。

[0016] 图6示出了通过差示扫描荧光测定法测定的B06、G12和H02抗MUC1抗体的CH2和Fab区的溶解温度。

[0017] 图7:使用HIPS介导的缀合生产醛标记的抗体并生成ADC。(A) 甲酰甘氨酸识别序列(CXPXR)被遗传编码至抗体中。(B) 共翻译甲酰甘氨酸生成酶将识别序列内的半胱氨酸转化为含有醛官能团的甲酰甘氨酸残基,该醛官能团可与(C) 肼基-异-Pictet-Spengler (Hydrazino-iso-Pictet-Spengler (HIPS)) 缀合元件特异性缀合。

[0018] 图8:通过HIC测定,与RED-601缀合的CT标记的B06抗体产生的DAR (药物抗体比) 为1.85。

[0019] 图9:通过SEC测定,与RED-601缀合的CT标记的B06抗体为99.3%的单体。

[0020] 图10:通过HIC测定,与RED-601缀合的CT标记的G12抗体产生的DAR为1.89。

[0021] 图11:通过SEC测定,与RED-601缀合的CT标记的G12抗体为99.9%的单体。

[0022] 图12:通过HIC测定,与RED-601缀合的CT标记的H02抗体产生的DAR为1.90。

[0023] 图13:通过SEC测定,与RED-601缀合的CT标记的H02抗体为99.1%的单体。

[0024] 图14:由B06、G12或H02变体抗体制成的一甲基溴瑞他汀E (Monomethyl auristatin E, MMAE) 缀合的抗MUC1 ADC对T47D细胞的体外效力。游离MMAE作为有效负载效力的基准被包括在内。

[0025] 图15:携带MMAE有效负载的MMAE缀合的抗MUC1 ADCs-B06RED-601和H02 RED-601的T47D异种移植物的体内效力。 $n=10$ 只小鼠/组;给药用箭头表示。

[0026] 图16:显示B06 ADC与原发性人卵巢腺癌(primary human ovarian adenocarcinomas)结合的代表性数据。四个卵巢腺癌标本与B06 ADC (顶行) 或同种型对照ADC (底行) 反应。棕色表示ADC结合。

[0027] 图17:显示B06 ADC与原发性人肺肿瘤结合的代表性数据。四个肺癌样品与B06 ADC (顶行) 或同种型对照ADC (底行) 反应。左两列为腺癌;右两列为鳞状细胞癌。棕色表示ADC结合。

[0028] 图18:显示B06 ADC与原发性人乳腺肿瘤结合的代表性数据。四个乳腺导管癌标本与B06 ADC (顶行) 或同种型对照ADC (底行) 反应。棕色表示ADC结合。

[0029] 图19:B06 ADC与患者来源的异种移植 (PDX) 肿瘤模型强有力地结合。四个Charles River Laboratories PDX样本与B06 ADC (顶行) 或同种型对照ADC (底行) 反应。棕色表示ADC结合。肿瘤来源从左至右:胃、乳腺、肺、胃。

[0030] 图20:RED-601的结构,其为与抗MUC1抗体缀合的接头-有效负载(参见实施例2中的化合物8)。

[0031] 图21A示出了显示用于产生醛标记的Ig多肽的可能修饰位点的位点图。上面的序列为IgG1轻链多肽保守区的氨基酸序列(SEQ ID NO:74),并显示了Ig轻链中可能的修饰位点;下面的序列为Ig重链多肽保守区的氨基酸序列(SEQ ID NO:75)(GenBank登录号AAG00909),并显示了Ig重链中可能的修饰位点。重链和轻链编号基于全长重链和轻链。

[0032] 图21B-21C示出了智人免疫球蛋白重链恒定区IgG1(SEQ ID NO:47;GenBank P01857.1)、IgG2(SEQ ID NO:48;GenBank P01859.2)、IgG3(SEQ ID NO:49;GenBank P01860.2)、IgG4(SEQ ID NO:50;GenBank AAB59394.1)和IgA(SEQ ID NO:51;GenBank AAT74070)的比对,显示了在免疫球蛋白重链中可以提供醛标签的修饰位点。重链和轻链编号基于完整重链和轻链。

[0033] 图21D示出了免疫球蛋白轻链恒定区的比对,显示了在免疫球蛋白轻链中可以提供醛标签的修饰位点。Seq1=智人 κ 轻链恒定区;GenBank CAA75031.1;SEQ ID NO:52。Seq2=智人 κ 轻链恒定区;GenBank BAC0168.1;SEQ ID NO:53。Seq3=智人 λ 轻链恒定区;GenBank CAA75033;SEQ ID NO:54。Seq4=小家鼠(*Mus musculus*)轻链恒定区;GenBank AAB09710.1;SEQ ID NO:55。Seq5=褐家鼠(*Rattus norvegicus*)轻链恒定区;GenBank AAD10133;SEQ ID NO:56。

[0034] 图22:通过ELISA评估的抗MUC1亲和成熟变体B06和对照抗体,PankoMab和1B2,与20mer MUC1糖基化生物素肽的结合。

[0035] 图23:通过ELISA评估的抗MUC1亲和成熟变体G12和H02与20mer MUC1糖基化生物素肽的结合。

[0036] 图24:通过ELISA评估的抗MUC1亲和成熟变体B06和对照抗体,PankoMab和1B2,与60mer MUC1非糖基化生物素肽的结合。

[0037] 图25:通过ELISA评估的抗MUC1亲和成熟变体G12和H02与60mer MUC1非糖基化生物素肽的结合。

[0038] 图26:通过流式细胞术评估的抗MUC1亲和成熟变体和亲本抗体与抗原阳性T47D细胞或抗原阴性HEK细胞的结合。

[0039] 图27:由B06或H02变体抗体制成的美登素或一甲基溴瑞他汀E(MMAE)缀合的抗MUC1 ADC对UACC-812细胞的体外效力。游离美登素作为有效负载效力的基准被包括在内。

[0040] 图28:通过SEC测定,在91N处与分支MMAE接头-有效负载缀合的单标记B06抗体为96.4%单体。

[0041] 图29:通过HIC测定,在91N处与化合物8缀合的单标记B06抗体产生的DAR为1.78。

[0042] 图30:通过SEC测定,在91N处与化合物8缀合的单标记B06抗体为96.2%单体。

[0043] 图31:通过PLRP测定,在91N处与化合物21缀合的单标记B06抗体产生的DAR为3.74。

[0044] 图32:通过SEC测定,在91N处与化合物21缀合的单标记B06抗体为95.9%单体。

[0045] 图33:通过PLRP测定,与化合物21缀合的双标记B06抗体产生的DAR为7.47。

[0046] 图34:通过SEC测定,与化合物21缀合的双标记B06抗体为96.7%单体。

[0047] 定义

[0048] “烷基(alkyl)”是指具有1至10个碳原子的单价饱和脂肪族烷基,例如1至6个碳原子,或1至5个,或1至4个,或1至3个碳原子。例如,该术语包括直链和支链烃基,例如甲基(CH_3-)、乙基(CH_3CH_2-)、正丙基($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2-$)、异丙基($(\text{CH}_3)_2\text{CH}-$)、正丁基($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$)、异丁基($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2-$)、仲丁基($(\text{CH}_3)(\text{CH}_3\text{CH}_2)\text{CH}-$)、正丁基($(\text{CH}_3)_3\text{C}-$)、正戊基($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$)和新戊基($(\text{CH}_3)_3\text{CCH}_2-$)。

[0049] 术语“取代烷基(substituted alkyl)”是指如本文所定义的烷基,其中烷基链上的一个或多个碳原子(C_1 碳原子除外)被杂原子任选取代,例如 $-\text{O}-$ 、 $-\text{N}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_n-$ (其中n为0至2)、 $-\text{NR}-$ (其中R为氢或烷基),并具有1至5个取代基,这些取代基选自烷氧基、取代烷氧基、环烷基、取代环烷基、环烯基、取代环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、氨酰基、氨基酰氧基、氧氨酰基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、氧代、硫代酮、羧基、羧烷基、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、硫醇、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟基氨基、烷氧基氨基、硝基、 $-\text{SO}-$ 烷基、 $-\text{SO}-$ 芳基、 $-\text{SO}-$ 杂芳基、 $-\text{SO}_2-$ 烷基、 $-\text{SO}_2-$ 芳基、 $-\text{SO}_2-$ 杂芳基和 $-\text{NR}^a\text{R}^b$,其中 R^a 和 R^b 可相同或不同,且选自氢、可选地取代烷基、环烷基、烯基、环烯基、炔基、芳基、杂芳基和杂环基。

[0050] “亚烷基(alkylene)”是指二价脂肪烃基,优选地具有1至6个且更优选地1至3个碳原子,其为直链或支链的,且任选地被选自 $-\text{O}-$ 、 $-\text{NR}^{10}-$ 、 $-\text{NR}^{10}\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^{10}-$ 等的一个或多个基团打断。例如,该术语包括亚甲基($-\text{CH}_2-$)、乙烯($-\text{CH}_2\text{CH}_2-$)、正丙烯($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$)、异丙烯($-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)-$)、 $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ 等。

[0051] “取代亚烷基(substituted alkylene)”是指具有1至3个被取代基取代的氢的亚烷基,如下文“取代”的定义中对碳的描述。

[0052] 术语“烷烃”是指如本文所定义的烷基和亚烷基。

[0053] 术语“烷基氨基烷基(alkylaminoalkyl)”、“烷基氨基烯基(alkylaminoalkenyl)”和“烷基氨基炔基(alkylaminoalkynyl)”指的是基团 $\text{R}'\text{NHR}''$ —其中 R' 为如本文所定义的烷基,且 R'' 为如本文所定义的亚烷基、亚烯基或亚炔基基团。

[0054] 术语“烷芳基(alkaryl)”或“芳烷基(aralkyl)”是指基团-亚烷基-芳基和-取代亚烷基-芳基,其中亚烷基、取代亚烷基和芳烷基在本文中定义。

[0055] “烷氧基(alkoxy)”是指基团 $-\text{O}-$ 烷基,其中烷基如本文所定义。例如,烷氧基包括甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、叔丁氧基、仲丁氧基、正戊氧基等。术语“烷氧基”也指烯基 $-\text{O}-$ 、环烷基 $-\text{O}-$ 、环烯基 $-\text{O}-$ 和炔基 $-\text{O}-$,其中烯基、环烷基、环烯基和炔基如本文所定义。

[0056] 术语“取代烷氧基(substituted alkoxy)”是指由烷基 $-\text{O}-$ 取代的、烯基 $-\text{O}-$ 取代的、环烷基 $-\text{O}-$ 取代的、环烯基 $-\text{O}-$ 取代的和炔基 $-\text{O}-$ 取代的基团,其中取代烷基、取代烯基、取代环烷基、取代环烯基和取代炔基如本文所定义。

[0057] 术语“烷氧基氨基(alkoxyamino)”是指 $-\text{NH}-$ 烷氧基基团,其中烷氧基如本文所定义。

[0058] 术语“卤代烷氧基(haloalkoxy)”是指烷基 $-\text{O}-$ 基团,其中烷基上的一个或多个氢原子被卤基取代,且包括例如三氟甲氧基等基团。

[0059] 术语“卤代烷基(haloalkyl)”是指如上所述的取代烷基基团,其中所述烷基基团

上的一个或多个氢原子被卤基取代。这样的基团的实例包括但不限于氟烷基,例如三氟甲基、二氟甲基、三氟乙基等。

[0060] 术语“烷基烷氧基(alkylalkoxy)”是指基团-亚烷基-0-烷基、亚烷基-0-取代烷基、取代亚烷基-0-烷基和取代亚烷基-0-取代烷基,其中烷基、取代烷基、亚烷基和取代亚烷基如本文所定义。

[0061] 术语“烷基硫代烷氧基(alkylthioalkoxy)”是指基团-亚烷基-S-烷基、亚烷基-S-取代烷基、取代亚烷基-S-烷基和取代亚烷基-S-取代烷基,其中烷基、取代烷基、亚烷基和取代亚烷基如本文所定义。

[0062] “烯基(alkenyl)”是指具有2至6个碳原子且优选2至4个碳原子,并具有至少1个且优选1至2个双键不饱和位点的直链或支链烃基。例如,该术语包括丁二烯基、烯丙基和丁-3-烯-1-基。该术语包括顺式和反式异构体或这些异构体的混合物。

[0063] 术语“取代烯基(substituted alkenyl)”是指本文所定义的烯基基团,其具有1至5个取代基,或1至3个取代基,该取代基选自烷氧基、取代烷氧基、环烷基、取代环烷基、环烯基、取代环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、取代氨基、氨酰基、氨酰氧基、氧氨酰基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、氧代、硫酮基、羧基、羧烷基、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、硫醇、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟氨基、烷氧基氨基、硝基、-SO-烷基、-SO-取代烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO₂-烷基、-SO₂-取代烷基、-SO₂-芳基和-SO₂-杂芳基。

[0064] “炔基(alkynyl)”是指具有2至6个碳原子且优选2至3个碳原子,并具有至少1个且优选1至2个三键不饱和位点的直链或支链单价烃基。这样的炔基的实例包括乙炔基(-C≡CH)和丙炔基(-CH₂C≡CH)。

[0065] 术语“取代炔基(substituted alkynyl)”是指本文所定义的炔基基团,其具有1至5个取代基,或1至3个取代基,该取代基选自烷氧基、取代烷氧基、环烷基、取代环烷基、环烯基、取代环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、取代氨基、氨酰基、氨酰氧基、氧氨酰基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、氧代、硫酮基、羧基、羧烷基、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、硫醇、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟氨基、烷氧基氨基、硝基、-SO-烷基、-SO-取代烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO₂-烷基、-SO₂-取代烷基、-SO₂-芳基和-SO₂-杂芳基。

[0066] “炔氧基”是指基团-0-炔基,其中炔基如本文所定义。炔氧基包括,例如,乙炔氧基、丙炔氧基等。

[0067] “酰基(acyl)”是指基团H-C(0)-、烷基-C(0)-、取代烷基-C(0)-、烯基-C(0)-、取代烯基-C(0)-、炔基-C(0)-、取代炔基-C(0)-、环烷基-C(0)-、取代环烷基-C(0)-、环烯基-C(0)-、取代环烯基-C(0)-、芳基-C(0)-、取代芳基-C(0)-、杂芳基-C(0)-、取代杂芳基-C(0)-、杂环基-C(0)-和取代杂环基-C(0)-,其中烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、环烷基、取代环烷基、环烯基、取代环烯基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、杂环和取代杂环如本文所定义。例如,酰基包括“乙酰基”基团CH₃C(0)-。

[0068] “酰氨基(acylamino)”是指基团-NR²⁰C(0)烷基、-NR²⁰C(0)取代烷基、NR²⁰C(0)环烷基、-NR²⁰C(0)取代环烷基、-NR²⁰C(0)环烯基、-NR²⁰C(0)取代环烯基、-NR²⁰C(0)烯基、-NR²⁰C(0)取代烯基、-NR²⁰C(0)炔基、-NR²⁰C(0)取代炔基、-NR²⁰C(0)芳基、-NR²⁰C(0)取代芳基、-

$\text{NR}^{20}\text{C}(0)$ 杂芳基、 $-\text{NR}^{20}\text{C}(0)$ 取代的杂芳基、 $-\text{NR}^{20}\text{C}(0)$ 杂环和 $-\text{NR}^{20}\text{C}(0)$ 取代杂环, 其中 R^{20} 为氢或烷基, 且其中烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、环烷基、取代环烷基、环烯基、取代环烯基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、杂环和取代杂环如本文所定义。

[0069] “氨羰基 (aminocarbonyl)” 或术语 “氨酰基 (aminoacyl)” 是指基团 $-\text{C}(0)\text{NR}^{51}\text{R}^{52}$, 其中 R^{51} 和 R^{52} 独立地选自氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、芳基、取代芳基、环烷基、取代环烷基、环烯基、取代环烯基、杂芳基、取代杂芳基、杂环和取代杂环, 且其中 R^{51} 和 R^{52} 任选地与其上结合的氮结合在一起以形成杂环或取代杂环基团, 其中烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、环烷基、取代环烷基、环烯基、取代环烯基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、杂环和取代杂环如本文所定义。

[0070] “氨羰基氨基 (aminocarbonylamino)” 是指基团 $-\text{NR}^{51}\text{C}(0)\text{NR}^{52}\text{R}^{53}$, 其中 R^{51} 、 R^{52} 和 R^{53} 独立地选自氢、烷基、芳基或环烷基, 或其中两个 R 基团结合在一起以形成杂环基。

[0071] 术语 “烷氧基羰基氨基 (alkoxycarbonylamino)” 是指基团 $-\text{NRC}(0)\text{OR}$, 其中每个 R 独立地为氢、烷基、取代烷基、芳基、杂芳基或杂环基, 其中烷基、取代烷基、芳基、杂芳基和杂环基如本文所定义。

[0072] 术语 “酰氧基 (acyloxy)” 是指烷基 $-\text{C}(0)\text{O}-$ 、取代烷基 $-\text{C}(0)\text{O}-$ 、环烷基 $-\text{C}(0)\text{O}-$ 、取代环烷基 $-\text{C}(0)\text{O}-$ 、芳基 $-\text{C}(0)\text{O}-$ 、杂芳基 $-\text{C}(0)\text{O}-$ 和杂环基 $-\text{C}(0)\text{O}-$, 其中烷基、取代烷基、环烷基、取代环烷基、芳基、杂芳基和杂环基如本文所定义。

[0073] “氨基磺酰基 (aminosulfonyl)” 是指基团 $-\text{SO}_2\text{NR}^{51}\text{R}^{52}$, 其中 R^{51} 和 R^{52} 独立地选自氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、芳基、取代芳基、环烷基、取代环烷基、环烯基、取代环烯基、杂芳基、取代杂芳基、杂环、取代杂环, 且其中 R^{51} 和 R^{52} 任选地与其上结合的氮结合在一起以形成杂环或取代杂环基团, 并且烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、环烷基、取代环烷基、环烯基、取代环烯基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、杂环和取代杂环如本文所定义。

[0074] “磺酰氨基 (sulfonylamino)” 是指基团 $-\text{NR}^{51}\text{SO}_2\text{R}^{52}$, 其中 R^{51} 和 R^{52} 独立地选自氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、芳基、取代芳基、环烷基、取代环烷基、环烯基、取代环烯基、杂芳基、取代杂芳基、杂环和取代杂环, 且其中 R^{51} 和 R^{52} 任选地与其上结合的原子结合在一起以形成杂环或取代杂环基团, 其中烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、环烷基、取代环烷基、环烯基、取代环烯基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、杂环和取代杂环如本文所定义。

[0075] “芳基 (aryl)” 或 “AR” 是指具有 6 至 18 个碳原子的单价芳香碳环基团, 该基团具有单个环 (例如存在于苯基中) 或具有多个稠环的环系统 (这种芳香环系统的实例包括萘基、蒽基和茚满基), 其稠环可为或可不为芳香族的, 条件是连接点是通过芳香环的原子。该术语包括, 例如, 苯基和萘基。除非芳基取代基的定义另有限制, 这些芳基可任选地被 1 至 5 个取代基或 1 至 3 个取代基取代, 该取代基选自酰氧基、羟基、硫醇、酰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、取代烷基、取代烷氧基、取代烯基、取代炔基、取代环烷基、取代环烯基、氨基、取代氨基、氨酰基、酰氨基、烷芳基、芳基、芳氧基、叠氮基、羧基、羧烷基、氰基、卤素、硝基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、氨酰氧基、氧酰氨基、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、 $-\text{SO}-$ 烷基、 $-\text{SO}-$ 取代烷基、 $-\text{SO}-$ 芳基、 $-\text{SO}-$ 杂芳基、 $-\text{SO}_2-$ 烷基、 $-\text{SO}_2-$ 取代烷基、 $-\text{SO}_2-$ 芳基、 $-\text{SO}_2-$ 杂芳基和三卤甲基。

[0076] “芳氧基(aryloxy)”是指基团-O-芳基,其中芳基如本文所定义,包括,例如,苯氧基、萘氧基等,包括如本文所定义的任选取代的芳基基团。

[0077] “氨基(amino)”是指基团-NH₂。

[0078] 术语“取代氨基(substituted amino)”是指基团-NRR,其中每个R独立地选自氢、烷基、取代烷基、环烷基、取代环烷基、烯基、取代烯基、环烯基、取代环烯基、炔基、取代炔基、芳基、杂芳基和杂环基,条件是至少一个R不为氢。

[0079] 术语“叠氮基(azido)”是指基团-N₃。

[0080] “羧基(carboxyl)”、“羧基(carboxy)”或“羧酸盐(carboxylate)”指-CO₂H或其盐。

[0081] “羧基酯(carboxyl ester)”或“羧基酯(carboxy ester)”或术语“羧基烷基(carboxyalkyl)”或“羧基烷基(carboxylalkyl)”是指基团-C(O)O-烷基、-C(O)O-取代烷基、-C(O)O-烯基、-C(O)O-取代烯基、-C(O)O-炔基、-C(O)O-取代炔基、-C(O)O-芳基、-C(O)O-取代芳基、-C(O)O-环烷基、-C(O)O-取代环烷基、-C(O)O-环烯基、-C(O)O-取代环烯基、-C(O)O-杂芳基、-C(O)O-取代杂芳基、-C(O)O-杂环和-C(O)O-取代杂环,其中烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、环烷基、取代环烷基、环烯基、取代环烯基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、杂环和取代杂环如本文所定义。

[0082] “(羧基酯)氧基((carboxyl ester)oxy)”或“碳酸酯(carbonate)”是指基团-O-C(O)O-烷基、-O-C(O)O-取代烷基、-O-C(O)O-烯基、-O-C(O)O-取代烯基、-O-C(O)O-炔基、-O-C(O)O-取代炔基、-O-C(O)O-芳基、-O-C(O)O-取代芳基、-O-C(O)O-环烷基、-O-C(O)O-取代环烷基、-O-C(O)O-环烯基、-O-C(O)O-取代环烯基、-O-C(O)O-杂芳基、-O-C(O)O-取代杂芳基、-O-C(O)O-杂环和-O-C(O)O-取代杂环,其中烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、环烷基、取代环烷基、环烯基、取代环烯基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、杂环和取代杂环如本文所定义。

[0083] “氰基(cyano)”或“腈(nitrile)”是指基团-CN。

[0084] “环烷基(cycloalkyl)”是指具有3至10个碳原子的环状烷基基团,其具有单个或多个环状环,包括稠环、桥环和螺环系统。合适的环烷基基团的实例包括,例如,金刚烷基、环丙基、环丁基、环戊基、环辛基等。例如,这种环烷基包括单环结构如环丙基、环丁基、环戊基、环辛基等,或多环结构如金刚烷基等。

[0085] 术语“取代环烷基(substituted cycloalkyl)”是指具有1至5个取代基,或1至3个取代基的炔基基团,该取代基选自烷基、取代烷基、烷氧基、取代烷氧基、环烷基、取代环烷基、环烯基、取代环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、取代氨基、氨酰基、氨酰氧基、氧氨酰基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、氧代、硫酮基、羧基、羧烷基、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、硫醇、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟氨基、烷氧基氨基、硝基、-SO-烷基、-SO-取代烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO₂-烷基、-SO₂-取代烷基、-SO₂-芳基和-SO₂-杂芳基。

[0086] “环烯基(cycloalkenyl)”是指具有3至10个碳原子的非芳香环状烷基基团,其具有单个或多个环并具有至少一个双键且优选地1至2个双键。

[0087] 术语“取代环烯基(substituted cycloalkenyl)”是指具有1至5个取代基,或1至3个取代基的环烯基基团,该取代基选自烷氧基、取代烷氧基、环烷基、取代环烷基、环烯基、取代环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、取代氨基、氨酰基、氨酰氧基、氧氨酰基、叠氮基、

氰基、卤素、羟基、酮基、硫酮基、羧基、羧烷基、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、硫醇、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟基、氨基、烷氧基氨基、硝基、-SO-烷基、-SO-取代烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO₂-烷基、-SO₂-取代烷基、-SO₂-芳基和-SO₂-杂芳基。

[0088] “环炔基(cycloalkynyl)”是指具有5至10个碳原子的非芳香环烷基,其具有单个环或多个环且具有至少一个三键。

[0089] “环烷氧基(cycloalkoxy)”是指-O-环烷基。

[0090] “环烯氧基(cycloalkenyloxy)”是指-O-环烯基。

[0091] “卤代(halo)”或“卤素(halogen)”是指氟、氯、溴和碘。

[0092] “羟基(hydroxy)”或“羟基(hydroxyl)”是指基团-OH。

[0093] “杂芳基”是指具有1至15个碳原子,例如1至10个碳原子和在环内1至10个杂原子,其选自氧、氮和硫的芳香基团。这种杂芳基基团在环系统中可以具有单个环(例如吡啶基、咪唑基或呋喃基)或多个稠环(例如成组的,如吲哚基、喹啉基、苯并呋喃基、苯并咪唑基或苯并噻吩基),其中环系统中至少一个环为芳香族的。为满足化合价要求,这种杂芳基环中的任何杂原子可与或可不与H或取代基结合,如烷基基团或本文所述的其他取代基。在某些实施方案中,杂芳基基团的氮和/或硫原子任选地被氧化以提供N-氧化物(N→O)、亚磺酰基或磺酰基部分。例如,该术语包括例如吡啶基、吡咯基、吲哚基、噻吩基和呋喃基。除非杂芳基取代基的定义另有限制,这种杂芳基基团可任选地被1至5个取代基或1至3个取代基取代,该取代基选自酰氧基、羟基、硫醇、酰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、取代烷基、取代烷氧基、取代烯基、取代炔基、取代环烷基、取代环烯基、氨基、取代氨基、氨酰基、酰氨基、烷芳基、芳基、芳氧基、叠氮基、羧基、羧烷基、氰基、卤素、硝基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、氨酰氧基、氧酰氨基、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、-SO-烷基、-SO-取代烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO₂-烷基、-SO₂-取代烷基、-SO₂-芳基、-SO₂-杂芳基和三卤甲基。

[0094] 术语“杂芳烷基”是指基团-亚烷基-杂芳基,其中亚烷基和杂芳基如本文所定义。例如,该术语包括吡啶甲基、吡啶乙基、吲哚甲基等。

[0095] “杂芳氧基(heteroaryloxy)”是指-O-杂芳基。

[0096] “杂环(heterocycle)”、“杂环的(heterocyclic)”、“杂环烷基(heterocycloalkyl)”和“杂环基(heterocyclyl)”是指这样的饱和或不饱和基团,其具有单个环或多个稠环,包括稠环、桥环和螺环系统,且具有3至20个环原子,包括1至10个杂原子。这些环原子选自氮、硫或氧,其中,在稠环系统中,一个或多个环可以为环烷基、芳基或杂芳基,条件是连接点为通过非芳香环。在某些实施方案中,杂环基的氮和/或硫原子任选地被氧化以提供N-氧化物、-S(O)-或-SO₂-部分。为满足化合价要求,这种杂环的环中的任何杂原子可与或可不与一个或多个H或一个或多个取代基结合,如,烷基基团或本文所述的其他取代基。

[0097] 杂环和杂芳基的实例包括,但不限于,氮杂环丁烷、吡咯、咪唑、吡唑、吡啶、吡嗪、嘧啶、哒嗪、吲哚、异吲哚、吲哚、二氢吲哚、吲唑、嘌呤、喹啉、异喹啉、喹啉、酞嗪、萘基吡啶、喹喔啉、喹唑啉、桂啉、蝶啶、咔唑、咔啉、菲啶、吡啶、菲咯啉、异噻唑、吩嗪、异噻唑、吩噻唑、吩噻嗪、咪唑烷、咪唑啉、哌啶、哌嗪、吲哚啉、邻苯二甲酰亚胺、1,2,3,4-四氢异喹啉、4,

5,6,7-四氢苯并[b]噻吩、噻唑、噻唑烷、噻吩、苯并[b]噻吩、吗啉基、硫代吗啉基(thiomorpholinyl)(也称为硫代吗啉基(thiamorpholinyl))、1,1-二氧化硫代吗啉基、哌啶基、吡咯烷、四氢呋喃基等。

[0098] 除非杂环的取代基的定义另有限制,这种杂环基可任选地被1至5个取代基或1至3个取代基取代,该取代基选自烷氧基、取代烷氧基、环烷基、取代环烷基、环烯基、取代环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、取代氨基、氨酰基、氨酰氧基、氧氨酰基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、氧代、硫酮基、羧基、羧烷基、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、硫醇、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟氨基、烷氧基氨基、硝基、-SO-烷基、-SO-取代烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO₂-烷基、-SO₂-取代烷基、-SO₂-芳基、-SO₂-杂芳基和稠杂环。

[0099] “杂环氧基”是指-O-杂环基。

[0100] 术语“杂环硫代(heterocyclylthio)”是指基团杂环-S-。

[0101] 术语“亚杂环(heterocyclene)”是指由如本文所定义的杂环形成的二自由基基团。

[0102] 术语“羟氨基(hydroxyamino)”是指基团-NHOH。

[0103] “硝基(nitro)”是指基团-NO₂。

[0104] “氧代(oxo)”指的是原子(=O)。

[0105] “磺酰基(sulfonyl)”是指基团SO₂-烷基、SO₂-取代烷基、SO₂-烯基、SO₂-取代烯基、SO₂-环烷基、SO₂-取代环烷基、SO₂-环烯基、SO₂-取代环烯基、SO₂-芳基、SO₂-取代芳基、SO₂-杂芳基、SO₂-取代杂芳基、SO₂-杂环和SO₂-取代杂环,其中烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、环烷基、取代环烷基、环烯基、取代环烯基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、杂环和取代杂环如本文所定义。磺酰基包括,例如,甲基-SO₂-、苯基-SO₂-和4-甲基苯基-SO₂-。

[0106] “磺酰氧基(Sulfonyloxy)”是指基团-OSO₂-烷基、OSO₂-取代烷基、OSO₂-烯基、OSO₂-取代烯基、OSO₂-环烷基、OSO₂-取代环烷基、OSO₂-环烯基、OSO₂-取代环烯基、OSO₂-芳基、OSO₂-取代芳基、OSO₂-杂芳基、OSO₂-取代杂芳基、OSO₂-杂环和OSO₂取代杂环,其中烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、环烷基、取代环烷基、环烯基、取代环烯基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、杂环和取代杂环如本文所定义。

[0107] 术语“氨基羰基氧基(aminocarbonyloxy)”是指基团-OC(O)NRR,其中每个R独立地为氢、烷基、取代烷基、芳基、杂芳基或杂环基,其中烷基、取代烷基、芳基、杂芳基和杂环基如本文所定义。

[0108] “硫醇(thiol)”是指基团-SH。

[0109] “硫基(thioxo)”或术语“硫酮(thioketo)”指的是原子(=S)。

[0110] “烷硫基(alkylthio)”或术语“硫代烷氧基(thioalkoxy)”是指基团-S-烷基,其中烷基如本文所定义。在某些实施方案中,硫可被氧化为-S(O)-。亚砷可作为一种或多种立体异构体存在。

[0111] 术语“取代硫代烷氧基(substituted thioalkoxy)”是指基团-S-取代烷基。

[0112] 术语“硫代芳氧基(thioaryloxy)”是指基团芳基-S-,其中芳基基团如本文所定义,包括也如本文所定义的任选取代的芳基基团。

[0113] 术语“硫代杂芳氧基(thioheteroaryloxy)”是指基团杂芳基-S-,其中杂芳基如本文所定义,包括也如本文所定义的任选取代的芳基基团。

[0114] 术语“硫代杂环氧基(thioheterocyclooxy)”是指基团杂环基-S-,其中杂环基基团如本文所定义,包括也如本文所定义的任选取代的杂环基基团。

[0115] 除本文公开内容外,术语“取代(substituted)”当用于修饰特定基团或自由基时,也可以意味着特定基团或自由基的一个或多个氢原子彼此独立地被如下文所定义的相同或不同的取代基取代。

[0116] 除了关于本文中的单个术语公开的基团外,除非另有指明,在特定基团或自由基的饱和碳原子上,用于取代一个或多个氢(单个碳上的任意两个氢可以被 $=O$ 、 $=NR^{70}$ 、 $=N-OR^{70}$ 、 $=N_2$ 或 $=S$ 取代)的取代基基团为 $-R^{60}$ 、卤代、 $=O$ 、 $-OR^{70}$ 、 $-SR^{70}$ 、 $-NR^{80}R^{80}$ 、三卤甲基、 $-CN$ 、 $-OCN$ 、 $-SCN$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $=N_2$ 、 $-N_3$ 、 $-SO_2R^{70}$ 、 $-SO_2O^-M^+$ 、 $-SO_2OR^{70}$ 、 $-OSO_2R^{70}$ 、 $-OSO_2O^-M^+$ 、 $-OSO_2OR^{70}$ 、 $-P(O)(O^-)_2(M^+)_2$ 、 $-P(O)(OR^{70})O^-M^+$ 、 $-P(O)(OR^{70})_2$ 、 $-C(O)R^{70}$ 、 $-C(S)R^{70}$ 、 $-C(NR^{70})R^{70}$ 、 $-C(O)O^-M^+$ 、 $-C(O)OR^{70}$ 、 $-C(S)OR^{70}$ 、 $-C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ 、 $-OC(O)R^{70}$ 、 $-OC(S)R^{70}$ 、 $-OC(O)O^-M^+$ 、 $-OC(O)OR^{70}$ 、 $-OC(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)R^{70}$ 、 $-NR^{70}CO_2^-M^+$ 、 $-NR^{70}CO_2R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ 和 $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$,其中 R^{60} 选自任选取代的烷基、环烷基、杂烷基、杂环烷基烷基、环烷基烷基、芳基、芳烷基、杂芳基和杂芳烷基,每个 R^{70} 独立地为氢或 R^{60} ;每个 R^{80} 独立地为 R^{70} 或替代地,两个 R^{80} 与它们结合的氮原子一起形成5-、6-或7-元杂环烷基,其可任选地包含1-4个选自O、N和S的相同或不同的附加杂原子,其中N可具有-H或 C_1 - C_3 烷基取代;且每个 M^+ 为带有净单个正电荷的反离子。每个 M^+ 可独立地为,例如,碱离子,例如 K^+ 、 Na^+ 、 Li^+ ;铵离子,例如 $N(R^{60})_4^+$;或碱土离子,例如 $[Ca^{2+}]_{0.5}$ 、 $[Mg^{2+}]_{0.5}$ 或 $[Ba^{2+}]_{0.5}$ (“下标0.5表示这种二价碱土离子的一个反离子可以为本发明化合物的电离形式,而其他可以为典型的抗衡离子,例如氯化物,或者本文公开的两种电离化合物可以用作这种二价碱土金属离子的反离子,或者本发明的双电离化合物可以用作这种二价碱土金属离子的抗衡离子)。作为具体的实例, $-NR^{80}R^{80}$ 是指包括 $-NH_2$ 、 $-NH$ -烷基、 N -吡咯烷基、 N -哌嗪基、 $4N$ -甲基-哌嗪-1-基和 N -吗啉基。

[0117] 除本文公开的内容外,除非另有指明,在“取代”烯烃、炔烃、芳基和杂芳基中,不饱和碳原子上氢的取代基为 $-R^{60}$ 、卤代、 $-O^-M^+$ 、 $-OR^{70}$ 、 $-SR^{70}$ 、 $-S^-M^+$ 、 $-NR^{80}R^{80}$ 、三卤甲基、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-OCN$ 、 $-SCN$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $-N_3$ 、 $-SO_2R^{70}$ 、 $-SO_3^-M^+$ 、 $-SO_3R^{70}$ 、 $-OSO_2R^{70}$ 、 $-OSO_3^-M^+$ 、 $-OSO_3R^{70}$ 、 $-PO_3^{2-}(M^+)_2$ 、 $-P(O)(OR^{70})O^-M^+$ 、 $-P(O)(OR^{70})_2$ 、 $-C(O)R^{70}$ 、 $-C(S)R^{70}$ 、 $-C(NR^{70})R^{70}$ 、 $-CO_2^-M^+$ 、 $-CO_2R^{70}$ 、 $-C(S)OR^{70}$ 、 $-C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ 、 $-OC(O)R^{70}$ 、 $-OC(S)R^{70}$ 、 $-OCO_2^-M^+$ 、 $-OCO_2R^{70}$ 、 $-OC(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)R^{70}$ 、 $-NR^{70}CO_2^-M^+$ 、 $-NR^{70}CO_2R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ 和 $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$,其中 R^{60} 、 R^{70} 、 R^{80} 和 M^+ 如前述定义,条件是在取代烯烃或炔烃的情况下,所述取代基不为 $-O^-M^+$ 、 $-OR^{70}$ 、 $-SR^{70}$ 或 $-S^-M^+$ 。

[0118] 除关于本文中的单个术语公开的基团外,除非另有指明,在“取代”杂烷基和环杂烷基中氮原子上的氢的取代基基团为 $-R^{60}$ 、 $-O^-M^+$ 、 $-OR^{70}$ 、 $-SR^{70}$ 、 $-S^-M^+$ 、 $-NR^{80}R^{80}$ 、三卤甲基、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $-S(O)_2R^{70}$ 、 $-S(O)_2O^-M^+$ 、 $-S(O)_2OR^{70}$ 、 $-OS(O)_2R^{70}$ 、 $-OS(O)_2O^-M^+$ 、 $-OS(O)_2OR^{70}$ 、 $-P(O)(O^-)_2(M^+)_2$ 、 $-P(O)(OR^{70})O^-M^+$ 、 $-P(O)(OR^{70})_2$ 、 $-C(O)R^{70}$ 、 $-C(S)R^{70}$ 、 $-C(NR^{70})R^{70}$ 、 $-C(O)OR^{70}$ 、 $-C(S)OR^{70}$ 、 $-C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ 、 $-OC(O)R^{70}$ 、 $-OC(S)R^{70}$ 、 $-OC(O)OR^{70}$ 、 $-OC(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)$

$\text{NR}^{80}\text{R}^{80}$ 、 $-\text{NR}^{70}\text{C}(\text{NR}^{70})\text{R}^{70}$ 和 $-\text{NR}^{70}\text{C}(\text{NR}^{70})\text{NR}^{80}\text{R}^{80}$,其中 R^{60} 、 R^{70} 、 R^{80} 和 M^+ 如前述定义。

[0119] 除本文公开内容外,在某个实施方案中,被取代的基团具有1个、2个、3个或4个取代基,1个、2个或3个取代基,1个或2个取代基或1个取代基。

[0120] 应当理解,在上文定义的所有取代基中,通过定义自身具有其他取代基的取代基而得到的聚合物(如,具有取代芳基作为本身被取代芳基基团取代的取代基的取代芳基,其进一步被取代芳基取代,等)不包括于本文。在这种情况下,这种取代的最大次数为三次。例如,本文特别考虑的取代芳基的系列取代限于取代芳基-(取代芳基)-取代芳基。

[0121] 除非另有说明,本文未明确定义的取代基的命名法是通过命名官能团的末端部分,然后命名朝向连接点的相邻官能团得出。例如,取代基“芳基烷基氧基羰基”是指基团(芳基)-(烷基)-O-C(O)-。

[0122] 关于本文公开的包含一个或多个取代基的任何基团,应当理解,这种基团不包括空间上不实际和/或合成上不可行的任何取代或取代模式。此外,所述主题化合物包括由这些化合物的取代产生的所有立体化学异构体。

[0123] 术语“药学上可接受的盐”是指可接受的用于给患者(如哺乳动物)给药的盐(具有反离子的盐,其对于给定的剂量方案具有可接受的哺乳动物安全性)。这种盐可以源于药学上可接受的无机或有机碱和药学上可接受的无机或有机酸。“药学上可接受的盐”是指化合物的药学上可接受的盐,该盐源于本领域所熟知的各种有机和无机反离子,且仅作为示例包括钠、钾、钙、镁、铵、四烷基铵等;且当所述分子包含碱性(basic)官能团时,包括有机或无机酸的盐,例如盐酸盐、氢溴酸盐、甲酸盐、酒石酸盐、苯磺酸盐、甲磺酸盐、乙酸盐、马来酸盐、草酸盐等。

[0124] 术语“其盐(salt thereof)”是指当酸的质子被阳离子(例如金属阳离子或有机阳离子等)取代时形成的化合物。在适用的情况下,该盐为药学上可接受的盐,尽管对于不打算对患者给药的中间化合物的盐并非如此。举例来说,本发明的化合物的盐包括其中化合物被无机酸或有机酸质子化形成阳离子,无机酸或有机酸的共轭碱作为盐的阴离子组分的那些盐。

[0125] “溶剂化物(solvate)”是指溶剂分子与溶质的分子或离子结合形成的复合物。溶剂可以为有机化合物、无机化合物或两者的混合物。溶剂的一些实例包括,但不限于,甲醇, N,N-二甲基甲酰胺、四氢呋喃、二甲基亚砷和水。当溶剂为水时,形成的溶剂化物为水合物。

[0126] “立体异构体(stereoisomer)”和“立体异构体(Stereoisomers)”是指具有相同原子连接性(connectivity)但在空间上具有不同原子排列的化合物。立体异构体包括顺反异构体、E型和Z型异构体、对映异构体和非对映异构体。

[0127] “互变异构体(tautomer)”是指仅在原子的电子键和/或质子位置不同的分子的替代形式,例如烯醇-酮和亚胺-烯胺互变异构体,或包含 $-\text{N}=\text{C}(\text{H})-\text{NH}-$ 环原子排列的杂芳基的互变异构体形式,如吡唑、咪唑、苯并咪唑、三唑和四唑。本领域普通技术人员将意识到其他互变异构体环原子排列是可能的。

[0128] 应当理解,术语“或其盐或溶剂化物或立体异构体”旨在包括盐、溶剂化物和立体异构体的所有排列,例如主题化合物的立体异构体的药学上可接受的盐的溶剂化物。

[0129] 术语“抗体(antibodies)”和“免疫球蛋白(immunoglobulin)”包括任何同种型的抗体或免疫球蛋白(如,IgG(如,IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)、IgE、IgD、IgA、IgM等)、全抗体

(如,由四聚体组成的抗体,该四聚体又由重链和轻链多肽的两个二聚体组成);单链抗体(如,scFv);保留与抗原特异性结合的抗体片段(如,全链或单链抗体片段),包括,但不限于,Fab、Fv、scFv和Fd片段、嵌合抗体(chimeric antibodies)、人源化抗体(humanized antibodies)、单链抗体(single-chain antibodies)和包含抗体的抗原结合部分和非抗体蛋白的融合蛋白。抗体可使用,如,放射性同位素、产生可检测的产物的酶、荧光蛋白等可检测地标记。所述抗体可进一步与其他部分缀合,例如特异性结合对的成分,如,生物素(生物素-亲和素特异性结合对的成分)等。抗体也可结合到固体载体上,包括,但不限于,聚苯乙烯板或珠等。该术语还包括Fab'、Fv、F(ab')₂和/或保留与抗原特异性结合的其他抗体片段,和单克隆抗体。抗体可为单价或二价。

[0130] “抗体片段(antibody fragments)”包括完整抗体的部分,例如完整抗体的抗原结合区或可变区。抗体片段的实例包括Fab、Fab'、F(ab')₂和Fv片段;双体(diabodies);线性抗体(Zapata等人,Protein Eng.8(10):1057-1062(1995));单链抗体分子;和由抗体片段形成的多特异性抗体。木瓜蛋白酶消化抗体产生两个相同的抗原结合片段,称为“Fab”片段,每个片段具有单一抗原结合位点,和残余“Fc”片段,名称反映了易于结晶的能力。胃蛋白酶处理产生F(ab')₂片段,其具有两个抗原结合位点且仍能够交联抗原。

[0131] “Fv”为最小的抗体片段,其包含完整抗原识别和结合位点。该区域由一个重链和一个轻链可变结构域以紧密的非共价结合的二聚体组成。正是在这种构型中,每个可变结构域的三个CDR相互作用,以在VH-VL二聚体表面定义抗原结合位点。总体而言,六个CDR赋予抗体抗原结合特异性。然而,即使单个可变结构域(或仅包含三个抗原特异性CDR的一半Fv)也具有识别和结合抗原的能力,尽管亲和力低于整个结合位点。

[0132] “Fab”片段还包含轻链的恒定区和重链的第一恒定区(CH₁)。Fab片段与Fab'片段的区别在于在重链CH₁结构域的羧基末端添加了一些残基,该CH₁结构域包括来自抗体铰链区的一个或多个半胱氨酸。Fab'-SH在本文中为其中恒定区的半胱氨酸残基带有游离硫醇基团的Fab'的名称。F(ab')₂抗体片段最初为作为成对的Fab'片段产生,它们之间具有铰链区半胱氨酸。抗体片段的其他化学偶联也为已知的。

[0133] 来自任何脊椎动物物种的抗体(免疫球蛋白)的“轻链”可以基于它们的恒定区的氨基酸序列归入两种明显不同的类型之一,称为κ(kappa)和λ(lambda)。根据其重链恒定区的氨基酸序列,免疫球蛋白可以分为不同的类别。有五大类免疫球蛋白:IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,且这些中的几种可进一步分为多个亚类(同种型),如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA和IgA2。

[0134] “单链Fv”或“sFv”抗体片段包含抗体的VH和VL结构域,其中这些结构域存在于单个多肽链中。在一些方面,Fv多肽进一步包含VH和VL结构域之间的多肽接头,这使sFv能够形成抗原结合所需的结构。

[0135] 术语“双体”是指具有两个抗原结合位点的小抗体片段,这些片段包含在相同的多肽链(V_H-V_L)中与轻链可变结构域(V_L)连接的重链可变结构域(V_H)。通过使用过短以至于不允许相同链上的两个结构域之间配对的接头,所述结构域被迫与另一条链的互补结构域配对,并产生两个抗原结合位点。

[0136] 如本文所用,术语“亲和力(affinity)”是指两种试剂可逆结合的平衡常数,并表示为解离常数(K_d)。相比于对不相关氨基酸序列的抗体的亲和力,亲和力可以至少大1倍、

至少大2倍、至少大3倍、至少大4倍、至少大5倍、至少大6倍、至少大7倍、至少大8倍、至少大9倍、至少大10倍、至少大20倍、至少大30倍、至少大40倍、至少大50倍、至少大60倍、至少大70倍、至少大80倍、至少大90倍、至少大100倍或至少大1000倍或更多。抗体对靶蛋白的亲合力可以为,例如约100纳摩尔 (nM) 至约0.1nM,约100nM至约1皮摩尔 (pM),或约100nM至约1飞摩尔 (fM) 或更高。如本文所用,术语“亲合力 (avidity)”是指两种或更多种试剂的复合物在稀释后对解离的抗性。在抗体和/或抗原结合片段方面,术语“免疫反应的 (immunoreactive)”和“优先结合 (preferentially bind)”在本文中可互换使用。

[0137] 术语“结合 (binding)”是指两个分子之间的直接关联,例如由于共价、静电、疏水、离子和/或氢键相互作用,包括例如盐桥 (salt bridge) 和水桥 (water bridge) 的相互作用。受试者抗MUC1抗体特异性结合MUC1多肽 (如人MUC1多肽) 内的表位,例如,糖基化的MUC1或其片段。非特异性结合是指亲合力小于约 10^{-7} M的结合,如亲合力为 10^{-6} M、 10^{-5} M、 10^{-4} M等的结合。

[0138] 术语“特异性结合 (specifically binds)”在抗体和抗原的上下文中是指抗体以例如大于或等于约 10^5 M⁻¹的亲合力或 K_a 与抗原结合或连接 (即单位为1/M的特定结合相互作用的平衡连接常数)。

[0139] “高亲合力”结合是指 K_a 至少为 10^7 M⁻¹,至少 10^8 M⁻¹,至少 10^9 M⁻¹,至少 10^{10} M⁻¹,至少 10^{11} M⁻¹,至少 10^{12} M⁻¹,至少 10^{13} M⁻¹,或更大的结合。或者,亲合力可定义为单位为M的特定结合相互作用的平衡解离常数 (K_D) (如, 10^{-5} M至 10^{-13} M或更少)。在一些实施方案中,特异性结合是指抗体与抗原结合的 K_D 小于或等于约 10^{-5} M,小于或等于约 10^{-6} M,小于或等于约 10^{-7} M,小于或等于约 10^{-8} M,或小于或等于约 10^{-9} M、 10^{-10} M、 10^{-11} M或 10^{-12} M或更少。抗体对抗原的结合亲合力可以容易地使用常规技术来确定,如,通过竞争性ELISA (酶联免疫吸附测定)、平衡透析、通过使用表面等离子共振 (SPR) 技术 (如,BIAcore 2000仪器,使用制造商概述的一般程序);通过放射免疫测定;等。

[0140] 如本文所用,术语“CDR”或“互补决定区”是指在重链和轻链多肽的可变区内存在的非连续抗原结合位点。CDR已记载于Kabat等人,J.Biol.Chem.252:6609-6616 (1977); Kabat等人,U.S.Dept.of Health and Human Services,“Sequences of proteins of immunological interest” (1991);Chothia等人,J.Mol.Biol.196:901-917 (1987);和MacCallum等人,J.Mol.Biol.262:732-745 (1996),其中该定义包括相互比较时氨基酸残基的重叠或子集。然而,应用任一定义来指代抗体或移植抗体或其变体的CDR旨在在本文定义和使用的术语范围内。作为比较,包含由上述引用的参考文献的定义的CDR的氨基酸残基在下表1中列出。

[0141] 表1:CDR定义

[0142]

	Kabat ¹	Chothia ²	MacCallum ³
V _H CDR1	31-35	26-32	30-35
V _H CDR2	50-65	53-55	47-58
V _H CDR3	95-102	96-101	93-101
V _L CDR1	24-34	26-32	30-36
V _L CDR2	50-56	50-52	46-55
V _L CDR3	89-97	91-96	89-96

[0143] ¹残基编号遵循上文Kabat等人的命名法

[0144] ²残基编号遵循上文Chothia等人的命名法

[0145] ³残基编号遵循上文MacCallum等人的命名法

[0146] 在本公开内容全文中,免疫球蛋白重链和免疫球蛋白轻链中残基的编号与Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第五版,Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,Md. (1991)中相同,其明确地通过引用并入本文。

[0147] 如本文所用,当用于指抗体可变区时,术语“框架(framework)”是指抗体可变区内CDR区以外的所有氨基酸残基。可变区框架通常为长度在约100-120个氨基酸之间的不连续氨基酸序列,但仅用于指在CDR之外的那些氨基酸。如本文所用,术语“框架区”是指由CDR分隔的框架的每个结构域。

[0148] “亲本Ig多肽”为包含氨基酸序列的多肽,该氨基酸序列缺乏本文所述的醛标记的恒定区。亲本多肽可包含天然序列恒定区,或可包含具有预先存在的氨基酸序列修饰(例如添加、删除和/或取代)的恒定区。

[0149] 在Ig多肽的上下文中,术语“恒定区”在本领域是熟知的,且是指Ig重链或Ig轻链的C-端区。Ig重链恒定区包括CH1、CH2和CH3结构域(以及CH4结构域,其中重链为 μ 或 ϵ 重链)。在天然Ig重链中,CH1、CH2、CH3(以及如果存在的话,CH4)结构域紧接在(C-端至)重链可变(VH)区之后,且每个结构域的长度为大约100个氨基酸到大约130个氨基酸。在天然Ig轻链中,恒定区紧接在(C-端至)轻链可变区(VL)之后,长度约为100个氨基酸至120个氨基酸。

[0150] “表位(epitope)”为抗原上抗体结合的位点(如,MUC1上的位点)。表位既可以由连续氨基酸形成,也可以由通过蛋白质折叠(如,三级折叠)并置的非连续氨基酸形成。由连续氨基酸形成的表位通常在暴露于变性溶剂时保留,而通过折叠形成的表位通常在用变性溶剂处理时丢失。表位通常包括至少3个,且更通常地至少5个或8-10个线性或空间构象的氨基酸。确定表位空间构型的方法包括,例如,x射线晶体学和二维核磁共振。参见,如,Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology,第66卷,Glenn E.Morris编辑(1996)。一些商业实验室提供表位作图服务。由与膜相关抗原免疫反应的抗体结合的表位可以存在于细胞表面(如,在跨膜蛋白的细胞外区域中),因此认为这种表位为细胞表面可及的、溶剂可及的和/或细胞表面暴露的表位。

[0151] 在指代多肽、肽或蛋白质的氨基酸序列时,使用“遗传可编码的(genetically-encodable)”是指该氨基酸序列由能够通过编码该氨基酸序列的核酸的转录和翻译产生的氨基酸残基组成,其中转录和/或翻译可发生在细胞或体外无细胞的转录/翻译系统中。

[0152] 术语“控制序列(control sequences)”是指在特定表达系统(如,哺乳动物细胞、细菌细胞、无细胞合成等)中促进可操作地连接的编码序列表达的DNA序列。例如,适用于原核生物系统的控制序列包括启动子、任选的操纵子序列和核糖体结合位点。真核细胞系统可利用启动子、聚腺苷酸化信号和增强子。

[0153] 当核酸与另一个核酸序列处于功能关系时,该核酸为“可操作地连接的(operably linked)”。例如,如果用于前序列(presequence)或分泌前导(secretory leader)的DNA被表达为参与多肽分泌的前蛋白,则该DNA可操作地连接至该多肽的DNA;如果启动子或增强

子影响序列的转录,则该启动子或增强子可操作地连接至编码序列;或者如果核糖体结合位点被定位以促进翻译的起始,则该核糖体结合位点可操作地连接至编码序列。通常,“可操作地连接”意味着被连接的DNA序列是连续的,并且,在分泌前导序列的情况下,是连续的并且在阅读框中。连接是通过连接或通过扩增反应完成的。根据常规做法,合成的寡核苷酸衔接子或接头可用于连接序列。

[0154] 本文使用的术语“表达盒”是指可以插入核酸的核酸片段,通常为DNA,其可以插入核酸中(如,通过使用与连接至目的构建体中相容的限制性位点,或者通过同源重组到目的构建体或宿主细胞基因组中)。通常,核酸片段包含编码目的多肽的多核苷酸,并且设计盒和限制性位点以便于将盒插入适当的阅读框中用以转录和翻译。表达盒还可以包含元件,该元件促进编码目的多肽的多核苷酸在宿主细胞(如,哺乳动物宿主细胞)中表达。这些元件可包括,但不限于:启动子、最小启动子、增强子、应答元件(response element)、终止子序列、聚腺苷酸化序列等。

[0155] “分离的(isolated)”抗体为从其自然环境的成分中鉴定、分离和/或回收(recovered)的抗体。其自然环境中的污染物成分是会干扰抗体的诊断或治疗用途的物质,且可包括酶、激素和其他蛋白质或非蛋白质溶质。在一些实施方案中,抗体将被纯化至(1)由Lowry方法测定的大于90重量%、大于95重量%或大于98重量%的抗体,例如大于99重量%,至(2)足够通过使用旋转杯测序仪(spinning cup sequenator)以获得至少15个N-端或内部氨基酸序列残基的程度,或(3)在还原或非还原条件下使用考马斯蓝或银染色通过十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)至同质性。分离的抗体包括在重组细胞中的原位抗体,因为抗体自然环境中的至少一种组分将不存在。在某些情况下,分离的抗体将通过至少一个纯化步骤来制备。

[0156] 术语“天然抗体”是指抗体的重链和轻链由多细胞生物的免疫系统制成并配对的抗体。脾脏、淋巴结、骨髓和血清为产生天然抗体的组织的实例。例如,从第一只用抗原免疫的动物体内分离出来的抗体产生细胞所产生的抗体为天然抗体。

[0157] 术语“人源化抗体”或“人源化免疫球蛋白”是指含有一种或多种氨基酸(例如,在框架区、恒定区或CDR中)的非人(如,小鼠或兔)抗体,这些氨基酸已被来自人抗体的相应定位的氨基酸取代。通常,与相同抗体的非人源化版本相比,人源化抗体在人类宿主中产生降低的免疫反应。抗体可以使用本领域已知的各种技术进行人源化,包括,例如,CDR-嫁接(CDR-grafting)、贴面(veneering)或表面再建(resurfacing)、链改组(chain shuffling)等。在某些实施方案中,通过对CDR和框架残基的相互作用进行建模,以鉴定对抗原结合重要的框架残基,并通过序列比较来鉴定特定位置处的异常框架残基,从而确定框架取代。因此,上述抗体可使用本领域所熟知的方法进行人源化。

[0158] 在某些实施方案中,本文公开的抗体分子包括重链,该重链包含本文提供的可变重链区和具有UniProt:P01857-1,版本1中所述的氨基酸序列的人源IgG1恒定区。在某些实施方案中,本文公开的抗体分子包含轻链,该轻链包含本文提供的可变轻链区和人源轻链恒定区。在某些实施方案中,人源轻链恒定区为具有UniProtKB/Swiss-Prot:P01834.2中所述氨基酸的人源 κ 轻链恒定区。在某些实施方案中,受试者抗体中存在的人源IgG1重链恒定区可包含突变,如,用以调节Fc功能的取代。例如,可引入LALAPG效应子功能突变(L234A、L235A和P329G)或N297A突变以降低抗体依赖性细胞毒性(ADCC)。替代序列的编号基于EU编

号系统。“EU编号系统”或“EU索引”通常用于指免疫球蛋白重链恒定区中的残基(如,Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版,Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD.(1991)中记载的EU索引)。“在Kabat系统中的EU索引”是指人源IgG1EU抗体的残基编号。

[0159] 术语“嵌合抗体”是指轻链和重链基因已由属于不同物种的抗体可变区和恒定区基因构建,通常是通过基因工程构建的抗体。例如,源自小鼠单克隆抗体的基因的可变片段可连接至人源恒定片段,例如 $\gamma 1$ 和 $\gamma 3$ 。治疗性嵌合抗体的实例是由源自小鼠抗体的可变区或抗原结合结构域和源自人源抗体的恒定区或效应结构域组成的杂交蛋白,尽管也可以使用来自其他哺乳动物物种的结构域。

[0160] 术语“多肽(polypeptide)”、“肽”和“蛋白质”在本文中可互换使用,以指任何长度的氨基酸的聚合形式。除非另有说明,“多肽”、“肽”和“蛋白质”可以包括遗传编码和非编码氨基酸、化学或生物化学修饰或衍生的氨基酸以及具有修饰肽骨架的多肽。该术语包括融合蛋白,包括但不限于具有异源氨基酸序列的融合蛋白、与异源和同源前导序列的融合物、含有至少一个N-端甲硫氨酸残基的蛋白(如,以促进在重组宿主细胞中产生);免疫标记蛋白等。在抗体的上下文中,显然链或结构域包含多肽。

[0161] “天然氨基酸序列”或“亲本氨基酸序列”在本文中可互换使用,以指修饰前的多肽的氨基酸序列,以包含修饰的氨基酸残基。

[0162] 术语“氨基酸类似物”、“非天然氨基酸”等可互换使用,且包括在结构和/或总体形状上与天然存在的蛋白质中常见的一种或多种氨基酸相似的氨基酸样化合物(如,Ala或A、Cys或C、Asp或D、Glu或E、Phe或F、Gly或G、His或H、Ile或I、Lys或K、Leu或L、Met或M、Asn或N、Pro或P、Gln或Q、Arg或R、Ser或S、Thr或T、Val或V、Trp或W、Tyr或Y)。氨基酸类似物还包括具有修饰的侧链或主链的天然氨基酸。氨基酸类似物还包括与天然存在的D-型以及L-型氨基酸类似物具有相同立体化学的氨基酸类似物。在一些情况下,氨基酸类似物共享一种或多种天然氨基酸的主链结构和/或侧链结构,其差别在于分子中的一个或多个修饰基团。这种修饰可包括,但不限于,用原子(例如N)取代相关原子(例如S)、添加基团(例如甲基或羟基等)或原子(例如Cl或Br等)、删除基团、取代共价键(单键代替双键等)或其组合。例如,氨基酸类似物可包括 α -羟基酸和 α -氨基酸等。

[0163] “氨基酸侧链”或“氨基酸的侧链”等术语可用于指连接到氨基酸残基的 α -碳上的取代基,包括天然氨基酸、非天然氨基酸和氨基酸类似物。氨基酸侧链也可以包括如上下文所述的修饰氨基酸和/或本文所述的缀合物的氨基酸侧链。

[0164] 术语“缀合”通常指共价或非共价的化学键,通常为共价的,其将一个目的分子与第二个目的分子近端连接起来。在一些实施方案中,所述试剂选自半衰期延长部分、标记剂和治疗剂。例如,为了延长半衰期,本公开内容的抗体可以任选地被修饰以提供改善的药代动力学曲线(如,通过聚乙二醇化(PEGylation)、高糖基化等)。可以提高血清半衰期的修饰是值得关注的。

[0165] 术语“碳水化合物”等可用于指单糖、二糖、低聚糖和多糖的单体单元和/或聚合物。术语糖可用于指较小的碳水化合物,如单糖、二糖。术语“碳水化合物衍生物”包括目的碳水化合物的一个或多个官能团被取代(被任何适当的取代基取代)、修饰(使用任何适当的化学物质转化为另一个基团)或缺失(如,被H消除或取代)的化合物。多种碳水化合物和

碳水化合物衍生物为可用的,且可适用于主题化合物和缀合物。

[0166] 如本文所用,术语“分离的”意在描述在不同于该化合物天然存在的环境中的目的化合物。“分离的”意在包括这样的样品中的化合物,这些样品中的目的化合物已被大量富集和/或其中目的化合物被部分或基本纯化。

[0167] 如本文所用,术语“基本纯化的”是指从其自然环境中去除的化合物,该化合物与天然相关的其他组分至少分离60%、至少分离75%、至少分离80%、至少分离85%、至少分离90%、至少分离95%、至少分离98%或分离大于98%。

[0168] 术语“生理条件”是指那些与活细胞相容的条件,如,与活细胞相容的主要含水条件的温度、pH值、盐度等。

[0169] “反应参与物(reactive partner)”是指与另一个反应参与物特异性反应以产生反应产物的分子或分子部分。示例性反应参与物包括硫酸酯酶基序(motif)的半胱氨酸或丝氨酸和甲酰甘氨酸生成酶(FGE),其反应以形成转化的醛标签的反应产物,该醛标签含有甲酰甘氨酸(fGly)代替所述基序中的半胱氨酸或丝氨酸。其他示例性反应参与物包括转化的醛标签的fGly残基的醛(如,反应醛基团)和“醛反应性反应参与物”,其包含醛反应基团和目的部分,且其反应以形成多肽的反应产物,该多肽具有通过所述fGly残基与多肽缀合的目的部分。

[0170] “N-端”是指具有游离胺基基团的多肽的末端氨基酸残基,非N-端氨基酸残基中的胺基基团通常形成部分多肽共价骨架。

[0171] “C-端”是指具有游离羧基基团的多肽的末端氨基酸残基,非C-端氨基酸残基中的羧基基团通常形成部分多肽共价骨架。

[0172] 多肽或多肽氨基酸序列中使用的“内部位点”是指多肽中不在N-端或C-端的区域。

[0173] 如本文所用,术语“治疗(treatment)”、“治疗(treating)”等是指获得期望的药理学和/或生理学效果。就完全或部分预防疾病或其症状而言,所述效果可为预防性的,和/或就部分或完全治愈疾病和/或可归因于该疾病的副作用而言,所述效果可为治疗性的。本文所使用的“治疗”包括对哺乳动物,特别是人类的疾病的任何治疗,且包括:(a)防止可能易患疾病但尚未被诊断为患有该疾病的受试者患上该疾病;(b)抑制疾病,如,阻止其发展;和(c)缓解疾病,如,引起该疾病的消退。

[0174] 术语“个体”、“受试者”、“宿主”和“患者”在本文中可互换使用,其是指哺乳动物,包括但不限于,鼠(大鼠、小鼠)、非人灵长类动物、人、犬科动物、猫科动物、有蹄类动物(如,马、牛、羊、猪、山羊)等。

[0175] “治疗有效量”或“有效量”是指当对哺乳动物或其他受试者给药用于治疗疾病时,足以对该疾病进行这种治疗产生效果的受试者抗-MUC1 Ab的量。“治疗有效量”将根据被治疗受试者的抗-MUC1 Ab、疾病及其严重程度和年龄、体重等而变化。

[0176] 在进一步描述本发明之前,应当理解,本发明不限于所描述的特定实施方案,因为这些实施方案当然可变。还应当理解,这里使用的术语仅用于描述特定实施方案的目的,且不在进行限制,因为本发明的范围将仅受所附权利要求的限制。

[0177] 在提供值的范围的情况下,应当理解,除非上下文另有明确规定,则该范围的上限和下限与该规定范围内的任何其他规定值或中间值之间的每个中间值,到下限单位的十分之一,都包含在本发明内。这些较小范围的上限和下限可独立地包括在所述较小范围中,且

也包含在本发明中,受所述范围中任何特别排除的限制。在所述范围包括一个或两个限值的情况下,排除这些所包括的限值中的一个或两个的范围也包括在本发明中。

[0178] 除非另有限定,本文所使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的相同的含义。尽管在本发明的实践或测试中也可以使用与本文所述的类似或等效的任何方法和材料,但优选的方法和材料是现在所描述的。本文提及的所有出版物通过引用并入本文,以公开和描述与引用出版物相关的方法和/或材料。

[0179] 必须注意,如本文和所附权利要求中所使用的,单数形式“一”、“一个”和“所述”包括复数所指对象,除非上下文另有明确说明。因此,例如,提及“抗体”包括多个这样的抗体,提及“CDR”包括对一个或多个CDR及其本领域技术人员已知的等同物,等等。还应注意的是,权利要求可选为排除任何可选元件。因此,本声明旨在作为在叙述权利要求要素时使用“仅”、“唯一”等排他性术语或使用“否定”限制的前提基础。

[0180] 本文讨论的出版物仅为了它们在本申请的申请日之前的公开内容而提供。本文中的任何内容不得解释为承认本发明由于先前的发明而无权提前发表。进一步的,提供的出版日期可能不同于实际出版日期,实际出版日期可能需要独立确认。

具体实施方式

[0181] 本公开内容提供了对MUC1特异性的抗体缀合物(如,抗体-药物缀合物(ADC))。本公开内容还包括这种缀合物的生产方法,以及其使用方法。下文更详细地描述了每个实施方案。还提供了包含本公开内容的ADC的组合物,在一些情况下包括药物组合物。在某些方面,提供了使用所述ADC的方法,包括向具有细胞增殖性疾病的个体施用治疗有效量的本公开的ADC。

[0182] MUC1抗体及其抗体-药物缀合物

[0183] 如上所述,本公开内容提供了对MUC1特异性的抗体的缀合物(如,抗体-药物缀合物(ADC))。此外,本公开内容提供了包含fGly残基的抗MUC1抗体。

[0184] 抗体-药物缀合物

[0185] 本公开内容提供了对MUC1特异性的抗体缀合物(如,抗体-药物缀合物(ADC))。“缀合”是指多肽(如抗体)共价连接到目的部分(如药物或活性剂)。例如,根据本公开内容的抗体-药物缀合物包含共价连接到抗体上的一种或多种药物或活性剂。在某些实施方案中,所述多肽(如抗体)和所述一种或多种药物或活性剂通过一种或多种官能团和共价键相互结合。例如,所述一个或多个官能团和共价键可以包括接头,例如如本文所述的可剪切接头。

[0186] 在某些实施方案中,所述缀合物为多肽缀合物,其包括与一个或多个其他部分缀合的多肽(如,抗体)。在某些实施方案中,与多肽缀合的一个或多个部分可以各自独立地为各种目的部分中的任何一个,例如,但不限于,药物、活性剂、可检测标记物、水溶性聚合物或用于将多肽固定到膜或表面的部分。在某些实施方案中,缀合物为药物缀合物,其中多肽为抗体,从而提供抗体-药物缀合物。例如,缀合物可以为药物缀合物,其中多肽与一种或多种药物或活性剂缀合。各种类型的药物和活性剂可用于所述缀合物中,且在下文中更详细地描述。

[0187] 一种或多种药物或活性剂可以在多肽的任何期望的位点与多肽(如,抗体)缀合。因此,本公开内容提供了,例如,一种多肽,该多肽在其C-端或C-端附近的位点与药物或活

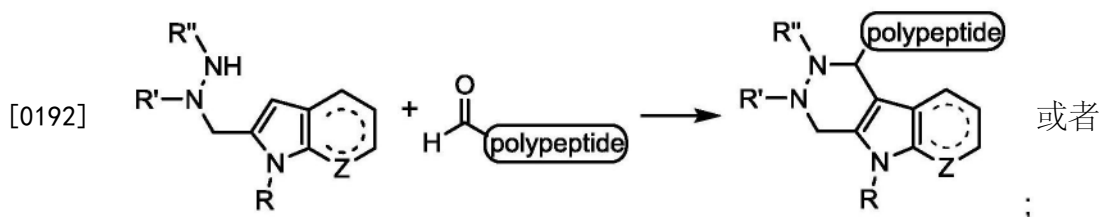
性剂缀合。其他实例包括在多肽的N-端或其附近的位置与药物或活性剂缀合的多肽。实例还包括在多肽的C-端和N-端之间的位置(如,在多肽的内部位点)与药物或活性剂缀合的多肽。当多肽与两种或更多种药物或活性剂缀合时,上述组合也是可能的。

