



(12)发明专利



(10)授权公告号 CN 105102455 B

(45)授权公告日 2018.05.25

(21)申请号 201380073519.6

(22)申请日 2013.12.20

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 105102455 A

(43)申请公布日 2015.11.25

(30)优先权数据

61/745,448 2012.12.21 US

61/785,027 2013.03.14 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2015.08.20

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2013/077306 2013.12.20

(87)PCT国际申请的公布数据
W02014/100762 EN 2014.06.26

(73)专利权人 荷商台医(有限合伙)公司
地址 荷兰阿尔克马尔
专利权人 台医国际股份有限公司

(72)发明人 林荣华 林士瑶 谢昱祁 黄久珍

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
代理人 郭杰

(51)Int.Cl.

C07D 417/14(2006.01)

C07D 295/192(2006.01)

C07K 17/06(2006.01)

A61K 31/496(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

(56)对比文件

Laurent Ducry and Bernhard Stump.

《Antibody-Drug Conjugates: Linking Cytotoxic Payloads to Monoclonal Antibodies》.《Bioconjugate Chem.》.2010,第21卷(第1期),5-13.

Franciscus M. H. de Groot等.

《Elongated Multiple Electronic Cascade and Cyclization Spacer Systems in Activatable Anticancer Prodrugs for Enhanced Drug Release》.《J. Org. Chem.》.2001,第66卷8815-8830.

审查员 冯伟

权利要求书21页 说明书57页 附图7页

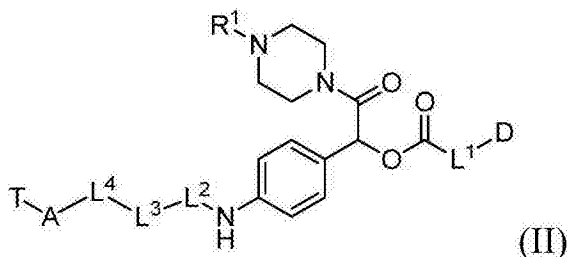
(54)发明名称

亲水性自消耗连接子及其缀合物

(57)摘要

本申请提供具有亲水性自消耗连接子的化合物,该连接子在适宜条件下可被裂解及结合亲水性基团以提供化合物的较好的可溶性。本申请的化合物包含药物部分、能够靶向选定的细胞群落的靶向部分及连接子,该连接子含有酰基单元、用于在药物部分与靶向部分之间提供距离的任选间隔基单元、可在适宜条件下可裂解的肽连接子、亲水性自消耗连接子及任选第二自消耗间隔基或环化自消除连接子。

1. 一种式 (II) 的化合物或其盐:



其中:

D为药物部分;

T为靶向部分;

R^1 为氢、未取代或经取代的 C_{1-3} 烷基或未取代或经取代的杂环基,其中所述经取代的烷基为具有一个或多个选自以下的取代基的烷基: $-R^{60}$ 、卤素、 $=O$ 、 $-OR^{70}$ 、 $-SR^{70}$ 、 $-NR^{80}R^{80}$ 、三卤代甲基、 $-CN$ 、 $-OCN$ 、 $-SCN$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $=N_2$ 、 $-N_3$ 、 $-S(O)R^{70}$ 、 $-SO_2R^{70}$ 、 $-SO_2O^-M^+$ 、 $-SO_2OR^{70}$ 、 $-OSO_2R^{70}$ 、 $-OSO_2O^-M^+$ 、 $-OSO_2OR^{70}$ 、 $-P(O)(O^-)_2(M^+)_2$ 、 $-P(O)(OR^{70})O^-M^+$ 、 $-P(O)(OR^{70})_2$ 、 $-C(O)R^{70}$ 、 $-C(S)R^{70}$ 、 $-C(NR^{70})R^{70}$ 、 $-C(O)O^-M^+$ 、 $-C(O)OR^{70}$ 、 $-C(S)OR^{70}$ 、 $-C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ 、 $-OC(O)R^{70}$ 、 $-OC(S)R^{70}$ 、 $-OC(O)O^-M^+$ 、 $-OC(O)OR^{70}$ 、 $-OC(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)R^{70}$ 、 $-NR^{70}CO_2^-M^+$ 、 $-NR^{70}CO_2R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ 及 $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$,其中 R^{60} 选自由以下基团组成的群组中:烷基、环烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、环烷基烷基、芳基、芳基烷基、杂芳基及杂芳基烷基;每个 R^{70} 独立为氢或 R^{60} ;每个 R^{80} 独立为 R^{70} 或可选择地,两个 R^{80} 与它们所键合的氮原子一起形成3、4、5、6或7元杂环烷基,该杂环烷基可任选包括1至4个选自由O、N及S组成的群组中的相同或不同的额外杂原子,其中N可具有 $-H$ 、 C_1-C_4 烷基、 $-C(O)C_{1-4}$ 烷基、 $-CO_2C_{1-4}$ 烷基或 $-SO_2C_{1-4}$ 烷基取代,且每个 M^+ 为具有净单个正电荷的抗衡离子;其中所述经取代的杂环基为用1至5个取代基或1至3个取代基取代的杂环基,所述取代基选自烷基、烷氧基、环烷基、环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、氨酰基、氨酰氧基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、氧代、硫酮基、羧基、羧基酯、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、巯基、硫代烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟氨基、烷氧氨基、硝基、磺酰氨基、 $-SO-$ 烷基、 $-SO-$ 芳基、 $-SO-$ 杂芳基、 $-SO-$ 杂环基、 $-SO_2-$ 烷基、 $-SO_2-$ 芳基、 $-SO_2-$ 杂芳基及 $-SO_2-$ 杂环基;

L^1 为键、第二自消耗连接子或环化自消除连接子;

L^2 为键或第二自消耗连接子;

其中若 L^1 为第二自消耗连接子或环化自消除连接子,则 L^2 为键;

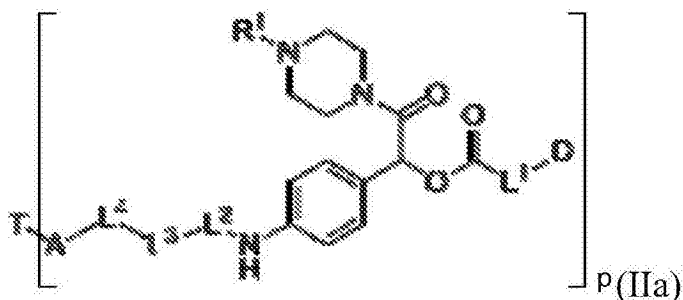
其中若 L^2 为第二自消耗连接子,则 L^1 为键;

L^3 为肽连接子;

L^4 为键或间隔基;及

A为酰基单元。

2. 一种式 (IIa) 的化合物或其盐:



其中：

p为1至20；

D为药物部分；

T为靶向部分；

R^1 为氢、未取代或经取代的 C_{1-3} 烷基或未取代或经取代的杂环基，其中所述经取代的烷基为具有一个或多个选自以下的取代基的烷基： $-R^{60}$ 、卤素、 $=O$ 、 $-OR^{70}$ 、 $-SR^{70}$ 、 $-NR^{80}R^{80}$ 、三卤代甲基、 $-CN$ 、 $-OCN$ 、 $-SCN$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $=N_2$ 、 $-N_3$ 、 $-S(O)R^{70}$ 、 $-SO_2R^{70}$ 、 $-SO_2O^-M^+$ 、 $-SO_2OR^{70}$ 、 $-OSO_2R^{70}$ 、 $-OSO_2O^-M^+$ 、 $-OSO_2OR^{70}$ 、 $-P(O)(O^-)_2(M^+)_2$ 、 $-P(O)(OR^{70})O^-M^+$ 、 $-P(O)(OR^{70})_2$ 、 $-C(O)R^{70}$ 、 $-C(S)R^{70}$ 、 $-C(NR^{70})R^{70}$ 、 $-C(O)O^-M^+$ 、 $-C(O)OR^{70}$ 、 $-C(S)OR^{70}$ 、 $-C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ 、 $-OC(O)R^{70}$ 、 $-OC(S)R^{70}$ 、 $-OC(O)O^-M^+$ 、 $-OC(O)OR^{70}$ 、 $-OC(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)R^{70}$ 、 $-NR^{70}CO_2^-M^+$ 、 $-NR^{70}CO_2R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ 及 $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ ，其中 R^{60} 选自由以下基团组成的群组中：烷基、环烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、环烷基烷基、芳基、芳基烷基、杂芳基及杂芳基烷基；每个 R^{70} 独立为氢或 R^{60} ；每个 R^{80} 独立为 R^{70} 或可选择地，两个 R^{80} 与它们所键合的氮原子一起形成3、4、5、6或7元杂环烷基，该杂环烷基可任选包括1至4个选自由O、N及S组成的群组中的相同或不同的额外杂原子，其中N可具有 $-H$ 、 C_{1-4} 烷基、 $-C(O)C_{1-4}$ 烷基、 $-CO_2C_{1-4}$ 烷基或 $-SO_2C_{1-4}$ 烷基取代，且每个 M^+ 为具有净单个正电荷的抗衡离子；其中所述经取代的杂环基为用1至5个取代基或1至3个取代基取代的杂环基，所述取代基选自烷基、烷氧基、环烷基、环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、氨酰基、氨酰氧基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、氧代、硫酮基、羧基、羧基酯、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、巯基、硫代烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟氨基、烷氧氨基、硝基、磺酰氨基、 $-SO$ -烷基、 $-SO$ -芳基、 $-SO$ -杂芳基、 $-SO$ -杂环基、 $-SO_2$ -烷基、 $-SO_2$ -芳基、 $-SO_2$ -杂芳基及 $-SO_2$ -杂环基；

L^1 为键、第二自消耗连接子或环化自消除连接子；

L^2 为键或第二自消耗连接子；

其中若 L^1 为第二自消耗连接子或环化自消除连接子，则 L^2 为键；

其中若 L^2 为第二自消耗连接子，则 L^1 为键；

L^3 为肽连接子；

L^4 为键或间隔基；及

A为酰基单元。

3. 如权利要求2所述的化合物，其中p为1至4。

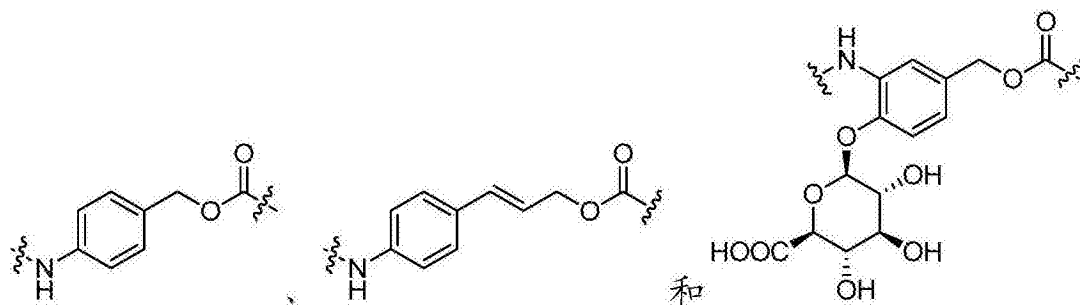
4. 如权利要求1至3中任一项所述的化合物，其中 L^1 为键。

5. 如权利要求1至3中任一项所述的化合物，其中 L^1 为第二自消耗连接子或环化自消除

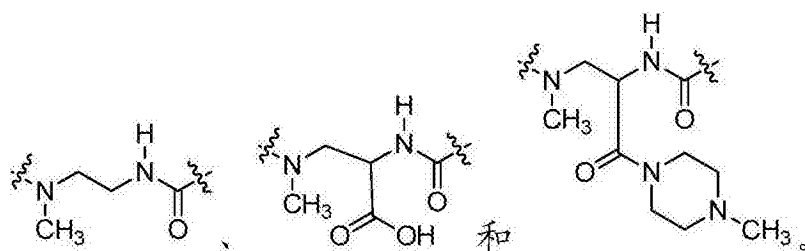
连接子。

6. 如权利要求5所述的化合物, 其中 L^1 为氨基苯甲氧羰基连接子。

7. 如权利要求5所述的化合物, 其中 L^1 选自自由以下基团组成的群组中:



8. 如权利要求5所述的化合物, 其中 L^1 选自自由以下基团组成的群组中:

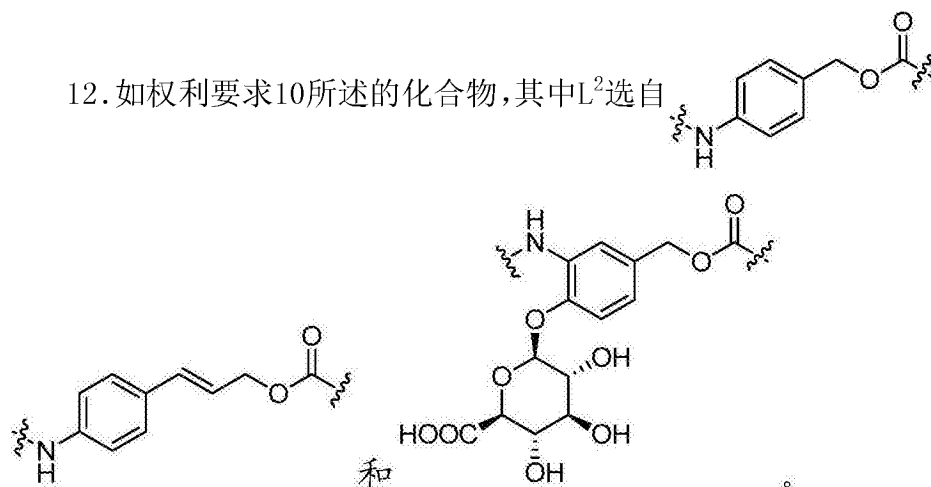


9. 如权利要求1至3中任一项所述的化合物, 其中 L^2 为键。

10. 如权利要求4所述的化合物, 其中 L^2 为第二自消耗连接子。

11. 如权利要求10所述的化合物, 其中 L^2 为氨基苯甲氧羰基连接子。

12. 如权利要求10所述的化合物, 其中 L^2 选自



13. 如权利要求1至3中任一项所述的化合物, 其中 L^3 为1至10个氨基酸残基的肽连接子。

14. 如权利要求13所述的化合物, 其中 L^3 为2至4个氨基酸残基的肽连接子。

15. 如权利要求1至3中任一项所述的化合物, 其中 L^3 为包含至少一个赖氨酸或精氨酸残基的肽连接子。

16. 如权利要求1至3中任一项所述的化合物, 其中 L^3 为包含选自以下的氨基酸残基的肽连接子: 赖氨酸、D-赖氨酸、瓜氨酸、精氨酸、脯氨酸、组氨酸、鸟氨酸及谷氨酰胺。

17. 如权利要求1至3中任一项所述的化合物, 其中 L^3 为包含选自以下的氨基酸残基的肽连接子: 缬氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、丙氨酸、亮氨酸、色氨酸及酪氨酸。

18. 如权利要求13所述的化合物,其中 L^3 为选自以下的二肽单元:缬氨酸-瓜氨酸、脯氨酸-赖氨酸、甲硫氨酸-D-赖氨酸、天冬酰胺-D-赖氨酸、异亮氨酸-脯氨酸、苯丙氨酸-赖氨酸及缬氨酸-赖氨酸。

19. 如权利要求18所述的化合物,其中 L^3 为缬氨酸-瓜氨酸。

20. 如权利要求1至3中任一项所述的化合物,其中 L^4 为键。

21. 如权利要求1至3中任一项所述的化合物,其中 L^4 为间隔基。

22. 如权利要求21所述的化合物,其中该间隔基为聚亚烷基二醇、亚烷基、亚烯基、亚炔基或聚胺。

23. 如权利要求21所述的化合物,其中 L^4 为 $L^{4a}-C(O)$ 、 $L^{4a}-C(O)-NH$ 、 $L^{4a}-S(O)_2$ 或 $L^{4a}-S(O)_2-NH$,其中每个 L^{4a} 独立为聚亚烷基二醇、亚烷基、亚烯基、亚炔基或聚胺。

24. 如权利要求21所述的化合物,其中 L^4 为 $L^{4a}-C(O)$,其中 L^{4a} 为聚亚烷基二醇、亚烷基、亚烯基、亚炔基或聚胺。

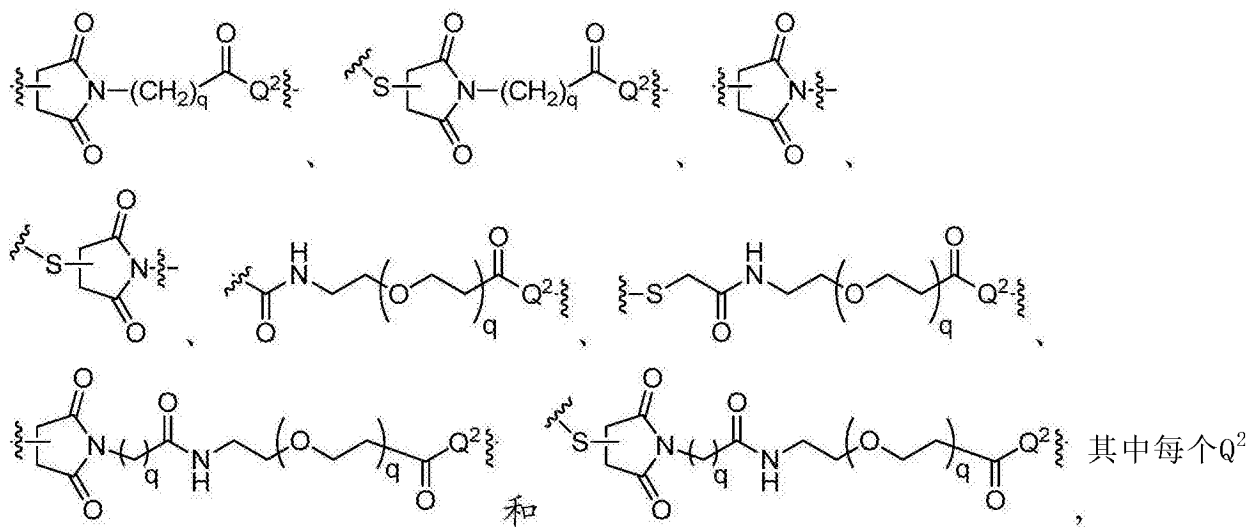
25. 如权利要求21所述的化合物,其中 L^4 为 $L^{4a}-C(O)$,其中 L^{4a} 为聚亚烷基二醇。

26. 如权利要求21所述的化合物,其中 L^4 为 $L^{4a}-C(O)$,其中 L^{4a} 为聚乙二醇。

27. 如权利要求21所述的化合物,其中该间隔基具有式 $-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_m-CH_2-C(O)-$,其中 m 为0至30的整数。

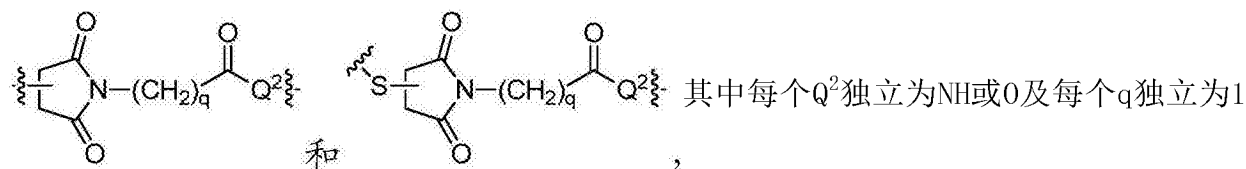
28. 如权利要求21所述的化合物,其中 L^4 为 $L^{4a}-C(O)$,其中 L^{4a} 为亚烷基。

29. 如权利要求1至3中任一项所述的化合物,其中A选自由以下基团组成的群组中:



为NH或O且每个 q 独立为1至10的整数。

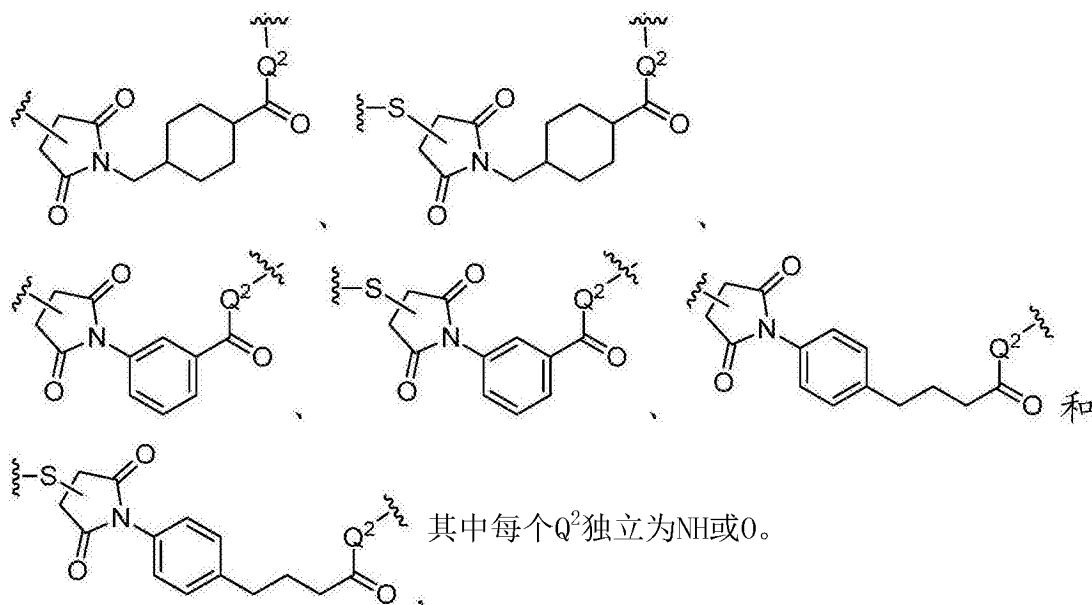
30. 如权利要求29所述的化合物,其中A选自由以下基团组成的群组中:



至10的整数。

31. 如权利要求30所述的化合物,其中 q 为2、3、4或5。

32. 如权利要求1至3中任一项所述的化合物,其中A选自由以下基团组成的群组中:



33. 如权利要求1至3中任一项所述的化合物,其中T为抗体靶向分子。

34. 如权利要求33所述的化合物,其中T选自由以下组成的群组中:(a) 抗体,其包含:包含来自SEQ ID NO:1的三个CDR的重链可变区及包含来自SEQ ID NO:2的三个CDR的轻链可变区;及(b) 抗体,其包含:包含来自SEQ ID NO:3的三个CDR的重链可变区及包含来自SEQ ID NO:4的三个CDR的轻链可变区。

35. 如权利要求33所述的化合物,其中T选自由以下组成的群组中:(a) 抗体,其包含:包含SEQ ID NO:1的氨基酸1-118的重链可变区及/或包含SEQ ID NO:2的氨基酸1-113的轻链可变区;及(b) 抗体,其包含:包含来自SEQ ID NO:3的氨基酸1-119的重链可变区及/或包含来自SEQ ID NO:4的氨基酸1-108的轻链可变区。

36. 如权利要求33所述的化合物,其中T为包含SEQ ID NO:1的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:2的轻链氨基酸序列的抗体。

37. 如权利要求33所述的化合物,其中T为包含SEQ ID NO:3的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:4的轻链氨基酸序列的抗体。

38. 如权利要求33所述的化合物,其中用半胱氨酸残基替代重链及/或轻链的一或多个氨基酸残基。

39. 如权利要求33所述的化合物,其中用半胱氨酸残基替代重链的一或多个氨基酸残基。

40. 如权利要求33所述的化合物,其中用半胱氨酸残基替代该抗体的Fc区域的一或多个氨基酸残基。

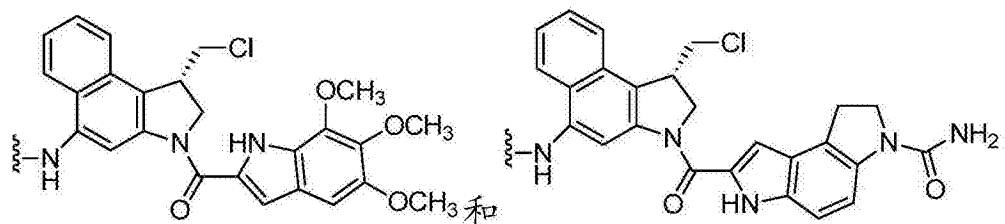
41. 如权利要求40所述的化合物,其中该抗体的Fc区域的该一或多个氨基酸残基处于使用EU编号的位置157、169及/或442处。

42. 如权利要求33所述的化合物,其中经由半胱氨酸残基将D连接至T。

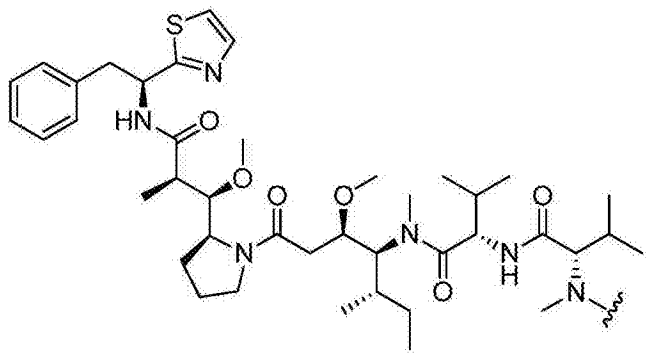
43. 如权利要求1至3中任一项所述的化合物,其中D为含有氨基的药物部分,其中将该药物经由该氨基连接至 L^1 或X。

44. 如权利要求43所述的化合物,其中D为倍癌霉素、多拉司他汀、微管结合素、多柔比星(DOX)、紫杉醇或丝裂霉素C(MMC)或其氨基衍生物。

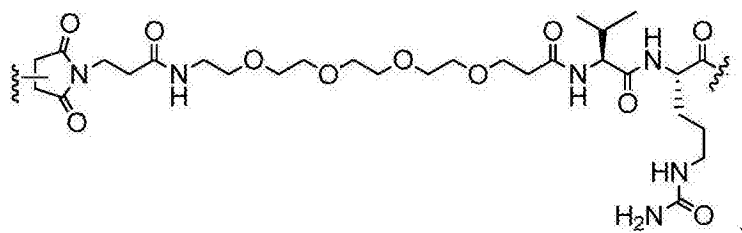
45. 如权利要求43所述的化合物,其中D为选自由以下基团组成的群组中:

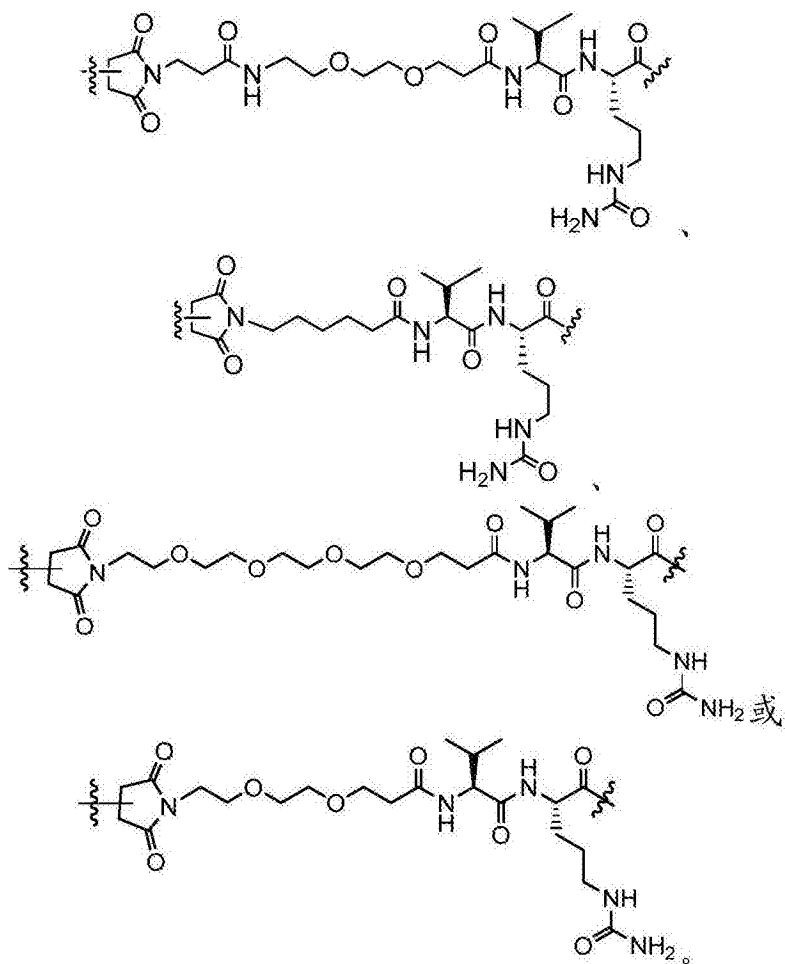


46. 如权利要求43所述的化合物,其中D为:

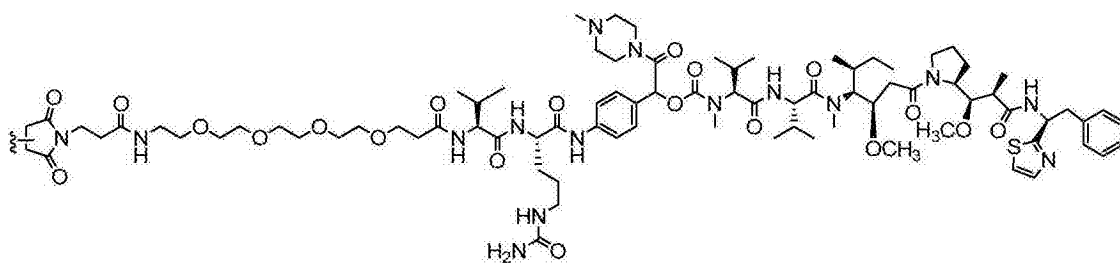


47. 如权利要求1至3中任一项所述的化合物,其中-A-L⁴-L³-L²-为

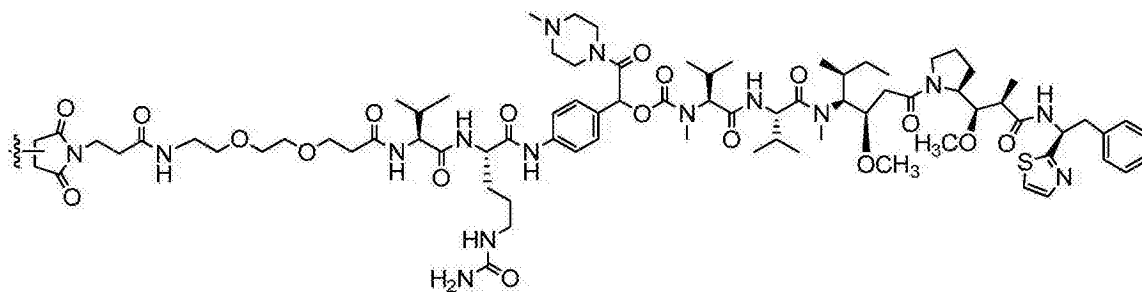




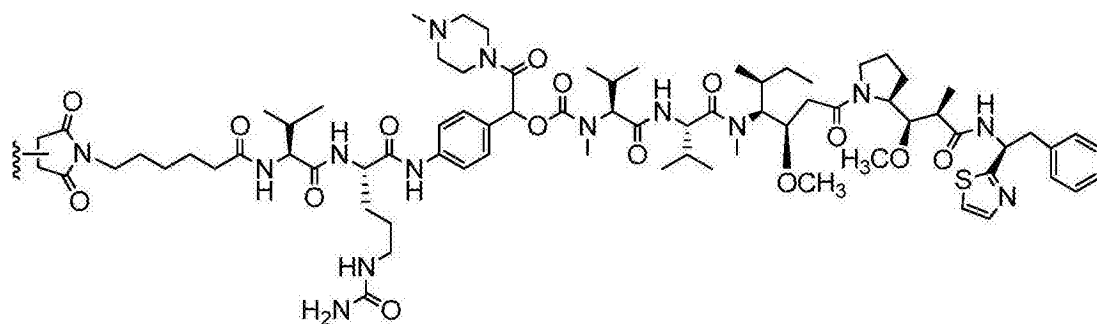
48. 如权利要求1至3中任一项所述的化合物,其中-A-L⁴-L³-L²-X-L¹-D为:



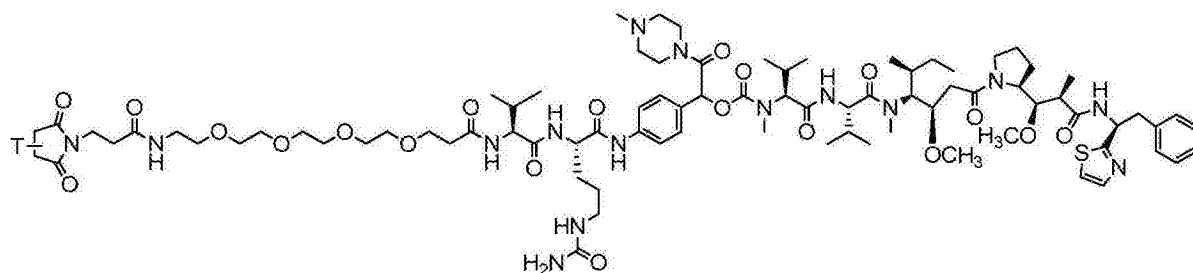
49. 如权利要求1至3中任一项所述的化合物,其中-A-L⁴-L³-L²-X-L¹-D为:



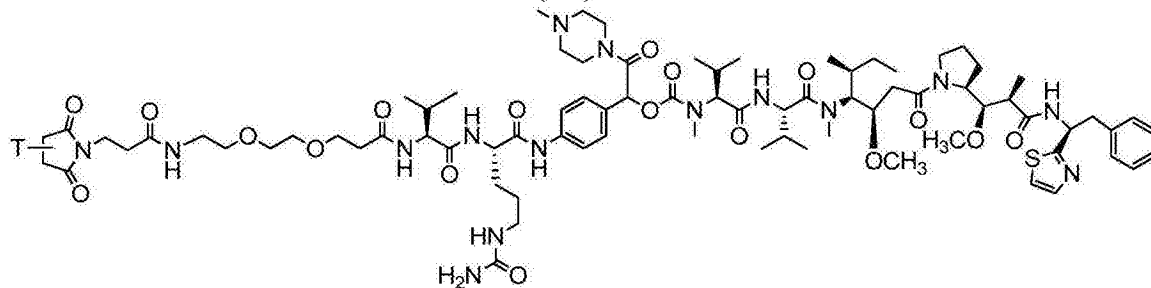
50. 如权利要求1至3中任一项所述的化合物,其中-A-L⁴-L³-L²-X-L¹-D为:



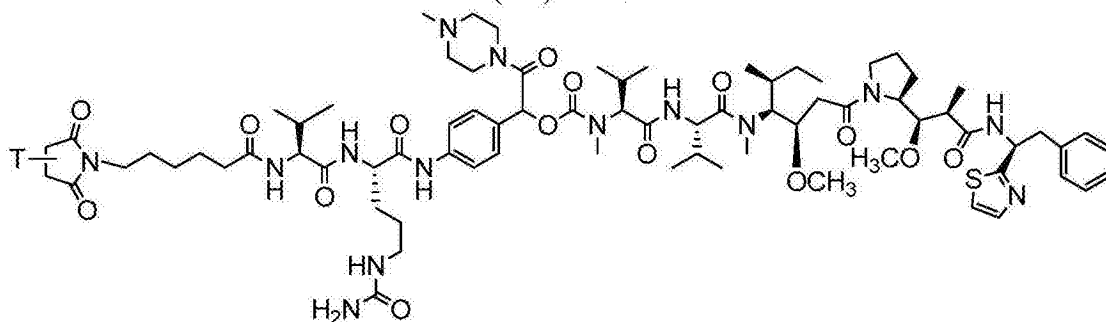
51. 一种式 (III)、(IV) 或 (V) 的化合物或其盐:



(III),



(IV), 或



(V);

其中T为:

- (a) 包含SEQ ID NO:1的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:2的轻链氨基酸序列的抗体,或
- (b) 包含SEQ ID NO:3的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:4的轻链氨基酸序列的抗体。

52. 如权利要求51所述的化合物或其盐;其中该化合物具有式 (III) 且T为包含SEQ ID NO:1的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:2的轻链氨基酸序列的抗体。

53. 如权利要求51所述的化合物或其盐;其中该化合物具有式 (IV) 且T为包含SEQ ID NO:1的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:2的轻链氨基酸序列的抗体。

54. 如权利要求51所述的化合物或其盐;其中该化合物具有式 (V) 且T为包含SEQ ID

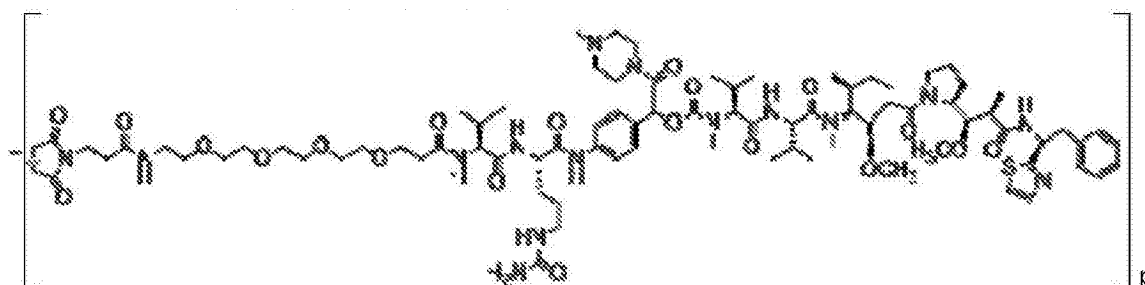
N0:1的重链氨基酸序列及SEQ ID N0:2的轻链氨基酸序列的抗体。

55. 如权利要求51所述的化合物或其盐；其中该化合物具有式(III)且T为包含SEQ ID N0:3的重链氨基酸序列及SEQ ID N0:4的轻链氨基酸序列的抗体。

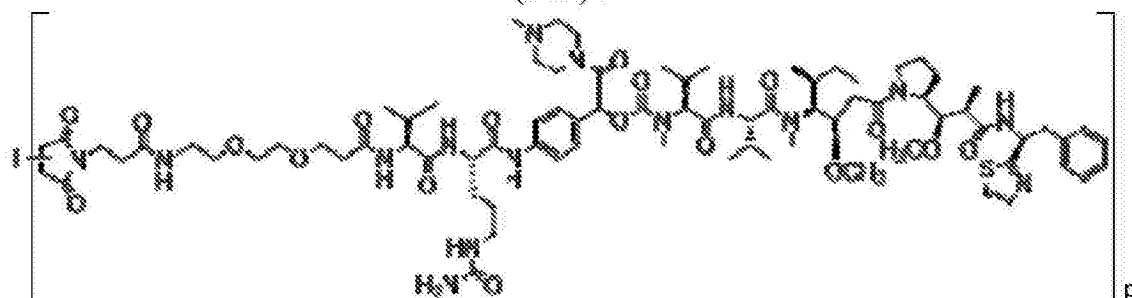
56. 如权利要求51所述的化合物或其盐；其中该化合物具有式(IV)且T为包含SEQ ID N0:3的重链氨基酸序列及SEQ ID N0:4的轻链氨基酸序列的抗体。

57. 如权利要求51所述的化合物或其盐；其中该化合物具有式(V)且T为包含SEQ ID N0:3的重链氨基酸序列及SEQ ID N0:4的轻链氨基酸序列的抗体。

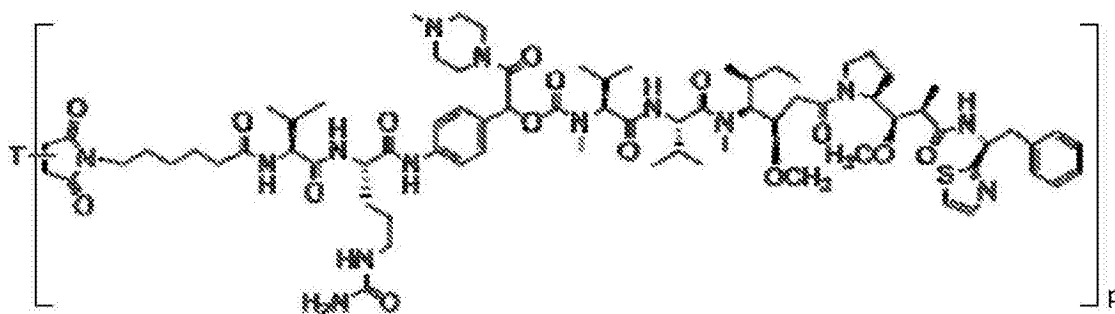
58. 一种式(IIIa)、(IVa)或(Va)的化合物或其盐：



(IIIa),



(IVa), 或



(Va);

其中p为1至4且T为：

- (a) 包含SEQ ID N0:1的重链氨基酸序列及SEQ ID N0:2的轻链氨基酸序列的抗体,或
- (b) 包含SEQ ID N0:3的重链氨基酸序列及SEQ ID N0:4的轻链氨基酸序列的抗体。

59. 如权利要求58所述的化合物或其盐；其中该化合物具有式(IIIa), p为1至4且T为包含SEQ ID N0:1的重链氨基酸序列及SEQ ID N0:2的轻链氨基酸序列的抗体。

60. 如权利要求58所述的化合物或其盐；其中该化合物具有式(IVa), p为1至4且T为包含SEQ ID N0:1的重链氨基酸序列及SEQ ID N0:2的轻链氨基酸序列的抗体。

61. 如权利要求58所述的化合物或其盐;其中该化合物具有式(Va), p为1至4且T为包含SEQ ID NO:1的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:2的轻链氨基酸序列的抗体。

62. 如权利要求58所述的化合物或其盐;其中该化合物具有式(IIIa), p为1至4且T为包含SEQ ID NO:3的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:4的轻链氨基酸序列的抗体。

63. 如权利要求58所述的化合物或其盐;其中该化合物具有式(IVa), p为1至4且T为包含SEQ ID NO:3的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:4的轻链氨基酸序列的抗体。

64. 如权利要求58所述的化合物或其盐;其中该化合物具有式(Va), p为1至4且T为包含SEQ ID NO:3的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:4的轻链氨基酸序列的抗体。

65. 一种药物组合物, 该药物组合物包含如权利要求1至3、51和58中任一项所述的化合物或其盐;及药用载体。

66. 如权利要求1至3中任一项所述的化合物或其盐在制备用于杀死细胞的药物中的用途。

67. 如权利要求66所述的用途, 其中该细胞为癌细胞。

68. 如权利要求67所述的用途, 其中该癌细胞为胃癌细胞、胰腺癌细胞、结肠直肠癌细胞、肺癌细胞、食道癌细胞、膀胱癌细胞、头颈癌细胞、肝癌细胞、子宫内膜癌细胞、唾液腺癌细胞、淋巴瘤细胞、乳癌细胞、宫颈癌细胞或卵巢癌细胞。

