



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110582505 B

(45) 授权公告日 2021.04.02

(21) 申请号 201880025726.7

(22) 申请日 2018.04.18

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 110582505 A

(43) 申请公布日 2019.12.17

(30) 优先权数据  
1706133.4 2017.04.18 GB  
1721337.2 2017.12.19 GB

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2019.10.17

(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/EP2018/059846 2018.04.18

(87) PCT国际申请的公布数据  
W02018/192944 EN 2018.10.25

(73) 专利权人 免疫医疗有限公司

地址 英国剑桥郡

(72) 发明人 菲利普·威尔逊·霍华德  
斯蒂芬·约翰·格雷格森

(74) 专利代理机构 上海弼兴律师事务所 31283  
代理人 薛琦 郭冉柠

(51) Int.Cl.  
C07D 519/00 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01)  
A61K 47/68 (2006.01)  
C07K 5/062 (2006.01)

审查员 赵贞贞

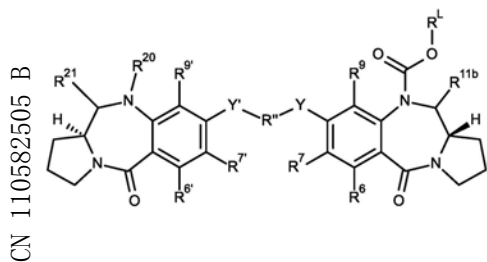
权利要求书10页 说明书128页

(54) 发明名称

吡咯并苯并二氮杂萘缀合物

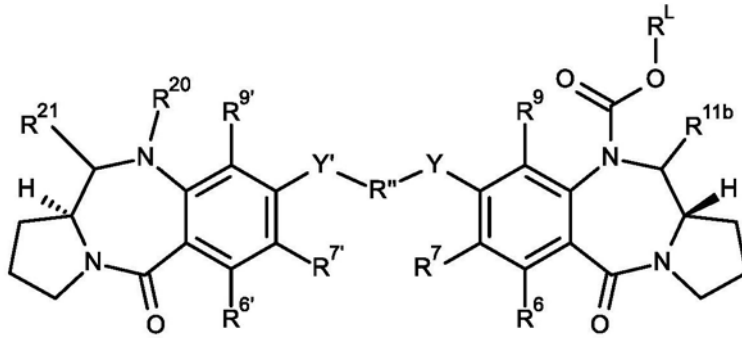
(57) 摘要

一种式I的化合物以及其盐和溶剂合物,其中: $R^6$ 和 $R^9$ 独立地选自H、R、OH、OR、SH、SR、 $NH_2$ 、NHR、 $NRR'$ 、硝基、 $Me_3Sn$ 和卤素;其中R和 $R'$ 独立地选自任选取代的 $C_{1-12}$ 烷基、 $C_{3-20}$ 杂环基和 $C_{5-20}$ 芳基; $R^7$ 选自H、R、OH、OR、SH、SR、 $NH_2$ 、NHR、 $NRR'$ 、硝基、 $Me_3Sn$ 和卤素; $R''$ 为 $C_{3-12}$ 亚烷基,所述链可被一个或多个杂原子中断,例如O、S、 $NR^{N2}$ (其中 $R^{N2}$ 为H或 $C_{1-4}$ 烷基),和/或芳环,例如苯或吡啶;Y和 $Y'$ 选自O、S或NH; $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^9$ 分别选自与 $R^6$ 、 $R^7$ 和 $R^9$ 相同的基团; $R^{11b}$ 选自OH、 $OR^A$ ,其中 $R^A$ 为 $C_{1-4}$ 烷基;并且 $R^L$ 为用于连接至细胞结合剂的接头。



CN 110582505 B

1. 一种式I的化合物:



以及其盐,其中:

$R^6$ 和 $R^9$ 为H;

$R^7$ 为 $C_{1-4}$ 烷氧基;

$R''$ 为 $C_{3-12}$ 亚烷基,所述链可被一个或多个杂原子中断,所述杂原子选自O、S、 $NR^{N2}$ ,其中 $R^{N2}$ 为H或 $C_{1-4}$ 烷基,和/或,苯或吡啶;

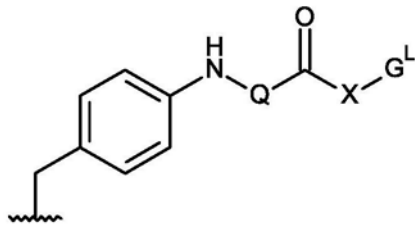
Y和Y'为O;

$R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^9$ 分别选自与 $R^6$ 、 $R^7$ 和 $R^9$ 相同的基团;

$R^{11b}$ 为OH;并且

$R^L$ 为用于连接至细胞结合剂的接头,其选自:

(IIIa):



IIIa

其中

Q是选自以下的二肽残基:

$CO-Phe-Lys-NH$ 、

$CO-Val-Ala-NH$ 、

$CO-Val-Lys-NH$ 、

$CO-Ala-Lys-NH$ 、

$CO-Val-Cit-NH$ 、

$CO-Phe-Cit-NH$ 、

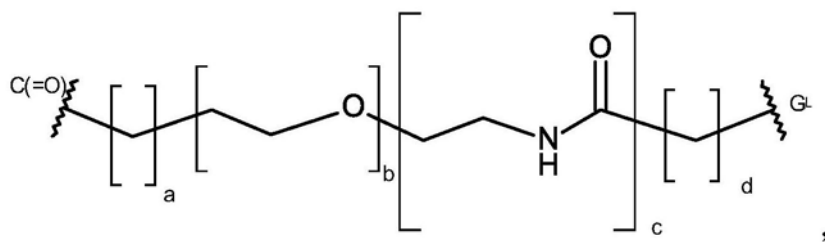
$CO-Leu-Cit-NH$ 、

$CO-Ile-Cit-NH$ 、

$CO-Phe-Arg-NH$ , 以及

$CO-Trp-Cit-NH$ ;

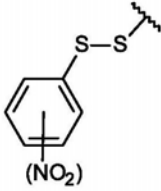
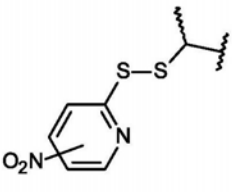

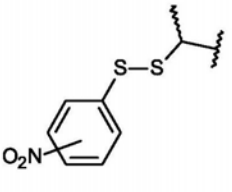
X是:



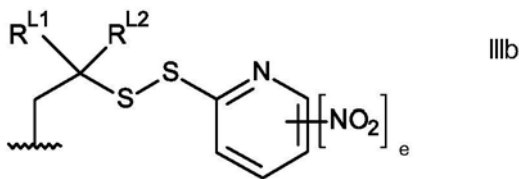
其中a=0至3,b=0至12,c=0或1,d=0至3;

$G^L$ 为用于连接至配体单元的接头,选自:

$(G^{L1-1})$			
$(G^{L1-2})$			
$(G^{L2})$		$(G^{L6})$	
$(G^{L3-1})$	<p>其中 <math>NO_2</math> 基团是任选的</p>		

(G <sup>L3-2</sup> )	 <p>其中 NO<sub>2</sub> 基团是任选的</p>		
(G <sup>L3-3</sup> )	 <p>其中 NO<sub>2</sub> 基团是任选的</p>	(G <sup>L9</sup> )	
(G <sup>L3-4</sup> )	 <p>其中 NO<sub>2</sub> 基团是任选的</p>		

其中Ar代表C<sub>5-6</sub>亚芳基;以及  
(IIIb):



其中R<sup>L1</sup>和R<sup>L2</sup>独立地选自H和甲基,或与它们所结合的碳原子一起形成亚环丙基或亚环丁基;

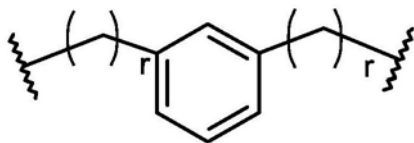
并且e为0或1;

或者

- (a) R<sup>20</sup>为H,并且R<sup>21</sup>为OH或OR<sup>A</sup>,其中R<sup>A</sup>为C<sub>1-4</sub>烷基;或
- (b) R<sup>20</sup>和R<sup>21</sup>在它们所结合的所述氮原子与所述碳原子之间形成氮-碳双键;或
- (c) R<sup>20</sup>为H并且R<sup>21</sup>为SO<sub>z</sub>M,其中z为2或3并且M为一价的药学上可接受的阳离子;或
- (d) R<sup>20</sup>为H并且R<sup>21</sup>为H.

2. 根据权利要求1所述的化合物,其中R<sup>''</sup>为C<sub>3-7</sub>亚烷基。

3. 根据权利要求1所述的化合物,其中R<sup>''</sup>为下式的基团:



其中r为1或2。

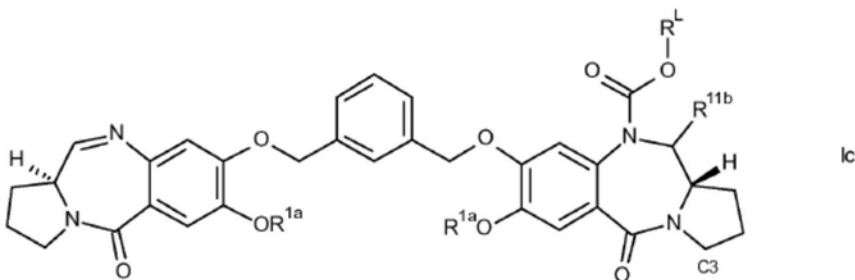
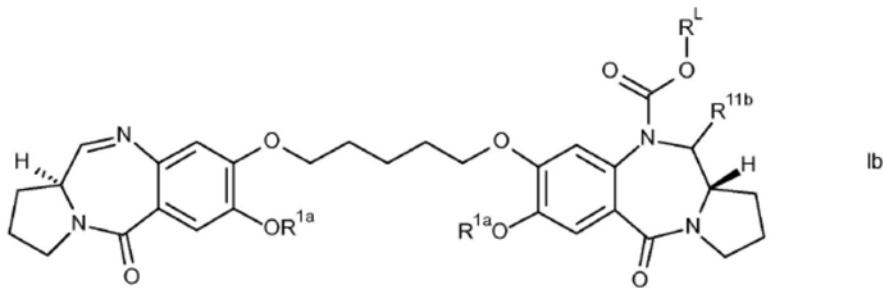
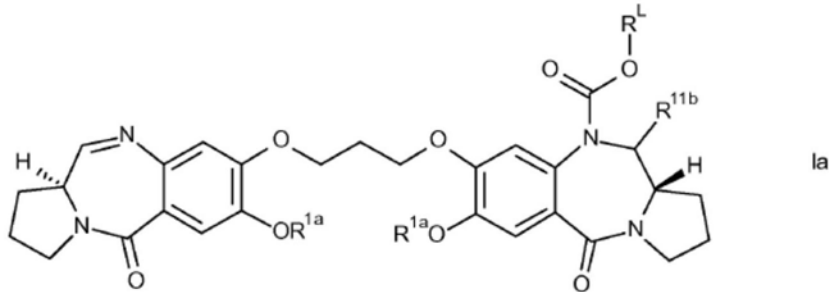
4. 根据权利要求1所述的化合物,其中R<sup>6'</sup>是与R<sup>6</sup>相同的基团,R<sup>7'</sup>是与R<sup>7</sup>相同的基团,R<sup>9'</sup>

是与R<sup>9</sup>相同的基团并且Y'是与Y相同的基团。

5. 根据权利要求1所述的化合物,其中R<sup>20</sup>为H,并且R<sup>21</sup>为OH。

6. 根据权利要求1所述的化合物,其中R<sup>20</sup>和R<sup>21</sup>在它们所结合的所述氮原子与所述碳原子之间形成氮-碳双键。

7. 根据权利要求1所述的化合物,其具有式Ia、Ib或Ic:



其中R<sup>1a</sup>为甲基;

R<sup>L</sup>和R<sup>11b</sup>如权利要求1中所定义。

8. 根据权利要求1所述的化合物,其中Q选自<sup>C0</sup>-Phe-Lys-NH、<sup>C0</sup>-Val-Cit-NH和<sup>C0</sup>-Val-Ala-NH。

9. 根据权利要求1所述的化合物,其中a是0。

10. 根据权利要求1所述的化合物,其中b是0至8。

11. 根据权利要求1所述的化合物,其中d是2。

12. 根据权利要求1所述的化合物,其中R<sup>L</sup>具有式IIIa,并且a是0,c是1且d是2,并且b是0至8。

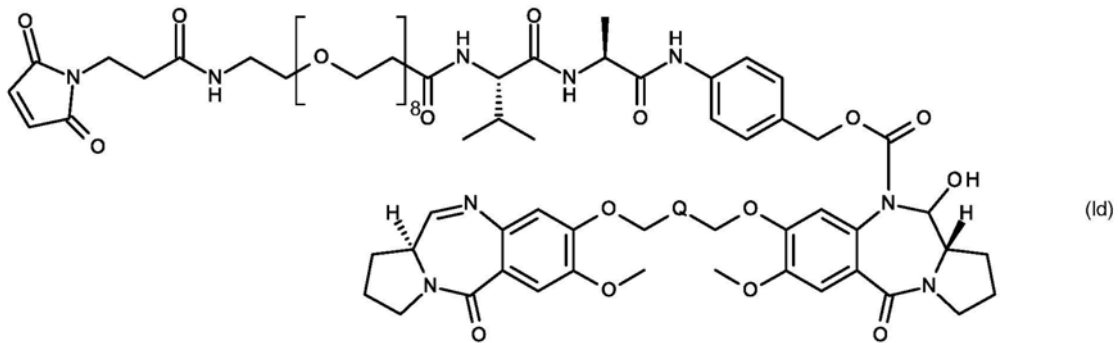
13. 根据权利要求12所述的化合物,其中b是0、4或8。

14. 根据权利要求1所述的化合物,其中Ar是亚苯基。

15. 根据权利要求1或权利要求14所述的化合物,其中G<sup>L</sup>选自G<sup>L1-1</sup>和G<sup>L1-2</sup>。

16. 根据权利要求15所述的化合物,其中G<sup>L</sup>是G<sup>L1-1</sup>。

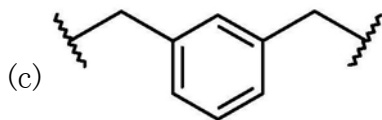
17. 根据权利要求1所述的化合物,其中 $R^L$ 具有式IIIb,并且 $R^{L1}$ 和 $R^{L2}$ 均为H。
18. 根据权利要求1所述的化合物,其中 $R^L$ 具有式IIIb, $R^{L1}$ 是H且 $R^{L2}$ 是甲基。
19. 根据权利要求1所述的化合物,其中 $R^L$ 具有式IIIb,并且 $R^{L1}$ 和 $R^{L2}$ 均为甲基。
20. 根据权利要求1所述的化合物,其中 $R^L$ 具有式IIIb,并且 $R^{L1}$ 和 $R^{L2}$ 与它们所结合的碳原子一起形成亚环丙基。
21. 根据权利要求1所述的化合物,其中 $R^L$ 具有式IIIb,并且 $R^{L1}$ 和 $R^{L2}$ 与它们所结合的碳原子一起形成亚环丁基。
22. 根据权利要求1所述的化合物,其中 $R^L$ 具有式IIIb,并且e是0。
23. 根据权利要求1所述的化合物,其中 $R^L$ 具有式IIIb,并且e是1。
24. 根据权利要求23所述的化合物,其中所述硝基处于对位。
25. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述化合物具有式Id:



其中Q选自:

(a)  $-\text{CH}_2-$ ;

(b)  $-\text{C}_3\text{H}_6-$ ; 以及

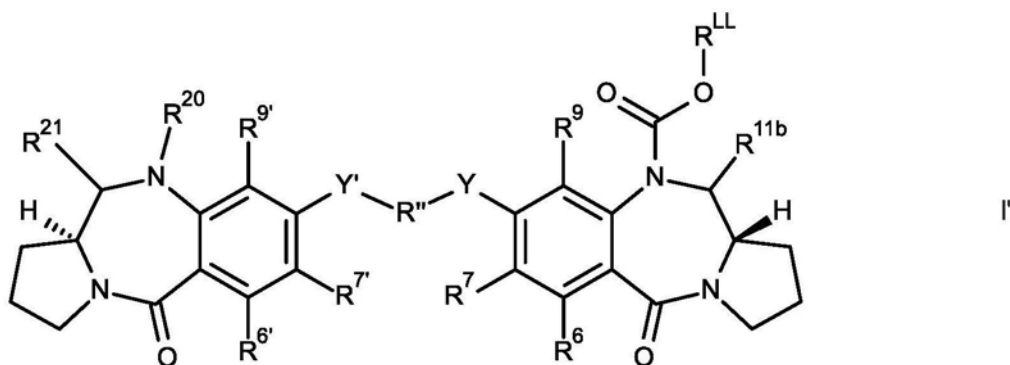


26. 一种式II的缀合物:

$L-(D^L)_p$  (II)

其中L为配体单元,其中所述配体单元为抗体或其抗原结合片段;

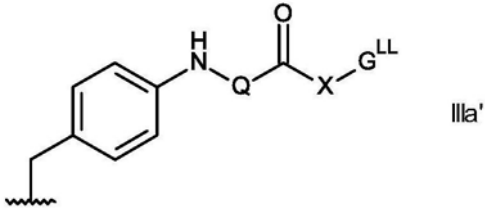
$D^L$ 为式I' 的药物接头单元:



其中 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^9$ 、 $R^{11b}$ 、Y、 $R''$ 、Y'、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^9$ 、 $R^{20}$ 和 $R^{21}$ 如权利要求1至7中任一项所定义;

$R^{LL}$ 为用于连接至抗体或其抗原结合片段的接头,其选自:

(IIIa') :

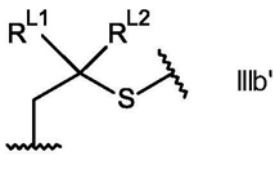


其中Q和X如权利要求1和8中任一项所定义,并且G<sup>LL</sup>是连接至配体单元的接头;G<sup>LL</sup>选自:

(G <sup>LL1-1</sup> )		(G <sup>LL6</sup> )	
(G <sup>LL1-2</sup> )			
(G <sup>LL2</sup> )			
(G <sup>LL3-1</sup> )			
(G <sup>LL3-2</sup> )		(G <sup>LL9-1</sup> )	
		(G <sup>LL9-2</sup> )	

其中Ar代表C<sub>5-6</sub>亚芳基;以及

(IIIb') :



其中R<sup>L1</sup>和R<sup>L2</sup>如权利要求1和17至21中任一项所定义;

其中p为1至8的整数;

所述抗体或抗体的抗原结合片段是抗体,所述抗体结合于一种或多种肿瘤相关抗原或细胞表面受体,所述肿瘤相关抗原或细胞表面受体选自(1)-(88):

- (1) BMPR1B;
- (2) E16;
- (3) STEAP1;
- (4) 0772P;
- (5) MPF;
- (6) Napi3b;
- (7) Sema 5b;
- (8) PSCA h1g;
- (9) ETBR;
- (10) MSG783;
- (11) STEAP2;
- (12) TrpM4;
- (13) CRIPTO;
- (14) CD21;
- (15) CD79b;
- (16) FcRH2;
- (17) HER2;
- (18) NCA;
- (19) MDP;
- (20) IL20R- $\alpha$ ;
- (21) Brevican;
- (22) EphB2R;
- (23) ASLG659;
- (24) PSCA;
- (25) GEDA;
- (26) BAFF-R;
- (27) CD22;
- (28) CD79a;
- (29) CXCR5;
- (30) HLA-DOB;
- (31) P2X5;
- (32) CD72;
- (33) LY64;
- (34) FcRH1;
- (35) IRTA2;
- (36) TENB2;
- (37) PSMA-FOLH1;
- (38) SST;
- (38.1) SSTR2;



- (38.2) SSTR5;
- (38.3) SSTR1;
- (38.4) SSTR3;
- (38.5) SSTR4;
- (39) ITGAV;
- (40) ITGB6;
- (41) CEACAM5;
- (42) MET;
- (43) MUC1;
- (44) CA9;
- (45) EGFRvIII;
- (46) CD33;
- (47) CD19;
- (48) IL2RA;
- (49) AXL;
- (50) CD30-TNFRSF8;
- (51) BCMA-TNFRSF17;
- (52) CT Ags-CTA;
- (53) CD174 (Lewis Y)-FUT3;
- (54) CLEC14A;
- (55) GRP78-HSPA5;
- (56) CD70;
- (57) 干细胞特异性抗原;
- (58) ASG-5;
- (59) ENPP3;
- (60) PRR4;
- (61) GCC-GUCY2C;
- (62) Liv-1-SLC39A6;
- (63) 5T4;
- (64) CD56-NCMA1;
- (65) CanAg;
- (66) FOLR1;
- (67) GPNMB;
- (68) TIM-1-HAVCR1;
- (69) RG-1/前列腺肿瘤靶Mindin-Mindin/RG-1;
- (70) B7-H4-VTCN1;
- (71) PTK7;
- (72) CD37;
- (73) CD138-SDC1;

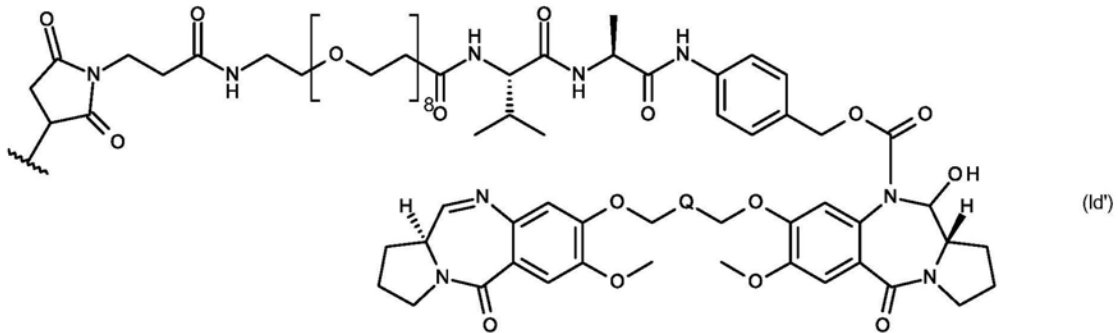
- (74) CD74;  
 (75) 紧密连接蛋白-CL;  
 (76) EGFR;  
 (77) Her3;  
 (78) RON-MST1R;  
 (79) EPHA2;  
 (80) CD20-MS4A1;  
 (81) 腱生蛋白C-TNC;  
 (82) FAP;  
 (83) DKK-1;  
 (84) CD52;  
 (85) CS1-SLAMF7;  
 (86) 内皮糖蛋白-ENG;  
 (87) 膜联蛋白A1-ANXA1;  
 (88) V-CAM (CD106) -VCAM1。

27. 根据权利要求26所述的缀合物, 其中Ar是亚苯基。

28. 根据权利要求26所述的缀合物, 其中 $G^{LL}$ 选自 $G^{LL1-1}$ 和 $G^{LL1-2}$ 。

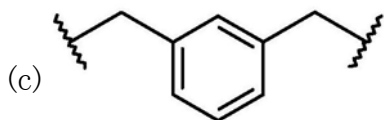
29. 根据权利要求28所述的缀合物, 其中 $G^{LL}$ 是 $G^{LL1-1}$ 。

30. 根据权利要求26所述的缀合物, 其中 $D^L$ 具有式(Id'):



其中Q选自:

- (a)  $-\text{CH}_2-$ ;  
 (b)  $-\text{C}_3\text{H}_6-$ ; 以及



31. 根据权利要求26所述的缀合物, 其中所述抗体或抗体的抗原结合片段是半胱氨酸工程化的抗体。

32. 根据权利要求26所述的缀合物, 其中p是1、2、3或4。

33. 一种组合物, 其包含根据权利要求26至32中任一项所述的缀合物的混合物, 其中在所述缀合物化合物的混合物中平均p为约1至约8。

34. 根据权利要求26至32中任一项所述的缀合物, 其在治疗中使用。

35. 一种药物组合物,其包含根据权利要求26至32中任一项所述的缀合物,以及药学上可接受的稀释剂、载体或赋形剂。

36. 根据权利要求26至32中任一项所述的缀合物或根据权利要求35所述的药物组合物,其在治疗受试者中的癌症中使用。

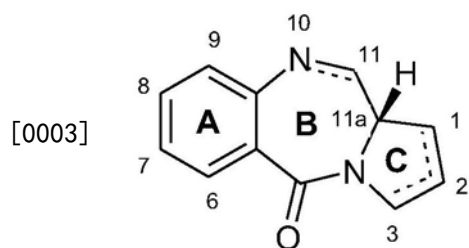
37. 根据权利要求26至32中任一项所述的缀合物在制造用于治疗癌症的药物的方法中的用途。

## 吡咯并苯并二氮杂萘缀合物

[0001] 本发明涉及包括吡咯并苯并二氮杂萘和相关二聚体 (PBD) 的缀合物, 以及用于制备所述缀合物的前体药物接头。

## 背景技术

[0002] 一些吡咯并苯并二氮杂萘 (PBD) 具有识别和结合特异性 DNA 序列的能力; 优选的序列是 PuG Pu。第一 PBD 抗肿瘤抗生素, 安曲霉素 (anthramycin), 发现于 1965 年 (Leimgruber 等, *J. Am. Chem. Soc.*, 87, 5793-5795 (1965); Leimgruber 等, *J. Am. Chem. Soc.*, 87, 5791-5793 (1965))。自那以后, 已报道了许多天然存在的 PBD, 并且已开发了用于各种类似物的 10 种以上的合成路线 (Thurston 等, *Chem. Rev.* 1994, 433-465 (1994))。家族成员包括修道院霉素 (abbeymycin) (Hochlowski 等, *J. Antibiotics*, 40, 145-148 (1987))、契卡霉素 (chicamycin) (Konishi 等, *J. Antibiotics*, 37, 200-206 (1984))、DC-81 (日本专利 58-180 487; Thurston 等, *Chem. Brit.*, 26, 767-772 (1990); Bose 等, *Tetrahedron*, 48, 751-758 (1992))、甲基氨基霉素 (Kuminoto 等, *J. Antibiotics*, 33, 665-667 (1980))、新茵霉素 A 和 B (Takeuchi 等, *J. Antibiotics*, 29, 93-96 (1976))、porothramycin (Tsunakawa 等, *J. Antibiotics*, 41, 1366-1373 (1988))、prothracarcin (Shimizu 等, *J. Antibiotics*, 29, 2492-2503 (1982); Langley 和 Thurston, *J. Org. Chem.*, 52, 91-97 (1987))、西班牙米星 (DC-102) (Hara 等, *J. Antibiotics*, 41, 702-704 (1988); Itoh 等, *J. Antibiotics*, 41, 1281-1284 (1988))、矛霉素 (sibiromycin) (Leber 等, *J. Am. Chem. Soc.*, 110, 2992-2993 (1988)) 以及托马霉素 (tomamycin) (Arima 等, *J. Antibiotics*, 25, 437-444 (1972))。PBD 具有以下通式结构:

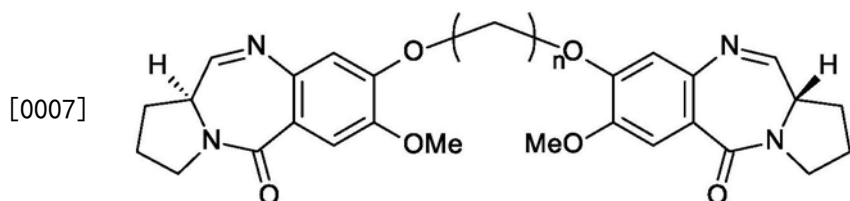


[0004] 它们的不同之处在于其芳香族 A 环和吡咯并 C 环两者中的取代基的数目、类型和位置以及 C 环的饱和度。在 B 环中, 在 N10-C11 位置处存在亚胺 (N=C)、甲醇胺 (NH-CH(OH)) 或甲醇胺甲基醚 (NH-CH(OMe)), 所述 N10-C11 位置为负责烷基化 DNA 的亲电中心。所有已知的天然产物在手性 C11a 位置处具有 (S)-构型, 当从 C 环朝向 A 环观察时, 所述位置为其提供右手扭转。这给予它们适当的三维形状, 用于与 B 型 DNA 的小沟的同螺旋性 (isohelicity), 从而导致在结合位点处的滑动配合 (snug fit) (Kohn, 在 *Antibiotics III* 中, Springer-Verlag, New York, 第 3-11 页 (1975); Hurley 和 Needham-VanDevanter, *Acc. Chem. Res.*, 19, 230-237 (1986))。它们在小沟中形成加合物的能力使得它们能够干扰 DNA 加工, 因此使其具有作为抗肿瘤剂的用途。

[0005] 先前已经公开, 此分子的生物活性可通过将两个 PBD 单元通过它们的 C8/C' -羟基

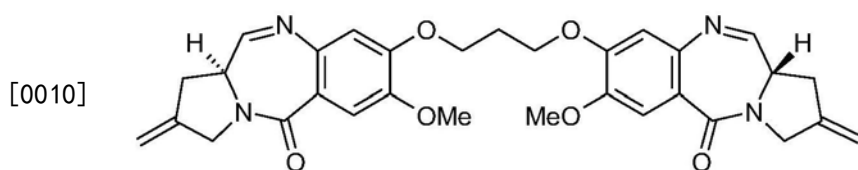
官能度经由柔性亚烷基接头接合在一起而加强 (Bose, D. S. 等, *J. Am. Chem. Soc.*, 114, 4939-4941 (1992); Thurston, D. E. 等, *J. Org. Chem.*, 61, 8141-8147 (1996))。PBD二聚体被认为形成序列选择性DNA损伤, 如回文结构5'-Pu-GATC-Py-3' 股间交联 (Smellie, M. 等, *Biochemistry*, 42, 8232-8239 (2003); Martin, C. 等, *Biochemistry*, 44, 4135-4147), 被认为主要负责其生物活性。

[0006] 第一二聚体 (Bose, D. S. 等, *J. Am. Chem. Soc.*, 114, 4939-4941 (1992)) 具有通式:



[0008] 其中n为3至6。在n为3和5时化合物显示出有前景的体外细胞毒性。然而, 当对n=3化合物 (DSB-120) 的抗肿瘤活性进行研究时 (Walton, M. 等, *Cancer Chemother Pharmacol* (1996) 38:431. doi:10.1007/s002800050507), 发现这并没有前景。这种前景的缺乏被认为是“由体内的高蛋白结合和/或广泛药物代谢造成的低肿瘤选择性和药物摄取的结果”。

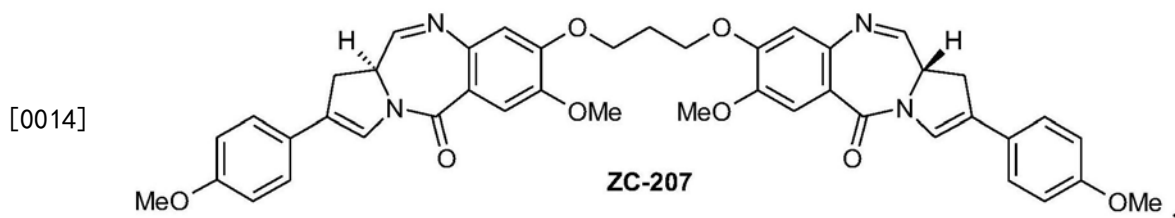
[0009] 为了改善这些化合物, 在“包括应遵循宿主小沟 (host minor groove) 的轮廓的C2/C2' 取代基”的情况下对化合物进行研究 (Gregson, S. J. 等, *Chem. Commun.*, 1999, 797-798. doi:10.1039/A809791G)。此化合物SG2000 (SJG-136):



[0011] 被发现“在皮摩尔区域中具有异常强烈的细胞毒性, 比DSB-120强效9000倍”。

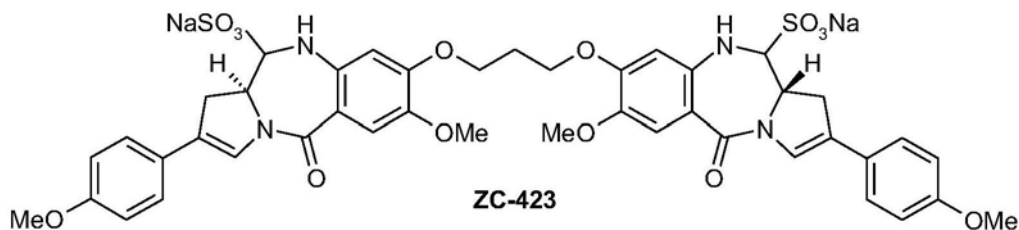
[0012] 此化合物 (还在Gregson, S. 等, *J. Med. Chem.*, 44, 737-748 (2001); Alley, M. C. 等, *Cancer Research*, 64, 6700-6706 (2004); 以及Hartley, J. A. 等, *Cancer Research*, 64, 6693-6699 (2004) 中讨论) 已经作为独立药剂参与临床试验, 例如, NCT02034227研究了其在治疗急性骨髓性白血病和慢性淋巴细胞性白血病中的用途 (参见: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02034227>)。

[0013] 携带C2芳基取代基与内型不饱和基团的二聚PBD化合物, 如SG2202 (ZC-207), 公开于WO 2005/085251中:



[0015] 以及WO2006/111759中, 所述PBD化合物的亚硫酸氢盐, 例如SG2285 (ZC-423):

[0016]



[0017] 这些化合物已经显示出为高度可用的细胞毒性药剂 (Howard, P. W. 等, *Bioorg. Med. Chem.* (2009), doi:10.1016/j.bmc1.2009.09.012)。

[0018] 在含有ADC的PBD的综述 (Manta j, J. 等, *Angew. Chem. Int. Ed.* (2016), 55, 2-29; DOI:10.1002/anie.201510610) 中, 论述了PBD二聚体的SAR。SAR的汇总呈现于图3-B“C2-外型型和C1-C2/C2-C3不饱和基团增强活性”中。更详细的论述提供于章节2.4中, 其中说到:

[0019] “DSB-120具有较差的体内活性, 这部分地由于其与细胞含巯基分子如谷胱甘肽的高反应性。然而, 如在SJG-136中一样C2/C2'-外型不饱和基团的引入导致DNA结合亲和力和细胞毒性的总体增加, 以及由于更多的试剂可能到达其靶DNA而造成的与细胞亲核物质的较低反应性。”

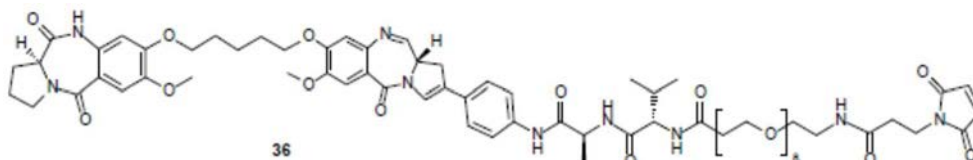
[0020] WO 2007/085930描述了具有用于连接至细胞结合剂 (如抗体) 的接头基团的二聚体PBD化合物的制备。接头存在于连接二聚体的单体PBD单元的桥中。

[0021] 具有用于连接至细胞结合剂 (如抗体) 的接头基团的二聚体PBD化合物描述于WO 2011/130598中。这些化合物中的接头连接于可用的N10位置中的一个, 并且通常因酶对接头基团的作用而被切割。二聚体PBD化合物在C环中具有内型或外型不饱和基团。

[0022] WO 2014/057074和WO 2015/052322描述了经由N10位置结合在一个单体上的特异性PBD二聚体缀合物, 并且所有这些化合物在C环中具有内型不饱和基团。

[0023] WO2014/096365公开了化合物:

[0024]

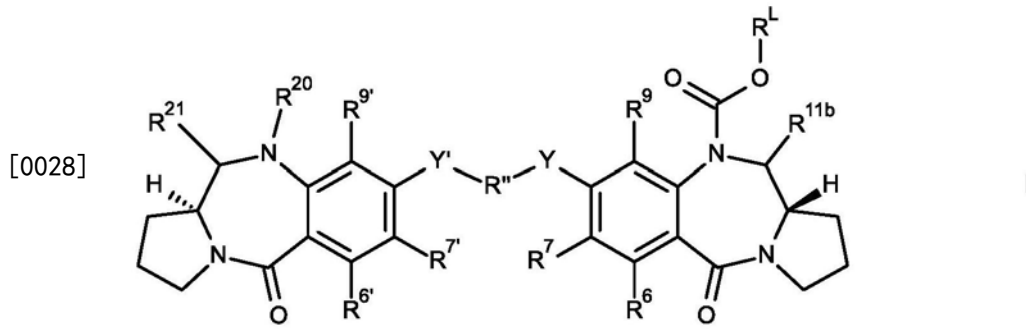


[0025] 其中C环中缺乏不饱和基团与B环是双内酰胺结合并且因此不具有共价结合DNA的能力。

## 发明内容

[0026] 本发明提供了PBD二聚体药物接头和缀合物, 其中C环不具有内型或外型不饱和基团。

[0027] 本发明的第一方面包括一种具有式I的化合物:



[0029] 以及其盐和溶剂合物,其中:

[0030]  $R^6$ 和 $R^9$ 独立地选自H、R、OH、OR、SH、SR、 $NH_2$ 、NHR、NRR'、硝基、 $Me_3Sn$ 以及卤素;

[0031] 其中R和R'独立地选自任选取代的 $C_{1-12}$ 烷基、 $C_{3-20}$ 杂环基以及 $C_{5-20}$ 芳基;

[0032]  $R^7$ 选自H、R、OH、OR、SH、SR、 $NH_2$ 、NHR、NRR'、硝基、 $Me_3Sn$ 以及卤素;

[0033]  $R''$ 为 $C_{3-12}$ 亚烷基,所述链可被一个或多个杂原子中断,例如O、S、 $NR^{N2}$ (其中 $R^{N2}$ 为H或 $C_{1-4}$ 烷基),和/或芳环,例如苯或吡啶;

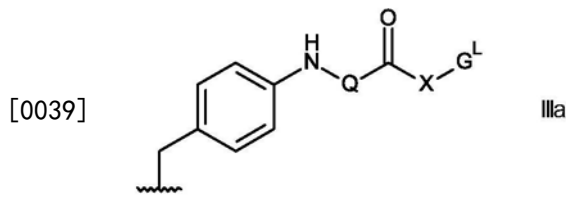
[0034] Y和Y'选自O、S或NH;

[0035]  $R^{6'}$ 、 $R^{7'}$ 、 $R^{9'}$ 分别选自与 $R^6$ 、 $R^7$ 和 $R^9$ 相同的基团;

[0036]  $R^{11b}$ 选自OH、 $OR^A$ ,其中 $R^A$ 为 $C_{1-4}$ 烷基;并且

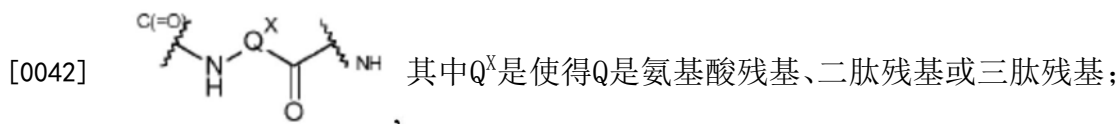
[0037]  $R^L$ 为用于连接至细胞结合剂的接头,其选自:

[0038] (iiia):

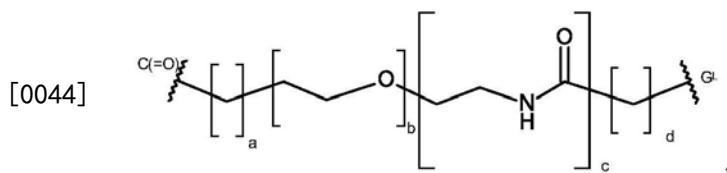


[0040] 其中

[0041] Q是:



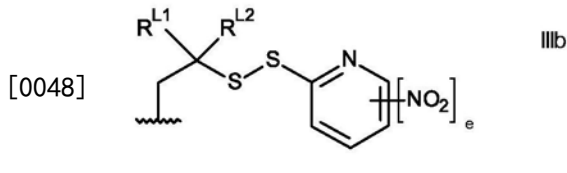
[0043] X是:



[0045] 其中 $a=0$ 至 $5$ , $b=0$ 至 $16$ , $c=0$ 或 $1$ , $d=0$ 至 $5$ ;

[0046]  $G^L$ 为用于连接至配体单元的接头;以及

[0047] (iiib):



[0049] 其中R<sup>L1</sup>和R<sup>L2</sup>独立地选自H和甲基,或与它们所结合的碳原子一起形成亚环丙基或亚环丁基;

[0050] 并且e为0或1;

[0051] 或者

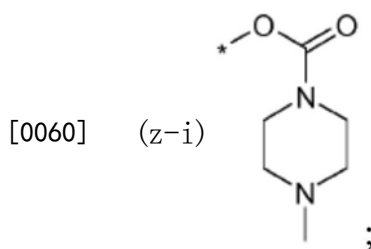
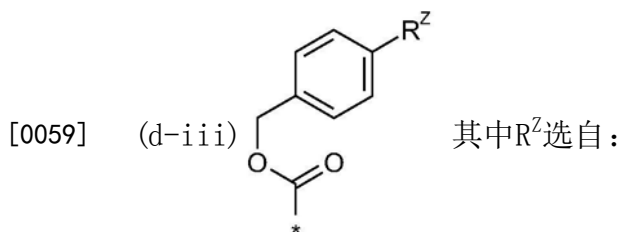
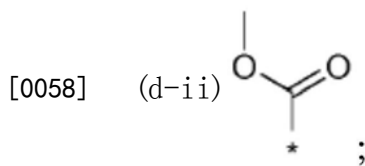
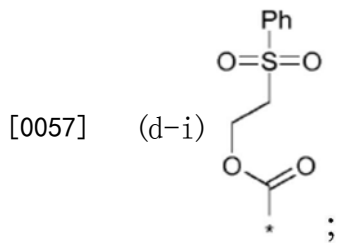
[0052] (a) R<sup>20</sup>是H,并且R<sup>21</sup>是OH或OR<sup>A</sup>,其中R<sup>A</sup>是C<sub>1-4</sub>烷基;或

[0053] (b) R<sup>20</sup>和R<sup>21</sup>在它们所结合的氮原子与碳原子之间形成氮-碳双键;或

[0054] (c) R<sup>20</sup>为H并且R<sup>21</sup>为SO<sub>2</sub>M,其中z为2或3并且M为一价的药学上可接受的阳离子;或

[0055] (d) R<sup>20</sup>为H并且R<sup>21</sup>为H;或

[0056] (e) R<sup>21</sup>为OH或OR<sup>A</sup>,其中R<sup>A</sup>为C<sub>1-4</sub>烷基并且R<sup>20</sup>选自:



[0061] (z-ii) OC(=O)CH<sub>3</sub>;

[0062] (z-iii) NO<sub>2</sub>;

[0063] (z-iv) OMe;

[0064] (z-v) 葡萄糖醛酸苷 (glucoronide);

[0065] (z-vi) -C(=O)-X<sub>1</sub>-NHC(=O)-X<sub>2</sub>-NH-R<sup>ZC</sup>, 其中-C(=O)-X<sub>1</sub>-NH-和-C(=O)-X<sub>2</sub>-NH-代



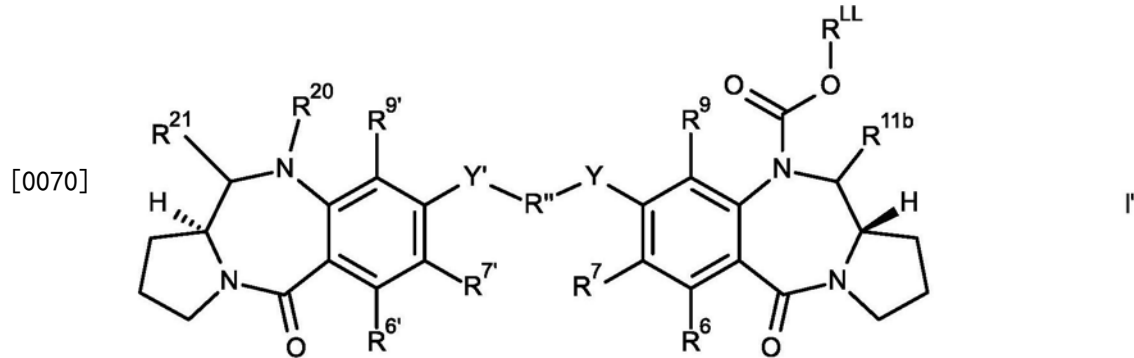
表中性氨基酸残基并且 $R^{ZC}$ 选自Me、OMe、OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OMe。

[0066] 已发现此类药物接头进行与配体单元如抗体的缀合准备。

[0067] 本发明的第二方面提供了式II的缀合物：

[0068]  $L-(D^L)_p$  (II)

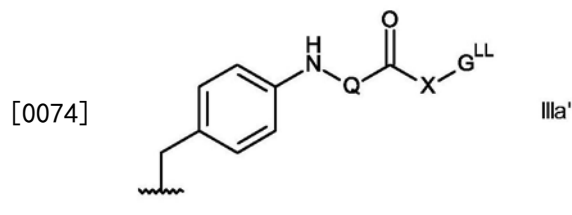
[0069] 其中L为配体单元(即,靶向药剂), $D^L$ 为式I'的药物接头单元：



[0071] 其中 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^9$ 、 $R^{11b}$ 、Y、 $R''$ 、Y'、 $R^{6'}$ 、 $R^{7'}$ 、 $R^{9'}$ 、 $R^{20}$ 和 $R^{21}$ 如本发明的第一方面中所定义；

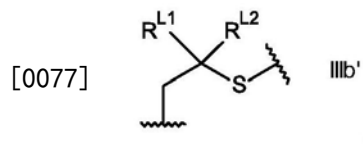
[0072]  $R^{LL}$ 为用于连接至细胞结合剂的接头,其选自：

[0073] (iiia)：



[0075] 其中Q和X如第一方面所定义并且 $G^{LL}$ 是连接至配体单元的接头；以及

[0076] (iiib)：



[0078] 其中 $R^{L1}$ 和 $R^{L2}$ 如第一方面所定义；

[0079] 其中p为1至20的整数。

[0080] 下文更全面地描述的配体单元为结合至靶标部分的靶向药剂。配体单元可以,例如,特异性地结合至细胞组分(细胞结合剂)或其他目标靶分子。配体单元可以是,例如,蛋白质、多肽或肽,如抗体、抗体的抗原结合片段、或其他结合剂,如Fc融合蛋白。

[0081] 已发现这些缀合物具有导致高治疗指数的高耐受性,从而使得它们有希望用作临床开发的候选物。

[0082] 本发明的第三方面提供了本发明的第二方面的缀合物在制造用于治疗增殖性疾病的药物中的用途。第三方面还提供了用于治疗增殖性疾病的本发明的第二方面的缀合物。第三方面还提供了一种治疗增殖性疾病的方法,其包括向有需要的患者施用治疗有效量的本发明的第二方面的缀合物。

[0083] 本领域的普通技术人员能够容易地确定候选缀合物是否治疗任何特定细胞类型的增殖性病状。例如,可以方便地用来评估由特定化合物提供的活性的测定描述于以下实

施例中。

[0084] 本发明的第四方面提供了本发明的第二方面的缀合物的合成,其包括将本发明的第一方面的化合物(药物接头)与配体单元缀合。

[0085] 定义

[0086] 取代基

[0087] 如本文所用的短语“任选取代的”涉及可为未取代的或可为取代的亲本基团。

[0088] 除非另外指明,否则如本文所用的术语“取代的”涉及携带一个或多个取代基的亲本基团。术语“取代基”在本文中以常规意义使用并且是指共价连接至亲本基团或在适当是与亲本基团融合的化学部分。熟知广泛多种取代基,并且还熟知其形成以及引入多种亲本基团中的方法。

[0089] 以下更详细地描述取代基的实例。

[0090]  $C_{1-12}$ 烷基:如本文所用的术语“ $C_{1-12}$ 烷基”涉及通过从具有1至12个碳原子的烃化合物的碳原子处移除氢原子获得的一价部分,其可以是脂族或脂环族的,并且可以是饱和或不饱和的(例如部分不饱和的、完全不饱和的)。如本文所用的术语“ $C_{1-4}$ 烷基”涉及通过从具有1至4个碳原子的烃化合物的碳原子处移除氢原子获得的一价部分,其可以是脂族或脂环族的,并且可以是饱和或不饱和的(例如部分不饱和的、完全不饱和的)。因此,术语“烷基”包括以下论述的亚类烯基、炔基、环烷基等。

[0091] 饱和烷基的实例包括但不限于甲基( $C_1$ )、乙基( $C_2$ )、丙基( $C_3$ )、丁基( $C_4$ )、戊基( $C_5$ )、己基( $C_6$ )以及庚基( $C_7$ )。

[0092] 饱和的直链烷基的实例包括但不限于甲基( $C_1$ )、乙基( $C_2$ )、正丙基( $C_3$ )、正丁基( $C_4$ )、正戊基(戊基)( $C_5$ )、正己基( $C_6$ )以及正庚基( $C_7$ )。

[0093] 饱和的支链烷基的实例包括异丙基( $C_3$ )、异丁基( $C_4$ )、仲丁基( $C_4$ )、叔丁基( $C_4$ )、异戊基( $C_5$ )以及新戊基( $C_5$ )。

[0094]  $C_{2-12}$ 烯基:如本文所用的术语“ $C_{2-12}$ 烯基”涉及具有一个或多个碳-碳双键的烷基。

[0095] 不饱和烯基的实例包括但不限于乙烯基(乙烯基,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ )、1-丙烯基( $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_3$ )、2-丙烯基(烯丙基,  $-\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}_2$ )、异丙烯基(1-甲基乙烯基,  $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ )、丁烯基( $C_4$ )、戊烯基( $C_5$ )以及己烯基( $C_6$ )。

[0096]  $C_{2-12}$ 炔基:如本文所用的术语“ $C_{2-12}$ 炔基”涉及具有一个或多个碳-碳三键的烷基。

[0097] 不饱和炔基的实例包括但不限于乙炔基( $-\text{C}\equiv\text{CH}$ )和2-丙炔基(炔丙基,  $-\text{CH}_2-\text{C}\equiv\text{CH}$ )。

[0098]  $C_{3-12}$ 环烷基:如本文所用的术语“ $C_{3-12}$ 环烷基”涉及也是环基的烷基;即,通过从环状烃(碳环)化合物的脂环环原子处移除氢原子获得的一价部分,所述部分具有3至7个碳原子,包括3至7个环原子。

[0099] 环烷基的实例包括但不限于衍生自以下的环烷基:

[0100] 饱和的单环烃化合物:

[0101] 环丙烷( $C_3$ )、环丁烷( $C_4$ )、环戊烷( $C_5$ )、环己烷( $C_6$ )、环庚烷( $C_7$ )、甲基环丙烷( $C_4$ )、二甲基环丙烷( $C_5$ )、甲基环丁烷( $C_5$ )、二甲基环丁烷( $C_6$ )、甲基环戊烷( $C_6$ )、二甲基环戊烷( $C_7$ )以及甲基环己烷( $C_7$ );

[0102] 不饱和的单环烃化合物:

[0103] 环丙烯(C<sub>3</sub>)、环丁烯(C<sub>4</sub>)、环戊烯(C<sub>5</sub>)、环己烯(C<sub>6</sub>)、甲基环丙烯(C<sub>4</sub>)、二甲基环丙烯(C<sub>5</sub>)、甲基环丁烯(C<sub>5</sub>)、二甲基环丁烯(C<sub>6</sub>)、甲基环戊烯(C<sub>6</sub>)、二甲基环戊烯(C<sub>7</sub>)以及甲基环己烯(C<sub>7</sub>)；以及

[0104] 饱和的多环烃化合物：

[0105] 降莰烷(norcarane) (C<sub>7</sub>)、降蒎烷(norpinane) (C<sub>7</sub>)、降莰烷(norbornane) (C<sub>7</sub>)。

[0106] C<sub>3-20</sub>杂环基：如本文所用的术语“C<sub>3-20</sub>杂环基”涉及通过从杂环化合物的环原子处移除氢原子获得的一价部分，所述部分具有3至20个环原子，其中1至10个为环杂原子。优选地，各环均具有3至7个环原子，其中1至4个环原子为环杂原子。

[0107] 在上下文中，前缀(例如C<sub>3-20</sub>、C<sub>3-7</sub>、C<sub>5-6</sub>等)表示环原子的数目或环原子的数目的范围，无论为碳原子或杂原子。例如，如本文所用的术语“C<sub>5-6</sub>杂环基”涉及具有5或6个环原子的杂环基。

[0108] 单环杂环基的实例包括但不限于衍生自以下的杂环基：

[0109] N<sub>1</sub>：氮丙啶(C<sub>3</sub>)、氮杂环丁烷(C<sub>4</sub>)、吡咯烷(四氢吡咯)(C<sub>5</sub>)、吡咯啉(例如，3-吡咯啉、2,5-二氢吡咯)(C<sub>5</sub>)、2H-吡咯或3H-吡咯(异吡咯、异唑)(C<sub>5</sub>)、哌啶(C<sub>6</sub>)、二氢吡啶(C<sub>6</sub>)、四氢吡啶(C<sub>6</sub>)、吡庚因(C<sub>7</sub>)；

[0110] O<sub>1</sub>：环氧乙烷(C<sub>3</sub>)、氧杂环丁烷(C<sub>4</sub>)、氧杂环戊烷(四氢呋喃)(C<sub>5</sub>)、氧杂环戊二烯(oxole)(二氢呋喃)(C<sub>5</sub>)、噁烷(四氢吡喃)(C<sub>6</sub>)、二氢吡喃(C<sub>6</sub>)、吡喃(C<sub>6</sub>)、氧杂环庚三烯(C<sub>7</sub>)；

[0111] S<sub>1</sub>：硫杂丙环(thiirane)(C<sub>3</sub>)、硫杂环丁烷(thietane)(C<sub>4</sub>)、硫杂环戊烷(thiolane)(四氢噻吩)(C<sub>5</sub>)、噻烷(四氢噻喃)(C<sub>6</sub>)、硫杂环庚烷(thiepane)(C<sub>7</sub>)；

[0112] O<sub>2</sub>：二氧戊环(C<sub>5</sub>)、二氧杂环己环(C<sub>6</sub>)和二氧杂环庚烷(C<sub>7</sub>)；

[0113] O<sub>3</sub>：三噁烷(C<sub>6</sub>)；

[0114] N<sub>2</sub>：咪唑烷(C<sub>5</sub>)、吡唑烷(二氮杂环戊烷(diazolidine))(C<sub>5</sub>)、咪唑啉(C<sub>5</sub>)、吡唑啉(二氢吡唑)(C<sub>5</sub>)、哌嗪(C<sub>6</sub>)；

[0115] N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>：四氢噁唑(C<sub>5</sub>)、二氢噁唑(C<sub>5</sub>)、四氢异噁唑(C<sub>5</sub>)、二氢异噁唑(C<sub>5</sub>)、吗啉(C<sub>6</sub>)、四氢噁嗪(C<sub>6</sub>)、二氢噁嗪(C<sub>6</sub>)、噁嗪(C<sub>6</sub>)；

[0116] N<sub>1</sub>S<sub>1</sub>：噻唑啉(C<sub>5</sub>)、噻唑烷(C<sub>5</sub>)、硫代吗啉(C<sub>6</sub>)；

[0117] N<sub>2</sub>O<sub>1</sub>：噁二嗪(C<sub>6</sub>)；

[0118] O<sub>1</sub>S<sub>1</sub>：氧硫杂环戊二烯(oxathiole)(C<sub>5</sub>)和氧硫杂环己烷(oxathiane)(噻噁烷)(C<sub>6</sub>)；以及，

[0119] N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>S<sub>1</sub>：噁噻嗪(C<sub>6</sub>)。

[0120] 取代的单环杂环基的实例包括衍生自呈环状形式的糖类的杂环基，所述糖类例如呋喃糖(C<sub>5</sub>)，如阿拉伯呋喃糖、来苏呋喃糖、核呋喃糖和木呋喃糖；以及吡喃糖(C<sub>6</sub>)，如阿洛吡喃糖(allopyranose)、阿卓吡喃糖(altropyranose)、葡萄吡喃糖、甘露吡喃糖、古洛吡喃糖(gulopyranose)、艾杜吡喃糖(idopyranose)、半乳吡喃糖以及太洛吡喃糖(talopyranose)。

[0121] C<sub>5-20</sub>芳基：如本文所用的术语“C<sub>5-20</sub>芳基”涉及通过从芳族化合物的芳族环原子处移除氢原子获得的一价部分，所述部分具有3至20个环原子。如本文所用的术语“C<sub>5-7</sub>芳基”涉及通过从芳族化合物的芳族环原子处移除氢原子获得的一价部分，所述部分具有5至7个

环原子并且如本文所用的术语“C<sub>5-10</sub>芳基”涉及通过从芳族化合物的芳族环原子处移除氢原子获得的一价部分,所述部分具有5至10个环原子。优选地,每个环具有5至7个环原子。

[0122] 在上下文中,前缀(例如C<sub>3-20</sub>、C<sub>5-7</sub>、C<sub>5-6</sub>、C<sub>5-10</sub>等)表示环原子的数目或环原子的数目的范围,无论为碳原子或杂原子。例如,如本文所用的术语“C<sub>5-6</sub>芳基”涉及具有5或6个环原子的芳基。

[0123] 环原子可以是全部碳原子,如在“碳芳基”中。

[0124] 碳芳基的实例包括但不限于衍生自苯(即苯基)(C<sub>6</sub>)、萘(C<sub>10</sub>)、蒽(azulene)(C<sub>10</sub>)、蒽(C<sub>14</sub>)、菲(C<sub>14</sub>)、蔡并蔡(C<sub>18</sub>)以及嵌二蔡(C<sub>16</sub>)的那些。

[0125] 包括其中至少一个为芳环的稠环的芳基的实例包括但不限于衍生自茛满(例如2,3-二氢-1H-茛)(C<sub>9</sub>)、茛(C<sub>9</sub>)、异茛(C<sub>9</sub>)、四氢化蔡(1,2,3,4-四氢蔡(C<sub>10</sub>))、二氢茛(C<sub>12</sub>)、茛(C<sub>13</sub>)、非那烯(phenalene)(C<sub>13</sub>)、醋菲(acephenanthrene)(C<sub>15</sub>)以及醋蒽(aceanthrene)(C<sub>16</sub>)的基团。

[0126] 另选地,环原子可包括一个或多个杂原子,如在“杂芳基”中。单环杂芳基的实例包括但不限于衍生自以下的那些:

[0127] N<sub>1</sub>:吡咯(唑)(C<sub>5</sub>)、吡啶(吡嗪)(C<sub>6</sub>);

[0128] O<sub>1</sub>:呋喃(氧杂环戊二烯)(C<sub>5</sub>);

[0129] S<sub>1</sub>:噻吩(硫醇)(C<sub>5</sub>);

[0130] N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>:噁唑(C<sub>5</sub>)、异噁唑(C<sub>5</sub>)、异噁嗪(C<sub>6</sub>);

[0131] N<sub>2</sub>O<sub>1</sub>:噁二唑(呋咱)(C<sub>5</sub>);

[0132] N<sub>3</sub>O<sub>1</sub>:噁三唑(C<sub>5</sub>);

[0133] N<sub>1</sub>S<sub>1</sub>:噻唑(C<sub>5</sub>)、异噻唑(C<sub>5</sub>);

[0134] N<sub>2</sub>:咪唑(1,3-二唑)(C<sub>5</sub>)、吡唑(1,2-二唑)(C<sub>5</sub>)、哒嗪(1,2-二嗪)(C<sub>6</sub>)、嘧啶(1,3-二嗪)(C<sub>6</sub>) (例如,胞嘧啶、胸腺嘧啶、尿嘧啶)、吡嗪(1,4-二嗪)(C<sub>6</sub>);

