(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 115315274 A
(43)申请公布日 2022.11.08

(21)申请号 202180023427.1

(22)申请日 2021.03.23

(30)优先权数据
62/993,622 2020.03.23 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.09.22

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2021/023755 2021.03.23

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/195131 EN 2021.09.30

(71)申请人 融合制药公司
地址 加拿大安大略省

(72)发明人 M.施瓦比什 N.格林施泰因
E.S.布拉克

(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所 11105
专利代理师 许斐斐

(51)Int.Cl.
A61K 51/04(2006.01)
A61K 39/395(2006.01)
G01N 33/574(2006.01)

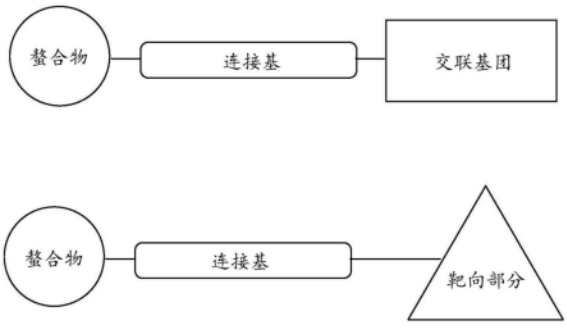
权利要求书9页 说明书38页
序列表5页 附图16页

(54)发明名称

靶向FGFR3的放射免疫缀合物及其用途

(57)摘要

本发明涉及放射免疫缀合物，其包括螯合部分或其金属络合物、连接基及FGFR3靶向部分。本发明涉及这些放射免疫缀合物的药物组合物及使用这些药物组合物治疗诸如癌症的病况的方法。



CN 115315274 A

1.一种放射免疫缀合物,其包括以下结构:

A-L-B

式I-a

其中A为螯合部分或其金属络合物,

其中B为FGFR3靶向部分,且

其中L为连接基。

2.如权利要求1的放射免疫缀合物,其中A为螯合部分的金属络合物。

3.如权利要求2的放射免疫缀合物,其中该金属络合物包含放射性核素。

4.如权利要求3的放射免疫缀合物,其中该放射性核素为α发射体。

5.如权利要求4的放射免疫缀合物,其中该放射性核素为选自由以下组成的组的α发射体:砹-211(^{211}At)、铋-212(^{212}Bi)、铋-213(^{213}Bi)、锕-225(^{225}Ac)、镭-223(^{223}Ra)、铅-212(^{212}Pb)、钍-227(^{227}Th)及铽-149(^{149}Tb)或其子体。

6.如权利要求5的放射免疫缀合物,其中该放射性核素为^{225}Ac或其子体。

7.如权利要求1的放射免疫缀合物,其中L具有如式I-b内所示的结构-L^1-$(L^2)_n$-:

L^1-$(L^2)_n$-B

式I-b

其中

A为螯合部分或其金属络合物;

B为FGFR3靶向部分;

L^1为任选取代的C_1-C_6烷基、任选取代的C_1-C_6杂烷基或任选取代的芳基或杂芳基;

n介于1与5之间(包括1及5);且

每一L^2独立地具有以下结构:

(-X^1-L^3-Z^1-)

式III

其中

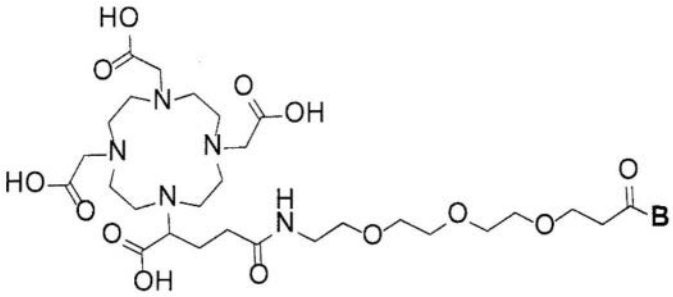
X^1为C=O(NR^1)、C=S(NR^1)、OC=O(NR^1)、NR^1C=O(O)、NR^1C=O(NR^1)、-CH_2PhC=O(NR^1)、-CH_2Ph(NH)C=S(NR^1)、O或NR^1;且每一R^1独立地为H、任选取代的C_1-C_6烷基、任选取代的C_1-C_6杂烷基或任选取代的芳基或杂芳基,其中C_1-C_6烷基可经氧代(=O)、杂芳基或其组合取代;

L^3为任选取代的C_1-C_{50}烷基或任选取代的C_1-C_{50}杂烷基;且

Z^1为CH_2、C=O、C=S、OC=O、NR^1C=O或NR^1,其中R^1为氢或任选取代的C_1-C_6烷基或吡咯烷-2,5-二酮。

8.如权利要求7的放射免疫缀合物,其中L^3为C_5-C_{20}聚乙二醇。

9.如权利要求7的放射免疫缀合物或其药学上可接受的盐,其中该放射免疫缀合物包括以下结构:



，

其中B为FGFR3靶向部分。

10.如权利要求1至9中任一项的放射免疫缀合物，其中该FGFR3靶向部分的大小为至少100kDa。

11.如权利要求10的放射免疫缀合物，其中该FGFR3靶向部分的大小为至少150kDa。

12.如权利要求11的放射免疫缀合物，其中该FGFR3靶向部分的大小为至少200kDa。

13.如权利要求12的放射免疫缀合物，其中该FGFR3靶向部分的大小为至少250kDa。

14.如权利要求13的放射免疫缀合物，其中该FGFR3靶向部分的大小为至少300kDa。

15.如权利要求1至14中任一项的放射免疫缀合物，其中该FGFR3靶向部分能结合至人FGFR3。

16.如权利要求1至15中任一项的放射免疫缀合物，其中该FGFR3靶向部分能结合至野生型FGFR3。

17.如权利要求1至15中任一项的放射免疫缀合物，其中该FGFR3靶向部分能结合至突变型FGFR3。

18.如权利要求17中任一项的放射免疫缀合物，其中该FGFR3靶向部分能结合至野生型及突变型FGFR3二者。

19.如权利要求17或18的放射免疫缀合物，其中该突变型FGFR3包含点突变。

20.如权利要求19的放射免疫缀合物，其中该点突变与癌症相关。

21.如权利要求20的放射免疫缀合物，其中该点突变体选自由以下组成的组：$FGFR3^{Y375C}$、$FGFR3^{R248C}$、$FGFR3^{S249C}$、$FGFR3^{G372C}$、$FGFR3^{K652E}$、$FGFR3^{K652Q}$、$FGFR3^{K652M}$及其组合。

22.如权利要求16至21中任一项的放射免疫缀合物，其中该突变型FGFR3包括FGFR3融合物。

23.如权利要求22的放射免疫缀合物，其中该FGFR3融合物选自由以下组成的组：FGFR3-TACC3、FGFR3-CAMK2A、FGFR3-JAKMOP1、FGFR3-TNIP2、FGFR3-WHSC1、FGFR3-BAIAP2L1及其组合。

24.如权利要求1至23中任一项的放射免疫缀合物，其中该FGFR3靶向部分包括抗体或其抗原结合片段。

25.如权利要求24的放射免疫缀合物，其中该抗体或其抗原结合片段是人源化的。

26.如权利要求24或25的放射免疫缀合物，其中该抗体或其抗原结合片段包含至少一个选自由以下组成的组的互补决定区(CDR)：

CDR-H1，其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列；

CDR-H2，其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列；

CDR-H3，其包含SEQ ID NO:3或4的氨基酸序列或与SEQ ID NO:3或4相差1或2个氨基酸

的氨基酸序列；

CDR-L1，其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列；

CDR-L2，其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列；或

CDR-L3，其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列。

27.如权利要求26的放射免疫缀合物，其中该抗体或其抗原结合片段包含至少两个选自由以下组成的组的CDR：

CDR-H1，其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列；

CDR-H2，其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列；

CDR-H3，其包含SEQ ID NO:3或4的氨基酸序列或与SEQ ID NO:3或4相差1或2个氨基酸的氨基酸序列；

CDR-L1，其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列；

CDR-L2，其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列；或

CDR-L3，其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列。

28.如权利要求27的放射免疫缀合物，其中该抗体或其抗原结合片段包含至少三个选自由以下组成的组的CDR：

CDR-H1，其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列；

CDR-H2，其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列；

CDR-H3，其包含SEQ ID NO:3或4的氨基酸序列或与SEQ ID NO:3或4相差1或2个氨基酸的氨基酸序列；

CDR-L1，其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列；

CDR-L2，其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列；或

CDR-L3，其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列。

29.如权利要求28的放射免疫缀合物，其中该抗体或其抗原结合片段包含至少四个选自由以下组成的组的CDR：

CDR-H1，其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列；

CDR-H2，其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列；

CDR-H3，其包含SEQ ID NO:3或4的氨基酸序列或与SEQ ID NO:3或4相差1或2个氨基酸的氨基酸序列；

CDR-L1，其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列；

CDR-L2，其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列；或

CDR-L3，其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列。

30.如权利要求29的放射免疫缀合物，其中该抗体或其抗原结合片段包含至少五个选自由以下组成的组的CDR：

CDR-H1，其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列；

CDR-H2，其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列；

CDR-H3，其包含SEQ ID NO:3或4的氨基酸序列或与SEQ ID NO:3或4相差1或2个氨基酸的氨基酸序列；

CDR-L1，其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列；

CDR-L2，其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列；或

CDR-L3,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列。

31.如权利要求30的放射免疫缀合物,其中该抗体或其抗原结合片段包含:

CDR-H1,其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

CDR-H2,其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

CDR-H3,其包含SEQ ID NO:3或4的氨基酸序列或与SEQ ID NO:3或4相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

CDR-L1,其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

CDR-L2,其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;及

CDR-L3,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列。

32.如权利要求24或25的放射免疫缀合物,其中该抗体或其抗原结合片段包含

(i)重链可变结构域,其包含至少一个选自由以下组成的组的CDR:

CDR-H1,其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

CDR-H2,其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;及

CDR-H3,其包含SEQ ID NO:3或4的氨基酸序列或与SEQ ID NO:3或4相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;以及

(ii)轻链可变结构域,其包含至少一个选自由以下组成的组的CDR:

CDR-L1,其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

CDR-L2,其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;及

CDR-L3,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列。

33.如权利要求32的放射免疫缀合物,其中该抗体或其抗原结合片段包含

(i)重链可变结构域,其包含至少一个选自由以下组成的组的CDR:

CDR-H1,其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列;

CDR-H2,其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列;及

CDR-H3,其包含SEQ ID NO:3或4的氨基酸序列;以及

(ii)轻链可变结构域,其包含至少一个选自由以下组成的组的CDR:

CDR-L1,其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;

CDR-L2,其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列;及

CDR-L3,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列。

34.如权利要求32或33的放射免疫缀合物,其中该抗体或其抗原结合片段包含

(i)重链可变结构域,其包含至少两个选自由以下组成的组的CDR:

CDR-H1,其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

CDR-H2,其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;及

CDR-H3,其包含SEQ ID NO:3或4的氨基酸序列或与SEQ ID NO:3或4相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;以及

(ii)轻链可变结构域,其包含至少两个选自由以下组成的组的CDR:

CDR-L1,其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

CDR-L2,其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;及

CDR-L3,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列。

35.如权利要求34的放射免疫缀合物,其中该抗体或其抗原结合片段包含

(i)重链可变结构域,其包含至少两个选自由以下组成的组的CDR:

CDR-H1,其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列;

CDR-H2,其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列;及

CDR-H3,其包含SEQ ID NO:3或4的氨基酸序列;以及

(ii)轻链可变结构域,其包含至少两个选自由以下组成的组的CDR:

CDR-L1,其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;

CDR-L2,其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列;及

CDR-L3,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列。

36.如权利要求35的放射免疫缀合物,其中该抗体或其抗原结合片段包含

(i)重链可变结构域,其包含:

CDR-H1,其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

CDR-H2,其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;及

CDR-H3,其包含SEQ ID NO:3或4的氨基酸序列或与SEQ ID NO:3或4相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

以及

(ii)轻链可变结构域,其包含:

CDR-L1,其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

CDR-L2,其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;及

CDR-L3,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列。

37.如权利要求36的放射免疫缀合物,其中该抗体或其抗原结合片段包含

(i)重链可变结构域,其包含:

CDR-H1,其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列;

CDR-H2,其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列;及

CDR-H3,其包含SEQ ID NO:3或4的氨基酸序列;

以及

(ii)轻链可变结构域,其包含:

CDR-L1,其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;

CDR-L2,其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列;及

CDR-L3,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列。

38.如权利要求27至37中任一项的放射免疫缀合物,其中该抗体或其抗原结合片段包含

(i)重链可变结构域,其具有与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少85%一致性的氨基酸序列;及

(ii)轻链可变结构域,其具有与SEQ ID NO:9的氨基酸序列具有至少85%一致性的氨基酸序列。

39.如权利要求38的放射免疫缀合物,其中该抗体或其抗原结合片段包含

(i)重链可变结构域,其具有与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少90%一致性的氨基酸序列;及

(ii)轻链可变结构域,其具有与SEQ ID NO:9的氨基酸序列具有至少90%一致性的氨

基酸序列。

40.如权利要求39的放射免疫缀合物,其中该抗体或其抗原结合片段包含

(i)重链可变结构域,其具有与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少95%一致性的氨基酸序列;及

(ii)轻链可变结构域,其具有与SEQ ID NO:9的氨基酸序列具有至少95%一致性的氨基酸序列。

41.如权利要求40的放射免疫缀合物,其中该抗体或其抗原结合片段包含

(i)重链可变结构域,其包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列;及

(ii)轻链可变结构域,其包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列。

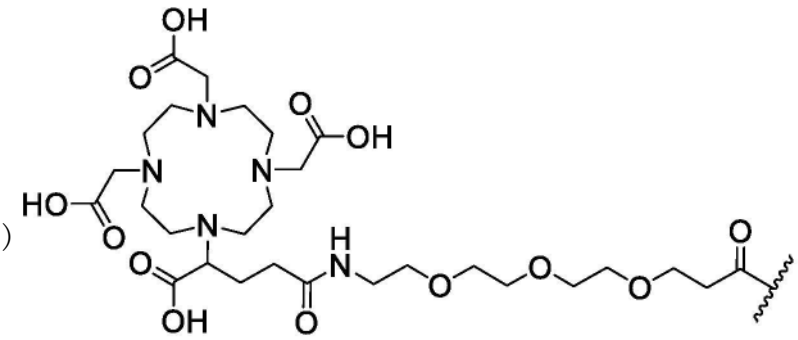
42.如权利要求41的放射免疫缀合物,其中该抗体为MFGR1877S(沃凡妥单抗)。

43.如权利要求1至42中任一项的放射免疫缀合物,其中将该放射免疫缀合物或其组合物给药至哺乳动物之后,由肠途径、肾途径或这两种途径排泄的辐射比例为已给药参考放射免疫缀合物的可比较哺乳动物由相同途径排泄的辐射比例的至少2倍。

44.如权利要求43的放射免疫缀合物,其中将该放射免疫缀合物或其组合物给药至哺乳动物之后,由肠途径、肾途径或这两种途径排泄的辐射比例为已给药参考放射免疫缀合物的可比较哺乳动物由相同途径排泄的辐射比例的至少3倍。

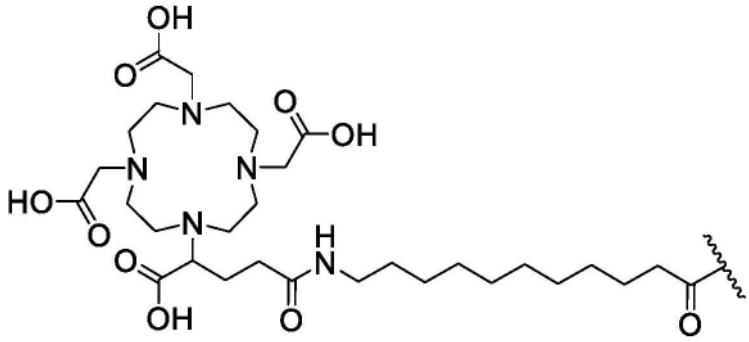
45.如权利要求1的放射免疫缀合物,其中A-L-为选自由以下组成的组的化合物的金属络合物:

(i)



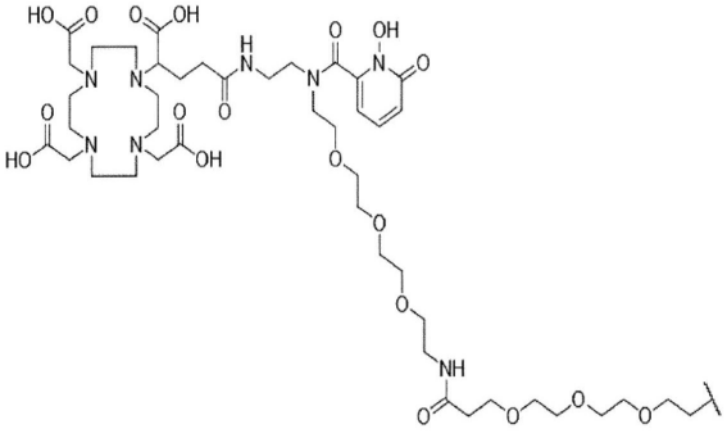
(化合物1),

(ii)



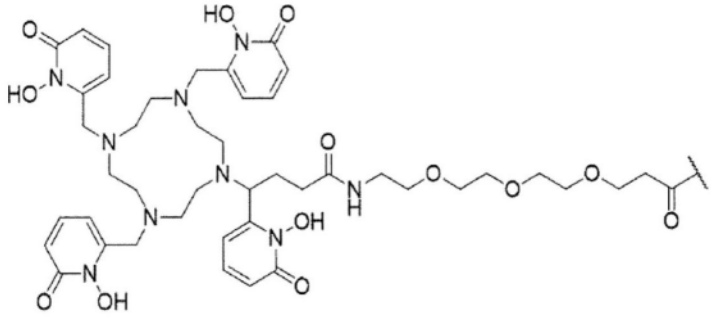
(化合物2),

(iii)



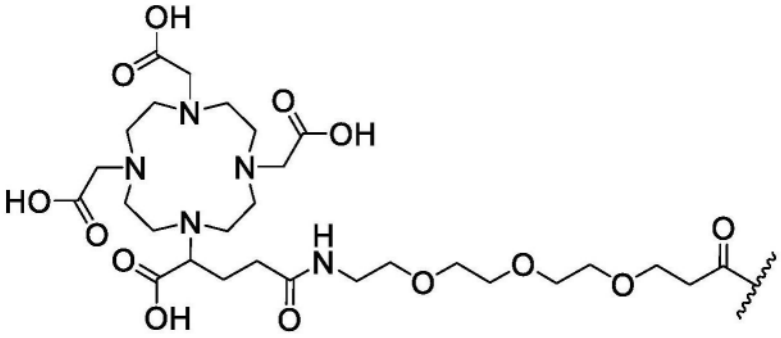
(化合物3)，及

(iv)



(化合物4)。

46.如权利要求45的放射免疫缀合物，其中A-L-为以下的金属络合物：



(化合物1)。

47.如权利要求46的放射免疫缀合物，其中该金属络合物包含放射性核素。

48.如权利要求47的放射免疫缀合物，其中该放射性核素为α发射体。

49.如权利要求48的放射免疫缀合物，其中该放射性核素为选自由以下组成的组的α发射体：砹-211 (^{211}At)、铋-212 (^{212}Bi)、铋-213 (^{213}Bi)、锕-225 (^{225}Ac)、镭-223 (^{223}Ra)、铅-212 (^{212}Pb)、钍-227 (^{227}Th)及铽-149 (^{149}Tb)或其子体。

50.如权利要求49的放射免疫缀合物，其中该放射性核素为^{225}Ac或其子体。

51.如权利要求50的放射免疫缀合物，其中该FGFR3靶向部分包括抗体或其抗原结合片段。

52.如权利要求51的放射免疫缀合物，其中该抗体或其抗原结合片段是人源化的。

53.如权利要求52的放射免疫缀合物，其中该抗体或其抗原结合片段包含

(i)重链可变结构域,其包含:

CDR-H1,其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列;

CDR-H2,其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列;及

CDR-H3,其包含SEQ ID NO:3或4的氨基酸序列;

以及

(ii)轻链可变结构域,其包含:

CDR-L1,其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;

CDR-L2,其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列;及

CDR-L3,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列。

54.如权利要求52的放射免疫缀合物,其中该抗体或其抗原结合片段包含

(i)重链可变结构域,其具有与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少95%一致性的氨基酸序列;及

(ii)轻链可变结构域,其具有与SEQ ID NO:9的氨基酸序列具有至少95%一致性的氨基酸序列。

55.如权利要求54的放射免疫缀合物,其中该抗体或其抗原结合片段包含

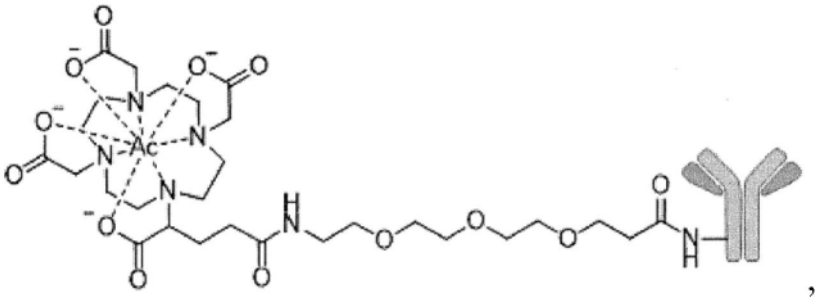
(i)重链可变结构域,其包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列;及

(ii)轻链可变结构域,其包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列。

56.如权利要求55的放射免疫缀合物,其中该抗体或其抗原结合片段为MFGR1877S(沃凡妥单抗)或其抗原结合片段。

57.如权利要求56的放射免疫缀合物,其中该抗体或其抗原结合片段为MFGR1877S(沃凡妥单抗)。

58.如权利要求46的放射免疫缀合物,该放射免疫缀合物包括以下结构:



,

其中  为MFGR1877S(沃凡妥单抗),其中与以上所示抗体相连的胺基NH-来自作为抗体一部分的赖氨酸单元。

59.一种药物组合物,其包含如权利要求1至58中任一项的放射免疫缀合物及药学上可接受的载体。

60.一种治疗癌症的方法,该方法包括向有需要的受试者给药药物组合物,该药物组合物包含有效量的如权利要求1至58中任一项的放射免疫缀合物。

61.如权利要求60的方法,其中该受试者为哺乳动物。

62.如权利要求61的方法,其中该哺乳动物为人。

63.如权利要求60至62中任一项的方法，其中该癌症为实体瘤癌。

64.如权利要求63的方法，其中该实体瘤癌为肾上腺皮质癌、膀胱癌、乳腺癌、子宫颈癌、结肠直肠癌、子宫内膜腺癌、尤文氏肉瘤、胆囊癌、神经胶质瘤、头颈癌、肝癌、肺癌、成神经细胞瘤、神经内分泌癌、胰腺癌、前列腺癌、肾细胞癌、唾液腺样囊状癌或精母细胞性精原细胞瘤。

65.如权利要求64的方法，其中该实体瘤癌为膀胱癌。

66.如权利要求64的方法，其中该实体瘤癌为神经胶质瘤。

67.如权利要求64的方法，其中该实体瘤癌为成神经细胞瘤。

68.如权利要求64的方法，其中该实体瘤癌为胰腺癌。

69.如权利要求64的方法，其中该实体瘤癌为乳腺癌。

70.如权利要求64的方法，其中该实体瘤癌为头颈癌。

71.如权利要求64的方法，其中该实体瘤癌为肝癌。

72.如权利要求64的方法，其中该实体瘤癌为肺癌。

73.如权利要求60至62中任一项的方法，其中该癌症为非实体瘤癌。

74.如权利要求73的方法，其中该癌症为液体癌或血液癌。

75.如权利要求74的方法，其中该癌症为骨髓瘤。

76.如权利要求75的方法，其中该骨髓瘤为多发性骨髓瘤。

77.如权利要求74的方法，其中该癌症为白血病。

78.如权利要求74的方法，其中该癌症为淋巴瘤。

79.如权利要求60至78中任一项的方法，其中该药物组合物为全身给药。

80.如权利要求79的方法，其中该药物组合物为肠胃外给药。

81.如权利要求80的方法，其中该药物组合物为经静脉内给药。

82.如权利要求80的方法，其中该药物组合物为动脉内给药。

83.如权利要求80的方法，其中该药物组合物为腹膜内给药。

84.如权利要求80的方法，其中该药物组合物为皮下给药。

85.如权利要求80的方法，其中该药物组合物为皮内给药。

86.如权利要求79的方法，其中该药物组合物为经肠给药。

87.如权利要求86的方法，其中该药物组合物为跨胃肠道给药。

88.如权利要求86的方法，其中该药物组合物为口服给药。

89.如权利要求60至78中任一项的方法，其中该药物组合物为局部给药。

90.如权利要求89的方法，其中该药物组合物通过瘤周注射给药。

91.如权利要求89的方法，其中该药物组合物通过肿瘤内注射给药。

靶向FGFR3的放射免疫缀合物及其用途

[0001] 相关申请案

[0002] 本申请案主张2020年3月23日提出申请的美国临时专利申请案第62/993,622号的优先权,该专利申请案的整体内容出于所有目的以引用的方式并入本文中。

