



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109843335 B

(45) 授权公告日 2021.07.30

(21) 申请号 201780063470.4

(22) 申请日 2017.10.13

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 109843335 A

(43) 申请公布日 2019.06.04

(30) 优先权数据
1617466.6 2016.10.14 GB

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2019.04.12

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2017/076162 2017.10.13

(87) PCT国际申请的公布数据
W02018/069490 EN 2018.04.19

(73) 专利权人 麦迪穆有限责任公司

地址 英国剑桥

(72) 发明人 菲利普·威尔逊·霍华德
史蒂芬·约翰·格雷格森

(74) 专利代理机构 北京康信知识产权代理有限
责任公司 11240

代理人 沈敬亭

(51) Int.Cl.

A61K 47/68 (2006.01)

C07H 7/06 (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

审查员 张珮明

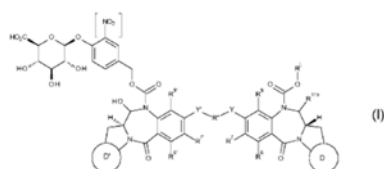
权利要求书13页 说明书141页 附图2页

(54) 发明名称

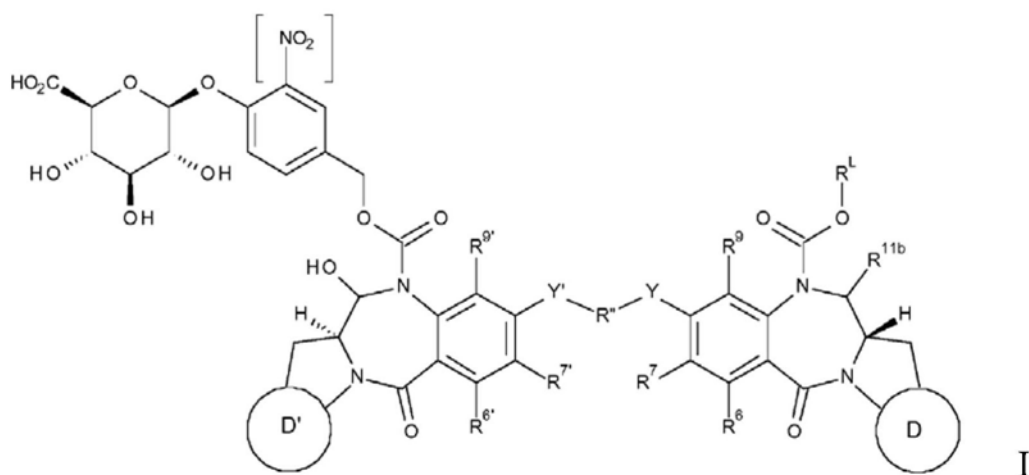
吡咯并苯并二氮杂卓缀合物

(57) 摘要

一种式(I)的化合物：(I)及其缀合物。



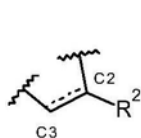
1. 一种式I的化合物：



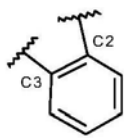
及其盐和溶剂合物,其中:

方括号指示NO₂基团是任选的;

D代表基团D1或D2:



D1



D2 ;

虚线指示C2与C3之间任选存在双键;

当C2与C3之间存在双键时, R²选自自由以下组成的组:

(ia) C₅₋₁₀芳基, 其任选地被选自包括以下的组的一个或多个取代基取代: 卤素、硝基、氰基、醚、羧基、酯以及C₁₋₇烷基;

(ib) C₁₋₅饱和的脂族烷基;

(ic) C₃₋₆饱和的环烷基;

(id) ;

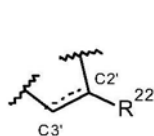
(ie) ;

(if) , 其中R¹⁴是H或甲基;

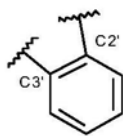
当C2与C3之间存在单键时,

R²选自H、OH、F、diF和 , 其中R^{16a}和R^{16b}独立地选自H、F、C₁₋₄饱和烷基、C₂₋₃烯基, 所述烷基和所述烯基任选地被选自C₁₋₄烷基酰氨基和C₁₋₄烷基酯的基团取代; 或, 当R^{16a}和R^{16b}中的一个为H时, 另一个选自腈和C₁₋₄烷基酯;

D' 代表基团D' 1或D' 2:



D'1



D'2

其中虚线指示C2' 与C3' 之间任选存在双键;

当C2' 与C3' 之间存在双键时, R¹²选自自由以下组成的组:

(iia) C₅₋₁₀芳基, 其任选地被选自包括以下的组的一个或多个取代基取代: 卤素、硝基、氰基、醚、羧基、酯以及C₁₋₇烷基;

(iib) C₁₋₅饱和的脂族烷基;

(iic) C₃₋₆饱和的环烷基;

(iid) ;

(iie) ;

(iif) , 其中R²⁴是H或甲基;

当C2' 与C3' 之间存在单键时,

R¹²选自H、OH、F、diF和 , 其中R^{26a}和R^{26b}独立地选自H、F、C₁₋₄饱和烷基、C₂₋₃烯基,

所述烷基和所述烯基任选地被选自C₁₋₄烷基酰氨基和C₁₋₄烷基酯的基团取代; 或, 当R^{26a}和R^{26b}中的一个为H时, 另一个选自腈和C₁₋₄烷基酯;

R⁶和R⁹是H

R⁷选自H和C₁₋₄烷氧基;

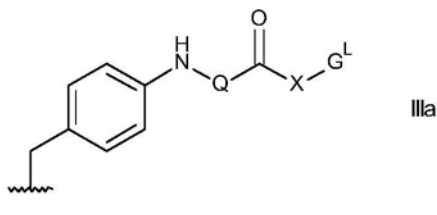
R''为C₃₋₁₂亚烷基, 其链可被一个或多个杂原子和/或芳环中断, 所述杂原子选自O、S、NR^{N2}, 其中R^{N2}为H或C₁₋₄烷基, 所述芳环选自苯或吡啶;

Y和Y' 是O;

R^{6'}、R^{7'}、R^{9'} 分别选自与R⁶、R⁷和R⁹相同的基团;

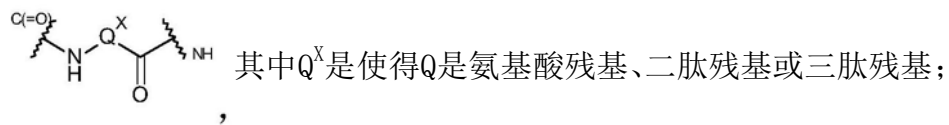
R^{11b}选自OH、OR^A, 其中R^A为C₁₋₄烷基; 并且

R^L为用于连接至细胞结合剂的接头, 其为:

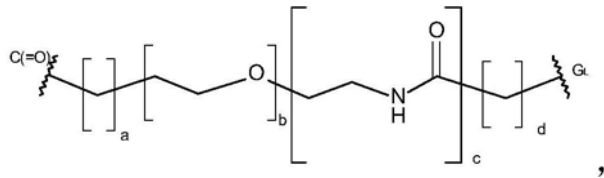


其中

Q是:



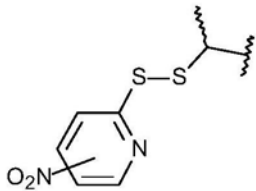
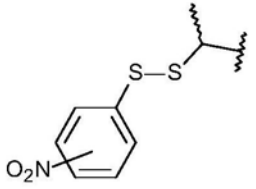
X是:



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

G^L 选自:

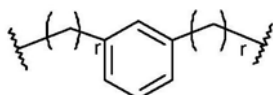
(G^{L1-1})		(G^{L4})	 其中 Hal = I、Br、Cl
(G^{L1-2})		(G^{L5})	
(G^{L2})		(G^{L6})	
(G^{L3-1})	 其中 NO_2 基团是任选的	(G^{L7})	
(G^{L3-2})	 (NO_2)	(G^{L8})	

	其中 NO ₂ 基团是任选的		
(G ^{L3-3})	 其中 NO₂ 基团是任选的	(G ^{L9})	
(G ^{L3-4})	 其中 NO₂ 基团是任选的		

其中Ar代表C₅₋₆亚芳基。

2. 根据权利要求1所述的化合物, 其中R⁷为C₃₋₇亚烷基。

3. 根据权利要求1所述的化合物, 其中R⁷为下式的基团:



其中r为1或2。

4. 根据权利要求1所述的化合物, 其中R⁷为C₁₋₄烷氧基。

5. 根据权利要求1所述的化合物, 其中D为D1, 在C2与C3之间存在双键, 并且R²为C₅₋₇芳基。

6. 根据权利要求5所述的化合物, 其中R²为苯基。

7. 根据权利要求1所述的化合物, 其中D为D1, 在C2与C3之间存在双键, 并且R²为C₈₋₁₀芳基。

8. 根据权利要求5所述的化合物, 其中R²携带一至三个取代基。

9. 根据权利要求8所述的化合物, 其中所述取代基选自甲氧基、乙氧基、氟、氯和氰基。

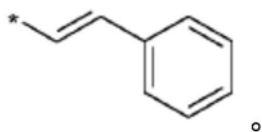
10. 根据权利要求1所述的化合物, 其中D为D1, 在C2与C3之间存在双键, 并且R²为C₁₋₅饱和的脂族烷基。

11. 根据权利要求10所述的化合物, 其中R²为甲基、乙基或丙基。

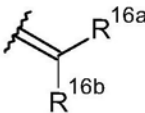
12. 根据权利要求1所述的化合物, 其中在C2与C3之间存在双键, 并且R²为C₃₋₆饱和的环烷基。

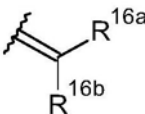
13. 根据权利要求12所述的化合物, 其中R²为环丙基。

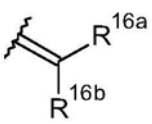
14. 根据权利要求1所述的化合物, 其中R²为以下基团:



15. 根据权利要求1所述的化合物, 其中D为D1, 在C2与C3之间存在单键, 并且R²为H。

16. 根据权利要求1所述的化合物,其中D为D1,在C2与C3之间存在单键, R^2 为  并且 R^{16a} 和 R^{16b} 均为H。

17. 根据权利要求1所述的化合物,其中D为D1,在C2与C3之间存在单键, R^2 为  并且 R^{16a} 和 R^{16b} 均为甲基。

18. 根据权利要求1所述的化合物,其中D为D1,在C2与C3之间存在单键, R^2 为 , R^{16a} 和 R^{16b} 中的一个为H,并且另一个选自 C_{1-4} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基,所述烷基和所述烯基是任选取代的。

19. 根据权利要求1所述的化合物,其中D'为D'1,在C2'与C3'之间存在双键,并且 R^{12} 为 C_{5-7} 芳基。

20. 根据权利要求19所述的化合物,其中 R^{12} 为苯基。

21. 根据权利要求1所述的化合物,其中D'为D'1,在C2'与C3'之间存在双键,并且 R^{12} 为 C_{8-10} 芳基。

22. 根据权利要求19至21中任一项所述的化合物,其中 R^{12} 携带一至三个取代基。

23. 根据权利要求22所述的化合物,其中所述取代基选自甲氧基、乙氧基、氟、氯和氰基。

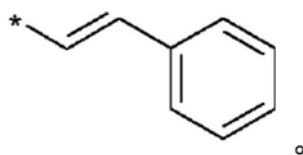
24. 根据权利要求1所述的化合物,其中D'为D'1,在C2'与C3'之间存在双键,并且 R^{12} 为 C_{1-5} 饱和的脂族烷基。

25. 根据权利要求24所述的化合物,其中 R^{12} 为甲基、乙基或丙基。

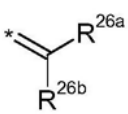
26. 根据权利要求1所述的化合物,其中D'为D'1,在C2'与C3'之间存在双键,并且 R^{12} 为 C_{3-6} 饱和的环烷基。

27. 根据权利要求26所述的化合物,其中 R^{12} 为环丙基。

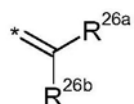
28. 根据权利要求1所述的化合物,其中 R^{12} 为以下基团:



29. 根据权利要求1所述的化合物,其中D'为D'1,在C2'与C3'之间存在单键,并且 R^{12} 为H。

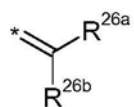
30. 根据权利要求1所述的化合物,其中D'为D'1,在C2'与C3'之间存在单键, R^{12} 为  并且 R^{26a} 和 R^{26b} 均为H。

31. 根据权利要求1所述的化合物,其中D'为D'1,在C2'与C3'之间存在单键, R^{12} 为



并且 R^{26a} 和 R^{26b} 均为甲基。

32. 根据权利要求1所述的化合物, 其中 D' 为 $D'1$, 在 $C2'$ 与 $C3'$ 之间存在单键, R^{12} 为



R^{26a} 和 R^{26b} 中的一个为H, 并且另一个选自 C_{1-4} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基, 所述烷基和所述

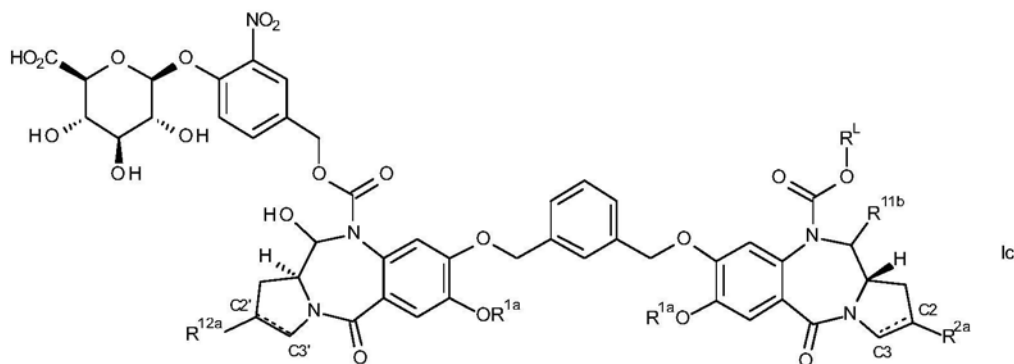
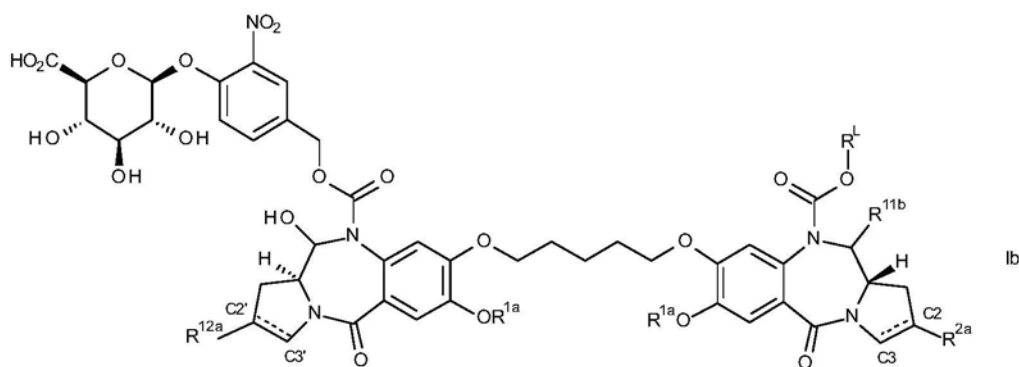
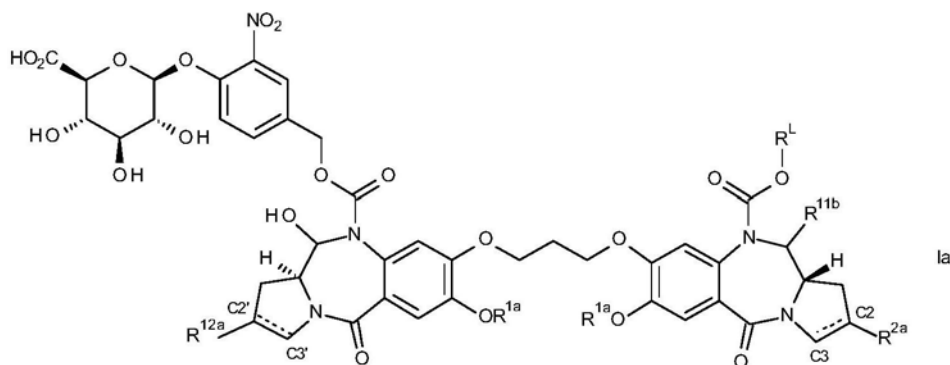
烯基是任选取代的。

33. 根据权利要求1所述的化合物, 其中 $R^{6'}$ 选自与 R^6 相同的基团, $R^{7'}$ 选自与 R^7 相同的基团, $R^{9'}$ 选自与 R^9 相同的基团并且 Y' 选自与 Y 相同的基团。

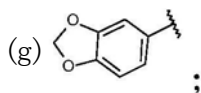
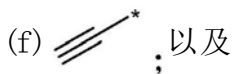
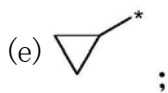
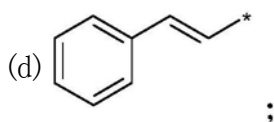
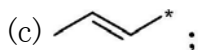
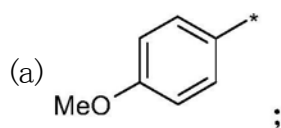
34. 根据权利要求33所述的化合物, 其中 $R^{6'}$ 是与 R^6 相同的基团, $R^{7'}$ 是与 R^7 相同的基团, $R^{9'}$ 是与 R^9 相同的基团并且 Y' 是与 Y 相同的基团。

35. 根据权利要求1所述的化合物, 其中 R^{12} 是与 R^2 相同的基团。

36. 根据权利要求1所述的化合物, 其具有式Ia-1、Ia-2或Ia-3:



其中 R^{2a} 和 R^{12a} 相同并选自:



R^{1a} 选自甲基和苄基；

R^L 和 R^{11b} 如权利要求1中所定义。

37. 根据权利要求1所述的化合物，其中 R^2 和 R^{12} 均包括不超过3个碳原子。

38. 根据权利要求37所述的化合物，其中 R^2 和 R^{12} 均包括不超过2个碳原子。

39. 根据权利要求38所述的化合物，其中 R^2 和 R^{12} 均包括不超过1个碳原子。

40. 根据权利要求1所述的化合物，其中 R^{11b} 为OH。

41. 根据权利要求1所述的化合物，其中 R^{11b} 为 OR^A ，其中 R^A 为 C_{1-4} 烷基。

42. 根据权利要求41所述的化合物，其中 R^A 为甲基。

43. 根据权利要求1所述的化合物，其中 Q^x 是选自Phe、Lys、Val、Ala、Cit、Leu、Ile、Arg和Trp的氨基酸残基。

44. 根据权利要求1所述的化合物，其中 Q^x 是选自以下的二肽残基：

$CO-Phe-Lys-NH$ 、

$CO-Val-Ala-NH$ 、

$CO-Val-Lys-NH$ 、

$CO-Ala-Lys-NH$ 、

$CO-Val-Cit-NH$ 、

$CO-Phe-Cit-NH$ 、

$CO-Leu-Cit-NH$ 、

$CO-Ile-Cit-NH$ 、

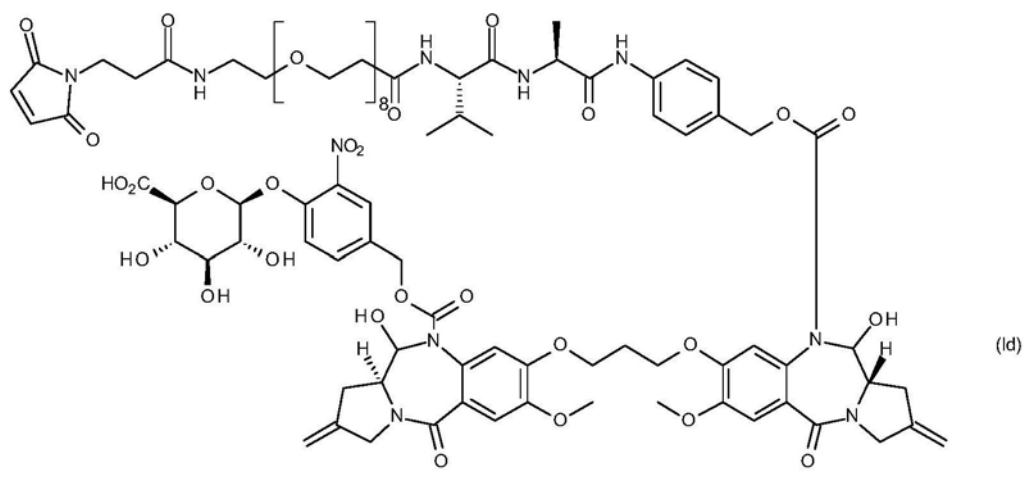
$CO-Phe-Arg-NH$ 以及

$CO-Trp-Cit-NH$ 。

45. 根据权利要求44所述的化合物，其中 Q^x 选自 $CO-Phe-Lys-NH$ 、 $CO-Val-Cit-NH$ 和 $CO-Val-Ala-NH$ 。

46. 根据权利要求1所述的化合物，其中 Q^x 是三肽残基。

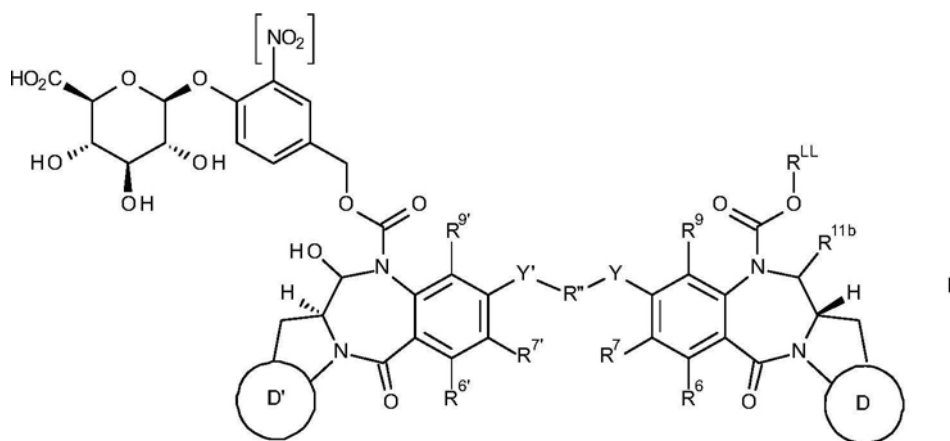
47. 根据权利要求1所述的化合物,其中a是0至3。
 48. 根据权利要求47所述的化合物,其中a是0。
 49. 根据权利要求1所述的化合物,其中b是0至12。
 50. 根据权利要求49所述的化合物,其中b是0至8。
 51. 根据权利要求1所述的化合物,其中d是0至3。
 52. 根据权利要求51所述的化合物,其中d是2。
 53. 根据权利要求1所述的化合物,其中a是0,c是1且d是2,并且b是0至8。
 54. 根据权利要求53所述的化合物,其中b是0、4或8。
 55. 根据权利要求1所述的化合物,其中Ar是亚苯基。
 56. 根据权利要求1所述的化合物,其中 G^L 选自 G^{L1-1} 和 G^{L1-2} 。
 57. 根据权利要求56所述的化合物,其中 G^L 是 G^{L1-1} 。
 58. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述化合物具有式Id:



59. 一种式I的缀合物:

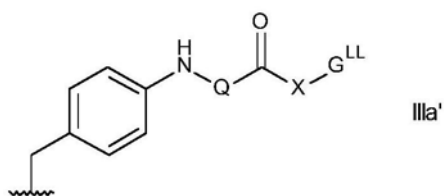
$L-(D^L)_p$ (I)

其中L为配体单元,所述配体单元是抗体或其抗原结合片段, D^L 为式I' 的药物接头单元:



其中D、 R^2 、 R^6 、 R^7 、 R^9 、 R^{11b} 、Y、 R'' 、Y'、 D' 、 $R^{6'}$ 、 $R^{7'}$ 、 $R^{9'}$ 和 R^{12} ,包括相应地C2与C3之间以及C2'与C3'之间的双键的存在或不存在,如权利要求1所定义;

R^{LL} 为用于连接至细胞结合剂的接头,其为:



其中Q和X如权利要求1所定义,并且 G^{LL} 选自:

(G^{LL1-1})		(G^{LL6})	
(G^{LL1-2})		(G^{LL7})	
(G^{LL2})		(G^{LL8-1})	
(G^{LL3-1})		(G^{LL8-2})	
(G^{LL3-2})		(G^{LL9-1})	
(G^{LL4})		(G^{LL9-2})	
(G^{LL5})			

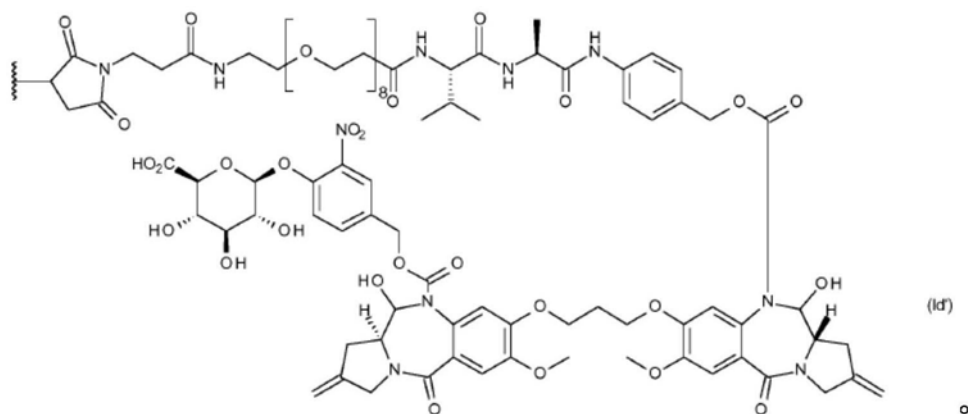
其中Ar代表 C_{5-6} 亚芳基。

60. 根据权利要求59所述的缀合物,其中Ar是亚苯基。

61. 根据权利要求59所述的化合物,其中 G^{LL} 选自 G^{LL1-1} 和 G^{LL1-2} 。

62. 根据权利要求61所述的化合物,其中 G^{LL} 是 G^{LL1-1} 。

63. 根据权利要求59所述的缀合物,其中 D^L 具有式(Id'):



64. 根据权利要求59所述的缀合物, 其中所述抗体或抗体片段是用于肿瘤相关抗原的抗体或抗体片段。

65. 根据权利要求64所述的缀合物, 其中所述抗体或抗体片段是结合于一种或多种肿瘤相关抗原或细胞表面受体的抗体, 所述肿瘤相关抗原或细胞表面受体选自 (1) - (88) :

- (1) BMPR1B;
- (2) E16;
- (3) STEAP1;
- (4) 0772P;
- (5) MPF;
- (6) Napi3b;
- (7) Sema 5b;
- (8) PSCA hlg;
- (9) ETBR;
- (10) MSG783;
- (11) STEAP2;
- (12) TrpM4;
- (13) CRIPTO;
- (14) CD21;
- (15) CD79b;
- (16) FcRH2;
- (17) HER2;
- (18) NCA;
- (19) MDP;
- (20) IL20R- α ;
- (21) Brevican;
- (22) EphB2R;
- (23) ASLG659;
- (24) PSCA;
- (25) GEDA;
- (26) BAFF-R;

- (27) CD22;
- (28) CD79a;
- (29) CXCR5;
- (30) HLA-DQB1;
- (31) P2X5;
- (32) CD72;
- (33) LY64;
- (34) FcRH1;
- (35) IRTA2;
- (36) TENB2;
- (37) PSMA-FOLH1;
- (38) SST;
- (38.1) SSTR2;
- (38.2) SSTR5;
- (38.3) SSTR1;
- (38.4) SSTR3;
- (38.5) SSTR4;
- (39) ITGAV;
- (40) ITGB6;
- (41) CEACAM5;
- (42) MET;
- (43) MUC1;
- (44) CA9;
- (45) EGFRvIII;
- (46) CD33;
- (47) CD19;
- (48) IL2RA;
- (49) AXL;
- (50) CD30-TNFRSF8;
- (51) BCMA-TNFRSF17;
- (52) CT Ags-CTA;
- (53) CD174 (Lewis Y) -FUT3;
- (54) CLEC14A;
- (55) GRP78-HSPA5;
- (56) CD70;
- (57) 干细胞特异性抗原;
- (58) ASG-5;
- (59) ENPP3;
- (60) PRR4;

- (61) GCC-GUCY2C;
- (62) Liv-1-SLC39A6;
- (63) 5T4;
- (64) CD56-NCMA1;
- (65) CanAg;
- (66) FOLR1;
- (67) GPNMB;
- (68) TIM-1-HAVCR1;
- (69) RG-1/前列腺肿瘤靶Mindin-Mindin/RG-1;
- (70) B7-H4-VTCN1;
- (71) PTK7;
- (72) CD37;
- (73) CD138-SDC1;
- (74) CD74;
- (75) 紧密连接蛋白-CL;
- (76) EGFR;
- (77) Her3;
- (78) RON-MST1R;
- (79) EPHA2;
- (80) CD20-MS4A1;
- (81) 腱生蛋白C-TNC;
- (82) FAP;
- (83) DKK-1;
- (84) CD52;
- (85) CS1-SLAMF7;
- (86) 内皮糖蛋白-ENG;
- (87) 膜联蛋白A1-ANXA1;
- (88) V-CAM (CD106) -VCAM1。

66. 根据权利要求59所述的缀合物, 其中所述抗体或抗体片段是半胱氨酸工程化的抗体。

67. 根据权利要求59所述的缀合物, 其中p为1至8的整数。

68. 根据权利要求67所述的缀合物, 其中p是1、2、3或4。

69. 一种组合物, 其包含根据权利要求59所述的缀合物的混合物, 其中在缀合物化合物的混合物中平均p为约1至约8。

70. 根据权利要求59所述的缀合物, 其在使用中。

71. 一种药物组合物, 其包含根据权利要求59所述的缀合物以及药学上可接受的稀释剂、载体或赋形剂。

72. 根据权利要求59所述的缀合物或根据权利要求71所述的药物组合物, 其在使用中。

73. 根据权利要求72所述的使用的缀合物,其中所治疗的所述疾病为癌症。
74. 根据权利要求59所述的缀合物在制造用于治疗癌症的药物中的用途。
75. 根据权利要求74所述的用途,其中与所述缀合物组合地向患者施用化学治疗剂。
76. 根据权利要求59所述的缀合物在制造用于治疗增殖性疾病的药物的方法中的用途。
77. 根据权利要求59所述的缀合物或根据权利要求71所述的药物组合物在制造用于治疗具有增殖性疾病的哺乳动物的药物中的用途,包括施用有效量的所述的缀合物或所述的药物组合物。

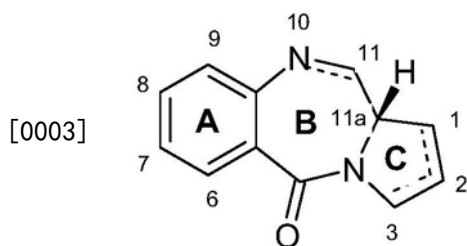
吡咯并苯并二氮杂卓缀合物

技术领域

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

背景技术

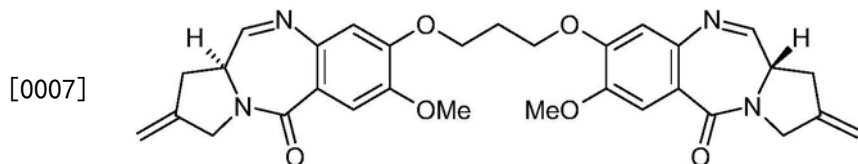
[0002] 一些吡咯并苯并二氮杂卓 (PBD) 具有识别和结合特异性DNA序列的能力; 优选的序列是PuGpu。第一PBD抗肿瘤抗生素, 安曲霉素 (antramycin), 发现于1965年 (Leimgruber等, J. Am. Chem. Soc., 87, 5793-5795 (1965); Leimgruber等, J. Am. Chem. Soc., 87, 5791-5793 (1965))。自那以后, 已报道了许多天然存在的PBD, 并且已开发了用于各种类似物的10种以上的合成路线 (Thurston等, Chem. Rev. 1994, 433-465 (1994))。家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



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

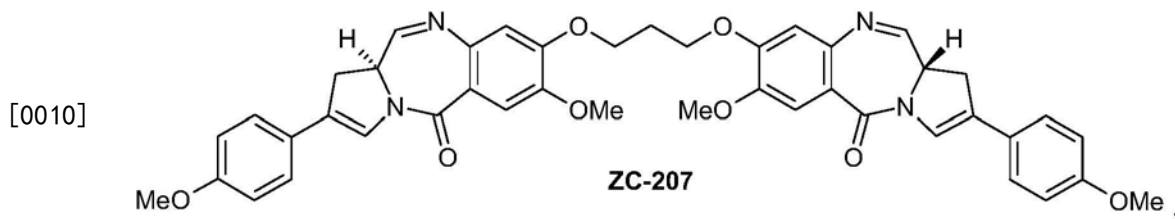
[0005] 先前已经公开,此分子的生物活性可通过将两个PBD单元通过它们的C8/C' -羟基官能度经由柔性亚烷基接头接合在一起而加强(Bose,D.S.等,J.Am.Chem.Soc.,114,4939-4941(1992);Thurston,D.E.等,J.Org.Chem.,61,8141-8147(1996))。PBD二聚体被认为形成序列选择性DNA损伤,诸如回文结构5'-Pu-GATC-Py-3' 股间交联(Smellie,M.等,Biochemistry,42,8232-8239(2003);Martin,C.等,Biochemistry,44,4135-4147),被认为主要负责其生物活性。

[0006] PBD二聚体的一个实例是SG2000(SJG-136):

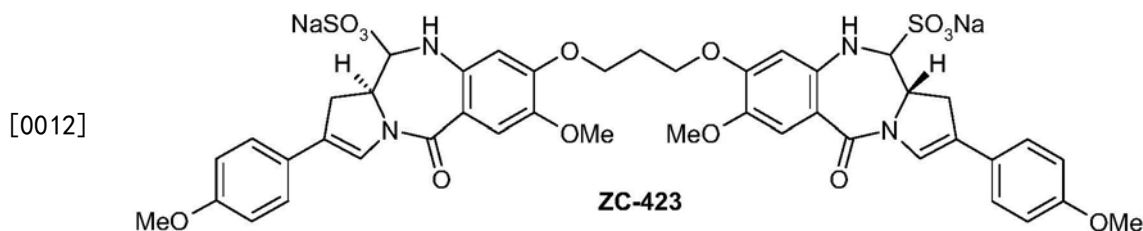


[0008] (Gregson,S.等,J.Med.Chem.,44,737-748(2001);Alley,M.C.等,Cancer Research,64,6700-6706(2004);Hartley,J.A.等,Cancer Research,64,6693-6699(2004)),其已经作为独立药剂参与临床试验,例如,NCT02034227研究了其在治疗急性骨髓性白血病和慢性淋巴细胞性白血病中的用途(参见:<https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02034227>)。

[0009] 携带C2芳基取代基的二聚PBD化合物,诸如SG2202(ZC-207),公开于W0 2005/085251中:



[0011] 以及W02006/111759中,所述PBD化合物的亚硫酸氢盐,例如SG2285(ZC-423):



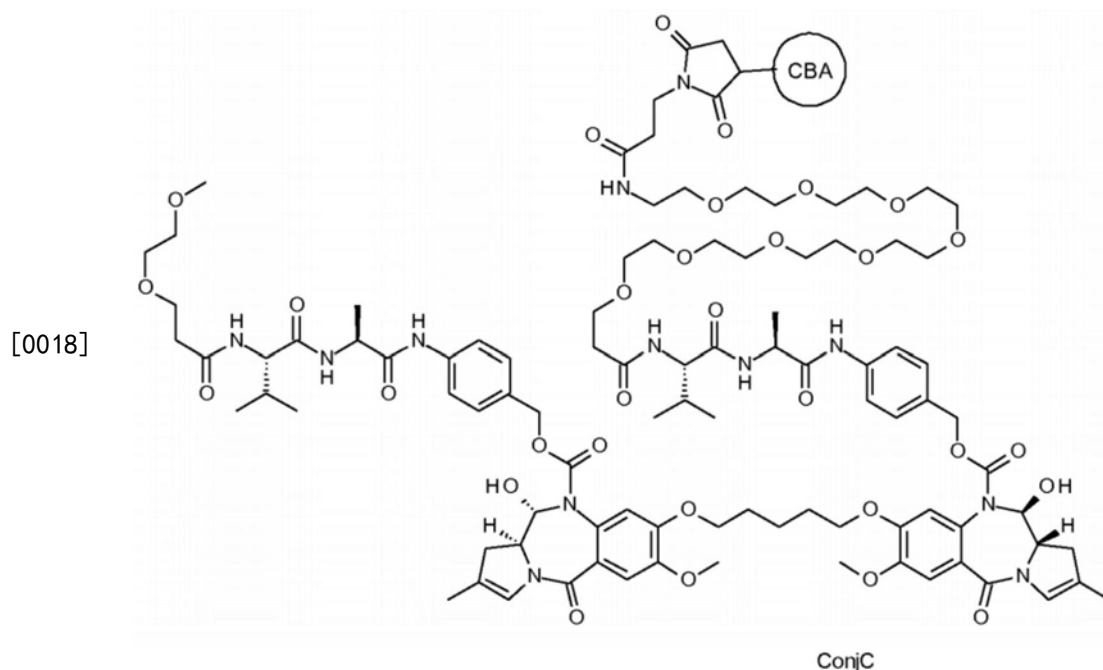
[0013] 这些化合物已经显示出为高度可用的细胞毒性药剂(Howard,P.W.等,Bioorg.Med.Chem.(2009),doi:10.1016/j.bmcl.2009.09.012)。

[0014] W0 2007/085930描述了具有用于连接至细胞结合剂(如抗体)的接头基团的二聚体PBD化合物的制备。接头存在于连接二聚体的单体PBD单元的桥中。

[0015] 具有用于连接至细胞结合剂(如抗体)的接头基团的二聚体PBD化合物描述于W0 2011/130598中。这些化合物中的接头连接于可用的N10位置中的一个,并且通常因酶对接头基团的作用而被切割。如果用封端基团保护未结合的N10位置,那么所例示的封端基团具有与连接至抗体的接头相同的切割触发物。

[0016] W0 2014/057074描述了两种特定的PBD二聚体缀合物,其通过N10位置结合在一个单体上,另一个PBD单体呈亚胺形式。

[0017] WO 2015/052322描述了一种特定的PBD二聚体缀合物,其通过N10位置结合在一个单体上,另一个PBD单体呈亚胺形式。它还描述了一种特定的PBD二聚体缀合物,其通过N10位置结合在一个单体上,另一个PBD单体具有封端基团,所述封端基团具有与连接至抗体的接头相同的切割触发物:



发明内容

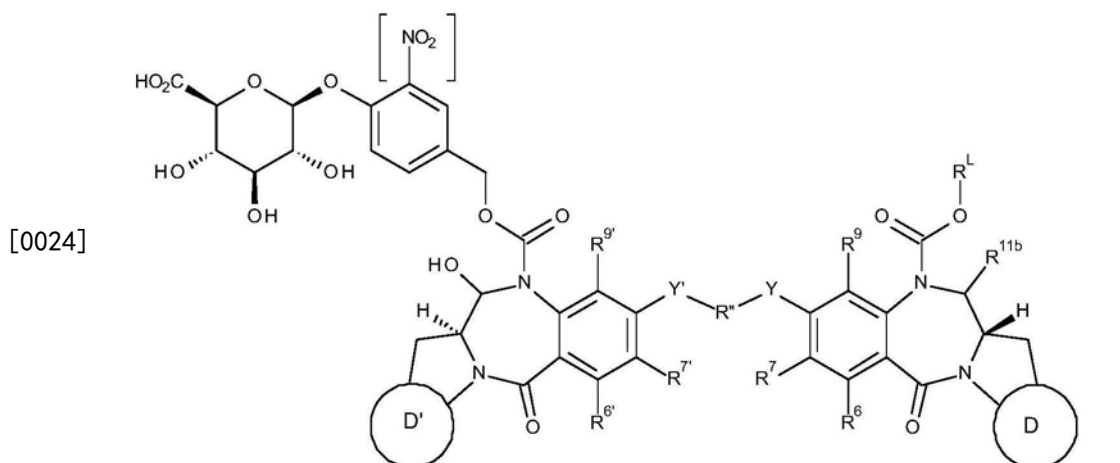
[0019] 本发明提供了PBD和相关二聚体缀合物,其中不与配体单元结合的N10-C11基团为 β -葡糖醛酸苷封端基团。连接至配体单元的连接单元的切割触发物为非葡糖醛酸苷可切割的。

[0020] 据信葡糖醛酸苷封端基团在这些缀合物中的使用是有利的,如同在靶细胞外部从抗体上切割缀合物时,所释放的受保护化合物因由于其亲水性不能渗透细胞膜而保持无活性。

[0021] 本发明还提供了适用于缀合至配体单元的PBD和相关二聚体药物接头,其中不旨在结合至配体单元的N10-C11基团为葡糖醛酸苷封端基团。连接单元的切割触发物为非葡糖醛酸苷封端单元。

[0022] 据信葡糖醛酸苷封端单元在这些药物接头中的使用是有利的,因为它增加了通常疏水的药物接头的亲水性,从而使得药物接头更易与配体单元缀合。

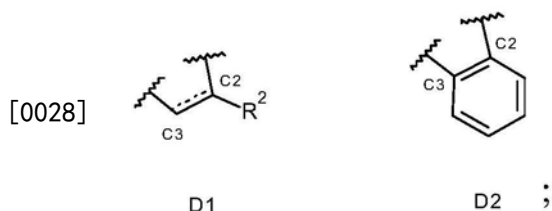
[0023] 本发明的第一方面包括一种具有式I的化合物:



[0025] 及其盐和溶剂合物,其中:

[0026] 方括号指示NO₂基团是任选的;

[0027] D代表基团D1或D2:



[0029] 虚线指示C2与C3之间任选存在双键;

[0030] 当C2与C3之间存在双键时,R²选自由以下组成的组:

[0031] (ia) C₅₋₁₀芳基,其任选地被选自包括以下的组的一个或多个取代基取代:卤素、硝基、氰基、醚、羧基、酯、C₁₋₇烷基、C₃₋₇杂环基以及双-氧基-C₁₋₃亚烷基;

[0032] (ib) C₁₋₅饱和的脂族烷基;

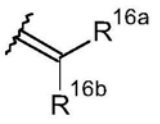
[0033] (ic) C₃₋₆饱和的环烷基;

[0034] (id) 其中R¹¹、R¹²和R¹³中的每一个独立地选自H、C₁₋₃饱和烷基、C₂₋₃烯基、C₂₋₃炔基和环丙基,其中所述R²基团中碳原子的总数不超过5;

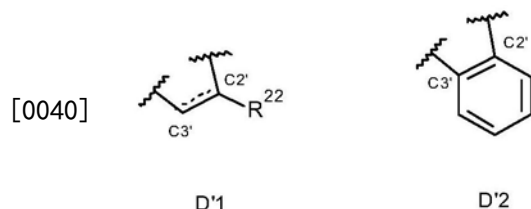
[0035] (ie) 其中R^{15a}和R^{15b}中的一个为H并且另一个选自:苯基,所述苯基任选地被选自卤素、甲基、甲氧基的基团取代;吡啶基;以及苯硫基;以及

[0036] (if) 其中R¹⁴选自:H;C₁₋₃饱和烷基;C₂₋₃烯基;C₂₋₃炔基;环丙基;苯基,所述苯基任选地被选自卤素、甲基、甲氧基的基团取代;吡啶基;以及苯硫基;

[0037] 当C2与C3之间存在单键时,

[0038] R^2 选自H、OH、F、diF和  , 其中 R^{16a} 和 R^{16b} 独立地选自H、F、 C_{1-4} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基,所述烷基和烯基任选地被选自 C_{1-4} 烷基酰氨基和 C_{1-4} 烷基酯的基团取代;或,当 R^{16a} 和 R^{16b} 中的一个为H时,另一个选自腈和 C_{1-4} 烷基酯;

[0039] D' 代表基团 D' 1或 D' 2:



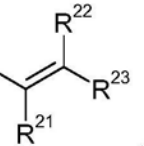
[0041] 其中虚线指示 $C2'$ 与 $C3'$ 之间任选存在双键;

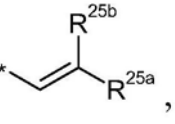
[0042] 当 $C2'$ 与 $C3'$ 之间存在双键时, R^{12} 选自由以下组成的组:

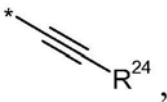
[0043] (iia) C_{5-10} 芳基,其任选地被选自包括以下的组的一个或多个取代基取代:卤素、硝基、氰基、醚、羧基、酯、 C_{1-7} 烷基、 C_{3-7} 杂环基以及双-氧基- C_{1-3} 亚烷基;

[0044] (iib) C_{1-5} 饱和的脂族烷基;

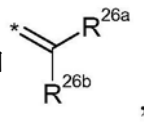
[0045] (iic) C_{3-6} 饱和的环烷基;

[0046] (iid)  , 其中 R^{21} 、 R^{22} 和 R^{23} 中的每一个独立地选自H、 C_{1-3} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基、 C_{2-3} 炔基和环丙基,其中 R^{12} 基团中碳原子的总数不超过5;

[0047] (iie)  , 其中 R^{25a} 和 R^{25b} 中的一个为H并且另一个选自:苯基,所述苯基任选地被选自卤素、甲基、甲氧基的基团取代;吡啶基;以及苯硫基;以及

[0048] (iif)  , 其中 R^{24} 选自:H; C_{1-3} 饱和烷基; C_{2-3} 烯基; C_{2-3} 炔基;环丙基;苯基,所述苯基任选地被选自卤素、甲基、甲氧基的基团取代;吡啶基;以及苯硫基;

[0049] 当 $C2'$ 与 $C3'$ 之间存在单键时,

[0050] R^{12} 选自H、OH、F、diF和  , 其中 R^{26a} 和 R^{26b} 独立地选自H、F、 C_{1-4} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基,所述烷基和烯基任选地被选自 C_{1-4} 烷基酰氨基和 C_{1-4} 烷基酯的基团取代;或,当 R^{26a} 和 R^{26b} 中的一个为H时,另一个选自腈和 C_{1-4} 烷基酯;

[0051] R^6 和 R^9 独立地选自H、R、OH、OR、SH、SR、 NH_2 、NHR、NRR'、硝基、 Me_3Sn 以及卤素;

[0052] 其中R和R'独立地选自任选取代的 C_{1-12} 烷基、 C_{3-20} 杂环基以及 C_{5-20} 芳基;

[0053] R^7 选自H、R、OH、OR、SH、SR、 NH_2 、NHR、NRR'、硝基、 Me_3Sn 以及卤素;

[0054] R'' 为 C_{3-12} 亚烷基,所述链可被一个或多个杂原子中断,例如O、S、 NR^{N2} (其中 R^{N2} 为H或

C₁₋₄烷基), 和/或芳环, 例如苯或吡啶;

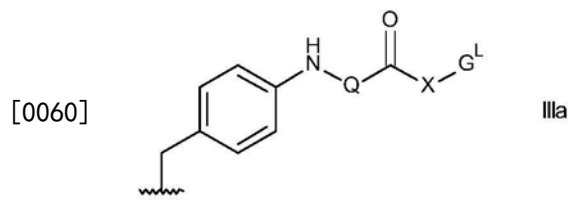
[0055] Y和Y' 选自O、S或NH;

[0056] R⁶、R⁷、R⁹ 分别选自与R⁶、R⁷和R⁹相同的基团;

[0057] R^{11b}选自OH、OR^A, 其中R^A为C₁₋₄烷基; 并且

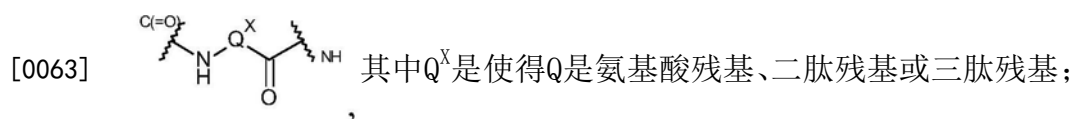
[0058] R^L为用于连接至细胞结合剂的接头, 其选自:

[0059] (iiia):

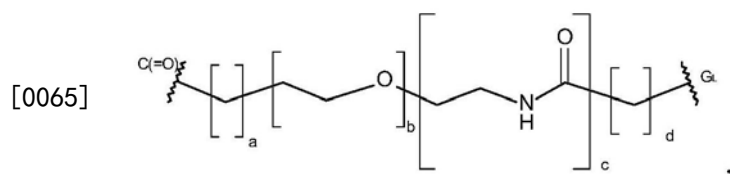


[0061] 其中

[0062] Q是:



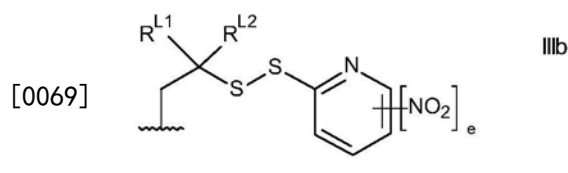
[0064] X是:



[0066] 其中a=0至5, b=0至16, c=0或1, d=0至5;

[0067] G^L为用于连接至配体单元的接头; 以及

[0068] (iiib):



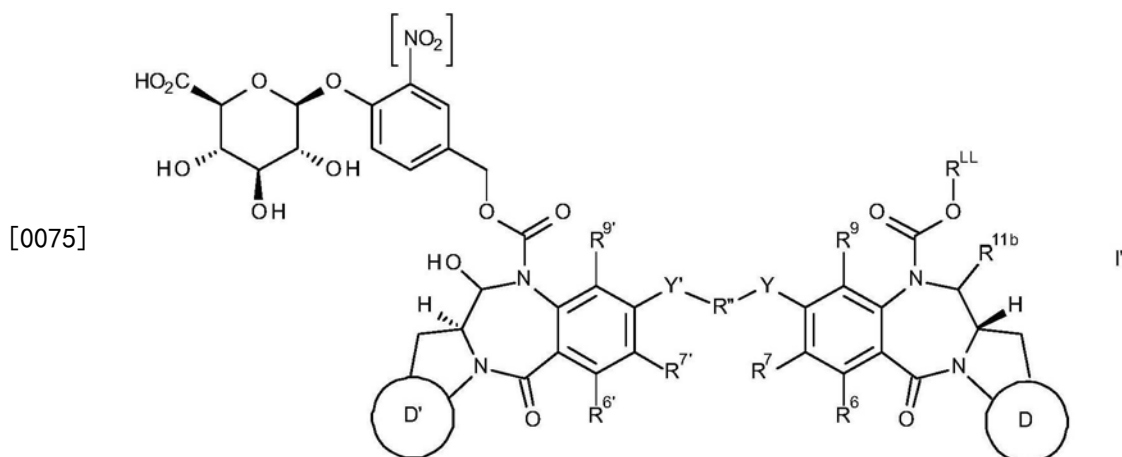
[0070] 其中R^{L1}和R^{L2}独立地选自H和甲基, 或与它们所结合的碳原子一起形成亚环丙基或亚环丁基;

[0071] 并且e为0或1。

[0072] 本发明的第二方面提供了式II的缀合物:

[0073] L-(D^L)_p (II)

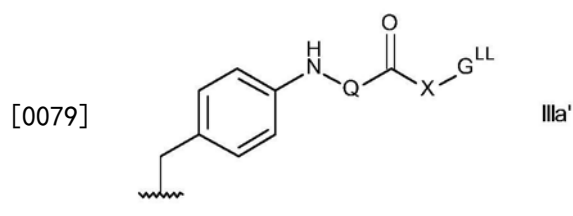
[0074] 其中L为配体单元(即, 靶向药剂), D^L为式I' 的药物接头单元:



[0076] 其中D、R²、R⁶、R⁷、R⁹、R^{11b}、Y、R''、Y'、D'、R^{6'}、R^{7'}、R^{9'}和R¹² (包括相应地C2与C3之间以及C2'与C3'之间的双键的存在或不存在、以及NO₂基团) 如本发明的第一方面所定义；

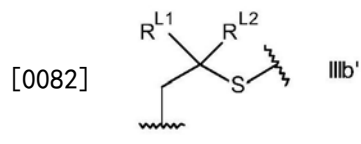
[0077] R^{LL}为用于连接至细胞结合剂的接头，其选自：

[0078] (iiia)：



[0080] 其中Q和X如第一方面所定义并且G^{LL}是连接至配体单元的接头；以及

[0081] (iiib)：



[0083] 其中R^{L1}和R^{L2}如第一方面所定义；

[0084] 其中p为1至20的整数。

[0085] 下文更全面地描述的配体单元为结合至靶标部分的靶向药剂。配体单元可以，例如，特异性地结合至细胞组分(细胞结合剂)或其他目标靶分子。配体单元可以是，例如，蛋白质、多肽或肽，如抗体、抗体的抗原结合片段、或其他结合剂，如Fc融合蛋白。

[0086] 本发明的第三方面提供了本发明的第二方面的缀合物在制造用于治疗增殖性疾病的药物中的用途。第三方面还提供了用于治疗增殖性疾病的本发明的第二方面的缀合物。第三方面还提供了一种治疗增殖性疾病的方法，其包括向有需要的患者施用治疗有效量的本发明的第二方面的缀合物。

[0087] 本领域的普通技术人员能够容易地确定候选缀合物是否治疗任何特定细胞类型的增殖性病状。例如，可以方便地用来评估由特定化合物提供的活性的测定描述于以下实施例中。

[0088] 本发明的第四方面提供了本发明的第二方面的缀合物的合成，其包括将本发明的第一方面的化合物(药物接头)与配体单元缀合。

附图说明

- [0089] 图1示出在与本发明的缀合物一起温育之后对SKOV3细胞的活力的影响；
- [0090] 图2示出在与本发明的不同缀合物一起温育之后对SKOV3细胞的活力的影响；
- [0091] 图3示出在用本发明的不同缀合物治疗之后对NCI-N87异种移植肿瘤的体积的影响；
- [0092] 图4示出在用与图3中相同的本发明的缀合物治疗之后对JIMT-1异种移植肿瘤的体积的影响。

具体实施方式

[0093] 定义

[0094] 取代基

[0095] 如本文所用的短语“任选取代的”涉及可为未取代的或可为取代的亲本基团。

[0096] 除非另外指明，否则如本文所用的术语“取代的”涉及携带一个或多个取代基的亲本基团。术语“取代基”在本文中以常规意义使用并且是指共价连接至亲本基团或在适当时候与亲本基团融合的化学部分。熟知广泛多种取代基，并且还熟知其形成以及引入多种亲本基团中的方法。

[0097] 以下更详细地描述取代基的实例。

[0098] C_{1-12} 烷基：如本文所用的术语“ C_{1-12} 烷基”涉及通过从具有1至12个碳原子的烃化合物的碳原子处移除氢原子获得的一价部分，其可以是脂族或脂环族的，并且可以是饱和或不饱和的（例如部分不饱和的、完全不饱和的）。如本文所用的术语“ C_{1-4} 烷基”涉及通过从具有1至4个碳原子的烃化合物的碳原子处移除氢原子获得的一价部分，其可以是脂族或脂环族的，并且可以是饱和或不饱和的（例如部分不饱和的、完全不饱和的）。因此，术语“烷基”包括以下论述的亚类烯基、炔基、环烷基等。

[0099] 饱和烷基的实例包括但不限于甲基 (C_1)、乙基 (C_2)、丙基 (C_3)、丁基 (C_4)、戊基 (C_5)、己基 (C_6) 以及庚基 (C_7)。

[0100] 饱和的直链烷基的实例包括但不限于甲基 (C_1)、乙基 (C_2)、正丙基 (C_3)、正丁基 (C_4)、正戊基 (戊基) (C_5)、正己基 (C_6) 以及正庚基 (C_7)。

[0101] 饱和的支链烷基的实例包括异丙基 (C_3)、异丁基 (C_4)、仲丁基 (C_4)、叔丁基 (C_4)、异戊基 (C_5) 以及新戊基 (C_5)。

[0102] C_{2-12} 烯基：如本文所用的术语“ C_{2-12} 烯基”涉及具有一个或多个碳-碳双键的烷基。

[0103] 不饱和烯基的实例包括但不限于乙烯基 (乙烯基, $-\text{CH}=\text{CH}_2$)、1-丙烯基 ($-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_3$)、2-丙烯基 (烯丙基, $-\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}_2$)、异丙烯基 (1-甲基乙烯基, $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$)、丁烯基 (C_4)、戊烯基 (C_5) 以及己烯基 (C_6)。

[0104] C_{2-12} 炔基：如本文所用的术语“ C_{2-12} 炔基”涉及具有一个或多个碳-碳三键的烷基。

[0105] 不饱和炔基的实例包括但不限于乙炔基 ($-\text{C}\equiv\text{CH}$) 和2-丙炔基 (炔丙基, $-\text{CH}_2-\text{C}\equiv\text{CH}$)。

[0106] C_{3-12} 环烷基：如本文所用的术语“ C_{3-12} 环烷基”涉及也是环基的烷基；即，通过从环状烃 (碳环) 化合物的脂环环原子处移除氢原子获得的一价部分，所述部分具有3至7个碳原子，包括3至7个环原子。

[0107] 环烷基的实例包括但不限于衍生自以下的环烷基：

[0108] 饱和的单环烃化合物：

[0109] 环丙烷(C₃)、环丁烷(C₄)、环戊烷(C₅)、环己烷(C₆)、环庚烷(C₇)、甲基环丙烷(C₄)、二甲基环丙烷(C₅)、甲基环丁烷(C₅)、二甲基环丁烷(C₆)、甲基环戊烷(C₆)、二甲基环戊烷(C₇)以及甲基环己烷(C₇)；

[0110] 不饱和的单环烃化合物：

[0111] 环丙烯(C₃)、环丁烯(C₄)、环戊烯(C₅)、环己烯(C₆)、甲基环丙烯(C₄)、二甲基环丙烯(C₅)、甲基环丁烯(C₅)、二甲基环丁烯(C₆)、甲基环戊烯(C₆)、二甲基环戊烯(C₇)以及甲基环己烯(C₇)；以及

[0112] 饱和的多环烃化合物：

[0113] 降莰烷(norcarane)(C₇)、降蒎烷(norpinane)(C₇)、降莰烷(norbornane)(C₇)。

[0114] C₃₋₂₀杂环基：如本文所用的术语“C₃₋₂₀杂环基”涉及通过从杂环化合物的环原子处移除氢原子获得的一价部分，所述部分具有3至20个环原子，其中1至10个为环杂原子。优选地，各环均具有3至7个环原子，其中1至4个环原子为环杂原子。

[0115] 在上下文中，前缀(例如C₃₋₂₀、C₃₋₇、C₅₋₆等)表示环原子的数目或环原子的数目的范围，无论为碳原子或杂原子。例如，如本文所用的术语“C₅₋₆杂环基”涉及具有5或6个环原子的杂环基。

[0116] 单环杂环基的实例包括但不限于衍生自以下的杂环基：

[0117] N₁：氮丙啶(C₃)、氮杂环丁烷(C₄)、吡咯烷(四氢吡咯)(C₅)、吡咯啉(例如，3-吡咯啉、2,5-二氢吡咯)(C₅)、2H-吡咯或3H-吡咯(异吡咯、异唑)(C₅)、哌啶(C₆)、二氢吡啶(C₆)、四氢吡啶(C₆)、吡庚因(C₇)；

[0118] O₁：环氧乙烷(C₃)、氧杂环丁烷(C₄)、氧杂环戊烷(四氢呋喃)(C₅)、氧杂环戊二烯(oxole)(二氢呋喃)(C₅)、噁烷(四氢吡喃)(C₆)、二氢吡喃(C₆)、吡喃(C₆)、氧杂环庚三烯(C₇)；

[0119] S₁：硫杂丙环(thiirane)(C₃)、硫杂环丁烷(thietane)(C₄)、硫杂环戊烷(thiolane)(四氢噻吩)(C₅)、噻烷(四氢噻喃)(C₆)、硫杂环庚烷(thiepane)(C₇)；

[0120] O₂：二氧戊环(C₅)、二氧杂环己环(C₆)和二氧杂环庚烷(C₇)；

[0121] O₃：三噁烷(C₆)；

[0122] N₂：咪唑烷(C₅)、吡唑烷(二氮杂环戊烷(diazolidine))(C₅)、咪唑啉(C₅)、吡唑啉(二氢吡唑)(C₅)、哌嗪(C₆)；

[0123] N₁O₁：四氢噁唑(C₅)、二氢噁唑(C₅)、四氢异噁唑(C₅)、二氢异噁唑(C₅)、吗啉(C₆)、四氢噁嗪(C₆)、二氢噁嗪(C₆)、噁嗪(C₆)；

[0124] N₁S₁：噻唑啉(C₅)、噻唑烷(C₅)、硫代吗啉(C₆)；

[0125] N₂O₁：噁二嗪(C₆)；

[0126] O₁S₁：氧硫杂环戊二烯(oxathiole)(C₅)和氧硫杂环己烷(oxathiane)(噻噁烷)(C₆)；以及，

[0127] N₁O₁S₁：噻噁嗪(C₆)。

[0128] 取代的单环杂环基的实例包括衍生自呈环状形式的糖类的杂环基，所述糖类例如呋喃糖(C₅)，如阿拉伯呋喃糖、来苏呋喃糖、核呋喃糖和木呋喃糖；以及吡喃糖(C₆)，如阿洛

吡喃糖 (allopynanose)、阿卓吡喃糖 (altropynanose)、葡萄吡喃糖、甘露吡喃糖、古洛吡喃糖 (gulopynanose)、艾杜吡喃糖 (idopynanose)、半乳吡喃糖以及太洛吡喃糖 (talopynanose)。

[0129] C_{5-20} 芳基:如本文所用的术语“ C_{5-20} 芳基”涉及通过从芳族化合物的芳族环原子处移除氢原子获得的一价部分,所述部分具有3至20个环原子。如本文所用的术语“ C_{5-7} 芳基”涉及通过从芳族化合物的芳族环原子处移除氢原子获得的一价部分,所述部分具有5至7个环原子并且如本文所用的术语“ C_{5-10} 芳基”涉及通过从芳族化合物的芳族环原子处移除氢原子获得的一价部分,所述部分具有5至10个环原子。优选地,每个环具有5至7个环原子。

[0130] 在上下文中,前缀 (例如 C_{3-20} 、 C_{5-7} 、 C_{5-6} 、 C_{5-10} 等) 表示环原子的数目或环原子的数目的范围,无论为碳原子或杂原子。例如,如本文所用的术语“ C_{5-6} 芳基”涉及具有5或6个环原子的芳基。

[0131] 环原子可以是全部碳原子,如在“碳芳基”中。

[0132] 碳芳基的实例包括但不限于衍生自苯 (即苯基) (C_6)、萘 (C_{10})、蒽 (azulene) (C_{10})、蒽 (C_{14})、菲 (C_{14})、蒽并蒽 (C_{18}) 以及嵌二萘 (C_{16}) 的那些。

[0133] 包括其中至少一个为芳环的稠环的芳基的实例包括但不限于衍生自茚满 (例如2,3-二氢-1H-茚) (C_9)、茚 (C_9)、异茚 (C_9)、四氢化萘 (1,2,3,4-四氢萘 (C_{10}))、二氢茚 (C_{12})、茚 (C_{13})、非那烯 (phenalene) (C_{13})、醋菲 (acephenanthrene) (C_{15}) 以及醋蒽 (aceanthrene) (C_{16}) 的基团。

[0134] 另选地,环原子可包括一个或多个杂原子,如在“杂芳基”中。单环杂芳基的实例包括但不限于衍生自以下的那些:

[0135] N_1 :吡咯 (唑) (C_5)、吡啶 (吡啶) (C_6);

[0136] O_1 :呋喃 (氧杂环戊二烯) (C_5);

[0137] S_1 :噻吩 (硫醇) (C_5);

[0138] N_1O_1 :噁唑 (C_5)、异噁唑 (C_5)、异噁唑 (C_6);

[0139] N_2O_1 :噁二唑 (呋咱) (C_5);

[0140] N_3O_1 :噁三唑 (C_5);

[0141] N_1S_1 :噻唑 (C_5)、异噻唑 (C_5);

[0142] N_2 :咪唑 (1,3-二唑) (C_5)、吡唑 (1,2-二唑) (C_5)、哒嗪 (1,2-二嗪) (C_6)、嘧啶 (1,3-二嗪) (C_6) (例如,胞嘧啶、胸腺嘧啶、尿嘧啶)、吡嗪 (1,4-二嗪) (C_6);

[0143] N_3 :三唑 (C_5)、三嗪 (C_6);以及,

[0144] N_4 :四唑 (C_5)。

[0145] 包含稠环的杂芳基的实例包括但不限于:

[0146] C_9 (具有2个稠环),其衍生自苯并呋喃 (O_1)、异苯并呋喃 (O_1)、吲哚 (N_1)、异吲哚 (N_1)、中氮茚 (N_1)、吲哚啉 (N_1)、异吲哚啉 (N_1)、嘌呤 (N_4) (例如,腺嘌呤、鸟嘌呤)、苯并咪唑 (N_2)、吲唑 (N_2)、苯并噁唑 (N_1O_1)、苯并异噁唑 (N_1O_1)、苯并二噁茂 (O_2)、苯并呋咱 (N_2O_1)、苯并三唑 (N_3)、苯并硫代呋喃 (S_1)、苯并噻唑 (N_1S_1)、苯并噻二唑 (N_2S);

[0147] C_{10} (具有2个稠环),其衍生自苯并吡喃 (O_1)、异苯并吡喃 (O_1)、苯并二氢吡喃 (O_1)、异苯并二氢吡喃 (O_1)、苯并噁烷 (O_2)、喹啉 (N_1)、异喹啉 (N_1)、喹啉 (N_1)、苯并噁唑 (N_1O_1)、苯并二嗪 (N_2)、吡啶并吡啶 (N_2)、喹啉啉 (N_2)、喹唑啉 (N_2)、噌啉 (N_2)、酞嗪 (N_2)、二氮杂萘 (N_2)、

