(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119095625 A
(43)申请公布日 2024.12.06

(21)申请号 202380036370.8

(22)申请日 2023.02.28

(30)优先权数据
2022-030070 2022.02.28 JP
2022-067814 2022.04.15 JP
2022-106430 2022.06.30 JP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.10.25

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/JP2023/007414 2023.02.28

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/163227 JA 2023.08.31

(71)申请人 UBE株式会社
地址 日本

(72)发明人 津崎康则 水野玄 柏木隆仁 田中正幸 清水速人 阿贺康弘 野野内慎平 德永裕仁 松下高志 木村富美夫

(74)专利代理机构 北京林达刘知识产权代理事务所(普通合伙) 11277
专利代理师 刘新宇 李茂家

(51)Int.Cl.
A61K 47/68(2006.01)
A61K 31/337(2006.01)
A61K 31/357(2006.01)
A61K 31/407(2006.01)
A61K 31/4375(2006.01)
A61K 31/4745(2006.01)
A61K 31/475(2006.01)
A61K 31/513(2006.01)
A61K 31/537(2006.01)
A61K 31/5513(2006.01)
A61K 31/5517(2006.01)
A61K 31/675(2006.01)
A61K 31/7034(2006.01)
A61K 31/7036(2006.01)
A61K 31/706(2006.01)
A61K 38/07(2006.01)
A61K 38/14(2006.01)
A61K 39/395(2006.01)
A61K 45/00(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
C07K 2/00(2006.01)
C07K 14/435(2006.01)
C07K 16/30(2006.01)
C07K 19/00(2006.01)

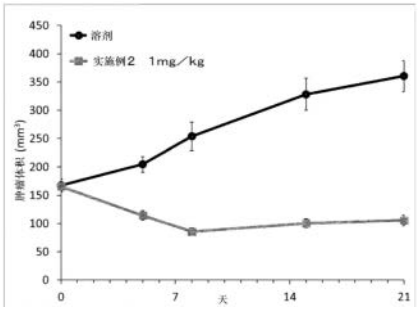
权利要求书18页 说明书245页 附图3页

(54)发明名称

抗体-药物偶联物

(57)摘要

本发明提供一种新型的连接子、连接子有效载荷和抗体-药物偶联物以及抗肿瘤性药物。具体而言,本发明提供下述通式(I):A-(B-L-D)a (I)表示的、抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物等:[式中,A为从能够靶向肿瘤细胞的抗体除去参与和连接子的结合的抗体内官能团而成的抗体残基,B为来自所述抗体内官能团的2价基团,a为1～10的整数,D为从抗肿瘤性药物分子或者其类似物、或它们的衍生物的任意位置除去1个氢原子或1个羟基而成的抗肿瘤性药物残基,L为将B和D连接的连接子,D及L的至少任一者在任意位置具有1个以上的内酯基作为取代基或保护基]。



CN 119095625 A

1.一种抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其由下述通式(I)表示,

$A-(B-L-D)_a$　　(I)

$A-(B-L-D)_a$　　(I)

式中,

A为从能够靶向肿瘤细胞的抗体除去参与和连接子的结合的抗体内官能团而成的抗体残基,

B为来自所述抗体内官能团的2价基团,

a为1～10的整数,

D为从抗肿瘤性药物分子或者其类似物、或者它们的衍生物的任意位置除去1个氢原子或1个羟基而成的抗肿瘤性药物残基,

L为将B和D连接的连接子,

D及L的至少任一者在任意位置具有1个以上的内酯基作为取代基或保护基。

2.根据权利要求1所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,A为从具有能够识别靶细胞的特性、能够结合于靶细胞的特性、能够内化于靶细胞中的特性、及损伤靶细胞的特性中的任1种以上特性的抗体中除去参与和连接子的结合的抗体内官能团而成的抗体残基。

3.根据权利要求1或2所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,A为从能够靶向肿瘤细胞的抗体中除去为抗体内官能团的巯基、羟基、氨基、叠氮基、炔基、环炔基、或氮杂环炔基而成的抗体残基。

4.根据权利要求1～3中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,A为从抗HER2抗体、抗EGFR抗体、抗淋巴细胞抗原6E(Ly-6E)抗体、抗肝细胞生长因子受体(HGFR)抗体、抗CD22抗体、抗叶酸受体α(FRα)抗体、抗PSMA(FOLH1)抗体、抗CD30(TNFRSF8)抗体、抗TROP-2抗体、抗CD19抗体、抗5T4抗体、抗间皮素抗体、抗CD20抗体、抗CD33抗体、抗CDB7-H3抗体、抗CD269(BCMA)抗体、抗CD142抗体、抗CD70抗体、抗CD123抗体、抗TAG-72抗体、抗TFRC抗体、抗EPHA2抗体、抗EPHA3抗体、抗c-KIT抗体、抗PD-L1抗体、抗上皮细胞粘附分子(EPCAM)抗体、抗AXL抗体、抗白介素-1受体辅助蛋白抗体、抗粘蛋白-16(CA125)抗体、抗MUC1抗体、抗GPC3抗体、抗CLEC12A(CLL1)抗体、抗LRRC15抗体、抗ADAM9抗体、抗钠依赖性磷酸盐转运蛋白2B(SLC34A2)抗体、抗CD25抗体、抗ROR1抗体、抗TweakR抗体、抗CD74抗体、抗CEACAM5抗体、抗CD105抗体、抗CD79b抗体、抗CD147抗体、抗Sialyl-Tn抗体、抗GCC抗体、抗HER3抗体、抗整合素抗体、抗EGFR variant III抗体、抗紧密连接蛋白6抗体、抗富含亮氨酸重复序列的G蛋白偶联受体5抗体、抗PTK7抗体、抗LYPD3抗体、抗ASCT2抗体、抗ASPH抗体、抗GPC1抗体、抗CD174抗体、抗CD38抗体、抗ANGPT2抗体、抗CD44抗体、抗DDL3抗体、抗FGFR2抗体、抗KAAG1抗体、抗CD73抗体、抗CLDN18.2抗体、抗PRLR抗体、抗SEZ6抗体、抗脑啡肽酶抗体、抗神经细胞粘附分子1抗体、抗CD166(ALCAM)抗体、抗CD24抗体、抗CD27抗体、抗CDH3抗体、抗EPHA4抗体、抗FGFR3抗体、抗GFRAL抗体、抗Globo H抗体、抗IL-13Ra2抗体、抗STEAP-1抗体、抗TMCC3抗体、抗CD209抗体、抗CD37抗体、抗CD48抗体、抗CDCP1抗体、抗CD46抗体、抗CD200抗体、抗CXCR5抗体、抗FLT3抗体、抗SDC1(CD138)抗体、抗CLDN6/9抗体、抗CEACAM6抗体、抗CA9抗体、抗EDNRB抗体、抗GD3神经节苷脂抗体、抗MICA/B抗体、抗