[0003] 序列表

[0004] 本说明书参考了序列表(2021年3月23日以电子方式提交的名为“FPI_012_Sequence_Listing.txt”的.txt文件)。该.txt文件于2021年3月22日生成,大小为8kb。序列表的全部内容通过引用并入本文。

背景技术

[0005] 纤维母细胞生长因子(FGF)及其受体(FGFR)在胚胎发育、组织稳态及代谢期间发挥重要作用。在人类中,存在22种FGF(FGF1-14、FGF16-23)及四种具有酪氨酸激酶结构域的FGF受体(FGFR1-4)。FGFR由具有两个或三个免疫球蛋白样结构域(IgD1-3)的细胞外配体结合区、单次跨膜区及细胞质分裂酪氨酸激酶结构域组成。FGF及其同源受体以环境依赖的方式调控广泛的细胞过程,包括增殖、分化、迁移及存活。FGFR过表达于许多癌症类型中,通常由于赋予组成型活化的突变所致。

[0006] 异常活化的FGFR与特定人类恶性病相关。举例而言,在约15-20%的多发性骨髓瘤患者中发生t(4;14)(p16.3;q32)染色体易位,此导致FGFR3的过表达,并与较短整体存活有关。FGFR3涉及为培养中的骨髓瘤细胞赋予化学抗性,此与t(4;14)+患者对常规化学疗法的不良临床反应一致。突变活化的FGFR3的过表达足以在造血细胞及纤维母细胞、转基因小鼠模型及鼠类骨髓移植模型中诱导致癌转变。已在神经胶母细胞瘤及其他癌症的子集中观察到FGFR3-TACC3(转变酸性卷曲螺旋3)致癌融合物,且早期数据表明这些肿瘤对FGFR抑制敏感。另外,活化FGFR3的基因组改变在膀胱癌(包括转移性膀胱尿路上皮癌)中很常见。

[0007] 因此,已建议将FGFR3作为癌症的潜在治疗靶标。靶向FGFR的若干小分子抑制剂已在培养物及小鼠模型中展示针对FGFR3阳性骨髓瘤细胞的细胞毒性。然而,这些小分子对FGFR3不具有选择性且对某些其他激酶展现抑制活性。

[0008] 因此,仍需要可靶向FGFR3的经改良治疗剂(例如癌症治疗剂)。

发明内容

[0009] 本发明涉及靶向FGFR3(例如人FGFR3,包括野生型及/或突变型FGFR3)的放射免疫缀合物、其药物组合物及使用这些药物组合物治疗癌症的方法。在某些实施方案中,所提供放射免疫缀合物与当前已知放射治疗剂相比展现增加的排泄速率(例如在给药至哺乳动物之后),同时仍保持治疗效能。在一些实施方案中,较快的排泄可通过限制放射免疫缀合物在受试者中停留的时间量限制脱靶毒性。因此,在一些实施方案中,所提供免疫缀合物展现降低的脱靶毒性。

[0010] 在某些实施方案中,提供包含以下结构的放射免疫缀合物:

[0011] A-L-B

[0012] (式I-a)

[0013] 其中A为螯合部分或其金属络合物(metal complex),其中B为FGFR3靶向部分,且其中L为连接基。

[0014] 在一些实施方案中,A为螯合部分的金属络合物。在一些这样的实施方案中,金属络合物包含放射性核素。在一些实施方案中,放射性核素为α发射体,例如选自由以下组成的组的α发射体:砹-211(^{211}At)、铋-212(^{212}Bi)、铋-213(^{213}Bi)、锕-225(^{225}Ac)、镭-223(^{223}Ra)、铅-212(^{212}Pb)、钍-227(^{227}Th)及铽-149(^{149}Tb)或其子体(progeny)。在一些实施方案中,放射性核素为^{225}Ac或其子体。

[0015] 在一些实施方案中,L具有结构-L^1-$(L^2)_n$-,如式I-b内所示:

[0016] L^1-$(L^2)_n$-B

[0017] 式I-b

[0018] 其中:

[0019] A为螯合部分或其金属络合物;

[0020] B为FGFR3靶向部分;

[0021] L^1为任选取代的C_1-C_6烷基、任选取代的C_1-C_6杂烷基或任选取代的芳基或杂芳基;

[0022] n介于1与5之间(包括1及5);且

[0023] 每一L^2独立地具有以下结构:

[0024] (-X^1-L^3-Z^1-)

[0025] 式III

[0026] 其中:

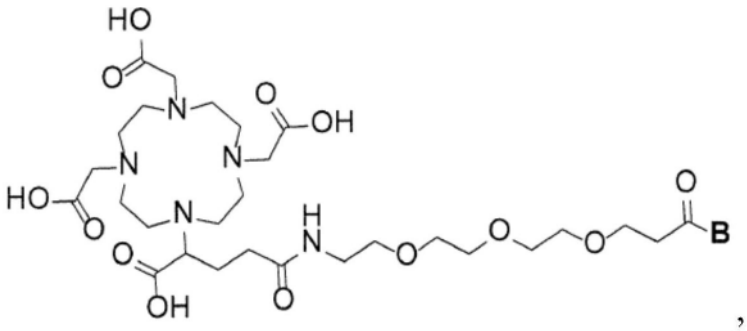
[0027] X^1为C=O(NR^1)、C=S(NR^1)、OC=O(NR^1)、NR^1C=O(O)、NR^1C=O(NR^1)、-CH_2PhC=O(NR^1)、-CH_2Ph(NH)C=S(NR^1)、O或NR^1;且每一R^1独立地为H、任选取代的C_1-C_6烷基、任选取代的C_1-C_6杂烷基或任选取代的芳基或杂芳基,其中C_1-C_6烷基可经氧代(=O)、杂芳基或其组合取代;

[0028] L^3为任选取代的C_1-C_{50}烷基或任选取代的C_1-C_{50}杂烷基;且

[0029] Z^1为CH_2、C=O、C=S、OC=O、NR^1C=O或NR^1,其中R^1为氢或任选取代的C_1-C_6烷基或吡咯烷-2,5-二酮。

[0030] 在一些实施方案中,L^3为C_5-C_{20}聚乙二醇。

[0031] 在一些实施方案中,放射免疫缀合物或其药学上可接受的盐包括以下结构:

[0032] 

,

[0033] 其中B为FGFR3靶向部分。

[0034] 在一些实施方案中,FGFR3靶向部分的大小为至少100kDa,例如大小为至少150kDa,大小为至少200kDa,大小为至少250kDa或大小为至少300kDa。

[0035] 在一些实施方案中,FGFR3靶向部分能结合至人FGFR3。在一些实施方案中,FGFR3靶向部分能结合至野生型FGFR3。在一些实施方案中,FGFR3靶向部分能结合至突变型FGFR3。在一些实施方案中,FGFR3靶向部分能结合至野生型及突变型FGFR3二者。

[0036] 在一些实施方案中,突变型FGFR3包含点突变,例如点突变与癌症相关联。在一些实施方案中,点突变体选自由以下组成的组:FGFR3Y375C、FGFR3R248C、FGFR3S249C、FGFR3G372C、FGFR3K652E、FGFR3K652Q、FGFR3K652M及其组合。

[0037] 在一些实施方案中,突变型FGFR3包含FGFR3融合物。在一些实施方案中,FGFR3融合物选自由以下组成的组:FGFR3-TACC3、FGFR3-CAMK2A、FGFR3-JAKMOP1、FGFR3-TNIP2、FGFR3-WHSC1、FGFR3-BAIAP2L1及其组合。

[0038] 在一些实施方案中,FGFR3靶向部分包含抗体或其抗原结合片段,例如人源化抗体或其抗原结合片段。

[0039] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含至少一个选自由以下组成的组的互补决定区(CDR):

[0040] CDR-H1,其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0041] CDR-H2,其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0042] CDR-H3,其包含SEQ ID NO:3或4的氨基酸序列或与SEQ ID NO:3或4相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0043] CDR-L1,其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0044] CDR-L2,其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;或

[0045] CDR-L3,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列。

[0046] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含至少两个选自由以下组成的组的CDR:

[0047] CDR-H1,其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0048] CDR-H2,其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0049] CDR-H3,其包含SEQ ID NO:3或4的氨基酸序列或与SEQ ID NO:3或4相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0050] CDR-L1,其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0051] CDR-L2,其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;或

[0052] CDR-L3,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列。

[0053] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含至少三个选自由以下组成的组的CDR:

[0054] CDR-H1,其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0055] CDR-H2,其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0056] CDR-H3,其包含SEQ ID NO:3或4的氨基酸序列或与SEQ ID NO:3或4相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0057] CDR-L1,其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0058] CDR-L2,其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;或

[0059] CDR-L3,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列。

[0060] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含至少四个选自由以下组成的组的CDR:

[0061] CDR-H1,其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0062] CDR-H2,其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0063] CDR-H3,其包含SEQ ID NO:3或4的氨基酸序列或与SEQ ID NO:3或4相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0064] CDR-L1,其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0065] CDR-L2,其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;或

[0066] CDR-L3,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列。

[0067] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含至少五个选自由以下组成的组的CDR:

[0068] CDR-H1,其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0069] CDR-H2,其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0070] CDR-H3,其包含SEQ ID NO:3或4的氨基酸序列或与SEQ ID NO:3或4相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0071] CDR-L1,其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0072] CDR-L2,其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序

列;或

[0073] CDR-L3,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列。

[0074] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:

[0075] CDR-H1,其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0076] CDR-H2,其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0077] CDR-H3,其包含SEQ ID NO:3或4的氨基酸序列或与SEQ ID NO:3或4相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0078] CDR-L1,其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0079] CDR-L2,其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;及

[0080] CDR-L3,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列。

[0081] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:

[0082] (i)重链可变结构域,其包含至少一个选自由以下组成的组的CDR:

[0083] CDR-H1,其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0084] CDR-H2,其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;及

[0085] CDR-H3,其包含SEQ ID NO:3或4的氨基酸序列或与SEQ ID NO:3或4相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;及

[0086] (ii)轻链可变结构域,其包含至少一个选自由以下组成的组的CDR:

[0087] CDR-L1,其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0088] CDR-L2,其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;及

[0089] CDR-L3,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列。

[0090] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:

[0091] (i)重链可变结构域,其包含至少一个选自由以下组成的组的CDR:

[0092] CDR-H1,其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列;

[0093] CDR-H2,其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列;及

[0094] CDR-H3,其包含SEQ ID NO:3或4的氨基酸序列;以及

[0095] (ii)轻链可变结构域,其包含至少一个选自由以下组成的组的CDR:

[0096] CDR-L1,其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;

[0097] CDR-L2,其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列;及

[0098] CDR-L3,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列。

[0099] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:

[0100] (i)重链可变结构域,其包含至少两个选自由以下组成的组的CDR:

[0101] CDR-H1,其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0102] CDR-H2,其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;及

[0103] CDR-H3,其包含SEQ ID NO:3或4的氨基酸序列或与SEQ ID NO:3或4相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;及

[0104] (ii)轻链可变结构域,其包含至少两个选自由以下组成的组的CDR:

[0105] CDR-L1,其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0106] CDR-L2,其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;及

[0107] CDR-L3,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列。

[0108] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:

[0109] (i)重链可变结构域,其包含至少两个选自由以下组成的组的CDR:

[0110] CDR-H1,其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列;

[0111] CDR-H2,其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列;及

[0112] CDR-H3,其包含SEQ ID NO:3或4的氨基酸序列;以及

[0113] (ii)轻链可变结构域,其包含至少两个选自由以下组成的组的CDR:

[0114] CDR-L1,其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;

[0115] CDR-L2,其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列;及

[0116] CDR-L3,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列。

[0117] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:

[0118] (i)重链可变结构域,其包含:

[0119] CDR-H1,其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0120] CDR-H2,其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;及

[0121] CDR-H3,其包含SEQ ID NO:3或4的氨基酸序列或与SEQ ID NO:3或4相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;及

[0122] (ii)轻链可变结构域,其包含:

[0123] CDR-L1,其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0124] CDR-L2,其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;及

[0125] CDR-L3,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序

列。

[0126] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:

[0127] (i)重链可变结构域,其包含:

[0128] CDR-H1,其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列;

[0129] CDR-H2,其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列;及

[0130] CDR-H3,其包含SEQ ID NO:3或4的氨基酸序列;以及

[0131] (ii)轻链可变结构域,其包含:

[0132] CDR-L1,其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;

[0133] CDR-L2,其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列;及

[0134] CDR-L3,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列。

[0135] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:(i)重链可变结构域,其具有与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少85%一致性的氨基酸序列;及(ii)轻链可变结构域,其具有与SEQ ID NO:9的氨基酸序列具有至少85%一致性的氨基酸序列。

[0136] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:(i)重链可变结构域,其具有与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少90%一致性的氨基酸序列;及(ii)轻链可变结构域,其具有与SEQ ID NO:9的氨基酸序列具有至少90%一致性的氨基酸序列。

[0137] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:(i)重链可变结构域,其具有与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少95%一致性的氨基酸序列;及(ii)轻链可变结构域,其具有与SEQ ID NO:9的氨基酸序列具有至少95%一致性的氨基酸序列。

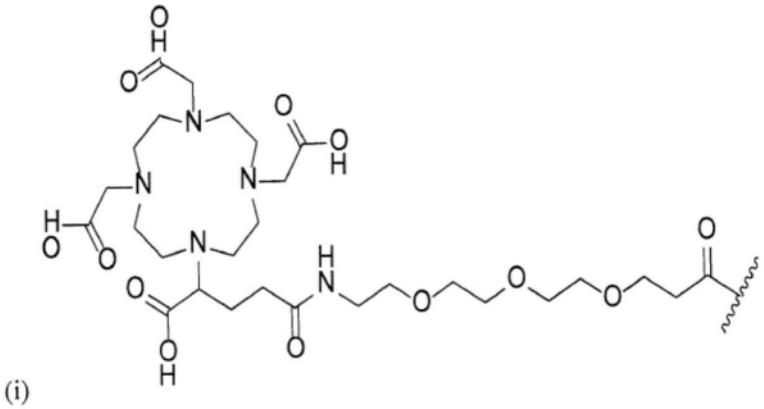
[0138] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:(i)重链可变结构域,其包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列;及(ii)轻链可变结构域,其包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列。

[0139] 在一些实施方案中,抗体为MFGR1877S(沃凡妥单抗(vofatamab))。

[0140] 在一些实施方案中,将放射免疫缀合物或其组合物给药至哺乳动物之后,由肠途径、肾途径或两种途径排泄的辐射比例为已给药参考放射免疫缀合物的可比较哺乳动物由相同途径排泄的辐射比例的至少2倍。

[0141] 在一些实施方案中,将放射免疫缀合物或其组合物给药至哺乳动物之后,由肠途径、肾途径或两种途径排泄的辐射比例为已给药参考放射免疫缀合物的可比较哺乳动物由相同途径排泄的辐射比例的至少3倍。

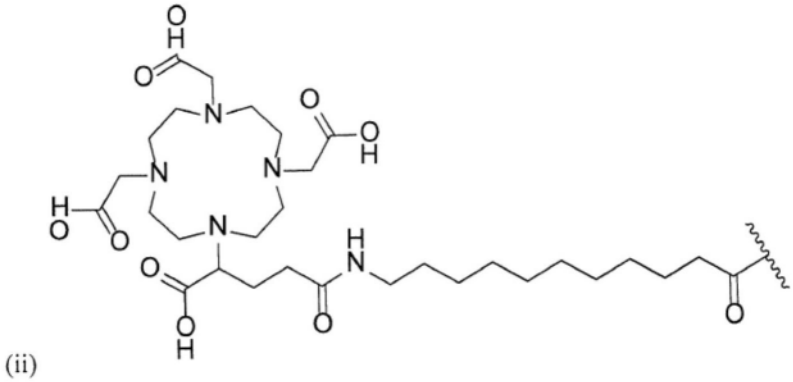
[0142] 在一些实施方案中,A-L-为选自由以下组成的组的化合物的金属络合物:



(i)

(化合物1)，

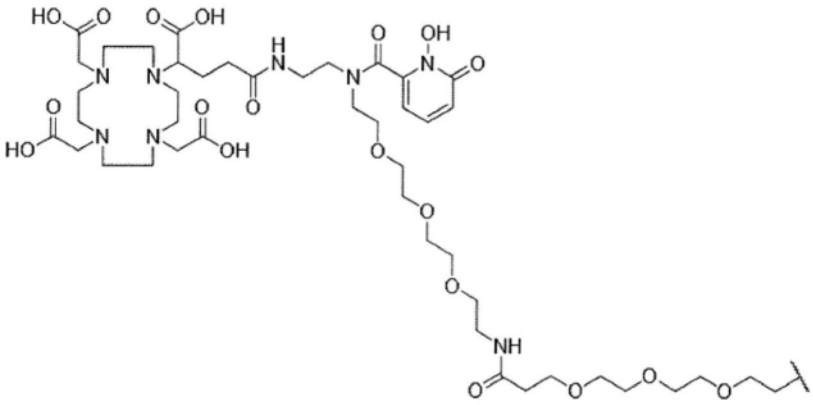
[0143]



(ii)

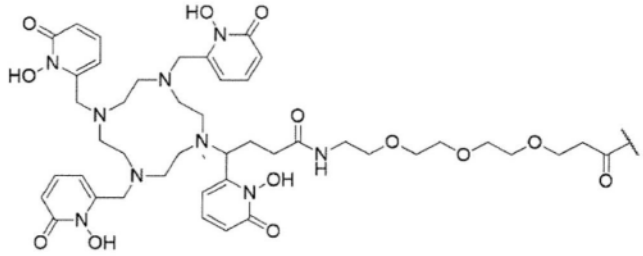
(化合物2)，

(iii)



[0144]

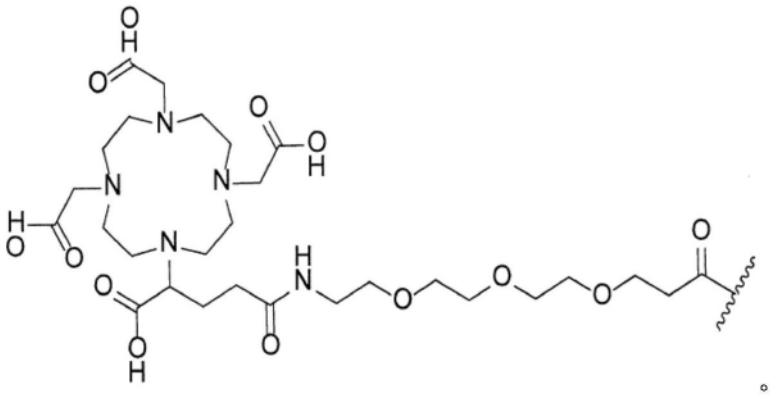
(化合物3)，及



(iv)

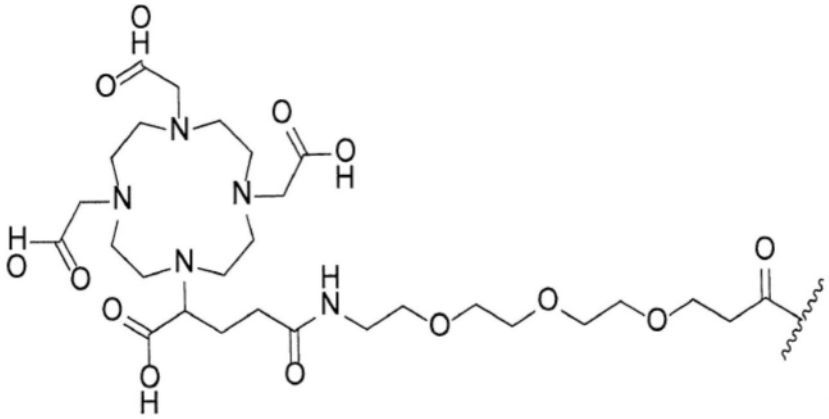
(化合物4)。

[0145] 在一些实施方案中,A-L-为以下的金属络合物:

[0146] 

(化合物1)

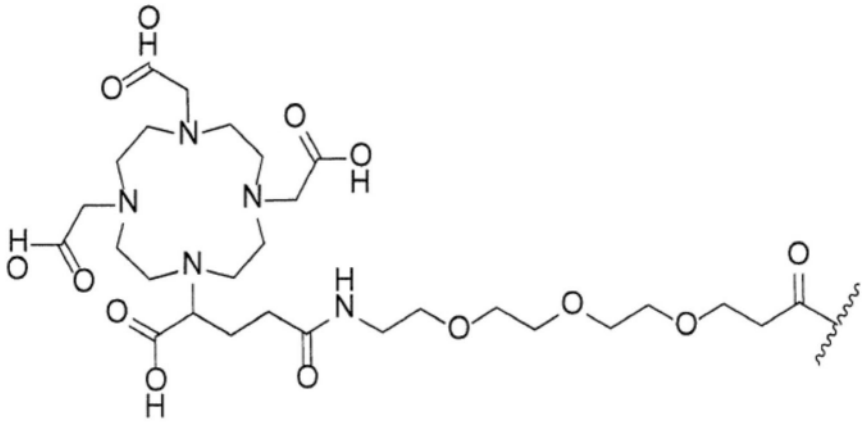
[0147] 在一些实施方案中,A-L-为

[0148] 

的金属络合物,

[0149] 且金属络合物包含放射性核素,例如α发射体(例如砹-211(^{211}At)、铋-212(^{212}Bi)、铋-213(^{213}Bi)、锕-225(^{225}Ac)、镭-223(^{223}Ra)、铅-212(^{212}Pb)、钍-227(^{227}Th)及铽-149(^{149}Tb)或其子体)。在一些实施方案中,FGFR3靶向部分为抗体或其抗原结合片段(例如,人源化抗体或其抗原结合片段)。

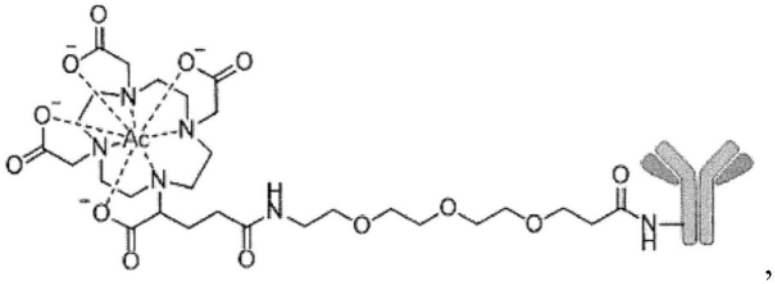
[0150] 在一些实施方案中,A-L-为



的金属络合物,

[0151] 金属络合物包含^{225}Ac或其子体,且FGFR3靶向部分为MFGR1877S(沃凡妥单抗)或其抗原结合片段。在一些实施方案中,FGFR3靶向部分为MFGR1877S(沃凡妥单抗)。

[0152] 在一些实施方案中,放射免疫缀合物包括以下结构:

[0153] 

[0154] 其中  为MFGR1877S(沃凡妥单抗),其中与以上所示抗体相连的胺基NH-来自作为抗体一部分的赖氨酸单元。

[0155] 在某些实施方案中,提供药物组合物,其包含本文所述的放射免疫缀合物及药学上可接受的载体。

[0156] 在某些实施方案中,提供治疗癌症的方法,该方法包含向有需要的受试者给药包含有效量的如本文所述放射免疫缀合物的药物组合物。

[0157] 在一些实施方案中,受试者为哺乳动物,例如人类。

[0158] 在一些实施方案中,癌症为实体瘤癌。在一些实施方案中,实体瘤癌为肾上腺皮质癌、膀胱癌、乳腺癌、子宫颈癌、结肠直肠癌、子宫内膜腺癌、尤文氏肉瘤(Ewing's sarcoma)、胆囊癌、神经胶质瘤、头颈癌、肝癌、肺癌、成神经细胞瘤、神经内分泌癌、胰腺癌、前列腺癌、肾细胞癌、唾液腺样囊状癌或精母细胞性精原细胞瘤。在一些实施方案中,实体瘤癌为膀胱癌。在一些实施方案中,实体瘤癌为神经胶质瘤。在一些实施方案中,实体瘤癌为成神经细胞瘤。在一些实施方案中,实体瘤癌为胰腺癌。在一些实施方案中,实体瘤癌为乳腺癌。在一些实施方案中,实体瘤癌为头颈癌。在一些实施方案中,实体瘤癌为肝癌。在一些实施方案中,实体瘤癌为肺癌。

[0159] 在一些实施方案中,癌症为非实体瘤癌。在一些实施方案中,癌症为液体癌或血液癌,例如骨髓瘤(例如多发性骨髓瘤)、白血病或淋巴瘤。

[0160] 在一些实施方案中,药物组合物为全身给药。举例而言,在一些实施方案中,药物组合物为肠胃外给药,例如静脉内、动脉内、腹膜内、皮下或皮内。在一些实施方案中,药物组合物为经肠给药,例如跨胃肠道(trans-gastrointestinally)或口服。