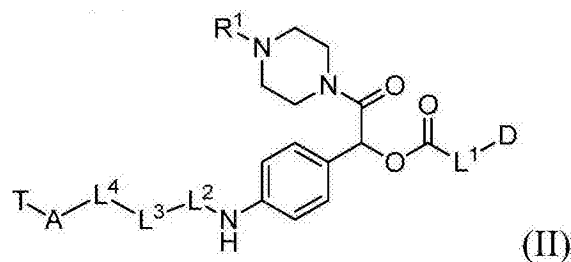
69. 如权利要求1至3中任一项所述的化合物或其盐在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

70. 如权利要求69所述的用途, 其中该癌症为胃癌、胰腺癌、结肠直肠癌、肺癌、食道癌、膀胱癌、头颈癌、肝癌、子宫内膜癌、唾液腺癌、淋巴瘤、乳癌、宫颈癌或卵巢癌。

71. 一种试剂盒, 该试剂盒包含如权利要求1至3、51和58中任一项所述的化合物或其盐。

72. 如权利要求71所述的试剂盒, 其进一步包含在癌症的治疗中的使用说明。

73. 一种用于制备式(II)的化合物或其盐的方法:



其中:

D为药物部分;

T为抗体;

R¹为氢、未取代或经取代的C₁₋₃烷基或未取代或经取代的杂环基, 其中所述经取代的烷基为具有一个或多个选自以下的取代基的烷基: -R⁶⁰、卤素、=O、-OR⁷⁰、-SR⁷⁰、-NR⁸⁰R⁸⁰、三卤代甲基、-CN、-OCN、-SCN、-NO、-NO₂、=N₂、-N₃、-S(O)R⁷⁰、-SO₂R⁷⁰、-SO₂O⁻M⁺、-SO₂OR⁷⁰、-OSO₂R⁷⁰、-OSO₂O⁻M⁺、-OSO₂OR⁷⁰、-P(O)(O⁻)₂(M⁺)₂、-P(O)(OR⁷⁰)O⁻M⁺、-P(O)(OR⁷⁰)₂、-C(O)R⁷⁰、-C(S)R⁷⁰、-C(NR⁷⁰)R⁷⁰、-C(O)O⁻M⁺、-C(O)OR⁷⁰、-C(S)OR⁷⁰、-C(O)NR⁸⁰R⁸⁰、-C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰、-OC(O)R⁷⁰、-OC(S)R⁷⁰、-OC(O)O⁻M⁺、-OC(O)OR⁷⁰、-OC(S)OR⁷⁰、-NR⁷⁰C(O)R⁷⁰、-NR⁷⁰C(S)R⁷⁰、-NR⁷⁰CO₂M

$^{+}$ 、 $-\text{NR}^{70}\text{CO}_2\text{R}^{70}$ 、 $-\text{NR}^{70}\text{C}(\text{S})\text{OR}^{70}$ 、 $-\text{NR}^{70}\text{C}(\text{O})\text{NR}^{80}\text{R}^{80}$ 、 $-\text{NR}^{70}\text{C}(\text{NR}^{70})\text{R}^{70}$ 及 $-\text{NR}^{70}\text{C}(\text{NR}^{70})\text{NR}^{80}\text{R}^{80}$, 其中 R^{60} 选自由以下基团组成的群组中: 烷基、环烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、环烷基烷基、芳基、芳基烷基、杂芳基及杂芳基烷基; 每个 R^{70} 独立为氢或 R^{60} ; 每个 R^{80} 独立为 R^{70} 或可选择地, 两个 R^{80} 与它们所键合的氮原子一起形成3、4、5、6或7元杂环烷基, 该杂环烷基可任选包括1至4个选自由O、N及S组成的群组中的相同或不同的额外杂原子, 其中N可具有 $-\text{H}$ 、 $\text{C}_1\text{-C}_4$ 烷基、 $-\text{C}(\text{O})\text{C}_{1-4}$ 烷基、 $-\text{CO}_2\text{C}_{1-4}$ 烷基或 $-\text{SO}_2\text{C}_{1-4}$ 烷基取代, 且每个 M^{+} 为具有净单个正电荷的抗衡离子; 其中所述经取代的杂环基为用1至5个取代基或1至3个取代基取代的杂环基, 所述取代基选自烷基、烷氧基、环烷基、环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、氨酰基、氨酰氧基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、氧代、硫酮基、羧基、羧基酯、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、巯基、硫代烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟氨基、烷氧氨基、硝基、磺酰氨基、 $-\text{SO}-$ 烷基、 $-\text{SO}-$ 芳基、 $-\text{SO}-$ 杂芳基、 $-\text{SO}-$ 杂环基、 $-\text{SO}_2-$ 烷基、 $-\text{SO}_2-$ 芳基、 $-\text{SO}_2-$ 杂芳基及 $-\text{SO}_2-$ 杂环基;

L^1 为键、第二自消耗连接子或环化自消除连接子;

L^2 为键或第二自消耗连接子;

其中若 L^1 为第二自消耗连接子或环化自消除连接子, 则 L^2 为键;

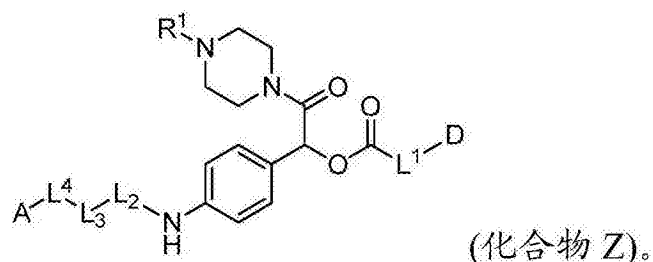
其中若 L^2 为第二自消耗连接子, 则 L^1 为键;

L^3 为肽连接子;

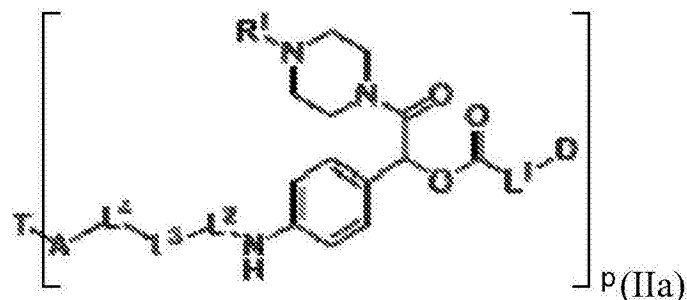
L^4 为键或间隔基; 及

A为酰基单元;

该方法包括使抗体与化合物Z或其盐反应:



74. 一种用于制备式 (IIa) 的化合物或其盐的方法:



其中:

p为1至20;

D为药物部分;

T为抗体;

R^1 为氢、未取代或经取代的 C_{1-3} 烷基或未取代或经取代的杂环基, 其中所述经取代的烷

基为具有一个或多个选自以下的取代基的烷基： $-R^{60}$ 、卤素、 $=O$ 、 $-OR^{70}$ 、 $-SR^{70}$ 、 $-NR^{80}R^{80}$ 、三卤代甲基、 $-CN$ 、 $-OCN$ 、 $-SCN$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $=N_2$ 、 $-N_3$ 、 $-S(O)R^{70}$ 、 $-SO_2R^{70}$ 、 $-SO_2O^-M^+$ 、 $-SO_2OR^{70}$ 、 $-OSO_2R^{70}$ 、 $-OSO_2O^-M^+$ 、 $-OSO_2OR^{70}$ 、 $-P(O)(O^-)_2(M^+)_2$ 、 $-P(O)(OR^{70})O^-M^+$ 、 $-P(O)(OR^{70})_2$ 、 $-C(O)R^{70}$ 、 $-C(S)R^{70}$ 、 $-C(NR^{70})R^{70}$ 、 $-C(O)O^-M^+$ 、 $-C(O)OR^{70}$ 、 $-C(S)OR^{70}$ 、 $-C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ 、 $-OC(O)R^{70}$ 、 $-OC(S)R^{70}$ 、 $-OC(O)O^-M^+$ 、 $-OC(O)OR^{70}$ 、 $-OC(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)R^{70}$ 、 $-NR^{70}CO_2^-M^+$ 、 $-NR^{70}CO_2R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ 及 $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ ，其中 R^{60} 选自由以下基团组成的群组中：烷基、环烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、环烷基烷基、芳基、芳基烷基、杂芳基及杂芳基烷基；每个 R^{70} 独立为氢或 R^{60} ；每个 R^{80} 独立为 R^{70} 或可选择地，两个 R^{80} 与它们所键合的氮原子一起形成3、4、5、6或7元杂环烷基，该杂环烷基可任选包括1至4个选自由O、N及S组成的群组中的相同或不同的额外杂原子，其中N可具有 $-H$ 、 C_1-C_4 烷基、 $-C(O)C_1-4$ 烷基、 $-CO_2C_1-4$ 烷基或 $-SO_2C_1-4$ 烷基取代，且每个 M^+ 为具有净单个正电荷的抗衡离子；其中所述经取代的杂环基为用1至5个取代基或1至3个取代基取代的杂环基，所述取代基选自烷基、烷氧基、环烷基、环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、氨酰基、氨酰氧基、叠氨基、氰基、卤素、羟基、氧代、硫酮基、羧基、羧基酯、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、巯基、硫代烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟氨基、烷氧氨基、硝基、磺酰氨基、 $-SO-$ 烷基、 $-SO-$ 芳基、 $-SO-$ 杂芳基、 $-SO-$ 杂环基、 $-SO_2-$ 烷基、 $-SO_2-$ 芳基、 $-SO_2-$ 杂芳基及 $-SO_2-$ 杂环基；

L^1 为键、第二自消耗连接子或环化自消除连接子；

L^2 为键或第二自消耗连接子；

其中若 L^1 为第二自消耗连接子或环化自消除连接子，则 L^2 为键；

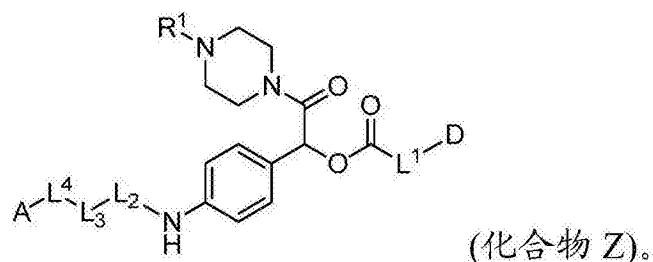
其中若 L^2 为第二自消耗连接子，则 L^1 为键；

L^3 为肽连接子；

L^4 为键或间隔基；及

A为酰基单元；

该方法包括使抗体与化合物Z或其盐反应：

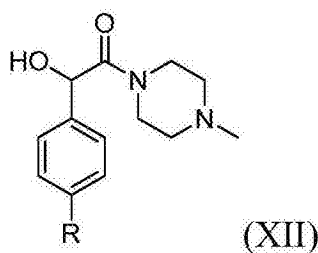


75. 如权利要求74所述的方法，其中该抗体包含一或多个巯基。

76. 一种化合物或其盐，其中通过根据权利要求73至75中任一项所述的方法制备该化合物，其中该抗体包含一或多个巯基。

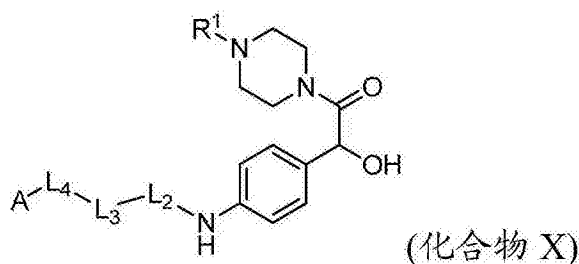
77. 一种药物组合物，该药物组合物包含如权利要求76所述的化合物或其盐及药用载体。

78. 一种式 (XII) 的化合物或其盐：



其中R为NO₂或NH₂。

79. 一种用于制备化合物X或其盐的方法：



其中：

L²为键或第二自消耗连接子；

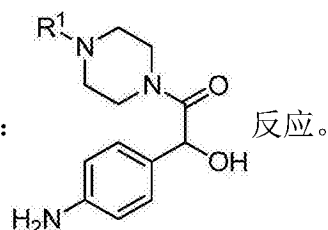
L³为肽连接子；

L⁴为键或间隔基；

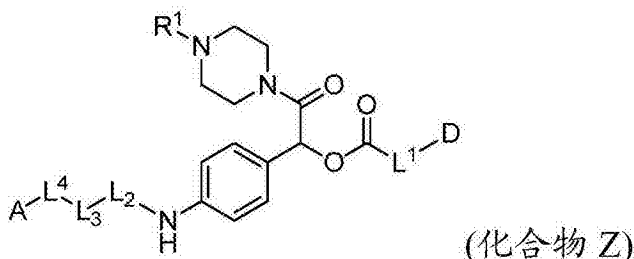
A为酰基单元；及

R¹为氢、未取代或经取代的C₁₋₃烷基或未取代或经取代的杂环基，其中所述经取代的烷基为具有一个或多个选自以下的取代基的烷基：-R⁶⁰、卤素、=O、-OR⁷⁰、-SR⁷⁰、-NR⁸⁰R⁸⁰、三卤代甲基、-CN、-OCN、-SCN、-NO、-NO₂、=N₂、-N₃、-S(O)R⁷⁰、-SO₂R⁷⁰、-SO₂O⁻M⁺、-SO₂OR⁷⁰、-OSO₂R⁷⁰、-OSO₂O⁻M⁺、-OSO₂OR⁷⁰、-P(O)(O⁻)₂(M⁺)₂、-P(O)(OR⁷⁰)O⁻M⁺、-P(O)(OR⁷⁰)₂、-C(O)R⁷⁰、-C(S)R⁷⁰、-C(NR⁷⁰)R⁷⁰、-C(O)O⁻M⁺、-C(O)OR⁷⁰、-C(S)OR⁷⁰、-C(O)NR⁸⁰R⁸⁰、-C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰、-OC(O)R⁷⁰、-OC(S)R⁷⁰、-OC(O)O⁻M⁺、-OC(O)OR⁷⁰、-OC(S)OR⁷⁰、-NR⁷⁰C(O)R⁷⁰、-NR⁷⁰C(S)R⁷⁰、-NR⁷⁰CO₂M⁺、-NR⁷⁰CO₂R⁷⁰、-NR⁷⁰C(S)OR⁷⁰、-NR⁷⁰C(O)NR⁸⁰R⁸⁰、-NR⁷⁰C(NR⁷⁰)R⁷⁰及-NR⁷⁰C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰，其中R⁶⁰选自由以下基团组成的群组中：烷基、环烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、环烷基烷基、芳基、芳基烷基、杂芳基及杂芳基烷基；每个R⁷⁰独立为氢或R⁶⁰；每个R⁸⁰独立为R⁷⁰或可选择地，两个R⁸⁰与它们所键合的氮原子一起形成3、4、5、6或7元杂环烷基，该杂环烷基可任选包括1至4个选自由O、N及S组成的群组中的相同或不同的额外杂原子，其中N可具有-H、C₁₋₄烷基、-C(O)C₁₋₄烷基、-CO₂C₁₋₄烷基或-SO₂C₁₋₄烷基取代，且每个M⁺为具有净单个正电荷的抗衡离子；其中所述经取代的杂环基为用1至5个取代基或1至3个取代基取代的杂环基，所述取代基选自烷基、烷氧基、环烷基、环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、氨酰基、氨酰氧基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、氧代、硫酮基、羧基、羧基酯、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、巯基、硫代烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟氨基、烷氧氨基、硝基、磺酰氨基、-SO-烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO-杂环基、-SO₂-烷基、-SO₂-芳基、-SO₂-杂芳基及-SO₂-杂环基；

该方法包括使化合物W: A-L⁴-L³-L²与化合物I:



80. 一种用于制备化合物Z或其盐的方法:



其中:

D为药物部分;

L¹为键、第二自消耗连接子或环化自消除连接子;

L²为键或第二自消耗连接子;

其中若L¹为第二自消耗连接子或环化自消除连接子,则L²为键;

其中若L²为第二自消耗连接子,则L¹为键;

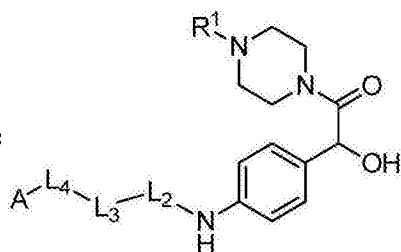
L³为肽连接子;

L⁴为键或间隔基;

A为酰基单元;及

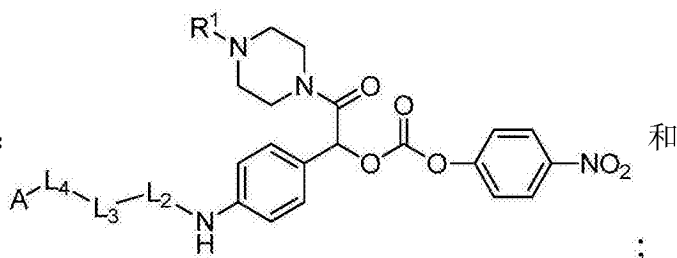
R¹为氢、未取代或经取代的C₁₋₃烷基或未取代或经取代的杂环基,其中所述经取代的烷基为具有一个或多个选自以下的取代基的烷基: -R⁶⁰、卤素、=O、-OR⁷⁰、-SR⁷⁰、-NR⁸⁰R⁸⁰、三卤代甲基、-CN、-OCN、-SCN、-NO、-NO₂、=N₂、-N₃、-S(O)R⁷⁰、-SO₂R⁷⁰、-SO₂O⁻M⁺、-SO₂OR⁷⁰、-OSO₂R⁷⁰、-OSO₂O⁻M⁺、-OSO₂OR⁷⁰、-P(O)(O⁻)₂(M⁺)₂、-P(O)(OR⁷⁰)O⁻M⁺、-P(O)(OR⁷⁰)₂、-C(O)R⁷⁰、-C(S)R⁷⁰、-C(NR⁷⁰)R⁷⁰、-C(O)O⁻M⁺、-C(O)OR⁷⁰、-C(S)OR⁷⁰、-C(O)NR⁸⁰R⁸⁰、-C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰、-OC(O)R⁷⁰、-OC(S)R⁷⁰、-OC(O)O⁻M⁺、-OC(O)OR⁷⁰、-OC(S)OR⁷⁰、-NR⁷⁰C(O)R⁷⁰、-NR⁷⁰C(S)R⁷⁰、-NR⁷⁰CO₂⁻M⁺、-NR⁷⁰CO₂R⁷⁰、-NR⁷⁰C(S)OR⁷⁰、-NR⁷⁰C(O)NR⁸⁰R⁸⁰、-NR⁷⁰C(NR⁷⁰)R⁷⁰及-NR⁷⁰C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰,其中R⁶⁰选自由以下基团组成的群组中:烷基、环烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、环烷基烷基、芳基、芳基烷基、杂芳基及杂芳基烷基;每个R⁷⁰独立为氢或R⁶⁰;每个R⁸⁰独立为R⁷⁰或可选择地,两个R⁸⁰与它们所键合的氮原子一起形成3、4、5、6或7元杂环烷基,该杂环烷基可任选包括1至4个选自由O、N及S组成的群组中的相同或不同的额外杂原子,其中N可具有-H、C₁₋₄烷基、-C(O)C₁₋₄烷基、-CO₂C₁₋₄烷基或-SO₂C₁₋₄烷基取代,且每个M⁺为具有净单个正电荷的抗衡离子;其中所述经取代的杂环基为用1至5个取代基或1至3个取代基取代的杂环基,所述取代基选自烷基、烷氧基、环烷基、环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、氨酰基、氨酰氧基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、氧代、硫酮基、羧基、羧基酯、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、巯基、硫代烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟氨基、烷氧氨基、硝基、磺酰氨基、-SO-烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO-杂环基、-SO₂-烷基、-SO₂-芳基、-SO₂-杂芳基及-SO₂-杂环基;

该方法包括使化合物X:



与氯甲酸对硝基苯基酯反应以形

成化合物Y:

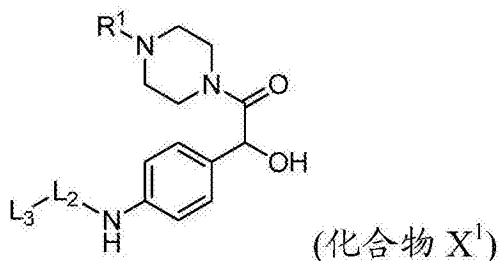


和

;

使化合物Y与包含L¹-D的化合物反应。

81. 一种用于制备化合物X¹或其盐的方法:



其中:

L²为键或第二自消耗连接子;

L³为肽连接子;及

R¹为氢、未取代或经取代的C₁₋₃烷基或未取代或经取代的杂环基,其中所述经取代的烷基为具有一个或多个选自以下的取代基的烷基: -R⁶⁰、卤素、=O、-OR⁷⁰、-SR⁷⁰、-NR⁸⁰R⁸⁰、三卤代甲基、-CN、-OCN、-SCN、-NO、-NO₂、=N₂、-N₃、-S(O)R⁷⁰、-SO₂R⁷⁰、-SO₂O⁻M⁺、-SO₂OR⁷⁰、-OSO₂R⁷⁰、-OSO₂O⁻M⁺、-OSO₂OR⁷⁰、-P(O)(O⁻)₂(M⁺)₂、-P(O)(OR⁷⁰)O⁻M⁺、-P(O)(OR⁷⁰)₂、-C(O)R⁷⁰、-C(S)R⁷⁰、-C(NR⁷⁰)R⁷⁰、-C(O)O⁻M⁺、-C(O)OR⁷⁰、-C(S)OR⁷⁰、-C(O)NR⁸⁰R⁸⁰、-C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰、-OC(O)R⁷⁰、-OC(S)R⁷⁰、-OC(O)O⁻M⁺、-OC(O)OR⁷⁰、-OC(S)OR⁷⁰、-NR⁷⁰C(O)R⁷⁰、-NR⁷⁰C(S)R⁷⁰、-NR⁷⁰CO₂⁻M⁺、-NR⁷⁰CO₂R⁷⁰、-NR⁷⁰C(S)OR⁷⁰、-NR⁷⁰C(O)NR⁸⁰R⁸⁰、-NR⁷⁰C(NR⁷⁰)R⁷⁰及-NR⁷⁰C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰,其中R⁶⁰选自由以下基团组成的群组中:烷基、环烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、环烷基烷基、芳基、芳基烷基、杂芳基及杂芳基烷基;每个R⁷⁰独立为氢或R⁶⁰;每个R⁸⁰独立为R⁷⁰或可选择地,两个R⁸⁰与它们所键合的氮原子一起形成3、4、5、6或7元杂环烷基,该杂环烷基可任选包括1至4个选自由O、N及S组成的群组中的相同或不同的额外杂原子,其中N可具有-H、C₁₋₄烷基、-C(O)C₁₋₄烷基、-CO₂C₁₋₄烷基或-SO₂C₁₋₄烷基取代,且每个M⁺为具有净单个正电荷的抗衡离子;其中所述经取代的杂环基为用1至5个取代基或1至3个取代基取代的杂环基,所述取代基选自烷基、烷氧基、环烷基、环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、氨酰基、氨酰氧基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、氧代、硫酮基、羧基、羧基酯、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、巯基、硫代烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟氨基、烷氧氨基、硝基、磺酰氨基、-SO-烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO-杂环基、-SO₂-烷基、-SO₂-芳

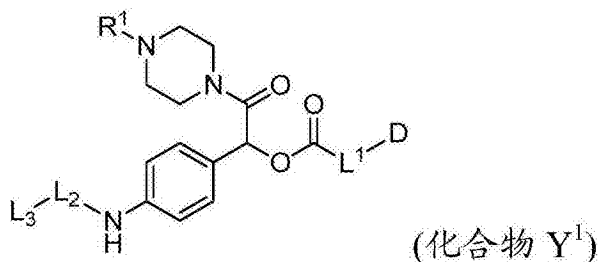
基、-SO₂-杂芳基及-SO₂-杂环基；

该方法包括使化合物W¹:L³-L²与化合物I:



反应。

82. 一种用于制备化合物Y¹或其盐的方法:



其中:

D为药物部分;

L¹为键、第二自消耗连接子或环化自消除连接子;

L²为键或第二自消耗连接子;

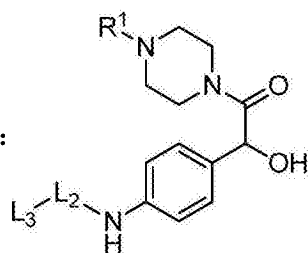
其中若L¹为第二自消耗连接子或环化自消除连接子,则L²为键;

其中若L²为第二自消耗连接子,则L¹为键;

L³为肽连接子;及

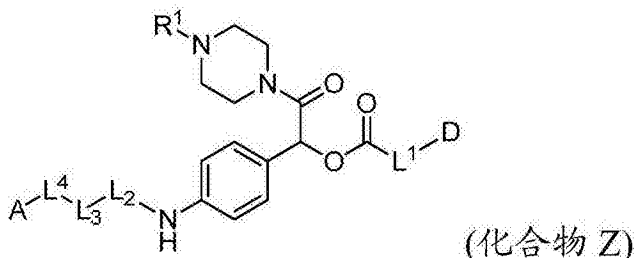
R¹为氢、未取代或经取代的C₁₋₃烷基或未取代或经取代的杂环基,其中所述经取代的烷基为具有一个或多个选自以下的取代基的烷基:-R⁶⁰、卤素、=O、-OR⁷⁰、-SR⁷⁰、-NR⁸⁰R⁸⁰、三卤代甲基、-CN、-OCN、-SCN、-NO、-NO₂、=N₂、-N₃、-S(O)R⁷⁰、-SO₂R⁷⁰、-SO₂O⁻M⁺、-SO₂OR⁷⁰、-OSO₂R⁷⁰、-OSO₂O⁻M⁺、-OSO₂OR⁷⁰、-P(O)(O⁻)₂(M⁺)₂、-P(O)(OR⁷⁰)O⁻M⁺、-P(O)(OR⁷⁰)₂、-C(O)R⁷⁰、-C(S)R⁷⁰、-C(NR⁷⁰)R⁷⁰、-C(O)O⁻M⁺、-C(O)OR⁷⁰、-C(S)OR⁷⁰、-C(O)NR⁸⁰R⁸⁰、-C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰、-OC(O)R⁷⁰、-OC(S)R⁷⁰、-OC(O)O⁻M⁺、-OC(O)OR⁷⁰、-OC(S)OR⁷⁰、-NR⁷⁰C(O)R⁷⁰、-NR⁷⁰C(S)R⁷⁰、-NR⁷⁰CO₂M⁺、-NR⁷⁰CO₂R⁷⁰、-NR⁷⁰C(S)OR⁷⁰、-NR⁷⁰C(O)NR⁸⁰R⁸⁰、-NR⁷⁰C(NR⁷⁰)R⁷⁰及-NR⁷⁰C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰,其中R⁶⁰选自由以下基团组成的群组中:烷基、环烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、环烷基烷基、芳基、芳基烷基、杂芳基及杂芳基烷基;每个R⁷⁰独立为氢或R⁶⁰;每个R⁸⁰独立为R⁷⁰或可选择地,两个R⁸⁰与它们所键合的氮原子一起形成3、4、5、6或7元杂环烷基,该杂环烷基可任选包括1至4个选自由O、N及S组成的群组中的相同或不同的额外杂原子,其中N可具有-H、C₁₋₄烷基、-C(O)C₁₋₄烷基、-CO₂C₁₋₄烷基或-SO₂C₁₋₄烷基取代,且每个M⁺为具有净单个正电荷的抗衡离子;其中所述经取代的杂环基为用1至5个取代基或1至3个取代基取代的杂环基,所述取代基选自烷基、烷氧基、环烷基、环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、氨酰基、氨酰氧基、叠氨基、氰基、卤素、羟基、氧代、硫酮基、羧基、羧基酯、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、巯基、硫代烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟氨基、烷氧氨基、硝基、磺酰氨基、-SO-烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO-杂环基、-SO₂-烷基、-SO₂-芳基、-SO₂-杂芳基及-SO₂-杂环基;

该方法包括使化合物X¹:



与包含L¹-D的化合物反应。

83. 一种用于制备化合物Z或其盐的方法:



其中:

D为药物部分;

L¹为键、第二自消耗连接子或环化自消除连接子;

L²为键或第二自消耗连接子;

其中若L¹为第二自消耗连接子或环化自消除连接子,则L²为键;

其中若L²为第二自消耗连接子,则L¹为键;

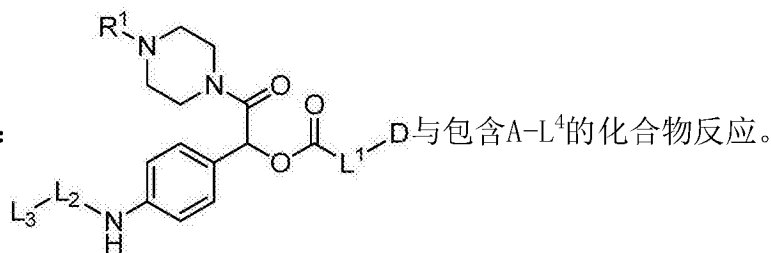
L³为肽连接子;

L⁴为键或间隔基;

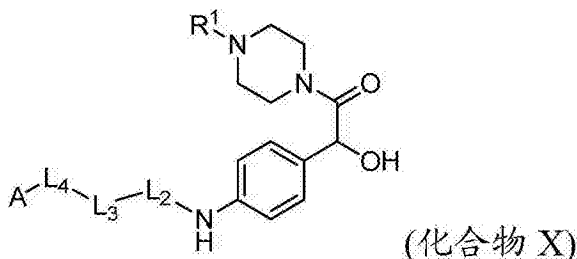
A为酰基单元;及

R¹为氢、未取代或经取代的C₁₋₃烷基或未取代或经取代的杂环基,其中所述经取代的烷基为具有一个或多个选自以下的取代基的烷基: -R⁶⁰、卤素、=O、-OR⁷⁰、-SR⁷⁰、-NR⁸⁰R⁸⁰、三卤代甲基、-CN、-OCN、-SCN、-NO、-NO₂、=N₂、-N₃、-S(O)R⁷⁰、-SO₂R⁷⁰、-SO₂O⁻M⁺、-SO₂OR⁷⁰、-OSO₂R⁷⁰、-OSO₂O⁻M⁺、-OSO₂OR⁷⁰、-P(O)(O⁻)₂(M⁺)₂、-P(O)(OR⁷⁰)O⁻M⁺、-P(O)(OR⁷⁰)₂、-C(O)R⁷⁰、-C(S)R⁷⁰、-C(NR⁷⁰)R⁷⁰、-C(O)O⁻M⁺、-C(O)OR⁷⁰、-C(S)OR⁷⁰、-C(O)NR⁸⁰R⁸⁰、-C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰、-OC(O)R⁷⁰、-OC(S)R⁷⁰、-OC(O)O⁻M⁺、-OC(O)OR⁷⁰、-OC(S)OR⁷⁰、-NR⁷⁰C(O)R⁷⁰、-NR⁷⁰C(S)R⁷⁰、-NR⁷⁰CO₂⁻M⁺、-NR⁷⁰CO₂R⁷⁰、-NR⁷⁰C(S)OR⁷⁰、-NR⁷⁰C(O)NR⁸⁰R⁸⁰、-NR⁷⁰C(NR⁷⁰)R⁷⁰及-NR⁷⁰C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰,其中R⁶⁰选自由以下基团组成的群组中:烷基、环烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、环烷基烷基、芳基、芳基烷基、杂芳基及杂芳基烷基;每个R⁷⁰独立为氢或R⁶⁰;每个R⁸⁰独立为R⁷⁰或可选择地,两个R⁸⁰与它们所键合的氮原子一起形成3、4、5、6或7元杂环烷基,该杂环烷基可任选包括1至4个选自由O、N及S组成的群组中的相同或不同的额外杂原子,其中N可具有-H、C₁₋₄烷基、-C(O)C₁₋₄烷基、-CO₂C₁₋₄烷基或-SO₂C₁₋₄烷基取代,且每个M⁺为具有净单个正电荷的抗衡离子;其中所述经取代的杂环基为用1至5个取代基或1至3个取代基取代的杂环基,所述取代基选自烷基、烷氧基、环烷基、环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、氨酰基、氨酰氧基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、氧代、硫酮基、羧基、羧基酯、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、巯基、硫代烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟氨基、烷氧氨基、硝基、磺酰氨基、-SO-烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO-杂环基、-SO₂-烷基、-SO₂-芳基、-SO₂-杂芳基及-SO₂-杂环基;

该方法包括使化合物Y¹:



84. 一种具有以下式的化合物或其盐:



其中:

L²为键或第二自消耗连接子;

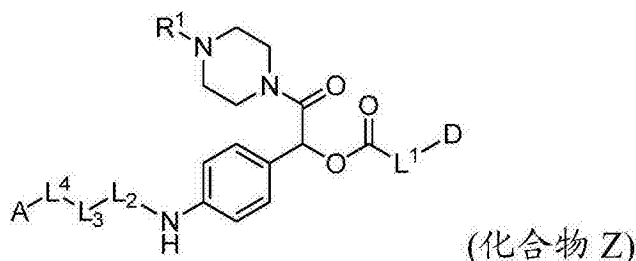
L³为肽连接子;

L⁴为键或间隔基;

A为酰基单元;及

R¹为氢、未取代或经取代的C₁₋₃烷基或未取代或经取代的杂环基,其中所述经取代的烷基为具有一个或多个选自以下的取代基的烷基:-R⁶⁰、卤素、=O、-OR⁷⁰、-SR⁷⁰、-NR⁸⁰R⁸⁰、三卤代甲基、-CN、-OCN、-SCN、-NO、-NO₂、=N₂、-N₃、-S(O)R⁷⁰、-SO₂R⁷⁰、-SO₂O⁻M⁺、-SO₂OR⁷⁰、-OSO₂R⁷⁰、-OSO₂O⁻M⁺、-OSO₂OR⁷⁰、-P(O)(O⁻)₂(M⁺)₂、-P(O)(OR⁷⁰)O⁻M⁺、-P(O)(OR⁷⁰)₂、-C(O)R⁷⁰、-C(S)R⁷⁰、-C(NR⁷⁰)R⁷⁰、-C(O)O⁻M⁺、-C(O)OR⁷⁰、-C(S)OR⁷⁰、-C(O)NR⁸⁰R⁸⁰、-C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰、-OC(O)R⁷⁰、-OC(S)R⁷⁰、-OC(O)O⁻M⁺、-OC(O)OR⁷⁰、-OC(S)OR⁷⁰、-NR⁷⁰C(O)R⁷⁰、-NR⁷⁰C(S)R⁷⁰、-NR⁷⁰CO₂⁻M⁺、-NR⁷⁰CO₂R⁷⁰、-NR⁷⁰C(S)OR⁷⁰、-NR⁷⁰C(O)NR⁸⁰R⁸⁰、-NR⁷⁰C(NR⁷⁰)R⁷⁰及-NR⁷⁰C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰,其中R⁶⁰选自由以下基团组成的群组中:烷基、环烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、环烷基烷基、芳基、芳基烷基、杂芳基及杂芳基烷基;每个R⁷⁰独立为氢或R⁶⁰;每个R⁸⁰独立为R⁷⁰或可选择地,两个R⁸⁰与它们所键合的氮原子一起形成3、4、5、6或7元杂环烷基,该杂环烷基可任选包括1至4个选自由O、N及S组成的群组中的相同或不同的额外杂原子,其中N可具有-H、C₁₋₄烷基、-C(O)C₁₋₄烷基、-CO₂C₁₋₄烷基或-SO₂C₁₋₄烷基取代,且每个M⁺为具有净单个正电荷的抗衡离子;其中所述经取代的杂环基为用1至5个取代基或1至3个取代基取代的杂环基,所述取代基选自烷基、烷氧基、环烷基、环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、氨酰基、氨酰氧基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、氧代、硫酮基、羧基、羧基酯、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、巯基、硫代烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟氨基、烷氧氨基、硝基、磺酰氨基、-SO-烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO-杂环基、-SO₂-烷基、-SO₂-芳基、-SO₂-杂芳基及-SO₂-杂环基。

85. 一种具有以下式的化合物或其盐:



其中:

D为药物部分;

L¹为键、第二自消耗连接子或环化自消除连接子;

L²为键或第二自消耗连接子;

其中若L¹为第二自消耗连接子或环化自消除连接子,则L²为键;

其中若L²为第二自消耗连接子,则L¹为键;

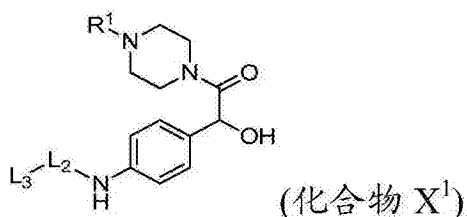
L³为肽连接子;

L⁴为键或间隔基;

A为酰基单元;及

R¹为氢、未取代或经取代的C₁₋₃烷基或未取代或经取代的杂环基,其中所述经取代的烷基为具有一个或多个选自以下的取代基的烷基: -R⁶⁰、卤素、=O、-OR⁷⁰、-SR⁷⁰、-NR⁸⁰R⁸⁰、三卤代甲基、-CN、-OCN、-SCN、-NO、-NO₂、=N₂、-N₃、-S(O)R⁷⁰、-SO₂R⁷⁰、-SO₂O⁻M⁺、-SO₂OR⁷⁰、-OSO₂R⁷⁰、-OSO₂O⁻M⁺、-OSO₂OR⁷⁰、-P(O)(O⁻)₂(M⁺)₂、-P(O)(OR⁷⁰)O⁻M⁺、-P(O)(OR⁷⁰)₂、-C(O)R⁷⁰、-C(S)R⁷⁰、-C(NR⁷⁰)R⁷⁰、-C(O)O⁻M⁺、-C(O)OR⁷⁰、-C(S)OR⁷⁰、-C(O)NR⁸⁰R⁸⁰、-C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰、-OC(O)R⁷⁰、-OC(S)R⁷⁰、-OC(O)O⁻M⁺、-OC(O)OR⁷⁰、-OC(S)OR⁷⁰、-NR⁷⁰C(O)R⁷⁰、-NR⁷⁰C(S)R⁷⁰、-NR⁷⁰CO₂⁻M⁺、-NR⁷⁰CO₂R⁷⁰、-NR⁷⁰C(S)OR⁷⁰、-NR⁷⁰C(O)NR⁸⁰R⁸⁰、-NR⁷⁰C(NR⁷⁰)R⁷⁰及-NR⁷⁰C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰,其中R⁶⁰选自由以下基团组成的群组中:烷基、环烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、环烷基烷基、芳基、芳基烷基、杂芳基及杂芳基烷基;每个R⁷⁰独立为氢或R⁶⁰;每个R⁸⁰独立为R⁷⁰或可选择地,两个R⁸⁰与它们所键合的氮原子一起形成3、4、5、6或7元杂环烷基,该杂环烷基可任选包括1至4个选自由O、N及S组成的群组中的相同或不同的额外杂原子,其中N可具有-H、C₁₋₄烷基、-C(O)C₁₋₄烷基、-CO₂C₁₋₄烷基或-SO₂C₁₋₄烷基取代,且每个M⁺为具有净单个正电荷的抗衡离子;其中所述经取代的杂环基为用1至5个取代基或1至3个取代基取代的杂环基,所述取代基选自烷基、烷氧基、环烷基、环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、氨酰基、氨酰氧基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、氧代、硫酮基、羧基、羧基酯、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、巯基、硫代烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟氨基、烷氧氨基、硝基、磺酰氨基、-SO-烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO-杂环基、-SO₂-烷基、-SO₂-芳基、-SO₂-杂芳基及-SO₂-杂环基。

86. 一种具有以下式的化合物或其盐:



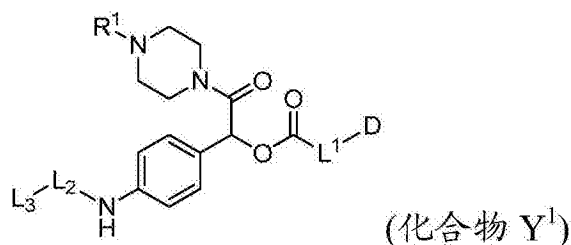
其中：

L^2 为键或第二自消耗连接子；

L^3 为肽连接子；及

R^1 为氢、未取代或经取代的 C_{1-3} 烷基或未取代或经取代的杂环基，其中所述经取代的烷基为具有一个或多个选自以下的取代基的烷基： $-R^{60}$ 、卤素、 $=O$ 、 $-OR^{70}$ 、 $-SR^{70}$ 、 $-NR^{80}R^{80}$ 、三卤代甲基、 $-CN$ 、 $-OCN$ 、 $-SCN$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $=N_2$ 、 $-N_3$ 、 $-S(O)R^{70}$ 、 $-SO_2R^{70}$ 、 $-SO_2O^-M^+$ 、 $-SO_2OR^{70}$ 、 $-OSO_2R^{70}$ 、 $-OSO_2O^-M^+$ 、 $-OSO_2OR^{70}$ 、 $-P(O)(O^-)_2(M^+)_2$ 、 $-P(O)(OR^{70})O^-M^+$ 、 $-P(O)(OR^{70})_2$ 、 $-C(O)R^{70}$ 、 $-C(S)R^{70}$ 、 $-C(NR^{70})R^{70}$ 、 $-C(O)O^-M^+$ 、 $-C(O)OR^{70}$ 、 $-C(S)OR^{70}$ 、 $-C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ 、 $-OC(O)R^{70}$ 、 $-OC(S)R^{70}$ 、 $-OC(O)O^-M^+$ 、 $-OC(O)OR^{70}$ 、 $-OC(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)R^{70}$ 、 $-NR^{70}CO_2^-M^+$ 、 $-NR^{70}CO_2R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ 及 $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ ，其中 R^{60} 选自由以下基团组成的群组中：烷基、环烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、环烷基烷基、芳基、芳基烷基、杂芳基及杂芳基烷基；每个 R^{70} 独立为氢或 R^{60} ；每个 R^{80} 独立为 R^{70} 或可选择地，两个 R^{80} 与它们所键合的氮原子一起形成3、4、5、6或7元杂环烷基，该杂环烷基可任选包括1至4个选自由O、N及S组成的群组中的相同或不同的额外杂原子，其中N可具有 $-H$ 、 C_{1-4} 烷基、 $-C(O)C_{1-4}$ 烷基、 $-CO_2C_{1-4}$ 烷基或 $-SO_2C_{1-4}$ 烷基取代，且每个 M^+ 为具有净单个正电荷的抗衡离子；其中所述经取代的杂环基为用1至5个取代基或1至3个取代基取代的杂环基，所述取代基选自烷基、烷氧基、环烷基、环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、氨酰基、氨酰氧基、叠氨基、氰基、卤素、羟基、氧代、硫酮基、羧基、羧基酯、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、巯基、硫代烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟氨基、烷氧氨基、硝基、磺酰氨基、 $-SO$ -烷基、 $-SO$ -芳基、 $-SO$ -杂芳基、 $-SO$ -杂环基、 $-SO_2$ -烷基、 $-SO_2$ -芳基、 $-SO_2$ -杂芳基及 $-SO_2$ -杂环基。