蝶啶 (N_4) ;

[0148] C_{11} (具有2个稠环), 其衍生自苯并二氮杂萘 (N_2) ;

[0149] C_{13} (具有3个稠环), 其衍生自咪唑 (N_1)、二苯并咪唑 (O_1)、二苯并噻吩 (S_1)、咪啉 (N_2)、萘嵌间二氮杂苯 (N_2)、吡啶并咪唑 (N_2) ; 以及,

[0150] C_{14} (具有3个稠环), 其衍生自吡啶 (N_1)、咕吨 (O_1)、噻吨 (S_1)、二苯并对二噻英 (oxanthrene) (O_2)、氧硫杂蒽 (O_1S_1)、吩嗪 (N_2)、吩噻嗪 (N_1O_1)、吩噻酮 (N_1S_1)、噻蒽 (S_2)、菲啶 (N_1)、菲咯啉 (N_2)、吩嗪 (N_2)。

[0151] 无论单独或为另一取代基的一部分的以上基团均可自身任选被一个或多个选自自身及以下列出的其他取代基的基团取代。

[0152] 卤素: -F、-Cl、-Br和-I。

[0153] 羟基: -OH。

[0154] 醚: -OR, 其中R是醚取代基, 例如, C_{1-7} 烷基 (也称为 C_{1-7} 烷氧基, 以下进行讨论)、 C_{3-20} 杂环基 (也称为 C_{3-20} 杂环氧基) 或 C_{5-20} 芳基 (也称为 C_{5-20} 芳基氧基), 优选 C_{1-7} 烷基。

[0155] 烷氧基: -OR, 其中R为烷基, 例如, C_{1-7} 烷基。 C_{1-7} 烷氧基的实例包括但不限于 -OMe (甲氧基)、-OEt (乙氧基)、-O (nPr) (正丙氧基)、-O (iPr) (异丙氧基)、-O (nBu) (正丁氧基)、-O (sBu) (仲丁氧基)、-O (iBu) (异丁氧基) 以及 -O (tBu) (叔丁氧基)。

[0156] 缩醛: -CH (OR¹) (OR²), 其中R¹和R²独立地为缩醛取代基, 例如, C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选 C_{1-7} 烷基, 或在“环状”缩醛基团的情况下, R¹和R², 与它们所连接的两个氧原子, 和它们所连接的碳原子一起, 形成具有4至8个环原子的杂环。缩醛基团的实例包括但不限于 -CH (OMe)₂、-CH (OEt)₂ 和 -CH (OMe) (OEt)。

[0157] 半缩醛: -CH (OH) (OR¹), 其中R¹为半缩醛取代基, 例如, C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选 C_{1-7} 烷基。半缩醛基团的实例包括但不限于 -CH (OH) (OMe) 和 -CH (OH) (OEt)。

[0158] 缩酮: -CR (OR¹) (OR²), 其中R¹和R²如对于缩醛所定义, 并且R是除氢之外的缩酮取代基, 例如, C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选 C_{1-7} 烷基。缩酮基团的实例包括但不限于 -C (Me) (OMe)₂、-C (Me) (OEt)₂、-C (Me) (OMe) (OEt)、-C (Et) (OMe)₂、-C (Et) (OEt)₂ 以及 -C (Et) (OMe) (OEt)。

[0159] 半缩酮: -CR (OH) (OR¹), 其中R¹如对于半缩醛所定义, 并且R是除氢之外的半缩酮取代基, 例如, C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选 C_{1-7} 烷基。半缩酮基团的实例包括但不限于 -C (Me) (OH) (OMe)、-C (Et) (OH) (OMe)、-C (Me) (OH) (OEt) 以及 -C (Et) (OH) (OEt)。

[0160] 氧代基 (酮、-酮): =O。

[0161] 硫酮 (thione) (硫酮 (thioketone)): =S。

[0162] 亚氨基 (亚胺): =NR, 其中R为亚氨基取代基, 例如, 氢、 C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选氢或 C_{1-7} 烷基。酯基的实例包括但不限于 =NH、=NMe、=NEt 及 =NPh。

[0163] 甲酰基 (醛、甲醛): -C (=O) H。

[0164] 酰基 (酮基): -C (=O) R, 其中R是酰基取代基, 例如, C_{1-7} 烷基 (也称为 C_{1-7} 烷基酰基或 C_{1-7} 烷酰基)、 C_{3-20} 杂环基 (也称为 C_{3-20} 杂环酰基) 或 C_{5-20} 芳基 (也称为 C_{5-20} 芳基酰基), 优选 C_{1-7} 烷基。酰基的实例包括但不限于 -C (=O) CH₃ (乙酰基)、-C (=O) CH₂CH₃ (丙酰基)、-C (=O) C (CH₃)₃ (叔丁酰基) 和 -C (=O) Ph (苯甲酰基、酰苯基 (phenone))。

[0165] 羧基 (羧酸): -C (=O) OH。

[0166] 硫代羧基(硫代羧酸): $-\text{C}(=\text{S})\text{SH}$ 。

[0167] 硫醇羧基(硫醇羧酸): $-\text{C}(=\text{O})\text{SH}$ 。

[0168] 硫酮羧基(硫酮羧酸): $-\text{C}(=\text{S})\text{OH}$ 。

[0169] 亚胺酸: $-\text{C}(=\text{NH})\text{OH}$ 。

[0170] 异羟肟酸: $-\text{C}(=\text{NOH})\text{OH}$ 。

[0171] 酯(羧酸酯、羧酸的酯、氧羰基): $-\text{C}(=\text{O})\text{OR}$, 其中R是酯取代基, 例如, C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选 C_{1-7} 烷基。酯基的实例包括但不限于 $-\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_3$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ 和 $-\text{C}(=\text{O})\text{OPh}$ 。

[0172] 酰氧基(反酯): $-\text{OC}(=\text{O})\text{R}$, 其中R是酰氧基取代基, 例如, C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选 C_{1-7} 烷基。酰氧基的实例包括但不限于 $-\text{OC}(=\text{O})\text{CH}_3$ (乙酰氧基)、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{Ph}$ 和 $-\text{OC}(=\text{O})\text{CH}_2\text{Ph}$ 。

[0173] 氧基羰基氧基: $-\text{OC}(=\text{O})\text{OR}$, 其中R是酯取代基, 例如, C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选 C_{1-7} 烷基。酯基的实例包括但不限于 $-\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_3$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ 和 $-\text{OC}(=\text{O})\text{OPh}$ 。

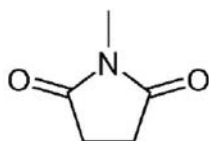
[0174] 氨基: $-\text{NR}^1\text{R}^2$, 其中 R^1 和 R^2 独立地为氨基取代基, 例如, 氢、 C_{1-7} 烷基(也称为 C_{1-7} 烷基氨基或二- C_{1-7} 烷基氨基)、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选H或 C_{1-7} 烷基, 或, 在“环状”氨基的情况下, R^1 和 R^2 与它们所连接的氮原子一起形成具有4至8个环原子的杂环。氨基可以是伯($-\text{NH}_2$)、仲($-\text{NHR}^1$)或叔($-\text{NHR}^1\text{R}^2$), 并且在阳离子形式中, 可以是季($-\text{NR}^1\text{R}^2\text{R}^3$)。氨基的实例包括但不限于 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHCH}_3$ 、 $-\text{NHC}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ 和 $-\text{NHPh}$ 。环状氨基的实例包括但不限于氮杂环丙烷基、氮杂环丁烷基、吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、吗啉代以及硫吗啉代。

[0175] 酰氨基(氨基甲酰基、氨甲酰基、氨基羰基、羧基酰胺): $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^1\text{R}^2$, 其中 R^1 和 R^2 独立地为氨基取代基, 如对于氨基所定义。酰氨基的实例包括但不限于 $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{NHCH}_3$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{NHCH}_2\text{CH}_3$ 和 $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$, 以及其中 R^1 和 R^2 与它们所连接的氮原子一起形成杂环结构的酰氨基, 例如哌啶基羰基、吗啉代羰基、硫吗啉代羰基和哌嗪基羰基。

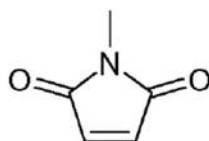
[0176] 硫代酰氨基(硫代氨甲酰基): $-\text{C}(=\text{S})\text{NR}^1\text{R}^2$, 其中 R^1 和 R^2 独立地为氨基取代基, 如对于氨基所定义。酰氨基的实例包括但不限于 $-\text{C}(=\text{S})\text{NH}_2$ 、 $-\text{C}(=\text{S})\text{NHCH}_3$ 、 $-\text{C}(=\text{S})\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 和 $-\text{C}(=\text{S})\text{NHCH}_2\text{CH}_3$ 。

[0177] 酰氨基(Acylamido)(酰基氨基(acylamino)): $-\text{NR}^1\text{C}(=\text{O})\text{R}^2$, 其中 R^1 是酰胺取代基, 例如, 氢、 C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选氢或 C_{1-7} 烷基, 并且 R^2 是酰基取代基, 例如, C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选氢或 C_{1-7} 烷基。酰基酰胺基团的实例包括但不限于 $-\text{NHC}(=\text{O})\text{CH}_3$ 、 $-\text{NHC}(=\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_3$ 和 $-\text{NHC}(=\text{O})\text{Ph}$ 。 R^1 和 R^2 可一起形成环状结构, 如例如在琥珀酰亚胺基、马来酰亚胺基和邻苯二甲酰亚胺基中:

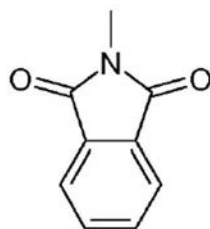
[0178]



琥珀酰亚胺基



马来酰亚胺基



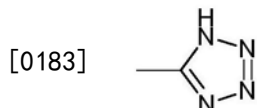
邻苯二甲酰亚胺基

[0179] 氨基羰基氧基： $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^1\text{R}^2$ ，其中 R^1 和 R^2 独立地为氨基取代基，如对于氨基所定义。氨基羰基氧基的实例包括但不限于 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NHMe}$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NMe}_2$ 和 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NEt}_2$ 。

[0180] 脲基： $-\text{N}(\text{R}^1)\text{CONR}^2\text{R}^3$ ，其中 R^2 和 R^3 独立地为氨基取代基，如对于氨基所定义，并且 R^1 是脲基取代基，例如，氢、 C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基，优选氢或 C_{1-7} 烷基。脲基的实例包括但不限于 $-\text{NHCONH}_2$ 、 $-\text{NHCONHMe}$ 、 $-\text{NHCONHEt}$ 、 $-\text{NHCONMe}_2$ 、 $-\text{NHCONEt}_2$ 、 $-\text{NMeCONH}_2$ 、 $-\text{NMeCONHMe}$ 、 $-\text{NMeCONHEt}$ 、 $-\text{NMeCONMe}_2$ 和 $-\text{NMeCONEt}_2$ 。

[0181] 胍基： $-\text{NH}-\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 。

[0182] 四唑基：具有四个氮原子和一个碳原子的五元芳环，



[0184] 亚氨基： $=\text{NR}$ ，其中 R 为亚氨基取代基，例如，氢、 C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基，优选 H 或 C_{1-7} 烷基。亚氨基的实例包括但不限于 $=\text{NH}$ 、 $=\text{NMe}$ 和 $=\text{NEt}$ 。

[0185] 脒基(脒基)： $-\text{C}(=\text{NR})\text{NR}_2$ ，其中每个 R 为脒取代基，例如，氢、 C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基，优选 H 或 C_{1-7} 烷基。脒基团的实例包括但不限于 $-\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-\text{C}(=\text{NH})\text{NMe}_2$ 和 $-\text{C}(=\text{NMe})\text{NMe}_2$ 。

[0186] 硝基： $-\text{NO}_2$ 。

[0187] 亚硝基： $-\text{NO}$ 。

[0188] 叠氮基： $-\text{N}_3$ 。

[0189] 氰基(腈、甲腈)： $-\text{CN}$ 。

[0190] 异氰基： $-\text{NC}$ 。

[0191] 氰酰基： $-\text{OCN}$ 。

[0192] 异氰酰基： $-\text{NCO}$ 。

[0193] 氰硫基(硫氰酰基)： $-\text{SCN}$ 。

[0194] 异氰硫基(异硫氰酰基)： $-\text{NCS}$ 。

[0195] 硫氢基(Sulfhydryl)(巯基(thiol)、巯基(mercapto))： $-\text{SH}$ 。

[0196] 硫醚(Thioether)(硫醚(sulfide))： $-\text{SR}$ ，其中 R 为硫醚取代基，例如， C_{1-7} 烷基(也称为 C_{1-7} 烷硫基)、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基，优选 C_{1-7} 烷基。 C_{1-7} 烷硫基的实例包括但不限于 $-\text{SCH}_3$ 和 $-\text{SCH}_2\text{CH}_3$ 。

[0197] 二硫醚： $-\text{SS}-\text{R}$ ，其中 R 为二硫醚取代基，例如， C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基，优选 C_{1-7} 烷基(本文也称为 C_{1-7} 烷基二硫醚)。 C_{1-7} 烷基二硫醚基团的实例包括但不限于 $-\text{SSCH}_3$ 和 $-\text{SSCH}_2\text{CH}_3$ 。

[0198] 硫氧化物(亚磺酰基、亚砷)： $-\text{S}(=\text{O})\text{R}$ ，其中 R 为硫氧化物取代基，例如， C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基，优选 C_{1-7} 烷基。硫氧化物基团的实例包括但不限于 $-\text{S}(=\text{O})\text{CH}_3$ 和 $-\text{S}(=\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_3$ 。

[0199] 砷(磺酰基)： $-\text{S}(=\text{O})_2\text{R}$ ，其中 R 为砷取代基，例如， C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基，优选 C_{1-7} 烷基，包括例如氟化或全氟化的 C_{1-7} 烷基。砷基团的实例包括但不限于 $-\text{S}(=\text{O})_2\text{CH}_3$ (甲基磺酰基、甲磺酰基)、 $-\text{S}(=\text{O})_2\text{CF}_3$ (三氟甲磺酰基)、 $-\text{S}(=\text{O})_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ (乙磺酰基)、 $-\text{S}$

(=O)₂C₄F₉ (九氟丁磺酰基)、-S(=O)₂CH₂CF₃ (三氟乙磺酰基)、-S(=O)₂CH₂CH₂NH₂ (牛磺酰基)、-S(=O)₂Ph (苯基磺酰基、苯磺酰基)、4-甲基苯基磺酰基 (甲苯磺酰基)、4-氯苯基磺酰基 (氯苯磺酰基)、4-溴苯基磺酰基 (溴苯磺酰基)、4-硝基苯基磺酰基 (硝苯磺酰基)、2-萘磺酸酯 (萘磺酰基) 以及 5-二甲基氨基-萘-1-基磺酸酯 (丹磺酰基)。

[0200] 亚磺酸 (亚磺基) : -S(=O)OH、-SO₂H。

[0201] 磺酸 (磺基) : -S(=O)₂OH、-SO₃H。

[0202] 亚磺酸酯 (亚磺酸的酯) : -S(=O)OR, 其中 R 为亚磺酸酯取代基, 例如, C₁₋₇ 烷基、C₃₋₂₀ 杂环基或 C₅₋₂₀ 芳基, 优选 C₁₋₇ 烷基。亚磺酸酯基团的实例包括但不限于 -S(=O)OCH₃ (甲氧基亚磺酰基; 甲基亚磺酸酯) 和 -S(=O)OCH₂CH₃ (乙氧基亚磺酰基; 乙基亚磺酸酯)。

[0203] 磺酸酯 (磺酸的酯) : -S(=O)₂OR, 其中 R 为磺酸酯取代基, 例如, C₁₋₇ 烷基、C₃₋₂₀ 杂环基或 C₅₋₂₀ 芳基, 优选 C₁₋₇ 烷基。磺酸酯基团的实例包括但不限于 -S(=O)₂OCH₃ (甲氧基磺酰基; 甲基磺酸酯) 和 -S(=O)₂OCH₂CH₃ (乙氧基磺酰基; 乙基磺酸酯)。

[0204] 亚磺酰氧基 : -OS(=O)R, 其中 R 为亚磺酰氧基取代基, 例如, C₁₋₇ 烷基、C₃₋₂₀ 杂环基或 C₅₋₂₀ 芳基, 优选 C₁₋₇ 烷基。亚磺酰氧基的实例包括但不限于 -OS(=O)CH₃ 和 -OS(=O)CH₂CH₃。

[0205] 磺酰氧基 : -OS(=O)₂R, 其中 R 为磺酰氧基取代基, 例如, C₁₋₇ 烷基、C₃₋₂₀ 杂环基或 C₅₋₂₀ 芳基, 优选 C₁₋₇ 烷基。磺酰氧基的实例包括但不限于 -OS(=O)₂CH₃ (甲磺酸酯) 和 -OS(=O)₂CH₂CH₃ (乙磺酸酯)。

[0206] 硫酸酯 : -OS(=O)₂OR; 其中 R 为硫酸酯取代基, 例如, C₁₋₇ 烷基、C₃₋₂₀ 杂环基或 C₅₋₂₀ 芳基, 优选 C₁₋₇ 烷基。硫酸酯基团的实例包括但不限于 -OS(=O)₂OCH₃ 和 -SO(=O)₂OCH₂CH₃。

[0207] 氨磺酰基 (氨磺酰; 亚磺酸酰胺; 亚磺酰胺) : -S(=O)NR¹R², 其中 R¹ 和 R² 独立地为氨基取代基, 如对于氨基所定义。氨磺酰基的实例包括但不限于 -S(=O)NH₂、-S(=O)NH(CH₃)、-S(=O)N(CH₃)₂、-S(=O)NH(CH₂CH₃)、-S(=O)N(CH₂CH₃)₂ 和 -S(=O)NPh。

[0208] 磺酰氨基 (Sulfonamido) (氨亚磺酰基; 磺酸酰胺; 磺酰胺) : -S(=O)₂NR¹R², 其中 R¹ 和 R² 独立地为氨基取代基, 如对于氨基所定义。磺酰氨基的实例包括但不限于 -S(=O)₂NH₂、-S(=O)₂NH(CH₃)、-S(=O)₂N(CH₃)₂、-S(=O)₂NH(CH₂CH₃)、-S(=O)₂N(CH₂CH₃)₂ 和 -S(=O)₂NPh。

[0209] 磺氨基 : -NR¹S(=O)₂OH, 其中 R¹ 为氨基取代基, 如对于氨基所定义。磺氨基的实例包括但不限于 -NHS(=O)₂OH 和 -N(CH₃)S(=O)₂OH。

[0210] 磺酰基氨基 (Sulfonamino) : -NR¹S(=O)₂R, 其中 R¹ 为氨基取代基, 如对于氨基所定义, 并且 R 为磺酰基氨基取代基, 例如, C₁₋₇ 烷基、C₃₋₂₀ 杂环基或 C₅₋₂₀ 芳基, 优选 C₁₋₇ 烷基。磺酰基氨基的实例包括但不限于 -NHS(=O)₂CH₃ 和 -N(CH₃)S(=O)₂C₆H₅。

[0211] 亚磺酰基氨基 (Sulfinamino) : -NR¹S(=O)R, 其中 R¹ 为氨基取代基, 如对于氨基所定义, 并且 R 为亚磺酰基氨基取代基, 例如, C₁₋₇ 烷基、C₃₋₂₀ 杂环基或 C₅₋₂₀ 芳基, 优选 C₁₋₇ 烷基。亚磺酰基氨基的实例包括但不限于 -NHS(=O)CH₃ 和 -N(CH₃)S(=O)C₆H₅。

[0212] 膦基 (膦) : -PR₂, 其中 R 为膦基取代基, 例如, -H、C₁₋₇ 烷基、C₃₋₂₀ 杂环基或 C₅₋₂₀ 芳基, 优选 -H、C₁₋₇ 烷基或 C₅₋₂₀ 芳基。膦基的实例包括但不限于 -PH₂、-P(CH₃)₂、-P(CH₂CH₃)₂、-P(t-Bu)₂ 和 -P(Ph)₂。

[0213] 磷基 : -P(=O)₂。

[0214] 氧磷基(氧化磷): $-P(=O)R_2$, 其中R为氧磷基取代基, 例如, C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选 C_{1-7} 烷基或 C_{5-20} 芳基。氧磷基的实例包括但不限于 $-P(=O)(CH_3)_2$ 、 $-P(=O)(CH_2CH_3)_2$ 、 $-P(=O)(t-Bu)_2$ 和 $-P(=O)(Ph)_2$ 。

[0215] 磷酸(磷酰基): $-P(=O)(OH)_2$ 。

[0216] 磷酸酯(磷酰基酯): $-P(=O)(OR)_2$, 其中R为磷酸酯取代基, 例如, $-H$ 、 C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选 $-H$ 、 C_{1-7} 烷基或 C_{5-20} 芳基。磷酸酯基团的实例包括但不限于 $-P(=O)(OCH_3)_2$ 、 $-P(=O)(OCH_2CH_3)_2$ 、 $-P(=O)(O-t-Bu)_2$ 和 $-P(=O)(OPh)_2$ 。

[0217] 磷酸(磷酰基氧基): $-OP(=O)(OH)_2$ 。

[0218] 磷酸酯(磷酰基氧基酯): $-OP(=O)(OR)_2$, 其中R为磷酸酯取代基, 例如, $-H$ 、 C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选 $-H$ 、 C_{1-7} 烷基或 C_{5-20} 芳基。磷酸酯基团的实例包括但不限于 $-OP(=O)(OCH_3)_2$ 、 $-OP(=O)(OCH_2CH_3)_2$ 、 $-OP(=O)(O-t-Bu)_2$ 和 $-OP(=O)(OPh)_2$ 。

[0219] 亚磷酸: $-OP(OH)_2$ 。

[0220] 亚磷酸酯: $-OP(OR)_2$, 其中R为亚磷酸酯取代基, 例如, $-H$ 、 C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选 $-H$ 、 C_{1-7} 烷基或 C_{5-20} 芳基。亚磷酸酯基团的实例包括但不限于 $-OP(OCH_3)_2$ 、 $-OP(OCH_2CH_3)_2$ 、 $-OP(O-t-Bu)_2$ 和 $-OP(OPh)_2$ 。

[0221] 亚磷酰胺: $-OP(OR^1)NR^2_2$, 其中 R^1 和 R^2 为亚磷酰胺取代基, 例如, $-H$ 、(任选取代的) C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选 $-H$ 、 C_{1-7} 烷基或 C_{5-20} 芳基。亚磷酰胺基团的实例包括但不限于 $-OP(OCH_2CH_3)N(CH_3)_2$ 、 $-OP(OCH_2CH_3)N(i-Pr)_2$ 和 $-OP(OCH_2CH_2CN)N(i-Pr)_2$ 。

[0222] 磷酰胺: $-OP(=O)(OR^1)NR^2_2$, 其中 R^1 和 R^2 为磷酰胺取代基, 例如, $-H$ 、(任选取代的) C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选 $-H$ 、 C_{1-7} 烷基或 C_{5-20} 芳基。磷酰胺基团的实例包括但不限于 $-OP(=O)(OCH_2CH_3)N(CH_3)_2$ 、 $-OP(=O)(OCH_2CH_3)N(i-Pr)_2$ 和 $-OP(=O)(OCH_2CH_2CN)N(i-Pr)_2$ 。

[0223] 亚烷基

[0224] C_{3-12} 亚烷基: 如本文所用的术语“ C_{3-12} 亚烷基”涉及通过从具有3至12个碳原子(除非另外指出)的烃化合物上移除2个氢原子(从同一个碳原子处移除两个氢原子或从两个不同碳原子处各移除一个氢原子)而获得的双齿物部分, 其可以是脂族的或脂环族的, 并且可以是饱和的、部分不饱和的或完全不饱和的。因此, 术语“亚烷基”包括以下论述的亚类亚烯基、亚炔基、亚环烷基等。

[0225] 直链饱和 C_{3-12} 亚烷基的实例包括但不限于 $-(CH_2)_n-$, 其中n为3至12的整数, 例如, $-CH_2CH_2CH_2-$ (亚丙基)、 $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$ (亚丁基)、 $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$ (亚戊基)和 $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$ (亚庚基)。

[0226] 支链饱和 C_{3-12} 亚烷基的实例包括但不限于 $-CH(CH_3)CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)CH_2CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)CH_2CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH(CH_3)CH_2-$ 、 $-CH_2CH(CH_3)CH_2CH_2-$ 、 $-CH(CH_2CH_3)-$ 、 $-CH(CH_2CH_3)CH_2-$ 和 $-CH_2CH(CH_2CH_3)CH_2-$ 。

[0227] 直链部分不饱和的 C_{3-12} 亚烷基(C_{3-12} 亚烯基和亚炔基)的实例包括但不限于 $-CH=CH-CH_2-$ 、 $-CH_2-CH=CH_2-$ 、 $-CH=CH-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH=CH-CH_2-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH=CH-CH=CH-$ 、 $-CH=CH-CH=CH-CH_2-$ 、 $-CH=CH-CH=CH-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH=CH-CH_2-CH=CH-$ 、 $-CH=CH-CH_2-CH_2-CH=CH-$ 和 $-CH_2-C\equiv C-CH_2-$ 。

[0228] 支链部分不饱和的 C_{3-12} 亚烷基(C_{3-12} 亚烯基和亚炔基)的实例包括但不限于 $-C$

$(\text{CH}_3)=\text{CH}-$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ 和 $-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ 。

[0229] 脂环族饱和的 C_{3-12} 亚烷基(C_{3-12} 亚环烷基)的实例包括但不限于亚环戊基(例如亚环戊-1,3-基)和亚环己基(例如,亚环己-1,4-基)。

[0230] 脂环族部分不饱和的 C_{3-12} 亚烷基(C_{3-12} 亚环烷基)的实例包括但不限于亚环戊烯基(例如4-亚环戊烯-1,3-基)、亚环己烯基(例如2-亚环己烯-1,4-基;3-亚环己烯-1,2-基;2,5-亚环己二烯-1,4-基)。

[0231] 配体单元

[0232] 配体单元可以是任何种类,并且包括特异性结合至靶分子的蛋白质、多肽、肽以及非肽药剂。在一些实施方案中,配体单元可以是蛋白质、多肽或肽。在一些实施方案中,配体单元可以是环状多肽。这些配体单元可包括抗体或含有至少一个靶分子结合位点的抗体片段、淋巴因子、激素、生长因子或可与靶标特异性结合的任何其他细胞结合分子或物质。

[0233] 术语“特异性结合(specifically binds和specific binding)”是指抗体或其他蛋白质、多肽或肽与预定分子(例如,抗原)的结合。通常,抗体或其他分子以至少约 $1 \times 10^7 \text{M}^{-1}$ 的亲和力结合,并且以比与除预定分子或密切相关分子之外的非特异性分子(例如,BSA、酪蛋白)的结合亲和力大至少两倍的亲和力与预定分子结合。

[0234] 配体单元的实例包括所描述的用于并入本文的WO 2007/085930的那些药剂。

[0235] 在一些实施方案中,配体单元为与细胞上的细胞外靶标相结合的细胞结合剂。所述细胞结合剂可以是蛋白质、多肽、肽或非肽药剂。在一些实施方案中,细胞结合剂可以是蛋白质、多肽或肽。在一些实施方案中,细胞结合剂可以是环状多肽。细胞结合剂还可以是抗体或抗体的抗原结合片段。因此,在一个实施方案中,本发明提供了一种抗体-药物缀合物(ADC)。

[0236] 细胞结合剂

[0237] 细胞结合剂可以是任何种类,并且包括肽和非肽。它们可以包括抗体或抗体片段,其包含至少一个结合位点,淋巴因子,激素,激素模拟物,维生素,生长因子,营养物输送分子,或任何其他细胞结合分子或物质。

[0238] 肽

[0239] 在一个实施方案中,细胞结合剂是线性或环状肽,其包含4-30个,优选6-20个相邻的氨基酸残基。在本实施方案中,优选的是,一种细胞结合剂连接于一种单体或二聚体吡咯并苯并二氮杂萘化合物。

[0240] 在一个实施方案中,细胞结合剂包含结合整联蛋白 $\alpha_v\beta_6$ 的肽。该肽对 $\alpha_v\beta_6$ 的选择性超出XYS。

[0241] 在一个实施方案中,细胞结合剂包含A20FMDV-Cys多肽。A20FMDV-Cys具有序列:NAVPNLRGDLQVLAQKVARTC。可替代地,可以使用A20FMDV-Cys序列的变体,其中1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸残基被另一种氨基酸残基取代。此外,多肽可以具有序列NAVXXXXXXXXXXXXXXXXXRTC。

[0242] 抗体

[0243] 术语“抗体”在本文中是在最广泛的意义上加以使用并且具体地涵盖单克隆抗体、多克隆抗体、二聚体、多聚体、多特异性抗体(例如,双特异性抗体)、和抗体片段,只要它们显示所期望的生物活性(Miller等(2003) Jour.of Immunology 170:4854-4861)。抗体可以

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

[0244] “抗体片段”包含全长抗体的一部分,通常为其抗原结合或可变区。抗体片段的实例包括Fab、Fab'、F(ab')₂、和scFv片段;双体分子;线性抗体;由Fab表达文库产生的片段,抗独特型(抗-Id)抗体,CDR(互补决定区),和任何上述项的表位结合片段,其免疫特异性地结合于癌细胞抗原、病毒抗原或微生物抗原,单链抗体分子;以及形成自抗体片段的多特异性抗体。

[0245] 如在本文中所使用的,术语“单克隆抗体”是指获自基本上同质性的抗体的群体的抗体,即,除了可少量存在的可以天然发生的突变以外,构成群体的单独抗体是相同的。单克隆抗体是高度特异性的,是针对单一的抗原位点。此外,相对于多克隆抗体制剂,其包括针对不同决定子(表位)的不同抗体,每种单克隆抗体是针对在抗原上的单一决定子。除它们的特异性之外,单克隆抗体也是有利的,因为它们可以被合成而未被其他抗体污染。修饰语“单克隆”表明,抗体的特性是获自抗体的基本同质群体,而并不应当被解释为需要通过任何特定方法来生产抗体。例如,根据本发明使用的单克隆抗体可以通过首先由Kohler等(1975) *Nature* 256:495描述的杂交瘤方法来制备,或可以通过重组DNA方法来制备(参见,US 4816567)。单克隆抗体还可以分离自噬菌体抗体库,其中利用在Clackson等(1991) *Nature*,352:624-628、Marks等(1991) *J.Mol.Biol.*,222:581-597中描述的技术,或者可以分离自携带完全人免疫球蛋白系统的转基因小鼠(Lonberg (2008) *Curr.Opinion* 20 (4): 450-459)。

[0246] 本文中的单克隆抗体特别包括“嵌合”抗体,其中一部分的重和/或轻链相同或同源于在源自特定物种或属于特定抗体类或亚类的抗体中的相应序列,同时链的剩余部分相同于或同源于在源自另一物种或属于另一抗体类或亚类的抗体中的相应序列,以及上述抗体的片段,只要它们显示所期望的生物活性(US 4816567;和Morrison等(1984) *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*,81:6851-6855)。嵌合抗体包括“灵长类化”抗体,其包含源自非人灵长类动物(例如旧大陆猴或猿)的可变区抗原结合序列和人恒定区序列。

[0247] 本文中的“完整抗体”是这样一种抗体,其包含VL和VH域,以及轻链恒定区(CL)和重链恒定区,CH1、CH2和CH3。恒定区可以是天然序列恒定区(例如人天然序列恒定区)或其氨基酸序列变体。完整抗体可以具有一种或多种“效应子功能”,其是指可归因于抗体的Fc区(天然序列Fc区或氨基酸序列变体Fc区)的那些生物活性。抗体效应子功能的实例包括C1q结合;补体依赖性细胞毒性;Fc受体结合;抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC);吞噬作用;以及细胞表面受体(如B细胞受体和BCR)的下调。

[0248] 取决于它们的重链的恒定区的氨基酸序列,完整抗体可以被指定为不同的“类”。存在五大类的完整抗体:IgA、IgD、IgE、IgG、和IgM,并且这些的若干种可以进一步分为“亚类”(同种型),例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、和IgA2。对应于不同种类的抗体的重链恒定区分别被称为 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 、和 μ 。不同类别的免疫球蛋白的亚基结构和三维构型是众所周知的。

[0249] 人源化

[0250] 用于减小非人抗体或抗体片段的体内免疫原性的技术包括那些称作“人源化”的技术。

[0251] “人源化抗体”是指一种多肽,其包含人抗体的至少一部分的修饰可变区,其中一部分的可变区,优选基本上小于完整人可变域的部分已被来自非人物种的相应序列所取代,以及其中修饰可变区连接于另一种蛋白的至少另一部分,优选人抗体的恒定区。措辞“人源化抗体”包括人抗体,其中一个或多个互补决定区(“CDR”)氨基酸残基和/或一个或多个框架区(“FW”或“FR”)氨基酸残基被来自在啮齿动物或其他非人抗体中的类似位点的氨基酸残基取代。措辞“人源化抗体”还包括免疫球蛋白氨基酸序列变体或其片段,其包含实质上具有人免疫球蛋白的氨基酸序列的FR,以及实质上具有非人免疫球蛋白的氨基酸序列的CDR。

[0252] 非人(例如,鼠)抗体的“人源化”形式是嵌合抗体,其包含源自非人免疫球蛋白的最小序列。或,以另一种方式看,人源化抗体是人抗体,其还包含来自非人(例如鼠)抗体的选择的序列来代替人序列。人源化抗体可以包括保守氨基酸置换或非天然残基,这些非天然残基来自相同或不同物种,其并不显著改变它的结合和/或生物活性。上述抗体是嵌合抗体,其包含源自非人免疫球蛋白的最小序列。

[0253] 存在多种人源化技术,包括‘CDR移植’、‘定向选择’、‘去免疫化’、‘镶面(resurfacing)’(还被称为‘饰面(veneering)’)、‘复合抗体’、‘人类序列含量优化(Human String Content Optimisation)’和框架重排。

[0254] CDR移植

[0255] 在此技术中,人源化抗体是人免疫球蛋白(受体抗体),其中来自受体抗体的互补决定区(CDR)的残基被来自非人物种(供体抗体)如小鼠、大鼠、骆驼、牛、山羊、或兔的CDR的残基所替代,其具有所期望的性能(实际上,非人CDR被‘移植’到人框架上)。在一些情况下,人免疫球蛋白的框架区(FR)残基被相应非人残基替代(当例如特定FR残基对抗原结合具有显著影响时,这可能会发生)。

[0256] 此外,人源化抗体可以包含这样的残基,其既不存在于受体抗体也不存在于输入的CDR或框架序列中。进行这些修饰以进一步完善和最大化抗体性能。因此,通常,人源化抗体将均包含至少一个,以及在一个方面两个,可变域,其中所有或(基本上)所有的高变环对应于非人免疫球蛋白的那些高变环,以及所有或基本上所有的FR区是人免疫球蛋白序列的那些FR区。人源化抗体任选地还将包含至少一部分的免疫球蛋白恒定区(Fc)、或人免疫球蛋白的免疫球蛋白恒定区。

[0257] 定向选择

[0258] 这种方法包括结合对于特定表位具有特异性的给定非人抗体的 V_H 或 V_L 域和人 V_H 或 V_L 文库,并相对于感兴趣的抗原来选择特定人V域。然后这种选择的人 V_H 结合于 V_L 文库产生

完全人VHxVL组合。该方法描述于Nature Biotechnology (N.Y.) 12, (1994) 899-903。

[0259] 复合抗体

[0260] 在此方法中,在最终抗体分子内结合来自人抗体的氨基酸序列的两个或更多区段。通过联合地结合多个人VH和VL序列片段,其限制或避免在最终复合抗体V区中的人T细胞表位,来构建它们。在需要时,通过交换有助于或编码T细胞表位的V区区段与避免T细胞表位的替代区段来限制或避免T细胞表位。这种方法描述于US2008/0206239 A1。

[0261] 去免疫化

[0262] 此方法涉及从治疗性抗体(或其他分子)的V区除去人(或其他第二物种)T细胞表位。通过,例如,比较于MHC结合基序的数据库(如“基序”数据库,位于www.wehi.edu.au),来分析治疗性抗体V区序列中MHC类II-结合基序的存在。可替代地,可以利用计算线程方法如由Altuvia等(J.Mol.Biol.249 244-250 (1995))所设计的那些方法,来确定MHC类II-结合基序;在这些方法中,测试来自V区序列的连续重叠肽的与MHC II类蛋白的结合能。然后此数据可以结合于关于其他序列特征的信息,其涉及成功呈现的肽,如两亲性、Rothbard基序、和用于组织蛋白酶B和其他加工酶的切割位点。

[0263] 一旦已确定潜在的第二物种(例如人)T细胞表位,则通过改变一个或多个氨基酸消除它们。修饰氨基酸通常是在T细胞表位本身内,但就蛋白质的一级或二级结构而言也可以是相邻于表位(因此,在一级结构中,可能并不是相邻的)。最典型地,改变是通过置换的方式,但在一些情况下,氨基酸添加或缺失将是更合适的。

[0264] 可以通过重组DNA技术来完成所有改变,以至通过重组宿主的表达并利用很好建立的方法如定位诱变,来制备最终分子。然而,也可以使用蛋白质化学或分子改变的任何其他方式。

[0265] 镶面

[0266] 此方法包括:

[0267] (a) 通过构建非人抗体可变区的三维模型,确定非人(例如啮齿动物)抗体(或其片段)的可变区的构象结构;

[0268] (b) 利用来自足够数量的非人和人抗体可变区重和轻链的x射线晶体结构的相对可达性分布,产生序列对比,以给予一组重和轻链框架位置,其中在98%的足够数量的非人抗体重和轻链中序列对比位置是相同的;

[0269] (c) 利用在步骤(b)中产生的框架位置的组,将非人抗体定义为人源化的、一组重链和轻链的表面暴露氨基酸残基;

[0270] (d) 依据人抗体氨基酸序列,鉴定一组重链和轻链的表面暴露氨基酸残基,其最密切相同于在步骤(c)中定义的表面暴露的氨基酸残基的组,其中来自人抗体的重链和轻链是或不是天然成对的;

[0271] (e) 在待人源化的非人抗体的氨基酸序列中,用在步骤(d)中确定的重链和轻链表面暴露的氨基酸残基的组替代在步骤(c)中定义的重链和轻链表面暴露的氨基酸残基的组;

[0272] (f) 构建产生自在步骤(e)中指定的替代的非人抗体的可变区的三维模型;

[0273] (g) 通过比较在步骤(a)和(f)中构建的三维模型,并依据在步骤(c)或(d)中确定的组,确定在待人源化的非人抗体的互补决定区的任何残基的任何原子的5埃内的任何氨

氨基酸残基;以及

[0274] (h) 将在步骤(g)中确定的任何残基从人改变到原来非人氨基酸残基,从而定义表面暴露的氨基酸残基的非人抗体人源化组;前提条件是,无需首先进行步骤(a),但必须在步骤(g)以前进行。

[0275] 超人源化

[0276] 该方法比较非人序列与功能性人种系基因库。选择了编码相同或密切相关非人序列的规范结构的那些人基因。那些选择的在CDR内具有最高同源性的人基因被选作FR供体。最后,将非人CDR移植到这些人FR上。这种方法描述于专利WO 2005/079479A2。

[0277] 人类序列含量优化

[0278] 这种方法比较了非人(例如小鼠)序列与人种系基因库并且差异被评定为人类序列含量(HSC),其在潜在的MHC/T细胞表位的水平量化序列。然后通过最大化它的HSC而不是利用全局同一性措施来人源化靶序列以产生多种不同的人源化变体(描述于Molecular Immunology,44,(2007)1986-1998)。

[0279] 框架重排

[0280] 将非人抗体的CDR框内融合于涵盖所有已知的重链和轻链人种系基因框架的cDNA池。然后通过例如淘选噬菌体展示抗体库来选择人源化抗体。这描述于Methods 36,43-60(2005)。

[0281] 细胞结合剂的实例包括那些描述的用于并入本文中的WO 2007/085930的细胞结合剂。

[0282] 以下列出用于本发明的实施方案的肿瘤相关抗原和同源抗体。

[0283] 肿瘤相关抗原和同源抗体

[0284] (1) BMPR1B(骨形态发生蛋白受体型IB)

[0285] 核苷酸

[0286] Genbank登录号NM_001203

[0287] Genbank版本号NM_001203.2GI:169790809

[0288] Genbank记录更新日期:2012年9月23日下午02:06

[0289] 多肽

[0290] Genbank登录号NP_001194

[0291] Genbank版本号NP_001194.1GI:4502431

[0292] Genbank记录更新日期:2012年9月23日下午02:06

[0293] 交叉参考

[0294] ten Dijke,P.等Science 264(5155):101-104(1994),Oncogene 14(11):1377-1382(1997);WO2004/063362(权利要求2);WO2003/042661(权利要求12);US2003/134790-A1(页码38-39);WO2002/102235(权利要求13;页码296);WO2003/055443(页码91-92);WO2002/99122(实施例2;页码528-530);WO2003/029421(权利要求6);WO2003/024392(权利要求2;图112);WO2002/98358(权利要求1;页码183);WO2002/54940(页码100-101);WO2002/59377(页码349-350);WO2002/30268(权利要求27;页码376);WO2001/48204(实施例;图4);NP_001194骨形态发生蛋白受体,型IB/pid=NP_001194.1.;MIM:603248;AY065994。

- [0295] (2) E16 (LAT1, SLC7A5)
- [0296] 核苷酸
- [0297] Genbank登录号NM_003486
- [0298] Genbank版本号NM_003486.5GI:71979931
- [0299] Genbank记录更新日期:2012年6月27日下午12:06
- [0300] 多肽
- [0301] Genbank登录号NP_003477
- [0302] Genbank版本号NP_003477.4GI:71979932
- [0303] Genbank记录更新日期:2012年6月27日下午12:06
- [0304] 交叉参考
- [0305] Biochem.Biophys.Res.
- [0306] Commun.255 (2) ,283-288 (1999) ,Nature 395 (6699) :288-291 (1998) ,Gaugitsch, H.W.等(1992) J.Biol.Chem.267 (16) :11267-11273) ;W02004/048938 (实施例2) ;W02004/032842 (实施例IV) ;W02003/042661 (权利要求12) ;W02003/016475 (权利要求1) ;W02002/78524 (实施例2) ;W02002/99074 (权利要求19;页码127-129) ;W02002/86443 (权利要求27;页码222,393) ;W02003/003906 (权利要求10;页码293) ;W02002/64798 (权利要求33;页码93-95) ;W02000/14228 (权利要求5;页码133-136) ;US2003/224454 (图3) ;W02003/025138 (权利要求12;页码150) ;NP_003477溶质载体家族7 (阳离子氨基酸转运蛋白,y⁺系统) ,成员5/pid=NP_003477.3-智人;
- [0307] MIM:600182;;NM_015923。
- [0308] (3) STEAP1 (前列腺的六跨膜上皮抗原)
- [0309] 核苷酸
- [0310] Genbank登录号NM_012449
- [0311] Genbank版本号NM_012449.2GI:22027487
- [0312] Genbank记录更新日期:2012年9月9日下午02:57
- [0313] 多肽
- [0314] Genbank登录号NP_036581
- [0315] Genbank版本号NP_036581.1GI:9558759
- [0316] Genbank记录更新日期:2012年9月9日下午02:57
- [0317] 交叉参考
- [0318] Cancer Res.61 (15) ,5857-5860 (2001) ,Hubert,R.S.等(1999) Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.96 (25) :14523-14528) ;W02004/065577 (权利要求6) ;W02004/027049 (图1L) ;EP1394274 (实施例11) ;W02004/016225 (权利要求2) ;W02003/042661 (权利要求12) ;US2003/157089 (实施例5) ;US2003/185830 (实施例5) ;US2003/064397 (图2) ;W02002/89747 (实施例5;页码618-619) ;W02003/022995 (实施例9;图13A,实施例53;页码173,实施例2;图2A) ;前列腺的六跨膜上皮抗原;MIM:604415。
- [0319] (4) 0772P (CA125,MUC16)
- [0320] 核苷酸
- [0321] Genbank登录号AF361486

- [0322] Genbank版本号AF361486.3GI:34501466
- [0323] Genbank记录更新日期:2010年3月11日上午07:56
- [0324] 多肽
- [0325] Genbank登录号AAK74120
- [0326] Genbank版本号AAK74120.3GI:34501467
- [0327] Genbank记录更新日期:2010年3月11日上午07:56
- [0328] 交叉参考
- [0329] J.Biol.Chem.276 (29):27371-27375 (2001));W02004/045553 (权利要求14);W02002/92836 (权利要求6;图12);W02002/83866 (权利要求15;页码116-121);US2003/124140 (实施例16);GI:34501467。
- [0330] (5) MPF (MPF、MSLN、SMR、巨核细胞增效因子、间皮素)
- [0331] 核苷酸
- [0332] Genbank登录号NM_005823
- [0333] Genbank版本号NM_005823.5GI:293651528
- [0334] Genbank记录更新日期:2012年9月2日下午01:47
- [0335] 多肽
- [0336] Genbank登录号NP_005814
- [0337] Genbank版本号NP_005814.2GI:53988378
- [0338] Genbank记录更新日期:2012年9月2日下午01:47
- [0339] 交叉参考
- [0340] Yamaguchi, N. 等 Biol. Chem. 269 (2), 805-808 (1994), Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.96 (20):11531-11536 (1999), Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.93 (1):136-140 (1996), J.Biol.Chem.270 (37):21984-21990 (1995));W02003/101283 (权利要求14);(W02002/102235 (权利要求13;页码287-288);W02002/101075 (权利要求4;页码308-309);W02002/71928 (页码320-321);W094/10312 (页码52-57);IM:601051。
- [0341] (6) Napi3b (NAPI-3B, NPTIIb, SLC34A2, 溶质载体家族34 (磷酸钠), 成员2, II型钠依赖性磷酸转运蛋白3b)
- [0342] 核苷酸
- [0343] Genbank登录号NM_006424
- [0344] Genbank版本号NM_006424.2GI:110611905
- [0345] Genbank记录更新日期:2012年7月22日下午03:39
- [0346] 多肽
- [0347] Genbank登录号NP_006415
- [0348] Genbank版本号NP_006415.2GI:110611906
- [0349] Genbank记录更新日期:2012年7月22日下午03:39
- [0350] 交叉参考
- [0351] J.Biol.Chem.277 (22):19665-19672 (2002), Genomics 62 (2):281-284 (1999), Feild, J.A. 等 (1999) Biochem.Biophys.Res.Commun.258 (3):578-582);W02004/022778 (权利要求2);EP1394274 (实施例11);W02002/102235 (权利要求13;页码326);EP0875569 (权利

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

[0352] (7) Sema 5b (FLJ10372, KIAA1445, Mm.42015, SEMA5B, SEMAG, Semaphorin 5b Hlog, sema域, 7血小板反应蛋白重复(1型和1型样), 跨膜域(TM)和短胞质域(semaphorin 5B))

[0353] 核苷酸

[0354] Genbank登录号AB040878

[0355] Genbank版本号AB040878.1GI:7959148

[0356] Genbank记录更新日期:2006年8月2日下午05:40

[0357] 多肽

[0358] Genbank登录号BAA95969

[0359] Genbank版本号BAA95969.1GI:7959149

[0360] Genbank记录更新日期:2006年8月2日下午05:40

[0361] 交叉参考

[0362] Nagase T.等(2000) DNA Res.7(2):143-150);W02004/000997(权利要求1);W02003/003984(权利要求1);W02002/06339(权利要求1;页码50);W02001/88133(权利要求1;页码41-43,48-58);W02003/054152(权利要求20);W02003/101400(权利要求11);登录号:Q9P283;Genew;HGNC:10737

[0363] (8) PSCA hlg (2700050C12Rik, C530008016Rik, RIKEN cDNA2700050C12, RIKEN cDNA

[0364] 2700050C12基因)

[0365] 核苷酸

[0366] Genbank登录号AY358628

[0367] Genbank版本号AY358628.1GI:37182377

[0368] Genbank记录更新日期:2009年12月1日上午04:15

[0369] 多肽

[0370] Genbank登录号AAQ88991

[0371] Genbank版本号AAQ88991.1GI:37182378

[0372] Genbank记录更新日期:2009年12月1日上午04:15

[0373] 交叉参考

[0374] Ross等(2002) Cancer Res.62:2546-2553;US2003/129192(权利要求2);US2004/044180(权利要求12);US2004/044179(权利要求11);US2003/096961(权利要求11);US2003/232056(实施例5);W02003/105758 16(权利要求12);US2003/206918(实施例5);EP1347046(权利要求1);W02003/025148(权利要求20);GI:37182378。

[0375] (9) ETBR(内皮素B型受体)

[0376] 核苷酸

[0377] Genbank登录号AY275463

[0378] Genbank版本号AY275463.1GI:30526094

[0379] Genbank记录更新日期:2010年3月11日上午02:26

[0380] 多肽

[0381] Genbank登录号AAP32295

[0382] Genbank版本号AAP32295.1GI:30526095

[0383] Genbank记录更新日期:2010年3月11日上午02:26

[0384] 交叉参考

[0385] Nakamuta M.等Biochem.Biophys.Res.Commun.177,34-39,1991;Ogawa Y.等Biochem.Biophys.Res.Commun.178,248-255,1991;Arai H.等Jpn.Circ.J.56,1303-1307,1992;Arai H.等J.Biol.Chem.268,3463-3470,1993;Sakamoto A.,Yanagisawa M.等Biochem.Biophys.Res.Commun.178,656-663,1991;Elshourbagy N.A.等J.Biol.Chem.268,3873-3879,1993;Haendler B.等J.Cardiovasc.Pharmacol.20,s1-S4,1992;Tsutsumi M.等Gene 228,43-49,1999;Strausberg R.L.等Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.99,16899-16903,2002;Bourgeois C.等J.Clin.Endocrinol.Metab.82,3116-3123,1997;Okamoto Y.等Biol.Chem.272,21589-21596,1997;Verheij J.B.等Am.J.Med.Genet.108,223-225,2002;Hofstra R.M.W.等Eur.J.Hum.Genet.5,180-185,1997;Puffenberger E.G.等Cell 79,1257-1266,1994;Attie T.,等Hum.Mol.Genet.4,2407-2409,1995;Auricchio A.等Hum.Mol.Genet.5:351-354,1996;Amiel J.等Hum.Mol.Genet.5,355-357,1996;Hofstra R.M.W.等Nat.Genet.12,445-447,1996;Svensson P.J.等Hum.Genet.103,145-148,1998;Fuchs S.等Mol.Med.7,115-124,2001;Pingault V.等(2002) Hum.Genet.111,198-206;W02004/045516(权利要求1);W02004/048938(实施例2);W02004/040000(权利要求151);W02003/087768(权利要求1);W02003/016475(权利要求1);W02003/016475(权利要求1);W02002/61087(图1);W02003/016494(图6);W02003/025138(权利要求12;页码144);W02001/98351(权利要求1;页码124-125);EP0522868(权利要求8;图2);W02001/77172(权利要求1;页码297-299);US2003/109676;US6518404(图3);US5773223(权利要求1a;第31-34栏);W02004/001004。

[0386] (10)MSG783(RNF124,假定蛋白FLJ20315)

[0387] 核苷酸

[0388] Genbank登录号NM_017763

[0389] Genbank版本号NM_017763.4GI:167830482

[0390] Genbank记录更新日期:2012年7月22日上午12:34

[0391] 多肽

[0392] Genbank登录号NP_060233

[0393] Genbank版本号NP_060233.3GI:56711322

[0394] Genbank记录更新日期:2012年7月22日上午12:34

[0395] 交叉参考

[0396] W02003/104275(权利要求1);W02004/046342(实施例2);W02003/042661(权利要求12);W02003/083074(权利要求14;页码61);W02003/018621(权利要求1);W02003/024392(权利要求2;图93);W02001/66689(实施例6);LocusID:54894。

[0397] (11)STEAP2(HGNC_8639,IPCA-1,PCANAP1,STAMP1,STEAP2,STMP,前列腺癌相关基因1,前列腺癌相关蛋白1,前列腺的六跨膜上皮抗原2,六跨膜前列腺蛋白)

[0398] 核苷酸

[0399] Genbank登录号AF455138

[0400] Genbank版本号AF455138.1GI:22655487

[0401] Genbank记录更新日期:2010年3月11日上午01:54

[0402] 多肽

[0403] Genbank登录号AAN04080

[0404] Genbank版本号AAN04080.1GI:22655488

[0405] Genbank记录更新日期:2010年3月11日上午01:54

[0406] 交叉参考

[0407] Lab. Invest. 82 (11) :1573-1582 (2002) ; W02003/087306 ; US2003/064397 (权利要求1 ; 图1) ; W02002/72596 (权利要求13 ; 页码54-55) ; W02001/72962 (权利要求1 ; 图4B) ; W02003/104270 (权利要求11) ; W02003/104270 (权利要求16) ; US2004/005598 (权利要求22) ; W02003/042661 (权利要求12) ; US2003/060612 (权利要求12 ; 图10) ; W02002/26822 (权利要求23 ; 图2) ; W02002/16429 (权利要求12 ; 图10) ; GI:22655488。

[0408] (12) TrpM4 (BR22450, FLJ20041, TRPM4, TRPM4B, 瞬时受体电位阳离子5通道, 亚家族M, 成员4)

[0409] 核苷酸

[0410] Genbank登录号NM_017636

[0411] Genbank版本号NM_017636.3GI:304766649

[0412] Genbank记录更新日期:2012年6月29日上午11:27

[0413] 多肽

[0414] Genbank登录号NP_060106

[0415] Genbank版本号NP_060106.2GI:21314671

[0416] Genbank记录更新日期:2012年6月29日上午11:27

[0417] 交叉参考

[0418] Xu, X.Z. 等 Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98 (19) :10692-10697 (2001) , Cell 109 (3) :397-407 (2002) , J. Biol. Chem. 278 (33) :30813-30820 (2003) ; US2003/143557 (权利要求4) ; W02000/40614 (权利要求14 ; 页码100-103) ; W02002/10382 (权利要求1 ; 图9A) ; W02003/042661 (权利要求12) ; W02002/30268 (权利要求27 ; 页码391) ; US2003/219806 (权利要求4) ; W02001/62794 (权利要求14 ; 图1A-D) ; MIM:606936。

[0419] (13) CRIPTO (CR, CR1, CRGF, CRIPTO, TDGF1, 畸胎瘤源性生长因子)

[0420] 核苷酸

[0421] Genbank登录号NM_003212

[0422] Genbank版本号NM_003212.3GI:292494881

[0423] Genbank记录更新日期:2012年9月23日下午02:27

[0424] 多肽

[0425] Genbank登录号NP_003203

[0426] Genbank版本号NP_003203.1GI:4507425

[0427] Genbank记录更新日期:2012年9月23日下午02:27

[0428] 交叉参考

[0429] Ciccodicola, A. 等 EMBO J. 8 (7) :1987-1991 (1989), Am. J. Hum. Genet. 49 (3) :555-565 (1991); US2003/224411 (权利要求1); W02003/083041 (实施例1); W02003/034984 (权利要求12); W02002/88170 (权利要求2; 页码52-53); W02003/024392 (权利要求2; 图58); W02002/16413 (权利要求1; 页码94-95, 105); W02002/22808 (权利要求2; 图1); US5854399 (实施例2; 第17-18栏); US5792616 (图2); MIM:187395。

[0430] (14) CD21 (CR2 (补体受体2) 或 C3DR (C3d/埃-巴二氏病毒受体 (Epstein Barr virus receptor)) 或 Hs.73792)

[0431] 核苷酸

[0432] Genbank 登录号 M26004

[0433] Genbank 版本号 M26004.1GI:181939

[0434] Genbank 记录更新日期:2010年6月23日上午08:47

[0435] 多肽

[0436] Genbank 登录号 AAA35786

[0437] Genbank 版本号 AAA35786.1GI:181940

[0438] Genbank 记录更新日期:2010年6月23日上午08:47

[0439] 交叉参考

[0440] Fujisaku 等 (1989) J. Biol. Chem. 264 (4) :2118-2125; Weis J. J. 等 J. Exp. Med. 167, 1047-1066, 1988; Moore M. 等 Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 84, 9194-9198, 1987; Barel M. 等 Mol. Immunol. 35, 1025-1031, 1998; Weis J. J. 等 Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 83, 5639-5643, 1986; Sinha S. K. 等 (1993) J. Immunol. 150, 5311-5320; W02004/045520 (实施例4); US2004/005538 (实施例1); W02003/062401 (权利要求9); W02004/045520 (实施例4); W091/02536 (图9.1-9.9); W02004/020595 (权利要求1); 登录号: P20023; Q13866; Q14212; EMBL; M26004; AAA35786.1。

[0441] (15) CD79b (CD79B, CD79 β , Ig β (免疫球蛋白相关 β), B29)

[0442] 核苷酸

[0443] Genbank 登录号 NM_000626

[0444] Genbank 版本号 NM_000626.2GI:90193589

[0445] Genbank 记录更新日期:2012年6月26日下午01:53

[0446] 多肽

[0447] Genbank 登录号 NP_000617

[0448] Genbank 版本号 NP_000617.1GI:11038674

[0449] Genbank 记录更新日期:2012年6月26日下午01:53

[0450] 交叉参考

[0451] Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (2003) 100 (7) :4126-

[0452] 4131, Blood (2002) 100 (9) :3068-3076, Muller 等 (1992) Eur. J. Immunol. 22 (6) :1621-1625; W02004/016225 (权利要求2, 图140); W02003/087768, US2004/101874 (权利要求1, 页码102); W02003/062401 (权利要求9); W02002/78524 (实施例2); US2002/150573 (权利要求5, 页码15); US5644033; W02003/048202 (权利要求1, 页码306和309); WO 99/58658,

US6534482 (权利要求13,图17A/B);W02000/55351 (权利要求11,页码1145-1146);MIM:147245

[0453] (16)FcRH2 (IFGP4,IRTA4,SPAP1A (SH2域,包含磷酸酶锚定蛋白5 1a),SPAP1B,SPAP1C)

[0454] 核苷酸

[0455] Genbank登录号NM_030764

[0456] Genbank版本号NM_030764.3GI:227430280

[0457] Genbank记录更新日期:2012年6月30日上午12:30

[0458] 多肽

[0459] Genbank登录号NP_110391

[0460] Genbank版本号NP_110391.2GI:19923629

[0461] Genbank记录更新日期:2012年6月30日上午12:30

[0462] 交叉参考

[0463] AY358130);Genome Res.13 (10):2265-2270 (2003),Immunogenetics 54 (2):87-95 (2002),Blood 99 (8):2662-2669 (2002),Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.98 (17):9772-9777 (2001),Xu,M.J.等 (2001) Biochem.Biophys.Res.Commun.280 (3):768-775;W02004/016225 (权利要求2);W02003/077836;W02001/38490 (权利要求5;图18D-1-18D-2);W02003/097803 (权利要求12);W02003/089624 (权利要求25);MIM:606509。

[0464] (17)HER2 (ErbB2)

[0465] 核苷酸

[0466] Genbank登录号M11730

[0467] Genbank版本号M11730.1GI:183986

[0468] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:47

[0469] 多肽

[0470] Genbank登录号AAA75493

[0471] Genbank版本号AAA75493.1GI:306840

[0472] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:47

[0473] 交叉参考

[0474] Coussens L.等Science (1985) 230 (4730):1132-1139);Yamamoto T.等Nature 319,230-234,1986;Semba K.等Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.82,6497-6501,1985;Swiercz J.M.等J.Cell Biol.165,869-880,2004;Kuhns J.J.等J.Biol.Chem.274,36422-36427,1999;Cho H.-S.等Nature421,756-760,2003;Ehsani A.等 (1993) Genomics 15,426-429;W02004/048938 (实施例2);W02004/027049 (图1I);W02004/009622;W02003/081210;W02003/089904 (权利要求9);W02003/016475 (权利要求1);US2003/118592;W02003/008537 (权利要求1);W02003/055439 (权利要求29;图1A-B);W02003/025228 (权利要求37;图5C);W02002/22636 (实施例13;页码95-107);W02002/12341 (权利要求68;图7);W02002/13847 (页码71-74);W02002/14503 (页码114-117);W02001/53463 (权利要求2;页码41-46);W02001/41787 (页码15);W02000/44899 (权利要求52;图7);W02000/20579 (权利要求3;图2);US5869445 (权利要求3;第Col 31-38栏);W09630514 (权利要求2;页码56-61);

EP1439393 (权利要求7); W02004/043361 (权利要求7); W02004/022709; W02001/00244 (实施例3; 图4); 登录号: P04626; EMBL; M11767; AAA35808.1. EMBL; M11761; AAA35808.1。

[0475] 抗体

[0476] Abbott: US20110177095

[0477] 例如, 一种抗体, 其包含CDR, 所述CDR与具有SEQ ID NO:3 (CDR-H1)、SEQ ID NO:4 (CDR-H2)、SEQ ID NO:5 (CDR-H3)、SEQ ID NO:104和/或SEQ ID NO:6 (CDR-L1)、SEQ ID NO:7 (CDR-L2)、和SEQ ID NO:8 (CDR-L3) 的氨基酸序列的CDR具有总体至少80%的序列同一性, 其中相比于具有SEQ ID NO:1的VH和SEQ ID NO:2的VL的抗体, 抗HER2抗体或抗HER2结合片段具有降低的免疫原性。

[0478] Biogen: US20100119511

[0479] 例如, ATCC登录号: PTA-10355, PTA-10356, PTA-10357, PTA-10358

[0480] 例如, 纯化的抗体分子, 该分子结合于HER2, 其包含来自抗体的所有6个CDR, 所述抗体选自由BIIB71F10 (SEQ ID NO:11、13)、BIIB69A09 (SEQ ID NO:15、17); BIIB67F10 (SEQ ID NO:19、21); BIIB67F11 (SEQ ID NO:23、25)、BIIB66A12 (SEQ ID NO:27、29)、BIIB66C01 (SEQ ID NO:31、33)、BIIB65C10 (SEQ ID NO:35、37)、BIIB65H09 (SEQ ID NO:39、41) 和BIIB65B03 (SEQ ID NO:43、45) 组成的组, 或与所述CDR相同或与所述CDR没有超过两个的改变。

[0481] 赫赛汀 (Herceptin) (Genentech) - US6,054,297; ATCC登录号CRL-10463 (Genentech)

[0482] 帕妥珠单抗 (Pertuzumab) (Genentech)

[0483] US20110117097

[0484] 例如, 参见SEQ ID No.15和16、SEQ ID No.17和18、SEQ ID No.23和24以及ATCC登录号HB-12215、HB-12216、CRL 10463、HB-12697。

[0485] US20090285837

[0486] US20090202546

[0487] 例如, ATCC登录号: HB-12215、HB-12216、CRL 10463、HB-12698。

[0488] US20060088523

[0489] - 例如, ATCC登录号: HB-12215、HB-12216

[0490] - 例如, 抗体, 其包含分别在SEQ ID No.3和4中的可变轻和可变重氨基酸序列。

[0491] - 例如, 抗体, 包含轻链氨基酸序列, 其选自SEQ ID No.15和23, 以及重链氨基酸序列, 其选自SEQ ID No.16和24

[0492] US20060018899

[0493] - 例如, ATCC登录号: (7C2) HB-12215、(7F3) HB-12216、(4D5) CRL-10463、(2C4) HB-12697。

[0494] - 例如, 抗体, 包含在SEQ ID No.23中的氨基酸序列、或其脱酰胺基和/或氧化变体。

[0495] US2011/0159014

[0496] - 例如, 抗体, 具有轻链可变域, 其包含SEQ ID NO:1”的高变区。

[0497] - 例如, 抗体, 具有重链可变域, 其包含SEQ ID NO:2的高变区。

- [0498] US20090187007
- [0499] Glycotope:TrasGEX抗体<http://www.glycotope.com/pipeline>
- [0500] 例如,参见International Joint Cancer Institute and Changhai Hospital Cancer Cent:HMTI-Fc Ab-Gao J.等BMB Rep.2009年10月31日,42(10):636-41。
- [0501] Symphogen:US20110217305
- [0502] Union Stem Cell&Gene Engineering,China-Liu HQ.等Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi.2010年5月;26(5):456-8。
- [0503] (18) NCA (CEACAM6)
- [0504] 核苷酸
- [0505] Genbank登录号M18728
- [0506] Genbank版本号M18728.1GI:189084
- [0507] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:48
- [0508] 多肽
- [0509] Genbank登录号AAA59907
- [0510] Genbank版本号AAA59907.1GI:189085
- [0511] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:48
- [0512] 交叉参考
- [0513] Barnett T. 等 Genomics 3, 59-66, 1988; Tawaragi Y. 等 Biochem. Biophys. Res. Commun. 150, 89-96, 1988; Strausberg R.L. 等 Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99:16899-16903, 2002; W02004/063709; EP1439393 (权利要求7); W02004/044178 (实施例4); W02004/031238; W02003/042661 (权利要求12); W02002/78524 (实施例2); W02002/86443 (权利要求27; 页码427); W02002/60317 (权利要求2); 登录号: P40199; Q14920; EMBL; M29541; AAA59915.1。EMBL; M18728。
- [0514] (19) MDP (DPEP1)
- [0515] 核苷酸
- [0516] Genbank登录号BC017023
- [0517] Genbank版本号BC017023.1GI:16877538
- [0518] Genbank记录更新日期:2012年3月6日下午01:00
- [0519] 多肽
- [0520] Genbank登录号AAH17023
- [0521] Genbank版本号AAH17023.1GI:16877539
- [0522] Genbank记录更新日期:2012年3月6日下午01:00
- [0523] 交叉参考
- [0524] Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99 (26):16899-16903 (2002); W02003/016475 (权利要求1); W02002/64798 (权利要求33; 页码85-87); JP05003790 (图6-8); W099/46284 (图9); MIM:179780。
- [0525] (20) IL20R- α (IL20Ra, ZCYTOR7)
- [0526] 核苷酸
- [0527] Genbank登录号AF184971

