(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119896746 A
(43)申请公布日 2025.04.29

(21)申请号 202510154420.3

(22)申请日 2020.01.22

(30)优先权数据
62/795,875 2019.01.23 US

(62)分案原申请数据
202080013223.5 2020.01.22

(71)申请人 R.P.谢勒技术有限责任公司
地址 美国内华达州

(72)发明人 D·拉布卡 J·刘 A·奥贡科亚
R·A·库迪尔卡

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
专利代理师 岑晓东

(51)Int.Cl.
A61K 47/68(2017.01)
A61K 31/5365(2006.01)
A61K 38/05(2006.01)
A61K 31/407(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)

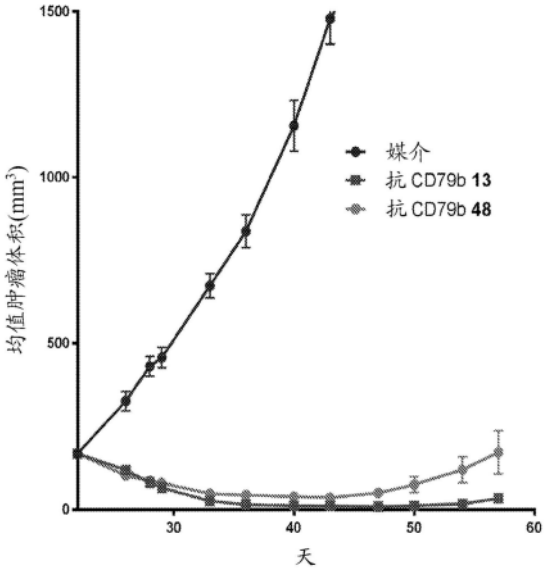
权利要求书10页 说明书110页 附图4页

(54)发明名称

用于抗体-药物缀合物的含有糖苷的肽接头

(57)摘要

本公开内容提供抗体-药物缀合物结构,其包括可切割接头,该可切割接头连接抗体至药物且具有第一可切割模块和阻碍对第一可切割模块的切割的第二可切割模块。本公开内容还涵盖此类缀合物的生产方法以及使用方法。



CN 119896746 A

1.一种缀合物,其包含:

抗体;

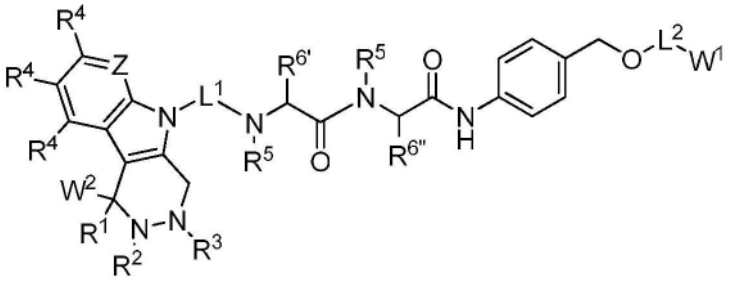
药物;和

可切割接头,该可切割接头连接该抗体至该药物且包含第一可切割模块和阻碍对该第一可切割模块的切割的第二可切割模块,

其中该第一可切割模块包含肽且该第二可切割模块包含糖苷,

(i)

其中该缀合物是式(Ia)的:



(Ia),

其中:

Z是CR^4或N;

R^1选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

R^2和R^3每个独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,或R^2和R^3任选环状连接以形成5或6元杂环基;

每个R^4独立选自氢,卤素,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

每个R^5独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,和取代的炔基;

$R^{6'}$或$R^{6''}$之一包含该第二可切割模块,且$R^{6'}$和$R^{6''}$之另一选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

L^1是第一接头;

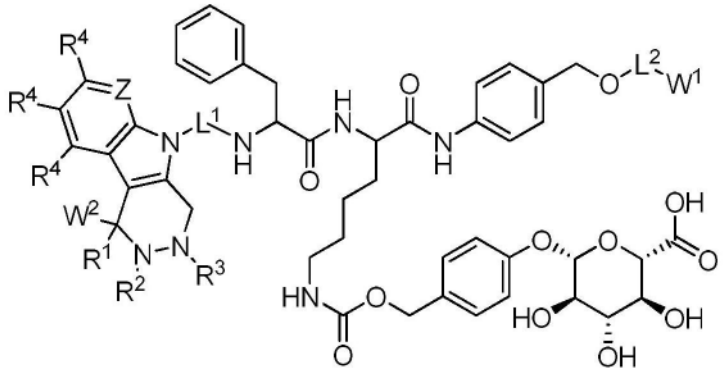
L^2是第二接头;

W^1是该药物;且

W^2是该抗体;

(ii)

其中该缀合物是式(Ib)的:



(Ib),

其中：

Z是CR^4或N；

R^1选自氢，烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，和取代的杂环基；

R^2和R^3每个独立选自氢，烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，烷氧基，取代的烷氧基，氨基，取代的氨基，羧基，羧基酯，酰基，酰基氧基，酰基氨基，氨基酰基，烷基酰胺，取代的烷基酰胺，磺酰基，硫代烷氧基，取代的硫代烷氧基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，和取代的杂环基，或R^2和R^3任选环状连接以形成5或6元杂环基；

每个R^4独立选自氢，卤素，烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，烷氧基，取代的烷氧基，氨基，取代的氨基，羧基，羧基酯，酰基，酰基氧基，酰基氨基，氨基酰基，烷基酰胺，取代的烷基酰胺，磺酰基，硫代烷氧基，取代的硫代烷氧基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，和取代的杂环基；

L^1是第一接头；

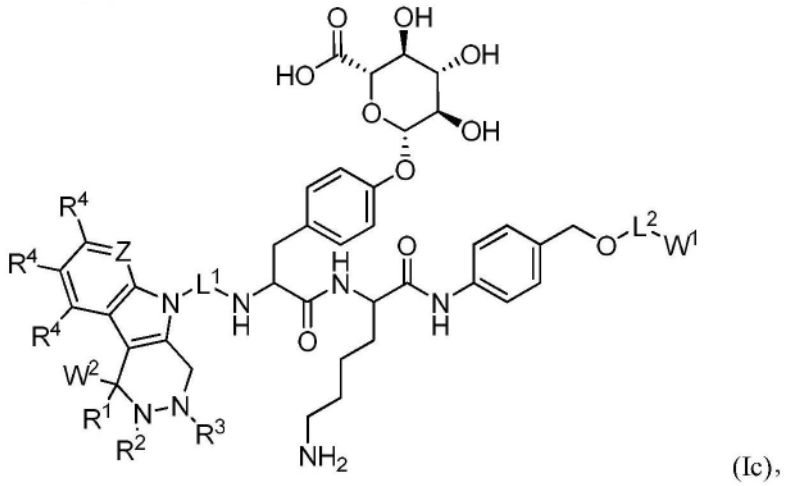
L^2是第二接头；

W^1是该药物；且

W^2是该抗体；

(iii)

其中该缀合物是式(Ic)的：



(Ic),

其中：

Z是CR^4或N;

R^1选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

R^2和R^3每个独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,或R^2和R^3任选环状连接以形成5或6元杂环基;

每个R^4独立选自氢,卤素,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

L^1是第一接头;

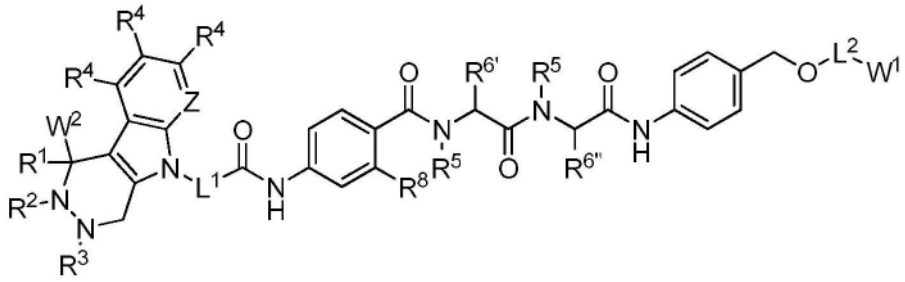
L^2是第二接头;

W^1是该药物;且

W^2是该抗体;

(iv)

其中该缀合物是式(If)的:



(If),

其中:

Z是CR^4或N;

R^1选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

R^2和R^3每个独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,或R^2和R^3任选环状连接以形成5或6元杂环基;

每个R^4独立选自氢,卤素,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

每个R^5独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,和取代的炔基;

$R^{6'}$和$R^{6''}$独立选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的

芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

R^8包含该第二可切割模块

L^1是第一接头;

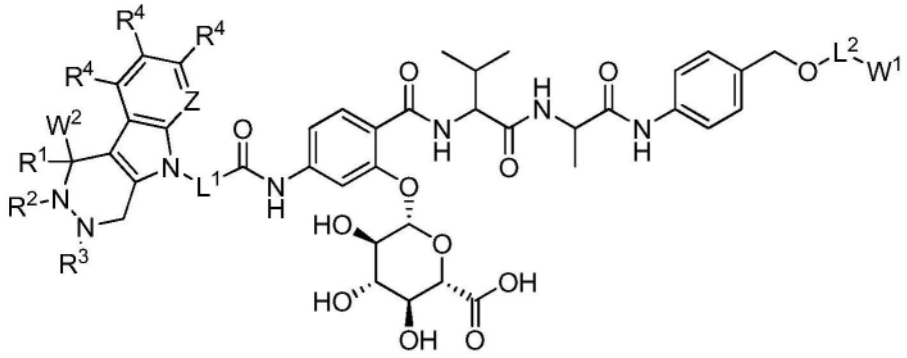
L^2是第二接头;

W^1是该药物;且

W^2是该抗体;或

(v)

其中该缀合物是式(Ig)的:



(Ig),

其中:

Z是CR^4或N;

R^1选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

R^2和R^3每个独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,或R^2和R^3任选环状连接以形成5或6元杂环基;

每个R^4独立选自氢,卤素,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

L^1是第一接头;

L^2是第二接头;

W^1是该药物;且

W^2是该抗体。

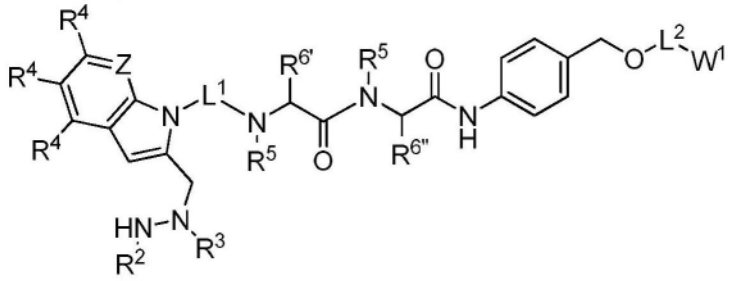
2.一种化合物,其包含:

用于连接抗体至药物的可切割接头,其中该可切割接头包含第一可切割模块和阻碍对该第一可切割模块的切割的第二可切割模块,

其中该第一可切割模块包含肽且该第二可切割模块包含糖苷,

(i)

其中该化合物是式(IIa)的:



(IIa),

其中：

Z是CR^4或N；

R^1选自氢，烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，和取代的杂环基；

R^2和R^3每个独立选自氢，烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，烷氧基，取代的烷氧基，氨基，取代的氨基，羧基，羧基酯，酰基，酰基氧基，酰基氨基，氨基酰基，烷基酰胺，取代的烷基酰胺，磺酰基，硫代烷氧基，取代的硫代烷氧基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，和取代的杂环基，或R^2和R^3任选环状连接以形成5或6元杂环基；

每个R^4独立选自氢，卤素，烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，烷氧基，取代的烷氧基，氨基，取代的氨基，羧基，羧基酯，酰基，酰基氧基，酰基氨基，氨基酰基，烷基酰胺，取代的烷基酰胺，磺酰基，硫代烷氧基，取代的硫代烷氧基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，和取代的杂环基；

每个R^5独立选自氢，烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，和取代的炔基；

$R^{6'}$或$R^{6''}$之一包含该第二可切割模块，且$R^{6'}$和$R^{6''}$之另一选自烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，和取代的杂环基；

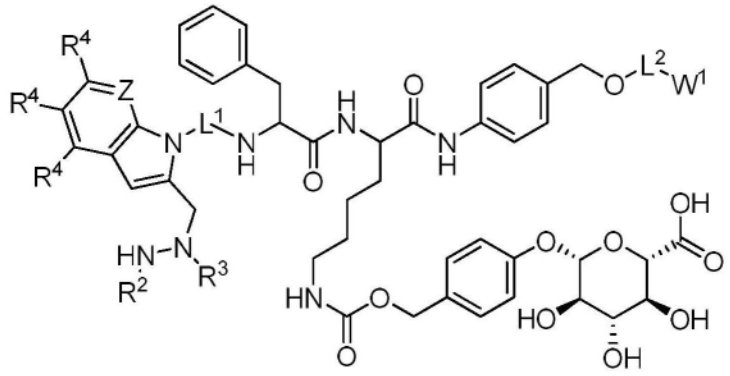
L^1是第一接头；

L^2是第二接头；且

W^1是该药物；

(ii)

其中该化合物是式(IIb)的：



(IIb),

其中：

Z是CR^4或N；

R^1选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

R^2和R^3每个独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,或R^2和R^3任选环状连接以形成5或6元杂环基;

每个R^4独立选自氢,卤素,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

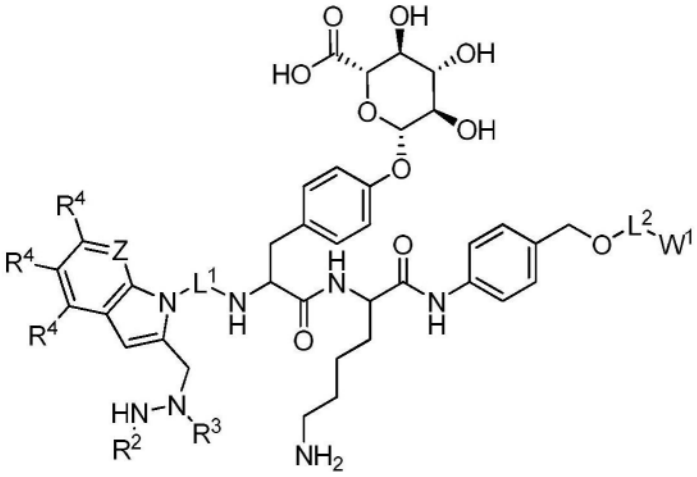
L^1是第一接头;

L^2是第二接头;且

W^1是该药物;

(iii)

其中该化合物是式(IIc)的:



(IIc),

其中:

Z是CR^4或N;

R^1选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

R^2和R^3每个独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,或R^2和R^3任选环状连接以形成5或6元杂环基;

每个R^4独立选自氢,卤素,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂

芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

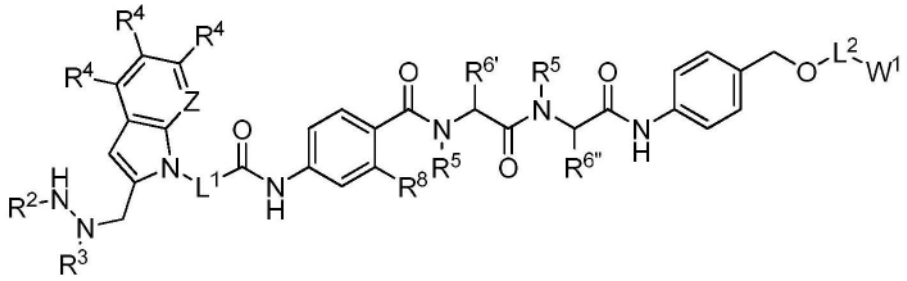
L^1是第一接头;

L^2是第二接头;且

W^1是该药物;

(iv)

其中该化合物是式(IIf)的:



(IIf),

其中:

Z是CR^4或N;

R^1选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

R^2和R^3每个独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,或R^2和R^3任选环状连接以形成5或6元杂环基;

每个R^4独立选自氢,卤素,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

每个R^5独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,和取代的炔基;

$R^{6'}$和$R^{6''}$独立选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

R^8包含该第二可切割模块

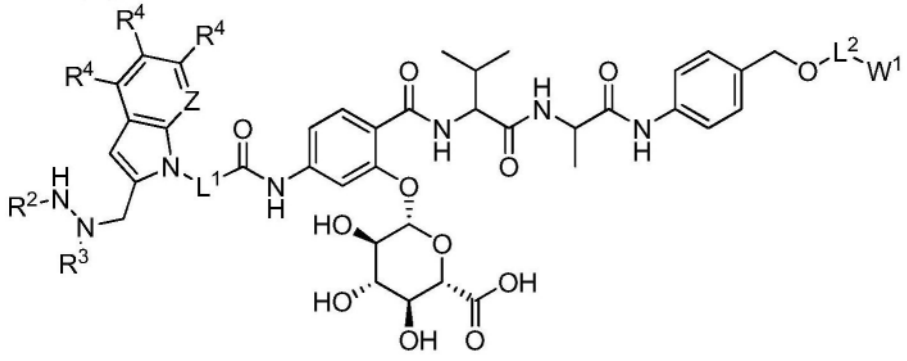
L^1是第一接头;

L^2是第二接头;且

W^1是该药物;或

(v)

其中该化合物是式(IIg)的:



(IIg),

其中:

Z是CR^4或N;

R^2和R^3每个独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,或R^2和R^3任选环状连接以形成5或6元杂环基;

每个R^4独立选自氢,卤素,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

L^1是第一接头;

L^2是第二接头;且

W^1是该药物。

3.权利要求1的缀合物或权利要求2的化合物,其中L^1包含:

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

其中

a,b,c和d每个独立是0或1;

T^1,T^2,T^3和T^4每个独立选自共价键,(C_1-C_{12})烷基,取代的(C_1-C_{12})烷基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,$(EDA)_w$,$(PEG)_n$,$(AA)_p$,$-(CR^{13}OH)_m-$,4-氨基-哌啶(4AP),乙缩醛基团,肼,二硫化物,和酯,其中EDA是乙二胺模块,PEG是聚乙二醇,而AA是氨基酸残基,其中每个w是1至20的整数,每个n是1至30的整数,每个p是1至20的整数,且每个m是1至12的整数;

V^1,V^2,V^3和V^4每个独立选自下组:共价键,-CO-,$-NR^{15}-$,$-NR^{15}(CH_2)_q-$,$-NR^{15}(C_6H_4)-$,$-CONR^{15}-$,$-NR^{15}CO-$,-C(O)O-,-OC(O)-,-O-,-S-,-S(O)-,$-SO_2-$,$-SO_2NR^{15}-$,$-NR^{15}SO_2-$和-P(O)OH-,其中每个q是1至6的整数;

每个R^{13}独立选自氢,烷基,取代的烷基,芳基,和取代的芳基;且

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

4.权利要求1或3的缀合物或权利要求2或3的化合物,其中L^2包含:

$-(T^5-V^5)_e-(T^6-V^6)_f-(T^7-V^7)_g-(T^8-V^8)_h-$，

其中

e,f,g和h每个独立是0或1；

T^5,T^6,T^7和T^8每个独立选自共价键，(C_1-C_{12})烷基，取代的(C_1-C_{12})烷基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，和取代的杂环基，$(EDA)_w$，$(PEG)_n$，$(AA)_p$，$-(CR^{13}OH)_m-$，4-氨基-哌啶(4AP)，乙缩醛基团，肼，二硫化物，和酯，其中EDA是乙二胺模块，PEG是聚乙二醇，而AA是氨基酸残基，其中每个w是1至20的整数，每个n是1至30的整数，每个p是1至20的整数，且每个m是1至12的整数；

V^5,V^6,V^7和V^8每个独立选自下组：共价键，$-CO-$，$-NR^{15}-$，$-NR^{15}(CH_2)_q-$，$-NR^{15}(C_6H_4)-$，$-CONR^{15}-$，$-NR^{15}CO-$，$-C(O)O-$，$-OC(O)-$，$-O-$，$-S-$，$-S(O)-$，$-SO_2-$，$-SO_2NR^{15}-$，$-NR^{15}SO_2-$和$-P(O)OH-$，其中每个q是1至6的整数；

每个R^{13}独立选自氢，烷基，取代的烷基，芳基，和取代的芳基；且

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

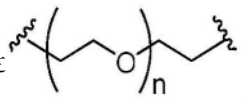
5.权利要求4的缀合物或权利要求4的化合物，其中：

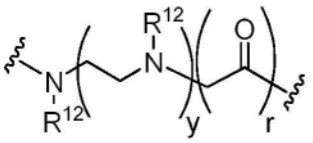
T^1选自(C_1-C_{12})烷基和取代的(C_1-C_{12})烷基；

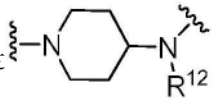
T^2,T^3,和T^4每个独立选自芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，和取代的杂环基，$(EDA)_w$，$(PEG)_n$，(C_1-C_{12})烷基，取代的(C_1-C_{12})烷基，$(AA)_p$，$-(CR^{13}OH)_m-$，4-氨基-哌啶(4AP)，乙缩醛基团，肼，和酯；且

V^1,V^2,V^3和V^4每个独立选自下组：共价键，$-CO-$，$-NR^{15}-$，$-NR^{15}(CH_2)_q-$，$-NR^{15}(C_6H_4)-$，$-CONR^{15}-$，$-NR^{15}CO-$，$-C(O)O-$，$-OC(O)-$，$-O-$，$-S-$，$-S(O)-$，$-SO_2-$，$-SO_2NR^{15}-$，$-NR^{15}SO_2-$，和$-P(O)OH-$；

其中：

$(PEG)_n$是，其中n是1至30的整数；

EDA是具有如下结构的乙二胺模块：，其中y是1至6的整数且r是0或1；

4-氨基-哌啶(4AP)是；

每个R^{12}和R^{15}独立选自氢，烷基，取代的烷基，聚乙二醇模块，芳基和取代的芳基，其中任两个相邻的R^{12}基团可以环状连接以形成哌嗪基环；且

R^{13}选自氢，烷基，取代的烷基，芳基，和取代的芳基。

6.权利要求4或5的缀合物或权利要求4或5的化合物，其中：

(i)

T^1是(C_1-C_{12})烷基且V^1是-CO-;

T^2是4AP且V^2是共价键;

T^3是$(PEG)_n$且V^3是-CO-;且

d是0;

(ii)

T^1是(C_1-C_{12})烷基且V^1是-CO-;

T^2是4AP且V^2是共价键;

T^3是$(PEG)_n$且V^3是-CONH-;且

T^4是芳基或取代的芳基且V^4是-CO-;或

(iii)

T^5是共价键且V^5是-CO-;且

f,g和h是0。

7.权利要求1和3至6任一项的缀合物或权利要求2至6任一项的化合物,其中该药物选自奥瑞司他汀,美登木素,和倍癌霉素。

8.一种药学组合物,其包含:

权利要求1和3至7任一项的缀合物;和

药学可接受赋形剂。

9.权利要求1和3至7任一项的缀合物,其用于治疗。

10.包含权利要求1和3至7任一项的缀合物的药学组合物,其用于治疗受试者中的癌症的方法。

用于抗体-药物缀合物的含有糖苷的肽接头

[0001] 本申请是申请日为2020年01月22日、中国申请号为202080013223.5、发明名称为“用于抗体-药物缀合物的含有糖苷的肽接头”的发明申请的分案申请。

[0002] 对相关申请的交叉援引

[0003] 本申请要求2019年1月23日提交的美国临时申请No.62/795,875的权益,通过援引将其公开内容收入本文。

技术领域

[0004] 本公开内容涉及抗体-药物缀合物,具体涉及抗体-药物缀合物的含有糖苷的肽接头。

背景技术

[0005] 蛋白质-小分子治疗性缀合物领域进展很大,提供多种在临床上有益的药物及在未来几年中提供更多的承诺。蛋白质缀合物治疗剂可提供数项优点,这是由于例如特异性,功能多样性及相对低的脱靶活性,导致更少的副作用。对蛋白质的化学修饰可通过使它们更加有力,稳定,或多模态而扩充这些优点。

发明内容

[0006] 本公开内容提供抗体-药物缀合物结构,其包括可切割接头,该可切割接头连接抗体至药物且具有第一可切割模块和阻碍对第一可切割模块的切割的第二可切割模块。本公开内容还涵盖此类缀合物的生产方法以及使用方法。

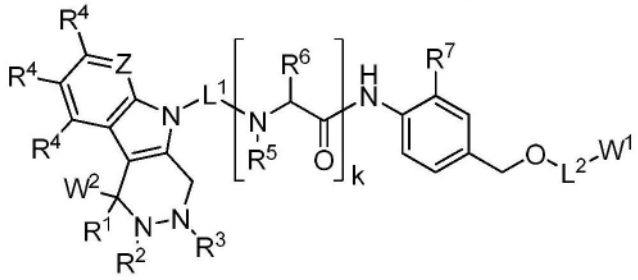
[0007] 本公开内容的多个方面包括一种缀合物,其包括抗体,药物,和可切割接头,该可切割接头连接抗体至药物且具有第一可切割模块和阻碍对第一可切割模块的切割的第二可切割模块。

[0008] 在一些实施方案中,第一可切割模块是酶可切割模块且第二可切割模块是化学可切割模块。

[0009] 在一些实施方案中,第一可切割模块是化学可切割模块且第二可切割模块是酶可切割模块。

[0010] 在一些实施方案中,第一可切割模块是第一酶可切割模块且第二可切割模块是第二酶可切割模块。例如,第一酶可切割模块可包括第一肽且第二酶可切割模块可包括第二肽。在一些情况中,第一酶可切割模块包括肽且第二酶可切割模块包括糖苷。

[0011] 在一些实施方案中,缀合物是式(I)的:

[0012] 

(I),

[0013] 其中

[0014] Z是CR^4或N;

[0015] R^1选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

[0016] R^2和R^3每个独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,或R^2和R^3任选环状连接以形成5或6元杂环基;

[0017] 每个R^4独立选自氢,卤素,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

[0018] 每个R^5独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,和取代的炔基;

[0019] 每个R^6独立选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

[0020] k是1至10的整数;

[0021] R^7选自氢,卤素,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

[0022] L^1是第一接头;

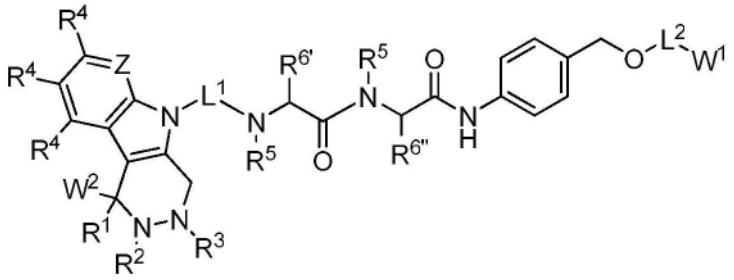
[0023] L^2是第二接头;

[0024] W^1是药物;且

[0025] W^2是抗体,

[0026] 其中L^1,R^6或R^7之一包含第二可切割模块。

[0027] 在一些实施方案中,k是2,且缀合物是式(Ia)的:

[0028] 

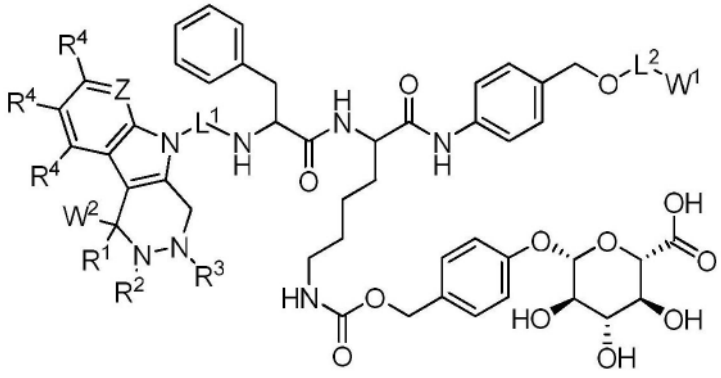
(Ia),

[0029] 其中

[0030] $R^{6'}$或$R^{6''}$之一包含第二可切割模块,且$R^{6'}$和$R^{6''}$之另一选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。

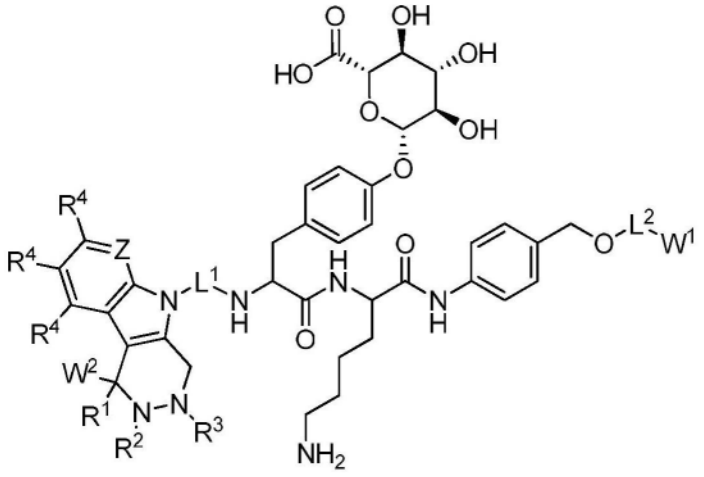
[0031] 在一些实施方案中,第二可切割模块是包含糖苷的酶可切割模块。

[0032] 在一些实施方案中,缀合物是式(Ib)的:

[0033] 

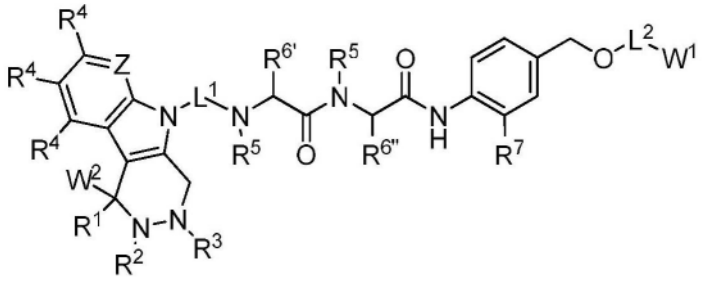
(Ib)。

[0034] 在一些实施方案中,缀合物是式(Ic)的:

[0035] 

(Ic)。

[0036] 在一些实施方案中,k是2,且缀合物是式(Id)的:

[0037] 

(Id),

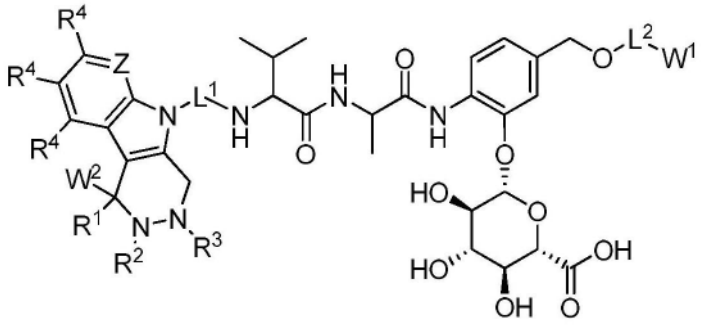
[0038] 其中

[0039] $R^{6'}$和$R^{6''}$独立选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;且

[0040] R^7包含第二可切割模块。

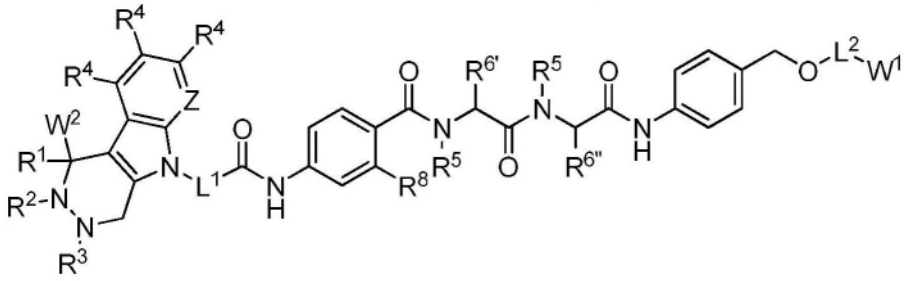
[0041] 在一些实施方案中,第二可切割模块是包含糖苷的酶可切割模块。

[0042] 在一些实施方案中,缀合物是式(Ie)的:

[0043] 

(Ie)。

[0044] 在一些实施方案中,k是2,且缀合物是式(If)的:

[0045] 

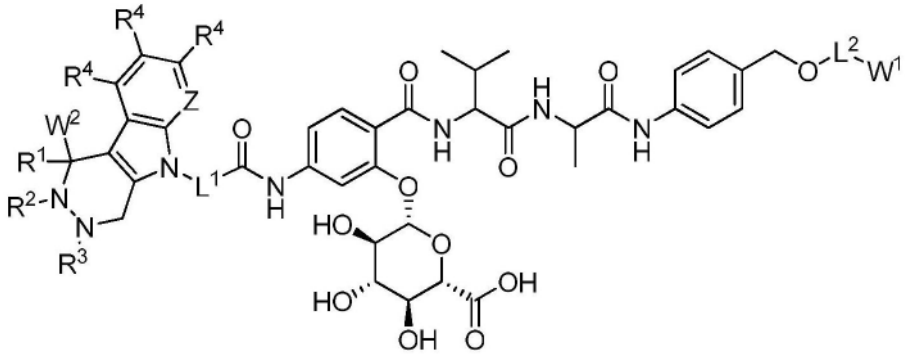
(If),

[0046] 其中

[0047] $R^{6'}$和$R^{6''}$独立选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;且

[0048] R^8包含第二可切割模块。

[0049] 在一些实施方案中,缀合物是式(Ig)的:

[0050] 

(Ig)。

[0051] 在一些实施方案中,L^1包含:

[0052] $-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-(T^4-V^4)_d-$,

[0053] 其中

[0054] a,b,c和d每个独立是0或1;

[0055] T^1,T^2,T^3和T^4每个独立选自共价键,(C_1-C_{12})烷基,取代的(C_1-C_{12})烷基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,$(EDA)_w$,$(PEG)_n$,$(AA)_p$,$-(CR^{13}OH)m-$,4-氨基-哌啶(4AP),乙缩醛基团,肼,二硫化物,和酯,其中EDA是乙二胺模块,PEG是聚乙二醇,而AA是氨基酸残基,其中每个w是1至20的整数,每个n是1至30的整数,每个p是1至20的整数,且每个m是1至12的整数;

[0056] V^1,V^2,V^3和V^4每个独立选自下组:共价键,$-CO-$,$-NR^{15}-$,$-NR^{15}(CH_2)_q-$,$-NR^{15}(C_6H_4)-$,$-CONR^{15}-$,$-NR^{15}CO-$,$-C(O)O-$,$-OC(O)-$,$-O-$,$-S-$,$-S(O)-$,$-SO_2-$,$-SO_2NR^{15}-$,$-NR^{15}SO_2-$和$-P(O)OH-$,其中每个q是1至6的整数;

[0057] 每个R^{13}独立选自氢,烷基,取代的烷基,芳基,和取代的芳基;且

[0058] 每个R^{15}独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,羧基,羧基酯,酰基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。

[0059] 在一些实施方案中,L^2包含:

[0060] $-(T^5-V^5)_e-(T^6-V^6)_f-(T^7-V^7)_g-(T^8-V^8)_h-$,

[0061] 其中

[0062] e,f,g和h每个独立是0或1;

[0063] T^5,T^6,T^7和T^8每个独立选自共价键,(C_1-C_{12})烷基,取代的(C_1-C_{12})烷基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,$(EDA)_w$,$(PEG)_n$,$(AA)_p$,$-(CR^{13}OH)m-$,4-氨基-哌啶(4AP),乙缩醛基团,肼,二硫化物,和酯,其中EDA是乙二胺模块,PEG是聚乙二醇,而AA是氨基酸残基,其中每个w是1至20的整数,每个n是1至30的整数,每个p是1至20的整数,且每个m是1至12的整数;

[0064] V^5,V^6,V^7和V^8每个独立选自下组:共价键,$-CO-$,$-NR^{15}-$,$-NR^{15}(CH_2)_q-$,$-NR^{15}(C_6H_4)-$,$-CONR^{15}-$,$-NR^{15}CO-$,$-C(O)O-$,$-OC(O)-$,$-O-$,$-S-$,$-S(O)-$,$-SO_2-$,$-SO_2NR^{15}-$,$-NR^{15}SO_2-$和$-P(O)OH-$,其中每个q是1至6的整数;

[0065] 每个R^{13}独立选自氢,烷基,取代的烷基,芳基,和取代的芳基;且

[0066] 每个R^{15}独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,羧基,羧基酯,酰基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环

基,和取代的杂环基。

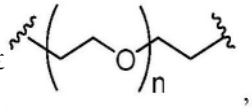
[0067] 在一些实施方案中,

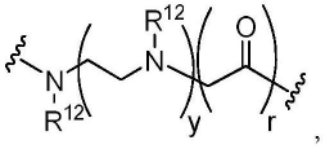
[0068] T^1选自(C_1-C_{12})烷基和取代的(C_1-C_{12})烷基;

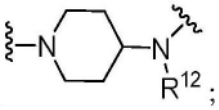
[0069] T^2,T^3和T^4每个独立选自芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,$(EDA)_w$,$(PEG)_n$,(C_1-C_{12})烷基,取代的(C_1-C_{12})烷基,$(AA)_p$,-($CR^{13}OH$)m-,4-氨基-哌啶-(4AP),乙缩醛基团,肼,和酯;且

[0070] V^1,V^2,V^3和V^4每个独立选自下组:共价键,-CO-,$-NR^{15}-$,$-NR^{15}(CH_2)_q-$,$-NR^{15}(C_6H_4)-$,$-CONR^{15}-$,$-NR^{15}CO-$,-C(O)O-,-OC(O)-,-O-,-S-,-S(O)-,$-SO_2-$,$-SO_2NR^{15}-$,$-NR^{15}SO_2-$,和-P(O)OH-;

[0071] 其中:

[0072] $(PEG)_n$是其中n是1至30的整数;

[0073] EDA是具有如下结构的乙二胺模块:其中y是1至6的整数且r是0或1;

[0074] 4-氨基-哌啶(4AP)是;

[0075] 每个R^{12}和R^{15}独立选自氢,烷基,取代的烷基,聚乙二醇模块,芳基和取代的芳基,其中任两个相邻的R^{12}基团可以环状连接以形成哌嗪基环;且

[0076] R^{13}选自氢,烷基,取代的烷基,芳基,和取代的芳基。

[0077] 在一些实施方案中,

[0078] T^1是(C_1-C_{12})烷基且V^1是-CO-;

[0079] T^2是4AP且V^2是共价键;

[0080] T^3是$(PEG)_n$且V^3是-CO-;且

[0081] d是0。

[0082] 在一些实施方案中,

[0083] T^1是(C_1-C_{12})烷基且V^1是-CO-;

[0084] T^2是4AP且V^2是共价键;

[0085] T^3是$(PEG)_n$且V^3是-CONH-;且

[0086] T^4是芳基或取代的芳基且V^4是-CO-。

[0087] 在一些实施方案中,

[0088] T^5是共价键且V^5是-CO-;且

[0089] f,g和h是0。

[0090] 在一些实施方案中,药物选自奥瑞司他汀(auristatin),美登木素(maytansine),和倍癌霉素(duocarmycin)。

[0091] 本公开内容的多个方面包括一种化合物,其包括用于连接抗体至药物的可切割接

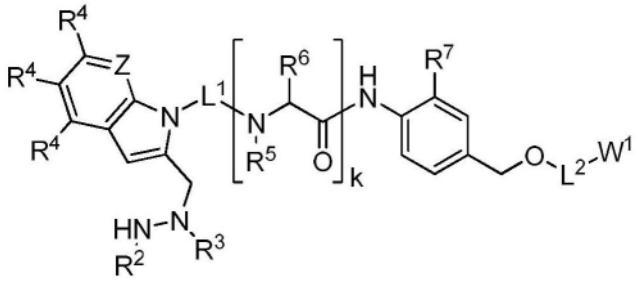
头,其中可切割接头包含第一可切割模块和阻碍对第一可切割模块的切割的第二可切割模块。

[0092] 在一些实施方案中,第一可切割模块是酶可切割模块且第二可切割模块是化学可切割模块。

[0093] 在一些实施方案中,第一可切割模块是化学可切割模块且第二可切割模块是酶可切割模块。

[0094] 在一些实施方案中,第一可切割模块是第一酶可切割模块且第二可切割模块是第二酶可切割模块。例如,第一酶可切割模块可以是第一肽且第二酶可切割模块可以是第二肽。在一些情况中,第一酶可切割模块包括肽且第二酶可切割模块包括糖苷。

[0095] 在一些实施方案中,化合物是式(II)的:

[0096] 

(II),

[0097] 其中

[0098] Z是CR^4或N;

[0099] R^2和R^3每个独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,或R^2和R^3任选环状连接以形成5或6元杂环基;

[0100] 每个R^4独立选自氢,卤素,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

[0101] 每个R^5独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

[0102] 每个R^6独立选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

[0103] k是1至10的整数;

[0104] R^7选自氢,卤素,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

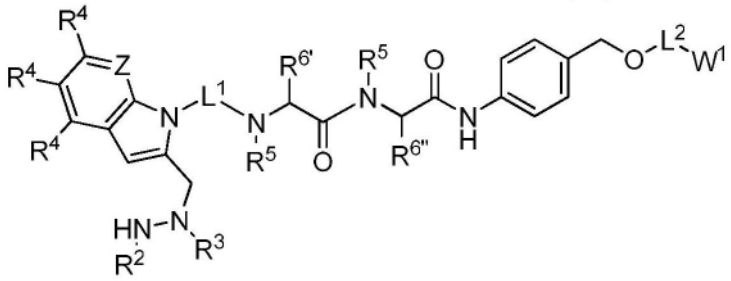
[0105] L^1是第一接头;

[0106] L^2是第二接头;且

[0107] W^1是药物,

[0108] 其中L^1,R^6或R^7之一包含第二可切割模块。

[0109] 在一些实施方案中,k是2,且化合物是式(IIa)的:

[0110] 

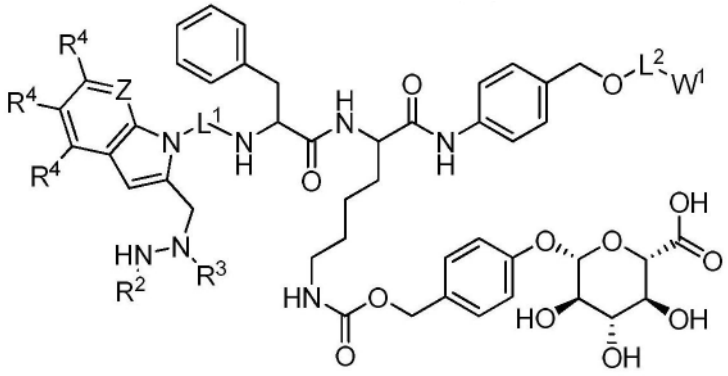
(IIa),

[0111] 其中

[0112] $R^{6'}$或$R^{6''}$之一包含第二可切割模块,且$R^{6'}$和$R^{6''}$之另一选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。

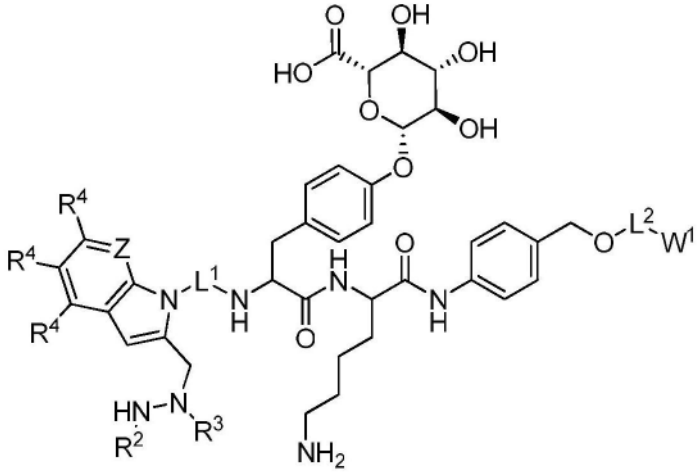
[0113] 在一些实施方案中,第二可切割模块是包含糖苷的酶可切割模块。

[0114] 在一些实施方案中,化合物是式(IIb)的:

[0115] 

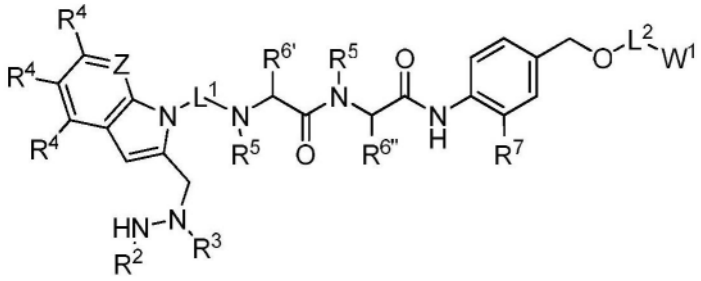
(IIb)。

[0116] 在一些实施方案中,化合物是式(IIc)的:

[0117] 

(IIc)。

[0118] 在一些实施方案中,k是2,且化合物是式(IId)的:

[0119] 

(IId),

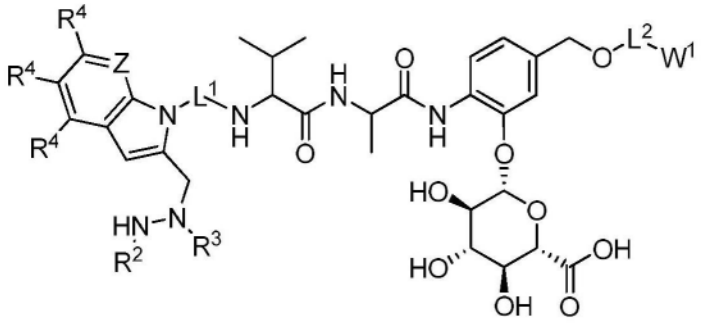
[0120] 其中

[0121] $R^{6'}$和$R^{6''}$独立选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;且

[0122] R^7包含第二可切割模块。

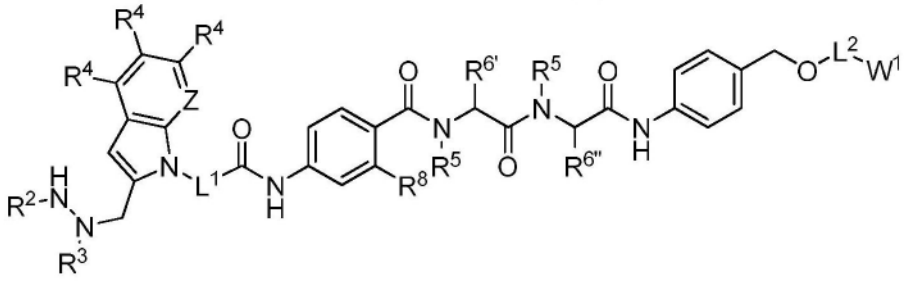
[0123] 在一些实施方案中,第二可切割模块是包含糖苷的酶可切割模块。

[0124] 在一些实施方案中,化合物是式(IIe)的:

[0125] 

(IIe)。

[0126] 在一些实施方案中,k是2,且化合物是式(IIf)的:

[0127] 

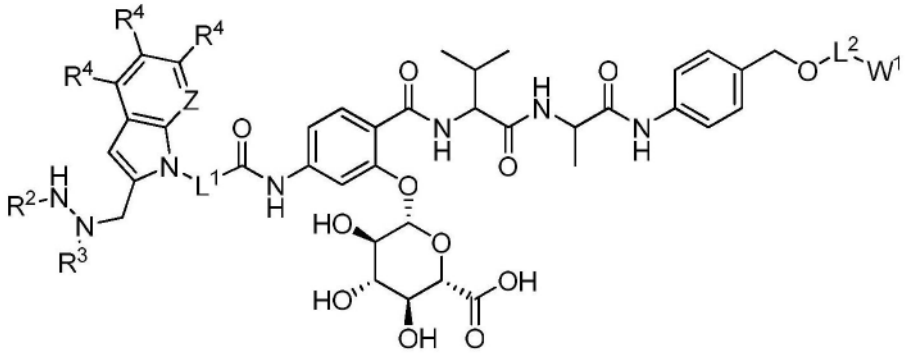
(IIf),

[0128] 其中

[0129] $R^{6'}$和$R^{6''}$独立选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;且

[0130] R^8包含第二可切割模块。

[0131] 在一些实施方案中,化合物是式(IIg)的:

[0132] 

(IIg)。

[0133] 在一些实施方案中,L^1包含:

[0134] $-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-(T^4-V^4)_d-$,

[0135] 其中

[0136] a,b,c和d每个独立是0或1;

[0137] T^1,T^2,T^3和T^4每个独立选自共价键,(C_1-C_{12})烷基,取代的(C_1-C_{12})烷基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,$(EDA)_w$,$(PEG)_n$,$(AA)_p$,$-(CR^{13}OH)_m-$,4-氨基-哌啶(4AP),乙缩醛基团,肼,二硫化物,和酯,其中EDA是乙二胺模块,PEG是聚乙二醇,而AA是氨基酸残基,其中每个w是1至20的整数,每个n是1至30的整数,每个p是1至20的整数,且每个m是1至12的整数;

[0138] V^1,V^2,V^3和V^4每个独立选自下组:共价键,$-CO-$,$-NR^{15}-$,$-NR^{15}(CH_2)_q-$,$-NR^{15}(C_6H_4)-$,$-CONR^{15}-$,$-NR^{15}CO-$,$-C(O)O-$,$-OC(O)-$,$-O-$,$-S-$,$-S(O)-$,$-SO_2-$,$-SO_2NR^{15}-$,$-NR^{15}SO_2-$和$-P(O)OH-$,其中每个q是1至6的整数;

[0139] 每个R^{13}独立选自氢,烷基,取代的烷基,芳基,和取代的芳基;且

[0140] 每个R^{15}独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,羧基,羧基酯,酰基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。

[0141] 在一些实施方案中,L^2包含:

[0142] $-(T^5-V^5)_e-(T^6-V^6)_f-(T^7-V^7)_g-(T^8-V^8)_h-$,

[0143] 其中

[0144] e,f,g和h每个独立是0或1;

[0145] T^5,T^6,T^7和T^8每个独立选自共价键,(C_1-C_{12})烷基,取代的(C_1-C_{12})烷基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,$(EDA)_w$,$(PEG)_n$,$(AA)_p$,$-(CR^{13}OH)_m-$,4-氨基-哌啶(4AP),乙缩醛基团,肼,二硫化物,和酯,其中EDA是乙二胺模块,PEG是聚乙二醇,而AA是氨基酸残基,其中每个w是1至20的整数,每个n是1至30的整数,每个p是1至20的整数,且每个m是1至12的整数;

[0146] V^5,V^6,V^7和V^8每个独立选自下组:共价键,$-CO-$,$-NR^{15}-$,$-NR^{15}(CH_2)_q-$,$-NR^{15}(C_6H_4)-$,$-CONR^{15}-$,$-NR^{15}CO-$,$-C(O)O-$,$-OC(O)-$,$-O-$,$-S-$,$-S(O)-$,$-SO_2-$,$-SO_2NR^{15}-$,$-NR^{15}SO_2-$和$-P(O)OH-$,其中每个q是1至6的整数;

[0147] 每个R^{13}独立选自氢,烷基,取代的烷基,芳基,和取代的芳基;且

[0148] 每个R^{15}独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,羧基,羧基酯,酰基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环

基,和取代的杂环基。

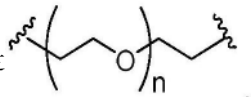
[0149] 在一些实施方案中,

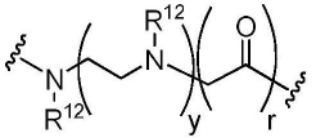
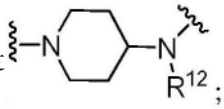
[0150] T^1选自(C_1-C_{12})烷基和取代的(C_1-C_{12})烷基;

[0151] T^2,T^3,和T^4每个独立选自芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,$(EDA)_w$,$(PEG)_n$,(C_1-C_{12})烷基,取代的(C_1-C_{12})烷基,$(AA)_p$,$-(CR^{13}OH)_m-$,4-氨基-哌啶(4AP),乙缩醛基团,肼,和酯;且

[0152] V^1,V^2,V^3和V^4每个独立选自下组:共价键,-CO-,$-NR^{15}-$,$-NR^{15}(CH_2)_q-$,$-NR^{15}(C_6H_4)-$,$-CONR^{15}-$,$-NR^{15}CO-$,-C(O)O-,-OC(O)-,-O-,-S-,-S(O)-,$-SO_2-$,$-SO_2NR^{15}-$,$-NR^{15}SO_2-$,和-P(O)OH-;

[0153] 其中:

[0154] $(PEG)_n$是,其中n是1至30的整数;

[0155] EDA是具有如下结构的乙二胺模块:,其中y是1至6的整数且r是0或1;4-氨基-哌啶(4AP)是;每个R^{12}和R^{15}独立选自氢,烷基,取代的烷基,聚乙二醇模块,芳基和取代的芳基,其中任两个相邻的R^{12}基团可以环状连接以形成哌嗪基环;且

[0156] R^{13}选自氢,烷基,取代的烷基,芳基,和取代的芳基。

[0157] 在一些实施方案中,

[0158] T^1是(C_1-C_{12})烷基且V^1是-CO-;

[0159] T^2是4AP且V^2是共价键;

[0160] T^3是$(PEG)_n$且V^3是-CO-;且

[0161] d是0。

[0162] 在一些实施方案中,

[0163] T^1是(C_1-C_{12})烷基且V^1是-CO-;

[0164] T^2是4AP且V^2是共价键;

[0165] T^3是$(PEG)_n$且V^3是-CONH-;且

[0166] T^4是芳基或取代的芳基且V^4是-CO-。

[0167] 在一些实施方案中,

[0168] T^5是共价键且V^5是-CO-;且

[0169] f,g和h是0。

[0170] 在一些实施方案中,药物选自奥瑞司他汀,美登木素,和倍癌霉素。

[0171] 本公开内容的多个方面包括一种药学组合物,其包括本公开内容的缀合物和药学可接受赋形剂。

[0172] 本公开内容的多个方面包括一种方法,其包括对受试者施用有效量的本公开内容

的缀合物。

[0173] 本公开内容的多个方面包括一种治疗受试者中的癌症的方法,其中该方法包括对受试者施用治疗有效量的包含本公开内容的缀合物的药学组合物,其中该施用有效治疗受试者中的癌症。

附图说明

[0174] 图1A显示依照本公开内容的实施方案,含有MMAE构建物的抗体-药物缀合物随时间的血清稳定性的一幅图。

[0175] 图1B显示依照本公开内容的实施方案,含有倍癌霉素构建物66的抗体-药物缀合物随时间的血清稳定性的一幅图。

[0176] 图2A显示依照本公开内容的实施方案,含有MMAE构建物的抗体-药物缀合物针对NCI-N87细胞系的体外功效的一幅图。

[0177] 图2B显示依照本公开内容的实施方案,含有倍癌霉素构建物66的抗体-药物缀合物针对JeKo-1细胞系的体外功效的一幅图。

[0178] 图3显示依照本公开内容的实施方案,抗CD79b 13抗体-药物缀合物和抗CD79b 48抗体-药物缀合物针对小鼠中的JeKo-1异种移植物的体内功效的一幅图。

具体实施方式

[0179] 定义

[0180] 除非另有指示,以下术语具有以下含义。任何未定义的术语具有它们在技术上公认的含义。

[0181] “烷基”指的是具有1至10个碳原子(诸如1至6个碳原子,或1至5个,或1至4个,或1至3个碳原子)的单价饱和脂肪族烃基。举例而言,这个术语包括直链和支链烃基,诸如甲基(CH_3-),乙基(CH_3CH_2-),正丙基($CH_3CH_2CH_2$-),异丙基($(CH_3)_2CH$-),正丁基($CH_3CH_2CH_2CH_2$-),异丁基($(CH_3)_2CHCH_2$-),仲丁基($(CH_3)(CH_3CH_2)CH$-),叔丁基($(CH_3)_3C$-),正戊基($CH_3CH_2CH_2CH_2CH_2$-),和新戊基($(CH_3)_3CCH_2$-)。

