



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 117295527 A

(43) 申请公布日 2023. 12. 26

(21) 申请号 202280034211.X

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

(22) 申请日 2022.05.17

专利代理师 陈桢

(30) 优先权数据

(51) Int.Cl.

63/189,503 2021.05.17 US

A61K 47/68 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.11.09

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2022/029533 2022.05.17

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2022/245757 EN 2022.11.24

(71) 申请人 拜奥海芬治疗学有限公司

地址 美国康涅狄格州

(72) 发明人 W·凯兹米尔斯基 R·普拉西托

权利要求书4页 说明书33页

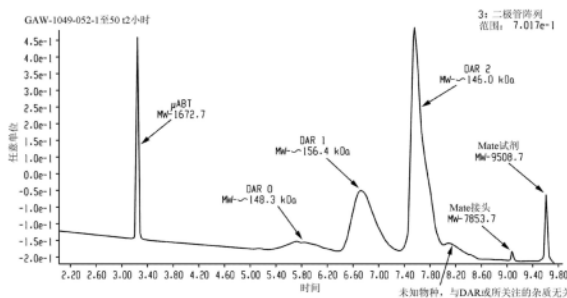
序列表2页 附图6页

(54) 发明名称

包含缀合的疗法增强剂的组合物

(57) 摘要

一种组合物包含第一化合物,所述第一化合物具有结构P-N-L^{PM}-MOI,其中P-N是包括赖氨酸残基的蛋白药剂部分,L^{PM}是接头,并且MOI是所关注部分,以及第二化合物,所述第二化合物具有结构LG-OH,其中LG是包括与靶药剂结合的靶结合部分的基团。



每个L独立地是共价键、或二价任选地经取代的直链或支链 C_{1-100} 基团,所述基团包括一个或多个脂肪族部分、芳基部分、各自独立地具有1-20个杂原子的杂脂肪族部分、各自独立地具有1-20个杂原子的杂芳香族部分或此类部分中的任何一个或多个的任何组合,其中所述基团的一个或多个亚甲基单元任选地且独立地被以下替代: C_{1-6} 亚烷基、 C_{1-6} 亚烯基、具有1-5个杂原子的二价 C_{1-6} 杂脂肪族基团、 $-C\equiv C-$ 、 $-Cy-$ 、 $-C(R')_2-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S-S-$ 、 $-N(R')-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(NR')-$ 、 $-C(O)N(R')-$ 、 $-C(O)C(R')_2N(R')-$ 、 $-N(R')C(O)N(R')-$ 、 $-N(R')C(O)O-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2N(R')-$ 、 $-C(O)S-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-P(O)(OR')$ 、 $-P(O)(SR')$ 、 $-P(O)(R')$ 、 $-P(O)(NR')$ 、 $-P(S)(OR')$ 、 $-P(S)(SR')$ 、 $-P(S)(R')$ 、 $-P(S)(NR')$ 、 $-P(R')$ 、 $-P(OR')$ 、 $-P(SR')$ 、 $-P(NR')$ 、氨基酸残基或 $[-(O-C(R')_2-C(R')_2)_n]-$,其中n是1-20;

每个R'独立地是 $-R$ 、 $-C(O)R$ 、 $-CO_2R$ 或 $-SO_2R$;

每个R独立地是 $-H$,或任选地经取代的基团,所述基团选自 C_{1-30} 脂肪族、具有1-10个杂原子的 C_{1-30} 杂脂肪族、 C_{6-30} 芳基、 C_{6-30} 芳基脂肪族、具有1-10个杂原子的 C_{6-30} 芳基杂脂肪族、具有1-10个杂原子的5-30元杂芳基和具有1-10个杂原子的3-30元杂环基,或者

两个R基团任选地且独立地一起形成共价键,或者:

同一原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与所述原子一起形成除所述原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-30元单环、双环或多环;或者

两个或更多个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与其中间原子一起形成除所述中间原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-30元单环、双环或多环。

4. 根据权利要求1或2所述的组合物,其中LG是或包括与靶药剂结合的靶结合部分,其中所述靶药剂是抗体药剂。

5. 根据权利要求3所述的组合物,其中LG是或包括与Fc区结合的靶结合部分,和/或 R^{LG} 是或包括DCAWXLGELVWCT (SEQ ID NO:1),其中两个半胱氨酸残基任选地形成二硫键,并且X是氨基酸残基。

6. 根据权利要求3所述的组合物,其中满足以下条件中的至少一项:

- (a) 所述所关注部分是或包括治疗剂;
- (b) 所述所关注部分是或包括能够与蛋白质、核酸或细胞结合的部分;和/或
- (c) 所述所关注部分是或包括适于生物正交反应的反应性部分。

7. 根据权利要求1或2所述的组合物,其中LG是或包括具有说明书中所示的式A-1至A-50的结构靶结合部分。

8. 根据权利要求1或2所述的组合物,其中MOI是或包括治疗剂部分和/或MOI是或包括抗体药剂。

9. 根据权利要求1所述的组合物,其中 L^{LM} 包括一个或多个 $-(CH_2)_n-O)_m-$,其中每个n独立地是1-20,并且m是1-100。

10. 根据权利要求2所述的组合物,其中 L^{RM} 所述接头包括一个或多个 $-(CH_2)_n-O)_m-$,其中每个n独立地是1-20,并且m是1-100。

11. 根据权利要求1或2所述的组合物,其中RG是式 $-L^{LG2}$ 、 $-L^{LG2}-L^{LG3}$ 、 $-L^{LG4}$ 、 $-L^{RG1}$ 或 $-L^{RG1}-L^{RG2}$ 的基团,其中

L^{LG2} 是 $-NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-(CH_2)_n-NHC(O)-$ 、 $-(CH_2)_n-OC(O)-$ 、 $-(CH_2)_n-OC(O)NH-$ 、 $-C(O)-NHCH_2-$ 、 $-C(O)-NHCH_2CH_2-$ 、 $-C(O)O-CH_2-$ 或 $-NH-C(O)O-CH_2-$;

L^{LG3}是任选地经取代的芳基环；

L^{LG4}是键、-NH-或-O-；

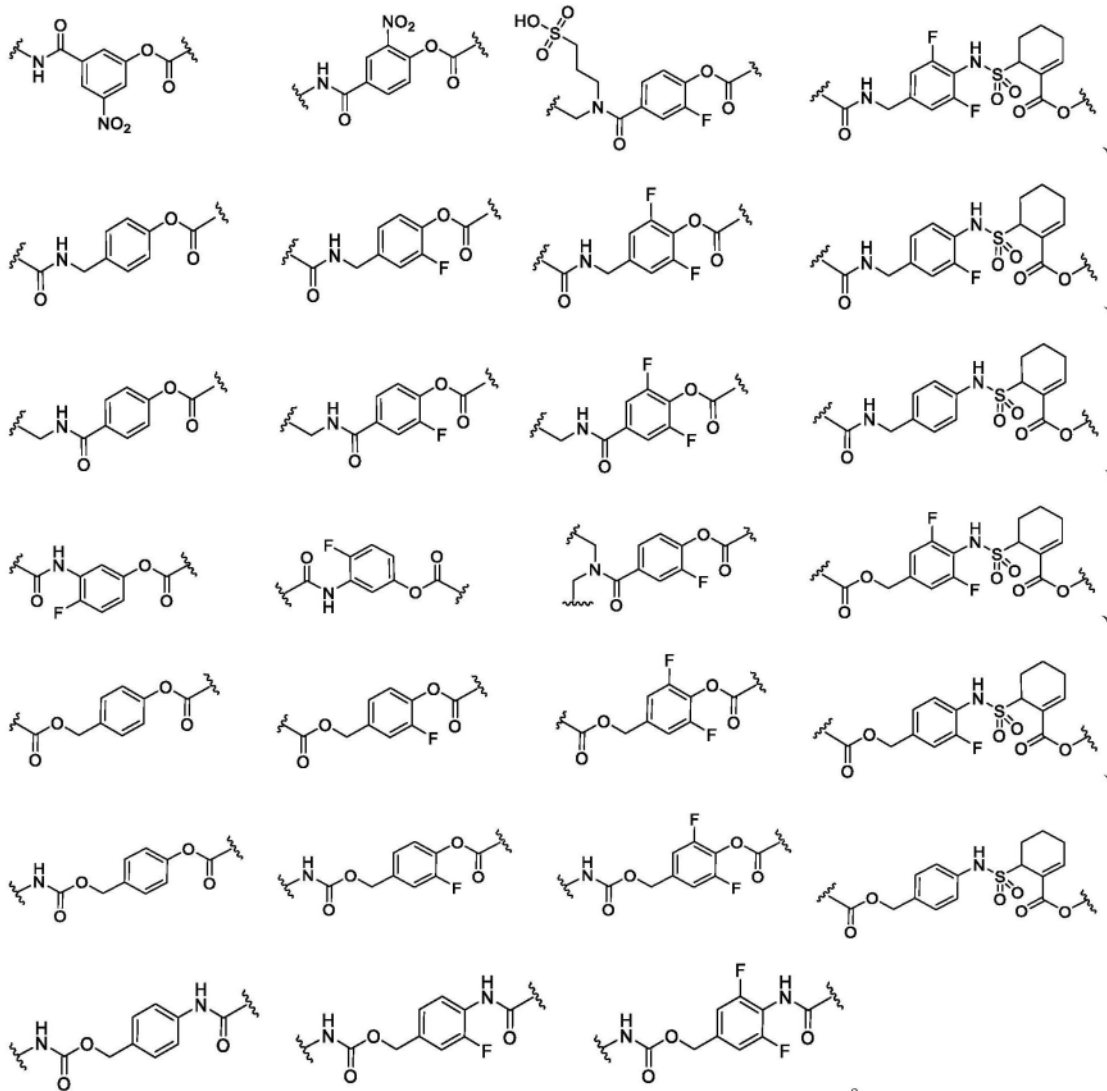
L^{RG1}是-O-C(O)-、-C(O)-、-S(O)-、-OS(O)₂-或-OP(O)(OR)-；

L^{RG2}是-CH₂-C(O)-、-C(O)-或-CH₂-；

L^{LG}是-(O)C-[(CH₂)_nO]_m(CH₂)_nNH-、-(O)C-[(CH₂)_nO]_m(CH₂)_nNH-、
 -[(CH₂)_nO]_mNHC(O)[(CH₂)_nO]_mNH-、-[(CH₂)_nO]_m{NHC(O)[(CH₂)_nO]_m}_pNH-、
 -[(CH₂)_nO]_mCy[(CH₂)_nO]_mNH-、-[(CH₂)_nO]_mCy[(CH₂)_nO]_mNHC(O)[(CH₂)_nO]_mNH-或
 -[(CH₂)_nO]_mCy[(CH₂)_nO]_m{NHC(O)[(CH₂)_nO]_m}_pNH-，

其中n、m和p在每次出现时是独立地选自1-12的整数，并且Cy是任选地经取代的环状基团。

12. 根据权利要求11所述的组合物，其中RG是式-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-L^{RG1}的基团，并且选自：



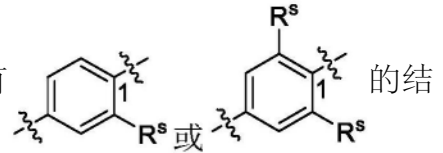
13. 根据权利要求11所述的组合物，其中n在每次出现时是2。

14. 根据权利要求11所述的组合物，其中所述反应性基团是或包括-C(O)-O-或-O-C(O)-。

15. 根据权利要求11所述的组合物，其中所述反应性基团包括芳基，所述芳基任选地

与-C(O)-O-或-O-C(O)-键合,并且被一个或多个吸电子基团取代。

16. 根据权利要求11所述的组合物,其中所述芳基具有



的结
构,其中 R^s 在每次出现时独立地选自卤素、 $-NO_2$ 、 $-F$ 、 $-L-R'$ 、 $-C(O)-L-R'$ 、 $-S(O)-L-R'$ 、 $-S(O)_2-L-R'$ 和 $-P(O)(-L-R')_2$,并且 R' 是H或 C_1-C_6 烷基。

17. 根据权利要求2所述的组合物,其中所述第一化合物和所述第二化合物以等摩尔量存在。

18. 根据权利要求2所述的组合物,其中在式(R-I)中:

所述靶药剂是包括包含K246或K248的IgG重链的抗体,并且

所述靶结合部分被配置成结合所述抗体以使所述反应性基团与所述IgG重链的K246或K248接近,从而使得K246或K248与所述反应性基团之间能够发生反应,所述反应引起包括 L^{RM} -MOI的部分与K246或K248连接并将含靶结合部分的基团从所述化合物中排出。

19. 一种组合物,其包括:

第一化合物,所述第一化合物具有式(P-II)的结构:



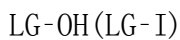
其中:

P-N是包括赖氨酸残基的蛋白药剂部分;

L^{PM} 是接头;并且

MOI是所关注部分;以及以下中的至少一项:

第二化合物,所述第二化合物具有以下结构:



其中LG是包括与靶药剂结合的靶结合部分的基团;以及

第三化合物,所述第三化合物具有式(R-I):



LG是包括与靶药剂结合的靶结合部分的基团,所述基团与式(LG-I)中的LG相同;

RG是反应性基团;

L^{RM} 是接头,所述接头与式(P-II)中的接头相同;并且

MOI是所关注部分。

20. 根据权利要求19所述的组合物,其进一步包括:

第四化合物,所述第四化合物具有式(R-III):



或其组合。

包含缀合的疗法增强剂的组合物

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2021年5月17日提交的申请第63/189,503号的优先权,所述申请特此通过引用整体并入。

技术领域

[0003] 本公开内容涉及可用于预防和/或治疗各种病状、病症或疾病的缀合疗法增强剂。具体地,本公开涉及能够充当疗法增强剂的蛋白缀合物,如抗体-药物缀合物。

背景技术

[0004] 缀合疗法增强剂已经广泛用于预防和/或治疗各种病状、病症和疾病。此类增强剂通常包含治疗活性分子,如抗体,其与对涉及病状、病症或疾病的特定靶标具有亲和力的部分连接。然而,大多数已知的缀合技术并不针对治疗活性分子的特异性位点,并且通常产生缀合物的混合物。仍然需要提供具有高度同质性的反应产物的开发位点特异性缀合技术。

发明内容

[0005] 本公开涉及包含疗法增强剂药剂的组合物,所述疗法增强剂药剂含有在特定位置处与靶药剂部分缀合的所关注部分。

[0006] 在一实施例中,提供了一种组合物,所述组合物包含:

[0007] 第一化合物,所述第一化合物具有式(P-II)的结构:

[0008] $P-N-L^{PM}-MOI$ (P-II)

[0009] 其中:

[0010] P-N是包含赖氨酸残基的蛋白药剂部分;

[0011] L^{PM} 是接头;并且

[0012] MOI是所关注部分;以及

[0013] 第二化合物,所述第二化合物具有以下结构:

[0014] $LG-OH$ (LG-I)

[0015] 其中LG是包含与靶药剂结合的靶结合部分的基团。

[0016] 在另一实施例中,提供了一种组合物,所述组合物进一步包含:

[0017] 第三化合物,所述第三化合物具有式(R-I):

[0018] $LG-RG-L^{RM}-MOI$ (R-I)

[0019] LG是包含与靶药剂结合的靶结合部分的基团,所述基团与式(LG-I)中的LG相同;

[0020] RG是反应性基团;

[0021] L^{RM} 是接头,所述接头与式(P-II)中的接头相同;并且MOI是所关注部分,

[0022] 第四化合物,所述第四化合物具有式(R-III):

[0023] $HO-RG-L^{RM}-MOI$ (R-III)

[0024] 或其组合。

附图说明

[0025] 图1:提供了化合物I-36(与IVIG缀合的MATE试剂I-20)的代表性的UPLC/UV280nm迹线。实例2中给出了UPLC条件。uABT指示通用抗体结合末端,DAR表示药物抗体比率。

[0026] 图2:未缀合的IVIG的UPLC迹线(图2A);MATE杂质汇集的标准品(图2B);以及I-36缀合物(图2C)。

[0027] 图3:uABT、MATE接头和MATE试剂汇集的和单独的杂质的校准曲线。通过实例2中给出的方法制备和分析样品。

具体实施方式

[0028] 提供了以下详细描述以辅助本领域技术人员实践本发明。下文将详细描述示例性实施例。然而,这些实施例仅仅是示例性的,并且本公开不限于此,而是由所附权利要求的范围来定义。在不脱离本公开的精神或范围的情况下,本领域普通技术人员可以对本文所描述的实施例进行修改和改变。

[0029] 因此,以下仅通过参考结构和方案来描述实施例,以解释本说明书的各方面。如本文所使用的,术语“和/或”包含相关联的列举项的一个或多个项的任何和所有组合。术语“或”意指“和/或”。在元件列表之前的表达式,如“其中的至少一个”修饰整个元件列表并且不会修饰列表中的单个元件。

[0030] 将理解,当一个元件被称为“在另一个元件上”时,其可以直接与另一元件接触,或者其间可以存在中间元件。相比之下,当一个元件被称为“直接在”另一个元件上时,不存在中间元件。

[0031] 将理解,尽管术语第一、第二、第三等在本文中可以用于描述各个元件、组件、区域、层和/或部分,但这些元件、组件、区域、层和/或部分不应受到这些术语的限制。这些术语仅用于将一个元件、组件、区域、层或部分与另一个元件、组件、区域、层或部分进行区分。因此,在不脱离本实施例的教导的情况下,下文所讨论的第一元件、组件、区域、层或部分可以被称为第二元件、组件、区域、层或部分。

[0032] 应当理解,当在本说明书中使用时,术语“包括(comprises)”和/或“包括(comprising)”或“包含(includes)”和/或“包含(including)”指定所陈述特征、区域、整数、步骤、操作、元件和/或组件的存在,但不排除存在或者添加一个或多个其它特征、区域、整数、步骤、操作、元件、组件和/或其组。

[0033] 除非另外定义,否则本文所使用的所有技术及科学术语均具有与本公开所属领域的普通技术人员通常所理解的含义相同的含义。本说明书中使用的术语仅用于描述特定实施例,并不旨在进行限制。应进一步理解的是,如常用词典中所定义的术语等那些术语应被解释为具有与其在相关领域的背景下和本公开中的含义一致的含义,并且除非本文中明确地如此定义,否则将不会在理想化的或过度正式的含义上进行解释。