87. 一种具有以下式的化合物或其盐：



其中：

D为药物部分；

L^1 为键、第二自消耗连接子或环化自消除连接子；

L^2 为键或第二自消耗连接子；

其中若 L^1 为第二自消耗连接子或环化自消除连接子，则 L^2 为键；

其中若 L^2 为第二自消耗连接子，则 L^1 为键；

L^3 为肽连接子；及

R^1 为氢、未取代或经取代的 C_{1-3} 烷基或未取代或经取代的杂环基，其中所述经取代的烷基为具有一个或多个选自以下的取代基的烷基： $-R^{60}$ 、卤素、 $=O$ 、 $-OR^{70}$ 、 $-SR^{70}$ 、 $-NR^{80}R^{80}$ 、三卤代甲基、 $-CN$ 、 $-OCN$ 、 $-SCN$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $=N_2$ 、 $-N_3$ 、 $-S(O)R^{70}$ 、 $-SO_2R^{70}$ 、 $-SO_2O^-M^+$ 、 $-SO_2OR^{70}$ 、 $-OSO_2R^{70}$ 、 $-OSO_2O^-M^+$ 、 $-OSO_2OR^{70}$ 、 $-P(O)(O^-)_2(M^+)_2$ 、 $-P(O)(OR^{70})O^-M^+$ 、 $-P(O)(OR^{70})_2$ 、 $-C(O)R^{70}$ 、 $-C(S)R^{70}$ 、 $-C(NR^{70})R^{70}$ 、 $-C(O)O^-M^+$ 、 $-C(O)OR^{70}$ 、 $-C(S)OR^{70}$ 、 $-C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ 、 $-OC(O)R^{70}$ 、 $-OC(S)R^{70}$ 、 $-OC(O)O^-M^+$ 、 $-OC(O)OR^{70}$ 、 $-OC(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)R^{70}$ 、 $-NR^{70}CO_2^-M^+$ 、 $-NR^{70}CO_2R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ 及 $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ ，其中 R^{60} 选自由以下基团组成的群组中：烷基、环烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、环烷基烷基、芳基、芳基烷基、杂芳基及杂芳基烷基；每个 R^{70} 独立为氢或 R^{60} ；每个 R^{80} 独立为 R^{70} 或可选择地，两个 R^{80} 与它们所键合的氮原子一起形成3、4、5、6或7元杂环烷基，该杂环烷基可任选包括1至4个选自由O、N及S组成的群组中的相同或不同的额外杂原子，其中N可具有 $-H$ 、 C_{1-4} 烷基、 $-C(O)C_{1-4}$ 烷基、 $-CO_2C_{1-4}$ 烷基或 $-SO_2C_{1-4}$ 烷基取代，且每个 M^+ 为具有净单个正电荷的抗衡离子；其中所述经取代的杂环基为用1至5个取代基或1至3个取代基取代的杂环基，所述取代基选自烷基、烷氧基、环烷基、环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、氨酰基、氨酰氧基、叠氨基、氰基、卤素、羟基、氧代、硫酮基、羧基、羧基酯、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、巯基、硫代烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟氨基、烷氧氨基、硝基、磺酰氨基、 $-SO$ -烷基、 $-SO$ -芳基、 $-SO$ -杂芳基、 $-SO$ -杂环基、 $-SO_2$ -烷基、 $-SO_2$ -芳基、 $-SO_2$ -杂芳基及 $-SO_2$ -杂环基。

R^{70} 、 $-OC(S)R^{70}$ 、 $-OC(O)O^-M^+$ 、 $-OC(O)OR^{70}$ 、 $-OC(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)R^{70}$ 、 $-NR^{70}CO_2^-M^+$ 、 $-NR^{70}CO_2R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ 及 $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$,其中 R^{60} 选自由以下基团组成的群组中:烷基、环烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、环烷基烷基、芳基、芳基烷基、杂芳基及杂芳基烷基;每个 R^{70} 独立为氢或 R^{60} ;每个 R^{80} 独立为 R^{70} 或可选择地,两个 R^{80} 与它们所键合的氮原子一起形成3、4、5、6或7元杂环烷基,该杂环烷基可任选包括1至4个选自由O、N及S组成的群组中的相同或不同的额外杂原子,其中N可具有-H、 C_1 - C_4 烷基、 $-C(O)C_1$ - C_4 烷基、 $-CO_2C_1$ - C_4 烷基或 $-SO_2C_1$ - C_4 烷基取代,且每个 M^+ 为具有净单个正电荷的抗衡离子;其中所述经取代的杂环基为用1至5个取代基或1至3个取代基取代的杂环基,所述取代基选自烷基、烷氧基、环烷基、环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、氨酰基、氨酰氧基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、氧代、硫酮基、羧基、羧基酯、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、巯基、硫代烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟氨基、烷氧氨基、硝基、磺酰氨基、 $-SO$ -烷基、 $-SO$ -芳基、 $-SO$ -杂芳基、 $-SO$ -杂环基、 $-SO_2$ -烷基、 $-SO_2$ -芳基、 $-SO_2$ -杂芳基及 $-SO_2$ -杂环基。

88. 如权利要求1-2和84-87中任一项所述的化合物,其中 R^1 为氢、未取代的 C_{1-3} 烷基或未取代的杂环基。

89. 如权利要求1-2和84-87中任一项所述的化合物,其中 R^1 为甲基。

90. 如权利要求73-74和79-83中任一项所述的方法,其中 R^1 为氢、未取代的 C_{1-3} 烷基或未取代的杂环基。

91. 如权利要求73-74和79-83中任一项所述的方法,其中 R^1 为甲基。

亲水性自消耗连接子及其缀合物

[0001] 对相关申请的交叉引用

[0002] 本申请主张于2013年12月21日提交的美国临时专利申请第61/745,448号及于2013年3月14日提交的美国临时专利申请第61/785,027号的优先权权益,所有该等申请以引用的形式全部引入本文。

技术领域

[0003] 本发明在医药学领域及提供用于将药物递送至细胞群落的药物缀合物,其中通过内源酶代谢及激活前药以提供活性药物。

背景技术

[0004] 抗体-药物缀合物(ADC)为一类治疗性药物,该药物将单克隆抗体(mAb)的特异性与细胞毒性分子的效能组合。ADC利用该等两个组分的特性及通过最小化全身性暴露量及关联毒性且同时最大化细胞毒性剂至目标病灶的递送来显著扩大细胞毒性分子的治疗指数,从而增加治疗效果。Brentuximab Vedotin(SGN-35),即一种与细胞毒性剂MMAE缀合的抗CD30抗体,已被批准用于治疗CD30阳性复发性淋巴瘤。

[0005] 目标抗原选择、通过肿瘤细胞的ADC的内化及细胞毒性药物的效能为用于ADC开发的参数(Carter 2008,Teicher 2009)。此外,用于共价结合该等基本组分以形成ADC的化学连接子的设计也在ADC的开发中起作用(Ducry 2010)。例如,连接子在血液中应为稳定以限制对健康组织的损伤。ADC的分解或衰变可在ADC递送至目标位点前释放细胞毒性药物。然而,一旦ADC到达目标位点,ADC必须有效率地释放呈活性形式的细胞毒性药物。血浆稳定性与靶细胞处的有效药物释放之间的平衡还有待探索,该平衡可取决于连接子设计。

[0006] 在ADC设计中应用至少三种类型连接子即化学不稳定连接子、酶不稳定连接子及非可裂解的连接子(Ducry 2010)。对于化学不稳定连接子,诸如用于Mylotarg的脲连接子及用于DM1/DM4的含二硫键的4-巯基戊酸酯连接子,连接子的选择性裂解及对ADC的有效负载释放基于连接子在血浆与一些细胞质隔室之间的差异特性。连接子在血液中性pH环境中相对稳定,但是一旦ADC进入细胞内部的较低pH环境,则连接子可被裂解。体内试验表明化学不稳定连接子经常遭受有限的水解稳定性。

[0007] 酶不稳定连接子采取替代途径—蛋白酶在细胞内部与外部的差异活性—以实现药物释放的控制。由于不利的pH条件及血清蛋白酶抑制剂的存在,蛋白酶在细胞外部通常无活性。可经由肽键将药物缀合至抗体。通过在细胞内部存在及在某些肿瘤类型中处于上升水平的溶酶体蛋白酶的作用可将药物自抗体特异性裂解(Koblinsk等人)。与具有化学不稳定连接子的ADC相比,酶不稳定连接子可实现对药物释放的较好的控制。然而,一些酶不稳定连接子的增加的关联疏水性可导致ADC的聚集,尤其是使用强疏水性药物。

[0008] 第三类别连接子为非可裂解的连接子。据信经由ADC的内化并继之以溶酶体中抗体组分的降解而发生药物的释放,导致仍接附于连接子的药物的释放。该等非可裂解的连接子在血清中为稳定,但是与酶不稳定连接子相比,可不产生任何副作用,因为事实上所释

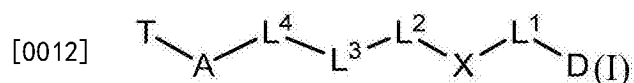
放药物为带电且不能扩散至相邻细胞中。另外,因为ADC的内化为针对药物的释放的一个因素,效果为抗原(及因此抗体)依赖性。

[0009] 连接子技术影响ADC效能、特异性及安全性。需要用于ADC的连接子,该等连接子可提供血清稳定性及增加的可溶性,允许疏水性药物的有效缀合及细胞内递送。

发明内容

[0010] 本申请的化合物包含药物部分、能够靶向选定的细胞群落的靶向部分及连接子,该连接子含有酰基单元、用于在药物部分与靶向部分之间提供距离的任选间隔基单元、可在适宜条件下可裂解的肽连接子、亲水性自消耗(immolative)连接子及任选第二自消耗间隔基或环化自消除连接子。

[0011] 本申请提供式(I)的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体:



[0013] 其中:

[0014] D为药物部分;

[0015] T为靶向部分;

[0016] X为亲水性自消耗连接子;

[0017] L^1 为键、第二自消耗连接子或环化自消除连接子;

[0018] L^2 为键或第二自消耗连接子;

[0019] 其中若 L^1 为第二自消耗连接子或环化自消除连接子,则 L^2 为键;

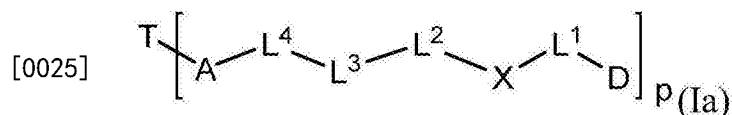
[0020] 其中若 L^2 为第二自消耗连接子,则 L^1 为键;

[0021] L^3 为肽连接子;

[0022] L^4 为键或间隔基;及

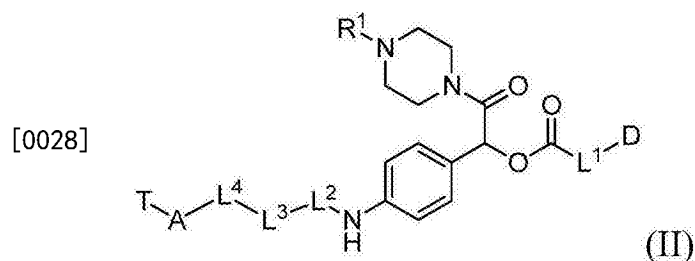
[0023] A为酰基单元。

[0024] 在一些实施方案中提供式(Ia)的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体:



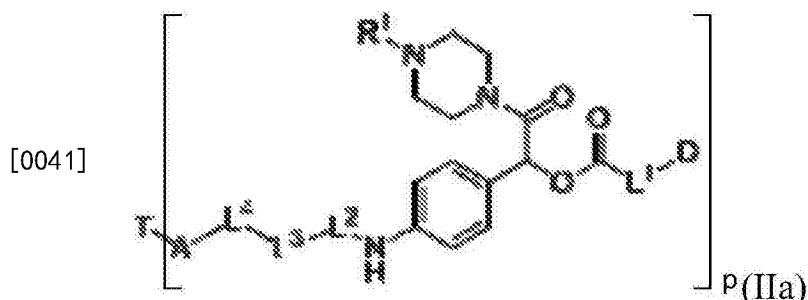
[0026] 其中D、T、X、 L^1 、 L^2 、 L^3 、 L^4 及A如式(I)所定义且p为1至20。在一些实施方案中,p为1至8。在一些实施方案中,p为1至6。在一些实施方案中,p为1至4。在一些实施方案中,p为2至4。在一些实施方案中,p为1、2、3或4。

[0027] 本申请也提供式(II)的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体:



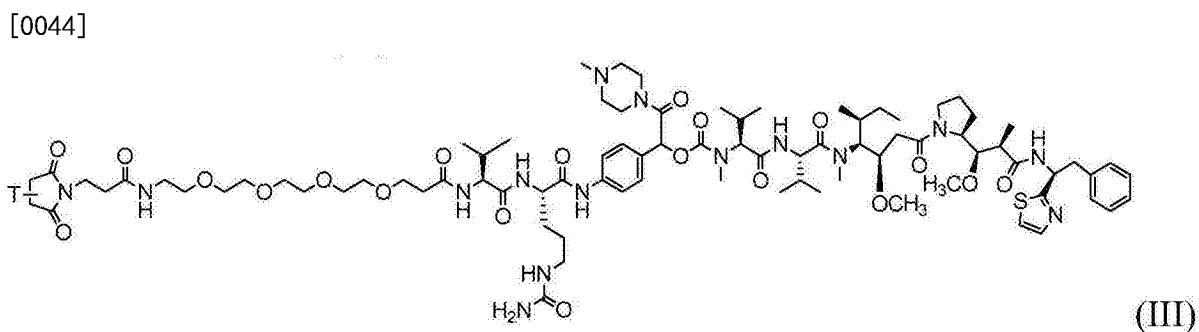
[0029] 其中:

- [0030] D为药物部分；
 [0031] T为靶向部分；
 [0032] R^1 为氢、未取代或经取代的 C_{1-3} 烷基或未取代或经取代的杂环基；
 [0033] L^1 为键、第二自消耗连接子或环化自消除连接子；
 [0034] L^2 为键或第二自消耗连接子；
 [0035] 其中若 L^1 为第二自消耗连接子或环化自消除连接子，则 L^2 为键；
 [0036] 其中若 L^2 为第二自消耗连接子，则 L^1 为键；
 [0037] L^3 为肽连接子；
 [0038] L^4 为键或间隔基；及
 [0039] A为酰基单元。
 [0040] 在一些实施方案中提供式(IIa)的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体：

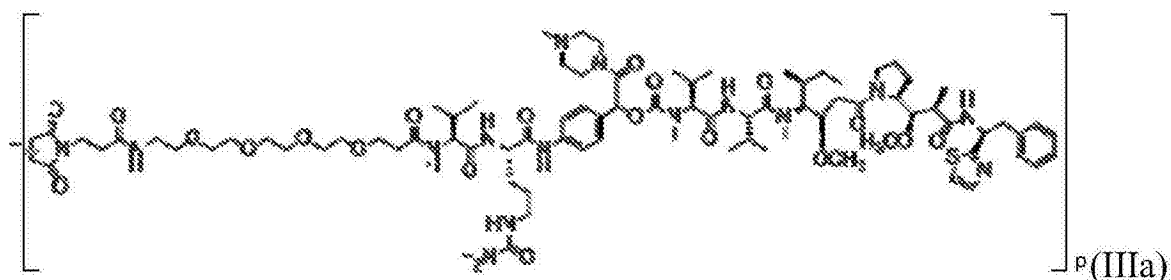


- [0042] 其中D、T、 L^1 、 L^2 、 L^3 、 L^4 及A如式(II)所定义且p为1至20。在一些实施方案中，p为1至8。在一些实施方案中，p为1至6。在一些实施方案中，p为1至4。在一些实施方案中，p为2至4。在一些实施方案中，p为1、2、3或4。

- [0043] 本申请也提供式(III)的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体：



- [0045] 其中T为靶向部分。
 [0046] 在一些实施方案中提供式(IIIa)的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体：
 [0047]

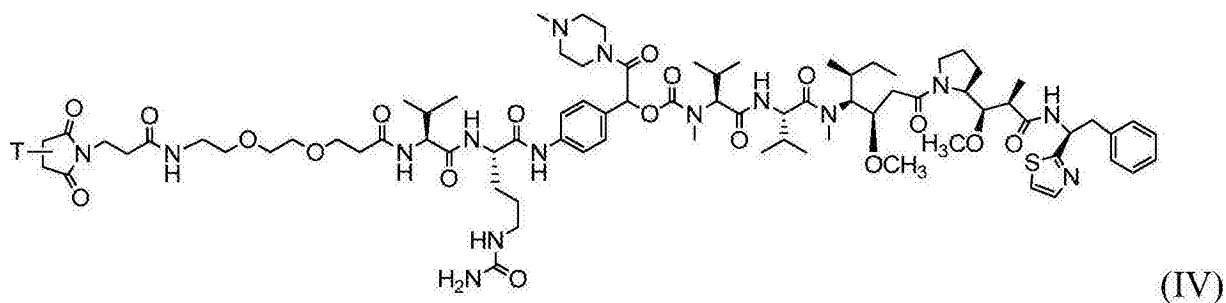


- [0048] 其中T为靶向部分且p为1至20。在一些实施方案中，p为1至8。在一些实施方案中，p

为1至6。在一些实施方案中,p为1至4。在一些实施方案中,p为2至4。在一些实施方案中,p为1、2、3或4。

[0049] 本申请提供式 (IV) 的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体:

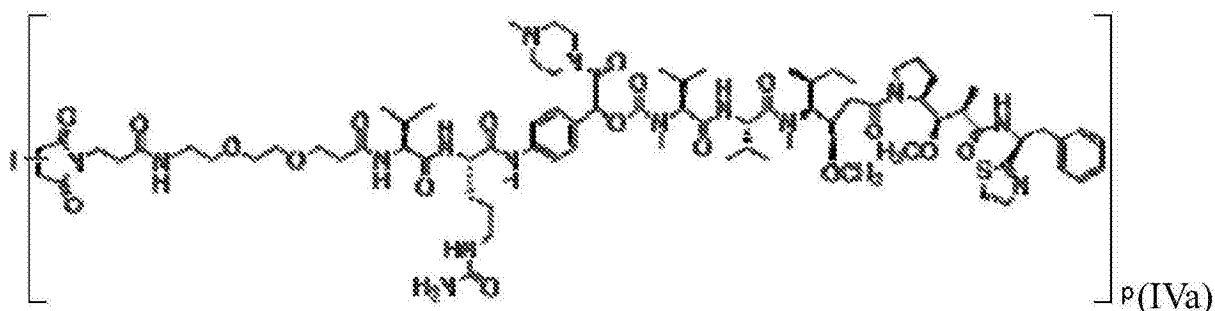
[0050]



[0051] 其中T为靶向部分。

[0052] 在一些实施方案中提供式 (IVa) 的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体:

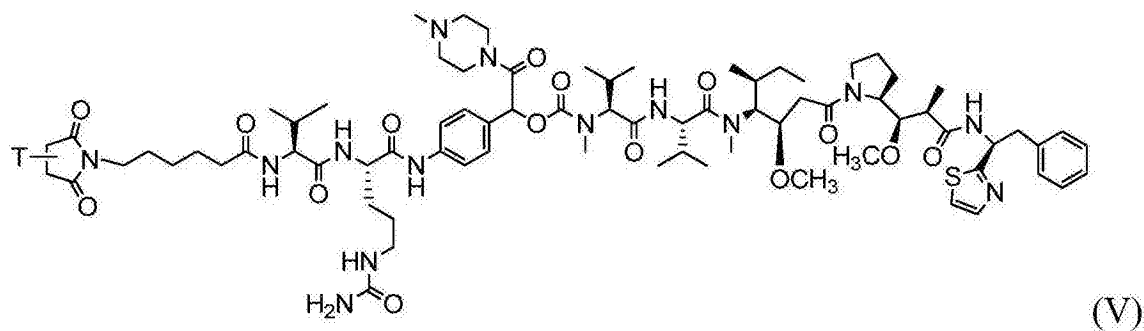
[0053]



[0054] 其中T为靶向部分且p为1至20。在一些实施方案中,p为1至8。在一些实施方案中,p为1至6。在一些实施方案中,p为1至4。在一些实施方案中,p为2至4。在一些实施方案中,p为1、2、3或4。

[0055] 本申请提供式 (V) 的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体:

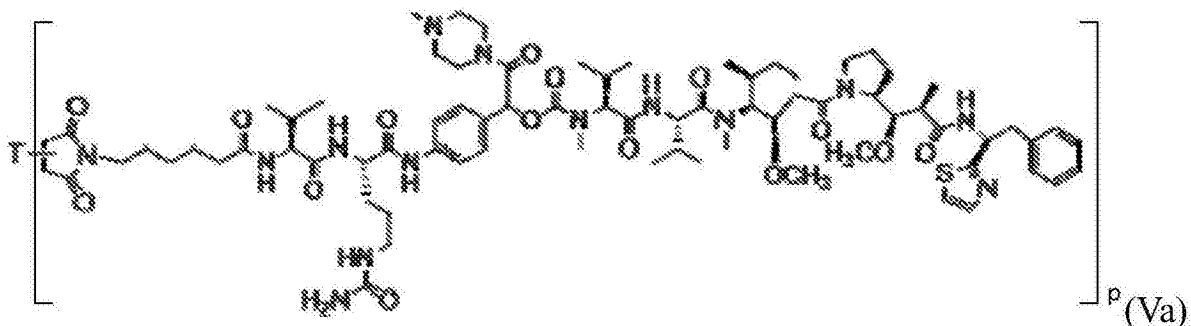
[0056]



[0057] 其中T为靶向部分。

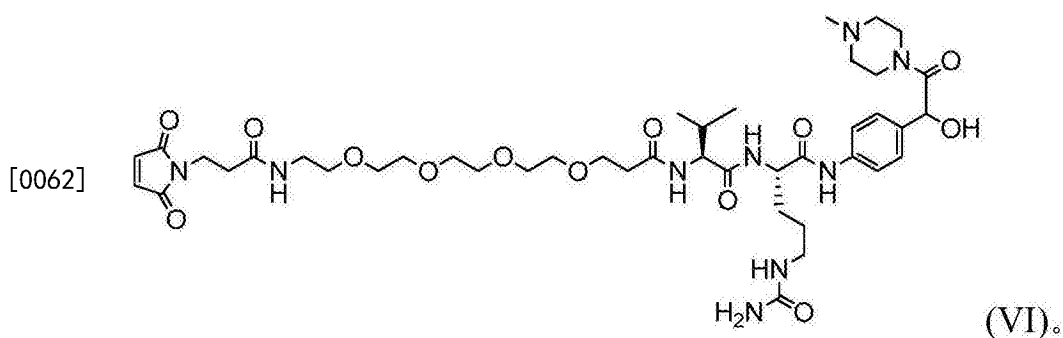
[0058] 在一些实施方案中提供式 (Va) 的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体:

[0059]

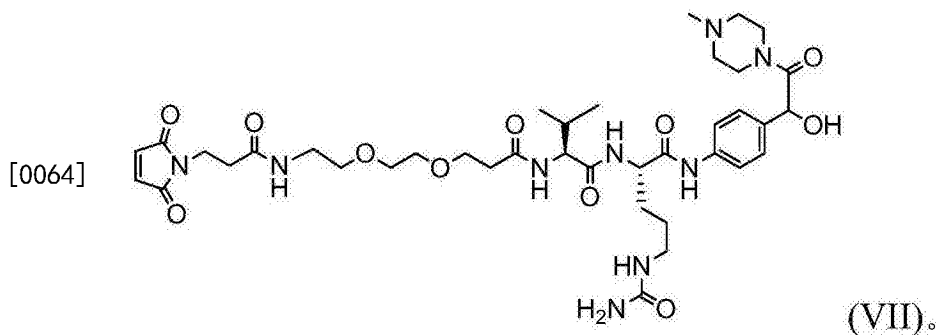


[0060] 其中T为靶向部分且p为1至20。在一些实施方案中,p为1至8。在一些实施方案中,p为1至6。在一些实施方案中,p为1至4。在一些实施方案中,p为2至4。在一些实施方案中,p为1、2、3或4。

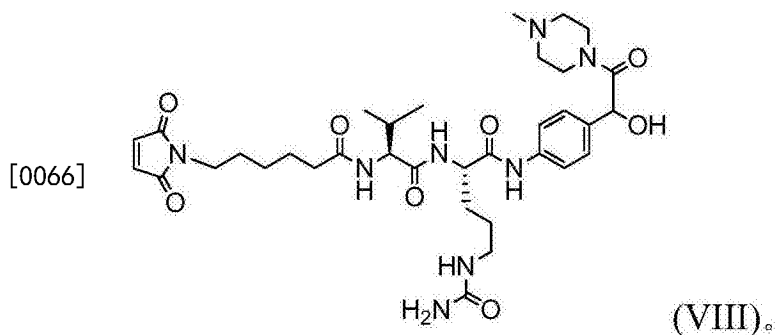
[0061] 本申请提供式(VI)的化合物或其盐或溶剂合物:



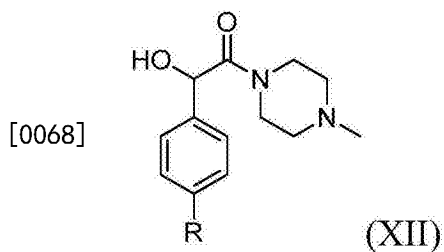
[0063] 本申请提供式(VII)的化合物或其盐或溶剂合物:



[0065] 本申请提供式(VIII)的化合物:



[0067] 本申请提供式(XII)的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体:



[0069] 其中R为NO₂或NH₂。

[0070] 在某些实施方案中,式(I)-(XII)的化合物为选自本文详细描述中所描述的或所举例说明的那些具体化合物中的一种化合物。

[0071] 在式(I)-(V)或(Ia)-(Va)的化合物的某些实施方案中,T为抗体靶向分子。在一些实施方案中,T为抗体h5F1Ca.1或c5D7。在进一步实施方案中,用半胱氨酸残基替代抗体的重链及/或轻链的一或多个氨基酸残基(例如经工程化以在不存在于母源抗体中的位置处包含半胱氨酸残基)。在一些实施方案中,用半胱氨酸残基替代抗体的Fc区域的一或多个氨基酸残基。在一些实施方案中,抗体的Fc区域的一或多个氨基酸残基处于使用EU编号的位置157、169及/或442处。在式(I)-(V)或(Ia)-(Va)的化合物的一些实施方案中,通过添加的(例如工程化的)半胱氨酸残基将D连接至T。

[0072] 在另一方面中,本申请提供一种药物组合物,该药物组合物包含至少一种式(I)-(V)或(Ia)-(Va)的化合物或其药用盐。根据实施方案的药物组合物可进一步包含药用赋形剂。本申请也提供式(I)-(V)或(Ia)-(Va)的化合物或其药用盐,其作为药物使用。

[0073] 在另一方面中,本申请提供一种杀死细胞的方法,该方法包括向所述细胞给药足以杀死所述细胞的量的式(I)-(V)或(Ia)-(Va)的化合物。

[0074] 在另一方面中,本申请提供一种在有此需要的个体中治疗癌症的方法,该方法包括向所述个体给药有效量的式(I)-(V)或(Ia)-(Va)的化合物。

[0075] 本发明的额外实施方案、特征及优势将自以下详细描述及经由本发明的实施显而易见。

附图说明

[0076] 图1图示本发明实施方案的某些ADC的反相HPLC特性。图1(A)图示针对h5F1Ca.1/Tap-18H的色谱。图1(B)图示针对h5F1Ca.1/MMAE的色谱。

[0077] 图2图示h5F1Ca.1/Tap18H对抗胃癌SNU-16的体内抗肿瘤活性。

[0078] 图3图示缀合有h5F1Ca.1的ADC对抗胃癌SNU-16的体内抗肿瘤活性。

[0079] 图4图示缀合有c5D7的ADC对抗结肠直肠癌DLD-1的体内抗肿瘤活性。

[0080] 图5图示Tap-18H的NMR光谱。

[0081] 图6图示Tap-18Hr1的NMR光谱。

[0082] 图7图示Tap-18Hr2的NMR光谱。

[0083] 定义

[0084] 除非另有指示,否则以下术语具有以下意义。任何未定义术语具有其领域公认的意义。

[0085] “烷基”指单价饱和脂肪烃基,具有1至10个碳原子且优选地具有1至6个碳原子。例

如,本术语包括直链及支链烃基诸如甲基(CH_3-)、乙基(CH_3CH_2-)、正丙基($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2-$)、异丙基($(\text{CH}_3)_2\text{CH}-$)、正丁基($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$)、异丁基($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2-$)、仲丁基($(\text{CH}_3)(\text{CH}_3\text{CH}_2)\text{CH}-$)、叔丁基($(\text{CH}_3)_3\text{C}-$)、正戊基($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$)、新戊基($(\text{CH}_3)_3\text{CCH}_2-$)及正己基($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5-$)。

[0086] “亚烷基”指二价脂肪亚烃基,优选地具有1至10个碳原子且更优选地具有1至3个碳原子,为直链或支链。例如,本术语包括亚甲基($-\text{CH}_2-$)、亚乙基($-\text{CH}_2\text{CH}_2-$)、亚正丙基($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$)、亚异丙基($-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)-$)、 $-(\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2-)$ 、 $-(\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-)$ 、 $-(\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}-)$ 、 $-(\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-)$ 等。

[0087] “烯基”指直链或支链烃基,具有2至10个碳原子且优选地具有2至4个碳原子及具有至少1个位点的双键不饱和性且优选地具有1至2个位点的双键不饱和性。例如,本术语包括二乙烯基(bi-vinyl)、烯丙基及丁-3-烯-1-基。本术语包括顺式和反式异构体或该等异构体的混合物。

[0088] “亚烯基”指直链或支链亚烃基,具有2至10个碳原子且优选地具有2至4个碳原子及具有至少1个位点的双键不饱和性且优选地具有1至2个位点的双键不饱和性。例如,本术语包括二乙烯基、烯丙基及丁-3-烯-1-基。本术语包括顺式和反式异构体或该等异构体的混合物。

[0089] “炔基”指直链或支链烃基,具有2至6个碳原子且优选地具有2至3个碳原子及具有至少1个位点的叁键不饱和性且优选地具有1至2个位点的叁键不饱和性。此类炔基的实例包括乙炔基($-\text{C}\equiv\text{CH}$)及炔丙基($-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$)。

[0090] “亚炔基”指直链或支链亚烃基,具有2至6个碳原子且优选地具有2至3个碳原子及具有至少1个位点的叁键不饱和性且优选地具有1至2个位点的叁键不饱和性。此类炔基的实例包括乙炔基($-\text{C}\equiv\text{CH}$)及炔丙基($-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$)。

[0091] “氨基”指基团 $-\text{NH}_2$ 。

[0092] “经取代的氨基”指基团 $-\text{NRR}$,其中每个R独立选自由以下基团组成的群组中:氢、烷基、经取代的烷基、环烷基、经取代的环烷基、烯基、经取代的烯基、环烯基、经取代的环烯基、炔基、经取代的炔基、芳基、杂芳基及杂环基,前提条件是至少一个R不为氢。

[0093] “芳基”指6至18个碳原子的单价芳族碳环基团,具有单环(诸如苯基中所呈现)或具有多个稠环的环系(此类芳族环系统的实例包括萘基、蒽基及二氢茚基),所述稠环可或不可为芳族,前提条件是接附点通过芳族环的原子。例如,本术语包括苯基及萘基。除非对于芳基取代基的定义另有约束,否则此类芳基可任选用1至5个取代基或1至3个取代基取代,该等取代基选自酰氧基、羟基、巯基、酰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、经取代的烷基、经取代的烷氧基、经取代的烯基、经取代的炔基、经取代的环烷基、经取代的环烯基、氨基、经取代的氨基、氨酰基、酰氨基、烷芳基、芳基、芳氧基、叠氮基、羧基、羧基酯、氰基、卤素、硝基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、氨酰氧基、氧酰氨基、硫代烷氧基、经取代的硫代烷氧基、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、磺酰氨基、 $-\text{SO}-$ 烷基、 $-\text{SO}-$ 经取代的烷基、 $-\text{SO}-$ 芳基、 $-\text{SO}-$ 杂芳基、 $-\text{SO}_2-$ 烷基、 $-\text{SO}_2-$ 经取代的烷基、 $-\text{SO}_2-$ 芳基、 $-\text{SO}_2-$ 杂芳基及三卤代甲基。

[0094] “环烷基”指3至10个碳原子的环状烷基,具有单个环状环或包括稠合、桥式及螺环系的多个环状环。适宜环烷基的实例包括例如金刚烷基、环丙基、环丁基、环戊基、环辛基

等。例如,此类环烷基包括诸如环丙基、环丁基、环戊基、环辛基等的单环结构或诸如金刚烷基等的多环结构。

[0095] “杂芳基”指1至15个碳原子诸如1至10个碳原子及1至10个选自由环内的氧、氮及硫组成的群组的杂原子的芳族基团。此类杂芳基可具有单个环(诸如吡啶基、咪唑基或呋喃基)或环系中的多个稠环(例如诸如吲哚基、喹啉基、苯并呋喃、苯并咪唑基或苯并噻吩基那样的基团),其中环系内的至少一个环为芳族且环系内的至少一个环为芳族,前提条件是接附点通过芳族环的原子。在某些实施方案中,杂芳基的氮及/或硫原子任选经氧化以提供N-氧化物($N \rightarrow O$)、亚磺酰基或磺酰基部分。例如,本术语包括吡啶基、吡咯基、吲哚基、硫苯基及呋喃基。除非对于杂芳基取代基的定义另有约束,否则此类杂芳基可任选用1至5个取代基或1至3个取代基取代,该等取代基选自酰氧基、羟基、巯基、酰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、经取代的烷基、经取代的烷氧基、经取代的烯基、经取代的炔基、经取代的环烷基、经取代的环烯基、氨基、经取代的氨基、氨酰基、酰氨基、烷芳基、芳基、芳氧基、叠氮基、羧基、羧基酯、氰基、卤素、硝基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、氨酰氧基、氧酰氨基、硫代烷氧基、经取代的硫代烷氧基、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、磺酰氨基、-SO-烷基、-SO-经取代的烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO₂-烷基、-SO₂-经取代的烷基、-SO₂-芳基、-SO₂-杂芳基及三卤代甲基。

[0096] 杂芳基的实例包括但不限于吡咯基、咪唑基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、哒嗪基、吲哚基、异吲哚基、吲哚基、嘌呤基、异喹啉基、喹啉基、呋喃基、萘基吡啶基、喹啉基、喹啉基、噌啉基、噻吩基、咪唑基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、哒嗪基、异噻唑基、噻吩基、噻吩基、苯并[b]噻吩基等。

[0097] “杂环”、“杂环的”、“杂环烷基”或“杂环基”指饱和或部分不饱和基团,具有单个环或包括稠合、桥式或螺环系的多个稠环及具有3至20个环原子,包括1至10个杂原子。该等环原子选自由碳、氮、硫或氧组成的群组中,其中在稠环系统中,环中的一或多个可为环烷基、芳基或杂芳基,前提条件是接附点通过非芳族环。在某些实施方案中,杂环基的氮及/或硫原子任选经氧化以提供N-氧化物、-S(O)-或-SO₂-部分。

[0098] 杂环的实例包括但不限于氮杂环丁烷基、二氢吲哚基、吲哚基、喹啉基、咪唑烷基、咪唑啉基、哌啶基、哌嗪基、吲哚啉基、1,2,3,4-四氢异喹啉基、噻唑烷基、吗啉基、硫吗啉基、1,1-二氧化硫吗啉基、哌啶基、吡咯烷基、四氢呋喃基等。

[0099] 在杂芳基或杂环基为“经取代”的情况下,除非对于杂芳基或杂环取代基的定义另有约束,否则此类杂芳基或杂环基可用1至5个取代基或1至3个取代基取代,该等取代基选自烷基、经取代的烷基、烷氧基、经取代的烷氧基、环烷基、经取代的环烷基、环烯基、经取代的环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、经取代的氨基、氨酰基、氨酰氧基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、氧代、硫酮基、羧基、羧基酯、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、巯基、硫代烷氧基、经取代的硫代烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟氨基、烷氧氨基、硝基、磺酰氨基、-SO-烷基、-SO-经取代的烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO-杂环基、-SO₂-烷基、-SO₂-经取代的烷基、-SO₂-芳基、-SO₂-杂芳基及-SO₂-杂环基。

[0100] “聚亚烷基二醇”指直链或支链聚亚烷基二醇聚合物诸如聚乙二醇、聚丙二醇及聚丁二醇。聚亚烷基二醇亚单元为单个聚亚烷基二醇单元。例如,聚乙二醇亚单元的实例将为

乙二醇-O-CH₂-CH₂-O-或丙二醇-O-CH₂-CH₂-CH₂-O-,该链终点处用氢封端。聚(亚烷基二醇)的其它实例包括但不限于PEG、诸如甲氧基聚(乙二醇)(mPEG)那样的PEG衍生物、聚(氧化乙烯)、PPG、聚(丁二醇)、聚(氧化乙烯共氧化丙烯)或其共聚物及组合。

[0101] “聚胺”指在单体单元中具有胺官能团的聚合物,将该等胺官能团合并至主链中(如在聚亚烷基亚胺中)或在侧基中(如在聚乙烯基胺中)。

[0102] 除本申请所公开的内容之外,当术语“经取代”用于修饰指定基团或残基时,该术语也可意指指定基团或残基的一或多个氢原子各自彼此独立地用如下文所定义的相同或不同的取代基替代。

[0103] 除本文关于各个术语所公开的基团的外,除另有规定外,用于在指定基团或残基中的饱和碳原子上取代一或多个氢(可用=O、=NR⁷⁰、=N-OR⁷⁰、=N₂或=S替代单个碳上的任何两个氢)的取代基为-R⁶⁰、卤素、=O、-OR⁷⁰、-SR⁷⁰、-NR⁸⁰R⁸⁰、三卤代甲基、-CN、-OCN、-SCN、-NO、-NO₂、=N₂、-N₃、-S(O)R⁷⁰、-SO₂R⁷⁰、-SO₂O⁻M⁺、-SO₂OR⁷⁰、-OSO₂R⁷⁰、-OSO₂O⁻M⁺、-OSO₂OR⁷⁰、-P(O)(O⁻)₂(M⁺)₂、-P(O)(OR⁷⁰)O⁻M⁺、-P(O)(OR⁷⁰)₂、-C(O)R⁷⁰、-C(S)R⁷⁰、-C(NR⁷⁰)R⁷⁰、-C(O)O⁻M⁺、-C(O)OR⁷⁰、-C(S)OR⁷⁰、-C(O)NR⁸⁰R⁸⁰、-C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰、-OC(O)R⁷⁰、-OC(S)R⁷⁰、-OC(O)O⁻M⁺、-OC(O)OR⁷⁰、-OC(S)OR⁷⁰、-NR⁷⁰C(O)R⁷⁰、-NR⁷⁰C(S)R⁷⁰、-NR⁷⁰CO₂⁻M⁺、-NR⁷⁰CO₂R⁷⁰、-NR⁷⁰C(S)OR⁷⁰、-NR⁷⁰C(O)NR⁸⁰R⁸⁰、-NR⁷⁰C(NR⁷⁰)R⁷⁰及-NR⁷⁰C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰,其中R⁶⁰选自由以下基团组成的群组中:任选取代的烷基、环烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、环烷基烷基、芳基、芳基烷基、杂芳基及杂芳基烷基;每个R⁷⁰独立为氢或R⁶⁰;每个R⁸⁰独立为R⁷⁰或可选择地,两个R⁸⁰与它们所键合的氮原子一起形成3、4、5、6或7元杂环烷基,该杂环烷基可任选包括1至4个选自由O、N及S组成的群组中的相同或不同的额外杂原子,其中N可具有-H、C₁-C₄烷基、-C(O)C₁₋₄烷基、-CO₂C₁₋₄烷基或-SO₂C₁₋₄烷基取代;且每个M⁺为具有净单个正电荷的抗衡离子。例如,每个M⁺可独立为碱离子,诸如K⁺、Na⁺、Li⁺;铵根离子,诸如⁺N(R⁶⁰)₄;或碱土离子,诸如[Ca²⁺]_{0.5}、[Mg²⁺]_{0.5}或[Ba²⁺]_{0.5}(下标0.5意指对于此类二价碱土离子的抗衡离子中的一个可为实施方案的化合物的离子化形式及诸如氯离子那样的其它典型抗衡离子,或本文所公开的两个离子化化合物可充当对于此类二价碱土离子的抗衡离子,或实施方案的一个双重离子化化合物可充当对于此类二价碱土离子的抗衡离子)。

[0104] 除本申请所公开的内容之外,除另有规定外,用于在“经取代的”烯基、炔基、芳基及杂芳基中的不饱和碳原子上的氢的取代基为-R⁶⁰、卤素、-O⁻M⁺、-OR⁷⁰、-SR⁷⁰、-S⁻M⁺、-NR⁸⁰R⁸⁰、三卤代甲基、-CF₃、-CN、-OCN、-SCN、-NO、-NO₂、-N₃、-S(O)R⁷⁰、-SO₂R⁷⁰、-SO₃⁻M⁺、-SO₃R⁷⁰、-OSO₂R⁷⁰、-OSO₃⁻M⁺、-OSO₃R⁷⁰、-PO₃⁻²(M⁺)₂、-P(O)(OR⁷⁰)O⁻M⁺、-P(O)(OR⁷⁰)₂、-C(O)R⁷⁰、-C(S)R⁷⁰、-C(NR⁷⁰)R⁷⁰、-CO₂⁻M⁺、-CO₂R⁷⁰、-C(S)OR⁷⁰、-C(O)NR⁸⁰R⁸⁰、-C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰、-OC(O)R⁷⁰、-OC(S)R⁷⁰、-OCO₂⁻M⁺、-OCO₂R⁷⁰、-OC(S)OR⁷⁰、-NR⁷⁰C(O)R⁷⁰、-NR⁷⁰C(S)R⁷⁰、-NR⁷⁰CO₂⁻M⁺、-NR⁷⁰CO₂R⁷⁰、-NR⁷⁰C(S)OR⁷⁰、-NR⁷⁰C(O)NR⁸⁰R⁸⁰、-NR⁷⁰C(NR⁷⁰)R⁷⁰及-NR⁷⁰C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰,其中R⁶⁰、R⁷⁰、R⁸⁰及M⁺如先前所定义,前提条件是在经取代的烯基或炔基的情况下,取代基不为-O⁻M⁺、-OR⁷⁰、-SR⁷⁰或-S⁻M⁺。