JAG1/2抗体、抗TM4SF1抗体、抗uPAR抗体、抗碳酸酐酶IX抗体、抗ALK1抗体、抗IGF-1R抗体、抗KDR抗体、抗CEACAM8抗体、抗IL5R抗体、抗CD205(Ly75)抗体、抗MSR1抗体、抗KREMEN2抗体、抗SSEA-4抗体、抗CD228抗体、抗CD5抗体、抗DLL4抗体、抗FAP抗体、抗Notch3抗体、抗AG7抗体、抗鸟苷酸环化酶抗体、抗粘连蛋白-4抗体、抗CD226(DNAM-1)抗体、抗FcRL5抗体、抗HLA-DR抗体、抗ITGB3抗体、抗DLK1抗体、抗CD157(BST1)抗体、抗CD56(NCAM1)抗体、抗MICA(MHC I类多肽相关序列A)抗体、抗SSEA-1抗体、抗TRAIL-R2(DR5)抗体、抗GPNMB抗体、抗CCR5抗体、抗LAMP1抗体、抗LGALS3BP抗体、抗ROR2抗体、抗DLL3抗体、抗ETBR抗体、抗LIV-1抗体、抗整合素αvβ6抗体、抗TIM-1抗体、抗AGS-16(ENPP3)抗体、抗SLITRK6抗体、抗GD2抗体、抗CD52抗体、抗CCR4抗体、抗VEGFR2抗体、抗PDGFR抗体、抗FGFR抗体、抗SLAMF7抗体、抗GD2神经节苷脂抗体、抗EPHA3抗体、抗整合素αvβ3抗体、抗AGS-5抗体、抗CA19-9抗体、抗PSA抗体、抗MAGE3抗体、抗转铁蛋白受体1(CD71)抗体、抗CEACAM1抗体、抗SLC3A2(CD98)抗体、抗ACVR1抗体、抗AG-7抗体、抗AMHR2抗体、抗ABCB1抗体、抗C16orf54抗体、抗组织蛋白酶D抗体、抗CCR7抗体、抗SLC44A4抗体、抗CD300LF抗体、抗DPEP3抗体、抗FucGM1抗体、抗GPR20抗体、抗ITGB6抗体、抗类Lewis-A碳水化合物抗体、抗催乳素受体抗体、抗Sialyl Tn抗体、抗SLAMF6抗体、抗SLAMF7抗体、抗TRA-1-60抗体、抗蛋白裂解酶抗体、抗B7-H4抗体、抗Cripto抗体、抗CD99抗体、抗CanAg抗体、抗A33抗体、抗α10β1整合素抗体、抗ALPP抗体、抗CD248抗体、或抗GPRC5D抗体中除去参与和连接子的结合的抗体内官能团而成的抗体残基。

5.根据权利要求1～4中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,A为从抗HER2抗体、抗EGFR抗体、抗淋巴细胞抗原6E(Ly-6E)抗体、抗肝细胞生长因子受体(HGFR)抗体、抗CD22抗体、抗叶酸受体α(FRα)抗体、抗PSMA(FOLH1)抗体、抗CD30(TNFRSF8)抗体、抗TROP-2抗体、抗CD19抗体、抗5T4抗体、抗间皮素抗体、抗CD20抗体、抗CD269(BCMA)抗体、抗CD142抗体、抗CD123抗体、抗TAG-72抗体、抗TFRC抗体、抗EPHA2抗体、抗c-KIT抗体、抗上皮细胞粘附分子(EPCAM)抗体、抗AXL抗体、抗粘蛋白-16(CA125)抗体、抗CLEC12A(CLL1)抗体、抗LRRC15抗体、抗ADAM9抗体、抗钠依赖性磷酸盐转运蛋白2B(SLC34A2)抗体、抗CD25抗体、抗ROR1抗体、抗CD74抗体、抗CEACAM5抗体、抗CD105抗体、抗CD79b抗体、抗HER3抗体、抗EGFR variant III抗体、抗PTK7抗体、抗GPC1抗体、抗CD38抗体、抗DDL3抗体、抗SEZ6抗体、抗CD166(ALCAM)抗体、抗CDH3抗体、抗FGFR3抗体、抗Globo H抗体、抗CD37抗体、抗CD48抗体、抗CD46抗体、抗FLT3抗体、CD138抗体、抗TM4SF1抗体、抗IGF-1R抗体、抗CEACAM8抗体、抗CD205(Ly75)抗体、抗CD228抗体、抗FAP抗体、抗AG7抗体、抗粘连蛋白-4抗体、抗CD226(DNAM-1)抗体、抗HLA-DR抗体、抗DLK1抗体、抗CD157(BST1)抗体、抗CD56(NCAM1)抗体、抗CCR5抗体、抗ROR2抗体、抗LIV-1抗体、抗TIM-1抗体、抗CA19-9抗体、抗CEACAM1抗体、抗SLC3A2(CD98)抗体、抗ACVR1抗体、抗AG-7抗体、抗AMHR2抗体、抗ABCB1抗体、抗C16orf54抗体、抗组织蛋白酶D抗体、抗CCR7抗体、抗SLC44A4抗体、抗CD300LF抗体、抗DPEP3抗体、抗FucGM1抗体、抗GPR20抗体、抗ITGB6抗体、抗类Lewis-A碳水化合物抗体、抗催乳素受体抗体、抗Sialyl Tn抗体、抗SLAMF6抗体、抗SLAMF7抗体、抗TRA-1-60抗体、抗蛋白裂解酶抗体、抗B7-H4抗体、抗Cripto抗体、抗CD99抗体、抗CanAg抗体、抗α10β1整合素抗体、抗ALPP抗体、抗CD248抗体、或抗GPRC5D抗体中除去参与和连接子的结合的抗体内官能团而成的抗体残基。

6.根据权利要求1～5中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们

的水合物,其中,A为从抗HER2抗体、抗EGFR抗体、抗淋巴细胞抗原6E(Ly-6E)抗体、抗CD22抗体、抗叶酸受体α(FRα)抗体、抗PSMA(FOLH1)抗体、抗CD30(TNFRSF8)抗体、抗TROP-2抗体、抗CD19抗体、抗间皮素抗体、抗CD20抗体、抗CD269(BCMA)抗体、抗CD123抗体、抗TFRC抗体、抗EPHA2抗体、抗c-KIT抗体、抗上皮细胞粘附分子(EPCAM)抗体、抗AXL抗体、抗粘蛋白-16(CA125)抗体、抗钠依赖性磷酸盐转运蛋白2B(SLC34A2)抗体、抗CD25抗体、抗CEACAM5抗体、抗CD79b抗体、抗HER3抗体、抗PTK7抗体、抗CD38抗体、抗CDH3抗体、抗CD37抗体、抗FLT3抗体、抗IGF-1R抗体、抗FAP抗体、抗粘连蛋白-4抗体、抗CD56(NCAM1)抗体、抗AG-7抗体、抗CCR7抗体、抗DPEP3抗体、抗ITGB6抗体、抗蛋白裂解酶抗体、抗Cripto抗体、抗ALPP抗体、或抗GPRC5D抗体中除去参与和连接子的结合的抗体内官能团而成的抗体残基。