[0034] 如在本申请中使用的,除非本文另有明确规定,否则以下每个术语应具有下文所述的含义。在整个申请中阐述另外定义。在本文中具体定义术语的情况下,本领域普通技术人员向所述术语给定本领域公认的含义,从而针对其在本公开中的适用在上下文中应用所述术语。

[0035] 冠词“一个”和“一种”指代所述冠词的语法对象的一个或多于一个(即,至少一个)

语法对象,除非上下文清楚地另外指明。作为实例,“一个元件”是指一个元件或多于一个元件。

[0036] 如本文所使用的,当没有另外提供具体定义时,术语“经取代的”是指被氘、卤素(-F、-Cl、-Br、-I)、羟基(-OH)、氨基(-NH₂)、羧基(-CO₂H)、经取代的或未经取代的C1-C10胺基团、硝基(-NO₂)、C1-C10烷基、C3-C10环烷基、C6-C12芳基、C1-C10烷氧基、如三氟甲基(-CF₃)等C1至C10三氟烷基或氰基(-CN)而非取代基或化合物的至少一个氢取代的基团。

[0037] 另外的方面将在下面的描述中部分地阐述,并且部分地将从描述中显而易见。

[0038] 可用于制备本公开的药物组合物的起始材料可容易地商购获得或可以由本领域技术人员制备。

[0039] 本公开涉及包含疗法增强剂药剂的组合物,所述疗法增强剂药剂含有在特定位置处与靶药剂部分缀合的所关注部分。

[0040] 在一实施例中,提供了一种组合物,所述组合物包含:

[0041] 第一化合物,所述第一化合物具有式(P-II)的结构:

[0042] P-N-L^{PM}-MOI (P-II)

[0043] 其中:

[0044] P-N是包含赖氨酸残基的蛋白药剂部分;

[0045] L^{PM}是接头;并且

[0046] MOI是所关注部分;以及

[0047] 第二化合物,所述第二化合物具有以下结构:

[0048] LG-OH (LG-I)

[0049] 其中LG是包含与靶药剂结合的靶结合部分的基团。

[0050] 在另一实施例中,提供了一种组合物,所述组合物进一步包含:

[0051] 第三化合物,所述第三化合物具有式(R-I):

[0052] LG-RG-L^{RM}-MOI (R-I)

[0053] LG是包含与靶药剂结合的靶结合部分的基团,所述基团与式(LG-I)中的LG相同;

[0054] RG是反应性基团;

[0055] L^{RM}是接头,所述接头与式(P-II)中的接头相同;并且

[0056] MOI是所关注部分。

[0057] 第四化合物,所述第四化合物具有式(R-III):

[0058] HO-RG-L^{RM}-MOI (R-III)

[0059] 或其组合。

[0060] 具有式(P-II)、(LG-I)、(R-I)和(R-III)的结构的上述化合物在于2020年11月18日提交的国际申请第PCT/US20/61127号中进行了详细描述,所述国际申请通过引用整体并入本文。

[0061] 靶标

[0062] 本领域技术人员在阅读本公开之后将理解本文所提供的技术可用于将各种靶药剂与许多类型的所关注部分缀合。在一些实施例中,所提供的技术对于将蛋白药剂与各种所关注部分缀合特别有用。在一些实施例中,靶药剂是或包含蛋白药剂、核酸或其组合。

[0063] 在一些实施例中,靶药剂是或包含蛋白药剂。在一些实施例中,靶药剂是蛋白药

剂。在一些实施例中,靶药剂是细胞、组织、器官或生物体中的天然蛋白质。在一些实施例中,靶药剂是内源性蛋白。在一些实施例中,靶药剂是外源性蛋白。在一些实施例中,靶药剂是制造的蛋白质,例如使用各种生物技术产生的蛋白质。在一些实施例中,靶药剂是抗体药剂。在一些实施例中,靶药剂是可用于治疗剂的抗体。各种此类抗体在本领域中是已知的并且可以用作靶药剂。在一些实施例中,抗体是单克隆抗体。在一些实施例中,抗体是多克隆抗体。在一些实施例中,抗体是IgG抗体。在一些实施例中,抗体是IVIG(在一些实施例中,从健康供体汇集)。在一些实施例中,蛋白质包含Fc区。在一些实施例中,抗体包含Fc区。在一些实施例中,Fc区包含单个重链或其片段。在一些实施例中,Fc区包含两个重链或其片段。在一些实施例中,抗体是人抗体。在一些实施例中,抗体是嵌合抗体。在一些实施例中,抗体是人源化抗体。在一些实施例中,抗体是小鼠抗体。

[0064] 在一些实施例中,当表征多克隆抗体药剂或IVIG药剂时,在缀合之前、期间或之后进行消化,例如使用IdeZ、IdeS等的酶消化,使得去除抗体(例如,Fab)的某些区以提供具有用于表征的改进的均匀性的组合物(例如,通过MS)。

[0065] 在一些实施例中,抗体是治疗性抗体,例如FDA批准的用于治疗用途的抗体。在一些实施例中,治疗性抗体可用于治疗癌症。在一些实施例中,抗体是阿达木单抗(adalimumab)、阿仑单抗(alemtuzumab)、阿特朱单抗(atezolizumab)、阿维鲁单抗(avelumab)、伊匹单抗(ipilimumab)、西妥昔单抗(cetuximab)、达土木单抗(daratumumab)、地努图希单抗(dinutuximab)、埃罗妥珠单抗(elotuzumab)、替伊莫单(ibritumomab tiuxetan)、伊马曲单抗(imgatuzumab)、英利昔单抗(infliximab)、易普利姆玛(ipilimumab)、妥珠单抗(necitumumab)、奥比努单抗(obinutuzumab)、奥法木单抗(ofatumumab)、帕妥珠单抗(pertuzumab)、瑞替珠单抗(reslizumab)、利妥昔单抗(rituximab)、曲妥珠单抗(trastuzumab)、莫加木珠单抗(mogamulizumab)、AMP-224、FS-102、GSK-2857916、ARGX-111、ARGX-110、AFM-13、APN-301、BI-836826、BI-836858、依诺珠单抗(enoblituzumab)、奥特乐单抗(otlertuzumab)、维妥珠单抗(veltuzumab)、KHK-4083、BIW-8962、ALT-803、卡罗妥昔单抗(carotuximab)、依帕珠单抗(epratuzumab)、英特单抗(inebilizumab)、艾沙妥昔单抗(isatuximab)、玛格图单抗(margetuximab)、MOR-208、奥卡拉单抗(ocaratumumab)、他拉库珠单抗(talacotuzumab)、曲美木单抗(tremelimumab)、贝那利珠单抗(benralizumab)、鲁昔单抗(lumiliximab)、MOR-208、伊巴妥珠单抗(Ifibatumumab)、GSK2831781、SEA-CD40、KHK-2823或BI836858。在一些实施例中,抗体是利妥昔单抗、巴西利昔单抗(basiliximab)、英利昔单抗、西妥昔单抗、司妥昔单抗(siltuximab)、地努图希单抗、交替妥昔单抗(altertoxinaximab)、达利珠单抗(daclizumab)、帕利珠单抗(palivizumab)、曲妥珠单抗(trastuzumab)、阿仑单抗、奥马珠单抗(omalizumab)、依法珠单抗(efalizumab)、贝伐单抗(bevacizumab)、那他珠单抗(natalizumab)、托珠单抗(tocilizumab)、依库丽单抗(eculizumab)、莫加木珠单抗、帕妥珠单抗(pertuzumab)、奥比努单抗(obinutuzumab)、维多珠单抗(vedolizumab)、派姆单抗(pembrolizumab)、美泊利单抗(mepolizumab)、埃罗妥珠单抗(elotuzumab)、达土木单抗、伊克珠单抗(ixekizumab)、瑞替珠单抗(reslizumab)和阿特珠单抗、阿达木单抗(adalimumab)、帕尼单抗(panitumumab)、戈利木单抗(golimimumab)、乌司奴单抗(ustekinumab)、康纳单抗(canakinumab)、奥法木单抗、地诺单抗(denosumab)、伊匹单抗、

贝利单抗 (belimumab)、瑞西巴库单抗 (raxibacumab)、雷莫芦单抗 (ramucirumab)、纳武单抗 (nivolumab)、苏金单抗 (secukinumab)、依伏库单抗 (evolocumab)、阿利库单抗 (alirocumab)、耐昔妥珠单抗 (necitumumab)、布罗达鲁单抗 (brodalumab) 或奥拉曲单抗 (olaratumab)。在一些实施例中,抗体是达土木单抗。在一些实施例中,抗体是西妥昔单抗。在一些实施例中,所提供的包含抗体药剂部分的化合物或药剂可用于治疗可以由抗体药剂治疗的病状、病症或疾病。

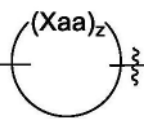
[0066] 可以根据本公开以多种技术制备抗体。在一些实施例中,与天然免疫球蛋白相比,抗体可以具有工程化结构。在一些实施例中,抗体可以包含用于纯化、鉴定、评估等的某些标签。在一些实施例中,抗体可以含有片段(例如,CDR和/或Fc等)而不是完整的免疫球蛋白。本领域技术人员理解,当在本公开中叙述抗体的位点时(例如,K246、K248、K288、K290、K317等;除非另有说明,按照EU编号的人抗体),氨基酸残基可以不在确切编号的位点处,但可以在与按例如EU编号和/或序列同源性(例如,相同或不同物种的同源物)的所述编号位点相对应的位点处。

[0067] 如本领域技术人员将理解的,除其它外,所提供的技术可以提供与天然靶标例如天然抗体的定向缀合。在一些实施例中,靶药剂是或包含天然抗体药剂。在一些实施例中,靶药剂是或包含工程化的抗体药剂。在一些实施例中,靶药剂,例如抗体不包含工程化的非天然氨基酸残基。

[0068] 靶结合部分

[0069] 在式(LG-I)和(R-I)的一些实施例中:

[0070] LG是 $R^{LG}-L^{LG}$;

[0071] R^{LG} 是 $(R^c)_t$  $R^c - (Xaa)_z$ - 核酸部分或小分子部分;

[0072] 每个Xaa独立地是氨基酸或氨基酸类似物的残基;

[0073] t是0-50;

[0074] z是1-50;

[0075] 每个 R^c 独立地是 $-L^a-R'$;

[0076] 每个 L^a 独立地是共价键、或选自具有1-5个杂原子的 C_1-C_{20} 脂肪族或 C_1-C_{20} 杂脂肪族的任选地经取代的二价基团,其中所述基团的一个或多个亚甲基单元任选地且独立地被以下替代: $-C(R')$ ₂、 $-Cy-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S-S-$ 、 $-N(R')$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(NR')$ 、 $-C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)O-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)$ ₂、 $-S(O)$ ₂ $N(R')$ 、 $-C(O)S-$ 或 $-C(O)O-$;

[0077] 每个 $-Cy-$ 独立地是任选地经取代的二价单环、双环或多环基团,其中每个单环独立地选自 C_{3-20} 脂环族环、 C_{6-20} 芳基环、具有1-10个杂原子的5-20元杂芳基环和具有1-10个杂原子的3-20元杂环基环;

[0078] L^{LG} 是 $-L^{LG1}-$ 、 $-L^{LG1}-L^{LG2}-$ 、 $-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-$ 或 $-L^{LG1}-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-$;

[0079] RG 是 $-L^{RG1}-L^{RG2}-$ 、 $-L^{LG4}-L^{RG1}-L^{RG2}-$ 、 $-L^{LG3}-L^{LG4}-L^{RG1}-L^{RG2}-$ 或 $-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-L^{RG1}-L^{RG2}-$;

[0080] L^{LG1} 、 L^{LG2} 、 L^{LG3} 、 L^{LG4} 、 L^{RG1} 、 L^{RG2} 和 L^{RM} 中的每一个独立地是L;

[0081] 每个L独立地是共价键、或二价任选地经取代的直链或支链 C_{1-100} 基团,所述基团包

含一个或多个脂肪族部分、芳基部分、各自独立地具有1-20个杂原子的杂脂肪族部分、各自独立地具有1-20个杂原子的杂芳香族部分或此类部分中的任何一个或多个的任何组合,其中所述基团的一个或多个亚甲基单元任选地且独立地被以下替代: C_{1-6} 亚烷基、 C_{1-6} 亚烯基、具有1-5个杂原子的二价 C_{1-6} 杂脂肪族基团、 $-C\equiv C-$ 、 $-Cy-$ 、 $-C(R')_2-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S-S-$ 、 $-N(R')$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(NR')$ 、 $-C(O)N(R')$ 、 $-C(O)C(R')_2N(R')$ 、 $-N(R')C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)O-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2N(R')$ 、 $-C(O)S-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-P(O)(OR')$ 、 $-P(O)(SR')$ 、 $-P(O)(R')$ 、 $-P(O)(NR')$ 、 $-P(S)(OR')$ 、 $-P(S)(SR')$ 、 $-P(S)(R')$ 、 $-P(S)(NR')$ 、 $-P(R')$ 、 $-P(OR')$ 、 $-P(SR')$ 、 $-P(NR')$ 、氨基酸残基或 $[-(O-C(R')_2-C(R')_2)_n]-$,其中n是1-20;

[0082] 每个R'独立地是-R、 $-C(O)R$ 、 $-CO_2R$ 或 $-SO_2R$;

[0083] 每个R独立地是-H,或任选地经取代的基团,所述基团选自 C_{1-30} 脂肪族、具有1-10个杂原子的 C_{1-30} 杂脂肪族、 C_{6-30} 芳基、 C_{6-30} 芳基脂肪族、具有1-10个杂原子的 C_{6-30} 芳基杂脂肪族、具有1-10个杂原子的5-30元杂芳基和具有1-10个杂原子的3-30元杂环基,或者

[0084] 两个R基团任选地且独立地一起形成共价键,或者:

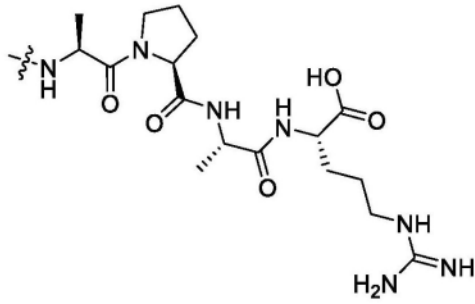
[0085] 同一原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与所述原子一起形成除所述原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-30元单环、双环或多环;或者

[0086] 两个或更多个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与其中间原子一起形成除所述中间原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-30元单环、双环或多环。

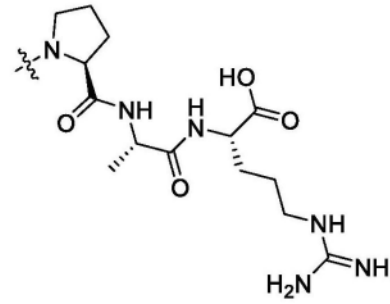
[0087] 在一些实施例中,LG是或包含与靶药剂结合的靶结合部分,其中所述靶药剂是抗体药剂。

[0088] 在一些实施例中,LG是或包含与Fc区结合的靶结合部分,和/或 R^{LG} 是或包含DCAWXLGELVWCT(SEQ ID NO:1),其中两个半胱氨酸残基任选地形成二硫键,并且X是氨基酸残基。

[0089] 在一些实施例中,LG是或包含具有A-1至A-50的结构的目标结合部分:

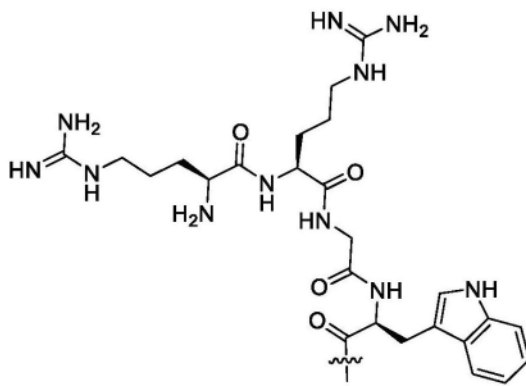


A-1

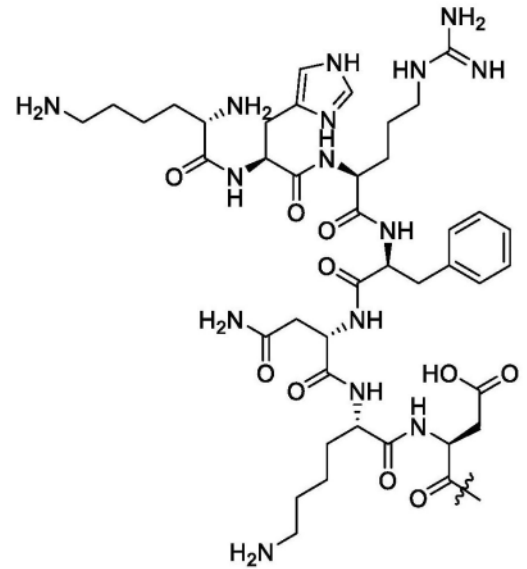


A-2

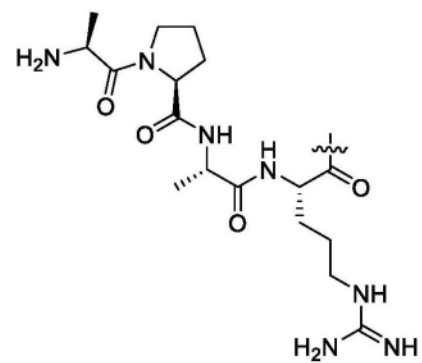
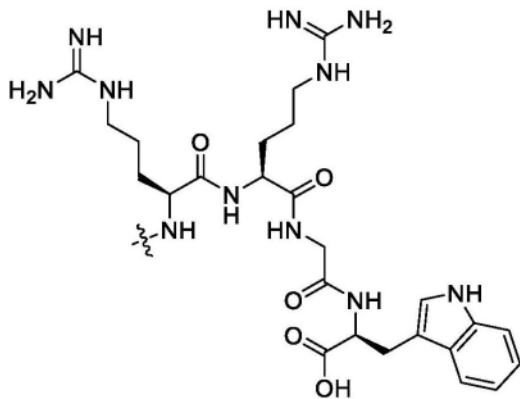
[0090]

