



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105209077 B

(45)授权公告日 2019.06.11

(21)申请号 201480026705.9

(22)申请日 2014.03.13

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 105209077 A

(43)申请公布日 2015.12.30

(30)优先权数据
61/778,752 2013.03.13 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2015.11.10

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2014/054958 2014.03.13

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2014/140174 EN 2014.09.18

(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

(74)专利代理机构 北京康信知识产权代理有限公司 11240

代理人 沈敬亭 李海霞

(51)Int.Cl.
A61K 47/68(2017.01)
C07K 16/32(2006.01)
A61K 31/5517(2006.01)
A61K 47/64(2017.01)
C07D 487/04(2006.01)
A61K 47/62(2017.01)
A61P 35/00(2006.01)

(56)对比文件
CN 102933236 A, 2013.02.13,
WO 2011130616 A1, 2011.10.20,
WO 2011130613 A1, 2011.10.20,
审查员 李双双

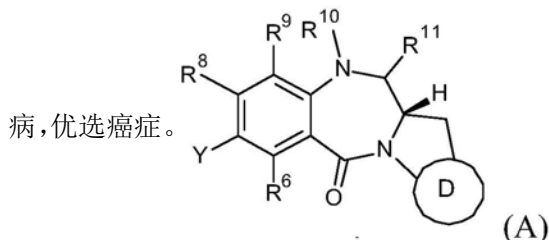
权利要求书10页 说明书143页

(54)发明名称

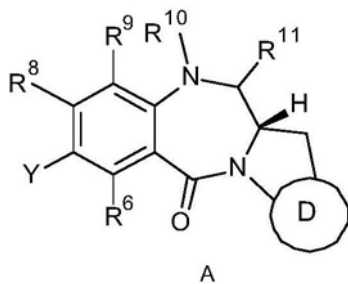
吡咯并苯并二氮杂卓及其结合物

(57)摘要

一种式(A)的结合物:如在权利要求1中所描述的。上述结合物包含吡咯并苯并二氮杂卓(PBD)化合物,其具有用于连接于细胞结合剂的接头,其中接头以可切割方式连接于PBD的C7位置。细胞结合剂优选是抗体。本发明还提供了具有连接的连接单元的PBD化合物以及用于它们的合成的中间体。结合物用于治疗主体的增生性疾病,优选癌症。

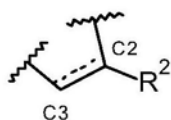


1. 一种式 (A) 的结合物:



以及其盐和溶剂化物, 其中:

D表示基团D1:



D1

虚线表示在C2和C3之间双键的可选存在;

当在C2和C3之间存在双键时, R²选自由以下组成的组:

(ia) C₅₋₁₀芳基, 被一个或多个取代基可取代, 其中所述取代基选自包括以下的组: 卤基、硝基、氰基、醚、羧基、酯、C₁₋₇烷基、C₃₋₇杂环基和二-氧基-C₁₋₃亚烷基;

(ib) C₁₋₅饱和脂族烷基;

(ic) C₃₋₆饱和环烷基;

(id) 其中R³¹、R³²和R³³中的每个独立地选自H、C₁₋₃饱和烷基、C₂₋₃烯基、C₂₋₃炔基和环丙基, 其中在所述R²基团中的碳原子的总数不超过5;

(ie) 其中R^{35a}和R^{35b}之一是H而另一个选自: 苯基, 所述苯基被一基团可取代, 所述基团选自卤基、甲基、甲氧基; 吡啶基; 和苯硫基; 以及

(if) 其中R³⁴选自: H; C₁₋₃饱和烷基; C₂₋₃烯基; C₂₋₃炔基; 环丙基; 苯基, 所述苯基被一基团可取代, 所述基团选自卤基、甲基、甲氧基; 吡啶基; 以及苯硫基;

(ig) 卤基;

当在C2和C3之间存在单键时,

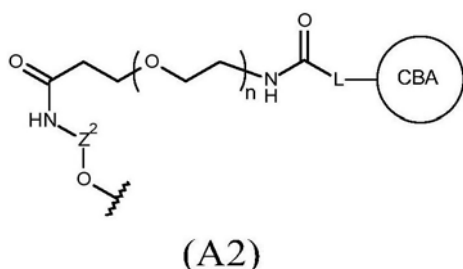
R²是 其中R^{36a}和R^{36b}独立地选自H、F、C₁₋₄饱和烷基、C₂₋₃烯基, 所述烷基和烯基被一基团可取代, 所述基团选自C₁₋₄烷基酰氨基和C₁₋₄烷基酯, 或者, 当R^{36a}和R^{36b}之一是

H时,另一个选自腈和C₁₋₄烷基酯;

R⁶和R⁹是H;

R¹⁰和R¹¹在它们所键合的氮和碳原子之间形成氮-碳双键;

Y是A2:



Z²是C₁₋₃亚烷基;

L是连接于细胞结合剂的接头;

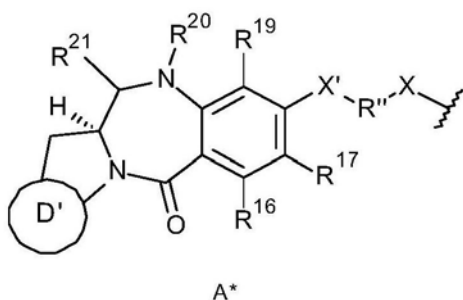
CBA是所述细胞结合剂;

n是0至48的整数;

R⁸:

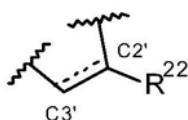
(a) 是OR^{8A},其中R^{8A}是C₁₋₄烷基;或

(b) 具有式A*:



其中:

D' 表示基团D' 1:



其中虚线表示在C2' 和C3' 之间双键的可选存在;

R¹⁷是OR^{17A},其中R^{17A}是C₁₋₄烷基;

R''是C₃₋₁₂亚烷基,其链可选地由一个或多个杂原子所中断,所述杂原子选自O、S、N(H)、NMe和/或芳环,所述芳环选自苯或吡啶,所述环是可取代的;以及

X和X' 独立地选自O、S和N(H);以及

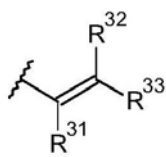
R²²、R¹⁶、R¹⁹、R²⁰和R²¹是分别针对R²、R⁶、R⁹、R¹⁰和R¹¹所定义的。

2. 根据权利要求1所述的结合物,其中,在C2和C3之间存在双键,以及R²是C₅₋₇芳基。

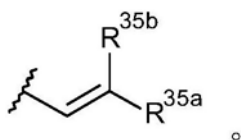
3. 根据权利要求2所述的结合物,其中,R²是苯基。

4. 根据权利要求1所述的结合物,其中,在C2和C3之间存在双键,以及R²是C₈₋₁₀芳基。

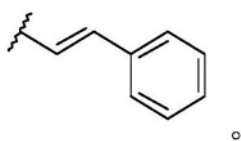
5. 根据权利要求3至4中任一项所述的结合物,其中, R^2 具有1至3个取代基。
6. 根据权利要求5所述的结合物,其中,所述取代基选自甲氧基、乙氧基、氟基、氯基、氰基、二-氧基-亚甲基、甲基-哌嗪基、吗啉代和甲基-苯硫基。
7. 根据权利要求1所述的结合物,其中,在C2和C3之间存在双键,以及 R^2 是 C_{1-5} 饱和脂族烷基。
8. 根据权利要求7所述的结合物,其中, R^2 是甲基、乙基或丙基。
9. 根据权利要求1所述的结合物,其中,在C2和C3之间存在双键,以及 R^2 是 C_{3-6} 饱和环烷基。
10. 根据权利要求9所述的结合物,其中, R^2 是环丙基。
11. 根据权利要求1所述的结合物,其中,在C2和C3之间存在双键,以及 R^2 是以下化学式的基团:



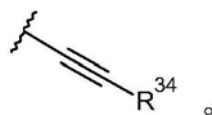
12. 根据权利要求11所述的结合物,其中,在所述 R^2 基团中碳原子的总数不超过4。
13. 根据权利要求12所述的结合物,其中,在所述 R^2 基团中碳原子的总数不超过3。
14. 根据权利要求11所述的结合物,其中, R^{31} 、 R^{32} 和 R^{33} 之一是H,而其它两个基团则选自H、 C_{1-3} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基、 C_{2-3} 炔基和环丙基。
15. 根据权利要求11所述的结合物,其中, R^{31} 、 R^{32} 和 R^{33} 中的两个是H,而另一个基团则选自H、 C_{1-3} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基、 C_{2-3} 炔基和环丙基。
16. 根据权利要求1所述的结合物,其中,在C2和C3之间存在双键,以及 R^2 是下式的基团:



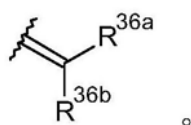
17. 根据权利要求16所述的结合物,其中, R^2 是以下基团:



18. 根据权利要求1所述的结合物,其中,在C2和C3之间存在双键,以及 R^2 是下式的基团:



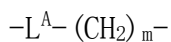
19. 根据权利要求18所述的结合物,其中, R^{34} 选自H、甲基、乙基、乙烯基和乙炔基。
20. 根据权利要求19所述的结合物,其中, R^{34} 选自H和甲基。
21. 根据权利要求1所述的结合物,其中,在C2和C3之间存在双键,以及 R^2 是



22. 根据权利要求21所述的结合物,其中, R^{36a} 和 R^{36b} 均是H。

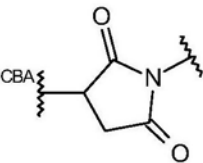
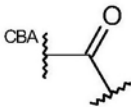
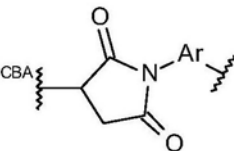
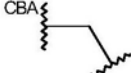
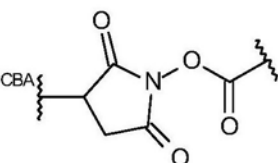
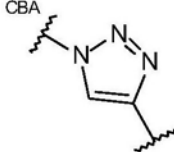
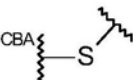
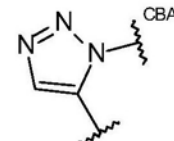
23. 根据权利要求21所述的结合物,其中, R^{36a} 和 R^{36b} 均是甲基。
24. 根据权利要求21所述的结合物,其中, R^{36a} 和 R^{36b} 之一是H,以及另一个选自 C_{1-4} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基,其中所述烷基和烯基是可取代的。
25. 根据权利要求21所述的结合物,其中,不是H的 R^{36a} 和 R^{36b} 基团选自甲基和乙基。
26. 根据权利要求1所述的结合物,其中, R^{8A} 是Me。
27. 根据权利要求1所述的结合物,其中, R^8 具有式A*。
28. 根据权利要求27所述的结合物,其中,X和X' 是O。
29. 根据权利要求27所述的结合物,其中, R'' 是 C_{3-7} 亚烷基。
30. 根据权利要求29所述的结合物,其中, R'' 是 C_3 亚烷基或 C_5 亚烷基。
31. 根据权利要求27所述的结合物,其中, R^{17A} 是Me。
32. 根据权利要求1所述的结合物,其中,所述基团L包含源自亲电子官能团的部分,所述亲电子官能团选自(i) 马来酰亚胺基团;(ii) 活化二硫化物;(iii) 活性酯,选自NHS (N-羟基琥珀酰亚胺) 酯、HOBt (N-羟基苯并三唑) 酯、卤代甲酸酯、和酰基卤;(iv) 烷基和苄基卤化物,选自卤代乙酰胺;以及(v) 醛、酮、羧基。

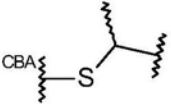
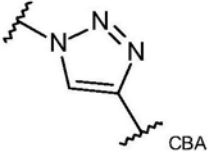
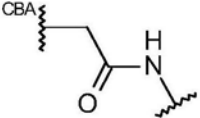
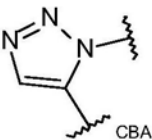
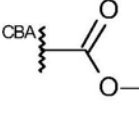
33. 根据权利要求1所述的结合物,其中,L具有式:



其中m是0至6;以及

L^A 选自:

(L^{A1-1})		(L^{A6})	
(L^{A1-2})		(L^{A7})	
(L^{A2})		(L^{A8-1})	
(L^{A3-1})		(L^{A8-2})	

(L ^{A3-2})		(L ^{A9-1})	
(L ^{A4})		(L ^{A9-2})	
(L ^{A5})			

其中Ar表示C₅₋₆亚芳基。

34. 根据权利要求33所述的结合物, 其中, L^A是L^{A1-1}。

35. 根据权利要求33所述的结合物, 其中, m是2、3或5。

36. 根据权利要求1所述的结合物, 其中, n是0至16的整数。

37. 根据权利要求1所述的结合物, 其中, n是0至8的整数。

38. 根据权利要求1所述的结合物, 其中, n是3或4。

39. 根据权利要求1所述的结合物, 其中, 所述细胞结合剂是抗体或其活性片段。

40. 根据权利要求39所述的结合物, 其中, 所述抗体或抗体片段是针对肿瘤相关抗原的抗体或抗体片段。

41. 根据权利要求40所述的结合物, 其中, 所述抗体或抗体片段是这样的抗体, 所述抗体结合于一种或多种肿瘤相关抗原或细胞表面受体, 所述肿瘤相关抗原或细胞表面受体选自(1)–(88):

- (1) BMPR1B;
- (2) E16;
- (3) STEAP1;
- (4) 0772P;
- (5) MPF;
- (6) Napi3b;
- (7) Sema 5b;
- (8) PSCA 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) 短小蛋白聚糖;
- (22) EphB2R;
- (23) ASLG659;
- (24) PSCA;
- (25) GEDA;
- (26) BAFF-R;
- (27) CD22;
- (28) CD79a;
- (29) CXCR5;
- (30) HLA-DOB;
- (31) P2X5;
- (32) CD72;
- (33) LY64;
- (34) FcRH1;
- (35) IRTA2;
- (36) TENB2;
- (37) PSMA-FOLH1;
- (38) SST;
- (38.1) SSTR2;
- (38.2) SSTR5;
- (38.3) SSTR1;
- (38.4) SSTR3;
- (38.5) SSTR4;
- (39) ITGAV;
- (40) ITGB6;
- (41) CEACAM5;
- (42) MET;
- (43) MUC1;
- (44) CA9;
- (45) EGFRvIII;
- (46) CD33;
- (47) CD19;

- (48) IL2RA;
- (49) AXL;
- (50) CD30-TNFRSF8;
- (51) BCMA-TNFRSF17;
- (52) CT Ags-CTA;
- (53) CD174 (Lewis Y) -FUT3;
- (54) CLEC14A;
- (55) GRP78-HSPA5;
- (56) CD70;
- (57) 干细胞特异性抗原;
- (58) ASG-5;
- (59) ENPP3;
- (60) PRR4;
- (61) GCC-GUCY2C;
- (62) Liv-1-SLC39A6;
- (63) 5T4;
- (64) CD56-NCMA1;
- (65) CanAg;
- (66) FOLR1;
- (67) GPNMB;
- (68) TIM-1-HAVCR1;
- (69) RG-1/前列腺肿瘤靶Mindin-Mindin/RG-1;
- (70) B7-H4-VTCN1;
- (71) PTK7;
- (72) CD37;
- (73) CD138-SDC1;
- (74) CD74;
- (75) Claudins-CLs;
- (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。

42. 根据权利要求39所述的结合物, 其中, 所述抗体或抗体片段是半胱氨酸工程抗体。

43. 根据权利要求39所述的结合物, 其中, 药物 (D) 对抗体 (Ab) 的药物负载 (p) 是1至8的整数。

44. 根据权利要求43所述的结合物, 其中, p是1、2、3、或4。

45. 根据权利要求44所述的结合物, 包含抗体-药物结合物化合物的混合物, 其中在抗体-药物结合物化合物的混合物中的平均药物负载/抗体是2至5。

46. 根据权利要求1所述的结合物, 用于在治疗中使用。

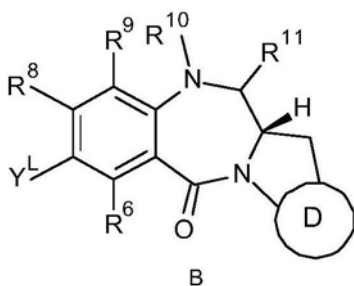
47. 一种药物组合物, 包含权利要求1所述的结合物、药用赋形剂。

48. 根据权利要求1所述的结合物或根据权利要求47所述的药物组合物, 用于在治疗主体的增生性疾病中使用。

49. 根据权利要求48所述的结合物, 其中, 所述疾病是癌症。

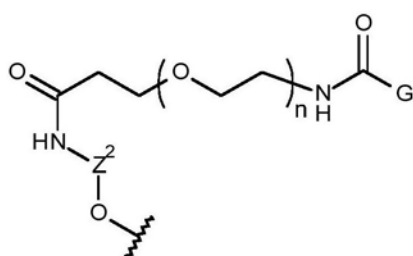
50. 权利要求1所述的结合物的应用, 用于制备用于治疗增生性疾病的药剂的方法中。

51. 一种式 (B) 的化合物:



其中:

Y^L 是 B2:



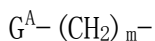
(B2)

G 是用于连接于细胞结合剂的接头; 以及

D、 R^6 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 、 Z^2 和 n 是在权利要求1中所定义的。

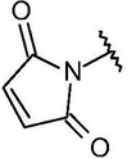
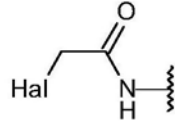
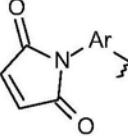
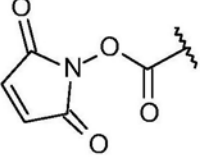
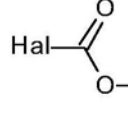
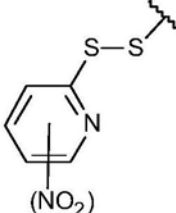
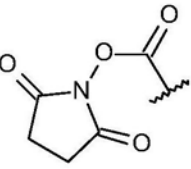
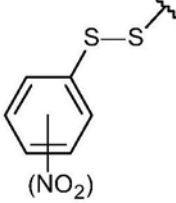

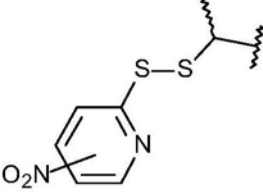

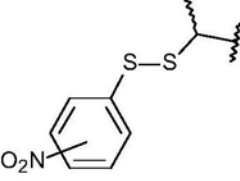

52. 根据权利要求51所述的化合物, 其中, 所述基团 G 包含亲电子基团, 所述亲电子基团选自 (i) 马来酰亚胺基团; (ii) 活化二硫化物; (iii) 活性酯, 选自 NHS (N-羟基琥珀酰亚胺) 酯、HOBt (N-羟基苯并三唑) 酯、卤代甲酸酯、和酰基卤; (iv) 烷基和苄基卤化物, 选自卤代乙酰胺; 以及 (v) 醛、酮、羧基。

53. 根据权利要求51所述的化合物, 其中, G 具有下式:



其中 m 是 0 至 6; 以及

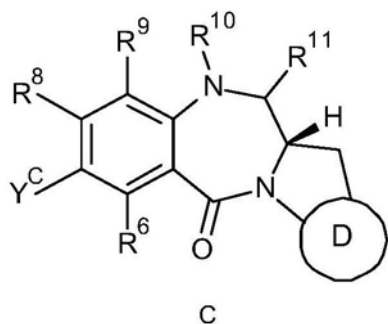
G^A选自：

(G ^{A1-1})		(G ^{A4})	 其中 Hal=I、Br、Cl
(G ^{A1-2})			
(G ^{A2})		(G ^{A5})	
(G ^{A3-1})	 其中 NO ₂ 基团是可选的	(G ^{A6})	
(G ^{A3-2})	 其中 NO ₂ 基团是可选的	(G ^{A7})	
(G ^{A3-3})	 其中 NO ₂ 基团是可选的	(G ^{A8})	
(G ^{A3-4})	 其中 NO ₂ 基团是可选的	(G ^{A9})	

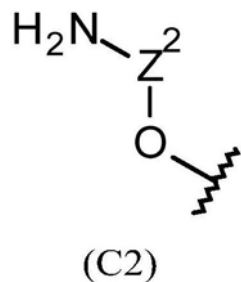
其中Ar表示C₅₋₆亚芳基。

54. 根据权利要求53所述的化合物, 其中, G^A是G^{A1-1}。

55. 一种式 (C) 的化合物:



其中Y^C是C2:



以及

D、R⁶、R⁸、R⁹、R¹⁰、R¹¹和Z²是在权利要求1中所定义的。

56. 一种合成根据权利要求1所述的结合物的方法,包括将根据权利要求51所述的化合物与细胞结合剂结合的步骤。

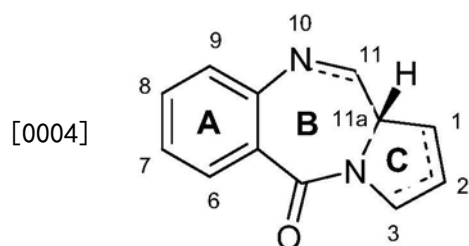
吡咯并苯并二氮杂卓及其结合物

[0001] 本发明涉及吡咯并苯并二氮杂卓(吡咯并苯并二氮杂卓,PBD),尤其是这样的吡咯并苯并二氮杂卓,其具有连接于细胞结合剂的接头基团。

背景技术

[0002] 吡咯并苯并二氮杂卓

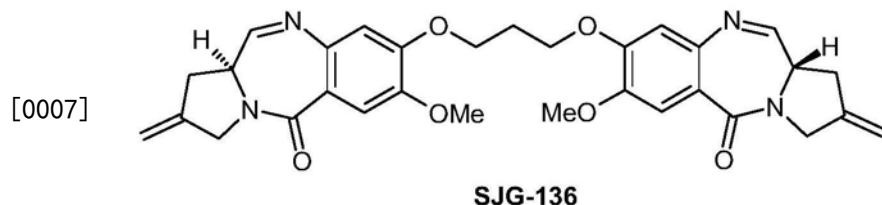
[0003] 一些吡咯并苯并二氮杂卓(PBD)具有识别和键合于DNA的特定序列的能力;优选的序列是PuGpu。第一PBD抗肿瘤抗生素,安曲霉素(antramycin),发现于1965年(Leimgruber, et al., J. Am. Chem. Soc., 87, 5793-5795 (1965); Leimgruber, et al., J. Am. Chem. Soc., 87, 5791-5793 (1965))。自那以后,已报道许多天然存在的PBD,以及已开发用于各种类似物的超过10种的合成路线(Thurston, et al., Chem. Rev. 1994, 433-465 (1994); Antonow, D. and Thurston, D. E., Chem. Rev. 2011 111 (4), 2815-2864)。家族成员包括修道院霉素(abbeymycin) (Hochlowski, et al., J. Antibiotics, 40, 145-148 (1987))、契卡霉素(chicamycin) (Konishi, et al., J. Antibiotics, 37, 200-206 (1984))、DC-81 (日本专利58-180 487; Thurston, et al., Chem. Brit., 26, 767-772 (1990); Bose, et al., Tetrahedron, 48, 751-758 (1992))、甲基氨基霉素(Kuminoto, et al., J. Antibiotics, 33, 665-667 (1980))、新茵霉素A和B (Takeuchi, et al., J. Antibiotics, 29, 93-96 (1976))、porothramycin (Tsunakawa, et al., J. Antibiotics, 41, 1366-1373 (1988))、prothracarcin (Shimizu, et al., J. Antibiotics, 29, 2492-2503 (1982); Langley and Thurston, J. Org. Chem., 52, 91-97 (1987))、西班牙米星(DC-102) (Hara, et al., J. Antibiotics, 41, 702-704 (1988); Itoh, et al., J. Antibiotics, 41, 1281-1284 (1988))、矛霉素(sibiromycin) (Leber, et al., J. Am. Chem. Soc., 110, 2992-2993 (1988))和托马霉素(tomamycin) (Arima, et al., J. Antibiotics, 25, 437-444 (1972))。PBD具有以下一般结构(通式结构):



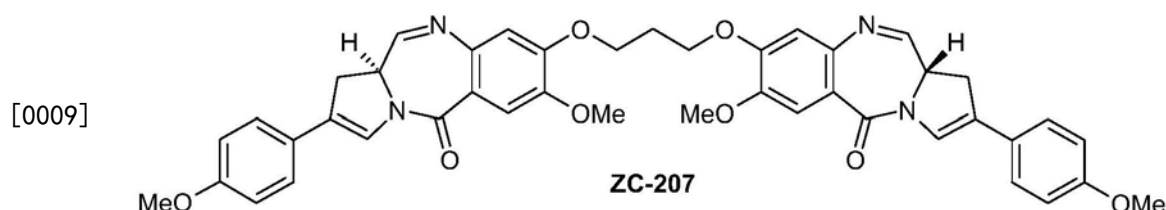
[0005] 它们的不同之处在于在它们的芳族A环和吡咯并C环中取代基的数量、类型和位置,以及在于C环的饱和度。在B环中,在N10-C11位置,其是负责烷基化DNA的亲电子中心,存在亚胺(N=C)、甲醇胺(NH-CH(OH))、或甲醇胺甲基醚(NH-CH(OMe))。所有已知的天然产物在手性C11a位置处具有(S)-构型,当从C环向着A环观看时,其为它们提供右手扭转。这给予它们适当的三维形状,用于与B型DNA的小沟的相似的螺旋性(同螺旋性),从而导致在结合位点处的滑动配合(snug fit) (Kohn, In Antibiotics III. Springer-Verlag, New York, pp. 3-11 (1975); Hurley and Needham-VanDevanter, Acc. Chem. Res., 19, 230-237

(1986))。它们在小沟(minor groove)中形成加合物的能力使得它们能够干扰DNA加工,因而使得它们可以用作抗肿瘤剂。

[0006] 描述了特别有利的吡咯并苯并二氮杂萘化合物:Gregson et al. (Chem. Commun. 1999, 797-798), 作为化合物1;以及Gregson et al. (J. Med. Chem. 2001, 44, 1161-1174), 作为化合物4a。此化合物,还被称为SJG-136,被示于以下:



[0008] 在WO 2005/085251中已披露了其它二聚体PBD化合物,如那些具有C2芳基取代基的二聚体PBD化合物,一个实例是:



[0010] 这些化合物已被表明是非常有用的细胞毒性剂。

[0011] 抗体-药物结合物(conjugate)

[0012] 抗体疗法已建立用于靶向治疗患有癌症、免疫疾病和和血管生成疾病的患者(Carter, P. (2006) Nature Reviews Immunology 6:343-357)。使用抗体-药物结合物(ADC),即免疫结合物,来局部递送细胞毒性剂或细胞抑制剂,即用以在癌症的治疗中杀死或抑制肿瘤细胞的药物,靶向药物部分到肿瘤的递送,以及其中的细胞内积累,而这些非结合(nonconjugated)药剂的全身给予可以导致不可接受水平的对正常细胞以及试图消除的肿瘤细胞的毒性(Xie et al (2006) Expert Opin. Biol. Ther. 6 (3):281-291; Kovtun et al (2006) Cancer Res. 66 (6):3214-3121; Law et al (2006) Cancer Res. 66 (4):2328-2337; Wu et al (2005) Nature Biotech. 23 (9):1137-1145; Lambert J. (2005) Current Opin. in Pharmacol. 5:543-549; Hamann P. (2005) Expert Opin. Ther. Patents 15 (9):1087-1103; Payne, G. (2003) Cancer Cell 3:207-212; Trail et al (2003) Cancer Immunol. Immunother. 52:328-337; Syrigos and Epenetos (1999) Anticancer Research 19:605-614)。

[0013] 因而寻求具有最小毒性的最大疗效。设计和完善ADC的努力已集中于单克隆抗体(mAb)的选择性、药物作用机制、药物连接、药物/抗体比率(负载)、和药物释放性能(Junutula, et al., 2008b Nature Biotech., 26 (8):925-932; Dornan et al (2009) Blood 114 (13):2721-2729; US 7521541; US 7723485; WO2009/052249; McDonagh (2006) Protein Eng. Design & Sel. 19 (7):299-307; Doronina et al (2006) Bioconj. Chem. 17:114-124; Erickson et al (2006) Cancer Res. 66 (8):1-8; Sanderson et al (2005) Clin. Cancer Res. 11:843-852; Jeffrey et al (2005) J. Med. Chem. 48:1344-1358; Hamblett et al (2004) Clin. Cancer Res. 10:7063-7070)。通过机制,包括微管蛋白结合、DNA结合、或拓扑

异构酶抑制,药物部分可以赋予它们的细胞毒性和细胞抑制效应。当结合于较大抗体或蛋白质受体配体时,一些细胞毒性药物倾向于是无活性或低活性的。

[0014] 在ADC中的PBD

[0015] 二聚体PBD已被披露为在药物结合物中作为药物。例如,在W0 2011/130598中,披露了这样的二聚体PBD化合物,其具有用于连接于细胞结合剂如抗体的连接基团,其中连接基团被连接于可用的N10位置之一,并通常通过酶对连接基团的作用被切割。

[0016] 相比之下,在W0 2011/130613和W0 2011/130616中披露了这样的二聚体PBD化合物,其具有用于连接于细胞结合剂如抗体的连接基团,其中通过在C2位置之一的芳族基团来连接连接基团,并且通常通过在连接基团上的酶的作用被切割。这样的抗体药物结合物还描述于Flyagre, J., et al, Chem. Biol. Drug Des. 81:113-121 (2013), 其还描述了其它类型的抗体药物结合物。

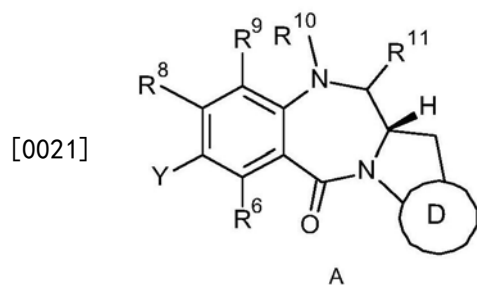
[0017] 进一步的方式被描述于W0 2007/085930,其中托马霉素样二聚体具有用于连接于细胞结合剂如抗体的接头基团,其中连接基团连接于在托马霉素单元之间的系链,并且通常通过在连接基团上的酶的作用被切割。

[0018] 本发明人已开发了新方法,用来与细胞结合剂形成PBD结合物,以及尤其是PBD抗体结合物。

发明内容

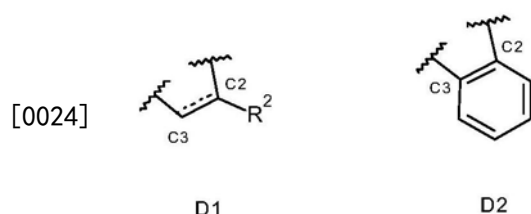
[0019] 在一般的方面(在总的方面),本发明提供了结合物,该结合物包含PBD化合物,其具有用于连接于细胞结合剂的接头,其中以不可切割方式将接头连接于一个PBD单元的C7位置。细胞结合剂优选是抗体。本发明还提供了具有连接的(附接的, attached)连接单元的PBD化合物,以及用于它们的合成的中间体。

[0020] 在第一方面,本发明提供了化学式A的结合物:



[0022] 以及其盐和溶剂化物,其中:

[0023] D表示基团D1或D2:



[0025] 虚线表示在C2和C3之间双键的可选存在;

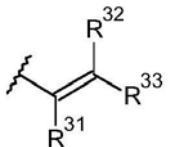
[0026] 当在C2和C3之间存在双键时, R²选自由下述项组成的组:

[0027] (ia) C₅₋₁₀芳基,其被一个或多个取代基可选取代,上述取代基选自由卤基、硝基、

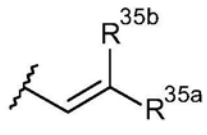
氰基、醚、羧基、酯、C₁₋₇烷基、C₃₋₇杂环基和二-氧基-C₁₋₃亚烷基(bis-oxy-C₁₋₃alkylene)组成的组;

[0028] (ib) C₁₋₅饱和脂族烷基;

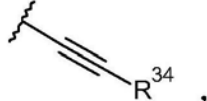
[0029] (ic) C₃₋₆饱和环烷基;

[0030] (id)  , 其中每个R³¹、R³²和R³³ (R³¹、R³²和R³³中的每一个) 独立地选自H、

C₁₋₃饱和烷基、C₂₋₃烯基(C₂₋₃链烯基, C₂₋₃alkenyl)、C₂₋₃炔基和环丙基, 其中在R²基团中碳原子的总数是不超过5;

[0031] (ie)  , 其中R^{35a}和R^{35b}之一是H以及另一个选自: 苯基, 该苯基是被

一基团可选取代的, 上述基团选自卤基、甲基、甲氧基; 吡啶基; 和苯硫基; 以及

[0032] (if)  , 其中R³⁴选自: H; C₁₋₃饱和烷基; C₂₋₃烯基; C₂₋₃炔基; 环丙基; 苯

基, 该苯基是被一基团可选取代的, 上述基团选自卤基、甲基、甲氧基; 吡啶基; 和苯硫基;

[0033] (ig) 卤基;

[0034] 当在C2和C3之间存在单键时,

[0035] R²是  , 其中R^{36a}和R^{36b}独立地选自H、F、C₁₋₄饱和烷基、C₂₋₃烯基, 上述烷

基和烯基是被一基团可选取代的, 其中上述基团选自C₁₋₄烷基酰氨基和C₁₋₄烷基酯; 或, 当R^{16a}和R^{16b}之一是H时, 另一个选自腈和C₁₋₄烷基酯;

[0036] R⁶和R⁹独立地选自H、R、OH、OR、SH、SR、NH₂、NHR、NRR'、NO₂、SnMe₃和卤基;

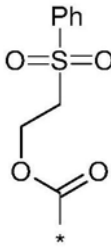
[0037] 或者

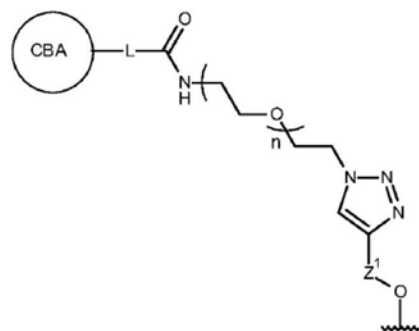
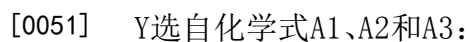
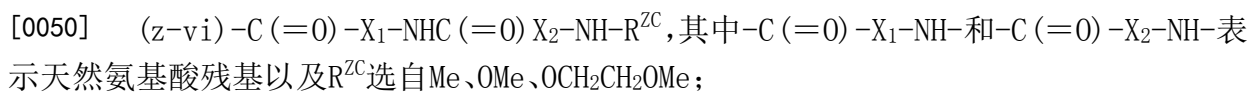
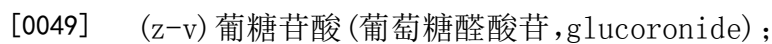
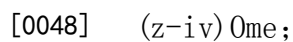
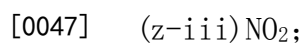
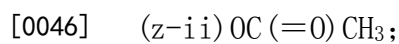
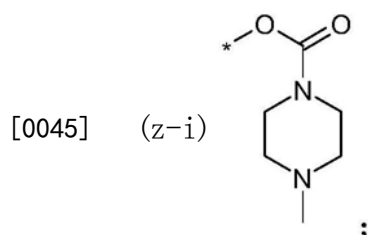
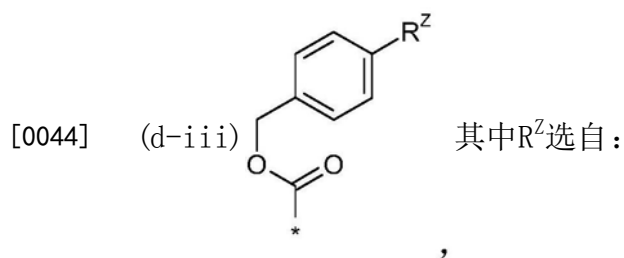
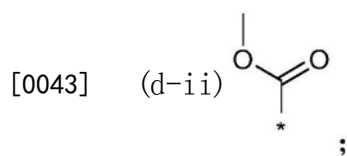
[0038] (a) R¹⁰是H, 以及R¹¹是OH或OR^A, 其中R^A是C₁₋₄烷基; 或

[0039] (b) R¹⁰和R¹¹形成在它们所键合的氮和碳原子之间的氮-碳双键; 或

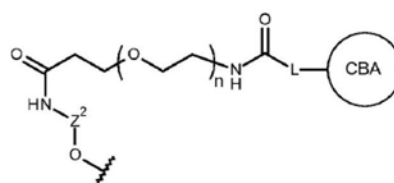
[0040] (c) R¹⁰是H以及R¹¹是OSO_zM, 其中z是2或3以及M是单价药用阳离子(药学可接受的阳离子); 或

[0041] (d) R¹¹是OH或OR^A, 其中R^A是C₁₋₄烷基以及R¹⁰选自:

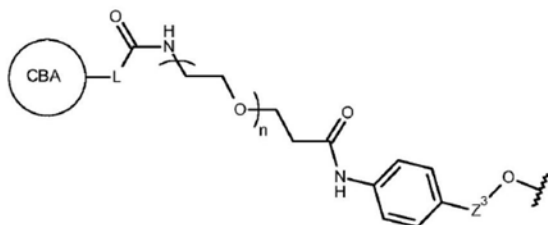
[0042] (d-i)  ;



(A1)



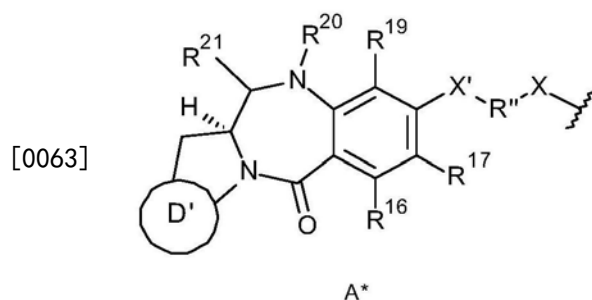
(A2)



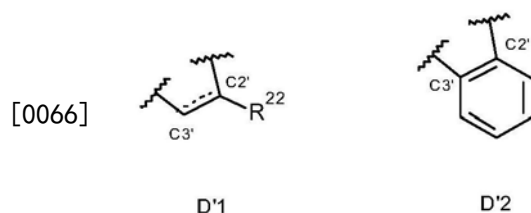
(A3)



- [0055] Z^3 是 C_{1-3} 亚烷基；
 [0056] L是连接于细胞结合剂的接头；
 [0057] CBA是细胞结合剂；
 [0058] n是0至48的整数；
 [0059] R和R'各自独立地选自可取代的 C_{1-12} 烷基、 C_{3-20} 杂环基和 C_{5-20} 芳基，以及可选地相对于基团NRR'，R和R'连同它们所连接的氮原子一起形成可取代的4-、5-、6-或7-元杂环；
 [0060] R^8 是：
 [0061] (a) 独立地选自H、R、OH、OR、SH、SR、NH₂、NHR、NRR'、NO₂、SnMe₃和卤基；或
 [0062] (b) 具有化学式A*：



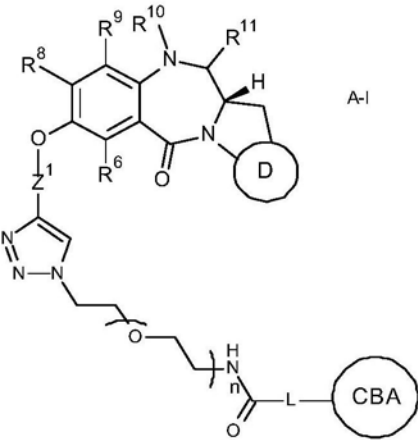
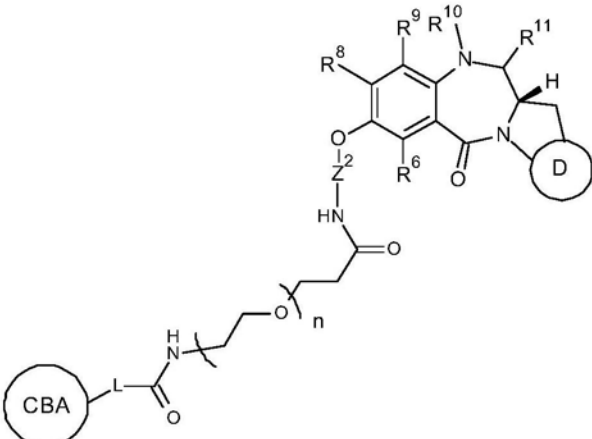
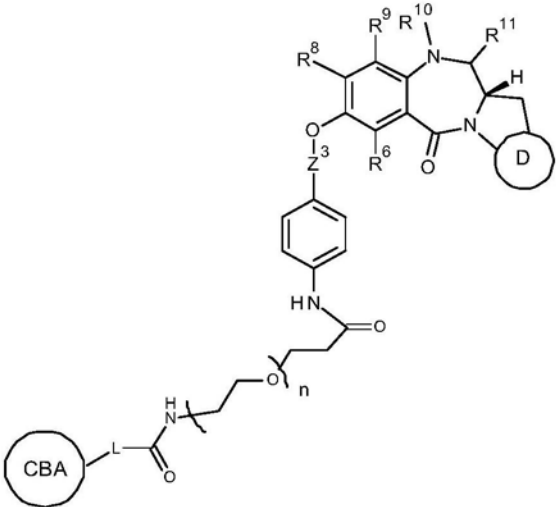
- [0064] 其中：
 [0065] D' 表示基团D' 1或D2：



- [0067] 其中虚线表示在C2' 和C3' 之间的双键的可选存在；
 [0068] R^{17} 独立地选自H、R、OH、OR、SH、SR、NH₂、NHR、NRR'、NO₂、SnMe₃和卤基；
 [0069] R''是 C_{3-12} 亚烷基，该链可以由一个或多个杂原子所中断，例如O、S、N(H)、NMe和/或芳环，例如苯或吡啶，上述环是可取代的；以及
 [0070] X和X' 独立地选自O、S和N(H)；以及
 [0071] R^{22} 、 R^{16} 、 R^{19} 、 R^{20} 和 R^{21} 是如分别针对 R^2 、 R^6 、 R^9 、 R^{10} 和 R^{11} 所定义。
 [0072] 因此化学式A选自以下化学式A-I、A-II和A-III，其取决于Y：
 [0073]

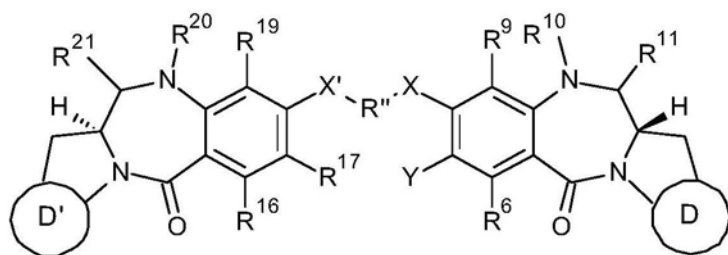
Y	A
---	---

[0074]

(A1)	 <p style="text-align: right;">A-I</p>
(A2)	 <p style="text-align: right;">A-II</p>
(A3)	 <p style="text-align: right;">A-III</p>

[0075] 当R⁸是A*时,化合物具有化学式A*A:

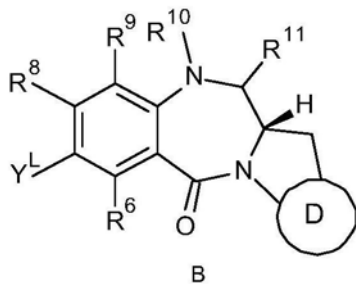
[0076]



A*A

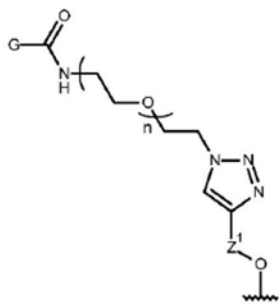
[0077] 本发明的第二方面提供了化学式 (B) 的新型药物-接头化合物:

[0078]

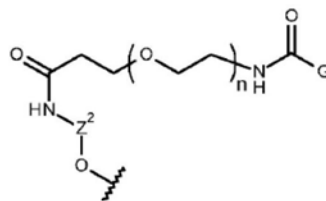


B

[0079] 以及其盐和溶剂化物,其中:

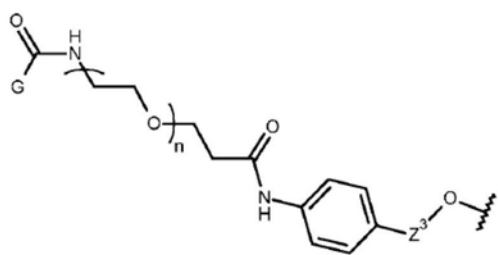
[0080] Y^L 选自化学式B1、B2和B3:

(B1)



(B2)

[0081]

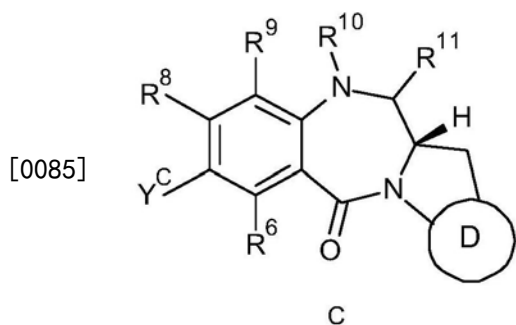


(B3)

[0082] G是用于连接于细胞结合剂的接头;以及

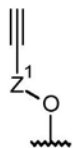
[0083] 剩余基团是如在第一方面中所限定。

[0084] 本发明的第三方面还提供了化学式 (C) 的化合物,其可以用于制备本发明的药物-接头和结合物:

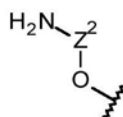


[0086] 以及其盐和溶剂化物,

[0087] Y^C 选自化学式C1、C2和C3:

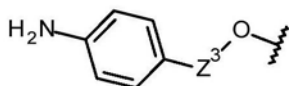


(C1)



(C2)

[0088]



(C3)

[0089] 以及剩余基团是如在第一方面中所限定。

[0090] 本发明的第四方面提供了本发明的第一方面的化合物在药物治疗方法中的应用。第四方面还提供了药物组合物,该组合物包含第一方面的化合物、和药用赋形剂。

[0091] 本发明的第五方面提供了本发明的第一方面的化合物或本发明的第四方面的药物组合物,其用于治疗增生性疾病的方法。第五方面还提供了第一方面的化合物用于制造用于治疗增生性疾病的药剂的方法的应用,以及治疗患有增生性疾病的哺乳动物的方法,包括给予有效量的第一方面的化合物或第四方面的药物组合物。

[0092] 本发明的第六方面提供了合成本发明的第一方面的化合物的方法,包括结合第二方面的药物-接头和细胞结合剂的步骤。

[0093] 本发明的第七方面提供了合成第二方面的药物-接头的方法,包括使第三方面的化合物和一种或多种合适的试剂(反应试剂, reagent)反应的步骤。

具体实施方式

[0094] 偏好(优选, preference)

[0095] 以下偏好可以适用于如上所述的本发明的所有方面,或可以涉及单个方面。可以以任何组合将偏好结合在一起。

[0096] D

[0097] 在一些实施方式中,D是D1。

[0098] 在一些实施方式中,D是D2。

[0099] R^8

- [0100] 在一些实施方式中, R^8 可以独立地选自 H、OH、OR、SH、SR、 NH_2 、NHR、NRR'、和卤基。
- [0101] 在一些实施方式中, R^8 可以独立地选自 H、OH 和 OR, 其中 R 可以选自可选取代的 C_{1-7} 烷基、 C_{3-10} 杂环基和 C_{5-10} 芳基。在一些这些实施方式中, 在 R^8 中的 R 可以是 C_{1-4} 烷基, 其可以被取代或可以不被取代。感兴趣的取代基是 C_{5-6} 芳基 (例如苯基)。
- [0102] 在一些实施方式中, R^8 选自 OMe 和 OCH_2Ph 。
- [0103] 在一些实施方式中, R^8 具有化学式 A^* , 以致化合物是 PBD 二聚体。
- [0104] 二聚体连接
- [0105] X 和 X' 优选是 O。
- [0106] R'' 是 C_{3-12} 亚烷基, 该链可以由以下所中断: 一个或多个杂原子, 例如 O、S、N (H)、NMe, 和/或芳环, 例如苯或吡啶, 上述环是可选取代的。
- [0107] 在一些实施方式中, R'' 可以是 C_{3-12} 亚烷基, 该链可以由以下所中断: 一个或多个杂原子, 和/或芳环, 例如苯或吡啶。
- [0108] 在一些实施方式中, R'' 可以是 C_{3-12} 亚烷基, 其可选地由以下所中断: 一个或多个杂原子 (选自 O、S、和 NMe), 和/或芳环, 上述环是可选取代的。
- [0109] 在一些实施方式中, 芳环是 C_{5-20} 亚芳基, 其中亚芳基涉及通过从芳族化合物两个芳环原子除去两个氢原子所获得的二价部分, 上述部分具有 5 至 20 个环原子。
- [0110] 在一些实施方式中, R'' 可以是 C_{3-12} 亚烷基, 该链可以由以下所中断: 一个或多个杂原子 (例如, O、S、N (H)、NMe), 和/或芳环, 例如苯或吡啶, 上述环被 NH_2 可选取代。
- [0111] 在一些实施方式中, R'' 可以是 C_{3-12} 亚烷基。
- [0112] 在一些实施方式中, R'' 可以选自 C_3 、 C_5 、 C_7 、 C_9 和 C_{11} 亚烷基。
- [0113] 在一些实施方式中, R'' 可以选自 C_3 、 C_5 和 C_7 亚烷基。
- [0114] 在一些实施方式中, R'' 可以选自 C_3 和 C_5 亚烷基。
- [0115] 在一些实施方式中, R'' 是 C_3 亚烷基。
- [0116] 在一些实施方式中, R'' 是 C_5 亚烷基。
- [0117] 以上所列亚烷基可以可选地由一个或多个杂原子和/或芳环 (例如苯或吡啶) 所中断, 上述环是可选取代的。
- [0118] 以上所列亚烷基可以可选地由一个或多个杂原子和/或芳环 (例如苯或吡啶) 所中断。
- [0119] 以上所列亚烷基可以是未取代的直链 (线性, linear) 脂族亚烷基。
- [0120] R'' 优选是没有取代基的 C_{3-7} 亚烷基。更优选地, R'' 是 C_3 、 C_5 或 C_7 亚烷基。最优选地, R'' 是 C_3 或 C_5 亚烷基。
- [0121] R^6
- [0122] 在一些实施方式中, R^6 可以独立地选自 H、R、OH、OR、SH、SR、 NH_2 、NHR、NRR'、 NO_2 、 $SnMe_3$ 和卤基。
- [0123] 在一些实施方式中, R^6 可以独立地选自 H、OH、OR、SH、 NH_2 、 NO_2 和卤基。
- [0124] 在一些实施方式中, R^6 独立地选自 H 和卤基。
- [0125] 在一些实施方式中, R^6 独立地是 H。
- [0126] 这些实施方式也适用于 R^{16} 。
- [0127] R^9

[0128] 在一些实施方式中, R^9 可以独立地选自H、R、OH、OR、SH、SR、NH₂、NHR、NRR'、NO₂、SnMe₃和卤基。

[0129] 在一些实施方式中, R^9 独立地是H。

[0130] 这些实施方式也适用于 R^{19} 。

[0131] R^{17}

[0132] 在一些实施方式中, R^{17} 可以独立地选自H、OH、OR、SH、SR、NH₂、NHR、NRR'、和卤基。

[0133] 在一些实施方式中, R^{17} 可以独立地选自H、OH和OR, 其中R可以选自可选取代的C₁₋₇烷基、C₃₋₁₀杂环基和C₅₋₁₀芳基。在一些这些实施方式中, 在 R^{17} 中的R可以是C₁₋₄烷基, 其可以被取代或可以不被取代。感兴趣的取代基是C₅₋₆芳基(例如苯基)。

[0134] 在一些实施方式中, R^{17} 选自OMe和OCH₂Ph。

[0135] R^2

[0136] 当 R^2 是C₅₋₁₀芳基时, 在一些实施方式中, 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。在一些实施方式中, R^2 可以是苯基。在其它实施方式中, R^2 可以是苯硫基, 例如, 苯硫-2-基和苯硫-3-基。

[0137] 当 R^2 是C₅₋₁₀芳基时, 在一些实施方式中, 它可以是C₈₋₁₀芳基, 例如喹啉基或异喹啉基。通过任何可用环位置, 喹啉基或异喹啉基可以结合于PBD核心。例如, 喹啉基可以是喹啉-2-基、喹啉-3-基、喹啉-4-基、喹啉-5-基、喹啉-6-基、喹啉-7-基和喹啉-8-基。这些当中, 喹啉-3-基和喹啉-6-基可以是优选的。异喹啉基可以是异喹啉-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-基和异喹啉-8-基。这些当中, 异喹啉-3-基和异喹啉-6-基可以是优选的。

[0138] 当 R^2 是C₅₋₁₀芳基时, 它可以具有任何数目的取代基。在一些实施方式中, 它可以具有1至3个取代基。在一些实施方式中, 它可以具有1或2个取代基。在一些实施方式中, 它可以具有单个取代基。取代基可以是在任何位置。

[0139] 在 R^2 是C₅₋₇芳基的情况下, 在一些实施方式中, 单个取代基可以是在不相邻于化合物的剩余部分的键的环原子上, 即, 它可以β或γ于化合物的剩余部分的键。因此, 在其中C₅₋₇芳基是苯基的实施方式中, 取代基可以是在间位或对位, 或可以是在对位。

[0140] 在 R^2 是C₈₋₁₀芳基, 例如喹啉基或异喹啉基, 的情况下, 在一些实施方式中, 可以在喹啉或异喹啉环的任何位置存在任何数目的取代基。在一些实施方式中, 它具有一个、两个或三个取代基, 并且这些取代基可以是在近侧或远侧环或者两者(如果多于一个取代基)上。

