(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 113453724 B
(45)授权公告日 2025.02.25

(21)申请号 201980077950.5
(22)申请日 2019.09.27
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 113453724 A
(43)申请公布日 2021.09.28
(30)优先权数据
18306270.2 2018.09.27 EP
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2021.05.26
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/IB2019/001114 2019.09.27
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2020/065408 EN 2020.04.02
(73)专利权人 皮埃尔法布雷医药公司
地址 法国布洛涅-比扬古
(72)发明人 M·佩雷斯 F·马里昂
J-F·霍伊乌 C·德雷富斯
(74)专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限公司 11314
专利代理师 程伟 刘彬娜
(51)Int.Cl.
A61K 47/68(2006.01)
A61K 47/64(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
(56)对比文件
US 4127687 A,1978.11.28
WO 2016064749 A2,2016.04.28
审查员 江维宁

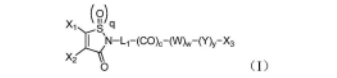
权利要求书13页 说明书216页
序列表97页 附图36页

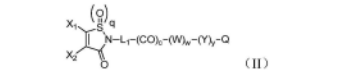
(54)发明名称

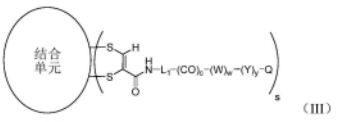
基于磺酰基马来酰亚胺的连接子和相应的偶联物

(57)摘要

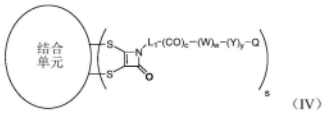
本发明涉及一种下式(I)的连接子或其盐：(I)。本发明涉及一种下式(II)的连接子-药物偶联物或其盐：(II)。本发明还涉及一种下式(III)或(IV)的结合单元-药物偶联物如抗体-药物偶联物或其盐：(III)、(IV)，以及包含结合单元-药物偶联物的药物组合物，及其用于治疗癌症的用途。


(I)


(II)



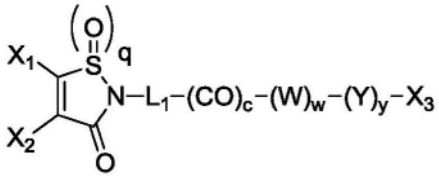
(III)



(IV)

CN 113453724 B

1.下式(I)的连接子,



(I),

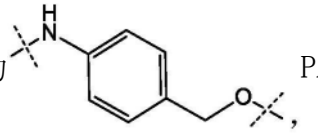
或其盐,

其中:

-X_1和X_2彼此独立地表示H、卤素原子、(C_1-C_6)烷氧基、或未被取代或被取代的苯氧基,所述被取代的苯氧基被选自卤素、CN、NO_2和未被取代或被一个或多个卤素原子取代的苯氧基中的一个或多个基团取代,条件是X_1和X_2不同时表示H;

-L_1表示式L_1'-(CO-Z')$_Z$,的基团,其中L_1'为-$(CH_2)_n$-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-、亚芳基、环烷二基、-$(CH_2)_n$-亚芳基-、-$(CH_2)_n$-环烷二基-、-亚芳基-$(CH_2)_p$-、-环烷二基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2)_n$-亚芳基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2)_n$-环烷二基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-亚芳基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-环烷二基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2)_n$-亚芳基-CH_2-CH_2-$(OCH_2CH_2)_m$-、或-$(CH_2)_n$-环烷二基-CH_2-CH_2-$(OCH_2CH_2)_m$-;

-每个W独立地表示氨基酸单元;

-Y为PAB-CO-$(Z)_z$-,其中PAB为PAB单元的氧连接于CO-$(Z)_z$;

-Z为-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-、-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-CO-、-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-CO-$(CH_2)_v$-、或-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-CO-$(CH_2)_v$-CO-,其中NR_4基团连接于PAB-CO的CO基团;

-Z'为-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-或-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-CO-$(CH_2)_v$-,其中NR_4基团连接于CO-Z'的CO基团;

-R_4和R_5独立地为H或(C_1-C_6)烷基;

-c为0或1;

-m为1至15的整数;

-n为1至6的整数;

-p为1至6的整数;

-q为2;

-u为1至6的整数;

-v为1至6的整数;

-w为0至2的整数;

-y为0或1;

-z为0或1;

-z'为0或1;和

-当y=z=1且Z为-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-时,或当c=w=y=0、z'=1且Z'为-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-时,X_3表示H,且在其他情况下,X_3表示OH、NH_2或离去基团,其中所述离去基团为卤素原子,

其中:

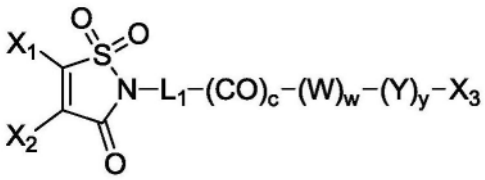
-亚芳基是指亚苯基或亚萘基,且

-环烷二基是指具有4至10个碳原子的二价饱和烃环。

2.根据权利要求1所述的连接子,其中c为1。

3.根据权利要求1所述的连接子,其中w为0或2。

4.根据权利要求1所述的连接子,其中,其具有下式(Ia):



(Ia)

或其盐,

其中:

-X_1、X_2、X_3、L_1、W、Y、c和w如权利要求1中所定义,且

-当w为0时y为0,当w为1至2的整数时y为0或1。

5.根据权利要求4所述的连接子,其中至少X_1或X_2表示卤素原子。

6.根据权利要求5所述的连接子,其中至少X_1或X_2表示Br或Cl。

7.根据权利要求6所述的连接子,其中X_1和X_2中的一个表示Br或Cl,另一个基团表示H、Cl或Br。

8.根据权利要求1所述的连接子,其中L_1'表示-$(CH_2)_n$-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-、亚芳基、-环烷二基-、-$(CH_2)_n$-亚芳基-、-亚芳基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2)_n$-环烷二基-或-环烷二基-$(CH_2)_p$-。

9.根据权利要求8所述的连接子,其中L_1'为-$(CH_2)_n$-或-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-。

10.根据权利要求9所述的连接子,其中L_1'为-$(CH_2)_5$-。

11.根据权利要求1所述的连接子,其中每个W选自丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、脯氨酸、赖氨酸、被乙酰基或甲酰基保护的赖氨酸、精氨酸、被甲苯磺酰基或硝基保护的精氨酸、组氨酸、鸟氨酸、被乙酰基或甲酰基保护的鸟氨酸和瓜氨酸。

12.根据权利要求1所述的连接子,其中:

-w=0且$(W)_w$为键,或

-w=2且$(W)_w$为Val-Cit或Val-Ala。

13.根据权利要求1所述的连接子,其中:

-X_1和X_2相同,并且选自Cl、Br、$(C_1$-$C_6)$烷氧基、和未被取代或被取代的苯氧基,所述被取代的苯氧基被选自卤素、CN、NO_2和未被取代或被一个或多个卤素原子取代的苯氧基中的一个或多个基团取代,或

-X_1和X_2中的一个为H,另一个选自Cl、Br、$(C_1$-$C_6)$烷氧基、和未被取代或被取代的苯氧基,所述被取代的苯氧基被选自卤素、CN、NO_2和未被取代或被一个或多个卤素原子取代的苯氧基中的一个或多个基团取代。

14.根据权利要求13所述的连接子,其中:

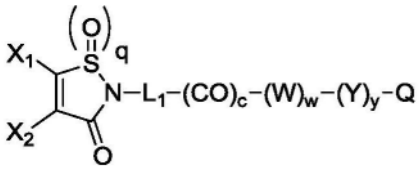
-X_1和X_2相同,并且选自Cl、Br、$(C_1$-$C_6)$烷氧基、和未被取代或被取代的苯氧基,所述被取代的苯氧基被选自卤素、CN、NO_2和未被取代或被一个或多个氟原子取代的苯氧基中的一个

或多个基团取代,或

-X_1和X_2中的一个为H,另一个选自Cl、Br、(C_1-C_6)烷氧基、和未被取代或被取代的苯氧基,所述被取代的苯氧基被选自卤素、CN、NO_2和未被取代或被一个或多个氟原子取代的苯氧基中的一个或多个基团取代。

15.根据权利要求1所述的连接子,其中当y=z=1且Z为-NR_4-(CH_2)$_u$-NR_5-时,或当c=w=y=0、z'=1且Z'为-NR_4-(CH_2)$_u$-NR_5-时,X_3为H,且在其他情况下X_3为OH、或Cl。

16.下式(II)的连接子-药物偶联物:



(II),

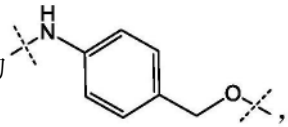
或其盐,

其中:

-X_1和X_2彼此独立地表示H、卤素原子、(C_1-C_6)烷氧基、或未被取代或被取代的苯氧基,所述被取代的苯氧基被选自卤素、CN、NO_2和未被取代或被一个或多个卤素原子取代的苯氧基中的一个或多个基团取代,条件是X_1和X_2不同时表示H;

-L_1表示式L_1'-(CO-Z')$_z$的基团,其中L_1'为-(CH_2)$_n$-、-(CH_2CH_2O)$_m$-CH_2-CH_2-、亚芳基、环烷二基、-(CH_2)$_n$-亚芳基-、-(CH_2)$_n$-环烷二基-、-亚芳基-(CH_2)$_p$-、-环烷二基-(CH_2)$_p$-、-(CH_2)$_n$-亚芳基-(CH_2)$_p$-、-(CH_2)$_n$-环烷二基-(CH_2)$_p$-、-(CH_2CH_2O)$_m$-CH_2-CH_2-亚芳基-(CH_2)$_p$-、-(CH_2CH_2O)$_m$-CH_2-CH_2-环烷二基-(CH_2)$_p$-、-(CH_2)$_n$-亚芳基-CH_2-CH_2-(OCH_2CH_2)$_m$-、或-(CH_2)$_n$-环烷二基-CH_2-CH_2-(OCH_2CH_2)$_m$-;

-每个W独立地表示氨基酸单元;

-Y为PAB-CO-(Z)$_z$-,其中PAB为

PAB单元的氧连接于CO-(Z)$_z$;

-Z为-NR_4-(CH_2)$_u$-NR_5-、-NR_4-(CH_2)$_u$-NR_5-CO-、-NR_4-(CH_2)$_u$-NR_5-CO-(CH_2)$_v$-、或-NR_4-(CH_2)$_u$-NR_5-CO-(CH_2)$_v$-CO-,其中NR_4基团连接于PAB-CO的CO基团;

-Z'为-NR_4-(CH_2)$_u$-NR_5-或-NR_4-(CH_2)$_u$-NR_5-CO-(CH_2)$_v$-,其中NR_4基团连接于CO-Z'的CO基团;

-R_4和R_5独立地为H或(C_1-C_6)烷基;

-Q表示药物部分;

-c为0或1;

-m为1至15的整数;

-n为1至6的整数;

-p为1至6的整数;

-q为2;

-u为1至6的整数;

-v为1至6的整数;

-w为0至2的整数;

-y为0或1;

-z为0或1;且

-z'为0或1,

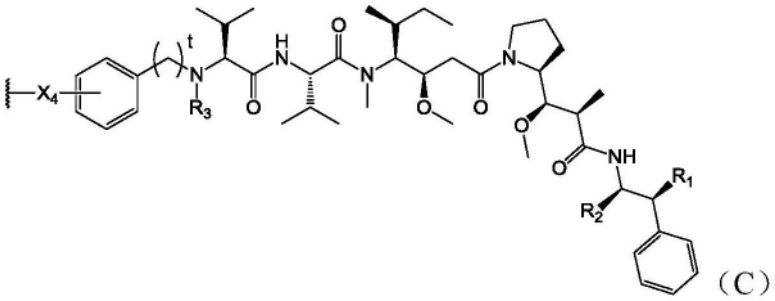
其中:

-亚芳基是指亚苯基或亚萘基,

-环烷二基是指具有4至10个碳原子的二价饱和烃环,且

-药物部分选自:

-单甲基澳瑞他汀F(MMAF)、单甲基澳瑞他汀E(MMAE)或单甲基多拉司他汀-10的残基,或其具有下式(C)的衍生物的残基:



(C)

其中:

-R_1为H或OH,

-R_2为(C_1-C_6)烷基、COOH、COO-((C_1-C_6)烷基)或噻唑基,

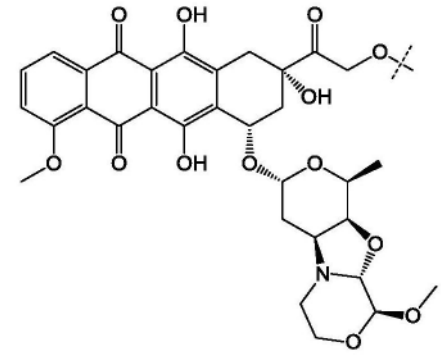
-R_3为H或(C_1-C_6)烷基,

-X_4为O或NR_9,

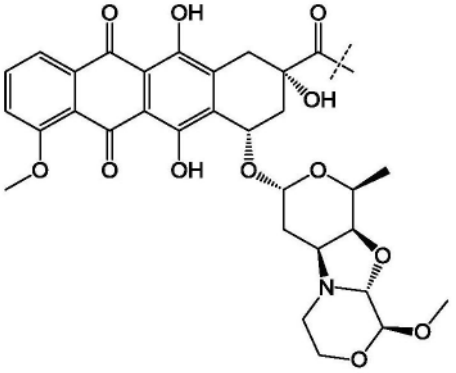
-R_9为H或(C_1-C_6)烷基,且

-t为1至8的整数;

-柔红霉素、多柔比星、表柔比星、伊达比星、2-吡咯啉多柔比星、前-2-吡咯啉多柔比星或PNU-159682的残基,或下式(A)或(B)的残基:



（A）



（B）；

-喜树碱或SN-38的残基；

-微管溶素A、微管溶素B、微管溶素C或微管溶素D的残基；

-埃斯佩拉霉素、卡奇霉素γ1或N-乙酰基二甲基肼卡奇霉素的残基；

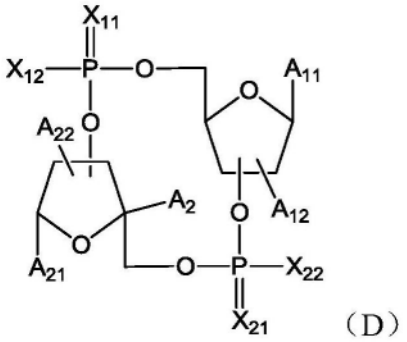
-美登素、DM1或DM4的残基；

-倍癌霉素A、倍癌霉素B1、倍癌霉素B2、倍癌霉素C1、倍癌霉素C2、倍癌霉素D、倍癌霉素SA或CC-1065的残基；

-α-鹅膏蕈碱、β-鹅膏蕈碱、γ-鹅膏蕈碱或ε-鹅膏蕈碱的残基；

-蒽霉素或SGD-1882的残基；

-下式(D)的STING激动剂的残基：



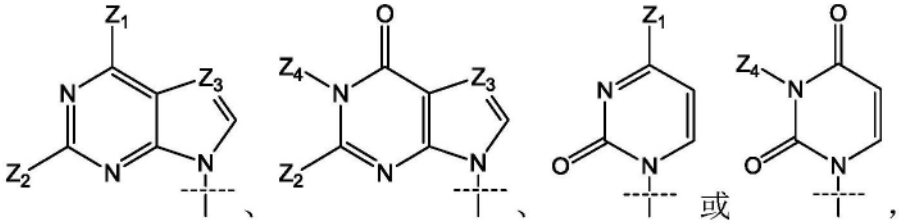
（D）

其中：

-X_{11}和X_{21}独立地为O或S，

-X_{12}和X_{22}独立地为OH、SH、O或S，

-A_{11}和A_{21}独立地为下式的基团：



或 ，

其中：

• Z_1为OR_{11}、$NR_{11}R_{12}$、O或NR_{11}，其中R_{11}和R_{12}彼此独立地为H、R_{13}或COR_{13}，其中R_{13}为(C_1-C_6)烷基、芳基或芳基(C_1-C_6)烷基，

• Z_2为H、$NR_{21}R_{22}$或NR_{21}，其中R_{21}和R_{22}彼此独立地为H、R_{23}或COR_{23}，其中R_{23}为(C_1-C_6)烷基、芳基或芳基(C_1-C_6)烷基，

• Z_3为N或CR_{33}，其中R_{33}为H或卤素原子，且

• Z_4为H或(C_1-C_6)烷基，

-A_{12}和A_{22}独立地为H、OH或F，且

-A_2为H，或A_2与A_{22}彼此连接，其中A_2为CH_2且A_{22}为O，

其中：

• 当X_{12}为O或S时，则X_{22}不为O且不为S，Z_1不为O且不为NR_{11}，Z_2不为NR_{21}，并且STING激动剂的残基通过X_{12}与分子的其余部分连接；

• 当X_{22}为O或S时，则X_{12}不为O且不为S，Z_1不为O且不为NR_{11}，Z_2不为NR_{21}，并且STING激动剂的残基通过X_{22}与分子的其余部分连接；

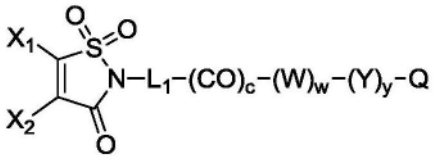
• 当Z_1为O或NR_{11}时，则X_{12}不为O且不为S，X_{22}不为O且不为S，Z_2不为NR_{21}，并且STING激动剂的残基通过Z_1与分子的其余部分连接；

• 当Z_2为NR_{21}时，则X_{12}不为O且不为S，X_{22}不为O且不为S，Z_1不为O且不为NR_{11}，并且STING激动剂的残基通过Z_2与分子的其余部分连接。

17.根据权利要求16所述的连接子-药物偶联物，其中c为1。

18.根据权利要求16所述的连接子-药物偶联物，其中w为0或2。

19.根据权利要求16所述的连接子-药物偶联物，其中，其具有下式(IIa)：



（IIa）

或其盐，

其中：

-X_1、X_2、L_1、W、Y、Q、c和w如权利要求16所定义，且

-当w为0时y为0，且当w为1至2的整数时y为0或1。

20.根据权利要求16所述的连接子-药物偶联物，其中至少X_1或X_2表示卤素原子。

21.根据权利要求20所述的连接子-药物偶联物，其中至少X_1或X_2表示Br或Cl。

22.根据权利要求21所述的连接子-药物偶联物，其中X_1和X_2中的一个表示Br或Cl，另一个基团表示H、Cl或Br。

23.根据权利要求16所述的连接子-药物偶联物，其中L_1'表示-$(CH_2)_n$-、-$(CH_2CH_2O)_m$-

CH_2-CH_2-、亚芳基、-环烷二基-、-$(CH_2)_n$-亚芳基-、-亚芳基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2)_n$-环烷二基-、或-环烷二基-$(CH_2)_p$-。

24.根据权利要求23所述的连接子-药物偶联物,其中L_1'为-$(CH_2)_n$-或-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-。

25.根据权利要求24所述的连接子-药物偶联物,其中L_1'为-$(CH_2)_5$-。

26.根据权利要求16所述的连接子-药物偶联物,其中每个W选自丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、脯氨酸、赖氨酸、被乙酰基或甲酰基保护的赖氨酸、精氨酸、被甲苯磺酰基或硝基保护的精氨酸、组氨酸、鸟氨酸、被乙酰基或甲酰基保护的鸟氨酸和瓜氨酸。

27.根据权利要求16所述的连接子-药物偶联物,其中:

-w=0且$(W)_w$为键,或

-w=2且$(W)_w$为Val-Cit或Val-Ala。

28.根据权利要求16所述的连接子-药物偶联物,其中:

-X_1和X_2相同,并且选自Cl、Br、$(C_1$-$C_6)$烷氧基、和未被取代或被取代的苯氧基,所述被取代的苯氧基被选自卤素、CN、NO_2和未被取代或被一个或多个卤素原子取代的苯氧基中的一个或多个基团取代,或

-X_1和X_2中的一个为H,另一个选自Cl、Br、$(C_1$-$C_6)$烷氧基、和未被取代或被取代的苯氧基,所述被取代的苯氧基被选自卤素、CN、NO_2和未被取代或被一个或多个卤素原子取代的苯氧基中的一个或多个基团取代。

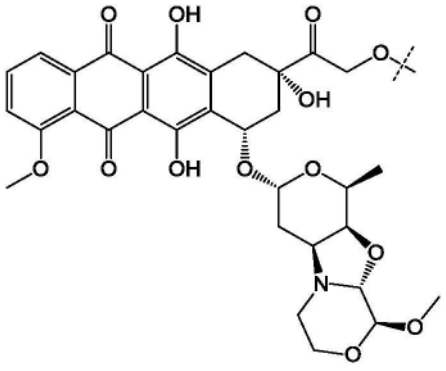
29.根据权利要求28所述的连接子-药物偶联物,其中:

-X_1和X_2相同,并且选自Cl、Br、$(C_1$-$C_6)$烷氧基、和未被取代或被取代的苯氧基,所述被取代的苯氧基被选自卤素、CN、NO_2和未被取代或被一个或多个氟原子取代的苯氧基中的一个或多个基团取代,或

-X_1和X_2中的一个为H,另一个选自Cl、Br、$(C_1$-$C_6)$烷氧基、和未被取代或被取代的苯氧基,所述被取代的苯氧基被选自卤素、CN、NO_2和未被取代或被一个或多个氟原子取代的苯氧基中的一个或多个基团取代。

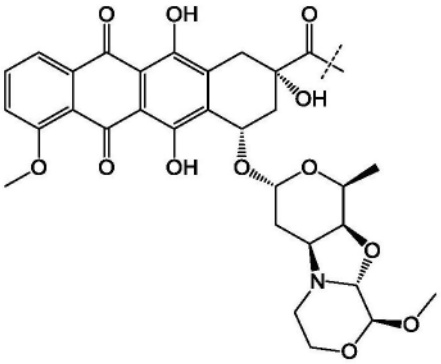
30.根据权利要求16所述的连接子-药物偶联物,其中Q是美登素、DM1或DM4的残基、或具有:

-下式(A):



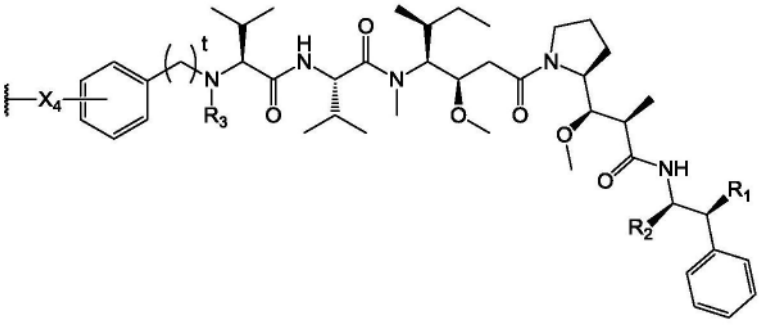
(A);

-下式(B):



（B）；

-下式(C)：



（C），

其中：

-R_1为H或OH，

-R_2为(C_1-C_6)烷基、COOH、COO-((C_1-C_6)烷基)或噻唑基，

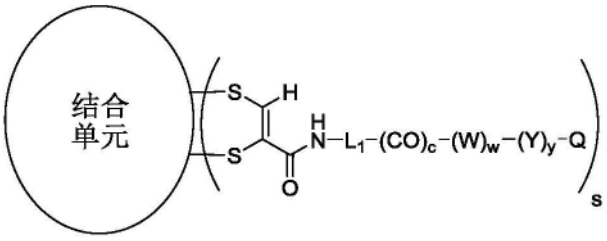
-R_3为H或(C_1-C_6)烷基，

-X_4为O或NR_9，

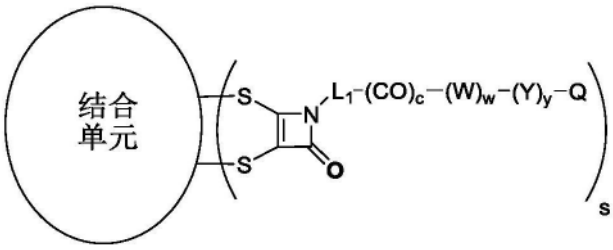
-R_9为H或(C_1-C_6)烷基，且

-t为1至8的整数。

31.下式(III)或(IV)的结合单元-药物偶联物：



（III）



（IV）

或其盐，

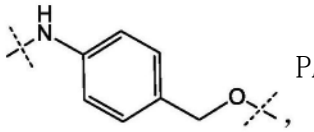
其中：

-结合单元为抗体或其抗原结合片段；

-L_1表示式L_1'-(CO-Z')$_Z$的基团，其中L_1'为-(CH_2)$_n$-、-(CH_2CH_2O)$_m$-CH_2-CH_2-、亚芳基、环

烷二基、-$(CH_2)_n$-亚芳基-、-$(CH_2)_n$-环烷二基-、-亚芳基-$(CH_2)_p$-、-环烷二基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2)_n$-亚芳基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2)_n$-环烷二基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-亚芳基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-环烷二基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2)_n$-亚芳基-CH_2-CH_2-$(CH_2CH_2O)_m$-、或-$(CH_2)_n$-环烷二基-CH_2-CH_2-$(CH_2CH_2O)_m$-；

-每个W独立地表示氨基酸单元；

-Y为PAB-CO-$(Z)_z$-，其中PAB为，PAB单元的氧连接于CO-$(Z)_z$；

-Z为-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-、-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-CO-、-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-CO-$(CH_2)_v$-、或-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-CO-$(CH_2)_v$-CO-，其中NR_4基团连接于PAB-CO的CO基团；

-Z'为-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-或-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-CO-$(CH_2)_v$-，其中NR_4基团连接于CO-Z'的CO基团；

-R_4和R_5独立地为H或$(C_1$-$C_6)$烷基；

-Q表示药物部分；

-c为0或1；

-m为1至15的整数；

-n为1至6的整数；

-p为1至6的整数；

-s为1至8的整数；

-u为1至6的整数；

-v为1至6的整数；

-w为0至2的整数；

-y为0或1；

-z为0或1；且

-z'为0或1，

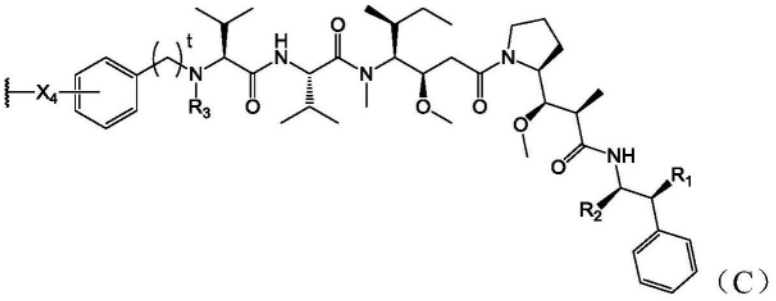
其中：

-亚芳基是指亚苯基或亚萘基，

-环烷二基是指具有4至10个碳原子的二价饱和烃环，且

-药物部分选自：

-单甲基澳瑞他汀F(MMAF)、单甲基澳瑞他汀E(MMAE)或单甲基多拉司他汀-10的残基，或其具有下式(C)的衍生物的残基：



(C)

其中：

-R_1为H或OH，

-R_2为(C_1-C_6)烷基、COOH、COO-((C_1-C_6)烷基)或噻唑基，

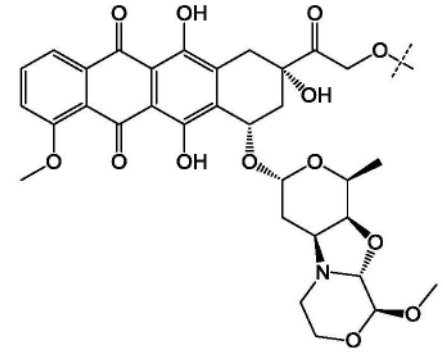
-R_3为H或(C_1-C_6)烷基，

-X_4为O或NR_9，

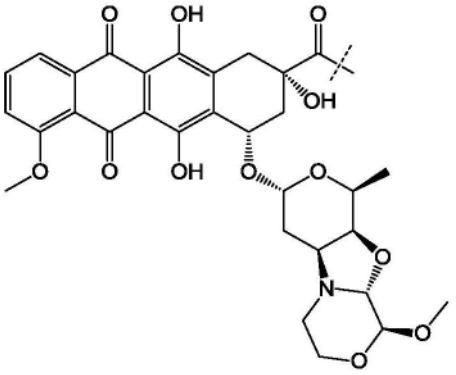
-R_9为H或(C_1-C_6)烷基，且

-t为1至8的整数；

-柔红霉素、多柔比星、表柔比星、伊达比星、2-吡咯啉多柔比星、前-2-吡咯啉多柔比星或PNU-159682的残基，或下式(A)或(B)的残基：



（A）



（B）；

-喜树碱或SN-38的残基；

-微管溶素A、微管溶素B、微管溶素C或微管溶素D的残基；

-埃斯佩拉霉素、卡奇霉素γ1或N-乙酰基二甲基肼卡奇霉素的残基；

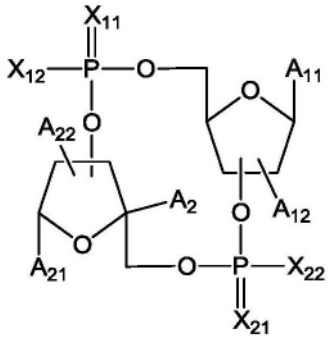
-美登素、DM1或DM4的残基；

-倍癌霉素A、倍癌霉素B1、倍癌霉素B2、倍癌霉素C1、倍癌霉素C2、倍癌霉素D、倍癌霉素SA或CC-1065的残基；

-α-鹅膏蕈碱、β-鹅膏蕈碱、γ-鹅膏蕈碱或ε-鹅膏蕈碱的残基；

-蒽霉素或SGD-1882的残基；

-下式(D)的STING激动剂的残基：



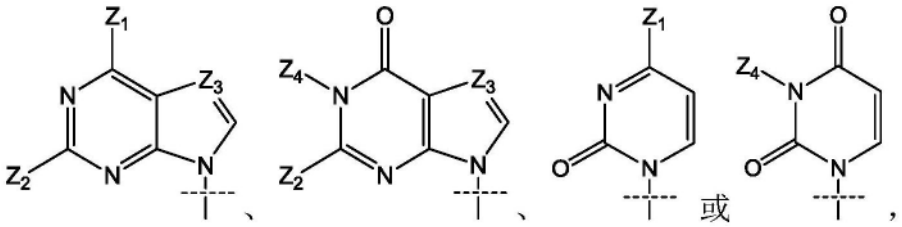
（D）

其中：

-X_{11}和X_{21}独立地为O或S，

-X_{12}和X_{22}独立地为OH、SH、O或S，

-A_{11}和A_{21}独立地为下式的基团：



其中：

• Z_1为OR_{11}、$NR_{11}R_{12}$、O或NR_{11}，其中R_{11}和R_{12}彼此独立地为H、R_{13}或COR_{13}，其中R_{13}为(C_1-C_6)烷基、芳基或芳基(C_1-C_6)烷基，

• Z_2为H、$NR_{21}R_{22}$或NR_{21}，其中R_{21}和R_{22}彼此独立地为H、R_{23}或COR_{23}，其中R_{23}为(C_1-C_6)烷基、芳基或芳基(C_1-C_6)烷基，

• Z_3为N或CR_{33}，其中R_{33}为H或卤素原子，且

• Z_4为H或(C_1-C_6)烷基，

-A_{12}和A_{22}独立地为H、OH或F，且

-A_2为H，或A_2与A_{22}彼此连接，其中A_2为CH_2且A_{22}为O，

其中：

• 当X_{12}为O或S时，则X_{22}不为O且不为S，Z_1不为O且不为NR_{11}，Z_2不为NR_{21}，并且STING激动剂的残基通过X_{12}与分子的其余部分连接；

• 当X_{22}为O或S时，则X_{12}不为O且不为S，Z_1不为O且不为NR_{11}，Z_2不为NR_{21}，并且STING激动剂的残基通过X_{22}与分子的其余部分连接；

• 当Z_1为O或NR_{11}时，则X_{12}不为O且不为S，X_{22}不为O且不为S，Z_2不为NR_{21}，并且STING激动剂的残基通过Z_1与分子的其余部分连接；

当Z_2为NR_{21}时，则X_{12}不为O且不为S，X_{22}不为O且不为S，Z_1不为O且不为NR_{11}，并且STING激动剂的残基通过Z_2与分子的其余部分连接。

32.根据权利要求31所述的结合单元-药物偶联物，其中c为1。

33.根据权利要求31所述的结合单元-药物偶联物，其中w为0或2。

34.根据权利要求31所述的结合单元-药物偶联物，其中L_1'表示-$(CH_2)_n$-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-、亚芳基、-环烷二基-、-$(CH_2)_n$-亚芳基-、-亚芳基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2)_n$-环烷二基-、或-

环烷二基-$(CH_2)_p$-。

35.根据权利要求34所述的结合单元-药物偶联物,其中L_1'为-$(CH_2)_n$-或-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-。

36.根据权利要求35所述的结合单元-药物偶联物,其中L_1'为-$(CH_2)_5$-。

37.根据权利要求31所述的结合单元-药物偶联物,其中每个W选自丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、脯氨酸、赖氨酸、被乙酰基或甲酰基保护的赖氨酸、精氨酸、被甲苯磺酰基或硝基保护的精氨酸、组氨酸、鸟氨酸、被乙酰基或甲酰基保护的鸟氨酸和瓜氨酸。

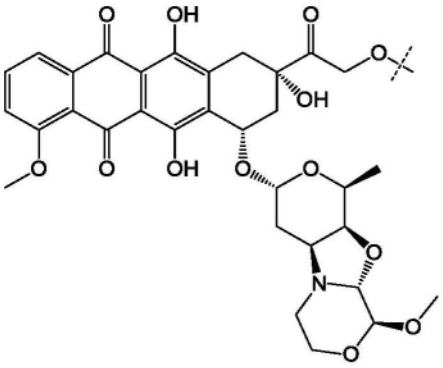
38.根据权利要求31所述的结合单元-药物偶联物,其中:

-w=0且$(W)_w$为键,或

-w=2且$(W)_w$为Val-Cit或Val-Ala。

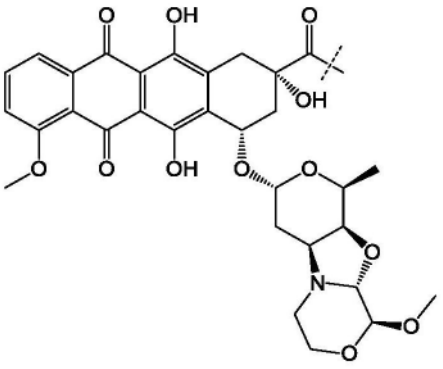
39.根据权利要求31所述的结合单元-药物偶联物,其中Q是美登素、DM1或DM4的残基、或具有:

-下式(A):



(A);

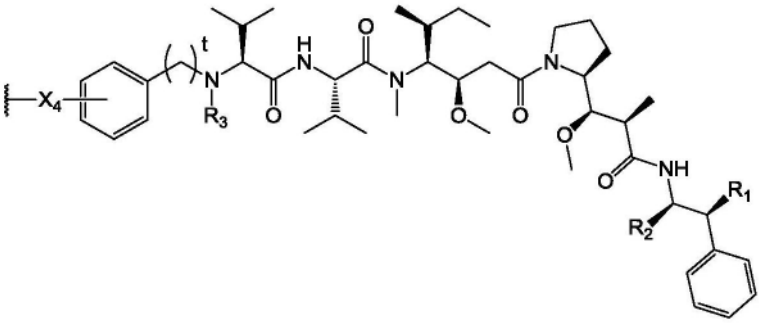
-下式(B):



或

(B);

-下式(C):



(C),

其中：

-R_1为H或OH，

-R_2为(C_1-C_6)烷基、COOH、COO-((C_1-C_6)烷基)或噻唑基，

-R_3为H或(C_1-C_6)烷基，

-X_4为O或NR_9，

-R_9为H或(C_1-C_6)烷基，且

t为1至8的整数。

40.根据权利要求31所述的结合单元-药物偶联物，其中所述抗体为IGF-1R抗体或HER2抗体。

41.一种药物组合物，其包含根据权利要求31至40中任一项所述的结合单元-药物偶联物和至少一种药学上可接受的赋形剂。

42.根据权利要求31至40中任一项所述的结合单元-药物偶联物或根据权利要求41所述的药物组合物的用途，用于制造旨在用于治疗癌症的药物，所述癌症选自肺癌、乳腺癌和卵巢癌。

基于磺酰基马来酰亚胺的连接子和相应的偶联物

技术领域

[0001] 本发明涉及基于磺酰基马来酰亚胺的连接子,其用于通过将药物分子共价连接至结合单元来制备偶联物,所述结合单元有利地为抗体,所述偶联物例如抗体-药物偶联物(ADCs)。

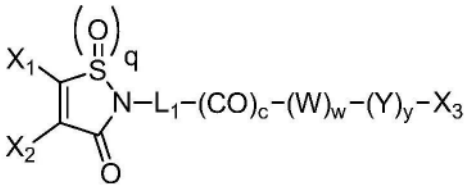
背景技术

[0002] ADC均为不同载药物种的受控混合物(每个抗体的药物分子(DAR)为0至8个)且具有典型的3.5或4的平均DAR。未偶联的物种通常没有活性,并且与载药物种竞争结合抗原。此外,已证明DAR大于4的物种导致更低的耐受性、更高的血浆清除率和降低的功效。当前市场上和临床试验中的大多数ADC具有共同的结构特征,例如硫代琥珀酰亚胺连接,其通过巯基与烷基马来酰亚胺的反应形成。这种类型的化学物质被广泛使用,因为马来酰亚胺和巯基的反应在生理条件下非常快速,并且是定量的(两个原始物种均未大量过量)。然而,在生理条件下硫代琥珀酰亚胺的形成是缓慢可逆的。含有烷基马来酰亚胺的ADC在长时间循环期间可能导致可测量的药物损失。ADC中的该马来酰亚胺消除(通过逆迈克尔反应)的药理学后果包括由于与抗体偶联形式的药物的暴露减少而降低的抗肿瘤活性,及由于药物和连接子的非靶向释放而产生的更大的毒性。这在通过硫醚连接子SMCC(琥珀酰亚胺基4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-羧酸酯)的半胱氨酸连接的ADC和赖氨酸连接的ADC中均有描述。

[0003] 本发明因此涉及用于将药物偶联至结合单元的化合物,所获得的偶联物更稳定且更有效。

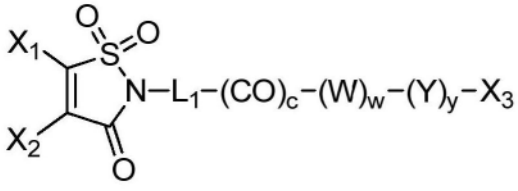
发明内容

[0004] 因此,本发明涉及下式(I)的连接子:

[0005] 

(I),

[0006] 优选下式(Ia):

[0007] 

(Ia),

[0008] 或其盐,

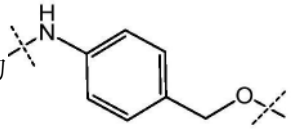
[0009] 其中:

[0010] -X_1和X_2彼此独立地表示H、卤素原子、(C_1-C_6)烷氧基、任选地被取代的芳氧基、或-

O-$(CH_2CH_2O)_r$H(-O-PEG),条件是X_1和X_2不同时表示H;

[0011] -L_1表示式L_1'-(CO-Z')$_z$的基团,其中L_1'为-$(CH_2)_n$-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-、亚芳基、亚杂芳基、环烷二基、-$(CH_2)_n$-亚芳基-、-$(CH_2)_n$-亚杂芳基-、-$(CH_2)_n$-环烷二基-、-亚芳基-$(CH_2)_p$-、-亚杂芳基-$(CH_2)_p$-、-环烷二基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2)_n$-亚芳基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2)_n$-亚杂芳基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2)_n$-环烷二基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-亚芳基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-亚杂芳基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-环烷二基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2)_n$-亚芳基-CH_2-CH_2-$(OCH_2CH_2)_m$-、-$(CH_2)_n$-亚杂芳基-CH_2-CH_2-$(OCH_2CH_2)_m$-、或-$(CH_2)_n$-环烷二基-CH_2-CH_2-$(OCH_2CH_2)_m$-;

[0012] -每个W独立地表示氨基酸单元;

[0013] -Y为-PAB-CO-$(Z)_z$-,其中PAB为(PAB单元的氧连接于CO-$(Z)_z$);

[0014] -Z为-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-或-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-CO-,或者-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-CO-$(CH_2)_v$-或-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-CO-$(CH_2)_v$-CO-(NR_4基团连接于PAB-CO的CO基团);

[0015] -Z'为-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-或-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-CO-$(CH_2)_v$-(NR_4基团连接于CO-Z'的CO基团);

[0016] -R_4和R_5独立地为H或(C_1-C_6)烷基;

[0017] -c为0或1,优选1;

[0018] -m为1至15的整数;

[0019] -n为1至6的整数;

[0020] -p为1至6的整数;

[0021] -q为0、1或2,优选2;

[0022] -r为1至24的整数,尤其是1至12的整数;

[0023] -u为1至6的整数;

[0024] -v为1至6的整数;

[0025] -w为0至5的整数,优选0或2;

[0026] -y为0或1(优选地,当w为0时y为0,且当w为1至5的整数时y为0或1);

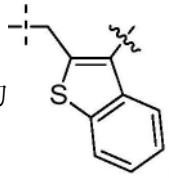
[0027] -z为0或1;

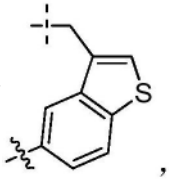
[0028] -z'为0或1,尤其是0;且

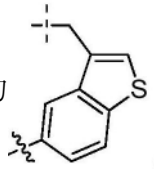
[0029] -当y=z=1且Z为-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-时,或当c=w=y=0、z'=1且Z'为-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-时,X_3表示H,且在其他情况下,X_3表示OH、NH_2或离去基团。

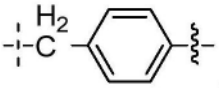
[0030] 所述离去基团更特别地为卤素原子、式-OSO_2-R_{LG}的磺酸基、N-琥珀酰亚胺氧基、4-硝基苯氧基、五氟苯氧基或N-苯并三唑氧基,其中R_{LG}表示(C_1-C_6)烷基、芳基、芳基-(C_1-C_6)烷基或(C_1-C_6)烷基-芳基,所述基团任选地被一个或多个卤素原子(例如氟原子)取代。

[0031] 优选地,式(I)的化合物不是以下式(I)的化合物,其中:

[0032] -X_1为Cl,X_2为H,q为0,L_1为  c为0,w为0,y为0且X_3为Cl;

[0033] -X_1为Cl,X_2为Cl,q为0,L_1为  c为0,w为0,y为0且X_3为Cl;

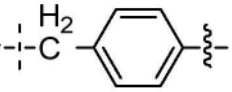
[0034] -X_1为Cl,X_2为H,q为0,L_1为  c为0,w为0,y为0且X_3为Cl;

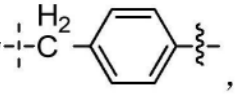
[0035] -X_1为Cl,X_2为H,q为0,L_1为  c为0,w为0,y为0且X_3为Cl;

[0036] -X_1为Cl,X_2为H,q为0,L_1为  c为0,w为0,y为0且X_3为Cl;

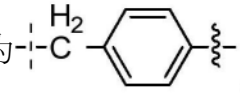
[0037] -X_1为Cl,X_2为H,q为0,L_1为  c为0,w为0,y为0且X_3为Br;

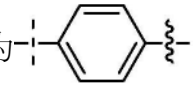
[0038] -X_1为Cl,X_2为H,q为0,L_1为  c为0,w为0,y为0且X_3为I;

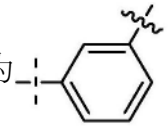
[0039] -X_1为H,X_2为Cl,q为0,L_1为  c为0,w为0,y为0且X_3为Cl;

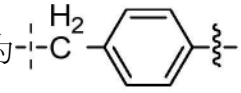
[0040] -X_1为H,X_2为Br,q为0,L_1为  c为0,w为0,y为0且X_3为Cl;

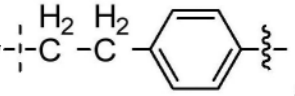
[0041] -X_1为H,X_2为Br,q为0,L_1为  c为0,w为0,y为0且X_3为Cl;

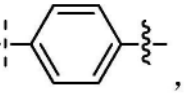
[0042] -X_1为Cl,X_2为Cl,q为0,L_1为  c为0,w为0,y为0且X_3为Cl;

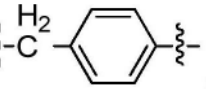
[0043] -X_1为Cl,X_2为Cl,q为0,L_1为  c为0,w为0,y为0且X_3为Cl;

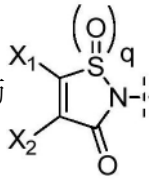
[0044] -X_1为Cl,X_2为Cl,q为0,L_1为  c为0,w为0,y为0且X_3为Cl;

[0045] -X_1为Cl,X_2为Br,q为0,L_1为  c为0,w为0,y为0且X_3为Cl;

[0046] -X_1为Cl,X_2为Br,q为0,L_1为,c为0,w为0,y为0且X_3为Cl;

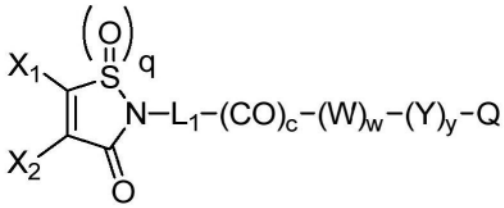
[0047] -X_1为Cl,X_2为Br,q为0,L_1为,c为0,w为0,y为0且X_3为Cl;或

[0048] -X_1为Br,X_2为Br,q为0,L_1为,c为0,w为0,y为0且X_3为Cl;

[0049] 其中虚线表示L_1与的氮原子的连接点,波浪线表示L_1与X_3的连接点。

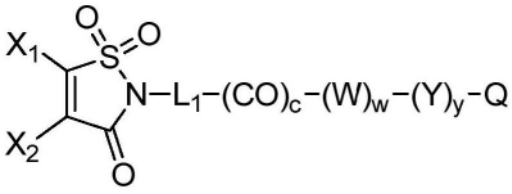
[0050] 所述化合物在WO 2007/001932或US 4,127,687中公开,但不是作为更特别地旨在用于制备偶联物(例如ADC)连接子。

[0051] 本发明还涉及下式(II)的连接子-药物偶联物:

[0052] 

(II),

[0053] 优选下式(IIa):

[0054] 

(IIa)

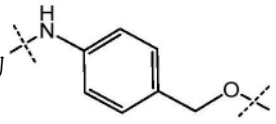
[0055] 或其盐,

[0056] 其中:

[0057] -X_1和X_2彼此独立地表示H、卤素原子、(C_1-C_6)烷氧基、任选地被取代的芳氧基、或-O-(CH_2CH_2O)$_r$H,条件是X_1和X_2不同时表示H;

[0058] -L_1表示式L_1'-(CO-Z')$_z$的基团,其中L_1'为-(CH_2)$_n$-、-(CH_2CH_2O)$_m$-CH_2-CH_2-、亚芳基、亚杂芳基、环烷二基、-(CH_2)$_n$-亚芳基-、-(CH_2)$_n$-亚杂芳基-、-(CH_2)$_n$-环烷二基-、-亚芳基-(CH_2)$_p$-、-亚杂芳基-(CH_2)$_p$-、-环烷二基-(CH_2)$_p$-、-(CH_2)$_n$-亚芳基-(CH_2)$_p$-、-(CH_2)$_n$-亚杂芳基-(CH_2)$_p$-、-(CH_2)$_n$-环烷二基-(CH_2)$_p$-、-(CH_2CH_2O)$_m$-CH_2-CH_2-亚芳基-(CH_2)$_p$-、-(CH_2CH_2O)$_m$-CH_2-CH_2-亚杂芳基-(CH_2)$_p$-、-(CH_2CH_2O)$_m$-CH_2-CH_2-环烷二基-(CH_2)$_p$-、-(CH_2)$_n$-亚芳基-CH_2-CH_2-(OCH_2CH_2)$_m$-、-(CH_2)$_n$-亚杂芳基-CH_2-CH_2-(OCH_2CH_2)$_m$-、或-(CH_2)$_n$-环烷二基-CH_2-CH_2-(OCH_2CH_2)$_m$-;

[0059] -每个W独立地表示氨基酸单元;

[0060] -Y为-PAB-CO-$(Z)_z$-,其中PAB为(PAB单元的氧连接于CO-$(Z)_z$);

[0061] -Z为-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-或-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-CO-,或者-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-CO-$(CH_2)_v$-或-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-CO-$(CH_2)_v$-CO-(NR_4基团连接于PAB-CO的CO基团);

[0062] -Z'为-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-或-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-CO-$(CH_2)_v$-(NR_4基团连接于CO-Z'的CO基团);

[0063] -R_4和R_5独立地为H或$(C_1$-$C_6)$烷基;

[0064] -Q表示药物部分;

[0065] -c为0或1,优选1;

[0066] -m为1至15的整数;

[0067] -n为1至6的整数;

[0068] -p为1至6的整数;

[0069] -q为0、1或2,优选2;

[0070] -r为1至24的整数,尤其是1至12的整数;

[0071] -u为1至6的整数;

[0072] -v为1至6的整数;

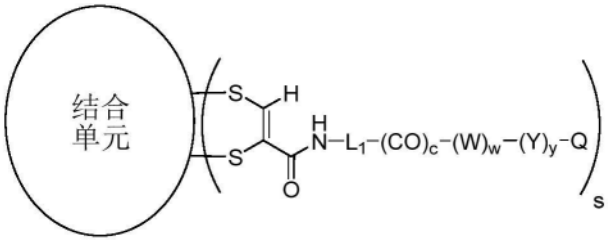
[0073] -w为0至5的整数,优选0或2;

[0074] -y为0或1(优选地,当w为0时y为0,且当w为1至5的整数时y为0或1);

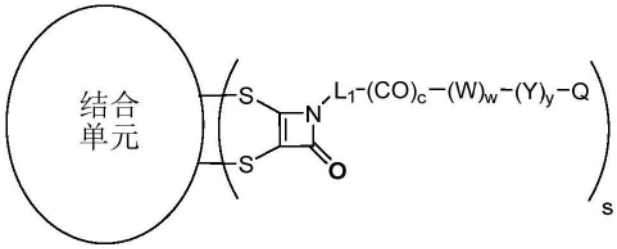
[0075] -z为0或1;且

[0076] -z'为0或1,尤其是0。

[0077] 本发明还涉及下式(III)或(IV)的结合单元-药物偶联物:

[0078] 

(III)

[0079] 

(IV)

[0080] 或其盐,优选其药学上可接受的盐,

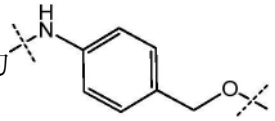
[0081] 其中:

[0082] -所述结合单元为肽、蛋白质(例如工程蛋白质)、抗体(例如单克隆抗体)或其抗原结合片段;

[0083] -L_1表示式L_1'-$(CO\text{-}Z')_z$的基团,其中L_1'为-$(CH_2)_n$-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-、亚芳

基、亚杂芳基、环烷二基、-$(CH_2)_n$-亚芳基-、-$(CH_2)_n$-亚杂芳基-、-$(CH_2)_n$-环烷二基-、-亚芳基-$(CH_2)_p$-、-亚杂芳基-$(CH_2)_p$-、-环烷二基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2)_n$-亚芳基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2)_n$-亚杂芳基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2)_n$-环烷二基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-亚芳基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-亚杂芳基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-环烷二基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2)_n$-亚芳基-CH_2-CH_2-$(OCH_2CH_2)_m$-、-$(CH_2)_n$-亚杂芳基-CH_2-CH_2-$(OCH_2CH_2)_m$-、或-$(CH_2)_n$-环烷二基-CH_2-CH_2-$(OCH_2CH_2)_m$-；

[0084] -每个W独立地表示氨基酸单元；

[0085] -Y为-PAB-CO-$(Z)_z$-，其中PAB为(PAB单元的氧连接于CO-$(Z)_z$)；

[0086] -Z为-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-或-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-CO-，或者-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-CO-$(CH_2)_v$-或-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-CO-$(CH_2)_v$-CO-(NR_4基团连接于PAB-CO的CO基团)；

[0087] -Z为-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-或-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-CO-$(CH_2)_v$-(NR_4基团连接于CO-Z'的CO基团)；

[0088] -R_4和R_5独立地为H或$(C_1$-$C_6)$烷基；

[0089] -Q表示药物部分；

[0090] -c为0或1，优选1；

[0091] -m为1至15的整数；

[0092] -n为1至6的整数；

[0093] -p为1至6的整数；

[0094] -s为1至8的整数；

[0095] -u为1至6的整数；

[0096] -v为1至6的整数；

[0097] -w为0至5的整数，优选0或2；

[0098] -y为0或1(优选地，当w为0时y为0，且当w为1至5的整数时y为0或1)；

[0099] -z为0或1；且

[0100] -z'为0或1，尤其是0。

[0101] 根据一个优选的实施方案，所述结合单元为IGF-1R抗体、HER2抗体(例如曲妥珠单抗)或其抗原结合片段。

[0102] 本发明还涉及式(I)的连接子或式(II)的药物-连接子偶联物(优选地其中q＝2)的用途，其用于将药物共价连接至结合单元，例如抗体(例如单克隆抗体)或其抗原结合片段。因此，所述共价连接是通过连接子部分形成。

[0103] 实际上，式(I)或(II)的化合物(优选地其中q＝2)可用于将药物共价连接至结合单元，例如抗体(例如单克隆抗体)或其抗原结合片段。

[0104] q＝0或1的式(I)或(II)化合物也可用作制备q＝2的式(I)或(II)化合物的合成中间体。因此，本发明还涉及q＝0或1的如上所定义的式(I)或(II)的化合物作为合成中间体。

[0105] 本发明还涉及制备式(I)的连接子或式(II)、(III)或(IV)的偶联物的方法。

[0106] 本发明还涉及一种药物组合物，其包含式(III)或(IV)的结合单元-药物偶联物和至少一种药学上可接受的赋形剂。

[0107] 本发明还涉及式(III)或(IV)的结合单元-药物偶联物、或包含式(III)或(IV)的结合单元-药物偶联物和至少一种药学上可接受的赋形剂的药物组合物,其用于治疗癌症的用途。

[0108] 本发明还涉及式(III)或(IV)的结合单元-药物偶联物在制备旨在用于治疗癌症的药物中的用途。

[0109] 本发明还涉及一种治疗癌症的方法,其包括向有需要的人施用有效量的式(III)或(IV)的结合单元-药物偶联物或者包含式(III)或(IV)的结合单元-药物偶联物和至少一种药学上可接受的赋形剂的药物组合物。

[0110] 定义

[0111] 为了本发明的目的,术语“药学上可接受的”旨在表示其用于药物组合物的制备,且其对于药学用途通常为安全且无毒的。

[0112] 术语“药学上可接受的盐”,在本发明的范围内,旨在表示如上所定义的药学上可接受的化合物的盐,其具有相应化合物的药理活性。

[0113] 药学上可接受的盐包括:

[0114] (1)与无机酸或有机酸形成的酸加成盐,所述无机酸例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸和磷酸等;所述有机酸例如乙酸、苯磺酸、富马酸、葡庚糖酸、葡萄糖酸、谷氨酸、乙醇酸、羟基萘酸、2-羟基乙磺酸、乳酸、马来酸、苹果酸、扁桃酸、甲磺酸、粘康酸、2-萘磺酸、丙酸、琥珀酸、二苯甲酰基-L-酒石酸、酒石酸、对甲苯磺酸、三甲基乙酸和三氟乙酸等,和

[0115] (2)当化合物中存在的酸质子被金属离子替代形成的盐,所述金属离子例如碱金属离子、碱土金属离子或铝离子;或与有机或无机碱配位形成的盐。可接受的有机碱包括二乙醇胺、乙醇胺、N-甲基葡糖胺、三乙醇胺、氨丁三醇等。可接受的无机碱包括氢氧化铝、氢氧化钙、氢氧化钾、碳酸钠和氢氧化钠。

[0116] 本发明中所用的术语“卤素”是指氟、溴、氯或碘原子。

[0117] 本发明中所用的术语“(C_1-C_6)烷基”是指含有1至6个碳原子的单价直链或支链饱和烃链,包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、正己基等。

[0118] 本发明中所用的术语“(C_1-C_6)烷氧基”是指通过氧原子与分子结合的如上所定义的(C_1-C_6)烷基,包括但不限于甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、异丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基、正戊氧基、正己氧基等。

[0119] 本发明中所用的术语“(C_2-C_6)烯基”是指含有2至6个碳原子并且包含至少一个双键的直链或支链单价不饱和烃链,包括但不限于乙烯基、丙烯基、丁烯基、戊烯基、己烯基等。

[0120] 本发明中所用的术语“环烷二基”是指有利地具有4至10个碳原子、尤其是5或6个碳原子的二价饱和烃环,包括但不限于环戊二基、环己二基等。优选地,其为环己二基。

[0121] 本发明中所用的术语“芳基”是指优选地包含6至10个碳原子并且包含一个或多个稠合环的单价芳族烃基,例如苯基或萘基。有利地,其为苯基。

[0122] 本发明中所用的术语“芳基-(C_1-C_6)烷基”是指被如上所定义的芳基取代的如上所定义的(C_1-C_6)烷基。特别地,其可以为苄基。

[0123] 本发明中所用的术语“(C_1-C_6)烷基-芳基”是指被如上所定义的(C_1-C_6)烷基取代

的如上所定义的芳基。特别地,其可以为甲苯基(CH_3Ph)。

[0124] 本发明中所用的术语“芳氧基”是指通过氧原子与分子结合的如上所定义的芳基,包括但不限于苯氧基。

[0125] 本发明中所用的术语“亚芳基”是指优选地包含6至10个碳原子并且包含一个或多个稠合环的二价芳族烃基,例如亚苯基或亚萘基。有利地,其为亚苯基。

[0126] 本发明中所用的术语“亚杂芳基”是指包含一个或多个(尤其是一个或两个)稠合的烃环的二价芳族基团,其中一个或多个(尤其是一至四个,有利地为一至三个)碳原子各自被选自硫原子、氧原子和氮原子的杂原子替代,所述杂原子优选地选自氧原子和氮原子,更优选地为氮原子。有利地,其为二价的1,2,3-三唑,例如二价的1H-1,2,3-三唑。

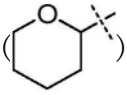
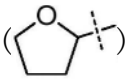
[0127] 本发明中所用的术语“离去基团”是指在亲核取代反应中可以容易地被亲核试剂(例如分别带有官能团NH或OH的胺或醇)取代的化学基团。所述离去基团可以特别地为卤素原子、磺酸基、N-琥珀酰亚胺氧基、4-硝基-苯氧基、五氟苯氧基或N-苯并三唑氧基。所述磺酸基特别地为基团$-OSO_2-R_{LG}$,其中R_{LG}表示(C_1-C_6)烷基、芳基、芳基-(C_1-C_6)烷基或(C_1-C_6)烷基-芳基,所述基团任选地被一个或多个卤素原子(例如氟原子)取代。所述磺酸基尤其可以为甲磺酸基(OMs,$CH_3-S(O_2)O-$)、三氟甲磺酸基(OTf,$CF_3-S(O)_2O-$)或甲苯磺酸基(OTs,p-$Me-C_6H_4-S(O)_2O-$)。所述离去基团可以特别地为Cl、Br、I、OTf、OMs、OTf、N-琥珀酰亚胺氧基、4-硝基-苯氧基或N-苯并三唑氧基。

[0128] 本发明中所用的术语“三烷基甲硅烷基”是指基团$-SiAlk_1Alk_2Alk_3$,其中Alk_1、Alk_2和Alk_3相同或不同且表示如上所定义的(C_1-C_6)-烷基。例如,其可以为三甲基甲硅烷基或三乙基甲硅烷基。

[0129] 术语分子的“保护形式”是指存在于所述分子上的至少一个OH或NH官能团分别被O-保护基或N-保护基保护。

[0130] 本发明中所用的术语“保护基”是指选择性地封闭多功能化合物中的反应位点,从而允许在另一个未保护的反应位点上选择性地进行化学反应的化学基团。

[0131] 本发明中所用的术语“O-保护基”是指在合成过程中保护羟基(OH)免于不期望的反应的取代基,例如《有机合成中的保护基》(“Greene's Protective Groups In Organic Synthesis”)(第4版,2007,John Wiley&Sons,Hoboken,New Jersey)中公开的O-保护基。被O-保护基保护的羟基可以为例如醚、酯、羧酸酯、缩醛等。特别地,O-保护基团可以为任选地被一个或多个(尤其是1至3个)卤素原子(例如氯原子)取代的(C_1-C_6)烷基,例如甲基、乙基、叔丁基或2,2,2-三氯乙基;芳基-(C_1-C_6)烷基(例如苄基),所述芳基部分任选地被一个或多个甲氧基取代,例如苄基(Bn)或对甲氧基苄基(PMB);式$-CAr_1Ar_2Ar_3$的三苯甲基衍生物,例如三苯甲基(也称为trityl-Tr)、(4-甲氧基苯基)二苯甲基(也称为甲氧基三苯甲基-NMT)或双-(4-甲氧基苯基)苯甲基(也称为二甲氧基三苯甲基-DMT);式$-CH_2OR_{GP2}$或式$-CH_2SR_{GP2}$的取代甲基(特别是是$-CH_2OR_{GP2}$),例如甲氧基甲基(MOM)、苄氧基甲基、2-甲氧基乙氧基甲基(MEM)、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基或甲硫基甲基;式$-CH_2CH_2OR_{GP2}$或$-CH_2CH_2SR_{GP2}$的取代乙基(特别是$-CH_2CH_2OR_{GP2}$),例如乙氧基乙基(EE);式$-SiR_{GP3}R_{GP4}R_{GP5}$的甲硅烷基,例如三甲基甲硅烷基(TMS)、三乙基甲硅烷基(TES)、叔丁基二甲基甲硅烷基(TBS或TBDMS)和叔丁基二苯基甲硅烷基(TBDPS);式$-CO-R_{GP6}$的羰基化基团,例如乙酰基(Ac)、新戊酰基(Piv或Pv)或苯甲酰基(Bz),或式$-CO_2-R_{GP7}$的羰基化基团,例如烯丙氧基羰基(Alloc)或9-芴基甲基氧

羰基(Fmoc);或四氢吡喃基()(THP)或四氢呋喃基();

[0132] 其中Ar_1、Ar_2和Ar_3彼此独立地表示芳基(例如苯基),其任选地被一个或多个甲氧基取代;R_{GP2}表示任选地被芳基(例如苯基)、(C_1-C_6)烷氧基(例如甲氧基)或三烷基甲硅烷基(例如$SiMe_3$)取代的(C_1-C_6)烷基(例如甲基或乙基);R_{GP3}、R_{GP4}和R_{GP5}彼此独立地表示(C_1-C_6)烷基或芳基(例如苯基);R_{GP6}和R_{GP7}彼此独立地表示(C_1-C_6)烷基、(C_2-C_6)烯基、芳基、芳基-(C_1-C_6)烷基或9-芴基甲基。

[0133] 本发明中所用的术语"N-保护基"是指在合成过程中保护胺官能团(尤其是伯胺官能团)免于不期望的反应的基团。常用的N-保护基公开在《有机合成中的保护基》("Greene's Protective Groups In Organic Synthesis")(第4版,2007,John Wiley&Sons,Hoboken,New Jersey)中。由N-保护基保护的胺官能团可以为氨基甲酸酯、酰胺、磺酰胺、N-烷基衍生物、氨基缩醛衍生物、N-苄基衍生物、亚胺衍生物、烯胺衍生物或N-杂原子衍生物。特别地,N-保护基可以为甲酰基;芳基(例如苯基),其任选地被一个或多个甲氧基取代,例如对甲氧基苯基(PMP);芳基-(C_1-C_6)烷基(例如苄基),其芳基部分任选地被一个或多个甲氧基取代,例如苄基(Bn)、对甲氧基苄基(PMB)或3,4-二甲氧基苄基(DMPM);-CO-R_{GP1},例如乙酰基(Ac)、新戊酰基(Piv或Pv)、苯甲酰基(Bz)或对甲氧基苄基羰基(Moz);-CO_2-R_{GP1},例如叔丁氧羰基(Boc)、三氯乙氧羰基(TROC)、烯丙氧羰基(Alloc)、苄氧羰基(Cbz或Z)或9-芴基甲氧羰基(Fmoc);-SO_2-R_{GP1},例如苯磺酰基、甲苯磺酰基(Ts或Tos)或2-硝基苯磺酰基(也称为nosyl-Nos或Ns);等,

[0134] 其中R_{GP1}表示任选地被一个或多个卤素原子(例如F或Cl)取代的(C_1-C_6)烷基;(C_2-C_6)烯基,例如烯丙基;芳基(例如苯基),其任选地被选自OMe(甲氧基)和NO_2(硝基)中的一个或多个基团取代;芳基-(C_1-C_6)烷基(例如苄基),其芳基部分任选地被一个或多个甲氧基取代;或9-芴基甲基。

[0135] 术语"抗体(antibody)"、"抗体(antibodies)"、"ab"、"Ab"、"MAb"或"免疫球蛋白"在最广泛的意义上可以互换使用,包括单克隆抗体、分离的、工程的或重组的抗体(例如全长或完整的单克隆抗体)、多克隆抗体、多价抗体或多特异性抗体(例如双特异性抗体)及其抗体片段,只要其表现出期望的生物学活性即可。

[0136] 术语"重组抗体"是指活细胞内重组DNA的表达产生的抗体。根据本发明的重组抗体通过使用本领域技术人员熟知的基因重组实验室方法获得,产生在生物体中不存在的DNA序列。

[0137] 根据本发明的抗体的"抗原结合片段"术语旨在表示保留结合抗体的靶点(也通常称为抗原)的能力的任何肽、多肽或蛋白质。

[0138] "结合(binding)"、"结合(binds)"等是指抗体或其任何抗原结合片段与抗原形成在生理条件下相对稳定的复合物。特异性结合可以通过至少约1×10^{-6}M的平衡解离常数来表征。确定两个分子是否结合的方法是本领域公知的,包括例如平衡透析、表面等离子体共振、放射性标记测定等。为了避免疑惑,这并不意味着所述抗体不能以低水平结合或干扰另一种抗原。然而,作为一个实施方案,所述抗体仅结合所述抗原。

[0139] 本说明书中所用的表述"IGF-1R抗体"应被解释为类似于"抗-IGF-1R抗体"并且是指能够结合IGF-1R的抗体。

[0140] 本说明书中所用的表述“HER2抗体”应被解释为类似于“抗-HER2抗体”并且是指能够结合HER2的抗体。

[0141] 术语半数最大效应浓度(EC_{50})对应于在指定的暴露时间后引起基线和最大值之间的一半响应的药物、抗体或毒物的浓度。其通常用作药物效力的量度。因此,分级的剂量响应曲线的EC_{50}表示可观察到化合物最大作用的50％的化合物浓度。定量的剂量响应曲线的EC_{50}表示在指定的暴露持续时间后,群体的50％表现出响应的化合物浓度。浓度测量通常遵循S形曲线,在相对较小的浓度变化中迅速上升。其可以在数学上通过推导最佳拟合曲线来确定。

[0142] 作为一个优选的实施方案,在本发明中确定的EC_{50}表征抗体结合在暴露于人肿瘤细胞上的IGF-1R ECD上的效力。使用FACS分析确定EC_{50}参数。EC_{50}参数反映抗体浓度,在所述浓度下可获得对在人肿瘤细胞上表达的人IGF-1R的最大结合的50％。使用四参数回归曲线拟合程序(Prism软件)计算每个EC_{50}值作为剂量响应曲线的中点。选择该参数以代表生理/病理状态。

[0143] 术语“表位”是被抗体结合的抗原区域。表位可以定义为结构性的或功能性的。功能性表位通常是结构性表位的子集并具有直接有助于相互作用的亲和力的那些残基。表位也可以是构象性的,即由非线性氨基酸组成。在某些实施方案中,表位可以包括作为分子的化学活性表面基团的决定簇,例如氨基酸、糖侧链、磷酰基或磺酰基,并且在某些实施方案中,表位可以具有特定的三维结构特征,和/或特定的电荷特性。

[0144] 本文中所用的术语“单克隆抗体”或“Mab”是指从大体上均质的抗体群体中获得的抗体,即所述群体中的各个抗体是相同的,除了可能少量存在的可能自然发生的突变。单克隆抗体是高度特异的,其针对单个表位。所述单克隆抗体可以由B细胞或杂交瘤的单个克隆生产。单克隆抗体也可以是重组的,即通过蛋白质工程或化学合成产生。单克隆抗体也可以从噬菌体抗体文库中分离。另外,与通常包括针对各种决定簇或表位的各种抗体的多克隆抗体的制备相反,每种单克隆抗体针对抗原的单个表位。本文的单克隆抗体包括鼠源、嵌合和人源化抗体。

[0145] 术语“嵌合抗体”涉及包含衍生自给定物种的抗体的天然可变区(轻链和重链)和与所述给定物种异源的物种的抗体的轻链和重链的恒定区结合的抗体。嵌合抗体可以通过使用重组遗传学技术来制备。例如,可以通过克隆重组DNA来生产嵌合抗体,所述重组DNA包含启动子和编码非人(尤其是鼠)源单克隆抗体的可变区的序列,以及编码异源物种(优选人)抗体恒定区的序列。由一个所述重组基因编码的根据本发明的嵌合抗体可以为例如鼠-人嵌合体,该抗体的特异性由鼠DNA衍生的可变区决定,而其同种型由人DNA衍生的恒定区决定。

[0146] 术语“人源化抗体”是指包含衍生自非人源抗体的CDR区的抗体,所述抗体分子的其他部分衍生自一种(或多种)人源抗体。另外,一些骨架片段残基(称为FR)可以被修饰以保持结合亲和力。可以通过本领域技术人员已知的技术来制备人源化抗体或其片段。所述人源化抗体优选用于涉及体外诊断或体内预防和/或治疗的方法。本领域技术人员还已知其他人源化技术,例如PDL在专利和专利申请EP 0 451 216、EP 0 682 040、EP 0 939 127、EP 0 566 647、US 5,530,101、US 6,180,370、US 5,585,089、US 5,693,761中描述的“CDR植入”技术。也可以引用美国专利5,639,641、6,054,297、5,886,152和5,877,293。

[0147] 在本说明书中没有相反说明时,互补决定区或CDR是指根据IMGT编号系统定义的免疫球蛋白重链和轻链的高变区。

[0148] 然而,CDR也可以根据Kabat编号系统来定义(Kabat等人,Sequences of proteins of immunological interest,第5版,美国卫生和公共服务部,NIH,1991,及更高版本)。有三个重链CDR和三个轻链CDR。在此,术语"CDR"和"CDRs"根据情况用于表示一个或多个或甚至所有区域,所述区域包含负责抗体对抗原或其识别的表位的结合亲和力的大部分氨基酸残基。为了简化对本申请的阅读,未定义根据Kabat的CDR。然而,对于本领域技术人员而言,使用根据IMGT的CDR的定义来定义根据Kabat的CDR将是显而易见的。

[0149] 在本发明的意义上,两个核酸或氨基酸序列之间的"同一性"或"同一性百分比"是指在最佳比对后获得的待比较的两个序列之间相同核苷酸或氨基酸残基的百分比,该百分比纯粹为统计学的,两个序列之间的差异沿其长度随机分布。传统上,通过对最佳比对后的序列进行比较来进行两个核酸或氨基酸序列的比较,所述比较可以分段进行,也可以通过使用"比对窗口"进行。除了手工比对外,可以通过Smith和Waterman(1981)的局部同源性算法[Ad.App.Math.2:482]、Neddleman和Wunsch(1970)的局部同源性算法[J.Mol.Biol.48:443]、Pearson和Lipman(1988)的相似性搜索方法[Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:2444]或通过使用这些算法的计算机软件(Wisconsin遗传学软件包中的GAP、BESTFIT、FASTA和TFASTA,Genetics Computer Group,575 Science Dr.,Madison,WI,或比较软件BLAST NR或BLAST P)来进行待比较序列的最佳比对。

[0150] 同一性百分比的计算是通过确定两个序列之间(优选两个完整序列之间)的氨基酸核苷酸或残基相同的位置数目,将相同的位置的数目除以比对窗口中的位置总数,并将结果乘以100,以获得两个序列之间的百分比同一性。

[0151] 例如,可以使用BLAST程序"BLAST 2序列"(Tatusova等人,"Blast 2sequences-a new tool for comparing protein and nucleotide sequences",FEMS Microbiol.,1999,Lett.174:247-250)(可从网站http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/bl2.html上获得),使用默认参数(尤其是参数"开放间隔罚分":5,"延伸间隔罚分":2;所选择的矩阵例如为程序提出的"BLOSUM 62"矩阵);程序直接计算两个待比较序列之间的百分比同一性。

[0152] 表述"回复突变(back-mutation)"或"回复突变(back mutation)"是指用最初存在于鼠源序列中的相应残基对种系中存在的人源残基进行的突变或替换。

[0153] 术语"核酸"、"核序列(nucleic sequence)"、"核酸序列(nucleic acid sequence)"、"多核苷酸"、"寡核苷酸"、"多核苷酸序列"和"核苷酸序列"在本说明书中可互换使用,其是指核苷酸的修饰的或未修饰的精确序列,其定义核酸的片段或区域、是否包含非天然核苷酸,并且可以为双链DNA、单链DNA或所述DNA的转录产物。

[0154] 术语"肽"是指通过肽(酰胺)键彼此连接的氨基酸单体链。通过一个氨基酸的羧基(COOH)与另一个氨基酸的氨基(NH_2)反应形成共价肽键(酰胺)。术语肽包括寡肽和多肽。

[0155] 术语"蛋白质"是一种或多种如上定义的肽的组装体,所述肽经过翻译后修饰和蛋白质折叠以使其以生物学功能的方式排列。

[0156] 本发明中所用的术语"氨基酸"是指D型或L型的天然α-氨基酸(例如丙氨酸(Ala)、精氨酸(Arg)、天冬酰胺(Asn)、天冬氨酸(Asp)、半胱氨酸(Cys)、谷氨酰胺(Gln)、谷氨酸(Glu)、甘氨酸(Gly)、组氨酸(His)、异亮氨酸(Ile)、亮氨酸(Leu)、赖氨酸(Lys)、蛋氨酸

(Met)、苯丙氨酸(Phe)、脯氨酸(Pro)、丝氨酸(Ser)、苏氨酸(Thr)、色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)和缬氨酸(Val)),以及非天然氨基酸(例如β-丙氨酸、烯丙基甘氨酸、叔亮氨酸、3-氨基己二酸、2-氨基苯甲酸、3-氨基苯甲酸、4-氨基苯甲酸、2-氨基丁酸、4-氨基-1-羧甲基哌啶、1-氨基-1-环丁烷羧酸、4-氨基环己烷乙酸、1-氨基-1-环己烷羧酸、(1R,2R)-2-氨基环己烷羧酸、(1R,2S)-2-氨基环己烷羧酸、(1S,2R)-2-氨基环己烷羧酸、(1S,2S)-2-氨基环己烷羧酸、3-氨基环己烷羧酸、4-氨基环己烷羧酸、(1R,2R)-2-氨基环戊烷羧酸、(1R,2S)-2-氨基环戊烷羧酸、1-氨基-1-环戊烷羧酸、1-氨基-1-环丙烷羧酸、4-(2-氨基乙氧基)-苯甲酸、3-氨基甲基苯甲酸、4-氨基甲基苯甲酸、2-氨基丁酸、4-氨基丁酸、6-氨基己酸、1-氨基茚满-1-羧酸、4-氨基甲基-苯乙酸、4-氨基苯基乙酸、3-氨基-2-萘甲酸、4-氨基苯基丁酸、4-氨基-5-(3-吲哚基)-戊酸、(4R,5S)-4-氨基-5-甲基庚酸、(R)-4-氨基-5-甲基己酸、(R)-4-氨基-6-甲基硫代己酸、(S)-4-氨基戊酸、(R)-4-氨基-5-苯基戊酸、4-氨基苯基丙酸、(R)-4-氨基庚二酸、(4R,5R)-4-氨基-5-羟基己酸、(R)-4-氨基-5-羟基戊酸、(R)-4-氨基-5-(对羟基苯基)-戊酸、8-氨基辛酸、(2S,4R)-4-氨基-吡咯烷-2-羧酸、(2S,4S)-4-氨基-吡咯烷-2-羧酸、氮杂环丁烷-2-羧酸、(2S,4R)-4-苄基-吡咯烷-2-羧酸、(S)-4,8-二氨基辛酸、叔丁基甘氨酸、γ-羧基谷氨酸、β-环己基丙氨酸、瓜氨酸、2,3-二氨基丙酸、马尿酸、高环己基丙氨酸、摩尔氨酸(moleucine)、高苯丙氨酸、4-羟基脯氨酸、二氢吲哚-2-羧酸、异二十二烷酸、α-甲基丙氨酸、烟酸、正亮氨酸、正缬氨酸、八氢吲哚-2-羧酸、鸟氨酸、青霉胺、苯基甘氨酸、4-苯基-吡咯烷-2-羧酸、哌可啉酸(pipecolic acid)、炔丙基甘氨酸、3-吡啶基丙氨酸、4-吡啶基丙氨酸、1-吡咯烷-3-羧酸、肌氨酸、他汀类、四氢异喹啉-1-羧酸、1,2,3,4-四氢异喹啉-3-羧酸或氨甲环酸)。

[0157] 详细说明

[0158] 连接子部分

[0159] 根据本发明的连接子部分能够使抗体共价连接于至少一种药物部分。

[0160] 连接子部分可以为“不可裂解”或“可裂解”的。

[0161] 在一个优选的实施方案中,其在于促进药物在细胞中释放的“可裂解”连接子部分。

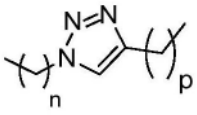
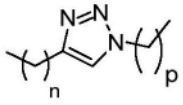
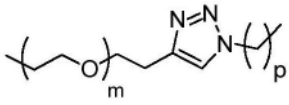
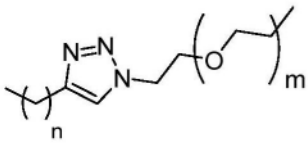
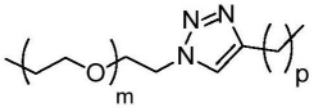
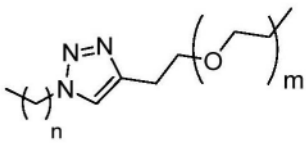
[0162] 例如,在一些实施方案中,所述连接子可被存在于细胞内环境(例如在溶酶体或内体或小窝内)的裂解剂裂解。所述连接子可以是例如被细胞内的肽酶或蛋白酶(包括但不限于溶酶体或内体蛋白酶)裂解的肽基连接子。通常,所述肽基连接子包含至少两个连续的氨基酸或至少三个连续的氨基酸。裂解剂可以包括组织蛋白酶B和D以及纤溶酶,其均已知可水解二肽药物衍生物,导致活性药物在靶细胞内的释放。例如,可以使用可被在癌组织中高表达的巯基依赖性蛋白酶组织蛋白酶-B裂解的肽基连接子(例如包含Phe-Leu或Gly-Phe-Leu-Gly的连接子)。在具体的实施方案中,所述可被细胞内蛋白酶裂解的肽基连接子包含或为Val-Cit、Phe-Lys或Val-Ala。使用细胞内蛋白水解释放药物的一个优点是所述药物通常在偶联时被减毒,并且偶联物的血清稳定性通常很高。