- [0528] Genbank版本号AF184971.1GI:6013324
- [0529] Genbank记录更新日期:2010年3月10日下午10:00
- [0530] 多肽
- [0531] Genbank登录号AAF01320
- [0532] Genbank版本号AAF01320.1GI:6013325
- [0533] Genbank记录更新日期:2010年3月10日下午10:00
- [0534] 交叉参考
- [0535] Clark H.F.等Genome Res.13,2265-2270,2003;Mungall A.J.等Nature 425, 805-811,2003;Blumberg H.等Cell 104,9-19,2001;Dumoutier L.等J.Immunol.167, 3545-3549,2001;Parrish-Novak J.等J.Biol.Chem.277,47517-47523,2002;Pletnev S.等(2003)Biochemistry42:12617-12624;Sheikh F.等(2004)J.Immunol.172,2006-2010; EP1394274 (实施例11);US2004/005320 (实施例5);W02003/029262 (页码74-75);W02003/002717 (权利要求2;页码63);W02002/22153 (页码45-47);US2002/042366 (页码20-21); W02001/46261 (页码57-59);W02001/46232 (页码63-65);W098/37193 (权利要求1;页码55-59);登录号:Q9UHF4;Q6UWA9;Q96SH8;EMBL;AF184971;AAF01320.1。
- [0536] (21)短蛋白聚糖(Brevican)(BCAN,BEHAB)
- [0537] 核苷酸
- [0538] Genbank登录号AF229053
- [0539] Genbank版本号AF229053.1GI:10798902
- [0540] Genbank记录更新日期:2010年3月11日上午12:58
- [0541] 多肽
- [0542] Genbank登录号AAG23135
- [0543] Genbank版本号AAG23135.1GI:10798903
- [0544] Genbank记录更新日期:2010年3月11日上午12:58
- [0545] 交叉参考
- [0546] Gary S.C.等Gene 256,139-147,2000;Clark H.F.等Genome Res.13,2265-2270, 2003;Strausberg R.L.等Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.99,16899-16903,2002;US2003/186372 (权利要求11);US2003/186373 (权利要求11);US2003/119131 (权利要求1;图52); US2003/119122 (权利要求1;图52);US2003/119126 (权利要求1);US2003/119121 (权利要求 1;图52);US2003/119129 (权利要求1);US2003/119130 (权利要求1);US2003/119128 (权利 要求1;图52);US2003/119125 (权利要求1);W02003/016475 (权利要求1);W02002/02634 (权 利要求1)
- [0547] (22)EphB2R(DRT,ERK,Hek5,EPHT3,Tyro5)
- [0548] 核苷酸
- [0549] Genbank登录号NM_004442
- [0550] Genbank版本号NM_004442.6GI:111118979
- [0551] Genbank记录更新日期:2012年9月8日下午04:43
- [0552] 多肽
- [0553] Genbank登录号NP_004433

- [0554] Genbank版本号NP_004433.2GI:21396504
- [0555] Genbank记录更新日期:2012年9月8日下午04:43
- [0556] 交叉参考
- [0557] Chan,J.和Watt,V.M.,Oncogene 6 (6) ,1057-1061 (1991) Oncogene10 (5) :897-905 (1995) ,Annu.Rev.Neurosci.21:309-345 (1998) ,Int.Rev.Cytol.196:177-244 (2000)) ; W02003042661 (权利要求12) ; W0200053216 (权利要求1;页码41) ; W02004065576 (权利要求1) ; W02004020583 (权利要求9) ; W02003004529 (页码128-132) ; W0200053216 (权利要求1;页码42) ; MIM:600997。
- [0558] (23) ASLG659 (B7h)
- [0559] 核苷酸
- [0560] Genbank登录号AX092328
- [0561] Genbank版本号AX092328.1GI:13444478
- [0562] Genbank记录更新日期:2011年1月26日上午07:37
- [0563] 交叉参考
- [0564] US2004/0101899 (权利要求2) ; W02003104399 (权利要求11) ; W02004000221 (图3) ; US2003/165504 (权利要求1) ; US2003/124140 (实施例2) ; US2003/065143 (图60) ; W02002/102235 (权利要求13;页码299) ; US2003/091580 (实施例2) ; W02002/10187 (权利要求6;图10) ; W02001/94641 (权利要求12;图7b) ; W02002/02624 (权利要求13;图1A-1B) ; US2002/034749 (权利要求54;页码45-46) ; W02002/06317 (实施例2;页码320-321,权利要求34;页码321-322) ; W02002/71928 (页码468-469) ; W02002/02587 (实施例1;图1) ; W02001/40269 (实施例3;页码190-192) ; W02000/36107 (实施例2;页码205-207) ; W02004/053079 (权利要求12) ; W02003/004989 (权利要求1) ; W02002/71928 (页码233-234,452-453) ; WO 01/16318。
- [0565] (24) PSCA (前列腺干细胞抗原前体)
- [0566] 核苷酸
- [0567] Genbank登录号AJ297436
- [0568] Genbank版本号AJ297436.1GI:9367211
- [0569] Genbank记录更新日期:2011年2月1日上午11:25
- [0570] 多肽
- [0571] Genbank登录号CAB97347
- [0572] Genbank版本号CAB97347.1GI:9367212
- [0573] Genbank记录更新日期:2011年2月1日上午11:25
- [0574] 交叉参考
- [0575] Reiter R.E.等Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.95,1735-1740,1998;GuZ.等Oncogene 19, 1288-1296,2000;Biochem.Biophys.Res.Commun. (2000) 275 (3) :783-788; W02004/022709;EP1394274 (实施例11) ; US2004/018553 (权利要求17) ; W02003/008537 (权利要求1) ; W02002/81646 (权利要求1;页码164) ; W02003/003906 (权利要求10;页码288) ; W02001/40309 (实施例1;图17) ; US2001/055751 (实施例1;图1b) ; W02000/32752 (权利要求18;图1) ; W098/51805 (权利要求17;页码97) ; W098/51824 (权利要求10;页码94) ; W098/

40403 (权利要求2;图1B);登录号:043653;EMBL;AF043498;AAC39607.1

[0577] (25) GEDA

[0578] 核苷酸

[0579] Genbank登录号AY260763

[0580] Genbank版本号AY260763.1GI:30102448

[0581] Genbank记录更新日期:2010年3月11日上午02:24

[0582] 多肽

[0583] Genbank登录号AAP14954

[0584] Genbank版本号AAP14954.1GI:30102449

[0585] Genbank记录更新日期:2010年3月11日上午02:24

[0586] 交叉参考

[0587] AP14954脂肪瘤HMGIC融合-配偶体样蛋白/pid=AAP14954.1-智人(人);W02003/054152 (权利要求20);W02003/000842 (权利要求1);W02003/023013 (实施例3,权利要求20);US2003/194704 (权利要求45);GI:30102449;

[0588] (26) BAFF-R (B细胞活化因子受体,BLyS受体3,BR3)

[0589] 核苷酸

[0590] Genbank登录号AF116456

[0591] Genbank版本号AF116456.1GI:4585274

[0592] Genbank记录更新日期:2010年3月10日下午09:44

[0593] 多肽

[0594] Genbank登录号AAD25356

[0595] Genbank版本号AAD25356.1GI:4585275

[0596] Genbank记录更新日期:2010年3月10日下午09:44

[0597] 交叉参考

[0598] BAFF受体/pid=NP_443177.1-智人:Thompson,J.S.等Science293 (5537),2108-2111 (2001);W02004/058309;W02004/011611;W02003/045422 (实施例;页码32-33);W02003/014294 (权利要求35;图6B);W02003/035846 (权利要求70;页码615-616);W02002/94852 (第136-137栏);W02002/38766 (权利要求3;页码133);W02002/24909 (实施例3;图3);MIM:606269;NP_443177.1;NM_052945_1;AF132600

[0599] (27) CD22 (B细胞受体CD22-B同种型,BL-CAM,Lyb-8,Lyb8,SIGLEC-2,FLJ22814)

[0600] 核苷酸

[0601] Genbank登录号AK026467

[0602] Genbank版本号AK026467.1GI:10439337

[0603] Genbank记录更新日期:2006年9月11日下午11:24

[0604] 多肽

[0605] Genbank登录号BAB15489

[0606] Genbank版本号BAB15489.1GI:10439338

[0607] Genbank记录更新日期:2006年9月11日下午11:24

[0608] 交叉参考

- [0609] Wilson等(1991) J.Exp.Med.173:137-146;W02003/072036 (权利要求1;图1);IM:107266;NP_001762.1;NM_001771_1。
- [0610] (27a) CD22 (CD22分子)
- [0611] 核苷酸
- [0612] Genbank登录号X52785
- [0613] Genbank版本号X52785.1GI:29778
- [0614] Genbank记录更新日期:2011年2月2日上午10:09
- [0615] 多肽
- [0616] Genbank登录号CAA36988
- [0617] Genbank版本号CAA36988.1GI:29779
- [0618] Genbank记录更新日期:2011年2月2日上午10:09
- [0619] 交叉参考
- [0620] Stamenkovic I.等,Nature 345 (6270) ,74-77 (1990)
- [0621] 其他信息
- [0622] 官方代号:CD22
- [0623] 其他别名:SIGLEC-2,SIGLEC2
- [0624] 其他名称:B细胞受体CD22;B淋巴细胞细胞粘附分子;BL-CAM;CD22抗原;T细胞表面抗原亮氨酸-14;唾液酸结合Ig样凝集素2;唾液酸结合Ig样凝集素2
- [0625] 抗体
- [0626] G5/44 (伊珠单抗,Inotuzumab):DiJoseph JF.等Cancer Immunol Immunother.2005年1月;54(1):11-24。
- [0627] 依帕珠单抗-Goldenberg DM.等Expert Rev Anticancer Ther.6(10):1341-53, 2006。
- [0628] (28) CD79a (CD79A,CD79a),免疫球蛋白相关的 α 、B细胞特异性蛋白,其共价相互作用于Ig β (CD79B) 并在表面上形成与Ig M分子的复合物,转导涉及B细胞分化的信号,pI:4.84,MW:25028TM:2
- [0629] [P]基因染色体:19q13.2)。
- [0630] 核苷酸
- [0631] Genbank登录号NM_001783
- [0632] Genbank版本号NM_001783.3GI:90193587
- [0633] Genbank记录更新日期:2012年6月26日下午01:48
- [0634] 多肽
- [0635] Genbank登录号NP_001774
- [0636] Genbank版本号NP_001774.1GI:4502685
- [0637] Genbank记录更新日期:2012年6月26日下午01:48
- [0638] 交叉参考
- [0639] W02003/088808,US2003/0228319;W02003/062401 (权利要求9);US2002/150573 (权利要求4,页码13-14);W099/58658 (权利要求13,图16);W092/07574 (图1);US5644033;Ha等(1992) J.Immunol.148 (5):1526-1531;Müller等(1992) Eur.J.Immunol..22:1621-

1625; Hashimoto等(1994) Immunogenetics 40(4):287-295; Preud'homme等(1992) Clin. Exp. Immunol. 90(1):141-146; Yu等(1992) J. Immunol. 148(2):633-637; Sakaguchi等(1988) EMBO J. 7(11):3457-3464

[0640] (29) CXCR5 (伯基特淋巴瘤受体1, G蛋白偶联受体, 其被CXCL13趋化因子活化, 在淋巴细胞迁移和体液性防御中起作用, 在HIV-2感染中以及也许在AIDS、淋巴瘤、骨髓瘤、和白血病的发展中起作用); 372aa, pI:8.54MW:41959TM:7[P] 基因染色体:11q23.3,

[0641] 核苷酸

[0642] Genbank登录号NM_001716

[0643] Genbank版本号NM_001716.4GI:342307092

[0644] Genbank记录更新日期:2012年9月30日下午01:49

[0645] 多肽

[0646] Genbank登录号NP_001707

[0647] Genbank版本号NP_001707.1GI:4502415

[0648] Genbank记录更新日期:2012年9月30日下午01:49

[0649] 交叉参考

[0650] W02004/040000; W02004/015426; US2003/105292 (实施例2); US6555339 (实施例2); W02002/61087 (图1); W02001/57188 (权利要求20, 页码269); W02001/72830 (页码12-13); W02000/22129 (实施例1, 页码152-153, 实施例2, 页码254-256); W099/28468 (权利要求1, 页码38); US5440021 (实施例2, 第49-52栏); W094/28931 (页码56-58); W092/17497 (权利要求7, 图5); Dobner等(1992) Eur. J. Immunol. 22:2795-2799; Barella等(1995) Biochem. J. 309:773-779

[0651] (30) HLA-DOB (MHC II类分子的 β 亚基(Ia抗原), 其结合肽并将它们呈递到CD4+T淋巴细胞); 273aa, pI:6.56, MW:30820.TM:1[P] 基因染色体:6p21.3)

[0652] 核苷酸

[0653] Genbank登录号NM_002120

[0654] Genbank版本号NM_002120.3GI:118402587

[0655] Genbank记录更新日期:2012年9月8日下午04:46

[0656] 多肽

[0657] Genbank登录号NP_002111

[0658] Genbank版本号NP_002111.1GI:4504403

[0659] Genbank记录更新日期:2012年9月8日下午04:46

[0660] 交叉参考

[0661] Tonnelle等(1985) EMBO J. 4(11):2839-2847; Jonsson等(1989) Immunogenetics 29(6):411-413; Beck等(1992) J. Mol. Biol. 228:433-441; Strausberg等(2002) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99:16899-16903; Servenius等(1987) J. Biol. Chem. 262:8759-8766; Beck等(1996) J. Mol. Biol. 255:1-13; Naruse等(2002) Tissue Antigens 59:512-519; W099/58658 (权利要求13, 图15); US6153408 (第35-38栏); US5976551 (第168-170栏); US6011146 (第145-146栏); Kasahara等(1989) Immunogenetics 30(1):66-68; Larhammar等(1985) J. Biol. Chem. 260(26):14111-14119

[0662] (31) P2X5 (嘌呤能受体P2X配体门控离子通道5,由细胞外ATP门控的离子通道,可能涉及突触传递和神经发生,缺乏可能有助于特发性逼尿肌不稳定的病理生理学); 422aa, pI:7.63, MW:47206TM:1 [P] 基因染色体:17p13.3)。

[0663] 核苷酸

[0664] Genbank登录号NM_002561

[0665] Genbank版本号NM_002561.3GI:325197202

[0666] Genbank记录更新日期:2012年6月27日上午12:41

[0667] 多肽

[0668] Genbank登录号NP_002552

[0669] Genbank版本号NP_002552.2GI:28416933

[0670] Genbank记录更新日期:2012年6月27日上午12:41

[0671] 交叉参考

[0672] Le等(1997)FEBS Lett.418(1-2):195-199;W02004/047749;W02003/072035(权利要求10);Touchman等(2000)Genome Res.10:165-173;W02002/22660(权利要求20);W02003/093444(权利要求1);W02003/087768(权利要求1);W02003/029277(页码82)

[0673] (32) CD72 (B细胞分化抗原CD72, Lyb-2); 359aa, pI:8.66, MW:40225, TM:1 5 [P] 基因染色体:9p13.3)。

[0674] 核苷酸

[0675] Genbank登录号NM_001782

[0676] Genbank版本号NM_001782.2GI:194018444

[0677] Genbank记录更新日期:2012年6月26日下午01:43

[0678] 多肽

[0679] Genbank登录号NP_001773

[0680] Genbank版本号NP_001773.1GI:4502683

[0681] Genbank记录更新日期:2012年6月26日下午01:43

[0682] 交叉参考

[0683] W02004042346(权利要求65);W02003/026493(页码51-52,57-58);W02000/75655(页码105-106);Von Hoegen等(1990)J.Immunol.144(12):4870-4877;Strausberg等(2002)Proc.Natl.Acad.SciUSA 99:16899-16903。

[0684] (33) LY64 (淋巴细胞抗原64 (RP105), 富含亮氨酸重复 (LRR) 家族的I型膜蛋白, 调节B细胞活化和细胞凋亡, 在患有系统性红斑狼疮的患者中功能的丧失相关于增加的疾病活性); 661aa, pI:6.20, MW:74147TM:1 [P] 基因染色体:5q12)。

[0685] 核苷酸

[0686] Genbank登录号NM_005582

[0687] Genbank版本号NM_005582.2GI:167555126

[0688] Genbank记录更新日期:2012年9月2日下午01:50

[0689] 多肽

[0690] Genbank登录号NP_005573

[0691] Genbank版本号NP_005573.2GI:167555127

[0692] Genbank记录更新日期:2012年9月2日下午01:50

[0693] 交叉参考

[0694] US2002/193567;W097/07198 (权利要求11,页码39-42);Miura等(1996) Genomics 38(3):299-304;Miura等(1998) Blood 92:2815-2822;W02003/083047;W097/44452 (权利要求8,页码57-61);W02000/12130 (页码24-26)。

[0695] (34)FcRH1 (Fc受体样蛋白1,假定受体,用于免疫球蛋白Fc域,其包含C2型Ig样和ITAM域,在B淋巴细胞分化中可以具有作用);429aa,pI:5.28,MW:46925TM:1[P]基因染色体:1q21-1q22)

[0696] 核苷酸

[0697] Genbank登录号NM_052938

[0698] Genbank版本号NM_052938.4GI:226958543

[0699] Genbank记录更新日期:2012年9月2日下午01:43

[0700] 多肽

[0701] Genbank登录号NP_443170

[0702] Genbank版本号NP_443170.1GI:16418419

[0703] Genbank记录更新日期:2012年9月2日下午01:43

[0704] 交叉参考

[0705] W02003/077836;W02001/38490 (权利要求6,图18E-1-18-E-2);Davis等(2001) Proc.Natl.Acad.Sci USA 98(17):9772-9777;W02003/089624 (权利要求8);EP1347046 (权利要求1);W02003/089624 (权利要求7)。

[0706] (35)IRTA2 (免疫球蛋白超家族受体易位相关的2,假定的免疫受体,其在B细胞的发育和淋巴瘤发生中具有可能的作用;在一些B细胞恶性疾病中发生基因的去调节(通过易位));977aa,pI:6.88,MW:106468,TM:1[P]基因染色体:1q21)

[0707] 核苷酸

[0708] Genbank登录号AF343662

[0709] Genbank版本号AF343662.1GI:13591709

[0710] Genbank记录更新日期:2010年3月11日上午01:16

[0711] 多肽

[0712] Genbank登录号AAK31325

[0713] Genbank版本号AAK31325.1GI:13591710

[0714] Genbank记录更新日期:2010年3月11日上午01:16

[0715] 交叉参考

[0716] AF343663,AF343664,AF343665,AF369794,AF397453,AK090423,AK090475,AL834187,AY358085;小鼠:AK089756,AY158090,AY506558;NP_112571.1;W02003/024392 (权利要求2,图97);Nakayama等(2000) Biochem.Biophys.Res.Commun.277(1):124-127;W02003/077836;W02001/38490 (权利要求3,图18B-1-18B-2)。

[0717] (36)TENB2 (TMEFF2,tomoregulin,TPEF,HPP1,TR,推定的跨膜蛋白多糖,涉及到生长因子和卵泡抑素的EGF/调蛋白(heregulin)家族);374aa)

[0718] 核苷酸

- [0719] Genbank登录号AF179274
- [0720] Genbank版本号AF179274.2GI:12280939
- [0721] Genbank记录更新日期:2010年3月11日上午01:05
- [0722] 多肽
- [0723] Genbank登录号AAD55776
- [0724] Genbank版本号AAD55776.2GI:12280940
- [0725] Genbank记录更新日期:2010年3月11日上午01:05
- [0726] 交叉参考
- [0727] NCBI 登录号:AAD55776,AAF91397,AAG49451,NCBI RefSeq:NP_057276;NCBI Gene:23671;OMIM:605734;SwissProt Q9UIK5;AY358907,CAF85723,CQ782436;W02004/074320;JP2004113151;W02003/042661;W02003/009814;EP1295944 (页码69-70);W02002/30268 (页码329);W02001/90304;US2004/249130;US2004/022727;W02004/063355;US2004/197325;US2003/232350;US2004/005563;US2003/124579;Horie等(2000) Genomics67:146-152;Uchida等(1999) Biochem.Biophys.Res.Commun.266:593-602;Liang等(2000) Cancer Res.60:4907-12;Glynne-Jones等(2001) Int J Cancer.10月15日;94(2):178-84。
- [0728] (37) PSMA-FOLH1 (叶酸水解酶(前列腺特异性膜抗原) 1)
- [0729] 核苷酸
- [0730] Genbank登录号M99487
- [0731] Genbank版本号M99487.1GI:190663
- [0732] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:48
- [0733] 多肽
- [0734] Genbank登录号AAA60209
- [0735] Genbank版本号AAA60209.1GI:190664
- [0736] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:48
- [0737] 交叉参考
- [0738] Israeli R.S.等Cancer Res.53(2),227-230(1993)
- [0739] 其他信息
- [0740] 官方代号:FOLH1
- [0741] 其他别名:GIG27、FGCP、FOLH、GCP2、GCPII、NAALAD1、NAALAdase、PSM、PSMA、mGCP
- [0742] 其他名称:N-乙酰化 α -连接的酸性二肽酶1;N-乙酰化- α -连接的酸性二肽酶I;N-乙酰化 α 连接的酸性二肽酶(NAALADase I);细胞生长抑制基因27蛋白;叶酰多- γ -谷氨酸羧肽酶;谷氨酸羧化酶II;谷氨酸羧肽酶2;谷氨酸羧肽酶II;膜谷氨酸羧肽酶;前列腺特异性膜抗原变体F;蝶酰多- γ -谷氨酸羧肽酶
- [0743] 抗体
- [0744] US 7,666,425:
- [0745] 抗体是通过杂交瘤所产生,其具有以下ATCC参考:ATCC登录号HB-12101、ATCC登录号HB-12109、ATCC登录号HB-12127和ATCC登录号HB-12126。
- [0746] Proscan:单克隆抗体,其选自由8H12、3E11、17G1、29B4、30C1和20F2组成的组(US 7,811,564;Moffett S.等Hybridoma(Larchmt).2007年12月;26(6):363-72)。

[0747] Cytogen:单克隆抗体7E11-C5(ATCC登录号HB 10494)和9H10-A4(ATCC登录号HB11430)-US 5,763,202

[0748] GlycoMimetics:NUH2-ATCC登录号HB 9762(US 7,135,301)

[0749] 人类基因组科学(Human Genome Science):HPRAJ70-ATCC登录号97131(US 6,824,993);由cDNA克隆(HPRAJ70)编码的氨基酸序列,保藏于美国典型培养物保藏中心(“ATCC”),保藏号97131

[0750] Medarex:抗PSMA抗体,其缺乏岩藻糖基残基-US 7,875,278

[0751] 小鼠抗PSMA抗体包括3F5.4G6、3D7.1.1、4E10-1.14、3E11、4D8、3E6、3C9、2C7、1G3、3C4、3C6、4D4、1G9、5C8B9、3G6、4C8B9、和单克隆抗体。分泌3F5.4G6、3D7.1.1、4E10-1.14、3E11、4D8、3E6、3C9、2C7、1G3、3C4、3C6、4D4、1G9、5C8B9、3G6或4C8B9的杂交瘤已公开保藏并描述于美国专利号6,159,508。有关的杂交瘤已公开保藏并描述于美国专利号6,107,090。此外,人源化抗PSMA抗体,包括J591的人源化形式,进一步详细描述于PCT申请公开WO 02/098897。

[0752] 在本领域中已描述了其他小鼠抗人PSMA抗体,如mAb107-1A4(Wang,S.等(2001) Int.J.Cancer 92:871-876)和mAb 2C9(Kato,K.等(2003) Int.J.Urol.10:439-444)。

[0753] 人抗PSMA单克隆抗体的实例包括4A3、7F12、8C12、8A11、16F9、2A10、2C6、2F5和1C3抗体,其分离和结构表征最初描述于PCT申请公开WO 01/09192和WO 03/064606以及美国临时申请序列号60/654,125,题为“Human Monoclonal Antibodies to Prostate Specific Membrane Antigen(PSMA)”,于2005年2月18日提交。4A3、7F12、8C12、8A11、16F9、2A10、2C6、2F5和1C3的V.sub.H(重链可变)氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:1-9。4A3、7F12、8C12、8A11、16F9、2A10、2C6、2F5和1C3的V.sub.L(轻链可变)氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:10-18。

[0754] 其他人抗PSMA抗体包括在PCT申请公开WO 03/034903和美国申请号2004/0033229中公开的抗体。

[0755] NW Biotherapeutics:杂交瘤细胞系选自由ATCC登录号为HB12060的3F5.4G6、ATCC登录号为HB12309的3D7-1.I、ATCC登录号为HB12310的4E10-1.14、3E11(ATCC HB12488)、4D8(ATCCHB12487)、3E6(ATCC HB12486)、3C9(ATCC HB12484)、2C7(ATCCHB12490)、1G3(ATCC HB12489)、3C4(ATCC HB12494)、3C6(ATCCHB12491)、4D4(ATCC HB12493)、1G9(ATCC HB12495)、5C8B9(ATCC HB12492)和3G6(ATCC HB12485)组成的组。参见US6,150,508

[0756] PSMA Development Company/Progenics/Cytogen-Seattle Genetics:mAb 3.9,其是通过杂交瘤所产生,其中上述杂交瘤保藏为ATCC登录号PTA-3258,或mAb 10.3,其是通过杂交瘤所产生,其中上述杂交瘤保藏为ATCC登录号PTA-3347-US 7,850,971

[0757] PSMA Development Company-PSMA抗体的组合物(US20080286284,表1)

[0758] 此申请是美国专利申请序列号10/395,894的分案,其于2003年3月21日提交(US 7,850,971)

[0759] University Hospital Freiburg,德国-mAb 3/A12、3/E7、和3/F11(Wolf P.等Prostate.2010年4月1日;70(5):562-9)。

[0760] (38) SST(生长抑素受体;注意:存在5种亚型)

- [0761] (38.1) SSTR2 (生长抑素受体2)
- [0762] 核苷酸
- [0763] Genbank登录号NM_001050
- [0764] Genbank版本号NM_001050.2GI:44890054
- [0765] Genbank记录更新日期:2012年8月19日下午01:37
- [0766] 多肽
- [0767] Genbank登录号NP_001041
- [0768] Genbank版本号NP_001041.1GI:4557859
- [0769] Genbank记录更新日期:2012年8月19日下午01:37
- [0770] 交叉参考
- [0771] Yamada Y.等Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.89(1),251-255(1992);Susini C.等Ann Oncol.2006年12月;17(12):1733-42
- [0772] 其他信息
- [0773] 官方代号:SSTR2
- [0774] 其他名称:SRIF-1;SS2R;生长抑素受体2型
- [0775] (38.2) SSTR5 (生长抑素受体5)
- [0776] 核苷酸
- [0777] Genbank登录号D16827
- [0778] Genbank版本号D16827.1GI:487683
- [0779] Genbank记录更新日期:2006年8月1日下午12:45
- [0780] 多肽
- [0781] Genbank登录号BAA04107
- [0782] Genbank版本号BAA04107.1GI:487684
- [0783] Genbank记录更新日期:2006年8月1日下午12:45
- [0784] 交叉参考
- [0785] Yamada,Y.等Biochem.Biophys.Res.Comm.195(2),844-852(1993)
- [0786] 其他信息
- [0787] 官方代号:SSTR5
- [0788] 其他别名:SS-5-R
- [0789] 其他名称:生长抑素受体亚型5;生长抑素受体类型5
- [0790] (38.3) SSTR1
- [0791] (38.4) SSTR3
- [0792] (38.5) SSTR4
- [0793] AvB6-两种亚基(39+40)
- [0794] (39) ITGAV(整联蛋白, α V;
- [0795] 核苷酸
- [0796] Genbank登录号M14648J02826M18365
- [0797] Genbank版本号M14648.1GI:340306
- [0798] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:56

- [0799] 多肽
- [0800] Genbank登录号AAA36808
- [0801] Genbank版本号AAA36808.1GI:340307
- [0802] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:56
- [0803] 交叉参考
- [0804] Suzuki S.等Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.83 (22) ,8614-8618 (1986)
- [0805] 其他信息
- [0806] 官方代号:ITGAV
- [0807] 其他别名:CD51、MSK8、VNRA、VTNR
- [0808] 其他名称:由单克隆抗体L230确定的抗原;整联蛋白 α -V;整联蛋白 α V β 3;整联蛋白 α V (玻连蛋白受体, α 多肽、抗原CD51);玻连蛋白受体亚基 α
- [0809] (40) ITGB6 (整联蛋白, β 6)
- [0810] 核苷酸
- [0811] Genbank登录号NM_000888
- [0812] Genbank版本号NM_000888.3GI:9966771
- [0813] Genbank记录更新日期:2012年6月27日上午12:46
- [0814] 多肽
- [0815] Genbank登录号NP_000879
- [0816] Genbank版本号NP_000879.2GI:9625002
- [0817] Genbank记录更新日期:2012年6月27日上午12:46
- [0818] 交叉参考
- [0819] Sheppard D.J.等Biol.Chem.265 (20) ,11502-11507 (1990)
- [0820] 其他信息
- [0821] 官方代号:ITGB6
- [0822] 其他名称:整联蛋白 β -6
- [0823] 抗体
- [0824] Biogen:US 7,943,742-杂交瘤克隆6.3G9和6.8G6是由ATCC保藏,登录号分别为ATCC PTA-3649和-3645。
- [0825] Biogen:US7,465,449- 在一些实施方案中,抗体包含和由杂交瘤6.1A8、6.3G9、6.8G6、6.2B1、6.2B10、6.2A1、6.2E5、7.1G10、7.7G5、或7.1C5产生的抗体相同的重链和轻链多肽序列。
- [0826] Centocor (J&J) :US7,550,142;US7,163,681
- [0827] 例如在US 7,550,142中,一种抗体,该抗体具有人重链和人轻链可变区,其包含示于SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8中的氨基酸序列。
- [0828] Seattle Genetics:15H3 (Ryan MC.等Cancer Res,2012年4月15日;72 (8增刊) :4630)
- [0829] (41) CEACAM5 (癌胚抗原相关细胞粘附分子5)
- [0830] 核苷酸
- [0831] Genbank登录号M17303

- [0832] Genbank版本号M17303.1GI:178676
- [0833] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:47
- [0834] 多肽
- [0835] Genbank登录号AAB59513
- [0836] Genbank版本号AAB59513.1GI:178677
- [0837] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:47
- [0838] 交叉参考
- [0839] Beauchemin N.等Mol.Cell.Biol.7 (9) ,3221-3230 (1987)
- [0840] 其他信息
- [0841] 官方代号:CEACAM5
- [0842] 其他别名:CD66e、CEA
- [0843] 其他名称:癌胚抗原100
- [0844] 抗体
- [0845] AstraZeneca-MedImmune:US 20100330103;US20080057063;US20020142359
- [0846] -例如一种抗体,该抗体具有互补决定区(CDR),其具有以下序列:重链;CDR1-DNYMH、CDR2-WIDPENGDT E YAPKFRG、CDR3-LIYAGYLAMD Y;以及轻链CDR1-SASSSVTYMH、CDR2-STSNLAS、CDR3-QQRSTYPLT。
- [0847] -杂交瘤806.077,保藏于欧洲细胞培养物保藏中心(ECACC),保藏号为96022936。
- [0848] Research Corporation Technologies,Inc:US5,047,507
- [0849] Bayer Corporation:US6,013,772
- [0850] BioAlliance:US7,982,017;US7,674,605
- [0851] ●US 7,674,605
- [0852] -一种抗体,其包含来自SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链可变区序列,以及来自SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链可变区序列。
- [0853] -一种抗体,其包含来自SEQ ID NO:5的氨基酸序列的重链可变区序列,以及来自SEQ ID NO:6的氨基酸序列的轻链可变区序列。
- [0854] Celltech Therapeutics Limited:US5,877,293
- [0855] Dow Chemical Company:US5,472,693;US6,417,337;US6,333,405
- [0856] US5,472,693-例如,ATCC号CRL-11215
- [0857] US6,417,337-例如,ATCC CRL-12208
- [0858] US6,333,405-例如,ATCC CRL-12208
- [0859] Immunomedics,Inc:US7,534,431;US7,230,084;US7,300,644;US6,730,300;US20110189085
- [0860] -一种抗体,具有轻链可变区的CDR,其包括:CDR1,包括KASQDVGT SVA (SEQ ID NO:20);CDR2,包括WTSTRHT (SEQ IDNO:21);以及CDR3,包括QQYSLYRS (SEQ ID NO:22);以及所述抗CEA抗体的重链可变区的CDR,包含:CDR1,包含TYWMS (SEQID NO:23);CDR2,包含EIHPDSSTINYAPSLKD (SEQ ID NO:24);以及CDR3,包含LYFGFPWFAY (SEQ ID NO:25)。
- [0861] US20100221175;US20090092598;US20070202044;US20110064653;US20090185974;US20080069775。

- [0862] (42) MET (met原癌基因;肝细胞生长因子受体)
- [0863] 核苷酸
- [0864] Genbank登录号M35073
- [0865] Genbank版本号M35073.1GI:187553
- [0866] Genbank记录更新日期:2012年3月6日上午11:12
- [0867] 多肽
- [0868] Genbank登录号AAA59589
- [0869] Genbank版本号AAA59589.1GI:553531
- [0870] Genbank记录更新日期:2012年3月6日上午11:12
- [0871] 交叉参考
- [0872] Dean M.等Nature 318 (6044) ,385-388 (1985)
- [0873] 其他信息
- [0874] 官方代号:MET
- [0875] 其他别名:AUTS9、HGFR、RCCP2、c-Met
- [0876] 其他名称:HGF受体;HGF/SF受体;SF受体;肝细胞生长因子受体;met原癌基因酪氨酸激酶;原癌基因c-Met;分散因子受体;酪氨酸蛋白激酶Met
- [0877] 抗体
- [0878] Abgenix/Pfizer:US20100040629
- [0879] 例如,由具有美国典型培养物保藏中心(ATCC)登录号PTA-5026的杂交瘤13.3.2产生的抗体;由具有ATCC登录号PTA-5027的杂交瘤9.1.2产生的抗体;由ATCC登录号为PTA-5028的杂交瘤8.70.2产生的抗体;或由ATCC登录号为PTA-5029的杂交瘤6.90.3产生的抗体。
- [0880] Amgen/Pfizer:US20050054019
- [0881] 例如,一种抗体,该抗体包含重链,其具有在SEQ ID NO:2中展示的氨基酸序列,其中X2是谷氨酸以及X4是丝氨酸,以及轻链,其具有在SEQ ID NO:4中展示的氨基酸序列,其中X8是丙氨酸,没有信号序列;一种抗体,该抗体包含重链,其具有在SEQ ID NO:6中展示的氨基酸序列,以及轻链,其具有在SEQ ID NO:8中展示的氨基酸序列,没有信号序列;一种抗体,该抗体包含重链,其具有在SEQ ID NO:10中展示的氨基酸序列,以及轻链,其具有在SEQ ID NO:12中展示的氨基酸序列,没有信号序列;或一种抗体,该抗体包含重链,其具有在SEQ ID NO:14中展示的氨基酸序列,以及轻链,其具有在SEQ ID NO:16中展示的氨基酸序列,没有信号序列。
- [0882] Agouron Pharmaceuticals (Now Pfizer):US20060035907
- [0883] Eli Lilly:US20100129369
- [0884] Genentech:US5,686,292;US20100028337;US20100016241;US20070129301;US20070098707;US20070092520;US20060270594;US20060134104;US20060035278;US20050233960;US20050037431
- [0885] US 5,686,292-例如,ATCC HB-11894和ATCC HB-11895
- [0886] US 20100016241-例如,ATCC HB-11894 (杂交瘤1A3.3.13) 或HB-11895 (杂交瘤5D5.11.6)

- [0887] National Defense Medical Center, Taiwan: Lu RM. 等 Biomaterials. 2011年4月; 32 (12): 3265-74。
- [0888] Novartis: US20090175860
- [0889] -例如, 一种抗体, 该抗体包含重链4687的CDR1、CDR2和CDR3的序列, 其中重链4687的CDR1、CDR2、和CDR3的序列分别是SEQ ID NO: 58的残基26-35、50-65、和98-102; 以及轻链5097的CDR1、CDR2、和CDR3的序列, 其中轻链5097的CDR1、CDR2、和CDR3的序列分别是SEQ ID NO: 37的残基24-39、55-61、和94-100。
- [0890] Pharmacia Corporation: US20040166544
- [0891] Pierre Fabre: US20110239316、US20110097262、US20100115639
- [0892] Sumsung: US 20110129481 -例如产生自登录号为KCLRF-BP-00219或登录号为KCLRF-BP-00223的杂交瘤细胞的单克隆抗体。
- [0893] Samsung: US 20110104176 -例如由登录号为KCLRF-BP-00220的杂交瘤细胞产生的抗体。
- [0894] University of Turin Medical School: DN-30Pacchiana G. 等 J Biol Chem. 2010年11月12日; 285 (46): 36149-57
- [0895] Van Andel Research Institute: Jiao Y. 等 Mol Biotechnol. 2005年9月; 31 (1): 41-54。
- [0896] (43) MUC1 (粘蛋白1 (Mucin 1), 细胞表面相关的)
- [0897] 核苷酸
- [0898] Genbank 登录号 J05581
- [0899] Genbank 版本号 J05581.1GI: 188869
- [0900] Genbank 记录更新日期: 2010年6月23日上午08:48
- [0901] 多肽
- [0902] Genbank 登录号 AAA59876
- [0903] Genbank 版本号 AAA59876.1GI: 188870
- [0904] Genbank 记录更新日期: 2010年6月23日上午08:48
- [0905] 交叉参考
- [0906] Gendler S.J. 等 J. Biol. Chem. 265 (25), 15286-15293 (1990)
- [0907] 其他信息
- [0908] 官方代号: MUC1
- [0909] 其他别名: RP11-263K19.2、CD227、EMA、H23AG、KL-6、MAM6、MUC-1、MUC-1/SEC、MUC-1/X、MUC1/ZD、PEM、PEMT、PUM
- [0910] 其他名称: DF3抗原; H23抗原; 乳腺癌相关抗原DF3; 癌相关粘蛋白; episialin; krebs von den Lungen-6; 粘蛋白1, 跨膜; 粘蛋白-1; 花生反应尿粘蛋白; 多形上皮粘蛋白; 肿瘤相关的上皮粘蛋白; 肿瘤相关上皮膜抗原; 肿瘤相关粘蛋白
- [0911] 抗体
- [0912] AltaRex-Quest Pharma Tech: US 6,716,966 -例如由ATCC号为PTA-975的杂交瘤产生的Alt-1抗体。
- [0913] AltaRex-Quest Pharma Tech: US7,147,850

- [0914] CRT:5E5-Sørensen AL.等Glycobiology第16卷第2期第96-107页,2006;HMFG2-Burchell J.等Cancer Res.,47,5476-5482(1987);参见W02015/159076
- [0915] Glycotope GT-MAB:GT-MAB 2.5-GEX(网站:<http://www.glycotope.com/pipeline/pankomab-gex>)
- [0916] Immunogen:US7,202,346
- [0917] -例如,抗体MJ-170:杂交瘤细胞系MJ-170ATCC登录号PTA-5286单克隆抗体MJ-171:杂交瘤细胞系MJ-171ATCC登录号PTA-5287;单克隆抗体MJ-172:杂交瘤细胞系MJ-172ATCC登录号PTA-5288;或单克隆抗体MJ-173:杂交瘤细胞系MJ-173ATCC登录号PTA-5302
- [0918] Immunomedics:US 6,653,104
- [0919] Ramot Tel Aviv Uni:US7,897,351
- [0920] Regents Uni.CA:US 7,183,388;US20040005647;US20030077676。
- [0921] Roche GlycArt:US8,021,856
- [0922] Russian National Cancer Research Center:Imuteran-Ivanov PK.等Biotechnol J.2007年7月;2(7):863-70
- [0923] Technische Univ Braunschweig:(IIB6,HT186-B7,HT186-D11,HT186-G2,HT200-3A-C1,HT220-M-D1,HT220-M-G8)-Thie H.等PLoS One.2011年1月14日;6(1):e15921
- [0924] (44) CA9(碳酸酐酶IX)
- [0925] 核苷酸
- [0926] Genbank登录号X66839
- [0927] Genbank版本号X66839.1GI:1000701
- [0928] Genbank记录更新日期:2011年2月2日上午10:15
- [0929] 多肽
- [0930] Genbank登录号CAA47315
- [0931] Genbank版本号CAA47315.1GI:1000702
- [0932] Genbank记录更新日期:2011年2月2日上午10:15
- [0933] 交叉参考
- [0934] Pastorek J.等Oncogene 9(10),2877-2888(1994)
- [0935] 其他信息
- [0936] 官方代号:CA9
- [0937] 其他别名:CAIX、MN
- [0938] 其他名称:CA-IX;P54/58N;RCC相关抗原G250;RCC相关蛋白G250;碳酸脱水酶IX;碳酸酐酶9;碳酸脱水酶;膜抗原MN;pMW1;肾细胞癌相关抗原G250
- [0939] 抗体
- [0940] Abgenix/Amgen:US20040018198
- [0941] Affibody:抗CAIX亲和体(Affibody)分子
- [0942] (<http://www.affibody.com/en/Product-Portfolio/Pipeline/>)
- [0943] Bayer:US7,462,696
- [0944] Bayer/Morphosys:3ee9mAb-Petrul HM.等Mol Cancer Ther.2012年2月;11(2):340-9

- [0945] Harvard Medical School:抗体G10、G36、G37、G39、G45、G57、G106、G119、G6、G27、G40和G125。Xu C.等PLoS One.2010年3月10日;5(3):e9625
- [0946] Institute of Virology,Slovak Academy of Sciences(Bayer)-US5,955,075
- [0947] -例如,M75-ATCC登录号HB 11128或MN12-ATCC登录号HB 11647
- [0948] Institute of Virology,Slovak Academy of Sciences:US7,816,493
- [0949] -例如分泌自杂交瘤VU-M75的M75单克隆抗体,其保藏在美国典型培养物保藏中心,ATCC号为HB 11128;或分泌自杂交瘤V/10-VU的V/10单克隆抗体,其保藏在Belgian Coordinated Collection of Microorganisms (BCCM) 的国际保藏机构,在Laboratorium voor Moleculaire Biologie-Plasmidencollectie (LMBP),在比利时根特的根特大学(Universiteit Gent),登录号为LMBP 6009CB。
- [0950] Institute of Virology,Slovak Academy of Sciences:US20080177046;US20080176310;US20080176258;US20050031623
- [0951] Novartis:US20090252738
- [0952] Willex:US7,691,375-例如由杂交瘤细胞系DSM ASC 2526产生的抗体。
- [0953] Willex:US20110123537;Rencarex:Kennett RH.等Curr Opin Mol Ther.2003年2月;5(1):70-5
- [0954] Xencor:US20090162382
- [0955] (45) EGFRvIII (表皮生长因子受体 (EGFR), 转录变体3,
- [0956] 核苷酸
- [0957] Genbank登录号NM_201283
- [0958] Genbank版本号NM_201283.1GI:41327733
- [0959] Genbank记录更新日期:2012年9月30日下午01:47
- [0960] 多肽
- [0961] Genbank登录号NP_958440
- [0962] Genbank版本号NP_958440.1GI:41327734
- [0963] Genbank记录更新日期:2012年9月30日下午01:47
- [0964] 交叉参考
- [0965] Batra SK.等Cell Growth Differ 1995;6:1251-1259。
- [0966] 抗体:
- [0967] US7,628,986和US7,736,644 (Amgen)
- [0968] 例如,重链可变区氨基酸序列,其选自由SEQ ID NO:142和变体组成的组,以及轻链可变区氨基酸序列,其选自由SEQ ID NO:144和变体组成的组。
- [0969] US20100111979 (Amgen)
- [0970] 例如,一种抗体,该抗体包含重链氨基酸序列,其包含:
- [0971] 由序列组成的CDR1,所述序列选自由用于抗体13.1.2 (SEQ ID NO:138)、131 (SEQ ID NO:2)、170 (SEQ ID NO:4)、150 (SEQ ID NO:5)、095 (SEQ ID NO:7)、250 (SEQ ID NO:9)、139 (SEQ ID NO:10)、211 (SEQ ID NO:12)、124 (SEQ ID NO:13)、318 (SEQ ID NO:15)、342 (SEQ ID NO:16)、和333 (SEQ ID NO:17) 的CDR1区的氨基酸序列组成的组;由序列组成的CDR2,所述序列选自由用于抗体13.1.2 (SEQ ID NO:138)、131 (SEQ ID NO:2)、170 (SEQ ID

NO:4)、150 (SEQ ID NO:5)、095 (SEQ ID NO:7)、250 (SEQ ID NO:9)、139 (SEQ ID NO:10)、211 (SEQ ID NO:12)、124 (SEQ ID NO:13)、318 (SEQ ID NO:15)、342 (SEQ ID NO:16)、和333 (SEQ ID NO:17)的CDR2区的氨基酸序列组成的组;以及

[0972] 由序列组成的CDR3,所述序列选自由用于抗体13.1.2 (SEQ ID NO:138)、131 (SEQ ID NO:2)、170 (SEQ ID NO:4)、150 (SEQ ID NO:5)、095 (SEQ ID NO:7)、250 (SEQ ID NO:9)、139 (SEQ ID NO:10)、211 (SEQ ID NO:12)、124 (SEQ ID NO:13)、318 (SEQ ID NO:15)、342 (SEQ ID NO:16)、和333 (SEQ ID NO:17)的CDR3区的氨基酸序列组成的组。

[0973] US20090240038 (Amgen)

[0974] 例如,具有重链或轻链多肽的至少之一的抗体包含氨基酸序列,其至少90%相同于选自由SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:142、SEQ ID NO:144、以及它们的任何组合组成的组的氨基酸序列。

[0975] US20090175887 (Amgen)

[0976] 例如,一种抗体,该抗体具有重链氨基酸序列,其选自由抗体13.1.2 (SEQ ID NO:138)、131 (SEQ ID NO:2)、170 (SEQ ID NO:4)、150 (SEQ ID NO:5)、095 (SEQ ID NO:7)、250 (SEQ ID NO:9)、139 (SEQ ID NO:10)、211 (SEQ ID NO:12)、124 (SEQ ID NO:13)、318 (SEQ ID NO:15)、342 (SEQ ID NO:16)、和333 (SEQ ID NO:17)的重链氨基酸序列组成的组。

[0977] US20090156790 (Amgen)

[0978] 例如,具有重链多肽和轻链多肽的抗体,其中重链或轻链多肽的至少之一包含氨基酸序列,其至少90%相同于选自由SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:142、SEQ ID NO:144、以及它们的任何组合组成的组的氨基酸序列。

[0979] US20090155282、US20050059087和US20050053608 (Amgen)

[0980] 例如,抗体重链氨基酸序列,其选自由抗体13.1.2 (SEQ ID NO:138)、131 (SEQ ID NO:2)、170 (SEQ ID NO:4)、150 (SEQ ID NO:5)、095 (SEQ ID NO:7)、250 (SEQ ID NO:9)、139 (SEQ ID NO:10)、211 (SEQ ID NO:12)、124 (SEQ ID NO:13)、318 (SEQ ID NO:15)、342 (SEQ ID NO:16)、和333 (SEQ ID NO:17)的重链氨基酸序列组成的组。

[0981] MR1-1 (US7,129,332;Duke)

[0982] 例如,变体抗体,其具有SEQ ID NO.18的序列,其中具有取代,在CDR3VH中的S98P-T99Y,以及在CDR3VL中的F92W。

[0983] L8A4,H10,Y10 (Wikstrand CJ.等Cancer Res.1995年7月15日;55(14):3140-8;Duke)

[0984] US20090311803 (Harvard University)

[0985] 例如,用于抗体重链可变区的SEQ ID NO:9,以及用于轻链可变区氨基酸序列的SEQ ID NO:3

[0986] US20070274991 (EMD72000,还被称为马妥珠单抗;Harvard University)

[0987] 例如,分别用于轻链和重链的SEQ ID NO:3和9

[0988] US6,129,915 (Schering)

[0989] 例如,SEQ.ID NO:1、2、3、4、5和6。

[0990] mAb CH12-Wang H.等FASEB J.2012年1月;26(1):73-80 (上海肿瘤研究所)。

[0991] RAbDMvIII-Gupta P.等BMC Biotechnol.2010年10月7日;10:72 (Stanford

University Medical Center)。

[0992] mAb Ua30-Ohman L.等Tumour Biol.2002年3月-4月;23(2):61-9(Uppsala University)。

[0993] Han DG.等Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.2010年1月;30(1):25-9(西安交通大学)。

[0994] (46) CD33 (CD33分子)

[0995] 核苷酸

[0996] Genbank登录号M_23197

[0997] Genbank版本号NM_23197.1GI:180097

[0998] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:47

[0999] 多肽

[1000] Genbank登录号AAA51948

[1001] Genbank版本号AAA51948.1GI:188098

[1002] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:47

[1003] 交叉参考

[1004] Simmons D.等J.Immunol.141(8),2797-2800(1988)

[1005] 其他信息

[1006] 官方代号:CD33

[1007] 其他别名:SIGLEC-3、SIGLEC3、p67

[1008] 其他名称:CD33抗原(gp67);gp67;髓样细胞表面抗原CD33;唾液酸结合Ig样凝集素3;唾液酸结合Ig样凝集素

[1009] 抗体

[1010] H195(林妥珠单抗,Lintuzumab)-Raza A.等Leuk Lymphoma.2009年8月;50(8):1336-44;US6,759,045(Seattle Genetics/Immunomedics)

[1011] mAb OKT9:Sutherland,D.R.等Proc Natl Acad Sci USA 78(7):4515-4519 1981,Schneider,C.等J Biol Chem 257,8516-8522(1982)

[1012] mAb E6:Hoogenboom,H.R.等J Immunol 144,3211-3217(1990)

[1013] US6,590,088(人类基因组科学(Human Genome Sciences))

[1014] 例如,SEQ ID NO:1和2以及ATCC登录号97521

[1015] US7,557,189(Immunogen)

[1016] 例如,抗体或其片段,包含重链可变区,其包含具有SEQ ID NO:1-3的氨基酸序列的三个CDR,以及轻链可变区,其包含具有SEQ ID NO:4-6的氨基酸序列的三个CDR。

[1017] (47) CD19 (CD19分子)

[1018] 核苷酸

[1019] Genbank登录号NM_001178098

[1020] Genbank版本号NM_001178098.1GI:296010920

[1021] Genbank记录更新日期:2012年9月10日上午12:43

[1022] 多肽

[1023] Genbank登录号NP_001171569

- [1024] Genbank版本号NP_001171569.1GI:296010921
- [1025] Genbank记录更新日期:2012年9月10日上午12:43
- [1026] 交叉参考
- [1027] Tedder TF.等J.Immunol.143 (2):712-7 (1989)
- [1028] 其他信息
- [1029] 官方代号:CD19
- [1030] 其他别名:B4、CVID3
- [1031] 其他名称:B-淋巴细胞抗原CD19;B淋巴细胞表面抗原B4;T细胞表面抗原亮氨酸-12;分化抗原CD19
- [1032] 抗体
- [1033] Immunogen:HuB4-A1-Katib AM.等Clin Cancer Res.2009年6月15日;15 (12):4038-45。
- [1034] 4G7;Kügler M.等Protein Eng Des Sel.2009年3月;22 (3):135-47
- [1035] 例如,在Knappik,A.等J Mol Biol 2000年2月;296 (1):57-86的图3中的序列
- [1036] AstraZeneca/MedImmune:MEDI-551-Herbst R.等J Pharmacol Exp Ther.2010年10月;335 (1):213-22
- [1037] Glenmark Pharmaceuticals:GBR-401-Hou S.等Mol Cancer Ther2011年11月(会议摘要补充)C164
- [1038] US7,109,304 (Immunomedics)
- [1039] 例如,一种抗体,其包含hA19Vk (SEQ ID NO:7) 的序列和hA19VH (SEQ ID NO:10) 的序列
- [1040] US7,902,338 (Immunomedics)
- [1041] 例如,抗体或其抗原结合片段,其包含SEQ ID NO:16 (KASQSVDDYDGD SYLN) 的轻链互补决定区CDR序列CDR1;SEQ ID NO:17 (DASNLVS) 的CDR2;以及SEQ ID NO:18 (QQSTEDPWT) 的CDR3,以及SEQ ID NO:19 (SYWMN) 的重链CDR序列CDR1;SEQ ID NO:20 (QIWP GDGDTNYNGKFKG) 的CDR2和SEQ ID NO:21 (RETTTVGRYYYAMDY) 的CDR3,并且还包含人抗体框架 (FR) 和恒定区序列,其中一个或多个框架区氨基酸残基被亲本鼠抗体的相应的框架区序列所取代,以及其中所述取代的FR残基包含在重链可变区的Kabat残基91处丝氨酸替代苯丙氨酸。
- [1042] Medarex:MDX-1342-Cardarelli PM.等Cancer Immunol Immunother.2010年2月;59 (2):257-65。
- [1043] MorphoSys/Xencor:MOR-208/XmAb-5574-Zalevsky J.等Blood.2009年4月16日;113 (16):3735-43
- [1044] US7,968,687 (Seattle Genetics)
- [1045] 抗体或抗原结合片段,其含有包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的重链可变域和包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的轻链可变域。
- [1046] 4G7chim-Lang P.等Blood.2004年5月15日;103 (10):3982-5 (University of Tübingen)
- [1047] 例如,US20120082664的图6和SEQ ID No:80
- [1048] 浙江大学医学院:2E8-Zhang J.等J Drug Target.2010年11月;18 (9):675-8

- [1049] (48) IL2RA (白细胞介素2受体, α); NCBI参考序列: NM_000417.2);
- [1050] 核苷酸
- [1051] Genbank登录号NM_000417
- [1052] Genbank版本号NM_000417.2GI:269973860
- [1053] Genbank记录更新日期:2012年9月9日下午04:59
- [1054] 多肽
- [1055] Genbank登录号NP_000408
- [1056] Genbank版本号NP_000408.1GI:4557667
- [1057] Genbank记录更新日期:2012年9月9日下午04:59
- [1058] 交叉参考
- [1059] Kuziel W.A.等J.Invest.Dermatol.94 (6SUPPL), 27S-32S (1990)
- [1060] 其他信息
- [1061] 官方代号: IL2RA
- [1062] 其他别名: RP11-536K7.1、CD25、IDDM10、IL2R、TCGFR
- [1063] 其他名称: FIL-2受体亚基 α ; IL-2-RA; IL-2R亚基 α ; IL2-RA; TAC抗原; 白细胞介素-2受体亚基 α ; p55
- [1064] 抗体
- [1065] US6,383,487 (Novartis/UCL:Baxilisimab[舒莱 (Simulect)])
- [1066] US6,521,230 (Novartis/UCL:Baxilisimab[舒莱])
- [1067] 例如, 具有抗原结合位点的抗体包含至少一个域, 其包含具有在SEQ.ID.NO:7中的氨基酸序列的CDR1、具有在SEQ.ID.NO:8中的氨基酸序列的CDR2、和具有在SEQ.ID.NO:9中的氨基酸序列的CDR3; 或所述CDR1、CDR2和CDR3 (按整体序列考虑) 包含氨基酸序列, 其至少90%相同于SEQ.ID.NO:7、8和9 (按整体序列考虑)。
- [1068] 达克珠单抗 (Daclizumab) -Rech AJ.等Ann N Y Acad Sci.2009年9月;1174:99-106 (Roche)
- [1069] (49) AXL (AXL受体酪氨酸激酶)
- [1070] 核苷酸
- [1071] Genbank登录号M76125
- [1072] Genbank版本号M76125.1GI:292869
- [1073] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:53
- [1074] 多肽
- [1075] Genbank登录号AAA61243
- [1076] Genbank版本号AAA61243.1GI:29870
- [1077] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:53
- [1078] 交叉参考
- [1079] O'Bryan J.P.等Mol.Cell.Biol.11 (10), 5016-5031 (1991); Bergsagel P.L.等J.Immunol.148 (2), 590-596 (1992)
- [1080] 其他信息
- [1081] 官方代号: AXL

- [1082] 其他别名:JTK11、UFO
- [1083] 其他名称:AXL癌基因;AXL转化序列/基因;癌基因AXL;酪氨酸蛋白激酶受体UFO
- [1084] 抗体
- [1085] YW327.6S2-Ye X.等Oncogene.2010年9月23日;29(38):5254-64。(Genentech)
- [1086] BergenBio:BGB324 (<http://www.bergenbio.com/BGB324>)
- [1087] (50) CD30-TNFRSF8 (肿瘤坏死因子受体超家族,成员8)
- [1088] 核苷酸
- [1089] Genbank登录号M83554
- [1090] Genbank版本号M83554.1GI:180095
- [1091] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:53
- [1092] 多肽
- [1093] Genbank登录号AAA51947
- [1094] Genbank版本号AAA51947.1GI:180096
- [1095] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:53
- [1096] 交叉参考
- [1097] Durkop H.等Cell 68(3),421-427(1992)
- [1098] 其他信息
- [1099] 官方代号:TNFRSF8
- [1100] 其他别名:CD30、D1S166E、Ki-1
- [1101] 其他名称:CD30L受体;Ki-1抗原;细胞因子受体CD30;淋巴细胞活化抗原CD30;肿瘤坏死因子受体超家族成员8
- [1102] (51) BCMA (B细胞成熟抗原)-TNFRSF17 (肿瘤坏死因子受体超家族,成员17)
- [1103] 核苷酸
- [1104] Genbank登录号Z29574
- [1105] Genbank版本号Z29574.1GI:471244
- [1106] Genbank记录更新日期:2011年2月2日上午10:40
- [1107] 多肽
- [1108] Genbank登录号CAA82690
- [1109] Genbank版本号CAA82690.1GI:471245
- [1110] Genbank记录更新日期:2011年2月2日上午10:40
- [1111] 交叉参考
- [1112] Laabi Y.等Nucleic Acids Res.22(7),1147-1154(1994)
- [1113] 其他信息
- [1114] 官方代号:TNFRSF17
- [1115] 其他别名:BCM、BCMA、CD269
- [1116] 其他名称:B细胞成熟抗原;B细胞成熟因子;B细胞成熟蛋白;肿瘤坏死因子受体超家族成员17
- [1117] (52) CT Ags-CTA (睾丸癌抗原 (Cancer Testis Antigen))
- [1118] 交叉参考

[1119] Fratta E.,等Mol Oncol.2011年4月;5(2):164-82;Lim SH.等,Am J Blood Res.2012;2(1):29-35。

[1120] (53) CD174 (Lewis Y) -FUT3 (岩藻糖基转移酶3 (半乳糖苷3 (4) -L-岩藻糖基转移酶,路易斯血型)

[1121] 核苷酸

[1122] Genbank登录号NM000149

[1123] Genbank版本号NM000149.3GI:148277008

[1124] Genbank记录更新日期:2012年6月26日下午04:49

[1125] 多肽

[1126] Genbank登录号NP_000140

[1127] Genbank版本号NP_000140.1GI:4503809

[1128] Genbank记录更新日期:2012年6月26日下午04:49

[1129] 交叉参考

[1130] Kukowska-Latallo,J.F.等Genes Dev.4(8),1288-1303(1990)

[1131] 其他信息

[1132] 官方代号:FUT3

[1133] 其他别名:CD174、FT3B、FucT-III、LE、Les

[1134] 其他名称:Lewis FT; α -(1,3/1,4)-岩藻糖基转移酶;路易斯血型 α -4-岩藻糖基转移酶;岩藻糖基转移酶III;半乳糖苷3 (4) -L-岩藻糖基转移酶

[1135] (54) CLEC14A (C型凝集素域家族14,成员A;Genbank登录号NM175060)

[1136] 核苷酸

[1137] Genbank登录号NM175060

[1138] Genbank版本号NM175060.2GI:371123930

[1139] Genbank记录更新日期:2012年4月1日下午03:34

[1140] 多肽

[1141] Genbank登录号NP_778230

[1142] Genbank版本号NP_778230.1GI:28269707

[1143] Genbank记录更新日期:2012年4月1日下午03:34

[1144] 其他信息

[1145] 官方代号:CLEC14A

[1146] 其他别名:UNQ236/PRO269、C14orf27、CEG1、EGFR-5

[1147] 其他名称:C型凝集素域家族14成员A;含CIECT和EGF样域蛋白质;表皮生长因子受体5

[1148] (55) GRP78-HSPA5 (热休克70kDa蛋白5 (葡萄糖调节蛋白,78kDa)

[1149] 核苷酸

[1150] Genbank登录号NM005347

[1151] Genbank版本号NM005347.4GI:305855105

[1152] Genbank记录更新日期:2012年9月30日下午01:42

[1153] 多肽

- [1154] Genbank登录号NP_005338
- [1155] Genbank版本号NP_005338.1GI:16507237
- [1156] Genbank记录更新日期:2012年9月30日下午01:42
- [1157] 交叉参考
- [1158] Ting J.等DNA 7 (4) ,275-286 (1988)
- [1159] 其他信息
- [1160] 官方代号:HSPA5
- [1161] 其他别名:BIP、GRP78、MIF2
- [1162] 其他名称:78kDa葡萄糖调节蛋白;内质网腔Ca (2+) -结合蛋白grp78;免疫球蛋白重链-结合蛋白
- [1163] (56) CD70 (CD70分子) L08096
- [1164] 核苷酸
- [1165] Genbank登录号L08096
- [1166] Genbank版本号L08096.1GI:307127
- [1167] Genbank记录更新日期:2012年6月23日上午08:54
- [1168] 多肽
- [1169] Genbank登录号AAA36175
- [1170] Genbank版本号AAA36175.1GI:307128
- [1171] Genbank记录更新日期:2012年6月23日上午08:54
- [1172] 交叉参考
- [1173] Goodwin R.G.等Cell 73 (3) ,447-456 (1993)
- [1174] 其他信息
- [1175] 官方代号:CD70
- [1176] 其他别名:CD27L、CD27LG、TNFSF7
- [1177] 其他名称:CD27配体;CD27-L;CD70抗原;Ki-24抗原;表面抗原CD70;肿瘤坏死因子(配体)超家族,成员7;肿瘤坏死因子配体超家族成员7
- [1178] 抗体
- [1179] MDX-1411,针对CD70 (Medarex)
- [1180] h1F6 (Oflazoglu,E.,等,Clin Cancer Res.2008年10月1日;14 (19) :6171-80;Seattle Genetics)
- [1181] 例如,参见US20060083736SEQ ID NO:1、2、11和12以及图1。
- [1182] (57) 干细胞特异性抗原。例如:
- [1183] ●5T4 (见以下条目 (63))
- [1184] ●CD25 (见以下条目 (48))
- [1185] ●CD32
- [1186] ○多肽
- [1187] ■Genbank登录号ABK42161
- [1188] ■Genbank版本号ABK42161.1GI:117616286
- [1189] ■Genbank记录更新日期:2007年7月25日下午03:00

- [1190] ●LGR5/GPR49
- [1191] ○核苷酸
- [1192] ■Genbank登录号NM_003667
- [1193] ■Genbank版本号NM_003667.2GI:24475886
- [1194] ■Genbank记录更新日期:2012年7月22日下午03:38
- [1195] ○多肽
- [1196] ■Genbank登录号NP_003658
- [1197] ■Genbank版本号NP_003658.1GI:4504379
- [1198] ■Genbank记录更新日期:2012年7月22日下午03:38
- [1199] ●Prominin/CD133
- [1200] ○核苷酸
- [1201] ■Genbank登录号NM_006017
- [1202] ■Genbank版本号NM_006017.2GI:224994187
- [1203] ■Genbank记录更新日期:2012年9月30日下午01:47
- [1204] ○多肽
- [1205] ■Genbank登录号NP_006008
- [1206] ■Genbank版本号NP_006008.1GI:5174387
- [1207] ■Genbank记录更新日期:2012年9月30日下午01:47
- [1208] (58) ASG-5
- [1209] 交叉参考
- [1210] (Smith L.M.,等AACR 2010Annual Meeting (摘要#2590);Gudas J.M.等AACR 2010Annual Meeting (摘要#4393)
- [1211] 抗体
- [1212] 抗AGS-5抗体;M6.131 (Smith,L.M.,等AACR 2010Annual Meeting (摘要#2590)
- [1213] (59) ENPP3 (外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶3)
- [1214] 核苷酸
- [1215] Genbank登录号AF005632
- [1216] Genbank版本号AF005632.2GI:4432589
- [1217] Genbank记录更新日期:2010年3月10日下午09:41
- [1218] 多肽
- [1219] Genbank登录号AAC51813
- [1220] Genbank版本号AAC51813.1GI:2465540
- [1221] Genbank记录更新日期:2010年3月10日下午09:41
- [1222] 交叉参考
- [1223] Jin-Hua P.等Genomics 45 (2) ,412-415 (1997)
- [1224] 其他信息
- [1225] 官方代号:ENPP3
- [1226] 其他别名:RP5-988G15.3、B10、CD203c、NPP3、PD-IBETA、PDNP3
- [1227] 其他名称:E-NPP 3;dJ1005H11.3 (磷酸二酯酶I/核苷酸焦磷酸酶3);dJ914N13.3

(磷酸二酯酶I/核苷酸焦磷酸酶3);外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶家族成员3;gp130RB13-6;磷酸二酯酶I β ;磷酸二酯酶I/核苷酸焦磷酸酶3;磷酸二酯酶-I β

[1228] (60) PRR4 (富含脯氨酸4(泪腺的))

[1229] 核苷酸

[1230] Genbank登录号NM_007244

[1231] Genbank版本号NM_007244.2GI:154448885

[1232] Genbank记录更新日期:2012年6月28日下午12:39

[1233] 多肽

[1234] Genbank登录号NP_009175

[1235] Genbank版本号NP_009175.2GI:154448886

[1236] Genbank记录更新日期:2012年6月28日下午12:39

[1237] 交叉参考

[1238] Dickinson D.P.等Invest.Ophthalmol.Vis.Sci.36(10),2020-2031(1995)