[0141] R^2 取代基, 当R是C₅₋₁₀芳基时

[0142] 在其中当 R^2 是C₅₋₁₀芳基时在 R^2 上的取代基是卤基的实施方式中, 它可以是F或Cl, 以及在一些这些实施方式中是Cl。

[0143] 在其中当 R^2 是C₅₋₁₀芳基时在 R^2 上的取代基是醚的实施方式中, 在一些实施方式中, 它可以是烷氧基, 例如, C₁₋₇烷氧基(例如甲氧基、乙氧基), 或在一些实施方式中, 它可以是C₅₋₇芳氧基(例如苯氧基、吡啶氧基、呋喃氧基)。烷氧基可以本身被进一步取代, 例如被氨基(例如二甲基氨基)。

[0144] 在其中当 R^2 是C₅₋₁₀芳基时在 R^2 上的取代基是C₁₋₇烷基的实施方式中, 它可以是C₁₋₄烷基(例如甲基、乙基、丙基、丁基)。

[0145] 在其中当 R^2 是C₅₋₁₀芳基时在 R^2 上的取代基是C₃₋₇杂环基的实施方式中, 它可以是C₆

含氮杂环基,例如吗啉代、硫代吗啉代、哌啶基、哌嗪基。这些基团可以经由氮原子结合于PBD部分的其它部分。这些基团可以进一步被取代,例如,被C₁₋₄烷基。如果C₆含氮杂环基是哌嗪基,则所述进一步的取代基可以是在第二氮环原子上。

[0146] 在其中当R²是C₅₋₁₀芳基时在R²上的取代基是二氧基-C₁₋₃亚烷基的实施方式中,它可以是二氧基-亚甲基或二氧基-亚乙基。

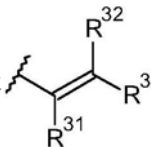
[0147] 在其中当R²是C₅₋₁₀芳基时在R²上的取代基是酯的实施方式中,这优选是甲酯或乙酯。

[0148] 在一些实施方式中,当R²是C₅₋₁₀芳基时,取代基可以包括甲氧基、乙氧基、氟基、氯基、氰基、二氧基-亚甲基、甲基-哌嗪基、吗啉代、甲基-苯硫基、二甲基氨基丙氧基和羧基。

[0149] 在一些实施方式中,R²可以选自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、3,4-二氧基亚甲基-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、萘基、4-硝基苯基、4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基和3,4-二氧基亚甲基-苯基。

[0150] 当R²是C₁₋₅饱和脂族烷基时,它可以是甲基、乙基、丙基、丁基或戊基。在一些实施方式中,它可以是甲基、乙基或丙基(正戊基或异丙基)。在一些这些实施方式中,它可以是甲基。在其它实施方式中,它可以是丁基或戊基,其可以是直链或支链的。

[0151] 当R²是C₃₋₆饱和环烷基时,它可以是环丙基、环丁基、环戊基或环己基。在一些实施方式中,它可以是环丙基。

[0152] 当R²是  时,在一些实施方式中,在R²基团中的碳原子的总数是不超过4

或不超过3。

[0153] 在一些实施方式中,R³¹、R³²和R³³之一是H,而其它两个基团则选自H、C₁₋₃饱和烷基、C₂₋₃烯基、C₂₋₃炔基和环丙基。

[0154] 在其它实施方式中,R³¹、R³²和R³³的两个是H,而另一个基团则选自H、C₁₋₃饱和烷基、C₂₋₃烯基、C₂₋₃炔基和环丙基。

[0155] 在一些实施方式中,不是H的基团选自甲基和乙基。在一些这些实施方式中,不是H的基团是甲基。

[0156] 在一些实施方式中,R³¹是H。

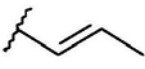
[0157] 在一些实施方式中,R³²是H。

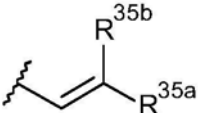
[0158] 在一些实施方式中,R³³是H。

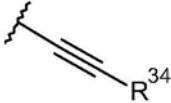
[0159] 在一些实施方式中,R³¹和R³²是H。

[0160] 在一些实施方式中,R³¹和R³³是H。

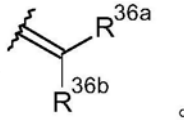
[0161] 在一些实施方式中,R³²和R³³是H。

[0162] 特别感兴趣的R²基团是:  。

[0163] 当 R^2 是时,在一些实施方式中,不是H的基团(R^{35a} 或 R^{35b})是可取代的苯基。如果苯基可选的取代基是卤基,它可以是氯基。在一些实施方式中,苯基是未取代的。

[0164] 当 R^2 是时,在一些实施方式中,其中 R^{34} 是苯基,它是未取代的。在其它实施方式中,苯基具有单氟基取代基。在其它实施方式中, R^{14} 选自H、甲基、乙基、乙烯基和乙炔基。在一些这些实施方式中, R^{14} 选自H和甲基。

[0165] 当 R^2 是卤基时,在一些实施方式中,它是氟基。

[0166] 当在C2和C3之间存在单键时。 R^2 是。

[0167] 在一些实施方式中, R^{36a} 和 R^{36b} 均是H。

[0168] 在其它实施方式中, R^{36a} 和 R^{36b} 均是甲基。

[0169] 在进一步的实施方式中, R^{36a} 和 R^{36b} 之一是H,以及另一个选自 C_{1-4} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基,上述烷基和烯基是可取代的。在其中一些进一步的实施方式中,不是H的基团可以选自甲基和乙基。

[0170] R^{22}

[0171] 当在C2和C3之间存在双键时,对于 R^2 的上述偏好,当在C2' 和C3' 之间存在双键时,同样适用于 R^{22} 。

[0172] 当在C2和C3之间存在单键时,对于 R^2 的上述偏好,当在C2' 和C3' 之间存在单键时,同样适用于 R^{22} 。

[0173] N10-C11

[0174] 在一些实施方式中, R^{10} 是H,以及 R^{11} 是OH、 OR^A ,其中 R^A 是 C_{1-4} 烷基。在一些这些实施方式中, R^{11} 是OH。在这些实施方式的其它实施方式中, R^{11} 是 OR^A ,其中 R^A 是 C_{1-4} 烷基。在一些这些实施方式中, R^A 是甲基。

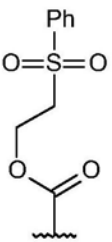
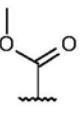
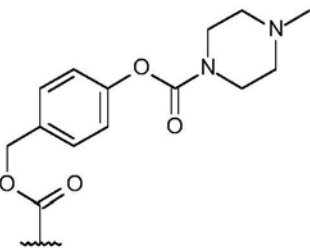
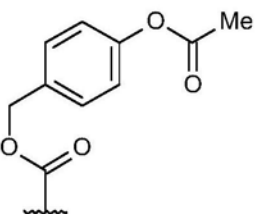
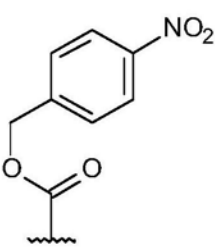
[0175] 在一些实施方式中, R^{10} 和 R^{11} 形成在它们所键合的氮和碳原子之间的氮-碳双键。

[0176] 在一些实施方式中, R^{10} 是H以及 R^{11} 是 OSO_zM ,其中 z 是2或3以及 M 是单价药用阳离子。在一些这些实施方式中, M 是单价药用阳离子,并且可以是 Na^+ 。此外,在一些实施方式中, z 是3。

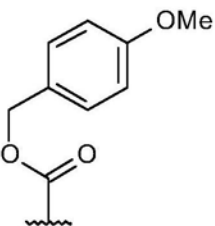
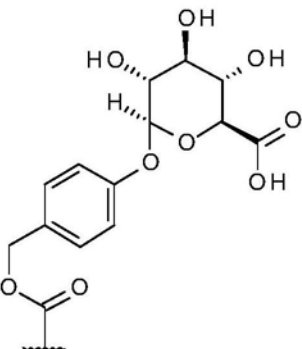
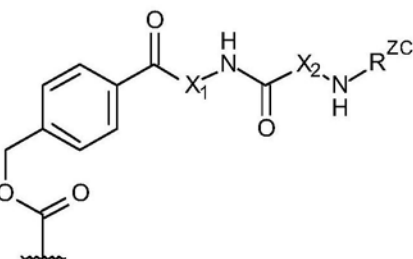
[0177] 在一些实施方式中,其中 R^{10} 是(d-iii),在苯环上可以存在另外的硝基,例如邻位于 R^Z 。

[0178] 在一些实施方式中, R^{11} 是OH或 OR^A ,其中 R^A 是 C_{1-4} 烷基以及 R^{10} 选自:

[0179]

R^{10a}	
R^{10b}	
R^{10c}	
R^{10d}	
R^{10e}	

[0180]

R^{10f}	
R^{10g}	
R^{10h}	

[0181] $-C(=O)-X_1-NHC(=O)-X_2-NH-$ 表示二肽。在二肽中的氨基酸可以是天然氨基酸的任何组合。二肽可以是用于组织蛋白酶 (cathepsin) 介导切割的作用位点。

[0182] 在一种实施方式中,二肽, $-C(=O)-X_1-NHC(=O)-X_2-NH-$,选自:

[0183] $-Phe-Lys-$,

[0184] $-Val-Ala-$,

[0185] $-Val-Lys-$,

[0186] $-Ala-Lys-$,

[0187] $-Val-Cit-$,

[0188] $-Phe-Cit-$,

[0189] $-Leu-Cit-$,

[0190] $-Ile-Cit-$,

[0191] $-Phe-Arg-$,

[0192] $-Trp-Cit-$

[0193] 其中Cit是瓜氨酸。

[0194] 优选地,二肽, $-C(=O)-X_1-NHC(=O)-X_2-NH-$,选自:

[0195] $-Phe-Lys-$,

[0196] $-Val-Ala-$,

[0197] -Val-Lys-,

[0198] -Ala-Lys-,

[0199] -Val-Cit-。

[0200] 最优选地,二肽, $-C(=O)-X_1-NHC(=O)X_2-NH-$,是-Phe-Lys-或-Val-Ala-。

[0201] 可以使用其它二肽组合,包括由Dubowchik et al.,Bioconjugate Chemistry, 2002,13,855-869描述的那些组合,其以引用方式结合于本文。

[0202] 在一种实施方式中,在适当情况下,衍生氨基酸侧链。例如,可以衍生氨基酸侧链的氨基或羧基。

[0203] 在一种实施方式中,侧链氨基酸,如赖氨酸,的氨基 NH_2 衍生自选自由NHR和NRR'组成的组。

[0204] 在一种实施方式中,侧链氨基酸,如天冬氨酸,的羧基 $COOH$ 衍生自选自由 $COOR$ 、 $CONH_2$ 、 $CONHR$ 和 $CONRR'$ 组成的组。

[0205] 在一种实施方式中,在适当情况下,化学保护氨基酸侧链。侧链保护基团可以是如以上所讨论的基团。本发明人已经确定,受保护的氨基酸序列是通过酶可切割的。例如,已确定,包含Boc侧链受保护的Lys残基的二肽序列是通过组织蛋白酶可切割的。

[0206] 用于氨基酸的侧链的保护基团在本领域中是众所周知的并且描述于Novabiochem Catalog。另外的保护基团策略阐述于Protective Groups in Organic Synthesis, Greene and Wuts中。

[0207] 对于具有反应性侧链官能性(functionality)的那些氨基酸,以下示出可能的侧链保护基团:

[0208] Arg:Z,Mtr,Tos;

[0209] Asn:Trt,Xan;

[0210] Asp:Bzl,t-Bu;

[0211] Cys:Acm,Bzl,Bzl-OMe,Bzl-Me,Trt;

[0212] Glu:Bzl,t-Bu;

[0213] Gln:Trt,Xan;

[0214] His:Boc,Dnp,Tos,Trt;

[0215] Lys:Boc,Z-Cl,Fmoc,Z,Alloc;

[0216] Ser:Bzl,TBDMS,TBDPS;

[0217] Thr:Bz;

[0218] Trp:Boc;

[0219] Tyr:Bzl,Z,Z-Br。

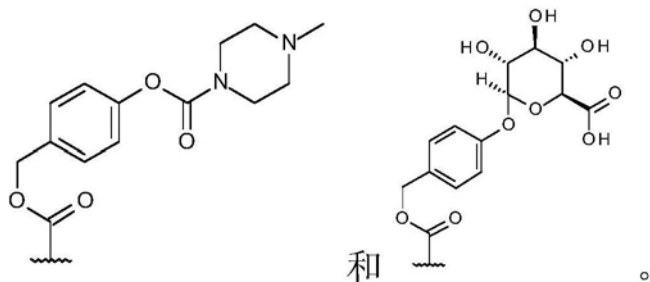
[0220] 在一种实施方式中,选择侧链保护以正交(orthogonal)于一基团,其提供为封端基团或为封端基团的部分(如果存在的话)。因此,侧链保护基团的除去并不除去封端基团或作为封端基团的一部分的任何保护基团官能团。

[0221] 在本发明的其它实施方式中,选择的氨基酸是那些没有反应性侧链官能性的氨基酸。例如,氨基酸可以选自:Ala、Gly、Ile、Leu、Met、Phe、Pro、和Val。

[0222] 在本发明中特别优选的是,如果 L^1 包含二肽,那么 $-C(=O)-X_1-NHC(=O)X_2-NH-$ 是相同的二肽。

[0223] 其它优选的 R^{10} 基团包括：

[0224]



[0225] 上述偏好同样适用于 R^{20} 和 R^{21} 。

[0226] R 和 R'

[0227] 在一些实施方式中, R 独立地选自可取代的 C_{1-12} 烷基、 C_{3-20} 杂环基和 C_{5-20} 芳基。这些基团各自定义在以下取代基部分。

[0228] 在一些实施方式中, R 独立地是可取代的 C_{1-12} 烷基。在其它实施方式中, R 独立地是可取代的 C_{3-20} 杂环基。在进一步的实施方式中, R 独立地是可取代的 C_{5-20} 芳基。在进一步的实施方式中, R 独立地是可取代的 C_{1-12} 烷基。

[0229] 以上相对于 R^2 描述的是各种实施方式,其涉及优选的烷基和芳基以及可选的取代基的特性和数目。针对 R^2 阐述的偏好,因为它适用于 R ,在适当情况下,适用于所有其它 R 。

[0230] 对于 R 的偏好也适用于 R' 。

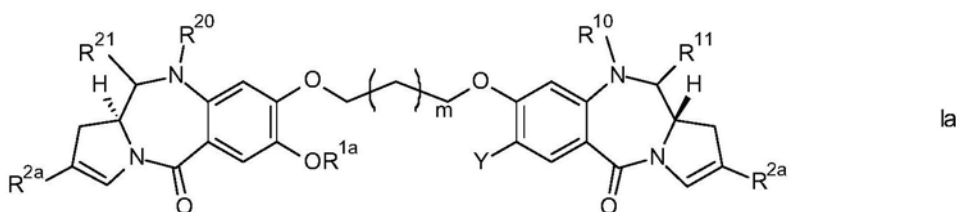
[0231] 在本发明的一些实施方式中,提供了具有取代基 $-NRR'$ 的化合物。在一种实施方式中, R 和 R' 连同它们所连接的氮原子一起形成可取代的4-、5-、6-或7-元杂环。上述环可以包含另外的杂原子,例如N、O或S。在一些这些实施方式中,杂环本身被基团 R 取代。在存在进一步的N杂原子的情况下,取代基可以是在N杂原子上。

[0232] 二聚体

[0233] 在一些实施方式中,基团 X' 、 D 、 R^{16} 、 R^{19} 、 R^{20} 和 R^{21} 是分别相同于基团 X 、 D' 、 R^6 、 R^9 、 R^{10} 和 R^{11} 。在这些实施方式中,PBD单体单元,除在7位置之外,具有相同取代基。

[0234] 本发明的第一方面的特别优选的化合物可以具有化学式Ia:

[0235]



[0236] 其中

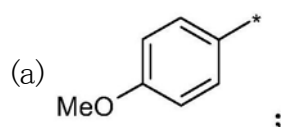
[0237] R^{10} 、 R^{11} 、 R^{20} 、 R^{21} 和 Y 是如上所定义;


[0238] m 是1或3;


[0239] R^{1a} 是甲基或苯基;以及

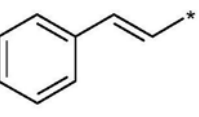
[0240] R^{2a} 选自:


[0241]




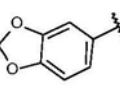
[0242] (b)  ;

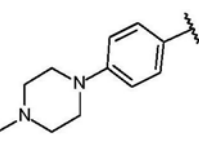
[0243] (c)  ;

[0244] (d)  ;

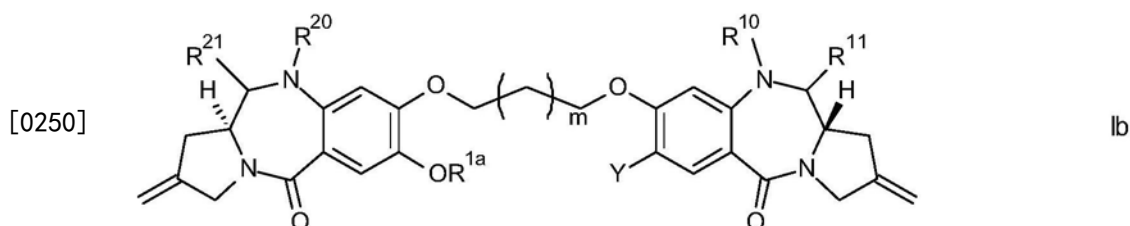
[0245] (e)  ;

[0246] (f)  ;

[0247] (g)  以及

[0248] (h)  。

[0249] 本发明的第一方面的特别优选的化合物可以具有化学式Ib:



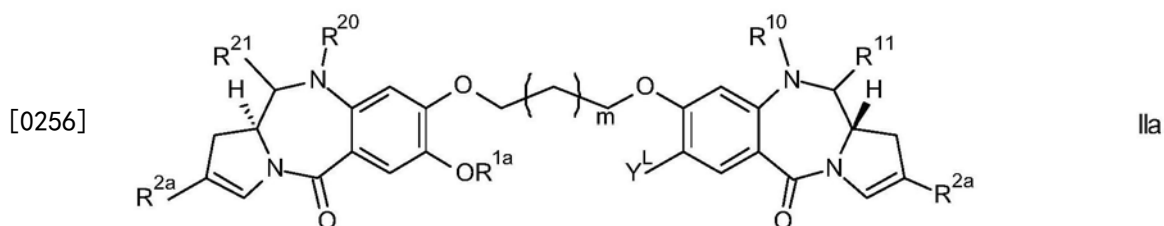
[0251] 其中

[0252] R^{10} 、 R^{11} 、 R^{20} 、 R^{21} 和Y是如上所定义；

[0253] m是1或3；以及

[0254] R^{1a} 是甲基或苯基。

[0255] 本发明的第二方面的特别优选的化合物可以具有化学式IIa:



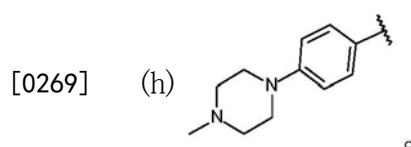
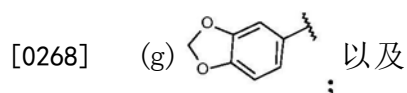
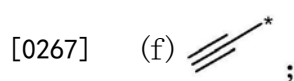
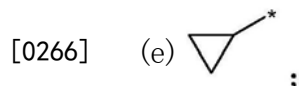
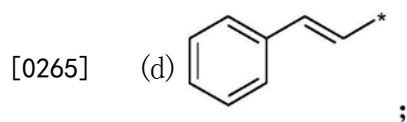
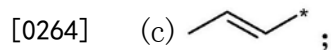
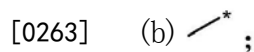
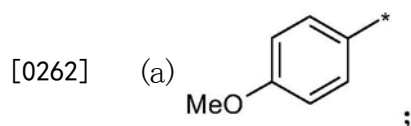
[0257] 其中

[0258] R^{10} 、 R^{11} 、 R^{20} 、 R^{21} 和 Y^L 是如上所定义；

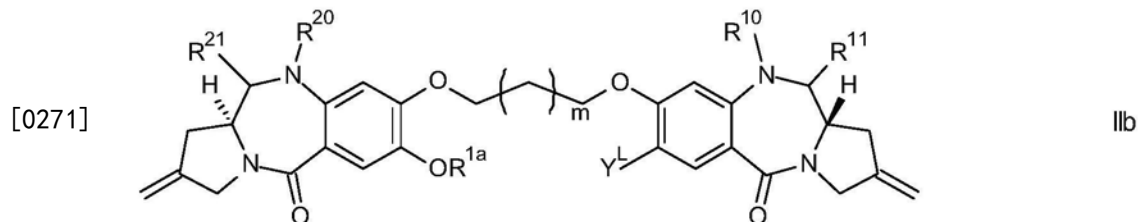
[0259] m是1或3；

[0260] R^{1a} 是甲基或苯基；以及

[0261] R^{2a} 选自：



[0270] 本发明的第二方面的特别优选的化合物可以具有化学式IIb:



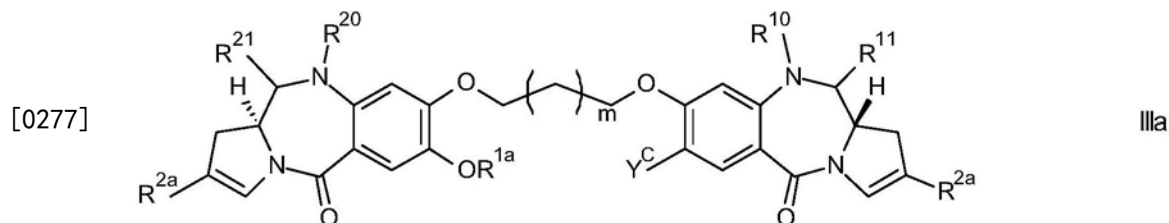
[0272] 其中

[0273] R^{10} 、 R^{11} 、 R^{20} 、 R^{21} 和 Y^L 是如上所定义；

[0274] m 是1或3；以及

[0275] R^{1a} 是甲基或苯基。

[0276] 本发明的第三方面的特别优选的化合物可以具有化学式IIIa:

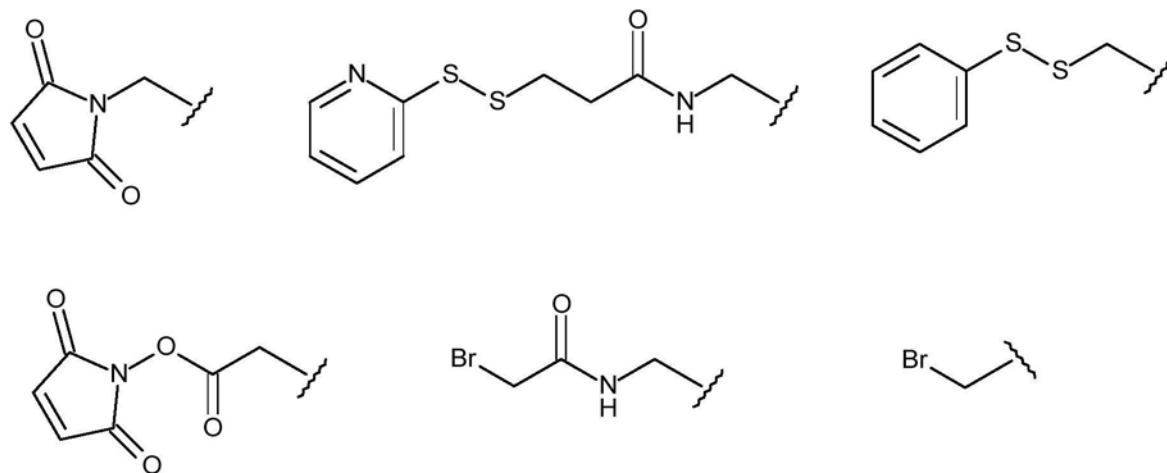


[0278] 其中

[0279] R^{10} 、 R^{11} 、 R^{20} 、 R^{21} 和 Y^C 是如上所定义；

[0280] m 是1或3；

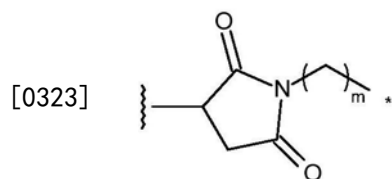
- [0302] 在一些实施方式中, n (在Y或Y^L中) 是0至24的整数。
- [0303] 在一些实施方式中, n (在Y或Y^L中) 是0至12的整数。
- [0304] 在一些实施方式中, n (在Y或Y^L中) 是0至8的整数。
- [0305] 在一些实施方式中, n (在Y或Y^L中) 是0至6的整数。
- [0306] 在一些实施方式中, n (在Y或Y^L中) 是0。
- [0307] 在一些实施方式中, n (在Y或Y^L中) 是1。
- [0308] 在一些实施方式中, n (在Y或Y^L中) 是2。
- [0309] 在一些实施方式中, n (在Y或Y^L中) 是3。
- [0310] 在一些实施方式中, n (在Y或Y^L中) 是4。
- [0311] 在一些实施方式中, n (在Y或Y^L中) 是5。
- [0312] 在一些实施方式中, n (在Y或Y^L中) 是6。
- [0313] 在一些实施方式中, n (在Y或Y^L中) 是7。
- [0314] 在一些实施方式中, n (在Y或Y^L中) 是8。
- [0315] 在一些实施方式中, Z¹是亚甲基以及 n 是3。
- [0316] 在一些实施方式中, Z²是亚丙基以及 n 是8。
- [0317] L和G
- [0318] L是连接于在结合物化合物中的细胞结合剂的接头。G是接头, 其用于将PBD二聚体连接于细胞结合剂以形成结合物化合物。
- [0319] 优选地, 接头包含用于与在细胞结合剂上的亲核性官能团反应的亲电子官能团。在抗体上的亲核性基团包括但不限于: (i) N-末端胺基团; (ii) 侧链胺基团, 例如赖氨酸; (iii) 侧链硫醇基, 例如半胱氨酸; 以及 (iv) 糖羟基或氨基, 其中抗体被糖基化。胺、硫醇、和羟基是亲核的并且能够与在接头部分和接头试剂上的亲电子基团反应形成共价键, 其中上述接头部分或接头试剂包括: (i) 马来酰亚胺基团; (ii) 活化二硫化物; (iii) 活性酯如NHS (N-羟基琥珀酰亚胺) 酯、HOBT (N-羟基苯并三唑) 酯、卤代甲酸酯、和酰基卤 (acid halides); (iv) 烷基和苄基卤化物 (烷基和苄基卤, alkyl and benzyl halides) 如卤代乙酰胺; 以及 (v) 醛、酮、羧基, 以及, 其中一些举例说明如下:



- [0321] 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结合具有反应性。因此, 理论上, 每个半胱氨酸

酸桥将形成两个反应性巯基(硫醇, thiol)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)的反应来将另外的亲核基团引入抗体,从而导致胺转化成硫醇(thiol)。可以通过引入一个、两个、三个、四个、或更多个半胱氨酸残基来将反应性硫醇基引入抗体(或其片段)(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)。US 7521541教导了通过引入反应性半胱氨酸氨基酸来设计抗体。在一些实施方式中,接头具有反应性亲核性基团,其与在抗体上存在的亲电子基团具有反应性。在抗体上有用的亲电子基团包括但不限于醛和酮羰基。接头的亲核性基团的杂原子可以与在抗体上的亲电子基团反应并形成与抗体单元的共价键。在接头上的有用的亲核性基团包括但不限于酰肼、肼、氨基、羟基、肼、缩氨基硫脲(thiosemicarbazone)、肼羧酸酯、和芳基酰肼。在抗体上的亲电子基团为连接于接头提供方便位点。

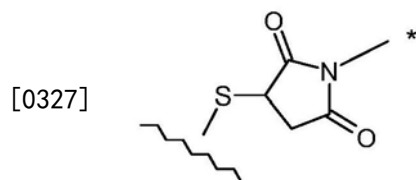
[0322] 在一种实施方式中,基团L是:



[0324] 其中星号表示与基团Y的其它部分的连接点,波浪线表示与细胞结合剂的连接点,以及m是0至6。在一种实施方式中,m是5。

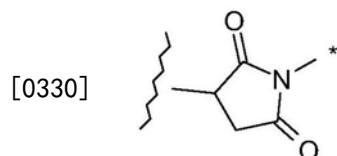
[0325] 在一种实施方式中,在细胞结合剂和L之间的连接是通过细胞结合剂的巯基残基和L的马来酰亚胺基团。

[0326] 在一种实施方式中,在细胞结合剂和L之间的连接是:



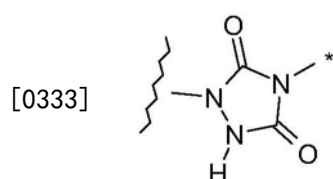
[0328] 其中星号表示与L基团的剩余部分或Y基团的剩余部分的连接点,以及波浪线表示与细胞结合剂的剩余部分的连接点。在此实施方式中,S原子通常源自细胞结合剂。

[0329] 在每种上述实施方式中,可替换的官能团可以用来代替以下所示的马来酰亚胺衍生的基团:



[0331] 其中波浪线表示如前所述的与细胞结合剂的连接点,以及星号表示与L基团的剩余部分或Y基团的剩余部分的键。

[0332] 在一种实施方式中,用以下基团来替代马来酰亚胺衍生的基团:

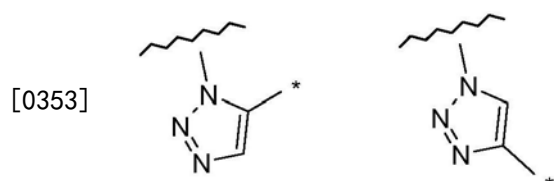


[0334] 其中波浪线表示与细胞结合剂的连接点,以及星号表示与L基团的剩余部分或Y基团的剩余部分的键。

[0335] 在一种实施方式中,用一基团来替代马来酰亚胺衍生的基团,上述基团,可选地连同细胞结合剂一起,选自:

- [0336] $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-$,
- [0337] $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$,
- [0338] $-\text{NHC}(=\text{O})-$,
- [0339] $-\text{OC}(=\text{O})-$,
- [0340] $-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$,
- [0341] $-\text{NHC}(=\text{O})\text{O}-$,
- [0342] $-\text{OC}(=\text{O})\text{NH}-$,
- [0343] $-\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}-$,
- [0344] $-\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}$,
- [0345] $-\text{C}(=\text{O})\text{NHC}(=\text{O})-$,
- [0346] $-\text{S}-$,
- [0347] $-\text{S}-\text{S}-$,
- [0348] $-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})-$,
- [0349] $-\text{C}(=\text{O})\text{CH}_2-$,
- [0350] $=\text{N}-\text{NH}-$,以及
- [0351] $-\text{NH}-\text{N}=\text{}$ 。

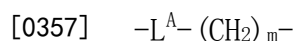
[0352] 在一种实施方式中,用一基团来替换马来酰亚胺衍生的基团,上述基团,可选地连同细胞结合剂一起,选自:



[0354] 其中波浪线表示与细胞结合剂的连接点或与L基团的剩余部分或Y基团的剩余部分的键,以及星号表示其它的与细胞结合剂的连接点或与L基团的剩余部分或Y基团的剩余部分的键。

[0355] 可以用作用于将Y基团的剩余部分连接于细胞结合剂的L的其它基团描述于W0 2005/082023。

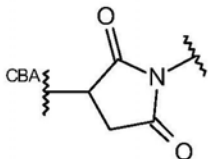
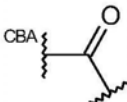
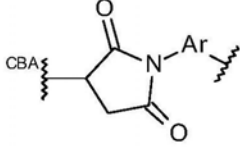
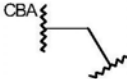
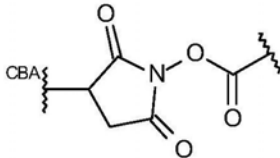
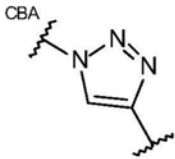
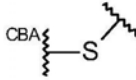
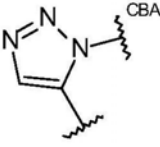
[0356] 因此,在本发明的实施方式中,L具有以下化学式:



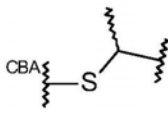
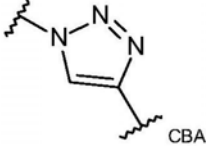
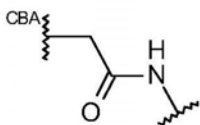
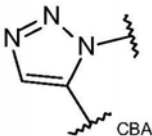
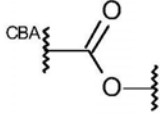
[0358] 其中m是0至6;以及

[0359] L^{A} 选自:

[0360]

(L ^{A1-1})		(L ^{A6})	
(L ^{A1-2})		(L ^{A7})	
(L ^{A2})		(L ^{A8-1})	
(L ^{A3-1})		(L ^{A8-2})	

[0361]

(L ^{A3-2})		(L ^{A9-1})	
(L ^{A4})		(L ^{A9-2})	
(L ^{A5})			

[0362] 其中Ar表示C₅₋₆亚芳基,例如亚苯基。

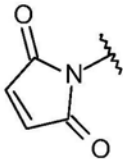
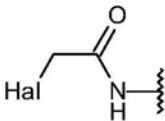
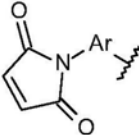
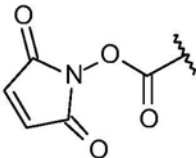
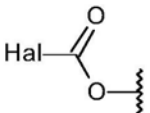
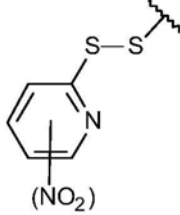
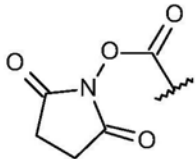
[0363] 因此,在本发明的实施方式中,G具有以下化学式:

[0364] G^A-(CH₂)_m-

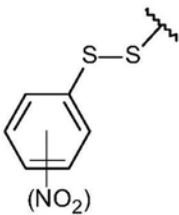
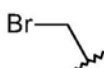
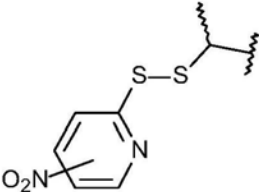

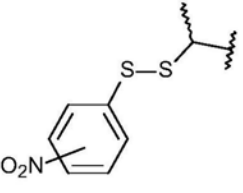

[0365] 其中m是0至6;以及

[0366] G^A选自:

[0367]

(G ^{A1-1})		(G ^{A4})	 <p>其中 Hal=I、Br、Cl</p>
(G ^{A1-2})			
(G ^{A2})		(G ^{A5})	
(G ^{A3-1})	 <p>其中 NO₂ 基团是可选的</p>	(G ^{A6})	

[0368]

(G ^{A3-2})	 <p>其中 NO₂ 基团是可选的</p>	(G ^{A7})	
(G ^{A3-3})	 <p>其中 NO₂ 基团是可选的</p>	(G ^{A8})	
(G ^{A3-4})	 <p>其中 NO₂ 基团是可选的</p>	(G ^{A9})	

[0369] 其中Ar表示C₅₋₆亚芳基,例如亚苯基。

[0370] 在一些实施方式中,m可以是2或5。

[0371] 细胞结合剂

[0372] 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,或任何其它细胞结合分子或物质。

[0373] 肽

[0374] 在一种实施方式中,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。在本实施方式中,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。

[0375] 在一种实施方式中,细胞结合剂包含结合整联蛋白 $\alpha_v\beta_6$ 的肽。相对于XYS,该肽可以对于 $\alpha_v\beta_6$ 是选择性的。

[0376] 在一种实施方式中,细胞结合剂包含A20FMDV-Cys多肽。A20FMDV-Cys具有序列: NAVPNLRGDLQVLAQKVARTC。可替换地,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。

[0377] 抗体

[0378] 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 et al (2003) *Jour.of Immunology* 170:4854-4861)。抗体可以是鼠、人、人源化、嵌合抗体,或源于其它物种。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*, 5th Ed., 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。

[0379] “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。

[0380] 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它抗体污染。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,按照本发明使用的单克隆抗体可以通过首先由Kohler et al (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 et al (1991) *Nature*, 352:624-628、Marks et al (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)。

[0381] 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;and Morrison et al (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(例如旧世界猴(旧大陆猴,Old World Monkey)或猿)的可变区抗原结合序列和人恒定区序列。

[0382] 本文中的“完整抗体”是一种抗体,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。

[0383] 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。

[0384] 人源化

[0385] 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。

[0386] “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/或一个或多个构架区(构架区,framework region) (“FW”或“FR”)氨基酸残基被来自啮齿目动物或其它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。

[0387] 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替换或非天然残基,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。

[0388] 存在多种人源化技术,包括‘CDR移植’、‘定向选择’、‘去免疫化’、‘重铺(resurfacing)’(还被称为‘饰面(veneering)’)、‘复合抗体’、‘人字符串内容优化(Human String Content Optimisation)’和架构混杂。

[0389] CDR移植

[0390] 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的残基所替换,其具有期望的性能(实际上,非人CDR被‘移植’到人架构上)。在一些情况下,人免疫球蛋白的构架区(FR)残基被相应非人残基替换(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)。

[0391] 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或构架序列中。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。人源化抗体可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。

[0392] 定向选择

[0393] 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V_HxV_L组合。该方法描述于Nature Biotechnology (N.Y.) 12, (1994) 899-903。

[0394] 复合抗体

[0395] 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节段。通过联合地结合多个人V_H和V_L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区节段与避免T细胞表位的替代节段来限制或避免T细胞表位。这种方法描述于US 2008/0206239 A1。

[0396] 去免疫化

[0397] 此方法涉及从治疗性抗体(或其它分子)的V区除去人(或其它第二物种)T细胞表位。通过,例如,比较于MHC结合基序的数据库(如“motifs”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。可替换地,可以利用计算线程方法如由Altuvia et al. (J.Mol.Biol.249244-250 (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它序列特征的信息,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和其它加工酶的切割位点。

[0398] 在已确定潜在的第二物种(例如人)T细胞表位以后,通过改变一个或多个氨基酸来消除它们。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,改变是通过替换的方式,但在一些情况下,氨基酸添加或缺失将是更合适的。

[0399] 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它方式。

[0400] 重铺

[0401] 此方法涉及:

[0402] (a) 通过构建非人抗体可变区的三维模型,确定非人(例如啮齿目动物)抗体(或其片段)的可变区的构象结构;

[0403] (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构架位置,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;

[0404] (c) 利用在步骤(b)中产生的构架位置的组,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;

[0405] (d) 依据人抗体氨基酸序列,确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;

[0406] (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换在步骤(c)中定义的重链和轻链表面暴露的氨基酸残基的组;

[0407] (f) 构建产生自在步骤(e)中指定的替换的非人抗体的可变区的三维模型;

[0408] (g) 通过比较在步骤(a)和(f)中构建的三维模型,并依据在步骤(c)或(d)中确定的组,确定在待人源化的非人抗体的互补决定区的任何残基的任何原子的5埃内的任何氨基酸残基;以及

[0409] (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。

[0410] 超人源化

[0411] 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(canonical structures)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W0 2005/079479 A2。

[0412] 人字符串内容优化

[0413] 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字符串内容(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)。

[0414] 架构混杂

[0415] 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架构的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)。

[0416] 细胞结合剂的实例包括那些描述的用于并入本文中的W0 2007/085930的细胞结合剂。

[0417] 以下列出用于本发明的实施方式的肿瘤相关抗原和关联抗体。

[0418] 肿瘤相关抗原和关联抗体(cognate antibody)

[0419] (1) BMPR1B(骨形态发生蛋白受体型IB)

[0420] 核苷酸

[0421] Genbank登录号NM_001203

[0422] Genbank版本号(version)NM_001203.2 GI:169790809

[0423] Genbank记录更新日期:Sep 23, 2012 02:06 PM

[0424] 多肽

[0425] Genbank登录号NP_001194

[0426] Genbank版本号NP_001194.1 GI:4502431

[0427] Genbank记录更新日期:Sep 23, 2012 02:06 PM

[0428] 参考文献

[0429] ten Dijke, P., et al Science 264(5155):101-104(1994), Oncogene 14 10 (11):1377-1382(1997); W02004/063362(权利要求2); W02003/042661(权利要求12); US2003/134790-A1(页码38-39); W02002/102235(权利要求13; 页码296); W02003/055443(页码91-92); W02002/99122(实施例2; 页码528-530); W02003/029421(权利要求6);

W02003/024392 (权利要求2;图112);W02002/98358 (权利要求1;页码183);W02002/54940 (页码100-101);W02002/59377 (页码349-350);W02002/30268 (权利要求27;页码376);15 W02001/48204 (实施例;图4);NP_001194骨形态发生蛋白受体,型IB/pid=NP_001194.1.; MIM:603248;AY065994

[0430] (2) E16 (LAT1, SLC7A5)

[0431] 核苷酸

[0432] Genbank登录号NM_003486

[0433] Genbank版本号NM_003486.5 GI:71979931

[0434] Genbank记录更新日期:Jun 27,2012 12:06 PM

[0435] 多肽

[0436] Genbank登录号NP_003477

[0437] Genbank版本号NP_003477.4 GI:71979932

[0438] Genbank记录更新日期:Jun 27,2012 12:06 PM

[0439] 参考文献

[0440] Biochem.Biophys.Res.Commun.255 (2),283-288 (1999),Nature 395 (6699):288-291 (1998),Gaugitsch,H.W.,et al (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);25 W02003/025138 (权利要求12;页码150);NP_003477溶质载体家族 7 (阳离子氨基酸转运子,y⁺系统),成员5/pid=NP_003477.3-智人;MIM:600182;;NM_ 015923。

[0441] (3) STEAP1 (前列腺的六跨膜上皮抗原)

[0442] 核苷酸

[0443] Genbank登录号NM_012449

[0444] Genbank版本号NM_012449.2 GI:22027487

[0445] Genbank记录更新日期:Sep 9,2012 02:57 PM

[0446] 多肽

[0447] Genbank登录号NP_036581

[0448] Genbank版本号NP_036581.1 GI:9558759

[0449] Genbank记录更新日期:Sep 9,2012 02:57 PM

[0450] 参考文献

[0451] Cancer Res.61 (15),5857-5860 (2001),Hubert,R.S.,et al (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,35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。

- [0452] (4) 0772P (CA125, MUC16)
- [0453] 核苷酸
- [0454] Genbank登录号AF361486
- [0455] Genbank版本号AF361486.3 GI:34501466
- [0456] Genbank记录更新日期:Mar 11, 2010 07:56 AM
- [0457] 多肽
- [0458] Genbank登录号AAK74120
- [0459] Genbank版本号AAK74120.3 GI:34501467
- [0460] Genbank记录更新日期:Mar 11, 2010 07:56 AM
- [0461] 参考文献
- [0462] 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。
- [0463] (5) MPF (MPF、MSLN、SMR、巨核细胞增效因子 (megakaryocyte potentiating factor)、间皮素 (mesothelin))
- [0464] 核苷酸
- [0465] Genbank登录号NM_005823
- [0466] Genbank版本号NM_005823.5 GI:293651528
- [0467] Genbank记录更新日期:Sep 2, 2012 01:47 PM
- [0468] 多肽
- [0469] Genbank登录号NP_005814
- [0470] Genbank版本号NP_005814.2 GI:53988378
- [0471] Genbank记录更新日期:Sep 2, 2012 01:47 PM
- [0472] 参考文献
- [0473] Yamaguchi, N., et al 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. 9310 (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。
- [0474] (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)
- [0475] 核苷酸
- [0476] Genbank登录号NM_006424
- [0477] Genbank版本号NM_006424.2 GI:110611905
- [0478] Genbank记录更新日期:Jul 22, 2012 03:39 PM
- [0479] 多肽
- [0480] Genbank登录号NP_006415
- [0481] Genbank版本号NP_006415.2 GI:110611906

[0482] Genbank记录更新日期:Jul 22,2012 03:39 PM

[0483] 参考文献

[0484] J.Biol.Chem.277 (22):19665-19672 (2002),Genomics 62 (2):281-284 (1999), Feild,J.A.,et al (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20-326);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。

[0485] (7) Sema 5b (FLJ10372,KIAA1445,Mm.42015,SEMA5B,SEMA5B,Semaphorin (轴突诱导因子) 5b Hlog,25 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))

[0486] 核苷酸

[0487] Genbank登录号AB040878

[0488] Genbank版本号AB040878.1 GI:7959148

[0489] Genbank记录更新日期:Aug 2,2006 05:40 PM

[0490] 多肽

[0491] Genbank登录号BAA95969

[0492] Genbank版本号BAA95969.1 GI:7959149

[0493] Genbank记录更新日期:Aug 2,2006 05:40 PM

[0494] 参考文献

[0495] Nagase T.,et al (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);Accession:30 Q9P283;Genew;HGNC:10737

[0496] (8) PSCA hlg (2700050C12Rik,C530008016Rik,RIKEN cDNA 2700050C12,RIKEN cDNA 2700050C12基因)

[0497] 核苷酸

[0498] Genbank登录号AY358628

[0499] Genbank版本号AY358628.1 GI:37182377

[0500] Genbank记录更新日期:Dec 1,2009 04:15 AM

[0501] 多肽

[0502] Genbank登录号AAQ88991

[0503] Genbank版本号AAQ88991.1 GI:37182378

[0504] Genbank记录更新日期:Dec 1,2009 04:15 AM

[0505] 参考文献

[0506] Ross et al (2002) Cancer Res.62:2546-2553;US2003/129192 (权利要求2);US2004/044180 (权利要求12);US2004/044179 35 (权利要求11);US2003/096961 (权利要求11);US2003/232056 (实施例5);W02003/10575816 (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。

[0507] (9) ETBR (内皮素B型受体)

[0508] 核苷酸

[0509] Genbank登录号AY275463

[0510] Genbank版本号AY275463.1 GI:30526094

[0511] Genbank记录更新日期:Mar 11,2010 02:26 AM

[0512] 多肽

[0513] Genbank登录号AAP32295

[0514] Genbank版本号AAP32295.1 GI:30526095

[0515] Genbank记录更新日期:Mar 11,2010 02:26 AM

[0516] 参考文献

[0517] Nakamuta M., et al Biochem.Biophys.Res.Comm.177,34-39,1991;Ogawa Y., et al Biochem.Biophys.Res.Comm.178,248-255,1991;Arai H., et al Jpn.Circ.J.56,1303-1307,1992;Arai H., et al J.Biol.Chem.268,3463-3470,1993; Sakamoto A., Yanagisawa M., et al Biochem.Biophys.Res.Comm.178,656-663,1991; Elshourbagy N.A., et al J.Biol.Chem.268,3873-3879,1993;Haendler B., et al J.Cardiovasc.Pharmacol.20,s1-S4,1992;Tsutsumi M., et al Gene 228,43-49,1999; Strausberg R.L., et al Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.99,16899-16903,2002;Bourgeois C., et al J.Clin.Endocrinol.Metab.82,3116-3123,1997;Okamoto Y., et al Biol.Chem.272,21589-21596,1997;Verheij J.B., et al Am.J.Med.Genet.108,223-225, 2002;Hofstra R.M.W., et al Eur.J.Hum.Genet.5,180-185,1997;Puffenberger E.G., et al Cell 79,1257-1266,1994;Attie T., et al, Hum.Mol.Genet.4,2407-152409,1995; Auricchio A., et al Hum.Mol.Genet.5:351-354,1996;Amiel J., et al Hum.Mol.Genet.5,355-357,1996;Hofstra R.M.W., et al Nat.Genet.12,445-447,1996; Svensson P.J., et al Hum.Genet.103,145-148,1998;Fuchs S., et al Mol.Med.7,115-124,2001;Pingault V., et al (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); 20W02003/016475 (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;Col 31-34); W02004/001004。

[0518] (10) MSG783 (RNF124,假定蛋白FLJ20315)

[0519] 核苷酸

[0520] Genbank登录号NM_017763

[0521] Genbank版本号NM_017763.4 GI:167830482

[0522] Genbank记录更新日期:Jul 22,2012 12:34 AM

[0523] 多肽

[0524] Genbank登录号NP_060233

[0525] Genbank版本号NP_060233.3 GI:56711322

[0526] Genbank记录更新日期:Jul 22,2012 12:34 AM

[0527] 参考文献

[0528] 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。

[0529] (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)

[0530] 核苷酸

[0531] Genbank登录号AF455138

[0532] Genbank版本号AF455138.1 GI:22655487

[0533] Genbank记录更新日期:Mar 11, 2010 01:54 AM

[0534] 多肽

[0535] Genbank登录号AAN04080

[0536] Genbank版本号AAN04080.1 GI:22655488

[0537] Genbank记录更新日期:Mar 11, 2010 01:54 AM

[0538] 参考文献

[0539] 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); 35 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。

[0540] (12) TrpM4 (BR22450, FLJ20041, TRPM4, TRPM4B, 瞬时受体电位阳离子5通道 (transient receptor potential cation 5 channel), 亚家族M, 成员4)

[0541] 核苷酸

[0542] Genbank登录号NM_017636

[0543] Genbank版本号NM_017636.3 GI:304766649

[0544] Genbank记录更新日期:Jun 29, 2012 11:27 AM

[0545] 多肽

[0546] Genbank登录号NP_060106

[0547] Genbank版本号NP_060106.2 GI:21314671

[0548] Genbank记录更新日期:Jun 29, 2012 11:27 AM

[0549] 参考文献

[0550] Xu, X.Z., et al 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10-14; 图1A-D); MIM:606936。

[0551] (13) CRIPTO (CR, CR1, CRGF, CRIPTO, TDGF1, 畸胎瘤源性生长因子)

[0552] 核苷酸

[0553] Genbank登录号NM_003212

[0554] Genbank版本号NM_003212.3 GI:292494881

- [0555] Genbank记录更新日期:Sep 23,2012 02:27 PM
- [0556] 多肽
- [0557] Genbank登录号NP_003203
- [0558] Genbank版本号NP_003203.1 GI:4507425
- [0559] Genbank记录更新日期:Sep 23,2012 02:27 PM
- [0560] 参考文献
- [0561] Ciccodicola,A.,et al 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;Col 17-18);US5792616(图2);MIM:187395。
- [0562] (14) CD21 (CR2 (补体受体2) 或C3DR (C3d/EB病毒受体 (Epstein Barr virus receptor)) 或Hs.73792)
- [0563] 核苷酸
- [0564] Genbank登录号M26004
- [0565] Genbank版本号M26004.1 GI:181939
- [0566] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:47 AM
- [0567] 多肽
- [0568] Genbank登录号AAA35786
- [0569] Genbank版本号AAA35786.1 GI:181940
- [0570] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:47 AM
- [0571] 参考文献
- [0572] Fujisaku et al(1989)J.Biol.Chem.264(4):2118-2125);Weis J.J.,et al J.Exp.Med.167,1047-1066,1988;Moore M.,et al Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.84,9194-9198,1987;Barel M.,et al Mol.Immunol.35,1025-1031,1998;Weis J.J.,et al Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.83,5639-5643,1986;Sinha S.K.,et al(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);Accession:P20023;Q13866;Q14212;EMBL;M26004;AAA35786.1。
- [0573] (15) CD79b (CD79B,CD79 β , Ig β (免疫球蛋白相关 β), B29)
- [0574] 核苷酸
- [0575] Genbank登录号NM_000626
- [0576] Genbank版本号NM_000626.2 GI:90193589
- [0577] Genbank记录更新日期:Jun 26,2012 01:53 PM
- [0578] 多肽
- [0579] Genbank登录号NP_000617
- [0580] Genbank版本号NP_000617.1 GI:11038674
- [0581] Genbank记录更新日期:Jun 26,2012 01:53 PM
- [0582] 参考文献

[0583] Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. (2003) 100 (7) :4126-4131, Blood (2002) 100 (9) : 3068-3076, Muller et al (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355, 页码15); US5644033; W02003/048202 (权利要求1, 页码306和309); W0 99/58658, US6534482 (权利要求13, 图17A/B); W02000/55351 (权利要求11, 页码1145-1146); MIM:147245。

[0584] (16) FcRH2 (IFGP4, IRTA4, SPAP1A (SH2域, 包含磷酸酶锚定蛋白51a), SPAP1B, SPAP1C)

[0585] 核苷酸

[0586] Genbank登录号NM_030764

[0587] Genbank版本号NM_030764.3 GI:227430280

[0588] Genbank记录更新日期:Jun 30, 2012 12:30 AM

[0589] 多肽

[0590] Genbank登录号NP_110391

[0591] Genbank版本号NP_110391.2 GI:19923629

[0592] Genbank记录更新日期:Jun 30, 2012 12:30 AM

[0593] 参考文献

[0594] 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., et al (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); 10 W02003/089624 (权利要求25); MIM:606509。

[0595] (17) HER2 (ErbB2)

[0596] 核苷酸

[0597] Genbank登录号M11730

[0598] Genbank版本号M11730.1 GI:183986

[0599] Genbank记录更新日期:Jun 23, 2010 08:47 AM

[0600] 多肽

[0601] Genbank登录号AAA75493

[0602] Genbank版本号AAA75493.1 GI:306840

[0603] Genbank记录更新日期:Jun 23, 2010 08:47 AM

[0604] 参考文献

[0605] Coussens L., et al Science (1985) 230 (4730) :1132-1139; Yamamoto T., et al Nature 319, 230-234, 1986; Semba K., et al Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. 82, 6497-6501, 1985; Swiercz J. M., et al J. Cell Biol. 165, 869-15880, 2004; Kuhns J. J., et al J. Biol. Chem. 274, 36422-36427, 1999; Cho H.-S., et al Nature 421, 756-760, 2003; Ehsani A., et al (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); 20W02002/22636 (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; Col 31-38); 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; W02001/0024425 (实施例3; 图4); 登录号 (Accession): P04626; EMBL; M11767; AAA35808.1. EMBL; M11761; AAA35808.1。

[0606] 抗体

[0607] Abbott: US20110177095

[0608] 例如, 一种抗体, 包含CDR, 相对于具有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, 其具有总体至少80%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。