[0182] 术语“取代的烷基”指的是如下的如本文中定义的烷基,其中烷基链中的一个或多个碳原子(C_1碳原子除外)已经任选用杂原子(诸如-O-,-N-,-S-,$-S(O)_n-$(其中n为0至2),-NR-(其中R为氢或烷基))替换且具有1至5个选自由以下组成的群组的取代基:烷氧基,取代的烷氧基,环烷基,取代的环烷基,环烯基,取代的环烯基,酰基,酰基氨基,酰基氧基,氨基,氨基酰基,氨基酰基氧基,氧基氨基酰基,叠氮基,氰基,卤素,羟基,氧代,硫酮基,羧基,羧基烷基,硫代芳基氧基,硫代杂芳基氧基,硫代杂环氧基,硫醇基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,芳基氧基,杂芳基,杂芳基氧基,杂环基,杂环氧基,羟基氨基,烷氧基氨基,硝基,-SO-烷基,-SO-芳基,-SO-杂芳基,$-SO_2-$烷基,$-SO_2-$芳基,$-SO_2-$杂芳基,和$-NR^aR^b$,其中R’和R″可以是相同的或不同的且选自氢,任选取代的烷基,环烷基,烯基,环烯基,炔基,芳基,杂芳基和杂环基。

[0183] “亚烷基”指的是优选具有1至6个且更优选1至3个碳原子的二价脂肪族烃基,其为直链或支链,且任选间杂有一个或多个选自以下的基团:-O-,$-NR^{10}-$,$-NR^{10}C(O)-$,$-C(O)NR^{10}-$等等。举例而言,这个术语包括亚甲基($-CH_2-$),亚乙基($-CH_2CH_2-$),亚正丙基(-

$CH_2CH_2CH_2$-)，亚异丙基(-$CH_2CH(CH_3)$-)，(-$C(CH_3)_2CH_2CH_2$-)，(-$C(CH_3)_2CH_2C(O)$-)，(-$C(CH_3)_2CH_2C(O)NH$-)，(-$CH(CH_3)CH_2$-)，等等。

[0184] “取代的亚烷基”指的是有1至3个氢用下文“取代的”的定义中关于碳描述的取代基替换的亚烷基。

[0185] 术语“烷”指的是如本文中定义的烷基和亚烷基。

[0186] 术语“烷基氨基烷基”，“烷基氨基烯基”和“烷基氨基炔基”指的是基团R'NHR″-，其中R'为如本文中定义的烷基且R″为如本文中定义的亚烷基，亚烯基或亚炔基。

[0187] 术语“烷芳基”或“芳烷基”指的是基团-亚烷基-芳基和-取代的亚烷基-芳基，其中亚烷基，取代的亚烷基和芳基在本文中定义。

[0188] “烷氧基”指的是基团-O-烷基，其中烷基如本文中定义。举例而言，烷氧基包括甲氧基，乙氧基，正丙氧基，异丙氧基，正丁氧基，叔丁氧基，仲丁氧基，正戊氧基，等等。术语“烷氧基”还指的是基团烯基-O-，环烷基-O-，环烯基-O-，和炔基-O-，其中烯基，环烷基，环烯基，和炔基如本文中定义。

[0189] 术语“取代的烷氧基”指的是基团取代的烷基-O-，取代的烯基-O-，取代的环烷基-O-，取代的环烯基-O-，和取代的炔基-O-，其中取代的烷基，取代的烯基，取代的环烷基，取代的环烯基和取代的炔基如本文中定义。

[0190] 术语“烷氧基氨基”指的是基团-NH-烷氧基，其中烷氧基在本文中定义。

[0191] 术语“卤代烷氧基”指的是如下的基团烷基-O-，其中烷基上的一个或多个氢原子已经用卤基取代，而且举例而言包括诸如三氟甲氧基等基团。

[0192] 术语“卤代烷基”指的是如上文描述的取代的烷基，其中烷基上的一个或多个氢原子已经用卤基取代。此类基团的例子包括但不限于氟代烷基，诸如三氟甲基，二氟甲基，三氟乙基等等。

[0193] 术语“烷基烷氧基”指的是基团-亚烷基-O-烷基，亚烷基-O-取代的烷基，取代的亚烷基-O-烷基，和取代的亚烷基-O-取代的烷基，其中烷基，取代的烷基，亚烷基和取代的亚烷基如本文中定义。

[0194] 术语“烷基硫代烷氧基”指的是基团-亚烷基-S-烷基，亚烷基-S-取代的烷基，取代的亚烷基-S-烷基和取代的亚烷基-S-取代的烷基，其中烷基，取代的烷基，亚烷基和取代的亚烷基如本文中定义。

[0195] “烯基”指的是具有2至6个碳原子和优选2至4个碳原子且具有至少1个和优选1至2个双键不饱和位点的直链或支链烃基。举例而言，这个术语包括联乙烯基，烯丙基，和丁-3-烯-1-基。这个术语内包括的是顺式和反式异构体或这些异构体的混合物。

[0196] 术语“取代的烯基”指的是具有1至5个取代基或1至3个取代基的如本文中定义的烯基，所述取代基选自烷氧基，取代的烷氧基，环烷基，取代的环烷基，环烯基，取代的环烯基，酰基，酰基氨基，酰基氧基，氨基，取代的氨基，氨基酰基，氨基酰基氧基，氧基氨基酰基，叠氮基，氰基，卤素，羟基，氧代，硫酮基，羧基，羧基烷基，硫代芳基氧基，硫代杂芳基氧基，硫代杂环氧基，硫醇基，硫代烷氧基，取代的硫代烷氧基，芳基，芳基氧基，杂芳基，杂芳基氧基，杂环基，杂环氧基，羟基氨基，烷氧基氨基，硝基，-SO-烷基，-SO-取代的烷基，-SO-芳基，-SO-杂芳基，-SO_2-烷基，-SO_2-取代的烷基，-SO_2-芳基和-SO_2-杂芳基。

[0197] “炔基”指的是具有2至6个碳原子和优选2至3个碳原子且具有至少1个和优选1至2

个三键不饱和位点的直链或支链单价烃基。此类炔基的例子包括乙炔基(-C≡CH)和炔丙基(-CH_2C≡CH)。

[0198] 术语“取代的炔基”指的是具有1至5个取代基或1至3个取代基的如本文中定义的炔基,所述取代基选自烷氧基,取代的烷氧基,环烷基,取代的环烷基,环烯基,取代的环烯基,酰基,酰基氨基,酰基氧基,氨基,取代的氨基,氨基酰基,氨基酰基氧基,氧基氨基酰基,叠氮基,氰基,卤素,羟基,氧代,硫酮基,羧基,羧基烷基,硫代芳基氧基,硫代杂芳基氧基,硫代杂环氧基,硫醇基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,芳基氧基,杂芳基,杂芳基氧基,杂环基,杂环氧基,羟基氨基,烷氧基氨基,硝基,-SO-烷基,-SO-取代的烷基,-SO-芳基,-SO-杂芳基,-SO_2-烷基,-SO_2-取代的烷基,-SO_2-芳基,和-SO_2-杂芳基。

[0199] “炔基氧基”指的是基团-O-炔基,其中炔基如本文中定义。举例而言,炔基氧基包括乙炔基氧基,丙炔基氧基,等等。

[0200] “酰基”指的是基团H-C(O)-,烷基-C(O)-,取代的烷基-C(O)-,烯基-C(O)-,取代的烯基-C(O)-,炔基-C(O)-,取代的炔基-C(O)-,环烷基-C(O)-,取代的环烷基-C(O)-,环烯基-C(O)-,取代的环烯基-C(O)-,芳基-C(O)-,取代的芳基-C(O)-,杂芳基-C(O)-,取代的杂芳基-C(O)-,杂环基-C(O)-,和取代的杂环基-C(O)-,其中烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,环烷基,取代的环烷基,环烯基,取代的环烯基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,杂环基,和取代的杂环基如本文中定义。例如,酰基包括“乙酰基”基团CH_3C(O)-。

[0201] “酰基氨基”指的是基团-NR^{20}C(O)烷基,-NR^{20}C(O)取代的烷基,-NR^{20}C(O)环烷基,-NR^{20}C(O)取代的环烷基,-NR^{20}C(O)环烯基,-NR^{20}C(O)取代的环烯基,-NR^{20}C(O)烯基,-NR^{20}C(O)取代的烯基,-NR^{20}C(O)炔基,-NR^{20}C(O)取代的炔基,-NR^{20}C(O)芳基,-NR^{20}C(O)取代的芳基,-NR^{20}C(O)杂芳基,-NR^{20}C(O)取代的杂芳基,-NR^{20}C(O)杂环基,和-NR^{20}C(O)取代的杂环基,其中R^{20}为氢或烷基且其中烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,环烷基,取代的环烷基,环烯基,取代的环烯基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,杂环基,和取代的杂环基如本文中定义。

[0202] “氨基羰基”或术语“氨基酰基”指的是基团-C(O)$NR^{21}R^{22}$,其中R^{21}和R^{22}独立选自由以下组成的群组:氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,环烷基,取代的环烷基,环烯基,取代的环烯基,杂芳基,取代的杂芳基,杂环基,和取代的杂环基且其中R^{21}和R^{22}任选与其所结合的氮连接在一起以形成杂环基或取代的杂环基,且其中烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,环烷基,取代的环烷基,环烯基,取代的环烯基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,杂环基,和取代的杂环基如本文中定义。

[0203] “氨基羰基氨基”指的是基团-NR^{21}C(O)$NR^{22}R^{23}$,其中R^{21},R^{22},和R^{23}独立选自氢,烷基,芳基或环烷基,或其中两个R基团连接以形成杂环基。

[0204] 术语“烷氧基羰基氨基”指的是基团-NRC(O)OR,其中每个R独立为氢,烷基,取代的烷基,芳基,杂芳基,或杂环基,其中烷基,取代的烷基,芳基,杂芳基,和杂环基如本文中定义。

[0205] 术语“酰基氧基”指的是基团烷基-C(O)O-,取代的烷基-C(O)O-,环烷基-C(O)O-,取代的环烷基-C(O)O-,芳基-C(O)O-,杂芳基-C(O)O-,和杂环基-C(O)O-,其中烷基,取代的

烷基,环烷基,取代的环烷基,芳基,杂芳基,和杂环基如本文中定义。

[0206] “氨基磺酰基”指的是基团-$SO_2NR^{21}R^{22}$,其中R^{21}和R^{22}独立选自由以下组成的群组:氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,环烷基,取代的环烷基,环烯基,取代的环烯基,杂芳基,取代的杂芳基,杂环基,取代的杂环基且其中R^{21}和R^{22}任选与其所结合的氮连接在一起以形成杂环基或取代的杂环基,且烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,环烷基,取代的环烷基,环烯基,取代的环烯基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,杂环基和取代的杂环基如本文中定义。

[0207] “磺酰基氨基”指的是基团-$NR^{21}SO_2R^{22}$,其中R^{21}和R^{22}独立选自由以下组成的群组:氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,环烷基,取代的环烷基,环烯基,取代的环烯基,杂芳基,取代的杂芳基,杂环基,和取代的杂环基且其中R^{21}和R^{22}任选与其所结合的原子连接在一起以形成杂环基或取代的杂环基,且其中烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,环烷基,取代的环烷基,环烯基,取代的环烯基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,杂环基,和取代的杂环基如本文中定义。

[0208] “芳基”或“Ar”指的是具有单环(诸如存在于苯基中)或具有多个缩合环的环系统(此类芳香族环系统的例子包括萘基,蒽基和茚满基)的6至18个碳原子的单价芳香族碳环基,所述缩合环可以是或不是芳香族的,前提是附着点经由芳香环的原子。举例而言,这个术语包括苯基和萘基。除非另外受到芳基取代基的定义约束,此类芳基可以任选用1至5个取代基或1至3个取代基取代,所述取代基选自酰基氧基,羟基,硫醇基,酰基,烷基,烷氧基,烯基,炔基,环烷基,环烯基,取代的烷基,取代的烷氧基,取代的烯基,取代的炔基,取代的环烷基,取代的环烯基,氨基,取代的氨基,氨基酰基,酰基氨基,烷芳基,芳基,芳基氧基,叠氮基,羧基,羧基烷基,氰基,卤素,硝基,杂芳基,杂芳基氧基,杂环基,杂环氧基,氨基酰基氧基,氧基酰基氨基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,硫代芳基氧基,硫代杂芳基氧基,-SO-烷基,-SO-取代的烷基,-SO-芳基,-SO-杂芳基,-SO_2-烷基,-SO_2-取代的烷基,-SO_2-芳基,-SO_2-杂芳基和三卤代甲基。

[0209] “芳基氧基”指的是基团-O-芳基,其中芳基如本文中定义,举例而言,包括苯氧基,萘氧基,等等,包括也如本文中定义的任选取代的芳基。

[0210] “氨基”指的是基团-NH_2。

[0211] 术语“取代的氨基”指的是基团-NRR,其中每个R独立选自由以下组成的群组:氢,烷基,取代的烷基,环烷基,取代的环烷基,烯基,取代的烯基,环烯基,取代的环烯基,炔基,取代的炔基,芳基,杂芳基,和杂环基,前提是至少一个R不是氢。

[0212] 术语“叠氮基”指的是基团-N_3。

[0213] “羧基”或“羧酸盐”指的是-CO_2H或其盐。

[0214] “羧基酯”或术语“羧基烷基”指的是基团-C(O)O-烷基,-C(O)O-取代的烷基,-C(O)O-烯基,-C(O)O-取代的烯基,-C(O)O-炔基,-C(O)O-取代的炔基,-C(O)O-芳基,-C(O)O-取代的芳基,-C(O)O-环烷基,-C(O)O-取代的环烷基,-C(O)O-环烯基,-C(O)O-取代的环烯基,-C(O)O-杂芳基,-C(O)O-取代的杂芳基,-C(O)O-杂环基,和-C(O)O-取代的杂环基,其中烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,环烷基,取代的环烷基,环烯基,取代的环烯基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,杂环基,和取代的杂环基如本文中定义。

[0215] “(羧基酯)氧基”或“碳酸酯”指的是基团-O-C(O)O-烷基,-O-C(O)O-取代的烷基,-O-C(O)O-烯基,-O-C(O)O-取代的烯基,-O-C(O)O-炔基,-O-C(O)O-取代的炔基,-O-C(O)O-芳基,-O-C(O)O-取代的芳基,-O-C(O)O-环烷基,-O-C(O)O-取代的环烷基,-O-C(O)O-环烯基,-O-C(O)O-取代的环烯基,-O-C(O)O-杂芳基,-O-C(O)O-取代的杂芳基,-O-C(O)O-杂环基,和-O-C(O)O-取代的杂环基,其中烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,环烷基,取代的环烷基,环烯基,取代的环烯基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,杂环基,和取代的杂环基如本文中定义。

[0216] “氰基”或“腈”指的是基团-CN。

[0217] “环烷基”指的是具有单环或包括稠合,桥连,和螺式环系统的多环的3至10个碳原子的环状烷基。举例而言,合适的环烷基的例子包括金刚烷基,环丙基,环丁基,环戊基,环辛基等等。举例而言,此类环烷基包括单环结构,诸如环丙基,环丁基,环戊基,环辛基,等等;或多环结构,诸如金刚烷基,等等。

[0218] 术语“取代的环烷基”指的是具有1至5个取代基或1至3个取代基的环烷基,所述取代基选自烷基,取代的烷基,烷氧基,取代的烷氧基,环烷基,取代的环烷基,环烯基,取代的环烯基,酰基,酰基氨基,酰基氧基,氨基,取代的氨基,氨基酰基,氨基酰基氧基,氧基氨基酰基,叠氮基,氰基,卤素,羟基,氧代,硫酮基,羧基,羧基烷基,硫代芳基氧基,硫代杂芳基氧基,硫代杂环氧基,硫醇基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,芳基氧基,杂芳基,杂芳基氧基,杂环基,杂环氧基,羟基氨基,烷氧基氨基,硝基,-SO-烷基,-SO-取代的烷基,-SO-芳基,-SO-杂芳基,-SO_2-烷基,-SO_2-取代的烷基,-SO_2-芳基和-SO_2-杂芳基。

[0219] “环烯基”指的是具有单环或多环且具有至少一个双键和优选1至2个双键的3至10个碳原子的非芳香族环状烷基。

[0220] 术语“取代的环烯基”指的是具有1至5个取代基或1至3个取代基的环烯基,所述取代基选自烷氧基,取代的烷氧基,环烷基,取代的环烷基,环烯基,取代的环烯基,酰基,酰基氨基,酰基氧基,氨基,取代的氨基,氨基酰基,氨基酰基氧基,氧基氨基酰基,叠氮基,氰基,卤素,羟基,酮基,硫酮基,羧基,羧基烷基,硫代芳基氧基,硫代杂芳基氧基,硫代杂环氧基,硫醇基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,芳基氧基,杂芳基,杂芳基氧基,杂环基,杂环氧基,羟基氨基,烷氧基氨基,硝基,-SO-烷基,-SO-取代的烷基,-SO-芳基,-SO-杂芳基,-SO_2-烷基,-SO_2-取代的烷基,-SO_2-芳基和-SO_2-杂芳基。

[0221] “环炔基”指的是具有单环或多环且具有至少一个三键的5至10个碳原子的非芳香族环烷基。

[0222] “环烷氧基”指的是-O-环烷基。

[0223] “环烯氧基”指的是-O-环烯基。

[0224] “卤代”或“卤素”指的是氟代,氯代,溴代,和碘代。

[0225] “羟基”指的是基团-OH。

[0226] “杂芳基”指的是在环内具有1至15个碳原子(诸如1至10个碳原子)和1至10个选自由氧,氮,和硫组成的群组的杂原子的芳香族基团。此类杂芳基可以具有单环(诸如吡啶基,咪唑基或呋喃基)或环系统中的多个缩合环(例如,在诸如吲哚嗪基,喹啉基,苯并呋喃,苯并咪唑基或苯并噻吩基的基团中),其中环系统内的至少一个环是芳香族的。为了满足价的要求,此类杂芳基环中的任何杂原子可以与或不与H或取代基基团,例如烷基基团或本文中

描述的其它取代基成键。在某些实施方案中,杂芳基的氮和/或硫环原子任选被氧化以提供N-氧化物(N→O),亚磺酰基,或磺酰基模块。举例而言,这个术语包括吡啶基,吡咯基,吲哚基,苯硫基,和呋喃基。除非另外受到杂芳基取代基的定义约束,此类杂芳基可以任选用1至5个取代基或1至3个取代基取代,所述取代基选自酰基氧基,羟基,硫醇基,酰基,烷基,烷氧基,烯基,炔基,环烷基,环烯基,取代的烷基,取代的烷氧基,取代的烯基,取代的炔基,取代的环烷基,取代的环烯基,氨基,取代的氨基,氨基酰基,酰基氨基,烷芳基,芳基,芳基氧基,叠氮基,羧基,羧基烷基,氰基,卤素,硝基,杂芳基,杂芳基氧基,杂环基,杂环氧基,氨基酰基氧基,氧基酰基氨基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,硫代芳基氧基,硫代杂芳基氧基,-SO-烷基,-SO-取代的烷基,-SO-芳基,-SO-杂芳基,-SO_2-烷基,-SO_2-取代的烷基,-SO_2-芳基和-SO_2-杂芳基,和三卤代甲基。

[0227] 术语“杂芳烷基”指的是基团-亚烷基-杂芳基,其中亚烷基和杂芳基定义于本文中。举例而言,这个术语包括吡啶基甲基,吡啶基乙基,吲哚基甲基,等等。

[0228] “杂芳基氧基”指的是-O-杂芳基。

[0229] “杂环”,“杂环烷基”,和“杂环基”指的是具有单环或多个缩合环(包括稠合,桥连和螺式环系统)且具有3至20个环原子,包括1至10个杂原子的饱和或不饱和基团。这些环原子选自氮,硫,或氧,其中在稠合环系统中,一个或多个环可以是环烷基,芳基,或杂芳基,前提是附着点经由非芳香环。在某些实施方案中,杂环基的氮和/或硫原子任选被氧化以提供N-氧化物,-S(O)-,或-SO_2-模块。为了满足价的要求,此类杂环环中的任何杂原子可以与或不与一个或多个H或一个或多个取代基基团,例如烷基基团或本文中描述的其它取代基成键。

[0230] 杂环和杂芳基的例子包括但不限于氮杂环丁烷,吡咯,咪唑,吡唑,吡啶,吡嗪,嘧啶,哒嗪,吲哚嗪,异吲哚,吲哚,二氢吲哚,吲唑,嘌呤,喹嗪,异喹啉,喹啉,酞嗪,萘基吡啶,喹喔啉,喹唑啉,噌啉,蝶啶,咔唑,咔啉,菲啶,吖啶,菲咯啉,异噻唑,吩嗪,异噁唑,吩噁嗪,吩噻嗪,咪唑烷,咪唑啉,哌啶,哌嗪,吲哚啉,邻苯二甲酰亚胺,1,2,3,4-四氢异喹啉,4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩,噻唑,噻唑烷,噻吩,苯并[b]噻吩,吗啉基,硫吗啉基(也称作噻吗啉基),1,1-二氧代硫吗啉基,哌啶基,吡咯烷,四氢呋喃基,等等。

[0231] 除非另外受到杂环取代基的定义约束,此类杂环基可以任选用1至5个或1至3个取代基取代,所述取代基选自烷氧基,取代的烷氧基,环烷基,取代的环烷基,环烯基,取代的环烯基,酰基,酰基氨基,酰基氧基,氨基,取代的氨基,氨基酰基,氨基酰基氧基,氧基氨基酰基,叠氮基,氰基,卤素,羟基,氧代,硫酮基,羧基,羧基烷基,硫代芳基氧基,硫代杂芳基氧基,硫代杂环氧基,硫醇基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,芳基氧基,杂芳基,杂芳基氧基,杂环基,杂环氧基,羟基氨基,烷氧基氨基,硝基,-SO-烷基,-SO-取代的烷基,-SO-芳基,-SO-杂芳基,-SO_2-烷基,-SO_2-取代的烷基,-SO_2-芳基,-SO_2-杂芳基,和稠合杂环。

[0232] “杂环基氧基”指的是基团-O-杂环基。

[0233] 术语“杂环基硫基”指的是基团杂环-S-。

[0234] 术语“亚杂环基”指的是由如本文中定义的杂环形成的双根基团。

[0235] 术语“羟基氨基”指的是基团-NHOH。

[0236] “硝基”指的是基团-NO_2。

[0237] “氧代”指的是原子(=O)。

[0238] “磺酰基”指的是基团-SO_2-烷基,-SO_2-取代的烷基,-SO_2-烯基,-SO_2-取代的烯基,-SO_2-环烷基,-SO_2-取代的环烷基,-SO_2-环烯基,-SO_2-取代的环烯基,-SO_2-芳基,-SO_2-取代的芳基,-SO_2-杂芳基,-SO_2-取代的杂芳基,-SO_2-杂环基,和-SO_2-取代的杂环基,其中烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,环烷基,取代的环烷基,环烯基,取代的环烯基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,杂环基,和取代的杂环基如本文中定义。举例而言,磺酰基包括甲基-SO_2-,苯基-SO_2-,和4-甲基苯基-SO_2-。

[0239] “磺酰基氧基”指的是基团-OSO_2-烷基,-OSO_2-取代的烷基,-OSO_2-烯基,-OSO_2-取代的烯基,-OSO_2-环烷基,-OSO_2-取代的环烷基,-OSO_2-环烯基,-OSO_2-取代的环烯基,-OSO_2-芳基,-OSO_2-取代的芳基,-OSO_2-杂芳基,-OSO_2-取代的杂芳基,-OSO_2-杂环基,和-OSO_2取代的杂环基,其中烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,环烷基,取代的环烷基,环烯基,取代的环烯基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,杂环基,和取代的杂环基如本文中定义。

[0240] “硫酸根”或“硫酸酯”指的是基团-O-SO_2-OH,-O-SO_2-O-烷基,-O-SO_2-O-取代的烷基,-O-SO_2-O-烯基,-O-SO_2-O-取代的烯基,-O-SO_2-O-环烷基,-O-SO_2-O-取代的环烷基,-O-SO_2-O-环烯基,-O-SO_2-O-取代的环烯基,-O-SO_2-O-芳基,-O-SO_2-O-取代的芳基,-O-SO_2-O-杂芳基,-O-SO_2-O-取代的杂芳基,-O-SO_2-O-杂环基,和-O-SO_2-O-取代的杂环基,其中烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,环烷基,取代的环烷基,环烯基,取代的环烯基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,杂环基,和取代的杂环基如本文中定义的。

[0241] 术语“氨基羰基氧基”指的是基团-OC(O)NRR,其中每个R独立为氢,烷基,取代的烷基,芳基,杂芳基,或杂环基,其中烷基,取代的烷基,芳基,杂芳基和杂环基如本文中定义。

[0242] “硫醇基”指的是基团-SH。

[0243] “硫代”或术语“硫酮基”指的是原子(=S)。

[0244] “烷基硫基”或术语“硫代烷氧基”指的是基团-S-烷基,其中烷基如本文中定义。在某些实施方案中,硫可以被氧化成-S(O)-。亚砜可以作为一种或多种立体异构体存在。

[0245] 术语“取代的硫代烷氧基”指的是基团-S-取代的烷基。

[0246] 术语“硫代芳基氧基”指的是基团芳基-S-,其中芳基如本文中定义,包括也在本文中定义的任选取代的芳基。

[0247] 术语“硫代杂芳基氧基”指的是基团杂芳基-S-,其中杂芳基如本文中定义,包括也如本文中定义的任选取代的芳基。

[0248] 术语“硫代杂环氧基”指的是基团杂环基-S-,其中杂环基如本文中定义,包括也如本文中定义的任选取代的杂环基。

[0249] 在本文中的公开内容之外,术语“取代的”当用于修饰指定基团或根时,也可以意味着指定基团或根的一个或多个氢原子每个彼此独立地用如下文定义的相同或不同取代基替换。

[0250] 在关于本文中的个别术语公开的基团之外,除非另有规定,用于取代指定基团或根中的饱和碳原子上的一个或多个氢(单个碳上的任两个氢可以用=O,=NR^{70},=N-OR^{70},=N_2或=S替换)的取代基为-R^{60},卤代,=O,-OR^{70},-SR^{70},-$NR^{80}R^{80}$,三卤代甲基,-CN,-OCN,-SCN,-NO,-NO_2,=N_2,-N_3,-SO_2R^{70},-$SO_2O^-M^+$,-SO_2OR^{70},-OSO_2R^{70},-$OSO_2O^-M^+$,-OSO_2OR^{70},-P(O)

$(O^-)_2(M^+)_2$,-P(O)$(OR^{70})O^-M^+$,-P(O)$(OR^{70})_2$,-C(O)R^{70},-C(S)R^{70},-C$(NR^{70})R^{70}$,-C(O)O^-M^+,-C(O)OR^{70},-C(S)OR^{70},-C(O)$NR^{80}R^{80}$,-C$(NR^{70})NR^{80}R^{80}$,-OC(O)R^{70},-OC(S)R^{70},-OC(O)O^-M^+,-OC(O)OR^{70},-OC(S)OR^{70},-NR^{70}C(O)R^{70},-NR^{70}C(S)R^{70},-$NR^{70}CO_2^-M^+$,-$NR^{70}CO_2R^{70}$,-NR^{70}C(S)OR^{70},-NR^{70}C(O)$NR^{80}R^{80}$,-NR^{70}C$(NR^{70})R^{70}$和-NR^{70}C$(NR^{70})NR^{80}R^{80}$,其中R^{60}选自由以下组成的群组:任选取代的烷基,环烷基,杂烷基,杂环烷基烷基,环烷基烷基,芳基,芳基烷基,杂芳基,和杂芳基烷基,每个R^{70}独立是氢或R^{60};每个R^{80}独立是R^{70},或者,两个R^{80}连同其所键结的氮原子一起形成5,6或7元杂环烷基,所述杂环烷基可以任选包括1至4个相同或不同的选自由O,N和S组成的群组的另外杂原子,其中N可以具有-H或C_1-C_3烷基取代;且每个M^+是具有净的单正电荷的反离子。例如,每个M^+可以独立是碱金属离子,诸如K^+,Na^+,Li^+;铵离子,诸如$^+N(R^{60})_4$;或碱土金属离子,诸如$[Ca^{2+}]_{0.5}$,$[Mg^{2+}]_{0.5}$,或$[Ba^{2+}]_{0.5}$(下标0.5意味着此类二价碱土金属离子的一个反离子可以是本发明的化合物的离子化形式且另一个是典型的反离子诸如氯离子,或本文中公开的两个离子化化合物可以充当此类二价碱土金属离子的反离子,或本发明的双重离子化化合物可以充当此类二价碱土金属离子的反离子)。作为特定例子,-$NR^{80}R^{80}$意图包括-NH_2,-NH-烷基,N-吡咯烷基,N-哌嗪基,4N-甲基-哌嗪-1-基和N-吗啉基。

[0251] 在本文中的公开内容之外,除非另有规定,“取代的”烯,炔,芳基和杂芳基基团中的不饱和碳原子上的氢的取代基是-R^{60},卤代,-O^-M^+,-OR^{70},-SR^{70},-S^-M^+,-$NR^{80}R^{80}$,三卤代甲基,-CF_3,-CN,-OCN,-SCN,-NO,-NO_2,-N_3,-SO_2R^{70},-$SO_3^-M^+$,-SO_3R^{70},-OSO_2R^{70},-$OSO_3^-M^+$,-OSO_3R^{70},-$PO_3^{-2}(M^+)_2$,-P(O)$(OR^{70})O^-M^+$,-P(O)$(OR^{70})_2$,-C(O)R^{70},-C(S)R^{70},-C$(NR^{70})R^{70}$,-$CO_2^-M^+$,-CO_2R^{70},-C(S)OR^{70},-C(O)$NR^{80}R^{80}$,-C$(NR^{70})NR^{80}R^{80}$,-OC(O)R^{70},-OC(S)R^{70},-$OCO_2^-M^+$,-OCO_2R^{70},-OC(S)OR^{70},-NR^{70}C(O)R^{70},-NR^{70}C(S)R^{70},-$NR^{70}CO_2^-M^+$,-$NR^{70}CO_2R^{70}$,-NR^{70}C(S)OR^{70},-NR^{70}C(O)$NR^{80}R^{80}$,-NR^{70}C$(NR^{70})R^{70}$和-NR^{70}C$(NR^{70})NR^{80}R^{80}$,其中R^{60},R^{70},R^{80}和M^+如先前定义,前提是在取代的烯或炔的情况中,取代基不是-O^-M^+,-OR^{70},-SR^{70},或-S^-M^+。

[0252] 在关于本文中的个别术语公开的基团之外,除非另有规定,“取代的”杂烷基和环杂烷基中的氮原子上的氢的取代基是-R^{60},-O^-M^+,-OR^{70},-SR^{70},-S^-M^+,-$NR^{80}R^{80}$,三卤代甲基,-CF_3,-CN,-NO,-NO_2,-S(O)$_2R^{70}$,-S(O)$_2O^-M^+$,-S(O)$_2OR^{70}$,-OS(O)$_2R^{70}$,-OS(O)$_2O^-M^+$,-OS(O)$_2OR^{70}$,-P(O)$(O^-)_2(M^+)_2$,-P(O)$(OR^{70})O^-M^+$,-P(O)$(OR^{70})(OR^{70})$,-C(O)R^{70},-C(S)R^{70},-C$(NR^{70})R^{70}$,-C(O)OR^{70},-C(S)OR^{70},-C(O)$NR^{80}R^{80}$,-C$(NR^{70})NR^{80}R^{80}$,-OC(O)R^{70},-OC(S)R^{70},-OC(O)OR^{70},-OC(S)OR^{70},-NR^{70}C(O)R^{70},-NR^{70}C(S)R^{70},-NR^{70}C(O)OR^{70},-NR^{70}C(S)OR^{70},-NR^{70}C(O)$NR^{80}R^{80}$,-NR^{70}C$(NR^{70})R^{70}$和-NR^{70}C$(NR^{70})NR^{80}R^{80}$,其中R^{60},R^{70},R^{80}和M^+如先前定义。

[0253] 在本文中的公开内容之外,在某个实施方案中,取代的基团具有1,2,3,或4个取代基,1,2,或3个取代基,1或2个取代基,或1个取代基。

[0254] 应了解,在上文定义的所有取代的基团中,通过定义本身具有进一步取代基的取代基而得到的聚合物(例如,取代的芳基具有取代的芳基作为取代基,这个取代基本身用取代的芳基取代,而这个取代的芳基进一步用取代的芳基取代,等)不意图包括在本文中。在此类情况中,此类取代的最大数目是三个。例如,本文中具体涵盖的取代的芳基的系列取代限于取代的芳基-(取代的芳基)-取代的芳基。

[0255] 除非另有指示,本文中未明确定义的取代基的命名通过叫出官能团的末端部分,继以接近附着点的相邻官能团来达成。例如,取代基“芳基烷基氧基羰基”指的是基团(芳基)-(烷基)-O-C(O)-。

[0256] 关于本文中公开的含有一个或多个取代基的任何基团,应了解,当然,此类基团不含空间上不可实现和/或合成上不可行的任何取代或取代样式。另外,主题化合物包括由这些化合物的取代而产生的所有立体化学异构体。

[0257] 术语“药学可接受盐”意味着对于施用于患者,诸如哺乳动物可接受的盐(与对于给定的剂量方案具有可接受的哺乳动物安全性的反离子的盐)。此类盐可以衍生自药学可接受的无机或有机碱和药学可接受的无机或有机酸。“药学可接受盐”指的是化合物的药学可接受盐,所述盐衍生自本领域公知的各种有机和无机反离子,而且仅举例而言,包括钠,钾,钙,镁,铵,四烷基铵,等等;而且当分子含有碱性官能团时,包括有机或无机酸的盐,诸如盐酸或氢氯酸盐,氢溴酸盐,甲酸盐,酒石酸盐,苯磺酸盐,甲磺酸盐,乙酸盐,马来酸盐,草酸盐,等等。

[0258] 术语“其盐”意味着当酸的质子用阳离子诸如金属阳离子或有机阳离子等等替换时形成的化合物。在适用的情况下,盐是药学可接受盐,虽然这对于不意图施用于患者的中间化合物的盐不是必需的。举例而言,本发明化合物的盐包括如下的那些盐,其中化合物被无机或有机酸质子化以形成阳离子,其中无机或有机酸的共轭碱作为盐的阴离子成分。

[0259] “溶剂合物”指的是通过溶剂分子与溶质的分子或离子组合而形成的复合物。溶剂可以是有机化合物,无机化合物,或二者的混合物。溶剂的一些例子包括但不限于甲醇,N,N-二甲基甲酰胺,四氢呋喃,二甲亚砜,和水。当溶剂是水时,所形成的溶剂合物是水合物。

[0260] “立体异构体”指的是在空间中具有相同的原子连接但不同的原子排列的化合物。立体异构体包括顺-反异构体,E和Z异构体,对映异构体,和非对映异构体。

[0261] “互变异构体”指的是仅在原子的电子键结和/或质子的位置方面不同的分子的变换形式,诸如烯醇-酮和亚胺-烯胺互变异构体;或含有-N=C(H)-NH-环原子排列的杂芳基的互变异构形式,诸如吡唑,咪唑,苯并咪唑,三唑,和四唑。本领域普通技术人员会认识到其它互变异构环原子排列是可能的。

[0262] 应了解,术语“或其盐或溶剂合物或立体异构体”意图包括盐,溶剂合物和立体异构体的所有编排,诸如主题化合物的立体异构体的药学可接受盐的溶剂合物。

[0263] “药学有效量”和“治疗有效量”指的是足以治疗指定的病症或疾病或其一种或多种症状和/或预防疾病或病症发生的化合物的量。提到致瘤性增殖性病症时,药学或治疗有效量包含足以引起肿瘤缩小或降低肿瘤生长速率等的量。

[0264] “患者”指的是人类和非人类受试者,尤其是哺乳动物受试者。

[0265] 如本文中使用的,术语“治疗”或“处理”意味着对患者,诸如哺乳动物(特别是人类)中的疾病或医学状况的治疗或处理,包括:(a)预防疾病或医学状况发生,诸如对受试者的预防性处理;(b)改善疾病或医学状况,诸如消除患者中的疾病或医学状况或引起患者中的疾病或医学状况消退;(c)阻抑疾病或医学状况,例如通过减缓或阻滞患者中的疾病或医学状况的发生;或(d)减轻患者中的疾病或医学状况的症状。

[0266] 术语“多肽”,“肽”,和“蛋白质”在本文中可互换使用,指的是任何长度的氨基酸的聚合形式。除非另有特别指示,“多肽”,“肽”,和“蛋白质”可以包括遗传编码的和非编码的氨基酸,化学或生物化学修饰或衍生的氨基酸,和具有经修饰的肽骨架的多肽。这个术语包括融合蛋白,包括但不限于具有异源氨基酸序列的融合蛋白,具有异源和同源前导序列的融合体,含有至少一个N端甲硫氨酸残基(例如,以推动在重组宿主细胞中产生)的蛋白质;

带有免疫学标签的蛋白质;等等。

[0267] “天然氨基酸序列”或“亲本氨基酸序列”在本文中可互换使用,指的是在进行修饰以包括修饰的氨基酸残基之前多肽的氨基酸序列。

[0268] 术语“氨基酸类似物”,“非天然氨基酸”,等等可以互换使用,而且包括在结构和/或整体形状方面与天然发生的蛋白质中通常找到的一种或多种氨基酸(例如Ala或A,Cys或C,Asp或D,Glu或E,Phe或F,Gly或G,His或H,Ile或I,Lys或K,Leu或L,Met或M,Asn或N,Pro或P,Gln或Q,Arg或R,Ser或S,Thr或T,Val或V,Trp或W,Tyr或Y)相似的氨基酸样化合物。氨基酸类似物还包括具有修饰的侧链或骨架的天然氨基酸。氨基酸类似物还包括与天然发生的D型具有相同立体化学的氨基酸类似物,以及L型的氨基酸类似物。在一些情况中,氨基酸类似物分享骨架结构和/或一种或多种天然氨基酸的侧链结构,但是差异在于分子中的一个或多个修饰的基团。此类修饰可以包括但不限于原子(诸如N)取代相关原子(诸如S),添加基团(诸如甲基或羟基,等)或原子(诸如Cl或Br,等),删除基团,取代共价键(单键取代双键,等),或其组合。例如,氨基酸类似物可以包括α-羟基酸和α-氨基酸,等等。

[0269] 术语“氨基酸侧链”或“氨基酸的侧链”等等可以用于指附着于氨基酸残基(包括天然氨基酸,非天然氨基酸,和氨基酸类似物)的α-碳的取代基。氨基酸侧链还可以包括本文中描述的经修饰的氨基酸和/或缀合物的语境中描述的氨基酸侧链。

[0270] 术语“碳水化合物”等等可用于指单糖,二糖,寡糖,和多糖的单体单元和/或聚合物。术语糖可用于指较小的碳水化合物,诸如单糖,二糖。术语“碳水化合物衍生物”包括如下的化合物,其中感兴趣碳水化合物的一个或多个官能团是取代的(用任何便利的取代基替换),修饰的(使用任何便利的化学转变成另一种基团)或缺失的(例如消除或用H替换)。多种碳水化合物和碳水化合物衍生物是可得的,而且可适应用于主题化合物和缀合物。

[0271] 术语“糖苷”或“糖基”指的是经由糖苷键结合至模块的糖分子或基团。例如,糖苷所结合的模块可以是如本文中描述的可切割接头。糖苷键可以经由各种类型的键连接糖苷至其它模块,诸如但不限于O-糖苷键(O-糖苷),N-糖苷键(糖基胺),S-糖苷键(硫代糖苷),或C-糖苷键(C-糖苷或C-糖基)。在一些情况中,可以自它们所附着的模块切割糖苷,诸如通过化学介导的水解或酶介导的水解。

[0272] 术语“抗体”以最广义使用,而且包括单克隆抗体(包括全长单克隆抗体),多克隆抗体,和多特异性抗体(例如双特异性抗体),人源化抗体,单链抗体,嵌合抗体,抗体片段(例如Fab片段),等等。抗体能够结合靶抗原(Janeway,C.,Travers,P.,Walport,M.,Shlomchik(2001)Immuno Biology,5^{th} Ed.,Garland Publishing,New York)。靶抗原可以具有一个或多个结合位点,也称作表位,其受到由抗体的一个或多个可变区形成的互补决定区(CDR)识别。

[0273] 术语“天然抗体”指的是如下抗体,其中抗体的重链和轻链已经由多细胞生物体的免疫系统生成并配对。脾,淋巴结,骨髓和血清是产生天然抗体的组织的例子。例如,由自经过抗原免疫的第一动物分离的抗体产生细胞产生的抗体是天然抗体。

[0274] 术语“人源化抗体”或“人源化免疫球蛋白”指的是所含有的一个或多个氨基酸(例如在框架区,恒定区或CDR中)已经用来自人抗体的处于对应位置的氨基酸替代的非人(例如小鼠或家兔)抗体。一般而言,人源化抗体在人类宿主中产生与非人源化型式的相同抗体相比减小的免疫应答。抗体可以使用本领域已知的多种技术进行人源化,包括例如CDR嫁接

(EP 239,400;PCT公开文本WO 91/09967;美国专利No.5,225,539;No.5,530,101;和No.5,585,089),镶饰或重建表面(EP 592,106;EP 519,596;Padlan,Molecular Immunology 28(4/5):489-498(1991);Studnicka et al.,Protein Engineering 7(6):805-814(1994);Roguska et al.,PNAS 91:969-973(1994)),和链改组(美国专利No.5,565,332)。在某些实施方案中,框架替代是通过对CDR和框架残基的相互作用进行建模以鉴定对于抗原结合重要的框架残基及进行序列比较以鉴定在特定位置处的非常见框架残基而鉴定的(参见例如美国专利No.5,585,089;Riechmann et al.,Nature 332:323(1988))。可用于本发明的人源化抗体的另外的方法描述于美国专利No.5,750,078;No.5,502,167;No.5,705,154;No.5,770,403;No.5,698,417;No.5,693,493;No.5,558,864;No.4,935,496;和No.4,816,567,和PCT公开文本WO 98/45331和WO 98/45332。在特定实施方案中,可以依照US20040086979和US20050033031中列出的方法人源化主题家兔抗体。因而,可以使用本领域公知的方法人源化上文所述抗体。

[0275] 术语“嵌合抗体”指的是轻链和重链基因已经通常通过遗传工程改造从属于不同物种的抗体可变区和恒定区基因而构建的抗体。例如,可以将来自小鼠单克隆抗体的基因的可变区段连接至人恒定区段,诸如伽马1和伽马3。治疗性嵌合抗体的一个例子是由来自小鼠抗体的可变域或抗原结合域和来自人抗体的恒定域或效应器域构成的杂合蛋白,虽然可以使用来自其它哺乳动物物种的域。

[0276] 免疫球蛋白多肽的免疫球蛋白轻链或重链可变区由间插3个高变区(也称为“互补决定区”或“CDR”)的框架区(FR)构成。框架区和CDR的界限已被界定(参见“Sequences of Proteins of Immunological Interest,”E.Kabat et al.,U.S.Department of Health and Human Services,1991)。作为构成轻链和重链的组合框架区的抗体的框架区用于定位和对齐CDR。CDR主要负责对抗原的表位的结合。

[0277] “亲本Ig多肽”是包含缺乏如本文中描述的带醛标签的恒定区的氨基酸序列的多肽。亲本多肽可以包含天然序列恒定区,或可以用包含具有预先存在的氨基酸序列修饰(诸如添加,删除和/或替代)的恒定区。

[0278] 如本文中使用的,术语“分离的”意图描述处于与化合物天然发生的环境不同的环境中的感兴趣化合物。“分离的”意图包括在实质性富集了感兴趣化合物和/或感兴趣化合物得到部分或实质性纯化的样品内的化合物。

[0279] 如本文中使用的,术语“实质性纯化”指的是自其天然环境移出且至少60%不含,至少75%不含,至少80%不含,至少85%不含,至少90%不含,至少95%不含,至少98%不含,或超过98%不含与其天然相关的其它成分的化合物。

[0280] 术语“生理条件”意图涵盖与活细胞相容的那些条件,例如与活细胞相容的温度,pH,盐度,等主要含水的条件。

[0281] “反应性配偶”意味着与另一反应性配偶特异性反应以产生反应产物的分子或分子模块。例示性的反应性配偶包括硫酸酯酶基序的半胱氨酸或丝氨酸和甲酰甘氨酸生成酶(FGE),它们反应以形成含有甲酰甘氨酸(FGly)替代基序中的半胱氨酸或丝氨酸的转化醛标签的反应产物。其它例示性的反应性配偶包括转化醛标签(例如反应性醛基团)的fGly残基的醛和“醛反应性反应性配偶”,其包含醛反应性基团和感兴趣部分,且反应以形成反应产物带有修饰的醛标签的多肽,其中感兴趣模块经由修饰的fGly残基缀合至修饰的多肽。

[0282] “N端”指的是多肽中具有游离胺基团的末端氨基酸残基,在非N端氨基酸残基中的胺基团通常形成多肽的共价骨架的一部分。

[0283] “C端”指的是多肽中具有游离羧基基团的末端氨基酸残基,在非C端氨基酸残基中的羧基基团通常形成多肽的共价骨架的一部分。

[0284] 如提到多肽或多肽的氨基酸序列时使用的,“内部位点”意味着多肽中不在N端或C端的区域。

[0285] 在进一步描述本发明之前,应了解,本发明并不限于所描述的特定实施方案,所述实施方案当然可以有变化。还应了解,本文中使用的术语仅仅出于描述特定实施方案的目的,并不意图是限制性的,因为本发明的范围会仅受所附权利要求书的限制。

[0286] 在提供数值的范围的情况下,应了解,除非上下文另有明确规定,本发明内涵盖介于该范围的上限和下限之间相隔下限单位十分之一的每个居间值和该规定范围内的任何其它规定值或居间值。这些较小范围的上限和下限可以独立包括在较小范围中,而且也涵盖于本发明内,服从于在规定范围内任何特定排除的界限。在规定范围包括两个界限之一或二者的情况下,排除那些所包括的界限中的任一或两者的范围也包括于本发明中。

[0287] 应了解,为了清楚起见在分开的实施方案的上下文中描述的本发明的某些特征也可以在单个实施方案中组合提供。反之,为简便起见在单个实施方案的上下文中描述的本发明的各种特征也可以分开或以任何合适的子组合提供。本发明具体涵盖且本文中公开了属于本发明的实施方案的所有组合,就像个别且明确地公开每个和每一个组合一样,达到所述组合涵盖主题的程度,例如,作为稳定化合物的化合物(即,可以生成,分离,表征,及测试生物学活性的化合物)。另外,本发明也具体涵盖且本文中公开了各种实施方案及其要素(例如描述此类变量的实施方案中列出的化学基团的要素)的所有子组合,就像本文中个别且明确地公开每个和每一个此类子组合一样。

[0288] 除非另有定义,本文中使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的含义相同的含义。虽然也可以使用与本文中描述的方法和材料类似或等同的任何方法和材料来实施或测试本发明,但是现在描述优选的方法和材料。通过援引将本文中提到的所有出版物收入本文以披露和记载与所引用的出版物有关的方法和/或材料。

[0289] 必须注意,除非上下文另有明确规定,如本文和所附权利要求书中使用的单数形式“一个”,“一种”,和“所述/该”包括复数指示物。应进一步注意,权利要求书可以撰写成排除任何任选要素。这样的话,这个陈述意图充当与列举权利要求的要素或使用“负向”限制相结合来使用诸如“只”,“仅”等排他性术语的在先基础。

[0290] 应了解,为清楚起见在分开的实施方案的上下文中描述的本发明的某些特征也可以在单个实施方案中组合提供。反之,为简便起见在单个实施方案的上下文中描述的本发明的各种特征也可以分开或以任何合适的子组合提供。

[0291] 本文中讨论的出版物仅仅因为它们在本申请的提交日之前公开而提供。本文中的任何内容都不应解释为承认本发明依据在先发明没有先于所述出版物的资格。而且,所提供的出版物的日期可能不同于实际的出版日期,这可能需要独立确认。

[0292] 详述

[0293] 本公开内容提供抗体-药物缀合物结构,其包括连接抗体至药物的可切割接头。可

切割接头包括第一可切割模块和阻碍对第一可切割模块的切割的第二可切割模块。本公开内容还涵盖此类缀合物的生产方法以及使用方法。

[0294] 抗体-药物缀合物

[0295] 本公开内容提供缀合物,例如抗体-药物缀合物(ADC)。“缀合物”意味着第一模块(例如抗体)与第二模块(例如药物或活性剂)稳定联合。例如,抗体-药物缀合物包括与另一个模块(例如抗体)稳定联合的药物(例如美登木素,奥瑞司他汀或倍癌霉素活性剂模块)。“稳定联合”意味着在标准条件下一个模块结合至另一个模块或结构。在某些实施方案中,第一和第二模块经由一个或多个官能团和共价键彼此结合。例如,一个或多个官能团和共价键可以包含如本文中描述的可切割接头。

[0296] 在某些实施方案中,缀合物是多肽缀合物,其包括缀合至第二模块的多肽(例如抗体)。在某些实施方案中,缀合至多肽的模块可以是多种感兴趣模块任一,诸如但不限于可检测标记物,药物,水溶性聚合物,或用于将多肽固定化至膜或表面的模块。在某些实施方案中,缀合物是药物缀合物,其中多肽是抗体,如此提供抗体-药物缀合物。例如,缀合物可以是药物缀合物,其中多肽缀合至药物或活性剂模块。例如,药物或活性剂可以是美登木素。“美登木素”,“美登木素模块”,“美登木素活性剂模块”和“美登木素生物碱”指美登木素和其类似物和衍生物,和药学活性美登木素模块和/或其部分。缀合至多肽的美登木素可以是多种美登木素生物碱模块任一,诸如但不限于美登木素和其类似物和衍生物,如本文中描述的(例如脱乙酰基美登木素)。在其它情况中,药物或活性剂可以是奥瑞司他汀,或其类似物或衍生物,或药学活性奥瑞司他汀模块和/或其部分。缀合至多肽的奥瑞司他汀可以是多种奥瑞司他汀模块任一,诸如但不限于奥瑞司他汀和其类似物和衍生物,如本文中描述的。在其它情况中,药物或活性剂可以是倍癌霉素,或其类似物或衍生物,或药学活性倍癌霉素模块和/或其部分。缀合至多肽的倍癌霉素可以是多种倍癌霉素模块任一,诸如但不限于倍癌霉素和其类似物和衍生物,如本文中描述的。

[0297] 在某些实施方案中,缀合物是抗体-药物缀合物,其中抗体和药物通过接头连接到一起。在一些情况中,接头是可切割接头。可切割接头是包括一个或多个可切割模块的接头,其中可切割模块包括一个或多个能在某些条件下解离的键,如此将可切割接头分开成两个或更多个可分开部分。例如,可切割模块可以包括一个或多个共价键,其在某些条件下能解离或断裂以将可切割接头分开成两个或更多个部分。照此,可切割接头可以包括在抗体-药物缀合物中,使得在适宜条件下可切割接头在药物的期望作用靶点处受到切割以与或自抗体分开或释放药物。

[0298] 在一些情况中,可切割接头包括两个可切割模块,诸如第一可切割模块和第二可切割模块。可切割模块可以配置成使得为了在药物的期望作用靶点处与或自抗体分开或释放药物需要对两个可切割模块二者的切割。例如,对可切割接头的切割可以通过首先切割两个可切割模块之一,然后切割两个可切割模块之另一来实现。在某些实施方案中,可切割接头包括第一可切割模块和阻碍对第一可切割模块的切割的第二可切割模块。“阻碍切割”意味着未遭切割的第二可切割模块的存在降低对第一可切割模块的切割的可能性或实质性抑制对第一可切割模块的切割,如此实质性降低对可切割接头的切割的量或阻止对可切割接头的切割。例如,未遭切割的第二可切割模块的存在可阻碍对第一可切割模块的酶和/或化学切割。第二可切割模块的存在阻碍对第一可切割模块的切割继而实质性降低自抗体

释放药物的量或阻止自抗体释放药物。例如,可以实质性降低或阻止药物自抗体过早释放,直至抗体-药物缀合物位于或接近药物的期望作用靶点。

[0299] 在一些情况中,由于第二可切割模块阻碍对第一可切割模块的切割,对可切割接头的切割可以通过首先切割第二可切割模块,然后切割第一可切割模块来实现。对第二可切割模块的切割可降低或消除对第一可切割模块的切割的阻碍,如此容许切割第一可切割模块。如上文描述的,对第一可切割模块的切割可导致可切割接头解离或分开成两个或更多个部分以自抗体-药物缀合物释放药物。在一些情况中,对第一可切割模块的切割在未遭切割的第二可切割模块存在下并不实质性发生。实质性意味着在未遭切割的第二可切割模块存在下发生约10%或更少的对第一可切割模块的切割,诸如在未遭切割的第二可切割模块存在下发生约9%或更少,或约8%或更少,或约7%或更少,或约6%或更少,或约5%或更少,或约4%或更少,或约3%或更少,或约2%或更少,或约1%或更少,或约0.5%或更少,或约0.1%或更少的对第一可切割模块的切割。

[0300] 换言之,第二可切割模块可保护第一可切割模块免于切割。例如,未遭切割的第二可切割模块的存在可保护第一可切割模块免于切割,如此实质性降低或阻止药物自抗体过早释放,直至抗体-药物缀合物处于或接近药物的期望作用靶点。照此,对第二可切割模块的切割暴露第一可切割模块(例如脱保护第一可切割模块),如此容许切割第一可切割模块,导致对可切割接头的切割,其继而在药物的期望作用靶点处与或自抗体分开或释放药物,如上文描述的。在某些情况中,对第二可切割模块的切割暴露第一可切割模块于随后的切割,但是对第二可切割模块的切割本身并不导致对可切割接头的切割(即,为了切割可切割接头仍然需要切割第一可切割模块)。

[0301] 可切割接头中包括的可切割模块可以每个是化学可切割模块或酶可切割模块。例如,第一可切割模块可以是化学可切割模块且第二可切割模块可以是化学可切割模块。在其它情况中,第一可切割模块可以是酶可切割模块且第二可切割模块可以是化学可切割模块,或第一可切割模块可以是化学可切割模块且第二可切割模块可以是酶可切割模块。在一些实施方案中,第一可切割模块是第一酶可切割模块且第二可切割模块是第二酶可切割模块。

[0302] 例如,可切割模块可以是化学可切割模块。化学可切割模块包括能在某些化学条件存在下受到切割的可切割模块。在一些情况中,化学可切割模块包括一个或多个键,其能在某些化学条件存在下解离,如此将可切割模块分开成两个或更多个可分开部分。例如,化学可切割模块能在化学条件诸如酸性条件或碱性条件存在下受到切割,其能导致化学可切割模块的水解。在一些情况中,在其下化学可切割模块受到切割的化学条件可以存在于期望作用靶点处,诸如要自抗体-药物缀合物释放的药物的期望作用靶点。在一些情况中,在化学可切割模块的期望切割位点处找到的化学条件在其它区域并不以显著量存在,诸如在全血,血浆或血清中。照此,可以控制对化学可切割模块的切割,使得在期望作用位点处发生实质性切割,而在其它区域或在抗体-药物缀合物到达期望作用位点之前并不显著发生切割。

[0303] 在一些情况中,可切割模块可以是酶可切割模块。如上文描述的,酶可切割模块是能经由酶的酶促作用分开成两个或更多个部分的可切割模块。酶可切割模块可以是能经由酶的酶促作用受到切割的任何可切割模块,诸如但不限于肽,糖苷,等等。在一些情况中,切