[1239] 其他信息

[1240] 官方代号:PRR4

[1241] 其他别名:LPRP、PROL4

[1242] 其他名称:泪腺富含脯氨酸蛋白;鼻咽癌相关富含脯氨酸的蛋白4;富含脯氨酸多肽4;富含脯氨酸蛋白4

[1243] (61) GCC-GUCY2C (鸟苷酸环化酶2C(热稳定肠毒素受体))

[1244] 核苷酸

[1245] Genbank登录号NM_004963

[1246] Genbank版本号NM_004963.3GI:222080082

[1247] Genbank记录更新日期:2012年9月2日下午01:50

[1248] 多肽

[1249] Genbank登录号NP_004954

[1250] Genbank版本号NP_004954.2GI:222080083

[1251] Genbank记录更新日期:2012年9月2日下午01:50

[1252] 交叉参考

[1253] De Sauvage F.J.等J.Biol.Chem.266(27),17912-17918(1991);Singh S.等Biochem.Biophys.Res.Commun.179(3),1455-1463(1991)

[1254] 其他信息

[1255] 官方代号:GUCY2C

[1256] 其他别名:DIAR6、GUC2C、MUCIL、STAR

[1257] 其他名称:GC-C;STA受体;鸟苷酸环化酶C;hSTAR;热稳定肠毒素受体;肠鸟苷酸环化酶

[1258] (62) Liv-1-SLC39A6 (溶质载体家族39(锌转运蛋白),成员6)

[1259] 核苷酸

[1260] Genbank登录号U41060

[1261] Genbank版本号U41060.2GI:12711792

- [1262] Genbank记录更新日期:2009年11月30日下午04:35
- [1263] 多肽
- [1264] Genbank登录号AAA96258
- [1265] Genbank版本号AAA96258.2GI:12711793
- [1266] Genbank记录更新日期:2009年11月30日下午04:35
- [1267] 交叉参考
- [1268] Taylor KM.等Biochim Biophys Acta.2003年4月1日;1611(1-2):16-30
- [1269] 其他信息
- [1270] 官方代号:SLC39A6
- [1271] 其他别名:LIV-1
- [1272] 其他名称:LIV-1蛋白,雌激素调节的;ZIP-6;雌激素调节蛋白LIV-1;溶质载体家族39(金属离子转运蛋白),成员6;溶质载体家族39成员6;锌转运蛋白ZIP6;zrt-和Irt-样蛋白6
- [1273] (63) 5T4,滋养层糖蛋白,TPBG-TPBG(滋养层糖蛋白)
- [1274] 核苷酸
- [1275] Genbank登录号AJ012159
- [1276] Genbank版本号AJ012159.1GI:3805946
- [1277] Genbank记录更新日期:2011年2月1日上午10:27
- [1278] 多肽
- [1279] Genbank登录号CAA09930
- [1280] Genbank版本号CAA09930.1GI:3805947
- [1281] Genbank记录更新日期:2011年2月1日上午10:27
- [1282] 交叉参考
- [1283] King K.W.,等Biochim.Biophys.Acta 1445(3),257-270(1999)
- [1284] 其他信息
- [1285] ●官方代号:TPBG
- [1286] ●其他别名:5T4、5T4AG、M6P1
- [1287] ●其他名称:5T4癌胚抗原;5T4癌胚滋养层糖蛋白;5T4肿瘤滋养层糖蛋白
- [1288] ●参见W02015/155345
- [1289] (64) CD56-NCMA1(神经细胞粘附分子1)
- [1290] 核苷酸
- [1291] Genbank登录号NM_000615
- [1292] Genbank版本号NM_000615.6GI:336285433
- [1293] Genbank记录更新日期:2012年9月23日下午02:32
- [1294] 多肽
- [1295] Genbank登录号NP_000606
- [1296] Genbank版本号NP_000606.3GI:94420689
- [1297] Genbank记录更新日期:2012年9月23日下午02:32
- [1298] 交叉参考

- [1299] Dickson, G., 等, Cell 50 (7), 1119-1130 (1987)
- [1300] 其他信息
- [1301] 官方代号: NCAM1
- [1302] 其他别名: CD56、MSK39、NCAM
- [1303] 其他名称: 由单克隆抗体5.1H11识别的抗原; 神经细胞粘附分子, NCAM
- [1304] 抗体
- [1305] Immunogen: HuN901 (Smith SV. 等 Curr Opin Mol Ther. 2005年8月; 7 (4): 394-401)
- [1306] 例如, 参见由鼠N901抗体的人源化。参见 Roguska, M.A., 等 Proc Natl Acad Sci USA 1994年2月; 91: 969-973的图1b和1e。
- [1307] (65) CanAg (肿瘤相关抗原CA242)
- [1308] 交叉参考
- [1309] Haglund C. 等 Br J Cancer 60: 845-851, 1989; Baeckstrom D. 等 J Biol Chem 266: 21537-21547, 1991
- [1310] 抗体
- [1311] huC242 (Tolcher AW 等, J Clin Oncol. 2003年1月15日; 21 (2): 211-22; Immunogen)
- [1312] 例如, 参见 US20080138898A1 SEQ ID NO: 1 和 2
- [1313] (66) FOLR1 (叶酸盐受体1)
- [1314] 核苷酸
- [1315] Genbank 登录号 J05013
- [1316] Genbank 版本号 J05013.1GI: 182417
- [1317] Genbank 记录更新日期: 2010年6月23日上午08:47
- [1318] 多肽
- [1319] Genbank 登录号 AAA35823
- [1320] Genbank 版本号 AAA35823.1GI: 182418
- [1321] Genbank 记录更新日期: 2010年6月23日上午08:47
- [1322] 交叉参考
- [1323] Elwood P.C. 等 J. Biol. Chem. 264 (25), 14893-14901 (1989)
- [1324] 其他信息
- [1325] 官方代号: FOLR1
- [1326] 其他别名: FBP、FOLR
- [1327] 其他名称: FR- α ; KB细胞FBP; 成年叶酸结合蛋白; 叶酸结合蛋白; 叶酸盐受体 α ; 叶酸受体, 成年; 卵巢肿瘤相关抗原MOv18
- [1328] 抗体
- [1329] M9346A-Whiteman KR. 等 Cancer Res 2012年4月15日; 72 (8增刊): 4628 (Immunogen)
- [1330] (67) GPNMB (糖蛋白 (跨膜) nmb)
- [1331] 核苷酸

- [1332] Genbank登录号X76534
- [1333] Genbank版本号X76534.1GI:666042
- [1334] Genbank记录更新日期:2011年2月2日上午10:10
- [1335] 多肽
- [1336] Genbank登录号CAA54044
- [1337] Genbank版本号CAA54044.1GI:666043
- [1338] Genbank记录更新日期:2011年2月2日上午10:10
- [1339] 交叉参考
- [1340] Weterman M.A.等Int.J.Cancer 60 (1) ,73-81 (1995)
- [1341] 其他信息
- [1342] 官方代号:GPNMB
- [1343] 其他别名:UNQ1725/PRO9925、HGFIN、NMB
- [1344] 其他名称:糖蛋白NMB;糖蛋白nmb样蛋白;骨活素 (osteoactivin);跨膜糖蛋白HGFIN;跨膜糖蛋白NMB
- [1345] 抗体
- [1346] Celldex Therapeutics:CR011 (Tse KF.等Clin Cancer Res.2006年2月15日;12 (4) :1373-82)
- [1347] 例如,参见EP1827492B1SEQ ID NO:22、24、26、31、33和35
- [1348] (68) TIM-1-HAVCR1 (甲型肝炎病毒细胞受体1)
- [1349] 核苷酸
- [1350] Genbank登录号AF043724
- [1351] Genbank版本号AF043724.1GI:2827453
- [1352] Genbank记录更新日期:2010年3月10日下午06:24
- [1353] 多肽
- [1354] Genbank登录号AAC39862
- [1355] Genbank版本号AAC39862.1GI:2827454
- [1356] Genbank记录更新日期:2010年3月10日下午06:24
- [1357] 交叉参考
- [1358] Feigelsstock D.等J.Virol.72 (8) ,6621-6628 (1998)
- [1359] 其他信息
- [1360] 官方代号:HAVCR1
- [1361] 其他别名:HAVCR、HAVCR-1、KIM-1、KIM1、TIM、TIM-1、TIM1、TIMD-1、TIMD1
- [1362] 其他名称:T细胞免疫球蛋白域和粘蛋白域蛋白1;T细胞膜蛋白1;肾损伤分子1
- [1363] (69) RG-1/前列腺肿瘤靶Mindin-Mindin/RG-1
- [1364] 交叉参考
- [1365] Parry R.等Cancer Res.2005年9月15日;65 (18) :8397-405
- [1366] (70) B7-H4-VTCN1 (包含T细胞活化抑制剂的V-set域1
- [1367] 核苷酸
- [1368] Genbank登录号BX648021

- [1369] Genbank版本号BX648021.1GI:34367180
- [1370] Genbank记录更新日期:2011年2月2日上午08:40
- [1371] 交叉参考
- [1372] Sica GL.等Immunity.2003年6月;18(6):849-61
- [1373] 其他信息
- [1374] 官方代号:VTCN1
- [1375] 其他别名:RP11-229A19.4、B7-H4、B7H4、B7S1、B7X、B7h.5、PR01291、VCTN1
- [1376] 其他名称:B7家族成员,H4;B7超家族成员1;T细胞共刺激分子B7x;T细胞共刺激分子B7x;包含T细胞活化抑制剂的V-set域1;免疫共刺激蛋白B7-H4
- [1377] (71) PTK7 (PTK7蛋白酪氨酸激酶7)
- [1378] 核苷酸
- [1379] Genbank登录号AF447176
- [1380] Genbank版本号AF447176.1GI:17432420
- [1381] Genbank记录更新日期:2008年11月28日下午01:51
- [1382] 多肽
- [1383] Genbank登录号AAL39062
- [1384] Genbank版本号AAL39062.1GI:17432421
- [1385] Genbank记录更新日期:2008年11月28日下午01:51
- [1386] 交叉参考
- [1387] Park S.K.等J.Biochem.119(2),235-239(1996)
- [1388] 其他信息
- [1389] 官方代号:PTK7
- [1390] 其他别名:CCK-4、CCK4
- [1391] 其他名称:结肠癌激酶4;失活酪氨酸蛋白激酶7;假酪氨酸激酶受体7;酪氨酸蛋白激酶样7
- [1392] (72) CD37 (CD37分子)
- [1393] 核苷酸
- [1394] Genbank登录号NM_001040031
- [1395] Genbank版本号NM_001040031.1GI:91807109
- [1396] Genbank记录更新日期:2012年7月29日下午02:08
- [1397] 多肽
- [1398] Genbank登录号NP_001035120
- [1399] Genbank版本号NP_001035120.1GI:91807110
- [1400] Genbank记录更新日期:2012年7月29日下午02:08
- [1401] 交叉参考
- [1402] Schwartz-Albiez R.等J.Immunol.140(3),905-914(1988)
- [1403] 其他信息
- [1404] 官方代号:CD37
- [1405] 其他别名:GP52-40、TSPAN26

- [1406] 其他名称:CD37抗原;细胞分化抗原37;白细胞抗原CD37;白细胞表面抗原CD37;四旋蛋白-26(tetraspanin-26);tsan-26
- [1407] 抗体
- [1408] Boehringer Ingelheim:mAb 37.1(Heider KH.等Blood.2011年10月13日;118(15):4159-68)
- [1409] Trubion:CD37-SMIP(G28-1scFv-Ig)((Zhao X.等Blood.2007;110:2569-2577)
- [1410] 例如,参见US20110171208A1SEQ ID NO:253
- [1411] Immunogen:K7153A(Deckert J.等Cancer Res,2012年4月15日;72(8增补):4625)
- [1412] (73)CD138-SDC1(多配体聚糖1(syndecan 1))
- [1413] 核苷酸
- [1414] Genbank登录号AJ551176
- [1415] Genbank版本号AJ551176.1GI:29243141
- [1416] Genbank记录更新日期:2011年2月1日下午12:09
- [1417] 多肽
- [1418] Genbank登录号CAD80245
- [1419] Genbank版本号CAD80245.1GI:29243142
- [1420] Genbank记录更新日期:2011年2月1日下午12:09
- [1421] 交叉参考
- [1422] O'Connell FP.等Am J Clin Pathol.2004年2月;121(2):254-63
- [1423] 其他信息
- [1424] 官方代号:SDC1
- [1425] 其他别名:CD138、SDC、SYND1、多配体聚糖
- [1426] 其他名称:CD138抗原;硫酸乙酰肝素蛋白多糖成纤维细胞生长因子受体;多配体聚糖蛋白多糖1;多配体聚糖-1
- [1427] 抗体
- [1428] Biotest:嵌合MAb(nBT062)-(Jagannath S.等Poster ASH#3060,2010;WIPO专利申请W0/2010/128087)
- [1429] 例如,参见US20090232810SEQ ID NO:1和2
- [1430] Immunogen:B-B4(Tassone P.等Blood 104_3688-3696)
- [1431] 例如,参见US20090175863A1SEQ ID NO:1和2
- [1432] (74)CD74(CD74分子,主要组织相容性复合物,II类不变链)
- [1433] 核苷酸
- [1434] Genbank登录号NM_004355
- [1435] Genbank版本号NM_004355.1GI:343403784
- [1436] Genbank记录更新日期:2012年9月23日下午02:30
- [1437] 多肽
- [1438] Genbank登录号NP_004346
- [1439] Genbank版本号NP_004346.1GI:10835071
- [1440] Genbank记录更新日期:2012年9月23日下午02:30

- [1441] 交叉参考
- [1442] Kudo, J.等Nucleic Acids Res.13 (24) ,8827-8841 (1985)
- [1443] 其他信息
- [1444] 官方代号:CD74
- [1445] 其他别名:DHLA G、HLA DG、II、Ia-GAMMA
- [1446] 其他名称:CD74抗原(主要组织相容性复合物的不变多肽,II类抗原相关的);HLA类II组织相容性抗原 γ 链;HLA-DR抗原相关的不变链;HLA-DR- γ ;Ia-相关的不变链;MHC HLA-DR γ 链;II类抗原的 γ 链;p33
- [1447] 抗体
- [1448] Immunomedics:hLL1 (Milatuzumab,) -Berkova Z.等Expert Opin Investig Drugs.2010年1月;19 (1) :141-9)
- [1449] 例如,参见US20040115193SEQ ID NO:19、20、21、22、23和24
- [1450] Genmab:HuMax-CD74 (参见网站)
- [1451] (75) Claudins (整合膜连接蛋白) -CLs (Claudins)
- [1452] 交叉参考
- [1453] Offner S.等Cancer Immunol Immunother.2005年5月;54 (5) :431-45,Suzuki H.等Ann N Y Acad Sci.2012年7月;1258:65-70)
- [1454] 在人类中,已经描述了家族的24种成员-见交叉参考。
- [1455] (76) EGFR (表皮生长因子受体)
- [1456] 核苷酸
- [1457] Genbank登录号NM_005228
- [1458] Genbank版本号NM_005228.3GI:41927737
- [1459] Genbank记录更新日期:2012年9月30日下午01:47
- [1460] 多肽
- [1461] Genbank登录号NP_005219
- [1462] Genbank版本号NP_005219.2GI:29725609
- [1463] Genbank记录更新日期:2012年9月30日下午01:47
- [1464] 交叉参考
- [1465] Dhomen NS.等Crit Rev Oncog.2012;17 (1) :31-50
- [1466] 其他信息
- [1467] 官方代号:EGFR
- [1468] 其他别名:ERBB、ERBB1、HER1、PIG61、mENA
- [1469] 其他名称:禽成红细胞白血病病毒(v-erb-b) 癌基因同系物;细胞生长抑制蛋白40;细胞增殖诱导蛋白61;原癌基因c-ErbB-1;受体酪氨酸蛋白激酶erbB-1
- [1470] 抗体
- [1471] BMS:Cetuximab (Erbix) -Broadbridge VT.等Expert Rev Anticancer Ther.2012年5月;12 (5) :555-65。
- [1472] 例如,见US6217866-ATTC保藏号9764。
- [1473] Amgen:帕尼单抗 (Panitumumab) (Vectibix) -Argiles G.等Future Oncol.2012年

4月;8(4):373-89

[1474] 例如,见US6235883SEQ ID NO:23-38。

[1475] Genmab:扎妥木单抗 (Zalutumumab) -Rivera F.等Expert Opin Biol Ther.2009年5月;9(5):667-74。

[1476] YM Biosciences:尼妥珠单抗 (Nimotuzumab) -Ramakrishnan MS.等MAbs.2009年1月-2月;1(1):41-8。

[1477] 例如,见US5891996SEQ ID NO:27-34。

[1478] (77) Her3 (ErbB3) -ERBB3 (v-erb-b2成红细胞白血病病毒癌基因同系物3(禽))

[1479] 核苷酸

[1480] Genbank登录号M34309

[1481] Genbank版本号M34309.1GI:183990

[1482] Genbank记录更新日期:2010年6月23日下午08:47

[1483] 多肽

[1484] Genbank登录号AAA35979

[1485] Genbank版本号AAA35979.1GI:306841

[1486] Genbank记录更新日期:2010年6月23日下午08:47

[1487] 交叉参考

[1488] Plowman,G.D.等,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.87(13),4905-4909(1990)

[1489] 其他信息

[1490] 官方代号:ERBB3

[1491] 其他别名:ErbB-3、HER3、LCCS2、MDA-BF-1、c-erbB-3、c-erbB3、erbB3-S、p180-ErbB3、p45-sErbB3、p85-sErbB3

[1492] 其他名称:原癌基因样蛋白c-ErbB-3;受体酪氨酸蛋白激酶erbB-3;酪氨酸激酶型细胞表面受体HER3

[1493] 抗体

[1494] Merimack Pharma:MM-121 (Schoeberl B.等Cancer Res.2010年3月15日;70(6):2485-2494)

[1495] 例如,见US2011028129SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7和8。

[1496] (78) RON-MST1R (巨噬细胞刺激1受体(c-met相关酪氨酸激酶))

[1497] 核苷酸

[1498] Genbank登录号X70040

[1499] Genbank版本号X70040.1GI:36109

[1500] Genbank记录更新日期:2011年2月2日下午10:17

[1501] 多肽

[1502] Genbank登录号CCA49634

[1503] Genbank版本号CCA49634.1GI:36110

[1504] Genbank记录更新日期:2011年2月2日下午10:17

[1505] 交叉参考

[1506] Ronsin C.等Oncogene 8(5),1195-1202(1993)

- [1507] 其他信息
- [1508] 官方代号:MST1R
- [1509] 其他别名:CD136、CDw136、PTK8、RON
- [1510] 其他名称:MSP受体;MST1R变体RON30;MST1R变体RON62;PTK8蛋白酪氨酸激酶8;RON变体E2E3;c-met相关酪氨酸激酶;巨噬细胞刺激蛋白受体;p185-Ron;可溶性RON变体1;可溶性RON变体2;可溶性RON变体3;可溶性RON变体4
- [1511] (79) EPHA2 (EPH受体A2)
- [1512] 核苷酸
- [1513] Genbank登录号BC037166
- [1514] Genbank版本号BC037166.2GI:33879863
- [1515] Genbank记录更新日期:2012年3月6日下午01:59
- [1516] 多肽
- [1517] Genbank登录号AAH37166
- [1518] Genbank版本号AAH37166.1GI:22713539
- [1519] Genbank记录更新日期:2012年3月6日下午01:59
- [1520] 交叉参考
- [1521] Strausberg R.L.等Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.99 (26) ,16899-16903 (2002)
- [1522] 其他信息
- [1523] 官方代号:EPHA2
- [1524] 其他别名:ARCC2、CTPA、CTPP1、ECK
- [1525] 其他名称:ephrin A型受体2;上皮细胞受体蛋白酪氨酸激酶;可溶性EPHA2变体1;酪氨酸蛋白激酶受体ECK
- [1526] 抗体
- [1527] Medimmune:1C1 (Lee JW.等Clin Cancer Res.2010年5月1日;16 (9) :2562-2570)
- [1528] 例如,见US20090304721A1的图7和8。
- [1529] (80) CD20-MS4A1 (跨膜4域,亚家族A,成员1)
- [1530] 核苷酸
- [1531] Genbank登录号M27394
- [1532] Genbank版本号M27394.1GI:179307
- [1533] Genbank记录更新日期:2009年11月30日上午11:16
- [1534] 多肽
- [1535] Genbank登录号AAA35581
- [1536] Genbank版本号AAA35581.1GI:179308
- [1537] Genbank记录更新日期:2009年11月30日上午11:16
- [1538] 交叉参考
- [1539] Tedder T.F.等Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.85 (1) ,208-212 (1988)
- [1540] 其他信息
- [1541] 官方代号:MS4A1
- [1542] 其他别名:B1、Bp35、CD20、CVID5、LEU-16、MS4A2、S7

[1543] 其他名称:B-淋巴细胞抗原CD20;B淋巴细胞细胞表面抗原B1;CD20抗原;CD20受体;白细胞表面抗原Leu-16

[1544] 抗体

[1545] Genentech/Roche:利妥昔单抗-Abdulla NE.等BioDrugs.2012年4月1日;26(2):71-82。

[1546] 例如,见US5736137,ATCC保藏号为HB-69119。

[1547] GSK/Genmab:奥法木单抗-Nightingale G.等Ann Pharmacother.2011年10月;45(10):1248-55。

[1548] 例如,见US20090169550A1SEQ ID NO:2、4和5。

[1549] Immunomedics:Veltuzumab-Goldenberg DM.等Leuk Lymphoma.2010年5月;51(5):747-55。

[1550] 例如,见US7919273B2SEQ ID NO:1、2、3、4、5和6。

[1551] (81) 腱生蛋白C(肌腱蛋白C,Tenascin C)-TNC(腱生蛋白C)

[1552] 核苷酸

[1553] Genbank登录号NM_002160

[1554] Genbank版本号NM_002160.3GI:340745336

[1555] Genbank记录更新日期:2012年9月23日下午02:33

[1556] 多肽

[1557] Genbank登录号NP_002151

[1558] Genbank版本号NP_002151.2GI:153946395

[1559] Genbank记录更新日期:2012年9月23日下午02:33

[1560] 交叉参考

[1561] Nies D.E.等J.Biol.Chem.266(5),2818-2823(1991);Siri A.等Nucleic Acids Res.19(3),525-531(1991)

[1562] 其他信息

[1563] 官方代号:TNC

[1564] 其他别名:150-225、GMEM、GP、HXB、JI、TN、TN-C

[1565] 其他名称:GP 150-225;肌链抗原(cytotactin);胶质瘤相关细胞外基质抗原;hexabrachion(腱生蛋白);肌腱抗原;神经粘连蛋白;腱生蛋白;腱生蛋白-C同种型14/AD1/16

[1566] 抗体

[1567] Philogen:G11(von Lukowicz T.,等J Nucl Med.2007年4月;48(4):582-7)和F16(Pedretti M.等Lung Cancer.2009年4月;64(1):28-33)

[1568] 例如,见US7968685SEQ ID NO:29、35、45和47。

[1569] (82) FAP(成纤维细胞活化蛋白, α)

[1570] 核苷酸

[1571] Genbank登录号U09278

[1572] Genbank版本号U09278.1GI:1888315

[1573] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午09:22

- [1574] 多肽
- [1575] Genbank登录号AAB49652
- [1576] Genbank版本号AAB49652.1GI:1888316
- [1577] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午09:22
- [1578] 交叉参考
- [1579] Scanlan,M.J.,等Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.91 (12) ,5657-5661 (1994)
- [1580] 其他信息
- [1581] 官方代号:FAP
- [1582] 其他别名:DPPIV、FAPA
- [1583] 其他名称:170kDa黑素瘤膜结合明胶酶;整合膜丝氨酸蛋白酶;透明质酸酶(seprase)
- [1584] (83) DKK-1 (Dickkopf 1同系物(光滑爪蟾,Xenopus laevis))
- [1585] 核苷酸
- [1586] Genbank登录号NM_012242
- [1587] Genbank版本号NM_012242.2GI:61676924
- [1588] Genbank记录更新日期:2012年9月30日下午01:48
- [1589] 多肽
- [1590] Genbank登录号NP_036374
- [1591] Genbank版本号NP_036374.1GI:7110719
- [1592] Genbank记录更新日期:2012年9月30日下午01:48
- [1593] 交叉参考
- [1594] Fedi P.等J.Biol.Chem.274 (27) ,19465-19472 (1999)
- [1595] 其他信息
- [1596] 官方代号:DKK1
- [1597] 其他别名:UNQ492/PRO1008、DKK-1、SK
- [1598] 其他名称:dickkopf相关蛋白-1;dickkopf-1样;dickkopf样蛋白1;dickkopf相关蛋白1;hDkk-1
- [1599] 抗体
- [1600] Novartis:BHQ880 (Fulciniti M.等Blood.2009年7月9日;114 (2) :371-379)
- [1601] 例如,见US20120052070A1SEQ ID NO:100和108。
- [1602] (84) CD52 (CD52分子)
- [1603] 核苷酸
- [1604] Genbank登录号NM_001803
- [1605] Genbank版本号NM_001803.2GI:68342029
- [1606] Genbank记录更新日期:2012年9月30日下午01:48
- [1607] 多肽
- [1608] Genbank登录号NP_001794
- [1609] Genbank版本号NP_001794.2GI:68342030
- [1610] Genbank记录更新日期:2012年9月30日下午01:48

- [1611] 交叉参考
- [1612] Xia M.Q.等Eur.J.Immunol.21 (7) ,1677-1684 (1991)
- [1613] 其他信息
- [1614] 官方代号:CD52
- [1615] 其他别名:CDW52
- [1616] 其他名称:CAMPATH-1抗原;CD52抗原 (CAMPATH-1抗原);CDW52抗原 (CAMPATH-1抗原);剑桥病理1抗原;附睾分泌蛋白E5;he5;人附睾特异蛋白5
- [1617] 抗体
- [1618] 阿仑单抗 (Campath) -Skoetz N.等Cochrane Database Syst Rev.2012年2月15日;2:CD008078。
- [1619] 例如,见Drugbank Acc.号DB00087 (BIOD00109,BTD00109)
- [1620] (85) CS1-SLAMF7 (SLAM家族成员7)
- [1621] 核苷酸
- [1622] Genbank登录号NM_021181
- [1623] Genbank版本号NM_021181.3GI:1993571
- [1624] Genbank记录更新日期:2012年6月29日上午11:24
- [1625] 多肽
- [1626] Genbank登录号NP_067004
- [1627] Genbank版本号NP_067004.3GI:19923572
- [1628] Genbank记录更新日期:2012年6月29日上午11:24
- [1629] 交叉参考
- [1630] Boles K.S.等Immunogenetics 52 (3-4) ,302-307 (2001)
- [1631] 其他信息
- [1632] 官方代号:SLAMF7
- [1633] 其他别名:UNQ576/PRO1138、19A、CD319、CRACC、CS1
- [1634] 其他名称:19A24蛋白;CD2子集 (subset) 1;CD2样受体活化细胞毒性细胞;CD2样受体活化细胞毒性细胞;膜蛋白FOAP-12;新LY9 (淋巴细胞抗原9) 样蛋白;蛋白19A
- [1635] 抗体
- [1636] BMS:elotuzumab/HuLuc63 (Benson DM.等J Clin Oncol.2012年6月1日;30 (16) :2013-2015)
- [1637] 例如,见US20110206701SEQ ID NO:9、10、11、12、13、14、15和16。
- [1638] (86) Endoglin-ENG (内皮糖蛋白)
- [1639] 核苷酸
- [1640] Genbank登录号AF035753
- [1641] Genbank版本号AF035753.1GI:3452260
- [1642] Genbank记录更新日期:2010年3月10日下午06:36
- [1643] 多肽
- [1644] Genbank登录号AAC32802
- [1645] Genbank版本号AAC32802.1GI:3452261

- [1646] Genbank记录更新日期:2010年3月10日下午06:36
- [1647] 交叉参考
- [1648] Rius C.等Blood 92 (12) ,4677-4690 (1998)
- [1649] 官方代号:ENG
- [1650] 其他信息
- [1651] 其他别名:RP11-228B15.2、CD105、END、HHT1、ORW、ORW1
- [1652] 其他名称:CD105抗原
- [1653] (87) 膜联蛋白A1-ANXA1 (膜联蛋白A1)
- [1654] 核苷酸
- [1655] Genbank登录号X05908
- [1656] Genbank版本号X05908.1GI:34387
- [1657] Genbank记录更新日期:2011年2月2日上午10:02
- [1658] 多肽
- [1659] Genbank登录号CCA29338
- [1660] Genbank版本号CCA29338.1GI:34388
- [1661] Genbank记录更新日期:2011年2月2日上午10:02
- [1662] 交叉参考
- [1663] Wallner B.P.,等Nature 320 (6057) ,77-81 (1986)
- [1664] 其他信息
- [1665] 官方代号:ANXA1
- [1666] 其他别名:RP11-71A24.1、ANX1、LPC1
- [1667] 其他名称:膜联蛋白I (脂皮质蛋白I) ;膜联蛋白-1;依钙蛋白II (calpactin II) ;依钙蛋白-2;嗜铬粒结合蛋白-9;脂皮质蛋白I;p35;磷脂酶A2抑制蛋白
- [1668] (88) V-CAM (CD106) -VCAM1 (血管细胞粘附分子1)
- [1669] 核苷酸
- [1670] Genbank登录号M60335
- [1671] Genbank版本号M60335.1GI:340193
- [1672] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:56
- [1673] 多肽
- [1674] Genbank登录号AAA61269
- [1675] Genbank版本号AAA61269.1GI:340194
- [1676] Genbank记录更新日期:2010年6月23日上午08:56
- [1677] 交叉参考
- [1678] Hession C.等J.Biol.Chem.266 (11) ,6682-6685 (1991)
- [1679] 其他信息
- [1680] 官方代号VCAM1
- [1681] 其他别名:CD106、INCAM-100
- [1682] 其他名称:CD106抗原;血管细胞粘附蛋白1
- [1683] 抗体序列

- [1684] 抗整联蛋白 $\alpha\text{v}\beta 6$
- [1685] RHAB6.2
- [1686] QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGFAFTDSYMHWRQAPGGLEWMGWIDPENGDEYAPKFQGRFV
FSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCTRGTPTAVPNLRGDLQVLAQKVAGPYPFDYWGQGTLLTVSS
- [1687] RHCB6.2
- [1688] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFIDSYMHWRQAPGQRLEWMGWIDPENGDEYAPKFQGRVT
ITTDTSASTAYMELSSLRSED TAVYYCARGTPTAVPNLRGDLQVLAQKVAGPYPFDYWGQGTLLTVSS
- [1689] RHF
- [1690] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNFIDSYMHWRQAPGQRLEWMGWIDPENGDEYAPKFQGRVT
FTTDTSASTAYMELSSLRSED TAVYYCNEGTPTGPYYFDYWGQGTLLTVSS
- [1691] RHFB6
- [1692] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNFIDSYMHWRQAPGQRLEWMGWIDPENGDEYAPKFQGRVT
FTTDTSASTAYMELSSLRSED TAVYYCNEGTPTAVPNLRGDLQVLAQKVAGPYPFDYWGQGTLLTVSS
- [1693] RHAY100bP
- [1694] QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGFAFTDSYMHWRQAPGGLEWMGWIDPENGDEYAPKFQGRFV
FSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCTRGTPTGPYPFDYWGQGTLLTVSS
- [1695] RKF
- [1696] ENVLTQSPGTLSPGERATLSCSASSSVSYMHWFQQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPDRFSGSGSGTD
FTLTISRLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK
- [1697] RKFL36L50
- [1698] ENVLTQSPGTLSPGERATLSCSASSSVSYMHWLQQKPGQAPRLLIYLTSNLASGIPDRFSGSGSGTD
FTLTISRLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK
- [1699] RKC
- [1700] EIVLTQSPGTLSPGERATLSCSASSSVSYMHWFQQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPDRFSGSGSGTD
FTLTISRLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK
- [1701] 抗CD33
- [1702] CD33Hum195VH
- [1703] QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFDYNMHWRQAPGGLEWIGYIYPYNGGTGYNQKFKSKAT
ITADESTNTAYMELSSLRSED TAVYYCARGRPAMDYWGQGTLLTVSS
- [1704] CD33Hum195VK
- [1705] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESDNYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGS
GSGTDFTLTISLQPDFAITYCQQSKEVPWTFGGGTKVEIK
- [1706] 抗CD19
- [1707] CD19B4镶面的VH
- [1708] QVQLVQPGAIEVVKPGASVKLSCKTSGYTFTSNMHWVKRPGQGLEWIGEIDPSDSYTNYNQNFKGKAK
LTVDKSTSTAYMEVSSLRSDDTAVYYCARGSNPYYYAMDYWGQGTSTVTVSS
- [1709] CD19B4镶面的VK
- [1710] EIVLTQSPAISASPGERVTMTCSASSGVNYMHWYQQKPGTSPRRWIYDTSKLASGVPARFSGSGSGTS
YSLTISSMEPEDAATYYCHQRGSYTFGGGTKLEIK

- [1711] 抗Her2
- [1712] 赫赛汀VH链
- [1713] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFT
ISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLTVSS
- [1714] 赫赛汀VL链
- [1715] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGT
DFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIK
- [1716] 抗CD25
- [1717] 舒莱VK (还被称为巴利昔单抗 (Basiliximab))
- [1718] QIVSTQSPAIMASAPGEKVTMTCSASSRSYMQWYQQKPGTSPKRWIYDTSKLASGVPARFSGSGSGTS
YSLTISSMEAEDAATYYCHQRSSYTFGGGTKLEIK
- [1719] 舒莱VH
- [1720] QLQQSGTVLARPGASVKMSCKASGYSFTRYWMHWIKQRPQGLEWIGAIYPGNSDTSYNQKFEGKAKLT
AVTSASTAYMELSSLTHEDSAVYYCSRDYGYFFDFWGQGTLLTVSS
- [1721] 抗PSMA
- [1722] 去免疫VH '1
- [1723] EVQLVQSGPEVKKPGATVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQAPGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDKAT
LTVDKSTDTAYMELSSLRSEDVAVYYCAAGWNFDYWGQGTLLTVSS
- [1724] 去免疫VK '1
- [1725] DIQMTQSPSSLSTSVGDRVTLTCKASQDVGTAVDWYQQKPGSPKLLIYWASTRHTGIPSRFSGSGSGT
DFTLTISLQPEDFADYYCQQYNSYPLTFGPGTKVDIK
- [1726] 去免疫VH1 '5
- [1727] EVKLVESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR
VTISRDDSKSIVYLQMNNLRAEDTGVIYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS
- [1728] 去免疫VH2 '5
- [1729] EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCVASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR
VTISRDDSKSIVYLQMNNLRAEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS
- [1730] 去免疫VH3 '5
- [1731] EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCVASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR
VTISRDDSKSIVYLQMNNLRAEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS
- [1732] 去免疫VH4 '5
- [1733] EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCVASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR
FTISRDDSKSIVYLQMNNLRAEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS
- [1734] 去免疫VK1 '5
- [1735] NIVMTQFPSSMSASVGDRVTITCKASENVGTYSWYQQKPDQSPKMLIYGASNRFTGVPDRFTGSGSAT
DFTLTISLQTEDLADYYCGQSYTFPYTFGQGTKLEMK
- [1736] 去免疫VK2 '5
- [1737] NIVMTQFPSSMSASVGDRVTITCKASENVGTYSWYQQKPDQSPKMLIYGASNRFTGVPDRFSGSGSGT
DFTLTISLQAEDLADYYCGQSYTFPYTFGQGTKLEIK

- [1738] 去免疫VK3 '5
- [1739] NIQMTQFPSAMSASVGDRVTITCKASENVGTYSWYQQKPDQSPKMLIYGASNRFTGVPDRFSGSGSGT
DFTLTISLQAEDLDYICGQSYTFPYTFGQGTKLEIK
- [1740] 去免疫VK4 '5
- [1741] NIQMTQFPSAMSASVGDRVTITCKASENVGTYSWYQQKPDQSPKMLIYGASNRFTGVPDRFSGSGSGT
DFTLTISLQAEDLDYICGQSYTFPYTFGQGTKLEIK
- [1742] 去免疫VK DI '5
- [1743] NIVMTQFPKMSASAGERMTLTCKASENVGTYSWYQQKPTQSPKMLIYGASNRFTGVPDRFSGSGSGT
DFILTISVQAEDLDYICGQSYTFPYTFGGGTKLEMK
- [1744] 去免疫VH DI '5
- [1745] EVKLEESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSNYWMNWVRQASGKLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR
VIISRDDSKSSVYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTTVTVSS
- [1746] 人源化RHA '5
- [1747] EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSNYWMNWVRQASGKLEWVGEIRSQSNNFATHYAESVKGR
FTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTTVTVSS
- [1748] 人源化RHB '5
- [1749] EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSNYWMNWVRQASGKLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR
VIISRDDSKNTVYLQMNSLRTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTTVTVSS
- [1750] 人源化RHC '5
- [1751] EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSNYWMNWVRQASGKLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR
VIISRDDSKNTVYLQMNSLRTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTTVTVSS
- [1752] 人源化RHD '5
- [1753] EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSNYWMNWVRQASGKLEWVGEIRSQSNNFATHYAESVKGR
VIISRDDSKNTVYLQMNSLRTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTTVTVSS
- [1754] 人源化RHE '5
- [1755] EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSNYWMNWVRQASGKLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR
FTISRDDSKNTVYLQMNSLRTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTTVTVSS
- [1756] 人源化RHF '5
- [1757] EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSNYWMNWVRQASGKLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR
VIISRDDSKNTAYLQMNSLRTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTTVTVSS
- [1758] 人源化RHG '5
- [1759] EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSNYWMNWVRQASGKLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR
VIISRDDSKNTAYLQMNSLRTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTTVTVSS
- [1760] 人源化RKA '5
- [1761] DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCKASENVGTYSWYQQKPGTAPKLLIYGASNRFTGVPSRFSGSGSAT
DFTLTINNLPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK
- [1762] 人源化RKB '5
- [1763] DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCKASENVGTYSWYQQKPGTAPKLLIYGASNRFTGVPSRFSGSGSAT
DFTLTINNLPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

[1764] 人源化RKC '5

[1765] DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASENVGTYSWYQQKPGTAPKMLIYGASNRFTGVPSRFSGSGSAT
DFTLTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

[1766] 人源化RKD '5

[1767] DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASENVGTYSWYQQKPGTAPKMLIYGASNRFTGVPSRFSGSGSAT
DFTLTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

[1768] 人源化RKE '5

[1769] NIVMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASENVGTYSWYQQKPGTAPKLLIYGASNRFTGVPRFTGSGSAT
DFILTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

[1770] 人源化RKF '5

[1771] NIVMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASENVGTYSWYQQKPGTAPKMLIYGASNRFTGVPSRFSGSGSAT
DFILTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

[1772] 人源化RKG '5

[1773] NIVMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASENVGTYSWYQQKPGTAPKMLIYGASNRFTGVPRFTGSGSAT
DFTLTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

[1774] 亲本抗体还可以是融合蛋白,其包含白蛋白结合肽(ABP)序列(Dennis等(2002)“Albumin Binding As A General Strategy For Improving The Pharmacokinetics Of Proteins”J Biol Chem.277:35035-35043;WO 01/45746)。本发明的抗体包括融合蛋白,其具有由下述教导的ABP序列:(i)Dennis等(2002)J Biol Chem.277:35035-35043,表III和IV,35038页;(ii)US 2004/0001827,在[0076]节;以及(iii)WO 01/45746,12-13页,所有上述均以引用方式结合于本文。

[1775] 在一个实施方案中,抗体已经被提升到针对肿瘤相关抗原 $\alpha_v\beta_6$ 具有靶特异性。

[1776] 可以标记细胞结合剂,例如,在加入之前,以辅助检测或纯化作为缀合物或作为缀合物的一部分的细胞结合剂。标记可以是生物素标记。在另一个实施方案中,可以用放射性同位素来标记细胞结合剂。

[1777] 配体单元与配体单元的连接

[1778] 配体单元通过二硫键与配体单元相连接。

[1779] 在一个实施方案中,配体单元与药物接头之间的连接在配体单元的半胱氨酸残基的巯基与药物接头单元的马来酰亚胺基团之间形成。

[1780] 配体单元的半胱氨酸残基可用于与接头单元的官能团的反应以形成连接。在其他实施方案中,例如其中配体单元为抗体,抗体的巯基可参与链间二硫键。这些链间键可通过例如在与接头单元的官能团反应之前用DTT处理抗体而转化成游离巯基。

[1781] 在一些实施方案中,将半胱氨酸残基引入抗体的重链或轻链中。通过取代将半胱氨酸插入抗体重链或轻链中的位置包括并入本文的所公布的美国申请2007-0092940和国际专利公布W02008070593中所描述的那些。

[1782] 治疗方法

[1783] 本发明的化合物可以用于治疗方法。还提供了一种治疗方法,其包括将治疗有效量的式II的缀合物施用给需要治疗的受试者。术语“治疗有效量”是足以对患者显示益处的量。这样的益处可以是至少改善至少一种症状。施用的实际量以及施用的速率和时程将取

决于待治疗对象的特性和严重性。治疗处方,例如,对剂量的决定,是在全科医生和其他医生的责任范围内。

[1784] 可以单独地或与其他治疗组合施用缀合物(同时或相继地,其取决于待治疗的病状)。治疗和疗法的实例包括但不限于化疗(施用活性剂,包括,例如药物;手术;以及放射疗法)。

[1785] 根据本发明和根据本发明应用的药物组合物,除活性组分(即,式I的缀合物)之外,还可以包含药学上可接受的赋形剂、载体、缓冲剂、稳定剂或其他材料(本领域技术人员众所周知的)。所述物质应为无毒的并且应不干扰活性成分的功效。载体或其他材料的确切性质将取决于施用途径,所述施用途径可以是口服、或通过注射,例如皮肤、皮下、或静脉内注射。

[1786] 用于口服施用的药物组合物可以是片剂、胶囊剂、粉剂或液体形式。片剂可以包含固体载体或佐剂。液体药物组合物通常包含液体载体如水、石油、动物油或植物油、矿物油或合成油。可包含生理盐水溶液、葡萄糖或其他糖溶液或二醇类如乙二醇、丙二醇或聚乙二醇。胶囊剂可以包含固体载体如明胶。

[1787] 对于静脉内、皮肤或皮下注射、或在痛苦部位处的注射,活性成分将具有肠胃外可接受的水性溶液的形式,所述水性溶液是无热原的并具有适宜的pH、等渗性和稳定性。本领域的相关技术人员使用例如等渗媒介物如氯化钠注射液、林格氏注射液、乳酸林格氏注射液完全能够制备合适的溶液。根据需要,可以包含防腐剂、稳定剂、缓冲剂、抗氧化剂和/或其他添加剂。

[1788] 缀合物可用于治疗增殖性疾病和自身免疫疾病。术语“增殖性疾病”涉及过度或异常细胞的不需要的或不受控制的细胞增殖,其不是所期望的,如,肿瘤或增生性生长(无论是在体外或体内)。

[1789] 增殖性病状的实例包括但不限于良性、恶化前、和恶性细胞增殖,包括但不限于赘生物和肿瘤(例如组织细胞瘤、神经胶质瘤、星形细胞瘤、骨瘤)、癌症(例如肺癌、小细胞肺癌、胃肠癌、肠癌、结肠癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、肝癌、肾癌、膀胱癌、胰腺癌、脑癌、肉瘤、骨肉瘤、卡波西肉瘤、黑素瘤)、白血病、银屑病、骨疾病、纤维增殖性病症(例如结缔组织的纤维增殖性病症)、以及动脉粥样硬化。其他所关注的癌症包括但不限于血液学;恶性肿瘤,如白血病和淋巴瘤,如非霍奇金淋巴瘤、以及亚型如DLBCL、边缘区、外套层和滤泡、霍奇金淋巴瘤、AML、以及B或T细胞来源的其他癌症。

[1790] 自身免疫疾病的实例包括以下:类风湿性关节炎、自身免疫性脱髓鞘疾病(例如,多发性硬化症、变态反应性脑脊髓炎)、银屑病性关节炎、内分泌眼病、葡萄膜视网膜炎、全身性红斑狼疮、重症肌无力、格雷夫斯病、肾小球肾炎、自身免疫性肝病、炎症性肠病(例如,克罗恩病)、过敏反应、变态反应、舍格伦综合症、I型糖尿病、原发性胆汁性肝硬化、韦氏肉芽肿病(Wegener's granulomatosis)、纤维肌痛症、多肌炎、皮肌炎、多发性内分泌衰竭、施密特氏综合征(Schmidt's syndrome)、自身免疫性葡萄膜炎、爱迪生氏病(Addison's disease)、肾上腺炎、甲状腺炎、桥本氏甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis)、自身免疫性甲状腺疾病、恶性贫血、胃萎缩、慢性肝炎、狼疮样肝炎、动脉粥样硬化、亚急性皮肤型红斑狼疮、甲状旁腺功能减退症、德雷斯勒综合征(Dressler's syndrome)、自身免疫性血小板减少症、特发性血小板减少性紫癜、溶血性贫血、寻常型天疱疮、天疱疮、疱疹样皮炎、斑秃、

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

[1791] 在一些实施方案中,自身免疫性疾病是B淋巴细胞的失调(例如,系统性红斑狼疮、肺出血-肾炎综合征、类风湿性关节炎以及I型糖尿病)、Th1淋巴细胞的失调(例如,类风湿性关节炎、多发性硬化症、银屑病、干燥综合征、桥本氏甲状腺炎、格雷夫斯病、原发性胆汁性肝硬化、韦氏肉芽肿病、肺结核、或移植物抗宿主病)、或Th2淋巴细胞的失调(例如,特应性皮炎、系统性红斑狼疮、特应性哮喘、结膜炎、过敏性鼻炎、欧门氏综合征(Omenn's syndrome)、系统性硬化症、或慢性移植物抗宿主病)。一般而言,涉及树突状细胞的病症涉及Th1淋巴细胞或Th2淋巴细胞的失调。在一些实施方案中,自身免疫性病症是T细胞介导的免疫学病症。

[1792] 在一些实施方案中,所施用的缀合物的量在约0.01mg/kg/剂量至约10mg/kg/剂量的范围内。在一些实施方案中,所施用的缀合物的量在约0.01mg/kg/剂量至约5mg/kg/剂量的范围内。在一些实施方案中,所施用的缀合物的量在约0.05mg/kg/剂量至约5mg/kg/剂量的范围内。在一些实施方案中,所施用的缀合物的量在约0.1mg/kg/剂量至约5mg/kg/剂量的范围内。在一些实施方案中,所施用的缀合物的量在约0.1mg/kg/剂量至约4mg/kg/剂量的范围内。在一些实施方案中,所施用的缀合物的量在约0.05mg/kg/剂量至约3mg/kg/剂量的范围内。在一些实施方案中,所施用的缀合物的量在约0.1mg/kg/剂量至约3mg/kg/剂量的范围内。在一些实施方案中,所施用的缀合物的量在约0.1mg/kg/剂量至约2mg/kg/剂量的范围内。

[1793] 药物负载

[1794] 药物负载(p)是PBD药物的平均数/细胞结合剂,例如抗体。在本发明的化合物结合于半胱氨酸的情况下,药物负载可以为1至8个药物(D)/细胞结合剂,即其中1、2、3、4、5、6、7、和8个药物部分共价连接于细胞结合剂。缀合物的成分包括细胞结合剂的集合,例如抗

体,其缀合于1至8个药物。在本发明的化合物结合于赖氨酸的情况下,药物负载可以为1至80个药物(D)/细胞结合剂,虽然40、20、10或8的上限可以是优选的。缀合物的成分包括细胞结合剂的集合,例如抗体,其缀合于1至80、1至40、1至20、1至10或1至8个药物。

[1795] 可以通过常规方法如UV、反相HPLC、HIC、质谱法、ELISA测定、和电泳来表征在来自缀合反应的ADC的制剂中的药物/抗体的平均数。还可以确定就p而言ADC的数量分布。通过ELISA,可以确定在ADC的特定制剂中p的平均值(Hamblett等(2004) Clin.Cancer Res.10:7063-7070;Sanderson等(2005) Clin.Cancer Res.11:843-852)。然而,通过ELISA的抗体-抗原结合和检测限,无法辨别p(药物)值的分布。此外,用于检测抗体-药物缀合物的ELISA测定并不确定在何处药物部分连接于抗体,如重链或轻链片段、或特定氨基酸残基。在一些情况下,可以通过方式如反相HPLC或电泳来实现其中p是一定值的均质ADC与具有其他药物负载的ADC的分离、纯化、和表征。这样的技术也适用于其他类型的缀合物。

[1796] 对于一些抗体-药物缀合物,p可以受限于在抗体上连接位点的数目。例如,抗体可以仅具有一个或数个半胱氨酸巯基,或可以仅具有一个或数个足够反应性巯基,通过其可以连接接头。较高药物负载,例如 $p > 5$,可以引起某些抗体-药物缀合物的聚集、不溶性、毒性、或细胞通透性丧失。

[1797] 通常,在缀合反应期间,将小于理论最大值的药物部分缀合于抗体。抗体可以包含,例如,许多赖氨酸残基,其并不与药物接头反应。仅最具反应性的赖氨酸基团可以与胺-反应性接头试剂反应。同样,仅最具反应性的半胱氨酸巯基反应与巯基-反应性接头试剂可以。通常,抗体并不包含许多(如果有的话)可以连接于药物部分的游离和反应性半胱氨酸巯基。在化合物的抗体中的大多数半胱氨酸巯基残基存在为二硫桥,并且必须在部分或全部还原条件下借助于还原剂如二硫苏糖醇(DTT)或TCEP加以还原。可以以几种不同的方式来控制ADC的负载(药物/抗体比率),包括:(i)限制药物接头相对于抗体的摩尔过量,(ii)限制缀合反应时间或温度,以及(iii)用于半胱氨酸巯基修饰的部分或限制还原条件。

[1798] 某些抗体具有可还原的链间二硫键,即半胱氨酸桥。通过用还原剂如DTT(二硫苏糖醇)进行处理,可以使抗体对于与接头试剂的缀合具有反应性。因此,理论上,每个半胱氨酸桥将形成两个反应性巯基亲核体。可以通过赖氨酸与2-亚氨基硫杂环戊烷(特劳特试剂(Traut's reagent))的反应来将另外的亲核基团引入抗体,从而导致将胺转化成硫醇。可以通过设计一个、两个、三个、四个、或更多半胱氨酸残基(例如,制备包含一个或多个非天然半胱氨酸氨基酸残基的突变抗体)来将反应性巯基引入抗体(或其片段)。US 7521541教导了通过引入反应性半胱氨酸氨基酸来设计抗体。

[1799] 可以在抗体中的反应性位点处设计半胱氨酸氨基酸,并且其并不形成链内或分子间二硫连接(Junutula等,2008b Nature Biotech.,26(8):925-932;Dornan等(2009) Blood 114(13):2721-2729;US7521541;US 7723485;W02009/052249)。工程半胱氨酸巯基可以与接头试剂或本发明的药物-接头试剂反应,其具有巯基反应性、亲电子基团如马来酰亚胺或 α -卤代酰胺,以与半胱氨酸工程抗体和PBD药物部分形成ADC。因此可以设计、控制、和已知药物部分的位置。可以控制药物负载,这是因为工程半胱氨酸巯基通常以高产率与巯基-反应性接头试剂或药物-接头试剂反应。通过在重链或轻链上的单个位点处的替代,设计IgG抗体以引入半胱氨酸氨基酸会产生在对称抗体上的两个新的半胱氨酸。借助于缀合产物ADC的几乎均匀性,可以实现接近2的药物负载。

[1800] 在抗体的多于一个的亲核或亲电子基团与药物-接头中间体或接头试剂、接着是药物部分试剂反应的情况下,那么得到的产物是ADC化合物与连接于抗体的药物部分的分布的混合物,例如1、2、3等。液相色谱法如聚合物逆相 (PLRP) 和疏水性相互作用 (HIC) 可以按照药物负载值来分离在混合物中的化合物。可以分离具有单药物负载值 (p) 的ADC的制剂,然而,这些单负载值ADC可能仍然是非均匀混合物,这是因为可以经由接头在抗体上的不同位点处连接药物部分。

[1801] 因此,本发明的抗体-药物缀合物组合物包括抗体-药物缀合物化合物的混合物,其中抗体具有一个或多个PBD药物部分以及其中药物部分可以在不同的氨基酸残基处连接于抗体。

[1802] 在一个实施方案中,二聚体吡咯并苯并二氮杂~~草~~基团/细胞结合剂的平均数范围为1至20。在一些实施方案中,该范围选自1至8、2至8、2至6、2至4、以及4至8。

[1803] 在一些实施方案中,存在一个二聚体吡咯并苯并二氮杂~~草~~基团/细胞结合剂。

[1804] 一般合成路线

[1805] PBD化合物的合成在以下参考文献中进行了广泛论述,论述内容以引用方式并入本文:

[1806] a) WO 00/12508 (第14至30页);

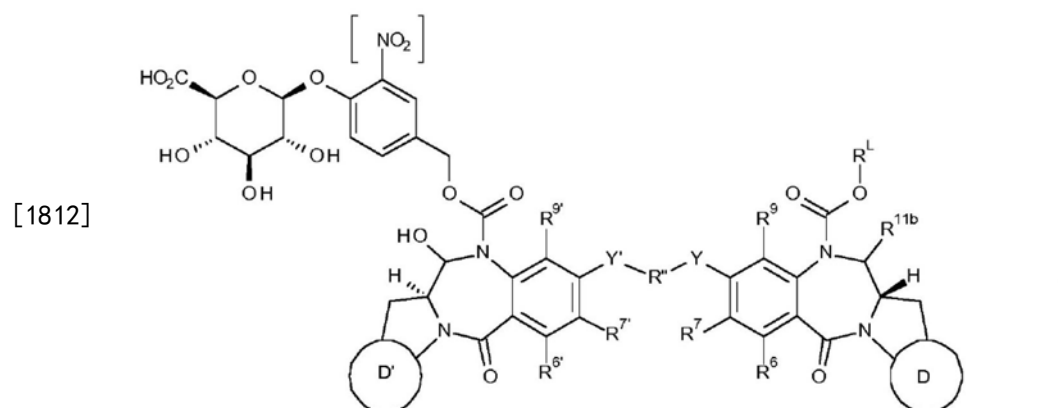
[1807] b) WO 2005/023814 (第3至10页);

[1808] c) WO 2004/043963 (第28至29页);以及

[1809] d) WO 2005/085251 (第30至39页)。

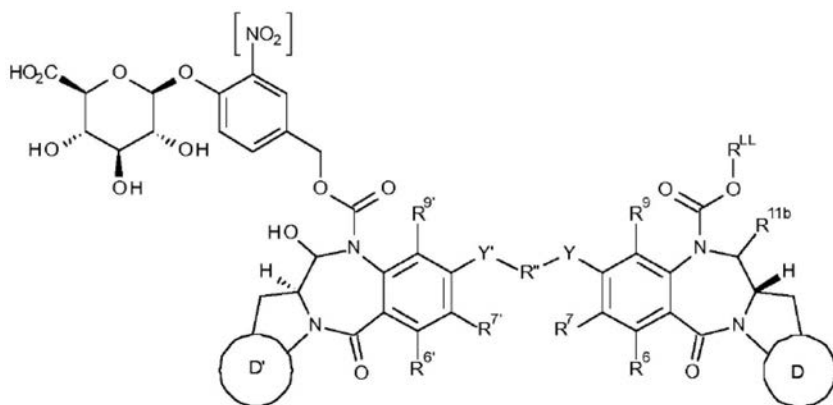
[1810] 合成路线

[1811] 式I的本发明的化合物:



[1813] 可以由式II的化合物合成:

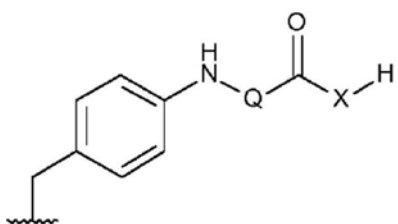
[1814]



式 2

[1815] 其中 R^2 、 R^6 、 R^7 、 R^9 、 $R^{6'}$ 、 $R^{7'}$ 、 $R^{9'}$ 、 R^{11b} 、 R^{12} 、 Y 、 Y' 和 R'' 如对于式I的化合物所定义,并且 R^{LL} 为 R^L 的前体-此方法尤其适用于其中 R^L 具有式IIIa的式I的化合物。对于这些化合物, R^{LL} 将通常是 R^L 的一部分,如式IIIa'的基团:

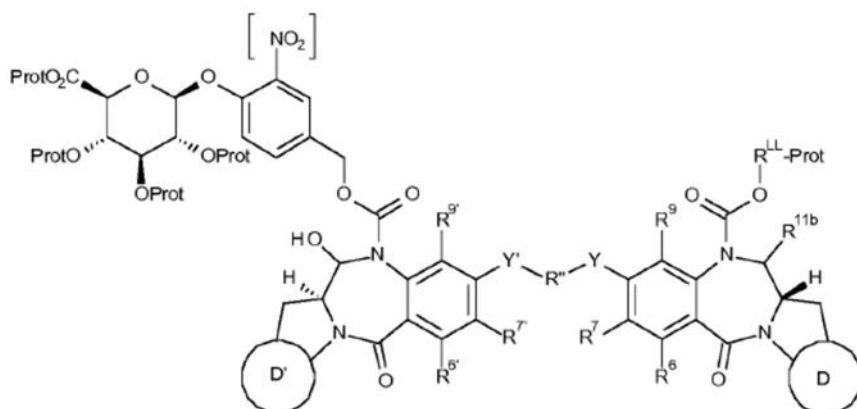
[1816]



IIIa' 在这种情况下,反应涉及添加基团 G^L 。

[1817] 式2的化合物可通过对式3的化合物去保护来制备:

[1818]

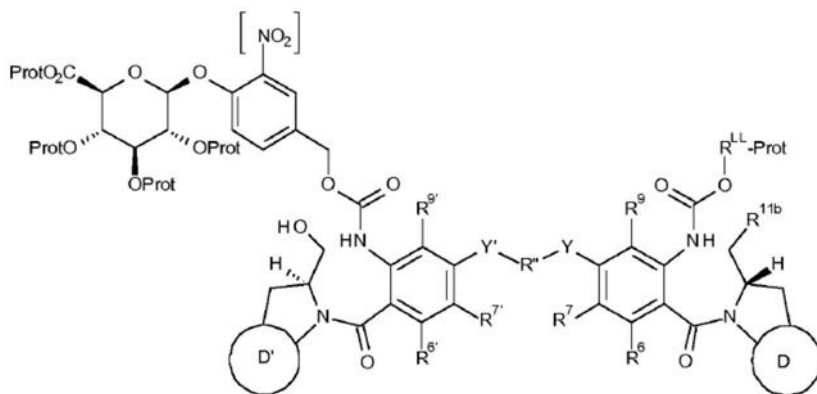


式 3

[1819] 其中 R^2 、 R^6 、 R^7 、 R^9 、 $R^{6'}$ 、 $R^{7'}$ 、 $R^{9'}$ 、 R^{11b} 、 R^{12} 、 Y 、 Y' 和 R'' 如对于式I的化合物所定义, $R^{LL-Prot}$ 为 R^{LL} 的受保护型式,并且Prot代表适当的羧基/羟基保护基。

[1820] 式3的化合物可通过式4的化合物的环闭合制备:

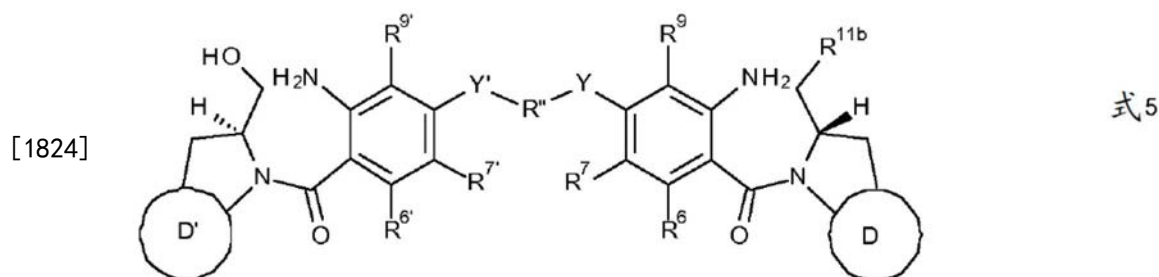
[1821]



式 4

[1822] 其中环闭合通过氧化(例如Swern)进行。

[1823] 式4的化合物可由式5的化合物合成：



[1825] 通过逐步添加两个氨基保护基实现。逐步添加可以通过简单保护一个氨基(例如通过Fmoc),然后在另一个氨基上安装期望的保护基来实现。此后可以移除简单的保护基,并且接着安装其他期望的氨基保护基。

[1826] 其中 R^L 具有式IIIb的式I的化合物可以类似的方式合成,但是完整的 R^L 基团可以从式5的化合物开始安装,而不使用受保护的前体。

[1827] 式5的化合物可以通过已知方法合成,如W0 2011/130598中公开的那些。

[1828] 药物缀合物的合成

[1829] 可如先前所述制备缀合物。可如Doronina等,Nature Biotechnology,2003,21,778-784)中所述将抗体缀合至药物接头化合物。简单地说,在37℃下用三(羧乙基)膦盐酸盐(TCEP)还原在pH 7.4的含有50mM硼酸钠的PBS中的抗体(4-5mg/mL)。还原链间二硫化物的反应的进展通过与5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)的反应进行监测并且使其进行直到实现期望水平的巯基/mAb。然后将还原的抗体冷却至0℃并且每抗体巯基用1.5当量的马来酰亚胺药物-接头进行烷基化。1小时后,通过添加5当量N-乙酰半胱氨酸将反应淬灭。通过在PD-10柱上进行凝胶过滤来移除淬灭的药物-接头。然后通过0.22μm注射过滤器将ADC无菌过滤。可分别在280nm和329nm处进行光谱分析来确定蛋白质浓度,其中针对在280nm处的药物吸光度的贡献进行校正。可使用尺寸排阻层析确定抗体聚集的程度,并且可使用RP-HPLC确定剩余的NAC淬灭的药物-接头的水平。

[1830] 另外优选项

[1831] 以下优选项可应用于如上所述的本发明的所有方面,或者可以涉及单个方面。优选项可以任何组合被组合在一起。

[1832] 在一些实施方案中, NO_2 基团存在。在其他实施方案中, NO_2 不存在。

[1833] 在一些实施方案中, R^6 、 R^7 、 R^9 和 Y' 分别选自与 R^6 、 R^7 、 R^9 和 Y 相同的基团。在这些实施方案的一些中, R^6 、 R^7 、 R^9 和 Y' 分别与 R^6 、 R^7 、 R^9 和 Y 相同。

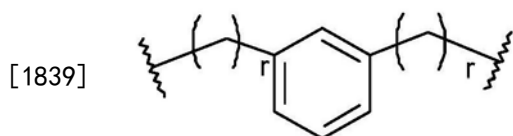
[1834] 在一些实施方案中, R^{12} 与 R^2 相同。

[1835] 二聚体连接

[1836] 在一些实施方案中, Y 和 Y' 均为O。

[1837] 在一些实施方案中, R'' 是不具有取代基的 C_{3-7} 亚烷基。在这些实施方案的一些中, R'' 是 C_3 、 C_5 或 C_7 亚烷基。具体地讲, R'' 可以是 C_3 或 C_5 亚烷基。

[1838] 在其他实施方案中, R'' 是下式的基团：



[1840] 其中 r 为1或2。

[1841] R^6 至 R^9

[1842] 在一些实施方案中, R^9 是H。

[1843] 在一些实施方案中, R^6 选自H、OH、OR、SH、NH₂、硝基和卤素,并且可选自H或卤素。在这些实施方案的一些中, R^6 是H。

[1844] 在一些实施方案中, R^7 选自H、OH、OR、SH、SR、NH₂、NHR、NRR' 以及卤素。在这些实施方案的一些中, R^7 选自H、OH和OR,其中R选自任选取代的C₁₋₇烷基、C₃₋₁₀杂环基以及C₅₋₁₀芳基。R可更优选地为C₁₋₄烷基,它可以是或可以不是被取代的。感兴趣的取代基为C₅₋₆芳基(例如苯基)。7位特别优选的取代基为OMe和OCH₂Ph。其他特别感兴趣的取代基为二甲氨基(即-NMe₂); -(OC₂H₄)_qOMe, 其中 q 为0至2; 含氮C₆杂环基, 包括吗啉代、哌啶基和N-甲基-哌啶基。

[1845] 这些实施方案和优选项分别适用于 $R^{9'}$ 、 $R^{6'}$ 和 $R^{7'}$ 。

[1846] D和D'

[1847] 在一些实施方案中,D和D' 分别为D1和D' 1。

[1848] 在一些实施方案中,D和D' 分别为D2和D' 2。

[1849] R^2

[1850] 当C2与C3之间存在双键时, R^2 选自:

[1851] (a) C₅₋₁₀芳基, 其任选地被选自包括以下的组的一个或多个取代基取代: 卤素、硝基、氰基、醚、C₁₋₇烷基、C₃₋₇杂环基以及双-氧基-C₁₋₃亚烷基;

[1852] (b) C₁₋₅饱和的脂族烷基;

[1853] (c) C₃₋₆饱和的环烷基;

[1854] (d) 其中 R^{11} 、 R^{12} 和 R^{13} 中的每一个独立地选自H、C₁₋₃饱和烷基、C₂₋₃烯基、C₂₋₃炔基和环丙基, 其中 R^2 基团中碳原子的总数不超过5;

[1855] (e) 其中 R^{15a} 和 R^{15b} 中的一个为H并且另一个选自: 苯基, 所述苯基任选地被选自卤素甲基、甲氧基的基团取代; 吡啶基; 以及苯硫基; 以及