[0609] Biogen: US20100119511

[0610] 例如, ATCC登录号: PTA-10355, PTA-10356, PTA-10357, PTA-10358

[0611] 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, 上述抗体选自BIIB71F10 (SEQ ID NO:11、13)、BIIB69A09 (SEQ ID NO:15、17); BIIB67F10 (SEQ ID NO:19、21); BIIB67F11 (SEQ ID NO:23、25)、BIIB66A12 (SEQ ID NO:27、29)、BIIB66C01 (SEQ ID NO:31、33)、BIIB65C10 (SEQ ID NO:35、37)、BIIB65H09 (SEQ ID NO:39、41) 和BIIB65B03 (SEQ ID NO:43、45) 组成的组, 或这样的CDR, 其相同于所述CDR或其与所述CDR具有不超过两个的改变。

[0612] 赫赛汀 (Herceptin) (Genentech) -US6,054,297; ATCC登录号CRL-10463 (Genentech)

[0613] 帕妥珠单抗 (Pertuzumab) (Genentech)

[0614] US20110117097

[0615] 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。

[0616] US20090285837

[0617] US20090202546

[0618] 例如, ATCC登录号: HB-12215、HB-12216、CRL 10463、HB-12698。

[0619] US20060088523

[0620] -例如, ATCC登录号: HB-12215、HB-12216

[0621] -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。

[0622] -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

[0623] US20060018899

[0624] -例如, ATCC登录号: (7C2) HB-12215、(7F3) HB-12216、(4D5) CRL-10463、(2C4) HB-12697。

- [0625] -例如,抗体,包含在SEQ ID No.23中的氨基酸序列、或其脱酰胺和/或氧化变体。
- [0626] US2011/0159014
- [0627] -例如,抗体,具有轻链可变域,其包含SEQ ID NO:1的高变区。
- [0628] -例如,抗体,具有重链可变域,其包含SEQ ID NO:2的高变区。
- [0629] US20090187007
- [0630] Glycotope:TrasGEX抗体<http://www.glycotope.com/pipeline>
- [0631] 例如,参见International Joint Cancer Institute and Changhai Hospital Cancer Cent:HMTI-Fc Ab-Gao J.,et al BMB Rep.2009 Oct 31,42(10):636-41。
- [0632] Symphogen:US20110217305
- [0633] Union Stem Cell&Gene Engineering,China-Liu HQ.,et al Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi.2010 May;26(5):456-8。
- [0634] (18) NCA (CEACAM6)
- [0635] 核苷酸
- [0636] Genbank登录号M18728
- [0637] Genbank版本号M18728.1 GI:189084
- [0638] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:48 AM
- [0639] 多肽
- [0640] Genbank登录号AAA59907
- [0641] Genbank版本号AAA59907.1 GI:189085
- [0642] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:48 AM
- [0643] 参考文献
- [0644] Barnett T.,et al Genomics 3,59-66,1988;Tawaragi Y.,et al Biochem.Biophys.Res.Commun.150,89-96,1988;Strausberg R.L.,et al 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);Accession:P40199;Q14920;EMBL;M29541;AAA59915.1。
- [0645] EMBL;M18728。
- [0646] (19) MDP (DPEP1)
- [0647] 核苷酸
- [0648] Genbank登录号BC017023
- [0649] Genbank版本号BC017023.1 GI:16877538
- [0650] Genbank记录更新日期:Mar 6,2012 01:00 PM
- [0651] 多肽
- [0652] Genbank登录号AAH17023
- [0653] Genbank版本号AAH17023.1 GI:16877539
- [0654] Genbank记录更新日期:Mar 6,2012 01:00 PM
- [0655] 参考文献
- [0656] 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。

[0657] (20) IL20R- α (IL20Ra,ZCYTOR7)

[0658] 核苷酸

[0659] Genbank登录号AF184971

[0660] Genbank版本号AF184971.1 GI:6013324

[0661] Genbank记录更新日期:Mar 10,2010 10:00 PM

[0662] 多肽

[0663] Genbank登录号AAF01320

[0664] Genbank版本号AAF01320.1 GI:6013325

[0665] Genbank记录更新日期:Mar 10,2010 10:00 PM

[0666] 参考文献

[0667] Clark H.F.,et al Genome Res.13,2265-2270,2003;Mungall A.J.,et al Nature 425,805-811,2003;Blumberg H.,et al Cell 104,9-19,2001;Dumoutier L.,et al J.Immunol.167,3545-3549,2001;Parrish-Novak J.,et al J.Biol.Chem.277,47517-47523,2002;Pletnev S.,et al (2003)10 Biochemistry42:12617-12624;Sheikh F.,et al (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。

[0668] (21) 短小蛋白聚糖(Brevican) (BCAN,BEHAB)

[0669] 核苷酸

[0670] Genbank登录号AF229053

[0671] Genbank版本号AF229053.1 GI:10798902

[0672] Genbank记录更新日期:Mar 11,2010 12:58 AM

[0673] 多肽

[0674] Genbank登录号AAG23135

[0675] Genbank版本号AAG23135.1 GI:10798903

[0676] Genbank记录更新日期:Mar 11,2010 12:58 AM

[0677] 参考文献

[0678] Gary S.C.,et al Gene 256,139-147,2000;Clark H.F.,et al Genome Res.13,2265-2270,2003;Strausberg R.L.,et al 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;20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)

[0679] (22) EphB2R (DRT,ERK,Hek5,EPHT3,Tyro5)

[0680] 核苷酸

[0681] Genbank登录号NM_004442

[0682] Genbank版本号NM_004442.6 GI:111118979

[0683] Genbank记录更新日期:Sep 8,2012 04:43 PM

[0684] 多肽

[0685] Genbank登录号NP_004433

[0686] Genbank版本号NP_004433.2 GI:21396504

[0687] Genbank记录更新日期:Sep 8,2012 04:43 PM

[0688] 参考文献

[0689] Chan,J.and Watt,V.M.,Oncogene 6(6),1057-1061(1991)Oncogene 10(5):897-905(1995),Annu.Rev.Neurosci.21:309-345(1998),Int.Rev.Cytol.196:177-244(2000);W02003042661(权利要求12);W0200053216(权利要求1;页码41);W02004065576(权利要求1);W02004020583(权利要求9);W02003004529(页码128-132);W0200053216(权利要求1;页码42);MIM:600997。

[0690] (23) ASLG659 (B7h)

[0691] 核苷酸

[0692] Genbank登录号AX092328

[0693] Genbank版本号AX092328.1 GI:13444478

[0694] Genbank记录更新日期:Jan 26,2011 07:37 AM

[0695] 参考文献

[0696] 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);W0 01/16318。

[0697] (24) PSCA(前列腺干细胞抗原前体)

[0698] 核苷酸

[0699] Genbank登录号AJ297436

[0700] Genbank版本号AJ297436.1 GI:9367211

[0701] Genbank记录更新日期:Feb 1,2011 11:25 AM

[0702] 多肽

[0703] Genbank登录号CAB97347

[0704] Genbank版本号CAB97347.1 GI:9367212

[0705] Genbank记录更新日期:Feb 1,2011 11:25 AM

[0706] 参考文献

[0707] Reiter R.E.,et al Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.95,1735-1740,1998;Gu Z.,et

al Oncogene 19,1288-1296,2000;Biochem.Biophys.Res.Comm. (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);Accession:043653;EMBL;AF043498;AAC39607.1

[0708] (25) GEDA

[0709] 核苷酸

[0710] Genbank登录号AY260763

[0711] Genbank版本号AY260763.1 GI:30102448

[0712] Genbank记录更新日期:Mar 11,2010 02:24 AM

[0713] 多肽

[0714] Genbank登录号AAP14954

[0715] Genbank版本号AAP14954.1 GI:30102449

[0716] Genbank记录更新日期:Mar 11,2010 02:24 AM

[0717] 参考文献

[0718] 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;

[0719] (26) BAFF-R (B细胞活化因子受体,BLyS受体3,BR3)

[0720] 核苷酸

[0721] Genbank登录号AF116456

[0722] Genbank版本号AF116456.1 GI:4585274

[0723] Genbank记录更新日期:Mar 10,2010 09:44 PM

[0724] 多肽

[0725] Genbank登录号AAD25356

[0726] Genbank版本号AAD25356.1 GI:4585275

[0727] Genbank记录更新日期:Mar 10,2010 09:44 PM

[0728] 参考文献

[0729] BAFF受体/pid=NP_443177.1-智人:Thompson,J.S.,et al Science 293 (5537), 2108-2111 (2001);W02004/058309;W02004/011611;W02003/045422 (实施例;页码32-33);W02003/014294 (权利要求35;图6B);W02003/035846 (权利要求70;页码615-616);W02002/94852 (Col 136-137);W02002/3876625 (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

[0730] (27) CD22 (B细胞受体CD22-B同种型,BL-CAM,Lyb-8,Lyb8,SIGLEC-2,FLJ22814)

[0731] 核苷酸

[0732] Genbank登录号AK026467

[0733] Genbank版本号AK026467.1 GI:10439337

[0734] Genbank记录更新日期:Sep 11,2006 11:24 PM

- [0735] 多肽
- [0736] Genbank登录号BAB15489
- [0737] Genbank版本号BAB15489.1 GI:10439338
- [0738] Genbank记录更新日期:Sep 11,2006 11:24 PM
- [0739] 参考文献
- [0740] Wilson et al (1991) J.Exp.Med.173:137-146;30 W02003/072036 (权利要求1;图1);IM:107266;NP_001762.1;NM_001771_1。
- [0741] (27a) CD22 (CD22分子)
- [0742] 核苷酸
- [0743] Genbank登录号X52785
- [0744] Genbank版本号X52785.1 GI:29778
- [0745] Genbank记录更新日期:Feb 2,2011 10:09 AM
- [0746] 多肽
- [0747] Genbank登录号CAA36988
- [0748] Genbank版本号CAA36988.1 GI:29779
- [0749] Genbank记录更新日期:Feb 2,2011 10:09 AM
- [0750] 参考文献
- [0751] Stamenkovic I.et al.,Nature 345 (6270) ,74-77 (1990)
- [0752] 其它信息
- [0753] 官方符号:CD22
- [0754] 其它别名:SIGLEC-2,SIGLEC2
- [0755] 其它名称: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
- [0756] 抗体
- [0757] G5/44 (Inotuzumab):DiJoseph JF.,et al Cancer Immunol Immunother.2005 Jan;54 (1) :11-24。
- [0758] 依帕珠单抗-Goldenberg DM.,et al Expert Rev Anticancer Ther.6 (10) :1341-53,2006。
- [0759] (28) CD79a (CD79A,CD79 α),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) 并在表面上与Ig M 35个分子形成复合物,转导涉及B细胞分化的信号,pI:4.84,MW:25028 TM:2
- [0760] [P] 基因染色体:19q13.2)。
- [0761] 核苷酸
- [0762] Genbank登录号NM_001783
- [0763] Genbank版本号NM_001783.3 GI:90193587
- [0764] Genbank记录更新日期:Jun 26,2012 01:48 PM
- [0765] 多肽
- [0766] Genbank登录号NP_001774
- [0767] Genbank版本号NP_001774.1 GI:4502685

[0768] Genbank记录更新日期:Jun 26,2012 01:48 PM

[0769] 参考文献

[0770] 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 et al (1992) J.Immunol.148 (5):1526-1531;Müller et al (1992) Eur.J.Immunol..22: 1621-1625;Hashimoto et al (1994) Immunogenetics 40 (4):287-295;Preud'homme et al (1992) Clin.Exp.5 Immunol.90 (1):141-146;Yu et al (1992) J.Immunol.148 (2) 633-637; Sakaguchi et al (1988) EMBO J.7 (11):3457-3464

[0771] (29) CXCR5 (伯基特淋巴瘤受体1,G蛋白偶联受体,其被CXCL13趋化因子激活,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(10)作用);372 aa,pI:8.54 MW:41959 TM:7[P]基因染色体:11q23.3,

[0772] 核苷酸

[0773] Genbank登录号NM_001716

[0774] Genbank版本号NM_001716.4 GI:342307092

[0775] Genbank记录更新日期:Sep 30,2012 01:49 PM

[0776] 多肽

[0777] Genbank登录号NP_001707

[0778] Genbank版本号NP_001707.1 GI:4502415

[0779] Genbank记录更新日期:Sep 30,2012 01:49 PM

[0780] 参考文献

[0781] 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152-153,15实施例2,页码254-256);W099/28468 (权利要求1,页码38);US5440021 (实施例2,col 49-52);W094/28931 (页码56-58);W092/17497 (权利要求7,图5);Dobner et al (1992) Eur.J.Immunol.22:2795-2799;Barella et al (1995) Biochem.J.309:773-779

[0782] (30) HLA-DOB (MHC II类分子的β亚基(Ia抗原),其结合肽并20将它们呈递到CD4+T淋巴细胞);273 aa,pI:6.56,MW:30820.TM:1[P]基因染色体:6p21.3)

[0783] 核苷酸

[0784] Genbank登录号NM_002120

[0785] Genbank版本号NM_002120.3 GI:118402587

[0786] Genbank记录更新日期:Sep 8,2012 04:46 PM

[0787] 多肽

[0788] Genbank登录号NP_002111

[0789] Genbank版本号NP_002111.1 GI:4504403

[0790] Genbank记录更新日期:Sep 8,2012 04:46 PM

[0791] 参考文献

[0792] Tonnelie et al (1985) EMBO J.4 (11):2839-2847;Jonsson et al (1989) Immunogenetics 29 (6):411-413;Beck et al (1992) J.Mol.Biol.228:433-441;

Strausberg et al (2002) Proc.Natl.Acad.Sci USA 99:16899-16903;Serenius et al (1987) J.Biol.Chem.262:8759-8766;Beck et al (1996) J.Mol.Biol.25255:1-13;Naruse et al (2002) Tissue Antigens 59:512-519;W099/58658 (权利要求13,图15);US6153408 (Col 35-38);US5976551 (col 168-170);US6011146 (col 145-146);Kasahara et al (1989) Immunogenetics 30(1):66-68;Larhammar et al (1985) J.Biol.Chem.260(26):14111-14119

[0793] (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);422 aa, pI:7.63, MW:47206 TM:1[P]基因染色体:17p13.3)。

[0794] 核苷酸

[0795] Genbank登录号NM_002561

[0796] Genbank版本号NM_002561.3 GI:325197202

[0797] Genbank记录更新日期:Jun 27,2012 12:41 AM

[0798] 多肽

[0799] Genbank登录号NP_002552

[0800] Genbank版本号NP_002552.2 GI:28416933

[0801] Genbank记录更新日期:Jun 27,2012 12:41 AM

[0802] 参考文献

[0803] Le et al (1997) FEBS Lett.418(1-2):195-199;W02004/047749;W02003/072035 (权利要求10);Touchman et al (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)

[0804] (32) CD72 (B细胞分化抗原CD72, Lyb-2);359 aa, pI:8.66, MW:40225, TM:15[P]基因染色体:9p13.3)。

[0805] 核苷酸

[0806] Genbank登录号NM_001782

[0807] Genbank版本号NM_001782.2 GI:194018444

[0808] Genbank记录更新日期:Jun 26,2012 01:43 PM

[0809] 多肽

[0810] Genbank登录号NP_001773

[0811] Genbank版本号NP_001773.1 GI:4502683

[0812] Genbank记录更新日期:Jun 26,2012 01:43 PM

[0813] 参考文献

[0814] W02004042346 (权利要求65);W02003/026493 (页码51-52,57-58);W02000/75655 (页码105-106);Von Hoegen et al (1990) J.Immunol.144(12):4870-4877;Strausberg et al (2002) Proc.Natl.Acad.Sci USA 99:16899-16903。

[0815] (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);661 aa, pI:6.20, MW:74147 TM:1[P]基因染色体:5q12)。

[0816] 核苷酸

- [0817] Genbank登录号NM_005582
- [0818] Genbank版本号NM_005582.2 GI:167555126
- [0819] Genbank记录更新日期:Sep 2,2012 01:50 PM
- [0820] 多肽
- [0821] Genbank登录号NP_005573
- [0822] Genbank版本号NP_005573.2 GI:167555127
- [0823] Genbank记录更新日期:Sep 2,2012 01:50 PM
- [0824] 参考文献
- [0825] US2002/193567;W097/07198(权利要求11,页码39-42);Miura et al(1996)15 Genomics 38(3):299-304;Miura et al(1998)Blood 92:2815-2822;W02003/083047;W097/44452(权利要求8,页码57-61);W02000/12130(页码24-26)。
- [0826] (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(20)分化中可以具有作用);429aa,pI:5.28,MW:46925 TM:1[P]基因染色体:1q21-1q22)
- [0827] 核苷酸
- [0828] Genbank登录号NM_052938
- [0829] Genbank版本号NM_052938.4 GI:226958543
- [0830] Genbank记录更新日期:Sep 2,2012 01:43 PM
- [0831] 多肽
- [0832] Genbank登录号NP_443170
- [0833] Genbank版本号NP_443170.1 GI:16418419
- [0834] Genbank记录更新日期:Sep 2,2012 01:43 PM
- [0835] 参考文献
- [0836] W02003/077836;W02001/38490(权利要求6,图18E-1-18-E-2);Davis et al(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)。
- [0837] (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));977 aa,pI:6.88,MW:106468,TM:1[P]基因染色体(Gene Chromosome):1q21)
- [0838] 核苷酸
- [0839] Genbank登录号AF343662
- [0840] Genbank版本号AF343662.1 GI:13591709
- [0841] Genbank记录更新日期:Mar 11,2010 01:16 AM
- [0842] 多肽
- [0843] Genbank登录号AAK31325
- [0844] Genbank版本号AAK31325.1 GI:13591710
- [0845] Genbank记录更新日期:Mar 11,2010 01:16 AM
- [0846] 参考文献
- [0847] 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 et al (2000) Biochem. Biophys. Res. Commun. 277 (1): 124-127; W02003/077836; W02001/38490 (权利要求3, 图18B-1-18B-2)。

[0848] (36) TENB2 (TMEFF2, tomoregulin, TPEF, HPP1, TR, 推定的跨膜 (35) 蛋白多糖, 涉及到生长因子和卵泡抑素的EGF/调蛋白 (heregulin) 家族); 374 aa

[0849] 核苷酸

[0850] Genbank登录号AF179274

[0851] Genbank版本号AF179274.2 GI:12280939

[0852] Genbank记录更新日期: Mar 11, 2010 01:05 AM

[0853] 多肽

[0854] Genbank登录号AAD55776

[0855] Genbank版本号AAD55776.2 GI:12280940

[0856] Genbank记录更新日期: Mar 11, 2010 01:05 AM

[0857] 参考文献

[0858] 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; 5US2004/005563; US2003/124579; Horie et al (2000) Genomics 67:146-152; Uchida et al (1999) Biochem. Biophys. Res. Commun. 266:593-602; Liang et al (2000) Cancer Res. 60:4907-12; Glynne-Jones et al (2001) Int J Cancer. Oct 15; 94 (2): 178-84。

[0859] (37) PSMA-FOLH1 (叶酸水解酶 (前列腺特异性膜抗原) 1)

[0860] 核苷酸

[0861] Genbank登录号M99487

[0862] Genbank版本号M99487.1 GI:190663

[0863] Genbank记录更新日期: Jun 23, 2010 08:48 AM

[0864] 多肽

[0865] Genbank登录号AAA60209

[0866] Genbank版本号AAA60209.1 GI:190664

[0867] Genbank记录更新日期: Jun 23, 2010 08:48 AM

[0868] 参考文献

[0869] Israeli R.S., et al Cancer Res. 53 (2), 227-230 (1993)

[0870] 其它信息

[0871] 官方符号: FOLH1

[0872] 其它别名: GIG27, FGCP, FOLH, GCP2, GCPII, NAALAD1, NAALAdase, PSM, PSMA, mGCP

[0873] 其它名称: 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; 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

氨基酸肽酶

[0874] 抗体

[0875] US 7,666,425:

[0876] 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。

[0877] 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.,et al Hybridoma (Larchmt).2007 Dec;26 (6):363-72)。

[0878] 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

[0879] GlycoMimetics:NUH2-ATCC登录号HB 9762 (US 7,135,301)

[0880] 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 (American Type Culture Collection) ("ATCC"),保藏号97131

[0881] Medarex:抗PSMA抗体,其缺乏岩藻糖基残基-US 7,875,278

[0882] 小鼠抗PSMA抗体包括3F5.4G6、3D7.1.1、4E10-1.14、3E11、4D8、3E6、3C9、2C7、1G3、3C4、3C6、4D4、1G9、5C8B9、3G6、4C8B9、和单克隆抗体。分泌3F5.4G6、3D7.1.1、4E10-1.14、3E11、4D8、3E6、3C9、2C7、1G3、3C4、3C6、4D4、1G9、5C8B9、3G6或4C8B9的杂交瘤已公开保藏并描述于美国专利号6,159,508。有关的杂交瘤已公开保藏并描述于美国专利号6,107,090。此外,人源化抗PSMA抗体,包括J591的人源化形式,进一步详细描述于PCT申请公开W0 02/098897。

[0883] 在本领域中已描述了其它小鼠抗人PSMA抗体,如mAb 107-1A4 (Wang,S.et al. (2001) Int.J.Cancer 92:871-876) 和mAb 2C9 (Kato,K.et al. (2003) Int.J.Urol.10:439-444)。

[0884] 人抗PSMA单克隆抗体的实例包括4A3、7F12、8C12、8A11、16F9、2A10、2C6、2F5和1C3抗体,其分离和结构表征最初描述于PCT申请公开W0 01/09192和W0 03/064606以及美国临时申请序列号60/654,125,题为"Human Monoclonal Antibodies to Prostate Specific Membrane Antigen (PSMA)",于2005年2月18日提交。4A3、7F12、8C12、8A11、16F9、2A10、2C6、2F5和1C3的V.sub.H (重链可变) 氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:1-9。4A3、7F12、8C12、8A11、16F9、2A10、2C6、2F5和1C3的V.sub.L (轻链可变) 氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:10-18。

[0885] 其它人抗PSMA抗体包括在PCT申请公开W0 03/034903和美国申请号2004/0033229中披露的抗体。

[0886] 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 (ATCC HB12487)、3E6 (ATCC HB12486)、3C9 (ATCC HB12484)、2C7 (ATCC HB12490)、1G3 (ATCC HB12489)、3C4 (ATCC HB12494)、3C6 (ATCC HB12491)、4D4 (ATCC HB12493)、1G9 (ATCC HB12495)、5C8B9 (ATCC HB12492) 和3G6 (ATCC HB12485) 组成的组。参见US 6,150,508。

[0887] 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

[0888] PSMA Development Company-PSMA抗体的组合物 (US 20080286284,表1)

[0889] 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)

[0890] University Hospital Freiburg,德国-mAb 3/A12、3/E7、和3/F11 (Wolf P.,et al Prostate.2010 Apr 1;70 (5):562-9)

[0891] (38) SST (生长抑素 (生长激素抑制素) 受体;注意:存在5种亚型)

[0892] (38.1) SSTR2 (生长抑素受体2)

[0893] 核苷酸

[0894] Genbank登录号NM_001050

[0895] Genbank版本号NM_001050.2 GI:44890054

[0896] Genbank记录更新日期:Aug 19,2012 01:37 PM

[0897] 多肽

[0898] Genbank登录号NP_001041

[0899] Genbank版本号NP_001041.1 GI:4557859

[0900] Genbank记录更新日期:Aug 19,2012 01:37 PM

[0901] 参考文献

[0902] Yamada Y.,et al Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.89 (1),251-255 (1992);Susini C.,et al Ann Oncol.2006 Dec;17 (12):1733-42

[0903] 其它信息

[0904] 官方符号:SSTR2

[0905] 其它名称:SRIF-1;SS2R;生长抑素受体2型

[0906] (38.2) SSTR5 (生长抑素受体5)

[0907] 核苷酸

[0908] Genbank登录号D16827

[0909] Genbank版本号D16827.1 GI:487683

[0910] Genbank记录更新日期:Aug 1,2006 12:45 PM

[0911] 多肽

[0912] Genbank登录号BAA04107

[0913] Genbank版本号BAA04107.1 GI:487684

[0914] Genbank记录更新日期:Aug 1,2006 12:45 PM

[0915] 参考文献

[0916] Yamada,Y.,et al Biochem.Biophys.Res.Commun.195 (2),844-852 (1993)

[0917] 其它信息

[0918] 官方符号:SSTR5

[0919] 其它别名:SS-5-R

[0920] 其它名称:生长抑素受体亚型5;生长抑素受体类型5

[0921] (38.3) SSTR1

- [0922] (38.4) SSTR3
- [0923] (38.5) SSTR4
- [0924] AvB6-两种亚基(39+40)
- [0925] (39) ITGAV(整联蛋白, α V;
- [0926] 核苷酸
- [0927] Genbank登录号M14648 J02826 M18365
- [0928] Genbank版本号M14648.1 GI:340306
- [0929] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:56 AM
- [0930] 多肽
- [0931] Genbank登录号AAA36808
- [0932] Genbank版本号AAA36808.1 GI:340307
- [0933] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:56 AM
- [0934] 参考文献
- [0935] Suzuki S.,et al Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.83(22),8614-8618(1986)
- [0936] 其它信息
- [0937] 官方符号:ITGAV
- [0938] 其它别名:CD51,MSK8,VNRA,VTNR
- [0939] 其它名称:由单克隆抗体L230识别的抗原;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
- [0940] (40) ITGB6(整联蛋白, β 6)
- [0941] 核苷酸
- [0942] Genbank登录号NM_000888
- [0943] Genbank版本号NM_000888.3 GI:9966771
- [0944] Genbank记录更新日期:Jun 27,2012 12:46 AM
- [0945] 多肽
- [0946] Genbank登录号NP_000879
- [0947] Genbank版本号NP_000879.2 GI:9625002
- [0948] Genbank记录更新日期:Jun 27,2012 12:46 AM
- [0949] 参考文献
- [0950] Sheppard D.J.,et al Biol.Chem.265(20),11502-11507(1990)
- [0951] 其它信息
- [0952] 官方符号:ITGB6
- [0953] 其它名称:整联蛋白 β -6
- [0954] 抗体
- [0955] 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。
- [0956] Biogen:US7,465,449-在一些实施方式中,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。

- [0957] Centocor (J&J) :US7,550,142;US7,163,681
- [0958] 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。
- [0959] Seattle Genetics:15H3 (Ryan MC.,et al Cancer Res April 15,2012;72 (8Supplement) :4630)
- [0960] (41) CEACAM5 (癌胚抗原相关细胞粘附分子5)
- [0961] 核苷酸
- [0962] Genbank登录号M17303
- [0963] Genbank版本号M17303.1 GI:178676
- [0964] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:47 AM
- [0965] 多肽
- [0966] Genbank登录号AAB59513
- [0967] Genbank版本号AAB59513.1 GI:178677
- [0968] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:47 AM
- [0969] 参考文献
- [0970] Beauchemin N.,et al Mol.Cell.Biol.7 (9) ,3221-3230 (1987)
- [0971] 其它信息
- [0972] 官方符号:CEACAM5
- [0973] 其它别名:CD66e,CEA
- [0974] 其它名称:胎粪抗原100 (meconium antigen 100)
- [0975] 抗体
- [0976] AstraZeneca-MedImmune:US 20100330103;US20080057063;US20020142359
- [0977] -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。
- [0978] -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。
- [0979] Research Corporation Technologies,Inc:US5,047,507
- [0980] Bayer Corporation:US6,013,772
- [0981] BioAlliance:US7,982,017;US7,674,605
- [0982] • US 7,674,605
- [0983] -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。
- [0984] -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。
- [0985] Celltech Therapeutics Limited:US5,877,293
- [0986] The Dow Chemical Company:US5,472,693;US6,417,337;US6,333,405
- [0987] US5,472,693-例如,ATCC号CRL-11215
- [0988] US6,417,337-例如,ATCC CRL-12208
- [0989] US6,333,405-例如,ATCC CRL-12208

[0990] Immunomedics, Inc:US7,534,431;US7,230,084;US7,300,644;US6,730,300;US20110189085

[0991] 一种抗体,具有轻链可变区的CDR,其包括:

[0992] CDR1,包括KASQDVGTSVA (SEQ ID NO:20);CDR2,包括WTSTRHT (SEQ ID NO:21);以及CDR3,包括QQYSLYRS (SEQ ID NO:22);

[0993] 以及所述抗CEA抗体的重链可变区的CDR,包含:CDR1,包含TYWMS (SEQ ID NO:23);CDR2,包含EIHPDSSTINYAPSLKD (SEQ ID NO:24);以及CDR3,包含LYFGFPWFAY (SEQ ID NO:25)。

[0994] US20100221175;US20090092598;US20070202044;US20110064653;US20090185974;US20080069775。

[0995] (42) MET (met原癌基因 (met proto-oncogene);肝细胞生长因子受体)

[0996] 核苷酸

[0997] Genbank登录号M35073

[0998] Genbank版本号M35073.1 GI:187553

[0999] Genbank记录更新日期:Mar 6,2012 11:12 AM

[1000] 多肽

[1001] Genbank登录号AAA59589

[1002] Genbank版本号AAA59589.1 GI:553531

[1003] Genbank记录更新日期:Mar 6,2012 11:12 AM

[1004] 参考文献

[1005] Dean M.,et al Nature 318 (6044),385-388 (1985)

[1006] 其它信息

[1007] 官方符号:MET

[1008] 其它别名:AUTS9,HGFR,RCCP2,c-Met

[1009] 其它名称: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 (scatter factor receptor);酪氨酸蛋白激酶Met

[1010] 抗体

[1011] Abgenix/Pfizer:US20100040629

[1012] 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。

[1013] Amgen/Pfizer:US20050054019

[1014] 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 (glutamate) 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。

[1015] Agouron Pharmaceuticals (Now Pfizer):US20060035907

[1016] Eli Lilly:US20100129369

[1017] Genentech:US5,686,292;US20100028337;US20100016241;US20070129301;US20070098707;US20070092520;US20060270594;US20060134104;US20060035278;US20050233960;US20050037431

[1018] US 5,686,292-例如,ATCC HB-11894和ATCC HB-11895

[1019] US 20100016241-例如,ATCC HB-11894 (杂交瘤1A3.3.13) 或HB-11895 (杂交瘤5D5.11.6)

[1020] National Defense Medical Center,Taiwan:Lu RM.,et al Biomaterials.2011 Apr;32 (12):3265-74。

[1021] Novartis:US20090175860

[1022] -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。

[1023] Pharmacia Corporation:US20040166544

[1024] Pierre Fabre:US20110239316、US20110097262、US20100115639

[1025] 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。

[1026] Samsung:US 20110104176-例如由登录号为KCLRF-BP-00220的杂交瘤细胞产生的抗体。

[1027] University of Turin Medical School:DN-30 Pacchiana G.,et al J Biol Chem.2010 Nov 12;285 (46):36149-57

[1028] Van Andel Research Institute:Jiao Y.,et al Mol Biotechnol.2005 Sep;31 (1):41-54。

[1029] (43) MUC1 (粘蛋白1 (Mucin 1),细胞表面相关的)

[1030] 核苷酸

[1031] Genbank登录号J05581

[1032] Genbank版本号J05581.1 GI:188869

[1033] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:48 AM

[1034] 多肽

[1035] Genbank登录号AAA59876

[1036] Genbank版本号AAA59876.1 GI:188870

[1037] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:48 AM

[1038] 参考文献

[1039] Gendler S.J.,et al J.Biol.Chem.265 (25),15286-15293 (1990)

[1040] 其它信息

- [1041] 官方符号:MUC1
- [1042] 其它别名:RP11-263K19.2,CD227,EMA,H23AG,KL-6,MAM6,MUC-1,MUC-1/SEC,MUC-1/X,MUC1/ZD,PEM,PENT,PUM
- [1043] 其它名称: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
- [1044] 抗体
- [1045] 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。
- [1046] AltaRex-Quest Pharma Tech:US7,147,850
- [1047] CRT:5E5-Sørensen AL.,et al Glycobiology vol.16 no.2 pp.96-107,2006; HMFG2-Burchell J.,et al Cancer Res.,47,5476-5482(1987)
- [1048] Glycotope GT-MAB:GT-MAB 2.5-GEX(网站:<http://www.glycotope.com/pipeline/pankomab-gex>)
- [1049] Immunogen:US7,202,346
- [1050] -例如,抗体MJ-170:杂交瘤细胞系MJ-170 ATCC登录号PTA-5286单克隆抗体MJ-171:杂交瘤细胞系MJ-171 ATCC登录号PTA-5287;单克隆抗体MJ-172:杂交瘤细胞系MJ-172 ATCC登录号PTA-5288;或单克隆抗体MJ-173:杂交瘤细胞系MJ-173 ATCC登录号PTA-5302
- [1051] Immunomedics:US 6,653,104
- [1052] Ramot Tel Aviv Uni:US7,897,351
- [1053] Regents Uni.CA:US 7,183,388;US20040005647;US20030077676。
- [1054] Roche GlycArt:US8,021,856
- [1055] Russian National Cancer Research Center:Imuteran-Ivanov PK.,et al Biotechnol J.2007 Jul;2(7):863-70
- [1056] Technische Univ Braunschweig:(IIB6,HT186-B7,HT186-D11,HT186-G2,HT200-3A-C1,HT220-M-D1,HT220-M-G8)-Thie H.,et al PLoS One.2011 Jan 14;6(1):e15921
- [1057] (44) CA9(碳酸酐酶IX(carbonic anhydrase IX))
- [1058] 核苷酸
- [1059] Genbank登录号.X66839
- [1060] Genbank版本号X66839.1 GI:1000701
- [1061] Genbank记录更新日期:Feb 2,2011 10:15 AM
- [1062] 多肽
- [1063] Genbank登录号CAA47315
- [1064] Genbank版本号CAA47315.1 GI:1000702
- [1065] Genbank记录更新日期:Feb 2,2011 10:15 AM
- [1066] 参考文献
- [1067] Pastorek J.,et al Oncogene 9(10),2877-2888(1994)
- [1068] 其它信息
- [1069] 官方符号:CA9

- [1070] 其它别名:CAIX,MN
- [1071] 其它名称: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
- [1072] 抗体
- [1073] Abgenix/Amgen:US20040018198
- [1074] Affibody:抗CAIX亲和体 (affibody) 分子
- [1075] (<http://www.affibody.com/en/Product-Portfolio/Pipeline/>)
- [1076] Bayer:US7,462,696
- [1077] Bayer/Morphosys:3ee9 mAb-Petrul HM.,et al Mol Cancer Ther.2012Feb;11(2):340-9
- [1078] Harvard Medical School:抗体G10、G36、G37、G39、G45、G57、G106、G119、G6、G27、G40和G125.Xu C.,et al PLoS One.2010 Mar 10;5(3):e9625
- [1079] Institute of Virology,Slovak Academy of Sciences (Bayer)-US5,955,075
- [1080] -例如,M75-ATCC登录号HB 11128或MN12-ATCC登录号HB 11647
- [1081] Institute of Virology,Slovak Academy of Sciences:US7,816,493
- [1082] -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Universeit Gent in Gent,比利时,登录号为LMBP 6009CB。
- [1083] Institute of Virology,Slovak Academy of Sciences:US20080177046;US20080176310;US20080176258;US20050031623
- [1084] Novartis:US20090252738
- [1085] Wilex:US7,691,375-例如由杂交瘤细胞系DSM ASC 2526产生的抗体。
- [1086] Wilex:US20110123537;Rencarex:Kennett RH.,et al Curr Opin Mol Ther.2003 Feb;5(1):70-5
- [1087] Xencor:US20090162382
- [1088] (45) EGFRvIII (表皮生长因子受体 (EGFR), 转录变体3,
- [1089] 核苷酸
- [1090] Genbank登录号NM_201283
- [1091] Genbank版本号NM_201283.1 GI:41327733
- [1092] Genbank记录更新日期:Sep 30,2012 01:47 PM
- [1093] 多肽
- [1094] Genbank登录号NP_958440
- [1095] Genbank版本号NP_958440.1 GI:41327734
- [1096] Genbank记录更新日期:Sep 30,2012 01:47 PM
- [1097] 参考文献
- [1098] Batra SK.,et al Cell Growth Differ 1995;6:1251-1259。
- [1099] 抗体:

[1100] US7,628,986和US7,736,644 (Amgen)

[1101] 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。

[1102] US20100111979 (Amgen)

[1103] 例如,一种抗体,该抗体包含重链氨基酸序列,其包含:

[1104] 由序列组成的CDR1,上述序列选自由抗体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CDR1区的氨基酸序列组成的组;

[1105] 由序列组成的CDR2,上述序列选自由抗体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CDR2区的氨基酸序列组成的组;以及

[1106] 由序列组成的CDR3,上述序列选自由抗体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CDR3区的氨基酸序列组成的组。

[1107] US20090240038 (Amgen)

[1108] 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。

[1109] US20090175887 (Amgen)

[1110] 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。

[1111] US20090156790 (Amgen)

[1112] 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。

[1113] US20090155282、US20050059087和US20050053608 (Amgen)

[1114] 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。

[1115] MR1-1 (US7,129,332;Duke)

[1116] 例如,变体抗体,其具有SEQ ID NO.18的序列,其中具有取代,在CDR3 VH中的S98P-T99Y,以及在CDR3 VL中的F92W。

[1117] L8A4,H10,Y10 (Wikstrand CJ.,et al Cancer Res.1995 Jul 15;55(14):3140-

8;Duke)

[1118] US20090311803 (Harvard University)

[1119] 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

[1120] US20070274991 (EMD72000,还被称为马妥珠单抗;Harvard University)

[1121] 例如,分别用于轻链和重链的SEQ ID NO:3和9

[1122] US6,129,915 (Schering)

[1123] 例如,SEQ.ID NO:1、2、3、4、5和6。

[1124] mAb CH12-Wang H.,et al FASEB J.2012 Jan;26(1):73-80(上海肿瘤研究所)。

[1125] RAbDMvIII-Gupta P.,et al BMC Biotechnol.2010 Oct 7;10:72 (Stanford University Medical Center)。

[1126] mAb Ua30-Ohman L.,et al Tumour Biol.2002 Mar-Apr;23(2):61-9 (Uppsala University)。

[1127] Han DG.,et al Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.2010 Jan;30(1):25-9(西安交通大学)。

[1128] (46) CD33 (CD33分子)

[1129] 核苷酸

[1130] Genbank登录号M_23197

[1131] Genbank版本号NM_23197.1 GI:180097

[1132] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:47 AM

[1133] 多肽

[1134] Genbank登录号AAA51948

[1135] Genbank版本号AAA51948.1 GI:188098

[1136] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:47 AM

[1137] 参考文献

[1138] Simmons D.,et al J.Immunol.141(8),2797-2800(1988)

[1139] 其它信息

[1140] 官方符号:CD33

[1141] 其它别名:SIGLEC-3,SIGLEC3,p67

[1142] 其它名称: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

[1143] 抗体

[1144] H195(林妥珠单抗(Lintuzumab))-Raza A.,et al Leuk Lymphoma.2009 Aug;50(8):1336-44;US6,759,045(Seattle Genetics/Immunomedics)

[1145] mAb OKT9:Sutherland,D.R.et al.Proc Natl Acad Sci USA 78(7):4515-45191981,Schneider,C.,et al J Biol Chem 257,8516-8522(1982)

[1146] mAb E6:Hoogenboom,H.R.,et al J Immunol 144,3211-3217(1990)

[1147] US6,590,088(人类基因组科学(Human Genome Sciences))

[1148] 例如,SEQ ID NO:1和2以及ATCC登录号97521

- [1149] US7,557,189 (Immunogen)
- [1150] 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。
- [1151] (47) CD19 (CD19分子)
- [1152] 核苷酸
- [1153] Genbank登录号NM_001178098
- [1154] Genbank版本号NM_001178098.1 GI:296010920
- [1155] Genbank记录更新日期:Sep 10,2012 12:43 AM
- [1156] 多肽
- [1157] Genbank登录号NP_001171569
- [1158] Genbank版本号NP_001171569.1 GI:296010921
- [1159] Genbank记录更新日期:Sep 10,2012 12:43 AM
- [1160] 参考文献
- [1161] Tedder TF.,et al J.Immunol.143 (2):712-7 (1989)
- [1162] 其它信息
- [1163] 官方符号:CD19
- [1164] 其它别名:B4,CVID3
- [1165] 其它名称: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
- [1166] 抗体
- [1167] Immunogen:HuB4-Al-Katib AM.,et al Clin Cancer Res.2009 Jun 15;15(12):4038-45。
- [1168] 4G7:Kügler M.,et al Protein Eng Des Sel.2009 Mar;22(3):135-47
- [1169] 例如,在Knappik,A.et al.J Mol Biol 2000 Feb;296(1):57-86的图3中的序列
- [1170] AstraZeneca/MedImmune:MEDI-551-Herbst R.,et al J Pharmacol Exp Ther.2010 Oct;335(1):213-22
- [1171] Glenmark Pharmaceuticals:GBR-401-Hou S.,et al Mol Cancer Ther November 2011 10(会议摘要补充)C164
- [1172] US7,109,304 (Immunomedics)
- [1173] 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
- [1174] US7,902,338 (Immunomedics)
- [1175] 例如,抗体或其抗原结合片段,其包含SEQ ID NO:16的轻链互补决定区CDR序列CDR1 (KASQSVDDYDGDSYLN);SEQ ID NO:17的CDR2 (DASNLVS);以及SEQ ID NO:18的CDR3 (QQSTEDPWT),以及SEQ ID NO:19的重链CDR序列CDR1 (SYWMN);SEQ ID NO:20的CDR2 (QIWPGDGDTNYNGKFKG) 和SEQ ID NO:21的CDR3 (RETTTVGRYYYAMDY),并且还包含人抗体架构(FR) 和恒定区序列,其中一个或多个构架区氨基酸残基自亲本鼠抗体的相应的构架区序列所取代,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。

- [1176] Medarex:MDX-1342-Cardarelli PM.,et al Cancer Immunol Immunother.2010 Feb;59 (2) :257-65。
- [1177] MorphoSys/Xencor:MOR-208/XmAb-5574-Zalevsky J.,et al Blood.2009 Apr 16;113 (16) :3735-43
- [1178] US7,968,687 (Seattle Genetics)
- [1179] 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。
- [1180] 4G7 chim-Lang P.,et al Blood.2004 May 15;103 (10) :3982-5 (University of Tübingen)
- [1181] 例如,US20120082664的图6和SEQ ID No:80
- [1182] 浙江大学医学院:2E8-Zhang J.,et al J Drug Target.2010 Nov;18 (9) :675-8
- [1183] (48) IL2RA (白细胞介素2受体, α);NCBI参考序列:NM_000417.2);
- [1184] 核苷酸
- [1185] Genbank登录号NM_000417
- [1186] Genbank版本号NM_000417.2 GI:269973860
- [1187] Genbank记录更新日期:Sep 09,2012 04:59 PM
- [1188] 多肽
- [1189] Genbank登录号NP_000408
- [1190] Genbank版本号NP_000408.1 GI:4557667
- [1191] Genbank记录更新日期:Sep 09,2012 04:59 PM
- [1192] 参考文献
- [1193] Kuziel W.A.,et al J.Invest.Dermatol.94 (6 SUPPL) ,27S-32S (1990)
- [1194] 其它信息
- [1195] 官方符号:IL2RA
- [1196] 其它别名:RP11-536K7.1,CD25,IT2A,IL2R,TCR
- [1197] 其它名称: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
- [1198] 抗体
- [1199] US6,383,487 (Novartis/UCL:Baxilisimab[舒莱 (Simulect)])
- [1200] US6,521,230 (Novartis/UCL:Baxilisimab[舒莱])
- [1201] 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)。
- [1202] 达克珠单抗 (Daclizumab)-Rech AJ.,et al Ann N Y Acad Sci.2009 Sep;1174: 99-106 (Roche)
- [1203] (49) AXL (AXL受体酪氨酸激酶)
- [1204] 核苷酸
- [1205] Genbank登录号M76125

- [1206] Genbank版本号M76125.1 GI:292869
- [1207] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:53 AM
- [1208] 多肽
- [1209] Genbank登录号AAA61243
- [1210] Genbank版本号AAA61243.1 GI:29870
- [1211] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:53 AM
- [1212] 参考文献
- [1213] O'Bryan J.P.,et al Mol.Cell.Biol.11 (10) ,5016-5031 (1991);Bergsagel P.L.,et al J.Immunol.148 (2) ,590-596 (1992)
- [1214] 其它信息
- [1215] 官方符号:AXL
- [1216] 其它别名:JTK11,UFO
- [1217] 其它名称: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
- [1218] 抗体
- [1219] YW327.6S2-Ye X.,et al Oncogene.2010 Sep 23;29 (38) :5254-64。(Genentech)
- [1220] BergenBio:BGB324 (<http://www.bergenbio.com/BGB324>)
- [1221] (50) CD30-TNFRSF8 (肿瘤坏死因子受体超家族,成员8)
- [1222] 核苷酸
- [1223] Genbank登录号M83554
- [1224] Genbank版本号M83554.1 GI:180095
- [1225] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:53 AM
- [1226] 多肽
- [1227] Genbank登录号AAA51947
- [1228] Genbank版本号AAA51947.1 GI:180096
- [1229] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:53 AM
- [1230] 参考文献
- [1231] Durkop H.,et al Cell 68 (3) ,421-427 (1992)
- [1232] 其它信息
- [1233] 官方符号:TNFRSF8
- [1234] 其它别名:CD30,D1S166E,Ki-1
- [1235] 其它名称: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
- [1236] (51) BCMA (B细胞成熟抗原)-TNFRSF17 (肿瘤坏死因子受体超家族,成员17)
- [1237] 核苷酸
- [1238] Genbank登录号Z29574
- [1239] Genbank版本号Z29574.1 GI:471244
- [1240] Genbank记录更新日期:Feb 02,2011 10:40 AM
- [1241] 多肽
- [1242] Genbank登录号CAA82690

- [1243] Genbank版本号CAA82690.1 GI:471245
- [1244] Genbank记录更新日期:Feb 02,2011 10:40 AM
- [1245] 参考文献
- [1246] Laabi Y.,et al Nucleic Acids Res.22 (7) ,1147-1154(1994)
- [1247] 其它信息
- [1248] 官方符号:TNFRSF17
- [1249] 其它别名:BCM,BCMA,CD269
- [1250] 其它名称: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
- [1251] (52) CT Ags-CTA(睾丸癌抗原(Cancer Testis Antigen))
- [1252] 参考文献
- [1253] Fratta E.,et al.Mol Oncol.2011 Apr;5 (2) :164-82;Lim SH.,at al Am J Blood Res.2012;2 (1) :29-35。
- [1254] (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)
- [1255] 核苷酸
- [1256] Genbank登录号NM000149
- [1257] Genbank版本号NM000149.3 GI:148277008
- [1258] Genbank记录更新日期:Jun 26,2012 04:49 PM
- [1259] 多肽
- [1260] Genbank登录号NP_000140
- [1261] Genbank版本号NP_000140.1 GI:4503809
- [1262] Genbank记录更新日期:Jun 26,2012 04:49 PM
- [1263] 参考文献
- [1264] Kukowska-Latallo,J.F.,et al Genes Dev.4 (8) ,1288-1303(1990)
- [1265] 其它信息
- [1266] 官方符号:FUT3
- [1267] 其它别名:CD174,FT3B,FucT-III,LE,Les
- [1268] 其它名称: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
- [1269] (54) CLEC14A(C型凝集素域家族14,成员A;Genbank登录号NM175060)
- [1270] 核苷酸
- [1271] Genbank登录号NM175060
- [1272] Genbank版本号NM175060.2 GI:371123930
- [1273] Genbank记录更新日期:Apr 01,2012 03:34 PM
- [1274] 多肽
- [1275] Genbank登录号NP_778230
- [1276] Genbank版本号NP_778230.1 GI:28269707
- [1277] Genbank记录更新日期:Apr 01,2012 03:34 PM

- [1278] 其它信息
- [1279] 官方符号:CLEC14A
- [1280] 其它别名:UNQ236/PRO269,C14orf27,CEG1,EGFR-5
- [1281] 其它名称:C型凝集素域家族14成员A;含C1ECT和EGF样域蛋白质;表皮生长因子受体5
- [1282] (55) GRP78-HSPA5 (热休克70kDa蛋白5 (葡萄糖调节蛋白,78kDa)
- [1283] 核苷酸
- [1284] Genbank登录号NM005347
- [1285] Genbank版本号NM005347.4 GI:305855105
- [1286] Genbank记录更新日期:Sep 30,2012 01:42 PM
- [1287] 多肽
- [1288] Genbank登录号NP_005338
- [1289] Genbank版本号NP_005338.1 GI:16507237
- [1290] Genbank记录更新日期:Sep 30,2012 01:42 PM
- [1291] 参考文献
- [1292] Ting J.,et al DNA 7 (4) ,275-286 (1988)
- [1293] 其它信息
- [1294] 官方符号:HSPA5
- [1295] 其它别名:BIP,GRP78,MIF2
- [1296] 其它名称: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
- [1297] (56) CD70 (CD70分子) L08096
- [1298] 核苷酸
- [1299] Genbank登录号L08096
- [1300] Genbank版本号L08096.1 GI:307127
- [1301] Genbank记录更新日期:Jun 23,2012 08:54 AM
- [1302] 多肽
- [1303] Genbank登录号AAA36175
- [1304] Genbank版本号AAA36175.1 GI:307128
- [1305] Genbank记录更新日期:Jun 23,2012 08:54 AM
- [1306] 参考文献
- [1307] Goodwin R.G.,et al Cell 73 (3) ,447-456 (1993)
- [1308] 其它信息
- [1309] 官方符号:CD70
- [1310] 其它别名:CD27L,CD27LG,TNFSF7
- [1311] 其它名称: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
- [1312] 抗体
- [1313] MDX-1411,针对CD70 (Medarex)

- [1314] h1F6(OfIazoglu,E.,et al,Clin Cancer Res.2008 Oct 1;14(19):6171-80; Seattle Genetics)
- [1315] 例如,参见US20060083736 SEQ ID NO:1、2、11和12以及图1。
- [1316] (57) 干细胞特异性抗原。例如:
- [1317] ●5T4(见以下条目(63))
- [1318] ●CD25(见以下条目(48))
- [1319] ●CD32
- [1320] ○多肽
- [1321] ■Genbank登录号ABK42161
- [1322] ■Genbank版本号ABK42161.1 GI:117616286
- [1323] ■Genbank记录更新日期:Jul 25,2007 03:00 PM
- [1324] ●LGR5/GPR49
- [1325] ○核苷酸
- [1326] ■Genbank登录号NM_003667
- [1327] ■Genbank版本号NM_003667.2 GI:24475886
- [1328] ■Genbank记录更新日期:Jul 22,2012 03:38 PM
- [1329] ○多肽
- [1330] ■Genbank登录号NP_003658
- [1331] ■Genbank版本号NP_003658.1 GI:4504379
- [1332] ■Genbank记录更新日期:Jul 22,2012 03:38 PM
- [1333] ●Prominin/CD133
- [1334] ○核苷酸
- [1335] ■Genbank登录号NM_006017
- [1336] ■Genbank版本号NM_006017.2 GI:224994187
- [1337] ■Genbank记录更新日期:Sep 30,2012 01:47 PM
- [1338] ○多肽
- [1339] ■Genbank登录号NP_006008
- [1340] ■Genbank版本号NP_006008.1 GI:5174387
- [1341] ■Genbank记录更新日期:Sep 30,2012 01:47 PM
- [1342] (58) ASG-5
- [1343] 参考文献
- [1344] (Smith L.M.,et.al AACR 2010 Annual Meeting(摘要#2590);Gudas J.M., et.al.AACR 2010 Annual Meeting(摘要#4393)
- [1345] 抗体
- [1346] 抗AGS-5抗体;M6.131(Smith,L.M.,et.al AACR 2010 Annual Meeting(摘要#2590))
- [1347] (59) ENPP3(外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶3)
- [1348] 核苷酸
- [1349] Genbank登录号AF005632

- [1350] Genbank版本号AF005632.2 GI:4432589
- [1351] Genbank记录更新日期:Mar 10,2010 09:41 PM
- [1352] 多肽
- [1353] Genbank登录号AAC51813
- [1354] Genbank版本号AAC51813.1 GI:2465540
- [1355] Genbank记录更新日期:Mar 10,2010 09:41 PM
- [1356] 参考文献
- [1357] Jin-Hua P.,et al Genomics 45 (2) ,412-415 (1997)
- [1358] 其它信息
- [1359] 官方符号:ENPP3
- [1360] 其它别名:RP5-988G15.3,B10,CD203c,NPP3,PD-IBETA,PDNP3
- [1361] 其它名称: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
- [1362] (60) PRR4 (富含脯氨酸4 (泪腺的))
- [1363] 核苷酸
- [1364] Genbank登录号NM_007244
- [1365] Genbank版本号NM_007244.2 GI:154448885
- [1366] Genbank记录更新日期:Jun 28,2012 12:39 PM
- [1367] 多肽
- [1368] Genbank登录号NP_009175
- [1369] Genbank版本号NP_009175.2 GI:154448886
- [1370] Genbank记录更新日期:Jun 28,2012 12:39 PM
- [1371] 参考文献
- [1372] Dickinson D.P.,et al Invest.Ophthalmol.Vis.Sci.36 (10) ,2020-2031 (1995)
- [1373] 其它信息
- [1374] 官方符号:PRR4
- [1375] 其它别名:LPRP,PROL4
- [1376] 其它名称: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
- [1377] (61) GCC-GUCY2C (鸟苷酸环化酶2C (热稳定肠毒素受体))
- [1378] 核苷酸
- [1379] Genbank登录号NM_004963
- [1380] Genbank版本号NM_004963.3 GI:222080082
- [1381] Genbank记录更新日期:Sep 02,2012 01:50 PM
- [1382] 多肽
- [1383] Genbank登录号NP_004954
- [1384] Genbank版本号NP_004954.2 GI:222080083
- [1385] Genbank记录更新日期:Sep 02,2012 01:50 PM