[0135] N<sub>3</sub>:三唑(C<sub>5</sub>)、三嗪(C<sub>6</sub>);以及,

[0136] N<sub>4</sub>:四唑(C<sub>5</sub>)。

[0137] 包含稠环的杂芳基的实例包括但不限于:

[0138] C<sub>9</sub>(具有2个稠环),其衍生自苯并呋喃(O<sub>1</sub>)、异苯并呋喃(O<sub>1</sub>)、吡啶(N<sub>1</sub>)、异吡啶(N<sub>1</sub>)、中氮茛(N<sub>1</sub>)、吡啶啉(N<sub>1</sub>)、异吡啶啉(N<sub>1</sub>)、嘌呤(N<sub>4</sub>) (例如,腺嘌呤、鸟嘌呤)、苯并咪唑(N<sub>2</sub>)、吡唑(N<sub>2</sub>)、苯并噁唑(N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>)、苯并异噁唑(N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>)、苯并二噁茂(O<sub>2</sub>)、苯并呋咱(N<sub>2</sub>O<sub>1</sub>)、苯并三唑(N<sub>3</sub>)、苯并硫代呋喃(S<sub>1</sub>)、苯并噻唑(N<sub>1</sub>S<sub>1</sub>)、苯并噻二唑(N<sub>2</sub>S);

[0139] C<sub>10</sub>(具有2个稠环),其衍生自苯并吡喃(O<sub>1</sub>)、异苯并吡喃(O<sub>1</sub>)、苯并二氢吡喃(O<sub>1</sub>)、异苯并二氢吡喃(O<sub>1</sub>)、苯并噁烷(O<sub>2</sub>)、喹啉(N<sub>1</sub>)、异喹啉(N<sub>1</sub>)、喹嗪(N<sub>1</sub>)、苯并噁嗪(N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>)、苯并二嗪(N<sub>2</sub>)、吡啶并吡啶(N<sub>2</sub>)、喹啉啉(N<sub>2</sub>)、喹唑啉(N<sub>2</sub>)、噌啉(N<sub>2</sub>)、酞嗪(N<sub>2</sub>)、二氮杂蔡(N<sub>2</sub>)、蝶啶(N<sub>4</sub>);

[0140] C<sub>11</sub>(具有2个稠环),其衍生自苯并二氮杂蒽(N<sub>2</sub>);

[0141] C<sub>13</sub>(具有3个稠环),其衍生自咪唑(N<sub>1</sub>)、二苯并呋喃(O<sub>1</sub>)、二苯并噻吩(S<sub>1</sub>)、咪啉(N<sub>2</sub>)、蔡嵌间二氮杂苯(N<sub>2</sub>)、吡啶并吡啶(N<sub>2</sub>);以及,

[0142] C<sub>14</sub>(具有3个稠环),其衍生自吡啶(N<sub>1</sub>)、咕吨(O<sub>1</sub>)、噻吨(S<sub>1</sub>)、二苯并对二噁英(oxanthrene)(O<sub>2</sub>)、氧硫杂蒽(O<sub>1</sub>S<sub>1</sub>)、吩嗪(N<sub>2</sub>)、吩噁嗪(N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>)、吩噻嗪(N<sub>1</sub>S<sub>1</sub>)、噻蒽(S<sub>2</sub>)、菲啶

(N<sub>1</sub>)、菲咯啉(N<sub>2</sub>)、吩嗪(N<sub>2</sub>)。

[0143] 无论单独或为另一取代基的一部分的以上基团均可自身任选被一个或多个选自自身及以下列出的其他取代基的基团取代。

[0144] 卤素：-F、-Cl、-Br和-I。

[0145] 羟基：-OH。

[0146] 醚：-OR，其中R是醚取代基，例如，C<sub>1-7</sub>烷基(也称为C<sub>1-7</sub>烷氧基，以下进行讨论)、C<sub>3-20</sub>杂环基(也称为C<sub>3-20</sub>杂环氧基)或C<sub>5-20</sub>芳基(也称为C<sub>5-20</sub>芳基氧基)，优选C<sub>1-7</sub>烷基。

[0147] 烷氧基：-OR，其中R为烷基，例如，C<sub>1-7</sub>烷基。C<sub>1-7</sub>烷氧基的实例包括但不限于-OMe(甲氧基)、-OEt(乙氧基)、-O(nPr)(正丙氧基)、-O(iPr)(异丙氧基)、-O(nBu)(正丁氧基)、-O(sBu)(仲丁氧基)、-O(iBu)(异丁氧基)以及-O(tBu)(叔丁氧基)。

[0148] 缩醛：-CH(OR<sup>1</sup>)(OR<sup>2</sup>)，其中R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>独立地为缩醛取代基，例如，C<sub>1-7</sub>烷基、C<sub>3-20</sub>杂环基或C<sub>5-20</sub>芳基，优选C<sub>1-7</sub>烷基，或在“环状”缩醛基团的情况下，R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>，与它们所连接的两个氧原子，和它们所连接的碳原子一起，形成具有4至8个环原子的杂环。缩醛基团的实例包括但不限于-CH(OMe)<sub>2</sub>、-CH(OEt)<sub>2</sub>和-CH(OMe)(OEt)。

[0149] 半缩醛：-CH(OH)(OR<sup>1</sup>)，其中R<sup>1</sup>为半缩醛取代基，例如，C<sub>1-7</sub>烷基、C<sub>3-20</sub>杂环基或C<sub>5-20</sub>芳基，优选C<sub>1-7</sub>烷基。半缩醛基团的实例包括但不限于-CH(OH)(OMe)和-CH(OH)(OEt)。

[0150] 缩酮：-CR(OR<sup>1</sup>)(OR<sup>2</sup>)，其中R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>如对于缩醛所定义，并且R是除氢之外的缩酮取代基，例如，C<sub>1-7</sub>烷基、C<sub>3-20</sub>杂环基或C<sub>5-20</sub>芳基，优选C<sub>1-7</sub>烷基。缩酮基团的实例包括但不限于-C(Me)(OMe)<sub>2</sub>、-C(Me)(OEt)<sub>2</sub>、-C(Me)(OMe)(OEt)、-C(Et)(OMe)<sub>2</sub>、-C(Et)(OEt)<sub>2</sub>以及-C(Et)(OMe)(OEt)。

[0151] 半缩酮：-CR(OH)(OR<sup>1</sup>)，其中R<sup>1</sup>如对于半缩醛所定义，并且R是除氢之外的半缩酮取代基，例如，C<sub>1-7</sub>烷基、C<sub>3-20</sub>杂环基或C<sub>5-20</sub>芳基，优选C<sub>1-7</sub>烷基。半缩醛基团的实例包括但不限于-C(Me)(OH)(OMe)、-C(Et)(OH)(OMe)、-C(Me)(OH)(OEt)以及-C(Et)(OH)(OEt)。

[0152] 氧代基(酮、-酮)：=O。

[0153] 硫酮(thione)(硫酮(thio ketone))：=S。

[0154] 亚氨基(亚胺)：=NR，其中R为亚氨基取代基，例如，氢、C<sub>1-7</sub>烷基、C<sub>3-20</sub>杂环基或C<sub>5-20</sub>芳基，优选氢或C<sub>1-7</sub>烷基。酯基的实例包括但不限于=NH、=NMe、=NEt及=NPh。

[0155] 甲酰基(醛、甲醛)：-C(=O)H。

[0156] 酰基(酮基)：-C(=O)R，其中R是酰基取代基，例如，C<sub>1-7</sub>烷基(也称为C<sub>1-7</sub>烷基酰基或C<sub>1-7</sub>烷酰基)、C<sub>3-20</sub>杂环基(也称为C<sub>3-20</sub>杂环酰基)或C<sub>5-20</sub>芳基(也称为C<sub>5-20</sub>芳基酰基)，优选C<sub>1-7</sub>烷基。酰基的实例包括但不限于-C(=O)CH<sub>3</sub>(乙酰基)、-C(=O)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>(丙酰基)、-C(=O)C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>(叔丁酰基)和-C(=O)Ph(苯甲酰基、酰苯基(phenone))。

[0157] 羧基(羧酸)：-C(=O)OH。

[0158] 硫代羧基(硫代羧酸)：-C(=S)SH。

[0159] 硫醇羧基(硫醇羧酸)：-C(=O)SH。

[0160] 硫酮羧基(硫酮羧酸)：-C(=S)OH。

[0161] 亚胺酸：-C(=NH)OH。

[0162] 异羟肟酸：-C(=NOH)OH。

[0163] 酯(羧酸酯、羧酸的酯、氧羰基)：-C(=O)OR，其中R是酯取代基，例如，C<sub>1-7</sub>烷基、

C<sub>3-20</sub>杂环基或C<sub>5-20</sub>芳基,优选C<sub>1-7</sub>烷基。酯基的实例包括但不限于-C(=O)OCH<sub>3</sub>、-C(=O)OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-C(=O)OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>和-C(=O)OPh。

[0164] 酰氧基(反酯):-OC(=O)R,其中R是酰氧基取代基,例如,C<sub>1-7</sub>烷基、C<sub>3-20</sub>杂环基或C<sub>5-20</sub>芳基,优选C<sub>1-7</sub>烷基。酰氧基的实例包括但不限于-OC(=O)CH<sub>3</sub>(乙酰氧基)、-OC(=O)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-OC(=O)C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>、-OC(=O)Ph和-OC(=O)CH<sub>2</sub>Ph。

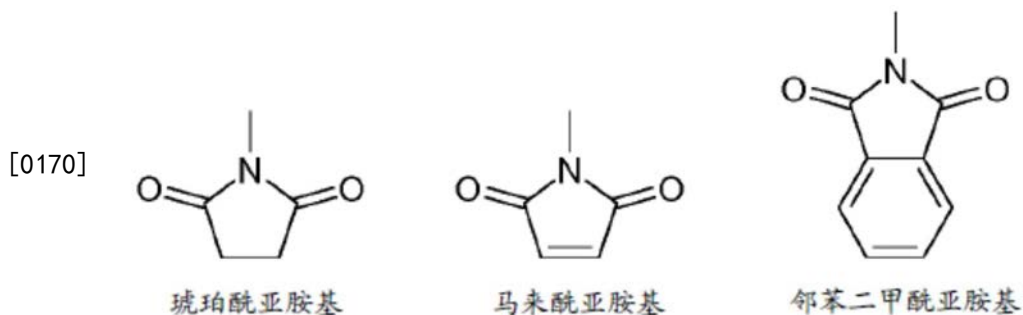
[0165] 氧基羰基氧基:-OC(=O)OR,其中R是酯取代基,例如,C<sub>1-7</sub>烷基、C<sub>3-20</sub>杂环基或C<sub>5-20</sub>芳基,优选C<sub>1-7</sub>烷基。酯基的实例包括但不限于-OC(=O)OCH<sub>3</sub>、-OC(=O)OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-OC(=O)OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>和-OC(=O)OPh。

[0166] 氨基:-NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>,其中R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>独立地为氨基取代基,例如,氢、C<sub>1-7</sub>烷基(也称为C<sub>1-7</sub>烷基氨基或二-C<sub>1-7</sub>烷基氨基)、C<sub>3-20</sub>杂环基或C<sub>5-20</sub>芳基,优选H或C<sub>1-7</sub>烷基,或,在“环状”氨基的情况下,R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>与它们所连接的氮原子一起形成具有4至8个环原子的杂环。氨基可以是伯(-NH<sub>2</sub>)、仲(-NHR<sup>1</sup>)或叔(-NHR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>),并且在阳离子形式中,可以是季(-<sup>+</sup>NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>R<sup>3</sup>)。氨基的实例包括但不限于-NH<sub>2</sub>、-NHCH<sub>3</sub>、-NHC(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>和-NHPh。环状氨基的实例包括但不限于氮杂环丙烷基、氮杂环丁烷基、吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、吗啉代以及硫吗啉代。

[0167] 酰氨基(氨基甲酰基、氨甲酰基、氨基羰基、羧基酰胺):-C(=O)NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>,其中R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>独立地为氨基取代基,如对于氨基所定义。酰氨基的实例包括但不限于-C(=O)NH<sub>2</sub>、-C(=O)NHCH<sub>3</sub>、-C(=O)N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-C(=O)NHCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>和-C(=O)N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>,以及其中R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>与它们所连接的氮原子一起形成杂环结构的酰氨基,例如哌啶基羰基、吗啉代羰基、硫吗啉代羰基和哌嗪基羰基。

[0168] 硫代酰氨基(硫代氨甲酰基):-C(=S)NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>,其中R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>独立地为氨基取代基,如对于氨基所定义。酰氨基的实例包括但不限于-C(=S)NH<sub>2</sub>、-C(=S)NHCH<sub>3</sub>、-C(=S)N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>和-C(=S)NHCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>。

[0169] 酰氨基(Acylamido)(酰基氨基(acylamino)):-NR<sup>1</sup>C(=O)R<sup>2</sup>,其中R<sup>1</sup>是酰胺取代基,例如,氢、C<sub>1-7</sub>烷基、C<sub>3-20</sub>杂环基或C<sub>5-20</sub>芳基,优选氢或C<sub>1-7</sub>烷基,并且R<sup>2</sup>是酰基取代基,例如,C<sub>1-7</sub>烷基、C<sub>3-20</sub>杂环基或C<sub>5-20</sub>芳基,优选氢或C<sub>1-7</sub>烷基。酰基酰胺基团的实例包括但不限于-NHC(=O)CH<sub>3</sub>、-NHC(=O)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>和-NHC(=O)Ph。R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>可一起形成环状结构,如例如在琥珀酰亚胺基、马来酰亚胺基和邻苯二甲酰亚胺基中:



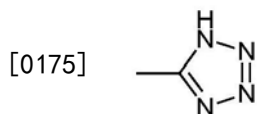
[0171] 氨基羰基氧基:-OC(=O)NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>,其中R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>独立地为氨基取代基,如对于氨基所定义。氨基羰基氧基的实例包括但不限于-OC(=O)NH<sub>2</sub>、-OC(=O)NHMe、-OC(=O)NMe<sub>2</sub>和-OC(=O)NEt<sub>2</sub>。

[0172] 脲基:-N(R<sup>1</sup>)CONR<sup>2</sup>R<sup>3</sup>,其中R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>独立地为氨基取代基,如对于氨基所定义,并且R<sup>1</sup>是脲基取代基,例如,氢、C<sub>1-7</sub>烷基、C<sub>3-20</sub>杂环基或C<sub>5-20</sub>芳基,优选氢或C<sub>1-7</sub>烷基。脲基的实例包

包括但不限于-NHCONH<sub>2</sub>、-NHCONHMe、-NHCONHEt、-NHCONMe<sub>2</sub>、-NHCONEt<sub>2</sub>、-NMeCONH<sub>2</sub>、-NMeCONHMe、-NMeCONHEt、-NMeCONMe<sub>2</sub>和-NMeCONEt<sub>2</sub>。

[0173] 胍基: -NH-C(=NH)NH<sub>2</sub>。

[0174] 四唑基: 具有四个氮原子和一个碳原子的五元芳环,



[0176] 亚氨基: =NR, 其中R为亚氨基取代基, 例如, 氢、C<sub>1-7</sub>烷基、C<sub>3-20</sub>杂环基或C<sub>5-20</sub>芳基, 优选H或C<sub>1-7</sub>烷基。亚氨基的实例包括但不限于=NH、=NMe和=NEt。

[0177] 脒基(脒基): -C(=NR)NR<sub>2</sub>, 其中每个R为脒取代基, 例如, 氢、C<sub>1-7</sub>烷基、C<sub>3-20</sub>杂环基或C<sub>5-20</sub>芳基, 优选H或C<sub>1-7</sub>烷基。脒基团的实例包括但不限于-C(=NH)NH<sub>2</sub>、-C(=NH)NMe<sub>2</sub>和-C(=NMe)NMe<sub>2</sub>。

[0178] 硝基: -NO<sub>2</sub>。

[0179] 亚硝基: -NO。

[0180] 叠氮基: -N<sub>3</sub>。

[0181] 氰基(腈、甲腈): -CN。

[0182] 异氰基: -NC。

[0183] 氰酰基: -OCN。

[0184] 异氰酰基: -NCO。

[0185] 氰硫基(硫氰酰基): -SCN。

[0186] 异氰硫基(异硫氰酰基): -NCS。

[0187] 巯氢基(Sulfhydryl)(巯基(thiol)、巯基(mercapto)): -SH。

[0188] 硫醚(Thioether)(硫醚(sulfide)): -SR, 其中R为硫醚取代基, 例如, C<sub>1-7</sub>烷基(也称为C<sub>1-7</sub>烷硫基)、C<sub>3-20</sub>杂环基或C<sub>5-20</sub>芳基, 优选C<sub>1-7</sub>烷基。C<sub>1-7</sub>烷硫基的实例包括但不限于-SCH<sub>3</sub>和-SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>。

[0189] 二硫醚: -SS-R, 其中R为二硫醚取代基, 例如, C<sub>1-7</sub>烷基、C<sub>3-20</sub>杂环基或C<sub>5-20</sub>芳基, 优选C<sub>1-7</sub>烷基(本文也称为C<sub>1-7</sub>烷基二硫醚)。C<sub>1-7</sub>烷基二硫醚基团的实例包括但不限于-SSCH<sub>3</sub>和-SSCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>。

[0190] 硫氧化物(亚磺酰基、亚砷): -S(=O)R, 其中R为硫氧化物取代基, 例如, C<sub>1-7</sub>烷基、C<sub>3-20</sub>杂环基或C<sub>5-20</sub>芳基, 优选C<sub>1-7</sub>烷基。硫氧化物基团的实例包括但不限于-S(=O)CH<sub>3</sub>和-S(=O)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>。

[0191] 砷(磺酰基): -S(=O)<sub>2</sub>R, 其中R为砷取代基, 例如, C<sub>1-7</sub>烷基、C<sub>3-20</sub>杂环基或C<sub>5-20</sub>芳基, 优选C<sub>1-7</sub>烷基, 包括例如氟化或全氟化的C<sub>1-7</sub>烷基。砷基团的实例包括但不限于-S(=O)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>(甲基磺酰基、甲磺酰基)、-S(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>(三氟甲磺酰基)、-S(=O)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>(乙磺酰基)、-S(=O)<sub>2</sub>C<sub>4</sub>F<sub>9</sub>(九氟丁磺酰基)、-S(=O)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>(三氟乙磺酰基)、-S(=O)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>(牛磺酰基)、-S(=O)<sub>2</sub>Ph(苯基磺酰基、苯磺酰基)、4-甲基苯基磺酰基(甲苯磺酰基)、4-氯苯基磺酰基(氯苯磺酰基)、4-溴苯基磺酰基(溴苯磺酰基)、4-硝基苯基磺酰基(硝苯磺酰基)、2-萘磺酸酯(萘磺酰基)以及5-二甲基氨基-萘-1-基磺酸酯(丹磺酰基)。

[0192] 亚磺酸(亚磺基): -S(=O)OH、-SO<sub>2</sub>H。

[0193] 磺酸(磺基):  $-\text{S}(=\text{O})_2\text{OH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 。

[0194] 亚磺酸酯(亚磺酸的酯):  $-\text{S}(=\text{O})\text{OR}$ , 其中R为亚磺酸酯取代基, 例如,  $\text{C}_{1-7}$ 烷基、 $\text{C}_{3-20}$ 杂环基或 $\text{C}_{5-20}$ 芳基, 优选 $\text{C}_{1-7}$ 烷基。亚磺酸酯基团的实例包括但不限于 $-\text{S}(=\text{O})\text{OCH}_3$ (甲氧基亚磺酰基; 甲基亚磺酸酯)和 $-\text{S}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_3$ (乙氧基亚磺酰基; 乙基亚磺酸酯)。

[0195] 磺酸酯(磺酸的酯):  $-\text{S}(=\text{O})_2\text{OR}$ , 其中R为磺酸酯取代基, 例如,  $\text{C}_{1-7}$ 烷基、 $\text{C}_{3-20}$ 杂环基或 $\text{C}_{5-20}$ 芳基, 优选 $\text{C}_{1-7}$ 烷基。磺酸酯基团的实例包括但不限于 $-\text{S}(=\text{O})_2\text{OCH}_3$ (甲氧基磺酰基; 甲基磺酸酯)和 $-\text{S}(=\text{O})_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ (乙氧基磺酰基; 乙基磺酸酯)。

[0196] 亚磺酰氧基:  $-\text{OS}(=\text{O})\text{R}$ , 其中R为亚磺酰氧基取代基, 例如,  $\text{C}_{1-7}$ 烷基、 $\text{C}_{3-20}$ 杂环基或 $\text{C}_{5-20}$ 芳基, 优选 $\text{C}_{1-7}$ 烷基。亚磺酰氧基的实例包括但不限于 $-\text{OS}(=\text{O})\text{CH}_3$ 和 $-\text{OS}(=\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_3$ 。

[0197] 磺酰氧基:  $-\text{OS}(=\text{O})_2\text{R}$ , 其中R为磺酰氧基取代基, 例如,  $\text{C}_{1-7}$ 烷基、 $\text{C}_{3-20}$ 杂环基或 $\text{C}_{5-20}$ 芳基, 优选 $\text{C}_{1-7}$ 烷基。磺酰氧基的实例包括但不限于 $-\text{OS}(=\text{O})_2\text{CH}_3$ (甲磺酸酯)和 $-\text{OS}(=\text{O})_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ (乙磺酸酯)。

[0198] 硫酸酯:  $-\text{OS}(=\text{O})_2\text{OR}$ ; 其中R为硫酸酯取代基, 例如,  $\text{C}_{1-7}$ 烷基、 $\text{C}_{3-20}$ 杂环基或 $\text{C}_{5-20}$ 芳基, 优选 $\text{C}_{1-7}$ 烷基。硫酸酯基团的实例包括但不限于 $-\text{OS}(=\text{O})_2\text{OCH}_3$ 和 $-\text{SO}(=\text{O})_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ 。

[0199] 氨磺酰基(氨磺酰; 亚磺酰胺; 亚磺酰胺):  $-\text{S}(=\text{O})\text{NR}^1\text{R}^2$ , 其中 $\text{R}^1$ 和 $\text{R}^2$ 独立地为氨基取代基, 如对于氨基所定义。氨磺酰基的实例包括但不限于 $-\text{S}(=\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{S}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_3)$ 、 $-\text{S}(=\text{O})\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{S}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)$ 、 $-\text{S}(=\text{O})\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ 和 $-\text{S}(=\text{O})\text{NPh}$ 。

[0200] 磺酰氨基(Sulfonamido)(氨亚磺酰基; 磺酰胺; 磺酰胺):  $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NR}^1\text{R}^2$ , 其中 $\text{R}^1$ 和 $\text{R}^2$ 独立地为氨基取代基, 如对于氨基所定义。磺酰氨基的实例包括但不限于 $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NH}(\text{CH}_3)$ 、 $-\text{S}(=\text{O})_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)$ 、 $-\text{S}(=\text{O})_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ 和 $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NPh}$ 。

[0201] 磺氨基:  $-\text{NR}^1\text{S}(=\text{O})_2\text{OH}$ , 其中 $\text{R}^1$ 为氨基取代基, 如对于氨基所定义。磺氨基的实例包括但不限于 $-\text{NHS}(=\text{O})_2\text{OH}$ 和 $-\text{N}(\text{CH}_3)\text{S}(=\text{O})_2\text{OH}$ 。

[0202] 磺酰基氨基(Sulfonamino):  $-\text{NR}^1\text{S}(=\text{O})_2\text{R}$ , 其中 $\text{R}^1$ 为氨基取代基, 如对于氨基所定义, 并且R为磺酰基氨基取代基, 例如,  $\text{C}_{1-7}$ 烷基、 $\text{C}_{3-20}$ 杂环基或 $\text{C}_{5-20}$ 芳基, 优选 $\text{C}_{1-7}$ 烷基。磺酰基氨基的实例包括但不限于 $-\text{NHS}(=\text{O})_2\text{CH}_3$ 和 $-\text{N}(\text{CH}_3)\text{S}(=\text{O})_2\text{C}_6\text{H}_5$ 。

[0203] 亚磺酰基氨基(Sulfinamino):  $-\text{NR}^1\text{S}(=\text{O})\text{R}$ , 其中 $\text{R}^1$ 为氨基取代基, 如对于氨基所定义, 并且R为亚磺酰基氨基取代基, 例如,  $\text{C}_{1-7}$ 烷基、 $\text{C}_{3-20}$ 杂环基或 $\text{C}_{5-20}$ 芳基, 优选 $\text{C}_{1-7}$ 烷基。亚磺酰基氨基的实例包括但不限于 $-\text{NHS}(=\text{O})\text{CH}_3$ 和 $-\text{N}(\text{CH}_3)\text{S}(=\text{O})\text{C}_6\text{H}_5$ 。

[0204] 膦基(膦):  $-\text{PR}_2$ , 其中R为膦基取代基, 例如,  $-\text{H}$ 、 $\text{C}_{1-7}$ 烷基、 $\text{C}_{3-20}$ 杂环基或 $\text{C}_{5-20}$ 芳基, 优选 $-\text{H}$ 、 $\text{C}_{1-7}$ 烷基或 $\text{C}_{5-20}$ 芳基。膦基的实例包括但不限于 $-\text{PH}_2$ 、 $-\text{P}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{P}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{P}(\text{t-Bu})_2$ 和 $-\text{P}(\text{Ph})_2$ 。

[0205] 磷基:  $-\text{P}(=\text{O})_2$ 。

[0206] 氧磷基(氧化膦):  $-\text{P}(=\text{O})\text{R}_2$ , 其中R为氧磷基取代基, 例如,  $\text{C}_{1-7}$ 烷基、 $\text{C}_{3-20}$ 杂环基或 $\text{C}_{5-20}$ 芳基, 优选 $\text{C}_{1-7}$ 烷基或 $\text{C}_{5-20}$ 芳基。氧磷基的实例包括但不限于 $-\text{P}(=\text{O})(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{P}(=\text{O})(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{P}(=\text{O})(\text{t-Bu})_2$ 和 $-\text{P}(=\text{O})(\text{Ph})_2$ 。

[0207] 膦酸(膦酰基):  $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})_2$ 。

[0208] 膦酸酯(膦酰基酯):  $-\text{P}(=\text{O})(\text{OR})_2$ , 其中R为膦酸酯取代基, 例如,  $-\text{H}$ 、 $\text{C}_{1-7}$ 烷基、 $\text{C}_{3-20}$



杂环基或C<sub>5-20</sub>芳基,优选-H、C<sub>1-7</sub>烷基或C<sub>5-20</sub>芳基。磷酸酯基团的实例包括但不限于-P(=O)(OCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-P(=O)(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-P(=O)(O-t-Bu)<sub>2</sub>和-P(=O)(OPh)<sub>2</sub>。

[0209] 磷酸(磷酸基氧基):-OP(=O)(OH)<sub>2</sub>。

[0210] 磷酸酯(磷酸基氧基酯):-OP(=O)(OR)<sub>2</sub>,其中R为磷酸酯取代基,例如,-H、C<sub>1-7</sub>烷基、C<sub>3-20</sub>杂环基或C<sub>5-20</sub>芳基,优选-H、C<sub>1-7</sub>烷基或C<sub>5-20</sub>芳基。磷酸酯基团的实例包括但不限于-OP(=O)(OCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-OP(=O)(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-OP(=O)(O-t-Bu)<sub>2</sub>和-OP(=O)(OPh)<sub>2</sub>。

[0211] 亚磷酸:-OP(OH)<sub>2</sub>。

[0212] 亚磷酸酯:-OP(OR)<sub>2</sub>,其中R为亚磷酸酯取代基,例如,-H、C<sub>1-7</sub>烷基、C<sub>3-20</sub>杂环基或C<sub>5-20</sub>芳基,优选-H、C<sub>1-7</sub>烷基或C<sub>5-20</sub>芳基。亚磷酸酯基团的实例包括但不限于-OP(OCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-OP(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-OP(O-t-Bu)<sub>2</sub>和-OP(OPh)<sub>2</sub>。

[0213] 亚磷酰胺:-OP(OR<sup>1</sup>)-NR<sup>2</sup><sub>2</sub>,其中R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>为亚磷酰胺取代基,例如,-H、(任选取代的)C<sub>1-7</sub>烷基、C<sub>3-20</sub>杂环基或C<sub>5-20</sub>芳基,优选-H、C<sub>1-7</sub>烷基或C<sub>5-20</sub>芳基。亚磷酰胺基团的实例包括但不限于-OP(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-OP(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)-N(i-Pr)<sub>2</sub>和-OP(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CN)-N(i-Pr)<sub>2</sub>。

[0214] 磷酰胺:-OP(=O)(OR<sup>1</sup>)-NR<sup>2</sup><sub>2</sub>,其中R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>为磷酰胺取代基,例如,-H、(任选取代的)C<sub>1-7</sub>烷基、C<sub>3-20</sub>杂环基或C<sub>5-20</sub>芳基,优选-H、C<sub>1-7</sub>烷基或C<sub>5-20</sub>芳基。磷酰胺基团的实例包括但不限于-OP(=O)(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-OP(=O)(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)-N(i-Pr)<sub>2</sub>和-OP(=O)(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CN)-N(i-Pr)<sub>2</sub>。

[0215] 亚烷基

[0216] C<sub>3-12</sub>亚烷基:如本文所用的术语“C<sub>3-12</sub>亚烷基”涉及通过从具有3至12个碳原子(除非另外指出)的烃化合物上移除2个氢原子(从同一个碳原子处移除两个氢原子或从两个不同碳原子处各移除一个氢原子)而获得的双齿物部分,其可以是脂族的或脂环族的,并且可以是饱和的、部分不饱和的或完全不饱和的。因此,术语“亚烷基”包括以下论述的亚类亚烯基、亚炔基、亚环烷基等。

[0217] 直链饱和和C<sub>3-12</sub>亚烷基的实例包括但不限于-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-,其中n为3至12的整数,例如,-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- (亚丙基)、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- (亚丁基)、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- (亚戊基)和-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- (亚庚基)。

[0218] 支链饱和和C<sub>3-12</sub>亚烷基的实例包括但不限于-CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-、-CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、-CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、-CH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)-、-CH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-和-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-。

[0219] 直链部分不饱和的C<sub>3-12</sub>亚烷基(C<sub>3-12</sub>亚烯基和亚炔基)的实例包括但不限于-CH=CH-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>-、-CH=CH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH=CH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH=CH-CH=CH-、-CH=CH-CH=CH-CH<sub>2</sub>-、-CH=CH-CH=CH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH=CH-CH<sub>2</sub>-CH=CH-、-CH=CH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH=CH-和-CH<sub>2</sub>-C≡C-CH<sub>2</sub>-。

[0220] 支链部分不饱和的C<sub>3-12</sub>亚烷基(C<sub>3-12</sub>亚烯基和亚炔基)的实例包括但不限于-C(CH<sub>3</sub>)=CH-、-C(CH<sub>3</sub>)=CH-CH<sub>2</sub>-、-CH=CH-CH(CH<sub>3</sub>)-和-C≡C-CH(CH<sub>3</sub>)-。

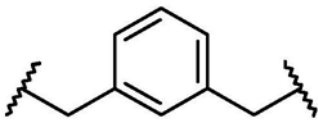
[0221] 脂环族饱和的C<sub>3-12</sub>亚烷基(C<sub>3-12</sub>亚环烷基)的实例包括但不限于亚环戊基(例如亚环戊-1,3-基)和亚环己基(例如,亚环己-1,4-基)。

[0222] 脂环族部分不饱和的C<sub>3-12</sub>亚烷基(C<sub>3-12</sub>亚环烷基)的实例包括但不限于亚环戊烯基(例如4-亚环戊烯-1,3-基)、亚环己烯基(例如2-亚环己烯-1,4-基;3-亚环己烯-1,2-基;2,

5-亚环己二烯-1,4-基)。

[0223] 在C<sub>3-12</sub>亚烷基被杂原子中断的情况下,下标是指包括杂原子的链中的原子的数量。例如,链-C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>-O-C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>-将为C<sub>5</sub>基团。

[0224] 在C<sub>3-12</sub>亚烷基被杂原子中断的情况下,下标是指直接处于包括芳环的链中的原子的

的数量。例如,链  将为C<sub>5</sub>基团。

[0225] 配体单元

[0226] 配体单元可以是任何种类,并且包括特异性结合至靶分子的蛋白质、多肽、肽以及非肽药剂。在一些实施方案中,配体单元可以是蛋白质、多肽或肽。在一些实施方案中,配体单元可以是环状多肽。这些配体单元可包括抗体或含有至少一个靶分子结合位点的抗体片段、淋巴因子、激素、生长因子或可与靶标特异性结合的任何其他细胞结合分子或物质。

[0227] 术语“特异性结合 (specifically binds和specific binding)”是指抗体或其他蛋白质、多肽或肽与预定分子(例如,抗原)的结合。通常,抗体或其他分子以至少约 $1 \times 10^7$  M<sup>-1</sup>的亲合力结合,并且以比与除预定分子或密切相关分子之外的非特异性分子(例如,BSA、酪蛋白)的结合亲合力大至少两倍的亲合力与预定分子结合。

[0228] 配体单元的实例包括所描述的用于并入本文的WO 2007/085930的那些药剂。

[0229] 在一些实施方案中,配体单元为与细胞上的细胞外靶标相结合的细胞结合剂。所述细胞结合剂可以是蛋白质、多肽、肽或非肽药剂。在一些实施方案中,细胞结合剂可以是蛋白质、多肽或肽。在一些实施方案中,细胞结合剂可以是环状多肽。细胞结合剂还可以是抗体或抗体的抗原结合片段。因此,在一个实施方案中,本发明提供了一种抗体-药物缀合物(ADC)。

[0230] 细胞结合剂

[0231] 细胞结合剂可以是任何种类,并且包括肽和非肽。它们可以包括抗体或抗体片段,其包含至少一个结合位点,淋巴因子,激素,激素模拟物,维生素,生长因子,营养物输送分子,或任何其他细胞结合分子或物质。

[0232] 肽

[0233] 在一个实施方案中,细胞结合剂是线性或环状肽,其包含4-30个,优选6-20个相邻的氨基酸残基。在本实施方案中,优选的是,一种细胞结合剂连接于一种单体或二聚体吡咯并苯并二氮杂萘化合物。

[0234] 在一个实施方案中,细胞结合剂包含结合整联蛋白 $\alpha_v\beta_6$ 的肽。该肽对 $\alpha_v\beta_6$ 的选择性超出XYS。

[0235] 在一个实施方案中,细胞结合剂包含A20FMDV-Cys多肽。A20FMDV-Cys具有序列:NAVPNLRGDLQVLAQKVARTC。可替代地,可以使用A20FMDV-Cys序列的变体,其中1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸残基被另一种氨基酸残基取代。此外,多肽可以具有序列NAVXXXXXXXXXXXXXXXXXRTC。

[0236] 抗体

[0237] 术语“抗体”在本文中是在最广泛的意义上加以使用并且具体地涵盖单克隆抗体、多克隆抗体、二聚体、多聚体、多特异性抗体(例如,双特异性抗体)、和抗体片段,只要它们

显示所期望的生物活性 (Miller等 (2003) *Jour.of Immunology* 170:4854-4861)。抗体可以是鼠、人、人源化、嵌合抗体,或源于其他物种。抗体是由免疫系统生成的蛋白质,其能够识别和结合于特异性抗原 (Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immuno Biology*, 第5版, Garland Publishing, New York)。靶抗原通常具有由在多种抗体上的CDR所识别的许多结合位点,还被称为表位。特异性地结合于不同表位的每种抗体具有不同的结构。因此,一种抗原可以具有多于一种的相应的抗体。抗体包括全长免疫球蛋白分子或全长免疫球蛋白分子的免疫活性部分,即,一种分子,其包含免疫特异性地结合感兴趣的靶的抗原或其部分的抗原结合位点,这样的靶包括但不限于癌细胞或产生与自身免疫疾病相关的自身免疫抗体的细胞。免疫球蛋白可以是任何类型 (例如IgG、IgE、IgM、IgD、和IgA)、类 (例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2) 或免疫球蛋白分子的亚类。免疫球蛋白可以源自任何物种,包括人、鼠、或兔起源。

[0238] “抗体片段”包含全长抗体的一部分,通常为其抗原结合或可变区。抗体片段的实例包括Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、和scFv片段;双体分子;线性抗体;由Fab表达文库产生的片段,抗独特型(抗-Id)抗体,CDR(互补决定区),和任何上述项的表位结合片段,其免疫特异性地结合于癌细胞抗原、病毒抗原或微生物抗原,单链抗体分子;以及形成自抗体片段的多特异性抗体。

[0239] 如在本文中所使用的,术语“单克隆抗体”是指获自基本上同质性的抗体的群体的抗体,即,除了可少量存在的可以天然发生的突变以外,构成群体的单独抗体是相同的。单克隆抗体是高度特异性的,是针对单一的抗原位点。此外,相对于多克隆抗体制剂,其包括针对不同决定子(表位)的不同抗体,每种单克隆抗体是针对在抗原上的单一决定子。除它们的特异性之外,单克隆抗体也是有利的,因为它们可以被合成而未被其他抗体污染。修饰语“单克隆”表明,抗体的特性是获自抗体的基本同质群体,而并不应当被解释为需要通过任何特定方法来生产抗体。例如,根据本发明使用的单克隆抗体可以通过首先由Kohler等 (1975) *Nature* 256:495描述的杂交瘤方法来制备,或可以通过重组DNA方法来制备(参见, US 4816567)。单克隆抗体还可以分离自噬菌体抗体库,其中利用在Clackson等 (1991) *Nature*, 352:624-628、Marks等 (1991) *J. Mol. Biol.*, 222:581-597中描述的技术,或者可以分离自携带完全人免疫球蛋白系统的转基因小鼠 (Lonberg (2008) *Curr. Opinion* 20 (4): 450-459)。

[0240] 本文中的单克隆抗体特别包括“嵌合”抗体,其中一部分的重和/或轻链相同或同源于在源自特定物种或属于特定抗体类或亚类的抗体中的相应序列,同时链的剩余部分相同于或同源于在源自另一物种或属于另一抗体类或亚类的抗体中的相应序列,以及上述抗体的片段,只要它们显示所期望的生物活性 (US 4816567; 和Morrison等 (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855)。嵌合抗体包括“灵长类化”抗体,其包含源自非人灵长类动物 (例如旧大陆猴或猿) 的可变区抗原结合序列和人恒定区序列。

[0241] 本文中的“完整抗体”是这样一种抗体,其包含VL和VH域,以及轻链恒定区(CL)和重链恒定区,CH1、CH2和CH3。恒定区可以是天然序列恒定区 (例如人天然序列恒定区) 或其氨基酸序列变体。完整抗体可以具有一种或多种“效应子功能”,其是指可归因于抗体的Fc区 (天然序列Fc区或氨基酸序列变体Fc区) 的那些生物活性。抗体效应子功能的实例包括C1q结合;补体依赖性细胞毒性;Fc受体结合;抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (ADCC);吞噬

作用;以及细胞表面受体(如B细胞受体和BCR)的下调。

[0242] 取决于它们的重链的恒定区的氨基酸序列,完整抗体可以被指定为不同的“类”。存在五大类的完整抗体:IgA、IgD、IgE、IgG、和IgM,并且这些的若干种可以进一步分为“亚类”(同种型),例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、和IgA2。对应于不同种类的抗体的重链恒定区分别被称为 $\alpha$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$ 、 $\gamma$ 、和 $\mu$ 。不同类别的免疫球蛋白的亚基结构和三维构型是众所周知的。

[0243] 人源化

[0244] 用于减小非人抗体或抗体片段的体内免疫原性的技术包括那些称作“人源化”的技术。

[0245] “人源化抗体”是指一种多肽,其包含人抗体的至少一部分的修饰可变区,其中一部分的可变区,优选基本上小于完整人可变域的部分已被来自非人物种的相应序列所取代,以及其中修饰可变区连接于另一种蛋白的至少另一部分,优选人抗体的恒定区。措辞“人源化抗体”包括人抗体,其中一个或多个互补决定区(“CDR”)氨基酸残基和/或一个或多个框架区(“FW”或“FR”)氨基酸残基被来自啮齿动物或其他非人抗体中的类似位点的氨基酸残基取代。措辞“人源化抗体”还包括免疫球蛋白氨基酸序列变体或其片段,其包含实质上具有人免疫球蛋白的氨基酸序列的FR,以及实质上具有非人免疫球蛋白的氨基酸序列的CDR。

[0246] 非人(例如,鼠)抗体的“人源化”形式是嵌合抗体,其包含源自非人免疫球蛋白的最小序列。或,以另一种方式看,人源化抗体是人抗体,其还包含来自非人(例如鼠)抗体的选择的序列来代替人序列。人源化抗体可以包括保守氨基酸置换或非天然残基,这些非天然残基来自相同或不同物种,其并不显著改变它的结合和/或生物活性。上述抗体是嵌合抗体,其包含源自非人免疫球蛋白的最小序列。

[0247] 存在多种人源化技术,包括‘CDR移植’、‘定向选择’、‘去免疫化’、‘表面重构(resurfacing)’(还被称为‘镶面(veneering)’)、‘复合抗体’、‘人类序列含量优化(Human String Content Optimisation)’和框架重排。

[0248] CDR移植

[0249] 在此技术中,人源化抗体是人免疫球蛋白(受体抗体),其中来自受体抗体的互补决定区(CDR)的残基被来自非人物种(供体抗体)如小鼠、大鼠、骆驼、牛、山羊、或兔的CDR的残基所替代,其具有所期望的性能(实际上,非人CDR被‘移植’到人框架上)。在一些情况下,人免疫球蛋白的框架区(FR)残基被相应非人残基替代(当例如特定FR残基对抗原结合具有显著影响时,这可能会发生)。

[0250] 此外,人源化抗体可以包含这样的残基,其既不存在于受体抗体也不存在于输入的CDR或框架序列中。进行这些修饰以进一步完善和最大化抗体性能。因此,通常,人源化抗体将均包含至少一个,以及在一个方面两个,可变域,其中所有或(基本上)所有的高变环对应于非人免疫球蛋白的那些高变环,以及所有或基本上所有的FR区是人免疫球蛋白序列的那些FR区。人源化抗体任选地还将包含至少一部分的免疫球蛋白恒定区(Fc)、或人免疫球蛋白的免疫球蛋白恒定区。

[0251] 定向选择

[0252] 这种方法包括结合对于特定表位具有特异性的给定非人抗体的 $V_H$ 或 $V_L$ 域和人 $V_H$ 或

V<sub>L</sub>文库,并相对于感兴趣的抗原来选择特定人V域。然后这种选择的人VH结合于V<sub>L</sub>文库产生完全人VHxV<sub>L</sub>组合。该方法描述于Nature Biotechnology (N.Y.) 12, (1994) 899-903。

#### [0253] 复合抗体

[0254] 在此方法中,在最终抗体分子内结合来自人抗体的氨基酸序列的两个或更多区段。通过联合地结合多个人VH和V<sub>L</sub>序列片段,其限制或避免在最终复合抗体V区中的人T细胞表位,来构建它们。在需要时,通过交换有助于或编码T细胞表位的V区区段与避免T细胞表位的替代区段来限制或避免T细胞表位。这种方法描述于US 2008/0206239 A1。

#### [0255] 去免疫化

[0256] 此方法涉及从治疗性抗体(或其他分子)的V区除去人(或其他第二物种)T细胞表位。通过,例如,比较于MHC结合基序的数据库(如“基序”数据库,位于www.wehi.edu.au),来分析治疗性抗体V区序列中MHC类II-结合基序的存在。可替代地,可以利用计算线程方法如由Altuvia等(J.Mol.Biol.249 244-250(1995))所设计的那些方法,来确定MHC类II-结合基序;在这些方法中,测试来自V区序列的连续重叠肽的与MHC II类蛋白的结合能。然后此数据可以结合于关于其他序列特征的信息,其涉及成功呈现的肽,如两亲性、Rothbard基序、和用于组织蛋白酶B和其他加工酶的切割位点。

[0257] 一旦已确定潜在的第二物种(例如人)T细胞表位,则通过改变一个或多个氨基酸消除它们。修饰氨基酸通常是在T细胞表位本身内,但就蛋白质的一级或二级结构而言也可以是相邻于表位(因此,在一级结构中,可能并不是相邻的)。最典型地,改变是通过置换的方式,但在一些情况下,氨基酸添加或缺失将是更合适的。

[0258] 可以通过重组DNA技术来完成所有改变,以至通过重组宿主的表达并利用很好建立的方法如定位诱变,来制备最终分子。然而,也可以使用蛋白质化学或分子改变的任何其他方式。

#### [0259] 表面重构

[0260] 此方法包括:

[0261] (a) 通过构建非人抗体可变区的三维模型,确定非人(例如啮齿动物)抗体(或其片段)的可变区的构象结构;

[0262] (b) 利用来自足够数量的非人和人抗体可变区重和轻链的x射线晶体结构的相对可达性分布,产生序列对比,以给予一组重和轻链框架位置,其中在98%的足够数量的非人抗体重和轻链中序列对比位置是相同的;

[0263] (c) 利用在步骤(b)中产生的框架位置的组,将非人抗体定义为人源化的、一组重链和轻链的表面暴露氨基酸残基;

[0264] (d) 依据人抗体氨基酸序列,鉴定一组重链和轻链的表面暴露氨基酸残基,其最密切相同于在步骤(c)中定义的表面暴露的氨基酸残基的组,其中来自人抗体的重链和轻链是或不是天然成对的;

[0265] (e) 在待人源化的非人抗体的氨基酸序列中,用在步骤(d)中确定的重链和轻链表面暴露的氨基酸残基的组替代在步骤(c)中定义的重链和轻链表面暴露的氨基酸残基的组;

[0266] (f) 构建产生自在步骤(e)中指定的替代的非人抗体的可变区的三维模型;

[0267] (g) 通过比较在步骤(a)和(f)中构建的三维模型,并依据在步骤(c)或(d)中确定

的组,确定在待人源化的非人抗体的互补决定区的任何残基的任何原子的5埃内的任何氨基酸残基;以及

[0268] (h) 将在步骤(g)中确定的任何残基从人改变到原来非人氨基酸残基,从而定义表面暴露的氨基酸残基的非人抗体人源化组;前提条件是,无需首先进行步骤(a),但必须在步骤(g)以前进行。

[0269] 超人源化

[0270] 该方法比较非人序列与功能性人种系基因库。选择了编码相同或密切相关于非人序列的规范结构的那些人基因。那些选择的在CDR内具有最高同源性的人基因被选作FR供体。最后,将非人CDR移植到这些人FR上。这种方法描述于专利WO 2005/079479 A2。

[0271] 人类序列含量优化

[0272] 这种方法比较了非人(例如小鼠)序列与人种系基因库并且差异被评定为人类序列含量(HSC),其在潜在的MHC/T细胞表位的水平量化序列。然后通过最大化它的HSC而不是利用全局同一性措施来人源化靶序列以产生多种不同的人源化变体(描述于Molecular Immunology,44,(2007)1986-1998)。

[0273] 框架重排

[0274] 将非人抗体的CDR框内融合于涵盖所有已知的重链和轻链人种系基因框架的cDNA池。然后通过例如淘选噬菌体展示抗体库来选择人源化抗体。这描述于Methods 36,43-60(2005)。

[0275] 细胞结合剂的实例包括那些描述的用于并入本文中的WO 2007/085930的细胞结合剂。

[0276] 以下列出用于本发明的实施方案的肿瘤相关抗原和同源抗体。

[0277] 肿瘤相关抗原和同源抗体

[0278] (1) BMPR1B(骨形态发生蛋白受体型IB)

[0279] 核苷酸

[0280] Genbank登录号NM\_001203

[0281] Genbank版本号NM\_001203.2 GI:169790809

[0282] Genbank记录更新日期:2012年9月23日下午02:06

[0283] 多肽

[0284] Genbank登录号NP\_001194

[0285] Genbank版本号NP\_001194.1 GI:4502431

[0286] Genbank记录更新日期:2012年9月23日下午02:06

[0287] 交叉参考

[0288] ten Dijke,P.等Science 264(5155):101-104(1994),Oncogene 14(11):1377-1382(1997);W02004/063362(权利要求2);W02003/042661(权利要求12);US2003/134790-A1(页码38-39);W02002/102235(权利要求13;页码296);W02003/055443(页码91-92);W02002/99122(实施例2;页码528-530);W02003/029421(权利要求6);W02003/024392(权利要求2;图112);W02002/98358(权利要求1;页码183);W02002/54940(页码100-101);W02002/59377(页码349-350);W02002/30268(权利要求27;页码376);W02001/48204(实施例;图4);NP\_001194骨形态发生蛋白受体,型IB/pid=NP\_001194.1.;MIM:603248;

AY065994

[0289] (2) E16 (LAT1, SLC7A5)

[0290] 核苷酸

[0291] Genbank登录号NM\_003486

[0292] Genbank版本号NM\_003486.5GI:71979931

[0293] Genbank记录更新日期:2012年6月27日下午12:06

[0294] 多肽

[0295] Genbank登录号NP\_003477

[0296] Genbank版本号NP\_003477.4GI:71979932

[0297] Genbank记录更新日期:2012年6月27日下午12:06

[0298] 交叉参考

[0299] Biochem.Biophys.Res.

[0300] Commun.255 (2), 283-288 (1999), Nature 395 (6699):288-291 (1998), Gaugitsch, H.W.等 (1992) J.Biol.Chem.267 (16):11267-11273; W02004/048938 (实施例2); W02004/032842 (实施例IV); W02003/042661 (权利要求12); W02003/016475 (权利要求1); W02002/78524 (实施例2); W02002/99074 (权利要求19; 页码127-129); W02002/86443 (权利要求27; 页码222, 393); W02003/003906 (权利要求10; 页码293); W02002/64798 (权利要求33; 页码93-95); W02000/14228 (权利要求5; 页码133-136); US2003/224454 (图3); W02003/025138 (权利要求12; 页码150); NP\_003477溶质载体家族7 (阳离子氨基酸转运蛋白, y<sup>+</sup>系统), 成员5/pid=NP\_003477.3-智人; MIM:600182;; NM\_015923。

[0301] (3) STEAP1 (前列腺的六跨膜上皮抗原)

[0302] 核苷酸

[0303] Genbank登录号NM\_012449

[0304] Genbank版本号NM\_012449.2 GI:22027487

[0305] Genbank记录更新日期:2012年9月9日下午02:57

[0306] 多肽

[0307] Genbank登录号NP\_036581

[0308] Genbank版本号NP\_036581.1 GI:9558759

[0309] Genbank记录更新日期:2012年9月9日下午02:57

[0310] 交叉参考

[0311] Cancer Res.61 (15), 5857-5860 (2001), Hubert, R.S.等 (1999) Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.96 (25):14523-14528; W02004/065577 (权利要求6); W02004/027049 (图1L); EP1394274 (实施例11); W02004/016225 (权利要求2); W02003/042661 (权利要求12); US2003/157089 (实施例5); US2003/185830 (实施例5); US2003/064397 (图2); W02002/89747 (实施例5; 页码618-619); W02003/022995 (实施例9; 图13A, 实施例53; 页码173, 实施例2; 图2A); 前列腺的六跨膜上皮抗原; MIM:604415。

[0312] (4) 0772P (CA125, MUC16)

[0313] 核苷酸

[0314] Genbank登录号AF361486

- [0315] Genbank版本号AF361486.3 GI:34501466
- [0316] Genbank记录更新日期:2010年3月11日上午07:56
- [0317] 多肽
- [0318] Genbank登录号AAK74120
- [0319] Genbank版本号AAK74120.3 GI:34501467
- [0320] Genbank记录更新日期:2010年3月11日上午07:56
- [0321] 交叉参考
- [0322] J.Biol.Chem.276(29):27371-27375(2001);W02004/045553(权利要求14);W02002/92836(权利要求6;图12);W02002/83866(权利要求15;页码116-121);US2003/124140(实施例16);GI:34501467。
- [0323] (5)MPF(MPF、MSLN、SMR、巨核细胞增效因子、间皮素)
- [0324] 核苷酸
- [0325] Genbank登录号NM\_005823
- [0326] Genbank版本号NM\_005823.5GI:293651528
- [0327] Genbank记录更新日期:2012年9月2日下午01:47
- [0328] 多肽
- [0329] Genbank登录号NP\_005814
- [0330] Genbank版本号NP\_005814.2 GI:53988378
- [0331] Genbank记录更新日期:2012年9月2日下午01:47
- [0332] 交叉参考
- [0333] Yamaguchi, N.等 Biol.Chem.269(2),805-808(1994), Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.96(20):11531-11536(1999), Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.93(1):136-140(1996), J.Biol.Chem.270(37):21984-21990(1995);W02003/101283(权利要求14);(W02002/102235(权利要求13;页码287-288);W02002/101075(权利要求4;页码308-309);W02002/71928(页码320-321);W094/10312(页码52-57);IM:601051。
- [0334] (6)Napi3b(NAPI-3B,NPTIIb,SLC34A2,溶质载体家族34(磷酸钠),成员2,II型钠依赖性磷酸转运蛋白3b)
- [0335] 核苷酸
- [0336] Genbank登录号NM\_006424
- [0337] Genbank版本号NM\_006424.2 GI:110611905
- [0338] Genbank记录更新日期:2012年7月22日下午03:39
- [0339] 多肽
- [0340] Genbank登录号NP\_006415
- [0341] Genbank版本号NP\_006415.2 GI:110611906
- [0342] Genbank记录更新日期:2012年7月22日下午03:39
- [0343] 交叉参考
- [0344] J.Biol.Chem.277(22):19665-19672(2002), Genomics 62(2):281-284(1999), Feild, J.A.等(1999) Biochem.Biophys.Res.Commun.258(3):578-582;W02004/022778(权利要求2);EP1394274(实施例11);W02002/102235(权利要求13;页码326);EP0875569(权利



要求1;页码17-19);W02001/57188(权利要求20;页码329);W02004/032842(实施例IV);W02001/75177(权利要求24;页码139-140);MIM:604217。

[0345] (7) Sema 5b (FLJ10372, KIAA1445, Mm.42015, SEMA5B, SEMAG, Semaphorin 5b Hlog, sema域, 7血小板反应蛋白重复(1型和1型样), 跨膜域(TM)和短胞质域(semaphorin 5B))

[0346] 核苷酸

[0347] Genbank登录号AB040878

[0348] Genbank版本号AB040878.1 GI:7959148

[0349] Genbank记录更新日期:2006年8月2日下午05:40

[0350] 多肽

[0351] Genbank登录号BAA95969

[0352] Genbank版本号BAA95969.1 GI:7959149

[0353] Genbank记录更新日期:2006年8月2日下午05:40

[0354] 交叉参考

[0355] Nagase T.等(2000)DNA Res.7(2):143-150);W02004/000997(权利要求1);W02003/003984(权利要求1);W02002/06339(权利要求1;页码50);W02001/88133(权利要求1;页码41-43,48-58);W02003/054152(权利要求20);W02003/101400(权利要求11);登录号:Q9P283;Genew;HGNC:10737

[0356] (8) PSCA hlg (2700050C12Rik, C530008016Rik, RIKEN cDNA 2700050C12, RIKEN cDNA

[0357] 2700050C12基因)

[0358] 核苷酸

[0359] Genbank登录号AY358628

[0360] Genbank版本号AY358628.1 GI:37182377

[0361] Genbank记录更新日期:2009年12月1日上午04:15

[0362] 多肽

[0363] Genbank登录号AAQ88991

[0364] Genbank版本号AAQ88991.1 GI:37182378

[0365] Genbank记录更新日期:2009年12月1日上午04:15

[0366] 交叉参考

[0367] Ross等(2002)Cancer Res.62:2546-2553;US2003/129192(权利要求2);US2004/044180(权利要求12);US2004/044179(权利要求11);US2003/096961(权利要求11);US2003/232056(实施例5);W02003/105758 16(权利要求12);US2003/206918(实施例5);EP1347046(权利要求1);W02003/025148(权利要求20);GI:37182378。

[0368] (9) ETBR(内皮素B型受体)

[0369] 核苷酸

[0370] Genbank登录号AY275463

[0371] Genbank版本号AY275463.1 GI:30526094

[0372] Genbank记录更新日期:2010年3月11日上午02:26

[0373] 多肽

[0374] Genbank登录号AAP32295

[0375] Genbank版本号AAP32295.1 GI:30526095

[0376] Genbank记录更新日期:2010年3月11日上午02:26

[0377] 交叉参考

[0378] Nakamuta M.等Biochem.Biophys.Res.Commun.177,34-39,1991;Ogawa Y.等Biochem.Biophys.Res.Commun.178,248-255,1991;Arai H.等Jpn.Circ.J.56,1303-1307,1992;Arai H.等J.Biol.Chem.268,3463-3470,1993;Sakamoto A.,Yanagisawa M.等Biochem.Biophys.Res.Commun.178,656-663,1991;Elshourbagy N.A.等J.Biol.Chem.268,3873-3879,1993;Haendler B.等J.Cardiovasc.Pharmacol.20,s1-S4,1992;Tsumumi M.等Gene 228,43-49,1999;Strausberg R.L.等Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.99,16899-16903,2002;Bourgeois C.等J.Clin.Endocrinol.Metab.82,3116-3123,1997;Okamoto Y.等Biol.Chem.272,21589-21596,1997;Verheij J.B.等Am.J.Med.Genet.108,223-225,2002;Hofstra R.M.W.等Eur.J.Hum.Genet.5,180-185,1997;Puffenberger E.G.等Cell 79,1257-1266,1994;Attie T.,等Hum.Mol.Genet.4,2407-2409,1995;Auricchio A.等Hum.Mol.Genet.5:351-354,1996;Amiel J.等Hum.Mol.Genet.5,355-357,1996;Hofstra R.M.W.等Nat.Genet.12,445-447,1996;Svensson P.J.等Hum.Genet.103,145-148,1998;Fuchs S.等Mol.Med.7,115-124,2001;Pingault V.等(2002)Hum.Genet.111,198-206;W02004/045516(权利要求1);W02004/048938(实施例2);W02004/040000(权利要求151);W02003/087768(权利要求1);W02003/016475(权利要求1);W02003/016475(权利要求1);W02002/61087(图1);W02003/016494(图6);W02003/025138(权利要求12;页码144);W02001/98351(权利要求1;页码124-125);EP0522868(权利要求8;图2);W02001/77172(权利要求1;页码297-299);US2003/109676;US6518404(图3);US5773223(权利要求1a;第31-34栏);W02004/001004。

[0379] (10)MSG783(RNF124,假定蛋白FLJ20315)

[0380] 核苷酸

[0381] Genbank登录号NM\_017763

[0382] Genbank版本号NM\_017763.4GI:167830482

[0383] Genbank记录更新日期:2012年7月22日上午12:34

[0384] 多肽

[0385] Genbank登录号NP\_060233

[0386] Genbank版本号NP\_060233.3 GI:56711322

[0387] Genbank记录更新日期:2012年7月22日上午12:34

[0388] 交叉参考

[0389] W02003/104275(权利要求1);W02004/046342(实施例2);W02003/042661(权利要求12);W02003/083074(权利要求14;页码61);W02003/018621(权利要求1);W02003/024392(权利要求2;图93);W02001/66689(实施例6);LocusID:54894。

[0390] (11)STEAP2(HGNC\_8639,IPCA-1,PCANAP1,STAMP1,STEAP2,STMP,前列腺癌相关基因1,前列腺癌相关蛋白1,前列腺的六跨膜上皮抗原2,六跨膜前列腺蛋白)