[0161] 在一些实施方案中,药物组合物为局部给药,例如通过瘤周注射或肿瘤内注射。

[0162] 附图简述

[0163] 图1A为绘示包含螯合物、连接基及靶向部分的缀合物的一般结构的示意图。

[0164] 图1B为绘示[^{225}Ac]-DOTA-抗FGFR3(一种本文所揭示的示例性放射免疫缀合物)的结构的示意图。

[0165] 图2为绘示双功能螯合物4-{[11-氧代-11-(2,3,5,6-四氟苯氧基)十一烷基]氨基甲酰基}-2-[4,7,10-三(羧基甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基]丁酸(化合物B)的合成的示意图。化合物B的合成阐述于实施例2中。

[0166] 图3为绘示双功能螯合物4-{[2-(2-{2-[3-氧代-3-(2,3,5,6-四氟苯氧基)丙氧基]乙氧基}乙氧基)乙基]氨基甲酰基}-2-[4,7,10-三(羧基甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基]丁酸(化合物C)的合成的示意图。化合物C的合成阐述于实施例4中。

[0167] 图4A-4C为未经标记的DOTA-抗FGFR3结合至RT4(图4A)、RT112(图4B)及HepG2(图4C)FGFR3-阳性肿瘤细胞的结合曲线。参见实施例16。

[0168] 图5显示代表在具有RT4(膀胱癌)异种移植肿瘤并注射[^{177}Lu]-DOTA-抗FGFR3的小鼠中生物分布研究结果的图表。每克组织注射剂量百分比(%ID/g)绘制于x轴上且为在4、24、48、96及168小时时针对血液、肾、肝、肺、脾、皮肤、肿瘤及尾显示。参见实施例17。

[0169] 图6A显示代表在具有RT112(膀胱癌)异种移植肿瘤并注射[^{177}Lu]-DOTA-抗FGFR3的小鼠中分布研究结果的图表。%ID/g绘制于x轴上且为在4、24、48及96小时时针对血液、肠、肾及肾上腺、肝及胆囊、肺、脾、皮肤、膀胱、尿液及肿瘤显示。参见实施例18。

[0170] 图6B显示代表在具有RT112(膀胱癌)异种移植肿瘤且在冷抗FGFR3的预剂量之后注射[^{177}Lu]-DOTA-抗FGFR3的小鼠中分布研究结果的图表。%ID/g绘制于x轴上且为在4、24、48及96小时时针对血液、肠、肾及肾上腺、肝及胆囊、肺、脾、皮肤、膀胱、尿液及肿瘤显示。小鼠在接受[^{177}Lu]-DOTA-抗FGFR3之前3小时接受100μg冷(非放射性、未缀合)抗FGFR3抗体的预剂量。参见实施例18。

[0171] 图7A-7C显示代表在具有RT112(膀胱癌)异种移植肿瘤并用冷抗FGFR3及[^{177}Lu]-DOTA-抗FGFR3共同给药的小鼠中生物分布研究结果的图表。%ID/g绘制于x轴上且为在24及96小时时针对血液、肠、肾、肝、肺、脾、皮肤、膀胱、尿液及肿瘤显示。小鼠共同给药50μg(图7A)、100μg(图7B)或200μg(图7C)冷抗FGFR3;冷抗FGFR3为与[^{177}Lu]-DOTA-抗FGFR3同时给药。参见实施例19。

[0172] 图8A-8B显示代表在具有RT112(膀胱癌)异种移植肿瘤并用冷抗FGFR3及[^{177}Lu]-DOTA-抗FGFR3(图8A)或[^{111}In]-DOTA-抗FGFR3(图8B)共同给药的小鼠中生物分布研究结果的图表。%ID/g绘制于x轴上且为在4、24、48、96和168小时时针对血液、肠、肾、肝、肺、脾、皮肤、膀胱及肿瘤显示。小鼠共同给药100μg冷抗FGFR3以及[^{177}Lu]-DOTA-抗FGFR3。参见实施例19。

[0173] 图9A及9B为显示在实验开始时具有RT112异种移植肿瘤的小鼠中相对肿瘤体积(图9A)及相对体重(图9B)的图表。显示在用[^{225}Ac]-DOTA-抗FGFR3治疗后的各个时间点的相对肿瘤体积(图9A)及相对体重(图9B)。小鼠在用[^{225}Ac]-DOTA-抗FGFR3给药前3h给药100μg冷抗FGFR3的预剂量。参见实施例20。

[0174] 图10A及10B为显示在实验开始时具有RT112异种移植肿瘤的小鼠中相对肿瘤体积(图10A)及相对体重(图10B)的图表。显示在用[^{225}Ac]-DOTA-抗FGFR3治疗后的各个时间点的相对肿瘤体积(图10A)及相对体重(图10B)。小鼠共同给药100μg冷抗FGFR3。参见实施例21。

[0175] 发明详述

[0176] 放射免疫缀合物经设计以靶向在疾病状态中上调的蛋白质或受体,以递送放射性有效负载(payload)来破坏及杀死所关注细胞(放射免疫疗法)。经由放射性衰变递送这种有效负载的过程产生可对DNA造成直接效应(例如单链或双链DNA断裂)或间接效应(例如,旁观者或交火作用(crossfire effects))的α、β或γ粒子或俄歇电子(Auger electron)。

[0177] 放射免疫缀合物通常含有生物靶向部分(例如,能特异性结合至人FGFR3的抗体或其抗原结合片段)、放射性同位素及连接二者的分子。当双功能螯合物附加至生物靶向分子时形成缀合物,以便在维持靶标亲和力的同时结构改变最小。一旦经放射标记,便形成最终

放射免疫缀合物。

[0178] 双功能螯合物结构上含有螯合物、连接基及靶向部分，例如抗体或其抗原结合片段(图1)。在开发新的双功能螯合物时，大多数努力集中于分子的螯合部分。已阐述具有缀合至靶向部分的各种环状及非环结构的双功能螯合物的若干实例。[Bioconjugate Chem.2000,11,510-519;Bioconjugate Chem.2012,23,1029-1039;Mol Imaging Biol.2011,13,215-221,Bioconjugate Chem.2002,13,110-115.]。

[0179] 开发安全且有效的放射免疫缀合物的一个关键因素为最大化效能，同时最小化在正常组织中的脱靶毒性。尽管此说法为开发新药物的核心原则中的一者，但将其应用于放射免疫治疗剂仍提出新的挑战。放射免疫缀合物不需要如治疗性抗体所需要那样阻断受体，亦不需要如抗体药物缀合物所要求那样在细胞内释放细胞毒性有效负载，以获得治疗效能。然而，有毒粒子的排放为由于一阶(放射性)衰变而发生的事件且可在给药后随机发生于体内的任何地方。一旦发生排放，可在排放范围内对周围细胞造成损害，从而导致脱靶毒性的可能性。因此，限制这些排放对正常组织的暴露为开发新药物的关键。

[0180] 减少脱靶暴露的一种潜在方法为更有效地自体内(例如，自体内的正常组织)去除放射性。一种机制为增加生物靶向剂的清除率。此途径可能需要鉴别缩短生物靶向剂半衰期的方法，此尚未针对生物靶向剂进行充分阐述。无论机制如何，增加药物清除率亦将不利地影响药效学/效能，此乃因药物自体内的较快速去除将降低作用部位的有效浓度，此进而将需要更高总剂量且将不能达成降低正常组织的总放射性剂量的期望结果。

[0181] 其他努力集中于加速含有放射性部分的分子部分的代谢。为此，已作出一些努力以使用所谓的“可裂解连接基”增加来自生物靶向剂的放射性的裂解速率。然而，当可裂解连接基与放射免疫缀合物有关时，其具有不同意义。Cornelissen等人已将可裂解连接基阐述为双功能缀合物通过还原的半胱氨酸连接至生物靶向剂的那些，而其他人阐述需要共同给药放射免疫缀合物与裂解剂/酶以释放的酶可裂解系统的使用[Mol Cancer Ther.2013,12(11),2472-2482;Methods Mol Biol.2009,539,191-211;Bioconjug Chem.2003,14(5),927-33]。在半胱氨酸连接的情形中，这些方法或者改变生物靶向部分的性质，或者自药物开发角度来看不可行(酶可裂解系统)，因为在所提供引文的情形中，需要给药两种药剂。

[0182] 本公开尤其提供放射免疫缀合物，其在分解代谢及/或代谢后更有效地自体内消除，同时保持治疗效能。在一些实施方案中，与已知双功能螯合物相比，所揭示免疫缀合物可例如通过增加分解代谢/代谢产物的排泄程度、同时保持完整分子的药物动力学来达成全身放射性的降低。在一些实施方案中，此放射性降低是由于清除了分解代谢/代谢副产物而未影响其他体外及体内性质，例如结合特异性(体外结合)、细胞滞留及体内肿瘤摄取。因此，在一些实施方案中，所提供放射免疫缀合物在人体内达成降低的放射性，同时维持在靶活性。

[0183] 定义

[0184] 如本文所用，“抗体”是指多肽，其氨基酸序列包括特异性结合指定抗原或其片段的免疫球蛋白及其片段。根据本发明的抗体可属于任何类型(例如IgA、IgD、IgE、IgG或IgM)或亚型(例如IgA1、IgA2、IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)。本领域技术人员应了解抗体的特征序列或部分可包括存在于抗体的一或多个区(例如可变区、高变区、恒定区、重链、轻链及其组合)中的氨基酸。此外，本领域技术人员应了解抗体的特征序列或部分可包括一或多个多肽

链且可包括存在于同一多肽链中或不同多肽链中的序列要素。

[0185] 如本文所用,“抗原结合片段”是指抗体保持亲本抗体的结合特征的部分。

[0186] 如本文所用,术语靶向部分的“结合(bind,binding)”意指与靶标分子(例如与人FGFR3及/或突变型FGFR3)至少暂时相互作用或缔合(association),例如,如本文所述。

[0187] 如本文可互换使用,术语“双功能螯合物”或“双功能缀合物”是指包含螯合物或其金属络合物、连接基及靶向部分(例如抗体或其抗原结合片段)的化合物。参见例如式I-a或图1。

[0188] 术语“癌症”是指任何由恶性赘生性细胞增生引起的癌症,诸如肿瘤、赘瘤、癌瘤、肉瘤、白血病及淋巴瘤。“实体肿瘤癌症”为包含组织的异常肿块(例如肉瘤、癌瘤及淋巴瘤)的癌症。如在本文中可互换使用,“血液癌”或“液体癌”为存在于体液中的癌症,例如淋巴瘤及白血病。

[0189] 如本文所用,术语“螯合物(chelate)”是指有机化合物或其部分,其可在两个或更多个点处与中心金属或放射性金属原子结合。

[0190] 如本文所用,术语“缀合物”是指含有螯合基团或其金属络合物、连接基基团且任选含有靶向部分(例如抗体或其抗原结合片段)的分子。

[0191] 如本文所用,术语“化合物”意欲包括所描绘结构的所有立体异构体、几何异构体及互变异构体。

[0192] 本文所列示或阐述的化合物可为不对称的(例如,具有以或多个立体中心)。除非另有指示,否则意指所有立体异构物,例如对映异构体及非对映异构体。本公开所讨论的含有经不对称取代的碳原子的化合物可以光学活性或外消旋形式分离。如何自光学活性起始材料制备光学活性形式的方法为本领域中已知的,诸如通过拆分外消旋混合物或通过立体选择性合成来制备。

[0193] 如本文所用,“检测剂”是指可用于通过定位含有抗原的细胞来诊断疾病的分子或原子。用检测剂标记多肽的不同方法为本领域中已知的。检测剂的实例包括(但不限于)放射性同位素及放射性核素、染料(诸如具有生物素-抗生蛋白链菌素复合物)、造影剂、发光剂(例如异硫氰酸荧光素或FITC、若丹明(rhodamine)、镧系磷光体、花青及近IR染料)及磁性剂(诸如钆螯合物)。

[0194] 如本文所用,术语“放射性核素”是指能够经历放射性衰变的原子(例如^{3}H、^{14}C、^{15}N、^{18}F、^{35}S、^{47}Sc、^{55}Co、^{60}Cu、^{61}Cu、^{62}Cu、^{64}Cu、^{67}Cu、^{75}Br、^{76}Br、^{77}Br、^{89}Zr、^{86}Y、^{87}Y、^{90}Y、^{97}Ru、^{99}Tc、$^{99m}Tc$$^{105}Rh$、$^{109}Pd$、$^{111}In$、$^{123}I$、$^{124}I$、$^{125}I$、$^{131}I$、$^{149}Pm$、$^{149}Tb$、$^{153}Sm$、$^{166}Ho$、$^{177}Lu$、$^{186}Re$、$^{188}Re$、$^{198}Au$、$^{199}Au$、$^{203}Pb$、$^{211}At$、$^{212}Pb$、$^{212}Bi$、$^{213}Bi$、$^{223}Ra$、$^{225}Ac$、$^{227}Th$、^{229Th}、$^{66}Ga$、$^{67}Ga$、$^{68}Ga$、$^{82}Rb$、$^{117m}Sn$、$^{201}Tl$)。术语放射性核素、放射性同位素(radioisotope,radioactive isotope)亦可用于阐述放射性核素。放射性核素可用作检测剂,如本文所述。在一些实施方案中,放射性核素可为α-放射放射性核素。

[0195] 如本文所用,术语药剂(例如前述缀合物中的任一者)的“有效量”为足以产生有益或期望结果(例如临床结果)的量,且因此“有效量”取决于施加其的情景。举例而言,在治疗应用中,“有效量”可为足以治愈或至少部分地停滞病症及其并发症的症状、及/或实质上改良与疾病或医学病况有关的至少一种症状的量。举例而言,在癌症的治疗中,减少、预防、延迟、阻抑或停滞疾病或病况的任何症状的药剂或化合物将为治疗有效的。药剂或化合物的

治疗有效量不需要治愈疾病或病况，但可例如提供疾病或病况的治疗使得疾病或病况的发作延迟、阻碍或阻止，使得疾病或病况症状改善，或使得疾病或病况的期限改变。举例而言，受试者中的疾病或病况可变得不太严重及/或恢复加快。有效量可通过给药单一剂量或多个(例如，至少两个、至少三个、至少四个、至少五个或至少六个)剂量来给药。

[0196] 如本文所用，术语“免疫缀合物”是指包括靶向部分(例如抗体(或其抗原结合片段)、纳米抗体、亲和体或来自纤连蛋白III型结构域的共有序列)的缀合物。在一些实施方案中，免疫缀合物包含平均至少0.10个缀合物/靶向部分(例如平均至少0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、2、4、5或8个缀合物/靶向部分)。

[0197] 如本文所用，术语“放射性缀合物”是指包括放射性同位素或放射性核素(例如，本文所述放射性同位素或放射性核素中的任一者)的任何缀合物。

[0198] 如本文所用，术语“放射免疫缀合物”是指包括放射性同位素或放射性核素(例如，本文所述放射性同位素或放射性核素中的任一者)的任何免疫缀合物。

[0199] 如本文所用，术语“放射性免疫疗法”是指一种使用放射性免疫缀合物产生治疗作用的方法。在一些实施方案中，放射性免疫疗法可包括向有需要的受试者施用放射性免疫缀合物，其中施用放射性免疫缀合物在受试者中产生治疗作用。在一些实施方案中，放射性免疫疗法可包括施用放射性免疫缀合物至细胞，其中施用放射免疫缀合物杀死细胞。其中放射性免疫疗法涉及选择性杀死细胞，在一些实施方案中细胞为患有癌症的受试者中的癌细胞。

[0200] 如本文所用，术语“药物组合物”表示含有与药学上可接受的赋形剂一起调配的本文所述的放射免疫缀合物的组合物。在一些实施方案中，在政府监管机构的批准下制造或销售药物组合物作为用于治疗哺乳动物的疾病的治疗方案的部分。药物组合物可例如经调配用于以单位剂型口服施用(例如片剂、胶囊、囊片剂、胶囊锭或糖浆)；用于局部施用(例如乳膏、凝胶、乳液或软膏)；用于静脉内施用(例如呈不含颗粒状栓塞的无菌溶液及以适合于静脉内使用的溶剂系统形式)；或以本文所述的任何其他制剂形式。

[0201] 如本文所用，“药学上可接受的赋形剂”是指除本文所述化合物以外的任何成分(例如，能够悬浮或溶解活性化合物的媒剂)且对患者具有无毒且非发炎性的性质。赋形剂可包括例如：抗粘附剂、抗氧化剂、粘合剂、涂料、压缩助剂、崩解剂、染料(着色剂)、软化剂、乳化剂、填充剂(稀释剂)、成膜剂或涂料、调味剂、香味剂、助滑剂(流动增强剂)、润滑剂、防腐剂、印刷油墨、辐射防护剂、吸附剂、悬浮剂或分散剂、甜味剂或水合水。示例性赋形剂包括(但不限于)：抗坏血酸、组氨酸、磷酸盐缓冲剂、二丁基羟基甲苯(BHT)、碳酸钙、磷酸钙(二盐基)、硬脂酸钙、交联羧甲纤维素、交联聚乙烯吡咯烷酮、柠檬酸、交聚维酮、半胱氨酸、乙基纤维素、明胶、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、乳糖、硬脂酸镁、麦芽糖醇、甘露醇、甲硫氨酸、甲基纤维素、对羟苯甲酸甲酯、微晶纤维素、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚维酮、预胶凝淀粉、对羟苯甲酸丙酯、棕榈酸视黄酯、虫胶、二氧化硅、钠羧甲纤维素、柠檬酸钠、羟乙酸淀粉钠、山梨醇、淀粉(玉米)、硬脂酸、硬脂酸、蔗糖、滑石、二氧化钛、维生素A、维生素E、维生素C及木糖醇。

[0202] 如本文所用，术语“药学上可接受的盐”代表在合理的医学判断范围内适用于与人类及动物的组织接触而没有不适当的毒性、刺激性或过敏反应的本文所述化合物的盐。药学上可接受的盐为本领域所熟知。举例而言，药学上可接受的盐阐述于：Berge等人，

J.Pharmaceutical Sciences 66:1-19,1977及Pharmaceutical Salts:Properties, Selection,and Use,(编者P.H.Stahl及C.G.Wermuth),Wiley-VCH,2008。盐可在本文所述化合物的最后分离及纯化期间原位制备,或通过使游离碱基团与适宜有机酸反应单独制备。

[0203] 本发明化合物可具有可电离基团,以便能够制备为药学上可接受的盐。这些盐可为涉及无机或有机酸的酸加成盐,或在本发明的酸性形式化合物的情形中,这些盐可自无机或有机碱制备。通常,将化合物制备或用作为药学上可接受的盐,这些药学上可接受的盐制备为药学上可接受的酸或碱的加成产物。适宜药学上可接受的酸及碱为本领域所熟知,例如用于形成酸加成盐的盐酸、硫酸、氢溴酸、乙酸、乳酸、柠檬酸或酒石酸以及用于形成碱性盐的氢氧化钾、氢氧化钠、氢氧化铵、咖啡因、各种胺。制备适当盐的方法为本领域众所周知的。

[0204] 代表性酸加成盐尤其包括乙酸盐、己二酸盐、海藻酸盐、抗坏血酸盐、天门冬氨酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、硫酸氢盐、硼酸盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、柠檬酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、富马酸盐、葡庚糖酸盐、甘油磷酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、已酸盐、氢溴酸盐、盐酸盐、氢碘酸盐、2-羟基-乙磺酸盐、乳糖醛酸盐、乳酸盐、月桂酸盐、月桂基硫酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、甲烷磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、双羟萘酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、磷酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、甲苯磺酸盐、十一烷酸盐、戊酸盐。代表性碱金属或碱土金属盐包括钠、锂、钾、钙及镁以及无毒铵、季铵及胺阳离子,包括(但不限于)铵、四甲基铵、四乙基铵、甲胺、二甲胺、三甲胺、三乙胺及乙胺。

[0205] 如本文所用,术语“多肽”是指通过肽键彼此连接的一串至少两个氨基酸。在一些实施方案中,多肽可包括至少3-5个氨基酸,其每一者通过至少一个肽键彼此连接。本领域技术人员应了解,多肽可包括一或多个“非天然”氨基酸或其他能整合于多肽链中的实体。在一些实施方案中,多肽可经糖基化,例如,多肽可含有一或多个共价连接的糖部分。在一些实施方案中,单一“多肽”(例如,抗体多肽)可包含两个或更多个个体多肽链,其在一些情形中可例如通过一或多个二硫键或其他方式相互连接。

[0206] “受试者”意指人类或非人类动物(例如哺乳动物)。

[0207] “基本一致性”或“基本上一致”意谓当对两个序列进行最佳比对时,多肽序列对应地具有与参考序列相同的多肽序列,或对应地具有指定百分比的在参考序列内的相应位置处相同的氨基酸残基。举例而言,与参考序列“基本上一致”的氨基酸序列与参考氨基酸序列具有至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致性。对于多肽,比较序列的长度一般应为至少5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、50、75、90、100、150、200、250、300或350个连续氨基酸(例如全长序列)。序列一致性可使用序列分析软件根据预设设定(例如Genetics Computer Group,University of Wisconsin Biotechnology Center,1710University Avenue,Madison,WI 53705的序列分析套装软件)来测量。此类软件可通过与不同取代、缺失及其他修饰的同源性的分配程度来匹配相似序列。

[0208] 如本文所用,术语“靶向部分”是指能结合至既定靶标的任何分子或分子的任何部

分。术语“FGFR3靶向部分”是指能结合至FGFR3分子(例如,人FGFR3,例如野生型或突变型FGFR3)的靶向部分。

[0209] 如本文所用及如在本领域中较好理解,“治疗”病状或病状(例如本文所述的病状,诸如癌症)的“治疗”为用于获得有益或所需结果(诸如临床结果)的方法。有益或所需结果可包括(但不限于)缓解或改善一或多种症状或病状;减轻病症、疾病或病状的程度;使病症、疾病或病状的状态稳定(亦即不恶化);预防病症、疾病或病状的传播;延迟或减缓病症、疾病或病状的进展;改善或缓和病症、疾病或病状;及缓解(无论部分或全部),无论可检测或不可检测。“缓和”病症、疾病或病状意谓相比于不存在治疗下的程度或时程而言病症、疾病或病状的程度及/或不合需要的临床表现减轻及/或进展的时程减缓或拉长。

[0210] 放射免疫缀合物

[0211] 在一个方面,本公开提供具有式I-a结构的放射免疫缀合物:

[0212] A-L-B

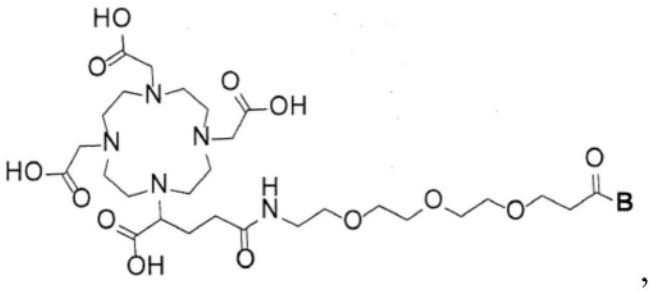
[0213] 式I-a

[0214] 其中A为螯合部分或其金属络合物,

[0215] 其中B为FGFR3靶向部分,且

[0216] 其中L为连接基。

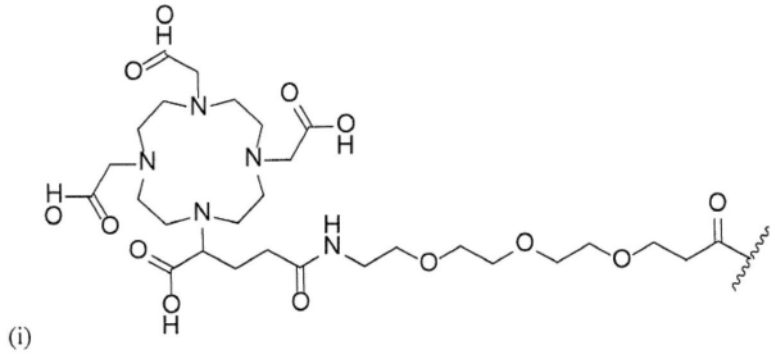
[0217] 在一些实施方案中,放射免疫缀合物具有或包含式II所示的结构:

[0218] 

,

[0219] 其中B为FGFR3靶向部分。

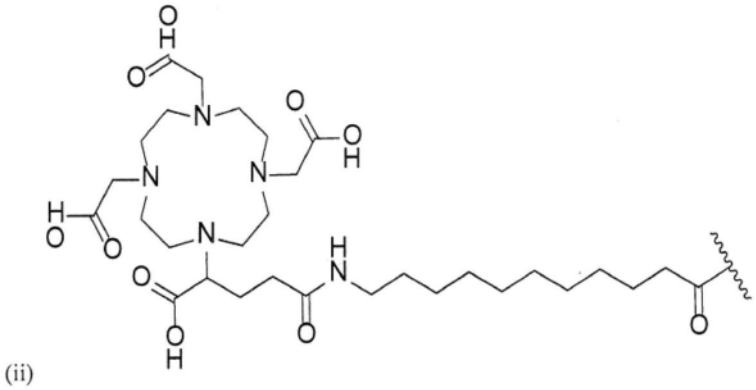
[0220] 在一些实施方案中,A-L-为选自由以下组成的组的化合物的金属络合物:



(i)

(化合物1)，

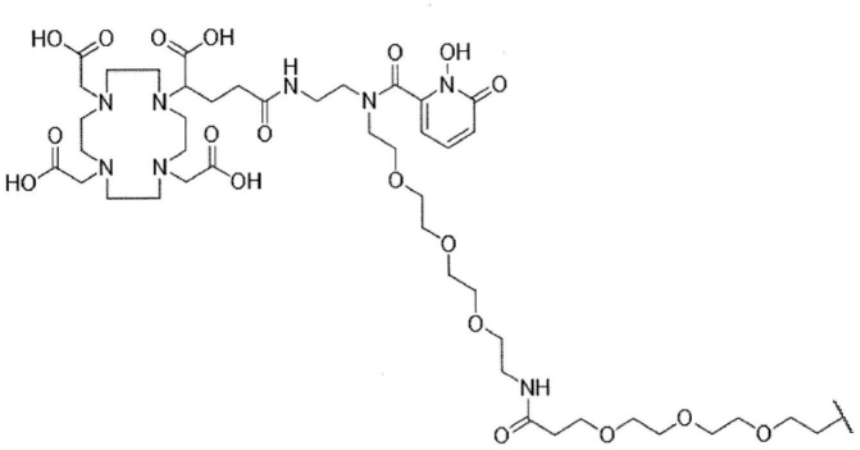
[0221]



(ii)

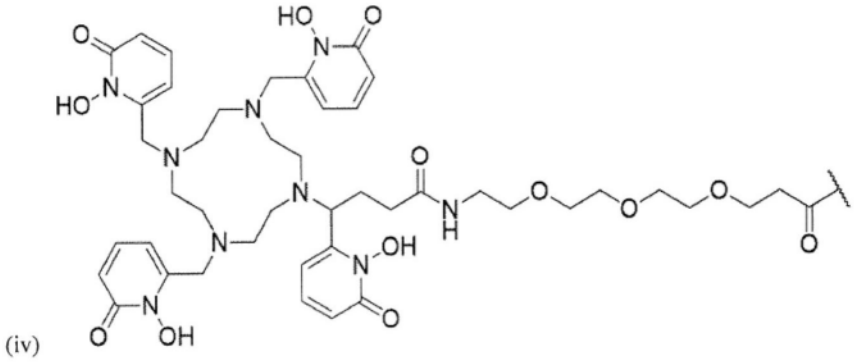
(化合物2)，

(iii)



[0222]

(化合物3)，及



(iv)

化合物(4)。

[0223] 在一些实施方案中，如本文进一步阐述，放射免疫缀合物包含螯合部分或其金属络合物，该金属络合物可包含放射性核素。在一些这种放射免疫缀合物中，螯合部分与FGFR3靶向部分的平均比率或中值比率为8或以下、7或以下、6或以下、5或以下、4或以下、3或以下、2或以下或约1。在一些放射免疫缀合物中，螯合部分与FGFR3靶向部分的平均比率或中值比率为约1。

[0224] 在一些实施方案中，将放射免疫缀合物给药至哺乳动物之后，通过肠途径、肾途径或二者所排泄的辐射比例(占所给予辐射的总量的)高于由已给药参考放射免疫缀合物的可比较哺乳动物所排泄的辐射比例。“参考免疫缀合物”意指与本文所述放射免疫缀合物的不同的处至少在于以下的已知放射免疫缀合物：(1)具有不同连接基；(2)具有不同大小的靶向部分及/或(3)缺少靶向部分。在一些实施方案中，参考放射免疫缀合物选自由以下组成的组：[^{90}Y]-替伊莫单抗(ibritumomab tiuxetan)(泽娃灵(Zevalin)(^{90}Y))及[^{111}In]-替伊莫单抗(泽娃灵(^{111}In))。

[0225] 在一些实施方案中，由既定途径一系列途径排泄的辐射比例较已给药参考放射免疫缀合物的可比较哺乳动物由相同途径排泄的辐射比例高至少10％、至少15％、至少20％、至少25％、至少30％、至少35％、至少40％、至少45％、至少50％、至少55％、至少60％、至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％或至少95％。在一些实施方案中，所排泄辐射的比例为已给药参考放射免疫缀合物的可比较哺乳动物所排泄辐射比例的至少1.5倍、至少2倍、至少2.5倍、至少3倍、至少3.5倍、至少4倍、至少4.5倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍或至少10倍。排泄程度可通过本领域中已知的方法测量，例

如通过测量尿液及/或粪便中的放射性及/或测量一段时间内的全身放射性。亦参见例如国际专利公开案WO2018/024869。

[0226] 在一些实施方案中，排泄程度为在给药后至少或约12小时、给药后至少或约24小时、给药后至少或约2天、给药后至少或约3天、给药后至少或约4天、给药后至少或约5天、给药后至少或约6天或给药后至少或约7天的时间段内测量。

[0227] 在一些实施方案中，与参考缀合物(例如，参考免疫缀合物，例如参考放射免疫缀合物)相比，将放射免疫缀合物给药至哺乳动物之后，放射免疫缀合物展现降低的脱靶结合效应(例如毒性)。在一些实施方案中，此降低的脱靶结合效应为亦如本文所述展现较高排泄速率的放射免疫缀合物的特征。

[0228] 靶向部分

[0229] 靶向部分包括能结合至既定靶标(例如FGFR3)的任何分子或分子的任何部分。在一些实施方案中，靶向部分包括蛋白质或多肽。在一些实施方案中，靶向部分选自由以下组成的组：抗体或其抗原结合片段、纳米抗体、亲和体及来自纤连蛋白III型结构域的共有序列(例如Centyrins或Adnectins)。在一些实施方案中，部分为靶向及治疗性部分二者，即，该部分能结合至既定靶标且亦赋予治疗性益处。在一些实施方案中，靶向部分包括小分子。

[0230] 在一些实施方案中，靶向部分的分子量为至少50kDa、至少75kDa、至少100kDa、至少125kDa、至少150kDa、至少175kDa、至少200kDa、至少225kDa、至少250kDa、至少275kDa或至少300kDa。

[0231] 通常，靶向部分能结合至FGFR3，例如野生型及/或突变型FGFR3。在一些实施方案中，靶向部分能结合至人FGFR3，例如野生型及/或突变型人FGFR3。

[0232] 在一些实施方案中，靶向部分能特异性结合至FGFR3(例如，能结合至FGFR3，同时展现相对较少或没有与其他激酶(例如其他FGFR蛋白质)的结合)。

[0233] 在一些实施方案中，靶向部分能结合至FGFR3的细胞外区域，例如IgD1区域、IgD2区域、IgD3区域、IgD1与IgD2之间的连接基区域、IgD2与IgD3之间的连接基区域或细胞外近膜结构域。在一些实施方案中，靶向部分能结合至IgD2与IgD3之间的连接基区域。在一些实施方案中，靶向部分能结合至细胞外近膜结构域。

[0234] 在一些实施方案中，靶向部分能结合至FGFR3的IIIb亚型。在一些实施方案中，靶向部分能结合至FGFR3的IIIc亚型。在一些实施方案中，靶向部分能结合至FGFR3的IIIb及IIIc亚型二者。

[0235] 在一些实施方案中，靶向部分能结合至突变型FGFR3，例如突变型人FGFR3。一些FGFR3突变产生不配对半胱氨酸，此可导致配体独立性受体二聚化及/或组成型活化。在一些实施方案中，突变型FGFR3为活化突变体及/或与癌症相关。

[0236] 在一些实施方案中，靶向部分能结合至野生型FGFR3及至少一种与癌症相关的突变型FGFR3。

[0237] 在一些实施方案中，突变型FGFR3包含FGFR3的细胞外区域中的突变。举例而言，在一些实施方案中，突变型FGFR3包含IgD2与IgD3之间的连接基区域中及/或FGFR3的细胞外近膜区域中的突变。

[0238] 在一些实施方案中，突变型FGFR3包含FGFR3的细胞内区域(例如，FGFR3的激酶结构域)中的突变。

[0239] 在一些实施方案中，突变型FGFR3包含点突变。与癌症相关的FGFR3点突变体的非限制性实例包括$FGFR3^{Y375C}$、$FGFR3^{R248C}$、$FGFR3^{S249C}$、$FGFR3^{G372C}$、$FGFR3^{K652E}$、$FGFR3^{K652Q}$、$FGFR3^{K652M}$及其组合。

[0240] 在一些实施方案中，突变型FGFR3为配体依赖型的(例如$FGFR3^{G372C}$或$FGFR3^{Y375C}$)。在一些实施方案中，突变型FGFR3为组成型活性的(例如$FGFR3^{R248C}$或$FGFR3^{S249C}$)。在一些实施方案中，突变型FGFR3为配体依赖型或组成型活性的(例如$FGFR3^{K652E}$)。

[0241] 在一些实施方案中，突变型FGFR3包括FGFR3融合物，例如组成型活化及/或致癌融合物，例如由易位产生的融合物。举例而言，FGFR3-TACC3、FGFR3-CAMK2A、FGFR3-JAKMOP1、FGFR3-TNIP2、FGFR3-WHSC1及FGFR3-BAIAP2L1(亦称为FGFR3-IRTKS)融合物与癌症相关。

[0242] 在一些实施方案中，突变型FGFR3为扩增突变，例如包含增加的拷贝数及/或相对于野生型FGFR3导致较高表达。

[0243] 在一些实施方案中，靶向部分抑制FGFR3。“抑制”意指靶向部分至少部分地抑制FGFR3(例如人FGFR3)的一或多种功能。在一些实施方案中，靶向部分至少部分地抑制野生型FGFR3(例如野生型人FGFR3)的一或多种功能。在一些实施方案中，靶向部分至少部分地抑制突变型FGFR3(例如突变型人FGFR3)的一或多种功能。

[0244] 在一些实施方案中，靶向部分阻断配体与FGFR3的结合及/或FGFR3的受体二聚化。举例而言，在一些实施方案中，阻断配体结合的靶向部分与FGF配体竞争与FGFR3的IIIb及/或IIIc亚型的相互作用。

[0245] 在一些实施方案中，靶向部分损害FGFR3受体下游的信号传导，例如导致FGFR3的一种或多种下游中介体(mediator)(例如FRS2α、AKT及p44/42MAPK)的磷酸化及/或蛋白质或转录物水平降低。

[0246] 抗体

[0247] 抗体通常包含通过二硫键连接在一起的两个一致的轻多肽链及两个一致的重多肽链。位于各链的氨基端处的第一域在氨基酸序列中为可变的，提供各个单独抗体的抗体结合特异性。这些被称为可变重链(VH)及可变轻链(VL)区。各个链的其他域在氨基酸序列中相对不变且被称为恒定重链(CH)及恒定轻链(CL)区。轻链通常包含一个可变区(VL)及一个恒定区(CL)。IgG重链包括可变区(VH)、第一恒定区(CH1)、铰链区、第二恒定区(CH2)及第三恒定区(CH3)。在IgE及IgM抗体中，重链包括另外的恒定区(CH4)。

[0248] 适用于本公开的抗体可包括例如单克隆抗体、多克隆抗体、多特异性抗体、人类抗体、人源化抗体、骆驼科动物抗体、嵌合抗体、单链Fv(scFv)、二硫键连接的Fv(sdFv)及抗个体基因型(抗Id)抗体及以上任一者的抗原结合片段。在一些实施方案中，抗体或其抗原结合片段经人源化。在一些实施方案中，抗体或其抗原结合片段为嵌合的。抗体可为任何类型(例如IgG、IgE、IgM、IgD、IgA及IgY)、类别(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2)或子类。

[0249] 如本文所用，术语抗体的“抗原结合片段”是指保留特异性结合抗原的能力的抗体的一或多个片段。包含在术语抗体的“抗原结合片段”内的结合片段的实例包括Fab片段、F(ab')2片段、Fd片段、Fv片段、scFv片段、dAb片段(Ward等人，(1989)Nature 341:544-546)及分离的互补决定区(CDR)。在一些实施方案中，“抗原结合片段”包含重链可变区及轻链可变区。这些抗体片段可使用本领域技术人员已知的常规技术获得，且这些片段可经筛选而

以与完整抗体相同的方式进行应用。

[0250] 本文所述的抗体或抗原结合片段可通过本领域中已知的任何用于合成抗体的方法来产生(参见例如Harlow等人,Antibodies:ALaboratory Manual,(Cold Spring Harbor Laboratory Press,第2版.1988);Brinkman等人,1995,J.Immunol.Methods 182:41-50;WO 92/22324;WO 98/46645)。嵌合抗体可使用例如Morrison,1985,Science 229:1202中所描述的方法产生,且人源化抗体可通过例如美国专利第6,180,370号中所描述的方法来产生。

[0251] 本文所述的另外的抗体为如例如Segal等人,J.Immunol.Methods 248:1-6(2001);及Tutt等人,J.Immunol.147:60(1991)中所描述的双特异性抗体及多价抗体或本文所述的分子中的任一者。

[0252] “高亲和性多聚体(Avimer)”是指使用例如活体外外显子改组及噬菌体显示工程改造的多聚结合蛋白或肽。多个结合域连接,使得亲和力及特异性比单一表位免疫球蛋白域大。

[0253] “纳米抗体”为由单个单体可变抗体域组成的抗体片段。纳米抗体亦可称为单域抗体。类似于抗体,纳米抗体能选择性结合特异性抗原。纳米抗体可为重链可变域或轻链域。纳米抗体可天然存在或为生物工程改造的产物。纳米抗体可通过定点突变诱发或突变筛查(例如噬菌体显示、酵母显示、细菌显示、mRNA显示、核糖体显示)进行生物学工程改造。“亲和体”为经工程改造以结合特异性抗原的多肽或蛋白。因此,亲和体可被视为模拟抗体的某些功能。

[0254] 亲和体可为葡萄球菌蛋白A的免疫球蛋白结合区中的B域的经工程改造变体。亲和体可为Z域的经工程改造变体,为具有针对Fab区的较低亲和力的B域。亲和体可通过定点突变诱发或突变筛查(例如噬菌体显示、酵母显示、细菌显示、mRNA显示、核糖体显示)进行生物学工程改造。

[0255] 已生成展示与多种不同蛋白(例如胰岛素、血纤维蛋白原、运铁蛋白、肿瘤坏死因子α、IL-8、gp120、CD28、人类血清白蛋白、IgA、IgE、IgM、HER2及EGFR)的特异性结合的亲和抗体分子,显示μM至pM范围内的亲和力(Kd)。“双特异抗体(diabody)”为两个抗原结合位点可为二价或双特异性的抗体片段。参见例如Hudson等人,(2003)。单链抗体为包含抗体的重链可变域的全部或一部分或轻链可变域的全部或一部分的抗体片段。如本文所述抗体片段可通过不同技术制得,包括(但不限于)完整抗体的蛋白水解分解以及通过重组宿主(例如结肠杆菌或噬菌体)产生。

[0256] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段为多特异性,例如双特异性。多特异性抗体(或其抗原结合片段)包括针对至少两个不同位点具有结合特异性的单克隆抗体(或其抗原结合片段)。

[0257] 在某些实施方案中,涵盖抗体或其抗原结合片段的氨基酸序列变体;例如,能结合至人FGFR3及/或突变型FGFR3(例如,与癌症相关的突变型FGFR3)的变体。举例而言,可能需要提高抗体或其抗原结合片段的结合亲和力及/或其他生物特性。抗体或其抗原结合片段的氨基酸序列变体可通过将适当修饰引入编码抗体或其抗原结合片段的核苷酸序列中或通过肽合成来制备。此类修饰包括例如抗体或其抗原结合片段的氨基酸序列内的残基的缺失及/或插入及/或取代。可进行缺失、插入及取代的任何组合以获得最终构筑体,其限制条件为最终构筑体拥有所需特征,例如抗原结合。

[0258] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段为抑制性抗体(亦称为“拮抗性抗体”)或其抗原结合片段,例如抗体或其抗原结合片段至少部分地抑制靶标分子(例如FGFR3)的一或多种功能,如本文进一步解释。

[0259] 抑制性抗体的非限制性实例包括人源化单克隆抗体,例如MFGR1877S(CAS No.1312305-12-6;Genentech)(人类单克隆抗体,亦称为沃凡妥单抗且其冻干形式亦称为B-701或R3Mab);PRO-001(Prochon);PRO-007(Fibron);IMC-D11(Imclone);及AV-370(Aveo Pharmaceuticals)。(例如,参见美国专利第8,410,250号;US 10,208,120;及国际专利公开案第WO2002102972A2号、第WO2002102973A2号、第WO2007144893A2号、第WO2010002862A2号及第WO2010048026A2号。)

[0260] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段为激动性抗体(亦称为刺激性抗体)。

[0261] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段既非激动性亦非拮抗性的,或未表征为激动性或拮抗性的。

[0262] 额外已知FGFR3抗体包括例如小鼠单克隆抗体,例如来自Genentech的1G6、6G1及15B2(例如,参见US8,410,250)、B9(Sc-13121)(Santa Cruz Biotechnology)、MAB766(克隆136334)(R&D systems)、MAB7661(克隆136318)(R&D systems)及OTI1B10(OriGene);兔多克隆抗体,例如ab10651(Abcam);及兔单克隆抗体,例如C51F2(目录号4574)(Cell Signaling Technology)。

[0263] 在本公开的某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含特定重链互补决定区CDR-H1、CDR-H2及/或CDR-H3,如本文所述。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段的互补决定区(CDR)侧接有框架区。含有三个CDR的抗体或其抗原结合片段的重链或轻链通常含有四个框架区。

[0264] 在一些实施方案中,FGFR3抗体或其抗原结合片段的重链可变区包含一个、两个或三个互补决定区(CDR)CDR-H1、CDR-H2及/或CDR-H3,其中氨基酸序列显示于下文;或具有与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列的一或多个CDR区:

[0265] CDR-H1:

[0266] GFTFTSTGIS(SEQ ID NO:1)

[0267] CDR-H2:

[0268] GRIYPTSGSTNYADSV(SEQ ID NO:2)

[0269] CDR-H3:

[0270] TYGIYDLYVDYTEYVMDY(SEQ ID NO:3)或

[0271] ARTYGIYDLYVDYTEYVMDY(SEQ ID NO:4)

[0272] 在一些实施方案中,FGFR3抗体或其抗原结合片段的轻链可变区包含一个、两个或三个互补决定区(CDR)CDR-L1、CDR-L2及/或CDR-L3,其中氨基酸序列如下文所示;或具有与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列的一或多个CDR区:

[0273] CDR-L1:

[0274] RASQDVDTSLA(SEQ ID NO:5)

[0275] CDR-L2:

[0276] SASFLYS(SEQ ID NO:6)

[0277] CDR-L3:

[0278] QQSTGHPQT(SEQ ID NO:7)

[0279] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:

[0280] (i)重链,其包含:

[0281] 重链互补决定区1(CDR-H1),其具有如SEQ ID NO:1中所示的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列,

[0282] 重链互补决定区2(CDR-H2),其具有如SEQ ID NO:2中所示的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列,及

[0283] 重链互补决定区3(CDR-H3),其具有如SEQ ID NO:3或4中所示的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列,以及

[0284] (ii)轻链,其包含:

[0285] 轻链互补决定区1(CDR-L1),其具有如SEQ ID NO:5中所示的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列,

[0286] 轻链互补决定区2(CDR-L2),其具有如SEQ ID NO:6中所示的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列,及

[0287] 轻链互补决定区3(CDR-L3),其具有如SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列或与其相差1或2个氨基酸的氨基酸序列;

[0288] 或识别FGFR3上的相同表位的单克隆抗体。

[0289] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段的CDR序列具有SEQ ID NO:1、2、3、5、6及7的氨基酸序列且无任何变化。举例而言,在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:1、2及3的氨基酸序列的重链互补决定区CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3及具有SEQ ID NO:5、6及7的氨基酸序列的轻链互补决定区CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3。

[0290] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段的CDR序列具有SEQ ID NO:1、2、4、5、6及7的氨基酸序列且无任何变化。举例而言,在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:1、2及4的氨基酸序列的重链互补决定区CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3及具有SEQ ID NO:5、6及7的氨基酸序列的轻链互补决定区CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3。

[0291] 在一些实施方案中,FGFR3抗体或其抗原结合片段的重链可变区包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列或与其相差1、2、3或4个氨基酸的氨基酸序列或与SEQ ID NO:8具有至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%一致性的氨基酸序列:

[0292] EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFT STGISWVRQ APGKGLEWVGR IYPTSGSTNY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCARTY GIYDLYVDYT EYVMDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVPS SSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSPGK (SEQ ID NO: 8)

[0293] 在一些实施方案中,FGFR3抗体或其抗原结合片段的轻链可变区包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列或与其相差1、2、3或4个氨基酸的氨基酸序列或与SEQ ID NO:9具有至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%一致性的氨基酸序列:

[0294] DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVD TSLAWYKQKP GKAPKLLIYS ASFLYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ STGHPQTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC (SEQ ID NO: 9)

[0295] 在一些实施方案中,FGFR3靶向部分为MFGR1877S(沃凡妥单抗)或其抗原结合片段。

[0296] 在一些实施方案中,FGFR3抗体或其抗原结合片段为人源化抗体或其抗原结合片段。在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段的解离常数(Kd)为≤1μM、≤100nM、≤10nM、≤1nM、≤0.1nM、≤0.01nM或≤0.001nM。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段的解离常数(Kd)介于1nM与10nM之间(包括端点)或介于0.1nM与1nM之间(包括端点)。

[0297] 在一个实施方案中,Kd通过放射性标记的抗原结合分析(放射免疫分析,RIA)利用所关注抗体或其抗原结合片段的Fab形式及其抗原进行测量。

[0298] 根据另一实施方案,Kd使用表面等离子体共振分析利用固定抗原进行测量。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段为针对人FGFR3的表位的人类单克隆抗体,如本文所述。

[0299] 抗体或其抗原结合片段可为天然及/或合成起源的任何抗体或其抗原结合片段,例如哺乳动物起源的抗体。在一些实施方案中,恒定结构域(若存在)为人类恒定结构域。在一些实施方案中,可变结构域为哺乳动物可变结构域,例如,人源化或人类可变结构域。

[0300] 在一些实施方案中,本公开所用的抗体为单克隆抗体。在一些实施方案中,抗体为重组鼠类抗体、嵌合、人源化或完全人类抗体、多特异性抗体(例如双特异性抗体)或其抗原结合片段。

[0301] 在一些实施方案中,进一步偶合至其他部分用于例如药物靶向及成像应用。

[0302] 在一些实施方案中，例如对于诊断目的，抗体或其抗原结合片段经标记，即偶合至标记基团。适宜标记的非限制性实例包括放射性标记、荧光标记、适宜染料基团、酶标记、染色体基因、化学发光基团、生物素基、由次级报导基因识别的预定多肽表位等。在一些实施方案中，一或多种标记共价结合至抗体或其抗原结合片段。

[0303] 那些经标记抗体或其抗原结合片段(亦称为“抗体缀合物”)尤其可用于免疫组织化学分析或用于体内分子成像。

[0304] 在一些实施方案中，例如对于治疗目的，抗体或其抗原结合片段进一步与效应物基团、特别是治疗效应物基团(例如细胞毒性剂或放射性基团试剂)缀合。

[0305] 多肽

[0306] 多肽包括例如多种血液科药剂(包括例如红血球生成素、血液凝血因子等)、干扰素、集落刺激因子、抗体、酶类及激素中的任一者。特定多肽的一致性不意欲限制本发明，且感兴趣的任何多肽可为本发明方法中的多肽。

[0307] 本文所述的参考多肽可包括能结合至所关注靶标(例如能结合至抗原，例如，FGFR3)的靶标结合结构域。举例而言，多肽(例如抗体)可结合至跨膜多肽(例如受体)或配体(例如生长因子)。

[0308] 经修饰多肽

[0309] 适用于本公开的组合物及方法的多肽可具有经修饰氨基酸序列。经修饰多肽可与对应参考多肽大体上一致(例如经修饰多肽的氨基酸序列可与参考多肽的氨基酸序列具有至少50％、60％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％或100％一致性)。在某些实施方案中，修饰不明显破坏所需生物活性(例如与IGF-1R结合)。修饰可减小(例如至少5％、10％、20％、25％、35％、50％、60％、70％、75％、80％、90％或95％)，可不影响或可增加(例如至少5％、10％、25％、50％、100％、200％、500％或1000％)初始多肽的生物活性。经修饰多肽可具有多肽的特性或可最佳化多肽的特性，例如体内稳定性、生物利用度、毒性、免疫活性、免疫一致性及缀合性质。