割酶可切割模块的酶存在于期望作用靶点处,诸如要自抗体-药物缀合物释放的药物的期望作用靶点。在一些情况中,切割酶可切割模块的酶在其它区域并不以显著量存在,诸如在全血,血浆或血清中。照此,可以控制对酶可切割模块的切割,使得在期望作用位点处发生实质性切割,而在其它区域或在抗体-药物缀合物到达期望作用位点之前并不显著发生切割。

[0304] 例如,如本文中描述的,本公开内容的抗体-药物缀合物可用于治疗癌症,诸如用于将癌症治疗性药物投递至其中存在癌细胞的期望作用位点。在一些情况中,酶(诸如蛋白酶组织蛋白酶B)可以是在癌细胞中过表达的癌症的生物标志物。可以在本公开内容的抗体-药物缀合物的可切割接头中包括的酶可切割模块的背景中使用某些酶在癌症中的过表达和因而定位以在期望作用位点处特异性释放药物(即,癌症(和过表达的酶)的位点)。如此,在一些实施方案中,酶可切割模块是能受到在癌细胞中过表达的酶切割的可切割模块(例如肽)。例如,酶可以是蛋白酶组织蛋白酶B。照此,在一些情况中,酶可切割模块是能受到蛋白酶,诸如组织蛋白酶B切割的可切割模块(例如肽)。

[0305] 在某些实施方案中,酶可切割模块是肽。肽可以是适合于在可切割接头中使用且能经由酶的酶促作用受到切割的任何肽。可以用作酶可切割模块的肽的非限制性例子包括例如Val-Ala,Phe-Lys,等等。例如,上文描述的第一可切割模块(即,受到第二可切割模块保护免于过早切割的可切割模块)可包括肽。未遭切割的第二可切割模块的存在可保护第一可切割模块(肽)免于蛋白酶(例如组织蛋白酶B)的切割,如此实质性降低或阻止药物自抗体过早释放,直至抗体-药物缀合物位于或接近药物的期望作用靶点。在一些情况中,构成第一可切割模块的肽的氨基酸残基之一包括取代基,其中取代基包含第二可切割模块。在一些情况中,第二可切割模块包括糖苷。在其它实施方案中,第二可切割模块可包括肽。在其它实施方案中,第一可切割模块包括肽且第二可切割模块包括肽。

[0306] 在一些实施方案中,酶可切割模块是糖模块,诸如糖苷(或糖基)。在一些情况中,与不包括糖苷的可切割接头相比,糖苷可促进可切割接头的亲水性的升高。糖苷可以是适合于在可切割接头中使用且能经由酶的酶促作用受到切割的任何糖苷。例如,第二可切割模块(即,保护第一可切割模块免于过早切割的可切割模块)可以是糖苷。在其它实施方案中,第一可切割模块可包括糖苷。在其它实施方案中,第一可切割模块包括糖苷且第二可切割模块包括糖苷。在其它实施方案中,第一可切割模块包括肽且第二可切割模块包括糖苷。在其它实施方案中,第一可切割模块包括糖苷且第二可切割模块包括肽。

[0307] 糖苷可以经由糖苷键附着(共价键合)于可切割接头。糖苷键可经由各种类型的键连接糖苷至可切割接头,诸如但不限于O-糖苷键(O-糖苷),N-糖苷键(糖基胺),S-糖苷键(硫糖苷),或C-糖苷键(C-糖苷或C-糖基)。在一些情况中,糖苷键是O-糖苷键(O-糖苷)。在一些情况中,可以通过酶(例如经由酶介导的糖苷键的水解)自糖苷所附着的可切割接头切割糖苷。可以通过能够进行对附着糖苷至可切割接头的糖苷键的切割(水解)的任何便利的酶自可切割接头去除或切割糖苷。可用于介导对附着糖苷至可切割接头的糖苷键的切割(水解)的酶的例子是β-葡萄糖醛酸酶。还可以使用其它合适酶来介导对附着糖苷至可切割接头的糖苷键的切割(水解)。在一些情况中,位于或接近抗体-药物缀合物的药物的期望作用位点找到用于介导对附着糖苷至可切割接头的糖苷键的切割(水解)的酶。例如,酶可以是在位于或接近抗体-药物缀合物的药物的期望作用位点的细胞中找到的溶酶体酶。在一

些情况中,酶是位于或接近其中找到介导对第一可切割模块的切割的酶的靶点找到的酶。

[0308] 在某些实施方案中,第一可切割模块是酶可切割模块。

[0309] 感兴趣模块(例如药物或活性剂)可以在多肽(例如抗体)的任何期望位点处缀合至多肽。如此,例如,本公开内容提供如下的经修饰的多肽,其具有在多肽的C端或C端附近的位点处缀合的模块。其它例子包括如下的经修饰的多肽,其具有在多肽的N端或N端附近的位置处缀合的模块。例子还包括如下的经修饰的多肽,其具有在多肽的C端和N端之间的位置处(例如在多肽的内部位点处)缀合的模块。在经修饰的多肽缀合至两个或更多个模块的情况下,上述的组合也是可能的。

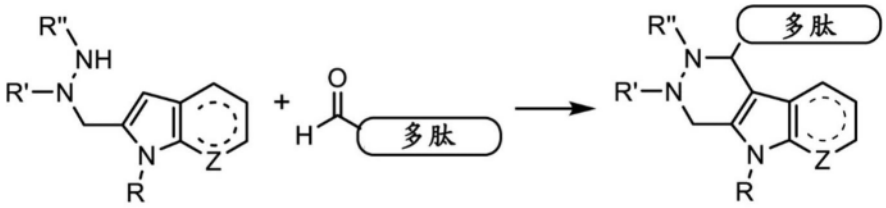
[0310] 在某些实施方案中,本公开文本的缀合物包括在氨基酸残基的α-碳处缀合至多肽的氨基酸残基的药物或活性剂。换言之,缀合物包括如下多肽,其中多肽中的一个或多个氨基酸残基的侧链已经修饰成附着至药物或活性剂(例如经由如本文中描述的接头附着至药物或活性剂)。例如,缀合物包括如下多肽,其中多肽中的一个或多个氨基酸残基的α-碳已经修饰成附着至美登木素(例如经由如本文中描述的接头附着至美登木素)。在其它情况中,缀合物包括如下多肽,其中多肽中的一个或多个氨基酸残基的α-碳已经修饰成附着至奥瑞司他汀(例如经由如本文中描述的接头附着至奥瑞司他汀)。在其它情况中,缀合物包括如下多肽,其中多肽中的一个或多个氨基酸残基的α-碳已经修饰成附着至倍癌霉素(例如经由如本文中描述的接头附着至倍癌霉素)。

[0311] 本公开内容的实施方案包括如下缀合物,其中多肽缀合至一个或多个模块,诸如2个模块,3个模块,4个模块,5个模块,6个模块,7个模块,8个模块,9个模块,或10个或更多个模块。模块可以在多肽中的一个或多个位点处缀合至多肽。例如,一个或多个模块可以缀合至多肽的单个氨基酸残基。在一些情况中,一个模块缀合至多肽的一个氨基酸残基。在其它实施方案中,两个模块可以缀合至多肽的同一氨基酸残基。在其它实施方案中,第一模块缀合至多肽的第一氨基酸残基且第二模块缀合至多肽的第二氨基酸残基。上述的组合也是可能的,例如,其中多肽在第一氨基酸残基处缀合至第一模块且在第二氨基酸残基处缀合至两个其它模块。其它组合也是可能的,诸如但不限于在第一氨基酸残基处缀合至第一和第二模块且在第二氨基酸残基处缀合至第三和第四模块的多肽,等。

[0312] 多肽中缀合至一个或多个模块的一个或多个氨基酸残基可以是天然发生氨基酸,非天然氨基酸,或其组合。例如,缀合物可以包括缀合至多肽的天然发生氨基酸残基的模块。在其它情况中,缀合物可以包括缀合至多肽的非天然氨基酸残基的模块。如上文描述的,一个或多个模块可以在单个天然或非天然氨基酸残基处缀合至多肽。如本文中描述的,多肽中的一个或多个天然或非天然氨基酸残基可以缀合至一个或多个模块。例如,多肽中的两个(或更多个)氨基酸残基(例如天然或非天然氨基酸残基)可以每个缀合至一个或两个模块,使得多肽中的多个位点是经过修饰的。

[0313] 如本文中描述的,多肽可缀合至一个或多个模块。在某些实施方案中,感兴趣模块是化学实体,诸如药物或可检测标记物。例如,药物(例如美登木素,奥瑞司他汀或倍癌霉素)可缀合至多肽,或在其它实施方案中,可检测标记物可缀合至多肽。如此,例如,本公开内容的实施方案包括但不限于下述:一个多肽和一个药物的缀合物;一个多肽和一个可检测标记物的缀合物;两个或更多个药物和一个多肽的缀合物;两个或更多个可检测标记物和一个多肽的缀合物;等等。

[0314] 在某些实施方案中,多肽和感兴趣模块经由偶联模块而缀合。例如,多肽和感兴趣模块可以每个结合(例如共价键结)至偶联模块,如此经由偶联模块将多肽和感兴趣模块(例如药物,诸如美登木素)间接地结合在一起。在一些情况中,偶联模块包括肼基-吲哚基或肼基-吡咯并-吡啶基化合物,或肼基-吲哚基或肼基-吡咯并-吡啶基化合物的衍生物。例如,用于经由肼基-吲哚基或肼基-吡咯并-吡啶基偶联模块将感兴趣模块(例如美登木素)偶联至多肽的一种通用方案显示于下文通用反应方案中。肼基-吲哚基和肼基-吡咯并-吡啶基偶联模块在本文中分别也称作肼基-异-Pictet-Spengler(HIPS)偶联模块和氮杂-肼基-异-Pictet-Spengler(azaHIPS)偶联模块。

[0315] 

[0316] 在上文反应方案中,R包括缀合至多肽(例如经由如本文中描述的可切割接头缀合至多肽)的感兴趣模块(例如药物或活性剂)。如上文反应方案所示,包括2-甲酰基甘氨酸残基(fGly)的多肽与已经修饰成包括偶联模块(例如肼基-吲哚基或肼基-吡咯并-吡啶基偶联模块)的药物或活性剂反应以生成附着至偶联模块的多肽缀合物,如此经由偶联模块将药物或活性剂附着至多肽。

[0317] 如本文中描述的,所述模块可以是多种模块任一,诸如但不限于化学实体,诸如可检测标记物或药物。R'和R"可以每个独立是任何期望取代基,诸如但不限于氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。Z可以是CR^{21},NR^{22},N,O或S,其中R^{21}和R^{22}每个独立选自上文关于R'和R"描述的任何取代基。

[0318] 其它肼基-吲哚基或肼基-吡咯并-吡啶基偶联模块也是可能的,如本文中描述的缀合物和化合物中显示的。例如,肼基-吲哚基或肼基-吡咯并-吡啶基偶联模块可以修饰成附着(例如共价附着)至接头。照此,本公开文本的实施方案包括经由接头附着至药物或活性剂的肼基-吲哚基或肼基-吡咯并-吡啶基偶联模块。本文中详细描述了可将肼基-吲哚基或肼基-吡咯并-吡啶基偶联模块偶联至药物或活性剂的接头的多种实施方案。例如,在一些情况中,接头是可切割接头,诸如本文中描述的可切割接头。

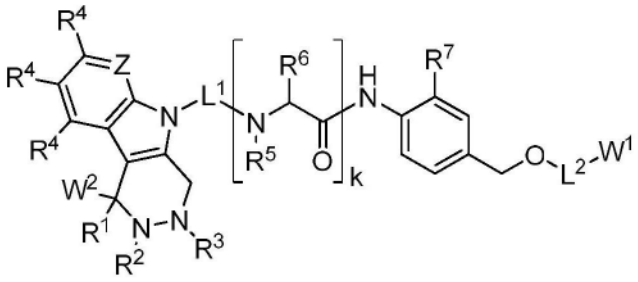
[0319] 在某些实施方案中,多肽可缀合至感兴趣模块,其中多肽是在缀合至感兴趣模块之前修饰的。修饰多肽可产生含有一个或多个适合于缀合至感兴趣模块的反应性基团的经修饰的多肽。在一些情况中,可以在一个或多个氨基酸残基处修饰多肽以提供一个或多个适合于缀合至感兴趣模块(例如如上所述包括偶联模块,诸如肼基-吲哚基或肼基-吡咯并-吡啶基偶联模块的模块)的反应性基团。例如,可以修饰多肽以包括反应性醛基团(例如反应性醛)。反应性醛可以包括在"醛标签"或"ald标签"中,如本文中使用的,"醛标签"或"ald标签"指自已经通过甲酰甘氨酸生成酶(FGE)的作用转变成含有2-甲酰甘氨酸残基(在本文中称作"FGly")的硫酸酯酶基序(例如L(C/S)TPSR)衍生的氨基酸序列。由FGE生成的FGly残

基也可以称作“甲酰甘氨酸”。换言之,术语“醛标签”在本文中用于指包括“转变后的”硫酸酯酶基序的氨基酸序列(即其中的半胱氨酸或丝氨酸残基已经通过FGE的作用转变成FGly的硫酸酯酶基序,例如L(FGly)TPSR)。转变后的硫酸酯酶基序可衍生自包括“未转变的”硫酸酯酶基序的氨基酸序列(即其中的半胱氨酸或丝氨酸残基尚未被FGE转变成FGly,但能够转变的硫酸酯酶基序,例如具有序列L(C/S)TPSR的未转变的硫酸酯酶基序)。如在甲酰甘氨酸生成酶(FGE)作用于硫酸酯酶基序的语境中使用的,“转变”指硫酸酯酶基序中的半胱氨酸或丝氨酸残基变成甲酰甘氨酸(FGly)残基(例如,Cys变成FGly,或Ser变成FGly)的生化修饰。醛标签及其在位点特异性蛋白质修饰中的用途的另外的方面记载于美国专利No.7,985,783和美国专利No.8,729,232中,通过援引将每一篇的公开内容收入本文。

[0320] 在一些情况中,含有FGly残基的经修饰的多肽可以通过FGly与化合物(例如含有如上所述肼基-吲哚基或肼基-吡咯并-吡啶基偶联模块的化合物)的反应而缀合至感兴趣模块。例如,可以在适合于提供药物缀合至多肽的条件下使含有FGly的多肽接触含有反应性配偶的药物。在一些情况中,含有反应性配偶的药物可包括如上所述肼基-吲哚基或肼基-吡咯并-吡啶基偶联模块。例如,药物或活性剂可以修饰成包括肼基-吲哚基或肼基-吡咯并-吡啶基偶联模块。在一些情况中,药物或活性剂附着至肼基-吲哚基或肼基-吡咯并-吡啶基,诸如经由接头,诸如如本文中详细描述的可切割接头共价附着至肼基-吲哚基或肼基-吡咯并-吡啶基。

[0321] 在某些实施方案中,本公开内容的缀合物包括具有至少一个经修饰的氨基酸残基的多肽(例如抗体)。多肽的经修饰的氨基酸残基可以偶联至含有如上所述肼基-吲哚基或肼基-吡咯并-吡啶基偶联模块的药物或活性剂。在某些实施方案中,多肽(例如抗体)的经修饰的氨基酸残基可衍生自已经如上所述转变成FGly残基的半胱氨酸或丝氨酸残基。在某些实施方案中,FGly残基缀合至含有如上所述肼基-吲哚基或肼基-吡咯并-吡啶基偶联模块的药物或活性剂以提供本公开内容的缀合物,其中药物或活性剂经由肼基-吲哚基或肼基-吡咯并-吡啶基偶联模块缀合至多肽。如本文中使用的,术语FGly’指多肽(例如抗体)中偶联至感兴趣模块(例如药物或活性剂)的经修饰的氨基酸残基。

[0322] 在某些实施方案中,缀合物包括至少一个如本文中描述的经修饰的氨基酸残基,其中经修饰的氨基酸残基附着至如本文中描述的接头(可切割接头),其继而附着至药物或活性剂。例如,缀合物可以包括至少一个如上文描述的经修饰的氨基酸残基(FGly’)。在一些实施方案中,缀合物是式(I)的:



(I),

[0323] 其中

[0324] Z是CR^4或N;

[0325] R^1选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

[0326] R^2和R^3每个独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,

烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,或R^2和R^3任选环状连接以形成5或6元杂环基;

[0327] 每个R^4独立选自氢,卤素,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

[0328] 每个R^5独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,和取代的炔基;

[0329] 每个R^6独立选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

[0330] k是1至10的整数;

[0331] R^7选自氢,卤素,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

[0332] L^1是第一接头;

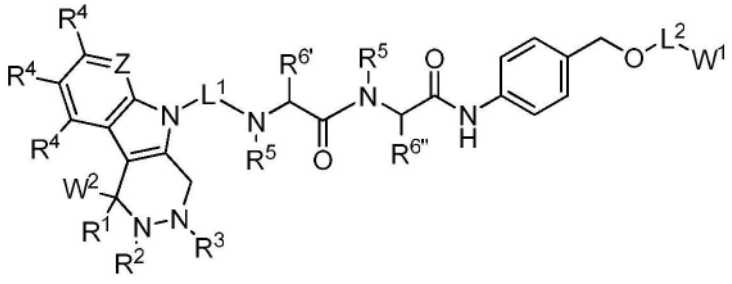
[0333] L^2是第二接头;

[0334] W^1是药物;且

[0335] W^2是抗体,

[0336] 其中L^1,R^6或R^7之一包含第二可切割模块。

[0337] 在式(I)的某些实施方案中,n是2,且缀合物是式(Ia)的:

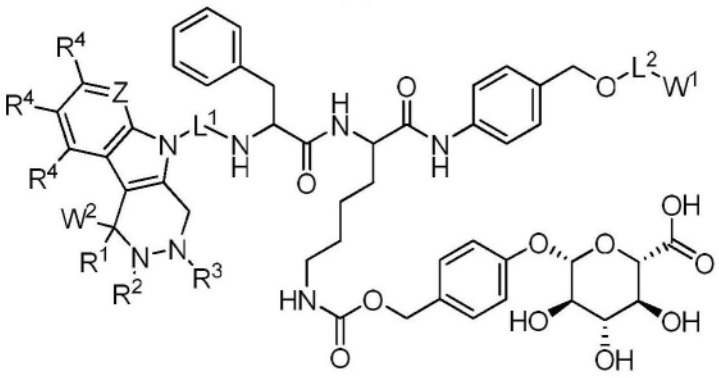
[0338] 

(Ia),

[0339] 其中

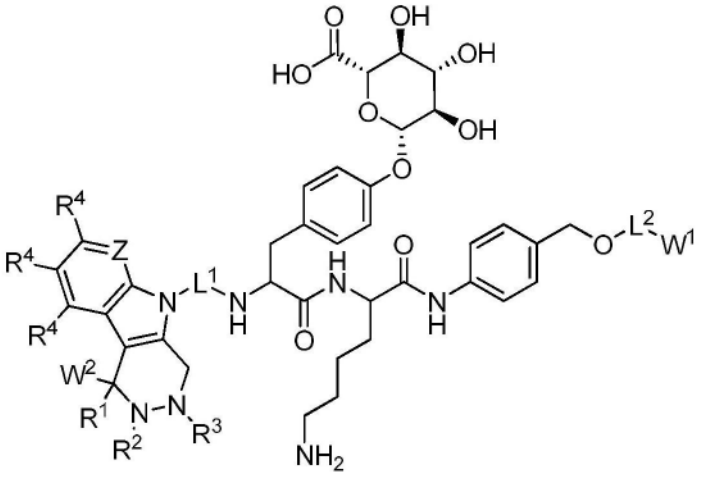
[0340] $R^{6'}$或$R^{6''}$之一包含第二可切割模块,且$R^{6'}$和$R^{6''}$之另一选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。

[0341] 例如,缀合物可以是式(Ib)的缀合物:

[0342] 

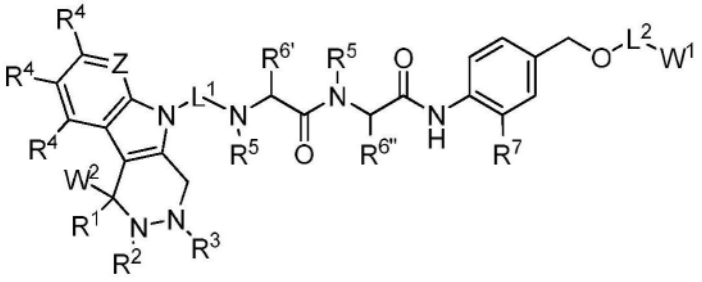
(Ib)。

[0343] 在其它情况中,缀合物可以是式(Ic)的缀合物:

[0344] 

(Ic)。

[0345] 在式(I)的某些实施方案中,k是2,且缀合物是式(Id)的:

[0346] 

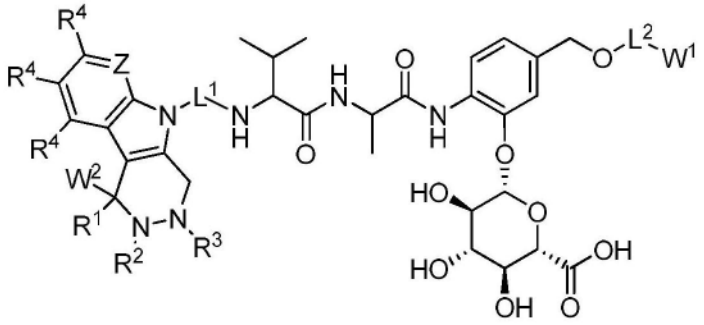
(Id),

[0347] 其中

[0348] $R^{6'}$和$R^{6''}$独立选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;且

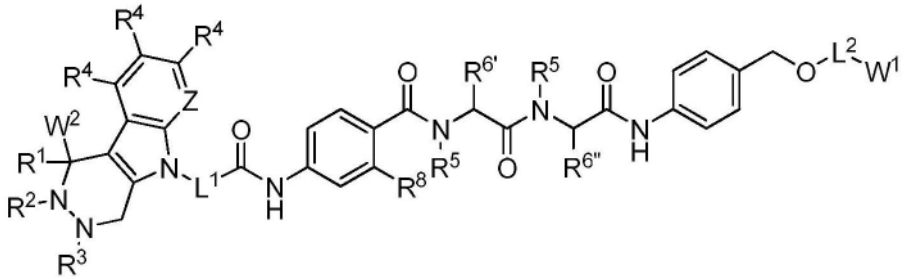
[0349] R^7包含第二可切割模块。

[0350] 例如,缀合物可以是式(Ie)的缀合物:

[0351] 

(Ie)。

[0352] 在式(I)的某些实施方案中,k是2,且缀合物是式(If)的:

[0353] 

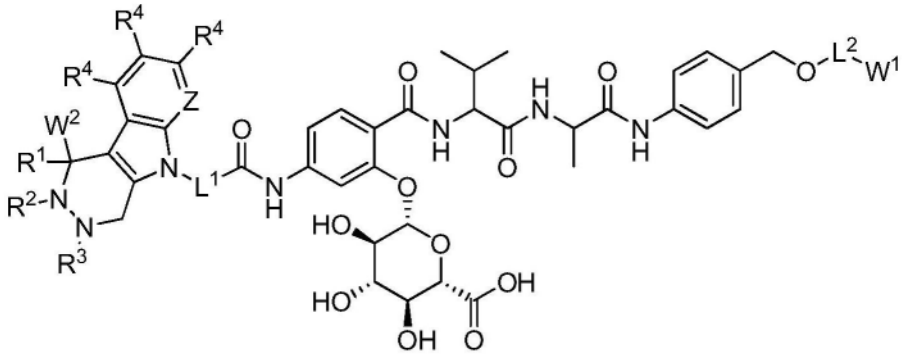
(If),

[0354] 其中

[0355] $R^{6'}$和$R^{6''}$独立选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;且

[0356] R^8包含第二可切割模块。

[0357] 例如,缀合物可以是式(Ig)的缀合物:

[0358] 

(Ig)。

[0359] 下文更为详细地描述了涉及式(I)的缀合物的取代基。提及式(I)意图还涵盖式(Ia),(Ib),(Ic),(Id),(Ie),(If)和(Ig)。

[0360] 在某些实施方案中,Z是CR^4或N。在某些实施方案中,Z是CR^4。在某些实施方案中,Z是N。

[0361] 在某些实施方案中,R^1选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。在某些实施方案中,R^1是氢。在某些实施方案中,R^1是烷基或取代的烷基,诸如C_{1-6}烷基或取代的C_{1-6}烷基,或C_{1-4}烷基或取代的C_{1-4}烷基,或C_{1-3}烷基或取代的C_{1-3}烷基。在某些实施方案中,R^1是甲基。在某些实施方案中,R^1是烯基或取代的烯基,诸如C_{2-6}烯基或取代的C_{2-6}烯基,或C_{2-4}烯基或取代的C_{2-4}烯基,或C_{2-3}烯基或取代的C_{2-3}烯基。在某些实施方案中,R^1是炔基或取代的炔基,诸如C_{2-6}炔基或取代的C_{2-6}炔基,或C_{2-4}炔基或取代的C_{2-4}炔基,或C_{2-3}炔

基或取代的C_{2-3}炔基。在某些实施方案中,R^1是芳基或取代的芳基,诸如C_{5-8}芳基或取代的C_{5-8}芳基,诸如C_5芳基或取代的C_5芳基,或C_6芳基或取代的C_6芳基。在某些实施方案中,R^1是杂芳基或取代的杂芳基,诸如C_{5-8}杂芳基或取代的C_{5-8}杂芳基,诸如C_5杂芳基或取代的C_5杂芳基,或C_6杂芳基或取代的C_6杂芳基。在某些实施方案中,R^1是环烷基或取代的环烷基,诸如C_{3-8}环烷基或取代的C_{3-8}环烷基,诸如C_{3-6}环烷基或取代的C_{3-6}环烷基,或C_{3-5}环烷基或取代的C_{3-5}环烷基。在某些实施方案中,R^1是杂环基或取代的杂环基,诸如C_{3-8}杂环基或取代的C_{3-8}杂环基,诸如C_{3-6}杂环基或取代的C_{3-6}杂环基,或C_{3-5}杂环基或取代的C_{3-5}杂环基。

[0362] 在某些实施方案中,R^2和R^3每个独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,或R^2和R^3任选环状连接以形成5或6元杂环基。

[0363] 在某些实施方案中,R^2选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。在某些实施方案中,R^2是氢。在某些实施方案中,R^2是烷基或取代的烷基,诸如C_{1-6}烷基或取代的C_{1-6}烷基,或C_{1-4}烷基或取代的C_{1-4}烷基,或C_{1-3}烷基或取代的C_{1-3}烷基。在某些实施方案中,R^2是甲基。在某些实施方案中,R^2是烯基或取代的烯基,诸如C_{2-6}烯基或取代的C_{2-6}烯基,或C_{2-4}烯基或取代的C_{2-4}烯基,或C_{2-3}烯基或取代的C_{2-3}烯基。在某些实施方案中,R^2是炔基或取代的炔基。在某些实施方案中,R^2是烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中,R^2是氨基或取代的氨基。在某些实施方案中,R^2是羧基或羧基酯。在某些实施方案中,R^2是酰基或酰基氧基。在某些实施方案中,R^2是酰基氨基或氨基酰基。在某些实施方案中,R^2是烷基酰胺或取代的烷基酰胺。在某些实施方案中,R^2是磺酰基。在某些实施方案中,R^2是硫代烷氧基或取代的硫代烷氧基。在某些实施方案中,R^2是芳基或取代的芳基,诸如C_{5-8}芳基或取代的C_{5-8}芳基,诸如C_5芳基或取代的C_5芳基,或C_6芳基或取代的C_6芳基。在某些实施方案中,R^2是杂芳基或取代的杂芳基,诸如C_{5-8}杂芳基或取代的C_{5-8}杂芳基,诸如C_5杂芳基或取代的C_5杂芳基,或C_6杂芳基或取代的C_6杂芳基。在某些实施方案中,R^2是环烷基或取代的环烷基,诸如C_{3-8}环烷基或取代的C_{3-8}环烷基,诸如C_{3-6}环烷基或取代的C_{3-6}环烷基,或C_{3-5}环烷基或取代的C_{3-5}环烷基。在某些实施方案中,R^2是杂环基或取代的杂环基,诸如C_{3-6}杂环基或取代的C_{3-6}杂环基,或C_{3-5}杂环基或取代的C_{3-5}杂环基。

[0364] 在某些实施方案中,R^3选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。在某些实施方案中,R^3是氢。在某些实施方案中,R^3是烷基或取代的烷基,诸如C_{1-6}烷基或取代的C_{1-6}烷基,或C_{1-4}烷基或取代的C_{1-4}烷基,或C_{1-3}烷基或取代的C_{1-3}烷基。在某些实施方案中,R^3是甲基。在某些实施方案中,R^3是烯基或取代的烯基,诸如C_{2-6}烯基或取代的C_{2-6}烯基,或C_{2-4}烯基或取代的C_{2-4}烯基,或C_{2-3}烯基或取代的C_{2-3}烯基。在某些实施方案中,R^3是炔基或取代的炔

基。在某些实施方案中,R^3是烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中,R^3是氨基或取代的氨基。在某些实施方案中,R^3是羧基或羧基酯。在某些实施方案中,R^3是酰基或酰基氧基。在某些实施方案中,R^3是酰基氨基或氨基酰基。在某些实施方案中,R^3是烷基酰胺或取代的烷基酰胺。在某些实施方案中,R^3是磺酰基。在某些实施方案中,R^3是硫代烷氧基或取代的硫代烷氧基。在某些实施方案中,R^3是芳基或取代的芳基,诸如C_{5-8}芳基或取代的C_{5-8}芳基,诸如C_5芳基或取代的C_5芳基,或C_6芳基或取代的C_6芳基。在某些实施方案中,R^3是杂芳基或取代的杂芳基,诸如C_{5-8}杂芳基或取代的C_{5-8}杂芳基,诸如C_5杂芳基或取代的C_5杂芳基,或C_6杂芳基或取代的C_6杂芳基。在某些实施方案中,R^3是环烷基或取代的环烷基,诸如C_{3-8}环烷基或取代的C_{3-8}环烷基,诸如C_{3-6}环烷基或取代的C_{3-6}环烷基,或C_{3-5}环烷基或取代的C_{3-5}环烷基。在某些实施方案中,R^3是杂环基或取代的杂环基,诸如C_{3-8}杂环基或取代的C_{3-8}杂环基,诸如C_{3-6}杂环基或取代的C_{3-6}杂环基,或C_{3-5}杂环基或取代的C_{3-5}杂环基。

[0365] 在某些实施方案中,R^2和R^3任选环状连接以形成5或6元杂环基。在某些实施方案中,R^2和R^3环状连接以形成5或6元杂环基。在某些实施方案中,R^2和R^3环状连接以形成5元杂环基。在某些实施方案中,R^2和R^3环状连接以形成6元杂环基。

[0366] 在某些实施方案中,每个R^4独立选自氢,卤素,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。

[0367] 每个R^4的各种可能性更为详细地描述如下。在某些实施方案中,R^4是氢。在某些实施方案中,每个R^4是氢。在某些实施方案中,R^4是卤素,诸如F,Cl,Br或I。在某些实施方案中,R^4是F。在某些实施方案中,R^4是Cl。在某些实施方案中,R^4是Br。在某些实施方案中,R^4是I。在某些实施方案中,R^4是烷基或取代的烷基,诸如C_{1-6}烷基或取代的C_{1-6}烷基,或C_{1-4}烷基或取代的C_{1-4}烷基,或C_{1-3}烷基或取代的C_{1-3}烷基。在某些实施方案中,R^4是甲基。在某些实施方案中,R^4是烯基或取代的烯基,诸如C_{2-6}烯基或取代的C_{2-6}烯基,或C_{2-4}烯基或取代的C_{2-4}烯基,或C_{2-3}烯基或取代的C_{2-3}烯基。在某些实施方案中,R^4是炔基或取代的炔基。在某些实施方案中,R^4是烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中,R^4是氨基或取代的氨基。在某些实施方案中,R^4是羧基或羧基酯。在某些实施方案中,R^4是酰基或酰基氧基。在某些实施方案中,R^4是酰基氨基或氨基酰基。在某些实施方案中,R^4是烷基酰胺或取代的烷基酰胺。在某些实施方案中,R^4是磺酰基。在某些实施方案中,R^4是硫代烷氧基或取代的硫代烷氧基。在某些实施方案中,R^4是芳基或取代的芳基,诸如C_{5-8}芳基或取代的C_{5-8}芳基,诸如C_5芳基或取代的C_5芳基,或C_6芳基或取代的C_6芳基(例如苯基或取代的苯基)。在某些实施方案中,R^4是杂芳基或取代的杂芳基,诸如C_{5-8}杂芳基或取代的C_{5-8}杂芳基,诸如C_5杂芳基或取代的C_5杂芳基,或C_6杂芳基或取代的C_6杂芳基。在某些实施方案中,R^4是环烷基或取代的环烷基,诸如C_{3-8}环烷基或取代的C_{3-8}环烷基,诸如C_{3-6}环烷基或取代的C_{3-6}环烷基,或C_{3-5}环烷基或取代的C_{3-5}环烷基。在某些实施方案中,R^4是杂环基或取代的杂环基,诸如C_{3-8}杂环基或取代的C_{3-8}杂环基,诸如C_{3-6}杂环基或取代的C_{3-6}杂环基,或C_{3-5}杂环基或取代的C_{3-5}杂环基。

[0368] 在某些实施方案中,每个R^5独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,和取代的炔基。在某些实施方案中,R^5是氢。在某些实施方案中,R^5是烷基或取代的烷基,

诸如C_{1-6}烷基或取代的C_{1-6}烷基,或C_{1-4}烷基或取代的C_{1-4}烷基,或C_{1-3}烷基或取代的C_{1-3}烷基。在某些实施方案中,R^5是甲基。在某些实施方案中,R^5是乙基。在某些实施方案中,R^5是丙基(例如正丙基或异丙基)。在某些实施方案中,R^5是丁基(例如正丁基,异丁基,仲丁基,或叔丁基)。在某些实施方案中,R^5是戊基(例如正戊基或新戊基,等)。在某些实施方案中,R^5是新戊基。在某些实施方案中,R^5是烯基或取代的烯基,诸如C_{2-6}烯基或取代的C_{2-6}烯基,或C_{2-4}烯基或取代的C_{2-4}烯基,或C_{2-3}烯基或取代的C_{2-3}烯基。在某些实施方案中,R^5是炔基或取代的炔基。

[0369] 在某些实施方案中,每个R^6独立选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。在某些实施方案中,R^6是氢。在某些实施方案中,R^6是烷基或取代的烷基,诸如C_{1-6}烷基或取代的C_{1-6}烷基,或C_{1-4}烷基或取代的C_{1-4}烷基,或C_{1-3}烷基或取代的C_{1-3}烷基。在某些实施方案中,R^6是甲基。在某些实施方案中,R^6是乙基。在某些实施方案中,R^6是丙基(例如正丙基或异丙基)。在某些实施方案中,R^6是丁基(例如正丁基,异丁基,仲丁基,或叔丁基)。在某些实施方案中,R^6是戊基(例如正戊基或新戊基,等)。在某些实施方案中,R^6是新戊基。在某些实施方案中,R^6是烯基或取代的烯基,诸如C_{2-6}烯基或取代的C_{2-6}烯基,或C_{2-4}烯基或取代的C_{2-4}烯基,或C_{2-3}烯基或取代的C_{2-3}烯基。在某些实施方案中,R^6是炔基或取代的炔基。

[0370] 在某些实施方案中,R^6是芳基或取代的芳基,诸如C_{5-8}芳基或取代的C_{5-8}芳基,诸如C_5芳基或取代的C_5芳基,或C_6芳基或取代的C_6芳基(例如苯基或取代的苯基)。在某些实施方案中,R^6是杂芳基或取代的杂芳基,诸如C_{5-8}杂芳基或取代的C_{5-8}杂芳基,诸如C_5杂芳基或取代的C_5杂芳基,或C_6杂芳基或取代的C_6杂芳基。在某些实施方案中,R^6是环烷基或取代的环烷基,诸如C_{3-8}环烷基或取代的C_{3-8}环烷基,诸如C_{3-6}环烷基或取代的C_{3-6}环烷基,或C_{3-5}环烷基或取代的C_{3-5}环烷基。在某些实施方案中,R^6是杂环基或取代的杂环基,诸如C_{3-8}杂环基或取代的C_{3-8}杂环基,诸如C_{3-6}杂环基或取代的C_{3-6}杂环基,或C_{3-5}杂环基或取代的C_{3-5}杂环基。

[0371] 在某些实施方案中,R^6代表氨基酸的侧链。例如,R^6可以代表附着至氨基酸残基(包括天然氨基酸,非天然氨基酸,和氨基酸类似物)的α-碳的取代基。在一些情况中,R^6代表在天然发生蛋白质中找到的氨基酸的侧链(例如Ala或A,Cys或C,Asp或D,Glu或E,Phe或F,Gly或G,His或H,Ile或I,Lys或K,Leu或L,Met或M,Asn或N,Pro或P,Gln或Q,Arg或R,Ser或S,Thr或T,Val或V,Trp或W,Tyr或Y的侧链)。在某些实施方案中,R^6代表缬氨酸(Val)的侧链;即,R^6是异丙基。在某些实施方案中,R^6代表丙氨酸(Ala)的侧链;即,R^6是甲基。在某些实施方案中,R^6代表苯丙氨酸(Phe)的侧链;即,R^6是苄基。在某些实施方案中,R^6代表赖氨酸(Lys)的侧链;即,R^6是4-氨基-丁基。

[0372] 在某些实施方案中,k是1至10的整数。在某些实施方案中,k是1。在某些实施方案中,k是2。在某些实施方案中,k是3。在某些实施方案中,k是4。在某些实施方案中,k是5。在某些实施方案中,k是6。在某些实施方案中,k是7。在某些实施方案中,k是8。在某些实施方案中,k是9。在某些实施方案中,k是10。

[0373] 在某些实施方案中,R^7选自氢,卤素,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,

[0374] 氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。

[0375] 在某些实施方案中,R^7是氢。在某些实施方案中,R^7是卤素,诸如F,Cl,Br或I。在某些实施方案中,R^7是烷基或取代的烷基,诸如C_{1-6}烷基或取代的C_{1-6}烷基,或C_{1-4}烷基或取代的C_{1-4}烷基,或C_{1-3}烷基或取代的C_{1-3}烷基。在某些实施方案中,R^7是甲基。在某些实施方案中,R^7是乙基。在某些实施方案中,R^7是丙基(例如正丙基或异丙基)。在某些实施方案中,R^7是丁基(例如正丁基,异丁基,仲丁基,或叔丁基)。在某些实施方案中,R^7是戊基(例如正戊基或新戊基,等)。在某些实施方案中,R^7是新戊基。在某些实施方案中,R^7是烯基或取代的烯基,诸如C_{2-6}烯基或取代的C_{2-6}烯基,或C_{2-4}烯基或取代的C_{2-4}烯基,或C_{2-3}烯基或取代的C_{2-3}烯基。在某些实施方案中,R^7是炔基或取代的炔基。

[0376] 在某些实施方案中,R^7是烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中,R^7是氨基或取代的氨基。在某些实施方案中,R^7是羧基或羧基酯。在某些实施方案中,R^7是酰基。在某些实施方案中,R^7是酰基氧基。在某些实施方案中,R^7是酰基氨基。在某些实施方案中,R^7是氨基酰基。在某些实施方案中,R^7是烷基酰胺或取代的烷基酰胺。

[0377] 在某些实施方案中,R^7是芳基或取代的芳基,诸如C_{5-8}芳基或取代的C_{5-8}芳基,诸如C_5芳基或取代的C_5芳基,或C_6芳基或取代的C_6芳基(例如苯基或取代的苯基)。在某些实施方案中,R^7是杂芳基或取代的杂芳基,诸如C_{5-8}杂芳基或取代的C_{5-8}杂芳基,诸如C_5杂芳基或取代的C_5杂芳基,或C_6杂芳基或取代的C_6杂芳基。在某些实施方案中,R^7是环烷基或取代的环烷基,诸如C_{3-8}环烷基或取代的C_{3-8}环烷基,诸如C_{3-6}环烷基或取代的C_{3-6}环烷基,或C_{3-5}环烷基或取代的C_{3-5}环烷基。在某些实施方案中,R^7是杂环基或取代的杂环基,诸如C_{3-8}杂环基或取代的C_{3-8}杂环基,诸如C_{3-6}杂环基或取代的C_{3-6}杂环基,或C_{3-5}杂环基或取代的C_{3-5}杂环基。

[0378] 在某些实施方案中,L^1是第一接头。下文更为详细地描述了适合于L^1的接头。

[0379] 在某些实施方案中,L^2是第二接头。下文更为详细地描述了适合于L^2的接头。

[0380] 在某些实施方案中,W^1是药物。例如,W^1可以是美登木素生物碱。美登木素生物碱的别的描述见本文中的公开内容。在一些情况中,W^1是奥瑞司他汀。奥瑞司他汀的别的描述见本文中的公开内容。在一些情况中,W^1是倍癌霉素。倍癌霉素的别的描述见本文中的公开内容。

[0381] 在某些实施方案中,W^2是抗体。可以在主题缀合物中使用的抗体的别的描述见本文中的公开内容。

[0382] 在某些实施方案中,式(I)的化合物包括一个或多个接头。可以利用接头将偶联模块结合至一个或多个感兴趣模块和/或一个或多个多肽。在一些实施方案中,接头将偶联模块结合至多肽或化学实体(诸如药物)任一。接头可以在任何便利的位置处结合(例如共价键合)至偶联模块(例如如本文中描述的)。例如,接头可以将肼基-吲哚基或肼基-吡咯并-吡啶基偶联模块附着至药物(例如美登木素或奥瑞司他汀)。肼基-吲哚基或肼基-吡咯并-吡啶基偶联模块可用于将接头(和因而药物)缀合至多肽,诸如抗体。例如,偶联模块可用于将接头(和因而药物)缀合至多肽的经修饰的氨基酸残基,诸如抗体的FGly残基。

[0383] 在某些实施方案中,接头包括一个或多个接头,诸如第一接头L^1和第二接头L^2。另外,接头可以包括一个或多个可切割模块(例如第一可切割模块和第二可切割模块),如本文中描述的。在一些情况中,接头包括一个或多个接头,诸如第一接头L^1和第二接头L^2。例

如,接头可以包括连接第一可切割模块至偶联模块(例如如本文中描述的肼基-吲哚基或肼基-吡咯并-吡啶基偶联模块)的第一接头(L^1)和连接第一可切割模块至化学实体,诸如如本文中描述的药物的第二接头(L^2)。照此,接头可以包括连接第一可切割模块至抗体(例如经由如本文中描述的肼基-吲哚基或肼基-吡咯并-吡啶基偶联模块)的第一接头(L^1)和连接第一可切割模块至化学实体,诸如如本文中描述的药物的第二接头(L^2)。

[0384] 例如,如上文式(I)中显示的,L^1经由偶联模块附着至W^2,而且因而W^2经由偶联模块间接键合至第一接头L^1。如上文描述的,W^2是抗体,而且因而L^1经由偶联模块附着至抗体,例如,第一接头L^1经由偶联模块(例如经由如本文中描述的肼基-吲哚基或肼基-吡咯并-吡啶基偶联模块)间接键合至抗体。另外,如上文式(I)中显示的,L^1(间接)附着至L^2,而且L^2附着至W^1。如上文描述的,W^1是药物,而且因而第二接头L^2经由第一接头L^1和偶联模块(例如如本文中描述的肼基-吲哚基或肼基-吡咯并-吡啶基偶联模块)将药物附着至抗体W^2。

[0385] 可以对主题缀合物和化合物中的第一接头(L^1)和第二接头(L^2)利用任何便利的接头。在某些实施方案中,第一接头(L^1)和第二接头(L^2)每个可以独立包括选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基氨基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基的基团。在某些实施方案中,第一接头(L^1)和第二接头(L^2)每个可以独立包括烷基或取代的烷基基团。在某些实施方案中,第一接头(L^1)和第二接头(L^2)每个可以独立包括烯基或取代的烯基基团。在某些实施方案中,第一接头(L^1)和第二接头(L^2)每个可以独立包括炔基或取代的炔基基团。在某些实施方案中,第一接头(L^1)和第二接头(L^2)每个可以独立包括烷氧基或取代的烷氧基基团。在某些实施方案中,第一接头(L^1)和第二接头(L^2)每个可以独立包括氨基或取代的氨基基团。在某些实施方案中,第一接头(L^1)和第二接头(L^2)每个可以独立包括羧基或羧基酯基团。在某些实施方案中,第一接头(L^1)和第二接头(L^2)每个可以独立包括酰基氨基基团。在某些实施方案中,第一接头(L^1)和第二接头(L^2)每个可以独立包括烷基酰胺或取代的烷基酰胺基团。在某些实施方案中,第一接头(L^1)和第二接头(L^2)每个可以独立包括芳基或取代的芳基基团。在某些实施方案中,第一接头(L^1)和第二接头(L^2)每个可以独立包括杂芳基或取代的杂芳基基团。在某些实施方案中,第一接头(L^1)和第二接头(L^2)每个可以独立包括环烷基或取代的环烷基基团。在某些实施方案中,第一接头(L^1)和第二接头(L^2)每个可以独立包括杂环基或取代的杂环基基团。

[0386] 在某些实施方案中,第一接头(L^1)和第二接头(L^2)每个可以独立包括聚合物。例如,聚合物可以包括聚烷撑二醇及其衍生物,包括聚乙二醇,甲氧基聚乙二醇,聚乙二醇均聚物,聚丙二醇均聚物,乙二醇与丙二醇的共聚物(例如,其中均聚物和共聚物是未取代的或在一端用烷基取代的),聚乙烯醇,聚乙烯基乙基醚,聚乙烯吡咯烷酮,其组合,等等。在某些实施方案中,聚合物是聚烷撑二醇。在某些实施方案中,聚合物是聚乙二醇。其它接头也是可能的,如下文更为详细地描述的缀合物和化合物中显示的。

[0387] 在一些实施方案中,L^1是通过式-$(L^{11})_a$-$(L^{12})_b$-$(L^{13})_c$-$(L^{14})_d$-来描述的第一接头,其中L^{11},L^{12},L^{13}和L^{14}每个独立是第一接头亚单元,而且a,b,c和d每个独立是0或1,其中a,b,c和d之和是1至4。

[0388] 在某些实施方案中,a,b,c和d之和是1。在某些实施方案中,a,b,c和d之和是2。在

某些实施方案中,a,b,c和d之和是3。在某些实施方案中,a,b,c和d之和是4。在某些实施方案中,a,b,c和d每个是1。在某些实施方案中,a,b和c每个是1,且d是0。在某些实施方案中,a和b每个是1,且c和d每个是0。在某些实施方案中,a是1,且b,c和d每个是0。

[0389] 在某些实施方案中,L^{11}附着至胼基-吲哚基或胼基-吡咯并-吡啶基偶联模块(例如,如上文式(I)中显示的)。在某些实施方案中,L^{12},若存在的话,附着至第一可切割模块。在某些实施方案中,L^{13},若存在的话,附着至第一可切割模块。在某些实施方案中,L^{14},若存在的话,附着至第一可切割模块。

[0390] 可以在第一接头L^1中利用任何便利的接头亚单元。感兴趣接头亚单元包括但不限于聚合物,诸如聚乙二醇,聚乙烯和聚丙烯酸酯,氨基酸残基,基于碳水化合物的聚合物或碳水化合物残基及其衍生物,多核苷酸,烷基基团,芳基基团,杂环基基团,其组合,和其取代型式的单元。在一些实施方案中,L^{11},L^{12},L^{13}和L^{14}(若存在的话)中每个包含一个或多个独立选自聚乙二醇,经修饰的聚乙二醇,氨基酸残基,烷基基团,取代的烷基,芳基基团,取代的芳基基团,和二胺(例如包括烷撑二胺的连接基团)的基团。

[0391] 在一些实施方案中,L^{11}(若存在的话)包含聚乙二醇,经修饰的聚乙二醇,氨基酸残基,烷基基团,取代的烷基,芳基基团,取代的芳基基团,或二胺。在一些实施方案中,L^{11}包含聚乙二醇。在一些实施方案中,L^{11}包含经修饰的聚乙二醇。在一些实施方案中,L^{11}包含氨基酸残基。在一些实施方案中,L^{11}包含烷基基团或取代的烷基。在一些实施方案中,L^{11}包含芳基基团或取代的芳基基团。在一些实施方案中,L^{11}包含二胺(例如包含烷撑二胺的连接基团)。

[0392] 在一些实施方案中,L^{12}(若存在的话)包含聚乙二醇,经修饰的聚乙二醇,氨基酸残基,烷基基团,取代的烷基,芳基基团,取代的芳基基团,或二胺。在一些实施方案中,L^{12}包含聚乙二醇。在一些实施方案中,L^{12}包含经修饰的聚乙二醇。在一些实施方案中,L^{12}包含氨基酸残基。在一些实施方案中,L^{12}包含烷基基团或取代的烷基。在一些实施方案中,L^{12}包含芳基基团或取代的芳基基团。在一些实施方案中,L^{12}包含二胺(例如包含烷撑二胺的连接基团)。

[0393] 在一些实施方案中,L^{13}(若存在的话)包含聚乙二醇,经修饰的聚乙二醇,氨基酸残基,烷基基团,取代的烷基,芳基基团,取代的芳基基团,或二胺。在一些实施方案中,L^{13}包含聚乙二醇。在一些实施方案中,L^{13}包含经修饰的聚乙二醇。在一些实施方案中,L^{13}包含氨基酸残基。在一些实施方案中,L^{13}包含烷基基团或取代的烷基。在一些实施方案中,L^{13}包含芳基基团或取代的芳基基团。在一些实施方案中,L^{13}包含二胺(例如包含烷撑二胺的连接基团)。

[0394] 在一些实施方案中,L^{14}(若存在的话)包含聚乙二醇,经修饰的聚乙二醇,氨基酸残基,烷基基团,取代的烷基,芳基基团,取代的芳基基团,或二胺。在一些实施方案中,L^{14}包含聚乙二醇。在一些实施方案中,L^{14}包含经修饰的聚乙二醇。在一些实施方案中,L^{14}包含氨基酸残基。在一些实施方案中,L^{14}包含烷基基团或取代的烷基。在一些实施方案中,L^{14}包含芳基基团或取代的芳基基团。在一些实施方案中,L^{14}包含二胺(例如包含烷撑二胺的连接基团)。

[0395] 在一些实施方案中,L^1是包含$-(L^{11})_a-(L^{12})_b-(L^{13})_c-(L^{14})_d-$的接头,其中:

[0396] $-(L^{11})_a-$是$-(T^1-V^1)_a-$;

[0397] $-(L^{12})_b-$是$-(T^2-V^2)_b-$；

[0398] $-(L^{13})_c-$是$-(T^3-V^3)_c-$；且

[0399] $-(L^{14})_d-$是$-(T^4-V^4)_d-$，

[0400] 其中T^1，T^2，T^3和T^4，若存在的话，是拴系基团；

[0401] V^1，V^2，V^3和V^4，若存在的话，是共价键或连接官能团；且

[0402] a，b，c和d每个独立是0或1，其中a，b，c和d之和是1至4。

[0403] 如上文描述的，在某些实施方案中，L^{11}附着至肼基-吲哚基或肼基-吡咯并-吡啶基偶联模块(例如如上文式(I)中显示的)。照此，在某些实施方案中，T^1附着至肼基-吲哚基或肼基-吡咯并-吡啶基偶联模块(例如，如上文式(I)中显示的)。在某些实施方案中，V^1附着至第一可切割模块。在某些实施方案中，L^{12}，若存在的话，附着至第一可切割模块。照此，在某些实施方案中，T^2，若存在的话，附着至第一可切割模块，或V^2，若存在的话，附着至第一可切割模块。在某些实施方案中，L^{13}，若存在的话，附着至第一可切割模块。照此，在某些实施方案中，T^3，若存在的话，附着至第一可切割模块，或V^3，若存在的话，附着至第一可切割模块。在某些实施方案中，L^{14}，若存在的话，附着至第一可切割模块。照此，在某些实施方案中，T^4，若存在的话，附着至第一可切割模块，或V^4，若存在的话，附着至第一可切割模块。

[0404] 关于拴系基团T^1，T^2，T^3和T^4，可以在主题接头中利用任何便利的拴系基团。在一些实施方案中，T^1，T^2，T^3和T^4每个包含一个或多个独立选自(C_1-C_{12})烷基，取代的(C_1-C_{12})烷基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，和取代的杂环基，$(EDA)_w$，$(PEG)_n$，$(AA)_p$，$-(CR^{13}OH)_h-$，4-氨基-哌啶(4AP)，乙缩醛基团，二硫化物，肼，和酯的基团，其中w是1至20的整数，n是1至30的整数，p是1至20的整数，而h是1至12的整数。

[0405] 在某些实施方案中，栓系基团(例如T^1，T^2，T^3和/或T^4)包括(C_1-C_{12})烷基或取代的(C_1-C_{12})烷基。在某些实施方案中，(C_1-C_{12})烷基是直链或支链烷基基团，其包括1至12个碳原子，诸如1至10个碳原子，或1至8个碳原子，或1至6个碳原子，或1至5个碳原子，或1至4个碳原子，或1至3个碳原子。在一些情况中，(C_1-C_{12})烷基可以是烷基或取代的烷基，诸如C_1-C_{12}烷基，或C_1-C_{10}烷基，或C_1-C_6烷基，或C_1-C_3烷基。在一些情况中，(C_1-C_{12})烷基是C_2烷基。例如，(C_1-C_{12})烷基可以是亚烷基或取代的亚烷基，诸如C_1-C_{12}亚烷基，或C_1-C_{10}亚烷基，或C_1-C_6亚烷基，或C_1-C_3亚烷基。在一些情况中，(C_1-C_{12})烷基是C_2亚烷基(例如CH_2CH_2)。

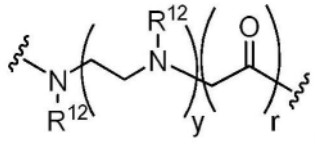
[0406] 在某些实施方案中，取代的(C_1-C_{12})烷基是直链或支链取代的烷基基团，其包括1至12个碳原子，诸如1至10个碳原子，或1至8个碳原子，或1至6个碳原子，或1至5个碳原子，或1至4个碳原子，或1至3个碳原子。在一些情况中，取代的(C_1-C_{12})烷基可以是取代的烷基，诸如取代的C_1-C_{12}烷基，或取代的C_1-C_{10}烷基，或取代的C_1-C_6烷基，或取代的C_1-C_3烷基。在一些情况中，取代的(C_1-C_{12})烷基是取代的C_2烷基。例如，取代的(C_1-C_{12})烷基可以是取代的亚烷基，诸如取代的C_1-C_{12}亚烷基，或取代的C_1-C_{10}亚烷基，或取代的C_1-C_6亚烷基，或取代的C_1-C_3亚烷基。在一些情况中，取代的(C_1-C_{12})烷基是取代的C_2亚烷基。

[0407] 在某些实施方案中，拴系基团(例如T^1，T^2，T^3和/或T^4)包括芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，或取代的杂环基。在一些情况中，拴系基团(例如T^1，T^2，T^3和/或T^4)包括芳基或取代的芳基。例如，芳基可以是苯基。在一些情况中，取代的芳基是取代的苯基。取代的苯基可以是用一个或多个选自(C_1-C_{12})烷基，取代的(C_1-C_{12})烷基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，和取代

的杂环基的取代基取代的。在一些情况中,取代的芳基是取代的苯基,其中取代基包括如本文中描述的第二可切割模块(例如酶可切割模块,诸如糖苷)。

[0408] 在一些情况中,拴系基团(例如T^1,T^2,T^3和/或T^4)包括杂芳基或取代的杂芳基。在一些情况中,拴系基团(例如T^1,T^2,T^3和/或T^4)包括环烷基或取代的环烷基。在一些情况中,拴系基团(例如T^1,T^2,T^3和/或T^4)包括杂环基或取代的杂环基。在一些情况中,取代的杂芳基,取代的环烷基或取代的杂环基上的取代基包括如本文中描述的第二可切割模块(例如酶可切割模块,诸如糖苷)。