- [0391] 核苷酸
- [0392] Genbank登录号AF455138
- [0393] Genbank版本号AF455138.1 GI:22655487
- [0394] Genbank记录更新日期:2010年3月11日上午01:54
- [0395] 多肽
- [0396] Genbank登录号AAN04080
- [0397] Genbank版本号AAN04080.1 GI:22655488
- [0398] Genbank记录更新日期:2010年3月11日上午01:54
- [0399] 交叉参考
- [0400] Lab. Invest. 82 (11) :1573-1582 (2002) ; W02003/087306; US2003/064397 (权利要求1; 图1) ; W02002/72596 (权利要求13; 页码54-55) ; W02001/72962 (权利要求1; 图4B) ; W02003/104270 (权利要求11) ; W02003/104270 (权利要求16) ; US2004/005598 (权利要求22) ; W02003/042661 (权利要求12) ; US2003/060612 (权利要求12; 图10) ; W02002/26822 (权利要求23; 图2) ; W02002/16429 (权利要求12; 图10) ; GI:22655488。
- [0401] (12) TrpM4 (BR22450, FLJ20041, TRPM4, TRPM4B, 瞬时受体电位阳离子通道, 亚家族M, 成员4)
- [0402] 核苷酸
- [0403] Genbank登录号NM\_017636
- [0404] Genbank版本号NM\_017636.3 GI:304766649
- [0405] Genbank记录更新日期:2012年6月29日上午11:27
- [0406] 多肽
- [0407] Genbank登录号NP\_060106
- [0408] Genbank版本号NP\_060106.2 GI:21314671
- [0409] Genbank记录更新日期:2012年6月29日上午11:27
- [0410] 交叉参考
- [0411] Xu, X.Z. 等 Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98 (19) :10692-10697 (2001) , Cell 109 (3) :397-407 (2002) , J. Biol. Chem. 278 (33) :30813-30820 (2003) ; US2003/143557 (权利要求4) ; W02000/40614 (权利要求14; 页码100-103) ; W02002/10382 (权利要求1; 图9A) ; W02003/042661 (权利要求12) ; W02002/30268 (权利要求27; 页码391) ; US2003/219806 (权利要求4) ; W02001/62794 (权利要求14; 图1A-D) ; MIM:606936。
- [0412] (13) CRIPTO (CR, CR1, CRGF, CRIPTO, TDGF1, 畸胎癌源性生长因子)
- [0413] 核苷酸
- [0414] Genbank登录号NM\_003212
- [0415] Genbank版本号NM\_003212.3 GI:292494881
- [0416] Genbank记录更新日期:2012年9月23日下午02:27
- [0417] 多肽
- [0418] Genbank登录号NP\_003203
- [0419] Genbank版本号NP\_003203.1 GI:4507425
- [0420] Genbank记录更新日期:2012年9月23日下午02:27

[0421] 交叉参考

[0422] Ciccodicola, A. 等EMBO J. 8 (7) :1987-1991 (1989), Am. J. Hum. Genet. 49 (3) :555-565 (1991); US2003/224411 (权利要求1); W02003/083041 (实施例1); W02003/034984 (权利要求12); W02002/88170 (权利要求2; 页码52-53); W02003/024392 (权利要求2; 图58); W02002/16413 (权利要求1; 页码94-95, 105); W02002/22808 (权利要求2; 图1); US5854399 (实施例2; 第17-18栏); US5792616 (图2); MIM:187395。

[0423] (14) CD21 (CR2 (补体受体2) 或C3DR (C3d/埃-巴二氏病毒受体 (Epstein Barr virus receptor)) 或Hs.73792)

[0424] 核苷酸

[0425] Genbank登录号M26004

[0426] Genbank版本号M26004.1 GI:181939

[0427] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:47

[0428] 多肽

[0429] Genbank登录号AAA35786

[0430] Genbank版本号AAA35786.1 GI:181940

[0431] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:47

[0432] 交叉参考

[0433] Fujisaku等(1989) J. Biol. Chem. 264 (4) :2118-2125; Weis J. J. 等 J. Exp. Med. 167, 1047-1066, 1988; Moore M. 等 Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 84, 9194-9198, 1987; Barel M. 等 Mol. Immunol. 35, 1025-1031, 1998; Weis J. J. 等 Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 83, 5639-5643, 1986; Sinha S. K. 等 (1993) J. Immunol. 150, 5311-5320; W02004/045520 (实施例4); US2004/005538 (实施例1); W02003/062401 (权利要求9); W02004/045520 (实施例4); W091/02536 (图9.1-9.9); W02004/020595 (权利要求1); 登录号:P20023; Q13866; Q14212; EMBL; M26004; AAA35786.1。

[0434] (15) CD79b (CD79B, CD79 $\beta$ , IGb (免疫球蛋白相关 $\beta$ ), B29)

[0435] 核苷酸

[0436] Genbank登录号NM\_000626

[0437] Genbank版本号NM\_000626.2 GI:90193589

[0438] Genbank记录更新日期:2012年6月26日下午01:53

[0439] 多肽

[0440] Genbank登录号NP\_000617

[0441] Genbank版本号NP\_000617.1 GI:11038674

[0442] Genbank记录更新日期:2012年6月26日下午01:53

[0443] 交叉参考

[0444] Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (2003) 100 (7) :4126-4131, Blood (2002) 100 (9) :3068-3076, Muller等 (1992) Eur. J. Immunol. 22 (6) :1621-1625; W02004/016225 (权利要求2, 图140); W02003/087768, US2004/101874 (权利要求1, 页码102); W02003/062401 (权利要求9); W02002/78524 (实施例2); US2002/150573 (权利要求5, 页码15); US5644033; W02003/048202 (权利要求1, 页码306和309); W0 99/58658, US6534482 (权利要求13, 图17A/B);

W02000/55351 (权利要求11,页码1145-1146);MIM:147245

[0445] (16)FcRH2(IFGP4,IRTA4,SPAP1A(SH2域,包含磷酸酶锚定蛋白1a),SPAP1B,SPAP1C)

[0446] 核苷酸

[0447] Genbank登录号NM\_030764

[0448] Genbank版本号NM\_030764.3 GI:227430280

[0449] Genbank记录更新日期:2012年6月30日上午12:30

[0450] 多肽

[0451] Genbank登录号NP\_110391

[0452] Genbank版本号NP\_110391.2 GI:19923629

[0453] Genbank记录更新日期:2012年6月30日上午12:30

[0454] 交叉参考

[0455] AY358130);Genome Res.13(10):2265-2270(2003),Immunogenetics 54(2):87-95(2002),Blood 99(8):2662-2669(2002),Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.98(17):9772-9777(2001),Xu,M.J.等(2001)Biochem.Biophys.Res.Commun.280(3):768-775;W02004/016225(权利要求2);W02003/077836;W02001/38490(权利要求5;图18D-1-18D-2);W02003/097803(权利要求12);W02003/089624(权利要求25);MIM:606509。

[0456] (17)HER2(ErbB2)

[0457] 核苷酸

[0458] Genbank登录号M11730

[0459] Genbank版本号M11730.1 GI:183986

[0460] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:47

[0461] 多肽

[0462] Genbank登录号AAA75493

[0463] Genbank版本号AAA75493.1 GI:306840

[0464] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:47

[0465] 交叉参考

[0466] Coussens L.等Science(1985)230(4730):1132-1139);Yamamoto T.等Nature 319,230-234,1986;Semba K.等Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.82,6497-6501,1985;Swiercz J.M.等J.Cell Biol.165,869-880,2004;Kuhns J.J.等J.Biol.Chem.274,36422-36427,1999;Cho H.-S.等Nature 421,756-760,2003;Ehsani A.等(1993)Genomics 15,426-429;W02004/048938(实施例2);W02004/027049(图1I);W02004/009622;W02003/081210;W02003/089904(权利要求9);W02003/016475(权利要求1);US2003/118592;W02003/008537(权利要求1);W02003/055439(权利要求29;图1A-B);W02003/025228(权利要求37;图5C);W02002/22636(实施例13;页码95-107);W02002/12341(权利要求68;图7);W02002/13847(页码71-74);W02002/14503(页码114-117);W02001/53463(权利要求2;页码41-46);W02001/41787(页码15);W02000/44899(权利要求52;图7);W02000/20579(权利要求3;图2);US5869445(权利要求3;第Col 31-38栏);W09630514(权利要求2;页码56-61);EP1439393(权利要求7);W02004/043361(权利要求7);W02004/022709;W02001/00244(实施

例3;图4);登录号:P04626;EMBL;M11767;AAA35808.1.EMBL;M11761;AAA35808.1。

[0467] 抗体

[0468] Abbott:US20110177095

[0469] 例如,一种抗体,其包含CDR,所述CDR与具有SEQ ID NO:3(CDR-H1)、SEQ ID NO:4(CDR-H2)、SEQ ID NO:5(CDR-H3)、SEQ ID NO:104和/或SEQ ID NO:6(CDR-L1)、SEQ ID NO:7(CDR-L2)、和SEQ ID NO:8(CDR-L3)的氨基酸序列的CDR具有总体至少80%的序列同一性,其中相比于具有SEQ ID NO:1的VH和SEQ ID NO:2的VL的抗体,抗HER2抗体或抗HER2结合片段具有降低的免疫原性。

[0470] Biogen:US20100119511

[0471] 例如,ATCC登录号:PTA-10355,PTA-10356,PTA-10357,PTA-10358

[0472] 例如,纯化的抗体分子,该分子结合于HER2,其包含来自抗体的所有6个CDR,所述抗体选自BIIB71F10(SEQ ID NO:11、13)、BIIB69A09(SEQ ID NO:15、17);BIIB67F10(SEQ ID NO:19、21);BIIB67F11(SEQ ID NO:23、25)、BIIB66A12(SEQ ID NO:27、29)、BIIB66C01(SEQ ID NO:31、33)、BIIB65C10(SEQ ID NO:35、37)、BIIB65H09(SEQ ID NO:39、41)和BIIB65B03(SEQ ID NO:43、45)组成的组,或与所述CDR相同或与所述CDR没有超过两个的改变。

[0473] 赫赛汀(Herceptin)(Genentech)-US6,054,297;ATCC登录号CRL-10463(Genentech)

[0474] 帕妥珠单抗(Pertuzumab)(Genentech)

[0475] US20110117097

[0476] 例如,参见SEQ ID No.15和16、SEQ ID No.17和18、SEQ ID No.23和24以及ATCC登录号HB-12215、HB-12216、CRL 10463、HB-12697。

[0477] US20090285837

[0478] US20090202546

[0479] 例如,ATCC登录号:HB-12215、HB-12216、CRL 10463、HB-12698。

[0480] US20060088523

[0481] -例如,ATCC登录号:HB-12215、HB-12216

[0482] -例如,抗体,其包含分别在SEQ ID No.3和4中的可变轻和可变重氨基酸序列。

[0483] -例如,抗体,包含轻链氨基酸序列,其选自SEQ ID No.15和23,以及重链氨基酸序列,其选自SEQ ID No.16和24

[0484] US20060018899

[0485] -例如,ATCC登录号:(7C2)HB-12215、(7F3)HB-12216、(4D5)CRL-10463、(2C4)HB-12697。

[0486] -例如,抗体,包含在SEQ ID No.23中的氨基酸序列、或其脱酰胺基和/或氧化变体。

[0487] US2011/0159014

[0488] -例如,抗体,具有轻链可变域,其包含SEQ ID NO:1”的高变区。

[0489] -例如,抗体,具有重链可变域,其包含SEQ ID NO:2的高变区。

[0490] US20090187007

- [0491] Glycotope:TrasGEX抗体<http://www.glycotope.com/pipeline>
- [0492] 例如,参见International Joint Cancer Institute and Changhai Hospital Cancer Cent:HMTI-Fc Ab-Gao J.等BMB Rep.2009年10月31日,42(10):636-41。
- [0493] Symphogen:US20110217305
- [0494] Union Stem Cell&Gene Engineering,China-Liu HQ.等Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi.2010年5月;26(5):456-8。
- [0495] (18) NCA (CEACAM6)
- [0496] 核苷酸
- [0497] Genbank登录号M18728
- [0498] Genbank版本号M18728.1 GI:189084
- [0499] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:48
- [0500] 多肽
- [0501] Genbank登录号AAA59907
- [0502] Genbank版本号AAA59907.1 GI:189085
- [0503] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:48
- [0504] 交叉参考
- [0505] Barnett T. 等 Genomics 3, 59-66, 1988; Tawaragi Y. 等 Biochem. Biophys. Res. Commun. 150, 89-96, 1988; Strausberg R.L. 等 Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99:16899-16903, 2002; W02004/063709; EP1439393 (权利要求7); W02004/044178 (实施例4); W02004/031238; W02003/042661 (权利要求12); W02002/78524 (实施例2); W02002/86443 (权利要求27; 页码427); W02002/60317 (权利要求2); 登录号: P40199; Q14920; EMBL; M29541; AAA59915.1. EMBL; M18728。
- [0506] (19) MDP (DPEP1)
- [0507] 核苷酸
- [0508] Genbank登录号BC017023
- [0509] Genbank版本号BC017023.1 GI:16877538
- [0510] Genbank记录更新日期:2012年3月6日下午01:00
- [0511] 多肽
- [0512] Genbank登录号AAH17023
- [0513] Genbank版本号AAH17023.1 GI:16877539
- [0514] Genbank记录更新日期:2012年3月6日下午01:00
- [0515] 交叉参考
- [0516] Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99 (26):16899-16903 (2002); W02003/016475 (权利要求1); W02002/64798 (权利要求33; 页码85-87); JP05003790 (图6-8); W099/46284 (图9); MIM:179780。
- [0517] (20) IL20R- $\alpha$  (IL20Ra, ZCYTOR7)
- [0518] 核苷酸
- [0519] Genbank登录号AF184971
- [0520] Genbank版本号AF184971.1 GI:6013324

- [0521] Genbank记录更新日期:2010年3月10日下午10:00
- [0522] 多肽
- [0523] Genbank登录号AAF01320
- [0524] Genbank版本号AAF01320.1 GI:6013325
- [0525] Genbank记录更新日期:2010年3月10日下午10:00
- [0526] 交叉参考
- [0527] Clark H.F.等Genome Res.13,2265-2270,2003;Mungall A.J.等Nature 425,805-811,2003;Blumberg H.等Cell 104,9-19,2001;Dumoutier L.等J.Immunol.167,3545-3549,2001;Parrish-Novak J.等J.Biol.Chem.277,47517-47523,2002;Pletnev S.等(2003)Biochemistry 42:12617-12624;Sheikh F.等(2004)J.Immunol.172,2006-2010;EP1394274(实施例11);US2004/005320(实施例5);W02003/029262(页码74-75);W02003/002717(权利要求2;页码63);W02002/22153(页码45-47);US2002/042366(页码20-21);W02001/46261(页码57-59);W02001/46232(页码63-65);W098/37193(权利要求1;页码55-59);登录号:Q9UHF4;Q6UWA9;Q96SH8;EMBL;AF184971;AAF01320.1。
- [0528] (21)短蛋白聚糖(Brevican)(BCAN,BEHAB)
- [0529] 核苷酸
- [0530] Genbank登录号AF229053
- [0531] Genbank版本号AF229053.1 GI:10798902
- [0532] Genbank记录更新日期:2010年3月11日上午12:58
- [0533] 多肽
- [0534] Genbank登录号AAG23135
- [0535] Genbank版本号AAG23135.1 GI:10798903
- [0536] Genbank记录更新日期:2010年3月11日上午12:58
- [0537] 交叉参考
- [0538] Gary S.C.等Gene 256,139-147,2000;Clark H.F.等Genome Res.13,2265-2270,2003;Strausberg R.L.等Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.99,16899-16903,2002;US2003/186372(权利要求11);US2003/186373(权利要求11);US2003/119131(权利要求1;图52);US2003/119122(权利要求1;图52);US2003/119126(权利要求1);US2003/119121(权利要求1;图52);US2003/119129(权利要求1);US2003/119130(权利要求1);US2003/119128(权利要求1;图52);US2003/119125(权利要求1);W02003/016475(权利要求1);W02002/02634(权利要求1)
- [0539] (22)EphB2R(DRT,ERK,Hek5,EPHT3,Tyro5)
- [0540] 核苷酸
- [0541] Genbank登录号NM\_004442
- [0542] Genbank版本号NM\_004442.6GI:111118979
- [0543] Genbank记录更新日期:2012年9月8日下午04:43
- [0544] 多肽
- [0545] Genbank登录号NP\_004433
- [0546] Genbank版本号NP\_004433.2 GI:21396504



- [0547] Genbank记录更新日期:2012年9月8日下午04:43
- [0548] 交叉参考
- [0549] Chan, J. 和 Watt, V. M., *Oncogene* 6 (6), 1057-1061 (1991) *Oncogene* 10 (5): 897-905 (1995), *Annu. Rev. Neurosci.* 21: 309-345 (1998), *Int. Rev. Cytol.* 196: 177-244 (2000); W02003042661 (权利要求12); W0200053216 (权利要求1; 页码41); W02004065576 (权利要求1); W02004020583 (权利要求9); W02003004529 (页码128-132); W0200053216 (权利要求1; 页码42); MIM:600997。
- [0550] (23) ASLG659 (B7h)
- [0551] 核苷酸
- [0552] Genbank登录号AX092328
- [0553] Genbank版本号AX092328.1 GI:13444478
- [0554] Genbank记录更新日期:2011年1月26日上午07:37
- [0555] 交叉参考
- [0556] US2004/0101899 (权利要求2); W02003104399 (权利要求11); W02004000221 (图3); US2003/165504 (权利要求1); US2003/124140 (实施例2); US2003/065143 (图60); W02002/102235 (权利要求13; 页码299); US2003/091580 (实施例2); W02002/10187 (权利要求6; 图10); W02001/94641 (权利要求12; 图7b); W02002/02624 (权利要求13; 图1A-1B); US2002/034749 (权利要求54; 页码45-46); W02002/06317 (实施例2; 页码320-321, 权利要求34; 页码321-322); W02002/71928 (页码468-469); W02002/02587 (实施例1; 图1); W02001/40269 (实施例3; 页码190-192); W02000/36107 (实施例2; 页码205-207); W02004/053079 (权利要求12); W02003/004989 (权利要求1); W02002/71928 (页码233-234, 452-453); WO 01/16318。
- [0557] (24) PSCA (前列腺干细胞抗原前体)
- [0558] 核苷酸
- [0559] Genbank登录号AJ297436
- [0560] Genbank版本号AJ297436.1 GI:9367211
- [0561] Genbank记录更新日期:2011年2月1日上午11:25
- [0562] 多肽
- [0563] Genbank登录号CAB97347
- [0564] Genbank版本号CAB97347.1 GI:9367212
- [0565] Genbank记录更新日期:2011年2月1日上午11:25
- [0566] 交叉参考
- [0567] Reiter R.E. 等 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95, 1735-1740, 1998; Gu Z. 等 *Oncogene* 19, 1288-1296, 2000; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2000) 275 (3): 783-788; W02004/022709; EP1394274 (实施例11); US2004/018553 (权利要求17); W02003/008537 (权利要求1); W02002/81646 (权利要求1; 页码164); W02003/003906 (权利要求10; 页码288); W02001/40309 (实施例1; 图17); US2001/055751 (实施例1; 图1b); W02000/32752 (权利要求18; 图1); W098/51805 (权利要求17; 页码97); W098/51824 (权利要求10; 页码94); W098/40403 (权利要求2; 图1B); 登录号:043653; EMBL:AF043498; AAC39607.1

- [0569] (25) GEDA
- [0570] 核苷酸
- [0571] Genbank登录号AY260763
- [0572] Genbank版本号AY260763.1 GI:30102448
- [0573] Genbank记录更新日期:2010年3月11日上午02:24
- [0574] 多肽
- [0575] Genbank登录号AAP14954
- [0576] Genbank版本号AAP14954.1 GI:30102449
- [0577] Genbank记录更新日期:2010年3月11日上午02:24
- [0578] 交叉参考
- [0579] AP14954脂肪瘤HMGIC融合-配偶体样蛋白/pid=AAP14954.1-智人(人);W02003/054152(权利要求20);W02003/000842(权利要求1);W02003/023013(实施例3,权利要求20);US2003/194704(权利要求45);GI:30102449;
- [0580] (26) BAFF-R(B细胞活化因子受体,BLyS受体3,BR3)
- [0581] 核苷酸
- [0582] Genbank登录号AF116456
- [0583] Genbank版本号AF116456.1 GI:4585274
- [0584] Genbank记录更新日期:2010年3月10日下午09:44
- [0585] 多肽
- [0586] Genbank登录号AAD25356
- [0587] Genbank版本号AAD25356.1 GI:4585275
- [0588] Genbank记录更新日期:2010年3月10日下午09:44
- [0589] 交叉参考
- [0590] BAFF受体/pid=NP\_443177.1-智人:Thompson,J.S.等Science 293(5537),2108-2111(2001);W02004/058309;W02004/011611;W02003/045422(实施例;页码32-33);W02003/014294(权利要求35;图6B);W02003/035846(权利要求70;页码615-616);W02002/94852(第136-137栏);W02002/38766(权利要求3;页码133);W02002/24909(实施例3;图3);MIM:606269;NP\_443177.1;NM\_052945\_1;AF132600
- [0591] (27) CD22(B细胞受体CD22-B同种型,BL-CAM,Lyb-8,Lyb8,SIGLEC-2,FLJ22814)
- [0592] 核苷酸
- [0593] Genbank登录号AK026467
- [0594] Genbank版本号AK026467.1 GI:10439337
- [0595] Genbank记录更新日期:2006年9月11日下午11:24
- [0596] 多肽
- [0597] Genbank登录号BAB15489
- [0598] Genbank版本号BAB15489.1 GI:10439338
- [0599] Genbank记录更新日期:2006年9月11日下午11:24
- [0600] 交叉参考
- [0601] Wilson等(1991)J.Exp.Med.173:137-146;W02003/072036(权利要求1;图1);IM:

107266;NP\_001762.1;NM\_001771\_1。

[0602] (27a) CD22 (CD22分子)

[0603] 核苷酸

[0604] Genbank登录号X52785

[0605] Genbank版本号X52785.1 GI:29778

[0606] Genbank记录更新日期:2011年2月2日上午10:09

[0607] 多肽

[0608] Genbank登录号CAA36988

[0609] Genbank版本号CAA36988.1 GI:29779

[0610] Genbank记录更新日期:2011年2月2日上午10:09

[0611] 交叉参考

[0612] Stamenkovic I.等,Nature 345 (6270),74-77 (1990)

[0613] 其他信息

[0614] 官方代号:CD22

[0615] 其他别名:SIGLEC-2,SIGLEC2

[0616] 其他名称:B细胞受体CD22;B淋巴细胞细胞粘附分子;BL-CAM;CD22抗原;T细胞表面抗原亮氨酸-14;唾液酸结合Ig样凝集素2;唾液酸结合Ig样凝集素2

[0617] 抗体

[0618] G5/44 (伊珠单抗, Inotuzumab): DiJoseph JF. 等Cancer Immunol Immunother. 2005年1月;54(1):11-24。

[0619] 依帕珠单抗-Goldenberg DM. 等Expert Rev Anticancer Ther. 6(10):1341-53, 2006。

[0620] (28) CD79a (CD79A, CD79a), 免疫球蛋白相关的 $\alpha$ 、B细胞特异性蛋白, 其共价相互作用于Ig $\beta$  (CD79B) 并在表面上形成与Ig M分子的复合物, 转导涉及B细胞分化的信号, pI: 4.84, MW:25028TM:2

[0621] [P]基因染色体:19q13.2)。

[0622] 核苷酸

[0623] Genbank登录号NM\_001783

[0624] Genbank版本号NM\_001783.3 GI:90193587

[0625] Genbank记录更新日期:2012年6月26日下午01:48

[0626] 多肽

[0627] Genbank登录号NP\_001774

[0628] Genbank版本号NP\_001774.1 GI:4502685

[0629] Genbank记录更新日期:2012年6月26日下午01:48

[0630] 交叉参考

[0631] W02003/088808, US2003/0228319; W02003/062401 (权利要求9); US2002/150573 (权利要求4, 页码13-14); W099/58658 (权利要求13, 图16); W092/07574 (图1); US5644033; Ha等(1992) J. Immunol. 148 (5):1526-1531; Müller等(1992) Eur. J. Immunol. 22:1621-1625; Hashimoto等(1994) Immunogenetics 40 (4):287-295; Preud'homme等(1992)

Clin. Exp. Immunol. 90 (1) : 141-146; Yu等 (1992) J. Immunol. 148 (2) 633-637; Sakaguchi等 (1988) EMBO J. 7 (11) : 3457-3464

[0632] (29) CXCR5 (伯基特淋巴瘤受体1, G蛋白偶联受体, 其被CXCL13趋化因子活化, 在淋巴细胞迁移和体液性防御中起作用, 在HIV-2感染中以及也许在AIDS、淋巴瘤、骨髓瘤、和白血病的发展中起作用); 372aa, pI: 8.54MW: 41959TM: 7 [P] 基因染色体: 11q23.3,

[0633] 核苷酸

[0634] Genbank登录号NM\_001716

[0635] Genbank版本号NM\_001716.4GI: 342307092

[0636] Genbank记录更新日期: 2012年9月30日下午01:49

[0637] 多肽

[0638] Genbank登录号NP\_001707

[0639] Genbank版本号NP\_001707.1 GI: 4502415

[0640] Genbank记录更新日期: 2012年9月30日下午01:49

[0641] 交叉参考

[0642] W02004/040000; W02004/015426; US2003/105292 (实施例2); US6555339 (实施例2); W02002/61087 (图1); W02001/57188 (权利要求20, 页码269); W02001/72830 (页码12-13); W02000/22129 (实施例1, 页码152-153, 实施例2, 页码254-256); W099/28468 (权利要求1, 页码38); US5440021 (实施例2, 第49-52栏); W094/28931 (页码56-58); W092/17497 (权利要求7, 图5); Dobner等 (1992) Eur. J. Immunol. 22: 2795-2799; Barella等 (1995) Biochem. J. 309: 773-779

[0643] (30) HLA-DOB (MHC II类分子的β亚基 (Ia抗原), 其结合肽并将它们呈递到CD4+T淋巴细胞); 273aa, pI: 6.56, MW: 30820. TM: 1 [P] 基因染色体: 6p21.3)

[0644] 核苷酸

[0645] Genbank登录号NM\_002120

[0646] Genbank版本号NM\_002120.3 GI: 118402587

[0647] Genbank记录更新日期: 2012年9月8日下午04:46

[0648] 多肽

[0649] Genbank登录号NP\_002111

[0650] Genbank版本号NP\_002111.1 GI: 4504403

[0651] Genbank记录更新日期: 2012年9月8日下午04:46

[0652] 交叉参考

[0653] Tonnelie等 (1985) EMBO J. 4 (11) : 2839-2847; Jonsson等 (1989) Immunogenetics 29 (6) : 411-413; Beck等 (1992) J. Mol. Biol. 228: 433-441; Strausberg等 (2002) Proc. Natl. Acad. Sci USA 99: 16899-16903; Servenius等 (1987) J. Biol. Chem. 262: 8759-8766; Beck等 (1996) J. Mol. Biol. 255: 1-13; Naruse等 (2002) Tissue Antigens 59: 512-519; W099/58658 (权利要求13, 图15); US6153408 (第35-38栏); US5976551 (第168-170栏); US6011146 (第145-146栏); Kasahara等 (1989) Immunogenetics 30 (1) : 66-68; Larhammar等 (1985) J. Biol. Chem. 260 (26) : 14111-14119

[0654] (31) P2X5 (嘌呤能受体P2X配体门控离子通道5, 由细胞外ATP门控的离子通道, 可

能涉及突触传递和神经发生,缺乏可能有助于特发性逼尿肌不稳定的病理生理学);422aa),pI:7.63,MW:47206TM:1[P]基因染色体:17p13.3)。

[0655] 核苷酸

[0656] Genbank登录号NM\_002561

[0657] Genbank版本号NM\_002561.3 GI:325197202

[0658] Genbank记录更新日期:2012年6月27日上午12:41

[0659] 多肽

[0660] Genbank登录号NP\_002552

[0661] Genbank版本号NP\_002552.2 GI:28416933

[0662] Genbank记录更新日期:2012年6月27日上午12:41

[0663] 交叉参考

[0664] Le等(1997)FEBS Lett.418(1-2):195-199;W02004/047749;W02003/072035(权利要求10);Touchman等(2000)Genome Res.10:165-173;W02002/22660(权利要求20);W02003/093444(权利要求1);W02003/087768(权利要求1);W02003/029277(页码82)

[0665] (32)CD72(B细胞分化抗原CD72, Lyb-2);359aa,pI:8.66,MW:40225,TM:1[P]基因染色体:9p13.3)。

[0666] 核苷酸

[0667] Genbank登录号NM\_001782

[0668] Genbank版本号NM\_001782.2 GI:194018444

[0669] Genbank记录更新日期:2012年6月26日下午01:43

[0670] 多肽

[0671] Genbank登录号NP\_001773

[0672] Genbank版本号NP\_001773.1 GI:4502683

[0673] Genbank记录更新日期:2012年6月26日下午01:43

[0674] 交叉参考

[0675] W02004042346(权利要求65);W02003/026493(页码51-52,57-58);W02000/75655(页码105-106);Von Hoegen等(1990)J.Immunol.144(12):4870-4877;Strausberg等(2002)Proc.Natl.Acad.SciUSA 99:16899-16903。

[0676] (33)LY64(淋巴细胞抗原64(RP105),富含亮氨酸重复(LRR)家族的I型膜蛋白,调节B细胞活化和细胞凋亡,在患有系统性红斑狼疮的患者中功能的丧失相关于增加的疾病活性);661aa,pI:6.20,MW:74147TM:1[P]基因染色体:5q12)。

[0677] 核苷酸

[0678] Genbank登录号NM\_005582

[0679] Genbank版本号NM\_005582.2 GI:167555126

[0680] Genbank记录更新日期:2012年9月2日下午01:50

[0681] 多肽

[0682] Genbank登录号NP\_005573

[0683] Genbank版本号NP\_005573.2 GI:167555127

[0684] Genbank记录更新日期:2012年9月2日下午01:50

[0685] 交叉参考

[0686] US2002/193567;W097/07198(权利要求11,页码39-42);Miura等(1996)Genomics 38(3):299-304;Miura等(1998)Blood 92:2815-2822;W02003/083047;W097/44452(权利要求8,页码57-61);W02000/12130(页码24-26)。

[0687] (34)FcRH1(Fc受体样蛋白1,假定受体,用于免疫球蛋白Fc域,其包含C2型Ig样和ITAM域,在B淋巴细胞分化中可以具有作用);429aa,pI:5.28,MW:46925TM:1[P]基因染色体:1q21-1q22)

[0688] 核苷酸

[0689] Genbank登录号NM\_052938

[0690] Genbank版本号NM\_052938.4GI:226958543

[0691] Genbank记录更新日期:2012年9月2日下午01:43

[0692] 多肽

[0693] Genbank登录号NP\_443170

[0694] Genbank版本号NP\_443170.1 GI:16418419

[0695] Genbank记录更新日期:2012年9月2日下午01:43

[0696] 交叉参考

[0697] W02003/077836;W02001/38490(权利要求6,图18E-1-18-E-2);Davis等(2001)Proc.Natl.Acad.Sci USA 98(17):9772-9777;W02003/089624(权利要求8);EP1347046(权利要求1);W02003/089624(权利要求7)。

[0698] (35)IRTA2(免疫球蛋白超家族受体易位相关的2,假定的免疫受体,其在B细胞的发育和淋巴瘤发生中具有可能的作用;在一些B细胞恶性疾病中发生基因的去调节(通过易位));977aa,pI:6.88,MW:106468,TM:1[P]基因染色体:1q21)

[0699] 核苷酸

[0700] Genbank登录号AF343662

[0701] Genbank版本号AF343662.1 GI:13591709

[0702] Genbank记录更新日期:2010年3月11日上午01:16

[0703] 多肽

[0704] Genbank登录号AAK31325

[0705] Genbank版本号AAK31325.1 GI:13591710

[0706] Genbank记录更新日期:2010年3月11日上午01:16

[0707] 交叉参考

[0708] AF343663,AF343664,AF343665,AF369794,AF397453,AK090423,AK090475,AL834187,AY358085;小鼠:AK089756,AY158090,AY506558;NP\_112571.1;W02003/024392(权利要求2,图97);Nakayama等(2000)Biochem.Biophys.Res.Commun.277(1):124-127;W02003/077836;W02001/38490(权利要求3,图18B-1-18B-2)。

[0709] (36)TENB2(TMEFF2,tomoregulin,TPEF,HPP1,TR,推定的跨膜蛋白多糖,涉及到生长因子和卵泡抑素的EGF/调蛋白(heregulin)家族);374aa)

[0710] 核苷酸

[0711] Genbank登录号AF179274

- [0712] Genbank版本号AF179274.2 GI:12280939
- [0713] Genbank记录更新日期:2010年3月11日上午01:05
- [0714] 多肽
- [0715] Genbank登录号AAD55776
- [0716] Genbank版本号AAD55776.2 GI:12280940
- [0717] Genbank记录更新日期:2010年3月11日上午01:05
- [0718] 交叉参考
- [0719] NCBI 登录号:AAD55776,AAF91397,AAG49451,NCBI RefSeq:NP\_057276;NCBI Gene:23671;OMIM:605734;SwissProt Q9UIK5;AY358907,CAF85723,CQ782436;W02004/074320;JP2004113151;W02003/042661;W02003/009814;EP1295944 (页码69-70);W02002/30268 (页码329);W02001/90304;US2004/249130;US2004/022727;W02004/063355;US2004/197325;US2003/232350;US2004/005563;US2003/124579;Horie等(2000) Genomics 67:146-152;Uchida等(1999) Biochem. Biophys. Res. Commun. 266:593-602;Liang等(2000) Cancer Res. 60:4907-12;Glynne-Jones等(2001) Int J Cancer. 10月15日;94(2):178-84。
- [0720] (37) PSMA-FOLH1 (叶酸水解酶(前列腺特异性膜抗原) 1)
- [0721] 核苷酸
- [0722] Genbank登录号M99487
- [0723] Genbank版本号M99487.1 GI:190663
- [0724] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:48
- [0725] 多肽
- [0726] Genbank登录号AAA60209
- [0727] Genbank版本号AAA60209.1 GI:190664
- [0728] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:48
- [0729] 交叉参考
- [0730] Israeli R.S.等Cancer Res. 53(2), 227-230 (1993)
- [0731] 其他信息
- [0732] 官方代号:FOLH1
- [0733] 其他别名:GIG27、FGCP、FOLH、GCP2、GCPII、NAALAD1、NAALADase、PSM、PSMA、mGCP
- [0734] 其他名称:N-乙酰化 $\alpha$ -连接的酸性二肽酶1;N-乙酰化 $\alpha$ -连接的酸性二肽酶I;N-乙酰化 $\alpha$ 连接的酸性二肽酶 (NAALADase I);细胞生长抑制基因27蛋白;叶酰多- $\gamma$ -谷氨酸羧肽酶;谷氨酸羧化酶II;谷氨酸羧肽酶2;谷氨酸羧肽酶II;膜谷氨酸羧肽酶;前列腺特异性膜抗原变体F;蝶酰多- $\gamma$ -谷氨酸羧肽酶
- [0735] 抗体
- [0736] US 7,666,425:
- [0737] 抗体是通过杂交瘤所产生,其具有以下ATCC参考:ATCC登录号HB-12101、ATCC登录号HB-12109、ATCC登录号HB-12127和ATCC登录号HB-12126。
- [0738] Proscan:单克隆抗体,其选自由8H12、3E11、17G1、29B4、30C1和20F2组成的组 (US 7,811,564;Moffett S.等Hybridoma (Larchmt). 2007年12月;26(6):363-72)。
- [0739] Cytogen:单克隆抗体7E11-C5 (ATCC登录号HB 10494) 和9H10-A4 (ATCC登录号

HB11430) -US 5,763,202

[0740] GlycoMimetics:NUH2-ATCC登录号HB 9762 (US 7,135,301)

[0741] 人类基因组科学 (Human Genome Science):HPRAJ70-ATCC登录号97131 (US 6,824,993);由cDNA克隆 (HPRAJ70) 编码的氨基酸序列,保藏于美国典型培养物保藏中心 (“ATCC”),保藏号97131

[0742] Medarex:抗PSMA抗体,其缺乏岩藻糖基残基-US 7,875,278

[0743] 小鼠抗PSMA抗体包括3F5.4G6、3D7.1.1、4E10-1.14、3E11、4D8、3E6、3C9、2C7、1G3、3C4、3C6、4D4、1G9、5C8B9、3G6、4C8B9、和单克隆抗体。分泌3F5.4G6、3D7.1.1、4E10-1.14、3E11、4D8、3E6、3C9、2C7、1G3、3C4、3C6、4D4、1G9、5C8B9、3G6或4C8B9的杂交瘤已公开保藏并描述于美国专利号6,159,508。有关的杂交瘤已公开保藏并描述于美国专利号6,107,090。此外,人源化抗PSMA抗体,包括J591的人源化形式,进一步详细描述于PCT申请公开W0 02/098897。

[0744] 在本领域中已描述了其他小鼠抗人PSMA抗体,如mAb 107-1A4 (Wang, S.等 (2001) Int. J. Cancer 92:871-876) 和mAb 2C9 (Kato, K.等 (2003) Int. J. Urol. 10:439-444)。

[0745] 人抗PSMA单克隆抗体的实例包括4A3、7F12、8C12、8A11、16F9、2A10、2C6、2F5和1C3抗体,其分离和结构表征最初描述于PCT申请公开W0 01/09192和W0 03/064606以及美国临时申请序列号60/654,125,题为“Human Monoclonal Antibodies to Prostate Specific Membrane Antigen (PSMA)”,于2005年2月18日提交。4A3、7F12、8C12、8A11、16F9、2A10、2C6、2F5和1C3的V. sub. H (重链可变) 氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:1-9。4A3、7F12、8C12、8A11、16F9、2A10、2C6、2F5和1C3的V. sub. L (轻链可变) 氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:10-18。

[0746] 其他人抗PSMA抗体包括在PCT申请公开W0 03/034903和美国申请号2004/0033229中公开的抗体。

[0747] NW Biotherapeutics:杂交瘤细胞系选自由ATCC登录号为HB12060的3F5.4G6、ATCC登录号为HB12309的3D7-1.1、ATCC登录号为HB12310的4E10-1.14、3E11 (ATCC HB12488)、4D8 (ATCC HB12487)、3E6 (ATCC HB12486)、3C9 (ATCC HB12484)、2C7 (ATCC HB12490)、1G3 (ATCC HB12489)、3C4 (ATCC HB12494)、3C6 (ATCC HB12491)、4D4 (ATCC HB12493)、1G9 (ATCC HB12495)、5C8B9 (ATCC HB12492) 和3G6 (ATCC HB12485) 组成的组-参见US 6,150,508

[0748] PSMA Development Company/Progenics/Cytogen-Seattle Genetics:mAb 3.9,其是通过杂交瘤所产生,其中上述杂交瘤保藏为ATCC登录号PTA-3258,或mAb 10.3,其是通过杂交瘤所产生,其中上述杂交瘤保藏为ATCC登录号PTA-3347-US 7,850,971

[0749] PSMA Development Company-PSMA抗体的组合物 (US 20080286284,表1)

[0750] 此申请是美国专利申请序列号10/395,894的分案,其于2003年3月21日提交 (US 7,850,971)

[0751] University Hospital Freiburg,德国-mAb 3/A12、3/E7、和3/F11 (Wolf P.等 Prostate.2010年4月1日;70 (5):562-9)。

[0752] (38) SST (生长抑素受体;注意:存在5种亚型)

[0753] (38.1) SSTR2 (生长抑素受体2)



- [0754] 核苷酸
- [0755] Genbank登录号NM\_001050
- [0756] Genbank版本号NM\_001050.2 GI:44890054
- [0757] Genbank记录更新日期:2012年8月19日下午01:37
- [0758] 多肽
- [0759] Genbank登录号NP\_001041
- [0760] Genbank版本号NP\_001041.1 GI:4557859
- [0761] Genbank记录更新日期:2012年8月19日下午01:37
- [0762] 交叉参考
- [0763] Yamada Y.等Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.89(1),251-255(1992);Susini C.等Ann Oncol.2006年12月;17(12):1733-42
- [0764] 其他信息
- [0765] 官方代号:SSTR2
- [0766] 其他名称:SRIF-1;SS2R;生长抑素受体2型
- [0767] (38.2) SSTR5(生长抑素受体5)
- [0768] 核苷酸
- [0769] Genbank登录号D16827
- [0770] Genbank版本号D16827.1 GI:487683
- [0771] Genbank记录更新日期:2006年8月1日下午12:45
- [0772] 多肽
- [0773] Genbank登录号BAA04107
- [0774] Genbank版本号BAA04107.1 GI:487684
- [0775] Genbank记录更新日期:2006年8月1日下午12:45
- [0776] 交叉参考
- [0777] Yamada,Y.等Biochem.Biophys.Res.Commun.195(2),844-852(1993)
- [0778] 其他信息
- [0779] 官方代号:SSTR5
- [0780] 其他别名:SS-5-R
- [0781] 其他名称:生长抑素受体亚型5;生长抑素受体类型5
- [0782] (38.3) SSTR1
- [0783] (38.4) SSTR3
- [0784] (38.5) SSTR4
- [0785] AvB6-两种亚基(39+40)
- [0786] (39) ITGAV(整联蛋白, $\alpha$ V;
- [0787] 核苷酸
- [0788] Genbank登录号M14648 J02826 M18365
- [0789] Genbank版本号M14648.1 GI:340306
- [0790] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:56
- [0791] 多肽

- [0792] Genbank登录号AAA36808
- [0793] Genbank版本号AAA36808.1 GI:340307
- [0794] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:56
- [0795] 交叉参考
- [0796] Suzuki S.等Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.83 (22) ,8614-8618 (1986)
- [0797] 其他信息
- [0798] 官方代号:ITGAV
- [0799] 其他别名:CD51、MSK8、VNRA、VTNR
- [0800] 其他名称:由单克隆抗体L230确定的抗原;整联蛋白 $\alpha$ -V;整联蛋白 $\alpha$ V $\beta$ 3;整联蛋白 $\alpha$ V(玻连蛋白受体, $\alpha$ 多肽、抗原CD51);玻连蛋白受体亚基 $\alpha$
- [0801] (40) ITGB6(整联蛋白, $\beta$ 6)
- [0802] 核苷酸
- [0803] Genbank登录号NM\_000888
- [0804] Genbank版本号NM\_000888.3 GI:9966771
- [0805] Genbank记录更新日期:2012年6月27日上午12:46
- [0806] 多肽
- [0807] Genbank登录号NP\_000879
- [0808] Genbank版本号NP\_000879.2 GI:9625002
- [0809] Genbank记录更新日期:2012年6月27日上午12:46
- [0810] 交叉参考
- [0811] Sheppard D.J.等Biol.Chem.265 (20) ,11502-11507 (1990)
- [0812] 其他信息
- [0813] 官方代号:ITGB6
- [0814] 其他名称:整联蛋白 $\beta$ -6
- [0815] 抗体
- [0816] Biogen:US 7,943,742-杂交瘤克隆6.3G9和6.8G6是由ATCC保藏,登录号分别为ATCC PTA-3649和-3645。
- [0817] Biogen:US7,465,449-在一些实施方案中,抗体包含和由杂交瘤6.1A8、6.3G9、6.8G6、6.2B1、6.2B10、6.2A1、6.2E5、7.1G10、7.7G5、或7.1C5产生的抗体相同的重链和轻链多肽序列。
- [0818] Centocor (J&J) :US7,550,142;US7,163,681
- [0819] 例如在US 7,550,142中,一种抗体,该抗体具有人重链和人轻链可变区,其包含示于SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8中的氨基酸序列。
- [0820] Seattle Genetics:15H3 (Ryan MC.等Cancer Res,2012年4月15日;72 (8增刊):4630)
- [0821] (41) CEACAM5(癌胚抗原相关细胞粘附分子5)
- [0822] 核苷酸
- [0823] Genbank登录号M17303
- [0824] Genbank版本号M17303.1 GI:178676

- [0825] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:47
- [0826] 多肽
- [0827] Genbank登录号AAB59513
- [0828] Genbank版本号AAB59513.1 GI:178677
- [0829] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:47
- [0830] 交叉参考
- [0831] Beauchemin N.等Mol.Cell.Biol.7 (9) ,3221-3230 (1987)
- [0832] 其他信息
- [0833] 官方代号:CEACAM5
- [0834] 其他别名:CD66e、CEA
- [0835] 其他名称:癌胚抗原100
- [0836] 抗体
- [0837] AstraZeneca-MedImmune:US 20100330103;US20080057063;US20020142359
- [0838] -例如一种抗体,该抗体具有互补决定区(CDR),其具有以下序列:重链;CDR1-DNYMH、CDR2-WIDPENGDT E YAPKFRG、CDR3-LIYAGYLAMD Y;以及轻链CDR1-SASSSVTYMH、CDR2-STSNLAS、CDR3-QQRSTYPLT。
- [0839] -杂交瘤806.077,保藏于欧洲细胞培养物保藏中心(ECACC),保藏号为96022936。
- [0840] Research Corporation Technologies,Inc:US5,047,507
- [0841] Bayer Corporation:US6,013,772
- [0842] BioAlliance:US7,982,017;US7,674,605
- [0843] ●US 7,674,605
- [0844] -一种抗体,其包含来自SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链可变区序列,以及来自SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链可变区序列。
- [0845] -一种抗体,其包含来自SEQ ID NO:5的氨基酸序列的重链可变区序列,以及来自SEQ ID NO:6的氨基酸序列的轻链可变区序列。
- [0846] Celltech Therapeutics Limited:US5,877,293
- [0847] Dow Chemical Company:US5,472,693;US6,417,337;US6,333,405
- [0848] US5,472,693-例如,ATCC号CRL-11215
- [0849] US6,417,337-例如,ATCC CRL-12208
- [0850] US6,333,405-例如,ATCC CRL-12208
- [0851] Immunomedics,Inc:US7,534,431;US7,230,084;US7,300,644;US6,730,300;US20110189085
- [0852] -一种抗体,具有轻链可变区的CDR,其包括:CDR1,包括KASQDVGTSVA(SEQ ID NO:20);CDR2,包括WTSTRHT(SEQ ID NO:21);以及CDR3,包括QQYSLYRS(SEQ ID NO:22);以及所述抗CEA抗体的重链可变区的CDR,包含:CDR1,包含TYWMS(SEQ ID NO:23);CDR2,包含EIH PDSSTINYAPSLKD(SEQ ID NO:24);以及CDR3,包含LYFGFPWFAY(SEQ ID NO:25)。
- [0853] US20100221175;US20090092598;US20070202044;US20110064653;US20090185974;US20080069775。
- [0854] (42) MET (met原癌基因;肝细胞生长因子受体)

- [0855] 核苷酸
- [0856] Genbank登录号M35073
- [0857] Genbank版本号M35073.1 GI:187553
- [0858] Genbank记录更新日期:2012年3月6日上午11:12
- [0859] 多肽
- [0860] Genbank登录号AAA59589
- [0861] Genbank版本号AAA59589.1 GI:553531
- [0862] Genbank记录更新日期:2012年3月6日上午11:12
- [0863] 交叉参考
- [0864] Dean M.等Nature 318 (6044) ,385-388 (1985)
- [0865] 其他信息
- [0866] 官方代号:MET
- [0867] 其他别名:AUTS9、HGFR、RCCP2、c-Met
- [0868] 其他名称:HGF受体;HGF/SF受体;SF受体;肝细胞生长因子受体;met原癌基因酪氨酸激酶;原癌基因c-Met;分散因子受体;酪氨酸蛋白激酶Met
- [0869] 抗体
- [0870] Abgenix/Pfizer:US20100040629
- [0871] 例如,由具有美国典型培养物保藏中心(ATCC)登录号PTA-5026的杂交瘤13.3.2产生的抗体;由具有ATCC登录号PTA-5027的杂交瘤9.1.2产生的抗体;由ATCC登录号为PTA-5028的杂交瘤8.70.2产生的抗体;或由ATCC登录号为PTA-5029的杂交瘤6.90.3产生的抗体。
- [0872] Amgen/Pfizer:US20050054019
- [0873] 例如,一种抗体,该抗体包含重链,其具有在SEQ ID NO:2中展示的氨基酸序列,其中X2是谷氨酸以及X4是丝氨酸,以及轻链,其具有在SEQ ID NO:4中展示的氨基酸序列,其中X8是丙氨酸,没有信号序列;一种抗体,该抗体包含重链,其具有在SEQ ID NO:6中展示的氨基酸序列,以及轻链,其具有在SEQ ID NO:8中展示的氨基酸序列,没有信号序列;一种抗体,该抗体包含重链,其具有在SEQ ID NO:10中展示的氨基酸序列,以及轻链,其具有在SEQ ID NO:12中展示的氨基酸序列,没有信号序列;或一种抗体,该抗体包含重链,其具有在SEQ ID NO:14中展示的氨基酸序列,以及轻链,其具有在SEQ ID NO:16中展示的氨基酸序列,没有信号序列。
- [0874] Agouron Pharmaceuticals (Now Pfizer):US20060035907
- [0875] Eli Lilly:US20100129369
- [0876] Genentech:US5,686,292;US20100028337;US20100016241;US20070129301;US20070098707;US20070092520;US20060270594;US20060134104;US20060035278;US20050233960;US20050037431
- [0877] US 5,686,292-例如,ATCC HB-11894和ATCC HB-11895
- [0878] US 20100016241-例如,ATCC HB-11894(杂交瘤1A3.3.13)或HB-11895(杂交瘤5D5.11.6)
- [0879] National Defense Medical Center,Taiwan:Lu RM.等Biomaterials.2011年4

月;32(12):3265-74。

[0880] Novartis:US20090175860

[0881] -例如,一种抗体,该抗体包含重链4687的CDR1、CDR2和CDR3的序列,其中重链4687的CDR1、CDR2、和CDR3的序列分别是SEQ ID NO:58的残基26-35、50-65、和98-102;以及轻链5097的CDR1、CDR2、和CDR3的序列,其中轻链5097的CDR1、CDR2、和CDR3的序列分别是SEQ ID NO:37的残基24-39、55-61、和94-100。

[0882] Pharmacia Corporation:US20040166544

[0883] Pierre Fabre:US20110239316、US20110097262、US20100115639

[0884] Sumsung:US 20110129481-例如产生自登录号为KCLRF-BP-00219或登录号为KCLRF-BP-00223的杂交瘤细胞的单克隆抗体。

[0885] Samsung:US 20110104176-例如由登录号为KCLRF-BP-00220的杂交瘤细胞产生的抗体。

[0886] University of Turin Medical School:DN-30Pacchiana G.等J Biol Chem.2010年11月12日;285(46):36149-57

[0887] Van Andel Research Institute:Jiao Y.等Mol Biotechnol.2005年9月;31(1):41-54。

[0888] (43) MUC1(粘蛋白1(Mucin 1),细胞表面相关的)

[0889] 核苷酸

[0890] Genbank登录号J05581

[0891] Genbank版本号J05581.1 GI:188869

[0892] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:48

[0893] 多肽

[0894] Genbank登录号AAA59876

[0895] Genbank版本号AAA59876.1 GI:188870

[0896] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:48

[0897] 交叉参考

[0898] Gendler S.J.等J.Biol.Chem.265(25),15286-15293(1990)

[0899] 其他信息

[0900] 官方代号:MUC1

[0901] 其他别名:RP11-263K19.2、CD227、EMA、H23AG、KL-6、MAM6、MUC-1、MUC-1/SEC、MUC-1/X、MUC1/ZD、PEM、PEMT、PUM

[0902] 其他名称:DF3抗原;H23抗原;乳腺癌相关抗原DF3;癌相关粘蛋白;episialin;krebs von den Lungen-6;粘蛋白1,跨膜;粘蛋白-1;花生反应尿粘蛋白;多形上皮粘蛋白;肿瘤相关的上皮粘蛋白;肿瘤相关上皮膜抗原;肿瘤相关粘蛋白

[0903] 抗体

[0904] AltaRex-Quest Pharma Tech:US 6,716,966-例如由ATCC号为PTA-975的杂交瘤产生的Alt-1抗体。

[0905] AltaRex-Quest Pharma Tech:US7,147,850

[0906] CRT:5E5- Sørensen AL.等Glycobiology第16卷第2期第96-107页,2006;HMFG2-

- Burchell J.等Cancer Res.,47,5476-5482(1987);参见W02015/159076
- [0907] Glycotope GT-MAB:GT-MAB 2.5-GEX(网站:<http://www.glycotope.com/pipeline/pankomab-gex>)
- [0908] Immunogen:US7,202,346
- [0909] -例如,抗体MJ-170:杂交瘤细胞系MJ-170 ATCC登录号PTA-5286单克隆抗体MJ-171:杂交瘤细胞系MJ-171 ATCC登录号PTA-5287;单克隆抗体MJ-172:杂交瘤细胞系MJ-172 ATCC登录号PTA-5288;或单克隆抗体MJ-173:杂交瘤细胞系MJ-173 ATCC登录号PTA-5302
- [0910] Immunomedics:US 6,653,104
- [0911] Ramot Tel Aviv Uni:US7,897,351
- [0912] Regents Uni.CA:US 7,183,388;US20040005647;US20030077676。
- [0913] Roche GlycArt:US8,021,856
- [0914] Russian National Cancer Research Center:Imuteran-Ivanov PK.等Biotechnol J.2007年7月;2(7):863-70
- [0915] Technische Univ Braunschweig:(IIB6,HT186-B7,HT186-D11,HT186-G2,HT200-3A-C1,HT220-M-D1,HT220-M-G8)-Thie H.等PLoS One.2011年1月14日;6(1):e15921
- [0916] (44) CA9(碳酸酐酶IX)
- [0917] 核苷酸
- [0918] Genbank登录号X66839
- [0919] Genbank版本号X66839.1 GI:1000701
- [0920] Genbank记录更新日期:2011年2月2日上午10:15
- [0921] 多肽
- [0922] Genbank登录号CAA47315
- [0923] Genbank版本号CAA47315.1 GI:1000702
- [0924] Genbank记录更新日期:2011年2月2日上午10:15
- [0925] 交叉参考
- [0926] Pastorek J.等Oncogene 9(10),2877-2888(1994)
- [0927] 其他信息
- [0928] 官方代号:CA9
- [0929] 其他别名:CAIX、MN
- [0930] 其他名称:CA-IX;P54/58N;RCC相关抗原G250;RCC相关蛋白G250;碳酸脱水酶IX;碳酸酐酶9;碳酸脱水酶;膜抗原MN;pMW1;肾细胞癌相关抗原G250
- [0931] 抗体
- [0932] Abgenix/Amgen:US20040018198
- [0933] Affibody:抗CAIX亲和体(Affibody)分子
- [0934] (<http://www.affibody.com/en/Product-Portfolio/Pipeline/>)
- [0935] Bayer:US7,462,696
- [0936] Bayer/Morphosys:3ee9 mAb-Petrul HM.等Mol Cancer Ther.2012年2月;11(2):340-9
- [0937] Harvard Medical School:抗体G10、G36、G37、G39、G45、G57、G106、G119、G6、G27、

- G40和G125。Xu C.等PLoS One.2010年3月10日;5(3):e9625
- [0938] Institute of Virology,Slovak Academy of Sciences (Bayer)-US5,955,075
- [0939] -例如,M75-ATCC登录号HB 11128或MN12-ATCC登录号HB 11647
- [0940] Institute of Virology,Slovak Academy of Sciences:US7,816,493
- [0941] -例如分泌自杂交瘤VU-M75的M75单克隆抗体,其保藏在美国典型培养物保藏中心,ATCC号为HB 11128;或分泌自杂交瘤V/10-VU的V/10单克隆抗体,其保藏在Belgian Coordinated Collection of Microorganisms (BCCM)的国际保藏机构,在Laboratorium voor Moleculaire Biologie-Plasmidencollectie (LMBP),在比利时根特的根特大学(Universiteit Gent),登录号为LMBP 6009CB。
- [0942] Institute of Virology,Slovak Academy of Sciences:US20080177046;US20080176310;US20080176258;US20050031623
- [0943] Novartis:US20090252738
- [0944] Wilex:US7,691,375-例如由杂交瘤细胞系DSM ASC 2526产生的抗体。
- [0945] Wilex:US20110123537;Rencarex:Kennett RH.等Curr Opin Mol Ther.2003年2月;5(1):70-5
- [0946] Xencor:US20090162382
- [0947] (45)EGFRvIII(表皮生长因子受体(EGFR),转录变体3,
- [0948] 核苷酸
- [0949] Genbank登录号NM\_201283
- [0950] Genbank版本号NM\_201283.1 GI:41327733
- [0951] Genbank记录更新日期:2012年9月30日下午01:47
- [0952] 多肽
- [0953] Genbank登录号NP\_958440
- [0954] Genbank版本号NP\_958440.1 GI:41327734
- [0955] Genbank记录更新日期:2012年9月30日下午01:47
- [0956] 交叉参考
- [0957] Batra SK.等Cell Growth Differ 1995;6:1251-1259。
- [0958] 抗体:
- [0959] US7,628,986和US7,736,644 (Amgen)
- [0960] 例如,重链可变区氨基酸序列,其选自由SEQ ID NO:142和变体组成的组,以及轻链可变区氨基酸序列,其选自由SEQ ID NO:144和变体组成的组。
- [0961] US20100111979 (Amgen)
- [0962] 例如,一种抗体,该抗体包含重链氨基酸序列,其包含:
- [0963] 由序列组成的CDR1,所述序列选自由用于抗体13.1.2 (SEQ ID NO:138)、131 (SEQ ID NO:2)、170 (SEQ ID NO:4)、150 (SEQ ID NO:5)、095 (SEQ ID NO:7)、250 (SEQ ID NO:9)、139 (SEQ ID NO:10)、211 (SEQ ID NO:12)、124 (SEQ ID NO:13)、318 (SEQ ID NO:15)、342 (SEQ ID NO:16)、和333 (SEQ ID NO:17)的CDR1区的氨基酸序列组成的组;由序列组成的CDR2,所述序列选自由用于抗体13.1.2 (SEQ ID NO:138)、131 (SEQ ID NO:2)、170 (SEQ ID NO:4)、150 (SEQ ID NO:5)、095 (SEQ ID NO:7)、250 (SEQ ID NO:9)、139 (SEQ ID NO:10)、

211 (SEQ ID NO:12)、124 (SEQ ID NO:13)、318 (SEQ ID NO:15)、342 (SEQ ID NO:16)、和333 (SEQ ID NO:17)的CDR2区的氨基酸序列组成的组;以及

[0964] 由序列组成的CDR3,所述序列选自由用于抗体13.1.2 (SEQ ID NO:138)、131 (SEQ ID NO:2)、170 (SEQ ID NO:4)、150 (SEQ ID NO:5)、095 (SEQ ID NO:7)、250 (SEQ ID NO:9)、139 (SEQ ID NO:10)、211 (SEQ ID NO:12)、124 (SEQ ID NO:13)、318 (SEQ ID NO:15)、342 (SEQ ID NO:16)、和333 (SEQ ID NO:17)的CDR3区的氨基酸序列组成的组。

[0965] US20090240038 (Amgen)

[0966] 例如,具有重链或轻链多肽的至少之一的抗体包含氨基酸序列,其至少90%相同于选自由SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:142、SEQ ID NO:144、以及它们的任何组合组成的组的氨基酸序列。