[0310] 修饰包括通过天然过程(诸如翻译后过程)的那些修饰或通过本领域中已知的化学修饰技术。修饰可发生在多肽中的任何位置，包括多肽主链，氨基酸侧链及氨基末端或羧基末端。相同类型的修饰可以相同或不同程度存在于给定多肽中的若干位点处，及多肽可含有超过一种类型的修饰。多肽可通过泛素化分支，且其可为环状，在存在或不存在分支化下。环状、分支及分支环状多肽可由翻译后天然过程产生或可合成制得。其他修饰包括PEG化、乙酰化、酰化、添加乙酰胺基甲基(Acm)、ADP核糖基化、烷基化、酰胺化、生物素化、氨甲酰化、羧乙基化、酯化、与黄素共价附接、与血红素部分共价附接、核苷酸或核苷酸衍生物的共价附接、药物的共价附接、标志物(例如荧光或放射性)的共价附接、脂质或脂质衍生物的共价附接、磷脂酰肌醇的共价附接、交联、环化、二硫键形成、去甲基化、形成共价交联、形成胱氨酸、形成焦谷氨酸、甲酰化、γ羧化、糖基化、GPI锚定物形成、羟基化、碘化、甲基化、豆蔻酰化、氧化、蛋白水解过程、磷酸化、异戊烯化、外消旋化、硒化、硫酸化、转移RNA介导的添加氨基酸至蛋白，诸如精胺酰化及泛素化。

[0311] 经修饰多肽亦可在多肽序列中包括保守或非保守的氨基酸插入、缺失或取代(例如D-氨基酸、去氨基酸)(例如其中此类改变不会实质上改变多肽的生物活性多肽)。具体而言，在本文多肽的氨基或羧基末端添加一或多个半胱氨酸残基可通过例如二硫键结合促进

这些多肽的缀合。举例而言，多肽可经修饰以在氨基末端包括单一半胱氨酸残基或在羧基末端包括单一半胱氨酸残基。氨基酸取代可为保守(即，其中残基由相同一般类型或基团的另一者代替)或非保守的(即，其中残基由另一类型的氨基酸代替)。另外，天然氨基酸可由非天然氨基酸取代(即，非天然保守氨基酸取代或非天然非保守氨基酸取代)。

[0312] 合成制得的多肽可包括取代非天然由DNA编码的氨基酸(例如非天然存在的氨基酸或非天然氨基酸)。非天然产生的氨基酸的实例包括D-氨基酸、N-保护氨基酸、具有附接至半胱氨酸的硫原子的乙酰基氨基甲基基团的氨基酸、聚乙二醇化氨基酸、式$NH_2(CH_2)_nCOOH$(其中n为2-6)的ω氨基酸、中性非极性氨基酸(诸如肌氨酸)、叔丁基丙氨酸、叔丁基甘氨酸、N-甲基异亮氨酸及正亮氨酸。苯基甘氨酸可取代Trp、Tyr或Phe；瓜氨酸及甲硫氨酸亚砜为中性非极性，半胱氨酸为酸性及鸟氨酸为碱性。脯氨酸可经羟基脯氨酸取代且保留赋予特性的构象。

[0313] 类似物可通过取代型突变诱发生成且保留初始多肽的生物活性。识别为“保守性取代”的取代的实例展示于下表1中。若此类取代产生不期望的变化，则引入下表1中命名为“例示性取代”的或如本文提及氨基酸类别进一步描述的其他类型的取代且筛选产物。

[0314] 表1：氨基酸取代

[0315]

初始残基	示例性取代	保守取代
Ala (A)	Val、Leu、Ile	Val
Arg (R)	Lys、Gln、Asn	Lys
Asn (N)	Gln、His、Lys、Arg	Gln
Asp (D)	Glu	Glu
Cys (C)	Ser	Ser
Gln (Q)	Asn	Asn
Glu (E)	Asp	Asp
Gly (G)	Pro	Pro
His (H)	Asn、Gln、Lys、Arg	Arg
Ile (I)	Leu、Val、Met、Ala、Phe、正亮氨酸	Leu

[0316]

初始残基	示例性取代	保守取代
Leu (L)	正亮氨酸、Ile、Val、Met、Ala、Phe	Ile
Lys (K)	Arg、Gln、Asn	Arg
Met (M)	Leu、Phe、Ile	Leu
Phe (F)	Leu、Val、Ile、Ala	Leu
Pro (P)	Gly	Gly
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Ser	Ser
Trp (W)	Tyr	Tyr
Tyr (Y)	Trp、Phe、Thr、Ser	Phe
Val (V)	Ile、Leu、Met、Phe、Ala、正亮氨酸	Leu

[0317] 功能或免疫一致性中的实质性修饰通过选择取代来完成，这些取代在其对维持以下方面的影响明显不同：(a)取代区域中的多肽主链的结构，例如呈片状或螺旋状构象，(b)目标位点处的分子的电荷或疏水性，及/或(c)侧链的主体。

[0318] 螯合部分或其金属络合物

[0319] 螯合部分

[0320] 适宜螯合部分的实例包括(但不限于)DOTA(1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸)、DOTMA(1R,4R,7R,10R)-α,α',α",α"'-四甲基-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸、DOTAM(1,4,7,10-四(氨基甲酰基甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷)、DOTPA(1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四丙酸)、DO3AM-乙酸(2-(4,7,10-三(2-氨基-2-氧代乙基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基)乙酸)、DOTA-GA酸酐(2,2',2"-(10-(2,6-二氧代四氢-2H-吡喃-3-基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7-三基)三乙酸、DOTP(1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四(亚甲基膦酸))、DOTMP(1,4,6,10-四氮杂环癸烷-1,4,7,10-四亚甲基膦酸)、DOTA-4AMP(1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四(乙酰胺基-亚甲基膦酸)、CB-TE2A(1,4,8,11-四氮杂二环[6.6.2]十六烷-4,11-二乙酸)、NOTA(1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三乙酸)、NOTP(1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三(亚甲基膦酸)、TETPA(1,4,8,11-四氮杂环十四烷-1,4,8,11-四丙酸)、TETA(1,4,8,11-四氮杂环十四烷-1,4,8,11-四乙酸)、HEHA(1,4,7,10,13,16-六氮杂环十六烷-1,4,7,10,13,16-六乙酸)、PEPA(1,4,7,10,13-五氮杂环十五烷-N,N',N",N"',N""-五乙酸)、H_4octapa(N,N'-双(6-羧基-2-吡啶基甲基)-乙二胺-N,N'-二乙酸)、H_2dedpa(1,2-[[6-(羧基)-吡啶-2-基]-甲基氨基]乙烷)、H_6phospa(N,N'-(亚甲基膦酸酯)-N,N'-[6-(甲氧基羰基)吡啶-2-基]-甲基-1,2-二氨基乙烷)、TTHA(三亚乙基四胺-N,N,N',N",N"'、N"'-六乙酸)、DO2P(四氮杂环十二烷二甲烷膦酸)、HP-DO3A(羟基丙基四氮杂环十二烷三乙酸)、EDTA(乙二胺四乙酸)、去铁胺、DTPA(二乙烯三胺五乙酸)、DTPA-BMA(二乙烯三胺五乙酸-双甲基酰胺)、八齿-HOPO(八齿羟基吡啶

酮)或卟啉。

[0321] 在一些实施方案中,放射免疫缀合物包含螯合部分的金属络合物。举例而言,螯合基团可与金属(例如锰、铁及钆)及同位素(例如一般能量范围为60至10,000keV的同位素)(例如本文所讨论的放射性同位素及放射性核素中的任一者)一起用于金属螯合物组合中。

[0322] 在一些实施方案中,螯合部分可用作检测剂,且包含这些可检测螯合部分的放射免疫缀合物因此可用作诊断或治疗剂。

[0323] 放射性同位素及放射性核素

[0324] 在一些实施方案中,金属络合物包含放射性核素。适宜放射性同位素及放射性核素的实例包括(但不限于)^{3}H、^{14}C、^{15}N、^{18}F、^{35}S、^{47}Sc、^{55}Co、^{60}Cu、^{61}Cu、^{62}Cu、^{64}Cu、^{66}Ga、^{67}Ga、^{67}Cu、^{68}Ga、^{75}Br、^{76}Br、^{77}Br、^{82}Rb、^{89}Zr、^{86}Y、^{87}Y、^{90}Y、^{97}Ru、^{99}Tc、^{99m}Tc、^{105}Rh、^{109}Pd、^{111}In、^{123}I、^{124}I、^{125}I、^{131}I、^{149}Pm、^{149}Tb、^{153}Sm、^{166}Ho、^{177}Lu、^{117m}Sn、^{186}Re、^{188}Re、^{198}Au、^{199}Au、^{201}Tl、^{203}Pb、^{211}At、^{212}Pb、^{212}Bi、^{213}Bi、^{223}Ra、^{225}Ac、^{227Th}及^{229}Th。

[0325] 在一些实施方案中,放射性核素为α发射体,例如,砹-211(^{211}At)、铋-212(^{212}Bi)、铋-213(^{213}Bi)、锕-225(^{225}Ac)、镭-223(^{223}Ra)、铅-212(^{212}Pb)、钍-227(^{227}Th)或铽-149(^{149}Tb)或其子体。在一些实施方案中,α-发射体为锕-225(^{225}Ac)或其子体。

[0326] 连接基

[0327] 在一些实施方案中,连接基为如式I-b的结构内所示作为式I-b不存在A及B的一部分:

[0328] $L^{1}-(L^{2})_{n}-B$

[0329] 式I-b

[0330] (A及B为如式I-a中所定义)

[0331] 因此,在一些实施方案中,连接基为$-L^{1}-(L^{2})_{n}-$,其中:

[0332] L^{1}为任选取代的$C_{1}-C_{6}$烷基、任选取代的$C_{1}-C_{6}$杂烷基或任选取代的芳基或杂芳基;

[0333] n介于1与5之间(包括1及5);且

[0334] 每一L^{2}独立地具有以下结构:

[0335] $(-X^{1}-L^{3}-Z^{1}-)$

[0336] 式III

[0337] 其中:

[0338] X^{1}为C=O(NR[1])、C=S(NR[1])、OC=O(NR[1])、NR[1]C=O(O)、NR[1]C=O(NR[1])、

[0339] $-CH_{2}PhC=O(NR^{1})$、$-CH_{2}Ph(NH)C=S(NR^{1})$、O或NR^{1};且每一R^{1}独立地为H、任选取代的$C_{1}-C_{6}$烷基、任选取代的$C_{1}-C_{6}$杂烷基或任选取代的芳基或杂芳基,其中$C_{1}-C_{6}$烷基可经氧代(=O)、杂芳基或其组合取代;

[0340] L^{3}为任选取代的$C_{1}-C_{50}$烷基或任选取代的$C_{1}-C_{50}$杂烷基(例如$C_{5}-C_{20}$聚乙二醇);

[0341] Z^{1}为CH_{2}、C=O、C=S、OC=O、NR[1]C=O或NR^{1},其中R^{1}为氢或任选取代的$C_{1}-C_{6}$烷基或吡咯烷-2,5-二酮。

[0342] 在一些实施方案中,L^{1}为经取代的$C_{1}-C_{6}$烷基或经取代的$C_{1}-C_{6}$杂烷基,该取代基包含杂芳基(例如六元含氮杂芳基)。

[0343] 在一些实施方案中,L^{3}为经取代的$C_{1}-C_{50}$烷基或经取代的$C_{1}-C_{50}$杂烷基,取代基包含杂芳基(例如六元含氮杂芳基)。

[0344] 在一些实施方案中，A为包含一或多个杂芳基(例如六元含氮杂芳基)的大环螯合部分。

[0345] 交联基团

[0346] 在一些实施方案中，放射免疫缀合物代替或除靶向部分以外亦包含交联基团(例如式I中的B包含交联基团)。

[0347] 交联基团为能通过共价键接合两个或以上分子的反应性基团。交联基团可用于将连接基及螯合部分连接至治疗或靶向部分。交联基团亦可用于将连接基及螯合部分连接至体内靶标。在一些实施方案中，交联基团为氨基反应性、甲硫氨酸反应性或硫醇反应性交联基团或转肽酶介导的偶合。在一些实施方案中，氨基反应性或硫醇反应性交联基团包括活化酯，例如羟基琥珀酰亚胺酯、2,3,5,6-四氟苯酚酯、4-硝基苯酚酯或亚氨酸酯；酸酐、硫醇、二硫化物、马来酰亚胺、叠氮化物、炔烃、应变炔烃、应变烯烃、卤素、磺酸酯、卤基乙酰基、胺、酰肼、双吖丙啶、膦、四嗪、异硫氰酸酯(isothiocyanate)及氧氮丙啶(oxaziridine)。在一些实施方案中，转肽酶识别序列可包含末端甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸(GGG)及/或LPTXG氨基酸序列，其中X为任何氨基酸。熟习本领域者应了解，交联基团的使用并不限于本文所述的特定构筑体，而是可包括其他已知交联基团。

[0348] 药物组合物

[0349] 在一个方面，本公开提供包含本文所揭示放射免疫缀合物的药物组合物。这些药物组合物可经调配用于各种药物递送系统中。一或多种生理上可接受的赋形剂或载体亦可包括于药物组合物中用于适当调配。与本公开相容的适宜制剂的非限制性实例包括阐述于Remington's Pharmaceutical Sciences,Mack Publishing Company,Philadelphia,PA,第17版,1985中的那些。关于药物递送的简要综述，参见例如Langer(Science.249:1527-1533,1990)。

[0350] 药物组合物可经调配用于本文所讨论各种给药途径中的任一者(参见例如本文“给药及剂量”子部分)，通过诸如积存注射或易蚀的植入物或组分的方式考虑持续释放给药。因此，本公开提供药物组合物，其包括溶解或悬浮于可接受载体、优选水性载体(例如，水、经缓冲水、盐水或PBS等)中的本文所揭示药剂(例如放射免疫缀合物)。在一些实施方案中，药物组合物含有药学上可接受的辅助物质以接近生理条件，例如pH调整及缓冲剂、张力调节剂、润湿剂或清洁剂等。在一些实施方案中，药物组合物经调配用于口服递送且可任选含有惰性成分(例如粘合剂或填充剂)用于调配单位剂型(例如片剂或胶囊)。在一些实施方案中，药物组合物经调配用于局部给药且可任选含有惰性成分(例如溶剂或乳化剂)用于调配乳霜、软膏剂、凝胶、糊剂或滴眼剂。

[0351] 在一些实施方案中，所提供药物组合物通过常规杀菌技术杀菌，例如，可经无菌过滤。所得水溶液可经包装以原样使用或冻干。冻干制剂在给药前可例如与无菌水性载体组合。制剂的pH通常将介于3与11之间，更优选介于5与9之间或介于6与8之间，且最优选介于6与7之间，例如6至6.5。所得呈固体形式的组合物可例如以多个单一剂量单位包装，每一者在例如片剂或胶囊的密封包装中含有固定量的一或多种上述试剂。呈固体形式的药物组合物亦可包装于容器中用于灵活数量，例如于经设计用于外敷施用乳霜或软膏剂的可压挤管中。

[0352] 治疗方法

[0353] 在一个方面，本公开提供治疗方法，其包含向受试者给药如本文所揭示的放射免疫缀合物。

[0354] 受试者

[0355] 在一些所揭示方法中，疗法(例如包含治疗剂)给药至受试者。在一些实施方案中，受试者为哺乳动物，例如人类。

[0356] 在一些实施方案中，受试者患有癌症或处于发展癌症的风险下。举例而言，受试者可已经诊断出患有癌症。举例而言，癌症可为原发性癌或转移癌。受试者可患有任何阶段的癌症，例如，I期、II期、III期或IV期，有或没有淋巴结侵犯及有或没有转移。所提供放射免疫缀合物及组合物可防止或减少癌症的进一步生长及/或以其他方式改善癌症(例如防止或减少转移)。在一些实施方案中，受试者未患癌症，但已确定处于发展癌症的风险下，例如，由于存在一或多种风险因子，例如环境暴露、存在一或多种基因突变或变体、家族史等。在一些实施方案中，受试者尚未诊断出患有癌症。

[0357] 在一些实施方案中，癌症为实体瘤癌，例如肉瘤或癌瘤。

[0358] 在一些实施方案中，实体瘤癌为肾上腺皮质癌、膀胱癌(例如尿路上皮癌)、乳腺癌、子宫颈癌、结肠直肠癌、子宫内膜腺癌、尤文氏肉瘤、胆囊癌、神经胶质瘤(例如多形性神经胶质母细胞瘤)、头颈癌、肝癌、肺癌(例如，小细胞肺癌或非小细胞肺癌或肺的腺癌)、成神经细胞瘤、神经内分泌癌、胰腺癌(例如胰腺外分泌癌)、前列腺癌、肾细胞癌、唾液腺样囊状癌或精母细胞性精原细胞瘤。

[0359] 在一些实施方案中，癌症为选自由以下组成的组：膀胱癌、乳腺癌、头颈癌、肝癌及肺癌。在一些实施方案中，癌症为膀胱癌。在一些实施方案中，癌症为头颈癌。在一些实施方案中，癌症为肝癌。

[0360] 在一些实施方案中，癌症为非实体瘤癌，例如，液体癌或血液癌。在一些实施方案中，癌症为骨髓瘤，例如，多发性骨髓瘤。在一些实施方案中，癌症为白血病，例如急性骨髓性白血病。在一些实施方案中，癌症为淋巴瘤。

[0361] 给药及剂量

[0362] 本文所揭示的放射免疫缀合物及其药物组合物可通过各种给药途径中的任一者(包括全身性及局部给药途径)来给药。

[0363] 全身性给药途径包括肠胃外途径及经肠途径。在一些实施方案中，放射免疫缀合物或其药物组合物通过肠胃外途径(例如静脉内、动脉内、腹膜内、皮下或皮内)给药。在一些实施方案中，放射免疫缀合物或其药物组合物为经静脉内给药。在一些实施方案中，放射免疫缀合物或其药物组合物为由经肠给药途径(例如跨胃肠道或口服)给药。

[0364] 局部给药途径包括(但不限于)瘤周注射及肿瘤内注射。

[0365] 药物组合物可经给药用于辐射治疗计划、诊断及/或治疗性治疗。当给药用于辐射治疗计划或诊断目的时，放射免疫缀合物可以诊断有效剂量及/或有效用于确定治疗有效剂量的量给药至受试者。在治疗性应用中，药物组合物可以足以治愈或至少部分地停滞病症及其并发症的症状的量给药已经患有病况(例如，癌症)的受试者(例如，人类)。足以实现此目的的量定义为“治疗有效量”，即足以实质上改良与疾病或医学病况相关的至少一种症状的化合物的量。举例而言，在癌症的治疗中，减少、预防、延迟、阻抑或停滞疾病或病况的任何症状的药剂或化合物将为治疗有效的。药剂或化合物的治疗有效量不需要治愈疾病或

病况,但可例如提供疾病或病况的治疗使得疾病或病况的发作延迟、阻碍或阻止,使得疾病或病况症状改善,或使得疾病或病况的期限改变。举例而言,受试者中的疾病或病况可变得不太严重及/或恢复加快。在一些实施方案中,受试者以有效用于辐射治疗计划的量给药第一剂量的放射免疫缀合物或组合物,然后以治疗有效量给药第二剂量或一组第二组剂量的放射免疫缀合物或组合物。

[0366] 有效量可取决于疾病或病况的严重性及受试者的其他特征(例如体重)。用于受试者(例如哺乳动物,例如人类)的所揭示放射免疫缀合物及组合物的治疗有效量可由熟习本领域者考虑受试者差异(例如,受试者的年龄、体重及状况的差异)来确定。

[0367] 在一些实施方案中,所揭示放射免疫缀合物展现增强的靶向癌细胞的能力。在一些实施方案中,所揭示放射免疫缀合物的有效量小于非缀合及/或非放射标记的靶向部分的治疗效应的等效剂量(例如小于或等于约90%、75%、50%、40%、30%、20%、15%、12%、10%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%或0.1%)。

[0368] 本文所揭示包括有效量的药物组合物的单次或多次给药可由治疗医师选择的剂量水平及模式来进行。剂量及给药时间表可基于受试者的疾病或病况的严重性确定及调整,该严重性可在整个治疗过程中根据通常由临床医师实践或本文所阐述的方法监测。

[0369] 下列特定实施例仅应解释为说明性的,且无论如何不应解释为以任何方式限制其余揭示内容。

实施例

[0370] 实施例1.一般材料及方法

[0371] 镥-177可自Perkin Elmer作为于0.05N盐酸溶液中的三氯化镥获得;作为三氯化物盐的铟-111可自Nordion获得;且钔-225可作为三硝酸钔-225自Oak Ridge National Laboratories获得。

[0372] 分析型HPLC-MS可使用Waters Acquity HPLC-MS系统实施,该系统包含Waters Acquity二元溶剂管理器、Waters Acquity样品管理器(样品冷却至10℃)、Water Acquity管柱管理器(管柱温度30℃)、Waters Acquity光电二极管阵列检测器(在254nm及214nm下监测)、具有电喷雾离子化的Waters Acquity TQD及Waters Acquity BEH C18,2.1×50(1.7μm)管柱。制备型HPLC可使用Waters HPLC系统实施,该系统包含Waters 1525二元HPLC泵、Waters 2489UV/可见检测器(在254nm及214nm下监测)及Waters XBridge Prep phenyl或C18 19×100mm(5μm)管柱。

[0373] HPLC洗脱方法1:Waters Acquity BEH C18 2.1×50mm(1.7μm)管柱;流动相A:H_2O(0.1%v/v TFA);流动相B:乙腈(0.1%v/v TFA);流速=0.3mL/min;初始=90%A,3-3.5min=0%A,4min=90%A,5min=90%A。

[0374] HPLC洗脱方法2:Waters XBridge Prep Phenyl 19×100mm(5μm)管柱;流动相A:H_2O(0.1%v/v TFA);流动相B:乙腈(0.1%v/v TFA);流速:10mL/min;初始=80%A,13min=0%A。

[0375] HPLC洗脱方法3:Waters Acquity BEH C18 2.1×50mm(1.7μm)管柱;流动相A:H_2O(0.1%v/v TFA);流动相B:乙腈(0.1%v/v TFA);流速=0.3mL/min;初始=90%A,8min=0%A,10min=0%A,11min=90%A,12min=90%A。

[0376] HPLC洗脱方法4:Waters XBridge Prep C18 OBD 19×100mm(5μm)管柱;流动相A:H_2O(0.1%v/v TFA);流动相B:乙腈(0.1%v/v TFA);流速:10mL/min;初始=80%A,3min=80%A,13min=20%A,18min=0%A。

[0377] HPLC洗脱方法5:Waters XBridge Prep C18 OBD 19×100mm(5μm)管柱;流动相A:H_2O(0.1%v/v TFA);流动相B:乙腈(0.1%v/v TFA);流速:10mL/min;初始=90%A,3min=90%A,13min=0%A,20min=0%A。

[0378] HPLC洗脱方法6:Waters XBridge Prep C18 OBD 19×100mm(5μm)管柱;流动相A:H_2O(0.1%v/v TFA);流动相B:乙腈(0.1%v/v TFA);流速:10mL/min;初始=75%A,13min=0%A,15min=0%A。

[0379] HPLC洗脱方法7:Waters XBridge Prep C18 OBD 19×100mm(5μm)管柱;流动相A:H_2O(0.1%v/v TFA);流动相B:乙腈(0.1%v/v TFA);流速:10mL/min;初始=80%A,12min=0%A,15min=0%A。

[0380] HPLC洗脱方法8:Waters XBridge Prep C18 OBD 19×100mm(5μm)管柱;流动相A:H_2O(0.1%v/v TFA);流动相B:乙腈(0.1%v/v TFA);流速:10mL/min;初始=90%A,12min=0%A,15min=0%A。

[0381] 分析型尺寸排阻色谱法(SEC)可使用Waters系统实施,该系统包含Waters 1525二元HPLC泵、Waters 2489UV/可见检测器(在280nm下监测)、Bioscan流量计数放射性检测器(FC-3300)及TOSOH TSKgel G3000SWxl,7.8×300mm管柱。等度SEC方法的流速可为例如mL/min,其中流动相为0.1M磷酸盐、0.6M NaCl、0.025%叠氮化钠,pH=7。

[0382] MALDI-MS(正离子)可使用MALDI Bruker Ultraflextreme光谱仪实施。

[0383] 放射性薄层层析(radioTLC)可利用Bioscan AR-2000成像扫描仪实施,且可在iTLC-SG玻璃微纤维层析纸(Agilent Technologies,SGI0001)板上使用柠檬酸盐缓冲剂(0.1M,pH 5.5)进行。

[0384] 实施例2. 4-{[11-氧代-11-(2,3,5,6-四氟苯氧基)十一烷基]氨基甲酰基}-2-[4,7,10-三(羧基甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基]丁酸(化合物B)的合成