[1386] 参考文献

[1387] De Sauvage F.J., et al J.Biol.Chem.266 (27),17912-17918 (1991);Singh S., et al Biochem.Biophys.Res.Comm.179 (3),1455-1463 (1991)

[1388] 其它信息

[1389] 官方符号:GUCY2C

[1390] 其它别名:DIAR6,GUC2C,MUCIL,STAR

[1391] 其它名称:GC-C;STA受体;鸟苷酸环化酶C(guanylyl cyclase C);hSTAR;热稳定肠毒素受体;肠鸟苷酸环化酶

[1392] (62) Liv-1-SLC39A6 (溶质载体家族39 (锌转运体),成员6)

[1393] 核苷酸

[1394] Genbank登录号U41060

[1395] Genbank版本号U41060.2 GI:12711792

[1396] Genbank记录更新日期:Nov 30,2009 04:35 PM

[1397] 多肽

[1398] Genbank登录号AAA96258

[1399] Genbank版本号AAA96258.2 GI:12711793

[1400] Genbank记录更新日期:Nov 30,2009 04:35 PM

[1401] 参考文献

[1402] Taylor KM., et al Biochim Biophys Acta.2003 Apr 1;1611(1-2):16-30

[1403] 其它信息

[1404] 官方符号:SLC39A6

[1405] 其它别名:LIV-1

[1406] 其它名称: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(金属离子转运体),成员6;溶质载体家族39成员6;锌转运体ZIP6;zrt-和Irt-样蛋白6

[1407] (63) 5T4,滋养层糖蛋白,TPBG-TPBG(滋养层糖蛋白)

[1408] 核苷酸

[1409] Genbank登录号AJ012159

[1410] Genbank版本号AJ012159.1 GI:3805946

[1411] Genbank记录更新日期:Feb 01,2011 10:27 AM

[1412] 多肽

[1413] Genbank登录号CAA09930

[1414] Genbank版本号CAA09930.1 GI:3805947

[1415] Genbank记录更新日期:Feb 01,2011 10:27 AM

[1416] 参考文献

[1417] King K.W., et al Biochim.Biophys.Acta 1445 (3),257-270 (1999)

[1418] 其它信息

[1419] 官方符号:TPBG

[1420] 其它别名:5T4,5T4AG,M6P1

[1421] 其它名称:5T4癌胚抗原;5T4癌胚滋养层糖蛋白;5T4肿瘤滋养层糖蛋白

- [1422] (64) CD56-NCAM1 (神经细胞粘附分子1)
- [1423] 核苷酸
- [1424] Genbank登录号NM_000615
- [1425] Genbank版本号NM_000615.6 GI:336285433
- [1426] Genbank记录更新日期:Sep 23,2012 02:32 PM
- [1427] 多肽
- [1428] Genbank登录号NP_000606
- [1429] Genbank版本号NP_000606.3 GI:94420689
- [1430] Genbank记录更新日期:Sep 23,2012 02:32 PM
- [1431] 参考文献
- [1432] Dickson,G.,et al,Cell 50 (7) ,1119-1130 (1987)
- [1433] 其它信息
- [1434] 官方符号:NCAM1
- [1435] 其它别名:CD56,MSK39,NCAM
- [1436] 其它名称:由单克隆抗体5.1H11识别的抗原;神经细胞粘附分子,NCAM
- [1437] 抗体
- [1438] Immunogen:HuN901 (Smith SV.,et al Curr Opin Mol Ther.2005 Aug;7 (4) :394-401)
- [1439] 例如,参见由鼠N901抗体的人源化。参见Roguska,M.A.,et al.Proc Natl Acad Sci USA Feb 1994;91:969-973的图1b和1e。
- [1440] (65) CanAg (肿瘤相关抗原CA242)
- [1441] 参考文献
- [1442] Haglund C.,et al Br J Cancer 60:845-851,1989;Baeckstrom D.,et al J Biol Chem 266:21537-21547,1991
- [1443] 抗体
- [1444] huC242 (Tolcher AW et al.,J Clin Oncol.2003 Jan 15;21 (2) :211-22; Immunogen)
- [1445] 例如,参见US20080138898A1 SEQ ID NO:1和2
- [1446] (66) FOLR1 (叶酸(叶酸盐,folate)受体1)
- [1447] 核苷酸
- [1448] Genbank登录号J05013
- [1449] Genbank版本号J05013.1 GI:182417
- [1450] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:47 AM
- [1451] 多肽
- [1452] Genbank登录号AAA35823
- [1453] Genbank版本号AAA35823.1 GI:182418
- [1454] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:47 AM
- [1455] 参考文献
- [1456] Elwood P.C.,et al J.Biol.Chem.264 (25) ,14893-14901 (1989)

- [1457] 其它信息
- [1458] 官方符号:FOLR1
- [1459] 其它别名:FBP,FOLR
- [1460] 其它名称:FR- α ;KB细胞FBP;成年叶酸结合蛋白;叶酸结合蛋白;叶酸受体 α ;叶酸(叶酸盐,folate)受体,成年;卵巢肿瘤相关抗原M0v18
- [1461] 抗体
- [1462] M9346A-Whiteman KR.,et al Cancer Res April 15,2012;72(8 Supplement):4628(Immunogen)
- [1463] (67) GPNMB(糖蛋白(跨膜)nmb)
- [1464] 核苷酸
- [1465] Genbank登录号X76534
- [1466] Genbank版本号X76534.1 GI:666042
- [1467] Genbank记录更新日期:Feb 02,2011 10:10 AM
- [1468] 多肽
- [1469] Genbank登录号CAA54044
- [1470] Genbank版本号CAA54044.1 GI:666043
- [1471] Genbank记录更新日期:Feb 02,2011 10:10 AM
- [1472] 参考文献
- [1473] Weterman M.A.,et al Int.J.Cancer 60(1),73-81(1995)
- [1474] 其它信息
- [1475] 官方符号:GPNMB
- [1476] 其它别名:UNQ1725/PRO9925,HGFIN,NMB
- [1477] 其它名称: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
- [1478] 抗体
- [1479] Celldex Therapeutics:CR011(Tse KF.,et al Clin Cancer Res.2006 Feb 15;12(4):1373-82)
- [1480] 例如,参见EP1827492B1 SEQ ID NO:22、24、26、31、33和35
- [1481] (68) TIM-1-HAVCR1(甲型肝炎病毒细胞受体1)
- [1482] 核苷酸
- [1483] Genbank登录号AF043724
- [1484] Genbank版本号AF043724.1 GI:2827453
- [1485] Genbank记录更新日期:Mar 10,2010 06:24 PM
- [1486] 多肽
- [1487] Genbank登录号AAC39862
- [1488] Genbank版本号AAC39862.1 GI:2827454
- [1489] Genbank记录更新日期:Mar 10,2010 06:24 PM
- [1490] 参考文献
- [1491] Feigelstock D.,et al J.Virol.72(8),6621-6628(1998)

- [1492] 其它信息
- [1493] 官方符号:HAVCR1
- [1494] 其它别名:HAVCR,HAVCR-1,KIM-1,KIM1,TIM,TIM-1,TIM1,TIMD-1,TIMD1
- [1495] 其它名称: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
- [1496] (69)RG-1/前列腺肿瘤靶Mindin-Mindin/RG-1
- [1497] 参考文献
- [1498] Parry R.,et al Cancer Res.2005 Sep 15;65(18):8397-405
- [1499] (70)B7-H4-VTCN1(包含T细胞活化抑制剂的V-set域1(V-set domain containing T cell activation inhibitor 1))
- [1500] 核苷酸
- [1501] Genbank登录号BX648021
- [1502] Genbank版本号BX648021.1 GI:34367180
- [1503] Genbank记录更新日期:Feb 02,2011 08:40 AM
- [1504] 参考文献
- [1505] Sica GL.,et al Immunity.2003 Jun;18(6):849-61
- [1506] 其它信息
- [1507] 官方符号:VTCN1
- [1508] 其它别名:RP11-229A19.4,B7-H4,B7H4,B7S1,B7X,B7h.5,PR01291,VCTN1
- [1509] 其它名称: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
- [1510] (71)PTK7(PTK7蛋白酪氨酸激酶7)
- [1511] 核苷酸
- [1512] Genbank登录号AF447176
- [1513] Genbank版本号AF447176.1 GI:17432420
- [1514] Genbank记录更新日期:Nov 28,2008 01:51 PM
- [1515] 多肽
- [1516] Genbank登录号AAL39062
- [1517] Genbank版本号AAL39062.1 GI:17432421
- [1518] Genbank记录更新日期:Nov 28,2008 01:51 PM
- [1519] 参考文献
- [1520] Park S.K.,et al J.Biochem.119(2),235-239(1996)
- [1521] 其它信息
- [1522] 官方符号:PTK7
- [1523] 其它别名:CCK-4,CCK4
- [1524] 其它名称: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
- [1525] (72)CD37(CD37分子)
- [1526] 核苷酸
- [1527] Genbank登录号NM_001040031

- [1528] Genbank版本号NM_001040031.1 GI:91807109
- [1529] Genbank记录更新日期:Jul 29,2012 02:08 PM
- [1530] 多肽
- [1531] Genbank登录号NP_001035120
- [1532] Genbank版本号NP_001035120.1 GI:91807110
- [1533] Genbank记录更新日期:Jul 29,2012 02:08 PM
- [1534] 参考文献
- [1535] Schwartz-Albiez R.,et al J.Immunol.140 (3) ,905-914 (1988)
- [1536] 其它信息
- [1537] 官方符号:CD37
- [1538] 其它别名:GP52-40,TSPAN26
- [1539] 其它名称:CD37抗原;细胞分化抗原37;白细胞抗原CD37;白细胞表面抗原CD37;四旋蛋白-26 (tetraspanin-26) ;tspan-26
- [1540] 抗体
- [1541] Boehringer Ingelheim:mAb 37.1 (Heider KH.,et al Blood.2011 Oct 13;118 (15) :4159-68)
- [1542] Trubion:CD37-SMIP (G28-1 scFv-Ig) ((Zhao X.,et al Blood.2007;110:2569-2577)
- [1543] 例如,参见US20110171208A1 SEQ ID NO:253
- [1544] Immunogen:K7153A (Deckert J.,et al Cancer Res April 15,2012;72 (8增补) :4625)
- [1545] (73) CD138-SDC1 (多配体聚糖1 (syndecan 1))
- [1546] 核苷酸
- [1547] Genbank登录号AJ551176
- [1548] Genbank版本号AJ551176.1 GI:29243141
- [1549] Genbank记录更新日期:Feb 01,2011 12:09 PM
- [1550] 多肽
- [1551] Genbank登录号CAD80245
- [1552] Genbank版本号CAD80245.1 GI:29243142
- [1553] Genbank记录更新日期:Feb 01,2011 12:09 PM
- [1554] 参考文献
- [1555] O'Connell FP.,et al Am J Clin Pathol.2004 Feb;121 (2) :254-63
- [1556] 其它信息
- [1557] 官方符号:SDC1
- [1558] 其它别名:CD138、SDC、SYND1、多配体聚糖
- [1559] 其它名称: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
- [1560] 抗体
- [1561] Biotest:嵌合MAb (nBT062) - (Jagannath S.,et al Poster ASH#3060,2010;WIPO

专利申请WO/2010/128087)

[1562] 例如,参见US20090232810 SEQ ID NO:1和2

[1563] Immunogen:B-B4 (Tassone P.,et al Blood 104_3688-3696)

[1564] 例如,参见US20090175863A1 SEQ ID NO:1和2

[1565] (74) CD74 (CD74分子,主要组织相容性复合物,II类不变链)

[1566] 核苷酸

[1567] Genbank登录号NM_004355

[1568] Genbank版本号NM_004355.1 GI:343403784

[1569] Genbank记录更新日期:Sep 23,2012 02:30 PM

[1570] 多肽

[1571] Genbank登录号NP_004346

[1572] Genbank版本号NP_004346.1 GI:10835071

[1573] Genbank记录更新日期:Sep 23,2012 02:30 PM

[1574] 参考文献

[1575] Kudo,J.,et al Nucleic Acids Res.13 (24) ,8827-8841 (1985)

[1576] 其它信息

[1577] 官方符号:CD74

[1578] 其它别名:DHLA G,HLA D G,II,Ia-GAMMA

[1579] 其它名称: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

[1580] 抗体

[1581] Immunomedics:hLL1 (Milatuzumab,)-Berkova Z.,et al Expert Opin Investig Drugs.2010 Jan;19 (1) :141-9)

[1582] 例如,参见US20040115193 SEQ ID NO:19、20、21、22、23和24

[1583] Genmab:HuMax-CD74 (参见网站)

[1584] (75) Claudins (紧密连接蛋白)-CLs (Claudins)

[1585] 参考文献

[1586] Offner S.,et al Cancer Immunol Immunother.2005 May;54 (5) :431-45, Suzuki H.,et al Ann N Y Acad Sci.2012 Jul;1258:65-70)

[1587] 在人类中,已经描述了家族的24种成员-见参考文献。

[1588] (76) EGFR (表皮生长因子受体)

[1589] 核苷酸

[1590] Genbank登录号NM_005228

[1591] Genbank版本号NM_005228.3 GI:41927737

[1592] Genbank记录更新日期:Sep 30,2012 01:47 PM

[1593] 多肽

[1594] Genbank登录号NP_005219

[1595] Genbank版本号NP_005219.2 GI:29725609

- [1596] Genbank记录更新日期:Sep 30,2012 01:47 PM
- [1597] 参考文献
- [1598] Dhomen NS.,et al Crit Rev Oncog.2012;17(1):31-50
- [1599] 其它信息
- [1600] 官方符号:EGFR
- [1601] 其它别名:ERBB,ERBB1,HER1,PIG61,mENA
- [1602] 其它名称:禽成红细胞白血病毒(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
- [1603] 抗体
- [1604] BMS:Cetuximab(Erbix)-Broadbridge VT.,et al Expert Rev Anticancer Ther.2012 May;12(5):555-65。
- [1605] 例如,见US6217866-ATTC保藏号9764。
- [1606] Amgen:帕尼单抗(Panitumumab)(Vectibix)-Argiles G.,et al Future Oncol.2012 Apr;8(4):373-89
- [1607] 例如,见US6235883 SEQ ID NO:23-38。
- [1608] Genmab:扎妥木单抗(Zalutumumab)-Rivera F.,et al Expert Opin Biol Ther.2009 May;9(5):667-74。
- [1609] YM Biosciences:尼妥珠单抗(Nimotuzumab)-Ramakrishnan MS.,et al MAbs.2009 Jan-Feb;1(1):41-8。
- [1610] 例如,见US5891996 SEQ ID NO:27-34。
- [1611] (77)Her3(ErbB3)-ERBB3(v-erb-b2成红细胞白血病毒癌基因同系物3(禽))
- [1612] 核苷酸
- [1613] Genbank登录号M34309
- [1614] Genbank版本号M34309.1 GI:183990
- [1615] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:47 PM
- [1616] 多肽
- [1617] Genbank登录号AAA35979
- [1618] Genbank版本号AAA35979.1 GI:306841
- [1619] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:47 PM
- [1620] 参考文献
- [1621] Plowman,G.D.,et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.87(13),4905-4909(1990)
- [1622] 其它信息
- [1623] 官方符号:ERBB3
- [1624] 其它别名:ErbB-3,HER3,LCCS2,MDA-BF-1,c-erbB-3,c-erbB3,erbB3-S,p180-ErbB3,p45-sErbB3,p85-sErbB3
- [1625] 其它名称: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
- [1626] 抗体
- [1627] Merimack Pharma:MM-121(Schoeberl B.,et al Cancer Res.2010 Mar 15;70

(6):2485-2494)

[1628] 例如,见US2011028129 SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7和8。

[1629] (78) RON-MST1R (巨噬细胞刺激1受体 (c-met相关酪氨酸激酶))

[1630] 核苷酸

[1631] Genbank登录号X70040

[1632] Genbank版本号X70040.1 GI:36109

[1633] Genbank记录更新日期:Feb 02,2011 10:17 PM

[1634] 多肽

[1635] Genbank登录号CCA49634

[1636] Genbank版本号CCA49634.1 GI:36110

[1637] Genbank记录更新日期:Feb 02,2011 10:17 PM

[1638] 参考文献

[1639] Ronsin C.,et al Oncogene 8 (5),1195-1202 (1993)

[1640] 其它信息

[1641] 官方符号:MST1R

[1642] 其它别名:CD136,CDw136,PTK8,RON

[1643] 其它名称: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

[1644] (79) EPHA2 (EPH受体A2)

[1645] 核苷酸

[1646] Genbank登录号BC037166

[1647] Genbank版本号BC037166.2 GI:33879863

[1648] Genbank记录更新日期:Mar 06,2012 01:59 PM

[1649] 多肽

[1650] Genbank登录号AAH37166

[1651] Genbank版本号AAH37166.1 GI:22713539

[1652] Genbank记录更新日期:Mar 06,2012 01:59 PM

[1653] 参考文献

[1654] Strausberg R.L.,et al Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.99 (26),16899-16903 (2002)

[1655] 其它信息

[1656] 官方符号:EPHA2

[1657] 其它别名:ARCC2,CTPA,CTPP1,ECK

[1658] 其它名称: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

[1659] 抗体

[1660] Medimmune:1C1 (Lee JW.,et al Clin Cancer Res.2010 May 1;16 (9):2562-2570)

- [1661] 例如,见US20090304721A1的图7和8。
- [1662] (80) CD20-MS4A1 (跨膜4域,亚家族A,成员1)
- [1663] 核苷酸
- [1664] Genbank登录号M27394
- [1665] Genbank版本号M27394.1 GI:179307
- [1666] Genbank记录更新日期:Nov 30,2009 11:16 AM
- [1667] 多肽
- [1668] Genbank登录号AAA35581
- [1669] Genbank版本号AAA35581.1 GI:179308
- [1670] Genbank记录更新日期:Nov 30,2009 11:16 AM
- [1671] 参考文献
- [1672] Tedder T.F.,et al Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.85 (1) ,208-212 (1988)
- [1673] 其它信息
- [1674] 官方符号:MS4A1
- [1675] 其它别名:B1,Bp35,CD20,CVID5,LEU-16,MS4A2,S7
- [1676] 其它名称: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
- [1677] 抗体
- [1678] Genentech/Roche:利妥昔单抗-Abdulla NE.,et al BioDrugs.2012 Apr 1;26 (2) :71-82。
- [1679] 例如,见US5736137,ATCC保藏号为HB-69119。
- [1680] GSK/Genmab:Ofatumumab-Nightingale G.,et al Ann Pharmacother.2011 Oct; 45 (10) :1248-55。
- [1681] 例如,见US20090169550A1 SEQ ID NO:2、4和5。
- [1682] Immunomedics:Veltuzumab-Goldenberg DM.,et al Leuk Lymphoma.2010 May; 51 (5) :747-55。
- [1683] 例如,见US7919273B2 SEQ ID NO:1、2、3、4、5和6。
- [1684] (81) 腱生蛋白C (肌腱蛋白C,Tenascin C) -TNC (腱生蛋白C)
- [1685] 核苷酸
- [1686] Genbank登录号NM_002160
- [1687] Genbank版本号NM_002160.3 GI:340745336
- [1688] Genbank记录更新日期:Sep 23,2012 02:33 PM
- [1689] 多肽
- [1690] Genbank登录号NP_002151
- [1691] Genbank版本号NP_002151.2 GI:153946395
- [1692] Genbank记录更新日期:Sep 23,2012 02:33 PM
- [1693] 参考文献
- [1694] Nies D.E.,et al J.Biol.Chem.266 (5) ,2818-2823 (1991);Siri A.,et al Nucleic Acids Res.19 (3) ,525-531 (1991)

- [1695] 其它信息
- [1696] 官方符号:TNC
- [1697] 其它别名:150-225,GMEM,GP,HXB,JI,TN,TN-C
- [1698] 其它名称:GP 150-225;生腱蛋白(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
- [1699] 抗体
- [1700] Philogen:G11(von Lukowicz T.,et al J Nucl Med.2007 Apr;48(4):582-7) 和 F16(Pedretti M.,et al Lung Cancer.2009 Apr;64(1):28-33)
- [1701] 例如,见US7968685 SEQ ID NO:29、35、45和47。
- [1702] (82)FAP(成纤维细胞活化蛋白, α)
- [1703] 核苷酸
- [1704] Genbank登录号U09278
- [1705] Genbank版本号U09278.1 GI:1888315
- [1706] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 09:22 AM
- [1707] 多肽
- [1708] Genbank登录号AAB49652
- [1709] Genbank版本号AAB49652.1 GI:1888316
- [1710] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 09:22 AM
- [1711] 参考文献
- [1712] Scanlan,M.J.,et al Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.91(12),5657-5661(1994)
- [1713] 其它信息
- [1714] 官方符号:FAP
- [1715] 其它别名:DPPIV,FAPA
- [1716] 其它名称: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)
- [1717] (83)DKK-1(Dickkopf 1同系物(光滑爪蟾(Xenopus laevis)))
- [1718] 核苷酸
- [1719] Genbank登录号NM_012242
- [1720] Genbank版本号NM_012242.2 GI:61676924
- [1721] Genbank记录更新日期:Sep 30,2012 01:48 PM
- [1722] 多肽
- [1723] Genbank登录号NP_036374
- [1724] Genbank版本号NP_036374.1 GI:7110719
- [1725] Genbank记录更新日期:Sep 30,2012 01:48 PM
- [1726] 参考文献
- [1727] Fedi P.et al J.Biol.Chem.274(27),19465-19472(1999)
- [1728] 其它信息
- [1729] 官方符号:DKK1

- [1730] 其它别名:UNQ492/PRO1008,DKK-1,SK
- [1731] 其它名称:dickkopf相关蛋白-1;dickkopf-1样;dickkopf样蛋白1;dickkopf相关蛋白1;hDkk-1
- [1732] 抗体
- [1733] Novartis:BHQ880 (Fulciniti M.,et al Blood.2009 Jul 9;114(2):371-379)
- [1734] 例如,见US20120052070A1 SEQ ID NO:100和108。
- [1735] (84) CD52 (CD52分子)
- [1736] 核苷酸
- [1737] Genbank登录号NM_001803
- [1738] Genbank版本号NM_001803.2 GI:68342029
- [1739] Genbank记录更新日期:Sep 30,2012 01:48 PM
- [1740] 多肽
- [1741] Genbank登录号NP_001794
- [1742] Genbank版本号NP_001794.2 GI:68342030
- [1743] Genbank记录更新日期:Sep 30,2012 01:48 PM
- [1744] 参考文献
- [1745] Xia M.Q.,et al Eur.J.Immunol.21(7),1677-1684(1991)
- [1746] 其它信息
- [1747] 官方符号:CD52
- [1748] 其它别名:CDW52
- [1749] 其它名称: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 (cambridge pathology 1 antigen);附睾分泌蛋白E5;he5;人附睾特异蛋白5
- [1750] 抗体
- [1751] 阿仑单抗 (Campath)-Skoetz N.,et al Cochrane Database Syst Rev.2012Feb 15;2:CD008078。
- [1752] 例如,见Drugbank登录号DB00087 (BIOD00109,BTD00109)
- [1753] (85) CS1-SLAMF7 (SLAM家族成员7)
- [1754] 核苷酸
- [1755] Genbank登录号NM_021181
- [1756] Genbank版本号NM_021181.3 GI:1993571
- [1757] Genbank记录更新日期:Jun 29,2012 11:24 AM
- [1758] 多肽
- [1759] Genbank登录号NP_067004
- [1760] Genbank版本号NP_067004.3 GI:19923572
- [1761] Genbank记录更新日期:Jun 29,2012 11:24 AM
- [1762] 参考文献
- [1763] Boles K.S.,et al Immunogenetics 52(3-4),302-307(2001)
- [1764] 其它信息

- [1765] 官方符号:SLAMF7
- [1766] 其它别名:UNQ576/PRO1138,19A,CD319,CRACC,CS1
- [1767] 其它名称:19A24蛋白;CD2子集(subset)1;CD2样受体激活细胞毒性细胞;CD2样受体激活细胞毒性细胞;膜蛋白FOAP-12;新LY9(淋巴细胞抗原9)样蛋白;蛋白19A
- [1768] 抗体
- [1769] BMS:elotuzumab/HuLuc63(Benson DM.,et al J Clin Oncol.2012 Jun 1;30(16):2013-2015)
- [1770] 例如,见US20110206701 SEQ ID NO:9、10、11、12、13、14、15和16。
- [1771] (86) 内皮糖蛋白(Endoglin)-ENG(内皮糖蛋白)
- [1772] 核苷酸
- [1773] Genbank登录号AF035753
- [1774] Genbank版本号AF035753.1 GI:3452260
- [1775] Genbank记录更新日期:Mar 10,2010 06:36 PM
- [1776] 多肽
- [1777] Genbank登录号AAC32802
- [1778] Genbank版本号AAC32802.1 GI:3452261
- [1779] Genbank记录更新日期:Mar 10,2010 06:36 PM
- [1780] 参考文献
- [1781] Rius C.,et al Blood 92(12),4677-4690(1998)
- [1782] 官方符号:ENG
- [1783] 其它信息
- [1784] 其它别名:RP11-228B15.2,CD105,END,HHT1,ORW,ORW1
- [1785] 其它名称:CD105抗原
- [1786] (87) 膜联蛋白A1(Annexin A1)-ANXA1(膜联蛋白A1)
- [1787] 核苷酸
- [1788] Genbank登录号X05908
- [1789] Genbank版本号X05908.1 GI:34387
- [1790] Genbank记录更新日期:Feb 02,2011 10:02 AM
- [1791] 多肽
- [1792] Genbank登录号CCA29338
- [1793] Genbank版本号CCA29338.1 GI:34388
- [1794] Genbank记录更新日期:Feb 02,2011 10:02 AM
- [1795] 参考文献
- [1796] Wallner B.P.,et al Nature 320(6057),77-81(1986)
- [1797] 其它信息
- [1798] 官方符号:ANXA1
- [1799] 其它别名:RP11-71A24.1,ANX1,LPC1
- [1800] 其它名称: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

- [1801] (88) V-CAM (CD106) -VCAM1 (血管细胞粘附分子1)
- [1802] 核苷酸
- [1803] Genbank登录号M60335
- [1804] Genbank版本号M60335.1 GI:340193
- [1805] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:56 AM
- [1806] 多肽
- [1807] Genbank登录号AAA61269
- [1808] Genbank版本号AAA61269.1 GI:340194
- [1809] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:56 AM
- [1810] 参考文献
- [1811] Hession C., et al J.Biol.Chem.266 (11),6682-6685 (1991)
- [1812] 其它信息
- [1813] 官方符号VCAM1
- [1814] 其它别名:CD106, INCAM-100
- [1815] 其它名称:CD106抗原;血管细胞粘附蛋白1
- [1816] 抗体序列
- [1817] 抗整联蛋白 $\alpha v\beta 6$
- [1818] RHAB6.2
- [1819] QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGFAFTDSYMHWRQAPGQGLEWMGWIDPENGDEYAPKFQGRFV
FSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCTRGTPTAVPNLRGDLQVLAQKVAGPYPFQDYWGQGTLVTVSS
- [1820] RHCB6.2
- [1821] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFIDSYMHWRQAPGQRLEWMGWIDPENGDEYAPKFQGRVT
ITTDTSASTAYMELSSLRSED TAVYYCARGTPTAVPNLRGDLQVLAQKVAGPYPFQDYWGQGTLVTVSS
- [1822] RHF
- [1823] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNFIDSYMHWRQAPGQRLEWMGWIDPENGDEYAPKFQGRVT
FTTDTSASTAYMELSSLRSED TAVYYCNEGTP TGPYYFDYWGQGTLVTVSS
- [1824] RHFB6
- [1825] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNFIDSYMHWRQAPGQRLEWMGWIDPENGDEYAPKFQGRVT
FTTDTSASTAYMELSSLRSED TAVYYCNEGTP TAVPNLRGDLQVLAQKVAGPYPFQDYWGQGTLVTVSS
- [1826] RHAY100bP
- [1827] QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGFAFTDSYMHWRQAPGQGLEWMGWIDPENGDEYAPKFQGRFV
FSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCTRGTPTGPYPFDYWGQGTLVTVSS
- [1828] RKF
- [1829] ENVLTQSPGTLSPGERATLSCSASSSVSYMHWFQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPDRFSGSGSGTD
FTLTISRLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK
- [1830] RKFL36L50
- [1831] ENVLTQSPGTLSPGERATLSCSASSSVSYMHWLQKPGQAPRLLIYLTSNLASGIPDRFSGSGSGTD
FTLTISRLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK
- [1832] RKC

- [1833] EIVLTQSPGTLSPGERATLSCSASSSVSYMHWFQQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPDRFSGSGSGTD
FTLTISRLEPEDFAVYYCQQRSSYPFTFGGGTKVEIK
- [1834] 抗CD33
- [1835] CD33 Hum195 VH
- [1836] QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYFTDYNMHWVRQAPGQGLEWIGYIYPYNGGTGYNQKFKSKAT
ITADESTNTAYMELSSLRSEDYAVYYCARGRPAMDYWGQGTLVTVSS
- [1837] CD33 Hum195 VK
- [1838] DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASESDNYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGSVPSRFSGS
GSGTDFLTITSSLQPDFAVYYCQQSKEVPWTFGGGTKVEIK
- [1839] 抗CD19
- [1840] CD19 B4重铺的 (resurfaced) VH
- [1841] QVQLVQPGAEEVVKPGASVKLSCKTSGYFTSNMHWVKQRPQGQLEWIGIDPSDSYTNYNQNFKGKAK
LTVDKSTSTAYMEVSSLRSDDTAVYYCARGSNPYYYAMDYWGQGTSTVTVSS
- [1842] CD19 B4重铺的VK
- [1843] EIVLTQSPAISASPGERVMTCSASSGVNYMHWFQQKPGTSPRRWIYDTSKLASGVPARFSGSGSGTS
YSLTISSMEPEDAATYYCHQGRSYTFGGGTKLEIK
- [1844] 抗Her2
- [1845] 赫赛汀VH链
- [1846] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFT
ISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS
- [1847] 赫赛汀VL链
- [1848] DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFVPSRFSGSRSGT
DFTLTITSSLQPEDFATYYCQQHYTTPFTFGGGTKVEIK
- [1849] 抗CD25
- [1850] 舒莱 (Simulect) VK (还被称为巴利昔单抗 (Basiliximab))
- [1851] QIVSTQSPAISASPGKVTMTCSASSRSYMQWYQQKPGTSPKRWIYDTSKLASGVPARFSGSGSGTS
YSLTISSMEAEDAATYYCHQQRSSYTFGGGTKLEIK
- [1852] 舒莱VH
- [1853] QLQQSGTVLARPGASVKMSCKASGYSFTRYWMHWIKQRPQGQLEWIGAIYPGNSDTSYNQKFEGKAKLT
AVTSASTAYMELSSLTHEDSAVYYCSRDYGYFFDFWGQGTLLTVSS
- [1854] 抗PSMA
- [1855] 去免疫VH '1
- [1856] EVQLVQSGPEVKKPGATVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQAPGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDKAT
LTVDKSTDTAYMELSSLRSEDYAVYYCAAGWNFDYWGQGTLLTVSS
- [1857] 去免疫VK '1
- [1858] DIQMTQSPSSLSTSVGRVTLTCKASQDVGTAVDWYQQKPGSPKLLIYWASTRHTGIPSRFSGSGSGT
DFTLTITSSLQPEDFADYYCQQYNSYPLTFGPGTKVDIK
- [1859] 去免疫VH1 '5
- [1860] EVKLVESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFTFSNYWMNWRQAPGKGLEWVAEIRSQSNFATHYAESVKGR

VTISRDDSKSIVYLQMNRLAEDTGVIYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS

[1861] 去免疫VH2 '5

[1862] EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCVASGFTFSNYWMNWRQAPGKGLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR

VTISRDDSKSIVYLQMNRLAEDTAVIYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS

[1863] 去免疫VH3 '5

[1864] EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCVASGFTFSNYWMNWRQAPGKGLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR

VTISRDDSKSIVYLQMNRLAEDTAVIYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS

[1865] 去免疫VH4 '5

[1866] EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCVASGFTFSNYWMNWRQAPGKGLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR

FTISRDDSKSIVYLQMNRLAEDTAVIYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS

[1867] 去免疫VK1 '5

[1868] NIVMTQFPSSMSASVGDRVTITCKASENVGTYSWYQQKPDQSPKMLIYGASNRFTGVPDRFTGSGSAT

DFTLTISLQTEDLADYYCGQSYTFPYTFGQGTKLEMK

[1869] 去免疫VK2 '5

[1870] NIVMTQFPSSMSASVGDRVTITCKASENVGTYSWYQQKPDQSPKMLIYGASNRFTGVPDRFSGSGSGT

DFTLTISLQAEDLADYYCGQSYTFPYTFGQGTKLEIK

[1871] 去免疫VK3 '5

[1872] NIQMTQFPSAMSASVGDRVTITCKASENVGTYSWYQQKPDQSPKMLIYGASNRFTGVPDRFSGSGSGT

DFTLTISLQAEDLADYYCGQSYTFPYTFGQGTKLEIK

[1873] 去免疫VK4 '5

[1874] NIQMTQFPSAMSASVGDRVTITCKASENVGTYSWYQQKPDQSPKMLIYGASNRFTGVPDRFSGSGSGT

DFTLTISLQAEDLADYYCGQSYTFPYTFGQGTKLEIK

[1875] 去免疫VK DI '5

[1876] NIVMTQFPKMSASAGERMTLTCKASENVGTYSWYQQKPTQSPKMLIYGASNRFTGVPDRFSGSGSGT

DFILTISVQAEDLVDYYCGQSYTFPYTFGGGTKLEMK

[1877] 去免疫VH DI '5

[1878] EVKLEESGGGLVQPGGSMKISCVASGFTFSNYWMNWRQSPEKGLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR

VIIISRDDSKSSVYLQMNRLAEDTAVIYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS

[1879] 人源化RHA '5

[1880] EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSNYWMNWRQASGKGLEWVGEIRSQSNNFATHYAESVKGR

FTISRDDSKNTAYLQMNRLKTEDTAVIYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS

[1881] 人源化RHB '5

[1882] EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSNYWMNWRQASGKGLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR

VIIISRDDSKNTVYLQMNRLRTEDTAVIYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS

[1883] 人源化RHC '5

[1884] EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSNYWMNWRQASGKGLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR

VIIISRDDSKNTVYLQMNRLRTEDTAVIYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS

[1885] 人源化RHD '5

[1886] EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSNYWMNWRQASGKGLEWVGEIRSQSNNFATHYAESVKGR

VIISRDDSKNTVYLQMNSLRTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS

[1887] 人源化RHE '5

[1888] EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSNYWMNWRQASGKGLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR
FTISRDDSKNTVYLQMNSLRTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS

[1889] 人源化RHF '5

[1890] EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSNYWMNWRQASGKGLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR
VIISRDDSKNTAYLQMNSLRTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS

[1891] 人源化RHG '5

[1892] EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSNYWMNWRQASGKGLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR
VIISRDDSKNTAYLQMNSLRTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS

[1893] 人源化RKA '5

[1894] DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCKASENVGTYSWYQQKPGTAPKLLIYGASNRFTGVPSRFSGSGSAT
DFTLTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

[1895] 人源化RKB '5

[1896] DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCKASENVGTYSWYQQKPGTAPKLLIYGASNRFTGVPSRFSGSGSAT
DFTLTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

[1897] 人源化RKC '5

[1898] DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCKASENVGTYSWYQQKPGTAPKMLIYGASNRFTGVPSRFSGSGSAT
DFTLTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

[1899] 人源化RKD '5

[1900] DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCKASENVGTYSWYQQKPGTAPKMLIYGASNRFTGVPSRFSGSGSAT
DFTLTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

[1901] 人源化RKE '5

[1902] NIVMTQSPSSVSASVGDRVTITCKASENVGTYSWYQQKPGTAPKLLIYGASNRFTGVDPDRFTGSGSAT
DFILTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

[1903] 人源化RKF '5

[1904] NIVMTQSPSSVSASVGDRVTITCKASENVGTYSWYQQKPGTAPKMLIYGASNRFTGVPSRFSGSGSAT
DFILTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

[1905] 人源化RKG '5

[1906] NIVMTQSPSSVSASVGDRVTITCKASENVGTYSWYQQKPGTAPKMLIYGASNRFTGVDPDRFTGSGSAT
DFTLTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

[1907] 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 et al. (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 et al (2002) J Biol Chem.277:35035-35043,表III和IV,35038页;(ii) US 2004/0001827,在[0076]段;以及(iii) WO 01/45746,12-13页,所有上述均以引用方式结合于本文。

[1908] 在一种实施方式中,抗体已经被激发(raise)为针对肿瘤相关抗原 $\alpha_v\beta_6$ 具有靶特异性。

[1909] 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结合物或作为结合物的一部分的试剂。标记可以是生物素标记。在另一种实施方式中,可以用放射性同位素来标记细胞结合剂。

[1910] 本发明的实施方式包括ConjA,其中细胞结合剂选自相对于上面讨论的任何抗原的抗体。

[1911] 本发明的实施方式包括ConjB,其中细胞结合剂选自相对于上面讨论的任何抗原的抗体。

[1912] 本发明的实施方式包括ConjA,其中细胞结合剂选自上面讨论的任何抗体。

[1913] 本发明的实施方式包括ConjB,其中细胞结合剂选自上面讨论的任何抗体。

[1914] 本发明还可以涉及结合物,其中细胞结合剂选自相对于上面讨论的任何抗原的抗体以及上面讨论的连接于不同药物的任何抗体。

[1915] 药物负载

[1916] 药物负载是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。结合物的成分包括细胞结合剂的集合,例如抗体,其结合于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。结合物的成分包括细胞结合剂的集合,例如抗体,其结合于1至80、1至40、1至20、1至10或1至8个药物。

[1917] 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结合反应的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 et al (2004) Clin.Cancer Res.10:7063-7070;Sanderson et al (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-药物结合物的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与具有其它药物负载的ADC的分离、纯化、和表征。这样的技术也适用于其它类型的结合物。

[1918] 对于一些抗体-药物结合物,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-药物结合物的聚集、不溶性、毒性、或细胞通透性损失。

[1919] 通常,在结合反应期间,将小于理论最大值的药物部分结合于抗体。抗体可以包含,例如,许多赖氨酸残基,其并不与药物-接头中间体(D-L)或接头试剂反应。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可以与巯基-反应性接头试剂反应。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自由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-接头中间体(D-L)或接头试剂相对于抗体的摩尔过量,(ii)限制结合反应时间或温度,以及(iii)用于半胱氨酸巯基修饰的部分或限制还原条件。

[1920] 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结合具有反应性。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(2-iminothiolane)(特劳特试剂)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(巯基)。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改造抗体。

[1921] 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,et al.,2008b Nature Biotech.,26(8):925-932;Dornan et al (2009)Blood 114(13):2721-2729;US 7521541;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(cysteine-engineered antibody)和PBD药物部分形成ADC。因此可以设计、控制、和知晓药物部分的位置。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。借助于结合产物ADC的几乎均匀性,可以实现接近2的药物负载。

[1922] 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。

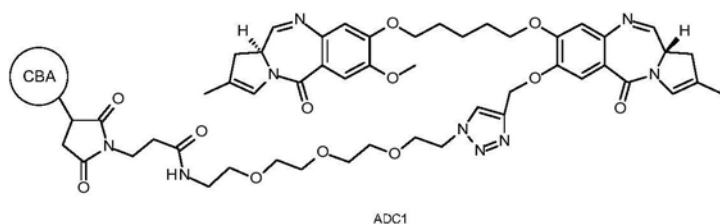
[1923] 因此,本发明的抗体-药物结合物组合物包括抗体-药物结合物化合物的混合物,其中抗体具有一个或多个PBD药物部分以及其中药物部分可以在不同的氨基酸残基处连接于抗体。

[1924] 在一种实施方式中,二聚体吡咯并苯并二氮杂萘基团/细胞结合剂的平均数范围为1至20。在一些实施方式中,该范围选自1至8、2至8、2至6、2至4、以及4至8。

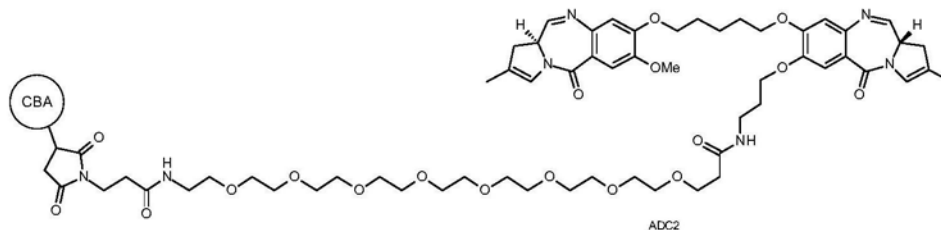
[1925] 在一些实施方式中,存在一个二聚体吡咯并苯并二氮杂萘基团/细胞结合剂。

[1926] 优选的化合物

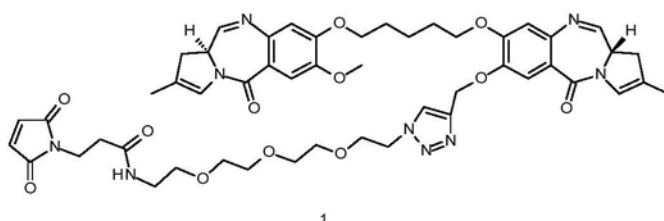
[1927] 本发明的第二方面的特别优选的化合物包括:



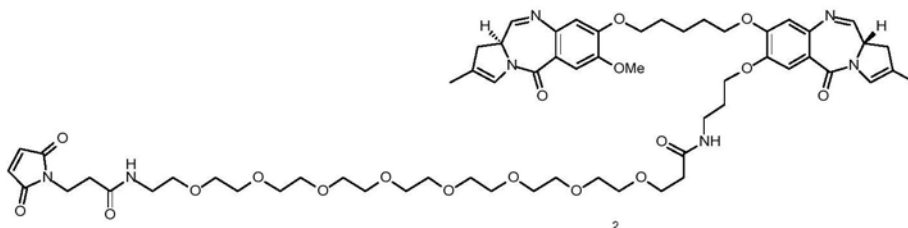
[1928]



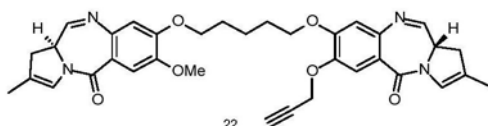
[1929] 本发明的第二方面的特别优选的化合物包括：



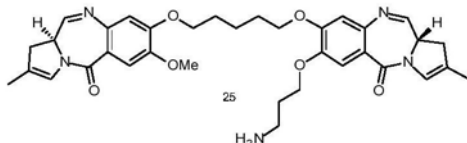
[1930]



[1931] 本发明的第三方面的特别优选的化合物包括：



[1932]



[1933] 取代基

[1934] 如在本文中使用的,短语“可选取代的”涉及母体基团 (parent group),其可以是未取代的或其可以是取代的。

[1935] 除非另有规定,如在本文中使用的,术语“取代的”涉及母体基团,其带有一个或多个取代基。术语“取代基”在本文中在常规意义上使用并且是指化学部分,其共价连接于,或者如果合适的话,稠合于母体基团。各种各样的取代基是众所周知的,以及它们的形成和引入各种母体基团的方法也是众所周知的。

[1936] 在一种优选实施方式中,本文描述的取代基(其包括可选的取代基)限于那些基团,其对于细胞结合剂没有反应性。在目前的情况下,与细胞结合剂的连接形成自在两个

PBD部分之间的桥并通过与细胞结合剂的接头基团。位于PBD结构的其它部分的反应性官能团可以能够形成与细胞结合剂的另外的键(这可以被称为交联)。这些另外的键可能改变结合物的输送和生物活性。因此,在一些实施方式中,这些另外的取代基限于缺乏反应性官能团的那些。

[1937] 在一种实施方式中,取代基选自由R、OR、SR、NRR'、NO₂、卤基、CO₂R、COR、CONH₂、CONHR、和CONRR'组成的组。

[1938] 在一种实施方式中,取代基选自由R、OR、SR、NRR'、NO₂、CO₂R、COR、CONH₂、CONHR、和CONRR'组成的组。

[1939] 在一种实施方式中,取代基选自由R、OR、SR、NRR'、NO₂、和卤基组成的组。

[1940] 在一种实施方式中,取代基选自由R、OR、SR、NRR'、和NO₂组成的组。

[1941] 上文提到的任何一种实施方式可以应用于本文描述的任何一种取代基。可替换地,取代基可以选自以下所列基团的一种或多种。

[1942] 下文更详细描述取代基的实例。

[1943] C₁₋₁₂烷基:如在本文中使用的,术语“C₁₋₁₂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除去氢原子所获得的单价部分,其可以是脂族或脂环族的,并且其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”包括子类烯基、炔基、环烷基等(以下讨论)。

[1944] 饱和烷基的实例包括但不限于甲基(C₁)、乙基(C₂)、丙基(C₃)、丁基(C₄)、戊基(C₅)、己基(C₆)和庚基(C₇)。

[1945] 饱和线性烷基的实例包括但不限于甲基(C₁)、乙基(C₂)、正丙基(C₃)、正丁基(C₄)、正戊基(戊基)(C₅)、正己基(C₆)和正庚基(C₇)。

[1946] 饱和支链烷基的实例包括异丙基(C₃)、异丁基(C₄)、仲丁基(C₄)、叔丁基(C₄)、异戊基(C₅)、和新戊基(C₅)。

[1947] 烷基可以可选地由一个或多个杂原子所中断,上述杂原子选自O、N(H)和S。这样的基团可被称为“杂烷基”。

[1948] C₂₋₁₂杂烷基:如在本文中使用的,术语“C₂₋₁₂杂烷基”涉及从烃化合物的碳原子除去氢原子所获得的单价部分,其中上述烃化合物具有2至12个碳原子,以及一个或多个杂原子,其选自O、N(H)和S,优选O和S。

[1949] 杂烷基的实例包括但不限于那些杂烷基,其包含类型-(OCH₂CH₂)-的一个或多个乙二醇单元。杂烷基的末端可以是杂原子的伯形式,例如-OH、-SH或-NH₂。在一种优选实施方式中,末端是-CH₃。

[1950] C₂₋₁₂烯基:如在本文中使用的,术语“C₂₋₁₂烯基”涉及具有一个或多个碳-碳双键的烷基。

[1951] 不饱和烯基的实例包括但不限于乙烯基(-CH=CH₂)、1-丙烯基(-CH=CH-CH₃)、2-丙烯基(烯丙基,-CH-CH=CH₂)、异丙烯基(1-甲基乙烯基,-C(CH₃)=CH₂)、丁烯基(C₄)、戊烯基(C₅)、和己烯基(C₆)。

[1952] C₂₋₁₂炔基:如在本文中使用的,术语“C₂₋₁₂炔基”涉及具有一个或多个碳-碳三键的烷基。

[1953] 不饱和炔基的实例包括但不限于乙炔基(-C≡CH)和2-丙炔基(炔丙基,-CH₂-C≡

CH)。

[1954] C₃₋₁₂环烷基:如在本文中使用的,术语“C₃₋₁₂环烷基”涉及也是环基的烷基;即,通过从环烃(碳环)化合物的脂环族环原子除去氢原子所获得的单价部分,该部分具有3至7个碳原子,包括3至7个环原子。

[1955] 环烷基的实例包括但不限于那些环烷基,其源自:

[1956] 饱和的单环烃化合物:

[1957] 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)和甲基环己烷(C₇);

[1958] 不饱和的单环烃化合物:

[1959] 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)和甲基环己烯(C₇);以及

[1960] 饱和的多环烃化合物:

[1961] 降莰烷(norcarane)(C₇)、降蒎烷(norpinane)(C₇)、降冰片烷(norbornane)(C₇)。

[1962] C₃₋₂₀杂环基:如在本文中使用的,术语“C₃₋₂₀杂环基”涉及通过从杂环化合物的环原子除去氢原子所获得的单价部分,该部分具有3至20个环原子,其中1至10个是环杂原子。优选地,每个环具有3至7个环原子,其中1至4个是环杂原子。

[1963] 在这种情况下,前缀(例如C₃₋₂₀、C₃₋₇、C₅₋₆等)表示环原子的数目、或环原子的数目范围,而不管是碳原子还是杂原子。例如,如在本文中使用的,术语“C₅₋₆杂环基”涉及具有5或6个环原子的杂环基。

[1964] 单环杂环基的实例包括但不限于那些单环杂环基,其源自:

[1965] N₁:氮丙啶(aziridine)(C₃)、氮杂环丁烷(azetidine)(C₄)、吡咯烷(四氢化吡咯)(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,异噁唑(isoazole))(C₅)、哌啶(C₆)、二氢吡啶(C₆)、四氢吡啶(C₆)、氮杂(azepine)(C₇);

[1966] O₁:环氧乙烷(oxirane)(C₃)、氧杂环丁烷(oxetane)(C₄)、氧戊环(oxolane)(四氢呋喃)(C₅)、氧杂环戊二烯(oxole)(二氢呋喃)(C₅)、氧丙环(oxane)(四氢吡喃)(C₆)、二氢吡喃(C₆)、吡喃(C₆)、氧杂环庚三烯(oxepin)(C₇);

[1967] S₁:硫杂丙环(thiirane)(C₃)、硫杂环丁烷(thietane)(C₄)、四氢噻吩(thiolane)(四氢噻吩)(C₅)、噻烷(thiane)(四氢噻喃(tetrahydrothiopyran))(C₆)、thiepane(thiepane)(C₇);

[1968] O₂:二氧戊环(dioxolane)(C₅)、二氧杂环己烷(dioxane)(C₆)、和dioxepane(C₇);

[1969] O₃:三氧杂环己烷(trioxane)(C₆);

[1970] N₂:咪唑烷(imidazolidine)(C₅)、吡唑烷(二偶氮烷(diazolidine))(C₅)、咪唑啉(C₅)、吡唑啉(二氢吡唑)(C₅)、哌嗪(C₆);

[1971] 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);

[1972] N₁S₁:噻唑啉(C₅)、噻唑烷(C₅)、硫代吗啉(C₆);

[1973] N₂O₁:噁二嗪(C₆);

[1974] O_1S_1 : 噁噻唑 (oxathiole) (C_5) 和氧硫杂环己烷 (oxathiane) (噻噁烷 (thioxane)) (C_6); 以及

[1975] $N_1O_1S_1$: 噁噻嗪 (C_6)。

[1976] 取代的单环杂环基的实例包括那些取代的单环杂环基, 其源自环形式的糖类, 例如, 呋喃糖 (C_5), 如阿拉伯呋喃糖、来苏呋喃糖、呋喃核糖、和呋喃木糖 (xylofuranse), 以及吡喃糖 (C_6), 如别吡喃糖 (allopentopyranose)、阿卓吡喃糖 (altropentopyranose)、吡喃葡萄糖、吡喃甘露糖、古洛吡喃糖 (gulopentopyranose)、艾杜吡喃糖 (idopentopyranose)、吡喃半乳糖、和塔罗吡喃糖 (talopentopyranose)。

[1977] C_{5-20} 芳基: 如在本文中所使用的, 术语“ C_{5-20} 芳基”涉及到通过从芳族化合物的芳环原子去除氢原子所获得的单价部分, 该部分具有3至20个环原子。优选地, 每个环具有5至7个环原子。在这种情况下, 前缀 (例如 C_{3-20} 、 C_{3-7} 、 C_{5-6} 等) 表示环原子的数目、或环原子的数目范围, 而不管是碳原子或杂原子。例如, 如在本文中所使用的, 术语“ C_{5-6} 杂环基”涉及具有5或6个环原子的杂环基。

[1978] 环原子可以都是碳原子, 如在“碳芳基”中。

[1979] 碳芳基的实例包括但不限于那些碳芳基, 其源自苯 (即苯基) (C_6)、萘 (C_{10})、甘菊环 (azulene) (C_{10})、蒽 (C_{14})、菲 (C_{14})、并四苯 (萘并萘, naphthacene) (C_{18})、和苝 (C_{16})。

[1980] 包含稠环 (其至少之一是芳环) 的芳基的实例包括但不限于这样的基团, 其源自茛满 (例如 2,3-二氢-1H-茛) (C_9)、茛 (C_9)、异茛 (C_9)、四氢化萘 (1,2,3,4-四氢萘 (C_{10}))、二氢茛 (acenaphthene) (C_{12})、苊 (C_{13})、菲烯 (phenalene) (C_{13})、醋菲 (acephenanthrene) (C_{15})、和醋蒽 (aceanthrene) (C_{16})。

[1981] 可替换地, 环原子可以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那些单环杂芳基, 其源自:

[1982] N_1 : 吡咯 (氮杂茂) (C_5)、吡啶 (吡嗪 (azine)) (C_6);

[1983] O_1 : 呋喃 (氧杂环戊二烯 (oxole)) (C_5);

[1984] S_1 : 噻吩 (硫醇 (thiole)) (C_5);

[1985] N_1O_1 : 噁唑 (C_5)、异噁唑 (C_5)、异噁嗪 (C_6);

[1986] N_2O_1 : 噁二唑 (呋咱) (C_5);

[1987] N_3O_1 : 噁三唑 (C_5);

[1988] N_1S_1 : 噻唑 (C_5)、异噻唑 (C_5);

[1989] 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);

[1990] N_3 : 三唑 (C_5)、三嗪 (C_6); 以及

[1991] N_4 : 四唑 (C_5)。

[1992] 包含稠环的杂芳基的实例包括但不限于:

[1993] C_9 (具有2个稠环), 源自苯并呋喃 (O_1)、异苯并呋喃 (O_1)、吲哚 (N_1)、异吲哚 (N_1)、中氮茛 (indolizine) (N_1)、二氢吲哚 (indoline) (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)、苯并二氧杂环戊二烯 (O_2)、苯并呋咱 (N_2O_1)、苯并三唑 (N_3)、苯并噻吩 (S_1)、苯并噻唑 (N_1S_1)、苯并噻二唑 (N_2S);