7.根据权利要求1所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,A为从抗HER2抗体中除去参与和连接子的结合的抗体内官能团而成的抗体残基。

8.根据权利要求1～7中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,B为-S-基、-O-基、-NH-基、或1,2,3-亚三唑基。

9.根据权利要求1～8中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,B为-S-基或-NH-基。

10.根据权利要求1～9中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,B为-S-基。

11.根据权利要求1～10中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,a为1～8的整数。

12.根据权利要求1～11中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,a为2～8的整数、。

13.根据权利要求1～12中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,a为4～8的整数。

14.根据权利要求1～13中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,D为从:喜树碱;澳瑞他汀E(AE)或一甲基澳瑞他汀E(MMAE);美登素;PBD(吡咯苯并二氮卓)二聚体;艾日布林;5-FU;PD-318088;AS-703026;TAK-733;LY-3023414;卡奇霉素;紫杉醇;多西他赛;丝裂霉素C;博来霉素;环胞苷;长春新碱;长春碱;道诺霉素;阿霉素;多卡霉素;尾海兔素10;superdox;环丙沙星;卡德沙星(CS-940);或者这些抗肿瘤性药物的类似物;或所述抗肿瘤性药物分子或者它们的类似物、的衍生物;的任意位置除去1个氢原子或1个羟基而成的残基。

15.根据权利要求1～14中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,D为从:喜树碱;澳瑞他汀E(AE)或一甲基澳瑞他汀E(MMAE);美登素;PBD(吡咯苯并二氮卓)二聚体;艾日布林;5-FU;PD-318088;AS-703026;TAK-733;LY-3023414;卡奇霉素;紫杉醇;多西他赛;丝裂霉素C;博来霉素;环胞苷;长春新碱;长春碱;道诺霉素;阿霉素;多卡霉素;尾海兔素10;superdox;或者这些抗肿瘤性药物的类似物;或上述抗肿瘤性药物分子或者它们的类似物、的衍生物;的任意位置除去1个氢原子或1个羟基而成的残基。

16.根据权利要求1～15中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,D为从:喜树碱;澳瑞他汀E(AE)或一甲基澳瑞他汀E(MMAE);美登素;PBD

(吡咯苯并二氮卓)二聚体;艾日布林;或者这些抗肿瘤性药物的类似物;或所述抗肿瘤性药物分子或者它们的类似物、的衍生物;的任意位置除去1个氢原子或1个羟基而成的残基。

17.根据权利要求1～16中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,D为从:分子内存在的羟基的至少一个被磷酸酯化的抗肿瘤性药物或者这些抗肿瘤性药物的类似物;或所述抗肿瘤性药物分子或者它们的类似物、的衍生物;的任意位置除去1个氢原子或1个羟基而成的残基。

18.根据权利要求1～17中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,L为任选被取代的亚烷基;

该亚烷基的链中的1个以上的亚甲基任选与独立地选自由

-C(R^1)(R^2)-;-O-;-N(R^3)-;-N(R^3)-N(R^3)-;-S-;-Se-;-Si(R^4)(R^5)-;-S-S-;-Se-Se-;-SOm-;-SeOn-;-C(=C(R^6)(R^7))-;-C(=O)-;-C(=S)-;-C(=N(R^8))-;-C(=N-OR^9)-;-C(=N-N(R^{10})(R^{11}))-;-P(=O)(R^{12})-;-P(=O)(OR^{13})-;-O-P(=O)(R^{12})-O-;-O-P(=O)(OR^{13})-O-;-O-P(=S)(OR^{13})-O-;-O-P(=O)(OR^{13})-S-;-C(R^{14})=;=C(R^{14})-;-C(R^{14})=C(R^{14})-;-N=;=N-;-C≡C-;-(O-C(R^1)(R^2)-C(R^1)(R^2))$_{1-30}$-;-(C(R^1)(R^2)-C(R^1)(R^2)-O)$_{1-30}$-;任选被取代的亚烯基;任选被取代的亚炔基;任选被取代的亚环烷基;任选被取代的亚环烯基;任选被取代的亚环炔基;任选被取代的亚氮杂环炔基;任选被取代的亚芳基;任选被取代的亚杂芳基;及任选被取代的亚杂环基组成的组中的1个以上2价基团进行替换,

R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{10}、R^{11}、R^{12}、R^{13}、及R^{14}各自独立地为选自由氢原子、任选被取代的烷基、任选被取代的烯基、任选被取代的炔基、任选被取代的环烷基、任选被取代的环烯基、任选被取代的环炔基;任选被取代的氮杂环炔基、任选被取代的芳基、任选被取代的杂芳基、及任选被取代的杂环基组成的组中的基团,R^3为烷基时,该烷基任选与邻接的亚甲基中的烷基一起形成环状结构,

m及n各自独立地为0～2的整数。

19.根据权利要求18所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,L为任选被取代的亚烷基;

该亚烷基的链中的一个以上亚甲基与从下述化学式组中独立地选择的1个以上的2价基团进行了替换,

化学式组:

-O-C(H或C_1-C_4烷基)(H或C_1-C_4烷基)-;

-S-C(H或C_1-C_4烷基)(H或C_1-C_4烷基)-;

-N(H或C_1-C_4烷基)-;

-N(H或C_1-C_4烷基)-O-C(H或C_1-C_4烷基)(C(H或C_1-C_4烷基)-;

-C(H或C_1-C_4烷基)-SO_{0-2}-C(H或C_1-C_4烷基)-;

-C(H或C_1-C_4烷基)-S-S-C(H或C_1-C_4烷基)-;

-C(H或C_1-C_4烷基)=C(H或C_1-C_4烷基)-;

-C(H或C_1-C_4烷基)=N-;

-C(H或C_1-C_4烷基)=N-O-;

-C(H或C_1-C_4烷基)=N-N(H或C_1-C_4烷基)-;

-C(=C(H或C_1-C_4烷基)(H或C_1-C_4烷基))-;

-C(=N-O(H或C_1-C_4烷基))-;

-C(=N-N(H或C_1-C_4烷基)(H或C_1-C_4烷基))-;

-O-Si(C_1-C_4烷基CH_3)(C_1-C_4烷基)-O-;

-C(H或C_1-C_4烷基)-N(C_1-C_4烷基)-CH_2-;

-C(H或C_1-C_4烷基)(H或C_1-C_4烷基)-C(=O)-C(H或C_1-C_4烷基)(H或C_1-C_4烷基)-;

-C(=O)-O-;

-C(=O)-S-;

-C(=O)-N(H或C_1-C_4烷基)-;

-O-C(=O)-O-;