[0105] 除本文关于各个术语所公开的取代基之外,除另有规定外,用于在“经取代的”杂环烷基及环烷基中的氮原子上的氢的取代基为-R⁶⁰、-O⁻M⁺、-OR⁷⁰、-SR⁷⁰、-S⁻M⁺、-NR⁸⁰R⁸⁰、三卤代甲基、-CF₃、-CN、-NO、-NO₂、-S(O)R⁷⁰、-S(O)₂R⁷⁰、-S(O)₂O⁻M⁺、-S(O)₂OR⁷⁰、-OS(O)₂R⁷⁰、-OS(O)₂O⁻M⁺、-OS(O)₂OR⁷⁰、-P(O)(O⁻)₂(M⁺)₂、-P(O)(OR⁷⁰)O⁻M⁺、-P(O)(OR⁷⁰)(OR⁷⁰)、-C(O)R⁷⁰、-C

(S) R^{70} 、 $-C(NR^{70})R^{70}$ 、 $-C(O)OR^{70}$ 、 $-C(S)OR^{70}$ 、 $-C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ 、 $-OC(O)R^{70}$ 、 $-OC(S)R^{70}$ 、 $-OC(O)OR^{70}$ 、 $-OC(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ 及 $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ ，其中 R^{60} 、 R^{70} 、 R^{80} 及 M^+ 如先前所定义。

[0106] 除本申请所公开的内容之外，在某一实施方案中，经取代的基团具有1、2、3或4个取代基、1或2个取代基或1个取代基。

[0107] 应理解在上文所定义的所有经取代的基团中，本文不意欲包括通过将具有进一步取代基的取代基定义成其本身所获得的聚合物(例如经取代的芳基具有作为取代基的经取代的芳基基团，该经取代的芳基基团本身用经取代的芳基基团取代，该经取代的芳基基团进一步被经取代的芳基基团取代等)。在此情况下，此类取代的最大数目为三层。例如，本文所特定涵盖的经取代的芳基基团的连续取代被限于经取代的芳基-(经取代的芳基)-经取代的芳基。

[0108] 除非另有指示，否则本文未明确定义的取代基的命名如下进行：命名末端部分的官能团，接着命名朝向接附点的相邻官能团。例如，取代基“芳基烷基氧羰基”指基团(芳基)-(烷基)-O-C(O)-。

[0109] 关于本文所公开的含有一或多个取代基的任何基团，毫无疑问应理解此类基团不含有在空间上不实用及/或在合成上不可行的任何取代或取代模式。另外，本申请化合物包括由于该等化合物的取代而出现的所有立体化学异构体。

[0110] 术语“药用盐”意指就给药于诸如哺乳动物那样的患者而言可接受的盐(具有抗衡离子的对于给定剂量疗法具有可接受的哺乳动物安全性的盐)。此类盐可衍生自药用无机或有机碱及衍生自药用无机或有机酸。“药用盐”指化合物的药用盐，该等盐衍生自本领域所熟知的各种有机及无机抗衡离子且仅例如包括钠盐、钾盐、钙盐、镁盐、铵盐、四烷基铵盐等；且当分子含有碱性官能团时，有机或无机酸的盐诸如盐酸盐、氢溴酸盐、甲酸盐、酒石酸盐、苯磺酸盐、甲磺酸盐、乙酸盐、马来酸盐、草酸盐等。

[0111] 术语“其盐”意指当酸的质子由阳离子替代时所形成的化合物，该阳离子为诸如金属阳离子或有机阳离子等。在可适用的情况下，盐为药用盐，但是对于不意欲给药于患者的中间体化合物的盐不需要为药用盐。例如，本申请化合物的盐包括以下那些盐，其中由无机或有机酸使化合物质子化以形成阳离子且无机或有机酸的共轭碱作为盐的阴离子组分。

[0112] “溶剂合物”指由溶剂分子与溶质的分子或离子组合形成的复合物。溶剂可为有机化合物、无机化合物或两者的混合物。溶剂的一些实例包括但不限于甲醇、N,N-二甲基甲酰胺、四氢呋喃、二甲亚砜及水。当溶剂为水时，所形成的溶剂合物为水合物。

[0113] “立体异构体”指具有相同原子连接性但空间上具有不同原子排列的化合物。立体异构体包括顺式-反式异构体、E与Z异构体、对映异构体及非对映异构体。

[0114] “互变异构体”指不同仅在于原子的电子键合方面及/或在于质子的位置方面的分子的替代形式，诸如烯醇-酮及亚胺-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、三唑及四唑。本领域技术人员将辨识出其它互变异构环原子排列是可能的。

[0115] 将了解的是，术语“或其盐或溶剂合物或立体异构体”意欲包括盐、溶剂合物及立体异构体的所有排列，诸如本申请化合物的立体异构体的药用盐的溶剂合物。

[0116] 如本文所使用，药物、化合物、缀合物、药物缀合物、抗体-药物缀合物或药物组合

物的“有效剂量”或“有效量”为足以实现有益或所欲结果的量。对于预防性使用,有益或所欲结果包括诸如消除或减小疾病风险、减轻疾病严重程度或延迟疾病发作那样的结果,包括疾病的生物化学症状、组织学症状及/或行为症状、其并发症及疾病发展期间呈现的中间病理表型。对于治疗性使用,有益或所欲结果包括诸如减少由疾病引起的一或多个症状、提高罹患疾病的彼等患者的生活质量、减少治疗疾病所需其它药物的剂量、诸如经由靶向增强另一药物的功效、延迟疾病进程及/或延长存活时间那样的临床结果。在癌症或肿瘤的情况下,药物的有效量可在以下方面具有效果:减少癌细胞数目;减小肿瘤大小;抑制(即在某种程度上放缓且优选地停止)癌细胞浸润至周边器官中;抑制(即在某种程度上放缓且优选地停止)肿瘤转移;在某种程度上抑制肿瘤生长;及/或在某种程度上减轻与障碍关联的症状中的一或多个。可在一或多次给药中给药有效剂量。针对本申请的目的,药物、化合物或药物组合物的有效剂量为足以直接或间接实现预防性或治疗性处置的量。如临床情境中所理解的那样,药物、化合物或药物组合物的有效剂量可或不可联用另一药物、化合物或药物组合物来实现。因此,可在给药一或多种治疗剂的情境中考虑“有效剂量”且若联用一或多种其它药物可实现或实现理想结果,则可考虑以有效量给药单个药物。

[0117] 如本文所使用,“联用”指给药一种治疗模态外加另一治疗模态。因此,“联用”指在另一种治疗模态给予前、给予期间或给予后将一种治疗模态给予个体。

[0118] 如本文所使用,“治疗”为用于获得有益或所欲结果的途径,该等结果包括且优选为临床结果。针对本申请的目的,有益或所欲临床结果包括但不限于以下结果中的一或多个:减少癌细胞的增殖(或消灭癌细胞)、减少由疾病引起的症状、提高罹患疾病的彼等患者的生活质量、减少治疗疾病所需其它药物的剂量、延迟疾病进程及/或延长个体的存活时间。

[0119] 如本文所使用,“延迟疾病的发展”意指延缓、阻碍、减缓、阻滞、稳定化及/或推迟疾病(诸如癌症)的发展。此延迟可具有不同的时间长度,取决于疾病史及/或正经治疗的个体。如对本领域技术人员显而易见的那样,足够或明显的延迟可有效含有预防之意,即个体并未发展疾病。例如,可延迟晚期癌症诸如转移的发展。

[0120] “个体”或“受试者”为哺乳动物,更优选地为人类。哺乳动物也包括但不限于家畜、竞技动物、宠物(诸如猫类、犬类、马匹)、灵长类动物、小鼠及大鼠。

[0121] 如本文所使用,术语“特异性识别”或“特异性结合”指可量测及可再现的相互作用诸如靶标与抗体(或分子或部分)之间的吸引或结合,其在有包括生物分子在内的分子的异质群体参与的情况下决定靶标的呈现。例如,特异性或优先结合至抗原决定部位的抗体为结合至此抗原决定部位比结合至靶标其它抗原决定部位或非靶标抗原决定部位具有较大亲合力、较大活动性、较轻易及/或具有较长持续时间的抗体。例如,也应理解的是,特异性或优先结合至第一靶标的抗体(或部分或抗原决定部位)可或不可特异性或优先结合至第二靶标。因此,“特异性结合”或“优先结合”不一定需要(尽管可包括)独占结合。特异性结合至靶标的抗体可具有至少约 10^3M^{-1} 或 10^4M^{-1} 的缔合常数,该缔合常数有时约 10^5M^{-1} 或 10^6M^{-1} ,在其它情况下约 10^6M^{-1} 或 10^7M^{-1} 、约 10^8M^{-1} 至 10^9M^{-1} 或约 10^{10}M^{-1} 至 10^{11}M^{-1} 或更高。各种免疫测定方式可用于通过特定蛋白质来选择具有特异性免疫活性的抗体。例如,固相ELISA免疫测定常用于通过蛋白质来选择具有特异性免疫活性的单克隆抗体。请参见例如Harlow and Lane (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Publications, New

York, 用于描述可用于确定特异性免疫反应性的免疫测定方式及条件。

[0122] 如本文所使用, 术语“癌症”、“肿瘤”、“癌性”及“恶性”是指或描述哺乳动物中的生理病症, 该病症通常以无限制细胞生长为特征。癌症的实例包括但不限于癌瘤, 包括腺癌、淋巴瘤、母细胞瘤、黑素瘤及肉瘤。此类癌症的更具体实例包括鳞状细胞癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺腺癌、肺鳞状细胞癌、肠胃癌、霍奇金氏淋巴瘤及非霍奇金氏淋巴瘤、胰腺癌、神经胶质母细胞瘤、宫颈癌、神经胶质瘤、卵巢癌、诸如肝癌及肝细胞瘤那样的肝癌、膀胱癌、乳癌、结肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜或子宫癌瘤、唾液腺癌瘤、诸如肾细胞癌瘤及韦尔姆斯氏肿瘤那样的肾癌、基底细胞癌、黑素瘤、间皮瘤、前列腺癌、甲状腺癌、睾丸癌、食道癌、胆囊癌及各种类型头颈癌。

[0123] 如本文及所附权利要求书所使用, 除非上下文另有清楚指示, 否则单数形式“一”及“该”包括复数提及。例如, “抗体”的提及为一至多个抗体诸如摩尔量的提及且包括为本领域技术人员所知的其等价形式等。

[0124] 本文提及的“约”值或参数包括(及描述)针对该值或参数本身的实施方案。例如, 提及“约X”的描述包括“X”的描述。

[0125] 应理解本文所描述的本发明的方面及变化包括“包含”及/或“基本包含”方面及变化。

[0126] 除非另有定义, 否则本文所使用的所有技术术语及科学术语具有与本发明所属的技术领域中的技术人员通常所理解的相同的意义。尽管也可将与本文所描述的彼等方法及材料类似或等价的任何方法及材料用于本发明的实施或测试中, 但现描述优选的方法及材料。本文所论及的所有公开出版物以引用的方式引入本文以结合该等公开出版物所记载的内容揭示及描述方法及/或材料。

[0127] 除非另有说明, 通常根据本领域熟知的常规方法及如在本说明书通篇中记载及论述的各种一般及较具体的实施方案所描述的那样实施本发明的方法及技术。请参见例如 Loudon, Organic Chemistry, 第4版, New York: Oxford University Press, 2002, 第360-361页, 第1084-1085页; Smith and March, March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 第5版, Wiley-Interscience, 2001。

[0128] 在本文的实施例中说明本文用于命名本申请化合物的命名法。大体上已使用市售 AutoNom 软件 (MDL, San Leandro, Calif) 衍生此命名法。

[0129] 应了解的是, 出于清晰的目的在不同实施方案的上下文中所描述的本发明的某些特征也可在另一个实施方案中组合提供。相反地, 出于简洁的目的在单个实施方案的上下文中所描述的本发明的各个特征也可单独或以任何适宜的亚组合提供。本发明具体包含关于由变量表示的化学基团的实施方案的所有组合且本文揭示该等组合恰如分别及明确揭示每个及每一组合, 其程度是此类组合包含作为稳定化合物的化合物(即可被分离、表征及针对生物活性进行测试的化合物)。另外, 本发明也具体包含描述此类变量的实施方案中所列出的化学基团的所有亚组合且本文揭示该等亚组合恰如本文分别及明确揭示化学基团的每个及每一此类亚组合。

具体实施方式

[0130] 本申请提供具有亲水性自消耗连接子的化合物, 该连接子在适宜条件下可被裂解

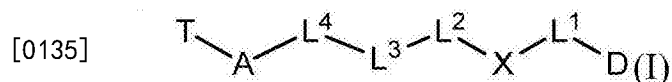
及合并亲水性基团以提供化合物的较好的可溶性。亲水性自消耗连接子可为通常疏水的细胞毒性药物提供药物缀合物的增加的可溶性。在药物缀合物中使用亲水性自消耗连接子的其它优势包括药物缀合物的增加的稳定性及药物缀合物的减少的聚集性。

[0131] 本申请提供可具有优越血清稳定性的药物缀合物。例如,与经由在水性缓冲液或人类血清中对快速水解敏感的不稳定碳酸酯连接方式将药物的羟基连接至间隔基的药物缀合物相比,使用苯甲氧羰基连接方式的本发明实施方案的药物缀合物可在相同条件下是相对较稳定的且可在使用蛋白酶例如组织蛋白酶B进行处理后选择性地经历断裂以释放药物。血清稳定性为药物缀合物的理想特性,其中需要将非活性药物给药至患者血清,使得该非活性药物作为配体集中于靶标及随后使得该药物缀合物仅在靶标附近转化成活性形式。

[0132] 本申请提供可具有减少的聚集的药物缀合物。一些酶不稳定连接子的增加的关联疏水性可导致药物缀合物的聚集,尤其是使用强疏水性药物。随着亲水性基团合并至连接子中,可存在药物缀合物的减少的聚集。

[0133] 本申请的化合物包含药物部分、能够靶向选定细胞群落的靶向部分及连接子,该连接子含有酰基单元、用于在药物部分与靶向部分之间提供距离的任选间隔基单元、可在适宜条件下可裂解的肽连接子、亲水性自消耗连接子及任选第二自消耗间隔基或环化自消除连接子。下文论述该等特征中的每个。

[0134] 本申请提供式(I)的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体:



[0136] 其中:

[0137] D为药物部分;

[0138] T为靶向部分;

[0139] X为亲水性自消耗连接子;

[0140] L^1 为键、第二自消耗连接子或环化自消除连接子;

[0141] L^2 为键或第二自消耗连接子;

[0142] 其中若 L^1 为第二自消耗连接子或环化自消除连接子,则 L^2 为键;

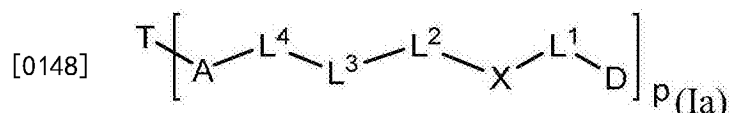
[0143] 其中若 L^2 为第二自消耗连接子,则 L^1 为键;

[0144] L^3 为肽连接子;

[0145] L^4 为键或间隔基;及

[0146] A为酰基单元。

[0147] 在一些实施方案中,靶向部分具有一或多个接附位点用于连接至药物部分。例如,靶向部分T可具有多个位点用于连接至连接子-药物部分(例如 $A-L^4-L^3-L^2-X-L^1-D$)。因此,也提供式(Ia)的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体:



[0149] 其中D、T、X、 L^1 、 L^2 、 L^3 、 L^4 及A如式(I)所定义且p为1至20。在一些实施方案中,p为1至8。在一些实施方案中,p为1至6。在一些实施方案中,p为1至4。在一些实施方案中,p为2至4。在一些实施方案中,p为1、2、3或4。在一些实施方案中,p为2。在一些实施方案中,p为3。在

一些实施方案中,p为4。

[0150] 肽连接子

[0151] 在式(I)中, L^3 为肽连接子。在某些实施方案中, L^3 为1至10个氨基酸残基的肽连接子。在某些实施方案中, L^3 为2至4个氨基酸残基的肽连接子。在某些实施方案中, L^3 为二肽连接子。

[0152] 氨基酸残基可为天然存在的氨基酸残基或非天然氨基酸残基。术语“天然氨基酸”及“天然存在的氨基酸”指Ala、Asp、Cys、Glu、Phe、Gly、His、Ile、Lys、Leu、Met、Asn、Pro、Gln、Arg、Ser、Thr、Val、Trp及Tyr。“非天然氨基酸”(即非天然存在的氨基酸)包括作为非限制性实例的高丝氨酸、高精氨酸、瓜氨酸、苯基甘氨酸、牛磺酸、碘酪氨酸、硒基-半胱氨酸、正亮氨酸(“Nle”)、正缬氨酸(“Nva”)、 β -丙氨酸、L-或D-缬氨酸、鸟氨酸(“Orn”)等。

[0153] 氨基酸也包括D-形式的天然及非天然氨基酸。”D-”指定具有“D”(右旋)构型的氨基酸,与天然存在的(“L-”)氨基酸中的构型相反。在没有指示特定构型的情况下,本领域技术人员将理解的是,氨基酸为L-氨基酸。然而,氨基酸也可D-及L-构型的外消旋混合物。可购得天然及非天然氨基酸(Sigma Chemical Co.;Advanced Chemtech)或使用本领域的已知方法合成该等氨基酸。只要保持其生物活性,便可基于残基的极性、电荷、可溶性、疏水性、亲水性及/或两亲性的相似性进行氨基酸代替。

[0154] 可特制氨基酸残基序列,使得其将通过肿瘤相关蛋白酶中的一或多个从所得肽基衍生药物缀合物中选择性地酶性裂解。

[0155] 在某些实施方案中, L^3 为包含至少一个赖氨酸或精氨酸残基的肽连接子。

[0156] 在某些实施方案中, L^3 为包含选自以下的氨基酸残基的肽连接子:赖氨酸、D-赖氨酸、瓜氨酸、精氨酸、脯氨酸、组氨酸、鸟氨酸及谷氨酰胺。

[0157] 在某些实施方案中, L^3 为包含选自以下的氨基酸残基的肽连接子:缬氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、丙氨酸、亮氨酸、色氨酸及酪氨酸。

[0158] 在某些实施方案中, L^3 为选自以下的二肽连接子:缬氨酸-瓜氨酸、脯氨酸-赖氨酸、甲硫氨酸-D-赖氨酸、天冬酰胺-D-赖氨酸、异亮氨酸-脯氨酸、苯丙氨酸-赖氨酸及缬氨酸-赖氨酸。在某些实施方案中, L^3 为缬氨酸-瓜氨酸。

[0159] 可设计适合于本申请使用的多种具体肽连接子分子及可最佳化该等肽连接子分子通过特定肿瘤相关蛋白酶的酶性裂解选择性。本申请中所使用的某些肽连接子为对于蛋白酶即组织蛋白酶B及D经最佳化的彼等肽连接子。

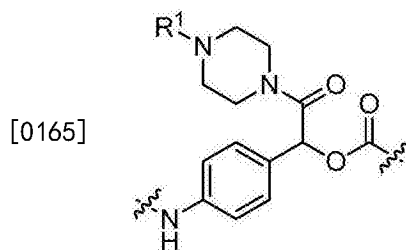
[0160] 亲水性自消耗连接子

[0161] 在式(I)中,X为亲水性自消耗连接子。

[0162] 本申请的化合物使用亲水性自消耗间隔基部分,该间隔基部分间隔且共价连接药物部分及靶向部分及合并亲水性基团,此举提供化合物的较好的可溶性。一些酶不稳定连接子的增加的关联疏水性可导致药物缀合物的聚集,尤其是使用强疏水性药物。随着亲水性基团合并至连接子中,可存在药物缀合物的减少的聚集。

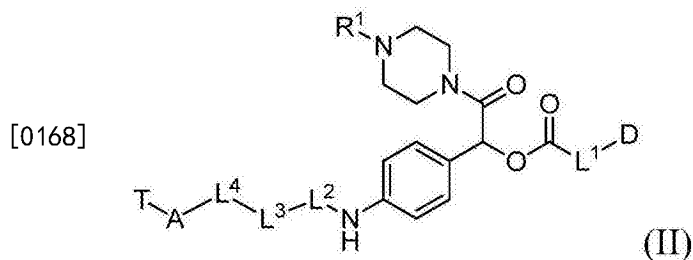
[0163] 可将自消耗间隔基定义为双官能化学部分,该双官能化学部分能够共价连接两个间隔的化学部分成为通常稳定的三部分分子,该自消耗间隔基可经由酶性裂解从三部分分子中释放间隔的化学部分中的一个;且在酶性裂解后,该自消耗间隔基可自分子的剩余部分自发裂解以释放间隔的化学部分中的另一个。

[0164] 在某些实施方案中,X为苯甲氧羰基。在某些实施方案中,X为:



[0166] 其中R¹为氢、未取代或经取代的C₁₋₃烷基或未取代或经取代的杂环基。

[0167] 在此实施方案中,本申请提供式(II)的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体:



[0169] 其中:

[0170] D为药物部分;

[0171] T为靶向部分;

[0172] R¹为氢、未取代或经取代的C₁₋₃烷基或未取代或经取代的杂环基;

[0173] L¹为键、第二自消耗连接子或环化自消除连接子;

[0174] L²为键或第二自消耗连接子;

[0175] 其中若L¹为第二自消耗连接子或环化自消除连接子,则L²为键;

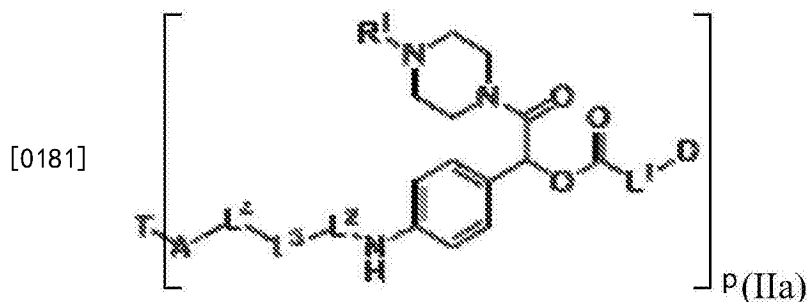
[0176] 其中若L²为第二自消耗连接子,则L¹为键;

[0177] L³为肽连接子;

[0178] L⁴为键或间隔基;及

[0179] A为酰基单元。

[0180] 在一些实施方案中提供式(IIa)的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体:

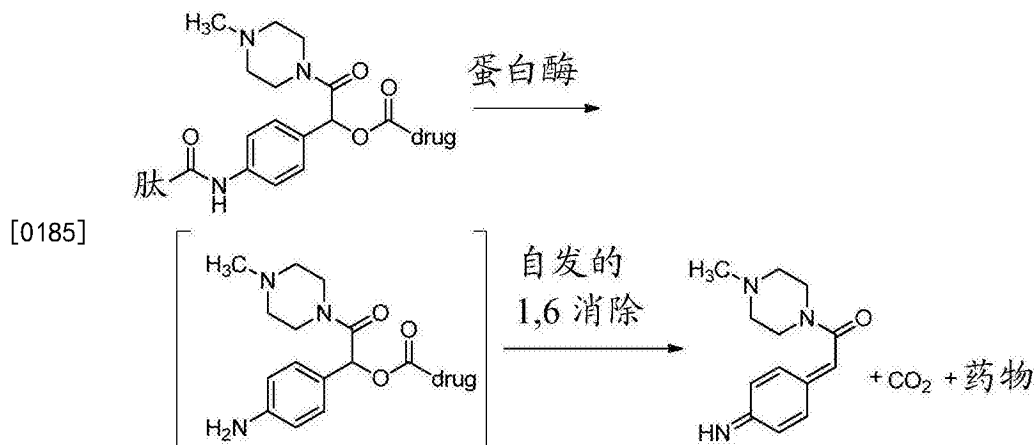


[0182] 其中D、T、L¹、L²、L³、L⁴及A如式(II)所定义且p为1至20。在一些实施方案中,p为1至8。在一些实施方案中,p为1至6。在一些实施方案中,p为1至4。在一些实施方案中,p为2至4。在一些实施方案中,p为1、2、3或4。在一些实施方案中,p为2。在一些实施方案中,p为3。在一些实施方案中,p为4。

[0183] 在式(II)或(IIa)的某些实施方案中,R¹为氢。在某些实施方案中,R¹为甲基。

[0184] 药物部分的释放是基于氨基苯甲氧羰基的自消除反应。出于说明的目的,下文图

示具有药物及肽接附的氨基苯甲氧羰基的反应流程。



[0186] 参见流程1,在自肽裂解后,形成氨基苯甲氧羰基且氨基苯甲氧羰基能够经历自发的1,6消除以形成环己-2,5-二烯亚胺衍生物及二氧化碳并释放药物。

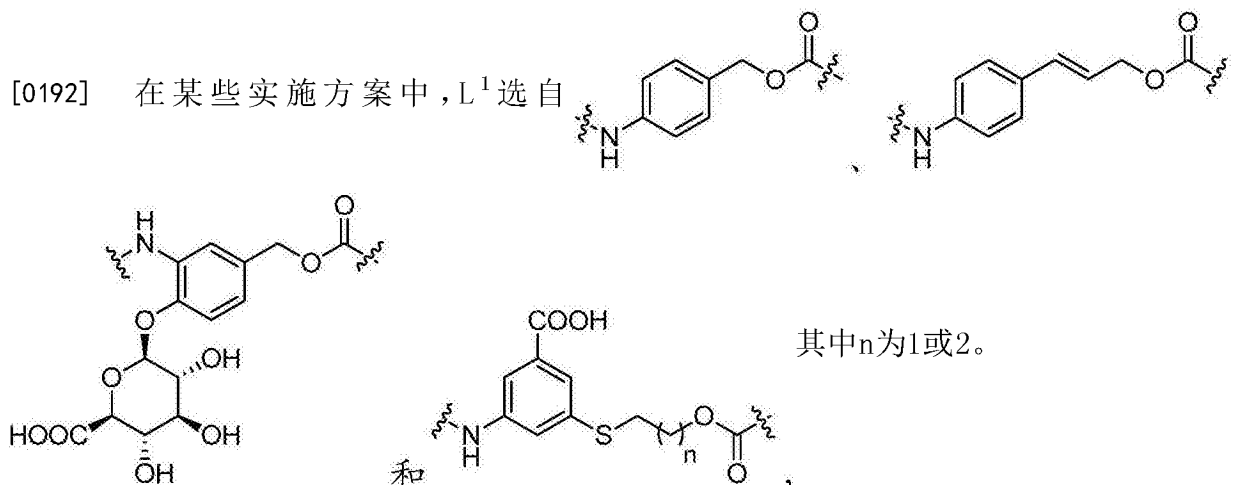
[0187] 任选第二自消耗连接子或环化自消除连接子

[0188] 第二自消耗连接子或环化自消除连接子提供额外连接子用于允许精细调节化合物的裂解以释放药物部分。

[0189] 在式(I)或(Ia)中, L^1 为键、第二自消耗连接子或环化自消除连接子; L^2 为键或第二自消耗连接子;其中若 L^1 为第二自消耗连接子或环化自消除连接子,则 L^2 为键;及其中若 L^2 为第二自消耗连接子,则 L^1 为键。因此,存在与亲水性自消耗连接子相邻的任选第二自消耗连接子或环化自消除连接子。

[0190] 在某些实施方案中, L^1 为键及 L^2 为键。在某些实施方案中, L^1 为第二自消耗连接子或环化自消除连接子及 L^2 为键。在某些实施方案中, L^1 为键及 L^2 为第二自消耗连接子。

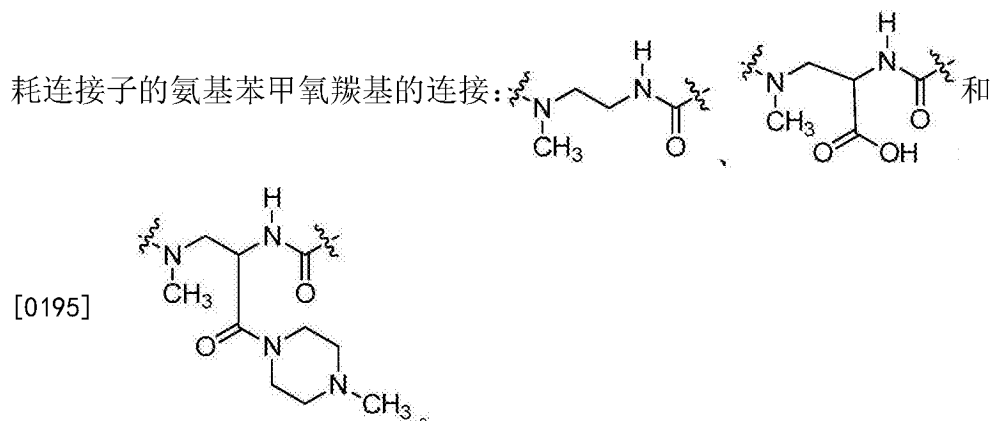
[0191] 在式(I)或(Ia)中,在某些实施方案中, L^1 为键。在某些实施方案中, L^1 为第二自消耗间隔基或环化自消除连接子,该间隔基或连接子将亲水性自消耗连接子与药物部分分开。在某些实施方案中, L^1 为氨基苯甲氧羰基连接子。



[0193] 在某些实施方案中,第二自消耗连接子或环化自消除连接子提供设计潜力用于可使用的更多种类的部分。例如,在式(II)或(IIa)中,在亲水性自消耗连接子与药物部分之间的氨基甲酸酯连接基($-O-C(O)-N(H)-$)将提供稳定的药物缀合物及将易于裂解以提供游离药物部分。亲水性自消耗连接子通常将使用氧羰基($-O-C(O)-$)终止。若药物部分具有氨

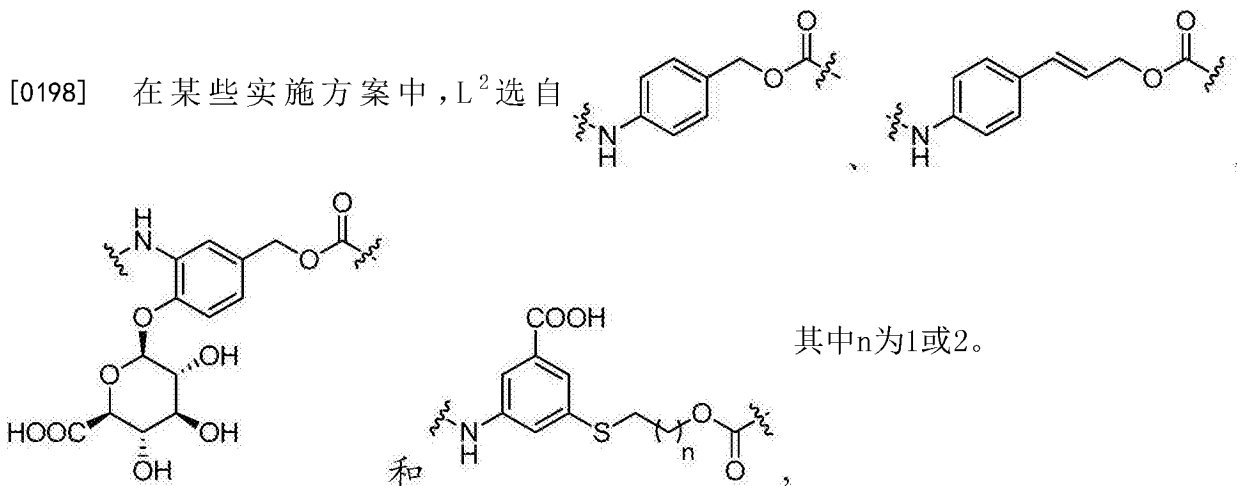
基反应性基团,该氨基反应性基团可用于反应以形成氨基甲酸酯基团,则不需要第二自消耗单元或环化自消除连接子;但是仍可使用第二自消耗单元或环化自消除连接子。然而,若药物不含有氨基,但反而含有一些其它反应性官能团,则此类药物仍可通过在药物部分与氨基苯甲氧羰基之间包括第二中间体自消耗间隔基或环化自消除连接子被合并至本发明实施方案的含有氨基苯甲氧羰基的化合物中。

[0194] 以下 L^1 的环化自消除连接子提供含有羟基或含有巯基的药物部分与亲水性自消耗连接子的氨基苯甲氧羰基的连接:



[0196] 实施方案的化合物中的环化自消除连接子提供化合物的裂解以释放药物部分。相邻亲水性自消耗连接子的消除机制将暴露 L^1 的氨基。所述氨基随后可在环化反应中与 L^1 的氨基甲酸酯基团或硫代氨基甲酸酯连接基及药物部分反应以释放含有羟基或含有巯基的药物部分。

[0197] 在式(I)或(Ia)中,在某些实施方案中, L^2 为键。在某些实施方案中, L^2 为第二自消耗间隔基,该第二自消耗间隔基将亲水性自消耗连接子与肽连接子分开。在某些实施方案中, L^2 为氨基苯甲氧羰基连接子。



[0199] 任选间隔基

[0200] 在式(I)或(Ia)中, L^4 为键或间隔基。在某些实施方案中, L^4 为键。在某些实施方案中, L^4 为间隔基,该间隔基可提供在药物部分与靶向部分之间的距离。

[0201] 在某些实施方案中,间隔基选自烷基、经取代的烷基、烯基、经取代的烯基、炔基、经取代的炔基、芳基、经取代的芳基、环烷基、经取代的环烷基、杂芳基、经取代的杂芳基、杂环基、经取代的杂环基及杂原子及其组合。间隔基在其原子组成上可为均匀或不均匀(例如

间隔基仅含有碳原子或间隔基含有碳原子及间隔基上所呈现的一或多个杂原子)。优选地,间隔基含有1至50个碳原子及选自氧、氮及硫的0至30个杂原子。间隔基也可为主链或非主链、直链、支链或环状。

[0202] 在某些实施方案中, L^4 为选自聚亚烷基二醇、亚烷基、亚烯基、亚炔基及聚胺的间隔基。亚烯基的实例包括但不限于亚乙烯基($-\text{CH}=\text{CH}-$)、亚丙烯基($-\text{CH}_2\text{C}=\text{C}-$)及丁-3-烯亚基($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}=\text{CH}-$)。亚炔基的实例包括但不限于亚乙炔基($-\text{C}\equiv\text{C}-$)及亚丙炔基($-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}-$)。

[0203] 在某些实施方案中, L^4 为包含官能团的间隔基,该官能团可提供与肽连接基的终端的连接。诸如 $\text{C}(0)$ 、 $\text{C}(0)-\text{NH}$ 、 $\text{S}(0)_2$ 及 $\text{S}(0)_2-\text{NH}$ 那样的官能团可提供与肽连接基的终端的连接。在某些实施方案中, L^4 为 $L^{4a}-\text{C}(0)$ 、 $L^{4a}-\text{C}(0)-\text{NH}$ 、 $L^{4a}-\text{S}(0)_2$ 、 $L^{4a}-\text{S}(0)_2-\text{NH}$,其中 L^{4a} 选自聚亚烷基二醇、亚烷基、亚烯基、亚炔基及聚胺。在某些实施方案中, L^4 为 $L^{4a}-\text{C}(0)$,其中 L^{4a} 选自聚亚烷基二醇、亚烷基、亚烯基、亚炔基及聚胺。

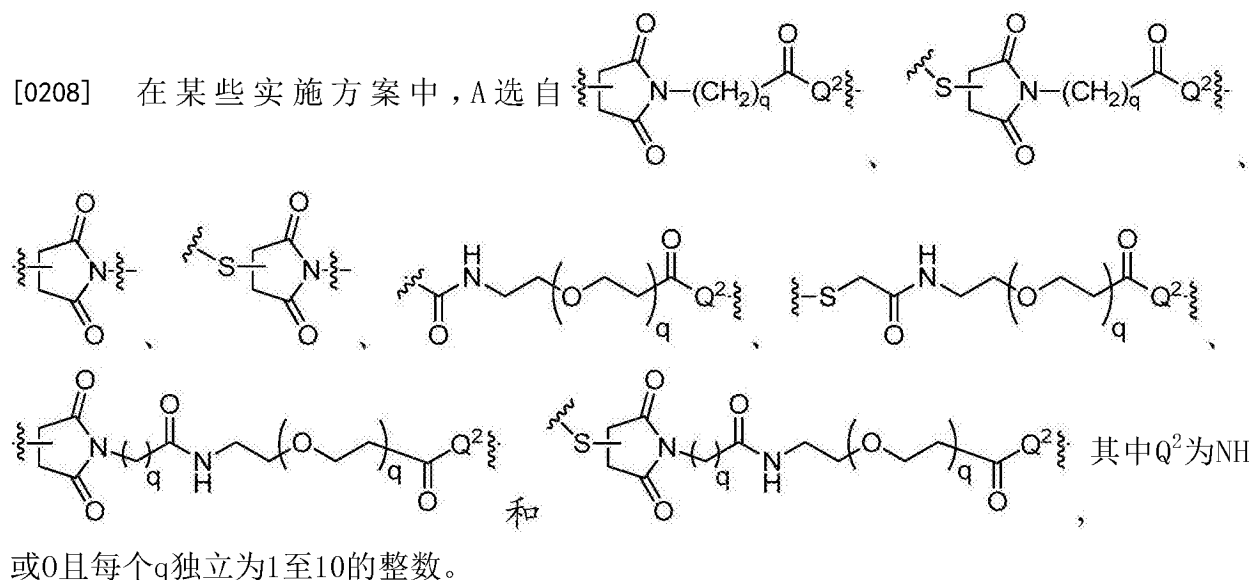
[0204] 在某些实施方案中, L^4 为 $L^{4a}-\text{C}(0)$,其中 L^{4a} 为聚亚烷基二醇。在某些实施方案中, L^4 为 $L^{4a}-\text{C}(0)$,其中 L^{4a} 为聚乙二醇。在某些实施方案中,间隔基具有式 $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_m-\text{CH}_2-\text{C}(0)-$,其中 m 为0至30的整数。

[0205] 在某些实施方案中, L^4 为 $L^{4a}-\text{C}(0)$,其中 L^{4a} 为亚烷基。在某些实施方案中, L^4 为 $L^{4a}-\text{C}(0)$,其中 L^{4a} 为 C_{1-10} 亚烷基、 C_{1-8} 亚烷基或 C_{1-6} 亚烷基。在某些实施方案中, L^4 为 $L^{4a}-\text{C}(0)$,其中 L^{4a} 为 C_4 亚烷基、 C_5 亚烷基或 C_6 亚烷基。在某些实施方案中, L^4 为 $L^{4a}-\text{C}(0)$,其中 L^{4a} 为 C_5 亚烷基。

[0206] 酰基单元

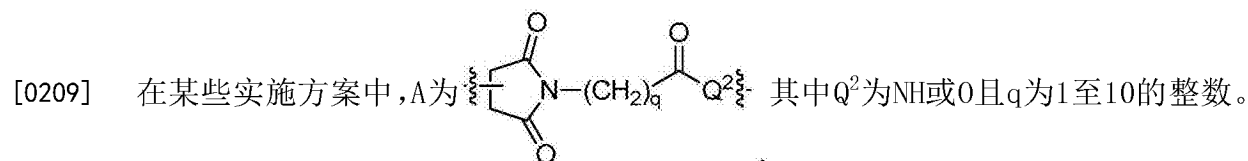
[0207] 在式(I)或(Ia)中,A为酰基单元。在某些实施方案中,酰基单元“A”包含硫原子及经由自靶向部分衍生的硫原子连接至靶向部分。在此实施方案中,在酰基单元与靶向部分之间形成二硫键。

[0208] 在某些实施方案中,A选自



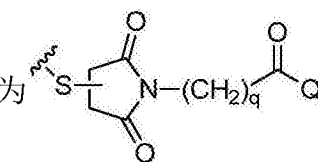
其中 Q^2 为NH或0且每个 q 独立为1至10的整数。

[0209] 在某些实施方案中,A为

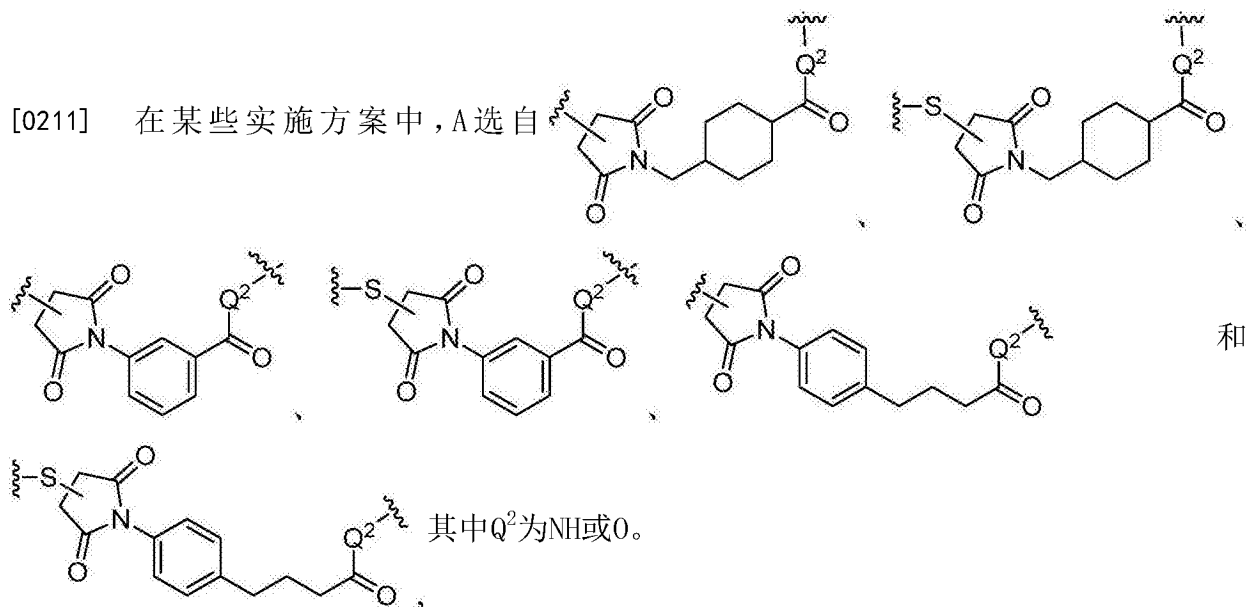
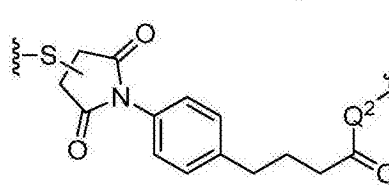