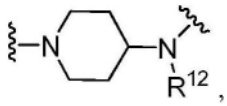
[0409] 在某些实施方案中,拴系基团(例如T^1,T^2,T^3和/或T^4)包括乙二胺(EDA)模块,例如含EDA拴系。在某些实施方案中,$(EDA)_w$包括一个或多个EDA模块,诸如其中w是1至50,诸如1至40,1至30,1至20,1至12或1至6的整数,诸如1,2,3,4,5或6。所连接的乙二胺(EDA)模块可以任选是在一个或多个便利的位置处用任何便利的取代基,例如用烷基,取代的烷基,酰基,取代的酰基,芳基或取代的芳基取代的。在某些实施方案中,EDA模块通过下面的结构来描述:

[0410] 

[0411] 其中y是1至6的整数,r是0或1,且每个R^{12}独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,

[0412] 酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。在某些实施方案中,y是1,2,3,4,5或6。在某些实施方案中,y是1且r是0。在某些实施方案中,y是1且r是1。在某些实施方案中,y是2且r是0。在某些实施方案中,y是2且r是1。在某些实施方案中,每个R^{12}独立选自氢,烷基,取代的烷基,芳基和取代的芳基。在某些实施方案中,EDA中任两个相邻的R^{12}基团可以环状连接,例如形成哌嗪基环。在某些实施方案中,y是1且两个相邻R^{12}基团是烷基基团,环状连接以形成哌嗪基环。在某些实施方案中,y是1且相邻R^{12}基团选自氢,烷基(例如甲基)和取代的烷基(例如低级烷基-OH,诸如乙基-OH或丙基-OH)。

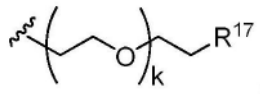
[0413] 在某些实施方案中,拴系基团(例如T^1,T^2,T^3和/或T^4)包括4-氨基-哌啶(4AP)模块(在本文中也称作哌啶-4-氨基,P4A)。4AP模块可以任选是在一个或多个便利的位置处用任何便利的取代基,例如用烷基,取代的烷基,聚乙二醇模块,酰基,取代的酰基,芳基或取代的芳基取代的。在某些实施方案中,4AP模块通过下面的结构来描述:

[0414] 

[0415] 其中R^{12}选自氢,烷基,取代的烷基,聚乙二醇模块(例如聚乙二醇或经修饰的聚乙二醇),烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷

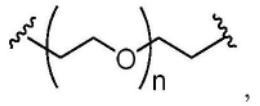
基,杂环基,和取代的杂环基。在某些实施方案中,R^{12}是聚乙二醇模块。在某些实施方案中,R^{12}是羧基修饰的聚乙二醇。

[0416] 在某些实施方案中,R^{12}包括通过式$(PEG)_k$来描述的聚乙二醇模块,它可以通过如下结构来表示:

[0417] ,

[0418] 其中k是1至20,诸如1至18,或1至16,或1至14,或1至12,或1至10,或1至8,或1至6,或1至4,或1至2的整数,诸如1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19或20。在一些情况中,k是2。在某些实施方案中,R^{17}选自OH,COOH,或COOR,其中R选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。在某些实施方案中,R^{17}是COOH。

[0419] 在某些实施方案中,拴系基团(例如T^1,T^2,T^3和/或T^4)包括$(PEG)_n$,其中$(PEG)_n$是聚乙二醇或经修饰的聚乙二醇连接单元。在某些实施方案中,$(PEG)_n$通过下面的结构来描述:

[0420] ,

[0421] 其中n是1至50,诸如1至40,1至30,1至20,1至12或1至6的整数,诸如1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19或20。在一些情况中,n是2。在一些情况中,n是3。在一些情况中,n是6。在一些情况中,n是12。

[0422] 在某些实施方案中,拴系基团(例如T^1,T^2,T^3和/或T^4)包括$(AA)_p$,其中AA是氨基酸残基。可以利用任何便利的氨基酸。感兴趣氨基酸包括但不限于L-和D-氨基酸,天然发生氨基酸,诸如20种主要α-氨基酸和β-丙氨酸任一,非天然发生氨基酸(例如氨基酸类似物),诸如非天然发生α-氨基酸或非天然发生β-氨基酸,等。在某些实施方案中,p是1至50,诸如1至40,1至30,1至20,1至12或1至6的整数,诸如1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19或20。在某些实施方案中,p是1。在某些实施方案中,p是2。

[0423] 在某些实施方案中,拴系基团(例如T^1,T^2,T^3和/或T^4)包括通过式$-(CR^{13}OH)_h-$来描述的模块,其中h是0或n是1至50,诸如1至40,1至30,1至20,1至12或1至6的整数,诸如1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11或12。在某些实施方案中,h是1。在某些实施方案中,h是2。在某些实施方案中,R^{13}选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。在某些实施方案中,R^{13}是氢。在某些实施方案中,R^{13}是烷基或取代的烷基,诸如C_{1-6}烷基或取代的C_{1-6}烷基,或C_{1-4}烷基或取代的C_{1-4}烷基,或C_{1-3}烷基或取代的C_{1-3}烷基。在某些实施方案中,R^{13}是烯基或取代的烯基,诸如C_{2-6}烯基或取代的C_{2-6}烯基,或C_{2-4}烯基或取代的C_{2-4}烯基,或C_{2-3}烯基或取代的C_{2-3}烯基。在某些实施方案中,R^{13}是炔基或取代的炔基。在某些实施方案中,R^{13}是烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中,R^{13}是氨基或取代的氨基。在某些实施方案中,R^{13}是羧基或羧基酯。在某些实施方案中,R^{13}是酰基或酰基氧基。在某些实施方案中,R^{13}是酰基氨基或氨基酰基。在某些实施方案中,R^{13}是烷基酰胺或取代的烷基酰胺。在某些实施方案中,R^{13}是磺酰

基。在某些实施方案中,R^{13}是硫代烷氧基或取代的硫代烷氧基。在某些实施方案中,R^{13}是芳基或取代的芳基,诸如C_{5-8}芳基或取代的C_{5-8}芳基,诸如C_5芳基或取代的C_5芳基,或C_6芳基或取代的C_6芳基。在某些实施方案中,R^{13}是杂芳基或取代的杂芳基,诸如C_{5-8}杂芳基或取代的C_{5-8}杂芳基,诸如C_5杂芳基或取代的C_5杂芳基,或C_6杂芳基或取代的C_6杂芳基。在某些实施方案中,R^{13}是环烷基或取代的环烷基,诸如C_{3-8}环烷基或取代的C_{3-8}环烷基,诸如C_{3-6}环烷基或取代的C_{3-6}环烷基,或C_{3-5}环烷基或取代的C_{3-5}环烷基。在某些实施方案中,R^{13}是杂环基或取代的杂环基,诸如C_{3-8}杂环基或取代的C_{3-8}杂环基,诸如C_{3-6}杂环基或取代的C_{3-6}杂环基,或C_{3-5}杂环基或取代的C_{3-5}杂环基。

[0424] 在某些实施方案中,R^{13}选自氢,烷基,取代的烷基,芳基,和取代的芳基。在这些实施方案中,烷基,取代的烷基,芳基,和取代的芳基如上文关于R^{13}描述的。

[0425] 关于连接官能团V^1,V^2,V^3和V^4,可以在第一接头L^1中利用任何便利的连接官能团。感兴趣连接官能团包括但不限于氨基,羰基,(酰)胺基,氧基羰基,羧基,磺酰基,亚砜,磺酰基氨基,氨基磺酰基,硫代,氧基,磷酸基,氨基磷酸酯,硫代氨基磷酸酯,等等。在一些实施方案中,V^1,V^2,V^3和V^4每个独立选自共价键,-CO-,$-NR^{15}-$,$-NR^{15}(CH_2)_q-$,$-NR^{15}(C_6H_4)-$,$-CONR^{15}-$,$-NR^{15}CO-$,-C(O)O-,-OC(O)-,-O-,-S-,-S(O)-,$-SO_2-$,$-SO_2NR^{15}-$,$-NR^{15}SO_2-$和-P(O)OH-,其中q是1至6的整数。在某些实施方案中,q是1至6的整数(例如1,2,3,4,5或6)。在某些实施方案中,q是1。在某些实施方案中,q是2。

[0426] 在一些实施方案中,每个R^{15}独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。

[0427] 每个R^{15}的各种可能性更为详细地描述如下。在某些实施方案中,R^{15}是氢。在某些实施方案中,每个R^{15}是氢。在某些实施方案中,R^{15}是烷基或取代的烷基,诸如C_{1-6}烷基或取代的C_{1-6}烷基,或C_{1-4}烷基或取代的C_{1-4}烷基,或C_{1-3}烷基或取代的C_{1-3}烷基。在某些实施方案中,R^{15}是烯基或取代的烯基,诸如C_{2-6}烯基或取代的C_{2-6}烯基,或C_{2-4}烯基或取代的C_{2-4}烯基,或C_{2-3}烯基或取代的C_{2-3}烯基。在某些实施方案中,R^{15}是炔基或取代的炔基。在某些实施方案中,R^{15}是烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中,R^{15}是氨基或取代的氨基。在某些实施方案中,R^{15}是羧基或羧基酯。在某些实施方案中,R^{15}是酰基或酰基氧基。在某些实施方案中,R^{15}是酰基氨基或氨基酰基。在某些实施方案中,R^{15}是烷基酰胺或取代的烷基酰胺。在某些实施方案中,R^{15}是磺酰基。在某些实施方案中,R^{15}是硫代烷氧基或取代的硫代烷氧基。在某些实施方案中,R^{15}是芳基或取代的芳基,诸如C_{5-8}芳基或取代的C_{5-8}芳基,诸如C_5芳基或取代的C_5芳基,或C_6芳基或取代的C_6芳基。在某些实施方案中,R^{15}是杂芳基或取代的杂芳基,诸如C_{5-8}杂芳基或取代的C_{5-8}杂芳基,诸如C_5杂芳基或取代的C_5杂芳基,或C_6杂芳基或取代的C_6杂芳基。在某些实施方案中,R^{15}是环烷基或取代的环烷基,诸如C_{3-8}环烷基或取代的C_{3-8}环烷基,诸如C_{3-6}环烷基或取代的C_{3-6}环烷基,或C_{3-5}环烷基或取代的C_{3-5}环烷基。在某些实施方案中,R^{15}是杂环基或取代的杂环基,诸如C_{3-8}杂环基或取代的C_{3-8}杂环基,诸如C_{3-6}杂环基或取代的C_{3-6}杂环基,或C_{3-5}杂环基或取代的C_{3-5}杂环基。

[0428] 在某些实施方案中,每个R^{15}独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔

基,取代的炔基,羧基,羧基酯,酰基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。在这些实施方案中,氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,羧基,羧基酯,酰基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基取代基如上文关于R^{15}描述的。

[0429] 在某些实施方案中,栓系基团包括乙缩醛基团,二硫化物,肼,或酯。在一些实施方案中,栓系基团包括乙缩醛基团。在一些实施方案中,栓系基团包括二硫化物。在一些实施方案中,栓系基团包括肼。在一些实施方案中,栓系基团包括酯。

[0430] 如上文描述的,在一些实施方案中,L^1是包含-$(T^1-V^1)_a$-$(T^2-V^2)_b$-$(T^3-V^3)_c$-$(T^4-V^4)_d$-的第一接头,其中a,b,c和d每个独立是0或1,其中a,b,c和d之和是1至4。

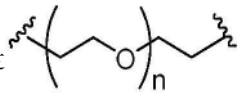
[0431] 在一些实施方案中,在第一接头L^1中:

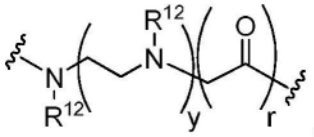
[0432] T^1选自(C_1-C_{12})烷基和取代的(C_1-C_{12})烷基;

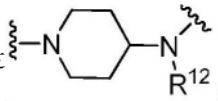
[0433] T^2,T^3和T^4每个独立选自(C_1-C_{12})烷基,取代的(C_1-C_{12})烷基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,$(EDA)_w$,$(PEG)_n$,$(AA)_p$,-$(CR^{13}OH)_h$-,4-氨基-哌啶(4AP),乙缩醛基团,二硫化物,肼,和酯;且

[0434] V^1,V^2,V^3和V^4每个独立选自共价键,-CO-,-NR^{15}-,-$NR^{15}(CH_2)_q$-,-$NR^{15}(C_6H_4)$-,-$CONR^{15}$-,-$NR^{15}CO$-,-C(O)O-,-OC(O)-,-O-,-S-,-S(O)-,-SO_2-,-SO_2NR^{15}-,-$NR^{15}SO_2$-和-P(O)OH-,其中q为1至6的整数;

[0435] 其中:

[0436] $(PEG)_n$是,其中n是1至30的整数;

[0437] EDA是具有如下结构的乙二胺模块:,其中y是1至6的整数且r是0或1;

[0438] 4-氨基-哌啶(4AP)是;AA是氨基酸残基,其中p是1至20的整数;

[0439] 每个R^{15}和R^{12}独立选自氢,烷基,取代的烷基,芳基和取代的芳基,其中任两个相邻的R^{12}基团可以环状连接以形成哌嗪基环;且

[0440] R^{13}选自氢,烷基,取代的烷基,芳基,和取代的芳基。

[0441] 在某些实施方案中,T^1,T^2,T^3和T^4和V^1,V^2,V^3和V^4选自下面:

[0442] T^1是(C_1-C_{12})烷基且V^1是-CO-;

[0443] T^2是4AP且V^2是共价键;

[0444] T^3是$(PEG)_n$且V^3是-CO-;且

[0445] T^4和V^4不存在。

[0446] 例如,T^1,T^2,T^3和T^4和V^1,V^2,V^3和V^4可以选自下面:

[0447] T^1是CH_2CH_2且V^1是-CO-;

[0448] T^2是4AP且V^2是共价键;

[0449] T^3是$(PEG)_2$且V^3是-CO-;且

[0450] T^4和V^4不存在。

[0451] 在某些实施方案中,T^1,T^2,T^3和T^4和V^1,V^2,V^3和V^4选自下面:

[0452] T^1是(C_1-C_{12})烷基且V^1是-CO-;

[0453] T^2是4AP且V^2是共价键;

[0454] T^3是$(PEG)_n$且V^3是-CONH-;且

[0455] T^4是芳基或取代的芳基且V^4是-CO-。

[0456] 例如,T^1,T^2,T^3和T^4和V^1,V^2,V^3和V^4可以选自下面:

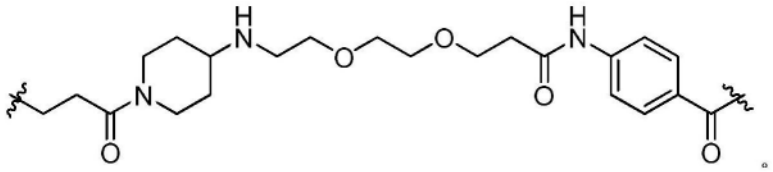
[0457] T^1是CH_2CH_2且V^1是-CO-;

[0458] T^2是4AP且V^2是共价键;

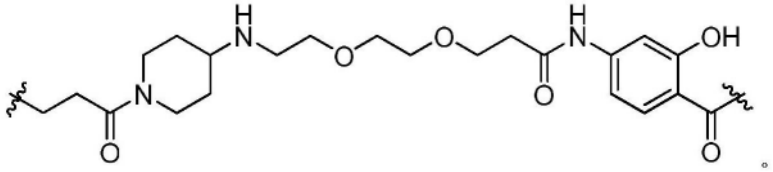
[0459] T^3是$(PEG)_2$且V^3是-CONH-;且

[0460] T^4是苯基或取代的苯基且V^4是-CO-。

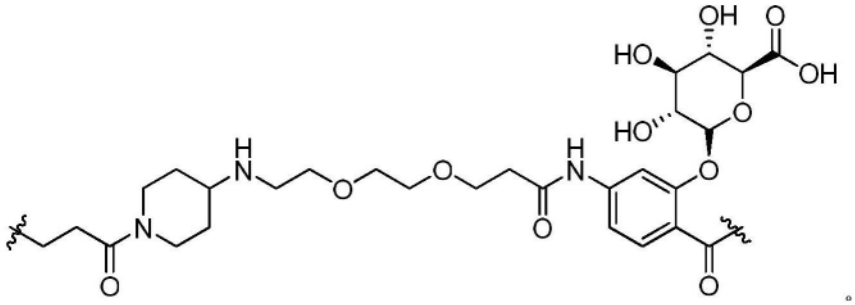
[0461] 在某些实施方案中,第一接头L^1通过下面的结构来描述:

[0462] 

[0463] 在某些实施方案中,第一接头L^1通过下面的结构来描述:

[0464] 

[0465] 在某些实施方案中,第一接头L^1通过下面的结构来描述:

[0466] 

[0467] 在某些实施方案中,上述接头结构的左手侧附着至肼基-吲哚基或肼基-吡咯并-吡啶基偶联模块,且上述接头结构的右手侧附着至第一可切割模块。例如,在第一可切割模块包括肽的情况中,上述接头结构的右手侧可以附着至包含第一可切割模块的肽的氨基酸。在一些情况中,上述接头结构的右手侧上的羰基基团可以与包含第一可切割模块的肽的氨基酸形成酰胺键。

[0468] 在一些实施方案中,L^2是通过式-$(L^{21})_e$-$(L^{22})_f$-$(L^{23})_g$-$(L^{24})_h$-来描述的第二接头,其中L^{21},L^{22},L^{23}和L^{24}每个独立是第二接头亚单元,且e,f,g和h每个独立是0或1,其中e,f,g和h之和是0至4。

[0469] 在某些实施方案中,e,f,g和h之和是0。在这些情况中,第二接头L^2不存在。换言之,当e,f,g和h之和是0时,第二接头L^2是共价键。在某些实施方案中,e,f,g和h之和是1。在

某些实施方案中,e,f,g和h之和是2。在某些实施方案中,e,f,g和h之和是3。在某些实施方案中,e,f,g和h之和是4。在某些实施方案中,e,f,g和h每个是1。在某些实施方案中,e,f和g每个是1且h是0。在某些实施方案中,e和f每个是1且g和h每个是0。在某些实施方案中,e是1且f,g和h每个是0。

[0470] 在某些实施方案中,L^{21}附着至药物(例如如上文式(I)中显示的W^1)。在某些实施方案中,L^{22},若存在的话,附着至药物。在某些实施方案中,L^{23},若存在的话,附着至药物。在某些实施方案中,L^{24},若存在的话,附着至药物。

[0471] 可以在第二接头L^2中利用任何便利的接头亚单元。感兴趣接头亚单元包括但不限于聚合物,诸如聚乙二醇,聚乙烯和聚丙烯酸酯,氨基酸残基,基于碳水化合物的聚合物或碳水化合物残基及其衍生物,多核苷酸,烷基基团,芳基基团,杂环基基团,其组合,和其取代型式的单元。在一些实施方案中,L^{21},L^{22},L^{23}和L^{24}(若存在的话)中每个包含一个或多个独立选自聚乙二醇,经修饰的聚乙二醇,氨基酸残基,烷基基团,取代的烷基,芳基基团,取代的芳基基团,和二胺(例如包括烷撑二胺的连接基团)的基团。

[0472] 在一些实施方案中,L^{21}(若存在的话)包含聚乙二醇,经修饰的聚乙二醇,氨基酸残基,烷基基团,取代的烷基,芳基基团,取代的芳基基团,或二胺。在一些实施方案中,L^{21}包含聚乙二醇。在一些实施方案中,L^{21}包含经修饰的聚乙二醇。在一些实施方案中,L^{21}包含氨基酸残基。在一些实施方案中,L^{21}包含烷基基团或取代的烷基。在一些实施方案中,L^{21}包含芳基基团或取代的芳基基团。在一些实施方案中,L^{21}包含二胺(例如包含烷撑二胺的连接基团)。

[0473] 在一些实施方案中,L^{22}(若存在的话)包含聚乙二醇,经修饰的聚乙二醇,氨基酸残基,烷基基团,取代的烷基,芳基基团,取代的芳基基团,或二胺。在一些实施方案中,L^{22}包含聚乙二醇。在一些实施方案中,L^{22}包含经修饰的聚乙二醇。在一些实施方案中,L^{22}包含氨基酸残基。在一些实施方案中,L^{22}包含烷基基团或取代的烷基。在一些实施方案中,L^{22}包含芳基基团或取代的芳基基团。在一些实施方案中,L^{22}包含二胺(例如包含烷撑二胺的连接基团)。

[0474] 在一些实施方案中,L^{23}(若存在的话)包含聚乙二醇,经修饰的聚乙二醇,氨基酸残基,烷基基团,取代的烷基,芳基基团,取代的芳基基团,或二胺。在一些实施方案中,L^{23}包含聚乙二醇。在一些实施方案中,L^{23}包含经修饰的聚乙二醇。在一些实施方案中,L^{23}包含氨基酸残基。在一些实施方案中,L^{23}包含烷基基团或取代的烷基。在一些实施方案中,L^{23}包含芳基基团或取代的芳基基团。在一些实施方案中,L^{23}包含二胺(例如包含烷撑二胺的连接基团)。

[0475] 在一些实施方案中,L^{24}(若存在的话)包含聚乙二醇,经修饰的聚乙二醇,氨基酸残基,烷基基团,取代的烷基,芳基基团,取代的芳基基团,或二胺。在一些实施方案中,L^{24}包含聚乙二醇。在一些实施方案中,L^{24}包含经修饰的聚乙二醇。在一些实施方案中,L^{24}包含氨基酸残基。在一些实施方案中,L^{24}包含烷基基团或取代的烷基。在一些实施方案中,L^{24}包含芳基基团或取代的芳基基团。在一些实施方案中,L^{24}包含二胺(例如包含烷撑二胺的连接基团)。

[0476] 在一些实施方案中,L^2是包含-$(L^{21})_e$-$(L^{22})_f$-$(L^{23})_g$-$(L^{24})_h$-的第二接头,其中:

[0477] -$(L^{21})_e$-是-$(T^5$-$V^5)_e$-;

[0478] -$(L^{22})_f$-是-$(T^6-V^6)_f$-；

[0479] -$(L^{23})_g$-是-$(T^7-V^7)_g$-；且

[0480] -$(L^{24})_h$-是-$(T^8-V^8)_h$-，

[0481] 其中T^5，T^6，T^7和T^8，若存在的话，是拴系基团；

[0482] V^5，V^6，V^7和V^8，若存在的话，是共价键或连接官能团；且

[0483] e，f，g和h每个独立是0或1，其中e，f，g和h之和是0至4。

[0484] 在某些实施方案中，L^{21}附着至第一可切割模块。照此，在某些实施方案中，T^5附着至第一可切割模块。在某些实施方案中，V^5附着至药物(例如如上文式(I)中显示的W^1)。在某些实施方案中，L^{22}，若存在的话，附着至药物。照此，在某些实施方案中，T^6，若存在的话，附着至药物，或V^6，若存在的话，附着至药物。在某些实施方案中，L^{23}，若存在的话，附着至药物。照此，在某些实施方案中，T^7，若存在的话，附着至药物，或V^7，若存在的话，附着至药物。在某些实施方案中，L^{24}，若存在的话，附着至药物。照此，在某些实施方案中，T^8，若存在的话，附着至药物，或V^8，若存在的话，附着至药物。

[0485] 关于拴系基团T^5，T^6，T^7和T^8，可以在主题接头中利用任何便利的拴系基团。在一些实施方案中，T^5，T^6，T^7和T^8每个包含一个或多个独立选自(C_1-C_{12})烷基，取代的(C_1-C_{12})烷基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，和取代的杂环基，$(EDA)_w$，$(PEG)_n$，$(AA)_p$，-$(CR^{13}OH)_h$-，4-氨基-哌啶(4AP)，乙缩醛基团，二硫化物，肼，和酯的基团，其中w是1至20的整数，n是1至30的整数，p是1至20的整数，而h是1至12的整数。

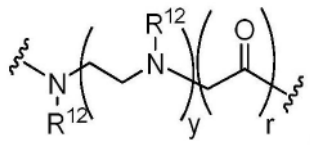
[0486] 在某些实施方案中，拴系基团(例如T^5，T^6，T^7和/或T^8)包括(C_1-C_{12})烷基或取代的(C_1-C_{12})烷基。在某些实施方案中，(C_1-C_{12})烷基是直链或支链烷基基团，其包括1至12个碳原子，诸如1至10个碳原子，或1至8个碳原子，或1至6个碳原子，或1至5个碳原子，或1至4个碳原子，或1至3个碳原子。在一些情况中，(C_1-C_{12})烷基可以是烷基或取代的烷基，诸如C_1-C_{12}烷基，或C_1-C_{10}烷基，或C_1-C_6烷基，或C_1-C_3烷基。在一些情况中，(C_1-C_{12})烷基是C_2烷基。例如，(C_1-C_{12})烷基可以是亚烷基或取代的亚烷基，诸如C_1-C_{12}亚烷基，或C_1-C_{10}亚烷基，或C_1-C_6亚烷基，或C_1-C_3亚烷基。在一些情况中，(C_1-C_{12})烷基是C_2亚烷基(例如CH_2CH_2)。在一些情况中，(C_1-C_{12})烷基是C_1亚烷基(例如CH_2)。

[0487] 在某些实施方案中，取代的(C_1-C_{12})烷基是取代的直链或支链烷基基团，其包括1至12个碳原子，诸如1至10个碳原子，或1至8个碳原子，或1至6个碳原子，或1至5个碳原子，或1至4个碳原子，或1至3个碳原子。在一些情况中，取代的(C_1-C_{12})烷基可以是取代的烷基，诸如取代的C_1-C_{12}烷基，或取代的C_1-C_{10}烷基，或取代的C_1-C_6烷基，或取代的C_1-C_3烷基。在一些情况中，取代的(C_1-C_{12})烷基是取代的C_2烷基。例如，取代的(C_1-C_{12})烷基可以是取代的亚烷基，诸如取代的C_1-C_{12}亚烷基，或取代的C_1-C_{10}亚烷基，或取代的C_1-C_6亚烷基，或取代的C_1-C_3亚烷基。在一些情况中，取代的(C_1-C_{12})烷基是取代的C_2亚烷基。在一些情况中，取代的(C_1-C_{12})烷基是取代的C_1亚烷基。

[0488] 在某些实施方案中，拴系基团(例如T^5，T^6，T^7和/或T^8)包括芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，或取代的杂环基。在一些情况中，拴系基团包括芳基或取代的芳基。例如，芳基可以是苯基或取代的苯基。在一些情况中，拴系基团(例如T^5，T^6，T^7和/或T^8)包括杂芳基或取代的杂芳基。在一些情况中，拴系基团(例如T^5，T^6，T^7和/或T^8)包括环烷基或取代的环烷基。在一些情况中，拴系基团(例如T^5，T^6，T^7和/或T^8)包

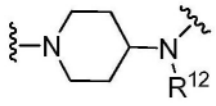
括杂环基或取代的杂环基。

[0489] 在某些实施方案中,拴系基团(例如T^5,T^6,T^7和/或T^8)包括乙二胺(EDA)模块,例如如上文描述的EDA模块,诸如通过下面的结构来描述的EDA模块:

[0490] 

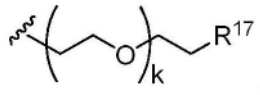
[0491] 其中y是1至6的整数,r是0或1,且每个R^{12}独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。在某些实施方案中,y是1,2,3,4,5或6。在某些实施方案中,y是1且r是0。在某些实施方案中,y是1且r是1。在某些实施方案中,y是2且r是0。在某些实施方案中,y是2且r是1。在某些实施方案中,每个R^{12}独立选自氢,烷基,取代的烷基,芳基和取代的芳基。在某些实施方案中,EDA的任两个相邻的R^{12}基团可以环状连接,例如形成哌嗪基环。在某些实施方案中,y是1且两个相邻的R^{12}基团是烷基基团,环状连接以形成哌嗪基环。在某些实施方案中,y是1且相邻的R^{12}基团选自氢,烷基(例如甲基)和取代的烷基(例如低级烷基-OH,诸如乙基-OH或丙基-OH)。

[0492] 在某些实施方案中,拴系基团(例如T^5,T^6,T^7和/或T^8)包括如上文描述的4-氨基-哌啶(4AP)模块,诸如通过下面的结构来描述的4AP模块:

[0493] 

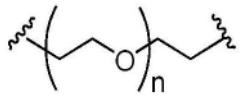
[0494] 其中R^{12}选自氢,烷基,取代的烷基,聚乙二醇模块(例如聚乙二醇或经修饰的聚乙二醇),烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。在某些实施方案中,R^{12}是聚乙二醇模块。在某些实施方案中,R^{12}是羧基修饰的聚乙二醇。

[0495] 在某些实施方案中,R^{12}包括通过式$(PEG)_k$来描述的聚乙二醇模块,其可以通过下面的结构来表示:

[0496] 

[0497] 其中k是1至20,诸如1至18,或1至16,或1至14,或1至12,或1至10,或1至8,或1至6,或1至4,或1至2的整数,诸如1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19或20。在一些情况中,k是2。在某些实施方案中,R^{17}选自OH,COOH,或COOR,其中R选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。在某些实施方案中,R^{17}是COOH。

[0498] 在某些实施方案中,拴系基团(例如T^5,T^6,T^7和/或T^8)包括如上文描述的聚乙二醇模块$(PEG)_n$,诸如通过下面的结构来描述的$(PEG)_n$模块:

[0499] 

[0500] 其中n是1至50,诸如1至40,1至30,1至20,1至12或1至6的整数,诸如1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19或20。在一些情况中,n是2。在一些情况中,n是3。在一些情况中,n是6。在一些情况中,n是12。

[0501] 在某些实施方案中,拴系基团(例如T^5,T^6,T^7和/或T^8)包括$(AA)_p$,其中AA是氨基酸残基。可以利用任何便利的氨基酸。感兴趣氨基酸包括但不限于L-和D-氨基酸,天然发生氨基酸,诸如20种主要α-氨基酸和β-丙氨酸任一,非天然发生氨基酸(例如氨基酸类似物),诸如非天然发生α-氨基酸或非天然发生β-氨基酸,等。在某些实施方案中,p是1至50,诸如1至40,1至30,1至20,1至12或1至6的整数,诸如1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19或20。在某些实施方案中,p是1。在某些实施方案中,p是2。

[0502] 在某些实施方案中,拴系基团(例如T^5,T^6,T^7和/或T^8)包括通过式-$(CR^{13}OH)_h$-来描述的模块,其中h是0或n是1至50,诸如1至40,1至30,1至20,1至12或1至6的整数,诸如1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11或12。在某些实施方案中,h是1。在某些实施方案中,h是2。在某些实施方案中,R^{13}选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。在某些实施方案中,R^{13}是氢。在某些实施方案中,R^{13}是烷基或取代的烷基,诸如C_{1-6}烷基或取代的C_{1-6}烷基,或C_{1-4}烷基或取代的C_{1-4}烷基,或C_{1-3}烷基或取代的C_{1-3}烷基。在某些实施方案中,R^{13}是烯基或取代的烯基,诸如C_{2-6}烯基或取代的C_{2-6}烯基,或C_{2-4}烯基或取代的C_{2-4}烯基,或C_{2-3}烯基或取代的C_{2-3}烯基。在某些实施方案中,R^{13}是炔基或取代的炔基。在某些实施方案中,R^{13}是烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中,R^{13}是氨基或取代的氨基。在某些实施方案中,R^{13}是羧基或羧基酯。在某些实施方案中,R^{13}是酰基或酰基氧基。在某些实施方案中,R^{13}是酰基氨基或氨基酰基。在某些实施方案中,R^{13}是烷基酰胺或取代的烷基酰胺。在某些实施方案中,R^{13}是磺酰基。在某些实施方案中,R^{13}是硫代烷氧基或取代的硫代烷氧基。在某些实施方案中,R^{13}是芳基或取代的芳基,诸如C_{5-8}芳基或取代的C_{5-8}芳基,诸如C_5芳基或取代的C_5芳基,或C_6芳基或取代的C_6芳基。在某些实施方案中,R^{13}是杂芳基或取代的杂芳基,诸如C_{5-8}杂芳基或取代的C_{5-8}杂芳基,诸如C_5杂芳基或取代的C_5杂芳基,或C_6杂芳基或取代的C_6杂芳基。在某些实施方案中,R^{13}是环烷基或取代的环烷基,诸如C_{3-8}环烷基或取代的C_{3-8}环烷基,诸如C_{3-6}环烷基或取代的C_{3-6}环烷基,或C_{3-5}环烷基或取代的C_{3-5}环烷基。在某些实施方案中,R^{13}是杂环基或取代的杂环基,诸如C_{3-8}杂环基或取代的C_{3-8}杂环基,诸如C_{3-6}杂环基或取代的C_{3-6}杂环基,或C_{3-5}杂环基或取代的C_{3-5}杂环基。

[0503] 在某些实施方案中,R^{13}选自氢,烷基,取代的烷基,芳基,和取代的芳基。在这些实施方案中,烷基,取代的烷基,芳基,和取代的芳基如上文关于R^{13}描述的。

[0504] 关于连接官能团V^5,V^6,V^7和V^8,可以在第二接头L^2中利用任何便利的连接官能团。感兴趣连接官能团包括但不限于氨基,羰基,(酰)胺基,氧基羰基,羧基,磺酰基,亚砜,磺酰基氨基,氨基磺酰基,硫代,氧基,磷酸基,氨基磷酸酯,硫代氨基磷酸酯,等等。在一些实施

方案中，V^5，

[0505] V^6，V^7和V^8每个独立选自共价键，-CO-，$-NR^{15}-$，$-NR^{15}(CH_2)_q-$，$-NR^{15}(C_6H_4)-$，$-CONR^{15}-$，$-NR^{15}CO-$，-C(O)O-，-OC(O)-，-O-，-S-，-S(O)-，$-SO_2-$，$-SO_2NR^{15}-$，$-NR^{15}SO_2-$和-P(O)OH-，其中q是1至6的整数。在某些实施方案中，q是1至6的整数(例如1，2，3，4，5或6)。在某些实施方案中，q是1。在某些实施方案中，q是2。

[0506] 在一些实施方案中，每个R^{15}独立选自氢，烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，烷氧基，取代的烷氧基，氨基，取代的氨基，羧基，羧基酯，酰基，酰基氧基，酰基氨基，氨基酰基，烷基酰胺，取代的烷基酰胺，磺酰基，硫代烷氧基，取代的硫代烷氧基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，和取代的杂环基。

[0507] 每个R^{15}的各种可能性更为详细地描述如下。在某些实施方案中，R^{15}是氢。在某些实施方案中，每个R^{15}是氢。在某些实施方案中，R^{15}是烷基或取代的烷基，诸如C_{1-6}烷基或取代的C_{1-6}烷基，或C_{1-4}烷基或取代的C_{1-4}烷基，或C_{1-3}烷基或取代的C_{1-3}烷基。在某些实施方案中，R^{15}是烯基或取代的烯基，诸如C_{2-6}烯基或取代的C_{2-6}烯基，或C_{2-4}烯基或取代的C_{2-4}烯基，或C_{2-3}烯基或取代的C_{2-3}烯基。在某些实施方案中，R^{15}是炔基或取代的炔基。在某些实施方案中，R^{15}是烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中，R^{15}是氨基或取代的氨基。在某些实施方案中，R^{15}是羧基或羧基酯。在某些实施方案中，R^{15}是酰基或酰基氧基。在某些实施方案中，R^{15}是酰基氨基或氨基酰基。在某些实施方案中，R^{15}是烷基酰胺或取代的烷基酰胺。在某些实施方案中，R^{15}是磺酰基。在某些实施方案中，R^{15}是硫代烷氧基或取代的硫代烷氧基。在某些实施方案中，R^{15}是芳基或取代的芳基，诸如C_{5-8}芳基或取代的C_{5-8}芳基，诸如C_5芳基或取代的C_5芳基，或C_6芳基或取代的C_6芳基。在某些实施方案中，R^{15}是杂芳基或取代的杂芳基，诸如C_{5-8}杂芳基或取代的C_{5-8}杂芳基，诸如C_5杂芳基或取代的C_5杂芳基，或C_6杂芳基或取代的C_6杂芳基。在某些实施方案中，R^{15}是环烷基或取代的环烷基，诸如C_{3-8}环烷基或取代的C_{3-8}环烷基，诸如C_{3-6}环烷基或取代的C_{3-6}环烷基，或C_{3-5}环烷基或取代的C_{3-5}环烷基。在某些实施方案中，R^{15}是杂环基或取代的杂环基，诸如C_{3-8}杂环基或取代的C_{3-8}杂环基，诸如C_{3-6}杂环基或取代的C_{3-6}杂环基，或C_{3-5}杂环基或取代的C_{3-5}杂环基。

[0508] 在某些实施方案中，每个R^{15}独立选自氢，烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，羧基，羧基酯，酰基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，和取代的杂环基。在这些实施方案中，氢，烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，羧基，羧基酯，酰基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，和取代的杂环基取代基如上文关于R^{15}描述的。

[0509] 在某些实施方案中，拴系基团包括乙缩醛基团，二硫化物，肼，或酯。在一些实施方案中，拴系基团包括乙缩醛基团。在一些实施方案中，拴系基团包括二硫化物。在一些实施方案中，拴系基团包括肼。在一些实施方案中，拴系基团包括酯。

[0510] 如上文描述的，在一些实施方案中，L^2是包含$-(T^5-V^5)_e-(T^6-V^6)_f-(T^7-V^7)_g-(T^8-V^8)_h-$的第二接头，其中e，f，g和h每个独立是0或1，其中e，f，g和h之和是0至4。

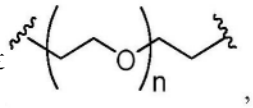
[0511] 在一些实施方案中，在第二接头L^2中：

[0512] T^5，T^6，T^7和T^8每个独立选自(C_1-C_{12})烷基，取代的(C_1-C_{12})烷基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，或取代的杂环基，$(EDA)_w$，$(PEG)_n$，

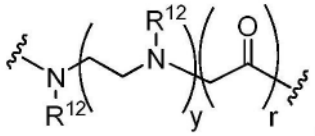
$(AA)_p$,-$(CR^{13}OH)_h$-,4-氨基-哌啶(4AP),缩醛基团,二硫化物,肼,和酯;且

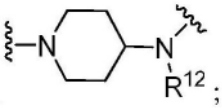
[0513] V^5,V^6,V^7和V^8每个独立选自共价键,-CO-,-NR^{15}-,-$NR^{15}(CH_2)_q$-,-$NR^{15}(C_6H_4)$-,-$CONR^{15}$-,-$NR^{15}CO$-,-C(O)O-,-OC(O)-,-O-,-S-,-S(O)-,-SO_2-,-SO_2NR^{15}-,-$NR^{15}SO_2$-和-P(O)OH-,其中q是1至6的整数;

[0514] 其中:

[0515] $(PEG)_n$是其中n是1至30的整数;

[0516] EDA是具有下面的结构的乙二胺模块:

[0517] 其中y是1至6的整数且r是0或1;

[0518] 4-氨基-哌啶(4AP)是;

[0519] AA是氨基酸残基,其中p是1至20的整数;

[0520] 每个R^{13}独立选自氢,烷基,取代的烷基,芳基,和取代的芳基;且

[0521] 每个R^{15}独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,羧基,羧基酯,酰基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。

[0522] 在某些实施方案中,T^5,T^6,T^7和T^8和V^5,V^6,V^7和V^8选自下面:

[0523] T^5是共价键且V^5是-OC(O)-;

[0524] T^6和V^6不存在;

[0525] T^7和V^7不存在;且

[0526] T^8和V^8不存在。

[0527] 在某些实施方案中,T^5,T^6,T^7和T^8和V^5,V^6,V^7和V^8不存在(即,e,f,g,和h之和是0)。

[0528] 在某些实施方案中,上述接头结构的左手侧附着至第一可切割模块,且上述接头结构的右手侧附着至药物。

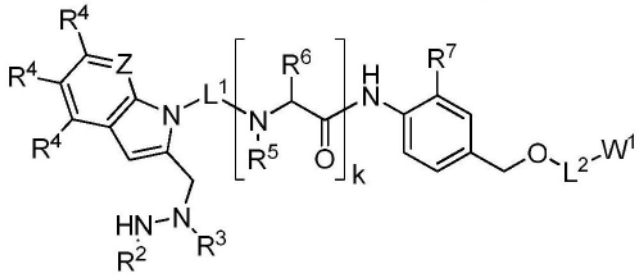
[0529] 上文结构中列出的任何化学实体,接头和偶联模块可以适应在主题化合物和缀合物中使用。

[0530] 涉及用于生成缀合物的肼基-吲哚基和肼基-吡咯并-吡啶基化合物和方法的别的公开内容见美国专利No.9,310,374和美国专利No.9,493,413,其每一篇的公开内容通过援引收入本文。

[0531] 对于生成缀合物有用的化合物

[0532] 本公开内容提供对于生成本文中描述的缀合物有用的肼基-吲哚基和肼基-吡咯并-吡啶基化合物。在某些实施方案中,肼基-吲哚基或肼基-吡咯并-吡啶基化合物可以是对于抗体和药物的缀合有用的偶联模块。例如,肼基-吲哚基或肼基-吡咯并-吡啶基化合物可以结合至抗体且还结合至药物,如此间接结合抗体和药物到一起。

[0533] 在某些实施方案中,化合物是式(II)的化合物:

[0534] 

(II),

[0535] 其中

[0536] Z是CR^4或N;

[0537] R^2和R^3每个独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,或R^2和R^3任选环状连接以形成5或6元杂环基;

[0538] 每个R^4独立选自氢,卤素,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

[0539] 每个R^5独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

[0540] 每个R^6独立选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

[0541] k是1至10的整数;

[0542] R^7选自氢,卤素,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

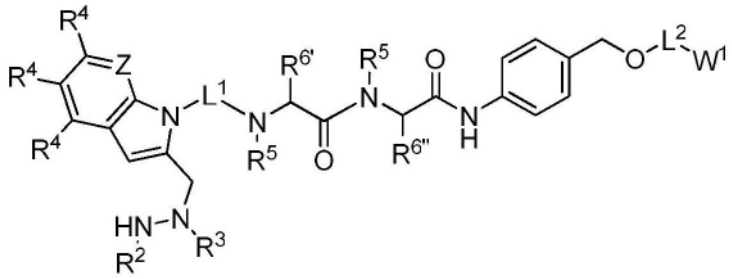
[0543] L^1是第一接头;

[0544] L^2是第二接头;且

[0545] W^1是药物,

[0546] 其中L^1,R^6或R^7之一包含第二可切割模块。

[0547] 在一些情况中,k是2,且化合物是式(IIa)的化合物:

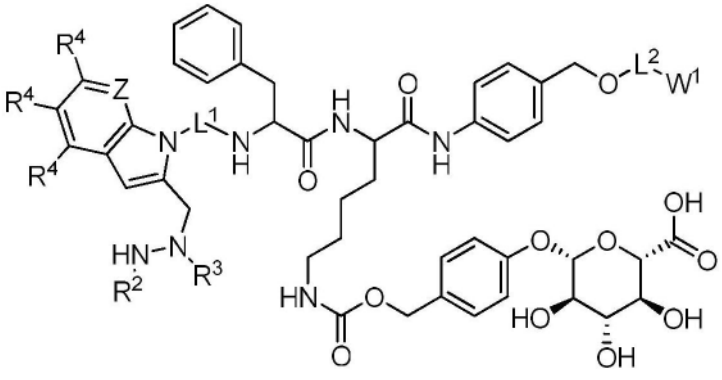
[0548] 

(IIa),

[0549] 其中

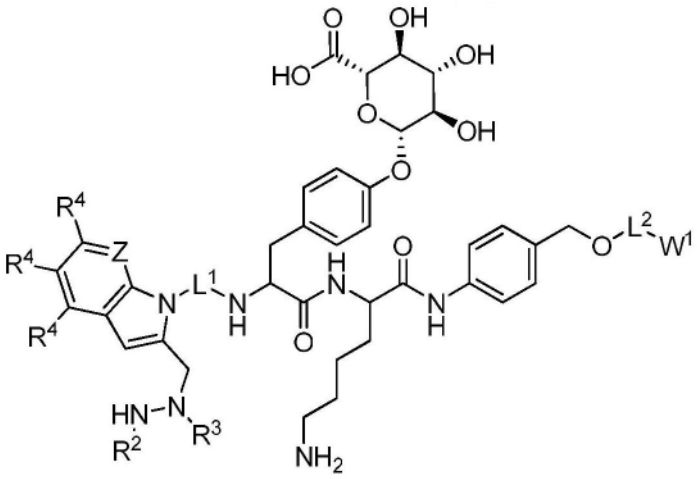
[0550] $R^{6'}$或$R^{6''}$之一包含第二可切割模块,且$R^{6'}$和$R^{6''}$之另一选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。

[0551] 例如,化合物可以是式(IIb)的化合物:

[0552] 

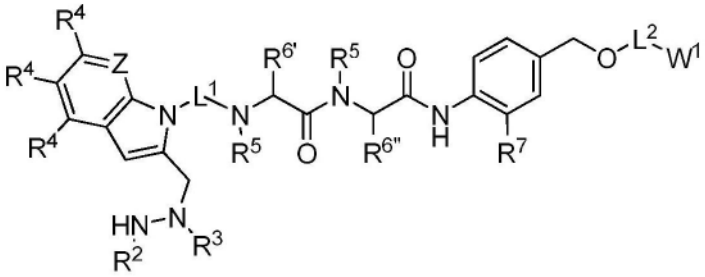
(IIb)。

[0553] 在一些情况中,化合物可以是式(IIc)的化合物:

[0554] 

(IIc)。

[0555] 在某些实施方案中,k是2,且化合物是式(IId)的化合物:

[0556] 

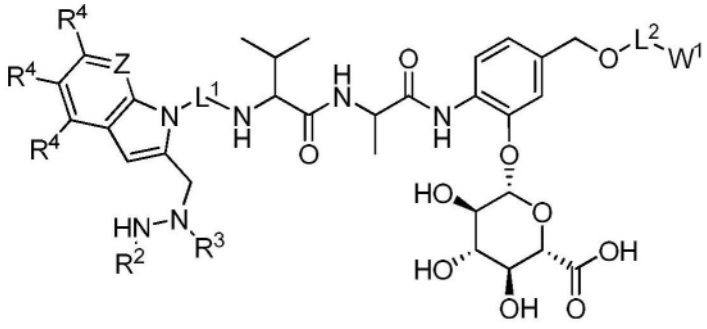
(IId),

[0557] 其中

[0558] $R^{6'}$和$R^{6''}$独立选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;且

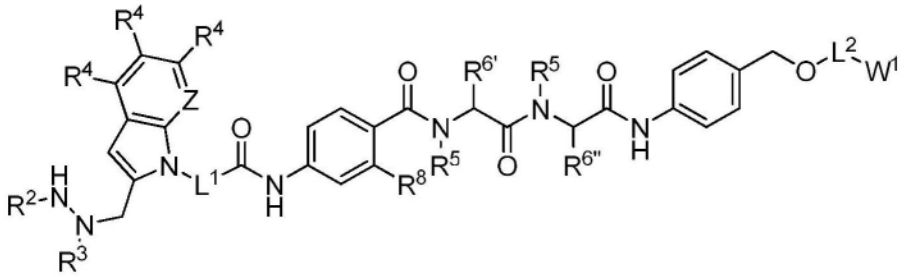
[0559] R^7包含第二可切割模块。

[0560] 例如,化合物可以是式(IIe)的化合物:

[0561] 

(IIe)。

[0562] 在某些实施方案中,k是2,且化合物是式(IIf)的化合物:

[0563] 

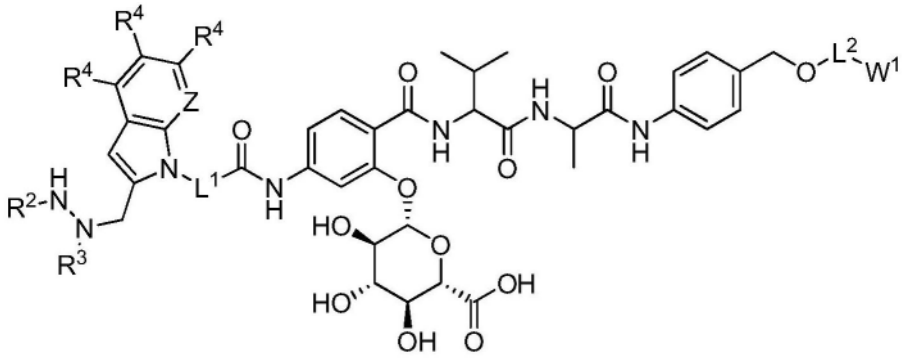
(IIf),

[0564] 其中

[0565] $R^{6'}$和$R^{6''}$独立选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;且

[0566] R^8包含第二可切割模块。

[0567] 例如,化合物可以是式(IIg)的化合物:

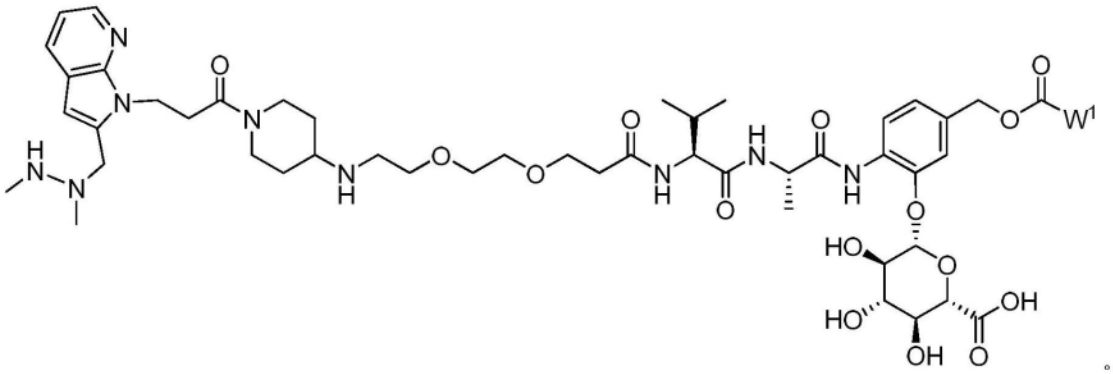
[0568] 

(IIg)。

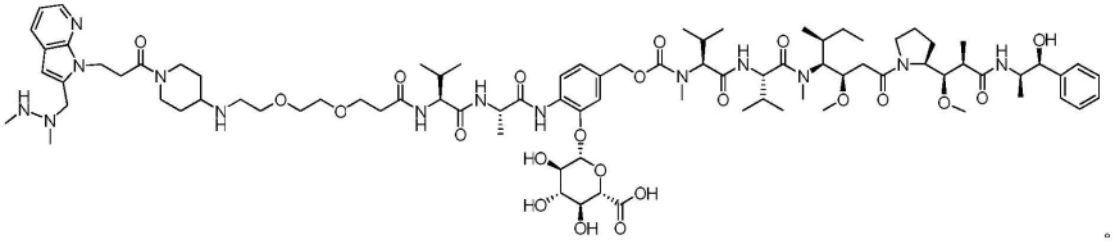
[0569] 本文中描述了涉及式(II)的缀合物的取代基。提及式(II)意图还涵盖式(IIa),(IIb),(IIc),(IId),(IIe),(IIf)和(IIg)。

[0570] 关于式(II)的化合物,取代基Z,R^2,R^3,R^4,R^5,L^1,L^2,和W^1如上文涉及式(I)的缀合物描述的。类似地,关于式(II)的第一接头L^1和第二接头L^2,T^1,T^2,T^3,T^4,V^1,V^2,V^3,和V^4,和T^5,T^6,T^7,T^8,V^5,V^6,V^7和V^8取代基如上文涉及式(I)的缀合物描述的。

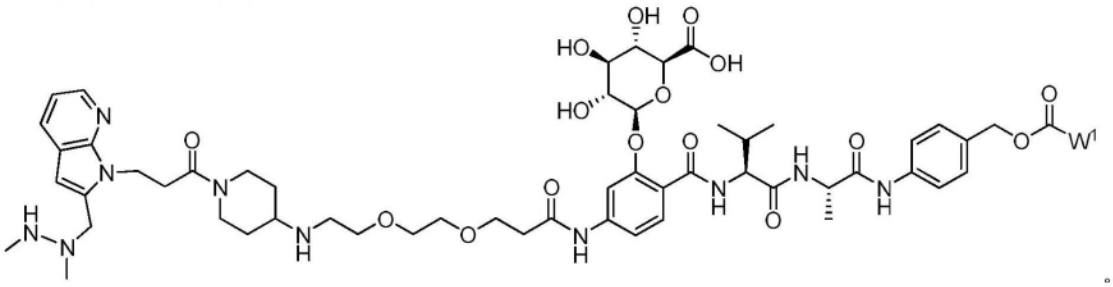
[0571] 在某些实施方案中,化合物是下面的结构的:

[0572] 

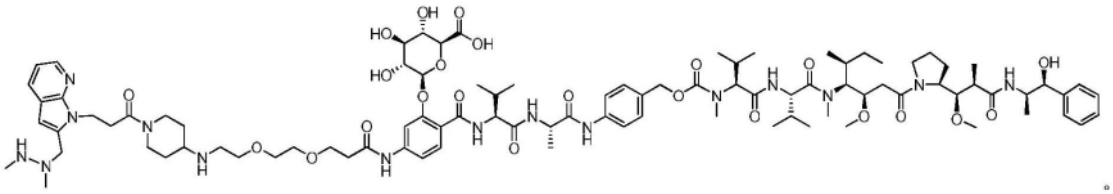
[0573] 例如,化合物可以具有下面的结构:

[0574] 

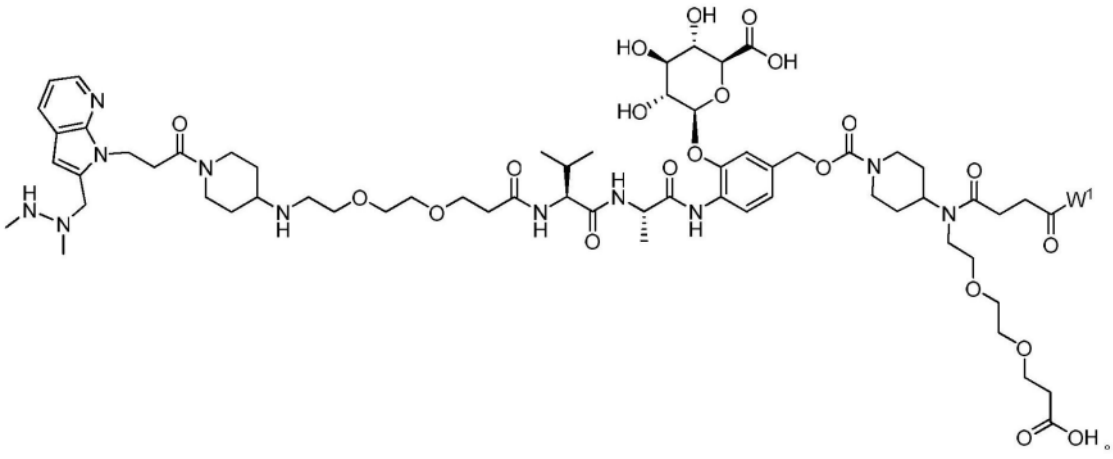
[0575] 在某些实施方案中,化合物是下面的结构的:

[0576] 