[0163] 基团-L_1-$(CO)_c$-表示必须存在的连接子部分的延伸单元。基团-L_1-$(CO)_c$-为式-L_1'-$(CO\text{-}Z')_{z'}$-$(CO)_c$-的基团,其中z'和c为0或1,例如当z'为0时的-L_1'-$(CO)_c$-基团。优选地,当w和y中的至少一个不为0时,则z'为0,而在其他情况下,z'为0或1。

[0164] L_1'表示-$(CH_2)_n$-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-、亚芳基、亚杂芳基、环烷二基、-$(CH_2)_n$-亚

芳基-、-$(CH_2)_n$-亚杂芳基-、-$(CH_2)_n$-环烷二基-、-亚芳基-$(CH_2)_p$-、-亚杂芳基-$(CH_2)_p$-、-环烷二基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2)_n$-亚芳基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2)_n$-亚杂芳基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2)_n$-环烷二基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-亚芳基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-亚杂芳基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-环烷二基-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2)_n$-亚芳基-CH_2-CH_2-$(OCH_2CH_2)_m$-、-$(CH_2)_n$-亚杂芳基-CH_2-CH_2-$(OCH_2CH_2)_m$-、或-$(CH_2)_n$-环烷二基-CH_2-CH_2-$(OCH_2CH_2)_m$-。更特别地,所述亚芳基为亚苯基;所述环烷二基为环已二基,例如对环已二基;所述亚杂芳基为二价1,2,3-三唑,例如二价1H-1,2,3-三唑。

[0165] 根据一个特定的实施方案,L_1'表示-$(CH_2)_n$-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-、亚芳基、-环烷二基-、-$(CH_2)_n$-亚芳基-、-亚芳基-$(CH_2)_n$-、-$(CH_2)_n$-环烷二基-、-环烷二基-$(CH_2)_n$-、


、

、

、

、

、或

更特别地,所述亚芳基为亚苯基;所述环烷二基为环已二基,例如对环已二基。

[0166] 根据另一个特定的实施方案,L_1'表示-$(CH_2)_n$-或-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-,尤其是-$(CH_2)_n$-,例如-$(CH_2)_5$-。

[0167] 当z'=1时,L_1'延伸单元部分可以完整具有延伸单元部分CO-Z',其中Z'为-CO-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-或-CO-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-CO-$(CH_2)_v$-。R_4和R_5独立地为H或(C_1-C_6)烷基,例如H或Me。u和v独立地为1至6的整数,例如1至4的整数,尤其是1或2,例如2。

[0168] $(W)_w$表示连接子的氨基酸单元。

[0169] 连接子的氨基酸单元可以被包括但不限于肿瘤相关蛋白酶的酶促裂解以释放药物。

[0170] 可以设计和优化氨基酸单元的选择性,以通过特定的肿瘤相关蛋白酶进行酶促裂解。合适的单元为其裂解被蛋白酶(组织蛋白酶B、C和D和纤溶酶)催化的单元。

[0171] $(W)_w$可以不存在(w=0)或可以为二肽、三肽、四肽或五肽单元(w=1、2、3、4或5),其中形成肽的氨基酸可以彼此不同。

[0172] 因此,$(W)_w$可用下式表示:$(W1)_{w1}(W2)_{w2}(W3)_{w3}(W4)_{w4}(W5)_{w5}$,其中每个W1至W5彼此独立地表示氨基酸单元,并且每个w1至w5为0或1。

[0173] 在一些实施方案中,氨基酸单元$(W)_w$可以包含氨基酸残基(例如天然存在的氨基酸残基)以及次要氨基酸和非天然存在的氨基酸类似物(例如瓜氨酸)。

[0174] 氨基酸单元$(W)_w$的氨基酸残基包括但不限于丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、脯氨酸、以乙酰基或甲酰基保护或未保护的赖氨酸、精氨酸、以甲苯磺酰基或硝基保护或未保护的精氨酸、组氨酸、鸟氨酸、以乙酰基或甲酰基保护的鸟氨酸和瓜氨酸。示例性的氨基酸连接子组分优选地包括二肽或三肽。

[0175] 示例性的二肽包括:Val-Cit、Ala-Val、Ala-Ala、Val-Ala、Lys-Lys、Cit-Cit、Val-Lys、Ala-Phe、Phe-Lys、Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp-Cit、Phe-Ala、Phe-N^9-甲

苯磺酰基-Arg、Phe-N^9-硝基-Arg,优选Val-Cit或Val-Ala。

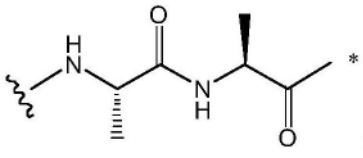
[0176] 示例性的三肽包括:Val-Ala-Val、Ala-Asn-Val、Val-Leu-Lys、Ala-Ala-Asn、Phe-Phe-Lys、Gly-Gly-Gly、D-Phe-Phe-Lys、Gly-Phe-Lys。

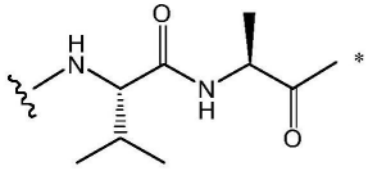
[0177] 示例性的四肽包括:Gly-Phe-Leu-Gly(SEQ ID NO.53)、Ala-Leu-Ala-Leu(SEQ ID NO.54)。

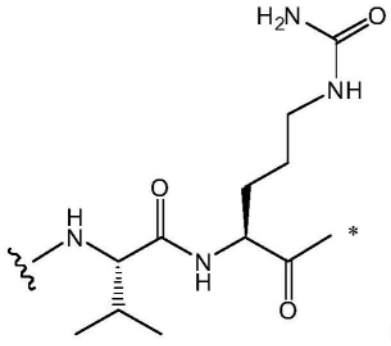
[0178] 示例性的五肽包括:Pro-Val-Gly-Val-Val(SEQ ID NO.55)。

[0179] 根据一个特定的实施方案,$(W)_w$可以为二肽(即w=2),例如Val-Cit或Val-Ala,优选Val-Cit,或连接子缺少氨基酸单元(w=0)。当连接子缺少氨基酸单元时,优选地其也缺少间隔单元Y(y=0)。

[0180] 根据一个优选的实施方案,w=0(即$(W)_w$为单键)或w=2(即$(W)_w$为二肽),因此$(W)_w$可以选自:

[0181] 
(Ala-Ala)、


(Val-Ala)、和

[0182] 
(Val-Cit),

[0183] 并且特别地为Val-Cit,

[0184] 其中

[0185] 星号表示与间隔单元$(Y)_y$的连接点;且

[0186] 波浪线表示与$-L_1-(CO)_c-$(如果c=1则为CO,如果c=0则为L_1)的连接点。

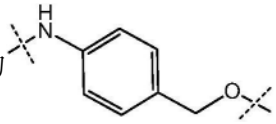
[0187] Y表示连接子的间隔单元。

[0188] 间隔单元有两种通用类型:自裂解(self-immolative)和非自裂解。

[0189] 对于非自裂解间隔单元,在从抗体-药物偶联物酶促裂解氨基酸单元后,其中部分或全部间隔单元保持与药物结合。非自裂解间隔单元的实例包括但不限于(甘氨酸-甘氨酸)间隔单元和甘氨酸间隔单元。为了释放药物,应在靶细胞内发生独立的水解反应以裂解甘氨酸-药物单元的键。

[0190] 自裂解间隔单元可以释放药物而无需单独的水解步骤。在这些实施方案中,(Y)为对氨基苄醇单元(PAB)的残基,其通过PAB基团的氮原子与$(W)_w$连接,且其通过酯、羧酸酯、

氨基甲酸酯或醚基团直接与药物连接。所述包含PAB部分的连接子也可以被认为是无痕的连接子。

[0191] 在本发明中,间隔单元(Y)为-PAB-CO-$(Z)_z$-,其中PAB为(PAB单元的氧与羰基连接),也称为-对氨基苄基-O-CO-,并且y=1或连接子缺少间隔单元(y=0)。

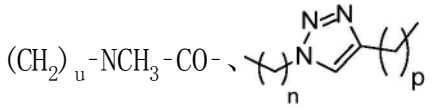
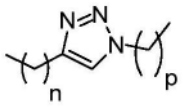
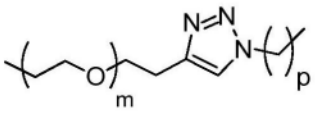
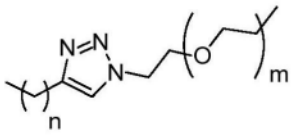
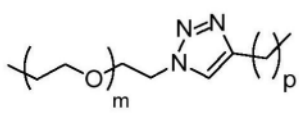
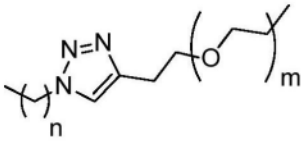
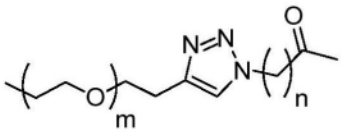
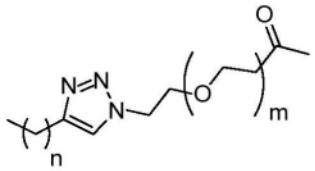
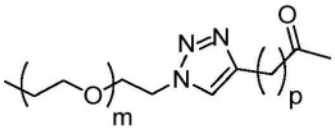
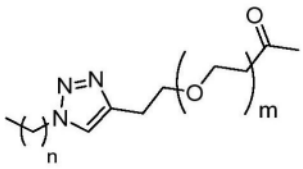
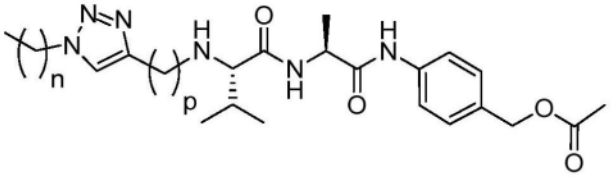
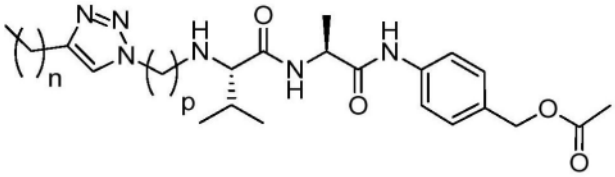
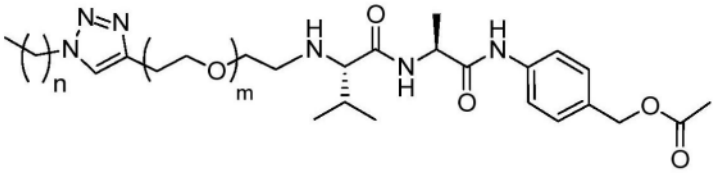
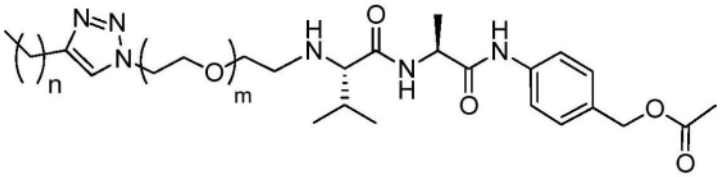
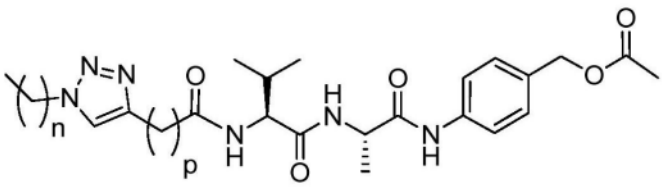
[0192] 当z=1时,间隔子-对氨基苄基-O-CO-可以完整具有间隔子Z,所述间隔子Z为-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-或-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-CO-或-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-CO-$(CH_2)_v$-或-NR_4-$(CH_2)_u$-NR_5-CO-$(CH_2)_v$-CO-。R_4和R_5独立地为H或$(C_1$-$C_6)$烷基,例如H或Me。u和v独立地为1至6的整数,例如1至4的整数,尤其是1或2,例如2。

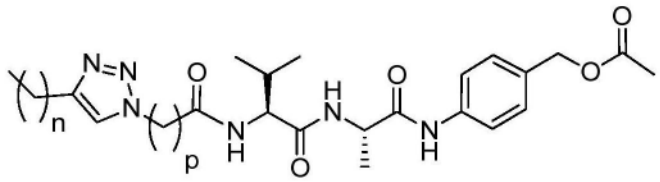
[0193] 有利地,当w为0时y为0,当w为1至5的整数时y为0或1,其意味着仅当存在氨基酸单元W时间隔单元Y可以存在。

[0194] 优选地,当w为0时y为0,当w为1至5的整数时y为1,其意味着当存在氨基酸单元$(W)_w$时间隔单元Y存在,当氨基单元$(W)_w$不存在时间隔单元Y不存在。

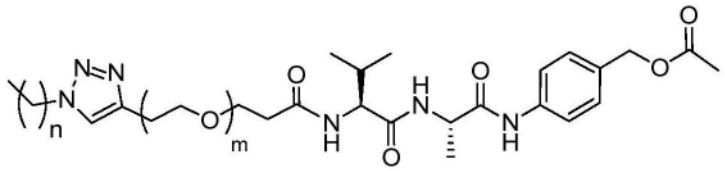
[0195] 根据一个特定的实施方案,基团-L_1-$(CO)_c$-$(W)_w$-$(Y)_y$-表示-$(CH_2)_n$-、-$(CH_2)_n$-CO-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-CO-、-CH_2-对环己基-CO-、-芳基-$(CH_2)_n$-、-$(CH_2)_n$-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-、-$(CH_2)_n$-CO-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-CO-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-、-CH_2-对环己基-CO-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-、-芳基-$(CH_2)_n$-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-、-芳基-CO-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-、-$(CH_2)_n$-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-、-$(CH_2)_n$-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-、-CH_2-对环己基-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-、-芳基-$(CH_2)_n$-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-、-芳基-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-、-$(CH_2)_n$-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-、-$(CH_2)_n$-CO-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-CO-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-、-CH_2-对环己基-CO-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-、-芳基-$(CH_2)_n$-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-、-芳基-CO-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-、-$(CH_2)_n$-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-、-$(CH_2)_n$-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-、-CH_2-对环己基-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-、-芳基-$(CH_2)_n$-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-、-芳基-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-、-$(CH_2)_n$-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-、-$(CH_2)_n$-CO-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-CO-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-、-CH_2-对环己基-CO-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-、-芳基-$(CH_2)_n$-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-、-芳基-CO-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-、-$(CH_2)_n$-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-、-$(CH_2)_n$-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-

CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-、-CH_2-对环己基-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-、-芳基-$(CH_2)_n$-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-、-芳基-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-、

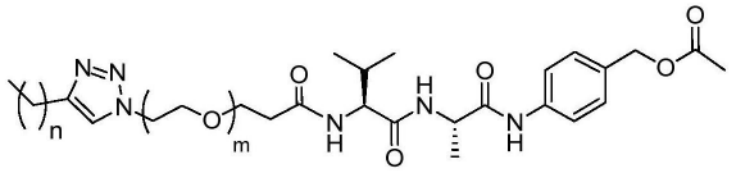

、

、

、

、

、

、

、

、

、

、

、

、

、

、

、



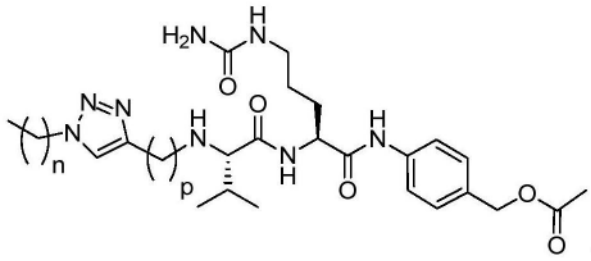
、



、

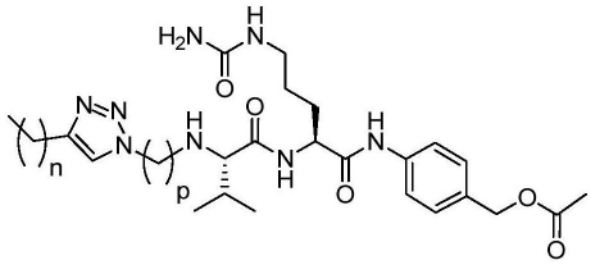


、

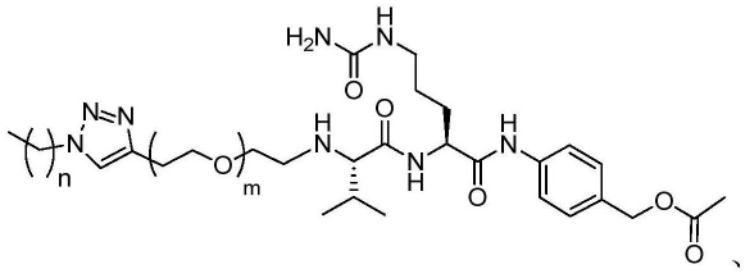


、

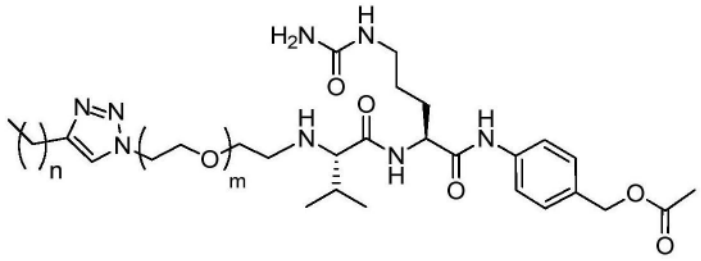
[0196]



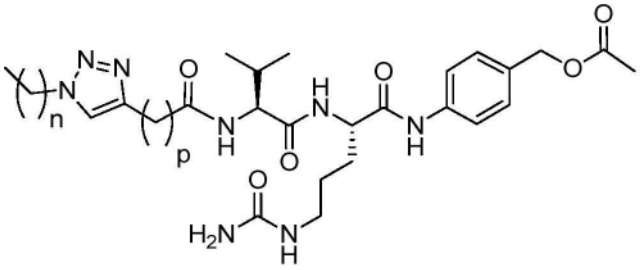
、



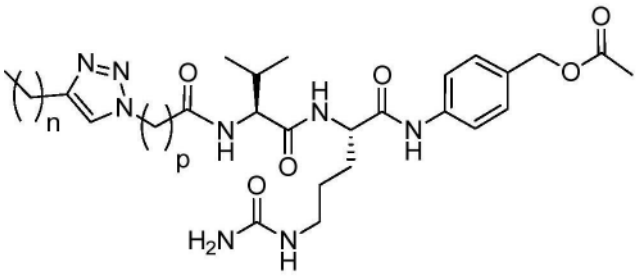
、



、

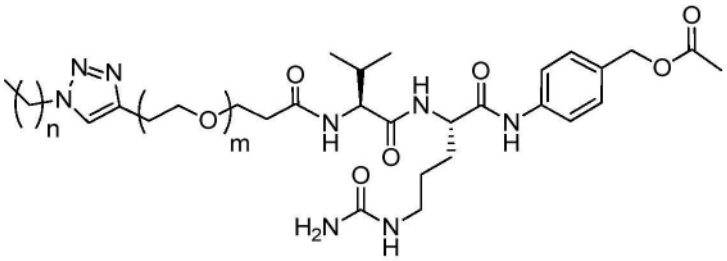


、

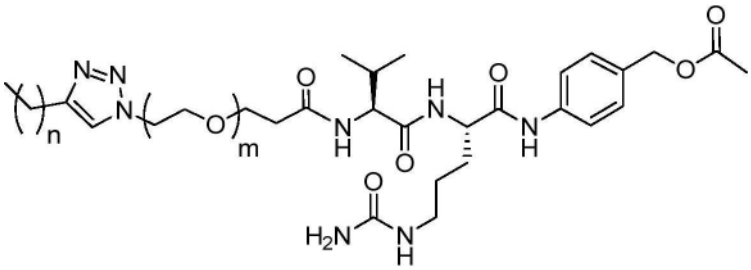


、

[0197]



或



。

[0198] 基团-L_1-$(CO)_c$-$(W)_w$-$(Y)_y$-还可以表示-$(CH_2)_n$-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-、-$(CH_2)_n$-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-CO-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-CO-、-CH_2-对环己基-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-、-CH_2-对环己基-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-CO-、-芳基-$(CH_2)_n$-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-、-芳基-$(CH_2)_n$-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-CO-、-$(CH_2)_n$-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-、-$(CH_2)_n$-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-、-CH_2-对环己基-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-、-CH_2-对环己基-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-、-芳基-$(CH_2)_n$-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-、-芳基-$(CH_2)_n$-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-、-芳基-$(CH_2)_n$-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-、-$(CH_2)_n$-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-、-$(CH_2)_n$-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-CO-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-CO-、-CH_2-对环己基-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-、-CH_2-对环己基-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-CO-、-芳基-$(CH_2)_n$-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-、-芳基-$(CH_2)_n$-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-CO-、-$(CH_2)_n$-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-、-$(CH_2)_n$-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-CO-、-$(CH_2)_n$-CO-Val-Cit-对氨基苄

基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-、-$(CH_2)_n$-CO-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-CO-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-CO-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-CO-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-CO-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-CO-、-CH_2-对环己基-CO-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-、-CH_2-对环己基-CO-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-CO-、-芳基-$(CH_2)_n$-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-、-芳基-$(CH_2)_n$-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-CO-、-芳基-CO-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-、-芳基-CO-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-CO-、-$(CH_2)_n$-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-、-$(CH_2)_n$-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-CO-、-$(CH_2)_n$-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-、-$(CH_2)_n$-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-CO-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-CO-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-、-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-CO-、-CH_2-对环己基-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-、-CH_2-对环己基-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-CO-、-芳基-$(CH_2)_n$-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-、-芳基-$(CH_2)_n$-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-CO-、-芳基-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-、或-芳基-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-CO-。

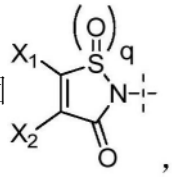
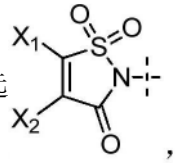
[0199] 根据另一个特定的实施方案,基团-L_1-$(CO)_c$-$(W)_w$-$(Y)_y$-表示-$(CH_2)_n$-、-$(CH_2)_n$-CO-、-$(CH_2)_n$-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-、-$(CH_2)_n$-CO-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-、-$(CH_2)_n$-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-、-$(CH_2)_n$-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-、-$(CH_2)_n$-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-、-$(CH_2)_n$-CO-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-、-$(CH_2)_n$-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-、-$(CH_2)_n$-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-、-$(CH_2)_n$-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-、-$(CH_2)_n$-CO-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-、-$(CH_2)_n$-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-、或-$(CH_2)_n$-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-,其中n和u如先前所定义,并且尤其是n=5及u=2。

[0200] 基团-L_1-$(CO)_c$-$(W)_w$-$(Y)_y$-还可以表示-$(CH_2)_n$-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-、-$(CH_2)_n$-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-CO-、-$(CH_2)_n$-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-、-$(CH_2)_n$-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-、-$(CH_2)_n$-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-、-$(CH_2)_n$-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-CO-、-$(CH_2)_n$-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-、-$(CH_2)_n$-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-CO-、-$(CH_2)_n$-CO-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-、-$(CH_2)_n$-CO-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-CO-、-$(CH_2)_n$-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-、-

$(CH_2)_n$-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-CO-、-$(CH_2)_n$-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-、或-$(CH_2)_n$-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-CO-,其中n、u和v如先前所定义,并且尤其是n=5且u=v=2。

[0201] 根据一个特定的实施方案,基团-L_1-$(CO)_c$-$(W)_w$-$(Y)_y$-表示-$(CH_2)_n$-CO-、-$(CH_2)_n$-CO-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-、-$(CH_2)_n$-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-、-$(CH_2)_n$-CO-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-、-$(CH_2)_n$-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-、-$(CH_2)_n$-CO-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-、或-$(CH_2)_n$-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-,其中n和u如先前所定义,并且尤其是n=5且u=2。

[0202] 基团-L_1-$(CO)_c$-$(W)_w$-$(Y)_y$-还可以表示-$(CH_2)_n$-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-、-$(CH_2)_n$-CO-NH-$(CH_2)_u$-NH-CO-、-$(CH_2)_n$-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-、-$(CH_2)_n$-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-、-$(CH_2)_n$-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-、-$(CH_2)_n$-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-CO-、-$(CH_2)_n$-CO-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-、-$(CH_2)_n$-CO-Val-Cit-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-CO-、-$(CH_2)_n$-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-、或-$(CH_2)_n$-CO-Val-Ala-对氨基苄基-O-CO-NCH_3-$(CH_2)_u$-NCH_3-CO-$(CH_2)_v$-CO-,其中n、u和v如先前所定义,并且尤其是n=5且u=v=2。

[0203] 基团  优选  其为与结合单元(例如抗体)反应以在其上连接药物部分的官能团,所述反应是由于存在于所述结合单元上的巯基。巯基可以通过特别是在抗体中还原结合单元的分子内二硫键(如果存在的话)而产生。或者,可以通过结合单元的赖氨酸部分的氨基与2-亚氨基硫杂环戊烷或其他巯基生成试剂的反应来生成巯基。在特定的实施方案中,结合单元(例如抗体)被工程化以携带一个或多个赖氨酸。更优选地,结合单元(例如抗体)可以被工程化以携带一个或多个半胱氨酸(参见ThioMabs)。

[0204] X_1和X_2彼此独立地表示H、卤素原子(例如Cl或Br)、(C_1-C_6)烷氧基、任选地被取代的芳氧基、或-O-$(CH_2CH_2O)_r$H,条件是X_1和X_2不同时表示H。更特别地,所述芳氧基任选地被选自卤素、CN、NO_2和任选地被一个或多个卤素原子(例如氟原子)取代的芳氧基(例如苯氧基)中的一个或多个基团(例如一个)取代。特别地,所述芳氧基任选地被选自CN、NO_2和五氟苯氧基中的一个或多个(例如一个)基团取代,尤其是任选地被CN取代。特别地,所述芳氧基可以为苯氧基。

[0205] 根据一个特定的实施方案,X_1和X_2彼此独立地表示H、卤素原子(例如Cl或Br)、任选地被取代的(C_1-C_6)烷氧基或芳氧基,条件是X_1和X_2不同时表示H。更特别地,所述芳氧基任选地被选自卤素、CN、NO_2和任选地被一个或多个卤素原子(例如氟原子)取代的芳氧基(例如苯氧基)中的一个或多个基团(例如一个)取代。特别地,所述芳氧基任选地被选自CN、NO_2和五氟苯氧基中的一个或多个(例如一个)基团取代,尤其是任选地被CN取代。特别地,所述芳氧基可以为苯氧基。

[0206] 根据另一个特定的实施方案,X_1和X_2彼此独立地表示H、Cl、Br、被CN取代的甲氧基

或苯氧基,尤其是H、Cl或Br,条件是X_1和X_2不同时表示H。

[0207] 有利地,X_1和X_2相同且不为H,或者X_1和X_2中的一个为H、而另一个不为H。当X_1和/或X_2不为H时,其为卤素原子(例如Cl或Br)、(C_1-C_6)烷氧基、任选地被取代的芳氧基、或$-O-(CH_2CH_2O)_rH$;特别是卤素原子(例如Cl或Br)、(C_1-C_6)烷氧基或任选地被取代的芳氧基;优选Cl、Br、被CN取代的甲氧基或苯氧基;特别是Cl或Br。

[0208] q表示0、1或2。优选地,q表示2。

[0209] X_3代表官能团(当y=z=1且Z为$-NR_4-(CH_2)_u-NR_5-$时,其任选具有Z的末端氮,或当c=w=y=0且z'=1且Z'为$-NR_4-(CH_2)_u-NR_5-$时,其任选具有Z'的末端氮),其旨在与药物(QH或Q-OH)反应,以最终将药物与结合单元(例如抗体)共价连接。

[0210] 还可以设想在连接负有磺酰基马来酰亚胺官能团的延伸单元之前,首先在药物部分上引入间隔单元Y和氨基酸单元$(W)_w$(如果存在的话)。在这种情况下,将使用其中w=y=0的式(I)化合物(即仅包含延伸单元和磺酰基马来酰亚胺官能团),且在这种情况下X_3表示将与氨基酸单元$(W)_w$反应的官能团或已连接在药物单元上的间隔单元Y。

[0211] 当y=z=1且Z为$-NR_4-(CH_2)_u-NR_5-$时,或当c=w=y=0、z'=1且Z'为$-NR_4-(CH_2)_u-NR_5-$(并且与Z或Z'基团的末端氮形成NH官能团)时,X_3表示H,而在其他情况下,X_3表示OH、NH_2或离去基团,例如OH或离去基团。离去基团可以为卤素原子(例如Cl、Br、I)、磺酸基(例如OTf、OMs、OTs)、N-琥珀酰亚胺氧基、4-硝基-苯氧基、五氟苯氧基或N-苯并三唑氧基。特别地,当y=z=1且Z为$-NR_4-(CH_2)_u-NR_5-$时,或当c=w=y=0、z'=1且Z'为$-NR_4-(CH_2)_u-NR_5-$时,X_3表示H,而在其他情况下,X_3更特别地可以为OH、Cl或N-琥珀酰亚胺氧基。

[0212] 药物部分

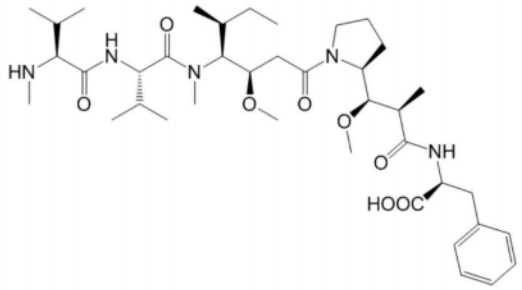
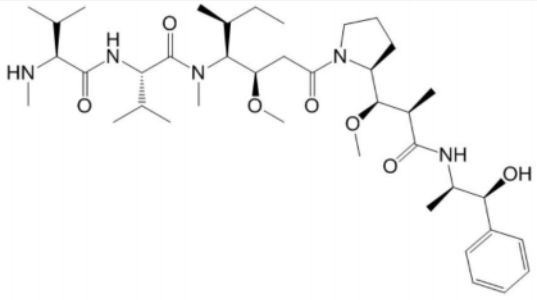
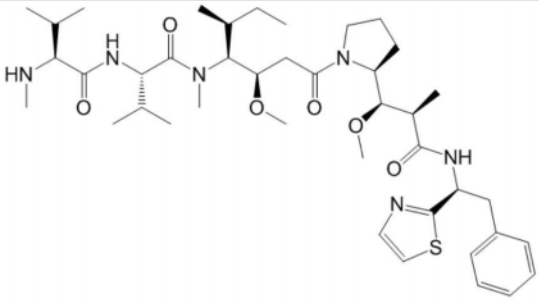
[0213] 药物部分(Q)为药物QH或药物Q-OH的残基。

[0214] 根据本发明的药物可以为在人或兽医疗法中有用的任何药物,尤其是用于治疗癌症的药物。其尤其可以为细胞毒性剂。有利地,所述药物包含能够将该药物连接至连接子部分的官能团。还可以设想将这样的官能团添加到药物上以进行连接。该官能团可以为例如OH、SH、NH或COOH,并且将与连接子的X_3末端反应以将药物连接至连接子部分。偶联反应可以为例如亲核取代(例如OH、SH、NH或COOH与X_3=离去基团的反应)、肽偶联(例如COOH与$X_3=NH_2$或以NH结尾的ZX_3或$Z'X_3$的反应)、酯化反应(COOH和OH之间的反应)、Mitsunobu反应等。

[0215] 药物部分Q可以为例如:

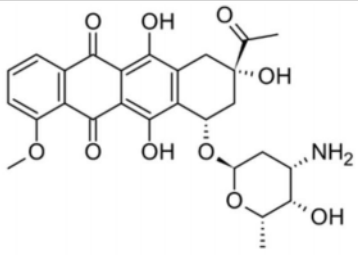
[0216] -澳瑞他汀(auristatin)衍生物的残基,例如单甲基澳瑞他汀F(MMAF)残基(通过其末端NH或COOH基团连接)、单甲基澳瑞他汀E(MMAE)残基(通过其末端NH或OH基团连接)、单甲基多拉司他汀(dolastatin)-10残基(通过其末端NH基团连接)或其衍生物的残基,例如如下定义的式(C)的药物部分;

[0217]

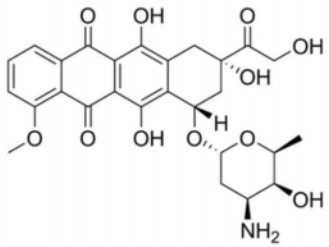
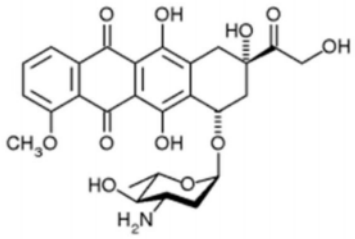
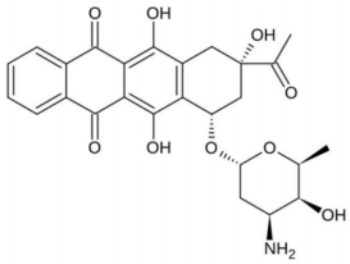
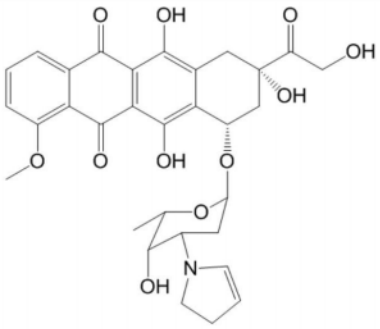
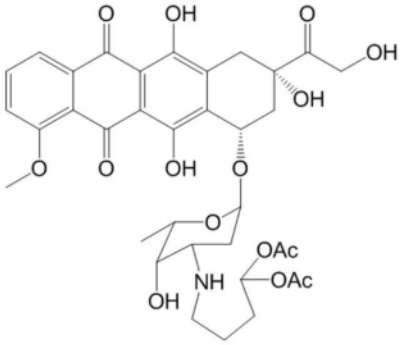
MMAF	
MMAE	
单甲基 多拉司他汀-10	

[0218] -蒽环霉素的残基,例如柔红霉素、多柔比星、表柔比星或伊达比星的残基(通过-$COCH_2OH$的NH_2基团或OH基团连接),或其衍生物例如2-吡咯啉多柔比星或前-2-吡咯啉多柔比星(pro-2-pyrrolinodoxorubicine)的残基(通过-$COCH_2OH$的OH基团连接),或PNU-159682(通过-$COCH_2OH$的OH基团连接)或其衍生物的残基;特别是多柔比星残基(通过-$COCH_2OH$的NH_2基团或OH基团连接)、2-吡咯啉多柔比星残基、前-2-吡咯啉多柔比星残基(通过-$COCH_2OH$的OH基团连接)或PNU-159682残基(通过-$COCH_2OH$的OH基团连接)或PNU-159682的衍生物的残基,尤其是如下所示;优选如下所示的PNU-159682的残基(通过-$COCH_2OH$的OH基团连接)或PNU-159682的衍生物的残基(通过COOH连接);

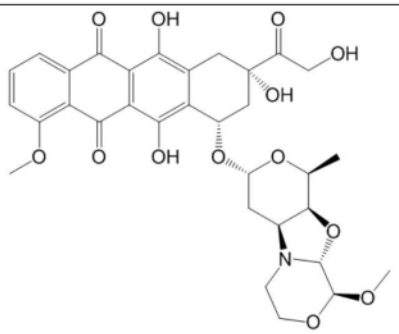
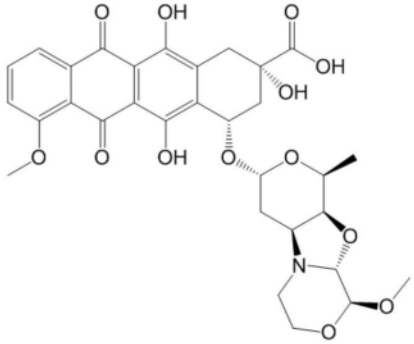
[0219]

柔红霉素	

[0220]

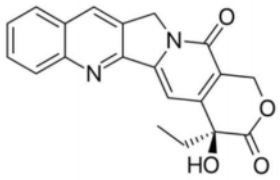
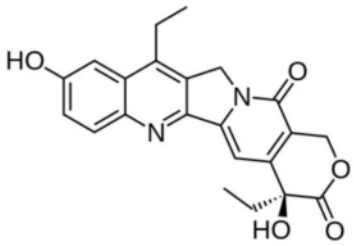
多柔比星	
表柔比星	
伊达比星	
2-吡咯啉多柔比星	
前-2-吡咯啉多柔比星	

[0221]

PNU-159682	
PNU-159682 衍生物	

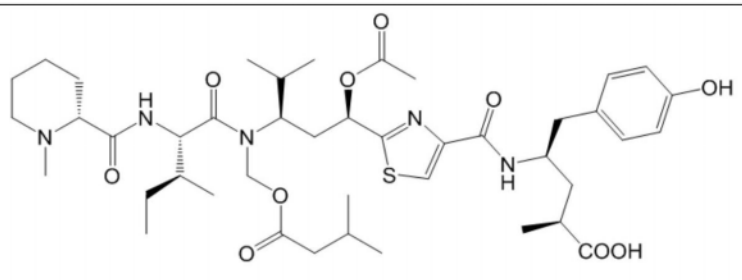
[0222] -喜树碱或其衍生物的残基,例如SN-38的残基(通过其OH基团连接);

[0223]

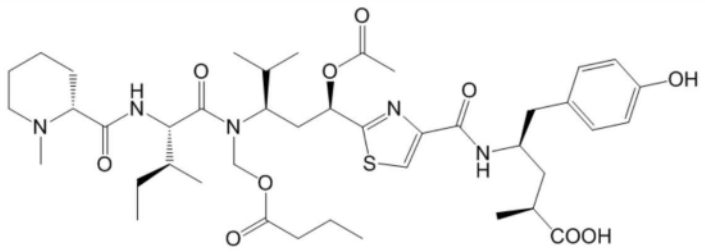
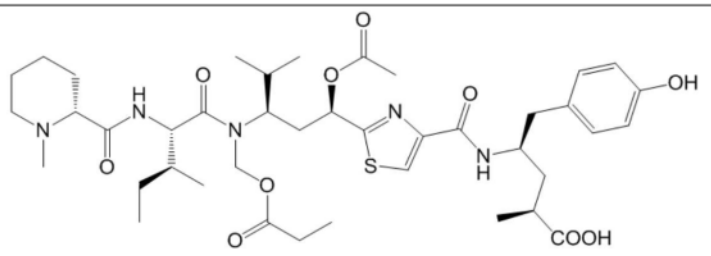
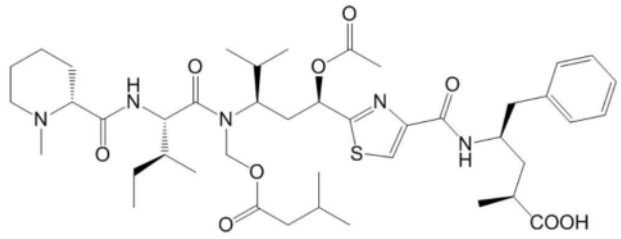
喜树碱	
SN-38	

[0224] -微管溶素的残基,例如微管溶素A、微管溶素B、微管溶素C或微管溶素D的残基(通过存在时的COOH基团或OH基团连接);

[0225]

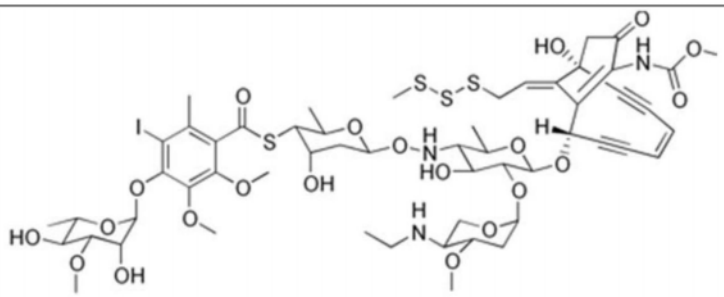
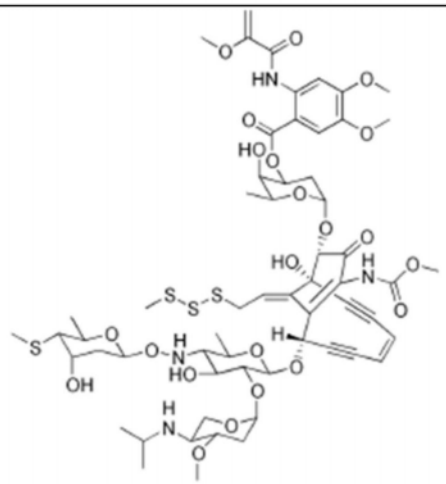
微管溶素 A	

[0226]

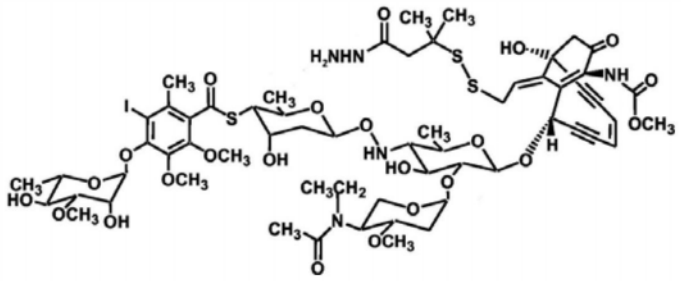
微管溶素 B	
微管溶素 C	
微管溶素 D	

[0227] -卡奇霉素(calicheamicin)的残基,例如埃斯佩拉霉素(esperamicin)或卡奇霉素γ1的残基,或其衍生物例如N-乙酰基二甲基肼卡奇霉素的残基(通过其肼部分连接);

[0228]

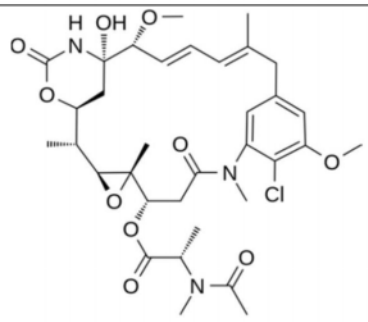
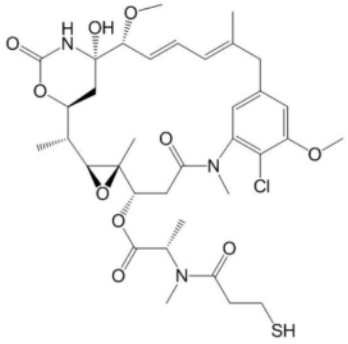
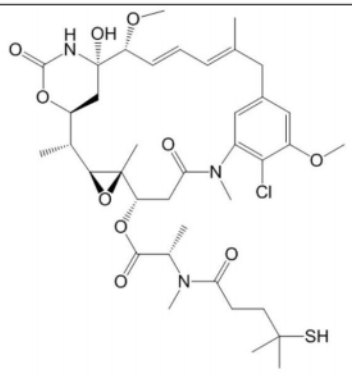
卡奇霉素γ1	
埃斯佩拉霉素	

[0229]

N-乙酰基二甲基肼卡奇霉素	

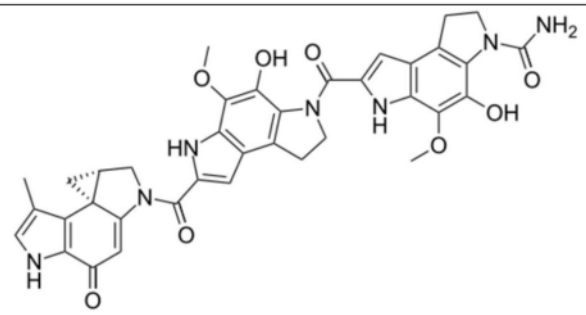
[0230] -美登木素生物碱(maytansinoid)的残基,例如美登素(maytansine,也称为美坦辛(maitansine))的残基或其衍生物例如DM1或DM4的残基(通过SH基团连接);特别是DM1或DM4的残基(通过SH基团连接);

[0231]

美登素	
DM1	
DM4	

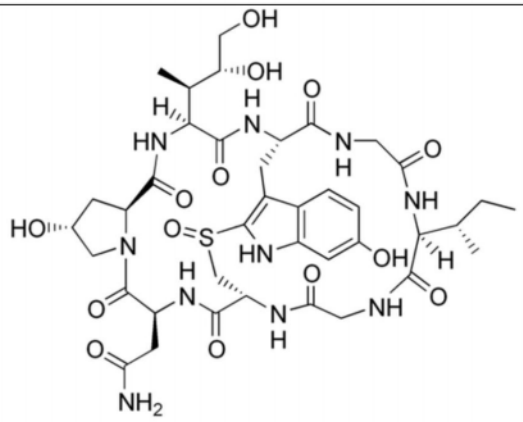
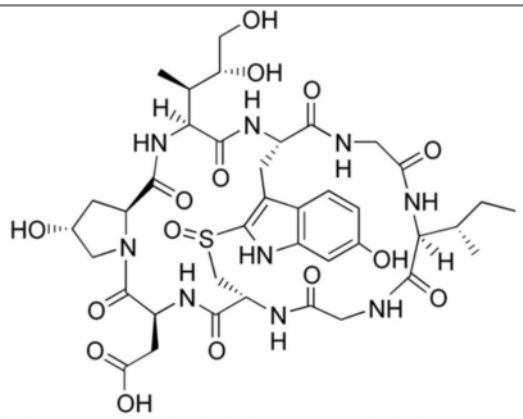
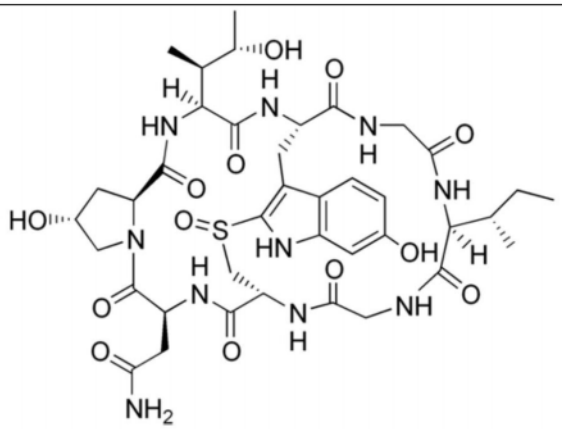
[0232] -倍癌霉素(duocarmycin)的残基,例如倍癌霉素A、倍癌霉素B1、倍癌霉素B2、倍癌霉素C1、倍癌霉素C2、倍癌霉素D、倍癌霉素SA或CC-1065的残基(通过$CONH_2$基团连接);特别是CC-1065的残基(通过$CONH_2$基团连接);

[0233]

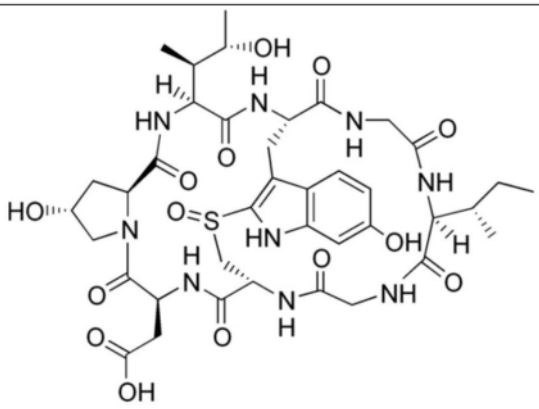
CC-1065	

[0234] -鹅膏蕈碱(amanitine)的残基(通过OH、NH、COOH或$CONH_2$基团,特别是OH基团连接),例如α-鹅膏蕈碱、β-鹅膏蕈碱、γ-鹅膏蕈碱或ε-鹅膏蕈碱的残基;尤其是α-鹅膏蕈碱的残基(尤其是通过CH_2OH基团连接);

[0235]

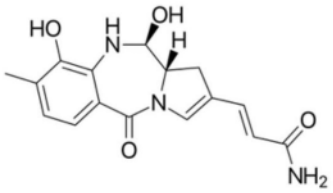
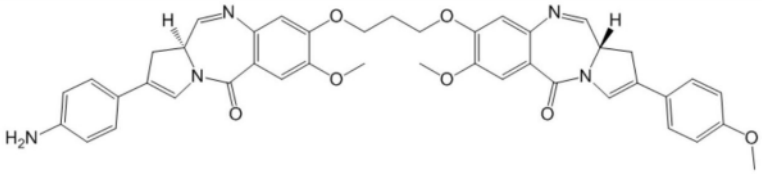
α-鹅膏蕈碱	
β-鹅膏蕈碱	
γ-鹅膏蕈碱	

[0236]

ε-鹅膏蕈碱	

[0237] -吡咯苯并二氮杂卓类(pyrrolobenzodiazepine,PBD)的残基,例如蒽霉素(anthramycin)的残基(通过其OH或NH_2基团连接)或SGD-1882的残基(通过其NH_2基团连接);特别是SGD-1882的残基(通过其NH_2基团连接);

[0238]

蒽霉素	
SGD-1882	

[0239] -免疫检查点激动剂的残基,例如有利地为以下定义的式(D)的STING(干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon genes))激动剂的残基(通过OH、SH或NH连接),或IDO(吲哚胺2,3-双加氧酶)抑制剂的残基,例如艾卡哚司他(epacadostat,INCB024360)或BMS-986205的残基。

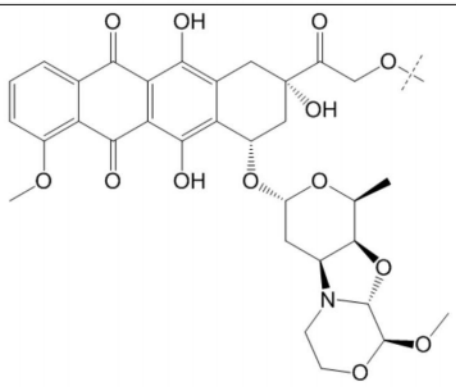
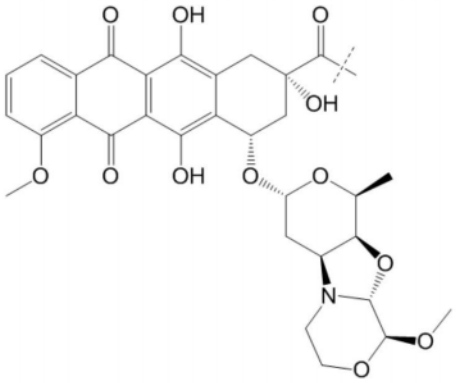
[0240] 有利地,药物部分Q为:

[0241] -澳瑞他汀衍生物的残基,例如MMAF的残基(通过其末端NH或COOH基团连接)、MMAE的残基(通过其末端NH或OH基团连接)或单甲基多拉司他汀-10的残基(通过其末端NH基团连接)或如下定义的式(C)的药物部分的残基;

[0242] -STING激动剂的残基,尤其是如下定义的式(D)的残基;或

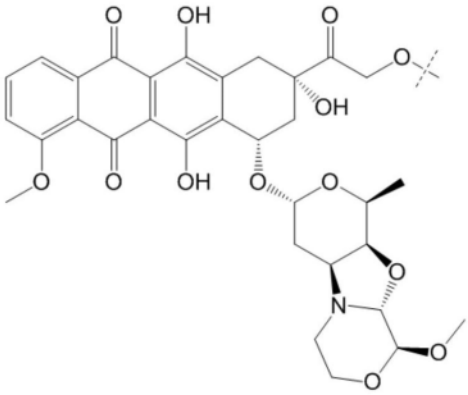
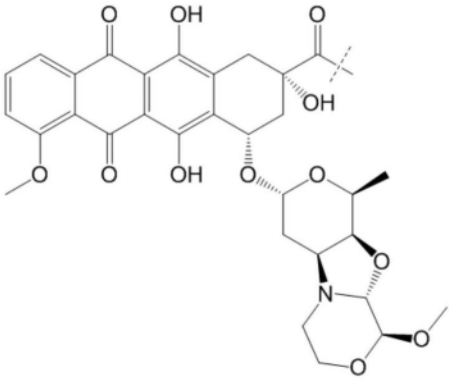
[0243] -蒽环霉素的残基,例如如上所定义的,优选PNU-159682或其衍生物的残基,如下所示:

[0244]

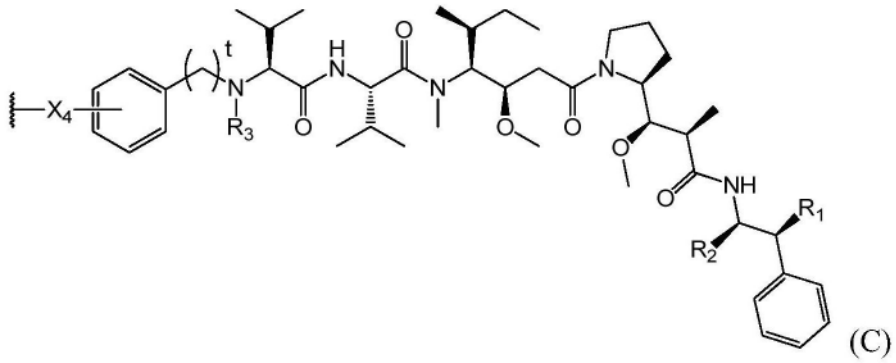
PNU-159682 的残基	
PNU-159682 衍生物的残基	

[0245] 药物部分Q特别地为蒽环霉素的残基,例如如上所定义的,并且优选PNU-159682或其衍生物的残基,如下所示:

[0246]

PNU-159682 的残基	
PNU-159682 衍生物的残基	

[0247] 根据第一个实施方案,澳瑞他汀衍生物的残基具有下式(C):

[0248] 

(C)

[0249] 其中：

[0250] -R_1为H或OH，

[0251] -R_2为(C_1-C_6)烷基(例如甲基)、COOH、COO-((C_1-C_6)烷基)(例如COOMe)或噻唑基(例如噻唑-2-基)，

[0252] -R_3为H或(C_1-C_6)烷基(例如甲基)，特别是(C_1-C_6)烷基，

[0253] -X_4为O或NR_9，

[0254] -R_9为H或(C_1-C_6)烷基(例如甲基)，且

[0255] -t为1至8的整数，特别是1至6的整数，有利地为1至4的整数，优选地为1或2。

[0256] 根据一个特定的实施方案：

[0257] -R_1为OH，R_2为(C_1-C_6)烷基，如甲基；或

[0258] -R_1为H，R_2为噻唑基如噻唑-2-基、COO-(C_1-C_6)烷基如COOMe或COOH。

[0259] 有利地，R_1为H，R_2为噻唑基如噻唑-2-基、COO-(C_1-C_6)烷基如COOMe、或COOH。优选地，R_1为H，R_2为COOH或COOMe，特别是COOH。

[0260] t为1至8的整数，特别是1至6的整数，有利地为1至4的整数，优选地为1或2。

[0261] 有利地，R_3为(C_1-C_6)烷基，优选甲基。

[0262] 根据一个特别的实施方案，R_1为H，R_2为COOH或COOMe(优选COOH)，R_3为甲基，且t为1或2。

[0263] 有利地，X_4为NR_9，其中R_9为H或(C_1-C_6)烷基，优选为H或甲基。

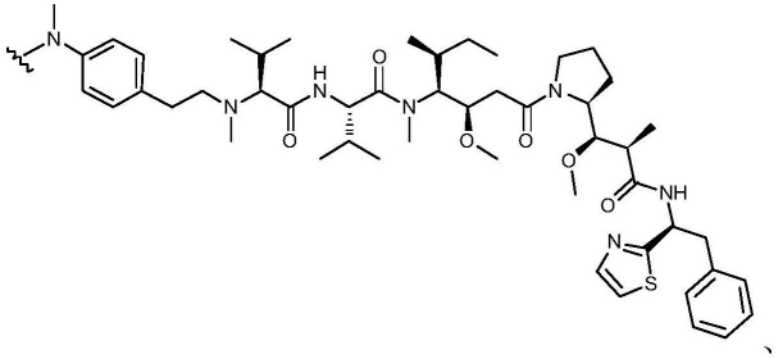
[0264] 在一个优选的实施方案中：

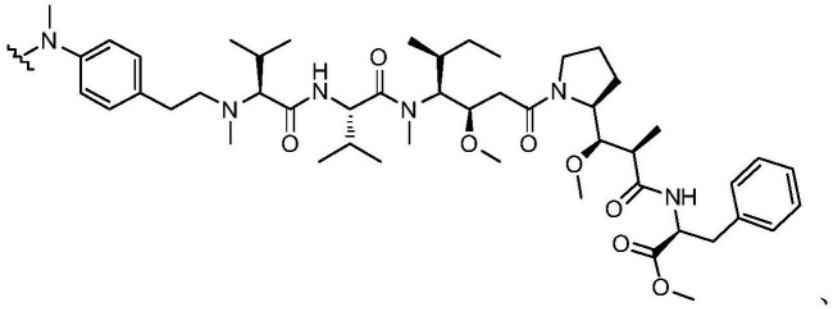
[0265] -R_1为H，R_2为COOH，R_3为甲基，X_4为NR_9，R_9为甲基且t为1或2，或

[0266] -R_1为H，R_2为COOH，R_3为甲基，X_4为NR_9，R_9为H且t为1或2。

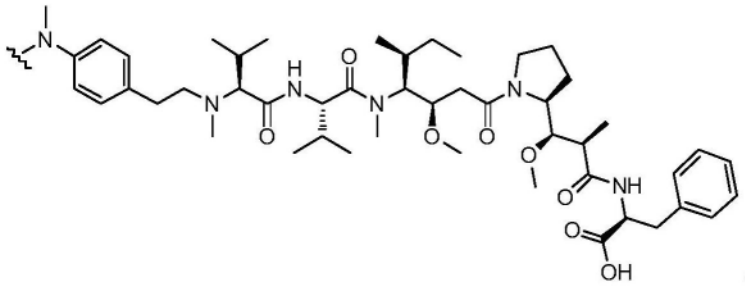
[0267] 根据一个优选的实施方案，X_4基团相对于$(CH_2)_t$基团位于苯环上的对位。

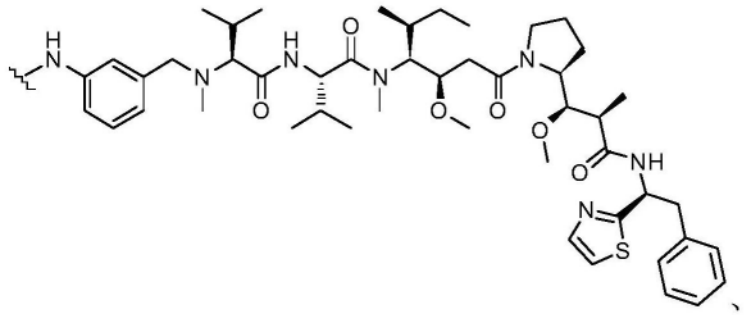
[0268] 有利地，式(C)的澳瑞他汀的残基选自以下部分：

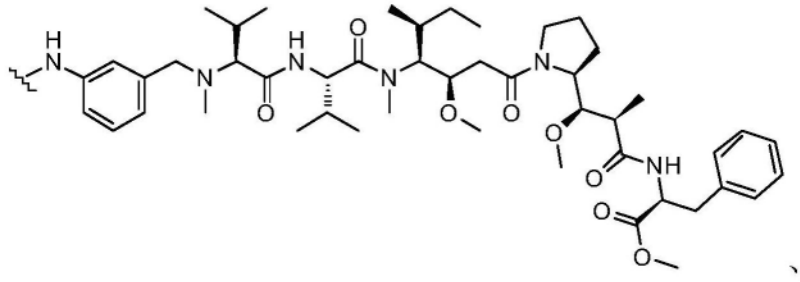


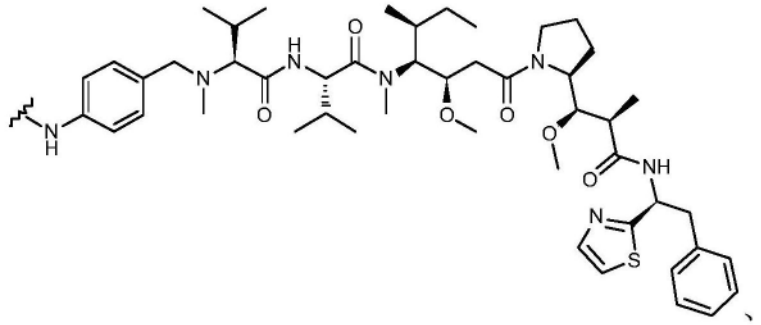
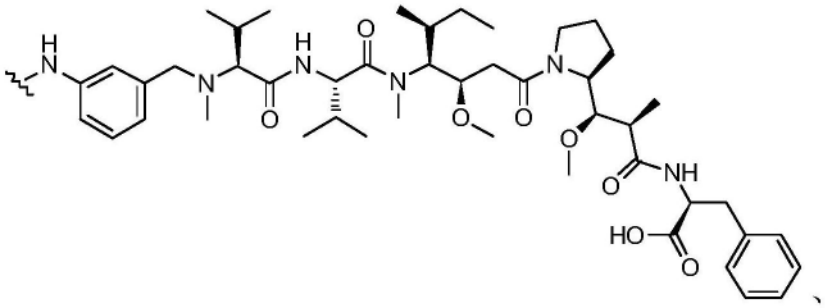
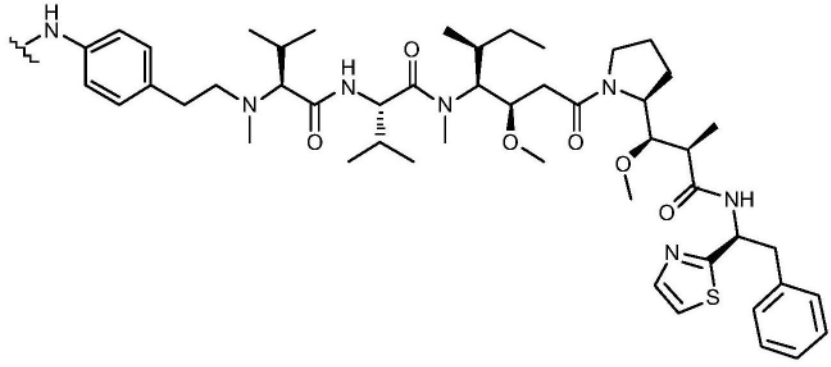
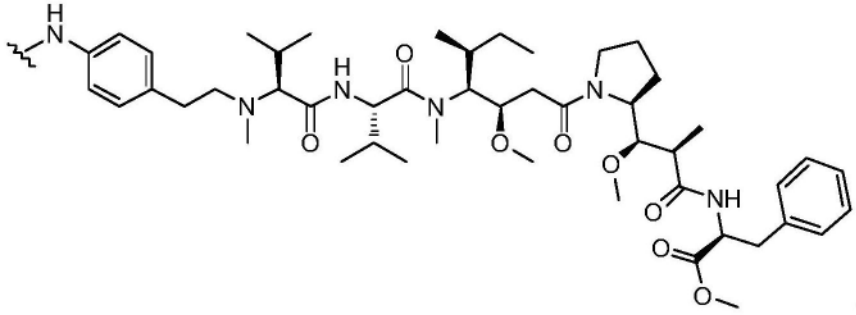
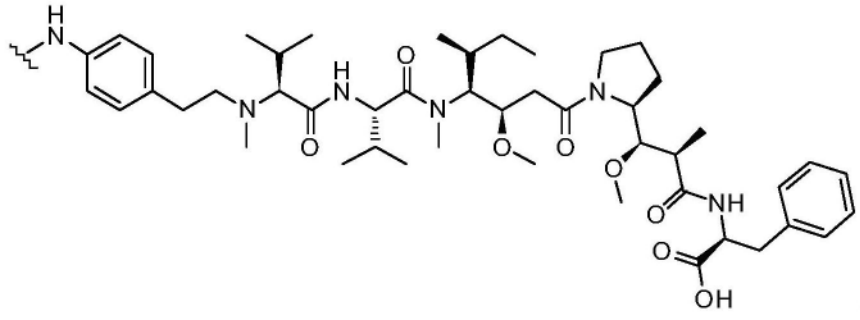


[0269]



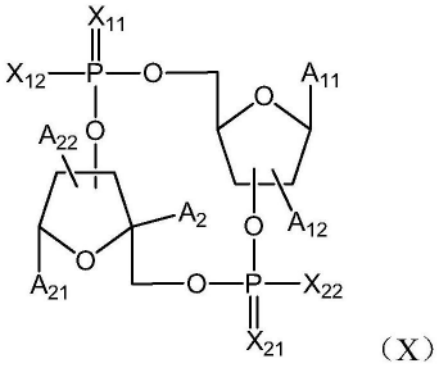




[0270] 
、

、

、

、和

。

[0271] 所述澳瑞他汀衍生物的制备公开于例如WO2014/174064或WO2015/162293中。

[0272] 根据第二个实施方案,所述STING激动剂具有下式(X):

[0273] 

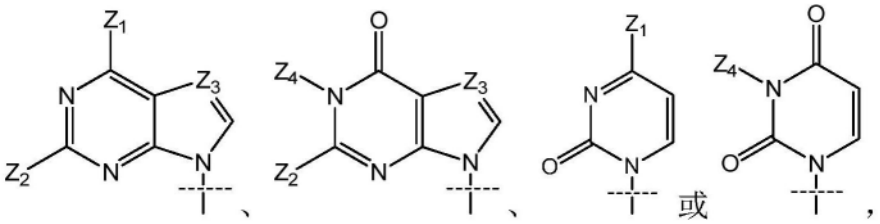
（X）

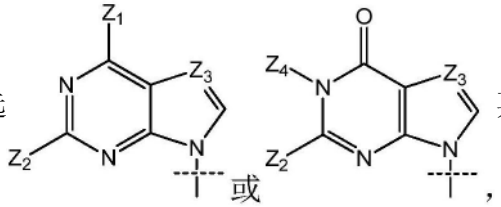
[0274] 其中：

[0275] -X_{11}和X_{21}独立地为O或S，优选O，

[0276] -X_{12}和X_{22}独立地为OH或SH，优选SH，

[0277] -A_{11}和A_{21}独立地为下式的基团：

[0278] 

[0279] 优选  其中：

[0280] • Z_1为OR_{11}或$NR_{11}R_{12}$，其中R_{11}和R_{12}独立地为H、R_{13}或COR_{13}，其中R_{13}为(C_1-C_6)烷基、芳基或芳基(C_1-C_6)烷基，

[0281] • Z_2为H或$NR_{21}R_{22}$，其中R_{21}和R_{22}独立地为H、R_{23}或COR_{23}，其中R_{23}为(C_1-C_6)烷基、芳基或芳基(C_1-C_6)烷基，

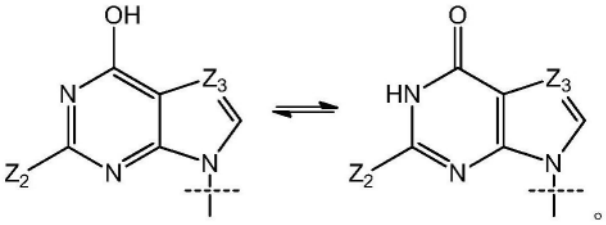
[0282] • Z_3为N或CR_{33}，优选N，其中R_{33}为H或卤素原子(例如F或Cl)，和

[0283] • Z_4为H或(C_1-C_6)烷基，

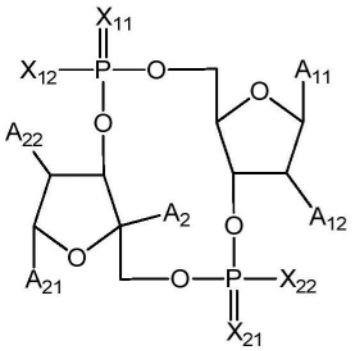
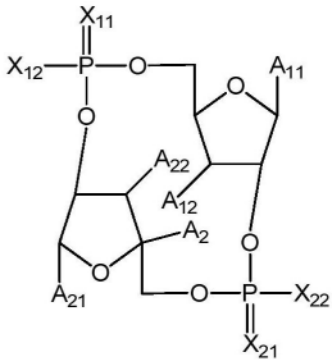
[0284] -A_{12}和A_{22}独立地为H、OH或F，和

[0285] -A_2为H，或A_2和A_{22}彼此相连，其中A_2为CH_2且A_{22}为O。

[0286] 当Z_1为OH或Z_4为H时，可获得如下互变异构体形式：

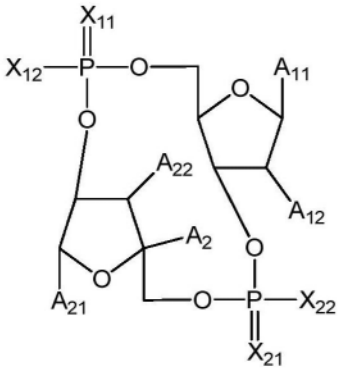
[0287] 

[0288] 根据一个特别的实施方案，所述STING激动剂具有下式之一：

(X-1); (X-2);

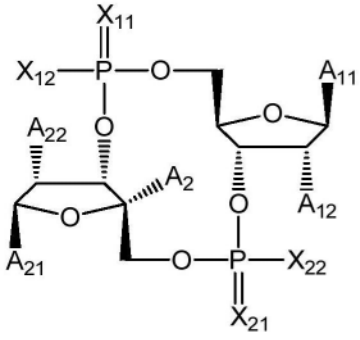
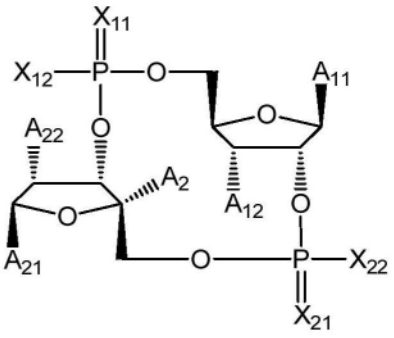
[0289]



(X-3)

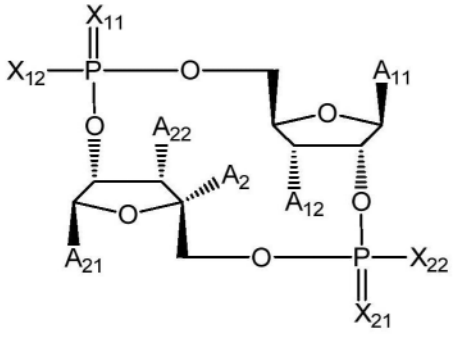
[0290] 其中X_{11}、X_{21}、X_{12}、X_{22}、A_{11}、A_{21}、A_{12}、A_{22}和A_2如上或如下所定义。

[0291] 根据另一个特别的实施方案,所述STING激动剂具有下式之一:

(X-1a); (X-2a);

[0292]



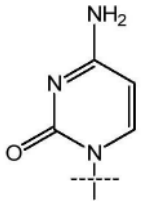
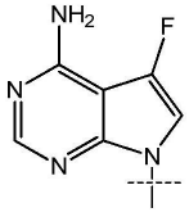
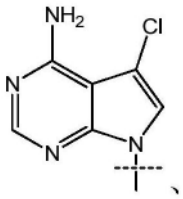
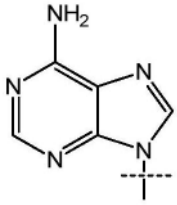
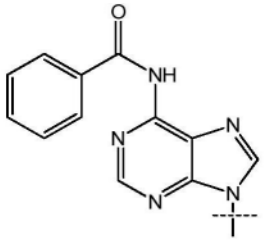
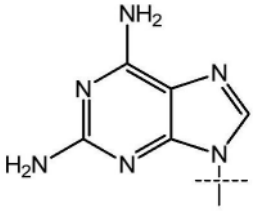
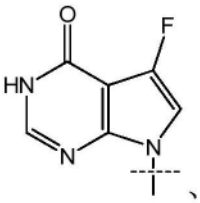
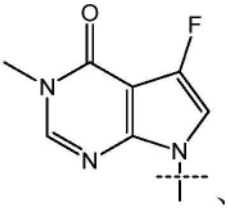
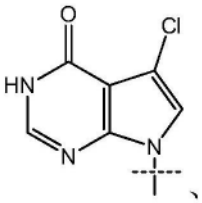
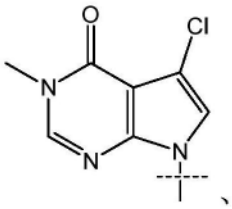
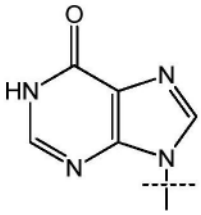
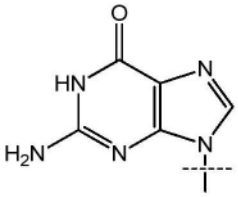
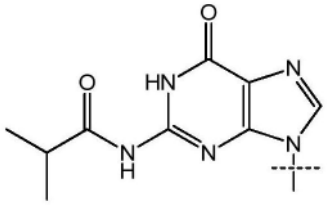
(X-3a)

[0293] 其中X_{11}、X_{21}、X_{12}、X_{22}、A_{11}、A_{21}、A_{12}、A_{22}和A_2如上或如下所定义。

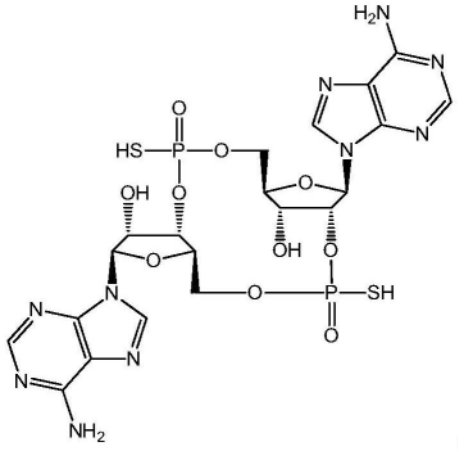
[0294] 有利地,X_{11}和X_{21}均为O。有利地,X_{12}和X_{22}中至少一个为SH,且优选地X_{12}和X_{22}均为SH。优选地,X_{11}和X_{21}均为O,且X_{12}和X_{22}均为SH。

[0295] 特别地,R_{11}和R_{12}均为H,并且有利地,R_{11}、R_{12}、R_{21}和R_{22}均为H。

[0296] Z_3特别地为N。有利地,Z_1为OH或NH_2;Z_2为H或NH_2;Z_3为N;且Z_4为H。

[0297] 优选地，A_{11}和A_{21}彼此独立地选自（胞嘧啶）、、、（腺嘌呤）、（腺嘌呤-6-苯甲酰胺）、（2,6-二氨基嘌呤）、、、、、(次黄嘌呤)、(鸟嘌呤)和(鸟嘌呤-2-异丁酰胺)；更优选地选自胞嘧啶、腺嘌呤、腺嘌呤-6-苯甲酰胺、2,6-二氨基嘌呤、次黄嘌呤、鸟嘌呤和鸟嘌呤-2-异丁酰胺；最优选地选自腺嘌呤、次黄嘌呤和鸟嘌呤。

[0298] 其特别地为具有下式的ADU-S100：

[0299] 。

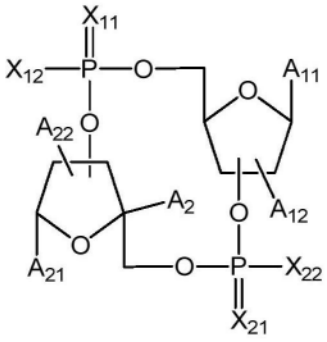
[0300] 可选地，其可以特别地为在Lioux等人，J.Med.Chem.，2016，59(22)，pp 10253-

10267中具体公开的化合物之一。

[0301] 所述STING激动剂的制备公开于例如WO2014/179335、WO2016/096174、WO2016/145102、WO2017/106740或WO2018/100558中。

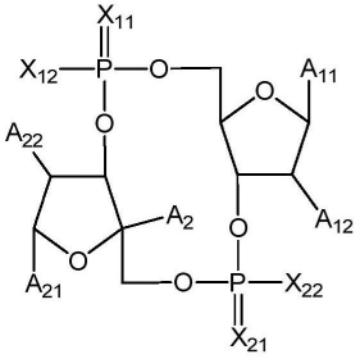
[0302] 所述STING激动剂通过分子上存在的SH、OH或NH基团与连接子部分连接,即通过基团X_{12}(OH或SH)、X_{22}(OH或SH)、当R_{11}和R_{12}中的至少一个为H(OH、NHR_{11}或NHR_{12})时通过Z_1、或当R_{21}和R_{22}中的至少一个为H(NHR_{21}或NHR_{22})时通过Z_2连接。优选地,X_{12}和X_{22}中至少一个为SH,并且STING激动剂通过该SH基团连接。

[0303] 因此,STING激动剂的残基有利地具有下式(D)、(D-1)、(D-2)、(D-3)、(D-1a)、(D-2a)或(D-3a):

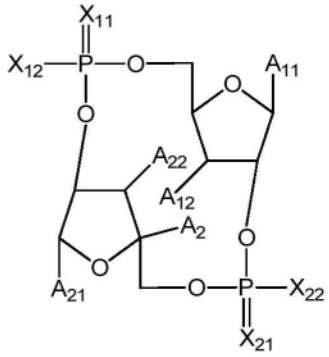


(D);

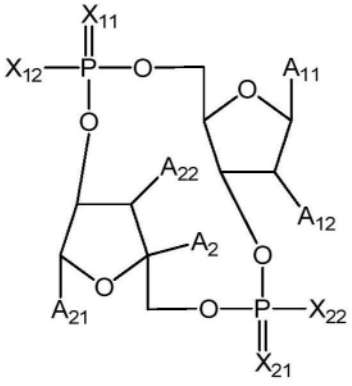
[0304]



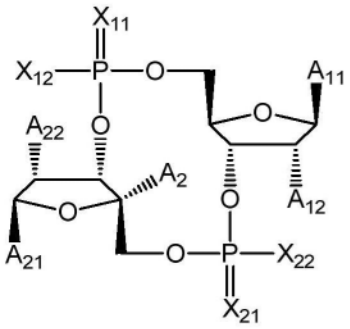
(D-1);

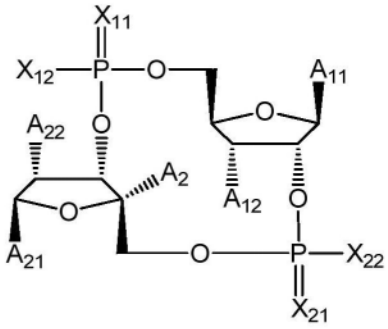


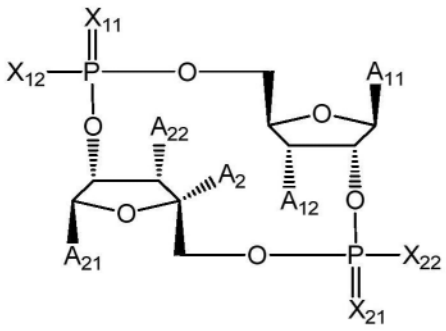
(D-2);



(D-3);

[0305]  （D-1a）；

 （D-2a）；

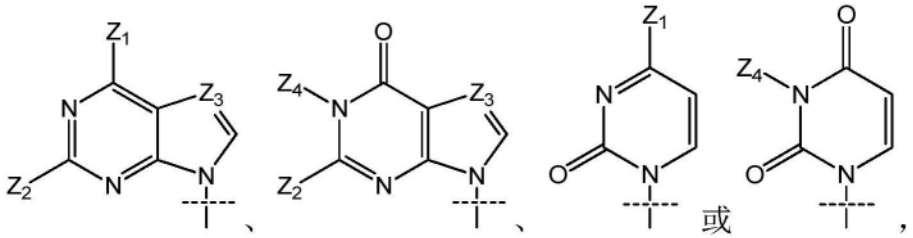
 （D-3a），

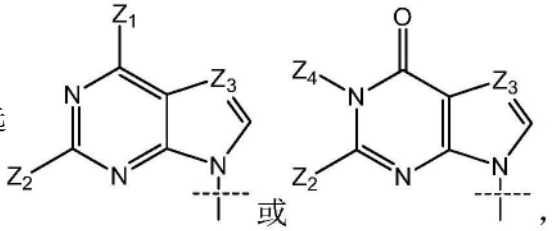
[0306] 其中：

[0307] -X_{11}和X_{21}如上所定义，

[0308] -X_{12}和X_{22}如上所定义或为O或S，

[0309] -A_{11}和A_{21}如上所定义，即独立地为下式的基团：

[0310] 

[0311] 优选  其中：

[0312] • Z_1如上所定义或为O或NR_{11}，

[0313] • Z_2如上所定义或为NR_{21}，

[0314] • Z_3如上所定义，和

[0315] • Z_4如上所定义，

[0316] -A_{12}和A_{22}如上所定义，和

[0317] -A_2如上所定义，

[0318] 其中：

[0319] • 当X_{12}为O或S时，则X_{22}不为O且不为S，Z_1不为O且不为NR_{11}，Z_2不为NR_{21}，并且STING激动剂的残基通过X_{12}与分子的其余部分连接；

[0320] • 当X_{22}为O或S时，则X_{12}不为O且不为S，Z_1不为O且不为NR_{11}，Z_2不为NR_{21}，并且STING

激动剂的残基通过X_{22}与分子的其余部分连接；

[0321] • 当Z_1为O或NR_{11}时，则X_{12}不为O且不为S，X_{22}不为O且不为S，Z_2不为NR_{21}，并且STING激动剂的残基通过Z_1与分子的其余部分连接；

[0322] • 当Z_2为NR_{21}时，则X_{12}不为O且不为S，X_{22}不为O且不为S，Z_1不为O且不为NR_{11}，并且STING激动剂的残基通过Z_2与分子的其余部分连接。

[0323] 结合单元部分

[0324] 结合单元为肽、蛋白质(例如工程蛋白质)、抗体(例如单克隆抗体)或其抗原结合片段。

[0325] 优选地，根据本发明的结合单元为抗体或其抗原结合片段，因此，根据本发明的结合单元-药物偶联物为抗体-药物偶联物(ADC)。在一个实施方案中，本发明的抗体由重组抗体组成。在另一个实施方案中，本发明的ADC的抗体由化学合成的抗体组成。

[0326] 更特别地，所述分子由糖蛋白组成，所述糖蛋白包含通过二硫键相互连接的至少两个重(H)链和两个轻(L)链。每条重链包含重链可变区(或结构域)(本文缩写为HCVR或VH)和重链恒定区。重链恒定区包含三个结构域CH1、CH2和CH3。每条轻链包含轻链可变区(本文缩写为LCVR或VL)和轻链恒定区。轻链恒定区包含一个结构域CL。VH和VL区可以进一步细分为高变区，称为互补决定区(CDR)，其间散布着更为保守的区，称为框架区(FR)。每个VH和VL由三个CDR和四个FR组成，从氨基端到羧基端按以下顺序排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重链和轻链的可变区包含与抗原相互作用的结合域。抗体的恒定区可以介导免疫球蛋白与宿主组织或因子的结合，所述宿主组织或因子包括免疫系统的各种细胞(例如效应细胞)和经典补体系统的第一组分(C1q)。

[0327] 在一个实施方案中，“抗原结合片段”选自Fv、scFv(sc表示单链)、Fab、$F(ab')_2$、Fab'、scFv-Fc片段或双抗体，或任何半衰期会通过化学修饰而延长的片段，所述化学修饰例如添加聚亚烷基二醇(例如聚乙二醇)(“PEG化”)(聚乙二醇化的片段称为Fv-PEG、scFv-PEG、Fab-PEG、$F(ab')_2$-PEG或Fab'-PEG)(“PEG”表示聚乙二醇)，或通过掺入脂质体中，所述片段具有至少一个根据本发明的抗体的特征性CDR。优选地，所述“抗原结合片段”将包含其衍生来源的抗体的重或轻可变链的部分序列，或由其构成，所述部分序列足以保持与其起源的抗体相同的结合特异性及足够的亲和力，所述亲和力优选地至少等于1/100，更优选地至少等于其1/10其起源的抗体对于靶点的亲和力。更优选地，所述“抗原结合片段”将包含其衍生来源的抗体的重可变链的至少三个CDR CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3，及轻可变链的三个CDR CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3，或由其构成。

[0328] 根据一个优选的实施方案，所述结合单元为IGF-1R抗体、HER2抗体或其抗原结合片段。

[0329] 所述HER2抗体更特别地为曲妥珠单抗。

[0330] 在本申请的一个实施方案中，所述抗体为IGF-1R抗体，并且该抗体的表位优选地定位在人IGF-1R的细胞外结构域(也称为IGF-1R ECD)中。

[0331] 在一个特别的实施方案中，所述抗体或其任何抗原结合片段能够与ECF-1R结合，其EC_{50}为介于10×10^{-10}至1×10^{-10}之间，更优选地为介于8×10^{-10}至2×10^{-10}之间。

[0332] 结合IGF-1R的竞争可以通过本领域技术人员已知的任何方法或技术来确定，例如但不限于放射性方法、Biacore、ELISA、流式细胞术等。“竞争与IGF-1R的结合”是指至少

20％,优选至少50％,更优选至少70％的竞争。

[0333] 与相同表位的结合的确定可以通过本领域技术人员已知的任何方法或技术来确定,例如但不限于放射性方法、Biacore、ELISA、流式细胞术等。“与IGF-1R相同表位的结合”是指至少20％,优选至少50％,更优选至少70％的竞争。

[0334] 如上所述,与公知常识相反,本发明聚焦于在结合IGF-1R后表现出高内化能力的特异性IGF-1R抗体。如本文所用,“被内化的(is internalized)”或“内化的(internalized)”(两个表达相似)抗体为在与哺乳动物细胞上的IGF-1R结合后被细胞摄取(意味着其“进入”)的抗体。所述抗体作为ADC的一部分是有意义的,因此其引导或指导所连接的细胞毒剂进入靶向的癌细胞。一旦内化,细胞毒剂就会触发癌细胞死亡。

[0335] 有利地,根据本发明的IGF-1R抗体对于CDR-H2、CDR-H3和CDR-L2都呈现相同的序列,对于其他3个CDR是不同的。该观察似乎与其作为公知常识的一部分的涉及抗体结合特异性是一致的,所述CDR-H3被描述为对表位的识别是最重要和最牵连的。

[0336] ADC疗法成功的重要关键被认为是靶点抗原特异性和抗原-抗体复合物进入癌细胞的内化。显然,非内化抗原比内化抗原递送细胞毒性剂的效果差。内化过程为跨抗原可变的,并且取决于可以受抗体影响的多个参数。

[0337] 在ADC中,药物部分具有细胞毒活性,所用抗体负责针对癌细胞的特异性,并且是用于进入细胞内以正确引导细胞毒作用的载体。因此,为了改进ADC,所述抗体可以表现出进入到靶向的癌细胞中的高内化能力。抗体介导的内化的效率根据所靶向的表位而显著不同。选择有效的内化IGF-1R抗体需要各种实验数据,不仅研究IGF-1R下调,而且还研究IGF-1R抗体内化到细胞中之后。

[0338] 在一个实施方案中,可以通过免疫荧光或FACS(流式细胞术)(如本申请下文中所例示)或本领域技术人员已知的任何方法或过程来评估根据本发明的ADC的抗体的内化。在一个优选的实施方案中,根据本发明的ADC的抗体能够在结合IGF-1R后诱导至少30％,优选50％并且更优选80％的内化。

[0339] IGF-1R/抗体复合物在抗体与所述IGF-1R的ECD结合后被内化,并诱导细胞表面IGF-1R的量减少。所述减少可以通过本领域技术人员已知的任何方法来定量,例如非限制性的示例为蛋白印迹、FACS和免疫荧光。

[0340] 在一个实施方案中,所述减少(从而反映出内化)可以优选地通过FACS测量,并表示为在4℃下抗体孵育4小时后测量的平均荧光强度(MFI)和在37℃下抗体孵育4小时后的MFI之间的差异或Δ。

[0341] 作为一个非限制性的实例,所述Δ是基于未处理细胞和用抗体处理的细胞获得的MFI确定的,使用i)与本文描述的抗体孵育4小时后的乳腺癌细胞MCF7,和ii)用Alexa488标记的第二抗体。该参数定义为通过下式计算得出:Δ($MFI_{4℃}$-$MFI_{37℃}$)。

[0342] MFI之间的这种差异反映了IGF-1R的下调,因为MFI与细胞表面表达的IGF-1R成正比。

[0343] 在一个有利的方面,所述抗体由在MCF-7上触发至少280,优选至少400的Δ($MFI_{4℃}$-$MFI_{37℃}$)的抗体组成。

[0344] 更详细地,可以根据以下过程来测量上述Δ,其必须被视为说明性而非限制性的实例:

[0345] a)在冷的(4℃)或温的(37℃)完全培养基中用本发明的抗体处理和孵育感兴趣的肿瘤细胞;

[0346] b)用二抗处理步骤a)的已处理细胞,以及平行地处理未处理细胞;

[0347] c)用能够与本发明的抗体结合的标记的二抗测量已处理和未处理细胞的MFI(表示存在于表面的IGF-1R的量);且

[0348] d)未处理细胞获得的MFI减去已处理细胞获得的MFI计算得到Δ。

[0349] 根据此ΔMFI,可以将内化百分比确定为:

[0350] $100\times(MFI_{4℃}-MFI_{37℃})/MFI_{4℃}$.