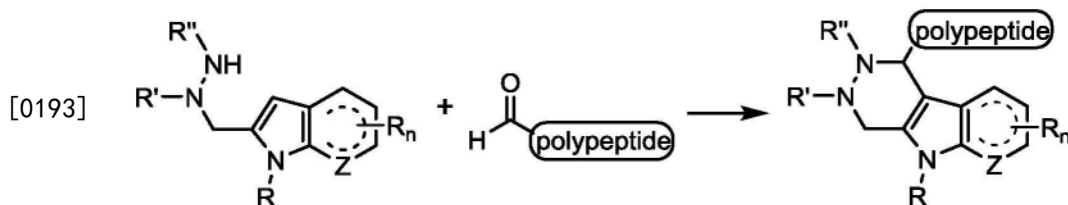
[0188] 在某些实施方案中,本公开内容的缀合物包含在氨基酸残基的 α -碳处与多肽的氨基酸残基缀合的一种或多种药物或活性剂。换句话说,缀合物包含多肽,其中该多肽中的一个或多个氨基酸残基的侧链已被修饰并连接至一种或多种药物或活性剂上(如,通过本文所述的接头连接至一种或多种药物或活性剂上)。例如,缀合物包含多肽,其中多肽中一个或多个氨基酸残基的 α -碳已经被修饰并连接至一种或多种药物或活性剂上(如,通过本文所述的接头连接至一种或多种药物或活性剂上)。

[0189] 本公开的实施方案包括这样的缀合物,其中多肽与一个或多个部分缀合,例如2个部分、3个部分、4个部分、5个部分、6个部分、7个部分、8个部分、9个部分或10个或更多个部分。这些部分可在多肽中的一个或多个位点上与多肽缀合。例如,一个或多个部分可与多肽的单个氨基酸残基缀合。在一些情况下,一个部分与多肽的氨基酸残基缀合。在其他实施方案中,两个部分可与多肽的相同氨基酸残基缀合。在其他实施方案中,第一部分与多肽的第一氨基酸残基缀合,且第二部分与多肽的第二氨基酸残基缀合。上述组合也是可能的,例如多肽在第一氨基酸残基处与第一部分缀合,在第二氨基酸残基处与其他两个部分缀合。其他组合也是可能的,例如,但不限于,在第一氨基酸残基处与第一和第二部分缀合的多肽以及在第二氨基酸残基处与第三和第四部分缀合的多肽等。

[0190] 与目的一个或多个部分缀合的多肽的一个或多个氨基酸残基可为天然存在的氨基酸、非天然氨基酸或其组合。例如,所述缀合物可包括与多肽的天然氨基酸残基缀合的一种或多种药物或活性剂。在其他情况下,所述缀合物可包括与多肽的非天然氨基酸残基缀合的一种或多种药物或活性剂。如本文所述,一种或多种药物或活性剂可以在单个天然或非天然氨基酸残基上与多肽缀合。多肽中的一个或多个天然或非天然氨基酸残基可与本文所述的一个或多个部分缀合。例如,多肽中的两个(或更多个)氨基酸残基(如,天然或非天然氨基酸残基)可各自与一个或两个部分缀合,这样使得多肽中的多个位点与目的部分缀合。

[0191] 在某些实施方案中,多肽(如,抗体)和目的部分(如,药物或活性剂)通过缀合部分缀合。例如,多肽和目的部分可各自与缀合部分结合(如,共价结合),因此通过缀合部分将多肽和目的部分间接结合在一起。在一些情况下,结合部分包括胍基-吡啶基或胍基-吡咯并-吡啶基化合物,或胍基-吡啶基或胍基-吡咯并-吡啶基化合物的衍生物。例如,通过胍基-吡啶基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分将目的部分与多肽偶联的一般方案如下面的一般反应方案所示。胍基-吡啶基和胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分在本文中也分别称为胍基-异-Pictet-Spengler(HIPS)共轭部分和氮杂-胍基-异-Pictet-Spengler(azaHIPS)共轭部分。





[0194] 在上述反应方案中,每个R包括与多肽缀合(如,通过本文所述的可裂解接头与多肽缀合)的目的部分(如,药物或活性剂),其中n为从1至4的整数。如上述反应方案所示,包含2-甲酰甘氨酸残基(fGly)的多肽与已被修饰成包含缀合部分(如,胍基-吡咯基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分)的药物或活性剂反应,以产生连接到缀合部分的多肽缀合物,因此通过缀合部分将药物或活性剂连接到多肽上。

[0195] 如本文所述,所述部分可以是多种部分中的任何一种,例如,但不限于,化学实体,例如可检测的标记,或药物或活性剂。R'和R''可各自独立地为任何期望的取代基,例如,但不限于,氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、烷氧基、取代烷氧基、氨基、取代氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。Z可为CR⁶¹、NR⁶²、N、O或S,其中R⁶¹和R⁶²各自独立地选自上文针对R'和R''所述的任何取代基。

[0196] 如本文所述的缀合物和化合物所示,其他胍基-吡咯基或胍基-吡咯并-吡啶基偶联部分也是可能的。例如,胍基-吡咯基或胍基-吡咯并-吡啶基偶联部分可连接(如,共价连接)至接头上。因此,本公开内容的实施方案包括通过接头连接至药物或活性剂上的胍基-吡咯基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分。本文详细描述了可将胍基-吡咯基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分偶联至药物或活性剂的接头的各种实施方案。例如,在一些情况下,如本文所述,接头为可裂解接头。

[0197] 如本文所述的缀合物和化合物所示,额外的胍基-吡咯基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分也是可能的。例如,胍基-吡咯基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分可连接(如,共价连接)至两个或更多个接头上。因此,本公开内容的实施方案包括胍基-吡咯基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分通过相应的接头分别连接至两种或更多种药物或活性剂上。因此,本公开内容的缀合物可包含两个或更多个接头,其中每个接头将相应的药物或活性剂连接至胍基-吡咯基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分。因此,胍基-吡咯基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分和两个或更多个接头总体上可被视为“分支接头”,其中胍基-吡咯基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分连接至两个或更多个“分支(branch)”上,其中每个分支包含连接至药物或活性剂上的接头。

[0198] 相同的不同有效负载的组合可通过分支接头与多肽缀合。在某些实施方案中,连接至分支接头上的两个有效负载(如,药物、活性剂或可检测标记)为相同的有效负载(如,药物、活性剂或可检测标记)。例如,分支接头的第一分支可连接至有效负载(如,药物、活性剂或可检测标记),并且分支接头的第二分支可连接至与第一分支相同的有效负载(如,药物、活性剂或可检测标记)。

[0199] 在其他实施方案中,连接至分支接头上的两个有效负载(如,药物、活性剂或可检测标记)为不同的有效负载(如,药物、活性剂或可检测标记)。例如,分支接头的第一分支可

连接至第一有效负载(如,第一药物、活性剂或可检测标记),且分支接头的第二分支可连接至不同于连接至第一分支的第一有效负载(例如,第一药物、活性剂或可检测标记)的第二有效负载(例如,第二药物、活性剂或可检测标记)。

[0200] 在某些实施方案中,多肽(如,抗体)可与一个或多个目的部分缀合,其中在与目的部分缀合之前修饰多肽的一个或多个氨基酸残基。多肽的一个或多个氨基酸残基的修饰可产生含有一个或多个适于与目的部分缀合的反应基团的多肽。在一些情况下,所述多肽可包含一个或多个修饰的氨基酸残基,以提供一个或多个适于与目的部分(如,包括缀合部分的一个或多个部分,例如,如上所述的胍基-咪唑基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分)缀合的反应基团。例如,多肽的氨基酸可被修饰成包括活性醛基团(如,活性醛)。活性醛可包括在“醛标签”或“ald标签”中,其如本文所用,是指源自硫酸酯酶基序(如,L(C/S)TPSR(SEQ ID NO:5))的氨基酸序列,该基序已通过甲酰甘氨酸生成酶(FGE)的作用转化为含有2-甲酰甘氨酸残基(本文中称为“fGly”)。由FGE产生的fGly残基也可称为“甲酰甘氨酸”。换句话说,术语“醛标签”在本文中是指包括“转化的”硫酸酯酶基序的氨基酸序列(如,其中半胱氨酸或丝氨酸残基通过FGE的作用转化为fGly的硫酸酯酶基序,如,L(fGly)TPSR(SEQ ID NO:24))。转化的硫酸酯酶基序可由包含“未转化的”硫酸酯酶基序(如,其中半胱氨酸或丝氨酸残基未被FGE转化为fGly,但能够被转化的硫酸酯酶基序,如序列为L(C/S)TPSR的未转化硫酸酯酶基序)的氨基酸序列产生。在甲酰甘氨酸生成酶(FGE)对硫酸酯酶基序的作用的上下文中使用“转化(conversion)”是指硫酸酯酶基序中的半胱氨酸或丝氨酸残基生物化学修饰为甲酰甘氨酸(fGly)残基(如,Cys至fGly,或Ser至fGly)。美国专利号7,985,783和美国专利号8,729,232记载了醛标签的其他方面及其在位点特异性蛋白质修饰中的用途,其中每个专利的公开内容通过引用并入本文。

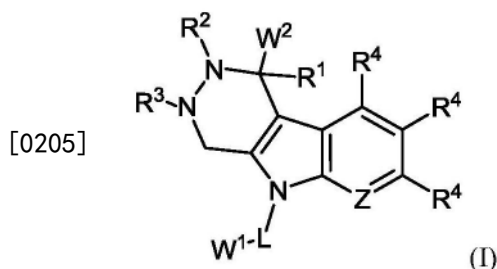
[0201] 在一些情况下,为了产生缀合物,含有fGly残基的多肽可通过fGly与化合物(如,如上所述,含有胍基-咪唑基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分的化合物)的反应与目的部分缀合。例如,含fGly的多肽可在适于提供药物与多肽结合的条件下与含反应参与物的药物接触。在一些情况下,含反应参与物的药物可包括如上所述的胍基-咪唑基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分。例如,药物或活性剂可被修饰以包含胍基-咪唑基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分。在一些情况下,药物或活性剂连接至胍基-咪唑基或胍基-吡咯并-吡啶基上,例如通过接头(例如本文详细描述的头)共价连接至胍基-咪唑基或胍基-吡咯并-吡啶基。

[0202] 在某些实施方案中,本公开内容的缀合物包含多肽(如,抗体),其具有至少一个氨基酸残基,该氨基酸残基已经连接至一个或多个目的部分(如,药物或活性剂)。为了制备缀合物,多肽的氨基酸残基可被修饰,且然后偶联至一种或多种药物或活性剂上,如上所述,该药物或活性剂连接至胍基-咪唑基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分。在某些实施方案中,多肽(如抗体)的氨基酸残基是如上所述被修饰为fGly残基的半胱氨酸或丝氨酸残基。在某些实施方案中,修饰的氨基酸残基(如,fGly残基)与含有如上所述的胍基-咪唑基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分的药物或活性剂缀合,以提供本公开内容的缀合物,其中一种或多种药物或活性剂通过胍基-咪唑基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分与多肽缀合。如本文所用,术语fGly'是指与目的部分(如,药物或活性剂)偶联的多肽(如,抗体)的被修饰的氨基酸残基。

[0203] 在某些实施方案中,缀合物包含具有至少一个氨基酸残基连接至如本文所述的接

头的多肽(如,抗体),该接头又连接至一种或多种药物或活性剂。例如,缀合物可包含具有至少一个氨基酸残基(fGly')的多肽(如,抗体),其与如上所述的一个或多个目的部分(如,一种或多种药物或活性剂)缀合。

[0204] 本公开内容的方面包括化学式(I)的缀合物:



[0206] 其中

[0207] Z为CR⁴或者N;

[0208] R¹选自氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基;

[0209] R²和R³各自独立地选自氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、烷氧基、取代烷氧基、氨基、取代氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基,或R²和R³任选地环状连接以形成5或6元杂环基;

[0210] 每个R⁴独立地选自氢、卤素、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、烷氧基、取代烷氧基、氨基、取代氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基;

[0211] L为接头;

[0212] W¹为药物;和

[0213] W²为抗MUC1抗体。

[0214] 在某些实施方案中,Z为CR⁴或N。在某些实施方案中,Z为CR⁴。在某些实施方案中,Z为N。

[0215] 在某些实施方案中,R¹选自氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。

[0216] 在某些实施方案中,R¹为氢。在某些实施方案中,R¹为烷基或取代烷基,例如C₁₋₆烷基或C₁₋₆取代烷基,或C₁₋₄烷基或C₁₋₄取代烷基,或C₁₋₃烷基或C₁₋₃取代烷基。在某些实施方案中,R¹为甲基。在某些实施方案中,R¹为烯基或取代烯基,例如C₂₋₆烯基或C₂₋₆取代烯基,或C₂₋₄烯基或C₂₋₄取代烯基,或C₂₋₃烯基或C₂₋₃取代烯基。在某些实施方案中,R¹为炔基或取代炔基,例如C₂₋₆炔基或C₂₋₆取代炔基,或C₂₋₄炔基或C₂₋₄取代炔基,或C₂₋₃炔基或C₂₋₃取代炔基。在某些实施方案中,R¹为芳基或取代芳基,例如C₅₋₈芳基或C₅₋₈取代芳基,例如C₅芳基或C₅取代芳基,或C₆芳基或C₆取代芳基。在某些实施方案中,R¹为杂芳基或取代杂芳基,例如C₅₋₈杂芳基或C₅₋₈取代杂芳基,例如C₅杂芳基或C₅取代杂芳基,或C₆杂芳基或C₆取代杂芳基。在某些实施方案中,R¹为环烷基或取代环烷基,例如C₃₋₈环烷基或C₃₋₈取代环烷基,例如C₃₋₆环烷基或C₃₋₆取代环烷基,或C₃₋₅环烷基或C₃₋₅取代环烷基。在某些实施方案中,R¹为杂环基或取代杂环基,

例如C₃₋₈杂环基或C₃₋₈取代杂环基,例如C₃₋₆杂环基或C₃₋₆取代杂环基,或C₃₋₅杂环基或C₃₋₅取代杂环基。

[0217] 在某些实施方案中,R²和R³各自独立地选自氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、烷氧基、取代烷氧基、氨基、取代氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基,或R²和R³任选地环状连接以形成5或6元杂环基。

[0218] 在某些实施方案中,R²选自氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、烷氧基、取代烷氧基、氨基、取代氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。在某些实施方案中,R²为氢。在某些实施方案中,R²为烷基或取代烷基,例如C₁₋₆烷基或C₁₋₆取代烷基,或C₁₋₄烷基或C₁₋₄取代烷基,或C₁₋₃烷基或C₁₋₃取代烷基。在某些实施方案中,R²为甲基。在某些实施方案中,R²为烯基或取代烯基,例如C₂₋₆烯基或C₂₋₆取代烯基,或C₂₋₄烯基或C₂₋₄取代烯基,或C₂₋₃烯基或C₂₋₃取代烯基。在某些实施方案中,R²为炔基或取代炔基。在某些实施方案中,R²为烷氧基或取代烷氧基。在某些实施方案中,R²为氨基或取代氨基。在某些实施方案中,R²为羧基或羧基酯。在某些实施方案中,R²为酰基或酰氧基。在某些实施方案中,R²为酰氨基或氨酰基。在某些实施方案中,R²为烷基酰胺或取代烷基酰胺。在某些实施方案中,R²为磺酰基。在某些实施方案中,R²为硫代烷氧基或取代硫代烷氧基。在某些实施方案中,R²为芳基或取代芳基,例如C₅₋₈芳基或C₅₋₈取代芳基,例如C₅芳基或C₅取代芳基,或C₆芳基或C₆取代芳基。在某些实施方案中,R²为杂芳基或取代杂芳基,例如C₅₋₈杂芳基或C₅₋₈取代杂芳基,例如C₅杂芳基或C₅取代杂芳基,或C₆杂芳基或C₆取代杂芳基。在某些实施方案中,R²为环烷基或取代环烷基,例如C₃₋₈环烷基或C₃₋₈取代环烷基,例如C₃₋₆环烷基或C₃₋₆取代环烷基,或C₃₋₅环烷基或C₃₋₅取代环烷基。在某些实施方案中,R²为杂环基或取代杂环基,例如C₃₋₆杂环基或C₃₋₆取代杂环基,或C₃₋₅杂环基或C₃₋₅取代杂环基。

[0219] 在某些实施方案中,R³选自氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、烷氧基、取代烷氧基、氨基、取代氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。在某些实施方案中,R³为氢。在某些实施方案中,R³为烷基或取代烷基,例如C₁₋₆烷基或C₁₋₆取代烷基,或C₁₋₄烷基或C₁₋₄取代烷基,或C₁₋₃烷基或C₁₋₃取代烷基。在某些实施方案中,R³为甲基。在某些实施方案中,R³为烯基或取代烯基,例如C₂₋₆烯基或C₂₋₆取代烯基,或C₂₋₄烯基或C₂₋₄取代烯基,或C₂₋₃烯基或C₂₋₃取代烯基。在某些实施方案中,R³为炔基或取代炔基。在某些实施方案中,R³为烷氧基或取代烷氧基。在某些实施方案中,R³为氨基或取代氨基。在某些实施方案中,R³为羧基或羧基酯。在某些实施方案中,R³为酰基或酰氧基。在某些实施方案中,R³为酰氨基或氨酰基。在某些实施方案中,R³为烷基酰胺或取代烷基酰胺。在某些实施方案中,R³为磺酰基。在某些实施方案中,R³为硫代烷氧基或取代硫代烷氧基。在某些实施方案中,R³为芳基或取代芳基,例如C₅₋₈芳基或C₅₋₈取代芳基,例如C₅芳基或C₅取代芳基,或C₆芳基或C₆取代芳基。在某些实施方案中,R³为杂芳基或取代杂芳基,例如C₅₋₈杂芳基或C₅₋₈取代杂芳基,例如C₅杂芳基或C₅取代杂芳基,或C₆杂

芳基或C₆取代杂芳基。在某些实施方案中,R³为环烷基或取代环烷基,例如C₃₋₈环烷基或C₃₋₈取代环烷基,例如C₃₋₆环烷基或C₃₋₆取代环烷基,或C₃₋₅环烷基或C₃₋₅取代环烷基。在某些实施方案中,R³为杂环基或取代杂环基,例如C₃₋₈杂环基或C₃₋₈取代杂环基,例如C₃₋₆杂环基或C₃₋₆取代杂环基,或C₃₋₅杂环基或C₃₋₅取代杂环基。

[0220] 在某些实施方案中,R²和R³任选地环状连接以形成5或6元杂环基。在某些实施方案中,R²和R³环状连接以形成5或6元杂环基。在某些实施方案中,R²和R³环状连接以形成5元杂环基。在某些实施方案中,R²和R³环状连接以形成6元杂环基。

[0221] 在某些实施方案中,每个R⁴独立地选自氢、卤素、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、烷氧基、取代烷氧基、氨基、取代氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。

[0222] 每个R⁴的各种可能如下文更详细地描述。在某些实施方案中,R⁴为氢。在某些实施方案中,每个R⁴为氢。在某些实施方案中,R⁴为卤素,例如F、Cl、Br或I。在某些实施方案中,R⁴为F。在某些实施方案中,R⁴为Cl。在某些实施方案中,R⁴为Br。在某些实施方案中,R⁴为I。在某些实施方案中,R⁴为烷基或取代烷基,例如C₁₋₆烷基或C₁₋₆取代烷基,或C₁₋₄烷基或C₁₋₄取代烷基,或C₁₋₃烷基或C₁₋₃取代烷基。在某些实施方案中,R⁴为甲基。在某些实施方案中,R⁴为烯基或取代烯基,例如C₂₋₆烯基或C₂₋₆取代烯基,或C₂₋₄烯基或C₂₋₄取代烯基,或C₂₋₃烯基或C₂₋₃取代烯基。在某些实施方案中,R⁴为炔基或取代炔基。在某些实施方案中,R⁴为烷氧基或取代烷氧基。在某些实施方案中,R⁴为氨基或取代氨基。在某些实施方案中,R⁴为羧基或羧基酯。在某些实施方案中,R⁴为酰基或酰氧基。在某些实施方案中,R⁴为酰氨基或氨酰基。在某些实施方案中,R⁴为烷基酰胺或取代烷基酰胺。在某些实施方案中,R⁴为磺酰基。在某些实施方案中,R⁴为硫代烷氧基或取代硫代烷氧基。在某些实施方案中,R⁴为芳基或取代芳基,例如C₅₋₈芳基或C₅₋₈取代芳基,例如C₅芳基或C₅取代芳基,或C₆芳基或C₆取代芳基(如,苯基或取代苯基)。在某些实施方案中,R⁴为杂芳基或取代杂芳基,例如C₅₋₈杂芳基或C₅₋₈取代杂芳基,例如C₅杂芳基或C₅取代杂芳基,或C₆杂芳基或C₆取代杂芳基。在某些实施方案中,R⁴为环烷基或取代环烷基,例如C₃₋₈环烷基或C₃₋₈取代环烷基,例如C₃₋₆环烷基或C₃₋₆取代环烷基,或C₃₋₅环烷基或C₃₋₅取代环烷基。在某些实施方案中,R⁴为杂环基或取代杂环基,例如C₃₋₈杂环基或C₃₋₈取代杂环基,例如C₃₋₆杂环基或C₃₋₆取代杂环基,或C₃₋₅杂环基或C₃₋₅取代杂环基。

[0223] 在某些实施方案中,W¹为药物。该药物的进一步描述可以在本文的公开内容中找到。

[0224] 在某些实施方案中,W²为抗MUC1抗体。在某些实施方案中,W²包含如本文所述的一个或多个fGly' 残基。在某些实施方案中,如本文所述,抗MUC1抗体通过fGly' 残基连接至缀合物的其余部分。用于受试者缀合物中的抗MUC1抗体的进一步描述可以在本文的公开内容中找到。

[0225] 在某些实施方案中,式(I)的化合物包括接头,L。该接头可用于将缀合部分(如,胍基-吡啶基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分)结合至一个或多个目的部分。接头可在任何方便的位置结合(如,共价结合)至缀合部分(如,如本文所述)。例如,所述接头可被修饰以包含胍基-吡啶基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分。胍基-吡啶基或胍基-吡咯并-吡啶基偶联部分可用于将接头(以及药物)缀合至多肽,例如抗MUC1抗体。例如,缀合部分可用于将接头

(以及药物)缀合至多肽的修饰氨基酸残基,例如抗MUC1抗体的fGly残基。

[0226] 在某些实施方案中,L将共轭部分连接至 W^1 ,且因此缀合部分通过接头L间接结合至 W^1 。如上所述, W^1 为药物,且因此L将缀合部分连接至药物上,如,该缀合部分通过接头L间接结合至药物上。

[0227] 任何适当的接头都可用于所述主题缀合物。在某些实施方案中,L包括选自以下的基团:烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、烷氧基、取代烷氧基、氨基、取代氨基、羧基、羧基酯、酰氨基、烷基酰胺、取代烷基酰胺、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。在某些实施方案中,L包括烷基或取代烷基基团。在某些实施方案中,L包括烯基或取代烯基基团。在某些实施方案中,L包括炔基或取代炔基基团。在某些实施方案中,L包括烷氧基或取代烷氧基基团。在某些实施方案中,L包括氨基或取代氨基基团。在某些实施方案中,L包括羧基或羧基酯基团。在某些实施方案中,L包括酰氨基基团。在某些实施方案中,L包括烷基酰胺或取代烷基酰胺基团。在某些实施方案中,L包括芳基或取代芳基基团。在某些实施方案中,L包括杂芳基或取代杂芳基基团。在某些实施方案中,L包括环烷基或取代环烷基基团。在某些实施方案中,L包括杂环基或取代杂环基基团。

[0228] 在某些实施方案中,L包括聚合物。例如,所述聚合物可包括聚亚烷基二醇及其衍生物,包括聚乙二醇、甲氧基聚乙二醇、聚乙二醇均聚物、聚丙二醇均聚物、乙二醇与丙二醇的共聚物(如,其中均聚物和共聚物未被取代或在一端被烷基取代)、聚乙烯醇、聚乙烯乙醚、聚乙烯吡咯烷酮、其组合等。在某些实施方案中,聚合物为聚亚烷基二醇。在某些实施方案中,聚合物为聚乙二醇。其他接头也是可能的,如下面更详细描述缀合物和化合物所示。

[0229] 在一些实施方案中,L为由下式描述的接头:

[0230] $-(L^1)_a-(L^2)_b-(L^3)_c-(L^4)_d-(L^5)_e-(L^6)_f-$,

[0231] 其中 L^1 、 L^2 、 L^3 、 L^4 、 L^5 和 L^6 各自独立地为接头亚基,且a、b、c、d、e和f各自独立地为0或1,其中a、b、c、d、e和f的和为1至6。

[0232] 在某些实施方案中,a、b、c、d、e和f的和为1。在某些实施方案中,a、b、c、d、e和f的和为2。在某些实施方案中,a、b、c、d、e和f的和为3。在某些实施方案中,a、b、c、d、e和f的和为4。在某些实施方案中,a、b、c、d、e和f的和为5。在某些实施方案中,a、b、c、d、e和f的和为6。在某些实施方案中,a、b、c、d、e和f各为1。在某些实施方案中,a、b、c、d和e各为1,且f为0。在某些实施方案中,a、b、c和d各为1,且e和f各为0。在某些实施方案中,a、b和c各为1,且d、e和f各为0。在某些实施方案中,a和b各为1,且c、d、e和f各为0。在某些实施方案中,a为1,且b、c、d、e和f各为0。

[0233] 在某些实施方案中,接头亚基 L^1 连接至胍基-吡啶基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分(如,如上述式(I)所示)。在某些实施方案中,接头亚基 L^2 如果存在,则连接至药物。在某些实施方案中,接头亚基 L^3 如果存在,则连接至所述药物。在某些实施方案中,接头亚基 L^4 如果存在,则连接至所述药物。在某些实施方案中,接头亚基 L^5 如果存在,则连接至所述药物。在某些实施方案中,接头亚基 L^6 如果存在,则连接至所述药物。

[0234] 任何方便的接头亚基都可用于接头L。目的接头亚基,包括,但不限于,聚合物单元,例如聚乙二醇、聚乙烯和聚丙烯酸酯、氨基酸残基、基于碳水化合物的聚合物或碳水化

合物残基及其衍生物、多核苷酸、烷基基团、芳基基团、杂环基基团、其组合及其取代形式。在一些实施方案中,各个 L^1 、 L^2 、 L^3 、 L^4 、 L^5 和 L^6 (如果存在)包含一个或多个基团,其独立地选自聚乙二醇、修饰聚乙二醇、氨基酸残基、烷基基团、取代烷基、芳基基团、取代芳基基团和二胺(如,包括亚烷基二胺的连接基团)。

[0235] 在一些实施方案中, L^1 (如果存在)包含聚乙二醇、修饰聚乙二醇、氨基酸残基、烷基基团、取代烷基、芳基基团、取代芳基基团或二胺。在一些实施方案中, L^1 包含聚乙二醇。在一些实施方案中, L^1 包含修饰聚乙二醇。在一些实施方案中, L^1 包含氨基酸残基。在一些实施方案中, L^1 包含烷基或取代烷基。在一些实施方案中, L^1 包含芳基基团或取代芳基基团。在一些实施方案中, L^1 包含二胺(如,包含亚烷基二胺的连接基团)。

[0236] 在一些实施方案中, L^2 (如果存在)包含聚乙二醇、修饰聚乙二醇、氨基酸残基、烷基基团、取代烷基、芳基基团、取代芳基基团或二胺。在一些实施方案中, L^2 包含聚乙二醇。在一些实施方案中, L^2 包含修饰聚乙二醇。在一些实施方案中, L^2 包含氨基酸残基。在一些实施方案中, L^2 包含烷基或取代烷基。在一些实施方案中, L^2 包含芳基基团或取代芳基基团。在一些实施方案中, L^2 包含二胺(如,包含亚烷基二胺的连接基团)。

[0237] 在一些实施方案中, L^3 (如果存在)包含聚乙二醇、修饰聚乙二醇、氨基酸残基、烷基基团、取代烷基、芳基基团、取代芳基基团或二胺。在一些实施方案中, L^3 包含聚乙二醇。在一些实施方案中, L^3 包含修饰聚乙二醇。在一些实施方案中, L^3 包含氨基酸残基。在一些实施方案中, L^3 包含烷基或取代烷基。在一些实施方案中, L^3 包含芳基基团或取代芳基基团。在一些实施方案中, L^3 包含二胺(如,包含亚烷基二胺的连接基团)。

[0238] 在一些实施方案中, L^4 (如果存在)包含聚乙二醇、修饰聚乙二醇、氨基酸残基、烷基基团、取代烷基、芳基基团、取代芳基基团或二胺。在一些实施方案中, L^4 包含聚乙二醇。在一些实施方案中, L^4 包含修饰聚乙二醇。在一些实施方案中, L^4 包含氨基酸残基。在一些实施方案中, L^4 包含烷基或取代烷基。在一些实施方案中, L^4 包含芳基基团或取代芳基基团。在一些实施方案中, L^4 包含二胺(如,包含亚烷基二胺的连接基团)。

[0239] 在一些实施方案中, L^5 (如果存在)包含聚乙二醇、修饰聚乙二醇、氨基酸残基、烷基基团、取代烷基、芳基基团、取代芳基基团或二胺。在一些实施方案中, L^5 包含聚乙二醇。在一些实施方案中, L^5 包含修饰聚乙二醇。在一些实施方案中, L^5 包含氨基酸残基。在一些实施方案中, L^5 包含烷基或取代烷基。在一些实施方案中, L^5 包含芳基基团或取代芳基基团。在一些实施方案中, L^5 包含二胺(如,包含亚烷基二胺的连接基团)。

[0240] 在一些实施方案中, L^6 (如果存在)包含聚乙二醇、修饰聚乙二醇、氨基酸残基、烷基基团、取代烷基、芳基基团、取代芳基基团或二胺。在一些实施方案中, L^6 包含聚乙二醇。在一些实施方案中, L^6 包含修饰聚乙二醇。在一些实施方案中, L^6 包含氨基酸残基。在一些实施方案中, L^6 包含烷基或取代烷基。在一些实施方案中, L^6 包含芳基基团或取代芳基基团。在一些实施方案中, L^6 包含二胺(如,包含亚烷基二胺的连接基团)。

[0241] 在一些实施方案中,L为包含 $-(L^1)_a-(L^2)_b-(L^3)_c-(L^4)_d-(L^5)_e-(L^6)_f-$ 的接头,其中:

[0242] $-(L^1)_a-$ 为 $-(T^1-V^1)_a-$;

[0243] $-(L^2)_b-$ 为 $-(T^2-V^2)_b-$;

[0244] $-(L^3)_c-$ 为 $-(T^3-V^3)_c-$;

[0245] $-(L^4)_d-$ 为 $-(T^4-V^4)_d-$;

[0246] $-(L^5)_b-$ 为 $-(T^5-V^5)_b-$; 和

[0247] $-(L^6)_c-$ 为 $-(T^6-V^6)_c-$;

[0248] 其中 T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 和 T^6 , 如果存在, 为系链基团 (tether groups);

[0249] V^1 、 V^2 、 V^3 、 V^4 、 V^5 和 V^6 , 如果存在, 为共价键或连接官能团; 和

[0250] a、b、c、d、e 和 f 各自独立地为 0 或 1, 其中 a、b、c、d、e 和 f 的和为 1 至 6。

[0251] 如上所述, 在某些实施方案中, L^1 连接至胍基-吡啶基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分 (如, 如上述式 (I) 所示)。因此, 在某些实施方案中, T^1 连接至胍基-吡啶基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分 (如, 如上述式 (I) 所示)。在某些实施方案中, V^1 连接至所述药物。在某些实施方案中, L^2 , 如果存在, 则连接至所述药物。因此, 在某些实施方案中, T^2 , 如果存在, 则连接至所述药物, 或 V^2 , 如果存在, 则连接至药物。在某些实施方案中, L^3 , 如果存在, 则连接至所述药物。因此, 在某些实施方案中, T^3 , 如果存在, 则连接至所述药物, 或 V^3 , 如果存在, 则连接至药物。在某些实施方案中, L^4 , 如果存在, 则连接至所述药物。因此, 在某些实施方案中, T^4 , 如果存在, 则连接至所述药物, 或 V^4 , 如果存在, 则连接至药物。在某些实施方案中, L^5 , 如果存在, 则连接至所述药物。因此, 在某些实施方案中, T^5 , 如果存在, 则连接至所述药物, 或 V^5 , 如果存在, 则连接至药物。在某些实施方案中, L^6 , 如果存在, 则连接至所述药物。因此, 在某些实施方案中, T^6 , 如果存在, 则连接至所述药物, 或 V^6 , 如果存在, 则连接至药物。

[0252] 关于系链基团 T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 和 T^6 , 任何适合的系链基团都可用于所述主题接头。在一些实施方案中, T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 和 T^6 各自包含一个或多个独立选自共价键、 (C_1-C_{12}) 烷基, 取代的 (C_1-C_{12}) 烷基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基、 $(EDA)_w$ 、 $(PEG)_n$ 、 $(AA)_p$ 、 $(CR^{13}OH)_m$ 、4-氨基-哌啶 (4AP)、间-氨基-苄氧基 (MABO)、间-氨基-苄氧基羰基 (MABC)、对-氨基-苄氧基 (PABO)、对-氨基-苄氧基羰基 (PABC)、对-氨基苄基 (PAB)、对-氨基-苄氨基 (PABA)、对-氨基-苯基 (PAP)、对-羟基-苯基 (PHP)、缩醛基团、胍、二硫化物和酯, 其中每个 w 为从 1 到 20 的整数, 每个 n 为从 1 到 30 的整数, 每个 p 为从 1 到 20 的整数, 每个 m 为从 1 到 12 的整数。

[0253] 在某些实施方案中, 系链基团 (如, T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 和/或 T^6) 包括 (C_1-C_{12}) 烷基或取代 (C_1-C_{12}) 烷基。在某些实施方案中, (C_1-C_{12}) 烷基为直链或支链烷基基团, 其包括 1 至 12 个碳原子, 例如 1 至 10 个碳原子, 或 1 至 8 个碳原子, 或 1 至 6 个碳原子, 或 1 至 5 个碳原子, 或 1 至 4 个碳原子, 或 1 至 3 个碳原子。在一些情况下, (C_1-C_{12}) 烷基可为烷基或取代烷基, 例如 C_1-C_{12} 烷基, 或 C_1-C_{10} 烷基, 或 C_1-C_6 烷基, 或 C_1-C_3 烷基。在一些情况下, (C_1-C_{12}) 烷基为 C_2 烷基。例如, (C_1-C_{12}) 烷基可为亚烷基或取代亚烷基, 例如 C_1-C_{12} 亚烷基, 或 C_1-C_{10} 亚烷基, 或 C_1-C_6 亚烷基, 或 C_1-C_3 亚烷基。在一些情况下, (C_1-C_{12}) 烷基为 C_2 亚烷基 (如, CH_2CH_2)。

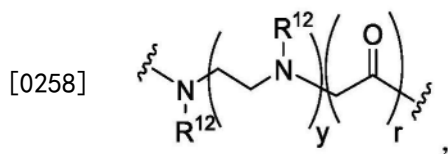
[0254] 在某些实施方案中, 取代 (C_1-C_{12}) 烷基为直链或支链取代烷基基团, 其包括 1 至 12 个碳原子, 例如 1 至 10 个碳原子, 或 1 至 8 个碳原子, 或 1 至 6 个碳原子, 或 1 至 5 个碳原子, 或 1 至 4 个碳原子, 或 1 至 3 个碳原子。在一些情况下, 取代 (C_1-C_{12}) 烷基可为烷基或取代烷基, 例如取代 C_1-C_{12} 烷基, 或取代 C_1-C_{10} 烷基, 或取代 C_1-C_6 烷基, 或取代 C_1-C_3 烷基。在一些情况下, 取代 (C_1-C_{12}) 烷基为取代 C_2 烷基。例如, 取代 (C_1-C_{12}) 烷基可为取代亚烷基, 例如取代 C_1-C_{12} 亚烷基, 或取代 C_1-C_{10} 亚烷基, 或取代 C_1-C_6 亚烷基, 或取代 C_1-C_3 亚烷基。在一些情况下, 取代 (C_1-C_{12}) 烷基为取代 C_2 亚烷基。

[0255] 在某些实施方案中, 系链基团 (如, T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 和/或 T^6) 包括芳基、取代芳基、杂

芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基或取代杂环基。在一些情况下,系链基团(如, T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 和/或 T^6)包括芳基或取代芳基。例如,所述芳基可以为苯基。在某些情况下,所述取代芳基为取代苯基。取代苯基可以被一个或多个取代基取代,该取代基选自(C_1 - C_{12})烷基,取代的(C_1 - C_{12})烷基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。在一些情况下,取代芳基为取代苯基,其中取代基包括本文所述的可裂解部分(如,酶促可裂解部分,例如糖苷或糖苷衍生物)。

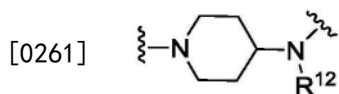
[0256] 在一些情况下,系链基团(如, T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 和/或 T^6)包括杂芳基或取代杂芳基。在一些情况下,系链基团(如, T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 和/或 T^6)包括环烷基或取代环烷基。在一些情况下,系链基团(如, T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 和/或 T^6)包括杂环基或取代杂环基。在一些情况下,取代杂芳基、取代环烷基或取代杂环基上的取代基,包括本文所述的可裂解部分(如,酶促可裂解部分,例如糖苷或糖苷衍生物)。

[0257] 在某些实施方案中,系链基团(如, T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 和/或 T^6)包括乙二胺(EDA)部分,如包含EDA的系链基团。在某些实施方案中,(EDA)_w包含一个或多个EDA部分,例如其中w为从1到50的整数,例如从1到40、从1到30、从1到20、从1到12或从1到6,例如1、2、3、4、5或6)。连接的乙二胺(EDA)部分可任选地在一个或多个适合的位置被任何适合的取代基取代,如,烷基、取代烷基、酰基、取代酰基、芳基或取代芳基。在某些实施方案中,EDA部分由以下结构描述:



[0259] 其中y为从1到6的整数,或为0或1,且每个 R^{12} 独立地选自氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、烷氧基、取代烷氧基、氨基、取代氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。在某些实施方案中,y为1、2、3、4、5或6。在某些实施方案中,y为1,且r为0。在某些实施方案中,y为1,且r为1。在某些实施方案中,y为2,且r为0。在某些实施方案中,y为2,且r为1。在某些实施方案中,每个 R^{12} 独立地选自氢、烷基、取代烷基、芳基和取代芳基。在某些实施方案中,EDA的任意两个相邻的 R^{12} 基团可为环连接的,如,形成哌嗪基环。在某些实施方案中,y为1,且两个相邻的 R^{12} 基团为烷基基团,环状连接以形成哌嗪环。在某些实施方案中,y为1,且相邻的 R^{12} 基团选自氢、烷基(如,甲基)和取代烷基(如,低级烷基-OH,例如乙基-OH或丙基-OH)。

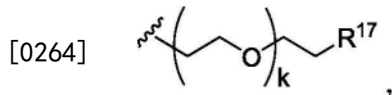
[0260] 在某些实施方案中,系链基团(如, T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 和/或 T^6)包括4-氨基-吡啶(4AP)部分(在本文中也称为吡啶-4-氨基,P4A)。所述4AP部分可任选地在一个或多个适合的位置被任何适合的取代基取代,如,烷基、取代烷基、聚乙二醇部分、酰基、取代酰基、芳基或取代芳基。在某些实施方案中,4AP部分由以下结构描述:



[0262] 其中 R^{12} 选自氢、烷基、取代烷基、聚乙二醇部分(如,聚乙二醇或修饰聚乙二醇)、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、烷氧基、取代烷氧基、氨基、取代氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰

氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基；在某些实施方案中， R^{12} 为聚乙二醇部分。在某些实施方案中， R^{12} 为羧基修饰的聚乙二醇。

[0263] 在某些实施方案中， R^{12} 包括如下式所述的聚乙二醇部分： $(\text{PEG})_k$ ，其可由以下结构表示：



[0265] 其中 k 为从1到20的整数，例如从1到18，或从1到16，或从1到14，或从1到12，或从1到10，或从1到8，或从1到6，或从1到4，或1或2，例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。在某些情况下， k 为2。在某些实施方案中， R^{17} 选自OH、COOH或COOR，其中R选自烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。在某些实施方案中， R^{17} 为COOH。

[0266] 在某些实施方案中，系链基团（如， T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 和/或 T^6 ）包括 $(\text{PEG})_n$ ，其中 $(\text{PEG})_n$ 为聚乙二醇或修饰聚乙二醇连接单元。在某些实施方案中， $(\text{PEG})_n$ 由以下结构描述：



[0268] 其中 n 为从1到50的整数，例如从1到40，或从1到30，或从1到20，或从1到12，或从1到6，例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。在某些情况下， n 为2。在某些情况下， n 为3。在某些情况下， n 为6。在某些情况下， n 为12。

[0269] 在某些实施方案中，系链基团（如， T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 和/或 T^6 ）包括 $(\text{AA})_p$ ，其中AA为氨基酸残基。可以利用任何适合的氨基酸。目的氨基酸包括但不限于L-和D-氨基酸、天然存在的氨基酸例如20种主要 α -氨基酸和 β -丙氨酸中的任何一种、非天然存在的氨基酸（如，氨基酸类似物），例如非天然存在的 α -氨基酸或非天然存在的 β -氨基酸等。在某些实施方案中， p 为从1到50的整数，例如从1到40、从1到30、从1到20、从1到12或从1到6，例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。在某些实施方案中， p 为1。在某些实施方案中， p 为2。

[0270] 在某些实施方案中，系链基团（如， T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 和/或 T^6 ）包括氨基酸类似物。氨基酸类似物包括在结构和/或总体形状上与天然存在的蛋白质中常见的一种或多种氨基酸（如，Ala或A、Cys或C、Asp或D、Glu或E、Phe或F、Gly或G、His或H、Ile或I、Lys或K、Leu或L、Met或M、Asn或N、Pro或P、Gln或Q、Arg或R、Ser或S、Thr或T、Val或V、Trp或W、Tyr或Y）相似的化合物。氨基酸类似物还包括具有修饰的侧链或主链的天然氨基酸。氨基酸类似物还包括与天然存在的D-型以及L-型氨基酸类似物具有相同立体化学的氨基酸类似物。在一些情况下，氨基酸类似物共享（share）一种或多种天然氨基酸的主链结构和/或侧链结构，其差别在于分子中的一个或多个修饰基团。这种修饰可包括，但不限于，用原子（例如N）取代相关原子（例如S）、添加基团（例如甲基或羟基等）或原子（例如Cl或Br等）、删除基团、取代共价键（单键代替双键等）或其组合。例如，氨基酸类似物可包括 α -羟基酸和 α -氨基酸等。氨基酸类似物的实例包括，但不限于，磺基丙氨酸等。

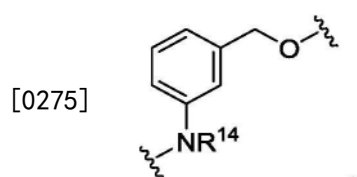
[0271] 在某些实施方案中，系链基团（例如， T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 和/或 T^6 ）包括由式 $-(\text{CR}^{13}\text{OH})_m-$

描述的部分,其中m为0或n为1至50的整数,例如1至40、1至30、1至20、1至12或1至6,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12。在某些实施方案中,m为1。在某些实施方案中,m为2。在某些实施方案中, R^{13} 选自氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、烷氧基、取代烷氧基、氨基、取代氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。在某些实施方案中, R^{13} 为氢。在某些实施方案中, R^{13} 为烷基或取代烷基,例如 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 取代烷基,或 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 取代烷基,或 C_{1-3} 烷基或 C_{1-3} 取代烷基。在某些实施方案中, R^{13} 为烯基或取代烯基,例如 C_{2-6} 烯基或 C_{2-6} 取代烯基,或 C_{2-4} 烯基或 C_{2-4} 取代烯基,或 C_{2-3} 烯基或 C_{2-3} 取代烯基。在某些实施方案中, R^{13} 为炔基或取代炔基。在某些实施方案中, R^{13} 为烷氧基或取代烷氧基。在某些实施方案中, R^{13} 为氨基或取代氨基。在某些实施方案中, R^{13} 为羧基或羧基酯。在某些实施方案中, R^{13} 为酰基或酰氧基。在某些实施方案中, R^{13} 为酰氨基或氨酰基。在某些实施方案中, R^{13} 为烷基酰胺或取代烷基酰胺。在某些实施方案中, R^{13} 为磺酰基。在某些实施方案中, R^{13} 为硫代烷氧基或取代硫代烷氧基。在某些实施方案中, R^{13} 为芳基或取代芳基,例如 C_{5-8} 芳基或 C_{5-8} 取代芳基,例如 C_5 芳基或 C_5 取代芳基,或 C_6 芳基或 C_6 取代芳基。在某些实施方案中, R^{13} 为杂芳基或取代杂芳基,例如 C_{5-8} 杂芳基或 C_{5-8} 取代杂芳基,例如 C_5 杂芳基或 C_5 取代杂芳基,或 C_6 杂芳基或 C_6 取代杂芳基。在某些实施方案中, R^{13} 为环烷基或取代环烷基,例如 C_{3-8} 环烷基或 C_{3-8} 取代环烷基,例如 C_{3-6} 环烷基或 C_{3-6} 取代环烷基,或 C_{3-5} 环烷基或 C_{3-5} 取代环烷基。在某些实施方案中, R^{13} 为杂环基或取代杂环基,例如 C_{3-8} 杂环基或 C_{3-8} 取代杂环基,例如 C_{3-6} 杂环基或 C_{3-6} 取代杂环基,或 C_{3-5} 杂环基或 C_{3-5} 取代杂环基。

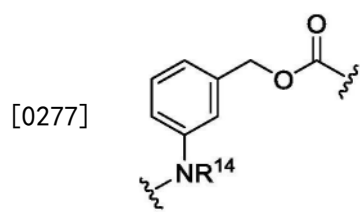
[0272] 在某些实施方案中,每个 R^{13} 独立地选自氢、烷基、取代烷基、芳基和取代芳基。在这些实施方案中,烷基、取代烷基、芳基和取代芳基如上文针对 R^{13} 所描述的。

[0273] 在某些实施方案中,系链基团(如, T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 和/或 T^6)包括间-氨基-苄氧基(MABO)、间-氨基-苄氧羰基(MABC)、对-氨基-苄氧基(PABO)、对-氨基-苄氧羰基(PABC)、对-氨基苄基(PAB)、对-氨基-苄氨基(PABA)、对-氨基-苯基(PAP)或对-羟基-苯基(PHP)。

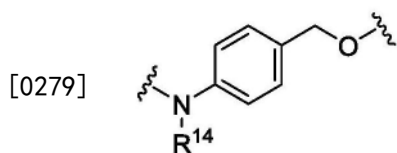
[0274] 在一些实施方案中,系链基团包括由以下结构描述的MABO基团:



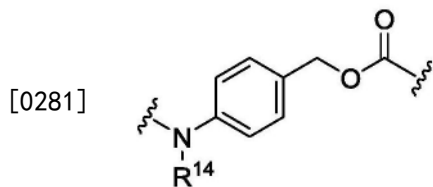
[0276] 在一些实施方案中,系链基团包括由以下结构描述的MABC基团:



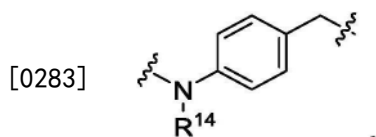
[0278] 在一些实施方案中,系链基团包括由以下结构描述的PABO基团:



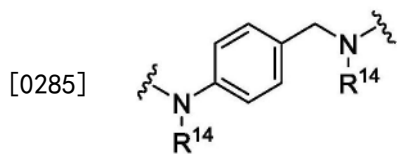
[0280] 在一些实施方案中,系链基团包括由以下结构描述的PABC基团:



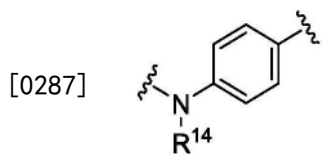
[0282] 在一些实施方案中,系链基团包括由以下结构描述的PAB基团:



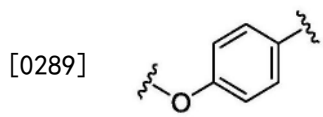
[0284] 在一些实施方案中,系链基团包括由以下结构描述的PABA基团:



[0286] 在一些实施方案中,系链基团包括由以下结构描述的PAP基团:



[0288] 在一些实施方案中,系链基团包括由以下结构描述的PHP基团:



[0290] 在某些实施方案中,每个 R^{14} 独立地选自氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、烷氧基、取代烷氧基、氨基、取代氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。

[0291] 在某些实施方案中, R^{14} 为氢。在某些实施方案中,每个 R^{14} 为氢。在某些实施方案中, R^{14} 为烷基或取代烷基,例如 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 取代烷基,或 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 取代烷基,或 C_{1-3} 烷基或 C_{1-3} 取代烷基。在某些实施方案中, R^{14} 为烯基或取代烯基,例如 C_{2-6} 烯基或 C_{2-6} 取代烯基,或 C_{2-4} 烯基或 C_{2-4} 取代烯基,或 C_{2-3} 烯基或 C_{2-3} 取代烯基。在某些实施方案中, R^{14} 为炔基或取代炔基。在某些实施方案中, R^{14} 为烷氧基或取代烷氧基。在某些实施方案中, R^{14} 为氨基或取代氨基。在某些实施方案中, R^{14} 为羧基或羧基酯。在某些实施方案中, R^{14} 为酰基或酰氧基。在某些实施方案中, R^{14} 为酰氨基或氨酰基。在某些实施方案中, R^{14} 为烷基酰胺或取代烷基酰胺。在某些实施方案中, R^{14} 为磺酰基。在某些实施方案中, R^{14} 为硫代烷氧基或取代硫代烷氧基。

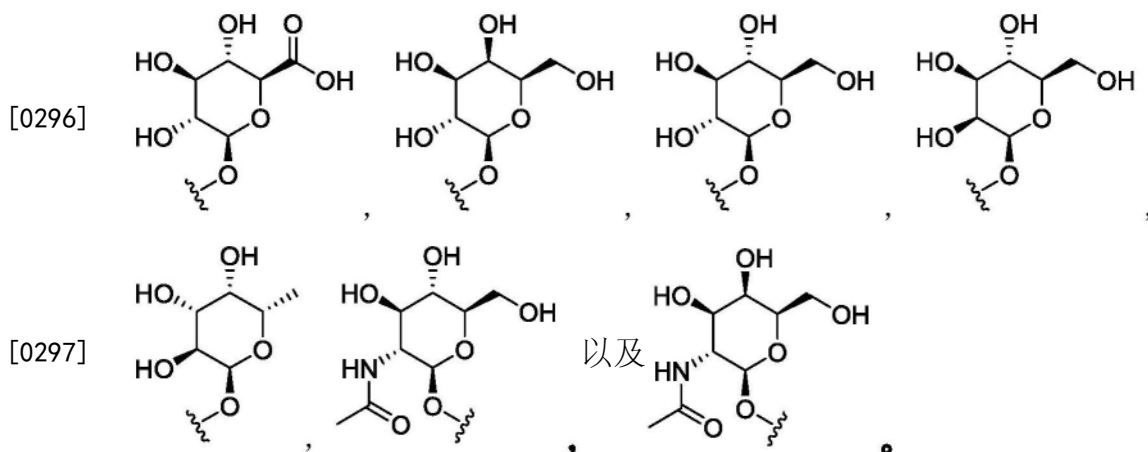
基。在某些实施方案中, R^{14} 为芳基或取代芳基, 例如 C_{5-8} 芳基或 C_{5-8} 取代芳基, 例如 C_5 芳基或 C_5 取代芳基, 或 C_6 芳基或 C_6 取代芳基。在某些实施方案中, R^{14} 为杂芳基或取代杂芳基, 例如 C_{5-8} 杂芳基或 C_{5-8} 取代杂芳基, 例如 C_5 杂芳基或 C_5 取代杂芳基, 或 C_6 杂芳基或 C_6 取代杂芳基。在某些实施方案中, R^{14} 为环烷基或取代环烷基, 例如 C_{3-8} 环烷基或 C_{3-8} 取代环烷基, 例如 C_{3-6} 环烷基或 C_{3-6} 取代环烷基, 或 C_{3-5} 环烷基或 C_{3-5} 取代环烷基。在某些实施方案中, R^{14} 为杂环基或取代杂环基, 例如 C_{3-8} 杂环基或 C_{3-8} 取代杂环基, 例如 C_{3-6} 杂环基或 C_{3-6} 取代杂环基, 或 C_{3-5} 杂环基或 C_{3-5} 取代杂环基。

[0292] 在一些上述 MABO、MABC、PABO、PABC、PAB、PABA、PAP 和 PHP 系链结构的实施方案中, 所述苯环可被一个或多个选自以下的额外的基团取代: 卤素、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、烷氧基、取代烷氧基、氨基、取代氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。

[0293] 在接头 L 的某些实施方案中, 系链基团 T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 或 T^6 的一个或多个任选地被糖苷或糖苷衍生物取代。在某些实施方案中, 所述糖苷或糖苷衍生物选自葡萄糖苷酸、半乳糖苷、葡萄糖苷、甘露糖苷、岩藻糖苷、O-GlcNAc 和 O-GalNAc。

[0294] 在某些实施方案中, 上述的 MABO、MABC、PABO、PABC、PAB、PABA、PAP 和 PHP 系链结构可被选自糖苷和糖苷衍生物的一个或多个额外的基团取代。例如, 在上述的 MABO、MABC、PABO、PABC、PAB、PABA、PAP 和 PHP 系链结构的一些实施方案中, 苯环可被选自糖苷和糖苷衍生物的一个或多个额外的基团取代。在某些实施方案中, 所述糖苷或糖苷衍生物选自葡萄糖苷酸、半乳糖苷、葡萄糖苷、甘露糖苷、岩藻糖苷、O-GlcNAc 和 O-GalNAc。

[0295] 例如, 在一些实施方案中, 糖苷或糖苷衍生物可选自以下结构:



[0298] 关于连接官能团, V^1 、 V^2 、 V^3 、 V^4 、 V^5 和 V^6 , 在接头 L 中可使用任何适合的连接官能团。目的连接官能团包括但不限于氨基 (amino)、羰基、氨基 (amido)、氧羰基、羧基、磺酰基、亚砷、磺酰氨基、氨基磺酰基、硫代、氧基、二氧磷基 (phospho)、氨基磷酸酯、硫代氨基磷酸酯等。在一些实施方案中, V^1 、 V^2 、 V^3 、 V^4 、 V^5 和 V^6 各自独立地选自共价键、 $-CO-$ 、 $-NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}(CH_2)_q-$ 、 $-NR^{15}(C_6H_4)-$ 、 $-CONR^{15}-$ 、 $-NR^{15}CO-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-SO_2NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}SO_2-$ 和 $-P(O)OH-$, 其中 q 为从 1 到 6 的整数。在某些实施方案中, q 为 1 到 6 的整数 (如, 1、2、3、4、5 或 6)。在某些实施方案中, q 为 1。在某些实施方案中, q 为 2。在某些实施方案中, q 为 3。在某些实施方案中, q 为 4。在某些实施方案中, q 为 5。在某些实施方案中, q 为 6。

[0299] 在一些实施方案中,每个 R^{15} 独立地选自氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、烷氧基、取代烷氧基、氨基、取代氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。

[0300] 在某些实施方案中, R^{15} 为氢。在某些实施方案中,每个 R^{15} 为氢。在某些实施方案中, R^{15} 为烷基或取代烷基,例如 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 取代烷基,或 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 取代烷基,或 C_{1-3} 烷基或 C_{1-3} 取代烷基。在某些实施方案中, R^{15} 为烯基或取代烯基,例如 C_{2-6} 烯基或 C_{2-6} 取代烯基,或 C_{2-4} 烯基或 C_{2-4} 取代烯基,或 C_{2-3} 烯基或 C_{2-3} 取代烯基。在某些实施方案中, R^{15} 为炔基或取代炔基。在某些实施方案中, R^{15} 为烷氧基或取代烷氧基。在某些实施方案中, R^{15} 为氨基或取代氨基。在某些实施方案中, R^{15} 为羧基或羧基酯。在某些实施方案中, R^{15} 为酰基或酰氧基。在某些实施方案中, R^{15} 为酰氨基或氨酰基。在某些实施方案中, R^{15} 为烷基酰胺或取代烷基酰胺。在某些实施方案中, R^{15} 为磺酰基。在某些实施方案中, R^{15} 为硫代烷氧基或取代硫代烷氧基。在某些实施方案中, R^{15} 为芳基或取代芳基,例如 C_{5-8} 芳基或 C_{5-8} 取代芳基,例如 C_5 芳基或 C_5 取代芳基,或 C_6 芳基或 C_6 取代芳基。在某些实施方案中, R^{15} 为杂芳基或取代杂芳基,例如 C_{5-8} 杂芳基或 C_{5-8} 取代杂芳基,例如 C_5 杂芳基或 C_5 取代杂芳基,或 C_6 杂芳基或 C_6 取代杂芳基。在某些实施方案中, R^{15} 为环烷基或取代环烷基,例如 C_{3-8} 环烷基或 C_{3-8} 取代环烷基,例如 C_{3-6} 环烷基或 C_{3-6} 取代环烷基,或 C_{3-5} 环烷基或 C_{3-5} 取代环烷基。在某些实施方案中, R^{15} 为杂环基或取代杂环基,例如 C_{3-8} 杂环基或 C_{3-8} 取代杂环基,例如 C_{3-6} 杂环基或 C_{3-6} 取代杂环基,或 C_{3-5} 杂环基或 C_{3-5} 取代杂环基。

[0301] 在某些实施方案中,各个 R^{15} 独立地选自氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、羧基、羧基酯、酰基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。在这些实施方案中,烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、羧基、羧基酯、酰基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基为如上对于 R^{15} 所描述的。

[0302] 在某些实施方案中,系链基团包括缩醛基团、二硫化物、肼或酯。在一些实施方案中,系链基团包括缩醛基团。在一些实施方案中,系链基团包括肼。在一些实施方案中,系链基团包括二硫化物。在一些实施方案中,系链基团包括酯。

[0303] 如上所述,在一些实施方案中,L为包含 $-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-(T^4-V^4)_d-(T^5-V^5)_e-(T^6-V^6)_f$ 的接头,其中a、b、c、d、e和f各自独立地为0或1,其中a、b、c、d、e和f之和为1至6。

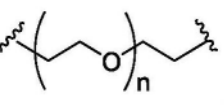
[0304] 在一些实施方案中,在接头L中:

[0305] T^1 选自 (C_1-C_{12}) 烷基和取代 (C_1-C_{12}) 烷基;

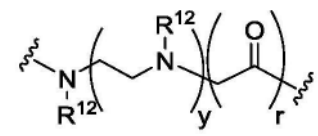
[0306] T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 和 T^6 各自独立地选自 (C_1-C_{12}) 烷基、 (C_1-C_{12}) 取代烷基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基、(EDA) w 、(PEG) n 、(AA) p -(CR13OH) m 、4-氨基哌啶(4AP)、MABO、MABC、PABO、PABC、PAB、PABA、PAP、PHP、缩醛基团、二硫化物、肼和酯;和

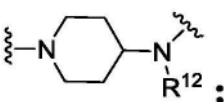
[0307] V^1 、 V^2 、 V^3 、 V^4 、 V^5 和 V^6 各自独立地选自共价键、 $-CO-$ 、 $-NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}(CH_2)_q-$ 、 $-NR^{15}(C_6H_4)-$ 、 $-CONR^{15}-$ 、 $-NR^{15}CO-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-SO_2NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}SO_2-$ 和 $-P(O)OH-$,其中q为从1到6的整数;

[0308] 其中:

[0309] (PEG)_n为  其中n为1到30之间的整数;

[0310] EDA为具有以下结构的乙二胺部分:

[0311]  其中y为从1到6的整数,r为0或1;

[0312] 4-氨基哌啶 (4AP) 为  ;

[0313] AA为氨基酸残基,其中p为1到20的整数;和

[0314] 每个R¹²独立地选自氢、烷基、取代烷基、聚乙二醇部分、芳基和取代芳基,其中任意两个相邻的R¹²基团可以环状连接形成哌嗪基环;

[0315] 每个R¹³独立地选自氢、烷基、取代烷基、芳基和取代芳基;和

[0316] 每个R¹⁵独立地选自氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、羧基、羧基酯、酰基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。

[0317] 在某些实施方案中,T¹、T²、T³、T⁴、T⁵和T⁶,以及V¹、V²、V³、V⁴、V⁵和V⁶选自以下:

[0318] 其中:

[0319] T¹为(C₁-C₁₂)烷基,且V¹为-CO-;

[0320] T²为氨基酸类似物且V²为-NH-;

[0321] T³为(PEG)_n且V³为-CO-;

[0322] T⁴为AA且V⁴不存在;

[0323] T⁵为PABC且V⁵不存在;和

[0324] f为0;或

[0325] 其中:

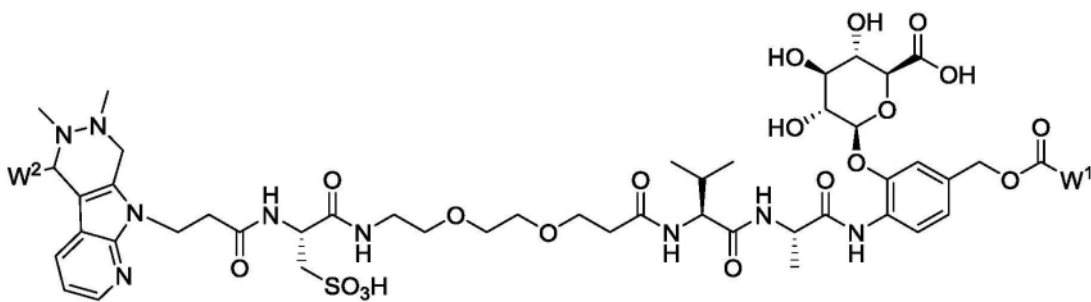
[0326] T¹为(C₁-C₁₂)烷基,且V¹为-CO-;

[0327] T²为4AP且V²为-CO-;

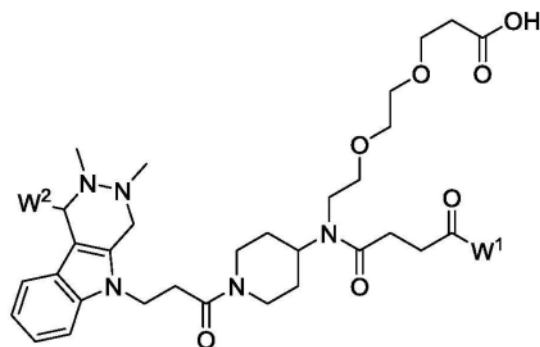
[0328] T³为(C₁-C₁₂)烷基,且V³为-CO-;

[0329] d、e和f各为0。

[0330] 例如,在某些实施方案中,式(I)的缀合物具有选自以下的结构:



[0331]



[0332] 在某些实施方案中,接头结构的左侧连接到胍基-吡啶基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分,并且接头结构的右侧连接至药物 W^1 ,例如如上所示。

[0333] 在某些实施方案中,缀合物为抗体-药物缀合物,其中抗体和药物通过接头(如,L)连接在一起,如上所述。在一些情况下,接头为可裂解接头。可裂解接头为包括一个或多个可裂解部分的接头,其中可裂解部分包括一个或多个在某些条件下可以解离,因此将可裂解接头分为两个或更多个可分离部分的键。例如,可裂解部分可包括一个或多个共价键,其在某些条件下,该共价键可以解离或断裂,以将可裂解接头分离成两个或更多个部分。这样,可裂解接头可以包含在抗体-药物缀合物中,使得在适当的条件下,可裂解接头被裂解,以在期望的药物作用靶点将药物从抗体中分离或释放。

[0334] 在一些情况下,可裂解接头包括两个可裂解部分,例如第一可裂解部分和第二可裂解部分。可裂解部分可以被配置为使得两个可裂解部分都需要裂解,以为了在期望的药物作用靶点将药物从抗体中分离或释放出来。例如,可裂解接头的裂解可以通过首先裂解两个可裂解部分中的一个,然后裂解两个可裂解部分中的另一个来实现。在某些实施方案中,可裂解接头包括第一可裂解部分和阻碍第一可裂解部分裂解的第二可裂解部分。“阻碍裂解(hinders cleavage)”是指未裂解的第二可裂解部分的存在降低了第一可裂解部分裂解的可能性或基本上抑制了第一可裂解部分的裂解,因此基本上减少了可裂解接头的数量或防止了其裂解。例如,未裂解的第二可裂解部分的存在可以阻碍第一可裂解部分的裂解。第二可裂解部分的存在阻碍了第一可裂解部分的裂解,从而基本上减少了药物从抗体中释放的量或阻止了药物的释放。例如,可以显著减少或防止药物从抗体中的过早释放,直到抗体-药物缀合物处于或接近期望的药物作用靶点。

[0335] 在一些情况下,由于第二可裂解部分阻碍了第一可裂解部分的裂解,可裂解接头的裂解可以通过首先裂解第二可裂解部分,然后裂解第一可裂解部分来实现。第二可裂解部分的裂解可以减少或消除对第一可裂解部分的裂解的阻碍,从而允许第一可裂解部分被裂解。如上所述,第一可裂解部分的裂解可导致可裂解接头解离或分离成两个或更多个部分,以从抗体-药物缀合物中释放药物。在一些情况下,在存在未裂解的第二可裂解部分的

情况下,第一可裂解部分的裂解基本上不发生。基本上是指在未裂解的第二可裂解部分存在的情况下,第一可裂解部分裂解约10%或更少,例如在未裂解的第二可裂解部分存在的情况下,第一可裂解部分裂解约9%或更少,或约8%或更少,或约7%或更少,或约6%或更少,或约5%或更少,或约4%或更少,或约3%或更少,或约2%或更少,或约1%或更少,或约0.5%或更少,或约0.1%或更少。

[0336] 换句话说,第二可裂解部分可以保护第一可裂解部分不被裂解。例如,未裂解的第二可裂解部分的存在可以保护第一可裂解部分不被裂解,从而大大减少或防止药物从抗体中过早释放,直到抗体-药物缀合物处于或接近期望的药物作用靶点。因此,第二可裂解部分的裂解暴露了第一可裂解部分(例如,去保护第一可裂解部分),从而允许第一可裂解部分被裂解,这导致可裂解接头的裂解,这又在如上所述的期望的药物作用靶点处将药物与抗体分离或释放。在某些情况下,第二可裂解部分的裂解使第一可裂解部分暴露于随后的裂解,但是第二可裂解部分的裂解本身并不导致可裂解接头的裂解(如,为了裂解可裂解接头,仍然需要第一可裂解部分的裂解)。

[0337] 每个包含在可裂解接头中的可裂解部分可为酶促可裂解部分。例如,第一可裂解部分可以为第一酶促可裂解部分,第二可裂解部分可以为第二酶促可裂解部分。酶促可裂解部分为如上所述通过酶的酶促作用可以分离成两个或更多个部分的可裂解部分。酶促可裂解部分可以为任何可通过酶的酶促作用裂解的可裂解部分,例如但不限于肽、糖苷等。在一些情况下,裂解酶促可裂解部分的酶存在于期望的作用靶点,例如从抗体-药物缀合物中释放的期望的药物作用靶点。在某些情况下,裂解酶促可裂解部分的酶在其他区域,例如全血、血浆或血清中并不大量存在。因此,可以控制酶促可裂解部分的裂解,使得在期望作用位点发生大量的裂解,而在其他区域或在抗体-药物缀合物到达期望作用位点之前,裂解不会显著发生。

[0338] 例如,如本文所述,本公开内容的抗体-药物缀合物可用于治疗癌症,例如用于将癌症治疗药物递送至存在癌细胞的期望作用位点。在一些情况下,酶,例如蛋白酶组织蛋白酶B,可以为癌细胞中过度表达的癌症的生物标志物。某些酶在癌症中的过表达和因此的定位可在包含于本公开内容的抗体-药物缀合物的可裂解接头的酶促可裂解部分的背景下使用,以在期望作用位点(如,癌症(和过表达的酶)的位点)特异性释放药物。因此,在一些实施方案中,酶促可裂解部分为可被癌细胞中过表达的由酶裂解的可裂解部分(例如,肽)。例如,该酶可以为蛋白酶组织蛋白酶B。因此,在一些情况下,酶促可裂解部分为可被蛋白酶如组织蛋白酶B裂解的可裂解部分(如肽)。

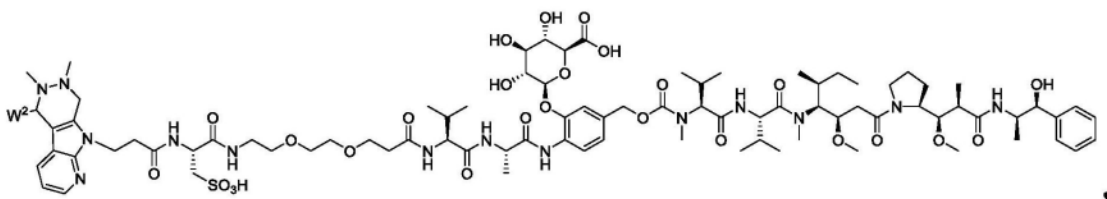
[0339] 在某些实施方案中,酶促可裂解部分为肽。所述肽可以为适用于可裂解接头的任何肽,且其可以通过酶的酶促作用被裂解。可用作酶可裂解部分的肽的非限制性实例,包括,例如,缬氨酸-丙氨酸(Val-Ala)、苯丙氨酸-赖氨酸(Phe-Lys)等。例如,上述第一可裂解部分(如,被第二可裂解部分防止过早裂解的可裂解部分)可以包括肽。未裂解的第二可裂解部分的存在可以保护第一可裂解部分(肽)不被蛋白酶(如,组织蛋白酶B)裂解,从而大量减少或防止药物从抗体过早释放,直到抗体-药物缀合物处于或接近期望的药物作用靶点。在一些情况下,包含第一可裂解部分的肽的氨基酸残基之一与取代基相连或包含取代基,其中所述取代基包含第二可裂解部分。在一些情况下,第二可裂解部分包括糖苷。