[0385] 双功能螯合物4-{[11-氧代-11-(2,3,5,6-四氟苯氧基)十一烷基]氨基甲酰基}-2-[4,7,10-三(羧基甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基]丁酸(化合物B)可根据图2中所提供的方案合成。向5-(叔丁氧基)-5-氧代-4-(4,7,10-三(2-(叔丁氧基)-2-氧代乙基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基)戊酸(DOTA-GA-$(tBu)_4$,50mg,0.07mmol)于ACN(2.0mL)中的溶液中添加DSC(50mg,0.21mmol),随后添加吡啶(0.20mL,2.48mmol)。将反应于室温下搅拌1小时。在室温下向反应混合物中添加11-氨基十一烷酸(70mg,0.36mmol),随后添加PBS溶液(1.0mL)。将反应在室温下搅拌72小时。反应混合物用注射器过滤器过滤并直接通过Prep-HPLC使用方法6纯化,以获得中间体2-A。

[0386] 在室温下向中间体2-A(40mg,0.03mmol)、TFP(90mg,0.54mmol)及EDC(40mg,0.27mmol)于ACN(1.0mL)中的溶液中添加吡啶(0.05mL,50mg,0.62mmol)。将溶液于室温下搅拌24小时。反应直接通过Prep-HPLC使用方法7纯化,以在使用Biotage V10快速蒸发器浓缩后提供呈蜡状物的中间体2-B。

[0387] 将中间体2-B溶解于DCM/TFA(1.0mL/2.0mL)中并使其在室温下搅拌24小时。反应通过空气流浓缩并直接通过Prep-HPLC使用方法8纯化,以在浓缩后获得呈透明蜡状物的化

合物B。通过HPLC-MS洗脱方法3分析等份试样。

[0388] ^{1}H NMR(600MHz,DMSO-d_6)δ7.99-7.88(m,1H),7.82(t,J＝5.5Hz,1H),3.78(宽s,4H),3.43(宽s,12H),3.08(宽s,4H),3.00(m,3H),2.93(宽s,3H),2.77(t,J＝7.2Hz,2H),2.30(宽s,2H),1.88(宽s,2H),1.66(p,J＝7.3Hz,2H),1.36(m,4H),1.32-1.20(m,9H)。

[0389] 实施例3.[^{225}Ac]-化合物B-抗FGFR3缀合物的合成

[0390] 将化合物B(1微摩尔)溶于盐酸溶液(0.001M)中。将化合物B溶液的等份试样(5μL,70纳摩尔)添加至于磷酸盐缓冲剂(pH 8)中含有抗FGFR3抗体(1.8纳摩尔)的溶液。在环境温度下3小时后,将所得免疫缀合物经由Sephadex G-50树脂填充的管柱纯化。免疫缀合物化合物B-抗FGFR3利用乙酸盐缓冲剂(pH 6.5)自管柱洗脱。

[0391] 将Ac-225(15μCi,10μL)添加至化合物B-抗FGFR3(300μg)于乙酸盐缓冲剂(pH 6.5)中的溶液中。将放射标记反应在30℃下培育1小时。将粗产物[^{225}Ac]-化合物B-抗FGFR3经由用乙酸盐缓冲剂洗脱的Sephadex G-50树脂填充的管柱纯化。

[0392] 实施例4. 4-{[2-(2-{2-[3-氧代-3-(2,3,5,6-四氟苯氧基)丙氧基]乙氧基}乙氧基)乙基]氨基甲酰基}-2-[4,7,10-三(羧基甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基]丁酸(化合物C)的合成

[0393] 双功能螯合物4-{[2-(2-{2-[3-氧代-3-(2,3,5,6-四氟苯氧基)丙氧基]乙氧基}乙氧基)乙基]氨基甲酰基}-2-[4,7,10-三(羧基甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基]丁酸(化合物C)根据图3中提供的方案合成。

[0394] 向5-(叔丁氧基)-5-氧代-4-(4,7,10-三(2-(叔丁氧基)-2-氧代乙基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基)戊酸(DOTA-GA(tBu)$_4$,100mg,0.143mmol)于ACN(8.0mL)中的溶液中添加DSC(73mg,0.285mmol)及吡啶(0.80mL,9.89mmol)。将反应混合物在环境温度下搅拌90min。将此溶液添加至100mL圆底烧瓶中的氨基-PEG3-酸的半溶液(63mg,0.285mmol于1.2mL DMF中)。在环境温度下4小时后,通过在空气流下浓缩至干燥来处理反应。粗制物质通过HPLC洗脱方法2来纯化(将粗制物溶解于6mL 20％ACN/H_2O中)。将含有产物的级分汇集并在真空下浓缩且然后与ACN(3x 2mL)一起共蒸发。

[0395] 向含有中间体1-A(82mg,60μmol)的小瓶中添加ACN(2mL)、NEt_3(50μL,360μmol,6当量)、HBTU(23mg,60μmol,1当量)及TFP溶液(50mg,300μmol,5当量,溶解于250μL ACN中)。将所得澄清溶液在环境温度下搅拌3小时。通过将溶液在空气流下浓缩至干燥来处理反应且然后用ACN/H_2O(1:1,3mL总共)稀释并在制备型HPLC上使用洗脱方法4纯化。将含有产物的级分汇集并在真空下浓缩且然后与ACN(3x 2mL)一起共蒸发。获得呈透明残余物的中间体1-B。

[0396] 向含有中间体1-B(67mg,64μmol)的小瓶中添加DCM(2mL)及TFA(2mL)。将所得溶液在环境温度下搅拌16小时。添加额外的TFA(2mL)并将反应在环境温度下搅拌6小时。在空气流下将反应浓缩至干燥,其中粗产物最终溶解于ACN/H_2O(1mL 10％ACN/H_2O)中。然后通过制备型HPLC使用洗脱方法5纯化粗制反应溶液。将含有产物的级分汇集,冷冻并冻干。获得呈白色固体的化合物C。通过HPLC-MS洗脱方法3分析等份试样。

[0397] ^{1}H NMR(DMSO-d_6,600MHz)δ7.97-7.91(m,2H),3.77(t,2H,J＝6.0Hz),3.58-3.55(m,2H),3.53-3.48(m,8H),3.44-3.38(m,10H),3.23-3.08(m,11H),3.02(t,2H,J＝6.0Hz),2.93(宽s,4H),2.30(宽s,2H),1.87(宽s,2H)。

[0398] 实施例5.[^{225}Ac]-化合物C-抗FGFR3缀合物的合成

[0399] 将化合物C(1微摩尔)溶于盐酸溶液(0.001M)中。将化合物C溶液的等份试样(5μL,70纳摩尔)添加至于磷酸盐缓冲剂(pH 8)中含有抗FGFR3抗体(1.8纳摩尔)的溶液。在环境温度下3小时后,将所得免疫缀合物经由Sephadex G-50树脂填充的管柱纯化。免疫缀合物化合物C-抗FGFR3利用乙酸盐缓冲剂(pH 6.5)自管柱洗脱。洗脱物的身份可通过例如MALDI-TOF证实。

[0400] 将Ac-225(15μCi,10μL)添加至化合物C-抗FGFR3(300μg)于乙酸盐缓冲剂(pH 6.5)中的溶液中。将放射标记反应在30℃下培育1小时。将粗产物[^{225}Ac]-化合物C-抗FGFR3经由用乙酸盐缓冲剂洗脱的Sephadex G-50树脂填充的管柱纯化。

[0401] 实施例6.在膀胱癌异种移植物模型中[^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物对肿瘤生长及存活率的效应

[0402] [^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物使用表达野生型FGFR3的人类UM-UC-1膀胱细胞系测试。将UM-UC-1细胞注射于免疫受损小鼠中。建立肿瘤之后,小鼠给药[^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物、对照(例如,仅PBS缓冲剂或其他媒剂)或任选未缀合抗FGFR3。

[0403] 使用测径器测量每周两次监测肿瘤体积,并比较各治疗组的结果。记录存活率。[^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物治疗组中肿瘤生长的更大抑制及/或更高存活率指示增加的效能。

[0404] 实施例7.在WT及突变型FGFR3膀胱癌异种移植物模型中[^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物对肿瘤生长及存活率的效应

[0405] 尽管野生型FGFR3在某些癌症中过表达,但一些肿瘤与突变型FGFR3相关。在此实施例中,使用表达野生型或突变型FGFR3的各种人类膀胱细胞系测试[^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物。

[0406] 将表达WT FGFR3的RT112膀胱癌细胞注射于裸(nu/nu)小鼠中并使肿瘤生长至约100-150mm^{3}的平均体积。动物每周两次用媒剂或[^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物给药。任选,第三组动物用未缀合抗FGFR3给药。

[0407] 每周两次使用测径器测量肿瘤并使用以下公式计算肿瘤体积:

[0408] $V=0.5\times a\times b^2$

[0409] 其中a及b分别为肿瘤的长度及宽度。

[0410] 比较各组间的肿瘤生长。

[0411] 为评价[^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物对FGFR3信号传导的效应,在治疗后48及72小时收集肿瘤溶解物。检查肿瘤溶解物中FRS2α、AKT及p44/42MAPK(FGFR3信号传导的下游中介体)的磷酸化及总蛋白质水平。

[0412] 另外,在Ba/F3-FGFR3^{S249C}同种异体移植物模型中研究[^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物的效应。参见例如Qing等人,"Antibody-based targeting of FGFR3 in bladder carcinoma and t(4;14)-positive multiple myeloma in mice."J Clin Invest.2009年5月1日;119(5):1216-1229。(S249C为膀胱癌中最常见的FGFR3突变。)如上文针对RT112异种移植物模型所提及评价肿瘤生长及肿瘤溶解物。

[0413] 实施例8.在多发性骨髓瘤异种移植物模型中[^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物对肿瘤生长及存活率的效应

[0414] OPM2及KMS11为分别具有K650E及Y373C FGFR3突变的t(4:14)+多发性骨髓瘤细胞

系。在OPM2及KMS11异种移植物模型中测试[^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物。使细胞扩增,并将15×10^6个OPM2或20×10^6个KMS11细胞以0.2ml的体积于汉克氏平衡盐溶液(HBSS)/基质胶(1:1v/v:BD Biosciences)中皮下植入小鼠的侧腹中。每周两次使用测径器测量肿瘤并如实施例7中所述计算肿瘤体积。

[0415] 当肿瘤达到150-200mm^3的平均大小时,将动物随机分配至治疗或对照组。每一[^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物可在单独治疗组中测试。对照组可包括给药HBSS或其他媒剂的小鼠。任选地,为进行比较,包括一或多个其中小鼠给药未缀合抗FGFR3(冷抗体)的治疗组。所有组中的小鼠均每周两次经腹膜内给药其群组的相关药剂。

[0416] 使用测径器测量每周两次监测肿瘤体积,并比较各治疗组的结果。记录存活率。[^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物治疗组中肿瘤生长的更大抑制及/或更高存活率指示增加的效能。

[0417] 实施例9.在肝癌异种移植物模型中[^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物对肿瘤生长及存活率的效应

[0418] [^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物在肿瘤异种移植物模型中基于肝癌细胞系(Huh7)基本上如实施例8中所述进行测试。

[0419] 实施例10.在乳腺癌异种移植物模型中[^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物对肿瘤生长及存活率的效应

[0420] [^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物在肿瘤异种移植物模型中基于乳腺癌细胞系(Cal-51)基本上如实施例8中所述进行测试。

[0421] 实施例11.在结肠腺癌异种移植物模型中[^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物对肿瘤生长及存活率的效应

[0422] [^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物在MC38小鼠结肠腺癌异种移植物模型中测试。使FGFR3-阳性MC38细胞扩增,并将1x10^6个MC38细胞皮下植入8至12周龄的雌性C57BL/6小鼠的侧腹中。当肿瘤达到80-120mm^3的平均大小时,将动物成对匹配并分配至治疗或对照组。每一[^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物可在单独治疗组中测试。对照组可包括给药磷酸盐缓冲盐水(PBS)的小鼠。任选地,为进行比较,包括一或多个其中小鼠给药未缀合抗FGFR3(冷抗体)的治疗组。所有组中的小鼠可根据定期时间表(例如,每周一次、每周两次或每周三次)经静脉内或腹膜内给药其群组的相关药剂达一周或多周(例如1、2或3周)。

[0423] 使用测径器测量每周两次监测肿瘤体积,并比较各治疗组的结果。记录存活率。[^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物治疗组中肿瘤生长的更大抑制及/或更高存活率指示增加的效能。

[0424] 实施例12.使用腺癌细胞系时[^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物对免疫细胞浸润的效应

[0425] 将MC38(腺癌)细胞皮下植入8至12周龄的雌性C57BL/6小鼠的侧腹中。当肿瘤达到80-120mm^3的平均大小时,将动物成对匹配并分成治疗及对照组。对照组小鼠接受PBS,免疫缀合物治疗组接受[^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物,且任选的抗体治疗组接受未缀合抗FGFR3。所有组均根据相同途径及给药时间表给药:每周两次,经静脉内。

[0426] 治疗7天后,将每一组的一半动物处死并收集肿瘤。治疗14天后,将每一组的剩余一半动物处死并收集肿瘤。每一肿瘤的一半经处理用于石蜡包埋,同时另一半用于制备单细胞悬浮液用于流式细胞术分析。用于流式细胞术分析的样品针对CD8及T-调节性细胞的标记物进行染色。CD8+对调节性T细胞的较高比率可经由免疫细胞浸润于肿瘤中指示增强的效能。

[0427] 实施例13.[^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物对肺肿瘤发展的效应

[0428] [^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物在两个小鼠肺癌异种移植物模型中进行测试:Madison 109(M109)及Lewis肺癌细胞,二者均为FGFR3阳性的。将1x10^{6}个Lewis肺癌肿瘤细胞皮下植入8至12周龄的雌性C57BL/6小鼠的侧腹中。另外,将1x10^{6}个Madison 109肿瘤细胞皮下植入8至12周龄的雌性CR雌性BALB/c小鼠的侧腹中。

[0429] 当肿瘤达到100-200mm^{3}的平均大小时,将动物成对匹配并开始治疗。每一[^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物可在单独治疗组中测试。对照组可包括给药磷酸盐缓冲盐水(PBS)的小鼠。任选,为进行比较,包括一或多个其中小鼠给药未缀合抗FGFR3(冷抗体)的治疗组。所有组中的小鼠可根据定期时间表(例如,每周一次、每周两次或每周三次)给药(经静脉内或腹膜内)其群组的相关药剂。在此实施例中,小鼠治疗一周、两周或三周(参见下文)。

[0430] 使用测径器每周两次测量肿瘤,并比较各治疗组的结果。[^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物治疗组中肿瘤生长的更大抑制指示增加的效能。

[0431] 治疗7天后,将每一组的一些动物处死并收集肿瘤。治疗14天后,将每一组剩余动物中的一些处死并收集肿瘤。剩余动物继续给药直至第21天,此时将其处死并收集其肿瘤。每一肿瘤的一半经处理用于石蜡包埋,同时另一半冷冻于最佳切割温度(O.C.T.)化合物中。

[0432] 实施例14.[^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物对存活率的效应

[0433] 进行实施例12及/或13,但小鼠不处死而是经至少数月的时期监测肿瘤生长及存活。[^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物治疗组中增强的存活率指示增强的治疗效能。

[0434] 实施例15.在涉及FGFR3融合物的膀胱癌细胞系中[^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物对肿瘤生长及存活率的效应

[0435] [^{225}Ac]-抗FGFR3缀合物在肿瘤异种移植物模型中基于RT4、RT112、SW780及UMUC-14膀胱细胞系中的一或多者基本上如实施例8中所述进行测试。RT4及RT112细胞含有FGFR3-TACC3融合物,SW780细胞含有FGFR-BAIAP2L1融合物,且UMUC-14具有FGFR3^{S249C}。

[0436] 实施例16.DOTA-抗FGFR3缀合物与表达FGFR3的癌细胞的结合

[0437] 本实施例展示缀合的抗FGFR3在次纳摩尔/皮摩尔Kd范围内与FGFR3-阳性癌细胞结合。

[0438] 未经标记的DOTA-抗FGFR3缀合物使用以下各项合成:1)化合物C的纯R对映异构体(参见实施例4)(亦即,(2R)-2-[4,7,10-三(羧基甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基]戊二酸(R-DOTA-GA)的R-对映异构体,其通过PEG3酸连接基连接至2,3,5,6-四氟苯酚活性酯),及2)MFGR1877S(沃凡妥单抗),一种抗FGFR3抗体。通过流式细胞术评价DOTA-抗FGFR3与FGFR3-阳性癌细胞系RT4(膀胱)、RT112(膀胱)及HepG2(肝)的结合。

[0439] 图4A、4B及4C分别显示RT4、RT112及HepG2的结合曲线,且相应结合亲和力(Kd)汇总于表2中。

[0440] 表2.抗FGFR3缀合物与FGFR3+癌细胞的结合亲和力

[0441]

	Kd [nM] RT4	**Kd [nM] RT112**	**Kd [nM] HepG2**
抗FGFR3缀合物	0.448	0.248	0.279

[0442] 实施例17.[^{177}Lu]-DOTA-抗FGFR3缀合物的体内生物分布

[0443] 使用Balb/c裸/RT4细胞系异种移植物小鼠模型来评价放射标记的抗FGFR3缀合物的体内生物分布。[^{177}Lu]-DOTA-抗FGFR3缀合物使用化合物C的纯R对映异构体(参见实施例4)、MFGR1877S(沃凡妥单抗)及镥-177合成。

[0444] 携带肿瘤的动物组静脉内注射[^{177}Lu]-DOTA-抗FGFR3。剂量含有约23微居里(microcurie,μCi)活性/2μg(0.1mg/kg)抗体。在注射后4h、24h、48h、96h及168h对动物实施安乐死以测定血液、肾、肝、肺、脾、皮肤、肿瘤及尾中的放射性水平(n＝3/时间点)。

[0445] 结果表示为每克组织注射剂量百分比(%ID/g)且绘示于图5中。[^{177}Lu]-DOTA-抗FGFR3迅速自血液清除且在肝、肺及脾中展示瞬时摄取。在所有时间点,肿瘤摄取为约5%ID/g。不希望受限于任何特定理论,所观察到的肿瘤摄取水平可归因于RT4肿瘤的小的大小(约50mm^3)。

[0446] 实施例18.用冷抗FGFR3预给药后[^{177}Lu]-DOTA-抗FGFR3缀合物的体内生物分布

[0447] 本实施例展示本公开的放射免疫缀合物在肿瘤细胞中的摄取,其中在正常组织中的摄取水平较低。

[0448] 使用Balb/c裸/RT112细胞系异种移植物小鼠模型来评价在用冷(非放射标记、未缀合)抗FGFR3抗体预给药之后[^{177}Lu]-DOTA-抗FGFR3的体内生物分布。

[0449] 携带肿瘤的小鼠组静脉内注射[^{177}Lu]-DOTA-抗FGFR3。剂量含有约23微居里(μCi)活性/2μg(0.1mg/kg)抗体。在给药[^{177}Lu]-DOTA-抗FGFR3之前大约3小时,一半小鼠通过腹膜内注射给药100μg冷抗FGFR3(沃凡妥单抗)。在注射后4h、24h、48h及96h对动物实施安乐死以测定血液、肠(小肠及大肠)、肾及肾上腺、肝及胆囊、肺、脾、皮肤、膀胱、尿液及肿瘤中的放射性水平(n＝3/时间点)。

[0450] 结果表示为%ID/g且绘示于图6A及6B中。用冷抗FGFR3预给药降低放射性自血液的清除,降低[^{177}Lu]-DOTA-抗FGFR3在正常组织中的摄取,并增加[^{177}Lu]-DOTA-抗FGFR3在肿瘤中的摄取。

[0451] 实施例19.放射标记的抗FGFR3缀合物与冷抗FGFR3共同给药的体内生物分布

[0452] 本实施例展示本公开的放射免疫缀合物在肿瘤细胞中的摄取,其中在正常组织中的摄取水平较低。此外,本实施例展示,用不同放射性核素标记的DOTA-抗FGFR3缀合物展现类似生物分布概况。

[0453] [^{111}In]-DOTA-抗FGFR3缀合物使用化合物C的纯R对映异构体(参见实施例4)、MFGR1877S(沃凡妥单抗)及铟-111合成。

[0454] 使用Balb/c裸/RT112细胞系异种移植物小鼠模型来评价在与冷抗FGFR3共同给药时[^{177}Lu]-DOTA-抗FGFR3缀合物及[^{111}In]-DOTA-抗FGFR3缀合物的体内生物分布。

[0455] 各组携带肿瘤的小鼠以约22微居里(μCi)活性/2μg(0.1mg/kg)抗体静脉内注射[^{177}Lu]-DOTA-抗FGFR3。小鼠亦经由同样的静脉内注射共同给药50、100或200μg冷抗FGFR3。在注射后24h及96h对动物实施安乐死以测定血液、肠、肾、肝、肺、脾、皮肤、膀胱、尿液及肿瘤中的放射性水平(n＝3/时间点)。

[0456] 结果表示为%ID/g且绘示于图7A-7C中。用100μg或200μg冷抗FGFR3共同给药降低放射性自血液的清除,降低[^{177}Lu]-DOTA-抗FGFR3在正常组织中的摄取,并增加[^{177}Lu]-DOTA-抗FGFR3在肿瘤中的摄取。

[0457] 类似于本实施例中针对[^{177}Lu]-DOTA-抗FGFR3共同给药试验所阐述，亦使用[^{111}In]-DOTA-抗FGFR3与100μg冷抗FGFR3的共同给药实施生物分布研究。图8A及8B显示给药[^{177}Lu]-DOTA-抗FGFR3(图8A)或[^{177}Lu]-DOTA-抗FGFR3(图8B)的小鼠中的结果％ID/g，每一者均用冷抗FGFR3共同给药。[^{177}Lu]-DOTA-抗FGFR3及[^{111}In]-DOTA-抗FGFR3二者均显示良好肿瘤摄取，其中在给药后96h具有约34％-37％ID/g。

[0458] 实施例20.在膀胱癌异种移植物模型中[^{225}Ac]-DOTA-抗FGFR3缀合物对肿瘤生长及存活率的效应

[0459] 本实施例展示[^{225}Ac]-DOTA-抗FGFR3缀合物在膀胱癌模型中的治疗效能。

[0460] [^{225}Ac]-DOTA-抗FGFR3缀合物使用化合物C的纯R对映异构体(参见实施例4)、MFGR1877S(沃凡妥单抗)及锕-225合成。

[0461] 使用Balb/c裸/RT112细胞系异种移植物小鼠模型来评价在用冷抗FGFR3预给药后[^{225}Ac]-DOTA-抗FGFR3缀合物的体内活性。使肿瘤皮下生长至体积为约150mm^3。各组携带肿瘤的小鼠静脉内注射[^{225}Ac]-DOTA-抗FGFR3(50nCi、100nCi、200nCi或400nCi剂量)、冷抗FGFR3或媒剂对照(n＝5/组)。除对照组中的小鼠以外，小鼠在给药[^{225}Ac]-DOTA-抗FGFR3之前3小时腹膜内注射100μg冷抗FGFR3。给药后直至28天，评估相对肿瘤体积(图9A)及相对体重(图9B)。

[0462] 如图9A中所示，用200nCi或400nCi[^{225}Ac]-DOTA-抗FGFR3治疗显著抑制肿瘤生长。400nCi组中的一只小鼠损失30％体重并在第11天处死。然而，如图9B中所示，平均而言，治疗组中的小鼠相对于对照组中的小鼠并未展示明显体重减轻，此表明该治疗为耐受的且毒性有限。

[0463] 实施例21.在膀胱癌异种移植物模型中[^{225}Ac]-DOTA-抗FGFR3缀合物对肿瘤生长及存活率的效应

[0464] 本实施例展示[^{225}Ac]-DOTA-抗FGFR3缀合物在膀胱癌模型中的治疗效能。

[0465] 使用Balb/c裸/RT112细胞系异种移植物小鼠模型来评价[^{225}Ac]-DOTA-抗FGFR3缀合物与冷抗FGFR3共同给药的体内活性。使肿瘤皮下生长至体积为约150mm^3。各组携带肿瘤的小鼠静脉内注射[^{225}Ac]-DOTA-抗FGFR3(50nCi、100nCi、200nCi或400nCi)与100μg抗FGFR3以共同给药。对照组仅接受冷抗FGFR3或媒剂对照。n＝5/组。给药后直至28天，评估相对肿瘤体积(图10A)及相对体重(图10B)。

[0466] 如图10A中所示，用200nCi或400nCi[^{225}Ac]-DOTA-抗FGFR3治疗显著抑制肿瘤生长，且用较低剂量(50-100nCi)[^{225}Ac]-DOTA-抗FGFR3治疗导致肿瘤生长的一定抑制。

[0467] 在400nCi治疗组中，两只小鼠体重损失并处死，且另外三只小鼠未受影响。然而，其他治疗组中的小鼠相对于对照组中的小鼠并未展示显著体重损失。(参见图10B)。

[0468] 其他实施方案

[0469] 尽管已结合本发明的特定实施例阐述本发明，但应理解，其能进一步修改且本申请案意欲涵盖通常遵循本发明的原理且包括自本公开的这些偏离的本发明的任何变化、使用或改编，这些属本发明所属领域内的已知或惯常实践且可应用于先前所阐述的基本特征。