[0351] 优选地,根据本发明的ADC的抗体在MCF7上表现的内化百分比介于50%至99%,70%至90%,优选介于75%至87%。

[0352] 本文所述抗体的一个特别优点依赖于其内化速率。

[0353] 通常已知的是,对于ADC,期望使用的抗体表现出快速的内化速率,优选在抗体施用后24小时内,更优选在12小时内,进一步优选在6小时内。

[0354] 在本发明中,内化速率,也称为细胞表面结合抗体的减少或细胞表面抗体的衰减,表示为t1/2(半衰期),并对应于获得50%ΔMFI的减少所需的时间(参照以下实施例,将清楚地理解该方面)。

[0355] 一个特别优点是本发明的ADC的抗体的t1/2介于5至25分钟之间,优选介于10至20分钟之间。

[0356] 根据本发明的一个特别的实施方案,所述抗体包含序列SEQ ID Nos.1、2和3的三个重链CDR和序列SEQ ID Nos.4、5和6的三个轻链CDR。

[0357] 根据本发明的一个特别的实施方案,所述抗体包含三个重链CDR和三个轻链CDR,所述重链CDR包含或由下列序列组成:SEQ ID Nos.1、2和3,或与SEQ ID Nos.1、2或3显示出至少80%,优选85%、90%、95%和98%的同一性的任何序列;所述轻链CDR包含或由下列序列组成:SEQ ID Nos.4、5和6,或与SEQ ID Nos.4、5或6显示出至少80%,优选85%、90%、95%和98%的同一性的任何序列。

[0358] 根据本发明的一个特别的实施方案,所述结合单元为能够结合人IGF-1R的抗体或其抗原结合片段,所述人IGF-1R选自:

[0359] i)包含具有序列SEQ ID No.2的CDR-H2和序列SEQ ID No.3的CDR-H3的三个重链CDR和具有序列SEQ ID No.5的CDR-L2的三个轻链CDR的抗体;

[0360] ii)与i)的抗体竞争结合IGF-1R的抗体;和

[0361] iii)与i)的抗体结合相同的IGF-1R表位的抗体。

[0362] 根据本发明的一个特别的实施方案,所述结合单元为能够结合人IGF-1R的抗体或其抗原结合片段,所述人IGF-1R选自:

[0363] i)包含序列SEQ ID No.1、2和3的三个重链CDR和序列SEQ ID No.4、5和6的三个轻链CDR的抗体;

[0364] ii)与i)的抗体竞争结合IGF-1R的抗体;和

[0365] iii)与i)的抗体结合相同的IGF-1R表位的抗体。

[0366] 在另一个实施方案中,抗体或其任何抗原结合片段包含三个重链CDR和三个轻链CDR,所述重链CDR包含序列SEQ ID Nos.1、2和3,所述轻链CDR包含序列SEQ ID Nos.4、5和

6。

[0367] IMGT唯一编号已定义为对可变结构域进行比较,无论抗原受体、链类型或物种[Lefranc M.-P.,Immunology Today 18,509(1997)/Lefranc M.-P.,The Immunologist,7,132-136(1999)/Lefranc,M.-P.,Pommié,C.,Ruiz,M.,Giudicelli,V.,Foulquier,E.,Truong,L.,Thouvenin-Contet,V.和Lefranc,Dev.Comp.Immunol.,27,55-77(2003)]。在IMGT唯一编号中,保守的氨基酸始终具有相同的位置,例如半胱氨酸23(1st-CYS)、色氨酸41(CONSERVED-TRP)、疏水性氨基酸89、半胱氨酸104(2nd-CYS)、苯丙氨酸或色氨酸118(J-PHE或J-TRP)。IMGT唯一编号提供了框架区域的标准化定界(FR1-IMGT:位置1至26,FR2-IMGT:39至55,FR3-IMGT:66至104,和FR4-IMGT:118至128)和互补决定区的标准化定界:CDR1-IMGT:27至38,CDR2-IMGT:56至65,和CDR3-IMGT:105至117。由于间隙代表未占用的位置,CDR-IMGT长度(显示在括号之间,并用点分隔,例如[8.8.13])成为关键信息。IMGT唯一编号用于2D图形表示中,称为IMGT Colliers de Perles[Ruiz,M.和Lefranc,M.-P.,Immunogenetics,53,857-883(2002)/Kaas,Q.和Lefranc,M.-P.,Current Bioinformatics,2,21-30(2007)],并且用于IMGT/3Dstructure-DB中的3D结构中[Kaas,Q.,Ruiz,M.和Lefranc,M.-P.,T cell receptor and MHC structural data.Nucl.Acids.Res.,32,D208-D210(2004)]。

[0368] 对于与参考氨基酸序列表现出至少80%,优选85%、90%、95%和98%同一性的氨基酸序列,优选的实例包括那些包含参考序列、某种修饰(尤其是至少一个氨基酸的缺失、添加或取代、截短或延伸)的氨基酸序列。在取代一个或多个连续或非连续氨基酸的情况下,优选其中被取代的氨基酸是被“等效”氨基酸替代的取代。在此,表述“等效氨基酸”是指可能取代结构氨基酸之一的任何氨基酸,但其不改变相应抗体和下文定义的具体实例的生物学活性。

[0369] 等效氨基酸可以根据其与被其取代的氨基酸的结构同源性确定,或者根据可能产生的各种抗体之间的生物学活性的比较测试结果确定。

[0370] 作为非限制性实例,下表1总结了在不导致相应修饰的抗体的生物学活性显著修饰的情况下,可能进行的可能取代;在相同条件下自然地可以进行逆取代。

[0371] 表1

[0372]

原始残基	取代
Ala(A)	Val,Gly,Pro
Arg(R)	Lys,His
Asn(N)	Gln
Asp(D)	Glu
Cys(C)	Ser
Gln(Q)	Asn
Glu(E)	Asp
Gly(G)	Ala
His(H)	Arg
Ile(I)	Leu
Leu(L)	Ile,Val,Met

Lys(K)	Arg
Met(M)	Leu
Phe(F)	Tyr
Pro(P)	Ala
Ser(S)	Thr,Cys
Thr(T)	Ser
Trp(W)	Tyr
Tyr(Y)	Phe,Trp
Val(V)	Leu,Ala

[0373] 本发明的一个特别的方面是抗体不结合胰岛素受体(IR)。该方面是有意义的,因为本文描述的抗体将对IR(意味着胰岛素代谢)没有任何负面影响。

[0374] 在另一个实施方案中,所述抗体的另一个有利方面是其不仅能够与人IGF-1R结合,而且还能够与猴IGF-1R结合,并且更特别地与猕猴IGF-1R结合。该方面也是有意义的,因为其将促进临床试验所需的毒性评估。

[0375] 在另一个实施方案中,所述抗体由单克隆抗体组成。本文的单克隆抗体包括鼠源、嵌合和人源化抗体,如下所述。

[0376] 所述抗体优选地源于在法国的微生物培养物保藏中心提交的鼠源杂交瘤(CNCM,Pasteur Institute,25rue du Docteur Roux,75724 Paris Cedex 15,法国),所述杂交瘤通过Balb/C免疫小鼠的脾细胞/淋巴细胞和骨髓瘤Sp 2/0-Ag 14细胞系的细胞的融合获得。

[0377] 在一个实施方案中,所述IGF-1R抗体由鼠抗体组成,然后称为m[抗体名称]。

[0378] 在一个实施方案中,所述IGF-1R抗体由嵌合抗体组成,然后称为c[抗体名称]。

[0379] 在一个实施方案中,所述IGF-1R抗体由人源化抗体组成,然后称为hz[抗体名称]。

[0380] 为了避免疑惑,在以下说明书中,表述“IGF-1R抗体”和“[抗体名称]”是相似的,并且包括(没有相反的说明时)所述IGF-1R抗体或上述“[抗体名称]”的鼠源、嵌合和人源化形式。必要时,使用前缀m-(鼠源)、c-(嵌合)或hz-(人源化)。

[0381] 为了更清楚起见,下表2说明了根据IMGT定义的优选抗体的CDR序列。

[0382] 表2

[0383]

	重链	轻链	SEQ ID No.
共有（Consensus）	CDR-H1		1
	CDR-H2		2
	CDR-H3		3
		CDR-L1	4
		CDR-L2	5
		CDR-L3	6
208F2	CDR-H1		7
	CDR-H2		2
	CDR-H3		3
		CDR-L1	9
		CDR-L2	5
		CDR-L3	11
212A11	CDR-H1		7
	CDR-H2		2
	CDR-H3		3
		CDR-L1	10
		CDR-L2	5
		CDR-L3	11
214F8 & 213B10	CDR-H1		7
	CDR-H2		2
	CDR-H3		3
		CDR-L1	9
		CDR-L2	5
		CDR-L3	12
219D6	CDR-H1		8
	CDR-H2		2

[0384]

	CDR-H3		3
		CDR-L1	9
		CDR-L2	5
		CDR-L3	11

[0385] 对于本领域技术人员显而易见的是,如上所述的6个CDR的任何组合应被认为是本发明的一部分。

[0386] 从本表2中可以看出,本文所述的所有抗体的CDR-H2、CDR-H3和CDR-L2具有相同的序列,该性质如上所述是特别有意义的。

[0387] 根据一个具体的方面,所述抗体为鼠源抗体,其特征在于所述抗体还包含衍生自与小鼠异种的物种(特别是人)的抗体的轻链和重链恒定区。

[0388] 根据另一个具体的方面,所述抗体为嵌合(c)抗体,其特征在于所述抗体还包含衍生自与小鼠异种的物种(特别是人)的抗体的轻链和重链恒定区。

[0389] 嵌合抗体是含有衍生自给定物种的抗体的天然可变区(轻链和重链)和与所述给定物种异种的物种的抗体的轻链和重链的恒定区的抗体。

[0390] 嵌合抗体可以通过使用重组遗传学技术来制备。例如,嵌合抗体可以通过克隆重

组DNA来生产,所述重组DNA包含启动子和编码非人(尤其是鼠)单克隆抗体的可变区的序列,以及编码异源物种(优选人)抗体恒定区的序列。由一个所述重组基因编码的根据本发明的ADC的嵌合抗体可以是例如小鼠-人嵌合体,该抗体的特异性由衍生自鼠DNA的可变区确定,其同种型由衍生自人DNA的恒定区确定。

[0391] 根据本发明的一个实施方案,所述抗体选自:

[0392] a)包含序列SEQ ID No.7、2和3的三个重链CDR和序列SEQ ID No.9、5和11的三个轻链CDR的抗体;

[0393] b)包含序列SEQ ID No.7、2和3的三个重链CDR和序列SEQ ID No.10、5和11的三个轻链CDR的抗体;

[0394] c)包含序列SEQ ID No.7、2和3的三个重链CDR和序列SEQ ID No.9、5和12的三个轻链CDR的抗体;和

[0395] d)包含序列SEQ ID No.8、2和3的三个重链CDR和序列SEQ ID No.9、5和11的三个轻链CDR的抗体。

[0396] 在一个优选的但非限制性的实施方案中,所述抗体选自:

[0397] a)包含序列SEQ ID No.13的重链可变结构域或与SEQ ID No.13表现出至少80%同一性的任何序列和序列SEQ ID Nos.9、5和11的三个轻链CDR的抗体;

[0398] b)包含序列SEQ ID No.14的重链可变结构域或与SEQ ID No.14表现出至少80%同一性的任何序列和序列SEQ ID Nos.10、5和11的三个轻链CDR的抗体;

[0399] c)包含序列SEQ ID No.15的重链可变结构域或与SEQ ID No.15表现出至少80%同一性的任何序列和序列SEQ ID Nos.9、5和12的三个轻链CDR的抗体;

[0400] d)包含序列SEQ ID No.16的重链可变结构域或与SEQ ID No.16表现出至少80%同一性的任何序列和序列SEQ ID Nos.9、5和11的三个轻链CDR的抗体;及

[0401] e)包含序列SEQ ID No.17的重链可变结构域或与SEQ ID No.17表现出至少80%同一性的任何序列和序列SEQ ID Nos.9、5和12的三个轻链CDR的抗体。

[0402] “与SEQ ID No.13至17表现出至少80%,优选85%、90%、95%和98%同一性的任何序列”是指表现出三个重链CDR SEQ ID Nos.1、2和3的序列,此外,其在与所述CDR(即SEQ ID No.1、2和3)相对应的序列之外,与完整序列SEQ ID No.13至17表现出至少80%,优选85%、90%、95%和98%的同一性。

[0403] 根据本发明的一个实施方案,所述抗体选自:

[0404] a)包含序列SEQ ID No.13的重链可变结构域和序列SEQ ID Nos.9、5和11的三个轻链CDR的抗体;

[0405] b)包含序列SEQ ID No.14的重链可变结构域和序列SEQ ID Nos.10、5和11的三个轻链CDR的抗体;

[0406] c)包含序列SEQ ID No.15的重链可变结构域和序列SEQ ID Nos.9、5和12的三个轻链CDR的抗体;

[0407] d)包含序列SEQ ID No.16的重链可变结构域和序列SEQ ID Nos.9、5和11的三个轻链CDR的抗体;和

[0408] e)包含序列SEQ ID No.17的重链可变结构域和序列SEQ ID Nos.9、5和12的三个轻链CDRs的抗体。

[0409] 在另一个优选的但非限制性的实施方案中,所述抗体选自:

[0410] a)包含序列SEQ ID No.18的轻链可变结构域或与SEQ ID No.18表现出至少80%同一性的任何序列和序列SEQ ID Nos.7、2和3的三个重链CDR的抗体;

[0411] b)包含序列SEQ ID No.19的轻链可变结构域或与SEQ ID No.19表现出至少80%同一性的任何序列和序列SEQ ID Nos.7、2和3的三个重链CDR的抗体;

[0412] c)包含序列SEQ ID No.20的轻链可变结构域或与SEQ ID No.20表现出至少80%同一性的任何序列和序列SEQ ID Nos.7、2和3的三个重链CDR的抗体;

[0413] d)包含序列SEQ ID No.21的轻链可变结构域或与SEQ ID No.21表现出至少80%同一性的任何序列和序列SEQ ID Nos.8、2和3的三个重链CDRs的抗体;和

[0414] e)包含序列SEQ ID No.22的轻链可变结构域或与SEQ ID No.22表现出至少80%同一性的任何序列和序列SEQ ID Nos.7、2和3的三个重链CDR的抗体。

[0415] “与SEQ ID No.18至22表现出至少80%,优选85%、90%、95%和98%同一性的任何序列”是分别指表现出三个轻链CDR SEQ ID Nos.4、5和6的序列,此外,其在与所述CDR(即SEQ ID Nos.4、5和6)相对应的序列之外,与完整序列SEQ ID No.18至22表现出至少80%,优选85%、90%、95%和98%的同一性。

[0416] 根据本发明的一个实施方案,所述抗体选自:

[0417] a)包含序列SEQ ID No.18的轻链可变结构域和序列SEQ ID Nos.7、2和3的三个重链CDR的抗体;

[0418] b)包含序列SEQ ID No.19的轻链可变结构域和序列SEQ ID Nos.7、2和3的三个重链CDR的抗体;

[0419] c)包含序列SEQ ID No.20的轻链可变结构域和序列SEQ ID Nos.7、2和3的三个重链CDR的抗体;

[0420] d)包含序列SEQ ID No.21的轻链可变结构域和序列SEQ ID Nos.8、2和3的三个重链CDRs的抗体;和

[0421] e)包含序列SEQ ID No.22的轻链可变结构域和序列SEQ ID Nos.7、2和3的三个重链CDR的抗体。

[0422] 根据本发明的一个实施方案,所述抗体选自:

[0423] a)包含序列SEQ ID No.13的重链可变结构域或与SEQ ID No.13表现出至少80%同一性的任何序列和序列SEQ ID No.18的轻链可变结构域或与SEQ ID No.18表现出至少80%同一性的任何序列的抗体;

[0424] b)包含序列SEQ ID No.14的重链可变结构域或与SEQ ID No.14表现出至少80%同一性的任何序列和序列SEQ ID No.19的轻链可变结构域或与SEQ ID No.19表现出至少80%同一性的任何序列的抗体;

[0425] c)包含序列SEQ ID No.15的重链可变结构域或与SEQ ID No.15表现出至少80%同一性的任何序列和序列SEQ ID No.20的轻链可变结构域或与SEQ ID No.20表现出至少80%同一性的任何序列的抗体;

[0426] d)包含序列SEQ ID No.16的重链可变结构域或与SEQ ID No.16表现出至少80%同一性的任何序列和序列SEQ ID No.21的轻链可变结构域或与SEQ ID No.21表现出至少80%同一性的任何序列的抗体;和

[0427] e)包含序列SEQ ID No.17的重链可变结构域或与SEQ ID No.17表现出至少80％同一性的任何序列和序列SEQ ID No.22的轻链可变结构域或与SEQ ID No.22表现出至少80％同一性的任何序列的抗体。

[0428] 本文所述的嵌合抗体还可以通过恒定结构域表征,并且更特别地,可以选择或设计所述嵌合抗体,例如但不限于IgG1、IgG2、IgG3、IgM、IgA、IgD或IgE。更优选地,在本发明的背景下,所述嵌合抗体为IgG1或IgG4。

[0429] 根据本发明的一个实施方案,所述抗体为IgG1形式的包含如上所述的可变结构域VH和VL的嵌合抗体。更优选地,所述嵌合抗体包含序列SEQ ID No.43的VH的恒定结构域和序列SEQ ID No.45的VL的κ结构域。

[0430] 根据本发明的一个实施方案,所述抗体为IgG4形式的包含如上所述的可变结构域VH和VL的嵌合抗体。更优选地,所述嵌合抗体包含序列SEQ ID No.44的VH的恒定结构域和序列SEQ ID No.45的VL的κ结构域。

[0431] 在另一个优选的但非限制性的实施方案中,所述抗体选自:

[0432] a)包含序列SEQ ID No.23的重链或与SEQ ID No.23表现出至少80％同一性的任何序列和序列SEQ ID No.28的轻链或与SEQ ID No.28表现出至少80％同一性的任何序列的抗体,或由其组成;

[0433] b)包含序列SEQ ID No.24的重链或与SEQ ID No.24表现出至少80％同一性的任何序列和序列SEQ ID No.29的轻链或与SEQ ID No.29表现出至少80％同一性的任何序列的抗体,或由其组成;

[0434] c)包含序列SEQ ID No.25的重链或与SEQ ID No.25表现出至少80％同一性的任何序列和序列SEQ ID No.30的轻链或与SEQ ID No.30表现出至少80％同一性的任何序列的抗体,或由其组成;

[0435] d)包含序列SEQ ID No.26的重链或与SEQ ID No.26表现出至少80％同一性的任何序列和序列SEQ ID No.31的轻链或与SEQ ID No.31表现出至少80％同一性的任何序列的抗体,或由其组成;和

[0436] e)包含序列SEQ ID No.27的重链或与SEQ ID No.27表现出至少80％同一性的任何序列和序列SEQ ID No.32的轻链或与SEQ ID No.32表现出至少80％同一性的任何序列的抗体,或由其组成。

[0437] 为了更清楚起见,下表3分别说明了优选的嵌合抗体的VH和VL的序列。

[0438] 表3

[0439]

	重链	轻链	SEQ ID No.
c208F2	可变结构域（VH）		13
		可变结构域（VL）	18
	全长		23
		全长	28
c212A11	可变结构域（VH）		14
		可变结构域（VL）	19
	全长		24
		全长	29
c214F8	可变结构域（VH）		15
		可变结构域（VL）	20
	全长		25
		全长	30
c219D6	可变结构域（VH）		16
		可变结构域（VL）	21
	全长		26
		全长	31
c213B10	可变结构域（VH）		17
		可变结构域（VL）	22

[0440]

	全长		27
		全长	32

[0441] 根据本发明的另一个具体方面,所述抗体为人源化抗体,其特征在于源自人抗体的轻链和重链的恒定区分别为λ或κ区以及γ-1、γ-2或γ-4区。

[0442] 人源化抗体或其片段可以通过本领域技术人员已知的技术来制备。所述人源化抗体优选用于涉及体外诊断或体内预防和/或治疗的方法。本领域技术人员还已知其他人源化技术,例如PDL在专利EP 0 451 216、EP 0 682 040、EP 0 939 127、EP 0 566 647或US 5,530,101、US 6,180,370、US 5,585,089和US 5,693,761中描述的“CDR植入”技术。也可以引用美国专利5,639,641或6,054,297、5,886,152和5,877,293。

[0443] 在一个优选的实施方案中,所述抗体包含重链可变结构域(VH),其具有:

[0444] i)分别为SEQ ID Nos.7、2和3的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,和

[0445] ii)衍生自人种系IGHV1-46*01(SEQ ID No.46)的FR1、FR2和FR3,和

[0446] iii)衍生自人种系IGHJ4*01(SEQ ID No.48)的FR4。

[0447] 在一个优选的实施方案中,所述抗体包含轻链可变结构域(VL),其具有:

[0448] i)分别为SEQ ID Nos.9、5和11的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,和

[0449] ii)衍生自人种系IGKV1-39*01(SEQ ID No.47)的FR1、FR2和FR3,和

[0450] iii)衍生自人种系IGKJ4*01(SEQ ID No.49)的FR4。

[0451] 在一个优选的但非限制性的实施方案中,所述抗体包含:

[0452] a)重链,其具有分别为SEQ ID Nos.7、2和3的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,和衍生自人种系IGHV1-46*01(SEQ ID No.46)的FR1、FR2和FR3,和衍生自人种系IGHJ4*01(SEQ ID

No.48)的FR4;和

[0453] b)轻链,其具有分别为SEQ ID Nos.9、5和11的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,和衍生自人种系IGKV1-39*01(SEQ ID No.47)的FR1、FR2和FR3,和衍生自人种系IGKJ4*01(SEQ ID No.49)的FR4。

[0454] 在一个实施方案中,所述抗体包含序列SEQ ID No.33的重链可变结构域(VH)和序列SEQ ID No.35的轻链可变结构域(VL)。所述人源化抗体在下文中称为hz208F2(“变体1(Variant 1)”或“变体1(Var.1)”)。

[0455] 在另一个实施方案中,所述抗体包含序列SEQ ID No.33的重链可变结构域(VH),其中所述序列SEQ ID No.33包含选自残基20、34、35、38、48、50、59、61、62、70、72、74、76、77、79、82和95的至少1个回复突变。

[0456] 在另一个实施方案中,所述抗体包含序列SEQ ID No.33的重链可变结构域(VH),其中所述序列SEQ ID No.33包含2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16或17个选自残基20、34、35、38、48、50、59、61、62、70、72、74、76、77、79、82和95的回复突变。

[0457] 为了更清楚起见,下表4列出了优选的回复突变。

[0458] 表4

[0459]

残基序号	20	34	35	38	48	50	59	61
鼠	M	I	Y	K	L	W	K	N
人	V	M	H	R	M	I	S	A

[0460]

残基序号	62	70	72	74	76	77	79	82	95
鼠	E	L	A	K	S	N	A	F	F
人	Q	M	R	T	T	S	V	E	Y

[0461] 在一个实施方案中,所述抗体包含序列SEQ ID No.35的轻链可变结构域(VL),其中所述序列SEQ ID No.35包含选自残基22、53、55、65、71、72、77和87的至少1个回复突变。

[0462] 在一个实施方案中,所述抗体包含序列SEQ ID No.35的轻链可变结构域(VL),其中所述序列SEQ ID No.35包含2、3、4、5、6、7或8个选自残基22、53、55、65、71、72、77或87的回复突变。

[0463] 在另一个实施方案中,所述抗体包含:

[0464] a)序列SEQ ID No.33的重链可变结构域(VH),其中所述序列SEQ ID No.33包含选自残基20、34、35、38、48、50、59、61、62、70、72、74、76、77、79、82和95的至少1个回复突变;和

[0465] b)序列SEQ ID No.35的轻链可变结构域(VL),其中所述序列SEQ ID No.35包含选自残基22、53、55、65、71、72、77和87的至少1个回复突变。

[0466] 为了更清楚起见,下表5列出了优选的回复突变。

[0467] 表5

[0468]

残基序号	22	53	55	65	71	72	77	87
鼠	S	R	H	R	Y	S	N	F
人	T	S	Q	S	F	T	S	Y

[0469] 在所述实施方案中,所述抗体包含上述所有的回复突变,并且对应于包含序列SEQ ID No.34的重链可变结构域(VH)和序列SEQ ID No.36的轻链可变结构域(VL)的抗体。所述

人源化抗体在下文中称为hz208F2(“变体3(Variant 3)”或“变体3(Var.3)”)。

[0470] 在另一个实施方案中,本发明涵盖了包含在变体1和变体3之间的所有人源化形式。换言之,所述抗体对应于包含“共有”序列SEQ ID No.41的重链可变结构域(VH)和“共有”序列SEQ ID No.42的轻链可变结构域(VL)的抗体。所述人源化抗体整体上在下文中称为hz208F2(“变体2(Variant 2)”或“变体2(Var.2)”)。

[0471] 在一个优选的但非限制性的实施方案中,所述抗体选自:

[0472] a)包含具有序列SEQ ID No.33的重链可变结构域或与SEQ ID No.33具有至少80%,优选至少85%、90%、95%和98%的同一性的任何序列和序列SEQ ID Nos.9、5和11的三个轻链CDR的抗体;和

[0473] b)包含具有序列SEQ ID No.34的重链可变结构域或与SEQ ID No.34具有至少80%,优选85%、90%、95%和98%的同一性的任何序列和序列SEQ ID Nos.9、5和11的三个轻链CDR的抗体。

[0474] “与SEQ ID No.33或34表现出至少80%,优选85%、90%、95%和98%同一性的任何序列”是指表现出三个重链CDR SEQ ID Nos.1、2和3的序列,此外,其在与所述CDR(即SEQ ID No.1、2和3)相对应的序列之外,与完整序列SEQ ID No.33或34表现出至少80%,优选85%、90%、95%和98%的同一性。

[0475] 在本发明的一个实施方案中,所述抗体选自:

[0476] a)包含具有序列SEQ ID No.33的重链可变结构域或与SEQ ID No.33具有至少80%的同一性的任何序列和序列SEQ ID Nos.9、5和11的三个轻链CDR的抗体;和

[0477] b)包含具有序列SEQ ID No.34的重链可变结构域或与SEQ ID No.34具有至少80%的同一性的任何序列和序列SEQ ID Nos.9、5和11的三个轻链CDR的抗体。

[0478] 如果在本说明书中的相关段落中未指明任何序列或与特定序列表现出至少80%同一性的序列,则必须理解,所述序列与参考序列表现出至少80%,优选85%、90%、95%和98%的同一性。无论这些序列是否包含CDR序列,其旨在表示所述序列表现出至少这些CDR与参考序列CDR具有同一性,与完整序列具有的80%,优选85%、90%、95%和98%的同一性需从位于与这些CDR相对应的序列之外的剩余序列中计算得出。

[0479] 在一个优选的但非限制性的实施方案中,所述抗体选自:

[0480] a)包含序列SEQ ID No.35的轻链可变结构域或与SEQ ID No.35具有至少80%,优选至少85%、90%、95%和98%的同一性的任何序列,和序列SEQ ID Nos.7、2和3的三个重链CDR的抗体;和

[0481] b)包含序列SEQ ID No.36的轻链可变结构域或与SEQ ID No.36具有至少80%,优选85%、90%、95%和98%的同一性的任何序列,和序列SEQ ID Nos.7、2和3的三个重链CDR的抗体。

[0482] “与SEQ ID No.35或36表现出至少80%,优选85%、90%、95%和98%同一性的任何序列”是指表现出三个轻链CDR SEQ ID Nos.4、5和6的序列,此外,其在与所述CDR(即SEQ ID No.4、5和6)相对应的序列之外,与完整序列SEQ ID No.35或36表现出至少80%,优选85%、90%、95%和98%的同一性。

[0483] 在本发明的一个实施方案中,所述抗体选自:

[0484] a)包含序列SEQ ID No.35的轻链可变结构域或与SEQ ID No.35具有至少80%的

同一性的任何序列,和序列SEQ ID Nos.7、2和3的三个重链CDR的抗体;及

[0485] b)包含序列SEQ ID No.36的轻链可变结构域或与SEQ ID No.36具有至少80%的同一性的任何序列,和序列SEQ ID Nos.7、2和3的三个重链CDR的抗体。

[0486] 本文所述的人源化抗体还可以通过恒定结构域表征,并且更特别地,可以选择或设计所述人源化抗体,例如但不限于IgG1、IgG2、IgG3、IgM、IgA、IgD或IgE。更优选地,在本发明的背景下,所述人源化抗体为IgG1或IgG4。

[0487] 根据本发明的一个实施方案,所述抗体为IgG1形式的包含如上所述的可变结构域VH和VL的人源化抗体。更优选地,所述人源化抗体包含序列SEQ ID No.43的VH的恒定结构域和序列SEQ ID No.45的VL的κ结构域。

[0488] 根据本发明的一个实施方案,所述抗体为IgG4形式的包含如上所述的可变结构域VH和VL的人源化抗体。更优选地,所述人源化抗体包含序列SEQ ID No.44的VH的恒定结构域和序列SEQ ID No.45的VL的κ结构域。

[0489] 在本发明的另一个实施方案中,所述抗体选自:

[0490] a)包含序列SEQ ID No.37的重链或与SEQ ID No.37具有至少80%的同一性的任何序列和序列SEQ ID No.39的轻链或与SEQ ID No.39具有至少80%的同一性的任何序列,或由其组成的抗体;和

[0491] b)包含序列SEQ ID No.38的重链或与SEQ ID No.38具有至少80%的同一性的任何序列和序列SEQ ID No.40的轻链或与SEQ ID No.40具有至少80%的同一性的任何序列,或由其组成的抗体。

[0492] 为了更清楚起见,下表6a说明了人源化抗体hz208F2的变体1(Var.1)和变体3(Var.3)的VH和VL的序列的非限制性实例。其还包含变体2(Var.2)的共有序列。

[0493] 表6a

[0494]

	重链	轻链	SEQ ID No.
hz208F2（变体 1）	可变结构域（VH）		33
		可变结构域（VL）	35
	全长		37
		全长	39
hz208F2（变体 3）	可变结构域（VH）		34
		可变结构域（VL）	36
	全长		38
		全长	40
hz208F2（变体 2）	可变结构域（VH）		41
		可变结构域（VL）	42

[0495] 在另一个优选的但非限制性的实施方案中,所述抗体选自:

[0496] a)包含重链可变结构域和序列SEQ ID Nos.9、5和11的三个轻链CDR的抗体,所述重链可变结构域的序列选自SEQ ID Nos.56、62、64、66、68、70、72、74、76、78和80,或与SEQ ID No.56、62、64、66、68、70、72、74、76、78和80具有至少80%,优选85%、90%、95%和98%同一性的任何序列;

[0497] b)包含轻链可变结构域和序列SEQ ID Nos.7、2和3的三个重链CDR的抗体,所述轻

链可变结构域的序列选自SEQ ID Nos.57或60,或与SEQ ID No.57或60具有至少80%,优选85%、90%、95%和98%同一性的任何序列;

[0498] c)包含重链可变结构域和轻链可变结构域的抗体,所述重链可变结构域的序列选自SEQ ID Nos.56、62、64、66、68、70、72、74、76、78和80,或与SEQ ID No.56、62、64、66、68、70、72、74、76、78和80具有至少80%,优选85%、90%、95%和98%同一性的任何序列;所述轻链可变结构域的序列选自SEQ ID Nos.57或60,或与SEQ ID No.57或60具有至少80%,优选85%、90%、95%和98%同一性的任何序列。

[0499] 在本发明的另一个实施方案中,所述抗体选自:

[0500] a)包含重链序列SEQ ID Nos.56、62、64、66、68、70、72、74、76、78和80,或与SEQ ID No.56、62、64、66、68、70、72、74、76、78和80具有至少80%同一性的任何序列;和轻链序列SEQ ID No.57或与SEQ ID No.57具有至少80%同一性的任何序列的抗体;和

[0501] b)包含重链序列SEQ ID Nos.56、64、68和78,或与SEQ ID No.56、64、68或78具有至少80%同一性的任何序列;和轻链序列SEQ ID No.60或与SEQ ID No.60具有至少80%同一性的任何序列的抗体。

[0502] 在本发明的另一个实施方案中,所述抗体选自:

[0503] a)包含重链序列SEQ ID No.58或与SEQ ID No.58具有至少80%同一性的任何序列,和轻链序列SEQ ID No.59或与SEQ ID No.59具有至少80%同一性的任何序列的抗体,或由其组成的抗体;

[0504] b)包含重链序列SEQ ID No.58或与SEQ ID No.58具有至少80%同一性的任何序列,和轻链序列SEQ ID No.61或与SEQ ID No.61具有至少80%同一性的任何序列的抗体,或由其组成的抗体;

[0505] c)包含重链序列SEQ ID No.63或与SEQ ID No.63具有至少80%同一性的任何序列,和轻链序列SEQ ID No.59或与SEQ ID No.59具有至少80%同一性的任何序列的抗体,或由其组成的抗体;

[0506] d)包含重链序列SEQ ID No.65或与SEQ ID No.65具有至少80%同一性的任何序列,和轻链序列SEQ ID No.59或与SEQ ID No.59具有至少80%同一性的任何序列的抗体,或由其组成的抗体;

[0507] e)包含重链序列SEQ ID No.65或与SEQ ID No.65具有至少80%同一性的任何序列,和轻链序列SEQ ID No.61或与SEQ ID No.61具有至少80%同一性的任何序列的抗体,或由其组成的抗体;

[0508] f)包含重链序列SEQ ID No.67或与SEQ ID No.67具有至少80%同一性的任何序列,和轻链序列SEQ ID No.59或与SEQ ID No.59具有至少80%同一性的任何序列的抗体,或由其组成的抗体;

[0509] g)包含重链序列SEQ ID No.69或与SEQ ID No.69具有至少80%同一性的任何序列,和轻链序列SEQ ID No.59或与SEQ ID No.59具有至少80%同一性的任何序列的抗体,或由其组成的抗体;

[0510] h)包含重链序列SEQ ID No.69或与SEQ ID No.69具有至少80%同一性的任何序列,和轻链序列SEQ ID No.61或与SEQ ID No.61具有至少80%同一性的任何序列的抗体,或由其组成的抗体;

[0511] i)包含重链序列SEQ ID No.71或与SEQ ID No.71具有至少80％同一性的任何序列,和轻链序列SEQ ID No.59或与SEQ ID No.59具有至少80％同一性的任何序列的抗体,或由其组成的抗体;

[0512] j)包含重链序列SEQ ID No.73或与SEQ ID No.73具有至少80％同一性的任何序列,和轻链序列SEQ ID No.59或与SEQ ID No.59具有至少80％同一性的任何序列的抗体,或由其组成的抗体;

[0513] k)包含重链序列SEQ ID No.75或与SEQ ID No.75具有至少80％同一性的任何序列,和轻链SEQ ID No.59或与SEQ ID No.59具有至少80％同一性的任何序列的抗体,或由其组成的抗体;

[0514] l)包含重链序列SEQ ID No.77或与SEQ ID No.77具有至少80％同一性的任何序列,和轻链序列SEQ ID No.59或与SEQ ID No.59具有至少80％同一性的任何序列的抗体,或由其组成的抗体;

[0515] m)包含重链序列SEQ ID No.79或与SEQ ID No.79具有至少80％同一性的任何序列,和轻链序列SEQ ID No.59或与SEQ ID No.59具有至少80％同一性的任何序列的抗体,或由其组成的抗体;

[0516] n)包含重链序列SEQ ID No.79或与SEQ ID No.79具有至少80％同一性的任何序列,和轻链序列SEQ ID No.61或与SEQ ID No.61具有至少80％同一性的任何序列的抗体,或由其组成的抗体;和

[0517] o)包含重链序列SEQ ID No.81或与SEQ ID No.81具有至少80％同一性的任何序列,和轻链序列SEQ ID No.59或与SEQ ID No.59具有至少80％同一性的任何序列的抗体,或由其组成的抗体。

[0518] 换言之,所述抗体可以为抗体,其包含:

[0519] a)重链序列,其选自SEQ ID Nos.58、63、65、67、69、71、73、75、77、79和81,或与SEQ ID Nos.58、63、65、67、69、71、73、75、77、79和81具有至少80％同一性的任何序列;和

[0520] b)轻链序列,其选自SEQ ID Nos.59和61或与SEQ ID Nos.59和61具有至少80％同一性的任何序列。

[0521] 在本发明的一个实施方案中,所述抗体选自:

[0522] a)重链序列,其选自SEQ ID Nos.58、63、65、67、69、71、73、75、77、79和81,或与SEQ ID Nos.58、63、65、67、69、71、73、75、77、79和81具有至少80％同一性的任何序列;和

[0523] b)轻链序列,其选自SEQ ID Nos.59和61或与SEQ ID Nos.59和61具有至少80％同一性的任何序列。

[0524] 为了更清楚起见,下表6b说明了人源化抗体hz208F2的不同变体的VH和VL的序列(可变结构域和全长)的非限制性实例。

[0525] 表6b

[0526]

	重链	轻链	SEQ ID NO.
hz208F2 H037/L018	可变结构域（VH） 全长	可变结构域（VL） 全长	56 57 58 59
Hz208F2 H037/L021	可变结构域（VH） 全长	可变结构域（VL） 全长	56 60 58 61
Hz208F2 H047/L018	可变结构域（VH） 全长	可变结构域（VL） 全长	62 57 63 59
Hz208F2 H049/L018	可变结构域（VH） 全长	可变结构域（VL） 全长	64 57 65 59
Hz208F2 H049/L021	可变结构域（VH） 全长	可变结构域（VL） 全长	64 60 65 61
Hz208F2 H051/L018	可变结构域（VH） 全长	可变结构域（VL） 全长	66 57 67 59
Hz208F2 H052/L018	可变结构域（VH） 全长	可变结构域（VL） 全长	68 57 69 59
Hz208F2	可变结构域（VH）		68 60

H052/L021	全长	可变结构域（VL） 全长	69 61
Hz208F2 H057/L018	可变结构域（VH） 全长	可变结构域（VL） 全长	70 57 71 59
Hz208F2 H068/L018	可变结构域（VH） 全长	可变结构域（VL） 全长	72 57 73 59
Hz208F2 H070/L018	可变结构域（VH） 全长	可变结构域（VL） 全长	74 57 75 59
Hz208F2 H071/L018	可变结构域（VH） 全长	可变结构域（VL） 全长	76 57 77 59
Hz208F2 H076/L018	可变结构域（VH） 全长	可变结构域（VL） 全长	78 57 79 59
Hz208F2 H076/L021	可变结构域（VH） 全长	可变结构域（VL） 全长	78 60 79 61
Hz208F2 H077/L018	可变结构域（VH） 全长	可变结构域（VL） 全长	80 57 81 59

[0527]

[0528] 根据本发明的另一方面,所述抗体为选自以下的抗体:i)法国巴斯德研究所分别于2013年5月30日、2013年6月26日、2013年6月26日、2013年4月24日和2013年6月26日保藏于CNCM的杂交瘤I-4757、I-4773、I-4775、I-4736或I-4774产生的抗体,或ii)与i)的抗体竞争结合IGF-1R的抗体;或iii)与i)的抗体结合相同的IGF-1R表位的抗体。

[0529] 根据一个特别的方面,所述结合单元为如上所述的抗体或其抗原结合片段,其用作在宿主靶部位递送细胞毒性剂的寻址载体(addressing vehicle),所述宿主靶部位由表位组成,所述表位定位于IGF-1R,优选IGF-1R胞外域,更优选人IGF-1R(SEQ ID No.50),再更优选人IGF-1R胞外域(SEQ ID No.51),再更优选人IGF-1R细胞外结构域的N-末端(SEQ ID No.52),或其任何天然变体序列。

[0530] 在一个优选的实施方案中,所述宿主靶位点为哺乳动物细胞的靶位点,更优选地为人细胞的靶位点,更优选地为天然地或通过基因重组表达IGF-1R的细胞的靶位点。

[0531] 在另一个实施方案中,所述宿主靶位点为患者的细胞的靶位点,所述患者优选患有癌症的人,所述癌症优选表达IGF-1R的癌症或与IGF-1R相关的癌症。

[0532] 表达IGF-1R的癌症或与IGF-1R相关的癌症特别地包括其中肿瘤细胞在其表面表达或过表达全部或部分IGF-1R的癌症。

[0533] 可以在本发明中用作结合单元的IGF-1R抗体特别地在WO2015/162291/WO2015/162292或WO2015/162293中描述。

[0534] 连接子分子

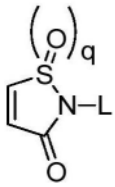
[0535] 根据本发明的式(I)的连接子(优选其中q=2)可用于将药物共价连接至结合单元,例如抗体(例如单克隆抗体)或其抗原结合片段。

[0536] 为此,连接子的磺酰基马来酰亚胺部分可以与结合单元上存在的巯基部分反应,而连接子的X_3末端可以与药物上存在的官能团(QH或Q-OH)反应。

[0537] 可以根据在实验部分中举例说明的各种合成方法来制备连接子分子。

[0538] 当X_1和X_2独立地选自H和Cl,至少一个为Cl时,根据本发明的连接子可以由式L-NHCO-CH_2CH_2-S-S-CH_2CH_2-CONH-L的二硫化物化合物通过与氯化剂(例如SO_2Cl_2)反应制备,其中L表示L_1-$(CO)_c$-$(W)_w$-$(Y)_y$-X_3,任选地为受保护的形式。

[0539] 当X_1和X_2独立地选自H和Br,至少一个为Br时,根据本发明的连接子可以由式



的化合物通过与溴化剂(例如Br_2)反应制备,其中L表示L_1-$(CO)_c$-$(W)_w$-$(Y)_y$-X_3,任选地为受保护的形式。

[0540] 当X_1和X_2中的至少一个为(C_1-C_6)烷氧基、任选地被取代的芳氧基、或-O-$(CH_2CH_2O)_r$H时,根据本发明的连接子可以由相应的式(I)的连接子(其中X_1和X_2至少一个为Cl或Br,任选地为受保护的形式)通过与式R_a-OH的醇(其中R_a代表(C_1-C_6)烷基、任选地被取代的芳基、或-$(CH_2CH_2O)_r$H)进行亲核取代反应制备。

[0541] 还可以设想形成磺酰基马来酰亚胺部分,其中截短的连接子部分(例如,其中L=L_1-$(CO)_c$-X_6,其中X_6官能团例如NH_2、OH或离去基团,任选地为受保护的形式)接枝在其上,并在形成磺酰基马来酰亚胺部分后完成连接子的合成,尤其是如下在药物-连接子偶联物的合成中所说明的。

[0542] 此外,可以进行氧化步骤以将$S(O)_q$基团转化为所需的氧化态(即优选q=2)。所述氧化步骤是本领域技术人员所熟知的。所使用的氧化剂例如可以为mCPBA、RuO_4或$RuCl_3$/$NaIO_4$。

[0543] 可以在上述方法中进行进一步的保护/脱保护步骤,所述步骤及其反应条件是本领域技术人员所熟知的。

[0544] 可以通过本领域技术人员熟知的方法,例如通过萃取、蒸发溶剂或通过沉淀或结晶(随后过滤),将获得的连接子与反应介质分离。

[0545] 必要时,还可以通过本领域技术人员熟知的方法纯化连接子,例如通过重结晶、蒸馏、硅胶柱色谱法或高效液相色谱法(HPLC)。

[0546] 药物-连接子偶联物

[0547] 根据本发明的式(II)的药物-连接子偶联物(优选其中q＝2)可用于将药物共价连接至结合单元,例如抗体(例如单克隆抗体)或其抗原结合片段。

[0548] 为此,药物-连接子偶联物的磺酰基马来酰亚胺部分能够与结合单元上存在的巯基部分反应。

[0549] 可以根据各种合成方法来制备药物-连接子偶联物。实际上,式(I)的连接子能够与药物(QH或Q-OH)反应以形成偶联物。然而,可以设想其他可能性,其中在药物分子上逐渐形成连接子,即首先将连接子的第一部分接枝到药物上,使所得化合物与截短的连接子分子反应以形成药物-连接子偶联物。

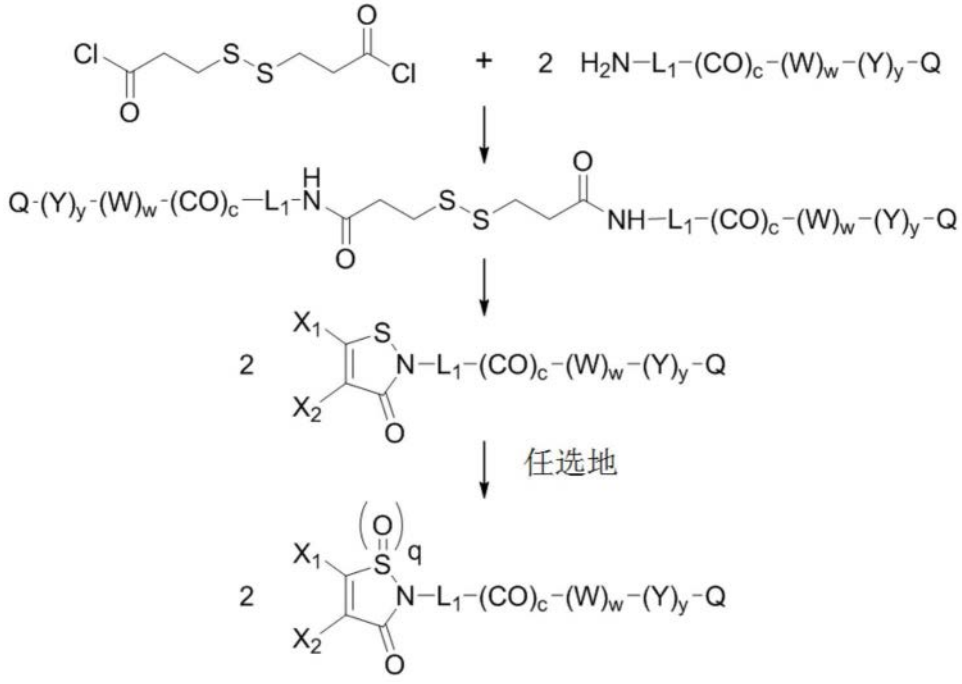
[0550] 因此,以下非限制性合成路线可用于制备根据本发明的式(II)的药物-连接子偶联物,即使可以考虑其他合成路线。

[0551] 在所有这些合成途径中,可以进行进一步的保护/脱保护/取代步骤,这些步骤及其反应条件是本领域技术人员所熟知的。

[0552] 可以通过本领域技术人员熟知的方法,例如通过萃取、蒸发溶剂或通过沉淀或结晶(随后过滤),将获得的药物-连接子偶联物与反应介质分离。

[0553] 如果需要,还可以通过本领域技术人员所熟知的方法,例如通过重结晶、蒸馏、硅胶柱色谱法或高效液相色谱法(HPLC)来纯化药物-连接子偶联物。

[0554] 以方案I表示的合成路线I:

[0555] 

[0556] 方案I

[0557] 如下详述,末端磺酰基马来酰亚胺部分可以由接枝了连接子部分的前体的药物上已经存在的基团形成。

[0558] 步骤1:3-(2-氯羰基-乙基二硫基)-丙酰氯与式$H_2N-L_1-(CO)_c-(W)_w-(Y)_y-Q$(即连接子的一部分已经被接枝的药物分子)的分子反应。所述反应可以在碱(例如三甲胺)的存在下进行。所述反应可以在溶剂(例如DCM)中进行,尤其是在介于0℃至室温之间的温度下进行。

[0559] 3-(2-氯羰基-乙基二硫基)-丙酰氯可以通过公知的形成酰氯的方法(例如通过与$(COCl)_2$反应)由3,3'-二硫基二丙酸制备。所述反应可以在溶剂(例如DCM)中进行,尤其是在室温下进行。可以添加催化量的DMF。

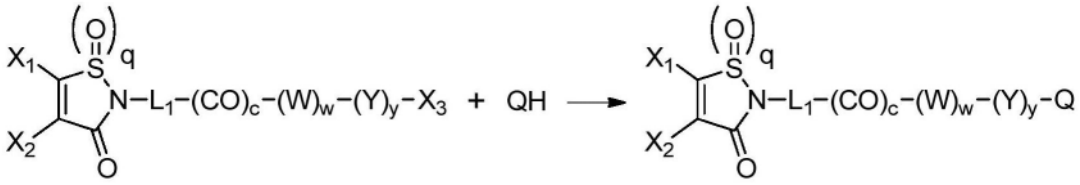
[0560] 还可以设想例如使3-(2-氯羰基-乙基二硫基)-丙酰氯与任选保护形式的式$H_2N-L_1-(CO)_c-X_3$的分子反应,并在随后的步骤中完成以Q接枝的连接子部分的合成,尤其是根据下文所述的其他合成路线之一。

[0561] 步骤2:步骤1中获得的分子可以在SO_2Cl_2存在下,尤其是在SO_2Cl_2极大过量时(例如5至10eq.,例如约9eq.),进行环化和氯化反应。所述反应可以在溶剂(例如DCM)中进行,尤其是在室温下进行。

[0562] 可以通过熟知的方法,例如通过亲核取代,将氯原子转化为另一个X_1或X_2基团(H以外的基团)。

[0563] 步骤3:如果需要,将步骤2中获得的分子氧化以得到式(IIa)的药物-连接子。所述氧化步骤可以在本领域技术人员熟知的条件下,尤其是在mCPBA的存在下(例如10eq.)进行。所述反应可以在溶剂(例如DCM)中进行,尤其是在室温下进行。

[0564] 以方案II表示的合成路线II:

[0565] 

[0566] 方案II

[0567] 可以在药物(QH或Q-OH)与式(I)的连接子之间进行直接偶联,其条件取决于X_3和药物上存在的官能团的性质。

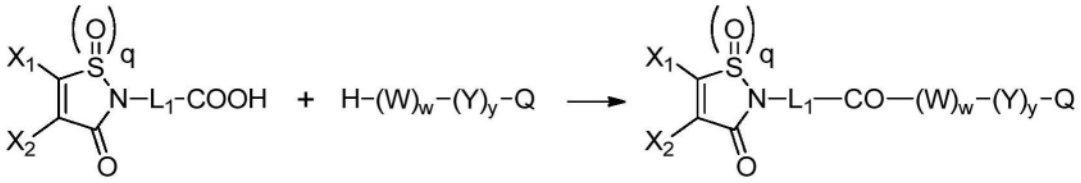
[0568] 该偶联可以为取代,例如亲核取代或Mitsunobu反应,该化学反应的反应条件是本领域技术人员熟知的。

[0569] 当X_3=OH且至少y=1,w≠0或c=1(即式(I)的连接子的末端官能团为COOH)且QH包含NH官能团时,式(I)的连接子和药物(QH)之间的偶联可以为本领域技术人员熟知的肽偶联。末端COOH官能团也可以转化为酰氯COCl,其然后可以与药物(QH)上存在的亲核官能团(例如NH或OH)反应。

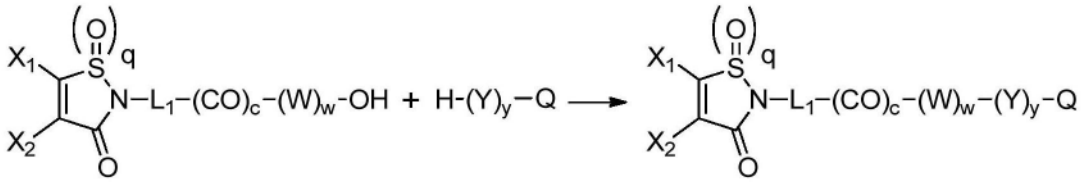
[0570] 当$X_3=NH_2$时;或X_3=H,y=z=1且$Z=-NR_4-(CH_2)_u-NR_5-$时;或X_3=H,c=w=y=0,z'=1且Z'为$-NR_4-(CH_2)_u-NR_5-$(即式(I)连接子的末端官能团为NH)且Q-OH包含COOH官能团时,式(I)的连接子与药物(Q-OH)之间的偶联可以为本领域技术人员熟知的肽偶联。药物的末端COOH官能团也可以转化为酰氯COCl,然后其能够与NH官能团反应。

[0571] 如果需要,可以进行额外的氧化步骤以将$S(O)_q$基团转化为所需的氧化态(即优选q=2)。所述氧化步骤是本领域技术人员熟知的。所使用的氧化剂例如可以为mCPBA、RuO_4或$RuCl_3/NaIO_4$。

[0572] 以方案IIIa和IIIb表示的合成路线III:

[0573] 

[0574] 方案IIIa(其中c＝1)

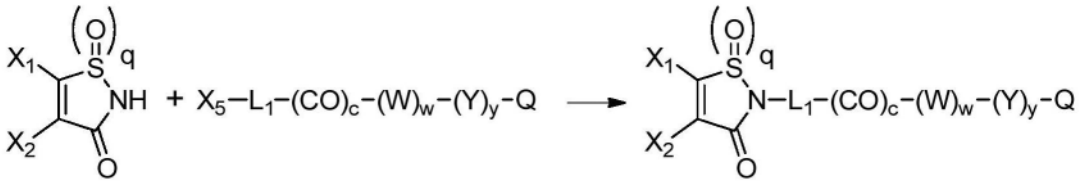
[0575] 

[0576] 方案IIIb(其中w≠0)

[0577] 如方案IIIa和IIIb所示,还可以在带有COOH官能团的截短的连接子与接枝于所述连接子的另一部分的药物部分之间进行肽偶联。截短的连接子的末端COOH官能团也可以转化为酰氯COCl,其然后可以与另一种反应物的NH官能团反应。该反应的反应条件是本领域技术人员熟知的。

[0578] 如果需要,可以进行额外的氧化步骤以将$S(O)_q$基团转化为所需的氧化态(即优选q＝2),例如在mCPBA、RuO_4或$RuCl_3/NaIO_4$的存在下。

[0579] 以方案IV表示的合成路线IV:

[0580] 

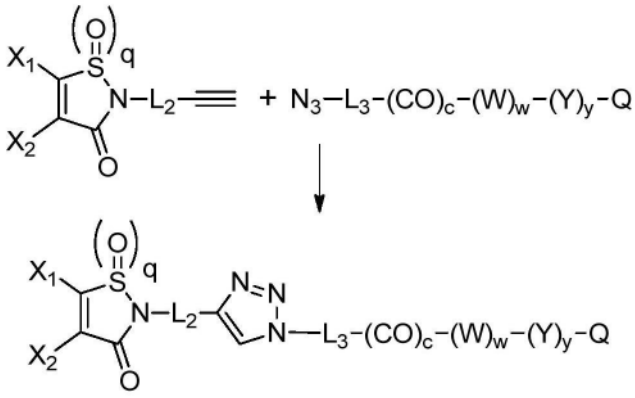
[0581] 方案IV

[0582] 磺酰基马来酰亚胺部分与已经接枝连接子其余部分的药物之间的偶联也可以如方案IV所示进行,其中X_5表示OH或如前所定义的离去基团。

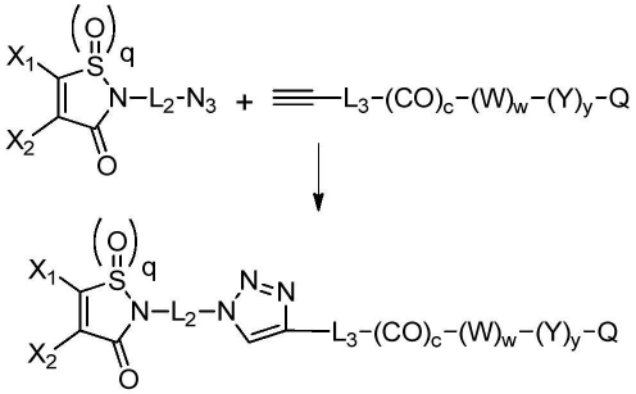
[0583] 所述偶联可以为取代,例如亲核取代。

[0584] 如果需要,可以进行额外的氧化步骤以将$S(O)_q$基团转化为所需的氧化态(即优选q＝2),例如在mCPBA、RuO_4或$RuCl_3/NaIO_4$的存在下。

[0585] 以方案Va和Vb表示的合成路线V:

[0586] 

[0587] 方案Va

[0588] 

[0589] 方案Vb

[0590] 当所述连接子包含具有二价1H-1,2,3-三唑的亚杂芳基部分时,该亚杂芳基可通过叠氮化物和炔烃之间的点击化学反应在本领域技术人员熟知的条件下形成,如上面的方案Va和Vb所示,其中L_2表示-$(CH_2)_n$或-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-,L_3表示-$(CH_2)_p$-或-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-,L_2和L_3不同时为-$(CH_2CH_2O)_m$-CH_2-CH_2-基团。

[0591] 如果需要,可以进行额外的氧化步骤以将S(O)$_q$基团转化为所需的氧化态(即优选q=2),例如在mCPBA、RuO_4或$RuCl_3/NaIO_4$的存在下。

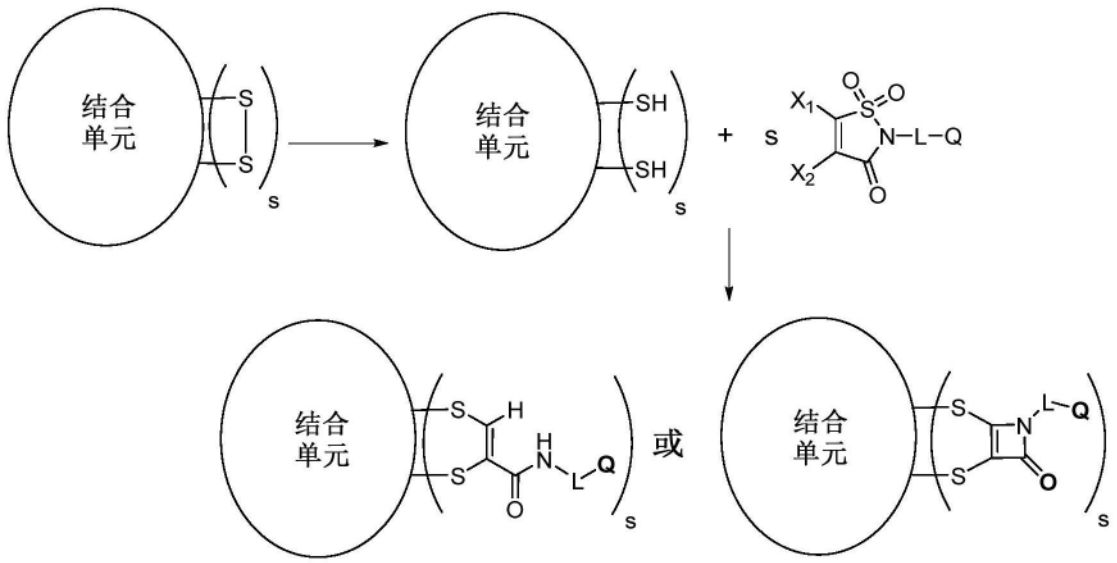
[0592] 结合单元-药物偶联物

[0593] 结合单元-药物偶联物,例如抗体-药物偶联物,可以通过以下方法制备:

[0594] 1)尤其是通过还原二硫键,在结合单元上形成巯基官能团;和

[0595] 2)使所述带有巯基官能团的结合单元与药物-连接子偶联物反应,从而通过使磺酰基马来酰亚胺官能团与巯基官能团反应,将药物部分共价连接于结合单元上。

[0596] 该方法示于如下方案VI。

[0597] 

[0598] 方案VI

[0599] 药物组合物

[0600] 根据本发明的药物组合物包含式(III)或(IV)的结合单元-药物偶联物和至少一种药学上可接受的赋形剂。

[0601] 本发明的药物组合物可以用于肠内(例如口服)或肠胃外(例如静脉)施用,优选口

服或静脉施用。活性成分可以以与常规药物赋形剂混合的用于施用的单位形式给予动物，优选哺乳动物，包括人。

[0602] 对于口服施用，药物组合物可以为固体或液体(溶液或混悬液)形式。

[0603] 固体组合物可以为片剂、明胶胶囊、粉剂、颗粒剂等形式。在片剂中，可以在压片之前将活性成分与药物载体如明胶、淀粉、乳糖、硬脂酸镁、滑石粉、阿拉伯胶等混合。片剂可以进一步包衣，尤其是用蔗糖或其他合适的材料包衣，或者可以以延长或延迟活性的方式对其进行处理。在粉剂或颗粒剂中，可以将活性成分与分散剂、湿润剂或悬浮剂以及矫味剂或甜味剂混合或制粒。在明胶胶囊中，可以将活性成分以粉末或颗粒的形式(例如之前提到的)或以液体组合物的形式(例如下面提到的)引入软或硬的明胶胶囊中。

[0604] 液体组合物可以在例如水的溶剂中包含活性成分以及甜味剂、增味剂或合适的着色剂。液体组合物也可以通过将如上所述的粉末或颗粒悬浮或溶解在例如水、果汁、牛奶等液体中而获得。其可以为例如糖浆或酏剂。

[0605] 对于肠胃外施用，组合物可以是水性混悬剂或溶液的形式，其可以包含悬浮剂和/或润湿剂。所述组合物有利地为无菌的。其可以为等渗溶液的形式(特别是与血液相比)。

[0606] 所述肠胃外组合物将有利地包含生理学上可接受的介质，所述介质通常基于等渗盐溶液，即0.9％NaCl水溶液(生理盐水)。也可以使用非水混溶共溶剂，例如乙醇、甘油、丙二醇或正乳酰胺。

[0607] 本发明的肠胃外组合物还可包含一种或多种添加剂，例如助悬剂、湿润剂、防腐剂、抗氧化剂、螯合剂、缓冲剂、张力调节剂等。该添加剂对于本领域技术人员是常规的。

[0608] 悬浮剂可以为藻酸盐、羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟甲基纤维素、羟乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、微晶纤维素、胶(例如阿拉伯胶、黄芪胶或黄原胶)、明胶、角叉菜胶、聚乙烯基吡咯烷酮等。

[0609] 润湿剂可以为甘油、丙二醇或非离子表面活性剂(例如卵磷脂、聚山梨酯或泊洛沙姆)。

[0610] 防腐剂可以为苯甲醇、苯酚、甲酚、氯丁醇、对羟基苯甲酸酯(例如对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯或对羟基苯甲酸丙酯)、苯扎氯铵、苄索氯铵等。

[0611] 抗氧化剂可以为抗坏血酸、柠檬酸、乙酰半胱氨酸、亚硫酸盐(亚硫酸氢盐、偏亚硫酸氢盐)、单硫代甘油、甲醛次硫酸钠、硫脲、生育酚等。

[0612] 螯合剂可以为乙二胺四乙酸(EDTA)盐。

[0613] 缓冲剂可以为醋酸盐、柠檬酸盐、酒石酸盐、磷酸盐、三乙醇胺(TRIS)等。

[0614] 张力调节剂可以为葡萄糖、甘油(glycerol)、氯化钠、甘油(glycerin)、甘露醇等。

[0615] 本发明的结合单元-药物偶联物可以以每天0.01mg至1000mg的剂量用于药物组合物中，每天仅给药一剂或一天中给药多剂，例如每天等剂量的两次。每日给药剂量有利地介于5mg至500mg之间，并且更有利地介于10mg至200mg之间。然而，可能有必要使用超出这些范围的剂量，其为本领域技术人员可以注意到的。

[0616] 治疗癌症

[0617] 式(III)或(IV)的结合单元-药物偶联物或包含式(III)或(IV)的结合单元的药物组合物可用于治疗癌症，特别是当其包含的药物部分(Q)为可用于治疗癌症的药物(QH)的残基(例如细胞毒性剂)时。

[0618] 结合单元-药物偶联物,例如抗体-药物偶联物(ADC),将结合单元(例如抗体)的结合特异性与药物(例如细胞毒性剂)的效力相结合。

[0619] 使用结合单元-药物偶联物,例如ADC,可以局部递送药物,所述药物如果以未偶联药物的形式给药,则可能导致对正常细胞的不可接受的毒性水平。换言之,由此寻求具有最小毒性的最大功效。

[0620] 所述癌症可以例如但不限于前列腺癌、骨肉瘤、肺癌、乳腺癌、子宫内膜癌、成胶质细胞瘤、结肠癌、胃癌、肾癌、胰腺癌、头颈癌或任何其他与被抗体靶向的抗原在肿瘤细胞上的表达相关的癌症。

[0621] 通过以下非限制性实施例和附图说明本发明。

附图说明

[0622] 图1A、图2、图3A、图4A、图5A、图6A、图7A、图21和图22A表示根据本发明的药物-连接子偶联物的质谱。

[0623] 图1B、图3B、图4B、图5B、图6B、图7B、图8和图9表示根据本发明的药物-连接子偶联物的^{1}H-NMR谱。

[0624] 图10和图11表示根据本发明的药物-生长抑素偶联物的质谱。

[0625] 图12表示在还原和非还原条件下,对Ab1抗体(1)和纯化的根据本发明的ADC(ADC1-A(2)、ADC1-B(3)、ADC1-C(4)、ADC1-D(5)、ADC1-E(6)、ADC1-F(7)和ADC1-G(8))的SDS-PAGE分析。在凝胶上观察到的条带对应于完全桥接的抗体(即LHHL);部分桥接(即HHL、HH、HL)和无桥接(即H和L)。

[0626] 图13表示对Ab1抗体和根据本发明的ADC(ADC1-A、ADC1-B、ADC1-C、ADC1-D、ADC1-E、ADC1-F和ADC1-G)的SEC分析。

[0627] 图14A、图14B、图14C和图14D表示根据本发明的ADC:分别为(A)ADC1-A、(B)ADC1-B、(C)ADC1-C和(D)ADC-1D去卷积之前的ADC m/z谱。

[0628] 图15A、图15B和图15C分别表示对(A)ADC1-A、(B)ADC1-B和(C)ADC1-D进行Maxent去卷积后的DAR分布。

[0629] 图16A和图16B表示ADC的天然质谱(native mass spectrometry)分析:(A)参考ADC Ref-A,(B)根据本发明的ADC1-C。

[0630] 图17A、图17B和图17C表示体外稳定性研究的结果,显示(1)人、(2)食蟹猴、(3)小鼠和(4)大鼠血清在每个时间点(D0、D3、D7和D14)的总抗体(100%)和ADC的百分比,分别为(A)参考ADC Ref-B、(B)ADC1-C和(C)ADC1-E。

[0631] 图18A和图18B分别表示NCI-H2122(A)和MCF-7(B)细胞中不同ADC的体外细胞毒性评估。

[0632] 图19和图20表示卵巢癌模型中ADC1-C和参考ADC Ref-A的体内活性。

[0633] 图22B表示根据本发明的药物-连接子偶联物的TOF-MS谱。

[0634] 图23A表示Ab1抗体和用PNU-159682衍生物合成的根据本发明的ADC的SEC分析。

[0635] 图23B表示Ab2抗体和用PNU-159682衍生物合成的根据本发明的ADC的SEC分析。

[0636] 图24:图24A、图24B、图24C和图24D表示根据本发明的ADC去卷积之前的ADC m/z谱:分别为(A)hz208F2-F562524、(B)c9G4-F562524、(C)hz208F2-F562616和(D)c9G4-

F562646。

[0637] 图25:图25A、图25B、图25C和图25D表示根据本发明的ADC在Maxent去卷积之后的DAR分布:分别为(A)hz208F2-F562524、(B)c9G4-F562524、(C)hz208F2-F562616和(D)c9G4-F562646。

[0638] 图26:图26A和图26B表示ADC hz208F2-F562524和相应的对照ADC c9G4-F562524分别在NCI-H2122(A)和MCF-7(B)细胞中的体外细胞毒性评估。

[0639] 图27:图27A和图27B表示ADC hz208F2-F562646和相应的对照ADC c9G4-F562646分别在NCI-H2122(A)和MCF-7(B)细胞中的体外细胞毒性评估。

[0640] 图28表示在卵巢癌模型中ADC hz208F2-F562524和相应的对照ADC c9G4-F562524的体内活性。

具体实施方式

[0641] 实施例

[0642] 缩写

[0643] ACN:乙腈

[0644] ADC:抗体-药物偶联物

[0645] aq:水性

[0646] BBO:宽频观测

[0647] BCA:二辛可宁酸(Bicinchoninic acid)