-N(H或C_1-C_4烷基)-C(=O)-N(H或C_1-C_4烷基)-;

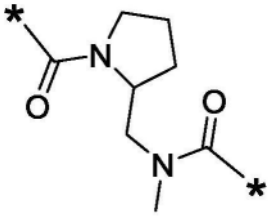
-C(=O)-N(H或C_1-C_4烷基)-C(H或C_1-C_4烷基)(H或C_1-C_4烷基)-;

-C(=O)-$(CH_2)_{1-10}$-$(O-CH_2CH_2)_{1-20}$-O-$(CH_2)_{1-10}$-C(=O)-;

-C(=O)-$(CH_2)_{1-10}$-$(O-CH_2CH_2)_{1-20}$-O-$(CH_2)_{1-10}$-CH_2-NH-;

-NH-CH_2-$(CH_2)_{1-10}$$(O-CH_2CH_2)_{1-20}$-O-$(CH_2)_{1-10}$-$CH_2$-NH-;

-C(=O)-N(C_1-C_4烷基)-CH_2CH_2-N(C_1-C_4烷基)-C(=O)-;



式中,*为与邻接基团的键合点;

-P(=O)(OH)-O-;

-O-P(=O)(OH)-O-;

-O-P(=S)(OH)-O-;

-O-P(=O)(OH)-S-;

-O-P(=O)(OH)-O-P(=O)(OH)-O-;

-O-P(=O)(OH)-O-P(=O)(OH)-O-P(=O)(OH)-O-;

-CH(CH_2-NH_2)-;

-CH(CH_2-NH(C_1-C_4烷基))-;

-CH(CH_2-N(C_1-C_4烷基)$_2$)-;

-CH(CH_2-NH-C(=O)-$(CH_2CH_2$-O-$)_{0-20}$-C_1-C_4烷基)-;

-CH(CH_2-NH-C(=O)-$(CH_2)_{0-20}$-内酯基)-;

-CH(CH_2-NH-C(=O)-$(CH_2CH_2$-O-$)_{1-20}$-$(CH_2)_{1-10}$-CH_2-内酯基)-;

-CH(CH_2-NH-C(=O)-$(CH_2CH_2$-O-$)_{1-20}$-$(CH_2)_{1-10}$-CH_2-NH-内酯基)-;

-CH(CH_2-NH-C(=O)-$(CH_2CH_2$-O-$)_{1-20}$-$(CH_2)_{1-10}$-CH_2-NH-C(=O)-内酯基)-;

-CH(CH_2-NH-C(=O)-$(CH_2CH_2$-O-$)_{1-20}$-$(CH_2)_{1-10}$-C(=O)-NH-内酯基)-;

-CH(CH_2-NH-$(CH_2)_{1-20}$-$(O)_{0-1}$-(P(=O)$(OH)_2$)-;

-CH(CH_2-NH-C(=O)-$(CH_2)_{1-20}$-(P(=O)$(OH)_2$))-;

-CH(CH_2-NH-C(=O)-$(CH_2)_{1-20}$-C(=O)-NH-$(CH_2)_{1-10}$-(P(=O)$(OH)_2$)-;

-CH(CH_2-NH-C(=O)-(CH_2CH_2-O-)$_{1-20}$-(CH_2)$_{1-10}$-CH_2-(P(=O)(OH)$_2$)-;

-CH(CH_2-NH-C(=O)-(CH_2CH_2-O-)$_{1-20}$-(CH_2)$_{1-10}$-C(=O)-NH-(CH_2)$_{1-10}$-(P(=O)(OH)$_2$)-;

-CH(CH_2-NH-(CH_2)$_{1-10}$-C(H、OH、Cl、NH_2、或C_1-C_4烷基)(P(=O)(OH)$_2$)$_2$)-;

-CH(CH_2-NH-C(=O)-(CH_2)$_{1-10}$-C(=O)-NH-(CH_2)$_{1-10}$-C(H、OH、Cl、NH_2、或C_1-C_4烷基)(P(=O)(OH)$_2$)$_2$)-;

-CH(CH_2-NH-C(=O)-(CH_2CH_2-O-)$_{1-20}$-(CH_2)$_{1-10}$-C(=O)-NH-(CH_2)$_{1-10}$-C(H、OH、Cl、NH_2、或C_1-C_4烷基)(P(=O)(OH)$_2$)$_2$)-;

-(cis)-CH=CH-P(=O)(O-CH_2CH_3)-NH-(亚苯基)-C(=O)-;

-C(=O)-(亚环己基)-;

-(亚琥珀酰亚胺基)-;

-Ser-;

-Cys-;

-Ama-;

-Asp-;

-Glu-;

-Orn-;

-Lys-;

-ValLys-;

-ValCit-;

-ValAla-;

-GlyGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

-PheLys-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

-ValLys-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

-ValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

-ValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

-AspValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

-LysAspValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

-GluValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

-LysValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

-SerValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

-AspValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

-GluValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

-LysValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

-SerValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

-GlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

-AspGlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

-GluGlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

-LysGlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

-SerGlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

-AspAspAspAspAsp-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

-GlyGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

-PheLys-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

-ValLys-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

-ValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

-ValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

-AspValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

-GluValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

-LysValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

-SerValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

-AspValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

-GluValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

-LysValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

-SerValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

-GlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

-AspGlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

-GluGlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

-LysGlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

-SerGlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

-AspAspAspAspAsp-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

-GlyGlyPheGly-C(=O)-NH-CH_2-;

-AspGlyGlyPheGly-C(=O)-NH-CH_2-;

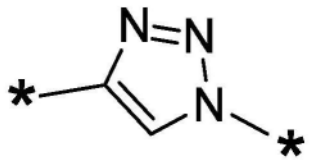
及下述式的1,2,3-亚三唑基,

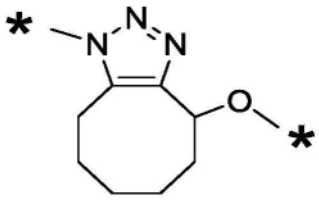
在上述氨基酸残基、及肽中的氨基酸残基中,

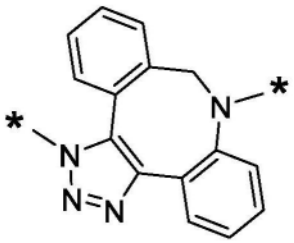
Ama、Asp、及Glu的侧链的羧基任选形成(烷基)酯、(氨基烷基)酯、((N-烷基氨基)烷基)酯、((N,N-二烷基氨基)烷基)酯、((三烷基铵)烷基)酯、(内酯基)酯、((内酯基)烷基)酯、((磷酰基)烷基)酯、或((双磷酰基)烷基)酯,另外,任选形成未取代酰胺、烷基酰胺、二烷基酰胺、((N-烷基氨基)烷基)酰胺、((N,N-二烷基氨基)烷基)酰胺、((三烷基铵)烷基)酰胺、(内酯基)酰胺、((内酯基)烷基)酰胺、(磷酰基)酰胺、((磷酰基)烷基)酰胺、或((双磷酰基)烷基)酰胺,