序列表
<110> 融合制药公司
<120> 靶向FGFR3的放射免疫缀合物及其用途
<130> FPI-012
<150> US 62/993,622
<151> 2020-03-23
<160> 9
<170> PatentIn版本3.5
<210> 1
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> FGFR3抗体的CDR-H1
<400> 1
Gly Phe Thr Phe Thr Ser Thr Gly Ile Ser
1 5 10
<210> 2
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> FGFR3抗体的CDR-H2
<400> 2
Gly Arg Ile Tyr Pro Thr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
1 5 10 15
<210> 3
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> FGFR3抗体的CDR-H3
<400> 3
Thr Tyr Gly Ile Tyr Asp Leu Tyr Val Asp Tyr Thr Glu Tyr Val Met
1 5 10 15
Asp Tyr
<210> 4
<211> 20

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> FGFR3抗体的CDR-H3
<400> 4
Ala Arg Thr Tyr Gly Ile Tyr Asp Leu Tyr Val Asp Tyr Thr Glu Tyr
1 5 10 15
Val Met Asp Tyr
20
<210> 5
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> FGFR3抗体的CDR-L1
<400> 5
Arg Ala Ser Gln Asp Val Asp Thr Ser Leu Ala
1 5 10
<210> 6
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> FGFR3抗体的CDR-L2
<400> 6
Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser
1 5
<210> 7
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> FGFR3抗体的CDR-L3
<400> 7
Gln Gln Ser Thr Gly His Pro Gln Thr
1 5
<210> 8
<211> 457
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> FGFR3抗体MFGR1877S的重链可变序列

<400> 8

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Ser Thr
20 25 30
Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Arg Ile Tyr Pro Thr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Thr Tyr Gly Ile Tyr Asp Leu Tyr Val Asp Tyr Thr Glu Tyr
100 105 110
Val Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120 125
Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
130 135 140
Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
145 150 155 160
Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
165 170 175
Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
180 185 190
Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
195 200 205
Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
210 215 220
Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
225 230 235 240
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
245 250 255
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
260 265 270
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

275 280 285
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
290 295 300
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
305 310 315 320
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
325 330 335
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
340 345 350
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
355 360 365
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
370 375 380
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
385 390 395 400
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
405 410 415
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
420 425 430
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
435 440 445
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 9
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> FGFR3抗体MFGR1877S的轻链可变区
<400> 9
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asp Thr Ser
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Lys Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Thr Gly His Pro Gln
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

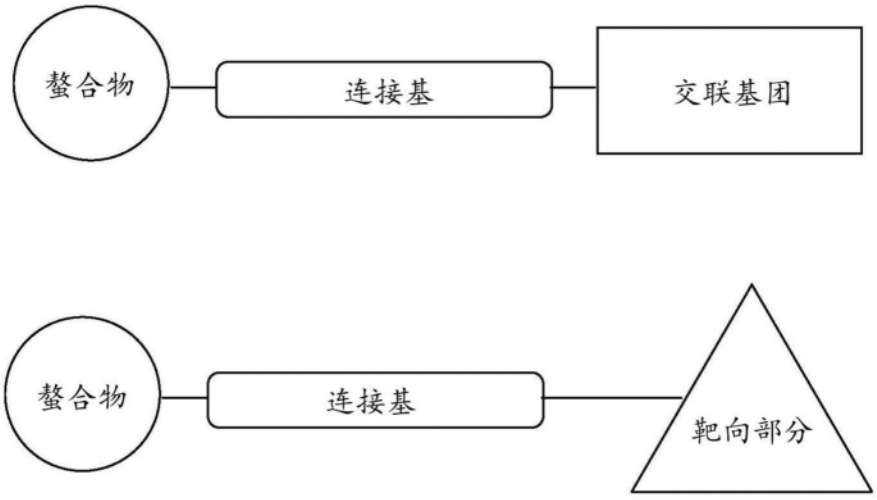


图1A

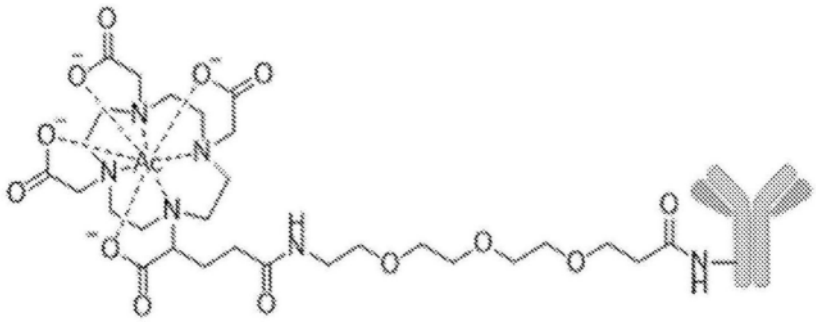


图1B

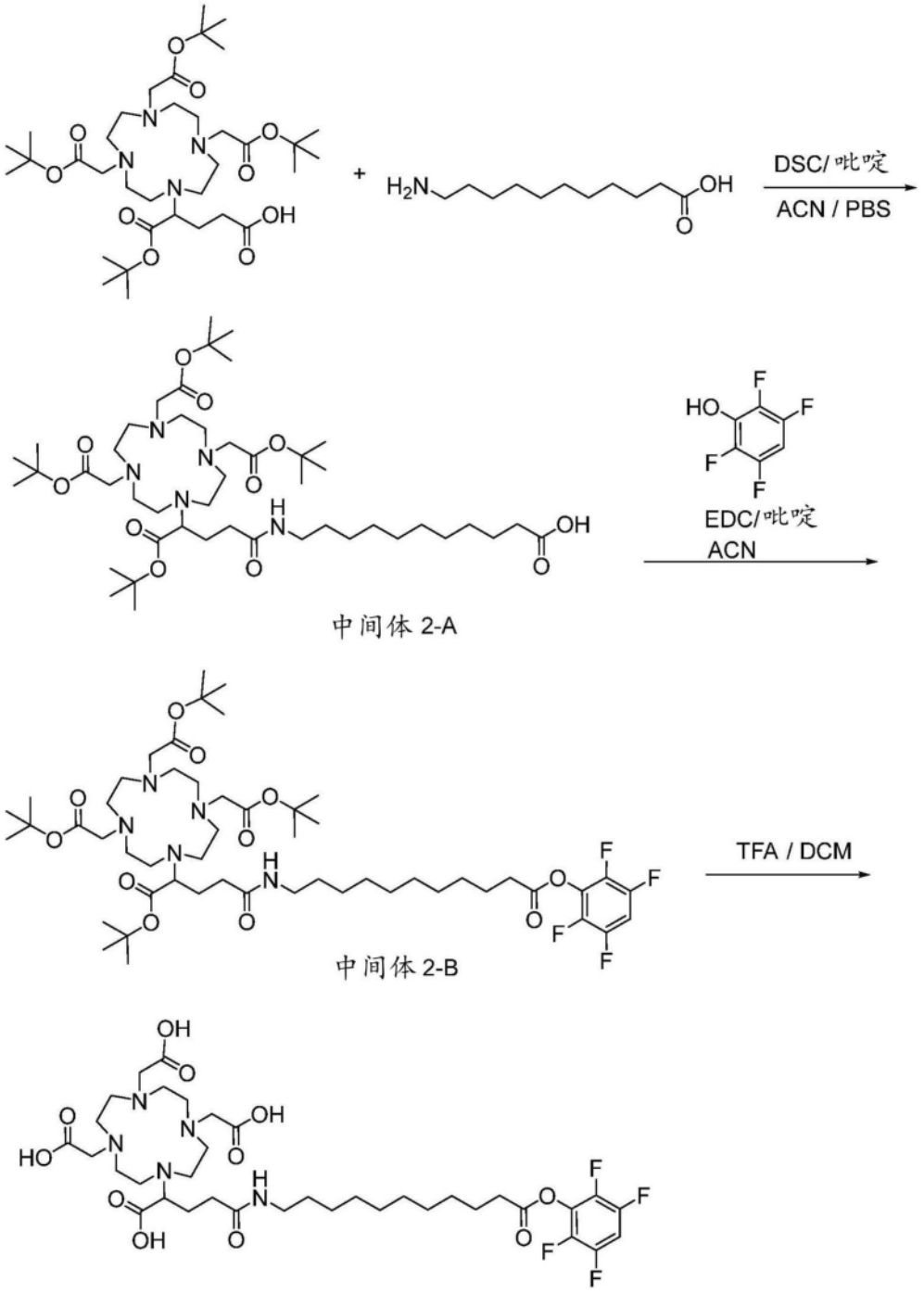


图2

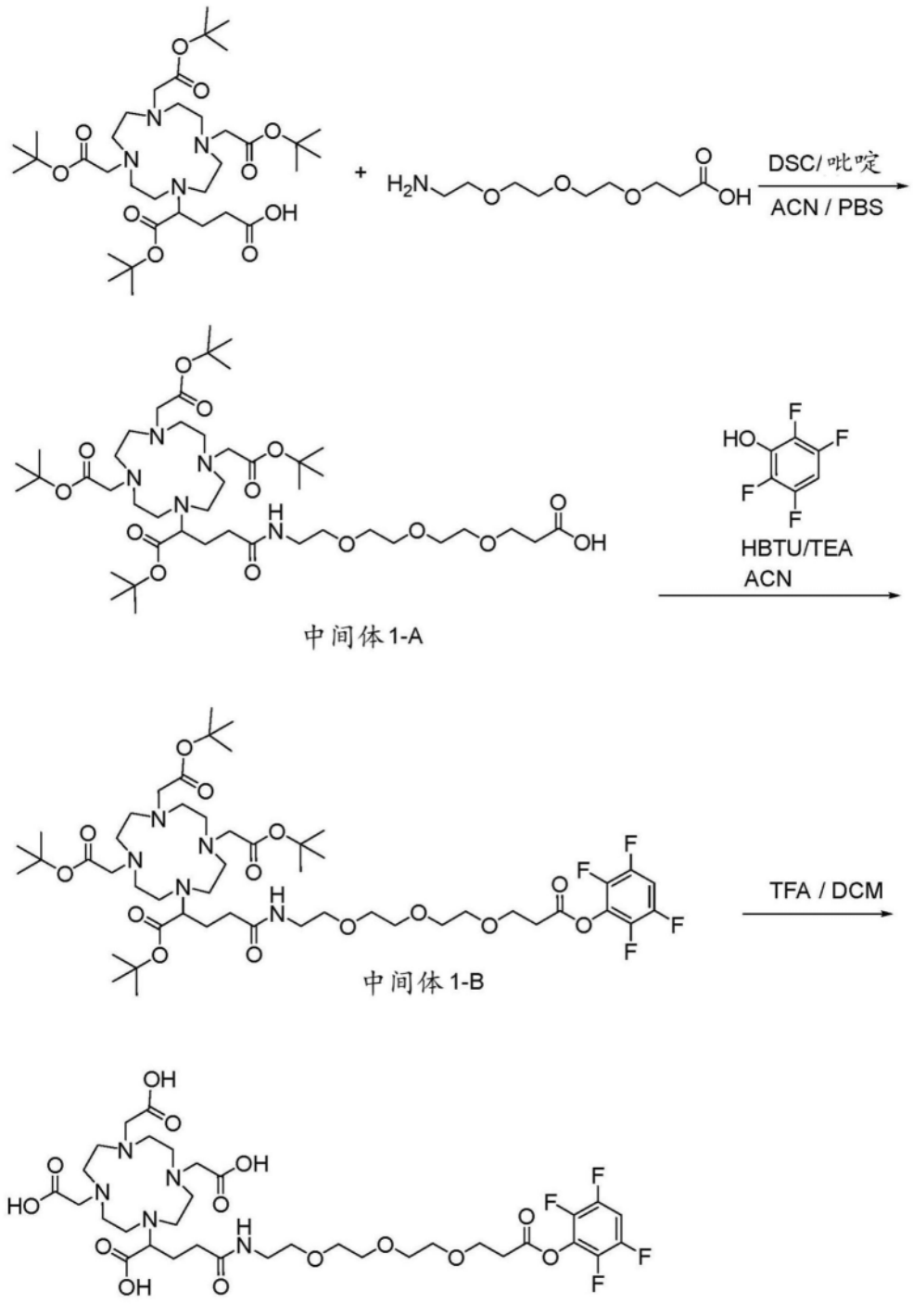


图3

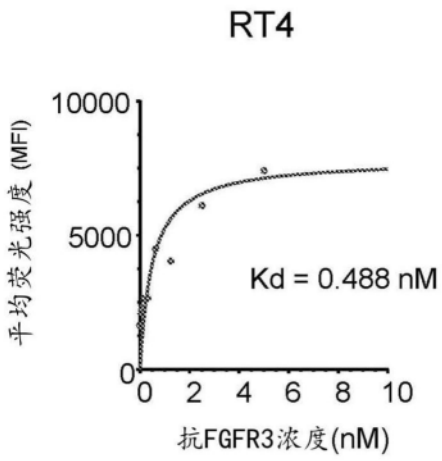

RT4
10000
5000
0
平均荧光强度 (MFI)
Kd = 0.488 nM
0 2 4 6 8 10
抗FGFR3浓度(nM)

图4A

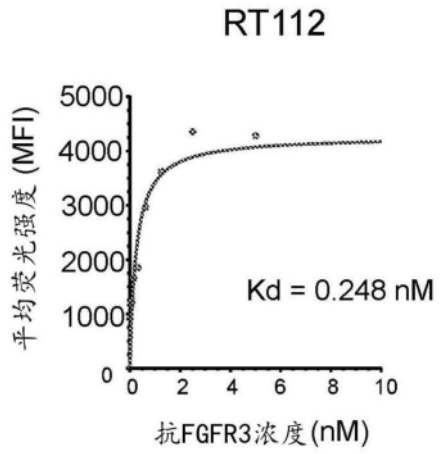

RT112
5000
4000
3000
2000
1000
0
平均荧光强度 (MFI)
Kd = 0.248 nM
0 2 4 6 8 10
抗FGFR3浓度(nM)

图4B

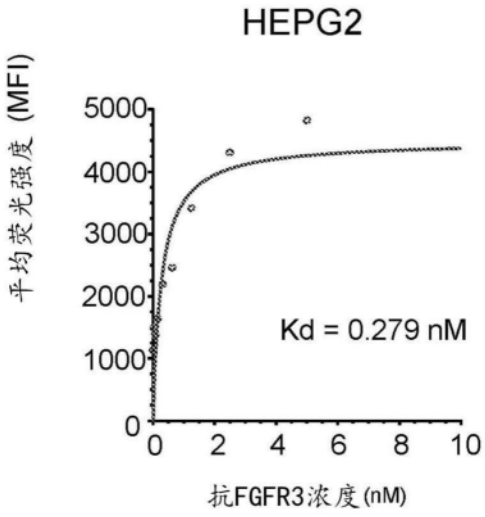

HEPG2
5000
4000
3000
2000
1000
0
平均荧光强度 (MFI)
Kd = 0.279 nM
0 2 4 6 8 10
抗FGFR3浓度(nM)

图4C

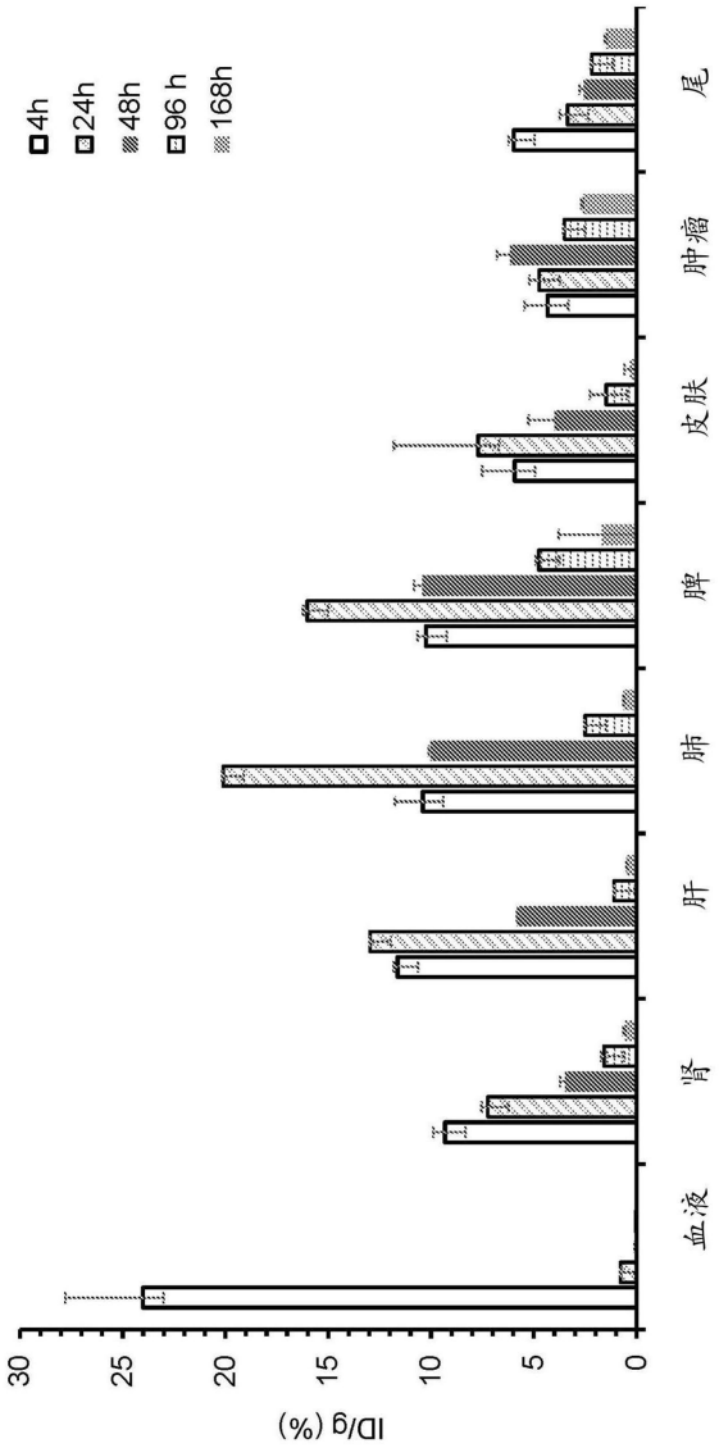


图5

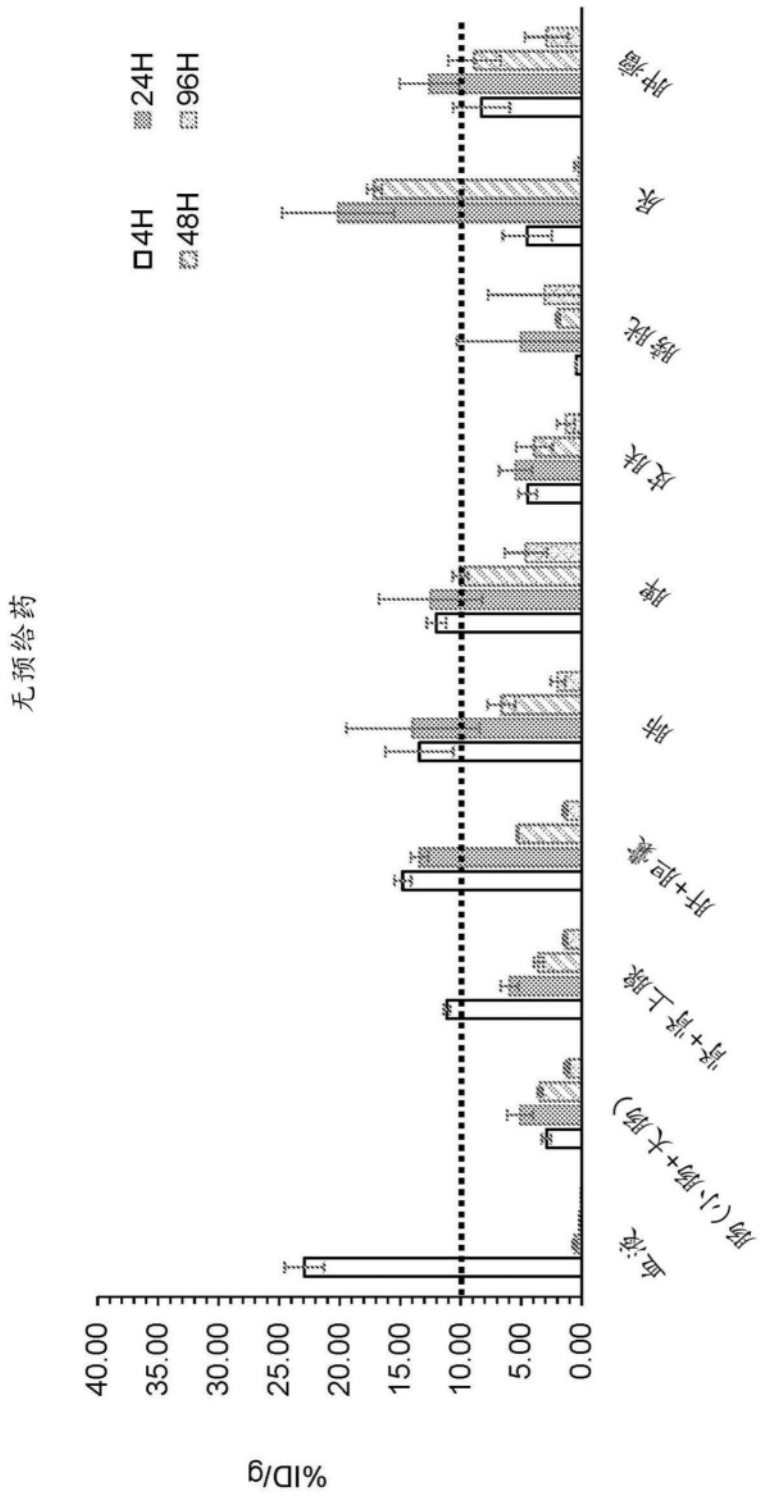

无预给药
%ID/g
40.00
35.00
30.00
25.00
20.00
15.00
10.00
5.00
0.00
4H
24H
48H
96H
血液
肺(小肺+大肺)
肾+肾上腺
肝+胆囊
肝
脾
皮肤
胰脏
尿
肿瘤

图6A

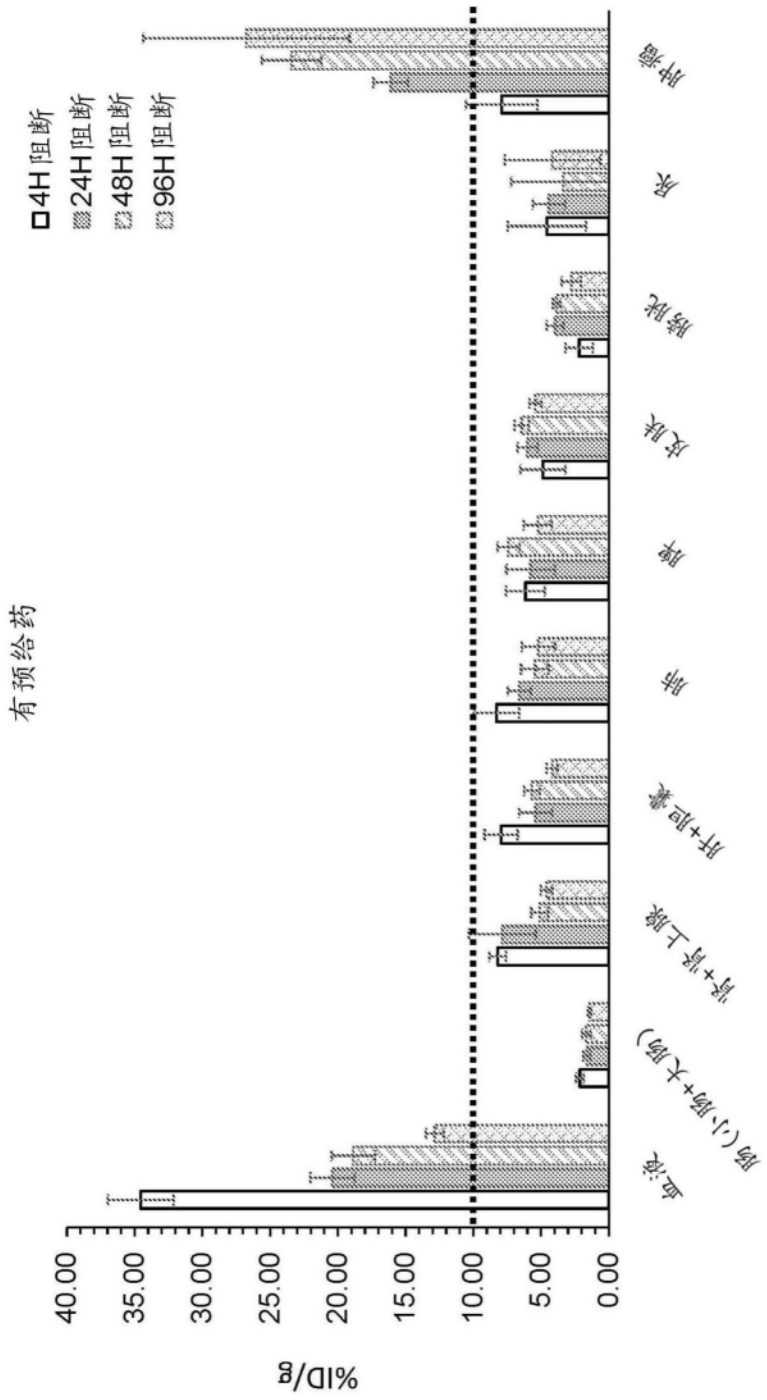

有预给药
4H阻断
24H阻断
48H阻断
96H阻断
%ID/g
40.00
35.00
30.00
25.00
20.00
15.00
10.00
5.00
0.00
血液
肺(小肠+大肠)
肾+肾上腺
肝+胆囊
肺
脾
皮肤
肠胱
尿
肿瘤