[1994] C_{10} (具有2个稠环), 源自色烯 (chromene) (O_1)、异色烯 (O_1)、苯并二氢吡喃

(chroman) (O₁)、异苯并二氢吡喃 (O₁)、苯并二氧杂环己烷 (O₂)、喹啉 (N₁)、异喹啉 (N₁)、喹啉 (N₁)、苯并噁嗪 (N₁O₁)、苯并二嗪 (N₂)、吡啶并吡啶 (N₂)、喹喔啉 (N₂)、喹唑啉 (N₂)、噌啉 (N₂)、二氮杂萘 (phthalazine) (N₂)、二氮杂萘 (naphthyridine) (N₂)、蝶啶 (N₄)；

[1995] C₁₁ (具有2个稠环)，源自苯并二氮杂萘 (N₂)；

[1996] C₁₃ (具有3个稠环)，源自咪唑 (N₁)、二苯并咪唑 (O₁)、二苯并噻吩 (S₁)、咪啉 (N₂)、萘嵌间二氮杂萘 (perimidine) (N₂)、吡啶并咪唑 (N₂)；以及

[1997] C₁₄ (具有3个稠环)，源自吡啶 (acridine) (N₁)、咕吨 (O₁)、噻吨 (S₁)、oxanthrene (O₂)、吩噻噁 (phenoxathiin) (O₁S₁)、吩嗪 (N₂)、吩噁嗪 (N₁O₁)、吩噻嗪 (N₁S₁)、噻蒾 (S₂)、菲啶 (N₁)、菲咯啉 (N₂)、吩嗪 (N₂)。

[1998] 上述基团，无论是单独地或另一取代基的一部分，可以本身可选地被一个或多个基团取代，上述基团选自本身和以下列出的另外的取代基。

[1999] 卤基：-F、-Cl、-Br、和-I。

[2000] 羟基：-OH。

[2001] 醚基：-OR，其中R是醚取代基，例如，C₁₋₇烷基 (还被称为C₁₋₇烷氧基，下文讨论的)、C₃₋₂₀杂环基 (还被称为C₃₋₂₀杂环氧基)、或C₅₋₂₀芳基 (还被称为C₅₋₂₀芳氧基)，优选C₁₋₇烷基。

[2002] 烷氧基：-OR，其中R是烷基，例如，C₁₋₇烷基。C₁₋₇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)、和-O (tBu) (叔丁氧基)。

[2003] 缩醛：-CH (OR¹) (OR²)，其中R¹和R²独立地是缩醛取代基，例如，C₁₋₇烷基、C₃₋₂₀杂环基、或C₅₋₂₀芳基，优选C₁₋₇烷基，或者，在“环状”缩醛基团的情况下，R¹和R²连同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)。

[2004] 半缩醛：-CH (OH) (OR¹)，其中R¹是半缩醛取代基，例如，C₁₋₇烷基、C₃₋₂₀杂环基、或C₅₋₂₀芳基，优选C₁₋₇烷基。半缩醛基团的实例包括但不限于-CH (OH) (OMe) 和-CH (OH) (OEt)。

[2005] 缩酮：-CR (OR¹) (OR²)，其中R¹和R²是如针对缩醛所定义，以及R是除氢以外的缩酮取代基，例如，C₁₋₇烷基、C₃₋₂₀杂环基、或C₅₋₂₀芳基，优选C₁₋₇烷基。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、和-C (Et) (OMe) (OEt)。

[2006] 半缩酮：-CR (OH) (OR¹)，其中R¹是如针对半缩醛所定义，以及R是除氢以外的半缩酮取代基，例如，C₁₋₇烷基、C₃₋₂₀杂环基、或C₅₋₂₀芳基，优选C₁₋₇烷基。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)、和-C (Et) (OH) (OEt)。

[2007] 氧基 (酮基、-酮)：=O。

[2008] 硫酮 (thione) (硫酮 (thioketone))：=S。

[2009] 亚氨基 (亚胺)：=NR，其中R是亚氨基取代基，例如，氢、C₁₋₇烷基、C₃₋₂₀杂环基、或C₅₋₂₀芳基，优选氢或C₁₋₇烷基。酯基的实例包括但不限于=NH、=NMe、=NEt、和=NPh。

[2010] 甲酰基 (甲醛 (carbaldehyde, carboxaldehyde))：-C (=O)H。

[2011] 酰基 (酮基)：-C (=O)R，其中R是酰基取代基，例如，C₁₋₇烷基 (还被称为C₁₋₇烷酰基 (C₁₋₇ alkylacyl) 或C₁₋₇烷酰基 (C₁₋₇ alkanoyl))、C₃₋₂₀杂环基 (还被称为C₃₋₂₀杂环酰基)、或C₅₋₂₀芳基 (还被称为C₅₋₂₀芳酰基)，优选C₁₋₇烷基。酰基的实例包括但不限于-C (=O)CH₃ (乙酰

基)、 $-\text{C}(=\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_3$ (丙酰基)、 $-\text{C}(=\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$ (叔丁酰基)、和 $-\text{C}(=\text{O})\text{Ph}$ (苯甲酰基, 苯酮)。

[2012] 羧基(羧酸): $-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ 。

[2013] 硫代羧基(硫代羧酸): $-\text{C}(=\text{S})\text{SH}$ 。

[2014] 巯基羧基(thiolo羧酸): $-\text{C}(=\text{O})\text{SH}$ 。

[2015] 硫羧基(硫羧酸): $-\text{C}(=\text{S})\text{OH}$ 。

[2016] 亚氨酸: $-\text{C}(=\text{NH})\text{OH}$ 。

[2017] 异羟肟酸: $-\text{C}(=\text{NOH})\text{OH}$ 。

[2018] 酯(羧酸酯(carboxylate), 羧酸酯(carboxylic acid ester), 氧基羰基): $-\text{C}(=\text{O})\text{OR}$, 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 $-\text{C}(=\text{O})\text{Oph}$ 。

[2019] 酰氧基(反向酯): $-\text{OC}(=\text{O})\text{R}$, 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 $-\text{OC}(=\text{O})\text{CH}_2\text{Ph}$ 。

[2020] 氧基羰氧基: $-\text{OC}(=\text{O})\text{OR}$, 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 $-\text{OC}(=\text{O})\text{Oph}$ 。

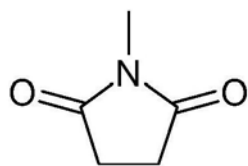
[2021] 氨基: $-\text{NR}^1\text{R}^2$, 其中 R^1 和 R^2 独立地是氨基取代基, 例如, 氢、 C_{1-7} 烷基(还被称为 C_{1-7} 烷基氨基或二 C_{1-7} 烷基氨基)、 C_{3-20} 杂环基、或 C_{5-20} 芳基, 优选H或 C_{1-7} 烷基, 或者, 在“环状”氨基的情况下, R^1 和 R^2 连同它们所连接的氮原子一起形成具有4至8个环原子的杂环。氨基可以是伯($-\text{NH}_2$)、仲($-\text{NHR}^1$)、或叔($-\text{NHR}^1\text{R}^2$), 以及在阳离子形式中, 可以是季($-\text{NR}^1\text{R}^2\text{R}^3$)。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丙啶基(aziridino)、氮杂环丁烷基(azetidino)、吡咯烷并(pyrrolidino)、哌啶子基(piperidino)、哌嗪基、吗啉代、和硫代吗啉代。

[2022] 酰氨基(氨基甲酰基, 氨基甲酰, 氨基羰基, 甲酰胺): $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^1\text{R}^2$, 其中 R^1 和 R^2 独立地是氨基取代基, 如针对氨基所定义的。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 $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$, 以及酰氨基, 其中 R^1 和 R^2 连同它们所连接的氮原子一起形成杂环结构, 如在, 例如, 哌啶子基羰基(piperidinocarbonyl)、吗啉代羰基、硫代吗啉代羰基、和哌嗪基羰基中。

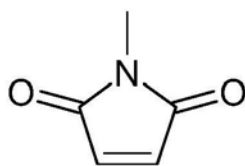
[2023] 硫代酰氨基(硫代氨基甲酰基): $-\text{C}(=\text{S})\text{NR}^1\text{R}^2$, 其中 R^1 和 R^2 独立地是氨基取代基, 如针对氨基所定义的。酰氨基的实例包括但不限于 $-\text{C}(=\text{S})\text{NH}_2$ 、 $-\text{C}(=\text{S})\text{NHCH}_3$ 、 $-\text{C}(=\text{S})\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、和 $-\text{C}(=\text{S})\text{NHCH}_2\text{CH}_3$ 。

[2024] 酰氨基(acylamido) (酰胺基(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, 以及 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 可以一起形成环状结构, 如在, 例如, 琥珀酰亚胺基、顺丁烯二酰亚胺基(马来酰亚胺基, maleimidyl)、和苯邻二甲酰亚胺基(酞亚胺基, phthalimidyl)中:

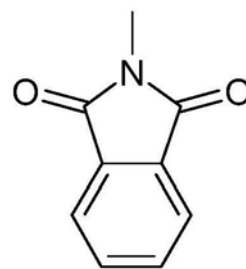
[2025]



琥珀酰亚胺基



顺丁烯二酰亚胺基



苯邻二甲酰亚胺基

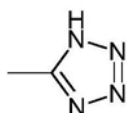
[2026] 氨基羰氧基: $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^1\text{R}^2$, 其中 R^1 和 R^2 独立地是氨基取代基, 如针对氨基所定义的。氨基羰氧基的实例包括但不限于 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NHMe}$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NMe}_2$ 、和 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NEt}_2$ 。

[2027] 脲基(ureido): $-\text{N}(\text{R}^1)\text{CONR}^2\text{R}^3$, 其中 R^2 和 R^3 独立地是氨基取代基, 如针对氨基所定义的, 以及 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 $-\text{NMeCONEt}_2$ 。

[2028] 胍基(guanidino): $-\text{NH}-\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 。

[2029] 四唑基: 具有4个氮原子和一个碳原子的五元芳环,

[2030]



[2031] 亚氨基: $=\text{NR}$, 其中 R 是亚氨基取代基, 例如, 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 $=\text{NEt}$ 。

[2032] 脒(脒基): $-\text{C}(=\text{NR})\text{NR}_2$, 其中每个 R 是脒取代基, 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 $-\text{C}(=\text{NMe})\text{NMe}_2$ 。

[2033] 硝基: $-\text{NO}_2$ 。

[2034] 亚硝基: $-\text{NO}$ 。

[2035] 叠氮基: $-\text{N}_3$ 。

[2036] 氰基(腈(nitrile), 腈(carbonitrile)): $-\text{CN}$ 。

[2037] 异氰基: $-\text{NC}$ 。

[2038] 氰氧基: $-\text{OCN}$ 。

[2039] 异氰氧基: $-\text{NCO}$ 。

[2040] 硫氰基(硫氰氧基(thiocyanato)): $-\text{SCN}$ 。

[2041] 异硫氰基(异硫氰氧基(isothiocyanato)): $-\text{NCS}$ 。

[2042] 巯基(硫醇(thiol), 硫氢基(mercapto)): $-\text{SH}$ 。

[2043] 硫醚(硫化物): $-\text{SR}$, 其中 R 是硫醚取代基, 例如, C_{1-7} 烷基(还被称为 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 $-\text{SCH}_2\text{CH}_3$ 。

[2044] 二硫化物: $-\text{SS}-\text{R}$, 其中 R 是二硫化物取代基, 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(在本文中还称为 C_{1-7} 烷基二硫化物)。 C_{1-7} 烷基二硫化物基团的实例包括但

不限于-SSCH₃和-SSCH₂CH₃。

[2045] 硫化物(sulfine)(亚硫酰基,亚砷):-S(=O)R,其中R是硫化物取代基,例如,C₁₋₇烷基、C₃₋₂₀杂环基、或C₅₋₂₀芳基,优选C₁₋₇烷基。硫化物基团的实例包括但不限于-S(=O)CH₃和-S(=O)CH₂CH₃。

[2046] 砷(磺酰基):-S(=O)₂R,其中R是砷取代基,例如,C₁₋₇烷基、C₃₋₂₀杂环基、或C₅₋₂₀芳基,优选C₁₋₇烷基,包括,例如,氟化或全氟化C₁₋₇烷基。砷基团的实例包括但不限于-S(=O)₂CH₃(甲磺酰基(methanesulfonyl),甲磺酰基(mesylyl))、-S(=O)₂CF₃(三氟甲磺酰基)、-S(=O)₂CH₂CH₃(乙磺酰基(esylyl))、-S(=O)₂C₄F₉(九氟甲磺酰基)、-S(=O)₂CH₂CF₃(三氟乙磺酰基)、-S(=O)₂CH₂CH₂NH₂(牛磺酰)、-S(=O)₂Ph(苯磺酰,苯磺酰基(besylyl))、4-甲基苯磺酰(甲苯磺酰基)、4-氯苯磺酰(closyl)、4-溴苯磺酰(对溴苯磺酰基)、4-硝基苯基(硝基苯磺酰基)、2-萘磺酸酯(奈磺酰基(napsylyl))、和5-二甲基氨基-萘-1-基磺酸酯(丹酰(dansyl))。

[2047] 亚磺酸(亚磺基):-S(=O)OH、-SO₂H。

[2048] 磺酸(磺基):-S(=O)₂OH、-SO₃H。

[2049] 亚磺酸酯(sulfinate)(亚磺酸酯(sulfinic acid ester)):-S(=O)OR;其中R是亚磺酸酯取代基,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(甲氧基亚硫酰基;亚磺酸甲酯)和-S(=O)OCH₂CH₃(乙氧基亚硫酰基;亚磺酸乙酯)。

[2050] 磺酸酯(sulfonate)(磺酸酯(sulfonic acid ester)):-S(=O)₂OR,其中R是磺酸酯取代基,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;磺酸甲酯)和-S(=O)₂OCH₂CH₃(乙氧基磺酰基;磺酸乙酯)。

[2051] 亚硫酰氧基:-OS(=O)R,其中R是亚硫酰氧基取代基,例如,C₁₋₇烷基、C₃₋₂₀杂环基、或C₅₋₂₀芳基,优选C₁₋₇烷基。亚硫酰氧基的实例包括但不限于-OS(=O)CH₃和-OS(=O)CH₂CH₃。

[2052] 磺酰氧基:-OS(=O)₂R,其中R是磺酰氧基取代基,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(mesylylate)) and -OS(=O)₂CH₂CH₃(乙磺酸(esylylate))。

[2053] 硫酸酯:-OS(=O)₂OR;其中R是硫酸酯取代基,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。

[2054] 氨磺酰(氨磺酰;亚磺酸酰胺;亚磺酰胺):-S(=O)NR¹R²,其中R¹和R²独立地是氨基取代基,如针对氨基所定义的。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)NHPh。

[2055] 亚磺酰氨基(亚氨磺酰基;磺酸酰胺;氨磺酰):-S(=O)₂NR¹R²,其中R¹和R²独立地是氨基取代基,如针对氨基所定义的。亚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)₂NHPh。

[2056] 磺氨基:-NR¹S(=O)₂OH,其中R¹是氨基取代基,如针对氨基所定义的。磺氨基的实例包括但不限于-NHS(=O)₂OH和-N(CH₃)S(=O)₂OH。

[2057] 磺酰氨基:-NR¹S(=O)₂R,其中R¹是氨基取代基,如针对氨基所定义的,以及R是磺

酰氨基取代基,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。磺酰氨基的实例包括但不限于 $-NHS(=O)_2CH_3$ 和 $-N(CH_3)S(=O)_2C_6H_5$ 。

[2058] 亚磺酸氨基: $-NR^1S(=O)R$,其中 R^1 是氨基取代基,如针对氨基所定义的,以及 R 是亚磺酸氨基取代基,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。亚磺酸氨基的实例包括但不限于 $-NHS(=O)CH_3$ 和 $-N(CH_3)S(=O)C_6H_5$ 。

[2059] 膦基(膦): $-PR_2$,其中 R 是膦基取代基,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。膦基的实例包括但不限于 $-PH_2$ 、 $-P(CH_3)_2$ 、 $-P(CH_2CH_3)_2$ 、 $-P(t-Bu)_2$ 、和 $-P(Ph)_2$ 。

[2060] 二氧膦基: $-P(=O)_2$ 。

[2061] 氧膦基(氧化膦): $-P(=O)R_2$,其中 R 是氧膦基取代基,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。氧膦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 $-P(=O)(Ph)_2$ 。

[2062] 膦酸(膦酰基): $-P(=O)(OH)_2$ 。

[2063] 膦酸酯(膦酰基酯): $-P(=O)(OR)_2$,其中 R 是膦酸酯取代基,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。膦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 $-P(=O)(OPh)_2$ 。

[2064] 磷酸: $-OP(=O)(OH)_2$ 。

[2065] 磷酸酯(phosphonooxy ester): $-OP(=O)(OR)_2$,其中 R 是磷酸酯取代基,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 $-OP(=O)(OPh)_2$ 。

[2066] 亚磷酸: $-OP(OH)_2$ 。

[2067] 亚磷酸酯(phosphite): $-OP(OR)_2$,其中 R 是亚磷酸酯取代基,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 $-OP(OPh)_2$ 。

[2068] 亚磷酰胺: $-OP(OR^1)-NR^2_2$,其中 R^1 和 R^2 是亚磷酰胺取代基,例如, $-H$ 、(可选取代的) 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 $-OP(OCH_2CH_2CN)-N(i-Pr)_2$ 。

[2069] 氨基磷酸酯: $-OP(=O)(OR^1)-NR^2_2$,其中 R^1 和 R^2 是氨基磷酸酯取代基,例如, $-H$ 、(可选取代的) 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。氨基磷酸酯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 $-OP(=O)(OCH_2CH_2CN)-N(i-Pr)_2$ 。

[2070] 亚烷基

[2071] C_{3-12} 亚烷基:如在本文中所使用的,术语“ C_{3-12} 亚烷基”涉及到通过从具有3至12个碳原子(除非另有规定)的烃化合物的相同碳原子去除两个氢原子、或从两个不同的碳原子各去除一个氢原子所获得的二齿部分,其可以是脂族或脂环族,并且其可以是饱和的、部分不饱和的、或完全不饱和的。因此,术语“亚烷基”包括以下亚类:亚烯基、亚炔基、亚环烷基等(下文讨论的)。

[2072] 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 是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-

$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ (亚庚基)。

[2073] 支链饱和 C_{3-12} 亚烷基的实例包括但不限于 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)-$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ 、和 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ 。

[2074] 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 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ 、和 $-\text{CH}_2-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}_2-$ 。

[2075] 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 $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ 和 $-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ 。

[2076] 脂环族饱和 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 (例如环戊-1,3-亚基)、和亚环己基 (例如环己-1,4-亚基)。

[2077] 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-环戊烯-1,3-亚基)、亚环己烯基 (例如2-环己烯-1,4-亚基;3-环己烯-1,2-亚基;2,5-环己二烯-1,4-亚基)。

[2078] 包括其它形式

[2079] 除非另有规定,在上述中包括这些取代基的众所周知的离子、盐、溶剂化物、和受保护形式。例如,提及羧酸 ($-\text{COOH}$) 还包括阴离子 (羧酸根) 形式 ($-\text{COO}^-$)、其盐或溶剂化物、以及常规的受保护形式。类似地,提及氨基则包括质子化形式 ($-\text{N}^+\text{HR}^1\text{R}^2$)、氨基的盐或溶剂化物,例如,盐酸盐,以及氨基的常规的受保护形式。类似地,提及羟基还包括阴离子形式 ($-\text{O}^-$)、其盐或溶剂化物、以及常规的受保护形式。

[2080] 盐

[2081] 可以方便或期望的是,制备、纯化、和/或处理活性化合物的相应盐,例如,药用盐。药用盐的实例讨论于Berge, et al., J. Pharm. Sci., 66, 1-19 (1977) 中。

[2082] 例如,如果化合物是阴离子的,或具有可以是阴离子的官能团 (例如, $-\text{COOH}$ 可以是 $-\text{COO}^-$), 那么可以与适宜的阳离子形成盐。适宜的无机阳离子的实例包括但不限于碱金属离子如 Na^+ 和 K^+ , 碱土阳离子如 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} , 以及其它阳离子如 Al^{+3} 。适宜的有机阳离子的实例包括但不限于铵离子 (即 NH_4^+) 和取代的铵离子 (例如 NH_3R^+ 、 NH_2R_2^+ 、 NHR_3^+ 、 NR_4^+)。一些适宜的取代的铵离子的实例是那些取代的铵离子,其源自:乙胺、二乙胺、二环己胺、三乙胺、丁胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌嗪、苄胺、苯基苄胺、胆碱、甲葡胺 (meglumine)、和氨丁三醇 (tromethamine)、以及氨基酸,如赖氨酸和精氨酸。常见季铵离子的实例是 $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$ 。

[2083] 如果化合物是阳离子的,或具有可以是阳离子的官能团 (例如 $-\text{NH}_2$ 可以是 $-\text{NH}_3^+$), 那么可以与适宜的阴离子形成盐。适宜的无机阴离子的实例包括但不限于那些无机阴离子,其源自以下无机酸:盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、亚硫酸、硝酸、亚硝酸、磷酸、和亚磷酸。

[2084] 适宜的有机阴离子的实例包括但不限于那些有机阴离子,其源自以下有机酸:2-乙酰氧基苯甲酸、乙酸、抗坏血酸、天冬氨酸、苯甲酸、樟脑磺酸、肉桂酸、柠檬酸、乙二胺四乙酸 (edetic)、乙烷二磺酸、乙烷磺酸、富马酸、葡庚糖酸 (glucheptonic)、葡萄糖酸、谷氨酸、乙醇酸、羟基马来酸、羟基萘羧酸、羟乙磺酸 (isethionic)、乳酸、乳糖酸 (lactobionic)、月桂酸、马来酸、苹果酸、甲磺酸、粘酸、油酸、草酸、棕榈酸、双羟基萘酸

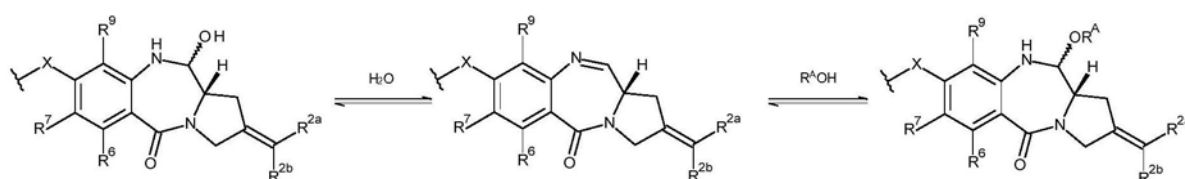
(pamoic)、泛酸、苯乙酸、苯磺酸、丙酸、丙酮酸、水杨酸、硬脂酸、琥珀酸、磺胺酸(sulfanilic)、酒石酸、甲苯磺酸、三氟乙酸和戊酸。适宜的高分子有机阴离子的实例包括但不限于那些高分子有机阴离子,其源自以下聚合酸:单宁酸(tannic acid)、羧甲基纤维素。

[2085] 溶剂化物

[2086] 可以是方便或期望的是,制备、纯化、和/或处理活性化合物的相应溶剂化物。术语“溶剂化物”在本文中在常规意义上用来指溶质(例如活性化合物,活性化合物的盐)和溶剂的复合物。如果溶剂是水,则溶剂化物可以被方便地称为水合物,例如,一水合物、二水合物、三水合物等。

[2087] 本发明包括这样的化合物,其中溶剂添加在PBD部分的亚胺键,其在下面示出,其中溶剂是水或醇($R^A\text{OH}$,其中 R^A 是 C_{1-4} 烷基):

[2088]



[2089] 这些形式可以被称为PBD的甲醇胺(carbinolamine)和甲醇胺醚形式(如在相关于上文的 R^{10} 的部分中所描述的)。这些平衡的平衡(协调,balance)取决于其中发现化合物的条件、以及部分本身的特性。

[2090] 可以以固体形式来分离这些特定化合物,例如,通过冷冻干燥。

[2091] 异构体

[2092] 本发明的某些化合物可以存在为一种或多种特定几何形状、光学形式、对映体形式、非对映体形式、差向异构形式、阿托形式、立体异构形式、互变异构形式、构象形式、或异头形式(anomeric forms),包括但不限于顺式和反式形式; E -和 Z -形式; c -、 t -、和 r -形式;内和外形式; R -、 S -、和内消旋(meso)-形式; D -和 L -形式; d -和 l -形式; $(+)$ 和 $(-)$ 形式;酮-、烯醇-、和烯醇化物-形式;顺式(syn-)和反式(anti-);向斜(synclinal)和反错(anticlinal)形式; α -和 β -形式;轴向和平伏形式;船-、椅-、扭转-、信封-、和半椅-形式;以及它们的组合,下文统称为“异构体”(或“异构形式”)。

[2093] 术语“手性”是指这样的分子,其具有镜像配偶体的不可重叠性,而术语“非手性”是指这样的分子,其可重叠于它们的镜像配偶体。

[2094] 术语“立体异构体”是指这样的化合物,其具有相同的化学组成,但差异在于原子或基团在空间中的排列。

[2095] “非对映体”是指具有两个或更多手性中心的立体异构体,以及其分子不是彼此的镜像。非对映体具有不同的物理性能,例如熔点、沸点、光谱特性、和反应性。在高拆分分析操作(如电泳和层析)下,可以分开非对映体的混合物。

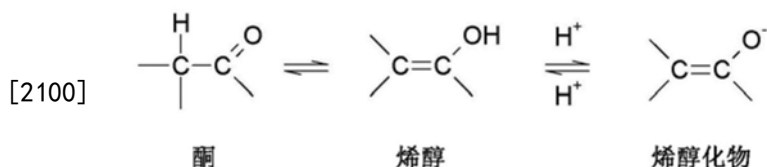
[2096] “对映体”是指化合物的两种立体异构体,其彼此是不能重叠的镜像。

[2097] 本文中使用的立体化学定义和惯例通常遵循S.P.Parker,Ed.,McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms(1984)McGraw-Hill Book Company,New York;以及Eliel,E.and Wilen,S.,“Stereochemistry of Organic Compounds”,John Wiley&Sons,

Inc., New York, 1994。本发明的化合物可以包含不对称或手性中心,因而存在不同的立体异构形式。意图是,本发明的化合物的所有立体异构形式,包括但不限于非对映体、对映体和阻转异构体(阿托异构体, atropisomer)、以及它们的混合物如外消旋混合物,形成本发明的一部分。许多有机化合物存在旋光形式,即,它们具有旋转平面偏振光的平面的能力。在描述旋光化合物时,前缀D和L、或R和S用来表示分子相对于它的(一个或多个)手性中心的绝对构型。前缀d和l或(+)和(-)用来指定由化合物引起的平面偏振光的旋转符号,其中(-)或l表示化合物是左旋的。前缀为(+)或d的化合物是右旋的。对于给定的化学结构,这些立体异构体是相同的,不同之处在于,它们是彼此的镜像。特定立体异构体还可以被称为对映体,并且这样的异构体的混合物通常被称为对映体混合物。对映体的50:50混合物被称为外消旋混合物或外消旋物,在化学反应或过程中不存在立体选择性或立体专一性的情况下其可以发生。术语“外消旋混合物”和“外消旋物”是指两种对映体物质的等摩尔混合物(没有光学活性)。

[2098] 注意,除了如下面针对互变异构形式所讨论的,如在本文中所使用的,从术语“异构体”特别排除的是结构(或组成)异构体(即这样的异构体,其差别在于在原子之间的连接,而不是仅在于原子在空间中的位置)。例如,提及甲氧基, $-OCH_3$, 并不应当被解释为提及它的结构异构体,羟甲基, $-CH_2OH$ 。类似地,提及邻氯苯基不应当被解释为提及它的结构异构体,间氯苯基。然而,提及一类结构可以良好包括属于上述类的结构异构形式(例如C₁₋₇烷基包括正丙基和异丙基;丁基包括正丁基、异丁基、仲丁基、和叔丁基;甲氧基苯基包括邻甲氧基苯基、间甲氧基苯基、和对甲氧基苯基)。

[2099] 上述排除不涉及到互变异构形式,例如,酮形式、烯醇形式、和烯醇化物(烯醇盐)形式,如在,例如,以下互变异构对中:酮/烯醇(说明如下)、亚胺/烯胺、酰胺/亚氨基醇、脒/脒、亚硝基/肟、硫酮/烯硫醇(enethiol)、N-亚硝基/羟基偶氮(hydroxyazo)、和硝基/酸式硝基(aci-nitro)。



[2101] 术语“互变异构体”或“互变异构形式”是指不同能量的结构异构体,经由低能垒,其是可互相转化的。例如,质子互变异构体(还被称为质子移变互变异构体(prototropic tautomers))包括经由质子迁移的相互转化,如酮-烯醇和亚胺-烯胺异构化。价互变异构体包括相互转化,其中通过一些成键电子的重组。

[2102] 注意,在术语“异构体”中特别包括的是具有一个或多个同位素替代的化合物。例如,H可以处于任何同位素形式,包括¹H、²H(D)、和³H(T);C可以处于任何同位素形式,包括¹²C、¹³C、和¹⁴C;O可以处于任何同位素形式,包括¹⁶O和¹⁸O;等等。

[2103] 可以被加入本发明的化合物的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、氟、和氯的同位素,如但不限于²H(氘,D)、³H(氚)、¹¹C、¹³C、¹⁴C、¹⁵N、¹⁸F、³¹P、³²P、³⁵S、³⁶Cl、和¹²⁵I。本发明的各种同位素标记的化合物,例如那些其中加入放射性同位素如³H、¹³C、和¹⁴C的化合物。这样的同位素标记化合物可以用于代谢研究,反应动力学研究,检测或成像技术,如正电子发射断层扫描(PET)或单光子发射计算机断层扫描(SPECT),包括药物或底物组织分布测定法,

或用于患者的放射性治疗。本发明的氘标记或取代的治疗性化合物可以具有改善的DMPK (药物代谢和药物动力学) 性能,其涉及分布、代谢、和排泄 (ADME)。用较重同位素如氘进行的替代可以提供某些治疗优点,其来自更大的代谢稳定性,例如增加的体内半衰期或降低的剂量需要。¹⁸F标记化合物可以用于PET或SPECT研究。通常可以通过进行在以下描述的方案中或在实施例以及制备中披露的程序来制备本发明的同位素标记化合物以及其前药,其中通过用容易得到的同位素标记试剂取代非同位素标记试剂。另外,用较重同位素,尤其是氘 (即,²H或D) 进行的替代可以提供某些治疗优点,其来自更大的代谢稳定性,例如增加的体内半衰期或降低的剂量需要或治疗指数的改善。可以理解的是,在此上下文中氘被视为取代基 (substituent)。可以通过同位素富集系数 (isotopic enrichment factor) 来定义这样的较重同位素 (尤其是氘) 的浓度。在本发明的化合物中,未特别指定为特定同位素的任何原子旨在表示上述原子的任何稳定的同位素。

[2104] 除非另有规定,提及特定化合物则包括所有上述异构形式,包括 (完全或部分地) 它们的外消旋和其它混合物。用于上述异构形式的制备 (例如不对称合成) 和分离 (例如分级结晶和层析方式) 的方法是本领域中已知的或以已知的方式通过调整 (adapt) 本文教导的方法或已知的方法而容易获得。

[2105] 生物活性

[2106] 体外细胞增殖测定

[2107] 通常,通过以下步骤来测量抗体-药物结合物 (ADC) 的细胞毒性或抑制细胞活性: 在细胞培养基中,将具有受体蛋白 (例如HER2) 的哺乳动物细胞暴露于ADC的抗体;培养细胞约6小时至约5天;然后测量细胞生存力 (存活力,viability)。基于细胞的体外测定用来测量生存力 (增殖)、细胞毒性、和本发明的ADC的细胞凋亡的诱导 (胱冬裂酶激活 (caspase activation))。

[2108] 可以通过细胞增殖测定来测量抗体-药物结合物的体外效力。CellTiter-Glo[®] 荧光细胞存活测定 (Luminescent Cell Viability Assay) 是市售的 (Promega Corp., Madison, WI), 基于鞘翅目 (Coleoptera) 荧光素酶的重组表达的均质测定方法 (美国专利号 5583024、5674713 和 5700670)。基于存在的ATP (代谢活性细胞的指标) 的定量,这种细胞增殖测定确定在培养物中的活细胞的数目 (Crouch et al (1993) J. Immunol. Meth. 160:81-88; US 6602677)。以96孔格式进行CellTiter-Glo[®]测定,从而使它适合于自动化高通量筛选 (HTS) (Cree et al (1995) AntiCancer Drugs 6:398-404)。均相测定程序涉及将单试剂 (CellTiter-Glo[®]试剂) 直接加入在补充血清的培养基中培养的细胞。不需要细胞洗涤、除去培养基和多次移液步骤。在加入试剂并混合以后的10分钟内,此系统以384孔格式检测至少15个细胞/孔。可以用ADC来连续处理细胞,或可以处理它们,然后从ADC分离。通常,简短处理 (即3小时) 的细胞显示和连续处理的细胞相同的效力。

[2109] 均质“添加-混合-测量”格式 (形式) 导致细胞裂解和产生正比于ATP的存在量的发光信号。ATP的量正比于在培养物中存在的细胞的数目。CellTiter-Glo[®]测定产生“辉光型 (glow-type)”发光信号,由荧光素酶反应所产生,其具有通常大于5小时的半衰期,这取决于使用的细胞类型和培养基。以相对发光单位 (RLU) 来反映活细胞。通过重组萤火虫荧光素酶来氧化地脱羧底物,甲虫荧光素 (Beetle Luciferin),同时具有ATP到AMP的伴随转化并

生成光子。

[2110] 还可以通过细胞毒性测定来测量抗体-药物结合物的体外效力。用PBS洗涤培养的贴壁细胞(adherent cells),用胰蛋白酶解吸,稀释在包含10%FCS的完全培养基中,离心,再悬浮在新鲜培养基中并用血细胞计数器(haemocytometer)计数。直接计数悬浮培养物。适用于计数的单分散细胞悬液可能需要通过反复抽吸来搅拌悬液以打散细胞团块。

[2111] 将细胞悬液稀释至所期望的接种密度并分配(100 μ l/孔)到黑色96孔板。温育贴壁细胞系的板过夜以允许贴壁(粘附,adherence)。在接种的当天可以使用悬浮细胞培养物。

[2112] 在适当的细胞培养基中制备ADC(20 μ g/ml)的储备溶液(1ml)。通过连续转移100 μ l至900 μ l的细胞培养基,在15ml离心管中进行储备ADC的10倍系列稀释(serial 10-fold dilution)。

[2113] 在预先平板接种有细胞悬液(100 μ l)的96孔黑色板中分配每个ADC稀释液(dilution)(100 μ l)四个重复孔,从而导致200 μ l的最终体积。对照孔接收细胞培养基(100 μ l)。

[2114] 如果细胞系的倍增时间大于30小时,则ADC温育是5天,否则进行4天培育。

[2115] 在温育期结束时,借助于Alamar蓝测定来评估细胞生存力。将AlamarBlue(Invitrogen)分配于整板(20 μ l/孔)并温育4小时。用Varioskan闪光板(flash plate)阅读器(读取器,reader),在激发570nm、发射585nm下,测量Alamar蓝荧光。细胞存活百分比计算自在ADC处理孔中的平均荧光(相比于在对照孔中的平均荧光)。

[2116] 体内效力

[2117] 可以通过在小鼠中的肿瘤异种移植研究来测量本发明的抗体-药物结合物(ADC)的体内效力。例如,可以通过高表达HER2转基因外植体小鼠模型来测量本发明的抗HER2 ADC的体内效力。同种异体移植物增殖自Fo5 mmtv转基因小鼠,其并不响应,或较差地响应**HERCEPTIN®**(赫赛汀)治疗。在一定的剂量水平(mg/kg)和PBD药物暴露(μ g/m²)下,用ADC,以及安慰剂缓冲对照(载体)治疗主体一次;然后监测两周或更长时间,以测量至肿瘤倍增、对数细胞杀死、和肿瘤收缩的时间。

[2118] 应用

[2119] 本发明的结合物可以用来在目标位置(靶位置,target location)提供PBD结合物。

[2120] 目标位置优选是增殖细胞群体。抗体是针对存在于增殖细胞群体上的抗原的抗体。

[2121] 在一种实施方式中,在非增殖细胞群体中,抗原是不存在的或以降低的水平存在(相比于在增殖细胞群体例如肿瘤细胞群体中存在的抗原量)。

[2122] 目标位置可以是在体外、体内或离体。

[2123] 本发明的抗体-药物结合物(ADC)化合物包括那些具有抗癌活性利用性的化合物。尤其是,上述化合物包括这样的抗体,其结合于,即通过接头共价连接于,PBD部分。

[2124] 在目标位置处,接头可以不被切割。抗体-药物结合物(本发明的ADC化合物)可以具有细胞毒性效应而没有切割接头来释放PBD药物部分。本发明的抗体-药物结合物(ADC)向肿瘤组织选择性地递送细胞毒性剂,借此可以实现更大的选择性,即更低有效剂量。

[2125] 因此,在一个方面,本发明提供了如本文描述的用于治疗的结合物化合物。

[2126] 在进一步的方面,还提供了如本文描述的用于治疗增生性疾病的结合物化合物。本发明的第二方面提供了结合物化合物的应用,用于制备用来治疗增生性疾病的药物。

[2127] 本领域的普通技术人员能够容易地确定候选结合物是否治疗任何特定细胞类型的增生性病症。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。

[2128] 术语“增生性疾病”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)。

[2129] 增生性病症的实例包括但不限于良性、恶化前(pre-malignant)、和恶性细胞增殖,包括但不限于赘生物(瘤,neoplasms)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)、淋巴瘤、白血病、银屑病(psoriasis)、骨疾病、纤维增生性疾病(例如结缔组织的纤维增生性疾病)、和动脉粥样硬化。特别受关注的癌症包括但不限于白血病和卵巢癌。

[2130] 可以治疗任何类型的细胞,包括但不限于肺、胃肠(包括,例如肠、结肠)、乳腺(乳房,mammary)、卵巢、前列腺、肝(肝脏)、肾(肾脏)、膀胱、胰腺、脑、和皮肤(细胞)。

[2131] 在一种实施方式中,治疗是针对胰腺癌。

[2132] 在一种实施方式中,治疗是针对在细胞的表面上具有 $\alpha_v\beta_6$ 整联蛋白(integrin)的肿瘤。

[2133] 可以设想,本发明的抗体-药物结合物(ADC)可以用来治疗各种疾病或病症,例如其特征是肿瘤抗原的过度表达。示例性病症或过度增生性疾病包括良性或恶性肿瘤;白血病、血液和淋巴癌(haematological, and lymphoid malignancies)。其它病症或过度增生性疾病包括神经疾病、胶质疾病、星形细胞疾病、下丘脑疾病、腺疾病、巨噬细胞疾病、上皮病症、间质疾病、囊胚腔疾病(blastocoelic)、炎症性疾病、血管生成和免疫疾病(包括自身免疫性疾病)。

[2134] 通常,待治疗的疾病或病症是过度增生性疾病(hyperproliferative disease)如癌症。本文中待治疗的癌症的实例包括但不限于癌、淋巴瘤、母细胞瘤、肉瘤、和白血病或淋巴瘤。上述癌症的更具体的实例包括鳞状细胞癌(例如上皮鳞状细胞癌),肺癌,包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺腺癌和肺鳞状癌,腹膜癌,肝细胞癌,胃癌或胃脏癌,包括胃肠癌,胰腺癌,成胶质细胞瘤,子宫颈癌,卵巢癌,肝癌,膀胱癌,肝细胞癌,乳腺癌(乳癌),结肠癌,直肠癌,结直肠癌,子宫内膜癌或子宫癌,涎腺癌(salivary gland carcinoma),肾癌或肾脏癌,前列腺癌,外阴癌,甲状腺癌,肝癌,肛门癌(anal carcinoma),阴茎癌(penile carcinoma),以及头颈部癌。

[2135] ADC化合物可用于治疗的自身免疫病包括风湿性疾病(如,例如,类风湿性关节炎,舍格伦综合征,硬皮病,狼疮如SLE和狼疮肾炎,多肌炎/皮肌炎,冷球蛋白血症,抗磷脂抗体综合征,和银屑病关节炎),骨关节炎,自身免疫性胃肠和肝脏疾病(如,例如,炎性肠病(例如溃疡性结肠炎和克罗恩病),自身免疫性胃炎和恶性贫血(pernicious anemia),自身免疫性肝炎,原发性胆汁性肝硬化,原发性硬化性胆管炎(cholangitis),和乳糜泻(celiac disease)),血管炎(如,例如,ANCA相关血管炎,包括丘-斯血管炎,韦格纳肉芽肿病,和多动脉炎(polyarteriitis)),自身免疫性神经系统疾病(如,例如,多发性硬化,视性眼阵挛-肌

阵挛综合征 (opsoclonus myoclonus syndrome), 重症肌无力 (myasthenia gravis), 视神经脊髓炎 (neuromyelitis optica), 帕金森病, 阿尔茨海默病, 和自身免疫性多发性神经病), 肾脏疾病 (如, 例如, 肾小球肾炎, 古德帕斯丘综合征, 和贝尔热病), 自身免疫性皮肤病 (如, 例如, 银屑病, 荨麻疹 (urticaria), 荨麻疹 (hives), 寻常性天疱疮, 大疱性类天疱疮, 和皮肤红斑狼疮), 血液系统疾病 (如, 例如, 血小板减少性紫癜, 血栓性血小板减少性紫癜, 输血后紫癜, 和自身免疫性溶血性贫血), 动脉粥样硬化, 葡萄膜炎, 自身免疫性听觉疾病 (如, 例如, 内耳疾病和听力丧失), 白塞病 (Behcet's disease), 雷诺综合症, 器官移植, 和自身免疫性内分泌疾病 (如, 例如, 糖尿病相关自身免疫病如胰岛素依赖型糖尿病 (IDDM), 艾迪生病, 和自身免疫性甲状腺病 (例如格雷夫斯病和甲状腺炎))。更优选的上述疾病包括, 例如, 类风湿性关节炎、溃疡性结肠炎、ANCA相关血管炎、狼疮、多发性硬化、舍格伦综合征、格雷夫斯病、IDDM、恶性贫血 (pernicious anemia)、甲状腺炎、和肾小球肾炎 (glomerulonephritis)。

[2136] 治疗方法

[2137] 本发明的结合物可以用于治疗方法。还提供了一种治疗方法, 包括将治疗有效量的本发明的结合化合物给予需要治疗的主体。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。给予的实际量以及给予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, 是在一般从业者 (全科医生) 和其他医生的责任范围内。

[2138] 可以单独地或连同其它治疗一起来给予本发明的化合物 (同时或相继地, 其取决于待治疗的病症)。治疗和疗法的实例包括但不限于化疗 (给予活性剂, 包括, 例如药物, 如化疗剂); 手术; 以及放射疗法。

[2139] “化疗剂”是可用于治疗癌症的化合物, 而不管作用机制。化疗剂的类别包括但不限于: 烷基化剂、抗代谢物、纺锤体毒素植物生物碱、细胞毒性/抗肿瘤抗生素、拓扑异构酶抑制剂、抗体、光敏剂、和激酶抑制剂。化疗剂包括在“靶向疗法”和常规化疗中使用的化合物。

[2140] 化疗剂的实例包括: 厄洛替尼 (TARCEVA®, Genentech/OSI Pharm.)、多西他赛 (TAXOTERE®, Sanofi-Aventis)、5-FU (氟尿嘧啶, 5-氟尿嘧啶, CAS号51-21-8)、吉西他滨 (GEMZAR®, Lilly)、PD-0325901 (CAS号391210-10-9, Pfizer)、顺铂 (顺式二胺, 二氯铂 (II), CAS号15663-27-1)、卡铂 (CAS号41575-94-4)、紫杉醇 (TAXOL®, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.)、曲妥单抗 (赫赛汀®, Genentech)、替莫唑胺 (4-甲基-5-氧代-2,3,4,6,8-五氮杂双环[4.3.0]壬-2,7,9-三烯-9-咪唑羧酰胺, CAS号85622-93-1, TEMODAR®, TEMODAL®, Schering Plough)、他莫昔芬 ((Z)-2-[4-(1,2-二苯基丁-1-烯基) 苯氧基]-N,N-二甲基乙胺, NOLVADEX®, ISTUBAL®, VALODEX®)、多柔比星 (ADRIAMYCIN®)、Akti-1/2、HPPD、和雷帕霉素。

[2141] 化疗剂的更多实例包括: 奥沙利铂 (ELOXATIN®, Sanofi)、硼替佐米 (VELCADE®, Millennium Pharm.)、索坦 (sutent) (SUNITINIB®, SU11248, Pfizer)、来曲唑 (FEMARA®, Novartis)、甲磺酸伊马替尼 (GLEEVEC®, Novartis)、XL-518 (Mek抑

制剂, Exelixis, WO 2007/044515)、ARRY-886 (Mek抑制剂, AZD6244, Array BioPharma, Astra Zeneca)、SF-1126 (PI3K抑制剂, Semafore Pharmaceuticals)、BEZ-235 (PI3K抑制剂, Novartis)、XL-147 (PI3K抑制剂, Exelixis)、PTK787/ZK 222584 (Novartis)、氟维司群 (FASLODEX®, AstraZeneca)、甲酰四氢叶酸 (亚叶酸)、雷帕霉素 (西罗莫司, RAPAMUNE®, Wyeth)、拉帕替尼 (TYKERB®, GSK572016, Glaxo Smith Kline)、lonafarnib (SARASAR™, SCH 66336, Schering Plough)、索拉非尼 (NEXAVAR®, BAY43-9006, Bayer Labs)、吉非替尼 (IRESSA®, AstraZeneca)、伊立替康 (CAMPTOSAR®, CPT-11, Pfizer)、tipifarnib (ZARNESTRA™, Johnson&Johnson)、ABRAXANE™ (无聚氧乙烯蓖麻油)、紫杉醇的白蛋白工程纳米颗粒制剂 (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, IL)、凡德他尼 (rINN, ZD6474, ZACTIMA®, AstraZeneca)、苯丁酸氮芥 (chlorambucil)、AG1478、AG1571 (SU 5271; Sugen)、西罗莫司 (TORISEL®, Wyeth)、帕唑帕尼 (GlaxoSmithKline)、canfosfamide (TELCYTA®, Telik)、噻替哌和环磷酰胺 (CYTOXAN®, NEOSAR®); 烷基磺酸酯如白消安、英丙舒凡和哌泊舒凡; 吡丙啶如苯佐替派 (benzodopa)、卡波醌、美妥替派 (meturedopa)、和乌瑞替派 (uredopa); 乙烯亚胺和甲基密胺类 (methylamelamines), 包括六甲蜜胺、曲他胺 (triethylenemelamine)、三亚乙基磷酰胺、三亚乙基硫代磷酰胺和三羟甲密胺; 己酸配质 (acetogenins) (尤其是bullatacin和bullatacinone); 喜树碱 (包括合成类似物托泊替康); 苔藓抑素; callystatin; CC-1065 (包括它的阿多来新、卡折来新和比折来新合成类似物); cryptophycins (尤其是cryptophycin1和cryptophycin 8); 多拉司他汀; duocarmycin (包括合成类似物, KW-2189和CB1-TM1); eleutherobin; pancraticistatin; sarcodictyin; spongistatin; 氮芥如苯丁酸氮芥、萘氮芥、氯磷酰胺、雌莫司汀、异环磷酰胺、氮芥 (二氯甲基二乙胺, mechlorethamine)、盐酸氧氮芥、美法仑、新氮芥、苯芥胆甾醇、泼尼莫司汀、曲磷胺、乌拉莫司汀; 亚硝基脲如卡莫司汀、氯脲菌素、福莫司汀、洛莫司汀、尼莫司汀、和雷莫司汀; 抗生素如烯二炔抗生素 (例如刺孢霉素、刺孢霉素 γ 1 I、刺孢霉素 ω 1 I (Angew Chem. Intl. Ed. Engl. (1994) 33:183-186); dynemicin、dynemicin A; 二膦酸盐, 如氯膦酸盐 (clodronate); 埃斯波霉素; 以及新制癌菌素发色团和相关色素蛋白烯二炔抗生素生色团)、阿克拉霉素、放线菌素、氨基霉素、重氮丝氨酸、博莱霉素、放线菌素C、carabycin、洋红霉素、嗜癌菌素、chromomycinis、放线菌素D、柔红霉素、地托比星、6-重氮基-5-氧代-L-正亮氨酸、吗啉代-多柔比星、氰基吗啉代-多柔比星、2-吡咯啉并-多柔比星和脱氧多柔比星)、表柔比星、依索比星、伊达比星、奈莫柔比星、马塞罗霉素、丝裂霉素如丝裂霉素C、茵酚酸、诺加霉素、橄榄霉素、培洛霉素、泊非霉素、嘌呤霉素、三铁阿霉素、罗多比星、链黑菌素、链佐星、杀结核菌素、乌苯美司、净司他丁、佐柔比星; 抗代谢物如氨甲蝶呤和5-氟尿嘧啶 (5-FU); 叶酸类似物如二甲叶酸、氨甲蝶呤、蝶罗呤、三甲曲沙; 嘌呤类似物如氟达拉滨、6-巯基嘌呤、硫咪嘌呤、硫鸟嘌呤; 嘧啶类似物如安西他滨、阿扎胞苷、6-氮杂尿苷、卡莫氟、阿糖胞苷、双脱氧尿苷、去氧氟尿苷、依诺他滨、氟尿苷; 雄激素如卡普睾酮、酸屈他雄酮、环硫雄醇、美雄烷、睾内酯; 抗肾上腺如氨鲁米特、米托坦、曲洛司坦; 叶酸补充剂如亚叶酸; 醋葡萄糖醛内酯; 醛磷酰胺糖苷; 氨基乙酰丙酸; 恩尿嘧啶; 安吡啶; bestrabucil; 比生群; 依达曲沙; defofamine; 秋水仙胺; 地吡醌; 依氟鸟氨酸; 依利醋铵; 一种大环内酯类抗肿瘤药

(epothilone); 依托格鲁; 硝酸镓; 羟基脲; 蘑菇多糖 (lentinan); lonidainine; 美登素 (maytansinoids) 如美登素 (maytansine) 和安丝菌素; 米托胍腈; 米托蒽醌; mopidanmol; nitraerine; 喷司他丁; 蛋氨酸芥; 吡柔比星; 洛索蒽醌; 鬼臼酸; 2-乙基胍; 甲基苄胍; **PSK®** 多糖复合物 (JHS Natural Products, Eugene, OR); 雷佐生; 根霉素; 西佐喃; 锗螺胺; 细格孢氮杂酸; 三亚胺醌; 2,2',2''-三氯三乙胺; 单端孢菌素 (trichothecenes) (尤其是 T-2 毒素、verracurin A、杆孢菌素 A 和蛇形菌素); 乌拉坦; 长春地辛; 氮烯唑胺; 甘露醇氮芥; 二溴甘露醇; 二溴卫矛醇; 哌泊溴烷; gacytosine; 阿拉伯糖苷 ("Ara-C"); 环磷酰胺; 噻替哌; 6-硫鸟嘌呤; 巯基嘌呤; 氨甲蝶呤; 铂类似物如顺铂和卡铂; 长春碱; 依托泊苷 (VP-16); 异环磷酰胺; 米托蒽醌; 长春新碱; 长春瑞滨 (**NAVELBINE®**); 诺消灵; 替尼泊苷; 依达曲沙; 柔红霉素; 氨基蝶呤; 卡培他滨 (**XELODA®**, Roche); 伊班膦酸盐; CPT-11; 拓扑异构酶抑制剂 RFS 2000; 二氟甲基鸟氨酸 (DMFO); 类视色素如维甲酸; 以及任何前述项的药用盐、酸和衍生物。

[2142] 在“化疗剂”的定义中还包括: (i) 抗激素剂, 其用来调节或抑制对肿瘤的激素作用如抗雌激素和选择性雌激素受体调节剂 (SERM), 包括, 例如, 他莫昔芬 (包括 **NOLVADEX®**; 枸橼酸他莫昔芬)、雷洛昔芬、屈洛昔芬、4-羟基他莫昔芬、曲沃昔芬、keoxifene、LY117018、奥那司酮、和 **FARESTON®** (枸橼酸托瑞米芬); (ii) 芳香酶抑制剂, 它们抑制酶芳香酶, 其在肾上腺中调节雌激素的生产, 如, 例如, 4(5)-咪唑、氨鲁米特、**MEGASE®** (醋酸甲地孕酮)、**AROMASIN®** (依西美坦; Pfizer)、formestane、法倔唑、**RIVISOR®** (伏氯唑)、**FEMARA®** (来曲唑; Novartis)、和 **ARIMIDEX®** (阿纳托唑; AstraZeneca); (iii) 抗雄激素如氟他胺、尼鲁米特、比卡鲁胺、亮丙立德、和戈舍瑞林; 以及曲沙他滨 (1,3-二氧戊环胞嘧啶核苷类似物); (iv) 蛋白激酶抑制剂如 MEK 抑制剂 (WO 2007/044515); (v) 脂质激酶抑制剂; (vi) 反义寡核苷酸, 尤其是那些反义寡核苷酸, 其在涉及异常细胞增殖的信号通路中抑制基因的表达, 例如, PKC- α 、Raf 和 H-Ras, 如 oblimersen (**GENASENSE®**; Genta Inc.); (vii) 核酶如 VEGF 表达抑制剂 (例如, **ANGIOZYME®**) 和 HER2 表达抑制剂; (viii) 疫苗如基因治疗疫苗, 例如,

ALLOVECTIN®、**LEUVECTIN®**、和 **VAXID®**; **PROLEUKIN®** rIL-2; 拓扑异构酶 1 抑制剂如 **LURTOTECAN®**; **ABARELIX®** rmRH; (ix) 抗血管生成剂如贝伐单抗 (**AVASTIN®**; Genentech); 以及任何前述项的药用盐、酸和衍生物。