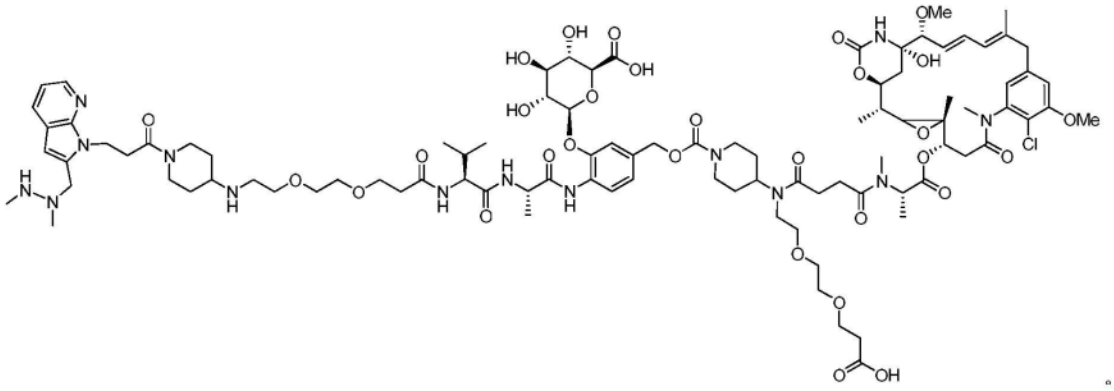
[0577] 例如,化合物可以具有下面的结构:

[0578] 

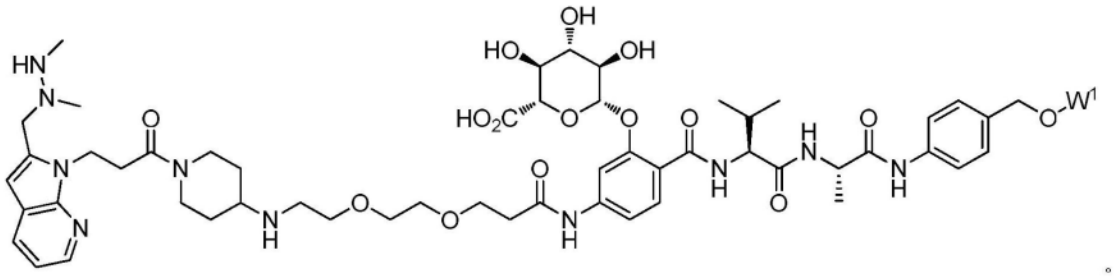
[0579] 在某些实施方案中,化合物是下面的结构的:

[0580] 

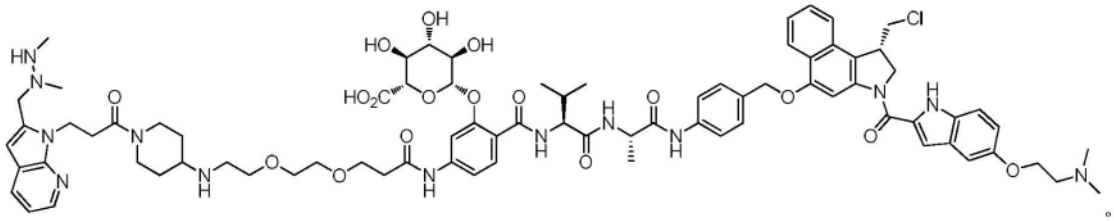
[0581] 例如,化合物可以具有下面的结构:

[0582] 

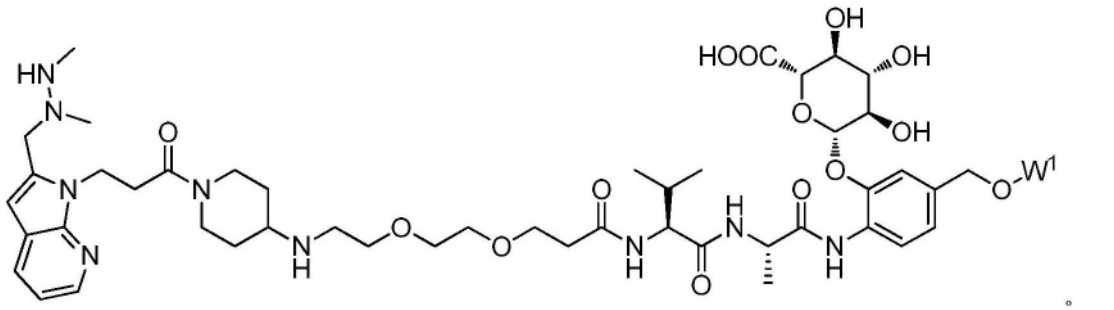
[0583] 在某些实施方案中,化合物是下面的结构:

[0584] 

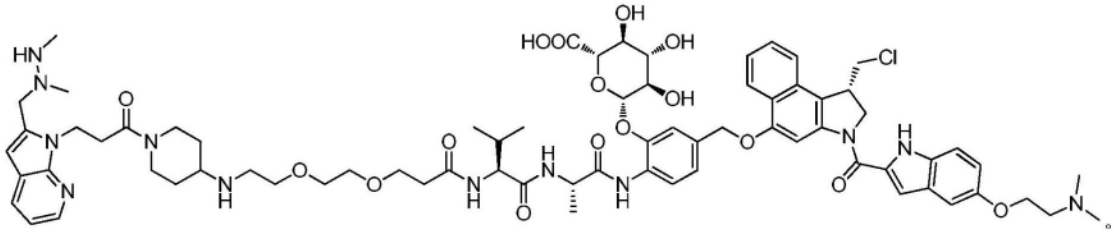
[0585] 例如,化合物可以具有下面的结构:

[0586] 

[0587] 在某些实施方案中,化合物是下面的结构:

[0588] 

[0589] 例如,化合物可以具有下面的结构:

[0590] 

[0591] 抗体

[0592] 如上文描述的,主题缀合物可包含抗体作为取代基W^2,其中抗体经过修饰以包括2-甲酰甘氨酸(FGly)残基。如本文中使用的,氨基酸可以通过它们的标准名称,它们的标准

三字母缩写和/或它们的标准单字母缩写来提到,诸如:丙氨酸或Ala或A;半胱氨酸或Cys或C;天冬氨酸或Asp或D;谷氨酸或Glu或E;苯丙氨酸或Phe或F;甘氨酸或Gly或G;组氨酸或His或H;异亮氨酸或Ile或I;赖氨酸或Lys或K;亮氨酸或Leu或L;甲硫氨酸或Met或M;天冬酰胺或Asn或N;脯氨酸或Pro或P;谷氨酰胺或Gln或Q;精氨酸或Arg或R;丝氨酸或Ser或S;苏氨酸或Thr或T;缬氨酸或Val或V;色氨酸或Trp或W;和酪氨酸或Tyr或Y。

[0593] 在某些实施方案中,抗体的氨基酸序列经过修饰以包括硫酸酯酶基序,其含有丝氨酸或半胱氨酸残基,能够在体内(例如在细胞中翻译含有醛标签的蛋白质时)或在体外(例如通过在无细胞系统中使含有醛标签的蛋白质接触FGE)通过甲酰甘氨酸生成酶(FGE)的作用而转化(氧化)成2-甲酰甘氨酸(FGly)残基。此类硫酸酯酶基序在本文中也可以称作FGE修饰位点。

[0594] 硫酸酯酶基序

[0595] 醛标签的最小限度硫酸酯酶基序通常长度为5或6个氨基酸残基,通常长度不超过6个氨基酸残基。Ig多肽中提供的硫酸酯酶基序长度为至少5或6个氨基酸残基,而且可以是例如5-16,6-16,5-15,6-15,5-14,6-14,5-13,6-13,5-12,6-12,5-11,6-11,5-10,6-10,5-9,6-9,5-8,或6-8个氨基酸残基,从而限定长度小于16,15,14,13,12,11,10,9,8,7或6个氨基酸残基的硫酸酯酶基序。

[0596] 在某些实施方案中,感兴趣多肽包括那些其中相对于天然氨基酸序列已经插入,删除,替代(替换)一个或多个氨基酸残基,诸如2个或更多,或3个或更多,或4个或更多,或5个或更多,或6个或更多,或7个或更多,或8个或更多,或9个或更多,或10个或更多,或11个或更多,或12个或更多,或13个或更多,或14个或更多,或15个或更多,或16个或更多,或17个或更多,或18个或更多,或19个或更多,或20个或更多氨基酸残基以在多肽中提供硫酸酯酶基序的序列。在某些实施方案中,多肽相对于多肽的天然氨基酸序列包括氨基酸序列的小于20,19,18,17,16,15,14,13,12,11,10,9,8,7,6,5,4,3或2个氨基酸残基的修饰(插入,添加,删除,和/或替代/替换)。在多肽(例如抗体)的天然氨基酸序列含有期望的硫酸酯酶基序的一个或多个残基的情况中,残基修饰的总数可以减少,例如通过天然氨基酸残基侧翼的氨基酸残基的位点规定修饰(插入,添加,删除,替代/替换)来提供期望的硫酸酯酶基序的序列。在某些实施方案中,将靶抗体的天然氨基酸序列的修饰程度降至最低,以使插入,删除,替代(替换),或添加(例如至N或C端)的氨基酸残基的数目降至最低。将靶抗体的氨基酸序列修饰程度降至最低可以将此类修饰可能对抗体功能和/或结构具有的影响降至最低。

[0597] 应当指出,虽然特别感兴趣醛标签是那些包含至少最小限度硫酸酯酶基序(也称作“共有硫酸酯酶基序”)的,但是会容易领会本公开内容涉及且涵盖更长的醛标签,它们可用于本公开内容的组合物和方法。醛标签可以如此包含5或6个残基的最小限度硫酸酯酶基序,或者可以更长,包含最小限度硫酸酯酶基序且基序的N和/或C端侧可以侧翼有另外的氨基酸残基。例如,涵盖5或6个氨基酸残基的醛标签,以及多于5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20或更多个氨基酸残基的更长的氨基酸序列。

[0598] 醛标签可存在于Ig重链的C端或附近;例如,醛标签可存在于天然,野生型Ig重链C端的1,2,3,4,5,6,7,8,9,或10个氨基酸内。醛标签可存在于Ig重链的CH1域内。醛标签可存在于Ig重链CH2域内。醛标签可存在于Ig重链的CH3域内。醛标签可存在于Ig轻链恒定区中,

例如卡帕轻链恒定区或拉姆达轻链恒定区中。

[0599] 在某些实施方案中,所使用的硫酸酯酶基序可以通过下面的式来描述:

[0600] $X^1Z^{10}X^2Z^{20}X^3Z^{30}$ (I'),

[0601] 其中

[0602] Z^{10}是半胱氨酸或丝氨酸(它还可以通过(C/S)来表示);

[0603] Z^{20}是脯氨酸或丙氨酸残基任一(它还可以通过(P/A)来表示);

[0604] Z^{30}是碱性氨基酸(例如精氨酸(R),而且可以是赖氨酸(K)或组氨酸(H),例如赖氨酸),或脂肪族氨基酸(丙氨酸(A),甘氨酸(G),亮氨酸(L),缬氨酸(V),异亮氨酸(I),或脯氨酸(P),例如A,G,L,V,或I);

[0605] X^1存在或缺失,而且,当存在时,可以是任何氨基酸,例如脂肪族氨基酸,含硫氨基酸,或极性,不带电荷氨基酸,(即除了芳香族氨基酸或带电荷氨基酸以外的),例如L,M,V,S或T,例如L,M,S或V,前提是,当硫酸酯酶基序处于靶多肽的N端时,X^1存在;且

[0606] X^2和X^3可以独立是任何氨基酸,虽然通常是脂肪族氨基酸,极性,不带电荷氨基酸,或含硫氨基酸(即除了芳香族氨基酸或带电荷氨基酸以外的),例如S,T,A,V,G或C,例如S,T,A,V或G。

[0607] 可以修饰抗体重和/或轻链的氨基酸序列以提供式$X^1Z^{10}X^2Z^{20}X^3Z^{30}$的至少5个氨基酸的序列,其中

[0608] Z^{10}是半胱氨酸或丝氨酸;

[0609] Z^{20}是脯氨酸或丙氨酸残基;

[0610] Z^{30}是脂肪族氨基酸或碱性氨基酸;

[0611] X^1存在或缺失,而且,当存在时,是任何氨基酸,前提是,当异源硫酸酯酶基序处于多肽的N端时,X^1存在;

[0612] X^2和X^3每个独立是任何氨基酸。

[0613] 硫酸酯酶基序通常选择成能够被选定FGE转变,例如带醛标签的多肽在其中表达的宿主细胞中存在的FGE或要在无细胞体外方法中与带醛标签的多肽接触的FGE。

[0614] 例如,在FGE是真核FGE(例如哺乳动物FGE,包括人FGE)的情况中,硫酸酯酶基序可以是下面的式的:

[0615] $X^1CX^2PX^3Z^{30}$ (I"),

[0616] 其中

[0617] X^1可以存在或缺失,而且,当存在时,可以是任何氨基酸,例如脂肪族氨基酸,含硫氨基酸,或极性,不带电荷氨基酸,(即除了芳香族氨基酸或带电荷氨基酸以外的),例如L,M,S或V,前提是,当硫酸酯酶基序处于靶多肽的N端时,X^1存在;

[0618] X^2和X^3可以独立是任何氨基酸,例如脂肪族氨基酸,含硫氨基酸,或极性,不带电荷氨基酸,(即除了芳香族氨基酸或带电荷氨基酸以外的),例如S,T,A,V,G,或C,例如S,T,A,V或G;且Z^{30}是碱性氨基酸(例如精氨酸(R),而且可以是赖氨酸(K)或组氨酸(H),例如赖氨酸),或脂肪族氨基酸(丙氨酸(A),甘氨酸(G),亮氨酸(L),缬氨酸(V),异亮氨酸(I),或脯氨酸(P),例如A,G,L,V,或I)。

[0619] 硫酸酯酶基序的具体例子包括LCTPSR(SEQ ID NO://),MCTPSR(SEQ ID NO://),VCTPSR(SEQ ID NO://),LCSPSR(SEQ ID NO://),LCAPSR(SEQ ID NO://),LCVPSR(SEQ ID

NO://),LCGPSR(SEQ ID NO://),ICTPAR(SEQ ID NO://),LCTPSK(SEQ ID NO://),MCTPSK(SEQ ID NO://),VCTPSK(SEQ ID NO://),LCSPSK(SEQ ID NO://),LCAPSK(SEQ ID NO://),LCVPSK(SEQ ID NO://),LCGPSK(SEQ ID NO://),LCTPSA(SEQ ID NO://),ICTPAA(SEQ ID NO://),MCTPSA(SEQ ID NO://),VCTPSA(SEQ ID NO://),LCSPSA(SEQ ID NO://),LCAPSA(SEQ ID NO://),LCVPSA(SEQ ID NO://),和LCGPSA(SEQ ID NO://)。

[0620] 含FGly序列

[0621] 一旦FGE作用于经修饰的抗体重和/或轻链,硫酸酯酶基序中的丝氨酸或半胱氨酸就被修饰成FGly。如此,含FGly硫酸酯酶基序可以是下面的式的:

[0622] $X^1(FGly)X^2Z^{20}X^3Z^{30}$(I"),

[0623] 其中

[0624] FGly是甲酰甘氨酸残基;

[0625] Z^{20}是脯氨酸或丙氨酸残基任一(还可以通过(P/A)来表示);

[0626] Z^{30}是碱性氨基酸(例如精氨酸(R),而且可以是赖氨酸(K)或组氨酸(H),通常是赖氨酸),或脂肪族氨基酸(丙氨酸(A),甘氨酸(G),亮氨酸(L),缬氨酸(V),异亮氨酸(I),或脯氨酸(P),例如A,G,L,V,或I);

[0627] X^1可以存在或缺失,而且,当存在时,可以是任何氨基酸,例如脂肪族氨基酸,含硫氨基酸,或极性,不带电荷氨基酸,(即除了芳香族氨基酸或带电荷氨基酸以外的),例如L,M,V,S或T,例如L,M或V,前提是,当硫酸酯酶基序处于靶多肽的N端时,X^1存在;且

[0628] X^2和X^3可以独立是任何氨基酸,例如脂肪族氨基酸,含硫氨基酸,或极性,不带电荷氨基酸(即除了芳香族氨基酸或带电荷氨基酸以外的),例如S,T,A,V,G或C,例如S,T,A,V或G。

[0629] 如上文描述的,通过FGly与药物(例如如上文描述的含有肼基-吲哚基或肼基-吡咯并-吡啶基偶联模块的药物)的反应以生成含FGly'硫酸酯酶基序,含有FGly残基的经修饰的多肽可以缀合至药物(例如美登木素生物碱)。如本文中使用的,术语FGly'指硫酸酯酶基序中偶联至药物,诸如美登木素或奥瑞司他汀的经修饰的氨基酸残基。如此,含FGly'硫酸酯酶基序可以是下面的式的:

[0630] $X^1(FGly')X^2Z^{20}X^3Z^{30}$ (II),

[0631] 其中

[0632] FGly'是式(I)的经修饰的氨基酸残基;

[0633] Z^{20}是脯氨酸或丙氨酸残基任一(还可以通过(P/A)来表示);

[0634] Z^{30}是碱性氨基酸(例如精氨酸(R),而且可以是赖氨酸(K)或组氨酸(H),通常是赖氨酸),或脂肪族氨基酸(丙氨酸(A),甘氨酸(G),亮氨酸(L),缬氨酸(V),异亮氨酸(I),或脯氨酸(P),例如A,G,L,V,或I);

[0635] X^1可以存在或缺失,而且,当存在时,可以是任何氨基酸,例如脂肪族氨基酸,含硫氨基酸,或极性,不带电荷氨基酸(即除了芳香族氨基酸或带电荷氨基酸以外的),例如L,M,V,S或T,例如L,M或V,前提是,当硫酸酯酶基序处于靶多肽的N端时,X^1存在;且

[0636] X^2和X^3可以独立是任何氨基酸,例如脂肪族氨基酸,含硫氨基酸,或极性,不带电荷氨基酸(即除了芳香族氨基酸或带电荷氨基酸以外的),例如S,T,A,V,G或C,例如S,T,A,V或G。

[0637] 修饰位点

[0638] 如上文描述的,抗体的氨基酸序列经过修饰以包括硫酸酯酶基序,其含有丝氨酸或半胱氨酸残基,能够在体内(例如在细胞中翻译含有醛标签的蛋白质时)或在体外(例如通过在无细胞系统中使含有醛标签的蛋白质接触FGE)通过FGE的作用而转化(氧化)成FGly残基。用于生成本公开内容的缀合物的抗体包括至少一个Ig恒定区,例如Ig重链恒定区(例如至少CH1域;至少CH1和CH2域;CH1,CH2,和CH3域;或CH1,CH2,CH3,和CH4域),或Ig轻链恒定区。此类Ig多肽在本文中称作"靶Ig多肽"或"靶抗体"。

[0639] 抗体中引入硫酸酯酶基序的位点可以是任何方便的位点。如上文描述的,在一些情况中,将靶多肽的天然氨基酸序列的修饰程度降至最低,以使插入,删除,替代(替换),和/或添加(例如至N或C端)的氨基酸残基的数目降至最低。将靶抗体的氨基酸序列修饰程度降至最低可将此类修饰可能对抗体功能和/或结构具有的影响降至最低。

[0640] 抗体重链恒定区可包括任何重链同种型的Ig恒定区,非天然发生Ig重链恒定区(包括共有Ig重链恒定区)。Ig恒定区可被修饰以包括醛标签,其中醛标签存在于Ig恒定区的溶剂可及性环区内或与其相邻。Ig恒定区可通过1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15或16个氨基酸,或多于16个氨基酸的插入和/或替代来修饰,以提供如上文描述的硫酸酯酶基序的氨基酸序列。

[0641] 在一些情况中,带醛标签的抗体包含带醛标签的Ig重链恒定区(例如至少CH1域;至少CH1和CH2域;CH1,CH2,和CH3域;或CH1,CH2,CH3,和CH4域)。带醛标签的Ig重链恒定区可包括IgA,IgM,IgD,IgE,IgG1,IgG2,IgG3,或IgG4同种型重链或其任何同种异型变体的重链恒定区序列,例如人重链恒定区序列或小鼠重链恒定区序列,杂合重链恒定区,合成重链恒定区,或共有重链恒定区序列,等,其经修饰以包括至少一个硫酸酯酶基序,可被FGE修饰以生成FGly修饰的Ig多肽。Ig重链的同种异型变体是本领域已知的。参见例如Jefferis and Lefranc(2009)MAbs1:4。

[0642] 在一些情况中,带醛标签的抗体包含带醛标签的Ig轻链恒定区。带醛标签的Ig轻链恒定区可包括卡帕轻链,拉姆达轻链的恒定区序列,例如人卡帕或拉姆达轻链恒定区,杂合轻链恒定区,合成轻链恒定区,或共有轻链恒定区序列,等,其经修饰以包括至少一个硫酸酯酶基序,可被FGE修饰以生成FGly修饰的抗体。例示性恒定区包括人γ1和γ3区。除硫酸酯酶基序外,经修饰的恒定区可以具有野生型氨基酸序列,或者它可以具有与野生型氨基酸序列至少70%同一(例如至少80%,至少90%或至少95%同一)的氨基酸序列。

[0643] 在一些实施方案中,硫酸酯酶基序位于不同于或在Ig多肽重链的C末端以外的位置。如上文描述的,分离的带醛标签的抗体可包含经修饰以包括如上文描述的硫酸酯酶基序的重链恒定区,其中硫酸酯酶基序位于抗体重链恒定区的表面可及性环区内或与其相邻。

[0644] 可在Ig重链的此类修饰位点的这些氨基酸序列中的一个或多个内或邻近提供硫酸酯酶基序。例如,可在这些氨基酸序列中的一个或多个处修饰(例如其中修饰包括一处或多处氨基酸残基插入,删除,和/或替代)Ig重链多肽以在这些修饰位点的N末端和其邻近和/或C末端和其邻近提供硫酸酯酶基序。或者/另外,可在这些氨基酸序列中的一个或多个处修饰(例如其中修饰包括一处或多处氨基酸残基插入,删除,和/或替代)Ig重链多肽以在Ig重链修饰位点的任两个残基之间提供硫酸酯酶基序。在一些实施方案中,可以修饰Ig重

链多肽以包括两个基序,它们可以彼此相邻,或可以分开1,2,3,4或更多个(例如约1至约25个,约25至约50个,或约50至约100个,或更多个)氨基酸。或者/另外,在天然氨基酸序列提供硫酸酯酶基序序列的一个或多个氨基酸残基的情况中,可修饰(例如其中修饰包括一处或多处氨基酸残基插入,删除,和/或替代)Ig重链多肽氨基酸序列的修饰位点的选定氨基酸残基以在修饰位点处提供硫酸酯酶基序。

[0645] 本公开内容的抗体-药物缀合物中使用的抗体可具有多种抗原结合特异性任一,包括但不限于例如癌细胞上存在的抗原;自身免疫细胞上存在的抗原;病原性微生物上存在的抗原;病毒感染细胞(例如人免疫缺陷病毒感染细胞)上存在的抗原;患病细胞上存在的抗原;等等。例如,抗体缀合物可结合抗原,其中抗原存在于细胞的表面上。本公开内容的抗体缀合物能以合适的结合亲和力结合抗原,例如5x 10^{-6}M至10^{-7}M,10^{-7}M至5x 10^{-7}M,5x 10^{-7}M至10^{-8}M,10^{-8}M至5x 10^{-8}M,5x10^{-8}M至10^{-9}M,或大于10^{-9}M的结合亲和力。

[0646] 作为非限制性例子,主题抗体缀合物可结合在癌细胞上存在的抗原(例如肿瘤特异性抗原;在癌细胞上过表达的抗原;等),而且缀合的模块可以是药物,诸如细胞毒性化合物(例如细胞毒性小分子,细胞毒性合成肽,等)。例如,主题抗体缀合物可以是对癌细胞上的抗原特异性的,其中缀合的模块是药物,诸如细胞毒性化合物(例如细胞毒性小分子,细胞毒性合成肽,等)。

[0647] 作为别的非限制性例子,主题抗体缀合物可结合在感染了病毒的细胞上存在的抗原(例如其中抗原是由病毒编码的;其中抗原是在受到病毒感染的细胞类型上表达的;等),而且缀合的模块可以是药物,诸如病毒融合抑制剂。例如,主题抗体缀合物可结合在感染了病毒的细胞上存在的抗原,而且缀合的模块可以是药物,诸如病毒融合抑制剂。

[0648] 用于缀合至多肽的药物

[0649] 本公开内容提供药物-多肽缀合物(例如抗体-药物缀合物)。多种药物任一适合使用,或可以经过修饰以使得其适合使用,作为缀合至抗体的反应性配偶。药物的例子包括小分子药物和肽药物。

[0650] 如本文中使用的,“小分子药物”指的是如下的化合物,例如有机化合物,其展现感兴趣的药学活性且一般具有800Da或更小,或2000Da或更小的分子量,但可以涵盖高达5kDa的分子且可以大至10kDa。无机小分子指的是不含碳原子的分子,而有机小分子指的是含有至少一个碳原子的化合物。

[0651] 如本文中使用的,“肽药物”指的是含有氨基酸的聚合化合物,而且意图涵盖天然发生的和非天然发生的肽,寡肽,环肽,多肽,和蛋白质,以及肽模拟物。肽药物可以通过化学合成来获得,或者可以自遗传编码的来源(例如重组来源)生成。肽药物可以具有一定范围的分子量,而且分子量可以是200Da至10kDa或更大。合适的肽包括但不限于细胞毒性肽;血管生成肽;抗血管生成肽;激活B细胞的肽;激活T细胞的肽;抗病毒肽;抑制病毒融合的肽;提高一种或多种淋巴细胞群的生成的肽;抗微生物肽;生长因子;生长激素释放因子;血管活性肽;消炎肽;调节葡萄糖代谢的肽;抗血栓肽;抗伤害(nociceptive)肽;血管舒张肽;血小板聚集抑制剂;止痛药;等等。

[0652] 药物的例子包括小分子药物,诸如癌症化疗剂。例如,在多肽是对肿瘤细胞具有特异性的抗体(或其片段)的情况下,可以如本文所述修饰抗体以包括经修饰的氨基酸,其随后可缀合至癌症化疗剂。癌症化疗剂包括降低癌细胞增殖的非肽(即非蛋白质)化合物,而

且涵盖细胞毒剂和细胞抑制剂。化疗剂的非限制性例子包括烷化剂,亚硝基脲,抗代谢物,抗肿瘤抗生素,植物(长春花)生物碱,和类固醇激素。还可以使用肽化合物。

[0653] 合适的癌症化疗剂包括多拉司他汀(dolastatin)及其活性类似物和衍生物;和奥瑞司他汀(auristatin)及其活性类似物和衍生物(例如单甲基奥瑞司他汀D(MMAD),单甲基奥瑞司他汀E(MMAE),单甲基奥瑞司他汀F(MMAF),等等)。参见例如WO 96/33212,WO 96/14856,和US 6,323,315。例如,多拉司他汀10或奥瑞司他汀PE可以包括在本公开内容的抗体-药物缀合物中。合适的癌症化疗剂还包括美登木素生物碱(maytansinoid)及其活性类似物和衍生物(参见例如EP 1391213;和Liu et al.(1996)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 93:8618-8623);倍癌霉素(duocarmycin)及其活性类似物和衍生物(例如包括合成类似物KW-2189和CB 1-TM1);和苯并二氮杂卓(benzodiazepine)及其活性类似物和衍生物(例如吡咯并苯并二氮杂卓(PBD))。

[0654] 起降低细胞增殖作用的药剂是本领域已知且广泛使用的。此类药剂包括烷化剂,诸如氮芥,亚硝基脲,乙撑亚胺衍生物,磺酸烷基酯,和三氮烯,包括但不限于二氯甲基二乙胺(mechlorethamine),环磷酰胺(cyclophosphamide)(Cytoxan™),美法仑(melphalan)(L-沙可来新(sarcolysin)),卡莫司汀(carmustine)(BCNU),洛莫司汀(lomustine)(CCNU),司莫司汀(semustine)(甲基-CCNU),链脲菌素(streptozocin),氯脲霉素(chlorozotocin),尿嘧啶氮芥(uracil mustard),双氯乙基甲胺(chlormethine),异环磷酰胺(ifosfamide),苯丁酸氮芥(chlorambucil),哌泊溴烷(pipobroman),三乙撑蜜胺(triethylenemelamine),三乙撑硫代磷酸胺(triethylenethiophosphoramine),白消安(busulfan),达卡巴嗪(dacarbazine),和替莫唑胺(temozolomide)。

[0655] 抗代谢物剂包括叶酸类似物,嘧啶类似物,嘌呤类似物,和腺苷脱氨酶抑制剂,包括但不限于阿糖胞苷(cytarabine)(CYTOSAR-U),胞嘧啶阿拉伯糖苷(cytosine arabinoside),氟尿嘧啶(fluorouracil)(5-FU),氟尿苷(floxuridine)(FudR),6-硫鸟嘌呤(thioguanine),6-巯基嘌呤(mercaptopurine)(6-MP),喷司他丁(pentostatin),5-氟尿嘧啶(5-FU),甲氨蝶呤(methotrexate),10-炔丙基-5,8-二脱氮杂叶酸(PDDF,CB3717),5,8-二脱氮杂四氢叶酸(DDATHF),甲酰四氢叶酸(leucovorin),磷酸氟达拉滨(fludarabine phosphate),喷司他丁,和吉西他滨(gemcitabine)。

[0656] 合适的天然产物及其衍生物(例如长春花生物碱,抗肿瘤抗生素,酶,淋巴因子,和表鬼臼毒素(epipodophyllotoxin))包括但不限于Ara-C,帕利他赛(paclitaxel)(Taxol®),多西他赛(docetaxel)(Taxotere®),脱氧助间型霉素(deoxycoformycin),丝裂霉素(mitomycin)-C,L-天冬酰胺酶(asparaginase),硫唑嘌呤(azathioprine);布喹那(brequinar);生物碱,例如长春新碱(vincristine),长春碱(vinblastine),长春瑞滨(vinorelbine),长春地辛(vindesine),等;鬼臼毒素(podophyllotoxin),例如依托泊苷(etoposide),替尼泊苷(teniposide),等;抗生素,例如蒽环霉素(anthracycline),盐酸柔红霉素(daunorubicin hydrochloride)(道诺霉素(daunomycin),红比霉素(rubidomycin),司比定(cerubidine)),伊达比星(idarubicin),多柔比星(doxorubicin),表柔比星(epirubicin)和吗啉代(morpholino)衍生物,等;吩噁嗪酮双环肽(phenoxizone biscyclopeptide),例如放线菌素D(dactinomycin);碱性糖肽(basic glycopeptide),例如博来霉素(bleomycin);蒽醌苷(anthraquinone glycoside),例如普卡霉素

(plicamycin)(光神霉素(mithramycin));蒽二酮(anthracenedione),例如米托蒽醌(mitoxantrone);氮丙啶吡咯并吲哚二酮(azirinopyrrolo indoledione),例如丝裂霉素(mitomycin);大环免疫抑制剂,例如环孢菌素(cyclosporine),FK-506(他克莫司(tacrolimus),普乐可复(prograf)),雷帕霉素(rapamycin),等;等等。

[0657] 其它抗增殖细胞毒剂是诺维本(navelbene),CPT-11,阿那曲唑(anastrazole),来曲唑(letrazole),卡培他滨(capecitabine),雷洛昔芬(reloxafine),环磷酰胺,异环磷酰胺,和屈洛昔芬(droloxafine)。

[0658] 具有抗增殖活性的微管影响剂也适合使用,而且包括但不限于别秋水仙素(allocolchicine)(NSC 406042),软海绵素(Halichondrin)B(NSC 609395),秋水仙素(colchicine)(NSC 757),秋水仙素衍生物(例如NSC 33410),多拉司他汀10(NSC 376128),美登木素(NSC 153858),根霉菌素(rhizoxin)(NSC 332598),帕利他赛(Taxol®),Taxol®衍生物,多西他赛(Taxotere®),硫代秋水仙素(thiocolchicine)(NSC 361792),三苯甲基半胱氨酸(trityl cysterin),硫酸长春碱(vinblastine sulfate),硫酸长春新碱(vincristine sulfate),天然的和合成的埃博霉素(epothilone)(包括但不限于埃博霉素A,埃博霉素B),圆皮海绵内酯(discodermolide);雌莫司汀(estramustine),诺考达唑(nocodazole),等等。

[0659] 适合使用的激素调控剂和类固醇(包括合成类似物)包括但不限于肾上腺皮质类固醇,例如强的松(prednisone),地塞米松(dexamethasone),等;雌激素和孕酮,例如己酸羟孕酮(hydroxyprogesterone caproate),醋酸甲羟孕酮(medroxyprogesterone acetate),醋酸甲地孕酮(megestrol acetate),雌二醇(estradiol),克罗米芬(clomiphene),他莫昔芬(tamoxifen),等;和肾上腺皮质抑制剂,例如氨鲁米特(aminoglutethimide);17α-乙炔基雌二醇(17α-ethinylestradiol);己烯雌酚(diethylstilbestrol),睾酮(testosterone),氟甲睾酮(fluoxymesterone),丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate),睾内酯(testolactone),甲泼尼龙(methylprednisolone),甲基睾酮(methyl-testosterone),泼尼龙(prednisolone),曲安西龙(triamcinolone),氯烯雌醚(chlorotrianisene),羟孕酮(hydroxyprogesterone),氨鲁米特,雌莫司汀,醋酸甲羟孕酮,亮丙瑞林(leuprolide),氟他胺(Flutamide)(佐吉能(Drogenil)),托瑞米芬(Toremifene)(法乐通(Fareston)),和Zoladex®。雌激素刺激增殖和分化;因此,使用结合雌激素受体的化合物来阻断这种活性。皮质类固醇可以抑制T细胞增殖。

[0660] 其它合适的化疗剂包括金属复合物,例如顺铂(cis-DDP),卡铂,等;脲,例如羟基脲;和肼,例如N-甲基肼;表鬼臼毒素;拓扑异构酶抑制剂;丙卡巴肼(procarbazine);米托蒽醌;甲酰四氢叶酸;替加氟(tegafur);等。其它感兴趣抗增殖剂包括免疫抑制剂,例如霉酚酸(mycophenolic acid),沙利度胺(thalidomide),脱氧精胍菌素(desoxyspergualin),氮杂孢菌素(azasporine),来氟米特(leflunomide),咪唑立宾(mizoribine),氮杂螺烷(azaspirane)(SKF 105685);Iressa®(ZD 1839,4-(3-氯-4-氟苯基氨基)-7-甲氧基-6-(3-(4-吗啉基)丙氧基)喹唑啉);等。

[0661] 紫杉烷(taxane)适合使用。“紫杉烷”包括帕利他赛(paclitaxel),以及任何活性紫杉烷衍生物或前药。“帕利他赛”(其在本文中应理解为包括类似物,配制剂,和衍生物,诸

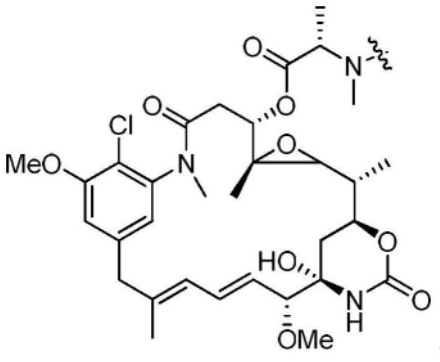
如多西他赛(docetaxil),TAXOL™,TAXOTERE™(多西他赛的一种配制剂),帕利他赛的10-脱乙酰基类似物和帕利他赛的3'N-脱苯甲酰基-3'N-叔丁氧羰基类似物)可以容易地利用本领域技术人员知道的技术来制备(还参见WO 94/07882,WO 94/07881,WO 94/07880,WO 94/07876,WO 93/23555,WO 93/10076;美国专利No.5,294,637;5,283,253;5,279,949;5,274,137;5,202,448;5,200,534;5,229,529;和EP 590,267),或自多种商业来源获得,包括例如Sigma Chemical Co.,St.Louis,Mo.(T7402,来自短叶红豆杉(Taxus brevifolia);或T-1912,来自云南红豆杉(Taxus yannanensis))。

[0662] 帕利他赛应理解为不仅指帕利他赛的常见化学可得形式,而且指类似物和衍生物(例如如上文描述的Taxotere™多西他赛)和帕利他赛缀合物(例如帕利他赛-PEG,帕利他赛-右旋糖苷,或帕利他赛-木糖)。

[0663] 术语"紫杉烷"内还包括的是多种已知的衍生物,包括亲水性衍生物和疏水性衍生物二者。紫杉烷衍生物包括但不限于国际专利申请No.WO 99/18113中描述的半乳糖和甘露糖衍生物;WO 99/14209中描述的哌嗪代(piperazino)和其它衍生物;WO 99/09021,WO 98/22451,和美国专利No.5,869,680中描述的紫杉烷衍生物;WO 98/28288中描述的6-硫代衍生物;美国专利No.5,821,263中描述的次磺酰胺(sulfenamide)衍生物;和美国专利No.5,415,869中描述的泰素(taxol)衍生物。它进一步包括帕利他赛的前药,包括但不限于WO 98/58927;WO 98/13059;和美国专利No.5,824,701中描述的那些。

[0664] 适合使用的生物应答调控剂包括但不限于(1)酪氨酸激酶(RTK)活性的抑制剂;(2)丝氨酸/苏氨酸激酶活性的抑制剂;(3)肿瘤相关抗原拮抗剂,诸如特异性结合肿瘤抗原的抗体;(4)凋亡受体激动剂;(5)白介素-2;(6)IFN-α;(7)IFN-γ;(8)集落刺激因子;和(9)血管生成的抑制剂。

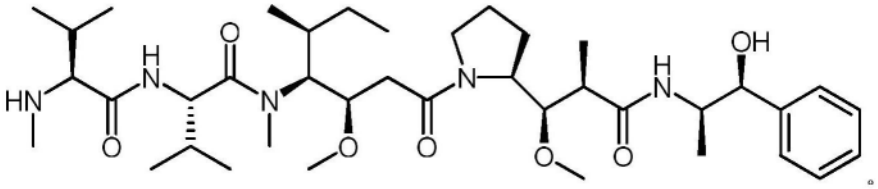
[0665] 药物的例子包括小分子药物,诸如癌症化疗剂。例如,在多肽是对肿瘤细胞具有特异性的抗体(或其片段)的情况中,可以如本文所述修饰抗体以包括经修饰的氨基酸,其可以随后缀合至癌症化疗剂,诸如影响微管的药剂。在某些实施方案中,药物是具有抗增殖活性的影响微管的药剂,诸如美登木素生物碱。在某些实施方案中,药物是如下面的结构的美登木素生物碱:

[0666] 

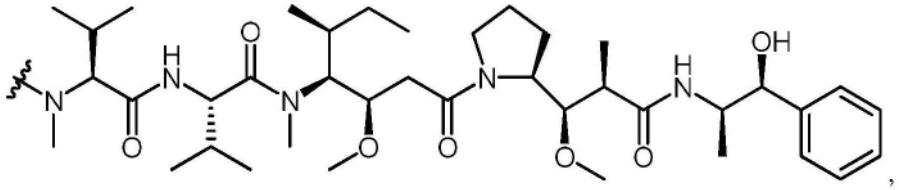
,

[0667] 其中〰指示本文中描述的缀合物和化合物中美登木素生物碱和第二接头L^2之间的附着点。"附着点"意味着〰符号指示本文中描述的缀合物和化合物中美登木素生物碱的N和第二接头L^2之间的键。例如,在式(I)中,W^1可以是美登木素生物碱,诸如上文结构的美登木素生物碱,其中〰指示美登木素生物碱和第二接头L^2之间的附着点。在一些情况中,上文结构的美登木素生物碱可以称作脱乙酰基美登木素。

[0668] 在某些实施方案中,药物是抗有丝分裂剂,诸如奥瑞司他汀或其活性奥瑞司他汀类似物或衍生物(例如单甲基奥瑞司他汀D(MMAD),单甲基奥瑞司他汀E(MMAE),单甲基奥瑞司他汀F(MMAF),等等)。在某些实施方案中,药物是MMAE,其具有下面的结构:

[0669] 

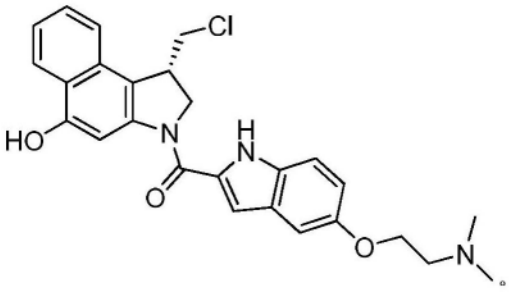
[0670] 例如,MMAE活性剂可以如下包括在抗体-药物缀合物中:

[0671] 

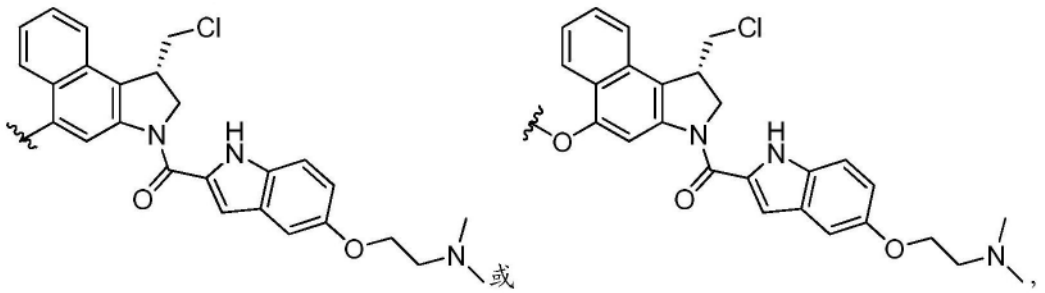
[0672] 其中〰指示本文中描述的缀合物和化合物中奥瑞司他汀和第二接头L^2之间的附着点。例如,〰符号指示奥瑞司他汀的N和第二接头L^2之间的键,例如如式(I)中显示的。例如,在式(I)中,W^1可以是奥瑞司他汀,诸如MMAE,其中上文结构中的〰指示MMAE和第二接头L^2之间的附着点。

[0673] 在某些实施方案中,药物是DNA烷化剂,诸如倍癌霉素。倍癌霉素的例子包括但不限于倍癌霉素A,倍癌霉素B1,倍癌霉素B2,倍癌霉素C1,倍癌霉素C2,倍癌霉素D,倍癌霉素SA,和CC-1065。在一些实施方案中,倍癌霉素是倍癌霉素类似物,诸如但不限于阿多来新(adozelesin),比折来新(bizelesin),或卡折来新(carzelesin)。

[0674] 在一些情况中,倍癌霉素是具有下面的结构的化合物:

[0675] 

[0676] 例如,倍癌霉素活性剂可以如下包括在抗体-药物缀合物中:

[0677] 

[0678] 其中〰指示本文中描述的缀合物和化合物中倍癌霉素和第二接头L^2之间的附着点。例如,〰符号指示倍癌霉素和第二接头L^2之间的键,如式(I)中显示的。例如,在式(I)中,W^1可以是倍癌霉素,诸如上文结构的倍癌霉素,其中〰指示倍癌霉素和第二接头L^2之间

的附着点。

[0679] 如上文描述的,在某些实施方案中,L^2是通过式-$(L^{21})_e$-$(L^{22})_f$-$(L^{23})_g$-$(L^{24})_h$-来描述的第二接头,其中L^{21},L^{22},L^{23}和L^{24}每个独立是第二接头亚单元。在某些实施方案中,L^{21}附着至第一可切割模块。在某些实施方案中,L^{21},若存在的话,还附着至W^1(药物)。在某些实施方案中,L^{22},若存在的话,附着至W^1(药物)。在某些实施方案中,L^{23},若存在的话,附着至W^1(药物)。在某些实施方案中,L^{24},若存在的话,附着至W^1(药物)。

[0680] 如上文描述的,在某些实施方案中,第二接头-$(L^{21})_e$-$(L^{22})_f$-$(L^{23})_g$-$(L^{24})_h$-通过式-$(T^5\text{-}V^5)_e$-$(T^6\text{-}V^6)_f$-$(T^7\text{-}V^7)_g$-$(T^8\text{-}V^8)_h$-来描述,其中e,f,g和h每个独立是0或1,其中e,f,g和h之和是0至4。在某些实施方案中,如上文描述的,L^{21}附着至第一可切割模块。照此,在某些实施方案中,T^5附着至第一可切割模块。在某些实施方案中,V^5附着至W^1(药物)。在某些实施方案中,如上文描述的,L^{22},若存在的话,附着至W^1(药物)。照此,在某些实施方案中,T^6,若存在的话,附着至W^1(药物),或V^6,若存在的话,附着至W^1(药物)。在某些实施方案中,如上文描述的,L^{23},若存在的话,附着至W^1(药物)。照此,在某些实施方案中,T^7,若存在的话,附着至W^1(药物),或V^7,若存在的话,附着至W^1(药物)。在某些实施方案中,如上文描述的,L^{24},若存在的话,附着至W^1(药物)。照此,在某些实施方案中,T^8,若存在的话,附着至W^1(药物),或V^8,若存在的话,附着至W^1(药物)。

[0681] 本公开内容的实施方案包括如下缀合物,其中抗体缀合至一个或多个药物模块,诸如2个药物模块,3个药物模块,4个药物模块,5个药物模块,6个药物模块,7个药物模块,8个药物模块,9个药物模块,或10个或更多个药物模块。药物模块可以在抗体中的一个或多个位点处缀合至抗体,如本文中描述的。在某些实施方案中,缀合物具有0.1至10,或0.5至10,或1至10,诸如1至9,或1至8,或1至7,或1至6,或1至5,或1至4,或1至3,或1至2范围中的平均药物对抗体比(DAR)(摩尔比)。在某些实施方案中,缀合物具有1至2,诸如1,1.1,1.2,1.3,1.4,1.5,1.6,1.7,1.8,1.9或2的平均DAR。在某些实施方案中,缀合物具有1至1.5的平均DAR。在某些实施方案中,缀合物具有1.5至2的平均DAR。平均意味着算术均值。

[0682] 可以修饰要缀合至多肽的药物以并入用于与多肽反应的反应性配偶。在药物是肽药物的情况下,反应性模块(例如氨基氧基或酰肼)可以位于肽的N端区,N端,C端区,C端,或内部位置处。例如,方法的一个例子涉及合成具有氨基氧基基团的肽药物。在这个例子中,自Boc保护的前体合成肽。肽的氨基基团可以与包含羧酸基团和氧基-N-Boc基团的化合物反应。作为一个例子,肽的氨基基团与3-(2,5-二氧代吡咯烷-1-基氧基)丙酸反应。包含羧酸基团和氧基-N-保护基团的化合物上的其它变化可以包括亚烷基接头中的不同数目的碳和亚烷基接头上的取代基。肽的氨基基团和包含羧酸基团和氧基-N-保护基团的化合物之间的反应经由标准肽偶联化学而发生。可以使用的肽偶联试剂的例子包括但不限于DCC(二环己基碳二亚胺),DIC(二异丙基碳二亚胺),二对甲苯酰基碳二亚胺,BDP(1-苯并三唑二乙基磷酸-1-环己基-3-(2-吗啉基乙基)碳二亚胺),EDC(1-(3-二甲基氨基丙基-3-乙基-碳二亚胺盐酸盐),三聚氟氰(cyanuric fluoride),三聚氯氰(cyanuric chloride),TFFH(六氟磷酸四甲基氟甲酰胺),DPPA(二苯基磷酰叠氮化物),BOP(六氟磷酸苯并三唑-1-基氧基三(二甲基氨基)膦),HBTU(六氟磷酸O-苯并三唑-1-基-N,N,N',N'-四甲基脲),TBTU(四氟硼酸O-苯并三唑-1-基-N,N,N',N'-四甲基脲),TSTU(四氟硼酸O-(N-琥珀酰亚胺基)-N,N,N',N'-四甲基脲),HATU(六氟磷酸N-[(二甲基氨基)-1-H-1,2,3-三唑并[4,5,6]-吡啶-1-基亚

甲基]--N-甲基甲胺N-氧化物),BOP-Cl(双(2-氧代-3-噁唑烷基)次磷酰氯),PyBOP(四氟磷酸(1-H-1,2,3-苯并三唑-1-基氧基)-三(吡咯烷基)膦),BrOP(六氟磷酸溴代三(二甲基氨基)膦),DEPBT(3-(二乙氧基磷酰基氧基)-1,2,3-苯并三嗪-4(3H)-酮),PyBrOP(六氟磷酸溴代三(吡咯烷基)膦)。作为一个非限制性例子,HOBt和DIC可以用作肽偶联试剂。

[0683] 对包含N-保护基团的肽实施脱保护以暴露氨基氧基官能度。例如,N-氧基琥珀酰亚胺基团的脱保护依照环酰胺基团的标准脱保护条件而发生。脱保护条件可见于Greene and Wuts,Protective Groups in Organic Chemistry,3rd Ed.,1999,John Wiley&Sons NY和Harrison et al.。某些脱保护条件包括肼试剂,氨基试剂,或硼氢化钠。Boc保护基团的脱保护可以用TFA发生。用于脱保护的其它试剂包括但不限于肼,甲基肼,苯基肼,硼氢化钠,和甲胺。产物和中间物可以通过常规手段来纯化,诸如HPLC纯化。

[0684] 普通技术人员会领会,诸如pH和位阻(即氨基酸残基与感兴趣反应性配偶反应的可及性)等因素是重要的。修改反应条件以提供最佳缀合条件完全在普通技术人员的技能范围内,而且在本领域是常规的。在用存在于活细胞中或活细胞上的多肽进行缀合的情况下,选择条件以使其在生理上相容。例如,pH可以暂时下降一段时间,足以容许反应发生但在细胞耐受的时段内(例如约30分钟至1小时)。用于在细胞表面上进行多肽修饰的生理条件可以类似于在修饰携带细胞表面叠氮化物的细胞的酮-叠氮化物反应中使用的那些(参见例如US 6,570,040)。

[0685] 含有或经过修饰以含有充当本文中公开的化合物或缀合物的反应性配偶的α-亲核基团的小分子化合物也涵盖用作本公开内容的多肽-药物缀合物中的药物。对于合成感兴趣化合物有用的化学合成流程和条件的一般方法是本领域已知的(参见例如Smith and March,March's Advanced Organic Chemistry:Reactions,Mechanisms,and Structure,Fifth Edition,Wiley-Interscience,2001;或Vogel,ATextbook of Practical Organic Chemistry,Including Qualitative Organic Analysis,Fourth Edition,New York:Longman,1978)。

[0686] 配制剂

[0687] 可以以多种不同方式配制本公开内容的缀合物。一般而言,在缀合物是抗体-药物缀合物的情况下,以与药物,抗体,要治疗的状况,和要使用的施用路径相容的方式配制缀合物。

[0688] 在一些实施方案中,提供的是一种药学组合物,其包括本公开内容的任何缀合物和药学可接受赋形剂。

[0689] 可以以任何合适的形式(例如以药学可接受盐的形式)提供缀合物(例如抗体-药物缀合物),而且可以配制成用于任何合适的施用路径,例如口服,表面或胃肠外施用。在缀合物作为液体可注射剂提供的情况下(诸如在它们静脉内施用或直接施用入组织的那些实施方案中),可以作为即用剂型,或作为由药学可接受载剂和赋形剂构成的可重建的储存稳定的粉剂或液体来提供缀合物。

[0690] 用于配制缀合物的方法可以自容易得到的那些方法加以适应。例如,可以在包含治疗有效量的缀合物和药学可接受载剂(例如盐水)的药学组合物中提供缀合物。药学组合物可以任选地包括其它添加剂(例如缓冲剂,稳定剂,防腐剂,等等)。在一些实施方案中,配制剂适合施用于哺乳动物,诸如适合施用于人的那些。

[0691] 治疗方法

[0692] 本公开内容的抗体-药物缀合物可用于治疗受试者中适合通过施用亲本药物(即缀合至抗体之前的药物)来治疗的状况或疾病。

[0693] 在一些实施方案中,提供的是如下的方法,其包括对受试者施用有效量(例如治疗有效量)的本公开内容的任何缀合物。

[0694] 在某些方面,提供的是将药物投递至受试者中的靶位点的方法,该方法包括对受试者施用包括本公开内容的任何缀合物的药学组合物,其中该施用在受试者中的靶位点处自缀合物有效释放治疗有效量的药物。例如,如本文中描述的,本公开内容的抗体-药物缀合物可包括可切割接头,诸如酶可切割接头或化学可切割接头,其包括第一可切割模块和第二可切割模块,其中第二可切割模块阻碍对第一可切割模块的切割。在一些情况中,可切割接头可以在适宜条件下受到切割以在药物的期望作用靶点处与或自抗体分开或释放药物。例如,保护第一可切割接头免于切割的第二可切割接头可以受到切割以容许第一可切割模块受到切割,导致可切割接头切割成两个或更多个部分,如此在期望作用位点处自抗体-药物缀合物释放药物。

[0695] 在某些实施方案中,第一可切割模块可以是酶可切割模块。在一些情况中,促进对第一可切割模块的切割的酶是施用于要治疗的受试者的酶(即,对于要治疗的受试者是外源的)。例如,可以在施用本文中描述的抗体-药物缀合物之前,与施用本文中描述的抗体-药物缀合物并行,或在施用本文中描述的抗体-药物缀合物之后施用第一酶。

[0696] 在某些实施方案中,第二可切割模块可以是酶可切割模块。在一些情况中,促进对第二可切割模块的切割的酶是施用于要治疗的受试者的酶(即,对于要治疗的受试者是外源的)。例如,可以在施用本文中描述的抗体-药物缀合物之前,与本文中描述的抗体-药物缀合物并行,或在本文中描述的抗体-药物缀合物之后施用第二酶。在某些实施方案中,第一酶和第二酶是不同的酶。

[0697] 在其它情况中,促进对第一可切割模块的切割的第一酶是存在于要治疗的受试者中的酶(即,对于要治疗的受试者是内源的)。例如,第一酶可以存在于抗体-药物缀合物的药物的期望作用位点处。可以将抗体-药物缀合物的抗体特异性靶向期望作用位点(例如,可以特异性结合存在于期望作用位点处的抗原),其中期望作用位点还包括第一酶的存在。在一些情况中,与要治疗的受试者的身体中的其它区域相比,第一酶过量存在于期望作用位点处。例如,与要治疗的受试者的身体中的其它区域相比,第一酶可以在期望作用位点处过表达。在一些情况中,由于第一酶在特定区域或位置处的定位,第一酶过量存在于期望作用位点处。例如,第一酶可以与期望作用位点内的某种结构,诸如溶酶体相关。在一些情况中,与受试者的身体中的其它区域相比,第一酶过量存在于溶酶体中。在一些实施方案中,在抗体-药物缀合物的药物的期望作用位点,诸如要用药物治疗的癌症或肿瘤的位点处找到包括第一酶的溶酶体。在某些实施方案中,第一酶是蛋白酶,诸如人蛋白酶(例如组织蛋白酶B)。

[0698] 在其它情况中,促进对第二可切割模块的切割的第二酶是存在于要治疗的受试者中的酶(即,对于要治疗的受试者是内源的)。例如,第二酶可以存在于抗体-药物缀合物的药物的期望作用位点处。可以将抗体-药物缀合物的抗体特异性靶向期望作用位点(例如,可以特异性结合存在于期望作用位点处的抗原),其中期望作用位点还包括第二酶的存在。

在一些情况中,与要治疗的受试者的身体中的其它区域相比,第二酶过量存在于期望作用位点处。例如,与要治疗的受试者的身体中的其它区域相比,第二酶可以在期望作用位点处过表达。在一些情况中,由于第二酶在特定区域或位置处的定位,第二酶过量存在于期望作用位点处。例如,第二酶可以与期望作用位点内的某种结构,诸如溶酶体相关。在一些情况中,与受试者的身体中的其它区域相比,第二酶过量存在于溶酶体中。在一些实施方案中,在抗体-药物缀合物的药物的期望作用位点,诸如要用药物治疗的癌症或肿瘤的位点处找到包括第二酶的溶酶体。在某些实施方案中,第二酶是葡萄糖醛酸酶,诸如人葡萄糖醛酸酶(例如溶酶体β-葡萄糖醛酸酶)。