其中 Q^2 为NH或0且 q 为1至10的整数。

在某些实施方案中, q 为2至5的数字诸如2、3、4或5。

[0210] 在某些实施方案中, A为  其中Q²为NH或O且q为1至10的整数。

在某些实施方案中, q为2至5的数字诸如2、3、4或5。

[0211] 在某些实施方案中, A选自  和  其中Q²为NH或O。

[0212] 药物部分

[0213] 本发明实施方案的药物缀合物在对应药物有效的情况下对于通常目的有效且具有优良的功效, 因为靶向部分中所固有的能力能够将药物递送至所欲细胞, 该药物在所欲细胞中具有特定益处。

[0214] 本发明实施方案中所使用的优选药物为细胞毒性药物, 诸如用于癌症治疗的彼等细胞毒性药物。此类药物大体上包括DNA损伤剂、抗代谢剂、天然产物及其类似物。细胞毒性剂的某些类别包括例如酶抑制剂诸如二氢叶酸还原酶抑制剂、胸苷酸合成酶抑制剂、DNA嵌入剂、DNA裂解剂、拓扑异构酶抑制剂、蒽环类药物、长春花类药物、丝裂霉素类、博来霉素类、细胞毒素核苷、嘌呤类药物、亚二炔类、鬼臼毒素类、分化诱导剂及紫杉醇类。彼等类别的某些有用成员包括例如甲胺喋呤、甲基叶酸、二氯甲胺喋呤、5-氟脲嘧啶、6-巯基嘌呤、阿糖胞苷、美法仑、环氧长春碱、leurosine、放线菌素、柔红霉素、多柔比星、丝裂霉素C、丝裂霉素A、洋红霉素、氨基嘌呤、他利霉素、鬼臼毒素及鬼臼毒素衍生物诸如依托泊苷或磷酸依托泊苷、长春碱、长春新碱、长春地辛、紫杉醇、多西紫杉醇维甲酸、丁酸、N⁸-乙酰基亚精胺、喜树碱及其类似物。其它药物包括多拉司他汀(dolastatin)及倍癌霉素(duocarmycin)。

[0215] 本领域技术人员可对所欲化合物进行化学修改以便使得该化合物的反应更加便利以意欲用于制备本发明的缀合物。

[0216] 在某些实施方案中, D为具有化学反应性官能团的药物部分, 经由该官能团将药物键合至L¹或X。在某些实施方案中, 所述官能团选自伯胺、仲胺、羟基及巯基。在某些实施方案中, 所述官能团为伯胺或仲胺。在某些实施方案中, 所述官能团为羟基。在某些实施方案中, 所述官能团为巯基。

[0217] 如上文所论述的那样,亲水性自消耗连接子通常将使用氧羰基(-O-C(O)-)终止。因此,含有氨基的药物部分将易于与氧羰基反应以形成氨基甲酸酯基团。在某些实施方案中,D为含有氨基的药物部分,其中将该药物经由氨基连接至L¹或X。

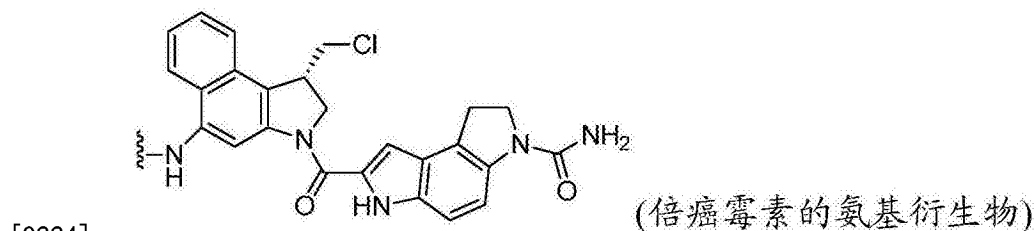
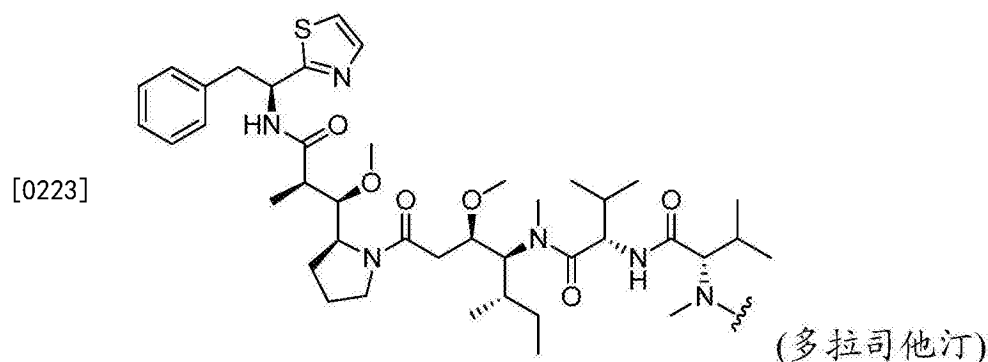
[0218] 然而,若药物部分不含有氨基,则L¹的第二自消耗连接子或环化自消除连接子可提供设计潜力用于可使用的更多种类的部分。在某些实施方案中,D为含有羟基或含有巯基的药物部分,其中将该药物经由羟基或巯基连接至L¹。

[0219] 代表性含有氨基的药物包括丝裂霉素-C、丝裂霉素-A、柔红霉素、多柔比星、氨基蝶呤、放线菌素、博来霉素、9-氨基喜树碱、N⁸-乙酰基亚精胺、1-(2-氯乙基)-1,2-二甲磺酰基胍、他利霉素、阿糖胞苷、多拉司他汀及其衍生物。含有氨基的药物也包括非天然含有氨基的药物的氨基衍生物。在某些实施方案中,D为倍癌霉素、多拉司他汀、微管结合素(tubulysin)、多柔比星(DOX)、紫杉醇或丝裂霉素C(MMC)或其氨基衍生物。

[0220] 代表性含有羟基的药物包括依托泊苷、喜树碱、紫杉醇、埃斯培拉霉素、1,8-二羟基-二环[7.3.1]十三碳-4,9-二烯-2,6-二炔-13-酮(美国专利第5,198,560号)、鬼臼毒素、蛇形菌素、长春新碱、长春碱、吗啉-多柔比星、N-(5,5-二乙酰氧基-戊基)多柔比星、倍癌霉素及其衍生物。

[0221] 代表性含有巯基的药物包括埃斯培拉霉素及6-巯基嘌呤及其衍生物。

[0222] 用作本发明实施方案中的药物的一组细胞毒性剂包括具有以下式的药物:



[0225] 靶向部分

[0226] 本申请中所描述的靶向部分指与给定细胞群落特异性结合、复合、反应或关联的部分或分子。例如,靶向部分可与同给定细胞群落关联的接受部分或受体特异性结合、复合、反应及关联(例如给定细胞群落寻求治疗性处置或其它方式的生物学修改)。在本文所

描述的缀合物中,本文所描述的靶向部分经由连接子连接至缀合物中的药物部分。在一些实施方案中,靶向部分能够递送药物部分(例如用于治疗性目的的药物部分)至特定靶细胞群落,该特定靶细胞群落与该靶向部分键合、复合、反应或关联。

[0227] 靶向部分可包括例如大分子量蛋白质诸如抗体、小分子量蛋白质、多肽或肽及非肽基部分。本文所描述的蛋白质、多肽或肽部分可包括例如转铁蛋白、血清白蛋白、表皮生长因子(“EGF”)、铃蟾肽、胃泌素、胃泌素释放肽、血小板衍生生长因子、IL-2、IL-6、诸如TGF- α 及TGF- β 那样的肿瘤生长因子(“TGF”)、痘苗病毒生长因子(“VGF”)、胰岛素及胰岛素样生长因子I及II。非肽基部分可包括例如碳水化合物、凝集素及来自低密度脂蛋白的脱辅基蛋白。某些实施方案中的蛋白质、抗体、多肽或肽可指其未修改形式、为在本文所描述的缀合物中使用诸如用于键合至连接子或本文所描述的缀合物中的部分的已修改形式。

[0228] 在一些实施方案中,靶向部分为抗体(或抗体部分或抗体靶向部分)。在一些实施方案中,靶向部分包含抗体。在一些实施方案中,靶向部分包含巯基(-SH)基团(例如游离反应性巯基(-SH)基团)或可经修改以包含此巯基。在一些实施方案中,靶向部分包含具有巯基(例如游离反应性巯基)的抗体。在一些实施方案中,靶向部分包含游离巯基诸如具有游离巯基的抗体或可经修改以包含此硫醇基团。在一些实施方案中,包含巯基或硫醇基团的靶向部分经由巯基中的硫原子键合至连接子。

[0229] 在一些实施方案中,靶向部分(例如抗体靶向部分)具有一或多个接附位点用于连接至药物部分。例如,靶向部分T(例如抗体)可具有多个位点(例如多个巯基)用于连接至连接子-药物部分(例如A-L⁴-L³-L²-X-L¹-D,其中A适合于键合至靶向抗体的巯基)。在一些实施方案中,靶向部分可具有1至20个接附的位点。在一些实施方案中,靶向部分可具有1至20、1至10、1至8、1至6、1至4、2至8、2至4或2至4个接附的位点。在一些实施方案中,靶向部分具有1、2、3、4、5、6、7或8个接附的位点。在一些实施方案中,靶向部分具有2个接附的位点。在一些实施方案中,靶向部分具有1个接附的位点。在一些实施方案中,靶向部分具有4个接附的位点。在一些实施方案中,接附的某些潜在位点不可易于键合至药物部分。因此,靶向部分T中的接附位点的数目可导致其中接附的药物部分的数目比接附的潜在位点的数目更少的药物缀合物。在一些实施方案中,接附的位点中的一或多个可易于键合药物部分。例如,抗体靶向部分可在抗体的每个链上具有一或两个可易于经由连接子键合至药物部分的巯基。

[0230] 在一些实施方案中,靶向部分为抗体或抗体靶向部分。本文所描述的抗体指经由至少一个抗原识别位点能够特异性结合至靶标诸如碳水化合物、聚核苷酸、脂质、多肽等的免疫球蛋白分子,所述抗原识别位点位于免疫球蛋白分子的可变区中。如本文所使用,术语“抗体”不仅涵盖完整多克隆抗体或单克隆抗体,而且涵盖其抗原结合片段(诸如Fab、Fab’、F(ab’)₂、Fv)、单链(ScFv)、其突变体、包含抗体部分的融合蛋白质及包含抗原识别位点的免疫球蛋白分子的任何其它修改构型。抗体包括任何类别的抗体诸如IgG、IgA或IgM(或其子类别)且该抗体不必具有任何特定类别。取决于其重链的恒定域的抗体氨基酸序列,可将免疫球蛋白指定给不同类别。存在五个主要类别的免疫球蛋白:IgA、IgD、IgE、IgG及IgM,且几种该等免疫球蛋白可进一步分为子类别(同工型),例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2。对应于免疫球蛋白的不同类别的重链恒定域分别称为 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及 μ 。免疫球蛋白的不同类别的亚单位结构及三维构型是已知的。

[0231] 本文所描述的靶向部分中所包括或使用的抗体(或抗体靶向部分)可含有单克隆抗体、多克隆抗体、抗体片段(例如Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、Fc等)、嵌合抗体、人源化抗体、人类抗体(例如完整人类抗体)、单链(ScFv)、双特异性抗体、多特异性抗体、其突变体、包含抗体部分的融合蛋白质及包含所需特异性的抗原识别位点的免疫球蛋白分子的任何其它修改构型。抗体可为鼠类、大鼠、骆驼、人类或任何其它来源(包括人源化抗体)。在一些实施方案中,本文所描述的靶向部分中所使用的抗体(或抗体靶向部分)为以下抗体中的任一个:双特异性抗体、多特异性抗体、单链、双官能及嵌合和人源化分子,其对由抗体的至少一个高变区(HVR)或互补决定区(CDR)授予的多肽具有亲合力。本申请中所使用的抗体也包括单域抗体,该等抗体为抗体重链的可变域或者抗体轻链的可变域。Holt等人,Trends Biotechnol. 21:484-490,2003。在本领域中也已知制备包含抗体重链的可变域或者抗体轻链的可变域的域抗体的方法,该等域抗体含有抗体中六个天然存在的HVR或CDR中的三个。请参见例如Muyldermans,Rev.Mol.Biotechnol. 74:277-302,2001。

[0232] 在一些实施方案中,本文所描述的靶向部分中所包括或使用的抗体(或抗体靶向部分)为单克隆抗体。如本文所使用,单克隆抗体指大体上均匀的抗体的抗体,即除可能天然存在的可少量呈现的突变外,构成群体的各个抗体是相同的。此外,与通常针对不同决定因素(抗原决定部位)包括不同抗体的多克隆抗体制品对比,单克隆抗体并非分散抗体的混合物。修饰语“单克隆”指示抗体的特征为从抗体的大体均匀群体中获得且不被看作需要通过任何特定方法生产抗体。例如,本申请中所使用的单克隆抗体可通过Kohler及Milstein, 1975,Nature, 256:495首次描述的杂交瘤方法制备或可通过诸如美国专利第4,816,567号中所描述的重组DNA方法制备。单克隆抗体也可使用例如McCafferty等人,1990,Nature, 348:552-554中所描述的技术与所产生的噬菌体抗体库分离。

[0233] 在一些实施方案中,本文所描述的靶向部分中所包括或使用的抗体(或抗体靶向部分)为嵌合抗体。如本文所使用,嵌合抗体指具有来自第一物种的可变区或可变区的部分及来自第二物种的恒定区的抗体。完整嵌合抗体包含嵌合轻链的两个复本及嵌合重链的两个复本。在本领域中已知嵌合抗体的生产(Cabilly等人(1984),Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 81:3273-3277;Harlow及Lane(1988),Antibodies:a Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory)。通常,在该等嵌合抗体中,轻链及重链两者的可变区模拟自哺乳动物的一个物种衍生的抗体的可变区,而恒定部分与自另一物种衍生的抗体中的序列同源。此类嵌合形式的一种明显优势在于例如可使用可易于取得的杂交瘤或来自非人类宿主有机体的B细胞与自例如人类细胞制品衍生的恒定区的结合便于自目前已知的来源衍生可变区。尽管可变区具有易于制备的优势且特异性不受其来源影响,但是当注射抗体时人类恒定区在人类受试者中引起免疫反应的可能性比非人类来源的恒定区更小。然而,该定义并不被限于此特定实例。

[0234] 在一些实施方案中,本文所描述的靶向部分中所包括或使用的抗体(或抗体靶向部分)为人源化抗体。如本文所使用,人源化抗体指非人类(例如鼠类)抗体的形式,该等非人类抗体为特定嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白链或其含有自非人类免疫球蛋白衍生的最小序列的片段(诸如Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂或抗体的其它抗原结合子序列)。在很大部分上,人源化抗体为人类免疫球蛋白(接受体抗体),其中来自接受体的HVR或CDR的残基由来自诸如小鼠、大鼠或兔那样的非人类物种(供体抗体)的HVR或CDR的残基替代,该人源化抗体具有

所欲特异性、亲合力及能力。在一些实施方案中,人类免疫球蛋白的Fv框架区(FR)残基由对应的非人类残基替代。此外,人源化抗体可包含在接受体抗体及输入HVR或CDR或框架序列中皆无法找到的残基,但包括该等残基以进一步改善及最佳化抗体效能。大体而言,人源化抗体将包含大体所有至少一个且通常两个可变域,其中所有或大体所有HVR或CDR区对应于非人类免疫球蛋白的彼等区且所有或大体所有FR区为人类免疫球蛋白一致序列的彼等区。人源化抗体最佳也将包含免疫球蛋白恒定区或恒定域(Fc)中的至少一部分,通常为人类免疫球蛋白的恒定区或恒定域。抗体可具有如WO 99/58572中所描述的修改的Fc区。人源化抗体的其它形式具有一或多个HVR或CDR(一个、两个、三个、四个、五个、六个),关于原始抗体改变该等HVR或CDR,此也称为“衍生自”原始抗体中的一或多个HVR或CDR的一或多个HVR或CDR。

[0235] 在一些实施方案中,本文所描述的靶向部分中所包括或使用的抗体(或抗体靶向部分)为人类抗体。如本文所使用,人类抗体意指具有氨基酸序列的抗体,该氨基酸序列对应于由人类产生的抗体及/或已使用本领域中已知的制备人类抗体的任何技术制备。本文所使用的人类抗体包括包含至少一个人类重链多肽或至少一个人类轻链多肽的抗体。一个此类实例为包含鼠类轻链及人类重链多肽的抗体。可使用本领域中已知的各种技术产生人类抗体。在一个实施方案中,人类抗体选自噬菌体抗体库,其中该噬菌体抗体库表达人类抗体(Vaughan等人,1996,Nature Biotechnology,14:309-314;Sheets等人,1998,PNAS,(USA) 95:6157-6162;Hoogenboom及Winter,1991,J.Mol.Biol.,227:381;Marks等人,1991,J.Mol.Biol.,222:581)。也可通过将人类免疫球蛋白基因座引入转基因动物(例如小鼠)中来制备人类抗体,在该等转基因动物体内已部分或完全灭活内源性免疫球蛋白基因。在美国专利第5,545,807号、第5,545,806号、第5,569,825号、第5,625,126号、第5,633,425号及第5,661,016号中描述此方法。可选择地,可通过永生化针对靶抗原产生抗体的人类B淋巴细胞制备人类抗体(此类B淋巴细胞可自个体回收或可在体外已被免疫)。参见例如Cole等人,Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy,Alan R.Liss,第77页(1985);Boerner等人,1991,J.Immunol.,147(1):86-95;及美国专利第5,750,373号。

[0236] 在一些实施方案中,本文所描述的靶向部分中所包括或使用的抗体(或抗体靶向部分)特异性结合至癌细胞上的抗原,该癌细胞诸如非造血癌细胞(例如结肠直肠癌细胞、胰腺癌细胞或胃癌细胞)。在一些实施方案中,抗体特异性结合至CD43上含有碳水化合物的抗原决定部位,例如美国专利第7,674,605号、美国专利第7,982,017号、PCT/US2007/013587(专利公开第WO 2007/146172号)或PCT/US2008/087515(专利公开第WO 2009/079649号)中所描述的抗体,该等专利中的每篇的内容以引用的方式引入本文。在一些实施方案中,抗体为h5F1Ca.1抗体。

[0237] 下文表1展示人源化5F1Ca.1(h5F1Ca.1)重链及轻链的氨基酸序列。

[0238] 表1(A).h5F1Ca.1重链氨基酸序列(SEQ ID NO:1)(在一些实施方案中的Kabat CDR为下划线;恒定区中的序列为斜体)

[0239]

```
1 QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWIRQAPGQGLEWIGYINPYNGGTQY
61 NEKFNGRATLTSDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRTFFYYFDYWGQGTLLTVSSAS
121 TKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
181 YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS
241 VFLEPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
301 YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL
361 KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
421 GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:1)
```

[0240] 表1 (B) .h5F1Ca.1轻链氨基酸序列 (SEQ ID NO:2) (在一些实施方案中的Kabat CDR为下划线;恒定区中的序列为斜体)

[0241]

```
1 DVVMTQTPLSLPVTLGEPASISCRSSQSILHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRF
61 SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHPALTFGGGTKLEIKRTVAAPSV
121 FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYS
181 SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:2)
```

[0242] 在一些实施方案中,抗体为抗体h5F1Ca.1或衍生自抗体h5F1Ca.1的抗体。分别在SEQ ID NO:1及SEQ ID NO:2中阐述h5F1Ca.1的重链及轻链序列。在一些实施方案中,抗体包含来自抗体h5F1Ca.1 (或衍生自抗体h5F1Ca.1的抗体)的轻链及/或重链的一个、两个或三个HVR (或CDR)。在一些实施方案中,抗体包含抗体h5F1Ca.1的片段或区。在一个实施方案中,所述片段为抗体h5F1Ca.1的轻链。在另一实施方案中,所述片段为抗体h5F1Ca.1的重链。在又一实施方案中,所述片段包含来自抗体h5F1Ca.1 (或衍生自h5F1Ca.1的抗体)的轻链及/或重链的一或多个可变区。在又一实施方案中,所述片段包含来自抗体h5F1Ca.1 (或衍生自h5F1Ca.1的抗体)的轻链及/或重链的一个、两个或三个HVR (或CDR)。在一些实施方案中,衍生自抗体h5F1Ca.1的一或多个HVR (或CDR)与h5F1Ca.1的至少一个、至少两个、至少三个、至少四个、至少五个或至少六个HVR (或CDR)至少约85%、至少约86%、至少约87%、至少约88%、至少约89%、至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%相同。在一些实施方案中,抗体包含:重链可变区,其包含来自SEQ ID NO:1的一个、两个或三个HVR (或CDR);及/或轻链可变区,其包含来自SEQ ID NO:2的一个、两个或三个HVR (或CDR)。在一些实施方案中,抗体包含:重链可变区,其包含来自SEQ ID NO:1的三个HVR (或CDR);及/或轻链可变区,其包含来自SEQ ID NO:2的三个HVR (或CDR)。在一些实施方案中,抗体包含:重链可变区,其包含SEQ ID NO:1的氨基酸1-118;及/或轻链可变区,其包含SEQ ID NO:2的氨基酸1-113。在一些实施方案中,所述抗体为嵌合抗体。在一些实施方案中,所述抗体为人源化抗体。

[0243] 在一些实施方案中,本文所描述的靶向部分中所包括或使用的抗体 (或抗体靶向部分)特异性结合至转铁蛋白受体 (诸如人类转铁蛋白受体),该转铁蛋白受体通过非造血癌细胞 (例如肺癌细胞、卵巢癌细胞、乳腺癌细胞、前列腺癌细胞、肝癌细胞、子宫内膜癌细胞、结肠直肠癌细胞、胰腺癌细胞或胃癌细胞)表达。抗体可特异性结合至通过非造血癌细胞表达的转铁蛋白受体上的修饰物 (诸如碳水化合物)。在一些实施方案中,抗体特异性结合至通过非造血癌细胞表达的转铁蛋白受体上的碳水化合物。在一些实施方案中,抗体特异性结合至转铁蛋白受体上的含有碳水化合物的抗原决定部位,例如2012年1月6日提交申请的美国临时专利申请第61/584,125号或PCT专利申请第PCT/US2013/020263号 (公开为W0

2013/103800)中所描述的抗体,该等申请中的内容以全文引用的方式引入本文。在一些实施方案中,抗体为嵌合5D7-54.17抗体(c5D7)、5D7-54.17或衍生自5D7-54.17抗体的抗体(例如美国临时专利申请第61/584,125中所描述的抗体)。在一些实施方案中,抗体为c5D7抗体。

[0244] 下文表2展示c5D7抗体的重链序列及轻链序列的氨基酸序列。

[0245] 表2(A).c5D7重链序列(SEQ ID NO:3)(在一些实施方案中的Kabat CDR为下划线;恒定区中的序列为斜体)

[0246]

```
1 EVQLQQSGPEVVKPGASMKMSCKTSGYKFTGYIMDWVKQSLGASFEWIGRVIPSNQDTRY
61 NQKFEGKATLTVDRSSSTAYMELNSLTSEDSAVYYCARKPLSGNAADYWGQTSVTVSTA
121 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
181 LYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP
241 SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
301 TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL
361 TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
421 QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:3)
```

[0247] 表2(B).c5D7轻链序列(SEQ ID NO:4)(在一些实施方案中的Kabat CDR为下划线;恒定区中的序列为斜体)

[0248]

```
1 ETTVTQSPASLSVATGEKVTIRCITSTDIDDDMNWYQQKPGEPFKLLISDGNLTPGVPS
61 RFSSSGYGTDFVFTIENTLSEDI TDYYCMQSDNMPFTFGSGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP
121 SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLT
181 LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:4)
```

[0249] 在一些实施方案中,抗体为c5D7抗体或衍生自c5D7抗体的抗体。在SEQ ID NO:3及SEQ ID NO:4中分别阐述c5D7抗体的重链及轻链序列(请参见表2)。在一些实施方案中,抗体包含来自c5D7抗体(或衍生自c5D7抗体的抗体)的轻链及/或重链的一个、两个或三个HVR(或CDR)。在一些实施方案中,抗体包含抗体c5D7抗体的片段或区。在一个实施方案中,所述片段为c5D7抗体的轻链。在另一实施方案中,所述片段为c5D7抗体的重链。在又一实施方案中,所述片段包含来自c5D7抗体(或衍生自c5D7抗体的抗体)的轻链及/或重链的一或多个可变区。在又一实施方案中,所述片段包含来自c5D7抗体(或衍生自c5D7的抗体)的轻链及/或重链的一个、两个或三个HVR(或CDR)。在一些实施方案中,衍生自c5D7抗体的一或多个HVR(或CDR)与c5D7抗体的至少一个、至少两个、至少三个、至少四个、至少五个或至少六个HVR(或CDR)至少约85%、至少约86%、至少约87%、至少约88%、至少约89%、至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%相同。在一些实施方案中,所述抗体包含:重链可变区,其包含来自SEQ ID NO:3的一个、两个或三个HVR(或CDR);及/或轻链可变区,其包含来自SEQ ID NO:4的一个、两个或三个HVR(或CDR)。在一些实施方案中,所述抗体包含:重链可变区,其包含来自SEQ ID NO:3的三个HVR(或CDR);及/或轻链可变区,其包含来自SEQ ID NO:4的三个HVR(或CDR)。在一些实施方案中,抗体包含:重链可变区,其包含SEQ ID NO:3的氨基酸1-119;及/或轻链可变区,其包含SEQ ID NO:4的氨基酸1-108。在一些实施方案中,所述抗体为嵌合抗体。在一些实施方案中,所述抗体为人源化抗体。

[0250] 如本文所使用,关于序列的“百分比(%)氨基酸序列同一性”及“同源性”指若需要

在对准序列及引进间隙后与特定序列中的氨基酸残基相同的候选序列中的氨基酸残基的百分比以实现最大百分比序列同一性,而不考虑任何保守取代作为序列同一性的部分。可按本领域内的各种方式实现意欲用于确定百分比氨基酸序列同一性的对准,例如使用诸如BLAST、BLAST-2、ALIGN或MEGALIGN™(DNASTAR)软件那样的公用计算机软件。本领域技术人员可确定用于测量对准的适宜参数,包括在所比较的序列的全长上实现最大对准所需的任何算法。

[0251] 在一些实施方案中,本文所描述的CDR为Kabat CDR、Chothia CDR或接触CDR。在一些实施方案中,CDR为Kabat CDR。在一些实施方案中,CDR为Chothia CDR。在其它实施方案中,CDR为Kabat CDR与Chothia CDR的组合(也称为“组合CDR”或“延伸CDR”)。换言之,对于含有超过一个CDR的任何给定实施方案,CDR可为Kabat、Chothia及/或组合中的任一个。该领域中已知确定CDR的方法。

[0252] 抗体的可变区指单独或组合的抗体轻链的可变区或抗体重链的可变区。大体而言,可变区调节抗原结合及定义对于其特定抗原的特定抗体的特异性。可变区可具有相对无变化的延伸,称为框架区(FR)(例如15-30个氨基酸之FR),该等框架区通过称为“高变区”(“HVR”)的极端变化性的较短区分开(例如HVR每个为9-12个氨基酸长)。在一些实施方案中,天然重链及轻链的可变域每个包含四个FR,主要采用β片状构型,由三个高变区连接,形成连接β片状结构的环及在一些情况中形成β片状结构的一部分。每个链上的高变区可通过FR紧密固持于一起及与其它链上的高变区一起贡献于抗体的抗原结合位点的形成(请参见Kabat等人,Sequences of Proteins of of Immunological Interest,第5版,Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD.(1991))。恒定域不可直接涉及结合抗体至抗原,但是可展示各种效应功能,诸如抗体在抗体依赖性细胞毒性(ADCC)中的参与。抗体的恒定区指单独或组合的抗体轻链的恒定区或抗体重链的恒定区。抗体的恒定区大体上提供结构稳定性及其它生物功能,诸如抗体链关联、分泌、经胎盘移动及补充结合,但是不涉及结合至抗原。恒定区的基因中的氨基酸序列及对应的外显子序列将取决于其所衍生来自的物种;然而,在物种内部针对特定恒定区将相对限制氨基酸序列中导致异型的变异。每个链的可变区通过连接多肽序列接合至恒定区。通过轻链基因中的“J”序列及重链基因中的“D”序列及“J”序列的组合编码连接序列。

[0253] 当本文所使用时的术语“高变区”(“HVR”)指导致抗原结合的抗体的氨基酸残基。高变区大体上包含来自“互补决定区”或“CDR”的氨基酸残基(例如VL中围绕残基24-34(L1)、50-56(L2)及89-97(L3)周围及VH中围绕31-35B(H1)、50-65(H2)及95-102(H3)周围(在一个实施方案中,H1围绕31-35周围);Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版,Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD.(1991))及/或来自“高变环”的彼等残基(例如VL中的残基26-32(L1)、50-52(L2)及91-96(L3)及VH中的26-32(H1)、53-55(H2)及96-101(H3);Chothia及Lesk J.Mol.Biol.196:901-917(1987))。存在多种方式用于确定CDR,例如基于交叉物种序列变化性的途径(即Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,(第5版,1991,National Institutes of Health,Bethesda MD));及基于抗原-抗体复合物的结晶研究的途径(Al-lazikani等人(1997) J.Mol.Biol.273:927-948))。作为Kabat互补决定区(CDR)的HVR基于序列变化性且最常使用(前述Kabat等人)。Chothia反而指结构环的

位置(Chothia及Lesk J.Mol.Biol.196:901-917(1987))。AbM HVR表示Kabat CDR与Chothia结构环之间的折中且由Oxford Molecular的AbM抗体建模软件使用。“接触”HVR基于可得复晶体结构的分析。如本文所使用,CDR可为由上述措施中的任一个或上述措施中的任两者或三者的组合定义的CDR。CDR可为Kabat CDR、Chothia CDR或接触CDR。下文注释来自该等HVR中的各者的残基。

[0254]

环	Kabat	AbM	Chothia	接触
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B(Kabat 编号)
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35(Chothia 编号)
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

[0255] HVR可包含如下“延伸HVR”:VL中的24-36或24-34(L1)、46-56或50-56(L2)及89-97或89-96(L3)及VH中的26-35(H1)、50-65或49-65(优选实施方案)(H2)及93-102、94-102或95-102(H3)。根据前述Kabat等人针对该等延伸HVR定义中的各者编号可变域残基。

[0256] 在一些实施方案中,抗体为用半胱氨酸工程化的抗体,该抗体在重链或轻链中包含游离半胱氨酸氨基酸。抗体中游离半胱氨酸氨基酸的工程化可提供反应性亲电子官能团,该官能团可进一步在特异性位点处赋能诸如抗体-药物缀合物(ADC)化合物那样的抗体缀合物化合物与药物分子(即位点特异性缀合)。用半胱氨酸工程化的抗体及产生用半胱氨酸工程化的抗体的手段实例参见Junutula, JR等人, (2008) Nat. Biotech. 26 (8) :925-932; Lyons, A等人, (1990) Prot. Engineering 3 (8) :703-708; 及 Stimmel, JB等人, (2000) J. Biol. Chem. 275 (39) :30445-30450。在一些实施方案中,对抗体进行工程化以用一或多个半胱氨酸残基代替重链或轻链上的氨基酸残基(例如天然存在的氨基酸),前提条件是半胱氨酸残基的反应性硫醇基团对抗体折叠或组装几乎没有影响且不明显改变抗原结合。在一些实施方案中,针对新引进的工程化的半胱氨酸硫醇基团的反应性评估半胱氨酸残基。硫醇反应性值为0至1.0范围内的相对数值项且可针对任何用半胱氨酸工程化的抗体测量该值。在一些实施方案中,本发明的用半胱氨酸工程化的抗体的硫醇反应性值为约0.6至1.0、0.7至1.0或0.8至1.0中的任一个。WO 2006/034488、WO 2010/141902、WO 2013/093809、WO 2008/038024、WO 2008/070593、WO 2009/092011、WO 2011/005481及WO 2011/156328提供针对位点特异性缀合的用半胱氨酸工程化的抗体。

[0257] 可通过诱变处理母抗体的核酸序列制备用半胱氨酸工程化的抗体,诱变处理包括:由半胱氨酸替代一或多个氨基酸残基以编码用半胱氨酸工程化的抗体;表达用半胱氨酸工程化的抗体;及分离用半胱氨酸工程化的抗体。在一些实施方案中,用半胱氨酸工程化

的抗体为抗体片段；例如，Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv或单链(ScFv)抗体。在一些实施方案中，对抗体进行工程化以包括氨基酸残基S157、T169及S442(EU编号)的一或多个半胱氨酸代替。在本发明的一些实施方案中，对h5F1Ca.1、c5D7抗体或衍生自h5F1Ca.1或c5D7抗体的抗体进行工程化以包含一或多个游离半胱氨酸残基。

[0258] 在一些实施方案中，用半胱氨酸残基替代IgG重链的以下位置中的任一或多个处的一或多个氨基酸残基：40、43、84、88、103、112、113、114、115、131、132、133、134、135、136、137、138、139、161、168、172、234、235、237、239、246、249、265、267、269、270、276、278、282、283、284、287、289、292、293、297、298、299、300、302、303、312、314、315、318、320、324、326、327、330、332、333、334、335、336、337、339、345、347、354、355、356、358、359、360、361、362、370、373、376、378、380、382、383、384、386、388、398、390、392、393、400、401、404、411、413、414、416、418、419、421、422、428、431、432、437、438、439、440、442、443及444；根据Kabat等人(1991, NIH Publication 91-3242, National Technical Information Service, Springfield, VA, 以下称为“Kabat”)的EU索引编号。

[0259] 在一些实施方案中，用半胱氨酸残基替代IgG重链的以下位置中的任何组合处的一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个或十个或更多个氨基酸残基：40、43、84、88、103、112、113、114、115、131、132、133、134、135、136、137、138、139、161、168、172、234、235、237、239、246、249、265、267、269、270、276、278、282、283、284、287、289、292、293、297、298、299、300、302、303、312、314、315、318、320、324、326、327、330、332、333、334、335、336、337、339、345、347、354、355、356、358、359、360、361、362、370、373、376、378、380、382、383、384、386、388、398、390、392、393、400、401、404、411、413、414、416、418、419、421、422、428、431、432、437、438、439、440、442、443及444；根据Kabat的EU索引编号。

[0260] 在一些实施方案中，用半胱氨酸残基替代IgG α 轻链的以下位置中的任一或多个处的一或多个氨基酸残基：7、15、20、22、25、43、110、111、125、144、149、155、158、161、168、185、188、189、191、197、205、206、207、208及210，根据Kabat的EU索引编号。

[0261] 在一些实施方案中，用半胱氨酸残基替代IgG α 轻链的以下位置中的任何组合处的一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个或十个或更多个氨基酸残基：7、15、20、22、25、43、110、111、125、144、149、155、158、161、168、185、188、189、191、197、205、206、207、208及210，根据Kabat的EU索引编号。

[0262] 在一些实施方案中，用半胱氨酸残基替代IgG κ 轻链的以下位置中的任一或多个处的一或多个氨基酸残基：7、15、20、22、25、43、110、111、144、168、183及210，根据Kabat的编号。

[0263] 在一些实施方案中，用半胱氨酸残基替代IgG κ 轻链的以下位置中的任何组合处的一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个或十个或更多个氨基酸残基：7、15、20、22、25、43、110、111、144、168、183及210，根据Kabat的编号。

[0264] 在一些实施方案中，抗体为分离的。分离的抗体指已自天然环境的组分识别及分离及/或回收的抗体。在一些实施方案中，抗体为大体纯的。术语“大体纯的”可指材料至少50%纯的(即无污染物)，更优选地至少90%纯的，更优选地至少95%纯的，更优选地至少98%纯的，更优选地至少99%纯的。在一些实施方案中，抗体为单克隆抗体。在一些实施方案中，抗体为人源化抗体。在一些实施方案中，抗体为嵌合抗体。在一些实施方案中，抗体为

人类抗体。在一些实施方案中,抗体为IgG(诸如IgG₁、IgG₂或IgG₄)。在一些实施方案中,抗体为人类IgG,诸如人类IgG₁。

[0265] 本文所描述的抗体可进一步包括经修改即通过任何类型分子的共价依附的类似物及衍生物,只要此共价依附容许抗体保持其抗原结合免疫特异性。例如,抗体的衍生物及类似物包括已进一步经修改例如糖基化、乙酰化、聚乙二醇化、磷酸化、酰胺化、通过已知保护基/阻断基进行衍生化、蛋白质裂解、连接至细胞配体或其它蛋白质等的彼等衍生物及类似物。可通过已知技术进行化学修改,该等技术包括但不限于特异性化学裂解、乙酰化、调配等。另外,类似物或衍生物可含有一或多个非天然氨基酸。

[0266] 在一些实施方案中,式(I)-(V)的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体中的抗体靶向部分T为与药物部分部分缀合的抗体,以使得其可进一步连接至额外药物部分。因此,在一些实施方案中,式(I)的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体意欲涵盖式(Ia)的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体。同样,式(II)的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体意欲涵盖式(IIa)的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体;式(III)的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体意欲涵盖式(IIIa)的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体;式(IV)的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体意欲涵盖式(IVa)的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体;及式(V)的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体意欲涵盖式(Va)的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体。

[0267] 本文所描述的抗体可包括对于癌细胞抗原具有免疫特异性的抗体或用于治疗癌症的抗体。本领域中已知制备对于癌细胞抗原具有免疫特异性的抗体的方法。抗体可包括以下抗体中的任一个:抗HER2抗体,诸如人源化抗HER2单克隆抗体(例如HERCEPTIN(Trastuzumab;Genentech,CA));抗CD20抗体,诸如嵌合抗CD20单克隆抗体(例如RITUXAN(rituximab;Genentech));OvaRex(AltaRex Corporation,MA);Panorex(Glaxo Wellcome,NC);BEC2(ImClone Systems Inc.,NY);IMC-C225(ImClone Systems Inc.,NY);Vitaxin(MedImmune,Inc.,MD);Campath 1/H(Leukosite,MA);SmartMI95(Protein Design Labs, Inc.,CA);LymphoCide(Immunomedics,Inc.,NJ);Smart ID10(Protein Design Labs, Inc.,CA);Oncolym(Techniclone,Inc.,CA);抗CD2抗体,诸如人源化抗CD2mAb(例如Allomune(BioTransplant,CA));抗VEGF抗体,诸如人源化抗VEGF抗体(例如贝伐单抗(Genentech,Inc.,CA));CEAcide(Immunomedics,NJ);抗KDR抗体,诸如抗KDR嵌合抗体(例如IMC-1C11(ImClone Systems,NJ));抗EGFR抗体,诸如抗EGFR嵌合抗体(例如Cetuximab(ImClone,NJ));BR96mAb(Trail,P.A.等人,Science 1993,261,212-215);BR64(Trail,P.A.等人,Cancer Research 1997,57,100-105);抗CD30抗体;及抗CD 40抗原的mAbs,诸如S2C6mAb。抗体可进一步包括对抗以下抗原中的任一个的抗体:CA125、CA15-3、CA19-9、L6、Lewis Y、Lewis X、甲胎蛋白、CA242、碳酸酐酶IX(CAIX/CA9)、CA6、畸胎瘤衍化生长因子(cripto)、间皮素、 α v-整合素、LIV-1(也称为SLC39A6或ZIP6)、SLC44A4(AGS-5)、鸟苷酸环化酶C(GCC)、ENPP3、FOLR1、EGFRvIII、MUC16、内皮受体ETB(ETBR)、NaPi2b(钠依赖性磷酸盐转运蛋白2b)(也称为SLC34A2)、前列腺特异性膜抗原(PSMA)、5T4、STEAP1、结合素-4、GPNMB、上皮细胞粘附分子(EpCAM)、EphA2、叶酸受体 α (FRA)、CanAg、人类非肌肉肌球蛋白重链A型(nmMHCA)、SLITRK6、T细胞免疫球蛋白及粘蛋白域1(TIM-1)(也称为HAVCR1)、组织因子(TF)、胎盘碱性磷酸酶、前列腺特异性抗原、前列腺酸性磷酸酶、表皮生长因子、MAGE-1、

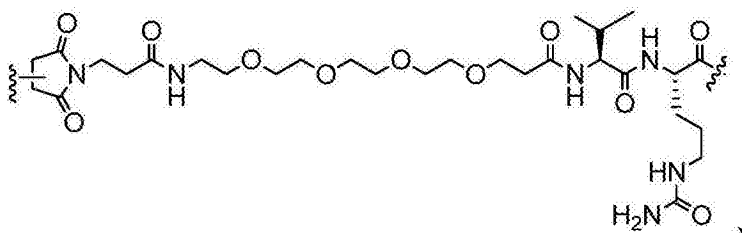
MAGE-2、MAGE-3、MAGE-4、抗转铁蛋白受体、p97、MUC1-KLH、CEA、gp100、MART1、PSA、IL-2受体、CD20、CD52、CD33、CD22、CD138 (Syndecan-1)、CD79b、CD74、CD70、CD56、CD37、CD19、癌胚抗原相关细胞粘附分子5 (CEACAM5) (也称为CD66e)、上皮糖蛋白-1 (EGP-1) (也称为TROP2、TACSTD2、GA733-1、M1S1)、人类绒毛膜促性腺激素、CD38、CD40、粘蛋白、P21、MPG及Neu原癌基因产物。

[0268] 本文所描述的抗体可进一步包括可结合至活化淋巴细胞上所表达的受体或受体复合物两者的抗体。受体或受体复合物可包含免疫球蛋白基因超家族成员、TNF受体超家族成员、整联蛋白、细胞因子受体、趋化因子受体、主要组织相容性蛋白质、凝集素或补体调控蛋白。适宜免疫球蛋白超家族成员的非限制性实例为CD2、CD3、CD4、CD8、CD19、CD22、CD28、CD79、CD90、CD152/CTLA-4、PD-1及ICOS。适宜TNF受体超家族成员的非限制性实例为CD27、CD40、CD95/Fas、CD134/OX40、CD137/4-1BB、TNF-R1、TNFR-2、RANK、TACI、BCMA、骨保护素、Apo2/TRAIL-R1、TRAIL-R2、TRAIL-R3、TRAIL-R4及APO-3。适宜整联蛋白的非限制性实例为CD11a、CD11b、CD11c、CD18、CD29、CD41、CD49a、CD49b、CD49c、CD49d、CD49e、CD49f、CD103及CD104。适宜凝集素的非限制性实例为C型、S型及I型凝集素。本文所描述的抗体可进一步包括对于病毒或微生物抗原具有免疫特异性的抗体。病毒抗原可包括以下任一个：病毒肽、多肽蛋白质(例如HIV gp120、HIV nef、RSV F糖蛋白、流感病毒神经氨酸酶、流感病毒血细胞凝集素、HTLV tax、单纯性疱疹病毒糖蛋白(例如gB、gC、gD及gE)及乙型肝炎表面抗原)，上述各者能够引起免疫反应。微生物抗原可包括以下任一个：微生物肽、多肽、蛋白质、糖类、多糖或脂质分子(例如细菌、真菌、病原性原生动物或酵母多肽，包括例如LPS及荚膜多糖5/8)，上述各者能够引起免疫反应。