图6B

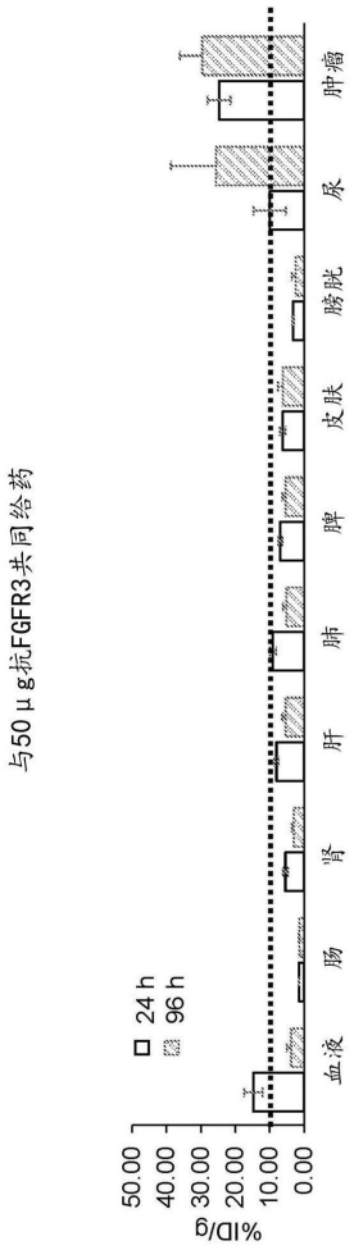

与50 μg抗FGFR3共同给药
%ID/g
50.00
40.00
30.00
20.00
10.00
0.00
24 h
96 h
血液
肠
肾
肝
肺
脾
皮肤
膀胱
尿
肿瘤

图7A

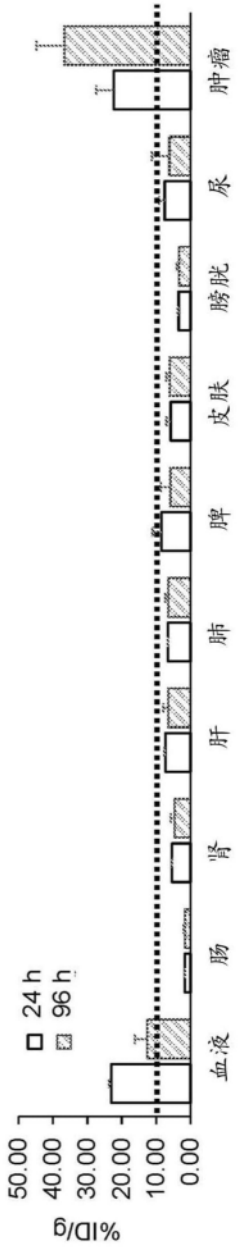

与100 μg抗FGFR3共同给药
%ID/g
50.00
40.00
30.00
20.00
10.00
0.00
24 h
96 h
血液
肠
肾
肝
肺
脾
皮肤
膀胱
尿
肿瘤

图7B

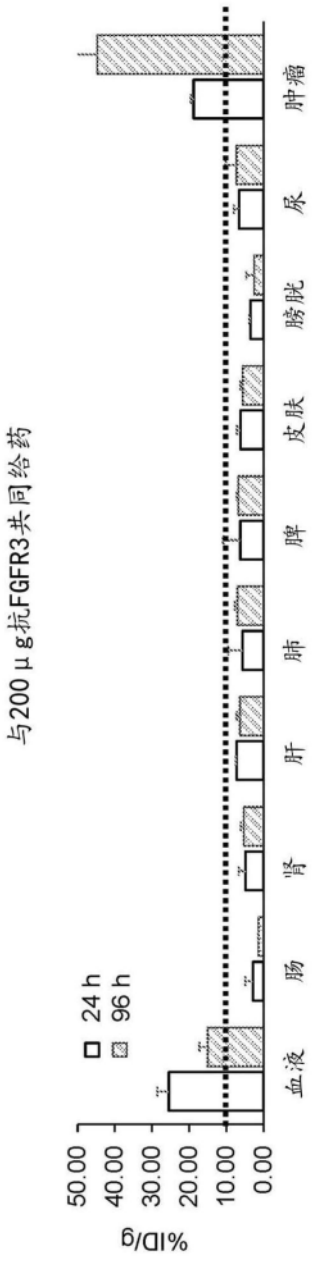

与200 μg抗FGFR3共同给药
%ID/g
50.00
40.00
30.00
20.00
10.00
0.00
24 h
96 h
血液
肠
肾
肝
肺
脾
皮肤
膀胱
尿
肿瘤

图7C

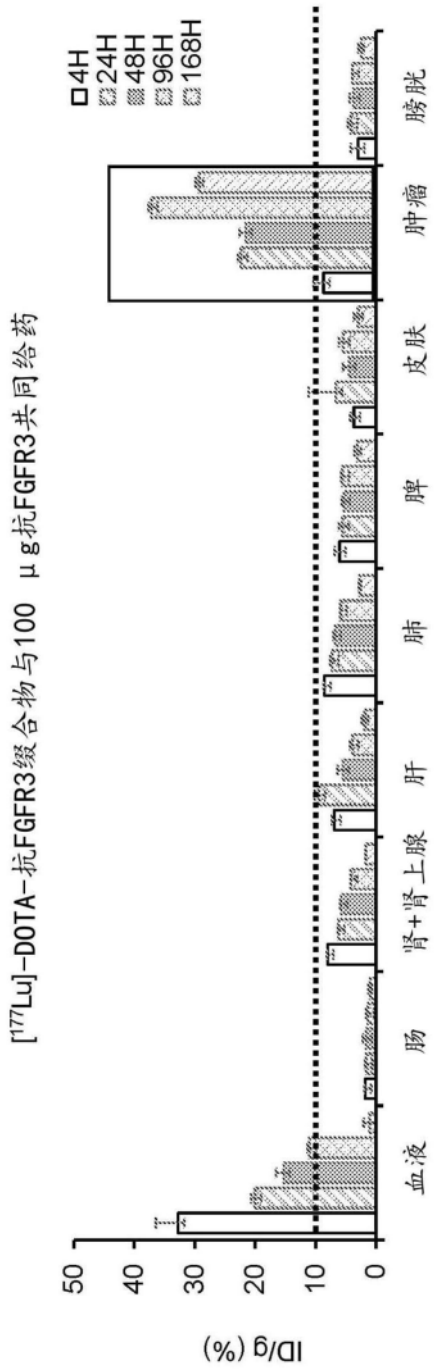

[177Lu]-DOTA-抗FGFR3缀合物与100 μg抗FGFR3共同给药
4H
24H
48H
96H
168H
ID/g (%)
50
40
30
20
10
0
血液
肠
肾+肾上腺
肝
肺
脾
皮肤
肿瘤
膀胱

图8A

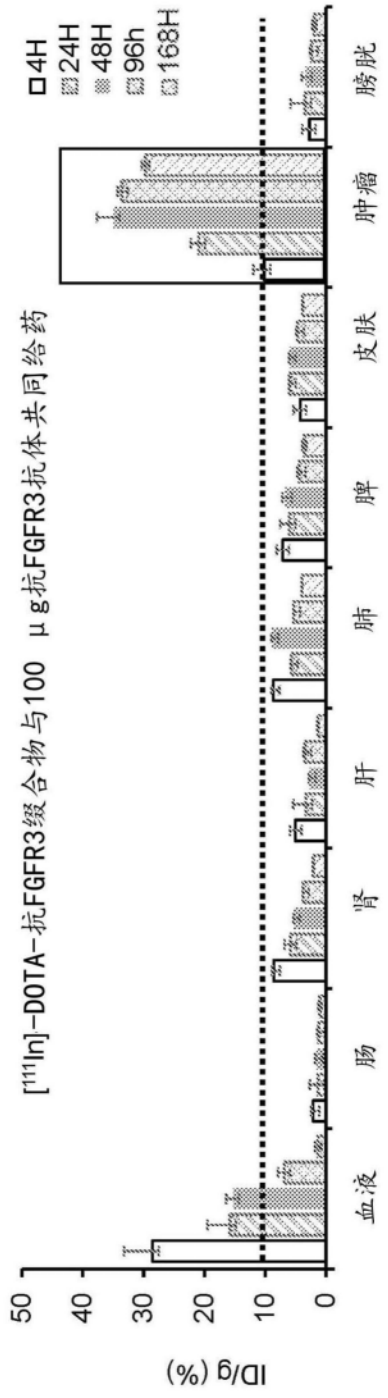

[111In]-DOTA-抗FGFR3缀合物与100 μg抗FGFR3抗体共同给药
4H
24H
48H
96h
168H
ID/g (%)
50
40
30
20
10
0
血液
肠
肾
肝
肺
脾
皮肤
肿瘤
膀胱

图8B

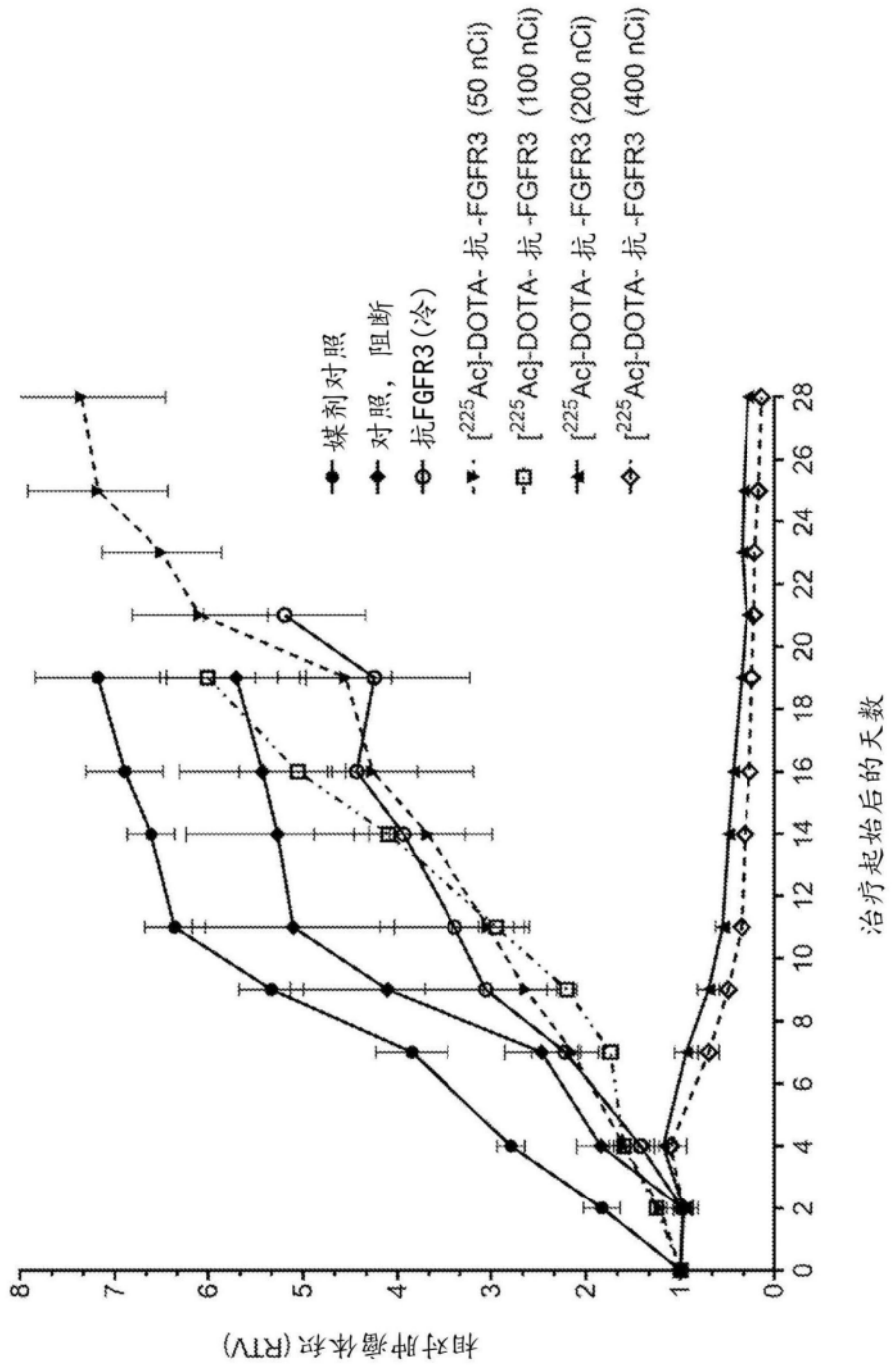

媒剂对照
对照，阻断
抗FGFR3(冷)
[225Ac]-DOTA-抗-FGFR3 (50 nCi)
[225Ac]-DOTA-抗-FGFR3 (100 nCi)
[225Ac]-DOTA-抗-FGFR3 (200 nCi)
[225Ac]-DOTA-抗-FGFR3 (400 nCi)
相对肿瘤体积(RTV)
治疗起始后的天数
0
1
2
3
4
5
6
7
8
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22
24
26
28

图9A

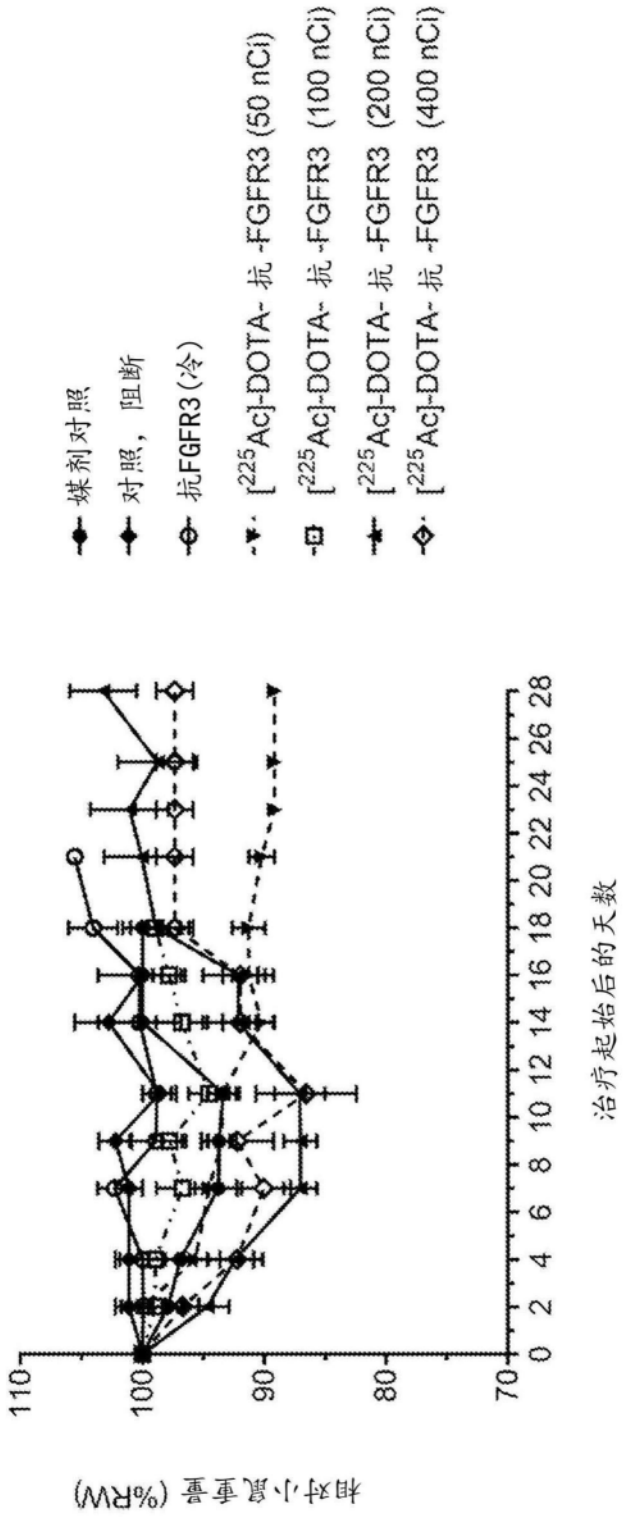

媒剂对照
对照，阻断
抗FGFR3 (冷)
[225Ac]-DOTA- 抗 -FGFR3 (50 nCi)
[225Ac]-DOTA- 抗 -FGFR3 (100 nCi)
[225Ac]-DOTA- 抗 -FGFR3 (200 nCi)
[225Ac]-DOTA- 抗 -FGFR3 (400 nCi)
相对小鼠重量 (%RW)
110
100
90
80
70
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28
治疗起始后的天数

图9B

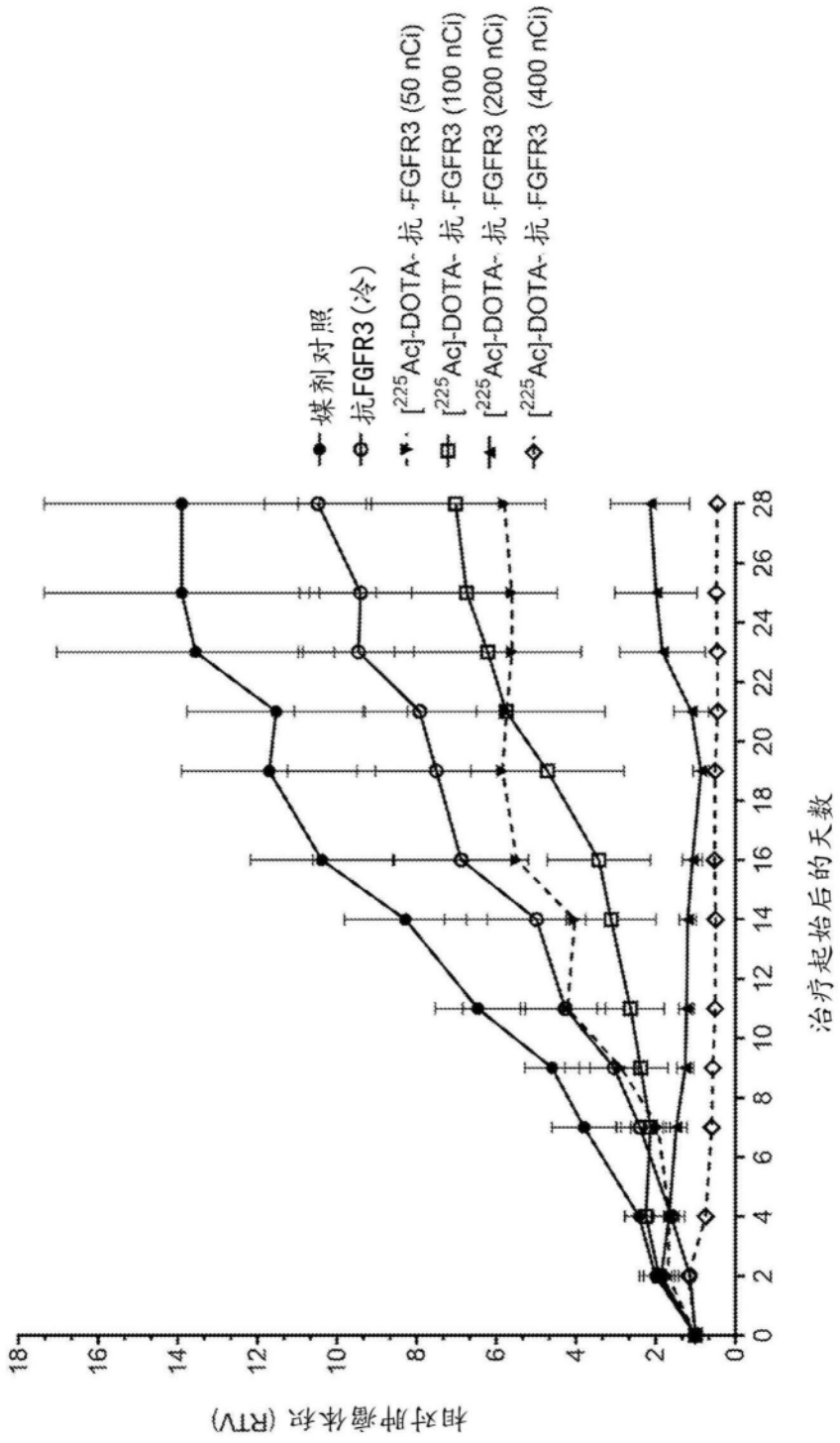

媒剂对照
抗FGFR3 (冷)
[225Ac]-DOTA-抗-FGFR3 (50 nCi)
[225Ac]-DOTA-抗-FGFR3 (100 nCi)
[225Ac]-DOTA-抗-FGFR3 (200 nCi)
[225Ac]-DOTA-抗-FGFR3 (400 nCi)
相对肿瘤体积 (RTV)
治疗起始后的天数
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22
24
26
28

图10A

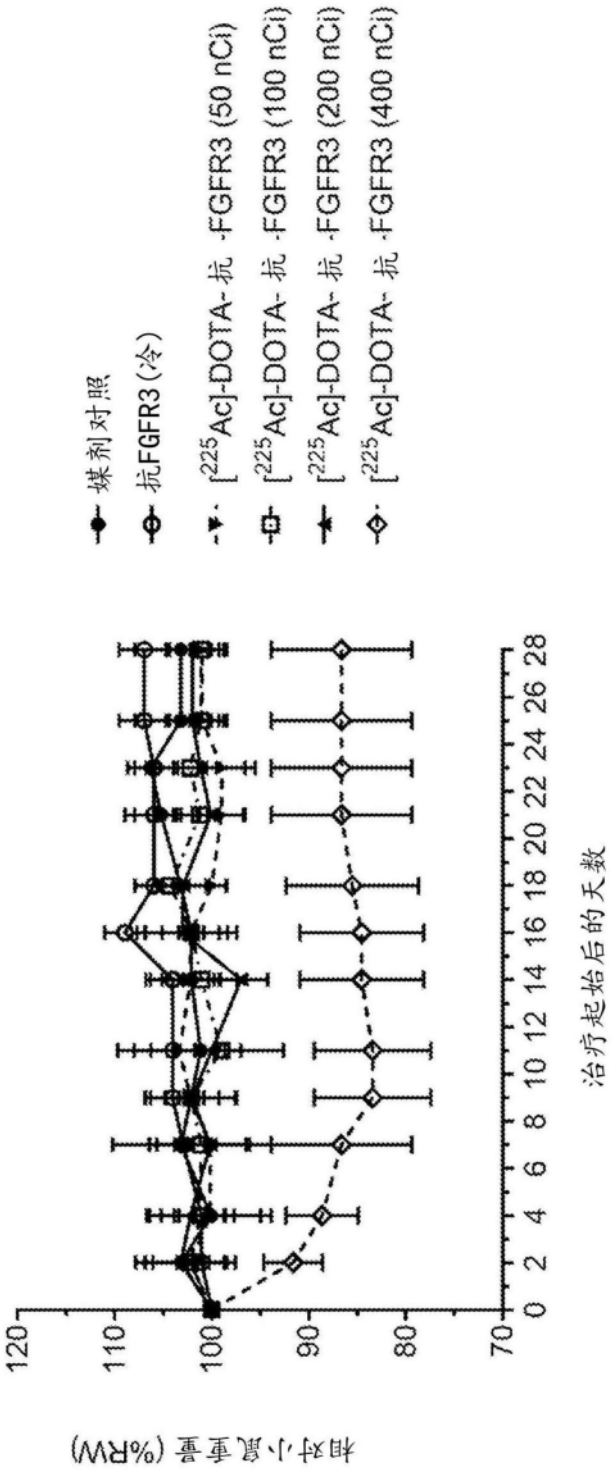

媒剂对照
抗FGFR3 (冷)
[225Ac]-DOTA-抗 -FGFR3 (50 nCi)
[225Ac]-DOTA- 抗 -FGFR3 (100 nCi)
[225Ac]-DOTA- 抗 -FGFR3 (200 nCi)
[225Ac]-DOTA- 抗 -FGFR3 (400 nCi)
相对小鼠重量 (%RW)
120
110
100
90
80
70
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28
治疗起始后的天数

图10B