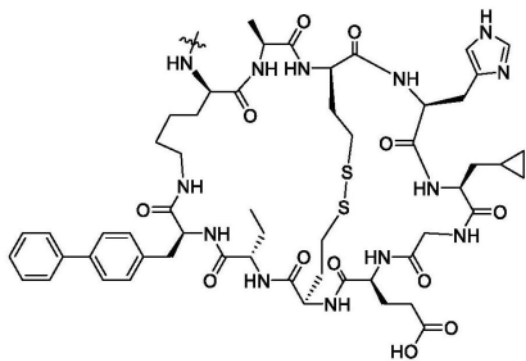


A-3

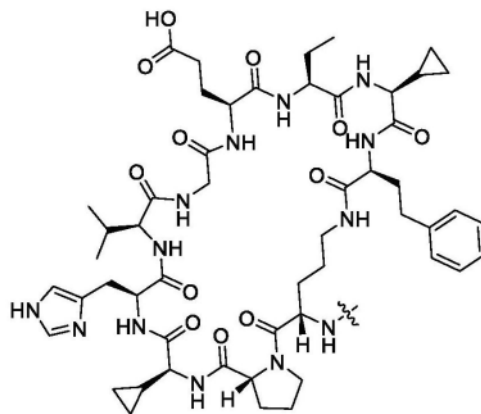


A-4



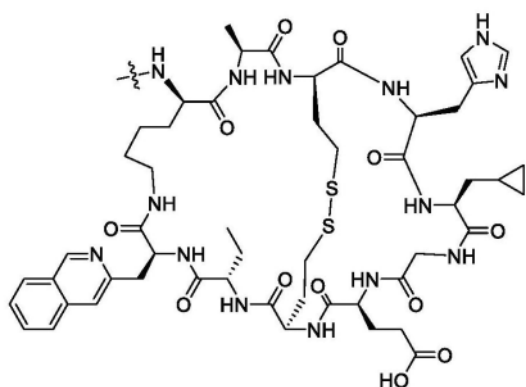


A-13

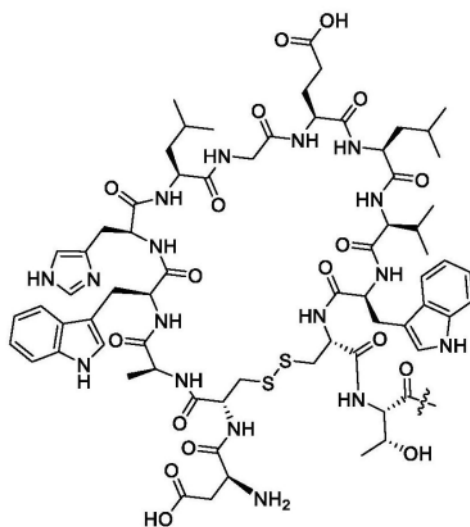


A-14

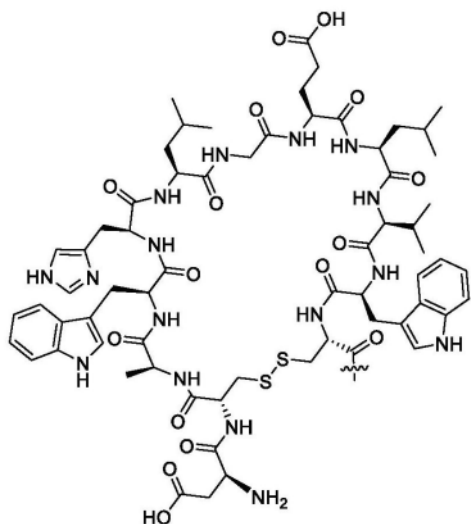
[0092]



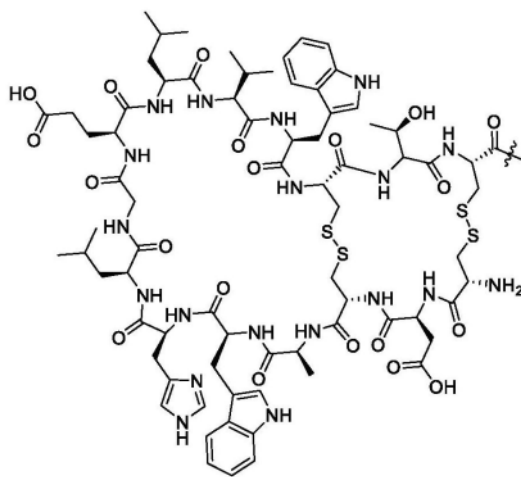
A-15



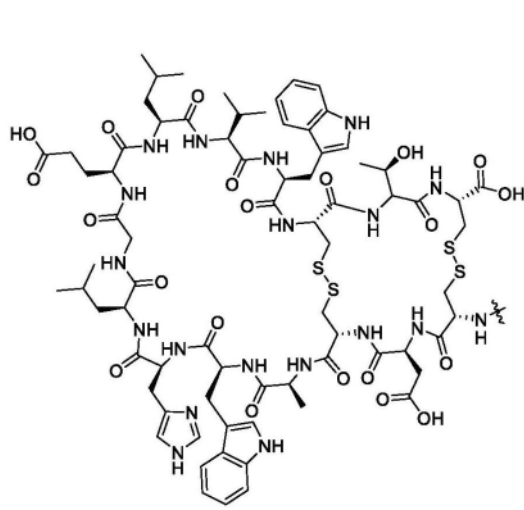
A-16



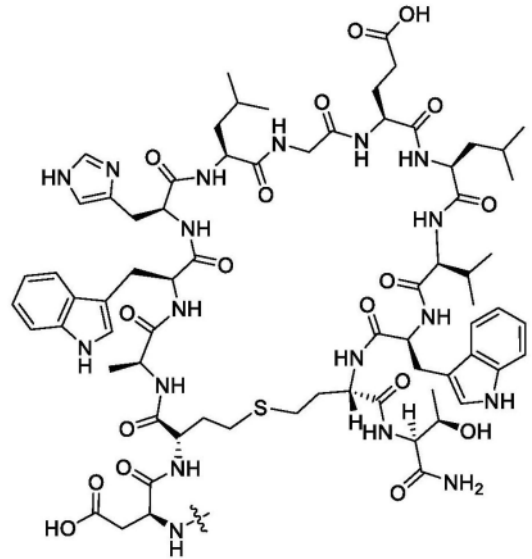
A-17



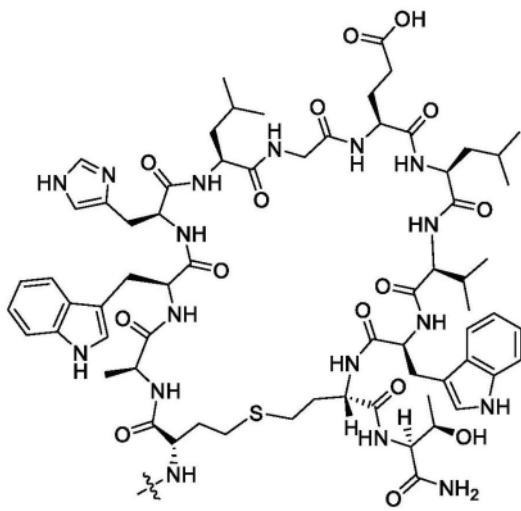
A-18



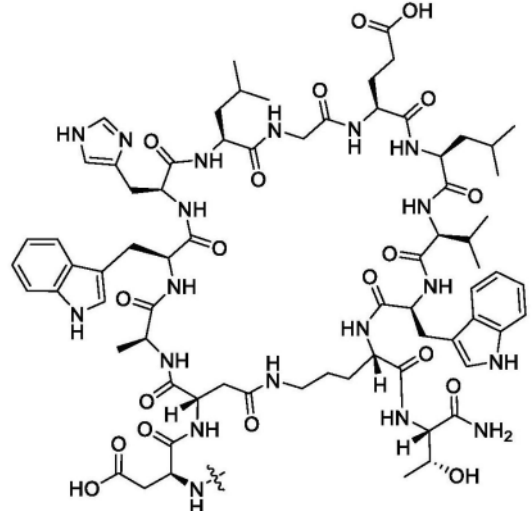
[0093] A-19



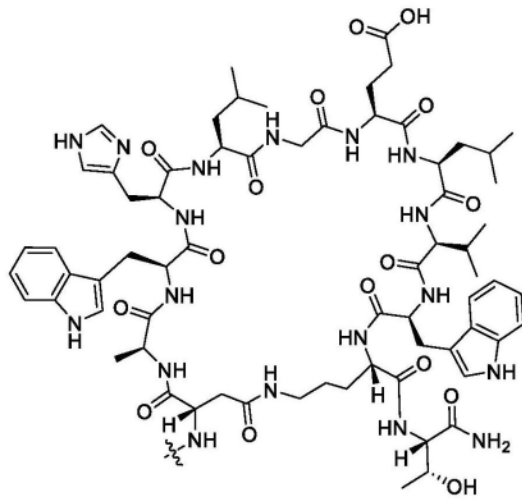
A-20



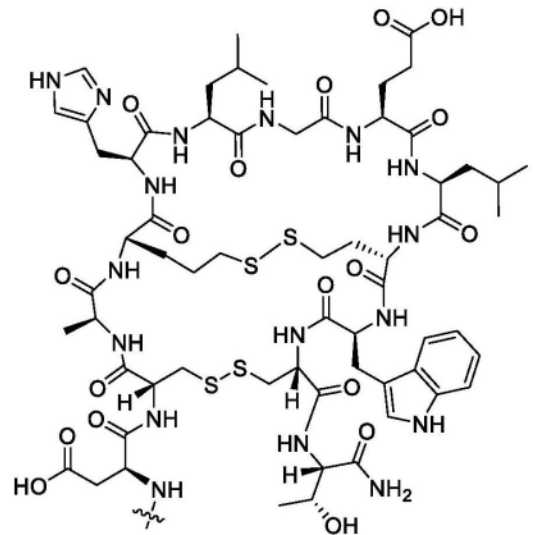
A-21



A-22

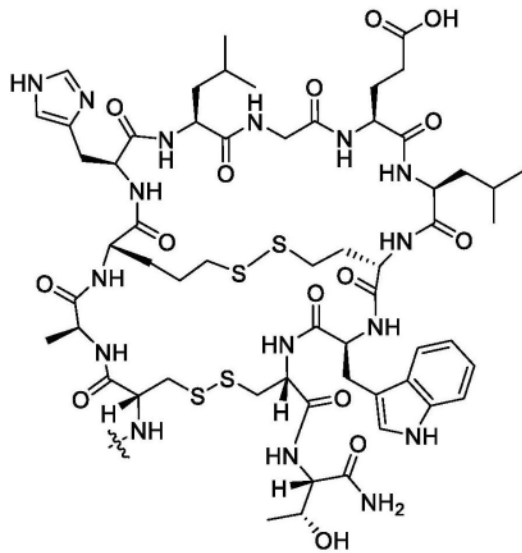


A-23

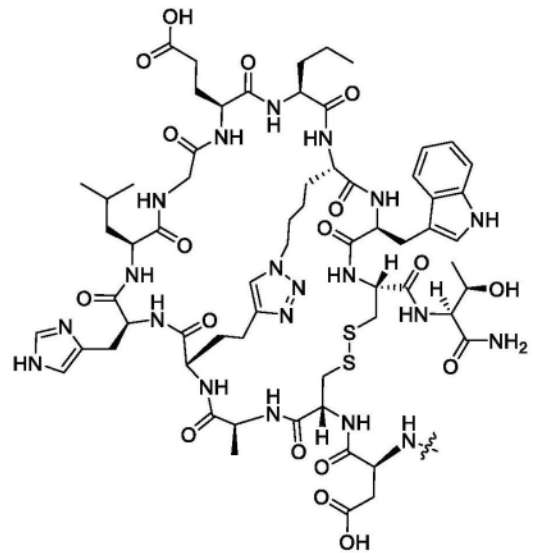


A-24

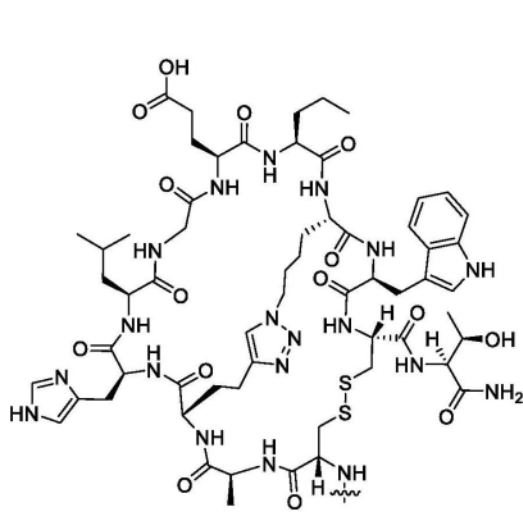
[0094]