[0967] US20090175887 (Amgen)

[0968] 例如,一种抗体,该抗体具有重链氨基酸序列,其选自由抗体13.1.2 (SEQ ID NO:138)、131 (SEQ ID NO:2)、170 (SEQ ID NO:4)、150 (SEQ ID NO:5)、095 (SEQ ID NO:7)、250 (SEQ ID NO:9)、139 (SEQ ID NO:10)、211 (SEQ ID NO:12)、124 (SEQ ID NO:13)、318 (SEQ ID NO:15)、342 (SEQ ID NO:16)、和333 (SEQ ID NO:17)的重链氨基酸序列组成的组。

[0969] US20090156790 (Amgen)

[0970] 例如,具有重链多肽和轻链多肽的抗体,其中重链或轻链多肽的至少之一包含氨基酸序列,其至少90%相同于选自由SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:142、SEQ ID NO:144、以及它们的任何组合组成的组的氨基酸序列。

[0971] US20090155282、US20050059087和US20050053608 (Amgen)

[0972] 例如,抗体重链氨基酸序列,其选自由抗体13.1.2 (SEQ ID NO:138)、131 (SEQ ID NO:2)、170 (SEQ ID NO:4)、150 (SEQ ID NO:5)、095 (SEQ ID NO:7)、250 (SEQ ID NO:9)、139 (SEQ ID NO:10)、211 (SEQ ID NO:12)、124 (SEQ ID NO:13)、318 (SEQ ID NO:15)、342 (SEQ ID NO:16)、和333 (SEQ ID NO:17)的重链氨基酸序列组成的组。

[0973] MR1-1 (US7,129,332;Duke)

[0974] 例如,变体抗体,其具有SEQ ID NO.18的序列,其中具有取代,在CDR3 VH中的S98P-T99Y,以及在CDR3 VL中的F92W。

[0975] L8A4,H10,Y10 (Wikstrand CJ.等Cancer Res.1995年7月15日;55(14):3140-8; Duke)

[0976] US20090311803 (Harvard University)

[0977] 例如,用于抗体重链可变区的SEQ ID NO:9,以及用于轻链可变区氨基酸序列的SEQ ID NO:3

[0978] US20070274991 (EMD72000,还被称为马妥珠单抗;Harvard University)

[0979] 例如,分别用于轻链和重链的SEQ ID NO:3和9

[0980] US6,129,915 (Schering)

[0981] 例如,SEQ ID NO:1、2、3、4、5和6。

[0982] mAb CH12-Wang H.等FASEB J.2012年1月;26(1):73-80 (上海肿瘤研究所)。

[0983] RAbDMvIII-Gupta P.等BMC Biotechnol.2010年10月7日;10:72 (Stanford University Medical Center)。



- [0984] mAb Ua30-Ohman L.等Tumour Biol.2002年3月-4月;23(2):61-9(Uppsala University)。
- [0985] Han DG.等Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.2010年1月;30(1):25-9(西安交通大学)。
- [0986] (46) CD33 (CD33分子)
- [0987] 核苷酸
- [0988] Genbank登录号M\_23197
- [0989] Genbank版本号NM\_23197.1 GI:180097
- [0990] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:47
- [0991] 多肽
- [0992] Genbank登录号AAA51948
- [0993] Genbank版本号AAA51948.1 GI:188098
- [0994] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:47
- [0995] 交叉参考
- [0996] Simmons D.等J.Immunol.141(8),2797-2800(1988)
- [0997] 其他信息
- [0998] 官方代号:CD33
- [0999] 其他别名:SIGLEC-3、SIGLEC3、p67
- [1000] 其他名称:CD33抗原(gp67);gp67;髓样细胞表面抗原CD33;唾液酸结合Ig样凝集素3;唾液酸结合Ig样凝集素
- [1001] 抗体
- [1002] H195(林妥珠单抗,Lintuzumab)-Raza A.等Leuk Lymphoma.2009年8月;50(8):1336-44;US6,759,045(Seattle Genetics/Immunomedics)
- [1003] mAb OKT9:Sutherland,D.R.等Proc Natl Acad Sci USA 78(7):4515-4519 1981,Schneider,C.等J Biol Chem 257,8516-8522(1982)
- [1004] mAb E6:Hoogenboom,H.R.等J Immunol 144,3211-3217(1990)
- [1005] US6,590,088(人类基因组科学(Human Genome Sciences))
- [1006] 例如,SEQ ID NO:1和2以及ATCC登录号97521
- [1007] US7,557,189(Immunogen)
- [1008] 例如,抗体或其片段,包含重链可变区,其包含具有SEQ ID NO:1-3的氨基酸序列的三个CDR,以及轻链可变区,其包含具有SEQ ID NO:4-6的氨基酸序列的三个CDR。
- [1009] (47) CD19 (CD19分子)
- [1010] 核苷酸
- [1011] Genbank登录号NM\_001178098
- [1012] Genbank版本号NM\_001178098.1 GI:296010920
- [1013] Genbank记录更新日期:2012年9月10日上午12:43
- [1014] 多肽
- [1015] Genbank登录号NP\_001171569
- [1016] Genbank版本号NP\_001171569.1 GI:296010921

- [1017] Genbank记录更新日期:2012年9月10日上午12:43
- [1018] 交叉参考
- [1019] Tedder TF.等J.Immunol.143(2):712-7(1989)
- [1020] 其他信息
- [1021] 官方代号:CD19
- [1022] 其他别名:B4、CVID3
- [1023] 其他名称:B-淋巴细胞抗原CD19;B淋巴细胞表面抗原B4;T细胞表面抗原亮氨酸-12;分化抗原CD19
- [1024] 抗体
- [1025] Immunogen:HuB4-A1-Katib AM.等Clin Cancer Res.2009年6月15日;15(12):4038-45。
- [1026] 4G7:Kügler M.等Protein Eng Des Sel.2009年3月;22(3):135-47
- [1027] 例如,在Knappik,A.等J Mol Biol 2000年2月;296(1):57-86的图3中的序列
- [1028] AstraZeneca/MedImmune:MEDI-551-Herbst R.等J Pharmacol Exp Ther.2010年10月;335(1):213-22
- [1029] Glenmark Pharmaceuticals:GBR-401-Hou S.等Mol Cancer Ther 2011年11月(会议摘要补充)C164
- [1030] US7,109,304(Immunomedics)
- [1031] 例如,一种抗体,其包含hA19Vk(SEQ ID NO:7)的序列和hA19VH(SEQ ID NO:10)的序列
- [1032] US7,902,338(Immunomedics)
- [1033] 例如,抗体或其抗原结合片段,其包含SEQ ID NO:16(KASQSVVDYDGD SYLN)的轻链互补决定区CDR序列CDR1;SEQ ID NO:17(DASNLVS)的CDR2;以及SEQ ID NO:18(QQSTEDPWT)的CDR3,以及SEQ ID NO:19(SYWMN)的重链CDR序列CDR1;SEQ ID NO:20(QIWPGDGDTNYNGKFKG)的CDR2和SEQ ID NO:21(RETTTVGRYYYYAMDY)的CDR3,并且还包含人抗体框架(FR)和恒定区序列,其中一个或多个框架区氨基酸残基被亲本鼠抗体的相应的框架区序列所取代,以及其中所述取代的FR残基包含在重链可变区的Kabat残基91处丝氨酸替代苯丙氨酸。
- [1034] Medarex:MDX-1342-Cardarelli PM.等Cancer Immunol Immunother.2010年2月;59(2):257-65。
- [1035] MorphoSys/Xencor:MOR-208/XmAb-5574-Zalevsky J.等Blood.2009年4月16日;113(16):3735-43
- [1036] US7,968,687(Seattle Genetics)
- [1037] 抗体或抗原结合片段,其含有包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的重链可变域和包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的轻链可变域。
- [1038] 4G7 chim-Lang P.等Blood.2004年5月15日;103(10):3982-5(University of Tübingen)
- [1039] 例如,US20120082664的图6和SEQ ID No:80
- [1040] 浙江大学医学院:2E8-Zhang J.等J Drug Target.2010年11月;18(9):675-8
- [1041] (48) IL2RA(白细胞介素2受体, $\alpha$ );NCBI参考序列:NM\_000417.2);

- [1042] 核苷酸
- [1043] Genbank登录号NM\_000417
- [1044] Genbank版本号NM\_000417.2 GI:269973860
- [1045] Genbank记录更新日期:2012年9月9日下午04:59
- [1046] 多肽
- [1047] Genbank登录号NP\_000408
- [1048] Genbank版本号NP\_000408.1 GI:4557667
- [1049] Genbank记录更新日期:2012年9月9日下午04:59
- [1050] 交叉参考
- [1051] Kuziel W.A.等J.Invest.Dermatol.94 (6SUPPL) ,27S-32S (1990)
- [1052] 其他信息
- [1053] 官方代号:IL2RA
- [1054] 其他别名:RP11-536K7.1、CD25、IDDM10、IL2R、TCGFR
- [1055] 其他名称:FIL-2受体亚基 $\alpha$ ; IL-2-RA; IL-2R亚基 $\alpha$ ; IL2-RA; TAC抗原; 白细胞介素-2受体亚基 $\alpha$ ; p55
- [1056] 抗体
- [1057] US6,383,487 (Novartis/UCL:Baxilisimab[舒莱 (Simulect)])
- [1058] US6,521,230 (Novartis/UCL:Baxilisimab[舒莱])
- [1059] 例如,具有抗原结合位点的抗体包含至少一个域,其包含具有在SEQ.ID.NO:7中的氨基酸序列的CDR1、具有在SEQ.ID.NO:8中的氨基酸序列的CDR2、和具有在SEQ.ID.NO:9中的氨基酸序列的CDR3;或所述CDR1、CDR2和CDR3(按整体序列考虑)包含氨基酸序列,其至少90%相同于SEQ.ID.NO:7、8和9(按整体序列考虑)。
- [1060] 达克珠单抗(Daclizumab)-Rech AJ.等Ann N Y Acad Sci.2009年9月;1174:99-106 (Roche)
- [1061] (49) AXL (AXL受体酪氨酸激酶)
- [1062] 核苷酸
- [1063] Genbank登录号M76125
- [1064] Genbank版本号M76125.1 GI:292869
- [1065] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:53
- [1066] 多肽
- [1067] Genbank登录号AAA61243
- [1068] Genbank版本号AAA61243.1 GI:29870
- [1069] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:53
- [1070] 交叉参考
- [1071] O'Bryan J.P.等Mol.Cell.Biol.11 (10) ,5016-5031 (1991); Bergsagel P.L.等J.Immunol.148 (2) ,590-596 (1992)
- [1072] 其他信息
- [1073] 官方代号:AXL
- [1074] 其他别名:JTK11、UFO

- [1075] 其他名称:AXL癌基因;AXL转化序列/基因;癌基因AXL;酪氨酸蛋白激酶受体UFO
- [1076] 抗体
- [1077] YW327.6S2-Ye X.等Oncogene.2010年9月23日;29(38):5254-64。(Genentech)
- [1078] BergenBio:BGB324(<http://www.bergenbio.com/BGB324>)
- [1079] (50) CD30-TNFRSF8 (肿瘤坏死因子受体超家族,成员8)
- [1080] 核苷酸
- [1081] Genbank登录号M83554
- [1082] Genbank版本号M83554.1 GI:180095
- [1083] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:53
- [1084] 多肽
- [1085] Genbank登录号AAA51947
- [1086] Genbank版本号AAA51947.1 GI:180096
- [1087] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:53
- [1088] 交叉参考
- [1089] Durkop H.等Cell 68(3),421-427(1992)
- [1090] 其他信息
- [1091] 官方代号:TNFRSF8
- [1092] 其他别名:CD30、D1S166E、Ki-1
- [1093] 其他名称:CD30L受体;Ki-1抗原;细胞因子受体CD30;淋巴细胞活化抗原CD30;肿瘤坏死因子受体超家族成员8
- [1094] (51) BCMA(B细胞成熟抗原)-TNFRSF17(肿瘤坏死因子受体超家族,成员17)
- [1095] 核苷酸
- [1096] Genbank登录号Z29574
- [1097] Genbank版本号Z29574.1 GI:471244
- [1098] Genbank记录更新日期:2011年2月2日上午10:40
- [1099] 多肽
- [1100] Genbank登录号CAA82690
- [1101] Genbank版本号CAA82690.1 GI:471245
- [1102] Genbank记录更新日期:2011年2月2日上午10:40
- [1103] 交叉参考
- [1104] Laabi Y.等Nucleic Acids Res.22(7),1147-1154(1994)
- [1105] 其他信息
- [1106] 官方代号:TNFRSF17
- [1107] 其他别名:BCM、BCMA、CD269
- [1108] 其他名称:B细胞成熟抗原;B细胞成熟因子;B细胞成熟蛋白;肿瘤坏死因子受体超家族成员17
- [1109] (52) CT Ags-CTA(睾丸癌抗原(Cancer Testis Antigen))
- [1110] 交叉参考
- [1111] Fratta E.,等Mol Oncol.2011年4月;5(2):164-82;Lim SH.等,Am J Blood

Res.2012;2(1):29-35。

[1112] (53) CD174 (Lewis Y)-FUT3 (岩藻糖基转移酶3 (半乳糖苷3 (4)-L-岩藻糖基转移酶, 路易斯血型)

[1113] 核苷酸

[1114] Genbank登录号NM000149

[1115] Genbank版本号NM000149.3 GI:148277008

[1116] Genbank记录更新日期:2012年6月26日下午04:49

[1117] 多肽

[1118] Genbank登录号NP\_000140

[1119] Genbank版本号NP\_000140.1 GI:4503809

[1120] Genbank记录更新日期:2012年6月26日下午04:49

[1121] 交叉参考

[1122] Kukowska-Latallo, J.F. 等 Genes Dev. 4 (8), 1288-1303 (1990)

[1123] 其他信息

[1124] 官方代号:FUT3

[1125] 其他别名:CD174、FT3B、FucT-III、LE、Les

[1126] 其他名称:Lewis FT; $\alpha$ -(1,3/1,4)-岩藻糖基转移酶;路易斯血型 $\alpha$ -4-岩藻糖基转移酶;岩藻糖基转移酶III;半乳糖苷3 (4)-L-岩藻糖基转移酶

[1127] (54) CLEC14A (C型凝集素域家族14, 成员A; Genbank登录号NM175060)

[1128] 核苷酸

[1129] Genbank登录号NM175060

[1130] Genbank版本号NM175060.2 GI:371123930

[1131] Genbank记录更新日期:2012年4月1日下午03:34

[1132] 多肽

[1133] Genbank登录号NP\_778230

[1134] Genbank版本号NP\_778230.1 GI:28269707

[1135] Genbank记录更新日期:2012年4月1日下午03:34

[1136] 其他信息

[1137] 官方代号:CLEC14A

[1138] 其他别名:UNQ236/PR0269、C14orf27、CEG1、EGFR-5

[1139] 其他名称:C型凝集素域家族14成员A;含CIECT和EGF样域蛋白质;表皮生长因子受体5

[1140] (55) GRP78-HSPA5 (热休克70kDa蛋白5 (葡萄糖调节蛋白, 78kDa)

[1141] 核苷酸

[1142] Genbank登录号NM005347

[1143] Genbank版本号NM005347.4GI:305855105

[1144] Genbank记录更新日期:2012年9月30日下午01:42

[1145] 多肽

[1146] Genbank登录号NP\_005338

- [1147] Genbank版本号NP\_005338.1 GI:16507237
- [1148] Genbank记录更新日期:2012年9月30日下午01:42
- [1149] 交叉参考
- [1150] Ting J.等DNA 7(4),275-286(1988)
- [1151] 其他信息
- [1152] 官方代号:HSPA5
- [1153] 其他别名:BIP、GRP78、MIF2
- [1154] 其他名称:78kDa葡萄糖调节蛋白;内质网腔Ca(2+)-结合蛋白grp78;免疫球蛋白重链-结合蛋白
- [1155] (56) CD70 (CD70分子) L08096
- [1156] 核苷酸
- [1157] Genbank登录号L08096
- [1158] Genbank版本号L08096.1 GI:307127
- [1159] Genbank记录更新日期:2012年6月23日上午08:54
- [1160] 多肽
- [1161] Genbank登录号AAA36175
- [1162] Genbank版本号AAA36175.1 GI:307128
- [1163] Genbank记录更新日期:2012年6月23日上午08:54
- [1164] 交叉参考
- [1165] Goodwin R.G.等Cell 73(3),447-456(1993)
- [1166] 其他信息
- [1167] 官方代号:CD70
- [1168] 其他别名:CD27L、CD27LG、TNFSF7
- [1169] 其他名称:CD27配体;CD27-L;CD70抗原;Ki-24抗原;表面抗原CD70;肿瘤坏死因子(配体)超家族,成员7;肿瘤坏死因子配体超家族成员7
- [1170] 抗体
- [1171] MDX-1411,针对CD70 (Medarex)
- [1172] h1F6 (Oflazoglu, E., 等, Clin Cancer Res. 2008年10月1日; 14(19):6171-80; Seattle Genetics)
- [1173] 例如,参见US20060083736 SEQ ID NO:1、2、11和12以及图1。
- [1174] (57) 干细胞特异性抗原。例如:
- [1175] ●5T4(见以下条目(63))
- [1176] ●CD25(见以下条目(48))
- [1177] ●CD32
- [1178] ○多肽
- [1179] ■Genbank登录号ABK42161
- [1180] ■Genbank版本号ABK42161.1 GI:117616286
- [1181] ■Genbank记录更新日期:2007年7月25日下午03:00
- [1182] ●LGR5/GPR49

- [1183] ○核苷酸
- [1184] ■Genbank登录号NM\_003667
- [1185] ■Genbank版本号NM\_003667.2 GI:24475886
- [1186] ■Genbank记录更新日期:2012年7月22日下午03:38
- [1187] ○多肽
- [1188] ■Genbank登录号NP\_003658
- [1189] ■Genbank版本号NP\_003658.1 GI:4504379
- [1190] ■Genbank记录更新日期:2012年7月22日下午03:38
- [1191] ●Prominin/CD133
- [1192] ○核苷酸
- [1193] ■Genbank登录号NM\_006017
- [1194] ■Genbank版本号NM\_006017.2 GI:224994187
- [1195] ■Genbank记录更新日期:2012年9月30日下午01:47
- [1196] ○多肽
- [1197] ■Genbank登录号NP\_006008
- [1198] ■Genbank版本号NP\_006008.1 GI:5174387
- [1199] ■Genbank记录更新日期:2012年9月30日下午01:47
- [1200] (58) ASG-5
- [1201] 交叉参考
- [1202] (Smith L.M.,等AACR 2010 Annual Meeting (摘要#2590);Gudas J.M.等AACR 2010 Annual Meeting (摘要#4393))
- [1203] 抗体
- [1204] 抗AGS-5抗体;M6.131 (Smith,L.M.,等AACR 2010 Annual Meeting (摘要#2590))
- [1205] (59) ENPP3 (外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶3)
- [1206] 核苷酸
- [1207] Genbank登录号AF005632
- [1208] Genbank版本号AF005632.2 GI:4432589
- [1209] Genbank记录更新日期:2010年3月10日下午09:41
- [1210] 多肽
- [1211] Genbank登录号AAC51813
- [1212] Genbank版本号AAC51813.1 GI:2465540
- [1213] Genbank记录更新日期:2010年3月10日下午09:41
- [1214] 交叉参考
- [1215] Jin-Hua P.等Genomics 45 (2),412-415 (1997)
- [1216] 其他信息
- [1217] 官方代号:ENPP3
- [1218] 其他别名:RP5-988G15.3、B10、CD203c、NPP3、PD-IBETA、PDNP3
- [1219] 其他名称:E-NPP 3;dJ1005H11.3 (磷酸二酯酶I/核苷酸焦磷酸酶3);dJ914N13.3 (磷酸二酯酶I/核苷酸焦磷酸酶3);外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶家族成员3;gp130RB13-

6;磷酸二酯酶I $\beta$ ;磷酸二酯酶I/核苷酸焦磷酸酶3;磷酸二酯酶-I $\beta$

[1220] (60) PRR4 (富含脯氨酸4 (泪腺的))

[1221] 核苷酸

[1222] Genbank登录号NM\_007244

[1223] Genbank版本号NM\_007244.2 GI:154448885

[1224] Genbank记录更新日期:2012年6月28日下午12:39

[1225] 多肽

[1226] Genbank登录号NP\_009175

[1227] Genbank版本号NP\_009175.2 GI:154448886

[1228] Genbank记录更新日期:2012年6月28日下午12:39

[1229] 交叉参考

[1230] Dickinson D.P.等Invest.Ophthalmol.Vis.Sci.36 (10) ,2020-2031 (1995)

[1231] 其他信息

[1232] 官方代号:PRR4

[1233] 其他别名:LPRP、PROL4

[1234] 其他名称:泪腺富含脯氨酸蛋白;鼻咽癌相关富含脯氨酸的蛋白4;富含脯氨酸多肽4;富含脯氨酸蛋白4

[1235] (61) GCC-GUCY2C (鸟苷酸环化酶2C (热稳定肠毒素受体))

[1236] 核苷酸

[1237] Genbank登录号NM\_004963

[1238] Genbank版本号NM\_004963.3 GI:222080082

[1239] Genbank记录更新日期:2012年9月2日下午01:50

[1240] 多肽

[1241] Genbank登录号NP\_004954

[1242] Genbank版本号NP\_004954.2 GI:222080083

[1243] Genbank记录更新日期:2012年9月2日下午01:50

[1244] 交叉参考

[1245] De Sauvage F.J.等J.Biol.Chem.266 (27) ,17912-17918 (1991) ;Singh S.等Biochem.Biophys.Res.Commun.179 (3) ,1455-1463 (1991)

[1246] 其他信息

[1247] 官方代号:GUCY2C

[1248] 其他别名:DIAR6、GUC2C、MUCIL、STAR

[1249] 其他名称:GC-C;STA受体;鸟苷酸环化酶C;hSTAR;热稳定肠毒素受体;肠鸟苷酸环化酶

[1250] (62) Liv-1-SLC39A6 (溶质载体家族39 (锌转运蛋白) ,成员6)

[1251] 核苷酸

[1252] Genbank登录号U41060

[1253] Genbank版本号U41060.2 GI:12711792

[1254] Genbank记录更新日期:2009年11月30日下午04:35



- [1255] 多肽
- [1256] Genbank登录号AAA96258
- [1257] Genbank版本号AAA96258.2 GI:12711793
- [1258] Genbank记录更新日期:2009年11月30日下午04:35
- [1259] 交叉参考
- [1260] Taylor KM.等Biochim Biophys Acta.2003年4月1日;1611(1-2):16-30
- [1261] 其他信息
- [1262] 官方代号:SLC39A6
- [1263] 其他别名:LIV-1
- [1264] 其他名称:LIV-1蛋白,雌激素调节的;ZIP-6;雌激素调节蛋白LIV-1;溶质载体家族39(金属离子转运蛋白),成员6;溶质载体家族39成员6;锌转运蛋白ZIP6;zrt-和Irt-样蛋白6
- [1265] (63) 5T4,滋养层糖蛋白,TPBG-TPBG(滋养层糖蛋白)
- [1266] 核苷酸
- [1267] Genbank登录号AJ012159
- [1268] Genbank版本号AJ012159.1 GI:3805946
- [1269] Genbank记录更新日期:2011年2月1日上午10:27
- [1270] 多肽
- [1271] Genbank登录号CAA09930
- [1272] Genbank版本号CAA09930.1 GI:3805947
- [1273] Genbank记录更新日期:2011年2月1日上午10:27
- [1274] 交叉参考
- [1275] King K.W.,等Biochim.Biophys.Acta 1445(3),257-270(1999)
- [1276] 其他信息
- [1277] ●官方代号:TPBG
- [1278] ●其他别名:5T4、5T4AG、M6P1
- [1279] ●其他名称:5T4癌胚抗原;5T4癌胚滋养层糖蛋白;5T4肿瘤滋养层糖蛋白
- [1280] ●参见W02015/155345
- [1281] (64) CD56-NCMA1(神经细胞粘附分子1)
- [1282] 核苷酸
- [1283] Genbank登录号NM\_000615
- [1284] Genbank版本号NM\_000615.6GI:336285433
- [1285] Genbank记录更新日期:2012年9月23日下午02:32
- [1286] 多肽
- [1287] Genbank登录号NP\_000606
- [1288] Genbank版本号NP\_000606.3 GI:94420689
- [1289] Genbank记录更新日期:2012年9月23日下午02:32
- [1290] 交叉参考
- [1291] Dickson,G.,等,Cell 50(7),1119-1130(1987)

- [1292] 其他信息
- [1293] 官方代号:NCAM1
- [1294] 其他别名:CD56、MSK39、NCAM
- [1295] 其他名称:由单克隆抗体5.1H11识别的抗原;神经细胞粘附分子,NCAM
- [1296] 抗体
- [1297] Immunogen:HuN901 (Smith SV.等Curr Opin Mol Ther.2005年8月;7(4):394-401)
- [1298] 例如,参见由鼠N901抗体的人源化。参见Roguska,M.A.,等Proc Natl Acad Sci USA 1994年2月;91:969-973的图1b和1e。
- [1299] (65) CanAg (肿瘤相关抗原CA242)
- [1300] 交叉参考
- [1301] Haglund C.等Br J Cancer 60:845-851,1989;Baeckstrom D.等J Biol Chem 266:21537-21547,1991
- [1302] 抗体
- [1303] huC242 (Tolcher AW等,J Clin Oncol.2003年1月15日;21(2):211-22; Immunogen)
- [1304] 例如,参见US20080138898A1 SEQ ID NO:1和2
- [1305] (66) FOLR1 (叶酸盐受体1)
- [1306] 核苷酸
- [1307] Genbank登录号J05013
- [1308] Genbank版本号J05013.1 GI:182417
- [1309] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:47
- [1310] 多肽
- [1311] Genbank登录号AAA35823
- [1312] Genbank版本号AAA35823.1 GI:182418
- [1313] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:47
- [1314] 交叉参考
- [1315] Elwood P.C.等J.Biol.Chem.264(25),14893-14901(1989)
- [1316] 其他信息
- [1317] 官方代号:FOLR1
- [1318] 其他别名:FBP、FOLR
- [1319] 其他名称:FR- $\alpha$ ;KB细胞FBP;成年叶酸结合蛋白;叶酸结合蛋白;叶酸盐受体 $\alpha$ ;叶酸受体,成年;卵巢肿瘤相关抗原MOv18
- [1320] 抗体
- [1321] M9346A-Whiteman KR.等Cancer Res 2012年4月15日;72(8增刊):4628 (Immunogen)
- [1322] (67) GPNMB (糖蛋白(跨膜)nmb)
- [1323] 核苷酸
- [1324] Genbank登录号X76534

- [1325] Genbank版本号X76534.1 GI:666042
- [1326] Genbank记录更新日期:2011年2月2日上午10:10
- [1327] 多肽
- [1328] Genbank登录号CAA54044
- [1329] Genbank版本号CAA54044.1 GI:666043
- [1330] Genbank记录更新日期:2011年2月2日上午10:10
- [1331] 交叉参考
- [1332] Weterman M.A.等Int.J.Cancer 60 (1) ,73-81 (1995)
- [1333] 其他信息
- [1334] 官方代号:GPNMB
- [1335] 其他别名:UNQ1725/PRO9925、HGFIN、NMB
- [1336] 其他名称:糖蛋白NMB;糖蛋白nmb样蛋白;骨活素 (osteactivin);跨膜糖蛋白HGFIN;跨膜糖蛋白NMB
- [1337] 抗体
- [1338] Celldex Therapeutics:CR011 (Tse KF.等Clin Cancer Res.2006年2月15日;12 (4) :1373-82)
- [1339] 例如,参见EP1827492B1 SEQ ID NO:22、24、26、31、33和35
- [1340] (68) TIM-1-HAVCR1 (甲型肝炎病毒细胞受体1)
- [1341] 核苷酸
- [1342] Genbank登录号AF043724
- [1343] Genbank版本号AF043724.1 GI:2827453
- [1344] Genbank记录更新日期:2010年3月10日下午06:24
- [1345] 多肽
- [1346] Genbank登录号AAC39862
- [1347] Genbank版本号AAC39862.1 GI:2827454
- [1348] Genbank记录更新日期:2010年3月10日下午06:24
- [1349] 交叉参考
- [1350] Feigelstock D.等J.Virol.72 (8) ,6621-6628 (1998)
- [1351] 其他信息
- [1352] 官方代号:HAVCR1
- [1353] 其他别名:HAVCR、HAVCR-1、KIM-1、KIM1、TIM、TIM-1、TIM1、TIMD-1、TIMD1
- [1354] 其他名称:T细胞免疫球蛋白域和粘蛋白域蛋白1;T细胞膜蛋白1;肾损伤分子1
- [1355] (69) RG-1/前列腺肿瘤靶Mindin-Mindin/RG-1
- [1356] 交叉参考
- [1357] Parry R.等Cancer Res.2005年9月15日;65 (18) :8397-405
- [1358] (70) B7-H4-VTCN1 (包含T细胞活化抑制剂的V-set域1
- [1359] 核苷酸
- [1360] Genbank登录号BX648021
- [1361] Genbank版本号BX648021.1 GI:34367180

- [1362] Genbank记录更新日期:2011年2月2日上午08:40
- [1363] 交叉参考
- [1364] Sica GL.等Immunity.2003年6月;18(6):849-61
- [1365] 其他信息
- [1366] 官方代号:VTCN1
- [1367] 其他别名:RP11-229A19.4、B7-H4、B7H4、B7S1、B7X、B7h.5、PR01291、VCTN1
- [1368] 其他名称:B7家族成员,H4;B7超家族成员1;T细胞共刺激分子B7x;T细胞共刺激分子B7x;包含T细胞活化抑制剂的V-set域1;免疫共刺激蛋白B7-H4
- [1369] (71) PTK7 (PTK7蛋白酪氨酸激酶7)
- [1370] 核苷酸
- [1371] Genbank登录号AF447176
- [1372] Genbank版本号AF447176.1 GI:17432420
- [1373] Genbank记录更新日期:2008年11月28日下午01:51
- [1374] 多肽
- [1375] Genbank登录号AAL39062
- [1376] Genbank版本号AAL39062.1 GI:17432421
- [1377] Genbank记录更新日期:2008年11月28日下午01:51
- [1378] 交叉参考
- [1379] Park S.K.等J.Biochem.119(2),235-239(1996)
- [1380] 其他信息
- [1381] 官方代号:PTK7
- [1382] 其他别名:CCK-4、CCK4
- [1383] 其他名称:结肠癌激酶4;失活酪氨酸蛋白激酶7;假酪氨酸激酶受体7;酪氨酸蛋白激酶样7
- [1384] (72) CD37 (CD37分子)
- [1385] 核苷酸
- [1386] Genbank登录号NM\_001040031
- [1387] Genbank版本号NM\_001040031.1 GI:91807109
- [1388] Genbank记录更新日期:2012年7月29日下午02:08
- [1389] 多肽
- [1390] Genbank登录号NP\_001035120
- [1391] Genbank版本号NP\_001035120.1 GI:91807110
- [1392] Genbank记录更新日期:2012年7月29日下午02:08
- [1393] 交叉参考
- [1394] Schwartz-Albiez R.等J.Immunol.140(3),905-914(1988)
- [1395] 其他信息
- [1396] 官方代号:CD37
- [1397] 其他别名:GP52-40、TSPAN26
- [1398] 其他名称:CD37抗原;细胞分化抗原37;白细胞抗原CD37;白细胞表面抗原CD37;四

旋蛋白-26 (tetraspanin-26) ;tspan-26

[1399] 抗体

[1400] Boehringer Ingelheim:mAb 37.1 (Heider KH.等Blood.2011年10月13日;118 (15):4159-68)

[1401] Trubion:CD37-SMIP (G28-1 scFv-Ig) ((Zhao X.等Blood.2007;110:2569-2577)

[1402] 例如,参见US20110171208A1 SEQ ID NO:253

[1403] Immunogen:K7153A (Deckert J.等Cancer Res,2012年4月15日;72 (8增补):4625)

[1404] (73) CD138-SDC1 (多配体聚糖1 (syndecan 1))

[1405] 核苷酸

[1406] Genbank登录号AJ551176

[1407] Genbank版本号AJ551176.1 GI:29243141

[1408] Genbank记录更新日期:2011年2月1日下午12:09

[1409] 多肽

[1410] Genbank登录号CAD80245

[1411] Genbank版本号CAD80245.1 GI:29243142

[1412] Genbank记录更新日期:2011年2月1日下午12:09

[1413] 交叉参考

[1414] O'Connell FP.等Am J Clin Pathol.2004年2月;121 (2):254-63

[1415] 其他信息

[1416] 官方代号:SDC1

[1417] 其他别名:CD138、SDC、SYND1、多配体聚糖

[1418] 其他名称:CD138抗原;硫酸乙酰肝素蛋白多糖成纤维细胞生长因子受体;多配体聚糖蛋白多糖1;多配体聚糖-1

[1419] 抗体

[1420] Biotest:嵌合MAb (nBT062) - (Jagannath S.等Poster ASH#3060,2010;WIPO专利申请W0/2010/128087)

[1421] 例如,参见US20090232810SEQ ID NO:1和2

[1422] Immunogen:B-B4 (Tassone P.等Blood 104\_3688-3696)

[1423] 例如,参见US20090175863A1 SEQ ID NO:1和2

[1424] (74) CD74 (CD74分子,主要组织相容性复合物,II类不变链)

[1425] 核苷酸

[1426] Genbank登录号NM\_004355

[1427] Genbank版本号NM\_004355.1 GI:343403784

[1428] Genbank记录更新日期:2012年9月23日下午02:30

[1429] 多肽

[1430] Genbank登录号NP\_004346

[1431] Genbank版本号NP\_004346.1 GI:10835071

[1432] Genbank记录更新日期:2012年9月23日下午02:30

[1433] 交叉参考

- [1434] Kudo, J.等Nucleic Acids Res.13 (24) ,8827-8841 (1985)
- [1435] 其他信息
- [1436] 官方代号:CD74
- [1437] 其他别名:DHLA G、HLA DG、II、Ia-GAMMA
- [1438] 其他名称:CD74抗原(主要组织相容性复合物的不变多肽,II类抗原相关的);HLA类II组织相容性抗原  $\gamma$  链;HLA-DR抗原相关的不变链;HLA-DR- $\gamma$  ;Ia-相关的不变链;MHC HLA-DR  $\gamma$  链;II类抗原的  $\gamma$  链;p33
- [1439] 抗体
- [1440] Immunomedics:hLL1 (Milatuzumab,)-Berkova Z.等Expert Opin Investig Drugs.2010年1月;19 (1) :141-9)
- [1441] 例如,参见US20040115193 SEQ ID NO:19、20、21、22、23和24
- [1442] Genmab:HuMax-CD74 (参见网站)
- [1443] (75) Claudins (整合膜连接蛋白) -CLs (Claudins)
- [1444] 交叉参考
- [1445] Offner S.等Cancer Immunol Immunother.2005年5月;54 (5) :431-45,Suzuki H.等Ann N Y Acad Sci.2012年7月;1258:65-70)
- [1446] 在人类中,已经描述了家族的24种成员-见交叉参考。
- [1447] (76) EGFR (表皮生长因子受体)
- [1448] 核苷酸
- [1449] Genbank登录号NM\_005228
- [1450] Genbank版本号NM\_005228.3 GI:41927737
- [1451] Genbank记录更新日期:2012年9月30日下午01:47
- [1452] 多肽
- [1453] Genbank登录号NP\_005219
- [1454] Genbank版本号NP\_005219.2 GI:29725609
- [1455] Genbank记录更新日期:2012年9月30日下午01:47
- [1456] 交叉参考
- [1457] Dhomen NS.等Crit Rev Oncog.2012;17 (1) :31-50
- [1458] 其他信息
- [1459] 官方代号:EGFR
- [1460] 其他别名:ERBB、ERBB1、HER1、PIG61、mENA
- [1461] 其他名称:禽成红细胞白血病病毒(v-erb-b) 癌基因同系物;细胞生长抑制蛋白40;细胞增殖诱导蛋白61;原癌基因c-ErbB-1;受体酪氨酸蛋白激酶erbB-1
- [1462] 抗体
- [1463] BMS:Cetuximab (Erbix) -Broadbridge VT.等Expert Rev Anticancer Ther.2012年5月;12 (5) :555-65。
- [1464] 例如,见US6217866-ATTC保藏号9764。
- [1465] Amgen:帕尼单抗 (Panitumumab) (Vectibix) -Argiles G.等Future Oncol.2012年4月;8 (4) :373-89

- [1466] 例如,见US6235883SEQ ID NO:23-38。
- [1467] Genmab:扎妥木单抗 (Zalutumumab)-Rivera F.等Expert Opin Biol Ther.2009年5月;9(5):667-74。
- [1468] YM Biosciences:尼妥珠单抗 (Nimotuzumab)-Ramakrishnan MS.等MAbs.2009年1月-2月;1(1):41-8。
- [1469] 例如,见US5891996 SEQ ID NO:27-34。
- [1470] (77) Her3 (ErbB3) -ERBB3 (v-erb-b2成红细胞白血病病毒癌基因同系物3(禽))
- [1471] 核苷酸
- [1472] Genbank登录号M34309
- [1473] Genbank版本号M34309.1 GI:183990
- [1474] Genbank记录更新日期:2010年6月23日下午08:47
- [1475] 多肽
- [1476] Genbank登录号AAA35979
- [1477] Genbank版本号AAA35979.1 GI:306841
- [1478] Genbank记录更新日期:2010年6月23日下午08:47
- [1479] 交叉参考
- [1480] Plowman,G.D.等,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.87(13),4905-4909(1990) 其他信息
- [1481] 官方代号:ERBB3
- [1482] 其他别名:ErbB-3、HER3、LCCS2、MDA-BF-1、c-erbB-3、c-erbB3、erbB3-S、p180-ErbB3、p45-sErbB3、p85-sErbB3
- [1483] 其他名称:原癌基因样蛋白c-ErbB-3;受体酪氨酸蛋白激酶erbB-3;酪氨酸激酶型细胞表面受体HER3
- [1484] 抗体
- [1485] Merimack Pharma:MM-121 (Schoeberl B.等Cancer Res.2010年3月15日;70(6):2485-2494)
- [1486] 例如,见US2011028129SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7和8。
- [1487] (78) RON-MST1R (巨噬细胞刺激1受体 (c-met相关酪氨酸激酶))
- [1488] 核苷酸
- [1489] Genbank登录号X70040
- [1490] Genbank版本号X70040.1 GI:36109
- [1491] Genbank记录更新日期:2011年2月2日下午10:17
- [1492] 多肽
- [1493] Genbank登录号CCA49634
- [1494] Genbank版本号CCA49634.1 GI:36110
- [1495] Genbank记录更新日期:2011年2月2日下午10:17
- [1496] 交叉参考
- [1497] Ronsin C.等Oncogene 8(5),1195-1202(1993)
- [1498] 其他信息

- [1499] 官方代号:MST1R
- [1500] 其他别名:CD136、CDw136、PTK8、RON
- [1501] 其他名称:MSP受体;MST1R变体RON30;MST1R变体RON62;PTK8蛋白酪氨酸激酶8;RON变体E2E3;c-met相关酪氨酸激酶;巨噬细胞刺激蛋白受体;p185-Ron;可溶性RON变体1;可溶性RON变体2;可溶性RON变体3;可溶性RON变体4
- [1502] (79) EPHA2 (EPH受体A2)
- [1503] 核苷酸
- [1504] Genbank登录号BC037166
- [1505] Genbank版本号BC037166.2 GI:33879863
- [1506] Genbank记录更新日期:2012年3月6日下午01:59
- [1507] 多肽
- [1508] Genbank登录号AAH37166
- [1509] Genbank版本号AAH37166.1 GI:22713539
- [1510] Genbank记录更新日期:2012年3月6日下午01:59
- [1511] 交叉参考
- [1512] Strausberg R.L.等Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.99 (26) ,16899-16903 (2002)
- [1513] 其他信息
- [1514] 官方代号:EPHA2
- [1515] 其他别名:ARCC2、CTPA、CTPP1、ECK
- [1516] 其他名称:ephrin A型受体2;上皮细胞受体蛋白酪氨酸激酶;可溶性EPHA2变体1;酪氨酸蛋白激酶受体ECK
- [1517] 抗体
- [1518] Medimmune:1C1 (Lee JW.等Clin Cancer Res.2010年5月1日;16 (9) :2562-2570)
- [1519] 例如,见US20090304721A1的图7和8。
- [1520] (80) CD20-MS4A1 (跨膜4域,亚家族A,成员1)
- [1521] 核苷酸
- [1522] Genbank登录号M27394
- [1523] Genbank版本号M27394.1 GI:179307
- [1524] Genbank记录更新日期:2009年11月30日上午11:16
- [1525] 多肽
- [1526] Genbank登录号AAA35581
- [1527] Genbank版本号AAA35581.1 GI:179308
- [1528] Genbank记录更新日期:2009年11月30日上午11:16
- [1529] 交叉参考
- [1530] Tedder T.F.等Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.85 (1) ,208-212 (1988)
- [1531] 其他信息
- [1532] 官方代号:MS4A1
- [1533] 其他别名:B1、Bp35、CD20、CVID5、LEU-16、MS4A2、S7
- [1534] 其他名称:B-淋巴细胞抗原CD20;B淋巴细胞细胞表面抗原B1;CD20抗原;CD20受



体;白细胞表面抗原Leu-16

[1535] 抗体

[1536] Genentech/Roche:利妥昔单抗-Abdulla NE.等BioDrugs.2012年4月1日;26(2):71-82。

[1537] 例如,见US5736137,ATCC保藏号为HB-69119。

[1538] GSK/Genmab:奥法木单抗-Nightingale G.等Ann Pharmacother.2011年10月;45(10):1248-55。

[1539] 例如,见US20090169550A1 SEQ ID NO:2、4和5。

[1540] Immunomedics:Veltuzumab-Goldenberg DM.等Leuk Lymphoma.2010年5月;51(5):747-55。

[1541] 例如,见US7919273B2 SEQ ID NO:1、2、3、4、5和6。

[1542] (81) 腱生蛋白C(肌腱蛋白C,Tenascin C)-TNC(腱生蛋白C)

[1543] 核苷酸

[1544] Genbank登录号NM\_002160

[1545] Genbank版本号NM\_002160.3 GI:340745336

[1546] Genbank记录更新日期:2012年9月23日下午02:33

[1547] 多肽

[1548] Genbank登录号NP\_002151

[1549] Genbank版本号NP\_002151.2 GI:153946395

[1550] Genbank记录更新日期:2012年9月23日下午02:33

[1551] 交叉参考

[1552] Nies D.E.等J.Biol.Chem.266(5),2818-2823(1991);Siri A.等Nucleic Acids Res.19(3),525-531(1991)

[1553] 其他信息

[1554] 官方代号:TNC

[1555] 其他别名:150-225、GMEM、GP、HXB、JI、TN、TN-C

[1556] 其他名称:GP 150-225;肌链抗原(cytotactin);胶质瘤相关细胞外基质抗原;hexabrachion(腱生蛋白);肌腱抗原;神经粘连蛋白;腱生蛋白;腱生蛋白-C同种型14/AD1/16

[1557] 抗体

[1558] Philogen:G11(von Lukowicz T.,等J Nucl Med.2007年4月;48(4):582-7)和F16(Pedretti M.等Lung Cancer.2009年4月;64(1):28-33)

[1559] 例如,见US7968685SEQ ID NO:29、35、45和47。

[1560] (82) FAP(成纤维细胞活化蛋白, $\alpha$ )

[1561] 核苷酸

[1562] Genbank登录号U09278

[1563] Genbank版本号U09278.1 GI:1888315

[1564] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午09:22

[1565] 多肽

- [1566] Genbank登录号AAB49652
- [1567] Genbank版本号AAB49652.1 GI:1888316
- [1568] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午09:22
- [1569] 交叉参考
- [1570] Scanlan, M. J., 等Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 91 (12), 5657-5661 (1994)
- [1571] 其他信息
- [1572] 官方代号:FAP
- [1573] 其他别名:DPPIV、FAPA
- [1574] 其他名称:170kDa黑素瘤膜结合明胶酶;整合膜丝氨酸蛋白酶;透明质酸酶(seprase)
- [1575] (83) DKK-1 (Dickkopf 1同系物(光滑爪蟾, *Xenopus laevis*))
- [1576] 核苷酸
- [1577] Genbank登录号NM\_012242
- [1578] Genbank版本号NM\_012242.2 GI:61676924
- [1579] Genbank记录更新日期:2012年9月30日下午01:48
- [1580] 多肽
- [1581] Genbank登录号NP\_036374
- [1582] Genbank版本号NP\_036374.1 GI:7110719
- [1583] Genbank记录更新日期:2012年9月30日下午01:48
- [1584] 交叉参考
- [1585] Fedi P. 等J. Biol. Chem. 274 (27), 19465-19472 (1999)
- [1586] 其他信息
- [1587] 官方代号:DKK1
- [1588] 其他别名:UNQ492/PRO1008、DKK-1、SK
- [1589] 其他名称:dickkopf相关蛋白-1;dickkopf-1样;dickkopf样蛋白1;dickkopf相关蛋白1;hDkk-1
- [1590] 抗体
- [1591] Novartis: BHQ880 (Fulciniti M. 等Blood. 2009年7月9日; 114 (2): 371-379)
- [1592] 例如, 见US20120052070A1 SEQ ID NO:100和108。
- [1593] (84) CD52 (CD52分子)
- [1594] 核苷酸
- [1595] Genbank登录号NM\_001803
- [1596] Genbank版本号NM\_001803.2 GI:68342029
- [1597] Genbank记录更新日期:2012年9月30日下午01:48
- [1598] 多肽
- [1599] Genbank登录号NP\_001794
- [1600] Genbank版本号NP\_001794.2 GI:68342030
- [1601] Genbank记录更新日期:2012年9月30日下午01:48
- [1602] 交叉参考

- [1603] Xia M.Q.等Eur.J.Immunol.21 (7) ,1677-1684 (1991)
- [1604] 其他信息
- [1605] 官方代号:CD52
- [1606] 其他别名:CDW52
- [1607] 其他名称:CAMPATH-1抗原;CD52抗原(CAMPATH-1抗原);CDW52抗原(CAMPATH-1抗原);剑桥病理1抗原;附睾分泌蛋白E5;he5;人附睾特异蛋白5
- [1608] 抗体
- [1609] 阿仑单抗(Campath)-Skoetz N.等Cochrane Database Syst Rev.2012年2月15日;2:CD008078。
- [1610] 例如,见Drugbank Acc.号DB00087 (BIOD00109,BTD00109)
- [1611] (85) CS1-SLAMF7 (SLAM家族成员7)
- [1612] 核苷酸
- [1613] Genbank登录号NM\_021181
- [1614] Genbank版本号NM\_021181.3 GI:1993571
- [1615] Genbank记录更新日期:2012年6月29日上午11:24
- [1616] 多肽
- [1617] Genbank登录号NP\_067004
- [1618] Genbank版本号NP\_067004.3 GI:19923572
- [1619] Genbank记录更新日期:2012年6月29日上午11:24
- [1620] 交叉参考
- [1621] Boles K.S.等Immunogenetics 52 (3-4) ,302-307 (2001)
- [1622] 其他信息
- [1623] 官方代号:SLAMF7
- [1624] 其他别名:UNQ576/PRO1138、19A、CD319、CRACC、CS1
- [1625] 其他名称:19A24蛋白;CD2子集(subset) 1;CD2样受体活化细胞毒性细胞;CD2样受体活化细胞毒性细胞;膜蛋白FOAP-12;新LY9 (淋巴细胞抗原9) 样蛋白;蛋白19A
- [1626] 抗体
- [1627] BMS:elotuzumab/HuLuc63 (Benson DM.等J Clin Oncol.2012年6月1日;30 (16) :2013-2015)
- [1628] 例如,见US20110206701SEQ ID NO:9、10、11、12、13、14、15和16。
- [1629] (86) Endoglin-ENG (内皮糖蛋白)
- [1630] 核苷酸
- [1631] Genbank登录号AF035753
- [1632] Genbank版本号AF035753.1 GI:3452260
- [1633] Genbank记录更新日期:2010年3月10日下午06:36
- [1634] 多肽
- [1635] Genbank登录号AAC32802
- [1636] Genbank版本号AAC32802.1 GI:3452261
- [1637] Genbank记录更新日期:2010年3月10日下午06:36

- [1638] 交叉参考
- [1639] Rius C.等Blood 92(12),4677-4690(1998)
- [1640] 官方代号:ENG
- [1641] 其他信息
- [1642] 其他别名:RP11-228B15.2、CD105、END、HHT1、ORW、ORW1
- [1643] 其他名称:CD105抗原
- [1644] (87)膜联蛋白A1-ANXA1(膜联蛋白A1)
- [1645] 核苷酸
- [1646] Genbank登录号X05908
- [1647] Genbank版本号X05908.1 GI:34387
- [1648] Genbank记录更新日期:2011年2月2日上午10:02
- [1649] 多肽
- [1650] Genbank登录号CCA29338
- [1651] Genbank版本号CCA29338.1 GI:34388
- [1652] Genbank记录更新日期:2011年2月2日上午10:02
- [1653] 交叉参考
- [1654] Wallner B.P.,等Nature 320(6057),77-81(1986)
- [1655] 其他信息
- [1656] 官方代号:ANXA1
- [1657] 其他别名:RP11-71A24.1、ANX1、LPC1
- [1658] 其他名称:膜联蛋白I(脂皮质蛋白I);膜联蛋白-1;依钙蛋白II(calpactin II);依钙蛋白-2;嗜铬粒结合蛋白-9;脂皮质蛋白I;p35;磷脂酶A2抑制蛋白
- [1659] (88)V-CAM(CD106)-VCAM1(血管细胞粘附分子1)
- [1660] 核苷酸
- [1661] Genbank登录号M60335
- [1662] Genbank版本号M60335.1 GI:340193
- [1663] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:56
- [1664] 多肽
- [1665] Genbank登录号AAA61269
- [1666] Genbank版本号AAA61269.1 GI:340194
- [1667] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:56
- [1668] 交叉参考
- [1669] Hession C.等J.Biol.Chem.266(11),6682-6685(1991)
- [1670] 其他信息
- [1671] 官方代号VCAM1
- [1672] 其他别名:CD106、INCAM-100
- [1673] 其他名称:CD106抗原;血管细胞粘附蛋白1
- [1674] 抗体序列
- [1675] 抗整联蛋白 $\alpha v\beta 6$

- [1676] RHAB6.2
- [1677] QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGFAFTDSYMHWRQAPGQGLEWMGWIDPENGDEYAPKFQGRFV  
FSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCTRGTPTAVPNLRGDLQVLAQKVAGPYPFYWGQGLTVTVSS
- [1678] RHCB6.2
- [1679] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFIDSYMHWRQAPGQRLEWMGWIDPENGDEYAPKFQGRVT  
ITDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGTPTAVPNLRGDLQVLAQKVAGPYPFYWGQGLTVTVSS
- [1680] RHF
- [1681] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGFNFIDSYMHWRQAPGQRLEWMGWIDPENGDEYAPKFQGRVT  
FTDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCNEGTPTGPPYFDYWGQGLTVTVSS
- [1682] RHFB6
- [1683] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGFNFIDSYMHWRQAPGQRLEWMGWIDPENGDEYAPKFQGRVT  
FTDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCNEGTPTAVPNLRGDLQVLAQKVAGPYPFYWGQGLTVTVSS
- [1684] RHAY100bP
- [1685] QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGFAFTDSYMHWRQAPGQGLEWMGWIDPENGDEYAPKFQGRFV  
FSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCTRGTPTGPPYFDYWGQGLTVTVSS
- [1686] RKF
- [1687] ENVLTQSPGTLSPGERATLSCSASSSVSYMHWFQQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPDRFSGSGSGTD  
FTLTISRLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK
- [1688] RKFL36L50
- [1689] ENVLTQSPGTLSPGERATLSCSASSSVSYMHWLQQKPGQAPRLLIYLTSNLASGIPDRFSGSGSGTD  
FTLTISRLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK
- [1690] RKC
- [1691] EIVLTQSPGTLSPGERATLSCSASSSVSYMHWFQQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPDRFSGSGSGTD  
FTLTISRLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK
- [1692] 抗CD33
- [1693] CD33 Hum195 VH
- [1694] QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDYNMHWRQAPGQGLEWIGYIYPYNGGTGYNQKFKSKAT  
ITADESTNTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGRPAMDYWGQGLTVTVSS
- [1695] CD33 Hum195 VK
- [1696] DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASESDNYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGS  
GSGTDFTLTISLQPDFFATYYCQKSKEVPWTFGQGTKVEIK
- [1697] 抗CD19
- [1698] CD19 B4表面重构的VH
- [1699] QVQLVQPGAEEVVKPGASVKLSCKTSGYTFSTNWMHWKQRPQGLEWIGEIDPSDSTNYNQNFKFKKAK  
LTVDKSTSTAYMEVSSLRSDDTAVYYCARGSNPYYAMDYWGQGSTVTVSS
- [1700] CD19 B4表面重构的VK
- [1701] EIVLTQSPAIIASVSPGERVTMTCSASSGVNYMHWFQQKPGTSPRRWIYDTSKSLASGVPARFSGSGSGTS  
YSLTISSEMPEDAATYYCHQRGSYTFGGGTKLEIK
- [1702] 抗Her2

- [1703] 赫赛汀VH链
- [1704] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFT  
ISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTLTVSS
- [1705] 赫赛汀VL链
- [1706] DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGT  
DFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIK
- [1707] 抗CD25
- [1708] 舒莱VK (还被称为巴利昔单抗 (Basiliximab))
- [1709] QIVSTQSPAIMASAPGKVTMTCSASSRSYMQWYQQKPGTSPKRWIYDTSKLGASVGPARGSGSGS  
YSLTISSMEAEDAATYYCHQRSSYTFGGGTKLEIK
- [1710] 舒莱VH
- [1711] QLQQSGTVLARPGASVKMSCKASGYSFTRYWMHWIKRPGQGLEWIGAIYPGNSDTSYNQKFEGKAKLT  
AVTSASTAYMELSSLTHEDSAVYYCSRDYGYFFDFWGQGLTLTVSS
- [1712] 抗PSMA
- [1713] 去免疫VH '1
- [1714] EVQLVQSGPEVKKPGATVKISCKTSGYTFTEYIHWVKQAPGKLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDKAT  
LTVDKSTDTAYMELSSLRSEDVAVYYCAAGWNFDYWGQGLTLTVSS
- [1715] 去免疫VK '1
- [1716] DIQMTQSPSSLSTSVGDRTLTCKASQDVGTAVDWYQQKPGSPKLLIYWASTRHTGIPSRFSGSGSGT  
DFTLTISLQPEDFADYYCQQYNSYPLTFGPGTKVDIK
- [1717] 去免疫VH1 '5
- [1718] EVKLVESGGGLVQPGGSMKLSVASGFTFSNYWMNWRQAPGKLEWVAEIRSQSNFATHYAESVKGR  
VTISRDDSKSIVYLQMNRLRAEDTGVYYCTRRWNNFWGQGLTTLTVSS
- [1719] 去免疫VH2 '5
- [1720] EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSVASGFTFSNYWMNWRQAPGKLEWVAEIRSQSNFATHYAESVKGR  
VTISRDDSKSIVYLQMNRLRAEDTAVYYCTRRWNNFWGQGLTTLTVSS
- [1721] 去免疫VH3 '5
- [1722] EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSVASGFTFSNYWMNWRQAPGKLEWVAEIRSQSNFATHYAESVKGR  
VTISRDDSKSIVYLQMNRLRAEDTAVYYCTRRWNNFWGQGLTTLTVSS
- [1723] 去免疫VH4 '5
- [1724] EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSVASGFTFSNYWMNWRQAPGKLEWVAEIRSQSNFATHYAESVKGR  
FTISRDDSKSIVYLQMNRLRAEDTAVYYCTRRWNNFWGQGLTTLTVSS
- [1725] 去免疫VK1 '5
- [1726] NIVMTQFPSSMSASVGDRTITCKASENVGTYSWYQQKPDQSPKMLIYGASNRFTGVPDRFTGSGSAT  
DFTLTISLQTEDLADYYCGQSYTFPYTFGQGTKLEMK
- [1727] 去免疫VK2 '5
- [1728] NIVMTQFPSSMSASVGDRTITCKASENVGTYSWYQQKPDQSPKMLIYGASNRFTGVPDRFSGSGSGT  
DFTLTISLQAEDLADYYCGQSYTFPYTFGQGTKLEIK
- [1729] 去免疫VK3 '5

- [1730] NIQMTQFPSAMSASVGDVRTITCKASENVGTYSWYQQKPDQSPKMLIYGASNRFTGVPDRFSGSGSGT  
DFTLTISLQAEDLADYYCGQSYTFPYTFGQGTKLEIK
- [1731] 去免疫VK4 '5
- [1732] NIQMTQFPSAMSASVGDVRTITCKASENVGTYSWYQQKPDQSPKMLIYGASNRFTGVPDRFSGSGSGT  
DFTLTISLQAEDLADYYCGQSYTFPYTFGQGTKLEIK
- [1733] 去免疫VK DI '5
- [1734] NIVMTQFPKMSASAGERMTLTCKASENVGTYSWYQQKPTQSPKMLIYGASNRFTGVPDRFSGSGSGT  
DFILTISVQAEDLVDYYCGQSYTFPYTFGGGTKLEMK
- [1735] 去免疫VH DI '5
- [1736] EVKLEESGGGLVQPGGSMKISCVASGFTFSNYWMNWRQASGKLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR  
VIISRDDSKSSVYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS
- [1737] 人源化RHA '5
- [1738] EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSNYWMNWRQASGKLEWVGEIRSQSNNFATHYAESVKGR  
FTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS
- [1739] 人源化RHB '5
- [1740] EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSNYWMNWRQASGKLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR  
VIISRDDSKNTVYLQMNSLRTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS
- [1741] 人源化RHC '5
- [1742] EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSNYWMNWRQASGKLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR  
VIISRDDSKNTVYLQMNSLRTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS
- [1743] 人源化RHD '5
- [1744] EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSNYWMNWRQASGKLEWVGEIRSQSNNFATHYAESVKGR  
VIISRDDSKNTVYLQMNSLRTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS
- [1745] 人源化RHE '5
- [1746] EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSNYWMNWRQASGKLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR  
FTISRDDSKNTVYLQMNSLRTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS
- [1747] 人源化RHF '5
- [1748] EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSNYWMNWRQASGKLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR  
VIISRDDSKNTAYLQMNSLRTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS
- [1749] 人源化RHG '5
- [1750] EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSNYWMNWRQASGKLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR  
VIISRDDSKNTAYLQMNSLRTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS
- [1751] 人源化RKA '5
- [1752] DIQMTQSPSSVSASVGDVRTITCKASENVGTYSWYQQKPGTAPKLLIYGASNRFTGVPDRFSGSGSAT  
DFTLTINNLPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK
- [1753] 人源化RKB '5
- [1754] DIQMTQSPSSVSASVGDVRTITCKASENVGTYSWYQQKPGTAPKLLIYGASNRFTGVPDRFSGSGSAT  
DFTLTINNLPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK
- [1755] 人源化RKC '5

[1756] DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCKASENVGTYVSWYQQKPGTAPKMLIYGASNRFTGVPSRFSGSGSAT  
DFTLTINLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

[1757] 人源化RKD '5

[1758] DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCKASENVGTYVSWYQQKPGTAPKMLIYGASNRFTGVPSRFSGSGSAT  
DFTLTINLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