[0340] 在一些实施方案中,酶促可裂解部分为糖部分,例如糖苷(或糖基(glyosyl))。在

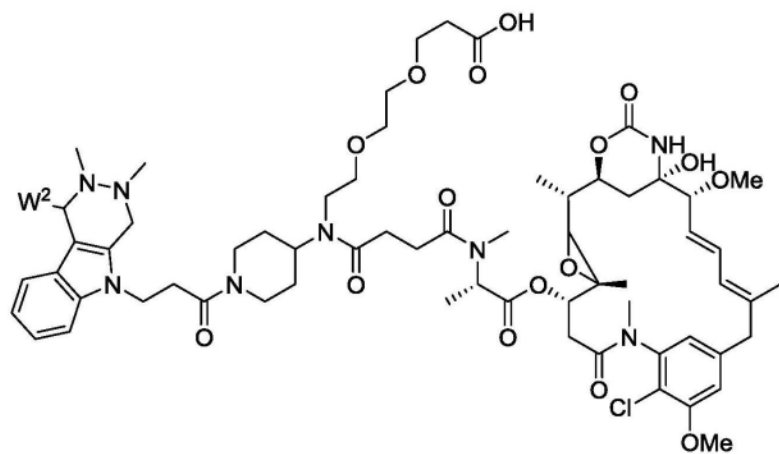
一些情况下,与不包括糖苷的可裂解接头相比,糖苷可以促进可裂解接头亲水性的增加。糖苷可以为适用于可裂解接头的任何糖苷或糖苷衍生物,且其可以通过酶的酶促作用裂解。例如,第二可裂解部分(如,保护第一可裂解部分免于过早裂解的可裂解部分)可以为糖苷。例如,在一些实施方案中,第一可裂解部分包括肽,第二可裂解部分包括糖苷。在某些实施方案中,第二可裂解部分为糖苷或糖苷衍生物,其选自葡萄糖苷酸、半乳糖苷、葡萄糖苷、甘露糖苷、岩藻糖苷、0-GlcNAc和0-GalNAc。在一些情况下,第二可裂解部分为葡萄糖苷酸。在一些情况下,第二可裂解部分为半乳糖苷。在一些情况下,第二可裂解部分为葡萄糖苷。在一些情况下,第二可裂解部分为甘露糖苷。在一些情况下,第二可裂解部分为岩藻糖苷。在一些情况下,第二可裂解部分为0-GlcNAc。在一些情况下,第二可裂解部分为0-GalNAc。

[0341] 糖苷可以通过糖苷键连接(如,共价键)至可裂解接头。糖苷键可以通过各种类型的键将糖苷连接至可裂解接头上,例如但不限于O-糖苷键(O-糖苷)、N-糖苷键(糖基胺)、S-糖苷键(硫苷)或C-糖苷键(C-糖苷或C-糖基)。在一些情况下,糖苷键为O-糖苷键(O-糖苷)。在一些情况下,所述糖苷可以通过酶从其连接的可裂解接头裂解(如,通过酶介导的糖苷键的水解)。糖苷可以通过任何适合的酶从可裂解接头上去除或裂解,该酶能够进行将糖苷连接到可裂解接头上的糖苷键的裂解(水解)。可用于介导将糖苷连接到可裂解接头的糖苷键的裂解(水解)的酶的实例为葡萄糖苷酸酶、糖苷酶,例如半乳糖苷酶、葡萄糖苷酶、甘露糖苷酶、岩藻糖苷酶等。其他合适的酶也可用于介导将糖苷连接至可裂解接头的糖苷键的裂解(水解)。在一些情况下,发现用于介导将糖苷连接到可裂解接头的糖苷键的裂解(水解)的酶位于或接近抗体-药物缀合物的期望的药物作用位点。例如,该酶可以为溶酶体酶,如溶酶体糖苷酶,存在于抗体-药物缀合物中的期望的药物作用位点处或附近的细胞中。在某些情况下,该酶为存在于靶点或其附近的酶,在该靶点存在介导第一可裂解部分裂解的酶。

[0342] 在某些实施方案中,式(I)的缀合物具有选自以下的结构:



[0343]

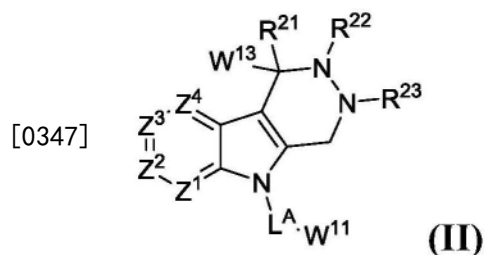


[0344] 上述描述和结构中阐述的任何化学实体、药物、接头和偶联部分都可以适用于主题缀合物。

[0345] 与胍基-吡啶基和胍基-吡咯并-吡啶基化合物以及生产缀合物的方法相关的附加

公开可见于美国专利号9,310,374和美国专利号9,493,413,其中每一项的公开内容通过引用并入本文。在2021年6月24日提交的美国临时申请号63/214,525中存在与可裂解接头相关的额外公开内容,其公开内容通过引用并入本文。

[0346] 本公开内容的各方面包括式(II)的缀合物:



[0348] 其中:

[0349] Z^1 、 Z^2 、 Z^3 和 Z^4 各自独立地选自 CR^{24} 、N和 $C-L^B-W^{12}$,其中, Z^1 、 Z^2 、 Z^3 和 Z^4 至少一个为 $C-L^B-W^{12}$;

[0350] R^{21} 选自氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基;

[0351] R^{22} 和 R^{23} 各自独立地选自氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、烷氧基、取代烷氧基、氨基、取代氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基,或 R^{22} 和 R^{23} 任选地环状连接以形成5或6元杂环基;

[0352] 每个 R^{24} 独立地选自氢、卤素、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、烷氧基、取代烷氧基、氨基、取代氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基;

[0353] L^A 为第一接头;

[0354] L^B 为第二接头;

[0355] W^{11} 为第一药物;

[0356] W^{12} 为第二药物;和

[0357] W^{13} 为多肽。

[0358] 下面更详细地描述与式(II)的缀合物相关的取代基。

[0359] 在某些实施方案中, Z^1 、 Z^2 、 Z^3 和 Z^4 各自独立地选自 CR^{24} 、N和 $C-L^B-W^{12}$,其中, Z^1 、 Z^2 、 Z^3 和 Z^4 至少一个为 $C-L^B-W^{12}$;在某些实施方案中, Z^1 为 CR^{24} 。在某些实施方案中, Z^1 为N。在某些实施方案中, Z^1 为 $C-L^B-W^{12}$ 。在某些实施方案中, Z^2 为 CR^{24} 。在某些实施方案中, Z^2 为N。在某些实施方案中, Z^2 为 $C-L^B-W^{12}$ 。在某些实施方案中, Z^3 为 CR^{24} 。在某些实施方案中, Z^3 为N。在某些实施方案中, Z^3 为 $C-L^B-W^{12}$ 。在某些实施方案中, Z^4 为 CR^{24} 。在某些实施方案中, Z^4 为N。在某些实施方案中, Z^4 为 $C-L^B-W^{12}$ 。

[0360] 各种 Z^1 、 Z^2 、 Z^3 和 Z^4 的组合为可能的。例如,在某些情况下, Z^1 为 $C-L^B-W^{12}$ 、 Z^2 为 CR^{24} 、 Z^3 为 CR^{24} 和 Z^4 为 CR^{24} 。在某些情况下, Z^1 为 CR^{24} 、 Z^2 为 $C-L^B-W^{12}$ 、 Z^3 为 CR^{24} 和 Z^4 为 CR^{24} 。在某些情况下, Z^1 为 CR^{24} 、 Z^2 为 CR^{24} 、 Z^3 为 $C-L^B-W^{12}$ 和 Z^4 为 CR^{24} 。在某些情况下, Z^1 为 CR^{24} 、 Z^2 为 CR^{24} 、 Z^3 为 CR^{24}

和Z⁴为C-L^B-W¹²。

[0361] 在某些实施方案中,R²¹选自氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基、取代杂环基。在某些实施方案中,R²¹为氢。在某些实施方案中,R²¹为烷基或取代烷基,例如C₁₋₆烷基或C₁₋₆取代烷基,或C₁₋₄烷基或C₁₋₄取代烷基,或C₁₋₃烷基或C₁₋₃取代烷基。在某些实施方案中,R²¹为烯基或取代烯基,例如C₂₋₆烯基或C₂₋₆取代烯基,或C₂₋₄烯基或C₂₋₄取代烯基,或C₂₋₃烯基或C₂₋₃取代烯基。在某些实施方案中,R²¹为炔基或取代炔基,例如C₂₋₆炔基或C₂₋₆取代炔基,或C₂₋₄炔基或C₂₋₄取代炔基,或C₂₋₃炔基或C₂₋₃取代炔基。在某些实施方案中,R²¹为芳基或取代芳基,例如C₅₋₈芳基或C₅₋₈取代芳基,例如C₅芳基或C₅取代芳基,或C₆芳基或C₆取代芳基。在某些实施方案中,R²¹为杂芳基或取代杂芳基,例如C₅₋₈杂芳基或C₅₋₈取代杂芳基,例如C₅杂芳基或C₅取代杂芳基,或C₆杂芳基或C₆取代杂芳基。在某些实施方案中,R²¹为环烷基或取代环烷基,例如C₃₋₈环烷基或C₃₋₈取代环烷基,例如C₃₋₆环烷基或C₃₋₆取代环烷基,或C₃₋₅环烷基或C₃₋₅取代环烷基。在某些实施方案中,R²¹为杂环基或取代杂环基,例如C₃₋₈杂环基或C₃₋₈取代杂环基,例如C₃₋₆杂环基或C₃₋₆取代杂环基,或C₃₋₅杂环基或C₃₋₅取代杂环基。

[0362] 在某些实施方案中,R²²和R²³各自独立地选自氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、烷氧基、取代烷氧基、氨基、取代氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基,或R²²和R²³任选地环状连接以形成5或6元杂环基。

[0363] 在某些实施方案中,R²²选自氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、烷氧基、取代烷氧基、氨基、取代氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、取代芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。在某些实施方案中,R²²为氢。在某些实施方案中,R²²为烷基或取代烷基,例如C₁₋₆烷基或C₁₋₆取代烷基,或C₁₋₄烷基或C₁₋₄取代烷基,或C₁₋₃烷基或C₁₋₃取代烷基。在某些实施方案中,R²²为甲基。在某些实施方案中,R²²为烯基或取代烯基,例如C₂₋₆烯基或C₂₋₆取代烯基,或C₂₋₄烯基或C₂₋₄取代烯基,或C₂₋₃烯基或C₂₋₃取代烯基。在某些实施方案中,R²²为炔基或取代炔基。在某些实施方案中,R²²为烷氧基或取代烷氧基。在某些实施方案中,R²²为氨基或取代氨基。在某些实施方案中,R²²为羧基或羧基酯。在某些实施方案中,R²²为酰基或酰氧基。在某些实施方案中,R²²为酰氨基或氨酰基。在某些实施方案中,R²²为烷基酰胺或取代烷基酰胺。在某些实施方案中,R²²为磺酰基。在某些实施方案中,R²²为硫代烷氧基或取代硫代烷氧基。在某些实施方案中,R²²为芳基或取代芳基,例如C₅₋₈芳基或C₅₋₈取代芳基,例如C₅芳基或C₅取代芳基,或C₆芳基或C₆取代芳基。在某些实施方案中,R²²为杂芳基或取代杂芳基,例如C₅₋₈杂芳基或C₅₋₈取代杂芳基,例如C₅杂芳基或C₅取代杂芳基,或C₆杂芳基或C₆取代杂芳基。在某些实施方案中,R²²为环烷基或取代环烷基,例如C₃₋₈环烷基或C₃₋₈取代环烷基,例如C₃₋₆环烷基或C₃₋₆取代环烷基,或C₃₋₅环烷基或C₃₋₅取代环烷基。在某些实施方案中,R²²为杂环基或取代杂环基,例如C₃₋₈杂环基或C₃₋₈取代杂环基,或C₃₋₆杂环基或C₃₋₆取代杂环基,或C₃₋₅杂环基或C₃₋₅取代杂环基。

[0364] 在某些实施方案中,R²³选自氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、烷氧基、取代烷氧基、氨基、取代氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺

胺、取代烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。在某些实施方案中， R^{23} 为氢。在某些实施方案中， R^{23} 为烷基或取代烷基，例如 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 取代烷基，或 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 取代烷基，或 C_{1-3} 烷基或 C_{1-3} 取代烷基。在某些实施方案中， R^{23} 为甲基。在某些实施方案中， R^{23} 为烯基或取代烯基，例如 C_{2-6} 烯基或 C_{2-6} 取代烯基，或 C_{2-4} 烯基或 C_{2-4} 取代烯基，或 C_{2-3} 烯基或 C_{2-3} 取代烯基。在某些实施方案中， R^{23} 为炔基或取代炔基。在某些实施方案中， R^{23} 为烷氧基或取代烷氧基。在某些实施方案中， R^{23} 为氨基或取代氨基。在某些实施方案中， R^{23} 为羧基或羧基酯。在某些实施方案中， R^{23} 为酰基或酰氧基。在某些实施方案中， R^{23} 为酰氨基或氨酰基。在某些实施方案中， R^{23} 为烷基酰胺或取代烷基酰胺。在某些实施方案中， R^{23} 为磺酰基。在某些实施方案中， R^{23} 为硫代烷氧基或取代硫代烷氧基。在某些实施方案中， R^{23} 为芳基或取代芳基，例如 C_{5-8} 芳基或 C_{5-8} 取代芳基，例如 C_5 芳基或 C_5 取代芳基，或 C_6 芳基或 C_6 取代芳基。在某些实施方案中， R^{23} 为杂芳基或取代杂芳基，例如 C_{5-8} 杂芳基或 C_{5-8} 取代杂芳基，例如 C_5 杂芳基或 C_5 取代杂芳基，或 C_6 杂芳基或 C_6 取代杂芳基。在某些实施方案中， R^{23} 为环烷基或取代环烷基，例如 C_{3-8} 环烷基或 C_{3-8} 取代环烷基，例如 C_{3-6} 环烷基或 C_{3-6} 取代环烷基，或 C_{3-5} 环烷基或 C_{3-5} 取代环烷基。在某些实施方案中， R^{23} 为杂环基或取代杂环基，例如 C_{3-8} 杂环基或 C_{3-8} 取代杂环基，例如 C_{3-6} 杂环基或 C_{3-6} 取代杂环基，或 C_{3-5} 杂环基或 C_{3-5} 取代杂环基。

[0365] 在某些实施方案中， R^{22} 和 R^{23} 均为甲基。

[0366] 在某些实施方案中， R^{22} 和 R^{23} 任选地环状连接以形成5或6元杂环基。在某些实施方案中， R^{22} 和 R^{23} 环状连接以形成5或6元杂环基。在某些实施方案中， R^{22} 和 R^{23} 环状连接以形成5元杂环基。在某些实施方案中， R^{22} 和 R^{23} 环状连接以形成6元杂环基。

[0367] 在某些实施方案中，每个 R^{24} 独立地选自氢、卤素、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、烷氧基、取代烷氧基、氨基、取代氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。

[0368] 每个 R^{24} 的各种可能如下更详细地描述。在某些实施方案中， R^{24} 为氢。在某些实施方案中，每个 R^{24} 为氢。在某些实施方案中， R^{24} 为卤素，例如F、Cl、Br或I。在某些实施方案中， R^{24} 为F。在某些实施方案中， R^{24} 为Cl。在某些实施方案中， R^{24} 为Br。在某些实施方案中， R^{24} 为I。在某些实施方案中， R^{24} 为烷基或取代烷基，例如 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 取代烷基，或 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 取代烷基，或 C_{1-3} 烷基或 C_{1-3} 取代烷基。在某些实施方案中， R^{24} 为甲基。在某些实施方案中， R^{24} 为烯基或取代烯基，例如 C_{2-6} 烯基或 C_{2-6} 取代烯基，或 C_{2-4} 烯基或 C_{2-4} 取代烯基，或 C_{2-3} 烯基或 C_{2-3} 取代烯基。在某些实施方案中， R^{24} 为炔基或取代炔基。在某些实施方案中， R^{24} 为烷氧基或取代烷氧基。在某些实施方案中， R^{24} 为氨基或取代氨基。在某些实施方案中， R^{24} 为羧基或羧基酯。在某些实施方案中， R^{24} 为酰基或酰氧基。在某些实施方案中， R^{24} 为酰氨基或氨酰基。在某些实施方案中， R^{24} 为烷基酰胺或取代烷基酰胺。在某些实施方案中， R^{24} 为磺酰基。在某些实施方案中， R^{24} 为硫代烷氧基或取代硫代烷氧基。在某些实施方案中， R^{24} 为芳基或取代芳基，例如 C_{5-8} 芳基或 C_{5-8} 取代芳基，例如 C_5 芳基或 C_5 取代芳基，或 C_6 芳基或 C_6 取代芳基（如，苯基或取代苯基）。在某些实施方案中， R^{24} 为杂芳基或取代杂芳基，例如 C_{5-8} 杂芳基或 C_{5-8} 取代杂芳基，例如 C_5 杂芳基或 C_5 取代杂芳基，或 C_6 杂芳基或 C_6 取代杂芳基。在某些实施方案中， R^{24} 为环烷基或取代环烷基，例如 C_{3-8} 环烷基或 C_{3-8} 取代环烷基，例如 C_{3-6} 环烷基或 C_{3-6} 取

代环烷基,或 C_{3-5} 环烷基或 C_{3-5} 取代环烷基。在某些实施方案中, R^{24} 为杂环基或取代杂环基,例如 C_{3-8} 杂环基或 C_{3-8} 取代杂环基,例如 C_{3-6} 杂环基或 C_{3-6} 取代杂环基,或 C_{3-5} 杂环基或 C_{3-5} 取代杂环基。

[0369] 在某些实施方案中, L^A 为第一接头。下面更详细地描述可以在本公开内容的缀合物中使用的接头的实例。

[0370] 在某些实施方案中, L^B 为第二接头。下面更详细地描述可以在本公开内容的缀合物中使用的接头的实例。

[0371] 在某些实施方案中, W^{11} 为第一药物(或第一活性剂)。下面更详细地描述可以在本公开内容的缀合物中使用的药物和活性剂的实例。

[0372] 在某些实施方案中, W^{12} 为第二药物(或第二活性剂)。下面更详细地描述可以在本公开内容的缀合物中使用的药物和活性剂的实例。

[0373] 在某些实施方案中, W^{13} 为多肽(如,抗体)。在某些实施方案中, W^{13} 包含如本文所述的一个或多个fGly'残基。在某些实施方案中,如本文所述,多肽通过fGly'残基连接至缀合物的其余部分。下面更详细地描述可以在本公开内容的缀合物中使用的多肽和抗体的实例。

[0374] 在某些实施方案中,式(II)的缀合物包含第一接头, L^A 。第一接头, L^A ,可用于通过缀合部分将目的第一部分(如,第一药物或活性剂)结合至多肽(如,抗体)。第一接头, L^A ,可结合(如,共价结合)至缀合部分(如,如本文所述)。例如,所述第一接头, L^A ,可将胍基-吡啶基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分连接至第一药物。胍基-吡啶基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分可用于将第一接头, L^A , (且因此第一药物)缀合至多肽上,例如抗体。

[0375] 例如,如上式(II)所示,通过缀合部分 L^A 连接至 W^{13} ,且因此 W^{13} 为通过胍基-吡啶基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分间接结合至接头 L^A 。如上所述, W^{13} 为多肽(如抗体),且因此 L^A 通过胍基-吡啶基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分连接至多肽(抗体),例如接头 L^A 通过胍基-吡啶基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分间接与多肽(抗体)结合。

[0376] 任何适合的接头均可用于在主题缀合物和化合物中的第一接头 L^A 。在某些实施方案中,第一接头, L^A ,包括选自以下的基团:烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、烷氧基、取代烷氧基、氨基、取代氨基、羧基、羧基酯、酰氨基、烷基酰胺、取代烷基酰胺、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。在某些实施方案中,第一接头 L^A 可包括烷基或取代烷基基团。在某些实施方案中,第一接头 L^A 可包括烯基或取代烯基基团。在某些实施方案中,第一接头 L^A 可包括炔基或取代炔基基团。在某些实施方案中,第一接头 L^A 可包括烷氧基或取代烷氧基基团。在某些实施方案中,第一接头 L^A 可包括氨基或取代氨基基团。在某些实施方案中,第一接头 L^A 可包括羧基或羧基酯。在某些实施方案中,第一接头 L^A 可包括酰氨基基团。在某些实施方案中,第一接头 L^A 可包括烷基酰胺或取代烷基酰胺基团。在某些实施方案中,第一接头 L^A 可包括芳基或取代芳基基团。在某些实施方案中,第一接头 L^A 可包括杂芳基或取代杂芳基基团。在某些实施方案中,第一接头 L^A 可包括环烷基或取代环烷基基团。在某些实施方案中,第一接头 L^A 可包括杂环基或取代杂环基基团。

[0377] 在某些实施方案中,第一接头 L^A 可包括聚合物。例如,所述聚合物可包括聚亚烷基二醇及其衍生物,包括聚乙二醇、甲氧基聚乙二醇、聚乙二醇均聚物、聚丙二醇均聚物、乙二

醇与丙二醇的共聚物(如,其中均聚物和共聚物未被取代或在一端被烷基取代)、聚乙烯醇、聚乙烯醚、聚乙烯吡咯烷酮、其组合等。在某些实施方案中,聚合物为聚亚烷基二醇。在某些实施方案中,聚合物为聚乙二醇。其他接头也是可能的,如下面更详细描述缀合物和化合物所示。

[0378] 在一些实施方案中, L^A 为由下式描述的接头:

[0379] $-(L^1)_a-(L^2)_b-(L^3)_c-(L^4)_d-(L^5)_e-(L^6)_f-$,

[0380] 其中 L^1 、 L^2 、 L^3 、 L^4 、 L^5 和 L^6 各自独立地为接头亚基,且a、b、c、d、e和f各自独立地为0或1。

[0381] 在某些实施方案中,a、b、c、d、e和f的和为0至6。在某些实施方案中,a、b、c、d、e和f的和为0。在某些实施方案中,a、b、c、d、e和f的和为1。在某些实施方案中,a、b、c、d、e和f的和为2。在某些实施方案中,a、b、c、d、e和f的和为3。在某些实施方案中,a、b、c、d、e和f的和为4。在某些实施方案中,a、b、c、d、e和f的和为5。在某些实施方案中,a、b、c、d、e和f的和为6。在某些实施方案中,a、b、c、d、e和f各为1。在某些实施方案中,a、b、c、d和e各为1,且f为0。在某些实施方案中,a、b、c和d各为1,且e和f各为0。在某些实施方案中,a、b和c各为1,且d、e和f各为0。在某些实施方案中,a和b各为1,且c、d、e和f各为0。在某些实施方案中,a为1,且b、c、d、e和f各为0。

[0382] 在某些实施方案中,接头亚基 L^1 连接至胍基-吡啶基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分(如,如上述式(I)所示)。在某些实施方案中,如果存在接头亚基 L^2 ,则连接至所述第一药物或活性剂 W^{11} 。在某些实施方案中,如果存在接头亚基 L^3 ,则连接至所述第一药物或活性剂 W^{11} 。在某些实施方案中,如果存在接头亚基 L^4 ,则连接至所述第一药物或活性剂 W^{11} 。在某些实施方案中,如果存在接头亚基 L^5 ,则连接至所述第一药物或活性剂 W^{11} 。在某些实施方案中,如果存在接头亚基 L^6 ,则连接至所述第一药物或活性剂 W^{11} 。

[0383] 任何适当的接头亚基都可用于第一接头 L^A 。目的接头亚基,包括,但不限于,聚合物单元,例如聚乙二醇、聚乙烯和聚丙烯酸酯、氨基酸残基、基于碳水化合物的聚合物或碳水化合物残基及其衍生物、多核苷酸、烷基基团、芳基基团、杂环基基团、其组合及其取代形式。在一些实施方案中,各个 L^1 、 L^2 、 L^3 、 L^4 、 L^5 和 L^6 (如果存在)包含一个或多个基团,其独立地选自聚乙二醇、修饰聚乙二醇、氨基酸残基、烷基基团、取代烷基、芳基基团、取代芳基基团和二胺(如,包括亚烷基二胺的连接基团)。

[0384] 在一些实施方案中, L^1 (如果存在)包含聚乙二醇、修饰聚乙二醇、氨基酸残基、烷基基团、取代烷基、芳基基团、取代芳基基团或二胺。在一些实施方案中, L^1 包含聚乙二醇。在一些实施方案中, L^1 包含修饰聚乙二醇。在一些实施方案中, L^1 包含氨基酸残基。在一些实施方案中, L^1 包含烷基或取代烷基。在一些实施方案中, L^1 包含芳基基团或取代芳基基团。在一些实施方案中, L^1 包含二胺(如,包含亚烷基二胺的连接基团)。

[0385] 在一些实施方案中, L^2 (如果存在)包含聚乙二醇、修饰聚乙二醇、氨基酸残基、烷基基团、取代烷基、芳基基团、取代芳基基团或二胺。在一些实施方案中, L^2 包含聚乙二醇。在一些实施方案中, L^2 包含修饰聚乙二醇。在一些实施方案中, L^2 包含氨基酸残基。在一些实施方案中, L^2 包含烷基或取代烷基。在一些实施方案中, L^2 包含芳基基团或取代芳基基团。在一些实施方案中, L^2 包含二胺(如,包含亚烷基二胺的连接基团)。

[0386] 在一些实施方案中, L^3 (如果存在)包含聚乙二醇、修饰聚乙二醇、氨基酸残基、烷

基基团、取代烷基、芳基基团、取代芳基基团或二胺。在一些实施方案中, L^3 包含聚乙二醇。在一些实施方案中, L^3 包含修饰聚乙二醇。在一些实施方案中, L^3 包含氨基酸残基。在一些实施方案中, L^3 包含烷基或取代烷基。在一些实施方案中, L^3 包含芳基基团或取代芳基基团。在一些实施方案中, L^3 包含二胺(如, 包含亚烷基二胺的连接基团)。

[0387] 在一些实施方案中, L^4 (如果存在) 包含聚乙二醇、修饰聚乙二醇、氨基酸残基、烷基基团、取代烷基、芳基基团、取代芳基基团或二胺。在一些实施方案中, L^4 包含聚乙二醇。在一些实施方案中, L^4 包含修饰聚乙二醇。在一些实施方案中, L^4 包含氨基酸残基。在一些实施方案中, L^4 包含烷基或取代烷基。在一些实施方案中, L^4 包含芳基基团或取代芳基基团。在一些实施方案中, L^4 包含二胺(如, 包含亚烷基二胺的连接基团)。

[0388] 在一些实施方案中, L^5 (如果存在) 包含聚乙二醇、修饰聚乙二醇、氨基酸残基、烷基基团、取代烷基、芳基基团、取代芳基基团或二胺。在一些实施方案中, L^5 包含聚乙二醇。在一些实施方案中, L^5 包含修饰聚乙二醇。在一些实施方案中, L^5 包含氨基酸残基。在一些实施方案中, L^5 包含烷基或取代烷基。在一些实施方案中, L^5 包含芳基基团或取代芳基基团。在一些实施方案中, L^5 包含二胺(如, 包含亚烷基二胺的连接基团)。

[0389] 在一些实施方案中, L^6 (如果存在) 包含聚乙二醇、修饰聚乙二醇、氨基酸残基、烷基基团、取代烷基、芳基基团、取代芳基基团或二胺。在一些实施方案中, L^6 包含聚乙二醇。在一些实施方案中, L^6 包含修饰聚乙二醇。在一些实施方案中, L^6 包含氨基酸残基。在一些实施方案中, L^6 包含烷基或取代烷基。在一些实施方案中, L^6 包含芳基基团或取代芳基基团。在一些实施方案中, L^6 包含二胺(如, 包含亚烷基二胺的连接基团)。

[0390] 在一些实施方案中, L^A 为包含 $-(L^1)_a - (L^2)_b - (L^3)_c - (L^4)_d - (L^5)_e - (L^6)_f -$ 的第一接头, 其中:

[0391] $-(L^1)_a -$ 为 $-(T^1-V^1)_a -$;

[0392] $-(L^2)_b -$ 为 $-(T^2-V^2)_b -$;

[0393] $-(L^3)_c -$ 为 $-(T^3-V^3)_c -$;

[0394] $-(L^4)_a -$ 为 $-(T^4-V^4)_a -$;

[0395] $-(L^5)_b -$ 为 $-(T^5-V^5)_b -$; 和

[0396] $-(L^6)_c -$ 为 $-(T^6-V^6)_c -$;

[0397] 其中 T^1, T^2, T^3, T^4, T^5 和 T^6 , 如果存在, 为系链基团;

[0398] V^1, V^2, V^3, V^4, V^5 和 V^6 , 如果存在, 为共价键或连接官能团; 和

[0399] a, b, d, e 和 f 各自独立地为 0 或 1。

[0400] 在某些实施方案中, a, b, c, d, e 和 f 的和为 0 至 6。在某些实施方案中, a, b, c, d, e 和 f 的和为 0。在某些实施方案中, a, b, c, d, e 和 f 的和为 1。在某些实施方案中, a, b, c, d, e 和 f 的和为 2。在某些实施方案中, a, b, c, d, e 和 f 的和为 3。在某些实施方案中, a, b, c, d, e 和 f 的和为 4。在某些实施方案中, a, b, c, d, e 和 f 的和为 5。在某些实施方案中, a, b, c, d, e 和 f 的和为 6。在某些实施方案中, a, b, c, d, e 和 f 各为 1。在某些实施方案中, a, b, c, d 和 e 各为 1, 且 f 为 0。在某些实施方案中, a, b, c 和 d 各为 1, 且 e 和 f 各为 0。在某些实施方案中, a, b 和 c 各为 1, 且 d, e 和 f 各为 0。在某些实施方案中, a 和 b 各为 1, 且 c, d, e 和 f 各为 0。在某些实施方案中, a 为 1, 且 b, c, d, e 和 f 各为 0。

[0401] 如上所述, 在某些实施方案中, L^1 连接至胍基-咪唑基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合

部分(如,如上述式(II)所示)。因此,在某些实施方案中, T^1 连接至胍基-咪唑基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分(如,如上述式(II)所示)。在某些实施方案中, V^1 连接至第一药物或活性剂。在某些实施方案中,如果存在接头亚基 L^2 ,则连接至所述第一药物或活性剂。因此,在某些实施方案中, T^2 ,如果存在,则连接至所述第一药物或活性剂,或 V^2 ,如果存在,则连接至所述第一药物或活性剂。在某些实施方案中,如果存在接头亚基 L^3 ,则连接至所述第一药物或活性剂。因此,在某些实施方案中, T^3 ,如果存在,则连接至所述第一药物或活性剂,或 V^3 ,如果存在,则连接至所述第一药物或活性剂。在某些实施方案中,如果存在接头亚基 L^4 ,则连接至所述第一药物或活性剂。因此,在某些实施方案中, T^4 ,如果存在,则连接至所述第一药物或活性剂,或 V^4 ,如果存在,则连接至所述第一药物或活性剂。在某些实施方案中,如果存在接头亚基 L^5 ,则连接至所述第一药物或活性剂。因此,在某些实施方案中, T^5 ,如果存在,则连接至所述第一药物或活性剂,或 V^5 ,如果存在,则连接至所述第一药物或活性剂。在某些实施方案中,如果存在接头亚基 L^6 ,则连接至所述第一药物或活性剂。因此,在某些实施方案中, T^6 ,如果存在,则连接至所述第一药物或活性剂,或 V^6 ,如果存在,则连接至所述第一药物或活性剂。

[0402] 在某些实施方案中,式(II)的缀合物包含第二接头, L^B 。第二接头, L^B ,可用于通过缀合部分将目的第一部分(如,第一药物或活性剂)结合至多肽(如,抗体)。第二接头, L^B ,可结合(如,共价结合)至缀合部分(如,如本文所述)。例如,所述第二接头, L^B ,可将胍基-咪唑基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分连接至第二药物。胍基-咪唑基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分可用于将第二接头, L^B , (且因此第二药物)缀合至多肽,例如抗体上。

[0403] 例如,如上式(II)所示,通过缀合部分 L^B 连接至 W^{13} ,且因此 W^{13} 为通过胍基-咪唑基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分间接结合至第二接头 L^B 。如上所述, W^{13} 为多肽(如抗体),且因此 L^B 通过胍基-咪唑基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分连接至多肽(抗体),例如接头 L^B 通过胍基-咪唑基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分间接与多肽(抗体)结合。

[0404] 任何适合的接头都可用于在主题缀合物和化合物中的第二接头 L^B 。在某些实施方案中,第二接头, L^B ,包括选自以下的基团:烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、烷氧基、取代烷氧基、氨基、取代氨基、羧基、羧基酯、酰氨基、烷基酰胺、取代烷基酰胺、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。在某些实施方案中,第二接头 L^B 可包括烷基或取代烷基基团。在某些实施方案中,第二接头 L^B 可包括烯基或取代烯基基团。在某些实施方案中,第二接头 L^B 可包括炔基或取代炔基基团。在某些实施方案中,第二接头 L^B 可包括烷氧基或取代烷氧基基团。在某些实施方案中,第二接头 L^B 可包括氨基或取代氨基基团。在某些实施方案中,第二接头 L^B 可包括羧基或羧基酯。在某些实施方案中,第二接头 L^B 可包括酰氨基基团。在某些实施方案中,第二接头 L^B 可包括烷基酰胺或取代烷基酰胺基团。在某些实施方案中,第二接头 L^B 可包括芳基或取代芳基基团。在某些实施方案中,第二接头 L^B 可包括杂芳基或取代杂芳基基团。在某些实施方案中,第二接头 L^B 可包括环烷基或取代环烷基基团。在某些实施方案中,第二接头 L^B 可包括杂环基或取代杂环基基团。

[0405] 在某些实施方案中,第二接头 L^B 可包括聚合物。例如,所述聚合物可包括聚亚烷基二醇及其衍生物,包括聚乙二醇、甲氧基聚乙二醇、聚乙二醇均聚物、聚丙二醇均聚物、乙二醇与丙二醇的共聚物(如,其中均聚物和共聚物未被取代或在一端被烷基取代)、聚乙烯醇、

聚乙烯乙醚、聚乙烯吡咯烷酮、其组合等。在某些实施方案中,聚合物为聚亚烷基二醇。在某些实施方案中,聚合物为聚乙二醇。其他接头也是可能的,如下面更详细描述缀合物和化合物所示。

[0406] 在一些实施方案中, L^B 为由下式描述的第二接头:

[0407] $-(L^7)_g-(L^8)_h-(L^9)_i-(L^{10})_j-(L^{11})_k-(L^{12})_l-(L^{13})_m$,

[0408] 其中 L^7 、 L^8 、 L^9 、 L^{10} 、 L^{11} 、 L^{12} 和 L^{13} 各自独立地为接头亚基,且 g 、 h 、 i 、 j 、 k 、 l 和 m 各自独立地为0或1。

[0409] 在某些实施方案中, g 、 h 、 i 、 j 、 k 、 l 和 m 之和为0至7。在某些实施方案中, g 、 h 、 i 、 j 、 k 、 l 和 m 之和为0。在某些实施方案中, g 、 h 、 i 、 j 、 k 、 l 和 m 之和为1。在某些实施方案中, g 、 h 、 i 、 j 、 k 、 l 和 m 之和为2。在某些实施方案中, g 、 h 、 i 、 j 、 k 、 l 和 m 之和为3。在某些实施方案中, g 、 h 、 i 、 j 、 k 、 l 和 m 之和为4。在某些实施方案中, g 、 h 、 i 、 j 、 k 、 l 和 m 之和为5。在某些实施方案中, g 、 h 、 i 、 j 、 k 、 l 和 m 之和为6。在某些实施方案中, g 、 h 、 i 、 j 、 k 、 l 和 m 之和为7。在某些实施方案中, g 、 h 、 i 、 j 、 k 、 l 和 m 各自为1。在某些实施方案中, g 、 h 、 i 、 j 、 k 和 l 各自为1,且 m 为0。在某些实施方案中, g 、 h 、 i 、 j 和 k 各自为1,且 l 和 m 各自为0。在某些实施方案中, g 、 h 、 i 和 j 各自为1,且 k 、 l 和 m 各自为0。在某些实施方案中, g 、 h 和 i 各自为1,且 j 、 k 、 l 和 m 各自为0。在某些实施方案中, g 和 h 各自为1,且 i 、 j 、 k 、 l 和 m 各自为0。在某些实施方案中, g 为1,且 h 、 i 、 j 、 k 、 l 和 m 各自为0。在某些实施方案中, g 、 h 、 i 、 j 、 k 、 l 和 m 各自为0。

[0410] 在某些实施方案中,接头亚基 L^7 连接至胍基-吡啶基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分(如,如上述式(II)所示)。在某些实施方案中,如果存在接头亚基 L^8 ,则连接至所述第二药物或活性剂 W^{12} 。在某些实施方案中,如果存在接头亚基 L^9 ,则连接至所述第二药物或活性剂 W^{12} 。在某些实施方案中,如果存在接头亚基 L^{10} ,则连接至所述第二药物或活性剂 W^{12} 。在某些实施方案中,如果存在接头亚基 L^{11} ,则连接至所述第二药物或活性剂 W^{12} 。在某些实施方案中,如果存在接头亚基 L^{12} ,则连接至所述第二药物或活性剂 W^{12} 。在某些实施方案中,如果存在接头亚基 L^{13} ,则连接至所述第二药物或活性剂 W^{12} 。

[0411] 任何适当的接头亚基都可用于第二接头 L^B 。目的接头亚基,包括,但不限于,聚合物单元,例如聚乙二醇、聚乙烯和聚丙烯酸酯、氨基酸残基、基于碳水化合物的聚合物或碳水化合物残基及其衍生物、多核苷酸、烷基基团、芳基基团、杂环基基团、其组合及其取代形式。在一些实施方案中,每个 L^7 、 L^8 、 L^9 、 L^{10} 、 L^{11} 和 L^{13} (如果存在)包含一个或多个基团,其独立地选自聚乙二醇、修饰聚乙二醇、氨基酸残基、烷基基团、取代烷基、芳基基团、取代芳基基团和二胺(如,包括亚烷基二胺的连接基团)。

[0412] 在一些实施方案中, L^7 (如果存在)包含聚乙二醇、修饰聚乙二醇、氨基酸残基、烷基基团、取代烷基、芳基基团、取代芳基基团或二胺。在一些实施方案中, L^7 包含聚乙二醇。在一些实施方案中, L^7 包含修饰聚乙二醇。在一些实施方案中, L^7 包含氨基酸残基。在一些实施方案中, L^7 包含烷基或取代烷基。在一些实施方案中, L^7 包含芳基基团或取代芳基基团。在一些实施方案中, L^7 包含二胺(如,包含亚烷基二胺的连接基团)。

[0413] 在一些实施方案中, L^8 (如果存在)包含聚乙二醇、修饰聚乙二醇、氨基酸残基、烷基基团、取代烷基、芳基基团、取代芳基基团或二胺。在一些实施方案中, L^8 包含聚乙二醇。在一些实施方案中, L^8 包含修饰聚乙二醇。在一些实施方案中, L^8 包含氨基酸残基。在一些实施方案中, L^8 包含烷基或取代烷基。在一些实施方案中, L^8 包含芳基基团或取代芳基基团。在

一些实施方案中, L^8 包含二胺(如, 包含亚烷基二胺的连接基团)。

[0414] 在一些实施方案中, L^9 (如果存在) 包含聚乙二醇、修饰聚乙二醇、氨基酸残基、烷基基团、取代烷基、芳基基团、取代芳基基团或二胺。在一些实施方案中, L^9 包含聚乙二醇。在一些实施方案中, L^9 包含修饰聚乙二醇。在一些实施方案中, L^9 包含氨基酸残基。在一些实施方案中, L^9 包含烷基或取代烷基。在一些实施方案中, L^9 包含芳基基团或取代芳基基团。在一些实施方案中, L^9 包含二胺(如, 包含亚烷基二胺的连接基团)。

[0415] 在一些实施方案中, L^{10} (如果存在) 包含聚乙二醇、修饰聚乙二醇、氨基酸残基、烷基基团、取代烷基、芳基基团、取代芳基基团或二胺。在一些实施方案中, L^{10} 包含聚乙二醇。在一些实施方案中, L^{10} 包含修饰聚乙二醇。在一些实施方案中, L^{10} 包含氨基酸残基。在一些实施方案中, L^{10} 包含烷基或取代烷基。在一些实施方案中, L^{10} 包含芳基基团或取代芳基基团。在一些实施方案中, L^{10} 包含二胺(如, 包含亚烷基二胺的连接基团)。

[0416] 在一些实施方案中, L^{11} (如果存在) 包含聚乙二醇、修饰聚乙二醇、氨基酸残基、烷基基团、取代烷基、芳基基团、取代芳基基团或二胺。在一些实施方案中, L^{11} 包含聚乙二醇。在一些实施方案中, L^{11} 包含修饰聚乙二醇。在一些实施方案中, L^{11} 包含氨基酸残基。在一些实施方案中, L^{11} 包含烷基或取代烷基。在一些实施方案中, L^{11} 包含芳基基团或取代芳基基团。在一些实施方案中, L^{11} 包含二胺(如, 包含亚烷基二胺的连接基团)。

[0417] 在一些实施方案中, L^{12} (如果存在) 包含聚乙二醇、修饰聚乙二醇、氨基酸残基、烷基基团、取代烷基、芳基基团、取代芳基基团或二胺。在一些实施方案中, L^{12} 包含聚乙二醇。在一些实施方案中, L^{12} 包含修饰聚乙二醇。在一些实施方案中, L^{12} 包含氨基酸残基。在一些实施方案中, L^{12} 包含烷基或取代烷基。在一些实施方案中, L^{12} 包含芳基基团或取代芳基基团。在一些实施方案中, L^{12} 包含二胺(如, 包含亚烷基二胺的连接基团)。

[0418] 在一些实施方案中, L^{13} (如果存在) 包含聚乙二醇、修饰聚乙二醇、氨基酸残基、烷基基团、取代烷基、芳基基团、取代芳基基团或二胺。在一些实施方案中, L^{13} 包含聚乙二醇。在一些实施方案中, L^{13} 包含修饰聚乙二醇。在一些实施方案中, L^{13} 包含氨基酸残基。在一些实施方案中, L^{13} 包含烷基或取代烷基。在一些实施方案中, L^{13} 包含芳基基团或取代芳基基团。在一些实施方案中, L^{13} 包含二胺(如, 包含亚烷基二胺的连接基团)。

[0419] 在一些实施方案中, L^B 为包含 $-(L^7)_g - (L^8)_h - (L^9)_i - (L^{10})_j - (L^{11})_k - (L^{12})_l - (L^{13})_m$ 的第二接头, 其中:

[0420] $-(L^7)_g$ 为 $-(T^7-V^7)_g$;

[0421] $-(L^8)_h$ 为 $-(T^8-V^8)_h$;

[0422] $-(L^9)_i$ 为 $-(T^9-V^9)_i$;

[0423] $-(L^{10})_j$ 为 $-(T^{10}-V^{10})_j$;

[0424] $-(L^{11})_k$ 为 $-(T^{11}-V^{11})_k$;

[0425] $-(L^{12})_l$ 为 $-(T^{12}-V^{12})_l$; 和

[0426] $-(L^{13})_m$ 为 $-(T^{13}-V^{13})_m$;

[0427] 其中 T^7 、 T^8 、 T^9 、 T^{10} 、 T^{11} 和 T^{13} , 如果存在, 则为系链基团;

[0428] V^7 、 V^8 、 V^9 、 V^{10} 、 V^{11} 、 V^{12} 和 V^{13} , 如果存在, 为共价键或连接官能团; 和

[0429] g 、 h 、 i 、 j 、 k 、 l 和 m 各自独立地为 0 或 1。

[0430] 在某些实施方案中, g 、 h 、 i 、 j 、 k 、 l 和 m 之和为 0 至 7。在某些实施方案中, g 、 h 、 i 、 j 、 k 、

l和m之和为0。在某些实施方案中,g、h、i、j、k、l和m之和为1。在某些实施方案中,g、h、i、j、k、l和m之和为2。在某些实施方案中,g、h、i、j、k、l和m之和为3。在某些实施方案中,g、h、i、j、k、l和m之和为4。在某些实施方案中,g、h、i、j、k、l和m之和为5。在某些实施方案中,g、h、i、j、k、l和m之和为6。在某些实施方案中,g、h、i、j、k、l和m之和为7。在某些实施方案中,g、h、i、j、k、l和m各自为1。在某些实施方案中,g、h、i、j、k和l各自为1,且m为0。在某些实施方案中,g、h、i、j和k各自为1,且l和m各自为0。在某些实施方案中,g、h、i和j各自为1,且k、l和m各自为0。在某些实施方案中,g、h和i各自为1,且j、k、l和m各自为0。在某些实施方案中,g和h各自为1,且i、j、k、l和m各自为0。在某些实施方案中,g为1,且h、i、j、k、l和m各自为0。在某些实施方案中,g、h、i、j、k、l和m各自为0。

[0431] 如上所述,在某些实施方案中, L^7 连接至胍基-吡啶基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分(如,如上述式(II)所示)。因此,在某些实施方案中, T^7 连接至胍基-吡啶基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分(如,如上述式(II)所示)。在某些实施方案中, V^7 连接至第二药物或活性剂。在某些实施方案中,如果存在接头亚基 L^8 ,则连接至所述第二药物或活性剂。因此,在某些实施方案中, T^8 ,如果存在,则连接至所述第二药物或活性剂,或 V^8 ,如果存在,则连接至所述第二药物或活性剂。在某些实施方案中,如果存在接头亚基 L^9 ,则连接至所述第二药物或活性剂。因此,在某些实施方案中, T^9 ,如果存在,则连接至所述第二药物或活性剂,或 V^9 ,如果存在,则连接至所述第二药物或活性剂。在某些实施方案中,如果存在接头亚基 L^{10} ,则连接至所述第二药物或活性剂。因此,在某些实施方案中, T^{10} ,如果存在,则连接至所述第二药物或活性剂,或 V^{10} ,如果存在,则连接至所述第二药物或活性剂。在某些实施方案中,如果存在接头亚基 L^{11} ,则连接至所述第二药物或活性剂。因此,在某些实施方案中, T^{11} ,如果存在,则连接至所述第二药物或活性剂,或 V^{11} ,如果存在,则连接至所述第二药物或活性剂。在某些实施方案中,如果存在接头亚基 L^{12} ,则连接至所述第二药物或活性剂。因此,在某些实施方案中, T^{12} ,如果存在,则连接至所述第二药物或活性剂,或 V^{12} ,如果存在,则连接至所述第二药物或活性剂。在某些实施方案中,如果存在接头亚基 L^{13} ,则连接至所述第二药物或活性剂。因此,在某些实施方案中, T^{13} ,如果存在,则连接至所述第二药物或活性剂,或 V^{13} ,如果存在,则连接至所述第二药物或活性剂。

[0432] 关于系链基团, T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 、 T^6 、 T^7 、 T^8 、 T^9 、 T^{10} 、 T^{11} 、 T^{12} 和 T^{13} ,任何适合的系链基团都可用于所述主题接头。在一些实施方案中, T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 、 T^6 、 T^7 、 T^8 、 T^9 、 T^{10} 、 T^{11} 、 T^{12} 和 T^{13} 各自包括一个或多个独立基团,其选自共价键、 (C_1-C_{12}) 烷基、取代的 (C_1-C_{12}) 烷基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基、 $(EDA)_w$ 、 $(PEG)_n$ 、 $(AA)_p$ 、 $(CR^{13}OH)_m$ 、4-氨基吡啶(4AP)、间-氨基-苄氧基(MABO)、间-氨基-苄氧羰基(MABC)、对-氨基-苄氧基(PABO)、对-氨基-苄氧羰基(PABC)、对-氨基苄基(PAB)、对-氨基-苄氨基(PABA)、对-氨基-苯基(PAP)、对-羟基-苯基(PHP)、缩醛基团、胍、二硫化物和酯,其中每个w为从1到20的整数,每个n为从1到30的整数,每个p为从1到20的整数,每个x为从1到12的整数。

[0433] 在某些实施方案中,系链基团(如, T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 、 T^6 、 T^7 、 T^8 、 T^9 、 T^{10} 、 T^{11} 、 T^{12} 和/或 T^{13})包括 (C_1-C_{12}) 烷基或取代 (C_1-C_{12}) 烷基。在某些实施方案中, (C_1-C_{12}) 烷基为直链或支链烷基基团,其包括1至12个碳原子,例如1至10个碳原子,或1至8个碳原子,或1至6个碳原子,或1至5个碳原子,或1至4个碳原子,或1至3个碳原子。在一些情况下, (C_1-C_{12}) 烷基可为烷基

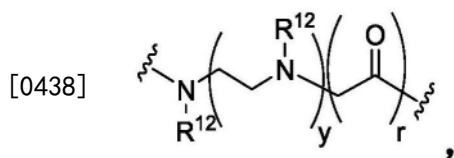
或取代的烷基,例如 C_1 - C_{12} 烷基,或 C_1 - C_{10} 烷基,或 C_1 - C_6 烷基,或 C_1 - C_3 烷基。在一些情况下,(C_1 - C_{12})烷基为 C_2 -烷基。例如,(C_1 - C_{12})烷基可为亚烷基或取代亚烷基,例如 C_1 - C_{12} 亚烷基,或 C_1 - C_{10} 亚烷基,或 C_1 - C_6 亚烷基,或 C_1 - C_3 亚烷基。在一些情况下,(C_1 - C_{12})烷基为 C_1 -亚烷基(如, CH_2)。在一些情况下,(C_1 - C_{12})烷基为 C_2 -亚烷基(如, CH_2CH_2)。在一些情况下,(C_1 - C_{12})烷基为 C_3 -亚烷基(如, $CH_2CH_2CH_2$)。

[0434] 在某些实施方案中,取代(C_1 - C_{12})烷基为直链或支链取代烷基基团,其包括1至12个碳原子,例如1至10个碳原子,或1至8个碳原子,或1至6个碳原子,或1至5个碳原子,或1至4个碳原子,或1至3个碳原子。在一些情况下,取代(C_1 - C_{12})烷基可为烷基或取代的烷基,例如取代 C_1 - C_{12} 烷基,或取代 C_1 - C_{10} 烷基,或取代 C_1 - C_6 烷基,或取代 C_1 - C_3 烷基。在一些情况下,取代(C_1 - C_{12})烷基为取代 C_2 -烷基。例如,取代(C_1 - C_{12})烷基可为取代亚烷基,例如取代 C_1 - C_{12} 亚烷基,或取代 C_1 - C_{10} 亚烷基,或取代 C_1 - C_6 亚烷基,或取代 C_1 - C_3 亚烷基。在一些情况下,(C_1 - C_{12})烷基为取代 C_1 -亚烷基(如, $-SO_3H$ 取代的 C_1 -亚烷基)。在一些情况下,取代(C_1 - C_{12})烷基为取代 C_2 -烷基。在一些情况下,取代(C_1 - C_{12})烷基为取代 C_3 -烷基。例如,替换的(C_1 - C_{12})烷基可包括如本文所述被(PEG)_k基团(如, $-CONH(PEG)_k$,例如 $-CONH(PEG)_3$ 或 $-CONH(PEG)_5$;或 $-NHC(PEG)_k$,例如 $-NHC(PEG)_7$)取代的 C_1 - C_{12} 亚烷基(如, C_3 -亚烷基或 C_5 -亚烷基),或可包括被 $-CONHCH_2CH_2SO_3H$ 基团取代的 C_1 - C_{12} 亚烷基(如, C_3 -亚烷基),或可包括被 $-NHC(PEG)_7$ 基团取代的 C_1 - C_{12} 亚烷基(如, C_5 -亚烷基)。

[0435] 在某些实施方案中,系链基团(如, T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 、 T^6 、 T^7 、 T^8 、 T^9 、 T^{10} 、 T^{11} 、 T^{12} 和/或 T^{13})包括芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基或取代杂环基。在某些实施方案中,系链基团(如, T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 、 T^6 、 T^7 、 T^8 、 T^9 、 T^{10} 、 T^{11} 、 T^{12} 和/或 T^{13})包括芳基或取代芳基。例如,所述芳基可以为苯基。在某些情况下,所述取代芳基为取代苯基。取代苯基可以被一个或多个取代基取代,该取代基选自(C_1 - C_{12})烷基,取代的(C_1 - C_{12})烷基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。在一些情况下,取代芳基为取代苯基,其中取代基包括本文所述的可裂解部分(如,酶促可裂解部分,例如糖苷或糖苷衍生物)。

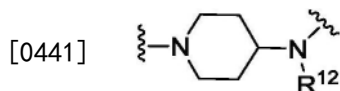
[0436] 在某些实施方案中,系链基团(如, T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 、 T^6 、 T^7 、 T^8 、 T^9 、 T^{10} 、 T^{11} 、 T^{12} 和/或 T^{13})包括杂芳基或取代杂芳基,例如三唑基(如,1,2,3-三唑基)。在某些实施方案中,系链基团(如, T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 、 T^6 、 T^7 、 T^8 、 T^9 、 T^{10} 、 T^{11} 、 T^{12} 和/或 T^{13})包括环烷基或取代环烷基。在某些实施方案中,系链基团(如, T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 、 T^6 、 T^7 、 T^8 、 T^9 、 T^{10} 、 T^{11} 、 T^{12} 和/或 T^{13})包括杂环基或取代杂环基。在一些情况下,取代杂芳基、取代环烷基或取代杂环基上的取代,包括本文所述的可裂解部分(如,酶促可裂解部分,例如糖苷或糖苷衍生物)。

[0437] 在某些实施方案中,系链基团(如, T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 、 T^6 、 T^7 、 T^8 、 T^9 、 T^{10} 、 T^{11} 、 T^{12} 和/或 T^{13})包括乙二胺(EDA)部分,如包含EDA的系链基团。在某些实施方案中,(EDA)_w包含一个或多个EDA部分,例如其中w为从1到50的整数,例如从1到40、从1到30、从1到20、从1到12或从1到6,例如1、2、3、4、5或6。连接的乙二胺(EDA)部分可任选地在一个或多个适合的位置被任何适合的取代基取代,如,烷基、取代烷基、酰基、取代酰基、芳基或取代芳基。在某些实施方案中,EDA部分由以下结构描述:



[0439] 其中 y 为从1到6的整数,或为0或1,且每个 R^{12} 独立地选自氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、烷氧基、取代烷氧基、氨基、取代氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。在某些实施方案中, y 为1、2、3、4、5或6。在某些实施方案中, y 为1,且 r 为0。在某些实施方案中, y 为1,且 r 为1。在某些实施方案中, y 为2,且 r 为0。在某些实施方案中, y 为2,且 r 为1。在某些实施方案中,每个 R^{12} 独立地选自氢、烷基、取代烷基、芳基和取代芳基。在某些实施方案中,任意两个相邻的EDA的 R^{12} 基团可为环连接的,如,形成哌嗪基环。在某些实施方案中, y 为1,且两个相邻的 R^{12} 基团为烷基基团,环状连接以形成哌嗪环。在某些实施方案中, y 为1,且相邻的 R^{12} 基团选自氢、烷基(如,甲基)和取代烷基(如,低级烷基-OH,例如乙基-OH或丙基-OH)。

[0440] 在某些实施方案中,系链基团(如, T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 、 T^6 、 T^7 、 T^8 、 T^9 、 T^{10} 、 T^{11} 、 T^{12} 和/或 T^{13})包括4-氨基吡啶(4AP)部分(在本文中也指吡啶-4-氨基,P4A)。所述4AP部分可任选地在一个或多个适合的位置被任何适合的取代基取代,如,烷基、取代烷基、聚乙二醇部分、酰基、取代酰基、芳基或取代芳基。在某些实施方案中,4AP部分由以下结构描述:



[0442] 其中 R^{12} 选自氢、烷基、取代烷基、聚乙二醇部分(如,聚乙二醇或修饰聚乙二醇)、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、烷氧基、取代烷氧基、氨基、取代氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基;在某些实施方案中, R^{12} 为聚乙二醇部分。在某些实施方案中, R^{12} 为羧基修饰的聚乙二醇。

[0443] 在某些实施方案中, R^{12} 包括如下式所述的聚乙二醇部分:(PEG) $_k$,其可由以下结构表示:



[0445] 其中 k 为从1到20的整数,例如从1到18,或从1到16,或从1到14,或从1到12,或从1到10,或从1到8,或从1到6,或从1到4,或1或2,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。在某些情况下, k 为2。在某些实施方案中, R^{17} 选自OH、COOH、OR或COOR,其中 R 选自烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。在某些实施方案中, R^{17} 为COOH。在某些实施方案中, R^{17} 为OH。在某些实施方案中, R^{17} 为OCH₃。

[0446] 在某些实施方案中,系链基团(如, T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 、 T^6 、 T^7 、 T^8 、 T^9 、 T^{10} 、 T^{11} 、 T^{12} 和/或 T^{13})包括(PEG) $_n$,其中(PEG) $_n$ 为聚乙二醇或修饰聚乙二醇连接单元。在某些实施方案中,(PEG) $_n$ 由以下结构描述:



[0448] 其中n为从1到50的整数,例如从1到40,或从1到30,或从1到20,或从1到12,或从1到6,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。在某些情况下,n为2。在某些情况下,n为3。在某些情况下,n为6。在某些情况下,n为12。

[0449] 在某些实施方案中,系链基团(如, T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 、 T^6 、 T^7 、 T^8 、 T^9 、 T^{10} 、 T^{11} 、 T^{12} 和/或 T^{13})包括(AA)_p,其中AA为氨基酸残基。可以利用任何适合的氨基酸。目的氨基酸包括但不限于L-和D-氨基酸;天然存在的氨基酸,例如20种主要 α -氨基酸和 β -丙氨酸中的任何一种;非天然存在的氨基酸(如,氨基酸类似物),例如非天然存在的 α -氨基酸或非天然存在的 β -氨基酸等。在某些实施方案中,p为从1到50的整数,例如从1到40、从1到30、从1到20、从1到12或从1到6,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。在某些实施方案中,p为1。在某些实施方案中,p为2。

[0450] 在某些实施方案中,系链基团(如, T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 、 T^6 、 T^7 、 T^8 、 T^9 、 T^{10} 、 T^{11} 、 T^{12} 和/或 T^{13})包括氨基酸类似物。氨基酸类似物包括在结构和/或总体形状上与天然存在的蛋白质中常见的一种或多种氨基酸(如,Ala或A、Cys或C、Asp或D、Glu或E、Phe或F、Gly或G、His或H、Ile或I、Lys或K、Leu或L、Met或M、Asn或N、Pro或P、Gln或Q、Arg或R、Ser或S、Thr或T、Val或V、Trp或W、Tyr或Y)相似的化合物。氨基酸类似物还包括具有修饰的侧链或主链的天然氨基酸。氨基酸类似物还包括与天然存在的D-型以及L-型氨基酸类似物具有相同立体化学的氨基酸类似物。在一些情况下,氨基酸类似物共享一种或多种天然氨基酸的主链结构和/或侧链结构,其差别在于分子中的一个或多个修饰基团。这种修饰可包括,但不限于,用原子(例如N)取代相关原子(例如S)、添加基团(例如甲基或羟基等)或原子(例如Cl或Br等)、删除基团、取代共价键(单键代替双键等)或其组合。例如,氨基酸类似物可包括 α -羟基酸和 α -氨基酸等。氨基酸类似物的实例包括,但不限于,磺基丙氨酸等。

[0451] 在某些实施方案中,系链基团(如, T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 、 T^6 、 T^7 、 T^8 、 T^9 、 T^{10} 、 T^{11} 、 T^{12} 和/或 T^{13})包括由式 $-(CR^{13}OH)_x$ -所描述的部分,其中x为0或x为1至50的整数,例如1至40、1至30、1至20、1至12或1至6,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12。在某些实施方案中,x为1。在某些实施方案中,x为2。在某些实施方案中, R^{13} 选自氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、烷氧基、取代烷氧基、氨基、取代氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。在某些实施方案中, R^{13} 为氢。在某些实施方案中, R^{13} 为烷基或取代烷基,例如 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 取代烷基,或 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 取代烷基,或 C_{1-3} 烷基或 C_{1-3} 取代烷基。在某些实施方案中, R^{13} 为烯基或取代烯基,例如 C_{2-6} 烯基或 C_{2-6} 取代烯基,或 C_{2-4} 烯基或 C_{2-4} 取代烯基,或 C_{2-3} 烯基或 C_{2-3} 取代烯基。在某些实施方案中, R^{13} 为炔基或取代炔基。在某些实施方案中, R^{13} 为烷氧基或取代烷氧基。在某些实施方案中, R^{13} 为氨基或取代氨基。在某些实施方案中, R^{13} 为羧基或羧基酯。在某些实施方案中, R^{13} 为酰基或酰氧基。在某些实施方案中, R^{13} 为酰氨基或氨酰基。在某些实施方案中, R^{13} 为烷基酰胺或取代烷基酰胺。在某些实施方案中, R^{13} 为磺酰基。在某些实施方案中, R^{13} 为硫代烷氧基或取代硫代烷氧基。在某些实施方案中, R^{13} 为芳基或取代芳基,例如 C_{5-8} 芳基或 C_{5-8} 取代芳基,例

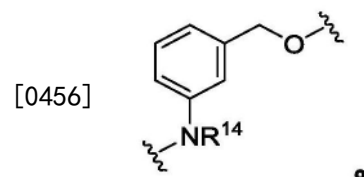
如C₅芳基或C₅取代芳基,或C₆芳基或C₆取代芳基。在某些实施方案中,R¹³为杂芳基或取代杂芳基,例如C₅₋₈杂芳基或C₅₋₈取代杂芳基,例如C₅杂芳基或C₅取代杂芳基,或C₆杂芳基或C₆取代杂芳基。在某些实施方案中,R¹³为环烷基或取代环烷基,例如C₃₋₈环烷基或C₃₋₈取代环烷基,例如C₃₋₆环烷基或C₃₋₆取代环烷基,或C₃₋₅环烷基或C₃₋₅取代环烷基。在某些实施方案中,R¹³为杂环基或取代杂环基,例如C₃₋₈杂环基或C₃₋₈取代杂环基,例如C₃₋₆杂环基或C₃₋₆取代杂环基,或C₃₋₅杂环基或C₃₋₅取代杂环基。

[0452] 在某些实施方案中,每个R¹³独立地选自氢、烷基、取代烷基、芳基和取代芳基。在这些实施方案中,烷基、取代烷基、芳基和取代芳基如上文针对R¹³所描述的。

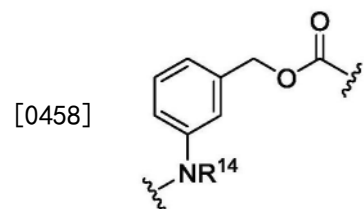
[0453] 在某些实施方案中,系链基团(如,T¹、T²、T³、T⁴、T⁵、T⁶、T⁷、T⁸、T⁹、T¹⁰、T¹¹、T¹²和/或T¹³)包括缩醛基团、二硫化物、肼或酯。在一些实施方案中,系链基团包括缩醛基团。在一些实施方案中,系链基团包括肼。在一些实施方案中,系链基团包括二硫化物。在一些实施方案中,系链基团包括酯。

[0454] 在某些实施方案中,系链基团(如,T¹、T²、T³、T⁴、T⁵、T⁶、T⁷、T⁸、T⁹、T¹⁰、T¹¹、T¹²和/或T¹³)包括间-氨基-苄氧基(MABO)、间-氨基-苄氧羰基(MABC)、对-氨基-苄氧基(PABO)、对-氨基-苄氧羰基(PABC)、对-氨基苄基(PAB)、对-氨基-苄氨基(PABA)、对-氨基-苯基(PAP)或对-羟基-苯基(PHP)。

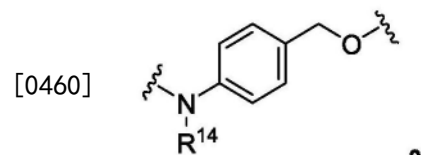
[0455] 在一些实施方案中,系链基团包括由以下结构描述的MABO基团:



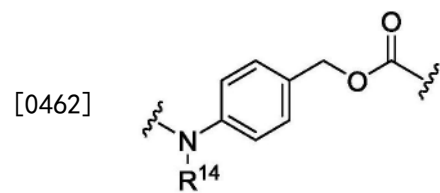
[0457] 在一些实施方案中,系链基团包括由以下结构描述的MABC基团:



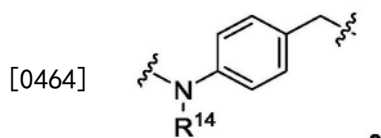
[0459] 在一些实施方案中,系链基团包括由以下结构描述的PABO基团:



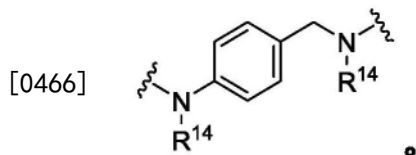
[0461] 在一些实施方案中,系链基团包括由以下结构描述的PABC基团:



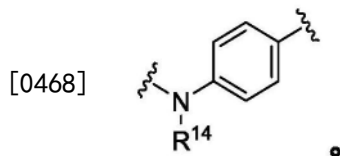
[0463] 在一些实施方案中,系链基团包括由以下结构描述的PAB基团:



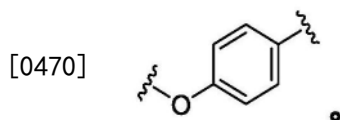
[0465] 在一些实施方案中,系链基团包括由以下结构描述的PABA基团:



[0467] 在一些实施方案中,系链基团包括由以下结构描述的PAP基团:



[0469] 在一些实施方案中,系链基团包括由以下结构描述的PHP基团:



[0471] 在某些实施方案中,每个 R^{14} 独立地选自氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、烷氧基、取代烷氧基、氨基、取代氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基;

[0472] 在某些实施方案中, R^{14} 为氢。在某些实施方案中,每个 R^{14} 为氢。在某些实施方案中, R^{14} 为烷基或取代烷基,例如 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 取代烷基,或 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 取代烷基,或 C_{1-3} 烷基或 C_{1-3} 取代烷基。在某些实施方案中, R^{14} 为烯基或取代烯基,例如 C_{2-6} 烯基或 C_{2-6} 取代烯基,或 C_{2-4} 烯基或 C_{2-4} 取代烯基,或 C_{2-3} 烯基或 C_{2-3} 取代烯基。在某些实施方案中, R^{14} 为炔基或取代炔基。在某些实施方案中, R^{14} 为烷氧基或取代烷氧基。在某些实施方案中, R^{14} 为氨基或取代氨基。在某些实施方案中, R^{14} 为羧基或羧基酯。在某些实施方案中, R^{14} 为酰基或酰氧基。在某些实施方案中, R^{14} 为酰氨基或氨酰基。在某些实施方案中, R^{14} 为烷基酰胺或取代烷基酰胺。在某些实施方案中, R^{14} 为磺酰基。在某些实施方案中, R^{14} 为硫代烷氧基或取代硫代烷氧基。在某些实施方案中, R^{14} 为芳基或取代芳基,例如 C_{5-8} 芳基或 C_{5-8} 取代芳基,例如 C_5 芳基或 C_5 取代芳基,或 C_6 芳基或 C_6 取代芳基。在某些实施方案中, R^{14} 为杂芳基或取代杂芳基,例如 C_{5-8} 杂芳基或 C_{5-8} 取代杂芳基,例如 C_5 杂芳基或 C_5 取代杂芳基,或 C_6 杂芳基或 C_6 取代杂芳基。在某些实施方案中, R^{14} 为环烷基或取代环烷基,例如 C_{3-8} 环烷基或 C_{3-8} 取代环烷基,例如 C_{3-6} 环烷基或 C_{3-6} 取代环烷基,或 C_{3-5} 环烷基或 C_{3-5} 取代环烷基。在某些实施方案中, R^{14} 为杂环基或取代杂环基,例如 C_{3-8} 杂环基或 C_{3-8} 取代杂环基,例如 C_{3-6} 杂环基或 C_{3-6} 取代杂环基,或 C_{3-5} 杂环基或 C_{3-5} 取代杂环基。