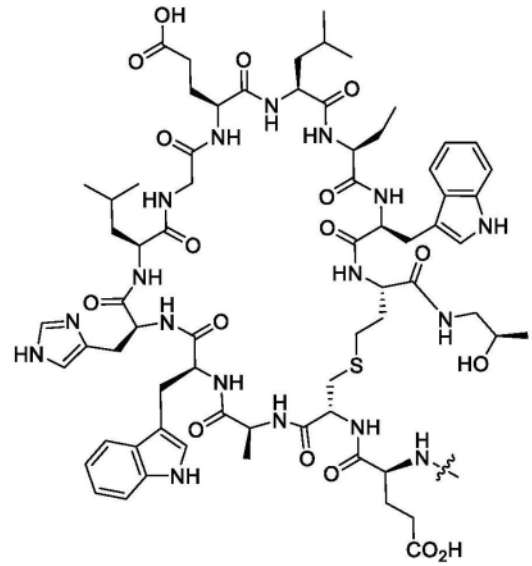
A-25



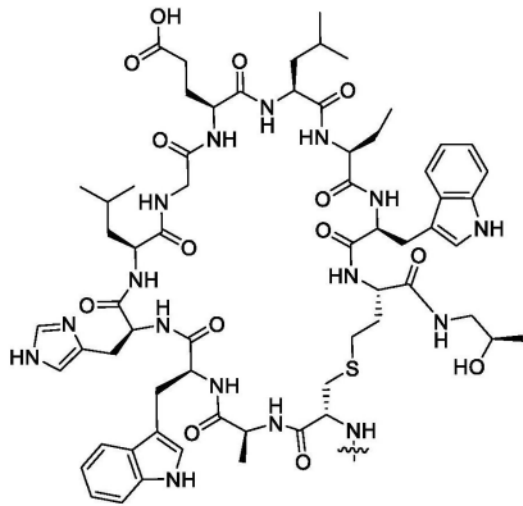
A-26



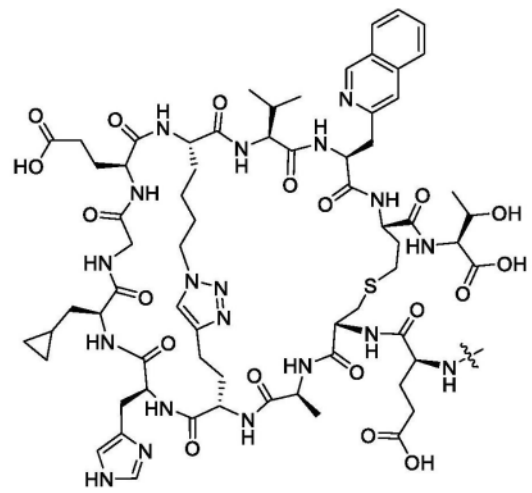
[0095] A-27



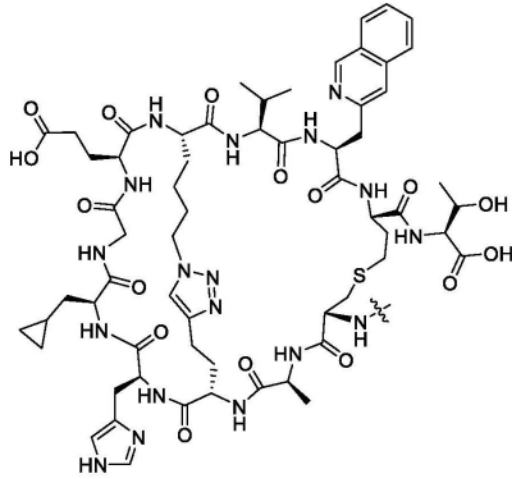
A-28



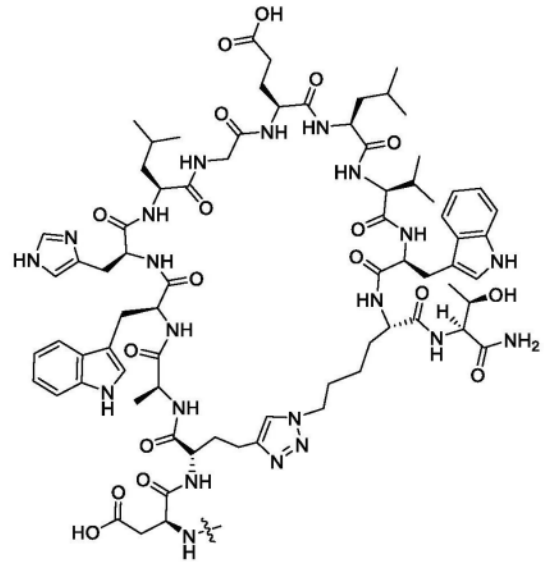
A-29



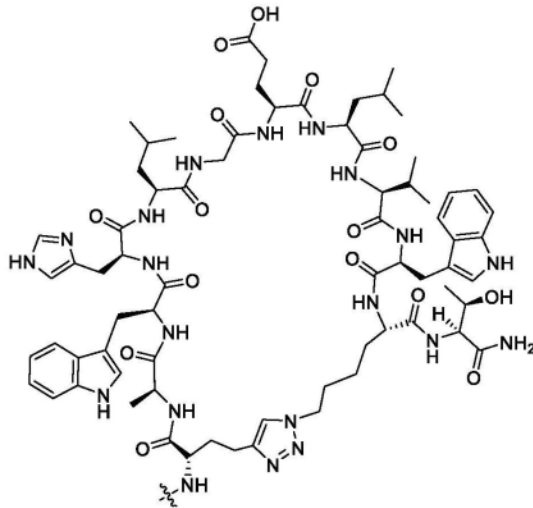
A-30



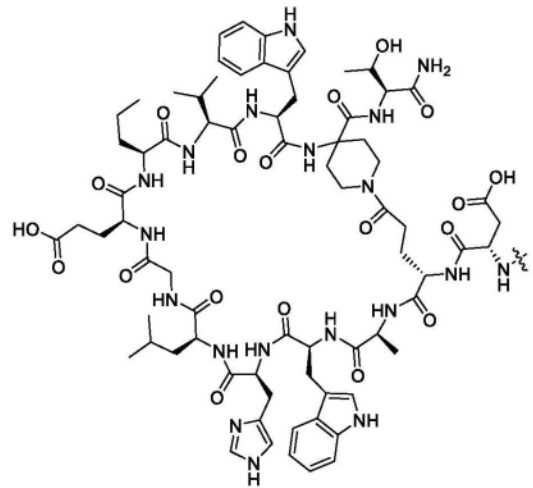
[0096] A-31



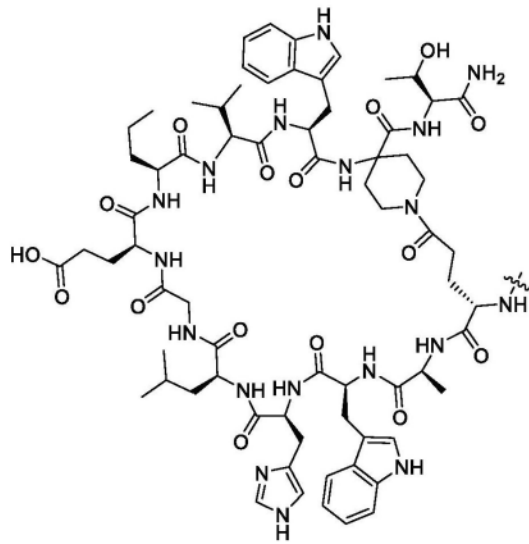
A-32



A-33

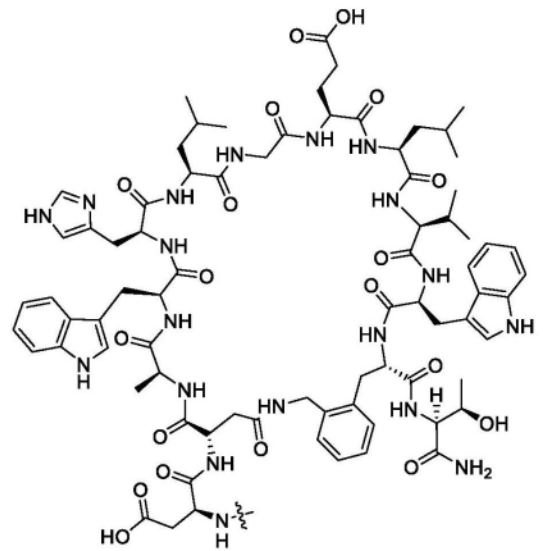


A-34

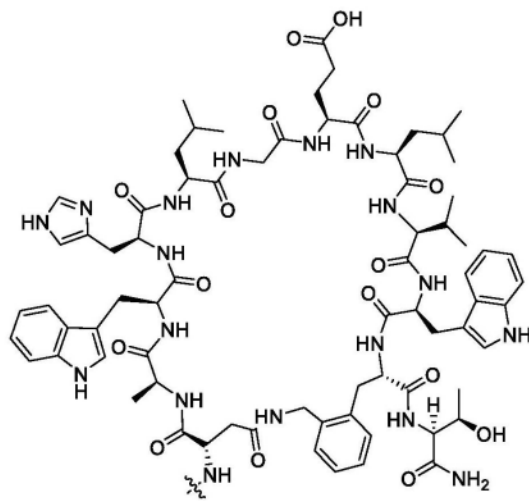


A-35

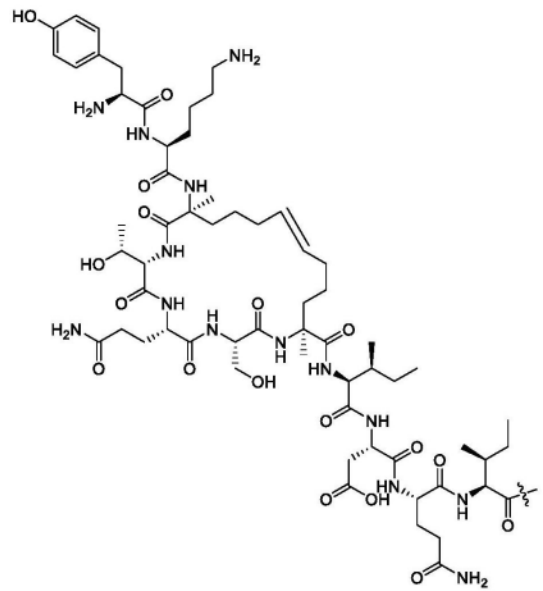
[0097]



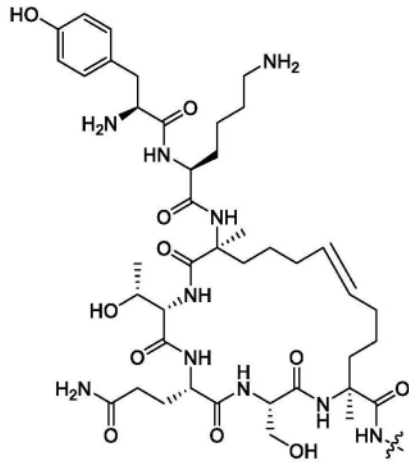
A-36



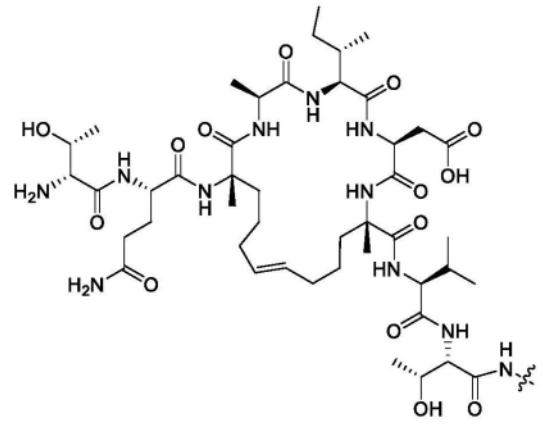
A-37



A-38

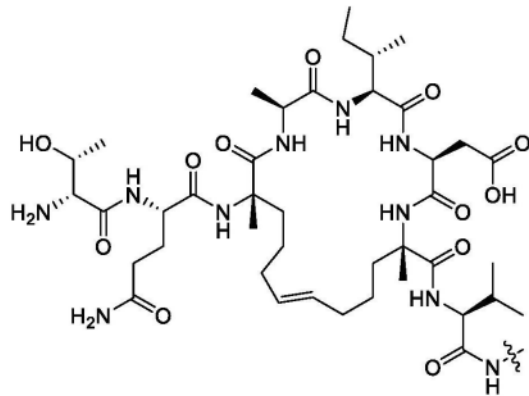


A-39

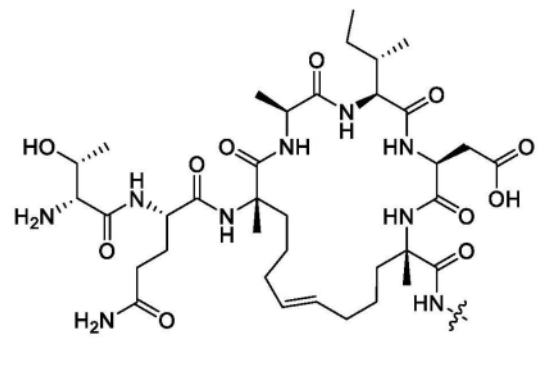


A-40

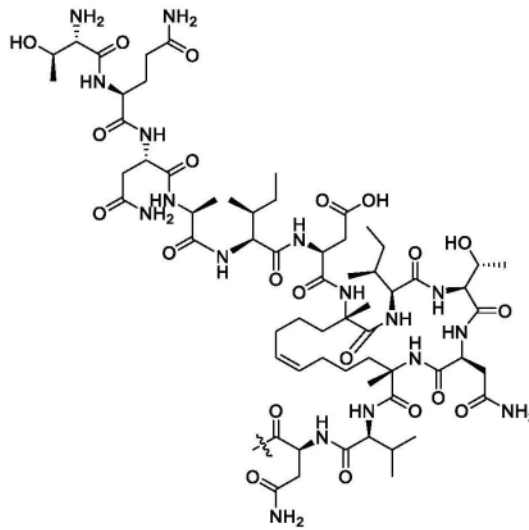
[0098]



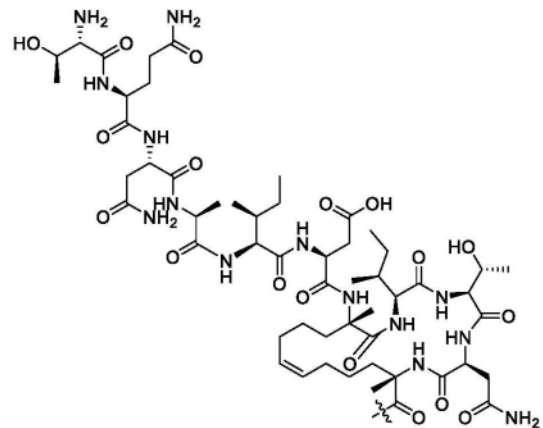
A-41



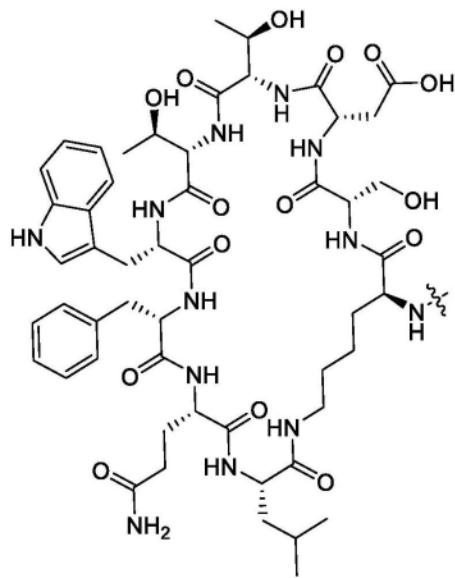
A-42



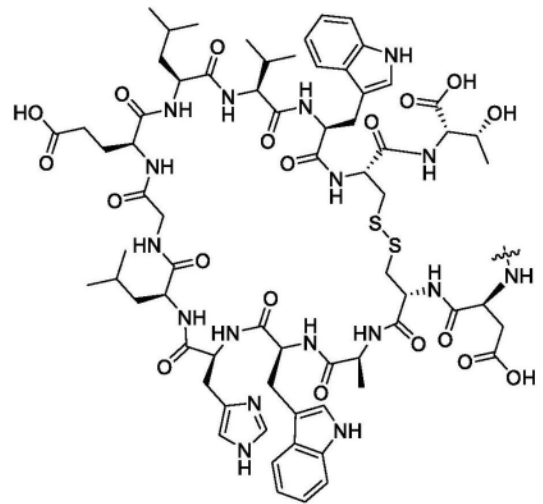
A-43



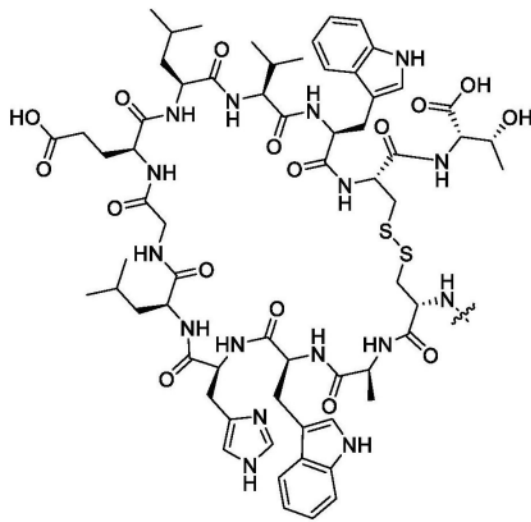
A-44



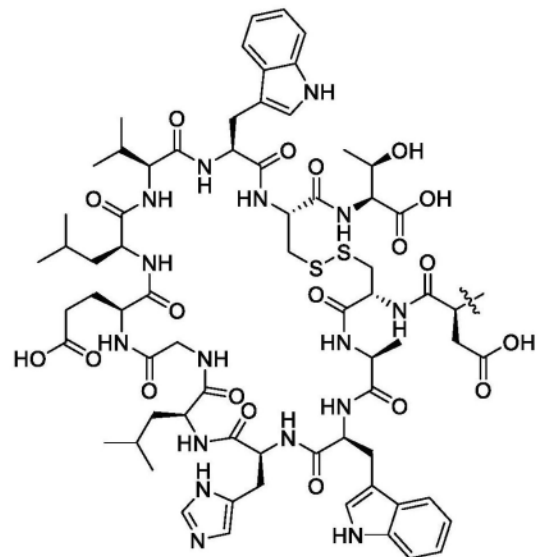
[0099] A-45



A-46

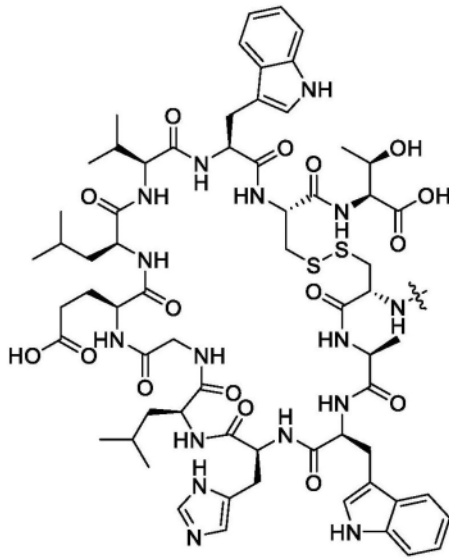


A-47

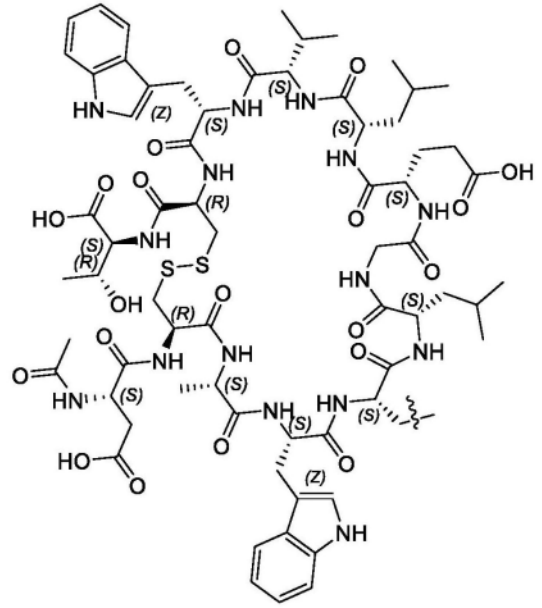


A-48

[0100]



A-49



A-50

[0101] 所关注部分

[0102] 阅读本公开的本领域技术人员将理解,根据本公开,各种类型的所关注部分可以用于各种目的。

[0103] 在一些实施例中,所关注部分是或包含可检测部分。除其它外,此类部分可用于检测、定量、诊断、治疗等。在一些实施例中,所关注部分是或包含放射性标记。在一些实施例中,所关注部分是或包含可以通过光谱检测的标记。在一些实施例中,所关注部分是或包含荧光团,如FITC部分。

[0104] 所关注部分可以是对涉及医学病状、病症或疾病的特定靶标具有亲和力的部分。在一些实施例中,所关注部分是或包含治疗剂部分。在一些实施例中,所关注部分是或包含药物部分,例如,抗体-药物缀合物中的药物部分。在一些实施例中,所关注部分是或包含毒性剂。在一些实施例中,所关注部分是或包含细胞毒性剂。在一些实施例中,所关注部分是或包含抗癌剂。在一些实施例中,抗癌剂是化疗剂。

[0105] 在一些实施例中,所关注部分是或包含可以相互作用和/或募集其它药剂的部分,如蛋白质、核酸、细胞等。在一些实施例中,所关注部分与某些细胞类型(例如免疫细胞、疾病细胞等)表达的蛋白质相互作用。在一些实施例中,所关注部分是免疫细胞结合体。在一些实施例中,所关注部分募集免疫细胞。在一些实施例中,所关注部分触发、促进和/或增强一种或多种免疫活性,例如用于去除、杀伤和/或抑制期望靶标(例如,癌症细胞、抗原等)。在一些实施例中,所关注部分与疾病细胞相互作用、募集和/或结合,并触发、促进和/或增强去除、杀死和/或抑制疾病细胞。

[0106] 在一些实施例中,所关注部分是或包含小分子药剂(例如,可以与其蛋白靶标、细胞靶标等特异性结合的小分子药剂)。在一些实施例中,所关注部分是或包含肽或蛋白药剂(例如,scFv、特异性靶标的肽结合体等)。在一些实施例中,所关注部分是或包含核酸药剂(例如,寡核苷酸、mRNA等)。在一些实施例中,所关注部分是或包含碳水化合物药剂。在一些实施例中,所关注部分是或包含脂质药剂。

[0107] 在一些实施例中,所关注部分是或包含蛋白质复合物(例如,Fab)。在一些实施例

中,所关注部分是或包含荧光团。在一些实施例中,所关注部分是或包含细胞毒性小分子药剂。在一些实施例中,所关注部分是或包含细胞毒性肽药剂。

[0108] 在一些实施例中,所关注部分是佐剂。本领域技术人员将理解各种佐剂可以用作根据本公开的所关注部分。在一些实施例中,佐剂是US2019/0015516中描述的佐剂,所述文献通过引用整体并入本文。在一些实施例中,所关注部分刺激免疫系统。

[0109] 在一些实施例中,所关注部分是或包含颗粒。在一些实施例中,颗粒是或包含纳米颗粒。

[0110] 在一些实施例中,所关注部分是或包含核酸部分。在一些实施例中,所关注部分是或包含寡核苷酸。在一些实施例中,所关注部分是或包含适体。

[0111] 在一些实施例中,所关注部分是抗体药剂。在一些实施例中,所关注部分是或包含抗体片段。在一些实施例中,所关注部分是不含有靶结合部分所结合的区域的部分。在一些实施例中,所关注部分是不含Fc区的抗体药剂。在一些实施例中,所关注部分是或包含scFv。在一些实施例中,scFv用于与抗体靶药剂不同的抗原。