[1759] 人源化RKE '5

[1760] NIVMTQSPSSVSASVGDRTITCKASENVGTYVSWYQQKPGTAPKLLIYGASNRFTGVPRFTGSGSAT  
DFILTINLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

[1761] 人源化RKF '5

[1762] NIVMTQSPSSVSASVGDRTITCKASENVGTYVSWYQQKPGTAPKMLIYGASNRFTGVPSRFSGSGSAT  
DFILTINLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

[1763] 人源化RKG '5

[1764] NIVMTQSPSSVSASVGDRTITCKASENVGTYVSWYQQKPGTAPKMLIYGASNRFTGVPRFTGSGSAT  
DFTLTINLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

[1765] 亲本抗体还可以是融合蛋白,其包含白蛋白结合肽(ABP)序列(Dennis等(2002)“Albumin Binding As A General Strategy For Improving The Pharmacokinetics Of Proteins”J Biol Chem.277:35035-35043;WO 01/45746)。本发明的抗体包括融合蛋白,其具有由下述教导的ABP序列:(i)Dennis等(2002)J Biol Chem.277:35035-35043,表III和IV,35038页;(ii)US 2004/0001827,在[0076]节;以及(iii)WO 01/45746,12-13页,所有上述均以引用方式结合于本文。

[1766] 在一个实施方案中,抗体已经被提升到针对肿瘤相关抗原 $\alpha_v\beta_6$ 具有靶特异性。

[1767] 可以标记细胞结合剂,例如,在加入之前,以辅助检测或纯化作为缀合物或作为缀合物的一部分的细胞结合剂。标记可以是生物素标记。在另一个实施方案中,可以用放射性同位素来标记细胞结合剂。

[1768] 配体单元与配体单元的连接

[1769] 配体单元通过二硫键与配体单元相连接。

[1770] 在一个实施方案中,配体单元与药物接头之间的连接在配体单元的半胱氨酸残基的巯基与药物接头单元的马来酰亚胺基团之间形成。

[1771] 配体单元的半胱氨酸残基可用于与接头单元的官能团的反应以形成连接。在其他实施方案中,例如其中配体单元为抗体,抗体的巯基可参与链间二硫键。这些链间键可通过例如在与接头单元的官能团反应之前用DTT处理抗体而转化成游离巯基。

[1772] 在一些实施方案中,将半胱氨酸残基引入抗体的重链或轻链中。通过取代将半胱氨酸插入抗体重链或轻链中的位置包括并入本文的所公布的美国申请2007-0092940和国际专利公布W02008070593中所描述的那些。

[1773] 治疗方法

[1774] 本发明的化合物可以用于治疗方法。还提供了一种治疗方法,其包括将治疗有效量的式II的缀合物施用给需要治疗的受试者。术语“治疗有效量”是足以对患者显示益处的量。这样的益处可以是至少改善至少一种症状。施用的实际量以及施用的速率和时程将取决于待治疗对象的特性和严重性。治疗处方,例如,对剂量的决定,是在全科医生和其他医



生的责任范围内。

[1775] 可以单独地或与其他治疗组合施用缀合物(同时或相继地,其取决于待治疗的病状)。治疗和疗法的实例包括但不限于化疗(施用活性剂,包括,例如药物;手术;以及放射疗法)。

[1776] 根据本发明和根据本发明应用的药物组合物,除活性组分(即,式I的缀合物)之外,还可以包含药学上可接受的赋形剂、载体、缓冲剂、稳定剂或其他材料(本领域技术人员众所周知的)。所述物质应为无毒的并且应不干扰活性成分的功效。载体或其他材料的确切性质将取决于施用途径,所述施用途径可以是口服、或通过注射,例如皮肤、皮下、或静脉内注射。

[1777] 用于口服施用的药物组合物可以是片剂、胶囊剂、粉剂或液体形式。片剂可以包含固体载体或佐剂。液体药物组合物通常包含液体载体如水、石油、动物油或植物油、矿物油或合成油。可包含生理盐水溶液、葡萄糖或其他糖溶液或二醇类如乙二醇、丙二醇或聚乙二醇。胶囊剂可以包含固体载体如明胶。

[1778] 对于静脉内、皮肤或皮下注射、或在痛苦部位处的注射,活性成分将具有肠胃外可接受的水性溶液的形式,所述水性溶液是无热原的并具有适宜的pH、等渗性和稳定性。本领域的相关技术人员使用例如等渗媒介物如氯化钠注射液、林格氏注射液、乳酸林格氏注射液完全能够制备合适的溶液。根据需要,可以包含防腐剂、稳定剂、缓冲剂、抗氧化剂和/或其他添加剂。

[1779] 缀合物可用于治疗增殖性疾病和自身免疫疾病。术语“增殖性疾病”涉及过度或异常细胞的不需要的或不受控制的细胞增殖,其不是所期望的,如,肿瘤或增生性生长(无论是在体外或体内)。

[1780] 增殖性病状的实例包括但不限于良性、恶化前、和恶性细胞增殖,包括但不限于赘生物和肿瘤(例如组织细胞瘤、神经胶质瘤、星形细胞瘤、骨瘤)、癌症(例如肺癌、小细胞肺癌、胃肠癌、肠癌、结肠癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、肝癌、肾癌、膀胱癌、胰腺癌、脑癌、肉瘤、骨肉瘤、卡波西肉瘤、黑素瘤)、白血病、银屑病、骨疾病、纤维增殖性病状(例如结缔组织的纤维增殖性病状)、以及动脉粥样硬化。其他所关注的癌症包括但不限于血液学;恶性肿瘤,如白血病和淋巴瘤,如非霍奇金淋巴瘤、以及亚型如DLBCL、边缘区、外套层和滤泡、霍奇金淋巴瘤、AML、以及B或T细胞来源的其他癌症。

[1781] 自身免疫疾病的实例包括以下:类风湿性关节炎、自身免疫性脱髓鞘疾病(例如,多发性硬化症、变态反应性脑脊髓炎)、银屑病性关节炎、内分泌眼病、葡萄膜视网膜炎、全身性红斑狼疮、重症肌无力、格雷夫斯病、肾小球肾炎、自身免疫性肝病、炎症性肠病(例如,克罗恩病)、过敏反应、变态反应、舍格伦综合症、I型糖尿病、原发性胆汁性肝硬化、韦氏肉芽肿病(Wegener's granulomatosis)、纤维肌痛症、多肌炎、皮肌炎、多发性内分泌衰竭、施密特氏综合征(Schmidt's syndrome)、自身免疫性葡萄膜炎、爱迪生氏病(Addison's disease)、肾上腺炎、甲状腺炎、桥本氏甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis)、自身免疫性甲状腺疾病、恶性贫血、胃萎缩、慢性肝炎、狼疮样肝炎、动脉粥样硬化、亚急性皮肤型红斑狼疮、甲状旁腺功能减退症、德雷斯勒综合征(Dressler's syndrome)、自身免疫性血小板减少症、特发性血小板减少性紫癜、溶血性贫血、寻常型天疱疮、天疱疮、疱疹样皮炎、斑秃、类天疱疮、硬皮病、进行性全身性硬化症、CREST综合征(钙质沉着、雷诺氏现象、食道运动功

能障碍、指端硬化以及毛细血管扩张)、男性和女性自身免疫性不孕、强直性脊柱炎、溃疡性结肠炎、混合性结蒂组织病、结节性多动脉炎、系统性坏死性血管炎、过敏性皮炎、特应性鼻炎、肺出血-肾炎综合征(Goodpasture's syndrome)、查加斯病(Chagas' disease)、结节病、风湿热、哮喘、复发性流产、抗磷脂综合征、农民肺、多形性红斑、心脏切开后综合征、库欣综合征(Cushing's syndrome)、自身免疫性慢性活动性肝炎、养鸟人肺(bird-fancier's lung)、中毒性表皮坏死松解症、Alport综合征、肺泡炎、过敏性肺泡炎、纤维性肺泡炎、间质性肺病、结节性红斑、坏疽性脓皮病、输血反应、大动脉炎、风湿性多肌痛、颞动脉炎、血吸虫病、巨细胞动脉炎、蛔虫病、曲霉病、阿司匹林三联症(Sampter's syndrome)、湿疹、淋巴瘤样肉芽肿病、贝切特氏病(Behcet's disease)、卡普兰综合征(Caplan's syndrome)、川崎氏病(Kawasaki's disease)、登革热、脑脊髓炎、心内膜炎、心内膜心肌纤维化、眼内炎、持久性隆起性红斑(erythema elevatum et diutinum)、银屑病、胎儿成红细胞增多症、嗜酸细胞性筋膜炎、舒尔曼综合征(Shulman's syndrome)、费尔蒂氏综合征(Felty's syndrome)、丝虫病、睫状体炎、慢性睫状体炎、异时睫状体炎、富克斯氏睫状体炎、IgA肾病、亨-舍二氏紫癜(Henoch-Schonlein purpura)、移植物抗宿主病、移植排斥反应、心肌症、伊顿-兰伯特综合征(Eaton-Lambert syndrome)、复发性多软骨炎、冷沉球蛋白血症、华氏巨球蛋白血症(Waldenstrom's macroglobulemia)、埃文氏综合征(Evan's syndrome)以及自身免疫性腺衰竭。

[1782] 在一些实施方案中,自身免疫性疾病是B淋巴细胞的失调(例如,系统性红斑狼疮、肺出血-肾炎综合征、类风湿性关节炎以及I型糖尿病)、Th1淋巴细胞的失调(例如,类风湿性关节炎、多发性硬化症、银屑病、干燥综合征、桥本氏甲状腺炎、格雷夫斯病、原发性胆汁性肝硬化、韦氏肉芽肿病、肺结核、或移植物抗宿主病)、或Th2淋巴细胞的失调(例如,特应性皮炎、系统性红斑狼疮、特应性哮喘、结膜炎、过敏性鼻炎、欧门氏综合征(Omenn's syndrome)、系统性硬化症、或慢性移植物抗宿主病)。一般而言,涉及树突状细胞的病症涉及Th1淋巴细胞或Th2淋巴细胞的失调。在一些实施方案中,自身免疫性病症是T细胞介导的免疫学病症。

[1783] 在一些实施方案中,所施用的缀合物的量在约0.01mg/kg/剂量至约10mg/kg/剂量的范围内。在一些实施方案中,所施用的缀合物的量在约0.01mg/kg/剂量至约5mg/kg/剂量的范围内。在一些实施方案中,所施用的缀合物的量在约0.05mg/kg/剂量至约5mg/kg/剂量的范围内。在一些实施方案中,所施用的缀合物的量在约0.1mg/kg/剂量至约5mg/kg/剂量的范围内。在一些实施方案中,所施用的缀合物的量在约0.1mg/kg/剂量至约4mg/kg/剂量的范围内。在一些实施方案中,所施用的缀合物的量在约0.05mg/kg/剂量至约3mg/kg/剂量的范围内。在一些实施方案中,所施用的缀合物的量在约0.1mg/kg/剂量至约3mg/kg/剂量的范围内。在一些实施方案中,所施用的缀合物的量在约0.1mg/kg/剂量至约2mg/kg/剂量的范围内。

[1784] 药物负载量

[1785] 药物负载量(p)是每个细胞结合剂(例如抗体)的PBD药物的平均数量。在本发明的化合物结合于半胱氨酸的情况下,药物负载量可以为每个细胞结合剂1至8个药物(D),即其中1、2、3、4、5、6、7、和8个药物部分共价连接于细胞结合剂。缀合物的成分包括细胞结合剂的集合,例如抗体,其缀合于1至8个药物。在本发明的化合物结合于赖氨酸的情况下,药物

负载量可以为每个细胞结合剂1至80个药物(D),虽然40、20、10或8的上限可以是优选的。缀合物的成分包括细胞结合剂的集合,例如抗体,其缀合于1至80、1至40、1至20、1至10或1至8个药物。

[1786] 可以通过常规方法如UV、反相HPLC、HIC、质谱法、ELISA测定、和电泳来表征在来自缀合反应的ADC的制剂中的药物/抗体的平均数。还可以确定就 $p$ 而言ADC的数量分布。通过ELISA,可以确定在ADC的特定制剂中 $p$ 的平均值(Hamblett等(2004) Clin. Cancer Res. 10: 7063-7070; Sanderson等(2005) Clin. Cancer Res. 11: 843-852)。然而,通过ELISA的抗体-抗原结合和检测限,无法辨别 $p$ (药物)值的分布。此外,用于检测抗体-药物缀合物的ELISA测定并不确定在何处药物部分连接于抗体,如重链或轻链片段、或特定氨基酸残基。在一些情况下,可以通过方式如反相HPLC或电泳来实现其中 $p$ 是一定值的均质ADC与具有其他药物负载量的ADC的分离、纯化、和表征。这样的技术也适用于其他类型的缀合物。

[1787] 对于一些抗体-药物缀合物, $p$ 可以受限于在抗体上连接位点的数目。例如,抗体可以仅具有一个或数个半胱氨酸巯基,或可以仅具有一个或数个足够反应性巯基,通过其可以连接接头。较高药物负载量,例如 $p > 5$ ,可以引起某些抗体-药物缀合物的聚集、不溶性、毒性、或细胞通透性丧失。

[1788] 通常,在缀合反应期间,将小于理论最大值的药物部分缀合于抗体。抗体可以包含,例如,许多赖氨酸残基,其并不与药物接头反应。仅最具反应性的赖氨酸基团可以与胺-反应性接头试剂反应。同样,仅最具反应性的半胱氨酸巯基反应与巯基-反应性接头试剂可以。通常,抗体并不包含许多(如果有的话)可以连接于药物部分的游离和反应性半胱氨酸巯基。在化合物的抗体中的大多数半胱氨酸巯基残基存在为二硫桥,并且必须在部分或全部还原条件下借助于还原剂如二硫苏糖醇(DTT)或TCEP加以还原。可以以几种不同的方式来控制ADC的负载量(药物/抗体比率),包括:(i)限制药物接头相对于抗体的摩尔过量,(ii)限制缀合反应时间或温度,以及(iii)用于半胱氨酸巯基修饰的部分或限制还原条件。

[1789] 某些抗体具有可还原的链间二硫键,即半胱氨酸桥。通过用还原剂如DTT(二硫苏糖醇)进行处理,可以使抗体对于与接头试剂的缀合具有反应性。因此,理论上,每个半胱氨酸桥将形成两个反应性巯基亲核体。可以通过赖氨酸与2-亚氨基硫杂环戊烷(特劳特试剂(Traut's reagent))的反应来将另外的亲核基团引入抗体,从而导致将胺转化成硫醇。可以通过设计一个、两个、三个、四个、或更多半胱氨酸残基(例如,制备包含一个或多个非天然半胱氨酸氨基酸残基的突变抗体)来将反应性巯基引入抗体(或其片段)。US 7521541教导了通过引入反应性半胱氨酸氨基酸来设计抗体。

[1790] 可以在抗体中的反应性位点处设计半胱氨酸氨基酸,并且其并不形成链内或分子间二硫连接(Junutula等,2008b Nature Biotech., 26(8): 925-932; Dornan等(2009) Blood 114(13): 2721-2729; US 7521541; US 7723485; WO2009/052249)。工程半胱氨酸巯基可以与接头试剂或本发明的药物-接头试剂反应,其具有巯基反应性、亲电子基团如马来酰亚胺或 $\alpha$ -卤代酰胺,以与半胱氨酸工程抗体和PBD药物部分形成ADC。因此可以设计、控制、和已知药物部分的位置。可以控制药物负载量,这是因为工程半胱氨酸巯基通常以高产率与巯基-反应性接头试剂或药物-接头试剂反应。通过在重链或轻链上的单个位点处的替代,设计IgG抗体以引入半胱氨酸氨基酸会产生在对称抗体上的两个新的半胱氨酸。借助于缀合产物ADC的几乎均匀性,可以实现接近2的药物负载量。

[1791] 在抗体的多于一个的亲核或亲电子基团与药物-接头中间体或接头试剂、接着是药物部分试剂反应的情况下,那么得到的产物是ADC化合物与连接于抗体的药物部分的分布的混合物,例如1、2、3等。液相色谱法如聚合物逆相(PLRP)和疏水性相互作用(HIC)可以按照药物负载量值来分离在混合物中的化合物。可以分离具有单药物负载量值(p)的ADC的制剂,然而,这些单负载值ADC可能仍然是非均匀混合物,这是因为可以经由接头在抗体上的不同位点处连接药物部分。

[1792] 因此,本发明的抗体-药物缀合物组合物包括抗体-药物缀合物化合物的混合物,其中抗体具有一个或多个PBD药物部分以及其中药物部分可以在不同的氨基酸残基处连接于抗体。

[1793] 在一个实施方案中,二聚体吡咯并苯并二氮杂 $\text{草}$ 基团/细胞结合剂的平均数范围为1至20。在一些实施方案中,该范围选自1至8、2至8、2至6、2至4、以及4至8。

[1794] 在一些实施方案中,存在一个二聚体吡咯并苯并二氮杂 $\text{草}$ 基团/细胞结合剂。

[1795] 一般合成路线

[1796] PBD化合物的合成在以下参考文献中进行了广泛论述,论述内容以引用方式并入本文:

[1797] a) WO 00/12508 (第14至30页);

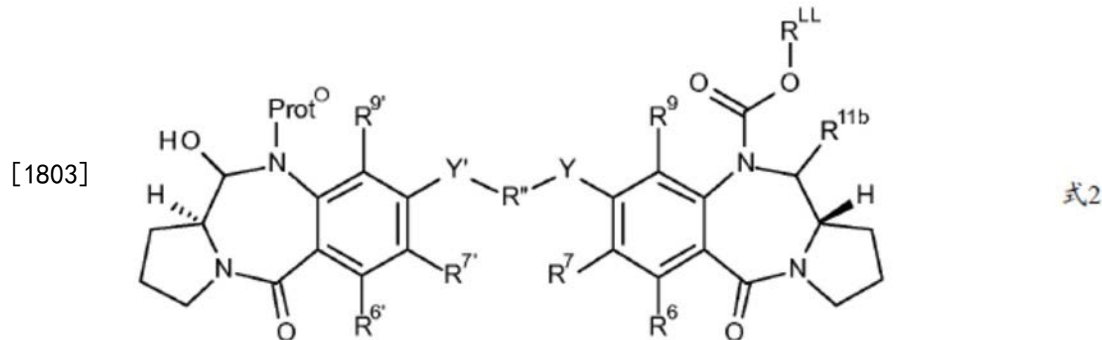
[1798] b) WO 2005/023814 (第3至10页);

[1799] c) WO 2004/043963 (第28至29页);以及

[1800] d) WO 2005/085251 (第30至39页)。

[1801] 合成路线

[1802] 其中 $R^{20}$ 和 $R^{21}$ 在它们所结合的氮原子与碳原子之间形成氮-碳双键的式I的本发明化合物可由式II的化合物合成:

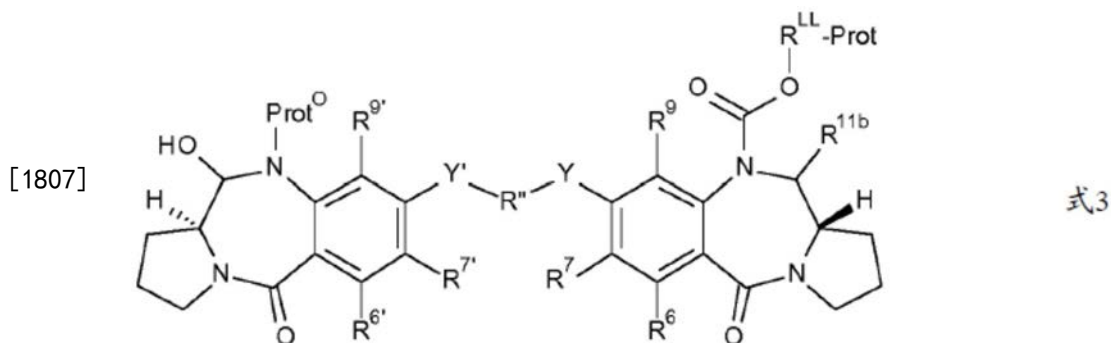


[1804] 其中 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^9$ 、 $R^{6'}$ 、 $R^{7'}$ 、 $R^9$ 、 $R^{11b}$ 、Y、Y' 和 $R''$  如对于式I的化合物所定义,并且 $R^{LL}$ 为 $R^L$ 的前体-此方法尤其适用于其中 $R^L$ 具有式IIIa的式I的化合物。对于这些化合物, $R^{LL}$ 将通常是 $R^L$ 的一部分,如式IIIa'的基团:



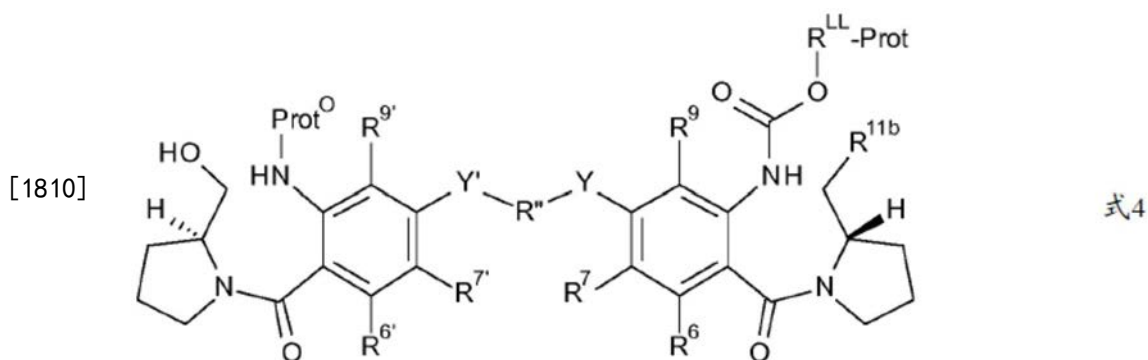
必要步骤是移除 $\text{Prot}^0$ 基团。

[1806] 式2的化合物可通过对式3的化合物的R<sup>LL</sup>基团去保护来制备:



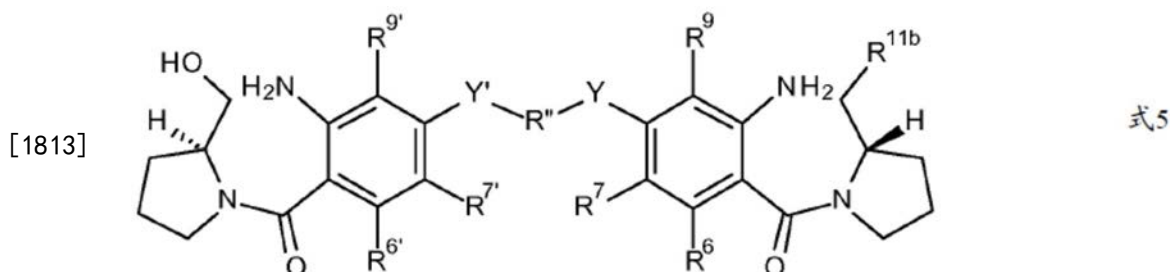
[1808] 其中R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>、R<sup>9</sup>、R<sup>6'</sup>、R<sup>7'</sup>、R<sup>9'</sup>、R<sup>11b</sup>、Y、Y' 和R'' 如对于式I的化合物所定义，R<sup>LL-Prot</sup>为R<sup>LL</sup>的受保护型式，并且Prot<sup>N</sup>代表正交于R<sup>LL</sup>保护基的简单的氮保护基(例如，Fmoc、Boc)。

[1809] 式3的化合物可通过式4的化合物的环闭合制备:



[1811] 其中环闭合通过氧化(例如Swern)进行。

[1812] 式4的化合物可由式5的化合物合成:



[1814] 通过逐步添加两个保护基实现。这可以通过简单保护将在最终化合物中导致亚氨基键的氨基(例如通过Fmoc、Boc)，然后在另一个氨基上安装期望的保护基来实现。

[1815] 其中R<sup>L</sup>具有式IIIb的式I的化合物可以类似的方式合成，但是完整的R<sup>L</sup>基团可以从式5的化合物开始安装，而不使用受保护的前体。

[1816] 式5的化合物可以通过已知方法合成，如W0 2011/130598中公开的那些。

[1817] 可替代地，式4的化合物可通过单体路线合成，如实施例3中所示。

[1818] 其中R<sup>20</sup>和R<sup>21</sup>不在它们所结合的氮原子与碳原子之间形成氮-碳双键的式I的本发明化合物可通过以上路线的修改来制备。

[1819] 药物缀合物的合成

[1820] 可如先前所述制备缀合物。可如Doronina等，Nature Biotechnology, 2003, 21, 778-784) 中所述将抗体缀合至药物接头化合物。简单地说，在37°C下用三(羧乙基)膦盐酸

盐 (TCEP) 还原在 pH 7.4 的含有 50mM 硼酸钠的 PBS 中的抗体 (4-5mg/mL)。还原链间二硫化物的反应的进展通过与 5,5'-二硫代双 (2-硝基苯甲酸) 的反应进行监测并且使其进行直到实现期望水平的巯基/mAb。然后将还原的抗体冷却至 0°C 并且每抗体巯基用 1.5 当量的马来酰亚胺药物-接头进行烷基化。1 小时后,通过添加 5 当量 N-乙酰半胱氨酸将反应淬灭。通过在 PD-10 柱上进行凝胶过滤来移除淬灭的药物-接头。然后通过 0.22 $\mu$ m 注射过滤器将 ADC 无菌过滤。可分别在 280nm 和 329nm 处进行光谱分析来确定蛋白质浓度,其中针对在 280nm 处的药物吸光度的贡献进行校正。可使用尺寸排阻层析确定抗体聚集的程度,并且可使用 RP-HPLC 确定剩余的 NAC 淬灭的药物-接头的水平。

[1821] 另外优选项

[1822] 以下优选项可应用于如上所述的本发明的所有方面,或者可以涉及单个方面。优选项可以任何组合被组合在一起。

[1823] 在一些实施方案中, $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^9$  和  $Y'$  分别选自与  $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^9$  和  $Y$  相同的基团。在这些实施方案的一些中, $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^9$  和  $Y'$  分别与  $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^9$  和  $Y$  相同。

[1824] N10' -C11'

[1825] 在一些实施方案中, $R^{20}$  是 H, 并且  $R^{21}$  是 OH、OR<sup>A</sup>, 其中 R<sup>A</sup> 是 C<sub>1-4</sub> 烷基。在这些实施方案的一些中, $R^{21}$  是 OH。在其他这些实施方案中, $R^{21}$  是 OR<sup>A</sup>, 其中 R<sup>A</sup> 是 C<sub>1-4</sub> 烷基。在这些实施方案的一些中,R<sup>A</sup> 是甲基。

[1826] 在一些实施方案中, $R^{20}$  和  $R^{21}$  在它们所结合的氮原子与碳原子之间形成氮-碳双键。

[1827] 在一些实施方案中, $R^{20}$  为 H 并且  $R^{21}$  为 SO<sub>z</sub>M, 其中 z 为 2 或 3 并且 M 为一价的药学上可接受的阳离子。在这些实施方案的一些中, M 为一价的药学上可接受的阳离子, 并且可以是 Na<sup>+</sup>。此外, 在一些实施方案中, z 是 3。

[1828] 在一些实施方案中, $R^{20}$  是 H 并且  $R^{21}$  是 H。

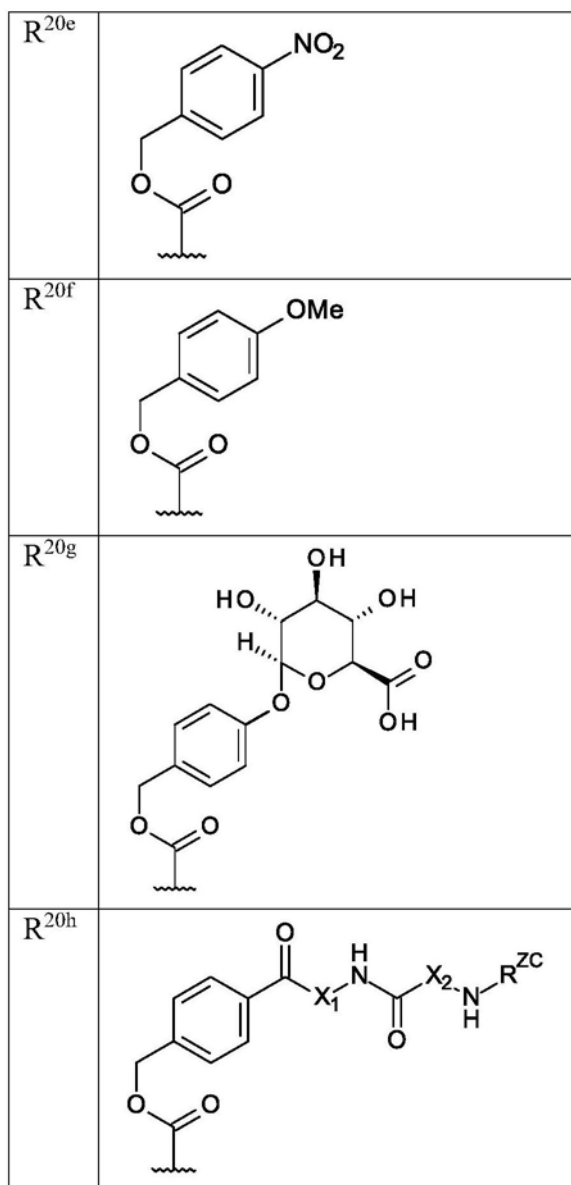
[1829] 在  $R^{20}$  是 (d-iii) 的一些实施方案中, 在苯环上可存在另外的硝基, 所述硝基例如正交于  $R^Z$ 。

[1830] 一些实施方案中, $R^{21}$  是 OH 或 OR<sup>A</sup>, 其中 R<sup>A</sup> 是 C<sub>1-4</sub> 烷基并且  $R^{20}$  选自:

[1831]

R <sup>20a</sup>	
R <sup>20b</sup>	
R <sup>20c</sup>	
R <sup>20d</sup>	

[1832]



[1833]  $-C(=O)-X_1-NHC(=O)X_2-NH-$ 代表二肽。二肽中的氨基酸可以是天然氨基酸的任何组合。二肽可以是组织蛋白酶介导的切割的作用位点。

[1834] 在一个实施方案中,二肽 $-C(=O)-X_1-NHC(=O)X_2-NH-$ 选自:

[1835]  $-Phe-Lys-$ 、

[1836]  $-Val-Ala-$ 、

[1837]  $-Val-Lys-$ 、

[1838]  $-Ala-Lys-$ 、

[1839]  $-Val-Cit-$ 、

[1840]  $-Phe-Cit-$ 、

[1841]  $-Leu-Cit-$ 、

[1842]  $-Ile-Cit-$ 、

[1843]  $-Phe-Arg-$ 、

[1844]  $-Trp-Cit-$

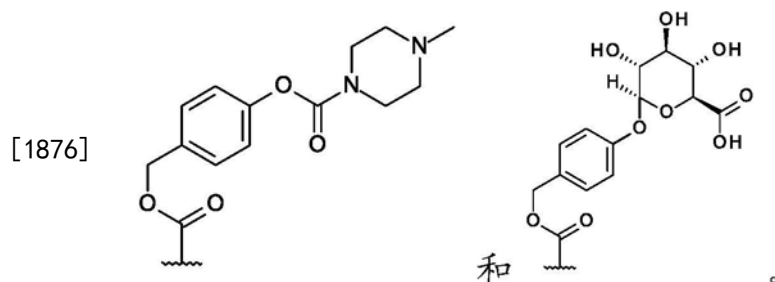
[1845] 其中Cit是瓜氨酸。



- [1846] 优选地,二肽-C(=O)-X<sub>1</sub>-NHC(=O)X<sub>2</sub>-NH-选自:
- [1847] -Phe-Lys-、
- [1848] -Val-Ala-、
- [1849] -Val-Lys-、
- [1850] -Ala-Lys-、
- [1851] -Val-Cit-。
- [1852] 更优选地,二肽-C(=O)-X<sub>1</sub>-NHC(=O)X<sub>2</sub>-NH-是-Phe-Lys-或-Val-Ala-。
- [1853] 可使用其他二肽组合,包括Dubowchik等,Bioconjugate Chemistry,2002,13,855-869(其通过引用并入本文)所述的那些。
- [1854] 在一个实施方案中,在适当时,氨基酸侧链被衍生化。例如,氨基酸侧链的氨基或羧基可被衍生化。
- [1855] 在一个实施方案中,侧链氨基酸如赖氨酸的氨基NH<sub>2</sub>是选自由NHR和NRR'组成的组的衍生化形式。
- [1856] 在一个实施方案中,侧链氨基酸如天冬氨酸的羧基COOH是选自由COOR、CONH<sub>2</sub>、CONHR和CONRR'组成的组的衍生化形式。
- [1857] 在一个实施方案中,在适当时,氨基酸侧链被化学保护。侧链保护基可以是以上论述的基团。本发明人已确立的是,受保护的氨基酸序列可被酶切割。例如,已确立的是包含Boc侧链保护的Lys残基的二肽序列可被组织蛋白酶切割。
- [1858] 氨基酸侧链的保护基是本领域熟知的并且描述于Novabiochem目录中。另外的保护基策略在Protective Groups in Organic Synthesis, Greene and Wuts中陈述。
- [1859] 用于具有反应性侧链官能团的那些氨基酸的可能侧链保护基如下示出:
- [1860] Arg:Z、Mtr、Tos;
- [1861] Asn:Trt、Xan;
- [1862] Asp:Bzl、t-Bu;
- [1863] Cys:Acm、Bzl、Bzl-OMe、Bzl-Me、Trt;
- [1864] Glu:Bzl、t-Bu;
- [1865] Gln:Trt、Xan;
- [1866] His:Boc、Dnp、Tos、Trt;
- [1867] Lys:Boc、Z-Cl、Fmoc、Z、Alloc;
- [1868] Ser:Bzl、TBDMS、TBDPS;
- [1869] Thr:Bz;
- [1870] Trp:Boc;
- [1871] Tyr:Bzl、Z、Z-Br。
- [1872] 在一个实施方案中,侧链保护被选择成正交于作为封端基团(在存在的情况下)或作为封端基团的一部分提供的基团。因此,侧链保护基的移除并不移除封端基团或为封端基团的一部分的任何保护基官能团。
- [1873] 在本发明的其他实施方案中,选择的氨基酸是不具有反应性侧链官能团的那些。例如,氨基酸可选自:Ala、Gly、Ile、Leu、Met、Phe、Pro和Val。
- [1874] 在本发明中尤其优选的是,如果L<sup>1</sup>包括二肽,那么-C(=O)-X<sub>1</sub>-NHC(=O)X<sub>2</sub>-NH-是

相同二肽。

[1875] 其他优选的 $R^{20}$ 基团包括：

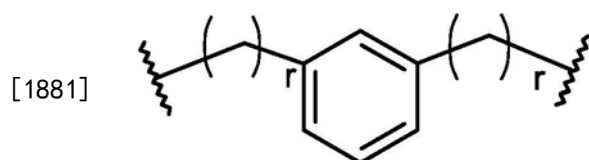


[1877] 二聚体连接

[1878] 在一些实施方案中, Y和Y' 均为O。

[1879] 在一些实施方案中,  $R''$  是不具有取代基的 $C_{3-7}$ 亚烷基。在这些实施方案的一些中,  $R''$  是 $C_3$ 、 $C_5$ 或 $C_7$ 亚烷基。具体地讲,  $R''$  可以是 $C_3$ 或 $C_5$ 亚烷基。

[1880] 在其他实施方案中,  $R''$  是下式的基团：



[1882] 其中r为1或2。

[1883] 亚苯基可被亚吡啶基替代。

[1884]  $R^6$ 至 $R^9$

[1885] 在一些实施方案中,  $R^9$ 是H。

[1886] 在一些实施方案中,  $R^6$ 选自H、OH、OR、SH、 $NH_2$ 、硝基和卤素, 并且可选自H或卤素。在这些实施方案的一些中,  $R^6$ 是H。

[1887] 在一些实施方案中,  $R^7$ 选自H、OH、OR、SH、SR、 $NH_2$ 、NHR、NRR' 以及卤素。在这些实施方案的一些中,  $R^7$ 选自H、OH和OR, 其中R选自任选取代的 $C_{1-7}$ 烷基、 $C_{3-10}$ 杂环基以及 $C_{5-10}$ 芳基。R可更优选地为 $C_{1-4}$ 烷基, 它可以是或可以不是被取代的。感兴趣的取代基为 $C_{5-6}$ 芳基(例如苯基)。7位特别优选的取代基为OMe和 $OCH_2Ph$ 。其他特别感兴趣的取代基为二甲氨基(即-NMe<sub>2</sub>) ;  $-(OC_2H_4)_qOMe$ , 其中q为0至2; 含氮 $C_6$ 杂环基, 包括吗啉代、哌啶基和N-甲基-哌啶基。

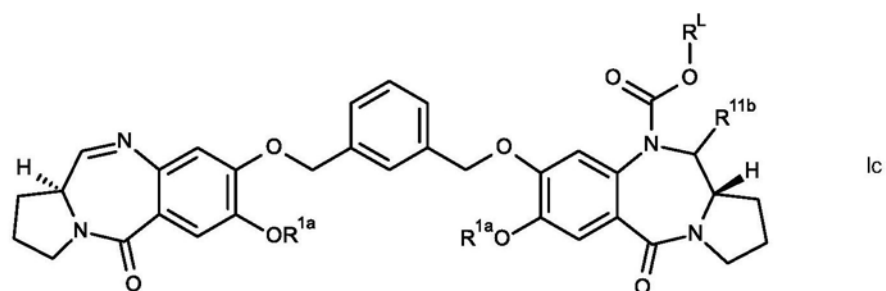
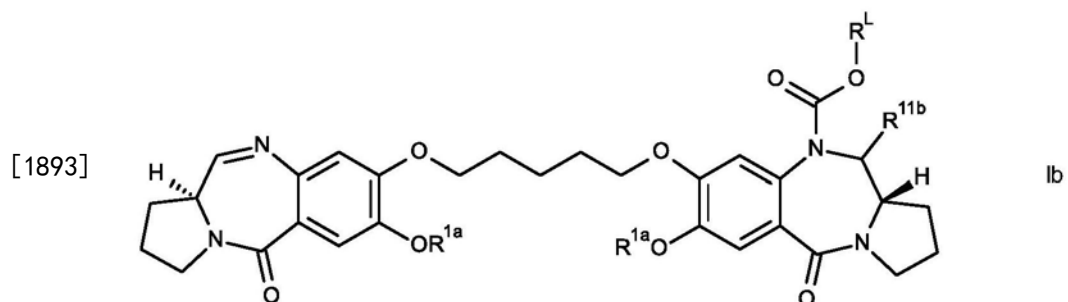
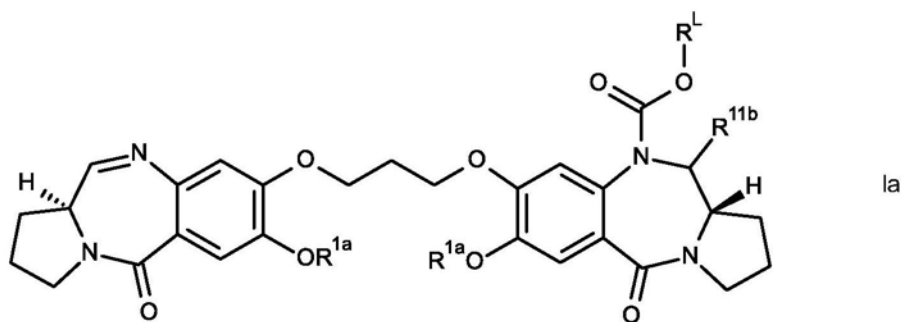
[1888] 这些实施方案和优选项分别适用于 $R^9$ 、 $R^6$ 和 $R^7$ 。

[1889]  $R^{11b}$

[1890] 在一些实施方案中,  $R^{11b}$ 是OH。

[1891] 在一些实施方案中,  $R^{11b}$ 是 $OR^A$ , 其中 $R^A$ 是 $C_{1-4}$ 烷基。在这些实施方案的一些中,  $R^A$ 是甲基。

[1892] 在本发明的第一方面的一些实施方案中, 具有式Ia、Ib或Ic：



[1894] 其中R<sup>1a</sup>选自甲基和苄基；

[1895] R<sup>L</sup>和R<sup>11b</sup>如上文所定义。

[1896] 这些实施方案和优选项也适用于本发明的第二方面。

[1897] 接头 (R<sup>L</sup>)

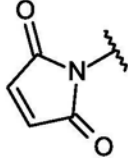
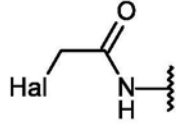
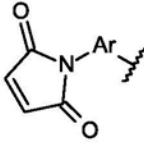
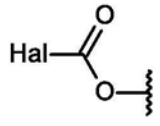
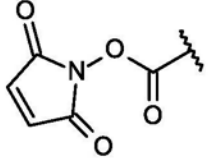
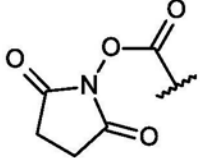
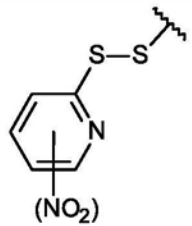
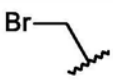
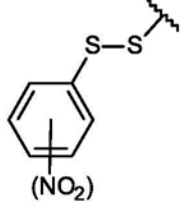

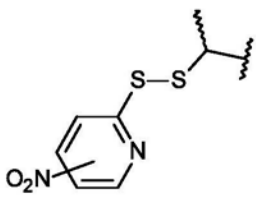

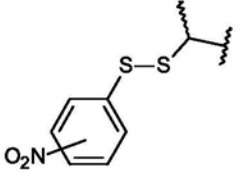
[1898] 在一些实施方案中, R<sup>L</sup>具有式IIIa。

[1899] 在一些实施方案中, R<sup>LL</sup>具有式IIIa'。

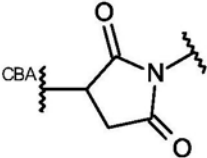
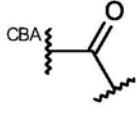
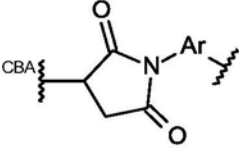

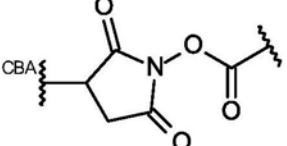
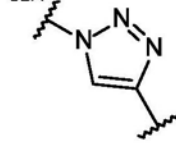
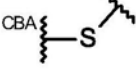
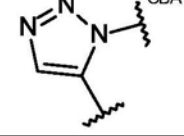
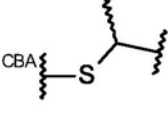
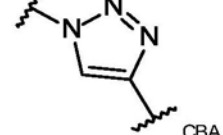
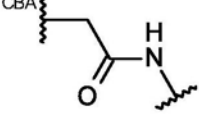
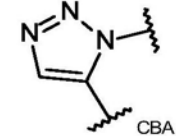
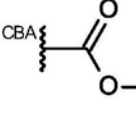
[1900] G<sup>L</sup>

[1901] G<sup>L</sup>可选自

[1902]

(G <sup>L1-1</sup> )		(G <sup>L4</sup> )	 其中 Hal = I、Br、Cl
(G <sup>L1-2</sup> )		(G <sup>L5</sup> )	
(G <sup>L2</sup> )		(G <sup>L6</sup> )	
(G <sup>L3-1</sup> )	 其中 NO <sub>2</sub> 基团是任选的	(G <sup>L7</sup> )	
(G <sup>L3-2</sup> )	 其中 NO <sub>2</sub> 基团是任选的	(G <sup>L8</sup> )	
(G <sup>L3-3</sup> )	 其中 NO <sub>2</sub> 基团是任选的	(G <sup>L9</sup> )	
(G <sup>L3-4</sup> )	 其中 NO <sub>2</sub> 基团是任选的		

[1903] 其中Ar代表C<sub>5-6</sub>亚芳基,例如亚苯基。[1904] 在一些实施方案中,G<sup>L</sup>选自G<sup>L1-1</sup>和G<sup>L1-2</sup>。在这些实施方案的一些中,G<sup>L</sup>是G<sup>L1-1</sup>。[1905] G<sup>LL</sup>[1906] G<sup>LL</sup>可选自:

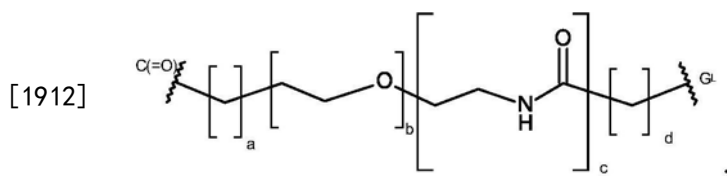
(G <sup>LL1-1</sup> )		(G <sup>LL6</sup> )	
(G <sup>LL1-2</sup> )		(G <sup>LL7</sup> )	
(G <sup>LL2</sup> )		(G <sup>LL8-1</sup> )	
[1907] (G <sup>LL3-1</sup> )		(G <sup>LL8-2</sup> )	
(G <sup>LL3-2</sup> )		(G <sup>LL9-1</sup> )	
(G <sup>LL4</sup> )		(G <sup>LL9-2</sup> )	
(G <sup>LL5</sup> )			

[1908] 其中Ar代表C<sub>5-6</sub>亚芳基,例如亚苯基。

[1909] 在一些实施方案中,G<sup>LL</sup>选自G<sup>LL1-1</sup>和G<sup>LL1-2</sup>。在这些实施方案的一些中,G<sup>LL</sup>是G<sup>LL1-1</sup>。

[1910] X

[1911] X是:



[1913] 其中a=0至5,b=0至16,c=0或1,d=0至5。

[1914] a可以是0、1、2、3、4或5。在一些实施方案中,a是0至3。在这些实施方案的一些中,a是0或1。在另外的实施方案中,a是0。

[1915] b可以是0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。在一些实施方案中,b是0至12。在这些实施方案的一些中,b是0至8,并且可以是0、2、4或8。

[1916] c可以是0或1。

[1917] d可以是0、1、2、3、4或5。在一些实施方案中,d是0至3。在这些实施方案的一些中,d是1或2。在另外的实施方案中,d是2。

[1918] 在X的一些实施方案中,a是0,c是1且d是2,并且b可以是0至8。在这些实施方案的一些中,b是0、4或8。

[1919] Q

[1920] 在一个实施方案中,Q是氨基酸残基。氨基酸可以是天然氨基酸或非天然氨基酸。

[1921] 在一个实施方案中,Q选自:Phe、Lys、Val、Ala、Cit、Leu、Ile、Arg和Trp,其中Cit是瓜氨酸。

[1922] 在一个实施方案中,Q包括二肽残基。二肽中的氨基酸可以是天然氨基酸和非天然氨基酸的任何组合。在一些实施方案中,二肽包含天然氨基酸。在接头是组织蛋白酶不稳定接头的情况下,二肽是组织蛋白酶介导的切割的作用位点。则二肽是组织蛋白酶的识别位点。

[1923] 在一个实施方案中,Q选自:

[1924]  $\text{CO-Phe-Lys-NH}$ 、

[1925]  $\text{CO-Val-Ala-NH}$ 、

[1926]  $\text{CO-Val-Lys-NH}$ 、

[1927]  $\text{CO-Ala-Lys-NH}$ 、

[1928]  $\text{CO-Val-Cit-NH}$ 、

[1929]  $\text{CO-Phe-Cit-NH}$ 、

[1930]  $\text{CO-Leu-Cit-NH}$ 、

[1931]  $\text{CO-Ile-Cit-NH}$ 、

[1932]  $\text{CO-Phe-Arg-NH}$ ,以及

[1933]  $\text{CO-Trp-Cit-NH}$ ;

[1934] 其中Cit是瓜氨酸。

[1935] 优选地,Q选自:

[1936]  $\text{CO-Phe-Lys-NH}$ 、

[1937]  $\text{CO-Val-Ala-NH}$ 、

[1938]  $\text{CO-Val-Lys-NH}$ 、

[1939]  $\text{CO-Ala-Lys-NH}$ 、

[1940]  $\text{CO-Val-Cit-NH}$ 。

[1941] 最优选地,Q选自 $\text{CO-Phe-Lys-NH}$ 、 $\text{CO-Val-Cit-NH}$ 和 $\text{CO-Val-Ala-NH}$ 。

[1942] 感兴趣的其他二肽组合包括:

[1943]  $\text{CO-Gly-Gly-NH}$ 、

[1944]  $\text{CO-Pro-Pro-NH}$ ,以及

[1945]  $\text{CO-Val-Glu-NH}$ 。

[1946] 可使用其他二肽组合,包括Dubowchik等,Bioconjugate Chemistry,2002,13,855-869(其通过引用并入本文)所述的那些。

[1947] 在一些实施方案中, $\text{Q}^x$ 是三肽残基。三肽中的氨基酸可以是天然氨基酸和非天然氨基酸的任何组合。在一些实施方案中,三肽包含天然氨基酸。当接头是组织蛋白酶不稳定

接头时,三肽是组织蛋白酶介导的切割的作用位点。则三肽是组织蛋白酶的识别位点。

[1948] 在一个实施方案中,在适当时,氨基酸侧链被化学保护。侧链保护基可以是如下文所论述的基团。受保护的氨基酸序列可被酶切割。例如,包含Boc侧链保护的Lys残基的二肽序列可被组织蛋白切割。

[1949] 氨基酸侧链的保护基团是本领域熟知的,并且描述于Novabiochem目录中并且如上所述。

[1950] 在一些实施方案中, $R^L$ 具有式IIIb。

[1951] 在一些实施方案中, $R^{LL}$ 具有式IIIb'。

[1952]  $R^{L1}$ 和 $R^{L2}$ 独立地选自H和甲基,或与它们所结合的碳原子一起形成亚环丙基或亚环丁基。

[1953] 在一些实施方案中, $R^{L1}$ 和 $R^{L2}$ 均为H。

[1954] 在一些实施方案中, $R^{L1}$ 是H并且 $R^{L2}$ 是甲基。

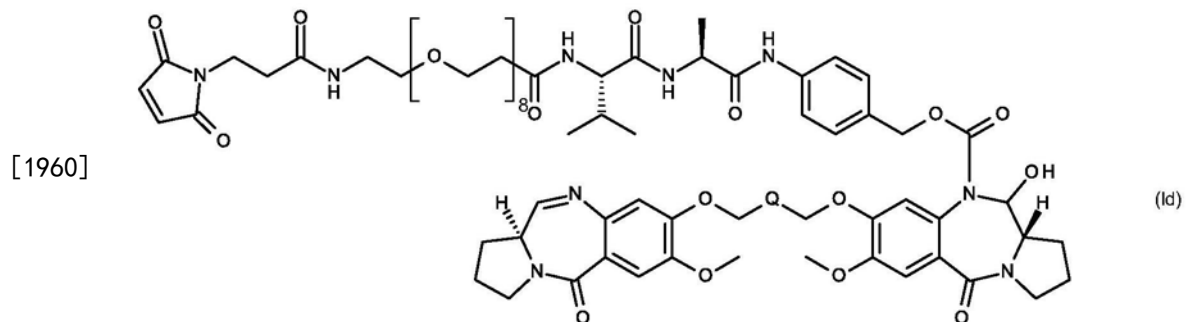
[1955] 在一些实施方案中, $R^{L1}$ 和 $R^{L2}$ 均为甲基。

[1956] 在一些实施方案中, $R^{L1}$ 和 $R^{L2}$ 与它们所结合的碳原子一起形成亚环丙基。

[1957] 在一些实施方案中, $R^{L1}$ 和 $R^{L2}$ 与它们所结合的碳原子一起形成亚环丁基。

[1958] 在基团IIIb中,在一些实施方案中,e是0。在其他实施方案中,e是1且硝基可处于环的任何可用位置。在这些实施方案的一些中,它处于邻位。在这些实施方案的其他者中,它处于对位。

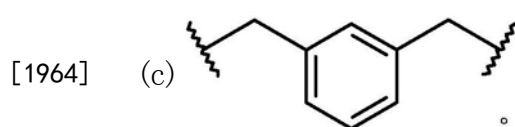
[1959] 在一个特定实施方案中,本发明的第一方面包括式Id的化合物:



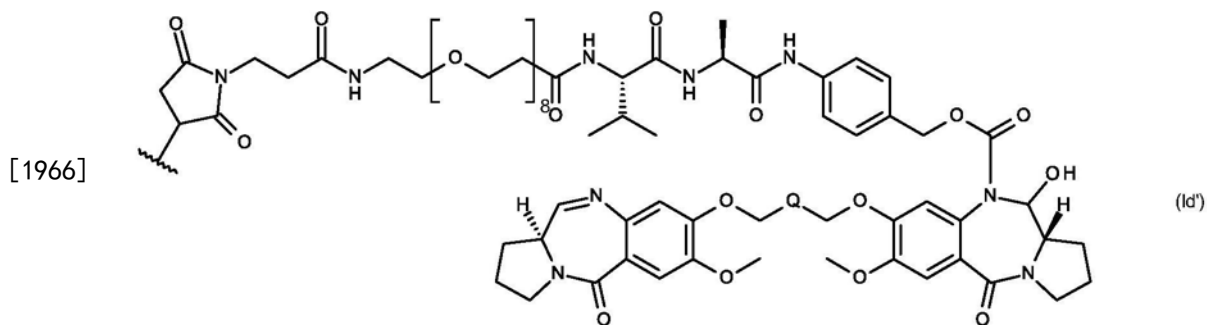
[1961] 其中Q选自:

[1962] (a)  $-\text{CH}_2-$ ;

[1963] (b)  $-\text{C}_3\text{H}_6-$ ;以及



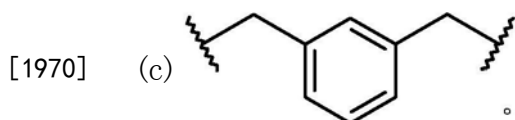
[1965] 在一个特定实施方案中,本发明的第二方面,药物接头( $D^L$ )具有式(Id'):



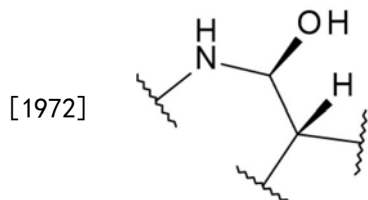
[1967] 其中Q选自:

[1968] (a)  $-\text{CH}_2-$ ;

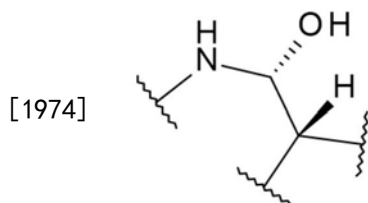
[1969] (b)  $-\text{C}_3\text{H}_6-$ ; 以及



[1971] 在本发明的一些实施方案中, C11取代基可相对于相邻基团处于以下立体化学布置:



[1973] 在其他实施方案中, C11取代基可相对于相邻基团处于以下立体化学布置:



## 实施例

[1975] 一般信息

[1976] 使用Biotage Isolera 1™进行快速层析, 使用从88%己烷/EtOAc或99.9%DCM/MeOH开始的梯度洗脱, 直到从柱上洗脱所有UV活性组分(在214nm和254nm下检测)。每当观察到UV活性材料的大量洗脱时, 手动保持梯度。在铝板上利用荧光指示剂, 使用Merck Kieselgel 60 F254硅胶, 用薄层层析(TLC)检查级分的纯度。除非另有说明, 借助于UV光或碘蒸气来实现TLC的可视化。从VWR U.K.购买萃取和层析溶剂且不经进一步纯化即使用。所有精细化学品购自Sigma-Aldrich或TCI Europe, 除非另行指出。聚乙二醇化试剂通过Stratech UK从Quanta biodesign US获得。

[1977]  $^1\text{H}$ 和 $^{13}\text{C}$  NMR光谱在Bruker Avance® 400光谱仪上获得。耦合常数以赫兹(Hz)给出。化学位移是以从四甲基硅烷往低磁场的每百万分数(ppm)报道。自旋多重态描述为s(单峰)、bs(宽单峰)、d(双重峰)、t(三重峰)和m(多重峰)。



[1978] 分析型LC/MS条件(用于反应监测和纯度确定)如下:使用Shimadzu Nexera<sup>®</sup>/Prominence<sup>®</sup> LCMS-2020进行阳性模式电喷雾质谱。使用的流动相是溶剂A(具有0.1%甲酸的H<sub>2</sub>O)和溶剂B(具有0.1%甲酸的CH<sub>3</sub>CN)。常规3分钟运行的梯度:初始组成5%B保持25秒,然后经1分钟35秒的时段从5%B增加至100%B。组成在100%B处保持50秒,然后在5秒内回到5%B且在此处保持5秒。梯度运行的总持续时间为3.0分钟。15分钟运行的梯度:初始组成5%B保持1分钟,然后经9分钟的时段从5%B增加至100%B。组成在100%B处保持2分钟,然后在10秒内回到5%B且在此处保持2分钟50秒。梯度运行的总持续时间为15.0分钟。流速为0.8毫升/分钟(运行3分钟)和0.6毫升/分钟(运行15分钟)。在254nm下检测。柱:Waters Acquity UPLC<sup>®</sup> BEH Shield RP18 1.7 $\mu$ m 2.1x 50mm,在50 $^{\circ}$ C下,配备有Waters Acquity UPLC<sup>®</sup> BEH Shield RP18 VanGuard前置柱,130A,1.7 $\mu$ m,2.1mm x 5mm(常规3分钟运行);以及ACE Excel 2 C18-AR,2 $\mu$ ,3.0x 100mm,配备有Waters Acquity UPLC<sup>®</sup> BEH Shield RP18 VanGuard前置柱,130A,1.7 $\mu$ m,2.1mm x 5mm(15分钟运行)。

[1979] 制备型HPLC条件如下:反相超快速高效液相层析(UFLC)在Shimadzu Prominence<sup>®</sup>机器上使用Phenomenex<sup>®</sup> Gemini NX 5 $\mu$ C18柱(在50 $^{\circ}$ C下)150x 21.2mm进行。使用的洗脱液是溶剂A(具有0.1%甲酸的H<sub>2</sub>O)和溶剂B(具有0.1%甲酸的CH<sub>3</sub>CN)。所有UFLC实验均使用梯度条件进行:

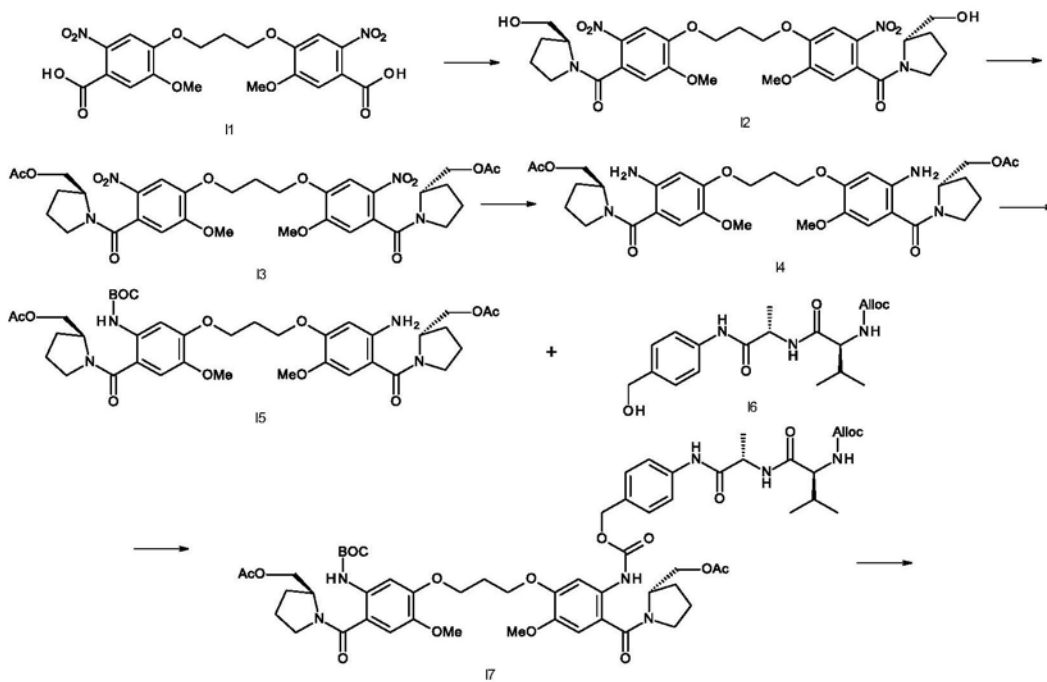
[1980] 方法A:初始组成13%B经15分钟时段增加至60%B,然后经2分钟增加至100%B。组成在100%B处保持1分钟,然后在0.1分钟内回到13%B且在此处保持1.9分钟。梯度运行的总持续时间为20.0分钟。流速为20.0毫升/分钟并且在254nm和280nm下进行检测。