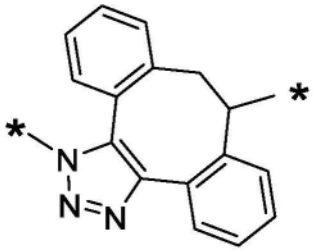
Lys及Orn的侧链的氨基任选具有1个或2个烷基、烷基羰基、(氨基烷基)羰基、((N-烷基氨基)烷基)羰基、((N,N-二烷基氨基)烷基)羰基、((三烷基铵)烷基)羰基、内酯基、(内酯基)烷基、(内酯基)羰基、((内酯基)烷基)羰基、磷酰基、(磷酰基)烷基、((磷酰基)烷基)羰基、(双磷酰基)烷基、或((双磷酰基)烷基)羰基作为取代基,

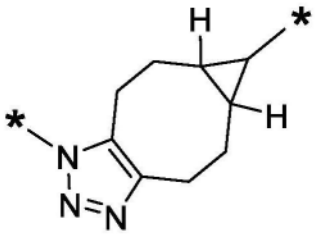
Ser的侧链的羟基和Cys的侧链的巯基任选具有烷基、烷基羰基、氨基烷基、(氨基烷基)羰基、(N-烷基氨基)烷基、((N-烷基氨基)烷基)羰基、(N,N-二烷基氨基)烷基、((N,N-二烷基氨基)烷基)羰基、(三烷基铵)烷基、((三烷基铵)烷基)羰基、内酯基、(内酯基)烷基、(内酯基)羰基、((内酯基)烷基)羰基、磷酰基、(磷酰基)烷基、((磷酰基)烷基)羰基、(双磷酰基)烷基、或((双磷酰基)烷基)羰基作为取代基,