[0112] 在一些实施例中,所关注部分是或包含反应性部分,具体地那些用于生物正交反应的反应配偶体。合适的反应性部分,包含用于生物正交反应的那些,在本领域中是众所周知的并且可以在本文中利用。在一些实施例中,生物正交反应是环加成反应,例如点击化学。在一些实施例中,所关注部分是或包含-N₃。在一些实施例中,所关注部分是或包含炔烃。

[0113] 在一些实施例中,所关注部分可以是与涉及COVID-19疾病的SARS-CoV-2病毒结合的部分。例如,与SARS-CoV-2病毒结合的部分可以是L.Cao等人,“皮摩尔SARS-CoV-2迷你蛋白抑制剂的从头设计(De novo design of picomolar SARS-CoV-2 mini-protein inhibitors)”《科学(Science)》370,426-431(2020)中公开的多肽,所述文献通过引用整体并入本文。此类多肽部分可能导致与SARS-CoV-2刺突蛋白结合,抑制、减少和预防细胞的结合和/或感染,抑制、杀伤和去除SARS-CoV-2病毒和/或由此感染的细胞,等等。与SARS-CoV-2病毒相互作用的各种所关注部分在于2021年3月25日提交的国际专利申请第PCT/US21/24186号、于2021年2月6日提交的美国临时专利申请第63/146584号和于2021年4月30日提交的美国临时专利申请第63/182098中进行了描述,所述专利申请中的每个专利申请都通过引用整体并入本文。

[0114] 在一些实施例中,所关注部分改善了靶药剂的一种或多种特性和/或活性。在一些实施例中,所关注部分是或包含稳定增强剂。在一些实施例中,所关注部分改善了靶药剂的一种或多种药效学和/或药代动力学特性。

[0115] 在一些实施例中,满足以下条件中的至少一项:

[0116] (a) 所关注部分是或包含治疗剂;

[0117] (b) 所关注部分是或包含能够与蛋白质、核酸或细胞结合的部分;和/或

[0118] (c) 所关注部分是或包含适于生物正交反应的反应性部分。

[0119] 在一些实施例中,MOI是或包含治疗剂部分;和/或MOI是或包含抗体药剂。

[0120] 连接基团

[0121] 在一些实施例中,部分任选地通过接头部分彼此连接。例如,在一些实施例中,反应性基团例如RG通过接头例如L^{RM}与所关注部分例如MOI连接。在一些实施例中,部分,例如

LG还可以包含一个或多个接头例如 L^{LG1} 、 L^{LG2} 、 L^{LG3} 、 L^{LG4} 等,以连接各个部分。在一些实施例中, L^{LG} 是本文所描述的接头部分。在一些实施例中, L^{LG1} 是本文所描述的接头部分。在一些实施例中, L^{LG2} 是本文所描述的接头部分。在一些实施例中, L^{LG3} 是本文所描述的接头部分。在一些实施例中, L^{LG4} 是本文所描述的接头部分。在一些实施例中, L^{RM} 是本文所描述的接头部分。在一些实施例中, L^{PM} 是如本文所描述的L。在一些实施例中, L^{PM} 是本文所描述的接头部分。在一些实施例中, L^{PM} 是如本文所描述的L。

[0122] 可以根据本公开利用各种类型和/或用于各种目的的接头部分,例如用于抗体-药物缀合物等的接头部分。

[0123] 接头部分可以是二价或多价的,这取决于其使用方式。在一些实施例中,接头部分是二价的。在一些实施例中,接头是多价的并且连接超过两个部分。

[0124] 在一些实施例中, L^{LM} 包含一个或多个 $-(CH_2)_n-O)_m-$,其中每个n独立地是1-20,并且m是1-100。

[0125] 在一些实施例中, L^{RM} 接头包含一个或多个 $-(CH_2)_n-O)_m-$,其中每个n独立地是1-20,并且m是1-100。

[0126] 反应性基团

[0127] 在一些实施例中,所提供的化合物,例如可用作反应配偶体的那些,包含反应性基团(例如,RG)。如本文所例示的,在许多实施例中,在所提供的化合物中,反应性基团(例如,RG)定位于第一基团(例如,LG)与所关注部分(例如,MOI)之间,并且通过接头任选地且独立地与第一基团和所关注部分连接。在一些实施例中,RG是如本文所描述的反应基团。

[0128] 在一些实施例中,如本文所展示的,当在不包含靶结合部分的化合物中利用时,反应性基团反应缓慢并且在一些实施例中提供低水平的、基本上不与靶药剂缀合的所关注部分。如本文所展示的,反应性基团与相同化合物中的(例如,如式R-I化合物或其盐中的)靶结合部分的组合,除其它外,可以促进反应性基团与靶药剂之间的反应,增强反应效率,减少副反应,和/或提高反应选择性(例如,就其中所关注部分与靶药剂发生缀合的靶位点而言)。

[0129] 提供的化合物中的反应性基团可以与靶药剂中的各种类型的基团反应。在一些实施例中,所提供的化合物中的反应性基团选择性地与靶药剂的氨基反应,例如蛋白质的赖氨酸残基的侧链上的 $-NH_2$ 基团。在一些实施例中,当在所提供的化合物,例如式R-I化合物或其盐中的那些被利用时,反应性基团选择性地与靶药剂的特定位点反应,例如,如本文实例中所示,IgG1的K246、K248、K288、K290、K317等、IgG2的K251、K253等、IgG4的K239、K241,等等中的一个或多个。在一些实施例中,位点是抗体重链的K246或K248。在一些实施例中,位点是抗体重链的K246和/或K248。在一些实施例中,位点是抗体重链的K246。在一些实施例中,位点是抗体重链的K248。在一些实施例中,位点是抗体重链的K288或K290。在一些实施例中,位点是抗体重链的K288。在一些实施例中,位点是抗体重链的K290。在一些实施例中,位点是K317。在一些实施例中,位点是抗体重链的K414。在一些实施例中,位点是抗体轻链的K185。在一些实施例中,位点是抗体轻链的K187。在一些实施例中,位点是IgG2重链的K251和/或K253。在一些实施例中,位点是IgG2重链的K251。在一些实施例中,位点是IgG2重链的K253。在一些实施例中,位点是IgG4重链的K239和/或K241。在一些实施例中,位点是IgG4重链的K239。在一些实施例中,位点是IgG4重链的K241。在一些实施例中,缀合选择性

地发生在一个或多个重链位点而不是轻链位点。在一些实施例中,对于没有靶结合部分的技术,在轻链位点发生的缀合多于在重链位点发生的缀合(例如参见图15)。

[0130] 在一些实施例中,反应性基团,例如RG是或包含酯基团。在一些实施例中,反应性基团,例如RG是或包含亲电基团,例如迈克尔受体。

[0131] 在一些实施例中,RG是式-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-L^{RG1}-或-L^{RG1}-L^{RG2}-的基团,其中:

[0132] L^{LG2}是-NH-、-NHC(O)-、-(CH₂)_n-NHC(O)-、-(CH₂)_n-OC(O)-、-(CH₂)_n-OC(O)NH-、-C(O)-NHCH₂-、-C(O)-NHCH₂CH₂-、-C(O)O-CH₂-或NH-C(O)O-CH₂-;

[0133] L^{LG3}是任选地经取代的芳基环;

[0134] L^{LG4}是键、-NH-或-O-;

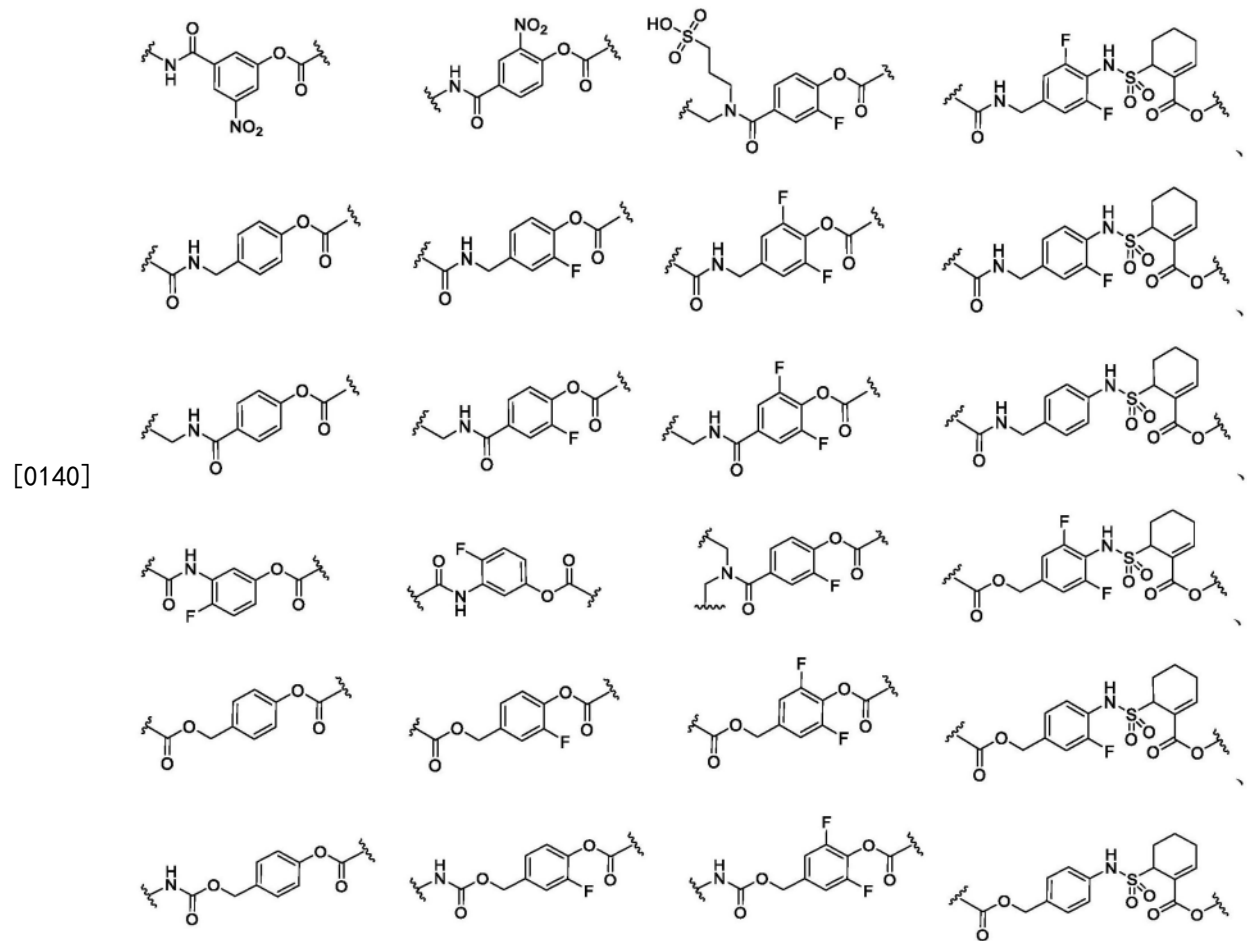
[0135] L^{RG1}是-O-C(O)-、-C(O)-、-S(O)-、-OS(O)₂-或-OP(O(OR))-;

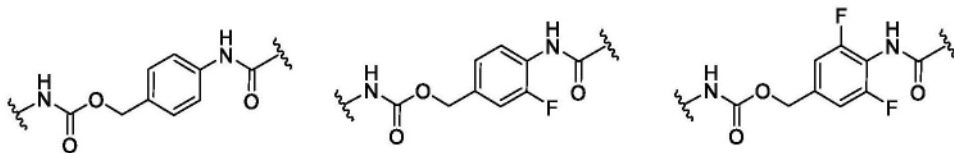
[0136] L^{RG2}是-CH₂-C(O)-、-C(O)-或-CH₂-;

[0137] L^{LG}是-(O)C-[(CH₂)_nO]_m(CH₂)_nNH-、-(O)C-[(CH₂)_nO]_m(CH₂)_nNH-、-[(CH₂)_nO]_mNHC(O) [(CH₂)_nO]_mNH-、-[(CH₂)_nO]_m{NHC(O) [(CH₂)_nO]_m}_pNH-、-[(CH₂)_nO]_mCy [(CH₂)_nO]_mNH-、-[(CH₂)_nO]_mCy [(CH₂)_nO]_mNHC(O) [(CH₂)_nO]_mNH-或-[(CH₂)_nO]_mCy [(CH₂)_nO]_m{NHC(O) [(CH₂)_nO]_m}_pNH-;

[0138] 其中n、m和p在每次出现时是独立地选自1-12的整数,并且Cy是任选地经取代的环状基团。

[0139] 在一些实施例中,RG是式-L^{LG2}-L^{LG3}-L^{LG4}-L^{RG1}-的基团,并且选自:



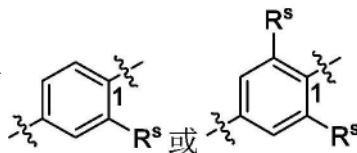


[0141] 在一些实施例中,n在每次出现时是2。

[0142] 在一些实施例中,反应性基团是或包含-C(O)-O-或-O-C(O)-。

[0143] 在一些实施例中,所述反应性基团包含芳基,所述芳基任选地与-C(O)-O-或-O-C(O)-键合,并且被一个或多个吸电子基团取代。

[0144] 在一些实施例中,所述芳基具有



出现时独立地选自卤素、-NO₂、-F、-L-R'、-C(O)-L-R'、-S(O)-L-R'、-S(O)₂-L-R'和-P(O)(-L-R')₂,并且R'是H或C₁-C₆烷基。

[0145] 组合物

[0146] 在一些实施例中,组合物可以包含等摩尔量的第一化合物和第二化合物。在一些实施例中,基于组合物中的第一化合物和第二化合物的总摩尔数,第二化合物的量可以是50摩尔百分比(摩尔%)或更少。在一些实施例中,基于组合物中的第一化合物和第二化合物的总摩尔数,第二化合物的量可以是50摩尔%或更少、45摩尔%或更少、40摩尔%或更少、35摩尔%或更少、30摩尔%或更少、25摩尔%或更少、20摩尔%或更少、15摩尔%或更少、10摩尔%或更少或5摩尔%或更少。在一些实施例中,基于组合物中的第一化合物和第二化合物的总摩尔数,第二化合物的量可以是5%或更少、4%或更少、3%或更少、2%或更少或1%或更少。在一些实施例中,基于组合物中的第一化合物和第二化合物的总摩尔数,第二化合物的量可以是1.0%或更少、0.9%或更少、0.8%或更少、0.7%或更少、0.6%或更少、0.5%或更少、0.4%或更少、0.3%或更少、0.2%或更少、0.1%或更少。在一些实施例中,基于组合物中的第一化合物和第二化合物的总摩尔数,第二化合物的量可以是0.10%或更少、0.09%或更少、0.08%或更少、0.07%或更少、0.06%或更少、0.05%或更少、0.04%或更少、0.03%或更少、0.02%或更少、0.01%或更少。在一些实施例中,基于组合物中的第一化合物和第二化合物的总摩尔数,第二化合物的量可以是0.010%或更少、0.009%或更少、0.008%或更少、0.007%或更少、0.006%或更少、0.005%或更少、0.004%或更少、0.003%或更少、0.002%或更少、0.001%或更少。在一些实施例中,基于组合物中的第一化合物和第二化合物的总摩尔数,第二化合物的量可以是0.0010%或更少、0.0009%或更少、0.0008%或更少、0.0007%或更少、0.0006%或更少、0.0005%或更少、0.0004%或更少、0.0003%或更少、0.0002%或更少、0.0001%或更少。在一些实施例中,基于组合物中的第一化合物和第二化合物的总摩尔数,第二化合物的量可以是0.00010%或更少、0.00009%或更少、0.00008%或更少、0.00007%或更少、0.00006%或更少、0.00005%或更少、0.00004%或更少、0.00003%或更少、0.00002%或更少、0.00001%或更少。在一些实施例中,基于组合物中的第一化合物和第二化合物的总摩尔数,第二化合物的量可以是0.000010%或更少、0.000009%或更少、0.000008%或更少、0.000007%或更少、0.000006%或更少、0.000005%或更少、0.000004%或更少、0.000003%或更少、0.000002%或更少、0.000001%或更少。

0.000002%或更少、0.000001%或更少。

[0147] 在一些实施例中,组合物可以进一步包含第三化合物、第四化合物或其组合。在一些实施例中,基于组合物中的第一化合物的摩尔数,第三化合物、第四化合物或其组合的量可以是5%或更少、4%或更少、3%或更少、2%或更少或1%或更少。在一些实施例中,基于组合物中的第一化合物的摩尔数,第三化合物、第四化合物或其组合的量可以是1.0%或更少、0.9%或更少、0.8%或更少、0.7%或更少、0.6%或更少、0.5%或更少、0.4%或更少、0.3%或更少、0.2%或更少、0.1%或更少。在一些实施例中,基于组合物中的第一化合物的摩尔数,第三化合物、第四化合物或其组合的量可以是0.10%或更少、0.09%或更少、0.08%或更少、0.07%或更少、0.06%或更少、0.05%或更少、0.04%或更少、0.03%或更少、0.02%或更少、0.01%或更少。在一些实施例中,基于组合物中的第一化合物的摩尔数,第三化合物、第四化合物或其组合的量可以是0.010%或更少、0.009%或更少、0.008%或更少、0.007%或更少、0.006%或更少、0.005%或更少、0.004%或更少、0.003%或更少、0.002%或更少、0.001%或更少。在一些实施例中,基于组合物中的第一化合物的摩尔数,第三化合物、第四化合物或其组合的量可以是0.0010%或更少、0.0009%或更少、0.0008%或更少、0.0007%或更少、0.0006%或更少、0.0005%或更少、0.0004%或更少、0.0003%或更少、0.0002%或更少、0.0001%或更少。在一些实施例中,基于组合物中的第一化合物的摩尔数,第三化合物、第四化合物或其组合的量可以是0.00010%或更少、0.00009%或更少、0.00008%或更少、0.00007%或更少、0.00006%或更少、0.00005%或更少、0.00004%或更少、0.00003%或更少、0.00002%或更少、0.00001%或更少。在一些实施例中,基于组合物中的第一化合物的摩尔数,第三化合物、第四化合物或其组合的量可以是0.000010%或更少、0.000009%或更少、0.000008%或更少、0.000007%或更少、0.000006%或更少、0.000005%或更少、0.000004%或更少、0.000003%或更少、0.000002%或更少、0.000001%或更少。

[0148] 在另一实施例中,提供了一种组合物,所述组合物包含:

[0149] 第一化合物,所述第一化合物具有式(P-II)的结构:

[0150] $P-N-L^{PM}-MOI$ (P-II)

[0151] 其中:

[0152] P-N是包含赖氨酸残基的蛋白药剂部分;

[0153] L^{PM} 是接头;并且

[0154] MOI是所关注部分;以及以下中的至少一项:

[0155] 第二化合物,所述第二化合物具有以下结构:

[0156] $LG-OH$ (LG-I)

[0157] 其中LG是包含与靶药剂结合的靶结合部分的基团;以及

[0158] 第三化合物,所述第三化合物具有式(R-I):

[0159] $LG-RG-L^{RM}-MOI$ (R-I)

[0160] LG是包含与靶药剂结合的靶结合部分的基团,所述基团与式(LG-I)中的LG相同;

[0161] RG是反应性基团;

[0162] L^{RM} 是接头,所述接头与式(P-II)中的接头相同;并且

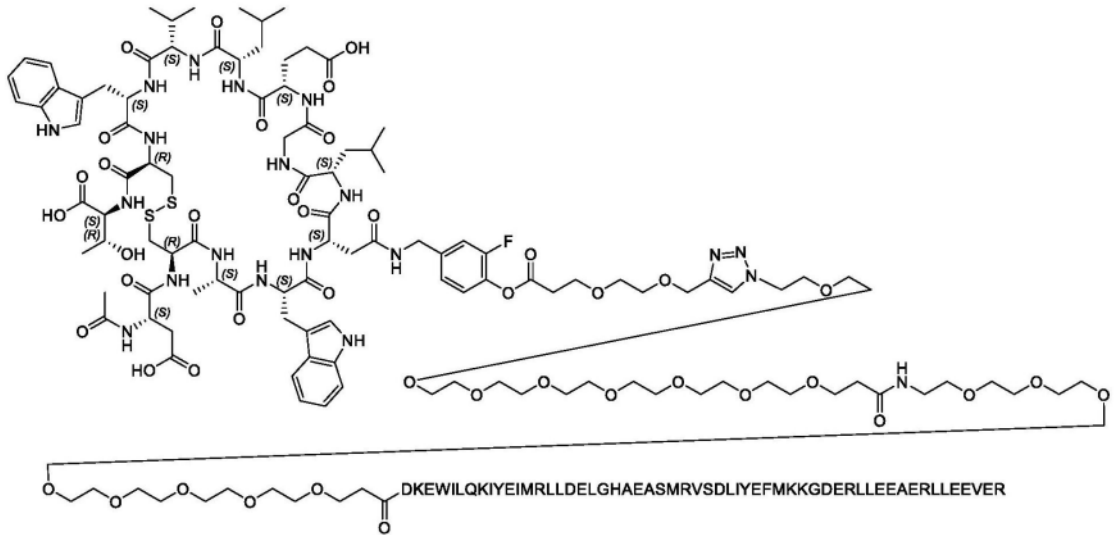
[0163] MOI是所关注部分。

- [0164] 在另一实施例中,所述组合物可以进一步包含:
- [0165] 第四化合物,所述第四化合物具有式(R-III):
- [0166] HO-RG-L^{RM}-MOI(R-III)
- [0167] 或其组合。
- [0168] 本发明通过以下非限制性实例进一步说明。
- [0169] 实例
- [0170] 实例1:用于制备以下药剂的某些技术:I-29、I-30、I-31、I-32、I-33、I-34、I-35、I-36。
- [0171] 在一些实施例中,本公开提供了用于制备MATE药剂和其组合物的技术。在一些实施例中,所提供的技术包含使包含多种抗体药剂的组合物(例如,IVIG组合物,如Gamunex-C)与包含多种药剂的组合物反应,每种药剂包含靶结合部分、抗体结合部分以及介于两者之间的反应性基团(以及连接此类部分的任选的接头部分)(例如,I-3、I-7、I-8、I-15、I-19、I-20、I-21、I-22、I-23等)。以下作为实例描述的是某些MATE药剂的制剂和其组合物。
- [0172] 1.反应/缀合方案。
- [0173] 1.1IVIG缓冲液交换
- [0174] 使用30kDa MWC0的Amicon-15mL单元将Gamunex-C(1mL,约100mg/mL)缓冲液交换到pH 8.2的50mM硼酸盐中。在280nm处使用1.41mL mg⁻¹cm⁻¹的消光系数通过UV-Vis测定缓冲液交换的IVIG的蛋白质浓度。使用pH 8.2的50mM硼酸盐缓冲液将缓冲液交换的IVIG调节至20mg/mL。
- [0175] 1.2试剂储备溶液制剂
- [0176] 对试剂进行单独称重,并且用于制备储备溶液的DMSO体积计算如下:
- [0177] $\text{DMSO体积 (mL)} = (\text{固体重量 (mg)} / \text{分子量}) \times \text{纯度 (\%)} / 5\text{mM} \times 10^6$ 。
- [0178] 某些试剂制剂的数据如下所呈现:

试剂	固体量 (mg)	纯度 (%)	分子量	DMSO 体积 (μL)	最终试剂浓度
I-8	4.05	77.1	9159.31	68.2	5 mM
I-7	2.17	87.1	9511.73	39.7	
I-15	1.85	86.0	9510.75	33.4	
I-19	1.44	86.4	10084.38	24.7	
I-21	0.65	60.3	9049.24	8.7	
I-22	2.42	91.8	9472.74	46.9	
I-23	1.50	91.5	9091.28	30.2	
I-20	2.39	97.9	9514.78	49.2	

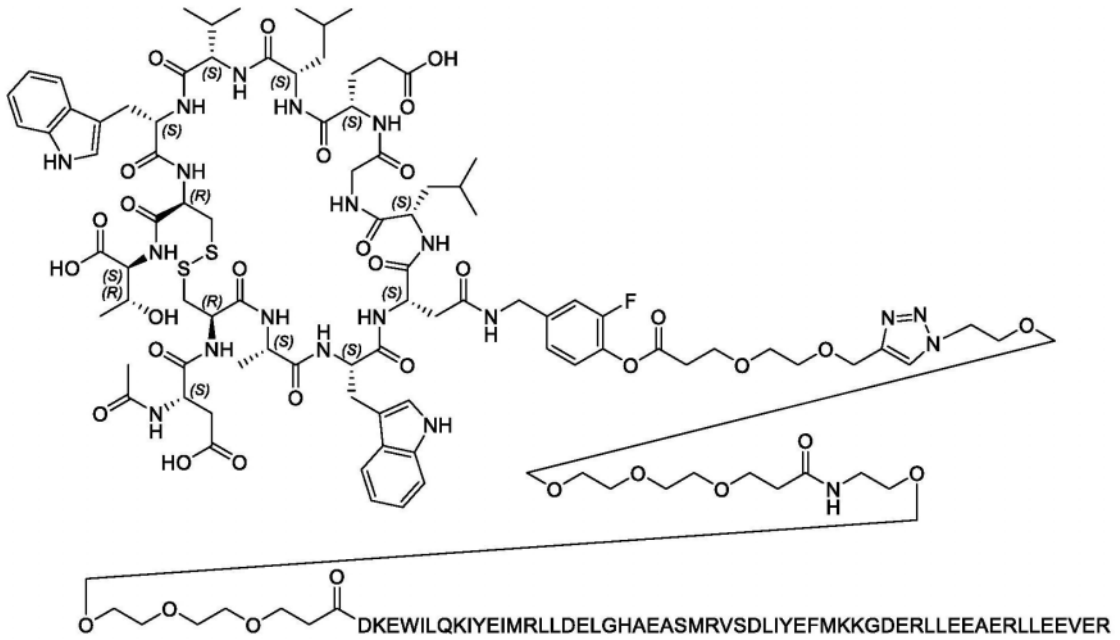
- [0180] 试剂I-7、I-8、I-15、I-19、I-20、I-21、I-22和I-23的结构如下所示:

[0181]



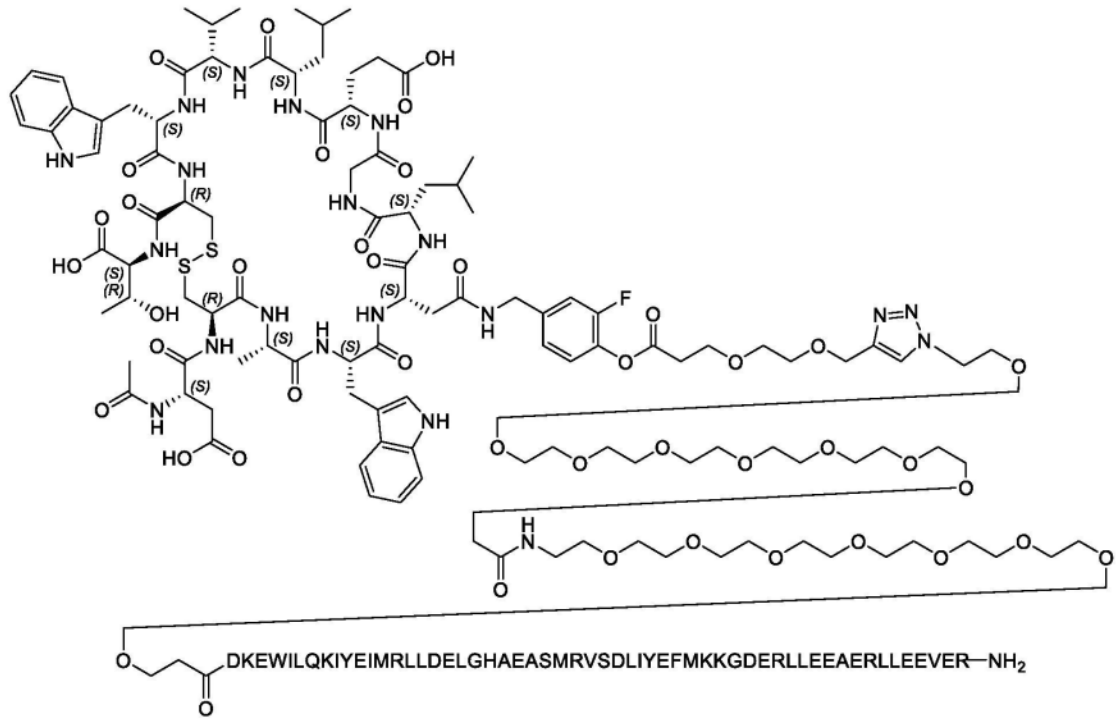
[0182] I-7 (SEQ ID NO:2)

[0183]



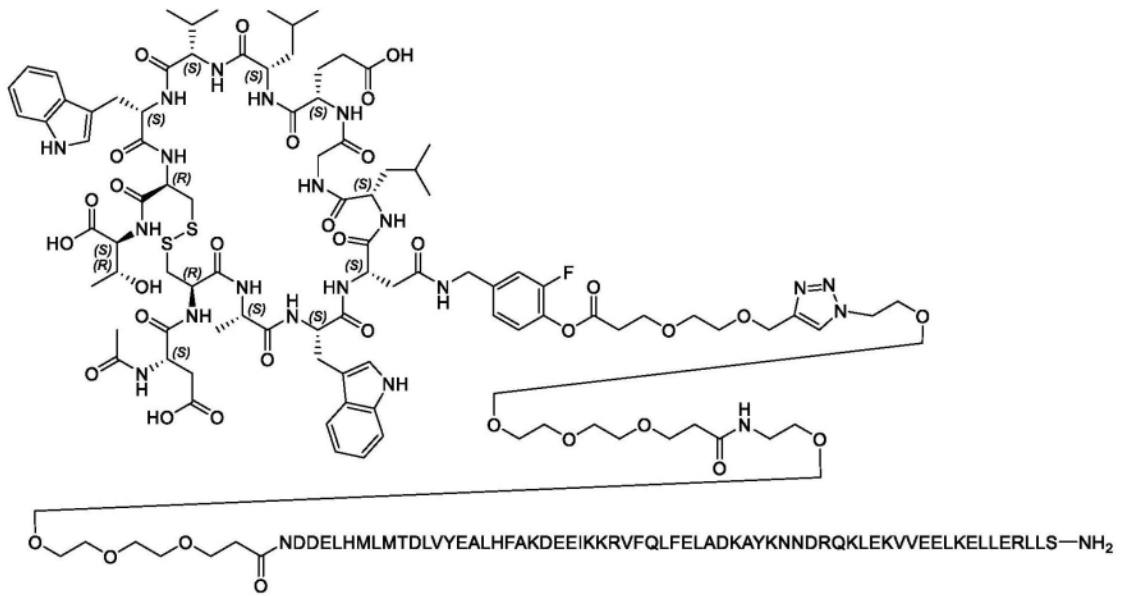
[0184] I-8 (SEQ ID NO:2)

[0185]



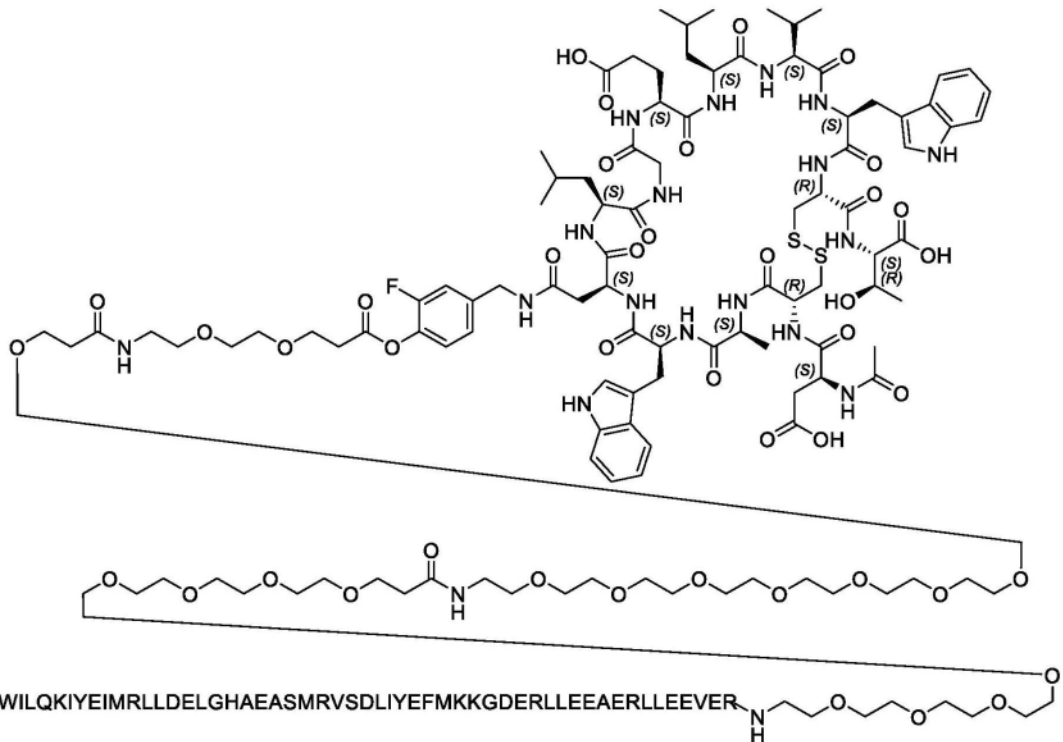
[0186] I-15 (SEQ ID NO:2)

[0187]



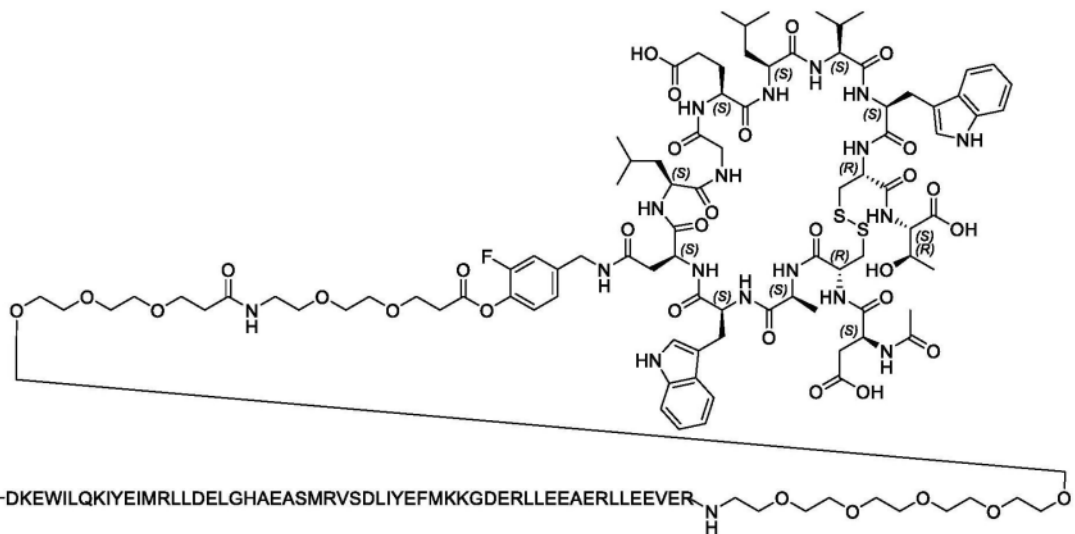
[0188] I-19 (SEQ ID NO:3)

[0193]



[0194] I-22 (SEQ ID NO:2)

[0195]



[0196] I-23 (SEQ ID NO:2)

[0197] 1.3 缀合反应设置

[0198] 用于I-29、I-30、I-31、I-32、I-34、I-35、I-36的程序：

[0199] 向含IVIG的pH 8.2 50mM硼酸盐 (4mg, 20mg/mL, 200 μ L) 中添加试剂 (5mM于DMSO中, 13.3 μ L, 2.5当量)。将反应充分混合并在室温下旋转过夜。