[2143] 在“化疗剂”的定义中还包括治疗性抗体如阿仑单抗 (Campath)、贝伐单抗 (**AVASTIN®**, Genentech); 西妥昔单抗 (**ERBITUX®**, Imclone); 帕尼单抗 (**VECTIBIX®**, Amgen)、利妥昔单抗 (**RITUXAN®**, Genentech/Biogen Idec)、帕妥珠单抗 (PERJETA™, OMNITARG™, 2C4, Genentech)、曲妥单抗 (赫赛汀®, Genentech)、托西莫单抗 (Bexxar, Corixa)、和抗体药物结合物、吉姆单抗、奥佐米星 (**MYLOTARG®**, Wyeth)。

[2144] 连同本发明的结合物一起具有作为化疗剂的治疗潜力的人源化单克隆抗体包括: 阿仑单抗、apolizumab、aselizumab、atlizumab、bapineuzumab、贝伐单抗、比伐单抗 mertansine (bivatuzumab mertansine)、cantuzumab mertansine、西利珠单抗、certolizumab pegol、cidfusituzumab、cidtuzumab、达克珠单抗、依库珠单抗、依法利珠单抗、依帕珠单抗、erlizumab、非维珠单抗、fontolizumab、吉姆单抗奥佐米星、inotuzumab 奥

佐米星、ipilimumab、labetuzumab、林妥珠单抗、马妥珠单抗、美泊利单抗、motavizumab、motovizumab、那他珠单抗、尼妥珠单抗、nolovizumab、numavizumab、ocrelizumab、奥马珠单抗、帕利珠单抗、pascolizumab、pecfusituzumab、pectuzumab、帕妥珠单抗、pexelizumab、ralivizumab、ranibizumab、reslivizumab、reslizumab、resyvizumab、罗维珠单抗、鲁利单抗、西罗珠单抗、siplizumab、sontuzumab、tacatuzumab tetraxetan、tadocizumab、talizumab、tefibazumab、tocilizumab、toralizumab、曲妥单抗、tucotuzumab celmoleukin、tucosituzumab、umavizumab、urtloxazumab、和visilizumab。

[2145] 按照本发明和按照本发明应用的药物组合物,除活性组分(即结合物化合物)之外,还可以包含药用赋形剂、载体、缓冲剂、稳定剂或其它材料(本领域技术人员众所周知的)。这样的材料应是无毒的并且不应干扰活性组分的功效。载体或其它材料的确切特性将取决于给予途径,其可以是口服、或通过注射,例如皮肤、皮下、或静脉内注射。

[2146] 用于口服给予的药物组合物可以是片剂、胶囊剂、散剂(粉末)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、动物或植物油、矿物油或合成油。可以包括生理盐水溶液、葡萄糖或其它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。

[2147] 对于静脉内、皮肤或皮下注射、或在痛苦部位处的注射,活性组分将具有肠胃外可接受的水溶液的形式,其是无热原的并具有适宜的pH、等渗性和稳定性。利用,例如,等渗载体如氯化钠注射液、林格氏注射液、乳酸林格氏注射液,本领域的相关技术人员完全能够制备适宜的溶液。根据需要,可以包括防腐剂、稳定剂、缓冲剂、抗氧化剂和/或其它添加剂。

[2148] 剂型(制剂,formulations)

[2149] 虽然可以单独地使用(例如,给予)结合物化合物,但通常优选的是,它呈现为组合物或制剂。

[2150] 在一种实施方式中,组合物是药物组合物(例如,配方、制剂、药剂),其包含如本文所描述的结合物化合物,和药用载体、稀释剂、或赋形剂。

[2151] 在一种实施方式中,组合物是药物组合物,其包含至少一种结合物化合物(如本文所描述的),以及一种或多种其它药用成分(本领域技术人员众所周知的),包括但不限于药用载体、稀释剂、赋形剂、佐剂、填充剂、缓冲剂、防腐剂、抗氧化剂、润滑剂、稳定剂、增溶剂、表面活性剂(例如,润湿剂)、掩蔽剂、着色剂、增香剂、和甜味剂。

[2152] 在一种实施方式中,组合物进一步包含其它活性剂,例如,其它治疗剂或预防剂。

[2153] 在标准的制药教科书中可以找到适宜的载体、稀释剂、赋形剂等。见,例如, Handbook of Pharmaceutical Additives, 2nd Edition (eds. M. Ash and I. Ash), 2001 (Synapse Information Resources, Inc., Endicott, New York, USA), Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th edition, pub. Lippincott, Williams & Wilkins, 2000; 以及 Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2nd edition, 1994。

[2154] 本发明的另一个方面涉及用于制备药物组合物的方法,该方法包括混合至少一种¹¹C放射性标记结合物或结合物样化合物(如本文中所定义的)、以及一种或多种其它药用成分(本领域技术人员众所周知的),例如,载体、稀释剂、赋形剂等。如果配制成离散的单位(例如,片剂等),则每个单位含有预定量(剂量)的活性化合物。

[2155] 如在本文中所使用的,术语“可药用”涉及化合物、成分、材料、组合物、剂型等,在

合理的医学判断的范围内,其适合与所考虑的主体(例如,人)的组织接触,而没有过度的毒性、刺激、变态反应、或其它问题或并发症,并与合理的利益/风险比相符。在与制剂的其它成分相容的意义上,载体、稀释剂、赋形剂等各自也必须是“可接受的”。

[2156] 可以通过药学领域中众所周知的任何方法来制备剂型。这样的方法包括以下步骤:使活性化合物与载体(其构成一种或多种辅助成分)结合在一起。通常,通过使活性化合物与载体(例如,液体载体、细分固体载体等)均匀且紧密地结合在一起,然后将产品成形(如果需要的话),来制备剂型。

[2157] 可以制备剂型以提供快速或缓慢释放;立即、延迟、定时、或持续释放;或它们的组合。

[2158] 适用于胃肠外给予(例如,通过注射)的剂型包括水性或非水性的、等渗的、无热原的、无菌液体(例如,溶液、悬浮液),其中溶解、悬浮、或以其它方式(例如,在脂质体或其它微粒中)提供活性组分。这样的液体可以另外包含其它药用成分,如抗氧化剂、缓冲剂、防腐剂、稳定剂、抑菌剂、悬浮剂、增稠剂、和溶质,其使制剂与预定接受者的血液(或其它相关体液)等渗。赋形剂的实例包括,例如,水、醇(alcohol)、多元醇、甘油、植物油等。用于上述剂型的适宜的等渗载体的实例包括氯化钠注射液、林格氏液、或乳酸林格氏注射液。通常,在液体中活性组分的浓度是约1ng/ml至约10 μ g/ml,例如约10ng/ml至约1 μ g/ml。可以以单位剂量或多剂量密封容器,例如,安瓿和小瓶,来提供剂型,并且可以存储在冷冻干燥(冻干)条件下,从而仅需要在使用前立即添加无菌液体载体,例如注射用水。即时注射溶液和悬浮液可以制备自无菌散剂、颗粒剂、和片剂。

[2159] 剂量

[2160] 本领域技术人员将理解的是,结合物化合物和包含结合物化合物的组合物的适当剂量可以因患者而异。确定最佳剂量一般将涉及治疗效益水平相对于任何危险或有害副作用的平衡。选择的剂量水平将取决于多种因素,包括但不限于特定化合物的活性,给予途径,给予时间,化合物的排泄速率,治疗的持续时间,联合使用的其它药物、化合物、和/或材料,病症的严重程度,以及患者的物种、性别、年龄、体重、状况、一般健康、和以前的医疗史。化合物的量和给予途径最终将由医师、兽医、或临床医师决定,虽然通常将选择剂量以在作用部位处达到局部浓度,其达到预期的效果而没有引起实质性的有害或有毒的副作用。

[2161] 在整个治疗过程中,可以以一次剂量、连续或间歇地(例如,以分开的剂量并以适当的间隔)进行给予。用于确定给予的最有效方式和剂量的方法是本领域技术人员众所周知的并且将随用于治疗剂型、治疗的目的、待治疗的(一种或多种)靶细胞、和待治疗的主体而变化。借助于由治疗医师、兽医、或临床医师选择的剂量水平和模式可以进行单次或多次给予。

[2162] 通常,活性化合物的适宜剂量为约100ng至约25mg(更通常地为约1 μ g至约10mg)/千克主体体重/天。在活性化合物是盐、酯、酰胺、前药等的情况下,基于母体化合物来计算给予的量,所以按比例增加待使用的实际重量。

[2163] 在一种实施方式中,按照以下剂量方案:约100mg,每日3次,将活性化合物给予人患者。

[2164] 在一种实施方式中,按照以下剂量方案:约150mg,每日2次,将活性化合物给予人患者。

[2165] 在一种实施方式中,按照以下剂量方案:约200mg,每日2次,将活性化合物给予人患者。

[2166] 然而,在一种实施方式中,按照以下剂量方案:约50或约75mg,每日3或4次,将结合物化合物给予人患者。

[2167] 在一种实施方式中,按照以下剂量方案:约100或约125mg,每日2次,将结合物化合物给予人患者。

[2168] 上文描述的剂量可以适用于结合物(包括PBD部分和与抗体的接头)或适用于有效量的提供的PBD化合物,例如在接头的切割以后可释放的化合物的量。

[2169] 对于疾病的预防或治疗,本发明的ADC的适当剂量将取决于待治疗的疾病的类型(如上文所定义的),疾病的严重程度和病程(不管出于预防或治疗的目的来给予分子),以前的治疗,患者的临床病史和对抗体的响应,以及主治医生的判断力。在某个时候或在一系列治疗中,将分子适当地给予患者。取决于疾病的类型和严重程度,约1 μ g/kg至15mg/kg(例如0.1-20mg/kg)的分子是用于给予患者的初始候选剂量,而不论,例如,通过一次或多次单独的给予、还是通过连续输注。典型的每日剂量可以为约1 μ g/kg至100mg/kg或更多,其取决于上述因素。待给予患者的ADC的示例性剂量为约0.1至约10mg/kg患者体重。对于经数天或更长时间的重复给予,取决于病症,持续治疗直到发生疾病症状的所期望的抑制。示例性剂量方案包括给予约4mg/kg的初始负载剂量,接着每周、两周、或三周另外剂量的ADC的疗程。其它剂量方案可以是有用的。通过常规技术和测定,容易监测这种疗法的进展。

[2170] 治疗

[2171] 如在本文治疗病症的上下文中所使用的,术语“治疗”一般涉及治疗和疗法,而不论是人或动物(例如,在兽医应用中),其中达到一些所期望的治疗效果,例如,病症的进展的抑制,并且包括进展速率的降低、进展速率的停止、病症的消退、病症的改善、和病症的治愈。还包括作为预防措施(即,防治、预防)的治疗。

[2172] 如在本文中所使用的,术语“治疗有效量”涉及活性化合物、或材料、组合物或包含活性化合物的剂量(形式)的量,当按照所期望的治疗方案给予时,其可有效地产生一些所期望的治疗效果,并平衡合理的利益/风险比。

[2173] 类似地,如在本文中所使用的,术语“预防有效量”涉及活性化合物、或材料、包含活性化合物的组合物或剂量(形式)的量,当按照所期望的治疗方案给予时,其可有效地产生一些所期望的预防效果,并平衡合理的利益/风险比。

[2174] 抗体药物结合物的制备

[2175] 可以通过几种途径,采用本领域技术人员已知的有机化学反应、条件、和试剂,包括:(1)抗体的亲核性基团与二价接头试剂反应,以形成抗体-接头中间体Ab-L,其中借助于共价键,接着与活化的药物部分试剂反应;以及(2)药物部分试剂与接头试剂反应,以形成药物-接头试剂D-L,其中借助于共价键,接着与抗体的亲核性基团反应,来制备抗体药物结合物。可以借助于各种抗体、和接头来采用结合方法(1)和(2),以制备本发明的抗体-药物结合物。

[2176] 在抗体上的亲核基团包括但不限于侧链巯基,例如半胱氨酸。巯基是亲核的并且能够反应以与在接头部分(如本发明的那些接头部分)上的亲电子基团形成共价键。某些抗体具有可还原的链间二硫键,即半胱氨酸桥。通过还原剂如DTT(Cleland试剂,二硫苏糖醇)

或TCEP(三(2-羧基乙基)膦盐酸盐;Getz et al(1999) Anal.Biochem.Vol 273:73-80; Soltec Ventures, Beverly, MA) 进行处理,可以使抗体对于与接头试剂结合具有反应性。因此,理论上,每个半胱氨酸二硫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)的反应来将另外的亲核基团引入抗体,从而导致胺转化成硫醇(thiol)。

[2177] 主体(受试者)/患者

[2178] 主体/患者可以是动物、哺乳动物、胎盘哺乳动物、有袋目动物(例如,袋鼠、袋熊)、单孔类动物(例如,鸭嘴兽)、啮齿目动物(例如,豚鼠、仓鼠、大鼠、小鼠)、鼠(例如,小鼠)、兔类动物(例如,兔)、禽(例如,鸟)、犬科动物(例如,狗)、猫科动物(例如,猫)、马科动物(例如,马)、猪(例如,猪)、绵羊科动物(例如,羊)、牛科动物(例如,奶牛)、灵长目动物、类人猿(例如,猴或猿猴)、猴(例如,狨、狒狒)、猿(例如,大猩猩、黑猩猩、猩猩、长臂猿)、或人。

[2179] 此外,主体/患者可以是它的任何发育形式,例如,胎儿。在一种优选的实施方式中,主体/患者是人。

[2180] 在一种实施方式中,患者是群体,其中每个患者具有肿瘤,其具有在细胞的表面上的 $\alpha_v\beta_6$ 整联蛋白。

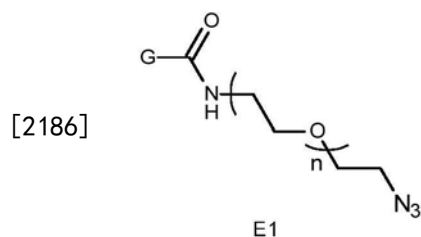
[2181] 合成

[2182] 在适当的条件下,通过它们与细胞结合剂反应,化学式A的结合物可以合成自化学式B的相应的药物-接头化合物。因此,其中Y具有化学式A1的结合物可以合成自其中Y^L具有化学式B1的药物-接头化合物。其中Y具有化学式A2的结合物可以合成自其中Y^L具有化学式B2的药物-接头化合物。其中Y具有化学式A3的结合物可以合成自其中Y^L具有化学式B3的药物-接头化合物。

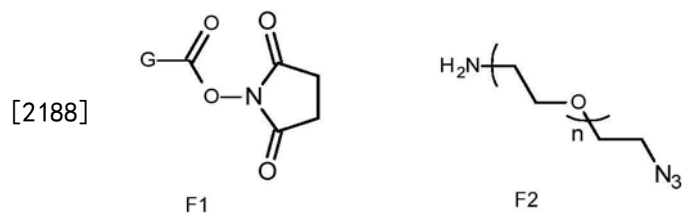
[2183] 上述条件,如上所述,将取决于在药物-接头化合物和细胞结合剂之间形成的键的类型,其本身将反映在细胞结合剂上的结合位点的特性。

[2184] 化学式B的药物-接头化合物可以合成自相应的化学式C的化合物。

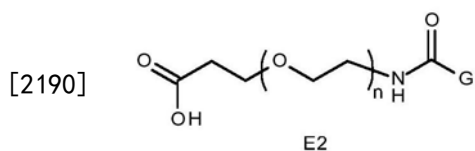
[2185] 在适当的溶剂中,通过与化学式E1的化合物的反应,其中Y^L具有化学式B1的药物-接头化合物可以合成自其中Y^C具有化学式C1的化合物:



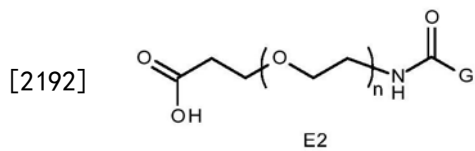
[2187] 通过化学式F1和F2的化合物的反应,可以原位形成化学式E1的化合物:



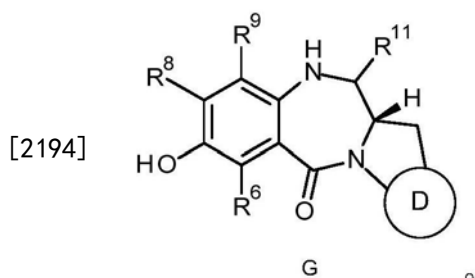
[2189] 在适当的溶剂中,在酰胺偶联剂的存在下,通过与化学式E2的化合物的反应,其中Y^L具有化学式B2的药物-接头化合物可以合成自其中Y^C具有化学式C2的化合物:



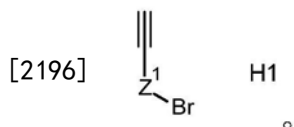
[2191] 在适当的溶剂中,在酰胺偶联剂的存在下,通过与化学式E2的化合物的反应,其中Y^L具有化学式B3的药物-接头化合物可以合成自其中Y^C具有化学式C3的化合物:



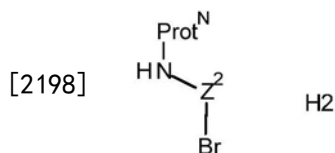
[2193] 化学式C的化合物可以制备自相应的化学式G的化合物:



[2195] 在碘化四丁铵和碳酸钾的存在下,通过化学式G的化合物和化学式H1的化合物的反应,可以合成其中Y^C具有化学式C1的化学式C的化合物:

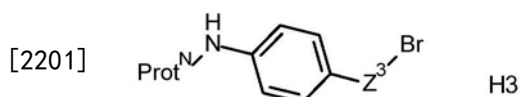


[2197] 在碘化四丁铵和碳酸钾的存在下,通过化学式G的化合物与化学式H2的化合物反应,可以合成其中Y^C具有化学式C2的化学式C的化合物:



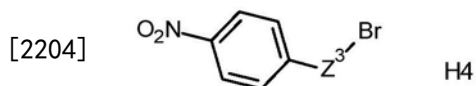
[2199] 其中Prot^N是胺保护基团,如Alloc,接着在标准条件下胺去保护。使用的保护基团应正交于在化合物中的任何其它保护基团。

[2200] 在碘化四丁铵和碳酸钾的存在下,通过化学式G的化合物与化学式H3的化合物反应,可以合成其中Y^C具有化学式C3的化学式C的化合物:



[2202] 其中Prot^N是胺保护基团,如Alloc,接着在标准条件下胺去保护。使用的保护基团应正交于在化合物中的任何其它保护基团。

[2203] 可替换地,在碘化四丁铵和碳酸钾的存在下,通过化学式G的化合物与化学式H4的化合物反应,可以合成其中Y^C具有化学式C3的化学式C的化合物:



[2205] 接着,在标准条件下,还原硝基。

[2206] 包含单PBD部分的化学式G的化合物的合成可以按照W02005/085259的披露内容,以及尤其是第31至39页的讨论内容,其以引用方式结合于本文。还参考于2012年10月12日提交的共同未决申请PCT/EP2012/070232的教导。

[2207] 包含两个亚胺部分的PBD化合物的合成广泛讨论于以下参考文献,其中的讨论以引用方式结合于本文:

[2208] a) W0 00/12508 (第14至30页);

[2209] b) W0 2005/023814 (第3至10页);

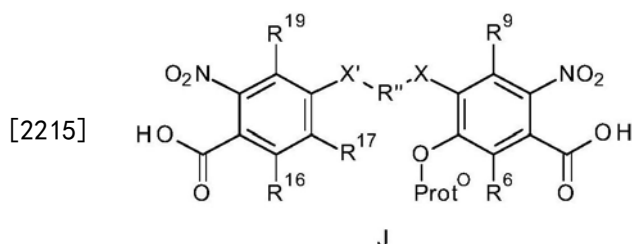
[2210] c) W0 2004/043963 (第28至29页);

[2211] d) W0 2005/085251 (第30至39页);以及

[2212] e) W0 2011/130598 (第126至150页)。

[2213] 以上讨论的W0 2005/085259的披露内容还与包含两个PBD部分的化学式G的化合物的合成相关。可以改进其中披露的合成方法以包括在C7 (即在方案4中的基团R^A) 处的被正交保护的羟基。

[2214] 可替换地,如在以上参考文献中描述的,可以合成化学式G的化合物,但开始自化学式J的二聚体核心:



[2216] 其中Prot⁰是羟基保护基团。可以通过类似于在本申请的实施例中的那些方法来制备化学式J的上述化合物。

[2217] 胺保护基团

[2218] 胺保护基团对于本领域技术人员是众所周知的。特别参考在Greene's Protecting Groups in Organic Synthesis, Fourth Edition, John Wiley & Sons, 2007 (ISBN 978-0-471-69754-1), 页码696-871中适宜保护基团的披露内容。

[2219] 羟基保护基团

[2220] 羟基保护基团对于本领域技术人员是众所周知的。特别参考在Greene's Protecting Groups in Organic Synthesis, Fourth Edition, John Wiley & Sons, 2007 (ISBN 978-0-471-69754-1), 页码16-298中适宜保护基团的披露内容。

[2221] 一般条件

[2222] 通过薄层色谱法(TLC),利用Merck Kieselgel 60 F254硅胶,并借助于在铝板上的荧光指示剂,来监测反应进程。除非另有说明,借助于UV光或碘蒸气来实现TLC的可视化。利用Merck Kieselgel 60 F254硅胶来进行快速色谱法。提取和层析溶剂购买自Fisher Scientific, U.K并在没有进一步纯化的情况下使用。所有化学品购买自Aldrich、VWR、和

Combi Blocks。

[2223] 利用Bruker Avance 400分光计来获得¹H和¹³C NMR谱。以赫兹(Hz)为单位给出耦合常数。以低场自四甲基硅烷的百万分之几(ppm)为单位来记录化学位移。自旋多重性被描述为s(单峰)、bs(宽单峰)、d(双峰)、t(三重峰)、q(四重峰)、p(五重峰)和m(多重峰)。

[2224] LCMS方法1(当未指定时默认的)

[2225] 利用水(A)(甲酸0.1%)和乙腈(B)(甲酸0.1%)的流动相运行HPLC(Waters Alliance 2695)。梯度:初始组成5%B,经1.0分钟,然后5%B升高至95%B,经3分钟。在95%B下保持上述组成0.1分钟,然后在0.03分钟内回到5%B,接着保持0.87分钟。总梯度运行时间等于5分钟。

[2226] 流动速率3.0 mL/分钟,经由通入质谱仪的零死体积丁字管(tee piece)来分开400μL。波长检测范围:220至400 nm。功能类型:二极管阵列(535扫描)。柱:Phenomenex Onyx Monolithic C18 50 x 4.60 mm

[2227] LCMS方法2

[2228] 利用水(A)(甲酸0.1%)和乙腈(B)(甲酸0.1%)的流动相运行HPLC(Waters Alliance 2695)。梯度:初始组成5%B,保持1.0分钟,然后5%B升高至95%B,经2.5分钟。在95%B下保持上述组成0.5分钟,然后在0.1分钟内回到5%B,并保持0.9分钟。总梯度运行时间等于5分钟。

[2229] 流动速率3.0mL/分钟,经由通入质谱仪的零死体积丁字管来分开400μL。波长检测范围:220至400nm。功能类型:二极管阵列(535扫描)。柱:Phenomenex Onyx Monolithic C18 50x 4.60mm。”

[2230] LCMS方法3

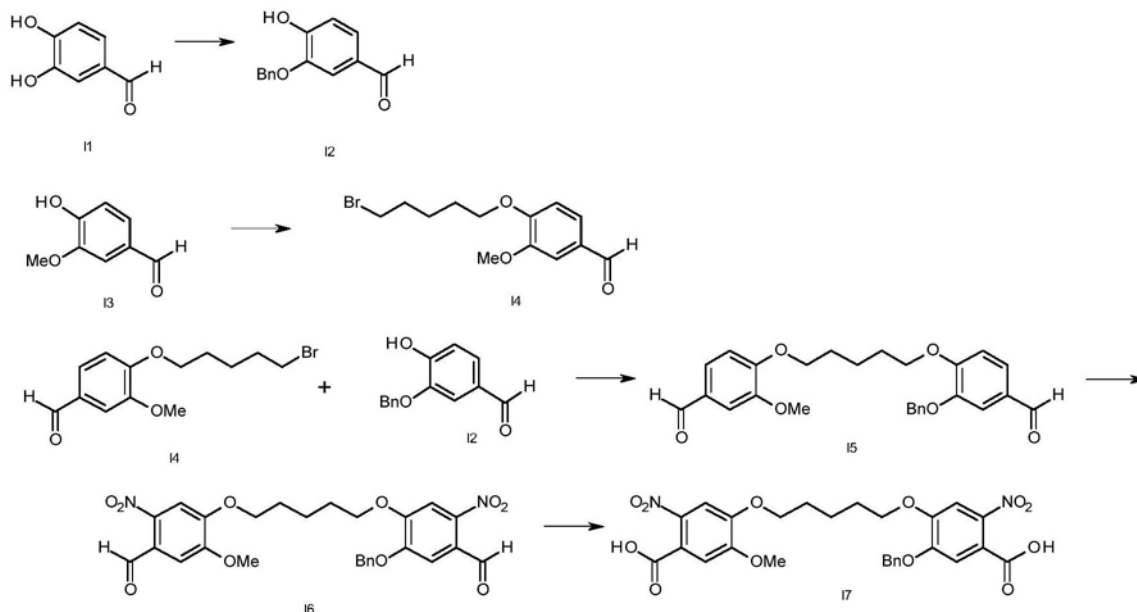
[2231] 利用水(A)(甲酸0.1%)和乙腈(B)(甲酸0.1%)的流动相运行HPLC(Shimazu LCMS-2020)。梯度:初始组成5%B,保持0.25分钟,然后5%B升高至100%B,经2分钟。在100%B下,保持上述组成0.50分钟,然后在0.05分钟内回到5%B并保持0.05分钟。总梯度运行时间等于3分钟。

[2232] 流动速率0.8mL/分钟。波长检测范围:220至400nm。柱:Waters Acquity UPLC BEH Shield RP18 1.7μm 2.1x50mm。

[2233] 关键中间体的合成

[2234] (a) 5-(苄氧基)-4-((5-(4-羧基-2-甲氧基-5-硝基苯氧基)戊基)氧基)-2-硝基苯甲酸(I7)

[2235]



[2236] (i) 3-(苄氧基)-4-羟基苯甲醛 (I2)

[2237] 在三颈烧瓶中用己烷冲洗氢化钠 (51.2g, 1.27 摩尔, 2.2 当量) 两次并添加无水 DMSO (800mL)。在室温下将烧瓶放置在水浴中。借助于另外的漏斗, 经 40 分钟, 滴加 3,4-二羟基苯甲醛 I1 (80g, 579.2 毫摩尔) 在无水 DMSO (160mL) 中的溶液, 然后在氩气下搅拌反应混合物 30 分钟。在添加期间, 形成大量氢气, 所以将具有棉绒和氯化钙的出口放置在颈部之一中。然后滴加苄基溴 (68.8mL, 579.2 毫摩尔, 1 当量) 并搅拌反应过夜。将反应混合物倒入冰中并用 HCl (1M) 骤冷直到 pH 酸, 然后用 EtOAc 提取。然后用盐水洗涤有机相并经硫酸镁干燥, 过滤, 然后在减压下通过旋转蒸发来除去多余溶剂。使得到的残留物经受二氧化硅垫 (具有纯二氯甲烷)。借助于在己烷中的最少的二氯甲烷来沉淀得到的材料。过滤和干燥得到的白色沉淀物以提供所期望的化合物 (80.7g, 60% 产率)。LC/MS (方法 3) 1.43 分钟 (没有电离)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 9.81 (s, 1H), 7.51 (d, J=1.8Hz, 1H), 7.45-7.34 (m, 7H), 7.06 (d, J=8.1Hz, 1H), 6.24 (s, 1H), 5.17 (s, 2H)。

[2238] (ii) 4-((5-溴戊基)氧基)-3-甲氧基苯甲醛 (I4)

[2239] 将香草醛 I3 (50g, 328 毫摩尔) 溶解于丙酮 (1L)。添加二溴戊烷 (227g, 985 毫摩尔, 3 当量) 和碳酸钾 (68g, 492 毫摩尔, 1.5 当量)。温热淤浆 (浆液, slurry) 至 65°C 并搅拌 2 小时, 然后温热至 80°C, 时间为 30 分钟。过滤产生的碳酸钾并在减压下通过旋转蒸发来除去多余溶剂。使得到的残留物经受二氧化硅垫: 7.5% EtOAc, 在己烷 (4L) 中, 然后 10% EtOAc, 在己烷 (1L) 中, 接着 25% EtOAc, 在己烷中, 以提供白色固体 (53.7g, 54% 产率)。LC/MS (方法 3) 1.63 分钟 (ES+) m/z (相对强度) 302.53 ([M+H]⁺, 100)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 9.83 (s, 1H), 7.42 (dd, J=8.1, 1.9Hz, 1H), 7.40 (d, J=1.9Hz, 1H), 6.95 (d, J=8.1Hz, 1H), 4.10 (t, J=6.6Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.43 (t, J=6.7Hz, 2H), 1.92 (m, 4H), 1.64 (tt, J=9.7, 6.2Hz, 2H)。

[2240] (iii) 3-(苄氧基)-4-((5-(4-甲酰基-2-乙氧基苯氧基)戊基)氧基)苯甲醛 (I5)

[2241] 将 4-((5-溴戊基)氧基)-3-甲氧基苯甲醛 I4 (40.0g, 132.81 毫摩尔, 1 当量) 和 3-(苄氧基)-4-羟基苯甲醛 I2 (30.3g, 132.81 毫摩尔, 1 当量) 溶解于二甲基甲酰胺 (200mL)。添加碳酸钾 (13.8g, 99.61 毫摩尔, 0.75 当量) 和碘化四丁铵 (4.9g, 13.28 毫摩尔, 0.1 当量)。温

热反应混合物至80℃并搅拌12小时。过滤产生的碳酸钾并在减压下通过旋转蒸发来除去多余溶剂。将得到的残留物溶解于乙酸乙酯并随后用水、1N NaOH、1N HCl、水和盐水加以洗涤。经硫酸镁干燥有机相，过滤，然后在减压下通过旋转蒸发来除去多余溶剂，以提供所期望的化合物(75g, 定量产率)，作为浅黄色油。LC/MS (方法3) 1.77分钟 (ES+) m/z (相对强度) 449.15 [M+H]⁺, 471.25 [M+Na]⁺。 ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 9.83 (s, 1H), 9.81 (s, 1H), 7.46 (dd, J=3.1, 1.4Hz, 2H), 7.43 (d, J=1.7Hz, 2H), 7.41 (dd, J=8.1, 1.9Hz, 1H), 7.39 (d, J=1.8Hz, 1H), 7.37-7.32 (m, 2H), 7.30 (dd, J=5.0, 3.6Hz, 1H), 6.97 (d, J=8.1Hz, 1H), 6.92 (d, J=8.1Hz, 1H), 5.15 (s, 2H), 4.13 (t, J=6.4Hz, 2H), 4.09 (t, J=6.6Hz, 2H), 3.88 (s, 3H), 2.01-1.89 (m, 4H), 1.77-1.64 (m, 2H)。

[2242] (iv) 5-(苄氧基)-4-((5-(4-甲酰基-2-甲氧基-5-硝基苯氧基)戊基)氧基)-2-硝基苯甲醛(I6)

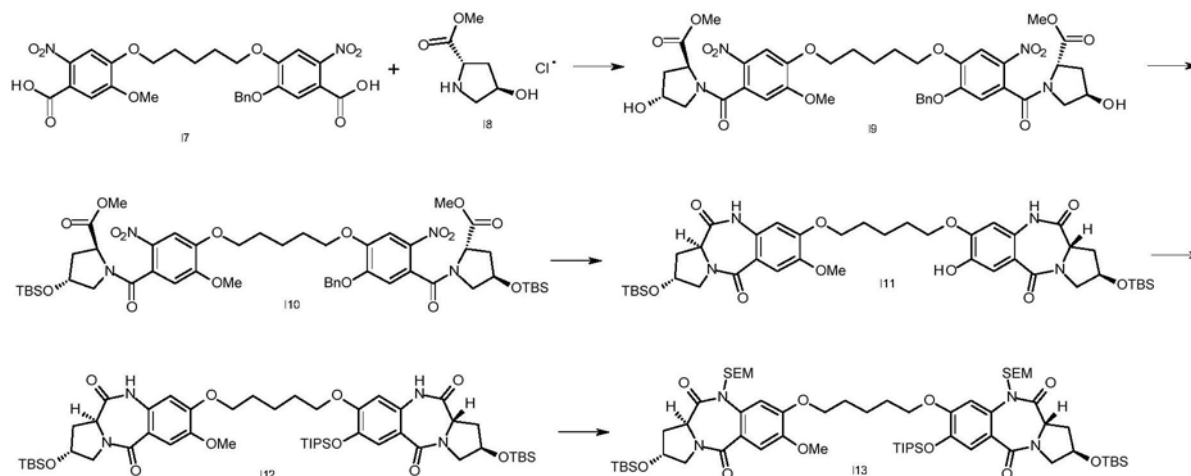
[2243] 将3-(苄氧基)-4-((5-(4-甲酰基-2-乙氧基苯氧基)戊基)氧基)苯甲醛I5 (30g, 66.40毫摩尔) 溶解于二氯甲烷(60mL) 并加入硝酸(68%, 60mL) (在0℃下)。在0℃下搅拌反应混合物20分钟，并在室温下搅拌3小时，然后添加冷水。过滤形成的沉淀物并用水洗涤。真空干燥白色固体。获得42g的白色固体(>100%产率, 由于剩余的水)。LC/MS (方法3) 1.88分钟, 没有电离。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 10.44 (s, 1H), 10.41 (s, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.46-7.30 (m, 6H), 5.25 (s, 2H), 4.20 (dd, J=12.2, 5.9Hz, 2H), 4.13 (dd, J=15.1, 8.7Hz, 2H), 3.96 (s, 3H), 2.01 (dt, J=14.1, 6.4Hz, 4H), 1.80-1.65 (m, 2H)。

[2244] (v) 5-(苄氧基)-4-((5-(4-羧基-2-甲氧基-5-硝基苯氧基)戊基)氧基)-2-硝基苯甲酸(I7)

[2245] 将亚氯酸钠(35.3g, 390毫摩尔, 5当量) 和磷酸钠(26.2g, 218.4毫摩尔, 2.8当量) 在水(250mL) 中的溶液加入5-(苄氧基)-4-((5-(4-甲酰基-2-甲氧基-5-硝基苯氧基)戊基)氧基)-2-硝基苯甲醛I6 (42g, 78毫摩尔) 在THF (200mL) 中的溶液。然后快速添加过氧化氢(60%, 103mL, 2.18摩尔, 28当量)。在30分钟以后, 用1N HCl骤冷反应并用乙酸乙酯提取。用盐水洗涤有机层两次, 经硫酸镁干燥, 过滤, 然后在减压下通过旋转蒸发除去多余溶剂。将得到的残留物溶解于最少的二氯甲烷并用醚沉淀出。过滤浅黄色固体(26g, 58%), 用醚洗涤, 并作为用于下一反应的粗产物使用。LC/MS (方法3) 1.69分钟 (ES+) m/z (相对强度) 569.35 [M+H]⁺。

[2246] (b) (2R, 11aS)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-8-((5-(((2R, 11aS)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5, 11-二氧-7-((三异丙基甲硅烷基)氧基)-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-2, 3, 5, 10, 11, 11a-六氢-1H-苯并[e]吡咯并[1, 2-a][1, 4]二氮杂萘-8-基)氧基)戊基)氧基)-7-甲氧基-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-2, 3-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1, 2-a][1, 4]二氮杂萘-5, 11(10H, 11aH)-二酮(I13)

[2247]



[2248] (i) (2S,4R)-甲基1-(4-((5-(2-(苄氧基)-4-((2S,4R)-4-羟基-2-(甲氧基羰基)吡咯烷-1-羰基)-5-硝基苯氧基)戊基)氧基)-5-甲氧基-2-硝基苯甲酰基)-4-羟基吡咯烷-2-羧酸酯 (I9)

[2249] 将草酰氯 (7.6mL, 89.92毫摩尔, 3当量) 加入 I7 (17.1g, 29.97毫摩尔) 在二氯甲烷 (150mL) 和 DMF (2mL) 中的溶液。在 20 分钟以后, 在减压下通过旋转蒸发来除去溶剂并添加最少二氯甲烷以溶解粗产物并用二乙醚加以研制。过滤形成的黄色固体并分批加入 I8 (13.6g, 74.93毫摩尔, 2.5当量) 和三乙胺 (20.92mL, 149.87毫摩尔, 5当量) 在二氯甲烷 (100mL) 中的溶液 (在 -40℃ 下)。在几分钟后反应完成。在减压下通过旋转蒸发除去溶剂并使得到的残留物经受快速柱层析 (硅胶; 50% 乙酸乙酯, 在己烷中, 至 100% 乙酸乙酯, 以收集单加成产物, 然后 5% 至 20% 甲醇, 在二氯甲烷中)。收集并合并纯级分, 然后在减压下通过旋转蒸发来除去过量洗脱液, 以得到产物 (15g, 61%, 经 3 个步骤)。LC/MS (方法 3) 1.47 分钟 (ES+) m/z (相对强度) 825.45 ($[M+H]^+$, 100)。 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.65 (s, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.45-7.27 (m, 5H), 6.89 (s, 1H), 6.81 (s, 1H), 5.20 (s, 2H), 4.85-4.74 (m, 2H), 4.40 (d, $J=20.3$ Hz, 2H), 4.21-4.02 (m, 4H), 3.91 (s, 3H), 3.79 (s, 6H), 3.53-3.41 (m, 2H), 3.13 (d, $J=11.1$ Hz, 1H), 3.04 (d, $J=11.0$ Hz, 1H), 2.79-2.72 (m, $J=4.3$ Hz, 1H), 2.63 (s, 1H), 2.42-2.32 (m, 2H), 2.21-2.06 (m, $J=11.3$ Hz, 2H), 2.02-1.89 (m, 4H), 1.76-1.65 (m, 2H)。

[2250] (ii) (2S,4R)-甲基1-(4-((5-(2-(苄氧基)-4-((2S,4R)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-(甲氧基羰基)吡咯烷-1-羰基)-5-硝基苯氧基)戊基)氧基)-5-甲氧基-2-硝基苯甲酰基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)吡咯烷-2-羧酸酯 (I10)

[2251] 在 120℃ 下将 I9 (14g, 16.97毫摩尔)、叔丁基二甲基甲硅烷基氯化物 (12.8g, 84.87毫摩尔, 5当量) 和咪唑 (13.9g, 203.64毫摩尔, 12当量) 熔融在一起。在 30 分钟后反应完成。使得到的残留物经受快速柱层析 (硅胶; 10% 乙酸乙酯, 在己烷中, 至 100% 乙酸乙酯)。收集和合并纯级分 (流分, fraction), 然后在减压下通过旋转蒸发来除去过量洗脱液, 以得到产物 (17g, 定量的)。

[2252] LC/MS (方法 3) 2.17 分钟。 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.69 (s, 1H), 7.65 (s, 1H), 7.43-7.27 (m, 5H), 6.87 (s, 1H), 6.78 (s, 1H), 5.17 (d, $J=5.6$ Hz, 2H), 4.73-7.79 (m, 2H), 4.45-4.34 (m, 2H), 4.32-4.10 (m, 2H), 4.09-4.00 (m, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.48-3.41 (m, 1H), 3.29 (dd, $J=10.3, 4.6$ Hz, 1H), 3.03 (dd, $J=10.4, 2.4$ Hz, 2H), 2.96 (dd, $J=10.3, 4.6$ Hz, 1H), 2.79-2.72 (m, $J=4.3$ Hz, 1H), 2.63 (s, 1H), 2.42-2.32 (m, 2H), 2.21-2.06 (m, $J=11.3$ Hz, 2H), 2.02-1.89 (m, 4H), 1.76-1.65 (m, 2H)。

=10.2, 2.8Hz, 2H), 2.31-2.21 (m, 2H), 2.19-2.05 (m, 2H), 2.00-1.88 (m, 4H), 1.74-1.66 (m, 2H), 0.82 (s, 18H), 0.02 (d, J=1.1Hz, 6H), -0.03 (d, J=5.5Hz, 6H)。

[2253] (iii) (2R, 11aS)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-8-((5-(((2R, 11aS)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-7-羟基-5, 11-二氧-2, 3, 5, 10, 11, 11a-六氢-1H-苯并[e]吡咯并[1, 2-a][1, 4]二氮杂~~草~~-8-基)氧基)戊基)氧基)-7-甲氧基-2, 3-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1, 2-a][1, 4]二氮杂~~草~~-5, 11 (10H, 11aH)-二酮 (I11)

[2254] 将甲酸铵 (106g, 168毫摩尔, 10当量) 加入 I10 (17.7g, 16.80毫摩尔) 在乙醇 (500mL) 中的溶液。用乙酸乙酯来润湿碳上钯 (碳载钯) (1.8g, 10%) 并加入反应混合物。温热溶液至 70℃。在 20 分钟以后, 通过硅藻土 (C 盐, celite) 过滤反应混合物, 并用乙酸乙酯洗涤。通过旋转蒸发除去溶剂。将残余物溶解于乙酸乙酯并用饱和氯化铵水溶液以及盐水加以洗涤, 经硫酸镁干燥, 过滤并在减压下通过旋转蒸发除去多余溶剂, 以产生所期望的化合物 (13.9g, 98%), 作为黄色胶状物。

[2255] LC/MS (方法 3) 1.91 分钟, (ES+) m/z (相对强度) 839.35 ([M+H]⁺, 100)。

[2256] (iv) (2R, 11aS)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-8-((5-(((2R, 11aS)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5, 11-二氧-7-((三异丙基甲硅烷基)氧基)-2, 3, 5, 10, 11, 11a-六氢-1H-苯并[e]吡咯并[1, 2-a][1, 4]二氮杂~~草~~-8-基)氧基)戊基)氧基)-7-甲氧基-2, 3-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1, 2-a][1, 4]二氮杂~~草~~-5, 11 (10H, 11aH)-二酮 (I12)

[2257] 在 120℃ 下, 将 I11 (13.9g, 16.56毫摩尔)、三异丙基甲硅烷基氯化物 (3.6mL, 18.36毫摩尔, 1.1当量) 和咪唑 (3.4g, 49.94毫摩尔, 3当量) 熔融在一起。在 30 分钟后反应完成。使得到的残留物经受快速柱层析 (硅胶; 10% 乙酸乙酯, 在己烷中, 至 100% 乙酸乙酯)。收集和合并纯级分并在减压下通过旋转蒸发来除去过量洗脱液, 以得到产物 (15.4g, 93%)。LC/MS (方法 3) 2.31 分钟, ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 9.81 (s, 1H), 8.70 (s, 1H), 8.65 (s, 1H), 7.43 (s, 2H), 6.47 (s, 1H), 6.42 (s, 1H), 4.54-4.43 (m, 2H), 4.17 (dt, J=7.6, 3.8Hz, 2H), 4.00 (t, J=6.4Hz, 2H), 3.95 (t, J=6.2Hz, 2H), 3.87 (s, 3H), 3.73-3.58 (m, 4H), 2.84-2.76 (m, 2H), 2.09-1.96 (m, 1H), 1.92-1.85 (m, 4H), 1.68-1.62 (m, 2H), 1.31-1.17 (m, 3H), 1.08 (d, J=2.5Hz, 9H), 1.06 (d, J=2.5Hz, 9H), 0.85 (s, 9H), 0.84 (s, 9H), 0.06 (s, 6H), 0.07 (s, 6H)。

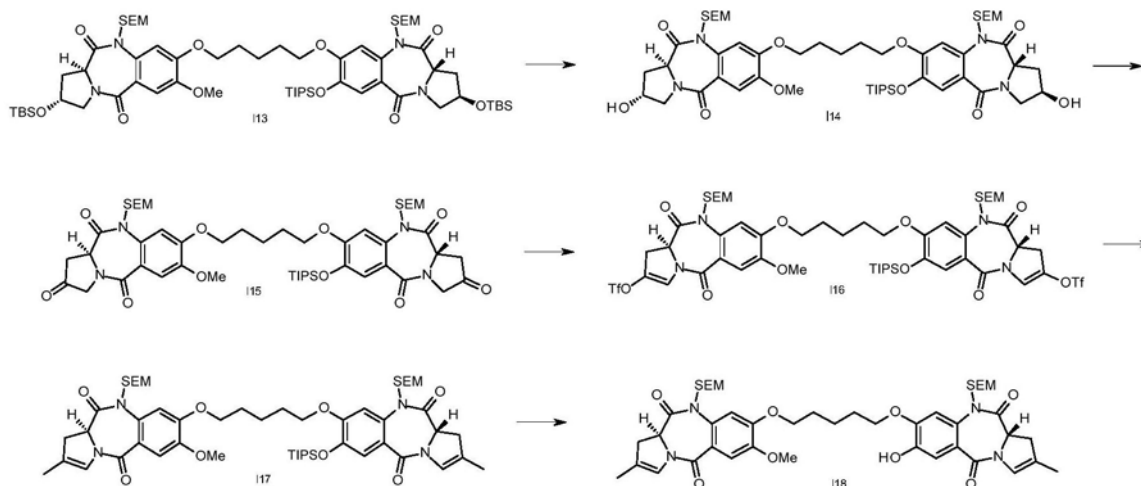
[2258] (v) (2R, 11aS)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-8-((5-(((2R, 11aS)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5, 11-二氧-7-((三异丙基甲硅烷基)氧基)-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-2, 3, 5, 10, 11, 11a-六氢-1H-苯并[e]吡咯并[1, 2-a][1, 4]二氮杂~~草~~-8-基)氧基)戊基)氧基)-7-甲氧基-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-2, 3-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1, 2-a][1, 4]二氮杂~~草~~-5, 11 (10H, 11aH)-二酮 (I13)

[2259] 将 I12 (15.4g, 15.74毫摩尔) 溶解于无水四氢呋喃 (250mL) 并冷却至 -30℃ (干冰/丙酮)。然后滴加正丁基锂 (29mL, 46.41毫摩尔, 3当量) 并在 -30℃ 下搅拌反应混合物 1 小时。然后滴加 2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基氯化物 (8.2mL, 46.41毫摩尔, 3当量) 并除去冷浴。在环境温度下搅拌反应混合物 12 小时并通过旋转蒸发除去溶剂。将残余物溶解于乙酸乙酯并用水和盐水加以洗涤, 经硫酸镁干燥; 过滤并在减压下通过旋转蒸发来除去多余溶剂, 以得到所期望的化合物, 作为黄色油, 其作为用于下一反应的粗产物。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.34 (s, 1H), 7.33 (s, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 5.49 (dd, J=10.0, 1.8Hz, 2H), 4.64 (dd, J=9.9, 7.5Hz, 2H), 4.56 (dt, J=8.9, 5.7Hz, 2H), 4.21 (dt, J=8.6, 4.4Hz, 2H),

4.09-3.93 (m, 4H), 3.91 (s, 3H), 3.82-3.61 (m, 6H), 3.61-3.50 (m, 2H), 2.90-2.76 (m, 2H), 2.03-1.97 (m, 2H), 1.97-1.86 (m, 4H), 1.75-1.64 (m, 2H), 1.34-1.19 (m, 3H), 1.10 (d, J=2.7Hz, 9H), 1.08 (d, J=2.7Hz, 9H), 0.96 (ddd, J=9.1, 6.9, 2.0Hz, 4H), 0.86 (d, J=2.9Hz, 9H), 0.85 (d, J=2.9Hz, 9H), 0.09 (s, 6H), 0.07 (s, 6H), 0.01 (d, J=3.2Hz, 18H)。

[2260] (c) (S)-7-羟基-8-((5-(((S)-7-甲氧基-2-甲基-5,11-二氧-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-5,10,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-8-基)氧基)戊基)氧基)-2-甲基-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-5,11 (10H, 11aH)-二酮 (I18)

[2261]



[2262] (i) (2R, 11aS)-2-羟基-8-((5-(((2R, 11aS)-2-羟基-5,11-二氧-7-((三异丙基甲硅烷基)氧基)-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-2,3,5,10,11,11a-六氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-8-基)氧基)戊基)氧基)-7-甲氧基-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-5,11 (10H, 11aH)-二酮 (I14)

[2263] 将粗制I13 (15.74毫摩尔) 溶解于无水四氢呋喃 (40mL) 以及1% v/v浓HCl在甲醇 (120mL) 中的溶液。在环境温度下搅拌反应混合物2小时;用乙酸乙酯稀释并用水(两次)、饱和碳酸氢钠水溶液和盐水加以洗涤,经硫酸镁干燥;过滤并在减压下通过旋转蒸发来除去多余溶剂,以得到所期望的化合物,作为黄色油,其作为用于下一反应的粗产物。LC/MS (方法3) 2.08分钟, (ES+) m/z (相对强度) 1027.40 [M+H]⁺, ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.32 (s, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.14 (s, 1H), 5.49 (dd, J=10.0, 3.2Hz, 2H), 4.69-4.57 (m, 3H), 4.33-4.24 (m, 2H), 4.16-3.93 (m, 4H), 3.88 (s, 3H), 3.89-3.55 (m, 6H), 3.00-2.88 (m, 2H), 2.53 (br, 1H), 2.17-2.05 (m, 2H), 2.00-1.86 (m, 4H), 1.78-1.63 (m, 3H), 1.46-1.39 (m, 2H), 1.36-1.19 (m, 4H), 1.09 (s, 9H), 1.07 (s, 9H), 1.01-0.92 (m, 4H), 0.02 (s, 18H)。

[2264] (ii) (S)-7-甲氧基-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-8-((5-(((S)-2,5,11-三氧-7-((三异丙基甲硅烷基)氧基)-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-2,3,5,10,11,11a-六氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-8-基)氧基)戊基)氧基)-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-2,5,11 (3H, 10H, 11aH)-三酮 (I15)

[2265] 在-10℃ (丙酮/冰) 下,将TCCA (1.62g, 7.00毫摩尔, 1.2当量) 加入粗制I14 (5.84毫

摩尔)、TEMPO (90mg, 0.58毫摩尔, 0.1当量) 和乙酸钠 (1.14g, 14.00毫摩尔, 2.4当量) 在二氯甲烷 (120mL) 中的溶液。搅拌反应30分钟并通过硅藻土加以过滤。然后用饱和碳酸氢钠水溶液骤冷反应混合物。用硫代硫酸钠和盐水洗涤有机相, 经硫酸镁干燥; 过滤并在减压下通过旋转蒸发来除去多余溶剂。使得到的残留物经受快速柱层析 (硅胶; 20%至70%乙酸乙酯, 在己烷中)。收集和合并纯级分并在减压下通过旋转蒸发来除去过量洗脱液, 以得到产物 (3.21g, 54%, 经3个步骤)。LC/MS (方法3) 2.17分钟, (ES+) m/z (相对强度) 1023.75 $[M+H]^+$, 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.32 (s, 2H), 7.23 (s, 1H), 7.18 (s, 1H), 5.53 (dd, $J=10.0, 1.6$ Hz, 2H), 4.70 (t, $J=9.6$ Hz, 2H), 4.66-4.58 (m, 2H), 4.22 (d, $J=20.1$ Hz, 2H), 4.13-3.95 (m, 4H), 3.91 (s, 3H), 3.89-3.74 (m, 4H), 3.72-3.62 (m, 2H), 3.56 (ddd, $J=19.2, 5.8, 3.1$ Hz, 2H), 2.78 (dd, $J=19.3, 9.9$ Hz, 2H), 1.95 (dd, $J=14.6, 7.3$ Hz, 4H), 1.76-1.63 (m, 2H), 1.33-1.23 (m, 3H), 1.10 (s, 9H), 1.09 (s, 9H), 1.02-0.90 (m, 4H), 0.02 (s, 18H)。

[2266] (iii) (S)-8-((5-((S)-5,11-二氧-2-(((三氟甲基)磺酰基)氧基)-7-((三异丙基甲硅烷基)氧基)-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-5,10,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂 草 -8-基)氧基)戊基)氧基)-7-甲氧基-5,11-二氧-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-5,10,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂 草 -2-基三氟甲磺酸酯 (I16)

[2267] 在 $-50^\circ C$ (丙酮/干冰) 下, 将无水2,6-二甲基吡啶 (2.12mL, 18.17毫摩尔, 6.2当量) 一次性地注入I15 (3g, 2.93毫摩尔) 在无水二氯甲烷 (40mL) 中的溶液。然后慢慢地添加三氟甲磺酸酐 (2.12mL, 18.17毫摩尔, 6当量), 同时监测温度。在20分钟以后, 将冷水加入仍然冷的反应混合物并分离有机层, 然后用冷的饱和的碳酸氢钠、盐水加以洗涤, 经硫酸镁干燥, 过滤并在减压下通过旋转蒸发来除去多余溶剂。使得到的残留物经受快速柱层析 (硅胶; 5%至20%乙酸乙酯, 在己烷中)。收集和合并纯级分并在减压下通过旋转蒸发来除去过量洗脱液, 以得到产物 (3.1g, 82%)。LC/MS (方法3) 2.37分钟, 没有电离, 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.32 (s, 2H), 7.23 (s, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.14 (s, 1H), 7.11 (s, 1H), 5.54 (d, $J=10.0$ Hz, 2H), 4.74-4.66 (m, 2H), 4.63 (d, $J=11.0$ Hz, 2H), 4.09-3.96 (m, 4H), 3.94-3.87 (m, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.82-3.76 (m, 2H), 3.69-3.65 (m, 2H), 3.22-3.08 (m, 2H), 1.99-1.90 (m, 4H), 1.75-1.64 (m, 2H), 1.33-1.21 (m, 3H), 1.11 (d, $J=1.1$ Hz, 9H), 1.09 (d, $J=1.1$ Hz, 9H), 1.01-0.91 (m, 4H), 0.02 (s, 18H)。