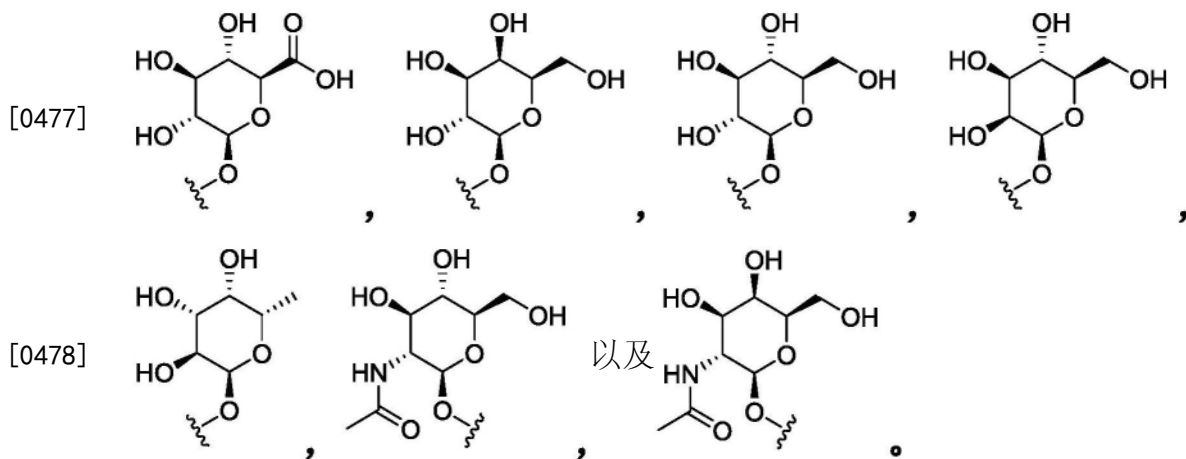
[0473] 在一些上述MABO、MABC、PABO、PABC、PAB、PABA、PAP和PHP系链结构的实施方案中,所述苯环可被一个或多个额外的基团取代,该额外的基团选自卤素、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、烷氧基、取代烷氧基、氨基、取代氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基

基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。

[0474] 在某些实施方案中,系链基团 T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 、 T^6 、 T^7 、 T^8 、 T^9 、 T^{10} 、 T^{11} 、 T^{12} 和/或 T^{13} 的一个或多个为各自任选地被糖苷或糖苷衍生物取代。例如,在一些情况下, T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 和 T^6 每个都任选地被糖苷取代。在一些情况下, T^7 、 T^8 、 T^9 、 T^{10} 、 T^{11} 、 T^{12} 和 T^{13} 每个都任选地被糖苷取代。在某些实施方案中,所述糖苷或糖苷衍生物选自葡萄糖苷酸、半乳糖苷、葡萄糖苷、甘露糖苷、岩藻糖苷、0-GlcNAc和0-GalNAc。

[0475] 在某些实施方案中,MABO、MABC、PABO、PABC、PAB、PABA、PAP和PHP系链结构可被选自糖苷和糖苷衍生物的一个或多个额外的基团取代。例如,在上述的MABO、MABC、PABO、PABC、PAB、PABA、PAP和PHP系链结构的一些实施方案中,苯环可被选自糖苷和糖苷衍生物的一个或多个额外的基团取代。在某些实施方案中,所述糖苷或糖苷衍生物选自葡萄糖苷酸、半乳糖苷、葡萄糖苷、甘露糖苷、岩藻糖苷、0-GlcNAc和0-GalNAc。

[0476] 例如,在一些实施方案中,糖苷或糖苷衍生物可选自以下结构:



[0479] 关于连接官能团, V^1 、 V^2 、 V^3 、 V^4 、 V^5 、 V^6 、 V^7 、 V^8 、 V^9 、 V^{10} 、 V^{11} 、 V^{12} 和 V^{13} ,在主题接头中可使用任何适合的连接官能团。目的连接官能团包括但不限于氨基、羰基、氨基、氧羰基、羧基、磺酰基、亚砷、磺酰氨基、氨基磺酰基、硫代、氧基、二氧磷基、氨基磷酸酯、硫代氨基磷酸酯等。在某些实施方案中, V^1 、 V^2 、 V^3 、 V^4 、 V^5 、 V^6 、 V^7 、 V^8 、 V^9 、 V^{10} 、 V^{11} 、 V^{12} 和 V^{13} 各自独立地选自共价键、 $-CO-$ 、 $-NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}(CH_2)_q-$ 、 $-NR^{15}(C_6H_4)-$ 、 $-CONR^{15}-$ 、 $-NR^{15}CO-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-SO_2NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}SO_2-$ 和 $-P(O)OH-$,其中 q 为从1到6的整数。在某些实施方案中, q 为1到6的整数(如,1、2、3、4、5或6)。在某些实施方案中, q 为1。在某些实施方案中, q 为2。在某些实施方案中, q 为3。在某些实施方案中, q 为4。在某些实施方案中, q 为5。在某些实施方案中, q 为6。

[0480] 在一些实施方案中,每个 R^{15} 独立地选自氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、烷氧基、取代烷氧基、氨基、取代氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代硫代烷氧基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。

[0481] 在某些实施方案中, R^{15} 为氢。在某些实施方案中,每个 R^{15} 为氢。在某些实施方案中, R^{15} 为烷基或取代烷基,例如 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 取代烷基,或 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 取代烷基,或 C_{1-3} 烷基或 C_{1-3} 取代烷基。在某些实施方案中, R^{15} 为烯基或取代烯基,例如 C_{2-6} 烯基或 C_{2-6} 取代烯基,

或 C_{2-4} 烯基或 C_{2-4} 取代烯基,或 C_{2-3} 烯基或 C_{2-3} 取代烯基。在某些实施方案中, R^{15} 为炔基或取代炔基。在某些实施方案中, R^{15} 为烷氧基或取代烷氧基。在某些实施方案中, R^{15} 为氨基或取代氨基。在某些实施方案中, R^{15} 为羧基或羧基酯。在某些实施方案中, R^{15} 为酰基或酰氧基。在某些实施方案中, R^{15} 为酰氨基或氨基酰基。在某些实施方案中, R^{15} 为烷基酰胺或取代烷基酰胺。在某些实施方案中, R^{15} 为磺酰基。在某些实施方案中, R^{15} 为硫代烷氧基或取代硫代烷氧基。在某些实施方案中, R^{15} 为芳基或取代芳基,例如 C_{5-8} 芳基或 C_{5-8} 取代芳基,例如 C_5 芳基或 C_5 取代芳基,或 C_6 芳基或 C_6 取代芳基。在某些实施方案中, R^{15} 为杂芳基或取代杂芳基,例如 C_{5-8} 杂芳基或 C_{5-8} 取代杂芳基,例如 C_5 杂芳基或 C_5 取代杂芳基,或 C_6 杂芳基或 C_6 取代杂芳基。在某些实施方案中, R^{15} 为环烷基或取代环烷基,例如 C_{3-8} 环烷基或 C_{3-8} 取代环烷基,例如 C_{3-6} 环烷基或 C_{3-6} 取代环烷基,或 C_{3-5} 环烷基或 C_{3-5} 取代环烷基。在某些实施方案中, R^{15} 为杂环基或取代杂环基,例如 C_{3-8} 杂环基或 C_{3-8} 取代杂环基,例如 C_{3-6} 杂环基或 C_{3-6} 取代杂环基,或 C_{3-5} 杂环基或 C_{3-5} 取代杂环基。

[0482] 在某些实施方案中,各个 R^{15} 独立地选自氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、羧基、羧基酯、酰基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。在这些实施方案中,烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、羧基、羧基酯、酰基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基为如上对于 R^{15} 所描述的。

[0483] 如上所述,在一些实施方案中, L^A 为包含 $-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-(T^4-V^4)_d-(T^5-V^5)_e-(T^6-V^6)_f$ 的第一接头,其中a、b、c、d、e和f各自独立地为0或1。

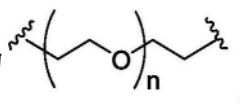
[0484] 在一些实施方案中,在第一接头 L^A 中:

[0485] T^1 选自 (C_1-C_{12}) 烷基和取代 (C_1-C_{12}) 烷基;

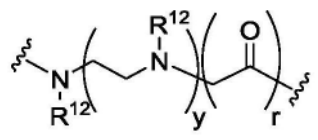
[0486] T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 和 T^6 各自独立地选自 (C_1-C_{12}) 烷基、取代 (C_1-C_{12}) 烷基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基、 $(EDA)_w$ 、 $(PEG)_n$ 、 $(AA)_p$ 、 $-(CR^{13}OH)_x$ 、4-氨基哌啶(4AP)、MABO、MABC、PABO、PABC、PAB、PABA、PAP、PHP、缩醛基团、二硫化物、肼和酯;和

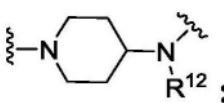
[0487] V^1 、 V^2 、 V^3 、 V^4 、 V^5 和 V^6 各自独立地选自共价键、 $-CO-$ 、 $-NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}(CH_2)_q-$ 、 $-NR^{15}(C_6H_4)-$ 、 $-CONR^{15}-$ 、 $-NR^{15}CO-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-SO_2NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}SO_2-$ 和 $-P(O)OH-$,其中q为从1到6的整数;

[0488] 其中:

[0489] $(PEG)_n$ 为, 其中n为1到30之间的整数;

[0490] EDA为具有以下结构的乙二胺部分:

[0491] , 其中y为从1到6的整数,r为0或1;

[0492] 4-氨基哌啶(4AP)为;

[0493] AA为氨基酸残基,其中p为1到20的整数;和

[0494] 每个 R^{12} 独立地选自氢、烷基、取代烷基、聚乙二醇部分、芳基和取代芳基,其中任意两个相邻的 R^{12} 基团可以环状连接形成哌嗪基环;

[0495] 每个 R^{13} 独立地选自氢、烷基、取代烷基、芳基和取代芳基;和

[0496] 每个 R^{15} 独立地选自氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、羧基、羧基酯、酰基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。

[0497] 在某些实施方案中, T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 和 T^6 ,以及 V^1 、 V^2 、 V^3 、 V^4 、 V^5 和 V^6 选自以下:

[0498] 其中:

[0499] T^1 为 (C_1-C_{12}) 烷基,且 V^1 为 $-CONH-$;

[0500] T^2 为取代 (C_1-C_{12}) 烷基,且 V^2 为 $-CO-$;

[0501] T^3 为AA且 V^3 不存在;

[0502] T^4 为PABC且 V^4 不存在;和

[0503] e和f各为0。

[0504] 在某些实施方案中,第一接头 L^A 的上述接头结构的左侧连至到胍基-吡啶基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分,且第一接头 L^A 的上述接头结构的右侧连接至第一药物或活性剂。

[0505] 如上所述,在一些实施方案中, L_B 为包含 $-(T^7-V^7)_g-(T^8-V^8)_h-(T^9-V^9)_i-(T^{10}-V^{10})_j-(T^{11}-V^{11})_k-(T^{12}-V^{12})_l-(T^{13}-V^{13})_m-$ 的第二接头,其中g、h、i、j、k、l和m各自独立地为0或1。

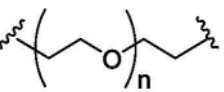
[0506] 在一些实施方案中,在第二接头 L^B 中:

[0507] T^7 选自 (C_1-C_{12}) 烷基和取代 (C_1-C_{12}) 烷基;

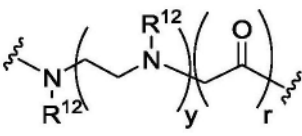
[0508] T^8 、 T^9 、 T^{10} 、 T^{11} 、 T^{12} 和 T^{13} 各自独立地选自 (C_1-C_{12}) 烷基、取代 (C_1-C_{12}) 烷基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基、 $(EDA)_w$ 、 $(PEG)_n$ 、 $(AA)_p$ 、 $-(CR^{13}OH)_x$ 、4-氨基哌啶(4AP)、MABO、MABC、PABO、PABC、PAB、PABA、PAP、PHP、缩醛基团、二硫化物、胍和酯;和

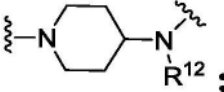
[0509] V^7 、 V^8 、 V^9 、 V^{10} 、 V^{11} 、 V^{12} 和 V^{13} 各自独立地选自共价键、 $-CO-$ 、 $-NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}(CH_2)_q-$ 、 $-NR^{15}(C_6H_4)-$ 、 $-CONR^{15}-$ 、 $-NR^{15}CO-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-SO_2NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}SO_2-$ 和 $-P(O)OH-$,其中q为从1到6的整数;

[0510] 其中:

[0511] $(PEG)_n$ 为, 其中n为1到30之间的整数;

[0512] EDA为具有以下结构的乙二胺部分:

[0513] , 其中y为从1到6的整数,r为0或1;

[0514] 4-氨基哌啶(4AP)为;

[0515] AA为氨基酸残基,其中p为1到20的整数;和

[0516] 每个 R^{12} 独立地选自氢、烷基、取代烷基、聚乙二醇部分、芳基和取代芳基,其中任意

两个相邻的 R^{12} 基团可以环状连接形成哌嗪基环；

[0517] 每个 R^{13} 独立地选自氢、烷基、取代烷基、芳基和取代芳基；和

[0518] 每个 R^{15} 独立地选自氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、羧基、羧基酯、酰基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。

[0519] 任何适合的系链基团可用于 T^7 、 T^8 、 T^9 、 T^{10} 、 T^{11} 、 T^{12} 和 T^{13} 。例如，上述与 T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 和 T^6 相关的系链基团中的任何一个可用于系链基团 T^7 、 T^8 、 T^9 、 T^{10} 、 T^{11} 、 T^{12} 和 T^{13} 。

[0520] 任何适合的连接官能团都可以用于 V^7 、 V^8 、 V^9 、 V^{10} 、 V^{11} 、 V^{12} 和 V^{13} 。例如，上述与 V^1 、 V^2 、 V^3 、 V^4 、 V^5 和 V^6 相关的任何连接官能团可用于连接官能团 V^7 、 V^8 、 V^9 、 V^{10} 、 V^{11} 、 V^{12} 和 V^{13} 。

[0521] 在某些实施方案中，每个 R^{13} 独立地选自氢、烷基、取代烷基、芳基和取代芳基。在这些实施方案中，烷基、取代烷基、芳基和取代芳基如上文针对 R^{13} 所描述的。

[0522] 在某些实施方案中，各个 R^{15} 独立地选自氢、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、羧基、羧基酯、酰基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基。在这些实施方案中，烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、羧基、羧基酯、酰基、芳基、取代芳基、杂芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基、杂环基和取代杂环基为如上对于 R^{15} 所描述的。在这些实施方案中，对于 R^{15} 的各种可能的取代基如上所述。

[0523] 在第二接头 L^B 的某些实施方案中，系链基团 T^7 、 T^8 、 T^9 、 T^{10} 、 T^{11} 、 T^{12} 或 T^{13} 的一个或多个任选地被糖苷或糖苷衍生物取代。在某些实施方案中，所述糖苷或糖苷衍生物选自葡萄糖苷酸、半乳糖苷、葡萄糖苷、甘露糖苷、岩藻糖苷、O-GlcNAc和O-GalNAc。

[0524] 在第二接头 L^B 的某些实施方案中，上述MABO、MABC、PABO、PABC、PAB、PABA、PAP和PHP系链结构可被选自糖苷和糖苷衍生物的一个或多个额外的基团取代。例如，在上述MABO、MABC、PABO、PABC、PAB、PABA、PAP和PHP系链结构的一些实施方案中，苯环可被选自糖苷和糖苷衍生物的一个或多个额外的基团取代。在某些实施方案中，所述糖苷或糖苷衍生物选自葡萄糖苷酸、半乳糖苷、葡萄糖苷、甘露糖苷、岩藻糖苷、O-GlcNAc和O-GalNAc。

[0525] 在某些实施方案中， T^7 、 T^8 、 T^9 、 T^{10} 、 T^{11} 、 T^{12} 和 T^{13} 和 V^7 、 V^8 、 V^9 、 V^{10} 、 V^{11} 、 V^{12} 和 V^{13} 选自以下：

[0526] 其中：

[0527] T^7 不存在且 V^7 为 $-NHC(=O)-$ ；

[0528] T^8 为 (C_1-C_{12}) 烷基，且 V^8 为 $-CONH-$ ；

[0529] T^9 为取代 (C_1-C_{12}) 烷基，且 V^9 为 $-CO-$ ；

[0530] T^{10} 为AA且 V^{10} 不存在；

[0531] T^{11} 为PABC且 V^{11} 不存在；和

[0532] l和m各为0。

[0533] 在某些实施方案中，第二接头 L^B 的上述接头结构的左侧连至到胍基-吡啶基或胍基-吡咯并-吡啶基缀合部分，且第二接头 L^B 的上述接头结构的右侧连接至第二药物或活性剂。

[0534] 在某些实施方案中，缀合物为抗体-药物缀合物，其中抗体和药物通过如上所述的接头连接在一起。在一些情况下，接头m（例如， L^A 和/或 L^B ）为可裂解接头。可裂解接头为包括

一个或多个可裂解部分的接头,其中可裂解部分包括一个或多个在某些条件下可以解离,从而将可裂解接头分成两个或更多个可分离部分的键。例如,可裂解部分可以包括一个或多个共价键,其在某些条件下可以解离或断裂,以将可裂解接头分成两个或更多个部分。因此,抗体-药物缀合物中包含的接头可以为可裂解接头,使得在适当的条件下,可裂解接头被裂解以在期望的药物作用靶点处从抗体分离或释放药物。

[0535] 在一些情况下,可裂解接头包括两个可裂解部分,例如第一可裂解部分和第二可裂解部分。可裂解部分可以被配置为使得需要裂解两个可裂解部分,以便在期望的药物作用靶点处从抗体分离或释放药物。例如,可裂解接头的裂解可以通过首先裂解两个可裂解部分中的一个,然后裂解两个可裂解部分中的另一个来实现。在某些实施方案中,可裂解接头包括第一可裂解部分和阻碍第一可裂解部分裂解的第二可裂解部分。所谓“阻碍裂解”是指未裂解的第二可裂解部分的存在降低了第一可裂解部分的裂解的可能性或基本上抑制了第一可裂解部分的裂解,从而基本上减少了可裂解接头的数量或防止了可裂解接头的裂解。例如,未裂解的第二可裂解部分的存在可以阻碍第一可裂解部分的裂解。第二可裂解部分的存在阻碍了第一可裂解部分的裂解,从而基本上减少了药物从抗体中的释放的量或防止药物从抗体中释放。例如,可以基本上减少或防止药物从抗体中过早释放,直到抗体-药物缀合物处于或接近期望的药物作用靶点。

[0536] 在一些情况下,由于第二可裂解部分阻碍第一可裂解部分的裂解,可裂解接头的裂解可以通过首先裂解第二可裂解部分然后裂解第一可裂解部分来实现。第二可裂解部分的裂解可以减少或消除对第一可裂解部分裂解的阻碍,从而允许第一可裂解部分被裂解。第一可裂解部分的裂解可以导致可裂解接头解离或分离成如上所述的两个或更多个部分,以从抗体-药物缀合物中释放药物。在一些情况下,在未裂解的第二可裂解部分的存在下基本上不发生第一可裂解部分的裂解。所谓基本上是指在未裂解的第二可裂解部分的存在下,发生约10%或更少的第一可裂解部分的裂解,例如,在未裂解的第二可裂解部分存在的情况下,发生约9%或更少,或约8%或更少,或约7%或更少,或约6%或更少,或约5%或更少,或约4%或更少,或约3%或更少,或约2%或更少,或约1%或更少,或约0.5%或更少,或约0.1%或更少的第一可裂解部分的裂解。

[0537] 换句话说,第二可裂解部分可以保护第一可裂解部分免于裂解。例如,未裂解的第二可裂解部分的存在可以保护第一可裂解部分免于裂解,并因此基本上减少或防止药物从抗体中过早释放,直到抗体-药物缀合物处于或接近期望的药物作用靶点。因此,第二可裂解部分的裂解暴露出第一可裂解部分(例如,使第一可裂解部分去保护),从而允许第一可裂解部分被裂解,这导致可裂解接头的裂解,因此在如上所述的期望的药物作用靶点处从抗体中分离或释放药物。在某些情况下,第二可裂解部分的裂解使第一可裂解部分暴露于随后的裂解,但第二可裂解部分的裂解本身并不导致可裂解接头的裂解(即,仍然需要第一可裂解部分的裂解来裂解可裂解接头)。

[0538] 可裂解接头中包含的可裂解部分可以各自为酶促可裂解部分。例如,第一可裂解部分可以为第一酶促可裂解部分,并且第二可裂解部分可以为第二酶促可裂解部分。酶促可裂解部分为可以通过酶的酶促作用分离成如上所述的两个或更多个部分的可裂解部分。酶促可裂解部分可以为可以通过酶的酶促作用裂解的任何可裂解部分,例如但不限于酯、肽、糖苷等。在一些情况下,裂解酶促可裂解部分的酶存在于期望的作用靶点处,例如待从

抗体-药物缀合物中释放的期望的药物作用靶点。在一些情况下,裂解酶促可裂解部分的酶在其他区域(例如,在全血、血浆或血清)中存在的量并不显著。因此,可以控制酶促可裂解部分的裂解,使得在期望的作用位点处发生基本上的裂解,而在其他区域或在抗体-药物缀合物到达期望作用位点之前不会显著地发生裂解。

[0539] 例如,如本文所述,本公开内容的抗体-药物缀合物可以用于治疗癌症,例如用于将癌症治疗药物递送至存在癌细胞的期望的作用位点。在某些情况下,酶(例如,裂解酯键的酯酶或裂解糖苷键的糖苷酶)可以为在癌细胞中过表达的癌症的生物标志物。某些酶在癌症中的过表达和由此的定位可以在本公开内容的抗体-药物缀合物的可裂解接头中包含酶促可裂解部分的背景下使用,以在期望的作用位点(即癌症(和过表达的酶)的位点)特异性释放药物。因此,在一些实施方案中,酶促可裂解部分为可以被癌细胞中过表达的酶裂解的可裂解部分(例如,酯或糖苷)。例如,该酶可以为酯酶。因此,在一些情况下,酶促可裂解部分为可以被酯酶裂解的可裂解部分(例如,酯)。在一些情况下,该酶可以为糖苷酶。因此,在一些情况下,酶促可裂解部分为可以被糖苷酶裂解的可裂解部分(例如,糖苷或糖苷衍生物)。

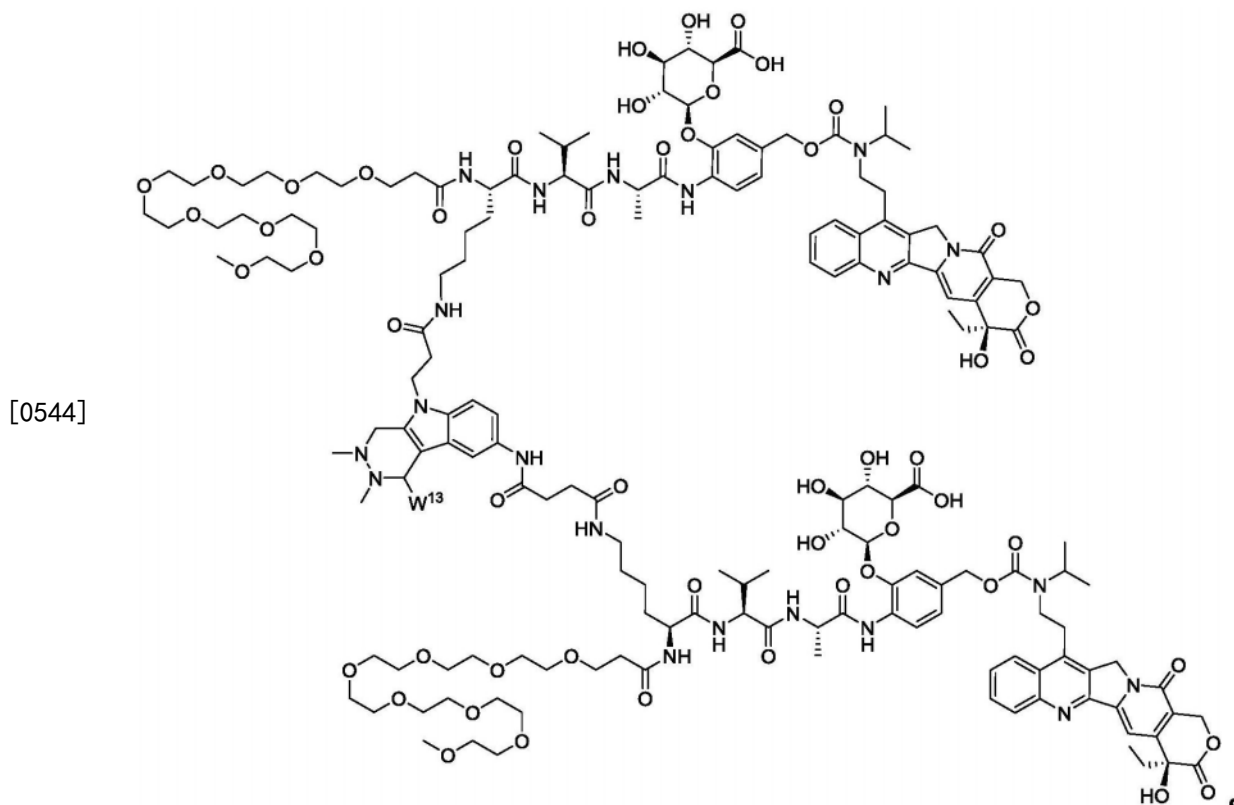
[0540] 在某些实施方案中,酶促可裂解部分为酯键。例如,上述第一可裂解部分(即,被第二可裂解部分保护免于过早裂解的可裂解部分)可以包括酯。未裂解的第二可裂解部分的存在可以保护第一可裂解部分(酯)免于被酯酶裂解,并因此基本上减少或防止药物从抗体中过早释放,直到抗体-药物缀合物处于或接近期望的药物作用靶点。在一些情况下,与第一可裂解部分相邻的接头的一部分连接至或包含取代基,其中该取代基包含第二可裂解部分。在一些情况下,第二可裂解部分包括糖苷或糖苷衍生物。

[0541] 在一些实施方案中,酶促可裂解部分为糖部分,例如糖苷(或糖基)或糖苷衍生物。在一些情况下,与不包含糖苷或糖苷衍生物的可裂解接头相比,糖苷或糖苷衍生物可以促进可裂解接头的亲水性的增加。糖苷或糖苷衍生物可以为适合用于可裂解接头并且可以通过酶的酶促作用裂解的任何糖苷或糖苷衍生物。例如,第二可裂解部分(即,保护第一可裂解部分免于过早裂解的可裂解部分)可以为糖苷或糖苷衍生物。例如,在一些实施方案中,第一可裂解部分包括酯并且第二可裂解部分包括糖苷或糖苷衍生物。在某些实施方案中,第二可裂解部分为选自葡萄糖苷酸、半乳糖苷、葡萄糖苷、甘露糖苷、岩藻糖苷、0-GlcNAc和0-GalNAc的糖苷或糖苷衍生物。在一些情况下,第二可裂解部分为葡萄糖苷酸。在一些情况下,第二可裂解部分为半乳糖苷。在一些情况下,第二可裂解部分为葡萄糖苷。在一些情况下,第二可裂解部分为甘露糖苷。在一些情况下,第二可裂解部分为岩藻糖苷。在一些情况下,第二可裂解部分为0-GlcNAc。在一些情况下,第二可裂解部分为0-GalNAc。

[0542] 糖苷或糖苷衍生物可以通过糖苷键连接(共价键合)至可裂解接头。糖苷键可以通过各种类型的键(例如但不限于O-糖苷键(O-糖苷)、N-糖苷键(糖基胺)、S-糖苷键(硫苷)或C-糖苷键(C-糖苷或C-糖基))将糖苷或糖苷衍生物连接至可裂解接头。在一些情况下,糖苷键为O-糖苷键(O-糖苷)。在一些情况下,糖苷或糖苷衍生物可以通过酶(例如,通过酶促介导的糖苷键水解)从其所连接的可裂解接头上裂解。糖苷或糖苷衍生物可以通过任何合适的酶从可裂解接头中去除或裂解,该酶能够对将糖苷或糖苷衍生物连接至可裂解接头的糖苷键进行裂解(水解)。可用于介导将糖苷或糖苷衍生物连接至可裂解接头的糖苷键的裂解(水解)的酶的实例为糖苷酶,例如葡萄糖苷酸酶、半乳糖苷酶、葡萄糖苷酶、甘露糖苷酶、岩藻糖

苷酶等。其他合适的酶也可用于介导将糖苷或糖苷衍生物连接至可裂解接头的糖苷键的裂解(水解)。在一些情况下,用于介导将糖苷或糖苷衍生物连接至可裂解接头的糖苷键的裂解(水解)的酶存在于抗体-药物缀合物的期望的药物作用位点处或附近。例如,该酶可以为存在于抗体-药物缀合物的药物的期望作用位点处或附近的细胞中的溶酶体酶,例如溶酶体糖苷酶。在一些情况下,该酶为存在于靶点处或附近的酶,该靶点存在介导第一可裂解部分的裂解的酶。

[0543] 根据本公开内容的缀合物的实例包括但不限于以下结构:



[0545] 上述结构中所示的任何化学实体、接头和缀合部分可以适应用于本主题化合物和缀合物。

[0546] 涉及胍基-吡啶基和胍基-吡咯并-吡啶基化合物以及用于生产缀合物的方法的额外公开内容可见于美国专利号9,310,374和美国专利号9,493,413,每篇专利的公开内容均通过引用的方式纳入本说明书。

[0547] 抗-MUC1抗体

[0548] 如上所述,主题缀合物可以包含抗-MUC1抗体作为取代基^{W2},其中抗-MUC1抗体的氨基酸序列已被修饰以包括2-甲酰甘氨酸(fGly)残基。如本文所用,氨基酸可以通过其标准名称、其标准三字母缩写和/或其标准一字母缩写来指代,例如:丙氨酸或Ala或A;半胱氨酸或Cys或C;天冬氨酸或Asp或D;谷氨酸或Glu或E;苯丙氨酸或Phe或F;甘氨酸或Gly或G;组氨酸或His或H;异亮氨酸或Ile或I;赖氨酸或Lys或K;亮氨酸或Leu或L;甲硫氨酸或Met或M;天冬酰胺或Asn或N;脯氨酸或Pro或P;谷氨酰胺或Gln或Q;精氨酸或Arg或R;丝氨酸或Ser或S;苏氨酸或Thr或T;缬氨酸或Val或V;色氨酸或Trp或W;和酪氨酸或Tyr或Y。

[0549] 根据一些实施方案,本公开内容的抗体特异性结合MUC1,并且包含:

[0550] 可变重链(VH)链,其包含具有以下序列的VH链的重链CDR 1-3(HCDR 1-3):

[0551] EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDHTMHWIKQRP GKGLEWMGYFYPRDDSTNYNEKFKGR VTLTADKSTDTAYMELSS LRSED TAVYYCARGRLRYALDYWGQGT LVT VSS (SEQ ID NO:1); 和

[0552] 可变轻链 (VL) 链, 其包含具有以下序列的 VL 链的轻链 CDR 1-3 (LCDR 1-3):

[0553] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVSSSYLYWYQQKPGQA PRLWIYGTSNLASGVPARFSGSG SGT DYT LT ISSLEPEDAAVYYCH QYAWSPPTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:2);

[0554] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVGSSNLYWYQQKPGQ APRLWIYRSTKLASGVPARFSGSG SGT DYT LT ISSLEPEDAAVYYC HQYRWPPTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:3); 或

[0555] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVSSSYLYWYQQKPGQA PRLWIIGTSNLASGVPARFSGSG SGT DYT LT ISSLEPEDAAVYYCHQ YSWPPTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:4)。

[0556] HCDR 1-3 和 LCDR 1-3 可以如 Chothia、Kabat 或 IMT 命名法所定义。如根据列出的命名法定义的本文公开的抗-MUC1 抗体的 HCDR 1-3 可以为如下所示:

[0557] 表2:

抗-MUC1抗体	Chothia	Kabat	IMGT
HCDR1	GYTFTDH (SEQ ID NO:7)	DHTMH (SEQ ID NO:17)	GYTFTDHT (SEQ ID NO:34)
HCDR2	YPRDDS (SEQ ID NO:8)	YFYPRDDSTNYNEKFKG (SEQ ID NO:18)	FYPRDDST (SEQ ID NO:44)
HCDR3	GLRYALDY (SEQ ID NO:9)	GLRYALDY (SEQ ID NO:9)	ARGLRYALDY (SEQ ID NO:45)

[0559] 本文公开的抗-MUC1 抗体的 LCDR 1-3 可以如根据命名法定义列于表3-5中。

[0560] 表3

抗-MUC1抗体	Chothia和Kabat	IMGT
LCDR1	RASSSVSSSYLY (SEQ ID NO:10)	SSVSSSY (SEQ ID NO:33)
LCDR2	GTSNLAS (SEQ ID NO:11)	GT
LCDR3	HQYAWSPPT (SEQ ID NO:12)	HQYAWSPPT (SEQ ID NO:12)

[0562] 表4

	抗-MUC1抗体	Chothia和Kabat	IMGT
	LCDR1	RASSSVGSSNLY (SEQ ID NO:13)	SSVGSSN (SEQ ID NO:46)
[0563]	LCDR2	RSTKLAS (SEQ ID NO:14)	RS
	LCDR3	HQYRWSPPT (SEQ ID NO:15)	HQYRWSPPT (SEQ ID NO:15)

[0564] 表5

	抗-MUC1抗体	Chothia和Kabat	IMGT
	LCDR1	RASSVSSSYLY (SEQ ID NO:10)	SSVSSSY (SEQ ID NO:33)
[0565]	LCDR2	GTSNLAS (SEQ ID NO:11)	GT
	LCDR3	HQYSWSPPT (SEQ ID NO:16)	HQYSWSPPT (SEQ ID NO:16)

[0566] 在某些实施方案中,抗-MUC1抗体的VH链包含本文所述的HCDR 1-3,并且抗-MUC1抗体的VL链包含LCDR 1-3,其中

[0567] LCDR1包含氨基酸序列RASSSVG/SSSYLY (SEQ ID NO:41);

[0568] LCDR2包含氨基酸序列G/RT/SS/TN/KLAS (SEQ ID NO:42);

[0569] LCDR3包含氨基酸序列HQYA/R/SWSPPT (SEQ ID NO:43),根据Kabat定义。

[0570] 在某些实施方案中,抗-MUC1抗体的VH链包含如本文所述的HCDR 1-3,并且包含与SEQ ID NO:1中所示的氨基酸序列具有80%或更大、85%或更大、90%或更大、95%或更大、99%或更大,或100%的序列同一性的氨基酸序列。在某些实施方案中,本公开内容的抗-MUC1抗体的VH链和SEQ ID NO:1之间的任何氨基酸差异可以限于CDR之外的区域,例如在一个或多个框架区(FR)中,例如FR1、FR2、FR3和/或FR4。

[0571] 在某些实施方案中,抗-MUC1抗体的VL链包含如本文表3中所示的LCDR 1-3,并且包含与SEQ ID NO:2中所示的氨基酸序列具有80%或更大、85%或更大、90%或更大、95%或更大、99%或更大,或100%的序列同一性的氨基酸序列。

[0572] 在某些实施方案中,抗-MUC1抗体的VL链包含如本文表4中所示的LCDR 1-3,并且包含与SEQ ID NO:3中所示的氨基酸序列具有80%或更大、85%或更大、90%或更大、95%或更大、99%或更大,或100%的序列同一性的氨基酸序列。

[0573] 在某些实施方案中,抗-MUC1抗体的VL链包含如本文表5中所示的LCDR 1-3,并且包含与SEQ ID NO:4中所示的氨基酸序列具有80%或更大、85%或更大、90%或更大、95%或更大、99%或更大,或100%的序列同一性的氨基酸序列。

[0574] 在某些实施方案中,本公开内容的抗-MUC1抗体的VL链与SEQ ID NO:2、3和4之间

的任何氨基酸差异可以限于CDR之外的区域,例如在一个或多个框架区(FR)中,例如FR1、FR2、FR3和/或FR4。

[0575] 在某些实施方案中,本公开内容的抗-MUC1抗体可以包含:a)重链,其包含具有SEQ ID NO:1中所示的氨基酸序列的VH区;b)轻链,其包含具有SEQ ID NO:2、3或4中所示的氨基酸序列的VL区。

[0576] 在某些实施方案中,本公开内容的抗-MUC1抗体可以包含:a)重链,其包含具有SEQ ID NO:1中所示的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:57-73中任一项所示的氨基酸序列的重链恒定区;b)轻链,其包含具有SEQ ID NO:2、3或4中所示的氨基酸序列的VL区。

[0577] 在某些实施方案中,本公开内容的抗-MUC1抗体可以包含:a)重链,其包含具有SEQ ID NO:1中所示的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:57-73中任一项所示的氨基酸序列的重链恒定区,其中恒定区中序列LCTPSR中存在的C被fGly替换;b)轻链,其包含具有SEQ ID NO:2、3或4中所示的氨基酸序列的VL区。

[0578] 在某些实施方案中,本公开内容的抗-MUC1抗体可以包含:a)重链,其包含具有SEQ ID NO:1中所示的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:57-73中任一项所示的氨基酸序列的重链恒定区,其中恒定区中序列LCTPSR中存在的C被fGly'替换,其中fGly'是指与目的部分缀合的氨基酸残基;b)轻链,其包含具有SEQ ID NO:2、3或4中所示的氨基酸序列的VL区。

[0579] 在某些实施方案中,本公开内容的抗-MUC1抗体可以包含:a)重链,其包含含有与SEQ ID NO:1中所示的氨基酸序列至少85%同一(例如,至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一)的氨基酸序列的VH区,和含有与SEQ ID NO:57-73中任一项所示的氨基酸序列至少85%同一(例如,至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一)的氨基酸序列的重链恒定区,其中该恒定区中序列LCTPSR中存在的C被fGly'替换,其中fGly'指与目的部分缀合的氨基酸残基;和b)轻链,其包含含有与SEQ ID NO:2、3或4中所示的氨基酸序列至少85%同一(例如,至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一)的氨基酸序列的VL区。

[0580] 经ELISA测量,本公开内容的抗-MUC1抗体可以以约0.4-1nM(例如,0.5-0.9nM、0.6-0.8nM或0.65-0.75nM)的EC50结合MUC-1。提供半最大响应(例如,最大荧光强度的一半)的抗体浓度被测量为EC50。MUC-1可以为如实施例1中所公开的20mer糖基化MUC1肽。

[0581] 如实施例1中公开的,本公开内容的抗-MUC1抗体可以结合20mer MUC1糖基化肽,但不结合重组60mer MUC1非糖基化肽。

[0582] 本公开内容的抗-MUC1抗体可以结合癌性组织,并且可以显示出不结合(例如,通过免疫组织化学测量的不显著结合或通过免疫组织化学检测不到结合)正常组织。例如,本文所述的抗-MUC1抗体可以结合具有癌细胞的人胃、乳腺和/或肺组织,同时显示出与不具有癌细胞的人胃、乳腺和/或肺组织的检测不到的结合。

[0583] 抗体可用于多种研究、诊断和治疗应用,包括用于执行美国专利申请号US20120141375A1、US20160145343A1中描述的任何方法,所述专利的全部公开内容出于所有目的通过引用的方式纳入本说明书。

[0584] 一种主题抗体特异性结合MUC1多肽,其中该表位包含人MUC1抗原内的氨基酸残基,该人MUC1抗原包含SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列:

[0585] MTPGTQSPFFLLLLLTVLTVVTGSGHASSTPGGEKETSATQRSSVPSSTEKNAVSMSTSSVLSSHSPGS

GSSTTQGGDVTLLAPATEPASGSAATWGQDVTSVPVTRPALGSTTPPAHDVTSAPDNKPAGSTAPPAHGVTSPDT
RPAGSTAPPAHGVTSPDTRPAGSTAPPAHGVTSPDTRPAGSTAPPAHGVTSPDTRPAGSTAPPAHGVT
APDTRPAGSTAPPAHGVTSPDTRPAGSTAPPAHGVTSPDTRPAGSTAPPAHGVTSPDTRPAGSTAPPAH
GVTSAPDTRPAGSTAPPAHGVTSPDTRPAGSTAPPAHGVTSPDTRPAGSTAPPAHGVTSPDTRPAGSTA
PPAHGVTSAPDTRPAGSTAPPAHGVTSPDTRPAGSTAPPAHGVTSPDTRPAGSTAPPAHGVTSPDTRPAP
GSTAPPAHGVTSPDTRPAGSTAPPAHGVTSPDTRPAGSTAPPAHGVTSPDTRPAGSTAPPAHGVTSPDT
RPAGSTAPPAHGVTSPDTRPAGS TAPPAHGVTSPDTRPAGSTAPPAHGVTSPDTRPAGSTAPPAHGVT
SAPDTRPAGSTAPPAHGVTSPDTRPAGSTAPPAHGVTSPDTRPAGSTAPPAHGVTSPDTRPAGSTAPPA
HGVTSPDTRPAGSTAPPAHGVTSPDTRPAGSTAPPAHGVTSPDTRPAGSTAPPAHGVTSPDTRPAGST
APPAHGVTSPDTRPAGSTAPPAHGVTSPDTRPAGSTAPPAHGVTSPDTRPAGSTAPPAHGVTSPDTRPA
PGSTAPPAHGVTSPDTRPAGSTAPPAHGVTSPDTRPAGSTAPPAHGVTSPDTRPAGSTAPPAHGVTSPD
TRPAGSTAPPAHGVTSPDTRPAGSTAPPAHGVTSPDNRPALGSTAPPVHNVTASGSASGSASTLVHNGTSA
RATTTASKSTPFSSIPSHSDTPTTLASHSTKTDASSTHHSSVPLTSSNHSTSPQLSTGVSFFFLSFHISNLQFN
SSLED PSTDY YQELQRDI SEMFLQIYKQGGLGLSNIKFRPGSVVVQLTLAFREGTINVHDVETQFNQYKTEAASR
YNLTISDVSVDVFPFSAQSGAGVPGWGIALLVLVCVLVALAIVYLIALAVCQCRRKNYGQLDIFPARDTYHPMS
EYPTYHTHGRYVPPSSSTRSPYEKVSAGNGGSSL SYTNPAVAATSANL (SEQ ID NO:20)

[0586] 在某些实施方案中,本文公开的抗-MUC1抗体结合的MUC1表位为糖基化的。在某些实施方案中,本文公开的抗-MUC1抗体结合的MUC1表位存在于由肺外腺癌细胞系(epipulmonary adenocarcinoma cell line)和肺上皮细胞(pulmonary epithelial cell)表达的MUC1上。

[0587] 主题抗体表现出与MUC1的高亲和力结合。例如,主题抗体以至少约 10^{-7} M、至少约 10^{-8} M、至少约 10^{-9} M、至少约 10^{-10} M、至少约 10^{-11} M,或至少约 10^{-12} M,或大于 10^{-12} M的亲和力结合MUC1。主题抗体以约 10^{-7} M至约 10^{-8} M、约 10^{-8} M至约 10^{-9} M、约 10^{-9} M至约 10^{-10} M、约 10^{-10} M至约 10^{-11} M,或约 10^{-11} M至约 10^{-12} M,或大于 10^{-12} M的亲和力结合存在于MUC1上的表位。

[0588] 本公开内容的抗-MUC1抗体在一些情况下可以诱导在其细胞表面表达MUC1的细胞的细胞凋亡。

[0589] “MUC1抗原”或“MUC1多肽”可以包含与SEQ ID NO:20具有至少约75%、至少约80%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%的氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0590] 如本文所用,术语“免疫球蛋白”是指由一种或多种基本上由免疫球蛋白基因编码的多肽组成的蛋白质。公认的人免疫球蛋白基因包括 κ 、 λ 、 α (IgA1和IgA2)、 γ (IgG1、IgG2、IgG3、IgG4)、 δ 、 ϵ 和 μ 恒定区基因;和许多免疫球蛋白可变区基因。全长免疫球蛋白轻链(约25kD或214个氨基酸)由N-端的可变区基因(约110个氨基酸)和C-端的 κ 或 λ 恒定区编码。全长免疫球蛋白重链(约50kD或446个氨基酸)由N-端的可变区基因(约116个氨基酸)和C-端的其他前述恒定区基因之一(例如, γ (编码约330个氨基酸))编码。在一些实施方案中,主题抗体包含全长免疫球蛋白重链和全长免疫球蛋白轻链。

[0591] 在一些实施方案中,主题抗体不包含全长免疫球蛋白重链和全长免疫球蛋白轻链,而为包含全长免疫球蛋白重链和全长免疫球蛋白轻链的抗原结合片段。在一些实施方案中,抗原结合片段包含在分开的多肽链上;在其他实施方案中,抗原结合片段包含在单个

多肽链内。如上所述,术语“抗原结合片段”是指能够特异性结合MUC1的全长抗体的一个或多个片段。结合片段的实例包括(i) Fab片段(由VL、VH、CL和CH1结构域组成的单价片段);(ii) $F(ab')_2$ 片段(包含通过铰链区的二硫键连接的两个Fab片段的二价片段);(iii) Fd片段(由VH和CH1结构域组成);(iv) Fv片段(由抗体单臂(single arm)的VH和VL结构域组成);(v) dAb片段(由VH结构域组成);(vi) 分离的CDR;(vii) 单链Fv(scFv)(由抗体单臂的VH和VL结构域组成,该VH和VL结构域使用重组手段通过合成接头连接,使得该VH和VL结构域配对形成单价分子);(viii) 双体(由两个scFv组成,其中VH和VL结构域被连接使得它们不会配对形成单价分子;每个scFv对的VH与另一个scFv的VL结构域配对形成二价分子);(ix) 双特异性抗体(由至少两个抗原结合区组成,每个区结合不同的表位)。在一些实施方案中,主题抗体片段为Fab片段。在一些实施方案中,主题抗体片段为单链抗体(scFv)。

[0592] 在一些实施方案中,主题抗体为重组或修饰的抗体,例如嵌合的、人源化的、去免疫的(deimmunized)或体外生成的抗体。本文所用的术语“重组的”或“修饰的”抗体旨在包括通过重组手段制备、表达、产生或分离的全部抗体,例如(i) 使用转染至宿主细胞中的重组表达载体表达的抗体;(ii) 从重组的、组合抗体文库中分离的抗体;(iii) 从人免疫球蛋白基因转基因的动物(例如,小鼠)中分离的抗体;(iv) 通过涉及将人免疫球蛋白基因序列剪接至其他DNA序列的任何其他手段制备、表达、产生或分离的抗体。这样的重组抗体包括人源化的、CDR移植的、嵌合的、去免疫的和体外生成的抗体;并且可以任选地包括来源于人种系免疫球蛋白序列的恒定区。

[0593] 全长双特异性抗体可以例如使用以下方式产生:通过在每个半分子中的重链CH3界面处引入取代,以有利于具有不同特异性的两个抗体半分子在体外无细胞环境中或使用共表达来形成异二聚体,以在两个单特异性二价抗体之间进行Fab臂交换(或半分子交换)。Fab臂交换反应为二硫键异构化反应和CH3结构域的解离-缔合的结果。亲本单特异性抗体铰链区的重链二硫键被还原。所得到的一个亲本单特异性抗体的游离半胱氨酸与第二个亲本单特异性抗体分子的半胱氨酸残基形成重链间二硫键,并且同时亲本抗体的CH3结构域通过解离-缔合释放和再形成。Fab臂的CH3结构域可被工程化以有利于异二聚化而不是同二聚化。所得产物为具有两个Fab臂或半分子的双特异性抗体,每个Fab臂或半分子结合不同的表位。

[0594] “杵臼结构(knob-in-hole)”策略(参见,例如PCT国际公开号W0 2006/028936)可以用于生成全长双特异性抗体。简而言之,在人IgG中形成CH3结构域界面的选定氨基酸可以在影响CH3结构域相互作用的位置处突变,从而促进异二聚体形成。将具有小侧链(臼(hole))的氨基酸引入特异性结合第一抗原的抗体的重链中,并将具有大侧链(杵(knob))的氨基酸引入特异性结合第二抗原的抗体的重链中。两种抗体共表达后,由于带有“臼”的重链与带有“杵”的重链优先相互作用而形成异二聚体。形成杵和臼的示例性CH3取代对(substitution pair)(表示为第一重链的第一CH3结构域中的修饰位置/第二重链的第二CH3结构域中的修饰位置)为:T366Y/F405A、T366W/F405W、F405W/Y407A、T394W/Y407T、T394S/Y407A、T366W/T394S、F405W/T394S和T366W/T366S/L368A/Y407V。

[0595] 可以使用其他策略,例如通过在一个CH3表面取代带正电残基,并在第二CH3表面上取代带负电残基,使用静电相互作用促进重链异二聚化,如美国专利公开号US2010/0015133;美国专利公开号US2009/0182127;美国专利公开号US2010/028637或美国专利公

开号US2011/0123532中所述。在其他策略中,可以通过以下取代(表示为第一重链的第一CH3结构域中的修饰位置/第二重链的第二CH3结构域中的修饰位置)来促进异二聚化:L351Y/F405A/Y407V/T394W、T366I/K392M/T394W/F405A/Y407V、T366L/K392M/T394W/F405A/Y407V、L351Y/Y407A/T366A/K409F、L351Y/Y407A/T366V/K409F、Y407A/T366A/K409F或T350V/L351Y/F405A/Y407V、T350V/T366L/K392L/T394W,如美国专利公开号US2012/0149876或美国专利公开号US2013/0195849中所述。

[0596] 还提供了单链双特异性抗体。在一些实施方案中,本公开内容的单链双特异性抗体为双特异性scFv。主题抗体可以为人源化的。恒定区,如果存在,也可以基本上或完全来自人免疫球蛋白。

[0597] 制备人源化抗体的方法为本领域已知的。将小鼠CDR替换到人可变结构域框架中可以使保留其正确的空间取向,其中例如人可变结构域框架采用与小鼠可变框架(其为CDR的来源)相同或相似的构象。这可以通过从人抗体获得人可变结构域来实现,该人抗体的框架序列与鼠可变框架结构域(其为CDR的来源)表现出高度的序列同一性。重链和轻链可变框架区可以源自相同或不同的人抗体序列。人抗体序列可以为天然存在的人抗体的序列或者可以为几种人抗体的共有序列。

[0598] 鉴定出鼠供体免疫球蛋白和适当的人受体免疫球蛋白的互补决定区后,下一步为确定这些组分中的哪些残基(如果有的话)应该被取代,以优化所得的人源化抗体的特性。一般来说,应尽量减少用鼠氨基酸残基取代人氨基酸残基,因为鼠残基的引入增加了抗体在人中引发人抗鼠抗体(human-anti-mouse-antibody, HAMA)反应的风险。可以实施本领域公认的确免疫应答的方法来监测特定患者或临床试验期间的HAMA反应。施用人源化抗体的患者可以在所述疗法的开始时和整个施用过程中进行免疫原性评估。例如,使用本领域已知的方法,包括表面等离子共振技术(BIACORE)和/或固相ELISA分析,通过检测来自患者的血清样品中针对人源化治疗试剂的抗体来测量HAMA应答。在许多实施方案中,主题人源化抗体基本上不会在人受试者中引发HAMA反应。

[0599] 基于它们对CDR构象和/或与抗原的结合的可能影响,选择来自人可变区框架残基的某些氨基酸进行取代。鼠CDR区与人可变框架区的非天然并置(unnatural juxtaposition)可能导致非天然构象抑制(conformational restraint),除非通过取代某些氨基酸残基来校正,否则会导致结合亲和力的丧失。用于取代的氨基酸残基的选择可以部分地通过计算机建模来确定。用于产生免疫球蛋白分子的三维图像的计算机硬件和软件为本领域中已知的。一般来说,分子模型为从免疫球蛋白链或其结构域的已解析结构开始产生的。将待建模的链与已解析的三维结构的链或结构域进行氨基酸序列相似性比较,并选择显示出更大序列相似性的链或结构域作为构建分子模型的起点。选择共享至少50%序列同一性的链或结构域用于建模,并且优选地选择共享至少60%、70%、80%、90%或更大序列同一性的链或结构域用于建模。修饰已解析的起始结构,以允许建模的免疫球蛋白链或结构域中的实际氨基酸与起始结构中的氨基酸之间存在差异。然后将修饰的结构组装成复合免疫球蛋白。最后,通过能量最小化并验证所有原子彼此之间的距离是否在适当的范围内以及键长和角度是否在化学上可接受的限度内,对模型进行了完善。

[0600] 当如上文Kabat所定义的框架残基构成如上文Chothia所定义的结构环残基时,可以选择存在于小鼠抗体中的氨基酸用于取代到人源化抗体中。“邻近CDR区”的残基包括紧

邻人源化免疫球蛋白链一级序列中的一个或多个CDR的位置中的氨基酸残基,例如,紧邻如Kabat所定义的CDR或如Chothia所定义的CDR的位置中的氨基酸残基(参见,例如Chothia和Lesk JMB 196:901(1987))。这些氨基酸特别有可能与CDR中的氨基酸相互作用,并且如果从受体中选择,则会扭曲供体CDR并降低亲和力。此外,相邻的氨基酸可以直接与抗原相互作用(Amit等人,Science,233:747(1986)),并且从供体中选择这些氨基酸对于保留在原始抗体中提供亲和力的所有抗原接触可能是可取的。

[0601] 在一些实施方案中,主题抗体包含scFv多聚体(multimer)。例如,在一些实施方案中,主题抗体为scFv二聚体(例如,包含两个串联scFv(scFv₂))、scFv三聚体(例如,包含三个串联scFv(scFv₃))、scFv四聚体(例如,包含四个串联scFv(scFv₄)),或者为超过四个scFv的多聚体(例如,串联的)。scFv单体可以通过长度为约2个氨基酸至约10个氨基酸(例如,长度为2个氨基酸、3个氨基酸、4个氨基酸、5个氨基酸、6个氨基酸、7个氨基酸、8个氨基酸、9个氨基酸,或10个氨基酸)的接头串联连接。合适的接头包括例如(Gly)_x(其中x为2至10的整数)、甘氨酸-丝氨酸聚合物等。

[0602] 在某些实施方案中,抗体通过可裂解或不可裂解接头与试剂缀合。适合使用主题抗体的接头包括“柔性接头”。如果存在的话,接头分子通常具有足够的长度以允许连接区域之间的一些柔性移动。接头分子一般约为6-50个原子长。接头分子还可以为例如芳基乙炔、含有2-10个单体单元的乙二醇低聚物、二胺、二酸、氨基酸或其组合。根据本公开内容,可以使用能结合多肽的其他接头分子。

[0603] 根据一些实施方案,该接头为一种化学不稳定的接头,例如在中性pH(血液pH 7.3-7.5)下稳定但在内化到靶细胞(例如,癌细胞)的温和的酸性内体(pH 5.0-6.5)和溶酶体(pH 4.5-5.0)中时发生水解的酸可裂解接头。化学不稳定的接头包括但不限于基于脲的接头、基于脒的接头、基于碳酸盐的接头、基于酯的接头等。在某些实施方案中,接头为酶不稳定的接头,例如在血流中稳定但在内化到靶细胞中时,例如通过靶细胞(例如,癌细胞)的溶酶体中的溶酶体蛋白酶(例如,组织蛋白酶或纤溶酶)发生酶裂解的酶不稳定的接头。酶不稳定接头包括但不限于包含肽键的接头,例如基于二肽的接头,例如缬氨酸-瓜氨酸(Vc)接头,例如马来酰亚胺己酰基-缬氨酸-瓜氨酸-对-氨基苄基(MC-vc-PAB)接头、缬氨酰-丙氨酰-对-氨基苄氧基(Val-Ala-PAB)接头等。

[0604] 在一些实施方案中,主题抗体包含免疫球蛋白恒定区(例如,Fc区)。Fc区(如果存在)可以为Fc区。如果存在恒定区,则抗体可以同时含有轻链和重链恒定区。本文所述的抗体包括具有所有类型恒定区的抗体,包括IgM、IgG、IgD、IgA和IgE,以及任何同种型,包括IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。合适的重链Fc区的一个实例为人同种型IgG1 Fc。轻链恒定区可以为λ或κ。主题抗体(例如,主题人源化抗体)可以包含来自多于一种类别或同种型的序列。抗体可以表达为含有两条轻链和两条重链的四聚体,为单独的重链、轻链,为Fab、Fab'F(ab')₂和Fv,或为其中重链和轻链可变结构域通过间隔区(spacer)连接的单链抗体。

[0605] 在一些实施方案中,本公开内容的抗-MUC1抗体可以包括在Fc区中引入的一个或多个氨基酸取代。在一些实施方案中,一个或多个氨基酸取代可以位于Fc区中的位置239、298、326、330和332处。在一些实施方案中,本公开内容的抗-MUC1抗体可以包括在Fc区中引入的一个或多个以下氨基酸取代:I332E;S239D/A330L/I332E;S239D/S298A/I332E;S239D/K326T/I332E;S239D/S298A/K326T/I332E;或S239D/A330L/I332E/D356E/L358M。

[0606] 在一些实施方案中,主题抗体在羧基端包含游离的硫醇(-SH)基,其中游离的硫醇基可用于将抗体连接至第二多肽(例如,另一种抗体,包括主题抗体)、支架(scaffold)、载体等。

[0607] 在一些实施方案中,主题抗体包含一种或多种非天然存在的氨基酸。在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸包含羰基、乙酰基、氨氧基、胍基、酰胍基、氨基脒基、叠氮基或炔基。包含非天然存在的氨基酸可以提供与聚合物、第二多肽、支架等的连接。这样的非天然存在的氨基酸的实例包括但不限于N-乙酰葡萄糖胺基-L-丝氨酸、N-乙酰葡萄糖胺基-L-苏氨酸和O-磷酸酪氨酸。

[0608] 本公开内容还提供了具有连接的目的部分(例如,可检测标记、药物、半衰期延长部分等)的抗-MUC1抗体。抗体的修饰可以通过多种合成和/或重组方法来完成。连接至抗体的一个或多个部分可以提供多种功能或特征中的一种或多种。示例性的部分包括可检测标记(例如,染料标记(例如,发色团、荧光团)、生物物理探针(自旋标记、核磁共振(NMR)探针)、荧光共振能量转移(FRET)型标记(例如,FRET对的至少一个成员,包括荧光团/猝灭剂对的至少一个成员)、生物发光共振能量转移(BRET)型标记(例如,BRET对的至少一个成员)、免疫可检测标签(例如,FLAG、His(6)等);水溶性聚合物(例如,聚乙二醇化);纯化标签(例如,通过亲和层析促进分离(例如,FLAG表位的连接);膜定位结构域(例如,脂质或糖磷脂酰肌醇(GPI)-型锚);固定化标签(例如,以促进多肽连接至表面,包括选择性连接);药物(例如,例如通过将药物连接至抗体以促进药物靶向)等。

[0609] 在一些实施方案中,主题抗体与聚合物(例如,除多肽之外的聚合物)连接(例如,共价连接)。合适的聚合物包括例如生物相容性聚合物和水溶性生物相容性聚合物。合适的聚合物包括合成聚合物和天然存在的聚合物。合适的聚合物包括例如取代或未取代的直链或支链聚亚烷基、聚亚烯基或聚氧化烯聚合物,或者支链或无支链的多糖,例如同多糖或杂多糖。合适的聚合物包括,例如,乙烯-乙醇共聚物(通常称作通用名EVOH或商品名EVAL);聚甲基丙烯酸丁酯;聚(羟基戊酸酯);聚(L-乳酸);聚己内酯;聚(丙交酯-co-乙交酯)(poly(lactide-co-glycolide));聚(羟基丁酸酯);聚(羟基丁酸酯-co-戊酸酯);聚二噁烷酮;聚原酸酯(polyorthoester);聚酸酐;聚(乙醇酸);聚(D,L-乳酸);聚(乙醇酸-co-三亚甲基碳酸酯);聚磷酸酯;聚磷酸酯氨基甲酸酯;聚(氨基酸);氰基丙烯酸酯;聚(三亚甲基碳酸酯);聚(亚氨碳酸酯);共聚(醚-酯)(例如,聚(环氧乙烷)-聚(乳酸)(PEO/PLA)共聚物);聚亚烷基草酸酯;聚磷腈;生物分子,例如纤维蛋白、纤维蛋白原、纤维素、淀粉、胶原和透明质酸;聚氨基甲酸酯;硅酮;聚酯;聚烯烃;聚异丁烯和乙烯- α 烯烃共聚物;丙烯酸聚合物和共聚物;卤乙烯聚合物和共聚物,例如聚氯乙烯;聚乙烯醚,例如聚乙烯甲醚;聚偏二卤乙烯,例如聚偏二氟乙烯和聚偏二氯乙烯;聚丙烯腈;聚乙烯酮;聚乙烯芳香族化合物,例如聚苯乙烯;聚乙烯酯,例如聚乙酸乙烯酯;乙烯基单体的共聚物以及乙烯基单体与烯烃的共聚物,例如乙烯-甲基丙烯酸甲酯共聚物、丙烯腈-苯乙烯共聚物、ABS树脂、乙烯-乙酸乙烯酯共聚物;聚酰胺,例如尼龙66和聚己内酰胺;醇酸树脂;聚碳酸酯;聚甲醛;聚酰亚胺;聚醚;环氧树脂;聚氨基甲酸酯;人造丝(rayon);人造丝-三乙酸酯;纤维素;醋酸纤维素;丁酸纤维素;醋酸丁酸纤维素;赛璐玢(cellophane);硝酸纤维素;丙酸纤维素;纤维素醚类;无定形Teflon;聚(乙二醇)和羧甲基纤维素。

[0610] 合适的合成聚合物包括未取代和取代的直链或支链聚(乙二醇)、聚(丙二醇)聚

(乙烯醇),及其衍生物,例如取代的聚(乙二醇),例如甲氧基聚(乙二醇),及其衍生物。合适的天然存在的聚合物包括例如白蛋白、直链淀粉、葡聚糖、糖原,及其衍生物。

[0611] 合适的聚合物的平均分子量的范围可为500Da至50000Da,例如5000Da至40000Da,或25000至40000Da。例如,在一些实施方案中,当主题抗体包含聚(乙二醇)(PEG)或甲氧基聚(乙二醇)聚合物时,该PEG或甲氧基聚(乙二醇)聚合物的分子量可以在约0.5千道尔顿(kDa)至1kDa、约1kDa至5kDa、5kDa至10kDa、10kDa至25kDa、25kDa至40kDa,或40kDa至60kDa范围内。

[0612] 在一些实施方案中,主题抗体与PEG聚合物共价连接。在一些实施方案中,主题scFv多聚体与PEG聚合物共价连接。适合与蛋白质缀合的PEG通常在室温下可溶于水,并具有通式 $R(O-CH_2-CH_2)_nO-R$,其中R为氢或保护基,例如烷基或烷醇基,并且其中n为1至1000的整数。当R为保护基时,其通常具有1至8个碳。与主题抗体缀合的PEG可以为支链的或支链的。支链PEG衍生物包括星形PEG的衍生物和多臂PEG的衍生物。

[0613] 主题抗体可以被糖基化,例如主题抗体可以包含共价连接的碳水化合物或多糖部分。抗体的糖基化通常为N-连接或O-连接的。通过改变氨基酸序列使其含有N-或O-连接的糖基化位点,可以方便地将糖基化位点添加到抗体中。类似地,糖基化位点的去除可以通过抗体天然糖基化位点内的氨基酸改变来实现。

[0614] 主题抗体可以使用例如戊二醛、同型双功能交联剂或异型双功能交联剂共价连接至第二部分(例如,脂质、除主题抗体以外的多肽、合成聚合物、碳水化合物等)。戊二醛通过多肽的氨基部分交联多肽。同型双功能交联剂(例如,同型双功能亚氨酸酯、同型双功能N-羟基琥珀酰亚胺基(NHS)酯或同型双功能巯基反应性交联剂)含有两个或更多个相同的反应性部分,并且可以用于一步反应程序中,其中该交联剂被添加到含有待连接的多肽的混合物的溶液中。同型双功能NHS酯和亚氨酸酯交联含胺的多肽。在温和的碱性pH下,亚氨酸酯仅与伯胺反应形成亚氨酸酰胺(imidoamide),并且不影响所交联的多肽的总电荷。同型双功能巯基反应性交联剂包括双马来酰亚胺己烷(BMH)、1,5-二氟-2,4-二硝基苯(DFDNB)和1,4-二-(3',2'-吡啶二硫代)丙酰胺基丁烷(DPDPB)。

[0615] 异型双功能交联剂具有两个或更多个不同的反应性部分(例如,胺反应性部分和巯基反应性部分),并且通过胺或巯基反应性部分与多肽之一交联,然后通过未反应的部分与其他多肽反应。多种异型双功能卤代乙酰基交联剂为可用的,吡啶基二硫化物交联剂也为可用的。碳二亚胺为异型双功能交联剂的经典实例,用于将羧基与胺偶联,从而形成酰胺键。

[0616] 在一些实施方案中,主题抗体将包含“不透射线”标记,例如可以使用例如X射线容易地可视化的标记。不透射线材料为本领域技术人员所熟知的。最常见的不透射线材料包括碘化物、溴化物或钡盐。其他不透射线材料也为已知的,并且包括但不限于有机铋衍生物、不透射线的多尿烷(multiurethane)、有机铋复合物、不透射线的钡多聚体络合物等。

[0617] 在一些实施方案中,主题抗体包含多胺修饰。主题抗体可以用天然存在的或合成的多胺进行修饰。有用的天然存在的多胺包括腐胺、亚精胺、精胺、1,3-脱氨基丙烷、降亚精胺(norspermidine)、顺式-高亚精胺(syn-homospermidine)、热胺、热精胺、caldopentamine、homocaldopentamine和刀豆胺(canavalmine)。腐胺、亚精胺和精胺特别有用。合成多胺由经验式 $C_xH_yN_z$ 组成,可以为环状或非环状、支链或无支链的3-12个碳原子

的烃链,其还包括1-6个NR或N(R)₂部分,其中R为H、(C₁-C₄)烷基、苯基或苄基。可以使用任何标准交联方法将多胺连接至抗体。

[0618] 当本公开内容的抗-MUC1抗体包含共价连接的异源部分时,该异源部分可以直接或通过接头连接至抗-MUC1重链和/或轻链。合适的接头可以容易地选择,并且可以具有任何合适的不同长度,例如1个氨基酸(例如,Gly)至20个氨基酸、2个氨基酸至15个氨基酸、3个氨基酸至12个氨基酸,包括4个氨基酸至10个氨基酸、5个氨基酸至9个氨基酸、6个氨基酸至8个氨基酸,或7个氨基酸至8个氨基酸,并且可以为1、2、3、4、5、6或7个氨基酸。

[0619] 柔性接头的实例包括甘氨酸聚合物(G)_n、甘氨酸-丝氨酸聚合物(包括例如(GS)_n、(GSGGS)_n(SEQ ID NO:21)和(GGGS)_n(SEQ ID NO:22),其中n为至少为1的整数)、甘氨酸-丙氨酸聚合物、丙氨酸-丝氨酸聚合物和本领域已知的其他柔性接头。

[0620] 抗体修饰方法

[0621] 本公开内容的抗-MUC1抗体缀合物可以包括:1)与目的部分缀合的Ig重链恒定区;和与目的部分缀合的Ig轻链恒定区;2)与目的部分缀合的Ig重链恒定区;和与目的部分缀合的Ig轻链恒定区;或3)不与目的部分缀合的Ig重链恒定区;和与目的部分缀合的Ig轻链恒定区。主题抗-MUC1抗体缀合物还可包括与目的部分缀合的VH和/或VL结构域。

[0622] 在一个实例中,可以修饰抗体以包括2-甲酰甘氨酸残基,其可以充当用于连接异源部分的化学手柄(chemical handle)。例如,本公开内容的抗-MUC1的重链和/或轻链恒定区可被修饰以包括包含硫酸酯酶基序的氨基酸序列,该硫酸酯酶基序能够通过2-甲酰甘氨酸生成酶(FGE)的作用转化为含有2-甲酰甘氨酸(fGly)。这样的硫酸酯酶基序在本文中也可称为FGE修饰位点。FGE以序列特异性的方式发挥作用,即FGE作用于位于免疫球蛋白多肽内的硫酸酯酶基序。目的部分作为反应参与物的组分提供,用于与标记的Ig多肽的转化的醛标签的fGly残基的醛反应。多种市售试剂可用于实现目的部分与醛标记的Ig多肽的fGly残基的连接。例如,许多目的部分的氨基、酰肼或氨基硫脲衍生物为合适的反应参与物,并且为现有的或可以使用标准化学方法产生。

[0623] 如上所述,可以修饰抗-MUC1抗体的氨基酸序列以包括含有丝氨酸或半胱氨酸残基的硫酸酯酶基序,该丝氨酸或半胱氨酸残基能够在体内(例如,在细胞中翻译含有醛标签的蛋白质时)或在体外(例如,通过无细胞系统中使含有醛标签的蛋白质与FGE接触)通过甲酰甘氨酸生成酶(FGE)的作用转化(氧化)为2-甲酰甘氨酸(fGly)残基。这样的硫酸酯酶基序在本文中也可以称为FGE修饰位点。

[0624] 硫酸酯酶基序

[0625] 醛标签的最小硫酸酯酶基序的长度通常为5个或6个氨基酸残基,通常长度不超过6个氨基酸残基。Ig多肽中提供的硫酸酯酶基序为至少5个或6个氨基酸残基,并且可以是长度例如5至16、6-16、5-15、6-15、5-14、6-14、5-13、6-13、5-12、6-12、5-11、6-11、5-10、6-10、5-9、6-9、5-8或6-8个氨基酸残基,以便限定长度小于16、15、14、13、12、11、10、9、8或7个氨基酸残基的硫酸酯酶基序。