[1856] (f) 其中 R^{14} 选自: H; C₁₋₃饱和烷基; C₂₋₃烯基; C₂₋₃炔基; 环丙基; 苯基, 所述苯基任选地被选自卤素甲基、甲氧基的基团取代; 吡啶基; 以及苯硫基。

[1857] 当 R^2 为C₅₋₁₀芳基时, 它可以是C₅₋₇芳基。C₅₋₇芳基可以是苯基或C₅₋₇杂芳基, 例如呋喃基、苯硫基和吡啶基。在一些实施方案中, R^2 优选为苯基。在其他实施方案中, R^2 优选为苯硫基, 例如, 苯硫-2-基和苯硫-3-基。

[1858] 当 R^2 为 C_{5-10} 芳基时,它可以是 C_{8-10} 芳基,例如喹啉基或异喹啉基。喹啉基或异喹啉基可通过任何可用环位置结合PBD核心。例如,喹啉基可为喹啉-2-基、喹啉-3-基、喹啉-4-基、喹啉-5-基、喹啉-6-基、喹啉-7-基以及喹啉-8-基。在这些喹啉基中,喹啉-3-基和喹啉-6-基可为优选的。异喹啉基可为异喹啉-1-基、异喹啉-3-基、异喹啉-4基、异喹啉-5-基、异喹啉-6-基、异喹啉-7-基以及异喹啉-8-基。在这些异喹啉基中,异喹啉-3-基和异喹啉-6-基可为优选的。

[1859] 当 R^2 是 C_{5-10} 芳基时,它可携带任何数目的取代基。优选携带1至3个取代基,更优选1和2个取代基,并且最优选单取代基。取代基可以是任何位置。

[1860] 在 R^2 为 C_{5-7} 芳基的情况下,单个取代基优选地处于和连接化合物的其余部分的键不相邻的环原子上,即,它优选地在连接化合物的其余部分的键的 β 或 γ 位。因此,在 C_{5-7} 芳基为苯基的情况下,取代基优选地处于间位或对位,并且更优选处于对位。

[1861] 在 R^2 为 C_{8-10} 芳基(例如喹啉基或异喹啉基)的情况下,它可在喹啉或异喹啉环的任何位置上携带任何数目的取代基。在一些实施方案中,它具有一个、两个或三个取代基,并且这些取代基可以在近侧环或远侧环或两者(如果多于一个取代基)上。

[1862] R^2 取代基,当 R^2 为 C_{5-10} 芳基时

[1863] 如果 R^2 上的取代基在 R^2 为 C_{5-10} 芳基时为卤素,那么它优选为F或Cl,更优选Cl。

[1864] 如果 R^2 上的取代基在 R^2 为 C_{5-10} 芳基时为醚,那么在一些实施方案中它可以是烷氧基,例如, C_{1-7} 烷氧基(例如甲氧基、乙氧基)或在一些实施方案中它可以是 C_{5-7} 芳氧基(例如苯氧基、吡啶氧基、呋喃氧基)。烷氧基本身可进一步被取代,例如被氨基(例如二甲氨基)取代。

[1865] 如果 R^2 上的取代基在 R^2 为 C_{5-10} 芳基时为 C_{1-7} 烷基,那么它可优选为 C_{1-4} 烷基(例如甲基、乙基、丙基、丁基)。

[1866] 如果 R^2 上的取代基在 R^2 为 C_{5-10} 芳基时为 C_{3-7} 杂环基,那么它在一些实施方案中可以是 C_6 含氮杂环基,例如吗啉代、硫吗啉代、哌啶基、哌嗪基。这些基团可以通过氮原子结合PBD部分的其余部分。这些基团可被例如 C_{1-4} 烷基进一步取代。如果 C_6 含氮杂环基是哌嗪基,则所述另外的取代基可在第二氮环原子上。

[1867] 如果 R^2 上的取代基在 R^2 为 C_{5-10} 芳基时为双-氧基- C_{1-3} 亚烷基,这优选为双-氧基-亚甲基或双-氧基-亚乙基。

[1868] 如果 R^2 上的取代基在 R^2 为 C_{5-10} 芳基时为酯,这优选为甲基酯或乙基酯。

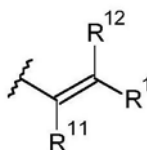
[1869] 当 R^2 为 C_{5-10} 芳基时特别优选的取代基包括甲氧基、乙氧基、氟、氯、氰基、双-氧基-亚甲基、甲基-哌嗪基、吗啉代以及甲基-苯硫基。 R^2 的其他特别优选的取代基是二甲基氨基丙氧基和羧基。

[1870] 当 R^2 为 C_{5-10} 芳基时特别优选的取代的 R^2 基团包括但不限于4-甲氧基-苯基、3-甲氧基苯基、4-乙氧基-苯基、3-乙氧基-苯基、4-氟-苯基、4-氯-苯基、3,4-双氧基亚甲基-苯基、4-甲基苯硫基、4-氰基苯基、4-苯氧基苯基、喹啉-3-基和喹啉-6-基、异喹啉-3-基和异喹啉-6-基、2-噻吩基、2-呋喃基、甲氧基萘基以及萘基。另一种可能的取代的 R^{12} 基团为4-硝基苯基。特别感兴趣的 R^{12} 基团包括4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基和3,4-双氧基亚甲基-苯基。

[1871] 当 R^2 是 C_{1-5} 饱和的脂族烷基时,它可以是甲基、乙基、丙基、丁基或戊基。在一些实施方案中,它可以是甲基、乙基或丙基(正戊基或异丙基)。在这些实施方案的一些中,它可

以是甲基。在其他实施方案中,它可以是丁基或戊基,其可以是直链或支链的。

[1872] 当 R^2 是 C_{3-6} 饱和的环烷基时,它可以是环丙基、环丁基、环戊基或环己基。在一些实施方案中,它可以是环丙基。

[1873] 当 R^2 为  时, R^{11} 、 R^{12} 和 R^{13} 中的每一个独立地选自H、 C_{1-3} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基、 C_{2-3} 炔基和环丙基,其中 R^2 基团中碳原子的总数不超过5。在一些实施方案中, R^2 基团中碳原子的总数不超过4或不超过3。

[1874] 在一些实施方案中, R^{11} 、 R^{12} 和 R^{13} 中的一个H,并且其他两个基团选自H、 C_{1-3} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基、 C_{2-3} 炔基以及环丙基。

[1875] 在其他实施方案中, R^{11} 、 R^{12} 和 R^{13} 中的两个是H,并且另一个基团选自H、 C_{1-3} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基、 C_{2-3} 炔基以及环丙基。

[1876] 在一些实施方案中,不是H的基团选自甲基和乙基。在这些实施方案的一些中,不是H的基团是甲基。

[1877] 在一些实施方案中, R^{11} 是H。

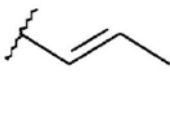
[1878] 在一些实施方案中, R^{12} 是H。

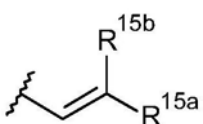
[1879] 在一些实施方案中, R^{13} 是H。

[1880] 在一些实施方案中, R^{11} 和 R^{12} 是H。

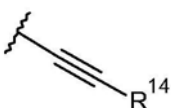
[1881] 在一些实施方案中, R^{11} 和 R^{13} 是H。

[1882] 在一些实施方案中, R^{12} 和 R^{13} 是H。

[1883] 特别感兴趣的 R^2 基团为: 。

[1884] 当 R^2 为  时, R^{15a} 和 R^{15b} 中的一个H并且另一个选自:苯基,所述苯基

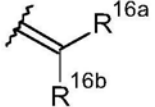
任选地被选自卤素、甲基、甲氧基的基团取代;吡啶基;以及苯硫基。在一些实施方案中,不是H的基团是任选取代的苯基。如果苯基任选取代基为卤素,那么它优选是氟。在一些实施方案中,苯基是未取代的。

[1885] 当 R^2 为  时, R^{14} 选自:H; C_{1-3} 饱和烷基; C_{2-3} 烯基; C_{2-3} 炔基;环丙基;苯基,

所述苯基任选地被选自卤素甲基、甲氧基的基团取代;吡啶基;以及苯硫基。如果苯基任选取代基为卤素,那么它优选是氟。在一些实施方案中,苯基是未取代的。

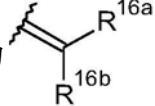
[1886] 在一些实施方案中, R^{14} 选自H、甲基、乙基、乙烯基和乙炔基。在这些实施方案的一些中, R^{14} 选自H和甲基。

[1887] 当C2与C3之间存在单键时,

[1888] R^2 为H或  , 其中 R^{16a} 和 R^{16b} 独立地选自H、F、 C_{1-4} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基,所述

烷基和烯基任选地被选自 C_{1-4} 烷基酰氨基和 C_{1-4} 烷基酯的基团取代;或,当 R^{16a} 和 R^{16b} 中的一个为H时,另一个选自腈和 C_{1-4} 烷基酯。

[1889] 在一些实施方案中, R^2 是H。

[1890] 在一些实施方案中, R^2 为  。

[1891] 在一些实施方案中,优选的是 R^{16a} 和 R^{16b} 均为H。

[1892] 在其他实施方案中,优选的是 R^{16a} 和 R^{16b} 均为甲基。

[1893] 在另外的实施方案中,优选的是 R^{16a} 和 R^{16b} 中的一个为H,并且另一个选自 C_{1-4} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基,所述烷基和烯基是任选取代的。在这些另外的实施方案中,可进一步优选的是,不是H的基团选自甲基和乙基。

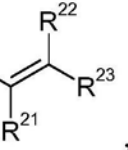
[1894] R^{12}

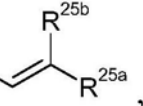
[1895] 当 $C2'$ 与 $C3'$ 之间存在双键时, R^{12} 选自:

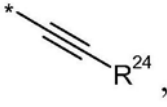
[1896] (a) C_{5-10} 芳基,其任选地被选自包括以下的组的一个或多个取代基取代:卤素、硝基、氰基、醚、 C_{1-7} 烷基、 C_{3-7} 杂环基以及双-氧基- C_{1-3} 亚烷基;

[1897] (b) C_{1-5} 饱和的脂族烷基;

[1898] (c) C_{3-6} 饱和的环烷基;

[1899] (d)  , 其中 R^{21} 、 R^{22} 和 R^{23} 中的每一个独立地选自H、 C_{1-3} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基、 C_{2-3} 炔基和环丙基,其中 R^{12} 基团中碳原子的总数不超过5;

[1900] (e)  , 其中 R^{25a} 和 R^{25b} 中的一个为H并且另一个选自:苯基,所述苯基任选地被选自卤素甲基、甲氧基的基团取代;吡啶基;以及苯硫基;以及

[1901] (f)  , 其中 R^{24} 选自:H; C_{1-3} 饱和烷基; C_{2-3} 烯基; C_{2-3} 炔基;环丙基;苯基,所述苯基任选地被选自卤素甲基、甲氧基的基团取代;吡啶基;以及苯硫基。

[1902] 当 R^{12} 为 C_{5-10} 芳基时,它可以是 C_{5-7} 芳基。 C_{5-7} 芳基可以是苯基或 C_{5-7} 杂芳基,例如呋喃基、苯硫基和吡啶基。在一些实施方案中, R^{12} 优选为苯基。在其他实施方案中, R^{12} 优选为苯硫基,例如,苯硫-2-基和苯硫-3-基。

[1903] 当 R^{12} 为 C_{5-10} 芳基时,它可以是 C_{8-10} 芳基,例如喹啉基或异喹啉基。喹啉基或异喹啉基可通过任何可用环位置结合PBD核心。例如,喹啉基可为喹啉-2-基、喹啉-3-基、喹啉-4-基、喹啉-5-基、喹啉-6-基、喹啉-7-基以及喹啉-8-基。在这些喹啉基中,喹啉-3-基和喹啉-6-基可为优选的。异喹啉基可为异喹啉-1-基、异喹啉-3-基、异喹啉-4基、异喹啉-5-基、异

喹啉-6-基、异喹啉-7-基以及异喹啉-8-基。在这些异喹啉基中,异喹啉-3-基和异喹啉-6-基可为优选的。

[1904] 当 R^{12} 是 C_{5-10} 芳基时,它可携带任何数目的取代基。优选携带1至3个取代基,更优选1和2个取代基,并且最优选单取代基。取代基可以是任何位置。

[1905] 在 R^{12} 为 C_{5-7} 芳基的情况下,单个取代基优选地处于和连接化合物的其余部分的键不相邻的环原子上,即,它优选地在连接化合物的其余部分的键的 β 或 γ 位。因此,在 C_{5-7} 芳基为苯基的情况下,取代基优选地处于间位或对位,并且更优选处于对位。

[1906] 在 R^{12} 为 C_{8-10} 芳基(例如喹啉基或异喹啉基)的情况下,它可在喹啉或异喹啉环的任何位置上携带任何数目的取代基。在一些实施方案中,它具有一个、两个或三个取代基,并且这些取代基可以在近侧环或远侧环或两者(如果多于一个取代基)上。

[1907] R^{12} 取代基,当 R^{12} 为 C_{5-10} 芳基时

[1908] 如果 R^{12} 上的取代基在 R^{12} 为 C_{5-10} 芳基时为卤素,那么它优选为F或Cl,更优选Cl。

[1909] 如果 R^{12} 上的取代基在 R^{12} 为 C_{5-10} 芳基时为醚,那么在一些实施方案中它可以是烷氧基,例如, C_{1-7} 烷氧基(例如甲氧基、乙氧基)或在一些实施方案中它可以是 C_{5-7} 芳氧基(例如苯氧基、吡啶氧基、呋喃氧基)。烷氧基本身可进一步被取代,例如被氨基(例如二甲氨基)取代。

[1910] 如果 R^{12} 上的取代基在 R^{12} 为 C_{5-10} 芳基时为 C_{1-7} 烷基,那么它可优选为 C_{1-4} 烷基(例如甲基、乙基、丙基、丁基)。

[1911] 如果 R^{12} 上的取代基在 R^{12} 为 C_{5-10} 芳基时为 C_{3-7} 杂环基,那么它在一些实施方案中可以是 C_6 含氮杂环基,例如吗啉代、硫吗啉代、哌啶基、哌嗪基。这些基团可以通过氮原子结合PBD部分的其余部分。这些基团可被例如 C_{1-4} 烷基进一步取代。如果 C_6 含氮杂环基是哌嗪基,则所述另外的取代基可在第二氮环原子上。

[1912] 如果 R^{12} 上的取代基在 R^{12} 为 C_{5-10} 芳基时为双-氧基- C_{1-3} 亚烷基,这优选为双-氧基-亚甲基或双-氧基-亚乙基。

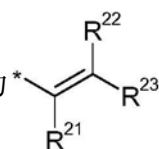
[1913] 如果 R^{12} 上的取代基在 R^{12} 为 C_{5-10} 芳基时为酯,这优选为甲基酯或乙基酯。

[1914] 当 R^{12} 为 C_{5-10} 芳基时特别优选的取代基包括甲氧基、乙氧基、氟、氯、氰基、双-氧基-亚甲基、甲基-哌嗪基、吗啉代以及甲基-苯硫基。 R^{12} 的其他特别优选的取代基是二甲基氨基丙氧基和羧基。

[1915] 当 R^{12} 为 C_{5-10} 芳基时特别优选的取代的 R^{12} 基团包括但不限于4-甲氧基-苯基、3-甲氧基苯基、4-乙氧基-苯基、3-乙氧基-苯基、4-氟-苯基、4-氯-苯基、3,4-双氧基亚甲基-苯基、4-甲基苯硫基、4-氰基苯基、4-苯氧基苯基、喹啉-3-基和喹啉-6-基、异喹啉-3-基和异喹啉-6-基、2-噻吩基、2-呋喃基、甲氧基萘基以及萘基。另一种可能的取代的 R^{12} 基团为4-硝基苯基。特别感兴趣的 R^{12} 基团包括4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基和3,4-双氧基亚甲基-苯基。

[1916] 当 R^{12} 是 C_{1-5} 饱和的脂族烷基时,它可以是甲基、乙基、丙基、丁基或戊基。在一些实施方案中,它可以是甲基、乙基或丙基(正戊基或异丙基)。在这些实施方案的一些中,它可以是甲基。在其他实施方案中,它可以是丁基或戊基,其可以是直链或支链的。

[1917] 当 R^{12} 是 C_{3-6} 饱和的环烷基时,它可以是环丙基、环丁基、环戊基或环己基。在一些实施方案中,它可以是环丙基。

[1918] 当 R^{12} 为  时, R^{21} 、 R^{22} 和 R^{23} 中的每一个独立地选自H、 C_{1-3} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基、 C_{2-3} 炔基和环丙基,其中 R^{12} 基团中碳原子的总数不超过5。在一些实施方案中, R^{12} 基团中碳原子的总数不超过4或不超过3。

[1919] 在一些实施方案中, R^{21} 、 R^{22} 和 R^{23} 中的一个为H,并且其他两个基团选自H、 C_{1-3} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基、 C_{2-3} 炔基以及环丙基。

[1920] 在其他实施方案中, R^{21} 、 R^{22} 和 R^{23} 中的两个为H,并且另一个基团选自H、 C_{1-3} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基、 C_{2-3} 炔基以及环丙基。

[1921] 在一些实施方案中,不是H的基团选自甲基和乙基。在这些实施方案的一些中,不是H的基团是甲基。

[1922] 在一些实施方案中, R^{21} 是H。

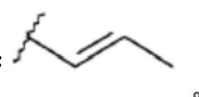
[1923] 在一些实施方案中, R^{22} 是H。

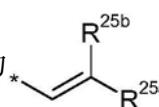
[1924] 在一些实施方案中, R^{23} 是H。

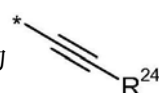
[1925] 在一些实施方案中, R^{21} 和 R^{22} 是H。

[1926] 在一些实施方案中, R^{21} 和 R^{23} 是H。

[1927] 在一些实施方案中, R^{22} 和 R^{23} 是H。

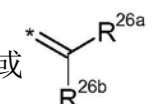
[1928] 特别感兴趣的 R^{12} 基团为: 。

[1929] 当 R^{12} 为  时, R^{25a} 和 R^{25b} 中的一个为H并且另一个选自:苯基,所述苯基任选地被选自卤素、甲基、甲氧基的基团取代;吡啶基;以及苯硫基。在一些实施方案中,不是H的基团是任选取代的苯基。如果苯基任选取代基为卤素,那么它优选是氟。在一些实施方案中,苯基是未取代的。

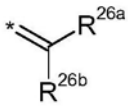
[1930] 当 R^{12} 为  时, R^{24} 选自:H; C_{1-3} 饱和烷基; C_{2-3} 烯基; C_{2-3} 炔基;环丙基;苯基,所述苯基任选地被选自卤素、甲基、甲氧基的基团取代;吡啶基;以及苯硫基。如果苯基任选取代基为卤素,那么它优选是氟。在一些实施方案中,苯基是未取代的。

[1931] 在一些实施方案中, R^{24} 选自H、甲基、乙基、乙烯基和乙炔基。在这些实施方案的一些中, R^{24} 选自H和甲基。

[1932] 当C2'与C3'之间存在单键时,

[1933] R^{12} 为H或 , 其中 R^{26a} 和 R^{26b} 独立地选自H、F、 C_{1-4} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基,所述烷基和烯基任选地被选自 C_{1-4} 烷基酰氨基和 C_{1-4} 烷基酯的基团取代;或,当 R^{26a} 和 R^{26b} 中的一个为H时,另一个选自腈和 C_{1-4} 烷基酯。

[1934] 在一些实施方案中, R^{12} 是H。

[1935] 在一些实施方案中, R^{12} 为 .

[1936] 在一些实施方案中, 优选的是 R^{26a} 和 R^{26b} 均为 H。

[1937] 在其他实施方案中, 优选的是 R^{26a} 和 R^{26b} 均为甲基。

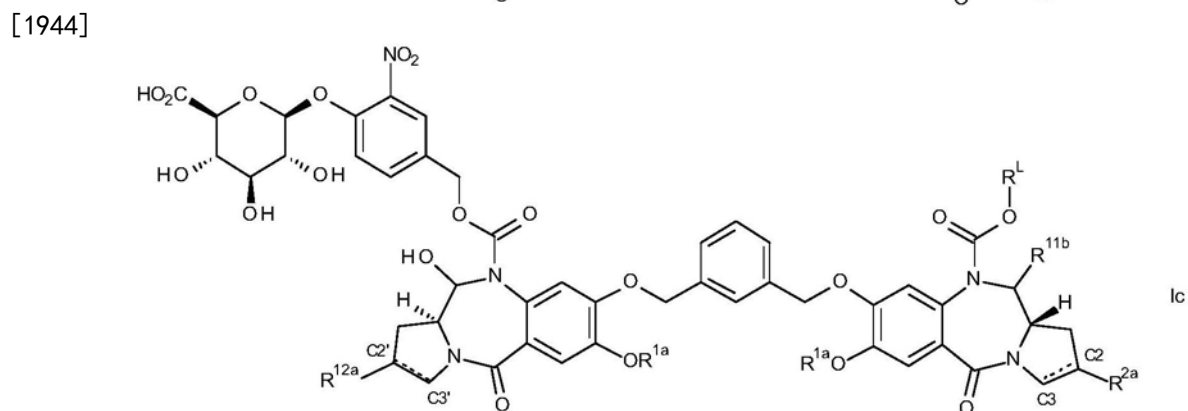
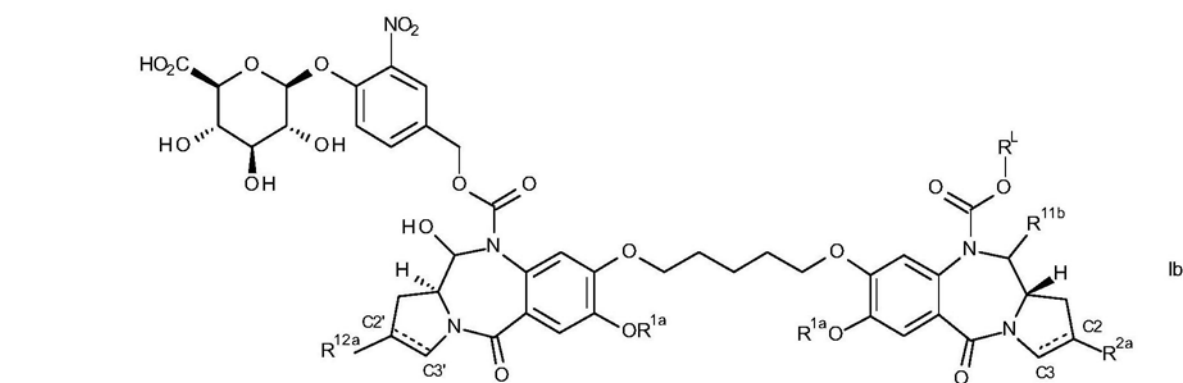
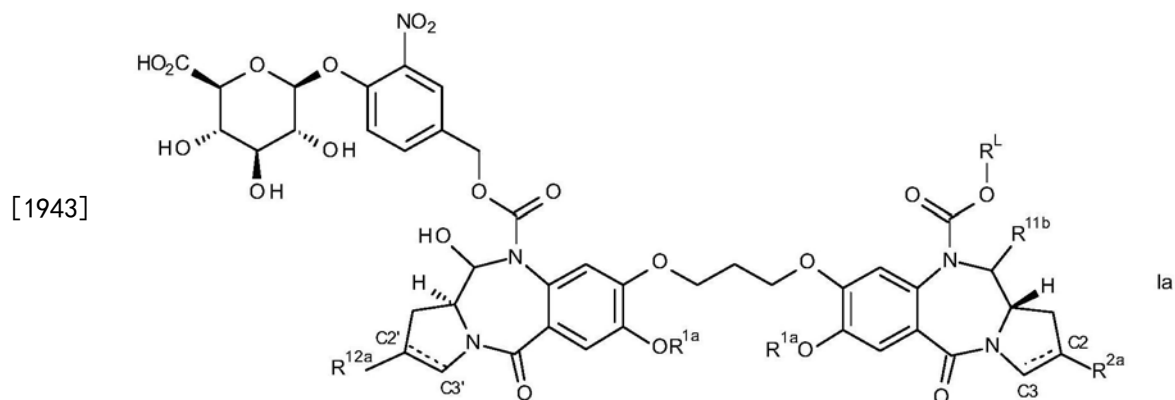
[1938] 在另外的实施方案中, 优选的是 R^{26a} 和 R^{26b} 中的一个为 H, 并且另一个选自 C_{1-4} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基, 所述烷基和烯基是任选取代的。在这些另外的实施方案中, 可进一步优选的是, 不是 H 的基团选自甲基和乙基。

[1939] R^{11b}

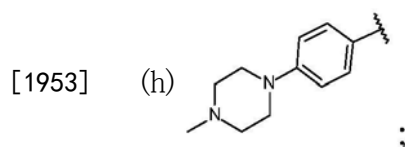
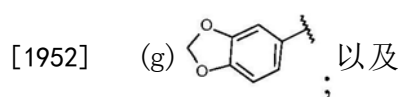
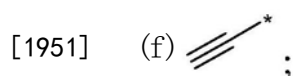
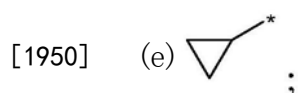
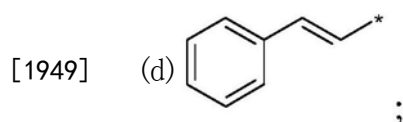
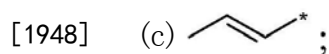
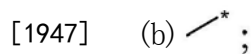
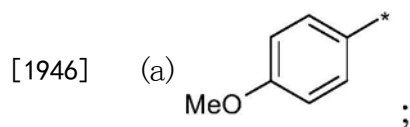
[1940] 在一些实施方案中, R^{11b} 是 OH。

[1941] 在一些实施方案中, R^{11b} 是 OR^A , 其中 R^A 是 C_{1-4} 烷基。在这些实施方案的一些中, R^A 是甲基。

[1942] 在本发明的第一方面的一些实施方案中, 具有式 Ia-1、Ia-2 或 Ia-3:



[1945] 其中 R^{2a} 和 R^{12a} 相同并选自：

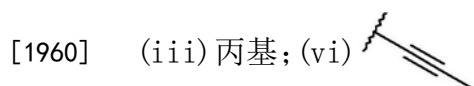
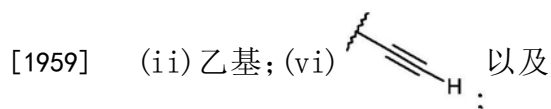
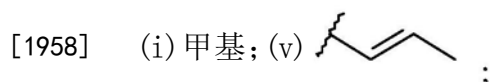


[1954] R^{1a} 选自甲基和苄基；

[1955] R^L 和 R^{11b} 如上文所定义。

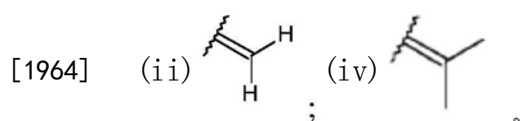
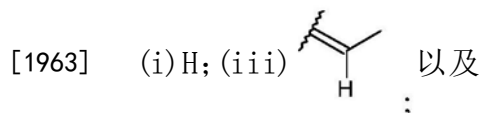
[1956] 在本发明的一些实施方案中， R^2 和 R^{12} 均包括不超过3个碳原子。

[1957] 因此，在C2与C3之间存在双键的这些实施方案中， R^2 可选自：

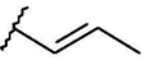


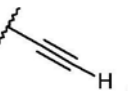
[1961] (iv) 环丙基；

[1962] 因此，在C2与C3之间不存在双键的这些实施方案中， R^2 可选自：



[1965] 因此，在C2'与C3'之间存在双键的这些实施方案中， R^{12} 可选自：

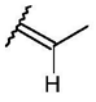
[1966] (i) 甲基; (v)  ;

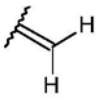
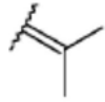
[1967] (ii) 乙基; (vi)  以及

[1968] (iii) 丙基; (vi)  ;

[1969] (iv) 环丙基;

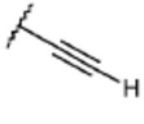
[1970] 因此, 在C2' 与C3' 之间不存在双键的这些实施方案中, R¹²可选自:

[1971] (i) H; (iii)  以及

[1972] (ii)  ; (iv)  。

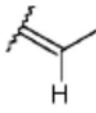
[1973] 在这些实施方案的一些中, R²和R¹²均包括不超过2个碳原子。

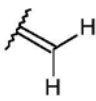
[1974] 因此, 在C2与C3之间存在双键的这些实施方案中, R²可选自:

[1975] (i) 甲基; (vi)  。

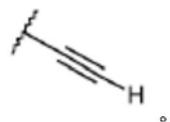
[1976] (ii) 乙基; 以及

[1977] 因此, 在C2与C3之间不存在双键的这些实施方案中, R²可选自:

[1978] (i) H; (iii)  。

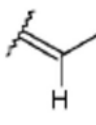
[1979] (ii)  以及

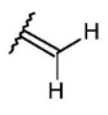
[1980] 因此, 在C2' 与C3' 之间存在双键的这些实施方案中, R¹²可选自: (i) 甲基; (vi)



[1981] (ii) 乙基; 以及

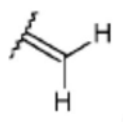
[1982] 因此, 在C2' 与C3' 之间不存在双键的这些实施方案中, R¹²可选自:

[1983] (i) H; (iii)  。

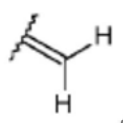
[1984] (ii)  以及

[1985] 在另外的这些实施方案中, R^2 和 R^{12} 均包括不超过1个碳原子。

[1986] 因此, 在C2与C3之间存在双键的这些实施方案中, R^2 可以是甲基。因此, 在C2与C3之间不存在双键的这些实施方案中, R^2 可选自:

[1987] (i) H; 以及 (ii) 。

[1988] 因此, 在C2' 与C3' 之间存在双键的这些实施方案中, R^{12} 可以是甲基。因此, 在C2' 与C3' 之间不存在双键的这些实施方案中, R^{12} 可选自:

[1989] (i) H; 以及 (ii) 。

[1990] 不受理论的束缚, 在PBD二聚体的C2位置上的取代基小的情况下, 据信在这些药物接头中使用葡糖醛酸苷封端单元是特别有利的, 因为它显著增加了药物接头的亲水性, 从而使药物接头更易缀合至配体单元。

[1991] 这些实施方案和优选项也适用于本发明的第二方面。

[1992] 接头 (R^L)

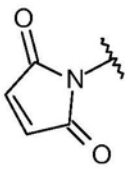
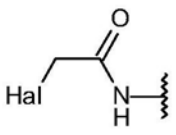
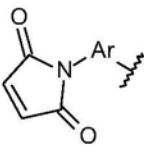
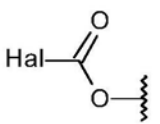
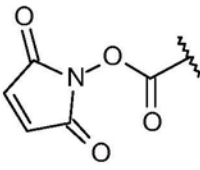
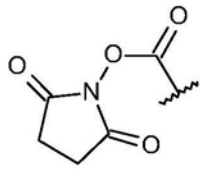
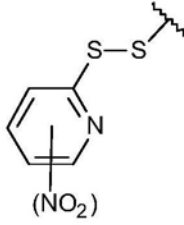
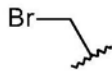
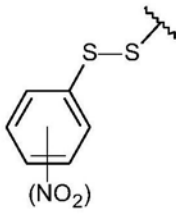
[1993] 在一些实施方案中, R^L 具有式IIIa。

[1994] 在一些实施方案中, R^{LL} 具有式IIIa'。

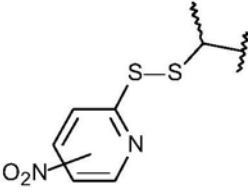
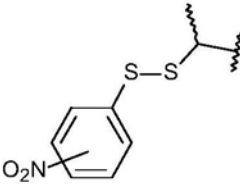
[1995] G^L

[1996] G^L 可选自

[1997]

(G ^{L1-1})		(G ^{L4})	 其中 Hal = I、Br、Cl
(G ^{L1-2})		(G ^{L5})	
(G ^{L2})		(G ^{L6})	
(G ^{L3-1})	 其中 NO ₂ 基团是任选的	(G ^{L7})	
(G ^{L3-2})	 (NO ₂)	(G ^{L8})	

[1998]

	其中 NO ₂ 基团是任选的		
(G ^{L3-3})	 其中 NO ₂ 基团是任选的	(G ^{L9})	
(G ^{L3-4})	 其中 NO ₂ 基团是任选的		

[1999] 其中Ar代表C₅₋₆亚芳基,例如亚苯基。

[2000] 在一些实施方案中, G^L 选自 G^{L1-1} 和 G^{L1-2} 。在这些实施方案的一些中, G^L 是 G^{L1-1} 。

[2001] G^{LL}

[2002] G^{LL} 可选自:

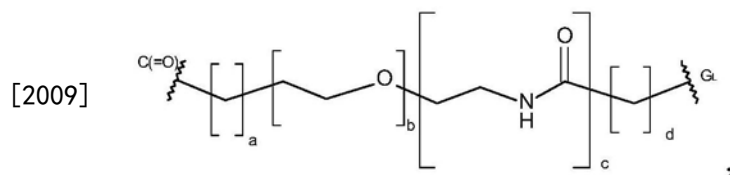
[2003]	(G^{LL1-1})		(G^{LL6})	
	(G^{LL1-2})		(G^{LL7})	
	(G^{LL2})		(G^{LL8-1})	
	(G^{LL3-1})		(G^{LL8-2})	
	(G^{LL3-2})		(G^{LL9-1})	
[2004]	(G^{LL4})		(G^{LL9-2})	
	(G^{LL5})			

[2005] 其中Ar代表 C_{5-6} 亚芳基, 例如亚苯基。

[2006] 在一些实施方案中, G^{LL} 选自 G^{LL1-1} 和 G^{LL1-2} 。在这些实施方案的一些中, G^{LL} 是 G^{LL1-1} 。

[2007] X

[2008] X是:



[2010] 其中a=0至5, b=0至16, c=0或1, d=0至5。

[2011] a可以是0、1、2、3、4或5。在一些实施方案中,a是0至3。在这些实施方案的一些中,a是0或1。在另外的实施方案中,a是0。

[2012] b可以是0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。在一些实施方案中,b是0至12。在这些实施方案的一些中,b是0至8,并且可以是0、2、4或8。

[2013] c可以是0或1。

[2014] d可以是0、1、2、3、4或5。在一些实施方案中,d是0至3。在这些实施方案的一些中,d是1或2。在另外的实施方案中,d是2。

[2015] 在X的一些实施方案中,a是0,c是1且d是2,并且b可以是0至8。在这些实施方案的一些中,b是0、4或8。

[2016] Q^X

[2017] 在一个实施方案中, Q^X 是氨基酸残基。氨基酸可以是天然氨基酸或非天然氨基酸。

[2018] 在一个实施方案中, Q^X 选自:Phe、Lys、Val、Ala、Cit、Leu、Ile、Arg和Trp,其中Cit是瓜氨酸。

[2019] 在一个实施方案中, Q^X 包括二肽残基。二肽中的氨基酸可以是天然氨基酸和非天然氨基酸的任何组合。在一些实施方案中,二肽包含天然氨基酸。在接头是组织蛋白酶不稳定接头的情况下,二肽是组织蛋白酶介导的切割的作用位点。则二肽是组织蛋白酶的识别位点。

[2020] 在一个实施方案中, Q^X 选自:

[2021] $^{CO}\text{-Phe-Lys-NH}$ 、

[2022] $^{CO}\text{-Val-Ala-NH}$ 、

[2023] $^{CO}\text{-Val-Lys-NH}$ 、

[2024] $^{CO}\text{-Ala-Lys-NH}$ 、

[2025] $^{CO}\text{-Val-Cit-NH}$ 、

[2026] $^{CO}\text{-Phe-Cit-NH}$ 、

[2027] $^{CO}\text{-Leu-Cit-NH}$ 、

[2028] $^{CO}\text{-Ile-Cit-NH}$ 、

[2029] $^{CO}\text{-Phe-Arg-NH}$ 以及

[2030] $^{CO}\text{-Trp-Cit-NH}$;

[2031] 其中Cit是瓜氨酸。

[2032] 优选地, Q^X 选自:

[2033] $^{CO}\text{-Phe-Lys-NH}$ 、

[2034] $^{CO}\text{-Val-Ala-NH}$ 、

[2035] $^{CO}\text{-Val-Lys-NH}$ 、

[2036] $^{CO}\text{-Ala-Lys-NH}$ 、

[2037] $^{CO}\text{-Val-Cit-NH}$ 。

[2038] 最优选地, Q^X 选自 $^{CO}\text{-Phe-Lys-NH}$ 、 $^{CO}\text{-Val-Cit-NH}$ 和 $^{CO}\text{-Val-Ala-NH}$ 。

[2039] 感兴趣的其他二肽组合包括:

[2040] $^{CO}\text{-Gly-Gly-NH}$ 、

[2041] $^{CO}\text{-Pro-Pro-NH}$ 以及

[2042] CO-Val-Glu-NH 。

[2043] 可使用其他二肽组合,包括Dubowchik等,Bioconjugate Chemistry,2002,13, 855-869 (其通过引用并入本文) 所述的那些。

[2044] 在一些实施方案中, Q^x 是三肽残基。三肽中的氨基酸可以是天然氨基酸和非天然氨基酸的任何组合。在一些实施方案中,三肽包含天然氨基酸。当接头是组织蛋白酶不稳定接头时,三肽是组织蛋白酶介导的切割的作用位点。则三肽是组织蛋白酶的识别位点。

[2045] 在一个实施方案中,在适当时,氨基酸侧链被化学保护。侧链保护基可以是如下文所论述的基团。受保护的氨基酸序列可被酶切割。例如,包含Boc侧链保护的Lys残基的二肽序列可被组织蛋白切割。

[2046] 氨基酸侧链的保护基团是本领域熟知的,并且描述于Novabiochem目录中并且如上所述。

[2047] 在一些实施方案中, R^L 具有式IIIb。

[2048] 在一些实施方案中, R^{LL} 具有式IIIb'。

[2049] R^{L1} 和 R^{L2} 独立地选自H和甲基,或与它们所结合的碳原子一起形成亚环丙基或亚环丁基。

[2050] 在一些实施方案中, R^{L1} 和 R^{L2} 均为H。

[2051] 在一些实施方案中, R^{L1} 是H并且 R^{L2} 是甲基。

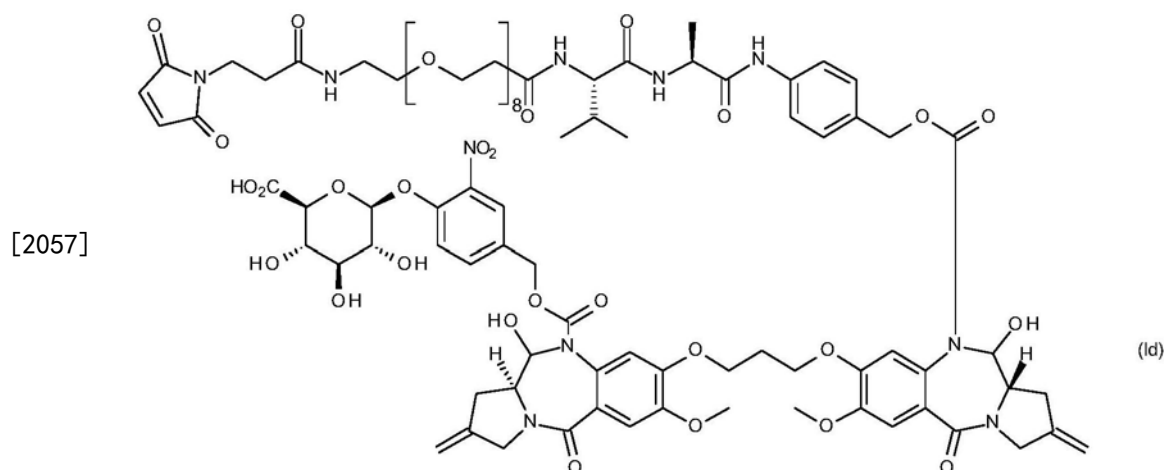
[2052] 在一些实施方案中, R^{L1} 和 R^{L2} 均为甲基。

[2053] 在一些实施方案中, R^{L1} 和 R^{L2} 与它们所结合的碳原子一起形成亚环丙基。

[2054] 在一些实施方案中, R^{L1} 和 R^{L2} 与它们所结合的碳原子一起形成亚环丁基。

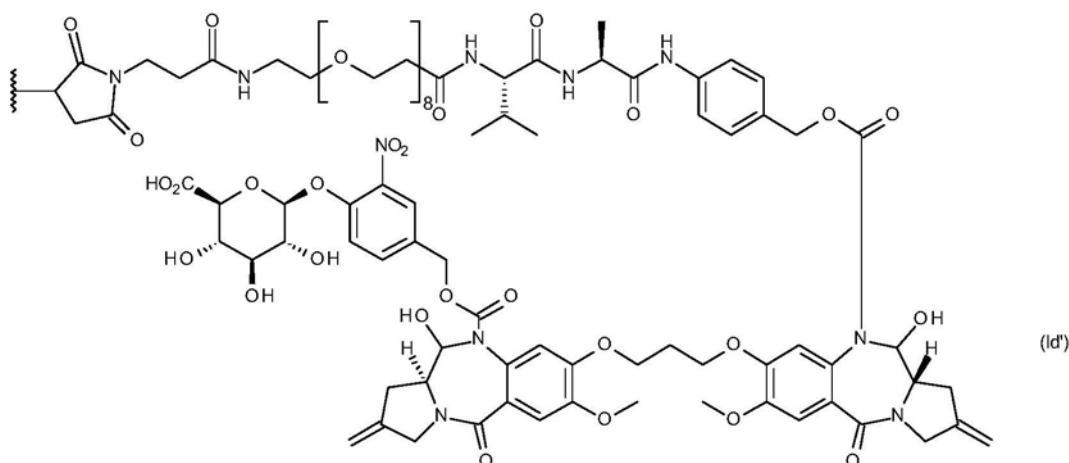
[2055] 在基团IIIb中,在一些实施方案中,e是0。在其他实施方案中,e是1且硝基可处于环的任何可用位置。在这些实施方案的一些中,它处于邻位。在这些实施方案的其他者中,它处于对位。

[2056] 在一个特定实施方案中,本发明的第一方面包括式Id的化合物:



[2058] 在一个特定实施方案中,本发明的第二方面,药物接头(D^L)具有式(Id'):

[2059]



[2060] 附加背景

[2061] 在伦敦大学学院提交给英国的2014研究卓越框架 (Research Excellence Framework (REF)) 的影响研究 (在<http://impact.ref.ac.uk/casestudies2/refservice.svc/GetCaseStudyPDF/35393>可获得) 中认为:

[2062] “已经开发出了比SG2000更有效的下一代PBD二聚体,包括SG2057和SG2202。它们针对一定范围的人肿瘤细胞系表现出皮摩尔/亚皮摩尔的活性并且在人肿瘤异种移植模型中展现出治疗活性。”参考:

[2063] Hartley JA等, DNA interstrand cross-linking and in vivo antitumor activity of the extended pyrrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepine dimer SG2057. Invest New Drugs. 2012年6月; 30 (3): 950-8. <http://dx.doi.org/10.1007/s10637-011-9647-z> (下文为“Hartley等 (2012)”)

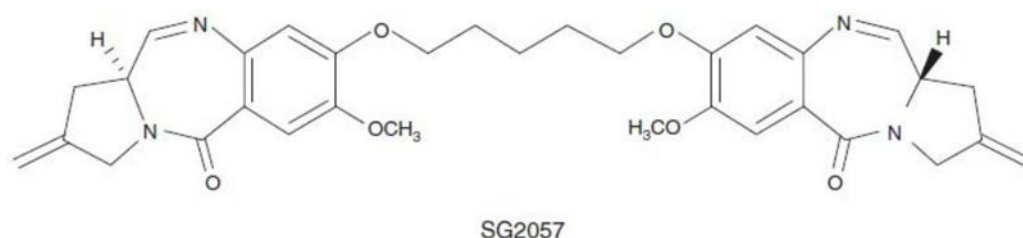
[2064] 并且:

[2065] “生成表现出精妙效力的此类细胞毒性分子的能力表明在目标在于靶向高细胞毒性药剂并且在肿瘤部位直接释放所述高细胞毒性药剂的策略中的潜在作用。实例如抗体药物缀合物 (ADC) 的 ‘弹头’ 组分。完全合成的PBD二聚体理想地适合ADC途径中的弹头角色”。

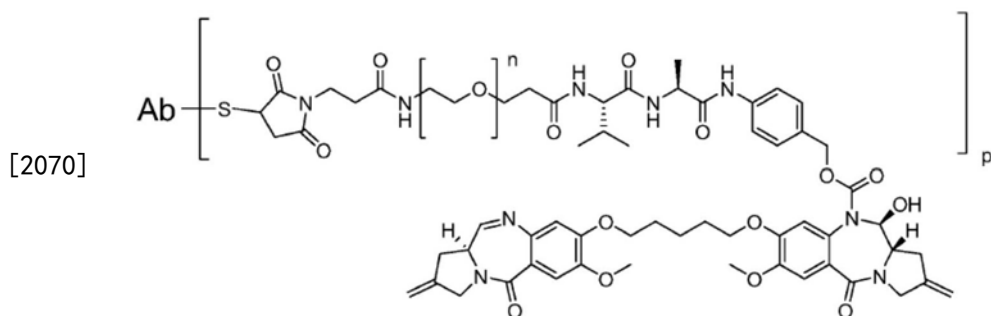
[2066] Hartley等 (2012) 论文在其概要中评论道, “SG2057因此是高活性的抗肿瘤药剂, 具有比SG2000更强效的体外活性和更优异的体内活性, 从而保证了进一步的开发”。

[2067] SG2057具有以下结构:

[2068]

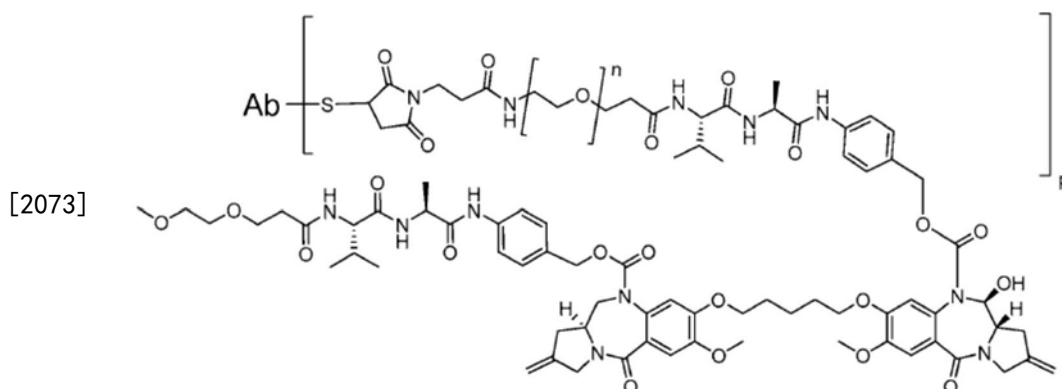


[2069] 使用SG2057作为弹头的抗体药物缀合物首先公开于W02011/130598中。例如, 该申请的权利要求54包括下式:



[2071] 其中n为1至24,更优选地4至8。例示了以下药物接头:n=4,15c;n=8,15d;n=24,15e。

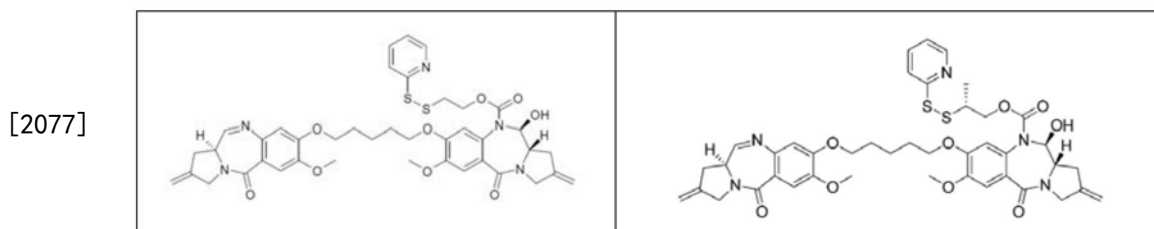
[2072] 该申请的权利要求54还包括下式:



[2074] 其中n为1至24,更优选地4至8。例示了以下药物接头:n=8,58;n=24,61。

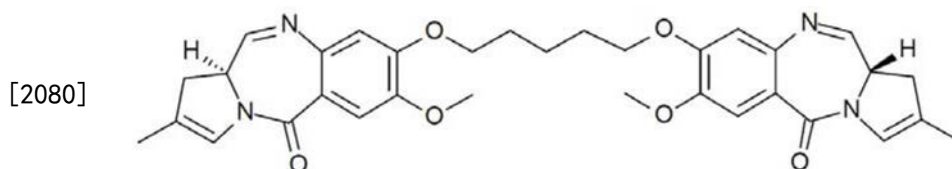
[2075] WO 2011/130598还公开了包括这些药物接头的抗体-药物缀合物,例如实施例110 (antiSteap1-15d)、实施例114 (tastuzumab-15d) 以及实施例115 (tastuzumab-58)。

[2076] WO 2013/055987公开了药物接头14和22:

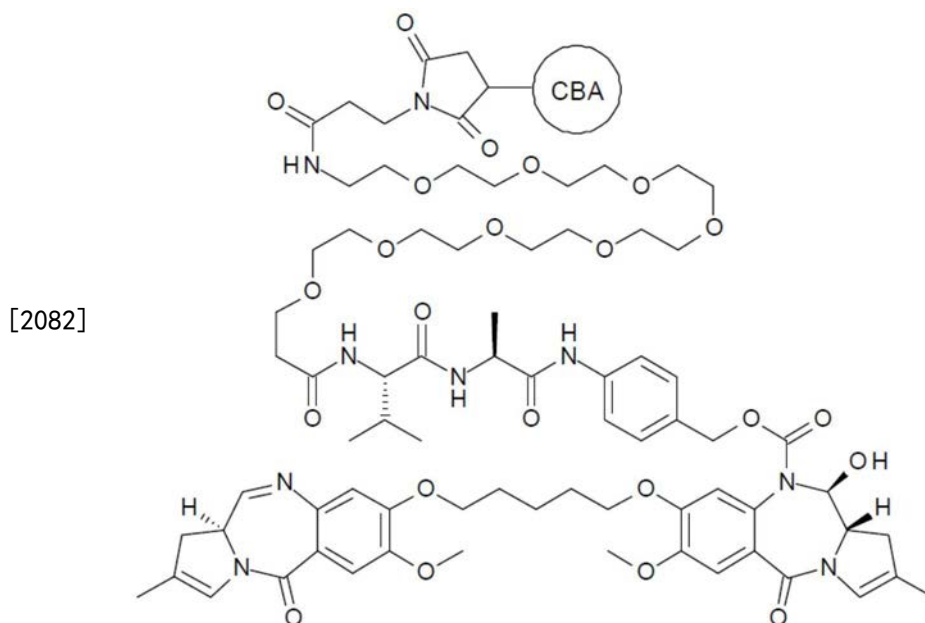


[2078] 以及它们在抗体-药物缀合物中的用途。

[2079] 近年来,弹头:



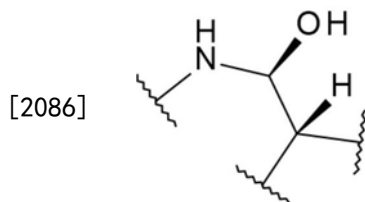
[2081] 已经用于药物接头和抗体-药物缀合物中。WO 2014/057074公开了:



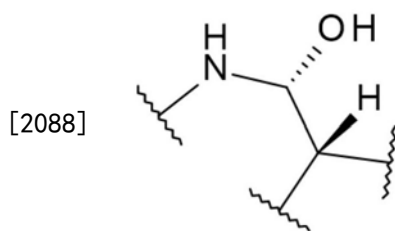
[2083] 本发明人已经惊讶地发现, 尽管SG2000的细胞毒性比SG2057小至少10倍(参见Hartley等2012), 但是特定的抗体-药物缀合物(即, 式Id的那些) 似乎显示出至少相当的活性。这些缀合物已经显示出在毒性研究中在多种物类中具有好的令人惊讶的耐受性。这导致表现出高治疗指数的缀合物并且因此是有前景的临床候选。

[2084]

[2085] 在本发明的一些实施方案中, C11取代基可相对于相邻基团处于以下立体化学布置:



[2087] 在其他实施方案中, C11取代基可相对于相邻基团处于以下立体化学布置:



[2089] 特别感兴趣的化合物包括实施例的那些化合物

[2090] 实施例

[2091] 使用Biotage Isolera 1TM进行快速层析, 使用从88%己烷/EtOAc或99.9%DCM/MeOH开始的梯度洗脱, 直到从柱上洗脱所有UV活性组分(在214 nm和254 nm下检测)。每当观察到UV活性材料的大量洗脱时, 手动保持梯度。在铝板上利用荧光指示剂, 使用MerckKieselgel 60 F254硅胶, 用薄层层析(TLC)检查级分的纯度。除非另有说明, 借助于UV光或碘蒸气来实现TLC的可视化。从VWR U.K.购买萃取和层析溶剂且不经进一步纯化即使用。所有精细化学品购自Sigma-Aldrich或TCI Europe, 除非另行指出。聚乙二醇化试剂

通过Stratech UK从Quanta biodesign US获得。

[2092] ^1H 和 ^{13}C NMR光谱在Bruker **Avance®** 400光谱仪上获得。耦合常数以赫兹(Hz)给出。化学位移是以从四甲基硅烷往低磁场的每百万分数(ppm)报道。自旋多重态描述为s(单峰)、bs(宽单峰)、d(双重峰)、t(三重峰)和m(多重峰)。

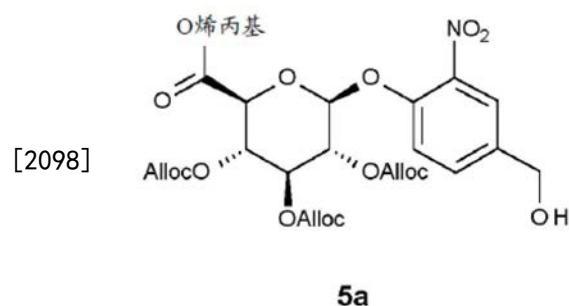
[2093] 分析型LC/MS条件(用于反应监测和纯度确定)如下:使用Shimadzu **Nexera®/Prominence®** LCMS-2020进行阳性模式电喷雾质谱。使用的流动相是溶剂A(具有0.1%甲酸的 H_2O)和溶剂B(具有0.1%甲酸的 CH_3CN)。常规3分钟运行的梯度:初始组成5%B保持25秒,然后经1分钟35秒的时段从5%B增加至100%B。组成在100%B处保持50秒,然后在5秒内回到5%B且在此处保持5秒。梯度运行的总持续时间为3.0分钟。15分钟运行的梯度:初始组成5%B保持1分钟,然后经9分钟的时段从5%B增加至100%B。组成在100%B处保持2分钟,然后在10秒内回到5%B且在此处保持2分钟50秒。梯度运行的总持续时间为15.0分钟。流速为0.8毫升/分钟(运行3分钟)和0.6毫升/分钟(运行15分钟)。在254nm下检测。柱:Waters Acquity **UPLC®** BEH Shield RP18 $1.7\mu\text{m}$ $2.1\times 50\text{mm}$,在50°C下,配备有Waters Acquity **UPLC®** BEH Shield RP18 VanGuard预柱,130A, $1.7\mu\text{m}$, $2.1\text{mm} \times 5\text{mm}$ (常规3分钟运行);以及ACE Excel2C18-AR, 2μ , $3.0\times 100\text{mm}$,配备有Waters Acquity **UPLC®** BEH Shield RP18 VanGuard预柱,130A, $1.7\mu\text{m}$, $2.1\text{mm} \times 5\text{mm}$ (15分钟运行)。

[2094] 制备型HPLC条件如下:反相超快速高效液相层析(UFLC)在Shimadzu **Prominence®**机器上使用 **Phenomenex®** Gemini NX $5\mu\text{C}18$ 柱(在50°C下)进行,所述柱尺寸:150x21.2mm。使用的洗脱液是溶剂A(具有0.1%甲酸的 H_2O)和溶剂B(具有0.1%甲酸的 CH_3CN)。所有UFLC实验均使用梯度条件进行:初始组成13%B经15分钟时段增加至60%B,然后经2分钟增加至100%B。组成在100%B处保持1分钟,然后在0.1分钟内回到13%B且在此处保持1.9分钟。梯度运行的总持续时间为20.0分钟。流速为20.0毫升/分钟并且在254nm和280nm下进行检测。

[2095] 关键中间体的合成

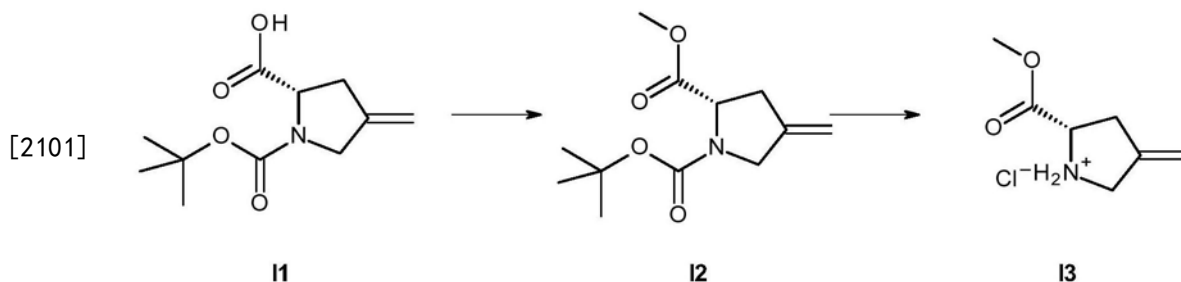
[2096] (a) 化合物5a

[2097] 以下化合物5a:



[2099] 如Grinda, M.等, ChemMedChem 2011(5), 2137-2141 (DOI:10.1002/cmdc.201100355)中所述(针对化合物10)进行合成。

[2100] (a) 氯化(S)-2-(甲氧基羰基)-4-亚甲基吡咯烷鎓(I3)



[2102] 可商购获得的脯氨酸衍生物(I1)获自Omegachem

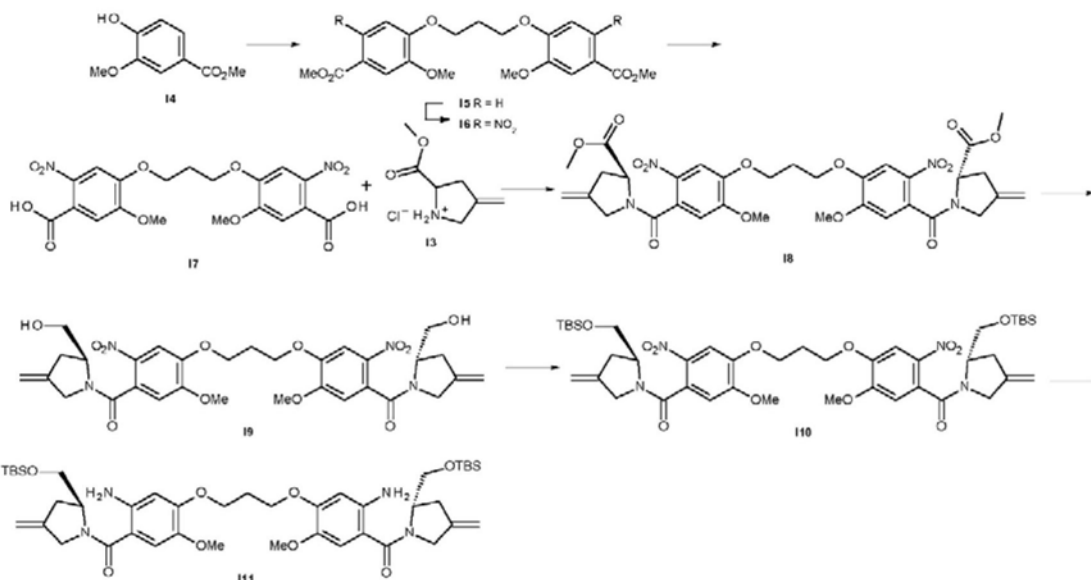
[2103] (i) (S)-4-亚甲基吡咯烷-1,2-二羧酸1-叔丁基2-甲酯 (I2)

[2104] 将碳酸钾(19.92g, 14mmol, 3.0当量)添加到羧酸I1(10.92g, 48mmol, 1.0当量)在DMF(270mL)中的经搅拌溶液中。将所得的白色悬浮液在室温下搅拌30min, 在该点添加碘甲烷(21.48g, 9.5mL, 151mmol, 3.15当量)。使反应混合物在室温下搅拌3天。通过在减压下进行旋转蒸发来移除DMF, 以得到黄色残余物, 将其分配于乙酸乙酯与水之间。分离有机层并且用乙酸乙酯萃取水相。将合并的有机层用盐水洗涤并经硫酸镁干燥。通过在减压下进行旋转蒸发来移除乙酸乙酯, 以得到呈黄色油状物的粗产物。通过快速层析[85%正己烷/15%乙酸乙酯]纯化粗产物以得到为无色油状物的产物(10.74g, 93%)。

[2105] (ii) 氯化(S)-2-(甲氧基羰基)-4-亚甲基吡咯烷鎓(I3)

[2106] 在室温下将4M盐酸在二氧杂环己烷 (63mL, 254.4mmol, 4.5当量) 中的溶液添加到Boc保护的C-环片段I2 (13.67g, 56.6mmol, 1.0当量) 中。观察到冒泡, 这表明CO₂的释放和Boc基团的移除。产物沉淀为白色固体并且添加另外的二氧杂环己烷以有利于搅拌, 使反应混合物搅拌1小时, 接着用二乙醚稀释。沉淀出的产物通过真空过滤收集并且用另外的二乙醚洗涤。空气干燥得到为白色粉末的期望产物 (9.42g, 94%)。

[2107] (b) ((丙烷-1,3-二基双(氧基))双(2-氨基-5-甲氧基-4,1-亚苯基))双((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-亚甲基吡咯烷-1-基)甲酮 (I11)



[2109] (i) 1', 3'-双[2-甲氧基-4-(甲氧基羰基)苯氧基]丙烷 (I5)

[2110] 在0-5℃(冰/丙酮)、氮气气氛下将偶氮二甲酸二异丙基酯(71.3mL,73.2g,362mmol)经60min的时间段逐滴添加到香草酸甲酯I4(60g,329mmol)和 Ph_3P (129.4g,

494mmol) 在无水THF (800mL) 的经顶置搅拌的溶液中。使反应混合物在0-5℃下再搅拌1h, 然后经20min的时间段逐滴添加1,3-丙二醇 (11.4mL, 12.0g, 158mmol) 在THF (12mL) 中的溶液。使反应混合物升温至室温并搅拌5天。通过真空过滤收集所得的白色沉淀I3, 用THF洗涤并且在真空干燥器中干燥至恒重。收率=54.68g (84%, 基于1,3-丙二醇)。分析数据: LC/MS满意的纯度3.20min (ES+) m/z (相对强度) 427 ($[M+Na]^+$, 10); ^1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.64 (dd, 2H, J=1.8, 8.3Hz), 7.54 (d, 2H, J=1.8Hz), 6.93 (d, 2H, J=8.5Hz), 4.30 (t, 4H, J=6.1Hz), 3.90 (s, 6H), 3.89 (s, 6H), 2.40 (p, 2H, J=6.0Hz)。

[2111] (ii) 1', 3'-双[2-甲氧基-4-(甲氧基羰基)-5-硝基苯氧基]丙烷 (I6)

[2112] 在0-5℃ (冰/丙酮) 下将固体 $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$ (81.54g, 337.5mmol) 缓慢添加到双酯I5 (54.68g, 135mmol) 在乙酸酐 (650mL) 中的经顶置搅拌的浆液中。使反应混合物在0-5℃下搅拌1h, 然后使其升温至室温。在此阶段观察到温和放热 (大约40-50℃), 伴有混合物的增稠和 NO_2 的逸出。添加另外的乙酸酐 (300mL) 并且使反应混合物在室温下搅拌16h。将反应混合物倾倒在冰 (~1.5L) 上, 搅拌并且使其回到室温。通过真空过滤收集所得的黄色沉淀并且在干燥器中干燥以得到为黄色固体的期望的双硝基化合物I6。收率=66.7g (100%)。分析数据: LC/MS满意的纯度3.25min (ES+) m/z (相对强度) 517 ($[M+Na]^+$, 40); ^1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.49 (s, 2H), 7.06 (s, 2H), 4.32 (t, 4H, J=6.0Hz), 3.95 (s, 6H), 3.90 (s, 6H), 2.45-2.40 (m, 2H)。见参考文献Thurston 1996。

[2113] (iii) 1', 3'-双(4-羧基-2-甲氧基-5-硝基苯氧基)丙烷 (I7)

[2114] 用1N NaOH (700mL) 处理甲基酯I6 (66.7g, 135mmol) 在THF (700mL) 中的浆液, 并且使反应混合物在室温下剧烈搅拌。搅拌4天后, 浆液变成深色溶液, 使其在减压下进行旋转蒸发以移除THF。将所得的含水残余物用浓HCl酸化至pH 1并且收集无色沉淀I7并在真空烘箱 (50℃) 中彻底干燥。收率=54.5g (87%)。分析数据: LC/MS满意的纯度2.65min (ES+) m/z (相对强度) 489 ($[M+Na]^+$, 30); ^1H NMR (400MHz, $DMSO-d_6$) δ 7.62 (s, 2H), 7.30 (s, 2H), 4.29 (t, 4H, J=6.0Hz), 3.85 (s, 6H), 2.30-2.26 (m, 2H)。

[2115] (iv) 二甲基1,1'-(4,4'-(丙烷-1,3-二基双(氧基))双(5-甲氧基-2-硝基苯甲酰基))(2S,2'S)-双(4-亚甲基吡咯烷-2-羧酸酯) (I8)