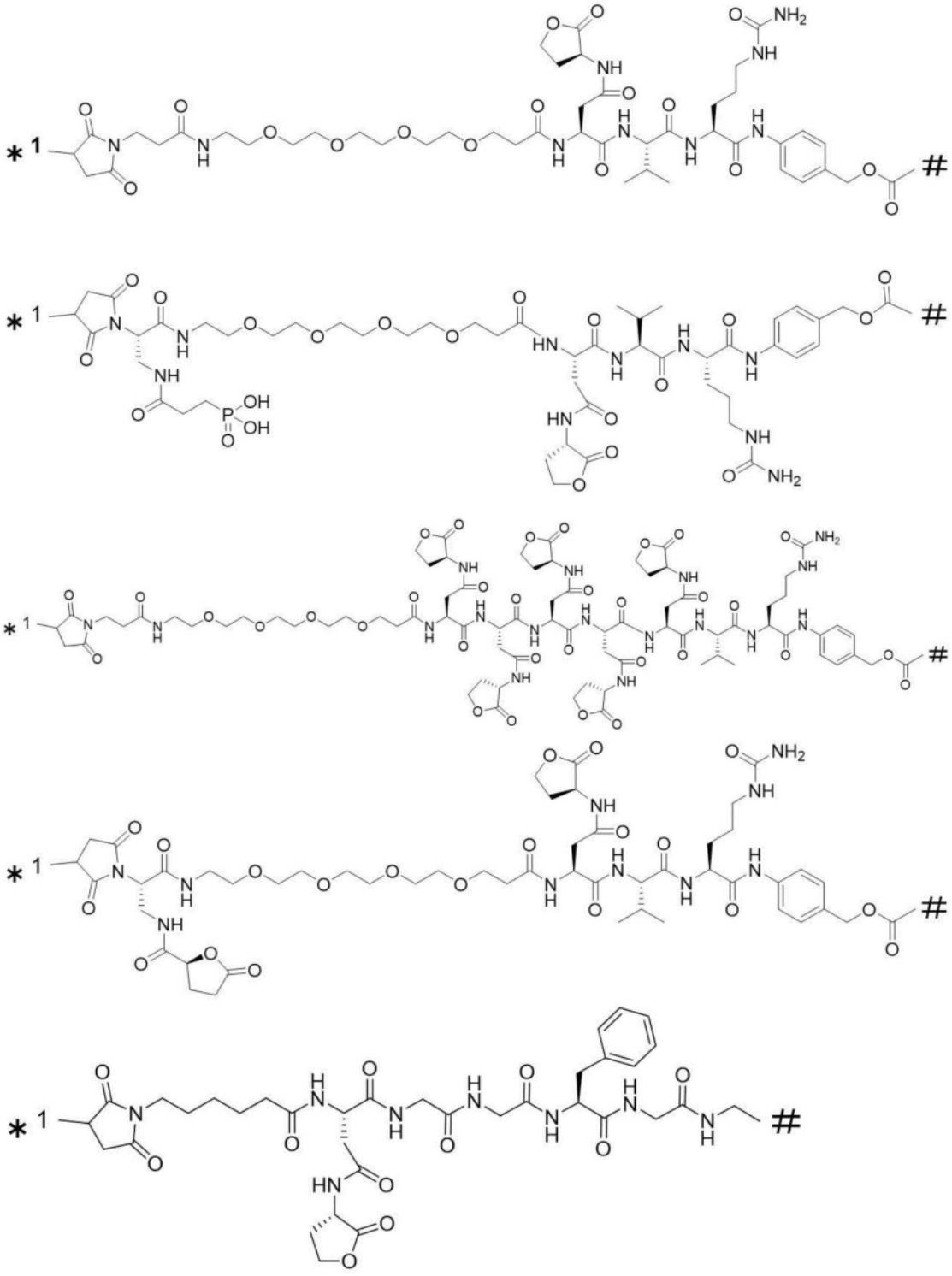


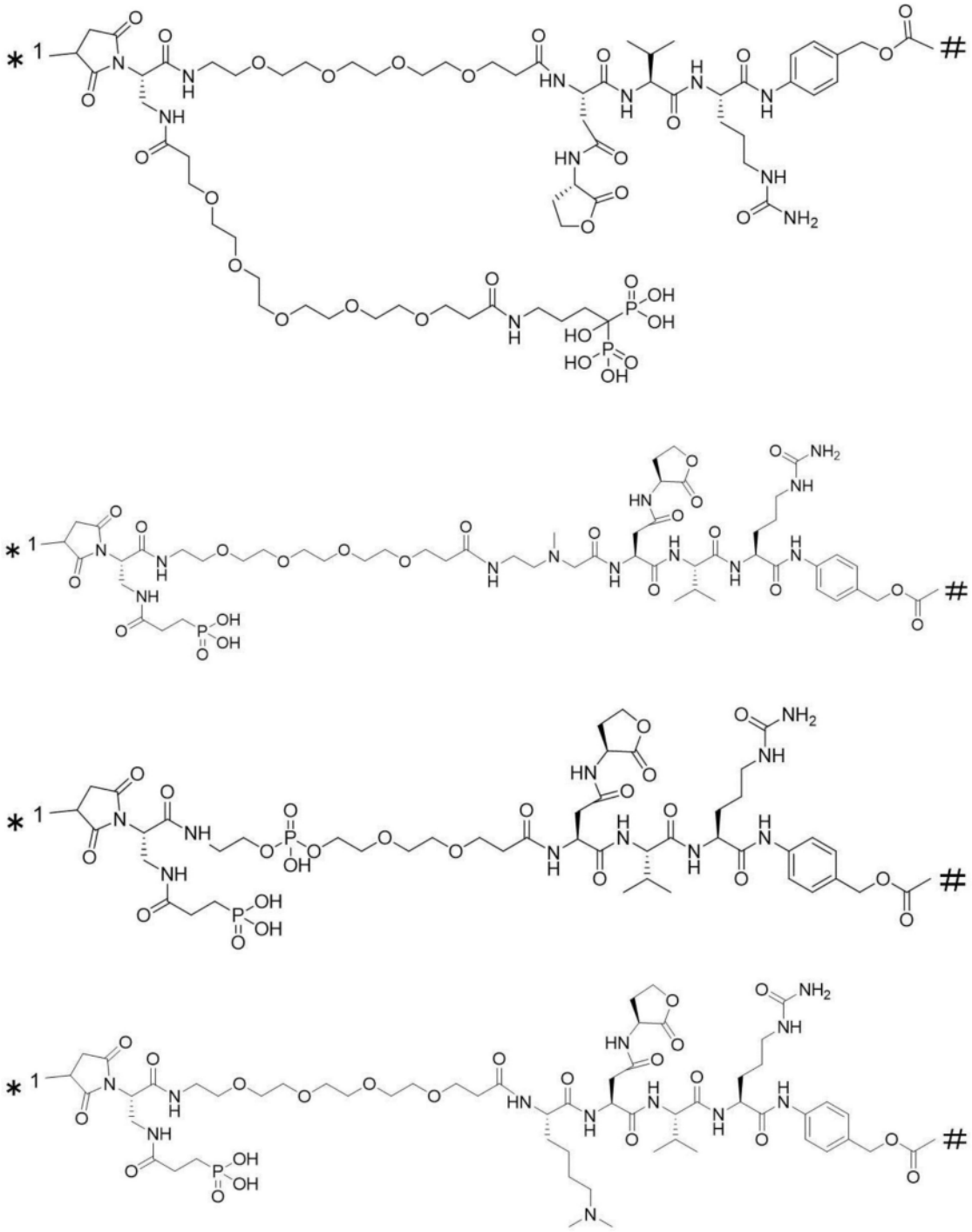


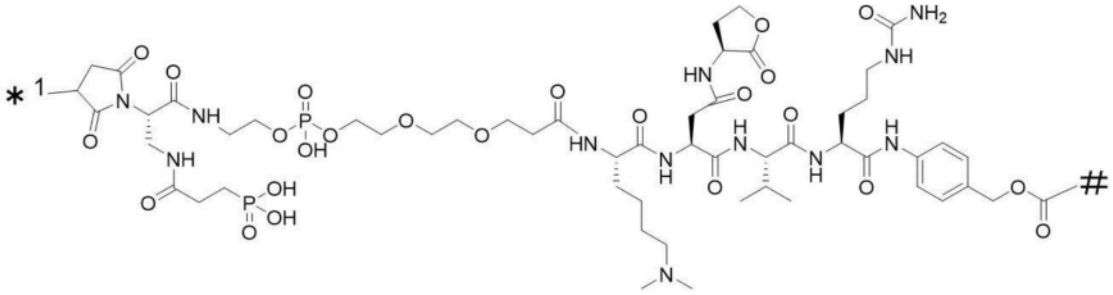
式中,*为与邻接基团的键合点。

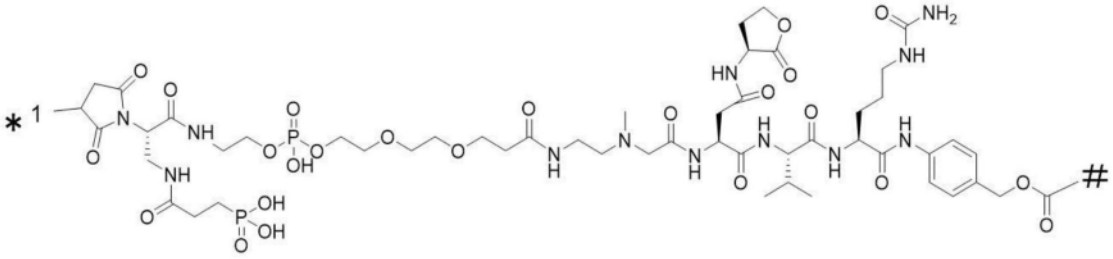
20.根据权利要求18所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,L为选自下述化学式组中的任意一个2价基团,