[0626] 在某些实施方案中,目的多肽包括相对于天然氨基酸序列,其中一个或多个氨基酸残基,例如,2个或更多个,或3个或更多个,或4个或更多个,或5个或更多个,或6个或更多个,或7个或更多个,或8个或更多个,或9个或更多个,或10个或更多个,或11个或更多个,或12个或更多个,或13个或更多个,或14个或更多个,或15个或更多个,或16个或更多个,或17

个或更多个,或18个或更多个,或19个或更多个,或20个或更多个氨基酸残基已经被插入、缺失、取代(替换),以在多肽中提供硫酸酯酶基序的序列。在某些实施方案中,多肽包括相对于该多肽的天然氨基酸序列少于20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3或2个氨基酸残基的氨基酸序列的修饰(插入、添加、缺失,和/或取代/替换)。当多肽(例如,抗-MUC1抗体)天然的氨基酸序列含有所需硫酸酯酶基序的一个或多个残基时,残基的修饰总数可以减少,可以例如通过对天然氨基酸残基侧翼的氨基酸残基进行位点特异性修饰(插入、添加、缺失、取代/替换),以提供所需硫酸酯酶基序的序列。在某些实施方案中,靶抗-MUC1多肽的天然氨基酸序列的修饰程度被最小化,以便使插入、缺失、取代(替换)或添加(例如,至N-或C-端)的氨基酸残基的数量最小化。最小化靶抗-MUC1多肽的氨基酸序列修饰的程度可以最小化这样的修饰可能对抗-MUC1功能和/或结构的影响。

[0627] 应当注意的是,虽然特别感兴趣的醛标签为包含至少一个最小硫酸酯酶基序(也称为“共有硫酸酯酶基序”)的那些醛标签,但将容易理解的是,更长的醛标签被本公开内容所考虑和涵盖,并且可用于本公开内容的组合物和方法。因此,醛标签可以包含具有5个或6个残基的最小硫酸酯酶基序,或者可以更长且包含N-和/或C-端两侧可以有额外的氨基酸残基的最小硫酸酯酶基序。考虑了例如5或6个氨基酸残基的醛标签,以及超过5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多个氨基酸残基的更长的氨基酸序列。

[0628] 醛标签可以存在于Ig重链的C-端或其附近;例如,醛标签可以存在于天然野生型Ig重链C-端的1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸以内。醛标签可以存在于Ig重链的CH1结构域内。醛标签可以存在于Ig重链的CH2结构域内。醛标签可以存在于Ig重链的CH3结构域内。醛标签可以存在于Ig轻链恒定区中,例如, κ 轻链恒定区或 λ 轻链恒定区中。

[0629] 在某些实施方案中,所使用的硫酸酯酶基序可以由下式描述:

[0630] $X^1Z^1X^2Z^2X^3Z^3$ (I'), 其中

[0631] Z^1 为半胱氨酸或丝氨酸(其也可以用(C/S)表示);

[0632] Z^2 为脯氨酸或丙氨酸残基(其也可以用(P/A)表示);

[0633] Z^3 为碱性氨基酸(例如,精氨酸(R),并且可以为赖氨酸(K)或组氨酸(H),通常为赖氨酸),或脂肪族氨基酸(丙氨酸(A)、甘氨酸(G)、亮氨酸(L)、缬氨酸(V)、异亮氨酸(I)或脯氨酸(P),通常为A、G、L、V或I);

[0634] X^1 存在或不存在,并且当存在时,可以为任何氨基酸,但通常为脂肪族氨基酸、含硫氨基酸或极性不带电氨基酸(例如,除芳香族氨基酸或带电氨基酸之外),通常为L、M、V、S或T,更通常为L、M、S或V,条件是当硫酸酯酶基序位于靶多肽的N-端时, X^1 存在;和

[0635] X^2 和 X^3 独立地可以为任何氨基酸,但通常为脂肪族氨基酸,极性不带电氨基酸,或含硫氨基酸(例如,除芳香族氨基酸或带电氨基酸之外),例如,S、T、A、V、G或C;例如,S、T、A、V或G。在一个实例中,醛标签具有式L(C/S)TPSR(SEQ ID NO:5),例如LCTPSR(SEQ ID NO:6)或LSTPSR(SEQ ID NO:23)。因此,本公开内容提供了包含醛标记的Ig重链和/或醛标记的Ig轻链的抗体,其中醛标记的Ig抗体包括含有这样的硫酸酯酶基序的重链和/或轻链的Ig恒定区氨基酸序列。

[0636] 例如,在一些实施方案中,可以修饰抗-MUC1重链和/或轻链的氨基酸序列以提供具有式 $X^1Z^1X^2Z^2X^3Z^3$ 的至少5个氨基酸的序列,其中

[0637] Z^1 为半胱氨酸或丝氨酸;

[0638] Z^2 为脯氨酸或丙氨酸残基;

[0639] Z^3 为脂肪族氨基酸或碱性氨基酸;

[0640] X^1 存在或不存在,并且当存在时,为任何氨基酸,条件是当异源硫酸酯酶基序位于多肽的N-端时, X^1 存在;

[0641] X^2 和 X^3 各自独立地为任何氨基酸,

[0642] 其中该序列位于Ig恒定区的溶剂可及环区(loop region)内或附近,并且其中该序列不在Ig重链的C-端。

[0643] 硫酸酯酶基序通常被选择为能够被所选择的FGE(例如,存在于表达醛标记的多肽的宿主细胞中的FGE,或在无细胞体外方法中与醛标记的多肽接触的FGE)转化。

[0644] 例如,当FGE为真核FGE(例如,哺乳动物FGE,包括人FGE)时,硫酸酯酶基序可以具有下式:

[0645] $X^1CX^2PX^3Z^3(I'')$

[0646] 其中

[0647] X^1 可以存在或不存在,并且当存在时,可以为任何氨基酸,例如脂肪族氨基酸、含硫氨基酸或极性不带电氨基酸(例如,除芳香族氨基酸或带电氨基酸之外),例如L、M、S或V,条件是当硫酸酯酶基序位于靶多肽的N-端时, X^1 存在;

[0648] X^2 和 X^3 独立地可以为任何氨基酸,例如脂肪族氨基酸、含硫氨基酸或极性不带电氨基酸(例如,除芳香族氨基酸或带电氨基酸之外),例如,S、T、A、V、G或C,例如,S、T、A、V或G;和

[0649] Z^3 为碱性氨基酸(例如,精氨酸(R),并且可以为赖氨酸(K)或组氨酸(H),例如赖氨酸),或脂肪族氨基酸(丙氨酸(A)、甘氨酸(G)、亮氨酸(L)、缬氨酸(V)、异亮氨酸(I)或脯氨酸(P),例如A、G、L、V或I。

[0650] 硫酸酯酶基序的具体实例包括LCTPSR(SEQ ID NO:6)、MCTPSR(SEQ ID NO:97)、VCTPSR(SEQ ID NO:76)、LCSPSR(SEQ ID NO:77)、LCAPSR(SEQ ID NO:78)、LCVPSR(SEQ ID NO:79)、LCGPSR(SEQ ID NO:80)、ICTPAR(SEQ ID NO:81)、LCTPSK(SEQ ID NO:82)、MCTPSK(SEQ ID NO:83)、VCTPSK(SEQ ID NO:84)、LCSPSK(SEQ ID NO:85)、LCAPSK(SEQ ID NO:86)、LCVPSK(SEQ ID NO:87)、LCGPSK(SEQ ID NO:88)、LCTPSA(SEQ ID NO:89)、ICTPAA(SEQ ID NO:90)、MCTPSA(SEQ ID NO:91)、VCTPSA(SEQ ID NO:92)、LCSPSA(SEQ ID NO:93)、LCAPSA(SEQ ID NO:94)、LCVPSA(SEQ ID NO:95)和LCGPSA(SEQ ID NO:96)。

[0651] 含fGly的序列

[0652] 一般而言,根据醛标签中存在的硫酸酯酶基序来选择用于促进靶多肽的醛标签的硫酸酯酶基序中的半胱氨酸或丝氨酸转化为fGly的FGE。FGE对表达醛标记多肽的宿主细胞可以为天然的,或者可以对宿主细胞进行遗传修饰以表达合适的FGE。在一些实施方案中,可能需要使用与人FGE相容的硫酸酯酶基序,并在表达FGE的人细胞中或在经遗传修饰以表达人FGE的宿主细胞(通常为哺乳动物细胞)中表达醛标记蛋白。一般而言,适合用于生成fGly修饰的抗体的FGE可以从天然存在的来源获得或合成产生。例如,合适的FGE可以来源于天然产生FGE的生物源,或经遗传修饰以表达编码FGE的重组基因的生物源。编码许多FGE的核酸为本领域已知的并且为现有的。

[0653] FGE对硫酸酯酶基序作用后, Z^1 被氧化生成2-甲酰甘氨酸(fGly)残基。此外,在FGE

介导的转化和与包含目的部分的反应参与物的反应之后,上式中 Z^1 处的fGly位置共价结合至目的部分(例如,可检测标记、水溶性聚合物、多肽、药物、活性剂等)。因此,本公开内容提供了具有修饰为包含fGly部分的氨基酸序列的抗-MUC1抗体。

[0654] 当FGE作用于抗-MUC1重链和/或轻链时,硫酸酯酶基序中的丝氨酸或半胱氨酸被修饰为fGly。因此,含有fGly的硫酸酯酶基序可以具有下式:

[0655] $X^1(fGly)X^2Z^2X^3Z^3$ (I'')

[0656] 其中

[0657] fGly为甲酰甘氨酸残基;

[0658] Z^2 为脯氨酸或丙氨酸残基(其也可以用(P/A)表示);

[0659] Z^3 为碱性氨基酸(例如,精氨酸(R),并且可以为赖氨酸(K)或组氨酸(H),通常为赖氨酸),或脂肪族氨基酸(丙氨酸(A)、甘氨酸(G)、亮氨酸(L)、缬氨酸(V)、异亮氨酸(I)或脯氨酸(P),例如A、G、L、V或I);

[0660] X^1 可以存在或不存在,并且当存在时,可以为任何氨基酸,例如脂肪族氨基酸、含硫氨基酸或极性不带电氨基酸(例如,除芳香族氨基酸或带电氨基酸之外),例如L、M、V、S或T,例如L、M或V,条件是当硫酸酯酶基序位于靶多肽的N-端时, X^1 存在;和

[0661] X^2 和 X^3 独立地可以为任何氨基酸,例如脂肪族氨基酸、含硫氨基酸或极性不带电氨基酸(例如,除芳香族氨基酸或带电氨基酸之外),例如S、T、A、V、G或C,例如S、T、A、V或G。

[0662] 如上所述,为了产生缀合物,含有fGly残基的多肽可以通过fGly与连接至药物或活性剂的接头的反应性部分(例如,如上所述的胍基-吡啶基或胍基-吡咯并-吡啶基偶联部分)反应以产生含有fGly'的硫酸酯酶基序而缀合到药物或活性剂上。如本文所用,术语fGly'是指通过如本文所述的接头与药物或活性剂偶联的硫酸酯酶基序的氨基酸残基。因此,本公开内容提供了抗-MUC1抗体缀合物(本文也称为“抗-MUC1缀合物”)。

[0663] 在某些实施方案中,抗-MUC1缀合物包含下式的含有fGly'的硫酸酯酶基序:

[0664] $X^1(fGly')X^2Z^2X^3Z^3$ (II)

[0665] 其中

[0666] fGly'为通过本文所述的接头与药物或活性剂偶联的氨基酸残基;

[0667] Z^2 为脯氨酸或丙氨酸残基(其也可以用(P/A)表示);

[0668] Z^3 为碱性氨基酸(例如,精氨酸(R),并且可以为赖氨酸(K)或组氨酸(H),通常为赖氨酸),或脂肪族氨基酸(丙氨酸(A)、甘氨酸(G)、亮氨酸(L)、缬氨酸(V)、异亮氨酸(I)或脯氨酸(P),例如A、G、L、V或I);

[0669] X^1 可以存在或不存在,并且当存在时,可以为任何氨基酸,例如脂肪族氨基酸、含硫氨基酸或极性不带电氨基酸(例如,除芳香族氨基酸或带电氨基酸之外),例如L、M、V、S或T,例如L、M或V,条件是当硫酸酯酶基序位于靶多肽的N-端时, X^1 存在;和

[0670] X^2 和 X^3 独立地可以为任何氨基酸,例如脂肪族氨基酸、含硫氨基酸或极性不带电氨基酸(例如,除芳香族氨基酸或带电氨基酸之外),例如S、T、A、V、G或C,例如S、T、A、V或G。

[0671] 在某些实施方案中,式(III)的序列位于抗-MUC1抗体的重链恒定区的C-端。在一些情况下,重链恒定区包含式(III)的序列:

[0672] $X^1(fGly')X^2Z^2X^3Z^3$ (III)

[0673] 其中

[0674] fGly' 为通过本文所述的接头与药物或活性剂偶联的氨基酸残基;

[0675] Z^2 为脯氨酸或丙氨酸残基 (其也可以用 (P/A) 表示);

[0676] Z^3 为碱性氨基酸 (例如, 精氨酸 (R), 并且可以为赖氨酸 (K) 或组氨酸 (H), 通常为赖氨酸), 或脂肪族氨基酸 (丙氨酸 (A)、甘氨酸 (G)、亮氨酸 (L)、缬氨酸 (V)、异亮氨酸 (I) 或脯氨酸 (P), 例如 A、G、L、V 或 I);

[0677] X^1 可以存在或不存在, 并且当存在时, 可以为任何氨基酸, 例如脂肪族氨基酸、含硫氨基酸或极性不带电氨基酸 (例如, 除芳香族氨基酸或带电氨基酸之外), 例如 L、M、V、S 或 T, 例如 L、M 或 V, 条件是当硫酸酯酶基序位于靶多肽的 N-端时, X^1 存在;

[0678] X^2 和 X^3 独立地可以为任何氨基酸, 例如脂肪族氨基酸、含硫氨基酸或极性不带电氨基酸 (例如, 除芳香族氨基酸或带电氨基酸之外), 例如 S、T、A、V、G 或 C, 例如 S、T、A、V 或 G; 并且

[0679] 其中该序列在氨基酸序列 QKSLSPGK (SEQ ID NO:98) 的 C-端, 并且其中该序列可以包括 1、2、3、4、5, 或 5 至 10 个不存在于天然的野生型重 Ig 链恒定区中的氨基酸。

[0680] 在某些实施方案中, 重链恒定区在 Ig 重链 C-端包括序列 SLSPGSL (fGly') TPSRGS (SEQ ID NO:99), 例如代替天然 SLSPGK (SEQ ID NO:100) 序列。

[0681] 在某些实施方案中, 与药物或活性剂偶联的氨基酸残基 (fGly') 位于抗-MUC1 抗体的轻链恒定区中。在某些实施方案中, 轻链恒定区包含式 (III) 的序列:

[0682] $X^1(fGly')X^2Z^2X^3Z^3$ (III)

[0683] 其中

[0684] fGly' 为通过本文所述的接头与药物或活性剂偶联的氨基酸残基;

[0685] Z^2 为脯氨酸或丙氨酸残基 (其也可以用 (P/A) 表示);

[0686] Z^3 为碱性氨基酸 (例如, 精氨酸 (R), 并且可以为赖氨酸 (K) 或组氨酸 (H), 通常为赖氨酸), 或脂肪族氨基酸 (丙氨酸 (A)、甘氨酸 (G)、亮氨酸 (L)、缬氨酸 (V)、异亮氨酸 (I) 或脯氨酸 (P), 例如 A、G、L、V 或 I);

[0687] X^1 可以存在或不存在, 并且当存在时, 可以为任何氨基酸, 例如脂肪族氨基酸、含硫氨基酸或极性不带电氨基酸 (例如, 除芳香族氨基酸或带电氨基酸之外), 例如 L、M、V、S 或 T, 例如 L、M 或 V, 条件是当硫酸酯酶基序位于靶多肽的 N-端时, X^1 存在;

[0688] X^2 和 X^3 独立地可以为任何氨基酸, 例如脂肪族氨基酸、含硫氨基酸或极性不带电氨基酸 (例如, 除芳香族氨基酸或带电氨基酸之外), 例如 S、T、A、V、G 或 C, 例如 S、T、A、V 或 G; 并且

[0689] 其中该序列在氨基酸序列 KVDNAL (SEQ ID NO:101) 的 C-端和/或在氨基酸序列 QSGNSQ (SEQ ID NO:102) 的 N-端。

[0690] 在某些实施方案中, 轻链恒定区包含序列 KVDNAL (fGly') TPSRQSGNSQ (SEQ ID NO:103)。

[0691] 在某些实施方案中, 与药物或活性剂偶联的氨基酸残基 (fGly') 位于抗-MUC1 抗体的重链 CH1 区中。在某些实施方案中, 重链 CH1 区包含式 (III) 的序列:

[0692] $X^1(fGly')X^2Z^2X^3Z^3$ (III)

[0693] 其中

[0694] fGly' 为通过本文所述的接头与药物或活性剂偶联的氨基酸残基;

[0695] Z^2 为脯氨酸或丙氨酸残基(其也可以用(P/A)表示);

[0696] Z^3 为碱性氨基酸(例如,精氨酸(R),并且可以为赖氨酸(K)或组氨酸(H),通常为赖氨酸),或脂肪族氨基酸(丙氨酸(A)、甘氨酸(G)、亮氨酸(L)、缬氨酸(V)、异亮氨酸(I)或脯氨酸(P),例如A、G、L、V或I;

[0697] X^1 可以存在或不存在,并且当存在时,可以为任何氨基酸,例如脂肪族氨基酸、含硫氨基酸或极性不带电氨基酸(例如,除芳香族氨基酸或带电氨基酸之外),例如L、M、V、S或T,例如L、M或V,条件是当硫酸酯酶基序位于靶多肽的N-端时, X^1 存在;

[0698] X^2 和 X^3 独立地可以为任何氨基酸,例如脂肪族氨基酸、含硫氨基酸或极性不带电氨基酸(例如,除芳香族氨基酸或带电氨基酸之外),例如S、T、A、V、G或C,例如S、T、A、V或G;并且

[0699] 其中该序列在氨基酸序列SWNSGA (SEQ ID NO:104)的C-端和/或在氨基酸序列GVHTFP (SEQ ID NO:105)的N-端。

[0700] 在某些实施方案中,重链CH1区包含序列SWNSGAL (fGly') TPSRGVHTFP (SEQ ID NO:106)。

[0701] 图21A示出了显示用于生成醛标记的Ig多肽的可能修饰位点的位点图。上方序列为IgG1轻链多肽保守区的氨基酸序列 (SEQ ID NO:74),并显示了Ig轻链中可能的修饰位点;下方序列为Ig重链多肽保守区的氨基酸序列 (SEQ ID NO:75) (GenBank登录号AAG00909),并且显示了Ig重链中可能的修饰位点。重链和轻链编号基于全长重链和轻链。

[0702] 图21B示出了智人免疫球蛋白重链恒定区IgG1 (SEQ ID NO:47;GenBank P01857.1)、IgG2 (SEQ ID NO:48;GenBank P01859.2)、IgG3 (SEQ ID NO:49;GenBank P01860.2)、IgG4 (SEQ ID NO:50;GenBank AAB59394.1)和IgA (SEQ ID NO:51;GenBank AAAT74070)的比对,显示了可以在免疫球蛋白重链中提供醛标签的修饰位点。重链和轻链编号基于完整重链和轻链。

[0703] 图21C示出了免疫球蛋白轻链恒定区的比对,显示了可以在免疫球蛋白轻链中提供醛标签的修饰位点。Seq1=智人 κ 轻链恒定区;GenBank CAA75031.1;SEQ ID NO:52。Seq2=智人 κ 轻链恒定区;GenBank BAC0168.1;SEQ ID NO:53。Seq3=智人 λ 轻链恒定区;GenBank CAA75033;SEQ ID NO:54。Seq4=小家鼠轻链恒定区;GenBank AAB09710.1;SEQ ID NO:55。Seq5=褐家鼠轻链恒定区;GenBank AAD10133;SEQ ID NO:56。

[0704] 在一些实施方案中,硫酸酯酶基序位于Ig多肽重链的C-端之外的位置,或除此之外的位置。分离的醛标记的抗-MUC1多肽可以包含经修饰以包括本文所述的硫酸酯酶基序的重链恒定区氨基酸序列,其中该硫酸酯酶基序位于抗-MUC1多肽重链恒定区的表面可及环区内或附近。

[0705] IgG1重链的示例性表面可及环区包括:1)ASTKGP (SEQ ID NO:107);2)KSTSGGT (SEQ ID NO:108);3)PEPV (SEQ ID NO:109);4)NSGALTSG (SEQ ID NO:110);5)NSGALTSGVHTFPAVLQSSGL (SEQ ID NO:111);6)QSSGL (SEQ ID NO:112);7)VTV;8)QTY;9)TQTY (SEQ ID NO:113);10)HKPSN (SEQ ID NO:114);11)EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO:115);12)FPPKP (SEQ ID NO:116);13)ISRTP (SEQ ID NO:117);14)DVSHEDPEV (SEQ ID NO:118);15)SHEDPEV (SEQ ID NO:119);16)DG;17)DGVEVHNAK (SEQ ID NO:120);18)HNA;19)QYNST (SEQ ID NO:121);20)VLTVL (SEQ ID NO:122);21)GKE;22)NKALPAP (SEQ ID NO:

123);23)SKAKGQPRE(SEQ ID NO:124);24)KAKGQPR(SEQ ID NO:125);25)PPSRKELTKN(SEQ ID NO:126);26)YPSDI(SEQ ID NO:127);27)NGQPENN(SEQ ID NO:128);28)TPPVLDSGDS(SEQ ID NO:129);29)HEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:130);和30)SLSPGK(SEQ ID NO:131)。

[0706] IgG2重链的示例性表面可及环区包括:1)ASTKGP(SEQ ID NO:107);2)PCSRSTSESTAA(SEQ ID NO:132);3)FPEPV(SEQ ID NO:133);4)SGALTSGVHTFP(SEQ ID NO:134);5)QSSGLY(SEQ ID NO:135);6)VTV;7)TQT;8)HKP;9)DK;10)VAGPS(SEQ ID NO:136);11)FPPKP(SEQ ID NO:116);12)RTP;13)DVSHEDPEV(SEQ ID NO:118);14)DGVEVHNAK(SEQ ID NO:120);15)FN;16)VLTVV(SEQ ID NO:137);17)GKE;18)NKGLPAP(SEQ ID NO:138);19)SKTKGQPRE(SEQ ID NO:139);20)PPS;21)MTKNQ(SEQ ID NO:140);22)YPSDI(SEQ ID NO:127);23)NGQPENN(SEQ ID NO:128);24)TPPMLDSGDS(SEQ ID NO:141);25)GNVF(SEQ ID NO:142);和26)HEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:130)。

[0707] IgG3重链的示例性表面可及环区包括:1)ASTKGP(SEQ ID NO:107);2)PCSRSTSGGT(SEQ ID NO:143);3)FPEPV(SEQ ID NO:133);4)SGALTSGVHTFPAVLQSSG(SEQ ID NO:144);5)V;6)TQT;7)HKPSN(SEQ ID NO:114);8)RVELKTPLGD(SEQ ID NO:145);9)CPRCPKP(SEQ ID NO:146);10)PKSCDTPPPCPRCPAPPELLGG(SEQ ID NO:147);11)FPPKP(SEQ ID NO:116);12)RTP;13)DVSHEDPEV(SEQ ID NO:118);14)DGVEVHNAK(SEQ ID NO:120);15)YN;16)VL;17)GKE;18)NKALPAP(SEQ ID NO:123);19)SKTKGQPRE(SEQ ID NO:139);20)PPSREEMTKN(SEQ ID NO:148);21)YPSDI(SEQ ID NO:127);22)SSGQPENN(SEQ ID NO:149);23)TPPMLDSGDS(SEQ ID NO:141);24)GNI;25)HEALHNR(SEQ ID NO:150);和26)SLSPGK(SEQ ID NO:131)。

[0708] IgG4重链的示例性表面可及环区包括:1)STKGP(SEQ ID NO:151);2)PCSRSTSESTAA(SEQ ID NO:132);3)FPEPV(SEQ ID NO:133);4)SGALTSGVHTFP(SEQ ID NO:134);5)QSSGLY(SEQ ID NO:135);6)VTV;7)TKT;8)HKP;9)DK;10)YG;11)CPAPEFLGGPS(SEQ ID NO:152);12)FPPKP(SEQ ID NO:116);13)RTP;14)DVSQEDPEV(SEQ ID NO:153);15)DGVEVHNAK(SEQ ID NO:120);16)FN;17)VL;18)GKE;19)NKGLPSS(SEQ ID NO:154);20)SKAKGQPREP(SEQ ID NO:155);21)PPSQEEMTKN(SEQ ID NO:156);22)YPSDI(SEQ ID NO:127);23)NG;24)NN;25)TPPVLDSGDS(SEQ ID NO:129);26)GNVF(SEQ ID NO:142);和27)HEALHNHYTQKSLSLSLGK(SEQ ID NO:157)。

[0709] IgA重链的示例性表面可及环区包括:1)ASPTSPKVFPLSL(SEQ ID NO:158);2)QPDGN(SEQ ID NO:159);3)VQGFFPQEPL(SEQ ID NO:160);4)SGQGV TARNFP(SEQ ID NO:161);5)SGDLYTT(SEQ ID NO:162);6)PATQ(SEQ ID NO:163);7)GKS;8)YT;9)CHP;10)HRPA(SEQ ID NO:164);11)LLGSE(SEQ ID NO:165);12)GLRDASGV(SEQ ID NO:166);13)SSGKSAVQGP(SEQ ID NO:167);14)GCYS(SEQ ID NO:168);15)CAEP(SEQ ID NO:169);16)PE;17)SGNTFRPEVHLLPPPSEELALNEL(SEQ ID NO:170);18)ARGFS(SEQ ID NO:171);19)QGSQELPREKY(SEQ ID NO:172);20)AV;21)AAED(SEQ ID NO:173);22)HEAL(SEQ ID NO:174);和23)IDRLAGKP THVNVSVVMAEVDGTCY(SEQ ID NO:175)。

[0710] Ig轻链(例如,人 κ 轻链)的示例性表面可及环区包括:1)RTVAAP(SEQ ID NO:176);2)PPS;3)Gly(参见,例如图8C所示的在人 κ 轻链序列的位置150处的Gly);4)YPREA(SEQ ID NO:177);5)PREA(SEQ ID NO:178);6)DNALQSGN(SEQ ID NO:179);7)TEQDSKDST(SEQ ID

NO:180);8)HK;9)HQGLSS (SEQ ID NO:181);和10)RGEC (SEQ ID NO:182)。

[0711] Igλ轻链的示例性表面可及环区包括:QPKAAP (SEQ ID NO:183)、PPS、NK、DFYPGAV (SEQ ID NO:184)、DSSPVKAG (SEQ ID NO:185)、TTP、SN、HKS、EG和APTECS (SEQ ID NO:186)。

[0712] 本文公开的抗-MUC1抗体的HC恒定区可以选自以下序列之一:

[0713] CT-标记的(醛标签-用粗体表示)

[0714] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSLCTPSRGS (SEQ ID NO:57)

[0715] 在SEQ ID NO:57中,重链恒定区C-端的斜体残基替换标准IgG1重链C-端的赖氨酸残基。斜体残基中的粗体残基(LCTPSR)构成醛标签,其中C在重链表达后被FGE转化为fGly残基。fGly可以转换为fGly'。fGly'是指与目的部分(例如,药物)偶联的抗-MUC1抗体的氨基酸残基。斜体残基中的非粗体残基为与标准IgG1重链序列不同的额外残基。

[0716] 58Q-1(醛标签-用粗体表示,并将“EEM”替换为“DEL”)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLL**LCTPSR**QSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHK
PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSR**DEL**TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK(SEQ ID NO:58)。

[0718] 61G-1(醛标签-用粗体表示,并将“EEM”替换为“DEL”)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSS**LCTPSR**GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHK
PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSR**DEL**TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK(SEQ ID NO:59)。

[0720] 91N-1(醛标签-用粗体表示,并将“EEM”替换为“DEL”)

[0721] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS**LCTP**
SRNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSR~~DEL~~TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK(**SEQ ID NO:60**)。

[0722] 116E-1 (醛标签-用粗体表示,并将“EEM”替换为“DEL”)

[0723] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV
DKKVEPKSCDKTHTCPPCPA**LCTPSR**ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSR~~DEL~~TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK(**SEQ ID NO:61**)。

[0724] 58Q-2 (醛标签-用粗体表示)

[0725] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAV**LLCTPSR**QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK
PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK(**SEQ ID NO:62**)。

[0726] 61G-2 (醛标签-用粗体表示)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSS**LCTPSR**GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK
PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
[0727] RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK(**SEQ ID NO:63**)。

[0728] 91N-2 (醛标签-用粗体表示)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK**PSLCTP**
SRNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
[0729] RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK(**SEQ ID NO:64**)。

[0730] 116E-2 (醛标签-用粗体表示)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV
DKKVEPKSCDKTHTCPPCPA**LCTPSR**ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
[0731] RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK(**SEQ ID NO:65**)。

[0732] 58Q-3 (醛标签-用粗体表示,并将“KKV”替换为“KRV”,并将“EEM”替换为“DEL”)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLL**CTPSR**QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK
PSNTKVD**KRVE**PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
[0733] RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSR**DEL**TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP
PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK(**SEQ ID NO:66**)。

[0734] 61G-3 (醛标签-用粗体表示,并将“KKV”替换为“KRV”,并将“EEM”替换为“DEL”)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSS**CTPSR**GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK
PSNTKVD**KRVE**PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
[0735] RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSR**DEL**TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP
PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK(**SEQ ID NO:67**)。

[0736] 91N-3 (醛标签-用粗体表示,并将“KKV”替换为“KRV”,并将“EEM”替换为“DEL”)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK**PSLCTP**
[0737] **SR**NTKVD**KRVE**PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSR**DEL**TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP
PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK(**SEQ ID NO:68**)。

[0738] 116E-3 (醛标签-用粗体表示,并将“KKV”替换为“KRV”,并将“EEM”替换为“DEL”)

[0739]

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV
D**KRV**EPKSCDKTHTCPPCPA**LCTPS**RELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSR**DEL**TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK(**SEQ ID NO:69**)。

[0740] 58Q-4 (醛标签-用粗体表示,并将“KKV”替换为“KRV”)

[0741]

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLL**LCTPSR**QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK
PSNTKVD**KRV**EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK(**SEQ ID NO:70**)。

[0742] 61G-4 (醛标签-用粗体表示,并将“KKV”替换为“KRV”)

[0743]

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSS**LCTPSR**GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK
PSNTKVD**KRV**EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK(**SEQ ID NO:71**)。

[0744] 91N-4 (醛标签-用粗体表示,并将“KKV”替换为“KRV”)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSLCTP
SRNTKVD**KRVE**PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
[0745] RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK(**SEQ ID NO:72**)。

[0746] 116E-4 (醛标签-用粗体表示,并将“KKV”替换为“**KRV**”)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV
D**KRVE**PKSCDKTHTCPPCPA**LCTPSRE**LLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
[0747] RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK(**SEQ ID NO:73**)。

[0748] 粗体残基 (LCTPSR) 构成醛标签,其中C在重链表达后被FGE转化为fGly残基。fGly可转换为fGly'。fGly'是指与目的部分(例如,药物)偶联的抗-MUC1抗体的氨基酸残基。

[0749] 药物

[0750] 在一些情况下,本公开内容的抗-MUC1抗体具有与抗体的重链和/或轻链共价连接的药物(例如,本文所述的式(I)的缀合物中的 W^1 ,或本文所述的式(II)的缀合物中的 W^{11} 或 W^{12})。例如,本公开内容的抗体缀合物可以包括药物或活性剂作为取代基 W^1 、 W^{11} 或 W^{12} 。许多药物中的任何一种都适合用作或者可以被修饰为适合用作与抗体缀合的反应参与物。“药物”包括小分子药物、肽类药物(peptidic drug)、毒素(例如,细胞毒素)等。

[0751] 本文所用的“小分子药物”是指这样的化合物,例如有机化合物,其表现出感兴趣的药物活性,并且其通常具有不大于约800Da或不大于2000Da的分子量,但是可涵盖高达5kDa的分子并且可以大至约10kDa。小无机分子是指不含碳原子的分子,而小有机分子是指含有至少一个碳原子的化合物。

[0752] 在某些实施方案中,药物或活性剂可以为美登素。“美登素”、“美登素部分”、“美登素活性剂部分”和“美登醇(maytansinoid)”是指美登素及其类似物和衍生物,以及药学活性美登素部分和/或其一部分。与多肽缀合的美登素可以为多种美登醇部分中的任一种,例如但不限于本文所述的美登素及其类似物和衍生物(例如,脱酰基美登素)。

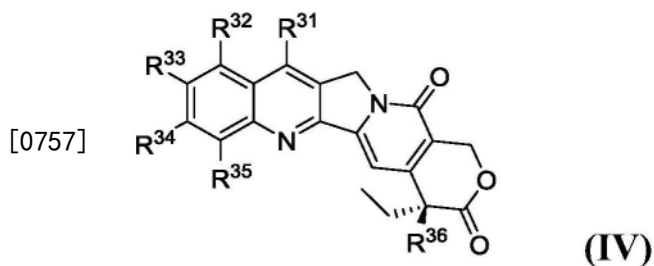
[0753] 在某些实施方案中,药物或活性剂可以为澳瑞他汀,或其类似物或衍生物,或药学活性澳瑞他汀部分和/或其一部分。缀合至多肽的澳瑞他汀可以为多种澳瑞他汀部分中的任一种,例如但不限于本文所述的澳瑞他汀及其类似物和衍生物。可用于本文所述的缀合物和化合物的药物的实例包括但不限于澳瑞他汀或澳瑞他汀衍生物,例如一甲基澳瑞他汀

D (MMAD)、一甲基澳瑞他汀E (MMAE)、一甲基澳瑞他汀F (MMAF)、其衍生物等。

[0754] 在某些实施方案中,药物或活性剂可以为倍癌霉素(duocarmycin)或其类似物或衍生物,或者药学活性倍癌霉素部分和/或其一部分。与多肽缀合的倍癌霉素可以为多种倍癌霉素部分中的任一种,例如但不限于本文所述的倍癌霉素及其类似物和衍生物。可用于本文所述的缀合物和化合物的药物的实例包括但不限于倍癌霉素或倍癌霉素衍生物,例如倍癌霉素A、倍癌霉素B1、倍癌霉素B2、倍癌霉素C1、倍癌霉素C2、倍癌霉素D、倍癌霉素SA、CC-1065、其衍生物等。在一些实施方案中,倍癌霉素为倍癌霉素类似物,例如但不限于阿多来新(adozelesin)、比折来新(bizelesin)或卡折来新(carzelesin)。

[0755] 在某些实施方案中,药物或活性剂可以为拓扑异构酶抑制剂,例如喜树碱或其类似物或衍生物,或药学活性喜树碱部分和/或其一部分。与主题抗体缀合的喜树碱可以为多种喜树碱部分中的任一种,例如但不限于本文所述的喜树碱及其类似物和衍生物。可用于本文所述缀合物的药物的实例包括但不限于喜树碱或喜树碱衍生物,例如,SN-38、贝洛替康(Belotecan)、依喜替康(Exatecan)、9-氨基喜树碱(9-aminocamptothecin, 9-AC)、其衍生物等。

[0756] 本文所述的式(I)中的药物 W^1 或本文所述的式(II)中的 W^{11} 或 W^{12} 为喜树碱或其类似物或衍生物。例如,在一些情况下,喜树碱或其类似物或衍生物为式(IV)的化合物:



[0758] 其中:

[0759] R^{31} 和 R^{32} 各自独立地选自氢、卤素、羟基、氨基、取代的氨基、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、烷氧基、取代的烷氧基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基,或 R^{31} 和 R^{32} 任选地环状连接以形成5或6元环烷基或杂环基环;

[0760] R^{33} 和 R^{34} 各自独立地选自氢、卤素、羟基、氨基、取代的氨基、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、烷氧基、取代的烷氧基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基,或 R^{33} 和 R^{34} 任选地环状连接以形成5或6元环烷基或杂环基环;

[0761] R^{35} 选自氢、卤素、羟基、氨基、取代的氨基、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、烷氧基、取代的烷氧基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基;

[0762] R^{36} 选自OH和OC(O) R^{37} ;并且

[0763] R^{37} 选自氢、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基。

[0764] 在式(IV)的某些实施方案中,式(I)中的接头L或式(II)中的第一接头 L^A 或第二接头 L^B 在 R^{31} 、 R^{32} 、 R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 或 R^{36} 处连接至式(IV)的化合物。

[0765] 在某些实施方案中, R^{31} 和 R^{32} 各自独立地选自氢、卤素、羟基、氨基、取代的氨基、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、烷氧基、取代的烷氧基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基, 或 R^{31} 和 R^{32} 任选地环状连接以形成5或6元环烷基或杂环基环。

[0766] 在某些实施方案中, R^{31} 选自氢、卤素、羟基、氨基、取代的氨基、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、烷氧基、取代的烷氧基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基。在某些实施方案中, R^{31} 为氢。在某些实施方案中, R^{31} 为卤素 (例如, F、Cl、Br、I)。在某些实施方案中, R^{31} 为羟基。在某些实施方案中, R^{31} 为氨基或取代的氨基。在某些实施方案中, R^{31} 为烷基或取代的烷基, 例如 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 取代的烷基, 或 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 取代的烷基, 或 C_{1-3} 烷基或 C_{1-3} 取代的烷基。在某些实施方案中, R^{31} 为甲基。在某些实施方案中, R^{31} 为烯基或取代的烯基, 例如 C_{2-6} 烯基或 C_{2-6} 取代的烯基, 或 C_{2-4} 烯基或 C_{2-4} 取代的烯基, 或 C_{2-3} 烯基或 C_{2-3} 取代的烯基。在某些实施方案中, R^{31} 为炔基或取代的炔基。在某些实施方案中, R^{31} 为烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中, R^{31} 为芳基或取代的芳基, 例如 C_{5-8} 芳基或 C_{5-8} 取代的芳基, 例如 C_5 芳基或 C_5 取代的芳基, 或 C_6 芳基或 C_6 取代的芳基。在某些实施方案中, R^{31} 为杂芳基或取代的杂芳基, 例如 C_{5-8} 杂芳基或 C_{5-8} 取代的杂芳基, 例如 C_5 杂芳基或 C_5 取代的杂芳基, 或 C_6 杂芳基或 C_6 取代的杂芳基。在某些实施方案中, R^{31} 为环烷基或取代的环烷基, 例如 C_{3-8} 环烷基或 C_{3-8} 取代的环烷基, 例如 C_{3-6} 环烷基或 C_{3-6} 取代的环烷基, 或 C_{3-5} 环烷基或 C_{3-5} 取代的环烷基。在某些实施方案中, R^{31} 为杂环基或取代的杂环基, 例如 C_{3-6} 杂环基或 C_{3-6} 取代的杂环基, 或 C_{3-5} 杂环基或 C_{3-5} 取代的杂环基。

[0767] 在某些实施方案中, R^{32} 选自氢、卤素、羟基、氨基、取代的氨基、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、烷氧基、取代的烷氧基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基。在某些实施方案中, R^{32} 为氢。在某些实施方案中, R^{32} 为卤素 (例如, F、Cl、Br、I)。在某些实施方案中, R^{32} 为羟基。在某些实施方案中, R^{32} 为氨基或取代的氨基。在某些实施方案中, R^{32} 为烷基或取代的烷基, 例如 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 取代的烷基, 或 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 取代的烷基, 或 C_{1-3} 烷基或 C_{1-3} 取代的烷基。在某些实施方案中, R^{32} 为甲基。在某些实施方案中, R^{32} 为烯基或取代的烯基, 例如 C_{2-6} 烯基或 C_{2-6} 取代的烯基, 或 C_{2-4} 烯基或 C_{2-4} 取代的烯基, 或 C_{2-3} 烯基或 C_{2-3} 取代的烯基。在某些实施方案中, R^{32} 为炔基或取代的炔基。在某些实施方案中, R^{32} 为烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中, R^{32} 为芳基或取代的芳基, 例如 C_{5-8} 芳基或 C_{5-8} 取代的芳基, 例如 C_5 芳基或 C_5 取代的芳基, 或 C_6 芳基或 C_6 取代的芳基。在某些实施方案中, R^{32} 为杂芳基或取代的杂芳基, 例如 C_{5-8} 杂芳基或 C_{5-8} 取代的杂芳基, 例如 C_5 杂芳基或 C_5 取代的杂芳基, 或 C_6 杂芳基或 C_6 取代的杂芳基。在某些实施方案中, R^{32} 为环烷基或取代的环烷基, 例如 C_{3-8} 环烷基或 C_{3-8} 取代的环烷基, 例如 C_{3-6} 环烷基或 C_{3-6} 取代的环烷基, 或 C_{3-5} 环烷基或 C_{3-5} 取代的环烷基。在某些实施方案中, R^{32} 为杂环基或取代的杂环基, 例如 C_{3-6} 杂环基或 C_{3-6} 取代的杂环基, 或 C_{3-5} 杂环基或 C_{3-5} 取代的杂环基。

[0768] 在某些实施方案中, R^{31} 和 R^{32} 任选地环状连接以形成5或6元环烷基或杂环基环。在某些实施方案中, R^{31} 和 R^{32} 环状连接以形成5或6元环烷基。在某些实施方案中, R^{31} 和 R^{32} 环状连接以形成5或6元杂环基。在某些实施方案中, R^{31} 和 R^{32} 环状连接以形成5元环烷基。在某些

实施方案中, R^{31} 和 R^{32} 环状连接以形成6元环烷基。在某些实施方案中, R^{31} 和 R^{32} 环状连接以形成5元杂环基。在某些实施方案中, R^{31} 和 R^{32} 环状连接以形成6元杂环基。

[0769] 在某些实施方案中, R^{33} 和 R^{34} 各自独立地选自氢、卤素、羟基、氨基、取代的氨基、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、烷氧基、取代的烷氧基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基, 或 R^{33} 和 R^{34} 任选地环状连接以形成5或6元环烷基或杂环基环。

[0770] 在某些实施方案中, R^{33} 选自氢、卤素、羟基、氨基、取代的氨基、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、烷氧基、取代的烷氧基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基。在某些实施方案中, R^{33} 为氢。在某些实施方案中, R^{33} 为卤素(例如, F、Cl、Br、I)。在某些实施方案中, R^{33} 为羟基。在某些实施方案中, R^{33} 为氨基或取代的氨基。在某些实施方案中, R^{33} 为烷基或取代的烷基, 例如 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 取代的烷基, 或 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 取代的烷基, 或 C_{1-3} 烷基或 C_{1-3} 取代的烷基。在某些实施方案中, R^{33} 为甲基。在某些实施方案中, R^{33} 为烯基或取代的烯基, 例如 C_{2-6} 烯基或 C_{2-6} 取代的烯基, 或 C_{2-4} 烯基或 C_{2-4} 取代的烯基, 或 C_{2-3} 烯基或 C_{2-3} 取代的烯基。在某些实施方案中, R^{33} 为炔基或取代的炔基。在某些实施方案中, R^{33} 为烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中, R^{33} 为芳基或取代的芳基, 例如 C_{5-8} 芳基或 C_{5-8} 取代的芳基, 例如 C_5 芳基或 C_5 取代的芳基, 或 C_6 芳基或 C_6 取代的芳基。在某些实施方案中, R^{33} 为杂芳基或取代的杂芳基, 例如 C_{5-8} 杂芳基或 C_{5-8} 取代的杂芳基, 例如 C_5 杂芳基或 C_5 取代的杂芳基, 或 C_6 杂芳基或 C_6 取代的杂芳基。在某些实施方案中, R^{33} 为环烷基或取代的环烷基, 例如 C_{3-8} 环烷基或 C_{3-8} 取代的环烷基, 例如 C_{3-6} 环烷基或 C_{3-6} 取代的环烷基, 或 C_{3-5} 环烷基或 C_{3-5} 取代的环烷基。在某些实施方案中, R^{33} 为杂环基或取代的杂环基, 例如 C_{3-6} 杂环基或 C_{3-6} 取代的杂环基, 或 C_{3-5} 杂环基或 C_{3-5} 取代的杂环基。

[0771] 在某些实施方案中, R^{34} 选自氢、卤素、羟基、氨基、取代的氨基、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、烷氧基、取代的烷氧基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基。在某些实施方案中, R^{34} 为氢。在某些实施方案中, R^{34} 为卤素(例如, F、Cl、Br、I)。在某些实施方案中, R^{34} 为羟基。在某些实施方案中, R^{34} 为氨基或取代的氨基。在某些实施方案中, R^{34} 为烷基或取代的烷基, 例如 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 取代的烷基, 或 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 取代的烷基, 或 C_{1-3} 烷基或 C_{1-3} 取代的烷基。在某些实施方案中, R^{34} 为甲基。在某些实施方案中, R^{34} 为烯基或取代的烯基, 例如 C_{2-6} 烯基或 C_{2-6} 取代的烯基, 或 C_{2-4} 烯基或 C_{2-4} 取代的烯基, 或 C_{2-3} 烯基或 C_{2-3} 取代的烯基。在某些实施方案中, R^{34} 为炔基或取代的炔基。在某些实施方案中, R^{34} 为烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中, R^{34} 为芳基或取代的芳基, 例如 C_{5-8} 芳基或 C_{5-8} 取代的芳基, 例如 C_5 芳基或 C_5 取代的芳基, 或 C_6 芳基或 C_6 取代的芳基。在某些实施方案中, R^{34} 为杂芳基或取代的杂芳基, 例如 C_{5-8} 杂芳基或 C_{5-8} 取代的杂芳基, 例如 C_5 杂芳基或 C_5 取代的杂芳基, 或 C_6 杂芳基或 C_6 取代的杂芳基。在某些实施方案中, R^{34} 为环烷基或取代的环烷基, 例如 C_{3-8} 环烷基或 C_{3-8} 取代的环烷基, 例如 C_{3-6} 环烷基或 C_{3-6} 取代的环烷基, 或 C_{3-5} 环烷基或 C_{3-5} 取代的环烷基。在某些实施方案中, R^{34} 为杂环基或取代的杂环基, 例如 C_{3-6} 杂环基或 C_{3-6} 取代的杂环基, 或 C_{3-5} 杂环基或 C_{3-5} 取代的杂环基。

[0772] 在某些实施方案中, R^{33} 和 R^{34} 任选地环状连接以形成5或6元环烷基或杂环基环。在

某些实施方案中, R^{33} 和 R^{34} 环状连接以形成5或6元环烷基。在某些实施方案中, R^{33} 和 R^{34} 环状连接以形成5或6元杂环基。在某些实施方案中, R^{33} 和 R^{34} 环状连接以形成5元环烷基。在某些实施方案中, R^{33} 和 R^{34} 环状连接以形成6元环烷基。在某些实施方案中, R^{33} 和 R^{34} 环状连接以形成5元杂环基。在某些实施方案中, R^{33} 和 R^{34} 环状连接以形成6元杂环基。

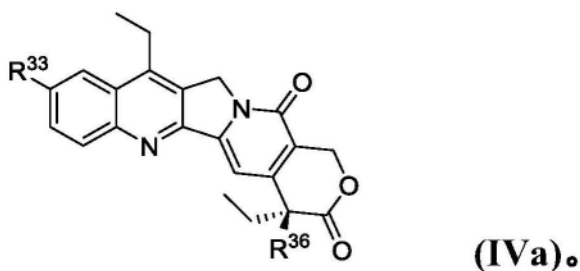
[0773] 在某些实施方案中, R^{35} 选自氢、卤素、羟基、氨基、取代的氨基、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、烷氧基、取代的烷氧基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基。在某些实施方案中, R^{35} 为氢。在某些实施方案中, R^{35} 为卤素(例如, F、Cl、Br、I)。在某些实施方案中, R^{35} 为羟基。在某些实施方案中, R^{35} 为氨基或取代的氨基。在某些实施方案中, R^{35} 为烷基或取代的烷基, 例如 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 取代的烷基, 或 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 取代的烷基, 或 C_{1-3} 烷基或 C_{1-3} 取代的烷基。在某些实施方案中, R^{35} 为甲基。在某些实施方案中, R^{35} 为烯基或取代的烯基, 例如 C_{2-6} 烯基或 C_{2-6} 取代的烯基, 或 C_{2-4} 烯基或 C_{2-4} 取代的烯基, 或 C_{2-3} 烯基或 C_{2-3} 取代的烯基。在某些实施方案中, R^{35} 为炔基或取代的炔基。在某些实施方案中, R^{35} 为烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中, R^{35} 为芳基或取代的芳基, 例如 C_{5-8} 芳基或 C_{5-8} 取代的芳基, 例如 C_5 芳基或 C_5 取代的芳基, 或 C_6 芳基或 C_6 取代的芳基。在某些实施方案中, R^{35} 为杂芳基或取代的杂芳基, 例如 C_{5-8} 杂芳基或 C_{5-8} 取代的杂芳基, 例如 C_5 杂芳基或 C_5 取代的杂芳基, 或 C_6 杂芳基或 C_6 取代的杂芳基。在某些实施方案中, R^{35} 为环烷基或取代的环烷基, 例如 C_{3-8} 环烷基或 C_{3-8} 取代的环烷基, 例如 C_{3-6} 环烷基或 C_{3-6} 取代的环烷基, 或 C_{3-5} 环烷基或 C_{3-5} 取代的环烷基。在某些实施方案中, R^{35} 为杂环基或取代的杂环基, 例如 C_{3-6} 杂环基或 C_{3-6} 取代的杂环基, 或 C_{3-5} 杂环基或 C_{3-5} 取代的杂环基。

[0774] 在某些实施方案中, R^{36} 选自OH和OC(O) R^{37} 。在某些实施方案中, R^{36} 为OH。在某些实施方案中, R^{36} 为OC(O) R^{37} 。

[0775] 在某些实施方案中, R^{37} 选自氢、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基。在某些实施方案中, R^{37} 为氢。在某些实施方案中, R^{37} 为烷基或取代的烷基, 例如 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 取代的烷基, 或 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 取代的烷基, 或 C_{1-3} 烷基或 C_{1-3} 取代的烷基。在某些实施方案中, R^{37} 为烯基或取代的烯基, 例如 C_{2-6} 烯基或 C_{2-6} 取代的烯基, 或 C_{2-4} 烯基或 C_{2-4} 取代的烯基, 或 C_{2-3} 烯基或 C_{2-3} 取代的烯基。在某些实施方案中, R^{37} 为炔基或取代的炔基。在某些实施方案中, R^{37} 为芳基或取代的芳基, 例如 C_{5-8} 芳基或 C_{5-8} 取代的芳基, 例如 C_5 芳基或 C_5 取代的芳基, 或 C_6 芳基或 C_6 取代的芳基。在某些实施方案中, R^{37} 为杂芳基或取代的杂芳基, 例如 C_{5-8} 杂芳基或 C_{5-8} 取代的杂芳基, 例如 C_5 杂芳基或 C_5 取代的杂芳基, 或 C_6 杂芳基或 C_6 取代的杂芳基。在某些实施方案中, R^{37} 为环烷基或取代的环烷基, 例如 C_{3-8} 环烷基或 C_{3-8} 取代的环烷基, 例如 C_{3-6} 环烷基或 C_{3-6} 取代的环烷基, 或 C_{3-5} 环烷基或 C_{3-5} 取代的环烷基。在某些实施方案中, R^{37} 为杂环基或取代的杂环基, 例如 C_{3-6} 杂环基或 C_{3-6} 取代的杂环基, 或 C_{3-5} 杂环基或 C_{3-5} 取代的杂环基。

[0776] 在某些实施方案中, 式(IV)的化合物具有式(IVa)的结构:

[0777]



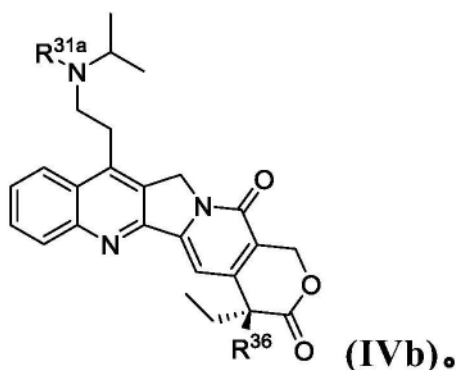
[0778] 在式 (IVa) 化合物的某些实施方案中, R^{33} 如上所述。

[0779] 在式 (IVa) 化合物的某些实施方案中, R^{36} 如上所述。

[0780] 在式 (IVa) 化合物的某些实施方案中, R^{33} 为 OH 并且 L 连接在 R^{36} 处。在式 (IVa) 化合物的某些实施方案中, L 连接在 R^{33} 处并且 R^{36} 为 OH。

[0781] 在某些实施方案中, 式 (IV) 的化合物具有式 (IVb) 的结构:

[0782]

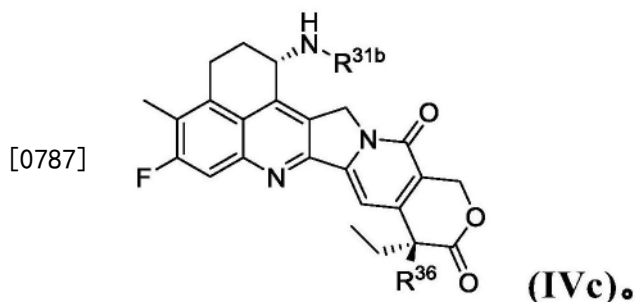


[0783] 在式 (IVb) 化合物的某些实施方案中, R^{31a} 选自 H、烷基、取代的烷基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基、取代的杂环基、羧基、羧基酯、酰基和磺酰基。在某些实施方案中, R^{31a} 为氢。在某些实施方案中, R^{31a} 为烷基或取代的烷基, 例如 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 取代的烷基, 或 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 取代的烷基, 或 C_{1-3} 烷基或 C_{1-3} 取代的烷基。在某些实施方案中, R^{31a} 为芳基或取代的芳基, 例如 C_{5-8} 芳基或 C_{5-8} 取代的芳基, 例如 C_5 芳基或 C_5 取代的芳基, 或 C_6 芳基或 C_6 取代的芳基。在某些实施方案中, R^{31a} 为杂芳基或取代的杂芳基, 例如 C_{5-8} 杂芳基或 C_{5-8} 取代的杂芳基, 例如 C_5 杂芳基或 C_5 取代的杂芳基, 或 C_6 杂芳基或 C_6 取代的杂芳基。在某些实施方案中, R^{31a} 为环烷基或取代的环烷基, 例如 C_{3-8} 环烷基或 C_{3-8} 取代的环烷基, 例如 C_{3-6} 环烷基或 C_{3-6} 取代的环烷基, 或 C_{3-5} 环烷基或 C_{3-5} 取代的环烷基。在某些实施方案中, R^{31a} 为杂环基或取代的杂环基, 例如 C_{3-6} 杂环基或 C_{3-6} 取代的杂环基, 或 C_{3-5} 杂环基或 C_{3-5} 取代的杂环基。在某些实施方案中, R^{31a} 为羧基。在某些实施方案中, R^{31a} 为羧基酯。在某些实施方案中, R^{31a} 为酰基。在某些实施方案中, R^{31a} 为磺酰基。

[0784] 在式 (IVb) 化合物的某些实施方案中, R^{36} 如上所述。

[0785] 在式 (IVb) 化合物的某些实施方案中, R^{31a} 选自 H、烷基、取代的烷基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基、取代的杂环基、羧基、羧基酯、酰基和磺酰基, 并且 L 连接在 R^{36} 处。在式 (IVb) 化合物的某些实施方案中, L 连接在 R^{31a} 处并且 R^{36} 为 OH。

[0786] 在某些实施方案中, 式 (IV) 的化合物具有式 (IVc) 的结构:

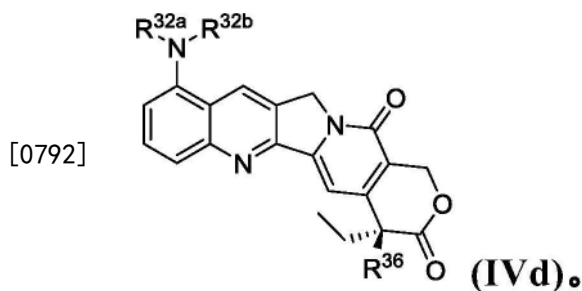


[0788] 在式 (IVc) 化合物的某些实施方案中, R^{31b} 选自 H、烷基、取代的烷基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基、取代的杂环基、羧基、羧基酯、酰基和磺酰基。在某些实施方案中, R^{31b} 为氢。在某些实施方案中, R^{31b} 为烷基或取代的烷基, 例如 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 取代的烷基, 或 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 取代的烷基, 或 C_{1-3} 烷基或 C_{1-3} 取代的烷基。在某些实施方案中, R^{31b} 为芳基或取代的芳基, 例如 C_{5-8} 芳基或 C_{5-8} 取代的芳基, 例如 C_5 芳基或 C_5 取代的芳基, 或 C_6 芳基或 C_6 取代的芳基。在某些实施方案中, R^{31b} 为杂芳基或取代的杂芳基, 例如 C_{5-8} 杂芳基或 C_{5-8} 取代的杂芳基, 例如 C_5 杂芳基或 C_5 取代的杂芳基, 或 C_6 杂芳基或 C_6 取代的杂芳基。在某些实施方案中, R^{31b} 为环烷基或取代的环烷基, 例如 C_{3-8} 环烷基或 C_{3-8} 取代的环烷基, 例如 C_{3-6} 环烷基或 C_{3-6} 取代的环烷基, 或 C_{3-5} 环烷基或 C_{3-5} 取代的环烷基。在某些实施方案中, R^{31b} 为杂环基或取代的杂环基, 例如 C_{3-6} 杂环基或 C_{3-6} 取代的杂环基, 或 C_{3-5} 杂环基或 C_{3-5} 取代的杂环基。在某些实施方案中, R^{31b} 为羧基。在某些实施方案中, R^{31b} 为羧基酯。在某些实施方案中, R^{31b} 为酰基。在某些实施方案中, R^{31b} 为磺酰基。

[0789] 在式 (IVc) 化合物的某些实施方案中, R^{36} 如上所述。

[0790] 在式 (IVc) 化合物的某些实施方案中, R^{31b} 选自 H、烷基、取代的烷基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基、取代的杂环基、羧基、羧基酯、酰基和磺酰基, 并且 L 连接在 R^{36} 处。在式 (IVc) 化合物的某些实施方案中, L 连接在 R^{31b} 处并且 R^{36} 为 OH。

[0791] 在某些实施方案中, 式 (IV) 的化合物具有式 (IVd) 的结构:



[0793] 在式 (IVd) 化合物的某些实施方案中, R^{32a} 和 R^{32b} 各自独立地选自 H、烷基、取代的烷基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基、取代的杂环基、羧基、羧基酯、酰基和磺酰基。

[0794] 在式 (IVd) 化合物的某些实施方案中, R^{32a} 选自 H、烷基、取代的烷基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基、取代的杂环基、羧基、羧基酯、酰基和磺酰基。在某些实施方案中, R^{32a} 为氢。在某些实施方案中, R^{32a} 为烷基或取代的烷基, 例如 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 取代的烷基, 或 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 取代的烷基, 或 C_{1-3} 烷基或 C_{1-3} 取代的烷基。在某些实施方案中, R^{32a} 为芳基或取代的芳基, 例如 C_{5-8} 芳基或 C_{5-8} 取代的芳基, 例如 C_5 芳基

或C₅取代的芳基,或C₆芳基或C₆取代的芳基。在某些实施方案中,R^{32a}为杂芳基或取代的杂芳基,例如C₅₋₈杂芳基或C₅₋₈取代的杂芳基,例如C₅杂芳基或C₅取代的杂芳基,或C₆杂芳基或C₆取代的杂芳基。在某些实施方案中,R^{32a}为环烷基或取代的环烷基,例如C₃₋₈环烷基或C₃₋₈取代的环烷基,例如C₃₋₆环烷基或C₃₋₆取代的环烷基,或C₃₋₅环烷基或C₃₋₅取代的环烷基。在某些实施方案中,R^{32a}为杂环基或取代的杂环基,例如C₃₋₆杂环基或C₃₋₆取代的杂环基,或C₃₋₅杂环基或C₃₋₅取代的杂环基。在某些实施方案中,R^{32a}为羧基。在某些实施方案中,R^{32a}为羧基酯。在某些实施方案中,R^{32a}为酰基。在某些实施方案中,R^{32a}为磺酰基。

[0795] 在式(IVd)化合物的某些实施方案中,R^{32b}选自H、烷基、取代的烷基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基、取代的杂环基、羧基、羧基酯、酰基和磺酰基。在某些实施方案中,R^{32b}为氢。在某些实施方案中,R^{32b}为烷基或取代的烷基,例如C₁₋₆烷基或C₁₋₆取代的烷基,或C₁₋₄烷基或C₁₋₄取代的烷基,或C₁₋₃烷基或C₁₋₃取代的烷基。在某些实施方案中,R^{32b}为芳基或取代的芳基,例如C₅₋₈芳基或C₅₋₈取代的芳基,例如C₅芳基或C₅取代的芳基,或C₆芳基或C₆取代的芳基。在某些实施方案中,R^{32b}为杂芳基或取代的杂芳基,例如C₅₋₈杂芳基或C₅₋₈取代的杂芳基,例如C₅杂芳基或C₅取代的杂芳基,或C₆杂芳基或C₆取代的杂芳基。在某些实施方案中,R^{32b}为环烷基或取代的环烷基,例如C₃₋₈环烷基或C₃₋₈取代的环烷基,例如C₃₋₆环烷基或C₃₋₆取代的环烷基,或C₃₋₅环烷基或C₃₋₅取代的环烷基。在某些实施方案中,R^{32b}为杂环基或取代的杂环基,例如C₃₋₆杂环基或C₃₋₆取代的杂环基,或C₃₋₅杂环基或C₃₋₅取代的杂环基。在某些实施方案中,R^{32b}为羧基。在某些实施方案中,R^{32b}为羧基酯。在某些实施方案中,R^{32b}为酰基。在某些实施方案中,R^{32b}为磺酰基。

[0796] 在式(IVd)化合物的某些实施方案中,R³⁶如上所述。

[0797] 在式(IVd)化合物的某些实施方案中,R^{32a}和R^{32b}各自独立地选自H、烷基、取代的烷基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基、取代的杂环基、羧基、羧基酯、酰基和磺酰基,并且L连接在R³⁶处。在式(IVd)化合物的某些实施方案中,L连接在R^{32a}或R^{32b}处,并且R³⁶为OH。在式(IVd)化合物的某些实施方案中,L连接在R^{32a}处,并且R³⁶为OH。在式(IVd)化合物的某些实施方案中,L连接在R^{32b}处,并且R³⁶为OH。

[0798] 在某些实施方案中,药物选自细胞毒素、激酶抑制剂、免疫刺激剂、Toll样受体(TLR)激动剂、寡核苷酸、适体、细胞因子、类固醇和肽。

[0799] 例如,细胞毒素可以包括导致细胞死亡(例如,坏死或细胞凋亡)或细胞活力降低的任何化合物。

[0800] 激酶抑制剂可包括但不限于阿达沃塞替布(Adavosertib)、阿法替尼(Afatinib)、阿昔替尼(Axitinib)、博舒替尼(Bosutinib)、西妥昔单抗(Cetuximab)、考比替尼(Cobimetinib)、克唑替尼(Crizotinib)、卡博替尼(Cabozantinib)、达克替尼(Dacomitinib)、达沙替尼(Dasatinib)、恩曲替尼(Entrectinib)、厄达替尼(Erdafitinib)、厄洛替尼(Erlotinib)、福坦替尼(Fostamatinib)、吉非替尼(Gefitinib)、依鲁替尼(Ibrutinib)、伊马替尼(Imatinib)、拉帕替尼(Lapatinib)、乐伐替尼(Lenvatinib)、木利替尼(Mubritinib)、尼洛替尼(Nilotinib)、帕唑帕尼(Pazopanib)、哌加他尼(Pegaptanib)、鲁索替尼(Ruxolitinib)、索拉非尼(Sorafenib)、舒尼替尼(Sunitinib)、图卡替尼(Tucatinib)、凡德他尼(Vandetanib)、维罗非尼(Vemurafenib)等。

[0801] 免疫刺激剂可以包括但不限于疫苗(例如,细菌或病毒疫苗)、集落刺激因子、干扰

素、白细胞介素等。TLR激动剂包括但不限于咪喹莫特(imiquimod)、瑞喹莫德(resiquimod)等。

[0802] 寡核苷酸药物包括但不限于福米韦森(fomivirsen)、哌加他尼、米泊美生(mipomersen)、艾地普尔森(eteplirsen)、去纤苷(defibrotide)、诺西那生钠(nusinersen)、戈洛迪森(golodirsen)、维托拉森(viltolarsen)、volanesorsen、inotersen、tofersen、tominersen等。

[0803] 适体药物包括但不限于哌加他尼、AS1411、REG1、ARC1779、NU172、ARC1905、E10030、NOX-A12、NOX-E36等。

[0804] 细胞因子包括但不限于白蛋白干扰素 α -2B(Albinterferon Alfa-2B)、阿地白介素、ALT-801、阿那白滞素(Anakinra)、安塞司亭(Ancestim)、阿伏特明(Avotermin)、Balugrastim、Bempegaldesleukin、Binetrakin、贝辛白介素(Cintredekin Besudotox)、CTCE-0214、达依泊汀 α (Darbepoetin alfa)、地尼白介素(Denileukin diftitox)、杜拉乐明(Dulanermin)、埃度白介素 α (Edodekin alfa)、恩非勒明(Emfilermin)、依泊汀 δ (Epoetin delta)、促红细胞生成素、人白细胞介素-2、干扰素 α 、干扰素 α -2c、干扰素 α -n1、干扰素 α -n3、干扰素 α -1、干扰素 β -1a、干扰素 β -1b、干扰素 γ -1b、干扰素 κ 、白细胞介素-1 α 、白细胞介素-10、白细胞介素-7、来格司亭(Lenograstim)、来立司亭(Leridistim)、利培非格司亭(Lipegfilgrastim)、洛卡芙普 α (Lorukafusp alfa)、Maxy-G34、甲氧基聚乙二醇-依泊汀 β 、莫拉司亭(Molgramostim)、莫来司亭(Muplestim)、那瑞替喷(Nagrestipen)、奥普瑞白介素(Oprelvekin)、培非格司亭(Pegfilgrastim)、Pegilodecakin、聚乙二醇干扰素 α -2a、聚乙二醇干扰素 α -2b、聚乙二醇干扰素 β -1a、聚乙二醇干扰素 λ -1a、重组CD40-配体、瑞拉司亭(Regramostim)、罗米司亭(Romiplostim)、沙格司亭(Sargramostim)、血小板生成素、西莫白介素单抗(Tucotuzumab celmoleukin)、病毒巨噬细胞炎性蛋白等。

[0805] 类固醇药物包括但不限于泼尼松龙、倍他米松、地塞米松、氢化可的松、甲基强的松龙、地夫可特等。

[0806] 本文所用的“肽药物”是指含有氨基酸的聚合化合物,并且旨在涵盖天然存在的和非天然存在的肽、寡肽、环肽、多肽和蛋白质以及肽模拟物。肽药物可通过化学合成获得或由遗传编码来源(例如,重组来源)产生。肽药物的分子量范围可以在一定范围内,并且分子量可以为200Da至10kDa或更大。合适的肽包括但不限于细胞毒性肽;血管生成肽;抗血管生成肽;激活B细胞的肽;激活T细胞的肽;抗病毒肽;抑制病毒融合的肽;增加一种或多种淋巴细胞群产生的肽;抗微生物肽;生长因子;生长激素释放因子;血管活性肽;抗炎肽;调节葡萄糖代谢的肽;抗血栓肽;抗痛觉肽(anti-nociceptive peptide);舒血管肽;血小板聚集抑制剂;镇痛剂等。

[0807] 可用于本文所述的缀合物和化合物的药物的其他实例包括但不限于Tubulysin M、卡奇霉素(Calicheamicin)、STAT3抑制剂、 α -鹅膏蕈碱、极光激酶抑制剂、贝洛替康和蒽环类药物(anthracycline)。

[0808] 在一些情况下,药物为毒素,例如细胞毒素。核糖体失活蛋白(RIP)为高等植物中普遍存在的一类蛋白质,是这样的细胞毒素的实例。合适的细胞毒素包括但不限于蓖麻毒素、相思豆毒素、白喉毒素、假单胞菌外毒素(例如,PE35、PE37、PE38、PE40等)、皂草素(saporin)、白树毒素、美洲商陆抗病毒蛋白(pokeweed anti-viral protein,PAP)、肉毒杆

菌毒素、异株泻根毒蛋白(bryodin)、苦瓜蛋白(momordin)和bouganin。

[0809] 在某些情况下,该药物为癌症化疗剂。癌症化疗剂包括减少癌细胞增殖的非肽(例如,非蛋白质)化合物,并且包括细胞毒性剂和细胞抑制剂。化疗剂的非限制性实例包括烷化剂、亚硝基脲、抗代谢物、抗肿瘤抗生素、植物(长春花)生物碱和类固醇激素。也可以使用肽化合物。