[2116] 在室温下将催化量的无水DMF (2.4mL) 添加到草酰氯 (14.7g, 9.8mL, 115.8mmol, 3当量) 和二聚体核心I7 (18g, 38.6mmol, 1当量) 在无水DCM (500mL) 中的经搅拌悬浮液中。在添加DMF之后观察到剧烈冒泡并且使反应混合物于配备有氯化钙干燥管的圆底烧瓶中搅拌18小时。在减压下蒸发所得澄清溶液并且将固体用醚研磨。通过真空过滤收集固体产物, 用另外的醚洗涤并且在40℃下真空干燥1.5h。然后将此固体分批添加到C-环3 (15.1g, 84.9mmol, 2.2当量) 和TEA (19.5g, 27mL, 119.6mmol, 5当量) 在无水DCM (375mL) 中的悬浮液中, 借助于干冰/乙腈浴将温度保持在-40℃与-50℃之间。使反应混合物在-40℃下搅拌1h, 然后使其升温至室温, 在该点LCMS指示起始材料的完全消耗。将反应混合物用另外的DCM稀释并且用盐酸水溶液 (1M, 2x200mL)、饱和碳酸氢钠水溶液 (2x250mL)、水 (250mL)、盐水 (250mL) 顺序洗涤、干燥 ($MgSO_4$)。通过在减压下进行旋转蒸发来移除DCM, 得到为黄色泡沫的产物 (25.72g, 94%)。分析数据: RT 1.59min; MS (ES^+) m/z (相对强度) 713 ($[M+H]^+$, 100)

[2117] (v) ((丙烷-1,3-二基双(氧基))双(5-甲氧基-2-硝基-4,1-亚苯基))双((S)-2-(羟甲基)-4-亚甲基吡咯烷-1-基)甲酮) (I9)

[2118] 在氮气气氛、0℃ (冰浴) 下, 将固体硼氢化锂 (3.18g, 146mmol, 3当量) 一次性添加到酯I8 (34.72g, 48.7mmol, 1当量) 在无水THF (350mL) 中的溶液中。使反应混合物在0℃下搅拌30min, 然后使其升温至室温, 在该点观察到橙黄色胶状物的沉淀。使反应混合物在室温下再搅拌2小时, 然后在冰浴中冷却并且用水处理以得到黄色悬浮液。小心添加盐酸 (1M), 直到停止冒泡。用乙酸乙酯 (x4) 萃取反应混合物并且用水 (x1)、盐水 (x1) 洗涤合并的有机层并干燥 (MgSO_4)。通过在减压下进行旋转蒸发来移除乙酸乙酯, 得到黄色泡沫。通过快速柱层析 [梯度洗脱 DCM/MeOH 0% 至 5%, 增量为 1%] 进行纯化, 得到为微黄色泡沫的产物 (23.1g, 72%)。分析数据: RT 1.23min; MS (ES^+) m/z (相对强度) 657 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100)

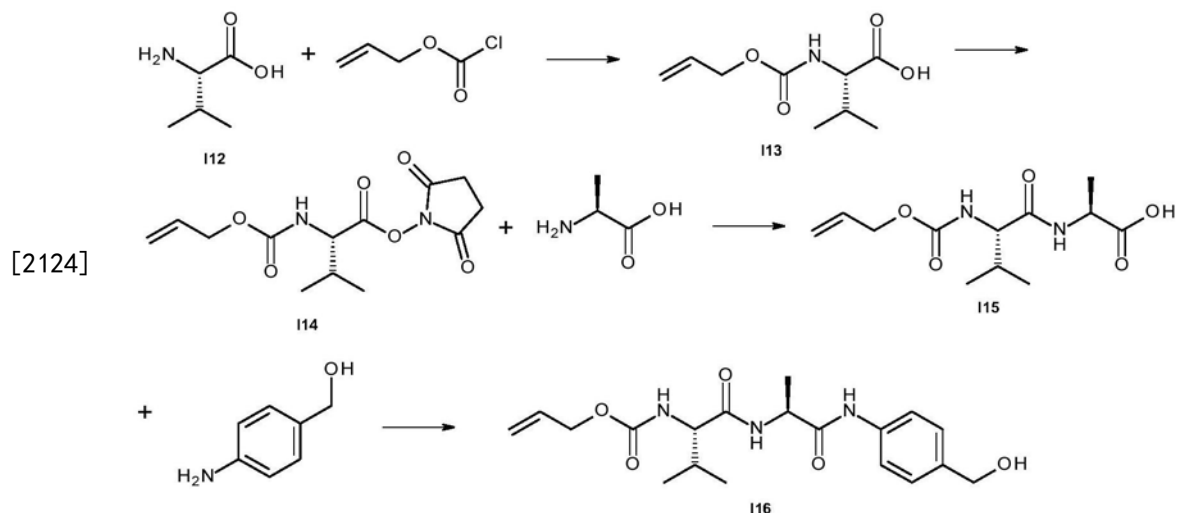
[2119] (vi) ((丙烷-1,3-二基双(氧基))双(5-甲氧基-2-硝基-4,1-亚苯基))双((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-亚甲基吡咯烷-1-基)甲酮 (I10)

[2120] 将二醇I9 (10g, 15.2mmol, 1当量)、叔丁基二甲基甲硅烷基氯化物 (5.97g, 39.6mmol, 2.6当量) 和咪唑 (5.38g, 79mmol, 5.2当量) 在无水DMF (80mL) 中的溶液在室温下搅拌3h。将反应混合物倾倒入水 (500mL) 中, 得到黄色沉淀。用DCM (4x100mL) 萃取混合物并且将合并的萃取物用水和盐水洗涤、干燥 (MgSO_4) 并且减压蒸发, 得到粘稠的黄色油状物。通过柱层析 [biotage isolera, 梯度洗脱 己烷60%/EtOAc 40% 至 EtOAc 100%, 8柱体积 100g snap ultra® 筒] 进行纯化, 得到为黄色泡沫的产物 (11.8g, 88%)。分析数据: RT 2.20min; MS (ES^+) m/z (相对强度) 885 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100), 907 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, 50)

[2121] (vii) ((丙烷-1,3-二基双(氧基))双(2-氨基-5-甲氧基-4,1-亚苯基))双((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-亚甲基吡咯烷-1-基)甲酮 (I11)

[2122] 通过与1M HCl一起搅拌/超声处理10min来活化锌粉 (31.9g, 488mmol, 40当量)。将锌过滤, 用1M HCl、水 (x3) 和MeOH (x2) 洗涤。将活化的锌添加到硝基-TBS化合物I10 (10.8g, 12.2mmol, 1当量) 在MeOH (88mL) 和5%甲酸/MeOH溶液 (440mL) 中的溶液中。温度升高至37℃, 反应混合物从黄色变为无色溶液。一旦放热平息 (20min), LCMS即显示反应完全。通过硅藻土过滤反应混合物, 用EtOAc洗涤。EtOAc部分用饱和碳酸氢盐溶液 (x4) [小心冒泡!]、水 (x1)、盐水 (x1) 洗涤, 干燥 (MgSO_4) 并减压蒸发, 得到黄色固体。通过快速柱层析 [正己烷/EtOAc 50/50v/v至EtOAc 100%, 增量为10%] 进行纯化, 得到为黄色泡沫的产物 (9.5g, 86%)。分析数据: RT 2.12min; MS (ES^+) m/z (相对强度) 825 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 60), 847 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, 30)

[2123] (c) Alloc-Val-Ala-PABOH (I16)



[2125] (i) Alloc-Val-OH (I13)

[2126] 将氯甲酸烯丙酯 (41g, 36.2mL, 0.34mol, 1.2当量) 逐滴加入L-缬氨酸I12 (33.25g, 0.28mol, 1当量) 和碳酸钾 (58.9g, 0.426mol, 1.5当量) 在水 (650mL) 和THF (650mL) 中的搅拌溶液中。在室温下搅拌反应混合物18h。将THF减压蒸发并且用二乙醚 (或MTBE) (x2) 萃取剩余溶液。用浓HCl将含水部分酸化至pH 2并且用DCM (x3) 萃取。将合并的有机萃取物用盐水 (x1) 洗涤、干燥 (MgSO_4) 并减压蒸发以得到无色油状物 (57.1g)。所述无色油状物无需进一步纯化即用于下一步骤。

[2127] (ii) Alloc-Val-OSu (I14)

[2128] 向化合物I13 (57.1g, 0.28mol, 1当量) 和N-羟基琥珀酰亚胺 (32.68g, 0.28mol, 1当量) 在无水THF (800mL) 中的搅拌溶液中加入二环己基碳二亚胺 (58.6g, 0.28mol, 1当量)。在室温下搅拌反应混合物18h。将反应混合物过滤。用THF洗涤固体并且将合并的滤液减压浓缩。将油状物/固体残余物重新溶解于DCM中并且使其在0℃下静置30min。过滤悬浮液, 用冷DCM洗涤。滤液的减压蒸发得到为白色固体的琥珀酰亚胺酯, 其无需进一步纯化即用于下一步骤。

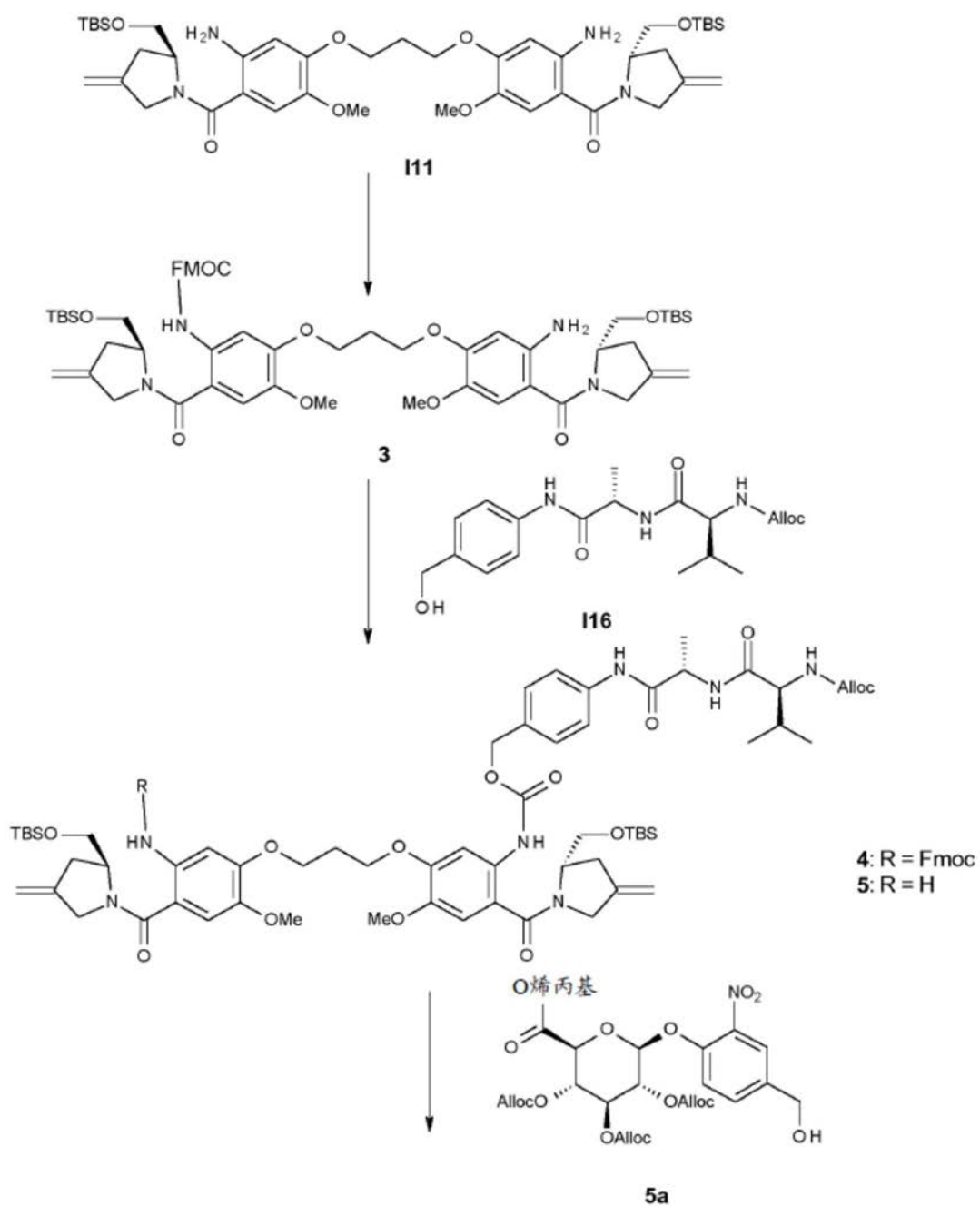
[2129] (iii) Alloc-Val-Ala-OH (I15)

[2130] 将Alloc-Val-OSu I14 (11.67g, 39.0mmol, 1当量) 在THF (50mL) 中的溶液加入H-Ala-OH (3.66g, 41.08mmol, 1.05当量) 和 NaHCO_3 (3.61g, 43.03mmol, 1.1当量) 在THF (100mL) 和 H_2O (100mL) 中的溶液中。将混合物在室温下搅拌72h, 并且减压蒸发THF。用柠檬酸将pH调节至3-4, 以沉淀白色胶状物。用乙酸乙酯 (6x150mL) 对其进行萃取并且将合并的萃取物用 H_2O (200mL)、盐水 (200mL) 洗涤、干燥 (MgSO_4) 并且减压蒸发, 得到白色固体。用二乙醚 (xs) 研磨, 得到为白色粉末的纯产物 (7.93g, 74%)。分析数据: RT 2.17min; MS (ES^+) m/z (相对强度) 295 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, 63), 273 ($[\text{M}+1]^+$, 60)。

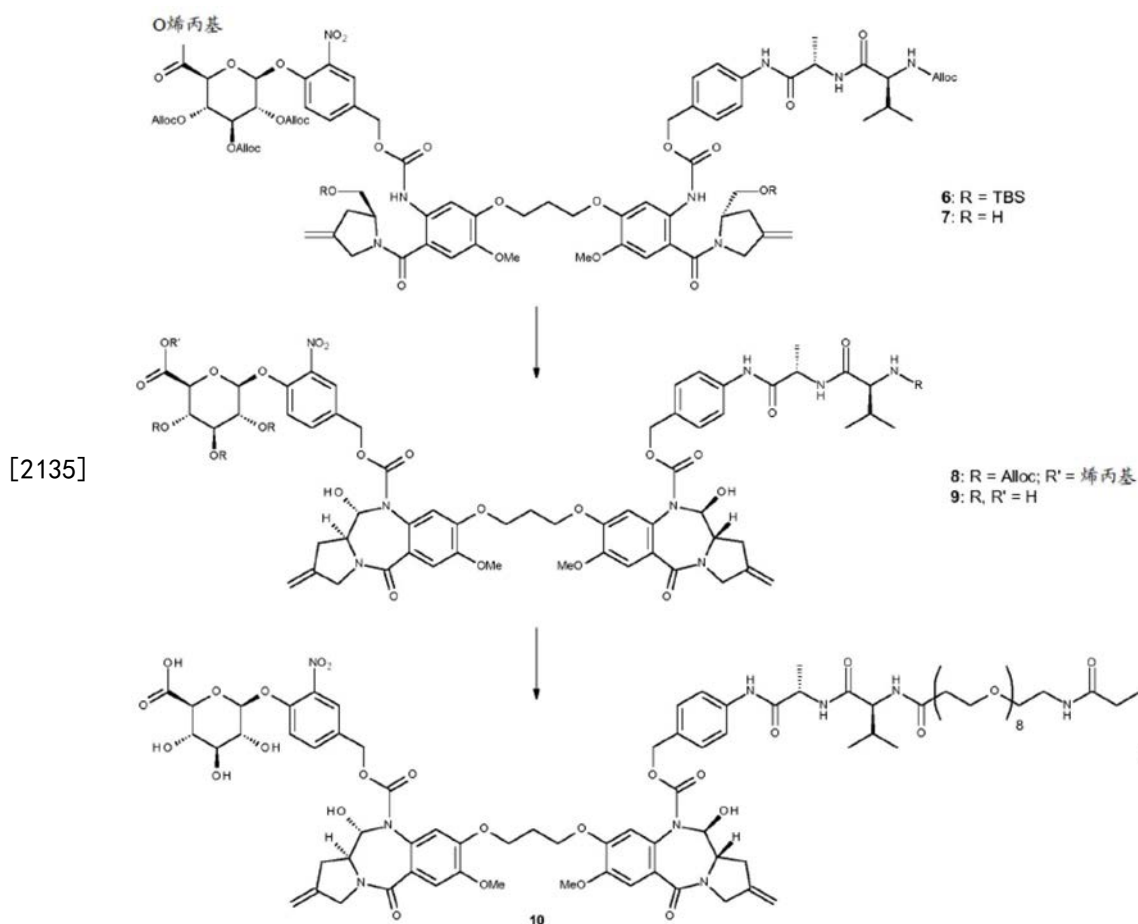
[2131] (iv) Alloc-Val-Ala-PABOH (I16)

[2132] 将EEDQ (4.79g, 19.3mmol, 1.05当量) 加入对氨基苄醇 (2.38g, 19.3mmol, 1.05当量) 和Alloc-Val-Ala-OH I15 (5.02g, 18.4mmol, 1.0当量) 在无水THF (100mL) 中的溶液中。在室温下搅拌混合物72h。将溶剂减压蒸发以得到浅棕色固体。将固体用二乙醚研磨并过滤, 用过量二乙醚洗涤。这得到为白色固体的产物 (6.2g, 89%)。分析数据: RT 2.50min; MS (ES^+) m/z (相对强度) 400.6 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, 50), 378.6 ($[\text{M}+1]^+$, 60)。

[2133] 实施例1



[2134]



[2136] (a) (5-(3-(5-氨基-4-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-亚甲基吡咯烷-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)丙氧基)-2-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-亚甲基吡咯烷-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲基酯(3)

[2137] 将FmocCl(1.97g, 7.63mmol)添加到双苯胺111(6.99g, 8.48mmol)和 Na_2CO_3 (2.25g, 21.2mmol)在THF(65mL)和 H_2O (65mL)中的经搅拌溶液中。将混合物在室温下搅拌16小时,其中LC/MS的分析显示出在保留时间2.34分钟处的期望的单Fmoc产物3, $I\% = 40$, $ES+m/z$ 1069 $[M+Na]^+$, 1047 $[M+H]^+$, 以及在保留时间2.15分钟处的未反应的起始材料, $I\% = 12$, 以及在保留时间2.50分钟处的双-Fmoc材料, $I\% = 45$, $ES+m/z$ 1291 $[M+Na]^+$, 1269 $[M+H]^+$ 。将层分离并用DCM(2x20mL)萃取水相, 并且将合并的有机层用 H_2O (30mL)、盐水(50mL)洗涤, 干燥(MgSO_4), 过滤并真空蒸发以得到粗产物。通过IsoleraTM(己烷/EtOAc, SNAP Ultra 50g, 每分钟100mL)进行的纯化提供了为橙色泡沫的纯的单Fmoc产物3(2.67g, 39%收率, 基于FmocCl, 在50%己烷/EtOAc下洗脱)、未反应的双苯胺2(1.78g, 在100%EtOAc下洗脱)以及双-Fmoc(3.28g, 在70%己烷/EtOAc下洗脱)。

[2138] (b) (5-(3-(5-(((4-((S)-2-((S)-2-((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)氨基)-4-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-亚甲基吡咯烷-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)丙氧基)-2-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-亚甲基吡咯烷-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲基酯(4)

[2139] 在室温下将三光气(26mg, 86 μmol)添加到单Fmoc产物3(250mg, 0.24mmol)和TEA

(73 μ L, 53mg, 0.53mmol) 在无水DCM (10mL) 中的经搅拌溶液中。在氩气下搅拌10分钟后, LC/MS的分析显示完全转化为异氰酸酯(在MeOH中取样, 得到氨基甲酸甲酯, 保留时间2.39分钟, ES+m/z 1127 [M+Na]⁺, 1105 [M+H]⁺)。将混合物用另外的TEA (50 μ L, 36mg, 0.36mmol) 处理, 然后添加接头I16 (90mg, 0.24mmol)。在氩气下搅拌4小时后, LC/MS显示出向氨基甲酸酯4的令人满意的转化, 保留时间2.34分钟, ES+m/z 1472 [M+Na]⁺, 1451 [M+H]⁺。将混合物用DCM (60mL) 稀释并且用饱和的NH₄Cl水溶液 (2x20mL)、H₂O (20mL)、盐水 (30mL) 洗涤, 干燥 (MgSO₄), 过滤并且真空蒸发以得到粗产物。通过IsoleraTM (己烷/EtOAc, SNAP Ultra 25g, 每分钟75mL) 进行的纯化提供为黄色泡沫的纯氨基甲酸酯4 (在28%己烷/EtOAc下洗脱) (257mg, 74%收率)。

[2140] (c) (5-(3-(5-氨基-4-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-亚甲基吡咯烷-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)丙氧基)-2-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-亚甲基吡咯烷-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酸4-((S)-2-((S)-2-(((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基酯(5)

[2141] 在室温下将二甲胺 (16.5mL的在THF中的2.0M溶液, 33.0mmol) 添加到Fmoc保护的化合物4 (2.39g, 1.65mmol) 在THF (46mL) 中的经搅拌溶液中。在室温下搅拌1小时后, LC/MS的分析显示反应完全, 具有在保留时间2.17分钟处的期望产物, ES+m/z 1250 [M+Na]⁺, 1228 [M+H]⁺, 以及在保留时间1.92分钟处的Fmoc切割副产物和在保留时间1.10分钟处的其DMA加合物。将混合物真空蒸发以得到粗产物, 其随后通过IsoleraTM (己烷/EtOAc, SNAP Ultra 100g, 每分钟100mL) 进行纯化, 以提供为橙色泡沫的纯苯胺5 (在100%EtOAc下洗脱) (1.87g, 92%收率)。

[2142] (d) (2S, 3S, 4S, 5R, 6S)-6-(4-(((5-(3-(5-(((4-((S)-2-((S)-2-(((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)氨基)-4-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-亚甲基吡咯烷-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)丙氧基)-2-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-亚甲基吡咯烷-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酰基)氧基)甲基)-2-硝基苯氧基)-3,4,5-三(((烯丙氧基)羰基)氧基)四氢-2H-吡喃-2-羧酸烯丙基酯(6)

[2143] 在室温下将三光气 (161mg, 0.54mmol) 添加到苯胺5 (1.85g, 1.51mmol) 和吡啶 (269 μ L, 263mg, 3.32mmol) 在无水DCM (20mL) 中的经搅拌溶液中。在氩气下搅拌10分钟后, LC/MS的分析显示完全转化为异氰酸酯(在MeOH中取样, 得到氨基甲酸甲酯, 保留时间2.21分钟, ES+m/z 1308 [M+Na]⁺, 1286 [M+H]⁺)。将混合物用另外的吡啶 (183 μ L, 179mg, 2.27mmol) 和二月桂酸二丁基锡 (179 μ L, 191mg, 0.30mmol) 处理, 然后添加接头5a (960mg, 1.51mmol)。在氩气下搅拌20小时后, LC/MS显示出向氨基甲酸酯6的令人满意的转化 (保留时间2.25分钟, ES+m/z 1915 [M+Na]⁺, 1892 [M+H]⁺)。将混合物用DCM (60mL) 稀释并且用饱和NH₄Cl (2x20mL)、H₂O (20mL)、盐水 (30mL) 洗涤, 干燥 (MgSO₄), 过滤并且真空蒸发以得到粗产物。通过IsoleraTM (己烷/EtOAc, SNAP Ultra 100g, 每分钟100mL) 进行的纯化提供为黄色泡沫的纯氨基甲酸酯6 (在42%己烷/EtOAc下洗脱) (2.01g, 70%收率)。

[2144] (e) (2S, 3S, 4S, 5R, 6S)-6-(4-(((5-(3-(5-(((4-((S)-2-((S)-2-(((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)氨基)-4-((S)-2-(羟甲基)-4-亚甲基吡咯烷-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)丙氧基)-2-((S)-2-(羟甲基)-4-亚甲基吡咯烷-

1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酰基)氧基)甲基)-2-硝基苯氧基)-3,4,5-三((烯丙氧基)羰基)氧基)四氢-2H-吡喃-2-羧酸烯丙基酯(7)

[2145] 将冰醋酸(18mL)添加到TBS保护的化合物6(2.12g, 1.12mmol)在THF(6mL)和H₂O(6mL)中的经搅拌溶液中。将反应混合物在室温下搅拌18小时,之后LC/MS的分析显示反应完全,具有在保留时间1.79分钟处观察到的期望产物,ES+m/z 1663[M+H]⁺, 1686[M+Na]⁺。将反应混合物逐滴添加到冷却的(0-5℃)饱和NaHCO₃溶液(300mL)中。将中性溶液温热至室温并用EtOAc(3x100mL)萃取,将合并的有机层用H₂O(50mL)、盐水(50mL)洗涤,干燥(MgSO₄),过滤并真空蒸发以得到粗产物。通过IsoleraTM(DCM/MeOH, SNAP Ultra100g, 每分钟100mL)进行的纯化得到为淡黄色泡沫的双醇7(在93%DCM/MeOH下洗脱)(1.43g, 77%收率)。

[2146] (f) (11S, 11aS)-8-(3-(((11S, 11aS)-10-(((4-((S)-2-((S)-2-((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)-11-羟基-7-甲氧基-2-亚甲基-5-氧代-2,3,5,10,11,11a-六氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-8-基)氧基)丙氧基)-11-羟基-7-甲氧基-2-亚甲基-5-氧代-2,3,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-10(5H)-羧酸4-((2S, 3R, 4S, 5S, 6S)-6-((烯丙氧基)羰基)-3,4,5-三((烯丙氧基)羰基)氧基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)-3-硝基苄基酯(8)

[2147] 将45%IBX(264 mg, 0.43 mmol)添加到双-OH 7(300 mg, 0.18mmol)在无水DMSO(5 mL)中的经搅拌溶液中。在氩气气氛下将混合物加热至30℃并通过LC/MS监测反应进度。搅拌24小时后,添加另外的IBX(22 mg, 36μmol)并且将混合物再搅拌24小时。此时LC/MS的分析主要显示与期望产物相对应的单峰,保留时间1.78分钟,ES+m/z 1682[M+Na]⁺。将反应混合物倒入水(40 mL)中,过滤并且收集沉淀,用H₂O(50 mL)洗涤并将滤液保持在一侧。将残余物(沉淀)用DCM(120 mL)洗涤并将其余的未溶解沉淀用饱和NaHCO₃水溶液(60 mL)洗涤。将合并的滤液转移到分液漏斗中并将层分离。用DCM(2 x 20 mL)萃取水相并且将合并的有机层用NaHCO₃(2 x 50mL)、盐水(60 mL)洗涤,干燥(MgSO₄),过滤并真空蒸发以得到粗产物。通过IsoleraTM(DCM/MeOH, SNAP Ultra 25 g, 每分钟75 mL)进行的纯化得到为白色泡沫的环化产物8(在94.5%DCM/MeOH下洗脱)(261 mg, 87%收率)。

[2148] (g)

[2149] (2S, 3S, 4S, 5R, 6S)-6-(4-(((11S, 11aS)-8-(3-(((11S, 11aS)-10-(((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)-11-羟基-7-甲氧基-2-亚甲基-5-氧代-2,3,5,10,11,11a-六氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-8-基)氧基)丙氧基)-11-羟基-7-甲氧基-2-亚甲基-5-氧代-2,3,5,10,11,11a-六氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-10-羰基)氧基)甲基)-2-硝基苯氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸(9)

[2150] 将Pd(PPh₃)₄(18.2 mg, 15.7μmol)添加到吡咯烷(72μL, 62 mg, 0.87 mmol)和Alloc/烯丙基化合物8(261 mg, 0.16 mmol)在无水DCM(3 mL)中的经搅拌溶液中。将反应混合物在氩气气氛下搅拌,其中开始形成沉淀。在室温下搅拌30分钟后,LC/MS的分析显示反应完全,具有在保留时间1.13分钟处观察到的期望产物,ES+m/z 1284[M+H]⁺。通过真空蒸发移除溶剂并且将所得的残余物用二乙醚研磨,然后再次真空蒸发以提供为固体的粗胺9,其不经进一步纯化或分析即进行下一步骤。

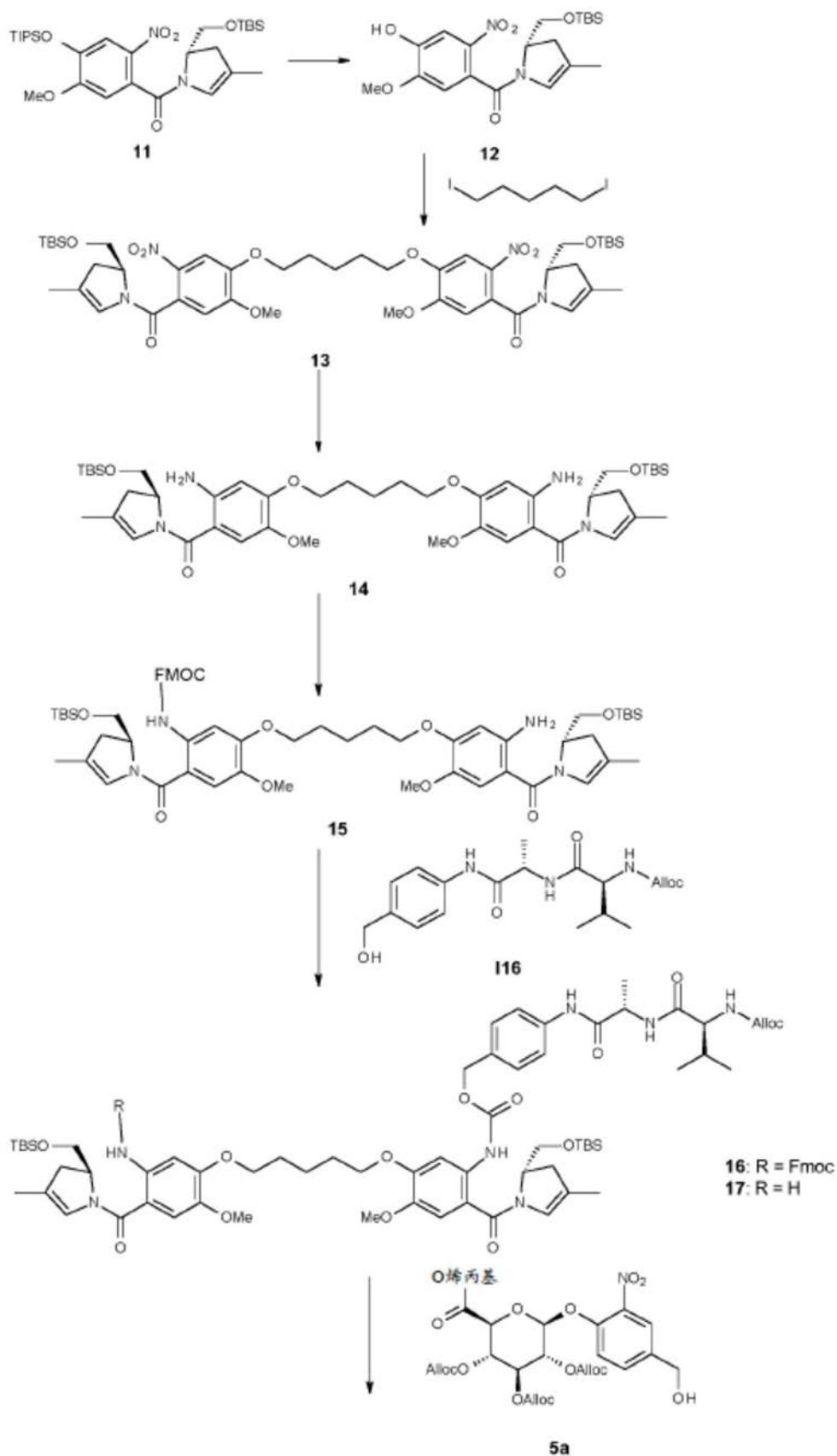
[2151] (h)

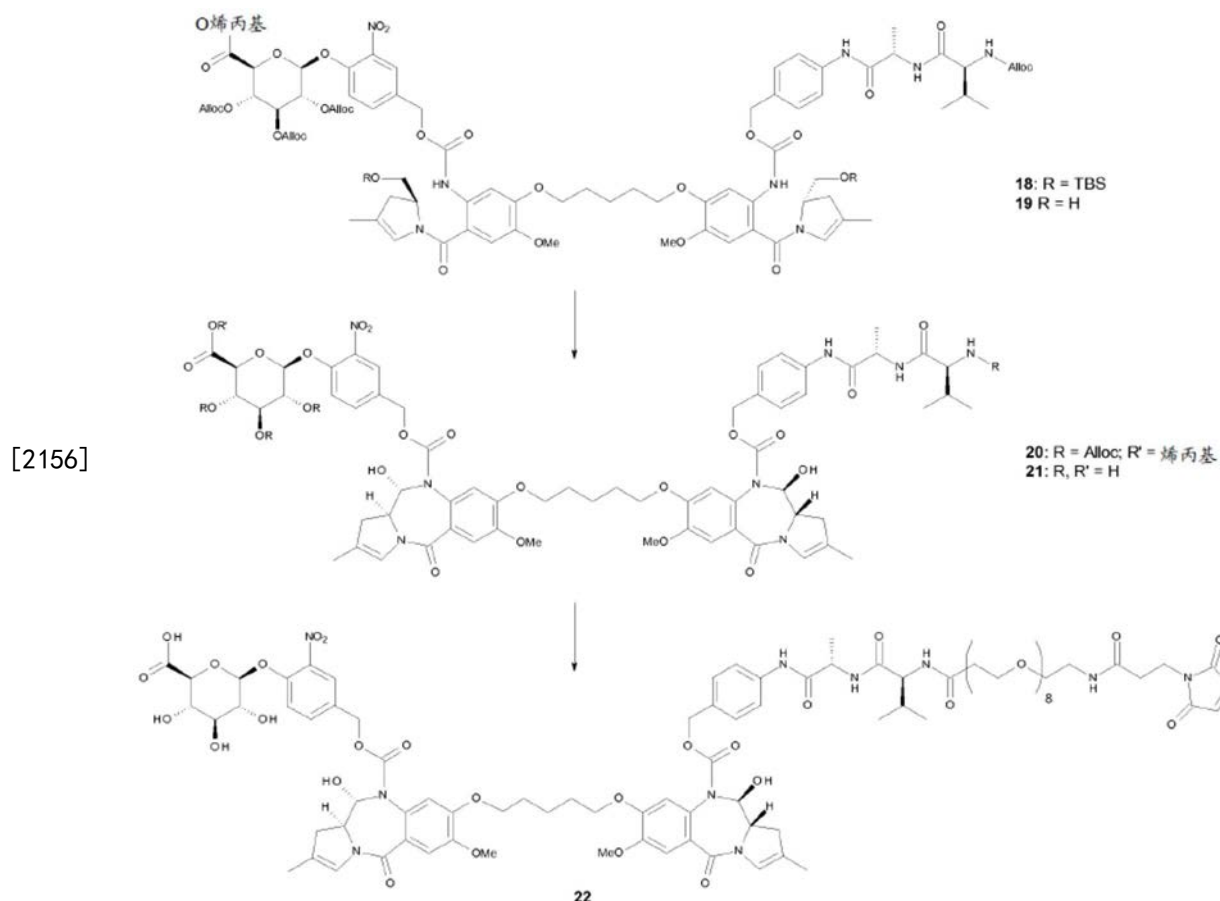
[2152] (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(4-(((11S,11aS)-8-(3-(((11S,11aS)-10-((4-(2S,5S)-37-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-5-异丙基-2-甲基-4,7,35-三氧代-10,13,16,19,22,25,28,31-八氧杂-3,6,34-三氮杂三十七烷酰氨基)苄基)氧基)羰基)-11-羟基-7-甲氧基-2-亚甲基-5-氧代-2,3,5,10,11,11a-六氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-8-基)氧基)丙氧基)-11-羟基-7-甲氧基-2-亚甲基-5-氧代-2,3,5,10,11,11a-六氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-10-羰基)氧基)甲基)-2-硝基苯氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸(10)

[2153] 将MAL-dPEG®8-TFP酯(132mg,0.18mmol)在无水DCM(7mL)中的溶液添加到胺9(202mg,0.16mmol)、吡啶(24μL,23mg,0.3mmol)和DMF(0.25mL)的经搅拌样品中。将反应混合物在氩气下搅拌20小时并且颜色随着时间的推移开始变深。LC/MS的分析显示出在保留时间1.38分钟处的期望产物形成,ES+)m/z 1857[M+H]⁺,1880[M+Na]⁺,以及在保留时间1.13分钟处的未反应的胺。添加另外的MAL-dPEG®8-TFP酯(66mg,0.09mmol)、吡啶(12μL,11mg,0.15mmol)和DCM(3mL)并且将混合物再搅拌3天。此时,在通过LC/MS进行分析时已经形成了令人满意的量的期望产物并且通过真空蒸发移除溶剂。通过制备型HPLC纯化粗产物,以得到为白色固体的马来酰亚胺10(55mg,19%):LC/MS(15分钟运行),保留时间5.93分钟,ES+m/z 1857[M+H]⁺,1880[M+Na]⁺; ¹H NMR(400MHz,d6-DMSO)δ10.0(br s,2H),8.25-8.12(m,1H),7.99(t,1H,J=5.7Hz),7.87(d,1H,J=8.9Hz),7.73(br s,1H),7.62-7.48(m,3H),7.40(d,1H,J=8.7Hz),7.22-7.11(m,2H),7.06(s,2H),7.00(s,2H),6.87(s,2H),6.84-6.76(m,1H),6.68-6.52(m,2H),5.45-5.30(m,3H),5.25-5.01(m,9H),4.97-4.82(m,2H),4.42-4.34(m,1H),4.24-4.17(m,1H),4.16-3.92(m,8H),3.87-3.72(m,6H),3.60(t,4H,J=7.2Hz),3.54-3.42(m,30H),3.39-3.20(m,5H),3.18-3.12(m,2H),2.95-2.82(m,2H),2.57-2.35(m,4H),2.33(t,2H,J=7.4Hz),2.24-2.13(m,2H),2.03-1.90(m,1H),1.30(d,1H,J=7.0Hz),0.87(d,3H,J=6.7Hz),0.83(d,3H,J=6.7Hz)。

[2154] 实施例2

[2155]





[2157] (a) (S) - (2 - (((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基) - 4 - 甲基 - 2,3 - 二氢 - 1H - 吡咯 - 1 - 基) (4 - 羟基 - 5 - 甲氧基 - 2 - 硝基苯基) 甲酮 (12)

[2158] 在室温下将LiOAc (2.11g, 20.7mmol) 添加到TIPS化合物11 (12g, 20.7mmol) 在DMF (67mL) 和H₂O (3mL) 中的经搅拌溶液中。观察到从黄色到红色的颜色变化。在室温下搅拌2小时后, LC/MS的分析显示完全转化为期望产物, 保留时间1.83分钟, ES+m/z 445 [M+Na]⁺, 423 [M+H]⁺。用H₂O (300mL) 稀释混合物并用EtOAc (3x150mL) 萃取。将合并的有机层用10% w/v柠檬酸 (2x200mL)、H₂O (200mL)、盐水 (200mL) 洗涤, 干燥 (MgSO₄), 过滤并真空蒸发以得到为黄色固体的粗产物12 (8.74g, 100%收率)。纯度令人满意, 因此材料无需进一步纯化即可进行下一步骤。

[2159] (b) ((戊烷 - 1,5 - 二基双(氧基))双(5 - 甲氧基 - 2 - 硝基 - 4,1 - 亚苯基))双((S) - 2 - (((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基) - 4 - 甲基 - 2,3 - 二氢 - 1H - 吡咯 - 1 - 基) 甲酮 (13)

[2160] 将1,5 - 二碘戊烷 (1.54mL, 3.35g, 10.4mmol) 添加到苯酚12 (8.74g, 20.7mmol)、TBAI (750mg, 2.05mmol) 和K₂CO₃ (3.15g, 22.8mmol) 在无水DMF (60mL) 中的经搅拌溶液中。将反应混合物加热至70℃并在氩气气氛下搅拌16小时, 此时LC/MS的分析显示出显著的产物形成, 保留时间2.21分钟, ES+m/z 935 [M+Na]⁺, 913 [M+H]⁺。使反应混合物冷却至室温并且通过真空蒸发移除DMF。将所得残余物重新溶解于EtOAc (200mL) 中并且将水相用水 (3x40mL)、盐水 (50mL) 洗涤, 干燥 (MgSO₄), 过滤并真空蒸发以提供粗产物。通过Isolera™ (己烷/EtOAc, SNAP Ultra 100g, 每分钟100mL) 进行的纯化得到为黄色泡沫的双醚13 (在60%己烷/EtOAc下洗脱) (6.75g, 71%收率)。

[2161] (c) ((戊烷 - 1,5 - 二基双(氧基))双(2 - 氨基 - 5 - 甲氧基 - 4,1 - 亚苯基))双((S) - 2 -

((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-甲基-2,3-二氢-1H-吡咯-1-基)甲酮(14)

[2162] 用1N HCl (50mL)处理锌粉(2.79g, 42.8mmol)并在室温下搅拌10分钟。然后将混合物超声波处理10分钟并且通过烧结真空过滤收集活化的锌,然后用1N HCl (25mL)、H₂O (20mL)、MeOH (20mL)洗涤并在烧结过滤垫上真空干燥。在室温下将活化的锌添加到双硝基化合物13 (974mg, 1.07mmol)在MeOH (15mL)中的经剧烈搅拌的溶液中。将反应混合物用5% v/v HCO₂H在MeOH (20mL)中的溶液逐滴处理。观察到从绿色到银灰色的颜色变化且放热到37℃。使反应混合物冷却至室温,此时LC/MS的分析显示完全转化为期望产物,保留时间2.19分钟,ES+m/z 875[M+Na]⁺, 853[M+H]⁺。将混合物通过硅藻土®过滤并将垫用EtOAc (75mL)洗涤。将滤液用饱和NaHCO₃水溶液(3x20mL)、盐水(50mL)洗涤,干燥(MgSO₄),过滤并真空蒸发以提供为深橙色泡沫的粗双苯胺14 (840mg, 收率92%)。纯度令人满意,因此材料无需进一步纯化即可进行下一步骤。

[2163] (d) (5-((5-(5-氨基-4-((S)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-甲基-2,3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)戊基)氧基)-2-((S)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-甲基-2,3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲基酯(15)

[2164] 将FmocCl (1.50g, 5.93mmol)添加到双苯胺14 (6.74g, 7.91mmol)和Na₂CO₃ (2.10g, 19.8mmol)在THF (40mL)和H₂O (40mL)中的经搅拌悬浮液中。将混合物在室温下搅拌16小时,其中LC/MS的分析显示出在保留时间2.41分钟处的期望的单Fmoc产物15, I%=32, ES+m/z 1098[M+Na]⁺, 1076[M+H]⁺,以及在保留时间2.22分钟处的未反应的起始材料, I%=30,以及在保留时间2.60分钟处的双-Fmoc材料, I%=36, ES+m/z 1321[M+Na]⁺, 1298[M+H]⁺。使混合物在H₂O (50mL)与EtOAc (50mL)之间分配,将层分离并且将有机层用H₂O (30mL)、盐水(40mL)洗涤,干燥(MgSO₄),过滤并真空蒸发以得到粗产物。通过Isolera™(己烷/EtOAc, SNAP Ultra 100g, 每分钟100mL)进行的纯化提供了为橙色泡沫的纯的单Fmoc产物15 (2.43g, 38%收率,基于FmocCl,在58%己烷/EtOAc下洗脱)、未反应的双苯胺14 (3.06g,在40%己烷/EtOAc下洗脱)以及双-Fmoc (2.32g,在74%己烷/EtOAc下洗脱)。

[2165] (e) (5-((5-(5-(((4-((S)-2-((S)-2-((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)氨基)-4-((S)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-甲基-2,3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)戊基)氧基)-2-((S)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-甲基-2,3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲基酯(16)

[2166] 在室温下将三光气(242mg, 0.81mmol)添加到单Fmoc产物15 (2.43g, 2.26mmol)和TEA (692μL, 502mg, 4.97mmol)在无水DCM (30mL)中的经搅拌溶液中。在氩气下搅拌10分钟后,LC/MS的分析显示完全转化为异氰酸酯(在MeOH中取样,得到氨基甲酸甲酯,保留时间2.38分钟,ES+m/z 1156[M+Na]⁺, 1133[M+H]⁺)。将混合物用另外的TEA (472μL, 342mg, 3.39mmol)处理,然后添加接头I16 (852mg, 2.26mmol)。在氩气下搅拌3.5小时后,LC/MS显示出向氨基甲酸酯16的令人满意的转化,保留时间2.33分钟,ES+m/z 1501[M+Na]⁺, 1479[M+H]⁺。将混合物用DCM (50mL)稀释并且用饱和的NH₄Cl水溶液(2x20mL)、盐水(30mL)洗涤,干燥(MgSO₄),过滤并且真空蒸发以得到粗产物。通过Isolera™(己烷/EtOAc, SNAP Ultra 100g, 每分钟100mL)进行的纯化提供为黄色泡沫的纯氨基甲酸酯16(在46%己烷/EtOAc下洗脱)

(2.26g, 68% 收率)。

[2167] (f) (5-((5-(5-氨基-4-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-甲基-2,3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)戊基)氧基)-2-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-甲基-2,3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酸4-((S)-2-((S)-2-((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基酯 (17)

[2168] 在室温下将二甲胺 (15.0mL 的在 THF 中的 2.0M 溶液, 30.6mmol) 添加到 Fmoc 保护的化合物 16 (2.26g, 1.65mmol) 在 THF (20mL) 中的经搅拌溶液中。在室温下搅拌 1 小时后, LC/MS 的分析显示反应完全, 具有在保留时间 2.17 分钟处的期望产物, $ES+m/z$ 1279 $[M+Na]^+$, 1257 $[M+H]^+$, 以及在保留时间 1.79 分钟处的 Fmoc 切割副产物和在保留时间 0.97 分钟处的其 DMA 加合物。将混合物真空蒸发以得到粗产物, 其随后通过 Isolera™ (己烷/EtOAc, SNAP Ultra 100g, 每分钟 100mL) 进行纯化, 以得到为橙色泡沫的纯苯胺 17 (在 18% 己烷/EtOAc 下洗脱) (1.94g, 100% 收率)。

[2169] (g) (2S, 3S, 4S, 5R, 6S) -6-(4-(((5-((5-(5-(((4-((S)-2-((S)-2-((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)氨基)-4-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-甲基-2,3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)戊基)氧基)-2-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-甲基-2,3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酰基)氧基)甲基)-2-硝基苯氧基)-3,4,5-三((烯丙氧基)羰基)氧基)四氢-2H-吡喃-2-羧酸烯丙基酯 (18)

[2170] 在室温下将三光气 (165mg, 0.55mmol) 添加到苯胺 17 (1.94g, 1.54mmol) 和吡啶 (274μL, 268mg, 3.39mmol) 在无水的 DCM (20mL) 中的经搅拌溶液中。在氩气下搅拌 10 分钟后, LC/MS 的分析显示完全转化为异氰酸酯 (在 MeOH 中取样, 得到氨基甲酸甲酯, 保留时间 2.21 分钟, $ES+m/z$ 1337 $[M+Na]^+$, 1315 $[M+H]^+$)。将混合物用另外的吡啶 (187μL, 183mg, 2.31mmol) 和二月桂酸二丁基锡 (179μL, 191mg, 0.30mmol) 处理, 然后添加接头 5a (984mg, 1.54mmol)。在氩气下搅拌 18 小时后, LC/MS 显示出向氨基甲酸酯 18 的令人满意的转化, 保留时间 2.23 分钟, $ES+m/z$ 1942 $[M+Na]^+$, 1920 $[M+H]^+$ 。将混合物用 DCM (30mL) 稀释并且用饱和 NH_4Cl (2x20mL)、 H_2O (20mL)、盐水 (40mL) 洗涤, 干燥 ($MgSO_4$), 过滤并且真空蒸发以得到粗产物。通过 Isolera™ (己烷/EtOAc, SNAP Ultra 100g, 每分钟 100mL) 进行的纯化提供为黄色泡沫的纯氨基甲酸酯 18 (在 43% 己烷/EtOAc 下洗脱) (2.17g, 74% 收率)。

[2171] (h) (2S, 3S, 4S, 5R, 6S) -6-(4-(((5-((5-(5-(((4-((S)-2-((S)-2-((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)氨基)-4-((S)-2-(羟甲基)-4-甲基-2,3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)戊基)氧基)-2-((S)-2-(羟甲基)-4-甲基-2,3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酰基)氧基)甲基)-2-硝基苯氧基)-3,4,5-三((烯丙氧基)羰基)氧基)四氢-2H-吡喃-2-羧酸烯丙基酯 (19)

[2172] 将冰醋酸 (18mL) 添加到 TBS 保护的化合物 18 (2.17g, 1.13mmol) 在 THF (6mL) 和 H_2O (6mL) 中的经搅拌溶液中。将反应混合物在室温下搅拌 18 小时, 之后 LC/MS 的分析显示反应完全, 具有在保留时间 1.82 分钟处观察到的期望产物, $ES+m/z$ 1691 $[M+H]^+$, 1714 $[M+Na]^+$ 。将反应混合物逐滴添加到冷却的 (0-5°C) 饱和 $NaHCO_3$ 溶液 (300mL) 中。将中性溶液温热至室温并用 EtOAc (3x100mL) 萃取, 将合并的有机层用盐水 (50mL) 洗涤, 干燥 ($MgSO_4$), 过滤并真空蒸发以得到粗产物。通过 Isolera™ (DCM/MeOH, SNAP Ultra 100g, 每分钟 100mL) 进行的纯化

得到为白色泡沫的双醇19(在96.5%DCM/MeOH下洗脱)(1.31g,69%收率)。

[2173] (i) (11S,11aS)-8-((5-(((11S,11aS)-10-(((4-((S)-2-((S)-2-(((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)-11-羟基-7-甲氧基-2-甲基-5-氧代-5,10,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-8-基)氧基)戊基)氧基)-11-羟基-7-甲氧基-2-甲基-5-氧代-11,11a-二氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-10(5H)-羧酸4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-((烯丙氧基)羰基)-3,4,5-三(((烯丙氧基)羰基)氧基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)-3-硝基苄基酯(20)

[2174] 将45%IBX(269mg,0.43mmol)添加到双-OH 19(300mg,0.18mmol)在无水DMSO(5mL)中的经搅拌溶液中。在氩气气氛下将混合物加热至30℃并通过LC/MS监测反应进度。搅拌24小时后,添加另外的IBX(22mg,36μmol)并且将混合物再搅拌24小时。此时LC/MS的分析显示出在保留时间1.79分钟处的产物形成,ES+m/z1710[M+Na]⁺。将反应混合物逐滴添加到饱和NaHCO₃水溶液(100mL)中并用DCM(2x75mL)萃取。将合并的有机层用饱和NaHCO₃水溶液(2x20mL)、H₂O(30mL)、盐水(40mL)洗涤,干燥(MgSO₄),过滤并真空蒸发以得到粗产物。通过IsoleraTM(DCM/MeOH,SNAPUltra 25g,每分钟75mL)进行的纯化得到为白色泡沫的环化产物11(在97.4%DCM/MeOH下洗脱)(136mg,46%收率)。

[2175] (j) (11S,11aS)-8-((5-(((11S,11aS)-10-(((4-((S)-2-((S)-2-(((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)-11-羟基-7-甲氧基-2-甲基-5-氧代-5,10,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-8-基)氧基)戊基)氧基)-11-羟基-7-甲氧基-2-甲基-5-氧代-11,11a-二氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-10(5H)-羧酸4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-((烯丙氧基)羰基)-3,4,5-三(((烯丙氧基)羰基)氧基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)-3-硝基苄基酯(20)的替代合成

[2176] 在室温下将TEMPO(6.6mg,42μmol)和DAIB(125mg,0.39mmol)添加到双-OH 19(300mg,0.18mmol)在无水DCM(15mL)中的经搅拌溶液中。在氩气气氛下搅拌混合物并通过LC/MS监测反应进度。搅拌24小时后,添加另外的TEMPO(6.6mg,42μmol)和DAIB(25mg,78μmol)并将混合物再搅拌24小时。此时LC/MS的分析显示出在保留时间1.79分钟处的产物形成,ES+m/z 1710[M+Na]⁺。将混合物用DCM(50mL)稀释并且用饱和硫代硫酸钠水溶液(40mL)、饱和NaHCO₃水溶液(30mL)、盐水(40mL)洗涤,干燥(MgSO₄),过滤并真空蒸发以得到粗产物。通过IsoleraTM(DCM/MeOH,SNAP Ultra25g,每分钟75mL)进行的纯化得到为白色泡沫的环化产物21(在96.5%DCM/MeOH下洗脱)(231mg,78%收率)。

[2177] (k)

[2178] (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(4-(((11S,11aS)-8-((5-(((11S,11aS)-10-(((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)-11-羟基-7-甲氧基-2-甲基-5-氧代-5,10,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-8-基)氧基)戊基)氧基)-11-羟基-7-甲氧基-2-甲基-5-氧代-5,10,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-10-羰基)氧基)甲基)-2-硝基苯氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸(21)

[2179] 将Pd(PPh₃)₄(15.8mg,13.7μmol)添加到吡咯烷(63μL,54mg,0.75mmol)和Alloc/烯

丙基化合物20 (231mg, 0.14mmol) 在无水DCM (4mL) 中的经搅拌溶液中。将反应混合物在氩气氛下搅拌, 其中开始形成沉淀。在室温下搅拌30分钟后, LC/MS的分析显示反应完全, 具有在保留时间1.18分钟处观察到的期望产物, $ES+m/z$ 1312 $[M+H]^+$ 。通过真空蒸发移除溶剂并且将所得的残余物用二乙醚研磨, 然后再次真空蒸发以提供为固体的粗胺12, 其不经进一步纯化或分析即进行下一步骤。

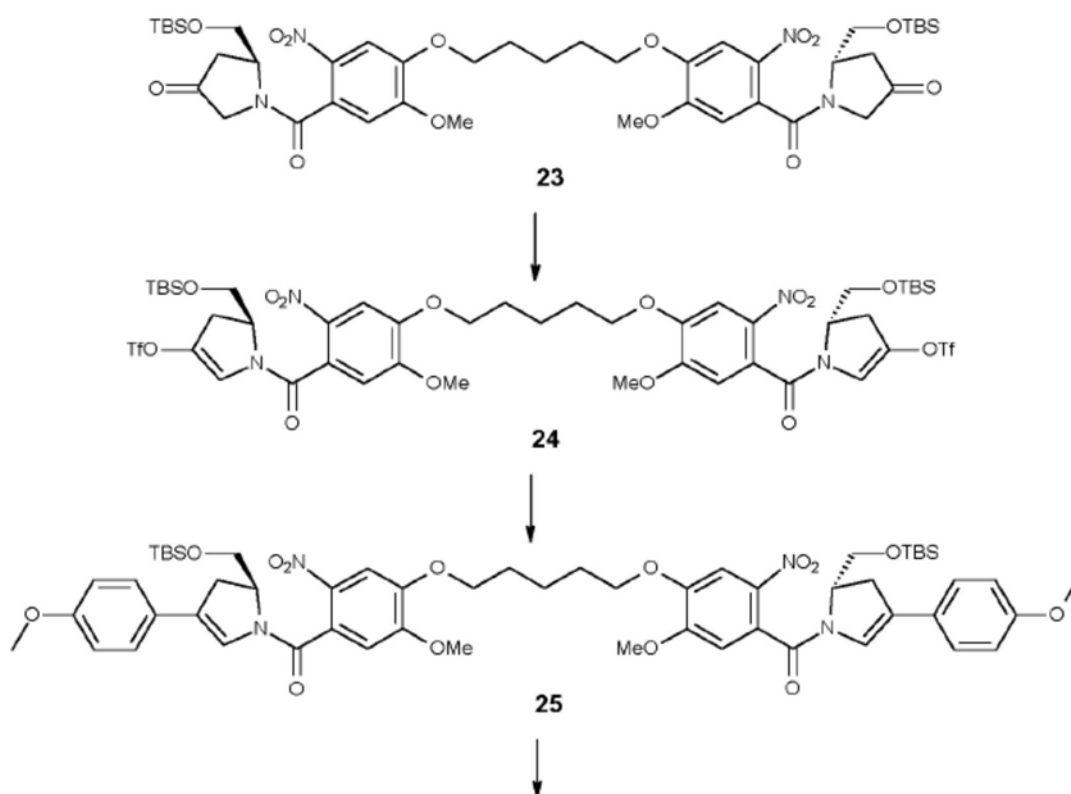
[2180] (1)

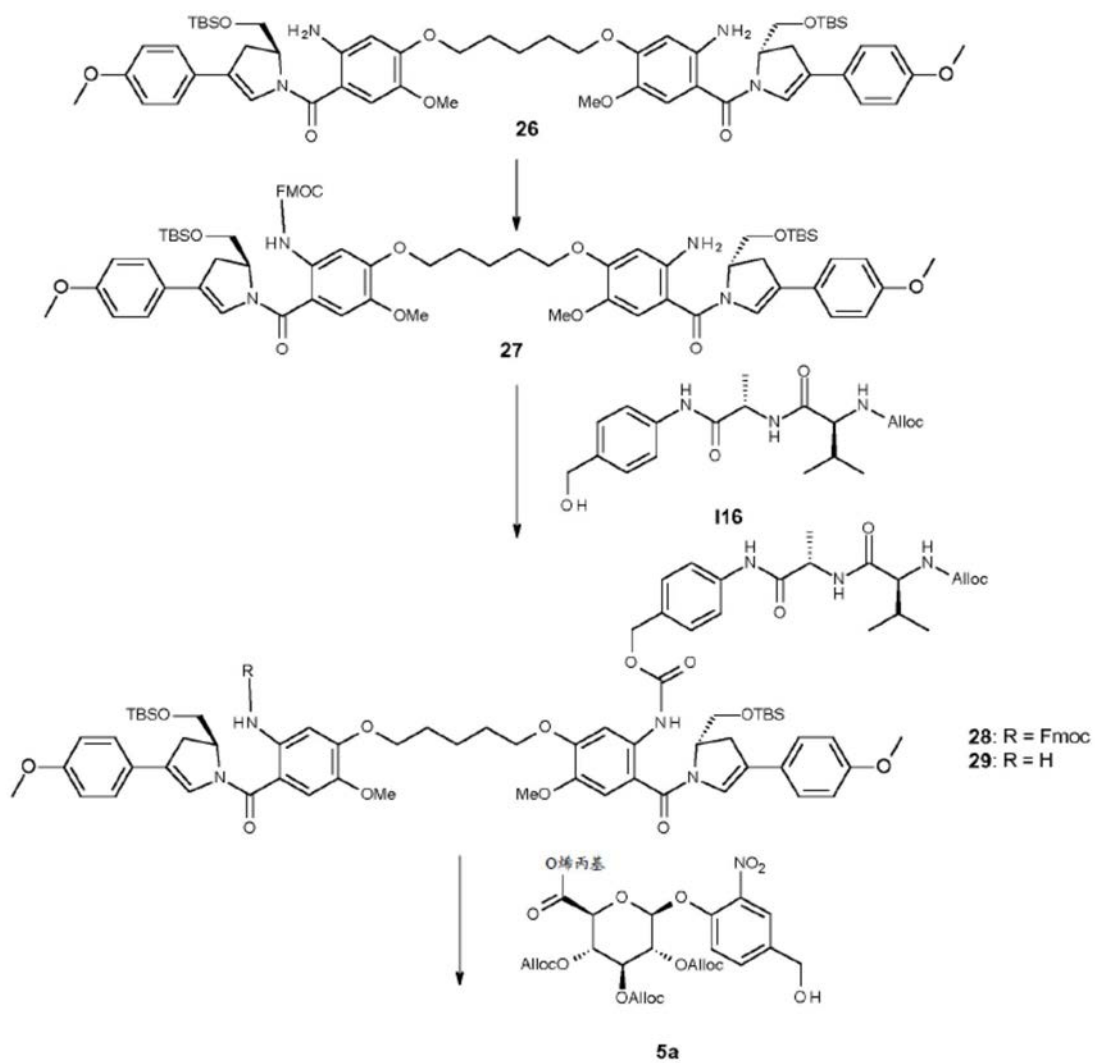
[2181] (2S, 3S, 4S, 5R, 6S) -6- (4- (((11S, 11aS) -8- ((5- (((11S, 11aS) -10- ((4- ((2S, 5S) -37- (2, 5- 二氧代-2, 5- 二氢-1H-吡咯-1-基) -5-异丙基-2-甲基-4, 7, 35-三氧代-10, 13, 16, 19, 22, 25, 28, 31-八氧杂-3, 6, 34-三氮杂三十七烷酰氨基) 苄基) 氧基) 羰基) -11-羟基-7-甲氧基-2-甲基-5-氧代-5, 10, 11, 11a-四氢-1H-吡咯并[2, 1-c][1, 4]苯并二氮杂~~草~~-8-基) 氧基) 戊基) 氧基) -11-羟基-7-甲氧基-2-甲基-5-氧代-5, 10, 11, 11a-四氢-1H-吡咯并[2, 1-c][1, 4]苯并二氮杂~~草~~-10-羰基) 氧基) 甲基) -2-硝基苯氧基) -3, 4, 5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸 (22)

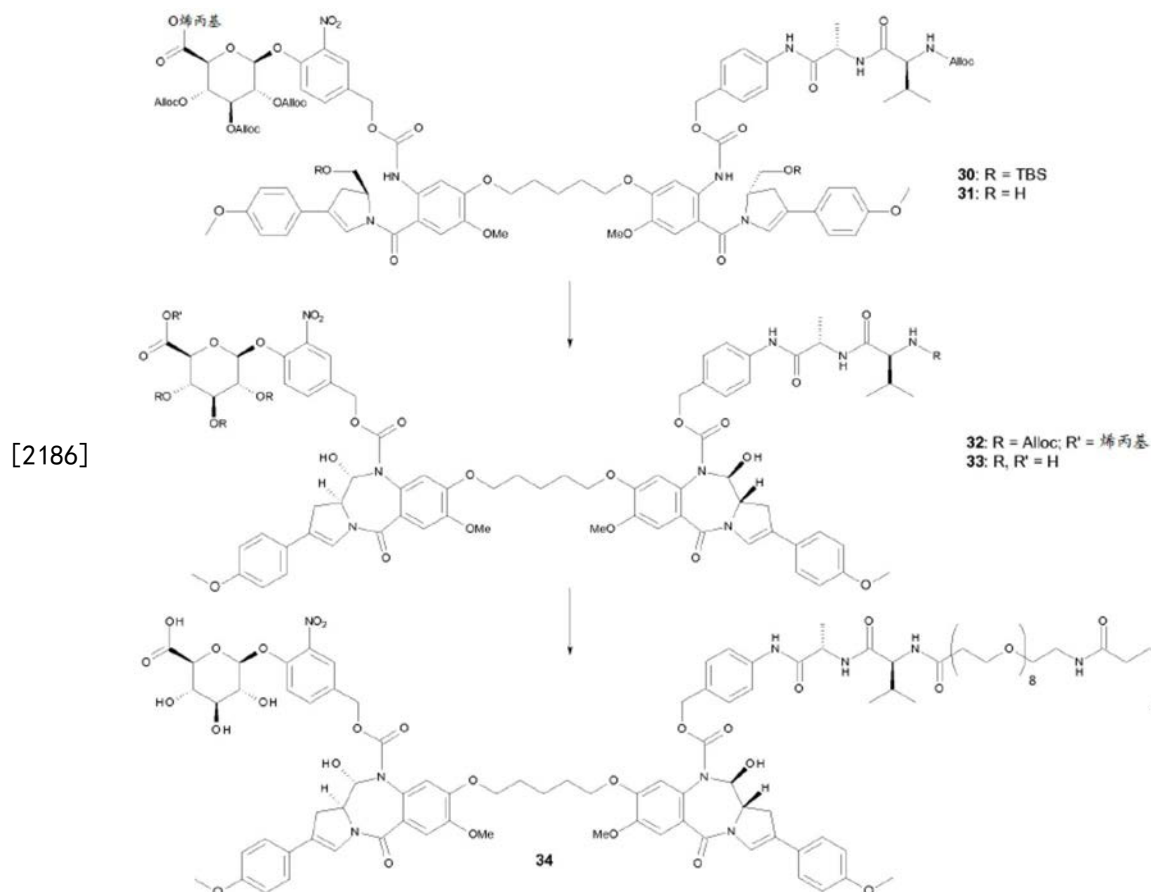
[2182] 将MAL-dPEG®8-TFP酯 (122mg, 0.16mmol) 在无水DCM (5mL) 中的溶液添加到胺21 (180mg, 0.16mmol)、吡啶 (28μL, 27mg, 0.34mmol) 和DMF (0.25mL) 的经搅拌样品中。将反应混合物在氩气下搅拌20小时并且颜色随着时间的推移开始变深。LC/MS的分析显示出在保留时间1.43分钟处期望产物的形成, $ES-m/z$ 1884 $[M-H]^+$, 以及在保留时间1.18分钟处的未反应的胺。添加另外的MAL-dPEG®8-TFP酯 (66mg, 0.09mmol)、吡啶 (12μL, 11mg, 0.15mmol) 和DCM (3mL) 并且将混合物再搅拌3天。此时, 在通过LC/MS进行分析时已经形成了令人满意的量的期望产物并且通过真空蒸发移除溶剂。通过制备型HPLC纯化粗产物, 以得到为白色固体的马来酰亚胺22 (55mg, 19%): LC/MS (15分钟运行), 保留时间5.82分钟, $ES+m/z$ 1886 $[M+H]^+$, 1908 $[M+Na]^+$; ^1H NMR (400MHz, d6-DMSO) δ 9.98 (br s, 2H), 8.25-8.15 (m, 1H), 7.99 (t, 1H, $J=5.7$ Hz), 7.87 (d, 1H, $J=8.7$ Hz), 7.69 (br s, 1H), 7.62-7.48 (m, 3H), 7.37 (d, 1H, $J=8.9$ Hz), 7.21-7.09 (m, 2H), 7.04 (s, 1H), 7.03 (s, 1H), 6.98 (s, 2H), 6.79 (s, 1H), 6.74 (s, 1H), 6.72-6.65 (m, 2H), 6.62-6.58 (m, 2H), 5.63-5.50 (m, 2H), 5.41-5.32 (m, 2H), 5.25-5.05 (m, 4H), 4.93-4.80 (m, 2H), 4.41-4.32 (m, 1H), 4.23-4.16 (m, 1H), 4.00-3.90 (m, 4H), 3.87-3.72 (m, 6H), 3.70-3.60 (m, 2H), 3.58 (t, 4H, $J=7.2$ Hz), 3.52-3.43 (m, 28H), 3.39-3.20 (m, 5H), 3.18-3.10 (m, 2H), 2.95-2.82 (m, 2H), 2.53-2.34 (m, 4H), 2.31 (t, 2H, $J=7.3$ Hz), 1.99-1.90 (m, 1H), 1.82-1.68 (m, 4H), 1.73 (s, 6H), 1.60-1.47 (m, 2H), 1.28 (d, 1H, $J=7.0$ Hz), 0.85 (d, 3H, $J=6.8$ Hz), 0.81 (d, 3H, $J=6.8$ Hz)。