[0648] CDR:互补决定区

[0649] DAR:药物-抗体比值

[0650] DCM:二氯甲烷

[0651] DIPEA:N,N-二异丙基乙胺

[0652] DMF:二甲基甲酰胺

[0653] DMSO:二甲亚砜

[0654] EDCI:1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳化二亚胺

[0655] EDTA:乙二胺四乙酸

[0656] eq:当量

[0657] ES:电喷雾

[0658] ESI:电喷雾离子化法

[0659] HATU:1-[双(二甲氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化物六氟磷酸盐

[0660] HOBt:1-羟基苯并三唑

[0661] HIC:疏水作用色谱法

[0662] HPLC:高效液相色谱法

[0663] HRMS:高分辨率质谱法

[0664] LBA:配体结合测定法

[0665] LC:液相色谱法

[0666] LCMS:液相色谱-质谱联用

[0667] mCPBA:间氯过氧苯甲酸

[0668] Ms:甲磺酰基

[0669] MS:质谱

[0670] NMR:核磁共振

[0671] PBS:磷酸盐缓冲盐水

[0672] Q-TOF:四极杆-飞行时间

[0673] Rf:阻滞因子

[0674] rt:室温

[0675] sat.:饱和的

[0676] SDS-PAGE:十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳

[0677] SEC:尺寸排除色谱法

[0678] TBME:甲基叔丁基醚

[0679] TCEP:三(2-羧乙基)膦

[0680] TEA:三乙胺

[0681] TFA:三氟乙酸

[0682] THF:四氢呋喃

[0683] TLC:薄层色谱法

[0684] TOF:飞行时间

[0685] Ts:甲苯磺酰基

[0686] UV:紫外

[0687] 实验步骤:

[0688] 所有需要无水条件的反应都在烘箱干燥的装置中,在氮气氛下进行。在惰性气氛下将无水溶剂容纳在密封瓶中。所有试剂均按收到的原样使用。在Interchim puriFlash®430和Grace Reveleris®X2上,在使用硅胶(50μm)的puriFlash®色谱柱上进行柱色谱法。在预先涂覆二氧化硅(Merck硅胶60F_{254})的铝片上进行TLC分析,然后用254nm紫外灯可视化。在室温下用配备有BBO Prodigy探针(5mm)的Bruker 500MHz Ascend™在$CDCl_3$和DMSO中记录质子(^1H)和碳(^{13}C)的NMR谱。使用Topspin™ 3.2软件对谱图进行解释。化学位移(δ_H和δ_C)以百万分率(ppm)报告,相对于$CDCl_3$(^1H NMR 7.26,^{13}C NMR 77.0,三重峰的中心信号)或DMSO(^1H NMR 2.50,^{13}C NMR 37.9,七重峰的中心信号)进行参考。由COSY和HSQC实验协助赋值(assignments)。耦合常数(J:相邻的质子,J_{cis}:顺位相邻质子,J_o:邻位质子,J_m:间位质子)以赫兹给出,精确至±0.1Hz。在适用的情况下,多重性(multiplicities)以单峰(s)、双峰(d)、三重峰(t)、四重峰(q)、三重的三重峰(t.of t.)、多重峰(m)和宽峰(b)表示。使用电喷雾离子化(ES+)技术在Waters®ZQ Mass Detector光谱仪上记录质谱(m/z),源温度为:120℃,去溶剂化温度:350℃,毛细电压:3.20kV,锥电压:25V,提取电压:5V,Rf镜头电压:0.5V,MS扫描范围:100-2000。HPLC分析使用Waters®X-Bridge Shield RP18 3.5μm(3.0mm×30mm)色谱柱和Waters®X-Bridge Shield RP18 3.5μm(3.0mm×20mm)预柱,在HPLC Waters® Alliance 2695上进行,其带有MassLynx 4.1软件和适用于所分析样品的适当波长的Waters 2996 PDA紫外/可见光检测器。保留时间(R_t)以分钟给出,精确到0.01分钟。使用了两种洗脱方法:

[0689] 表7.用于LC的洗脱方法1

[0690]

时间(分钟)	溶剂A(水+0.1％甲酸)％	溶剂B(ACN+0.1％甲酸)％
0.00	97.0	3.0
2.25	0.0	100.0
2.50	0.0	100.0
2.60	97.0	3.0
3.00	97.0	3.0

[0691] 表8.用于LC的洗脱方法2

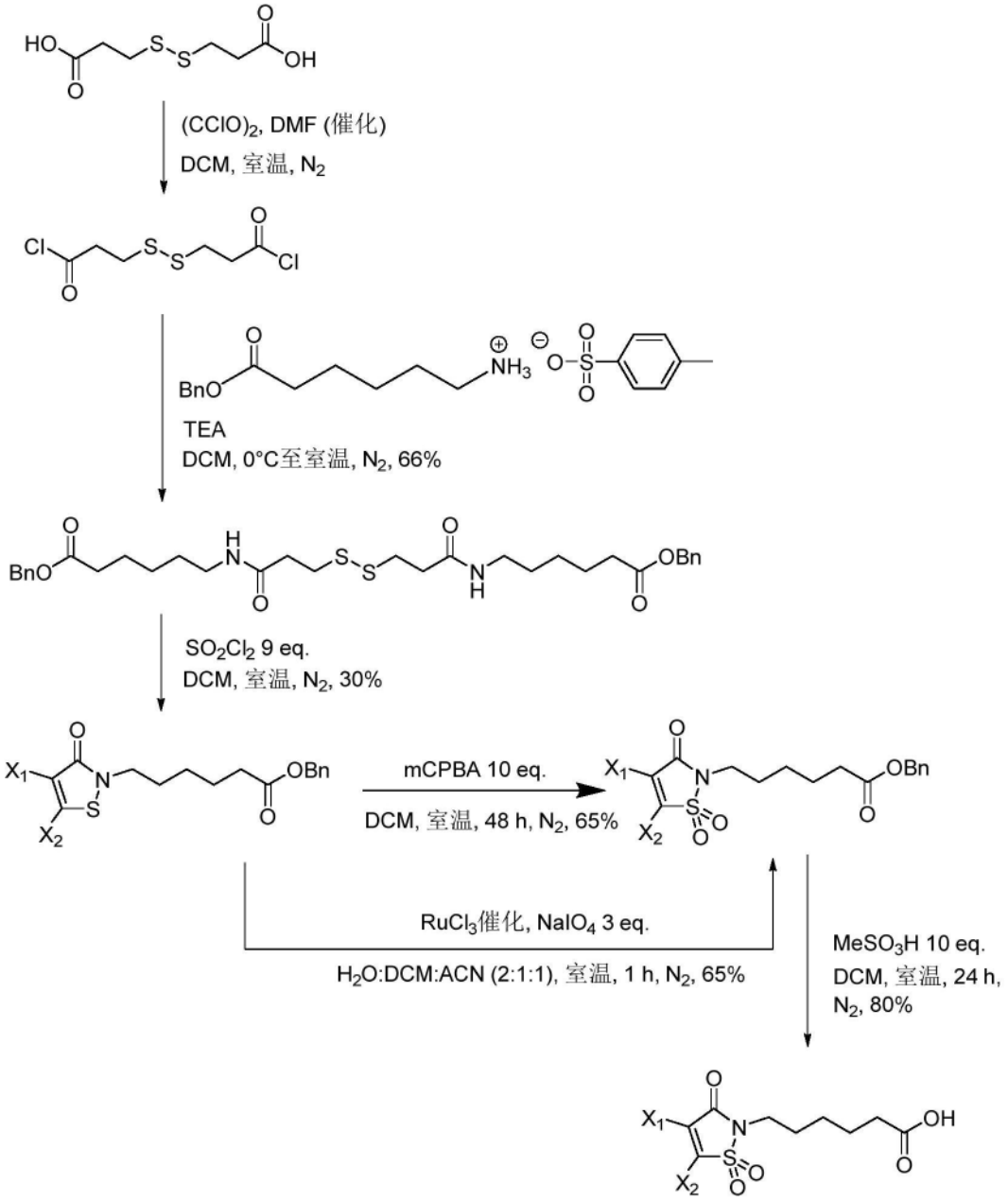
[0692]

时间(分钟)	溶剂A(水+0.1％甲酸)％	溶剂B(ACN+0.1％甲酸)％
0.00	50.0	50.0
2.10	25.0	75.0
2.25	0.0	100.0
2.50	0.0	100.0
2.75	97.0	3.0
3.00	97.0	3.0

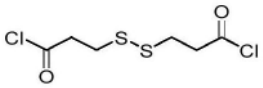
[0693] 方法1给出的保留时间用$R_{t,1}$表示,方法2给出的保留时间用$R_{t,2}$表示。

[0694] 1.连接子的合成

[0695] 氧代异噻唑酮的合成路径实施例：

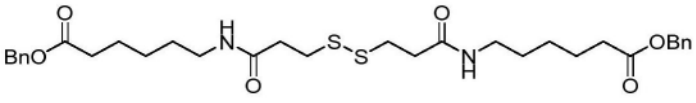
[0696] 

[0697] I.1.3,3'-二硫烷二基二丙酰氯

[0698] 

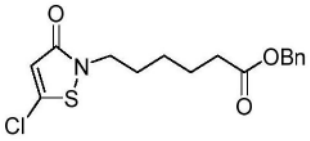
[0699] I.2.在0℃,惰性气氛下,将3,3'-二硫烷二基二丙酸(4g,0.019mol,1eq.)悬浮在无水DCM(100mL)中,并加入无水DMF(300μL),然后加入草酰氯(7.24g,0.057mol,3eq.)。溶液变得澄清。将混合物在室温放置3小时,直到澄清且不再观察到气体形成为止。蒸发粗产物,并在减压下再保持30分钟,以除去草酰氯的残余物。获得黄色油状物(4.70g,100%)。粗品不经进一步纯化即使用;$R_{t,1}$(MeOH中):2.13;MS ES+m/z:206.86。

[0700] I.3.6,6'-((3,3'-二硫烷二基双(丙酰基))双(氮杂二基))二己酸二苄酯

[0701] 

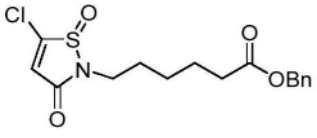
[0702] 在0℃,惰性气氛下,在冰浴中,剧烈搅拌下,将6-(苄氧基)-6-氧代己基-1-铵4-甲苯磺酸盐(12.20g,0.031mol,2.2eq.)悬浮于无水DCM(75mL)中。将TEA(15.72mL,0.113mol,8eq.)加入溶液中。将新鲜制备的3,3'-二硫烷二基二丙酰氯(3.88g,0.014mol,1eq.)在DCM(25mL)中的溶液缓慢滴入保持在0℃的溶液中。继续搅拌24小时,同时使溶液达到室温。加入水(50mL),并将混合物转移至分液漏斗中。分离有机层,并用盐水(1×100mL)洗涤,再用1M HCl(1×100mL)、$NaHCO_3$盐的饱和溶液(2×100mL)和盐水(1×100mL)洗涤。合并的水层用DCM(2×100mL)萃取。有机层用$MgSO_4$干燥,过滤并蒸发至干,得到黄色固体,将其在MeOH中研磨,得到浅黄色粉末状的6,6'-((3,3'-二硫烷二基双(丙酰基))双(氮杂二基))二己酸二苄酯(6.0g,66%)。^1H NMR(500MHz,$CDCl_3$),δ7.35(m,10H),6.0(s,2H),5.11(s,4H),3.25(q,J=5.9Hz,4H),3.00(t,J=7.0Hz,4H),2,55(t,J=7.10Hz,4H),2,.36(t,J=7.30Hz,4H),1.66(t of t.,J=8.10Hz,4H),1.52(t of t.,J=8.10Hz,4H),1.35(t of t,J=8.52Hz,4H);^{13}C NMR(500MHz,$CDCl_3$),δ173.5(2-NH-C=O),170.9(-O-C=O),136.0(芳香环的$2C_{quat}$),128.6(2H-$C_{芳香}$),128.3(H-$C_{芳香}$),128.2(2H-$C_{芳香}$),66.2(2-CH_2-O-),39.4(2-CH_2-N),35.8(2-CH_2-COO-),34.3(2-CH_2-S-),34.1(2-CH_2-CNO-),29.1(2C),26,3(2C),24,4(2C);$R_{t,1}$(MeOH中):2.50;MS ES+M/Z:617.00。

[0703] I.4.6-(5-氯-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯

[0704] 

[0705] 将6,6'-((3,3'-二硫烷二基双(丙酰基))双(氮杂二基))二己酸二苄酯(2.50g,4.05mmol,1eq.)溶解于无水DCM(20.3mL)中。将SO_2Cl_2(97%纯,2.96mL,0.036mol,9eq.)滴加入溶液中,并将混合物在室温,惰性气氛下搅拌5小时。溶液澄清并变为浅黄色。随后,将溶液用水(2×100mL)和盐水(1×100mL)洗涤。合并的水层用DCM(2×100mL)萃取。有机层经$MgSO_4$干燥并过滤,然后在减压下浓缩并使用柱色谱法纯化。获得浅黄色油状的6-(5-氯-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯(0.824g,29.9%)以及6-(3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯。^1H NMR($CDCl_3$),δ7.35(m,5H),6.25(s,1H),5.11(s,2H),3.72(t,J=7.34Hz,2H),2.37(t,J=7.39Hz,2H),1.69(m,4H),1.38(m,2H);^{13}C NMR(500MHz,$CDCl_3$),δ173.2(-O-C=O),166.9(-N-C=O),145.6(Cl-HC=CH-),136.0(芳香环C_{quat}.),128.6-128.3(5H-$C_{芳香}$),114.8(Cl-HC=CH-),66.2(-CH_2-O-),43.5(-CH_2-N-),34.0(-CH_2-C=O),29.4,25.9,24.4;$R_{t,1}$(ACN中):2.35;MS ES+m/z:339.84。

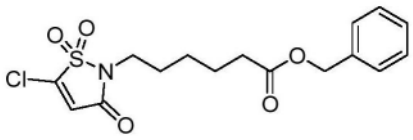
[0706] I.5.6-(5-氯-1-氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯

[0707] 

[0708] 将6-(5-氯-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯(802g,3.58mmol)稀释于无水DCM(25mL)中。加入3-氯苯过氧酸(1.2eq.)。将溶液在室温,惰性气氛下搅拌48小时。然后将溶液用DCM稀释,并用10%$Na_2S_2O_3$水溶液处理。然后依次用饱和$NaHCO_3$盐溶液(2×100mL)、再用盐水(1×100mL)萃取有机相。合并的水层用DCM(2×100mL)萃取。有机层经$MgSO_4$干燥,过滤,然后在减压下浓缩并使用柱色谱法纯化。然后获得无色油状的6-(5-氯-1-氧化-3-氧代

异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯(753mg)。

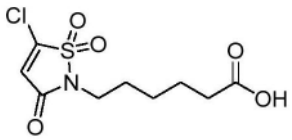
[0709] I.6.6-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯

[0710] 

[0711] 一氯化物化合物氧化的标准步骤:

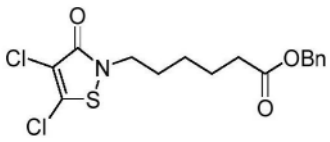
[0712] 将6-(5-氯-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯(1.11g,0.0036mol,1eq.)溶解于无水DCM(7mL)中。加入3-氯苯过氧酸(2.69g,0.0109mol,3eq.)。将该溶液在室温,在惰性气氛下搅拌48小时。然后将溶液用DCM稀释,并用10%$Na_2S_2O_3$水溶液处理。然后依次用饱和$NaHCO_3$盐溶液(2×100mL)、再用盐水(1×100mL)萃取有机相。合并的水层用DCM(2×100mL)萃取。有机层经$MgSO_4$干燥,过滤,然后在减压下浓缩并使用柱色谱法纯化。获得浅黄色油状的6-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯(0.760g,64.3%)。^{1}H NMR($CDCl_3$),δ7.36(m,5H),6.68(s,1H),5.11(s,2H),3.67(t,J=7.68Hz,2H),2.37(t,J=7.27Hz,2H),1.78(t of t,J=7.73Hz,2H),1.70(t of t,J=7.38Hz,2H),1.40(m,2H);^{13}C NMR(500MHz,$CDCl_3$),δ173.2(-O-C=O),157.0(-N-C=O),144.6(Cl-HC=CH-),136.0(芳香环C_{quat}.),128.6-128.2(H-$C_{芳香}$),123.6(Cl-HC=CH-),66.2(-CH_2-O),40.3(-CH_2-N-),34.0(-CH_2-C=O),27.9,26.0,24.2;$R_{t,1}$(ACN中):2.49;MS ES+M/Z:371.83。

[0713] 实施例1.6-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸

[0714] 

[0715] 由6-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯(0.445g,77%)起始,按照苄酯脱保护的标准方法,获得浅白色粉末状的6-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸。^{1}H NMR($CDCl_3$),δ10.89(br.s,1H),6.70(s,1H),3.70(t,J=7.43Hz,2H),2.38(t,J=7.38Hz,2H),1.81(t of t.,J=7.60Hz,2H),1.69(t of t,J=7.71Hz,2H),1.43(分裂的t of t,J=7.75Hz,J=3.31Hz,2H);^{13}C NMR(500MHz,$CDCl_3$),δ178.7(O=C-OH),157.1(-N-C=O),144.7(Cl-HC=CH-),123.6(Cl-HC=CH-),40.2(-CH_2-N),33.5(-CH_2-C=O),27.9,25.9,23.9;$R_{t,1}$(ACN中):1.98;MS ES+m/z:349.89。

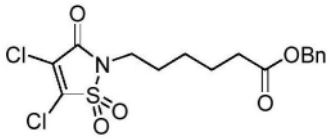
[0716] I.7.6-(4,5-二氯-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯

[0717] 

[0718] 将6,6'-((3,3'-二硫烷二基双(丙酰基))双(氮杂二基))二己酸二苄酯(3.21g,0.0052mol,1eq.)溶解于无水DCM(26mL)中。将SO_2Cl_2(97%纯,3.80mL,0.047mol,9eq.)滴加入溶液中,并将混合物在室温下,惰性气氛下搅拌24小时。溶液澄清并变为浅黄色。随后,将混合物用水(2×100mL)和盐水(1×100mL)洗涤。合并的水层用DCM(2×100mL)萃取。有机层经$MgSO_4$干燥并过滤,然后在减压下浓缩并使用柱色谱法纯化。获得浅黄色油状的6-(4,5-二氯-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯(1.391g,35.7%)。^{1}H NMR($CDCl_3$),δ7.35(m,5H),

5.11(s,2H),3.79(t,J＝7.18Hz,2H),2.37(t,J＝7.33Hz,2H),1.70(m,4H),1.38(m,2H);^{13}C NMR(500MHz,$CDCl_3$),δ173.2(-O-C＝O),161.9(-N-C＝O),138(-CH_2-O-),.3(Cl-C-S-),135.6(芳香环$C_{quat.}$),128.6-128.3(5H-$C_{芳香}$),115.1(Cl-C-C＝O),66.2,44.9(-CH_2-N-),33.9(-CH_2-C＝O),29.1,25.9,24.3;$R_{t,1}$(ACN中):2.50;MS ES+m/z:373.75。

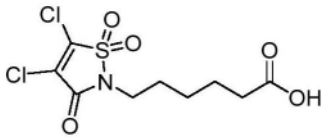
[0719] I.8.6-(4,5-二氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯

[0720] 

[0721] 二氯化物化合物氧化的标准步骤:

[0722] 向6-(4,5-二氯-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯(1.94g,0.0052mol,1eq.)在水:DCM:ACN(2:1:1,1mL)中的搅拌的溶液中,一次性加入一水合三氯化钌(16mg,0.07mmol,0.013eq.)。然后在5分钟内加入高碘酸钠(3.33g,0.0156mol,3eq.),并将所得混合物在室温,惰性气氛下搅拌90分钟。过滤固体,并将滤液用水(50mL)稀释,用EtOAc(2×100mL)萃取,用$MgSO_4$干燥,过滤,并在减压下浓缩。然后使用柱色谱法纯化获得的灰色固体,获得浅黄色油状的6-(4,5-二氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯(0.930g,44.2%)。^{1}H NMR($CDCl_3$),δ7.36(m,5H),5.12(s,2H),3.72(t,J＝7.53Hz,2H),2.73(t,J＝7.50Hz,2H),1.80(t of t,J＝7,53Hz,2H),1.70(t of t,J＝7.70Hz),1.41(m,2H);^{13}C NMR(500MHz,$CDCl_3$),δ173.1(-O-C＝O-),154.1(N-C＝O),138.0(Cl-C-SO_2-),136.0(芳香环$C_{quat.}$),130.7 1(Cl-C-C＝O),128.6-128.3(5H-$C_{芳香}$),66.2(-CH_2-O-),41.1(-CH_2-N-),33.9(-CH_2-C＝O),27.9,26.0,24.2;$R_{t,1}$(ACN中):2.59;MS ES+m/z:405.76。

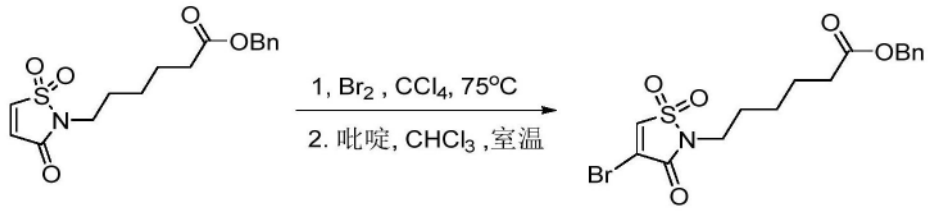
[0723] 实施例2.6-(4,5-二氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸

[0724] 

[0725] 苄酯脱保护的标准步骤:

[0726] 将6-(4,5-二氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯(0.930g,2.23mmol,1eq.)稀释于无水DCM(11.5mL)中。加入甲磺酸(1.5mL,0.023mol,10eq.)。将溶液在室温,惰性气氛下搅拌24小时。然后将溶液用DCM稀释,并用水(50mL)处理。用水(2×100mL)、再用盐水(1×100mL)萃取有机层。合并的水层用DCM(2×100mL)萃取。有机层经$MgSO_4$干燥并减压浓缩,然后使用柱色谱法纯化。获得浅白色粉末状的6-(4,5-二氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸(0.563g,78%)。^{1}H NMR(500MHz,$CDCl_3$),δ＝3.76(t,J＝7.34Hz,2H),2.38(t,J＝7.32Hz,2H),1.83(t of t,J＝7.65Hz,2H),1.70(t of t,J＝7.77Hz,2H),1.45(t of t,J＝7.54Hz,J＝3.31Hz,2H);^{13}C NMR(500MHz,$CDCl_3$),δ178.2(O＝C-OH),154.2(N-C＝O),138.1(Cl-C-SO_2-),130.9(Cl-C-C＝O),41.1(-CH_2-N-),33.4(-CH_2-C＝O),27.9,25.9,23.9;$R_{t,1}$(ACN中):2.09;MS ES+m/z:315.76。

[0727] I.9.6-(4-溴-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯

[0728] 

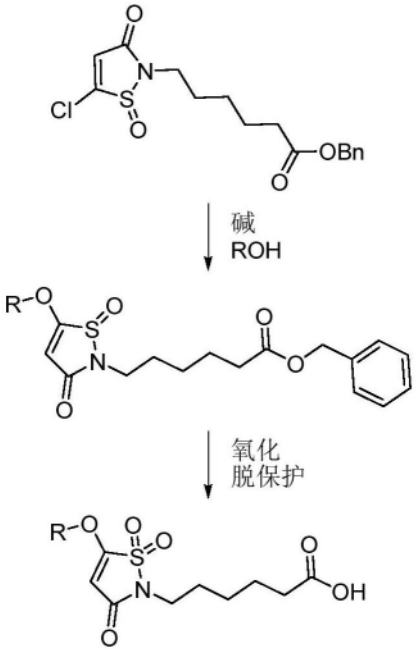
[0729] 在环境温度,搅拌下,在30分钟内,向6-(1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯(由6-(3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯起始,按照一氯化物化合物的氧化的标准步骤获得)(3g,8.89mmol,1.00当量)在CCl_4(40mL)中的溶液中滴加Br_2(1.2mL,19.58mmol,2.2当量),并在75℃搅拌过夜。将反应混合物在真空下浓缩,并用$CHCl_3$(40mL)稀释,然后加入吡啶(0.9g)。将所得溶液在环境温度搅拌30分钟,然后通过添加50mL饱和$NaHCO_3$溶液淬灭。将所得混合物用饱和碳酸钠(2×50mL)和50mL盐水洗涤。真空浓缩得到的混合物,残余物通过硅胶柱,用乙酸乙酯/石油醚(1:5)纯化,获得0.4g(10.8%)浅黄色油状的6-(4-溴-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯。LC-MS(ES,m/z):416[M+H]$^+$,433[M+NH_4]$^+$;^{1}H-NMR(400Mhz,氯仿-d)δ7.42-7.28(m,2H),5.12(s,1H),3.69(t,J=7.4Hz,1H),2.38(t,J=7.4Hz,1H),1.86-1.64(m,2H),1.47-1.34(m,1H)。

[0730] 实施例3.6-(4-溴-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸

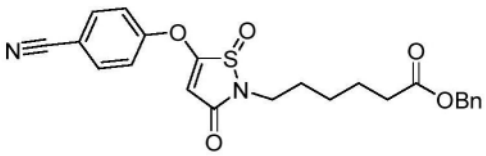
[0731] 

[0732] 在0℃,搅拌下,向6-(4-溴-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯(1g,2.40mmol,1.00当量)在二氧六环(10mL)中的溶液中滴加入4N HCl(10mL)。将所得溶液在室温搅拌2天。将所得混合物在真空下浓缩,并用二氯甲烷(3×50mL)萃取。合并的有机层用盐水(2×100mL)洗涤,用无水硫酸钠干燥,并在真空下浓缩。残余物通过DCM/MeOH(10:1)的硅胶柱纯化,得到100mg(13%)白色固体状的6-(4-溴-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸。LC-MS(ES,m/z):308[M+NH_4]$^+$,326/328[M+H]$^+$;^{1}H-NMR(300MHz,氯仿-d)δ7.58(s,1H),3.75(t,J=7.4Hz,2H),2.41(t,J=7.4Hz,2H),1.78(dq,J=34.6,7.4Hz,4H),1.47(t,J=7.7Hz,2H)。

[0733] X_1=OR的连接子合成的合成路径实施例:

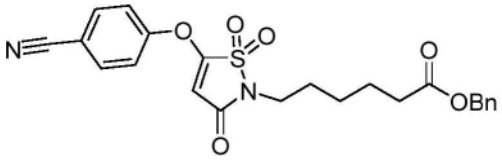
[0734] 

[0735] I.10.6-(5-(4-氰基苯氧基)-1-氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯

[0736] 

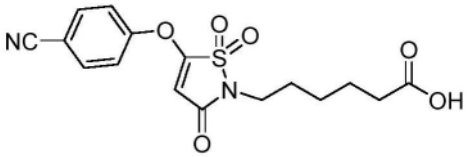
[0737] 在0℃,将4-羟基苯甲腈(76mg,0.639mmol)在THF(2mL)中的溶液加入到NaH(0.639mmol)在THF(2mL)中的混合物中。搅拌30分钟后,加入在THF(2mL)中的6-(5-氯-1-氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯(250mg,0.703mmol)。然后将反应混合物在室温搅拌18小时。将反应混合物用AcOEt稀释,并加入NH_4Cl(10%水溶液)。然后将有机相用盐水洗涤,并用$MgSO_4$干燥,过滤并浓缩。使用DCM/MeOH混合物(80/20)经硅胶柱纯化粗产物,得到无色油状的6-(5-(4-氰基苯氧基)-1-氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯(210mg,产率75%)。LC-MS(ES,m/z):439.0[M+H]+;^{1}H-NMR(300MHz,氯仿-d)δ7.79(m,2H),7.35(m,7H),5.59(s,1H),5.12(s,2H),3.69(m,2H),2.37(m,2H),1.71(m,4H),1.39(m,2H)。

[0738] I.11.6-(5-(4-氰基苯氧基)-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯

[0739] 

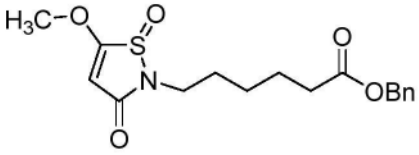
[0740] 按照一氯化物化合物的氧化的标准步骤,由6-(5-(4-氰基苯氧基)-1-氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯起始,以无色油状获得(136mg,产率48%)。LC-MS(ES,m/z):455.0[M+H]+;^{1}H-NMR(300Mhz,氯仿-d)δ7.82(m,2H),7.40(m,2H),7.35(m,5H),5.63(s,1H),5.12(s,2H),3.65(m,2H),2.38(m,2H),1.79(m,2H),1.70(m,2H),1.41(m,2H)。

[0741] 实施例4.6-(5-(4-氰基苯氧基)-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸

[0742] 

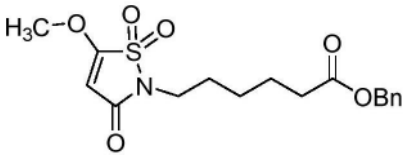
[0743] 按照苄酯脱保护的标准步骤,由6-(5-(4-氰基苯氧基)-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯起始,以白色固体获得(38mg,产率35%)。LC-MS(ES,m/z):365.0[M+H]+;^{1}H-MR(300MHz,氯仿-d)7.82(m,2H),7.41(m,2H),5.65(s,1H),3.67(m,2H),2.38(m,2H),1.80(m,2H),1.69(m,2H),1.44(m,2H)。

[0744] I.12.6-(5-甲氧基-1-氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯

[0745] 

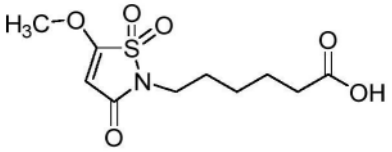
[0746] 将6-(5-氯-1-氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯(270mg,0,759mmol)在甲醇(5mL)和三乙胺(113μL,0.835mmol)中的混合物在室温搅拌18小时。然后在真空下除去挥发物,并使用环己烷/AcOEt(1/1)经硅胶柱纯化残余物,得到黄色油状的6-(5-甲氧基-1-氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯(107mg,40%)。LC-MS(ES,m/z):352.0[M+H]+;^{1}H-NMR(300MHz,氯仿-d)δ7.36(m,5H),5.57(s,1H),5.11(s,2H),4.04(s,3H),3.60(m,2H),2.37(m,2H),1.75(m,2H),1.69(m,2H),1.39(m,2H)。

[0747] I.13.6-(5-甲氧基-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯

[0748] 

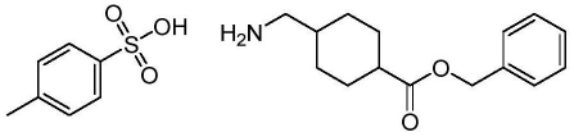
[0749] 按照一氯化物化合物的氧化的标准步骤,由6-(5-甲氧基-1-氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯起始,以白色固体获得(62mg,产率36%)。LC-MS(ES,m/z):368.0[M+H]+;^{1}H-NMR(300MHz,氯仿-d)δ7.36(m,5H),5.57(s,1H),5.11(s,2H),4.04(s,3H),3.60(m,2H),2.37(m,2H),1.75(m,2H),1.69(m,2H),1.39(m,2H)。

[0750] 实施例5.6-(5-甲氧基-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸

[0751] 

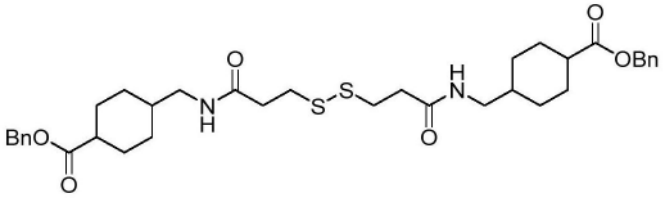
[0752] 按照苄酯脱保护的标准步骤,由6-(5-甲氧基-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯起始,以白色固体获得(37mg,产率67%)。HRMS(ES,m/z):[M+H]实测值278.0691,计算值278.0698;^{1}H-NMR(300MHz,氯仿-d)δ5.60(s,1H),4.05(s,3H),3.62(m,2H),2.36(m,2H),1.77(m,2H),1.68(m,2H),1.42(m,2H)。

[0753] I.14.4-(氨基甲基)环己烷-1-甲酸苄酯4-甲苯磺酸盐

[0754] 

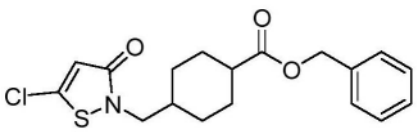
[0755] 于140℃,将4-(氨基甲基)环己烷甲酸(10g,63.61mmol,1eq)、苯甲醇(55.03g,508.87mmol,52.91mL,8eq)和TsOH.H_2O(12.70g,66.79mmol,1.05eq)在甲苯(50mL)中的混合物搅拌16小时,使用迪安-斯达克(Dean and Stark)装置收集缩合的水和甲苯磺酸一水合物中的水。回流数小时后,反应变为澄清。将澄清的反应混合物倒入TBME(500mL)中,并将所得白色固体滤出,用TBME(200mL)洗涤并真空干燥。获得白色固体状的4-(氨基甲基)环己基甲酸苄酯4-甲苯磺酸盐(26.6g,63.40mmol,产率99.68%);^{1}H NMR(400MHz,甲醇-d4)δppm 7.71(d,J=8.16Hz,2H)7.28-7.40(m,5H)7.23(d,J=7.94Hz,2H)5.11(s,2H)2.77(d,J=7.06Hz,2H)2.29-2.39(m,4H)1.99-2.08(m,2H)1.85(br d,J=11.25Hz,2H)1.53-1.65(m,1H)1.43(qd,J=12.97,3.20Hz,2H)1.06(qd,J=12.75,3.20Hz,2H)。

[0756] I.15.4,4'-(((3,3'-二硫烷二基双(丙酰基))双(氮杂二基))双(亚甲基))双(环己烷-1-羧酸二苄酯)

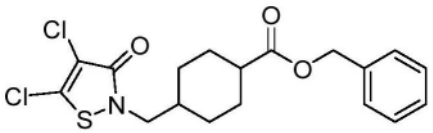
[0757] 

[0758] 在0℃,向3-(2-羧乙基二硫基)丙酸(6.64g,31.58mmol,1eq)、HOBt(9.39g,69.48mmol,2.2eq)和TEA(12.78g,126.33mmol,17.58mL,4eq)在DCM(300mL)中的溶液中加入EDCI(13.32g,69.48mmol,2.2eq)。然后在该温度加入4-(氨基甲基)环己烷甲酸苄酯4-甲苯磺酸(26.5g,63.17mmol,2eq)。将混合物在0-20℃搅拌4小时。TLC(石油醚:乙酸乙酯=2:1,Rf=0.5)表明反应已完成。将混合物倒入饱和$NaHCO_3$溶液(100mL)和H_2O(100mL)中并分离有机层。用DCM(200mL)萃取水层。合并的有机层用H_2O(100mL)、盐水(100mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并真空浓缩。将残余物溶解于DCM(50mL)中,非常缓慢地添加石油醚,直到形成白色沉淀。过滤并用石油醚洗涤,真空干燥。获得白色固体状的4-[[3-[[3-[(4-苄氧基羰基环己基)甲基氨基]-3-氧代丙基]二硫基]丙酰基氨基]甲基]环己烷甲酸苄酯(19g,28.40mmol,产率89.94%);^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δppm 7.27-7.41(m,10H)6.05(br s,2H)5.11(d,J=1.54Hz,4H)3.10-3.17(m,4H)2.96-3.02(m,4H)2.54-2.63(m,4H)2.30(td,J=12.24,1.76Hz,2H)2.04(br d,J=12.57Hz,4H)1.85(br d,J=12.79Hz,4H)1.38-1.54(m,6H)0.99(q,J=12.72Hz,4H)。

[0759] I.16.4-((5-氯-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)甲基)环己烷-1-甲酸苄酯

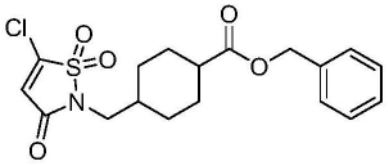
[0760] 

[0761] I.17.4-((4,5-二氯-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)甲基)环己烷-1-甲酸苄酯

[0762] 

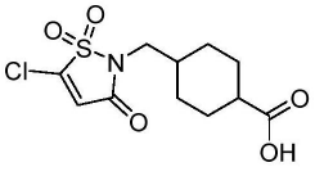
[0763] 于0℃,向4-[[3-[[3-[(4-苄氧基羰基环己基)甲基氨基]-3-氧代丙基]二硫基]丙酰基氨基]甲基]环己烷甲酸苄酯(10g,14.95mmol,1eq)在DCM(100mL)中的溶液中滴加入硫酰氯(10.09g,74.75mmol,7.47mL,5eq)。混合物在0-20℃搅拌12小时。加入硫酰氯后获得澄清的溶液。TLC(石油醚:乙酸乙酯=2:1,Rf(主要)=0.5)表明反应已完成。将混合物倒入H_2O(30mL)中,用DCM(50mL×2)萃取。合并的有机层用H_2O(50mL)、盐水(50mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并真空浓缩。经硅胶柱纯化获得褐色固体状的4-[(3-氧代异噻唑-2-基)甲基]环己烷甲酸苄酯(2.1g,3.42mmol,产率11.44%,纯度54%),获得灰白色固体状的4-[(5-氯-3-氧代异噻唑-2-基)甲基]环己烷甲酸苄酯(7.1g,18.82mmol,产率62.96%,纯度97%)和褐色油状的4-[(4,5-二氯-3-氧代异噻唑-2-基)甲基]环己烷甲酸苄酯(0.4g,869.31μmol,产率2.91%,纯度87%)。

[0764] I.18.4-((5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)甲基)环己烷-1-甲酸苄酯

[0765] 

[0766] 于0℃,在N_2下,向4-[(5-氯-3-氧代异噻唑-2-基)甲基]环己烷甲酸苄酯(2g,5.01mmol,1eq)在H_2O(20mL)、ACN(10mL)和DCM(10mL)中的混合物中一次性加入$RuCl_3.H_2O$(22.58mg,100.14μmol,0.02eq)和$NaIO_4$(6.43g,30.04mmol,1.66mL,6eq)。然后将混合物加热至20℃并搅拌16小时。TLC显示反应完成(石油醚:乙酸乙酯=2:1,Rf-p1=0.6)。将混合物过滤,将滤液通过氮气流浓缩,并将再次出现的固体过滤,将滤液通过氮气浓缩。残余物通过制备TLC纯化(柱高:250mm,直径:100mm,100-200目硅胶,石油醚:乙酸乙酯=2:1),获得白色固体状的4-[(5-氯-1,1,3-三氧代异噻唑-2-基)甲基]环己烷甲酸苄酯(1.4g,3.17mmol,产率63.25%,纯度90%)。

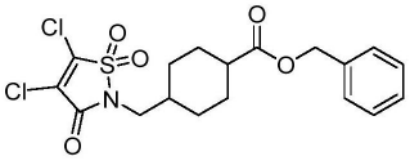
[0767] 实施例6.4-((5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)甲基)环己烷-1-甲酸

[0768] 

[0769] 于30℃,在N_2下,向4-[(5-氯-1,1,3-三氧代异噻唑-2-基)甲基]环己烷甲酸苄酯(0.1g,226.20μmol,1eq)在DCM(5mL)中的混合物中一次性加入MsOH(217.39mg,2.26mmol,161.03μL,10eq)。将混合物在30℃搅拌16小时。TLC显示反应已完成。LCMS(ET17992-54-P1A)显示检测到所期望的MS。将混合物倒入冰水(5mL)中并搅拌5分钟。用DCM(3mL×2)萃取水相。合并的有机相用盐水(3mL)洗涤,用无水Na_2SO_4干燥,过滤并真空浓缩。残余物通过制备TLC纯化(柱高:250mm,直径:100Mm,100-200目硅胶,石油醚:乙酸乙酯=2:1),得到无色油状的4-[(5-氯-1,1,3-三氧代异噻唑-2-基)甲基]环己烷甲酸(0.02g,64.99μmol,产率28.73%);LC-MS(ES,m/z):306.0$[M-H]^-$;^{1}H-NMR(300MHz,DMSO-D6)δ12.01(bs,1H),7.62(s,

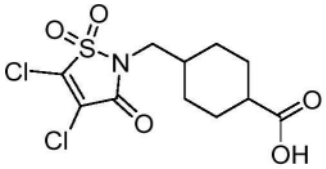
1H),3.45(m,2H),2.11(m,1H),1.90(m,2H),1.76(m,2H),1.73(m,1H),1.23(m,2H),0.96(m,2H)。

[0770] I.19.4-((4,5-二氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)甲基)环己烷-1-甲酸苄酯

[0771] 

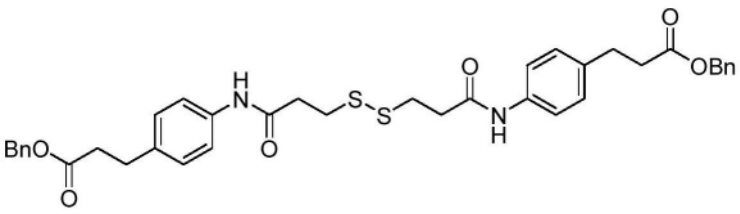
[0772] 于0℃,在N_2下,向4-[(4,5-二氯-3-氧代异噻唑-2-基)甲基]环己烷甲酸苄酯(1.2g,2.70mmol,1eq)在H_2O(20mL)、DCM(10mL)和ACN(10mL)中的混合物中一次性加入$RuCl_3.H_2O$(12.16mg,53.96μmol,0.02eq)和$NaIO_4$(3.46g,16.19mmol,896.96μL,6eq)。将混合物在20℃搅拌2小时。TLC显示反应完成(石油醚:乙酸乙酯=2:1,Rf-p1=0.7)。将混合物倒入冰水(30mL)中并搅拌5分钟。用乙酸乙酯(20mL×2)萃取水相。合并的有机相用盐水(20mL)洗涤,用无水Na_2SO_4干燥,过滤并真空浓缩。残余物通过硅胶色谱法纯化(柱高:250mm,直径:100mm,100-200目硅胶,石油醚:乙酸乙酯=5:1至3:1)获得白色固体状的4-[(4,5-二氯-1,1,3-三氧代异噻唑-2-基)甲基]环己烷甲酸苄酯(0.8g,1.67mmol,产率61.73%,纯度90%)。

[0773] 实施例7.4-((4,5-二氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)甲基)环己烷-1-甲酸

[0774] 

[0775] 于30℃,在N_2下,向4-[(4,5-二氯-1,1,3-三氧代异噻唑-2-基)甲基]环己烷甲酸苄酯(0.8g,1.67mmol,1eq)在DCM(20mL)中的混合物中一次性加入MsOH(1.60g,16.65mmol,1.19mL,10eq)。将混合物在30℃搅拌16小时。LCMS显示反应已完成。将混合物倒入冰水(5mL)中,并在减压下浓缩,然后出现固体。过滤溶液,并用EtOAc(2mL×3)研磨,并将滤饼真空干燥,获得白色固体状的4-[(4,5-二氯-1,1,3-三氧代异噻唑-2-基)甲基]环己烷甲酸(0.170g,486.86μmol,产率29.23%,纯度98%);LC-MS(ES,m/z):364.0$[M+Na]^+$;^{1}H-NMR(300MHz,DMSO-D6)δ11.99(bs,1H),3.49(m,2H),2.11(m,1H),1.88(m,2H),1.79(m,2H),1.66(m,1H),1.23(m,2H),0.96(m,2H)。

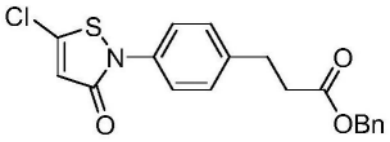
[0776] I.20.3,3'-(((3,3'-二硫烷二基双(丙酰基))双(氮杂二基))双(4,1-亚苯基))二丙酸二苄酯

[0777] 

[0778] 在0℃,向3-(2-羧乙基二硫基)丙酸(651.56mg,3.10mmol,1eq)、HOBt(921.15mg,6.82mmol,2.2eq)和TEA(1.25g,12.39mmol,1.73mL,4eq)在DCM(50mL)中的溶液中加入EDCI

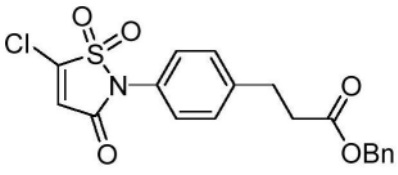
(1.31g,6.82mmol,2.2eq)。然后在该温度加入4-(氨基甲基)环己烷甲酸苄酯4-甲苯磺酸(2.6g,6.20mmol,2eq)。将混合物在0-20℃搅拌12小时。TLC(石油醚:乙酸乙酯=2:1,Rf=0.5)表明反应已完成。将混合物倒入饱和$NaHCO_3$溶液(20mL)和H_2O(20mL)中并分离有机层。用DCM(50mL)萃取水层。合并的有机层用H_2O(50mL)、盐水(50mL)洗涤,用Na_2SO_4干燥,过滤并真空浓缩。获得白色固体状的4-[[3-[[3-[(4-苄氧基羰基环己基)甲基氨基]-3-氧代丙基]二硫基]丙酰基氨基]甲基]环己烷甲酸苄酯(1.1g,1.64mmol,产率53.07%);^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δppm 7.28-7.41(m,10H)5.96(br s,2H)5.10(s,4H)3.13(t,J=6.39Hz,4H)2.98(t,J=6.84Hz,4H)2.57(t,J=6.95Hz,4H)2.23-2.34(m,2H)2.03(br d,J=12.79Hz,4H)1.84(br d,J=12.13Hz,4H)1.37-1.63(m,6H)0.91-1.05(m,4H)。

[0779] I.21.3-(4-(5-氯-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)苯基)丙酸苄酯

[0780] 

[0781] 于25℃,在N_2下,向3-[4-[3-[[3-[4-(3-苄氧基-3-氧代丙基)苯氨基]-3-氧代丙基]二硫基]丙酰氨基]苯基]丙酸苄酯(10g,14.60mmol,1eq)在DCM(200mL)的溶液中滴加硫酰氯(5.91g,43.80mmol,4.38mL,3eq)。将溶液在25℃搅拌8小时。加入硫酰氯后溶液的颜色从无色变为黑色,然后在1小时后变为黄色。TLC(石油醚:乙酸乙酯=2:1,Rf=0.60)显示原料已被消耗,并生成了两个新的主要点。将残余物倒入冰水(200mL)中,然后真空浓缩以除去DCM。浓缩后,将水相用乙酸乙酯(200mL×3)萃取,然后将合并的有机相用水(200mL×1)洗涤,用无水Na_2SO_4干燥,过滤并真空浓缩。残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=5:1至1:1)纯化,得到3-[4-(3-氧代异噻唑-2-基)苯基]丙酸苄酯(2.5g,7.37mmol,产率50.47%)^{1}H NMR(400MHz,甲醇-d4)δ=8.56(d,J=6.2Hz,1H),7.44-7.39(m,2H),7.37-7.26(m,7H),6.30(d,J=6.4Hz,1H),5.09(s,2H),2.98(t,J=7.4Hz,2H),2.78-2.66(m,2H);并且3-[4-(5-氯-3-氧代异噻唑-2-基)苯基]丙酸苄酯(5g,13.37mmol,产率91.60%)为黄色固体;^{1}H NMR(ET17992-22-P2A)证实了ET17992-22-P2。^{1}H NMR(400MHz,甲醇-d4)δ=7.42-7.36(m,2H),7.35-7.25(m,7H),6.49-6.45(m,1H),5.08(s,2H),2.99-2.91(m,2H),2.69(t,J=7.5Hz,2H)。

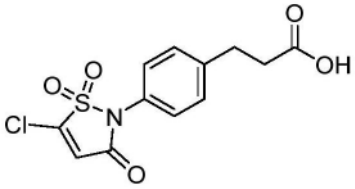
[0782] I.22.3-(4-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)苯基)丙酸苄酯

[0783] 

[0784] 在25℃,向3-[4-(5-氯-3-氧代异噻唑-2-基)苯基]丙酸苄酯(1.4g,3.74mmol,1eq)在H_2O(12mL)、DCM(6mL)和ACN(6mL)中的混合物中一次性加入$NaIO_4$(4.81g,22.47mmol,1.25mL,6eq),然后用N_2吹扫混合物三次。然后,在N_2下加入$RuCl_3.H_2O$(42.21mg,187.24μmol,0.05eq)。将混合物在25℃搅拌12小时。混合物变浑浊,颜色变为灰色。将残余物倒入乙酸乙酯(100mL)中,然后过滤。将滤液真空浓缩。残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=10:1至4:1)纯化,得到黄色固体状的3-[4-(5-氯-1,1,3-三氧代异噻唑-2-基)苯基]丙酸苄酯(460mg,1.08mmol,产率28.75%,纯度95%);^{1}H NMR(ET17992-63-P1A)证实了

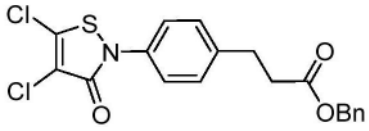
ET17992-63-P1。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ=7.41-7.30(m,7H),6.84(s,1H),5.13(s,2H),3.04(t,J=7.6Hz,2H),2.72(t,J=7.7Hz,2H)。

[0785] 实施例8.3-(4-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)苯基)丙酸

[0786] 

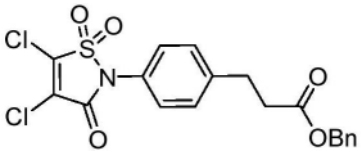
[0787] 在10℃,向3-[4-(5-氯-1,1,3-三氧代异噻唑-2-基)苯基]丙酸苄酯(460mg,1.13mmol,1eq)在DCM(15mL)中的溶液中滴加入甲磺酸(1.09g,11.33mmol,806.87μL,10eq)。然后,将溶液加热至35℃并搅拌12小时。残余物用水(15mL×3)洗涤,用无水Na_2SO_4干燥,过滤并真空浓缩。将残余物倒入水(20mL)中,然后过滤。将滤饼溶解于DCM(5mL)中,然后将石油醚(30mL)倒入残余物中,将溶液在10℃搅拌2分钟,然后过滤,将滤饼真空干燥,得到白色固体状的3-[4-(5-氯-1,1,3-三氧代异噻唑-2-基)苯基]丙酸(162mg,501.81μmol,产率44.27%,纯度97.8%);LC-MS(ES,m/z):313.9[M-H]$^-$;^{1}H-NMR(300MHz,DMSO-D6)δ12.18(bs,1H),7.81(s,1H),7.45(m,2H),7.37(m,2H),2.89(m,2H),2.58(m,2H)。

[0788] I.23.3-(4-(4,5-二氯-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)苯基)丙酸苄酯

[0789] 

[0790] 在0℃,N_2下,向4-[(3-氧代异噻唑-2-基)甲基]环己烷甲酸苄酯(1.2g,3.32mmol,1eq)在水(20mL)、ACN(10mL)和DCM(10mL)中的混合物中一次性加入$RuCl_3.H_2O$(14.95mg,66.33μmol,0.02eq)和$NaIO_4$(4.26g,19.90mmol,1.10mL,6eq)。然后将混合物加热至20℃并搅拌16小时。过滤混合物,并通过氮气流浓缩滤液,再次出现固体并过滤,通过氮气浓缩滤液。残余物通过制备TLC纯化(柱高:250mm,直径:100mm,100-200目硅胶,石油醚:乙酸乙酯=2:1)获得无色油状的4-[(1,1,3-三氧代异噻唑-2-基)甲基]环己烷甲酸苄酯(0.45g,1.11mmol,产率33.60%,纯度90%);^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ=7.53(dd,J=3.2,8.7Hz,2H),7.17(ddd,J=3.2,7.6,9.0Hz,2H),6.97-6.89(m,2H),5.56(br s,1H),4.12-4.06(m,4H),3.92(s,5H),3.55(q,J=5.1Hz,5H)。

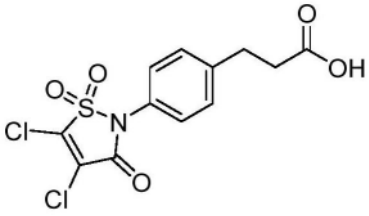
[0791] I.24.3-(4-(4,5-二氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)苯基)丙酸苄酯

[0792] 

[0793] 在0℃,N_2下,向3-[4-(4,5-二氯-3-氧代异噻唑-2-基)苯基]丙酸苄酯(650mg,1.59mmol,1eq)和$NaIO_4$(1.36g,6.37mmol,352.86μL,4eq)在H_2O(10mL)、DCM(5mL)、ACN(5mL)中的混合物中一次性加入$RuCl_3.H_2O$(7.18mg,31.84μmol,0.02eq)。将混合物在20℃搅拌2小时。将残余物用乙酸乙酯(30mL×2)萃取。合并的有机相用无水Na_2SO_4干燥,过滤并真空浓缩。残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=30:1至5:1)纯化,得到黄色固体状的3-[4-(4,5-二氯-1,1,3-三氧代异噻唑-2-基)苯基]丙酸苄酯(180mg,产率25.68%);^{1}H NMR

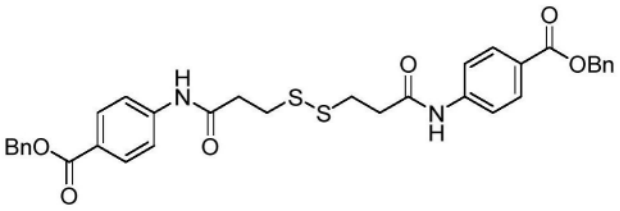
(400MHz,氯仿M-d)δ＝7.43-7.29(m,9H),5.13(s,2H),3.05(t,J＝7.6Hz,2H),2.73(t,J＝7.6Hz,2H)。

[0794] 实施例9.3-(4-(4,5-二氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)苯基)丙酸

[0795] 

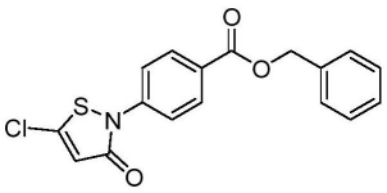
[0796] 在10℃,向3-[4-(4,5-二氯-1,1,3-三氧代异噻唑-2-基)苯基]丙酸苄酯(180mg,408.81μmol,1eq)在DCM(5mL)中的溶液中滴加入甲磺酸(392.89mg,4.09mmol,291.03μL,10eq)。将溶液在35℃搅拌12小时。将残余物倒入水(5mL)中,然后过滤。用水(10mL×3)洗涤滤饼,然后真空干燥。将残余物溶于二氯甲烷:甲醇(5.5mL,v/v＝10:1),然后通过制备TLC(乙酸乙酯,Rf＝0.26)纯化,得到白色固体状的3-[4-(4,5-二氯-1,1,3-三氧代异噻唑-2-基)苯基]丙酸(57.64mg,156.83μmol,产率38.36%,纯度95.278%);LC-MS(ES,m/z):347.9[M-H]-;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ＝12.22(br s,1H),7.51-7.40(m,4H),2.90(br t,J＝7.6Hz,2H),2.60(br t,J＝7.6Hz,2H)。

[0797] I.25.4,4'-((3,3'-二硫烷二基双(丙酰基))双(氮杂二基))二苯甲酸二苄酯

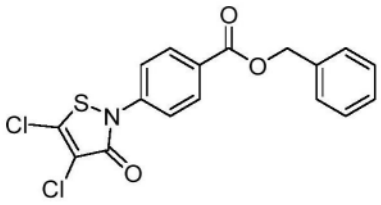
[0798] 

[0799] 在10℃,向3-(2-羧乙基二硫基)丙酸(6.01g,28.60mmol,1eq)和吡啶(14.93g,188.77mmol,15.24mL,6.6eq)在DMF(120mL)中的溶液中加入EDCI(12.06g,62.92mmol,2.2eq)和4-氨基苯甲酸苄酯(13g,57.20mmol,2eq)。然后,将混合物在50℃搅拌12小时。将残余物倒入冰水(200mL)中,并搅拌20分钟。用乙酸乙酯(200mL×3)萃取水相。合并的有机相用饱和NaCl(200mL×3)洗涤,用无水Na_2SO_4干燥,过滤并真空浓缩。然后,将残余物从石油醚:DCM＝50:1中重结晶,得到固体。将该固体用石油洗涤三次(150mL×3),然后真空干燥,得到白色固体状的4-[3-[[3-(4-苄氧基羰基苯氨基)-3-氧代丙基]二硫基]丙酰基氨基]苯甲酸苄酯(14g,粗品);^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ＝10.37(s,2H),8.02-7.83(m,4H),7.72(d,J＝8.8Hz,4H),7.48-7.32(m,10H),5.31(s,4H),3.05-2.98(m,4H),2.81-2.75(m,4H)。

[0800] I.26.4-(5-氯-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)苯甲酸苄酯

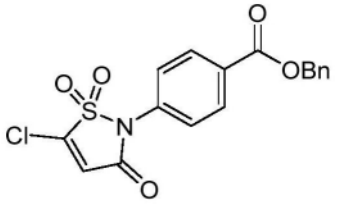
[0801] 

[0802] I.27.4-(4,5-二氯-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)苯甲酸苄酯

[0803] 

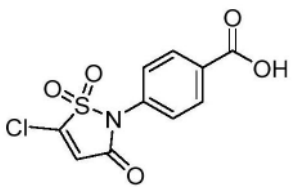
[0804] 在0℃,向4-[3-[[3-(4-苄氧基羰基苯氨基)-3-氧代丙基]二硫基]丙酰基氨基]苯甲酸苄酯(9.4g,14.95mmol,1eq)在DCM(120mL)中的溶液中滴加入磺酰氯(10.09g,74.75mmol,7.47mL,5eq)。将混合物在0-20℃搅拌12小时。搅拌几分钟后,混合物变为澄清。TLC(石油醚:乙酸乙酯=2:1)表明反应已完成。将混合物倒入H_2O(200mL)中,用DCM(200mL×2)萃取。合并的有机层用H_2O(200mL×2)洗涤,用Na_2SO_4干燥,过滤并真空浓缩。残余物通过硅胶柱色谱法纯化(石油醚:乙酸乙酯=5:1至1:1),得到灰白色固体状的4-(3-氧代异噻唑-2-基)苯甲酸苄酯(1.2g,3.43mmol,产率11.47%,纯度89%);^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δppm 8.09-8.27(m,3H)7.63-7.82(m,2H)7.32-7.52(m,5H)6.34(br d,J=6.36Hz,1H)5.39(s,2H);得到灰白色固体状的4-(5-氯-3-氧代异噻唑-2-基)苯甲酸苄酯(3.5g,10.01mmol,产率33.49%,纯度98.92%);^{1}H NMR(400Mhz,氯仿-d)δppm 8.15(d,J=8.60Hz,2H)7.69(d,J=8.82Hz,2H)7.33-7.49(m,4H)6.38(s,1H)5.38(s,2H),并且得到灰白色固体状的4-(4,5-二氯-3-氧代异噻唑-2-基)苯甲酸苄酯(2.8g,7.19mmol,产率24.06%,纯度97.68%);^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δppm 8.18(d,J=8.60Hz,2H)7.71(d,J=8.60Hz,2H)7.33-7.50(m,4H)5.39(s,2H)。

[0805] I.28.4-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)苯甲酸苄酯

[0806] 

[0807] 在0℃,N_2下,向4-(5-氯-3-氧代异噻唑-2-基)苯甲酸苄酯(1g,2.89mmol,1eq)在H_2O(10mL)、ACN(5mL)和DCM(5mL)中的混合物中一次性加入$RuCl_3.H_2O$(13.04mg,57.84μmol,0.02eq)和$NaIO_4$(2.47g,11.57mmol,640.97μL,4eq)。然后将混合物加热至20℃并搅拌2小时。过滤残余物,并将滤液倒入水(40mL)中。用乙酸乙酯(50mL×1)萃取水相。有机相用饱和NaCl(30mL×3)洗涤,用无水Na_2SO_4干燥,过滤并真空浓缩。残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=15:1至5:1)纯化,得到黄色油状的4-(5-氯-1,1,3-三氧代异噻唑-2-基)苯甲酸苄酯(500mg,1.32mmol,产率45.77%);^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ=8.27-8.21(m,2H),7.61-7.55(m,2H),7.49-7.34(m,5H),6.87(s,1H),5.40(s,2H)。

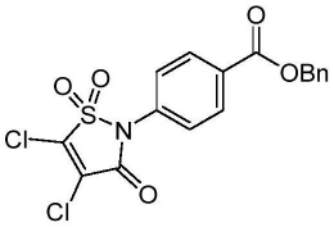
[0808] 实施例10.4-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)苯甲酸

[0809] 

[0810] 在10℃,向4-(5-氯-1,1,3-三氧代异噻唑-2-基)苯甲酸苄酯(450mg,1.19mmol,1eq)在DCM(20mL)中的溶液中滴加入甲磺酸(1.14g,11.91mmol,847.94μL,10eq)。将溶液在

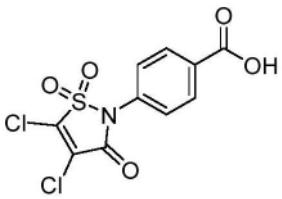
35℃搅拌10小时。将残余物真空浓缩以除去DCM。然后,将残余物溶于乙酸乙酯(10mL)中,然后将有机相用水(20mL×5)洗涤,用无水Na_2SO_4干燥,过滤并真空浓缩。将残余物溶于甲醇(3mL)中,然后将石油醚(30mL)倒入残余物中,将溶液在10℃搅拌2分钟,然后过滤,将滤饼真空干燥,得到白色固体状的4-(5-氯-1,1,3-三氧代异噻唑-2-基)苯甲酸(112.56mg,379.48μmol,产率31.86%,纯度96.986%);LC-MS(ES,m/z):285.9[M-H]-;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=13.33(br s,1H),8.17-8.11(m,2H),7.87(d,J=1.5Hz,1H),7.67-7.61(m,2H)。

[0811] I.29.4-(4,5-二氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)苯甲酸苄酯

[0812] 

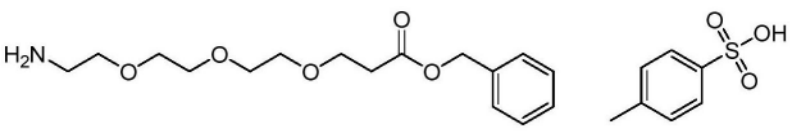
[0813] 在0℃,N_2下,向4-(4,5-二氯-3-氧代异噻唑-2-基)苯甲酸苄酯(1g,2.63mmol,1eq)在H_2O(10mL)、ACN(5mL)和DCM(5mL)中的混合物中一次性加入$RuCl_3.H_2O$(11.86mg,52.60μmol,0.02eq)和$NaIO_4$(2.25g,10.52mmol,582.91μL,4eq)。然后将混合物加热至20℃并搅拌2小时。过滤残余物,并将滤液真空浓缩。残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=20:1至5:1)纯化,得到白色固体状的4-(4,5-二氯-1,1,3-三氧代异噻唑-2-基)苯甲酸苄酯(130mg,315.35μmol,产率11.99%);^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ=8.25(d,J=8.6Hz,2H),7.58(d,J=8.8Hz,2H),7.49-7.34(m,5H),5.41(s,2H)。

[0814] 实施例11.4-(4,5-二氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)苯甲酸

[0815] 

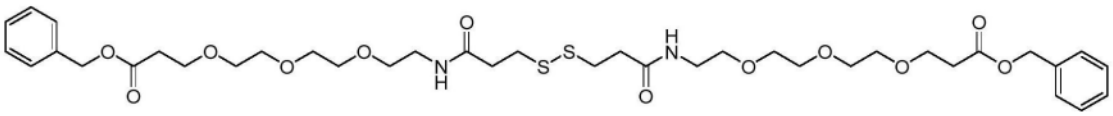
[0816] 在10℃,向4-(4,5-二氯-1,1,3-三氧代异噻唑-2-基)苯甲酸苄酯(130mg,315.35μmol,1eq)在DCM(5mL)中的溶液中滴加甲磺酸(303.07mg,3.15mmol,224.49μL,10eq)。将溶液在10℃搅拌5分钟,然后将溶液加热到35℃并搅拌10小时。溶液的颜色从无色变为黄色。将反应溶液倒入水(20mL)中,然后过滤。分别用水(10mL×3)和DCM(10mL×3)洗涤滤饼三次。然后将滤饼在真空中干燥。将残余物用DCM(10mL)分散,然后将石油醚(30mL)倒入残余物中,将混合物在10℃搅拌2分钟,然后过滤,将滤饼真空干燥,得到白色固体状的4-(4,5-二氯-1,1,3-三氧代异噻唑-2-基)苯甲酸(93.4mg,282.97μmol,产率89.73%,纯度97.590%);LC-MS(ES,m/z):319.9[M-H]-;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=8.16(d,J=8.4Hz,2H),7.68(d,J=8.4Hz,2H)。

[0817] I.30.3-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸苄酯4-甲苯磺酸盐

[0818] 

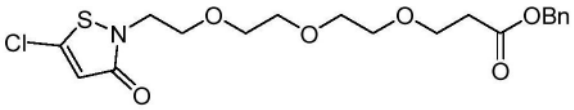
[0819] 在140℃,将3-[2-[2-(2-氨基乙氧基)乙氧基]乙氧基]丙酸(4g,18.08mmol,1eq)、苯基甲醇(15.64g,144.63mmol,15.04mL,8eq)和TsOH.H_2O(3.61g,18.98mmol,1.05eq)在甲苯(30mL)中的混合物搅拌8小时,使用迪安-斯达克装置收集缩合的水。回流数小时后,反应变为澄清。TLC(二氯甲烷:甲醇=10:1,Rf=0.3)表明反应已完成。将澄清的反应混合物倒入TBME:石油醚(1:1,50mL)中,并除去澄清溶液。将残余物用TBME:石油醚(1:1,50mL)洗涤2次,并在真空中干燥。得到黄色油状的粗产物3-[2-[2-(2-氨基乙氧基)乙氧基]乙氧基]丙酸苄基酯4-甲苯磺酸(8.9g,粗品);^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δppm 7.76(br d,J=8.07Hz,2H)7.33-7.38(m,5H)7.15(d,J=7.95Hz,2H)5.11(s,2H)3.72(q,J=6.11Hz,4H)3.53-3.64(m,8H)3.11-3.24(m,2H)2.53-2.69(m,2H)2.30-2.41(m,1H)2.34(s,3H)。

[0820] I.31.3-[2-[2-[2-[3-[[3-[2-[2-[2-(3-苄氧基-3-氧代-丙氧基)乙氧基]乙氧基]乙基氨基]-3-氧代丙基]二硫基]丙酰基氨基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸苄酯



[0821] 在20℃,向3-(2-羧乙基二硫基)丙酸(1.90g,9.04mmol,1eq)、HOBt(2.69g,19.88mmol,2.2eq)和TEA(4.57g,45.18mmol,6.29mL,5eq)在DCM(100mL)中的混合物中加入EDCI(3.81g,19.88mmol,2.2eq)。然后将3-[2-[2-(2-氨基乙氧基)乙氧基]乙氧基]丙酸苄酯4-甲苯磺酸(8.74g,18.07mmol,2eq)加入到上述溶液中。将混合物在20℃搅拌12小时。TLC(石油醚:乙酸乙酯=2:1,Rf=0.25)表明反应已完成。加入MeOH,并将溶液减压浓缩并真空干燥。将残余物倒入H_2O(20mL)中,用EtOAc(50mL)萃取。有机层经Na_2SO_4干燥,过滤并真空浓缩。粗产物通过制备TLC纯化(石油醚:乙酸乙酯=1:1,Rf=0.5),得到黄色油状的3-[2-[2-[2-[3-[[3-[2-[2-[2-(3-苄氧基-3-氧代-丙氧基)乙氧基]乙氧基]乙基氨基]-3-氧代-丙基]二硫基]丙酰基氨基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸苄酯(6.52g,7.94mmol,产率87.81%,纯度97%);^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δppm 7.29-7.42(m,10H)6.42(br s,2H)5.15(s,4H)3.79(t,J=6.42Hz,4H)3.53-3.69(m,18H)2.92-3.00(m,4H)2.62-2.71(m,4H)2.53-2.62(m,4H)。

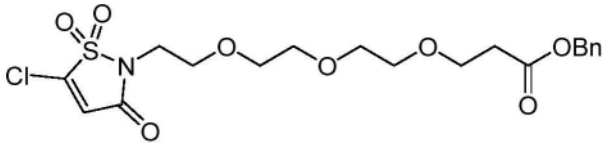
[0822] I.32.3-(2-(2-(2-(5-氯-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸苄酯

[0823] 

[0824] 在0℃,向3-[2-[2-[2-[3-[[3-[2-[2-[2-(3-苄氧基-3-氧代-丙氧基)乙氧基]乙氧基]乙氨基]-3-氧代丙基]二硫基]丙酰基氨基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸苄酯(6.4g,8.03mmol,1eq)在DCM(50mL)中的溶液中滴加入在DCM(10mL)中的硫酰氯(4.34g,32.12mmol,3.21mL,4eq)。将混合物在0-10℃搅拌12小时。TLC(石油醚:乙酸乙酯=0:1,Rf=0.15,0.35)表明反应已完成。将混合物倒入冰/水(100mL)中,用DCM(200mL×2)萃取。合并的有机层用H_2O(100mL×2)、盐水(100mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥。在真空中过滤浓缩。残余物通过硅胶柱色谱法纯化(石油醚:乙酸乙酯=1:1至0:1),得到褐色油状的3-[2-[2-[2-(3-氧代异噻唑-2-基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸苄酯(820mg,1.66mmol,产率10.33%,纯度80%);^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δppm 8.06(d,J=6.17Hz,1H)7.30-7.41(m,5H)6.24(d,J=

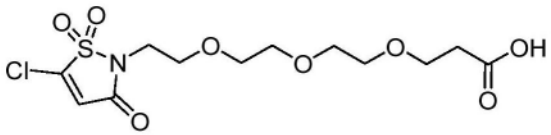
6.39Hz,1H)5.15(s,2H)3.95-4.03(m,2H)3.79(t,J＝6.39Hz,2H)3.68-3.75(m,2H)3.59-3.68(m,8H)2.63-2.70(m,2H)和无色油状的3-[2-[2-[2-(5-氯-3-氧代异噻唑-2-基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸苄酯(2.5g,4.30mmol,产率26.79%,纯度74%);^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δppm 7.28-7.43(m,5H)6.25(s,1H)5.15(s,2H)3.92-3.98(m,2H)3.77-3.81(m,2H)3.59-3.71(m,10H)2.66(t,J＝6.39Hz,2H)。

[0825] I.33.3-(2-(2-(2-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸苄酯

[0826] 

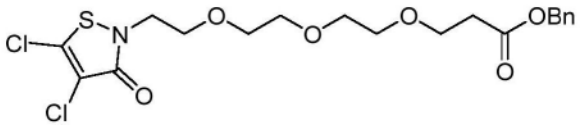
[0827] 在20℃,N_2下,向3-[2-[2-[2-(5-氯-3-氧代异噻唑-2-基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸苄酯(1g,2.33mmol,1eq)和$NaIO_4$(1.99g,9.30mmol,515.57μL,4eq)在H_2O(20mL)、DCM(10mL)、ACN(10mL)中的混合物中一次性加入$RuCl_3.H_2O$(26.22mg,116.30μmol,0.05eq)。然后,将混合物在20℃搅拌1小时。将残余物用乙酸乙酯(20mL×2)萃取。合并的有机相用无水Na_2SO_4干燥,过滤并真空浓缩。残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯＝5:1至1:1)纯化,得到紫色油状的3-[2-[2-[2-(5-氯-1,1,3-三氧代-异噻唑-2-基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸苄酯(560mg,1.21mmol,产率52.12%,纯度100%);^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ＝7.42-7.29(m,5H),6.70(s,1H),5.15(s,2H),3.92-3.86(m,2H),3.77(td,J＝6.0,11.9Hz,4H),3.68-3.58(m,8H),2.67(t,J＝6.5Hz,2H)。

[0828] 实施例12.3-(2-(2-(2-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸

[0829] 

[0830] 在10℃,向3-[2-[2-[2-(5-氯-1,1,3-三氧代-异噻唑-2-基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸苄酯(560mg,1.21mmol,1eq)在DCM(30mL)中的溶液中滴加入甲磺酸(1.17g,12.12mmol,863.06μL,10eq)。将混合物加热至35℃并搅拌10小时。溶液的颜色变为黄色。残余物用水(30mL×3)洗涤,然后有机相用无水Na_2SO_4干燥,过滤并真空浓缩。残余物通过制备TLC纯化(乙酸乙酯:乙酸乙酯:甲醇:乙酸＝40:8:1,Rf＝0.77)得到无色油状的3-[2-[2-[2-(5-氯-1,1,3-三氧代-异噻唑-2-基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸(95.61mg,240.16μmol,产率19.81%,纯度93.389%);LC-MS(ES,m/z):372.1[M+H]$^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ＝12.13(br s,1H),7.64(s,1H),3.86-3.74(m,2H),3.61(td,J＝6.0,16.9Hz,4H),3.54-3.46(m,8H),2.43(t,J＝6.4Hz,2H)。

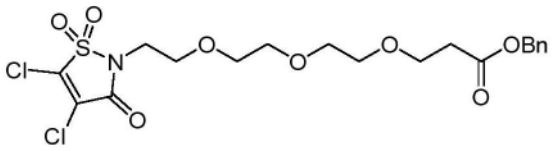
[0831] I.34.3-(2-(2-(2-(4,5-二氯-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸苄酯

[0832] 

[0833] 在0℃,向3-[2-[2-[2-(5-氯-3-氧代异噻唑-2-基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸

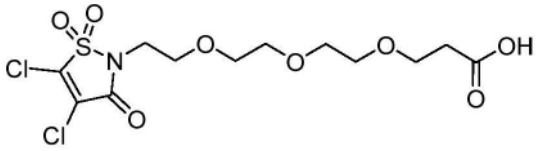
苄酯(1.6g,3.72mmol,1eq)在DCM(30mL)中的溶液中滴加入硫酰氯(1.00g,7.44mmol,744.17μL,2eq)。将混合物在0-10℃搅拌12小时。加入硫酰氯后得到澄清的浅黄色溶液。TLC(乙酸乙酯:石油醚=2:1,Rf=0.5)表明反应已完成。将混合物真空浓缩,得到粗产物。将残余物倒入H_2O(50mL)中,用DCM(50mL×2)萃取。合并的有机层用H_2O(50mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并真空浓缩。残余物通过硅胶柱色谱法纯化(乙酸乙酯:石油醚=1:2至2:1),得到无色油状的3-[2-[2-[2-(4,5-二氯-3-氧代异噻唑-2-基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸苄酯(1.06g,1.76mmol,产率47.17%,纯度76.9%);^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δppm 7.28-7.40(m,4H)5.13(s,2H)3.98-4.04(m,2H)3.77(t,J=6.39Hz,2H)3.67-3.72(m,2H)3.57-3.67(m,8H)2.65(t,J=6.39Hz,2H)。

[0834] I.35.3-(2-(2-(2-(4,5-二氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸苄酯

[0835] 

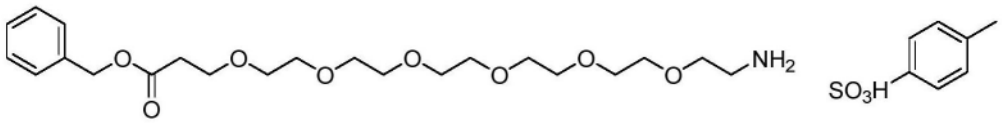
[0836] 在0℃,N_2下,向3-[2-[2-[2-(4,5-二氯-3-氧代异噻唑-2-基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸苄酯(1g,2.15mmol,1eq)和$NaIO_4$(1.84g,8.61mmol,477.32μL,4eq)在H_2O(20mL)、CH_3CN(10mL)和DCM(10mL)中的混合物中加入$RuCl_3.H_2O$(7.28mg,32.30μmol,0.015eq)。将混合物在0-10℃搅拌2小时。TLC表明反应已完成。将混合物用EtOAc(50mL)稀释,过滤以除去不溶固体。分离有机层并真空浓缩。残余物通过制备TLC纯化(石油醚:乙酸乙酯=1:1,Rf=0.6),得到无色油状的3-[2-[2-[2-(4,5-二氯-1,1,3-三氧代-异噻唑-2-基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸苄酯(830mg,1.61mmol,产率74.96%,纯度96.533%);^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δppm 7.28-7.41(m,5H)5.15(s,2H)3.91-3.97(m,2H)3.75-3.83(m,4H)3.59-3.68(m,8H)2.66(t,J=6.50Hz,2H)。

[0837] 实施例13.3-(2-(2-(2-(4,5-二氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸

[0838] 

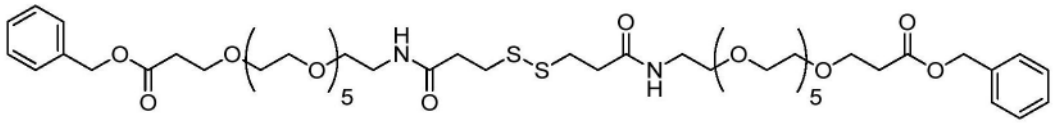
[0839] 在10℃,向3-[2-[2-[2-(4,5-二氯-1,1,3-三氧代-异噻唑-2-基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸苄酯(820.00mg,1.65mmol,1eq)在DCM(10mL)中的溶液中滴加入甲磺酸(1.59g,16.52mmol,1.18mL,10eq)。然后,将溶液在35℃加热并搅拌10小时。将残余物用DCM(20mL)稀释,然后将溶液用水(15mL×3)洗涤,将有机相用无水Na_2SO_4干燥,过滤并在真空中浓缩。残余物通过制备TLC纯化(乙酸乙酯:乙酸=250:1,Rf=0.55)至黄色油状的3-[2-[2-[2-(4,5-二氯-1,1,3-三氧代-异噻唑-2-基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸(249.4mg,602.76μmol,产率36.49%,纯度98.180%);LC-MS(ES,m/z):406.0[M+H]$^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=12.16(br s,1H),3.85(t,J=5.5Hz,2H),3.65(br t,J=5.4Hz,2H),3.61-3.45(m,10H),2.43(t,J=6.3Hz,2H)。

[0840] I.36.1-氨基-3,6,9,12,15,18-六氧杂二十一烷-21-酸苄酯4-甲苯磺酸盐

[0841] 