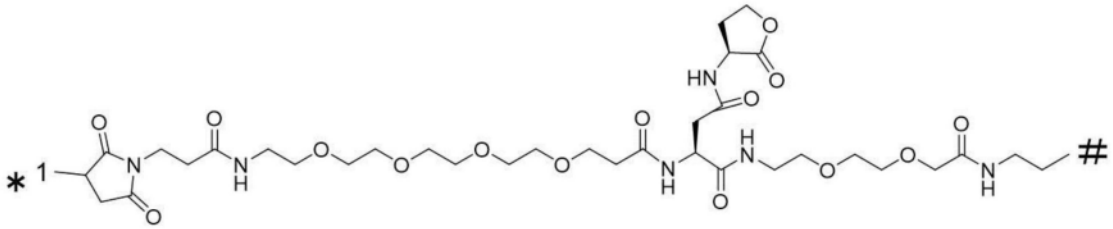
化学式组

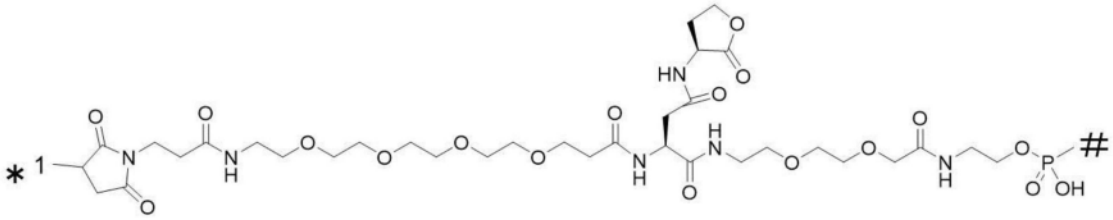


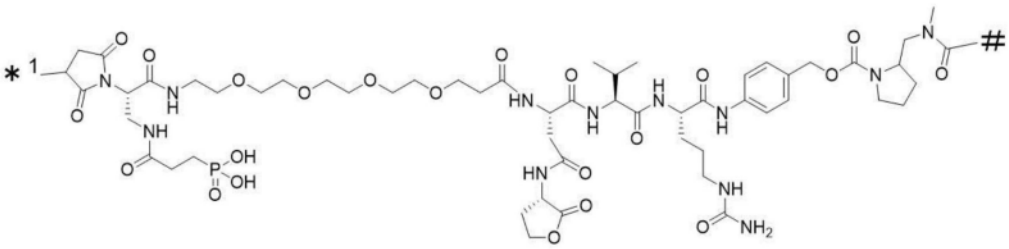


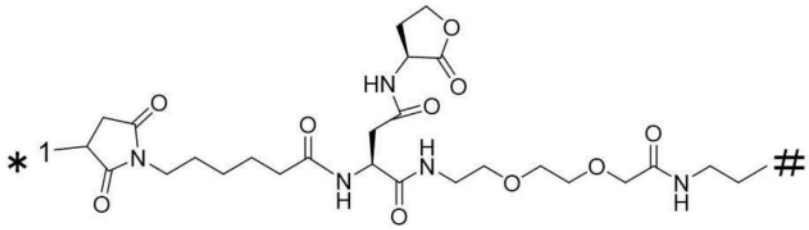


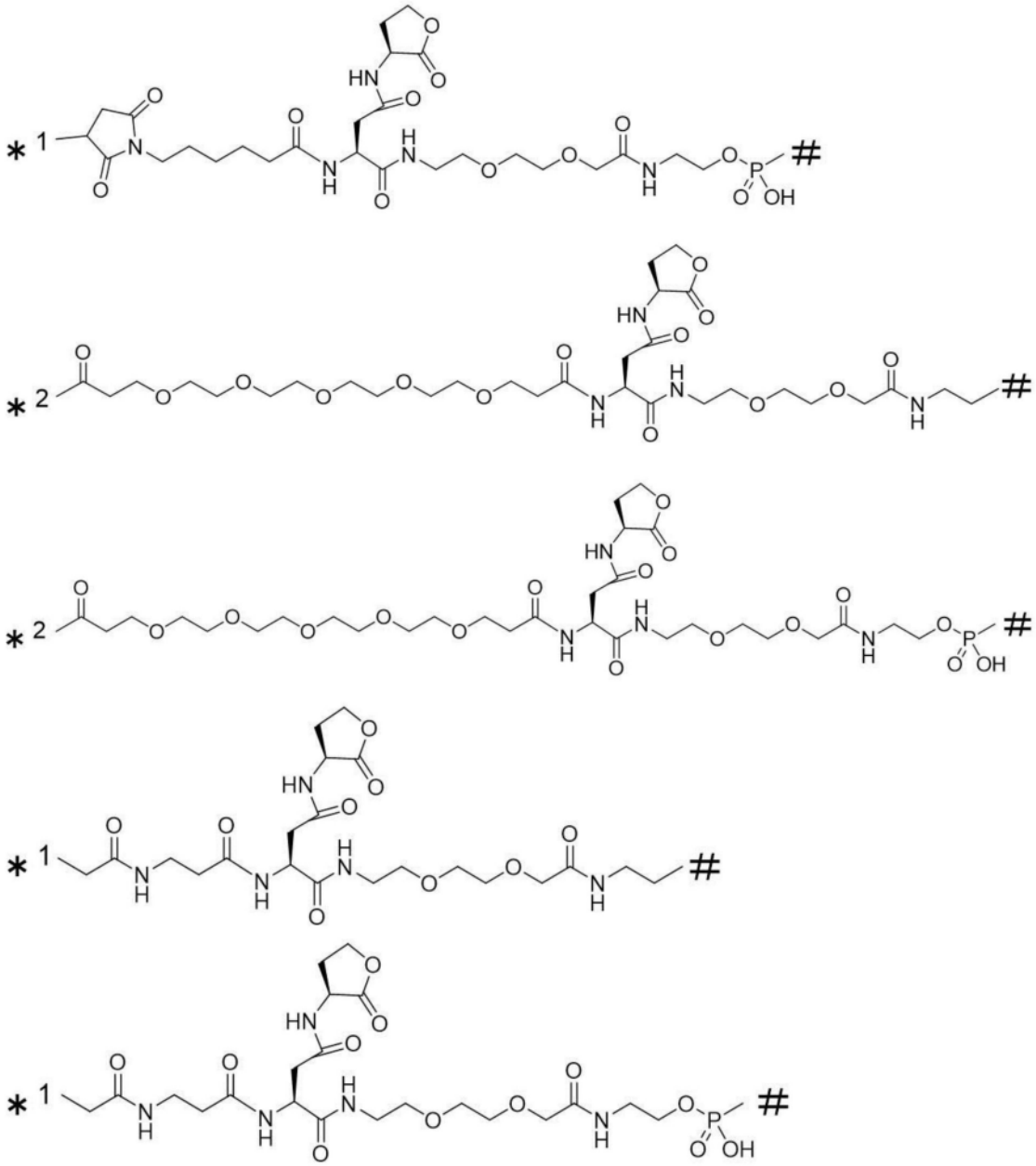










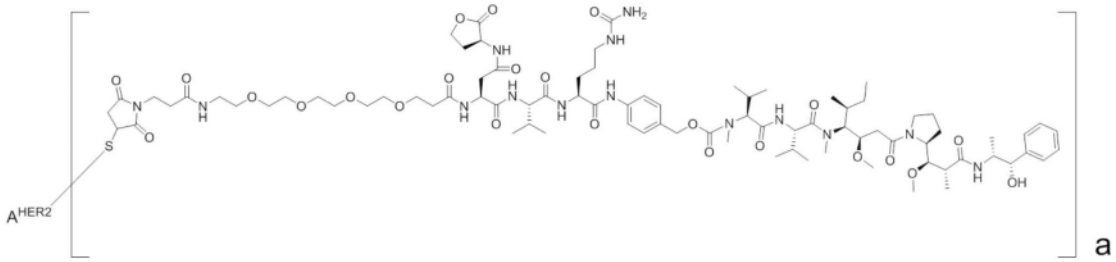


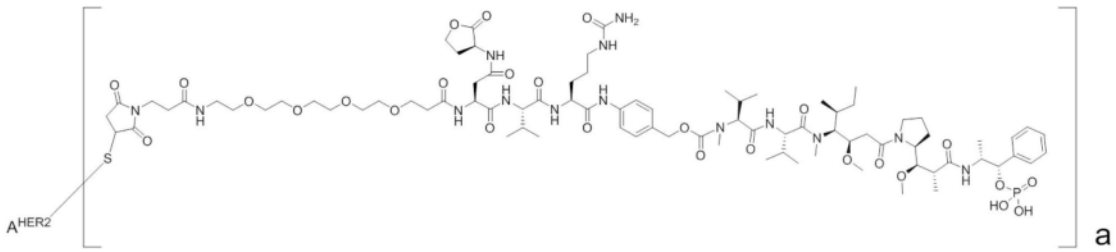
式中,*[1]为与抗体残基A-S-的键合点,*[2]为与抗体残基A-NH-的键合点,#为与抗肿瘤性药物残基D-的键合点。