[0699] 可以使用任何合适的酶来切割本文中描述的抗体-药物缀合物的第一可切割模块和第二可切割模块。其它酶也可能适合用于切割本文中描述的抗体-药物缀合物的第一可切割模块和第二可切割模块,诸如但不限于来自其它脊椎动物(例如灵长动物,小鼠,大鼠,猫,猪,鹌鹑,山羊,犬,等)的酶。

[0700] 在某些实施方案中,抗体-药物缀合物是在标准条件下实质性稳定的。实质性稳定意味着抗体-药物缀合物的可切割接头在如上文描述的第一酶和第二酶缺失下并不经历显著量的切割。例如,如上文描述的,第二可切割模块可保护第一可切割模块免于受到切割,照此,抗体-药物缀合物的可切割接头在如上文描述的第二酶缺失下并不经历显著量的切割。例如,抗体-药物缀合物的可切割接头可以是实质性稳定的,使得25%或更少的抗体-药物缀合物在第一酶和/或第二酶缺失下受到切割,诸如20%或更少,或15%或更少,或10%或更少,或5%或更少,或4%或更少,或3%或更少,或2%或更少,或1%或更少。在一些情况中,抗体-药物缀合物是实质性稳定的,使得抗体-药物缀合物的可切割接头在第一酶和/或第二酶缺失下并不经历显著量的切割,但是当在第一酶和第二酶存在下时可以受到切割。例如,抗体-药物缀合物可以是在施用于受试者之后实质性稳定的。在一些情况中,抗体-药物缀合物在施用于受试者之后是实质性稳定的,然后,当抗体-药物缀合物在期望作用位点处在第二酶存在下时,可以自可切割接头切割第二可切割模块,如此暴露第一可切割模块于随后第一酶的切割,继而在期望作用位点处释放药物。在某些实施方案中,在施用于受试者之后,抗体-药物缀合物在第一酶和/或第二酶缺失下对于延长的一段时间是稳定的,诸如1小时或更多,或2小时或更多,或3小时或更多,或4小时或更多,或5小时或更多,或6小时或更多,或7小时或更多,或8小时或更多,或9小时或更多,或10小时或更多,或15小时或更多,或20小时或更多,或24小时(1天)或更多,或2天或更多,或3天或更多,或4天或更多,或5天或更多,或6天或更多,或7天(1周)或更多。在某些实施方案中,抗体-药物缀合物在第一酶和/或第二酶缺失下对于延长的一段时间在一个范围的pH值里是稳定的,诸如在范围为2至10,或3至9,或4至8,或5至7,或6至7的pH。

[0701] 如上文描述的,本公开内容的抗体-药物缀合物可用于治疗受试者中适合通过施用亲本药物来治疗的状况或疾病。“治疗”意味着至少实现与困扰宿主的状况有关的症状的改善,其中改善以广义使用,指的是至少降低与所治疗的状况有关的参数(例如症状)的程度。照此,治疗还包括病理状况或至少与其有关的症状完全受到抑制(例如防止发生),或停止(例如终止)的情况,使得宿主不再罹患该状况或至少表征该状况的症状。如此,治疗包括:(i)预防,即降低临床症状发生的风险,包括引起临床症状不发生,例如防止疾病进展至有害的状态;(ii)抑制,即阻滞临床症状发生或进一步发展,例如减轻或完全抑制活动性疾

病;和/或(iii)缓解,即引起临床症状消退。

[0702] 要治疗的受试者可以是需要治疗的受试者,其中要治疗的受试者是适合使用亲本药物治疗的受试者。因而,多种受试者可以适合使用本文中公开的抗体-药物缀合物来治疗。一般而言,此类受试者是"哺乳动物",其中人是感兴趣的。其它受试者可以包括驯养的宠物(例如犬和猫),牲畜(例如牛,猪,山羊,马,等等),啮齿动物(例如小鼠,豚鼠,和大鼠,例如在疾病的动物模型中),以及非人灵长动物(例如黑猩猩和猴)。

[0703] 所施用的抗体-药物缀合物的量最初可以基于亲本药物的剂和/或剂量方案的指导来确定。一般而言,抗体-药物缀合物能给所结合的药物提供靶向投递和/或延长的血清半衰期,如此提供剂量方案中减少的剂或减少的施用中至少一项。如此,相对于在本公开内容的抗体-药物缀合物中缀合之前的亲本药物,抗体-药物缀合物能提供剂量方案中减少的剂和/或减少的施用。

[0704] 而且,如上文描述的,因为抗体-药物缀合物能提供受控化学计量的药物投递,所以抗体-药物缀合物的剂量可以基于以每个抗体-药物缀合物基础上提供的药物分子的数目来计算。

[0705] 在一些实施方案中,施用多剂抗体-药物缀合物。抗体-药物缀合物的施用频率可以随多种因素任一而变化,例如症状的严重程度,受试者的状况,等。例如,在一些实施方案中,每月一次,每月两次,每月三次,每隔一周,每周一次(qwk),每周两次,每周三次,每周四次,每周五次,每周六次,每隔一天,每天(qd/od),每天两次(bds/bid),或每天三次(tds/tid),等施用抗体-药物缀合物。

[0706] 治疗癌症的方法

[0707] 本公开内容提供如下的方法,其包括将本公开内容的缀合物投递至具有癌症的个体。该方法对于治疗极其多种癌症是有用的,包括癌瘤,肉瘤,白血病,和淋巴瘤。在癌症的语境中,术语"治疗"包括下述一项或多项(例如每一项):降低实体瘤的生长,抑制癌细胞的复制,降低总体肿瘤负荷,和改善一种或多种与癌症有关的症状。

[0708] 能使用主题方法治疗的癌瘤包括但不限于食道癌,肝细胞癌,基底细胞癌(皮肤癌的一种形式),鳞状细胞癌(各种组织),膀胱癌(包括移行细胞癌(膀胱的一种恶性赘生物)),支气管源性癌,结肠癌,结直肠癌,胃癌,肺癌(包括肺的小细胞癌和非小细胞癌),肾上腺皮质癌,甲状腺癌,胰腺癌,乳腺癌,卵巢癌,前列腺癌,腺癌,汗腺癌,皮脂腺癌,乳头状癌,乳头状腺癌,囊腺癌,髓样癌,肾细胞癌,导管原位癌或胆管癌,绒毛膜癌,精原细胞瘤,胚胎性癌,威尔姆氏瘤(Wilm'stumor),宫颈癌,子宫癌,睾丸癌,骨源性癌,上皮癌,和鼻咽癌,等。

[0709] 能使用主题方法治疗的肉瘤包括但不限于纤维肉瘤,粘液肉瘤,脂肪肉瘤,软骨肉瘤,脊索瘤,骨源性肉瘤,骨肉瘤,血管肉瘤,内皮肉瘤,淋巴管肉瘤,淋巴管内皮肉瘤,滑膜瘤,间皮瘤,尤文氏肉瘤(Ewing's sarcoma),平滑肌肉瘤,横纹肌肉瘤,和其它软组织肉瘤。

[0710] 能使用主题方法治疗的其它实体瘤包括但不限于神经胶质瘤,星形细胞瘤,成神经管细胞瘤,颅咽管瘤,室管膜瘤,松果体瘤,成血管细胞瘤,听神经瘤,少突神经胶质瘤,脑膜瘤,黑素瘤,成神经细胞瘤,和成视网膜细胞瘤。

[0711] 能使用主题方法治疗的白血病包括但不限于:a)慢性骨髓增生性综合症(多能造血干细胞的赘生性病症);b)急性骨髓性白血病(多能造血干细胞或限制谱系潜能的造血细

胞的赘生性转化);c)慢性淋巴细胞性白血病(CLL;免疫学上不成熟且功能上不胜任的小淋巴细胞的克隆性增殖),包括B细胞CLL,T细胞CLL,前淋巴细胞性白血病,和毛细胞白血病;和d)急性成淋巴细胞性白血病(特征为成淋巴细胞的积累)。能使用主题方法治疗的淋巴瘤包括但不限于B细胞淋巴瘤(例如伯基特氏淋巴瘤(Burkitt's lymphoma));霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma);非霍奇金氏B细胞淋巴瘤(non-Hodgkin's B cell lymphoma);等等。

[0712] 在某些方面,提供的是治疗受试者中的癌症的方法,此类方法包括对受试者施用治疗有效量的包括本公开内容的任何缀合物的药学组合物,其中施用有效治疗受试者中的癌症。

[0713] 实施例

[0714] 提出下面的实施例以向本领域普通技术人员提供如何生成和使用本发明的全面公开和描述,并非意图限制发明人视为其发明的范围,也并非意图宣称下面的实验是所实施的所有或唯一实验。已经做出了努力来确保关于所用数值(例如量,温度,等)的准确性,但是一些实验误差和偏差应当考虑在内。除非另有指示,份是重量份,分子量是重量平均分子量,温度是摄氏度,而压力是处于或接近大气压。"平均值"表示算术均值。可以使用标准缩写,例如,bp,碱基对;kb,千碱基;pl,皮升;s或sec,秒;min,分钟;h或hr,小时;aa,氨基酸;kb,千碱基;bp,碱基对;nt,核苷酸;i.m.,肌肉内;i.p.,腹膜内;s.c.,皮下;等等。

[0715] 通用合成规程

[0716] 提供对于合成所公开的化合物有用的普遍知道的化学合成方案和条件的许多一般参考文献是可得的(参见例如Smith and March,March's Advanced Organic Chemistry:Reactions,Mechanisms,and Structure,Fifth Edition,Wiley-Interscience,2001;或Vogel,A Textbook of Practical Organic Chemistry,Including Qualitative Organic Analysis,Fourth Edition,New York:Longman,1978)。

[0717] 如本文中描述的化合物可以通过本领域已知的任何纯化方案来纯化,包括层析,诸如HPLC,制备性薄层层析,急骤柱层析和离子交换层析。可以使用任何合适的静止相,包括正相和反相以及离子型树脂。在某些实施方案中,所公开的化合物是经由硅胶和/或氧化铝层析来纯化的。参见例如Introduction to Modern Liquid Chromatography,2nd Edition,ed.L.R.Snyder and J.J.Kirkland,John Wiley and Sons,1979;和Thin Layer Chromatography,ed.E.Stahl,Springer-Verlag,New York,1969。

[0718] 在用于制备主题化合物的任何工艺期间,保护任何关注分子上的敏感性或反应性基团可能是必需和/或想要的。这可以借助如标准著作中描述的常规保护基团来实现,诸如J.F.W.McOmie,"Protective Groups in Organic Chemistry",Plenum Press,London and New York 1973;T.W.Greene and P.G.M.Wuts,"Protective Groups in Organic Synthesis",Third edition,Wiley,New York 1999;"The Peptides";Volume 3(editors:E.Gross and J.Meienhofer),Academic Press,London and New York 1981;"Methoden der organischen Chemie",Houben-Weyl,4th edition,Vol.15/1,Georg Thieme Verlag,Stuttgart1974;H.-D.Jakubke and H.Jescheit,"Aminosauren,Peptide,Proteine",Verlag Chemie,Weinheim,Deerfield Beach,and Basel 1982;和/或Jochen Lehmann,"Chemie der Kohlenhydrate:Monosaccharide and Derivate",Georg Thieme Verlag,

Stuttgart 1974。可以在方便的后续阶段使用本领域已知方法去除保护基团。

[0719] 可以经由多种不同合成途径使用商品化起始材料和/或通过常规合成方法制备的起始材料来合成主题化合物。下面的方案中描述了可用于合成本文中公开的化合物的合成途径的多个例子。

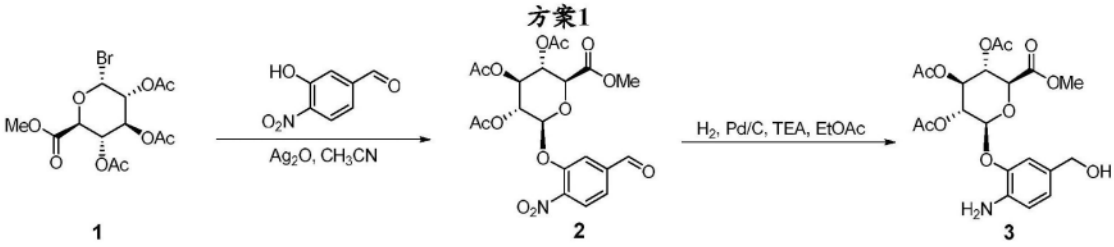
[0720] 合成试剂自Sigma-Aldrich,Acros,或其它商业来源购买且在没有纯化的情况下使用。无水溶剂在密封瓶中自商业来源获得。乙酰溴-α-D-葡萄糖醛酸甲酯1,MMAE 8,17,46,57,和62自商业来源购买。除非另有说明,所有反应在火焰干燥的玻璃器皿中在N_2下进行。在所有情况中,用配备有Buchi V-700真空泵的Buchi Rotovapor R-114通过减压去除溶剂。用Biotage Isolera Prime层析仪实施柱层析。使用配备有Phenomenex Kinetex 5μm EVO C18 150x 21.2mm柱的Waters制备性HPLC单元实施制备性HPLC纯化。在配备有G1322A型脱气器,G1311A型四分泵,G1329A型自动加样器,G1314型可变波长检测器,Agilent Poroshell 120SB C18,4.6mm x 50mm柱的Agilent 1100系列分析性HPLC上于室温使用水和含有0.1%甲酸的乙腈的10-100%梯度进行HPLC分析。于254nm监测HPLC。

[0721] 实施例1

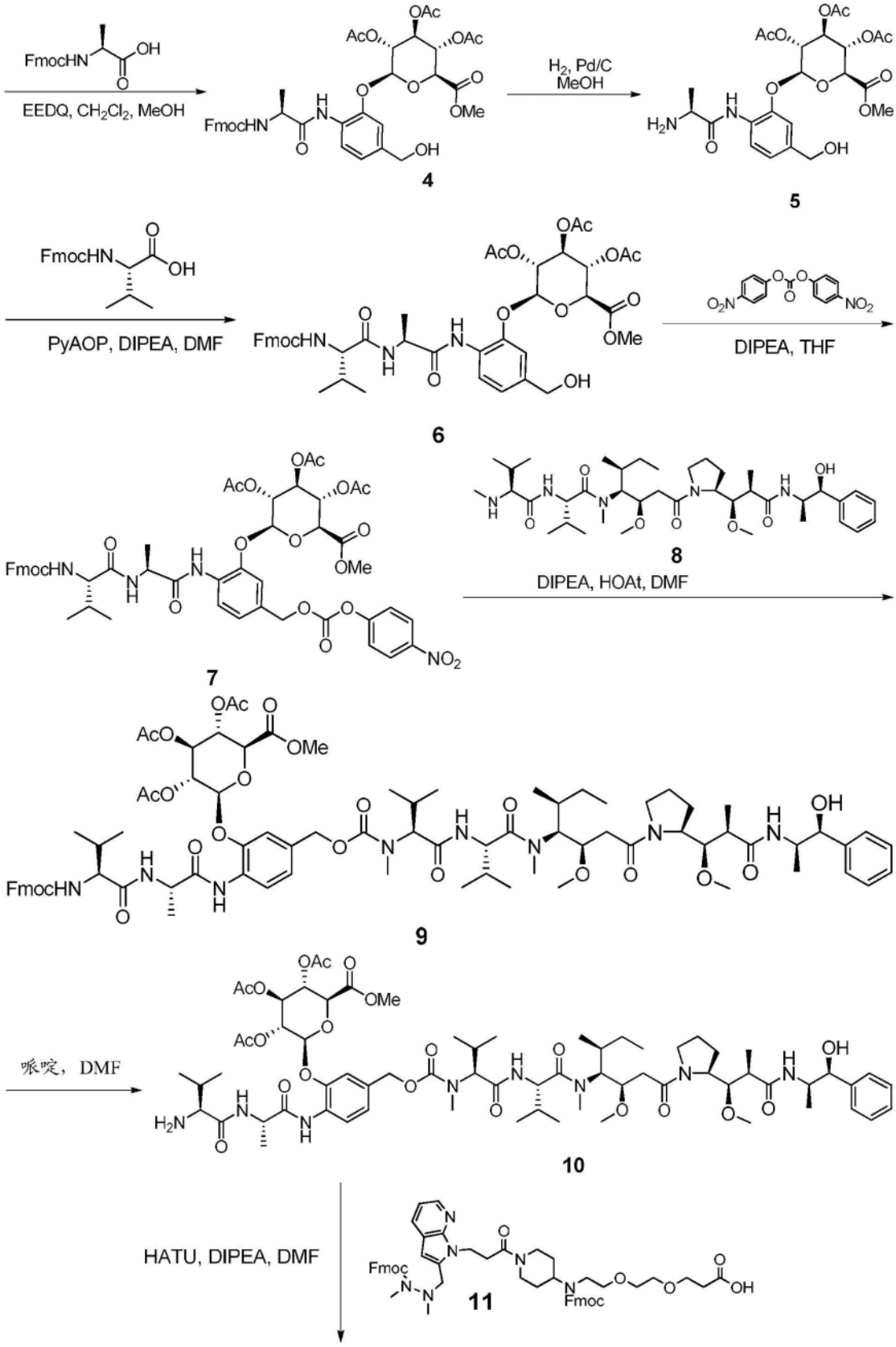
[0722] 合成MMAE构建物13

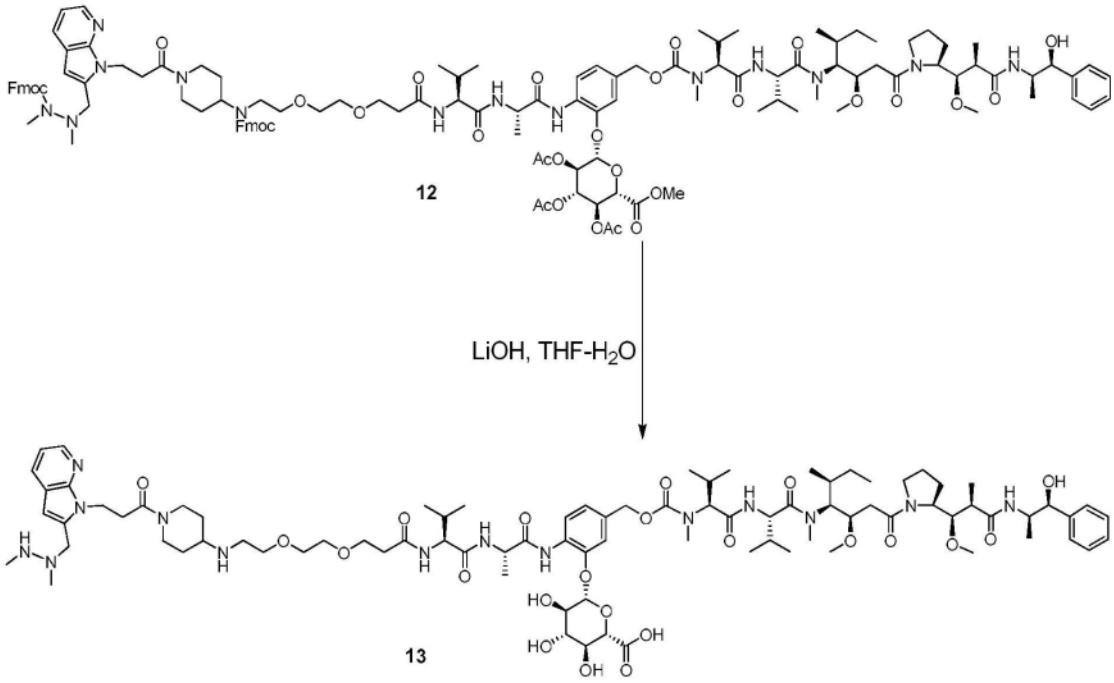
[0723] 依照下文所示方案1合成单甲基奥瑞司他汀E(MMAE)构建物。

[0724] 方案1



[0725]


FmocHN
OH
EEDQ, CH_2Cl_2, MeOH
AcO
OAc
OMe
4
H_2, Pd/C
MeOH
H_2N
5
PyAOP, DIPEA, DMF
6
DIPEA, THF
O_2N
NO_2
7
8
DIPEA, HOAt, DMF
9
哌啶，DMF
10
HATU, DIPEA, DMF
Fmoc
11

[0726] 

[0727] 制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-甲酰基-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(2)

[0728] 对乙酰溴-α-D-吡喃葡萄糖醛酸甲酯1(6.3g,15.9mmol)和3-羟基-4-硝基苯甲醛(0.9g,5.4mmol)在乙腈(100mL)中的溶液添加Ag_2O(10.0g,43.1mmol)。将反应混合物于室温在黑暗中搅动60小时。然后在真空下浓缩反应混合物,并使用柱层析(己烷/EtOAc,9:1至1:9v/v)纯化残余物以产生化合物2(2.1g,81%),为灰白色固体。

[0729] 计算:$[M+Na]^+$($C_{20}H_{21}NNaO_{13}$)m/z=506.1;发现ESI:$[M+Na]^+$($C_{20}H_{21}NNaO_{13}$)m/z=505.7。

[0730] 制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-氨基-5-(羟基甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(3)

[0731] 对化合物2(460mg,0.95mmol)在EtOAc(15mL)中的溶液添加Pd/C(10wt%,20mg)和三乙胺(20μL,0.14mmol)。然后排空烧瓶并自气球注入氢气,重复三个循环。在连接H_2气球的情况下,将反应于室温剧烈搅动24小时。经由硅藻土垫通过过滤去除催化剂之后,在真空下浓缩滤出液。在高真空下将残余物干燥1小时以得到白色固体(425mg,99%)。在没有进一步纯化的情况下将它直接用于下一步。

[0732] 计算:$[M+H]^+$($C_{20}H_{26}NO_{11}$)m/z=456.2;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{20}H_{26}NO_{11}$)m/z=455.6。

[0733] 制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-5-(羟基甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(4)

[0734] 对Fmoc-Ala-OH(400mg,1.29mmol)和粗制中间体3(425mg,0.93mmol)在DCM(0.9mL)和MeOH(0.1mL)中的混合物添加N-乙氧基羰基-2-乙氧基-1,2-二氢喹啉(EEDQ,390mg,1.58mmol)。将反应于室温搅动1小时。在真空下去除溶剂之后,使用柱层析(己烷/EtOAc,9:1至1:9v/v)纯化残余物以产生化合物4(0.64g,两步90%),为白色固体。

[0735] 计算:$[M+H]^+$($C_{38}H_{41}N_2O_{14}$)m/z=749.3;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{38}H_{41}N_2O_{14}$)m/z=748.7。

[0736] 制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-((S)-2-氨基丙酰胺基)-5-(羟基甲基)苯氧基)-6-

(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(5)

[0737] 对化合物4(640mg,0.86mmol)在MeOH(15mL)中的混合物添加Pd/C(10wt%,40mg)。然后排空烧瓶并自气球注入H_2气,重复三个循环。在连接H_2气球的情况下,将反应于室温剧烈搅动3天。经由硅藻土垫通过过滤去除催化剂之后,在真空下浓缩滤出液。通过反相层析纯化残余物,用乙腈-水(0.05% TFA,5-70%)作为洗脱液。合并含有期望化合物的级分并在真空下浓缩以产生化合物5(341mg,76%),为白色固体。

[0738] 计算:$[M+H]^+$($C_{23}H_{31}N_2O_{12}$)m/z=527.2;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{23}H_{31}N_2O_{12}$)m/z=526.8。

[0739] 制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-((S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-5-(羟基甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(6)

[0740] 对胺5(255mg,0.49mmol)和Fmoc-缬氨酸-OH(170mg,0.50mmol)在DMF(2mL)中的溶液添加DIPEA(0.15mL,0.86mmol)和PyAOP(260mg,0.50mmol)。将反应混合物于室温搅动1小时。用DCM(70mL)稀释混合物并用NH_4Cl饱和水溶液(50mL),水(50mL),和NaCl饱和水溶液(10mL)清洗。用$MgSO_4$干燥有机层,过滤,并蒸发。通过柱层析(已烷/EtOAc,1:9至9:1v/v)纯化残余物以产生化合物6(334mg,81%),为白色固体。

[0741] 计算:$[M+H]^+$($C_{43}H_{50}N_3O_{15}$)m/z=848.3;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{43}H_{50}N_3O_{15}$)m/z=848.3。

[0742] 制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-((S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-5-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(7)

[0743] 对苯甲醇6(334mg,0.39mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(240mg,0.79mmol)在THF(3mL)中的溶液添加DIPEA(0.1mL,0.57mmol)。将混合物于室温搅动24小时。在真空下去除溶剂之后,通过柱层析(已烷/EtOAc,1:9至9:1v/v)纯化残余物以产生化合物7(328mg,82%),为白色固体。

[0744] 计算:$[M+H]^+$($C_{50}H_{53}N_4O_{19}$)m/z=1013.3;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{50}H_{53}N_4O_{19}$)m/z=1013.3。制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-((S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-5-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙烷-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧乙基)-5,8-二异丙基-4,10-二甲基-3,6,9-三氧-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四烷基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(9)

[0745] 对PNP碳酸酯7(112mg,0.11mmol)和MMAE 8(130mg,0.16mmol)在DMF(1.5mL)中的溶液添加DIPEA(50uL,0.29mmol)和HOAt(15mg,0.11mmol)。将反应于室温搅动20小时。对混合物添加EtOAc(100mL)。用NH_4Cl饱和水溶液,水,和NaCl饱和水溶液清洗有机层。然后用$MgSO_4$干燥此溶液,过滤,并蒸发。通过柱层析(已烷/EtOAc,1:9至10:0v/v)纯化残余物以产生化合物9(81mg,46%),为白色固体。

[0746] 计算:$[M+H]^+$($C_{83}H_{115}N_8O_{23}$)m/z=1591.8;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{83}H_{115}N_8O_{23}$)m/z=1591.7。制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-5-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙烷-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧乙基)-5,8-二异丙基-4,10-二甲基-3,6,9-三氧-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四烷基)苯氧基)-6-(甲

氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(10)

[0747] 对MMAE构建物9(81mg,51μmol)在DMF(3mL)中的溶液缓慢添加哌啶(0.1mL,1.0mmol)。将反应于室温搅动30分钟。通过反相层析纯化残余物,用乙腈-水作为洗脱液(0.1%甲酸,5-100%)。合并含有期望化合物的级分并在真空下浓缩以产生化合物10(62mg,89%),为白色固体。

[0748] 计算:$[M+H]^+$($C_{68}H_{105}N_8O_{21}$)m/z=1369.7;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{68}H_{105}N_8O_{21}$)m/z=1369.6。制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-((15S,18S)-4-(1-(3-(2-((2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基肼基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)-1-(9H-芴-9-基)-15-异丙基-18-甲基-3,13,16-三氧-2,7,10-三氧杂-4,14,17-三氮杂十九酰胺基)-5-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙烷-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧乙基)-5,8-二异丙基-4,10-二甲基-3,6,9-三氧-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四烷基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(12)

[0749] 对MMAE-胺10(32mg,24μmol)和Fmoc-氮杂HIPS-PNH酸11(27mg,29μmol)在DMF(1mL)中的溶液添加DIPEA(10μL,57μmol)和HATU(11mg,29μmol)。将反应混合物于室温搅动1小时。用DCM(70mL)稀释混合物并用NH_4Cl饱和水溶液(50mL),水(50mL),和NaCl饱和水溶液(10mL)清洗。用$MgSO_4$干燥有机层,过滤,并蒸发。通过柱层析(己烷/EtOAc,1:9至9:1v/v)纯化残余物以产生化合物12(33mg,61%),为白色固体。

[0750] 计算:$[M+2H]^{2+}$($C_{123}H_{164}N_{14}O_{29}$)m/z=1150.6;发现ESI:$[M+2H]^{2+}$($C_{123}H_{164}N_{14}O_{29}$)m/z=1151.0。

[0751] 制备(2S,3S,4S,5R,6S)-6-(5-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙烷-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧乙基)-5,8-二异丙基-4,10-二甲基-3,6,9-三氧-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四烷基)-2-((2S,5S)-15-((1-(3-(2-((1,2-二甲基肼基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)氨基)-5-异丙基-2-甲基-4,7-二氧-10,13-二氧杂-3,6-二氮杂十五酰胺基)苯氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸(13)

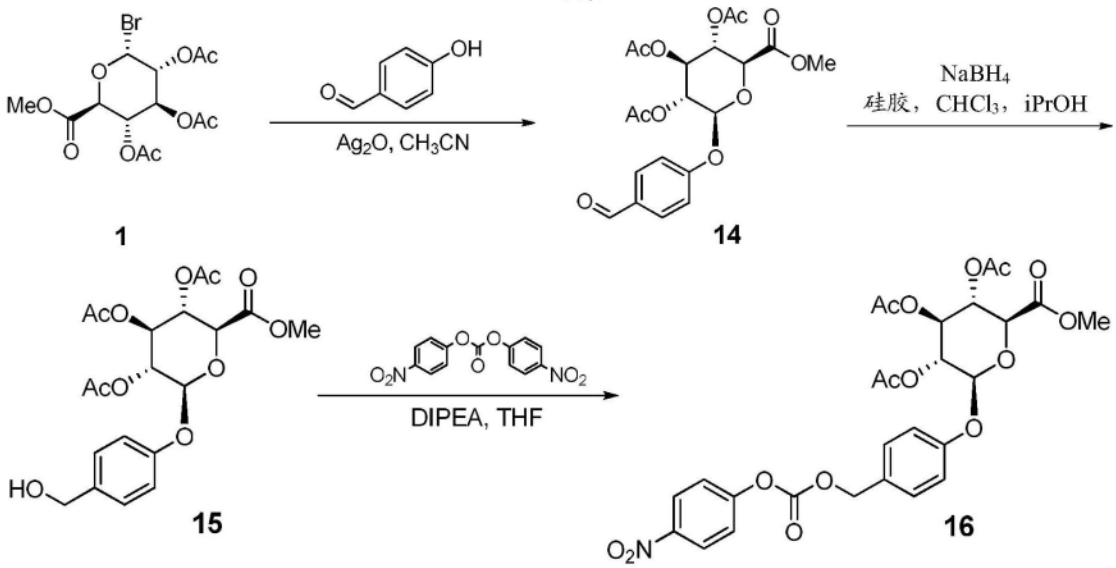
[0752] 于0℃对MMAE化合物12(33mg,14μmol)在THF(1mL)中的溶液添加LiOH(3mg)在水(0.25mL)中的溶液。将混合物于室温搅动1小时。通过添加乙酸(3μL,53μmol)来淬灭反应。去除有机溶剂之后,通过反相层析纯化残余物,用乙腈-水作为洗脱液(0.05% TFA,5-80%)。合并含有期望化合物的级分并在真空下浓缩以产生化合物13(13mg,52%),为白色固体。

[0753] 计算:$[M+H]^+$($C_{86}H_{135}N_{14}O_{22}$)m/z=1716.0;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{86}H_{135}N_{14}O_{22}$)m/z=1715.9。

[0754] 合成PNP中间体16

[0755] 依照下文所示方案2合成PNP中间体。

方案2



[0756]

[0757] 制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-甲酰基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(14)

[0758] 对乙酰溴-α-D-吡喃葡萄糖醛酸甲酯1(1.0g,2.5mmol)和4-羟基苯甲醛(0.15g,1.2mmol)在乙腈(20mL)中的混合物添加Ag_2O(1.4g,6.1mmol)。将反应混合物于室温在黑暗中搅动20小时。然后在真空下浓缩反应混合物,并使用柱层析(己烷/EtOAc,1:9至9:1v/v)纯化残余物以产生化合物14(0.52g,97%),为白色固体。

[0759] 计算:$[M+Na]^+$($C_{20}H_{22}NaO_{11}$)m/z=461.1;发现ESI:$[M+Na]^+$($C_{20}H_{22}NaO_{11}$)m/z=460.8。制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-(羟基甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(15)

[0760] 于0℃对醛14(0.175g,0.40mmol)在氯仿(1.45mL)和iPr-OH(0.36mL)中的溶液添加硅胶(0.041g)和$NaBH_4$(0.032g,0.85mmol)。将所得混合物温热至室温并搅动2小时。添加乙酸(0.05mL,0.87mmol)以淬灭反应。然后在真空下浓缩反应混合物,并使用柱层析(DCM/MeOH,0.1:9至1:9v/v)纯化残余物以产生化合物15(0.113g,70%),为白色固体。

[0761] 计算:$[M+Na]^+$($C_{20}H_{24}NaO_{11}$)m/z=463.1;发现ESI:$[M+Na]^+$($C_{20}H_{24}NaO_{11}$)m/z=462.8。制备(2S,3S,4S,5R,6S)-2-(甲氧基羰基)-6-(4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(16)

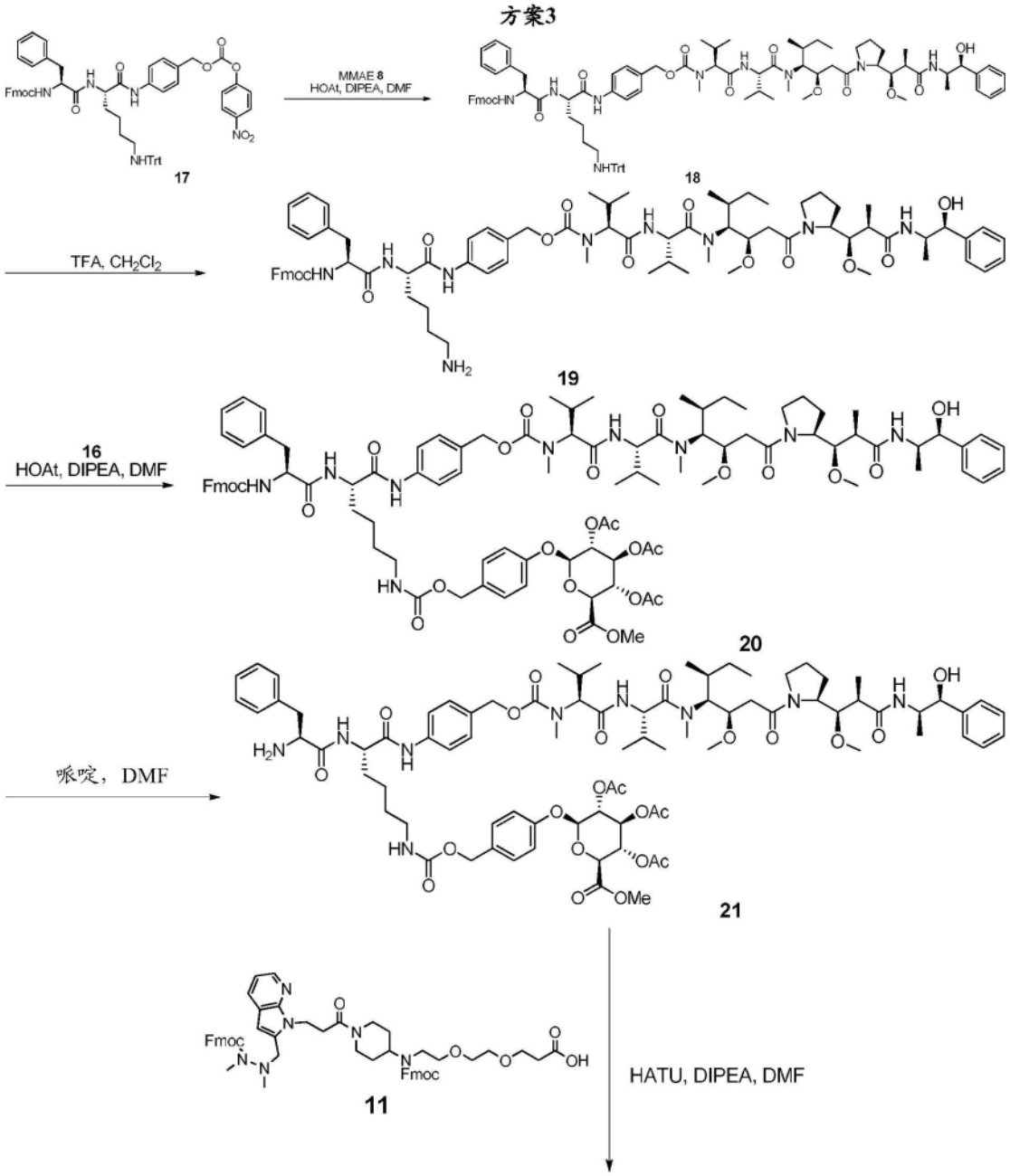
[0762] 在氩下对醇15(0.05g,0.11mmol)在无水THF(2.6mL)中的溶液添加双(4-硝基苯基)碳酸酯(0.076g,0.25mmol),继以DIPEA(0.06mL,0.35mmol)。容许反应于室温搅动18小时。反应混合物通过LCMS显示没有完全。添加另外的双(4-硝基苯基)碳酸酯(0.02g,0.07mmol)和DIPEA(0.005mL,0.03mmol)并容许反应再搅动2小时。然后在真空下浓缩反应混合物,并使用柱层析(己烷/EtOAc,1:9至1:1v/v)纯化残余物以产生化合物16(0.064g,93%),为白色固体。

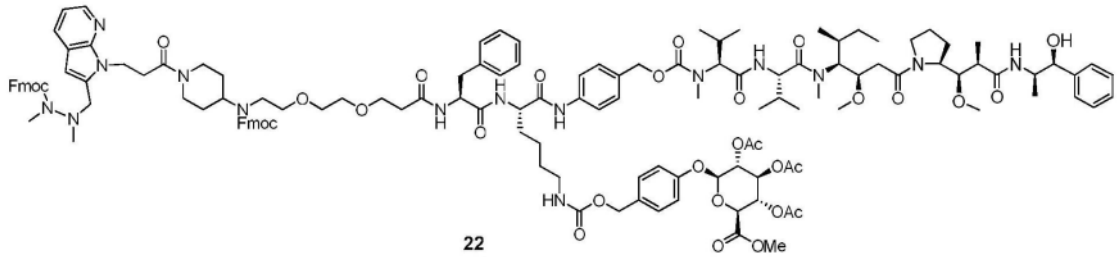
[0763] 计算:$[M+Na]^+$($C_{27}H_{27}NNaO_{15}$)m/z=628.1;发现ESI:$[M+Na]^+$($C_{27}H_{27}NNaO_{15}$)m/z=627.7。

[0764] 合成MMAE构建物23

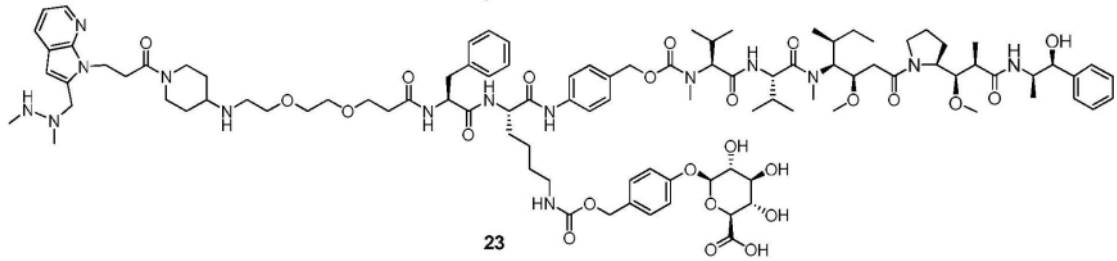
[0765] 依照下文所示方案3合成MMAE构建物。

[0766]


方案3
MMAE.8
HOAt, DIPEA, DMF
17
18
TFA, CH_2Cl_2
19
16
HOAt, DIPEA, DMF
20
哌啶，DMF
21
HATU, DIPEA, DMF
11



[0767] LiOH, THF-H_2O



[0768] 制备((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙烷-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧庚烷-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧丁烷-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧丁烷-2-基)(甲基)氨基甲酸4-((S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-苯基丙酰胺基)-6-(三苯甲基氨基)己酰胺基)苄酯(18)

[0769] 在氩下对PNP 17(0.048g,0.047mmol)和MMAE 8(0.05g,0.070mmol)在DMF(1.5mL)中的混合物添加DIPEA(0.032mL,0.18mmol)和HOAt(0.11mmol)。将反应混合物于室温搅动16小时。然后取得反应混合物直接使用反相柱层析(MeCN/H_2O,1:9至10:0v/v)纯化以产生化合物18(0.061g,82%),为白色固体。

[0770] 计算:$[M+H]^+$($C_{96}H_{120}N_9O_{13}$)m/z=1606.9;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{96}H_{120}N_9O_{13}$)m/z=1606.7。制备((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙烷-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧庚烷-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧丁烷-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧丁烷-2-基)(甲基)氨基甲酸4-((S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-苯基丙酰胺基)-6-氨基己酰胺基)苄酯(19)

[0771] 对MMAE衍生物18(0.061g,0.038mmol)在DCM(3.0mL)中的溶液添加三氟乙酸(0.30mL,3.9mmol)。容许反应于室温搅动6小时。然后在真空下浓缩反应混合物,并使用反相柱层析(MeCN/H_2O,洗脱液中有0.1%甲酸,1:9至10:0v/v)纯化残余物以产生化合物19(0.028g,54%),为白色固体。

[0772] 计算:$[M+H]^+$($C_{77}H_{106}N_9O_{13}$)m/z=1364.8;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{77}H_{106}N_9O_{13}$)m/z=1363.8。制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-((5S,8S)-5-苄基-8-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙烷-2-基)氨基)-

1-甲氧基-2-甲基-3-氧丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧乙基)-5,8-二异丙基-4,10-二甲基-3,6,9-三氧-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四烷基)苯基)氨甲酰基)-1-(9H-芴-9-基)-3,6,14-三氧-2,15-二氧杂-4,7,13-三氮杂十六烷-16-基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(20)

[0773] 在氩下对胺19(0.028g,0.020mmol)和PNP糖16(0.018g,0.030mmol)在DMF(1mL)中的溶液添加HOAt(8.3mg,0.061mmol)和DIPEA(0.014mL,0.080mmol)。将反应混合物于室温搅动16小时并在没有进一步纯化的情况下直接用于下一步。

[0774] 制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-(((((S)-5-((S)-2-氨基-3-苯基丙酰胺基)-6-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙烷-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧乙基)-5,8-二异丙基-4,10-二甲基-3,6,9-三氧-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四烷基)苯基)氨基)-6-氧己基)氨甲酰基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(21)

[0775] 对20在DMF中的溶液添加哌啶(0.014mL,0.14mmol)。将反应混合物于室温搅动1.5小时。然后取得反应混合物直接用于使用反相柱层析(MeCN/H_2O,洗脱液中有0.1%三氟乙酸,1:9至10:0v/v)纯化以产生化合物21(0.021g,65%),为白色固体。

[0776] 计算:$[M+H]^+$($C_{83}H_{118}N_9O_{23}$)m/z=1608.8;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{83}H_{118}N_9O_{23}$)m/z=1607.6。制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-((15S,18S)-4-(1-(3-(2-((2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基肼基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)-15-苄基-18-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙烷-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧乙基)-5,8-二异丙基-4,10-二甲基-3,6,9-三氧-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四烷基)苯基)氨甲酰基)-1-(9H-芴-9-基)-3,13,16,24-四氧-2,7,10,25-四氧杂-4,14,17,23-四氮杂二十六烷-26-基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(22)

[0777] 在氩下对胺21(0.020g,0.012mmol)和酸11(0.014g,0.015mmol)在DMF(1mL)中的溶液添加HATU(0.007g,0.018mmol)和DIPEA(0.009mL,0.052mmol)。将反应混合物于室温搅动16小时。然后取得反应混合物直接用于使用制备性HPLC(MeCN/H_2O,洗脱液中有0.05%三氟乙酸,1:9至9.5:0.5v/v)纯化以产生化合物22(0.011g,35%),为白色固体。

[0778] 计算:$[M+2H]^{2+}$($C_{138}H_{177}N_{15}O_{31}$)m/z=1270.1;发现ESI:$[M+2H]^{2+}$($C_{138}H_{177}N_{15}O_{31}$)m/z=1269.7。

[0779] 制备(2S,3S,4S,5R,6S)-6-(4-((9S,12S)-12-苄基-9-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙烷-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧乙基)-5,8-二异丙基-4,10-二甲基-3,6,9-三氧-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四烷基)苯基)氨甲酰基)-22-((1-(3-(2-((1,2-二甲基肼基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)氨基)-3,11,14-三氧-2,17,20-三氧杂-4,10,13-三氮杂二十二烷基)苯氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸(23)

[0780] 在冰上对化合物22(0.011g,0.004mmol)在THF(0.5mL)中的溶液添加1M LiOH(0.035mL,0.035mmol)。将反应混合物在冰上搅动2小时。添加另外的1M LiOH(0.035mL,

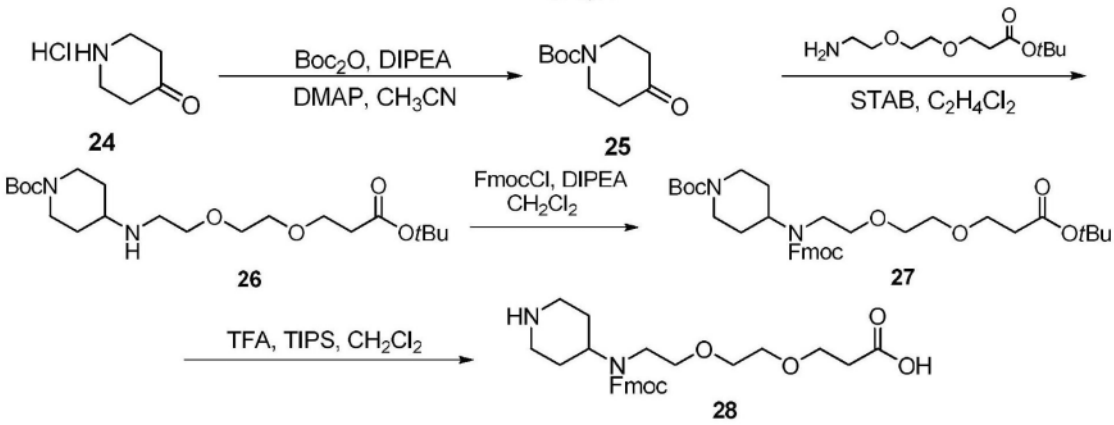
0.035mmol)并继续在冰上搅动2小时。然后在真空下浓缩反应混合物,并使用制备性HPLC(MeCN/H_2O,洗脱液中有0.05%三氟乙酸,0:10至7.5:2.5v/v)纯化残余物以产生化合物23(0.005g,58%),为白色固体。

[0781] 计算:$[M+2H]^{2+}$($C_{101}H_{149}N_{15}O_{24}$)m/z=978.1;发现ESI:$[M+2H]^{2+}$($C_{101}H_{149}N_{15}O_{24}$)m/z=977.8。

[0782] 合成中间体28

[0783] 依照下文所示方案4合成中间体。

方案4



[0784]

[0785] 制备4-氧哌啶-1-羧酸叔丁酯(25)

[0786] 对哌啶酮24(400mg,2.6mmol,1.0equiv),DIPEA(540μL,3.1mmol,1.2equiv),和Boc_2O(850mg,3.9mmol,1.5equiv)在CH_3CN(12mL)中的溶液添加DMAP(32mg,0.26mmol,0.10equiv)。搅动2小时之后,浓缩溶液并在DCM中重建。用0.1M HCl清洗溶液并在Na_2SO_4上干燥有机物,过滤并浓缩。获得产物25,为浅黄色固体并在没有进一步纯化的情况下使用(515mg,99%)。

[0787] 计算:$[M+H]^+$($C_{10}H_{17}NNaO_3$)m/z=222.1;发现ESI:$[M+H]^+C_{10}H_{17}NNaO_3$)m/z=223.0。制备4-((2-(2-(3-(叔丁氧基)-3-氧丙氧基)乙氧基)乙基)氨基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(26)

[0788] 对化合物25(515mg,2.7mmol,1.0equiv)和氨基-PEG2-叔丁酯(740mg,3.2mmol,1.2equiv)在DCE(12mL)中的溶液添加STAB(1.1g,5.4mmol,2.0equiv)。将混合物搅动过夜。浓缩溶液之后,在没有进一步纯化的情况下使用残余物。

[0789] 计算:$[M+H]^+$($C_{21}H_{41}N_2O_6$)m/z=417.3;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{21}H_{41}N_2O_6$)m/z=417.0。

[0790] 制备4-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)(2-(2-(3-(叔丁氧基)-3-氧丙氧基)乙氧基)乙基)氨基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(27)

[0791] 于0℃对化合物26(1.1g,2.7mmol,1.0equiv)和DIPEA(920μL,5.4mmol,2.0equiv)在DCM(10mL)中的粗制混合物添加FmocCl(1.4g,2.0equiv)。容许混合物温热至室温并搅动2小时。之后,用饱和$NaHCO_3$清洗混合物。在Na_2SO_4上干燥有机物,过滤,并浓缩。通过急骤层析(已烷/EtOAc,1:9至1:1v/v)纯化粗制产物以给出化合物27,为清油(1.6g,三步98%)。

[0792] 计算:$[M+Na]^+$($C_{36}H_{50}N_2NaO_8$)m/z=661.3;发现ESI:$[M+Na]^+$($C_{36}H_{50}N_2NaO_8$)m/z=660.9。

[0793] 制备1-(9H-芴-9-基)-3-氧-4-(哌啶-4-基)-2,7,10-三氧杂-4-氮杂十三烷-13-酸叔丁酯(28)

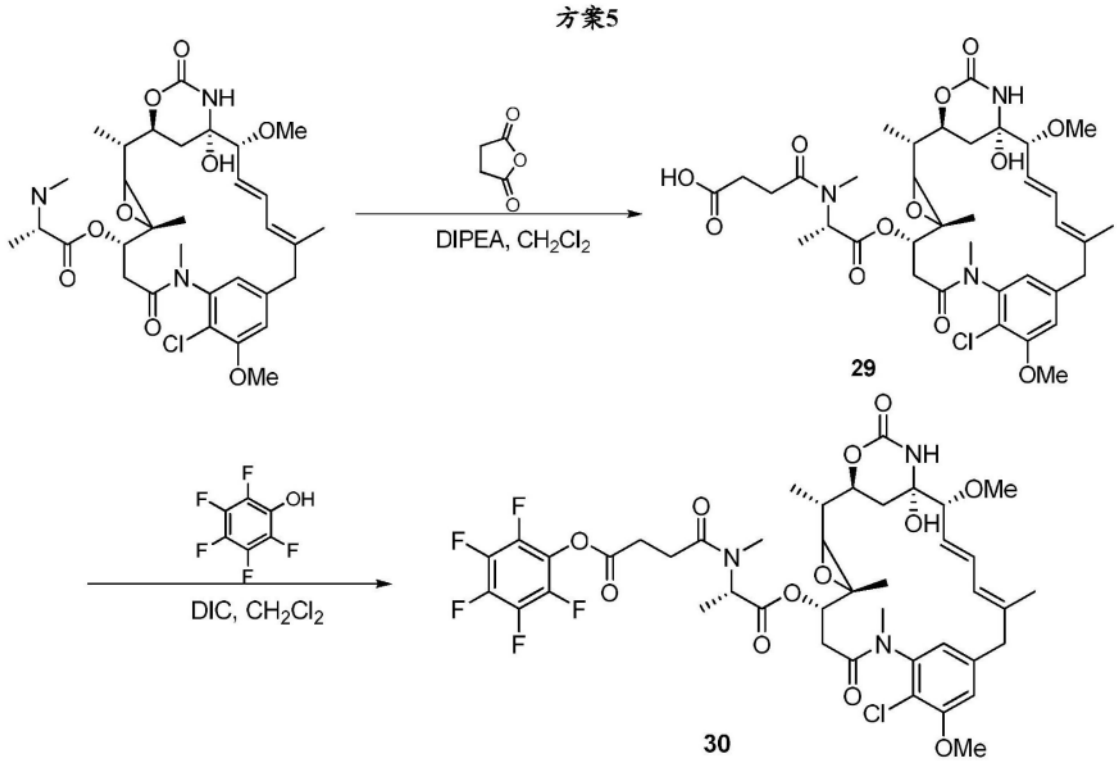
[0794] 对化合物27(1.6g,2.7mmol)和TIPS(600μL)在DCM(6mL)中的溶液添加TFA(6mL)。搅动1小时之后,浓缩溶液并通过反相层析纯化,用乙腈-水(0.05% TFA,10-70%)作为洗脱液。获得产物28,为白色固体(800mg,68%)。

[0795] 计算:$[M+H]^+$($C_{27}H_{35}N_2O_6$)m/z=483.2;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{27}H_{35}N_2O_6$)m/z=482.9。

[0796] 合成中间体30

[0797] 依照下文所示方案5合成中间体。

[0798] 方案5



[0799] 制备3-{[(2S)-1-{[(1S,2R,5R,6S,16E,18E,20R,21S)-11-氯-21-羟基-12,20-二甲氧基-2,5,9,16-四甲基-8,23-二氧-4,24-二氧杂-9,22-二氮杂四环[19.3.1.110,14.03,5]二十六碳-10,12,14(26),16,18-五烯-6-基]氧基}-1-氧丙烷-2-基](甲基)氨甲酰基}丙酸(29)

[0800] 对美登木素(180mg,0.28mmol,1.0equiv)和琥珀酸酐(33mg,0.33mmol,1.2equiv)在DCM(8mL)中的溶液添加DIPEA(96μL,0.55mmol,2.0equiv)。搅动过夜之后,浓缩溶液并通过急骤层析(DCM/MeOH,100:0至10:1v/v)纯化。获得产物29,为白色固体(191mg,92%)。

[0801] 计算:$[M+H]^+$($C_{36}H_{49}ClN_3O_{12}$)m/z=750.3;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{36}H_{49}ClN_3O_{12}$)m/z=749.8。制备3-{[(2S)-1-{[(1S,2R,5R,6S,16E,18E,20R,21S)-11-氯-2-羟基-12,20-二甲氧基-2,5,9,16-四甲基-8,23-二氧-4,24-二氧杂-9,22-二氮杂四环[19.3.1.110,14.03,5]二十六碳-10,12,14(26),16,18-五烯-6-基]氧基}-1-氧丙烷-2-基](甲基)氨甲酰基}丙酸2,3,4,5,6-五氟苯酯(30)

[0802] 对化合物29(160mg,0.21mmol,1.5equiv)和全氟苯酚(60mg,0.33mmol,1.3equiv)在DCM(3mL)中的溶液添加DIC(35mg,0.28mmol,1.3equiv)。搅动过夜之后,过滤溶液,浓缩并通过急骤层析(DCM/MeOH,100:0至24:1v/v)纯化。获得产物30,为白色固体(190mg,97%)。