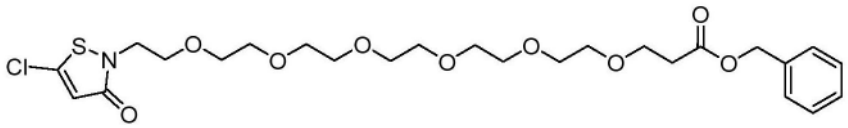
[0842] 在140℃,配有迪安-斯达克分离器下,将苯甲醇(2.45g,22.64mmol,2.35mL,8eq)、3-[2-[2-[2-[2-[2-(2-氨基乙氧基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸(1g,2.83mmol,1eq)和TsOH.H_2O(565.16mg,2.97mmol,1.05eq)在甲苯(30mL)中的混合物搅拌14小时。数小时后,混合物从混浊变为澄清。将残余物真空浓缩以除去甲苯,然后将TBME(50mL)倒入残余物中并搅拌1分钟。然后,除去上清液并干燥,得到黄色油状的3-[2-[2-[2-[2-[2-(2-氨基乙氧基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸苄酯4-甲苯磺酸(1.45g,粗品);^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ=7.80(d,J=8.1Hz,2H),7.67-7.46(m,2H),7.39-7.31(m,5H),7.15(d,J=7.8Hz,2H),5.13(s,2H),3.96-3.83(m,2H),3.75-3.50(m,22H),3.24-3.14(m,2H),2.63(t,J=6.2Hz,2H),2.34(s,3H)。

[0843] I.37.23,30-二氧代-4,7,10,13,16,19,34,37,40,43,46,49-十二氧杂-26,27-二硫杂-22,31-二氮杂五十二烷二酸二苄酯

[0844] 

[0845] 在25℃,向3-(2-羧乙基二硫基)丙酸(47.41mg,225.47μmol,1eq)和TEA(91.26mg,901.86μmol,125.53μL,4eq)、HOBt(91.40mg,676.40μmol,3eq)、EDCI(129.67mg,676.40μmol,3eq)在DCM(5mL)中的混合物中滴加3-[2-[2-[2-[2-[2-(2-氨基乙氧基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸苄酯4-甲苯磺酸(277.65mg,450.93μmol,2eq)。加入后,将混合物在25℃搅拌8小时。TLC(乙酸乙酯:甲醇=3:1,Rf=0.33)显示原料已消耗完毕,并生成了一个新的主要点。将残余物倒入饱和NaCl(10mL)中,搅拌2分钟。然后,将水相用DCM(5mL×3)萃取。合并的有机相用饱和NaCl(10mL×2)洗涤,用无水Na_2SO_4干燥,过滤并真空浓缩。残余物通过制备HPLC纯化(色谱柱:Waters Xbridge 150×25 5u;流动相:[水(10mM NH_4HCO_3)-ACN];B%:32%-62%,12分钟)得到无色油状的3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[3-[[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(3-苄氧基-3-氧代-丙氧基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氨基]-3-氧代丙基]二硫基]丙酰基氨基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸苄酯(70mg,65.96μmol,产率29.25%);^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ=7.41-7.29(m,10H),6.50(br s,2H),5.14(s,4H),3.78(t,J=6.5Hz,4H),3.67-3.61(m,40H),3.59-3.55(m,4H),3.45(q,J=5.1Hz,4H),2.97(t,J=7.2Hz,4H),2.66(t,J=6.5Hz,4H),2.60(t,J=7.1Hz,4H)。

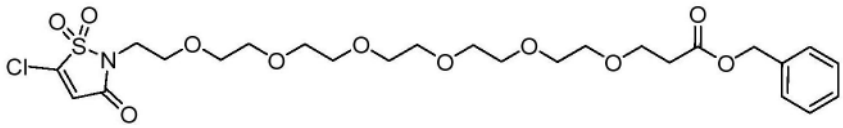
[0846] I.38.1-(5-氯-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)-3,6,9,12,15,18-六氧杂二十一烷-21-酸苄酯

[0847] 

[0848] 在0℃,向3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[3-[[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(3-苄氧基-3-氧代-丙氧基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氨基]-3-氧代丙基]二硫基]丙酰基

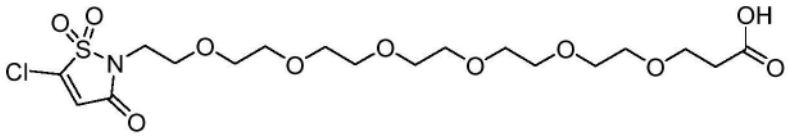
氨基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸苄酯(5.5g,5.18mmol,1eq)在DCM(60mL)中的溶液中滴加入磺酰氯(3.50g,25.91mmol,2.59mL,5eq)。将混合物在0-20℃搅拌12小时。TLC(乙酸乙酯:甲醇=10:1,Rf=0.3,0.5)表明反应已完成。将混合物倒入冰/水(10mL)中,用DCM(20mL×2)萃取。合并的有机层用H_2O(20mL×2)、盐水(20mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥。在真空中过滤浓缩。残余物通过硅胶柱色谱法纯化(石油醚:乙酸乙酯=1:1至0:1),得到棕色油状的3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(3-氧代异噻唑-2-基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸苄酯(1.4g,2.29mmol,产率22.05%,纯度86.148%);^{1}HNMR(400MHz,氯仿-d)δppm 8.02(d,J=6.17Hz,1H)7.22-7.32(m,5H)6.17(br d,J=6.17Hz,1H)5.07(s,2H)3.92(br t,J=4.30Hz,2H)3.51-3.73(m,24H)2.58(t,J=6.39Hz,2H)和无色油状的3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(5-氯-3-氧代异噻唑-2-基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸苄酯(3.1g,4.44mmol,产率42.85%,纯度80.532%);^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δppm 7.30-7.40(m,5H)6.26(s,1H)5.15(s,2H)3.93-3.99(m,2H)3.78(t,J=6.50Hz,2H)3.60-3.72(m,23H)2.66(t,J=6.50Hz,2H)。

[0849] I.39 1-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)-3,6,9,12,15,18-六氧杂二十一烷-21-酸苄酯

[0850] 

[0851] 在20℃,N_2下,向3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(5-氯-3-氧代异噻唑-2-基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸苄酯(1g,1.78mmol,1eq)和$NaIO_4$(1.52g,7.12mmol,394.34μL,4eq)在H_2O(20mL)、DCM(10mL)、乙腈(10mL)中的混合物中一次性加入$RuCl_3.H_2O$(20.05mg,88.96μmol,0.05eq)。然后,将混合物在20℃搅拌1小时。将残余物用乙酸乙酯(20mL×2)萃取。合并的有机相用无水Na_2SO_4干燥,过滤并真空浓缩。残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=1:1至乙酸乙酯:甲醇=10:1)纯化,得到黄色油状的3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(5-氯-1,1,3-三氧代-异噻唑-2-基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸苄酯(520mg,849.06μmol,产率47.72%,纯度97%);^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ=7.44-7.29(m,5H),6.72(s,1H),5.14(s,2H),3.92-3.86(m,2H),3.80-3.73(m,4H),3.69-3.59(m,20H),2.66(t,J=6.4Hz,2H)。

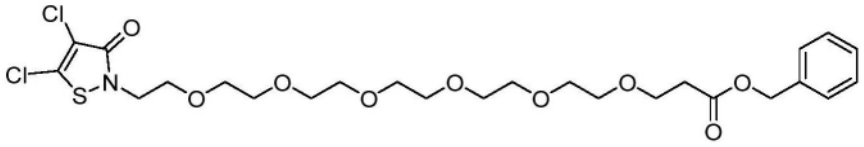
[0852] 实施例14.1-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)-3,6,9,12,15,18-六氧杂二十一烷-21-酸

[0853] 

[0854] 在10℃,向3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(5-氯-1,1,3-三氧代-异噻唑-2-基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸苄酯(520mg,875.32μmol,1eq)在DCM(30mL)中的溶液中滴加入甲磺酸(841.23mg,8.75mmol,623.13μL,10eq)。将溶液加热至35℃并搅拌10小时。残余物用水(30mL×3)洗涤,然后有机相用无水Na_2SO_4干燥,过滤并真空浓缩。残余物通过制备TLC纯化(乙酸乙酯:甲醇:乙酸=40:8:1,Rf=0.58)。残余物再次通过制备HPLC纯化(色谱柱:Nano-micro Kromasil C18 100×30mm 5μm;流动相:[水(0.05%HCl)-ACN];

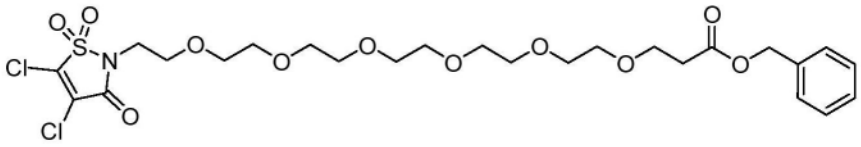
B%:1%-30%,10分钟)得到无色油状的3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(5-氯-1,1,3-三氧代-异噻唑-2-基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸(55.93mg,106.24μmol,产率12.14%,纯度95.726%);LC-MS(ES,m/z):504.2[M+H]$^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=12.30-11.96(m,1H),7.64(s,1H),3.83-3.76(m,2H),3.65-3.58(m,4H),3.54-3.52(m,2H),3.52-3.48(m,18H),2.44-2.42(m,2H)。

[0855] I.40.3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(4,5-二氯-3-氧代异噻唑-2-基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸苄酯

[0856] 

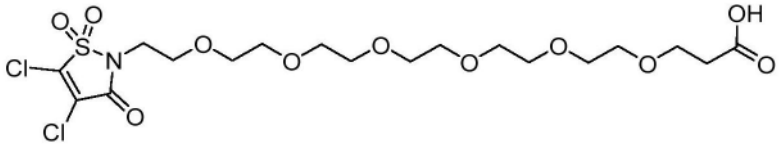
[0857] 在20℃,向3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(5-氯-3-氧代异噻唑-2-基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸苄酯(1.3g,2.31mmol,1eq)在DCM(30mL)中的溶液中滴加入硫酰氯(624.34mg,4.63mmol,462.47μL,2eq)。将溶液在20℃搅拌2小时。溶液变为黄色。将残余物倒入冰水(30mL)中,并搅拌30分钟。DCM相用水(50mL×6)洗涤,用无水Na_2SO_4干燥,过滤并真空浓缩。残余物通过制备TLC纯化(乙酸乙酯:甲醇=10:1,Rf=0.50),得到黄色油状的3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(4,5-二氯-3-氧代异噻唑-2-基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸苄酯(800mg,1.21mmol,产率52.19%,纯度90%);^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ=7.40-7.29(m,5H),5.15(s,2H),4.04(t,J=4.7Hz,2H),3.78(t,J=6.4Hz,2H),3.72(t,J=4.7Hz,2H),3.69-3.63(m,16H),3.62(s,4H),2.66(t,J=6.5Hz,2H)。

[0858] I.41.1-(4,5-二氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)-3,6,9,12,15,18-六氧杂二十一烷-21-酸苄酯

[0859] 

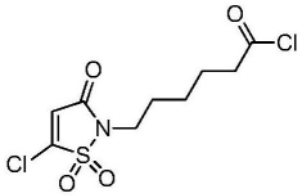
[0860] 在0℃,N_2下,向3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(4,5-二氯-3-氧代异噻唑-2-基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸苄酯(600mg,1.01mmol,1eq)和$NaIO_4$(860.56mg,4.02mmol,222.94μL,4eq)在H_2O(20mL)、DCM(10mL)、ACN(10mL)中的混合物中一次性加入$RuCl_3.H_2O$(11.34mg,50.29μmol,0.05eq)。将混合物在0℃搅拌2分钟,然后加热至25℃并搅拌1小时。将残余物倒入乙酸乙酯(30mL)中,然后过滤。滤液用乙酸乙酯(30mL×3)萃取。合并的有机相在真空中浓缩。将残余物通过制备TLC纯化(乙酸乙酯,Rf=0.50),得到无色油状的3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(4,5-二氯-1,1,3-三氧代-异噻唑-2-基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸苄酯(220mg,350.03μmol,产率34.80%,纯度100%);^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ=7.40-7.27(m,4H),5.15(s,2H),3.99-3.90(m,2H),3.78(t,J=6.2Hz,4H),3.70-3.58(m,20H),2.66(t,J=6.4Hz,2H)。

[0861] 实施例15.1-(4,5-二氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)-3,6,9,12,15,18-六氧杂二十一烷-21-酸

[0862] 

[0863] 在10℃,向3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(4,5-二氯-1,1,3-三氧代-异噻唑-2-基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸苄酯(220mg,350.03μmol,1eq)在甲醇(5mL)中的溶液中滴加入甲磺酸(504.60mg,5.25mmol,373.78μL,15eq)。然后,将溶液加热至40℃并搅拌20小时。将残余物用DCM(20mL)稀释,然后将溶液用水(15mL×3)洗涤,将有机相用无水Na_2SO_4干燥,过滤并在真空中浓缩。残余物通过制备HPLC纯化(色谱柱:Nano-micro Kromasil C18 100×30mm 5μm;流动相:[水(0.05%HCl)-ACN];B%:25%-55%,10分钟)得到黄色油状的3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(4,5-二氯-1,1,3-三氧代-异噻唑-2-基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸(53.79mg,98.63μmol,产率28.18%,纯度98.724%);LC-MS(ES,m/z):538.2$[M+H]^+$;1H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=12.13(br s,1H),3.89-3.81(m,2H),3.65(t,J=5.5Hz,2H),3.59(t,J=6.4Hz,2H),3.56-3.48(m,20H),2.43(t,J=6.4Hz,2H)。

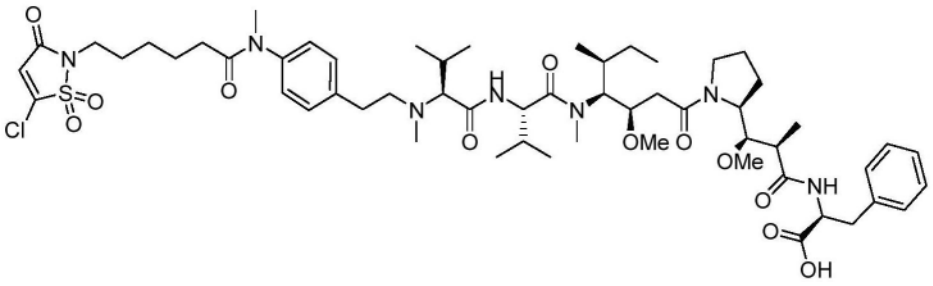
[0864] 实施例16.

[0865] 

[0866] 在氩气下的烧瓶中加入产物6-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸(12.58mg,0.045mmol)、DCM(2mL)和DMF(10μL)。将混合物冷却至0℃,然后滴加入草酰二氯(11.65μL,0.136mmol)。将混合物加温至室温,并搅拌直至通过LCMS观察到完全转化(通过加入至干燥的MeOH等分试样中形成甲酯来进行LCMS跟踪)。粗产物在真空下蒸发。将残余物溶于DCM中,并再次在真空下干燥,得到黄色固体。粗产物无需进一步纯化即可用于下一步。

[0867] 2.药物-连接子偶联物的合成

[0868] 实施例A.((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((4-(6-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)-N-甲基己酰胺基)苯乙基)(甲基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸

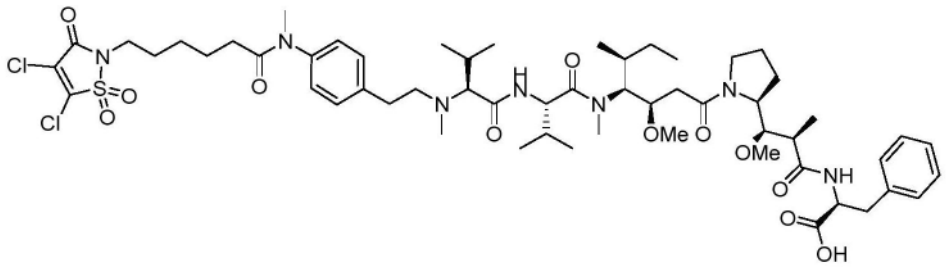
[0869] 

[0870] 药物-连接子合成的标准步骤:

[0871] 在室温,在氮气下的烧瓶中加入6-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸(205mg,0.73mmol)(实施例1)、二氯甲烷(10mL)和DMF(100μL)。使用冰浴将混合物冷却

至0℃,然后加入草酰氯(190.4μL,2.18mmol)。将混合物加温至室温,并搅拌2小时。将反应混合物真空蒸发。将残余物溶于CH_2Cl_2中,并再次在真空下干燥,得到黄色固体状的6-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酰氯。在室温,N_2下的小瓶中引入(S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基(4-(甲基氨基)苯乙基)氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰胺基)-3-苯基丙酸、(S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基(4-(甲基氨基)苯乙基)氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰胺基)-3-苯基丙酸化合物和2,2,2-三氟乙酸(1:1)(111mg,0.102mmol)和二氯甲烷(3.7mL)。将混合物冷却至0℃,并加入DIPEA(70.9μL,0.406mmol)。将反应混合物在0℃搅拌10分钟,然后滴加入6-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酰氯(36.6mg,0.122mmol)的DCM溶液(2mL DCM中含248mg酰氯)。将混合物在0℃搅拌1小时15分钟。通过在0℃向混合物中加入三氟乙酸(32.9μL,0.426mmol)、乙腈(2.1mL)和水(0.3mL)来终止反应。真空浓缩粗产物,并将残余物通过制备HPLC(X-Bridge C18柱(100×30),使用ACN和含0.1%TFA的水的梯度作为流动相)纯化,得到((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((4-(6-(5-氯-1,1-二氧-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)-N-甲基己酰胺基)苯乙基)(甲基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸。该药物-连接子偶联物的质谱和^{1}H-NMR谱分别如图1A和图1B所示。

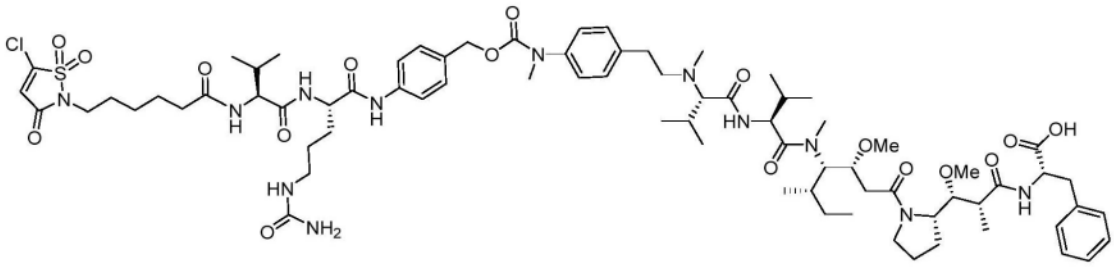
[0872] 实施例B.((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((4-(6-(4,5-二氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)-N-甲基己酰胺基)苯乙基)(甲基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸

[0873] 

[0874] 其按照药物-连接子的合成的标准步骤合成,使用6-(4,5-二氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸(实施例2)和((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基(4-(甲基氨基)苯乙基)氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸化合物与2,2,2-三氟乙酸(1:1)作为起始原料。

[0875] 该药物-连接子偶联物的质谱如图2所示。

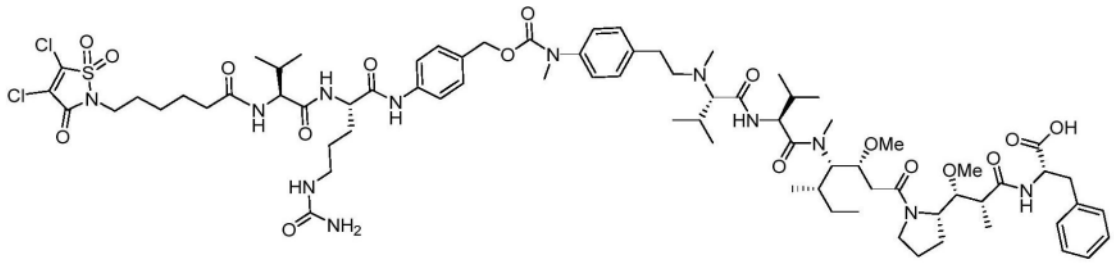
[0876] 实施例C.((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((4-((((4-((S)-2-((S)-2-(6-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰氨基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)苯乙基)(甲基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸

[0877] 

[0878] 其按照药物-连接子合成的标准步骤获得,使用6-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸(实施例1)和((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((4-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)苯乙基)(甲基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸作为起始原料。

[0879] 该药物-连接子偶联物的质谱和^{1}H-NMR谱分别如图3A和图3B所示。

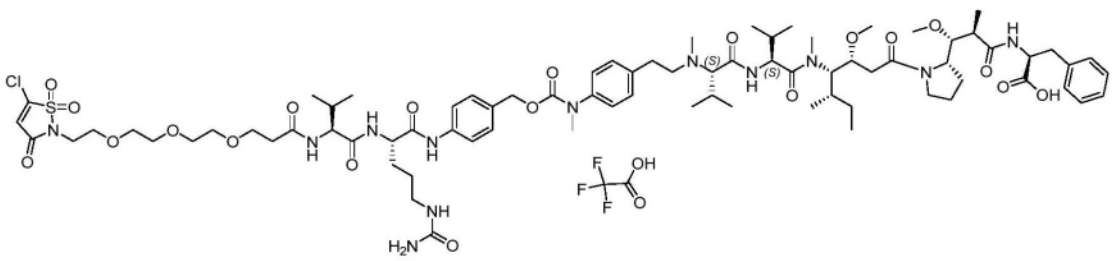
[0880] 实施例D.((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((4-((((4-((S)-2-((S)-2-(6-(4,5-二氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰氨基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)苯乙基)(甲基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸

[0881] 

[0882] 其按照药物-连接子合成的标准步骤获得,使用6-(4,5-二氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸(实施例2)和((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((4-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰氨基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)苯乙基)(甲基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸作为起始原料。

[0883] 该药物-连接子偶联物的质谱和^{1}H-NMR谱如图4A和图4B所示。

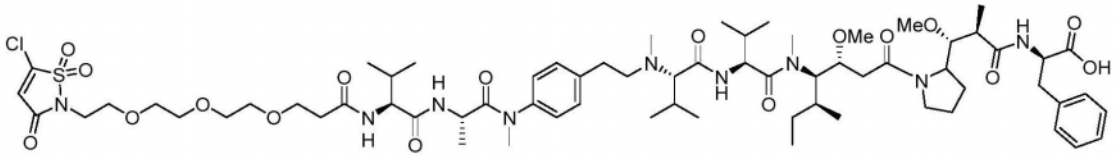
[0884] 实施例E.((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((4-((((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2-(2-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)苯乙基)(甲基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸2,2,2-三氟乙酸盐

[0885] 

[0886] 其按照药物-连接子合成的标准步骤合成,使用3-(2-(2-(2-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸(实施例12)和(S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((4-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)苯乙基)(甲基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰胺基)-3-苯基丙酸作为起始原料。

[0887] 该药物-连接子偶联物的质谱和^{1}H-NMR谱如图5A和图5B所示。

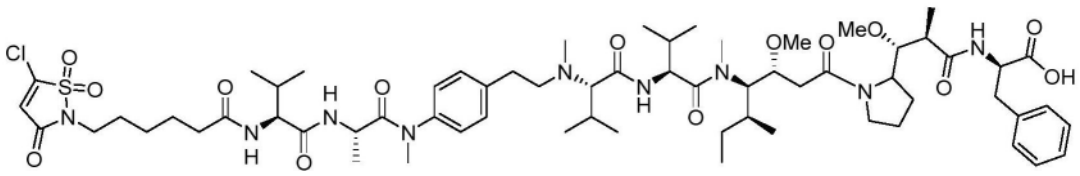
[0888] 实施例F.((2R,3R)-3-(1-((3R,4R,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2-(2-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-N-甲基丙酰胺基)苯乙基)(甲基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-D-苯丙氨酸

[0889] 

[0890] 其按照药物-连接子合成的标准步骤合成,使用3-(2-(2-(2-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸(实施例12)和((2R,3R)-3-(1-((3R,4R,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-N-甲基丙酰胺基)苯乙基)(甲基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-D-苯丙氨酸作为起始原料。

[0891] 该药物-连接子偶联物的质谱和^{1}H-NMR谱如图6A和图6B所示。

[0892] 实施例G.((2R,3R)-3-(1-((3R,4R,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((4-((S)-2-((S)-2-(6-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-N-甲基丙酰胺基)苯乙基)(甲基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-D-苯丙氨酸

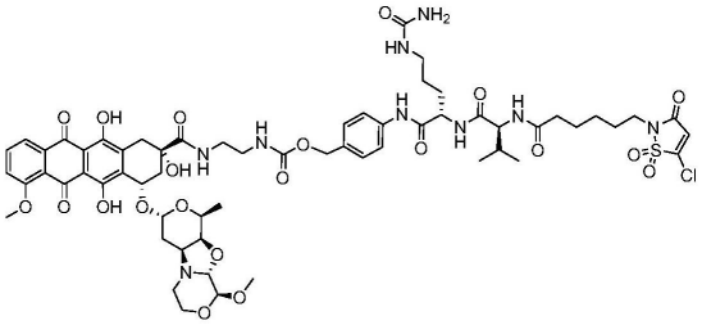
[0893] 

[0894] 其按照药物-连接子合成的标准步骤合成,使用6-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸(实施例1)和((2R,3R)-3-(1-((3R,4R,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-N-甲基丙酰胺基)苯乙基)(甲基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-D-苯丙氨酸作为起始原料。

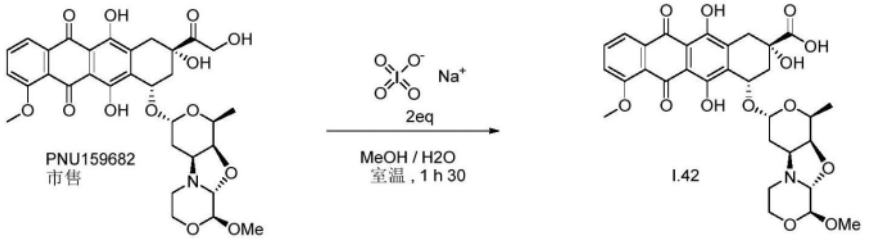
[0895] 该药物-连接子偶联物的质谱和^{1}H-NMR谱如图7A和图7B所示。

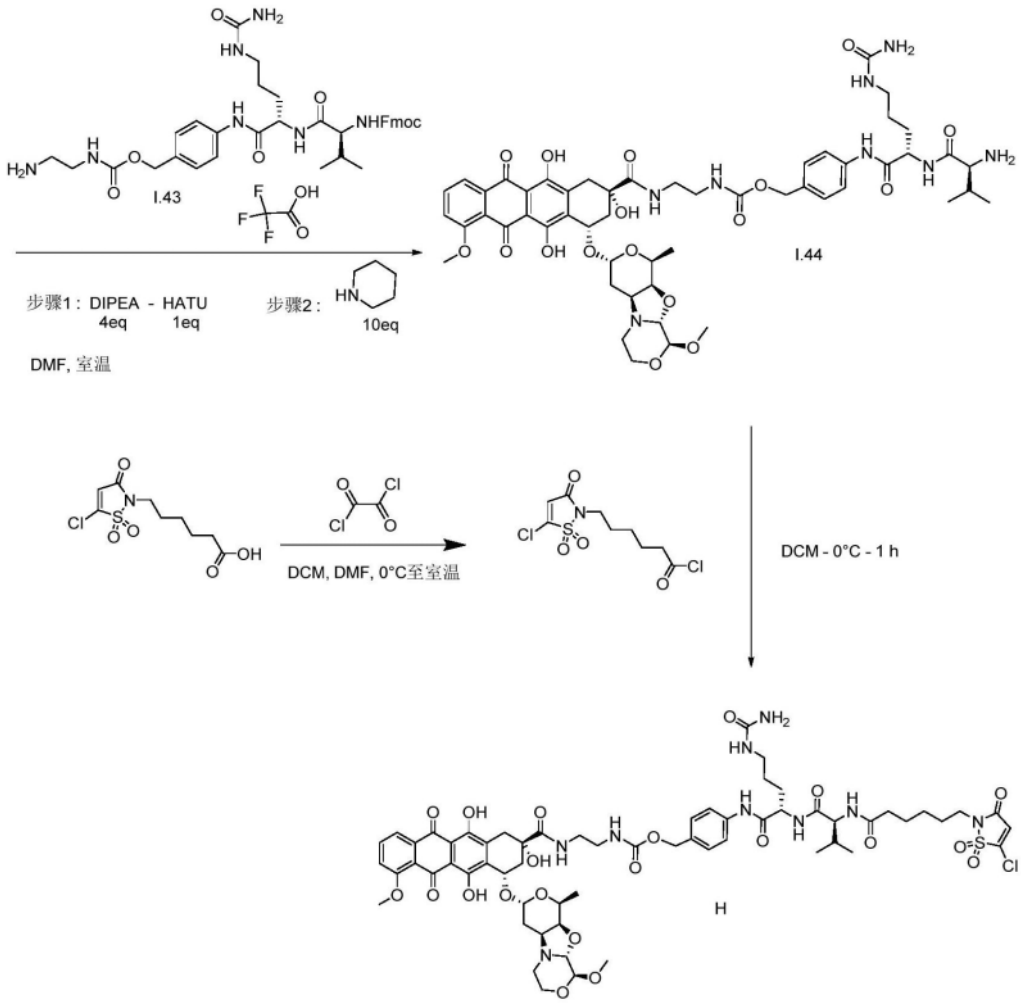
[0896] 实施例H.4-((S)-2-((S)-2-(6-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰氨基)苄基(2-((2S,4S)-2,5,12-三羟基-7-甲氧基-4-(((1S,3R,4aS,9S,9aR,10aS)-9-甲氧基-1-甲基八氢-1H-吡喃并[4',3':4,5]噁唑并

[2,3-c][1,4]噁嗪-3-基)氧基)-6,11-二氧代-1,2,3,4,6,11-六氢并四苯-2-甲酰胺基)乙基)氨基甲酸酯

[0897] 

[0898] 实施例H根据下述合成路径合成:



[0899] 

[0900] I.42.(2S,4S)-2,5,12-三羟基-7-甲氧基-4-(((1S,3R,4aS,9S,9aR,10aS)-9-甲

氧基-1-甲基八氢-1H-吡喃并[4',3':4,5]噁唑并[2,3-c][1,4]噁嗪-3-基)氧基)-6,11-二氧代-1,2,3,4,6,11-六氢并四苯-2-羧酸

[0901] 在烧瓶中向甲醇(15mL)和水(10mL)的混合物中加入PNU-159682(52mg,0.081mmol)。加入$NaIO_4$(34.7mg,0.162mmol)在水(5mL)中的溶液。将反应混合物在室温搅拌直至通过LCMS观察到完全转化。真空除去溶剂,得到红色固体状的I.42,其直接用于下一步。

[0902] I.43.(9H-芴-9-基)甲基((S)-1-(((S)-1-((4-((((2-氨乙基)氨甲酰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯

[0903] 在氩气下的烧瓶中,在DMF中(0.443mol/L)加入(9H-芴-9-基)甲基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(1g,1.662mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(1.011g,3.32mmol)。然后,将混合物冷却至0℃,并滴加入DIPEA(639μL,3.66mmol)。将反应混合物加温至室温并搅拌18小时。将粗混合物真空浓缩。将粗产物溶于Et_2O/EtOAc的1:1混合物中并过滤。将沉淀物用Et_2O、5%柠檬酸、H_2O洗涤,然后再次用Et_2O洗涤,得到黄色固体。该固体通过自动硅胶柱色谱法(100DCM:0MeOH至80DCM:20MeOH)纯化,得到345mg的(9H-芴-9-基)甲基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(白色固体),产率27.1%。

[0904] 在0℃,向先前产物(150mg,0.196mmol)的DMF(6mL)溶液中加入HOBt(34.4mg,0.254mmol)和吡啶(63.3μL,0.782mmol)。5分钟后,将在DMF(1.5mL)中的(2-氨基乙基)氨基甲酸叔丁酯1-2(40.7mg,0.254mmol)加入混合物中,然后加入DIPEA(102μL,0.587mmol)。将混合物加温至室温并搅拌2小时。真空浓缩粗产物,得到白色固体,将其通过自动硅胶柱色谱法(100DCM:0MeOH至80DCM:20MeOH)纯化,得到129mg的4-((S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基叔丁基乙烷-1,2-二基二氨基甲酸酯(白色固体),产率84%。

[0905] 在烧瓶中,在DCM(6mL)中,放置先前的产物(154mg,0.195mmol)。在0℃将混合物冷却,并加入TFA(753μL,9.77mmol),并在0℃将混合物搅拌直至通过LCMS观察到完全转化。将粗混合物真空浓缩,得到白色固体状的I.43(定量产率)。

[0906] I.44.4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(2-((2S,4S)-2,5,12-三羟基-7-甲氧基-4-(((1S,3R,4aS,9S,9aR,10aS)-9-甲氧基-1-甲基八氢-1H-吡喃并[4',3':4,5]噁唑并[2,3-c][1,4]噁嗪-3-基)氧基)-6,11-二氧代-1,2,3,4,6,11-六氢并四苯-2-甲酰胺基)乙基)氨基甲酸酯

[0907] 在烧瓶中加入I.42(50.9mg,0.081mmol)、I.43(78.0mg,0.097mmol)和DMF(8mL),然后加入HATU(30.8mg,0.081mmol)和DIPEA(56.7μL,0.324mmol)。将反应混合物在室温搅拌18小时。然后向混合物中加入哌啶(80μL,0.811mmol)。将反应混合物搅拌1小时(直到通过LCMS观察到完全转化)。将混合物在真空下浓缩。立即通过自动硅胶柱色谱法(100DCM:0MeOH/NH_3水溶液至85DCM:25MeOH/NH_3水溶液)纯化获得的粗产物,得到20mg的I.44(红色油状物),产率23%。

[0908] 实施例H.

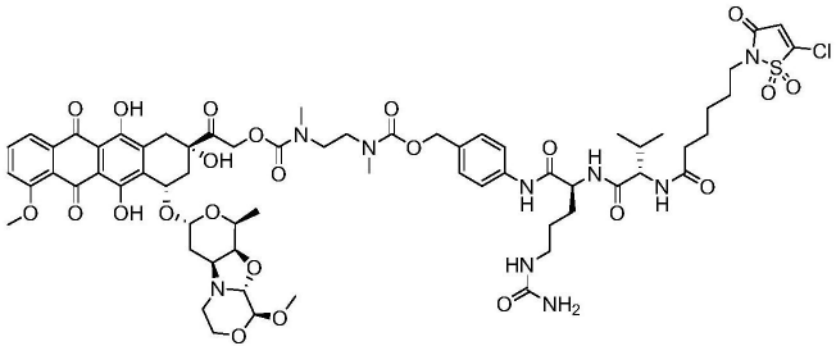
[0909] 在N_2下的烧瓶中,在DCM(1mL)和DMF(10μL)中,加入6-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代

异噻唑-2(3H)-基)己酸(实施例1)(7.86mg,0.028mmol)。将混合物冷却至0℃,然后滴加入草酰氯(7.28μL,0.085mmol)。将混合物加温至室温,并搅拌直至通过LCMS观察到完全转化(通过加入至干燥MeOH等分试样中形成甲酯来进行LCMS跟踪)。将粗混合物真空蒸发。将残余物溶于DCM中,并再次真空干燥,得到黄色固体状的6-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酰氯(产率定量)。粗物质无需进一步纯化即可用于下一步。

[0910] 在室温,N_2下的烧瓶中将I.44(20mg,0.019mmol)引入DCM(2mL)中。将混合物冷却至0℃,并加入DIPEA(12.96μL,0.074mmol)。将混合物在0℃搅拌10分钟,然后加入在DCM(1mL)中稀释的前一步骤的产物(8.40mg,0.028mmol)。然后将混合物在0℃搅拌2小时(直到通过LCMS观察到完全转化)。将粗混合物真空浓缩,并通过自动硅胶柱色谱法(100DCM:0MeOH至85DCM:15MeOH)纯化,得到6.85mg红色固体状的实施例H(也称为化合物F562524),产率27%。

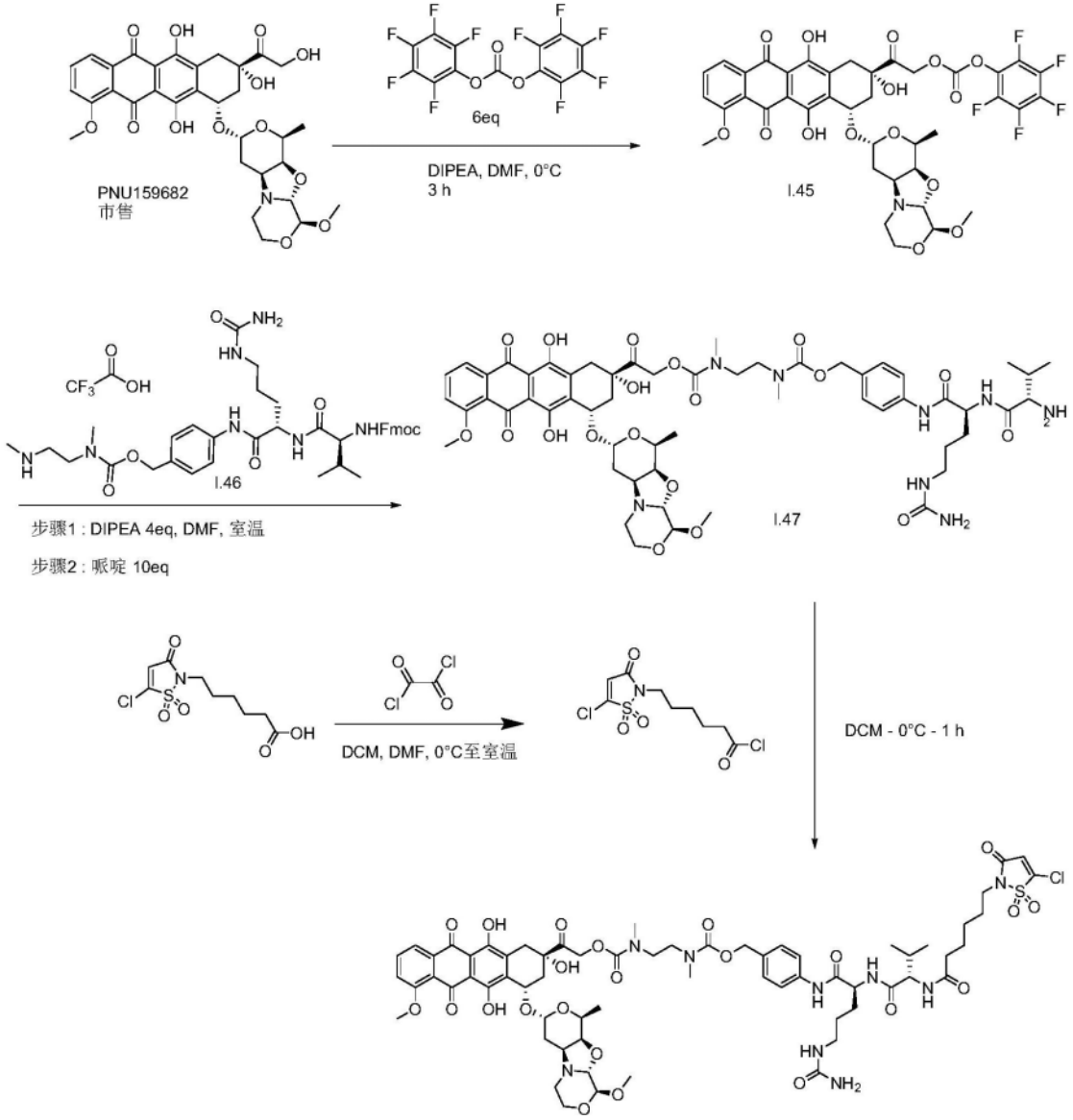
[0911] 该药物-连接子偶联物的^{1}H-NMR谱如图8所示。

[0912] 实施例I.4-((S)-2-((S)-2-(6-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(2-氧代-2-((2S,4S)-2,5,12-三羟基-7-甲氧基-4-(((1S,3R,4aS,9S,9aR,10aS)-9-甲氧基-1-甲基八氢-1H-吡喃并[4',3':4,5]噁唑并[2,3-c][1,4]噁嗪-3-基)氧基)-6,11-二氧代-1,2,3,4,6,11-六氢并四苯-2-基)乙基)乙烷-1,2-二基双(甲基氨基甲酸酯)

[0913] 

[0914] 实施例I根据以下合成路径合成:

[0915]



[0916] I.45.2-氧代-2-((2S,4S)-2,5,12-三羟基-7-甲氧基-4-(((1S,3R,4aS,9S,9aR,10aS)-9-甲氧基-1-甲基八氢-1H-吡喃并[4',3':4,5]噁唑并[2,3-c][1,4]噁嗪-3-基)氧基)-6,11-二氧代-1,2,3,4,6,11-六氢并四苯-2-基)乙基(全氟苯基)碳酸酯

[0917] 在氩气下的烧瓶中加入PNU-159682(12mg,0.0180mmol)和DMF(1.5mL)。将混合物在0℃冷却,并加入双(全氟苯基)碳酸酯(36.9mg,0.094mmol)。然后在5分钟内缓慢加入DIPEA(9.80μL,0.056mmol)的DMF(0.5mL)溶液。最后将混合物在0℃搅拌3小时(通过LCMS观察转化)。将粗混合物真空浓缩并通过自动硅胶柱色谱法(100DCM:0[80DCM:20MeOH]至50DCM:50[80DCM:20MeOH])纯化,得到5.52mg红色油状的I.45,产率36%。

[0918] I.46.(9H-芴-9-基)甲基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯2,2,2-三氟乙酸盐

[0919] 在氩气下的烧瓶中,在DMF中(0.443mol/L),加入(9H-芴-9-基)甲基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(1g,1.662mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(1.011g,3.32mmol)。然后,将混

合物冷却至0℃,并滴加入DIPEA(639μL,3.66mmol)。将反应混合物加温至室温并搅拌18小时。将粗混合物真空浓缩,溶于Et_2O/EtOAc(1/1)中并过滤。将沉淀物用Et_2O、5%柠檬酸、H_2O洗涤,然后再次用Et_2O洗涤,得到黄色固体。通过自动硅胶柱色谱法(100DCM:0MeOH至80DCM:20MeOH)纯化所述固体,得到345mg白色固体,产率27.1%。在0℃,向该化合物(118mg,0.154mmol)的DMF(6mL)溶液中加入HOBt(27.0mg,0.200mmol)和吡啶(49.8μL,0.616mmol)。5分钟后,将甲基(2-(甲基氨基)乙基)氨基甲酸叔丁酯(37.7mg,0.200mmol)的DMF(1.5mL)溶液加入混合物中,随后加入DIPEA(81.0μL,0.462mmol)。然后将混合物加温至室温并搅拌2小时(直至通过LCMS观察到完全转化)。将粗混合物真空浓缩,得到黄色油,将其通过自动硅胶柱色谱法(100DCM:0MeOH至80DCM:20MeOH)纯化,得到103mg白色固体,产率82%。

[0920] 在烧瓶中放置该产物(198mg,0.243mmol)的DCM(12mL)溶液。将混合物冷却至0℃并加入TFA(935μL,12.13mmol),并将混合物在0℃搅拌4小时(直至通过LCMS观察到完全转化)。将粗混合物真空浓缩,得到220mg澄清的黄色固体状的I.46(定量产率)。

[0921] I.47 4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(2-氧代-2-((2S,4S)-2,5,12-三羟基-7-甲氧基-4-(((1S,3R,4aS,9S,9aR,10aS)-9-甲氧基-1-甲基八氢-1H-吡喃并[4',3':4,5]噁唑并[2,3-c][1,4]噁嗪-3-基)氧基)-6,11-二氧代-1,2,3,4,6,11-六氢并四苯-2-基)乙基)乙烷-1,2-二基双(氨基甲酸甲酯)

[0922] 在室温,向产物I.45(19mg,0.022mmol)的DMF(1mL)溶液中加入产物I.46(22.2mg,0.027mmol)和DIPEA(15.59μL,0.089mmol)的DMF溶液(1mL)。将反应混合物在室温搅拌3小时(直至通过LCMS观察到完全转化)。然后,向混合物中加入哌啶(22.09μL,0.223mmol)。将反应混合物搅拌1小时(通过LCMS观察到完全转化)。将粗混合物真空浓缩,并通过自动硅胶柱色谱法(100DCM:0MeOH/NH_3(9/1)至75DCM:25MeOH/NH_3(9/1))纯化,得到10mg红色油状的I.47,产率39%。

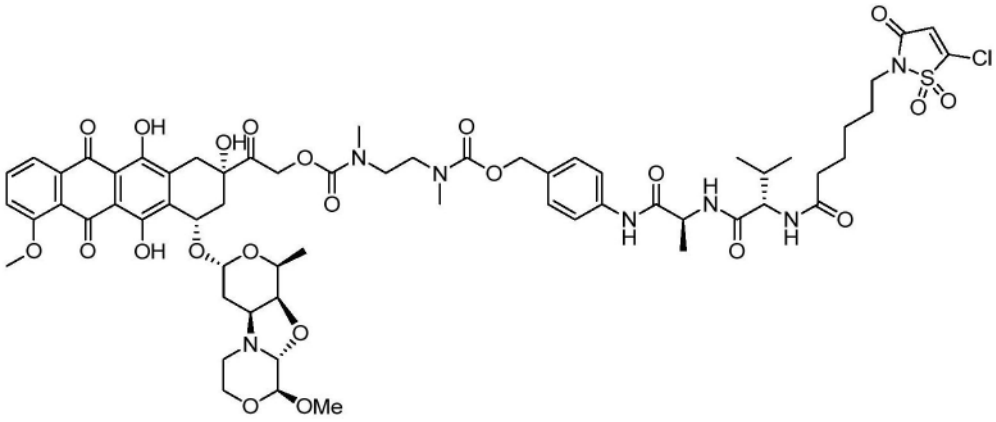
[0923] 实施例I.

[0924] 在N_2下的烧瓶中,在DCM(1mL)和DMF(10μL)中,加入6-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸(实施例1)(7.86mg,0.028mmol)。将混合物冷却至0℃,然后滴加入草酰氯(7.28μL,0.085mmol)。将混合物加温至室温,并搅拌直至通过LCMS观察到完全转化(通过加入至干燥MeOH等分试样中形成甲酯来进行LCMS跟踪)。将粗混合物真空蒸发。将残余物溶于DCM中,并再次真空干燥,得到黄色固体状的6-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酰氯(产率定量)。粗物质无需进一步纯化即可用于下一步。

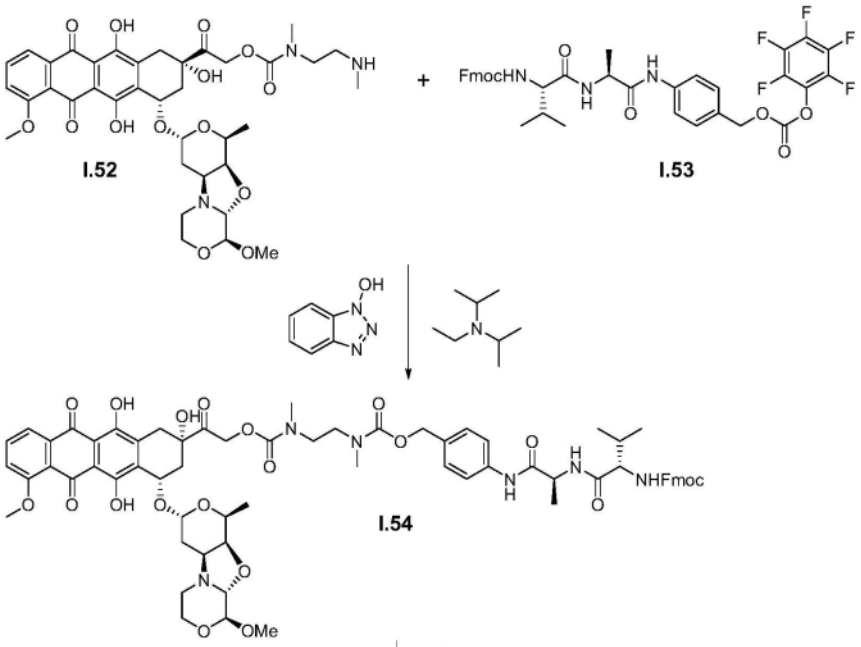
[0925] 在室温,N_2下,向烧瓶中引入在DCM(2mL)中的产物I.47(10mg,0.0086mmol)。将混合物冷却至0℃并加入DIPEA(6.0μL,0.034mmol)。将混合物在0℃搅拌10分钟,然后加入在DCM(1mL)中稀释的先前产物(3.90mg,0.013mmol)。然后将混合物在0℃搅拌2小时(直至通过LCMS观察到完全转化)。真空浓缩粗产物,并通过自动硅胶柱色谱法(100DCM:0MeOH至85DCM:15MeOH)纯化,得到2.45mg红色固体状的实施例I,产率19%。

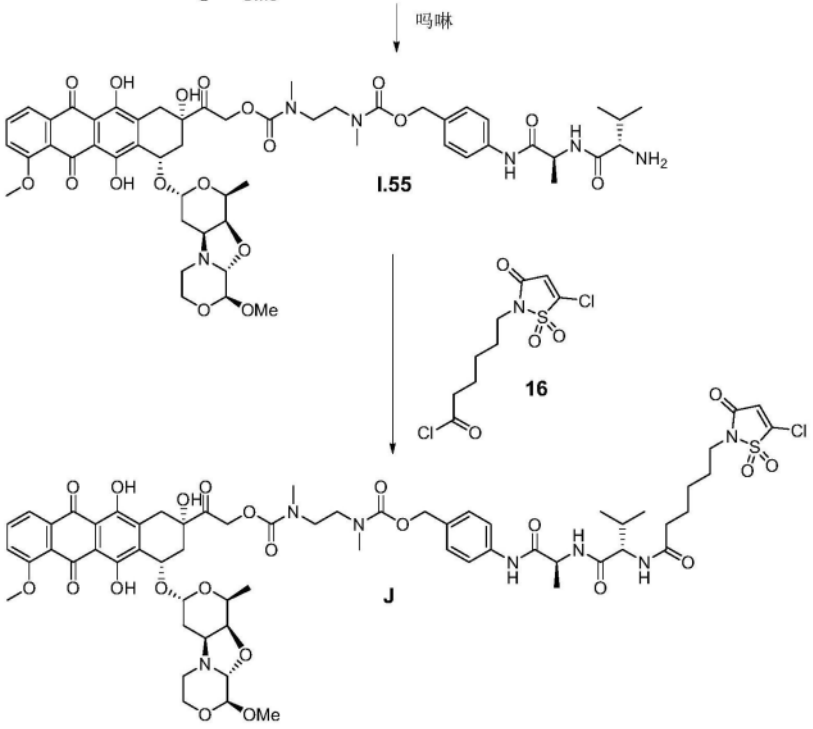
[0926] 该药物-连接子偶联物的^{1}H-NMR谱如图9所示。

[0927] 实施例J.

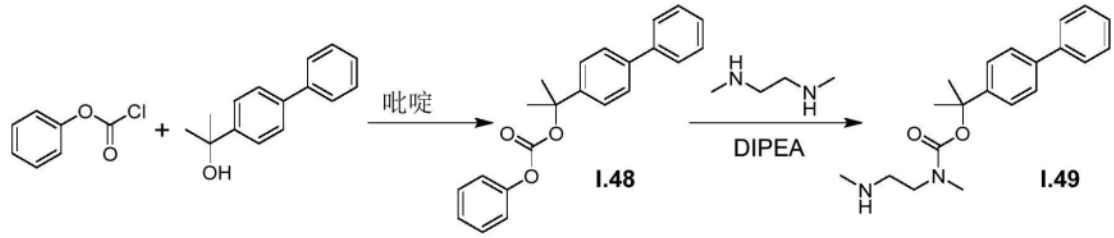
[0928] 

[0929] 实施例J根据以下合成路径合成：

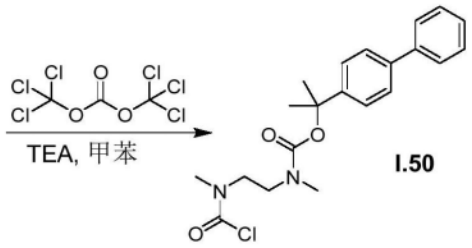


[0930] 

[0931] 化合物I.50按照如下合成路径制备：



[0932]



[0933] 化合物I.48：

[0934] 在氩气下的烧瓶中，在DCM(5mL)中加入2-([1,1'-联苯]-4-基)丙-2-醇(1g,4.71mmol)和吡啶(0.465mL,5.75mmol)。然后，将混合物冷却至0℃，并滴加入在干燥的DCM(2.4mL)中的氯甲酸苯酯(0.662mL,5.28mmol)。将反应混合物加温至室温并搅拌18小时(通过LCMS检查)。将粗产物真空浓缩。将固体混合物溶解在DCM中，并用盐水洗涤3次。有机层经Na_2SO_4干燥，过滤并真空浓缩，得到880mg白色固体状的所期望化合物I.48，产率56％。LCMS(ESI):333.40(MH+)。

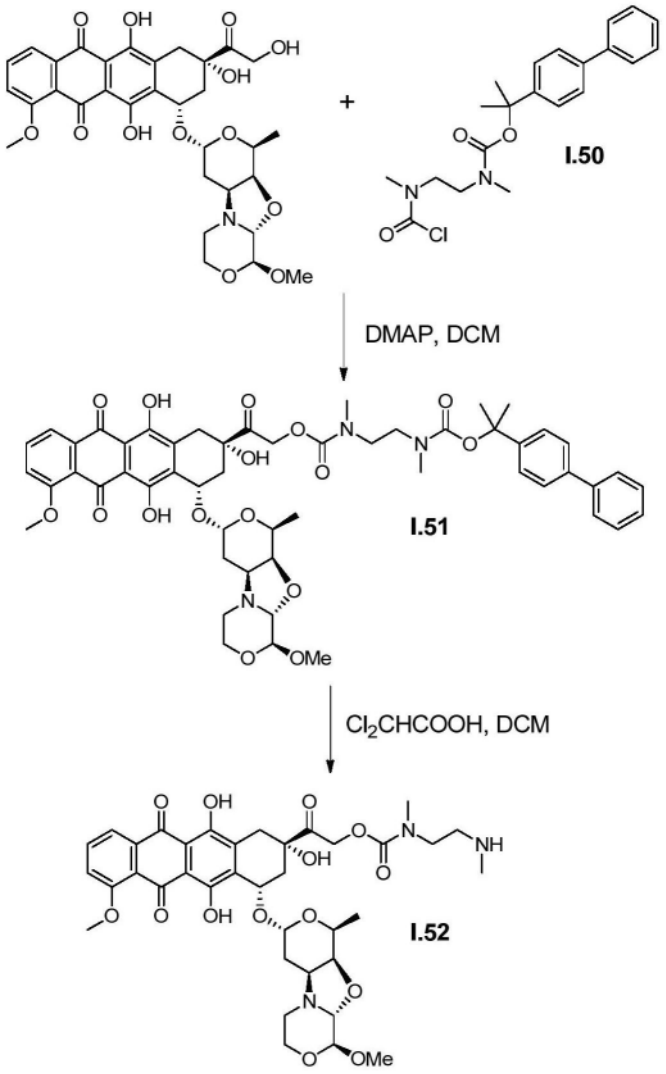
[0935] 化合物I.49：

[0936] 在0℃，在装有N,N'-二甲基-1,2-乙二胺(2791μL,26.2mmol)、N-乙基-N-异丙基丙-2-胺(305μL,1.748mmol)和DMF(4mL)的氩气下的烧瓶中，加入2-([1,1'-联苯]-4-基)丙-2-基苯基碳酸酯(581mg,1.748mmol)在DMF(1.5mL)中的溶液。将反应混合物加温至室温并搅拌24小时(通过LCMS检查)。真空浓缩粗产物，并将残余物通过自动柱色谱法纯化(Interchim,固体沉积):DCM/MeOH:9/1。将所期望的级分真空浓缩，得到433mg黄色油状的期望的化合物I.49，产率76％。LCMS(ESI):327.43(MH+)。

[0937] 化合物I.50：

[0938] 在0℃，在含有二(三氯甲基)碳酸酯(157mg,0.531mmol)和甲苯(4.3mL)的氩气下的烧瓶中，加入2-([1,1'-联苯]-4-基)丙-2-基甲基(2-(甲基氨基)乙基)氨基甲酸酯(433mg,1.326mmol)和三乙胺(368μL,2.65mmol)在甲苯(2.9mL)中的溶液。将反应混合物加温至室温并搅拌1小时(通过LCMS检查)。过滤溶液，并将溶剂真空浓缩，并将残余物通过自动柱色谱法纯化(Interchim,固体沉积):环己烷/乙酸乙酯:7/3。真空浓缩所期望的级分，得到166mg白色固体状的所期望的化合物I.50，产率33％。LCMS(ESI):405.60(MH+)。

[0939] 化合物I.52按照如下合成路径制备：

[0940] 

[0941] 化合物I.51：

[0942] 在含有(8S,10S)-6,8,11-三羟基-8-(2-羟基乙酰基)-1-甲氧基-10-(((1S,3R,4aS,9S,9aR,10aS)-9-甲氧基-1-甲基八氢-1H-吡喃并[4',3':4,5]噁唑并[2,3-c][1,4]噁嗪-3-基)氧基)-7,8,9,10-四氢并四苯-5,12-二酮(50mg,0.078mmol)、4-二甲基氨基吡啶(47,6mg,0,390mmol)、0.4nm分子筛(33mg)和DCM(1mL)的氩气下的烧瓶中,加入2-([1,1'-联苯]-4-基)丙-2-基(2-((氯甲酰基)(甲基)氨基)乙基)(甲基)氨基甲酸酯(91mg,0.234mmol))在DCM(0.5mL)中的溶液。将该混合物在黑暗中,25℃搅拌5天。将溶液过滤,并将溶剂真空浓缩,残余物不经进一步纯化即用于下一步。

[0943] 化合物I.52：

[0944] 在冰浴中,向产物I.51在DCM(1mL)中的溶液中,加入二氯乙酸(96μL,1.169mmol)在0.5mL DCM中的溶液。将溶液在室温搅拌2小时。真空浓缩溶剂,并将残余物通过自动柱色谱法纯化(Interchim,固体沉积):DCM/MeOH:9/1。真空浓缩所期望的级分,得到13mg红色固体状的所期望的化合物I.52,产率22%。LCMS(ESI):756.76(MH+)。

[0945] 化合物I.53：

[0946] 在氩气下的烧瓶中加入(9H-芴-9-基)甲基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(250mg,0.485mmol)、双

(全氟苯基)碳酸酯(382mg,0.970mmol)和DMF(4mL)。然后,将混合物冷却至0℃,并滴加入N-乙基-N-异丙基丙-2-胺(127μL,0.727mmol)。将反应混合物加温至室温并搅拌2小时(通过LCMS检查)。将粗产物真空浓缩。通过自动柱色谱法(Interchim,固体沉积)纯化粗产物:DCM/MeOH:9/1。真空浓缩所期望的级分,得到281mg黄色油状的所期望的化合物I.53,产率80%。LCMS(ESI):726.65(MH+)。

[0947] 化合物I.54:

[0948] 在氩气下的烧瓶中加入2-氧代-2-((2S,4S)-2,5,12-三羟基-7-甲氧基-4-(((1S,3R,4aS,9S,9aR,10aS)-9-甲氧基-1-甲基八氢-1H-吡喃并[4',3':4,5]噁唑并[2,3-c][1,4]噁嗪-3-基)氧基)-6,11-二氧代-1,2,3,4,6,11-六氢并四苯-2-基)乙基甲基(2-(甲基氨基)乙基)氨基甲酸酯(78mg,0.103mmol)、1-羟基苯并三唑(27.9mg,0.206mmol)、N,N'-二异丙基乙胺(35.1μL,0.206mmol)和DMF(2mL)。然后,将混合物冷却至0℃,并滴加入(9H-芴-9-基)甲基((S)-3-甲基-1-氧代-1-(((S)-1-氧代-1-((4-((((全氟苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)丙-2-基)氨基)丁-2-基)氨基甲酸酯(112mg,0.155mmol)。将反应混合物加温至室温并搅拌2小时(通过LCMS检查)。将粗产物真空浓缩。通过自动柱色谱法(Interchim,固体沉积)纯化粗产物:DCM/MeOH:9/1。真空浓缩所期望的级分,得到77mg红色油状的所期望的化合物I.54,产率58%。LCMS(ESI):1298.0(MH+)。

[0949] 化合物I.55:

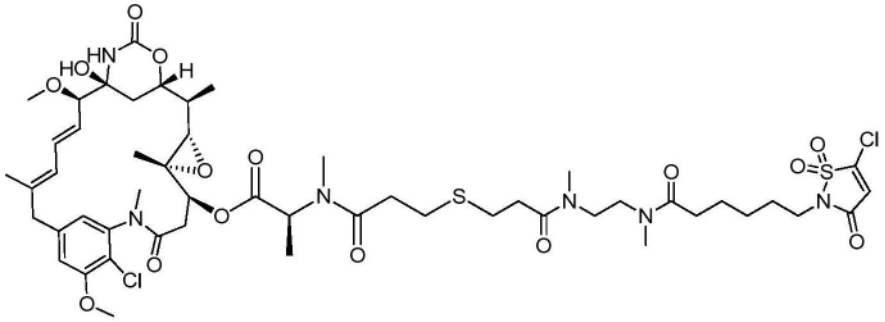
[0950] 在氩气下的烧瓶中加入4-((S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)苄基(2-氧代-2-((2S,4S)-2,5,12-三羟基-7-甲氧基-4-(((1S,3R,4aS,9S,9aR,10aS)-9-甲氧基-1-甲基八氢-1H-吡喃并[4',3':4,5]噁唑并[2,3-c][1,4]噁嗪-3-基)氧基)-6,11-二氧代-1,2,3,4,6,11-六氢并四苯-2-基)乙基)乙烷-1,2-二基双(甲基氨基甲酸酯)(77.7mg,0.060mmol)和DMF(2mL)。然后,将混合物冷却至0℃,并滴加入吗啉(259μL,2.99mmol)。将反应混合物加温至室温并搅拌2小时(通过LCMS检查)。将粗产物真空浓缩。通过自动柱色谱法(Interchim,固体沉积)纯化粗产物:DCM/MeOH:9/1。真空浓缩所期望的级分,得到32mg红色油状的所期望的化合物I.55,产率50%。LCMS(ESI):1075.80(MH+)。

[0951] 实施例J.

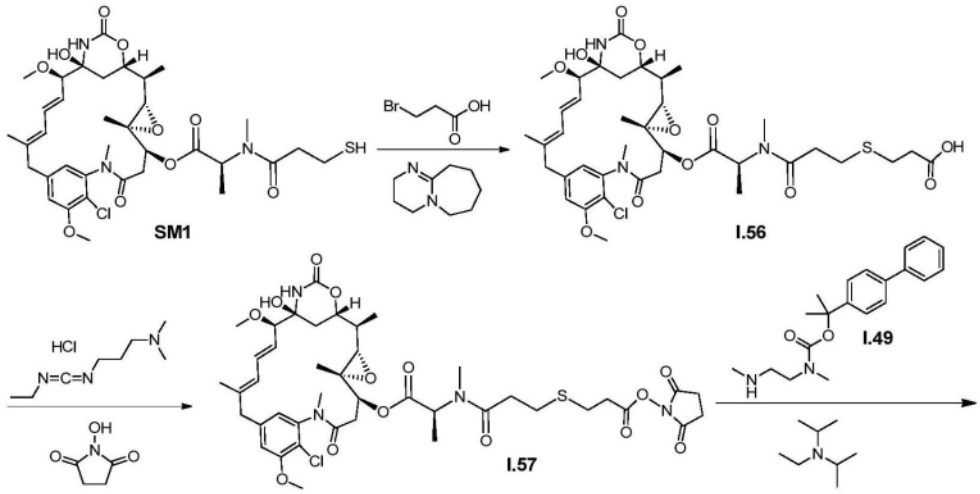
[0952] 在25℃,在氩气下的烧瓶中,在二氯甲烷(2mL)中引入4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)苄基(2-氧代-2-((2S,4S)-2,5,12-三羟基-7-甲氧基-4-(((1S,3R,4aS,9S,9aR,10aS)-9-甲氧基-1-甲基八氢-1H-吡喃并[4',3':4,5]噁唑并[2,3-c][1,4]噁嗪-3-基)氧基)-6,11-二氧代-1,2,3,4,6,11-六氢并四苯-2-基)乙基)乙烷-1,2-二基双(氨基甲酸酯)(32mg,0.030mmol,1eq)。将混合物冷却至0℃,并加入N-乙基-N-异丙基丙-2-胺(20.74μL,0.119mmol)。将混合物在0℃搅拌10分钟,然后加入在二氯甲烷(2mL)中稀释的实施例16。然后将混合物在0℃搅拌2小时(直至通过LCMS观察到完全转化)。真空浓缩粗产物,并通过自动柱色谱法纯化(Interchim,12g,固体沉积):DCM/MeOH:9/1。真空浓缩所期望的级分,得到17.4mg红色油状的所期望的实施例J(也称为化合物F562646),产率40%。LCMS(ESI):1338.41(MH+)。

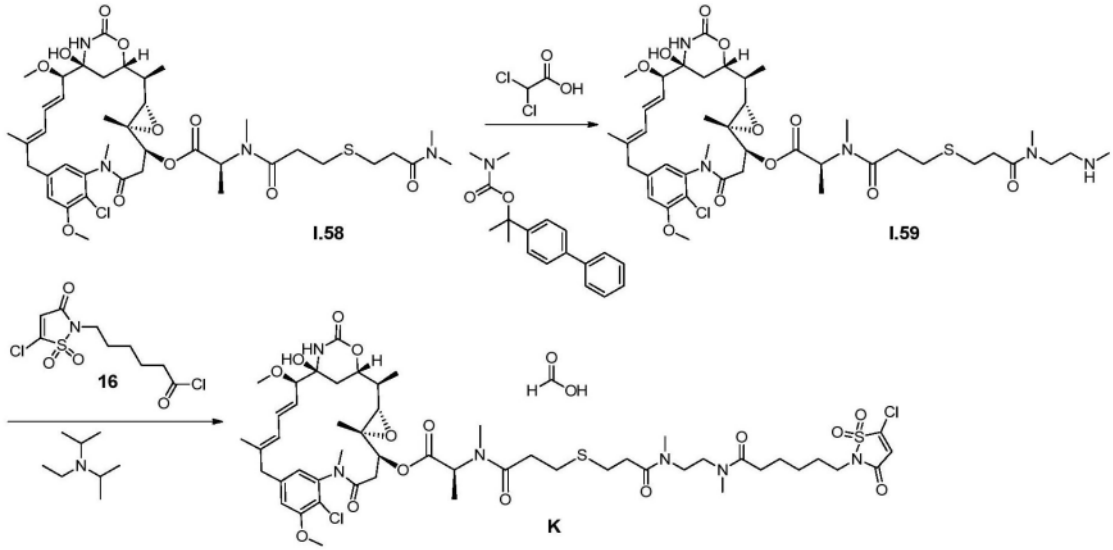
[0953] 该药物-连接子偶联物的质谱如图21所示。

[0954] 实施例K.

[0955] 

[0956] 实施例K根据如下合成路径合成：



[0957] 

[0958] 化合物I.56：

[0959] 在氩气下的烧瓶中加入起始原料SM1(100mg,0.135mmol)和DMF(1mL)。将混合物冷却至0℃,然后滴加入3-溴丙酸(22.79mg,0.149mmol)和2,3,4,6,7,8,9,10-八氢嘧啶并[1,2-a]氮杂环庚三烯(40.5μL,0.271mmol)在DMF(0.5mL)中的溶液。然后将混合物加温至室温并搅拌直至通过LCMS观察到完全转化。真空浓缩粗产物,并通过自动柱色谱法纯化(Interchim,12g,固体沉积):DCM/MeOH:80/20。真空浓缩所期望的馏分,得到108mg白色固体状的所期望的化合物I.56,产率98％。LCMS(ESI):811.35(MH+)。

[0960] 化合物I.57：

[0961] 在氩气下的烧瓶中加入化合物I.56(87.0mg,0.107mmol)和DCM(2mL)。然后,将混合物冷却至0℃,加入N-羟基琥珀酰亚胺(13.59mg,0.118mmol)和1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(30.9mg,0.161mmol)。将反应混合物加温至室温并搅拌2小时(LCMS检查)。将粗产物真空浓缩。粗物质无需进一步纯化即可用于下一步。

[0962] 化合物I.58:

[0963] 在氩气下的烧瓶中,加入化合物I.57(97mg,0.107mmol)和DCM(1mL),然后滴加入化合物I.49在1mL DCM中的溶液和N,N'-二异丙基乙胺(37.3μL,0.214mmol)。搅拌混合物直至通过LCMS观察到完全转化。将粗产物真空浓缩,无需进一步纯化即可用于下一步。

[0964] 化合物I.59:

[0965] 在氩气下的烧瓶中,加入化合物I.58(58mg,0.052mmol)和DCM(1mL)。将混合物冷却至0℃,然后滴加入二氯乙酸(86μL,1.037mmol)。然后将混合物加温至室温并搅拌直至通过LCMS观察到完全转化。真空浓缩粗产物,并通过自动柱色谱法纯化(Interchim,12g,固体沉积):DCM/MeOH:80/20。真空浓缩所期望的馏分,得到39mg白色固体状的所期望的化合物I.59,产率86%。LCMS(ESI):882.6(MH+)。

[0966] 实施例K.