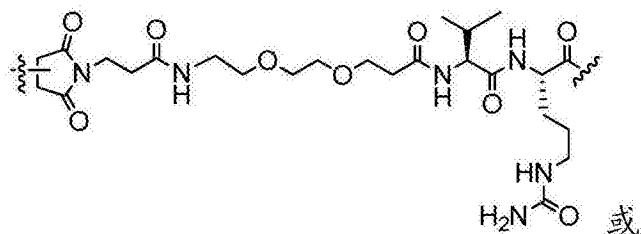
[0269] 本领域中已知制备靶向部分(例如抗体、多肽、肽或非肽基部分)的方法，诸如美国专利第7,674,605号、美国专利第7,982,017号、PCT/US2007/013587(专利公开第W0 2007/146172号)或PCT/US2008/087515(专利公开第W0 2009/079649号)中所描述的方法。

[0270] 代表性连接子

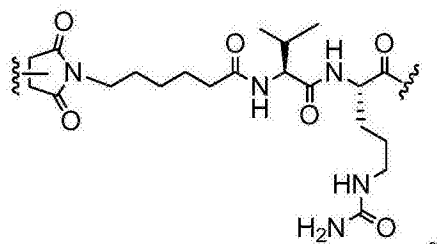
[0271] 在某些实施方案中，式(I)、(Ia)、(II)或(IIa)的化合物中的“-A-L⁴-L³-L²-”或“-A-L⁴-L³-”部分为：



[0272]

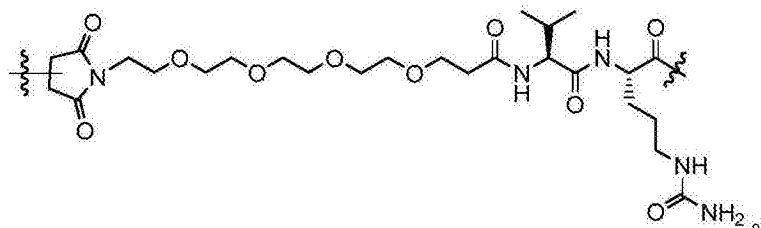


或



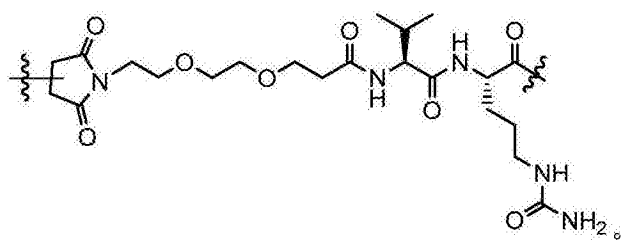
[0273] 在某些实施方案中,式(I)、(Ia)、(II)或(IIa)的化合物中的“-A-L⁴-L³-L²-”或“-A-L⁴-L³-”部分为:

[0274]



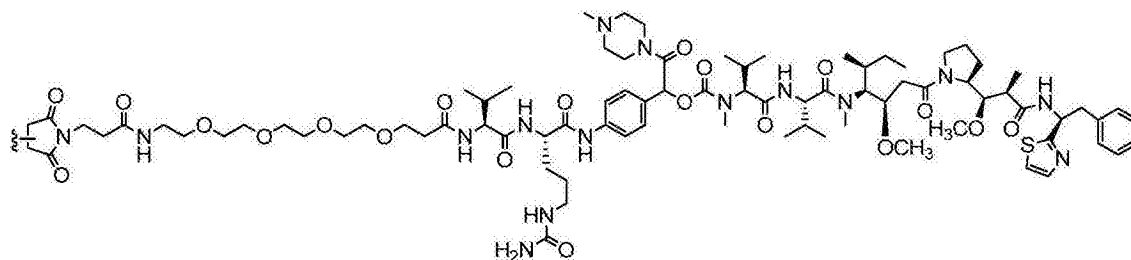
[0275] 在某些实施方案中,式(I)、(Ia)、(II)或(IIa)的化合物中的“-A-L⁴-L³-L²-”或“-A-L⁴-L³-”部分为:

[0276]



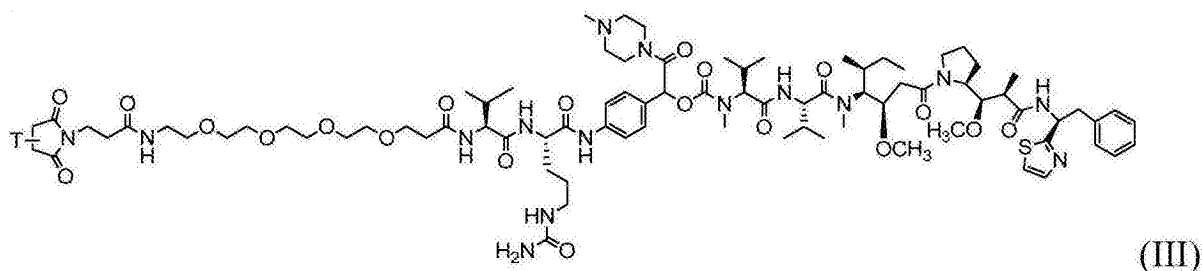
[0277] 在某些实施方案中,式(I)、(Ia)、(II)或(IIa)的化合物中的“-A-L⁴-L³-L²-X-L¹-D”部分为:

[0278]



[0279] 在此实施方案中,本申请提供式(III)的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体:

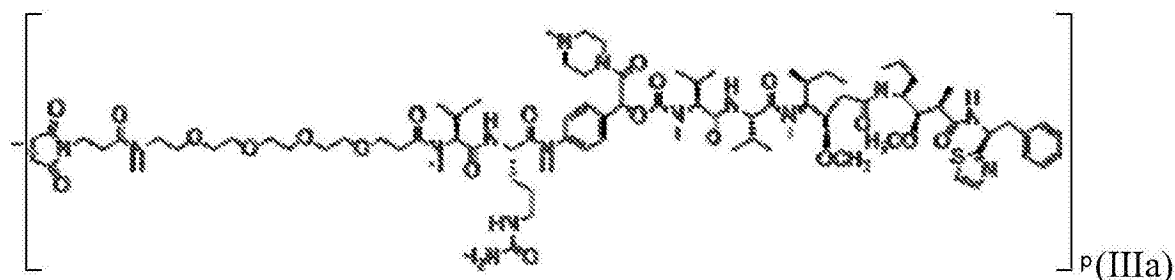
[0280]



[0281] 其中T为靶向部分。在某些实施方案中,在式(III)中,T为抗体。在某些实施方案中,抗体为h5F1Ca.1或c5D7。

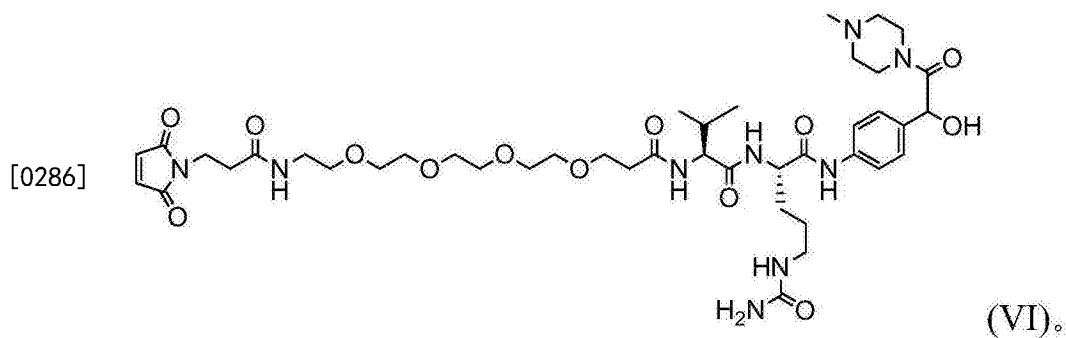
[0282] 在一些实施方案中提供式(IIIa)的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体:

[0283]



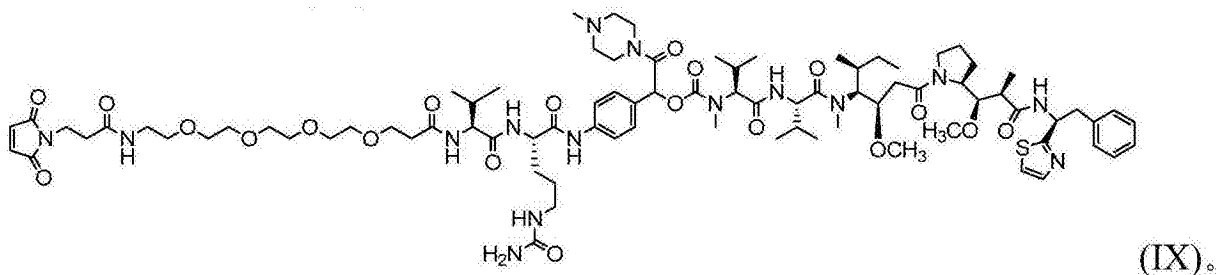
[0284] 其中T为靶向部分且p为1至20。在一些实施方案中,p为1至8。在一些实施方案中,p为1至6。在一些实施方案中,p为1至4。在一些实施方案中,p为2至4。在一些实施方案中,p为1、2、3或4。在一些实施方案中,p为2。在一些实施方案中,p为3。在一些实施方案中,p为4。在某些实施方案中,在式(IIIa)中,T为抗体,任选其中用半胱氨酸残基替代抗体的重链及/或轻链的一或多个氨基酸残基。在某些实施方案中,所述抗体为h5F1Ca.1或c5D7或其中用半胱氨酸残基替代抗体的重链及/或轻链的一或多个氨基酸残基的h5F1Ca.1或其中用半胱氨酸残基替代抗体的重链及/或轻链的一或多个氨基酸残基的c5D7。

[0285] 在某些实施方案中,本申请提供用于合成式(I)的化合物的中间体。本申请提供式(VI)的化合物或其盐或溶剂合物:



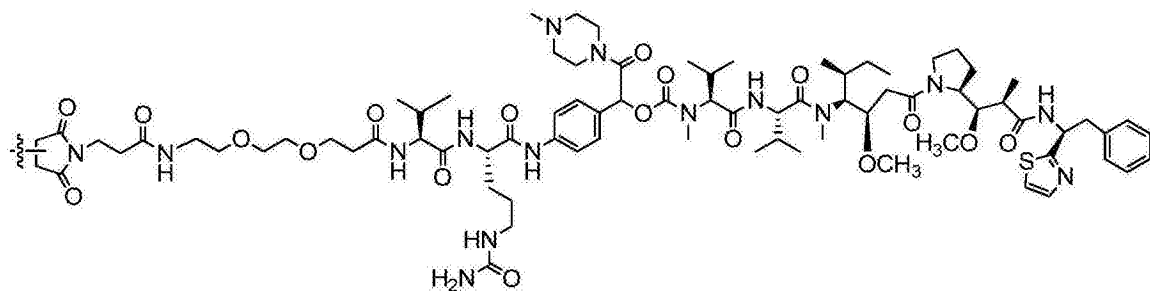
[0287] 本申请提供式 (IX) 的化合物或其盐或溶剂合物:

[0288]



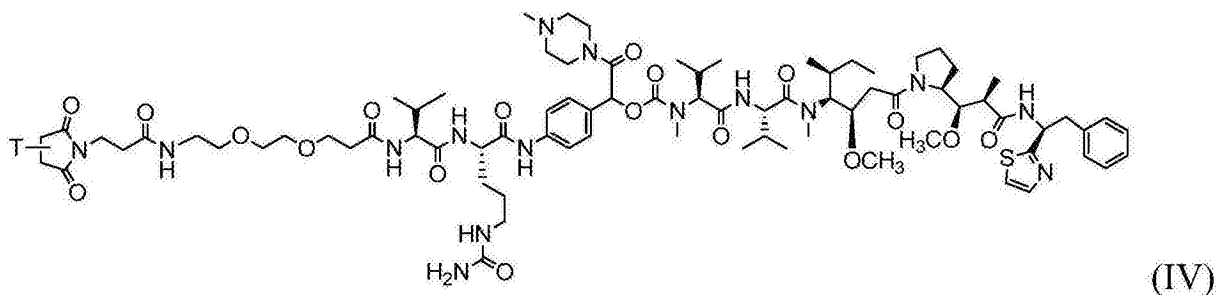
[0289] 在某些实施方案中,式 (I)、(Ia)、(II) 或 (IIa) 的化合物中的“-A-L⁴-L³-L²-X-L¹-D”部分为:

[0290]



[0291] 在此实施方案中,本申请提供式 (IV) 的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体:

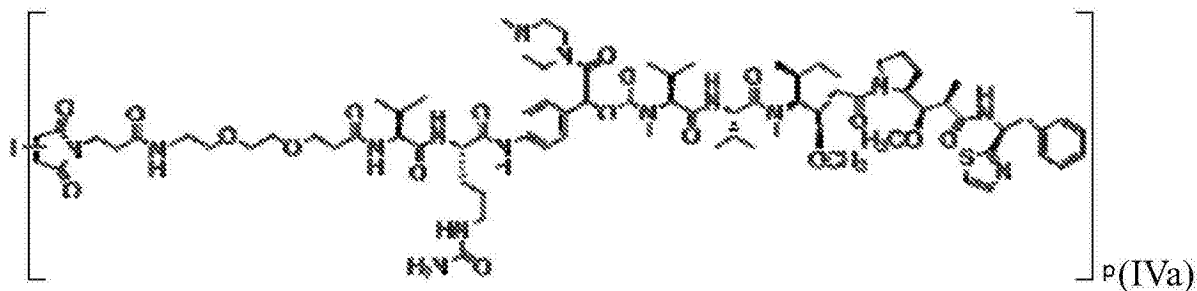
[0292]



[0293] 其中T为靶向部分。在某些实施方案中,在式 (IV) 中,T为抗体。在某些实施方案中,所述抗体为h5F1Ca.1或c5D7。

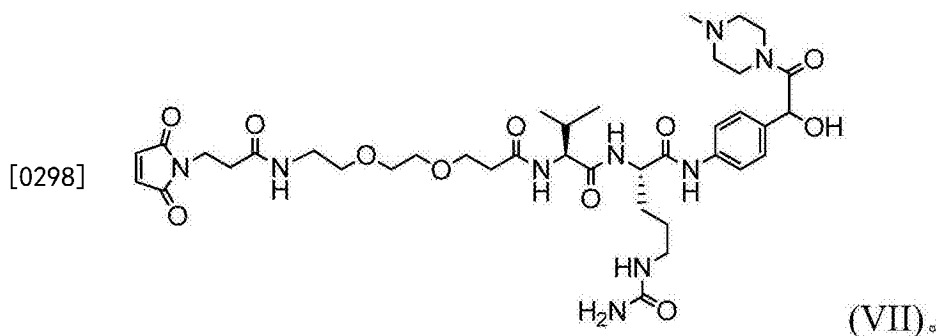
[0294] 在一些实施方案中提供式 (IVa) 的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体:

[0295]



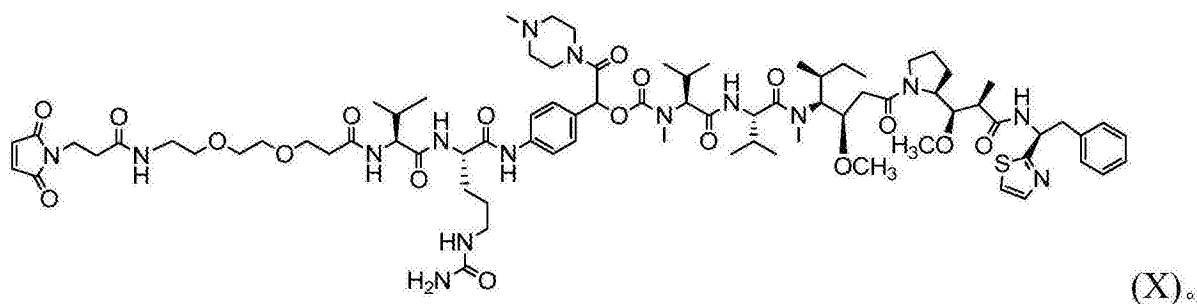
[0296] 其中T为靶向部分且p为1至20。在一些实施方案中，p为1至8。在一些实施方案中，p为1至6。在一些实施方案中，p为1至4。在一些实施方案中，p为2至4。在一些实施方案中，p为1、2、3或4。在一些实施方案中，p为2。在一些实施方案中，p为3。在一些实施方案中，p为4。在某些实施方案中，在式(IVa)中，T为抗体，任选其中用半胱氨酸残基替代抗体的重链及/或轻链的一或多个氨基酸残基。在某些实施方案中，所述抗体为h5F1Ca.1或c5D7或其中用半胱氨酸残基替代抗体的重链及/或轻链的一或多个氨基酸残基的h5F1Ca.1或其中用半胱氨酸残基替代抗体的重链及/或轻链的一或多个氨基酸残基的c5D7。

[0297] 在某些实施方案中，本申请提供用于合成式(I)或(Ia)的化合物的中间体。本申请提供式(VII)的化合物或其盐或溶剂合物：



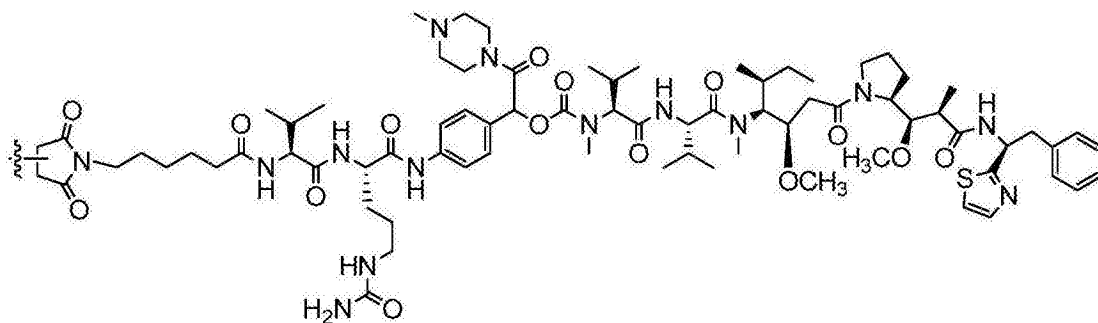
[0299] 本申请提供式(X)的化合物或其盐或溶剂合物：

[0300]



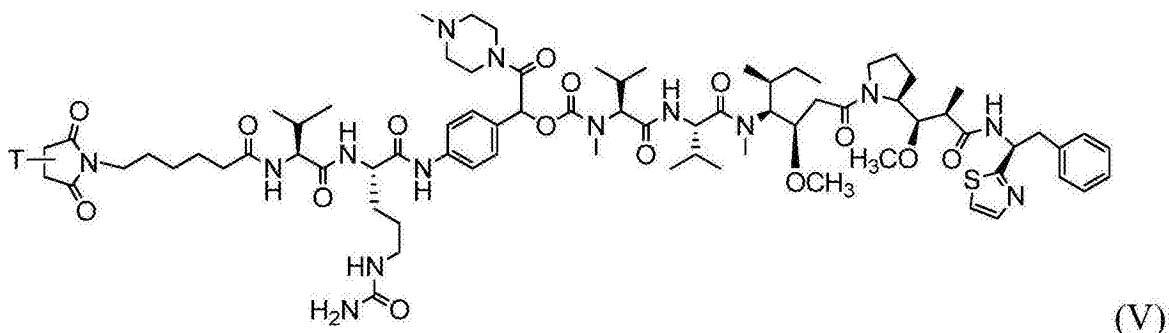
[0301] 在某些实施方案中，式(I)、(Ia)、(II)或(IIa)的化合物中的“-A-L⁴-L³-L²-X-L¹-D”部分为：

[0302]



[0303] 在此实施方案中,本申请提供式(V)的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体:

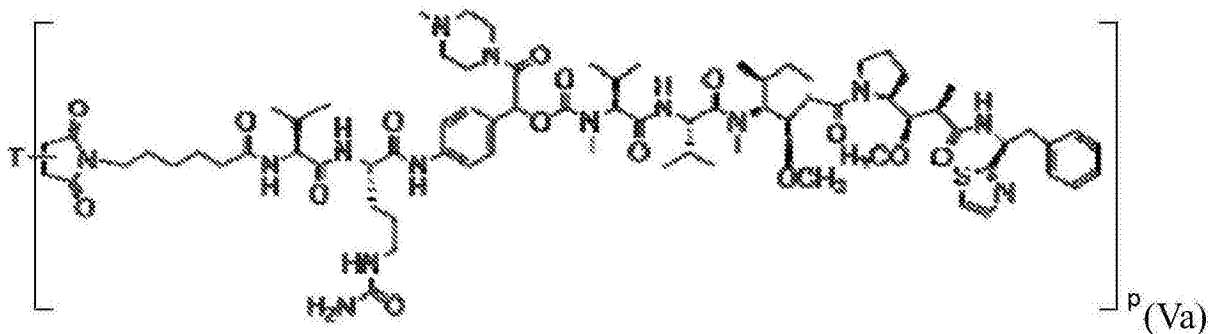
[0304]



[0305] 其中T为靶向部分。在某些实施方案中,在式(V)中,T为抗体。在某些实施方案中,所述抗体为h5F1Ca.1或c5D7。

[0306] 在一些实施方案中提供式(Va)的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体:

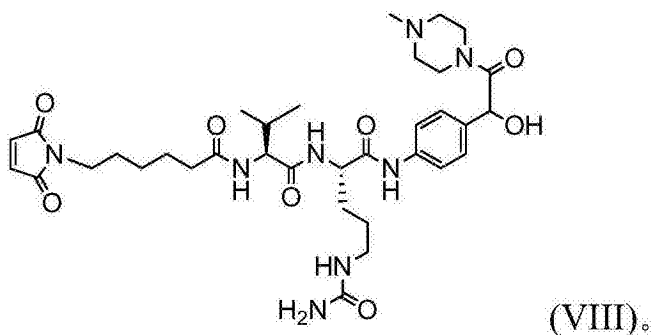
[0307]



[0308] 其中T为靶向部分且p为1至20。在一些实施方案中,p为1至8。在一些实施方案中,p为1至6。在一些实施方案中,p为1至4。在一些实施方案中,p为2至4。在一些实施方案中,p为1、2、3或4。在一些实施方案中,p为2。在一些实施方案中,p为3。在一些实施方案中,p为4。在某些实施方案中,在式(Va)中,T为抗体,任选其中用半胱氨酸残基替代抗体的重链及/或轻链的一或多个氨基酸残基。在某些实施方案中,所述抗体为h5F1Ca.1或c5D7或其中用半胱氨酸残基替代抗体的重链及/或轻链的一或多个氨基酸残基的h5F1Ca.1或其中用半胱氨酸残基替代抗体的重链及/或轻链的一或多个氨基酸残基的c5D7。

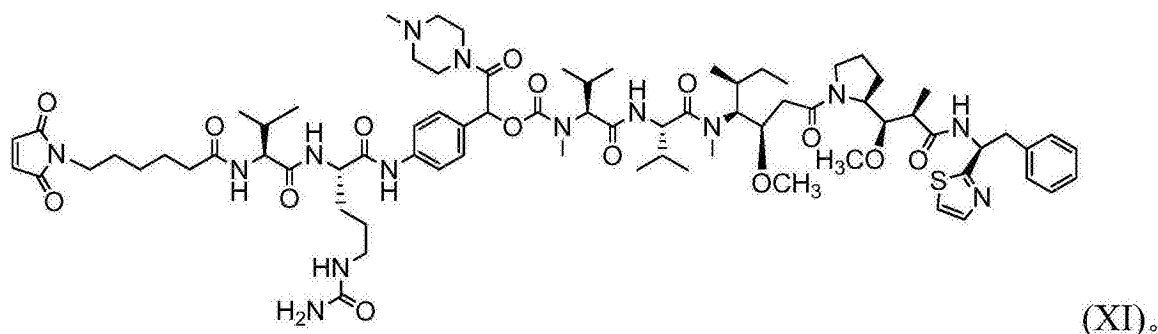
[0309] 在某些实施方案中,本申请提供用于合成式(I)的化合物的中间体。本申请提供式(VIII)的化合物或其盐或溶剂合物:

[0310]



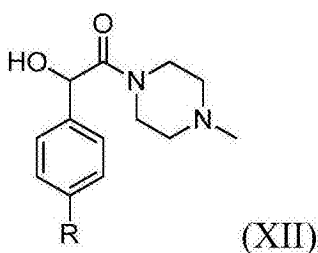
[0311] 本申请提供式 (XI) 的化合物或其盐或溶剂合物:

[0312]



[0313] 本申请提供式 (XII) 的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体:

[0314]

[0315] 其中R为NO₂或NH₂。

[0316] 可制备及/或调配式 (I) - (V) 或 (Ia) - (Va) 的化合物作为药用盐。药用盐为化合物的游离碱形式的无毒盐, 该盐具有游离碱的所欲药理学活性。该等盐可衍生自无机酸或有机酸。药用盐的非限制性实例包括硫酸盐、焦硫酸盐、硫酸氢盐、亚硫酸盐、亚硫酸氢盐、磷酸盐、一氢磷酸盐、二氢磷酸盐、偏磷酸盐、焦磷酸盐、氯化物、溴化物、碘化物、乙酸盐、丙酸盐、癸酸盐、辛酸盐、丙烯酸盐、甲酸盐、异丁酸盐、己酸盐、庚酸盐、丙酸盐、草酸盐、丙二酸盐、琥珀酸盐、辛二酸盐、癸二酸盐、富马酸盐、马来酸盐、丁炔-1,4-二酸盐、己炔-1,6-二酸盐、苯甲酸盐、氯苯甲酸盐、甲基苯甲酸盐、二硝基苯甲酸盐、羟基苯甲酸盐、甲氧基苯甲酸盐、邻苯二甲酸盐、磺酸盐、甲基磺酸盐、丙基磺酸盐、苯磺酸盐、二甲苯磺酸盐、萘-1-磺酸盐、萘-2-磺酸盐、苯基乙酸盐、苯基丙酸盐、苯基丁酸盐、柠檬酸盐、乳酸盐、 γ -羟基丁酸盐、羟乙酸盐、酒石酸盐及扁桃酸盐。其它适宜的药用盐的列表参见 Remington's Pharmaceutical Sciences, 第17版, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985。

[0317] 对于含有碱性氮的式 (I) - (V) 或 (Ia) - (Va) 中的任一个的化合物, 可通过本领域中可得任何适宜方法制备药用盐, 例如使用无机酸处理游离碱, 该无机酸诸如盐酸、氢溴酸、硫酸、氨基磺酸、硝酸、硼酸、磷酸等, 或使用有机酸处理游离碱, 该有机酸诸如乙酸、苯基乙酸、丙酸、硬脂酸、乳酸、抗坏血酸、马来酸、羟基马来酸、羟基乙磺酸、丁二酸、戊酸、富

马酸、丙二酸、丙酮酸、草酸、乙醇酸、水杨酸、油酸、棕榈酸、月桂酸、吡喃糖苷酸(诸如葡萄糖醛酸或半乳糖醛酸)、 α -羟基酸(诸如扁桃酸、柠檬酸或酒石酸)、氨基酸(诸如天冬氨酸或谷氨酸)、芳族酸(诸如苯甲酸、2-乙酰氧基苯甲酸、萘甲酸或肉桂酸)、磺酸(诸如月桂磺酸、对甲苯磺酸、甲磺酸或乙磺酸)或酸的任何可兼容混合物(诸如本文实例所提供的彼等酸)及根据本领域技术人员的常规水平被视为等效或可接受的代替的任何其它酸及其混合物。

[0318] 也提供包含式(I)–(V)或(Ia)–(Va)的一或多种化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体的组合物。在式(I)–(V)或(Ia)–(Va)的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体中,靶向部分可具有一或多个接附的位点用于连接至药物部分。取决于在形成缀合物中靶向部分中的接附位点的可接近性及药物部分的相对浓度,接附位点的一部分不可在所形成的缀合物中键合至药物部分。可形成在每个靶向部分处具有各种数目的药物部分的化合物的混合物。因此,也提供组合物,该组合物包含式(Ia)–(Va)的一或多种化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体。例如,对于具有4个接附的位点的靶向分子,组合物可包含选自以下化合物中的一或多种化合物:式(Ia)的化合物,其中p为1;式(Ia)的化合物,其中p为2;式(Ia)的化合物,其中p为3;及式(Ia)的化合物,其中p为4。可调节组合物中的化合物的相对量以实现药物部分与靶向部分之间的理想比例。在一些实施方案中,组合物主要包含化合物中的一种或两种。

[0319] 本发明的化合物或组合物中的“药物-抗体比例”(DAR)定义为化合物或组合物中的药物部分与化合物或组合物中的抗体之间的摩尔比例。在抗体具有超过一个接附的位点的情况下,可将超过一个药物部分连接至每个抗体。在一些实施方案中,获得包含超过一种抗体-药物缀合物(ADC)分子的混合物。可通过本领域中已知的分析方法例如Jeffrey等人, *Bioconjug. Chem.* 24 (7) :1256–1263 (2013) 及Sun等人, *Bioconjug. Chem.* 16 (5) :1282–1290 (2005) 中所描述的方法测量抗体-药物缀合物的药物-抗体比例。在一些实施方案中,包含本文所详细描述的一或多种ADC的组合物所具有的平均DAR为约0.5至约6、约1至约5、约1至约4、约1.5至约3.5或约2至约4。在一些优选实施方案中,组合物所具有的平均DAR为约1.5至约3.5或约2至约3或约2或约3。在一些其它优选实施方案中,组合物所具有的平均DAR为约2.5 $\pm$ 10%。在一些实施方案中,靶向抗体含有用半胱氨酸工程化的接附位点及组合物所具有的平均DAR为约2.0。

[0320] 药物组合物

[0321] 出于治疗的目的,实施方案的药物组合物包含至少一种式(I)–(V)或(Ia)–(Va)的化合物或其药用盐。药物组合物可进一步包含一或多种药用赋形剂或药用载体。药用赋形剂为一种无毒及以其它方式在生物学上适合于给药于受试者的物质。此类赋形剂促进本文所描述的化合物的给药及可与活性成份相容。药用赋形剂的实例包括稳定剂、润滑剂、表面活性剂、稀释剂、抗氧化剂、粘合剂、着色剂、填充剂、乳化剂或味觉改良剂。在优选实施方案中,根据实施方案的药物组合物为无菌组合物。可使用已知混合技术或对本领域技术人员变得可用的技术制备药物组合物。

[0322] 也通过实施方案涵盖无菌组合物,包括符合管理此类组合物的国家及当地法律的组合物。

[0323] 本文所描述的药物组合物及化合物可调配为适宜医药学溶剂或载体中的溶液、乳液、混悬液、分散液或包合复合物(诸如环糊精)或调配为与固体载体一起的丸剂、片剂、口

含剂、栓剂、药囊、糖衣片剂、颗粒、粉末、复溶用粉末或胶囊,根据本领域中已知的常规方法用于制备各种剂型。可通过递送的适宜路径(诸如口服、胃肠外、直肠、鼻道、局部或眼睛路径)或通过吸入给药实施方案的药物组合物。优选地,针对静脉或口服给药调配组合物。

[0324] 对于口服给药,可按诸如片剂或胶囊的固体形式或作为溶液、乳液或混悬液提供实施方案的化合物。为制备口服组合物,可调配实施方案的化合物以得到剂量,例如每日约0.01至约50mg/kg或每日约0.05至约20mg/kg或每日约0.1至约10mg/kg。口服片剂可包括与可兼容药用赋形剂混合的活性成份,该等赋形剂诸如稀释剂、崩解剂、粘合剂、润滑剂、甜味剂、调味剂、着色剂及防腐剂。适宜惰性填充剂包括碳酸钠及碳酸钙、磷酸钠及磷酸钙、乳糖、淀粉、糖、葡萄糖、甲基纤维素、硬脂酸镁、甘露糖醇、山梨糖醇等。示例性液体口服赋形剂包括乙醇、甘油、水等。示例性崩解剂为淀粉、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、羟基乙酸淀粉钠、微晶纤维素及海藻酸。粘合剂可包括淀粉及明胶。若存在,则润滑剂可为硬脂酸镁、硬脂酸或滑石。若需要,则片剂可包衣有诸如单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯那样的材料以延迟胃肠道内的吸收或可包衣有肠溶衣。

[0325] 对于口服给药的胶囊包括硬明胶胶囊及软明胶胶囊。为制备硬明胶胶囊,可将活性成份与固体、半固体或液体稀释剂混合。可通过将活性成份与水、油(诸如花生油或橄榄油)、液体石蜡、短链脂肪酸的单甘油酯及二甘油酯的混合物、聚乙二醇400或丙二醇混合制备软明胶胶囊。

[0326] 对于口服给药的液体可呈混悬液、溶液、乳液或糖浆形式或可经冻干或呈现为干燥产物以在使用前用水或其它适宜媒介物复溶。此类液体组合物可任选含有:药用赋形剂,诸如助悬剂(例如山梨糖醇、甲基纤维素、海藻酸钠、明胶、羟乙基纤维素、羧甲基纤维素、硬脂酸铝凝胶等);无水媒介物,例如油(例如杏仁油或分级椰子油)、丙二醇、乙醇或水;防腐剂(例如对羟基苯甲酸甲酯或丙酯或山梨酸);润湿剂,诸如卵磷脂;及若需要,调味剂或着色剂。

[0327] 针对直肠给药可将实施方案的组合物调配为栓剂。对于包括静脉内、肌内、腹内、鼻内或皮下路径的胃肠外使用,可按无菌水溶液或混悬液提供实施方案的药物(将该等液体缓冲至适宜pH及等渗性)或在药用油中提供。适宜水溶液媒介物包括林格溶液及等渗氯化钠。可将此类形式呈现为单位剂量形式(诸如安瓿或一次性注射装置)、多剂量形式(诸如可撤回适宜剂量的小瓶)或固体形式或可用于制备注射剂的预浓缩物。在自数分钟至数日范围内的一段时间中将自约1μg/kg/分钟至1000μg/kg/分钟的说明性输注剂量范围的药物与药物载体混合。

[0328] 对于鼻道、吸入或口服给药,可使用例如也含有适宜载体的喷雾剂给药实施方案的药物组合物。

[0329] 对于局部应用,将实施方案的化合物优选地调配为乳膏或软膏或适合于局部给药的类似媒介物。对于局部给药,可按药物与媒介物比例为约0.1%至约10%的浓度将本发明化合物与药物载体混合。给药实施方案的药物的另一模式可使用贴片剂以产生经皮递送的效果。

[0330] 本申请提供一种杀死细胞的方法,该方法包括向所述细胞给药足以杀死所述细胞的量的式(I)-(V)或(Ia)-(Va)的化合物。在某些实施方案中,所述细胞为癌细胞。在某些实施方案中,所述癌细胞为胃癌细胞、胰腺癌细胞、结肠直肠癌细胞、肺癌细胞或卵巢癌细胞。

[0331] 在另一方面中,本申请提供一种在有此需要的个体中治疗癌症的方法,该方法包括向所述个体给药有效量的式(I)-(V)或(Ia)-(Va)的化合物。在某些实施方案中,所述癌症的细胞为胃癌细胞、胰腺癌细胞、结肠直肠癌细胞、肺癌细胞或卵巢癌细胞。

[0332] 本申请提供一种医药学包装或试剂盒,该医药学包装或试剂盒包含一或多个容器,该等容器包含对治疗或预防癌症有用的式(I)-(V)或(Ia)-(Va)的化合物。所述试剂盒可进一步包含在癌症的治疗中的使用说明。

[0333] 本申请也提供一种医药学包装或试剂盒,该医药学包装或试剂盒包含一或多个容器,该等容器包含本发明实施方案的药物组合物的成份中的一或多种。与此类容器任选关联的可为由规范医药学或生物学产品的制造、使用或销售的政府机构所规定形式的通知,该通知反映了政府机构批准针对人类给药的制造、使用或销售。

[0334] 药物缀合物的合成

[0335] 实施方案也涉及对制备本申请化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体有用的方法及中间体。

[0336] 可取得众多一般参考,该等参考提供对合成本申请化合物有用的通常已知的化学合成流程及条件(请参见例如Smith and March, March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 第5版, Wiley-Interscience, 2001)。

[0337] 可通过本领域中已知的任何手段纯化本文所描述的化合物,该等手段包括色谱手段诸如高效液体色谱法(HPLC)、制备性薄层色谱法、快速柱色谱法及离子交换色谱法。可使用任何适宜固定相,包括正相及反相及离子树脂。最典型的是,经由硅胶及/或氧化铝色谱法纯化本申请化合物。请参见例如Introduction to Modern Liquid Chromatography, 第2版, L.R. Snyder及J.J. Kirkland编者, John Wiley and Sons, 1979; 及Thin Layer Chromatography, E. Stahl(编者), Springer-Verlag, New York, 1969。

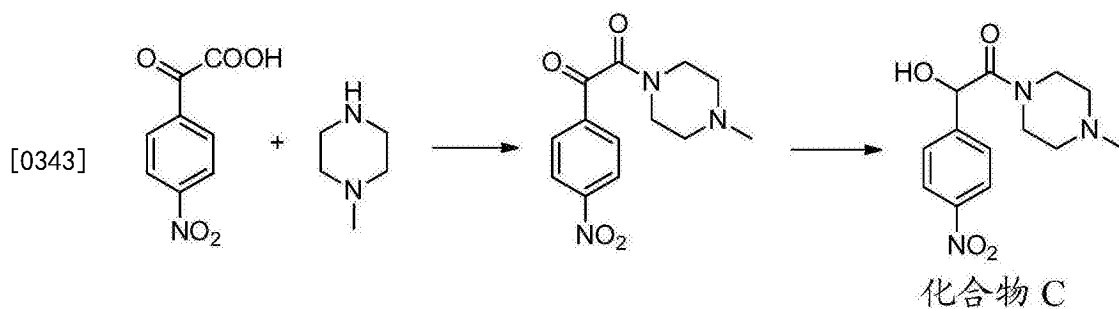
[0338] 在制备本申请化合物的任何方法期间,保护所参与的任何分子上的敏感基团或反应基团可为必需及/或理想的。可经由权威著作中所描述的常规保护基实现此举,该等著作诸如T.W. Greene及P.G.M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", 第4版, Wiley, New York 2006。可使用本领域中已知的方法在方便的后续阶段中除去保护基。

[0339] 现将参考本文大体制备的说明性合成流程及随后的特定实施例描述对实施方案的方法有用的示例性化学实体。本领域技术人员将认识到的是,为获得本文的各种化合物,可适当选择起始物质以使得将在具有或不具有保护的情况下酌情经由反应流程实施最终所欲取代基以得到所欲产物。可选择地,不使用最终所欲取代基,而是使用可经由反应流程实施及酌情使用所欲取代基替代的适宜基团可为必需或理想的。此外,本领域技术人员将认识到的是,可按与特定侧基的官能性兼容的任何次序执行下文流程中所示的转化。优选地在自约0℃至所使用的有机溶剂的回流温度的温度执行大体流程中所描述的反应中的各者。除另有规定外,变量如上文关于式(I)所定义。

[0340] 可通过将药物部分经由包含亲水性自消耗间隔基的连接子依附至抗体上构造本发明实施方案的缀合物。

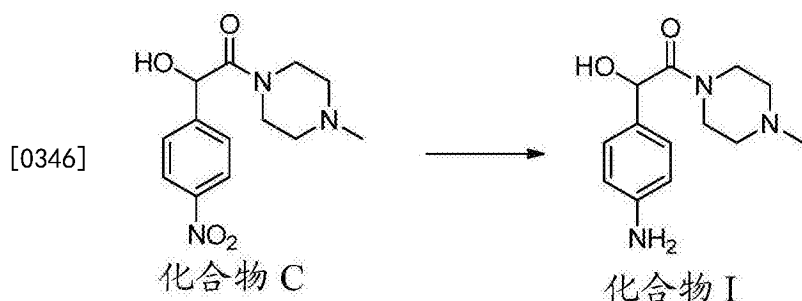
[0341] 在下文流程及随后的特定实施例中描述针对式(I)的化合物的连接子部分的代表性合成。

[0342] 流程2



[0344] 在下文流程2中展示自4-硝基苯甲醛的化合物C的合成。使用诸如SOCl₂、PCl₃或PCl₅那样的氯化试剂将4-硝基苯基乙醇酸转化成对应的酰氯。随后酰氯与1-甲基哌嗪反应以提供酮酰胺中间体。可选择地,可使用诸如EDCI那样的偶联剂将4-硝基苯基乙醇酸偶联至1-甲基哌嗪。酮酰胺中间体含有酮基,随后使用诸如DIBAL-H、BH₃、LiAlH₄-AlCl₃、LiAlH₄-BF₃-Et₂O或氢硼化钠那样的还原剂还原该酮基以产生化合物C。