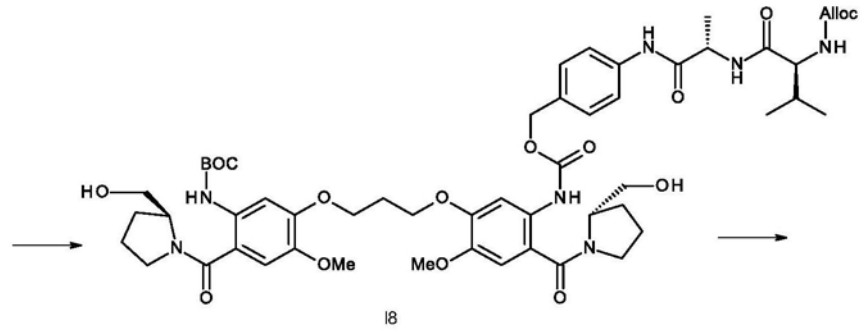
[1981] 方法B:初始组成13%B经17分钟时段增加至70%B并且保持2分钟,然后在0.1分钟内回到13%B并且在此处保持1.9分钟。梯度运行的总持续时间为20.0分钟。流速为20.0毫升/分钟并且在223nm下进行检测。

[1982] 方法C:初始组成13%B经15分钟时段增加至75%B,然后经2分钟增加至100%B。组成在100%B处保持1分钟,然后在0.1分钟内回到13%B且在此处保持1.9分钟。梯度运行的总持续时间为20.0分钟。流速为20.0毫升/分钟并且在254nm和280nm下进行检测。

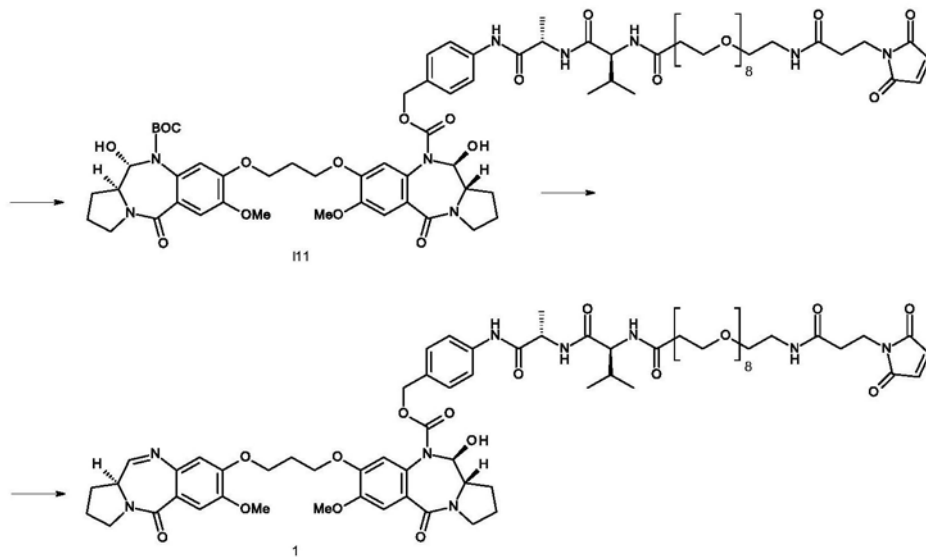
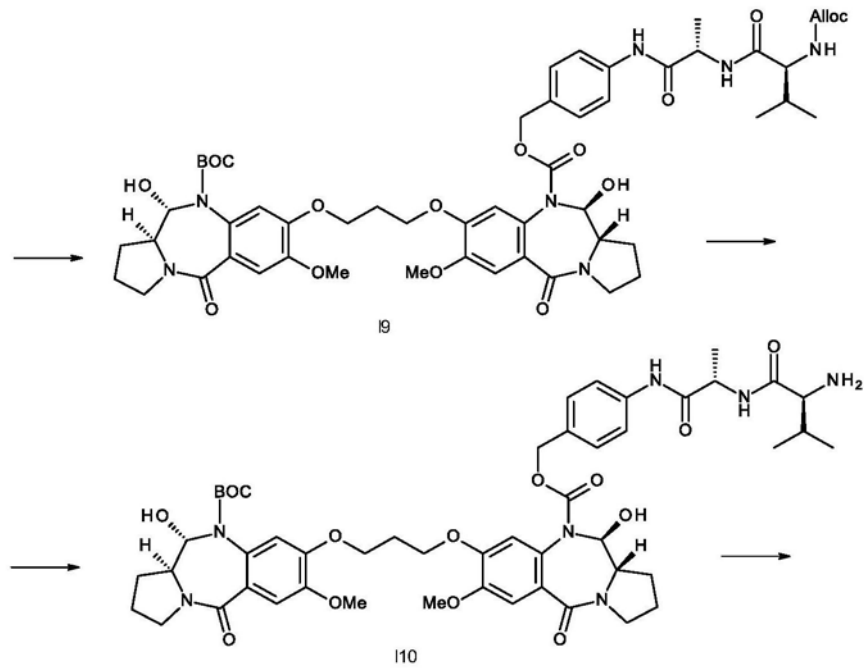
[1983] 实施例1

[1984]





[1985]



[1986] (a) ((丙烷-1,3-二基双(氧基))双(5-甲氧基-2-硝基-4,1-亚苯基))双((S)-2-(羟甲基)吡咯烷-1-基)甲酮 (I2)

[1987] 将DMF (12滴) 添加到双硝基苯甲酸I1 (10g, 21.5mmol) 和草酰氯 (5.6mL, 8.2g, 64.5mmol) 在无水DCM (150mL) 中的经搅拌悬浮液中。在初始冒泡后, 反应悬浮液变成溶液, 并使混合物在室温下搅拌16小时。通过真空蒸发移除大部分溶剂并将所得的浓缩溶液重新溶解于最少量的无水DCM中并用二乙醚研磨。通过真空过滤收集所得的黄色沉淀, 用冷的二乙醚洗涤并在真空烘箱中在40°C下干燥1小时。在-40°C (干冰/CH<sub>3</sub>CN) 下, 将固体酰氯分批添加至(S)-(+)-2-吡咯烷甲醇 (5.0g, 4.9mL, 49.5mmol) 和TEA (15.0mL, 10.9g, 108mmol) 在DCM (100mL) 中的经搅拌悬浮液中。搅拌1小时后, 反应完全, 如通过LC/MS所判断的, 具有在保留时间1.33分钟处的唯一期望产物, ES+m/z 655 [M+Na]<sup>+</sup>, 633 [M+H]<sup>+</sup>。将混合物用DCM (100mL) 稀释并用1N HCl (2x 50mL)、饱和NaHCO<sub>3</sub> (3x 40mL)、盐水 (50mL) 洗涤, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>), 过滤并将溶剂真空蒸发以得到为黄色固体的纯产物I2 (13.6g, 100%收率)。

[1988] (b) ((2S, 2'S)-(4, 4'-(丙烷-1, 3-二基双(氧基))双(5-甲氧基-2-硝基苯甲酰基))双(吡咯烷-1, 2-二基))双(亚甲基)二乙酸酯 (I3)

[1989] 在0°C (冰/丙酮)、氩气气氛下, 将Ac<sub>2</sub>O (4.47mL, 4.83g, 47.3mmol) 在无水DCM (25mL) 中的溶液逐滴添加至双醇I2 (13.6g, 21.5mmol)、DMAP (263mg, 2.15mmol) 和吡啶 (4.17mL, 4.08g, 51.6mmol) 在无水DCM (125mL) 中的经搅拌溶液中。使反应混合物升温并且在室温下1小时后, LC/MS的分析显示反应完全并且完全转化为期望产物, 保留时间1.55分钟, ES+m/z 740 [M+Na]<sup>+</sup>, 717 [M+H]<sup>+</sup>。将混合物用DCM (20mL) 稀释并用1N HCl (2x 100mL)、H<sub>2</sub>O (25mL)、盐水 (50mL) 洗涤, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>), 过滤并将溶剂真空蒸发以得到为黄色固体的粗双乙酸酯I3 (14.4g, 94%收率), 其具有令人满意的纯度, 并且不经进一步纯化即进行下一步骤。

[1990] (c) ((2S, 2'S)-(4, 4'-(丙烷-1, 3-二基双(氧基))双(2-氨基-5-甲氧基苯甲酰基))双(吡咯烷-1, 2-二基))双(亚甲基)二乙酸酯 (I4)

[1991] 将10% Pd-C (132mg) 的样品用EtOAc (10mL) 小心处理, 以得到浆液, 将所述浆液添加到氢化容器中的硝基化合物I3 (1.32g, 1.84mmol) 在EtOAc (20mL) 和EtOH (30mL) 中的溶液中。使用Parr®装置, 将混合物用氢气处理至10psi并且在室温下振荡, 然后真空脱气, 此过程再重复两次。将容器用氢气填充至45psi, 振荡并且在氢气消耗时保持压力。LC/MS的分析显示, 在3小时后反应不完全并且使其在45psi下振荡3天(周末), 在那个时间后实现令人满意的产物转化, 保留时间=1.32分钟, ES+m/z 657 [M+H]<sup>+</sup>。将反应混合物真空脱气并且接着通过硅藻土®垫过滤。将滤液真空蒸发, 将所得残余物重新溶解于DCM (30mL) 中, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>), 过滤并将溶剂真空蒸发以得到为淡黄色泡沫的粗双苯胺I4 (1.1g, 91%收率), 其含有8%杂质, 但是不经进一步纯化即进行下一步骤。

[1992] (d) ((S)-1-(4-(3-(4-((S)-2-(乙酰氧基甲基)吡咯烷-1-羰基)-5-((叔丁氧羰基)氨基)-2-甲氧基苯氧基)丙氧基)-2-氨基-5-甲氧基苯甲酰基)吡咯烷-2-基)甲基乙酸酯 (I5)

[1993] 将Boc<sub>2</sub>O (330mg, 1.51mmol) 添加到双苯胺I4 (1.1g, 1.68mmol) 在无水THF (10mL) 中的经搅拌溶液中。将反应混合物加热并且在75°C下搅拌16小时。LC/MS的分析显示在保留时间1.58分钟处的期望的单Boc产物I5, I%=50, ES+m/z 779 [M+Na]<sup>+</sup>, 757 [M+H]<sup>+</sup>, 以及在保留时间1.32分钟处的未反应的起始材料, I%=30, 以及在保留时间1.81分钟处的双-Boc材料, I%=21, ES+m/z 879 [M+Na]<sup>+</sup>, 857 [M+H]<sup>+</sup>。使反应混合物冷却至室温并且通过真空蒸发

移除THF。通过Isolera™ (DCM/MeOH, SNAP Ultra 50g, 每分钟100mL) 进行的纯化提供了为橙色泡沫的单Boc产物I5 (519mg, 46%收率, 基于Boc<sub>2</sub>O, 在97%DCM/MeOH下洗脱)、未反应的双苯胺I4 (285mg, 在95%DCM/MeOH下洗脱) 以及双-Boc (248mg, 在98%DCM/MeOH下洗脱)。

[1994] (e) ((S)-1-(4-(3-(4-((S)-2-(乙酰氧基甲基)吡咯烷-1-羰基)-5-(((4-((S)-2-((S)-2-((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)氨基)-2-甲氧基苯氧基)丙氧基)-2-((叔丁氧羰基)氨基)-5-甲氧基苯甲酰基)吡咯烷-2-基)甲基乙酸酯 (I7)

[1995] 在室温下将三光气 (380mg, 1.28mmol) 添加到单Boc产物I5 (2.69g, 3.56mmol) 和 TEA (1.09mL, 791mg, 7.83mmol) 在无水DCM (30mL) 中的经搅拌溶液中。在氩气下搅拌10分钟后, LC/MS的分析显示完全转化为异氰酸酯 (在MeOH中取样, 得到氨基甲酸甲酯, 保留时间1.66分钟, ES+m/z 837 [M+Na]<sup>+</sup>, 815 [M+H]<sup>+</sup>)。将混合物用另外的TEA (740μL, 539mg, 5.34mmol) 处理, 然后添加接头I6 (1.34g, 3.56mmol)。在氩气下搅拌2小时后, LC/MS显示出向氨基甲酸酯I7的令人满意的转化 (保留时间1.74分钟, (ES+) m/z 1182 [M+Na]<sup>+</sup>, 1160 [M+H]<sup>+</sup>)。将混合物用DCM (80mL) 稀释并且用饱和NH<sub>4</sub>Cl (2x 30mL)、H<sub>2</sub>O (30mL)、盐水 (50mL) 洗涤, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>), 过滤并且真空蒸发以得到粗产物。通过Isolera™ (己烷/EtOAc, SNAP Ultra100g, 每分钟100mL) 进行的纯化提供为黄色泡沫的纯氨基甲酸酯I7 (在65%己烷/EtOAc下洗脱) (2.95g, 71%收率)。

[1996] (f) (5-(3-(5-(((4-((S)-2-((S)-2-((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)氨基)-4-((S)-2-(羟甲基)吡咯烷-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)丙氧基)-2-((S)-2-(羟甲基)吡咯烷-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酸叔丁基酯 (I8)

[1997] 将固体K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.75g, 12.7mmol) 添加到乙酸酯保护的化合物I7 (2.93g, 2.53mmol) 在MeOH (60mL) 和H<sub>2</sub>O (12mL) 中的经搅拌溶液中。在室温下搅拌1小时后, 认为反应完全, 如通过LC/MS所判断的, 具有在保留时间1.57分钟处的期望产物, ES+m/z 1098 [M+Na]<sup>+</sup>, 1076 [M+H]<sup>+</sup>。通过真空蒸发移除MeOH并且将所得残余物在水 (75mL) 与DCM (75mL) 之间分配。将层分离并且用DCM (3x 25mL) 萃取水相。将合并的有机层用水 (3x 50mL)、盐水 (60mL) 洗涤, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>), 过滤并真空蒸发以提供粗产物。通过Isolera™ (DCM/MeOH, SNAP Ultra 100g, 每分钟100mL) 进行的纯化得到为白色泡沫的双醇I8 (在97%DCM/MeOH下洗脱) (2.44g, 90%收率)。

[1998] (g) (11S, 11aS)-8-(3-(((11S, 11aS)-10-(叔丁氧羰基)-11-羟基-7-甲氧基-5-氧代-2,3,5,10,11,11a-六氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-8-基)氧基)丙氧基)-11-羟基-7-甲氧基-5-氧代-2,3,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-10(5H)-羧酸4-((S)-2-((S)-2-((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基酯 (I9)

[1999] 在-45℃ (干冰/CH<sub>3</sub>CN)、氩气气氛下, 将无水DMSO (710μL, 780mg, 9.99mmol) 在无水DCM (20mL) 中的溶液逐滴添加至草酰氯 (2.72mL的在DCM中的2.0M溶液, 5.44mmol) 在无水DCM (20mL) 中的经搅拌溶液中。在-45℃下搅拌15分钟后, 将反应混合物用双醇I8 (2.44g, 2.27mmol) 在无水DCM (30mL) 中的溶液逐滴处理。在-45℃下再搅拌1小时后, 将反应混合物用TEA (3.16mL, 2.29g, 22.7mmol) 在无水DCM (20mL) 中的溶液逐滴处理。使反应混合物经1.5

小时的时段升温至室温并且用DCM(100mL)稀释,接着用饱和NH<sub>4</sub>Cl(2x 50mL)、饱和NaHCO<sub>3</sub>(50mL)、水(30mL)、盐水(50mL)洗涤,干燥(MgSO<sub>4</sub>),过滤并真空蒸发以得到粗产物。通过Isolera™(DCM/MeOH,SNAP Ultra 100g,每分钟100mL)进行的纯化得到为淡黄色泡沫的环化化合物I9(在95.7%DCM/MeOH下洗脱)(1.61g,66%收率):LC/MS I9,保留时间1.46分钟,ES+m/z 1072[M+H]<sup>+</sup>,1094[M+Na]<sup>+</sup>。

[2000] (h) (11S,11aS)-8-(3-(((11S,11aS)-10-(叔丁氧羰基)-11-羟基-7-甲氧基-5-氧代-2,3,5,10,11,11a-六氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-8-基)氧基)丙氧基)-11-羟基-7-甲氧基-5-氧代-2,3,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-10(5H)-羧酸4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基酯(I10)

[2001] 将Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(6.47mg,5.6μmol)添加到吡咯烷(29μL,25mg,0.35mmol)和Alloc化合物I9(300mg,0.28mmol)在无DCM(10mL)中的经搅拌溶液中。在氩气、室温下搅拌4小时后,LC/MS的分析显示反应完全,具有在保留时间1.10分钟处观察到的期望产物,ES+,m/z 1010[M+Na]<sup>+</sup>,988[M+H]<sup>+</sup>。将反应混合物用DCM(30mL)稀释,接着用饱和NH<sub>4</sub>Cl(2x 20mL)、盐水(30mL)洗涤,干燥(MgSO<sub>4</sub>),过滤并且真空蒸发以得到粗产物。用二乙醚研磨,接着真空蒸发,得到粗胺I10(261mg,95%收率),其不经进一步纯化或分析即进行下一步骤。

[2002] (i) (11S,11aS)-8-(3-(((11S,11aS)-10-(((4-((2S,5S)-37-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-5-异丙基-2-甲基-4,7,35-三氧代-10,13,16,19,22,25,28,31-八氧杂-3,6,34-三氮杂三十七烷酰氨基)苄基)氧基)羰基)-11-羟基-7-甲氧基-5-氧代-2,3,5,10,11,11a-六氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-8-基)氧基)丙氧基)-11-羟基-7-甲氧基-5-氧代-2,3,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-10(5H)-羧酸叔丁基酯(I11)

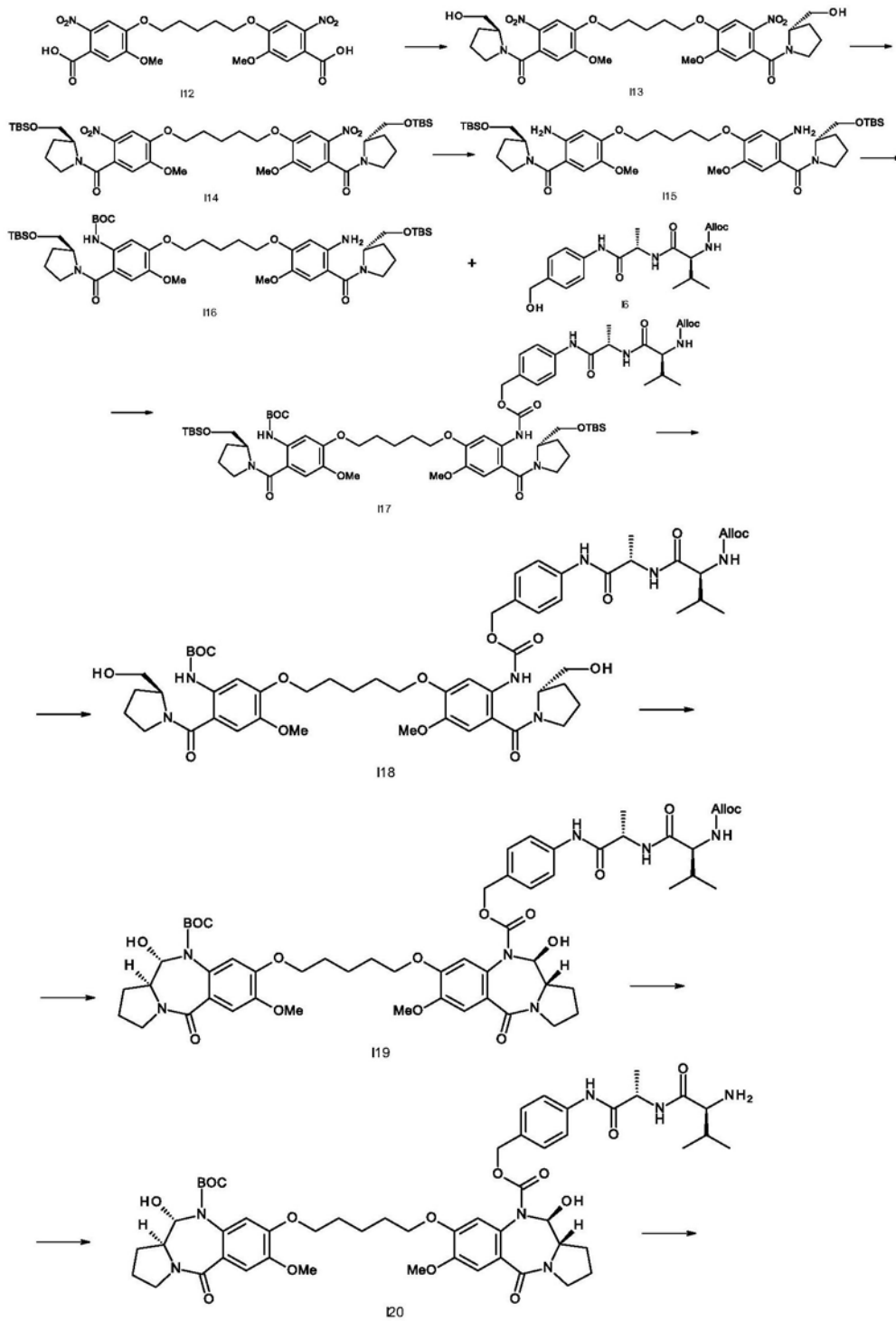
[2003] 在室温下将EDCI(56mg,0.29mmol)添加到MAL-dPEG®<sub>g</sub>-酸(172mg,0.29mmol,Stratech Scientific Limited)和胺I10(261mg,0.26mmol)在无DCM(10mL)中的经搅拌溶液中。将反应混合物在氩气气氛下搅拌2.5小时,此时LC/MS的分析显示完全转化为期望产物,保留时间1.38分钟,ES+m/z 1585[M+Na]<sup>+</sup>,1563[M+H]<sup>+</sup>。将反应混合物用DCM(30mL)稀释并且用H<sub>2</sub>O(20mL)、盐水(2x 20mL)洗涤,干燥(MgSO<sub>4</sub>),过滤并且真空蒸发以提供粗产物。通过Isolera™(DCM/MeOH,SNAP Ultra 25g,每分钟75mL)进行的纯化得到为白色泡沫的酰胺I11(在91%DCM/MeOH下洗脱)(277mg,67%收率)。

[2004] (j) (11S,11aS)-11-羟基-7-甲氧基-8-(3-(((S)-7-甲氧基-5-氧代-2,3,5,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-8-基)氧基)丙氧基)-5-氧代-2,3,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-10(5H)-羧酸4-((2S,5S)-37-(2,5--二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-5-异丙基-2-甲基-4,7,35-三氧代-10,13,16,19,22,25,28,31-八氧杂-3,6,34-三氮杂三十七烷酰氨基)苄基酯(1)

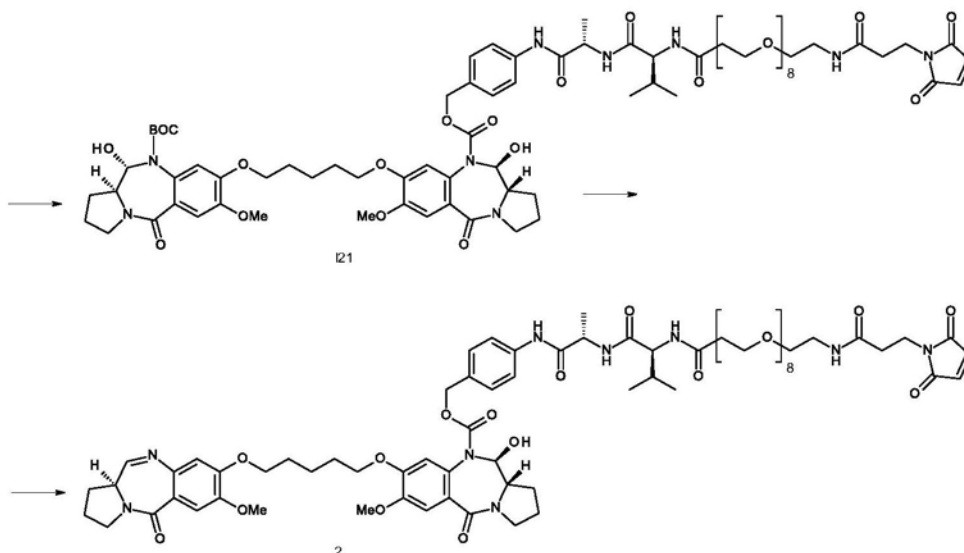
[2005] 在0℃(冰/丙酮)下,将95:5v/v(体积/体积)TFA/H<sub>2</sub>O(2mL)溶液添加到Boc保护的化合物I11(262mg,0.17mmol)的粗样品中。在0℃下搅拌3小时后,认为反应完全,如通过LC/MS所判断的,期望产物在保留时间1.30分钟处出现峰值,ES+m/z 1445[M+H]<sup>+</sup>。使反应混合物保持冰冷并逐滴添加到冷却的饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(100mL)中。用DCM(3x 30mL)萃取混合

物并且将合并的有机层用盐水 (30mL) 洗涤,干燥 (MgSO<sub>4</sub>),过滤并真空蒸发以提供粗产物。通过Isolera™ (CHCl<sub>3</sub>/MeOH,SNAP Ultra 25g,每分钟25mL) 进行的纯化得到为黄色泡沫的1 (在89.6%CHCl<sub>3</sub>/MeOH下洗脱) (170mg,70%收率)。通过制备型HPLC (方法A) 进一步纯化得到为浅黄色泡沫的1 (105mg,43%收率):LC/MS (15分钟运行),保留时间5.25分钟,ES+m/z 1445 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) δ9.92 (s, 1H), 8.16 (d, 1H, J=6.8Hz), 7.99 (t, 1H, J=5.7Hz), 7.86 (d, 1H, J=8.6Hz), 7.80 (d, 1H, J=4.5Hz), 7.64-7.50 (m, 2H), 7.34 (s, 1H), 7.24-7.13 (m, 2H), 7.06 (s, 1H), 7.00 (s, 2H), 6.88 (s, 1H), 6.75 (s, 1H), 6.53-6.41 (m, 1H), 5.52-5.41 (m, 1H), 5.13 (d, 1H, J=12.2Hz), 4.93-4.77 (m, 1H), 4.42-4.34 (m, 1H), 4.30-3.90 (m, 6H), 3.80-3.60 (m, 4H), 3.80 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.60 (t, 4H, J=7.3Hz), 3.53-3.46 (m, 28H), 3.41-3.33 (m, 1H), 3.32-3.29 (m, 2H, 由H<sub>2</sub>O模糊化), 3.19-3.12 (m, 2H), 2.48-1.60, m, 15H), 1.35-1.20 (m, 3H), 0.87 (d, 3H, J=6.6Hz), 0.83 (d, 3H, J=6.8Hz)。

[2006] 实施例2







[2008]

[2009] (a) ((戊烷-1,5-二基双(氧基))双(5-甲氧基-2-硝基-4,1-亚苯基))双((S)-2-(羟甲基)吡咯烷-1-基)甲酮(I13)

[2010] 将DMF(5滴)添加到双硝基苯甲酸I12(4.05g,8.192mmol,1.0当量)和草酰氯(12.3mL的2M溶液,24.57mmol,3.0当量)在无水CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(65mL)中的经搅拌悬浮液中。在初始冒泡后,反应悬浮液变成溶液,并将混合物在室温下搅拌16小时。将反应混合物真空浓缩并且将所得固体用Et<sub>2</sub>O研磨并在真空烘箱中在40℃下干燥3小时。在-40℃(干冰/CH<sub>3</sub>CN)下,将固体酰氯分批添加至(S)-(+)-2-吡咯烷甲醇(1.78mL,18.02mmol,2.2当量)和*i*-Pr<sub>2</sub>NEt(7.13mL,40.96mmol,5.0当量)在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(65mL)中的经搅拌悬浮液中。搅拌1小时后,反应温度达到0℃,并且反应完全,如通过LC/MS所判断的,具有在保留时间1.44分钟处的唯一期望产物,ES+m/z 661[M+H]<sup>+</sup>,683[M+Na]<sup>+</sup>。将混合物用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(100mL)稀释并且连续地用H<sub>2</sub>O、1N NaOH和1M HCl(50mL)洗涤,干燥(MgSO<sub>4</sub>),过滤并将溶剂真空蒸发以得到为黄色泡沫的粗产物I13(4.44g,82%收率),其不经进一步纯化即使用。

[2011] (b) ((戊烷-1,5-二基双(氧基))双(5-甲氧基-2-硝基-4,1-亚苯基))双((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-基)甲酮(I14)

[2012] 在氩气气氛下,将咪唑(2.74g,40.32mmol,6.0当量),接着TBSCl(3.04g,20.16mmol,3.0当量)分批添加至双醇I13(4.44g,6.720mmol,1.0当量)的经搅拌溶液中。90分钟后,将反应混合物过滤并且将滤液用H<sub>2</sub>O洗涤、经MgSO<sub>4</sub>干燥并真空浓缩。快速柱层析(在己烷中的50-80%EtOAc)得到为黄色泡沫的产物I14(4.84g,5.443mmol,81%收率)。LC/MS保留时间=2.18min,ES+m/z 889[M+H]<sup>+</sup>,911[M+Na]<sup>+</sup>。

[2013] (c) ((戊烷-1,5-二基双(氧基))双(2-氨基-5-甲氧基-4,1-亚苯基))双((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-基)甲酮(I15)

[2014] 在0℃下,将Zn粉添加至双硝基化合物I14(1.32g,1.84mmol)在MeOH(40mL)中的搅拌溶液中。在0℃下逐滴添加在MeOH中的5%HCO<sub>2</sub>H并且将混合物搅拌2小时。将反应混合物用EtOAc稀释并且用饱和NaHCO<sub>3</sub>溶液洗涤,将有机相经MgSO<sub>4</sub>干燥并真空浓缩。快速柱层析(在CHCl<sub>3</sub>中的0-2%MeOH)得到为淡黄色泡沫的产物I15(3.098mmol,3.736mmol,69%收率)。LC/MS保留时间=2.09min,ES+m/z 415[M+2H]<sup>2+</sup>,829[M+H]<sup>+</sup>,851[M+Na]<sup>+</sup>。

[2015] (d) (5-((5-(5-氨基-4-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-

1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)戊基)氧基)-2-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酸叔丁基酯 (I16)

[2016] 将Boc<sub>2</sub>O (734mg, 3.362mmol) 添加到双苯胺I15 (3.098g, 3.736mmol) 在无水THF (20mL) 中的经搅拌溶液中。将反应混合物搅拌16小时并真空浓缩。快速柱层析(在己烷中的30-50%EtOAc) 提供为黄色泡沫的单Boc产物I16 (1.474g, 47%收率, 基于Boc<sub>2</sub>O)、未反应的双苯胺I15 (1.043g, 30%收率) 和双-Boc (419mg, 15%收率, LC/MS保留时间=2.37min)。I16的LC/MS保留时间=2.25min, ES<sup>+</sup>m/z 929[M+H]<sup>+</sup>, 951[M+Na]<sup>+</sup>。

[2017] (e) (5-((5-((5-(((4-((S)-2-((S)-2-(((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)氨基)-4-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-羰基)-2-羟基苯氧基)戊基)氧基)-2-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酸叔丁基酯 (I17)

[2018] 在-10℃下将三光气 (169mg, 0.5710mmol, 0.36当量) 添加到单Boc产物I16 (1.474g, 1.586mmol, 1.0当量) 和Et<sub>3</sub>N (486μL, 3.489mmol, 2.2当量) 在无水CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (9mL) 中的经搅拌溶液中。在氩气下搅拌10分钟后, LC/MS的分析显示完全转化为异氰酸酯(在MeOH中取样, 得到氨基甲酸甲酯, 保留时间2.30分钟, ES<sup>+</sup>m/z 1009[M+Na]<sup>+</sup>, 987[M+H]<sup>+</sup>)。添加I6 (898mg, 2.379mmol, 1.5当量) 和Et<sub>3</sub>N (332μL, 2.379mmol, 1.5当量) 在无水CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (14mL) 中的溶液。将反应液逐渐升温至室温并搅拌16h。15分钟的LC/MS分析显示, 起始材料已被消耗。通过SiO<sub>2</sub>垫过滤反应混合物(在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>洗脱液中的5%MeOH) 以移除过量的I6。快速柱层析(在己烷中的20-80%EtOAc) 提供为黄色泡沫的I17 (1.439g, 68%收率)。LC/MS保留时间=2.26min (3分钟运行) 和10.43min (15分钟运行) ES<sup>+</sup>m/z 1355[M+Na]<sup>+</sup>, 1333[M+H]<sup>+</sup>。观察到可忽略的量的脲二聚体 (LC/MS保留时间=12.11min, ES<sup>+</sup>m/z 1906[M+Na]<sup>+</sup>), 其在后续纯化步骤中移除。

[2019] (f) (5-((5-((5-(((4-((S)-2-((S)-2-(((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)氨基)-2-羟基-4-((S)-2-(羟甲基)吡咯烷-1-羰基)苯氧基)戊基)氧基)-2-((S)-2-(羟甲基)吡咯烷-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酸叔丁基酯 (I18)

[2020] 在0℃下将乙酸 (124μL, 2.160mmol, 2.0当量) 添加至TBAF (3.2mL, 3.200mmol, 3.0当量) 的1M溶液中并且随后添加至I17在THF (67mL) 中的搅拌溶液中。使反应混合物升温至室温并且搅拌16小时。LC/MS指示反应不完全。添加TBAF (1.00mL的1M溶液, 1mmol, 1.0当量) 并且将反应混合物再搅拌24小时。将反应混合物真空浓缩并通过Isolera™ (在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中的0-5%MeOH) 纯化, 得到为淡黄色泡沫的产物I18 (916mg, 77%收率)。LC/MS保留时间=1.62min, ES<sup>+</sup>m/z 1126[M+Na]<sup>+</sup>, 1104[M+H]<sup>+</sup>。

[2021] (g) (11S, 11aS)-8-((5-(((11S, 11aS)-10-(叔丁氧羰基)-11-羟基-7-甲氧基-5-氧代-2,3,5,10,11,11a-六氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-8-基)氧基)戊基)氧基)-11-羟基-7-甲氧基-5-氧代-2,3,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-10(5H)-羧酸4-((S)-2-((S)-2-(((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基酯 (I19)

[2022] 将IBX (1.14g, 1.825mmol, 2.2当量) 添加到二醇I18 (916mg, 0.8296mmol, 1.0当量) 在DMSO中的搅拌溶液中。使反应混合物升温至35℃并且搅拌60小时。添加H<sub>2</sub>O并且将水相用

CHCl<sub>3</sub>萃取若干次。将有机提取物合并、用饱和NaHCO<sub>3</sub>洗涤并且经MgSO<sub>4</sub>干燥。通过Isolera™ (在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中的1-8%MeOH) 进行的纯化提供为橙色泡沫的I19 (908mg, 99%收率): LC/MS保留时间=1.50分钟, ES+m/z 1122 [M+Na]<sup>+</sup>, 1100 [M+H]<sup>+</sup>。

[2023] (h) (11S, 11aS)-8-((5-(((11S, 11aS)-10-(叔丁氧羰基)-11-羟基-7-甲氧基-5-氧代-2,3,5,10,11,11a-六氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂<sup>草</sup>-8-基)氧基)戊基)氧基)-11-羟基-7-甲氧基-5-氧代-2,3,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂<sup>草</sup>-10(5H)-羧酸4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基酯(I20)

[2024] 在氩气下将Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (15.8mg, 13.64μmol, 0.050当量) 添加到吡咯烷 (56μL, 0.6818mmol, 2.5当量) 和I19 (300mg, 0.2727mmol) 在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10mL) 中的搅拌溶液中。30分钟后, 添加饱和NH<sub>4</sub>Cl溶液并且将混合物剧烈搅拌并转移至Isolute®相分离器。将收集的有机相真空浓缩, 以得到橙色泡沫I20, 其不经进一步纯化使用。

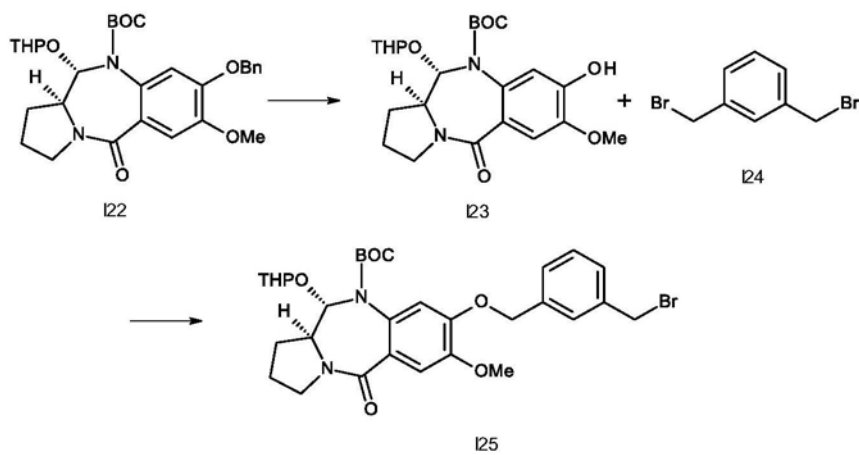
[2025] (i) (11S, 11aS)-8-((5-(((11S, 11aS)-10-((4-((2S, 5S)-37-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-5-异丙基-2-甲基-4,7,35-三氧代-10,13,16,19,22,25,28,31-八氧杂-3,6,34-三氮杂三十七烷酰氨基)苄基)氧基)羰基)-11-羟基-7-甲氧基-5-氧代-2,3,5,10,11,11a-六氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂<sup>草</sup>-8-基)氧基)戊基)氧基)-11-羟基-7-甲氧基-5-氧代-2,3,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂<sup>草</sup>-10(5H)-羧酸叔丁基酯(I21)

[2026] 在室温下将EDCI·HCl (117mg, 0.29mmol) 添加到MAL-dPEG®<sub>8</sub>-酸 (360mg, 0.6079mmol, Stratech Scientific Limited) 和胺I20 (608mg, 0.5526mmol) 在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15mL) 中的经搅拌溶液中。将反应混合物在氩气气氛下搅拌24小时, 此时LC/MS的分析显示I20完全消耗。将反应混合物用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>稀释并且依次使用饱和NH<sub>4</sub>Cl和饱和NaHCO<sub>3</sub>洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥并真空浓缩以提供粗产物。通过Isolera™ (在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中的4-16%MeOH) 进行的纯化得到为白色固体的酰胺I21 (77mg, 79%纯度 (UV积分, 在223nm下) 8.8%粗收率; 107mg, 88%纯度, 12%粗收率; 224mg, 86%纯度, 25%粗收率)。

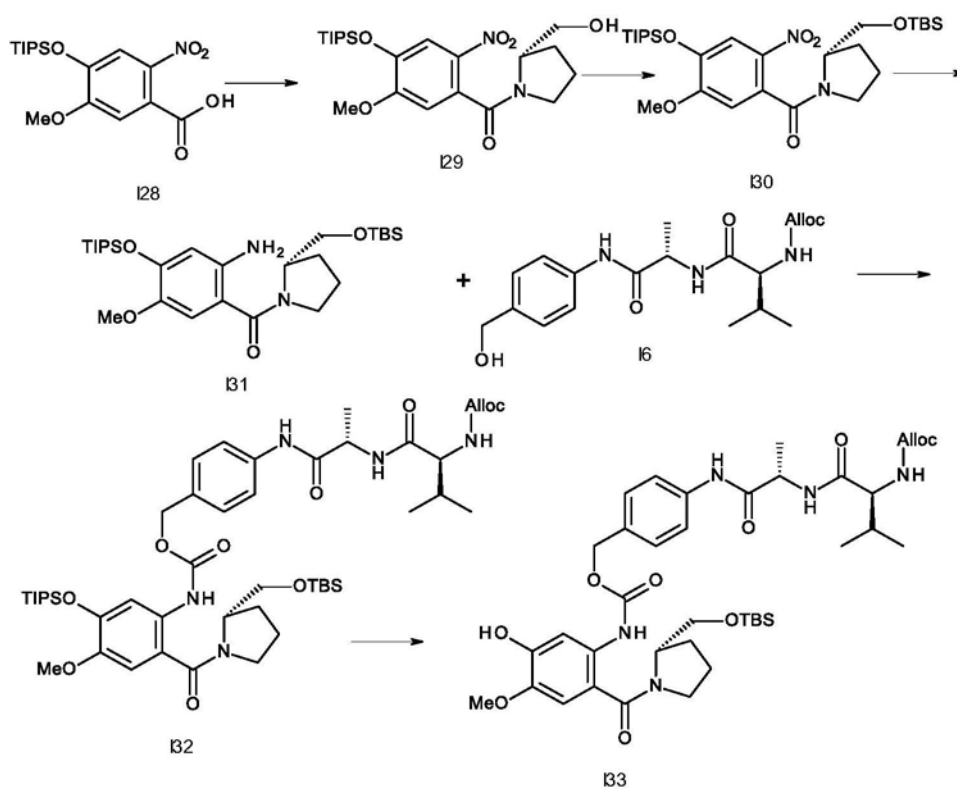
[2027] (j) (11S, 11aS)-11-羟基-7-甲氧基-8-(3-(((S)-7-甲氧基-5-氧代-2,3,5,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂<sup>草</sup>-8-基)氧基)丙氧基)-5-氧代-2,3,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂<sup>草</sup>-10(5H)-羧酸4-((2S, 5S)-37-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-5-异丙基-2-甲基-4,7,35-三氧代-10,13,16,19,22,25,28,31-八氧杂-3,6,34-三氮杂三十七烷酰氨基)苄基酯(2)

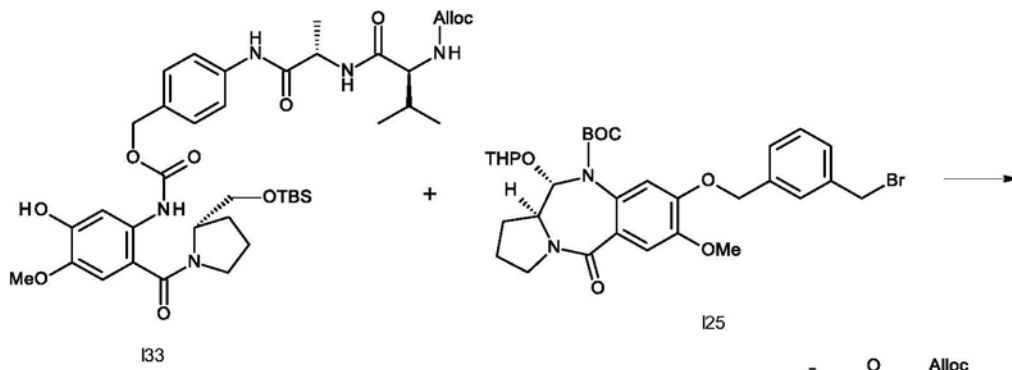
[2028] 在0℃ (冰/盐水) 下, 将95:5v/v TFA/H<sub>2</sub>O (3mL) 的冰冷溶液添加到Boc保护的化合物I21 (107mg, 67.51μmol) 的粗样品中。在0℃下搅拌30min后, 认为反应完全, 如通过LC/MS所判断的, 期望产物在保留时间1.38分钟处出现峰值, ES+m/z 737 [M+2H]<sup>2+</sup>, 748 [M+H+Na]<sup>2+</sup>; 1472 [M+H]<sup>+</sup>。使反应混合物保持冰冷并逐滴添加到冷却的饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液中。将混合物用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>萃取, 接着用在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中的10%MeOH萃取, 合并的有机层经MgSO<sub>4</sub>干燥并真空浓缩以提供粗产物。对于其他批次的I21重复该过程, 将粗产物合并, 并且通过制备型HPLC (方法B) 纯化, 以便在冻干后得到为白色固体的2 (126mg, 33%收率, 96%纯度, 在223nm下通过UV获得): LC/MS (30分钟运行), 保留时间=10.96分钟, ES+m/z 1472 [M+H]<sup>+</sup>。

## [2029] 实施例3

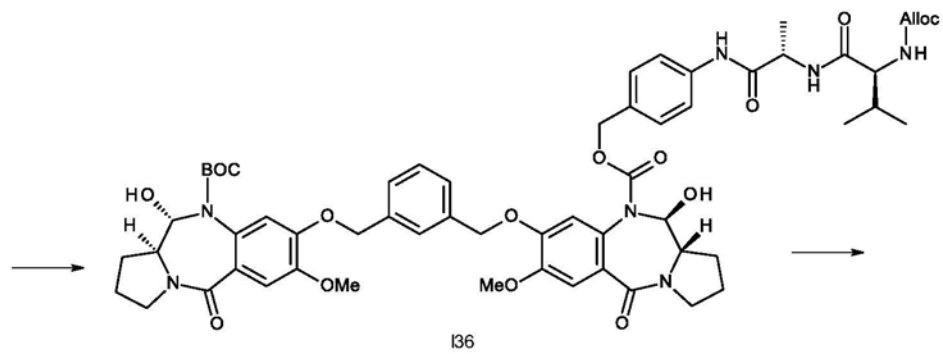
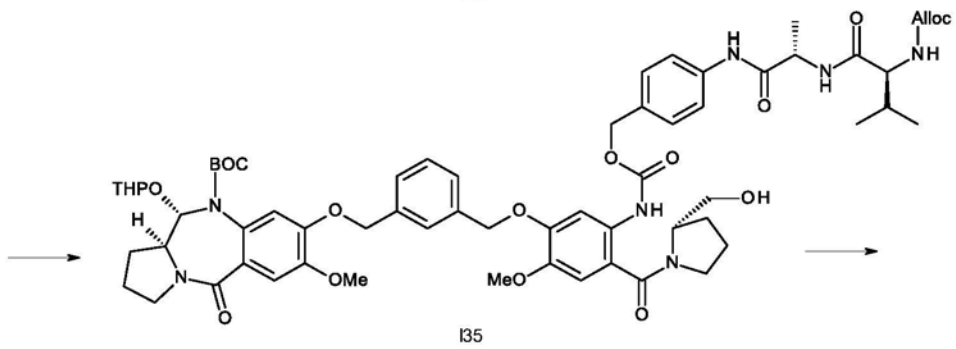
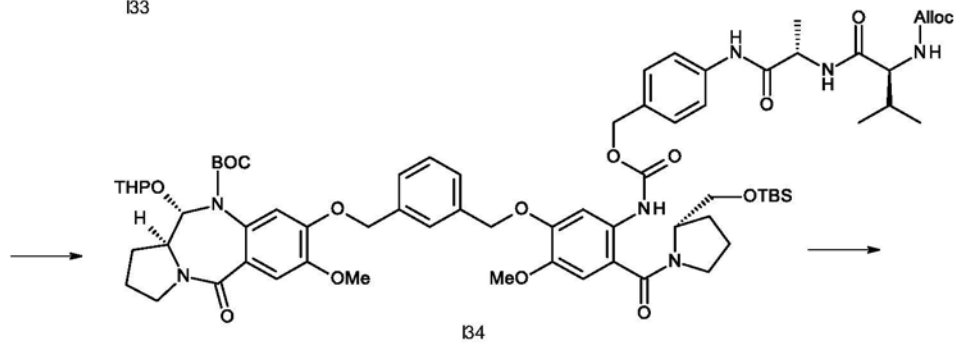


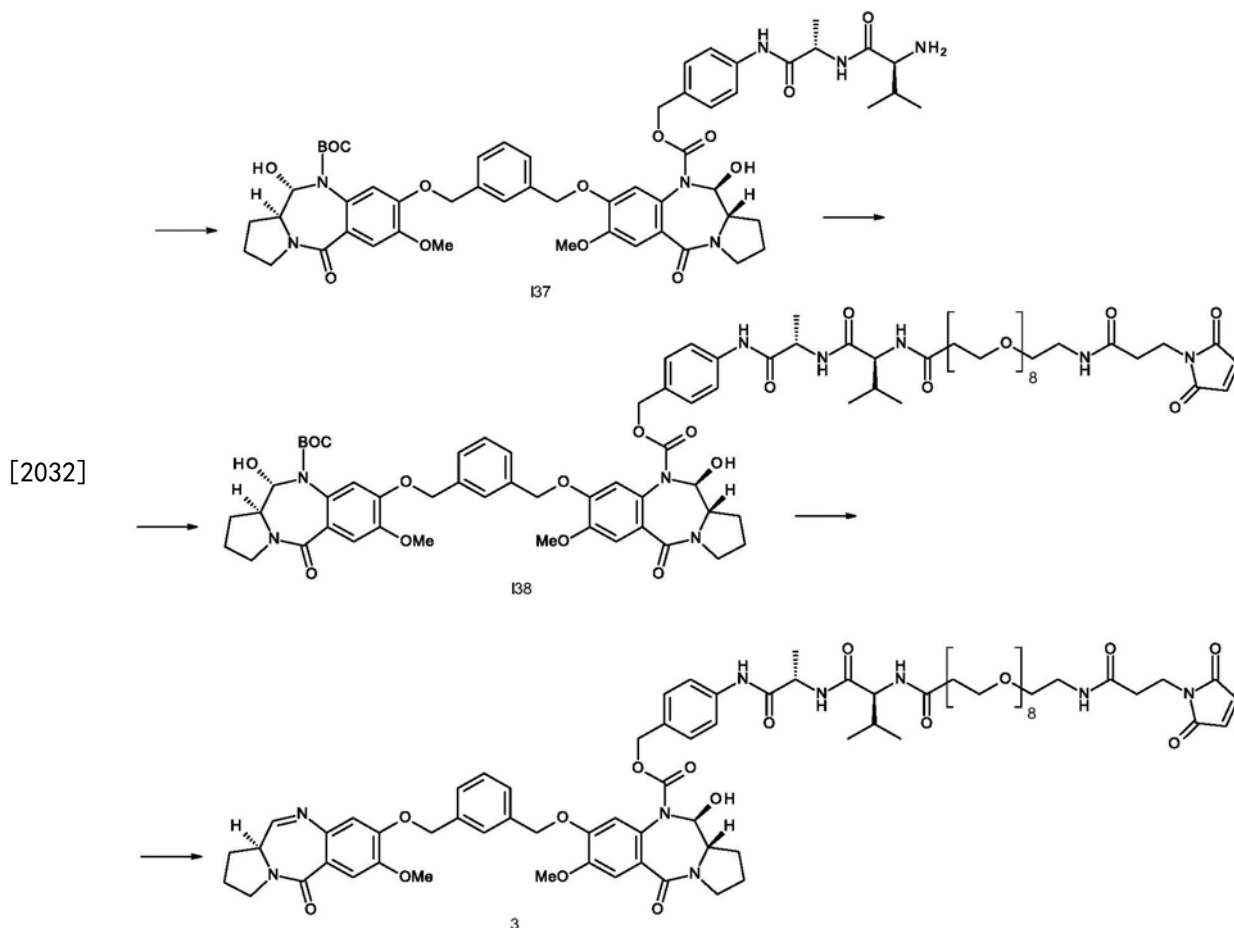
## [2030]





[2031]





[2033] (a) I23

[2034] 该步骤可如文献那样中进行(参见例如W02005085259A2;或Wells等,Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,18(2008)2147-2151)。该方法包括在室温下利用在EtOH中的10%Pd/C进行的Parr氢化。收率是定量的。通过两次蒸发(EtOAc,接着是DCM)移除乙醇。

[2035] (b) (11S,11aS)-8-((3-(溴甲基)苄基)氧基)-7-甲氧基-5-氧代-11-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)-2,3,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-10(5H)-羧酸叔丁基酯(I25)

[2036] 将苯酚I23(4g,8.91mmol,1当量)、1,3-双(溴甲基)苯I24(9.42g,35.7mmol,4当量)、碳酸钾(1.23g,8.91mmol,1当量)和丙酮(40mL)的混合物在60°C下加热5小时。通过LC/MS观察到完全之后,通过过滤移除固体并且将滤液在真空下浓缩至干燥。通过层析(Biotage Isolera,100g Ultra,梯度EtOAc/己烷30/70最高至80/20,在12CV中)纯化残余物。收率4.25g(75%)。LC/MS,3min方法,1.82min(ES+)m/z(相对强度)631.15([M+H]<sup>+</sup>,100),分裂峰:THP非对映异构体。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>)δ7.67-7.27(m,4H),7.20-6.57(m,2H),5.72-5.57(m,1H),5.24-4.84(m,3H),4.72(s,2H),3.91-3.73(m,4H),3.61-3.33(m,4H),2.20-1.75(m,4H),1.74-1.57(m,2H),1.55-1.01(m,13H)。

[2037] I28在文献中是已知的(参见W02013053872A1,化合物2,第60页)

[2038] (c) (S)-(2-(羟甲基)吡咯烷-1-基)(5-甲氧基-2-硝基-4-((三异丙基甲硅烷基)氧基)苯基)甲酮(I29)

[2039] 在0°C下将EDCI(12.4g,65mmol,1.2当量)添加到酸I28(20g,54.1mmol,1当量)和

羟基苯并三唑水合物 (8.05g, 59.5mmol, 1.1当量) 在二氯甲烷 (200mL) 中的溶液中。移除冷浴并且使反应在室温下进行30min, 此时在氩气、-10℃下快速添加(S)-吡咯烷-2-基甲醇 (5.87mL, 59.5mmol, 1.1当量) 和三乙胺 (11.32mL, 81.1mmol, 1.5当量) 在二氯甲烷 (100mL) 中的溶液。将反应混合物在室温下搅拌40min至1h并通过LC/MS和TLC (EtOAc) 进行监测。通过在硅藻土上过滤移除固体并且将有机相用冷的0.1M HCl水溶液洗涤, 直到测得pH为4或5。然后将有机相用水洗涤, 之后用饱和碳酸氢钠水溶液和盐水洗涤。将有机层经硫酸镁干燥、过滤并在减压下通过旋转蒸发移除过量溶剂。使残余物进行柱快速层析 (Isolera Biotage, 340g Ultra; 梯度25/75乙酸乙酯/己烷至100/0乙酸乙酯/己烷, 在6CV中)。在减压下通过旋转蒸发移除过量溶剂, 得到为淡黄色泡沫的纯产物I29 (15.7g, 64%)。LC/MS 1.92min (ES+) m/z (相对强度) 453.15 ( $[M+H]^+$ , 30%; 328.15, 100%);  $^1H$  NMR (400MHz, 氯仿-d)  $\delta$  7.70 (s, 1H), 6.77 (s, 1H), 4.57-4.24 (m, 2H), 4.01-3.69 (m, 5H), 3.25-3.06 (m, 2H), 2.18 (dt, J=7.5, 5.6Hz, 1H), 1.96-1.62 (m, 3H), 1.42-1.18 (m, 3H), 1.10 (d, J=7.4Hz, 18H)。

[2040] (d) (S)-(2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-基)(5-甲氧基-2-硝基-4-((三异丙基甲硅烷基)氧基)苯基)甲酮 (I30)

[2041] 将叔丁基二甲基氯硅烷 (10.39g, 68.9mmol, 2当量) 添加到醇I29 (15.6g, 34.5mmol, 1当量) 和咪唑 (5.87g, 86.2mmol, 2.5当量) 在DCM (100mL) 中的溶液中。将反应混合物在室温下搅拌过夜。将反应混合物依次使用水 (300mL)、0.5M柠檬酸 (200mL)、盐水 (100mL) 洗涤并干燥 (MgSO<sub>4</sub>)。过滤并移除过量溶剂得到粗产物, 对所述粗产物进行快速柱层析 (Biotage Isolera, KP-Sil 340g; 10/90v/v 乙酸乙酯/己烷最高至30/70v/v 乙酸乙酯/己烷) 以分离为稠的黄色油状物的甲硅烷基醚I30。收率: 18.9g, 97%。LC/MS 2.32min (ES+) m/z (相对强度) 567.55 ( $[M+H]^+$ , 100%)

[2042] (e) (S)-(2-氨基-5-甲氧基-4-((三异丙基甲硅烷基)氧基)苯基)(2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-基)甲酮 (I31)

[2043] 将在10% Pd/C (10% w/w (重量/重量), 1.89g) 上的硝基化合物I30 (18.9g, 33.3mmol, 1当量) 在乙酸乙酯 (200mL) 中的溶液在Parr装置上在压力 (45psi) 下氢化6h。通过硅藻土过滤反应混合物以移除Pd/C, 并且用乙酸乙酯冲洗滤垫。在减压下通过旋转蒸发移除过量溶剂, 之后在高真空下干燥以得到为稠的油状物的胺I31。LC/MS, 3min方法, 2.28min (ES+) m/z (相对强度) 537.30 ( $[M+H]^+$ , 100);  $^1H$  NMR (400MHz, 氯仿-d)  $\delta$  6.73 (s, 1H), 6.24 (s, 1H), 4.54-4.13 (m, 3H), 4.07-3.80 (m, 1H), 3.79-3.61 (m, 4H), 3.50 (dd, J=9.2, 4.2Hz, 2H), 2.10-1.97 (m, 2H), 1.92 (dt, J=11.7, 6.2Hz, 1H), 1.80-1.65 (m, 1H), 1.24 (ddt, J=13.7, 9.9, 6.4Hz, 3H), 1.09 (d, J=7.3Hz, 18H), 0.90 (s, 9H), 0.04 (d, J=2.8Hz, 6H)。

[2044] (f) ((S)-1-(((S)-1-((4-(((2-((S)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-羰基)-4-甲氧基-5-((三异丙基甲硅烷基)氧基)苯基)氨基甲酰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代丙烷-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸烯丙基酯 (I32)

[2045] 在5℃ (冰浴) 下, 将三乙胺 (10.1mL, 72.4mmol, 2.2当量) 添加到胺I31 (17.68g, 32.9mmol, 1当量) 和三光气 (3.51g, 11.8mmol, 0.36当量) 在无水四氢呋喃 (180mL) 中的经搅拌溶液中。异氰酸酯反应的进展通过以下方式监测: 从反应混合物中定期地取出等分试样并且用甲醇淬灭并进行LC/MS分析。一旦异氰酸酯形成完全, 就将alloc-Val-Ala-PABOH I6 (18.6g, 49.4mmol, 1.5当量) 和三乙胺 (6.88mL, 49.4mmol, 1.5当量) 在无水四氢呋喃 (70mL)