[0200] 用于I-33的程序：

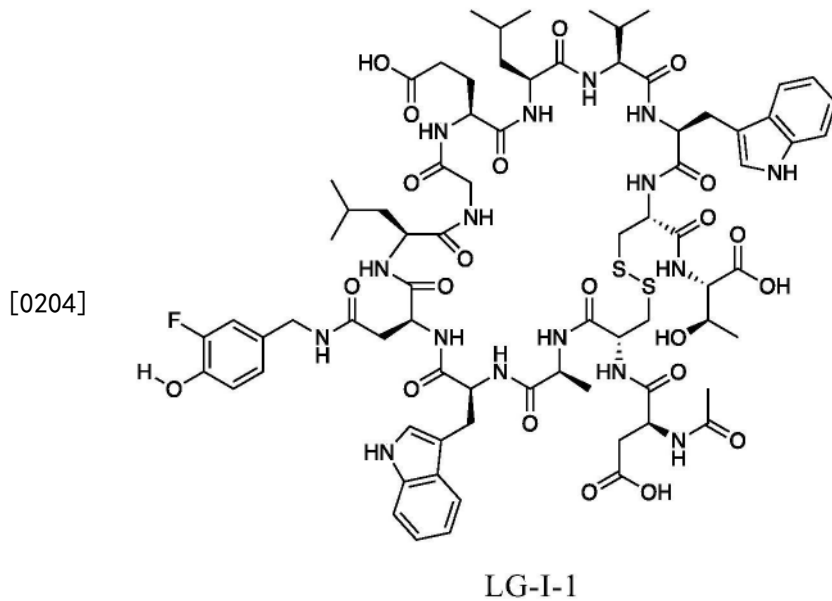
[0201] 向含IVIG的pH 8.2 50mM硼酸盐 (2.62mg, 20mg/mL, 130.8 μ L) 中添加试剂 (5mM于DMSO中, 8.7 μ L, 2.5当量)。将反应充分混合并在室温下旋转过夜。下表示出了用于产生下一部分中进一步详细讨论的MATE试剂中的每一种的MATE试剂。

[0202]

MATE试剂	MATE产物
--------	--------

I-8	I-29
I-7	I-30
I-15	I-31
I-19	I-32
I-22	I-34
I-23	I-35
I-20	I-36

[0203] 在上述程序的每一个中,除药剂I-29、I-30、I-31、I-32、I-33、I-34、I-35、I-36外,反应混合物包含以下产物,其与药剂I-29、I-30、I-31、I-32、I-33、I-34、I-35和I-36以等摩尔量形成:



[0205] 2. 纯化

[0206] 将粗混合物用pH 2.2 50mM甘氨酸在Amicon-4mL MWC0 30kDa中缓冲交换进行2个循环。然后将其在Amicon-4mL MWC0 30kDa中缓冲液交换到PBS中进行2个循环。在过滤器的底部处观察到不溶性白色沉淀物。在一些实施例中,在酸性条件下去除释放的抗体结合部分。

[0207] 将来自八个样品的溶液和沉淀物分别收集在1.5mL管中,并以16000g离心5分钟。仔细收集澄清的上清液。使用1.41mL[●]mg⁻¹cm⁻¹的消光系数通过UV-Vis Nanodrop仪器测定上清液中的蛋白缀合物的浓度。来自某些制剂的蛋白质缀合物的浓度、体积和产率示出于下表中。

[0208]

药剂	浓度 (mg/mL)	体积 (mL)	产物质量 (mg)	产率 (%)
I-29	6.29	0.501	3.15	79
I-30	6.86	0.45	3.09	77
I-31	2.25	0.667	1.5	38
I-32	4.83	0.695	3.36	84
I-33	5.55	0.548	3.04	116
I-34	7.35	0.365	2.68	67

I-35	10.7	0.326	3.49	87
I-36	3.03	0.707	2.14	53

[0209] 为了将最终MATE药剂浓度调节至1.5-3.0mg/mL范围,用PBS将所有缀合物稀释至靶标3.0mg/mL。在一些实施例中,观察到,在添加PBS时,在一些或所有样品中迅速形成白色沉淀物。为了回收缀合物,将这些样品以16000g离心3分钟。仔细收集澄清的上清液。使用1.41mL[●]mg⁻¹cm⁻¹的消光系数通过UV-Vis Nanodrop仪器测定上清液中的蛋白缀合物的浓度。下表总结了来自某些制剂的最终缀合物的浓度、体积和产率。

药剂	浓度 (mg/mL)	体积 (mL)	产物质量 (mg)	产率 (%)
I-29	1.58	0.66	1.04	26
I-30	1.52	0.92	1.39	35
I-31	2.25	0.667	1.5	38
I-32	2.15	1.00	2.15	54
I-33	2.15	0.69	1.16	44
I-34	1.62	0.79	1.28	27
I-35	2.48	0.64	1.58	40
I-36	3.03	0.707	2.14	53

[0211] 3.DAR(靶结合部分/抗体部分的比率)测定的分析方法

[0212] 将MATE缀合物(50μg)与10x乙二醇缓冲液2(0.1x总体积)、1μL IdeZ和1μL PNGase F在37°C下温育1小时。然后取出8μg样品,并用水稀释50倍。注射体积为2μL或3μL,具体取决于期望信号。

[0213] 仪器:

[0214] LC:Waters Acquity UPLC蛋白BEH C4柱(300 Å,17μm x 2.1mm x 50mm)

[0215] MS:Waters Xevo G2-QTOF

[0216] 处理软件:MassLynx

[0217] 流动相A:水+0.1%甲酸

[0218] 流动相B:乙腈+0.1%甲酸

[0219] 数据分析:获得了总离子色谱图(TIC)。选择TIC区域进行光谱分析。所述区域被选择为涵盖缀合和非缀合的Fc两者而没有偏向。从TIC获得MS谱。选择电荷状态包络进行去卷积。使用MaxEnt1去卷积工具对原始光谱进行去卷积,以获得零电荷光谱。BAR(以Fc x Fc表示的每种抗体的结合体分布比率)使用以下式计算:

$$[0220] \quad \text{BAR} = [1(\text{Fc}_{\text{缀合}})] / [1(\text{Fc}_{\text{缀合}}) + 1(\text{Fc}_{\text{非缀合}})] \times 2$$

[0221] 去卷积m/z 8000-30000,分辨率1.50。LC-MS分析的DAR结果示出如下。

	药剂	粗缀合物的 DAR	纯化的缀合物的 DAR
[0222]	I-29	1.08	1.47
	I-30	1.64	1.78
	I-31	1.75	1.72
	I-32	0.90	1.21
	I-33	1.81	1.73
	I-34	1.58	1.77
	I-35	1.76	1.76
[0223]	I-36	1.49	1.79

[0224] 在整个本申请中,通过作者姓名和日期或通过专利号或专利公开号来引用各种公开。这些公开的公开内容特此通过引用整体并入本申请中,以便更全面地描述自本文所描述和所要求保护的发明的日期起本领域技术人员已知的现有技术状态。然而,本文所引用的参考文献不应被解释为承认此类参考文献是本发明的现有技术。

[0225] 所属领域的技术人员将认识到或能够使用不超过常规的实验来确定本文所描述的具体程序的许多等效物。此类等效物被认为在本公开的范围之内并且由以下权利要求所涵盖。例如,可以采用除本文的描述和实例中具体公开的那些以外的药学上可接受的盐。此外,其目的是,项目列表中的特定项目或较大的项目组中的项目子集组可以与其它特定项目、项目子集组或较大的项目组组合,无论本文是否有具体的公开内容来确定此类组合。

[0226] 实例2:用于测定药物抗体比率(DAR)、DAR分布和MATE试剂相关杂质的分析方法

[0227] a. DAR物种的定量和杂质的鉴定

[0228] 以下UPLC分析方法允许同时测定具有不同DAR和MATE试剂相关杂质的物种。药物物质/药物产物(DR/DP)和DAR/DAR分布基于单独的DAR组分HPLC/UV280 nm信号面积来计算。MATE试剂相关的DS/DP杂质含量(MATE试剂、MATE接头和通用抗体结合末端(uABT))被确定为样品杂质浓度与DS/DP蛋白浓度的比率(报告为%wt. 杂质/wt. 蛋白质)。UPLC信号的同源性通过蛋白质和单独杂质RS和LCMS分析得到证实。化合物I-36的代表性UPLC/UV280迹线示出于图1中。DS是期望的产物(MATE),并且杂质表示为所述产物的重量%(DS/DP)。

[0229] UPLC方法使用WATERS ACQUITY UPLC系统,UV 280nm检测进行。MS检测器是WATERS XEVO G2-XS QToF检测器。此检测器用于物种分子量测定。自动采样器在22-23℃的环境条件下工作。使用HALO1000 Å二苯柱,2.7µm,2.1x 50mm,其中柱温为80℃。流速为0.5毫升/分钟。流动相A为0.5%三氟乙酸;流动相B为含0.05%三氟乙酸的乙腈。

表 1: UPLC 梯度		
时间	流速 (毫升/分钟)	B%
[0230] 0	0.5	10
1	0.5	20
10	0.5	50
[0231] 10.1	1.0	100
11	1.0	100
11.1	1.0	10
12	0.5	10

[0232] 用于杂质分析和DAR分析方法的Waters Xevo G2-XS QToF检测器的MS检测器设置示出于表2中。

参数	MS 方法参数值	
	杂质分析	DAR 分析
电离模式	电喷雾电离 (ESI), 正模式	
检测	飞行时间	
扫描范围	500-3000	
[0233] 毛细管电压	+2 kV	+1.5 kV
采样锥体	100	195
源偏离	80	150
源温度	150°C	150°C
去溶剂化温度	500°C	650°C
锥体气体	50 升/小时	100 升/小时
去溶剂化气体	800 升/小时	1000 升/小时

[0234] 将DS/DP样品稀释至大约1.5mg/mL的蛋白质浓度,这对应于在6:94v/v的DMSO:水稀释媒剂中的50倍DS/DP稀释。样品,如I-36储存在-20°C下。将样品解冻并平衡至环境温度持续大约2小时。将涡旋样品静置1-2分钟。在稀释媒剂(DMSO:水=6:94)中稀释至靶浓度(蛋白质1.5mg/mL)。经稀释的样品保持在RT下直至分析,所述分析应在样品稀释的4小时内完成。可替代地,经稀释的样品可以在分析前在2-8°C下储存24小时。如果经稀释的样品储存在2-8°C下,则应允许样品在RT下平衡半小时,并且然后在使用前涡旋1-2分钟。

[0235] b. I-36药物抗体比率(DAR)和DAR分布分析

[0236] 使用先前部分中给出的UPLC方法、检测器参数和样品制备方法,确定I-36制剂的DAR和DAR分布。在对(i)未缀合的IVIG的DAR物种UPLC光谱进行定量之前,获得(ii)MATE杂质与未缀合的IVIG的汇集标准。这些光谱示出于图2A-C中。数据示出于表3和4中。

编号	分析物	分析物浓度 (总蛋白%)	平均 DAR	分析物	分析物浓度 (总蛋白%)	平均 DAR
1	总 IVIG 蛋白	100%	1.55	总 IVIG 蛋白	100%	1.58
2	DAR-0 物种	6.2%		DAR-0 物种	6.0%	
3	DAR-1 物种	32.8%		DAR-1 物种	29.7%	
4	DAR-2 物种	61.1%		DAR-2 物种	64.3%	

[0237]

物种	保留时间 (分钟)	MW	峰强度
未缀合的 IVIG	5.70	约 148.9 kDa	148917.9
I-36 DAR 0	5.70	约 148.3 kDa	148289.0
I-36 DAR 1	6.64	约 156.4 kDa (MW 增加至 IVIG 约 7.5 kDa)	156418.5
I-36 DAR 2	7.43	约 164.0 kDa (MW 增加至 IVIG 约 15.1 kDa)	156418.5

[0238] b.MATE杂质分析的UPLC方法(1)校准曲线制备

[0239] 如下制备汇集的标准储备溶液(PL储备液)。在DMSO中以2.00mg/mL的STD储备溶液浓度制备单独的uABT、MATE试剂(MR)和MATE接头标准(STD)储备溶液。将等体积的单独的1mg/mL DMSO储备溶液合并。所得的单独汇集的储备溶液浓度为0.667mg/mL(PL储备液)。将DMSO标准储备溶液在-70℃下储存至多一个月。

[0240] 需要单独的杂质浓度范围为0.004mg/mL至0.04mg/mL(或对于5uL注射体积为0.02ug/注射至0.2ug/注射)的校准曲线来对MATE反应期间形成的大多数杂质进行定量。DMSO溶液在环境温度下解冻,并且然后彻底涡旋。IVIG工作储备液(82.5mg/mL)是通过用水将165mg/mL IVIG参考材料稀释2倍来制备的。校准曲线标准见表5。6%DMSO浓度和恒定IVIG:所有校准品均维持汇集的杂质比率(w/w)。将校准器溶液储存在环境温度下。校准解决方案的稳定性有限;因此,应在制备校准器后4小时内进行分析。

表 5 - 汇集的校准标准品

PL STD (mg/mL)	PL 储备液 (0.667 mg/mL)	汇集的 STD (μ L)	DMSO (μ l)	IVIG 储备液, 82.5 mg/mL (μ l)	水 (μ l)	总体积 (μ l)
0.04	PL 储备液	18.0	0	15.0	267.0	300
0.03	PL 储备液	13.5	4.5	11.3	270.8	300

表 5 - 汇集的校准标准品

PL STD (mg/mL)	PL 储备液 (0.667 mg/mL)	汇集的 STD (μ L)	DMSO (μ l)	IVIG 储备液, 82.5 mg/mL (μ l)	水 (μ l)	总体积 (μ l)
0.02	PL 储备液	9.0	9.0	7.5	274.5	300
0.01	PL 储备液	4.5	13.5	3.8	278.3	300
0.004	10x DMSO 稀释的 PL 储备液	18	0	1.5	280.5	300

[0243] (2)DS/DP样品处理

[0244] 经稀释的DS/DP样品稳定至少2小时。在表6中所示的经稀释的样品再现性研究之后,选择50倍DS/DP样品稀释度以用于杂质分析。

表 6

蛋白质浓度(mg/mL)	样品稀释	uABT (% wt./wt.蛋白质)		MATE 接头 (% wt./wt.蛋白质)		MATE 试剂 (% wt./wt.蛋白质)	
		T ₀	2 小时	T ₀	2 小时	T ₀	2 小时
7.50	10	1.76%	1.76%	0.74%	0.76%	3.19%	3.12%
1.50	50	1.64%	1.60%	0.68%	0.67%	2.84%	2.78%
0.75	100	1.57%	1.59%	0.64%	0.58%	2.79%	2.63%
0.50	150	1.57%	1.58%	0.62%	0.53%	2.78%	2.54%
0.38	200	1.56%	1.57%	0.58%	0.56%	2.74%	2.61%
0.30	250	1.56%	1.59%	0.56%	0.44%	2.72%	2.41%
0.25	300	1.66%	1.67%	0.53%	0.51%	2.78%	2.57%

[0246] 发现校准曲线对于单独的和汇集的杂质是可再现的。uABT、MATE接头和MATE试剂样品的校准曲线数据示出于图3中。uABT、MATE接头和I-36/I-20的MATE试剂的校准曲线计

算品是从校准曲线中提取的,并且呈现于表7中。

杂质	单独的计算品		汇集的计算品	
	线性回归	R ²	线性回归	R ²
[0247] uABT	y=220251x-2343.5	0.9997	y=223653x-1622	0.9982
MATE 接头	y=22668x-80.552	1.0000	y=25971X-55.739	0.9998
MATE 试剂	y=40648x-31.285	0.9999	y=43591x-8.3333	0.9999

[0248] 使用表7中所示的校准曲线计算品,计算I-36缀合反应的两次重复的杂质。结果示出于表8中。使用蛋白质校准曲线确立总蛋白质浓度。

	分析物	分析物浓度		
		mg/mL	mg/mg 蛋白质	% wt./wt.蛋白质
1	总 IVIG 蛋白	57.79	n/a	n/a
2	游离 uABT	0.93	0.0161	1.61%
[0249] 3	游离 MATE 试剂	1.65	0.0286	2.86%
4	游离 MATE 接头	0.35	0.0061	0.61%
1	总 IVIG 蛋白	64.52	n/a	n/a
2	游离 uABT	1.13	0.0175	1.75%
3	游离 MATE 试剂	1.38	0.0214	2.14%
4	游离 MATE 接头	0.64	0.0099	0.99%

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 3

Asn Asp Asp Glu Leu His Met Leu Met Thr Asp Leu Val Tyr Glu Ala
1 5 10 15
Leu His Phe Ala Lys Asp Glu Glu Ile Lys Lys Arg Val Phe Gln Leu
 20 25 30
Phe Glu Leu Ala Asp Lys Ala Tyr Lys Asn Asn Asp Arg Gln Lys Leu
 35 40 45
Glu Lys Val Val Glu Glu Leu Lys Glu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Ser
 50 55 60