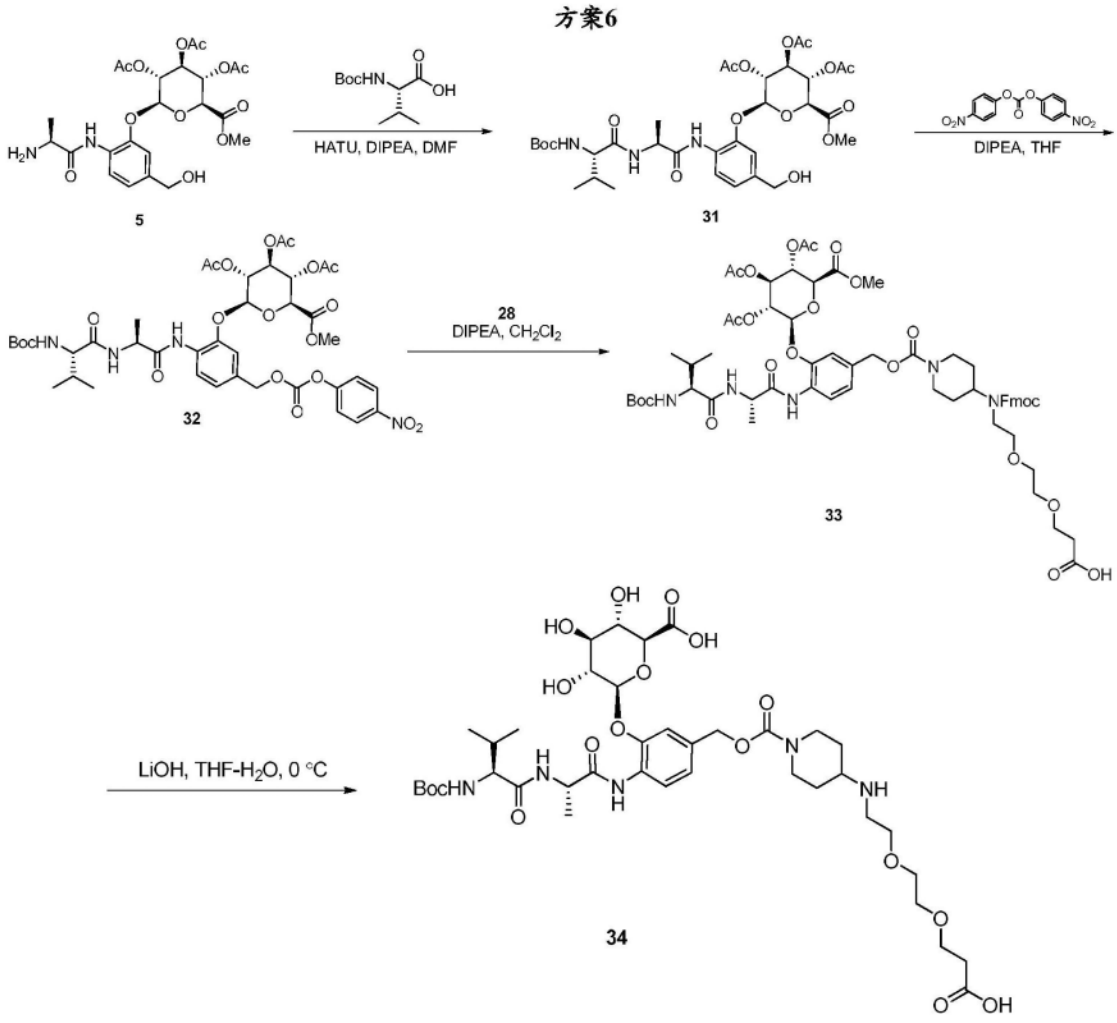
[0803] 计算:$[M+H]^+$($C_{42}H_{48}ClF_5N_3O_{12}$)m/z=916.3;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{42}H_{48}ClF_5N_3O_{12}$)m/z=

915.7。

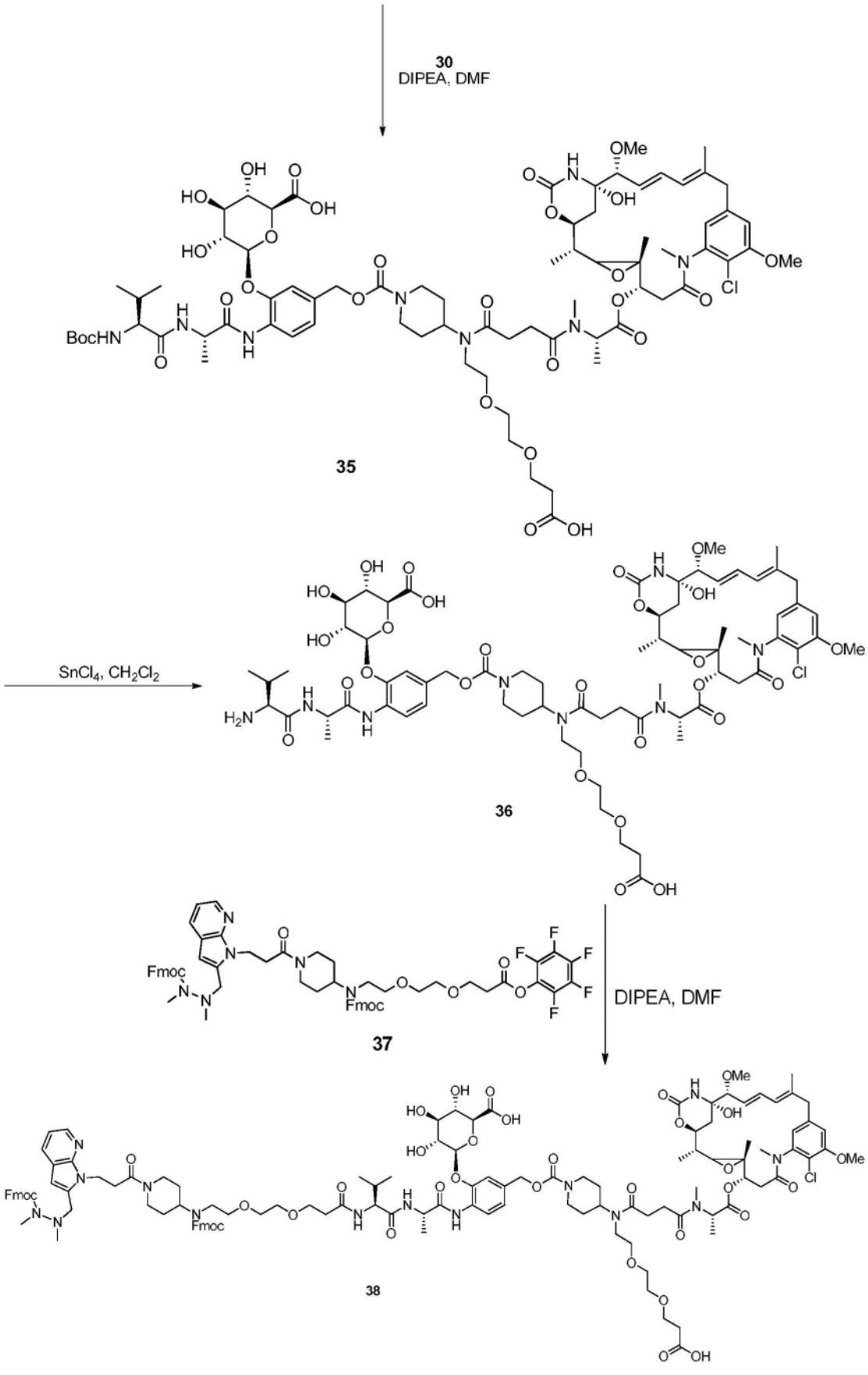
[0804] 合成美登木素构建物39

[0805] 依照下文所示方案6合成美登木素构建物。

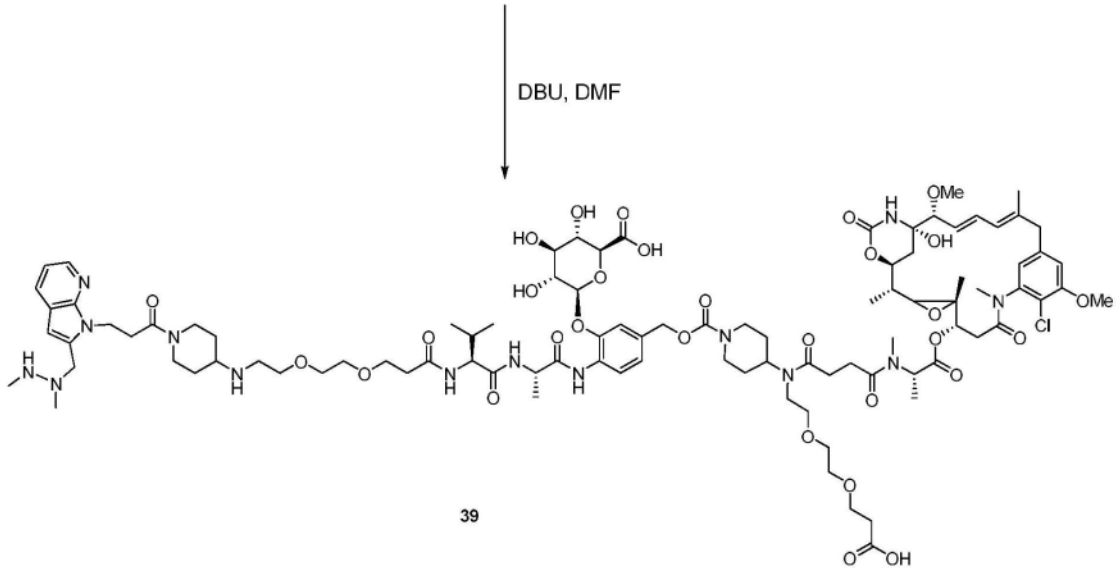
方案6



[0806]



[0807]

[0808] 

[0809] 制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-5-(羟基甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(31)

[0810] 对胺5(341mg,0.65mmol)和Boc-缬氨酸-OH(169mg,0.78mmol)在DMF(2.0mL)中的溶液添加DIPEA(0.35mL,2.0mmol)和HATU(380mg,1.0mmol)。通过反相层析纯化残余物,用乙腈-水(0.05% TFA,5-90%)作为洗脱液。合并含有期望化合物的级分并冻干以产生化合物31(386mg,82%),为白色固体。

[0811] 计算:$[M+H]^+$($C_{33}H_{48}N_3O_{15}$)m/z=726.3;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{33}H_{48}N_3O_{15}$)m/z=726.1。

[0812] 制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-5-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(32)

[0813] 对化合物31(81mg,0.11mmol,1.0equiv)和双-p-硝基苯酚碳酸酯(140mg,0.67mmol,6.0equiv)在THF(1.5mL)中的溶液添加DIPEA(120μL,0.67mmol,6.0equiv)。搅动过夜之后,浓缩溶液并通过急骤层析(DCM/MeOH,100:0至93:7v/v)纯化。获得产物32,为白色固体(101mg,定量的)。

[0814] 计算:$[M+Na]^+$($C_{40}H_{50}N_4NaO_{19}$)m/z=913.3;发现ESI:$[M+Na]^+$($C_{40}H_{50}N_4NaO_{19}$)m/z=912.7。

[0815] 制备4-(1-(((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-3-(((2S,3R,4S,5S,6S)-3,4,5-三乙酰氧基-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)哌啶-4-基)-1-(9H-芴-9-基)-3-氧-2,7,10-三氧杂-4-氮杂十三烷-13-酸(33)

[0816] 对化合物32(140mg,0.16mmol,1.0equiv)和28(110mg,0.17mmol,1.5equiv)在DCM(5mL)中的溶液添加DIPEA(100μL,0.59mmol,3.8equiv)。搅动过夜之后,浓缩溶液并通过反相层析纯化,用乙腈-水作为洗脱液(0.05% TFA,50-80%)。获得产物33,为白色固体(110mg,53%)。

[0817] 计算:$[M+Na]^+$($C_{61}H_{79}N_5NaO_{22}$)m/z=1256.5;发现ESI:$[M+Na]^+$($C_{61}H_{79}N_5NaO_{22}$)m/z=1256.7。

[0818] 制备(2S,3S,4S,5R,6S)-6-(2-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-5-(((4-((2-(2-(2-羧基乙氧基)乙氧基)乙基)氨基)哌啶-1-羰基)氧基)甲基)苯氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸(34)

[0819] 于0℃对化合物33(110mg,0.089mmol)在THF(2mL)中的溶液添加1M LiOH(1.4mL)。容许混合物温热至室温并搅动2小时。之后,浓缩混合物以去除THF并通过反相层析纯化,用乙腈-水作为洗脱液(0.05% TFA,0-45%)以给出化合物34,为白色固体(68mg,87%)。

[0820] 计算:$[M+H]^+$($C_{39}H_{62}N_5O_{17}$)m/z=872.4;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{39}H_{62}N_5O_{17}$)m/z=871.8。

[0821] 制备(2S,3S,4S,5R,6S)-6-{2-[(2S)-2-[(2S)-2-{[(叔丁氧基)羰基]氨基}-3-甲基丁酰胺基]丙酰胺基]-5-{[4-(N-{2-[2-(2-羧基乙氧基)乙氧基]乙基}-3-{[(2S)-1-{[(1S,2R,5R,6S,16E,18E,20R,21S)-11-氯-21-羟基-12,20-二甲氧基-2,5,9,16-四甲基-8,23-二氧-4,24-二氧杂-9,22-二氮杂四环[19.3.1.110,14.03,5]二十六碳-10,12,14(26),16,18-五烯-6-基]氧基}-1-氧丙烷-2-基](甲基)氨甲酰基}丙酰胺基)哌啶-1-羰基氧基]甲基}苯氧基}-3,4,5-三羟基氧烷-2-羧酸(35)

[0822] 对化合物34(18mg,0.021mmol,1.0equiv)和30(29mg,0.033mmol,1.5equiv)在DMF(0.6mL)中的溶液添加DIPEA(30μL,0.18mmol,8.6equiv)。搅动过夜之后,浓缩溶液并通过反相层析纯化,用乙腈-水作为洗脱液(0.05% TFA,10-95%)。获得白色固体产物35,为与化合物29的混合物(3:2化合物29对化合物35,20mg,36%产率)。

[0823] 计算:$[M+Na]^+$($C_{75}H_{107}ClN_5NaO_{28}$)m/z=1625.7;发现ESI:$[M+Na]^+$($C_{75}H_{107}ClN_5NaO_{28}$)m/z=1624.6。

[0824] 制备(2S,3S,4S,5R,6S)-6-{2-[(2S)-2-[(2S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基]丙酰胺基]-5-{[4-(N-{2-[2-(2-羧基乙氧基)乙氧基]乙基}-3-{[(2S)-1-{[(1S,2R,5R,6S,16E,18E,20R,21S)-11-氯-21-羟基-12,20-二甲氧基-2,5,9,16-四甲基-8,23-二氧-4,24-二氧杂-9,22-二氮杂四环[19.3.1.110,14.03,5]二十六碳-10,12,14(26),16,18-五烯-6-基]氧基}-1-氧丙烷-2-基](甲基)氨甲酰基}丙酰胺基)哌啶-1-羰基氧基]甲基}苯氧基}-3,4,5-三羟基氧烷-2-羧酸(36)

[0825] 对化合物35(12mg,7.5μmol,1.0equiv)在DCM(2mL)中的溶液添加DCM(100μL,13equiv)中的1M $SnCl_4$。搅动20分钟之后,用CH_3CN和H_2O淬灭溶液,浓缩以去除DCM,并通过反相层析纯化,用乙腈-水作为洗脱液(0.05% TFA,2-60%)。获得产物36,为白色固体(5mg,44%产率)。

[0826] 计算:$[M+2H]^{2+}$($C_{70}H_{101}ClN_8O_{26}$)m/z=752.3;发现ESI:$[M+2H]^{2+}C_{70}H_{101}ClN_8O_{26}$)m/z=752.0。

[0827] 制备(2S,3S,4S,5R,6S)-6-(5-{[4-(N-{2-[2-(2-羧基乙氧基)乙氧基]乙基}-3-{[(2S)-1-{[(1S,2R,5R,6S,16E,18E,20R,21S)-11-氯-21-羟基-12,20-二甲氧基-2,5,9,16-四甲基-8,23-二氧-4,24-二氧杂-9,22-二氮杂四环[19.3.1.110,14.03,5]二十六碳-10,12,14(26),16,18-五烯-6-基]氧基}-1-氧丙烷-2-基](甲基)氨甲酰基}丙酰胺基)哌啶-1-羰基氧基]甲基}-2-[(2S)-2-[(2S)-2-(3-{2-[2-({[(9H-芴-9-基)甲氧基]羰基}({1-[3-(2-{[({[(9H-芴-9-基)甲氧基]羰基}(甲基)氨基)(甲基)氨基]甲基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)丙酰基]哌啶-4-基})氨基)乙氧基]乙氧基}丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基]丙酰胺基]苯氧基)-3,4,5-三羟基氧烷-2-羧酸(38)

[0828] 对化合物36(5mg,3.3μmol,1.0equiv)和37(10mg,9.0μmol,2.7equiv)在DMF(0.15mL)中的溶液添加DIPEA(1.5μL,8.7μmol,2.6equiv)。搅动过夜之后,通过反相层析纯化溶液,用乙腈-水作为洗脱液(0.05% TFA,10-90%)。白色固体产物38是半纯的,有水解化合物37(6mg,81%产率)。

[0829] 计算:$[M+2H]^{2+}$($C_{125}H_{159}ClN_{14}O_{34}$)m/z=1217.5;发现ESI:$[M+2H]^{2+}$($C_{125}H_{159}ClN_{14}O_{34}$)m/z=1217.3。

[0830] 制备(2S,3S,4S,5R,6S)-6-(5-{[4-(N-{2-[2-(2-羧基乙氧基)乙氧基]乙基}-3-{[(2S)-1-{[(1S,2R,5R,6S,16E,18E,20R,21S)-11-氯-21-羟基-12,20-二甲氧基-2,5,9,16-四甲基-8,23-二氧-4,24-二氧杂-9,22-二氮杂四环[19.3.1.110,14.03,5]二十六碳-10,12,14(26),16,18-五烯-6-基]氧基}-1-氧丙烷-2-基](甲基)氨甲酰基}丙酰胺基)哌啶-1-羰基氧基]甲基}-2-[(2S)-2-[(2S)-2-{3-[2-(2-{[1-(3-{2-[(1,2-二甲基肼-1-基)甲基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基}丙酰基)哌啶-4-基]氨基}乙氧基)乙氧基]丙酰胺基}-3-甲基丁酰胺基]丙酰胺基]苯氧基)-3,4,5-三羟基氧烷-2-羧酸(39)

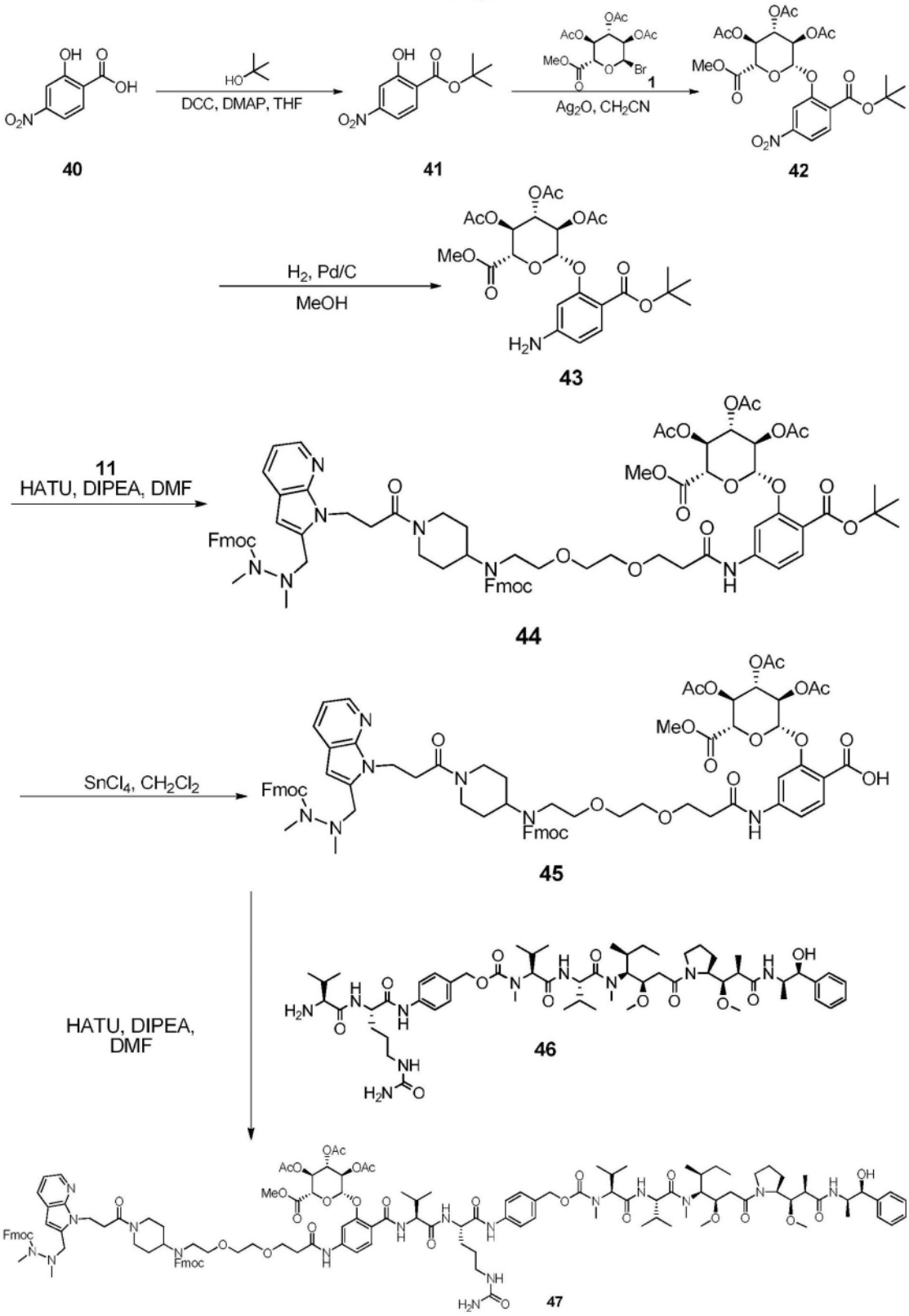
[0831] 对化合物38(6mg,2.7μmol)在DMA(600μL)中的溶液添加DBU(6μL,40μmol)。搅动15分钟之后,通过反相层析纯化溶液,用乙腈-水作为洗脱液(0.05% TFA,10-90%)。获得产物39,为白色固体(3mg,61%产率)。

[0832] 计算:$[M+2H]^{2+}$($C_{95}H_{159}ClN_{14}O_{30}$)m/z=995.5;发现ESI:$[M+2H]^{2+}$($C_{95}H_{159}ClN_{14}O_{30}$)m/z=995.0。

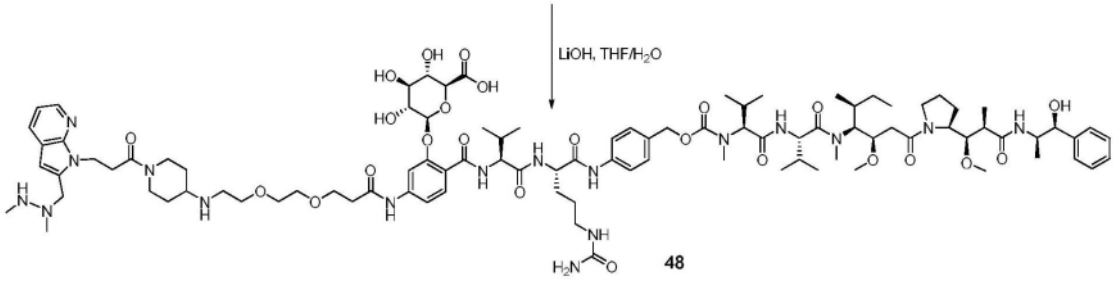
[0833] 合成MMAE构建物48

[0834] 依照下文所示方案7合成MMAE构建物。

方案7


DCC, DMAP, THF
Ag2O, CH2CN
H2, Pd/C
MeOH
11
HATU, DIPEA, DMF
SnCl4, CH2Cl2
HATU, DIPEA,
DMF
40
41
42
43
44
45
46
47

[0835]

[0836] 

[0837] 制备2-羟基-4-硝基苯甲酸叔丁酯(41)

[0838] 对苯甲酸40(2.07g,11.3mmol)在THF(10mL)中的溶液添加叔丁醇(10mL,105.4mmol),DMAP(1.2g,9.8mmol),和DCC(2.5g,12.1mmol)。将所得混合物于室温搅动20小时。用EtOAc(200mL)稀释混合物并用NH_4Cl饱和水溶液(100mL),水(100mL),$NaHCO_3$饱和水溶液(100mL),水(100mL),和NaCl饱和水溶液(20mL)清洗。用$MgSO_4$干燥有机层,过滤,并蒸发。通过柱层析(己烷/EtOAc,1:9至9:1v/v)纯化残余物以产生化合物41(2.35g,87%),为黄色油。

[0839] 计算:$[M+H]^+$($C_{11}H_{14}NO_5$)m/z=240.1;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{11}H_{14}NO_5$)m/z=240.5。

[0840] 制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-(叔丁氧基羰基)-5-硝基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(42)

[0841] 对乙酰溴-α-D-吡喃葡萄糖醛酸甲酯1(1.32g,3.3mmol)和苯醇41(434mg,1.8mmol)在乙腈(10mL)中的混合物添加Ag_2O(1.0g,4.3mmol)。将反应混合物于室温在黑暗中搅动2天。然后在真空下浓缩反应混合物,并使用柱层析(己烷/EtOAc,1:9至9:1v/v)纯化残余物以产生化合物42(495mg,49%),为灰白色固体。

[0842] 计算:$[M+H]^+$($C_{24}H_{30}NO_{14}$)m/z=556.2;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{24}H_{30}NO_{14}$)m/z=556.2。

[0843] 制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-氨基-2-(叔丁氧基羰基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(43)

[0844] 对硝基化合物42(495mg,0.89mmol)在MeOH(5mL)中的溶液添加Pd/C(10wt%,200mg)。然后排空烧瓶并自气球注入H_2气,重复两个循环。在连接H_2气球的情况下,将反应于室温剧烈搅动3天。经由硅藻土垫通过过滤去除催化剂之后,在真空下浓缩滤出液以产生化合物43(420mg,96%),为油。在没有进一步纯化的情况下将粗品直接用于下一步。

[0845] 计算:$[M+H]^+$($C_{24}H_{32}NO_{12}$)m/z=526.2;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{24}H_{32}NO_{12}$)m/z=526.7。

[0846] 制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-(4-(1-(3-(2-((2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基肼基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)-1-(9H-芴-9-基)-3-氧-2,7,10-三氧杂-4-氮杂十三烷酰胺基)-2-(叔丁氧基羰基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(44)

[0847] 对苯胺43(35mg,66.7μmol)在DMF(1mL)中的溶液添加化合物11(57mg,60.2μmol),DIPEA(32μL,0.18mmol),和HATU(23mg,60.5μmol)。将所得混合物于室温搅动1小时。通过反相层析纯化粗品,用乙腈-水(0.05% TFA,5-85%)作为洗脱液。合并含有期望化合物的级分并在真空下浓缩以产生化合物44(49mg,56%),为白色固体。

[0848] 计算:$[M+H]^+$($C_{79}H_{90}N_7O_{20}$)m/z=1456.6;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{79}H_{90}N_7O_{20}$)m/z=1457.3。制备4-(4-(1-(3-(2-((2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基肼基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)-1-(9H-芴-9-基)-3-氧-2,7,10-三氧

杂-4-氮杂十三烷酰胺基)-2-(((2S,3R,4S,5S,6S)-3,4,5-三乙酰氧基-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯甲酸(45)

[0849] 于0℃对化合物44(49mg,33.7μmol)在DCM(0.5mL)中的溶液添加DCM中的$SnCl_4$(1M,0.34mL,0.34mmol)。搅动30分钟之后,通过添加H_2O(0.1mL)和CH_3CN(0.2mL)来淬灭反应。然后在真空下浓缩混合物,并通过反相层析纯化残余物,用乙腈-水作为洗脱液(0.05%TFA,5-75%)。合并含有期望化合物的级分并在真空下浓缩以产生化合物45(40mg,85%),为油。

[0850] 计算:$[M+H]^+$($C_{75}H_{82}N_7O_{20}$)m/z=1400.6;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{75}H_{82}N_7O_{20}$)m/z=1400.4。制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-(4-(1-(3-(2-((2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基肼基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)-1-(9H-芴-9-基)-3-氧-2,7,10-三氧杂-4-氮杂十三烷酰胺基)-2-(((S)-1-(((S)-1-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙烷-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧乙基)-5,8-二异丙基-4,10-二甲基-3,6,9-三氧-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四烷基)苯基)氨基)-1-氧-5-脲基戊烷-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧丁烷-2-基)氨甲酰基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(47)

[0851] 对羧酸45(15mg,10.7μmol)在DMF(75μL)中的溶液添加DMA(50μL)中的MMAE化合物46(12mg,10.7μmol),DIPEA(6μL,34.4μmol)和HATU(5mg,13.2μmol)。将反应混合物于室温搅动1小时。通过制备性HPLC纯化粗品,使用乙腈-水作为流动相(0.05% TFA,5-90%)。合并含有期望化合物的级分并冻干以产生化合物47(5.2mg,19%),为白色固体。

[0852] 计算:$[M+2H]^{2+}$($C_{133}H_{175}N_{17}O_{31}$)m/z=1253.1;发现ESI:$[M+2H]^{2+}$($C_{133}H_{175}N_{17}O_{31}$)m/z=1253.6。

[0853] 制备(2S,3S,4S,5R,6S)-6-(2-(((S)-1-(((S)-1-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙烷-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧乙基)-5,8-二异丙基-4,10-二甲基-3,6,9-三氧-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四烷基)苯基)氨基)-1-氧-5-脲基戊烷-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧丁烷-2-基)氨甲酰基)-5-(3-(2-(2-((1-(3-(2-((1,2-二甲基肼基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)氨基)乙氧基)乙氧基)丙酰胺基)苯氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸(48)

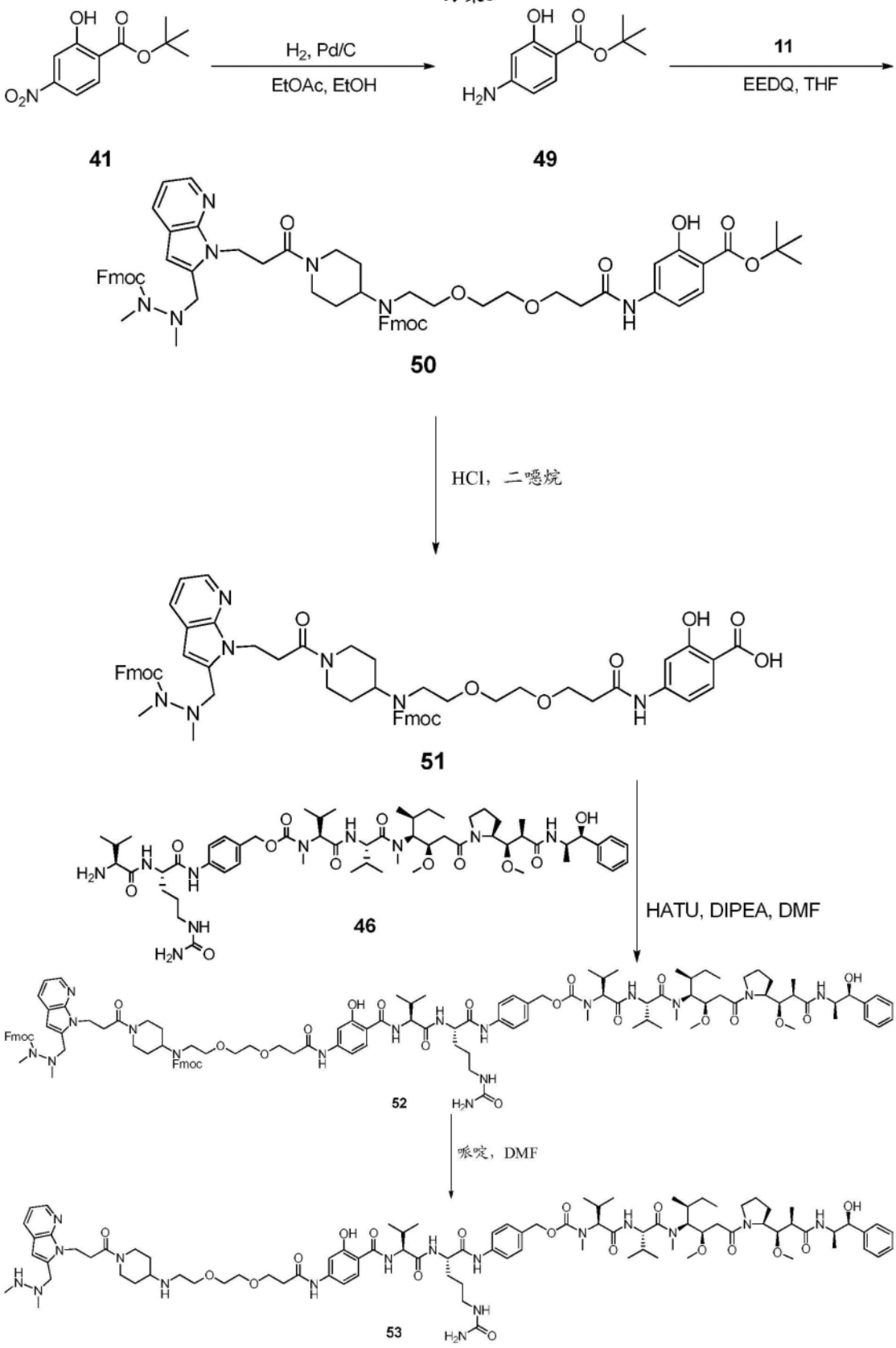
[0854] 于0℃对化合物47(5.2mg,2.1μmol)在THF(0.2mL)中的溶液缓慢添加LiOH溶液(1.0mg,在0.1mL H_2O中)。将所得混合物于室温搅动2小时。通过制备性HPLC纯化粗品,使用乙腈-水作为流动相(0.05% TFA,5-75%)。合并含有期望化合物的级分并冻干以产生MMAE构建物48(2.5mg,63%),为白色固体。

[0855] 计算:$[M+2H]^{2+}$($C_{96}H_{147}N_{17}O_{24}$)m/z=961.1;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{96}H_{147}N_{17}O_{24}$)m/z=961.1。

[0856] 合成MMAE构建物53

[0857] 依照下文所示方案8合成MMAE构建物。

方案8



[0858]

[0859]

[0860] 制备4-氨基-2-羟基苯甲酸叔丁酯(49)

[0861] 对硝基化合物41(485mg,2.03mol)在EtOAc(4mL)和EtOH(4mL)中的溶液添加Pd/C(10wt%,200mg)。然后排空烧瓶并自气球注入H_2气,重复两个循环。在连接H_2气球的情况下,

将反应于室温剧烈搅动2天。经由硅藻土垫通过过滤去除催化剂之后,在真空下浓缩滤出液以产生化合物49(418mg,98%),为油。在没有进一步纯化的情况下将粗品直接用于下一步。

[0862] 计算:$[M+H]^+$($C_{11}H_{16}NO_3$)m/z=210.1;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{11}H_{16}NO_3$)m/z=210.1。

[0863] 制备2-((1-(3-(4-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)(2-(2-(3-((4-(叔丁氧基羰基)-3-羟基苯基)氨基)-3-氧丙氧基)乙氧基)乙基)氨基)哌啶-1-基)-3-氧丙基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-基)甲基)-1,2-二甲基肼羧酸(9H-芴-9-基)甲酯(50)

[0864] 对苯胺49(15.7mg,75.1μmol)和11(47mg,49.6μmol)在THF(0.5mL)中的溶液添加N-乙氧基羰基-2-乙氧基-1,2-二氢喹啉(EEDQ,25mg,101.2μmol)。将所得混合物于室温搅动1小时。通过反相层析纯化粗品,用乙腈-水作为洗脱液(0.05% TFA,5-85%)。合并含有期望化合物的级分并在真空下浓缩以产生化合物50(17.4mg,31%),为白色固体。

[0865] 计算:$[M+H]^+$($C_{66}H_{74}N_7O_{11}$)m/z=1140.5;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{66}H_{74}N_7O_{11}$)m/z=1140.4。制备4-(4-(1-(3-(2-((2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基肼基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)-1-(9H-芴-9-基)-3-氧-2,7,10-三氧杂-4-氮杂十三烷酰胺基)-2-羟基苯甲酸(51)

[0866] 于0℃对化合物50(17.4mg,15.3μmol)在二噁烷(0.1mL)中的溶液添加二噁烷中的HCl(4M,0.1mL,0.4mmol)。将反应混合物于室温搅动1小时。通过反相层析纯化粗品,用乙腈-水作为洗脱液(0.05% TFA,5-85%)。合并含有期望化合物的级分并在真空下浓缩以产生化合物51(8.5mg,51%),为黄色油。

[0867] 计算:$[M+H]^+$($C_{62}H_{66}N_7O_{11}$)m/z=1084.5;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{62}H_{66}N_7O_{11}$)m/z=1084.4。制备2-((1-(3-(4-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)(2-(2-(3-((4-(((S)-1-(((S)-1-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙烷-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧乙基)-5,8-二异丙基-4,10-二甲基-3,6,9-三氧-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四烷基)苯基)氨基)-1-氧-5-脲基戊烷-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧丁烷-2-基)氨甲酰基)-3-羟基苯基)氨基)-3-氧丙氧基)乙氧基)乙基)氨基)哌啶-1-基)-3-氧丙基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-基)甲基)-1,2-二甲基肼羧酸(9H-芴-9-基)甲酯(52)

[0868] 对羧酸51(11.6mg,10.7μmol)在DMF(50μL)中的溶液添加MMAE化合物46(12mg,10.7μmol),DIPEA(6μL,34.4μmol)和HATU(5mg,13.2μmol)。将反应混合物于室温搅动1小时。通过制备性HPLC纯化粗品,使用乙腈-水作为流动相(0.05% TFA,5-90%)。合并含有期望化合物的级分并冻干以产生化合物52(2.8mg,12%),为白色固体。

[0869] 计算:$[M+2H]^{2+}$($C_{120}H_{159}N_{17}O_{22}$)m/z=1095.1;发现ESI:$[M+2H]^{2+}$($C_{120}H_{159}N_{17}O_{22}$)m/z=1095.6。

[0870] 制备((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙烷-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧庚烷-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧丁烷-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧丁烷-2-基)(甲基)氨基甲酸4-((S)-2-((S)-2-(4-(3-(2-(2-((1-(3-(2-((1,2-二甲基肼基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)氨基)乙氧基)乙氧基)丙酰胺基)-2-羟基苯甲酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄酯(53)

[0871] 于0℃对化合物52(2.8mg,1.3μmol)在DMA(0.2mL)中的溶液缓慢添加哌啶(1.0μL,

10.1μmol)。将所得混合物于室温搅动30分钟。通过制备性HPLC纯化粗品,使用乙腈-水作为流动相(0.05% TFA,5-70%)。合并含有期望化合物的级分并冻干以产生化合物53(1.0mg,45%),为白色固体。

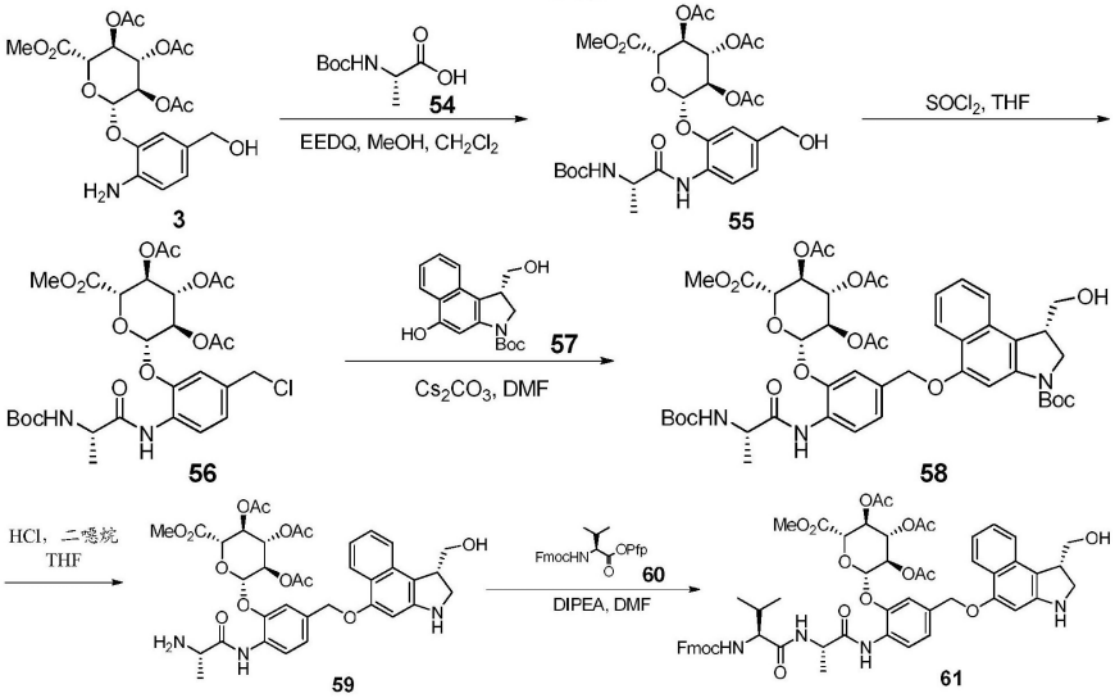
[0872] 计算:$[M+H]^+$($C_{90}H_{138}N_{17}O_{18}$)m/z=1745.0;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{90}H_{138}N_{17}O_{18}$)m/z=1745.6。

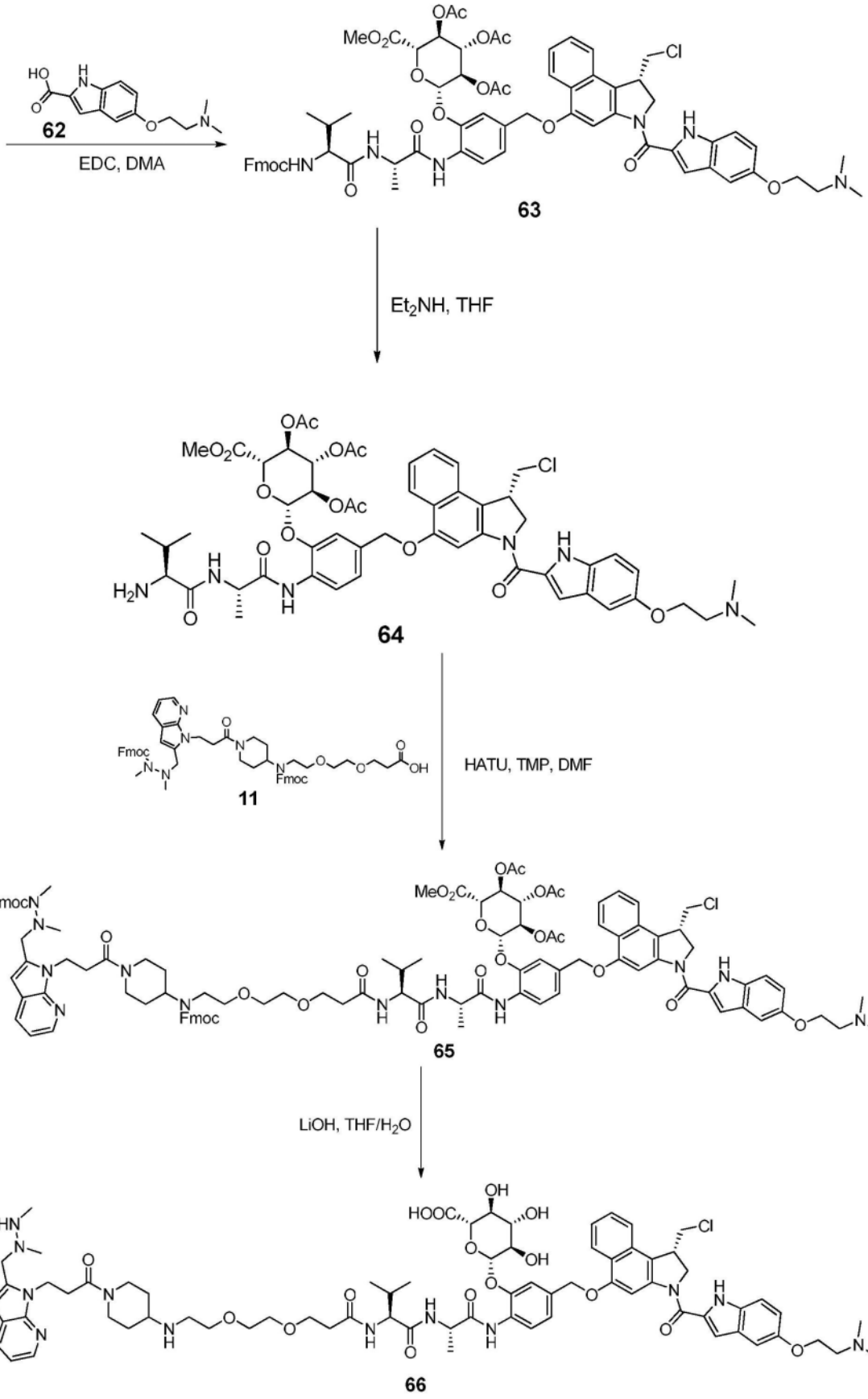
[0873] 合成倍癌霉素构建物66

[0874] 依照下文所示方案9合成倍癌霉素构建物。

方案9

[0875]





[0876]

[0877] 制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)丙酰胺基)-5-(羟基甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(55)

[0878] 对Boc-Ala-OH 54(44mg,0.23mmol)和苯胺3(53mg,0.12mmol)在DCM(2.0mL)和MeOH(0.2mL)中的混合物添加N-乙氧基羰基-2-乙氧基-1,2-二氢喹啉(EEDQ,1.25g,0.23mmol)。将反应于室温搅动1小时。在真空下去除溶剂之后,使用柱层析(已烷/EtOAc,1:9至9:1v/v)纯化残余物以产生化合物55(41mg,55%),为白色固体。

[0879] 计算:$[M+H]^+$($C_{28}H_{39}N_2O_{14}$)m/z=627.2;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{28}H_{39}N_2O_{14}$)m/z=627.1。

[0880] 制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)丙酰胺基)-5-(氯甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(56)

[0881] 于0℃对苯甲醇55(108mg,0.17mmol)在THF(1.5mL)中的溶液添加$SOCl_2$(25μL,0.34mmol)。将混合物于室温搅动5小时。在真空下去除溶剂之后,使用柱层析(已烷/EtOAc,1:9至9:1v/v)纯化残余物以产生化合物56(107.7mg,97%),为油。

[0882] 计算:$[M+H]^+$($C_{28}H_{38}ClN_2O_{13}$)m/z=645.2;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{28}H_{38}ClN_2O_{13}$)m/z=645.2。制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-((((S)-3-(叔丁氧基羰基)-1-(羟基甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基)氧基)甲基)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)丙酰胺基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(58)

[0883] 对苯基57(242mg,0.77mmol)在DMF(3mL)中的溶液添加Cs_2CO_3(235mg,0.72mmol)。将混合物于室温搅动20分钟之后,添加DMF(2mL)中的氯化物56(521mg,0.81mmol)。将所得混合物于室温搅动20小时。通过反相层析纯化粗品,用乙腈-水(0.05% TFA,5-100%)作为洗脱液。合并含有期望化合物的级分并在真空下浓缩以产生化合物58(326mg,46%),为淡黄色油。

[0884] 计算:$[M+H]^+$($C_{46}H_{58}N_3O_{17}$)m/z=924.4;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{46}H_{58}N_3O_{17}$)m/z=924.3。

[0885] 制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-((S)-2-氨基丙酰胺基)-5-((((S)-3-(叔丁氧基羰基)-1-(羟基甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(59)

[0886] 于0℃对化合物58(163mg,0.18mmol)在THF(1mL)中的溶液添加二噁烷中的HCl(4M,1mL,1mmol)。将反应混合物于室温搅动1小时。在真空下浓缩溶剂之后,通过共沸蒸馏去除残余的二噁烷。在没有进一步纯化的情况下将残余物直接用于下一步。

[0887] 计算:$[M+H]^+$($C_{36}H_{42}N_3O_{13}$)m/z=724.3;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{36}H_{42}N_3O_{13}$)m/z=724.3。

[0888] 制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-((S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-5-((((S)-1-(羟基甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(61)

[0889] 对化合物59(5.8mg,8.0μmol)在DMF(0.1mL)中的溶液添加Fmoc-缬氨酸五氟苯酯(4.1mg,8.1μmol)和DIPEA(4.5μL,25.8μmol)。将混合物于室温搅动24小时之后,通过反相层析纯化粗品,用乙腈-水(0.1%甲酸,5-100%)作为洗脱液。合并含有期望化合物的级分并在真空下浓缩以产生化合物61(5.3mg,63%),为淡黄色油。

[0890] 计算:$[M+H]^+$($C_{56}H_{61}N_4O_{16}$)m/z=1045.4;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{56}H_{61}N_4O_{16}$)m/z=1045.3。制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-((S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-5-((((S)-1-(氯甲基)-3-(5-(2-(二甲基氨基)乙氧基)-1H-吲哚-2-羰基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(63)

[0891] 对化合物61(5.3mg,5.1μmol)和62(2.6mg,10.5μmol)在DMA(0.1mL)中的溶液添加EDC(5mg,32.3μmol)。搅动1天之后,通过制备性HPLC纯化残余物,使用乙腈-水作为流动相(0.05％TFA,5-80％)。合并含有期望化合物的级分并在真空下浓缩以产生化合物63(2.9mg,42％),为油。

[0892] 计算:$[M+H]^+$($C_{69}H_{74}ClN_6O_{17}$)m/z＝1293.5;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{69}H_{74}ClN_6O_{17}$)m/z＝1293.4。

[0893] 制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-5-((((S)-1-(氯甲基)-3-(5-(2-(二甲基氨基)乙氧基)-1H-吲哚-2-羰基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(64)

[0894] 对化合物63(12mg,9.2μmol)在THF(0.4mL)中的溶液添加Et_2NH(14.4μL,0.14mmol)。将混合物于室温搅动2小时。然后在真空下浓缩反应混合物,并使用柱层析(己烷/EtOAc,1:9至9:1v/v)纯化残余物以产生化合物64(7.5mg,76％),为淡黄色油。

[0895] 计算:$[M+H]^+$($C_{54}H_{64}ClN_6O_{15}$)m/z＝1071.4;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{54}H_{64}ClN_6O_{15}$)m/z＝1071.3。

[0896] 制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-((15S,18S)-4-(1-(3-(2-((2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基肼基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)-1-(9H-芴-9-基)-15-异丙基-18-甲基-3,13,16-三氧-2,7,10-三氧杂-4,14,17-三氮杂十九烷酰胺基)-5-((((S)-1-(氯甲基)-3-(5-(2-(二甲基氨基)乙氧基)-1H-吲哚-2-羰基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(65)

[0897] 对化合物64(7.5mg,7.0μmol)在DMF(0.1mL)中的溶液添加化合物11(6.6mg,7.0μmol),2,4,6-三甲基吡啶(3μL,22.5μmol)和HATU(2.6mg,6.8μmol)。将混合物于室温搅动1小时。通过制备性HPLC纯化粗品,使用乙腈-水作为流动相(0.05％ TFA,5-90％)。合并含有期望化合物的级分并冻干以产生化合物65(2.1mg,15％),为白色固体。

[0898] 计算:$[M+2H]^{2+}$($C_{109}H_{123}ClN_{12}O_{23}$)m/z＝1001.4;发现ESI:$[M+2H]^{2+}$($C_{109}H_{123}ClN_{12}O_{23}$)m/z＝1001.8。

[0899] 制备(2S,3S,4S,5R,6S)-6-(5-((((S)-1-(氯甲基)-3-(5-(2-(二甲基氨基)乙氧基)-1H-吲哚-2-羰基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基)氧基)甲基)-2-((2S,5S)-15-((1-(3-(2-((1,2-二甲基肼基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)氨基)-5-异丙基-2-甲基-4,7-二氧-10,13-二氧杂-3,6-二氮杂十五烷酰胺基)苯氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸(66)

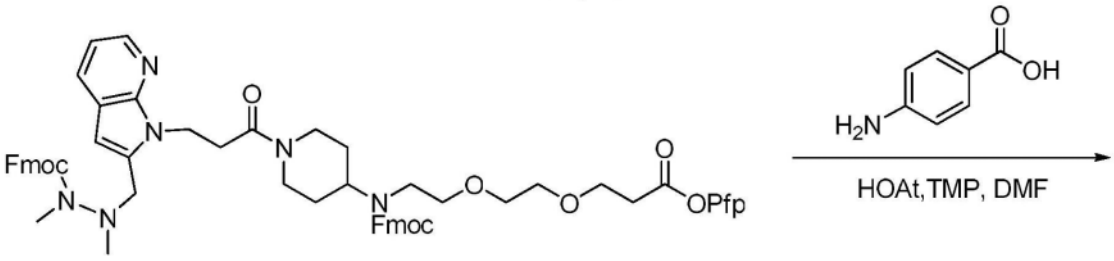
[0900] 于0℃对化合物65(9.8mg,4.9mmol)在THF(0.3mL)中的溶液缓慢添加LiOH溶液(2.5mg,在0.25mL H_2O中)。将所得混合物于室温搅动2小时。通过制备性HPLC纯化粗品,使用乙腈-水作为流动相(0.05％ TFA,5-90％)。合并含有期望化合物的级分并冻干以产生化合物66(3.5mg,50％),为白色固体。

[0901] 计算:$[M+H]^+$($C_{72}H_{94}ClN_{12}O_{16}$)m/z＝1417.7;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{72}H_{94}ClN_{12}O_{16}$)m/z＝1416.7。

[0902] 合成倍癌霉素构建物69

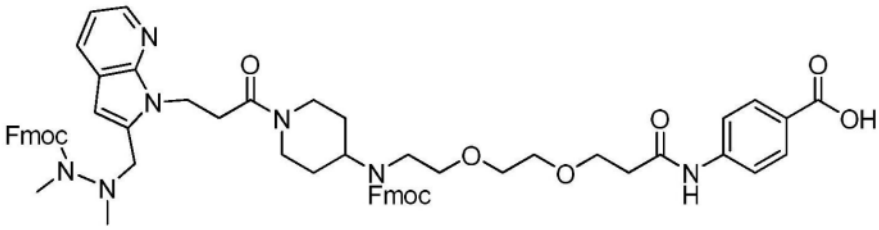
[0903] 依照下文所示方案10合成倍癌霉素构建物。

方案10

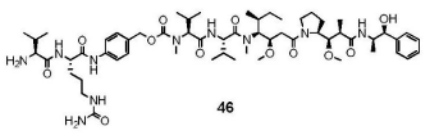


37

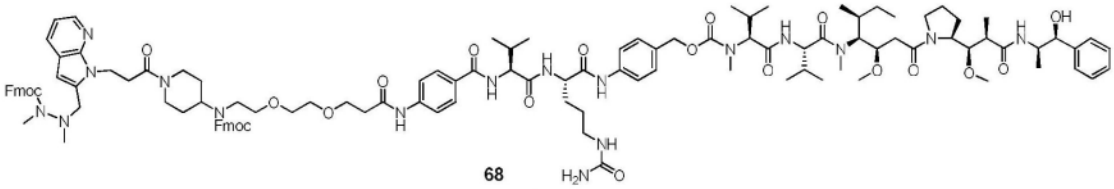
[0904]

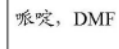


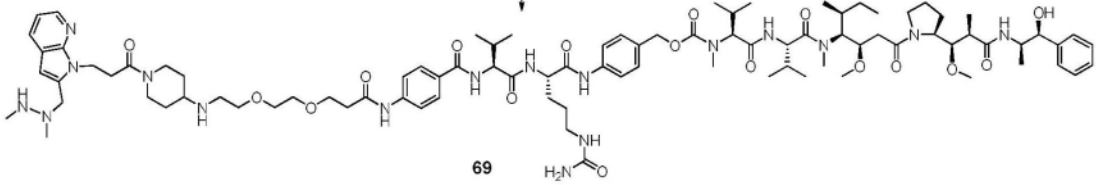
67



[0905]







[0906] 制备4-(4-(1-(3-(2-((2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基肼基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)-1-(9H-芴-9-基)-3-氧-2,7,10-三氧杂-4-氮杂十三烷酰胺基)苯甲酸(67)

[0907] 对Pfp酯37(23mg,20.6μmol)和4-氨基苯甲酸(7.7mg,56.2μmol)在DMF(0.2mL)中的混合物添加HOAt(2mg,14.7μmol)和2,4,6-三甲基吡啶(20μL,0.15mmol)。将所得混合物于室温搅动30分钟。通过反相层析纯化粗品,用乙腈-水作为洗脱液(0.1%甲酸,5-100%)。合并含有期望化合物的级分并在真空下浓缩以产生化合物67(15.6mg,71%),为淡黄色油。