[2268] (iv) (S)-7-甲氧基-2-甲基-8-((5-((S)-2-甲基-5,11-二氧-7-((三异丙基甲硅烷基)氧基)-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-5,10,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂 草 -8-基)氧基)戊基)氧基)-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂 草 -5,11 (10H, 11aH)-二酮 (I17)

[2269] 在氩气氛下, 将三苯肿 (588mg, 1.92毫摩尔, 0.8当量) 加入三氟甲磺酸酯I16 (3.1g, 2.4毫摩尔, 1当量)、甲基硼酸 (1.0g, 16.8毫摩尔, 7当量)、氧化银 (4.45g, 19.2毫摩尔, 8当量) 和磷酸钾 (potassium phosphate tribasic) (6.1g, 28.8毫摩尔, 12当量) 在无水二氧杂环己烷 (40mL) 中的混合物。用氩气冲洗反应3次, 然后添加二(苄腈)钡 (II) 氯化物 (184mg, 0.48毫摩尔, 0.2当量)。在 $70^\circ C$ 下搅拌以前, 用氩气再冲洗反应3次。在1小时以后, 通过TLC观测到反应完成, 然后通过垫硅藻土加以过滤。在减压下通过旋转蒸发来除去溶剂。对得到的残留物进行柱快速色谱法 (硅胶; 20%至50%乙酸乙酯/己烷)。收集和合并纯

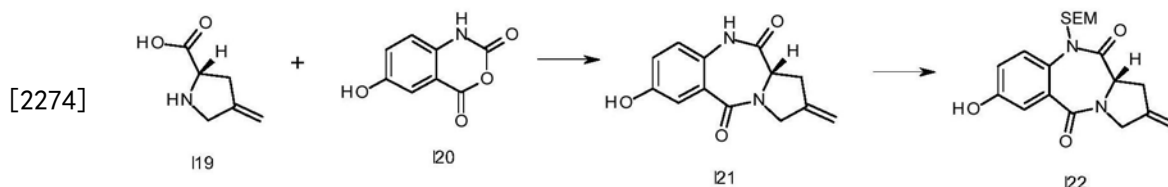
级分,然后在减压下通过旋转蒸发来除去过量洗脱液,以得到产物(1.1g,36%)。LC/MS(方法3)2.34分钟,没有电离, ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) δ 7.35(s,2H),7.20(s,1H),7.16(s,1H),6.68(d, $J=1.3\text{Hz}$,1H),6.64(d, $J=1.4\text{Hz}$,1H),5.53(s,1H),5.51(s,1H),4.67(t, $J=10.1\text{Hz}$,2H),4.45(dt, $J=10.5,3.2\text{Hz}$,2H),4.08-3.94(m,4H),3.90(s,3H),3.77(dd, $J=8.9,7.5\text{Hz}$,2H),3.68(dt, $J=10.0,5.2\text{Hz}$,2H),3.43(d, $J=16.5\text{Hz}$,2H),2.78(d, $J=10.4\text{Hz}$,2H),2.00-1.86(m,4H),1.83(s,3H),1.82(s,3H),1.72-1.68(m,2H),1.30-1.25(m,3H),1.09(s,9H),1.06(s,9H),0.99-0.94(m,4H),0.02(s,18H)。

[2270] (v) (S)-7-羟基-8-((5-((S)-7-甲氧基-2-甲基-5,11-二氧-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-5,10,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂 草 -8-基)氧基)戊基)氧基)-2-甲基-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂 草 -5,11(10H,11aH)-二酮(I18)

[2271] 将乙酸锂(110mg,1.08毫摩尔,1当量)加入化合物I17(1.1g,1.08毫摩尔)在湿二甲基甲酰胺(20mL,50:1DMF/水)中的溶液。在环境温度下搅拌反应12小时并用乙酸乙酯稀释,然后用柠檬酸(pH \sim 3)、盐水加以洗涤,经硫酸镁干燥;过滤并在减压下通过旋转蒸发来除去多余溶剂,以提供产物(1.03g,定量的)。

[2272] LC/MS(方法3)1.98分钟,(ES+)m/z(相对强度)863.35 $[\text{M}+\text{H}]^+$, ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) δ 7.44(s,1H),7.35(s,1H),7.20(s,1H),7.19(s,1H),6.70-6.62(m,2H),6.21(br,1H),5.51(dd, $J=10.0,5.3\text{Hz}$,2H),4.66(dd, $J=11.3,10.1\text{Hz}$,2H),4.46(dd, $J=10.4,3.2\text{Hz}$,2H),4.18-3.99(m,4H),3.90(s,3H),3.78(td, $J=9.7,6.9\text{Hz}$,2H),3.67(td, $J=9.7,6.8\text{Hz}$,2H),3.49-3.35(m,2H),2.81-2.68(m,2H),2.00-1.89(m,4H),1.82(s,3H),1.81(s,3H),1.75-1.63(m,2H),0.97(ddd, $J=9.9,6.6,3.3\text{Hz}$,4H),0.01(s,18H)。

[2273] (d) (S)-7-羟基-2-亚甲基-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂 草 -5,11(10H,11aH)-二酮(I23)



[2275] (i) (S)-7-羟基-2-亚甲基-2,3-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂 草 -5,11(10H,11aH)-二酮(I21)

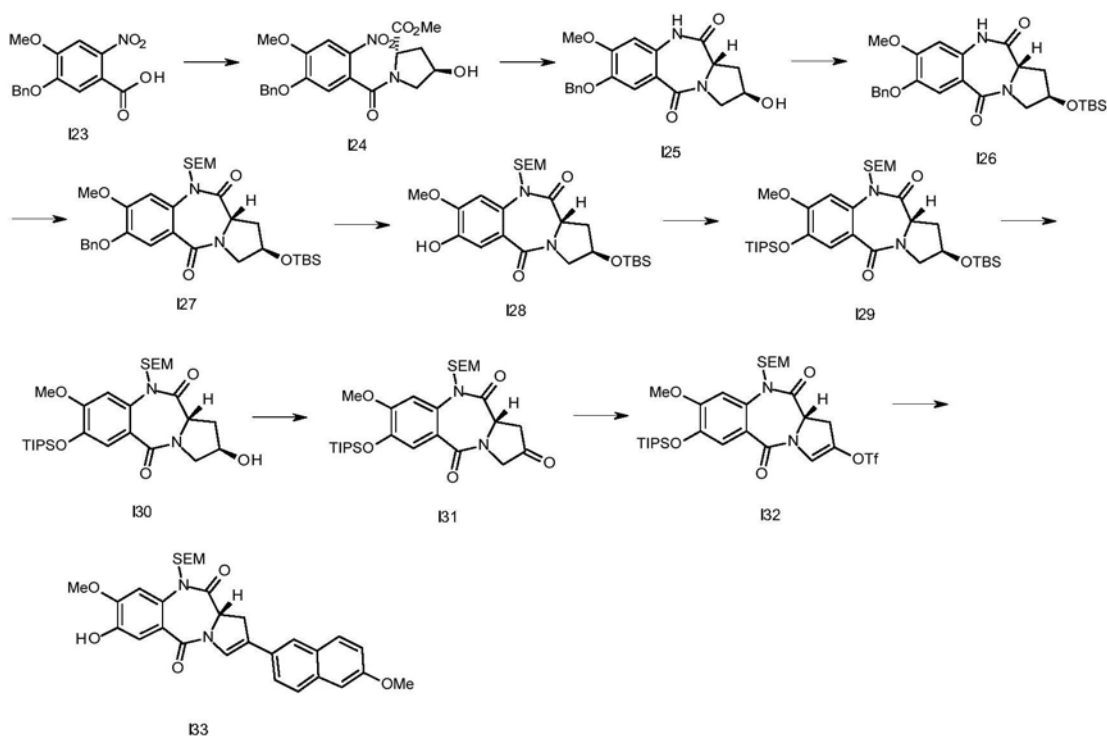
[2276] 将苯酚酞红酸酐(phenol isatoic anhydride)I20(1.59g,8.88毫摩尔,1当量)、盐酸盐I19(1.60g,9.7毫摩尔,1.1当量)、二异丙基乙胺(2.06mL,11.8毫摩尔,1.3当量)悬浮在DMSO(8mL)中并在120 $^{\circ}\text{C}$ 下加热15分钟。LC/MS监测表明原料消耗总量。用水和冰稀释反应混合物并通过过滤(1g)来收集产生的沉淀物。在乙腈中再结晶产物以产生所期望的产物(600mg)。LC/MS(1.97分钟(ES-)m/z(相对强度)242.7 $[\text{M}-\text{H}]^-$,100); ^1H NMR(400MHz,DMSO) δ 10.24(s,1H),9.64(s,1H),7.15(d, $J=2.5\text{Hz}$,1H),7.01-6.90(m,2H),5.08(s,2H),4.31-4.16(m,2H),4.03(dd, $J=16.2,1.3\text{Hz}$,1H),3.20(d, $J=16.1\text{Hz}$,1H),2.77(dd, $J=15.9,9.4\text{Hz}$,1H)。

[2277] (ii) (S)-7-羟基-2-亚甲基-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-2,3-二氢-

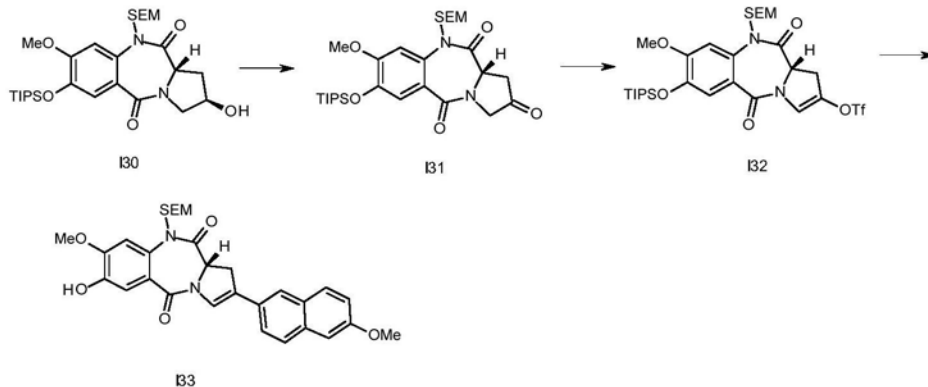
1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-5,11(10H,11aH)-二酮(I22)

[2278] 在-78℃下,将正丁基锂(2.51mL,4.02毫摩尔,2.2当量)加入苯酚双内酰胺I21(447mg,1.83毫摩尔,1当量)在无水THF中的悬浮液。在剧烈搅拌下缓慢注入SEM氯化物(670mg,711μL,4.02毫摩尔,2.2当量)。允许混合物回到室温并用在甲醇中的稀HCl(3滴浓盐酸/50mL甲醇)加以处理。在40℃下加热混合物以加速酚醛SEM醚的水解并通过LC/MS和TLC(乙酸乙酯)来监测反应。在乙酸乙酯和水之间分配混合物,接着盐水洗涤。快速柱层析(80/20乙酸乙酯/己烷)产生率为73%(502mg)的产物。LC/MS(3.10分钟(ES-)m/z(相对强度)372.9([M-H]⁻,100))。

[2279] (e) (S)-8-甲氧基-2-(6-甲氧基萘-2-基)-7-((三异丙基甲硅烷基)氧基)-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-5,11(10H,11aH)-二酮(I33)



[2280]



[2281] (i) (2S,4R)-甲基1-(5-(苄氧基)-4-甲氧基-2-硝基苯甲酰基)-4-羟基吡咯烷-2-羧酸酯(I24)

[2282] 将草酰氯(1.19mL,1.73g,13.6毫摩尔)加入硝基苯甲酸I23(2.77g,9.1毫摩尔)和DMF(3滴)在无水DCM(50mL)中的搅拌悬浮液。在初始起泡以后,反应悬浮液变成溶液并允许在室温下搅拌混合物16小时。通过用MeOH来处理反应混合物的样品,证实了到酰基氯的转化并且通过LC/MS(3.27分钟),观测到产生的甲酯。在减压下通过蒸发除去大部分溶剂,将得到的浓缩溶液重新溶解于最少量的无水DCM并用二乙醚研制(triturate)。通过过滤收集得到的黄色沉淀物,用冷二乙醚洗涤,然后在40℃下在真空烘箱中干燥1小时。在-40℃(干冰/CH₃CN)下,经5分钟,将固体酰基氯分批加入(2S,4R)-甲基-4-羟基吡咯烷-2-羧酸酯盐酸盐(1.86g,10.2毫摩尔,1.15当量)和TEA(3.10mL,2.25g,22.2毫摩尔,2.5当量)在DCM(40mL)中的搅拌悬浮液。紧接地,反应完成,如通过LC/MS(2.70分钟(ES+)m/z(相对强度)431.01([M+H]⁺,100))和通过TLC(乙酸乙酯)所判断的。用DCM(20mL)稀释混合物,并用1N

HCl (30mL)、饱和NaHCO₃ (30mL)、盐水 (40mL) 洗涤,干燥 (MgSO₄),过滤,然后在真空中蒸发溶剂,以得到纯产物,作为橙色固体 (3.7g, 94%)。LC/MS (2.70分钟 (ES+) m/z (相对强度) 431.01 ([M+H]⁺, 100)) ; ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ7.70 (d, J=1.8Hz, 1H), 7.48-7.30 (m, 5H), 6.89 (s, 1H), 5.29 (d, J=5.5Hz, 1H), 5.25 (d, J=7.2Hz, 1H), 4.84 (t, J=8.1Hz, 1H), 4.40 (s, 1H), 3.99 (d, J=10.0Hz, 3H), 3.82 (s, 3H), 3.46 (s, 1H), 3.33 (dd, J=11.3, 4.2Hz, 1H), 3.12-2.96 (m, 1H), 2.51-2.29 (m, 1H), 2.22-2.07 (m, 1H)。

[2283] (ii) (2R, 11aS)-7-(苄氧基)-2-羟基-8-甲氧基-2,3-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-5,11 (10H, 11aH)-二酮 (I25)

[2284] 将锌粉 (10g, 153毫摩尔, 19当量 (过量)) 加入硝基酯I24 (3.5g, 8.1毫摩尔) 在5%甲酸 (在甲醇) (70mL) 中的溶液。观察到放热,接着硝基还原为苯胺。LC/MS (2.47分钟 (ES+) m/z (相对强度) 401.03 ([M+H]⁺, 100))。通过硅藻土过滤产生的悬浮液并用甲醇 (30mL) 洗涤,以得到澄清滤液。通过蒸发除去溶剂和残余甲酸。将残余物再溶解于甲醇并将水合肼 (380μL, 12.2毫摩尔) 加入溶液,然后在60℃下加热反应混合物直到观测到完成。LC/MS (2.45分钟 (ES+) m/z (相对强度) 369.01 ([M+H]⁺, 100))。允许混合物冷却至室温,在真空下除去溶剂,用二乙醚研制残余物,然后通过过滤来获得沉淀物并在真空干燥器中干燥,以提供所期望的产物,作为白色粉末 (2.77g, 92%)。LC/MS (2.45分钟 (ES+) m/z (相对强度) 369.01 ([M+H]⁺, 100))。¹H NMR (400MHz, DMSO) δ7.95 (s, 1H), 7.52-7.34 (m, 6H), 6.77 (s, 1H), 5.14 (s, 2H), 4.33 (dd, J=8.9, 4.4Hz, 1H), 4.19 (dd, J=8.0, 6.0Hz, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.65 (dd, J=11.8, 3.3Hz, 1H), 3.50-3.42 (m, 1H), 2.70-2.60 (m, 1H), 2.03-1.91 (m, 1H)。

[2285] (iii) (2R, 11aS)-7-(苄氧基)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-8-甲氧基-2,3-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-5,11 (10H, 11aH)-二酮 (I26)

[2286] 在0℃ (冰/丙酮) 下,将TBSCl (5.32g, 35.3毫摩尔) 和咪唑 (5.76g, 84.6毫摩尔) 加入双内酰胺I25 (2.6g, 7.1毫摩尔) 在无水DMF (30mL) 中的溶液。允许在氮气氛下搅拌混合物3小时,此后认为反应完成,如通过LC/MS (3.60分钟 (ES+) m/z (相对强度) 483.09 ([M+H]⁺, 100)) 所判断的。将反应混合物倒在冰 (~200mL) 上并允许升温至室温,同时搅拌。通过真空过滤来收集得到的白色沉淀物,用H₂O洗涤,再溶解于乙酸乙酯,并经硫酸镁接着在真空下旋转蒸发加以干燥。通过快速柱层析 (50/50乙酸乙酯/己烷) 来纯化残余物以提供所期望的化合物 (2.42g, 71%)。LC/MS (3.60分钟 (ES+) m/z (相对强度) 483.09 ([M+H]⁺, 100))。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ8.26 (s, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.49-7.28 (m, 5H), 6.47 (s, 1H), 5.16 (q, J=11.9Hz, 2H), 4.51 (p, J=5.5Hz, 1H), 4.19 (dd, J=8.2, 4.3Hz, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.68 (ddd, J=27.8, 11.9, 5.4Hz, 2H), 2.82 (dt, J=12.7, 4.9Hz, 1H), 2.17-1.94 (m, 1H), 0.92-0.81 (m, 9H), 0.08 (d, J=3.0Hz, 6H)。

[2287] (iv) (2R, 11aS)-7-(苄氧基)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-8-甲氧基-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-5,11 (10H, 11aH)-二酮 (I27)

[2288] 在-60℃并在氮气氛下,将正丁基锂的溶液 (4.7mL的在己烷中的1.6M溶液, 7.52毫摩尔) 滴加入双内酰胺I26 (2.42g, 5.01毫摩尔) 在无水THF (30mL) 中的搅拌悬浮液。允许在此温度下搅拌反应混合物1小时,此时滴加纯SEMCl (1.33mL, 1.25g, 7.51毫摩尔)。允许反应混合物慢慢地升温至室温并在氮气氛下搅拌2小时。认为反应完成,如通过TLC (EtOAc) 和

LC/MS (4.30分钟 (ES+) m/z (相对强度) 613.16 ($[M+H]^+$, 100)) 所判断的。通过真空蒸发来除去THF并将得到的残留物溶解于EtOAc (100mL), 用H₂O (100mL)、盐水 (30mL) 洗涤, 干燥 (MgSO₄), 过滤并在真空中蒸发, 以提供粗制N10-SEM受保护的双内酰胺 (2.23g, 72%)。在不经纯化的情况下产物用于下一步骤。LC/MS (4.30分钟 (ES+) m/z (相对强度) 613.16 ($[M+H]^+$, 100))。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.49-7.28 (m, 6H), 7.24 (s, 1H), 5.55-5.49 (m, 1H), 5.18 (q, J = 11.9Hz, 2H), 4.68-4.61 (m, 1H), 4.56 (p, J = 5.8Hz, 1H), 4.22 (dd, J = 8.2, 3.8Hz, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.83-3.58 (m, 4H), 3.58-3.50 (m, 1H), 2.84 (ddd, J = 12.8, 5.5, 4.0Hz, 1H), 2.05-1.96 (m, 1H), 1.04-0.89 (m, 6H), 0.89-0.84 (m, 9H), 0.05-0.00 (m, 9H)。

[2289] (v) (2R, 11aS) -2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-7-羟基-8-甲氧基-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-5,11 (10H, 11aH) -二酮 (I28)

[2290] 在10%Pd/C (220mg, 10%w/w) 的存在下, 在帕尔氢化器中, 在乙酸乙酯 (40mL) 中, 在40PSI下, 氢化二苄醚 (benzyl ether) I27 (2.23g, 3.63毫摩尔) 过夜, 其后, 通过LC/MS观测到完成。通过经硅藻土的过滤来除去固体并在真空下浓缩得到的滤液。发现得到的残留物具有满意的纯度并在不经进一步纯化的情况下用于接着的步骤 (1.90g, 100%)。LC/MS (3.87分钟 (ES+) m/z (相对强度) 522.81 ($[M+H]^+$, 100))。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.46 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 6.11 (s, 1H), 5.51 (d, J = 9.9Hz, 1H), 4.66 (d, J = 8.1Hz, 1H), 4.57 (p, J = 5.8Hz, 1H), 4.23 (dd, J = 8.2, 3.8Hz, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.84-3.50 (m, 4H), 2.92-2.74 (m, 1H), 2.10-1.90 (m, 1H), 1.06-0.89 (m, 2H), 0.89-0.82 (m, 9H), 0.09 (d, J = 0.9Hz, 6H), 0.03 (d, J = 3.2Hz, 9H)。

[2291] (vi) (2R, 11aS) -2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-8-甲氧基-7-((三异丙基甲硅烷基)氧基)-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-5,11 (10H, 11aH) -二酮 (I29)

[2292] 将纯三异丙基甲硅烷基氯化物 (1.55mL, 1.39g, 7.24毫摩尔) 加入咪唑 (743mg, 10.9毫摩尔) 和先前制备的苯酚I28 (1.90g, 3.64毫摩尔) 的混合物 (研磨在一起)。加热混合物直到苯酚和咪唑熔融并进入溶液 (100°C)。允许搅拌反应混合物5分钟, 然后允许冷却, 随后观察到在烧瓶的底部形成固体。用5%EtOAc/己烷稀释反应混合物并直接加载到硅胶上, 然后用5%EtOAc/己烷, 接着10%EtOAc/己烷来洗脱柱。在减压下通过旋转蒸发来除去过量洗脱液, 接着在高真空下干燥, 以提供作为油 (2.5g, 100%)。LC/MS (4.50分钟 (ES+) m/z (相对强度) 679.49 ($[M+H]^+$, 100))。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.36 (s, 1H), 7.18 (s, 1H), 5.51 (d, J = 9.9Hz, 1H), 4.63 (d, J = 9.9Hz, 1H), 4.55 (p, J = 5.6Hz, 1H), 4.21 (dd, J = 8.1, 4.1Hz, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.72-3.51 (m, 4H), 2.91-2.75 (m, 1H), 2.10-1.94 (m, 1H), 1.33-1.21 (m, 3H), 1.09 (dd, J = 7.4, 2.0Hz, 18H), 1.00-0.89 (m, 2H), 0.89-0.81 (m, 9H), 0.08 (s, 6H), 0.03 (s, 9H)。

[2293] (vii) (2R, 11aS) -2-羟基-8-甲氧基-7-((三异丙基甲硅烷基)氧基)-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-5,11 (10H, 11aH) -二酮 (I30)

[2294] 将仲TBS醚 (secondary TBS ether) I29 (2.5g, 3.68毫摩尔) 溶解于1%v/v浓盐酸水溶液 (在甲醇 (20mL) 中) 和THF (5mL) 的混合物。在20°C下搅拌6h以后, 通过TLC (50:50v/v

EtOAc/己烷)进行的反应混合物的分析揭示了反应几乎完成。将反应混合物溶解于EtOAc (100mL),然后用水(2x100mL)洗涤。用盐水(60mL)洗涤合并有机层,干燥(MgSO₄),过滤并在减压下蒸发,以提供粗制产物,其作为粗制物(2.08g,3.68毫摩尔,100%)直接用于下一步骤。LC/MS 3.77分钟(ES+) m/z (相对强度) 565.29 ([M+H]⁺,100)。

[2295] (viii) (S)-8-甲氧基-7-((三异丙基甲硅烷基)氧基)-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-2,5,11(3H,10H,11aH)-三酮(I31)

[2296] 在-10℃(冰/丙酮浴)下,将TCCA(600mg,2.58毫摩尔,0.7当量)加入I30(2.08g,3.68毫摩尔,1当量)和TEMPO(57mg,0.36毫摩尔,0.1当量)在无水二氯甲烷(50mL)中的搅拌溶液。剧烈搅拌反应混合物20分钟,此时,TLC(25/75乙酸乙酯/己烷)揭示起始原料的完全消耗。通过硅藻土来过滤反应混合物,并用饱和碳酸氢钠水溶液(50mL)、硫代硫酸钠(在50mL中1.5g)、盐水(100mL)来洗涤滤液,然后经硫酸镁干燥。在减压下的旋转蒸发,接着快速柱层析(梯度洗脱:90:10v/v己烷/EtOAc至80:20v/v己烷/EtOAc)提供所期望的产物(1.40g,67%)。LC/MS 3.87分钟(ES+) m/z (相对强度) 563.05 ([M+H]⁺,100); ¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ7.35(s,1H),7.22(s,1H),5.55(d,J=9.9Hz,1H),4.69(d,J=9.9Hz,1H),4.63(dd,J=9.9,3.1Hz,1H),4.23(d,J=20.1Hz,1H),3.91-3.83(m,4H),3.79(td,J=9.7,6.7Hz,1H),3.68(td,J=9.7,6.7Hz,1H),3.56(dd,J=19.2,3.1Hz,1H),2.78(dd,J=18.2,9.9Hz,1H),1.34-1.21(m,3H),1.10(d,J=7.3Hz,18H),0.98(ddd,J=9.6,6.5,4.1Hz,2H),0.05-0.01(m,9H)。

[2297] (ix) (S)-8-甲氧基-5,11-二氧-7-((三异丙基甲硅烷基)氧基)-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-5,10,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-2-基三氟甲磺酸酯(I32)

[2298] 在2,6-二甲基吡啶(1.16mL,1.06g,9.96毫摩尔,4当量,经筛干燥)的存在下,在-50℃(丙酮/干冰浴)下,将三氟甲磺酸酐(1.24mL,2.08g,7.37毫摩尔,3当量)(温度受控地)注入酮I31(1.40g,2.49毫摩尔,1当量)在无水二氯甲烷(50mL)中的剧烈搅拌悬浮液。允许搅拌反应混合物1.5小时,其时,在小型实验室检查(mini work-up)(水/二氯甲烷)以后,LC/MS揭示反应完成。将水加入仍然冷的反应混合物并分离有机层,然后用饱和碳酸氢钠、盐水和硫酸镁加以洗涤。过滤有机相并在减压下通过旋转蒸发来除去多余溶剂。对残余物进行柱快速色谱法(梯度洗脱:95:5v/v己烷/EtOAc至80:20v/v己烷/EtOAc),从而提供所期望的产物(1.34g,77%)。LC/MS(方法2)4.08分钟(ES+) m/z (相对强度) 716.82 ([M+Na]⁺,100)。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ7.34(s,1H),7.22(s,1H),7.11(t,J=2.0Hz,1H),5.55(d,J=9.9Hz,1H),4.69(d,J=9.9Hz,1H),4.63(dd,J=11.0,3.7Hz,1H),3.91(ddd,J=16.3,3.7,1.8Hz,1H),3.86(s,3H),3.80(td,J=9.5,7.1Hz,1H),3.69(td,J=9.5,7.1Hz,1H),3.16(ddd,J=16.3,11.1,2.4Hz,1H),1.34-1.20(m,3H),1.10(d,J=7.2Hz,18H),1.02-0.94(m,2H),0.05-0.01(m,9H)。

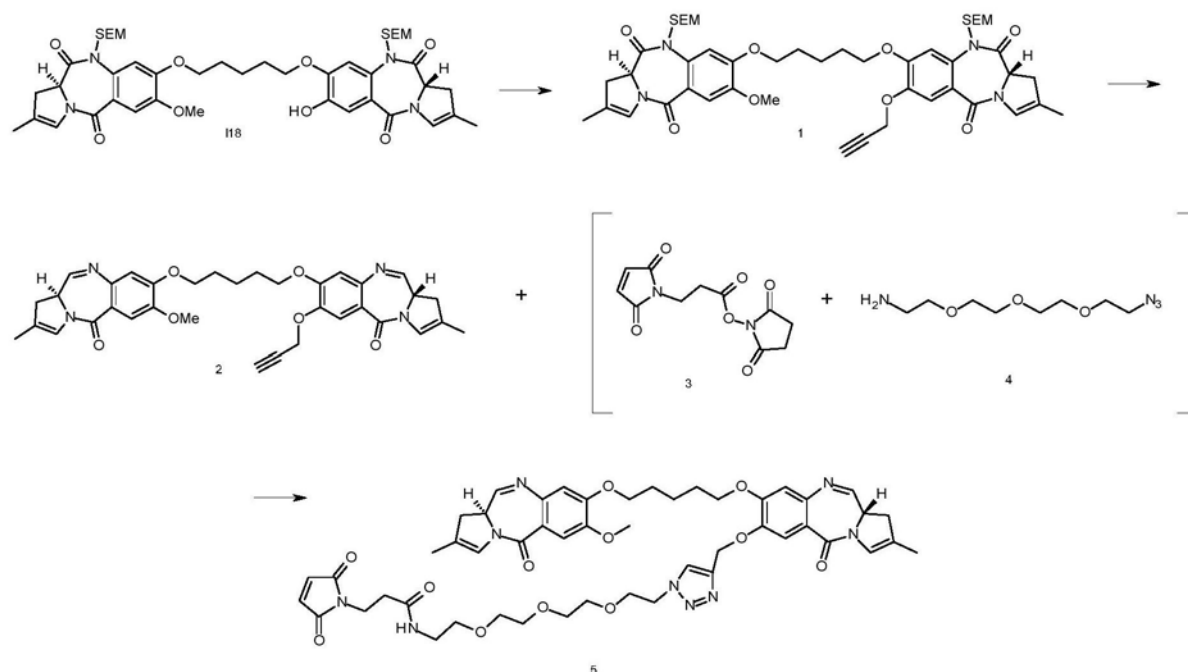
[2299] (x) (S)-8-甲氧基-2-(6-甲氧基萘-2-基)-7-((三异丙基甲硅烷基)氧基)-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-5,11(10H,11aH)-二酮(I33)

[2300] 将Pd(PPh₃)₄(112mg,95.2μmol,0.05当量)加入烯醇三氟甲磺酸酯I32(1.35g,1.94

毫摩尔)、6-甲氧基-2-萘基硼酸(1.02g,5.05毫摩尔,2.6当量)、 K_3PO_4 (1.07g,5.04毫摩尔)、二氧杂环己烷(二噁烷)(15mL)的搅拌混合物。在35℃和氩气气氛下允许搅拌反应混合物2小时,此后,通过TLC(EtOAc/己烷)和LC/MS(4.22分钟(ES+) m/z (相对强度)702.88($[M+H]^+$, 100))观测到起始原料的完全消耗。用EtOAc(100mL)稀释反应混合物并用盐水(200mL)洗涤,干燥($MgSO_4$),过滤以及在减压下蒸发,以提供粗制产物。通过快速色谱法(梯度洗脱:90:10v/v己烷/EtOAc至70:30v/v己烷/EtOAc)的纯化提供TIPS受保护的C2-芳基,将其立即再溶解于湿DMF(50/1DMF/水v/v)。添加固体乙酸锂(198mg,1.94毫摩尔,1当量)并允许在40℃下反应进行3小时,接着在-20℃下三天。用乙酸乙酯稀释反应混合物,然后用柠檬酸(pH~3)、水和盐水加以洗涤。经硫酸镁干燥有机层,过滤,然后在减压下通过旋转蒸发来除去过量乙酸乙酯,以提供脱保护材料(1.17g,定量的)。LC/MS(3.33分钟(ES+) m/z (相对强度)546.77($[M+H]^+$, 100))。

[2301] 实施例1

[2302]



[2303] (a) (S)-7-甲氧基-2-甲基-8-((5-(((S)-2-甲基-5,11-二氧-7-(丙-2-炔-1-基氧基)-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-5,10,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂^{5,11}-8-基)氧基)戊基)氧基)-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂^{5,11}(10H,11aH)-二酮(1)

[2304] 将碘化四丁铵(34mg,0.093毫摩尔,0.2当量)、碳酸钾(96mg,0.694毫摩尔,1.5当量)和炔丙基溴(0.1mL,0.973毫摩尔,2.1当量)加入醇118(400mg,0.463毫摩尔)在二甲基甲酰胺(10mL)中的溶液。在70℃下搅拌反应混合物1小时,其后,通过LC/MS观测到反应完全。用乙酸乙酯稀释反应混合物并用水洗涤三次、用盐水洗涤,经硫酸镁干燥,过滤并在减压下通过旋转蒸发来除去多余溶剂,以提供所期望的产物(448mg,定量的)。LC/MS(方法3)2.04分钟,没有电离, 1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 7.52(s,1H),7.35(s,1H),7.23(s,1H),7.20(s,1H),6.67(s,2H),5.52(dd, $J=10.0,4.2$ Hz,2H),4.78(t, $J=2.5$ Hz,2H),4.68(dd, $J=$

10.0, 7.8Hz, 2H), 4.46 (dt, $J=10.4, 3.4\text{Hz}$, 2H), 4.14-4.00 (m, 4H), 3.90 (s, 3H), 3.84-3.73 (m, 2H), 3.73-3.62 (m, 2H), 3.44 (d, $J=16.6\text{Hz}$, 2H), 2.80-2.72 (m, 2H), 2.52 (t, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 1.99-1.92 (m, 4H), 1.83 (s, 3H), 1.83 (s, 3H), 1.75-1.68 (m, 2H), 0.97 (ddd, $J=9.7, 6.7, 3.0\text{Hz}$, 4H), 0.01 (s, 18H)。

[2305] (b) (S)-7-甲氧基-2-甲基-8-((5-(((S)-2-甲基-5-氧代-7-(丙-2-炔-1-基氧基)-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-8-基)氧基)戊基)氧基)-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-5(11aH)-酮(2)

[2306] 将化合物1 (500mg, 0.55毫摩尔) 溶解于无水THF (15mL) 并冷却至 -78°C 。然后滴加三乙基硼氢化锂 (1.39mL, 1.39毫摩尔, 2.5当量)。在氩气和 -78°C 下搅拌反应。在30分钟以后, 除去冷浴并添加水。用乙酸乙酯提取反应混合物并用盐水洗涤, 经硫酸镁干燥, 过滤并在减压下通过旋转蒸发来除去多余溶剂。用二氯甲烷/甲醇/水 (3/6/1, 6mL/12mL/2mL) 的混合物来溶解得到的残留物。添加硅胶直到溶液变得稠密并在环境温度下搅拌5天。过滤反应混合物并用盐水洗涤, 经硫酸镁干燥, 过滤并在减压下通过旋转蒸发来除去多余溶剂。对得到的残留物进行柱快速色谱法(硅胶; 5% 甲醇/氯仿)。收集和合并纯级分, 然后在减压下通过旋转蒸发来除去过量洗脱液, 从而提供所期望的产物 (240mg, 72%)。

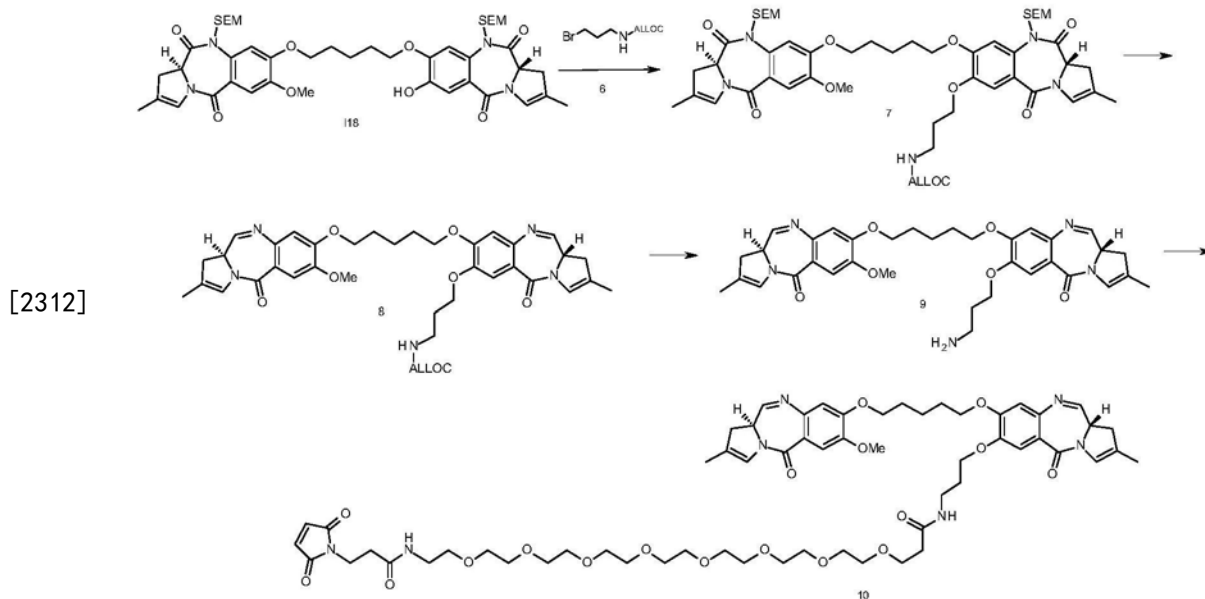
[2307] LC/MS (方法3) 1.88分钟, (ES+) m/z (相对强度) 608.68 $[M+H]^+$, ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.80 (d, $J=4.1\text{Hz}$, 1H), 7.79 (d, $J=4.1\text{Hz}$, 1H), 7.63 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 6.78 (s, 1H), 6.77 (s, 1H), 6.72 (br, 2H), 4.81-4.76 (m, 2H), 4.28-4.18 (m, 2H), 4.12-4.01 (m, 4H), 3.91 (s, 3H), 3.24-3.09 (m, 2H), 2.94 (dd, $J=16.8, 5.0\text{Hz}$, 2H), 2.52 (t, $J=2.3\text{Hz}$, 1H), 1.99-1.85 (m, 4H), 1.81 (s, 6H), 1.71-1.60 (m, 2H)。

[2308] (c) 3-(2,5-二氧-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-N-(2-(2-(2-(2-(4-(((S)-8-((5-(((S)-7-甲氧基-2-甲基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-8-基)氧基)戊基)氧基)-2-甲基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-7-基)氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)丙酰胺(5)

[2309] 将叠氮化物4 (64 μL , 0.328毫摩尔, 1.2当量) 加入琥珀酰亚胺3 (100mg, 0.375毫摩尔, 1.3当量) 在无水DMSO (2mL) 中的溶液并在环境温度下搅拌反应混合物12小时。在另一个圆底烧瓶中, 将化合物2 (170mg, 0.279毫摩尔) 溶解于叔丁醇 (2mL)。添加水 (2mL), 接着抗坏血酸钠 (11mg, 0.056毫摩尔, 0.2当量) 和硫酸铜 (4mg, 0.014毫摩尔, 0.05当量)。然后将在DMSO中反应混合物(具有反应的4和3) 加入在水/叔丁醇中的反应混合物。用氩气脱气反应混合物并在环境温度下搅拌。在1小时以后反应完成, 然后用二氯甲烷稀释并用水(两次)、盐水洗涤, 经硫酸镁干燥, 过滤并在减压下通过旋转蒸发来除去多余溶剂。对得到的残留物进行柱快速色谱法(硅胶; 2%至10% 甲醇/氯仿)。收集和合并纯级分, 然后在减压下通过旋转蒸发来除去过量洗脱液, 从而提供所期望的产物 (40mg, 15%)。

[2310] LC/MS (方法3) 1.29分钟, (ES+) m/z (相对强度) 978.40 $[M+H]^+$

[2311] 实施例2



[2313] (a) 烯丙基(3-(((S)-8-((5-(((S)-7-甲氧基-2-甲基-5,11-二氧-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-5,10,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-8-基)氧基)戊基)氧基)-2-甲基-5,11-二氧-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-5,10,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-7-基)氧基)丙基)氨基甲酸酯(7)

[2314] 将碘化四丁铵(34mg,0.093毫摩尔,0.2当量)、碳酸钾(96mg,0.694毫摩尔,1.5当量)和6(154mg,0.695毫摩尔,1.5当量)加入醇118(400mg,0.463毫摩尔)在二甲基甲酰胺(5mL)中的溶液。在70℃下搅拌反应混合物1小时,其后,通过LC/MS,观测到反应完成。用乙酸乙酯稀释反应混合物并用水(三次)、盐水加以洗涤,经硫酸镁干燥,过滤并在减压下通过旋转蒸发来除去多余溶剂,以提供所期望的产物(420mg,90%)。

[2315] LC/MS(方法3)2.05分钟,(ES+)m/z(相对强度)863.35[M+H]⁺,¹H NMR(400MHz,CDC1₃)δ7.33(s,1H),7.31(s,1H),7.18(s,1H),7.17(s,1H),6.64(br,2H),5.87(ddd,J=22.7,10.9,5.7Hz,1H),5.57(br,1H),5.48(dd,J=10.0,3.0Hz,2H),5.22(dd,J=18.3,1.4Hz,1H),5.15(dd,J=10.4,1.2Hz,1H),4.67(t,J=9.9Hz,2H),4.51(d,J=5.5Hz,2H),4.44(ddd,J=10.4,5.2,3.3Hz,2H),4.16-3.99(m,6H),3.87(s,3H),3.79-3.72(tdd,2H),3.70-3.59(m,2H),3.43(br,1H),3.42-3.34(m,3H),2.73(dd,J=16.6,10.5Hz,2H),2.04-1.88(m,6H),1.80(s,6H),1.66(d,J=7.0Hz,2H),0.94(ddt,J=9.4,6.6,2.5Hz,4H),0.01(s,18H)。

[2316] (b) 烯丙基(3-(((S)-8-((5-(((S)-7-甲氧基-2-甲基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-8-基)氧基)戊基)氧基)-2-甲基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-7-基)氧基)丙基)氨基甲酸酯(8)

[2317] 将化合物7(580mg,0.55毫摩尔)溶解于无水THF(15mL)并冷却至-78℃。然后滴加三乙基硼氢化锂(1.44mL,1.44毫摩尔,2.5当量)。在氩气和-78℃下搅拌反应。在30分钟以后,除去冷浴并添加水。用乙酸乙酯提取(萃取)反应混合物并用盐水洗涤,经硫酸镁干燥,过滤并在减压下通过旋转蒸发来除去多余溶剂。用二氯甲烷/甲醇/水(3/6/1,6mL/12mL/2mL)的混合物来溶解得到的残留物。添加硅胶直到溶液变得稠密并让其在环境温度下搅拌

5天。过滤反应混合物并用盐水洗涤,经硫酸镁干燥,过滤并在减压下通过旋转蒸发来除去多余溶剂。对得到的残留物进行柱快速色谱法(硅胶;5%甲醇/氯仿)。收集并合并纯级分,然后在减压下通过旋转蒸发来除去过量洗脱液,以提供所期望的产物(220mg,54%)。

[2318] LC/MS (方法3) 1.41分钟, (ES+) m/z (相对强度) 712.40 $[M+H]^+$, 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.80 (dd, $J=3.9, 1.0$ Hz, 2H), 7.49 (s, 1H), 7.47 (s, 1H), 6.78 (s, 2H), 6.73 (d, $J=1.3$ Hz, 2H), 5.96-5.83 (m, 1H), 5.68 (br, 1H), 5.27 (d, $J=17.2$ Hz, 1H), 5.17 (dd, $J=10.4, 1.2$ Hz, 1H), 4.54 (d, $J=5.1$ Hz, 2H), 4.28-4.16 (m, 2H), 4.16-4.00 (m, 6H), 3.91 (s, 3H), 3.48 (br, 1H), 3.50-3.38 (m, 2H), 3.36-3.34 (m, 1H), 3.24-3.11 (m, 2H), 2.95 (dd, $J=16.8, 4.8$ Hz, 2H), 2.05-2.00 (m, 2H), 1.99-1.89 (m, 4H), 1.83 (s, 6H)。

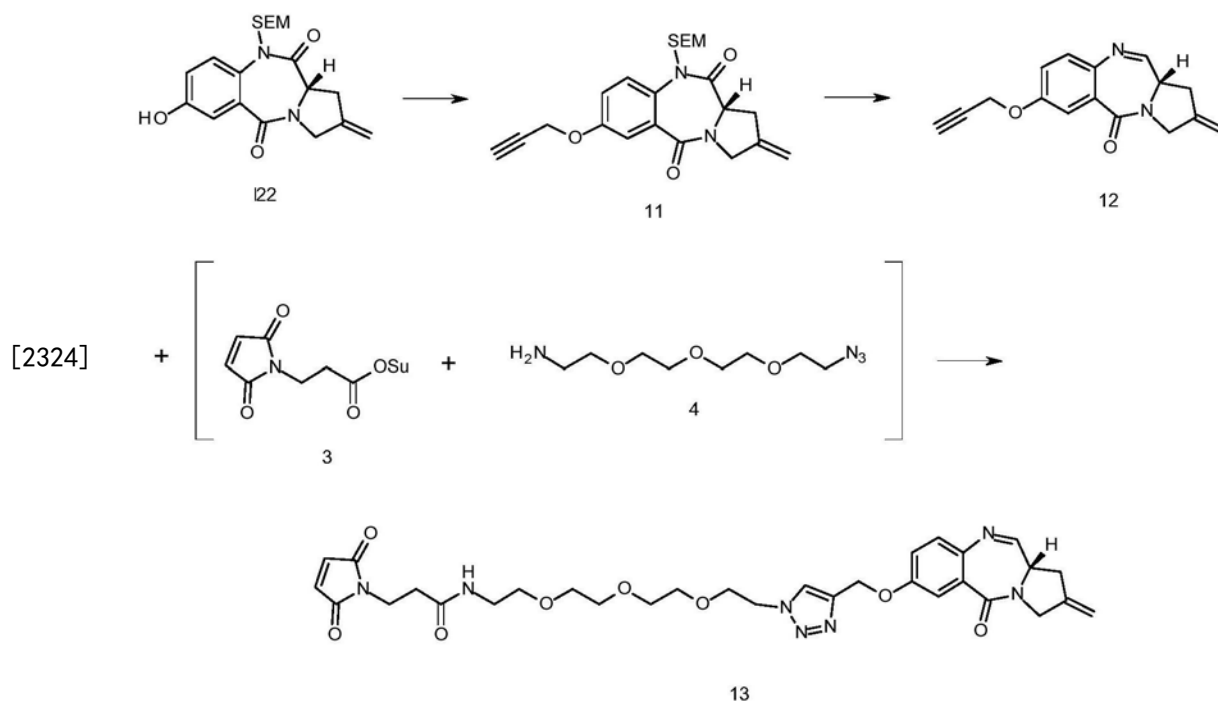
[2319] (c) (S)-7-(3-氨基丙氧基)-8-((5-((S)-7-甲氧基-2-甲基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂 草 -8-基)氧基)戊基)氧基)-2-甲基-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂 草 -5(11aH)-酮(9)

[2320] 四(三苯膦)钯(0) (7mg, 0.006毫摩尔, 0.06当量) 加入8 (80mg, 0.112毫摩尔) 和吡咯烷(23 μ L, 0.28毫摩尔, 2.5当量) 在无水二氯甲烷(2mL) 中的溶液。用氩气冲洗反应三次并在室温下搅拌3小时。然后用二氯甲烷稀释反应并依次用饱和氯化铵水溶液和盐水洗涤。经硫酸镁干燥有机相, 过滤并在减压下通过旋转蒸发来除去过量二氯甲烷。得到的残留物用作粗制混合物, 其用于下一反应。LC/MS (方法3) 1.05分钟, (ES+) m/z (相对强度) 628.35 $[M+H]^+$ 。

[2321] (d) 1-(3-(2,5-二氧-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰氨基)-N-(3-((S)-8-((5-((S)-7-甲氧基-2-甲基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂 草 -8-基)氧基)戊基)氧基)-2-甲基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂 草 -7-基)氧基)丙基)-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十七烷-27-酰胺(10)

[2322] 将1-乙基-3-(3'-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDCI, 11mg, 0.060毫摩尔, 1.1当量) 加入粗制9 (0.056毫摩尔) 和Ma1-(PEG) $_8$ -酸(35mg, 0.060毫摩尔, 1.1当量) 在无水二氯甲烷(2mL) 中的溶液。用氩气脱气反应三次并搅拌1小时, 然后通过LC/MS不再观测到起始原料的存在。用二氯甲烷稀释反应并依次用水和盐水洗涤。经硫酸镁干燥有机相, 过滤并在减压下通过旋转蒸发来除去过量二氯甲烷。对得到的残留物进行快速柱层析(硅胶;100%氯仿至在氯仿中的10%甲醇)。收集和合并纯级分并在减压下通过旋转蒸发来除去过量洗脱液, 以得到所期望的产物(19mg, 28%, 经两个步骤)。LC/MS (方法3) 1.30分钟, (ES+) m/z (相对强度) 1202.55 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.79 (d, $J=4.0$ Hz, 1H), 7.48 (d, $J=5.1$ Hz, 1H), 6.77 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), 6.72 (d, $J=3.5$ Hz, 1H), 6.68 (s, 2H), 6.45-6.34 (m, 1H), 4.59-4.48 (m, 1H), 4.28-4.20 (m, 1H), 4.18-3.95 (m, 6H), 3.91 (s, 2H), 3.86-3.75 (m, 4H), 3.75-3.67 (m, 2H), 3.63-3.58 (m, 28H), 3.54-3.49 (m, 2H), 3.49-3.36 (m, 6H), 3.35-3.34 (m, 1H), 3.20-3.13 (m, 2H), 2.94 (d, $J=16.8$ Hz, 2H), 2.50 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 2.46-2.37 (m, 2H), 2.07-1.99 (m, 2H), 1.97-1.91 (m, 4H), 1.82 (s, 3H), 1.77 (s, 3H), 1.69-1.63 (m, 2H), 0.90-0.77 (m, 1H)。

[2323] 实施例3



[2325] (a) (S)-2-亚甲基-7-(丙-2-炔-1-基氧基)-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-5,11(10H,11aH)-二酮(11)

[2326] 将炔丙基溴(149 μ L,158mg,1.33毫摩尔,1.05当量)加入苯酚I22(477mg,1.27毫摩尔,1当量)、TBAI(47mg,0.127毫摩尔,0.1当量)、和碳酸钾(132mg,0.96毫摩尔,0.75当量)在无水的DMF(10mL)中的悬浮液,并在75℃下搅拌1小时,其时观测到完成。在乙酸乙酯(100mL)和水(100mL)之间分配反应混合物。用水(2x 100mL)、盐水(50mL)进一步洗涤有机物并经硫酸镁干燥。产量=420mg(80%)。LC/MS(3.43分钟(ES⁺)m/z(相对强度)413.07([M+H]⁺,100));¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ 7.63(dd,J=9.0,1.7Hz,1H),7.44(d,J=3.1Hz,1H),7.17-7.11(m,1H),5.48(dd,J=9.9,1.5Hz,1H),5.22-5.07(m,2H),4.74(d,J=2.7Hz,2H),4.68(d,J=9.2Hz,1H),4.40-4.14(m,3H),3.69(dtd,J=16.8,9.6,7.7Hz,2H),3.43(d,J=15.9Hz,1H),2.88-2.71(m,1H),2.60-2.47(m,1H),1.04-0.88(m,2H),0.08--0.06(m,9H)。

[2327] (b) (S)-2-亚甲基-7-(丙-2-炔-1-基氧基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-5(11aH)-酮(12)

[2328] 将在THF(1.32mL,1.3当量)中的1M超氢化物(superhydride)溶液缓慢注入双内酰胺11(420mg,1.02毫摩尔,1当量)在THF中的溶液(在-78℃下)。监测反应1小时,此后,通过LC/MS(3.02分钟(ES⁺)m/z(相对强度)267.10([M+H]⁺,100))直接观测到起始原料的完全转化。用H₂O(500mL)小心稀释反应混合物并用乙酸乙酯(50mL)提取。用水(1x 50mL)、盐水(1x 20mL)洗涤合并有机层,经MgSO₄干燥,过滤,并在减压和35℃下蒸发,以提供中间体SEM-甲醇胺(carbinolamide)。将白色固体立刻溶解于EtOH(40mL)、DCM(15mL)和H₂O(5mL)并用快速硅胶(30g)处理。在室温下允许搅拌稠密悬浮液72小时,此后,通过TLC(95:5v/v CHCl₃/MeOH)观测到显著量的所期望的产物的形成。通过很宽孔隙率3烧结漏斗来过滤反应混合物并用90:10v/v CHCl₃/MeOH慢慢地和充分地冲洗垫直到没有进一步的产物被洗脱(通过TLC加以检查)。用盐水(300mL)洗涤滤液,干燥(MgSO₄),过滤并在真空中蒸发,接着高真空干燥,以提供粗制产物。通过快速色谱法(梯度洗脱:100%HPLC级CHCl₃至98:2v/v CHCl₃/

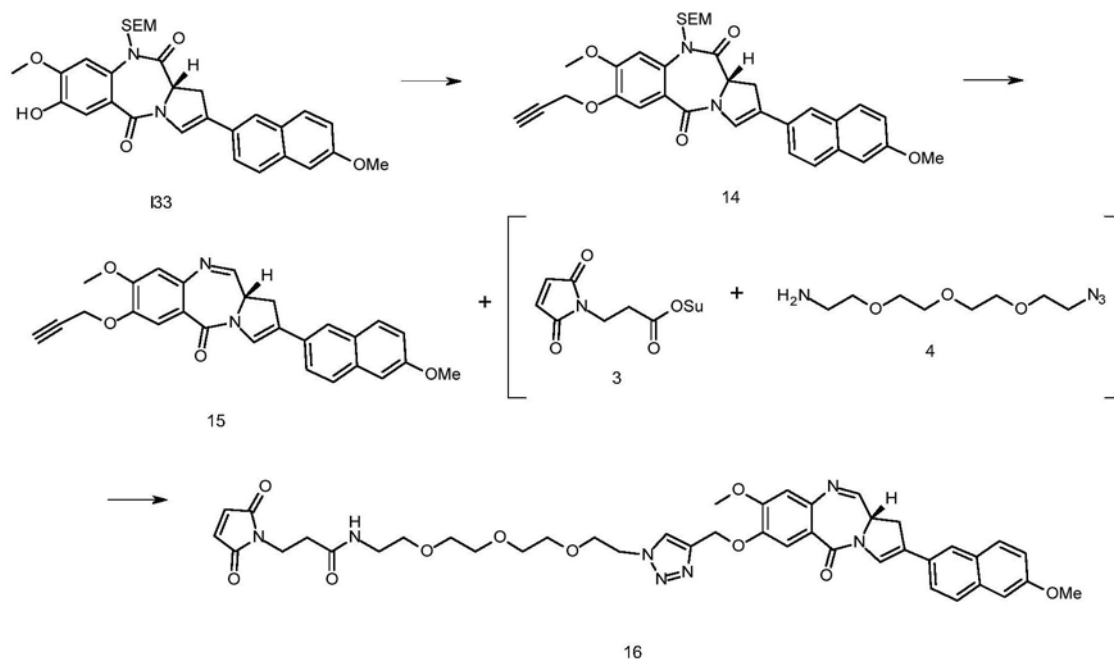
MeOH) 进行纯化以产生所期望的产物, 作为甲醇胺醚和亚胺 (155mg, 57%) 的混合物。为了获得 NMR 样品, 用 HPLC 级 CHCl_3 (50mL) 处理材料 (10mg) 并允许静置过夜以促进亚胺形式的形成。在减压下通过蒸发来除去溶剂, 然后用 HPLC 级 CHCl_3 (50mL) 再次处理残余物并允许静置 4 小时。LC/MS (2.28 分钟 (ES+) m/z (相对强度) 267.10 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100)) ; ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.71 (d, $J=4.4\text{Hz}$, 1H) , 7.60 (d, $J=3.0\text{Hz}$, 1H) , 7.29 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H) , 7.17 (dd, $J=8.8, 3.0\text{Hz}$, 1H) , 5.23-5.19 (m, 1H) , 5.18 (s, 1H) , 4.79-4.75 (m, 2H) , 4.32-4.26 (m, 1H) , 3.89 (s, 1H) , 3.78-3.69 (m, 1H) , 3.49 (d, $J=5.5\text{Hz}$, 1H) , 3.12 (dd, $J=16.1, 9.1\text{Hz}$, 1H) , 2.96 (dd, $J=3.0, 1.4\text{Hz}$, 1H) 。