中的悬浮液快速添加到新鲜制备的异氰酸酯中。使反应混合物在40℃下搅拌4小时。通过过滤移除固体。在减压下通过旋转蒸发移除过量溶剂。将所得残余物干燥加载在硅胶上并进行手动快速柱层析；40/60v/v乙酸乙酯/己烷最高至70/30v/v乙酸乙酯/己烷。收集纯级分并合并，在减压下通过旋转蒸发移除过量的洗脱液以得到产物I32 8.17g (26.4%)。LC/MS, 3min方法, 2.29min (ES+) m/z (相对强度) 962.45 ( $[M+Na]^+$ , 100; 940.40 ( $[M+H]^+$ , 30);  $^1H$  NMR (400MHz, 氯仿-d)  $\delta$ 8.95 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.53 (d, J=8.1Hz, 2H), 7.32 (d, J=8.3Hz, 2H), 6.80 (s, 1H), 6.71 (d, J=7.5Hz, 1H), 5.89 (tt, J=10.8, 5.3Hz, 1H), 5.44-5.15 (m, 3H), 5.10 (s, 2H), 4.66 (p, J=7.2Hz, 1H), 4.62-4.53 (m, 2H), 4.32 (s, 1H), 4.08-3.86 (m, 2H), 3.74 (s, 4H), 3.52 (dd, J=27.4, 7.6Hz, 2H), 2.15 (h, J=6.8Hz, 1H), 2.09-1.85 (m, 3H), 1.71 (s, 1H), 1.46 (d, J=7.0Hz, 3H), 1.29 (dq, J=15.0, 7.4Hz, 3H), 1.11 (d, J=7.4Hz, 18H), 0.95 (dd, J=14.1, 6.8Hz, 6H), 0.89 (s, 9H), 0.02 (d, J=13.1Hz, 6H)。

[2046] (g) ((S)-1-(((S)-1-((4-(((2-((S)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-羰基)-5-羟基-4-甲氧基苯基)氨基甲酰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代丙烷-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸烯丙基酯 (I33)

[2047] 将乙酸锂 (50mg, 0.49mmol) 添加到化合物I32 (7g, 7.44mmol, 1当量) 在潮湿的二甲基甲酰胺 (61.2mL, 50:1DMF/水) 中的溶液中。4小时后, 反应完全。在真空下移除过量DMF并且将残余物用乙酸乙酯 (300mL) 稀释并用0.5M柠檬酸水溶液 (100mL)、水 (300mL) 和盐水 (100mL) 洗涤。将有机层经硫酸镁干燥、过滤并在减压下通过旋转蒸发移除过量的乙酸乙酯。使所得残余物进行柱快速层析 (Biotage Isolera 100g Ultra; 梯度40/60至80/20v/v乙酸乙酯/己烷, 在8CV中)。收集纯级分并合并, 在减压下通过旋转蒸发移除过量的洗脱液以得到产物I33 (5.13g, 88%)。LC/MS, 3min方法, 1.82min (ES+) m/z (相对强度) 784.40 ( $[M+H]^+$ , 100)。 $^1H$  NMR (400MHz, 氯仿-d)  $\delta$ 9.06 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.45 (d, J=8.2Hz, 2H), 7.35-7.18 (m, 2H), 6.92 (d, J=7.5Hz, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.50 (s, 1H), 5.89 (ddd, J=16.2, 10.7, 5.4Hz, 1H), 5.44 (d, J=8.1Hz, 1H), 5.37-5.15 (m, 2H), 5.14-5.01 (m, 2H), 4.67 (p, J=7.1Hz, 1H), 4.63-4.50 (m, 2H), 4.33 (s, 1H), 4.13-3.89 (m, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.74-3.33 (m, 3H), 2.24-1.84 (m, 4H), 1.69 (d, J=21.2Hz, 1H), 1.43 (d, J=7.0Hz, 3H), 1.07-0.71 (m, 15H), 0.23--0.20 (m, 6H)。

[2048] (h) (11S, 11aS)-8-((3-((5-(((4-((S)-2-((S)-2-((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)氨基)-4-((S)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)甲基)苄基)氧基)-7-甲氧基-5-氧代-11-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)-2,3,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-10 (5H)-羧酸叔丁基酯 (I34)

[2049] 将碳酸钾 (582mg, 4.21mmol, 1.1当量) 添加到I25 (2.66g, 4.21mmol, 1.1当量) 和苯酚I33 (3g, 3.82mmol, 1当量) 在丙酮 (18mL) 中的溶液中。将反应液在63℃下搅拌4小时。通过在脱脂棉上过滤移除固体。在减压下通过旋转蒸发移除丙酮。使所得残余物进行快速柱层析 (Biotage isolera, 100g Ultra, 硅胶; 梯度50/50至100/0v/v乙酸乙酯/己烷, 在8CV中, 从83%开始洗脱)。收集纯级分并合并, 在减压下通过旋转蒸发移除过量的洗脱液以得到产物I34 (4.71g, 92%)。LC/MS, 3min方法, 2.08min (ES+) m/z (相对强度) 1335.15 ( $[M+H]^+$ , 50)。 $^1H$  NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ 9.98 (s, 1H), 9.20 (s, 1H), 8.13 (d, J=7.0Hz, 1H), 7.68-7.50 (m,



3H), 7.50-7.37 (m, 3H), 7.32 (d, J=8.2Hz, 2H), 7.28-7.01 (m, 2H), 6.86 (s, 2H), 5.90 (ddd, J=16.0, 10.7, 5.2Hz, 1H), 5.64 (t, J=9.8Hz, 1H), 5.30 (d, J=17.2Hz, 1H), 5.23-4.84 (m, 8H), 4.57-4.36 (m, 3H), 4.11 (s, 1H), 3.95-3.59 (m, 9H), 3.56-3.34 (m, 4H), 1.94 (d, J=34.0Hz, 10H), 1.74-1.06 (m, 21H), 1.01-0.59 (m, 15H), 0.03 (s, 6H)。

[2050] (i) (11S, 11aS)-8-((3-(((5-(((4-((S)-2-((S)-2-((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)氨基)-4-((S)-2-(羟甲基)吡咯烷-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)甲基)苄基)氧基)-7-甲氧基-5-氧代-11-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)-2, 3, 11, 11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-10(5H)-羧酸叔丁基酯(I35)

[2051] 将四正丁基氟化铵(1M, 6.94mL, 6.94mmol, 2当量)添加到I34(4.63g, 3.47mmol, 1当量)在四氢呋喃(28mL)中的溶液中。起始材料在1h后完全消耗。将反应混合物用乙酸乙酯(30mL)稀释并且依次使用水和盐水洗涤。将有机相经硫酸镁干燥、过滤并在减压下通过旋转蒸发移除过量的乙酸乙酯。使所得残余物进行快速柱层析(Biotage isolera, 50g Ultra; 梯度98/2至90/10v/v乙酸乙酯/甲醇, 在4CV中, 从10%甲醇开始洗脱)。收集纯级分并合并, 在减压下通过旋转蒸发移除过量的洗脱液以得到产物I35(4.23g, 定量)。LC/MS, 3min, 1.75min(ES+)m/z(相对强度)1220.30([M+H]<sup>+</sup>, 100)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ9.98 (s, 1H), 9.17 (s, 1H), 8.13 (d, J=7.0Hz, 1H), 7.70-7.49 (m, 3H), 7.51-7.27 (m, 6H), 7.21 (d, J=8.8Hz, 1H), 7.15-6.58 (m, 3H), 5.90 (dt, J=10.9, 5.5Hz, 1H), 5.66 (d, J=9.3Hz, 1H), 5.38-4.82 (m, 9H), 4.73 (t, J=5.8Hz, 1H), 4.59-4.34 (m, 3H), 4.05 (dd, J=15.4, 8.3Hz, 1H), 3.96-3.68 (m, 8H), 3.66-3.32 (m, 6H), 2.16-1.72 (m, 8H), 1.63 (d, J=9.8Hz, 3H), 1.54-1.02 (m, 18H), 0.86 (dd, J=18.2, 6.7Hz, 6H)。

[2052] (j) (11S, 11aS)-8-((3-(((11S, 11aS)-10-(叔丁氧羰基)-7-甲氧基-5-氧代-11-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)-2, 3, 5, 10, 11, 11a-六氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-8-基)氧基)甲基)苄基)氧基)-11-羟基-7-甲氧基-5-氧代-2, 3, 11, 11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-10(5H)-羧酸4-((S)-2-((S)-2-((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基酯(I36)

[2053] 将稳定化的IBX 45%(2.72g, 4.36mmol, 1.2当量)添加到I35(4.44g, 3.64mmol, 1当量)在DMSO(2.6mL)中的溶液中。使反应混合物搅拌过夜。添加另外0.2当量的IBX(450mg, 0.73mmol, 0.2当量)并且将溶液再搅拌18h, 直到通过LC/MS观察到反应完全。使溶液在水(250mL)中沉淀并过滤。将产物溶解于DCM中并通过过滤移除残余的白色固体。将有机相用NaHCO<sub>3</sub>水溶液、水、盐水洗涤并经硫酸镁干燥。在减压下通过旋转蒸发移除二氯甲烷。使所得残余物进行柱快速层析(Biotage Isolera 100g Ultra; 梯度99/1至92/8v/v DCM/甲醇, 在10CV中)。收集纯级分并合并, 在减压下通过旋转蒸发移除过量的洗脱液得到产物I36(3.04g, 69%)。LC/MS, 15min方法Ace Excel 2, 7.89和7.97min(THP非对映异构体)(ES+)m/z(相对强度)1218.30([M]<sup>+</sup>, 100)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ9.93 (s, 1H), 8.11 (d, J=6.9Hz, 1H), 7.68-7.27 (m, 6H), 7.27-7.01 (m, 4H), 7.01-6.32 (m, 3H), 6.02-5.81 (m, 1H), 5.71-5.57 (m, 1H), 5.57-5.40 (m, 1H), 5.29 (d, J=17.2Hz, 1H), 5.21-4.78 (m, 8H), 4.58-4.32 (m, 3H), 3.99-3.68 (m, 8H), 3.58-3.31 (m, 8H), 2.23-1.72 (m, 9H), 1.72-1.04 (m, 18H), 0.85 (dd, J=18.0, 6.7Hz, 6H)。

[2054] (k) (11S,11aS)-8-((3-(((11S,11aS)-10-(叔丁氧羰基)-7-甲氧基-5-氧代-11-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)-2,3,5,10,11,11a-六氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-8-基)氧基)甲基)苄基)氧基)-11-羟基-7-甲氧基-5-氧代-2,3,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-10(5H)-羧酸4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基酯(I37)

[2055] 将Tetrakis(三苯基膦)钯(0)(11mg,0.01mmol,0.02当量)添加到I36(600mg,0.49mmol,1当量)和吡咯烷(51 $\mu$ L,0.62mmol,1.25当量)在无水二氯甲烷(10mL)中的溶液中。用氩气冲洗反应液三次并在室温下搅拌20分钟。接着将反应液用二氯甲烷(50mL)稀释并且依次使用饱和氯化铵水溶液(50mL)和盐水(30mL)洗涤。经硫酸镁干燥有机相、过滤并在减压下通过旋转蒸发来移除过量二氯甲烷。所得残余物I37用于下一反应的粗混合物。LC/MS,3min方法,1.29min(ES+)m/z(相对强度)1134.35([M+H]<sup>+</sup>,80)。

[2056] (l) (11S,11aS)-8-((3-(((11S,11aS)-10-(((4-((2S,5S)-37-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-5-异丙基-2-甲基-4,7,35-三氧代-10,13,16,19,22,25,28,31-八氧杂-3,6,34-三氮杂三十七烷酰氨基)苄基)氧基)羰基)-11-羟基-7-甲氧基-5-氧代-2,3,5,10,11,11a-六氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-8-基)氧基)甲基)苄基)氧基)-7-甲氧基-5-氧代-11-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)-2,3,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-10(5H)-羧酸叔丁基酯(I38)

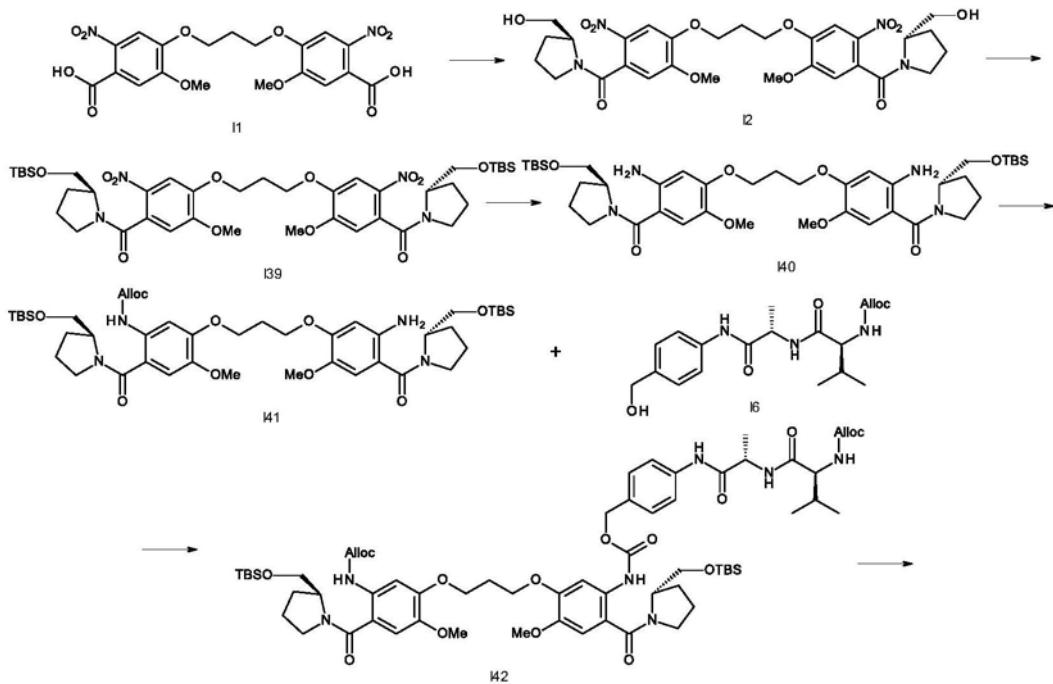
[2057] 将1-乙基-3-(3'-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(94mg,0.79mmol,1当量)添加到粗I37(558mg,0.49mmol,1当量)和Mal-(PEG)<sub>8</sub>-酸(292mg,0.49mmol,1当量)在氯仿(12mL)中的溶液中。用氩气脱气反应液三次并搅拌2小时,并且通过LC/MS不再观察到起始材料的存在。用二氯甲烷稀释反应液并依次用水和盐水洗涤。经硫酸镁干燥有机相、过滤并在减压下通过旋转蒸发来移除过量二氯甲烷。使所得残余物进行快速柱层析(Biotage Isolera 50g Ultra;98/2至90/10v/v DCM/甲醇,在10CV中)。收集纯级分并合并,在减压下通过旋转蒸发移除过量的洗脱液以得到I38(485mg,58%)。LC/MS,3min方法,1.58min(ES+)m/z(相对强度)1709.30([M+H]<sup>+</sup>,100)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 9.88(s,1H),8.13(d,J=7.0Hz,1H),8.06-7.92(m,1H),7.85(d,J=8.6Hz,1H),7.68-7.04(m,9H),6.99(s,2H),6.89(d,J=15.0Hz,2H),6.52(s,1H),5.66(d,J=9.4Hz,1H),5.47(d,J=8.0Hz,1H),5.26-4.75(m,6H),4.49-4.31(m,1H),4.20(t,J=7.6Hz,1H),3.80(d,J=11.9Hz,6H),3.59(t,J=7.2Hz,4H),3.55-3.41(m,32H),3.41-3.30(m,11H),3.21-3.09(m,3H),2.48-2.28(m,4H),2.18-1.08(m,24H),0.84(dd,J=15.0,6.7Hz,5H)。

[2058] (m) (11S,11aS)-11-羟基-7-甲氧基-8-((3-(((S)-7-甲氧基-5-氧代-2,3,5,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-8-基)氧基)甲基)苄基)氧基)-5-氧代-2,3,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-10(5H)-羧酸4-((2S,5S)-37-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-5-异丙基-2-甲基-4,7,35-三氧代-10,13,16,19,22,25,28,31-八氧杂-3,6,34-三氮杂三十七烷酰氨基)苄基酯(3)

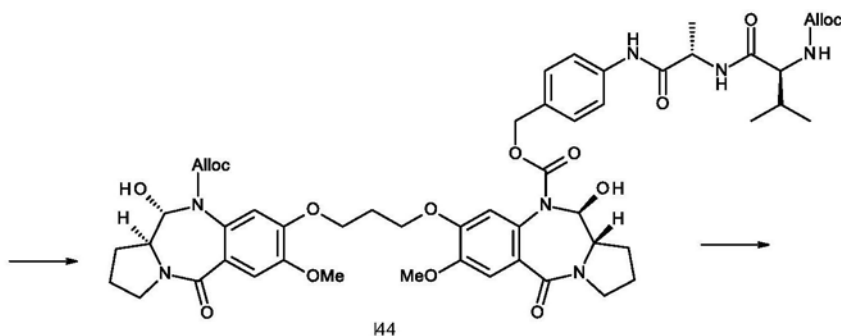
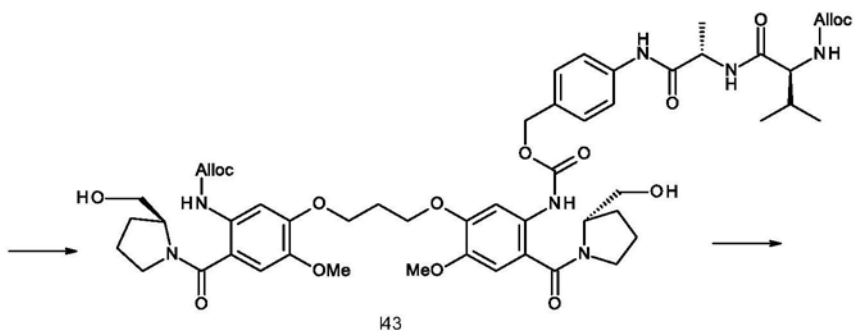
[2059] 将TFA/水(6mL)的冷混合物添加至I38(460mg,0.27mmol,1当量)中并且使所得溶液在0 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将反应液用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(200mL)和二氯甲烷(50mL)中和。依次用水和盐水洗涤DCM层。经硫酸镁干燥有机相、过滤并在减压下通过旋转蒸发来移除过量二

氯甲烷。使所得残余物进行快速柱层析 (Biotage Isolera 50g Ultra; 98/2至88/12v/v DCM/甲醇, 在10CV中)。收集纯级分、合并 (154mg, 38%), 并且通过反相制备型HPLC (方法C) (梯度最高至75/25乙腈/水, 0.02%甲酸) 进一步纯化, 以得到纯的3 (78mg, 19%)。LC/MS, 15min方法, Ace-Excel2, 6.18min (ES+) m/z (相对强度) 1506.70 ( $[M+H]^+$ , 100)。 $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.07-9.79 (m, 1H), 8.14 (d,  $J=7.2$ Hz, 1H), 7.98 (t,  $J=5.6$ Hz, 1H), 7.85 (d,  $J=8.6$ Hz, 1H), 7.78 (d,  $J=4.4$ Hz, 1H), 7.67-7.30 (m, 7H), 7.28-7.05 (m, 3H), 6.99 (s, 2H), 6.98-6.85 (m, 2H), 6.58-6.47 (m, 1H), 5.59-5.34 (m, 1H), 5.32-4.77 (m, 6H), 4.48-4.30 (m, 1H), 4.28-4.08 (m, 1H), 3.88-3.75 (m, 5H), 3.75-3.55 (m, 6H), 3.55-3.42 (m, 28H), 3.42-3.32 (m, 6H), 3.14 (q,  $J=5.8$ Hz, 2H), 2.48-2.16 (m, 6H), 2.08-1.77 (m, 6H), 1.36-1.17 (m, 4H), 0.84 (dd,  $J=15.4, 6.7$ Hz, 6H)。

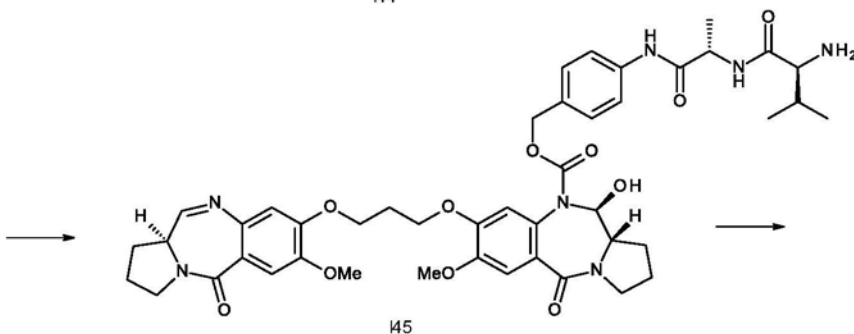
## [2060] 实施例4



## [2061]



[2062]



[2063] (a) ((丙烷-1,3-二基双(氧基))双(5-甲氧基-2-硝基-4,1-亚苯基))双((S)-2-(羟甲基)吡咯烷-1-基)甲酮 (I2)

[2064] 将DMF(12滴)添加到I1(10g,21.5mmol)和草酰氯(5.6mL,8.2g,64.5mmol)在无水DCM(150mL)中的经搅拌悬浮液中。在初始冒泡后,反应悬浮液变成溶液,并将混合物在室温下搅拌16hr。在减压下通过蒸发移除大部分溶剂。将所得的浓缩溶液重新溶解于最少量的无水DCM中并用二乙醚研磨。通过真空过滤收集黄色沉淀,用冷的二乙醚洗涤并在真空烘箱中在40℃下干燥1hr。在-40℃(干冰/CH<sub>3</sub>CN)下,将酰氯分批添加至(S)-(+)-2-吡咯烷甲酮(5.0g,4.9mL,49.5mmol)和TEA(15.0mL,10.9g,108mmol)在无水DCM(100mL)中的经搅拌悬

浮液中。将所得溶液再搅拌60min,用DCM(100mL)稀释并用1N HCl(2x 50mL)、饱和NaHCO<sub>3</sub>(3x 40mL)、盐水(50mL)洗涤,干燥(MgSO<sub>4</sub>),并将溶剂真空蒸发以得到为黄色固体的纯产物I2(13.6g,100%收率)。LC/MS(方法A):保留时间1.33min(ES+)m/z 655[M+Na]<sup>+</sup>,633[M+H]<sup>+</sup>(参见附录)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ1.68-1.80(m,2H),1.80-2.00(m,6H),2.27(d,2H),3.05-3.25(m,4H),3.37-3.48(m,2H),3.56-3.76(m,2H),3.92(s,6H),4.09(dd,2H),4.25-4.31(m,4H),4.82(t,2H),7.08(s,2H),7.73(s,2H)。

[2065] (b) ((丙烷-1,3-二基双(氧基))双(5-甲氧基-2-硝基-4,1-亚苯基))双((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-基)甲酮(I39)

[2066] 在室温、氮气下,将TBS-Cl(8.12g,53.90mmol)添加到I2(15.5g,24.50mmol)和咪唑(4.17g,61.25mmol)在DCM(300mL)中的溶液中。在室温下搅拌所得混合物12hr。添加水(200mL),移除有机层,并且用DCM(2x 300mL)萃取水相。将合并的有机相干燥(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)并真空蒸发以得到黑色残余物,其通过柱层析(0至2%甲醇/DCM)进行纯化。将纯级分真空蒸发以得到为棕色固体的I39(17.0g,81%收率)。LC/MS(方法A):保留时间1.83min(ES+)m/z 861[M+H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ0.09(s,12H),0.91(s,18H),1.70-1.81(m,2H),1.87-1.99(m,6H),2.22-2.30(m,2H),3.10(t,4H),3.40-3.51(m,2H),3.59-3.67(m,2H),3.88-3.95(m,2H),3.91(s,6H),4.28(t,6H),6.96(s,2H),7.72(s,2H)。

[2067] (c) ((丙烷-1,3-二基双(氧基))双(2-氨基-5-甲氧基-4,1-亚苯基))双((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-基)甲酮(I40)

[2068] 在室温下将锌(25.8g,394.8mmol)和饱和NH<sub>4</sub>Cl(150mL)添加到I39(17g,19.74mmol)在EtOH(300mL)中的溶液中。将所得混合物在50℃下搅拌3hr,冷却并通过硅藻土床过滤,然后用EtOAc(300mL)和水(300mL)洗涤所述硅藻土床。移除有机层并且用EtOAc(3x 400mL)萃取水层。将合并的有机相干燥(MgSO<sub>4</sub>)并真空蒸发以得到黄色残余物,其通过柱层析(0至5%甲醇/DCM)进行纯化。将纯级分蒸发至干燥以得到为黄色固体的I40(13.00g,82%收率)。LC/MS(方法A):保留时间2.30min(ES+)m/z 802.2[M+H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ0.06(s,12H),0.85(s,18H),1.52-1.78(m,2H),1.81-2.00(m,6H),2.14-2.22(m,2H),3.41(d,4H),3.61-3.75(m,4H),3.63(s,6H),4.01-4.16(m,6H),4.98-5.22(m,4H),6.40(s,2H),6.66(s,2H)。

[2069] (d) (5-(3-(5-氨基-4-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)丙氧基)-2-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酸烯丙基酯(I41)

[2070] 在0℃下将氯甲酸烯丙酯(784μL,0.9g,7.36mmol)逐滴添加至I40(5.9g,7.36mmol)和吡啶(715μL,0.7g,8.84mmol)在DCM(100mL)中的溶液中。使反应混合物升温至室温并且再搅拌2hr。将反应混合物用0.5M HCl(50mL)、饱和碳酸氢钠(50mL)和盐水(50mL)洗涤。在减压下移除溶剂并且通过柱层析纯化所得的油状物;(用50%乙酸乙酯/庚烷初始洗脱移除双-alloc保护的胺,之后用乙酸乙酯洗脱以移除期望的单-alloc保护的产物(I41)。最后,用5%甲醇/DCM移除任何未反应的起始材料)。将纯级分减压蒸发以得到为黄色固体的I41(3.5g,54%收率)。LC/MS(方法B):保留时间2.41min(ES+)m/z 886.5[M+H]<sup>+</sup>

[2071] (e) (5-(3-(5-(((4-((S)-2-((S)-2-((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)氨基)-4-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)

吡咯烷-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)丙氧基)-2-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酸烯丙基酯(I42)

[2072] 在室温、氩气下将三光气(0.41g, 1.4mmol)添加到I41(3.5g, 3.95mmol)在无水THF(70mL)中的经搅拌溶液中。添加三乙胺(1.2mL, 0.87g, 8.6mmol), 并且将所得混合物搅拌10min。LC/MS的分析显示完全转化为异氰酸酯(在MeOH中取样, 得到氨基甲酸甲酯, 保留时间2.48min, (ES+) m/z 944.4[M+H]<sup>+</sup>)。添加I6(1.64g, 4.35mmol)和三乙胺(0.83mL, 0.6g, 5.9mmol)在无水THF(30mL)中的混合物。在40℃下将反应混合物在氩气下搅拌2hr。真空移除溶剂并且通过柱层析(0.5%至2.5%甲醇/DCM)纯化残余物以得到为白色固体的I42(3.58g, 70%收率)。LC/MS(方法B): 保留时间2.45min, (ES+) m/z 1290.0[M+H]<sup>+</sup>。

[2073] (f) (5-(3-(5-(((4-((S)-2-((S)-2-((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)氨基)-4-((S)-2-(羟甲基)吡咯烷-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)丙氧基)-2-((S)-2-(羟甲基)吡咯烷-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酸烯丙基酯(I43)

[2074] 在室温下将1M四丁基氟化铵(6.1mL, 6.1mmol)添加到I42(3.58g, 2.78mmol)在THF(35mL)中的溶液中。将所得溶液搅拌60min, 接着减压蒸发至干燥。通过柱层析(2%至5%甲醇/DCM)纯化残余物以得到为白色泡沫的I43(2.95g, 98%收率)。LC/MS(方法B): 保留时间1.70min, (ES+) m/z 1061.3[M+H]<sup>+</sup>

[2075] (g) (11S, 11aS)-8-(3-(((11S, 11aS)-10-(((4-((S)-2-((S)-2-((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)-11-羟基-7-甲氧基-5-氧代-2, 3, 5, 10, 11, 11a-六氢-1H-苯并[e]吡咯并[1, 2-a][1, 4]二氮杂~~草~~-8-基)氧基)丙氧基)-11-羟基-7-甲氧基-5-氧代-2, 3, 11, 11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1, 2-a][1, 4]二氮杂~~草~~-10(5H)-羧酸烯丙基酯(I44)

[2076] 将在MeCN(5.47mL, 1.1mmol)中的Stahl需氧氧化TEMPO溶液0.2M, 以及随后的四乙腈三氟甲磺酸铜(I)(0.41g, 1.1mmol)添加至I43(2.9g, 2.74mmol)在DCM(30mL)和乙腈(6mL)中的溶液中并且在空气气氛下在35℃下搅拌36hr。将反应混合物用水(25mL)洗涤, 干燥(biotage相分离器)并且在减压下蒸发至干燥。通过柱层析(3%至6%甲醇/DCM)纯化残余物以得到为白色固体的氧化产物I44(2.46g, 85%收率)。LC/MS(方法B): 保留时间1.60min, (ES+) m/z 1057.1[M+H]<sup>+</sup>。

[2077] (h) (11S, 11aS)-11-羟基-7-甲氧基-8-(3-(((S)-7-甲氧基-5-氧代-2, 3, 5, 11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1, 2-a][1, 4]二氮杂~~草~~-8-基)氧基)丙氧基)-5-氧代-2, 3, 11, 11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1, 2-a][1, 4]二氮杂~~草~~-10(5H)-羧酸4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基酯(I45)

[2078] 在室温下将Pd(Ph<sub>3</sub>P)<sub>4</sub>(10mg, 5mol%)添加到I44(200mg, 0.19mmol)和吡咯烷(40μL, 0.34g, 0.48mmol)在DCM(10mL)中的溶液中。将所得溶液搅拌30min。将反应混合物用饱和氯化铵(10mL)洗涤, 干燥(biotage相分离器)并且在减压下蒸发至干燥。然后将残余物在高真空线上放置4hr以移除痕量吡咯烷。所得的灰白色固体不经进一步纯化用于下一步骤(160mg, 97%收率)。LC/MS(方法B): 保留时间1.17min, (ES+) m/z 871.1[M+H]<sup>+</sup>。

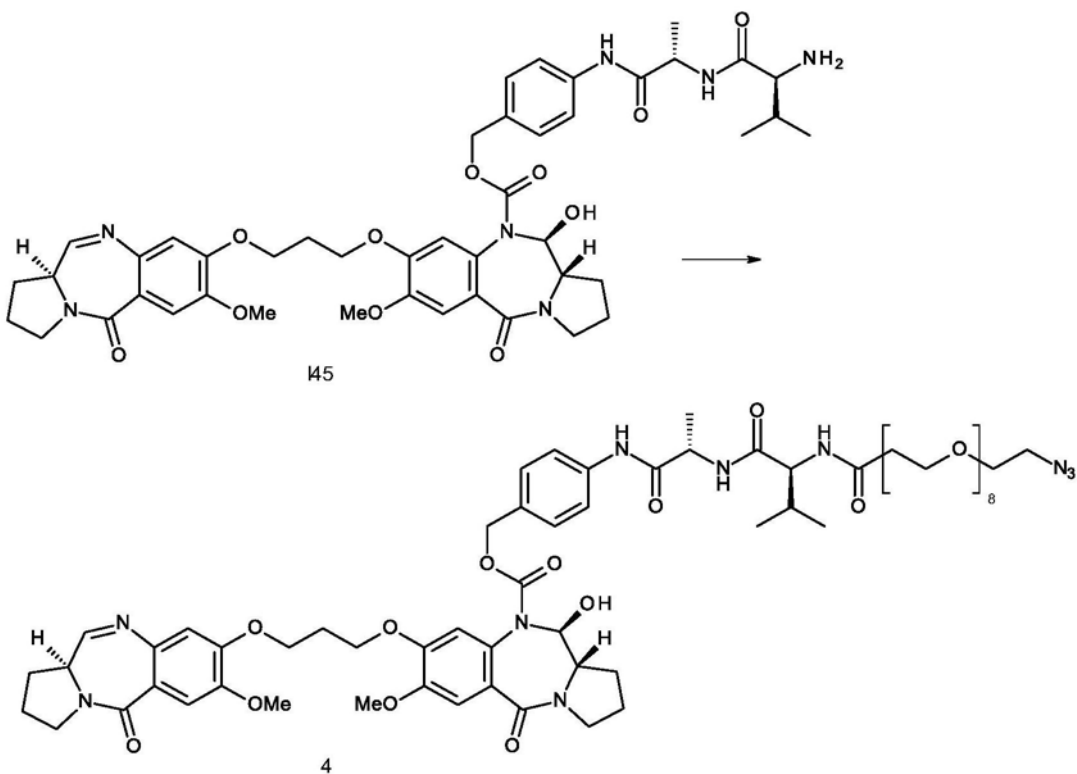
[2079] (i) (11S, 11aS)-11-羟基-7-甲氧基-8-(3-(((S)-7-甲氧基-5-氧代-2, 3, 5, 11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1, 2-a][1, 4]二氮杂~~草~~-8-基)氧基)丙氧基)-5-氧代-2, 3, 11,

11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂<sup>草</sup>-10(5H)-羧酸4-((2S,5S)-37-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-5-异丙基-2-甲基-4,7,35-三氧代-10,13,16,19,22,25,28,31-八氧杂-3,6,34-三氮杂三十七烷酰氨基)苄基酯(1)

[2080] 将EDCI.HCl(46mg,0.24mmol)添加到I45和Ma1-PEG<sub>8</sub>-酸(130mg,0.22mmol)在CHCl<sub>3</sub>(10mL)中的溶液中并在室温下搅拌2hr.LC/MS显示存在78%起始材料。再分批添加2当量的EDCI.HCl以推动反应至完全。将反应混合物用水(10mL)洗涤,干燥(Biotage PS)并在减压下蒸发至干燥,以得到黄色固体,其通过制备型HPLC纯化以得到为灰白色固体的产物1(90mg,34%收率)。LC/MS(方法B):保留时间1.47min,(ES+)m/z 1445.9[M+H]<sup>+</sup>。

[2081] 实施例5

[2082] (i) (11S,11aS)-11-羟基-7-甲氧基-8-(3-(((S)-7-甲氧基-5-氧代-2,3,5,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂<sup>草</sup>-8-基)氧基)丙氧基)-5-氧代-2,3,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂<sup>草</sup>-10(5H)-羧酸4-((29S,32S)-1-叠氮基-29-异丙基-32-甲基-27,30-二氧代-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂-28,31-二氮杂三十三烷-33-酰氨基)苄基酯(4)

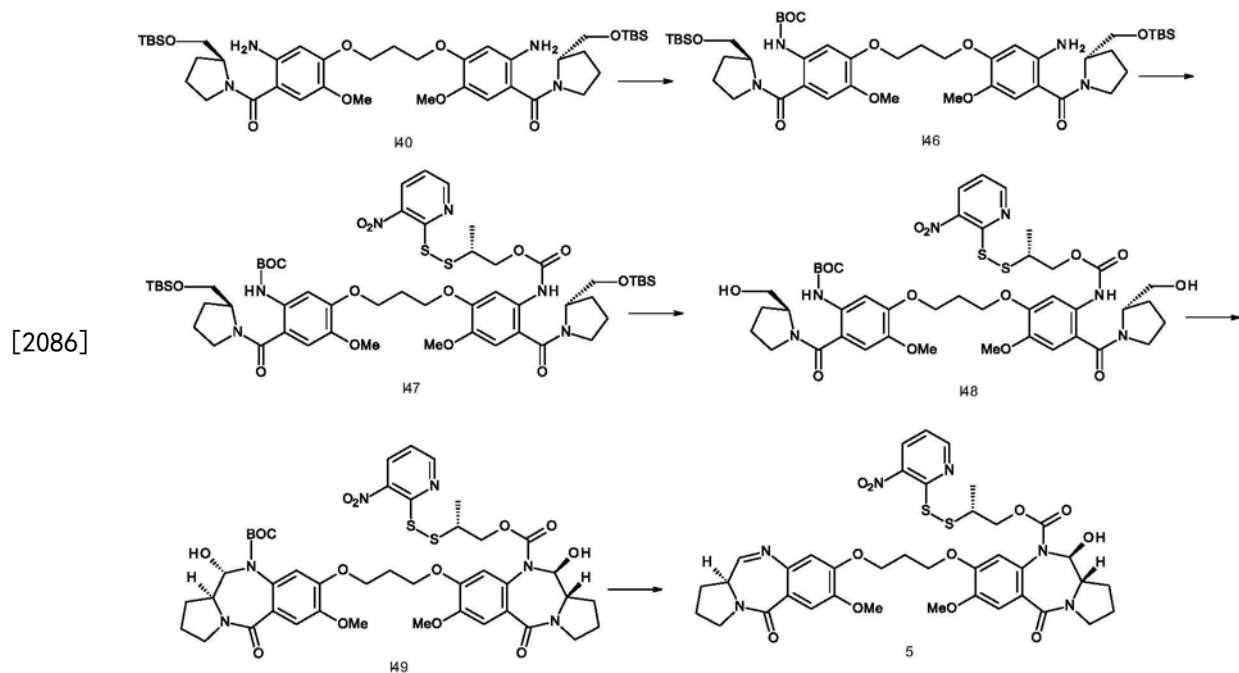


[2083]

[2084] 将EDCI.HCl(27mg,0.14mmol)添加到I45和叠氮基-PEG<sub>8</sub>-酸(49mg,0.10mmol)在CHCl<sub>3</sub>(6mL)中的溶液中并在室温下搅拌1hr.将溶剂减压蒸发以得到黄色泡沫。通过制备型HPLC进行的纯化得到为灰白色固体的产物4(20mg,17%收率)。LC/MS(方法B):保留时间6.01min,(ES+)m/z 1320[M+H]<sup>+</sup>。

[2085] (ii) (11S,11aS)-11-羟基-7-甲氧基-8-(3-(((S)-7-甲氧基-5-氧代-2,3,5,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂<sup>草</sup>-8-基)氧基)丙氧基)-5-氧代-2,3,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂<sup>草</sup>-10(5H)-羧酸(R)-2-((3-硝基吡啶-

## 2-基)二硫烷基)丙基酯(5)



[2087] (a) (5-(3-(5-氨基-4-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)丙氧基)-2-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酸叔丁基酯 (I46)

[2088] 将Boc酸酐(0.5g, 2.3mmol, 1.0当量)添加到I40(1.9g, 2.3mmol, 1.0当量)在THF(50mL)中的溶液中并且在55°C下搅拌5hr。通过减压蒸发移除溶剂并且通过柱层析(50-100%乙酸乙酯/己烷)纯化残余物以得到为黄色固体的产物, 1.7g(80%)。LC/MS(方法1): 室温2.48min, m/z(902.5)M+H。

[2089] (b) (2-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-羰基)-5-(3-(4-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-羰基)-2-甲氧基-5-(((R)-2-(3-硝基吡啶-2-基)二硫烷基)丙氧基)羰基)氨基)苯氧基)丙氧基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酸叔丁基酯 (I47)

[2090] 将三光气(0.135g, 0.455mmol, 0.35当量)添加到(2R)-2-[(3-硝基-2-吡啶基)二硫烷基]丙-1-醇(0.316g, 1.28mmol, 1.05当量)和吡啶(111mg, 1.4mmol, 1.15当量)在无水二氯甲烷(5mL)中的溶液中并且在室温下搅拌30min。接着将所得溶液添加到I46(1.10g, 1.22mmol, 1.0当量)和吡啶(106mg, 1.34mmol, 1.1当量)在无水二氯甲烷(10mL)中的溶液中并且在室温下搅拌60min。通过减压蒸发移除溶剂并且通过柱层析(40-50%乙酸乙酯/己烷)纯化残余物以得到为黄色泡沫的产物, 1.21g(85%)。LC/MS(方法1): 室温2.53min, m/z(1174.5)M+H。

[2091] (c) (2-((S)-2-(羟甲基)吡咯烷-1-羰基)-5-(3-(4-((S)-2-(羟甲基)吡咯烷-1-羰基)-2-甲氧基-5-(((R)-2-(3-硝基吡啶-2-基)二硫烷基)丙氧基)羰基)氨基)苯氧基)丙氧基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酸叔丁基酯 (I48)

[2092] 将I47(1.21g, 1.03mmol)溶解在乙酸(5mL)、THF(1mL)、甲醇(1mL)和水(2mL)的混合物中。将所得溶液在室温下搅拌90min, 接着蒸发至干燥。将残余物溶于乙酸乙酯(50mL)中, 用水(50mL)洗涤, 接着用饱和NaHCO<sub>3</sub>(50mL)洗涤, 干燥(MgSO<sub>4</sub>)并减压蒸发。通过柱(4%



甲醇/DCM) 纯化残余物以得到为黄色固体的产物, 0.97g (100%)。LC/MS (方法1): 室温 1.87min, m/z (946.0) M+H。

[2093] (d) (11S, 11aS)-11-羟基-8-(3-(((11S, 11aS)-11-羟基-7-甲氧基-10-(((R)-2-((3-硝基吡啶-2-基)二硫烷基)丙氧基)羰基)-5-氧代-2, 3, 5, 10, 11, 11a-六氢-1H-苯并[e]吡咯并[1, 2-a][1, 4]二氮杂~~草~~-8-基)氧基)丙氧基)-7-甲氧基-5-氧代-2, 3, 11, 11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1, 2-a][1, 4]二氮杂~~草~~-10(5H)-羧酸叔丁基酯(I49)

[2094] 将Stahl需氧氧化TEMPO溶液(2.05mL, 0.4mmol, 0.2mol/L), 以及随后的四乙腈三氟甲磺酸铜(I)(0.15g, 0.40mmol)添加至I48(0.97g, 1.0mmol)在DCM(20mL, 312.0mmol)中的溶液中。将所得混合物在35°C下加热15hr。将有机相用水(25mL)洗涤, 干燥(biotage)并减压蒸发至干燥, 并且通过柱层析(3-6%甲醇/DCM)纯化, 以得到为白色固体的产物, 0.77g (79%)。LC/MS(方法1): 室温1.70min, m/z (941.9) M+H。

[2095] (e) (11S, 11aS)-11-羟基-7-甲氧基-8-(3-(((S)-7-甲氧基-5-氧代-2, 3, 5, 11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1, 2-a][1, 4]二氮杂~~草~~-8-基)氧基)丙氧基)-5-氧代-2, 3, 11, 11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1, 2-a][1, 4]二氮杂~~草~~-10(5H)-羧酸(R)-2-((3-硝基吡啶-2-基)二硫烷基)丙基酯(5)

[2096] 将三氟乙酸(4.5mL)添加至水(0.5mL)中并冷却至0°C。然后将此溶液添加到I49(0.75g, 0.80mmol)中并且所得混合物在0°C下搅拌2hr。在减压下移除溶剂, 将残余物溶于DCM(10mL)中并且通过添加饱和NaHCO<sub>3</sub>中和反应混合物。在干燥(biotage)并减压蒸发后, 通过柱(4-6%甲醇/DCM)纯化残余物以得到为亮黄色固体的产物, 0.6g (91%)。LC/MS(方法2): 室温6.04min, m/z (824.0) M+H。

[2097] 用于实施例5(ii)的分析性LC/MS条件

[2098] 使用Waters Acquity H-class SQD2进行阳性模式电喷雾质谱。使用的流动相是溶剂A(具有0.1%甲酸的水)和溶剂B(具有0.1%甲酸的乙腈)。

[2099] 方法1: 常规3分钟运行的梯度: 初始组成5%B保持25秒, 然后经1分钟35秒的时段从5%B增加至100%B。组成在100%B处保持50秒, 然后在5秒内回到5%B且在此处保持5秒。梯度运行的总持续时间为3.0分钟。流动速率为0.8毫升/分钟。在254nm下检测。柱: Waters Acquity UPLC® BEH Shield RP18 1.7µm 2.1x 50mm, 50°C, 配备有Waters Acquity UPLC® BEH Shield RP18 VanGuard前置柱, 130A, 1.7µm, 2.1mm x 5mm。

[2100] 方法2: 15分钟运行的梯度: 初始组成5%B保持1分钟, 然后经9分钟的时段从5%B增加至100%B。组成在100%B处保持2分钟, 然后在10秒内回到5%B且在此处保持2分钟50秒。梯度运行的总持续时间为15.0分钟。流速为0.8毫升/分钟(运行3分钟)和0.6毫升/分钟(运行15分钟)。在254nm下检测。柱: ACE Excel 2 C18-AR, 2µ, 3.0x 100mm, 配备有Waters Acquity UPLC® BEH Shield RP18 VanGuard前置柱, 130A, 1.7µm, 2.1mm x 5mm。

[2101] 实施例6-缀合

[2102] Conj-HER-1

[2103] 将二硫苏糖醇(DTT)在磷酸盐缓冲盐水pH 7.4(PBS)中的50mM溶液添加(80摩尔当量/抗体, 16微摩尔, 0.32mL, 50mM)到抗体赫塞汀(30mg, 0.2微摩尔)在含有PBS和1mM乙二胺四乙酸(EDTA)的还原缓冲液中的最终抗体浓度为2.5mg/mL的12mL溶液中。在温和(60rpm)

振荡下,在轨道振荡器中,将还原混合物在+25℃下加热4小时(或直到通过UHPLC观察到完全还原)。冷却至室温之后,使用50KDa MWC0 vivaspin通过自旋过滤器将还原的抗体缓冲液交换到含有PBS pH 7.4和1mM EDTA的再氧化缓冲液中,以移除所有过量的还原剂。添加脱氢抗坏血酸(DHAA,15摩尔当量/抗体,3微摩尔,0.08mL,50mM)在DMSO中的50mM溶液并且使再氧化混合物在室温、温和(60rpm)振荡下在~1.5mg/mL的抗体浓度下反应16小时(或直到通过UHPLC观察到半胱氨酸巯基全部再氧化以重新形成链间半胱氨酸二硫化物)。将再氧化混合物在4000rpm下离心3min,然后使用0.22μm膜过滤器无菌过滤。将化合物1以DMSO溶液(10摩尔当量/抗体,1.0微摩尔,在1.5mL DMSO中)的形式添加到13.5mL的这一再氧化的抗体溶液(15mg,0.1微摩尔)中,实现10%(v/v)最终DMSO浓度。将溶液在+25℃下振荡3小时,然后用N-乙酰基半胱氨酸(15微摩尔,0.150mL,100mM)淬灭缀合。

[2104] 使用50kDa MWC0 vivaspin通过自旋过滤器将过量游离药物移除到含有PBS pH 7.4的缓冲液中。使用纯净缀合物通过UHPLC-RP监测游离药物移除的程度。在游离药物完全移除后,使用0.22μm Mustang过滤器在无菌气氛下过滤ADC,并且接着储存于+4℃。

[2105] 通过Shimadzu Prominence系统,使用Phenomenex Aeris 3.6u XB-C18 150x 2.1mm柱(用水和乙腈的梯度进行洗脱)对Conj-HER-1的还原样品在214nm和330nm处(化合物1特异性)进行的UHPLC分析表明,连接于若干分子化合物1的轻链和重链的混合物与1.74分子化合物1/抗体的药物/抗体比率(DAR)一致。

[2106] 在Shimadzu Prominence系统上,使用Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4μm 4.6x 150mm柱(具有4μm 3.0x 20mm保护柱),用含有200mM磷酸钾pH 6.95、250mM氯化钾和10%异丙醇(v/v)的0.3毫升/分钟无菌过滤的SEC缓冲液洗脱,在280nm处对Conj-HER-1样品的UHPLC分析显示出大于99%的单体纯度。UHPLC SEC分析给出最终ADC的浓度为在7.8mL中的1.39mg/mL,并且获得的ADC质量是10.8mg(72%收率)。

[2107] Conj-HER-2

[2108] 将二硫苏糖醇(DTT)在磷酸盐缓冲盐水pH 7.4(PBS)中的50mM溶液添加(80摩尔当量/抗体,55.5微摩尔,1.11mL,50mM)到抗体赫塞汀(Herceptin)(104mg,0.69微摩尔)在含有PBS和1mM乙二胺四乙酸(EDTA)的还原缓冲液中的最终抗体浓度为4.0mg/mL的11.8mL溶液中。在温和(60rpm)振荡下,在轨道振荡器中,将还原混合物在+25℃下加热3.5小时(或直到通过UHPLC观察到完全还原)。冷却至室温之后,使用50KDa MWC0 vivaspin通过自旋过滤器将还原的抗体缓冲液交换到含有PBS pH 7.4和1mM EDTA的再氧化缓冲液中,以移除所有过量的还原剂。添加脱氢抗坏血酸(DHAA,20摩尔当量/抗体,12.4微摩尔,0.25mL,50mM)在DMSO中的50mM溶液并且使再氧化混合物在室温、温和(60rpm)振荡下在~2.4mg/mL的抗体浓度下反应16小时(或直到通过UHPLC观察到半胱氨酸巯基全部再氧化以重新形成链间半胱氨酸二硫化物)。将再氧化混合物在4000rpm下离心3min,然后使用0.22μm膜过滤器无菌过滤。将化合物2以DMSO溶液(10摩尔当量/抗体,1.03微摩尔,在1.40mL DMSO中)的形式添加到14mL的这一再氧化的抗体溶液(15.5mg,0.103微摩尔)中,实现10%(v/v)最终DMSO浓度。将溶液在+25℃下振荡1.5小时,然后用N-乙酰基半胱氨酸(5.15微摩尔,0.051mL,100mM)淬灭缀合。

[2109] 使用mPES,具有115cm<sup>2</sup>表面积的MidiKros<sup>®</sup>30kDa纤维过滤器,通过Tangential Flow Filtration单元(TFF)将过量的游离药物移除到含有PBS pH 7.4的缓冲液中。使用纯

净缀合物通过UHPLC-RP监测游离药物移除的程度。在游离药物完全移除后,使用0.22 $\mu$ m Mustang过滤器在无菌气氛下过滤ADC,并且接着储存于+4 $^{\circ}$ C。

[2110] 通过Shimadzu Prominence系统,使用Phenomenex Aeris 3.6u XB-C18 150 $\times$ 2.1mm柱(用水和乙腈的梯度进行洗脱)对Conj-HER-2的还原样品在214nm和330nm处(化合物2特异性)进行的UHPLC分析表明,连接于若干分子化合物2的轻链和重链的混合物与1.85分子化合物2/抗体的药物/抗体比率(DAR)一致。

[2111] 在Shimadzu Prominence系统上,使用Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 $\mu$ m 4.6x 150mm柱(具有4 $\mu$ m 3.0x 20mm保护柱),用含有200mM磷酸钾pH 6.95、250mM氯化钾和10%异丙醇(v/v)的0.3毫升/分钟无菌过滤的SEC缓冲液洗脱,在280nm处对Conj-HER-2样品的UHPLC分析显示出大于98%的单体纯度。UHPLC SEC分析给出最终ADC的浓度为在8.5mL中的0.88mg/mL,并且获得的ADC质量是7.5mg(48%收率)。

[2112] Conj-HER-3

[2113] 将三(2-羧乙基)膦(TCEP)在磷酸盐缓冲盐水pH 7.4(PBS)中的50mM溶液添加(40摩尔当量/抗体,40微摩尔,0.08mL,50mM)到抗体赫塞汀(15mg,0.1微摩尔)在含有PBS和1mM乙二胺四乙酸(EDTA)的还原缓冲液中的最终抗体浓度为4.0mg/mL的1.39mL溶液中。在温和(60rpm)振荡下,在轨道振荡器中,将还原混合物在+37 $^{\circ}$ C下加热2小时(或直到通过UHPLC观察到完全还原)。冷却至室温之后,使用50kDa MWC0盒通过渗析将还原的抗体缓冲液交换到含有PBS pH 7.4和1mM EDTA的再氧化缓冲液中,以移除所有过量的还原剂,在室温下持续16小时。添加脱氢抗坏血酸(DHAA,25摩尔当量/抗体,2.5微摩尔,0.04mL,50mM)在DMSO中的50mM溶液并且使再氧化混合物在 $\sim$ 1.5mg/mL的抗体浓度下在温和振荡(60rpm)下室温反应2小时。由于氧化不完全,再添加0.04mL的50mM DHAA并且在室温下再振荡2h。之后,通过UHPLC观察到半胱氨酸巯基全部再氧化以重新形成链间半胱氨酸二硫化物。将再氧化混合物在4000rpm下离心3min,然后使用0.22 $\mu$ m膜过滤器无菌过滤。将化合物3以DMSO溶液(10摩尔当量/抗体,0.8微摩尔,在1.1mL DMSO中)的形式添加到11mL的这一再氧化的抗体溶液(12mg,0.08微摩尔)中,实现10%(v/v)最终DMSO浓度。将溶液在+25 $^{\circ}$ C下振荡1小时,然后用N-乙酰基半胱氨酸(3.2微摩尔,0.032mL,100mM)淬灭缀合。

[2114] 使用50kDa MWC0 vivaspin通过自旋过滤器将过量游离药物移除到含有PBS pH 7.4的缓冲液中。使用纯净缀合物通过UHPLC-RP监测游离药物移除的程度。在游离药物完全移除后,使用0.22 $\mu$ m Mustang过滤器在无菌气氛下过滤ADC,并且接着储存于+4 $^{\circ}$ C。

[2115] 通过Shimadzu Prominence系统,使用Phenomenex Aeris 3.6u XB-C18 150 $\times$ 2.1mm柱(用水和乙腈的梯度进行洗脱)对Conj-HER-3的还原样品在214nm和330nm处(化合物3特异性)进行的UHPLC分析表明,连接于若干分子化合物3的轻链和重链的混合物与1.78分子化合物3/抗体的药物/抗体比率(DAR)一致。

[2116] 在Shimadzu Prominence系统上,使用Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 $\mu$ m 4.6x 150mm柱(具有4 $\mu$ m 3.0x 20mm保护柱),用含有200mM磷酸钾pH 6.95、250mM氯化钾和10%异丙醇(v/v)的0.3毫升/分钟无菌过滤的SEC缓冲液洗脱,在280nm处对Conj-HER-3样品的UHPLC分析显示出大于94%的单体纯度。UHPLC SEC分析给出最终ADC的浓度为在8.2mL中的1.14mg/mL,并且获得的ADC质量是9.3mg(62%收率)。

[2117] Conj-R347-1

[2118] 将二硫苏糖醇 (DTT) 在磷酸盐缓冲盐水 pH 7.4 (PBS) 中的 50mM 溶液添加 (80 摩尔当量/抗体, 697 微摩尔, 13.87mL, 50mM) 到抗体 R347 (1300mg, 8.67 微摩尔) 在含有 PBS 和 1mM 乙二胺四乙酸 (EDTA) 的还原缓冲液中的最终抗体浓度为 5.0mg/mL 的 44.36mL 溶液中。在温和 (60rpm) 振荡下, 在轨道振荡器中, 将还原混合物在 +25°C 下加热 3.5 小时 (或直到通过 UHPLC 观察到完全还原)。冷却至室温之后, 使用具有 235cm<sup>2</sup> 表面积 of mPES, **MidiKros**<sup>®</sup> 30kDa 纤维过滤器, 通过 Tangential Flow Filtration 单元 (TFF) 将还原的抗体缓冲液交换到含有 PBS pH 7.4 和 1mM EDTA 的再氧化缓冲液中, 以移除所有过量的还原剂。将还原的抗体在 4000rpm 下离心 3min, 然后使用 0.22μm 膜过滤器过滤。添加脱氢抗坏血酸 (DHAA, 15 摩尔当量/抗体, 130 微摩尔, 2.6mL, 50mM) 在 DMSO 中的 50mM 溶液并且使再氧化混合物在室温、温和 (60rpm) 振荡下在 5.0mg/mL 的抗体浓度下反应 16 小时 (或直到通过 UHPLC 观察到半胱氨酸巯基全部再氧化以重新形成链间半胱氨酸二硫化物)。将再氧化混合物在 4000rpm 下离心 3min, 然后使用 0.22μm 膜过滤器无菌过滤。将化合物 1 以 DMSO 溶液 (10 摩尔当量/抗体, 86.7 微摩尔, 在 23.4mL DMSO 中) 的形式添加到 330mL 的这一再氧化的抗体溶液 (1300mg, 8.67 微摩尔) 中, 实现 10% (v/v) 最终 DMSO 浓度。将溶液在 +25°C 下振荡 3 小时, 然后用 N-乙酰基半胱氨酸 (433 微摩尔, 4.33mL, 100mM) 淬灭缀合。

[2119] 使用 mPES, 具有 235cm<sup>2</sup> 表面积 of **MidiKros**<sup>®</sup> 30kDa 纤维过滤器, 通过 Tangential Flow Filtration 单元 (TFF) 将过量的游离药物移除到含有 PBS pH 7.4 的缓冲液中。使用纯净缀合物通过 UHPLC-RP 监测游离药物移除的程度。在完全移除游离药物之后, 将 ADC 配制到 25mM 组氨酸、200mM 蔗糖 (pH 6.0) 上。使用 0.22μm Mustang 过滤器在无菌气氛下过滤 ADC 并且接着储存于 -78°C。

[2120] 通过 Shimadzu Prominence 系统, 使用 Phenomenex Aeris 3.6u XB-C18 150 × 2.1mm 柱 (用水和乙腈的梯度进行洗脱) 对 Conj-R347-1 的还原样品在 214nm 和 330nm 处 (化合物 1 特异性) 进行的 UHPLC 分析表明, 连接于若干分子化合物 1 的轻链和重链的混合物与 1.82 分子化合物 1/抗体的药物/抗体比率 (DAR) 一致。

[2121] 在 Shimadzu Prominence 系统上, 使用 Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4μm 4.6x 150mm 柱 (具有 4μm 3.0x 20mm 保护柱), 用含有 200mM 磷酸钾 pH 6.95、250mM 氯化钾和 10% 异丙醇 (v/v) 的 0.3 毫升/分钟无菌过滤的 SEC 缓冲液洗脱, 在 280nm 处对 ADC 样品的 UHPLC 分析显示出大于 99% 的单体纯度。UHPLC SEC 分析给出最终 Conj-R347-1 的浓度为在 113mL 中的 10.11mg/mL, 并且获得的 ADC 质量是 1141mg (88% 收率)。

[2122] Conj-R347-2

[2123] 将二硫苏糖醇 (DTT) 在磷酸盐缓冲盐水 pH 7.4 (PBS) 中的 50mM 溶液添加 (80 摩尔当量/抗体, 213 微摩尔, 4.3mL, 50mM) 到抗体 R347 (400mg, 2.67 微摩尔) 在含有 PBS 和 1mM 乙二胺四乙酸 (EDTA) 的还原缓冲液中的最终抗体浓度为 5.0mg/mL 的 13.7mL 溶液中。在温和 (60rpm) 振荡下, 在轨道振荡器中, 将还原混合物在 +25°C 下加热 3.5 小时 (或直到通过 UHPLC 观察到完全还原)。冷却至室温之后, 使用具有 115cm<sup>2</sup> 表面积 of mPES, **MidiKros**<sup>®</sup> 30kDa 纤维过滤器, 通过 Tangential Flow Filtration 单元 (TFF) 将还原的抗体缓冲液交换到含有 PBS pH 7.4 和 1mM EDTA 的再氧化缓冲液中, 以移除所有过量的还原剂。将还原的抗体在 4000rpm 下离心 3min, 然后使用 0.22μm 膜过滤器过滤。添加脱氢抗坏血酸 (DHAA, 15 摩尔当