[0908] 计算:$[M+H]^+$($C_{62}H_{66}N_7O_{10}$)m/z=1068.5;发现ESI:$[M+H]^+$($C_{62}H_{66}N_7O_{10}$)m/z=1068.5。制备2-((1-(3-(4-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)(2-(2-(3-((4-(((S)-1-(((S)-1-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙烷-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧乙基)-5,8-二异丙基-4,10-二甲基-3,6,9-三氧-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四烷基)苯基)氨基)-

1-氧-5-脲基戊烷-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧丁烷-2-基)氨甲酰基)苯基)氨基)-3-氧丙氧基)乙氧基)乙基)氨基)哌啶-1-基)-3-氧丙基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-基)甲基)-1,2-二甲基肼羧酸(9H-芴-9-基)甲酯(68)

[0909] 对化合物67(11.4mg,10.7μmol)在DMF(0.05mL)中的溶液添加46(12mg,10.7μmol),DIPEA(5.7μL,32.7μmol)和HATU(5.0mg,13.2μmol)。将混合物于室温搅动1小时。通过制备性HPLC纯化粗品,使用乙腈-水作为流动相(0.05% TFA,5-90%)。合并含有期望化合物的级分并冻干以产生化合物68(3.6mg,15%),为白色固体。

[0910] 计算:$[M+2H]^{2+}$($C_{120}H_{159}N_{17}O_{21}$)m/z=1087.1;发现ESI:$[M+2H]^{2+}$($C_{120}H_{159}N_{17}O_{21}$)m/z=1087.6。

[0911] 制备((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙烷-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧庚烷-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧丁烷-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧丁烷-2-基)(甲基)氨基甲酸4-((S)-2-((S)-2-(4-(3-(2-(2-((1-(3-(2-((1,2-二甲基肼基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)氨基)乙氧基)乙氧基)丙酰胺基)苯甲酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄酯(69)

[0912] 于0℃对化合物68(3.6mg,1.6μmol)在DMA(0.2mL)中的溶液缓慢添加哌啶(2.0μL,20.2μmol)。将所得混合物于室温搅动20分钟。通过制备性HPLC纯化粗品,使用乙腈-水作为流动相(0.05% TFA,5-70%)。合并含有期望化合物的级分并冻干以产生化合物69(1.2mg,42%),为白色固体。

[0913] 计算:$[M+2H]^{2+}$($C_{90}H_{139}N_{17}O_{17}$)m/z=865.0;发现ESI:$[M+2H]^{2+}$($C_{90}H_{139}N_{17}O_{18}$)m/z=865.3。

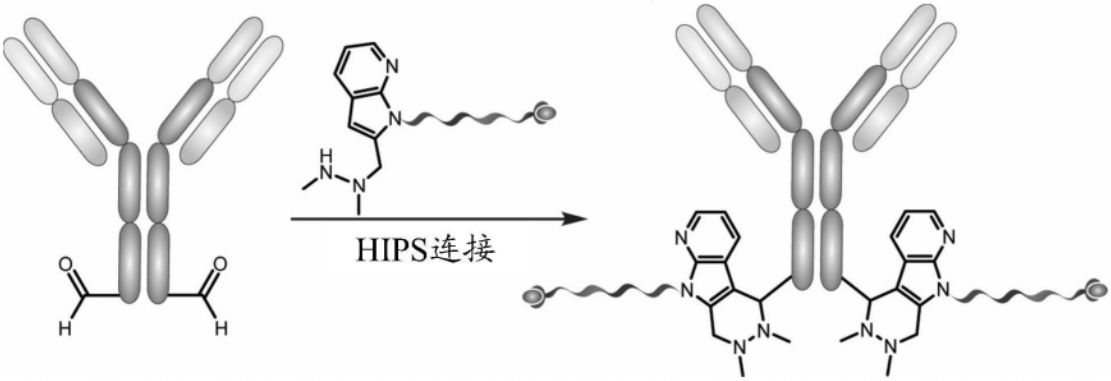
[0914] 实施例2

[0915] 生物缀合

[0916] 在0.85% DMA存在下在50mM柠檬酸钠,pH 5.5,50mM NaCl中于37℃ 72小时以15mg/mL和药物:抗体当量8使在C末端处含有醛标签的抗体缀合至构建物13,23,39,48,53,66,69(方案11)。当ADC交换入20mM柠檬酸钠,pH 5.5,50mM NaCl时使用切向流过滤(TFF)去除游离药物。为了测定最终产物的DAR,通过疏水相互作用层析(Tosoh#14947TSK凝胶丁基-NPR 4.6mm×35mm;流动相A:25mM $NaPO_4$,1.5M$(NH_4)_2SO_4$,pH 7.0和流动相B:18.75mM $NaPO_4$,pH 7.0,25%异丙烷)检查ADC。为了监测聚集,使用大小排阻层析(SEC;Tosoh#08541;流动相300mM NaCl,25mM磷酸钠,pH 6.8,5%异丙烷)分析样品。最终产物含有少于5%的聚集体。

[0917] 在表1中汇总药物对抗体比(DAR)。这些ADC在没有进一步富集的情况下用于下面的研究。

[0918] 方案11。用于合成ADC的HIPS连接。使携带醛模块的抗体与肼基-异-Pictet-Spengler(HIPS)接头和有效载荷反应以生成有稳定的氮杂卡波林连接的位点特异性缀合的ADC。

[0919] 

[0920] 表1:缀合物的药物对抗体比(DAR)。

[0921]

	13		23		39		48	
Ab	αHER2	αCD79b	αHER2	αCD79b	αHER2	αCD79b	αHER2	αCD79b
DAR	1.6	1.7	1.5	1.7	1.5	1.6	1.5	1.7
	53		66		69			
Ab	αHER2	αCD79b	αHER2	αCD79b	αHER2	αCD79b		
DAR	1.3	1.5	1.6	1.6	1.4	1.6		

[0922] 实施例3

[0923] 血清稳定性测定法

[0924] 以40μg/mL将ADC掺入大鼠血清。将样品分成小样并于-80℃保存直至使用。将小样于37℃在5%CO_2下放置指定时间,然后通过ELISA进行分析以评估抗MMAE(13,48,53,69)或抗倍癌霉素(66)(总ADC)和抗Fab(总抗体)信号。使用新鲜融化的小样作为缀合的参考起始值。在一块板上一起测量所有分析物以实现时间点之间的比较。在用抗人Fab特异性抗体包被的板上捕捉在酪蛋白封闭缓冲液中1:1000稀释的分析物。然后,用抗有效载荷抗体,继以HRP缀合的山羊抗小鼠Fcγ特异性抗体检测有效载荷;用HRP缀合的山羊抗人Fcγ特异性抗体检测总抗体。用TMB底物显现结合的HRP缀合的抗体。用H_2SO_4停止比色反应,并使用Molecular Devices SpectraMax M5读板仪测定450nm处的吸光度。在Excel中实施数据分析。一式四份分析每个样品,并使用平均值。使用抗有效载荷信号对抗Fab信号之比作为抗体缀合的度量。

[0925] 抗HER2 13和抗CD79b 13ADC在大鼠血清中均是非常稳定的,显示于37℃ 7天后没有有效载荷损失(图1A)。MMAE构建物48ADC比非糖构建物53和69ADC更加稳定(图1A)。抗HER2 66和抗CD79b 66ADC是非常稳定的(图1B)。

[0926] 实施例4

[0927] 体外细胞毒性

[0928] 在具有5% CO_2的37℃温箱中在补充有10%胎牛血清(Seradigm)和Glutamax(Invitrogen)的RPMI-1640培养基(Invitrogen)中维持NCI-N87和JeKo-1细胞系。定期对细胞传代以确保对数期生长。在铺板那天,在100μL正常生长培养基中将5000个/孔细胞添加入96孔板,并返回温箱达24小时以平衡至铺板条件。然后用20μL连续稀释的ADC以6倍最终期望浓度处理细胞。温育5天后,使用CellTiter-Glo试剂(Promega)遵循制造商的推荐测量细胞存活力。在SpectraMax M5读板仪上读取发光。使用GraphPad Prism软件进行数据分析,包括自针对每个板上存在的对照标准化的发光值计算IC_{50}。

[0929] 使用HER2阳性细胞系NCI-N87评估在C末端处经MMAE构建物13,48,53,69修饰的抗HER2的体外细胞毒性。如图2A中显示的,所有ADC展现有力的剂量依赖性毒性,有亚纳摩尔的IC_{50}值。与之对比,同种型ADC(抗CD79b)在高至20nM的浓度显示最低限度的活性。

[0930] 在另一项研究中,使用CD79b阳性细胞系JeKo-1评估在C末端处经倍癌霉素构建物66修饰的抗CD79b抗体的体外细胞毒性。ADC展现有力的剂量依赖性毒性,有0.7nM的IC_{50}值(图2B)。

[0931] 实施例5

[0932] 体内功效研究

[0933] 所有动物研究是依照机构动物护理和使用委员会指南进行的,并在Sundia(上海,中国)实施。鼠抗MMAE抗体由ProMab生成并在内部验证。家兔抗AF488抗体自Life Technologies购买。辣根过氧化物酶(HRP)缀合的二抗来自Jackson ImmunoResearch(West Grove,PA)。细胞系是自ATCC和DSMZ细胞库获得的,在那里它们通过形态,核型分析,和基于PCR的办法进行了证实。

[0934] 给雄性CB17 SCID小鼠皮下接种50% Matrigel中的1.0x 10^6个JeKo-1细胞。当肿瘤达到平均167mm^3时启动给药。给予动物(5只小鼠/组)静脉内单剂(3mg/kg ADC或单独的媒介)。每周两次对动物监测体重和肿瘤尺寸。使用下面的式计算肿瘤体积:

[0935] $$\text{肿瘤体积}(\text{mm}^3) = \frac{w^2 x\, l}{2},$$

[0936] 没有观察到严重毒性。单剂ADC足以显著延迟肿瘤生长(图3)。

[0937] 本公开涉及下述实施方案。

[0938] 1.一种缀合物,其包含:

[0939] 抗体;

[0940] 药物;和

[0941] 可切割接头,该可切割接头连接该抗体至该药物且包含第一可切割模块和阻碍对该第一可切割模块的切割的第二可切割模块。

[0942] 2.实施方案1的缀合物,其中该第一可切割模块是酶可切割模块且该第二可切割模块是化学可切割模块。

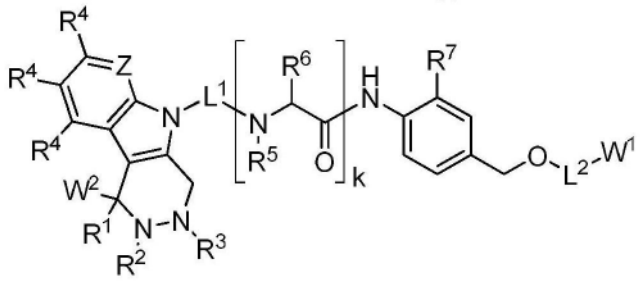
[0943] 3.实施方案1的缀合物,其中该第一可切割模块是化学可切割模块且该第二可切割模块是酶可切割模块。

[0944] 4.实施方案1的缀合物,其中该第一可切割模块是第一酶可切割模块且该第二可切割模块是第二酶可切割模块。

[0945] 5.实施方案4的缀合物,其中该第一酶可切割模块包含第一肽且该第二酶可切割模块包含第二肽。

[0946] 6.实施方案4的缀合物,其中该第一酶可切割模块包含肽且该第二酶可切割模块包含糖苷。

[0947] 7.实施方案1的缀合物,其中该缀合物是式(I)的:

[0948] 

(I),

[0949] 其中

[0950] Z是CR^4或N;

[0951] R^1选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

[0952] R^2和R^3每个独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,或R^2和R^3任选环状连接以形成5或6元杂环基;

[0953] 每个R^4独立选自氢,卤素,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

[0954] 每个R^5独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,和取代的炔基;

[0955] 每个R^6独立选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

[0956] k是1至10的整数;

[0957] R^7选自氢,卤素,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

[0958] L^1是第一接头;

[0959] L^2是第二接头;

[0960] W^1是该药物;且

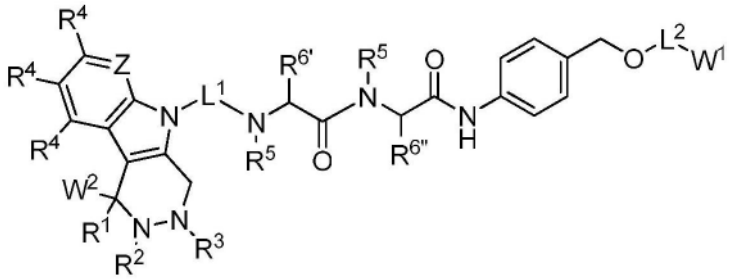
[0961] W^2是该抗体,

[0962] 其中L^1,R^6或R^7之一包含该第二可切割模块。

[0963] 8.实施方案7的缀合物,其中

[0964] k是2;且

[0965] 该缀合物是式(Ia)的:

[0966] 

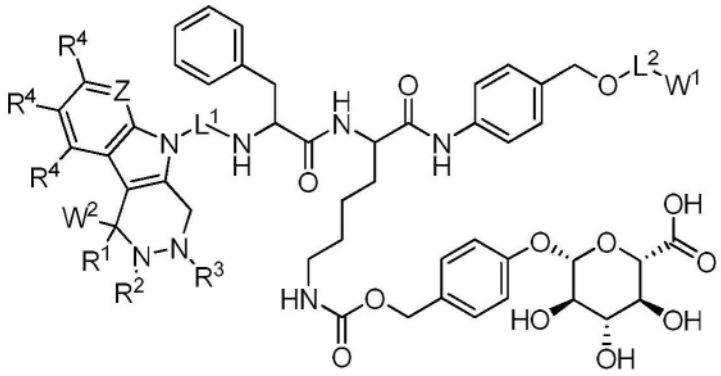
(Ia)，

[0967] 其中

[0968] $R^{6'}$或$R^{6''}$之一包含该第二可切割模块，且$R^{6'}$和$R^{6''}$之另一选自烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，和取代的杂环基。

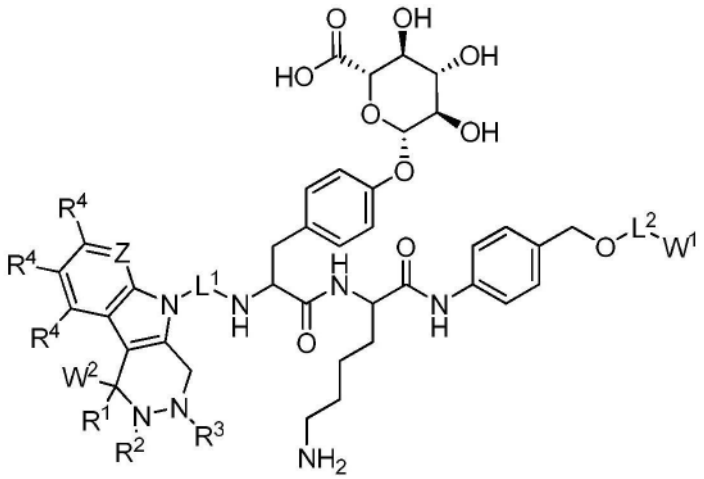
[0969] 9.实施方案8的缀合物，其中该第二可切割模块是包含糖苷的酶可切割模块。

[0970] 10.实施方案9的缀合物，其中该缀合物是式(Ib)的：

[0971] 

(Ib)。

[0972] 11.实施方案9的缀合物，其中该缀合物是式(Ic)的：

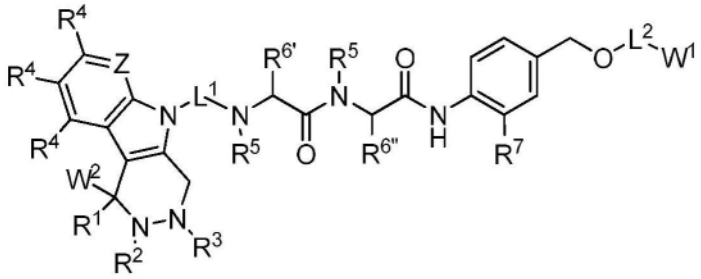
[0973] 

(Ic)。

[0974] 12.实施方案7的缀合物，其中

[0975] k是2；且

[0976] 该缀合物是式(Id)的：

[0977] 

(Id),

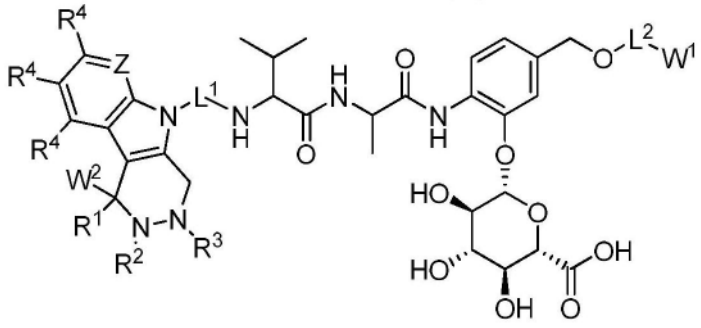
[0978] 其中

[0979] $R^{6'}$和$R^{6''}$独立选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;且

[0980] R^7包含该第二可切割模块。

[0981] 13.实施方案12的缀合物,其中该第二可切割模块是包含糖苷的酶可切割模块。

[0982] 14.实施方案13的缀合物,其中该缀合物是式(Ie)的:

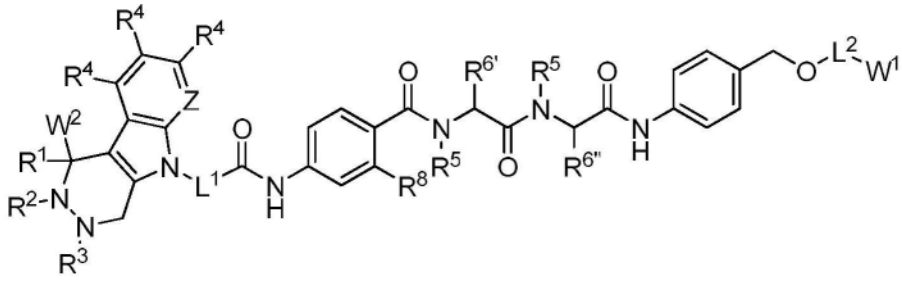
[0983] 

(Ie)。

[0984] 15.实施方案7的缀合物,其中

[0985] k是2;且

[0986] 该缀合物是式(If)的:

[0987] 

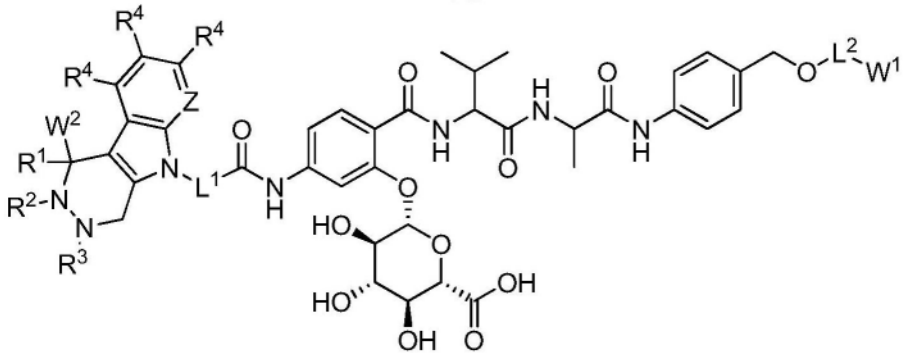
(If),

[0988] 其中

[0989] $R^{6'}$和$R^{6''}$独立选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;且

[0990] R^8包含该第二可切割模块。

[0991] 16.实施方案14的缀合物,其中该缀合物是式(Ig)的:

[0992] 

(Ig)。

[0993] 17.实施方案7至16任一项的缀合物,其中L^1包含:

[0994] $-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-(T^4-V^4)_d-$,

[0995] 其中

[0996] a,b,c和d每个独立是0或1;

[0997] T^1,T^2,T^3和T^4每个独立选自共价键,(C_1-C_{12})烷基,取代的(C_1-C_{12})烷基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,$(EDA)_w$,$(PEG)_n$,$(AA)_p$,$-(CR^{13}OH)_m-$,4-氨基-哌啶(4AP),乙缩醛基团,肼,二硫化物,和酯,其中EDA是乙二胺模块,PEG是聚乙二醇,而AA是氨基酸残基,其中每个w是1至20的整数,每个n是1至30的整数,每个p是1至20的整数,且每个m是1至12的整数;

[0998] V^1,V^2,V^3和V^4每个独立选自下组:共价键,$-CO-$,$-NR^{15}-$,$-NR^{15}(CH_2)_q-$,$-NR^{15}(C_6H_4)-$,$-CONR^{15}-$,$-NR^{15}CO-$,$-C(O)O-$,$-OC(O)-$,$-O-$,$-S-$,$-S(O)-$,$-SO_2-$,$-SO_2NR^{15}-$,$-NR^{15}SO_2-$和$-P(O)OH-$,其中每个q是1至6的整数;

[0999] 每个R^{13}独立选自氢,烷基,取代的烷基,芳基,和取代的芳基;且

[1000] 每个R^{15}独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,羧基,羧基酯,酰基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。

[1001] 18.实施方案7至17任一项的缀合物,其中L^2包含:

[1002] $-(T^5-V^5)_e-(T^6-V^6)_f-(T^7-V^7)_g-(T^8-V^8)_h-$,

[1003] 其中

[1004] e,f,g和h每个独立是0或1;

[1005] T^5,T^6,T^7和T^8每个独立选自共价键,(C_1-C_{12})烷基,取代的(C_1-C_{12})烷基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,$(EDA)_w$,$(PEG)_n$,$(AA)_p$,$-(CR^{13}OH)_m-$,4-氨基-哌啶(4AP),乙缩醛基团,肼,二硫化物,和酯,其中EDA是乙二胺模块,PEG是聚乙二醇,而AA是氨基酸残基,其中每个w是1至20的整数,每个n是1至30的整数,每个p是1至20的整数,且每个m是1至12的整数;

[1006] V^5,V^6,V^7和V^8每个独立选自下组:共价键,$-CO-$,$-NR^{15}-$,$-NR^{15}(CH_2)_q-$,$-NR^{15}(C_6H_4)-$,$-CONR^{15}-$,$-NR^{15}CO-$,$-C(O)O-$,$-OC(O)-$,$-O-$,$-S-$,$-S(O)-$,$-SO_2-$,$-SO_2NR^{15}-$,$-NR^{15}SO_2-$和$-P(O)OH-$,其中每个q是1至6的整数;

[1007] 每个R^{13}独立选自氢,烷基,取代的烷基,芳基,和取代的芳基;且

[1008] 每个R^{15}独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,羧基,羧基酯,酰基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环

基,和取代的杂环基。

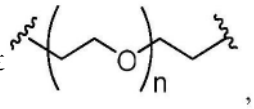
[1009] 19.实施方案17的缀合物,其中:

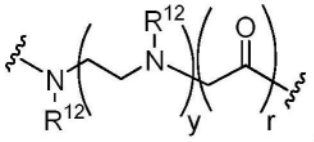
[1010] T^1选自(C_1-C_{12})烷基和取代的(C_1-C_{12})烷基;

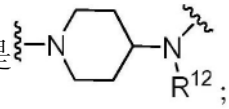
[1011] T^2,T^3,和T^4每个独立选自芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,$(EDA)_w$,$(PEG)_n$,(C_1-C_{12})烷基,取代的(C_1-C_{12})烷基,$(AA)_p$,$-(CR^{13}OH)_m-$,4-氨基-哌啶(4AP),乙缩醛基团,肼,和酯;且

[1012] V^1,V^2,V^3和V^4每个独立选自下组:共价键,$-CO-$,$-NR^{15}-$,$-NR^{15}(CH_2)_q-$,$-NR^{15}(C_6H_4)-$,$-CONR^{15}-$,$-NR^{15}CO-$,$-C(O)O-$,$-OC(O)-$,$-O-$,$-S-$,$-S(O)-$,$-SO_2-$,$-SO_2NR^{15}-$,$-NR^{15}SO_2-$,和$-P(O)OH-$;

[1013] 其中:

[1014] $(PEG)_n$是,其中n是1至30的整数;

[1015] EDA是具有如下结构的乙二胺模块:,其中y是1至6的整数且r是0或1;

[1016] 4-氨基-哌啶(4AP)是;

[1017] 每个R^{12}和R^{15}独立选自氢,烷基,取代的烷基,聚乙二醇模块,芳基和取代的芳基,其中任两个相邻的R^{12}基团可以环状连接以形成哌嗪基环;且

[1018] R^{13}选自氢,烷基,取代的烷基,芳基,和取代的芳基。

[1019] 20.实施方案17至19任一项的缀合物,其中:

[1020] T^1是(C_1-C_{12})烷基且V^1是$-CO-$;

[1021] T^2是4AP且V^2是共价键;

[1022] T^3是$(PEG)_n$且V^3是$-CO-$;且

[1023] d是0。

[1024] 21.实施方案17至19任一项的缀合物,其中:

[1025] T^1是(C_1-C_{12})烷基且V^1是$-CO-$;

[1026] T^2是4AP且V^2是共价键;

[1027] T^3是$(PEG)_n$且V^3是$-CONH-$;且

[1028] T^4是芳基或取代的芳基且V^4是$-CO-$。

[1029] 22.实施方案18至20任一项的缀合物,其中:

[1030] T^5是共价键且V^5是$-CO-$;且

[1031] f,g和h是0。

[1032] 23.实施方案1至22任一项的缀合物,其中该药物选自奥瑞司他汀,美登木素,和倍癌霉素。

[1033] 24.一种化合物,其包含:

[1034] 用于连接抗体至药物的可切割接头,其中该可切割接头包含第一可切割模块和阻碍对该第一可切割模块的切割的第二可切割模块。

[1035] 25.实施方案24的化合物,其中该第一可切割模块是酶可切割模块且该第二可切割模块是化学可切割模块。

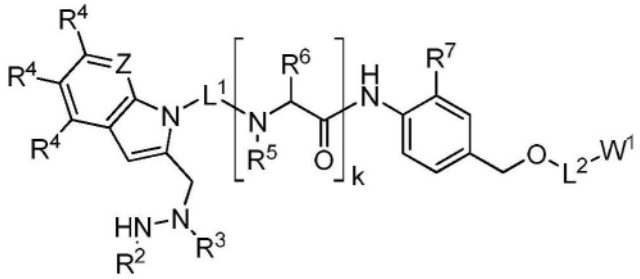
[1036] 26.实施方案24的化合物,其中该第一可切割模块是化学可切割模块且该第二可切割模块是酶可切割模块。

[1037] 27.实施方案24的化合物,其中该第一可切割模块是第一酶可切割模块且该第二可切割模块是第二酶可切割模块。

[1038] 28.实施方案27的化合物,其中该第一酶可切割模块包含第一肽且该第二酶可切割模块包含第二肽。

[1039] 29.实施方案27的化合物,其中该第一酶可切割模块包含肽且该第二酶可切割模块包含糖苷。

[1040] 30.实施方案24的化合物,其中该化合物是式(II)的:

[1041] 

(II),

[1042] 其中

[1043] Z是CR^4或N;

[1044] R^2和R^3每个独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,或R^2和R^3任选环状连接以形成5或6元杂环基;

[1045] 每个R^4独立选自氢,卤素,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

[1046] 每个R^5独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

[1047] 每个R^6独立选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

[1048] k是1至10的整数;

[1049] R^7选自氢,卤素,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰基氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

[1050] L^1是第一接头;

[1051] L^2是第二接头;且

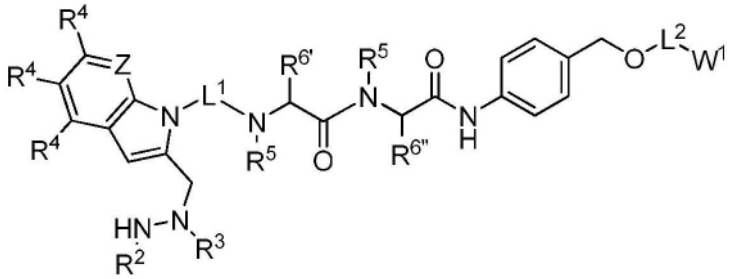
[1052] W^1是药物,

[1053] 其中L^1,R^6或R^7之一包含该第二可切割模块。

[1054] 31.实施方案30的化合物,其中

[1055] k是2;且

[1056] 该化合物是式(IIa)的:

[1057] 

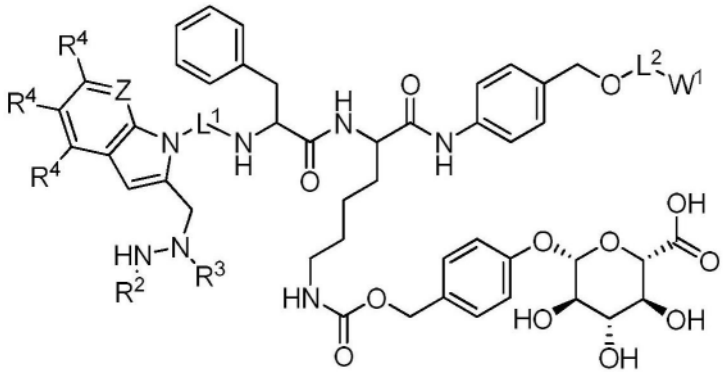
(IIa),

[1058] 其中

[1059] $R^{6'}$或$R^{6''}$之一包含该第二可切割模块,且$R^{6'}$和$R^{6''}$之另一选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。

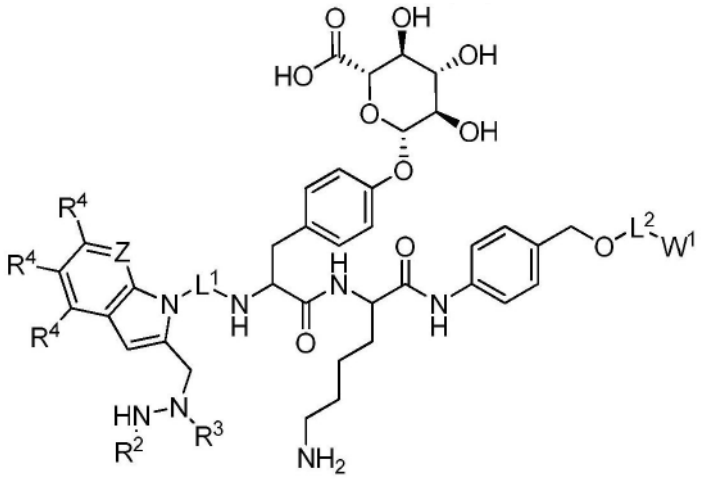
[1060] 32.实施方案31的化合物,其中该第二可切割模块是包含糖苷的酶可切割模块。

[1061] 33.实施方案32的化合物,其中该化合物是式(IIb)的:

[1062] 

(IIb)。

[1063] 34.实施方案32的化合物,其中该化合物是式(IIc)的:

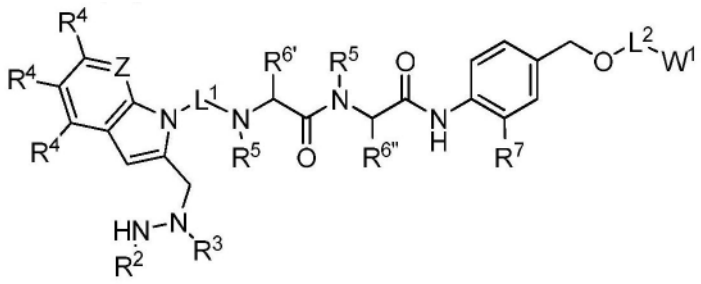
[1064] 

(IIc)。

[1065] 35.实施方案30的化合物,其中

[1066] k是2;且

[1067] 该化合物是式(IId)的:

[1068] 

(IId),

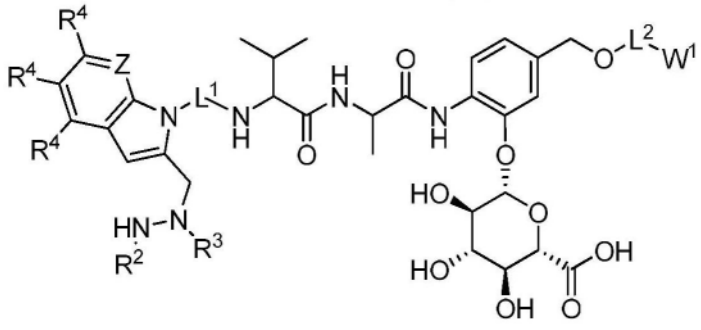
[1069] 其中

[1070] $R^{6'}$和$R^{6''}$独立选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;且

[1071] R^7包含该第二可切割模块。

[1072] 36.实施方案35的化合物,其中该第二可切割模块是包含糖苷的酶可切割模块。

[1073] 37.实施方案36的化合物,其中该化合物是式(IIe)的:

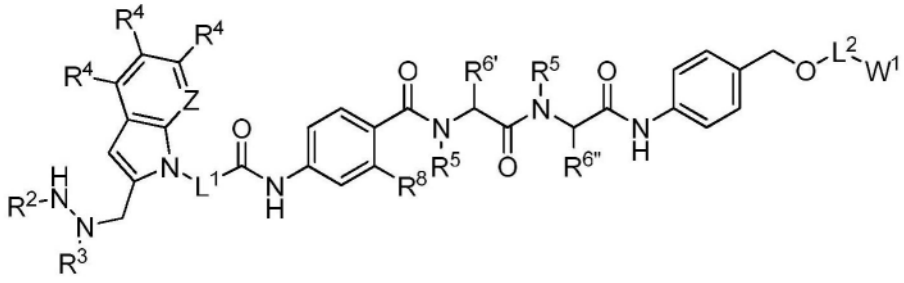
[1074] 

(IIe)。

[1075] 38.实施方案30的化合物,其中

[1076] k是2;且

[1077] 该化合物是式(IIf)的:

[1078] 

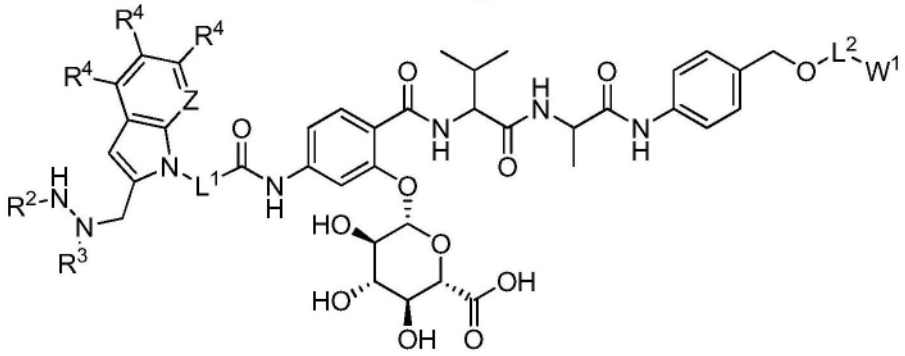
(IIf),

[1079] 其中

[1080] $R^{6'}$和$R^{6''}$独立选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;且

[1081] R^8包含该第二可切割模块。

[1082] 39.实施方案38的化合物,其中该化合物是式(IIg)的:

[1083] 

(IIg)。

[1084] 40.实施方案30至39任一项的化合物,其中L^1包含:

[1085] $-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-(T^4-V^4)_d-$,

[1086] 其中

[1087] a,b,c和d每个独立是0或1;

[1088] T^1,T^2,T^3和T^4每个独立选自共价键,(C_1-C_{12})烷基,取代的(C_1-C_{12})烷基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,$(EDA)_w$,

[1089] $(PEG)_n$,$(AA)_p$,$-(CR^{13}OH)_m-$,4-氨基-哌啶(4AP),乙缩醛基团,肼,二硫化物,和酯,其中EDA是乙二胺模块,PEG是聚乙二醇,而AA是氨基酸残基,其中每个w是1至20的整数,每个n是1至30的整数,每个p是1至20的整数,且每个m是1至12的整数;

[1090] V^1,V^2,V^3和V^4每个独立选自下组:共价键,-CO-,$-NR^{15}-$,$-NR^{15}(CH_2)_q-$,$-NR^{15}(C_6H_4)-$,$-CONR^{15}-$,$-NR^{15}CO-$,-C(O)O-,-OC(O)-,-O-,-S-,-S(O)-,$-SO_2-$,$-SO_2NR^{15}-$,$-NR^{15}SO_2-$和-P(O)OH-,其中每个q是1至6的整数;

[1091] 每个R^{13}独立选自氢,烷基,取代的烷基,芳基,和取代的芳基;且

[1092] 每个R^{15}独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,羧基,羧基酯,酰基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。

[1093] 41.实施方案30至40任一项的化合物,其中L^2包含:

[1094] $-(T^5-V^5)_e-(T^6-V^6)_f-(T^7-V^7)_g-(T^8-V^8)_h-$,

[1095] 其中

[1096] e,f,g和h每个独立是0或1;

[1097] T^5,T^6,T^7和T^8每个独立选自共价键,(C_1-C_{12})烷基,取代的(C_1-C_{12})烷基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,$(EDA)_w$,

[1098] $(PEG)_n$,$(AA)_p$,$-(CR^{13}OH)_m-$,4-氨基-哌啶(4AP),乙缩醛基团,肼,二硫化物,和酯,其中EDA是乙二胺模块,PEG是聚乙二醇,而AA是氨基酸残基,其中每个w是1至20的整数,每个n是1至30的整数,每个p是1至20的整数,且每个m是1至12的整数;

[1099] V^5,V^6,V^7和V^8每个独立选自下组:共价键,-CO-,$-NR^{15}-$,$-NR^{15}(CH_2)_q-$,$-NR^{15}(C_6H_4)-$,$-CONR^{15}-$,$-NR^{15}CO-$,-C(O)O-,-OC(O)-,-O-,-S-,-S(O)-,$-SO_2-$,$-SO_2NR^{15}-$,$-NR^{15}SO_2-$和-P(O)OH-,其中每个q是1至6的整数;

[1100] 每个R^{13}独立选自氢,烷基,取代的烷基,芳基,和取代的芳基;且

[1101] 每个R^{15}独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,羧基,羧基酯,酰基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环

基,和取代的杂环基。

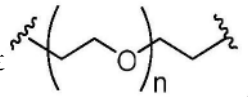
[1102] 42.实施方案40的化合物,其中:

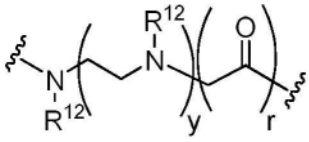
[1103] T^1选自(C_1-C_{12})烷基和取代的(C_1-C_{12})烷基;

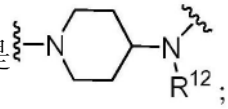
[1104] T^2,T^3,和T^4每个独立选自芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,$(EDA)_w$,$(PEG)_n$,(C_1-C_{12})烷基,取代的(C_1-C_{12})烷基,$(AA)_p$,$-(CR^{13}OH)_m-$,4-氨基-哌啶(4AP),乙缩醛基团,肼,和酯;且

[1105] V^1,V^2,V^3和V^4每个独立选自下组:共价键,$-CO-$,$-NR^{15}-$,$-NR^{15}(CH_2)_q-$,$-NR^{15}(C_6H_4)-$,$-CONR^{15}-$,$-NR^{15}CO-$,$-C(O)O-$,$-OC(O)-$,$-O-$,$-S-$,$-S(O)-$,$-SO_2-$,$-SO_2NR^{15}-$,$-NR^{15}SO_2-$,和$-P(O)OH-$;

[1106] 其中:

[1107] $(PEG)_n$是,其中n是1至30的整数;

[1108] EDA是具有如下结构的乙二胺模块:,其中y是1至6的整数且r是0或1;

[1109] 4-氨基-哌啶(4AP)是;

[1110] 每个R^{12}和R^{15}独立选自氢,烷基,取代的烷基,聚乙二醇模块,芳基和取代的芳基,其中任两个相邻的R^{12}基团可以环状连接以形成哌嗪基环;且

[1111] R^{13}选自氢,烷基,取代的烷基,芳基,和取代的芳基。

[1112] 43.实施方案40至42任一项的化合物,其中:

[1113] T^1是(C_1-C_{12})烷基且V^1是$-CO-$;

[1114] T^2是4AP且V^2是共价键;

[1115] T^3是$(PEG)_n$且V^3是$-CO-$;且

[1116] d是0。

[1117] 44.实施方案41至43任一项的化合物,其中:

[1118] T^1是(C_1-C_{12})烷基且V^1是$-CO-$;

[1119] T^2是4AP且V^2是共价键;

[1120] T^3是$(PEG)_n$且V^3是$-CONH-$;且

[1121] T^4是芳基或取代的芳基且V^4是$-CO-$。

[1122] 45.实施方案41至43任一项的化合物,其中:

[1123] T^5是共价键且V^5是$-CO-$;且

[1124] f,g和h是0。

[1125] 46.实施方案24至45任一项的化合物,其中该药物选自奥瑞司他汀,美登木素,和倍癌霉素。

[1126] 47.一种药学组合物,其包含:

[1127] 实施方案1至23任一项的缀合物;和

[1128] 药学可接受赋形剂。

[1129] 48.一种方法,其包括:

[1130] 对受试者施用有效量的实施方案1至23任一项的缀合物。

[1131] 49.一种治疗受试者中的癌症的方法,该方法包括:

[1132] 对该受试者施用治疗有效量的包含实施方案1至23任一项的缀合物的药学组合物,其中该施用有效治疗该受试者中的癌症。

[1133] 虽然已经参考其具体实施方案描述了本发明,但是本领域技术人员应当了解,在不违背本发明的真正精神和范围的情况下可以做出各种变化且可以取代等效方案。另外,可以做出许多修改以使特定的情况,材料,物质组合物,工艺,一个或多个工艺步骤适应本发明的目的,精神和范围。所有这些修改意图在本文所附权利要求书的范围内。

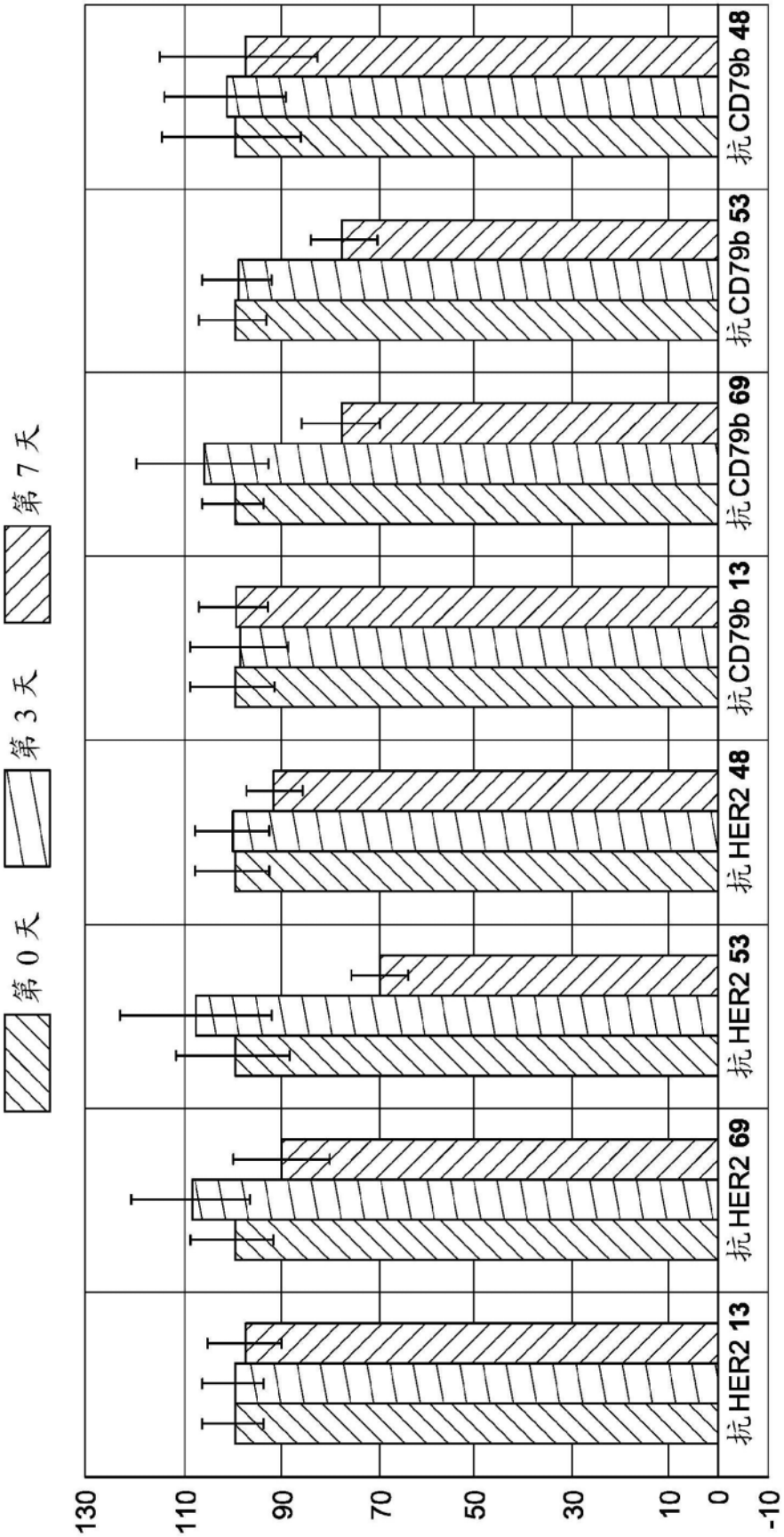

第0天
第3天
第7天
130
110
90
70
50
30
10
0
-10
抗HER2 13
抗HER2 69
抗HER2 53
抗HER2 48
抗CD79b 13
抗CD79b 69
抗CD79b 53
抗CD79b 48

图1A

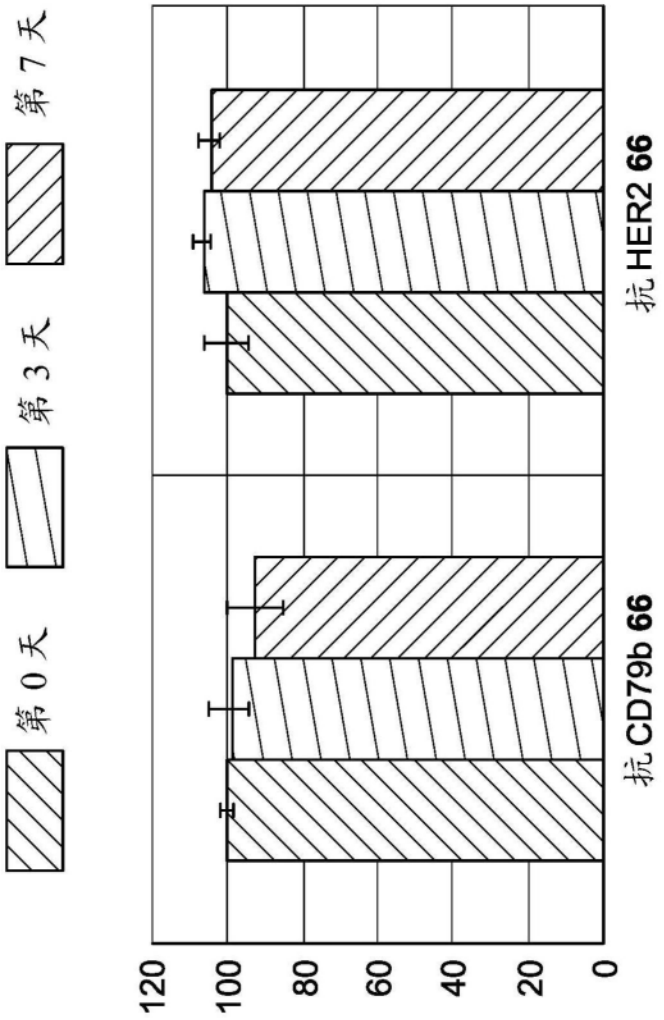


图1B

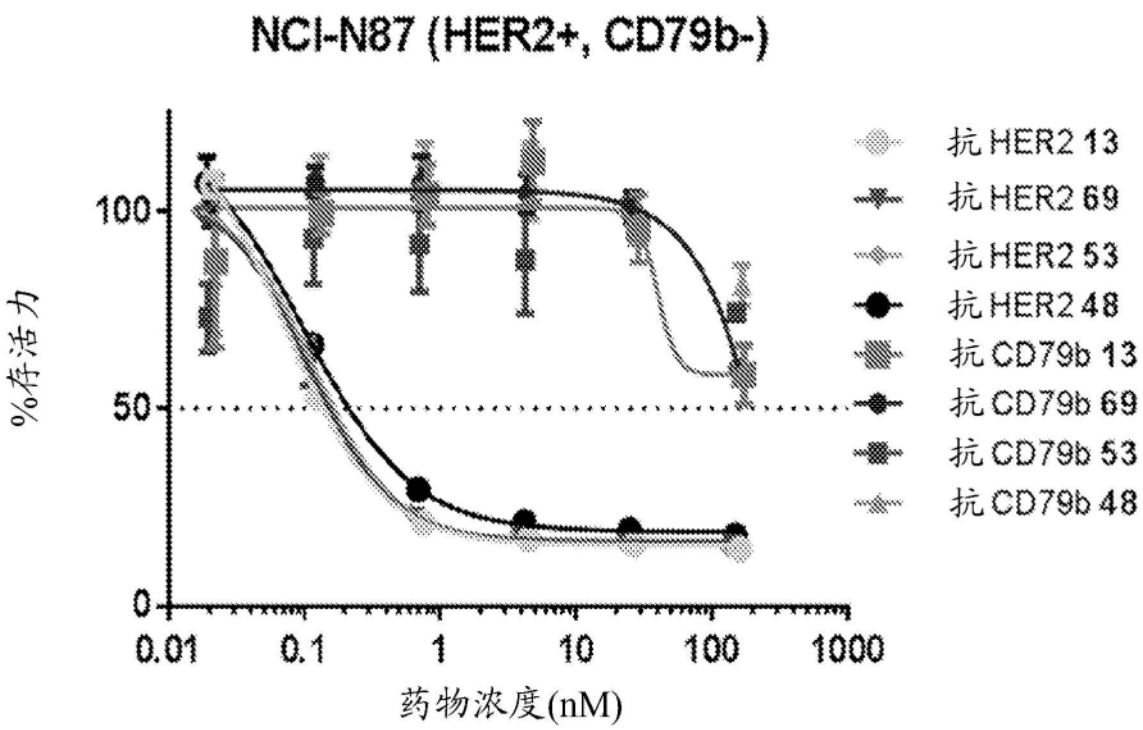

NCI-N87 (HER2+, CD79b-)
%存活力
100
50
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
药物浓度(nM)
抗HER2 13
抗HER2 69
抗HER2 53
抗HER2 48
抗CD79b 13
抗CD79b 69
抗CD79b 53
抗CD79b 48

图2A

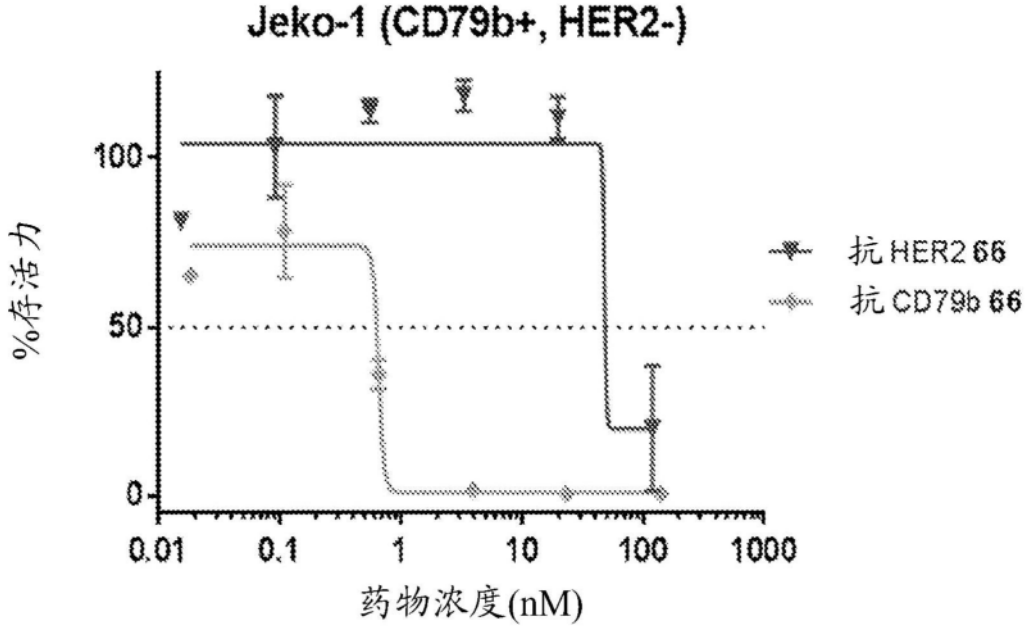

Jeko-1 (CD79b+, HER2-)
%存活力
100
50
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
药物浓度(nM)
抗HER2 66
抗CD79b 66

图2B

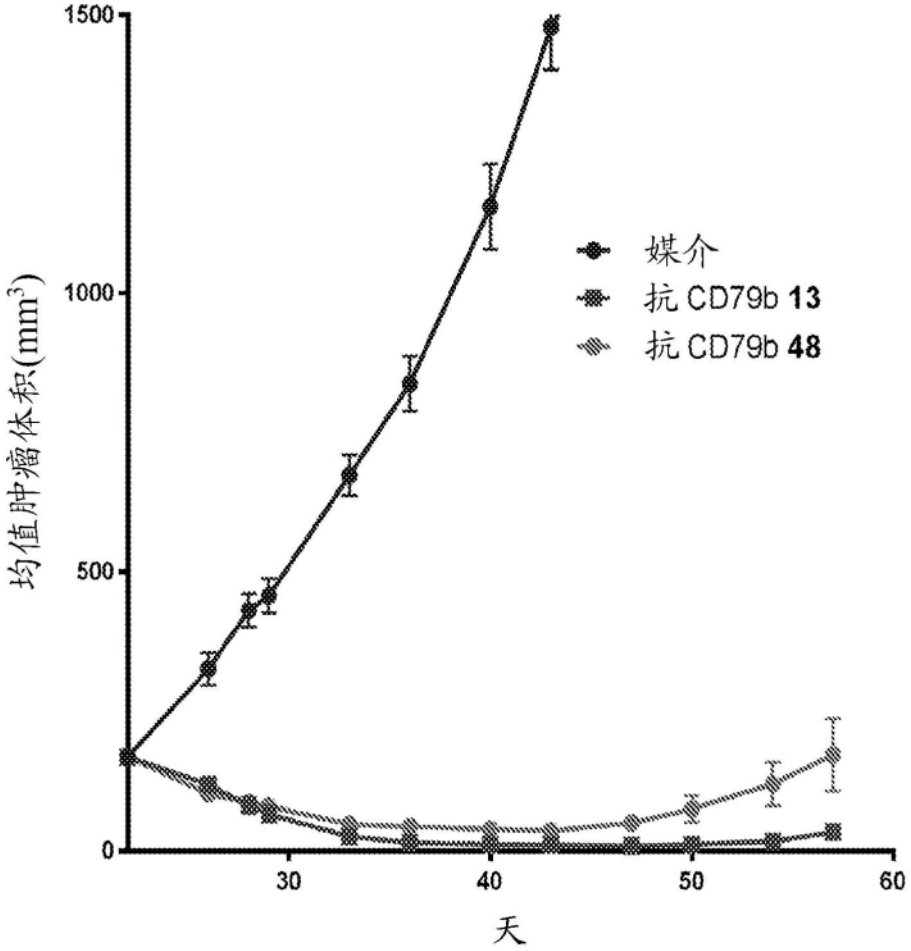


图3