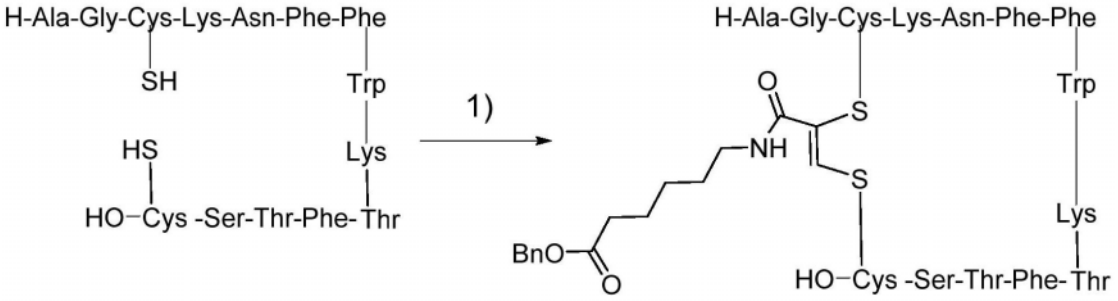
[0967] 在25℃,氩气下的烧瓶中,在二氯甲烷(1mL)中引入化合物I.59。将混合物冷却至0℃,并加入N-乙基-N-异丙基丙-2-胺(15.83μL,0.091mmol)。将混合物在0℃搅拌10分钟,然后加入在二氯甲烷(2mL)中稀释的实施例16。然后将混合物在0℃搅拌2小时(直至通过LCMS观察到完全转化)。将粗产物真空浓缩,并通过制备HPLC(HCOOH条件)纯化,得到6mg白色固体状的所期望的实施例K,产率22%。LCMS(ESI):1165.37(M+Na)$^+$。

[0968] 该药物-连接子偶联物的质谱和TOF-MS谱图分别示于图22A和图22B。

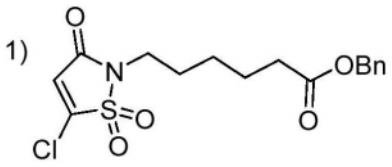
[0969] 3.与生长抑素的偶联

[0970] VI1.生长抑素与6-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯的反应

[0971]



化学式: $C_{92}H_{123}N_{19}O_{22}S_2$
准确质量: 1909.853



缓冲液 (NaH_2PO_4 20 mM, pH=8), 40% MeCN, 2,5% DMF), 37°C

[0972] 将1mg冻干的生长抑素($m_{准确}$=1636.72)溶于4mL缓冲液(57.5%NaH_2PO_4 20mM,pH 6.5,40%ACN,2.5%DMF)中,达到浓度为153μM(0.25mg/mL)。将33.5mg TCEP溶解在4mL缓冲液(57.5%NaH_2PO_4 20mM,pH 6.5,40%ACN,2.5%DMF)中。向300μL生长抑素溶液(1eq)中加

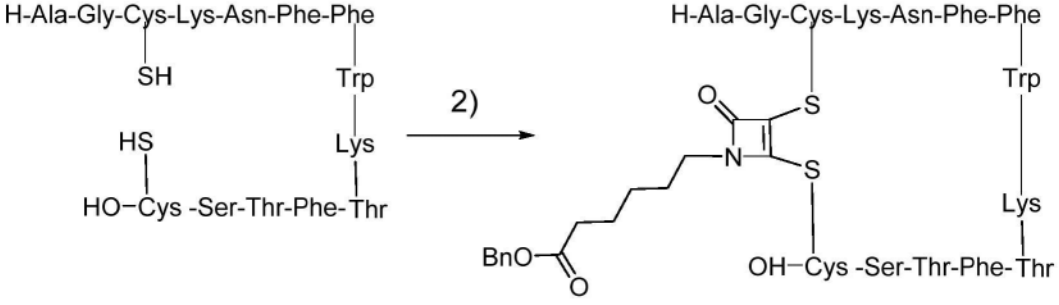
入3μL TCEP溶液(1.1eq)。将该溶液在37℃搅拌1小时。市售生长抑素:$R_{t,1}$(ACN中):1.57;MS ES+:$M^{+3}/3$=546.4,$M^{+2}/2$=819.2。二硫键还原的生长抑素:$R_{t,1}$(ACN中):1.50;MS ES+:$M^{+3}/3$=547.2,$M^{+2}/2$=820.3。将5mg的6-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯(I.6)溶于800μL ACN中。将3μL的6-(5-氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯(1.1eq)溶液加入生长抑素溶液中。将该溶液在37℃搅拌。$R_{t,1}$(ACN中):1.66;MS ES+:$M^{+3}/3$=637.6,$M^{+2}/2$=956.0。

[0973] 在pH 8的缓冲液(57.5%NaH_2PO_4 20mM,pH 8,40%ACN,2.5%DMF)中进行相同的反应。

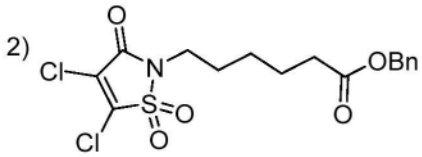
[0974] 所得偶联物的质谱如图10所示。

[0975] VI2.生长抑素与6-(4,5-二氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯的反应

[0976]



化学式: $C_{92}H_{121}N_{19}O_{22}S_2$
准确质量: 1907.837



缓冲液 (NaH_2PO_4 20 mM, pH=8), 40% MeCN, 2,5% DMF), 37°C

[0977] 将1mg冻干的生长抑素($m_{准确}$=1636.72)溶于4mL缓冲液(57.5%$NaH_2PO_4$20mM,pH 6.5,40%ACN,2.5%DMF)中,达到浓度为153μM(0.25mg/mL)。将33.5mg TCEP溶解在4mL缓冲液(57.5%NaH_2PO_4 20mM,pH 6.5,40%ACN,2.5%DMF)中。向300μL生长抑素溶液(1eq)中加入3μL TCEP溶液(1.1eq)。将该溶液在37℃搅拌1小时。市售生长抑素:$R_{t,1}$(ACN中):1.57;MS ES+:$M^{+3}/3$=546.4,$M^{+2}/2$=819.2。二硫键还原的生长抑素:$R_{t,1}$(ACN中):1.50;MS ES+:$M^{+3}/3$=547.2,$M^{+2}/2$=820.3。将5.4mg的6-(4,5-二氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯(I.7)溶于800μL ACN中。将3μL的6-(4,5-二氯-1,1-二氧化-3-氧代异噻唑-2(3H)-基)己酸苄酯(1.1eq.)溶液加入到生长抑素溶液中。将该溶液在37℃搅拌。$R_{t,1}$(ACN中):1.65;MS ES+:$M^{+3}/3$=637.3,$M^{+2}/2$=955.5。

[0978] 在pH 8的缓冲液(57.5%NaH_2PO_4 20mM,pH 8,40%ACN,2.5%DMF)中进行相同的反应。

[0979] 所得偶联物的质谱如图11所示。

[0980] 4.与单克隆抗体的偶联

[0981] 4.1.ADC的合成、纯化与表征

[0982] 如下描述的步骤适用于嵌合、人源化和人IgG1形式。必须理解的是,对于任何其他形式,例如IgG2、IgG4等,本领域技术人员将能够使用常识来适用该步骤。

[0983] Ab1抗体为抗-IGF1R IgG1单克隆抗体。该抗体对应于WO2015162291的抗体208F2(参见表3,第36页),其中三个轻链CDR具有序列SEQ ID Nos.9、5和11;三个重链CDR具有序列SEQ ID Nos.7、2和3;轻链可变结构域具有序列SEQ ID No.18;重链可变结构域具有序列SEQ ID No.13。

[0984] Ab2抗体为针对细菌蛋白的非相关嵌合(IgG1)抗体,所述细菌蛋白为大肠杆菌的外膜蛋白A,所述抗体称为c9G4(Haeuw J.F.和Beck A.Proteomics for development of immunotherapies,In Proteomics:Biomedical and Pharmaceutical Applications,Kluwer Academic Publishers,Hondermarck H.编辑,2014,243-278页;WO2015162291)。

[0985] 在37℃,在10mM硼酸盐缓冲液(pH 8.4,含有150mM NaCl和2mM EDTA)中,用TCEP盐酸盐将抗体(1-5mg/mL)部分还原2-4小时。通常,使用6-20摩尔当量的TCEP,以使目标DAR为4左右。在非还原条件下通过SDS-PAGE分析确认部分抗体的还原。然后用10mM硼酸盐缓冲液(pH 8.4,含有150mM NaCl,2mM EDTA,6%蔗糖)将抗体浓度调节至1mg/mL,并向抗体中加入5-20摩尔过量的药物-连接子偶联物(10mM DMSO溶液)。

[0986] 将根据本发明的药物-连接子偶联物的七个实施例偶联至Ab1:

[0987] -实施例A和实施例B分别给出ADC1-A和ADC1-B(不可裂解连接子);

[0988] -实施例C、实施例D、实施例E、实施例F和实施例G分别给出ADC1-C、ADC1-D、ADC1-E、ADC1-F和ADC1-G(可裂解连接子)。

[0989] 将DMSO终浓度调节至10%,以在偶联过程中保持药物在水性介质中的溶解度。反应在室温或37℃进行1-4小时。通过每摩尔药物加入2.5摩尔N-乙酰半胱氨酸并在室温孵育1小时淬灭过量的药物。

[0990] 在4℃用25mM His缓冲液(pH 6.5,含有150mM NaCl和6%蔗糖)过夜透析后,使用本领域技术人员已知的方法,使用市售色谱柱和超滤单元,对重新桥接的抗体-药物偶联物进行纯化。纯化的ADC在经过0.2μm过滤器无菌过滤后存储在4℃。

[0991] 在还原和非还原条件下,对其进行进一步SDS-PAGE分析以确认药物偶联,在TSK G3000 SWXL分析柱上进行SEC分析以确定单体含量和聚集形式。从SEC色谱图(图13)推导出聚集形式的含量低于5%,如表9所示。

[0992] 表9.聚集形式的含量

[0993]

Ab/ADC	单体%
Ab1	99.6
ADC1-A	99.0
ADC1-B	99.3
ADC1-C	98.1
ADC1-D	99.5
ADC1-E	99.4
ADC1-F	99.6
ADC1-G	95.2

[0994] SDS-PAGE分析证实了完全桥接的抗体H2L2的形成(图12)。但是也检测到了对应于部分桥接抗体的其他物种(H2L、H2和HL)。重要的是要注意,在运行前在还原条件下对样品加热处理以确保重链和轻链(H和L)完全解离(未通过完整的链间桥连接)时,这些物种才可

见。

[0995] 通过使用以IgG作为标准品的BCA测定法确定蛋白质浓度。使用TSK-丁基-NPR色谱柱通过HIC对每个纯化的ADC的DAR进行估算。其介于3.5和4.3之间(表10)。HIC曲线显示,对于大多数合成的ADC,未观察到DAR0,观察到DAR4的主峰。实际上,只有ADC1-C和E显示了痕量的DAR0。此外,对于ADC1-A、B、C和G,仅观察到DAR3、DAR4和DAR5。除ADC1-D外,主峰为DAR4。与第二代ADC相比,这些ADC的同质性更高,如表10所示。

[0996] 表10.使用TSK-丁基-NPR色谱柱通过HIC估算的DAR分布

[0997]

	DAR%								
	DAR 0	DAR 1	DAR 2	DAR 3	DAR 4	DAR 5	DAR 6	DAR 7	DAR 8
Adcetris	*6,0*	*1.34*	*25.2*	*3.7*	*32.9*	*0*	*22.5*	*1.5*	*6.9*
ADC1-A	0	0	0	0	64.9	35.1	0	0	0
ADC1-B	0	0	0	39.8	47.6	12.5	0	0	0
ADC1-C	0.6	1.0	0.8	8.2	63.1	26.3	0	0	0
ADC1-D	0	0	0	44.6	39.5	10.6	3.8	1.5	0
ADC1-E	2.1	4.5	4.0	11.9	56.3	21.1	0	0	0
ADC1-F	0	0.5	3.2	22.6	73.7	0	0	0	0
ADC1-G	0.1	0.4	2.6	18.6	68.1	10.2	0	0	0

[0998] 使用Adcetris®(本妥昔单抗维多丁(brentuximab vedotin))作为参照,因为其使用与抗体的半胱氨酸偶联的第二代马来酰亚胺连接子。其为第二代ADC的最佳代表性示例;本要求中描述的技术可以被认为是第三代。

[0999] 4.2.通过天然质谱分析ADC

[1000] 所有化学品均购自Sigma-Aldrich:乙酸铵(A1542)、碘化铯(21004)、2-丙醇(I9516)。IgGZERO(A0-IZ1-010)酶获自Genovis。使用超纯水系统(Sartorius,Göttingen,德国)制备水溶液。

[1001] 在进行天然MS实验之前,先将ADC1-A至ADC1-G去糖基化。其通过在37℃每微克ADC一单位IgGZERO孵育30分钟来进行。然后,使用微浓缩器(Vivaspin,10-kD临界值,Sartorius,Göttingen,德国)通过六次浓缩/稀释循环,将ADC与150mM乙酸铵溶液(pH 6.9)进行缓冲液交换。使用NanoDrop分光光度计(Thermo Fisher Scientific,法国)通过UV吸光度确定蛋白质浓度。ADC的非变性(天然)质谱分析在正离子模式下运行的Q-TOF(Synapt G2 HDMS,Waters,Manchester,UK)质谱仪上进行,均与基于芯片的自动纳米电喷雾装置(Triversa Nanomate,Advion,Ithaca,USA)相偶联。分析在m/z 1000-10000的范围内进行。将样品稀释于150mM NH_4OAc(pH 6.9)中,并以10μM注入。使用2g/L碘化铯在2-丙醇/水(50/50v/v)中的溶液产生的单电荷离子进行外部校准。

[1002] 纳米电喷雾的电压设定为1.75kV,氮气纳米流设定为0.75psi。锥体电压设置为180伏,背压设置为6mbar。

[1003] 图14展示了非去卷积质谱的示例。

[1004] 使用Mass Lynx 4.1(Waters,Manchester,UK)的MaxEnt™算法进行去卷积后,确定DAR分布(图15)。软件的参数针对每个谱图进行了优化。

[1005] 平均DAR值(图15)通过使用以下公式(其中j为最大载药量)计算。

[1006] $$DAR = \frac{\left(\sum_{i=0}^{j} i * \text{强度 D}i\right)}{\sum_{i=0}^{j} \text{强度 D}i}$$

[1007] 结果来源于原始谱图中每种电荷状态的相对峰强度,并示于下表11。

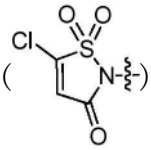
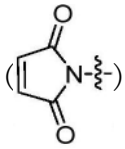
[1008] 表11.使用Mass Lynx 4.1的MaxEnt™算法计算的DAR分布

[1009]

ADC	DAR 分布 (%)									平均 DAR
	DAR0	DAR1	DAR2	DAR3	DAR4	DAR5	DAR6	DAR7	DAR8	
ADC1-A	0	0	0	0	64	36	0	0	0	4.4±0.1
ADC1-B	0	0	0	42	39	19	0	0	0	3.8±0.1
ADC1-D	0	0	0	47	40	13	0	0	0	3.7±0.1

[1010] 图16比较了两种不同ADC的DAR分布,其由质谱去卷积后的原始光谱确定,即:

[1011] -根据本发明的ADC1-C,其由Ab1抗体和药物-连接子偶联物C制备(图16B),和

[1012] -参照ADC Ref-A,其为对比ADC,由相同抗体(Ab1)和对应于药物-连接子偶联物C的药物-连接子偶联物合成,所述偶联物中的磺酰基马来酰亚胺部分()被马来酰亚胺部分()替代(图16A)。

[1013] 对于通过使用经典的马来酰亚胺化学方法将药物与抗体连接合成的ADC而言,观察到了从DAR 0到DAR 8的异质分布(图16A),而通过使用根据本发明的磺酰基马来酰亚胺化学方法生成的ADC高度均一,且其具有75%的DAR 4、无DAR 0/2和6/8物种(图16B)。这些结果总结在下表12中。

[1014] 表12.使用Mass Lynx 4.1的MaxEnt™算法计算的DAR分布

[1015]

ADC	DAR 分布 (%)									平均 DAR
	DAR0	DAR1	DAR2	DAR3	DAR4	DAR5	DAR6	DAR7	DAR8	
ADC Ref-A	6	4	29	0	33	0	18	0	10	3.8
ADC1-C	0	0	0	5	76	19	0	0	0	4.1

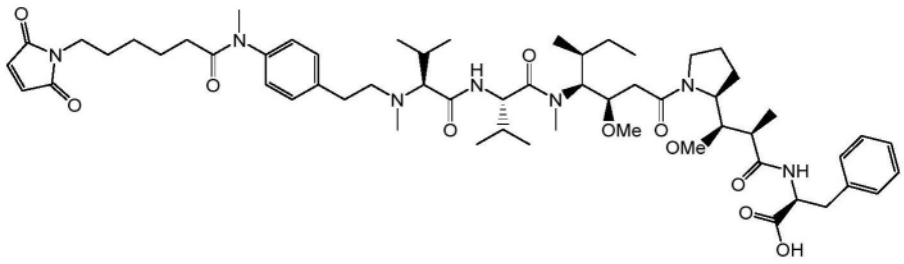
[1016] 4.3.使用配体结合测定法研究4种哺乳动物血清中ADC的体外稳定性

[1017] 为了证实稳定性的增加,进行了体外稳定性研究。其包括将ADC在37℃孵育14天。在第0、3、7和14天收集样品。然后通过LBA分析各样品(D0、D3、D7和D14),以确定总抗体浓度对比ADC浓度。实践中,每个ADC的溶液均以100μg/mL的浓度在4种血清(人、食蟹猴、小鼠和大鼠)中制备,并在37℃孵育最多14天。然后在D0、D3、D7和D14收集等分试样,并保存在-80℃直至使用。对于总的Ab和ADC定量,将板在室温摇动解冻,并平行地进行两个LBA测定。简而言之,使用50μL在PBS 1×中制备的2μg/mL抗His抗体溶液包被标准微量滴定板(MSD,

Gaithersburg,USA)。在4℃孵育过夜后,将测定板在37℃用封闭缓冲液(3％MSD封闭剂A(MSD,Gaithersburg,USA))处理1小时。然后在37℃加入在测定缓冲液中浓度为2.5μg/mL的重组His标记的抗原1小时。洗涤步骤后,将样品以1/5000°稀释度一式两份进行分析,并在37℃孵育1小时,同时将标准ADC一式两份加载到测定板上。使用1μg/mL的山羊抗人Igκ磺酰基-标签溶液检测总Ab,或用磺酰基标签标记的小鼠单克隆抗-药物抗体进行ADC检测,以完成检测步骤。在37℃孵育1小时后,使用150μL含表面活性剂的2×MSD-read T缓冲液(MSD,Gaithersburg,USA),紧接着使用MSD Sector Imager进行读数,以实现检测。

[1018] 在每个时间点确定总抗体和ADC的浓度,并转换为百分比,以100％作为每个时间点的总ADC或抗体的定量。

[1019] 3个ADC的数据如图17A、图17B和图17C所示:ADC1-C(图17B)和ADC1-E(图17C)与参照ADC Ref-B(图17A)的比较,其中ADC1-C和ADC1-E中药物已使用根据本发明的磺酰基马来酰亚胺化学方法与Ab1抗体连接(分别通过药物-连接子偶联物C或E进行连接),参照ADC Ref-B中药物已使用经典的马来酰亚胺化学方法与抗体连接。

[1020] 

[1021] 用于制备参照ADC Ref-B的药物-连接子部分

[1022] 作为比较物,选择了使用相同有效负载和不可裂解连接子的药物-连接子(ADC Ref-B的药物-连接子)。使用马来酰亚胺化学方法将其偶联至相同抗体。选择该比较物限制了参照ADC在血清中的“不稳定性”,所述不稳定性为ADC通过逆迈克尔反应从抗体上解偶联。与我们基于可裂解连接子的构建体相比,该比较物因此更加有利,其使我们的药物-连接子的稳定性提高更加可观。

[1023] 如所预期的,对于使用经典马来酰亚胺化学方法合成的ADC(ADC Ref-B),观察到ADC浓度的降低,而使用根据本发明的磺酰基马来酰亚胺化学方法生成的ADC(ADC1-C和ADC1-E)令人惊讶地在14天内更加稳定。

[1024] 4.4.ADC的体外细胞毒性

[1025] 评估了根据本发明的ADC的体外细胞毒性。为了评估非特异性细胞毒性,还在相同的DAR下,使用相同的药物-连接子偶联物,将化合物与不相关的嵌合抗体(Ab2,称为c9G4)偶联,以得到ADC2-C(实施例C)、ADC2-E(实施例E)和ADC2-F(实施例F)。

[1026] 将MCF-7和NCI-H2122细胞接种于96孔板(每孔2500个细胞)中的完全生长培养基中。第二天,将待测ADC的系列稀释液添加到相应的孔中,并在37℃孵育6天。加入ADC六天后,对板进行Cell Titer Glo测定(PROMEGA),以检查细胞的生存率。

[1027] 获得的结果以生存率百分比表示,示于图18A和图18B中。如所预期的,用不相关的抗体合成的ADC对MCF-7和NCI-H2122细胞没有或仅有较小的细胞毒活性。相反,本发明的ADC:ADC1-C、ADC1-E和ADC1-F大大降低了细胞生存率。在NCI-H2122上获得的ADC1-C、ADC1-E和ADC1-F的EC_{50}值分别为7,61.10^{-11}、7,16.10^{-11}和3,64.10^{-11}M,在MCF7上获得的ADC1-C、

ADC1-E和ADC1-F的EC_{50}值分别为1,04.10^{-11}、1,33.10^{-11}和7,39.10^{-11}M,表明有力的细胞毒活性。

[1028] 4.5.体内

[1029] 所有实验方案均已由皮埃尔法布雷的机构动物护理和使用委员会(Pierre Fabre's Institutional Animal Care and use Committee)批准。

[1030] 对于卵巢癌模型,将7周大的雌性SCID小鼠(Charles RIVER Laboratories)皮下植入10.10^6个CaoV3细胞(每组6只动物)。

[1031] 治疗为通过静脉给予根据本发明的ADC1-C、参照ADC Ref-A或ADC载体,开始于肿瘤达到约150mm^3时。动物经一次注射(Q1d1)或3次注射(每周一次)(Q7d3)处理。在第一次注射后约25天内,每周至少两次通过电子卡尺测量肿瘤体积(长×宽×高×0.52)。结果示于图19(Q1d1处理的动物)和图20(Q7d3处理的动物)。

[1032] 从图19和图20可以看出,即使在单次注射之后,根据本发明的ADC也具有巨大的功效,使肿瘤完全消退。

[1033] 5.PNU-159682衍生物与单克隆抗体偶联

[1034] 5.1.ADC的合成、纯化与表征

[1035] 在先前实施例4中所述的条件下,将两种PNU-159682衍生物,即F562524(实施例J)和F562646(实施例H)与抗体208F2(Ab1)和c9G4(Ab2)偶联。208F2(Ab1)和c9G4(Ab2)如实施例4中所公开。简而言之,在37℃,在10mM硼酸盐缓冲液(pH 8.4,含有150mM NaCl和2mM EDTA)中,用6-20当量的TCEP盐酸盐将抗体(1-5mg/mL)部分还原2-4小时。然后用10mM硼酸盐缓冲液(pH 8.4,含有150mM NaCl,2mM EDTA,6%蔗糖)将抗体浓度调节至1mg/mL,并加入相对于抗体5-20摩尔过量的药物-连接子偶联物(DMSO溶液,10mM)。反应在室温或37℃,在10%DMSO存在下进行1-4小时。通过每摩尔药物添加2.5摩尔N-乙酰半胱氨酸,并在室温孵育1小时淬灭过量的药物。在4℃,用25mM His缓冲液(pH 6.5,含有150mM NaCl和6%蔗糖)透析过夜后,通过色谱法或超滤法纯化ADC。通过使用以IgG作为标准品的BCA测定法确定ADC浓度,并且在0.2μm滤膜上无菌过滤后将纯化的ADC储存在4℃。

[1036] 如先前实施例4中所述,通过SDS-PAGE和SEC(TSK G3000 SWXL柱)进一步分析ADC,以确认药物偶联和再桥接,并确定单体和聚集体的含量。单体含量约为95%(图23和表13)。

[1037] 表13.单体含量

[1038]

ADC	单体%
Ab1(208F2)	99.8
Ab1-F562524(208F2-F562524)	94.1
Ab1-F562646(208F2-F562646)	94.8
Ab2(c9G4)	99.7
Ab2-F562524(c9G4-F562524)	94.4
Ab2-F562646(c9G4-F562646)	94.7

[1039] 5.2.通过天然LC-MS进行ADC分析

[1040] 在与Synapt G2Si质谱仪(Waters)偶联的UPLC Acquity H Class Bio系统中,通过天然液相色谱-质谱法分析ADC。在2个串联的聚羟乙基A色谱柱(Poly-LC,150×1mm,300A,5μm)上进行LC分离。用洗脱缓冲液(150mM乙酸铵)将样品稀释至0.2mg/mL。进样4μg样

品,并以40μL/分钟的流速洗脱。质谱仪以正模式运行,毛细管电压为2.9kV。样品锥设置为150V。在m/z 1000-8000的范围内进行分析,扫描时间为1秒。去卷积之前的m/z谱示于图24。在MS谱去卷积后,使用Mass Lynx软件(Waters)的MaxEnt™算法确定DAR分布(图25)。平均DAR值通过以下公式计算(其中j为最大载药量):

[1041] $$DAR = \frac{\left(\sum_{i=0}^{j} i * \text{强度 D}i\right)}{\sum_{i=0}^{j} \text{强度 D}i}$$

[1042] 结果示于下表14中。

[1043] 表14.通过天然LC-MS分析进行ADC分析:DAR分布及平均DAR

[1044]

ADC	DAR 分布 (%)									平均 DAR
	DAR0	DAR1	DAR2	DAR3	DAR4	DAR5	DAR6	DAR7	DAR8	

[1045]

hz208F2-F562524	0	0	0	11	68	21	0	0	0	4.1
hz208F2-F562646	0	0	0	0	79	21	0	0	0	4.2
c9G4-F562524	0	0	0	11	67	23	0	0	0	4.1
c9G4-F562646	0	0	0	0	82	18	0	0	0	4.2

[1046] 5.3.体外稳定性

[1047] 将200μg/mL食蟹猴血清中的ADC hz208F2-F562524在37℃孵育14天。在第0、3、7和14天收集样品,并保存在-80℃直至LC-MS分析以确定平均DAR。

[1048] 在进行LC-MS分析之前,使用包被Capture Select抗人IgG-生物素偶联物(Life Technologies,8μg抗体/200μL珠子)的链霉亲和素磁珠(M-280,Invitrogen)对样品进行免疫纯化。将样品与抗IgG包被的珠子在室温孵育2小时(100μL样品/200μL珠子),然后用40μL的0.4%三氟乙酸进行酸性洗脱。加入4μL的3M Tris/HCL溶液(pH 8.8)以提高pH值。在如上所述在天然条件下进行LC-MS分析之前,将免疫纯化的样品与2μL的IgGZero在37℃孵育30分钟。在MS谱去卷积后,使用Mass Lynx软件(Waters)的MaxEnt™算法确定DAR分布,并使用以下公式计算平均DAR值(其中j为最大载药量):

[1049] $$DAR = \frac{\left(\sum_{i=0}^{j} i * \text{强度 D}i\right)}{\sum_{i=0}^{j} \text{强度 D}i}$$

[1050] 结果示于下表15中。ADC hz208F2-F562524在食蟹猴血清中体外孵育后长达14天后高度稳定。

[1051] 表15.hz208F2-F562524的体外稳定性研究:DAR分布及平均DAR

[1052]

天数	DAR 分布 (%)									平均 DAR
	DAR0	DAR1	DAR2	DAR3	DAR4	DAR5	DAR6	DAR7	DAR8	
0	0	0	0	18	57	25	0	0	0	4.1
3	0	0	0	19	54	27	0	0	0	4.1
7	0	0	0	18	50	32	0	0	0	4.1
10	0	0	0	19	54	28	0	0	0	4.1

[1053] 5.4.体外细胞毒性

[1054] 在MCF-7和NCI-H2122细胞中评估了ADC的细胞毒性。将细胞接种于96孔板上(每孔2500个细胞)的完全生长培养基中。第二天,将待测的ADC的系列稀释液添加到相应的孔中,并在37℃孵育6天。细胞生存率通过使用cell Titer Glo试剂盒(Promega)测量ATP来确定。使用Mithras读板器(Berthold公司)对发光进行读数。获得的结果以生存率百分比表示,示于图26和图27。以未处理的孔中的生存率为100%。

[1055] 如所预期的,ADC hz208F2-F562524和hz208F2-F562646大大降低了细胞生存率。在NCI-H2122细胞上确定的hz208F2-F562524和hz208F2-F562646的EC_{50}值分别为$2.48.10^{-11}$和$1.92.10^{-12}$M,在MCF-7细胞上获得的hz208F2-F562524和hz208F2-F562646的EC_{50}值分别为$5.86.10^{-12}$和$9.45.10^{-13}$M,表明有力的细胞毒活性。相反,用不相关抗体合成的相应ADC对MCF-7和NCI-H2122细胞均显示出较小的细胞毒活性。

[1056] 5.5.体内抗肿瘤活性

[1057] 将7周大的雌性SCID小鼠(Charles River Laboratories)皮下植入10.10^{6}个Caov3细胞(每组6只动物)。通过静脉给予(Q7d2)ADC hz208F2-F562524(0.3mg/kg)、相应的对照ADC c9G4-F562524(0.3mg/kg)或载体进行处理,开始于肿瘤达到约150mm^3时。在第一次注射后约50天内,每周两次用电子卡尺测量肿瘤体积(长×宽×高×0.52)。结果示于图28。两次注射ADC hz208F2-F562524后,可以观察到肿瘤完全消退,而对照ADC或载体则未观察到抗肿瘤作用。

[1058] 5.6.结论

[1059] 通过使用磺酰基马来酰亚胺连接子技术由PNU-159682衍生物合成的ADC具有高度均质性,并且在血清中稳定。在不同的体外和体内模型中证明了其功效。

[1060] 6.总体结论

[1061] 总之,与用于市售化合物(例如Adcetris)的常规的基于马来酰亚胺的连接子相比,本发明中描述的基于磺酰基马来酰亚胺的连接子技术在不同物种的血浆中具有更好的稳定性,并且在体外模型中具有更好的功效。这些性质已转化为不同细胞系的体内功效的明显改善,尤其是对于抗原表达较低的细胞系(CAOV3)。

[1062] 还预期有更好的耐受性,因为根据本发明的ADC在循环中更稳定,这与人类治疗中改善的功效和安全界限相关联。

序列表

<110> 皮埃尔法布雷医药公司

<120> 基于磺酰基马来酰亚胺的连接子和相应的偶联物

<130> B376705PCTD37611

<150> B73896EPD37611
<151> 2018-09-27

<160> 81

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 共有 CDR-H1

<220>
[1063] <221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> Thr 可以替换为 Ser

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> Tyr 可以替换为 Phe

<400> 1

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr
1 5

<210> 2
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 共有 CDR-H2

<400> 2

Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr

1 5

<210> 3
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 共有 CDR-H3

<400> 3

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 4
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 共有 CDR-L1

[1064]

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> Ser 可以替换为 Asn

<400> 4

Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
1 5

<210> 5
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 共有 CDR-L2

<400> 5

Tyr Thr Ser
1

<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 共有 CDR-L3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> Thr 可以替换为 Ala

<400> 6

Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr Thr
1 5

<210> 7
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

[1065] <220>
<223> CDR-H1

<400> 7

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr
1 5

<210> 8
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CDR-H1

<400> 8

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Phe
1 5

<210> 9
<211> 6
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> CDR-L1

<400> 9

Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
1 5

<210> 10
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CDR-L1

<400> 10

Gln Asp Ile Asn Lys Tyr
1 5

[1066]
<210> 11
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CDR-L3

<400> 11

Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr Thr
1 5

<210> 12
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CDR-L3

<400> 12

Gln Gln Gly Ser Ala Leu Pro Tyr Thr
1 5

<210> 13
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c208F2，重链，VH

<400> 13

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Ile Tyr Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

[1067]

Lys Asp Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Phe Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 14
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c212A11，重链，VH

<400> 14

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Phe Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

[1068]

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 15
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c214F8，重链，VH

<400> 15

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ser Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

```
Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Arg Phe
    50                  55                  60

Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

Met Phe Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
                85                  90                  95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

[1069]

<210> 16
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c219D6，重链，VH

<400> 16

```
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Asp
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30

Phe Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
    50                  55                  60
```

Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Phe Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 17
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c213B10，重链，VH

[1070]

<400> 17

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ser Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Arg Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Phe Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 18
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c208F2，轻链，VL

<400> 18

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

[1071]

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Gln Pro Asp Gly Thr Ile Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Val Glu Gln
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 19
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c212A11，轻链，VL

<400> 19

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Asn Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Gln Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80

[1072]

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 20
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c214F8，轻链，VL

<400> 20

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Gln Pro Asp Gly Thr Ile Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Thr Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Ala Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 21
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

[1073] <220>
<223> c219D6，轻链，VL

<400> 21

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Gln Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 22
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c213B10，轻链，VL

<400> 22

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

[1074] Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Gln Pro Asp Gly Thr Ile Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Thr Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Ala Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 23
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> c208F2，重链，全长

<400> 23

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Ile Tyr Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

[1075] Met Phe Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

```
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
    210                 215                 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285
```

[1076]

```
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400
```

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 24
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c212A11，重链，全长

[1077]

<400> 24

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Phe Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

```
Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
    130                 135                 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190
```

[1078]

```
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
    210                 215                 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300
```

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

[1079] Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 25
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c214F8，重链，全长

<400> 25

```
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ser Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1               5                  10                  15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Arg Phe
    50                  55                  60

Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

Met Phe Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
                85                  90                  95
```

[1080]

```
Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
    130                 135                 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205
```

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

[1081] Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp

405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 26
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c219D6，重链，全长

<400> 26

[1082] Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Asp
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Phe Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Phe Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

[1083] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

[1084]

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 27
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c213B10，重链，全长

<400> 27

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ser Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Arg Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Phe Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

[1085] Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
[1086] 305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 28
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c208F2，轻链，全长

<400> 28

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

[1087]

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Gln Pro Asp Gly Thr Ile Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Val Glu Gln
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

[1088]

<210> 29
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c212A11，轻链，全长

<400> 29

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Asn Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Gln Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

```
Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65                  70                  75                  80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160
```

[1089]

```
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 30
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c214F8，轻链，全长

<400> 30

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1               5                  10                  15

Asp Arg Val Thr Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
            20                  25                  30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Gln Pro Asp Gly Thr Ile Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Thr Asn Leu Glu Gln
65                  70                  75                  80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Ala Leu Pro Tyr
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205
```

[1090]

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 31
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c219D6，轻链，全长

<400> 31

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Gln Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45

[1091]

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

[1092]

<210> 32
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c213B10，轻链，全长

<400> 32

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Gln Pro Asp Gly Thr Ile Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Thr Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Ala Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
[1093] 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 33
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2（变体1），重链，VH

<400> 33

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ile Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

[1094]

<210> 34
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2（变体3），VH

<400> 34

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Ile Tyr Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Phe Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 35
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2（变体1），VL

[1095]

<400> 35

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 36
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2（变体3），VL

<400> 36

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

[1096]

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 37
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2（变体1），重链，全长

<400> 37

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ile Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

[1097]

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
[1098] 290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 38
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2（变体3），重链，全长

<400> 38

[1099]

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Ile Tyr Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Phe Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
[1100] 195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
[1101] 405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 39
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2（变体1），轻链，全长

<400> 39

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

```
1               5                  10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
            20                  25                  30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Tyr Thr Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205
```

[1102]

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 40
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2（变体3），轻链，全长

<400> 40

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

[1103]

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 41
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
[1104] <223> hz208F2（变体2），重链，VH

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (20)..(20)
<223> Met可以替换为Val

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (34)..(34)
<223> Ile可以替换为Met

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (35)..(35)
<223> Tyr可以替换为His

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (38)..(38)
<223> Lys可以替换为Arg

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (48)..(48)

<223> Leu 可以替换为 Met

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (50)..(50)
<223> Trp 可以替换为 Ile

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (59)..(59)
<223> Lys 可以替换为 Ser

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (61)..(61)
<223> Asn 可以替换为 Ala

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (62)..(62)
<223> Glu 可以替换为 Gln

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (70)..(70)
[1105] <223> Leu 可以替换为 Met

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (72)..(72)
<223> Ala 可以替换为 Arg

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (74)..(74)
<223> Lys 可以替换为 Thr

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (76)..(76)
<223> Ser 可以替换为 Thr

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (77)..(77)
<223> Asn 可以替换为 Ser

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (79)..(79)
<223> Ala 可以替换为 Val

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (82)..(82)
<223> Phe 可以替换为 Glu

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (95)..(95)
<223> Phe 可以替换为 Tyr

<400> 41

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Ile Tyr Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

[1106] Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Phe Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 42
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> hz208F2（变体 2），轻链，VL

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (22)..(22)
<223> Ser 可以替换为 Thr

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (53)..(53)
<223> Arg 可以替换为 Ser

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (55)..(55)
<223> His 可以替换为 Gln

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (65)..(65)
<223> Arg 可以替换为 Ser

<220>
<221> MISC_FEATURE
[1107] <222> (71)..(71)
<223> Tyr 可以替换为 Phe

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (72)..(72)
<223> Ser 可以替换为 Thr

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (77)..(77)
<223> Asn 可以替换为 Ser

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (87)..(87)
<223> Phe 可以替换为 Tyr

<400> 42

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                  10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
            20                  25                  30
```

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

[1108]

<210> 43
<211> 329
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 恒定结构域 (VH) IgG1

<400> 43

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

[1109]

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 44
<211> 326
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 恒定结构域 (VH) IgG4 (S228P)

<400> 44

[1110]

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

[1111] Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly
325

<210> 45
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> kappa 结构域 (VL)

<400> 45

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

[1112]

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 46
<211> 98
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人种系 IGHV1-46*01

<400> 46

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

[1113]

Ala Arg

<210> 47
<211> 95
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人种系 IGKV1-39*01

<400> 47

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro
85 90 95

<210> 48
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人种系 IGHJ4*01

<400> 48

Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10 15

[1114]

<210> 49
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人种系 IGKJ4*01

<400> 49

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 50
<211> 1367
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IGF-1R（人）

<400> 50

```
Met Lys Ser Gly Ser Gly Gly Gly Ser Pro Thr Ser Leu Trp Gly Leu
1               5                  10                  15

Leu Phe Leu Ser Ala Ala Leu Ser Leu Trp Pro Thr Ser Gly Glu Ile
            20                  25                  30

Cys Gly Pro Gly Ile Asp Ile Arg Asn Asp Tyr Gln Gln Leu Lys Arg
        35                  40                  45

Leu Glu Asn Cys Thr Val Ile Glu Gly Tyr Leu His Ile Leu Leu Ile
    50                  55                  60

Ser Lys Ala Glu Asp Tyr Arg Ser Tyr Arg Phe Pro Lys Leu Thr Val
65                  70                  75                  80

Ile Thr Glu Tyr Leu Leu Leu Phe Arg Val Ala Gly Leu Glu Ser Leu
                85                  90                  95

Gly Asp Leu Phe Pro Asn Leu Thr Val Ile Arg Gly Trp Lys Leu Phe
            100                 105                 110

Tyr Asn Tyr Ala Leu Val Ile Phe Glu Met Thr Asn Leu Lys Asp Ile
        115                 120                 125

Gly Leu Tyr Asn Leu Arg Asn Ile Thr Arg Gly Ala Ile Arg Ile Glu
    130                 135                 140

Lys Asn Ala Asp Leu Cys Tyr Leu Ser Thr Val Asp Trp Ser Leu Ile
145                 150                 155                 160

Leu Asp Ala Val Ser Asn Asn Tyr Ile Val Gly Asn Lys Pro Pro Lys
                165                 170                 175

Glu Cys Gly Asp Leu Cys Pro Gly Thr Met Glu Glu Lys Pro Met Cys
            180                 185                 190

Glu Lys Thr Thr Ile Asn Asn Glu Tyr Asn Tyr Arg Cys Trp Thr Thr
        195                 200                 205
```

[1115]

```
Asn Arg Cys Gln Lys Met Cys Pro Ser Thr Cys Gly Lys Arg Ala Cys
    210                 215                 220

Thr Glu Asn Asn Glu Cys Cys His Pro Glu Cys Leu Gly Ser Cys Ser
225                 230                 235                 240

Ala Pro Asp Asn Asp Thr Ala Cys Val Ala Cys Arg His Tyr Tyr Tyr
                245                 250                 255

Ala Gly Val Cys Val Pro Ala Cys Pro Pro Asn Thr Tyr Arg Phe Glu
            260                 265                 270

Gly Trp Arg Cys Val Asp Arg Asp Phe Cys Ala Asn Ile Leu Ser Ala
        275                 280                 285

Glu Ser Ser Asp Ser Glu Gly Phe Val Ile His Asp Gly Glu Cys Met
    290                 295                 300
```

[1116]

```
Gln Glu Cys Pro Ser Gly Phe Ile Arg Asn Gly Ser Gln Ser Met Tyr
305                 310                 315                 320

Cys Ile Pro Cys Glu Gly Pro Cys Pro Lys Val Cys Glu Glu Glu Lys
                325                 330                 335

Lys Thr Lys Thr Ile Asp Ser Val Thr Ser Ala Gln Met Leu Gln Gly
            340                 345                 350

Cys Thr Ile Phe Lys Gly Asn Leu Leu Ile Asn Ile Arg Arg Gly Asn
        355                 360                 365

Asn Ile Ala Ser Glu Leu Glu Asn Phe Met Gly Leu Ile Glu Val Val
    370                 375                 380

Thr Gly Tyr Val Lys Ile Arg His Ser His Ala Leu Val Ser Leu Ser
385                 390                 395                 400

Phe Leu Lys Asn Leu Arg Leu Ile Leu Gly Glu Glu Gln Leu Glu Gly
```

405 410 415

Asn Tyr Ser Phe Tyr Val Leu Asp Asn Gln Asn Leu Gln Gln Leu Trp
420 425 430

Asp Trp Asp His Arg Asn Leu Thr Ile Lys Ala Gly Lys Met Tyr Phe
435 440 445

Ala Phe Asn Pro Lys Leu Cys Val Ser Glu Ile Tyr Arg Met Glu Glu
450 455 460

Val Thr Gly Thr Lys Gly Arg Gln Ser Lys Gly Asp Ile Asn Thr Arg
465 470 475 480

Asn Asn Gly Glu Arg Ala Ser Cys Glu Ser Asp Val Leu His Phe Thr
485 490 495

Ser Thr Thr Thr Ser Lys Asn Arg Ile Ile Ile Thr Trp His Arg Tyr
[1117] 500 505 510

Arg Pro Pro Asp Tyr Arg Asp Leu Ile Ser Phe Thr Val Tyr Tyr Lys
515 520 525

Glu Ala Pro Phe Lys Asn Val Thr Glu Tyr Asp Gly Gln Asp Ala Cys
530 535 540

Gly Ser Asn Ser Trp Asn Met Val Asp Val Asp Leu Pro Pro Asn Lys
545 550 555 560

Asp Val Glu Pro Gly Ile Leu Leu His Gly Leu Lys Pro Trp Thr Gln
565 570 575

Tyr Ala Val Tyr Val Lys Ala Val Thr Leu Thr Met Val Glu Asn Asp
580 585 590

His Ile Arg Gly Ala Lys Ser Glu Ile Leu Tyr Ile Arg Thr Asn Ala
595 600 605

Ser Val Pro Ser Ile Pro Leu Asp Val Leu Ser Ala Ser Asn Ser Ser
610 615 620

Ser Gln Leu Ile Val Lys Trp Asn Pro Pro Ser Leu Pro Asn Gly Asn
625 630 635 640

Leu Ser Tyr Tyr Ile Val Arg Trp Gln Arg Gln Pro Gln Asp Gly Tyr
645 650 655

Leu Tyr Arg His Asn Tyr Cys Ser Lys Asp Lys Ile Pro Ile Arg Lys
660 665 670

Tyr Ala Asp Gly Thr Ile Asp Ile Glu Glu Val Thr Glu Asn Pro Lys
675 680 685

Thr Glu Val Cys Gly Gly Glu Lys Gly Pro Cys Cys Ala Cys Pro Lys
690 695 700

[1118]
Thr Glu Ala Glu Lys Gln Ala Glu Lys Glu Glu Ala Glu Tyr Arg Lys
705 710 715 720

Val Phe Glu Asn Phe Leu His Asn Ser Ile Phe Val Pro Arg Pro Glu
725 730 735

Arg Lys Arg Arg Asp Val Met Gln Val Ala Asn Thr Thr Met Ser Ser
740 745 750

Arg Ser Arg Asn Thr Thr Ala Ala Asp Thr Tyr Asn Ile Thr Asp Pro
755 760 765

Glu Glu Leu Glu Thr Glu Tyr Pro Phe Phe Glu Ser Arg Val Asp Asn
770 775 780

Lys Glu Arg Thr Val Ile Ser Asn Leu Arg Pro Phe Thr Leu Tyr Arg
785 790 795 800

Ile Asp Ile His Ser Cys Asn His Glu Ala Glu Lys Leu Gly Cys Ser
805 810 815

```
Ala Ser Asn Phe Val Phe Ala Arg Thr Met Pro Ala Glu Gly Ala Asp
            820                 825                 830

Asp Ile Pro Gly Pro Val Thr Trp Glu Pro Arg Pro Glu Asn Ser Ile
        835                 840                 845

Phe Leu Lys Trp Pro Glu Pro Glu Asn Pro Asn Gly Leu Ile Leu Met
    850                 855                 860

Tyr Glu Ile Lys Tyr Gly Ser Gln Val Glu Asp Gln Arg Glu Cys Val
865                 870                 875                 880

Ser Arg Gln Glu Tyr Arg Lys Tyr Gly Gly Ala Lys Leu Asn Arg Leu
                885                 890                 895

Asn Pro Gly Asn Tyr Thr Ala Arg Ile Gln Ala Thr Ser Leu Ser Gly
            900                 905                 910
```

[1119]

```
Asn Gly Ser Trp Thr Asp Pro Val Phe Phe Tyr Val Gln Ala Lys Thr
        915                 920                 925

Gly Tyr Glu Asn Phe Ile His Leu Ile Ile Ala Leu Pro Val Ala Val
    930                 935                 940

Leu Leu Ile Val Gly Gly Leu Val Ile Met Leu Tyr Val Phe His Arg
945                 950                 955                 960

Lys Arg Asn Asn Ser Arg Leu Gly Asn Gly Val Leu Tyr Ala Ser Val
                965                 970                 975

Asn Pro Glu Tyr Phe Ser Ala Ala Asp Val Tyr Val Pro Asp Glu Trp
            980                 985                 990

Glu Val Ala Arg Glu Lys Ile Thr  Met Ser Arg Glu Leu  Gly Gln Gly
        995                 1000                1005

Ser Phe  Gly Met Val Tyr Glu  Gly Val Ala Lys Gly  Val Val Lys
    1010                1015                1020
```

Asp Glu Pro Glu Thr Arg Val Ala Ile Lys Thr Val Asn Glu Ala
1025 1030 1035

Ala Ser Met Arg Glu Arg Ile Glu Phe Leu Asn Glu Ala Ser Val
1040 1045 1050

Met Lys Glu Phe Asn Cys His His Val Val Arg Leu Leu Gly Val
1055 1060 1065

Val Ser Gln Gly Gln Pro Thr Leu Val Ile Met Glu Leu Met Thr
1070 1075 1080

Arg Gly Asp Leu Lys Ser Tyr Leu Arg Ser Leu Arg Pro Glu Met
1085 1090 1095

Glu Asn Asn Pro Val Leu Ala Pro Pro Ser Leu Ser Lys Met Ile
1100 1105 1110

[1120] Gln Met Ala Gly Glu Ile Ala Asp Gly Met Ala Tyr Leu Asn Ala
1115 1120 1125

Asn Lys Phe Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Cys Met Val
1130 1135 1140

Ala Glu Asp Phe Thr Val Lys Ile Gly Asp Phe Gly Met Thr Arg
1145 1150 1155

Asp Ile Tyr Glu Thr Asp Tyr Tyr Arg Lys Gly Gly Lys Gly Leu
1160 1165 1170

Leu Pro Val Arg Trp Met Ser Pro Glu Ser Leu Lys Asp Gly Val
1175 1180 1185

Phe Thr Thr Tyr Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Val Leu Trp
1190 1195 1200

Glu Ile Ala Thr Leu Ala Glu Gln Pro Tyr Gln Gly Leu Ser Asn

1205 1210 1215

Glu Gln Val Leu Arg Phe Val Met Glu Gly Gly Leu Leu Asp Lys
1220 1225 1230

Pro Asp Asn Cys Pro Asp Met Leu Phe Glu Leu Met Arg Met Cys
1235 1240 1245

Trp Gln Tyr Asn Pro Lys Met Arg Pro Ser Phe Leu Glu Ile Ile
1250 1255 1260

Ser Ser Ile Lys Glu Glu Met Glu Pro Gly Phe Arg Glu Val Ser
1265 1270 1275

Phe Tyr Tyr Ser Glu Glu Asn Lys Leu Pro Glu Pro Glu Glu Leu
1280 1285 1290

Asp Leu Glu Pro Glu Asn Met Glu Ser Val Pro Leu Asp Pro Ser
1295 1300 1305

[1121]

Ala Ser Ser Ser Ser Leu Pro Leu Pro Asp Arg His Ser Gly His
1310 1315 1320

Lys Ala Glu Asn Gly Pro Gly Pro Gly Val Leu Val Leu Arg Ala
1325 1330 1335

Ser Phe Asp Glu Arg Gln Pro Tyr Ala His Met Asn Gly Gly Arg
1340 1345 1350

Lys Asn Glu Arg Ala Leu Pro Leu Pro Gln Ser Ser Thr Cys
1355 1360 1365

<210> 51
<211> 932
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IGF-1R ECD（人）

<400> 51

Met Lys Ser Gly Ser Gly Gly Gly Ser Pro Thr Ser Leu Trp Gly Leu
1 5 10 15

Leu Phe Leu Ser Ala Ala Leu Ser Leu Trp Pro Thr Ser Gly Glu Ile
20 25 30

Cys Gly Pro Gly Ile Asp Ile Arg Asn Asp Tyr Gln Gln Leu Lys Arg
35 40 45

Leu Glu Asn Cys Thr Val Ile Glu Gly Tyr Leu His Ile Leu Leu Ile
50 55 60

Ser Lys Ala Glu Asp Tyr Arg Ser Tyr Arg Phe Pro Lys Leu Thr Val
65 70 75 80

Ile Thr Glu Tyr Leu Leu Leu Phe Arg Val Ala Gly Leu Glu Ser Leu
85 90 95

[1122]

Gly Asp Leu Phe Pro Asn Leu Thr Val Ile Arg Gly Trp Lys Leu Phe
100 105 110

Tyr Asn Tyr Ala Leu Val Ile Phe Glu Met Thr Asn Leu Lys Asp Ile
115 120 125

Gly Leu Tyr Asn Leu Arg Asn Ile Thr Arg Gly Ala Ile Arg Ile Glu
130 135 140

Lys Asn Ala Asp Leu Cys Tyr Leu Ser Thr Val Asp Trp Ser Leu Ile
145 150 155 160

Leu Asp Ala Val Ser Asn Asn Tyr Ile Val Gly Asn Lys Pro Pro Lys
165 170 175

Glu Cys Gly Asp Leu Cys Pro Gly Thr Met Glu Glu Lys Pro Met Cys
180 185 190

Glu Lys Thr Thr Ile Asn Asn Glu Tyr Asn Tyr Arg Cys Trp Thr Thr

195 200 205

Asn Arg Cys Gln Lys Met Cys Pro Ser Thr Cys Gly Lys Arg Ala Cys
210 215 220

Thr Glu Asn Asn Glu Cys Cys His Pro Glu Cys Leu Gly Ser Cys Ser
225 230 235 240

Ala Pro Asp Asn Asp Thr Ala Cys Val Ala Cys Arg His Tyr Tyr Tyr
245 250 255

Ala Gly Val Cys Val Pro Ala Cys Pro Pro Asn Thr Tyr Arg Phe Glu
260 265 270

Gly Trp Arg Cys Val Asp Arg Asp Phe Cys Ala Asn Ile Leu Ser Ala
275 280 285

Glu Ser Ser Asp Ser Glu Gly Phe Val Ile His Asp Gly Glu Cys Met
[1123] 290 295 300

Gln Glu Cys Pro Ser Gly Phe Ile Arg Asn Gly Ser Gln Ser Met Tyr
305 310 315 320

Cys Ile Pro Cys Glu Gly Pro Cys Pro Lys Val Cys Glu Glu Glu Lys
325 330 335

Lys Thr Lys Thr Ile Asp Ser Val Thr Ser Ala Gln Met Leu Gln Gly
340 345 350

Cys Thr Ile Phe Lys Gly Asn Leu Leu Ile Asn Ile Arg Arg Gly Asn
355 360 365

Asn Ile Ala Ser Glu Leu Glu Asn Phe Met Gly Leu Ile Glu Val Val
370 375 380

Thr Gly Tyr Val Lys Ile Arg His Ser His Ala Leu Val Ser Leu Ser
385 390 395 400

```
Phe Leu Lys Asn Leu Arg Leu Ile Leu Gly Glu Glu Gln Leu Glu Gly
                405                 410                 415

Asn Tyr Ser Phe Tyr Val Leu Asp Asn Gln Asn Leu Gln Gln Leu Trp
            420                 425                 430

Asp Trp Asp His Arg Asn Leu Thr Ile Lys Ala Gly Lys Met Tyr Phe
        435                 440                 445

Ala Phe Asn Pro Lys Leu Cys Val Ser Glu Ile Tyr Arg Met Glu Glu
    450                 455                 460

Val Thr Gly Thr Lys Gly Arg Gln Ser Lys Gly Asp Ile Asn Thr Arg
465                 470                 475                 480

Asn Asn Gly Glu Arg Ala Ser Cys Glu Ser Asp Val Leu His Phe Thr
                485                 490                 495

Ser Thr Thr Thr Ser Lys Asn Arg Ile Ile Ile Thr Trp His Arg Tyr
            500                 505                 510

Arg Pro Pro Asp Tyr Arg Asp Leu Ile Ser Phe Thr Val Tyr Tyr Lys
        515                 520                 525

Glu Ala Pro Phe Lys Asn Val Thr Glu Tyr Asp Gly Gln Asp Ala Cys
    530                 535                 540

Gly Ser Asn Ser Trp Asn Met Val Asp Val Asp Leu Pro Pro Asn Lys
545                 550                 555                 560

Asp Val Glu Pro Gly Ile Leu Leu His Gly Leu Lys Pro Trp Thr Gln
                565                 570                 575

Tyr Ala Val Tyr Val Lys Ala Val Thr Leu Thr Met Val Glu Asn Asp
            580                 585                 590

His Ile Arg Gly Ala Lys Ser Glu Ile Leu Tyr Ile Arg Thr Asn Ala
        595                 600                 605
```

[1124]

Ser Val Pro Ser Ile Pro Leu Asp Val Leu Ser Ala Ser Asn Ser Ser
610 615 620

Ser Gln Leu Ile Val Lys Trp Asn Pro Pro Ser Leu Pro Asn Gly Asn
625 630 635 640

Leu Ser Tyr Tyr Ile Val Arg Trp Gln Arg Gln Pro Gln Asp Gly Tyr
645 650 655

Leu Tyr Arg His Asn Tyr Cys Ser Lys Asp Lys Ile Pro Ile Arg Lys
660 665 670

Tyr Ala Asp Gly Thr Ile Asp Ile Glu Glu Val Thr Glu Asn Pro Lys
675 680 685

Thr Glu Val Cys Gly Gly Glu Lys Gly Pro Cys Cys Ala Cys Pro Lys
690 695 700

[1125] Thr Glu Ala Glu Lys Gln Ala Glu Lys Glu Glu Ala Glu Tyr Arg Lys
705 710 715 720

Val Phe Glu Asn Phe Leu His Asn Ser Ile Phe Val Pro Arg Pro Glu
725 730 735

Arg Lys Arg Arg Asp Val Met Gln Val Ala Asn Thr Thr Met Ser Ser
740 745 750

Arg Ser Arg Asn Thr Thr Ala Ala Asp Thr Tyr Asn Ile Thr Asp Pro
755 760 765

Glu Glu Leu Glu Thr Glu Tyr Pro Phe Phe Glu Ser Arg Val Asp Asn
770 775 780

Lys Glu Arg Thr Val Ile Ser Asn Leu Arg Pro Phe Thr Leu Tyr Arg
785 790 795 800

Ile Asp Ile His Ser Cys Asn His Glu Ala Glu Lys Leu Gly Cys Ser
805 810 815

Ala Ser Asn Phe Val Phe Ala Arg Thr Met Pro Ala Glu Gly Ala Asp
820 825 830

Asp Ile Pro Gly Pro Val Thr Trp Glu Pro Arg Pro Glu Asn Ser Ile
835 840 845

Phe Leu Lys Trp Pro Glu Pro Glu Asn Pro Asn Gly Leu Ile Leu Met
850 855 860

Tyr Glu Ile Lys Tyr Gly Ser Gln Val Glu Asp Gln Arg Glu Cys Val
865 870 875 880

Ser Arg Gln Glu Tyr Arg Lys Tyr Gly Gly Ala Lys Leu Asn Arg Leu
885 890 895

Asn Pro Gly Asn Tyr Thr Ala Arg Ile Gln Ala Thr Ser Leu Ser Gly
900 905 910

[1126]

Asn Gly Ser Trp Thr Asp Pro Val Phe Phe Tyr Val Gln Ala Lys Thr
915 920 925

Gly Tyr Glu Asn
930

<210> 52
<211> 512
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IGF-1R ECD N末端（人）

<400> 52

Met Lys Ser Gly Ser Gly Gly Gly Ser Pro Thr Ser Leu Trp Gly Leu
1 5 10 15

Leu Phe Leu Ser Ala Ala Leu Ser Leu Trp Pro Thr Ser Gly Glu Ile
20 25 30

```
Cys Gly Pro Gly Ile Asp Ile Arg Asn Asp Tyr Gln Gln Leu Lys Arg
        35                  40                  45

Leu Glu Asn Cys Thr Val Ile Glu Gly Tyr Leu His Ile Leu Leu Ile
    50                  55                  60

Ser Lys Ala Glu Asp Tyr Arg Ser Tyr Arg Phe Pro Lys Leu Thr Val
65                  70                  75                  80

Ile Thr Glu Tyr Leu Leu Leu Phe Arg Val Ala Gly Leu Glu Ser Leu
                85                  90                  95

Gly Asp Leu Phe Pro Asn Leu Thr Val Ile Arg Gly Trp Lys Leu Phe
            100                 105                 110

Tyr Asn Tyr Ala Leu Val Ile Phe Glu Met Thr Asn Leu Lys Asp Ile
        115                 120                 125

Gly Leu Tyr Asn Leu Arg Asn Ile Thr Arg Gly Ala Ile Arg Ile Glu
    130                 135                 140

Lys Asn Ala Asp Leu Cys Tyr Leu Ser Thr Val Asp Trp Ser Leu Ile
145                 150                 155                 160

Leu Asp Ala Val Ser Asn Asn Tyr Ile Val Gly Asn Lys Pro Pro Lys
                165                 170                 175

Glu Cys Gly Asp Leu Cys Pro Gly Thr Met Glu Glu Lys Pro Met Cys
            180                 185                 190

Glu Lys Thr Thr Ile Asn Asn Glu Tyr Asn Tyr Arg Cys Trp Thr Thr
        195                 200                 205

Asn Arg Cys Gln Lys Met Cys Pro Ser Thr Cys Gly Lys Arg Ala Cys
    210                 215                 220

Thr Glu Asn Asn Glu Cys Cys His Pro Glu Cys Leu Gly Ser Cys Ser
225                 230                 235                 240
```

[1127]

Ala Pro Asp Asn Asp Thr Ala Cys Val Ala Cys Arg His Tyr Tyr Tyr
245 250 255

Ala Gly Val Cys Val Pro Ala Cys Pro Pro Asn Thr Tyr Arg Phe Glu
260 265 270

Gly Trp Arg Cys Val Asp Arg Asp Phe Cys Ala Asn Ile Leu Ser Ala
275 280 285

Glu Ser Ser Asp Ser Glu Gly Phe Val Ile His Asp Gly Glu Cys Met
290 295 300

Gln Glu Cys Pro Ser Gly Phe Ile Arg Asn Gly Ser Gln Ser Met Tyr
305 310 315 320

Cys Ile Pro Cys Glu Gly Pro Cys Pro Lys Val Cys Glu Glu Glu Lys
325 330 335

[1128] Lys Thr Lys Thr Ile Asp Ser Val Thr Ser Ala Gln Met Leu Gln Gly
340 345 350

Cys Thr Ile Phe Lys Gly Asn Leu Leu Ile Asn Ile Arg Arg Gly Asn
355 360 365

Asn Ile Ala Ser Glu Leu Glu Asn Phe Met Gly Leu Ile Glu Val Val
370 375 380

Thr Gly Tyr Val Lys Ile Arg His Ser His Ala Leu Val Ser Leu Ser
385 390 395 400

Phe Leu Lys Asn Leu Arg Leu Ile Leu Gly Glu Glu Gln Leu Glu Gly
405 410 415

Asn Tyr Ser Phe Tyr Val Leu Asp Asn Gln Asn Leu Gln Gln Leu Trp
420 425 430

Asp Trp Asp His Arg Asn Leu Thr Ile Lys Ala Gly Lys Met Tyr Phe

435 440 445

Ala Phe Asn Pro Lys Leu Cys Val Ser Glu Ile Tyr Arg Met Glu Glu
450 455 460

Val Thr Gly Thr Lys Gly Arg Gln Ser Lys Gly Asp Ile Asn Thr Arg
465 470 475 480

Asn Asn Gly Glu Arg Ala Ser Cys Glu Ser Asp Val Leu His Phe Thr
485 490 495

Ser Thr Thr Thr Ser Lys Asn Arg Ile Ile Ile Thr Trp His Arg Tyr
500 505 510

<210> 53
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
[1129] <223> 四肽（连接子）

<400> 53

Gly Phe Leu Gly
1

<210> 54
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 四肽（连接子）

<400> 54

Ala Leu Ala Leu
1

<210> 55
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 四肽（连接子）

<400> 55

Pro Val Gly Val Val
1 5

<210> 56
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2 重链 H037，VH

<400> 56

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
[1130] 20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Lys Ser Ser Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 57
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2 轻链 L018，VL

<400> 57

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

[1131]

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 58
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2 重链 H037 全长

<400> 58

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

```
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Lys Ser Ser Ser Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
                85                  90                  95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110
```

[1132]

```
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
    130                 135                 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
```

210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
[1133] 305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 59
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2 轻链 L018 全长

<400> 59

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

[1134]

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

[1135]

<210> 60
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2 轻链 L021，VL

<400> 60

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 61
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2 轻链 L021 全长

<400> 61

[1136]

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

[1137]

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 62
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2 重链 H047，VH

<400> 62

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ser Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 63
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

[1138] <220>
<223> hz208F2 重链 H047 全长

<400> 63

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ser Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[1139] 180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
[1140] 385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 64
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2 重链 H049，VH

<400> 64

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Lys Ser Ser Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

[1141]

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 65
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2 重链 H049 全长

<400> 65

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

```
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Lys Ser Ser Ser Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125
```

[1142]

```
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
    130                 135                 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
    210                 215                 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
```

225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
[1143] 325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 66
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2 重链 H051，VH

<400> 66

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

[1144]

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ser Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 67

<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2 重链 H051 全长

<400> 67

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

[1145] Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ser Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

[1146] Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

[1147]

<210> 68
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2 重链 H052，VH

<400> 68

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 69
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2 重链 H052，全长

<400> 69

[1148]

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

```
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
    130                 135                 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205
```

[1149]

```
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
    210                 215                 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320
```

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

[1150]

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 70
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2 重链 H057，VH

<400> 70

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Lys Ser Thr Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

[1151]

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 71
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2 重链 H057 全长

<400> 71

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

```
Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Lys Ser Thr Asn Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
    130                 135                 140
```

[1152]

```
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
    210                 215                 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255
```

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

[1153] Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 72
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2 重链 H068，VH

<400> 72

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

[1154]

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 73
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2 重链 H068 全长

<400> 73

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

[1155]

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

[1156]

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 74
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2 重链 H070, VH

[1157]

<400> 74

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

```
Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 75
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2 重链 H070 全长

<400> 75

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30
```

[1158]

```
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
```

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
[1159] 225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
[1160] 435 440 445

Gly

<210> 76
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2 重链 H071，VH

<400> 76

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 77
<211> 449
[1161] <212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2 重链 H071 全长

<400> 77

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

[1162] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

[1163]

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 78
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2 重链 H076，VH

<400> 78

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

[1164]

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 79
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2 重链 H076 全长

<400> 79

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

```
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
    130                 135                 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
    210                 215                 220
```

[1165]

```
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320
```

[1166]

```
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
```

420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 80
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2 重链 H077，VH

<400> 80

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

[1167] Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 81
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2 重链 H077 全长

<400> 81

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

[1168]

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

```
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
    210                 215                 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365
```

[1169]

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

[1170]

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

序列表

<110> 皮埃尔法布雷医药公司

<120> 基于磺酰基马来酰亚胺的连接子和相应的偶联物

<130> B376705PCTD37611

<150> B73896EPD37611
<151> 2018-09-27

<160> 81

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 共有CDR-H1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> Thr可以替换为Ser

[0001]

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> Tyr可以替换为Phe

<400> 1

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr
1 5

<210> 2
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 共有CDR-H2

<400> 2

Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr
1 5

<210> 3
<211> 13
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 共有CDR-H3

<400> 3

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 4
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 共有CDR-L1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> Ser可以替换为Asn

<400> 4

Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
[0002] 1 5

<210> 5
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 共有CDR-L2

<400> 5

Tyr Thr Ser
1

<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 共有CDR-L3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)

<223> Thr可以替换为Ala

<400> 6

Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr Thr
1 5

<210> 7
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CDR-H1

<400> 7

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr
1 5

<210> 8
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
[0003] <223> CDR-H1

<400> 8

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Phe
1 5

<210> 9
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CDR-L1

<400> 9

Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
1 5

<210> 10
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CDR-L1

<400> 10

Gln Asp Ile Asn Lys Tyr
1 5

<210> 11
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CDR-L3

<400> 11

Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr Thr
1 5

<210> 12
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CDR-L3

[0004]

<400> 12

Gln Gln Gly Ser Ala Leu Pro Tyr Thr
1 5

<210> 13
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c208F2，重链，VH

<400> 13

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Ile Tyr Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Phe Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 14
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c212A11，重链，VH

[0005]

<400> 14

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Phe Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 15
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c214F8，重链，VH

<400> 15

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ser Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Arg Phe
[0006] 50 55 60

Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Phe Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 16
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c219D6，重链，VH

<400> 16

```
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Asp
1               5                  10                  15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30

Phe Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
    50                  55                  60

Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

Met Phe Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
                85                  90                  95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110
```

[0007]

```
Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 17
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c213B10，重链，VH

<400> 17

```
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ser Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1               5                  10                  15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Arg Phe
    50                  55                  60
```

Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Phe Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 18
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c208F2，轻链，VL

<400> 18

[0008]

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Gln Pro Asp Gly Thr Ile Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Val Glu Gln
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 19
<211> 107

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c212A11，轻链，VL

<400> 19

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Asn Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Gln Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80

[0009]

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 20
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c214F8，轻链，VL

<400> 20

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Gln Pro Asp Gly Thr Ile Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Thr Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Ala Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 21
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c219D6，轻链，VL

<400> 21

[0010]

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Gln Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 22
<211> 107

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c213B10，轻链，VL

<400> 22

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Gln Pro Asp Gly Thr Ile Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Thr Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80

[0011]

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Ala Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 23
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c208F2，重链，全长

<400> 23

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Ile Tyr Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Phe Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

[0012]

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

[0013] Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

〈210〉 24
〈211〉 449
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 c212A11，重链，全长

〈400〉 24

```
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1               5                  10                  15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
    50                  55                  60

Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

Met Phe Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
                85                  90                  95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110
```

[0014]

```
Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
    130                 135                 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
    210                 215                 220
```

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

[0015] Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 25
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c214F8，重链，全长

<400> 25

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ser Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Arg Phe
50 55 60

[0016]

Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Phe Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

[0017] Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp

405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 26
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c219D6，重链，全长

<400> 26

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Asp
1 5 10 15

[0018]

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Phe Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Phe Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

[0019] Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

[0020] <210> 27
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c213B10，重链，全长

<400> 27

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ser Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Arg Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Phe Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

[0021] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

[0022] Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 28
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c208F2，轻链，全长

<400> 28

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Gln Pro Asp Gly Thr Ile Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Val Glu Gln
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

[0023] Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 29
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c212A11，轻链，全长

<400> 29

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1               5                  10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Asn Lys Tyr
            20                  25                  30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Gln Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65                  70                  75                  80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110
```

[0024]

```
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

〈210〉 30
〈211〉 214
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 c214F8，轻链，全长

〈400〉 30

[0025]

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Gln Pro Asp Gly Thr Ile Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Thr Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Ala Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 31
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c219D6，轻链，全长

<400> 31

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Gln Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45

[0026]

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 32
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> c213B10，轻链，全长

<400> 32

[0027]
Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Gln Pro Asp Gly Thr Ile Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Thr Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Ala Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

[0028] <210> 33
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2（变体1），重链，VH

<400> 33

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ile Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 34
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2（变体3），VH

<400> 34

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

[0029]

Tyr Ile Tyr Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Phe Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 35
<211> 107
<212> PRT

〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 hz208F2（变体1），VL

〈400〉 35

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                  10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
            20                  25                  30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Tyr Thr Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
```

[0030]

```
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

〈210〉 36
〈211〉 107
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 hz208F2（变体3），VL

〈400〉 36

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                  10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
            20                  25                  30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
```

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 37
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2（变体1），重链，全长

<400> 37

[0031]

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ile Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

[0032]

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

[0033]

<210> 38
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2（变体3），重链，全长

<400> 38

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Ile Tyr Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Phe Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

[0034]

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

[0035]

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 39
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2（变体1），轻链，全长

<400> 39

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

[0036]

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 40
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2（变体3），轻链，全长

〈400〉 40

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

[0037]

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 41
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2（变体2），重链，VH

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (20)..(20)
<223> Met可以替换为Val

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (34)..(34)
<223> Ile可以替换为Met

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (35)..(35)
<223> Tyr可以替换为His

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (38)..(38)
<223> Lys可以替换为Arg

[0038]

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (48)..(48)
<223> Leu可以替换为Met

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (50)..(50)
<223> Trp可以替换为Ile

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (59)..(59)
<223> Lys可以替换为Ser

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (61)..(61)
<223> Asn可以替换为Ala

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (62)..(62)
<223> Glu可以替换为Gln

<220>
<221> MISC_FEATURE

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (70)..(70)
<223> Leu可以替换为Met

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (72)..(72)
<223> Ala可以替换为Arg

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (74)..(74)
<223> Lys可以替换为Thr

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (76)..(76)
<223> Ser可以替换为Thr

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (77)..(77)
<223> Asn可以替换为Ser

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (79)..(79)
<223> Ala可以替换为Val

[0039]
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (82)..(82)
<223> Phe可以替换为Glu

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (95)..(95)
<223> Phe可以替换为Tyr

<400> 41

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30

Tyr Ile Tyr Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Leu
        35                  40                  45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
```

65 70 75 80

Met Phe Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 42
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2（变体2），轻链，VL

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (22)..(22)
<223> Ser可以替换为Thr

[0040]

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (53)..(53)
<223> Arg可以替换为Ser

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (55)..(55)
<223> His可以替换为Gln

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (65)..(65)
<223> Arg可以替换为Ser

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (71)..(71)
<223> Tyr可以替换为Phe

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (72)..(72)
<223> Ser可以替换为Thr

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (77)..(77)

<223> Asn可以替换为Ser

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (87)..(87)
<223> Phe可以替换为Tyr

<400> 42

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0041]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 43
<211> 329
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 恒定结构域 (VH) IgG1

<400> 43

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

[0042]

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 44
<211> 326
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 恒定结构域 (VH) IgG4 (S228P)

<400> 44

[0043]

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

[0044]

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly
325

<210> 45
<211> 107
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> kappa结构域 (VL)

<400> 45

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

[0045] Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 46
<211> 98
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人种系IGHV1-46*01

<400> 46

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg

<210> 47
<211> 95
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人种系IGKV1-39*01

<400> 47

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

[0046]

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro
85 90 95

<210> 48
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人种系 IGHJ4*01

<400> 48

Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10 15

<210> 49
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人种系IGKJ4*01

<400> 49

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 50
<211> 1367
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IGF-1R（人）

[0047]

<400> 50

Met Lys Ser Gly Ser Gly Gly Gly Ser Pro Thr Ser Leu Trp Gly Leu
1 5 10 15

Leu Phe Leu Ser Ala Ala Leu Ser Leu Trp Pro Thr Ser Gly Glu Ile
20 25 30

Cys Gly Pro Gly Ile Asp Ile Arg Asn Asp Tyr Gln Gln Leu Lys Arg
35 40 45

Leu Glu Asn Cys Thr Val Ile Glu Gly Tyr Leu His Ile Leu Leu Ile
50 55 60

Ser Lys Ala Glu Asp Tyr Arg Ser Tyr Arg Phe Pro Lys Leu Thr Val
65 70 75 80

Ile Thr Glu Tyr Leu Leu Leu Phe Arg Val Ala Gly Leu Glu Ser Leu
85 90 95

Gly Asp Leu Phe Pro Asn Leu Thr Val Ile Arg Gly Trp Lys Leu Phe
100 105 110

```
Tyr Asn Tyr Ala Leu Val Ile Phe Glu Met Thr Asn Leu Lys Asp Ile
        115                 120                 125

Gly Leu Tyr Asn Leu Arg Asn Ile Thr Arg Gly Ala Ile Arg Ile Glu
    130                 135                 140

Lys Asn Ala Asp Leu Cys Tyr Leu Ser Thr Val Asp Trp Ser Leu Ile
145                 150                 155                 160

Leu Asp Ala Val Ser Asn Asn Tyr Ile Val Gly Asn Lys Pro Pro Lys
                165                 170                 175

Glu Cys Gly Asp Leu Cys Pro Gly Thr Met Glu Glu Lys Pro Met Cys
            180                 185                 190

Glu Lys Thr Thr Ile Asn Asn Glu Tyr Asn Tyr Arg Cys Trp Thr Thr
        195                 200                 205

Asn Arg Cys Gln Lys Met Cys Pro Ser Thr Cys Gly Lys Arg Ala Cys
    210                 215                 220
```

[0048]

```
Thr Glu Asn Asn Glu Cys Cys His Pro Glu Cys Leu Gly Ser Cys Ser
225                 230                 235                 240

Ala Pro Asp Asn Asp Thr Ala Cys Val Ala Cys Arg His Tyr Tyr Tyr
                245                 250                 255

Ala Gly Val Cys Val Pro Ala Cys Pro Pro Asn Thr Tyr Arg Phe Glu
            260                 265                 270

Gly Trp Arg Cys Val Asp Arg Asp Phe Cys Ala Asn Ile Leu Ser Ala
        275                 280                 285

Glu Ser Ser Asp Ser Glu Gly Phe Val Ile His Asp Gly Glu Cys Met
    290                 295                 300

Gln Glu Cys Pro Ser Gly Phe Ile Arg Asn Gly Ser Gln Ser Met Tyr
305                 310                 315                 320

Cys Ile Pro Cys Glu Gly Pro Cys Pro Lys Val Cys Glu Glu Glu Lys
                325                 330                 335
```

Lys Thr Lys Thr Ile Asp Ser Val Thr Ser Ala Gln Met Leu Gln Gly
340 345 350

Cys Thr Ile Phe Lys Gly Asn Leu Leu Ile Asn Ile Arg Arg Gly Asn
355 360 365

Asn Ile Ala Ser Glu Leu Glu Asn Phe Met Gly Leu Ile Glu Val Val
370 375 380

Thr Gly Tyr Val Lys Ile Arg His Ser His Ala Leu Val Ser Leu Ser
385 390 395 400

Phe Leu Lys Asn Leu Arg Leu Ile Leu Gly Glu Glu Gln Leu Glu Gly
405 410 415

Asn Tyr Ser Phe Tyr Val Leu Asp Asn Gln Asn Leu Gln Gln Leu Trp
420 425 430

Asp Trp Asp His Arg Asn Leu Thr Ile Lys Ala Gly Lys Met Tyr Phe
435 440 445

[0049]

Ala Phe Asn Pro Lys Leu Cys Val Ser Glu Ile Tyr Arg Met Glu Glu
450 455 460

Val Thr Gly Thr Lys Gly Arg Gln Ser Lys Gly Asp Ile Asn Thr Arg
465 470 475 480

Asn Asn Gly Glu Arg Ala Ser Cys Glu Ser Asp Val Leu His Phe Thr
485 490 495

Ser Thr Thr Thr Ser Lys Asn Arg Ile Ile Ile Thr Trp His Arg Tyr
500 505 510

Arg Pro Pro Asp Tyr Arg Asp Leu Ile Ser Phe Thr Val Tyr Tyr Lys
515 520 525

Glu Ala Pro Phe Lys Asn Val Thr Glu Tyr Asp Gly Gln Asp Ala Cys
530 535 540

Gly Ser Asn Ser Trp Asn Met Val Asp Val Asp Leu Pro Pro Asn Lys
545 550 555 560

Asp Val Glu Pro Gly Ile Leu Leu His Gly Leu Lys Pro Trp Thr Gln
565 570 575

Tyr Ala Val Tyr Val Lys Ala Val Thr Leu Thr Met Val Glu Asn Asp
580 585 590

His Ile Arg Gly Ala Lys Ser Glu Ile Leu Tyr Ile Arg Thr Asn Ala
595 600 605

Ser Val Pro Ser Ile Pro Leu Asp Val Leu Ser Ala Ser Asn Ser Ser
610 615 620

Ser Gln Leu Ile Val Lys Trp Asn Pro Pro Ser Leu Pro Asn Gly Asn
625 630 635 640

Leu Ser Tyr Tyr Ile Val Arg Trp Gln Arg Gln Pro Gln Asp Gly Tyr
645 650 655

Leu Tyr Arg His Asn Tyr Cys Ser Lys Asp Lys Ile Pro Ile Arg Lys
660 665 670

[0050] Tyr Ala Asp Gly Thr Ile Asp Ile Glu Glu Val Thr Glu Asn Pro Lys
675 680 685

Thr Glu Val Cys Gly Gly Glu Lys Gly Pro Cys Cys Ala Cys Pro Lys
690 695 700

Thr Glu Ala Glu Lys Gln Ala Glu Lys Glu Glu Ala Glu Tyr Arg Lys
705 710 715 720

Val Phe Glu Asn Phe Leu His Asn Ser Ile Phe Val Pro Arg Pro Glu
725 730 735

Arg Lys Arg Arg Asp Val Met Gln Val Ala Asn Thr Thr Met Ser Ser
740 745 750

Arg Ser Arg Asn Thr Thr Ala Ala Asp Thr Tyr Asn Ile Thr Asp Pro
755 760 765

Glu Glu Leu Glu Thr Glu Tyr Pro Phe Phe Glu Ser Arg Val Asp Asn
770 775 780

Lys Glu Arg Thr Val Ile Ser Asn Leu Arg Pro Phe Thr Leu Tyr Arg

785 790 795 800

Ile Asp Ile His Ser Cys Asn His Glu Ala Glu Lys Leu Gly Cys Ser
805 810 815

Ala Ser Asn Phe Val Phe Ala Arg Thr Met Pro Ala Glu Gly Ala Asp
820 825 830

Asp Ile Pro Gly Pro Val Thr Trp Glu Pro Arg Pro Glu Asn Ser Ile
835 840 845

Phe Leu Lys Trp Pro Glu Pro Glu Asn Pro Asn Gly Leu Ile Leu Met
850 855 860

Tyr Glu Ile Lys Tyr Gly Ser Gln Val Glu Asp Gln Arg Glu Cys Val
865 870 875 880

Ser Arg Gln Glu Tyr Arg Lys Tyr Gly Gly Ala Lys Leu Asn Arg Leu
885 890 895

[0051] Asn Pro Gly Asn Tyr Thr Ala Arg Ile Gln Ala Thr Ser Leu Ser Gly
900 905 910

Asn Gly Ser Trp Thr Asp Pro Val Phe Phe Tyr Val Gln Ala Lys Thr
915 920 925

Gly Tyr Glu Asn Phe Ile His Leu Ile Ile Ala Leu Pro Val Ala Val
930 935 940

Leu Leu Ile Val Gly Gly Leu Val Ile Met Leu Tyr Val Phe His Arg
945 950 955 960

Lys Arg Asn Asn Ser Arg Leu Gly Asn Gly Val Leu Tyr Ala Ser Val
965 970 975

Asn Pro Glu Tyr Phe Ser Ala Ala Asp Val Tyr Val Pro Asp Glu Trp
980 985 990

Glu Val Ala Arg Glu Lys Ile Thr Met Ser Arg Glu Leu Gly Gln Gly
995 1000 1005

Ser Phe Gly Met Val Tyr Glu Gly Val Ala Lys Gly Val Val Lys
1010 1015 1020

Asp Glu Pro Glu Thr Arg Val Ala Ile Lys Thr Val Asn Glu Ala
1025 1030 1035

Ala Ser Met Arg Glu Arg Ile Glu Phe Leu Asn Glu Ala Ser Val
1040 1045 1050

Met Lys Glu Phe Asn Cys His His Val Val Arg Leu Leu Gly Val
1055 1060 1065

Val Ser Gln Gly Gln Pro Thr Leu Val Ile Met Glu Leu Met Thr
1070 1075 1080

Arg Gly Asp Leu Lys Ser Tyr Leu Arg Ser Leu Arg Pro Glu Met
1085 1090 1095

Glu Asn Asn Pro Val Leu Ala Pro Pro Ser Leu Ser Lys Met Ile
1100 1105 1110

Gln Met Ala Gly Glu Ile Ala Asp Gly Met Ala Tyr Leu Asn Ala
1115 1120 1125

[0052]

Asn Lys Phe Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Cys Met Val
1130 1135 1140

Ala Glu Asp Phe Thr Val Lys Ile Gly Asp Phe Gly Met Thr Arg
1145 1150 1155

Asp Ile Tyr Glu Thr Asp Tyr Tyr Arg Lys Gly Gly Lys Gly Leu
1160 1165 1170

Leu Pro Val Arg Trp Met Ser Pro Glu Ser Leu Lys Asp Gly Val
1175 1180 1185

Phe Thr Thr Tyr Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Val Leu Trp
1190 1195 1200

Glu Ile Ala Thr Leu Ala Glu Gln Pro Tyr Gln Gly Leu Ser Asn
1205 1210 1215

Glu Gln Val Leu Arg Phe Val Met Glu Gly Gly Leu Leu Asp Lys
1220 1225 1230

```
Pro Asp  Asn Cys Pro Asp Met  Leu Phe Glu Leu Met  Arg Met Cys
    1235                 1240                 1245

Trp Gln  Tyr Asn Pro Lys Met  Arg Pro Ser Phe Leu  Glu Ile Ile
    1250                 1255                 1260

Ser Ser  Ile Lys Glu Glu Met  Glu Pro Gly Phe Arg  Glu Val Ser
    1265                 1270                 1275

Phe Tyr  Tyr Ser Glu Glu Asn  Lys Leu Pro Glu Pro  Glu Glu Leu
    1280                 1285                 1290

Asp Leu  Glu Pro Glu Asn Met  Glu Ser Val Pro Leu  Asp Pro Ser
    1295                 1300                 1305

Ala Ser  Ser Ser Ser Leu Pro  Leu Pro Asp Arg His  Ser Gly His
    1310                 1315                 1320

Lys Ala  Glu Asn Gly Pro Gly  Pro Gly Val Leu Val  Leu Arg Ala
    1325                 1330                 1335
```

[0053]

```
Ser Phe  Asp Glu Arg Gln Pro  Tyr Ala His Met Asn  Gly Gly Arg
    1340                 1345                 1350

Lys Asn  Glu Arg Ala Leu Pro  Leu Pro Gln Ser Ser  Thr Cys
    1355                 1360                 1365
```

<210> 51
<211> 932
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IGF-1R ECD（人）

<400> 51

```
Met Lys Ser Gly Ser Gly Gly Gly Ser Pro Thr Ser Leu Trp Gly Leu
1               5                  10                  15

Leu Phe Leu Ser Ala Ala Leu Ser Leu Trp Pro Thr Ser Gly Glu Ile
            20                  25                  30

Cys Gly Pro Gly Ile Asp Ile Arg Asn Asp Tyr Gln Gln Leu Lys Arg
        35                  40                  45
```

Leu Glu Asn Cys Thr Val Ile Glu Gly Tyr Leu His Ile Leu Leu Ile
50 55 60

Ser Lys Ala Glu Asp Tyr Arg Ser Tyr Arg Phe Pro Lys Leu Thr Val
65 70 75 80

Ile Thr Glu Tyr Leu Leu Leu Phe Arg Val Ala Gly Leu Glu Ser Leu
85 90 95

Gly Asp Leu Phe Pro Asn Leu Thr Val Ile Arg Gly Trp Lys Leu Phe
100 105 110

Tyr Asn Tyr Ala Leu Val Ile Phe Glu Met Thr Asn Leu Lys Asp Ile
115 120 125

Gly Leu Tyr Asn Leu Arg Asn Ile Thr Arg Gly Ala Ile Arg Ile Glu
130 135 140

Lys Asn Ala Asp Leu Cys Tyr Leu Ser Thr Val Asp Trp Ser Leu Ile
145 150 155 160

[0054]

Leu Asp Ala Val Ser Asn Asn Tyr Ile Val Gly Asn Lys Pro Pro Lys
165 170 175

Glu Cys Gly Asp Leu Cys Pro Gly Thr Met Glu Glu Lys Pro Met Cys
180 185 190

Glu Lys Thr Thr Ile Asn Asn Glu Tyr Asn Tyr Arg Cys Trp Thr Thr
195 200 205

Asn Arg Cys Gln Lys Met Cys Pro Ser Thr Cys Gly Lys Arg Ala Cys
210 215 220

Thr Glu Asn Asn Glu Cys Cys His Pro Glu Cys Leu Gly Ser Cys Ser
225 230 235 240

Ala Pro Asp Asn Asp Thr Ala Cys Val Ala Cys Arg His Tyr Tyr Tyr
245 250 255

Ala Gly Val Cys Val Pro Ala Cys Pro Pro Asn Thr Tyr Arg Phe Glu
260 265 270

```
Gly Trp Arg Cys Val Asp Arg Asp Phe Cys Ala Asn Ile Leu Ser Ala
        275                 280                 285

Glu Ser Ser Asp Ser Glu Gly Phe Val Ile His Asp Gly Glu Cys Met
    290                 295                 300

Gln Glu Cys Pro Ser Gly Phe Ile Arg Asn Gly Ser Gln Ser Met Tyr
305                 310                 315                 320

Cys Ile Pro Cys Glu Gly Pro Cys Pro Lys Val Cys Glu Glu Glu Lys
                325                 330                 335

Lys Thr Lys Thr Ile Asp Ser Val Thr Ser Ala Gln Met Leu Gln Gly
            340                 345                 350

Cys Thr Ile Phe Lys Gly Asn Leu Leu Ile Asn Ile Arg Arg Gly Asn
        355                 360                 365

Asn Ile Ala Ser Glu Leu Glu Asn Phe Met Gly Leu Ile Glu Val Val
    370                 375                 380
```

[0055]

```
Thr Gly Tyr Val Lys Ile Arg His Ser His Ala Leu Val Ser Leu Ser
385                 390                 395                 400

Phe Leu Lys Asn Leu Arg Leu Ile Leu Gly Glu Glu Gln Leu Glu Gly
                405                 410                 415

Asn Tyr Ser Phe Tyr Val Leu Asp Asn Gln Asn Leu Gln Gln Leu Trp
            420                 425                 430

Asp Trp Asp His Arg Asn Leu Thr Ile Lys Ala Gly Lys Met Tyr Phe
        435                 440                 445

Ala Phe Asn Pro Lys Leu Cys Val Ser Glu Ile Tyr Arg Met Glu Glu
    450                 455                 460

Val Thr Gly Thr Lys Gly Arg Gln Ser Lys Gly Asp Ile Asn Thr Arg
465                 470                 475                 480