[2183] 实施例3

[2184]







[2187] 化合物23是W02014/057074中的化合物46。

[2188] (a) (5S, 5'S) - (4, 4' - (戊烷-1, 5-二基双(氧基)) 双(5-甲氧基-2-硝基苯甲酰基)) 双(5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4, 5-二氢-1H-吡咯-1, 3-二基) 双(三氟甲磺酸酯) (24)

[2189] 在-45℃(干冰/乙腈)、氩气气氛下,通过注射器将无水2,6-二甲基吡啶(8.90mL, 8.22g, 76.7mmol)添加到双酮23(5.41g, 5.90mmol)在无水DCM(200mL)中的经搅拌溶液中。然后通过注射器添加取自新打开安瓿的无水三氟甲磺酸酐(5.96mL, 10.0g, 35.5mmol),同时保持温度在-40℃或更低。将反应混合物在-45℃下搅拌1小时,此时LC/MS的分析显示转化为产物,保留时间2.23分钟,ES+m/z 1203[M+Na]⁺, 1181[M+H]⁺。将冷的反应混合物立即用DCM(200mL)稀释并用水(1x200mL)、5%柠檬酸溶液(2x200mL)、饱和NaHCO₃水溶液(200mL)、盐水(300mL)洗涤,干燥(MgSO₄),过滤并真空蒸发以提供粗产物。通过Isolera™(己烷/EtOAc, SNAP Ultra 100g, 每分钟100mL)进行的纯化得到为黄色泡沫的双烯醇三氟甲磺酸酯3(在78%己烷/EtOAc下洗脱)(5.02g, 72%收率)。

[2190] (b) ((戊烷-1, 5-二基双(氧基)) 双(5-甲氧基-2-硝基-4, 1-亚苯基)) 双(((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-(4-甲氧基苯基)-2, 3-二氢-1H-吡咯-1-基)甲酮) (25)

[2191] 将Pd(PPh₃)₄(196mg, 0.17mmol)添加到双烯醇三氟甲磺酸酯24(5.02g, 4.25mmol)、4-甲氧基苯基硼酸(1.68g, 11.1mmol)、Na₂CO₃(1.44g, 13.6mmol)、EtOH(20mL)、甲苯(40mL)和水(20mL)的经搅拌混合物中。将反应混合物在30℃下加热并在氩气气氛下搅拌3小时,之后通过LC/MS观察到完全转化为期望产物,保留时间2.23分钟,ES+m/z 1120[M+Na]⁺, 1098

$[M+H]^+$ 。使反应混合物在EtOAc (200mL) 与H₂O (100mL) 之间分配并用EtOAc (3x30mL) 萃取水层。将合并的有机层用H₂O (2x50mL)、盐水 (50mL) 洗涤,干燥 (MgSO₄), 过滤并真空蒸发以得到粗产物。通过Isolera™ (己烷/EtOAc, SNAP Ultra 100g, 每分钟100mL) 进行的纯化得到为淡黄色泡沫的双-C2-芳基化合物25 (在63%己烷/EtOAc下洗脱) (3.11g, 67%收率)。

[2192] (c) ((戊烷-1,5-二基双(氧基))双(2-氨基-5-甲氧基-4,1-亚苯基))双((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-(4-甲氧基苯基)-2,3-二氢-1H-吡咯-1-基)甲酮 (26)

[2193] 在室温下将未活化的锌 (4.13g, 63.1mmol) 添加到双硝基化合物25 (1.73g, 1.58mmol) 在EtOH (15mL) 和EtOAc (15mL) 中的经剧烈搅拌的溶液中。将反应混合物用水 (1mL) 处理,接着用5% v/v HCO₂H在MeOH (19mL) 中的溶液逐滴处理。观察到从绿色到银灰色的颜色变化且放热到40℃。使反应混合物冷却至室温,此时LC/MS的分析显示完全转化为期望产物,保留时间2.19分钟,ES+m/z 1060 $[M+Na]^+$, 1038 $[M+H]^+$ 。将混合物通过硅藻土®过滤并将滤液用EtOAc (100mL) 洗涤。将滤液用饱和NaHCO₃水溶液 (3x50mL) [小心:冒泡!]、盐水 (50mL) 洗涤,干燥 (MgSO₄), 过滤并真空蒸发以提供为深橙色泡沫的粗双苯胺26 (1.56g, 收率95%)。纯度令人满意,因此材料无需进一步纯化即可进行下一步骤。

[2194] (d) (5-((5-(5-氨基-4-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-(4-甲氧基苯基)-2,3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)戊基)氧基)-2-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-(4-甲氧基苯基)-2,3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲基酯 (27)

[2195] 将FmocCl (1.22g, 4.70mmol) 添加到双苯胺26 (6.50g, 6.27mmol) 和Na₂CO₃ (1.66g, 15.7mmol) 在THF (32mL) 和H₂O (32mL) 中的经搅拌悬浮液中。将混合物在室温下搅拌3小时,其中LC/MS的分析显示出在保留时间2.33分钟处的期望的单Fmoc产物27, I% = 51, ES+m/z 1282 $[M+Na]^+$, 1260 $[M+H]^+$, 以及在保留时间2.19分钟处的未反应的起始材料, I% = 24, 以及在保留时间2.47分钟处的双-Fmoc材料, I% = 24, ES+m/z 1504 $[M+Na]^+$, 1482 $[M+H]^+$ 。使混合物在H₂O (50mL) 与EtOAc (75mL) 之间分配,将层分离并用EtOAc (2x25mL) 萃取水相。将合并的有机层用H₂O (30mL)、盐水 (40mL) 洗涤,干燥 (MgSO₄), 过滤并真空蒸发以得到粗产物。通过Isolera™ (己烷/EtOAc, SNAP Ultra 100g, 每分钟100mL) 进行的纯化提供了为橙色泡沫的纯的单Fmoc产物27 (3.31g, 56%收率, 基于FmocCl, 在53%己烷/EtOAc下洗脱)、未反应的双苯胺26 (2.09g, 在40%己烷/EtOAc下洗脱) 以及双-Fmoc (1.39g, 在68%己烷/EtOAc下洗脱)。

[2196] (e) (5-((5-(5-(((4-((S)-2-((S)-2-((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)氨基)-4-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-(4-甲氧基苯基)-2,3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)戊基)氧基)-2-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-(4-甲氧基苯基)-2,3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲基酯 (28)

[2197] 在室温下将三光气 (281mg, 0.81mmol) 添加到单Fmoc产物27 (3.31g, 2.63mmol) 和TEA (805μL, 584mg, 5.79mmol) 在无水DCM (35mL) 中的经搅拌溶液中。在氩气下搅拌10分钟后,LC/MS的分析显示完全转化为异氰酸酯 (在MeOH中取样,得到氨基甲酸甲酯,保留时间2.35分钟, ES+m/z 1340 $[M+Na]^+$, 1318 $[M+H]^+$)。将混合物用另外的TEA (549μL, 398mg,

3.95mmol) 处理,然后添加接头I16 (992mg, 2.63mmol)。在氩气下搅拌20小时后,LC/MS显示出转化为期望的氨基甲酸酯28,保留时间2.33分钟, $I\% = 40$, $ES+m/z$ 1685 $[M+Na]^+$, 以及Fmoc切割材料29,保留时间2.19分钟, $I\% = 28$, $ES+m/z$ 1463 $[M+Na]^+$, 1441 $[M+H]^+$ 。将混合物用DCM (40mL) 稀释并且用饱和的 NH_4Cl 水溶液 (2x30mL)、盐水 (50mL) 洗涤,干燥 ($MgSO_4$), 过滤并且真空蒸发以得到粗产物。通过Isolera™ (己烷/EtOAc, SNAP Ultra 100g, 每分钟100mL) 进行的纯化提供为黄色泡沫的纯氨基甲酸酯28 (1.64g, 38% 收率, 在40% 己烷/EtOAc下洗脱) 以及Fmoc切割产物29 (1.31g, 在20% 己烷/EtOAc下洗脱)。

[2198] (f) (5-((5-(5-氨基-4-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-(4-甲氧基苯基)-2,3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)戊基)氧基)-2-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-(4-甲氧基苯基)-2,3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酸4-((S)-2-((S)-2-((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基酯 (29)

[2199] 在室温下将二甲胺 (9.9mL的在THF中的2.0M溶液, 19.7mmol) 添加到Fmoc保护的化合物28 (1.64g, 0.99mmol) 在THF (15mL) 中的经搅拌溶液中。在室温下搅拌1.5小时后,LC/MS的分析显示出反应完全,具有在保留时间2.19分钟处的期望产物, $ES+m/z$ 1463 $[M+Na]^+$, 1441 $[M+H]^+$; 以及在保留时间0.97分钟处的Fmoc切割副产物DMA加合物。将混合物真空蒸发以得到粗产物,其随后通过Isolera™ (己烷/EtOAc, SNAP Ultra 100g, 每分钟100mL) 进行纯化,以得到为橙色泡沫的纯苯胺29 (在20% 己烷/EtOAc下洗脱) (1.36g, 96% 收率)。

[2200] (g) (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(4-(((5-((5-(5-(((4-((S)-2-((S)-2-((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)氨基)-4-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-(4-甲氧基苯基)-2,3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)戊基)氧基)-2-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-(4-甲氧基苯基)-2,3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酰基)氧基)甲基)-2-硝基苯氧基)-3,4,5-三((烯丙氧基)羰基)氧基)四氢-2H-吡喃-2-羧酸烯丙基酯 (30)

[2201] 在室温下将三光气 (198mg, 0.67mmol) 添加到苯胺29 (2.67g, 1.85mmol) 和吡啶 (329μL, 322mg, 4.07mmol) 在无水DCM (25mL) 中的经搅拌溶液中。在氩气下搅拌10分钟后,LC/MS的分析显示完全转化为异氰酸酯 (在MeOH中取样,得到氨基甲酸甲酯,保留时间2.22分钟, $ES+m/z$ 1521 $[M+Na]^+$, 1499 $[M+H]^+$)。将混合物用另外的吡啶 (224μL, 220mg, 2.78mmol) 和二月桂酸二丁基锡 (219μL, 234mg, 0.37mmol) 处理,然后添加接头5a (1.18g, 1.85mmol)。在氩气下搅拌16小时后,LC/MS显示出异氰酸酯的消耗和接头5a的信号强度的降低,但在保留时间2.23分钟处没有期望产物的 M^{2+} 。将混合物用DCM (30mL) 稀释并且用饱和 NH_4Cl (2x30mL)、盐水 (40mL) 洗涤,干燥 ($MgSO_4$), 过滤并且真空蒸发以得到粗产物。通过Isolera™ (己烷/EtOAc, SNAP Ultra 100g, 每分钟100mL) 进行的纯化提供为黄色泡沫的纯氨基甲酸酯30 (在39% 己烷/EtOAc下洗脱) (2.40g, 62% 收率)。

[2202] (h) (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(4-(((5-((5-(5-(((4-((S)-2-((S)-2-((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)氨基)-4-((S)-2-(羟甲基)-4-(4-甲氧基苯基)-2,3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)戊基)氧基)-2-((S)-2-(羟甲基)-4-(4-甲氧基苯基)-2,3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酰基)氧基)甲基)-2-硝基苯氧基)-3,4,5-三((烯丙氧基)羰基)氧基)四氢-2H-吡喃-2-羧酸烯丙

基酯 (31)

[2203] 将冰醋酸 (21mL) 添加到TBS保护的化合物30 (2.40g, 1.14mmol) 在THF (7mL) 和H₂O (7mL) 中的经搅拌溶液中。将反应混合物在室温下搅拌16小时, 之后LC/MS的分析显示反应完全, 具有在保留时间1.88分钟处观察到的期望产物, ES+m/z 1876[M+H]⁺, 1898[M+Na]⁺。将反应混合物逐滴添加到冷却的 (0-5°C) 饱和NaHCO₃溶液 (350mL) 中。使中性溶液升温至室温并且用EtOAc (200mL) 进行分配。用EtOAc (2x50mL) 萃取水相, 将合并的有机层用NaHCO₃ (2x60mL)、盐水 (70mL) 洗涤, 干燥 (MgSO₄), 过滤并真空蒸发以得到粗产物。通过IsoleraTM (DCM/MeOH, SNAP Ultra 100g, 每分钟100mL) 进行的纯化得到为淡黄色泡沫的双醇31 (在95.6%DCM/MeOH下洗脱) (2.07g, 97%收率)。

[2204] (i) (11S, 11aS) -8-((5-(((11S, 11aS) -10-(((4-((S) -2-((S) -2-((烯丙氧基) 羰基) 氨基) -3-甲基丁酰氨基) 丙酰氨基) 苄基) 氧基) 羰基) -11-羟基-7-甲氧基-2-(4-甲氧基苄基) -5-氧代-5, 10, 11, 11a-四氢-1H-吡咯并[2, 1-c][1, 4] 苯并二氮杂~~草~~-8-基) 氧基) 戊基) 氧基) -11-羟基-7-甲氧基-2-(4-甲氧基苄基) -5-氧代-11, 11a-二氢-1H-吡咯并[2, 1-c][1, 4] 苯并二氮杂~~草~~-10 (5H) -羧酸4-(((2S, 3R, 4S, 5S, 6S) -6-((烯丙氧基) 羰基) -3, 4, 5-三((烯丙氧基) 羰基) 氧基) 四氢-2H-吡喃-2-基) 氧基) -3-硝基苄基酯 (32)

[2205] 将Cu (NCCH₃)₄ • CF₃SO₃ (2mg, 5.3μmol) 添加到双-OH 31 (100mg, 53μmol) 和Stahl有氧化TEMPO溶液 (27μL的在CH₃CN中的0.2M溶液, 5.3μmol) 在CH₃CN (1mL) 中的经搅拌溶液中。将反应混合物在空气气氛 (气球) 下搅拌3小时, 此时LC/MS的分析显示保留时间或ES+没有明显变化。添加另外的Cu (NCCH₃)₄ • CF₃SO₃ (2mg, 5.3μmol) 和Stahl有氧化TEMPO溶液 (27μL的在CH₃CN中的0.2M溶液, 5.3μmol) 并将反应混合物再搅拌16小时。LC/MS的分析再次显示保留时间没有变化, 然而ES⁺示出不存在起始材料m/z且强烈存在期望产物m/z 1894[M+Na]⁺。通过真空蒸发移除溶剂并通过IsoleraTM (DCM/MeOH, SNAP Ultra 10g, 每分钟36mL) 纯化所得的残余物以得到为白色泡沫的环化产物32 (在96.2%DCM/MeOH下洗脱) (91mg, 92%收率)。

[2206] (j)

[2207] (2S, 3S, 4S, 5R, 6S) -6-(4-(((11S, 11aS) -8-((5-(((11S, 11aS) -10-(((4-((S) -2-((S) -2-氨基-3-甲基丁酰氨基) 丙酰氨基) 苄基) 氧基) 羰基) -11-羟基-7-甲氧基-2-(4-甲氧基苄基) -5-氧代-5, 10, 11, 11a-四氢-1H-吡咯并[2, 1-c][1, 4] 苯并二氮杂~~草~~-8-基) 氧基) 戊基) 氧基) -11-羟基-7-甲氧基-2-(4-甲氧基苄基) -5-氧代-5, 10, 11, 11a-四氢-1H-吡咯并[2, 1-c][1, 4] 苯并二氮杂~~草~~-10-羰基) 氧基) 甲基) -2-硝基苯氧基) -3, 4, 5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸 (33)

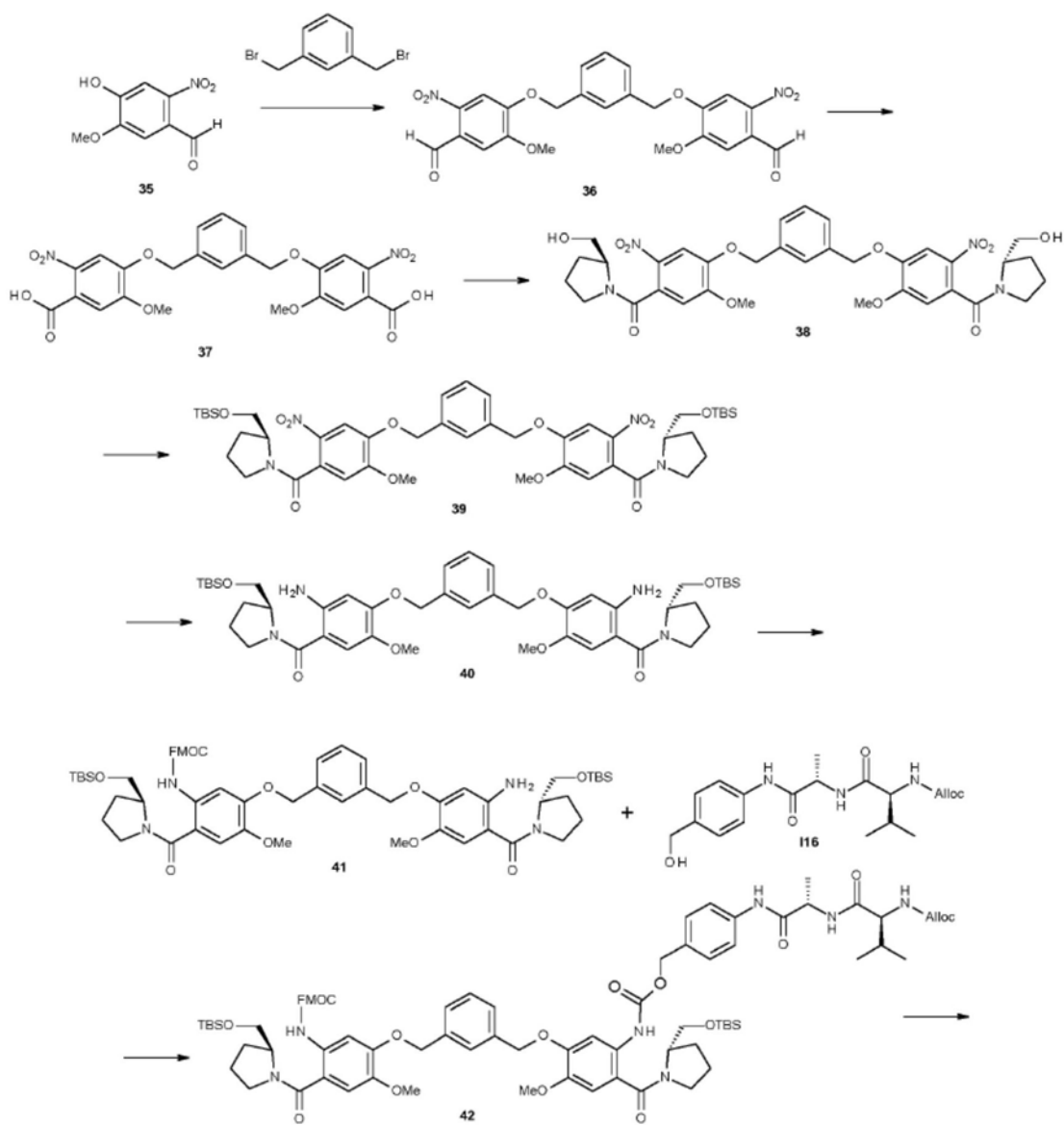
[2208] 将Pd (PPh₃)₄ (15.0mg, 12.8μmol) 添加到吡咯烷 (59μL, 50mg, 0.70mmol) 和Alloc/烯丙基化合物32 (240mg, 0.13mmol) 在无水DCM (5mL) 中的经搅拌溶液中。将反应混合物在氩气氛下搅拌, 在室温下搅拌30分钟后, LC/MS的分析显示出反应完全, 具有在保留时间1.31分钟处观察到的期望产物, ES+m/z 1496[M+H]⁺。通过真空蒸发移除溶剂并且将所得的残余物用二乙醚研磨, 超声波处理, 然后再次真空蒸发以提供为黄色固体的粗胺33, 其不经进一步纯化或分析即进行下一步骤。

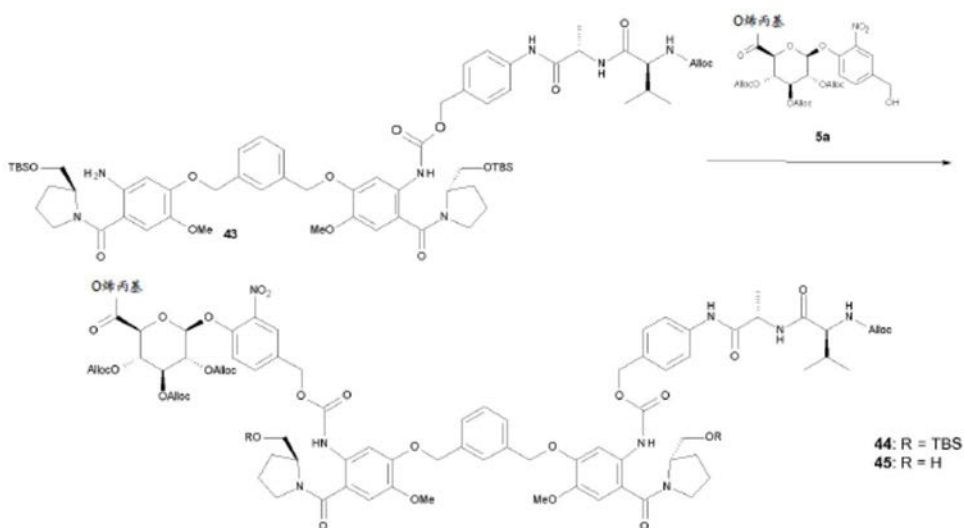
[2209] (k)

[2210] (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(4-(((11S,11aS)-8-((5-(((11S,11aS)-10-((4-(2S,5S)-37-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-5-异丙基-2-甲基-4,7,35-三氧代-10,13,16,19,22,25,28,31-八氧杂-3,6,34-三氮杂三十七烷酰氨基)苄基)氧基)羰基)-11-羟基-7-甲氧基-2-(4-甲氧基苯基)-5-氧代-5,10,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-8-基)氧基)戊基)氧基)-11-羟基-7-甲氧基-2-(4-甲氧基苯基)-5-氧代-5,10,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-10-羰基)氧基)甲基)-2-硝基苯氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸(34)

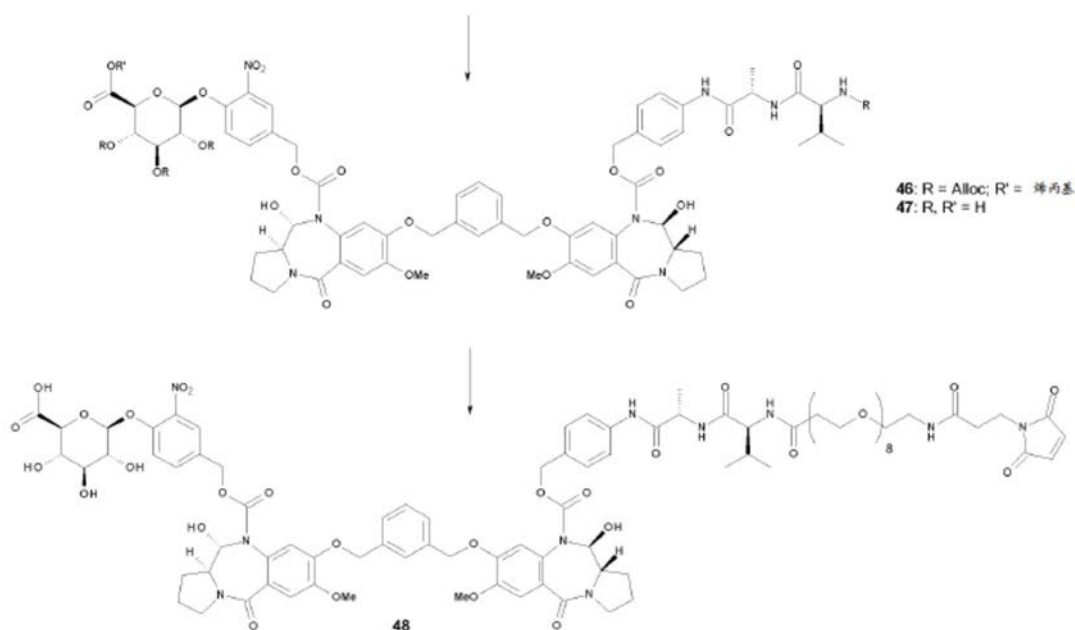
[2211] 将MAL-dPEG®8-TFP酯(114mg,0.15mmol)在无水DCM(5mL)中的溶液添加到胺33(191mg,0.13mmol)和吡啶(26μL,25mg,0.32mmol)的经搅拌样品中。将反应混合物在氩气下搅拌20小时并且颜色随着时间的推移开始变深。LC/MS的分析显示出在保留时间1.59分钟处期望产物的形成(在反应监测期间未检测到M²⁺的期望m/z),以及在保留时间为1.31分钟处的未反应的胺。添加另外的MAL-dPEG®8-TFP酯(114mg,0.15mmol)、吡啶(26μL,25mg,0.32mmol)和DCM(3mL)并且将混合物再搅拌6天。此时,在通过LC/MS进行分析时已经形成了令人满意的量的期望产物并且通过真空蒸发移除溶剂。通过Isolera™(DCM/MeOH,SNAP Ultra 10g,每分钟36mL,在82%DCM/MeOH下洗脱)纯化粗产物,然后通过制备型HPLC纯化以得到为浅黄色固体的马来酰亚胺34(46mg,13%);LC/MS(15分钟运行),保留时间6.71分钟,ES+m/z 1036[M²⁺+H],1058[M²⁺+Na],1046[M+Na]²⁺; ¹H NMR(400MHz,d6-DMSO) δ10.02(br s,2H),8.27-8.16(m,1H),8.01(t,1H,J=5.6Hz),7.90(d,1H,J=8.6Hz),7.72(br s,1H),7.60-7.51(m,3H),7.46-7.38(m,5H),7.23-7.15(m,2H),7.11(s,1H),7.09(s,1H),6.99(s,2H),6.92(d,2H,J=8.9Hz),6.91(d,2H,J=8.9Hz),6.88-6.77(m,6H),5.70-5.60(m,2H),5.39-5.33(m,2H),5.24-5.09(m,4H),4.96-4.81(m,2H),4.42-4.34(m,1H),4.24-4.17(m,1H),4.04-3.93(m,4H),3.87-3.79(m,8H),3.77(s,6H),3.59(t,4H,J=7.3Hz),3.52-3.46(m,28H),3.40-3.26(m,7H,obscured by H₂O),3.19-3.11(m,2H),2.95-2.82(m,2H),2.53-2.31(m,4H),2.02-1.92(m,1H),1.86-1.73(m,4H),1.62-1.52(m,2H),1.30(d,1H,J=7.0Hz),0.87(d,3H,J=6.7Hz),0.83(d,3H,J=6.8Hz)。

[2212] 实施例4





[2214]



[2215] (a) 4,4'-((1,3-亚苯基双(亚甲基))双(氧基))双(5-甲氧基-2-硝基苯甲醛) (36)

[2216] 将1,3-双(溴甲基)苯(5.0g, 19.1mmol)添加到苯酚35(7.5g, 38.2mmol)、TBAI(705mg, 1.91mmol)和 K_2CO_3 (5.81g, 42.0mmol)在无水DMF(60mL)中的经搅拌溶液中。将反应混合物加热至70℃并在氩气气氛下搅拌2小时,此时LC/MS的分析显示出显著的产物形成,保留时间1.67分钟,ES+m/z 519[M+Na]⁺, 497[M+H]⁺。使反应混合物冷却至室温并且通过真空蒸发移除DMF。将所得残余物用水(300mL)稀释并通过真空过滤收集橙色沉淀36,然后用H₂O、二乙醚洗涤并在真空烘箱中干燥至恒重(9.18g, 97%收率)。

[2217] (b) 4,4'-((1,3-亚苯基双(亚甲基))双(氧基))双(5-甲氧基-2-硝基苯甲酸) (37)

[2218] 在室温下将亚氯酸钠(8.44g, 92.7mmol, 80%工业级)和磷酸二氢钠(6.2g, 51.8mmol)在水(140mL)中的溶液添加到醛36(9.18g, 18.5mmol)在四氢呋喃(100mL)中的溶液中。立即将过氧化氢(30%w/w, 53mL, 518mmol)逐滴添加到经剧烈搅拌的两相混合物中。观察到冒泡和放热至30℃,以及从橙色到微黄色的颜色变化以及悬浮液的溶解。将反应混合物在冰浴中冷却并用浓盐酸酸化至pH 2。然后用EtOAc(4x150mL)萃取反应混合物并且将

合并的有机相用盐水 (2x100mL) 洗涤, 干燥 (MgSO_4), 过滤并真空蒸发以提供粗酸37。将固体用二乙醚研磨并在真空烘箱中干燥至恒重 (9.90g, >100% 收率)。LC/MS表明纯度令人满意 (保留时间1.56分钟, $\text{ES-m/z } 527 [\text{M}+\text{H}]^+$)。

[2219] (c) (((1,3-亚苯基双(亚甲基))双(氧基))双(5-甲氧基-2-硝基-4,1-亚苯基))双((S)-2-(羟甲基)吡咯烷-1-基)甲酮) (38)

[2220] 将DMF (12滴) 添加到双硝基苯甲酸37 (9.90g, 18.7mmol) 和草酰氯 (4.9mL, 7.1g, 56.3mmol) 在无水DCM (130mL) 中的经搅拌悬浮液中。在初始冒泡后, 反应悬浮液变成溶液, 并将混合物在室温下搅拌16小时。通过真空蒸发移除大部分溶剂并将浓缩溶液用二乙醚研磨。通过真空过滤收集所得的黄色沉淀 (在MeOH中取样的LC/MS在保留时间1.69分钟处得到甲基酯, $\text{ES+m/z } 579 [\text{M}+\text{Na}]^+$), 用冷的二乙醚洗涤并在40°C下在真空烘箱中干燥1小时。在-40°C (干冰/ CH_3CN) 下将固体酰氯分批添加到(S)-(+)-2-吡咯烷甲醇 (4.35g, 4.25mL, 43.0mmol) 和TEA (13.0mL, 9.46g, 93.5mmol) 在DCM (100mL) 中的经搅拌悬浮液中。搅拌1小时后, 反应完全, 如通过LC/MS所判断的, 具有在保留时间1.44分钟处的唯一期望产物, $\text{ES+m/z } 717 [\text{M}+\text{Na}]^+$, $695 [\text{M}+\text{H}]^+$ 。将混合物用DCM (100mL) 稀释并用1N HCl (3x50mL)、饱和 NaHCO_3 (3x40mL)、盐水 (70mL) 洗涤, 干燥 (MgSO_4), 过滤并将溶剂真空蒸发以得到为黄色固体的纯产物38 (12.7g, 100% 收率)。

[2221] (d) (((1,3-亚苯基双(亚甲基))双(氧基))双(5-甲氧基-2-硝基-4,1-亚苯基))双((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-基)甲酮) (39)

[2222] 将TBSCl (8.27g, 54.9mmol) 添加到双醇38 (12.7g, 18.3mmol) 和咪唑 (7.47g, 110mmol) 在无水DCM (100mL) 中的经搅拌溶液中。在室温下搅拌1.5小时后, LC/MS的分析显示完全转化为期望产物, 保留时间2.11分钟, $\text{ES+m/z } 946 [\text{M}+\text{Na}]^+$, $924 [\text{M}+\text{H}]^+$ 。将混合物用DCM (100mL) 稀释并且用水 (2x75mL)、盐水 (80mL) 洗涤, 干燥 (MgSO_4), 过滤并将溶剂真空蒸发以得到为黄色泡沫的粗产物39 (16.7g, 99% 收率)。材料足够纯, 无需进一步纯化即可进行下一步骤

[2223] (e) (((1,3-亚苯基双(亚甲基))双(氧基))双(2-氨基-5-甲氧基-4,1-亚苯基))双((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-基)甲酮) (40)

[2224] 在室温下将未活化的锌 (18.5g, 282mmol) 添加到双硝基化合物39 (6.50g, 7.10mmol) 在EtOH (65mL) 和EtOAc (65mL) 中的经剧烈搅拌的溶液中。将反应混合物用水 (6.5mL) 处理, 接着用5% v/v HCO_2H 在EtOH (130mL) 中的溶液逐滴处理。观察到从绿色到银灰色的颜色变化且放热到37°C。使反应混合物冷却至室温, 此时LC/MS的分析显示完全转化为期望产物, 保留时间2.04分钟, $\text{ES+m/z } 885 [\text{M}+\text{Na}]^+$, $863 [\text{M}+\text{H}]^+$ 。将混合物通过硅藻土®过滤并将滤液用EtOAc (200mL) 洗涤。将滤液用饱和 NaHCO_3 水溶液 (3x100mL) [小心: 冒泡!]、盐水 (150mL) 洗涤, 干燥 (MgSO_4), 过滤并真空蒸发以提供为深橙色泡沫的粗双苯胺40 (5.41g, 收率89%)。纯度令人满意, 因此材料无需进一步纯化即可进行下一步骤。

[2225] (f) (5-((3-((5-氨基-4-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)甲基)苄基)氧基)-2-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酸 (9H-芴-9-基) 甲基酯 (41)

[2226] 将FmocCl (1.43g, 5.50mmol) 添加到双苯胺40 (6.34g, 7.35mmol) 和 Na_2CO_3 (1.95g, 18.4mmol) 在THF (32mL) 和 H_2O (32mL) 中的经搅拌悬浮液中。将混合物在室温下搅拌2小时,

其中LC/MS的分析显示出在保留时间2.24分钟处的期望的单Fmoc产物41, $I\% = 41$, $ES+m/z$ 1108 $[M+Na]^+$, 1086 $[M+H]^+$, 以及在保留时间2.03分钟处的未反应的起始材料, $I\% = 19$, 以及在保留时间2.39分钟处的双-Fmoc材料, $I\% = 40$, $ES+m/z$ 1330 $[M+Na]^+$, 1308 $[M+H]^+$ 。使混合物在 H_2O (50mL) 与EtOAc (50mL) 之间分配, 将层分离并且将有机层用 H_2O (30mL)、盐水 (50mL) 洗涤, 干燥 ($MgSO_4$), 过滤并真空蒸发以得到粗产物。通过IsoleraTM (庚烷/EtOAc, SNAP Ultra 100g, 每分钟100mL) 进行的纯化提供了为橙色泡沫的纯的单Fmoc产物41 (2.40g, 40%收率, 基于FmocCl, 在30%庚烷/EtOAc下洗脱)、未反应的双苯胺40 (1.72g, 在100% EtOAc下洗脱) 以及双-Fmoc (1.95g, 在69%庚烷/EtOAc下洗脱)。

[2227] (g) (5-((3-((5-(((4-((S)-2-((S)-2-((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)氨基)-4-((S)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)甲基)苄基)氧基)-2-((S)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲基酯(42)

[2228] 在室温下将三光气 (236mg, 0.80mmol) 添加到单Fmoc产物41 (2.40g, 2.21mmol) 和 TEA (676 μ L, 491mg, 4.86mmol) 在无水DCM (30mL) 中的经搅拌溶液中。在氩气下搅拌10分钟后, LC/MS的分析显示完全转化为异氰酸酯 (在MeOH中取样, 得到氨基甲酸甲酯, 保留时间 2.27分钟, $ES+m/z$ 1166 $[M+Na]^+$, 1144 $[M+H]^+$)。将混合物用另外的TEA (461 μ L, 335mg, 3.32mmol) 处理, 然后添加接头I16 (835mg, 2.21mmol)。在氩气下搅拌2.5小时后, LC/MS显示出向氨基甲酸酯9的令人满意的转化, 保留时间2.24分钟, $ES+m/z$ 1511 $[M+Na]^+$, 1489 $[M+H]^+$ 。将混合物用DCM (50mL) 稀释并且用饱和的 NH_4Cl 水溶液 (2x40mL)、盐水 (50mL) 洗涤, 干燥 ($MgSO_4$), 过滤并且真空蒸发以得到粗产物。通过IsoleraTM (庚烷/EtOAc, SNAP Ultra 100g, 每分钟100mL) 进行的纯化提供为黄色泡沫的纯氨基甲酸酯42 (在38%庚烷/EtOAc下洗脱) (2.40g, 73%收率)。

[2229] (h) (5-((3-((5-氨基-4-((S)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)甲基)苄基)氧基)-2-((S)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酸4-((S)-2-((S)-2-((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基酯(43)

[2230] 在室温下将二甲胺 (16.1mL的在THF中的2.0M溶液, 32.2mmol) 添加到Fmoc保护的化合物42 (2.40g, 1.61mmol) 在THF (20mL) 中的经搅拌溶液中。在室温下搅拌1小时后, LC/MS的分析显示反应完全, 具有在保留时间2.07分钟处的期望产物, $ES+m/z$ 1289 $[M+Na]^+$, 1267 $[M+H]^+$, 以及在保留时间1.74分钟处的Fmoc切割副产物和在保留时间0.95分钟处的其DMA加合物。将混合物真空蒸发以得到粗产物, 其随后通过IsoleraTM (庚烷/EtOAc, SNAP Ultra 100g, 每分钟100mL) 纯化, 以得到为白色泡沫的纯苯胺43 (在100%EtOAc下洗脱) (1.77g, 87%收率)。

[2231] (i) (2S, 3S, 4S, 5R, 6S)-6-(4-(((5-((3-((5-(((4-((S)-2-((S)-2-((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)氨基)-4-((S)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)甲基)苄基)氧基)-2-((S)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酰基)氧基)甲基)-2-硝基苯氧基)-3,4,5-三((烯丙氧基)羰基)氧基)四氢-2H-吡喃-2-羧酸烯丙基酯(44)

[2232] 在室温下将三光气(150mg, 0.50mmol)添加到苯胺43(1.77g, 1.40mmol)和吡啶(249μL, 243mg, 3.08mmol)在无水DCM(20mL)中的经搅拌溶液中。在氩气下搅拌10分钟后, LC/MS的分析显示完全转化为异氰酸酯(在MeOH中取样, 得到氨基甲酸甲酯, 保留时间2.11分钟, $ES+m/z$ 1347 $[M+Na]^+$, 1325 $[M+H]^+$)。将混合物用另外的吡啶(170μL, 166mg, 2.10mmol)和二月桂酸二丁基锡(165μL, 177mg, 0.28mmol)处理, 然后添加接头5a(891mg, 1.40mmol)。在氩气下搅拌24小时后, LC/MS显示出向氨基甲酸酯44的令人满意的转化, 保留时间2.16分钟, $ES+m/z$ 1952 $[M+Na]^+$, 1930 $[M+H]^+$ 。将混合物用DCM(40mL)稀释并且用饱和 NH_4Cl (2x35mL)、盐水(30mL)洗涤, 干燥($MgSO_4$), 过滤并且真空蒸发以得到粗产物。通过Isolera™(庚烷/EtOAc, SNAP Ultra 100g, 每分钟100mL)进行的纯化提供为白色固体的纯氨基甲酸酯44(在32%庚烷/EtOAc下洗脱)(2.16g, 80%收率)。

[2233] (j) (2S, 3S, 4S, 5R, 6S) -6- (4- (((5- ((3- ((5- (((4- ((S) -2- ((S) -2- ((烯丙氧基) 羰基) 氨基) -3- 甲基丁酰氨基) 丙酰氨基) 苄基) 氧基) 羰基) 氨基) -4- ((S) -2- (羟甲基) 吡咯烷-1- 羰基) -2- 甲氧基苯氧基) 甲基) 苄基) 氧基) -2- ((S) -2- (羟甲基) 吡咯烷-1- 羰基) -4- 甲氧基苯基) 氨基甲酰基) 氧基) 甲基) -2- 硝基苯氧基) -3, 4, 5- 三((烯丙氧基) 羰基) 氧基) 四氢-2H-吡喃-2-羧酸烯丙基酯(45)

[2234] 将冰醋酸(18mL)添加到TBS保护的化合物44(2.16g, 1.12mmol)在THF(6mL)和 H_2O (6mL)中的经搅拌溶液中。将反应混合物在室温下搅拌5小时, 之后LC/MS的分析显示反应完全, 具有在保留时间1.77分钟处观察到的期望产物, $ES+m/z$ 1702 $[M+H]^+$, 1724 $[M+Na]^+$ 。将反应混合物逐滴添加到冷却的(0-5℃)饱和 $NaHCO_3$ 溶液(300mL)中。将中性溶液温热至室温并用EtOAc(3x50mL)萃取, 将合并的有机层用盐水(60mL)洗涤, 干燥($MgSO_4$), 过滤并真空蒸发以得到粗产物。通过Isolera™(DCM/MeOH, SNAP Ultra 100g, 每分钟100mL)进行的纯化得到为白色泡沫的双醇45(在94.8%DCM/MeOH下洗脱)(1.86g, 98%收率)。

[2235] (k) (11S, 11aS) -8- ((3- (((11S, 11aS) -10- (((4- ((S) -2- ((S) -2- ((烯丙氧基) 羰基) 氨基) -3- 甲基丁酰氨基) 丙酰氨基) 苄基) 氧基) 羰基) -11- 羟基-7- 甲氧基-5- 氧代-2, 3, 5, 10, 11, 11a- 六氢-1H-吡咯并[2, 1-c][1, 4] 苯并二氮杂~~草~~-8-基) 氧基) 甲基) 苄基) 氧基) -11- 羟基-7- 甲氧基-5- 氧代-2, 3, 11, 11a- 四氢-1H-吡咯并[2, 1-c][1, 4] 苯并二氮杂~~草~~-10(5H)-羧酸4- (((2S, 3R, 4S, 5S, 6S) -6- ((烯丙氧基) 羰基) -3, 4, 5- 三((烯丙氧基) 羰基) 氧基) 四氢-2H-吡喃-2-基) 氧基) -3- 硝基苄基酯(46)

[2236] 将45% IBX(263mg, 0.42mmol)添加到双-OH 45(300mg, 0.18mmol)在无水DMSO(4mL)中的经搅拌溶液中。在氩气气氛下将混合物加热至30℃并通过LC/MS监测反应进度。搅拌24小时后, 添加另外的IBX(2 x 22 mg, 2 x 36μmol)并且将混合物再搅拌28小时。此时LC/MS的分析显示形成拆分产物, 保留时间1.72分钟, $ES+m/z$ 1698 $[M+H]^+$, 1720 $[M+Na]^+$ 。将反应混合物逐滴添加到饱和 $NaHCO_3$ 水溶液(100 mL)中并用DCM(2 x 40 mL)萃取。将合并的有机层用盐水(40 mL)洗涤, 干燥($MgSO_4$), 过滤并真空蒸发以得到粗产物。通过Isolera™(DCM/MeOH, SNAP Ultra 25 g, 每分钟75 mL)进行的纯化得到为白色泡沫的环化产物46(在96.5%DCM/MeOH下洗脱)(219mg, 73%收率)。

[2237] (1)

[2238] (2S, 3S, 4S, 5R, 6S) -6- (4- (((11S, 11aS) -8- ((3- (((11S, 11aS) -10- (((4- ((S) -2- ((S) -2- 氨基-3- 甲基丁酰氨基) 丙酰氨基) 苄基) 氧基) 羰基) -11- 羟基-7- 甲氧基-5- 氧

代-2,3,5,10,11,11a-六氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-8-基)氧基)甲基)苄基)氧基)-11-羟基-7-甲氧基-5-氧代-2,3,5,10,11,11a-六氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-10-羰基)氧基)甲基)-2-硝基苯氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸(47)

[2239] 将Pd(PPh₃)₄ (13.0 mg, 11.1 μmol) 添加到吡咯烷 (51 μL, 43 mg, 0.61 mmol) 和 Alloc/烯丙基化合物46 (189 mg, 0.11 mmol) 在无水DCM (2 mL) 中的经搅拌溶液中。将反应混合物在室温、氩气气氛下搅拌30分钟, 其中LC/MS的分析显示反应完全, 具有在保留时间1.13分钟处观察到的期望产物, ES+m/z 1322[M+H]⁺。通过真空蒸发移除溶剂并且将所得的残余物用二乙醚研磨, 然后再次真空蒸发以提供为固体的粗胺47, 其不经进一步纯化或分析即进行下一步骤。

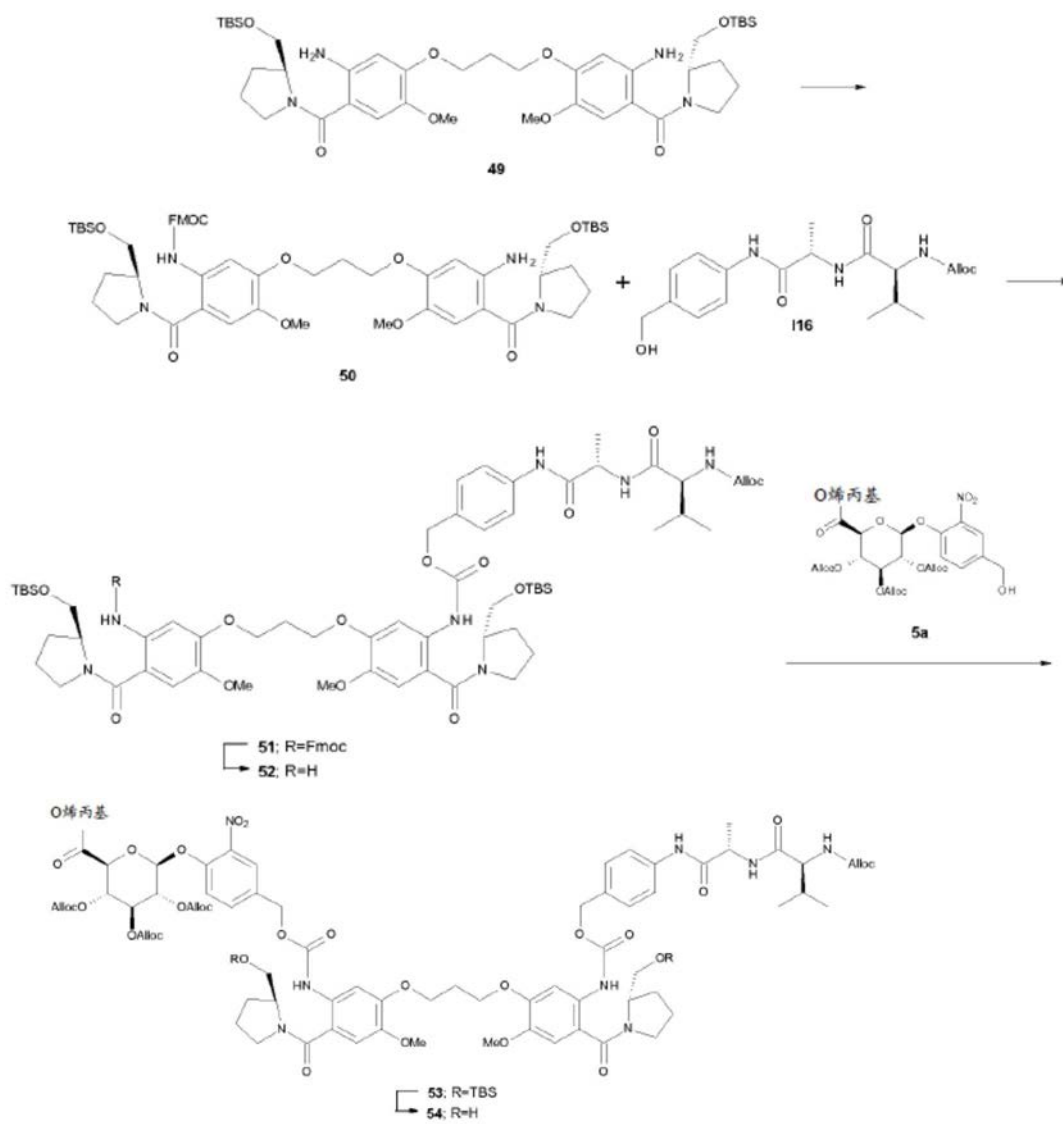
[2240] (m)

[2241] (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(4-((((11S,11aS)-8-((3-((((11S,11aS)-10-((4-((2S,5S)-37-(2,5-二氧化代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-5-异丙基-2-甲基-4,7,35-三氧代-10,13,16,19,22,25,28,31-八氧杂-3,6,34-三氮杂三十七烷酰氨基)苄基)氧基)羰基)-11-羟基-7-甲氧基-5-氧代-2,3,5,10,11,11a-六氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-8-基)氧基)甲基)苄基)氧基)-11-羟基-7-甲氧基-5-氧代-2,3,5,10,11,11a-六氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-10-羰基)氧基)甲基)-2-硝基苯氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸(48)

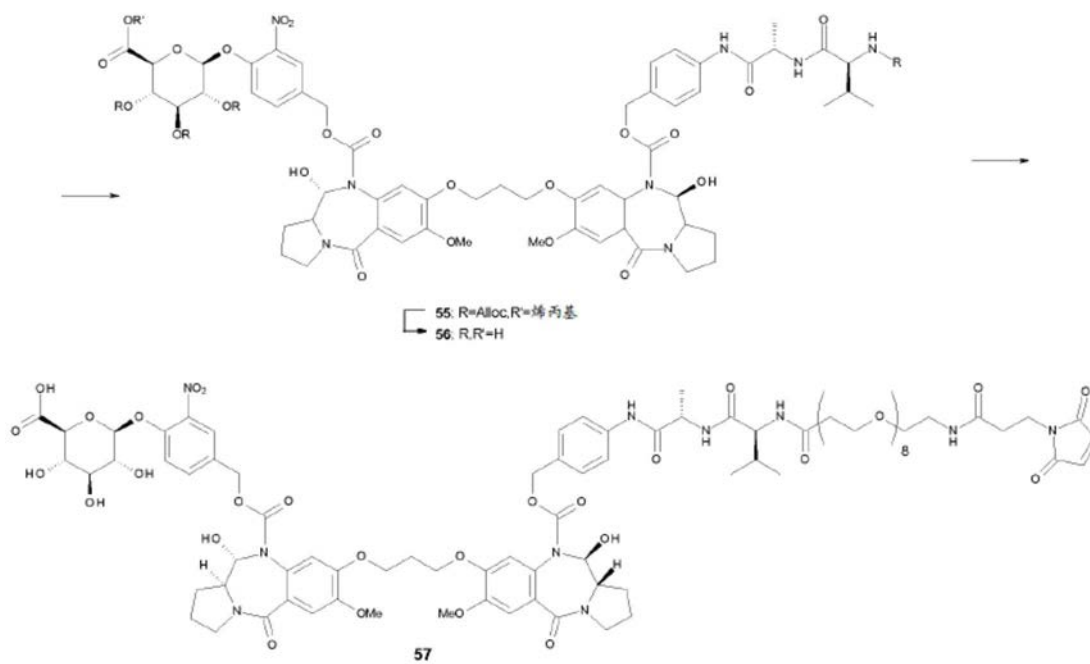
[2242] 将MAL-dPEG®8-TFP酯 (123 mg, 0.16 mmol) 在无水DCM (2 mL) 中的溶液添加到胺47 (147 mg, 0.11 mmol) 和吡啶 (22 μL, 22 mg, 0.28 mmol) 的经搅拌样品中。将反应混合物在氩气下搅拌20小时并且颜色随着时间的推移开始变深。LC/MS的分析显示出在保留时间1.37分钟处期望产物的形成, ES+m/z 1896[M+H]⁺, 1918[M+Na]⁺, 以及在保留时间1.13分钟处痕量未反应的胺。通过真空蒸发移除产物的大量分解和溶剂。通过制备型HPLC纯化粗产物, 以得到为白色固体的马来酰亚胺48 (75mg, 36%); LC/MS (15分钟运行), 保留时间5.48分钟, ES+m/z 1896[M+H]⁺, 1918[M+Na]⁺; ¹H NMR (400MHz, d₆-DMSO) δ 9.92 (br s, 2H), 8.20-8.14 (m, 1H), 8.01 (t, 1H, J=5.6Hz), 7.87 (d, 1H, J=8.7Hz), 7.73 (br s, 1H), 7.62-7.36 (m, 8H), 7.23-7.15 (m, 2H), 7.11 (s, 1H), 7.09 (s, 1H), 7.00 (s, 2H), 6.99 (s, 1H), 6.94 (s, 1H), 6.62-6.51 (m, 2H), 5.53-5.41 (m, 3H), 5.35-5.85 (m, 9H), 4.41-4.32 (m, 1H), 4.23-4.16 (m, 1H), 4.00-3.90 (m, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.61-3.58 (m, 4H), 3.52-3.45 (m, 28H), 3.42-3.23 (m, 9H), 3.18-3.12 (m, 2H), 2.50-2.35 (m, 2H), 2.34-2.31 (m, 2H), 2.10-1.8 (m, 9H), 1.28 (d, 1H, J=7.1Hz), 0.87 (d, 3H, J=6.7Hz), 0.83 (d, 3H, J=6.8Hz)。

[2243] 实施例5

[2244]



[2245]



[2246] (a) (5-(3-(5-氨基-4-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)丙氧基)-2-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲基酯(50)

[2247] 将FmocCl (1.58g, 6.09mmol) 添加到双苯胺49 (6.50g, 8.12mmol) 和 Na_2CO_3 (2.15g, 20.3mmol) 在THF (35mL) 和 H_2O (35mL) 中的经搅拌混合物中。将混合物在室温下搅拌2.5小时, 其中LC/MS的分析显示出在保留时间2.19分钟处的期望的单Fmoc产物50, $I\% = 49$, $\text{ES}^+ m/z$ 1046 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 1024 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 以及在保留时间1.96分钟处的未反应的起始材料, $I\% = 19$, 以及在保留时间2.34分钟处的双-Fmoc材料, $I\% = 32$, $\text{ES}^+ m/z$ 1270 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 1246 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。使混合物在 H_2O (50mL) 与EtOAc (50mL) 之间分配, 将层分离并用EtOAc (2x25mL) 萃取水相。将合并的有机层用 H_2O (30mL)、盐水 (50mL) 洗涤, 干燥 (MgSO_4), 过滤并真空蒸发以得到粗产物。通过Isolera™ (庚烷/EtOAc, SNAP Ultra 100g, 每分钟100mL) 进行的纯化提供了为橙色泡沫的纯的单Fmoc产物50 (3.61g, 58%收率, 基于FmocCl, 在61%庚烷/EtOAc下洗脱)、未反应的双苯胺2 (2.04g, 在100%EtOAc下洗脱) 以及双-Fmoc (1.71g, 在30%庚烷/EtOAc下洗脱)。

[2248] (b) (5-(3-(5-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-4-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)丙氧基)-2-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酸4-((S)-2-((S)-2-(((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基酯(51)

[2249] 在室温下将三光气 (377mg, 1.27mmol) 添加到单Fmoc产物50 (3.61g, 3.53mmol) 和TEA (1.08mL, 784mg, 7.70mmol) 在无水DCM (40mL) 中的经搅拌溶液中。在氩气下搅拌10分钟后, LC/MS的分析显示完全转化为异氰酸酯(在MeOH中取样, 得到氨基甲酸甲酯, 保留时间2.23分钟, $\text{ES}^+ m/z$ 1104 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 1082 $[\text{M}+\text{H}]^+$)。将混合物用另外的TEA (737 μL , 535mg, 5.30mmol) 处理, 然后添加接头I16 (1.33g, 3.53mmol)。在氩气下搅拌2.5小时后, LC/MS显示出向氨基甲酸酯51的令人满意的转化, 保留时间2.21分钟, $\text{ES}^+ m/z$ 1449 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 1427 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。将混合物用DCM (50mL) 稀释并且用饱和的 NH_4Cl 水溶液 (2x30mL)、 H_2O (30mL)、盐水 (50mL) 洗涤, 干燥 (MgSO_4), 过滤并且真空蒸发以得到粗产物。通过Isolera™ (庚烷/EtOAc, SNAP Ultra 100g, 每分钟100mL) 进行的纯化提供为黄色泡沫的纯氨基甲酸酯51 (在40%己烷/EtOAc下洗脱) (3.34g, 66%收率)。

[2250] (c) (5-(3-(5-氨基-4-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)丙氧基)-2-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酸4-((S)-2-((S)-2-(((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基酯(52)

[2251] 在室温下将二甲胺 (23.4mL 的在THF中的2.0M溶液, 46.8mmol) 添加到Fmoc保护的化合物51 (3.34g, 2.34mmol) 在THF (15mL) 中的经搅拌溶液中。在室温下在氩气下搅拌1小时后, LC/MS的分析显示反应完全, 具有在保留时间2.02分钟处的期望产物, $\text{ES}^+ m/z$ 1227 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 1205 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 以及在保留时间1.72分钟处的Fmoc切割副产物和在保留时间0.93分钟处的其DMA加合物。将混合物真空蒸发以得到粗产物, 其随后通过Isolera™ (庚烷/EtOAc, SNAP Ultra 100g, 每分钟100mL) 进行纯化, 以提供为橙色泡沫的纯苯胺52 (在100%EtOAc下洗脱) (2.51g, 89%收率)。

[2252] (d) (2S, 3S, 4S, 5R, 6S) -6-(4-(((5-(3-(5-(((4-((S)-2-((S)-2-(((烯丙氧基)

羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)氨基)-4-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)丙氧基)-2-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酰基)氧基)甲基)-2-硝基苯氧基)-3,4,5-三(((烯丙氧基)羰基)氧基)四氢-2H-吡喃-2-羧酸烯丙基酯(53)

[2253] 在室温下将三光气(222mg, 0.75mmol)添加到苯胺52(2.51g, 2.08mmol)和吡啶(370μL, 362mg, 4.58mmol)在无水DCM(30mL)中的经搅拌溶液中。在氩气下搅拌10分钟后, LC/MS的分析显示完全转化为异氰酸酯(在MeOH中取样, 得到氨基甲酸甲酯, 保留时间2.06分钟, ES+m/z 1285[M+Na]⁺, 1263[M+H]⁺)。将混合物用另外的吡啶(252μL, 247mg, 3.12mmol)和二月桂酸二丁基锡(247μL, 263mg, 0.42mmol)处理, 然后添加接头5a(1.33g, 2.08mmol)。在氩气下搅拌28小时后, LC/MS显示出向氨基甲酸酯53的令人满意的转化(保留时间2.12分钟, ES+m/z 1890[M+Na]⁺, 1868[M+H]⁺)。将混合物用DCM(40mL)稀释并且用饱和NH₄Cl(3x30mL)、盐水(50mL)洗涤, 干燥(MgSO₄), 过滤并且真空蒸发以得到粗产物。通过IsoleraTM(庚烷/EtOAc, SNAP Ultra 100g, 每分钟100mL)进行的纯化提供为黄色泡沫的纯氨基甲酸酯53(在37%庚烷/EtOAc下洗脱)(3.12g, 80%收率)。

[2254] (e) (2S, 3S, 4S, 5R, 6S) -6-(4-(((5-(3-(5-(((4-((S)-2-((S)-2-(((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)氨基)-4-((S)-2-(羟甲基)吡咯烷-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)丙氧基)-2-((S)-2-(羟甲基)吡咯烷-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酰基)氧基)甲基)-2-硝基苯氧基)-3,4,5-三(((烯丙氧基)羰基)氧基)四氢-2H-吡喃-2-羧酸烯丙基酯(54)

[2255] 将冰醋酸(24mL)添加到TBS保护的化合物53(3.12g, 1.67mmol)在THF(8mL)和H₂O(8mL)中的经搅拌溶液中。将反应混合物在室温下搅拌18小时, 之后LC/MS的分析显示反应完全, 具有在保留时间1.72分钟处观察到的期望产物, ES+m/z 1640[M+H]⁺, 1662[M+Na]⁺。将反应混合物逐滴添加到冷却的(0-5℃)饱和NaHCO₃溶液(450mL)中。将中性溶液温热至室温并用EtOAc(3x80mL)萃取, 将合并的有机层用盐水(80mL)洗涤, 干燥(MgSO₄), 过滤并真空蒸发以得到粗产物。通过IsoleraTM(DCM/MeOH, SNAP Ultra 100g, 每分钟100mL)进行的纯化得到为白色泡沫的双醇54(在96.6%DCM/MeOH下洗脱)(2.05g, 75%收率)。

[2256] (f) (11S, 11aS) -8-(3-(((11S, 11aS) -10-(((4-((S)-2-((S)-2-(((烯丙氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)-11-羟基-7-甲氧基-5-氧代-2,3,5,10,11,11a-六氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂^草-8-基)氧基)丙氧基)-11-羟基-7-甲氧基-5-氧代-2,3,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂^草-10(5H)-羧酸4-(((2S, 3R, 4S, 5S, 6S) -6-((烯丙氧基)羰基)-3,4,5-三(((烯丙氧基)羰基)氧基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)-3-硝基苄基酯(55)

[2257] 将45%IBX(273mg, 0.44mmol)添加到双-OH 54(300mg, 0.18mmol)在无水DMSO(4mL)中的经搅拌溶液中。在氩气气氛下将混合物加热至30℃并通过LC/MS监测反应进度。搅拌24小时后, 添加另外的IBX(26mg, 42μmol)并且将混合物再搅拌24小时。此时LC/MS的分析主要显示与期望产物相对应的单峰, 保留时间1.68分钟, ES+m/z 1658[M+Na]⁺。将反应混合物逐滴添加到冷却的饱和NaHCO₃水溶液(100mL)中并用DCM(2x40mL)萃取。将合并的有机层用盐水(40mL)洗涤, 干燥(MgSO₄), 过滤并真空蒸发以得到粗产物。通过IsoleraTM(DCM/MeOH, SNAP Ultra 25g, 每分钟75mL)进行的纯化得到为白色泡沫的环化产物55(在97%

DCM/MeOH下洗脱) (256mg, 87% 收率)。

[2258] (g)

[2259] (2S, 3S, 4S, 5R, 6S) -6- (4- (((11S, 11aS) -8- (3- (((11S, 11aS) -10- (((4- ((S) -2- ((S) -2-氨基-3-甲基丁酰氨基) 丙酰氨基) 苄基) 氧基) 羰基) -11-羟基-7-甲氧基-5-氧代-2, 3, 5, 10, 11, 11a-六氢-1H-吡咯并[2, 1-c][1, 4]苯并二氮杂~~草~~-8-基) 氧基) 丙氧基) -11-羟基-7-甲氧基-5-氧代-2, 3, 5, 10, 11, 11a-六氢-1H-吡咯并[2, 1-c][1, 4]苯并二氮杂~~草~~-10-羰基) 氧基) 甲基) -2-硝基苯氧基) -3, 4, 5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸 (56)

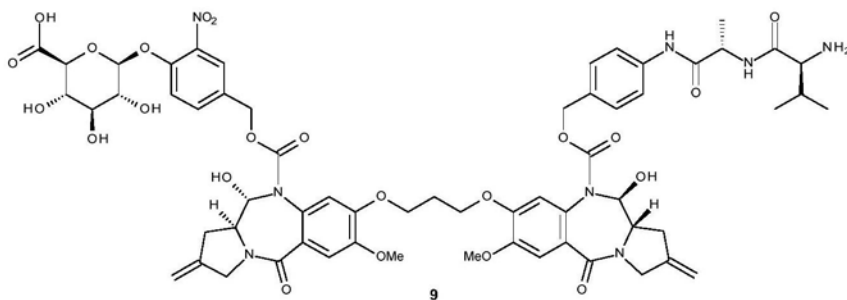
[2260] 将Pd(PPh₃)₄ (18.1mg, 15.7μmol) 添加到吡咯烷 (72μL, 62mg, 0.86mmol) 和Alloc/烯丙基化合物55 (256mg, 0.16mmol) 在无水DCM (2mL) 中的经搅拌溶液中。将反应混合物在氩气气氛下搅拌, 其中开始形成沉淀。在室温下搅拌30分钟后, LC/MS的分析显示反应完全, 具有在保留时间1.07分钟处观察到的期望产物, ES+m/z 1260 [M+H]⁺。通过真空蒸发移除溶剂并且将所得的残余物用二乙醚研磨, 然后再次真空蒸发以提供为固体的粗胺56, 其不经进一步纯化或分析即进行下一步骤。

[2261] (h)