[0810] 合适的癌症化疗剂包括多拉司他汀及其活性类似物和衍生物;和澳瑞他汀及其活性类似物和衍生物。合适的癌症化疗剂还包括美登醇及其活性类似物和衍生物;和倍癌霉素及其活性类似物和衍生物。

[0811] 起到减少细胞增殖作用的试剂为本领域中已知的并且被广泛使用。这样的试剂包括烷化剂,例如氮芥、亚硝基脲、乙烯亚胺衍生物、烷基磺酸盐和三氮烯,包括但不限于氮芥、环磷酰胺(CytoxanTM)、美法仑(melphalan)(L-肌溶素)、卡莫司汀(BCNU)、洛莫司汀(CCNU)、司莫司汀(甲基-CCNU)、链脲菌素、氯脲霉素、尿嘧啶氮芥(uracil mustard)、甲川氯、异环磷酰胺、苯丁酸氮芥、哌泊溴烷、曲他胺(triethylenemelamine)、triethylenethiophosphoramine、白消安、达卡巴嗪和替莫唑胺。

[0812] 抗代谢剂包括叶酸类似物、嘧啶类似物、嘌呤类似物和腺苷脱氨酶抑制剂,包括但不限于阿糖胞苷(CYTOSAR-U)、阿糖胞苷、氟尿嘧啶(5-FU)、氟尿苷(FudR)、6-硫鸟嘌呤、6-巯基嘌呤(6-MP)、喷司他丁、5-氟尿嘧啶(5-FU)、甲氨蝶呤、10-炔丙基-5,8-二脱氮叶酸(PDDF/CB3717)、5,8-二脱氮四氢叶酸(DDATHF)、亚叶酸、磷酸氟达拉滨、喷司他丁(pentostatine)和吉西他滨。

[0813] 合适的天然产物及其衍生物(例如,长春花生物碱、抗肿瘤抗生素、酶、淋巴因子和表鬼臼毒素)包括但不限于阿糖胞苷(Ara-C)、紫杉醇(**Taxol®**)、多西紫杉醇(**Taxotere®**)、脱氧柯福霉素、丝裂霉素-C、L-天冬酰胺酶、硫唑嘌呤;布喹那;生物碱,例如长春新碱、长春花碱、长春瑞滨、长春地辛等;鬼臼毒素,例如依托泊苷、替尼泊苷等;抗生素类,例如蒽环霉素、盐酸柔红霉素(道诺霉素、红比霉素、盐酸佐柔比星)、伊达比星、阿霉素、表阿霉素、吗啉基衍生物等;phenoxizone双环肽,例如放线菌素;碱性糖肽,例如争光霉素;蒽醌甙,例如普卡霉素(光神霉素);蒽二酮类,例如,米托蒽醌;氮丙啶并吡咯并吲哚二酮类(azirinopyrrolo indolediones),例如丝裂霉素;大环免疫抑制剂,例如环孢霉素、FK-506(他克莫司、普乐可复)、雷帕霉素等。

[0814] 其他抗增殖细胞毒性剂有诺维本(navelbene)、CPT-11、阿那曲唑、来曲唑(letrozole)、卡培他滨、雷洛昔芬(reloxafine)、环磷酰胺、异环磷酰胺(ifosamide)和屈洛昔芬(droloxafine)。

[0815] 也适合使用具有抗增殖活性的微管影响剂,并且包括但不限于秋水仙碱(NSC 406042),软海绵素B(NSC 609395),秋水仙碱(NSC 757),秋水仙碱衍生物(例如,NSC 33410),dolstatin 10(NSC 376128),美登素(NSC 153858),根霉素(rhizoxin)(NSC 332598),紫杉醇(**Taxol®**), **Taxol®**衍生物,多西紫杉醇(**Taxotere®**),硫代秋水仙碱(NSC 361792),三苯甲基半胱氨酸(trityl cysterin),硫酸长春碱,硫酸长春新碱,天然和合成埃博霉素,包括但不限于埃博霉素A、埃博霉素B、discodermolide;雌莫司汀、诺考达唑等。

[0816] 适合使用的激素调节剂和类固醇(包括合成类似物)包括但不限于肾上腺皮质类固醇,例如强的松、地塞米松等;雌激素和孕激素,例如己酸羟孕酮、醋酸甲羟孕酮、醋酸甲地孕酮、雌二醇、克罗米芬、他莫昔芬等;和肾上腺皮质抑制剂,例如氨鲁米特(aminoglutethimide); 17α -炔雌醇;己烯雌酚、睾酮、氟甲睾酮、屈他雄酮丙酸酯、睾内酯、甲基强的松龙、甲基睾酮、泼尼松龙、曲安西龙、氯烯雌醚、羟孕酮、氨鲁米特、雌莫司汀、醋酸甲羟孕酮、亮丙瑞林、氟他胺(Drogenil)、托瑞米芬(Fareston)和**Zoladex®**。雌激素刺激增殖和分化;因此,与雌激素受体结合的化合物被用来阻断这种活性。

[0817] 其他合适的化疗剂包括金属络合物,例如顺铂(cis-DDP)、卡铂等;脲类,例如羟基脲;和胍,例如N-甲基胍;表鬼臼毒素;拓扑异构酶抑制剂;丙卡巴胍(procarbazine);米托蒽醌;亚叶酸;替加氟(tegafur)等。其他感兴趣的抗增殖剂包括免疫抑制剂,例如霉酚酸、沙利度胺、脱氧精肌菌素、azasporine、来氟米特、咪唑立宾、氮杂螺烷(azaspirane)(SKF 105685)等;**Iressa®**(ZD 1839,4-(3-氯-4-氟苯氨基)-7-甲氧基-6-(3-(4-吗啉基)丙氧基)喹唑啉)等。

[0818] 适合使用紫杉烷类。“紫杉烷”包括紫杉醇,以及任何活性紫杉烷衍生物或前药。“紫杉醇”(在本文中应理解为包括类似物、制剂和衍生物,诸如,例如多西紫杉醇、TAXOL、TAXOTERE(多西紫杉醇的制剂)、紫杉醇的10-去乙酰基类似物和紫杉醇的3'-N-去苯甲酰基-3'-N-叔丁氧基羰基类似物)可以利用本领域技术人员已知的技术容易地制备(也参见WO 94/07882、WO 94/07881、WO 94/07880、WO 94/07876、WO 93/23555、WO 93/10076;美国专利号5,294,637;5,283,253;5,279,949;5,274,137;5,202,448;5,200,534;5,229,529;和EP 590,267),或从多种商业来源获得,包括例如密苏里州圣路易斯Sigma Chemical Co.(T7402来自短叶红豆杉;或T-1912来自云南红豆杉)。

[0819] 紫杉醇应理解为不仅指常见化学可用形式的紫杉醇,还指类似物和衍生物(例如,如上所述的TAXOTERE多西紫杉醇)和紫杉醇缀合物(例如,紫杉醇-PEG、紫杉醇-右旋糖酐或紫杉醇-木糖)。

[0820] 术语“紫杉烷”还包括多种已知的衍生物,包括亲水性衍生物和疏水性衍生物。紫杉烷衍生物包括但不限于半乳糖和甘露糖衍生物;哌嗪和哌嗪衍生物。

[0821] 本公开内容的实施方案包括缀合物,其中抗体缀合至两个或更多个药物部分,例如3个药物部分、4个药物部分、5个药物部分、6个药物部分、7个药物部分、8个药物部分、9个药物部分、10个药物部分、11个药物部分、12个药物部分、13个药物部分、14个药物部分、15个药物部分、16个药物部分、17个药物部分、18个药物部分、19个药物部分,或20个或更多个药物部分。如本文所述,药物部分可以在抗体的一个或多个位点处与抗体缀合。在某些实施方案中,缀合物的平均药物抗体比(DAR)(摩尔比)的范围为从0.1至20,或从0.5至20,或从1至20,例如从1至19,或从1至18,或从1至17,或从1至16,或从1至15,或从1至14,或从1至13,或从1至12,或从1至11,或从1至10,或从1至9,或从1至8,或从1至7,或从1至6,或从1至5,或从1至4,或从1至3,或从1至2。在某些实施方案中,缀合物的平均DAR为从1至10,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。在某些实施方案中,缀合物的平均DAR为1至10。在某些实施方案中,缀合物的平均DAR为1至5。在某些实施方案中,缀合物的平均DAR为5至10。平均值是指算术平均值。

[0822] 可以修饰待缀合至多肽的药物以纳入用于与多肽反应的反应参与物。当药物为肽

药物时,反应性部分(例如,氨基或酰肼)可以位于N-端区域、N-端、C-端区域、C-端,或位于肽内部的位置。例如,方法的一个实例涉及合成具有氨基的肽药物。在该实例中,肽是由Boc保护的前体合成的。肽的氨基可以与包含羧酸基和氧基-N-Boc基的化合物反应。例如,肽的氨基与3-(2,5-二氧化吡咯烷-1-基氧基)丙酸反应。包含羧酸基和氧基-N-保护基的化合物的其他变体可以包括亚烷基接头中不同数量的碳和亚烷基接头上的取代基。肽的氨基与包含羧酸基和氧基-N-保护基的化合物之间的反应通过标准肽偶联化学发生。可以使用的肽偶联试剂的实例包括但不限于DCC(二环己基碳二亚胺)、DIC(二异丙基碳二亚胺)、二-对-甲苯甲酰碳二亚胺(di-p-toluoylcarbodiimide)、BDP(1-苯并三唑二乙基磷酸酯-1-环己基-3-(2-吗啉基乙基)碳二亚胺)、EDC(1-(3-二甲氨基丙基-3-乙基-碳二亚胺盐酸盐)、三聚氟氰、三聚氯氰、TFFH(四甲基氟代脲六氟磷酸盐)、DPPA(叠氮磷酸二苯酯(diphenylphosphorazidate))、BOP(苯并三氮唑-1-基氧基三(二甲氨基)磷鎓六氟磷酸盐)、HBTU(O-苯并三唑-1-基-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐)、TBTU(O-苯并三唑-1-基-N,N,N',N'-四甲基脲四氟硼酸盐)、TSTU(O-(N-琥珀酰亚胺基)-N,N,N',N'-四甲基脲四氟硼酸盐)、HATU(N-[(二甲氨基)-1-H-1,2,3-三唑并[4,5,6]-吡啶-1-基亚甲基]-N-甲基甲铵六氟磷酸盐N-氧化物)、BOP-Cl(双(2-氧代-3-噁唑烷基)次膦酰氯)、PyBOP((1-H-1,2,3-苯并三唑-1-基氧基)-三(吡咯烷基)磷四氟磷酸盐)、BrOP(溴三(二甲氨基)磷六氟磷酸盐)、DEPBT(3-(二乙氧基磷酰氧基)-1,2,3-苯并三唑-4(3H)-酮)、PyBrOP(溴三(吡咯烷基)磷六氟磷酸盐)。作为非限制性实例,HOBt和DIC可以用作肽偶联试剂。

[0823] 对包含N-保护基的肽进行脱保护以暴露氨基-氧基官能团。例如,根据环状酰胺基团的标准脱保护条件发生N-氧基琥珀酰亚胺基团的脱保护。脱保护条件可参见Greene和Wuts, *Protective Groups in Organic Chemistry*, 第3版, 1999, John Wiley & Sons, NY和Harrison等人。某些脱保护条件包括肼试剂、氨基试剂或硼氢化钠。Boc保护基的脱保护可以使用TFA进行。用于脱保护的其他试剂包括但不限于肼、甲肼、苯肼、硼氢化钠和甲胺。产物和中间体可以通过常规手段纯化,例如HPLC纯化。

[0824] 普通技术人员将理解诸如pH和空间位阻(例如,氨基酸残基与目的反应参与物反应的可及性)等因素是重要的。改变反应条件以提供最佳缀合条件完全在普通技术人员的技术范围内,并且为本领域常规的。当与存在于活细胞之中或之上的多肽进行缀合时,选择生理学上相容的条件。例如,可以暂时降低pH一段时间,该时间足以允许反应发生,但在细胞可耐受的一段时间内(例如,约30分钟至1小时)。在细胞表面上进行多肽修饰的生理条件可以与在修饰带有细胞表面叠氮化物的细胞时的酮-叠氮化物反应中使用的生理条件类似(参见,例如美国6,570,040)。

[0825] 还考虑将含有或修饰为含有作为本文公开的化合物或缀合物的反应参与物的 α -亲核基团的小分子化合物用作本公开内容的多肽-药物缀合物中的药物。用于合成目的化合物的化学合成方案和条件的一般方法为本领域已知的(参见,例如Smith和March, *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, 第5版, Wiley-Interscience, 2001; 或Vogel, *A Textbook of Practical Organic Chemistry, Including Qualitative Organic Analysis*, 第4版, 纽约: Longman, 1978)。

[0826] 产生抗体的方法

[0827] 主题抗体可以通过任何已知的方法产生,例如,用于蛋白质合成的常规合成方法;

重组DNA方法等。

[0828] 当主题抗体为单链多肽时,可以使用标准化学肽合成技术来合成它。当多肽为化学合成的时,可以通过液相或固相进行合成。固相多肽合成(SPPS)(其中将序列的C-端氨基酸连接到不溶性载体上,然后依次添加序列中的剩余氨基酸)为化学合成主题抗体的合适方法的一个实例。各种形式的SPPS(例如,Fmoc和Boc)可用于合成主题抗体。

[0829] 标准重组方法可用于产生主题抗体。例如,将编码轻链和重链可变区(任选地与恒定区连接)的核酸插入表达载体中。轻链和重链可以克隆到相同或不同的表达载体中。编码免疫球蛋白链的DNA片段可操作地连接至表达载体中的控制序列,以确保免疫球蛋白多肽的表达。表达控制序列包括但不限于启动子(例如,天然相关或异源启动子)、信号序列、增强子元件和转录终止序列。表达控制序列可以为能够转化或转染真核宿主细胞(例如,COS或CHO细胞)的载体中的真核启动子系统。一旦将载体掺入适当的宿主中,宿主就被维持在适合核苷酸序列高水平表达以及抗体收集和纯化的条件下。

[0830] 由于密码的简并性,多种核酸序列可以编码每种免疫球蛋白氨基酸序列。所需的核酸序列可以通过从头固相DNA合成或通过聚合酶链式反应(PCR)诱变所需多核苷酸的早期制备的变体来产生。

[0831] 合适的表达载体通常可作为附加体或作为宿主染色体DNA的组成部分在宿主生物体中复制。通常,表达载体含有选择标记(例如,氨苄青霉素抗性、潮霉素抗性、四环素抗性、卡那霉素抗性 or 新霉素抗性)以允许检测用所需DNA序列转化的那些细胞。

[0832] 大肠杆菌(*Escherichia coli*)为可以用于克隆编码主题抗体的多核苷酸的原核宿主细胞的实例。适合使用的其他微生物宿主包括杆菌(例如,枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*))和其他肠杆菌科(例如,沙门氏菌属、沙雷氏菌属)和各种假单胞菌属物种。其他微生物(例如,酵母)也可用于表达。酵母属(例如,酿酒酵母(*S.cerevisiae*))和毕赤酵母属为合适的酵母宿主细胞的实例。

[0833] 除了微生物之外,哺乳动物细胞(例如,在体外细胞培养中生长的哺乳动物细胞)也可以用于表达和产生本发明的多肽(例如,编码免疫球蛋白或其片段的多核苷酸)。合适的哺乳动物宿主细胞包括CHO细胞系、各种Cos细胞系、HeLa细胞、骨髓瘤细胞系和转化的B细胞或杂交瘤。用于这些细胞的表达载体可以包含表达控制序列,例如复制起点、启动子和增强子,和必要的加工信息位点,例如核糖体结合位点、RNA剪接位点、聚腺苷酸化位点,和转录终止子序列。合适的表达控制序列的实例为衍生自免疫球蛋白基因、SV40、腺病毒、牛乳头瘤病毒、巨细胞病毒等的启动子。

[0834] 一旦合成(化学或重组),完整的抗体、其二聚体、单独的轻链和重链或其他形式的主题抗体(例如,scFv等)可以根据本领域的标准程序进行纯化,包括硫酸铵沉淀、亲和柱、柱色谱法、高效液相色谱(HPLC)纯化、凝胶电泳等(一般参见Scopes, *Protein Purification* (Springer-Verlag, N.Y., (1982))。主题抗体可以为基本上纯的,例如,至少约80%至85%纯的、至少约85%至90%纯的、至少约90%至95%纯的,或98%至99%,或更纯的,例如不含污染物,例如细胞碎片、主题抗体以外的大分子等。

[0835] 组合物

[0836] 本公开内容的缀合物可以以多种不同的方式配制。一般而言,当缀合物为多肽-药物缀合物时,缀合物以与缀合至多肽的药物、待治疗的病症和待使用的施用途径相容的方

式配制。

[0837] 在一些实施方案中,提供了药物组合物,其包含本公开内容的任何缀合物和药学上可接受的赋形剂。

[0838] 缀合物(例如,多肽-药物缀合物)可以以任何合适的形式(例如,以药学上可接受的盐的形式)提供,并且可以配制用于任何合适的施用途径(例如,口服、局部或肠胃外施用)。当缀合物作为液体注射剂提供时(例如,它们通过静脉内施用或直接施用到组织中的那些实施方案中),缀合物可以作为即用剂型的形式或作为可重构的储存稳定粉末或由药学上可接受的载体和赋形剂组成的液体来提供。

[0839] 配制缀合物的方法可以根据那些现有的方法进行调整。例如,缀合物可以在包含治疗有效量的缀合物和药学上可接受的载体(例如,盐水)的药物组合物中提供。药物组合物可以任选地包含其他添加剂(例如,缓冲剂、稳定剂、防腐剂等)。在一些实施方案中,该制剂适合于施用给哺乳动物,例如适合于施用给人的那些。

[0840] 例如,本公开内容提供了包含主题抗体缀合物的组合物。除主题抗体缀合物之外,主题抗体缀合物组合物还可包含以下中的一种或多种:盐,例如NaCl、MgCl₂、KCl、MgSO₄等;缓冲剂,例如Tris缓冲剂、N-(2-羟乙基)哌嗪-N'-(2-乙磺酸)(HEPES)、2-(N-吗啉基)乙磺酸(MES)、2-(N-吗啉基)乙磺酸钠盐(MES)、3-(N-吗啉基)丙磺酸(MOPS)、N-三[羟甲基]甲基-3-氨基丙磺酸(TAPS)等;增溶剂;去污剂,例如非离子去污剂,例如吐温-20等;蛋白酶抑制剂;甘油等。

[0841] 在某些实施方案中,本公开内容提供了包含主题抗体缀合物的组合物,包括药物组合物。一般而言,制剂包含有效量的主题抗体缀合物。“有效量”是指足以产生期望的结果(例如,减少癌细胞数量)的剂量。在一些情况下,期望的结果为与对照相比至少减少恶性肿瘤的症状。

[0842] 制剂

[0843] 在本发明的方法中,可以使用能够产生期望的治疗效果或诊断效果的任何方便的方式将主题抗体缀合物施用于宿主。因此,抗体缀合物可以掺入多种制剂中用于治疗施用。更具体地,主题抗体缀合物可以通过与适当的药学上可接受的载体或稀释剂组合而配制成药物组合物,并且可以配制成固体、半固体、液体或气体形式的制剂,例如片剂、胶囊剂、粉剂、颗粒剂、软膏剂、溶液剂、栓剂、注射剂、吸入剂和气雾剂。

[0844] 在药物剂型中,主题抗体缀合物可以以其药学上可接受的盐的形式施用,或者它们也可以单独使用,或者与其他药学活性化合物适当的关联以及组合使用。以下方法和赋形剂仅是示例性的,并且绝不是限制性的。

[0845] 对于口服制剂,主题抗体缀合物可以单独使用或与合适的添加剂(例如,与常规添加剂,如乳糖、甘露醇、玉米淀粉或马铃薯淀粉;与粘合剂,如结晶纤维素、纤维素衍生物、阿拉伯胶、玉米淀粉或明胶;与崩解剂,如玉米淀粉、马铃薯淀粉或羧甲基纤维素钠;与润滑剂,如滑石或硬脂酸镁;以及如果需要的话,与稀释剂、缓冲剂、湿润剂、防腐剂和调味剂)组合使用以制备片剂、粉剂、颗粒剂或胶囊剂。

[0846] 通过将主题抗体缀合物溶解、悬浮或乳化在水性或非水性溶剂(如植物油或其他类似的油、合成脂肪酸的甘油酯、高级脂肪酸的酯或丙二醇)中,可以将其配制成用于注射的制剂;如果需要,可以组合使用常规添加剂,例如增溶剂、等渗剂、悬浮剂、乳化剂、稳定剂

和防腐剂。

[0847] 包含主题抗体缀合物的药物组合物通过将具有所需纯度的抗体缀合物与任选的生理学上可接受的载体、赋形剂、稳定剂、表面活性剂、缓冲剂和/或张度剂混合来制备。可接受的载体、赋形剂和/或稳定剂在所采用的剂量和浓度下对接受者为无毒的,并且包括缓冲剂,如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸;抗氧化剂,其包括抗坏血酸、谷胱甘肽、半胱氨酸、甲硫氨酸和柠檬酸;防腐剂(例如,乙醇、苧醇、苯酚、间甲酚、对氯间甲酚、对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯、苯扎氯铵,或其组合);氨基酸,例如精氨酸、甘氨酸、鸟氨酸、赖氨酸、组氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸、甲硫氨酸、丝氨酸、脯氨酸及其组合;单糖、二糖和其他碳水化合物;低分子量(少于约10个残基)多肽;蛋白质,例如明胶或血清白蛋白;螯合剂,例如EDTA;糖类,例如海藻糖、蔗糖、乳糖、葡萄糖、甘露糖、麦芽糖、半乳糖、果糖、山梨糖、棉子糖、葡萄糖胺、N-甲基葡萄糖胺、半乳糖胺、神经氨酸;和/或非离子表面活性剂,例如吐温、Brij Pluronics、Triton-X或聚乙二醇(PEG)。

[0848] 药物组合物可以为液体形式、冻干形式或由冻干形式重构的液体形式,其中冻干制剂在施用前用无菌溶液重构。重构冻干组合物的标准程序为添加回一定体积的纯水(通常相当于冻干期间除去的体积);然而,包含抗菌剂的溶液可以用于产生用于肠胃外施用的药物组合物。

[0849] 主题药物组合物中的示例性抗体缀合物浓度范围可以为约1mg/mL至约200mg/mL,或约50mg/mL至约200mg/mL,或约150mg/mL至约200mg/mL。

[0850] 抗体缀合物的水性制剂可以在pH缓冲溶液中制备,例如在约4.0至约7.0,或约5.0至约6.0,或约5.5的pH范围内。适合于该范围内pH的缓冲剂的实例包括磷酸盐缓冲剂、组氨酸缓冲剂、柠檬酸盐缓冲剂、琥珀酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂和其他有机酸缓冲剂。缓冲剂浓度可以为约1mM至约100mM,或约5mM至约50mM,这取决于例如缓冲剂和制剂所需的张力。

[0851] 还可以添加冻干保护剂以保护不稳定的活性成分(例如,蛋白质)免受冻干过程中不稳定条件的影响。例如,已知的冻干保护剂包括糖类(包括葡萄糖和蔗糖);多元醇(包括甘露醇、山梨醇和甘油);和氨基酸(包括丙氨酸、甘氨酸和谷氨酸)。可以包含约10nM至500nM的量的冻干保护剂。

[0852] 在一些实施方案中,主题制剂包含主题抗体缀合物和一种或多种试剂(例如,表面活性剂、缓冲剂、稳定剂、张度剂)并且基本上不含一种或多种防腐剂,例如乙醇、苧醇、苯酚、间甲酚、对氯间甲酚、对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯、苯扎氯铵及其组合。在其他实施方案中,防腐剂以例如约0.001至约2%(w/v)的浓度范围包含在制剂中。

[0853] 例如,主题制剂可以为适合于肠胃外施用的液体或冻干制剂,并且可以包含:约1mg/mL至约200mg/mL的主题抗体缀合物;约0.001%至约1%的至少一种表面活性剂;约1mM至约100mM的缓冲剂;任选地约10mM至约500mM的稳定剂;和约5mM至约305mM的张度剂;并且pH为约4.0至约7.0。

[0854] 作为另一个实例,主题肠胃外制剂为液体或冻干制剂,其包含约1mg/mL至约200mg/mL的主题抗体缀合物;0.04%的吐温20w/v;20mM的L-组氨酸;和250mM的蔗糖;pH为5.5。

[0855] 本文所用的术语“单位剂型”是指适合作为用于人和动物受试者的单位剂量的物

理离散单位,每个单位含有预定量的本公开内容的抗体缀合物,其以足以与药学上可接受的稀释剂、载体或媒介物联合产生期望的效果的量计算。主题抗体缀合物的规格可以取决于所使用的特定抗体缀合物和要实现的效果,以及与宿主中的每种抗体缀合物相关的药理学。

[0856] 主题抗体缀合物可以作为可注射制剂施用。通常,可注射组合物被制备为液体溶液剂或悬浮剂;还可以制备适合在注射之前溶解于或悬浮于液体媒介物中的固体形式。该制剂也可被乳化或将抗体缀合物封装在脂质体媒介物中。

[0857] 药学上可接受的赋形剂,例如媒介物、佐剂、载体或稀释剂,为公众容易获得的。此外,药学上可接受的辅助物质,例如pH调节剂和缓冲剂、张力调节剂、稳定剂、润湿剂等,为公众容易获得的。

[0858] 在一些实施方案中,将主题抗体缀合物配制成控释制剂。缓释制剂可以使用本领域熟知的方法来制备。缓释制剂的合适实例包括含有抗体缀合物的固体疏水性聚合物的半透性基质,其中基质为成形制品的形式,例如薄膜(film)或微胶囊。缓释基质的实例包括聚酯、L-谷氨酸和L-谷氨酸乙酯的共聚物、不可降解的乙烯-乙酸乙烯酯、水凝胶、聚乳酸、可降解的乳酸-乙醇酸共聚物和聚-D-(-)-3-羟基丁酸。可以通过使用适当的添加剂、通过控制水分含量和通过开发特定的聚合物基质组合物来防止缓释制剂中包含的抗体的生物活性的可能丧失和免疫原性的可能变化。

[0859] 物理系统包括但不限于,具有速率控制膜的储库型系统(reservoir system),例如微胶囊、大胶囊和膜系统;没有速率控制膜的储库型系统,例如中空纤维、超微孔三乙酸纤维素,以及多孔聚合物基质和泡沫;整体系统,包括物理溶解在无孔、聚合物或弹性体基质中的那些系统(例如,不可侵蚀、可侵蚀、环境剂侵入和可降解),以及物理分散在无孔、聚合物或弹性体基质中的材料(例如,不可侵蚀、可侵蚀、环境剂侵入和可降解);层状结构,包括化学性质与外控制层相似或不同的储层(reservoir layer);以及其他物理方法,例如渗透泵或吸附到离子交换树脂上。

[0860] 化学系统包括但不限于,聚合物基质的化学侵蚀(例如,异质或同质侵蚀),或聚合物基质的生物侵蚀(例如,异质或同质)。

[0861] 剂量

[0862] 合适的剂量可以由主治医师或其他合格的医务人员基于各种临床因素来确定。正如医学领域中所熟知的,任何一名患者的剂量取决于许多因素,包括患者的体型、体表面积、年龄、待施用的具体化合物、患者的性别、施用时间和途径、一般健康状况,以及同时施用的其他药物。主题抗体缀合物每剂可以按以下量施用,1ng/kg体重至20mg/kg体重,例如0.1mg/kg体重至10mg/kg体重,例如0.5mg/kg体重至5mg/kg体重;然而,特别是考虑到上述因素,可以设想低于或高于该示例性范围的剂量。如果方案为连续输注,也可以在每分钟每千克体重1 μ g至10mg的范围内。

[0863] 技术人员将容易理解,剂量水平可以根据特定抗体缀合物、症状的严重程度和受试者对副作用的敏感性而变化。给定化合物的优选剂量可由本领域技术人员通过多种手段容易地确定。

[0864] 施用途径

[0865] 主题抗体缀合物可以使用任何适用于药物递送的可用方法和途径(包括体内和体

外方法,以及全身和局部施用途径)施用于个体。

[0866] 常规的和药学上可接受的施用途径包括鼻内、肌内、气管内、皮下、皮内、局部施用、静脉内、动脉内、经直肠、经鼻、口服和其他肠内和肠胃外施用途径。如果需要,施用途径可以进行组合,或者根据抗体缀合物和/或期望的效果进行调整。主题抗体缀合物组合可以以单剂量或多剂量施用。在一些实施方案中,主题抗体缀合物组合为口服施用的。在一些实施方案中,主题抗体缀合物组合为通过吸入途径施用的。在一些实施方案中,主题抗体缀合物组合为鼻内施用的。在一些实施方案中,主题抗体缀合物组合为局部施用的。在一些实施方案中,主题抗体缀合物组合为颅内施用的。在一些实施方案中,主题抗体缀合物组合为静脉内施用的。

[0867] 抗体缀合物可以使用任何适合递送常规药物的可用常规方法和途径(包括全身或局部途径)施用于宿主。一般而言,本发明设想的施用途径包括但不限于肠内、肠胃外或吸入途径。

[0868] 除吸入施用之外的肠胃外施用途径包括但不限于局部、经皮、皮下、肌内、眼眶内、囊内、椎管内、胸骨内、肝内和静脉内途径,例如除通过消化道以外的任何施用途径。可以进行肠胃外施用以实现主题抗体的全身或局部递送。当需要全身递送时,施用通常涉及药物制剂的侵入性或全身吸收的局部或粘膜施用。

[0869] 主题抗体缀合物还可以通过肠内施用递送至受试者。肠内施用途径包括但不限于口服和直肠(例如,使用栓剂)递送。

[0870] 所谓治疗是指至少改善与折磨宿主的病理状况相关的症状,其中改善在广义上使用,是指至少降低与正在治疗的病理状况(例如,乳腺癌、胰腺癌或肺癌)相关的参数(例如,症状)的幅度。因此,治疗还包括其中病理状况或至少与其相关的症状被完全抑制(例如,防止发生)或被停止(例如,终止),使得宿主不再遭受该病理状况,或至少不再遭受以该病理状况为特征的症状。

[0871] 在一些实施方案中,主题抗体缀合物通过注射施用,例如用于全身递送(例如,静脉内输注)或至局部部位。

[0872] 多种宿主(其中术语“宿主”在本文中与术语“受试者”、“个体”和“患者”可互换使用)可根据主题方法进行治疗。一般而言,这样的宿主为“哺乳动物”或“哺乳类动物”,其中这些术语广泛用于描述哺乳纲内的生物体,包括食肉目(例如,狗和猫),啮齿目(例如,小鼠、豚鼠和大鼠)和灵长目(例如,人、黑猩猩和猴子)。在一些实施方案中,宿主将为人。

[0873] 治疗方法

[0874] 本公开内容提供了治疗与MUC1阳性细胞(例如,癌性MUC1阳性细胞或自身反应性MUC1阳性细胞)相关或由MUC1阳性细胞引起的疾病或病症的方法。

[0875] 治疗恶性肿瘤

[0876] 本公开内容提供了治疗恶性肿瘤(包括实体瘤或血液恶性肿瘤)的方法,该方法通常涉及向有需要的个体(例如,患有恶性肿瘤的个体)单独(例如,在单一疗法中)或与一种或多种额外的治疗剂联合(例如,在联合疗法中)施用有效量的主题抗体缀合物。

[0877] 恶性肿瘤包括例如HCC、非霍奇金淋巴瘤、伯基特淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)、多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞白血病、毛细胞白血病、幼淋巴细胞白血病、肛门癌、阑尾癌、胆管癌(bile duct cancer)(例如,胆管癌(cholangiocarcinoma))、膀胱癌、脑肿瘤、乳腺

癌、宫颈癌、结肠癌、原发灶不明癌 (cancer of Unknown Primary, CUP)、食道癌、眼癌、输卵管癌、胃肠道癌、肾癌、肝癌、肺癌、髓母细胞瘤、黑色素瘤、口腔癌、卵巢癌、胰腺癌、甲状旁腺疾病、阴茎癌、垂体瘤、前列腺癌、直肠癌、皮肤癌、胃癌、睾丸癌、咽喉癌、甲状腺癌、子宫癌、阴道癌、外阴癌等。

[0878] 在一些实施方案中,当单独施用(例如,在单一疗法中)或与一种或多种额外的治疗剂组合施用(例如,在联合疗法中),以一个或多个剂量施用时,主题抗体缀合物的有效量是指,与没有使用抗体缀合物进行治疗的个体中的癌细胞数量相比,有效地将个体中的癌细胞数量减少至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或更多的量。

[0879] 在某些情况下,乳腺癌的雌激素、孕激素和HER2呈三阴性。在一些情况下,三阴性乳腺癌为转移性三阴性乳腺癌。在一些情况下,三阴性乳腺癌为复发性或难治性三阴性乳腺癌。在一些情况下,三阴性乳腺癌为复发性或难治性转移性三阴性乳腺癌。

[0880] 本公开内容的各方面包括将药物递送至受试者体内的靶点的方法。该方法包括向受试者施用包含根据本公开内容的缀合物的药物组合物,其中该施用有效地从受试者的靶点处的缀合物释放治疗有效量的药物。

[0881] 在一些实施方案中,施用多剂量的抗体-药物缀合物。抗体-药物缀合物的施用频率可以根据多种因素(例如,症状的严重程度、受试者的状况等)中的任何一种而变化。例如,在一些实施方案中,抗体-药物缀合物的施用为每月一次、每月两次、每月三次、隔周一次、每周一次(qwk)、每周两次、每周三次、每周四次、每周五次、每周六次、隔日一次、每日一次(qd/od)、每日两次(bds/bid)或每日三次(tds/tid)等。

[0882] 联合疗法

[0883] 在一些实施方案中,治疗恶性肿瘤的主题方法包括施用主题抗体缀合物和一种或多种额外的治疗剂。合适的额外的治疗剂包括但不限于癌症化疗剂(如上所述)。

[0884] 在一些实施方案中,治疗方法可以包括向受试者施用治疗有效量的免疫调节治疗剂。免疫调节治疗剂可以为免疫检查点抑制剂或白细胞介素。免疫检查点抑制剂可以抑制A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、CTLA-4、CD277、IDO、KIR、PD-1、LAG-3、TIM-3、TIGIT或VISTA。抑制PD-1信号传导的免疫检查点抑制剂可以为抗-PD-1抗体。抗-PD-1抗体可以为纳武单抗(nivolumab)、派姆单抗(pembrolizumab)、阿替利珠单抗(atenzolizumab)、德瓦鲁单抗(durvalumab)或阿维单抗(avelumab)。抑制CTLA-4的免疫检查点抑制剂可以为抗-CTLA-4抗体。抗-CTLA-4抗体可以为伊匹单抗(ipilimumab)。

[0885] 适合治疗的受试者

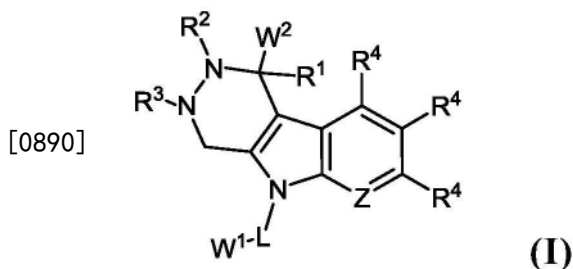
[0886] 多种受试者适合使用主题方法进行治疗。合适的受试者包括具有以下情况的任何个体,例如人:患有恶性肿瘤;被诊断为患有恶性肿瘤;患有恶性肿瘤并且有恶性肿瘤复发风险;已经用除主题抗-MUC1抗体缀合物之外的药剂治疗恶性肿瘤(例如,已经用癌症化疗剂治疗)并且对该药剂没有反应;或已经用除主题抗-MUC1抗体缀合物之外的药剂治疗恶性肿瘤(例如,已经用癌症化疗剂治疗)并且最初对该药剂有反应但随后不再有反应(例如,复发)。

[0887] 实施方案

[0888] 在下面列出的条款中描述了本公开内容的某些实施方案。这些实施方案仅为说明

性的并且不旨在限制范围。

[0889] 1. 一种式 (I) 的缀合物:



[0891] 其中

[0892] Z为CR⁴或N;

[0893] R¹选自氢、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基;

[0894] R²和R³各自独立地选自氢、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、烷氧基、取代的烷氧基、氨基、取代的氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代的烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代的硫代烷氧基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基,或R²和R³任选地环状连接以形成5或6元杂环基;

[0895] 每个R⁴独立地选自氢、卤素、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、烷氧基、取代的烷氧基、氨基、取代的氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代的烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代的硫代烷氧基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基;

[0896] L为接头;

[0897] W¹为药物;并且

[0898] W²为抗-MUC1抗体。

[0899] 2. 根据条款1所述的缀合物,其中L包含:

[0900] $-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-(T^4-V^4)_d-(T^5-V^5)_e-(T^6-V^6)_f-$,

[0901] 其中

[0902] a、b、c、d、e和f各自独立地为0或1,其中a、b、c、d、e和f之和为1至6;

[0903] T¹、T²、T³、T⁴、T⁵和T⁶各自独立地选自共价键、(C₁-C₁₂) 烷基、取代的(C₁-C₁₂) 烷基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基、(EDA)_w、(PEG)_n、(AA)_p、-(CR¹³OH)_m、4-氨基-哌啶(4AP)、间-氨基-苄氧基(MABO)、间-氨基-苄氧基羰基(MABC)、对-氨基-苄氧基(PABO)、对-氨基-苄氧基羰基(PABC)、对-氨基苄基(PAB)、对-氨基-苄氨基(PABA)、对-氨基-苯基(PAP)、对-羟基-苯基(PHP)、缩醛、肼、二硫化物和酯,其中EDA为乙二胺部分,PEG为聚乙二醇,并且AA为氨基酸残基或氨基酸类似物,其中每个w为1至20的整数,每个n为1至30的整数,每个p为1至20的整数,并且每个m为1至12的整数;

[0904] V¹、V²、V³、V⁴、V⁵和V⁶各自独立地选自共价键、-CO-、-NR¹⁵-、-NR¹⁵(CH₂)_q-、-NR¹⁵(C₆H₄)_q-、-CONR¹⁵-、-NR¹⁵CO-、-C(O)O-、-OC(O)-、-O-、-S-、-S(O)-、-SO₂-、-SO₂NR¹⁵-、-NR¹⁵SO₂-和-P(O)OH-,其中每个q为1至6的整数;

[0905] 每个 R^{13} 独立地选自氢、烷基、取代的烷基、芳基和取代的芳基；

[0906] 每个 R^{15} 独立地选自氢、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、羧基、羧基酯、酰基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基。

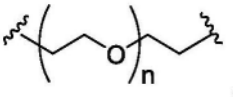
[0907] 3. 根据条款2所述的缀合物, 其中:

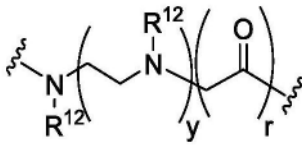
[0908] T^1 选自 (C_1-C_{12}) 烷基和取代的 (C_1-C_{12}) 烷基;

[0909] T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 和 T^6 各自独立地选自共价键、 (C_1-C_{12}) 烷基、取代的 (C_1-C_{12}) 烷基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基、 $(EDA)_w$ 、 $(PEG)_n$ 、 $(AA)_p$ 、 $-(CR^{13}OH)_m-$ 、4-氨基-哌啶(4AP)、MABO、MABC、PABO、PABC、PAB、PABA、PAP、PHP、缩醛基、肼和酯; 并且

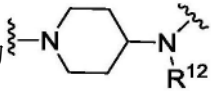
[0910] V^1 、 V^2 、 V^3 、 V^4 、 V^5 和 V^6 各自独立地选自共价键、 $-CO-$ 、 $-NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}(CH_2)_q-$ 、 $-NR^{15}(C_6H_4)-$ 、 $-CONR^{15}-$ 、 $-NR^{15}CO-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-SO_2NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}SO_2-$ 和 $-P(O)OH-$;

[0911] 其中:

[0912] $(PEG)_n$ 为 , 其中n为1至30的整数;

[0913] EDA为具有以下结构的乙二胺部分: , 其中y为1至6的整数,

并且r为0或1;

[0914] 4-氨基-哌啶(4AP)为  并且

[0915] 每个 R^{12} 独立地选自氢、烷基、取代的烷基、聚乙二醇部分、芳基和取代的芳基, 其中任何两个相邻的 R^{12} 基团可以环状连接以形成哌嗪基环。

[0916] 4. 根据条款2至3中任一项所述的缀合物, 其中MABO、MABC、PABO、PABC、PAB、PABA、PAP和PHP各自任选地被糖苷取代。

[0917] 5. 根据条款4中任一项所述的缀合物, 其中糖苷选自葡萄糖苷酸、半乳糖苷、葡萄糖苷、甘露糖苷、岩藻糖苷、O-GlcNAc和O-GalNAc。

[0918] 6. 根据条款2至5中任一项所述的缀合物,

[0919] 其中:

[0920] T^1 为 (C_1-C_{12}) 烷基并且 V^1 为 $-CO-$;

[0921] T^2 为氨基酸类似物并且 V^2 为 $-NH-$;

[0922] T^3 为 $(PEG)_n$ 并且 V^3 为 $-CO-$;

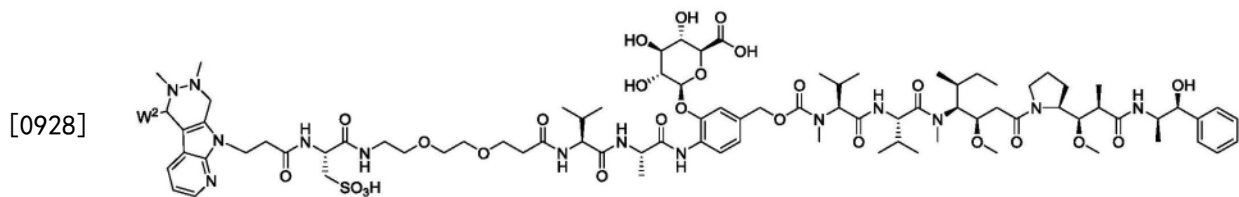
[0923] T^4 为AA并且 V^4 不存在;

[0924] T^5 为PABC并且 V^5 不存在; 并且

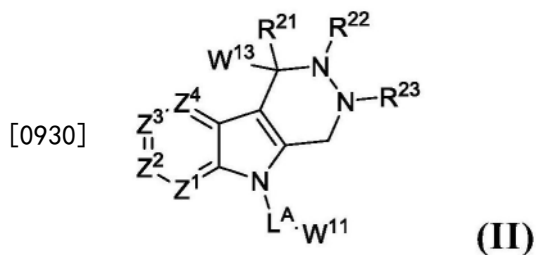
[0925] f为0。

[0926] 7. 根据条款1至6中任一项所述的缀合物, 其中药物为一甲基澳瑞他汀E(MMAE)。

[0927] 8. 根据条款1至7中任一项所述的缀合物, 其中缀合物具有结构:



[0929] 9. 一种式(II)的缀合物:



[0931] 其中:

[0932] Z^1 、 Z^2 、 Z^3 和 Z^4 各自独立地选自 CR^{24} 、N和 $C-L^B-W^{12}$, 其中至少一个 Z^1 、 Z^2 、 Z^3 和 Z^4 为 $C-L^B-W^{12}$;

[0933] R^{21} 选自氢、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基;

[0934] R^{22} 和 R^{23} 各自独立地选自氢、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、烷氧基、取代的烷氧基、氨基、取代的氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代的烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代的硫代烷氧基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基, 或 R^{22} 和 R^{23} 任选地环状连接以形成5或6元杂环基;

[0935] 每个 R^{24} 独立地选自氢、卤素、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、烷氧基、取代的烷氧基、氨基、取代的氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰氨基、氨酰基、烷基酰胺、取代的烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代的硫代烷氧基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基;

[0936] L^A 为第一接头;

[0937] L^B 为第二接头;

[0938] W^{11} 为第一药物;

[0939] W^{12} 为第二药物; 并且

[0940] W^{13} 为抗-MUC1抗体。

[0941] 10. 根据条款9所述的缀合物, 其中 Z^1 为 CR^{24} 。

[0942] 11. 根据条款9所述的缀合物, 其中 Z^1 为N。

[0943] 12. 根据条款9所述的缀合物, 其中 Z^3 为 $C-L^B-W^{12}$ 。

[0944] 13. 根据权利要求9至12中任一项所述的缀合物, 其中 L^A 包含:

[0945] $-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-(T^4-V^4)_d-(T^5-V^5)_e-(T^6-V^6)_f-$,

[0946] 其中

[0947] a、b、c、d、e和f各自独立地为0或1;

[0948] T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 和 T^6 各自独立地选自共价键、 (C_1-C_{12}) 烷基、取代的 (C_1-C_{12}) 烷基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基、 $(EDA)_w$ 、 $(PEG)_n$ 、 $(AA)_p$ 、 $-(CR^{13}OH)_x-$ 、4-氨基-哌啶 (4AP)、间-氨基-苄氧基 (MABO)、间-氨基-苄氧基羰基 (MABC)、对-氨基-苄氧基 (PABO)、对-氨基-苄氧基羰基 (PABC)、对-氨基苄基 (PAB)、对-氨基-苄氨基 (PABA)、对-氨基-苯基 (PAP)、对-羟基-苯基 (PHP)、缩醛基、肼、二硫化物和酯,其中EDA为乙二胺部分,PEG为聚乙二醇,并且AA为氨基酸残基或氨基酸类似物,其中每个w为1至20的整数,每个n为1至30的整数,每个p为1至20的整数,并且每个x为1至12的整数。

[0949] V^1 、 V^2 、 V^3 、 V^4 、 V^5 和 V^6 各自独立地选自共价键、 $-CO-$ 、 $-NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}(CH_2)_q-$ 、 $-NR^{15}(C_6H_4)-$ 、 $-CONR^{15}-$ 、 $-NR^{15}CO-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-SO_2NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}SO_2-$ 和 $-P(O)OH-$,其中每个q为1至6的整数;

[0950] 每个 R^{13} 独立地选自氢、烷基、取代的烷基、芳基和取代的芳基;并且

[0951] 每个 R^{15} 独立地选自氢、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、羧基、羧基酯、酰基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基。

[0952] 14. 根据条款13所述的缀合物,其中MABO、MABC、PABO、PABC、PAB、PABA、PAP和PHP各自任选地被糖苷取代。

[0953] 15. 根据条款14所述的缀合物,其中糖苷选自葡萄糖苷酸、半乳糖苷、葡萄糖苷、甘露糖苷、岩藻糖苷、O-GlcNAc和O-GalNAc。

[0954] 16. 根据条款9至15中任一项所述的缀合物,

[0955] 其中:

[0956] T^1 为 (C_1-C_{12}) 烷基并且 V^1 为 $-CONH-$;

[0957] T^2 为取代的 (C_1-C_{12}) 烷基并且 V^2 为 $-CO-$;

[0958] T^3 为AA并且 V^3 不存在;

[0959] T^4 为PABC并且 V^4 不存在;并且

[0960] e和f均为0。

[0961] 17. 根据条款9-16中任一项所述的缀合物,其中 L^B 包含:

[0962] $-(T^7-V^7)_g-(T^8-V^8)_h-(T^9-V^9)_i-(T^{10}-V^{10})_j-(T^{11}-V^{11})_k-(T^{12}-V^{12})_l-(T^{13}-V^{13})_m-$,

[0963] 其中

[0964] g、h、i、j、k、l和m各自独立地为0或1;

[0965] T^7 、 T^8 、 T^9 、 T^{10} 、 T^{11} 、 T^{12} 和 T^{13} 各自独立地选自共价键、 (C_1-C_{12}) 烷基、取代的 (C_1-C_{12}) 烷基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基、 $(EDA)_w$ 、 $(PEG)_n$ 、 $(AA)_p$ 、 $-(CR^{13}OH)_x-$ 、4-氨基-哌啶 (4AP)、间-氨基-苄氧基 (MABO)、间-氨基-苄氧基羰基 (MABC)、对-氨基-苄氧基 (PABO)、对-氨基-苄氧基羰基 (PABC)、对-氨基苄基 (PAB)、对-氨基-苄氨基 (PABA)、对-氨基-苯基 (PAP)、对-羟基-苯基 (PHP)、缩醛基、肼、二硫化物和酯,其中EDA为乙二胺部分,PEG为聚乙二醇,AA为氨基酸残基或氨基酸类似物,其中每个w为1至20的整数,每个n为1至30的整数,每个p为1至20的整数,并且每个x为1至12的整数;

[0966] V^7 、 V^8 、 V^9 、 V^{10} 、 V^{11} 、 V^{12} 和 V^{13} 各自独立地选自共价键、 $-CO-$ 、 $-NR^{15}-$ 、 $-NR^{15}(CH_2)_q-$ 、

$\text{NR}^{15}(\text{C}_6\text{H}_4)-$ 、 $-\text{CONR}^{15}-$ 、 $-\text{NR}^{15}\text{CO}-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{OC}(\text{O})-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{S}(\text{O})-$ 、 $-\text{SO}_2-$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}^{15}-$ 、 $-\text{NR}^{15}\text{SO}_2-$ 和 $-\text{P}(\text{O})\text{OH}-$, 其中每个q为1至6的整数;

[0967] 每个 R^{13} 独立地选自氢、烷基、取代的烷基、芳基和取代的芳基;并且

[0968] 每个 R^{15} 独立地选自氢、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、羧基、羧基酯、酰基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基。

[0969] 18. 根据条款17所述的缀合物, 其中MABO、MABC、PABO、PABC、PAB、PABA、PAP和PHP各自任选地被糖苷取代。

[0970] 19. 根据条款17至18中任一项所述的缀合物, 其中糖苷选自葡萄糖苷酸、半乳糖苷、葡萄糖苷、甘露糖苷、岩藻糖苷、O-GlcNAc和O-GalNAc。

[0971] 20. 根据条款17至19中任一项所述的缀合物,

[0972] 其中:

[0973] T^7 不存在并且 V^7 为 $-\text{NHCO}-$;

[0974] T^8 为 $(\text{C}_1-\text{C}_{12})$ 烷基并且 V^8 为 $-\text{CONH}-$;

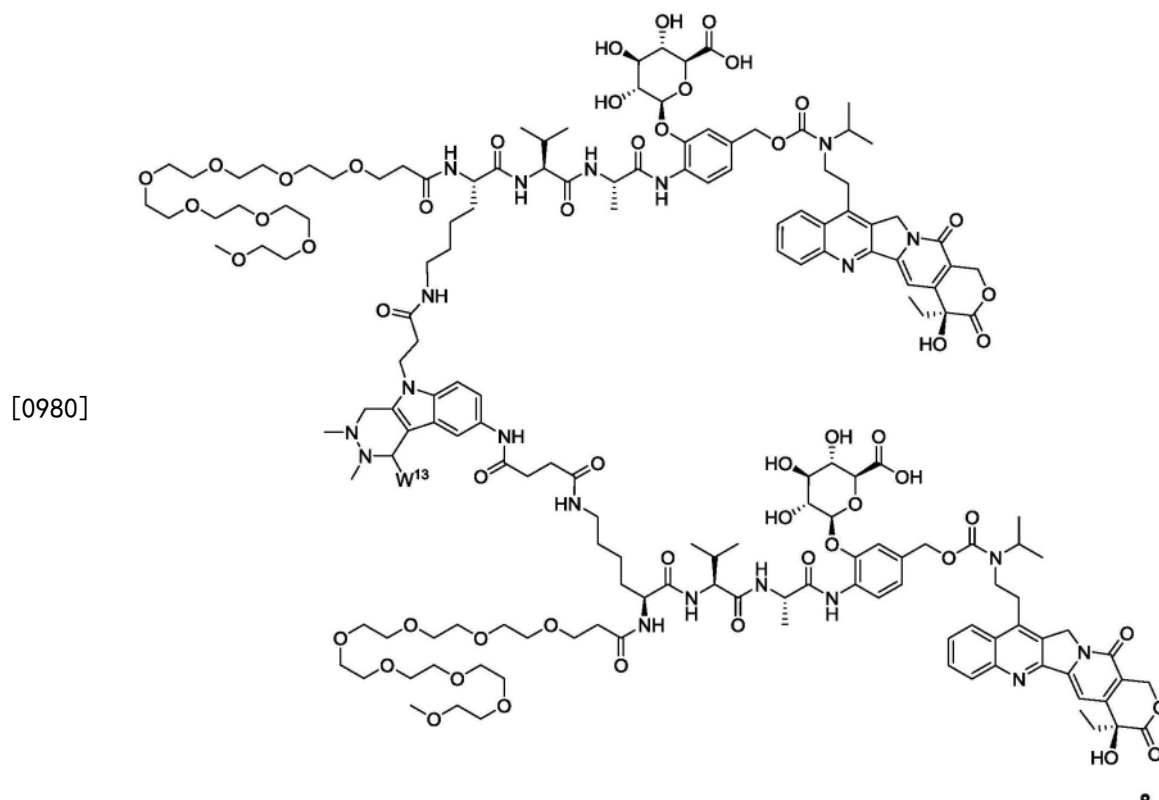
[0975] T^9 为取代的 $(\text{C}_1-\text{C}_{12})$ 烷基并且 V^9 为 $-\text{CO}-$;

[0976] T^{10} 为AA并且 V^{10} 不存在;

[0977] T^{11} 为PABC并且 V^{11} 不存在;并且

[0978] l和m均为0。

[0979] 21. 根据条款9所述的缀合物, 其中缀合物具有以下结构:



[0981] 22. 根据条款1至21中任一项所述的缀合物, 其中抗-MUC1抗体为IgG1抗体。

[0982] 23. 根据条款22所述的缀合物, 其中抗-MUC1抗体为IgG1 κ 抗体。

[0983] 24. 根据条款1至23中任一项所述的缀合物, 其中抗-MUC1抗体包含式(III)的序

列:

[0984] $X^1(fGly')X^2Z^2X^3Z^3$ (III),

[0985] 其中

[0986] X^1 存在或不存在,并且当存在时可以为任何氨基酸,条件是当序列位于缀合物的N-端时, X^1 存在;

[0987] fGly'为通过接头与药物偶联的氨基酸残基;

[0988] X^2 和 X^3 各自独立地为任何氨基酸;

[0989] Z^2 为脯氨酸或丙氨酸残基;并且

[0990] Z^3 为碱性氨基酸或脂肪族氨基酸。

[0991] 25. 根据条款24所述的缀合物,其中序列为L(fGly')TPSR(SEQ ID NO:24)。

[0992] 26. 根据条款24所述的缀合物,其中

[0993] Z^3 选自R、K、H、A、G、L、V、I和P;

[0994] X^1 选自L、M、S和V;并且

[0995] X^2 和 X^3 各自独立地选自S、T、A、V、G和C。

[0996] 27. 根据条款1至26中任一项所述的缀合物,其中所述序列位于抗-MUC2抗体的重链恒定区的C-端。

[0997] 28. 根据条款27所述的缀合物,其中所述重链恒定区包含式(III)的序列:

[0998] $X^1(fGly')X^2Z^2X^3Z^3$ (III),

[0999] 其中

[1000] X^1 存在或不存在,并且当存在时,可以为任何氨基酸,条件是当序列位于缀合物的N-端时, X^1 存在;

[1001] fGly'为通过接头与药物偶联的氨基酸残基;

[1002] X^2 和 X^3 各自独立地为任何氨基酸;

[1003] Z^2 为脯氨酸或丙氨酸残基;

[1004] Z^3 为碱性氨基酸或脂肪族氨基酸,并且

[1005] 其中所述序列为氨基酸序列SLSLSPG(SEQ ID NO:187)的C-端。

[1006] 29. 根据条款28所述的缀合物,其中所述重链恒定区包含序列SPGSL(fGly')TPSRGS(SEQ ID NO:188)。

[1007] 30. 根据条款28所述的缀合物,其中

[1008] Z^3 选自R、K、H、A、G、L、V、I和P;

[1009] X^1 选自L、M、S和V;并且

[1010] X^2 和 X^3 各自独立地选自S、T、A、V、G和C。

[1011] 31. 根据条款27至30中任一项所述的缀合物,其中抗-MUC1抗体的重链恒定区包含与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一的氨基酸序列,并且在第332位氨基酸处包含fGly'残基而不为C。

[1012] 32. 根据条款1至26中任一项所述的缀合物,其中抗-MUC1抗体的重链恒定区包含与SEQ ID NO:58、62、66和70中任一项所示的氨基酸序列至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一的氨基酸序列,并且在第59位氨基酸处包含fGly'残基而不为C。

[1013] 33. 根据条款1至26中任一项所述的缀合物,其中抗-MUC1抗体的重链恒定区包含与SEQ ID NO:59、63、67和71中任一项所示的氨基酸序列至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一的氨基酸序列,并且在第62位氨基酸处包含fGly'残基而不为C。

[1014] 34. 根据条款1至26中任一项所述的缀合物,其中抗-MUC1抗体的重链恒定区包含与SEQ ID NO:60、64、68和72中任一项所示的氨基酸序列至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一的氨基酸序列,并且在第92位氨基酸处包含fGly'残基而不为C。

[1015] 35. 根据条款1至26中任一项所述的缀合物,其中抗-MUC1抗体的重链恒定区包含与SEQ ID NO:61、65、69和73中任一项所示的氨基酸序列至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一的氨基酸序列,并且在第117位氨基酸处包含fGly'残基而不为C。

[1016] 36. 根据条款1至26中任一项所述的缀合物,其中fGly'残基位于抗-MUC1抗体的轻链恒定区中。

[1017] 37. 根据条款36所述的缀合物,其中轻链恒定区包含式(III)的序列:

[1018] $X^1(fGly')X^2Z^2X^3Z^3$ (III),

[1019] 其中

[1020] X^1 存在或不存在,并且当存在时,可以为任何氨基酸,条件是当序列位于缀合物的N-端时, X^1 存在;

[1021] fGly'为通过接头与药物偶联的氨基酸残基;

[1022] X^2 和 X^3 各自独立地为任何氨基酸;

[1023] Z^2 为脯氨酸或丙氨酸残基;

[1024] Z^3 为碱性氨基酸或脂肪族氨基酸,并且

[1025] 其中该序列为氨基酸序列KVDNAL (SEQ ID NO:101)的C-端,和/或为序列QSGNSQ (SEQ ID NO:102)的N-端。

[1026] 38. 根据条款37所述的缀合物,其中轻链恒定区包含序列KVDNAL (fGly')TPSRQSGNSQ (SEQ ID NO:103)。

[1027] 39. 根据条款36所述的缀合物,

[1028] 其中

[1029] Z^3 选自R、K、H、A、G、L、V、I和P;

[1030] X^1 选自L、M、S和V;并且

[1031] X^2 和 X^3 各自独立地选自S、T、A、V、G和C。

[1032] 40. 根据条款1至26中任一项所述的缀合物,其中fGly'残基位于抗-MUC1抗体的重链CH1区中。

[1033] 41. 根据条款40所述的缀合物,其中所述轻链恒定区包含式(III)的序列:

[1034] $X^1(fGly')X^2Z^2X^3Z^3$ (III),

[1035] 其中

[1036] X^1 存在或不存在,并且当存在时,可以为任何氨基酸,条件是当序列位于缀合物的N-端时, X^1 存在;

- [1037] fGly'为通过接头与药物偶联的氨基酸残基;
- [1038] X^2 和 X^3 各自独立地为任何氨基酸;
- [1039] Z^2 为脯氨酸或丙氨酸残基;
- [1040] Z^3 为碱性氨基酸或脂肪族氨基酸,并且
- [1041] 其中所述序列为氨基酸序列SWNSGA (SEQ ID NO:104)的C-端和/或为氨基酸序列GVHTFP (SEQ ID NO:105)的N-端。
- [1042] 42. 根据条款41所述的缀合物,其中重链CH1区包含序列SWNSGAL (fGly') TPSRGVHTFP (SEQ ID NO:106)。
- [1043] 43. 根据条款42所述的缀合物,其中
- [1044] Z^3 选自R、K、H、A、G、L、V、I和P;
- [1045] X^1 选自L、M、S和V;并且
- [1046] X^2 和 X^3 各自独立地选自S、T、A、V、G和C。
- [1047] 44. 根据条款1至26中任一项所述的缀合物,其中fGly'残基位于抗-MUC1抗体的重链CH2区中。
- [1048] 45. 根据条款1至26中任一项所述的缀合物,其中fGly'残基位于抗-MUC1抗体的重链CH3区中。
- [1049] 46. 根据条款1至45中任一项所述的缀合物,其中所述抗-MUC1抗体与包含以下的抗-MUC1抗体竞争结合MUC1:
- [1050] 可变重链(VH)链,其包含具有以下序列的VH链的重链CDR 1-3(HCDR 1-3):
- [1051] EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDHTMHWIKQRP GKGLEWMGYFYPRDDSTNYNEKFKGR VTLTADKSTDTAYMELSS LRSEDTAVYYCARGRLRYALDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:1);和
- [1052] 可变轻链(VL)链,其包含具有以下序列的VL链的轻链CDR 1-3(LCDR 1-3):
- [1053] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVSSSYLYWYQQKPGQA PRLWIYGTSNLASGVPARFSGSG SGTDTLTITSSLEPEDAAVYYCH QYAWSPPTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:2);
- [1054] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVGSSNLYWYQQKPGQ APRLWIYRSTKLASGVPARFSGSG SGTDTLTITSSLEPEDAAVYYC HQYRWSPTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:3);或
- [1055] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVSSSYLYWYQQKPGQA PRLWIIGTSNLASGVPARFSGSG SGTDTLTITSSLEPEDAAVYYCHQ YSWSPPTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:4)。
- [1056] 47. 根据条款1至45中任一项所述的缀合物,其中所述抗-MUC1抗体包含:
- [1057] 可变重链(VH)链,其包含具有以下序列的VH链的重链CDR 1-3(HCDR 1-3):
- [1058] EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDHTMHWIKQRP GKGLEWMGYFYPRDDSTNYNEKFKGR VTLTADKSTDTAYMELSS LRSEDTAVYYCARGRLRYALDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:1);和
- [1059] 可变轻链(VL)链,其包含具有以下序列的VL链的轻链CDR 1-3(LCDR 1-3):
- [1060] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVSSSYLYWYQQKPGQA PRLWIYGTSNLASGVPARFSGSG SGTDTLTITSSLEPEDAAVYYCH QYAWSPPTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:2);
- [1061] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVGSSNLYWYQQKPGQ APRLWIYRSTKLASGVPARFSGSG SGTDTLTITSSLEPEDAAVYYC HQYRWSPTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:3);或
- [1062] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVSSSYLYWYQQKPGQA PRLWIIGTSNLASGVPARFSGSG SGTDTLTITSSLEPEDAAVYYCHQ YSWSPPTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:4)。

[1063] 48. 根据条款46或47所述的缀合物,其中VH多肽包含与SEQ ID NO:1中所示的氨基酸序列具有至少80%同一性的氨基酸序列。

[1064] 49. 根据条款46至48中任一项所述的缀合物,其中VL多肽包含与SEQ ID NO:2、3或4中所示的氨基酸序列具有至少80%同一性的氨基酸序列。

[1065] 50. 根据第46至49项中任一项所述的缀合物,其中:

[1066] HCDR1包含氨基酸序列DHTMH(SEQ ID NO:17);

[1067] HCDR2包含氨基酸序列YFYPRDDSTNYNEKFKG(SEQ ID NO:18);

[1068] HCDR3包含氨基酸序列GLRYALDY(SEQ ID NO:9);

[1069] LCDR1包含氨基酸序列RASSSVSSSYLY(SEQ ID NO:10);

[1070] LCDR2包含氨基酸序列GTSNLAS(SEQ ID NO:11);并且

[1071] LCDR3包含氨基酸序列HQYAWSPT(SEQ ID NO:12),根据Kabat定义。

[1072] 51. 根据条款46至49中任一项所述的缀合物,其中:

[1073] HCDR1包含氨基酸序列DHTMH(SEQ ID NO:17);

[1074] HCDR2包含氨基酸序列YFYPRDDSTNYNEKFKG(SEQ ID NO:18);

[1075] HCDR3包含氨基酸序列GLRYALDY(SEQ ID NO:9);

[1076] LCDR1包含氨基酸序列RASSSVGSSNLY(SEQ ID NO:13);

[1077] LCDR2包含氨基酸序列RSTKLAS(SEQ ID NO:14);并且

[1078] LCDR3包含氨基酸序列HQYRWSPT(SEQ ID NO:15),根据Kabat定义。

[1079] 52. 第46至49项中任一项的缀合物,其中:

[1080] HCDR1包含氨基酸序列DHTMH(SEQ ID NO:17);

[1081] HCDR2包含氨基酸序列YFYPRDDSTNYNEKFKG(SEQ ID NO:18);

[1082] HCDR3包含氨基酸序列GLRYALDY(SEQ ID NO:9);

[1083] LCDR1包含氨基酸序列RASSSVSSSYLY(SEQ ID NO:10);

[1084] LCDR2包含氨基酸序列GTSNLAS(SEQ ID NO:11);并且

[1085] LCDR3包含氨基酸序列HQYWSPT(SEQ ID NO:16),根据Kabat定义。

[1086] 53. 一种药物组合物,其包含:

[1087] 根据条款1至52中任一项所述的缀合物;和

[1088] 药学上可接受的赋形剂。

[1089] 54. 一种方法,其包括:

[1090] 向受试者施用有效量的根据条款1至52中任一项所述的缀合物。

[1091] 55. 一种治疗受试者的癌症的方法,所述方法包括:

[1092] 向受试者施用治疗有效量的根据条款53所述的药物组合物,其中所述施用有效治疗受试者的癌症。

[1093] 56. 根据条款55所述的方法,其中所述癌症为乳腺癌、卵巢癌、肺癌或胃癌。

[1094] 57. 根据条款56所述的方法,其中所述癌症的特征在于表达糖基化的MUC1的癌细胞。

[1095] 58. 根据条款56所述的方法,其中所述缀合物结合至糖基化的MUC1。

[1096] 59. 根据条款55至58中任一项所述的方法,其中所述乳腺癌为雌激素、孕激素和HER2三阴性的。

- [1097] 60. 根据条款59所述的方法, 其中三阴性乳腺癌为转移性三阴性乳腺癌。
- [1098] 61. 根据条款59或60所述的方法, 其中三阴性乳腺癌为复发性或难治性三阴性乳腺癌。
- [1099] 62. 根据条款55至61中任一项所述的方法, 进一步包括向受试者施用治疗有效量的免疫调节治疗剂。
- [1100] 63. 根据条款62所述的方法, 其中所述免疫调节治疗剂为免疫检查点抑制剂或白细胞介素。
- [1101] 64. 根据条款63所述的方法, 其中所述免疫检查点抑制剂抑制A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、CTLA-4、CD277、IDO、KIR、PD-1、LAG-3、TIM-3、TIGIT和VISTA。
- [1102] 65. 根据条款64所述的方法, 其中抑制PD-1信号传导的免疫检查点抑制剂为抗PD-1抗体。
- [1103] 66. 根据条款65所述的方法, 其中所述抗PD-1抗体为纳武单抗、派姆单抗、阿替利珠单抗、德瓦鲁单抗或阿维单抗。
- [1104] 67. 根据条款64所述的方法, 其中抑制CTLA-4的免疫检查点抑制剂为抗CTLA-4抗体。
- [1105] 68. 根据条款67所述的方法, 其中所述抗CTLA-4抗体为伊匹单抗。
- [1106] 69. 一种将药物递送至受试者的靶点的方法, 所述方法包括:
- [1107] 向受试者施用根据条款53所述的药物组合物, 其中所述施用有效地从受试者体内的靶点处的缀合物中释放治疗有效量的药物。

[1108] 实施例

[1109] 提出以下实施例以向本领域普通技术人员提供如何制造和使用本发明的完整公开和描述, 并不是旨在限制本发明人所认为的他们的发明的范围, 也不旨在表示以下实验是所有或仅进行的实验。已努力确保所用数字(例如, 量、温度等)的准确性, 但应考虑一些实验误差和偏差。除非另有说明, 否则份数是重量份, 分子量是重均分子量, 温度是摄氏度, 压力是大气压或接近大气压。可以使用标准缩写, 例如bp、碱基对; kb, 千碱基; pL, 皮升; s或sec, 秒; min, 分钟; h或hr、小时; aa, 氨基酸; kb, 千碱基; bp, 碱基对; nt, 核苷酸; i.m., 肌内; i.p., 腹膜内; s.c., 皮下等。除非另有说明, 实施例中提到的市售试剂根据制造商的说明使用。在实施例和整个说明书中通过ECACC登录号鉴定的细胞来源是英格兰索尔兹伯里的欧洲细胞培养物保藏中心(European Collection of Cell Cultures (ECACC))。除非另有定义, 本文中使用的所有技术和科学术语具有如本发明所属领域的普通技术人员通常理解的相同含义。下面描述了示例性方法和材料, 尽管与本文描述的方法和材料类似或等同的方法和材料也可以用于本发明的实践或测试。材料、方法和实施例仅为说明性的, 并不旨在限制范围。

[1110] 实施例1: 抗-MUC1单克隆抗体

[1111] 材料和方法

[1112] SEC HPLC: 为了测定聚集, 使用分析尺寸排阻色谱法(SEC; Tosoh#08541)分析样品, 流动相为300mM NaCl、25mM磷酸钠, pH 6.8。