Asn Asn Gly Glu Arg Ala Ser Cys Glu Ser Asp Val Leu His Phe Thr
                485                 490                 495
```

Ser Thr Thr Thr Ser Lys Asn Arg Ile Ile Ile Thr Trp His Arg Tyr
500 505 510

Arg Pro Pro Asp Tyr Arg Asp Leu Ile Ser Phe Thr Val Tyr Tyr Lys
515 520 525

Glu Ala Pro Phe Lys Asn Val Thr Glu Tyr Asp Gly Gln Asp Ala Cys
530 535 540

Gly Ser Asn Ser Trp Asn Met Val Asp Val Asp Leu Pro Pro Asn Lys
545 550 555 560

Asp Val Glu Pro Gly Ile Leu Leu His Gly Leu Lys Pro Trp Thr Gln
565 570 575

Tyr Ala Val Tyr Val Lys Ala Val Thr Leu Thr Met Val Glu Asn Asp
580 585 590

His Ile Arg Gly Ala Lys Ser Glu Ile Leu Tyr Ile Arg Thr Asn Ala
595 600 605

[0056] Ser Val Pro Ser Ile Pro Leu Asp Val Leu Ser Ala Ser Asn Ser Ser
610 615 620

Ser Gln Leu Ile Val Lys Trp Asn Pro Pro Ser Leu Pro Asn Gly Asn
625 630 635 640

Leu Ser Tyr Tyr Ile Val Arg Trp Gln Arg Gln Pro Gln Asp Gly Tyr
645 650 655

Leu Tyr Arg His Asn Tyr Cys Ser Lys Asp Lys Ile Pro Ile Arg Lys
660 665 670

Tyr Ala Asp Gly Thr Ile Asp Ile Glu Glu Val Thr Glu Asn Pro Lys
675 680 685

Thr Glu Val Cys Gly Gly Glu Lys Gly Pro Cys Cys Ala Cys Pro Lys
690 695 700

Thr Glu Ala Glu Lys Gln Ala Glu Lys Glu Glu Ala Glu Tyr Arg Lys
705 710 715 720

Val Phe Glu Asn Phe Leu His Asn Ser Ile Phe Val Pro Arg Pro Glu

725 730 735

Arg Lys Arg Arg Asp Val Met Gln Val Ala Asn Thr Thr Met Ser Ser
740 745 750

Arg Ser Arg Asn Thr Thr Ala Ala Asp Thr Tyr Asn Ile Thr Asp Pro
755 760 765

Glu Glu Leu Glu Thr Glu Tyr Pro Phe Phe Glu Ser Arg Val Asp Asn
770 775 780

Lys Glu Arg Thr Val Ile Ser Asn Leu Arg Pro Phe Thr Leu Tyr Arg
785 790 795 800

Ile Asp Ile His Ser Cys Asn His Glu Ala Glu Lys Leu Gly Cys Ser
805 810 815

Ala Ser Asn Phe Val Phe Ala Arg Thr Met Pro Ala Glu Gly Ala Asp
820 825 830

[0057] Asp Ile Pro Gly Pro Val Thr Trp Glu Pro Arg Pro Glu Asn Ser Ile
835 840 845

Phe Leu Lys Trp Pro Glu Pro Glu Asn Pro Asn Gly Leu Ile Leu Met
850 855 860

Tyr Glu Ile Lys Tyr Gly Ser Gln Val Glu Asp Gln Arg Glu Cys Val
865 870 875 880

Ser Arg Gln Glu Tyr Arg Lys Tyr Gly Gly Ala Lys Leu Asn Arg Leu
885 890 895

Asn Pro Gly Asn Tyr Thr Ala Arg Ile Gln Ala Thr Ser Leu Ser Gly
900 905 910

Asn Gly Ser Trp Thr Asp Pro Val Phe Phe Tyr Val Gln Ala Lys Thr
915 920 925

Gly Tyr Glu Asn
930

<210> 52
<211> 512

〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 IGF-1R ECD N末端（人）

〈400〉 52

Met Lys Ser Gly Ser Gly Gly Gly Ser Pro Thr Ser Leu Trp Gly Leu
1 5 10 15

Leu Phe Leu Ser Ala Ala Leu Ser Leu Trp Pro Thr Ser Gly Glu Ile
20 25 30

Cys Gly Pro Gly Ile Asp Ile Arg Asn Asp Tyr Gln Gln Leu Lys Arg
35 40 45

Leu Glu Asn Cys Thr Val Ile Glu Gly Tyr Leu His Ile Leu Leu Ile
50 55 60

Ser Lys Ala Glu Asp Tyr Arg Ser Tyr Arg Phe Pro Lys Leu Thr Val
65 70 75 80

[0058] Ile Thr Glu Tyr Leu Leu Leu Phe Arg Val Ala Gly Leu Glu Ser Leu
85 90 95

Gly Asp Leu Phe Pro Asn Leu Thr Val Ile Arg Gly Trp Lys Leu Phe
100 105 110

Tyr Asn Tyr Ala Leu Val Ile Phe Glu Met Thr Asn Leu Lys Asp Ile
115 120 125

Gly Leu Tyr Asn Leu Arg Asn Ile Thr Arg Gly Ala Ile Arg Ile Glu
130 135 140

Lys Asn Ala Asp Leu Cys Tyr Leu Ser Thr Val Asp Trp Ser Leu Ile
145 150 155 160

Leu Asp Ala Val Ser Asn Asn Tyr Ile Val Gly Asn Lys Pro Pro Lys
165 170 175

Glu Cys Gly Asp Leu Cys Pro Gly Thr Met Glu Glu Lys Pro Met Cys
180 185 190

Glu Lys Thr Thr Ile Asn Asn Glu Tyr Asn Tyr Arg Cys Trp Thr Thr

195 200 205

Asn Arg Cys Gln Lys Met Cys Pro Ser Thr Cys Gly Lys Arg Ala Cys
210 215 220

Thr Glu Asn Asn Glu Cys Cys His Pro Glu Cys Leu Gly Ser Cys Ser
225 230 235 240

Ala Pro Asp Asn Asp Thr Ala Cys Val Ala Cys Arg His Tyr Tyr Tyr
245 250 255

Ala Gly Val Cys Val Pro Ala Cys Pro Pro Asn Thr Tyr Arg Phe Glu
260 265 270

Gly Trp Arg Cys Val Asp Arg Asp Phe Cys Ala Asn Ile Leu Ser Ala
275 280 285

Glu Ser Ser Asp Ser Glu Gly Phe Val Ile His Asp Gly Glu Cys Met
290 295 300

[0059] Gln Glu Cys Pro Ser Gly Phe Ile Arg Asn Gly Ser Gln Ser Met Tyr
305 310 315 320

Cys Ile Pro Cys Glu Gly Pro Cys Pro Lys Val Cys Glu Glu Glu Lys
325 330 335

Lys Thr Lys Thr Ile Asp Ser Val Thr Ser Ala Gln Met Leu Gln Gly
340 345 350

Cys Thr Ile Phe Lys Gly Asn Leu Leu Ile Asn Ile Arg Arg Gly Asn
355 360 365

Asn Ile Ala Ser Glu Leu Glu Asn Phe Met Gly Leu Ile Glu Val Val
370 375 380

Thr Gly Tyr Val Lys Ile Arg His Ser His Ala Leu Val Ser Leu Ser
385 390 395 400

Phe Leu Lys Asn Leu Arg Leu Ile Leu Gly Glu Glu Gln Leu Glu Gly
405 410 415

Asn Tyr Ser Phe Tyr Val Leu Asp Asn Gln Asn Leu Gln Gln Leu Trp
420 425 430

Asp Trp Asp His Arg Asn Leu Thr Ile Lys Ala Gly Lys Met Tyr Phe
435 440 445

Ala Phe Asn Pro Lys Leu Cys Val Ser Glu Ile Tyr Arg Met Glu Glu
450 455 460

Val Thr Gly Thr Lys Gly Arg Gln Ser Lys Gly Asp Ile Asn Thr Arg
465 470 475 480

Asn Asn Gly Glu Arg Ala Ser Cys Glu Ser Asp Val Leu His Phe Thr
485 490 495

Ser Thr Thr Thr Ser Lys Asn Arg Ile Ile Ile Thr Trp His Arg Tyr
500 505 510

<210> 53
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 四肽（连接子）

[0060]

<400> 53

Gly Phe Leu Gly
1

<210> 54
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 四肽（连接子）

<400> 54

Ala Leu Ala Leu
1

<210> 55
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 四肽（连接子）

<400> 55

Pro Val Gly Val Val
1 5

<210> 56
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2重链H037，VH

<400> 56

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

[0061]

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Lys Ser Ser Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 57
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2轻链L018，VL

<400> 57

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

[0062]

<210> 58
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2重链H037 全长

<400> 58

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Lys Ser Ser Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

[0063] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

[0064]

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 59
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2轻链L018 全长

<400> 59

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

[0065] Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 60
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> hz208F2轻链L021，VL

<400> 60

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

[0066]

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 61
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2轻链L021 全长

<400> 61

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

[0067]

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 62
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2重链H047，VH

<400> 62

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ser Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 63
<211> 449
<212> PRT
[0068] <213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2重链H047 全长

<400> 63

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ser Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

[0069] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

[0070]

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 64
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2重链H049，VH

<400> 64

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Lys Ser Ser Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 65
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

[0071]

<220>
<223> hz208F2重链H049 全长

<400> 65

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Lys Ser Ser Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

[0072] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu

325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

[0073] Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 66
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2重链H051，VH

<400> 66

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ser Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 67
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2重链H051 全长

[0074]

<400> 67

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ser Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

[0075]

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

[0076]

Gly

<210> 68
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2重链H052，VH

<400> 68

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 69
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2重链H052，全长

<400> 69

[0077]

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

[0078]

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

[0079]

<210> 70
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2重链H057，VH

<400> 70

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Lys Ser Thr Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 71
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2重链H057 全长

<400> 71

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
[0080] 20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Lys Ser Thr Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

[0081] Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

〈210〉 72
〈211〉 120
〈212〉 PRT
[0082] 〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 hz208F2重链H068，VH

〈400〉 72

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 73
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2重链H068 全长

<400> 73

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

[0083]

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

[0084] Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 74
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

[0085]

<220>
<223> hz208F2重链H070, VH

<400> 74

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 75
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2重链H070 全长

<400> 75

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[0086] 35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

[0087]

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 76
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2重链H071，VH

[0088]

<400> 76

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 77
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2重链H071 全长

<400> 77

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

[0089]

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

[0090]

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 78
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2重链H076，VH

<400> 78

[0091]

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

〈210〉 79
〈211〉 449
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 hz208F2重链H076 全长

〈400〉 79

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

[0092] Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
[0093] 290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 80
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hz208F2重链H077，VH

<400> 80

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
[0094] 20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 81

〈211〉 449
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 hz208F2重链H077 全长

〈400〉 81

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                  10                  15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Trp Ile Trp Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80
```

[0095]

```
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
                85                  90                  95

Ala Ser Pro Met Ile Thr Pro Asn Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
    130                 135                 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190
```

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

[0096] Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420 425 430

[0097] Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

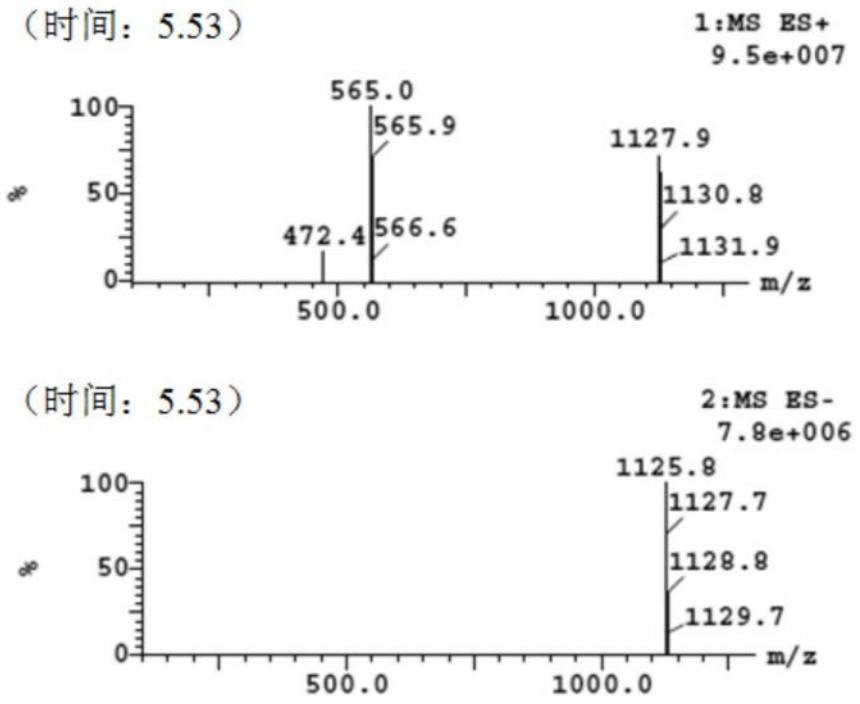

（时间：5.53）
1:MS ES+
9.5e+007
565.0
565.9
1127.9
1130.8
1131.9
472.4
566.6
100
50
0
%
500.0
1000.0
m/z
（时间：5.53）
2:MS ES-
7.8e+006
1125.8
1127.7
1128.8
1129.7
100
50
0
%
500.0
1000.0
m/z

图1A

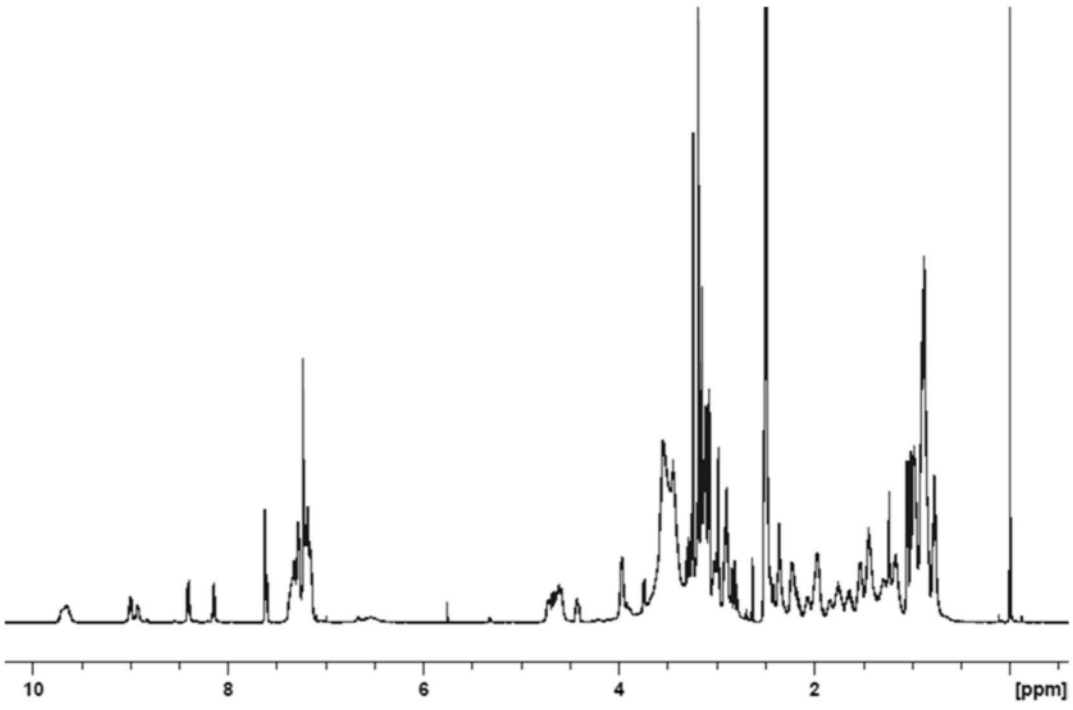

10
8
6
4
2
[ppm]

图1B

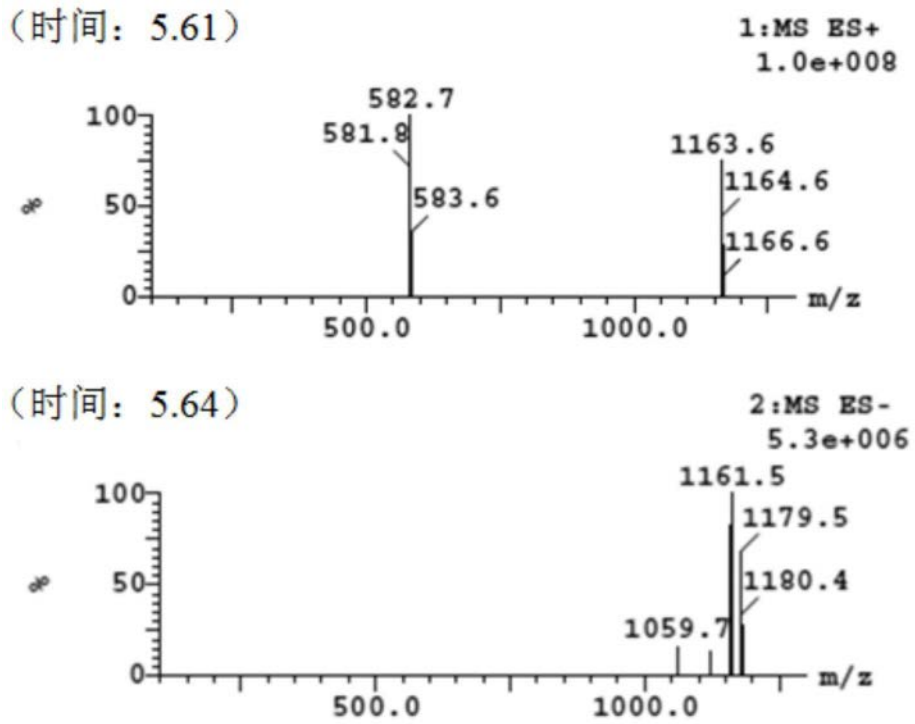

（时间：5.61）
1:MS ES+
1.0e+008
582.7
581.8
583.6
1163.6
1164.6
1166.6
100
50
0
%
m/z
500.0
1000.0
（时间：5.64）
2:MS ES-
5.3e+006
1161.5
1179.5
1180.4
1059.7
100
50
0
%
m/z
500.0
1000.0

图2

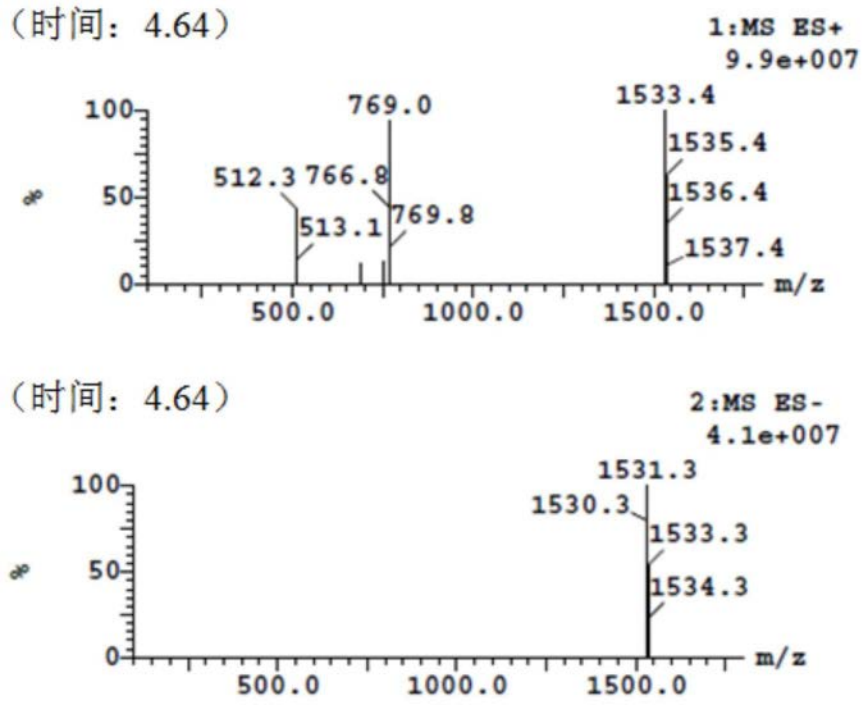

（时间：4.64）
1:MS ES+
9.9e+007
769.0
1533.4
512.3
766.8
1535.4
513.1
769.8
1536.4
1537.4
100
50
0
%
m/z
500.0
1000.0
1500.0
（时间：4.64）
2:MS ES-
4.1e+007
1531.3
1530.3
1533.3
1534.3
100
50
0
%
m/z
500.0
1000.0
1500.0

图3A

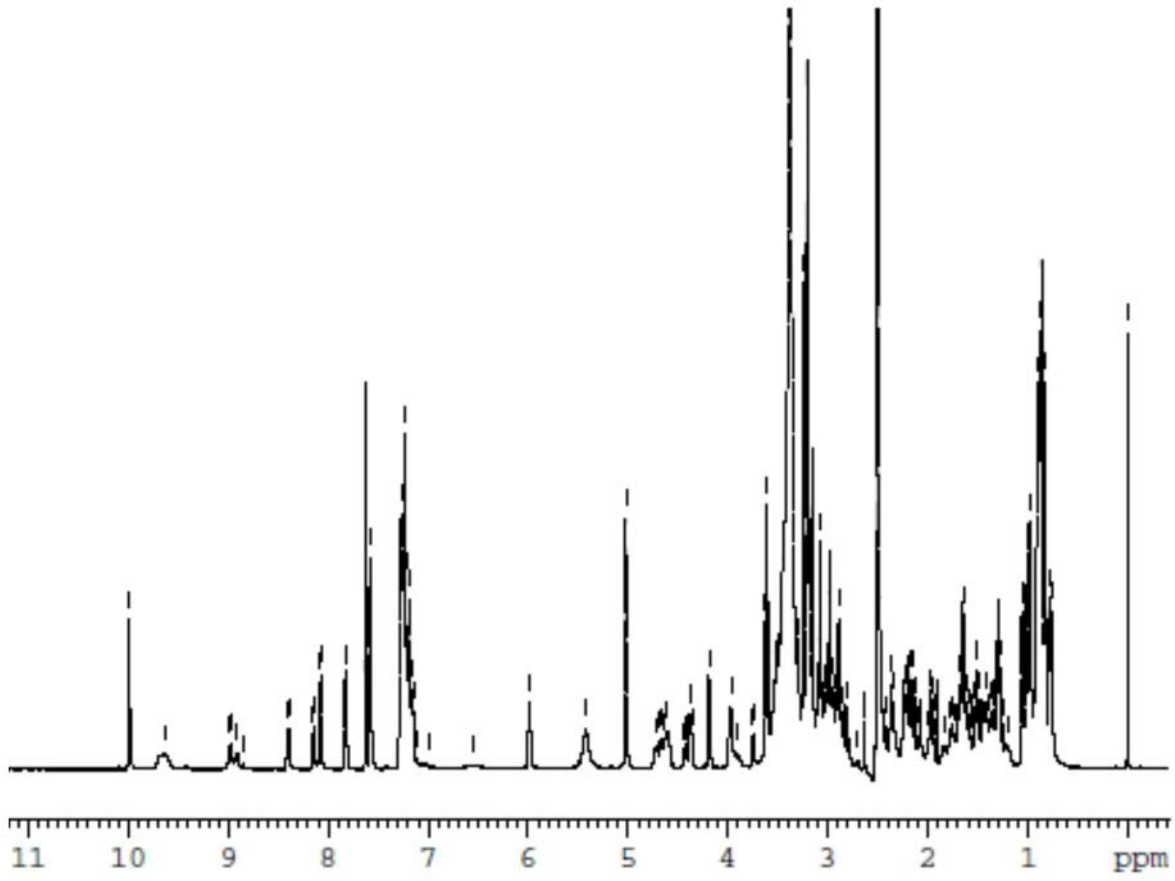


图3B

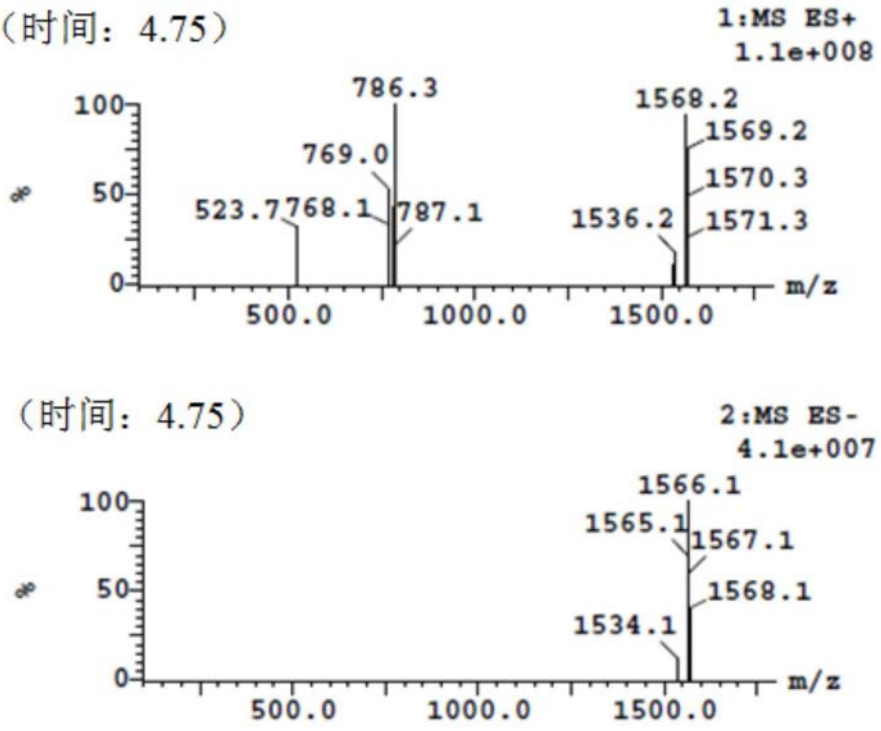

（时间：4.75）
1:MS ES+
1.1e+008
786.3
769.0
523.7
768.1
787.1
1568.2
1569.2
1570.3
1536.2
1571.3
100
50
0
%
500.0
1000.0
1500.0
m/z
（时间：4.75）
2:MS ES-
4.1e+007
1566.1
1565.1
1567.1
1568.1
1534.1
100
50
0
%
500.0
1000.0
1500.0
m/z

图4A

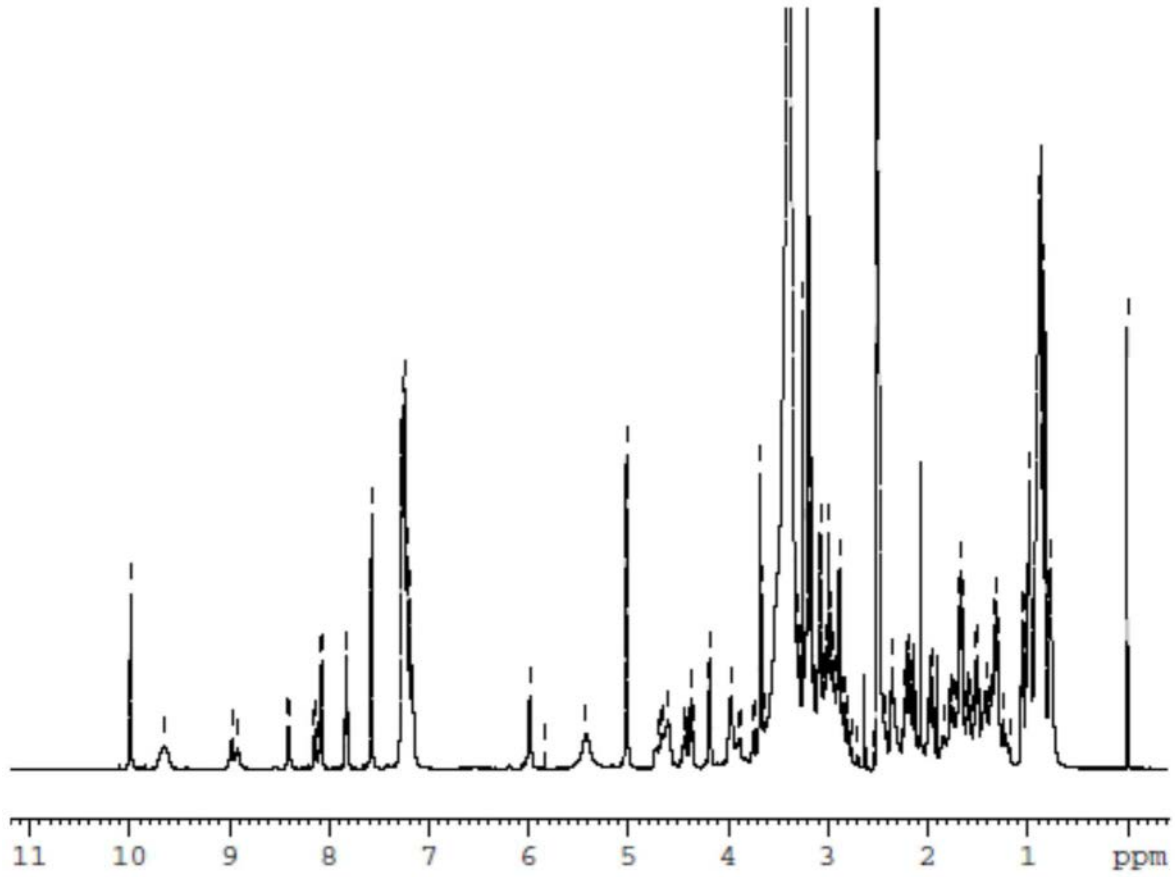


图4B

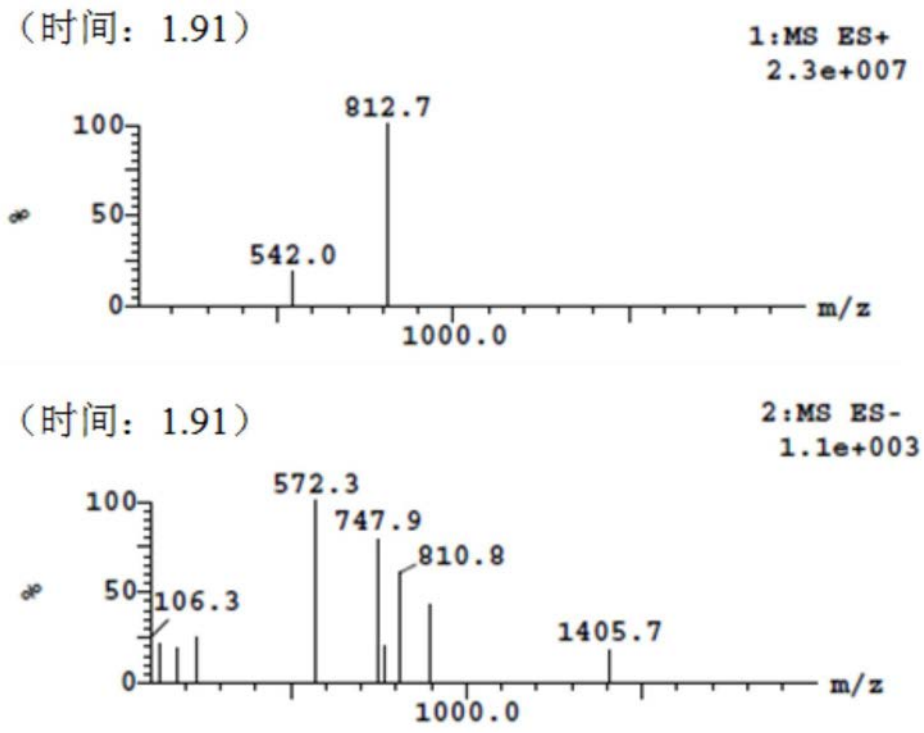

（时间：1.91）
1:MS ES+
2.3e+007
812.7
100
50
0
%
542.0
m/z
1000.0
（时间：1.91）
2:MS ES-
1.1e+003
572.3
747.9
810.8
106.3
1405.7
100
50
0
%
m/z
1000.0

图5A

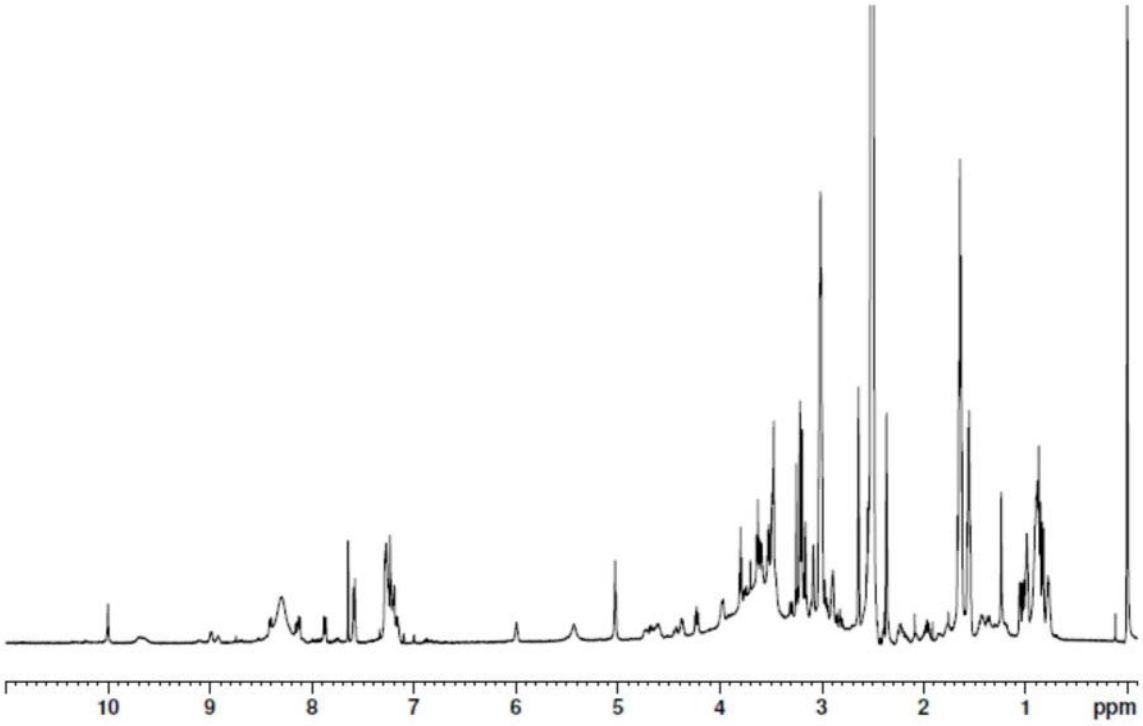

10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
ppm

图5B

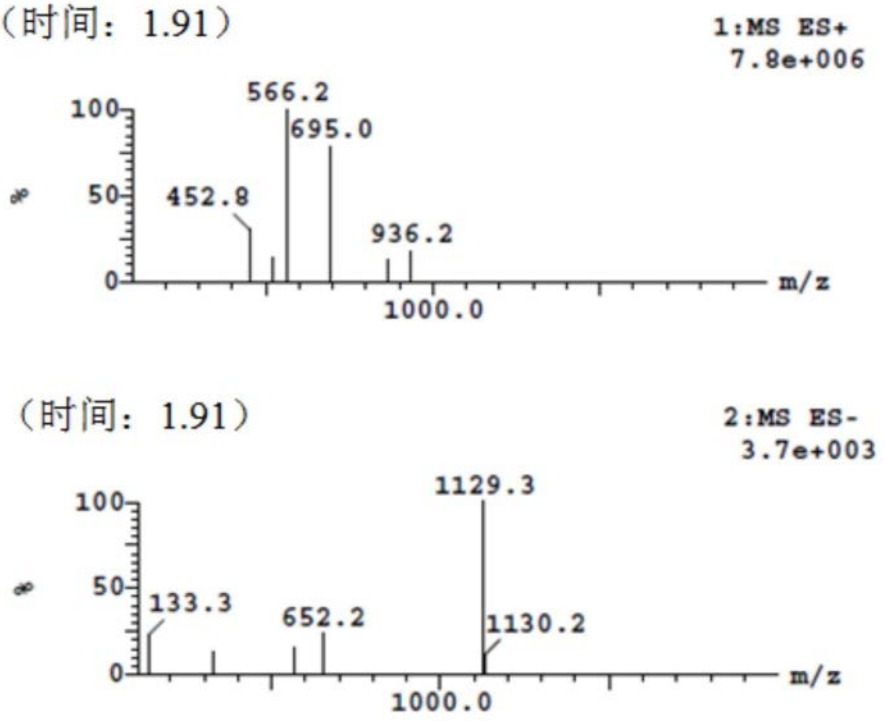

（时间：1.91）
1:MS ES+
7.8e+006
566.2
695.0
452.8
936.2
100
50
0
%
m/z
1000.0
（时间：1.91）
2:MS ES-
3.7e+003
1129.3
133.3
652.2
1130.2
100
50
0
%
m/z
1000.0

图6A

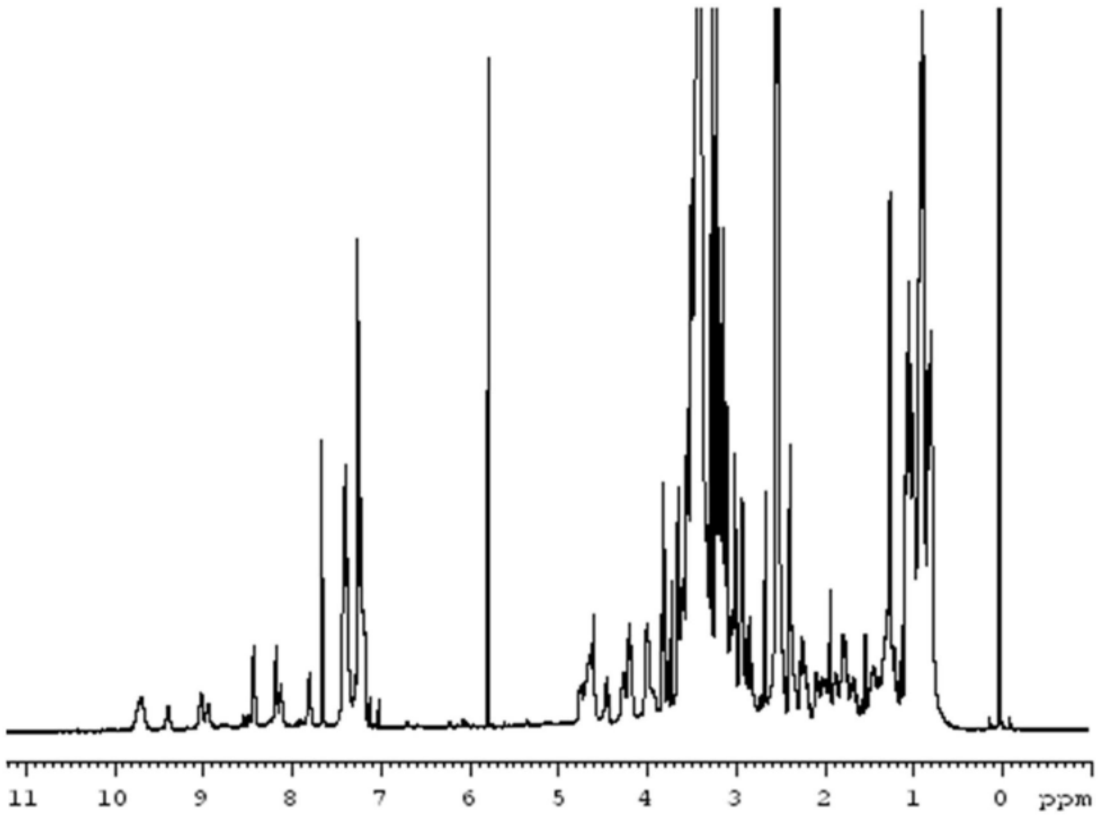

11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
ppm

图6B

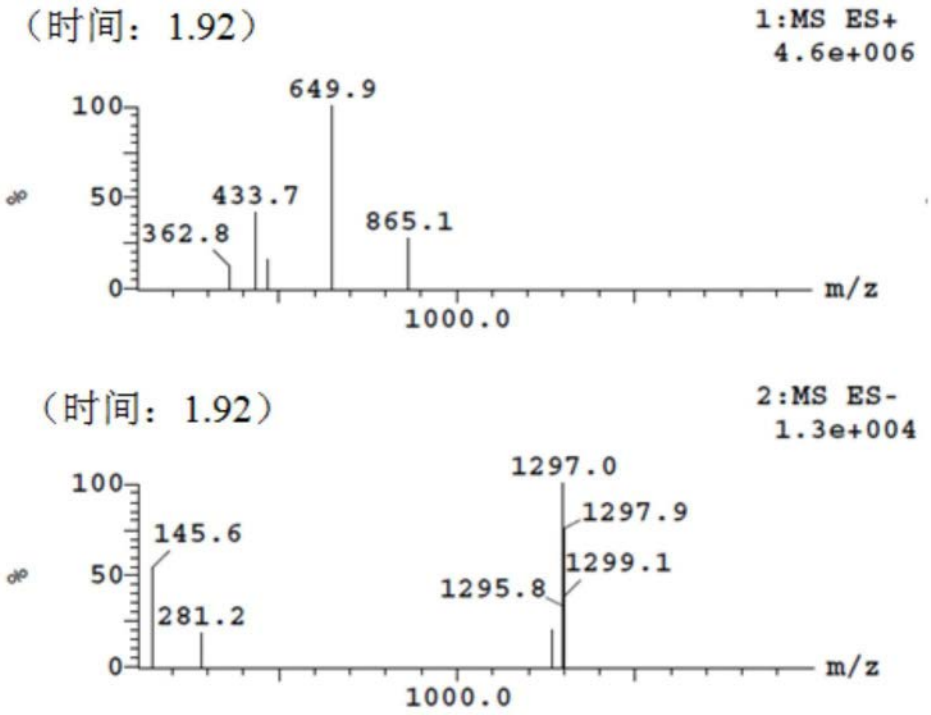

（时间：1.92）
1:MS ES+
4.6e+006
649.9
100
50
0
%
433.7
362.8
865.1
m/z
1000.0
（时间：1.92）
2:MS ES-
1.3e+004
1297.0
100
50
0
%
145.6
1297.9
1299.1
1295.8
281.2
m/z
1000.0

图7A

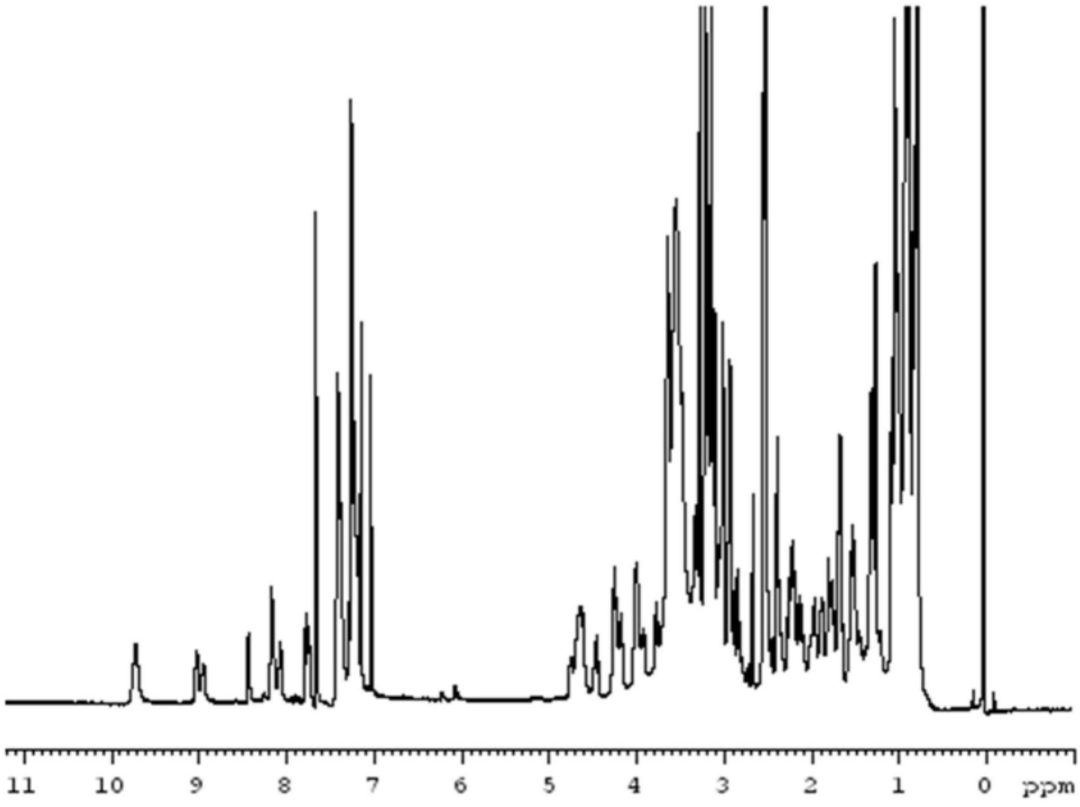

11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
ppm

图7B

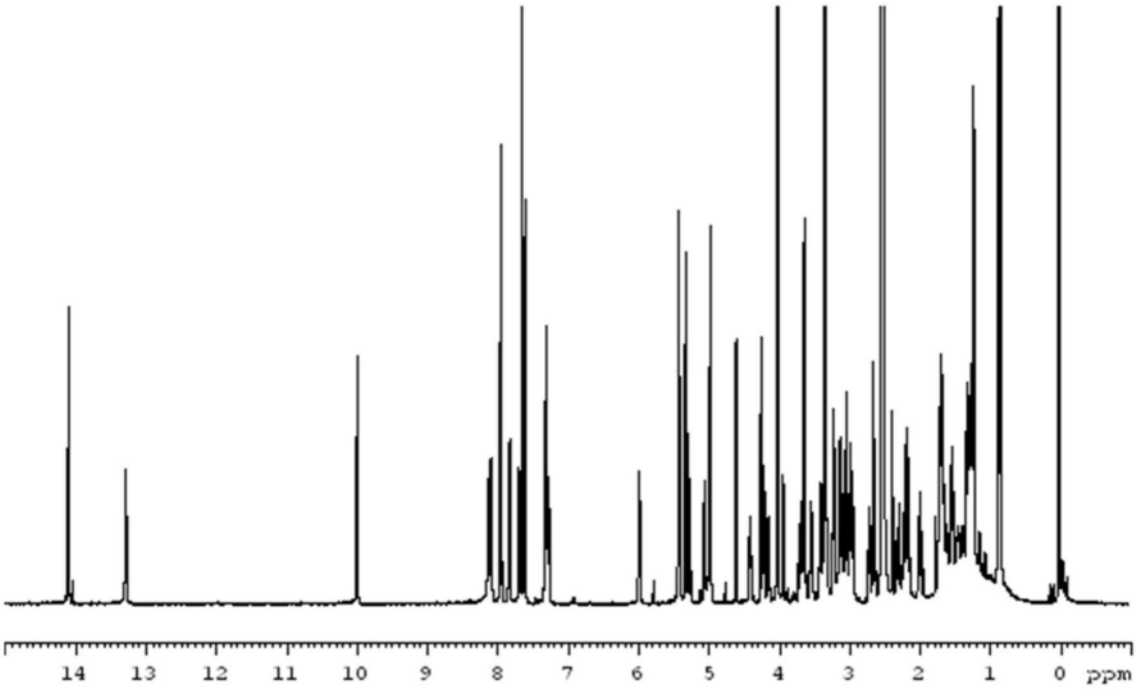


图8

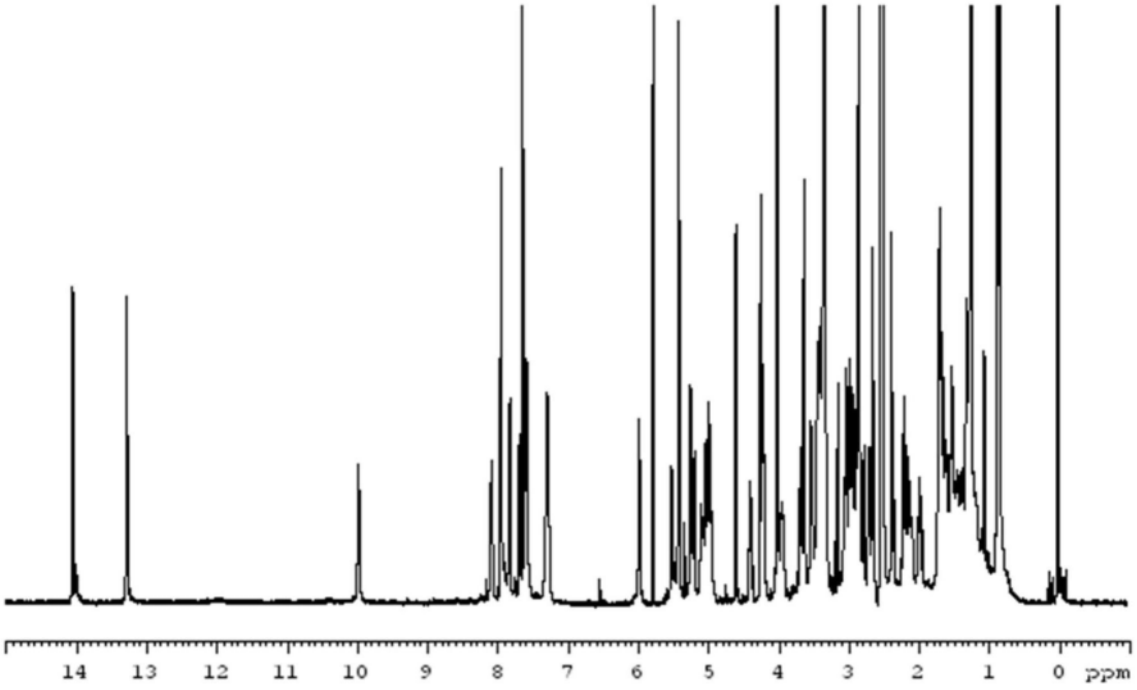


图9

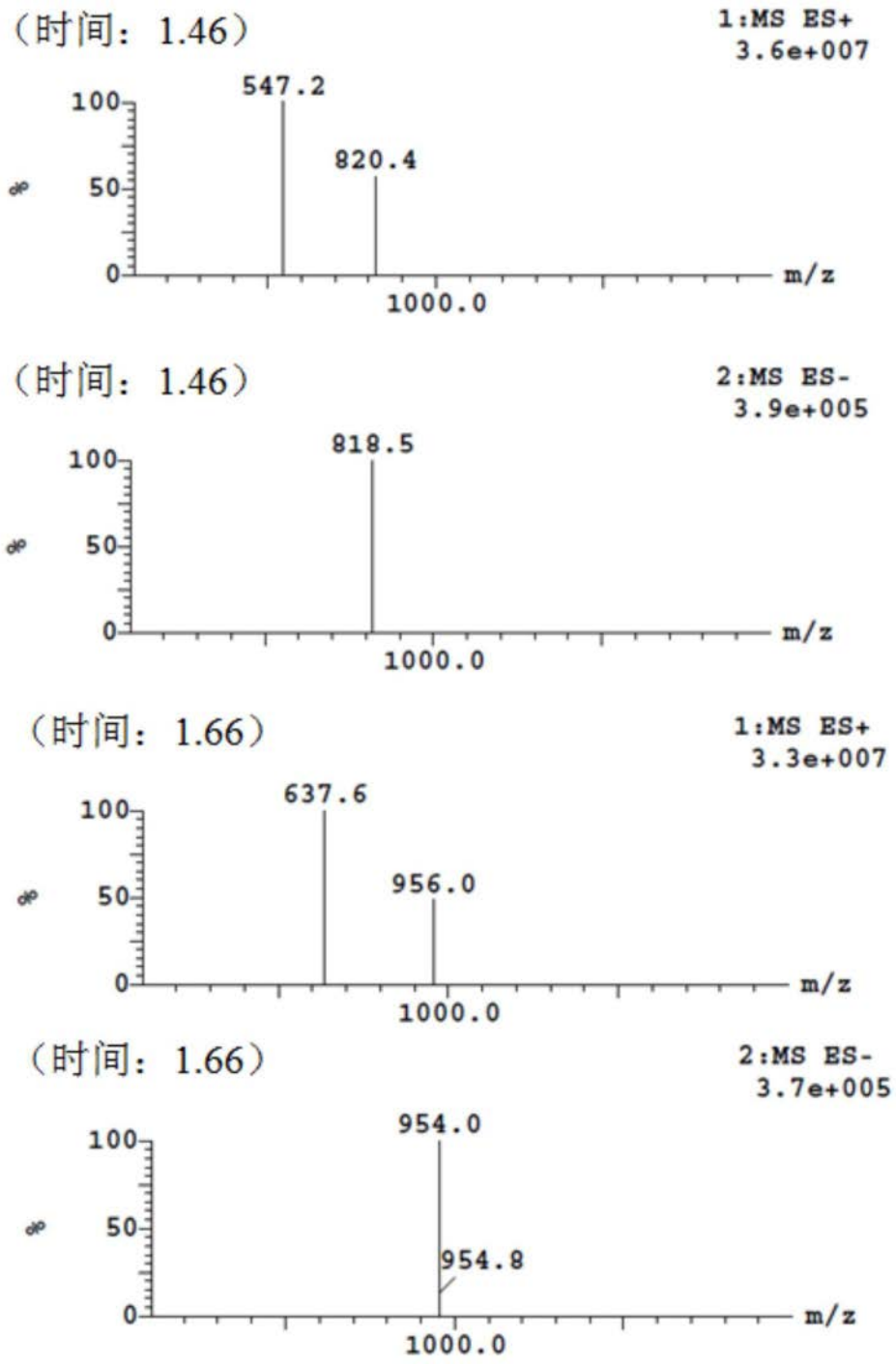

（时间：1.46）
1:MS ES+
3.6e+007
547.2
820.4
100
50
0
%
m/z
1000.0
（时间：1.46）
2:MS ES-
3.9e+005
818.5
100
50
0
%
m/z
1000.0
（时间：1.66）
1:MS ES+
3.3e+007
637.6
956.0
100
50
0
%
m/z
1000.0
（时间：1.66）
2:MS ES-
3.7e+005
954.0
954.8
100
50
0
%
m/z
1000.0

图10

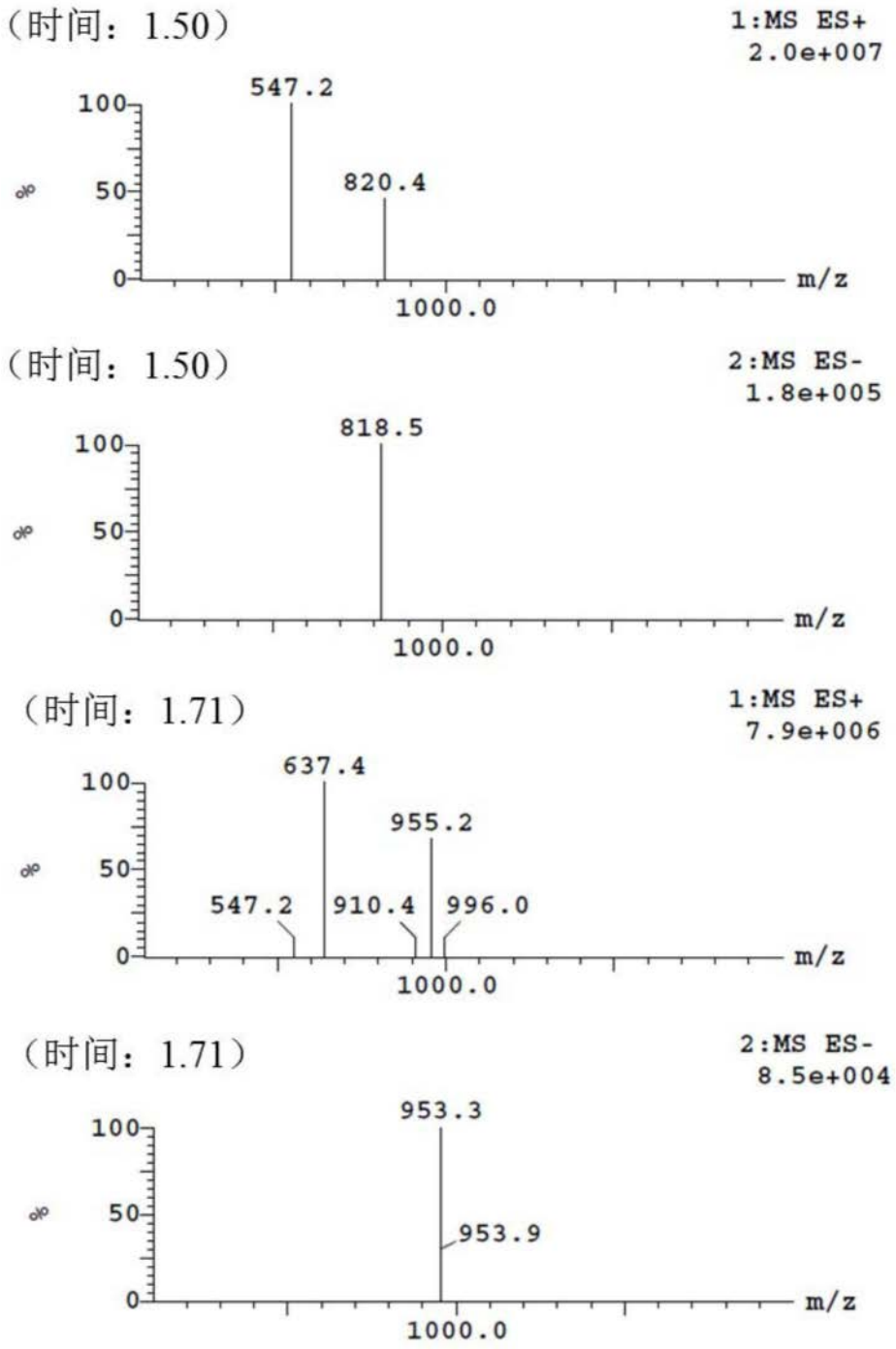

（时间：1.50）
1:MS ES+
2.0e+007
547.2
820.4
100
50
0
%
m/z
1000.0
（时间：1.50）
2:MS ES-
1.8e+005
818.5
100
50
0
%
m/z
1000.0
（时间：1.71）
1:MS ES+
7.9e+006
637.4
955.2
547.2
910.4
996.0
100
50
0
%
m/z
1000.0
（时间：1.71）
2:MS ES-
8.5e+004
953.3
953.9
100
50
0
%
m/z
1000.0

图11

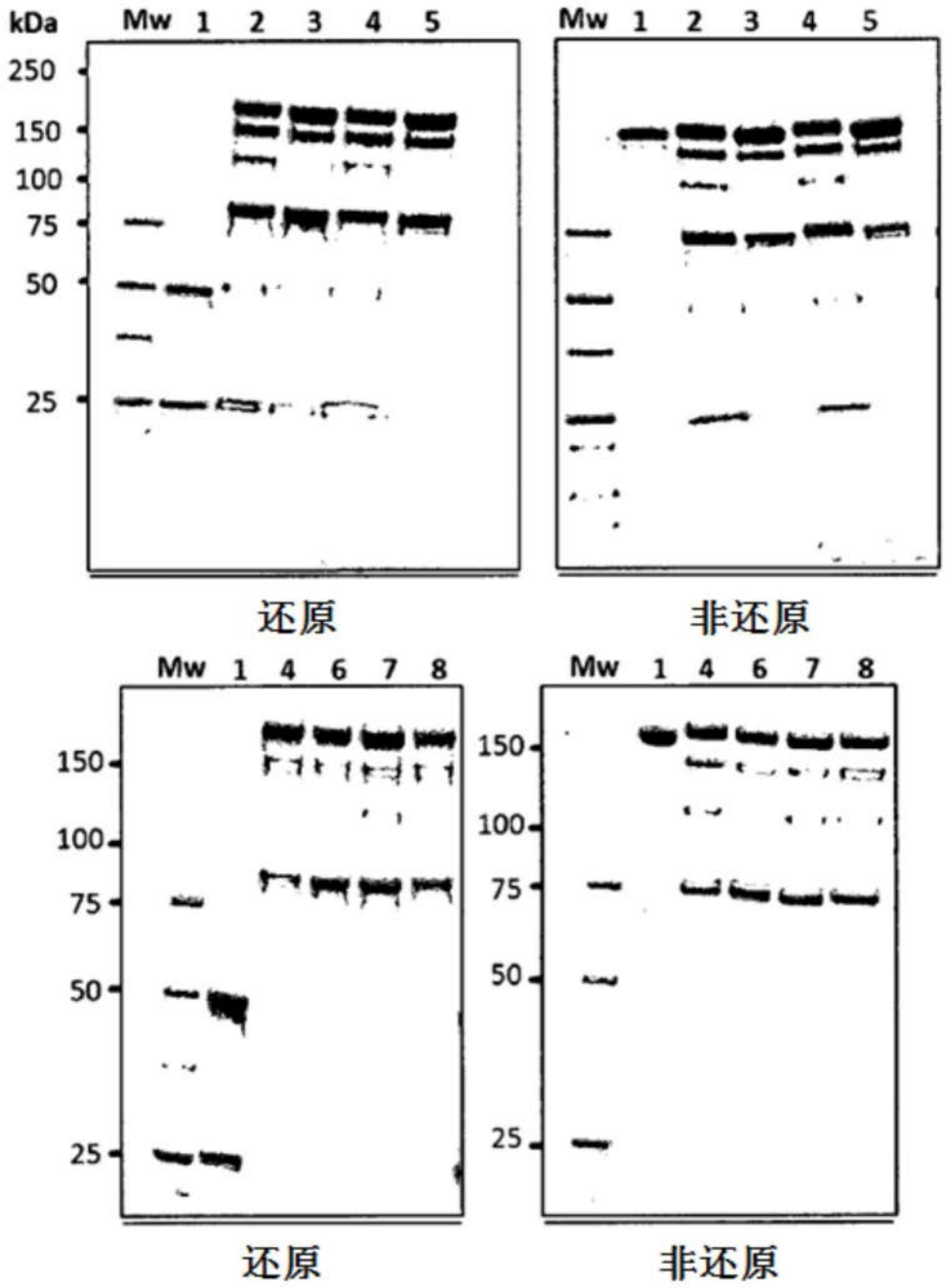

kDa
Mw 1 2 3 4 5
250
150
100
75
50
25
还原
Mw 1 2 3 4 5
非还原
Mw 1 4 6 7 8
150
100
75
50
25
还原
Mw 1 4 6 7 8
150
100
75
50
25
非还原

图12

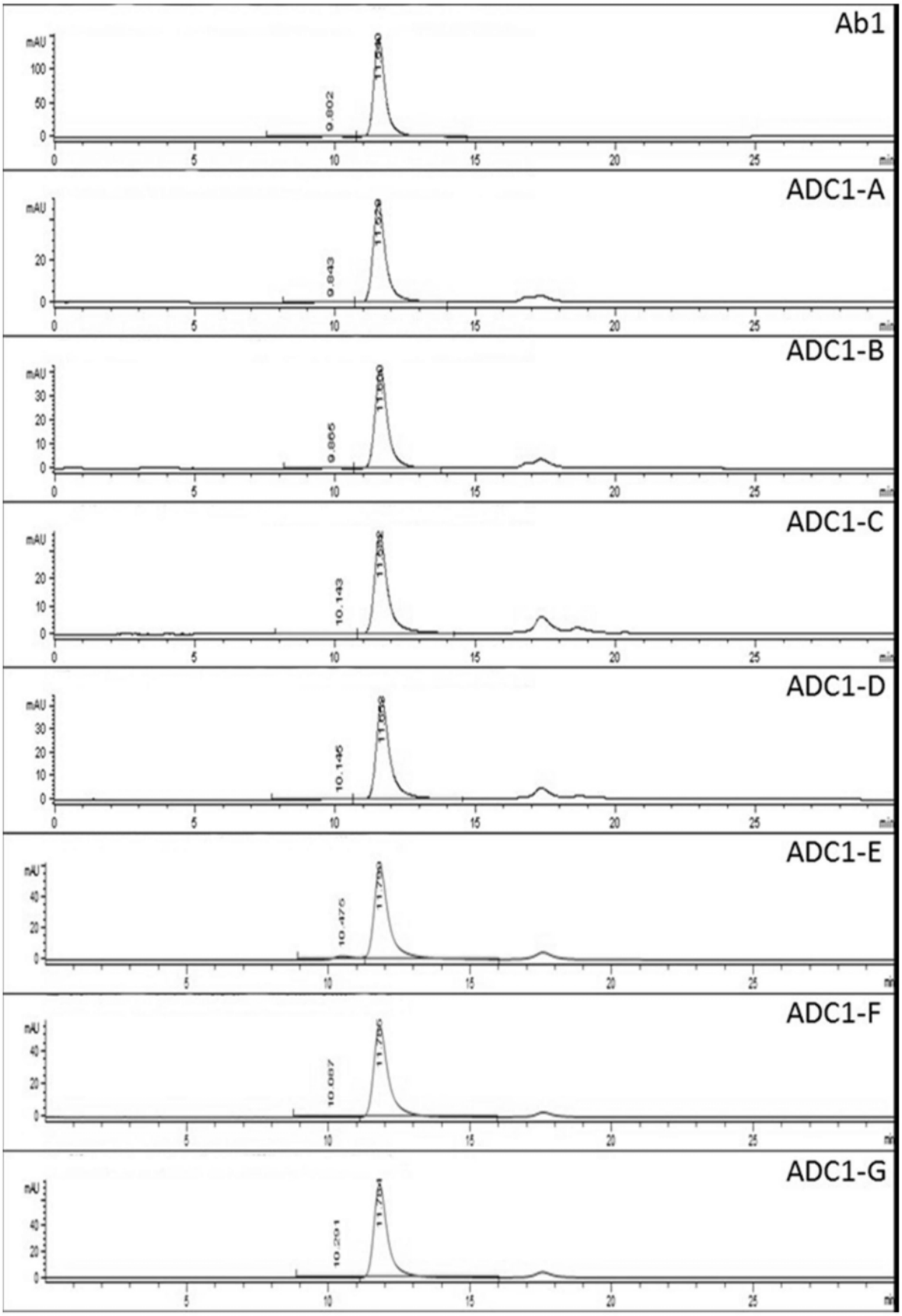


图13

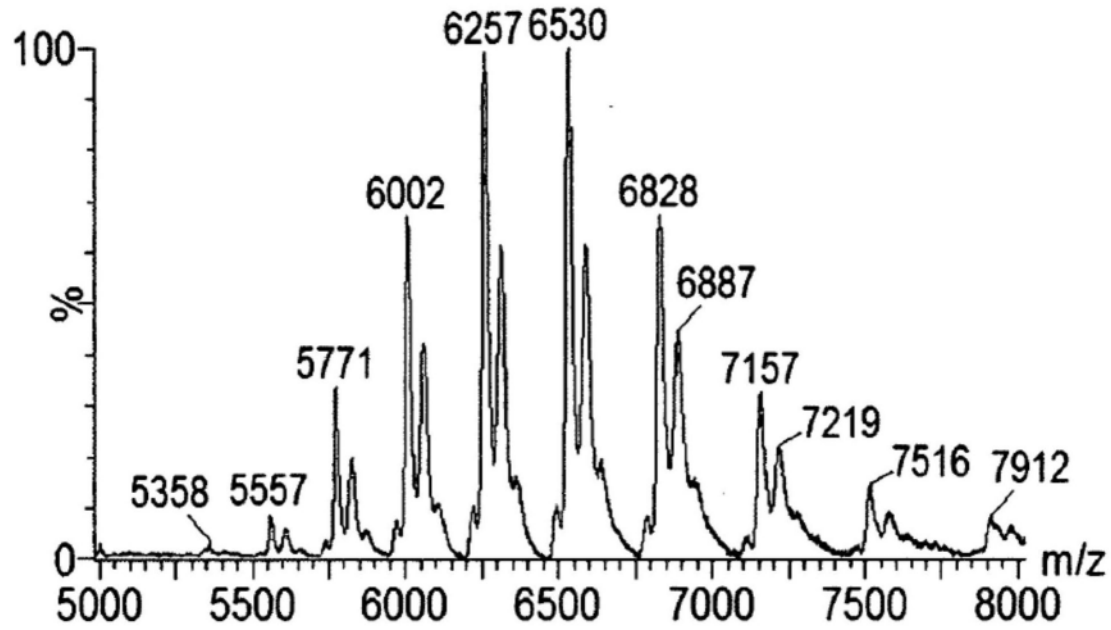

100
%
0
6257
6530
6002
6828
6887
5771
7157
7219
7516
7912
5358
5557
m/z
5000
5500
6000
6500
7000
7500
8000

图14A

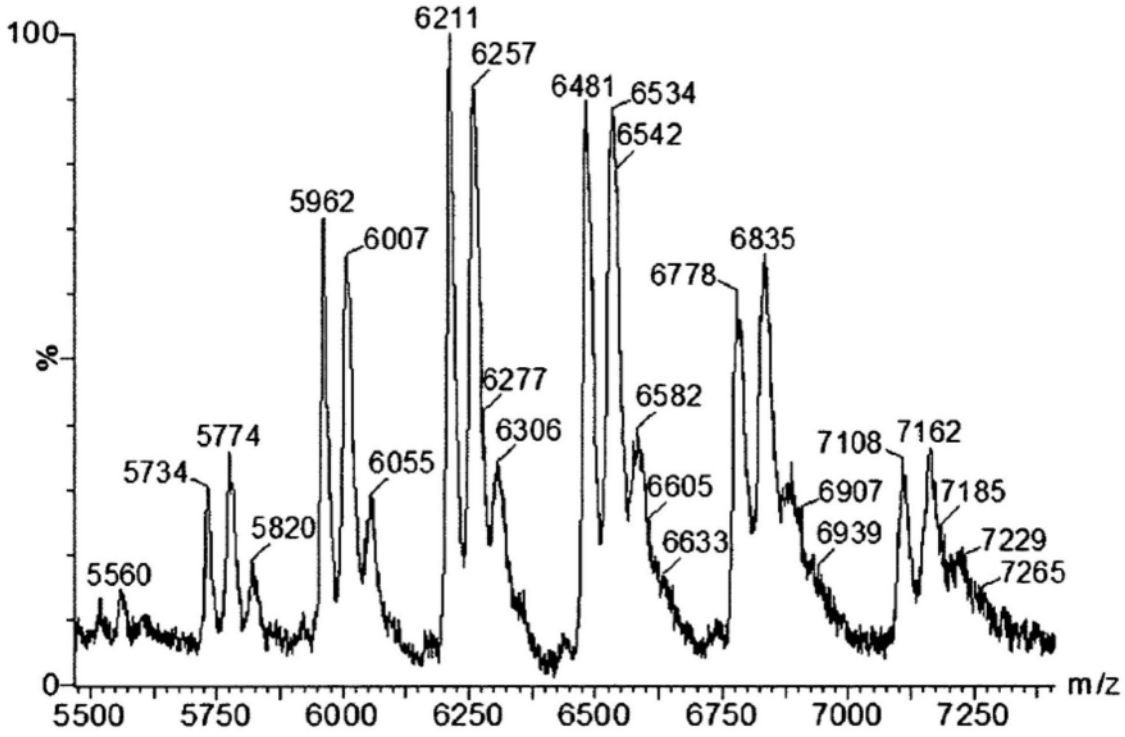

100
%
0
6211
6257
6481
6534
6542
5962
6007
6835
6778
6277
6582
6306
5774
5734
6055
7108
7162
6605
6907
7185
5820
6633
6939
7229
5560
7265
m/z
5500
5750
6000
6250
6500
6750
7000
7250

图14B

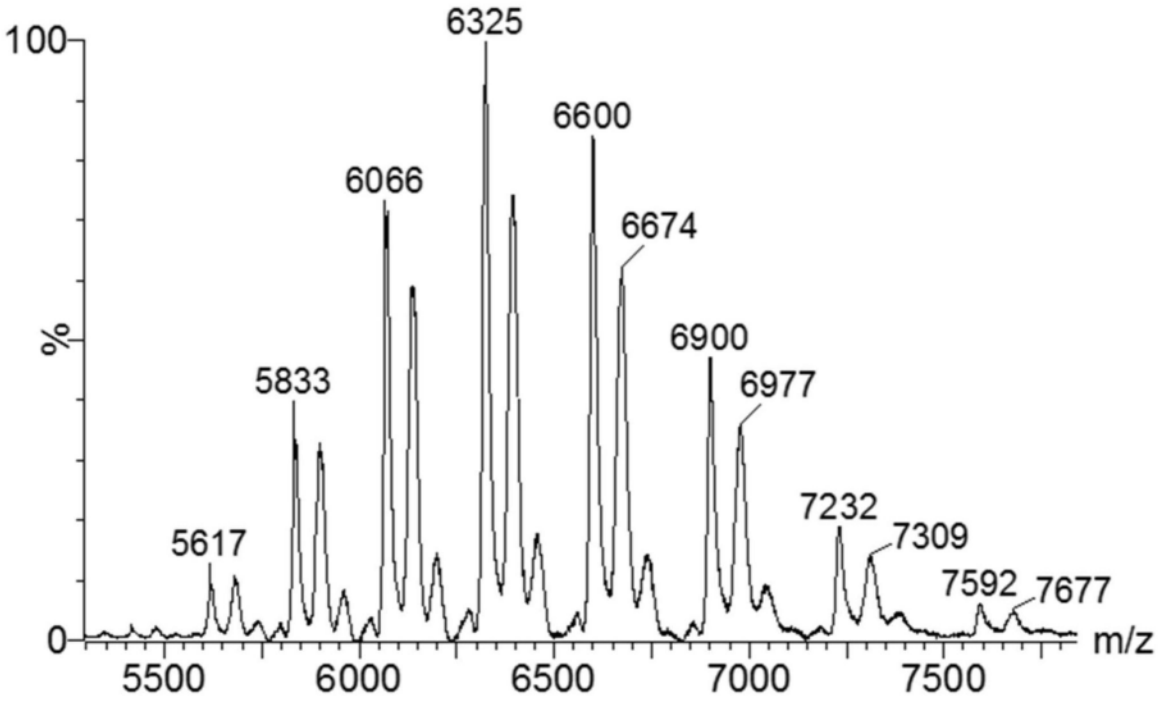

100
%
0
6325
6600
6066
6674
6900
6977
5833
5617
7232
7309
7592
7677
m/z
5500
6000
6500
7000
7500

图14C

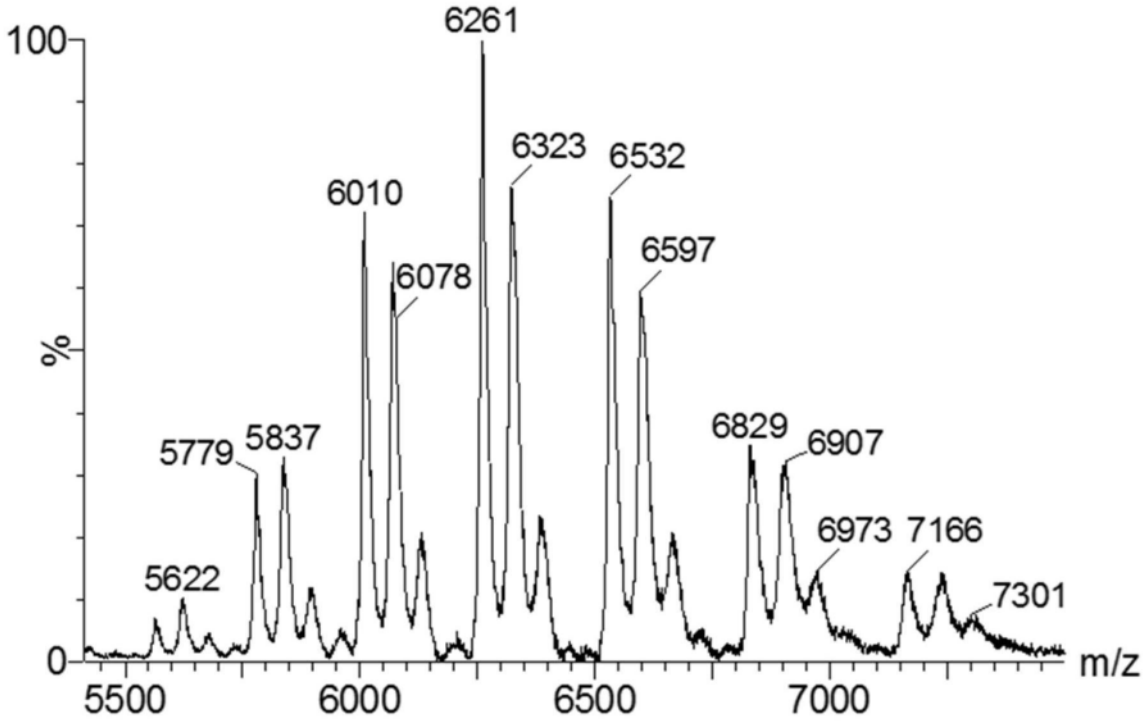

100
%
0
6261
6323
6532
6010
6597
6078
6829
6907
5779
5837
6973
7166
5622
7301
m/z
5500
6000
6500
7000

图14D

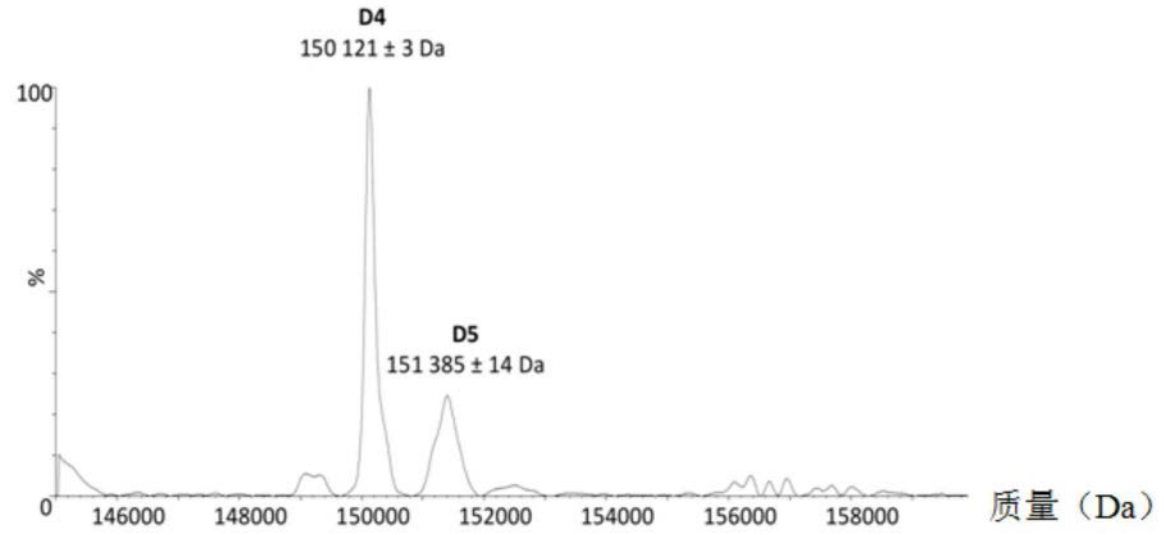

D4
150 121 ± 3 Da
100
%
D5
151 385 ± 14 Da
0
146000
148000
150000
152000
154000
156000
158000
质量（Da）