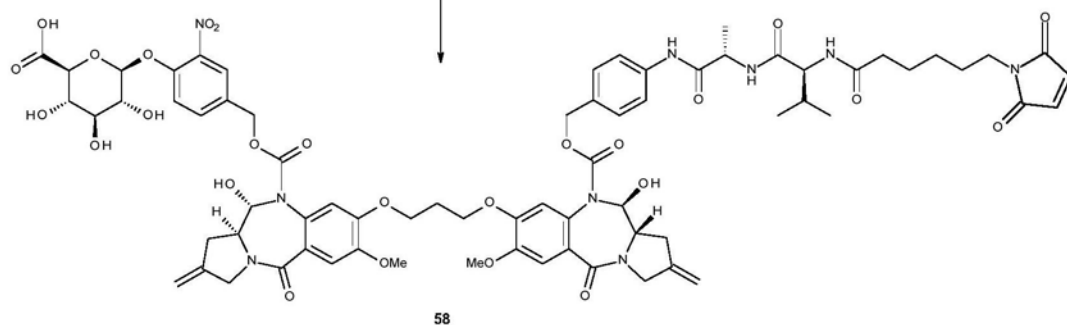
[2262] (2S, 3S, 4S, 5R, 6S) -6- (4- (((11S, 11aS) -8- (3- (((11S, 11aS) -10- (((4- ((2S, 5S) -37- (2, 5-二氧化-2, 5-二氢-1H-吡咯-1-基) -5-异丙基-2-甲基-4, 7, 35-三氧代-10, 13, 16, 19, 22, 25, 28, 31-八氧杂-3, 6, 34-三氮杂三十七烷酰氨基) 苄基) 氧基) 羰基) -11-羟基-7-甲氧基-5-氧代-2, 3, 5, 10, 11, 11a-六氢-1H-吡咯并[2, 1-c][1, 4]苯并二氮杂~~草~~-8-基) 氧基) 丙氧基) -11-羟基-7-甲氧基-5-氧代-2, 3, 5, 10, 11, 11a-六氢-1H-吡咯并[2, 1-c][1, 4]苯并二氮杂~~草~~-10-羰基) 氧基) 甲基) -2-硝基苯氧基) -3, 4, 5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸 (57)

[2263] 将MAL-dPEG®8-TFP酯 (140 mg, 0.19 mmol) 在无水DCM (2 mL) 中的溶液添加到胺56 (198 mg, 0.16 mmol)、吡啶 (32μL, 31 mg, 0.39mmol) 和DMF (0.25 mL) 的经搅拌样品中。将反应混合物在氩气下搅拌20小时并且颜色随着时间的推移开始变深。LC/MS的分析显示出在保留时间1.31分钟处期望产物的形成, ES+m/z 1834 [M+H]⁺, 1857 [M+Na]⁺, 以及在保留时间1.07分钟处的未反应的胺。添加另外的MAL-dPEG®8-TFP酯 (70 mg, 0.09 mmol)、吡啶 (16μL, 16 mg, 0.2mmol) 和DCM (2 mL) 并且将混合物再搅拌24小时。然后通过真空蒸发将溶剂体积减少50%, 此时, 在通过LC/MS进行分析时已经形成了令人满意的量的期望产物并且通过真空蒸发完全移除溶剂。通过制备型HPLC纯化粗产物, 以得到为白色固体的马来酰亚胺56 (48 mg, 17%): LC/MS (15分钟运行), 保留时间5.22分钟, ES+m/z 1834 [M+H]⁺, 1856 [M+Na]⁺; ¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 9.99 (br s, 2H), 8.24-8.17 (m, 1H), 8.01 (t, 1H, J=5.6 Hz), 7.88 (d, 1H, J=8.7 Hz), 7.74 (br s, 1H), 7.64-7.50 (m, 3H), 7.44-7.34 (m, 1H), 7.23-7.13 (m, 2H), 7.06 (s, 2H), 7.00 (s, 2H), 6.86 (s, 1H), 6.79 (s, 1H), 6.59-6.47 (m, 2H), 5.52-5.37 (m, 3H), 5.32-5.02 (m, 4H), 4.98-4.84 (m, 2H), 4.44-4.34 (m, 1H), 4.24-4.19 (m, 1H), 4.17-3.96 (m, 5H), 3.92-3.84 (m, 1H), 3.77 (s, 6H), 3.60 (t, 4H, J=7.3 Hz), 3.54-3.45 (m, 29H), 3.40-3.24 (m, 8H), 3.19-3.12 (m, 2H), 2.57-2.35 (m, 2H), 2.34-2.30 (m, 2H), 2.25-2.12 (m, 2H), 2.10-1.78 (m, 9H), 1.30 (d, 1H, J=6.9 Hz), 0.87 (d, 3H, J=6.7 Hz), 0.83 (d, 3H, J=6.7 Hz)。

[2264] 实施例6



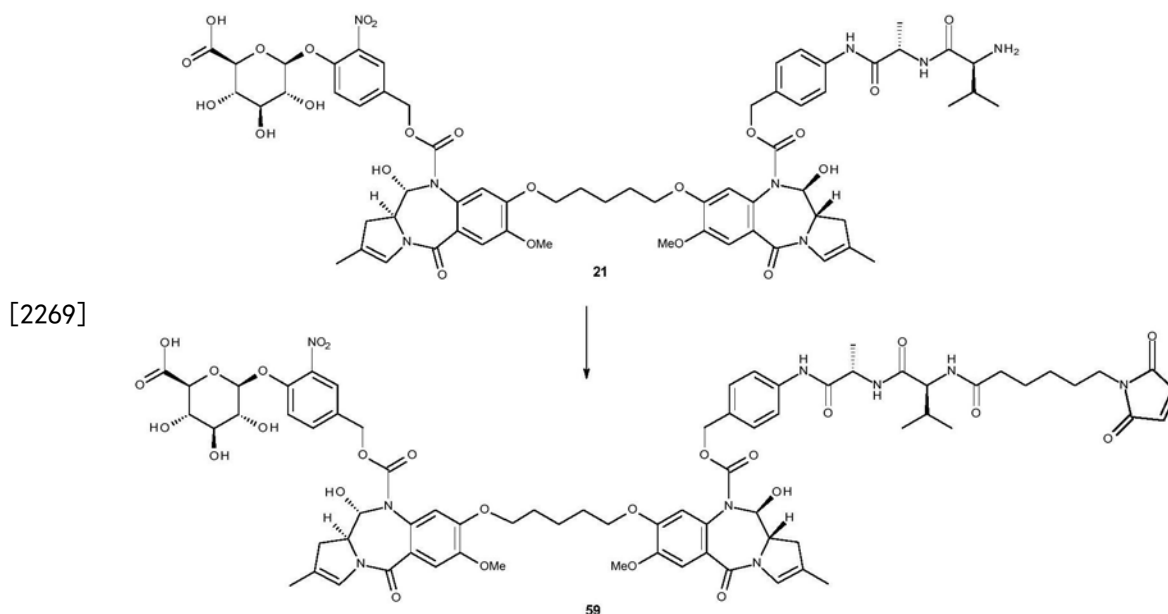
[2265]



[2266] (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(4-(((11S,11aS)-8-(3-(((11S,11aS)-10-(((4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)-11-羟基-7-甲氧基-2-亚甲基-5-氧代-2,3,5,10,11,11a-六氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-8-基)氧基)丙氧基)-11-羟基-7-甲氧基-2-亚甲基-5-氧代-2,3,5,10,11,11a-六氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-10-羰基)氧基)甲基)-2-硝基苯氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸 (58)

[2267] 将6-马来酰亚氨基己酸N-羟基琥珀酰亚胺酯 (51mg, 0.17mmol) 在无水DCM (2mL) 中的溶液添加到胺9 (141mg, 0.11mmol)、吡啶 (22μL, 21mg, 0.33mmol) 和DMF (0.25mL) 的经搅拌样品中。将反应混合物在氩气下搅拌20小时并且颜色随着时间的推移开始变深。LC-MS的分析显示出在保留时间1.42分钟处期望产物的形成, ES-m/z 1474 [M-H]⁻, 以及在保留时间1.12分钟处的痕量未反应的胺。通过真空蒸发移除溶剂并通过IsoleraTM (DCM/MeOH, SNAP Ultra 10g, 每分钟36mL, 在80%DCM/MeOH下洗脱) 纯化所得的残余物以得到90mg的富集58。通过制备型HPLC进行的进一步纯化得到为白色固体的马来酰亚胺58 (26mg, 16%) : LC-MS (15分钟运行), 保留时间5.85分钟, ES+m/z 1477 [M+H]⁺, 1499 [M+Na]⁺; ¹H NMR (400MHz, d6-DMSO) δ 10.0 (br s, 2H), 8.16 (d, 1H, J=7.0Hz), 7.80 (d, 1H, J=8.6Hz), 7.74 (br s, 1H), 7.62-7.50 (m, 3H), 7.39 (d, 1H, J=8.7Hz), 7.22-7.11 (m, 2H), 7.06 (s, 2H), 7.00 (s, 2H), 6.89 (s, 2H), 6.84-6.78 (m, 1H), 6.68-6.56 (m, 2H), 5.45-5.30 (m, 3H), 5.29-5.01 (m, 9H), 4.98-4.85 (m, 2H), 4.42-4.33 (m, 1H), 4.24-3.92 (m, 9H), 3.77 (s, 6H), 3.44 (t, 2H, J=9.5Hz), 3.39-3.30 (m, 2H), 2.93-2.80 (m, 2H), 2.57-2.35 (m, 2H), 2.23-2.06 (m, 4H), 2.03-1.90 (m, 1H), 1.48 (p, 4H, J=7.3Hz), 1.30 (d, 3H, J=7.0Hz), 1.18 (p, 2H, J=7.6Hz), 0.86 (d, 3H, J=6.7Hz), 0.83 (d, 3H, J=6.7Hz)。

[2268] 实施例7



[2270] (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(4-(((11S,11aS)-8-((5-(((11S,11aS)-10-((4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基)氧基)羰基)-11-羟基-7-甲氧基-2-甲基-5-氧代-5,10,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-8-基)氧基)戊基)氧基)-11-羟基-7-甲氧基-2-甲基-5-氧代-5,10,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-10-羰基)氧基)甲基)-2-硝基苯氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸 (59)

[2271] 将6-马来酰亚氨基己酸N-羟基琥珀酰亚胺酯(42mg,0.14mmol)在无水DCM(2mL)中的溶液添加到胺21(118mg,0.09mmol)和吡啶(18μL,18mg,0.23mmol)的经搅拌样品中。将反应混合物在氩气下搅拌24小时并且颜色随着时间的推移开始变深。LC-MS的分析显示出在保留时间1.45分钟处期望产物的形成,ES-m/z 1502[M-H]⁻,以及在保留时间1.15分钟处的痕量未反应的胺。通过真空蒸发移除溶剂并通过IsoleraTM(DCM/MeOH,SNAP Ultra 10g,每分钟36mL,在66%DCM/MeOH下洗脱)纯化所得的残余物以得到76mg的富集59。通过制备型HPLC进行的进一步纯化得到为白色固体的马来酰亚胺59(27mg,20%):LC-MS(15分钟运行),保留时间6.13分钟,ES+m/z 1505[M+H]⁺,1527[M+Na]⁺; ¹H NMR(400MHz,d6-DMSO)δ9.95(br s,2H),8.15(d,1H,J=6.9Hz),7.80(d,1H,J=8.7Hz),7.87(d,1H,J=8.7Hz),7.71(br s,1H),7.62-7.48(m,3H),7.39(d,1H,J=8.6Hz),7.21-7.12(m,2H),7.06(s,1H),7.05(s,1H),6.99(s,2H),6.82(s,1H),6.76(s,1H),6.72-6.65(m,2H),6.62(s,2H),5.63-5.50(m,2H),5.48-5.40(m,2H),5.31-5.08(m,6H),4.98-4.82(m,3H),4.43-4.34(m,1H),4.21-4.14(m,1H),4.03-3.86(m,4H),3.79(s x 2,6H),3.72-3.61(m,2H),3.38-3.35(m,2H),2.98-2.85(m,2H),2.59-2.42(m,2H),2.23-2.06(m,2H),2.00-1.88(m,1H),1.82-1.68(m,4H),1.74(s,6H),1.61-1.41(m,8H),1.22-1.14(m,2H),1.28(d,1H,J=7.0Hz),0.86(d,3H,J=6.7Hz),0.82(d,3H,J=6.8Hz)。

[2272] 实施例8-缀合

[2273] 缀合物曲妥单抗-10(ConjA)

[2274] 将DL-二硫苏糖醇(DTT)在磷酸盐缓冲盐水pH 7.4(PBS)中的50mM溶液添加(80摩

尔当量/抗体,16微摩尔,320 μ L)到抗体曲妥单抗(30mg,200纳摩尔)在含有PBS和1mM乙二胺四乙酸(EDTA)的还原缓冲液中的最终抗体浓度为2.5mg/mL的12.0mL溶液中。在温和(50rpm)振荡下,在轨道振荡器中,使还原混合物在室温下反应4-5小时(或直到通过UHPLC观察到完全还原)。通过自旋过滤器离心将还原的抗体缓冲液交换到包含PBS和1mM EDTA的再氧化缓冲液中,以移除所有过量的还原剂。添加脱氢抗坏血酸(DHAA,20摩尔当量/抗体,4微摩尔,80 μ L)在DMSO中的50mM溶液并且使再氧化混合物在室温、温和(50rpm)振荡下在1.5mg/mL的抗体浓度下反应16小时(或添加更多DHAA,并且反应继续进行更长时间,直到通过UHPLC观察到半胱氨酸巯基全部再氧化以重新形成链间半胱氨酸二硫化物)。将再氧化混合物接着无菌过滤并稀释于含有PBS和1mM EDTA的缀合缓冲液中,实现1.0mg/mL的最终抗体浓度。将化合物10以DMSO溶液(10摩尔当量/抗体,1微摩尔,在1.5mL DMSO中)的形式添加到13.5mL的这一再氧化的抗体溶液(15mg,100纳摩尔)中,实现10% (v/v) 最终DMSO浓度。将溶液在室温下混合1.5小时,然后通过添加N-乙酰基半胱氨酸(15微摩尔,150 μ L,100mM)淬灭缀合,然后使用15mL Amicon Ultracell 50kDa MWC0自旋过滤器通过自旋过滤进行纯化、无菌过滤并分析。

[2275] 通过Shimadzu Prominence系统,使用Phenomenex Aeris 3.6 μ XB-C18 150mm x 2.1mm柱(用水和乙腈的梯度进行洗脱)对ConjA的还原样品在280nm和330nm处(化合物10特异性)进行的UHPLC分析表明,未缀合轻链与未缀合重链和连接于单分子化合物10的重链的混合物与1.89分子化合物10/抗体的药物/抗体比率(DAR)一致。

[2276] 在Shimadzu Prominence系统上,使用Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 μ m 4.6x 150mm柱(具有4 μ m 3.0x 20mm保护柱),用含有200mM磷酸钾pH 6.95、250mM氯化钾和10%异丙醇(v/v)的0.3mL/分钟无菌过滤的SEC缓冲液洗脱,在280nm处对ConjA样品的UHPLC分析显示出99%的单体纯度。UHPLC SEC分析给出在8.5mL中的1.45mg/mL的最终ConjA的浓度,获得的ConjA的质量为12.3mg(82%产率)。

[2277] 缀合物曲妥单抗-22(ConjB)

[2278] 将DL-二硫苏糖醇(DTT)在磷酸盐缓冲盐水pH 7.4(PBS)中的50mM溶液添加(80摩尔当量/抗体,42.7微摩尔,853 μ L)到抗体曲妥单抗(80mg,533纳摩尔)在含有PBS和1mM乙二胺四乙酸(EDTA)的还原缓冲液中的最终抗体浓度为4.0mg/mL的20.0mL溶液中。在温和(60rpm)振荡下,在轨道振荡器中,使还原混合物在室温下反应4-5小时(或直到通过UHPLC观察到完全还原)。通过自旋过滤器离心将还原的抗体缓冲液交换到包含PBS和1mM EDTA的再氧化缓冲液中,以移除所有过量的还原剂。添加脱氢抗坏血酸(DHAA,20摩尔当量/抗体,10.7微摩尔,213 μ L)在DMSO中的50mM溶液并且使再氧化混合物在室温、温和(50rpm)振荡下在1.5mg/mL的抗体浓度下反应16小时(或添加更多DHAA,并且反应继续进行更长时间,直到通过UHPLC观察到半胱氨酸巯基全部再氧化以重新形成链间半胱氨酸二硫化物)。将再氧化混合物接着无菌过滤并稀释于含有PBS和1mM EDTA的缀合缓冲液中,实现1.0mg/mL的最终抗体浓度。将化合物22以DMSO溶液(10摩尔当量/抗体,1.33微摩尔,在2.0mL DMSO中)的形式添加到18.0mL的这一再氧化的抗体溶液(20mg,133纳摩尔)中,实现10% (v/v) 最终DMSO浓度。将溶液在室温下混合1.5小时,然后通过添加N-乙酰基半胱氨酸(20微摩尔,200 μ L,100mM)淬灭缀合,然后使用15mL Amicon Ultracell 50kDa MWC0自旋过滤器通过自旋过滤进行纯化、无菌过滤并分析。

[2279] 通过Shimadzu Prominence系统,使用Phenomenex Aeris 3.6u XB-C18 150mm x 2.1mm柱(用水和乙腈的梯度进行洗脱)对ConjB的还原样品在280nm和330nm处(化合物22特异性)进行的UHPLC分析表明,未缀合轻链与未缀合重链和连接于单分子化合物22的重链的混合物与1.71分子化合物22/抗体的药物/抗体比率(DAR)一致。

[2280] 在Shimadzu Prominence系统上,使用Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 μ m 4.6x 150mm柱(具有4 μ m 3.0x 20mm保护柱),用含有200mM磷酸钾pH 6.95、250mM氯化钾和10%异丙醇(v/v)的0.3mL/分钟无菌过滤的SEC缓冲液洗脱,在280nm处对ConjB样品的UHPLC分析显示出99%的单体纯度。UHPLC SEC分析给出最终ConjB的浓度为在10.3mL中的1.39mg/mL,并且获得的ConjB质量是14.3mg (72%收率)。

[2281] 缀合物曲妥单抗-34 (ConjC)

[2282] 将DL-二硫苏糖醇(DTT)在磷酸盐缓冲盐水pH 7.4(PBS)中的50mM溶液添加(80摩尔当量/抗体,42.7微摩尔,853 μ L)到抗体曲妥单抗(80mg,533纳摩尔)在含有PBS和1mM乙二胺四乙酸(EDTA)的还原缓冲液中的最终抗体浓度为4.0mg/mL的20.0mL溶液中。在温和(60rpm)振荡下,在轨道振荡器中,使还原混合物在室温下反应4-5小时(或直到通过UHPLC观察到完全还原)。通过自旋过滤器离心将还原的抗体缓冲液交换到包含PBS和1mM EDTA的再氧化缓冲液中,以移除所有过量的还原剂。添加脱氢抗坏血酸(DHAA,20摩尔当量/抗体,10.7微摩尔,213 μ L)在DMSO中的50mM溶液并且使再氧化混合物在室温、温和(50rpm)振荡下在1.5mg/mL的抗体浓度下反应16小时(或添加更多DHAA,并且反应继续进行更长时间,直到通过UHPLC观察到半胱氨酸巯基全部再氧化以重新形成链间半胱氨酸二硫化物)。将再氧化混合物接着无菌过滤并稀释于含有PBS和1mM EDTA的缀合缓冲液中,实现1.0mg/mL的最终抗体浓度。将化合物34以DMSO溶液(10摩尔当量/抗体,1.33微摩尔,在2.0mL DMSO中)的形式添加到18.0mL的这一再氧化的抗体溶液(20mg,133纳摩尔)中,实现10%(v/v)最终DMSO浓度。将溶液在室温下混合1.5小时,然后通过添加N-乙酰基半胱氨酸(20微摩尔,200 μ L,100mM)淬灭缀合,然后使用15mL Amicon Ultracell 50kDa MWC0自旋过滤器通过自旋过滤进行纯化,并且使用装填了Superdex 200PG的GE Healthcare HiLoad™ 26/600柱在AKTA™ Start FPLC上进一步纯化,使用2.5mL/min PBS洗脱。将与ConjC单体峰相对应的级分汇集,使用15mL Amicon Ultracell 50KDa MWC0自旋过滤器浓缩,无菌过滤并分析。

[2283] 通过Shimadzu Prominence系统,使用Phenomenex Aeris 3.6u XB-C18 150mm x 2.1mm柱(用水和乙腈的梯度进行洗脱)对ConjC的还原样品在280nm和330nm处(化合物34特异性)进行的UHPLC分析表明,未缀合轻链与未缀合重链和连接于单分子化合物34的重链的混合物与1.66分子化合物34/抗体的药物/抗体比率(DAR)一致。

[2284] 在Shimadzu Prominence系统上,使用Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 μ m 4.6x 150mm柱(具有4 μ m 3.0x 20mm保护柱),用含有200mM磷酸钾pH 6.95、250mM氯化钾和10%异丙醇(v/v)的0.3mL/分钟无菌过滤的SEC缓冲液洗脱,在280nm处对ConjC样品的UHPLC分析显示出99%的单体纯度。UHPLC SEC分析给出最终ConjC的浓度为在10.4mL中的1.36mg/mL,并且获得的ConjC质量是14.1mg (71%收率)。

[2285] 缀合物曲妥单抗-10 (ConjD)

[2286] 将DL-二硫苏糖醇(DTT)在磷酸盐缓冲盐水pH 7.4(PBS)中的50mM溶液添加(150摩尔当量/抗体,40微摩尔,800 μ L)到抗体曲妥单抗(40mg,267纳摩尔)在含有PBS和1mM乙二胺

四乙酸 (EDTA) 的还原缓冲液中的最终抗体浓度为2.5mg/mL的16.0mL溶液中。在温和 (50rpm) 振荡下,在轨道振荡器中,使还原混合物在室温下反应4小时 (或直到通过UHPLC观察到完全还原)。通过自旋过滤器离心将还原的抗体溶液缓冲液交换 (以移除所有过量还原剂) 到含有PBS和1mM EDTA的缀合缓冲液中,实现2.5mg/mL的最终抗体浓度。将化合物10以DMSO溶液 (25摩尔当量/抗体,1.67微摩尔,在0.4mL DMSO中) 的形式添加到3.6mL的这一还原的抗体溶液 (10mg,67纳摩尔) 中,实现10% (v/v) 最终DMSO浓度。将溶液在室温下混合1.5小时,然后通过添加N-乙酰基半胱氨酸 (8.33微摩尔,83.3μL,100mM) 淬灭缀合,然后使用装填了Superdex 200PG的GE Healthcare HiLoad™ 26/600柱在AKTA™ Start FPLC上进行纯化,使用2.5mL/min PBS洗脱。将与ConjD单体峰相对应的级分汇集,使用15mL Amicon Ultracell 50KDa MWC0自旋过滤器浓缩,无菌过滤并分析。

[2287] 通过Shimadzu Prominence系统,使用Phenomenex Aeris 3.6u XB-C18 150mm x 2.1mm柱 (用水和乙腈的梯度进行洗脱) 对ConjD的还原样品在280nm和330nm处 (化合物10特异性) 进行的UHPLC分析表明,未缀合轻链、未缀合重链和连接至单分子化合物10的轻链、未缀合重链以及连接至最多三分子化合物10的重链的混合物与7.47分子化合物10/抗体的药物/抗体比率 (DAR) 一致。

[2288] 在Shimadzu Prominence系统上,使用Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4μm 4.6x 150mm柱 (具有4μm 3.0x 20mm保护柱),用含有200mM磷酸钾pH 6.95、250mM氯化钾和10%异丙醇 (v/v) 的0.3mL/分钟无菌过滤的SEC缓冲液洗脱,在280nm处对ConjD样品的UHPLC分析显示出99%的单体纯度。UHPLC SEC分析给出最终ConjD的浓度为在4.4mL中的1.90mg/mL,获得的ConjA质量是8.4mg (84%收率)。

[2289] 缀合物曲妥单抗-22 (ConjE)

[2290] 将DL-二硫苏糖醇 (DTT) 在磷酸盐缓冲盐水pH 7.4 (PBS) 中的50mM溶液添加 (150摩尔当量/抗体,40微摩尔,800mL) 到抗体曲妥单抗 (40mg,267纳摩尔) 在含有PBS和1mM二乙胺四乙酸 (EDTA) 的还原缓冲液中的最终抗体浓度为2.5mg/mL的16.0mL溶液中。在温和 (50rpm) 振荡下,在轨道振荡器中,使还原混合物在室温下反应4小时 (或直到通过UHPLC观察到完全还原)。通过自旋过滤器离心将还原的抗体溶液缓冲液交换 (以移除所有过量还原剂) 到含有PBS和1mM EDTA的缀合缓冲液中,实现2.5mg/mL的最终抗体浓度。将化合物22以DMSO溶液 (25摩尔当量/抗体,1.67微摩尔,在0.4mL DMSO中) 的形式添加到3.6mL的这一还原的抗体溶液 (10mg,67纳摩尔) 中,实现10% (v/v) 最终DMSO浓度。将溶液在室温下混合1.5小时,然后通过添加N-乙酰基半胱氨酸 (8.33微摩尔,83.3μL,100mM) 淬灭缀合,然后使用装填了Superdex 200PG的GE Healthcare HiLoad™ 26/600柱在AKTA™ Start FPLC上进行纯化,使用2.5mL/min PBS洗脱。将与ConjE单体峰相对应的级分汇集,使用15mL Amicon Ultracell 50KDa MWC0自旋过滤器浓缩,无菌过滤并分析。

[2291] 通过Shimadzu Prominence系统,使用Phenomenex Aeris 3.6u XB-C18 150mm x 2.1mm柱 (用水和乙腈的梯度进行洗脱) 对ConjE的还原样品在280nm和330nm处 (化合物22特异性) 进行的UHPLC分析表明,未缀合轻链、未缀合重链和连接至单分子化合物22的轻链、未缀合重链以及连接至最多三分子化合物22的重链的混合物与7.39分子化合物22/抗体的药物/抗体比率 (DAR) 一致。

[2292] 在Shimadzu Prominence系统上,使用Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb

HTP 4 μ m 4.6x 150mm柱(具有4 μ m 3.0x 20mm保护柱),用含有200mM磷酸钾pH 6.95、250mM氯化钾和10%异丙醇(v/v)的0.3mL/分钟无菌过滤的SEC缓冲液洗脱,在280nm处对ConjE样品的UHPLC分析显示出96%的单体纯度。UHPLC SEC分析给出最终ConjE的浓度为在4.6mL中的1.93mg/mL,获得的ConjE质量是8.9mg (89%收率)。

[2293] 缀合物曲妥单抗-34 (ConjF)

[2294] 将DL-二硫苏糖醇(DTT)在磷酸盐缓冲盐水pH 7.4 (PBS) 中的50mM溶液添加(150摩尔当量/抗体,10微摩尔,200 μ L)到抗体(10mg,66.7纳摩尔)在含有PBS和1mM乙二胺四乙酸(EDTA)的还原缓冲液中的最终抗体浓度为2.5mg/mL的4.0mL溶液中。在温和(50rpm)振荡下,在轨道振荡器中,使还原混合物在室温下反应4小时(或直到通过UHPLC观察到完全还原)。通过自旋过滤器离心将还原的抗体溶液缓冲液交换(以移除所有过量还原剂)到含有PBS和1mM EDTA的缀合缓冲液中,实现2.5mg/mL的最终抗体浓度。将化合物34以DMSO溶液(25摩尔当量/抗体,1.67微摩尔,在0.4mL DMSO中)的形式添加到3.6mL的这一还原的抗体溶液(10mg,67纳摩尔)中,实现10% (v/v) 最终DMSO浓度。将溶液在室温下混合0.75小时,然后通过添加N-乙酰基半胱氨酸(8.33微摩尔,83.3 μ L,100mM)淬灭缀合,然后使用装填了Superdex 200PG的GE Healthcare HiLoad™ 26/600柱在AKTA™ Start FPLC上进行纯化,使用2.5mL/min PBS洗脱。将与ConjF峰相对应的级分汇集,使用15mL Amicon Ultracell 50KDa MWC0自旋过滤器浓缩,使用装填了Superdex 200PG的GE Healthcare HiLoad™ 26/600柱在AKTA™ Start FPLC上再次纯化,用2.5mL/min PBS洗脱。将与ConjF峰相对应的级分汇集,使用15mL Amicon Ultracell 50KDa MWC0自旋过滤器浓缩,无菌过滤并分析。

[2295] 通过Shimadzu Prominence系统,使用Phenomenex Aeris 3.6 μ m XB-C18 150mm x 2.1mm柱(用水和乙腈的梯度进行洗脱)对ConjF的还原样品在280nm和330nm处(化合物34特异性)进行的UHPLC分析表明,未缀合轻链、未缀合重链和连接至单分子化合物34的轻链、未缀合重链以及连接至最多三分子化合物34的重链的混合物与7.41分子化合物34/抗体的药物/抗体比率(DAR)一致。

[2296] 在Shimadzu Prominence系统上,使用Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 μ m 4.6x 150mm柱(具有4 μ m 3.0x 20mm保护柱),用含有200mM磷酸钾pH 6.95、250mM氯化钾和10%异丙醇(v/v)的0.3mL/分钟无菌过滤的SEC缓冲液洗脱,在280nm处对ConjF样品的UHPLC分析显示出0%的单体纯度(100%二聚体-三聚体)。UHPLC SEC分析给出最终ConjF的浓度为在4.4mL中的1.09mg/mL,获得的ConjF质量是4.8mg (48%收率)。

[2297] 缀合物曲妥单抗-58 (ConjG)

[2298] 将二硫苏糖醇(DTT)在磷酸盐缓冲盐水pH 7.4 (PBS) 中的50mM溶液添加(120摩尔当量/抗体,32微摩尔,0.64mL,50mM)到抗体(40mg,0.267微摩尔)在含有PBS和1mM乙二胺四乙酸(EDTA)的还原缓冲液中的最终抗体浓度为2.0mg/mL的3.7mL溶液中。在温和(60rpm)振荡下,在轨道振荡器中,将还原混合物在+25℃下加热4小时(或直到通过UHPLC观察到完全还原)。冷却至室温之后,使用50KDa MWC0 vivaspin通过自旋过滤器将还原的抗体缓冲液交换到含有PBS pH 7.4和1mM EDTA的再氧化缓冲液中,以移除所有过量的还原剂。添加脱氢抗坏血酸(DHAA,20摩尔当量/抗体,5.3微摩尔,0.1mL,50mM)在DMSO中的50mM溶液并且使再氧化混合物在室温、温和(60rpm)振荡下在~2.0mg/mL的抗体浓度下反应16小时(或直到

通过UHPLC观察到半胱氨酸巯基全部再氧化以重新形成链间半胱氨酸二硫化物)。将再氧化混合物在4000rpm下离心3min,然后使用0.22 μ m膜过滤器无菌过滤。将化合物58以DMSO溶液(11摩尔当量/抗体,1.46微摩尔,在0.9mL DMSO中)的形式添加到9.1mL的这一再氧化的抗体溶液(20mg,0.13微摩尔)中,实现10% (v/v) 最终DMSO浓度。将溶液在+25℃下振荡3小时,然后用N-乙酰基半胱氨酸(7.3微摩尔,0.07mL,100mM)淬灭缀合。

[2299] 使用50kDa MWC0 vivaspin通过自旋过滤器将过量游离药物移除到含有PBS pH 7.4的缓冲液中。使用纯净缀合物通过UHPLC-RP监测游离药物移除的程度。在游离药物完全移除后,使用0.22 μ m, Mustang过滤器在无菌气氛下过滤ConjG,并且接着储存于+4℃。

[2300] 通过Shimadzu Prominence系统,使用Phenomenex Aeris 3.6u XB-C18 150x 2.1mm柱(用水和乙腈的梯度进行洗脱)对缀合物的还原样品在214nm和330nm处(化合物58特异性)进行的UHPLC分析表明,未缀合轻链与未缀合重链和连接于单分子化合物58的重链的混合物与1.83分子化合物58/抗体的药物/抗体比率(DAR)一致。

[2301] 在Shimadzu Prominence系统上,使用Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 μ m 4.6x 150mm柱(具有4 μ m 3.0x 20mm保护柱),用含有200mM磷酸钾pH 6.95、250mM氯化钾和10%异丙醇(v/v)的0.3mL/分钟无菌过滤的SEC缓冲液洗脱,在280nm处对ConjG样品的UHPLC分析显示出大于99%的单体纯度。UHPLC SEC分析给出最终ConjG的浓度为在8.9mL中的1.34mg/mL,获得的ConjG质量是11.9mg (60%收率)。

[2302] 缀合物曲妥单抗-59 (ConjH)

[2303] 根据US2014-0037961A1中所述的方法将抗体(30mg)加载到固体支持体上并还原、再氧化、与化合物59缀合、纯化、从树脂中释放并配制到25mM组氨酸、200mM蔗糖、吐温20 0.02% (pH 6.0) 上,所述专利通过引用并入本文。

[2304] 通过Shimadzu Prominence系统,使用Phenomenex Aeris 3.6u XB-C18 150x 2.1mm柱(用水和乙腈的梯度进行洗脱)对缀合物的还原样品在214nm和330nm处(化合物59特异性)进行的UHPLC分析表明,未缀合轻链与未缀合重链和连接于单分子化合物59的重链的混合物与1.9分子化合物59/抗体的药物/抗体比率(DAR)一致。

[2305] 在Shimadzu Prominence系统上,使用Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 μ m 4.6x 150mm柱(具有4 μ m 3.0x 20mm保护柱),用含有200mM磷酸钾pH 6.95、250mM氯化钾和10%异丙醇(v/v)的0.3mL/分钟无菌过滤的SEC缓冲液洗脱,在280nm处对ConjH样品的UHPLC分析显示出大于97%的单体纯度。UHPLC SEC分析给出最终ConjH的浓度为在7.5mL中的1.49mg/mL,获得的ConjH质量是11.2mg (37%收率)。

[2306] 缀合物曲妥单抗-48 (ConjI)

[2307] 将二硫苏糖醇(DTT)在磷酸盐缓冲盐水pH 7.4 (PBS) 中的50mM溶液添加(80摩尔当量/抗体,21.4微摩尔,0.43mL,50mM)到抗体(40mg,0.267微摩尔)在含有PBS和1mM乙二胺四乙酸(EDTA)的还原缓冲液中的最终抗体浓度为2.0mg/mL的3.7mL溶液中。在温和(60rpm)振荡下,在轨道振荡器中,将还原混合物在+25℃下加热4小时(或直到通过UHPLC观察到完全还原)。冷却至室温之后,使用50KDa MWC0 vivaspin通过自旋过滤器将还原的抗体缓冲液交换到含有PBS pH 7.4和1mM EDTA的再氧化缓冲液中,以移除所有过量的还原剂。添加脱氢抗坏血酸(DHAA,20摩尔当量/抗体,5.3微摩尔,0.1mL,50mM)在DMSO中的50mM溶液并且使再氧化混合物在室温、温和(60rpm)振荡下在~2.0mg/mL的抗体浓度下反应16小时(或直到

通过UHPLC观察到半胱氨酸巯基全部再氧化以重新形成链间半胱氨酸二硫化物)。将再氧化混合物在4000rpm下离心3min,然后使用0.22 μ m膜过滤器无菌过滤。将化合物48以DMSO溶液(11摩尔当量/抗体,1.46微摩尔,在1.7mL DMSO中)的形式添加到16.8mL的这一再氧化的抗体溶液(20mg,0.13微摩尔)中,实现10% (v/v) 最终DMSO浓度。将溶液在+25℃下振荡3小时,然后用N-乙酰基半胱氨酸(7.3微摩尔,0.07mL,100mM)淬灭缀合。

[2308] 使用50kDa MWC0 vivaspin通过自旋过滤器将过量游离药物移除到含有PBS pH 7.4的缓冲液中。使用纯净缀合物通过UHPLC-RP监测游离药物移除的程度。在游离药物完全移除后,使用0.22 μ m, Mustang过滤器在无菌气氛下过滤ADC,并且接着储存于+4℃。

[2309] 通过Shimadzu Prominence系统,使用Phenomenex Aeris 3.6u XB-C18 150x 2.1mm柱(用水和乙腈的梯度进行洗脱)对缀合物的还原样品在214nm和330nm处(化合物48特异性)进行的UHPLC分析表明,未缀合轻链与未缀合重链和连接于单分子化合物48的重链的混合物与1.86分子化合物48/抗体的药物/抗体比率(DAR)一致。

[2310] 在Shimadzu Prominence系统上,使用Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 μ m 4.6x 150mm柱(具有4 μ m 3.0x 20mm保护柱),用含有200mM磷酸钾pH 6.95、250mM氯化钾和10%异丙醇(v/v)的0.3mL/分钟无菌过滤的SEC缓冲液洗脱,在280nm处对ConjI样品的UHPLC分析显示出大于99%的单体纯度。UHPLC SEC分析给出最终ConjI的浓度为在7.3mL中的1.7mg/mL,获得的ConjI质量是12.4mg(62%收率)。

[2311] 缀合物曲妥单抗-57(ConjJ)

[2312] 将二硫苏糖醇(DTT)在磷酸盐缓冲盐水pH 7.4(PBS)中的50mM溶液添加(80摩尔当量/抗体,21.4微摩尔,0.43mL,50mM)到抗体(40mg,0.267微摩尔)在含有PBS和1mM乙二胺四乙酸(EDTA)的还原缓冲液中的最终抗体浓度为2.0mg/mL的3.7mL溶液中。在温和(60rpm)振荡下,在轨道振荡器中,将还原混合物在+25℃下加热4小时(或直到通过UHPLC观察到完全还原)。冷却至室温之后,使用50KDa MWC0 vivaspin通过自旋过滤器将还原的抗体缓冲液交换到含有PBS pH 7.4和1mM EDTA的再氧化缓冲液中,以移除所有过量的还原剂。添加脱氢抗坏血酸(DHAA,20摩尔当量/抗体,5.3微摩尔,0.1mL,50mM)在DMSO中的50mM溶液并且使再氧化混合物在室温、温和(60rpm)振荡下在~2.0mg/mL的抗体浓度下反应16小时(或直到通过UHPLC观察到半胱氨酸巯基全部再氧化以重新形成链间半胱氨酸二硫化物)。将再氧化混合物在4000rpm下离心3min,然后使用0.22 μ m膜过滤器无菌过滤。将化合物57以DMSO溶液(11摩尔当量/抗体,1.46微摩尔,在1.7mL DMSO中)的形式添加到16.8mL的这一再氧化的抗体溶液(20mg,0.13微摩尔)中,实现10% (v/v) 最终DMSO浓度。将溶液在+25℃下振荡3小时,然后用N-乙酰基半胱氨酸(7.3微摩尔,0.07mL,100mM)淬灭缀合。

[2313] 使用50kDa MWC0 vivaspin通过自旋过滤器将过量游离药物移除到含有PBS pH 7.4的缓冲液中。使用纯净缀合物通过UHPLC-RP监测游离药物移除的程度。在游离药物完全移除后,使用0.22 μ m, Mustang过滤器在无菌气氛下过滤ADC,并且接着储存于+4℃。

[2314] 通过Shimadzu Prominence系统,使用Phenomenex Aeris 3.6u XB-C18 150x 2.1mm柱(用水和乙腈的梯度进行洗脱)对缀合物的还原样品在214nm和330nm处(化合物57特异性)进行的UHPLC分析表明,未缀合轻链与未缀合重链和连接于单分子化合物57的重链的混合物与1.87分子化合物57/抗体的药物/抗体比率(DAR)一致。

[2315] 在Shimadzu Prominence系统上,使用Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb

HTP 4 μ m 4.6x 150mm柱(具有4 μ m 3.0x 20mm保护柱),用含有200mM磷酸钾pH 6.95、250mM氯化钾和10%异丙醇(v/v)的0.3mL/分钟无菌过滤的SEC缓冲液洗脱,在280nm处对ConjJ样品的UHPLC分析显示出大于100%的单体纯度。UHPLC SEC分析给出最终ConjJ的浓度为在10.3mL中的0.86mg/mL,获得的ConjJ质量是8.9mg(45%收率)。

[2316] 实施例9

[2317] 化合物10的体外测试

[2318] 以每孔80 μ L的体积将DU145(2000/孔,72小时测定)和MDA-MB-361(5000/孔,144小时测定)细胞在培养基至组织培养处理的96孔板中涂板并且使其粘附过夜。对于弹头稀释液,首先通过将测试制品稀释于DMSO中来制备待测试的每种剂量的60X浓度。然后在单独的细胞培养基或含有5x β -葡糖醛酸糖苷酶(Sigma目录号G0799-25KU)的细胞培养基中将弹头的60X稀释液进一步稀释至5x浓度。将20 μ L含有测试制品+/-酶的细胞培养基添加到三份重复孔中的细胞中,并且最终剂量曲线在逐步1:4连续稀释系列中的范围为6.4nM至61pM。使用单独稀释至培养基的DMSO作为对照。将处理细胞在37 $^{\circ}$ C/5%CO₂下培养72至144小时(取决于每种特定细胞系的所建立的生长动力学)。在测定结束时,使用CellTiter-Glo[®](CTG) Luminescent Viability Assay(Promega)确定相对细胞毒性。向每个孔中添加100 μ L的CTG试剂,并且将板在室温下在温和振荡下温育10分钟,使用EnVision光度计(Perkin Elmer)在560nm下读取每个样品的吸光度。细胞活力百分比通过下式计算:

[2319] (处理样品的平均发光/对照样品的平均发光) x 100。

[2320] 使用GraphPad Prism软件利用逻辑非线性回归分析确定IC₅₀值。

[2321]	化合物10	没有葡糖醛酸糖苷酶	具有葡糖醛酸糖苷酶
	DU145-IC ₅₀	6.84 μ M	201nM
	MDA-MB-361-IC ₅₀	778nM	32nM

[2322] ConjA的体外测试

[2323] 利用MDA-MB-361(HER2高,5000个细胞/孔,144h测定)和MCF-7细胞(HER2低,1500个细胞/孔,144h测定)如上所述使用类似的方法。基于每种特定细胞系的建立的生长动力学确定细胞涂板密度和测定持续时间。通过将测试制品稀释于培养基中来制备5x浓度的每种剂量的待测ADC。将20 μ L的ADC添加到三份重复孔中的细胞中,其中最终剂量曲线在1:4连续稀释系列中的范围为3 μ g/mL至11pg/mL。如上所述将处理细胞在37 $^{\circ}$ C/5%CO₂下培养144小时并且使用CellTiter-Glo[®](CTG) Luminescent Viability Assay(Promega)确定相对细胞毒性。

[2324]	IC ₅₀	MDA-MB-361	MCF-7
	ConjA	14.5ng/mL	~3 μ g/mL

[2325] ConjB和ConjC在具有 β -葡糖醛酸糖苷酶的siRNA敲低(knock down)的细胞中的测试

[2326] 使过表达HER2的SKOV3细胞进行反向转染以敲低GUSB表达水平。首先,在OptiMEM培养基中制备RNAiMAX的4x原液(最终浓度0.125 μ L/孔,Life Technologies)和siRNA oligo的4x原液(非靶向/阴性siRNA、GAPDH siRNA和GUSB siRNA,最终浓度100nM/孔,Life Technologies)。仅含RNAiMAX/OptiMEM的混合物被包括在内作为脂质对照。通过以1比1的

比率混合使4x RNAiMAX溶液和4xsiRNA溶液达到2x,并将RNAiMAX/siRNA混合物在室温下温育20分钟。温育后,向组织培养处理的96孔板中每孔添加40μl的RNAiMAX/siRNA混合物和脂质对照并且将40μl的细胞溶液添加到脂质/siRNA混合物中,最终涂板密度为2000个细胞/孔。将板在37℃/5%CO₂下培养72小时,此时将20μl的5X浓度的每种剂量的ConjB/ConjC添加到两份重复孔中的细胞中,最终剂量曲线在1:4连续稀释系列中的范围为10μg/mL至0.15ng/mL。如上所述将ADC处理的细胞在37℃/5%CO₂下再培养72小时并且使用CellTiter-Glo® (CTG) Luminescent Viability Assay (Promega) 确定相对细胞毒性。通过RNA表达水平和β-葡糖醛酸糖苷酶活性的测量来确定siRNA敲低的效率。

[2327] 结果在图1 (ConjB) 和图2 (ConjC) 中示出,其中使用了以下符号:

[2328]

	未转染
	仅脂质
	Ne siRNA oligo2
	GUSB oligo3
	GAPDH oligo2
	Neg2 siRNA tox
	GUSB siRNA tox
	GAPDH siRNA tox

[2329]

IC ₅₀ (ng/mL)	未转染	Neg siRNA oligo2	仅脂质	GUSB oligo3	GAPDH oligo2
ConjB	12.66	18.19	13.1	26.05	27.84
ConjC	4.871	13.07	5.818	31.59	23.00

[2330] 同样值得注意的是,ConjC的最大杀伤率高得多。

[2331] 实施例10-体外测试

[2332] 从T75烧瓶中的亚汇合(80-90%汇合)细胞培养物中抽走培养基并且用PBS(约20ml)冲洗烧瓶并排空。添加胰蛋白酶-EDTA(5ml),将烧瓶放回到37℃充气培养箱,持续至多约5分钟,然后剧烈振打以将细胞从塑料上移去并解离。将细胞悬浮液转移到无菌的50ml螺旋盖离心管中,用生长培养基稀释至15ml的最终体积,然后离心(400g,5min)。抽走上清液并将丸粒重悬于10ml培养基中。可能需要重复吸吹以产生单分散性的细胞悬浮液。测量台盼蓝细胞染色细胞的细胞浓度和活力并使用LUNA-II™自动细胞计数器计数。将细胞稀释至2x10⁵/ml,分配(50μl/孔)到96孔平底板中并且在使用之前温育过夜。

[2333] 通过将过滤灭菌的ADC稀释到细胞培养基中来制备抗体药物缀合物(ADC)(20μg/ml)的储备溶液(1ml)。通过连续转移100μl至900μl的细胞培养基上,在24孔板中进行储备ADC的一组8x 10倍稀释。

[2334] 将ADC稀释液分配(50μl/孔)到96孔板的4个重复孔中,其含有前一天接种的50μl

细胞悬浮液。对照孔接收50μl细胞培养基。将含有细胞和ADC的96孔板在37℃下在CO₂充气的培养箱中温育,持续暴露时间。

[2335] 在温育期结束时,通过MTS测定来测量细胞生存力。将MTS (Promega) 分配 (20μl每孔) 到每个孔中并且在CO₂充气的培养箱中在37℃下温育4小时。测量在490nm处的孔吸光度。细胞存活百分比计算自在4个ADC处理孔中的平均吸光度,相比于在4个对照未处理孔中的平均吸光度(100%)。使用GraphPad Prism,使用非线性曲线拟合算法由剂量-反应数据确定IC₅₀;西格蒙德(sigmoidal),4PL X为log(浓度)。

[2336]	细胞系	描述	ADC 暴露	细胞生长培养基
	MDA MB 468	HER2 阴性, 乳腺癌	4 天	RPMI 1640, 具有 glutamax、10% (v/v) HyClone™胎牛血清
	NCIN87	胃癌	7 天	RPMI 1640, 具有 glutamax、10% (v/v) HyClone™胎牛血清

[2337]	ADC	IC ₅₀ (nM):	
		MDMA MB 468	NCI-N87
	ConjA	>100	0.263
	ConjB	>100	0.0222
	ConjC	68	0.0013
	ConjD	>100	0.185
	ConjE	>100	0.0023
	ConjF	81	0.0003

[2338]	ADC	EC ₅₀ (μg/ml)
	ConjA	0.0133
	ConjB	0.00141

[2339]	ConjC	0.00000187
	ConjD	0.00271
	ConjE	0.00000203
	ConjF	3 x 10 ⁻¹⁶
	ConjG	0.00369
	ConjH	0.000496
	ConjI	0.00844
	ConjJ	0.0829

[2340] 实施例11-异种移植测试

[2341] NCI-N87异种移植小鼠

[2342] 在研究的第1天,雌性严重联合免疫缺陷小鼠 (Fox Chase **SCID**®, C.B-17/Icr-

Prkdcscid, Charles River) 为十周龄, 具有16.5克至21.1克的体重 (BW) 范围。给动物不限量喂饲水 (反渗透, 1 ppm Cl), 以及由18.0%粗蛋白、5.0%粗脂肪以及5.0%粗纤维组成的 NIH31 Modified and Irradiated Lab Diet®。采用12小时光照循环, 在20-22°C (68-72°F) 和40-60%湿度下, 将小鼠饲养在静态微型隔离器中的经照射的Enricho' cobs™ Laboratory Animal Bedding上。CR Discovery Services特别按照实验室动物护理和使用指南 (Guide for Care and Use of Laboratory Animals) 中有关约束、饲养、手术步骤、饲料和流体规章以及兽医护理的建议进行。CR Discovery Services上的动物护理和使用程序为国际实验动物护理评估和认可管理委员会 (Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International) (AAALAC) 所认可, 这确保符合实验动物的护理和使用的公认标准。

[2343] 肿瘤细胞培养

[2344] 在补充有10%胎牛血清、2 mM谷氨酰胺、100单位/mL青霉素、100μg/mL硫酸链霉素以及25μg/mL庆大霉素的RPMI-1640培养基中培养人NCI-N87胃癌淋巴瘤细胞。使细胞在37°C下, 在5%CO₂和95%空气的气氛中在湿润培养箱中的组织培养烧瓶中生长。

[2345] 体内移植和肿瘤生长

[2346] 将用于移植的NCI-N87细胞在对数生长期期间收获并且重悬于含有50% Matrigel™ (BD Biosciences) 的磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 中。在肿瘤移植的当天, 将每只测试小鼠在右侧腹部皮下注射1 x 10⁷个细胞 (0.1 mL细胞悬浮液) 并且当平均尺寸接近100至150 mm³的目标范围时监测肿瘤生长。十四天后, 指定为研究的第1天, 根据所计算的肿瘤尺寸将小鼠分选到组中, 每组由具有在108至144 mm³的范围内的单独肿瘤体积的十只动物组成并且组平均肿瘤体积为115mm³。

[2347] 使用测径计在两个维度上测量肿瘤, 并且使用下式计算体积:

$$[2348] \quad \text{肿瘤体积}(\text{mm}^3) = \frac{w^2 \times l}{2}$$

[2349] 其中w=肿瘤的宽度并且l=肿瘤的长度, 单位为mm。假设1mg等于1mm³的肿瘤体积, 可估计肿瘤重量。

[2350] 治疗

[2351] 第1天, 在具有建立的皮下NCI-N87肿瘤 (108-144mm³) 的10只小鼠的组 (n=10) 中开始治疗。曲妥单抗-10 (ConjA) 在第1天静脉内施用一次 (qd x 1)。媒介物治疗组用作功效分析的对照组。每周两次测量肿瘤, 直到在第79天研究结束。将每只小鼠在其肿瘤达到800mm³的终点体积时或在最后一天 (以先到者为准) 实施安乐死。计算每只小鼠的终点时间 (TTE)。

[2352] 由肿瘤生长延迟百分比 (%TGD), 定义为治疗小鼠相对于对照小鼠的中值TTE的增加百分比, 确定治疗结果, 其中使用logrank存活分析将P≤0.05时的组间差异认为是统计学显著的。针对完全消退 (CR) 和部分消退 (PR) 反应对小鼠进行监测。

[2353] 通过体重测量和对治疗相关副作用的征象的频繁观察来评价治疗耐受性。通过体重测量和对治疗相关副作用的征象的频繁观察来评价治疗耐受性。所有方案是良好耐受的。媒介物治疗对照的中值TTE为50.7天, 从而对于79天的研究确立了28.3天 (56%) 的最大可能TGD。

[2354] 最小有效剂量定义为在测试制品施用后产生28天的肿瘤停滞所需的最小剂量。基于平均和中值肿瘤体积图的视觉检查和从第1天开始的肿瘤体积的百分比变化,1.0mg/kg的曲妥单抗-10 (ConjA) 似乎是实现与最小有效剂量一致的响应的剂量。

[2355] 0.3mg/kg组动物中的两只是研究结束幸存者,其中MTV为708mm³。1.0mg/kg组动物中的八只是研究结束幸存者,其中MTV为650mm³。结果在图3中示出。

[2356] JIMT-1异种移植小鼠

[2357] 小鼠

[2358] 在研究的第1天,雌性严重联合免疫缺陷小鼠 (Fox Chase **SCID®**, CB17/Icr-Prkdcscid/IcrIcoCrl, Charles River) 为十周龄,具有15.1g至22.2g的体重 (BW) 范围。

[2359] 肿瘤细胞培养

[2360] 使JIMT-1人乳腺癌细胞在含有10%胎牛血清、100单位/mL青霉素G钠、100μg/mL硫酸链霉素、25μg/mL庆大霉素以及2mM谷氨酰胺的DMEM中生长。在37℃下,在5%CO₂和95%空气的气氛中在湿润培养箱中的组织培养烧瓶中维持细胞培养物。

[2361] 体内移植和肿瘤生长

[2362] 将用于移植的JIMT-1细胞在指数生长期收获并且以5x10⁷个细胞/mL的浓度重悬于50%Matrigel (BD Biosciences) (50%磷酸盐缓冲盐水) 中。在肿瘤移植的当天,将每只测试小鼠在右侧腹部皮下注射1x10⁷个细胞 (0.2mL细胞悬浮液) 并且当平均尺寸接近100至150mm³的目标范围时监测肿瘤生长。使用测径计在两个维度上测量肿瘤,并且使用下式计算体积:

$$[2363] \quad \text{肿瘤体积(mm}^3\text{)} = \frac{w^2 \times l}{2}$$

[2364] 其中w=肿瘤的宽度并且l=肿瘤的长度,单位为mm。可假设1mg等于1mm³的肿瘤体积来估计肿瘤重量。

[2365] 治疗

[2366] 第1天,在具有建立的皮下JIMT-1肿瘤的10只小鼠的组 (n=10) 中开始治疗,所述肿瘤具有体积范围 (88-196mm³) 且组平均肿瘤体积为120mm³至122mm³。曲妥单抗-10 (ConjA) 在第1天静脉内施用一次 (qd x 1)。媒介物治疗组用作功效分析的对照组。每周两次测量肿瘤,直到在第59天研究结束。将每只小鼠在其肿瘤达到1000mm³的终点体积时或在最后一天 (以先到者为准) 实施安乐死。计算每只小鼠的终点时间 (TTE)。

[2367] 由肿瘤生长延迟百分比 (%TGD), 定义为治疗小鼠相对于对照小鼠的中值TTE的增加百分比,确定治疗结果,其中使用logrank存活分析将P≤0.05时的组间差异认为是统计学显著的。针对完全消退 (CR) 和部分消退 (PR) 反应对小鼠进行监测。

[2368] 通过体重测量和对治疗相关副作用的征象的频繁观察来评价治疗耐受性。所有方案是良好耐受的。媒介物治疗对照的中值TTE为48.4天,从而对于59天的研究确立了10.6天 (22%) 的最大可能TGD。与媒介物治疗的对照相比,所有所测试的ADC方案均产生显著的存活有益效果 (P<0.01)。

[2369] 最小有效剂量定义为在测试制品施用后产生28天的肿瘤停滞所需的最小剂量。基于平均和中值肿瘤体积图的视觉检查和从第1天开始的肿瘤体积的百分比变化,1.0mg/kg的曲妥单抗-10 (ConjA) 似乎是实现与最小有效剂量一致的响应的剂量。

[2370] 观察到剂量依赖效应,其中0.3mg/kg组的中值肿瘤体积在第34天缓慢增大,接着在之后进展,而1.0mg/kg组在第38天期间显示出静止的中值肿瘤体积,在之后进展。0.3mg/kg组的中值TTE为56.9天,对应于相对于对照的8.5天的显著TGD (18%) ($P<0.05$)。0.3mg/kg组没有客观的消退反应。0.3mg/kg组动物中的五只是研究结束幸存者,其中MTV为486mm³。

[2371] 1.0mg/kg组的中值TTE为最大59.0天,对应于相对于对照的10.6天的显著TGD (22%) ($P<0.001$)。1.0mg/kg组没有客观的消退反应。1.0mg/kg组动物中的九只是研究结束幸存者,其中MTV为446mm³。0.3mg/kg和1.0mg/kg组彼此显著不同 ($P<0.05$)。

[2372] 结果在图4中示出。

[2373] 实施例12-毒性研究/治疗指数

[2374] 大鼠研究:

[2375] 使用单剂量毒性研究来确定曲妥单抗-10 (ConjA) 的最大耐受剂量 (MTD) 和安全性特征。经由尾静脉通过静脉内缓慢浓注对雄性Sprague Dawley大鼠 (ENVIGO) 给药一次媒介物对照 (25mM组氨酸、200mM蔗糖, pH 6.0) 或测试材料 (ConjA)。在研究期间评估的参数包括死亡率、身体检查、笼侧观察、体重、体重变化、临床病理学 (临床化学、血液学以及凝固), 以及粗略病理学发现。在研究日 (SD) 29将组1-6中的所有动物杀死, 组6中在研究日 (SD) 25杀死的一只动物除外。

组	治疗	剂量 途径	剂量 (mg/kg)	频率	雄性大鼠
					主要研究
					否
1	对照	IV	0	单次	5
2	ConjA	IV	4	单次	5
3	ConjA	IV	6	单次	5
4	ConjA	IV	8	单次	5
5	ConjA	IV	12	单次	5
6	ConjA	IV	14	单次	5

[2377] 对照=25mM组氨酸-HCl、200mM蔗糖, pH 6.0

[2378] 耐受性基于毒性终点确定, 包括减少的绝对网织红细胞、白血细胞和细胞组分, 以及肺部的大体和镜下病变。 ≥ 4 mg/kg的剂量水平下的主要发现是肺部病变的组织病理学观察。在4mg/kg剂量下, 发现是轻微的并且被认为是可逆的。随着剂量的增加, 肺部病变的严重程度逐渐增大并且不认为是可逆的。基于该发现, 在单剂量的ConjA之后大鼠的最大耐受剂量 (MTD) 被确定为6mg/kg。

[2379] 治疗指数

[2380] 可通过非靶向ADC在大鼠中的最大耐受单剂量 (MTD) 除以靶向ADC的最小有效单剂量 (MED) 计算治疗指数。MED是在28天 (对于NCI-N87异种移植) 在体内模型中实现肿瘤停滞所需的单剂量。

[2381] 因此, 对于化合物10的缀合物, 治疗指数为6mg/kg的MTD除以为1.0mg/kg的MED (参

见上文),从而得到6的治疗指数。

[2382] 上文提及的所有文献和其他参考文献均以引用方式结合于本文。

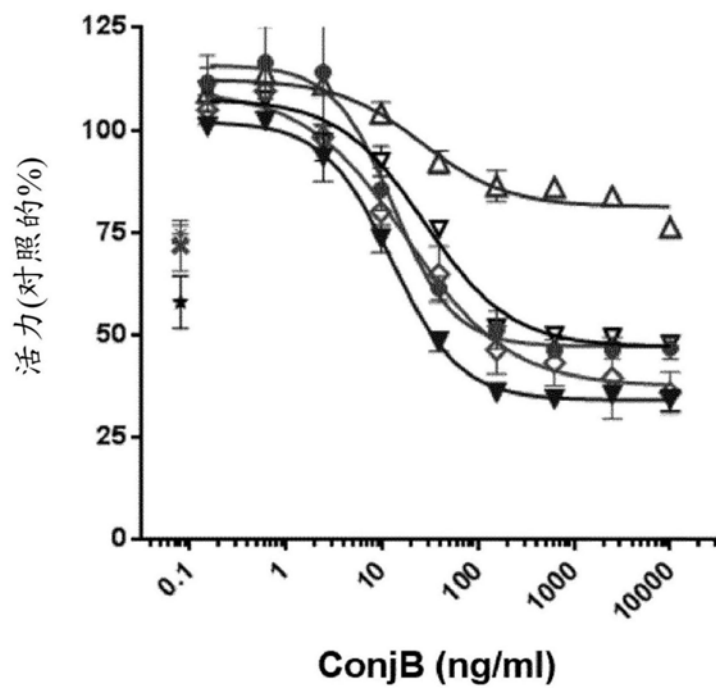


图1

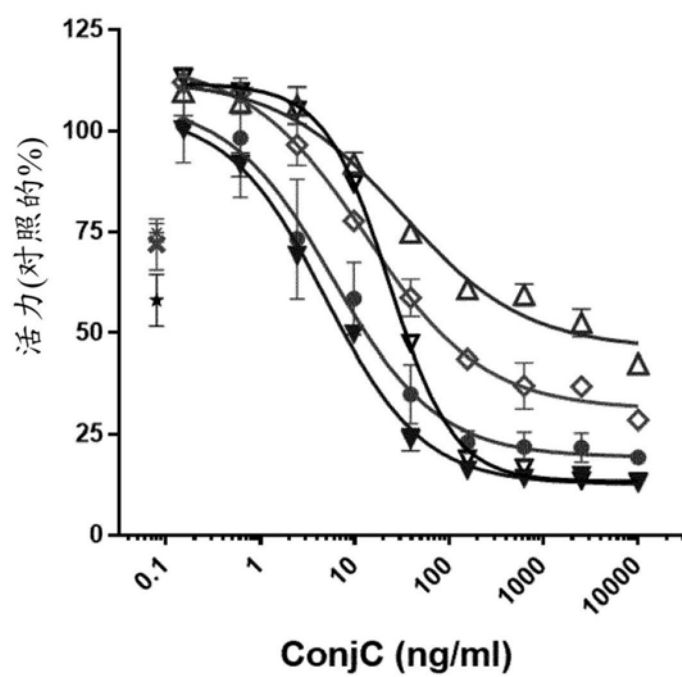


图2

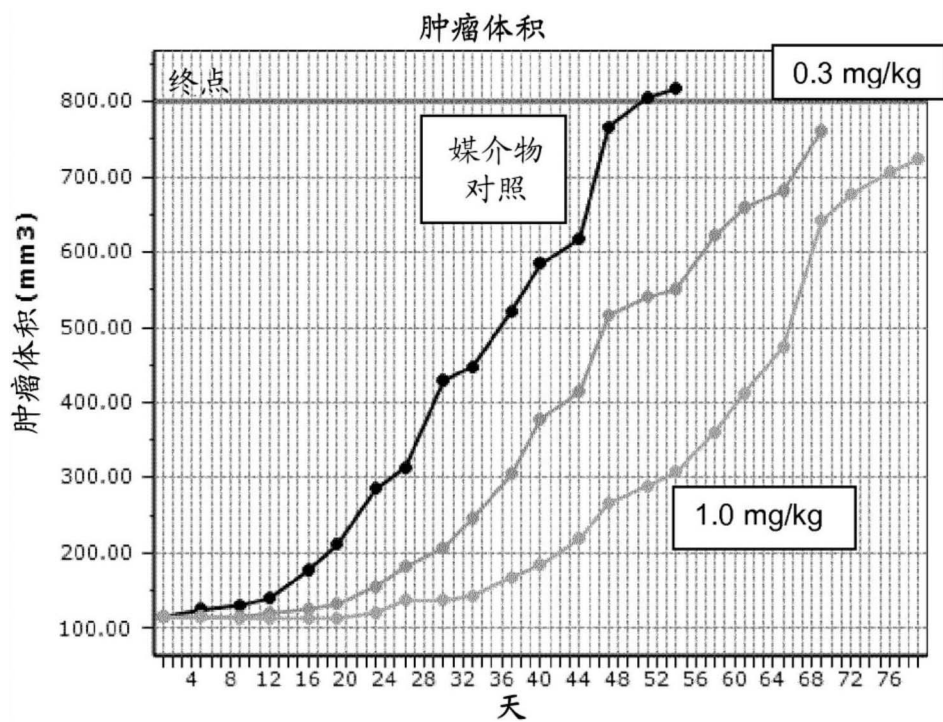


图3

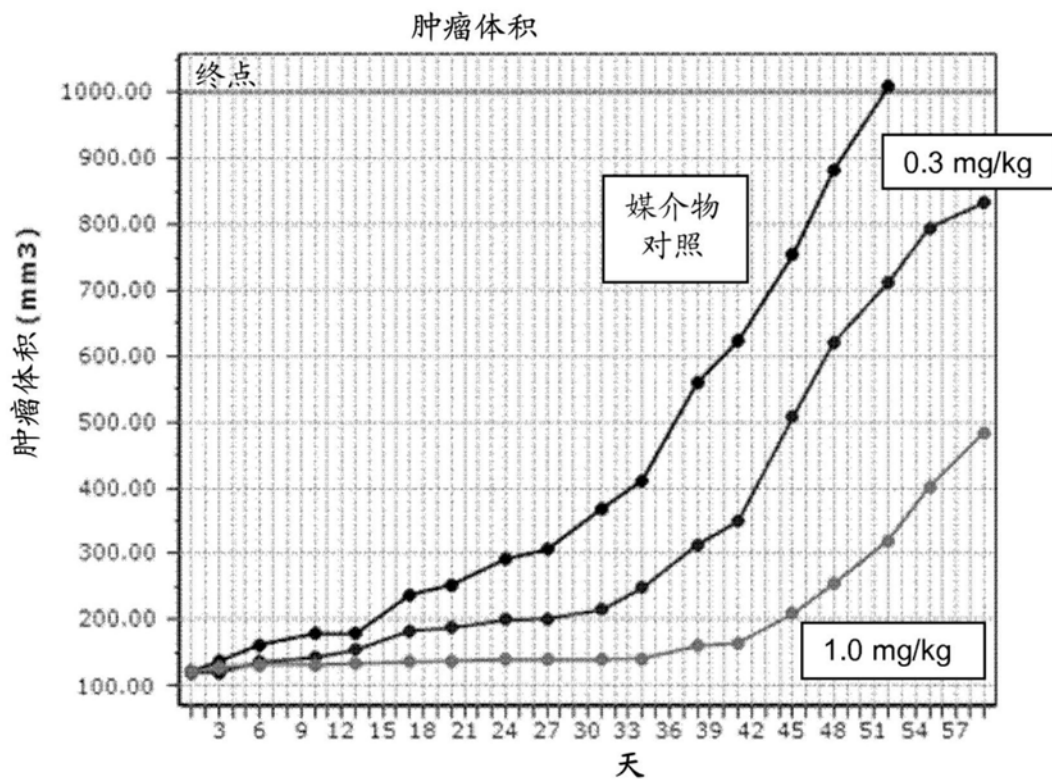


图4