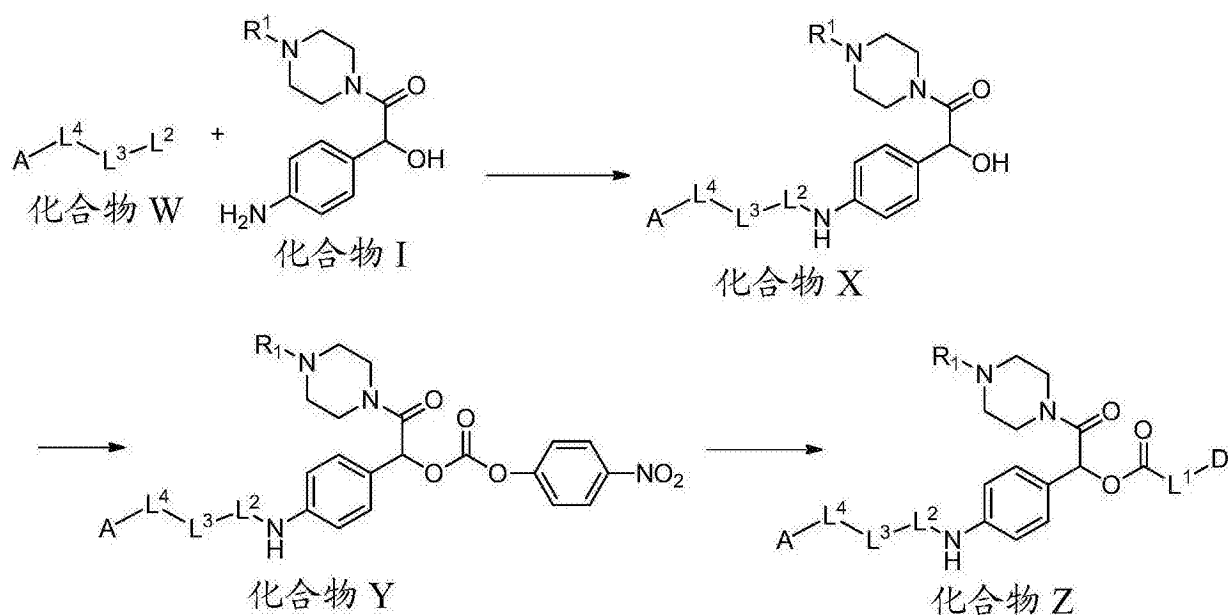
[0345] 流程3



[0347] 参见流程3,通过使用诸如钯、镍或铂那样的催化剂的催化氢化还原化合物C的硝基以在化合物I中得到苯胺基团。适宜氢化催化剂的实例包括Pd/C及兰尼镍(Raney nickel)。

[0348] 流程4

[0349]



[0350] 参见流程4,化合物I提供本发明实施方案的化合物中的亲水性自消耗连接子部分。化合物I的氨基可经由标准肽偶联条件与化合物W反应以得到化合物X。可在诸如DIEA那

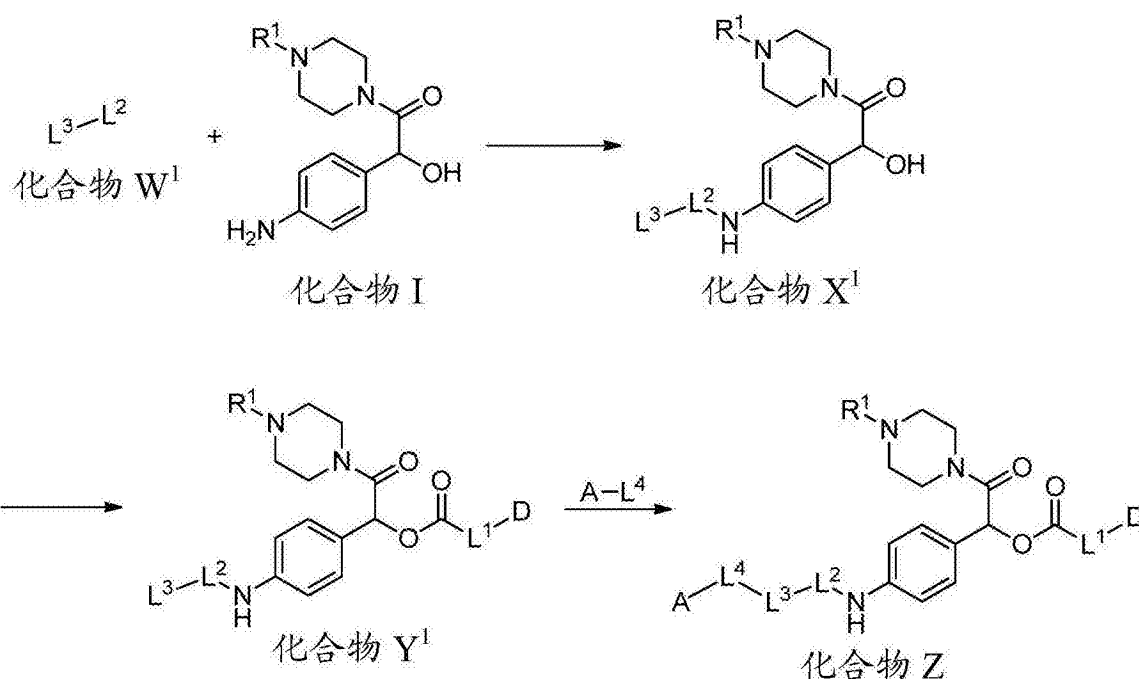
样的碱或为本领域技术人员所熟知的其它碱参与的情况下及在适宜溶剂中使用诸如EDCI/HOBt、HOBt、PyBOP、HATU或BEM那样的试剂(Carpino, L.A. J. Am. Chem. Soc. 1993, 115, 4397. Carpino, L.A.; El-Faham, A. J. Am. Chem. Soc. 1995, 117, 5401. Li, P.; Xu, J.C. J. Pept. Res. 2001, 58, 129.)。

[0351] 继续参见流程4, 使用氯甲酸4-硝基苯基酯将化合物X的羟基转化成活化碳酸酯。有了化合物Y, 与具有氨基的药物反应可得到化合物Z。若药物不含有氨基, 则如上文所论述的那样, 第二中间体自消耗间隔基或环化自消除连接子可位于药物部分与氨基苯甲氧羰基之间。

[0352] 在某些实施方案中, 参见下文流程5, 连接子的 $-L^3-L^2-$ 部分接附于化合物I。随后接附 $-A-L^4-$ 部分。

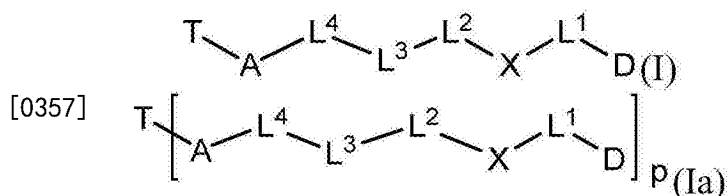
[0353] 流程5

[0354]



[0355] 用于制备本发明实施方案的化合物的方法包括制备抗体在缓冲液中的溶液及用诸如TCEP那样的还原剂的溶液处理。确定游离巯基的量。当游离巯基的量达到预定量时, 使用连接子-药物部分对部分还原的抗体进行烷基化。

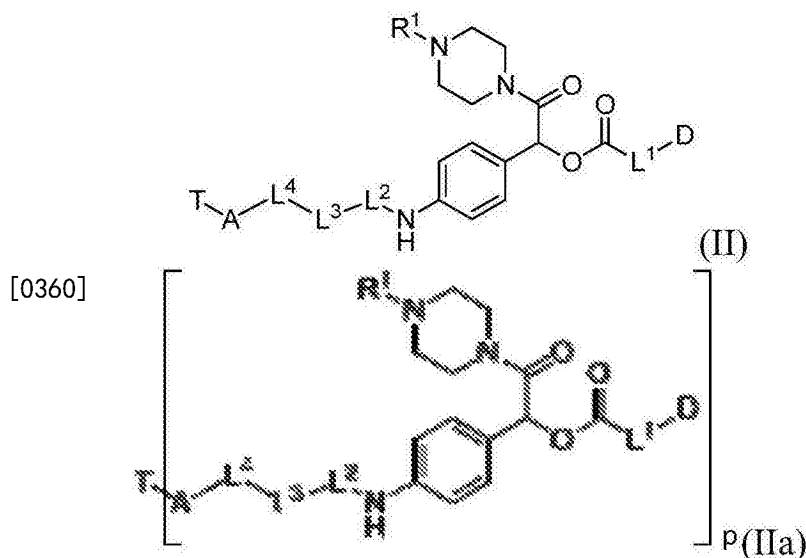
[0356] 在一些实施方案中提供用于制备式(I)或(Ia)的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体的方法:



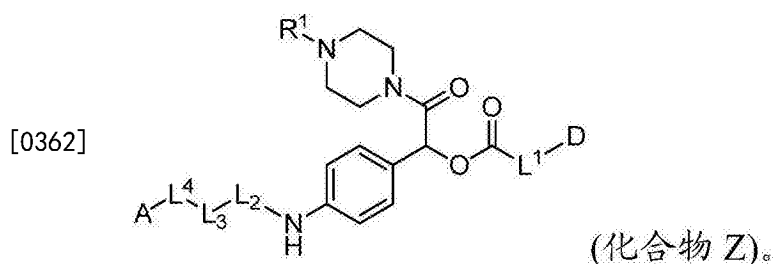
[0358] 其中D、T、X、L¹、L²、L³、L⁴、A及p在适当情况下如就式(I)或(Ia)所定义, 所述方法包括将包含靶向部分T的化合物与式:A-L⁴-L³-L²-X-L¹-D的化合物反应。在一些实施方案中提供由所述方法产生的化合物。进一步提供包含由所述方法产生的一或多种化合物的组合

物。

[0359] 在一些实施方案中提供用于制备式 (II) 或 (IIa) 的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体的方法：



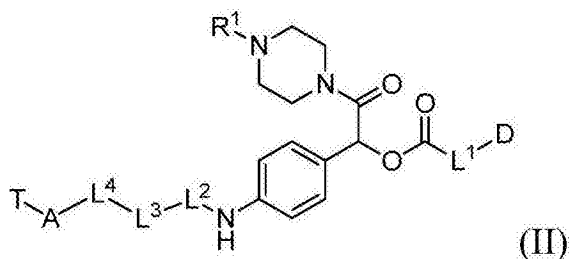
[0361] 其中D、T、X、L¹、L²、L³、L⁴、A及p在适当情况下如就式 (II) 或 (IIa) 所定义,所述方法包括将含有一或多个游离巯基(或巯基)的抗体与化合物Z或其盐或溶剂合物或立体异构体反应:



[0363] 在一些实施方案中,含有一或多个游离巯基(或巯基)的抗体为h5F1Ca.1或c5D7。在一些实施方案中,含有一或多个游离巯基(或巯基)的抗体为其中用半胱氨酸残基替代抗体的重链及/或轻链的一或多个氨基酸残基的h5F1Ca.1或其中用半胱氨酸残基替代抗体的重链及/或轻链的一或多个氨基酸残基的c5D7。在一些实施方案中,所述方法进一步包括用于制备如本文所详细描述化合物Z的方法。在一些实施方案中,所述方法进一步包括用于制备产生如本文所详细描述化合物Z的合成中间体(例如化合物Y及化合物X)中的一或多个的方法。在一些实施方案中提供由本文所详细描述的方法中的任一个产生的化合物。进一步提供包含由本文所详细描述的方法中的任一个产生的一或多种化合物的组合物。

[0364] 在一些实施方案中提供用于制备式 (II) 的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体的方法：

[0365]



[0366] 其中:

[0367] D为药物部分;

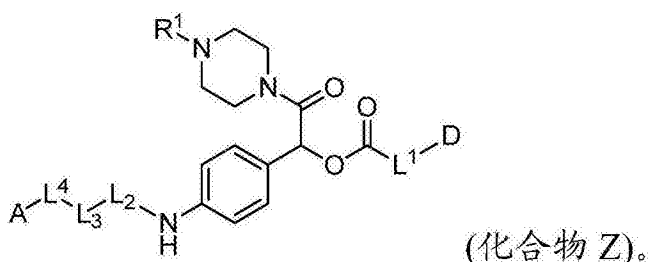
[0368] T为抗体;

[0369] R¹为氢、未取代或经取代的C₁₋₃烷基或未取代或经取代的杂环基;[0370] L¹为键、第二自消耗连接子或环化自消除连接子;[0371] L²为键或第二自消耗连接子;[0372] 其中若L¹为第二自消耗连接子或环化自消除连接子,则L²为键;[0373] 其中若L²为第二自消耗连接子,则L¹为键;[0374] L³为肽连接子;[0375] L⁴为键或间隔基;及

[0376] A为酰基单元;

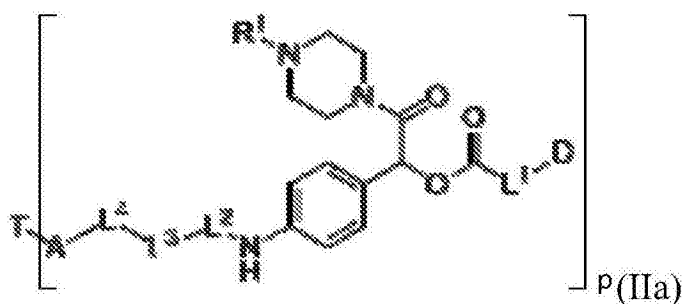
[0377] 该方法包括抗体与化合物Z或其盐或溶剂合物或立体异构体反应:

[0378]



[0379] 在一些实施方案中提供用于制备式 (II) 的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体的方法:

[0380]



[0381] 其中:

[0382] p为1至20;

[0383] D为药物部分;

[0384] T为抗体;

[0385] R¹为氢、未取代或经取代的C₁₋₃烷基或未取代或经取代的杂环基;[0386] L¹为键、第二自消耗连接子或环化自消除连接子;[0387] L²为键或第二自消耗连接子;

[0388] 其中若 L^1 为第二自消耗连接子或环化自消除连接子,则 L^2 为键;

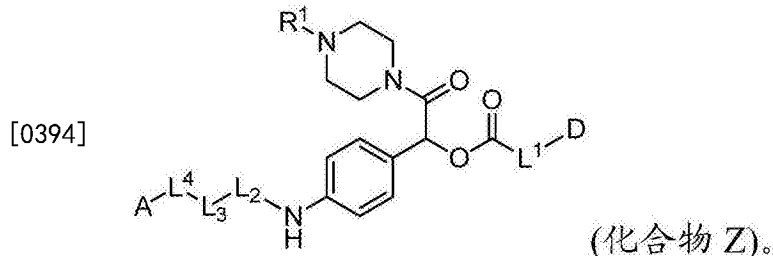
[0389] 其中若 L^2 为第二自消耗连接子,则 L^1 为键;

[0390] L^3 为肽连接子;

[0391] L^4 为键或间隔基;及

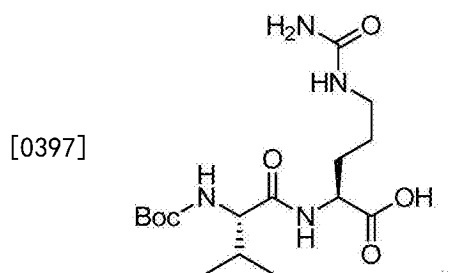
[0392] A为酰基单元;

[0393] 该方法包括抗体与化合物Z或其盐或溶剂合物或立体异构体反应:

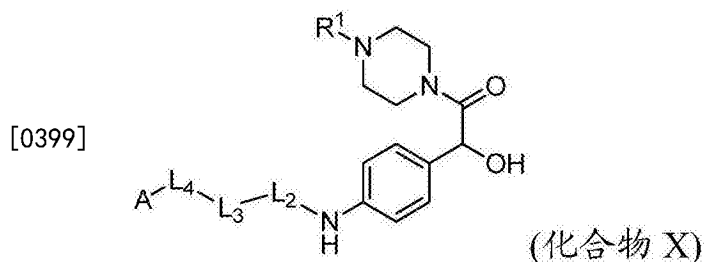


[0395] 本发明进一步提供通过本文详细描述的任何制备化合物的方法及/或制备化合物的方法所产生的化合物。本发明也提供包含通过本文详细描述的任何制备化合物的方法及/或制备化合物的方法所产生的化合物中的一或多个的组合物(例如药物组合物)。

[0396] 本申请提供用于制备流程4及流程5中的化合物及中间体的方法。流程4及流程5中所表示的化合物意指具有完整化合价或适宜时用任选保护基或离去基适当封端。例如,如流程“化合物TAP-18H的合成”中所示那样, L^3 - L^2 可为:



[0398] 本申请提供用于制备化合物X或其盐或溶剂合物或立体异构体的方法:



[0400] 其中:

[0401] L^2 为键或第二自消耗连接子;

[0402] 其中若 L^1 为第二自消耗连接子或环化自消除连接子,则 L^2 为键;

[0403] 其中若 L^2 为第二自消耗连接子,则 L^1 为键;

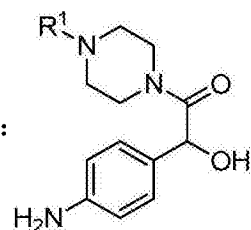
[0404] L^3 为肽连接子;

[0405] L^4 为键或间隔基;及

[0406] A为酰基单元;及

[0407] R^1 为 NO_2 或 NH_2 ;

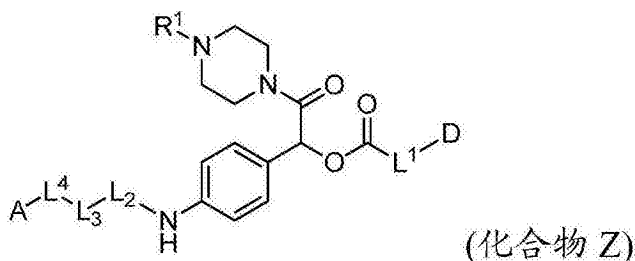
[0408] 该方法包括使化合物W: A-L⁴-L³-L²与化合物I:



反应。本申请提供

用于制备化合物Z或其盐或溶剂合物或立体异构体的方法:

[0409]



[0410] 其中:

[0411] D为药物部分;

[0412] L¹为键、第二自消耗连接子或环化自消除连接子;

[0413] L²为键或第二自消耗连接子;

[0414] 其中若L¹为第二自消耗连接子或环化自消除连接子,则L²为键;

[0415] 其中若L²为第二自消耗连接子,则L¹为键;

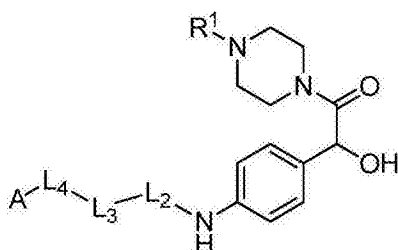
[0416] L³为肽连接子;

[0417] L⁴为键或间隔基;及

[0418] A为酰基单元;及

[0419] R¹为NO₂或NH₂;

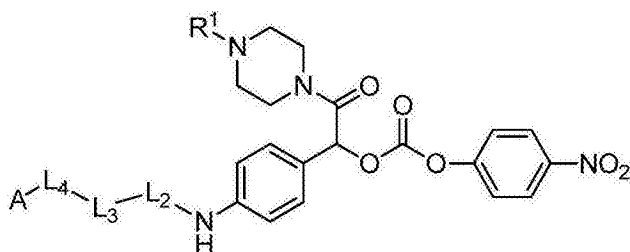
[0420] 该方法包括使化合物X:



与氯甲酸对硝基苯基酯反应

以形成化合物Y:

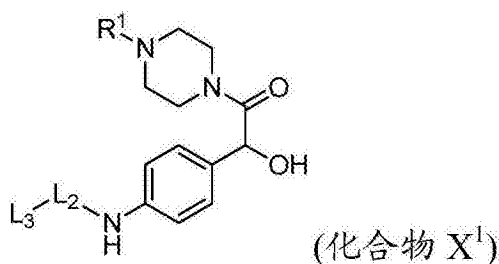
[0421]



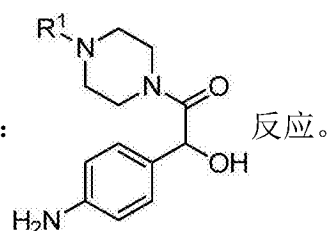
[0422] 化合物Y与包含L¹-D的化合物反应。

[0423] 本申请提供用于制备化合物X¹或其盐或溶剂合物或立体异构体的方法:

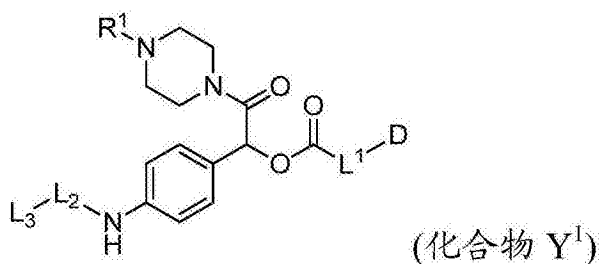
[0424]



[0425] 其中:

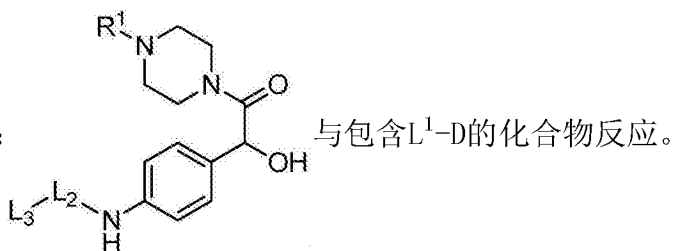
[0426] L²为键或第二自消耗连接子;[0427] 其中若L¹为第二自消耗连接子或环化自消除连接子,则L²为键;[0428] 其中若L²为第二自消耗连接子,则L¹为键;[0429] L³为肽连接子;及[0430] R¹为NO₂或NH₂;[0431] 该方法包括使化合物W¹:L³-L²与化合物I:[0432] 本申请提供用于制备化合物Y¹或其盐或溶剂合物或立体异构体的方法:

[0433]



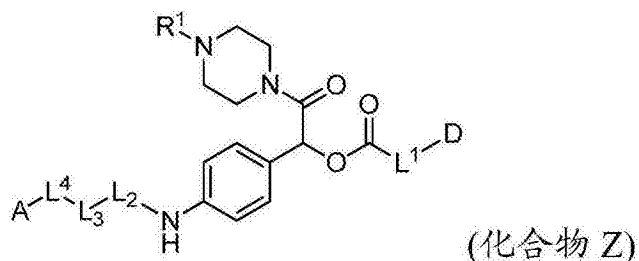
[0434] 其中:

[0435] D为药物部分;

[0436] L¹为键、第二自消耗连接子或环化自消除连接子;[0437] L²为键或第二自消耗连接子;[0438] 其中若L¹为第二自消耗连接子或环化自消除连接子,则L²为键;[0439] 其中若L²为第二自消耗连接子,则L¹为键;[0440] L³为肽连接子;及[0441] R¹为NO₂或NH₂;[0442] 该方法包括使化合物X¹:

[0443] 本申请提供用于制备化合物Z或其盐或溶剂合物或立体异构体的方法:

[0444]

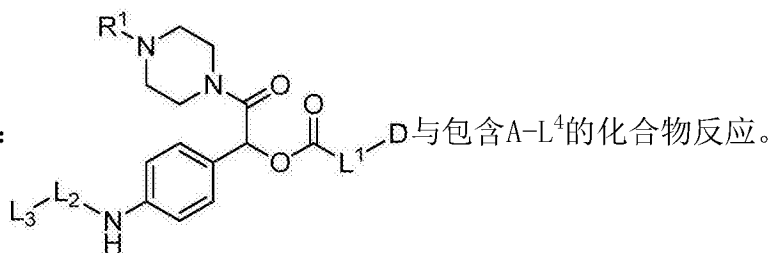


[0445] 其中：

[0446] D为药物部分；

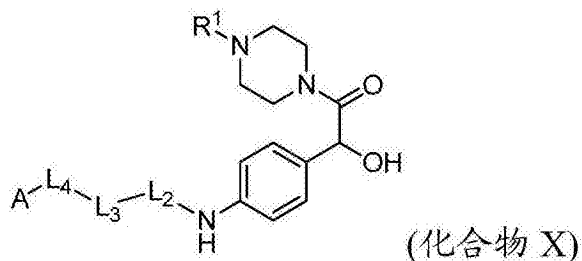
[0447] L¹为键、第二自消耗连接子或环化自消除连接子；[0448] L²为键或第二自消耗连接子；[0449] 其中若L¹为第二自消耗连接子或环化自消除连接子，则L²为键；[0450] 其中若L²为第二自消耗连接子，则L¹为键；[0451] L³为肽连接子；[0452] L⁴为键或间隔基；

[0453] A为酰基单元；及

[0454] R¹为NO₂或NH₂；[0455] 该方法包括使化合物Y¹：

[0456] 本申请提供以下式的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体：

[0457]



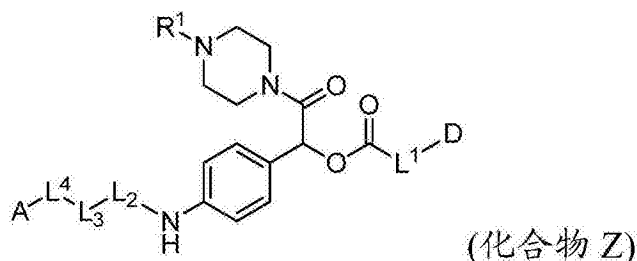
[0458] 其中：

[0459] L²为键或第二自消耗连接子；[0460] 其中若L¹为第二自消耗连接子或环化自消除连接子，则L²为键；[0461] 其中若L²为第二自消耗连接子，则L¹为键；[0462] L³为肽连接子；[0463] L⁴为键或间隔基；及

[0464] A为酰基单元；及

[0465] R¹为NO₂或NH₂。

[0466] 本申请提供以下式的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体：



[0468] 其中：

[0469] D为药物部分:

[0470] L^1 为键、第二自消耗连接子或环化自消除连接子;

[0471] L^2 为键或第二自消耗连接子:

[0472] 其中若 L^1 为第二自消耗连接子或环化自消除连接子,则 L^2 为键;

[0473] 其中若 L^2 为第二自消耗连接子,则 L^1 为键;

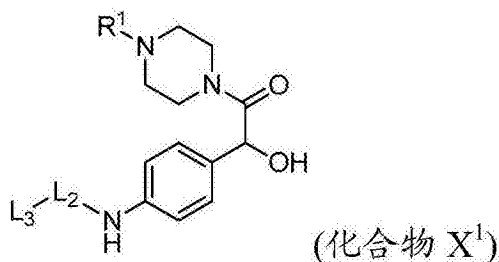
[0474] L^3 为肽连接子:

[0475] L^4 为键或间隔基;及

[0476] A为酰基单元;及

[0477] R¹为NO₂或NH₂。

[0478] 本申请提供以下式的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体:



[0480] 其中：

[0481] L^2 为键或第二自消耗连接子;

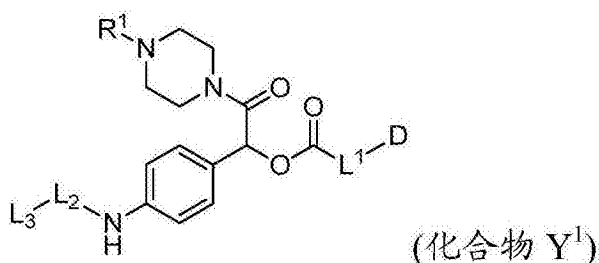
[0482] 其中若 L^1 为第二自消耗连接子或环化自消除连接子,则 L^2 为键;

[0483] 其中若 L^2 为第二自消耗连接子,则 L^1 为键;

[0484] L^3 为肽连接子;及

[0485] R^1 为 NO_2 或 NH_2 。

[0486] 本申请提供以下式的化合物或其盐或溶剂合物或立体异构体:



[0488] 其中：

[0489] D为药物部分:

[0490] L¹为键、第二自消耗连接子或环化自消除连接子;

[0491] L^2 为键或第二自消耗连接子;

[0492] 其中若 L^1 为第二自消耗连接子或环化自消除连接子,则 L^2 为键;

[0493] 其中若 L^2 为第二自消耗连接子,则 L^1 为键;

[0494] L^3 为肽连接子;及

[0495] R^1 为 NO_2 或 NH_2 。

[0496] 提供以下实施例以说明而非限制本发明。

[0497] 实施例1

[0498] 材料及方法

[0499] 5F1抗体的人源化

[0500] 互补决定区(CDR)植入系用于产生人源化5F1Ca.1(h5F1Ca.1)的可变区。简要而言,通过重组DNA技术将鼠类5F1可变区的CDR合并至人类可变区(受体抗体)的框架中。通过BLASTP搜索整个非冗余Genbank数据库进行人类框架受体的选择。将与鼠类5F1重链可变区67.8%相同的人类抗体CAA79298(Genebank第CAA79298号)的VH及与鼠类5F1轻链可变区80.4%相同的人类抗体ABI74084(Genebank第ABI74084号)的VL用作受体抗体。受体抗体的一些残基被突变为鼠类对应残基以避免可变区的构形变化。表1展示h5F1Ca.1重链及轻链的最终氨基酸序列。

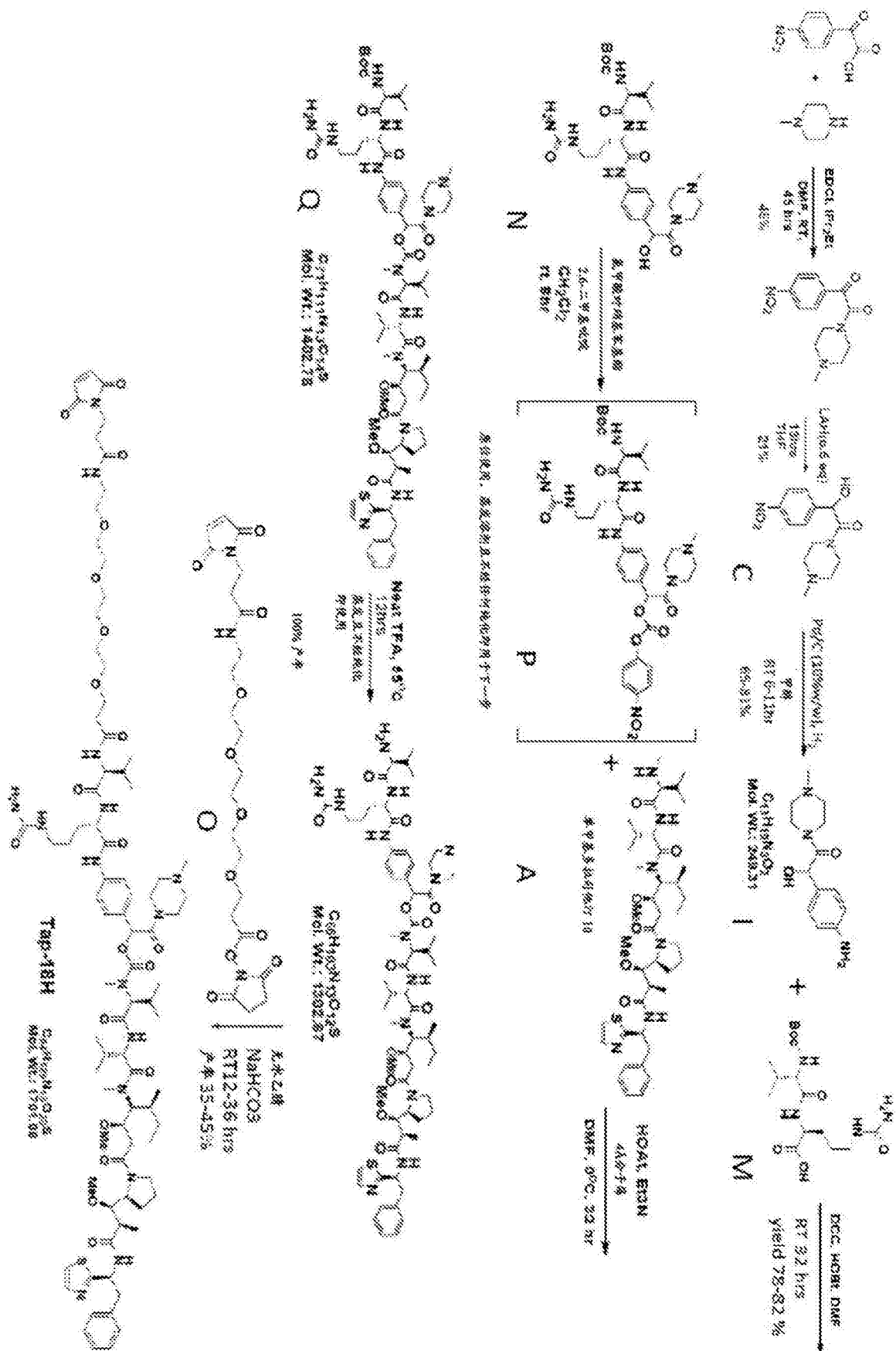
[0501] 随后将VH及VL片段分别经由针对重链及轻链的NheI位点及AvrII位点插入到pcDNA5-FRT-hIgG1 κ 载体中。含有h5F1Ca.1的重链及轻链基因两者的完整组装质粒h5F1Ca.1/pcDNA5-FRT-hIgG1用于表达h5F1Ca.1抗体。

[0502] 连接子-药物的合成

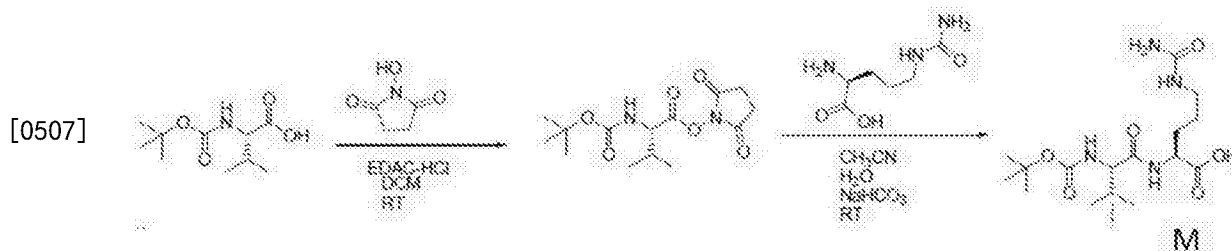
[0503] 下文流程中展示化合物Tap-18H的合成。下文流程中也展示中间体化合物M及O的合成。

[0504] 化合物TAP-18H的合成

[0505]

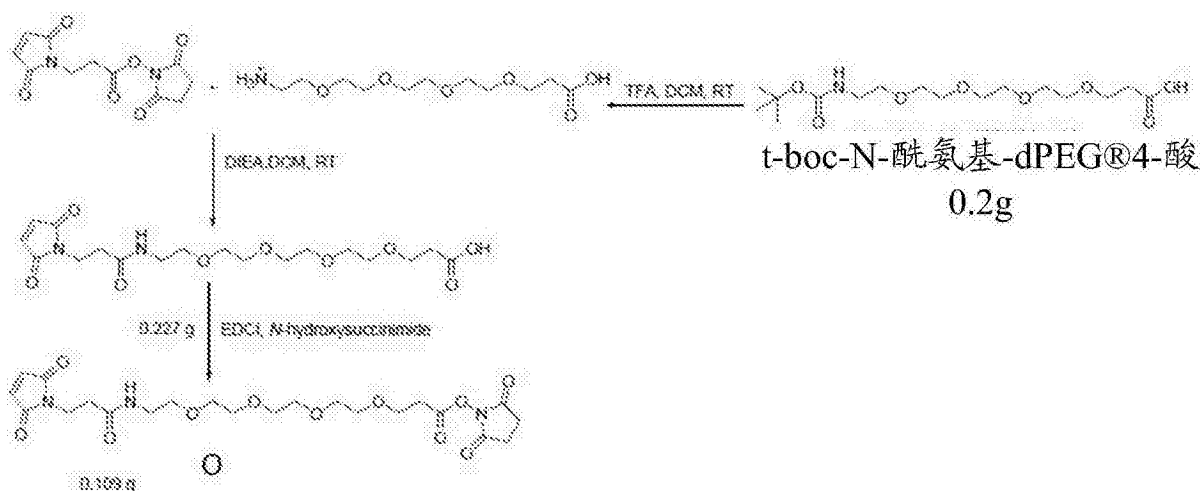


[0506] M的合成



[0508] O的合成

[0509]



[0510] 参见化合物Tap-18H的合成的流程,使用PCl₅或在DMF中的EDCI及IPr₂Et或在CH₂Cl₂中的2-氯基-4,6-二甲氧-1,3,5-三嗪及N-甲基吗啉作为偶联剂将市购的4-硝基苯基乙醇酸与N-甲基哌嗪缩合以产生所欲酮酰胺。在典型过程中,在0-5℃连续搅拌下将N-甲基吗啉(15mmol)添加至CH₂Cl₂(20ml)中的2-氯基-4,6-二甲氧-1,3,5-三嗪(5mmol)的溶液中。30-40分钟后形成白色混悬液并将CH₂Cl₂(10ml)中的4-硝基苯基乙醇酸添加至此混合物中,引起透明溶液的形成。在搅拌混合物1小时后,在室温添加N-甲基哌嗪(5mmol)。在反应完成(TLC,10分钟)后,使用10%NaHCO₃水溶液(2×10ml)继之以H₂O(3×10ml)洗涤混合物。用无水硫酸钠干燥有机层及在减小压力下除去溶剂,得到粗产物,通过重结晶或柱色谱法(石油醚:乙酸乙酯=8:2)进一步纯化该粗产物。

[0511] 在THF或DIBAL-H或氢硼化钠参与的情况下通过0.5当量的LiAlH₄进一步还原酮酰胺化合物以产生硝基化合物C。[B.P.Bandgar and S.S.Pandit,Tetrahedron Letters 44 (2003) 3855-3858]

[0512] 通过使用SnCl₂处理或在室温在甲醇中使用Pd/C(10%w/w)作为催化剂催化氢化约6-11小时将硝基化合物C还原至胺苯化合物I,产率为65-81%。其可使用MultiMaxIR系统与RB04-50反应器B经由以下过程获得。最初使用35ml甲醇、0.03mg 10%Pd/C及0.0252mol硝基化合物C填充反应器并将氢气添加至反应器中高达6.3巴压力(H₂,恒定)。

[0513] 参见化合物M的合成的流程,经Boc保护的L-缬氨酸用在DCM中的N-羟基琥珀酰亚胺及EDAC-HCl或在DCM中的N-羟基琥珀酰亚胺及EDC处理以提供琥珀酰亚胺酯。此活化酯与L-瓜氨酸及CH₃CN、H₂O、NaHCO₃反应以提供经Boc保护的化合物M。

[0514] 参见化合物Tap-18H的合成的流程,经由在室温在DMF中的DCC/HOBt反应32小时提供化合物N(产率78-82%)或使用PS-碳二亚胺将胺苯化合物I与经Boc保护的化合物M偶联,

在所述反应中在两当量PS-碳二亚胺及DCM中的1.7当量HOBt存在下从100mg化合物M与1.5当量胺苯化合物I开始历时24小时实施化合物N的合成反应。通过LC/MS的分析展示具有所欲质量的峰及大约50-60%的转化。

[0515] 随后偶联产物化合物N在DCM中的2,6-二甲基吡啶参与的情况下在RT与氯甲酸4-硝基苯基酯反应8小时,得到碳酸酯化合物P,LC/MS展示具有所欲质量的峰。

[0516] 在DMF中的HOAt及Et₃N参与的情况下,使用单甲基多拉司他汀10处理碳酸酯化合物P,引起化合物Q的形成。

[0517] 参见化合物O的合成的流程,用DMF中的马来酸酐处理β-丙氨酸且由此获得的酸在DCC偶联下与N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)反应,得到NHS酯。通过使用TFA处理除去市购t-blc-N-酰氨基-dPEG4-酸中的BOC保护基,得到胺的TFA盐,该TFA盐与先前合成的NHS酯反应。分离由此获得的羧酸及使用EDCI将羧酸与N-羟基琥珀酰亚胺偶联,得到NHS酯化合物O。

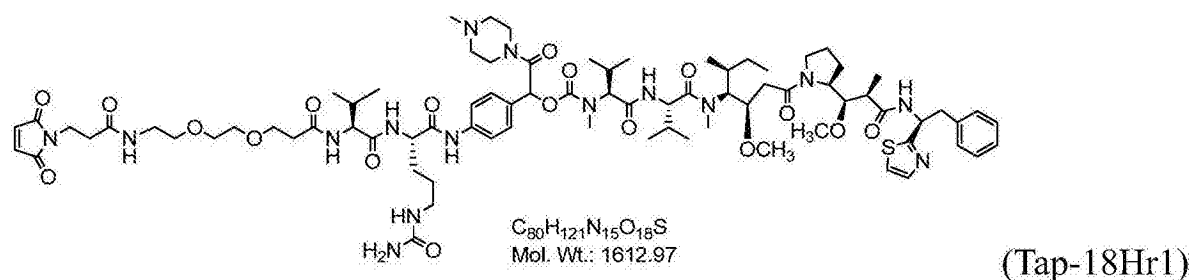
[0518] 参见化合物Tap-18H的合成的流程,使用TFA除去化合物Q中的Boc基及在室温在无水乙腈及NaHCO₃中将游离胺与NHS酯化合物O偶联12-36小时,得到最终产物Tap-18H,产率为35-45%。

[0519] 图5图示Tap-18H的NMR光谱。

[0520] 化合物TAP-18Hr1的合成

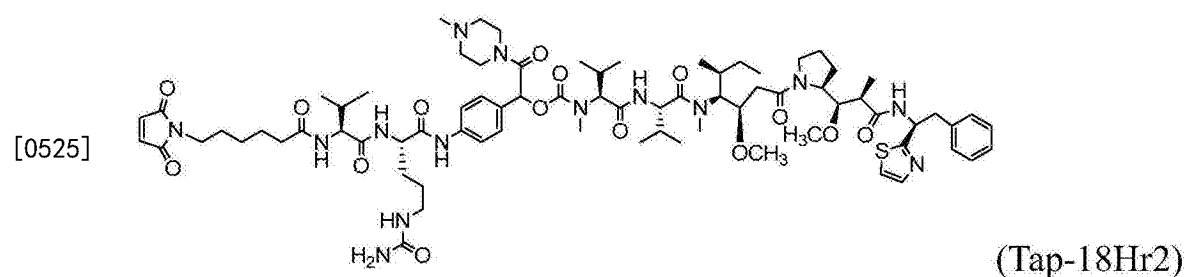
[0521] 合成具有下文所示的式的Tap-18Hr1。图6图示Tap-18Hr1的NMR光谱。

[0522]



[0523] 化合物TAP-18Hr2的合成

[0524] 合成具有下文所示的式的Tap-18Hr2。图7图示Tap-18Hr2的NMR光谱。



[0526] 抗体-药物缀合物(ADC)的制备

[0527] 通过传统方法制备h5F1Ca.1。从Sigma-Aldrich(St.Louis,MO)处获得DTT及DTPA。从Acros(Morris Plains,NJ)处获得TCEP。从Thermo Scientific(Rockford,IL)处获得DTNB。从J.T.Baker(Center Valley,PA)处获得磷酸钠、硼酸钠及氯化钠。从Alfa Aesar(Ward Hill,MA)处获得半胱氨酸。

[0528] 在37℃用0.025M硼酸钠(pH 8)、0.025M NaCl、1mM DTPA中的约1.3当量TCEP经历2小时还原h5F1Ca.1。使用对于1.0mg/mL溶液在280nm的吸收率值1.42量化蛋白质浓度及使

用150,000g/mol的分子量确定摩尔浓度。通过使用DTNB的滴定法确定所产生的mAb-半胱氨酸硫醇的浓度。当使用1.3摩尔当量的TCEP时通常产生约2.0至2.5硫醇/mAb。