[2329] (c) (S) -3-(2,5-二氧-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基) -N-(2-(2-(2-(2-(4-((2-亚甲基-5-氧代-2,3,5,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-7-基) 氧基) 甲基) -1H-1,2,3-三唑-1-基) 乙氧基) 乙氧基) 乙氧基) 乙基) 丙酰胺 (13)

[2330] 在 25°C 下将氨基-(Peg)₃-叠氮化物 4 (86.1mg, 78 μL , 0.39 毫摩尔, 1.05 当量) 加入马来酰亚胺琥珀酰亚胺 3 (100mg, 0.38 毫摩尔, 1 当量) 在 DMSO (0.5mL) 中的溶液, 然后反应 45 分钟。将上述溶液加入炔丙基-PBD12 (100mg, 0.38 毫摩尔, 1 当量)、抗坏血酸钠 (15mg, 0.076 毫摩尔, 0.2 当量)、和硫酸铜 (4.69mg, 0.018 毫摩尔, 0.05 当量) 在叔丁醇/水 1/1v/v (1.2mL) 中的混合物。对反应进行脱气并允许在氩气下进行。在 2 小时以后, 判断反应的 LC/MS 曲线, 令人鼓舞的是连同氨基-(peg)₃-PBD 一起产物的显著形成。当允许进行过夜时, LC/MS 曲线变得更差。在氯仿/甲醇 (90/10, v/v) 和水之间分配反应混合物。用水、接着盐水洗涤有机物, 并经硫酸镁干燥。通过在真空下的旋转蒸发除去挥发物。通过快速柱层析 (梯度甲醇/氯仿 1/99 至 20/80) 来纯化残余物。产物 (暗斑, 在 UV 下) 作为与氨基-(peg)₃-PBD (蓝辉光, 在 UV 下) 的混合级分, 并通过制备型 TLC (25mg, 10%) 进一步加以纯化。LC/MS (2.28 分钟 (ES+) m/z (相对强度) 636.16 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100)) ; ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.90 (s, 1H) , 7.71 (d, $J=4.4\text{Hz}$, 1H) , 7.61 (d, $J=2.9\text{Hz}$, 1H) , 7.29 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H) , 7.18 (dd, $J=8.8, 3.0\text{Hz}$, 1H) , 6.67 (s, 2H) , 6.46 (s, 1H) , 5.26 (d, $J=7.1\text{Hz}$, 1H) , 5.23-5.16 (m, 2H) , 4.61-4.53 (m, 2H) , 4.32-4.25 (m, 1H) , 3.94-3.87 (m, 2H) , 3.82 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 2H) , 3.65-3.53 (m, 10H) , 3.52-3.46 (m, 3H) , 3.43-3.35 (m, 2H) , 3.14 (dd, $J=16.0, 9.0\text{Hz}$, 1H) , 2.95 (dd, $J=16.0, 1.5\text{Hz}$, 1H) , 2.49 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 2H) 。

[2331] 实施例 4

[2332]



[2333] (a) (S)-8-甲氧基-2-(6-甲氧基萘-2-基)-7-(丙-2-炔-1-基氧基)-10-((2-(三甲基硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-5,11(10H,11aH)-二酮(14)

[2334] 将炔丙基溴(251 μ L,2.24毫摩尔,1.05当量)加入粗苯酚I33(1.17g,2.14毫摩尔,1当量)、TBAI(79mg,0.21毫摩尔,1当量)和碳酸钾(221mg,1.60毫摩尔,0.75当量)在无水DMF(10mL)中的悬浮液,并在75 $^{\circ}$ C下搅拌1小时,其时观测到完成。在乙酸乙酯(100mL)和水(100mL)之间分配反应混合物。用水(2x 100mL)、盐水(50mL)进一步洗涤有机物,并经硫酸镁干燥。对残余物进行柱快速色谱法(梯度洗脱:35:65v/v己烷/Et2O至0:100v/v己烷/Et2O),以提供所期望的产物(594mg,47%来自粗产物,52%,经三个步骤)。LC/MS(3.85分钟(ES+)m/z(相对强度)584.92([M+H]⁺,100)); $[\alpha]_D^{21} = +345^{\circ}$ (c=0.229,氯仿);¹H NMR(400MHz,CDC1₃) δ 7.75-7.64(m,3H),7.64-7.55(m,2H),7.52(s,1H),7.32(s,1H),7.19-7.08(m,2H),5.59(d,J=10.0Hz,1H),4.92-4.77(m,2H),4.71(dd,J=10.4,3.8Hz,2H),4.08(ddd,J=16.0,3.3,1.7Hz,1H),3.97-3.89(m,6H),3.83(td,J=9.4,7.2Hz,1H),3.72(td,J=9.4,7.1Hz,1H),3.27(ddd,J=15.9,10.6,2.1Hz,1H),2.56(t,J=2.4Hz,1H),1.05-0.95(m,2H),0.07-0.02(m,9H)。

[2335] (b) (S)-8-甲氧基-2-(6-甲氧基萘-2-基)-7-(丙-2-炔-1-基氧基)-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-5(11aH)-酮(15)

[2336] 将在THF(1.27mL,1.27毫摩尔,1.3当量)中的1M超氢化物溶液缓慢注入双内酰胺14(573mg,0.98毫摩尔,1当量)在THF(10mL)中的溶液(在-78 $^{\circ}$ C下)。监测反应1小时,此后通过LC/MS(3.03分钟(ES+)m/z(相对强度)456.88([M+H]⁺,100)),直接观测到起始原料的完全转化。用H₂O(500mL)小心稀释反应混合物并用氯仿(50mL)提取。用水(1x 50mL)、盐水(1x 20mL)洗涤合并有机层,经MgSO₄干燥,过滤并在减压和35 $^{\circ}$ C下蒸发,以提供中间体SEM-甲醇胺。将白色固体立刻溶解于EtOH(40mL)、DCM(15mL)和H₂O(5mL),并借助于快速硅胶(30g)加以处理。允许在室温下搅拌稠密悬浮液72小时,此后,通过TLC(95:5v/v CHCl₃/MeOH),观测

到显著量的所期望的产物的形成。通过很宽孔隙率3烧结漏斗来过滤反应混合物,并用90:10v/v $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 慢慢地和充分地冲洗垫,直到没有进一步的产物被洗脱(通过TLC加以检查)。用盐水(100mL)洗涤滤液,干燥(MgSO_4),过滤并在真空中蒸发,接着高真空干燥,以提供粗制产物。通过快速色谱法(乙酸乙酯)进行纯化以产生所期望的产物(100mg,23%)。为了获得NMR样品,用HPLC级 CHCl_3 (50mL)来处理材料(10mg)并允许静置过夜以促进亚胺形式的形成。在减压下通过蒸发来除去溶剂,并用HPLC级 CHCl_3 (50mL)再次处理残余物,然后允许静置4小时。LC/MS(3.03分钟(ES+) m/z (相对强度)456.88($[\text{M}+\text{H}_2\text{O}]^+$,100)); ^1H NMR(500MHz, CDCl_3) δ 7.96(d, $J=4.0\text{Hz}$,1H),7.74-7.68(m,3H),7.63-7.57(m,3H),7.19-7.09(m,2H),6.87(s,1H),4.87(dd, $J=4.6,2.4\text{Hz}$,2H),4.49(ddd, $J=11.6,5.1,4.1\text{Hz}$,1H),3.99-3.91(m,6H),3.72(ddd, $J=16.1,11.5,2.0\text{Hz}$,1H),3.53(ddd, $J=16.2,5.1,1.7\text{Hz}$,1H),2.56(t, $J=2.4\text{Hz}$,1H)。

[2337] (c) (S)-3-(2,5-二氧-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-N-(2-(2-(2-(2-(4-((8-甲氧基-2-(6-甲氧基萘-2-基)-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂萘-7-基)氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)丙酰胺(16)

[2338] 在25℃下,将氨基-(Peg)₃-叠氮化物4(34.2 μL ,37.6mg,0.17毫摩尔,0.9当量)加入马来酰亚胺琥珀酰亚胺3(56.1mg,0.21毫摩尔,1.1当量)在DMSO(0.5mL)中的溶液并反应45分钟。将上述溶液加入炔丙基-PBD 15(84mg,0.19毫摩尔,1当量)、抗坏血酸钠(7.6mg,0.038毫摩尔,0.2当量)、和硫酸铜(2.4mg,0.010毫摩尔,0.05当量)在叔丁醇/水1/1v/v(1mL)中的混合物。DMSO(2.5mL)用来改善溶解性。对反应进行脱气并允许在氩气下进行。在5小时以后,反应的LC/MS曲线表明产物的显著形成。在氯仿和水之间分配反应混合物。用水、接着盐水来洗涤有机物并经硫酸镁干燥。通过在真空下的旋转蒸发来除去挥发物。通过快速柱层析(梯度甲醇/氯仿1/99至5/95)来纯化残余物以得到所期望的产物。产量:64mg(41%)。LC/MS(2.85分钟(ES+) m/z (相对强度)808.61($[\text{M}+\text{H}]^+$,100)); ^1H NMR(500MHz, CDCl_3) δ 7.96(d, $J=4.0\text{Hz}$,1H),7.94(s,1H),7.74-7.68(m,3H),7.64-7.56(m,3H),7.19-7.10(m,2H),6.86(s,1H),6.65(s,2H),6.44(s,1H),5.33(q, $J=11.9\text{Hz}$,2H),4.60-4.54(m,2H),4.50(dt, $J=9.1,5.0\text{Hz}$,1H),3.95-3.88(m,8H),3.82(t, $J=7.3\text{Hz}$,2H),3.77-3.65(m,2H),3.65-3.58(m,5H),3.58-3.51(m,3H),3.52-3.47(m,2H),3.39(dd, $J=10.6,5.3\text{Hz}$,2H),2.49(td, $J=7.0,0.8\text{Hz}$,2H)。

[2339] 实施例5

[2340] 一般抗体结合程序

[2341] 在还原缓冲液(实例:磷酸盐缓冲盐水PBS、组氨酸缓冲液、硼酸钠缓冲液、TRIS缓冲液)中将抗体稀释至1-5mg/mL。添加新鲜制备的TCEP(三(2-羧基乙基)膦盐酸盐)的溶液以选择性地还原半胱氨酸二硫桥。TCEP的量正比于减少的目标水平,在1至4摩尔当量/抗体内,从而产生2至8个反应性巯基。在37℃下减少(reduction)若干小时以后,将混合物冷却至室温并添加过量药物-接头(5,10,13,16),作为稀DMSO溶液(最终DMSO含量为高达10%体积/体积的反应混合物)。在4℃或室温下轻轻摇动混合物适当的时间,通常为1-3小时。过量反应性巯基可以与‘巯基封端试剂’反应,如在结合的末端处的N-乙基马来酰亚胺(NEM)。利用离心旋转过滤器并借助于10kDa或更高的分子量截止来浓缩抗体-药物结合物,然后通过切向流过滤(TFF)或快速蛋白质液相层析(FPLC)加以纯化。可以通过分析,通过高效液相色谱

谱法 (HPLC) 或超高效液相色谱法 (UHPLC) 来确定相应的抗体-药物结合物,以评估药物/抗体比率 (DAR),其中利用反相层析 (RP) 或疏水相互作用色谱 (HIC),其与紫外-可见光、荧光或质谱仪检测耦合;可以通过HPLC或UHPLC来分析合计水平 (aggregate level) 和单体纯度,其中利用与紫外-可见光、荧光或质谱仪检测耦合的尺寸排阻色谱。通过分光镜测定 (在280、214和330nm处的吸光度) 和生物化学测定 (二喹啉甲酸 (bicinchonic acid) 测定BCA; Smith, P.K., et al. (1985) Anal. Biochem. 150 (1): 76-85; 利用已知浓度IgG抗体作为参比物) 的组合来确定最终结合物浓度。通常利用0.2 μ m过滤器并在无菌条件下来无菌过滤抗体-药物结合物,并存储在+4 $^{\circ}$ C、-20 $^{\circ}$ C或-80 $^{\circ}$ C。

[2342] 以下描述特定结合的实施例。

[2343] 结合物A1 (赫赛汀-10 (Herceptin-10), ConjA)

[2344] 将赫赛汀TM (2.0mg, 13.3纳摩尔) 稀释进入1.8mL还原缓冲液,其包含10mM硼酸钠pH 8.4、2.5mM EDTA和1.11mg/mL的最终抗体浓度。添加TCEP的10mM溶液 (2摩尔当量/抗体, 26.6纳摩尔, 2.66 μ L) 并在+37 $^{\circ}$ C下在加热块 (heating block) 中加热还原混合物2.5小时。在冷却至室温以后,添加化合物10,作为DMSO溶液 (3.5摩尔当量/抗体, 45纳摩尔, 在0.2mL DMSO中)。在室温下混合溶液2小时,然后通过添加N-乙基马来酰亚胺 (1微摩尔, 10 μ L, 在100mM下) 来骤冷结合,接着在15分钟以后,添加N-乙酰基半胱氨酸 (1.5微摩尔, 15 μ L, 在100mM下),然后注入AKTATM FPLC,其中利用装有Superdex 200 PG的GE Healthcare XK16/70柱,用1.5mL/分钟的无菌过滤磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 进行洗脱。汇集对应于ConjA1单体峰的级分,利用15mL Amicon Ultracell 50KDa MWC0旋转过滤器加以浓缩,分析并无菌过滤。BCA测定给出在1.2mL中1.49mg/mL的最终ConjA的浓度,获得的ConjA1的质量是1.79mg (90%产率)。

[2345] 用Shimadzu Prominence系统,其中利用Phenomenex Aeris 3.6 μ XB-C18 150x 2.1mm柱,其用水和乙腈的梯度加以洗脱,对ConjA1的还原的样品,在280nm和330nm (化合物10特定的) 处的UHPLC分析表明,连接于化合物10的若干分子的轻链和重链的混合物与2.7分子的化合物10/抗体的药物/抗体比率 (DAR) 一致。

[2346] 用Shimadzu Prominence系统,其中利用Waters Acquity UPLC BEH200SEC 1.7 μ m 4.6x 150mm柱,其用包含5%异丙醇 (v/v) 的无菌过滤磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 加以洗脱,对ConjA的样品在280nm处的UHPLC分析表明,单体纯度超过99%并且没有检测到杂质。

[2347] 结合物A2 (赫赛汀-10, ConjA2)

[2348] 将赫赛汀TM (2.0mg, 13.3纳摩尔) 稀释进入1.8mL的还原缓冲液,其包含10mM硼酸钠pH 8.4、2.5mM EDTA以及1.11mg/mL的最终抗体浓度。添加TCEP的10mM溶液 (2摩尔当量/抗体, 26.6纳摩尔, 2.66 μ L),然后在+37 $^{\circ}$ C下在加热块中加热还原混合物2.5小时。在冷却至室温以后,添加化合物10,作为DMSO溶液 (3.5摩尔当量/抗体, 45纳摩尔, 在0.2mL DMSO中)。在室温下混合溶液2小时,然后通过添加N-乙基马来酰亚胺 (1微摩尔, 10 μ L, 在100mM下) 来骤冷结合,接着在15分钟以后,添加N-乙酰基半胱氨酸 (1.5微摩尔, 15 μ L, 在100mM下),然后注入AKTATM FPLC,其中利用装有SuperdexTM 200 PG的GE Healthcare XK16/70柱,其用1.5mL/分钟的无菌过滤磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 加以洗脱。汇集对应于ConjA2单体峰的级分,利用15mL Amicon Ultracell 50KDa MWC0旋转过滤器加以浓缩,分析和无菌过滤。BCA测定给出在1.2mL中1.49mg/mL的最终ConjA2的浓度,获得的ConjA2的质量是1.79mg (90%产

率)。

[2349] 用Shimadzu Prominence系统,其中利用Phenomenex Aeris 3.6u XB-C18 150x 2.1mm柱,其用水和乙腈的梯度加以洗脱,对ConjA2的还原的样品在280nm和330nm(化合物10特定的)处的UHPLC分析表明,连接于化合物10的若干分子的轻链和重链的混合物与2.7分子的化合物10/抗体的药物/抗体比率(DAR)一致。

[2350] 用Shimadzu Prominence系统,其中利用Waters Acquity UPLC BEH200 SEC 1.7um 4.6x 150mm柱,其用包含5%异丙醇(v/v)的无菌过滤磷酸盐缓冲盐水(PBS)加以洗脱,对ConjA2的样品在280nm处的UHPLC分析表明,单体纯度超过99%并且没有检测到杂质。

[2351] 结合物B(赫赛汀-5,ConjB)

[2352] 将赫赛汀™(2.0mg,13.3纳摩尔)稀释进入1.8mL的还原缓冲液,其包含10mM硼酸钠 pH 8.4、2.5mM EDTA和1.11mg/mL的最终抗体浓度。添加TCEP的10mM溶液(2摩尔当量/抗体,26.6纳摩尔,2.66μL)并在+37℃下在加热块中加热还原混合物2.0小时。在冷却至室温以后,添加化合物5,作为DMSO溶液(10摩尔当量/抗体,133纳摩尔,在0.2mL DMSO中)。在室温下混合溶液1小时,然后将结合注入AKTA™ FPLC,其中利用装有Superdex 200 PG的GE Healthcare XK16/70柱,其用1.5mL/分钟的无菌过滤磷酸盐缓冲盐水(PBS)加以洗脱。汇集对应于ConjB单体峰的级分,利用15mL Amicon Ultracell 50KDa MWC0旋转过滤器加以浓缩,分析并无菌过滤。BCA测定给出在0.65mL中3.13mg/mL的最终ConjB的浓度,获得的ConjB的质量是1.61mg(80%产率)。

[2353] 用Shimadzu Prominence系统,其中利用Phenomenex Aeris 3.6u XB-C18 150x 2.1mm柱,其用水和乙腈的梯度加以洗脱,对ConjB的还原的样品在280nm和330nm(化合物5特定的)处的UHPLC分析表明,连接于化合物5的若干分子的轻链和重链的混合物与4分子的化合物5/抗体的药物/抗体比率(DAR)一致。

[2354] 用Shimadzu Prominence系统,其中利用Waters Acquity UPLC BEH200SEC 1.7um 4.6x 150mm柱,其用包含5%异丙醇(v/v)的无菌过滤磷酸盐缓冲盐水(PBS)加以洗脱,对ConjB的样品在280nm处的UHPLC分析表明,单体纯度超过98.6%。

[2355] 结合物C(赫赛汀-13,ConjC)

[2356] 将赫赛汀™(1.0mg,6.7纳摩尔)稀释进入0.9mL的还原缓冲液,其包含10mM硼酸钠 pH 8.4、2.5mM EDTA和1.11mg/mL的最终抗体浓度。添加TCEP的1mM溶液(3摩尔当量/抗体,20纳摩尔,20μL)并在+37℃下在加热块中加热还原混合物1.5小时。在冷却至室温以后,添加化合物13,作为DMSO溶液(10摩尔当量/抗体,67纳摩尔,在0.1mL DMSO中)。在室温下混合溶液1小时,通过HPLC来分析结合混合物,然后注入AKTA™ FPLC,其中利用装有Superdex™ 200 PG的GE Healthcare XK16/70柱,其用1.5mL/分钟的无菌过滤磷酸盐缓冲盐水(PBS)加以洗脱。汇集对应于ConjC单体峰的级分,利用15mL Amicon Ultracell 50KDa MWC0旋转过滤器加以浓缩,分析和无菌过滤。BCA测定给出在1.0mL中0.70mg/mL的最终ConjC的浓度,获得的ConjC的质量是0.70mg(70%产率)。

[2357] 用Shimadzu Prominence系统,其中利用Agilent Technologies PLRP-S 1000A 5 μm 50x 2.1mm柱,其用水和乙腈的梯度加以洗脱,对ConjC的还原的样品在280nm和330nm(化合物13特定的)处的UHPLC分析表明,连接于化合物13的若干分子的轻链和重链的混合物与>2.7分子的化合物13/抗体的药物/抗体比率(DAR)一致。

[2358] 结合物D(赫赛汀-16, ConJd)

[2359] 将赫赛汀™稀释进入0.9mL的还原缓冲液,其包含10mM硼酸钠pH 8.4、2.5mM EDTA和1.11mg/mL的最终抗体浓度。添加TCEP的1mM溶液(3摩尔当量/抗体,20纳摩尔,20μL)并在+37℃下在加热块中加热还原混合物1.5小时。在冷却至室温以后,添加化合物16,作为DMSO溶液(10摩尔当量/抗体,67纳摩尔,在0.1mL DMSO中)。在室温下混合溶液1小时,通过HPLC来分析结合混合物,然后注入AKTA™ FPLC,其中利用装有Superdex™ 200 PG的GE Healthcare XK16/70柱,其用1.5mL/分钟的无菌过滤磷酸盐缓冲盐水(PBS)加以洗脱。汇集对应于ConJd单体峰的级分,利用15mL Amicon Ultracell 50KDa MWCO旋转过滤器加以浓缩,分析和无菌过滤。BCA测定给出在1.0mL中0.55mg/mL的最终ConJd的浓度,获得的ConJd的质量是0.55mg(55%产率)。

[2360] 用Shimadzu Prominence系统,其中利用Agilent Technologies PLRP-S 1000A 5 μm 50x 2.1mm柱,其用水和乙腈的梯度加以洗脱,对ConJd的还原的样品在280nm和330nm(化合物16特定的)处的UHPLC分析表明,连接于化合物16的若干分子的轻链和重链的混合物与3.56分子的化合物16/抗体的药物/抗体比率(DAR)一致。

[2361] 实施例6:体内ADC效力研究

[2362] 对8-12周龄的CB.17 SCID小鼠的胁腹(flank)皮下注射1mm³肿瘤片段。当肿瘤达到100-150mg的平均尺寸时,开始治疗。每周称重小鼠两次。每周测量肿瘤尺寸两次。单独地监测动物。实验的终点是肿瘤体积达到1000mm³或60天,以先到者为准。可以随访应答者更长时间。

[2363] 对10只异种移植小鼠的组i.v.注射0.2ml的抗体药物结合物(ADC),或裸抗体,在磷酸盐缓冲盐水(载体)中,或注射单独的0.2ml载体。调节ADC的浓度以单剂量产生,例如,0.3或1.0mg ADC/kg体重。可以以例如1周的间隔将三个相同的剂量给予每只小鼠。

[2364] 实施例7:体外ADC效力研究

[2365] 在T75烧瓶中吸取来自亚汇合(subconfluent)(约80-90%汇合)SK-BR-3细胞的培养基并添加PBS(约20ml)以冲洗掉培养基。吸取PBS并添加胰蛋白酶-EDTA(5ml)。使烧瓶回到37℃充气培养箱(gassed incubator)长达约5分钟。尖锐敲击烧瓶以从塑料分离并离解细胞。将细胞悬液转移到无菌50ml螺旋盖离心管。将培养基(McCoy's+10%FCS)加入15ml的最终容积,然后对上述管进行离心(400g,5分钟)。吸取上清并将沉淀物再悬浮在10ml培养基中。反复抽吸(上下10ml移液管)可能是必要的,以打破细胞团块并产生适用于计数的单分散性细胞悬液。使细胞悬液(10μl)与台盼蓝(Trypan blue)(10μl)混合,以及用血细胞计数器来计数活/死细胞以确定细胞浓度和生存力(存活力)。将细胞悬液稀释至20x10⁴/ml并将50μl分配到透明的96孔平底板。温育细胞过夜以允许使用前回收。

[2366] 通过将过滤灭菌的ADC稀释到细胞培养基来制备抗体药物结合物(ADC)(20μg/ml)的储备溶液(1ml)。通过系列转移100μl到900μl细胞培养基来在24孔板中制备一组8x 10倍稀释的储备ADC。

[2367] 将50μl的每个ADC稀释液分配到96孔板的4个重复孔,其包含前一天接种的50μl细胞悬液。对照孔接收50μl细胞培养基。在37℃下在CO₂-充气培养箱中温育包含细胞和ADC的96孔板4天。在温育期结束时,通过MTS测定来测量活细胞。将MTS(Promega)分配(20μl/孔)到每个孔并在37℃下在CO₂-充气培养箱中温育4小时。在490nm处测量孔吸收度。细胞存活

百分比是,相比于在4个对照孔中的平均吸收度(100%),计算自在4个经ADC处理孔中的平均吸收度。

[2368]

ADC	EC ₅₀ (μg/ml)
ConjA	0.06187

[2369] 缩略语

[2370] Ac 乙酰基

[2371] Acn 乙酰氨基甲基

[2372] Alloc 烯丙氧基羰基

[2373] Boc 二碳酸二叔丁酯

[2374] t-Bu 叔丁基

[2375] Bzl 苄基,其中Bzl-OMe是甲氧基苄基以及Bzl-Me是甲苯

[2376] Cbz或Z 苄氧基-羰基,其中Z-Cl和Z-Br分别是氯-和溴苄氧基羰基

[2377] DMF N,N-二甲基甲酰胺

[2378] Dnp 二硝基苯基

[2379] DTT 二硫苏糖醇

[2380] Fmoc 9H-芴-9-基甲氧基羰基

[2381] imp N-10亚胺保护基团:3-(2-甲氧基乙氧基)丙酸酯-Val-Ala-PAB

[2382] MC-OSu 马来酰亚氨基己酰基-O-N-琥珀酰亚胺(maleimidocaproyl-O-N-succinimide)

[2383] Moc 甲氧基羰基

[2384] MP 马来酰亚氨基丙酰胺

[2385] Mtr 4-甲氧基-2,3,6-三甲基苯磺酰基

[2386] PAB 对氨基苄氧基羰基

[2387] PEG 乙烯氧基

[2388] PNZ 氨基甲酸对硝基苄酯

[2389] Psec 2-(苯基磺酰基)乙氧基羰基

[2390] TBDMS 叔丁基二甲基甲硅烷基

[2391] TBDPS 叔丁基二苯基甲硅烷基

[2392] Teoc 2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基羰基

[2393] Tos 甲苯磺酰基

[2394] Troc 2,2,2-三氯乙氧基羰基氯化物

[2395] Trt 三苯甲基(三苯甲游基,trityl)

[2396] Xan 咕吨基(xanthyl)

[2397] 参考文献

[2398] 以下参考文献的全部内容以引用方式结合于本文:

[2399] EP 0522868

[2400] EP 0875569

[2401] EP 1295944

[2402] EP 1347046

[2403] EP 1394274
[2404] EP 1394274
[2405] EP 1439393
[2406] JP 05003790
[2407] JP 2004113151
[2408] JP 58180487
[2409] US 2001/055751
[2410] US 2002/034749
[2411] US 2002/042366
[2412] US 2002/150573
[2413] US 2002/193567
[2414] US 2003/0228319
[2415] US 2003/060612
[2416] US 2003/064397
[2417] US 2003/065143
[2418] US 2003/091580
[2419] US 2003/096961
[2420] US 2003/105292
[2421] US 2003/109676
[2422] US 2003/118592
[2423] US 2003/119121
[2424] US 2003/119122
[2425] US 2003/119125
[2426] US 2003/119126
[2427] US 2003/119128
[2428] US 2003/119129
[2429] US 2003/119130
[2430] US 2003/119131
[2431] US 2003/124140
[2432] US 2003/124579
[2433] US 2003/129192
[2434] US 2003/134790-A1
[2435] US 2003/143557
[2436] US 2003/157089
[2437] US 2003/165504
[2438] US 2003/185830
[2439] US 2003/186372
[2440] US 2003/186373
[2441] US 2003/194704

[2442] US 2003/206918
[2443] US 2003/219806
[2444] US 2003/224411
[2445] US 2003/224454
[2446] US 2003/232056
[2447] US 2003/232350
[2448] US 20030096743
[2449] US 20030130189
[2450] US 2003096743
[2451] US 2003130189
[2452] US 2004/0001827
[2453] US 2004/005320
[2454] US 2004/005538
[2455] US 2004/005563
[2456] US 2004/005598
[2457] US 2004/0101899
[2458] US 2004/018553
[2459] US 2004/022727
[2460] US 2004/044179
[2461] US 2004/044180
[2462] US 2004/101874
[2463] US 2004/197325
[2464] US 2004/249130
[2465] US 20040018194
[2466] US 20040052793
[2467] US 20040052793
[2468] US 20040121940
[2469] US 2005/271615
[2470] US 2006/116422
[2471] US 4816567
[2472] US 5362852
[2473] US 5440021
[2474] US 5583024
[2475] US 5621002
[2476] US 5644033
[2477] US 5674713
[2478] US 5700670
[2479] US 5773223
[2480] US 5792616

[2481] US 5854399
[2482] US 5869445
[2483] US 5976551
[2484] US 6011146
[2485] US 6153408
[2486] US 6214345
[2487] US 6218519
[2488] US 6268488
[2489] US 6518404
[2490] US 6534482
[2491] US 6555339
[2492] US 6602677
[2493] US 6677435
[2494] US 6759509
[2495] US 6835807
[2496] US 7223837
[2497] US 7375078
[2498] US 7521541
[2499] US 7723485
[2500] WO 00/012508
[2501] WO 00/12507
[2502] WO 00/12508
[2503] WO 01/16318
[2504] WO 01/45746
[2505] WO 02/088172
[2506] WO 03/026577
[2507] WO 03/043583
[2508] WO 04/032828
[2509] WO 2000/12130
[2510] WO 2000/14228
[2511] WO 2000/20579
[2512] WO 2000/22129
[2513] WO 2000/32752
[2514] WO 2000/36107
[2515] WO 2000/40614
[2516] WO 2000/44899
[2517] WO 2000/55351
[2518] WO 2000/75655
[2519] WO 200053216

[2520] WO 2001/00244
[2521] WO 2001/38490
[2522] WO 2001/40269
[2523] WO 2001/40309
[2524] WO 2001/41787
[2525] WO 2001/46232
[2526] WO 2001/46261
[2527] WO 2001/48204
[2528] WO 2001/53463
[2529] WO 2001/57188
[2530] WO 2001/62794
[2531] WO 2001/66689
[2532] WO 2001/72830
[2533] WO 2001/72962
[2534] WO 2001/75177
[2535] WO 2001/77172
[2536] WO 2001/88133
[2537] WO 2001/90304
[2538] WO 2001/94641
[2539] WO 2001/98351
[2540] WO 2002/02587
[2541] WO 2002/02624
[2542] WO 2002/06317
[2543] WO 2002/06339
[2544] WO 2002/101075
[2545] WO 2002/10187
[2546] WO 2002/102235
[2547] WO 2002/10382
[2548] WO 2002/12341
[2549] WO 2002/13847
[2550] WO 2002/14503
[2551] WO 2002/16413
[2552] WO 2002/16429
[2553] WO 2002/22153
[2554] WO 2002/22636
[2555] WO 2002/22660
[2556] WO 2002/22808
[2557] WO 2002/24909
[2558] WO 2002/26822

[2559] WO 2002/30268
[2560] WO 2002/38766
[2561] WO 2002/54940
[2562] WO 2002/59377
[2563] WO 2002/60317
[2564] WO 2002/61087;
[2565] WO 2002/64798
[2566] WO 2002/71928
[2567] WO 2002/72596
[2568] WO 2002/78524
[2569] WO 2002/81646
[2570] WO 2002/83866
[2571] WO 2002/86443
[2572] WO 2002/88170
[2573] WO 2002/89747
[2574] WO 2002/92836
[2575] WO 2002/94852
[2576] WO 2002/98358
[2577] WO 2002/99074
[2578] WO 2002/99122
[2579] WO 2003/000842
[2580] WO 2003/002717
[2581] WO 2003/003906
[2582] WO 2003/003984
[2583] WO 2003/004989
[2584] WO 2003/008537
[2585] WO 2003/009814
[2586] WO 2003/014294
[2587] WO 2003/016475
[2588] WO 2003/016494
[2589] WO 2003/018621
[2590] WO 2003/022995
[2591] WO 2003/023013
[2592] WO 2003/024392
[2593] WO 2003/025138
[2594] WO 2003/025148
[2595] WO 2003/025228
[2596] WO 2003/026493
[2597] WO 2003/029262

[2598] WO 2003/029277
[2599] WO 2003/029421
[2600] WO 2003/034984
[2601] WO 2003/035846
[2602] WO 2003/042661
[2603] WO 2003/045422
[2604] WO 2003/048202
[2605] WO 2003/054152
[2606] WO 2003/055439
[2607] WO 2003/055443
[2608] WO 2003/062401
[2609] WO 2003/062401
[2610] WO 2003/072035
[2611] WO 2003/072036
[2612] WO 2003/077836
[2613] WO 2003/081210
[2614] WO 2003/083041
[2615] WO 2003/083047
[2616] WO 2003/083074
[2617] WO 2003/087306
[2618] WO 2003/087768
[2619] WO 2003/088808
[2620] WO 2003/089624
[2621] WO 2003/089904
[2622] WO 2003/093444
[2623] WO 2003/097803
[2624] WO 2003/101283
[2625] WO 2003/101400
[2626] WO 2003/104270
[2627] WO 2003/104275
[2628] WO 2003/105758
[2629] WO 2003004529
[2630] WO 2003042661
[2631] WO 2003104399
[2632] WO 2004/000997
[2633] WO 2004/001004
[2634] WO 2004/009622
[2635] WO 2004/011611
[2636] WO 2004/015426

[2637] WO 2004/016225
[2638] WO 2004/020595
[2639] WO 2004/022709
[2640] WO 2004/022778
[2641] WO 2004/027049
[2642] WO 2004/031238
[2643] WO 2004/032828
[2644] WO 2004/032842
[2645] WO 2004/040000
[2646] WO 2004/043361
[2647] WO 2004/043963
[2648] WO 2004/044178
[2649] WO 2004/045516
[2650] WO 2004/045520
[2651] WO 2004/045553
[2652] WO 2004/046342
[2653] WO 2004/047749
[2654] WO 2004/048938
[2655] WO 2004/053079
[2656] WO 2004/063355
[2657] WO 2004/063362
[2658] WO 2004/063709
[2659] WO 2004/065577
[2660] WO 2004/074320
[2661] WO 2004000221
[2662] WO 2004020583
[2663] WO 2004042346
[2664] WO 2004065576
[2665] WO 2005/023814
[2666] WO 2005/082023
[2667] WO 2005/085251
[2668] WO 2006/111759
[2669] WO 2007/044515
[2670] WO 2007/085930
[2671] WO 2009/052249
[2672] WO 2010/091150
[2673] WO 91/02536
[2674] WO 92/07574
[2675] WO 92/17497

- [2676] WO 94/10312
- [2677] WO 94/28931
- [2678] WO 9630514
- [2679] WO 97/07198
- [2680] WO 97/44452
- [2681] WO 98/13059
- [2682] WO 98/37193
- [2683] WO 98/40403
- [2684] WO 98/51805
- [2685] WO 98/51824
- [2686] WO 99/28468
- [2687] WO 99/46284
- [2688] WO 99/58658
- [2689] Am. J. Hum. Genet. 49 (3) :555-565 (1991)
- [2690] Amiel J., et al Hum. Mol. Genet. 5, 355-357, 1996
- [2691] Amir et al (2003) Angew. Chem. Int. Ed. 42:4494-4499
- [2692] Amsberry, et al (1990) J. Org. Chem. 55:5867
- [2693] Angew Chem. Intl. Ed. Engl. (1994) 33:183-186
- [2694] Annu. Rev. Neurosci. 21:309-345 (1998)
- [2695] Arai H., et al J. Biol. Chem. 268, 3463-3470, 1993
- [2696] Arai H., et al Jpn. Circ. J. 56, 1303-1307, 1992
- [2697] Arima, et al., J. Antibiotics, 25, 437-444 (1972)
- [2698] Attie T., et al, Hum. Mol. Genet. 4, 2407-2409, 1995
- [2699] Auricchio A., et al Hum. Mol. Genet. 5:351-354, 1996
- [2700] Barel M., et al Mol. Immunol. 35, 1025-1031, 1998
- [2701] Barella et al (1995) Biochem. J. 309:773-779
- [2702] Barnett T., et al Genomics 3, 59-66, 1988
- [2703] Beck et al (1992) J. Mol. Biol. 228:433-441
- [2704] Beck et al (1996) J. Mol. Biol. 255:1-13
- [2705] Berge, et al., J. Pharm. Sci., 66, 1-19 (1977)
- [2706] Biochem. Biophys. Res. Commun. (2000) 275 (3) :783-788
- [2707] Biochem. Biophys. Res. Commun. 255 (2) , 283-288 (1999)
- [2708] Blood (2002) 100 (9) :3068-3076
- [2709] Blood 99 (8) :2662-2669 (2002)
- [2710] Blumberg H., et al Cell 104, 9-19, 2001
- [2711] Bose, et al., Tetrahedron, 48, 751-758 (1992)
- [2712] Bourgeois C., et al J. Clin. Endocrinol. Metab. 82, 3116-3123, 1997
- [2713] Brinster et al (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:836
- [2714] Buchman and Berg (1988) Mol. Cell. Biol. 8:4395

- [2715] Cancer Res.61 (15) ,5857-5860 (2001)
- [2716] Carl et al (1981) J.Med.Chem.24:479-480
- [2717] Carlsson et al (1978) Biochem.J.173:723-737
- [2718] Carter,P. (2006) Nature Reviews Immunology 6:343-357
- [2719] Cell 109 (3) :397-407 (2002)
- [2720] CellTiter Glo Luminescent Cell Viability Assay,Promega Corp.Technical Bulletin TB288
- [2721] Chakravarty et al (1983) J.Med.Chem.26:638-644
- [2722] Chan,J.and Watt,V.M.,Oncogene 6 (6) ,1057-1061 (1991)
- [2723] Child et al (1999) J.Biol.Chem.274:24335-24341
- [2724] Cho H.-S.,et al Nature 421,756-760,2003
- [2725] Ciccodicola,A.,et al EMBO J.8 (7) :1987-1991 (1989)
- [2726] Clackson et al (1991) Nature,352:624-628
- [2727] Clark H.F.,et al Genome Res.13,2265-2270,2003
- [2728] Corey E,Quinn JE,Buhler KR,et al.LuCap35:a new model of prostate cancer progression to androgen independence.The Prostate 2003;55:239-46
- [2729] Coussens L.,et al Science (1985) 230 (4730) :1132-1139
- [2730] Cree et al (1995) AntiCancer Drugs 6:398-404
- [2731] Crouch et al (1993) J.Immunol.Meth.160:81-88
- [2732] Davis et al (2001) Proc.Natl.Acad.Sci USA 98 (17) :9772-9777
- [2733] de Groot et al (2001) J.Org.Chem.66:8815-8830
- [2734] de Groot et al (2003) Angew.Chem.Int.Ed.42:4490-4494
- [2735] Dennis et al. (2002) "Albumin Binding As A General Strategy For Improving The Pharmacokinetics Of Proteins" J Biol Chem.277:35035-35043
- [2736] Dobner et al (1992) Eur.J.Immunol.22:2795-2799
- [2737] Dornan et al (2009) Blood 114 (13) :2721-2729
- [2738] Doronina et al (2006) Bioconj.Chem.17:114-124
- [2739] Dubowchik et al.Bioconjugate Chemistry,2002,13,855-869
- [2740] Dubowchik,et al. (1997) Tetrahedron Letters,38:5257-60
- [2741] Dumoutier L.,et al J.Immunol.167,3545-3549,2001
- [2742] E.**Schröder** and K.Lübke,The Peptides,volume 1,pp 76-136 (1965) Academic Press
- [2743] Ehsani A.,et al (1993) Genomics 15,426-429
- [2744] Eliel,E.and Wilen,S., "Stereochemistry of Organic Compounds", John Wiley&Sons,Inc.,New York,1994
- [2745] Elshourbagy N.A.,et al J.Biol.Chem.268,3873-3879,1993
- [2746] Erickson et al (2006) Cancer Res.66 (8) :1-8
- [2747] Feild,J.A.,et al (1999) Biochem.Biophys.Res.Commun.258 (3) :578-582
- [2748] Fields,G.and Noble,R. (1990) "Solid phase peptide synthesis utilizing

- 9-fluoroenylmethoxycarbonyl amino acids", *Int.J.Peptide Protein Res.* 35:161-214
- [2749] Fuchs S., et al *Mol.Med.* 7,115-124,2001
- [2750] Fujisaku et al (1989) *J.Biol.Chem.* 264 (4) :2118-2125)
- [2751] Gary S.C., et al *Gene* 256,139-147,2000
- [2752] Gaugitsch, H.W., et al (1992) *J.Biol.Chem.* 267 (16) :11267-11273)
- [2753] Geiser et al "Automation of solid-phase peptide synthesis" in *Macromolecular Sequencing and Synthesis*, Alan R.Liss, Inc., 1988, pp.199-218
- [2754] *Genome Res.* 13 (10) :2265-2270 (2003)
- [2755] *Genomics* 62 (2) :281-284 (1999)
- [2756] Geoghegan & Stroh, (1992) *Bioconjugate Chem.* 3:138-146
- [2757] Getz et al (1999) *Anal.Biochem.* Vol 273:73-80
- [2758] Glynne-Jones et al (2001) *Int J Cancer.* Oct 15; 94 (2) :178-84
- [2759] Gregson et al., *Chem.Commun.* 1999, 797-798
- [2760] Gregson et al., *J.Med.Chem.* 2001, 44, 1161-1174
- [2761] Gu Z., et al *Oncogene* 19,1288-1296,2000
- [2762] Ha et al (1992) *J.Immunol.* 148 (5) :1526-1531
- [2763] Haendler B., et al *J.Cardiovasc.Pharmacol.* 20, s1-S4, 1992
- [2764] Hamann P. (2005) *Expert Opin.Ther.Patents* 15 (9) :1087-1103
- [2765] Hamblett et al (2004) *Clin.Cancer Res.* 10:7063-7070
- [2766] *Handbook of Pharmaceutical Additives*, 2nd Edition (eds.M.Ash and I.Ash), 2001 (Synapse Information Resources, Inc., Endicott, New York, USA)
- [2767] *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 2nd edition, 1994
- [2768] Hara, et al., *J.Antibiotics*, 41, 702-704 (1988)
- [2769] Hashimoto et al (1994) *Immunogenetics* 40 (4) :287-295
- [2770] Hay et al. (1999) *Bioorg.Med.Chem.Lett.* 9:2237
- [2771] Herdewijn, P. et al., *Canadian Journal of Chemistry.* 1982, 60, 2903-7
- [2772] Hermanson, G.T. (1996) *Bioconjugate Techniques*; Academic Press: New York, p 234-242
- [2773] Hochlowski, et al., *J.Antibiotics*, 40, 145-148 (1987)
- [2774] Hofstra R.M.W., et al *Eur.J.Hum.Genet.* 5, 180-185, 1997
- [2775] Hofstra R.M.W., et al *Nat.Genet.* 12, 445-447, 1996
- [2776] Horie et al (2000) *Genomics* 67:146-152
- [2777] Hubert, R.S., et al (1999) *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 96 (25) :14523-14528)
- [2778] Hurley and Needham-VanDevanter, *Acc.Chem.Res.*, 19, 230-237 (1986)
- [2779] *Immunogenetics* 54 (2) :87-95 (2002)
- [2780] *Int.Rev.Cytol.* 196:177-244 (2000)
- [2781] Itoh, et al., *J.Antibiotics*, 41, 1281-1284 (1988)
- [2782] *J.Biol.Chem.* 270 (37) :21984-21990 (1995)
- [2783] *J.Biol.Chem.* 276 (29) :27371-27375 (2001)

- [2784] J.Biol.Chem.277 (22) :19665-19672 (2002)
- [2785] J.Biol.Chem.278 (33) :30813-30820 (2003)
- [2786] Janeway,C., Travers,P., Walport,M., Shlomchik (2001) Immuno Biology, 5th Ed., Garland Publishing, New York
- [2787] Jeffrey et al (2005) J.Med.Chem.48:1344-1358
- [2788] Jonsson et al (1989) Immunogenetics 29 (6) :411-413
- [2789] Junutula, et al., 2008b Nature Biotech., 26 (8) :925-932
- [2790] Kang, G-D., et al., Chem. Commun., 2003, 1680-1689
- [2791] Kasahara et al (1989) Immunogenetics 30 (1) :66-68
- [2792] King et al (2002) Tetrahedron Letters 43:1987-1990
- [2793] Kingsbury et al (1984) J.Med.Chem.27:1447
- [2794] Kohler et al (1975) Nature 256:495
- [2795] Kohn, in Antibiotics III. Springer-Verlag, New York, pp.3-11 (1975) .
- [2796] Konishi, et al., J.Antibiotics, 37, 200-206 (1984)
- [2797] Kovtun et al (2006) Cancer Res.66 (6) :3214-3121
- [2798] Kuhns J.J., et al J.Biol.Chem.274, 36422-36427, 1999
- [2799] Kuminoto, et al., J.Antibiotics, 33, 665-667 (1980)
- [2800] Kurebayashi et al (1999) Brit.Jour.Cancer 79 (5-6) :707-717
- [2801] Lab. Invest. 82 (11) :1573-1582 (2002)
- [2802] Lambert J. (2005) Current Opin.in Pharmacol.5:543-549
- [2803] Langley and Thurston, J.Org.Chem., 52, 91-97 (1987)
- [2804] Larhammar et al (1985) J.Biol.Chem.260 (26) :14111-14119
- [2805] Law et al (2006) Cancer Res.66 (4) :2328-2337
- [2806] Le et al (1997) FEBS Lett.418 (1-2) :195-199
- [2807] Leber, et al., J.Am.Chem.Soc., 110, 2992-2993 (1988)
- [2808] Leimgruber, et al., J.Am.Chem.Soc., 87, 5791-5793 (1965)
- [2809] Leimgruber, et al., J.Am.Chem.Soc., 87, 5793-5795 (1965)
- [2810] Levenson et al (1997) Cancer Res.57 (15) :3071-3078
- [2811] Liang et al (2000) Cancer Res.60:4907-12
- [2812] Manfré, F. et al., J.Org.Chem.1992, 57, 2060-2065
- [2813] Marks et al (1991) J.Mol.Biol., 222:581-597
- [2814] McDonagh (2006) Protein Eng.Design&Sel., 19 (7) :299-307
- [2815] Mendoza et al (2002) Cancer Res.62:5485-5488
- [2816] Miller et al (2003) Jour.of Immunology 170:4854-4861
- [2817] Miura et al (1996) Genomics 38 (3) :299-304
- [2818] Miura et al (1998) Blood 92:2815-2822
- [2819] Moore M., et al Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.84, 9194-9198, 1987
- [2820] Morrison et al (1984) Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 81:6851-6855
- [2821] Muller et al (1992) Eur.J.Immunol.22 (6) :1621-1625

- [2822] Mungall A.J., et al Nature 425,805-811,2003
- [2823] Nagase T., et al (2000) DNA Res.7 (2) :143-150)
- [2824] Nakamuta M., et al Biochem.Biophys.Res.Comm.177,34-39,1991
- [2825] Nakayama et al (2000) Biochem.Biophys.Res.Comm.277 (1) :124-127
- [2826] Naruse et al (2002) Tissue Antigens 59:512-519
- [2827] Nature 395 (6699) :288-291 (1998)
- [2828] Neuberger and Williams (1988) Nucleic Acids Res.16:6713
- [2829] Novabiochem Catalog 2006/2007
- [2830] Ogawa Y., et al Biochem.Biophys.Res.Comm.178,248-255,1991
- [2831] Okamoto Y., et al Biol.Chem.272,21589-21596,1997
- [2832] Oncogene 10 (5) :897-905 (1995)
- [2833] Oncogene 14 (11) :1377-1382 (1997))
- [2834] Parrish-Novak J., et al J.Biol.Chem.277,47517-47523,2002
- [2835] Payne,G. (2003) Cancer Cell 3:207-212
- [2836] Phillips et al (2008) Cancer Res.68 (22) :9280-9290
- [2837] Pingault V., et al (2002) Hum.Genet.111,198-206
- [2838] Pletnev S., et al (2003) Biochemistry 42:12617-12624
- [2839] Preud'homme et al (1992) Clin.Exp.Immunol.90 (1) :141-146
- [2840] Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. (2003) 100 (7) :4126-4131
- [2841] Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.93 (1) :136-140 (1996)
- [2842] Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.98 (17) :9772-9777 (2001)
- [2843] Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.99 (26) :16899-16903 (2002)
- [2844] Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.96 (20) :11531-11536 (1999)
- [2845] Protective Groups in Organic Synthesis, Greene and Wuts, 3rd Edition, 1999, John Wiley&Sons Inc.
- [2846] Puffenberger E.G., et al Cell 79,1257-1266,1994
- [2847] Rao et al (1997) Breast Cancer Res.and Treatment 45:149-158
- [2848] Reiter R.E., et al Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.95,1735-1740,1998
- [2849] Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th edition, pub.Lippincott, Williams&Wilkins, 2000
- [2850] Rodrigues et al (1995) Chemistry Biology 2:223
- [2851] Ross et al (2002) Cancer Res.62:2546-2553
- [2852] S.P.Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984) McGraw-Hill Book Company, New York
- [2853] Sakaguchi et al (1988) EMBO J.7 (11) :3457-3464
- [2854] Sakamoto A., Yanagisawa M., et al Biochem.Biophys.Res.Comm.178,656-663,1991
- [2855] Sanderson et al (2005) Clin.Cancer Res.11:843-852
- [2856] Semba K., et al Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.82,6497-6501,1985

- [2857] Servenius et al (1987) J.Biol.Chem.262:8759-8766
- [2858] Shamis et al (2004) J.Am.Chem.Soc.126:1726-1731
- [2859] Sheikh F.,et al (2004) J.Immunol.172,2006-2010
- [2860] Shimizu,et al,J.Antibiotics,29,2492-2503(1982)
- [2861] Sinha S.K.,et al (1993) J.Immunol.150,5311-5320
- [2862] Storm et al (1972) J.Amer.Chem.Soc.94:5815
- [2863] Strausberg et al (2002) Proc.Natl.Acad.Sci USA 99:16899-16903
- [2864] Sun et al (2002) Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters 12:2213-2215
- [2865] Sun et al (2003) Bioorganic&Medicinal Chemistry 11:1761-1768
- [2866] Svensson P.J.,et al Hum.Genet.103,145-148,1998
- [2867] Swiercz J.M.,et al J.Cell Biol.165,869-880,2004
- [2868] Syrigos and Epenetos (1999) Anticancer Research 19:605-614
- [2869] Takeuchi,et al.,J.Antibiotics,29,93-96(1976)
- [2870] Tawaragi Y.,et al Biochem.Biophys.Res.Comm.150,89-96,1988
- [2871] ten Dijke,P.,et al Science 264(5155):101-104(1994)
- [2872] Thompson,J.S.,et al Science 293(5537),2108-2111(2001) WO 2004/058309
- [2873] Thurston,et al.,Chem.Brit.,26,767-772(1990)
- [2874] Thurston,et al.,Chem.Rev.1994,433-465(1994)
- [2875] Toki et al (2002) J.Org.Chem.67:1866-1872
- [2876] Tonnelle et al (1985) EMBO J.4(11):2839-2847
- [2877] Touchman et al (2000) Genome Res.10:165-173
- [2878] Trail et al (2003) Cancer Immunol.Immunother.52:328-337
- [2879] Tsunakawa,et al.,J.Antibiotics,41,1366-1373(1988)
- [2880] Tsutsumi M.,et al Gene 228,43-49,1999
- [2881] Uchida et al (1999) Biochem.Biophys.Res.Comm.266:593-602
- [2882] Verheij J.B.,et al Am.J.Med.Genet.108,223-225,2002
- [2883] Von Hoegen et al (1990) J.Immunol.144(12):4870-4877
- [2884] Webster et al (1994) Semin.Cancer Biol.5:69-76
- [2885] Weis J.J.,et al J.Exp.Med.167,1047-1066,1988
- [2886] Weis J.J.,et al Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.83,5639-5643,1986
- [2887] Wilson et al (1991) J.Exp.Med.173:137-146
- [2888] Wu et al (2005) Nature Biotech.23(9):1137-1145
- [2889] Xie et al (2006) Expert.Opin.Biol.Ther.6(3):281-291
- [2890] Xu,M.J.,et al (2001) Biochem.Biophys.Res.Comm.280(3):768-775 WO 2004/016225
- [2891] Xu,X.Z.,et al Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.98(19):10692-10697(2001)
- [2892] Yamaguchi,N.,et al Biol.Chem.269(2),805-808(1994)
- [2893] Yamamoto T.,et al Nature 319,230-234,1986
- [2894] Yu et al (1992) J.Immunol.148(2) 633-637。