图15A

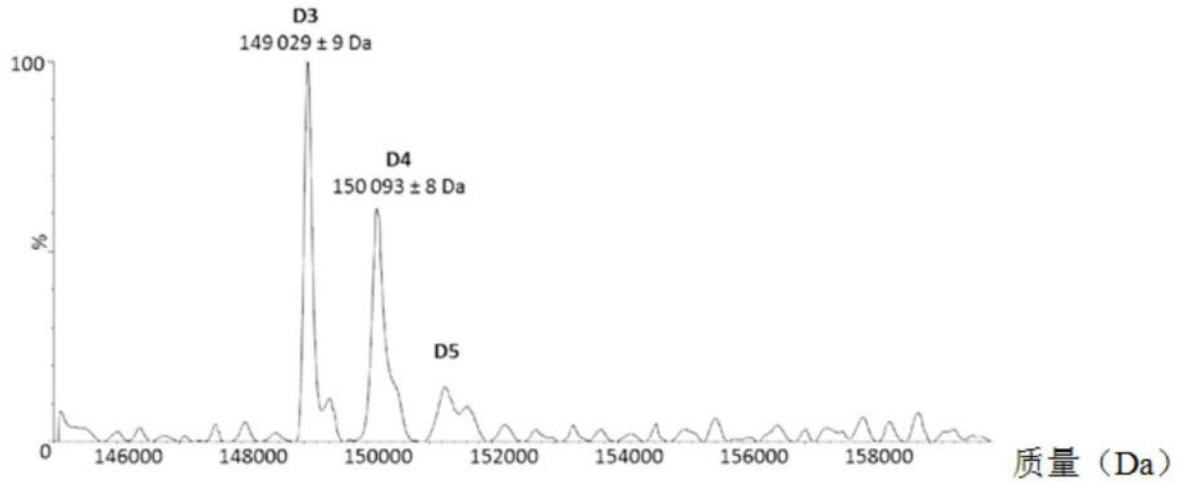

D3
149 029 ± 9 Da
100
%
D4
150 093 ± 8 Da
D5
0
146000
148000
150000
152000
154000
156000
158000
质量（Da）

图15B

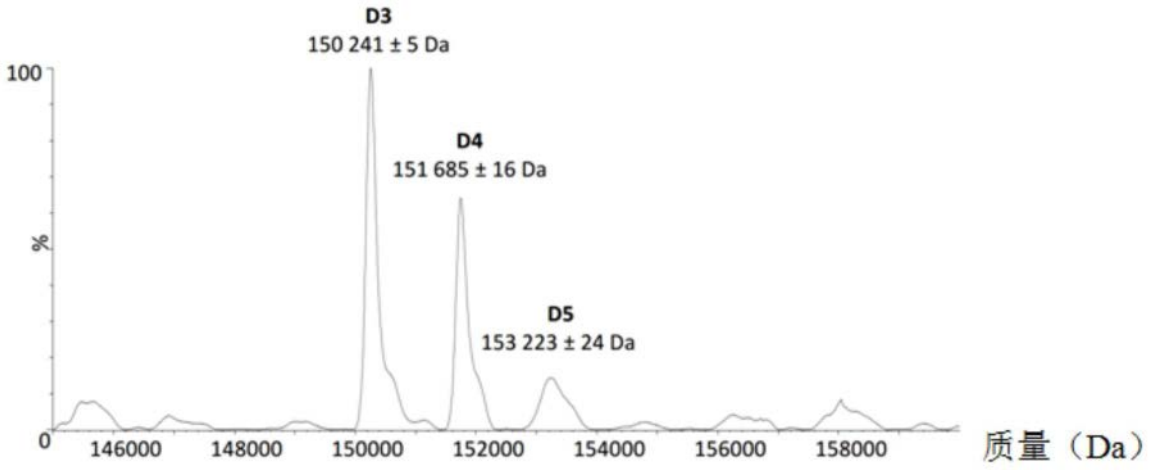

D3
150 241 ± 5 Da
D4
151 685 ± 16 Da
D5
153 223 ± 24 Da
100
%
0
146000
148000
150000
152000
154000
156000
158000
质量（Da）

图15C

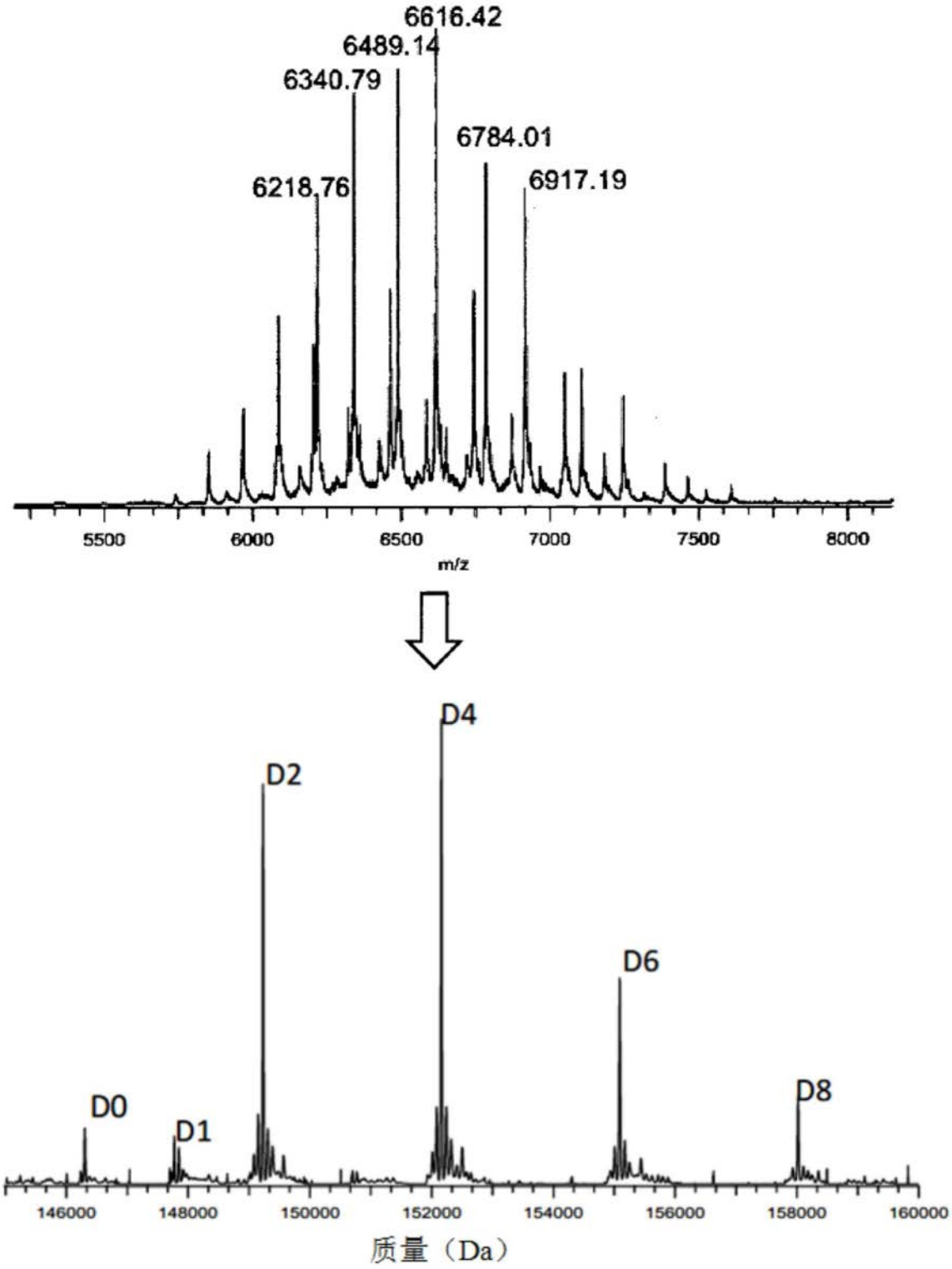

6616.42
6489.14
6340.79
6784.01
6218.76
6917.19
5500
6000
6500
7000
7500
8000
m/z
D4
D2
D6
D0
D1
D8
146000
148000
150000
152000
154000
156000
158000
160000
质量（Da）

图16A

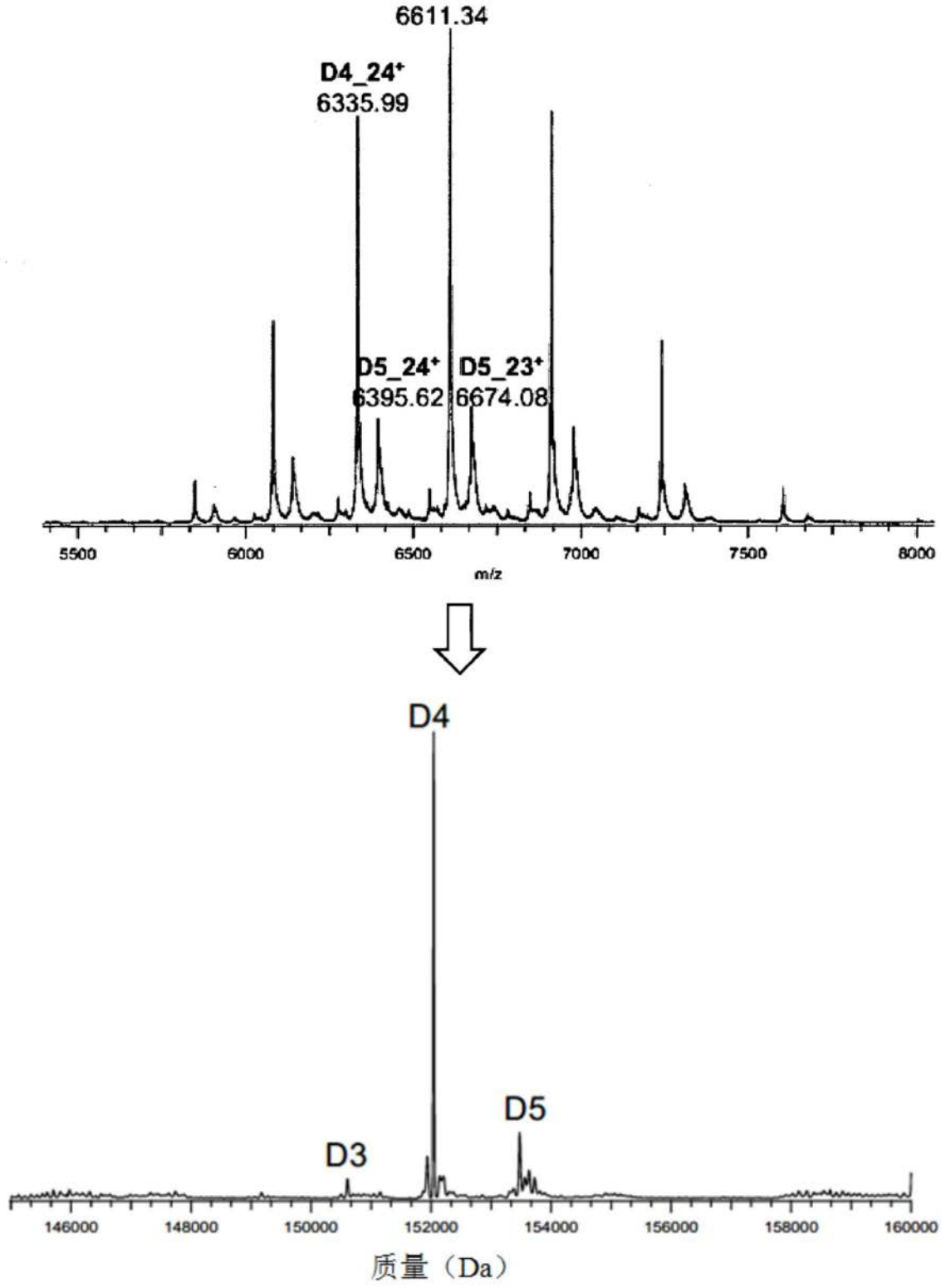

6611.34
D4_24+
6335.99
D5_24+
6395.62
D5_23+
6674.08
5500
6000
6500
7000
7500
8000
m/z
D4
D5
D3
146000
148000
150000
152000
154000
156000
158000
160000
质量（Da）

图16B

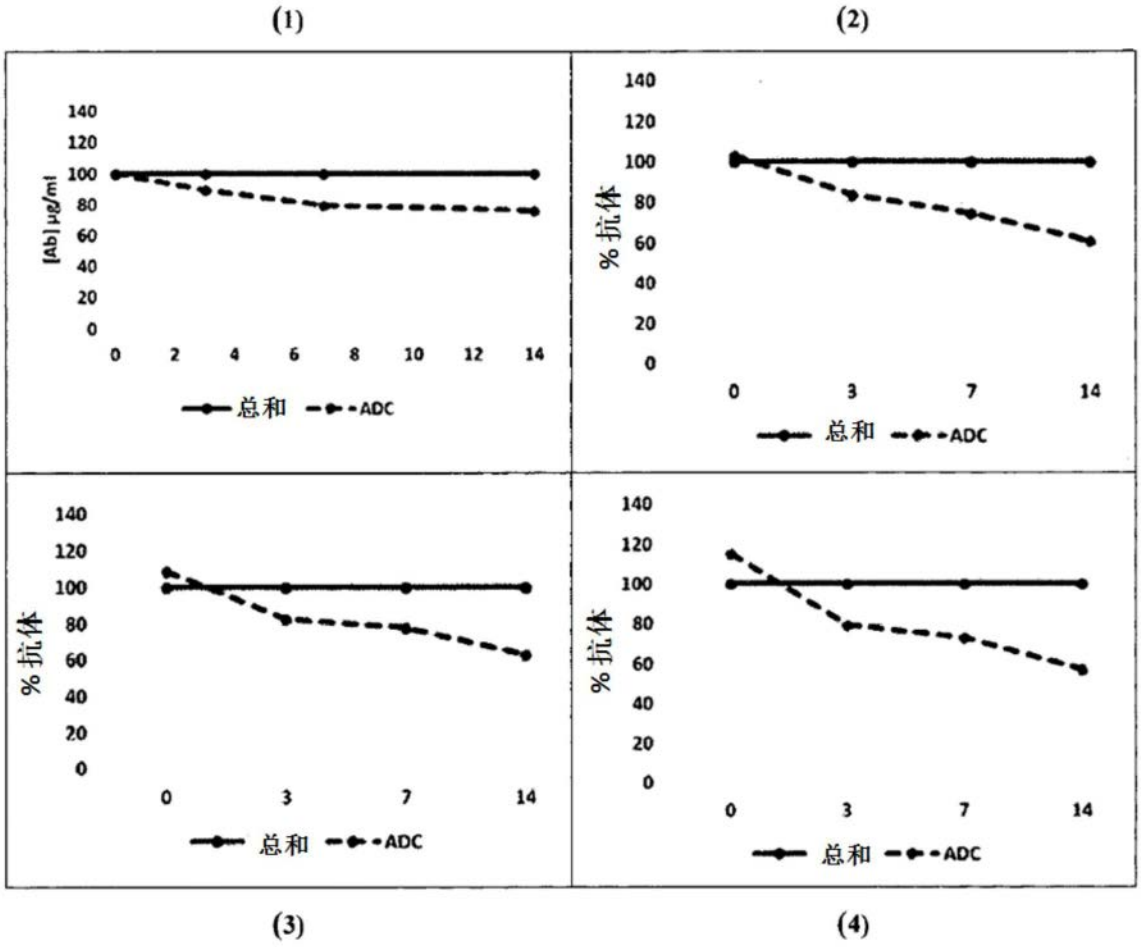


图17A

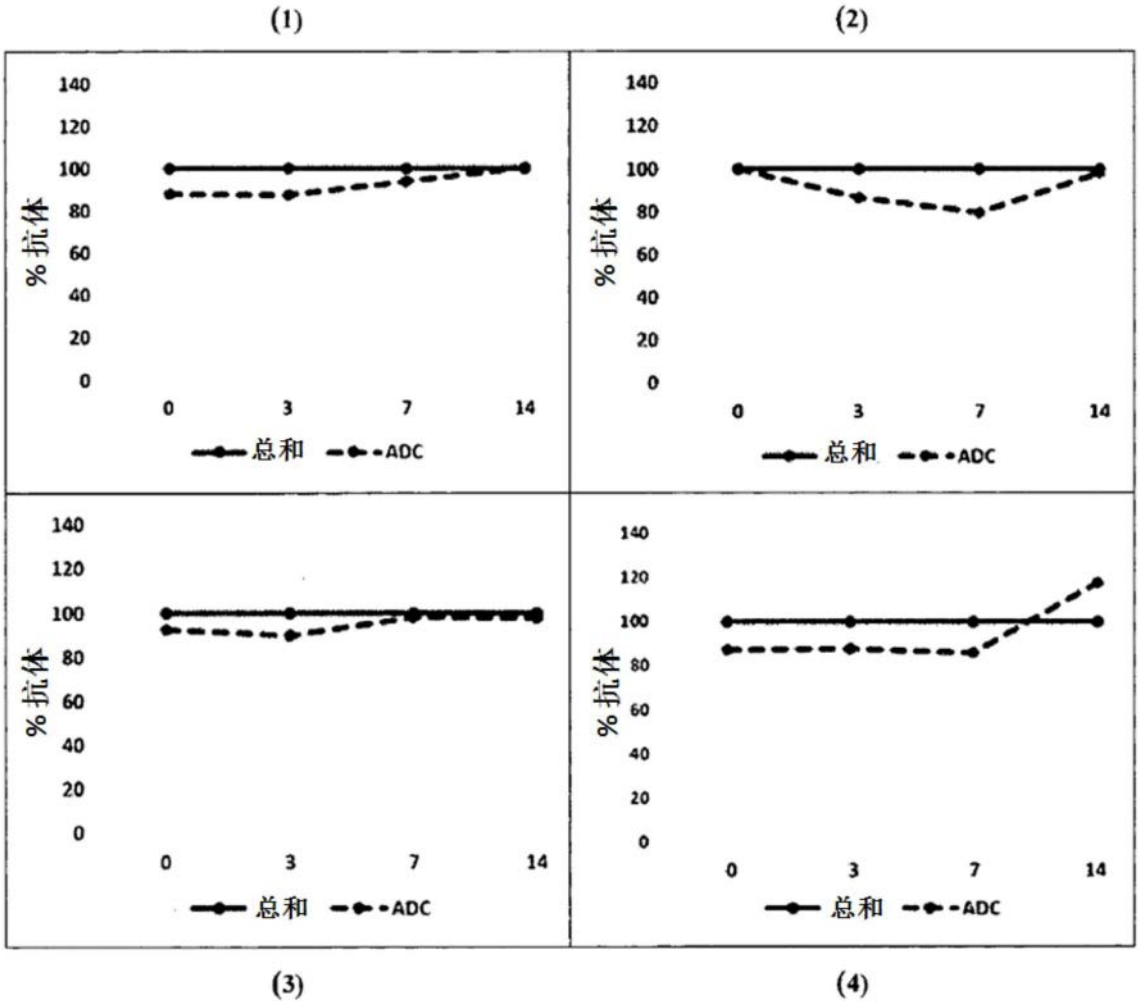


图17B

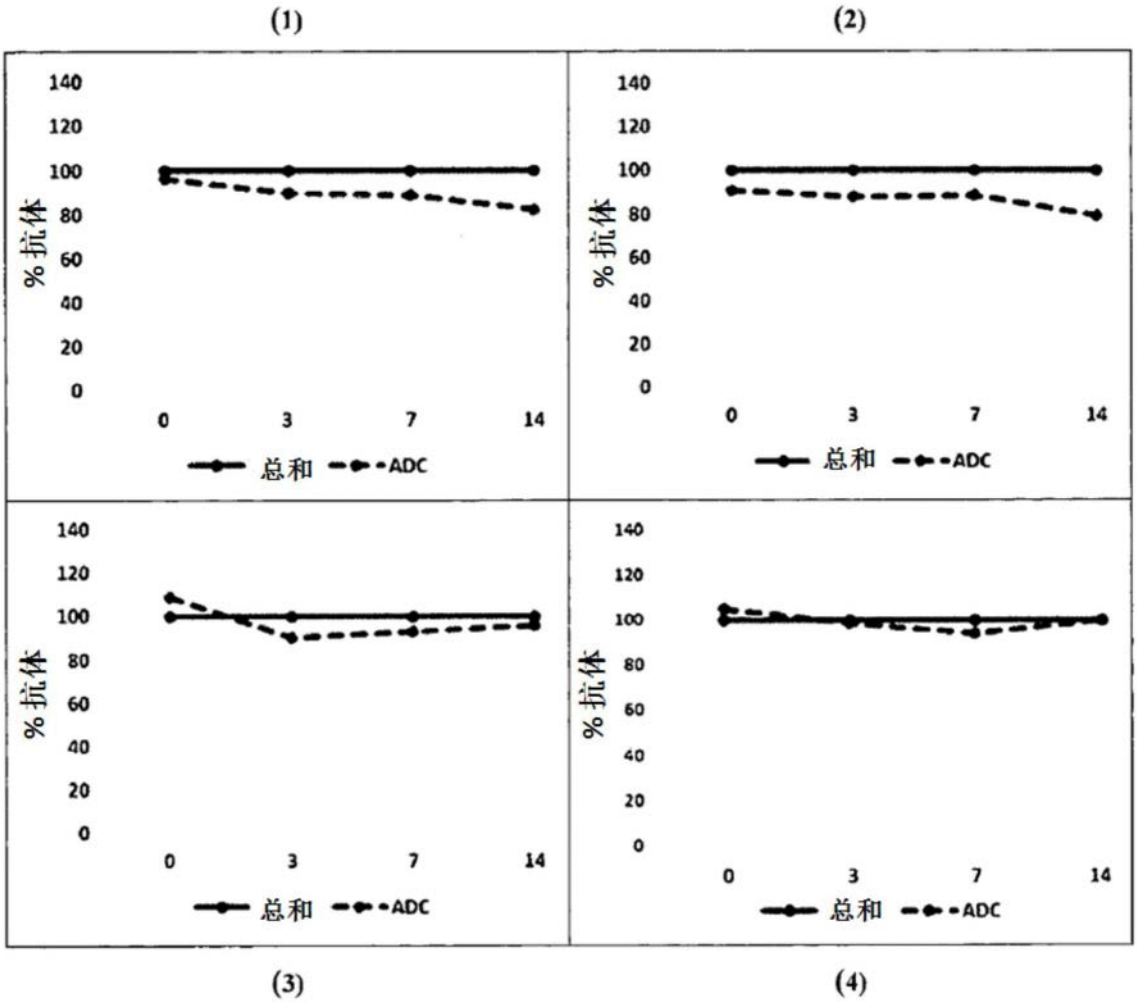


图17C

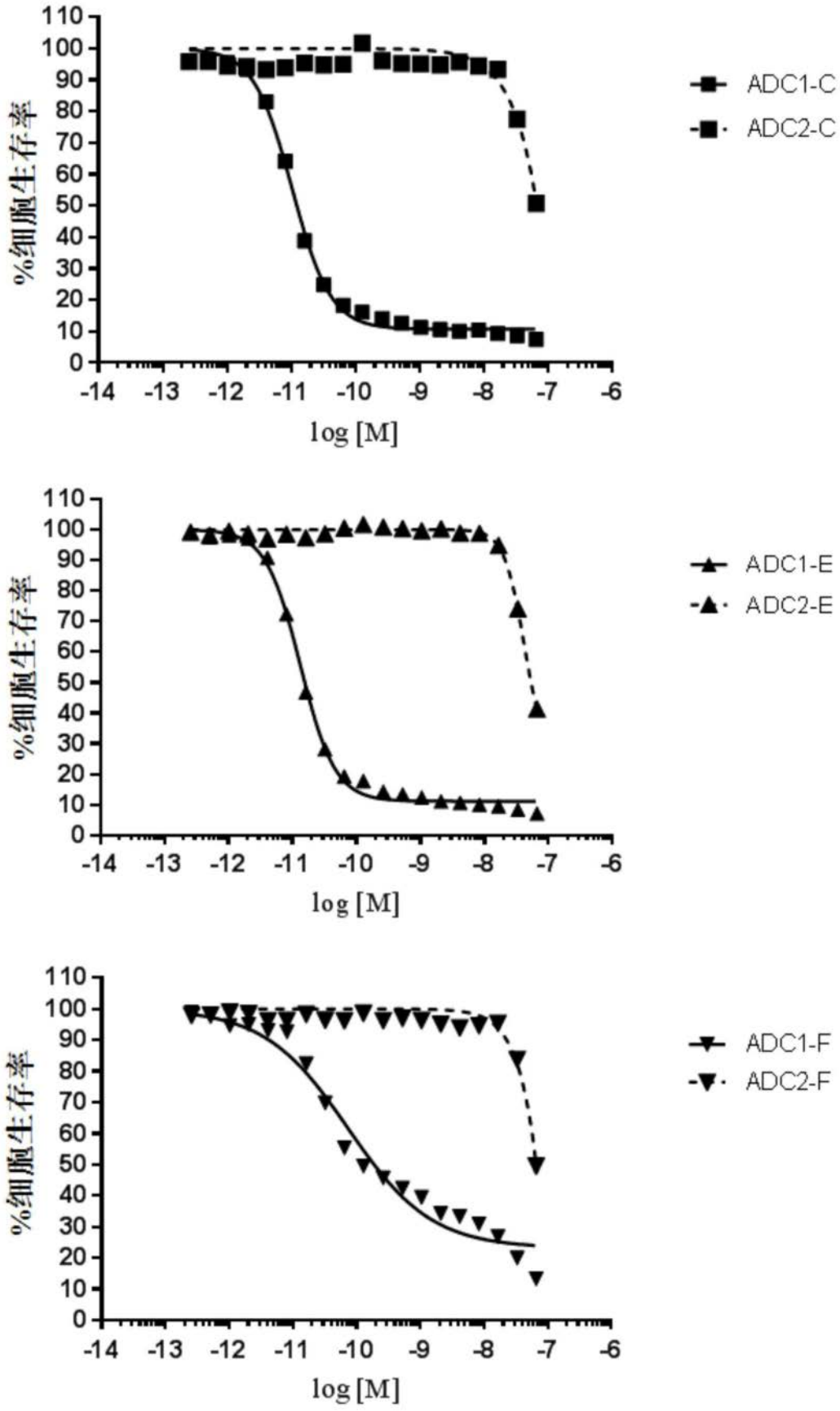

%细胞生存率
log [M]
ADC1-C
ADC2-C
%细胞生存率
log [M]
ADC1-E
ADC2-E
%细胞生存率
log [M]
ADC1-F
ADC2-F

图18A

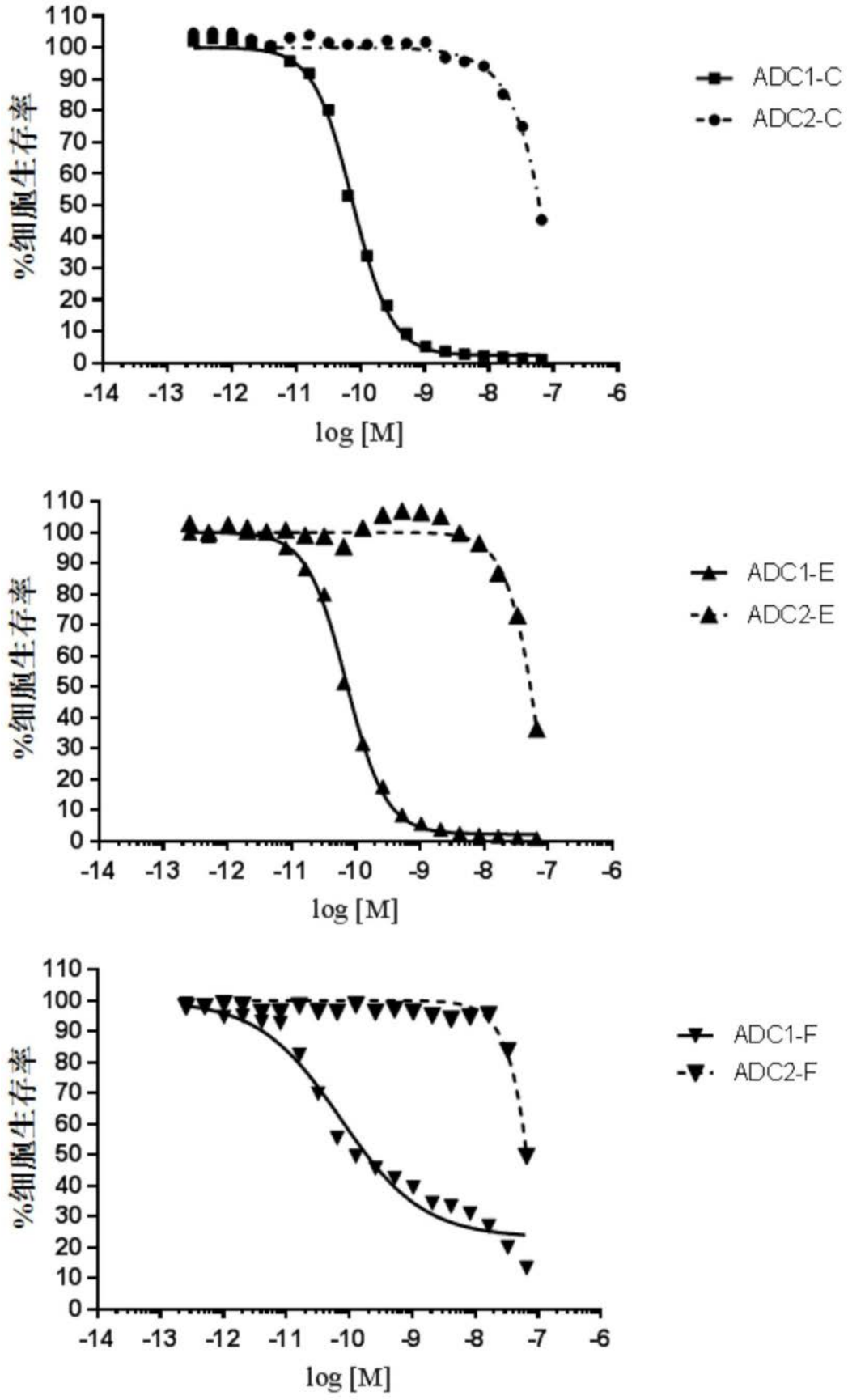


图18B

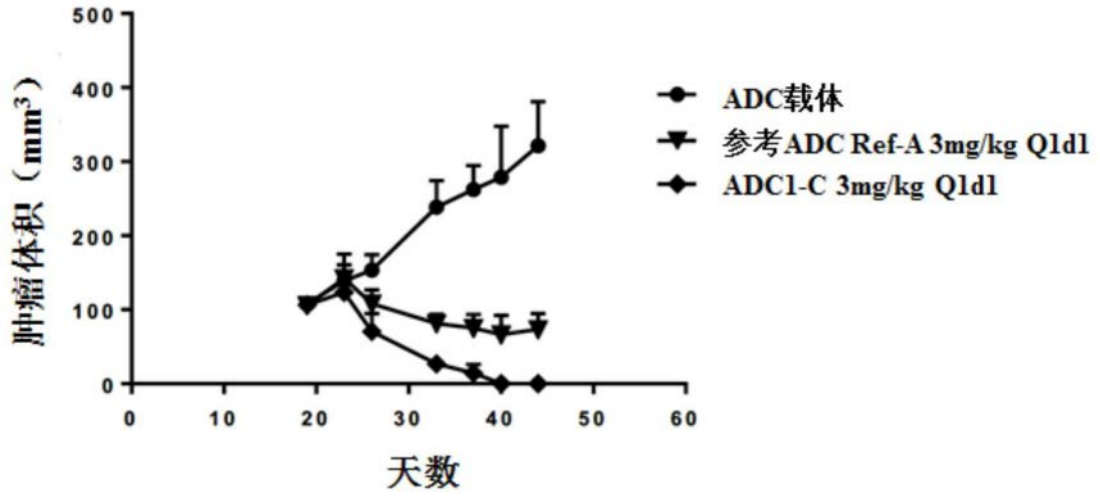

肿瘤体积（mm³）
500
400
300
200
100
0
0
10
20
30
40
50
60
天数
ADC载体
参考ADC Ref-A 3mg/kg Q1d1
ADC1-C 3mg/kg Q1d1

图19

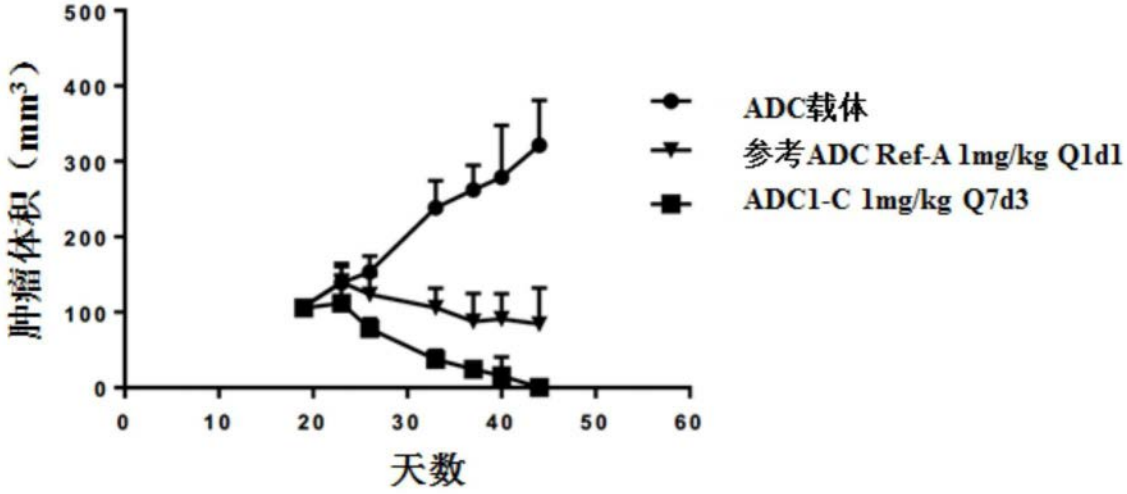

肿瘤体积（mm³）
500
400
300
200
100
0
0
10
20
30
40
50
60
天数
ADC载体
参考ADC Ref-A 1mg/kg Q1d1
ADC1-C 1mg/kg Q7d3

图20

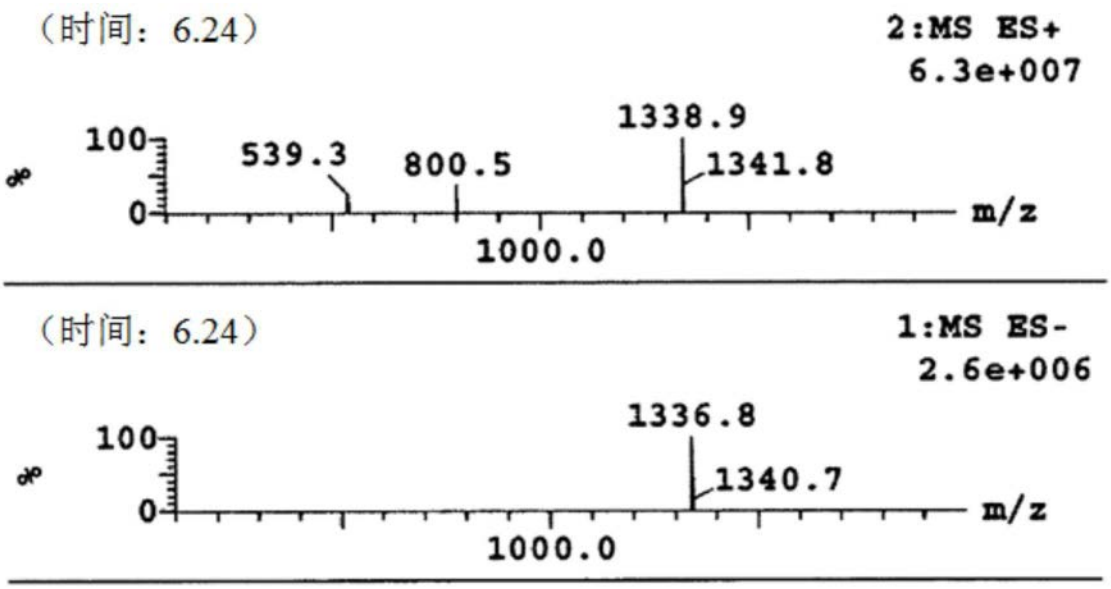

（时间：6.24）
2:MS ES+
6.3e+007
100
0
%
539.3
800.5
1338.9
1341.8
m/z
1000.0
（时间：6.24）
1:MS ES-
2.6e+006
100
0
%
1336.8
1340.7
m/z
1000.0

图21

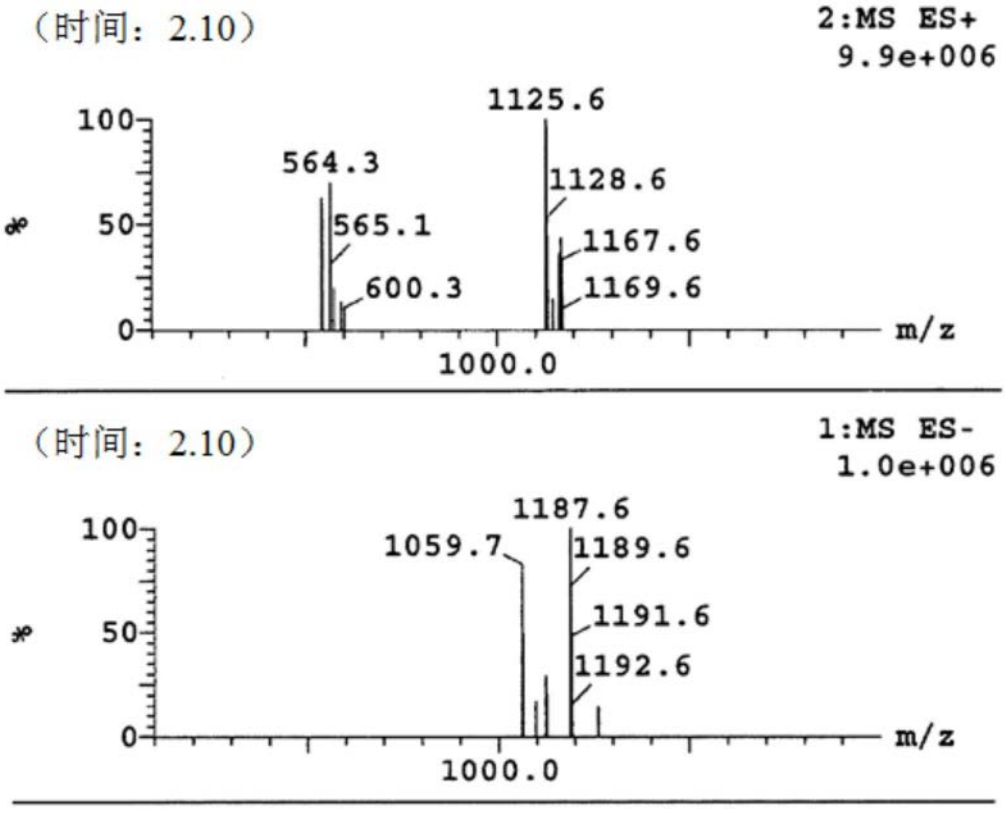

（时间：2.10）
2:MS ES+
9.9e+006
100
50
0
%
564.3
565.1
600.3
1125.6
1128.6
1167.6
1169.6
m/z
1000.0
（时间：2.10）
1:MS ES-
1.0e+006
100
50
0
%
1059.7
1187.6
1189.6
1191.6
1192.6
m/z
1000.0

图22A

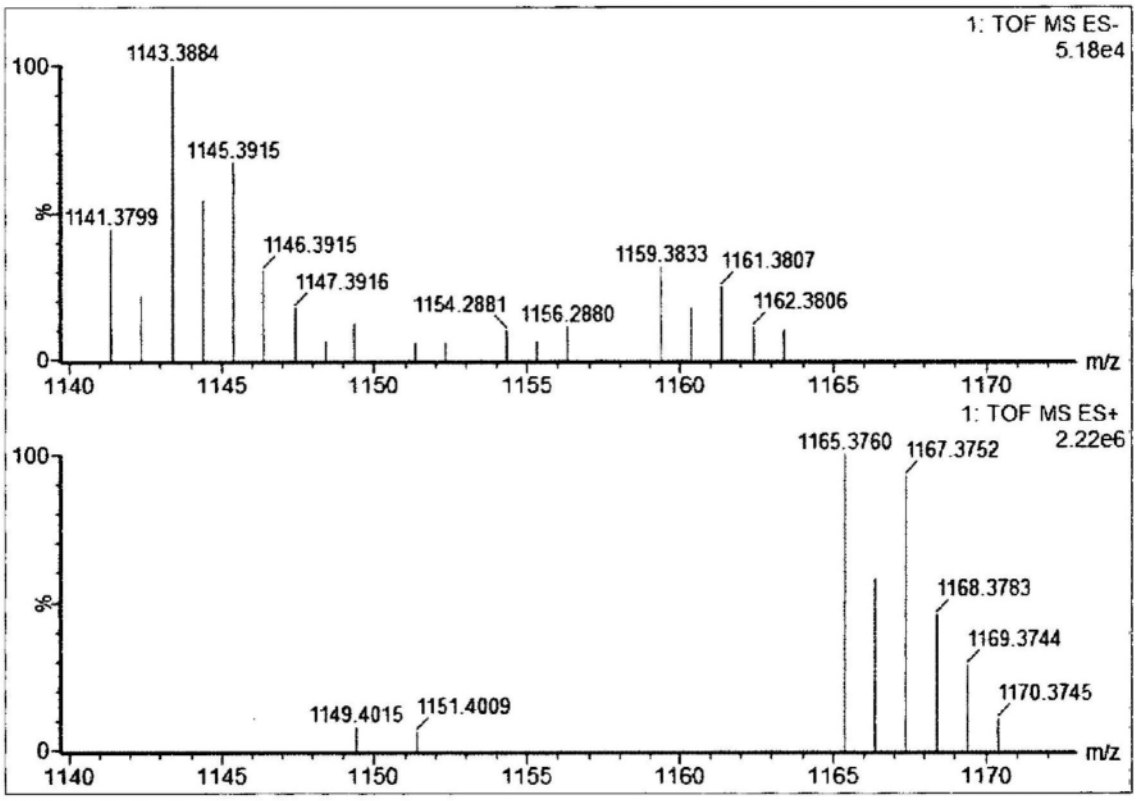

1: TOF MS ES-
5.18e4
100
%
0
1143.3884
1145.3915
1141.3799
1146.3915
1147.3916
1154.2881
1156.2880
1159.3833
1161.3807
1162.3806
m/z
1140
1145
1150
1155
1160
1165
1170
1: TOF MS ES+
2.22e6
1165.3760
1167.3752
1168.3783
1169.3744
1170.3745
1149.4015
1151.4009

图22B

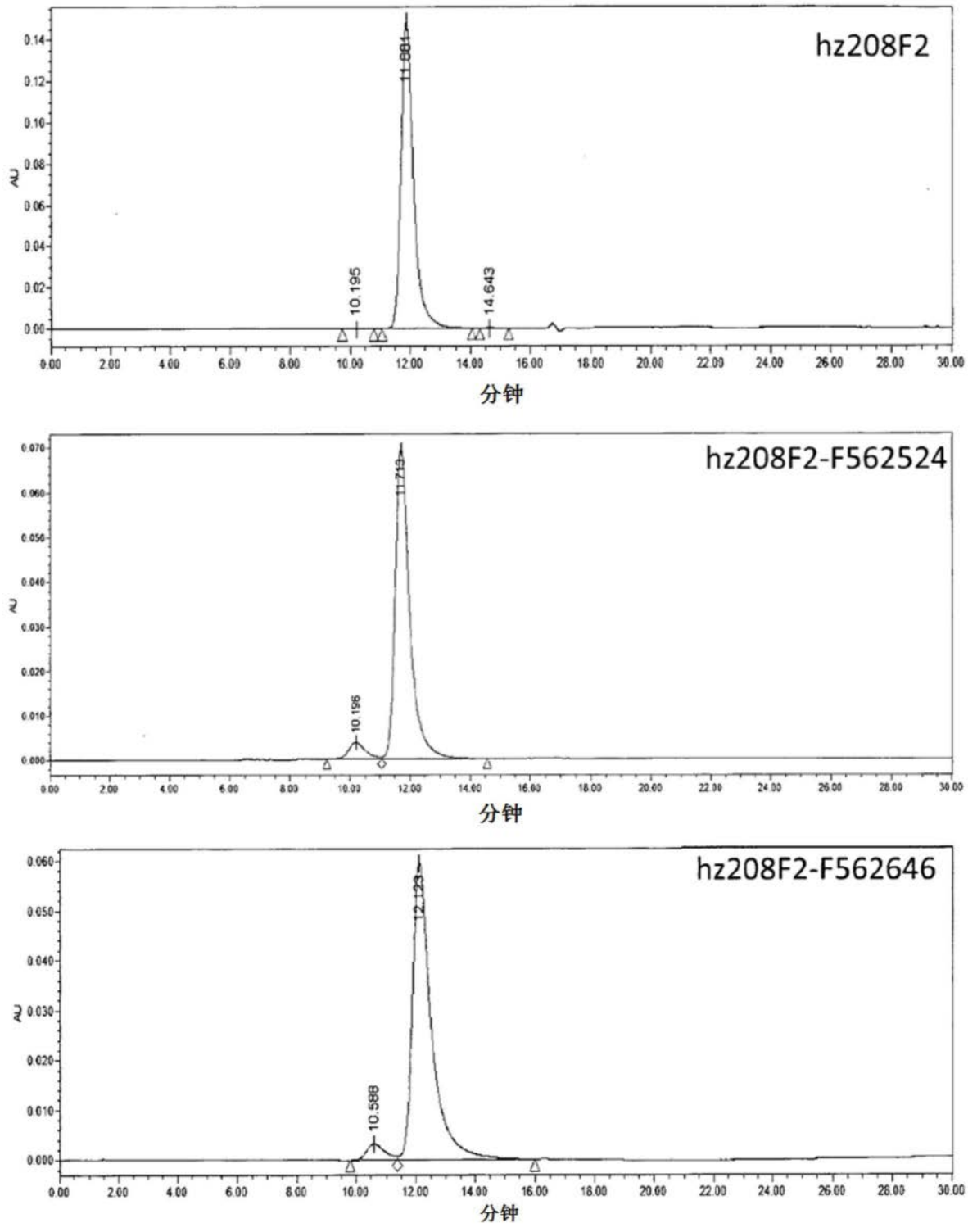

hz208F2
11.881
10.195
14.643
AU
分钟
hz208F2-F562524
11.713
10.196
AU
分钟
hz208F2-F562646
12.123
10.588
AU
分钟

图23A

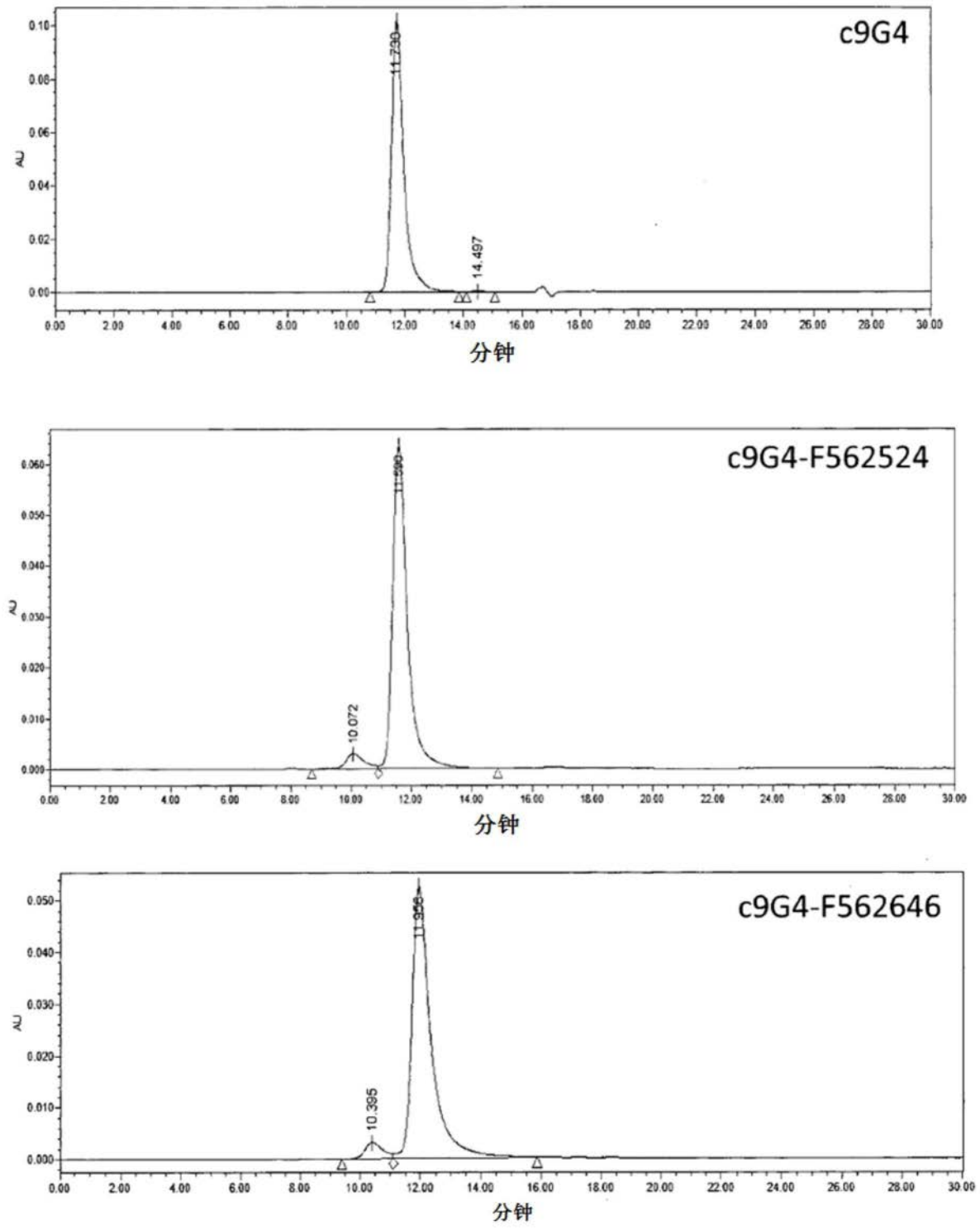

c9G4
11.730
14.497
AU
分钟
c9G4-F562524
11.599
10.072
AU
分钟
c9G4-F562646
11.356
10.395
AU
分钟

图23B

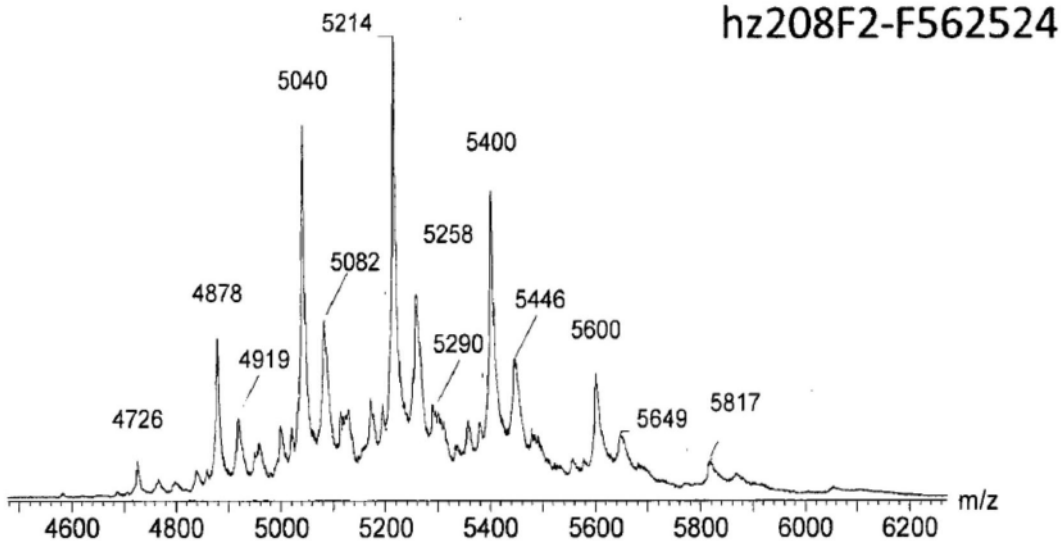

hz208F2-F562524
5214
5040
5400
5258
5082
4878
5446
5600
4919
5290
4726
5649
5817
m/z
4600
4800
5000
5200
5400
5600
5800
6000
6200

图24A

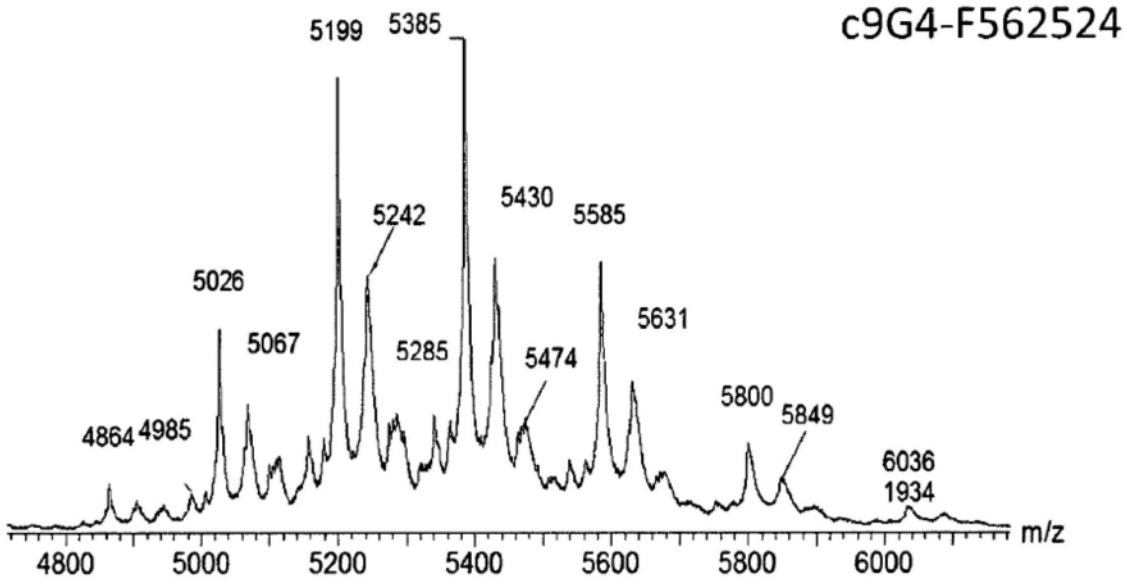

c9G4-F562524
5199
5385
5242
5430
5585
5026
5631
5067
5285
5474
5800
5849
4864
4985
6036
1934
m/z
4800
5000
5200
5400
5600
5800
6000

图24B

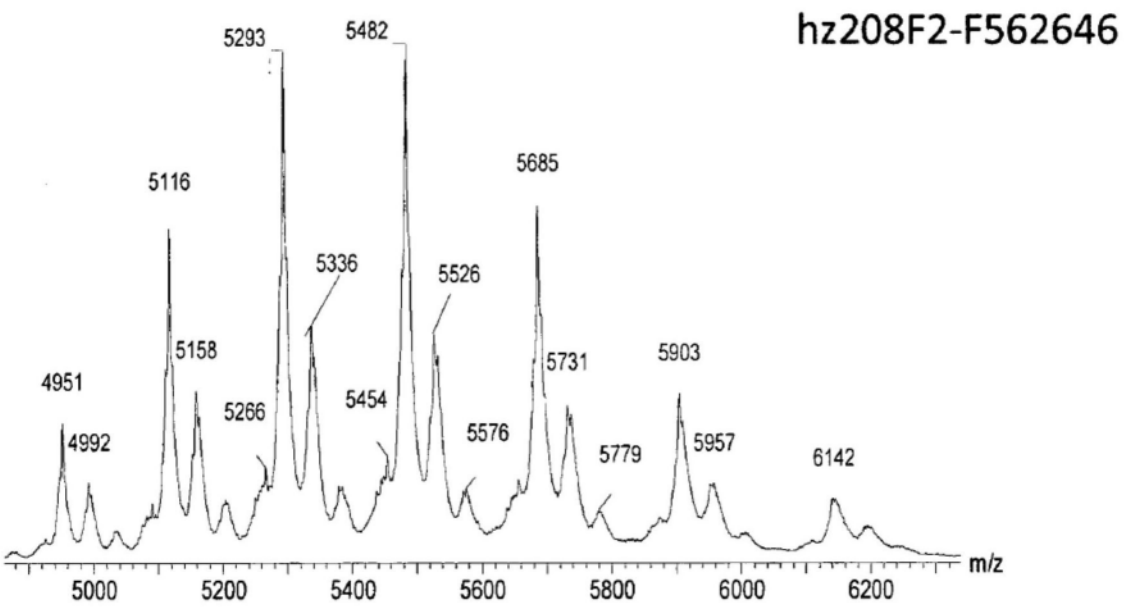

hz208F2-F562646
5293
5482
5116
5685
5336
5526
5158
5731
5903
4951
5266
5454
5576
5779
5957
6142
4992
m/z
5000
5200
5400
5600
5800
6000
6200

图24C

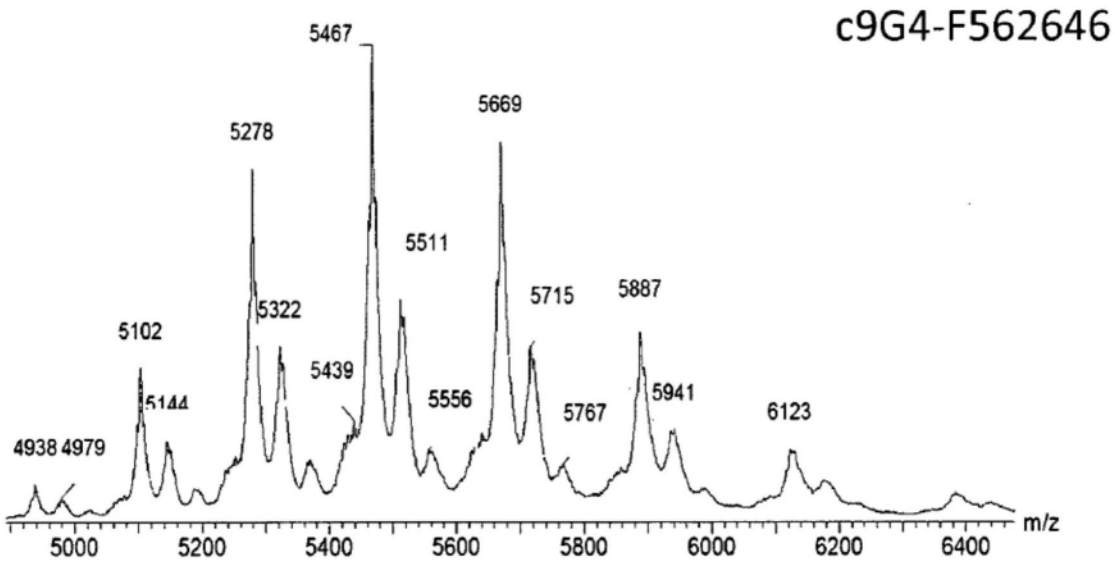

c9G4-F562646
5467
5669
5278
5511
5715
5887
5322
5102
5439
5556
5767
5941
6123
4938 4979
m/z
5000
5200
5400
5600
5800
6000
6200
6400

图24D

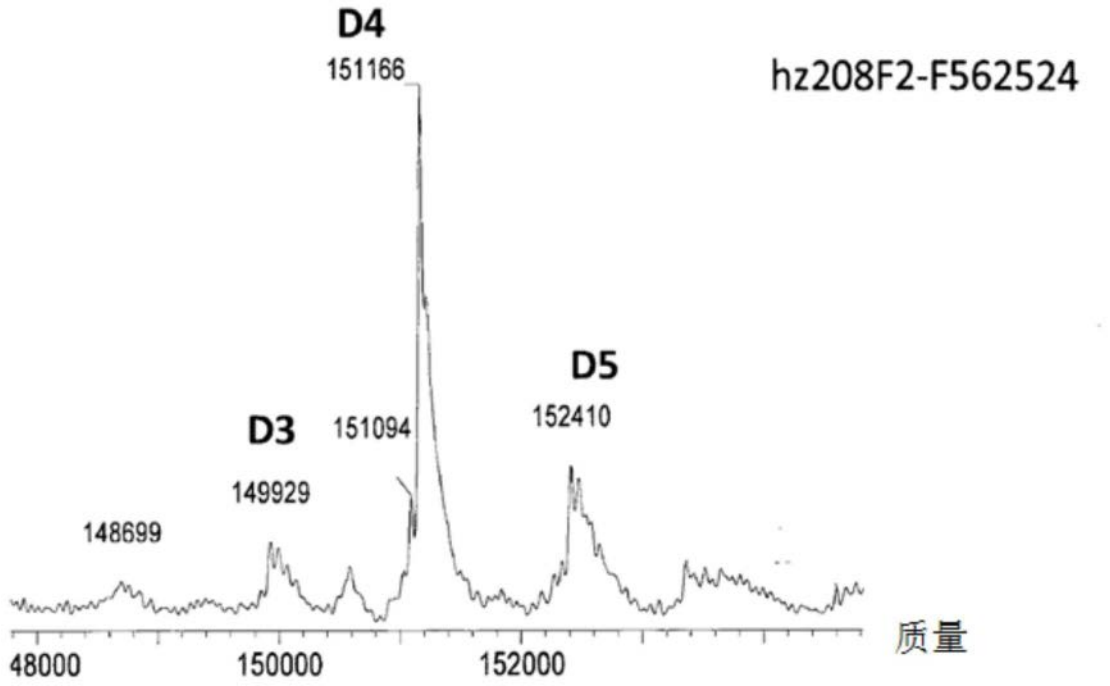

D4
151166
hz208F2-F562524
D5
152410
D3
151094
149929
148699
48000
150000
152000
质量

图25A

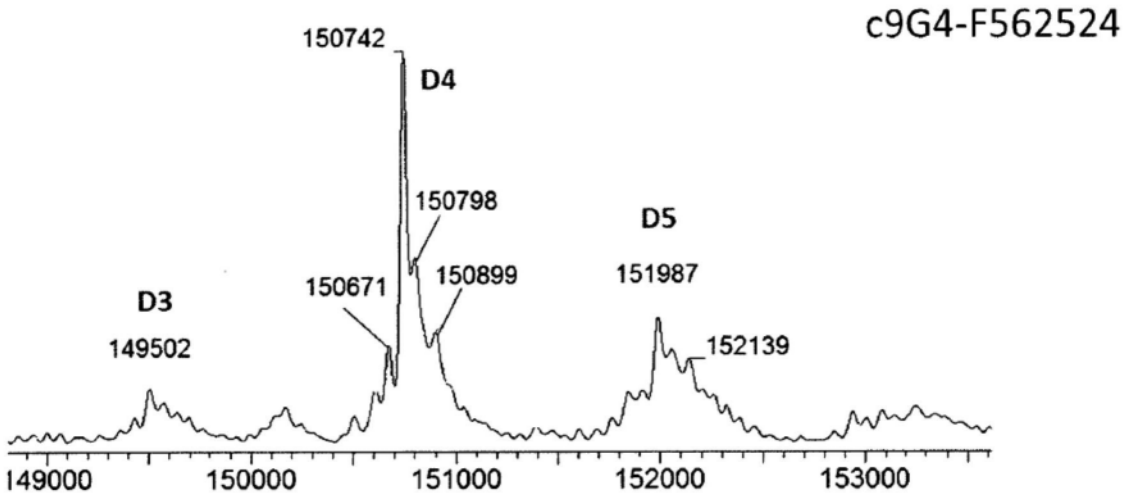

c9G4-F562524
150742
D4
150798
D5
150671
150899
151987
D3
149502
152139
149000
150000
151000
152000
153000

图25B

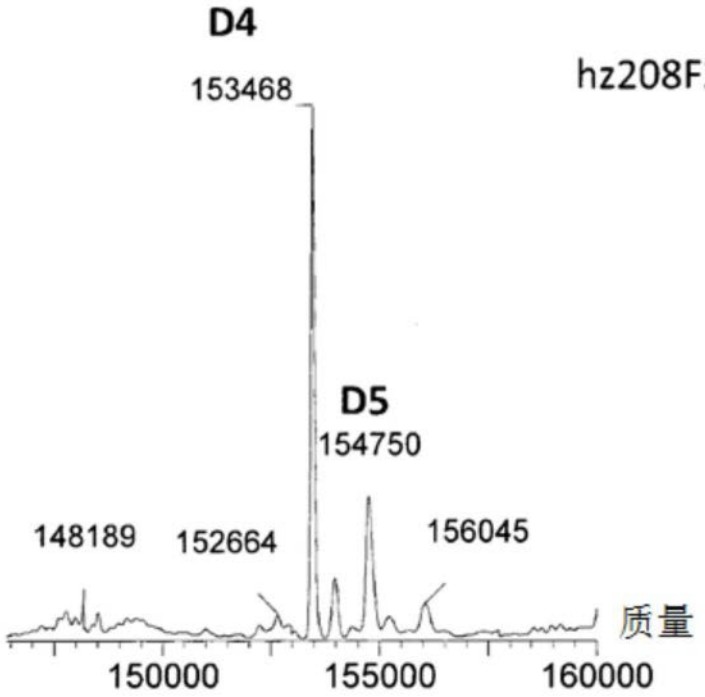

D4
153468
hz208F2-F562646
D5
154750
148189
152664
156045
质量
150000
155000
160000

图25C

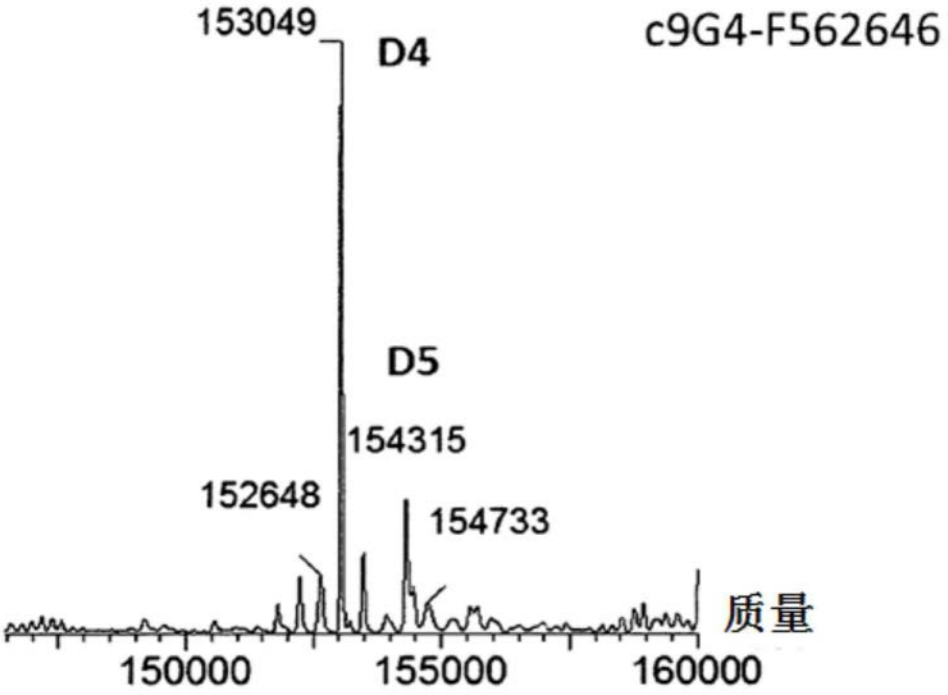

153049
D4
c9G4-F562646
D5
154315
152648
154733
质量
150000
155000
160000

图25D

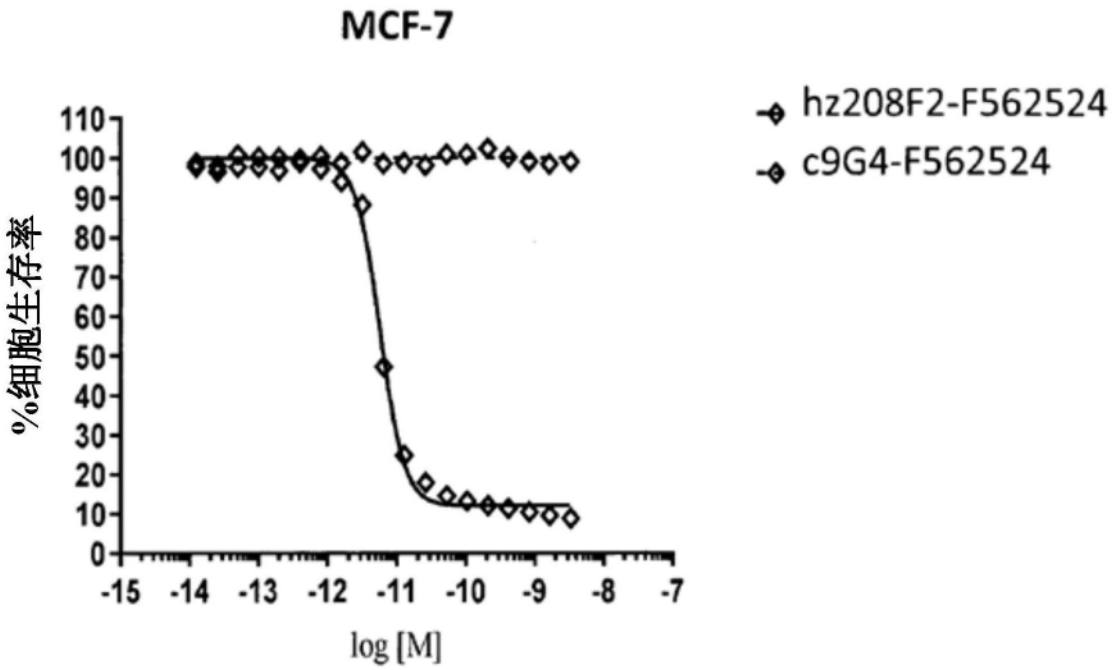

MCF-7
hz208F2-F562524
c9G4-F562524
%细胞生存率
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-15 -14 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7
log [M]

图26A

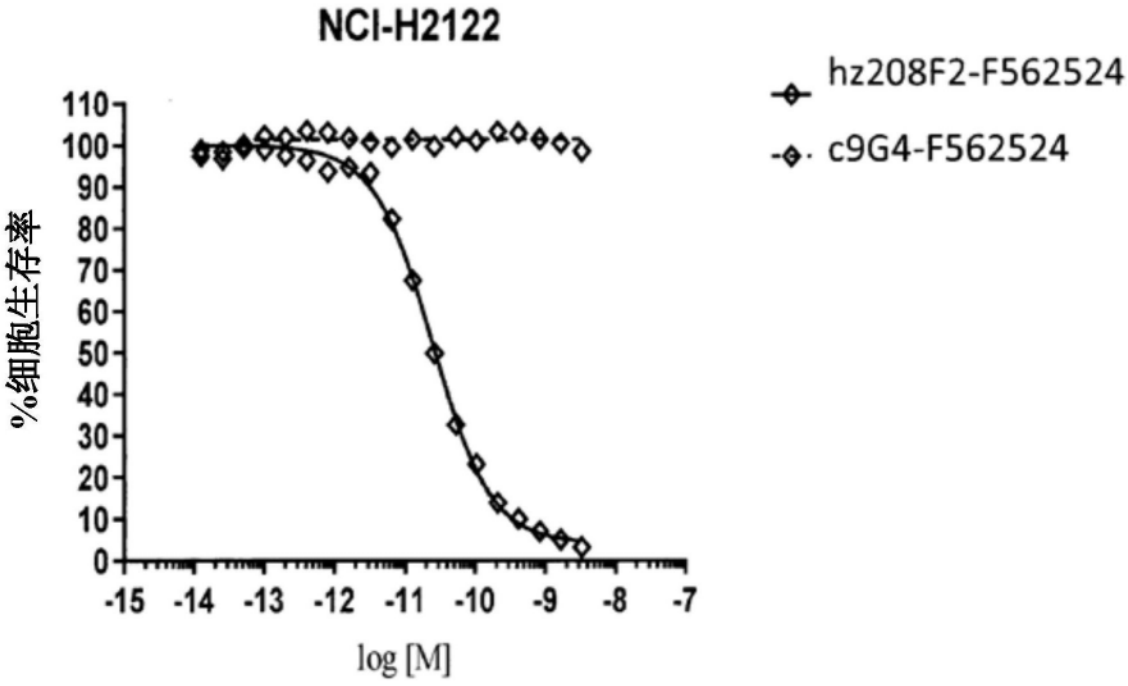

NCI-H2122
hz208F2-F562524
c9G4-F562524
%细胞生存率
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-15 -14 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7
log [M]

图26B

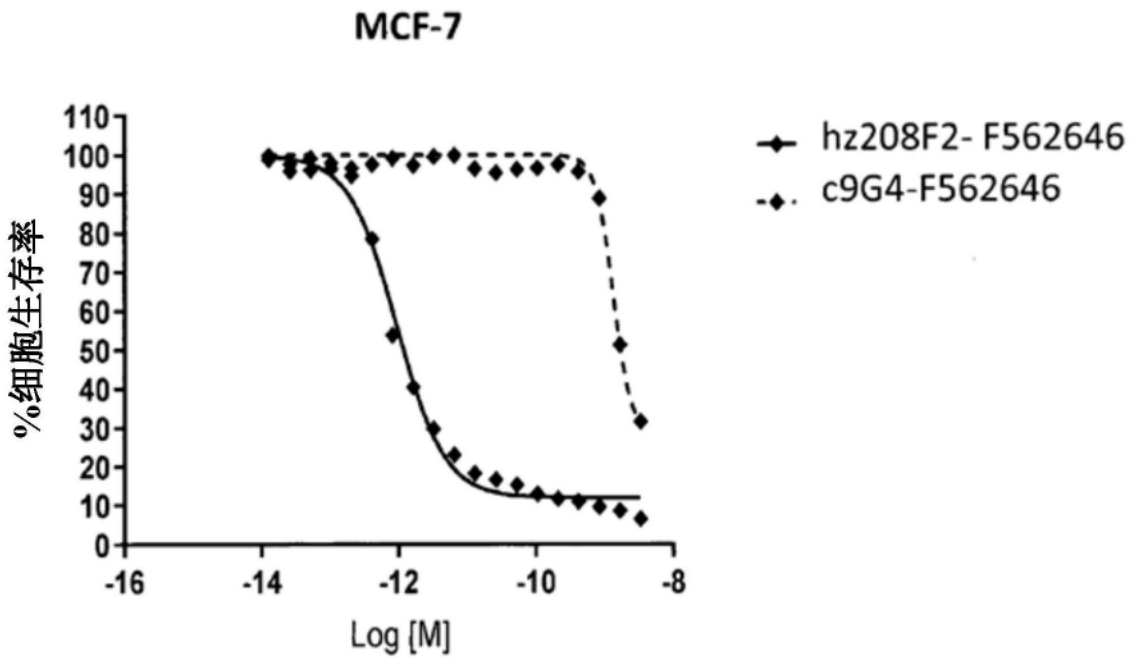

MCF-7
%细胞生存率
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-16
-14
-12
-10
-8
Log [M]
hz208F2- F562646
c9G4-F562646

图27A

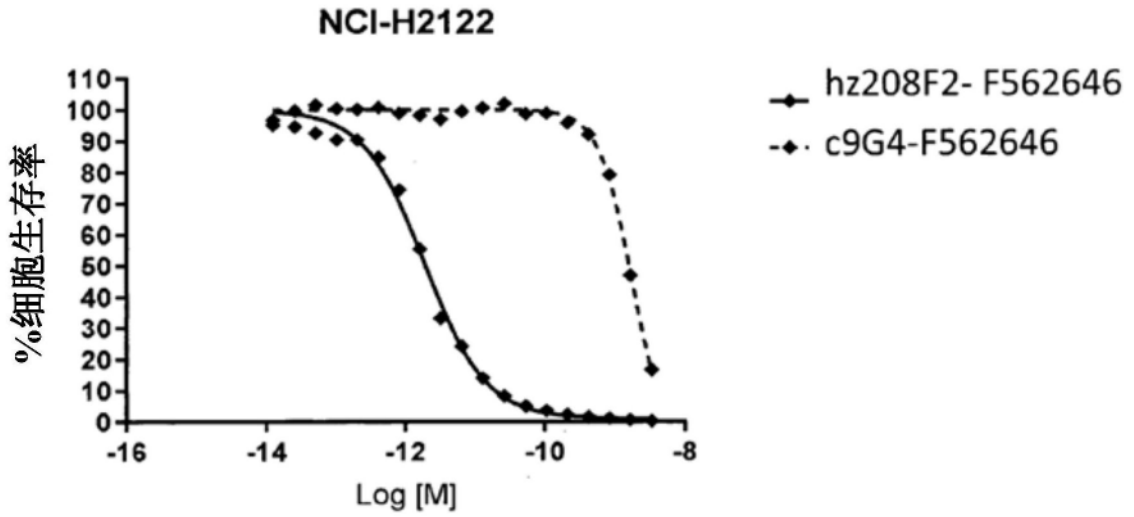

NCI-H2122
%细胞生存率
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-16
-14
-12
-10
-8
Log [M]
hz208F2- F562646
c9G4-F562646

图27B

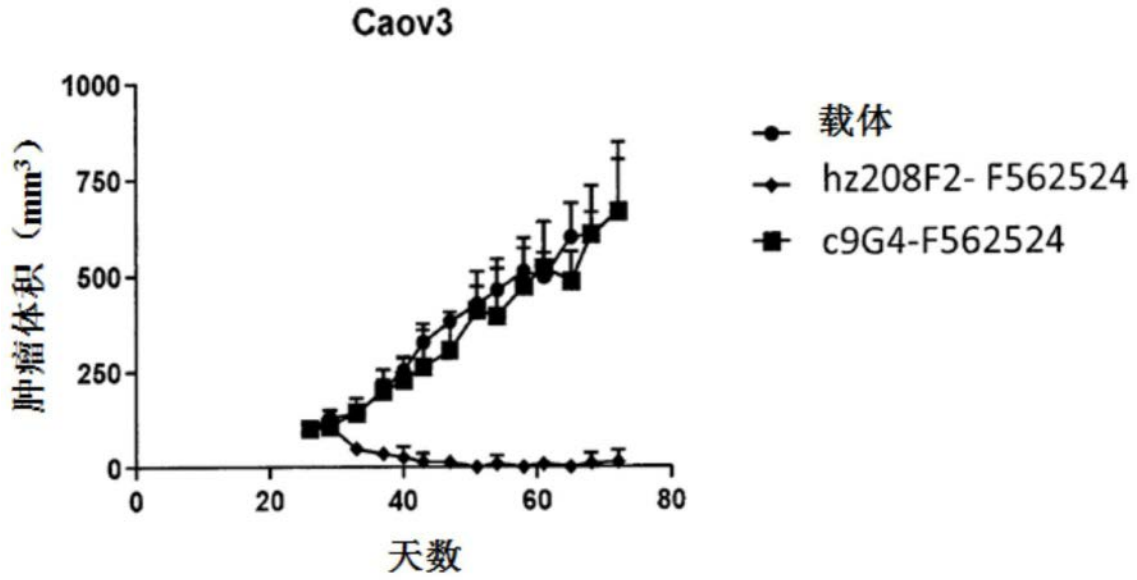

Caov3
肿瘤体积（mm³）
1000
750
500
250
0
0
20
40
60
80
天数
载体
hz208F2- F562524
c9G4-F562524

图28