量/抗体,40微摩尔,0.8mL,50mM)在DMSO中的50mM溶液并且使再氧化混合物在室温、温和(60rpm)振荡下在~3.0mg/mL的抗体浓度下反应16小时(或直到通过UHPLC观察到半胱氨酸巯基全部再氧化以重新形成链间半胱氨酸二硫化物)。将再氧化混合物在4000rpm下离心3min,然后使用0.22 $\mu$ m膜过滤器无菌过滤。将化合物2以DMSO溶液(10摩尔当量/抗体,26.7微摩尔,在15.5mL DMSO中)的形式添加到330mL的这一再氧化的抗体溶液(400mg,2.67微摩尔)中,实现10%(v/v)最终DMSO浓度。将溶液在+25 $^{\circ}$ C下振荡1.5小时,然后用N-乙酰基半胱氨酸(125微摩尔,1.25mL,100mM)淬灭缀合。

[2124] 使用mPES,具有115cm<sup>2</sup>表面积的MidiKros<sup>®</sup> 30kDa纤维过滤器,通过Tangential Flow Filtration单元(TFF)将过量的游离药物移除到含有PBS pH 7.4的缓冲液中。使用纯净缀合物通过UHPLC-RP监测游离药物移除的程度。在完全移除游离药物之后,将ADC配制到25mM组氨酸、200mM蔗糖(pH 6.0)上。使用0.22 $\mu$ m Mustang过滤器在无菌气氛下过滤ADC并且接着储存于-78 $^{\circ}$ C。

[2125] 通过Shimadzu Prominence系统,使用Phenomenex Aeris 3.6 $\mu$  XB-C18 150 $\times$ 2.1mm柱(用水和乙腈的梯度进行洗脱)对Conj-R347-2的还原样品在214nm和330nm处(化合物2特异性)进行的UHPLC分析表明,连接于若干分子化合物2的轻链和重链的混合物与1.8分子化合物2/抗体的药物/抗体比率(DAR)一致。

[2126] 在Shimadzu Prominence系统上,使用Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 $\mu$ m 4.6 $\times$ 150mm柱(具有4 $\mu$ m 3.0 $\times$ 20mm保护柱),用含有200mM磷酸钾pH 6.95、250mM氯化钾和10%异丙醇(v/v)的0.3毫升/分钟无菌过滤的SEC缓冲液洗脱,在280nm处对Conj-R347-2样品的UHPLC分析显示出大于99%的单体纯度。UHPLC SEC分析给出最终ADC的浓度为在93mL中的3.06mg/mL,并且获得的ADC质量是284mg(71%收率)。

[2127] Conj-R347-3

[2128] 将二硫苏糖醇(DTT)在磷酸盐缓冲盐水pH 7.4(PBS)中的50mM溶液添加(80摩尔当量/抗体,240微摩尔,4.8mL,50mM)到抗体R347(450mg,3.0微摩尔)在含有PBS和1mM乙二胺四乙酸(EDTA)的还原缓冲液中的最终抗体浓度为5.0mg/mL的15.36mL溶液中。在温和(60rpm)振荡下,在轨道振荡器中,将还原混合物在+25 $^{\circ}$ C下加热3.5小时(或直到通过UHPLC观察到完全还原)。冷却至室温之后,使用具有235cm<sup>2</sup>表面积的mPES, MidiKros<sup>®</sup> 30kDa纤维过滤器,通过Tangential Flow Filtration单元(TFF)将还原的抗体缓冲液交换到含有PBS pH 7.4和1mM EDTA的再氧化缓冲液中,以移除所有过量的还原剂。将还原的抗体在4000rpm下离心3min,然后使用0.22 $\mu$ m膜过滤器过滤。添加脱氢抗坏血酸(DHAA,15摩尔当量/抗体,45微摩尔,0.9mL,50mM)在DMSO中的50mM溶液并且使再氧化混合物在室温、温和(60rpm)振荡下在~3.5mg/mL的抗体浓度下反应16小时(或直到通过UHPLC观察到半胱氨酸巯基全部再氧化以重新形成链间半胱氨酸二硫化物)。将再氧化混合物在4000rpm下离心3min,然后使用0.22 $\mu$ m膜过滤器无菌过滤。将化合物3以DMSO溶液(10摩尔当量/抗体,30.0微摩尔,在13.0mL DMSO中)的形式添加到330mL的这一再氧化的抗体溶液(450mg,3.0微摩尔)中,实现10%(v/v)最终DMSO浓度。将溶液在+25 $^{\circ}$ C下振荡3小时,然后用N-乙酰基半胱氨酸(150微摩尔,1.5mL,100mM)淬灭缀合。

[2129] 使用mPES,具有235cm<sup>2</sup>表面积的MidiKros<sup>®</sup> 30kDa纤维过滤器,通过Tangential

Flow Filtration单元(TFF)将过量的游离药物移除到含有PBS pH 7.4的缓冲液中。使用纯净缀合物通过UHPLC-RP监测游离药物移除的程度。在完全移除游离药物之后,将ADC配制到25mM组氨酸、200mM蔗糖(pH 6.0)上。使用0.22 $\mu$ m Mustang过滤器在无菌气氛下过滤ADC并且接着储存于-78 $^{\circ}$ C。

[2130] 通过Shimadzu Prominence系统,使用Phenomenex Aeris 3.6 $\mu$  XB-C18 150 $\times$ 2.1mm柱(用水和乙腈的梯度进行洗脱)对缀合物的还原样品在214nm和330nm处(化合物3特异性)进行的UHPLC分析表明,连接于若干分子化合物3的轻链和重链的混合物与1.82分子化合物3/抗体的药物/抗体比率(DAR)一致。

[2131] 在Shimadzu Prominence系统上,使用Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 $\mu$ m 4.6 $\times$ 150mm柱(具有4 $\mu$ m 3.0 $\times$ 20mm保护柱),用含有200mM磷酸钾pH 6.95、250mM氯化钾和10%异丙醇(v/v)的0.3毫升/分钟无菌过滤的SEC缓冲液洗脱,在280nm处对Conj-R347-3样品的UHPLC分析显示出大于99%的单体纯度。UHPLC SEC分析给出最终ADC的浓度为在174mL中的2.35mg/mL,并且获得的Conj-R347-3质量是409mg(91%收率)。

[2132] Conj-HLL2-1

[2133] 将二硫苏糖醇(DTT)在磷酸盐缓冲盐水pH 7.4(PBS)中的50mM溶液添加(80摩尔当量/抗体,53.3微摩尔,1.07mL,50mM)到抗体HLL2(100mg,0.6微摩尔)在含有PBS和1mM乙二胺四乙酸(EDTA)的还原缓冲液中的最终抗体浓度为5.0mg/mL的11.8mL溶液中。在温和(60rpm)振荡下,在轨道振荡器中,将还原混合物在+25 $^{\circ}$ C下加热3.5小时(或直到通过UHPLC观察到完全还原)。冷却至室温之后,使用50kDa MWC0 vivaspin通过自旋过滤器将还原的抗体缓冲液交换到含有PBS pH 7.4和1mM EDTA的再氧化缓冲液中,以移除所有过量的还原剂。添加脱氢抗坏血酸(DHAA,15摩尔当量/抗体,9微摩尔,0.18mL,50mM)在DMSO中的50mM溶液并且使再氧化混合物在室温、温和(60rpm)振荡下在 $\sim$ 3.0mg/mL的抗体浓度下反应16小时(或直到通过UHPLC观察到半胱氨酸巯基全部再氧化以重新形成链间半胱氨酸二硫化物)。将再氧化混合物在4000rpm下离心3min,然后使用0.22 $\mu$ m膜过滤器无菌过滤。将化合物1以DMSO溶液(10摩尔当量/抗体,1.2微摩尔,在0.58mL DMSO中)的形式添加到7mL的这一再氧化的抗体溶液(18mg,0.12微摩尔)中,实现10%(v/v)最终DMSO浓度。将溶液在+25 $^{\circ}$ C下振荡3小时,然后用N-乙酰基半胱氨酸(6微摩尔,0.06mL,100mM)淬灭缀合。

[2134] 使用50kDa MWC0 vivaspin通过自旋过滤器将过量游离药物移除到含有PBS pH 7.4的缓冲液中。使用纯净缀合物通过UHPLC-RP监测游离药物移除的程度。在游离药物完全移除后,使用0.22 $\mu$ m Mustang过滤器在无菌气氛下过滤ADC,并且接着储存于+4 $^{\circ}$ C。

[2135] 通过Shimadzu Prominence系统,使用Phenomenex Aeris 3.6 $\mu$  XB-C18 150 $\times$ 2.1mm柱(用水和乙腈的梯度进行洗脱)对Conj-HLL2-1的还原样品在214nm和330nm处(化合物1特异性)进行的UHPLC分析表明,连接于若干分子化合物1的轻链和重链的混合物与1.74分子化合物1/抗体的药物/抗体比率(DAR)一致。

[2136] 在Shimadzu Prominence系统上,使用Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 $\mu$ m 4.6 $\times$ 150mm柱(具有4 $\mu$ m 3.0 $\times$ 20mm保护柱),用含有200mM磷酸钾pH 6.95、250mM氯化钾和10%异丙醇(v/v)的0.3毫升/分钟无菌过滤的SEC缓冲液洗脱,在280nm处对Conj-HLL2-1样品的UHPLC分析显示出大于98%的单体纯度。UHPLC SEC分析给出最终ADC的浓度为在7.5mL中的1.6mg/mL,并且获得的ADC质量是12mg(67%收率)。

## [2137] Conj-HLL2-2

[2138] 将二硫苏糖醇 (DTT) 在磷酸盐缓冲盐水 pH 7.4 (PBS) 中的 50mM 溶液添加 (80 摩尔当量/抗体, 53.3 微摩尔, 1.07mL, 50mM) 到抗体 HLL2 (100mg, 0.6 微摩尔) 在含有 PBS 和 1mM 乙二胺四乙酸 (EDTA) 的还原缓冲液中的最终抗体浓度为 5.0mg/mL 的 11.8mL 溶液中。在温和 (60rpm) 振荡下, 在轨道振荡器中, 将还原混合物在 +25°C 下加热 3.5 小时 (或直到通过 UHPLC 观察到完全还原)。冷却至室温之后, 使用 50KDa MWC0 vivaspin 通过自旋过滤器将还原的抗体缓冲液交换到含有 PBS pH 7.4 和 1mM EDTA 的再氧化缓冲液中, 以移除所有过量的还原剂。添加脱氢抗坏血酸 (DHAA, 15 摩尔当量/抗体, 9 微摩尔, 0.18mL, 50mM) 在 DMSO 中的 50mM 溶液并且使再氧化混合物在室温、温和 (60rpm) 振荡下在 ~3.0mg/mL 的抗体浓度下反应 16 小时 (或直到通过 UHPLC 观察到半胱氨酸巯基全部再氧化以重新形成链间半胱氨酸二硫化物)。将再氧化混合物在 4000rpm 下离心 3min, 然后使用 0.22 $\mu$ m 膜过滤器无菌过滤。将化合物 2 以 DMSO 溶液 (10 摩尔当量/抗体, 1.2 微摩尔, 在 0.58mL DMSO 中) 的形式添加到 7mL 的这一再氧化的抗体溶液 (18mg, 0.12 微摩尔) 中, 实现 10% (v/v) 最终 DMSO 浓度。将溶液在 +25°C 下振荡 3 小时, 然后用 N-乙酰基半胱氨酸 (6 微摩尔, 0.06mL, 100mM) 淬灭缀合。

[2139] 使用 50kDa MWC0 vivaspin 通过自旋过滤器将过量游离药物移除到含有 PBS pH 7.4 的缓冲液中。使用纯净缀合物通过 UHPLC-RP 监测游离药物移除的程度。在游离药物完全移除后, 使用 0.22 $\mu$ m Mustang 过滤器在无菌气氛下过滤 ADC, 并且接着储存于 +4°C。

[2140] 通过 Shimadzu Prominence 系统, 使用 Phenomenex Aeris 3.6 $\mu$  XB-C18 150 $\times$ 2.1mm 柱 (用水和乙腈的梯度进行洗脱) 对缀合物的还原样品在 214nm 和 330nm 处 (化合物 2 特异性) 进行的 UHPLC 分析表明, 连接于若干分子化合物 2 的轻链和重链的混合物与 1.78 分子化合物 2/抗体的药物/抗体比率 (DAR) 一致。

[2141] 在 Shimadzu Prominence 系统上, 使用 Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 $\mu$ m 4.6 $\times$ 150mm 柱 (具有 4 $\mu$ m 3.0 $\times$ 20mm 保护柱), 用含有 200mM 磷酸钾 pH 6.95、250mM 氯化钾和 10% 异丙醇 (v/v) 的 0.3 毫升/分钟无菌过滤的 SEC 缓冲液洗脱, 在 280nm 处对 Conj-HLL2-2 样品的 UHPLC 分析显示出大于 98% 的单体纯度。UHPLC SEC 分析给出最终 ADC 的浓度为在 8.0mL 中的 1.56mg/mL, 并且获得的 Conj-HLL2-2 质量是 12.5mg (69% 收率)。

## [2142] Conj-HLL2-3

[2143] 将二硫苏糖醇 (DTT) 在磷酸盐缓冲盐水 pH 7.4 (PBS) 中的 50mM 溶液添加 (80 摩尔当量/抗体, 53.3 微摩尔, 1.07mL, 50mM) 到抗体 HLL2 (100mg, 0.6 微摩尔) 在含有 PBS 和 1mM 乙二胺四乙酸 (EDTA) 的还原缓冲液中的最终抗体浓度为 5.0mg/mL 的 11.8mL 溶液中。在温和 (60rpm) 振荡下, 在轨道振荡器中, 将还原混合物在 +25°C 下加热 3.5 小时 (或直到通过 UHPLC 观察到完全还原)。冷却至室温之后, 使用 50KDa MWC0 vivaspin 通过自旋过滤器将还原的抗体缓冲液交换到含有 PBS pH 7.4 和 1mM EDTA 的再氧化缓冲液中, 以移除所有过量的还原剂。添加脱氢抗坏血酸 (DHAA, 15 摩尔当量/抗体, 9 微摩尔, 0.18mL, 50mM) 在 DMSO 中的 50mM 溶液并且使再氧化混合物在室温、温和 (60rpm) 振荡下在 ~3.0mg/mL 的抗体浓度下反应 16 小时 (或直到通过 UHPLC 观察到半胱氨酸巯基全部再氧化以重新形成链间半胱氨酸二硫化物)。将再氧化混合物在 4000rpm 下离心 3min, 然后使用 0.22 $\mu$ m 膜过滤器无菌过滤。将化合物 3 以 DMSO 溶液 (10 摩尔当量/抗体, 1.2 微摩尔, 在 0.58mL DMSO 中) 的形式添加到 7mL 的这一再氧化的抗体溶液 (18mg, 0.12 微摩尔) 中, 实现 10% (v/v) 最终 DMSO 浓度。将溶液在 +25°C 下振

荡3小时,然后用N-乙酰基半胱氨酸(6微摩尔,0.06mL,100mM)淬灭缀合。

[2144] 使用50kDa MWC0 vivaspin通过自旋过滤器将过量游离药物移除到含有PBS pH 7.4的缓冲液中。使用纯净缀合物通过UHPLC-RP监测游离药物移除的程度。在游离药物完全移除后,使用0.22 $\mu$ m Mustang过滤器在无菌气氛下过滤ADC,并且接着储存于+4 $^{\circ}$ C。

[2145] 通过Shimadzu Prominence系统,使用Phenomenex Aeris 3.6 $\mu$  XB-C18 150 $\times$  2.1mm柱(用水和乙腈的梯度进行洗脱)对缀合物的还原样品在214nm和330nm处(化合物3特异性)进行的UHPLC分析表明,连接于若干分子化合物3的轻链和重链的混合物与1.79分子化合物3/抗体的药物/抗体比率(DAR)一致。

[2146] 在Shimadzu Prominence系统上,使用Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 $\mu$ m 4.6 $\times$  150mm柱(具有4 $\mu$ m 3.0 $\times$  20mm保护柱),用含有200mM磷酸钾pH 6.95、250mM氯化钾和10%异丙醇(v/v)的0.3毫升/分钟无菌过滤的SEC缓冲液洗脱,在280nm处对Conj-HLL2-3样品的UHPLC分析显示出大于98%的单体纯度。UHPLC SEC分析给出最终ADC的浓度为在8.2mL中的1.73mg/mL,并且获得的Conj-HLL2-3质量是14.2mg(79%收率)。

[2147] Conj-CD79b-1

[2148] 将二硫苏糖醇(DTT)在磷酸盐缓冲盐水pH 7.4(PBS)中的50mM溶液添加(80摩尔当量/抗体,53.6微摩尔,1.07mL,50mM)到抗体CD79b(100mg,0.67微摩尔)在含有PBS和1mM乙二胺四乙酸(EDTA)的还原缓冲液中的最终抗体浓度为4.0mg/mL的13.9mL溶液中。在温和(60rpm)振荡下,在轨道振荡器中,将还原混合物在+25 $^{\circ}$ C下加热4小时(或直到通过UHPLC观察到完全还原)。冷却至室温之后,使用50KDa MWC0 vivaspin通过自旋过滤器将还原的抗体缓冲液交换到含有PBS pH 7.4和1mM EDTA的再氧化缓冲液中,以移除所有过量的还原剂。添加脱氢抗坏血酸(DHAA,15摩尔当量/抗体,9微摩尔,0.18mL,50mM)在DMSO中的50mM溶液并且使再氧化混合物在室温、温和(60rpm)振荡下在 $\sim$ 2.0mg/mL的抗体浓度下反应16小时(或直到通过UHPLC观察到半胱氨酸巯基全部再氧化以重新形成链间半胱氨酸二硫化物)。将再氧化混合物在4000rpm下离心3min,然后使用0.22 $\mu$ m膜过滤器无菌过滤。将化合物1以DMSO溶液(10摩尔当量/抗体,1.2微摩尔,在1.0mL DMSO中)的形式添加到9.0mL的这一再氧化的抗体溶液(18mg,0.12微摩尔)中,实现10%(v/v)最终DMSO浓度。将溶液在+25 $^{\circ}$ C下振荡2小时,然后用N-乙酰基半胱氨酸(4.8微摩尔,0.048mL,100mM)淬灭缀合。

[2149] 使用50kDa MWC0 vivaspin通过自旋过滤器将过量游离药物移除到含有PBS pH 7.4的缓冲液中。使用纯净缀合物通过UHPLC-RP监测游离药物移除的程度。在游离药物完全移除后,使用0.22 $\mu$ m Mustang过滤器在无菌气氛下过滤ADC,并且接着储存于+4 $^{\circ}$ C。

[2150] 通过Shimadzu Prominence系统,使用Phenomenex Aeris 3.6 $\mu$  XB-C18 150 $\times$  2.1mm柱(用水和乙腈的梯度进行洗脱)对缀合物的还原样品在214nm和330nm处(化合物1特异性)进行的UHPLC分析表明,连接于若干分子化合物1的轻链和重链的混合物与1.90分子化合物1/抗体的药物/抗体比率(DAR)一致。

[2151] 在Shimadzu Prominence系统上,使用Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 $\mu$ m 4.6 $\times$  150mm柱(具有4 $\mu$ m 3.0 $\times$  20mm保护柱),用含有200mM磷酸钾pH 6.95、250mM氯化钾和10%异丙醇(v/v)的0.3毫升/分钟无菌过滤的SEC缓冲液洗脱,在280nm处对Conj-CD79b-1样品的UHPLC分析显示出大于98%的单体纯度。UHPLC SEC分析给出最终ADC的浓度为在7.85mL中的2.00mg/mL,并且获得的Conj-CD79b-1质量是15.7mg(79%收率)。



## [2152] Conj-CD79b-2

[2153] 将二硫苏糖醇 (DTT) 在磷酸盐缓冲盐水 pH 7.4 (PBS) 中的 50mM 溶液添加 (80 摩尔当量/抗体, 53.6 微摩尔, 1.07mL, 50mM) 到抗体 CD79b (100mg, 0.67 微摩尔) 在含有 PBS 和 1mM 乙二胺四乙酸 (EDTA) 的还原缓冲液中的最终抗体浓度为 4.0mg/mL 的 13.9mL 溶液中。在温和 (60rpm) 振荡下, 在轨道振荡器中, 将还原混合物在 +25°C 下加热 4 小时 (或直到通过 UHPLC 观察到完全还原)。冷却至室温之后, 使用 50kDa MWC0 vivaspin 通过自旋过滤器将还原的抗体缓冲液交换到含有 PBS pH 7.4 和 1mM EDTA 的再氧化缓冲液中, 以移除所有过量的还原剂。添加脱氢抗坏血酸 (DHAA, 15 摩尔当量/抗体, 9 微摩尔, 0.18mL, 50mM) 在 DMSO 中的 50mM 溶液并且使再氧化混合物在室温、温和 (60rpm) 振荡下在 ~2.0mg/mL 的抗体浓度下反应 16 小时 (或直到通过 UHPLC 观察到半胱氨酸巯基全部再氧化以重新形成链间半胱氨酸二硫化物)。将再氧化混合物在 4000rpm 下离心 3min, 然后使用 0.22 $\mu$ m 膜过滤器无菌过滤。将化合物 2 以 DMSO 溶液 (10 摩尔当量/抗体, 1.2 微摩尔, 在 1.0mL DMSO 中) 的形式添加到 9.0mL 的这一再氧化的抗体溶液 (18mg, 0.12 微摩尔) 中, 实现 10% (v/v) 最终 DMSO 浓度。将溶液在 +25°C 下振荡 2 小时, 然后用 N-乙酰基半胱氨酸 (4.8 微摩尔, 0.048mL, 100mM) 淬灭缀合。

[2154] 使用 50kDa MWC0 vivaspin 通过自旋过滤器将过量游离药物移除到含有 PBS pH 7.4 的缓冲液中。使用纯净缀合物通过 UHPLC-RP 监测游离药物移除的程度。在游离药物完全移除后, 使用 0.22 $\mu$ m Mustang 过滤器在无菌气氛下过滤 ADC, 并且接着储存于 +4°C。

[2155] 通过 Shimadzu Prominence 系统, 使用 Phenomenex Aeris 3.6 $\mu$  XB-C18 150 $\times$ 2.1mm 柱 (用水和乙腈的梯度进行洗脱) 对缀合物的还原样品在 214nm 和 330nm 处 (化合物 2 特异性) 进行的 UHPLC 分析表明, 连接于若干分子化合物 2 的轻链和重链的混合物与 1.87 分子化合物 2/抗体的药物/抗体比率 (DAR) 一致。

[2156] 在 Shimadzu Prominence 系统上, 使用 Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 $\mu$ m 4.6 $\times$ 150mm 柱 (具有 4 $\mu$ m 3.0 $\times$ 20mm 保护柱), 用含有 200mM 磷酸钾 pH 6.95、250mM 氯化钾和 10% 异丙醇 (v/v) 的 0.3 毫升/分钟无菌过滤的 SEC 缓冲液洗脱, 在 280nm 处对 Conj-CD79b-2 样品的 UHPLC 分析显示出大于 98% 的单体纯度。UHPLC SEC 分析给出最终 ADC 的浓度为在 5.9mL 中的 2.25mg/mL, 并且获得的 Conj-CD79b-2 质量是 13.3mg (66% 收率)。

## [2157] Conj-1C1-1

[2158] 将二硫苏糖醇 (DTT) 在磷酸盐缓冲盐水 pH 7.4 (PBS) 中的 50mM 溶液添加 (80 摩尔当量/抗体, 75 微摩尔, 1.5mL, 50mM) 到抗体 1C1 (140mg, 0.93 微摩尔) 在含有 PBS 和 1mM 乙二胺四乙酸 (EDTA) 的还原缓冲液中的最终抗体浓度为 5.0mg/mL 的 26.4mL 溶液中。在温和 (60rpm) 振荡下, 在轨道振荡器中, 将还原混合物在 +25°C 下加热 3.5 小时 (或直到通过 UHPLC 观察到完全还原)。冷却至室温之后, 使用 50kDa MWC0 vivaspin 通过自旋过滤器将还原的抗体缓冲液交换到含有 PBS pH 7.4 和 1mM EDTA 的再氧化缓冲液中, 以移除所有过量的还原剂。添加脱氢抗坏血酸 (DHAA, 15 摩尔当量/抗体, 14 微摩尔, 0.28mL, 50mM) 在 DMSO 中的 50mM 溶液并且使再氧化混合物在室温、温和 (60rpm) 振荡下在 ~3.0mg/mL 的抗体浓度下反应 16 小时 (或直到通过 UHPLC 观察到半胱氨酸巯基全部再氧化以重新形成链间半胱氨酸二硫化物)。将再氧化混合物在 4000rpm 下离心 3min, 然后使用 0.22 $\mu$ m 膜过滤器无菌过滤。将化合物 1 以 DMSO 溶液 (10 摩尔当量/抗体, 1.3 微摩尔, 在 0.6mL DMSO 中) 的形式添加到 6mL 的这一再氧化的抗体溶液 (20mg, 0.133 微摩尔) 中, 实现 10% (v/v) 最终 DMSO 浓度。将溶液在 +25°C 下振荡 4 小

时,然后用N-乙酰基半胱氨酸(6.65微摩尔,0.067mL,100mM)淬灭缀合。

[2159] 使用50kDa MWC0 vivaspin通过自旋过滤器将过量游离药物移除到含有PBS pH 7.4的缓冲液中。使用纯净缀合物通过UHPLC-RP监测游离药物移除的程度。在完全移除游离药物之后,缓冲液交换到25mM组氨酸、200mM蔗糖(pH 6.0)上。使用0.22 $\mu$ m Mustang过滤器在无菌气氛下过滤ADC并且接着储存于-78 $^{\circ}$ C。

[2160] 通过Shimadzu Prominence系统,使用Phenomenex Aeris 3.6u XB-C18 150 $\times$  2.1mm柱(用水和乙腈的梯度进行洗脱)对缀合物的还原样品在214nm和330nm处(化合物1特异性)进行的UHPLC分析表明,连接于若干分子化合物1的轻链和重链的混合物与1.86分子化合物1/抗体的药物/抗体比率(DAR)一致。

[2161] 在Shimadzu Prominence系统上,使用Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 $\mu$ m 4.6x 150mm柱(具有4 $\mu$ m 3.0x 20mm保护柱),用含有200mM磷酸钾pH 6.95、250mM氯化钾和10%异丙醇(v/v)的0.3毫升/分钟无菌过滤的SEC缓冲液洗脱,在280nm处对ADC样品的UHPLC分析显示出大于98%的单体纯度。UHPLC SEC分析给出最终ADC的浓度为在8.0mL中的1.49mg/mL,并且获得的ADC质量是11.9mg(60%收率)。

[2162] Conj-HER-1++(高DAR)

[2163] 将二硫苏糖醇(DTT)在磷酸盐缓冲盐水pH 7.4(PBS)中的50mM溶液添加(100摩尔当量/抗体,6.7微摩尔,0.13mL,50mM)到抗体(10mg,67纳摩尔)在含有PBS和1mM乙二胺四乙酸(EDTA)的还原缓冲液中的最终抗体浓度为2.0mg/mL的5mL溶液中。在温和(60rpm)振荡下,在轨道振荡器中,将所得混合物在+25 $^{\circ}$ C下温育过夜(或直到通过UHPLC观察到完全还原)。冷却至室温之后,使用50KDa MWC0 vivaspin通过自旋过滤器将还原的抗体缓冲液交换到含有PBS pH 7.4和1mM EDTA的缀合缓冲液中,以移除所有过量的还原剂。将化合物1以DMSO溶液(20摩尔当量/抗体,1.34微摩尔,在0.4mL DMSO中)的形式添加到4.0mL的这一还原的抗体溶液(10mg,67纳摩尔)中,实现10%(v/v)最终DMSO浓度。将溶液在+25 $^{\circ}$ C下振荡1小时,然后用过量的N-乙酰基半胱氨酸(6.7微摩尔,67 $\mu$ L,100mM)淬灭缀合。

[2164] 使用PBS pH 7.4缓冲液通过装配至AKTA Start仪器的制备型尺寸排阻柱(GE Sephadex 26/60)纯化所得的ADC。收集级分并且使用Shimadzu Prominence系统,使用Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 $\mu$ m 4.6x 150mm柱(具有4 $\mu$ m 3.0x 20mm保护柱),用含有200mM磷酸钾pH 6.95、250mM氯化钾和10%异丙醇(v/v)的0.3毫升/分钟无菌过滤的SEC缓冲液洗脱,在280nm处对单体含量进行分析。将单体含量>92%的级分汇集并且接着使用50kDa MWC0 vivaspin浓缩到含有PBS pH 7.4的缓冲液中。使用纯净缀合物通过UHPLC-RP监测游离药物移除的程度,并且在游离药物完全移除后,使用0.22 $\mu$ m Mustang过滤器在无菌气氛下过滤ADC,并且接着储存于+4 $^{\circ}$ C。

[2165] 通过Shimadzu Prominence系统,使用Phenomenex Aeris 3.6u XB-C18 150 $\times$  2.1mm柱(用水和乙腈的梯度进行洗脱)对缀合物的还原样品在214nm和330nm处(化合物1特异性)进行的UHPLC分析表明,连接于若干分子化合物1的轻链和重链的混合物与7.41分子化合物1/抗体的药物/抗体比率(DAR)一致。

[2166] 在Shimadzu Prominence系统上,使用Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 $\mu$ m 4.6x 150mm柱(具有4 $\mu$ m 3.0x 20mm保护柱),用含有200mM磷酸钾pH 6.95、250mM氯化钾和10%异丙醇(v/v)的0.3毫升/分钟无菌过滤的SEC缓冲液洗脱,在280nm处对ADC样

品的UHPLC分析显示出95%的单体纯度。UHPLC SEC分析给出最终ADC的浓度为在4.5mL中的1.44mg/mL,并且获得的ADC质量是6.5mg (65%收率)。

[2167] Conj-HER-1+ (中等DAR)

[2168] 将三(2-羧乙基)磷(TCEP)在磷酸盐缓冲盐水pH 7.4 (PBS) 中的10mM溶液添加(2摩尔当量/抗体,0.134微摩尔,13.3 $\mu$ L,10mM)到抗体(10mg,67纳摩尔)在含有PBS和1mM乙二胺四乙酸(EDTA)的还原缓冲液中的最终抗体浓度为2.5mg/mL的4mL溶液中。在温和(60rpm)振荡下,在轨道振荡器中,将还原混合物在+37 $^{\circ}$ C下加热2小时。化合物1作为DMSO溶液(15摩尔当量/抗体,1.0微摩尔,0.1mL的在0.3mL DMSO中的10mM)添加并且将所得混合物在+25 $^{\circ}$ C下振荡1.5小时并且接着用N-乙酰基半胱氨酸(5微摩尔,50 $\mu$ L,100mM)淬灭缀合。

[2169] 使用50kDa MWC0 vivaspin通过自旋过滤器将过量游离药物移除到含有PBS pH 7.4的缓冲液中。使用纯净缀合物通过UHPLC-RP监测游离药物移除的程度。在游离药物完全移除后,使用0.22 $\mu$ m Mustang过滤器在无菌气氛下过滤ADC,并且接着储存于+4 $^{\circ}$ C。

[2170] 通过Shimadzu Prominence系统,使用Phenomenex Aeris 3.6 $\mu$  XB-C18 150 $\times$ 2.1mm柱(用水和乙腈的梯度进行洗脱)对缀合物的还原样品在214nm和330nm处(化合物1特异性)进行的UHPLC分析表明,连接于若干分子化合物1的轻链和重链的混合物与4.2分子化合物1/抗体的药物/抗体比率(DAR)一致。

[2171] 在Shimadzu Prominence系统上,使用Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 $\mu$ m 4.6 $\times$ 150mm柱(具有4 $\mu$ m 3.0 $\times$ 20mm保护柱),用含有200mM磷酸钾pH 6.95、250mM氯化钾和10%异丙醇(v/v)的0.3毫升/分钟无菌过滤的SEC缓冲液洗脱,在280nm处对ADC样品的UHPLC分析显示出大于99%的单体纯度。UHPLC SEC分析给出最终ADC的浓度为在3.6mL中的2.05mg/mL,并且获得的ADC质量是7.36mg (74%收率)。

[2172] 实施例7-体外测试

[2173] MTS细胞毒性方法

[2174] 来自亚汇合(80-90%汇合)T75烧瓶的细胞的浓度和生存力通过台盼蓝染色进行测量并且使用LUNA-II<sup>TM</sup>自动细胞计算器进行计数。将细胞稀释至2 $\times$ 10<sup>5</sup>/ml,分配(50 $\mu$ l/孔)到96孔平底板中。

[2175] 通过将过滤灭菌的ADC稀释到细胞培养基中来制备待测试的抗体药物缀合物(ADC)(20 $\mu$ g/ml)的储备溶液(1ml)。通过连续转移100 $\mu$ l至900 $\mu$ l的细胞培养基中,在24孔板中进行储备ADC的一组8 $\times$ 10倍稀释。将ADC稀释液分配(50 $\mu$ l/孔)到96孔板的4个重复孔中,其含有先前接种的50 $\mu$ l细胞悬浮液。对照孔接收50 $\mu$ l细胞培养基。将含有细胞和ADC的96孔板在37 $^{\circ}$ C下在CO<sub>2</sub>充气的培养箱中温育,持续暴露时间。

[2176] 在温育期结束时,通过MTS测定来测量细胞生存力。将MTS (Promega) 分配(20 $\mu$ l每孔)到每个孔中并且在CO<sub>2</sub>充气的培养箱中在37 $^{\circ}$ C下温育4小时。测量在490nm处的孔吸光度。细胞存活百分比计算自在4个ADC处理孔中的平均吸光度,相比于在4个对照未处理孔中的平均吸光度(100%)。使用GraphPad Prism,使用非线性曲线拟合算法由剂量-反应数据确定IC<sub>50</sub>:具有可变斜率的西格摩德剂量-反应曲线。

[2177] ADC温育时间为SK-BR-3、MDA-MB-468、WSU-DLCL2和SU-DHL-4的4天,Granta-519的5天,BJAB的6天以及NCI-N87的7天。将MDA-MB-468、NCI-N87、WSU-DLCL2和SU-DHL-4培养在具有Glutamax+10%(v/v)HyClone<sup>TM</sup>胎牛血清的RPMI 1640中,将Granta-519培养在具有

10% (v/v) HyClone™胎牛血清的DMEM+Glutamax中,将SK-BR-3培养在具有10% (v/v) HyClone™胎牛血清的McCoy's 5A中并且将BJAB培养在具有20% (v/v) HyClone™胎牛血清的RPMI 1640+Glutamax中。

[2178] CellTiter-Glo细胞毒性方法

[2179] 来自亚汇合(80-90%汇合) T75烧瓶的细胞的浓度和生存力通过台盼蓝染色进行测量并且使用LUNA-II™自动细胞计算器进行计数。将细胞稀释并且以1500个细胞/孔(50μl悬浮液/孔)涂板到白色96孔平底板中。

[2180] 通过将过滤灭菌的ADC稀释到细胞培养基中来制备待测试的抗体药物缀合物(ADC)(20μg/ml)的储备溶液(1ml)。通过连续转移100μl至900μl的细胞培养基中,在24孔板中进行储备ADC的一组8x10倍稀释。将ADC稀释液分配(50μl/孔)到96孔板的4个重复孔中,其含有先前接种的50μl细胞悬浮液。对照孔接收50μl细胞培养基。将含有细胞和ADC的96孔板在37℃下在CO<sub>2</sub>充气的培养箱中温育,持续暴露时间。

[2181] 在温育期结束时,通过CellTiter-Glo测定来测量细胞生存力。CellTiter-Glo(Promega)以100μl/孔分配并振荡2min,之后在室温下稳定化10min。读取每个孔的发光。细胞存活百分比计算自在4个ADC处理孔中的平均吸光度,相比于在4个对照未处理孔中的平均吸光度(100%)。使用GraphPad Prism,使用非线性曲线拟合算法由剂量-反应数据确定IC<sub>50</sub>:具有可变斜率的西格摩德剂量-反应曲线。

[2182] PC-3的ADC温育时间为6天。在具有Glutamax+10% (v/v) HyClone™胎牛血清的RPMI 1640中培养PC-3。

[2183] 结果

EC <sub>50</sub> (μg/mL)	SU-DHL-4	GRANTA-519	BJAB	WSU-DLCL2
Conj-CD79b-1	1.216	49.69	0.2211	>100
Conj-CD79b-2	0.4781	0.1124	0.005712	0.7559
Conj-R347-2	>10			

[2185] 细胞系SU-DHL-4、GRANTA519、BJAB和WSU-DL-CL2均表达CD79b。

EC <sub>50</sub> (μg/mL)	SK-BR-3	NCI-N87	MDA-MB-468
Conj-Her-1	0.06953	0.9677	3.492
Conj-Her-3	0.0175	0.02502	2.322
Conj-Her-2	0.07427	0.08078	0.9533
Conj-HER-1++		0.1108	12.18
Conj-HER-1+		0.3226	>10

[2187] 细胞系SK-BR-3和NCI-N87表达Her2。细胞系MDA-MB-468不表达HER2。

EC <sub>50</sub> (μg/mL)	PC-3
Conj-1C1-1	0.5408
Conj-R347-1	>100

Conj-1C1-1	0.5408
Conj-R347-1	>100

[2190] 实施例8-体内测定

[2191] (i) Daudi

[2192] 测试缀合物:Conj-HLL2-1;Conj-HLL2-2;Conj-HLL2-3

[2193] 将十周龄的雌性CB.17SCID小鼠在右侧腹部皮下注射0.1ml的 $1 \times 10^7$ 个Daudi细胞。当肿瘤达到100–150mm<sup>3</sup>的平均尺寸时,开始治疗。每周称重小鼠两次。每周测量肿瘤尺寸两次。单独地监测动物。实验的终点是肿瘤体积达到1500mm<sup>3</sup>或60天,以先到者为准。

[2194] 对10只异种移植小鼠的组静脉内注射0.2ml/20g体重的在磷酸盐缓冲盐水(媒介物)中的抗体药物缀合物(ADC),或注射单独的0.2ml/20g体重的媒介物。

[2195] 调节ADC的浓度以给出以下剂量:

缀合物	剂量(mg ADC/kg体重)
Conj-HLL2-1	0.6或1.8
Conj-HLL2-2	0.3或1
Conj-HLL2-3	0.1或0.3

[2197] 所有方案可接受地耐受,重量损失很少。

[2198] Conj-HLL2-1:媒介物治疗对照的中值终点时间(TTE)为27.8天,从而对于60天的研究确立了32.2天(116%)的最大可能肿瘤生长延迟(TGD)。在第28天记录了一例非治疗相关死亡,并且将该动物从分析中排除。

[2199] 0.6mg/kg方案导致48.1天(73%)的TGD,其与对照相比是统计学显著的( $p < 0.001$ )。此外,此方案具有由两个部分消退和三个完全消退组成的九分之五59-消退反应。六只动物达到1500mm<sup>3</sup>终点,在60天后剩余3只存活者。三只存活者具有221mm<sup>3</sup>的平均肿瘤体积。存在一例非治疗相关死亡并且该动物从分析中排除。

[2200] 1.8mg/kg方案导致最大可能的显著TGD(相对于对照, $p < 0.001$ ),具有十个60天存活者中的八个并且产生统计学上显著( $p < 0.001$ )不同于媒介物治疗的对照的存活益处。八只动物显示出完全消退反应。这些动物中的五只在60天后是无瘤的。

[2201] 相比于对照,两种治疗方案均产生统计学上显著的存活益处(对于0.6和1.8mg/ml, $p < 0.001$ )。

[2202] Conj-HLL2-2:媒介物治疗对照的中值终点时间(TTE)为27.8天,从而对于60天的研究确立了32.2天(116%)的最大可能肿瘤生长延迟(TGD)。

[2203] 0.3和1mg/kg方案均导致最大可实现TGD(32.2天,116%)。与对照相比,这些结果均是统计学显著的(对于每种方案, $p < 0.001$ )。

[2204] 百分之八十的0.3mg/kg治疗动物表现出由两个部分反应和六个完全反应组成的消退反应,其中的四只在研究结束时仍保持无瘤。在研究结束时,四只0.3mg/kg治疗动物达到肿瘤体积终点,剩余六只研究存活者无瘤。

[2205] 百分之百的1mg/kg治疗动物显示出消退反应并且所有动物在第60天是无瘤的。

[2206] 两种治疗方案均导致相对于对照显著的总体存活差异(对照相对于0.3或1mg/kg, $p < 0.0001$ )。

[2207] Conj-HLL2-3:媒介物治疗对照的中值终点时间(TTE)为27.8天,从而对于60天的研究确立了32.2天(116%)的最大可能肿瘤生长延迟(TGD)。

[2208] 0.1和0.3mg/kg方案导致12.9天(46%)和24.6天(88%)的TGD。与对照相比,这些结果均是统计学显著的(对于每种方案, $p < 0.001$ )。

[2209] 在用0.1mg/ml方案治疗的动物中观察到百分之三十的消退反应,具有三个部分反应。该组中的所有动物到第60天均达到肿瘤体积终点。

[2210] 百分之七十的0.3mg/kg治疗动物表现出由三个部分反应和四个完全反应组成的消退反应,其中的一只在研究结束时仍保持无瘤。在研究结束时,四只0.3mg/kg治疗动物达到肿瘤体积终点,剩余六只研究存活者无瘤。在研究结束时,该组中的七只动物达到肿瘤体积终点,剩余具有750mm<sup>3</sup>的MTV的三只60天存活者。

[2211] 两种治疗方案均导致相对于对照显著的总体存活差异(对照相对于0.1或0.13mg/kg,  $p < 0.0001$ )。

[2212] (ii) JIMT-1

[2213] 测试缀合物:Conj-Her-3

[2214] 将10周龄的雌性CB.17SCID小鼠在右侧腹部皮下注射0.1ml的在50%Matrigel中的 $1 \times 10^7$ 个JIMT-1细胞。当肿瘤达到100-150mm<sup>3</sup>的平均尺寸时,开始治疗。每周称重小鼠两次。每周测量肿瘤尺寸两次。单独地监测动物。实验的终点是肿瘤体积达到1000mm<sup>3</sup>或59天,以先到者为准。

[2215] 对10只异种移植小鼠的组静脉内注射0.2ml/20g体重的在磷酸盐缓冲盐水(媒介物)中的抗体药物缀合物(ADC),或注射单独的0.2ml/20g体重的媒介物。调节ADC的浓度以单剂量给出1或3mg ADC/kg体重。

[2216] 所有方案可接受地耐受,重量损失很少。媒介物治疗对照的中值终点时间(TTE)为48.4天,从而对于59天的研究确立了10.6天(22%)的最大可能肿瘤生长延迟(TGD)。

[2217] 观察到剂量依赖效应,其中在接受1mg/kg剂量的动物中,中值肿瘤体积保持静止直至第34天,接着在之后进展,而对于用3mg/kg治疗的动物,肿瘤尺寸少量降低至81mm<sup>3</sup>的MTV。相对于对照组,两种给药方案均导致10.6天的最大TGD(22%) (对于两个治疗组,  $p < 0.001$ )。

[2218] 1mg/kg方案导致具有650mm<sup>3</sup>的MTV且没有客观消退反应的九只研究存活者。

[2219] 3mg/kg方案导致具有由两个部分反应组成的20%客观消退反应的九只研究存活者。研究存活者的MTV为108mm<sup>3</sup>。治疗方案彼此之间没有显著差异( $p > 0.05$ )。

[2220] 两种治疗方案均导致相对于对照显著的总体存活差异(对照相对于1或3mg/kg,  $p < 0.0001$ )。

[2221] (iii) NCI-N87

[2222] 测试缀合物:Conj-Her-3

[2223] 将十周龄的雌性CB.17SCID小鼠在右侧腹部皮下注射0.1ml的在50%Matrigel中的 $1 \times 10^7$ 个NCI-N87细胞。当肿瘤达到100-150mm<sup>3</sup>的平均尺寸时,开始治疗。每周称重小鼠两次。每周测量肿瘤尺寸两次。单独地监测动物。实验的终点是肿瘤体积达到800mm<sup>3</sup>或81天,以先到者为准。

[2224] 对10只异种移植小鼠的组静脉内注射0.2ml/20g体重的在磷酸盐缓冲盐水(媒介物)中的抗体药物缀合物(ADC),或注射单独的0.2ml/20g体重的媒介物。调节ADC的浓度以单剂量给出0.3或1mg ADC/kg体重。

[2225] 所有方案可接受地耐受,重量损失很少。十个对照肿瘤中的六个达到800mm<sup>3</sup>,到达终点的时间(TTE)在36.8天至81.0天的范围内。媒介物治疗对照的中值终点时间(TTE)为77天,从而对于81天的研究确立了4天(5%)的最大可能肿瘤生长延迟(TGD)。四只对照动物存活并且中值肿瘤体积(MTV)为696mm<sup>3</sup>。

[2226] 0.3和1mg/kg方案分别导致0.5天(1%)和4.0天(5%)的TGD。这些结果与对照,而不是彼此相比没有统计学显著性( $p>0.05$ )。在每组中均未记录到客观消退。两组中五只0.3mg/kg和七只1mg/kg治疗动物以550mm<sup>3</sup>的MTV存活。

[2227] 相比于对照,每个治疗方案均不导致统计学显著的存活益处(对于两个治疗组, $p>0.05$ ),并且在治疗组之间不存在显著差异( $p>0.05$ )。

[2228] (iv) NCI-N87

[2229] 测试缀合物:Conj-Her-1、Conj-Her-3

[2230] 将八周龄的雌性CB.17SCID小鼠在右侧腹部皮下注射0.1ml的在50%Matrigel中的 $1 \times 10^7$ 个NCI-N87细胞。当肿瘤达到100-150mm<sup>3</sup>的平均尺寸时,开始治疗。每周称重小鼠两次。每周测量肿瘤尺寸两次。单独地监测动物。实验的终点是肿瘤体积达到800mm<sup>3</sup>或78天,以先到者为准。

[2231] 对10只异种移植小鼠的组静脉内注射0.2ml/20g体重的在磷酸盐缓冲盐水(媒介物)中的抗体药物缀合物(ADC),或注射单独的0.2ml/20g体重的媒介物。

[2232] 调节ADC的浓度以给出以下剂量:

缀合物	剂量(mg ADC/kg体重)
Conj-Her-1	1、3或6
Conj-Her-3	0.3、1和3

[2234] 所有方案可接受地耐受,重量损失很少。

[2235] Conj-Her-1:媒介物治疗对照的中值终点时间(TTE)为42天,从而对于60天的研究确立了36天(86%)的最大可能肿瘤生长延迟(TGD)。

[2236] 0.6和1mg/kg方案分别导致9.9天(24%)和11.6天(28%)的TGD。与对照相比,这些结果均不是统计学显著的( $p>0.05$ )。两组中的所有动物均达到800mm<sup>3</sup>终点。

[2237] 6mg/kg方案导致最大可能的显著TGD(相对于对照, $p<0.001$ ),具有十个60天存活者中的八个并且产生统计学上显著( $p<0.0001$ )不同于媒介物治疗的对照的存活益处。一只动物在第78天达到800mm<sup>3</sup>终点,剩余具有550mm<sup>3</sup>的平均肿瘤体积的九只存活者。

[2238] 利用1、3或6mg/kg方案没有可观察到的消退反应。

[2239] Conj-Her-3:媒介物治疗对照的中值终点时间(TTE)为42.0天,从而对于78天的研究确立了36.0天(86%)的最大可能肿瘤生长延迟(TGD)。

[2240] 0.3、1和3mg/kg的TGD分别为15.1天(36%)、30.6天(73%)和36.0天(86%)。1和3mg/kg相对于对照具有显著差异(对于两个治疗组, $p<0.001$ ,但对于0.3mg/kg并非如此( $p>0.05$ ))。在用0.3和1mg/kg ADC治疗的动物中未观察到消退反应。在3mg/kg治疗的动物中观察到百分之九十的消退反应。这由八个部分反应和一个完全反应组成,其在研究结束时仍保持无瘤。用0.3mg/kg治疗的所有动物均达到800mm<sup>3</sup>终点。五只1mg/kg治疗动物达到终点,剩余五只78天存活者。这些存活者具有486mm<sup>3</sup>的MTV。全部十只3mg/kg治疗动物在研究中以63mm<sup>3</sup>的MTV存活。

[2241] 1和3mg/kg方案相对于对照导致显著的存活差异(对于两个治疗组, $p<0.001$ )。0.3mg/kg治疗组与对照相比不是统计学显著的( $p>0.05$ )。1和3mg/kg治疗均显著不同于0.3mg/kg组(分别为 $p<0.001$ 和 $p<0.0001$ )。

[2242] (v) NCI-N87

[2243] 测试缀合物:Conj-Her-2

[2244] 将八周龄的雌性CB.17SCID小鼠在右侧腹部皮下注射0.1ml的在50%Matrigel中的 $1 \times 10^7$ 个NCI-N87细胞。当肿瘤达到100-150mm<sup>3</sup>的平均尺寸时,开始治疗。每周称重小鼠两次。每周测量肿瘤尺寸两次。单独地监测动物。实验的终点是肿瘤体积达到800mm<sup>3</sup>或79天,以先到者为准。

[2245] 对10只异种移植小鼠的组静脉内注射0.2ml/20g体重的在磷酸盐缓冲盐水(媒介物)中的抗体药物缀合物(ADC),或注射单独的0.2ml/20g体重的媒介物。调节ADC的浓度以单剂量给出1或2mg ADC/kg体重。

[2246] 所有方案可接受地耐受,重量损失很少。媒介物治疗对照的中值终点时间(TTE)为49.6天,从而对于79天的研究确立了29.4天(59%)的最大可能肿瘤生长延迟(TGD)。

[2247] 1和2mg/kg方案分别导致7.6天(15%)和23.6天(48%)的TGD。与对照相比,这些结果均是统计学显著的(分别为 $p < 0.05$ 和 $p < 0.001$ )。

[2248] 用1mg/kg方案治疗的八只动物达到800mm<sup>3</sup>终点,剩余具有694mm<sup>3</sup>的MTV的两只79天存活者。2mg/ml治疗组中的七只动物到第79天达到肿瘤体积终点,剩余具有600mm<sup>3</sup>的MTV的三只研究结束存活者。

[2249] 两种治疗方案均导致相对于对照显著的总体存活差异(对照相对于1mg/kg, $p < 0.05$ ;对照相对于2mg/kg, $p < 0.001$ )。

[2250] 利用任一方案均未记录到消退反应。

[2251] (vi) NCI-N87

[2252] 测试缀合物:Conj-Her-1、Conj-Her-1++

[2253] 将八周龄的雌性CB.17SCID小鼠在右侧腹部皮下注射0.1ml的在50%Matrigel中的 $1 \times 10^7$ 个NCI-N87细胞。当肿瘤达到100-150mm<sup>3</sup>的平均尺寸时,开始治疗。每周称重小鼠两次。每周测量肿瘤尺寸两次。单独地监测动物。实验的终点是肿瘤体积达到800mm<sup>3</sup>或81天,以先到者为准。

[2254] 对10只异种移植小鼠的组静脉内注射0.2ml/20g体重的在磷酸盐缓冲盐水(媒介物)中的抗体药物缀合物(ADC),或注射单独的0.2ml/20g体重的媒介物。

[2255] 调节ADC的浓度以给出以下剂量:

缀合物	剂量 (mg ADC/kg体重)
Conj-Her-1	6、18、6 (qwk x 3)、8 (qwk x 3)
Conj-Her-1++	6

[2257] 所有方案可接受地耐受,重量损失很少。

[2258] 媒介物治疗对照的中值终点时间(TTE)为40.2天,从而对于80天的研究确立了40天(86%)的最大可能肿瘤生长延迟(TGD)。

[2259] Conj-Her-1:6mg/kg和18mg/kg单剂量方案导致最大可能肿瘤生长延迟。在6mg/kg单剂量方案中,5只小鼠的平均肿瘤体积为600mm<sup>3</sup>,没有可观察到的消退反应。在18mg/kg单剂量方案中,存在具有36mm<sup>3</sup>的平均肿瘤体积的十只存活者。存在4个部分消退和6个完全消退。

[2260] 6和8mg/kg三次周剂量方案(three weekly dose regimen)也导致最大可能肿瘤生长延迟。在6mg/kg三次周剂量方案中,研究结束时9只小鼠的平均肿瘤体积为245mm<sup>3</sup>,具



有两个部分消退。在8mg/kg三次周剂量方案中,存在具有92mm<sup>3</sup>的平均肿瘤体积的十只存活者。存在7个部分消退、3个完全消退和2个无瘤存活者。

[2261] Conj-Her-1++:6mg/kg单剂量方案导致最大可能肿瘤生长延迟。存在具有161mm<sup>3</sup>的平均肿瘤体积的十只存活者。存在5个部分消退、5个完全消退和2个无瘤存活者。

[2262] (vii) NCI-N87

[2263] 测试缀合物:Conj-Her-1、Conj-Her1+、Conj-Her-1++

[2264] 将八周龄的雌性CB.17SCID小鼠在右侧腹部皮下注射0.1ml的在50%Matrigel中的1x 10<sup>7</sup>个NCI-N87细胞。当肿瘤达到100-150mm<sup>3</sup>的平均尺寸时,开始治疗。每周称重小鼠两次。每周测量肿瘤尺寸两次。单独地监测动物。实验的终点是肿瘤体积达到800mm<sup>3</sup>或83天,以先到者为准。

[2265] 对10只异种移植小鼠的组静脉内注射0.2ml/20g体重的在磷酸盐缓冲盐水(媒介物)中的抗体药物缀合物(ADC),或注射单独的0.2ml/20g体重的媒介物。

[2266] 调节ADC的浓度以给出以下剂量:

缀合物	剂量 (mg ADC/kg体重)
Conj-Her-1	6,18
Conj-Her-1+	3,6
Conj-Her-1++	1.5,3

[2268] 所有方案可接受地耐受,重量损失很少。

[2269] 媒介物治疗对照的中值终点时间(TTE)为36.8天,从而对于80天的研究确立了46.2天(126%)的最大可能肿瘤生长延迟(TGD)。

[2270] Conj-Her-1:6和18mg/kg方案导致45.9天(125%)和46.2天(126%)的肿瘤生长延迟。在6mg/kg方案中,4只小鼠的平均肿瘤体积为564mm<sup>3</sup>,没有可观察到的消退反应。在18mg/kg方案中,存在具有108mm<sup>3</sup>的平均肿瘤体积的九只存活者。存在9个部分消退和1个完全消退。

[2271] Conj-Her-1++:1.5和3mg/kg方案导致45.9天(125%)和46.2天(126%)的肿瘤生长延迟。在1.5mg/kg方案中,存在具有634mm<sup>3</sup>的平均肿瘤体积的两只存活者。在3mg/kg方案中,存在具有451mm<sup>3</sup>的平均肿瘤体积的十只存活者。

[2272] Conj-Her-1+:3和6mg/kg方案导致46.2天(126%)的最大肿瘤生长延迟。在3mg/kg方案中,存在具有600mm<sup>3</sup>的平均肿瘤体积的七只存活者。在6mg/kg方案中,存在具有256mm<sup>3</sup>的平均肿瘤体积的十只存活者。存在两个部分消退。

[2273] (viii) JIMT1

[2274] 测试缀合物:Conj-Her-1、Conj-Her-1++

[2275] 将八周龄的雌性CB.17SCID小鼠在右侧腹部皮下注射0.1ml的在50%Matrigel中的1x 10<sup>7</sup>个JIMT1细胞。当肿瘤达到100-150mm<sup>3</sup>的平均尺寸时,开始治疗。每周称重小鼠两次。每周测量肿瘤尺寸两次。单独地监测动物。实验的终点是肿瘤体积达到1000mm<sup>3</sup>或60天,以先到者为准。

[2276] 对10只异种移植小鼠的组静脉内注射0.2ml/20g体重的在磷酸盐缓冲盐水(媒介物)中的抗体药物缀合物(ADC),或注射单独的0.2ml/20g体重的媒介物。

[2277] 调节ADC的浓度以给出以下剂量:

[2278]	缀合物	剂量 (mg ADC/kg体重)
	Conj-Her-1	18,24
	Conj-Her-1++	4,6,8

[2279] 所有方案可接受地耐受,重量损失很少。

[2280] 媒介物治疗对照的中值终点时间 (TTE) 为37.5天,从而对于60天的研究确立了22.5天 (60%) 的最大可能肿瘤生长延迟 (TGD)。

[2281] Conj-Her-1:18和24mg/kg方案导致5.3天 (14%) 和3.2天 (9%) 的肿瘤生长延迟。在18mg/kg方案中,所有动物达到1000mm<sup>3</sup>终点。在24mg/kg方案中,存在具有968mm<sup>3</sup>的肿瘤体积的单只存活者。相对于对照,两个方案均导致显著的总体存活差异 (P<0.01)。

[2282] Conj-Her-1++:4,6和8mg/kg方案导致4.4天 (12%)、6.9天 (18%) 和17.7天 (47%) 的肿瘤生长延迟。在4mg/kg方案中,所有动物达到1000mm<sup>3</sup>终点。在6mg/kg方案中,存在具有650mm<sup>3</sup>的肿瘤体积的单只存活者。在8mg/kg方案中,存在具有847mm<sup>3</sup>的肿瘤体积的单只存活者。相对于对照,所有方案均导致显著的总体存活差异 (P<0.01)。

[2283] 实施例9-毒理学测定

[2284] 使用单剂量非GLP毒性研究来确定测试ADC的最大耐受剂量 (MTD) 和安全性特征,所述测试ADC为:Conj-R347-1;Conj-R347-2;Conj-R347-3。

[2285] 通过经由尾静脉静脉内缓慢浓注对雄性Sprague Dawley大鼠 (Envigo, Inc) 给药一次ADC。用于稀释的媒介物为25mM组氨酸-HCl、7%蔗糖、0.02%聚山梨酸酯80, pH 6.0。在研究期间评估的参数包括死亡率、身体检查、笼侧观察、体重、体重变化、临床病理学 (临床化学、血液学以及凝固), 以及粗略病理学发现。在研究日 (SD) 29将所有动物杀死。

[2286] Conj-R347-1

[2287]	<b>组</b>	<b>剂量(mg/kg)</b>	<b>N</b>
	2	5	5

[2288]	4	7	5
	6	10	5
	8	16	5
	10	20	5
	12	25	5

[2289] 耐受性基于毒性终点确定,包括血液学参数的轻微降低、微观评估和骨髓抑制。基于接受最高剂量的动物中的微观变化,单剂量之后的大鼠中的最大耐受剂量 (MTD) 被确定为25mg/kg。

[2290] Conj-R347-2

[2291]	组	剂量 (mg/kg)	N
	2	2	5
	3	5	5
	4	8	5

[2292] 耐受性基于毒性终点确定。在单剂量之后的大鼠中耐受最高至8mg/kg的ADC。发现包括剂量依赖性体重降低和骨髓抑制。

[2293] Conj-R347-3

[2294]	组	剂量 (mg/kg)	N
	5	1	5
	9	2.5	5
	11	4	5

[2295] 耐受性基于毒性终点确定。在单剂量之后的大鼠中耐受最高至4mg/kg的ADC。发现包括剂量依赖性体重损失和骨髓抑制。

[2296] 治疗指数

[2297] 各ADC/药物接头的治疗指数使用下式计算：

[2298]  $TI = \text{在大鼠中的MTD (mg/kg)} / \text{在小鼠功效模型中的MED (mg/kg)}$

	药物接头	MTD (mg/kg)	NCI-N87 MED (mg/kg)	TI
[2299]	1	25	6	4.2
	2	8	2	4
[2300]	3	4	1	4