[0529] 使用1.2M马来酰亚氨基己酰基-药物/mAb-半胱氨酸硫醇或马来酰亚氨基-药物/mAb-半胱氨酸硫醇对部分还原的h5F1Ca.1进行烷基化。在10℃进行烷基化反应60分钟。半胱氨酸(最终1mM)用于淬灭任何未反应的过量马来酰亚氨基己酰基-药物或马来酰亚氨基-药物。首先使用1M乙酸将ADC调节成pH 5并将ADC以1mL/分钟的流动速率应用于HiTrap™ SP FF柱(GE Healthcare)。柱大小为1mL/10mg ADC。使用5柱体积的结合缓冲液即具有15% DMSO的25mM醋酸钠(pH 5)预先平衡柱体。加载后,柱使用10柱体积的结合缓冲液洗涤及随后使用洗脱缓冲液即25mM醋酸钠(pH 5)、0-15% DMSO、300mM NaCl洗脱。通过在4℃透析过夜将纯化的ADC转变为磷酸盐缓冲盐水。

[0530] 细胞系

[0531] 在补充有10%FBS(GIBCO,Cat.No.26140)及100U/mL青霉素/100μg/mL链霉素(GIBCO,Cat.No.15140)的RPMI培养基1640(GIBCO,Cat.No.22400)中培养胃癌细胞SNU-16(BCRC,Cat.No.60212)、结肠直肠癌细胞COLO205(ATCC,Cat.No.CCL-222)、DLD-1(ATCC,Cat.No.CCL-221)及SW480(ATCC,Cat.No.CCL-228)。

[0532] 在补充有10%FBS、1mM丙酮酸钠(GIBCO,Cat.No.11360)及100U/mL青霉素/100μg/mL链霉素的RPMI培养基1640中培养结肠直肠癌细胞系DLD-1(BCRC,Cat.No.60132)。

[0533] 在补充有10%FBS及100U/mL青霉素/100μg/mL链霉素的杜贝卡改良依格培养基(GIBCO,Cat.No.11965)中培养胰腺癌细胞系PANC-1(BCRC,Cat.No.60284)。

[0534] 胰腺癌细胞Panc 02.03B改编自Panc 02.03(ATCC,Cat.No.CRL-2553)且在无胰岛素的情况下在补充有15%FBS、100U/mL青霉素/100μg/mL链霉素及1mM丙酮酸钠(GIBCO,Cat.No.11360)的RPMI培养基1640中培养胰腺癌细胞Panc 02.03B。

[0535] 通过反相HPLC对ADC的分析

[0536] 在变性及还原条件下通过与25mM DTT、3M盐酸胍一起在80℃加热10分钟分析ADC。将50μg变性ADC应用于PLRP-S柱体(2.1×150mm,8μm,1000A,Aligent(Santa Clara,CA))。流动速率为0.8mL/分钟及柱温为80℃。溶剂A为水中的0.05%三氟乙酸及溶剂B为乙腈中的0.04%三氟乙酸。方法如下:等度25%B历时3分钟;25分钟线性梯度至50%B;2分钟线性梯度至95%B;1分钟线性梯度至25%B;及等度25%B历时2分钟。利用非缀合h5F1Ca.1(L0及H0)进行峰归属。通过其洗脱时间、UV光谱(A_{248/280}比例随药物载入增加)及SDS-PAGE分布(轻链及重链)归属L1、H1、H2及H3。

[0537] 通过WST-1测定确定体外细胞毒性

[0538] 在96孔微量滴定板上分别以 1×10^4 、 3×10^3 、 2×10^4 及 1.2×10^4 个细胞/孔接种癌细胞SNU-16、Panc 02.03B、COLO 205及SW480。在96孔微量滴定板上以 1×10^4 个细胞/孔接种癌细胞DLD-1及PANC-1。以3μg/mL及1μg/mL的最终浓度或最终指示浓度及最终体积200μL/孔一式三份添加h5F1Ca.1/Tap18H ADC、h5F1Ca.1/Tap18Hr1或裸抗体h5F1Ca.1。随后在37℃及5%CO₂中温育细胞及通过细胞增殖试剂WST-1(Roche(Nutley,NJ),Cat.No.11644807001)遵循制造商说明在72小时或96小时检测细胞生存力。简言之,温育结束时,撤出100μL培养基及将10μL/孔的WST-1添加至测试细胞系中。在最佳彩色显影(当未经处理的对照的OD₄₅₀≥1.00时)后,通过分光光度计(Molecular Devices(Sunnyvale,CA),

VERSAmax微板读取器)测量450nm处的吸光率(OD₄₅₀值)。获得一式三份的平均值及减去背景(培养基对照)。所得到的OD₄₅₀值随后用于根据以下公式计算抑制百分比(%):[OD₄₅₀溶剂-OD₄₅₀样本]/[OD₄₅₀溶剂]*100。溶剂表明未经处理的对照。

[0539] 癌症异种移植模型中的ADC治疗

[0540] 为建立皮下异种移植模型,将 5×10^6 个SNU-16细胞植入C.B-17SCID小鼠(Lasco,台北,台湾)的右侧。当平均肿瘤体积达到110-120mm³时启动ADC治疗(标记为第1天)。以100 μL中1或2mg/kg静脉注射h5F1Ca.1/Tap18H或h5F1Ca.1/Tap18Hr1。每周两次使用测径规以两个垂直尺寸测量肿瘤体积并根据公式($0.52 \times \text{长度} \times \text{宽度} \times \text{宽度}$)计算肿瘤体积。

[0541] 结果

[0542] 通过反相HPLC对ADC的分析

[0543] 还原及变性反相HPLC用于分离及表征具有不同药物的轻链及重链。在此方法中,使用3M盐酸胍预处理ADC及过量DTT在80℃使抗体变性及破坏链间及链内二硫化物,这允许具有0或1个药物的轻链(L0及L1)与具有0、1、2、3个药物的重链(H0、H1、H2、H3)的分离(图1)。大体而言,多拉司他汀-10比MMAE更疏水。然而,数据显示具有多拉司他汀-10药物的重链及轻链就L1、H1、H2及H3峰而言比monomethyl auristatin E (MMAE)药物更早洗脱。这表明基于多拉司他汀-10的药物中的额外哌嗪基团减少了分子的疏水性。哌嗪基团的此特性可减小由多拉司他汀-10的疏水性造成的高药物载量的ADC中的可能聚集。

[0544] 图1图示ADC的反相HPLC表征。图1(A)图示针对h5F1Ca.1/Tap-18H的色谱。图1(B)图示针对h5F1Ca.1/MMAE的色谱。图示具有0或1个药物的轻链(L0及L1)及具有0、1、2、3个药物的重链(H0、H1、H2、H3)。

[0545] 体外细胞毒性

[0546] 在h5F1Ca.1抗原阳性癌细胞系(SNU-16、COLO 205及Panc02.03B)及抗原阴性细胞系(SW480)中评估h5F1Ca.1/Tap18H的体外细胞毒活性。也并行测试裸h5F1Ca.1抗体的细胞毒性。如表3中所示,尽管h5F1Ca.1不能在测试浓度(3μg/mL和1μg/mL)单独引发细胞毒性,但是h5F1Ca.1/Tap18H有效抑制了癌细胞系SNU-16、COLO 205及Panc02.03B的生长。在抗原阴性细胞系SW480中没有观察到任何毒性,表明ADC杀死是经由特异性靶向机制。该等结果表明ADC递送细胞毒性药物至具有抗原特异性的靶癌细胞。

[0547] 表3.h5F1Ca.1/Tap18H的体外细胞毒活性

[0548]

(抑制百分比(%))		3 μ g/mL	1 μ g/mL
SNU-16	h5F1Ca.1/Tap18H	95.7	90.6
	h5F1Ca.1	-13.7	-0.1
COLO 205	h5F1Ca.1/Tap18H	90.1	82.4
	h5F1Ca.1	-11.0	-7.2
Panc 02.03B	h5F1Ca.1/Tap18H	81.0	78.4
	h5F1Ca.1	-12.5	-6.4
SW480	h5F1Ca.1/Tap18H	-20.9	-12.4
	h5F1Ca.1	-9.2	-3.8

[0549] 注:负值表示在测试孔中没有观察到抑制。

[0550] 还在另一项实验中评估h5F1Ca.1/Tap18Hr1的细胞毒活性。类似地,在结合阳性胃癌细胞系SNU-16中而非在结合阴性结肠直肠细胞系SW480中通过h5F1Ca.1/Tap18Hr1引发有效抑制(表4)。

[0551] 表4.h5F1Ca.1/Tap18Hr1的体外细胞毒活性

[0552]

(抑制百分比(%))		3 μ g/mL	1 μ g/mL
SNU-16	h5F1Ca.1/Tap18Hr1	98.2	97.0
	h5F1Ca.1	4.0	3.3
SW480	h5F1Ca.1/Tap18Hr1	5.4	1.9
	h5F1Ca.1	-3.0	1.2

[0553] 注:10%以下的抑制被认为是测定的背景值。负值表示在测试孔中没有观察到抑制。

[0554] ADC的体内评估

[0555] 评估ADC h5F1Ca.1/Tap18H在体内对抗胃癌细胞SNU-16的效能。当接种肿瘤大小达到120mm³(标记为第1天)时,用单剂量的ADC或载体以2mg/kg治疗小鼠。与肿瘤快速生长并在第12天时接近400mm³的载体组相比,h5F1Ca.1/Tap18H组在第5天时显示消退及在第12天时平均肿瘤大小被进一步抑制至<20mm³(图2)。在治疗组及载体组中,该等小鼠的体重皆保持不变。因此,数据表明h5F1Ca.1/Tap18H可有效抑制SCID小鼠中抗原阳性肿瘤的生长。

[0556] 图2图示h5F1Ca.1/Tap18H对抗胃癌SNU-16的体内抗肿瘤活性的曲线图。

[0557] 评估ADC h5F1Ca.1/Tap18Hr1在体内对抗胃癌细胞SNU-16的效能。当接种肿瘤大小达到100mm³(标记为第1天)时,用2周剂量的载体或ADC以1mg/kg治疗小鼠。如图3所示,h5F1Ca.1/Tap18Hr1的给药引发肿瘤消退,其中平均肿瘤大小被抑制至<10mm³。在治疗组及

载体组中,该等小鼠的体重皆保持不变。因此,数据表明h5F1Ca.1/Tap18Hr1可有效抑制SCID小鼠中抗原阳性肿瘤的生长。

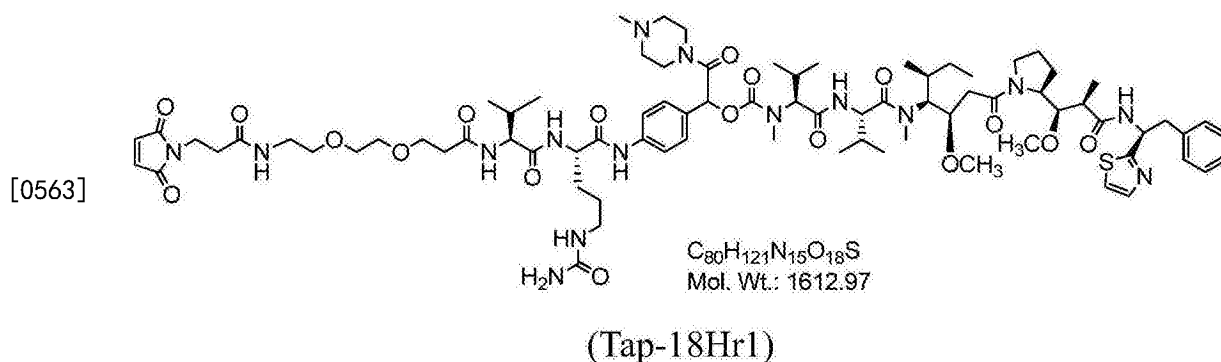
[0558] 实施例2:基于抗TfR抗体的抗体-药物缀合物(ADC)在抑制肿瘤生长方面的效果

[0559] 抗体-药物缀合物(ADC)的制备

[0560] 自用含有鼠类5D7-54.17的重链及轻链可变区基因的表达载体pcDNA5-FRT-hIgG1转染的Flp-In CHO细胞产生嵌合5D7-54.17(c5D7)。随后经由含有哌嗪的连接子将c5D7抗体缀合至细胞毒性药物单甲基多拉司他汀10以评估体内抗肿瘤效果(结构参见表5)。在一个实施例中,首先在37℃用0.025M硼酸钠(pH 8)、0.025M NaCl、1mM DTPA(或五醋三胺或二乙撑三胺五醋酸)中的3.0当量的TCEP(或三(2-羧基乙基)膦)经历2小时还原经纯化的c5D7。使用对于1.0mg/mL溶液在280nm的吸收率值1.346量化蛋白质浓度及使用145,194g/mol的分子量确定摩尔浓度。通过使用DTNB(或5,5'-二巯基二(2-硝基苯甲酸))的滴定法确定所产生的mAb-半胱氨酸硫醇的浓度。当使用3.0摩尔当量的TCEP时通常产生约4.0至4.5硫醇/mAb。使用2.4M马来酰亚氨基己酰基-单甲基多拉司他汀10/mAb-半胱氨酸硫醇对部分还原的c5D7进行烷基化。在10℃进行烷基化反应30分钟。半胱氨酸(最终1mM)用于淬灭任何未反应的过量马来酰亚氨基己酰基-单甲基多拉司他汀10药物。通过在4℃透析过夜将所得到的ADC转变为磷酸盐缓冲盐水。

[0561] 合成具有下文所示式的Tap-18Hr1。图6图示Tap-18Hr1的NMR光谱。

[0562] 表5:抗体-药物缀合物的连接子-药物部分



[0564] 发明人进一步检验c5D7/Tap18Hr1在结合阳性结肠直肠癌细胞系DLD-1及结合阴性胰腺细胞系PANC-1中的体外细胞毒活性。与上文所呈现的数据一致,通过c5D7/Tap18Hr1而非通过单独的c5D7抗体引发DLD-1细胞中的有效生长抑制(表6)。在所示剂量时在结合阴性细胞系PANC-1中没有观察到任何抑制。综上,该等结果表明发明人的ADC将细胞毒性药物仅递送至表达特异性抗原的靶癌细胞。

[0565] 表6:c5D7/Tap18Hr1的体外细胞毒活性

[0566]

(抑制百分比(%))		0.3μg/mL	0.1μg/mL
DLD-1	c5D7/Tap18Hr1	62.0	35.4
	c5D7	-0.3	0.6
PANC-1	c5D7/Tap18Hr1	1.4	2.9
	c5D7	4.5	4.6

[0567] 注:10%以下的抑制被认为是测定的背景值。负值表示在测试孔中没有观察到抑制。

[0568] 癌症异种移植模型中的ADC治疗

[0569] 为建立皮下异种移植模型,将 5×10^6 个DLD-1结肠直肠癌细胞植入C.B-17SCID小鼠(Lasco,台北,台湾)的右侧。在肿瘤接种后第1天及第5天以3mg/kg静脉给药缀合有药物的c5D7ADC。每周两次使用测径规以两个垂直尺寸测量肿瘤体积并根据公式($0.52 \times \text{长度} \times \text{宽度} \times \text{宽度}$)计算肿瘤体积。

[0570] 结果

[0571] 在制备抗体-药物缀合物(ADC)c5D7/Tap18Hr1中使用嵌合5D7-54.17抗体(c5D7)(参见上文制备ADC的方法)。在DLD-1移植SCID小鼠上评估c5D7/Tap18Hr1的体内抗肿瘤活性。在肿瘤接种后的第1天及第5天使用载体或ADC以3mg/kg启动治疗。与在第14天时肿瘤接近500mm³的载体组相比,c5D7/Tap18Hr1在整个研究过程中完全抑制肿瘤生长(图4)。治疗后,每组小鼠的体重保持不变(平均25g)。数据表明细胞毒性药物通过抗转铁蛋白受体c5D7的癌症靶向递送能够在体内有效抑制肿瘤生长。

[0572] 参考文献

[0573] 1.Carter,PJ and Senter,PD.Antibody-drug conjugates for cancer therapy.Cancer J.2008;14:154-169)。

[0574] 2.Teicher,BA.Antibody-drug conjugate targets.Current cancer Drug Targets 2009,9:982-1004.

[0575] 3.Ducry,L and Stump,B.Antibody-drug conjugates:linking cytotoxic payloads to monoclonal antibodies.Bioconjugate chem.,2010,21:5-13.

[0576] 4.Koblinski,JE.,Ahram,M and Sloane,BF.Unraveling the role of proteases in cancer.Clin.Chem.Acta 2000;291:113-135.

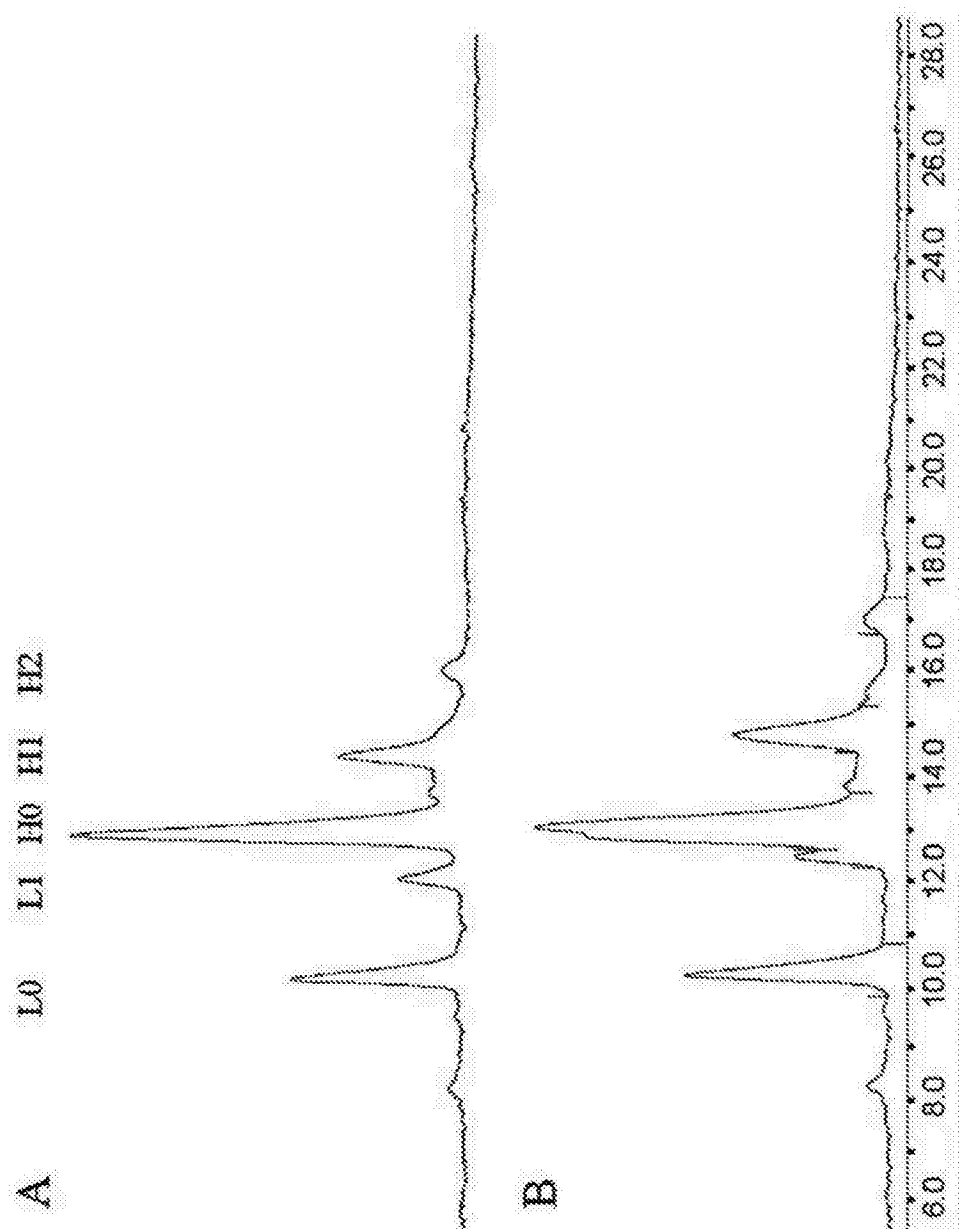


图1

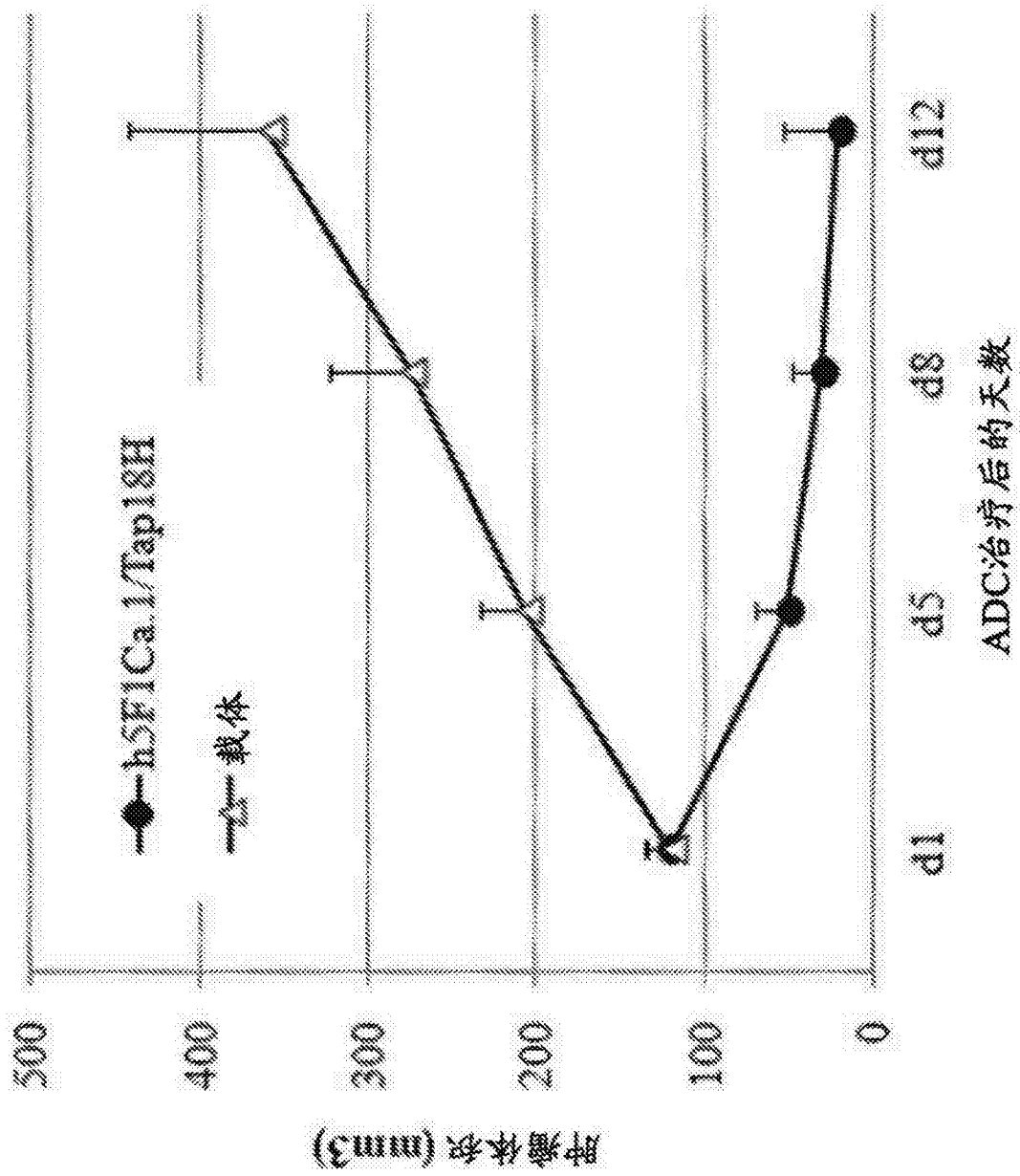


图2

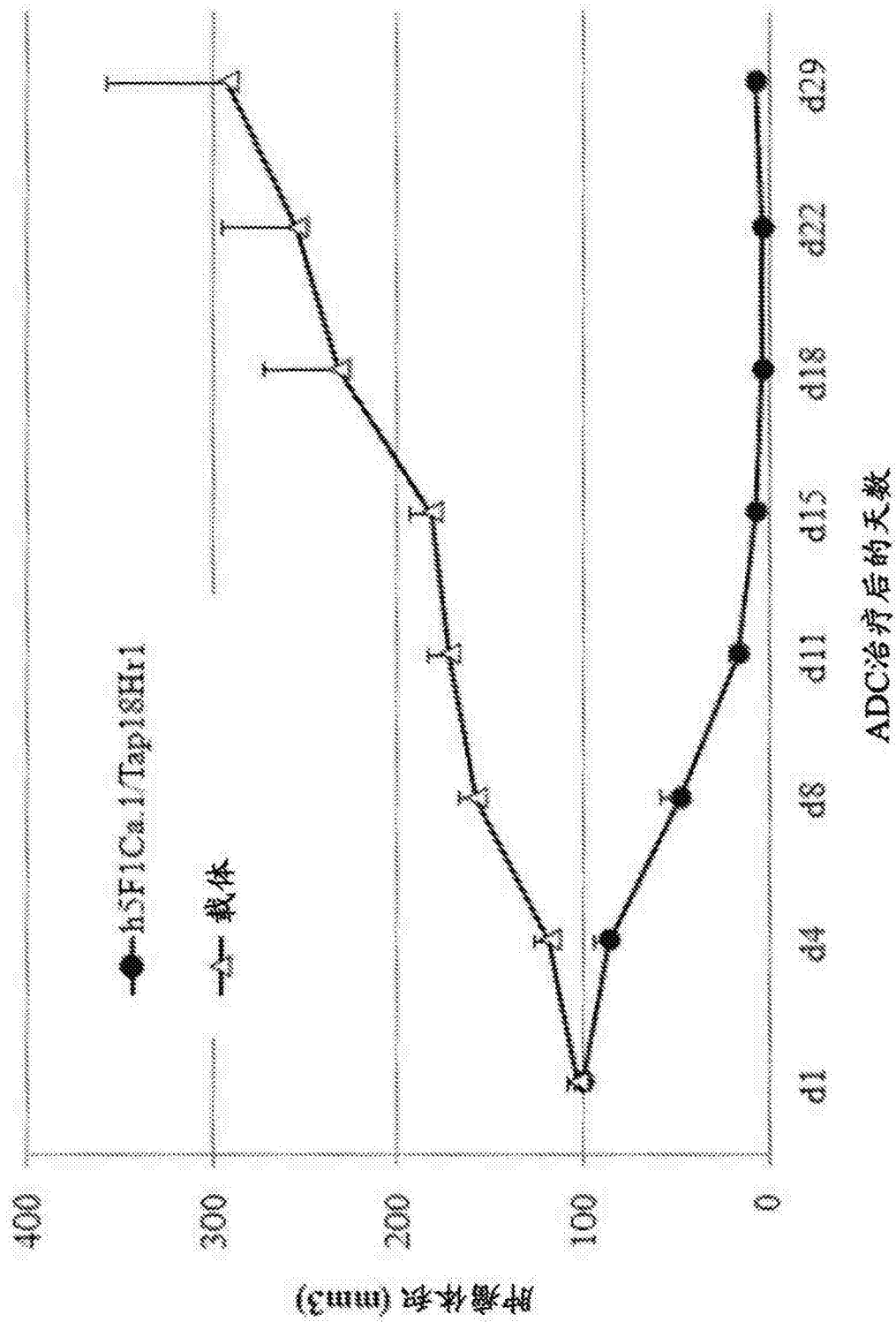


图3

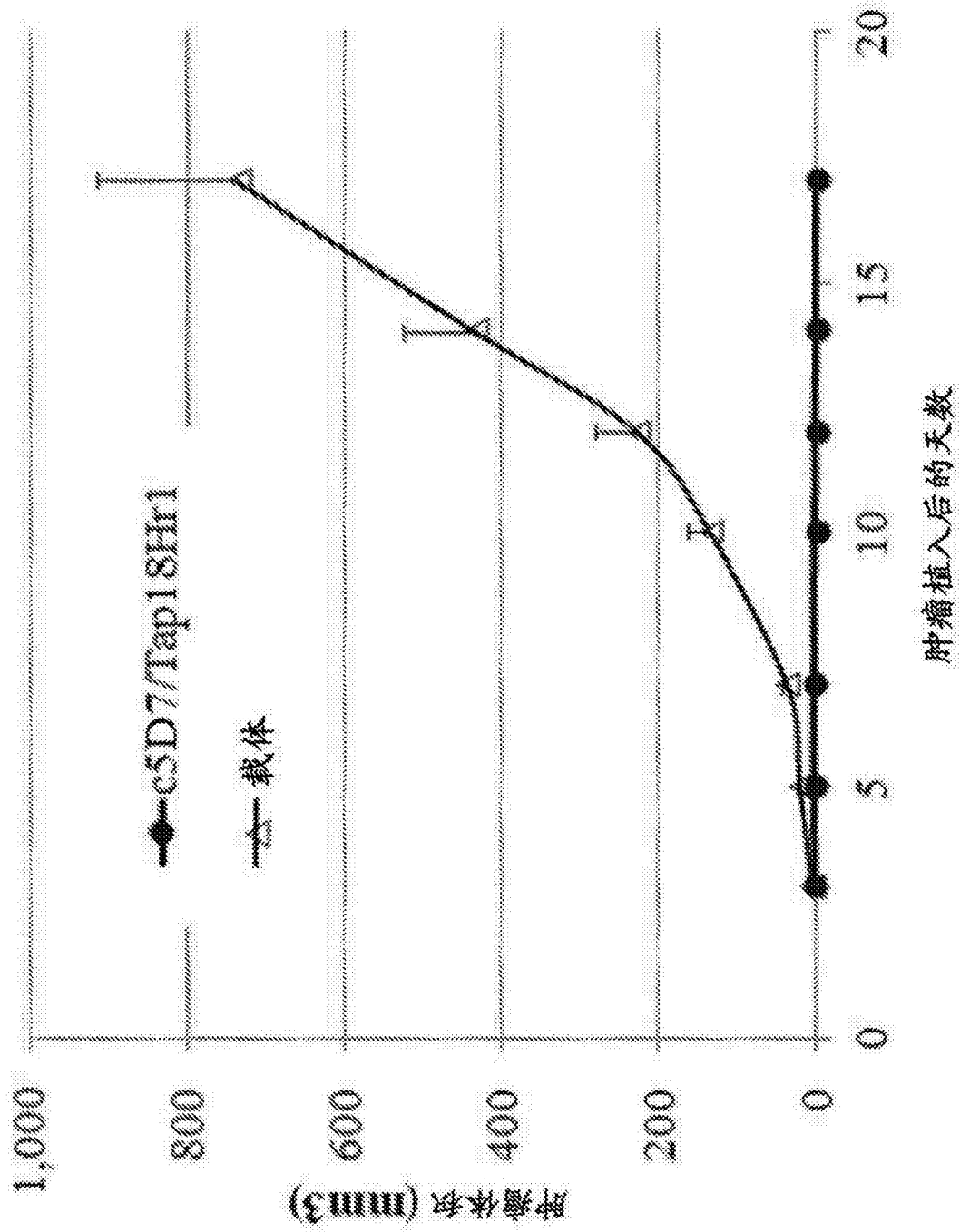


图4

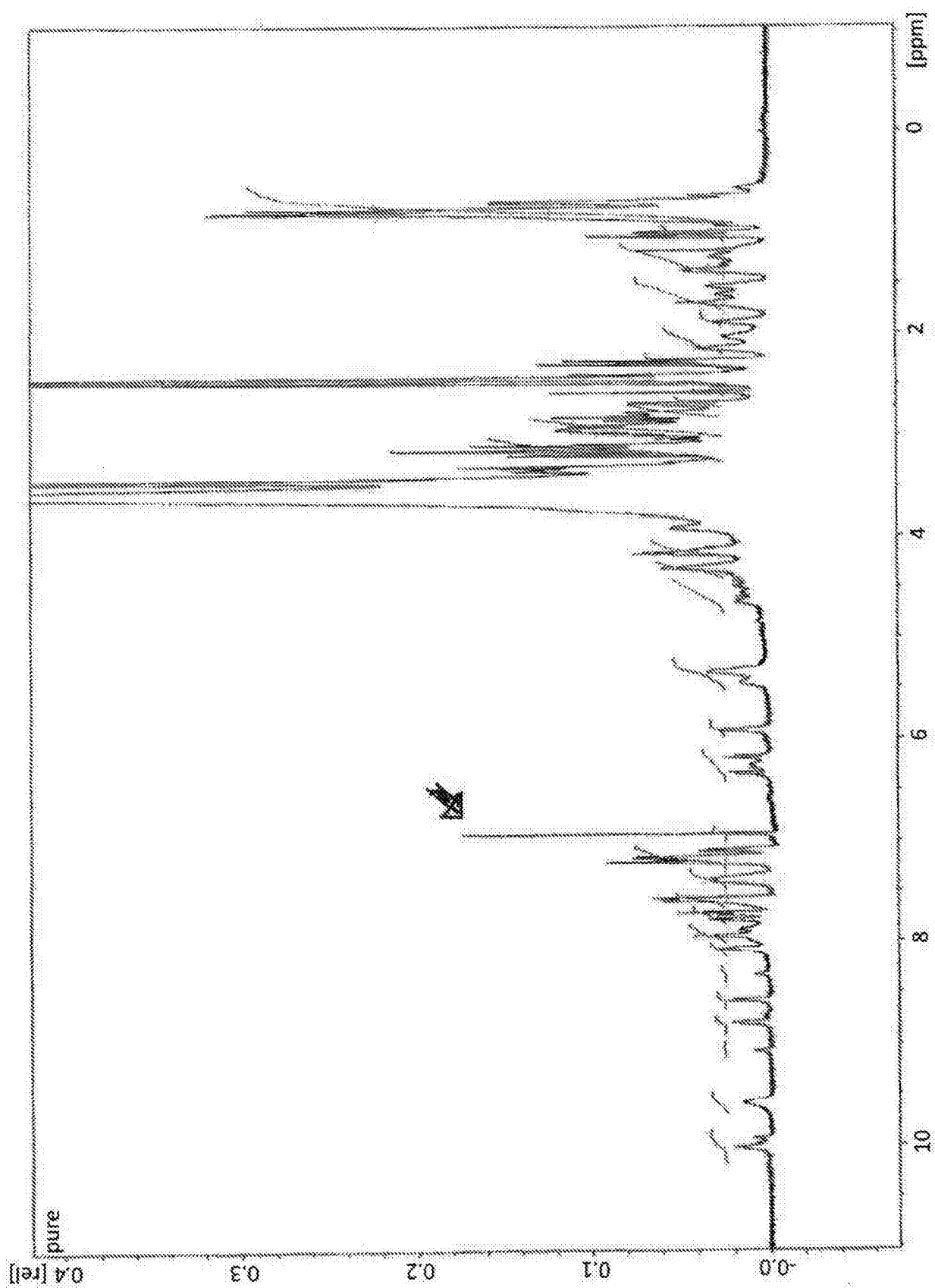


图5

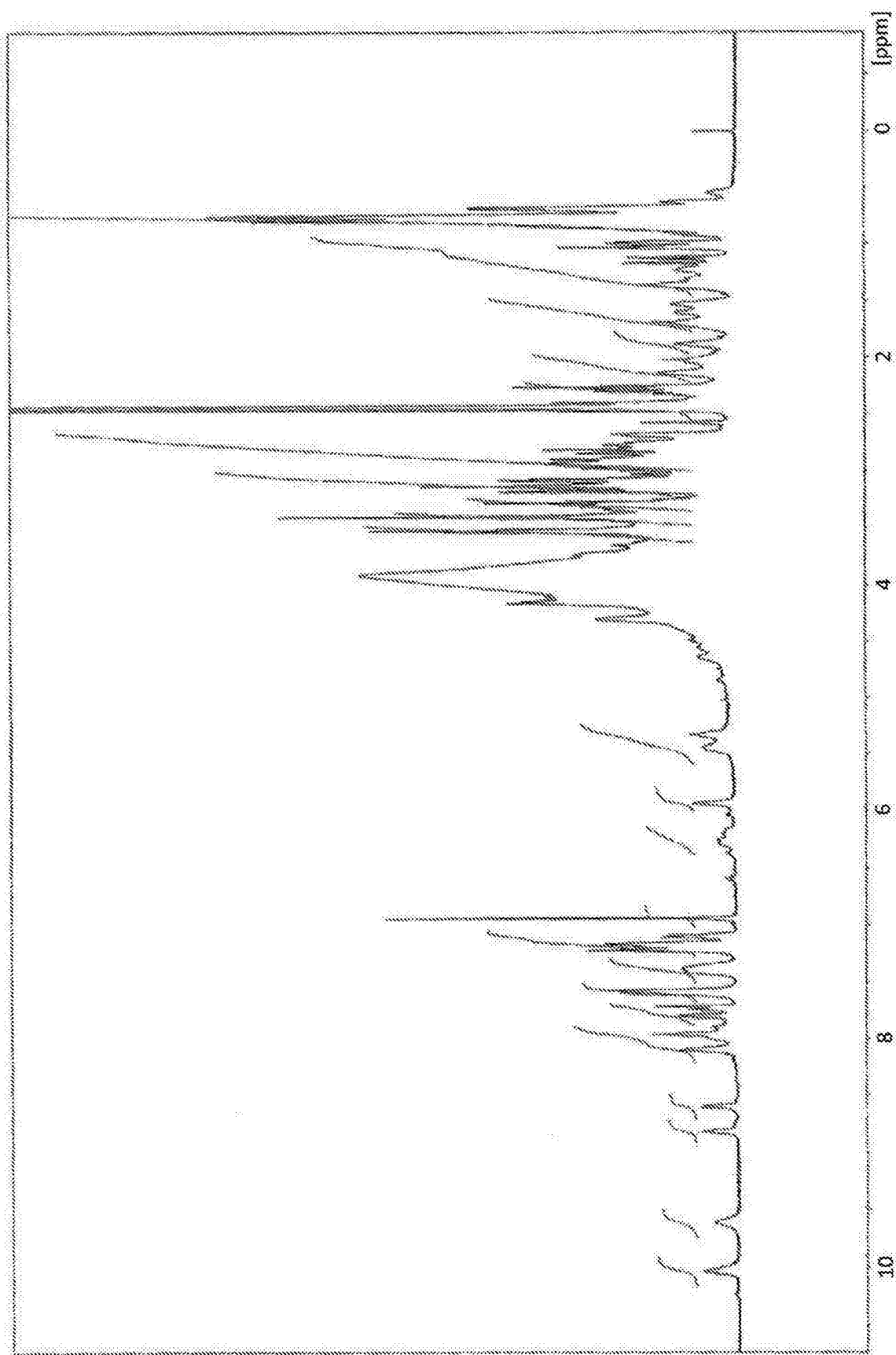


图6

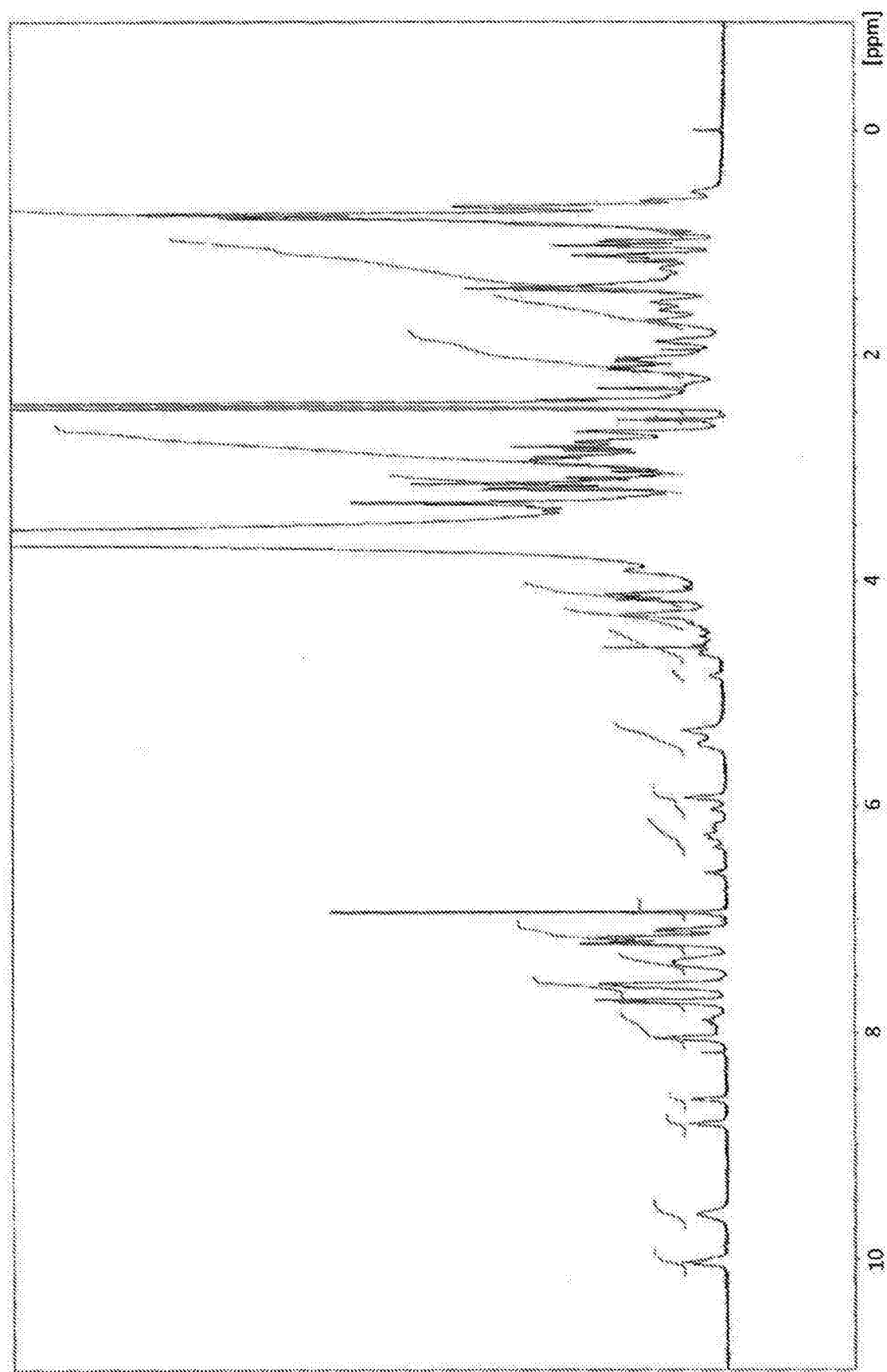


图7