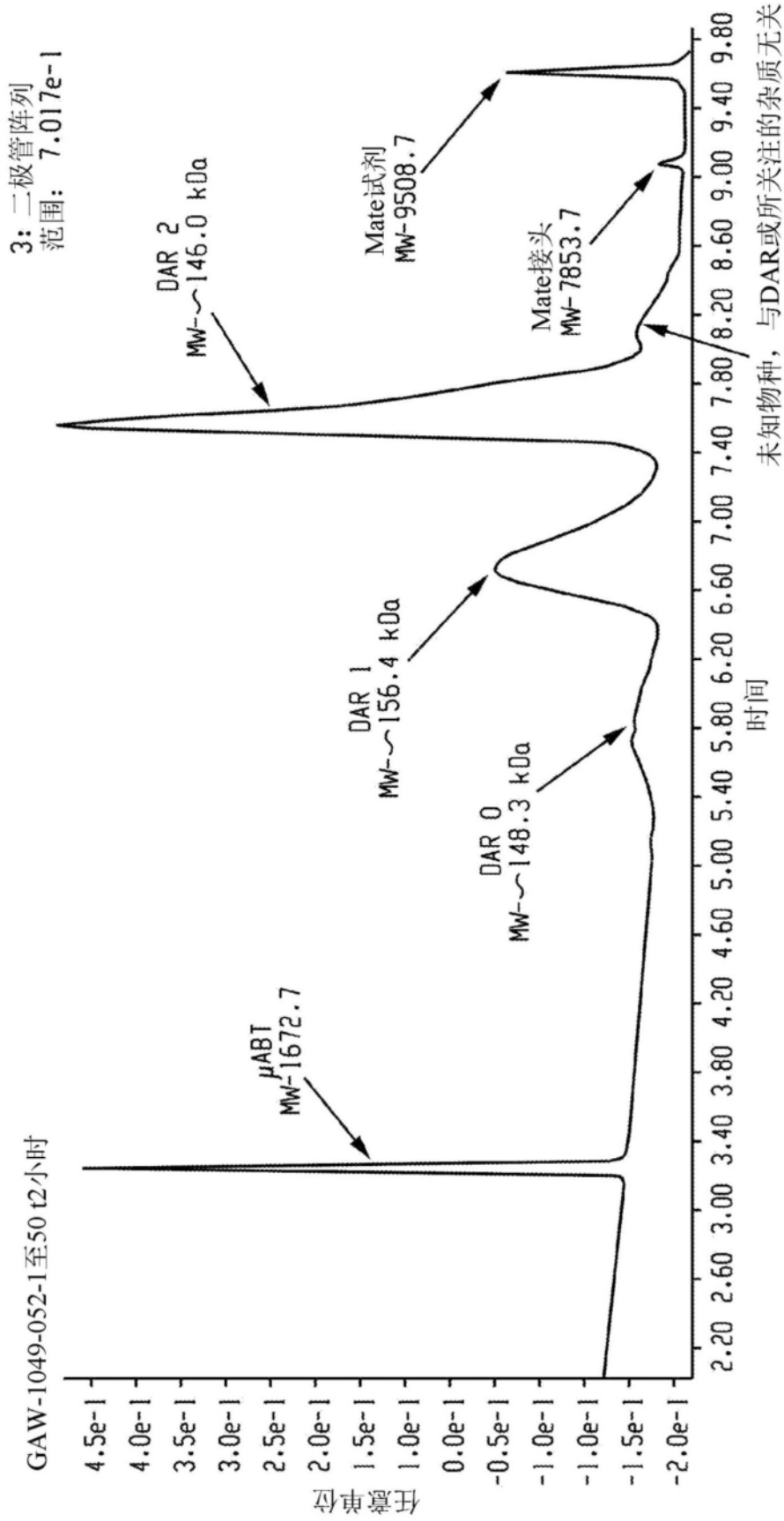


图1

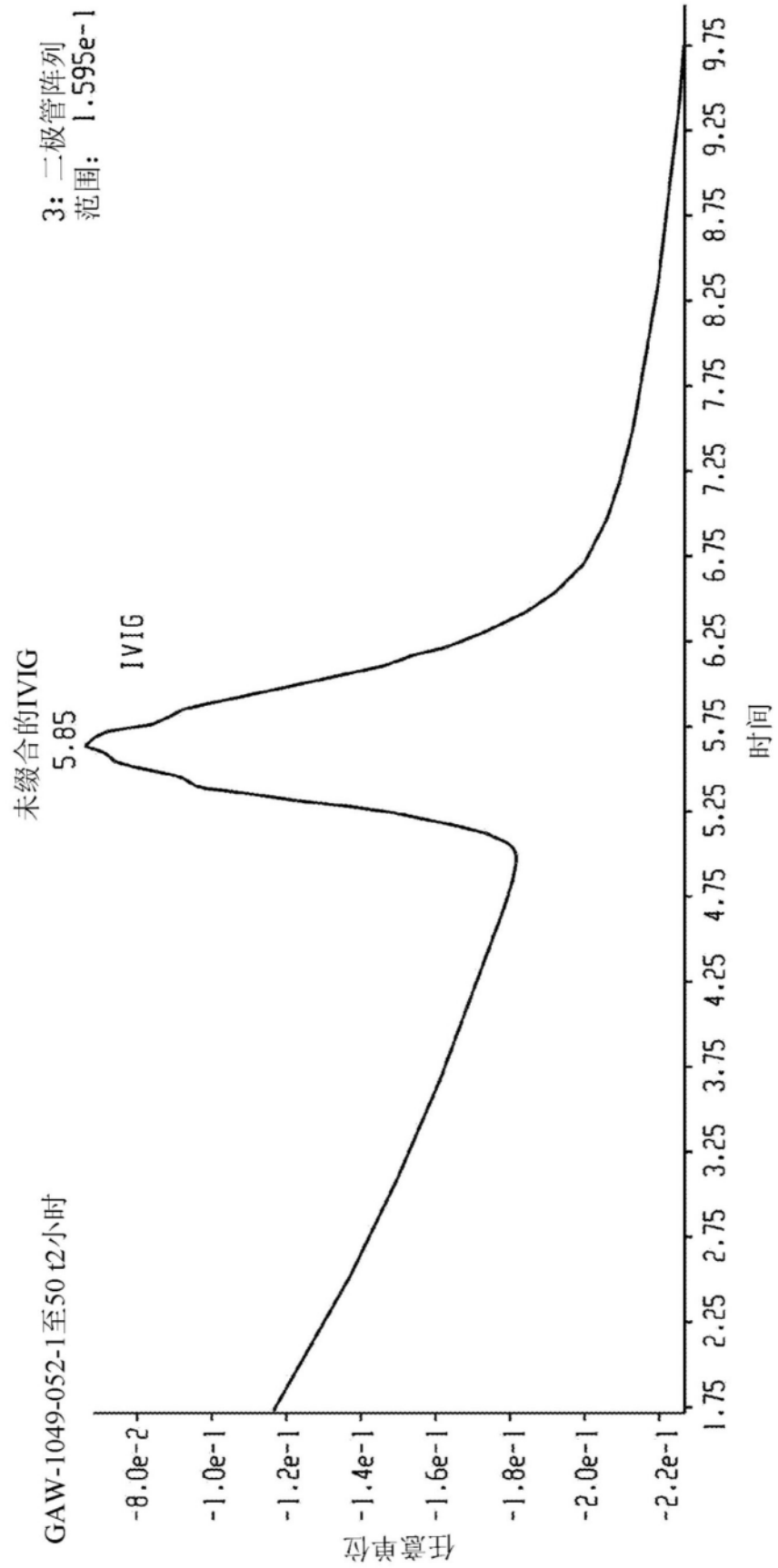


图2A

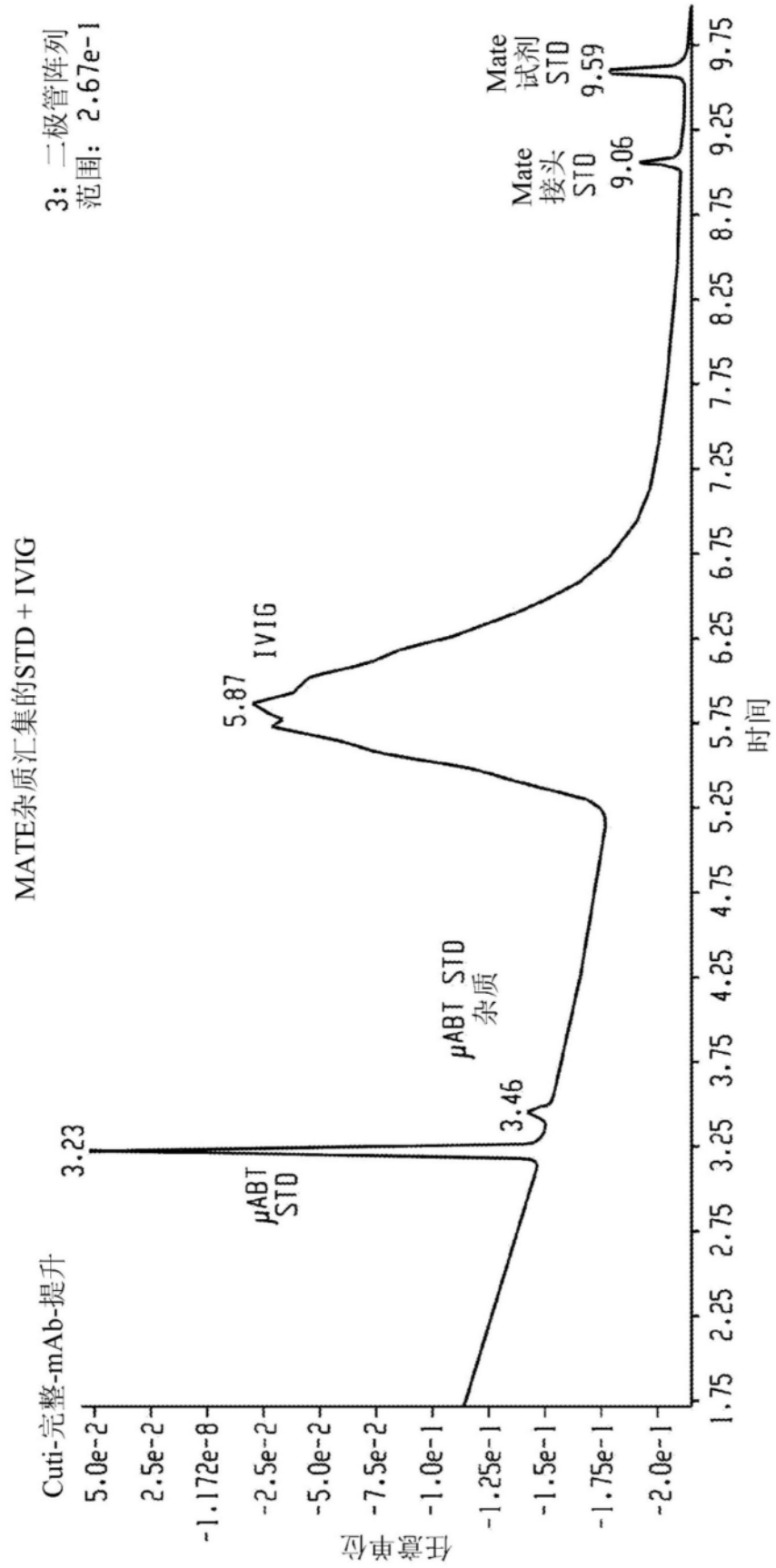


图2B

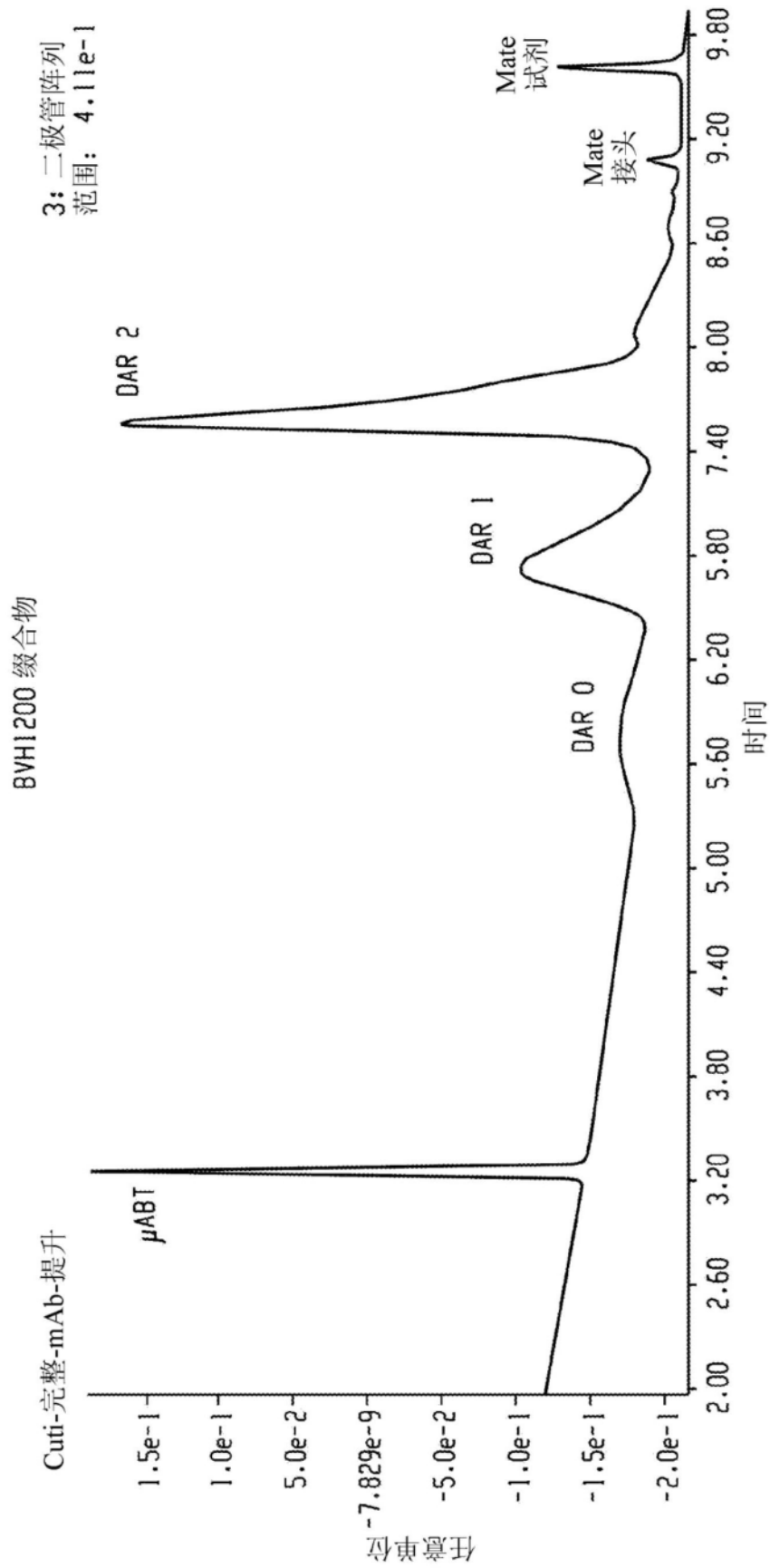


图2C

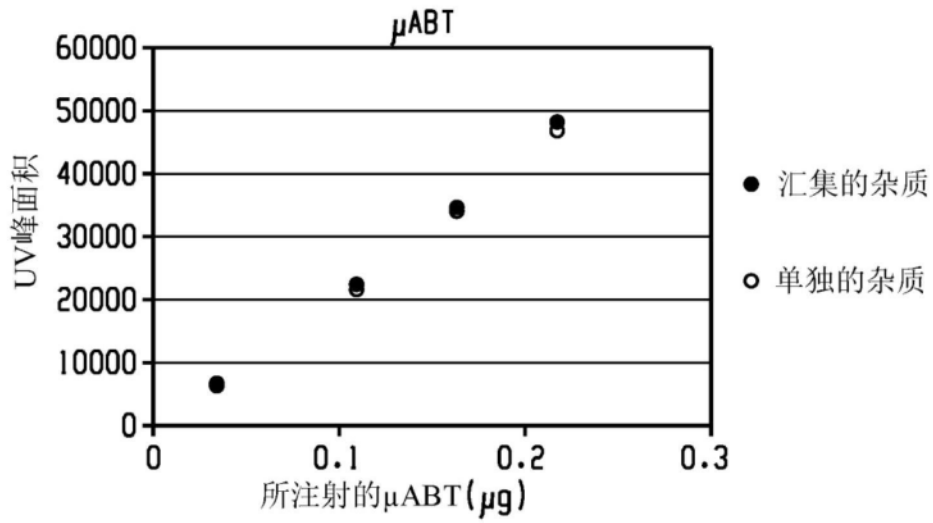


图3A

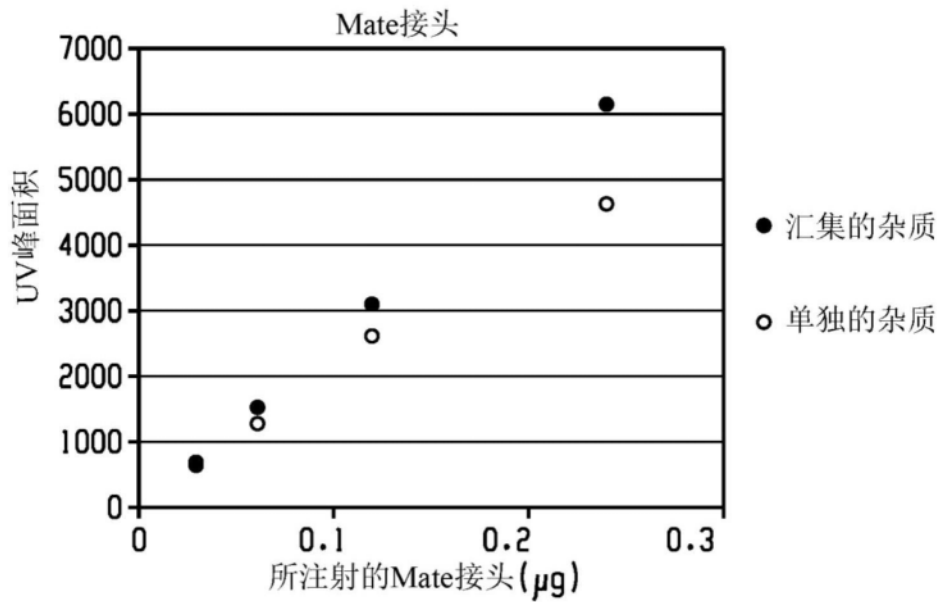


图3B

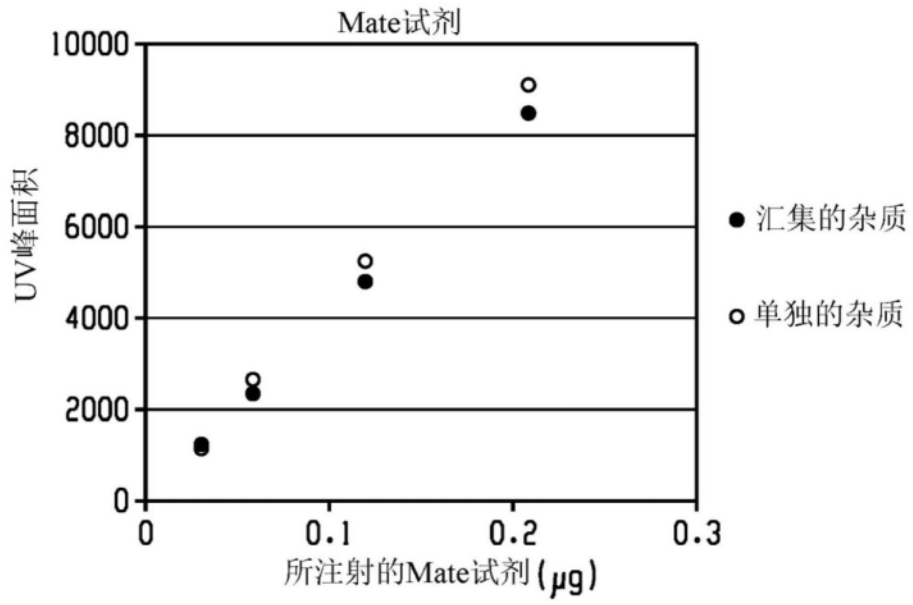


图3C