[1113] MUC1 ELISA: 将抗原以100ng/孔的PBS溶液直接涂布在链霉亲和素(Streptavidin) (Pierce, 15500) 或Maxisorp (VWR, 62409-024) 96孔板上。涂布的板在4℃下

孵育过夜。将板用酪蛋白封闭缓冲液 (Thermo Fisher, 37528) 封闭, 并用 PBS-吐温-20 洗涤。将抗体在 PBS 中连续稀释, 添加到涂布的孔中并在室温下振荡孵育 1 小时。为了测试粘性, 还将抗体添加到未涂布的封闭孔中。使用过氧化物酶 (HRP) 缀合的抗-Fc 第二抗体 (Jackson ImmunoResearch, #109-035-098) 进行检测, 然后使用 TMP 底物 (Thermo Fisher, 34028), 并进行 H_2SO_4 淬灭。在 Molecular Devices 读板机上读取 450nm 处的吸光度。

[1114] 流式细胞术分析: 用维尔烯 (Versene) 收获细胞系, 转移至含有 2% FBS 的 PBS (PBS/FBS) 中并冷冻。将细胞与指定的抗体 ($1\mu g$ /测试) 在冰上孵育 20-30 分钟。用 PBS/FBS 洗涤 1 次后, 添加 AlexaFluor488 缀合的抗-人 IgG-Fc 抗体和染料 7-AAD (用于排除死细胞), 并将细胞在冰上孵育 20 分钟。将样品用 PBS/FBS 洗涤 2 次, 然后在运行 FACSDiva™ 软件的 FACS Canto™ 仪器上进行流式细胞术分析。通过排除双联体和死细胞并对 FSC/SSC 细胞群进行门控来进行分析。确定每种抗体的 AlexaFluor488 通道的几何平均荧光强度 (gMFI)。所有样品均一式三份进行。对照物包括 MUC1 阴性细胞系 (HCT-116)、仅用第二抗体标记的细胞和未染色的细胞。

[1115] 差示扫描荧光测定法。使用蛋白质热转移试剂盒 (Protein Thermal Shift Kit) (Applied Biosystems) 将抗体 ($10\mu L$, $1mg/mL$) 用于蛋白质熔解温度测量。将抗体与 $5\mu L$ 缓冲液和 $2.5\mu L$ 8X 荧光染料混合, 进行 $20\mu L$ 反应。使用 QuantStudio3 (Applied Biosystems) 实时 PCR 机生成熔解曲线。设置为: $25^\circ C$ 保持 2 分钟, 然后以 $0.05^\circ C$ /秒将温度升高至 $99^\circ C$, 然后在 $99^\circ C$ 下保持 2 分钟。通过蛋白质热转移软件 (Applied Biosystems) 分析原始数据。

[1116] 结果

[1117] 产生了三种抗-MUC1 单克隆抗体: MUC1 gB06、MUC1 G12 和 MUC1H02。三种抗体具有相同的重链序列和不同的轻链序列。

[1118] 根据 Chothia 定义、Kabat 定义和 IMGT 定义划分的具有框架区 (下划线) 和 HCDR (粗体) 的可变重链区序列如下所示:

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDHTMHWIKQRPGK
GLEWMGYFYPRDDSTNYNEKFKGRVTLTADKSTDTAYMELSSLRSED
TAVYYCARGRLRYALDYWGQGTLLTVSS(SEQ ID NO:1)(Chothia 定义)
EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDHTMHWIKQRPGK
[1119] GLEWMGYFYPRDDSTNYNEKFKGRVTLTADKSTDTAYMELSSLRSE
DTAVYYCARGRLRYALDYWGQGTLLTVSS(SEQ ID NO:1)(Kabat 定义)
EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDHTMHWIKQRPGK
GLEWMGYFYPRDDSTNYNEKFKGRVTLTADKSTDTAYMELSSLRSE
DTAVYYCARGRLRYALDYWGQGTLLTVSS(SEQ ID NO:1)(IMGT 定义)

[1120] 根据 Chothia 定义、Kabat 定义和 IMGT 定义划分的具有框架区 (下划线) 和 LCDR (粗体) 可变轻链区序列如下所示:

[1121] gB06, VL:

- EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVSSSYLYWYQQKPGQAPR
[1122] LWIYGTSNLAGVPARFSGSGSGTDYTLTISILEPEDAAVYYCHQYA
WSPPTFGQGKLEIK(SEQ ID NO:2)(Chothia和Kabat定义)
- [1123] G12, VL:
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVGSSNLYWYQQKPGQAP
[1124] RLWIYRSTKLASGVPARFSGSGSGTDYTLTISILEPEDAAVYYCHQYR
WSPPTFGQGKLEIK(SEQ ID NO:3)(Chothia和Kabat定义)
- [1125] H02, VL:
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVSSSYLYWYQQKPGQAPR
[1126] LWIIGTSNLAGVPARFSGSGSGTDYTLTISILEPEDAAVYYCHQYSW
SPPTFGQGKLEIK(SEQ ID NO:4)(Chothia和Kabat定义)
- [1127] gB06, VL:
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVSSSYLYWYQQKPGQAPR
[1128] LWIYGTSNLAGVPARFSGSGSGTDYTLTISILEPEDAAVYYCHQYA
WSPPTFGQGKLEIK(SEQ ID NO:2)(IMGT定义)
- [1129] G12, VL:
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVGSSNLYWYQQKPGQAPR
[1130] LWIYRSTKLASGVPARFSGSGSGTDYTLTISILEPEDAAVYYCHQYRW
SPPTFGQGKLEIK(SEQ ID NO:3)(IMGT定义)
- [1131] H02, VL:
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVSSSYLYWYQQKPGQAPR
[1132] LWIIGTSNLAGVPARFSGSGSGTDYTLTISILEPEDAAVYYCHQYSW
SPPTFGQGKLEIK(SEQ ID NO:4)(IMGT定义)

[1133] 图1显示抗-MUC1单克隆抗体MUC1 gB06、MUC1 G12和MUC1 H02分别为大于99%、大于99%和大于98%单体,如通过尺寸排阻色谱法(SEC)测定的。

[1134] 图2A-2C显示抗-MUC1单克隆抗体MUC1 gB06、MUC1 G12和MUC1H02结合重组20mer MUC1糖基化生物素,但不结合重组60mer MUC1非糖基化生物素或诱饵肽,如通过ELISA评估的。20mer MUC1糖基化生物素是指包含序列VTSAPDTRPAPGSTAPPAHG (SEQ ID NO:26)的肽,该序列在一些S/T残基上具有Tn (GalNAc) 抗原或唾液酸化Tn (Neu5Acα2-6GalNAc) 抗原修饰,其中生物素缀合至N-端。60mer MUC1非糖基化生物素是指包含序列VTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHG (SEQ ID NO:27)的肽,其中生物素缀合至N-端。诱饵肽是指包含序列PLPVTSTSSASTGHATPLAV (SEQ ID NO:28)的肽,该序列在一些S/T残基上具有Tn (GalNAc) 抗原或唾液酸化Tn (Neu5Acα2-6GalNAc) 抗原修饰。

[1135] 图3A-3B显示抗-MUC1抗体MUC1 gB06、MUC1 G12和MUC1 H02与未涂布的链霉亲和素或Maxisorp板的结合水平。

[1136] 图4显示一式三份测试的所示抗体的叠加直方图。

[1137] 图5显示所示抗体的交错直方图。

[1138] 图6显示通过差示扫描荧光测定法测定的B06、G12和H02抗-MUC1抗体的CH2和Fab区的溶解温度。

[1139] 图22:通过ELISA评估的,抗-MUC1亲和成熟变体B06和对照抗体PankoMab和1B2与20mer MUC1糖基化生物素肽的结合。

[1140] 图23:通过ELISA评估的,抗-MUC1亲和成熟变体G12和H02与20mer MUC1糖基化生物素肽的结合。

[1141] 图24:通过ELISA评估的,抗-MUC1亲和力成熟的变体B06和对照抗体PankoMab和1B2与60mer MUC1非糖基化生物素肽的结合。

[1142] 图25:通过ELISA评估的,抗-MUC1亲和成熟变体G12和H02与60mer MUC1非糖基化生物素肽的结合。

[1143] 图26显示通过流式细胞术评估的抗-MUC1亲和成熟变体和亲本抗体与抗原阳性T47D细胞或抗原阴性HEK细胞的结合。

[1144] 实施例2:

[1145] 一般合成程序

[1146] 提供可用于合成所公开的化合物的公知的化学合成方案和条件的许多一般参考文献是可获得的(参见,例如Smith和March, *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, 第五版, Wiley-Interscience, 2001; 或Vogel, *A Textbook of Practical Organic Chemistry, Including Qualitative Organic Analysis*, 第四版, 纽约:Longman, 1978)。

[1147] 本文所述的化合物可以通过本领域已知的任何纯化方案进行纯化,包括色谱法,例如HPLC、制备型薄层色谱法、快速柱色谱法和离子交换色谱法。可以使用任何合适的固定相,包括正相和反相以及离子树脂。在某些实施方案中,所公开的化合物通过硅胶和/或氧化铝色谱法纯化。参见,例如, *Introduction to Modern Liquid Chromatography*, 第二版, 编辑L.R.Snyder和J.J.Kirkland, John Wiley and Sons, 1979; 和 *Thin Layer Chromatography*, 编辑E.Stahl, Springer-Verlag, 纽约, 1969。

[1148] 在制备主题化合物的任何过程中,可以有必要和/或希望保护任何相关分子上的敏感或反应性基团。这可以通过以下标准著作中描述的常规保护基来实现,例如J.F.W.McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, 伦敦和纽约, 1973; T.W.Greene和P.G.M.Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", 第三版, Wiley, 纽约, 1999; "The Peptides", 第三卷(编辑:E.Gross和J.Meienhofer), Academic Press, 伦敦和纽约, 1981; "Methoden der organischen Chemie", Houben-Weyl, 第四版, 卷15/1, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974; H.-D.Jakubke和H.Jescheit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine", Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach和Basel 1982; 和/或Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide and Derivate", Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974。可以使用本领域已知的方法在方便的后续阶段除去保护基。

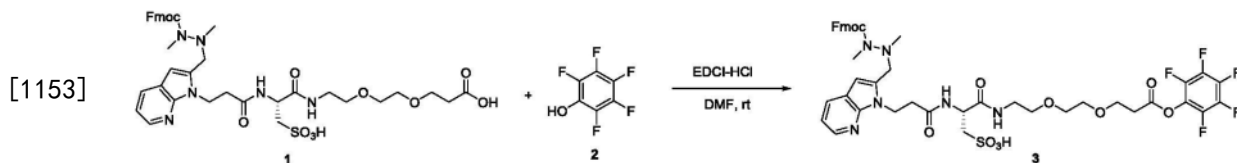
[1149] 本主题化合物可以使用市售的起始原料和/或通过常规合成方法制备的起始原料通过多种不同的合成路线来合成。可用于合成本文公开的化合物的合成路线的多种实例描

述于以下方案中。

[1150] MMAE构建体8的合成

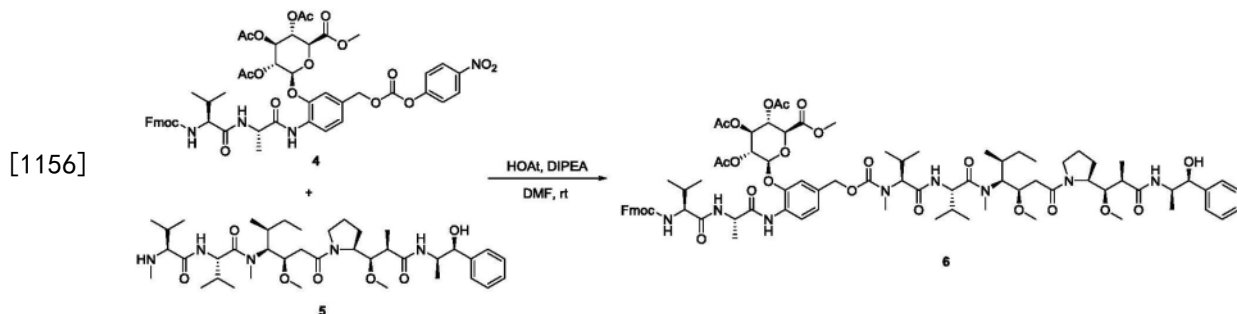
[1151] 化合物1和4购自Shanghai Medicilon并且按原样使用。一甲基溴瑞他汀A 5 (MMAE) 购自BroadPharm。所有其他试剂均从商业来源获得并且无需纯化即可使用。

[1152] (R)-2-(3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)丙酰胺基)-3-氧代-3-((2-(2-(3-氧代-3-(全氟苯氧基)丙氧基)乙氧基)乙基)氨基)丙烷-1-磺酸(3)的制备



[1154] 将羧酸1 (1.33g, 1.67mmol) 与五氟苯酚2 (1.23g, 6.68mmol) 在6.5mL无水DMF中混合。在室温下,将该混合物用EDCI-HCl (0.64g, 3.34mmol) 一次性处理并搅拌20小时直至通过HPLC分析判断1被完全消耗。反应混合物通过反相色谱法 (C18柱, 0-80% 乙腈-水 (含0.05% TFA)) 直接纯化。将纯级分合并,在真空下浓缩直至变浓 (murky), 并冻干以得到呈棕褐色粉末的PFP-酯产物3 (1.40g, 1.46mmol, 87% 收率)。LRMS (ESI): m/z 961.2 $[M+H]^+$, 计算值 $C_{44}H_{45}F_5N_6O_{11}S$ m/z 961.3。

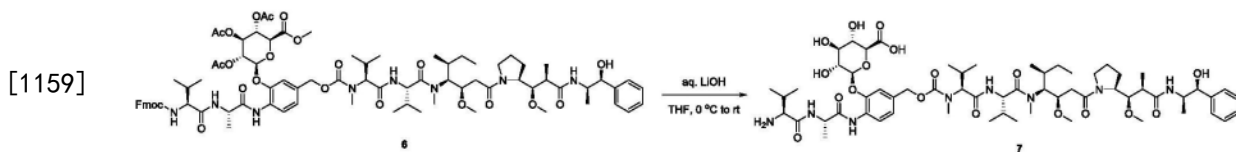
[1155] (2S, 3R, 4S, 5S, 6S)-2-(2-((S)-2-((S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-5-((5S, 8S, 11S, 12R)-11-((S)-仲丁基)-12-(2-((S)-2-((1R, 2R)-3-(((1S, 2R)-1-羟基-1-苯基丙烷-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-5,8-二异丙基-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四烷基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三乙酸三酯 (triyl triacetate) (6) 的制备



[1157] 在20mL玻璃瓶中,在室温下将一甲基溴瑞他汀A 5 (720mg, 1.0mmol)、5mL无水DMF和0.35mL DIPEA (2.0mmol) 混合。将所得混合物搅拌,并且用固体形式的PNP碳酸酯4 (1014mg, 1.0mmol) 分几小份处理,然后在室温下一次性添加HOAt (136mg, 1.0mmol)。将反应混合物搅拌6小时直至判断反应完成 (HPLC)。将反应混合物倒入30mL水中,将所得沉淀物通过旋转分离并收集,用5mL水洗涤,并在高真空下瞬时干燥,得到1.87g粗产物6,为淡黄色固体,其不经纯化即用于下一步骤。

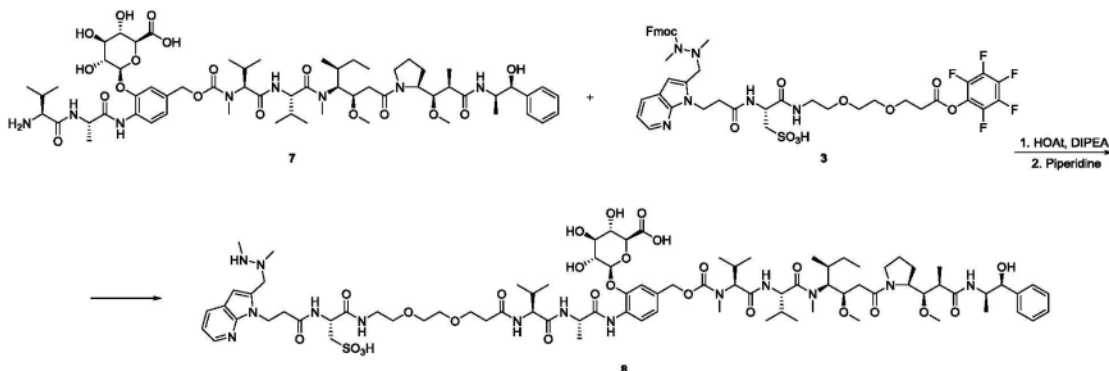
[1158] (2S, 3S, 4S, 5R, 6S)-6-(2-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-5-((5S, 8S, 11S, 12R)-11-((S)-仲丁基)-12-(2-((S)-2-((1R, 2R)-3-(((1S, 2R)-1-羟基-1-苯基丙烷-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-5,8-

二异丙基-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四烷基) 苯氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸 (7) 的制备



[1160] 将粗化合物6 (1.87g) 在15mL THF中的溶液在冰浴中冷却至0℃,并用1M氢氧化锂水溶液 (3mL) 缓慢处理。将反应混合物在0℃搅拌3小时,然后升温至环境温度,用3mL 1M氢氧化锂水溶液处理,并用3mL甲醇稀释。将所得混合物在室温下搅拌3小时直至水解完全 (HPLC),然后通过添加1M HCl水溶液至pH 7来淬灭。然后将反应混合物在减压下浓缩,并用10mL MTBE洗涤。将水层通过反相色谱法 (C18柱,0-40%乙腈-水 (含0.05% TFA)) 纯化。将纯产物级分合并,在减压下浓缩,并冻干,得到化合物7,为白色粉末 (735mg, 0.60mmol, 2步收率60%)。LRMS (ESI): m/z 1229.7 $[M+H]^+$, 计算值 $C_{61}H_{96}N_8O_{18}$ m/z 1229.7。

[1161] (2S,3S,4S,5R,6S)-6-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙烷-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-5,8-二异丙基-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四烷基)-2-((2S,5S,18R)-22-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)-5-异丙基-2-甲基-4,7,17,20-四氧代-18-(磺甲基)-10,13-二氧杂-3,6,16,19-四氮杂二十二烷酰胺基) 苯氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸 (8) 的制备



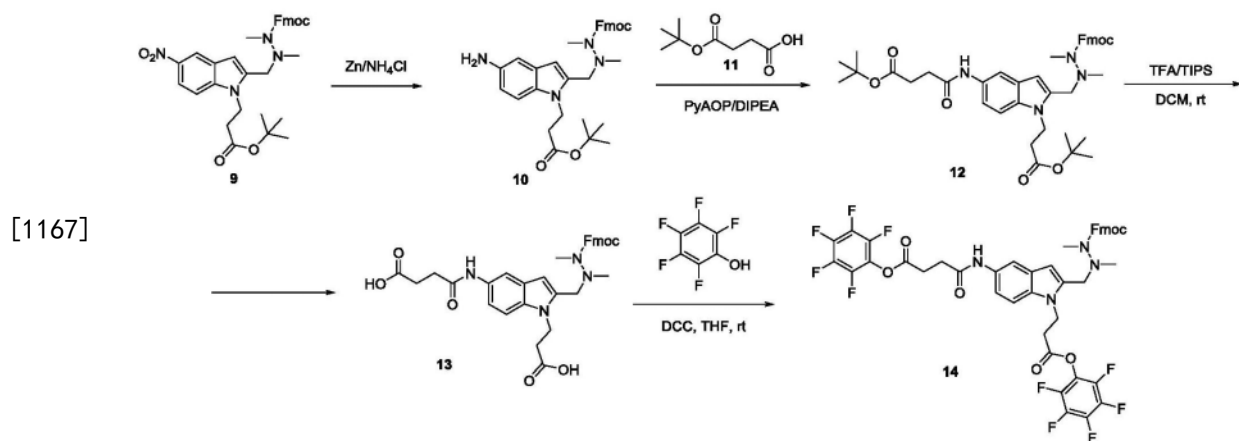
[1162]

[1163] 在室温下,向化合物7 (735mg, 0.60mmol) 在3mL无水DMA中的搅拌溶液中添加DIPEA (0.21mL, 1.2mmol) 和PFP-酯3 (575mg, 0.60mmol) 在2mL DMA中的溶液,然后添加HOAt (84mg, 0.60mmol)。将所得混合物搅拌30分钟直至判断偶联完成 (HPLC分析),然后在室温下直接用1.2mL哌啶处理。15分钟后,将反应混合物通过反相色谱法 (C18柱,0-40%乙腈-水梯度) 纯化。将纯级分合并,在减压和室温下浓缩,并冻干,得到化合物8 (808mg, 0.45mmol, 75%收率),为白色蓬松粉末。LRMS (ESI): m/z 1783.9 $[M+H]^+$, 计算值 $C_{84}H_{130}N_{14}O_{26}S$ m/z 1783.9。

[1164] 贝洛替康构建体21的合成

[1165] 合成中间体4和9购自Shanghai Medicilon,并按原样使用。贝洛替康15购自AstaTech。所有其他试剂均从商业来源获得并且无需纯化即可使用。

[1166] 方案1. 中间体14的合成。



[1168] (9H-芴-9-基)甲基2-((5-氨基-1-(3-(叔丁氧基)-3-氧代丙基)-1H-吡啶-2-基)甲基)-1,2-二甲基胍-1-羧酸酯(10)的制备

[1169] 将硝基化合物9(116mg, 0.20mmol)溶解在1mL THF中,并与氯化铵(85mg, 1.6mmol)在0.5mL水中的溶液和1mL甲醇混合。将所得混合物在室温下剧烈搅拌,并用锌粉(104mg, 1.6mmol)分小份处理5分钟。将反应混合物搅拌2小时,滤出固体,用20mL饱和氯化铵水溶液稀释滤液,并用乙酸乙酯(2×25mL)萃取。将有机萃取物经硫酸钠干燥,在真空下除去溶剂,得到粗产物10,其不经纯化即用于下一步骤。LRMS (ESI): m/z 555.3 $[M+H]^+$, 计算值 $C_{33}H_{38}N_4O_4$ m/z 555.3。

[1170] (9H-芴-9-基)甲基2-((1-(3-(叔丁氧基)-3-氧代丙基)-5-(4-(叔丁氧基)-4-氧代丁酰胺基)-1H-吡啶-2-基)甲基)-1,2-二甲基胍-1-羧酸酯(12)的制备

[1171] 将粗化合物10(~0.20mmol)与4-(叔丁氧基)-4-氧代丁酸11(40mg, 0.23mmol)在2mL DMF中混合。在室温下,向该混合物中添加DIPEA(0.12mL, 0.6mmol),然后一次性添加PyAOP(110mg, 0.21mmol)。30分钟后,通过倒入饱和氯化铵水溶液中猝灭反应,用乙酸乙酯萃取,用盐水洗涤,经硫酸钠干燥。在真空下除去溶剂,得到120mg(0.17mmol, 2步收率85%)产物12,为深色油状,其不经额外纯化即进一步使用。LRMS (ESI): m/z 733.4 $[M+Na]^+$, 计算值 $C_{41}H_{50}N_4O_7$ m/z 733.4。

[1172] 4-((2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1-(2-羧乙基)-1H-吡啶-5-基)氨基)-4-氧代丁酸(13)的制备

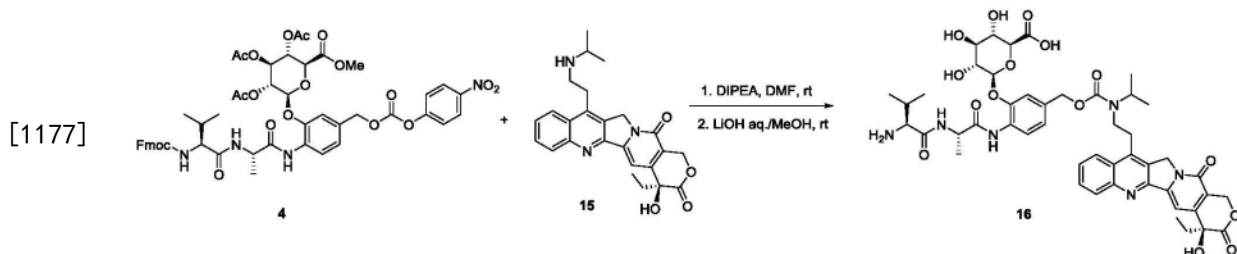
[1173] 将双叔丁基酯化合物12(120mg, 0.17mmol)溶解在2mL无水DCM、2mL TFA和0.5mL三异丙基硅烷的混合物中。将所得混合物在室温下静置4小时。在真空下除去溶剂,残余物通过反相色谱法(C18柱, 0-70% v/v梯度的 CH_3CN/H_2O (含0.05% TFA))纯化,得到53mg(0.09mmol, 53%收率)二酸产物13。LRMS (ESI): m/z 599.3 $[M+H]^+$, 计算值 $C_{33}H_{34}N_4O_7$ m/z 599.2。

[1174] (9H-芴-9-基)甲基1,2-二甲基-2-((1-(3-氧代-3-(全氟苯氧基)丙基)-5-(4-氧代-4-(全氟苯氧基)丁酰胺基)-1H-吡啶-2-基)甲基)胍-1-羧酸酯(14)的制备

[1175] 在室温下,向二酸13(50mg, 0.084mmol)和五氟苯酚(46mg, 0.25mmol)在2mL无水THF中的混合物中一次性添加DCC(51mg, 0.25mmol)。将所得混合物搅拌16小时,滤出固体,浓缩滤液,并通过反相色谱法(C18柱, 0-100% v/v梯度的 CH_3CN/H_2O (含0.05% TFA))纯化。将含有产物的级分浓缩至约20mL,倒入50mL 10%柠檬酸水溶液中,并用乙酸乙酯(2×20mL)

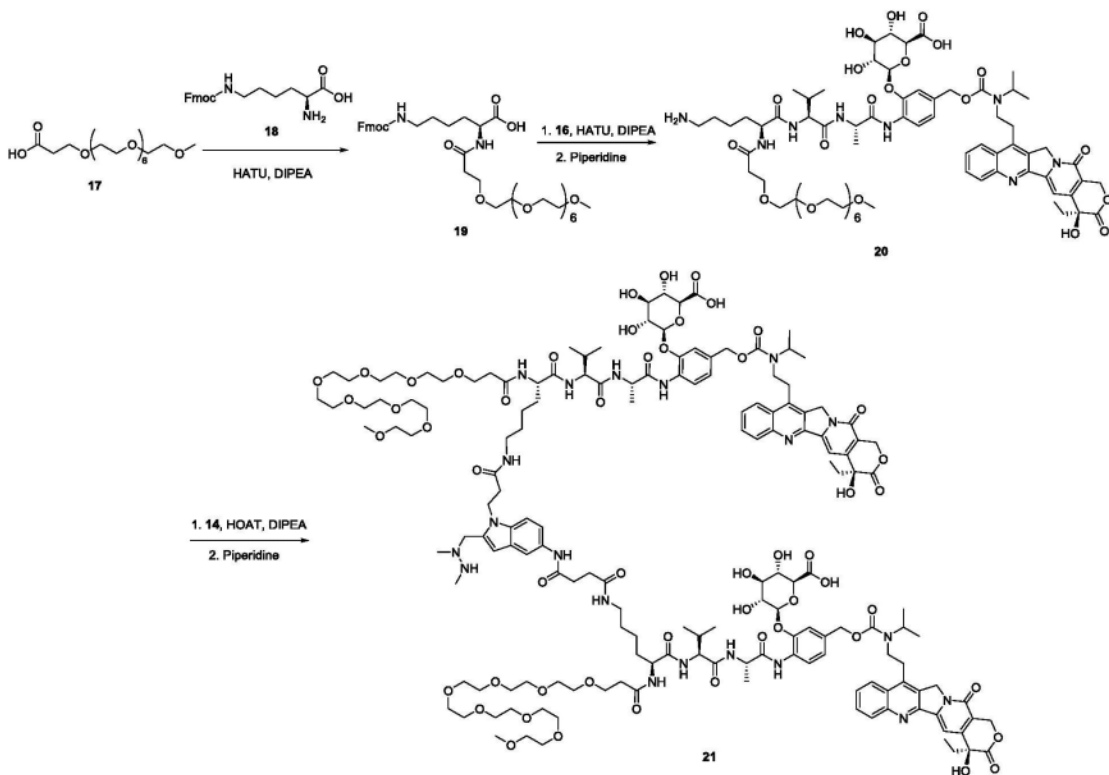
萃取,经硫酸钠干燥。在真空下除去溶剂,得到67mg (0.072mmol, 86% 收率) 双-PFP酯产物14,为深色粘性油状物。LRMS (ESI) :m/z 953.1 [M+Na]⁺, 计算值C₄₅H₃₂F₁₀N₄O₇ m/z 953.2。

[1176] (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(2-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-5-(((2-((S)-4-乙基-4-羟基-3,14-二氧化-3,4,12,14-四氢-1H-吡喃并[3',4':6,7]呋喃并[1,2-b]喹啉-11-基)乙基)(异丙基)氨基甲酰基)氧基)甲基)苯氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸(16)的制备



[1178] 向贝洛替康15 (HCl盐, 20mg, 43μmol) 在2mL DMF中的溶液中添加15uL DIPEA (86μmol) 和6mg HOAt (43μmol)。将所得混合物在室温下用PNP碳酸酯4 (43mg, 43μmol) 处理并搅拌1小时,然后在真空下除去DMF。将残余物溶解在1mL MeOH中,并用1mL 1M LiOH水溶液处理。10分钟后,将1mL 1M HCl水溶液添加至混合物中,随后添加1mL 0.5M pH 4.7 乙酸盐缓冲液。将所得混合物在室温下搅拌30分钟,并通过反相HPLC (C18柱, 0-50% v/v梯度的CH₃CN/H₂O (含0.05% TFA)) 直接纯化。在真空下除去溶剂,得到17mg (18μmol, 43% 收率) 的化合物16,为玻璃状黄色固体。LRMS (ESI) :m/z 945.4 [M+H]⁺, 计算值C₄₇H₅₆N₆O₁₅ m/z 945.4。

[1179] 方案2. 分支的贝洛替康构建体21的合成



[1181] N⁶-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-N²-(3-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)丙酰基)-L-赖氨酸(19)的制备

[1182] 在室温下,向mPEG8-酸17 (100mg, 0.24mmol) 在2mL 无水DMF中的溶液中添加DIPEA

(0.13mL, 0.72mmol) 和 HATU (93mg, 0.24mmol)。将所得混合物搅拌1小时, 然后将 Lys (Fmoc) - OH 18 (89mg, 0.24mmol) 添加至混合物中, 并继续搅拌1小时。将反应混合物通过反相色谱 HPLC (C18, 0-70 % v/v 的 MeCN-H₂O (含 0.05 % TFA)) 直接纯化, 得到 120mg 化合物 19 (0.16mmol, 67 % 收率), 为无色油状物。LRMS (ESI) : m/z 763.4 [M+H]⁺, 计算值 C₃₉H₅₈N₂O₁₃ m/z 763.4。

[1183] (2S, 3S, 4S, 5R, 6S) -6- (2- ((28S, 31S, 34S) -28- (4-氨基丁基) -31-异丙基-34-甲基-26, 29, 32-三氧代-2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23-八氧杂-27, 30, 33-三氮杂三十五烷-35-酰胺基) -5- (((2- ((S) -4-乙基-4-羟基-3, 14-二氧代-3, 4, 12, 14-四氢-1H-吡喃并[3', 4': 6, 7]呋喃并[1, 2-b]喹啉-11-基) 乙基) (异丙基) 氨基甲酰基) 氧基) 甲基) 苯氧基) -3, 4, 5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸 (20) 的制备

[1184] 在室温下, 向羧酸 23 (45mg, 59μmol) 在 3mL 无水 DMF 中的溶液中添加 DIPEA (21μL, 120μmol) 和 HATU (22mg, 59μmol)。将所得混合物搅拌20分钟, 并与 1mL DMF 中的胺 16 (55mg, 58μmol) 混合。将反应混合物搅拌30分钟, 然后在室温下将哌啶 (115μL, 1.2mmol) 添加至混合物中。20分钟后, 将反应混合物通过反相制备型 HPLC (C18, 0-50 % v/v 的 MeCN-H₂O (含 0.05 % TFA)) 直接纯化。将纯级分冻干, 得到 34mg (23μmol, 40 % 收率) 化合物 20, 为黄色粉末状。LRMS (ESI) : m/z 1467.7 [M+H]⁺, 计算值 C₇₁H₁₀₂N₈O₂₅ m/z 1467.7。

[1185] (2S, 3S, 4S, 5R, 6S) -6- (2- ((28S, 31S, 34S) -28- (4- (3- (5- ((S) -28- ((S) -1- ((S) -1- ((2- ((2S, 3R, 4S, 5S, 6S) -6-羧基-3, 4, 5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基) 氧基) -4- (((2- ((S) -4-乙基-4-羟基-3, 14-二氧代-3, 4, 12, 14-四氢-1H-吡喃并[3', 4': 6, 7]呋喃并[1, 2-b]喹啉-11-基) 乙基) (异丙基) 氨基甲酰基) 氧基) 甲基) 苯基) 氨基) -1-氧代丙烷-2-基) 氨基) -3-甲基-1-氧代丁烷-2-基) 氨基甲酰基) -26, 34-二氧代-2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23-八氧杂-27, 33-二氮杂三十七烷-37-酰胺基) -2- ((1, 2-二甲基胍基) 甲基) -1H-吡啶-1-基) 丙酰胺基) 丁基) -31-异丙基-34-甲基-26, 29, 32-三氧代-2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23-八氧杂-27, 30, 33-三氮杂三十五烷-35-酰胺基) -5- (((2- ((S) -4-乙基-4-羟基-3, 14-二氧代-3, 4, 12, 14-四氢-1H-吡喃并[3', 4': 6, 7]呋喃并[1, 2-b]喹啉-11-基) 乙基) (异丙基) 氨基甲酰基) 氧基) 甲基) 苯氧基) -3, 4, 5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸 (21) 的制备

[1186] 向化合物 20 (34mg, 23μmol) 和 DIPEA (8μL, 46μmol) 在 2mL DMA 中的混合物中添加双-PFP 酯 14 (9.4mg, 10.5μmol), 然后在室温下添加 HOAt (3mg, 23μmol)。将所得混合物在室温下静置30分钟, 然后在室温下将哌啶 (21μL, 0.21mmol) 添加至混合物中。20分钟后, 将反应混合物通过反相制备型 HPLC (C18, 0-50 % v/v 的 MeCN-H₂O (含 0.05 % TFA)) 直接纯化。将纯级分合并和冻干, 得到黄色固体状的化合物 21 (23mg, 7μmol, 67 % 收率)。LRMS (ESI) : m/z 1638.3 [M+H]²⁺, 计算值 C₁₆₀H₂₂₄N₂₀O₅₃ m/z 1638.8。

[1187] 实施例3: 抗-MUC1 单克隆抗体-药物缀合物

[1188] 生物偶联、纯化和 HPLC 分析

[1189] 方法: 将带有一个醛标签的抗体 (15mg/mL) 分别以 1.1mM 与接头-有效负载 (linker-payload) 缀合。反应在含有 0.85-2.5 % DMA 的 20mM 柠檬酸钠、50mM NaCl pH 5.5 (20/50 缓冲液) 中在 37°C 下进行 72 小时。缀合后, 使用 30kD MWC0 0.5mL Amicon 旋转浓缩器 (spin concentrator) 去除游离药物。将样品添加到旋转浓缩器中, 以 15,000xg 离心 7 分钟, 然后用 450μL 20mM 柠檬酸钠、50mM NaCl pH 5.5 稀释, 并再次离心。该过程重复 10 次。为了确

定最终产物的DAR,使用疏水相互作用(HIC)(Tosoh#14947)或PLRP-RP(Agilent PL1912-1802 1000A,8um,50×2.1mm)色谱柱通过分析色谱法测定ADC。HIC分析使用流动相A:1.5M硫酸铵、25mM磷酸钠,pH 7.0,和流动相B:25%异丙醇、18.75mM磷酸钠,pH 7.0。PLRP分析使用流动相A:0.1%三氟乙酸的水溶液,和流动相B:0.1%三氟乙酸的乙腈溶液。在PLRP分析之前,通过添加50mM DTT、4M盐酸胍(最终浓度)并在37℃下加热30分钟来使样品变性。为了确定聚集,使用分析尺寸排阻色谱法(SEC;Tosoh#08541)对样品进行分析,流动相为300mM NaCl、25mM磷酸钠,pH 6.8和5%异丙醇。

[1190] 体外细胞毒性测定:将细胞系以在100μL生长培养基中5×10⁴个细胞/孔的密度接种在96孔板(Costar 3610)中。次日,用20μL在培养基中连续稀释的检品(test article)处理细胞。在37℃、5% CO₂下孵育5天后,根据制造商的建议,使用Promega CellTiter Glo®试剂测量活力。在GraphPad Prism中计算GI50曲线,并标准化为有效负载浓度。

[1191] 异种移植研究

[1192] 方法:雌性NCG小鼠(10只/组)植入雌激素丸剂(0.36mg/90天,17β-雌二醇),然后皮下接种2000万个在含有基质胶(Matrigel)的PBS(1:1体积/体积)中的T47D细胞。在治疗开始前一天(第0天),所有动物均接受静脉注射剂量为10mg/kg的人IgG。

[1193] 当肿瘤平均达到223mm³(第1天)时开始治疗。为了治疗,对动物静脉内施用单独的媒介物、与MMAE缀合的B06-或H02-衍生的ADC,或未缀合的B06抗体。ADC的剂量为10mg/kg,B06 ADC的剂量也为3mg/kg。治疗给药每周一次,总共4剂。每周两次监测动物的体重和肿瘤大小。当肿瘤达到2000mm³时对动物实施安乐死。

[1194] 结果:在整个研究过程中,媒介物对照组的肿瘤生长缓慢但持续。在整个研究期间,观察到给予10mg/kg B06或H02 ADC的动物肿瘤体积从基线持续稳定下降。用3mg/kg B06 ADC治疗略微减少了肿瘤体积。在3mg/kg B06 ADC组和10mg/kg B06 ADC组之间观察到剂量-反应效应(dose-response effect)。

[1195] 免疫组织化学

[1196] 人肿瘤微阵列(冷冻和FFPE)以及正常人和食蟹猴(cynomolgus monkey)的组织切片板(panel)(冷冻)购自Biochain。组织切片与B06 ADC或与同种型对照ADC反应。使用来自Biocare Medical的人对人HRP聚合物系统(Human-on-Human HRP polymer system)检测一抗。通过DAB观察结合情况,DAB在组织上沉积棕色染色。

[1197] 表6:B06 ADC对卵巢、肺和乳腺肿瘤微阵列中原发性人肿瘤样品的反应性的总结。

[1198]	肿瘤类型	组织状态	病理诊断	肿瘤结合 B06 ADC 的百分比
	卵巢	冷冻	腺癌	61%
	卵巢	冷冻	其他	71%
	肺	冷冻	腺癌	80%
	肺	冷冻	鳞状细胞癌	55%
	乳腺	冷冻	导管癌	73%
	卵巢	FFPE	腺癌	85%

[1199] 图7:使用HIPS介导的缀合生产醛标记抗体并生成ADC。(A) 甲酰甘氨酸识别序列(CXPXR)被遗传编码到抗体中。(B) 共翻译甲酰甘氨酸生成酶将识别序列内的半胱氨酸转化

为含有醛官能团的甲酰甘氨酸残基,该甲酰甘氨酸残基可以与(C)肼基-异-Pictet-Spengler (Hydrazino-iso-Pictet-Spengler (HIPS)) 缀合元件特异性缀合。

[1200] 图8:经HIC测定,与RED-601缀合的CT-标记的B06抗体产生的DAR (药物抗体比) 为1.85。

[1201] 图9:经SEC测定,与RED-601缀合的CT-标记的B06抗体为99.3%单体。

[1202] 图10:经HIC测定,与RED-601缀合的CT-标记的G12抗体产生的DAR为1.89。

[1203] 图11:经SEC测定,与RED-601缀合的CT-标记的G12抗体为99.9%单体。

[1204] 图12:经HIC测定,与RED-601缀合的CT-标记的H02抗体产生的DAR为1.90。

[1205] 图13:经SEC测定,与RED-601缀合的CT-标记的H02抗体为99.1%单体。

[1206] 图14:由B06、G12或H02变体抗体制成的MMAE缀合的抗-MUC1ADC对T47D细胞的体外效力。游离的MMAE作为有效负载效力的基准包含在内。图15:携带MMAE有效负载的MMAE缀合的抗-MUC1 ADC (B06RED-601和H02 RED-601) 对T47D异种移植物的体内效力。 $n=10$ 只小鼠/组;给药由箭头指示。

[1207] 图16:显示B06 ADC与原发性人卵巢腺癌的結合的代表性数据。四个卵巢腺癌标本与B06 ADC (顶行) 或同种型对照ADC (底行) 反应。棕色表示ADC结合。

[1208] 图17:显示B06 ADC与原发性人肺肿瘤的結合的代表性数据。四个肺癌样本与B06 ADC (顶行) 或同种型对照ADC (底行) 反应。腺癌左两列;鳞状细胞癌右两列。棕色表示ADC结合。

[1209] 图18:代表性数据显示B06 ADC与原发性人乳腺肿瘤的結合。四个乳腺导管癌标本与B06 ADC (顶行) 或同种型对照ADC (底行) 反应。棕色表示ADC结合。

[1210] 图19:B06 ADC与患者来源的异种移植 (PDX) 肿瘤模型强有力地结合。四个Charles River Laboratories PDX标本与B06 ADC (顶行) 或同种型对照ADC (底行) 反应。棕色表示ADC结合。从左到右的肿瘤来源:胃、乳腺、肺、胃。

[1211] 图20:RED-601的结构,其为与抗-MUC1抗体缀合的接头-有效负载 (参见实施例2中的化合物8)。

[1212] 图27:由B06或H02变体抗体制成的美登素或一甲基溴瑞他汀 (MMAE) 缀合的抗-MUC1 ADC对UACC-812细胞的体外效力。游离的美登素作为有效负载效力的基准包含在内。

[1213] 图28:经SEC测定,在91N处与分支MMAE接头-有效负载缀合的单标记B06抗体为96.4%单体。

[1214] 图29:经HIC测定,在91N处与化合物8缀合的单标记B06抗体产生的DAR为1.78。

[1215] 图30:经SEC测定,在91N处与化合物8缀合的单标记B06抗体为96.2%单体。

[1216] 图31:经PLRP测定,在91N处与化合物21缀合的单标记B06抗体产生的DAR为3.74。

[1217] 图32:经SEC测定,在91N处与化合物21缀合的单标记B06抗体为95.9%单体。

[1218] 图33:经PLRP测定,与化合物21缀合的双标记B06抗体产生的DAR为7.47。

[1219] 图34:经SEC测定,与化合物21缀合的双标记B06抗体为96.7%单体。

[1220] 表7:B06、G12或H02抗体的CT-标记的重链(HC)序列。CT-标签带有下列划线。VH区域用斜体表示。FR 1-4带有下列划线,CDR 1-3根据Chothia定义,用粗体表示。

[1221]	CT- 标记 的HC <u>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDHTMHWIKQRP</u> <u>GKGLEWMGYFYPRDDSTNYNEKFKGRVTLTADKSTD TAYM</u> <u>ELSSLRSEDTAVYYCARGRLRYALDYWGQGTLVTVSSASTKG</u> PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LL GGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
[1222]	PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG SLCTPSRGS (SEQ ID NO:57)

[1223] 实施例4:细胞染色

[1224] 抗体生产

[1225] 选择序列独特的克隆并用于生产新的Fab培养上清物。为此,首先将各个克隆在2YT培养基(补充有氨苄青霉素、四环素和葡萄糖)中在37℃、300rpm下培养16小时。建立过夜培养物后,使用15μl接种生产培养基(2YT,补充有氨苄青霉素、四环素和IPTG)。在30℃、300rpm下,抗体片段的生产进行16小时。

[1226] 将含有抗体的培养上清物与FACS缓冲液以1:1的比例混合,通过离心(4000g,10分钟)与细胞分离,并用于细胞染色。

[1227] 细胞染色

[1228] Ag+T-47D细胞和Ag-HEK细胞根据供应商的说明进行培养。收获细胞后,HEK细胞群用CFSE染料标记,并与T47-D细胞以1:1的比例混合。将细胞混合物转移到96孔板(100,000个细胞混合物/孔)中。300g离心5分钟后,将细胞用抗体培养上清物在4℃下染色15分钟。离心并洗涤细胞后,添加Alexa Fluor 647缀合的第二抗体(Invitrogen,A-21445)用于检测Fab片段,并在4℃下孵育15分钟。在另一个洗涤步骤后,将细胞重悬于补充有PI的FACS缓冲液中,使得能够进行活/死染色(live/dead staining)。在iQue Screener上进行细胞测量。

[1229] 数据分析

[1230] 根据CFSE信号,对Ag+和Ag-群进行门控。从每个群中,计算抗体结合信号(Alexa Fluor 647信号)的MFI值。将MFI值绘制在图表中,并对Ag+和Ag-群的抗体结合信号进行相互比较。

[1231] 通过流式细胞术评估抗-MUC1亲和成熟变体和亲本抗体与抗原阳性(Ag+) T47D细胞或抗原阴性(Ag-) HEK细胞的结合。结果如图26所示。

[1232] 尽管已经参考本发明的具体实施方案描述了本发明,但是本领域技术人员应当理

解,在不脱离本发明的真实精神和范围的情况下,可以进行各种改变并且可以用等同物替换。另外,可以进行许多修改以使特定的情况、材料、物质组成、工艺、工艺步骤或多个步骤适应本发明的目的、精神和范围。所有这样的修改都落在所附权利要求的范围内。

尺寸排阻色谱法

抗体	%聚集
MUC1 gB06	0.54%
MUC1 G12	0.14%
MUC1 H02	1.01%

图1

20mer MUC1糖基化生物素

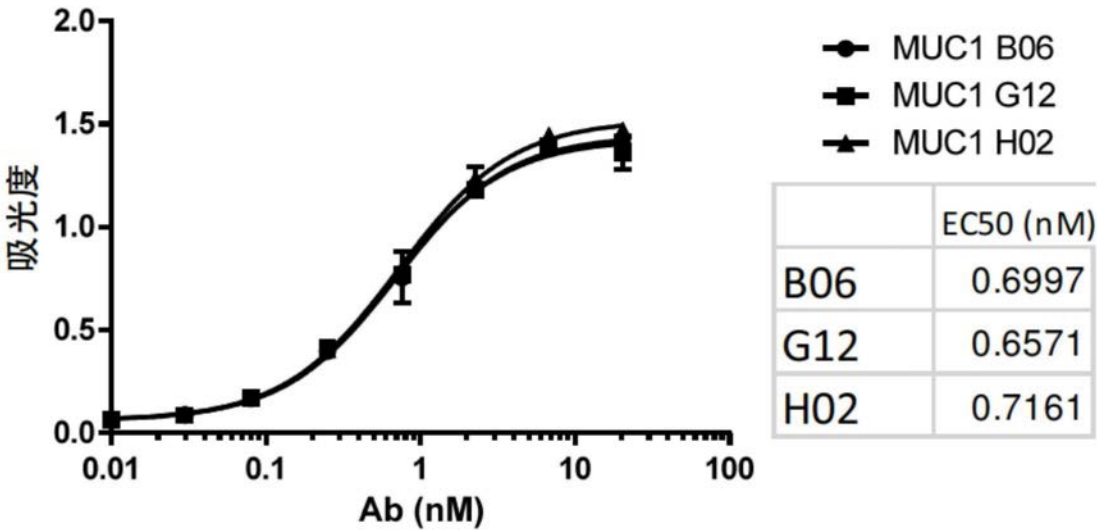


图2A

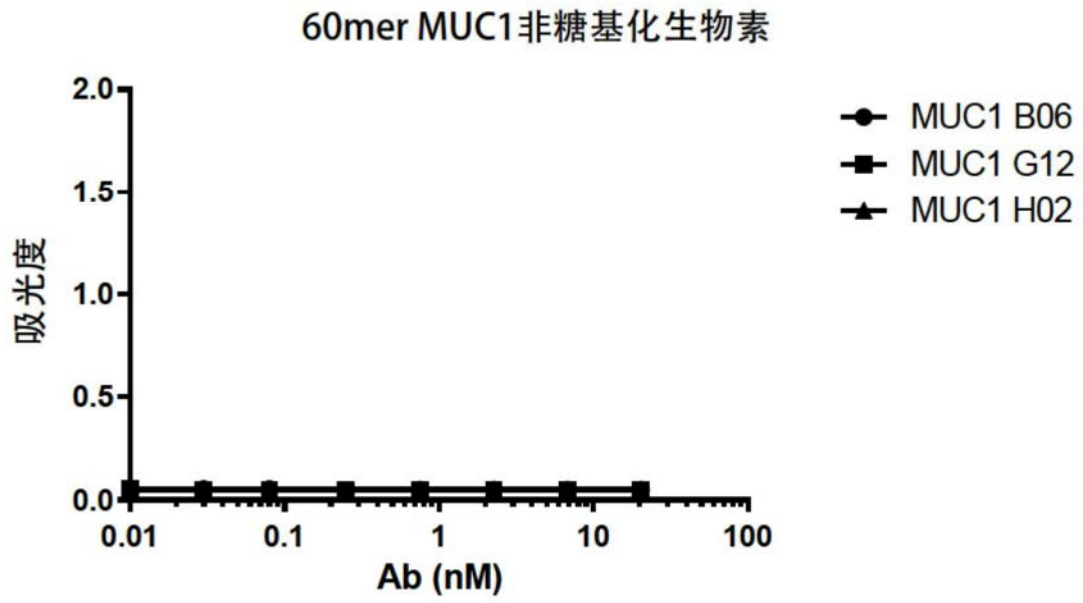


图2B

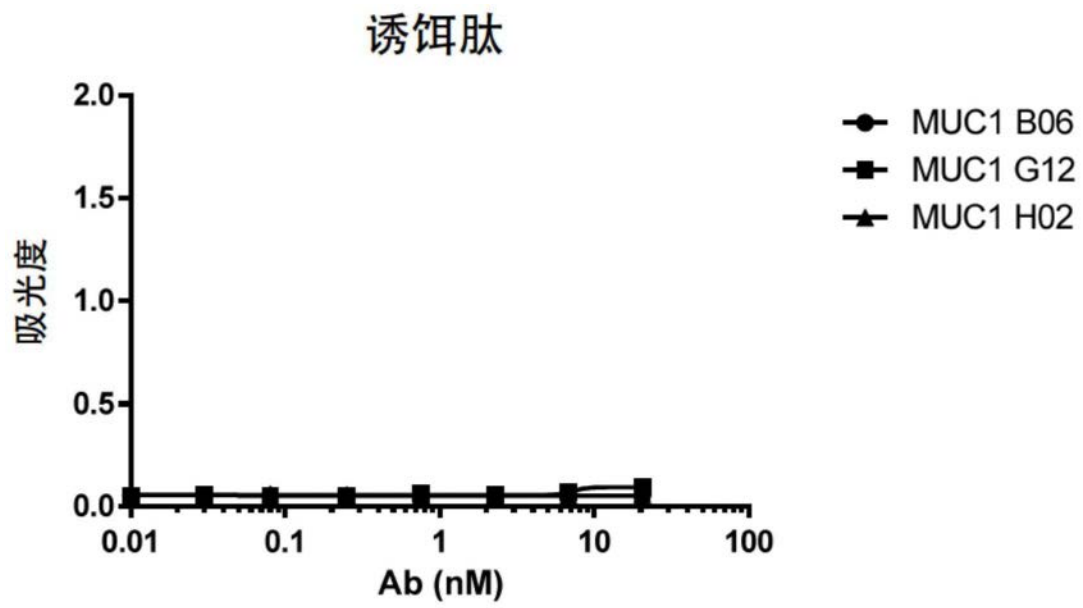


图2C

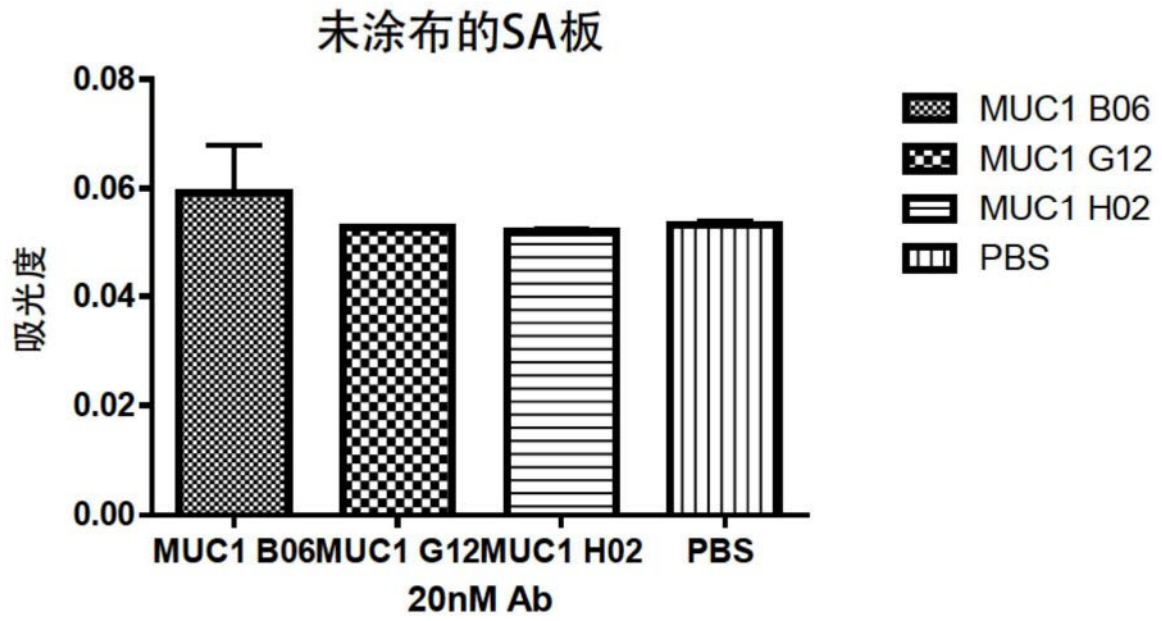


图3A

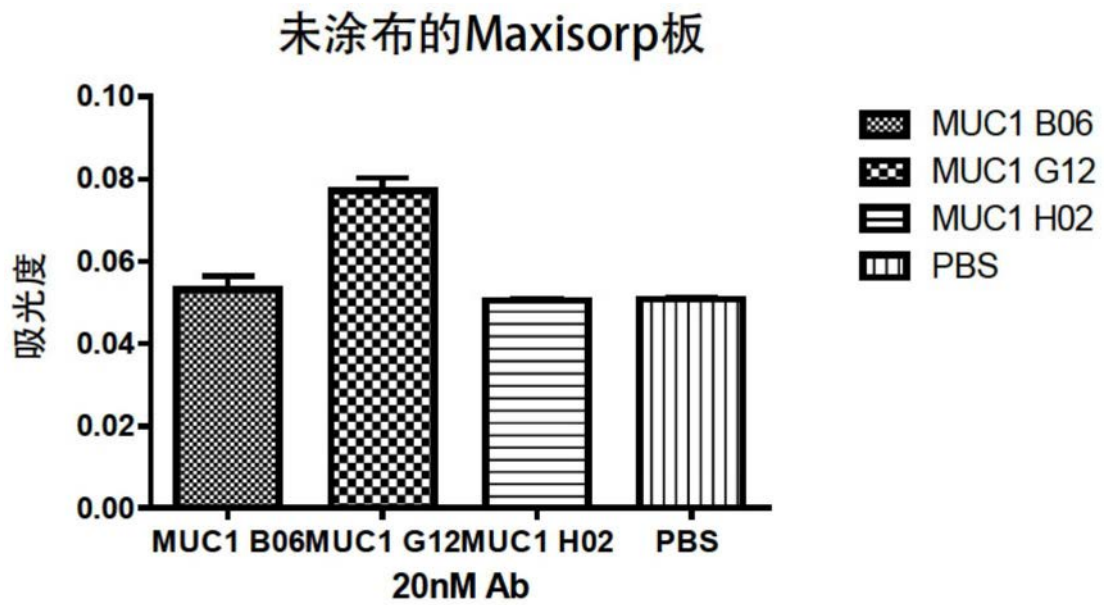


图3B

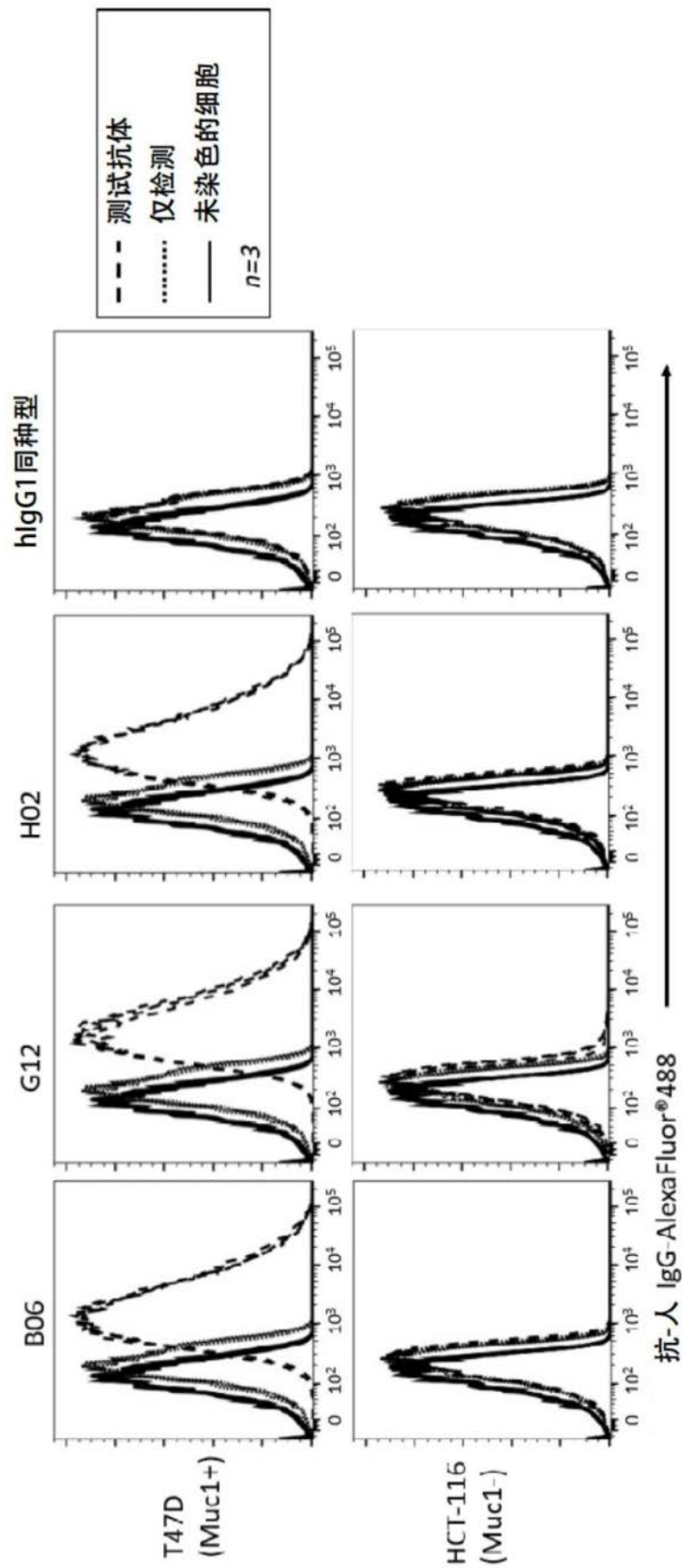


图4

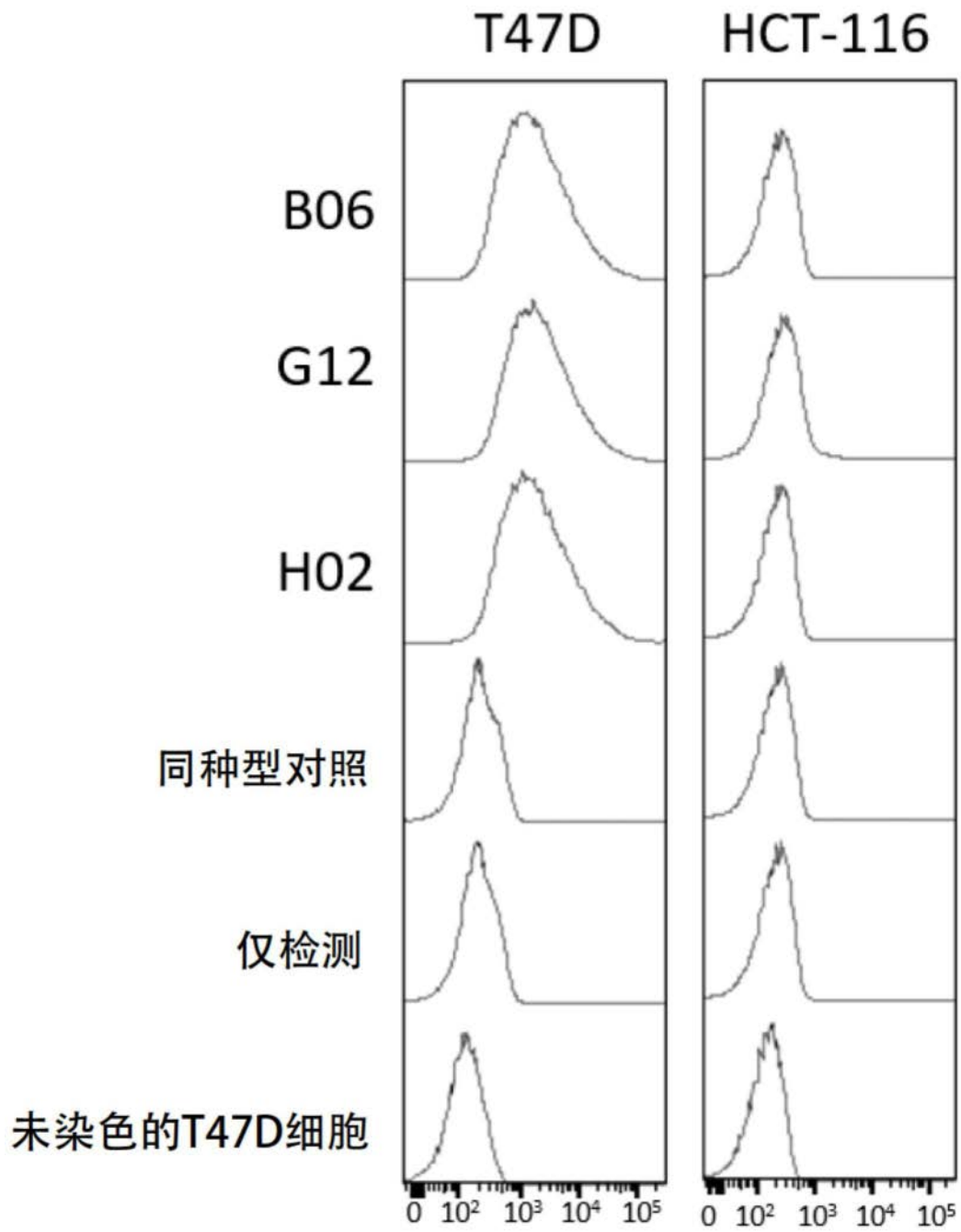


图5

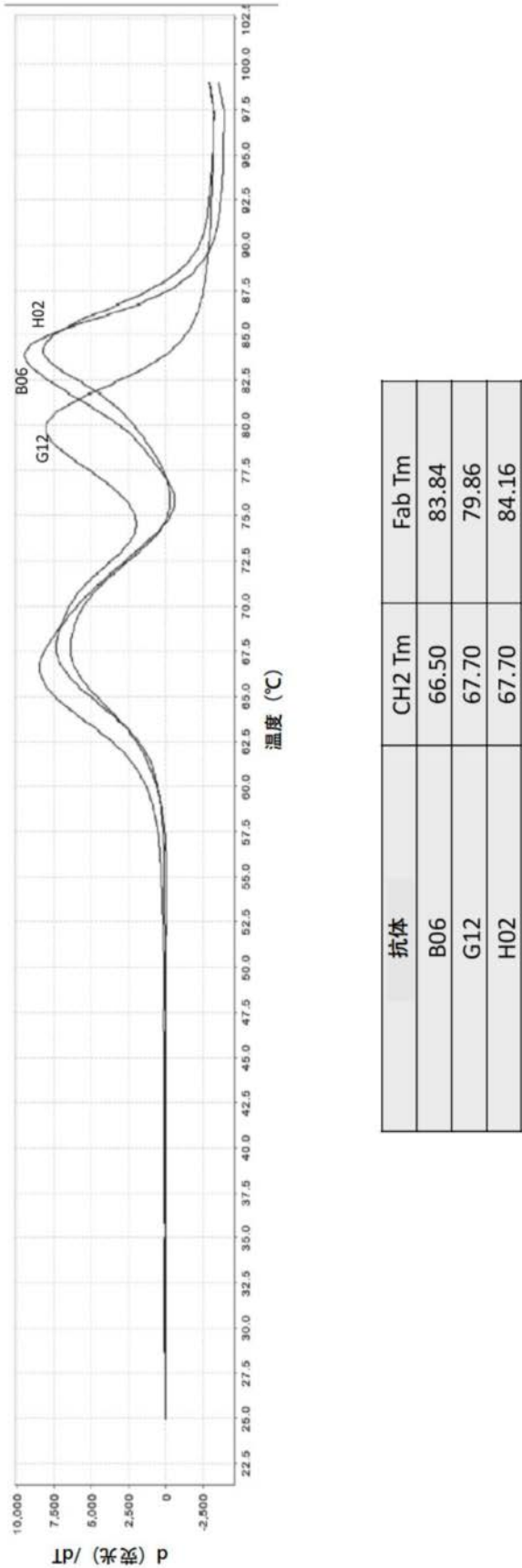
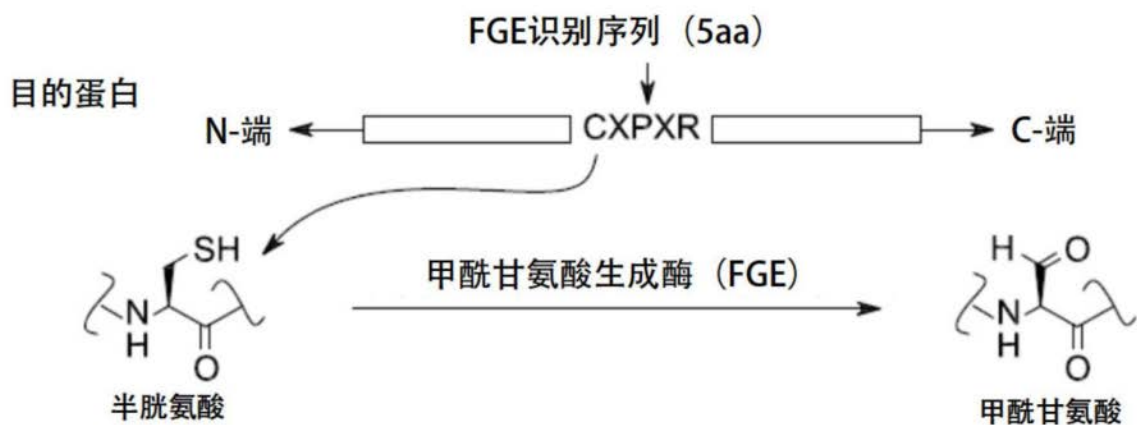
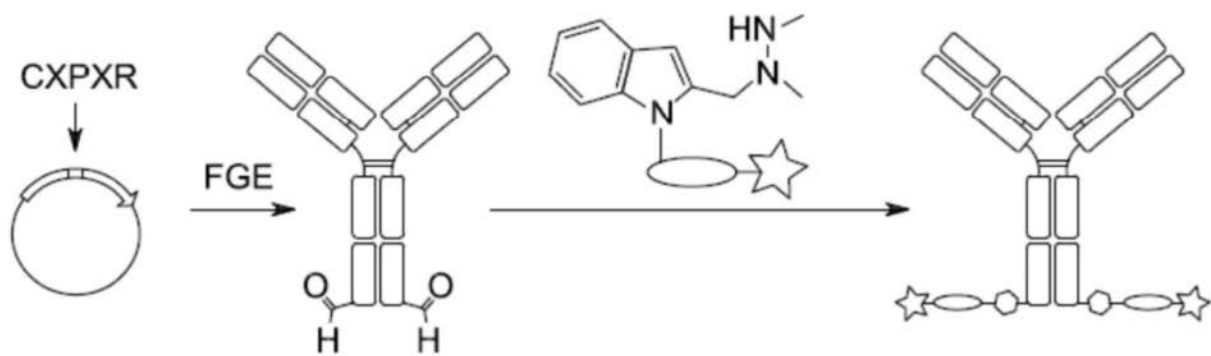


图6

A.



B.



C.

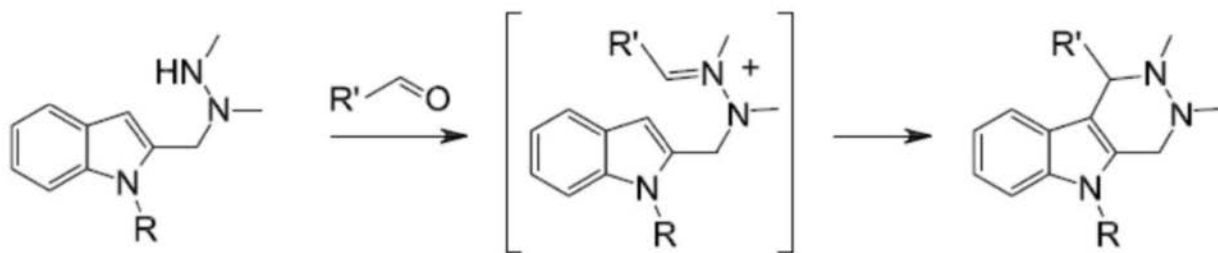


图7

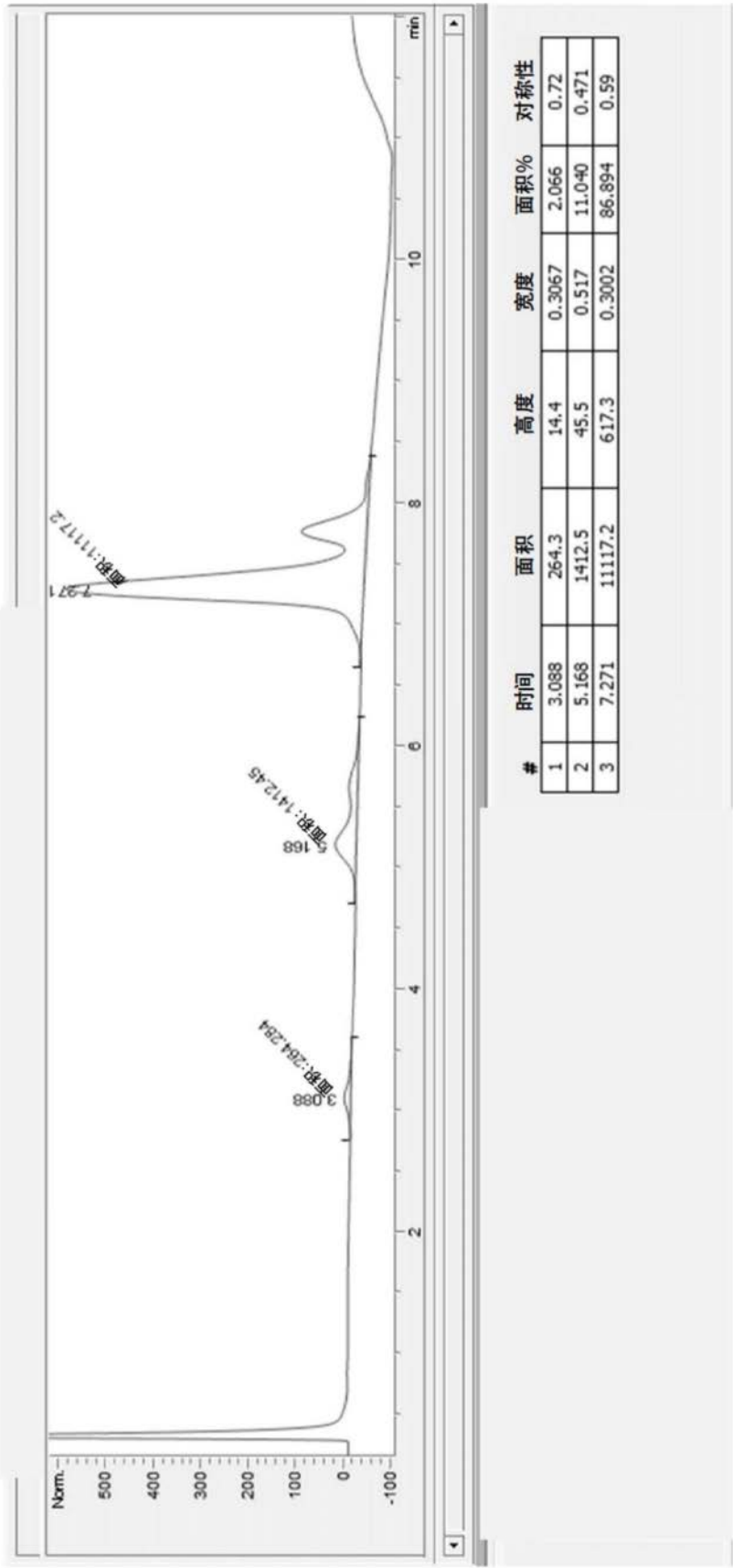


图8

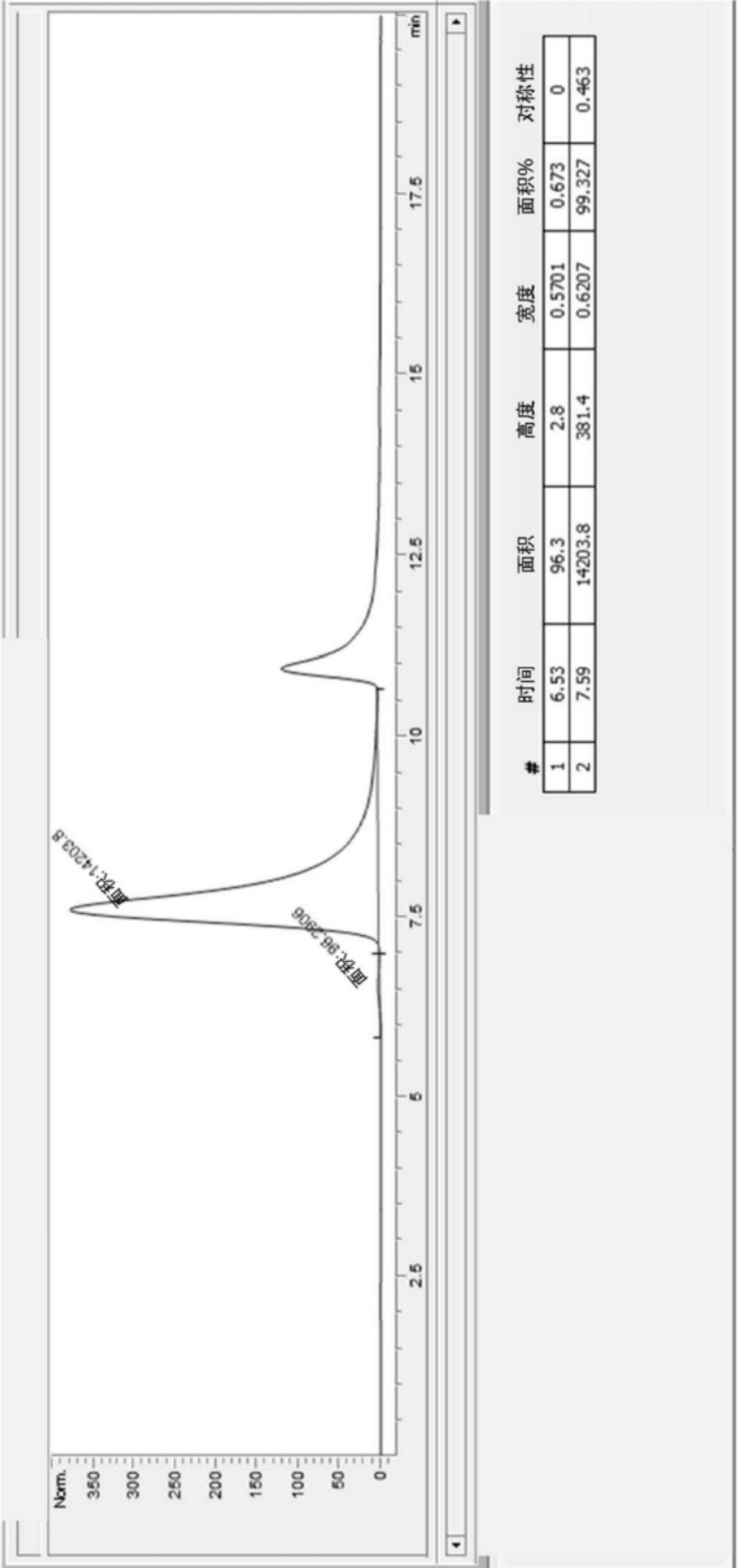


图9

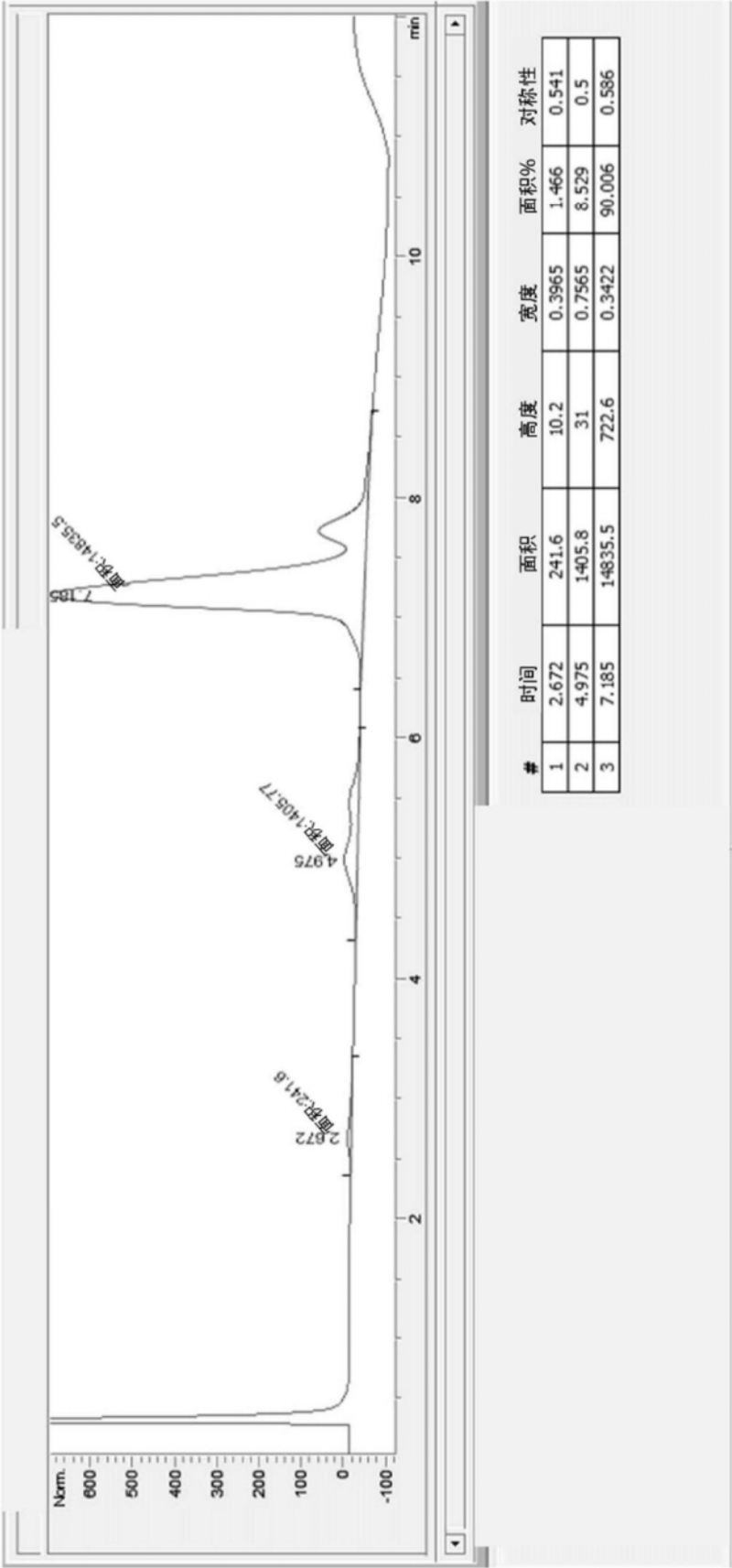


图10

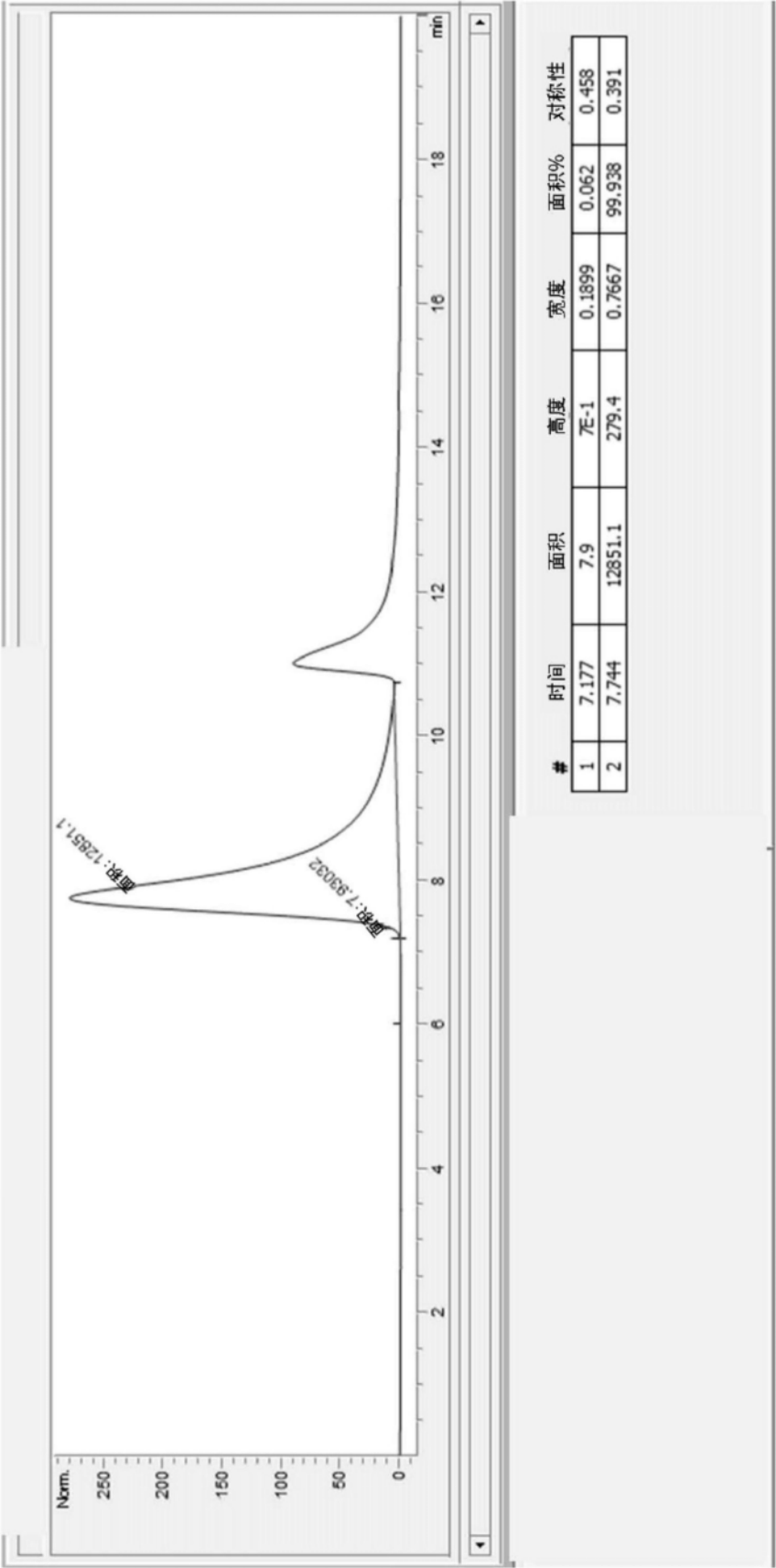


图11

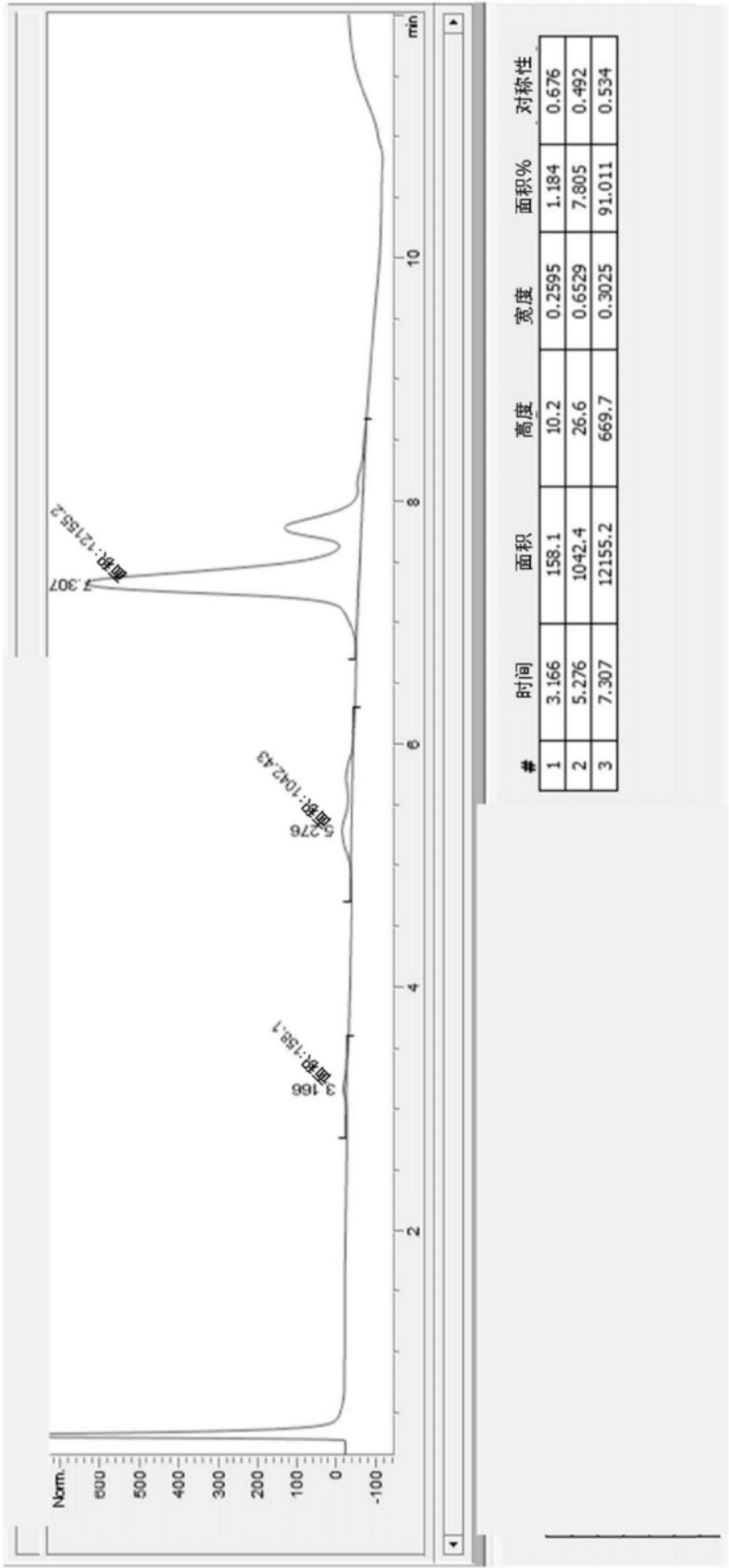


图12

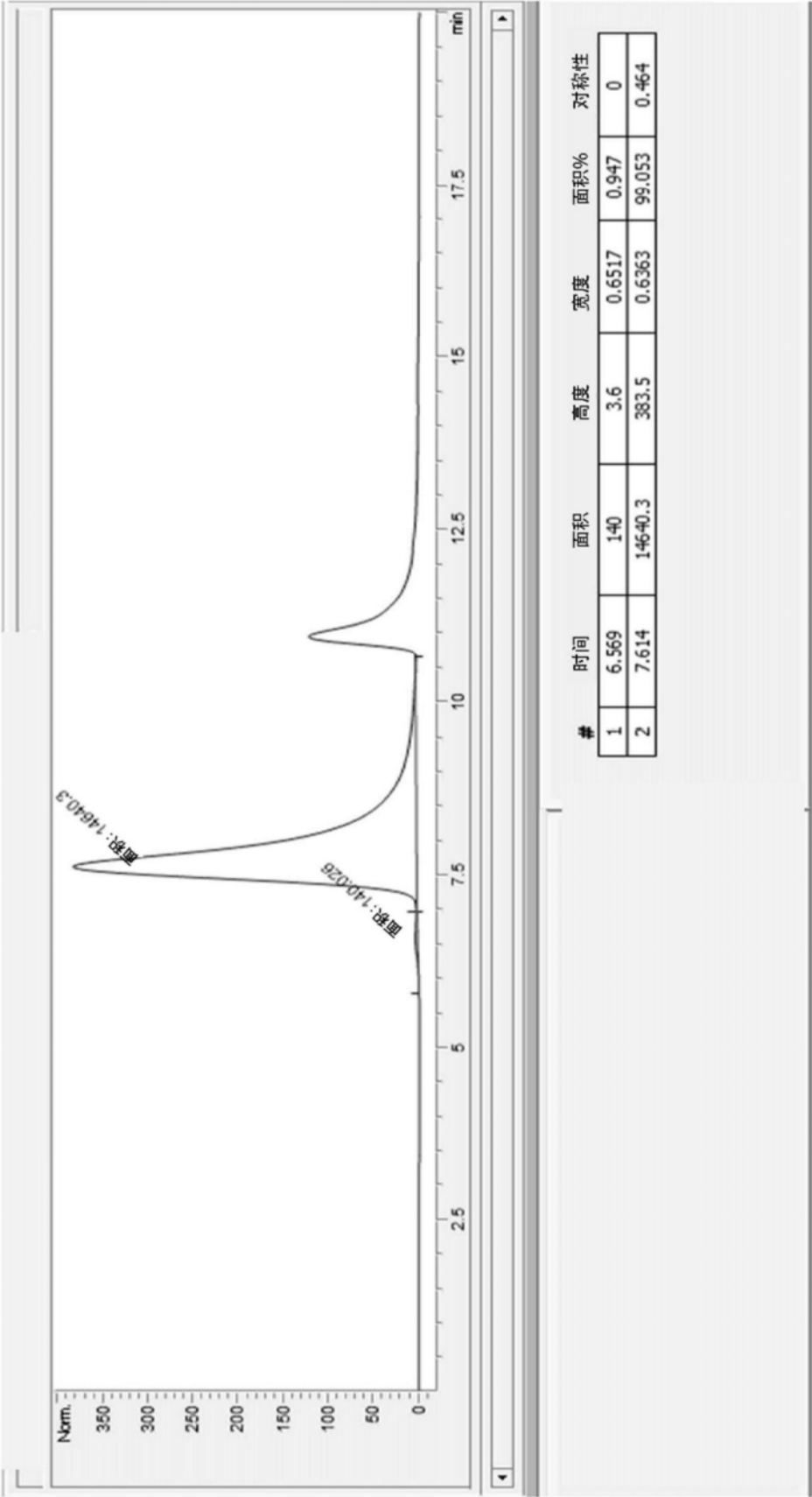


图13

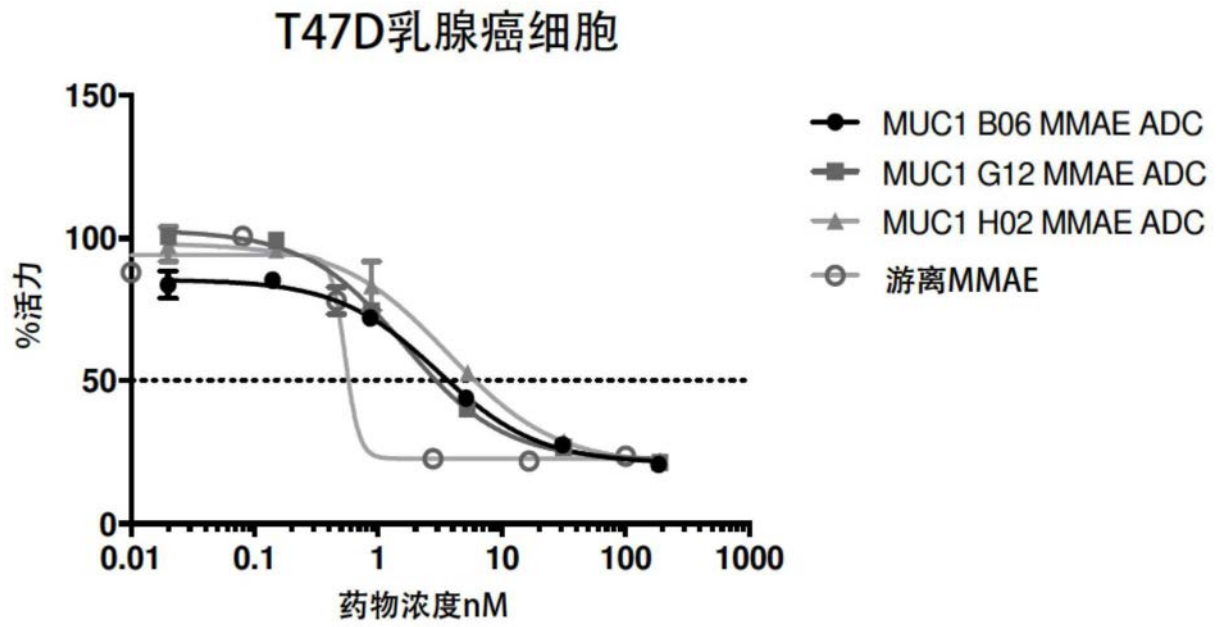


图14

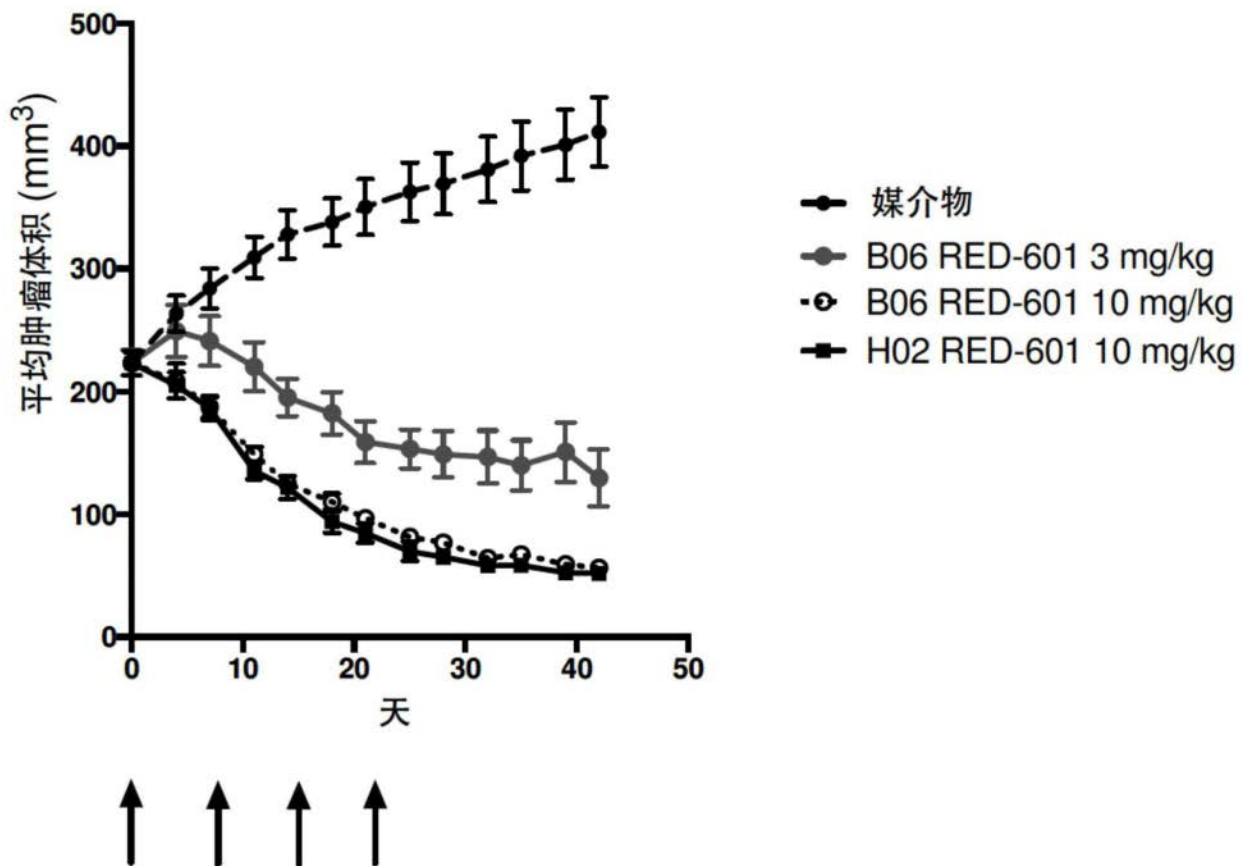


图15

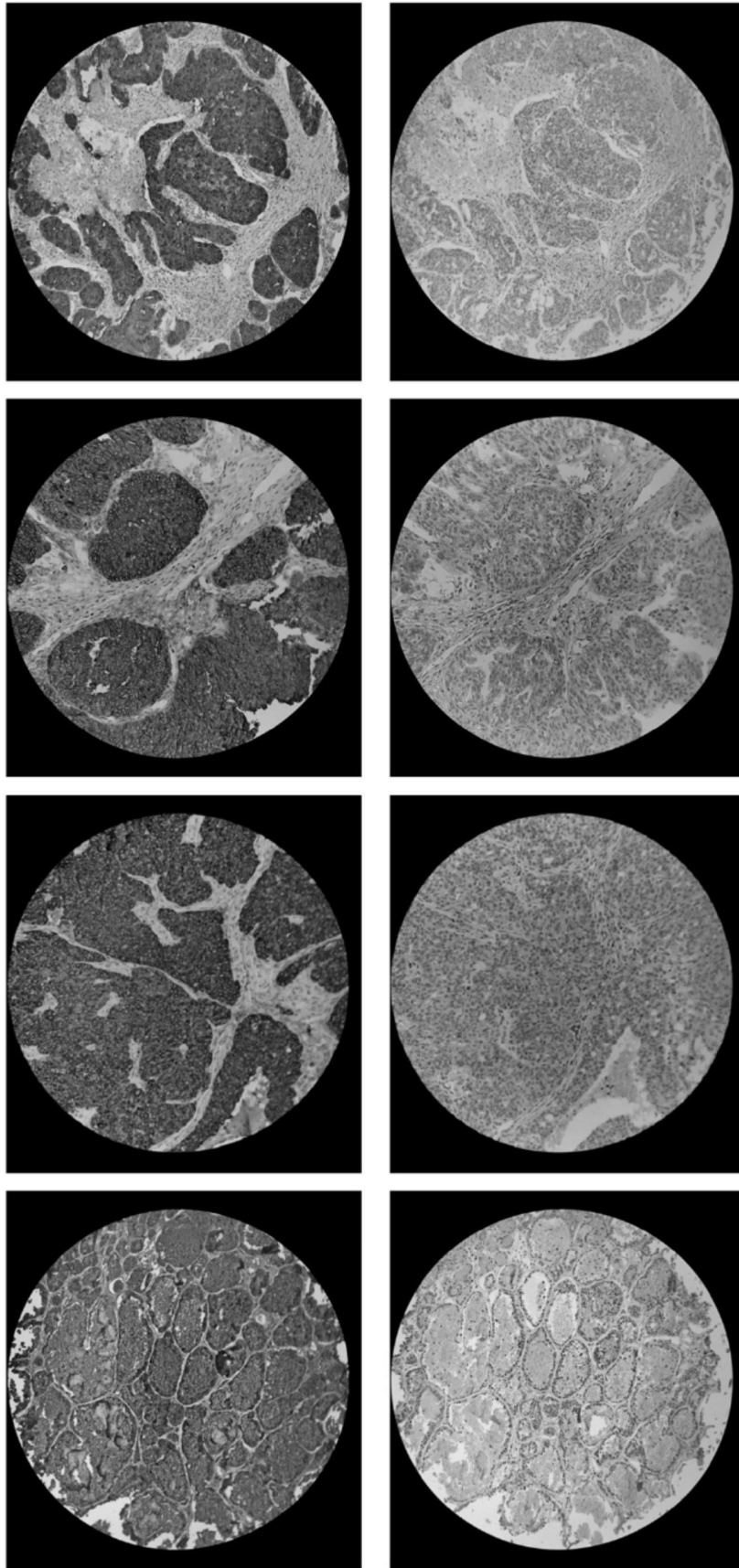


图16

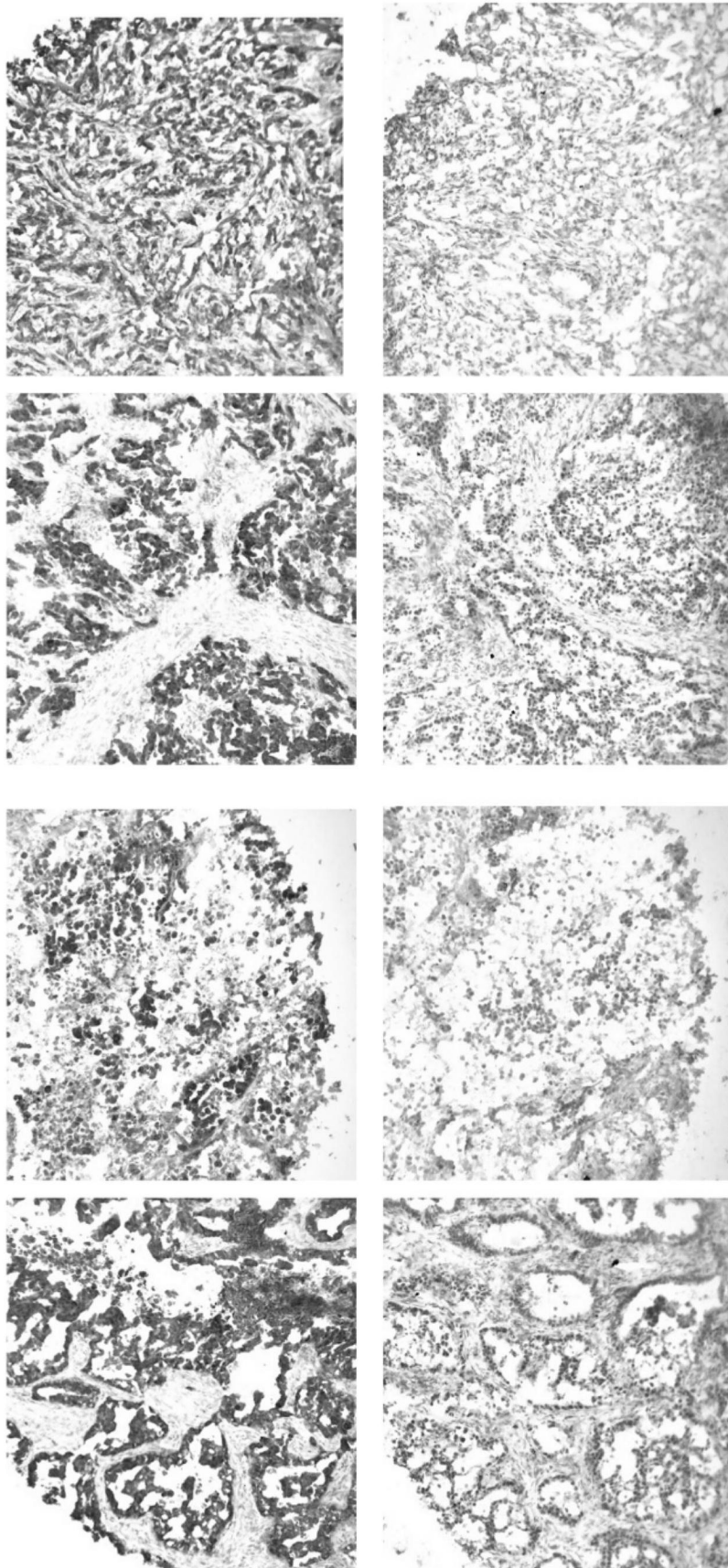


图17

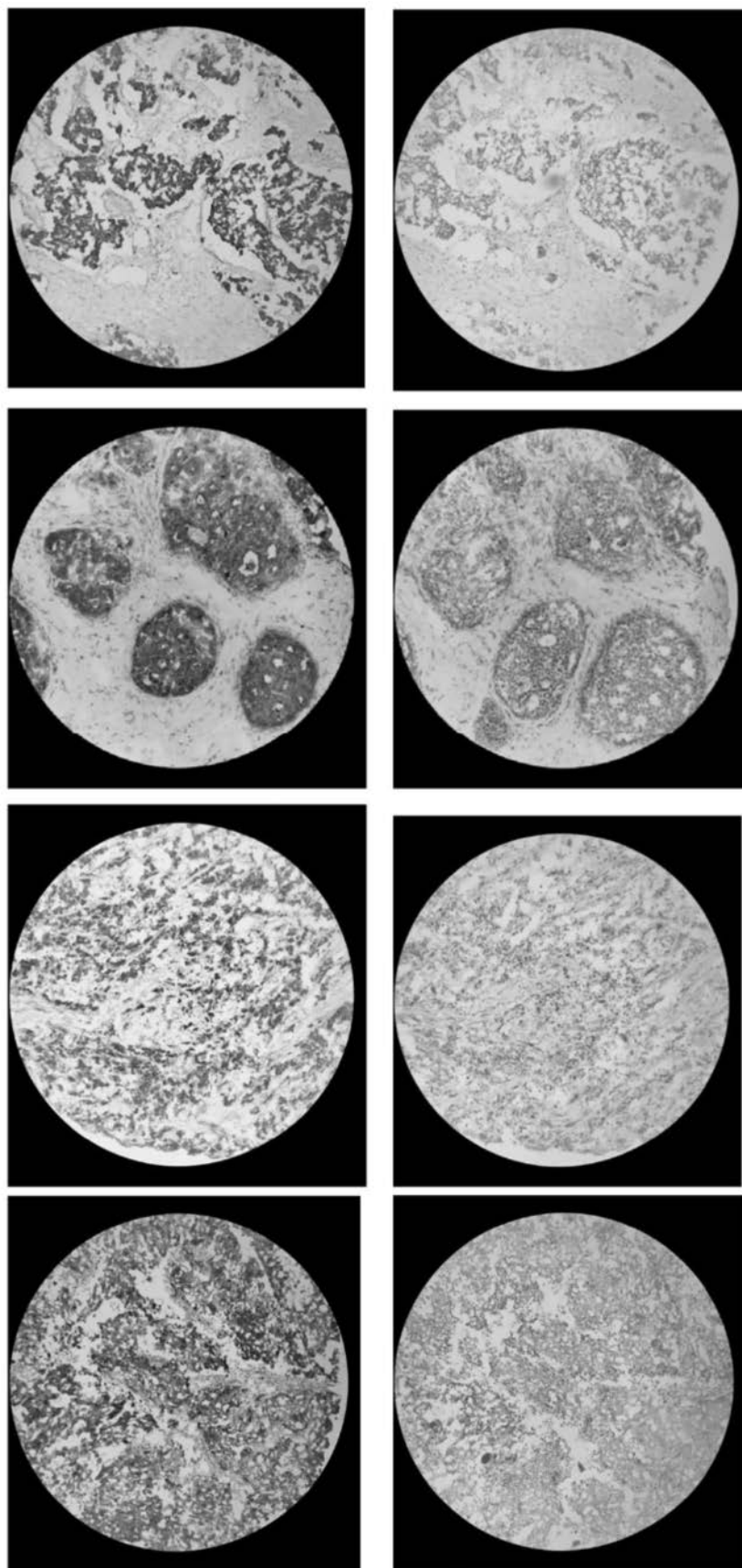


图18

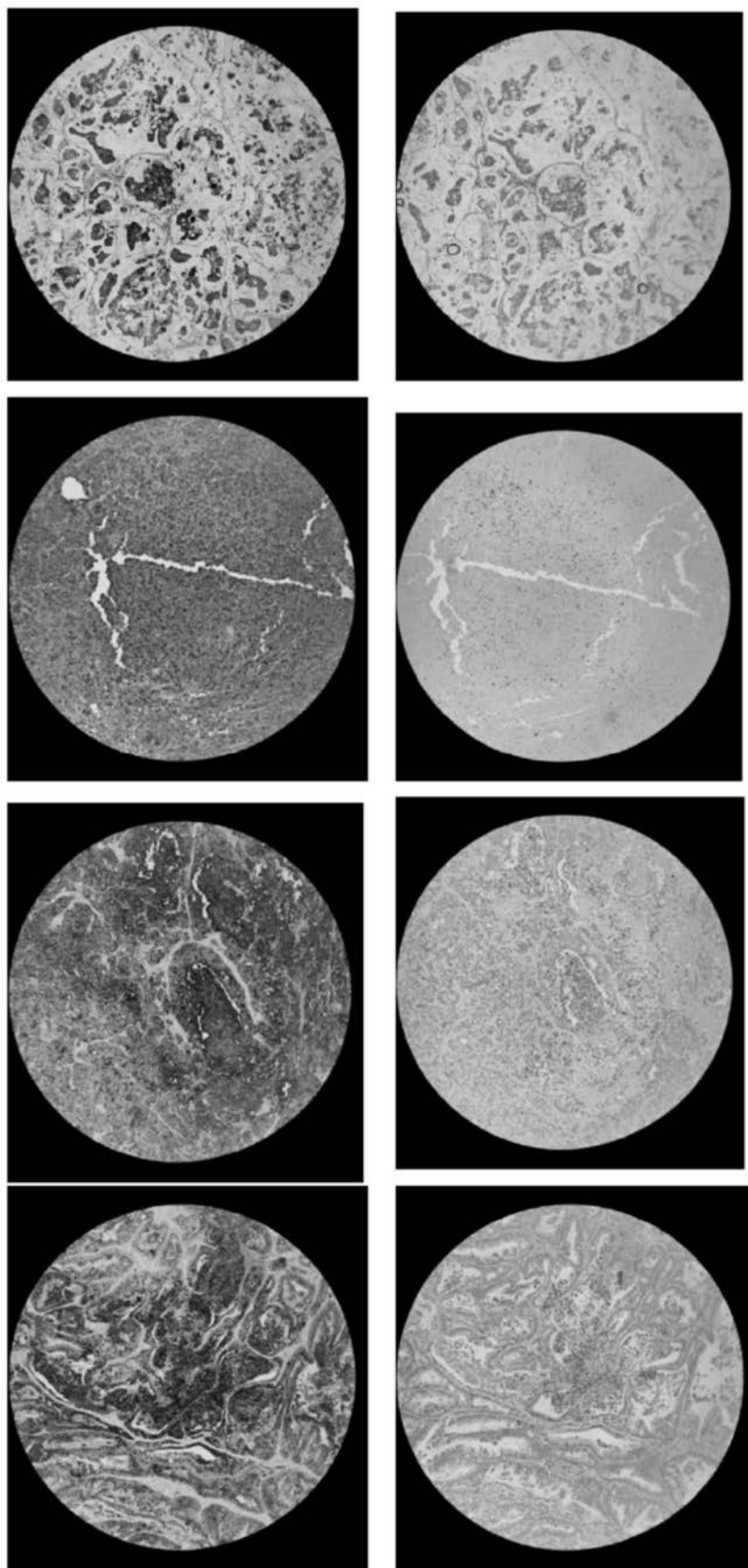


图19

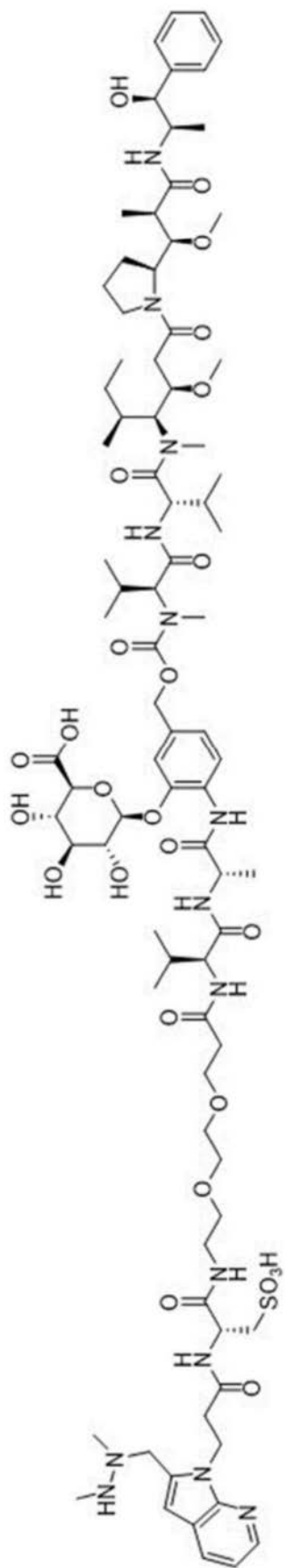


图20

轻链保守区：

140 150 160 170 180 189
RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD
200 210 220 230 236
SKDSTYSLSS TLTLKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK SFNRGEC

重链保守区：

130 140 150 160 170 180
ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS
190 200 210 220 230 240
GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG
250 260 270 280 290 300
PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN
310 320 330 340 350 360
STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE
370 380 390 400 410 420
MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW
430 440 450
QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK

图21A

图21B

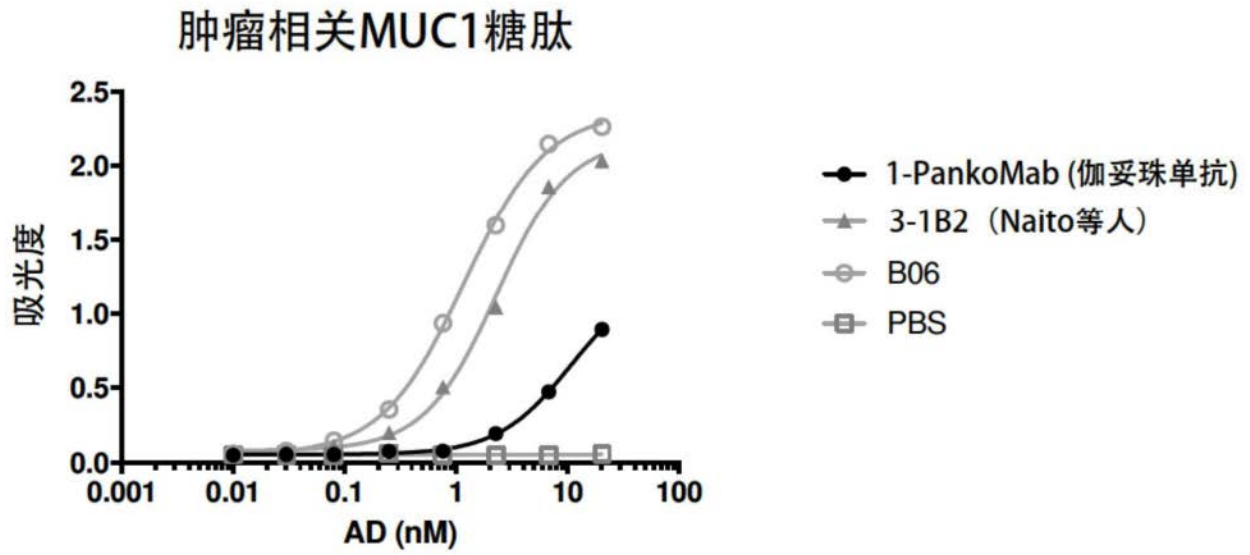


图22

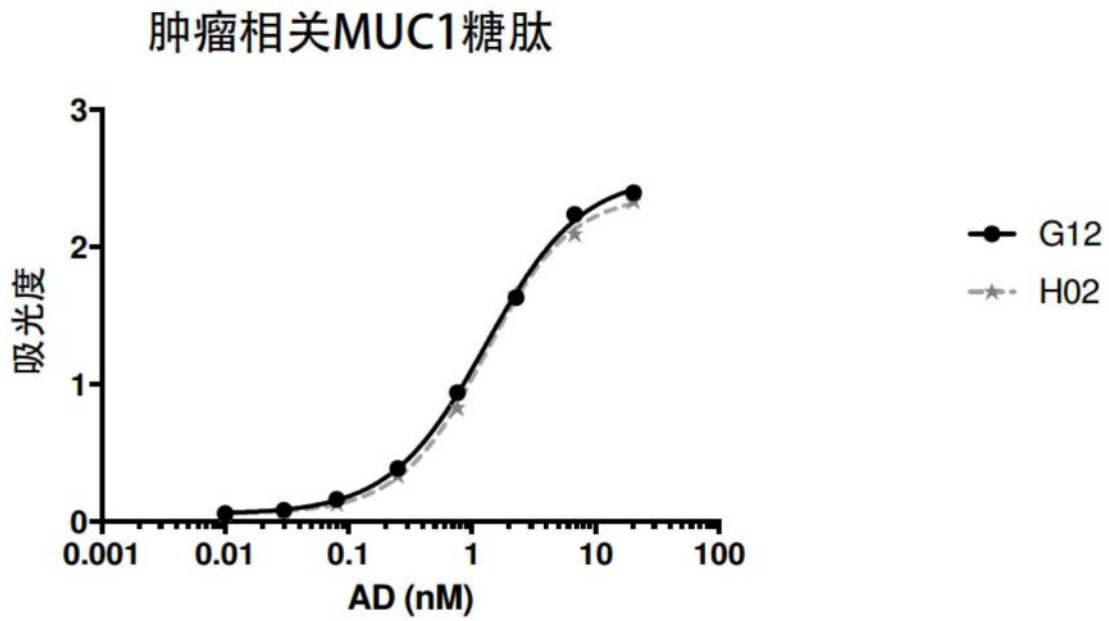


图23

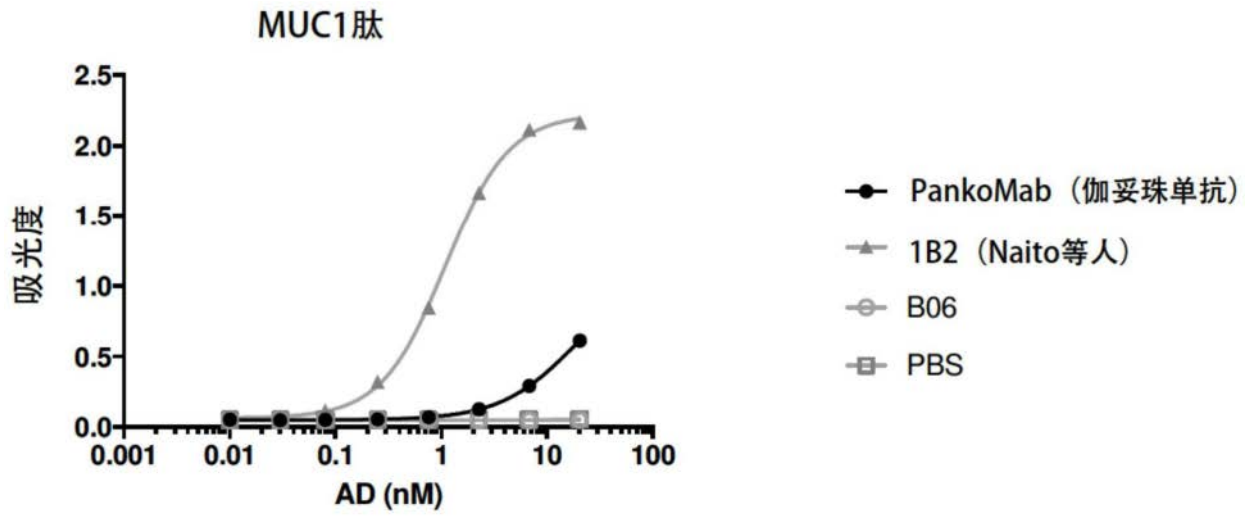


图24

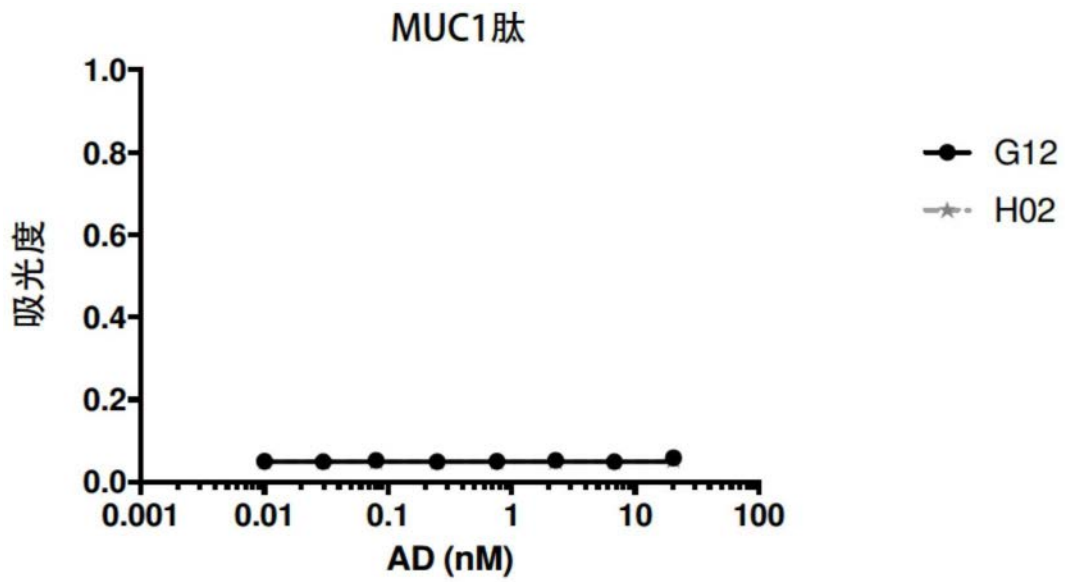


图25

流式细胞术筛选Ag+ T-47D细胞和Ag- HEK细胞 (预染的)

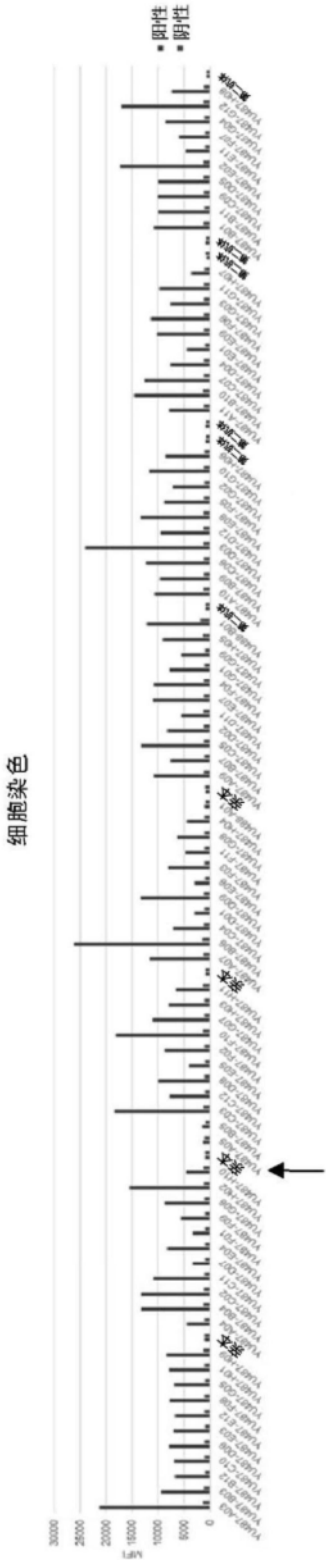


图26

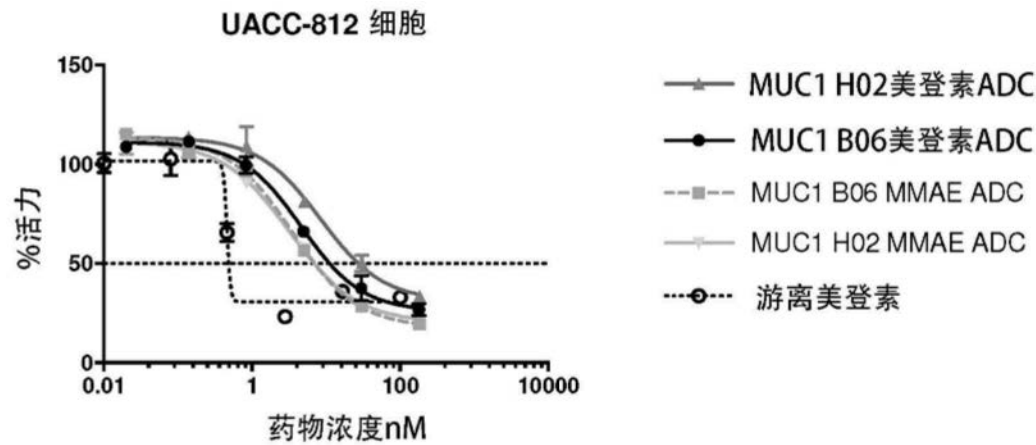


图27

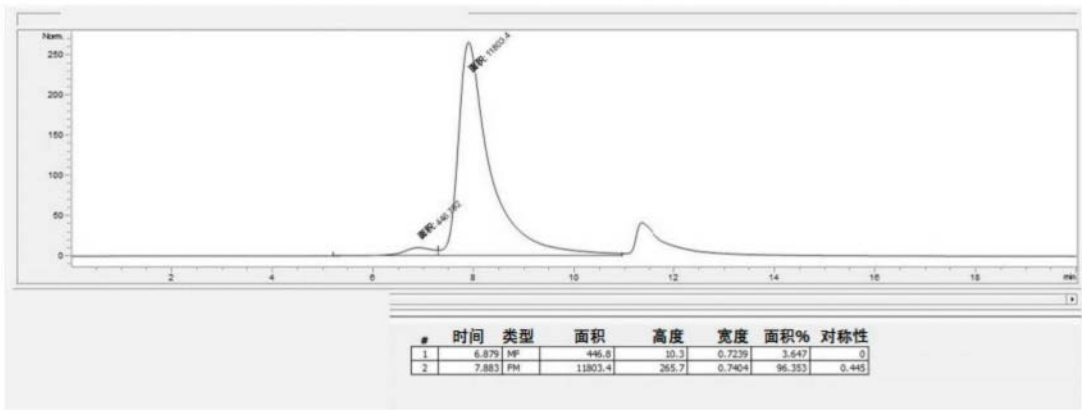


图28

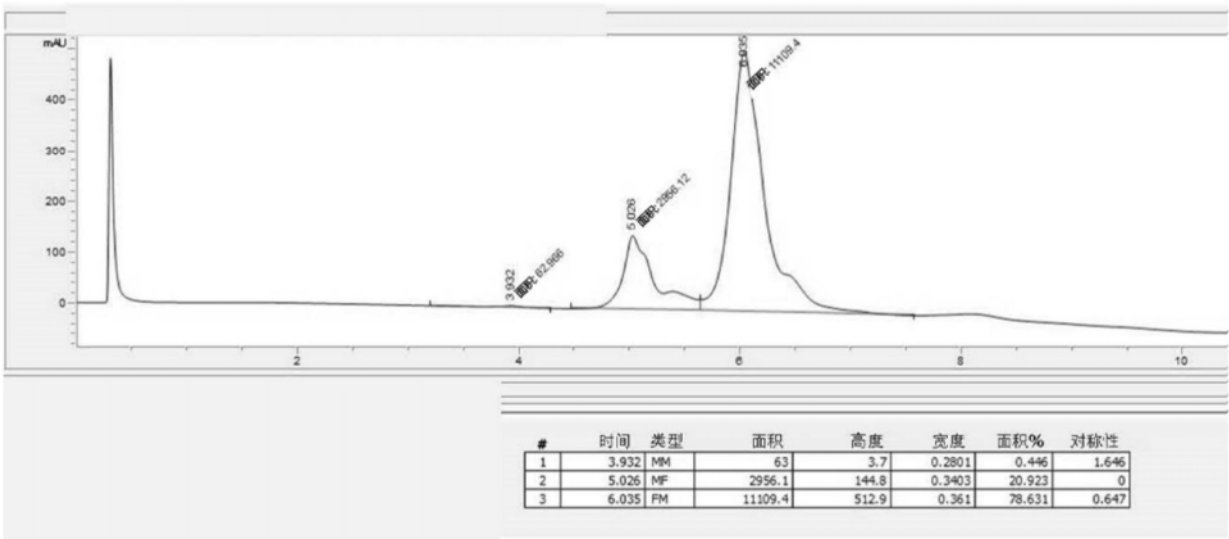


图29

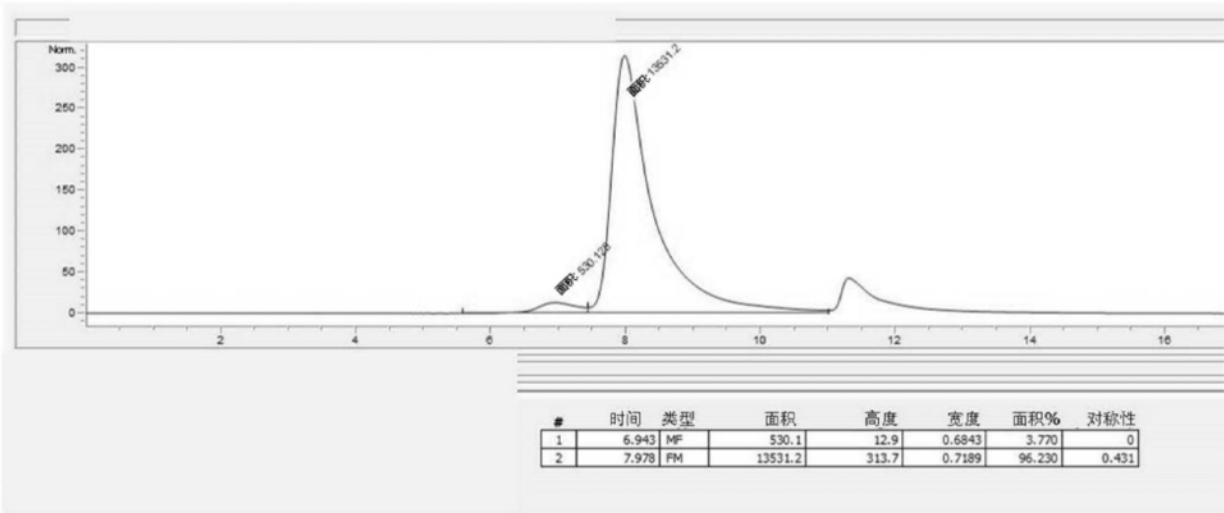


图30

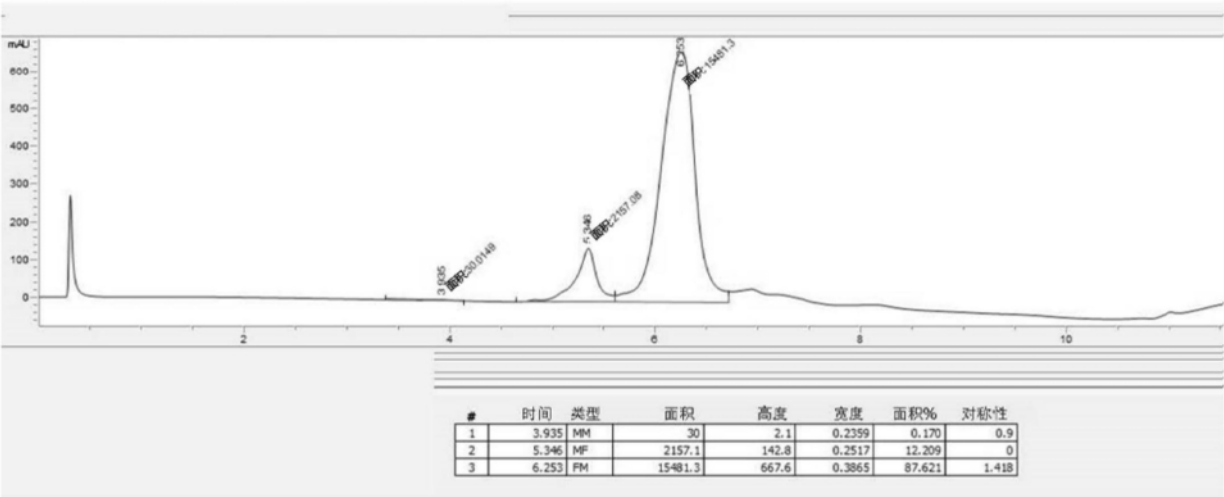


图31

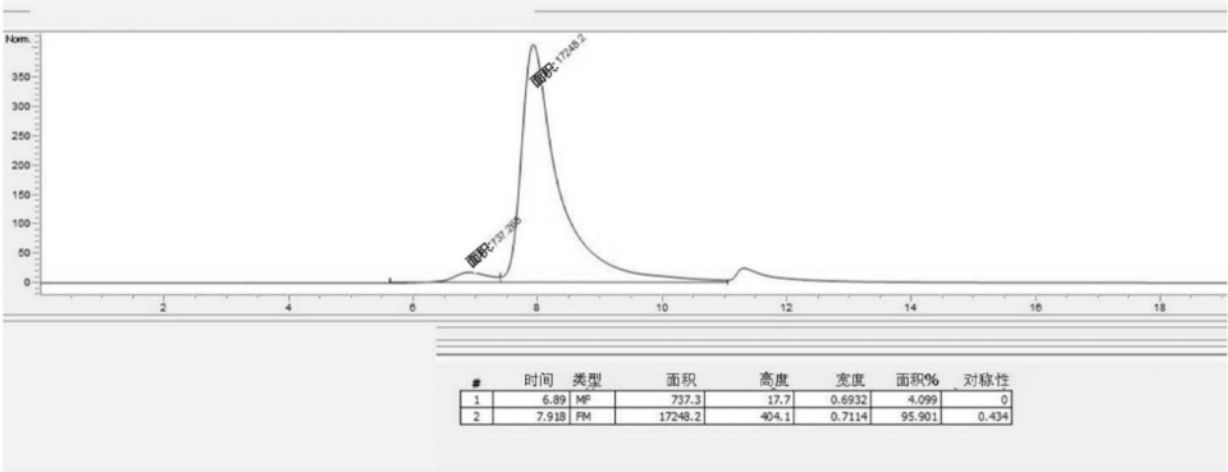


图32

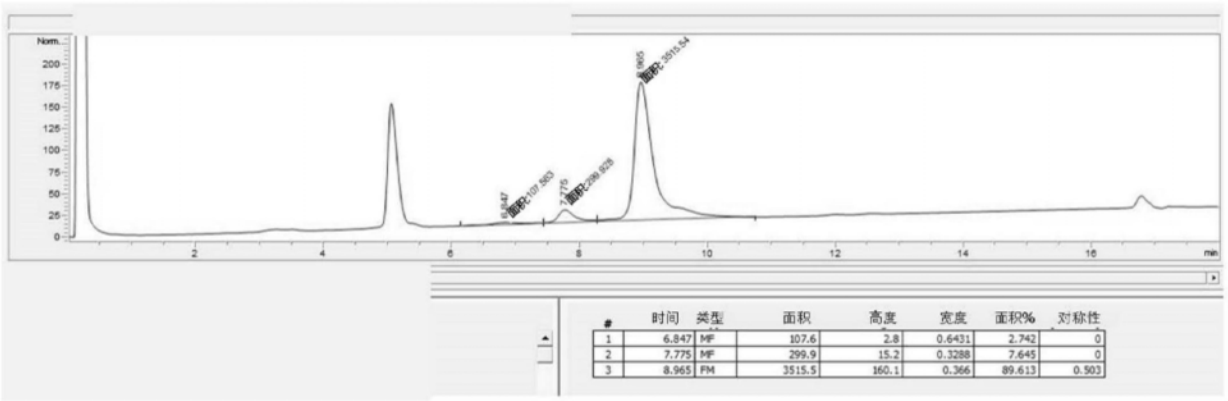


图33

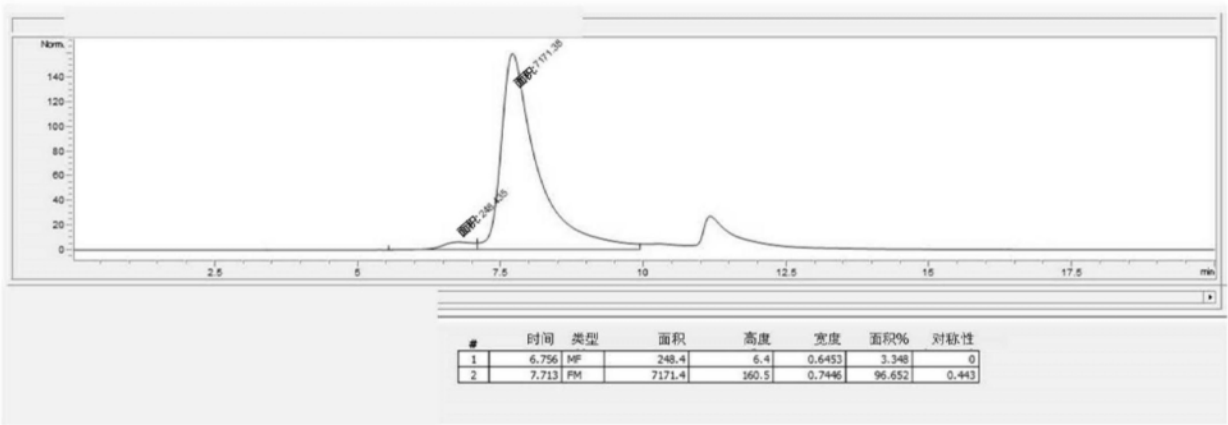


图34