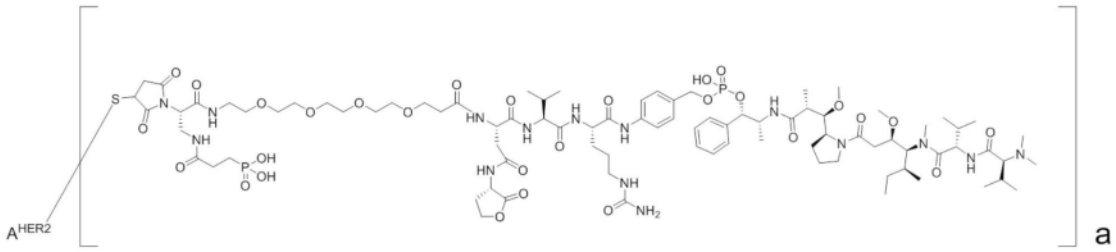
21.根据权利要求1～20中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,D及L的至少任一者在任意位置具有1个以上的内酯基作为取代基或保护基,并且,与此独立地,

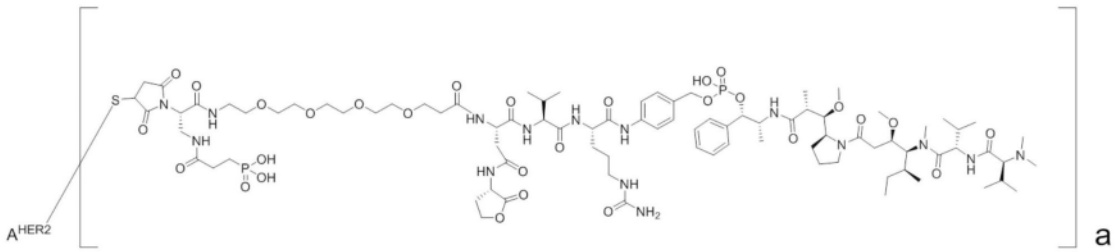
D或L的至少任一者在任意位置具有选自磷酰基(-P(=O)(OH)$_2$);磷酰基烷基羰基(-C(=O)-亚烷基-P(=O)(OH)$_2$);双磷酰基甲基(-C(H、OH、NH$_2$、Cl、或烷基)(P(=O)(OH)$_2$)$_2$);氨基;单烷基氨基;二烷基氨基;该二烷基氨基的2个烷基与它们所键合的氮原子一起形成了环的环状氨基;及三烷基铵基中的1个以上基团作为取代基或保护基,该基团的总数为多个时,它们任选相同或不同。

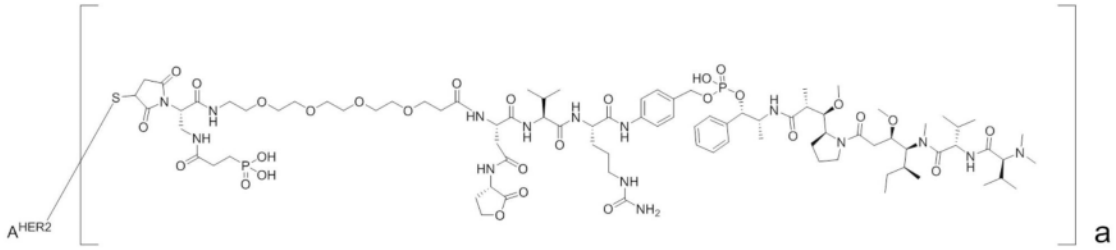
22.根据权利要求1～21中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其选自由下述化学式组成的组中,

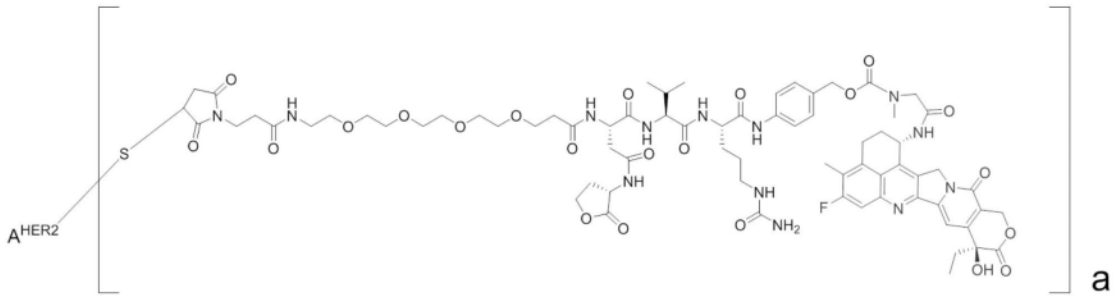

A^HER2
a

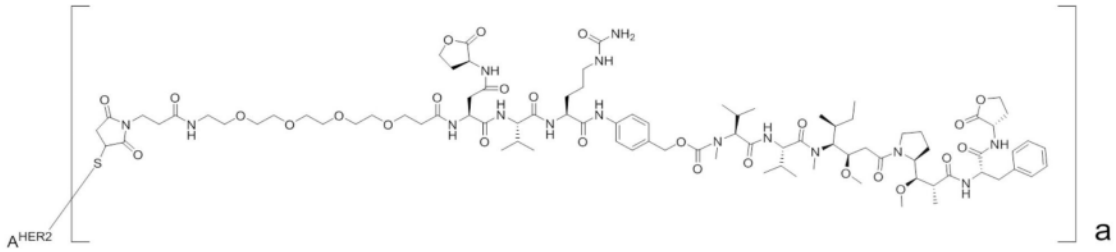

A^HER2
a

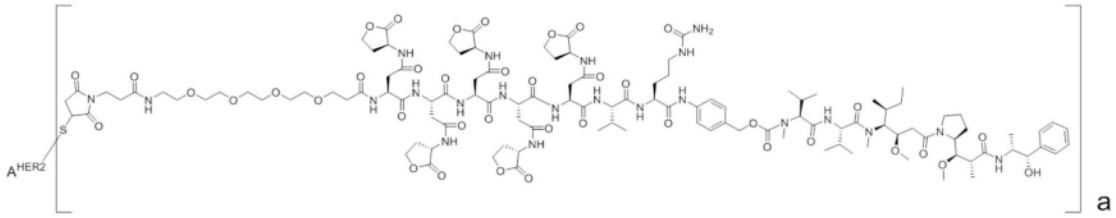

A^HER2
a

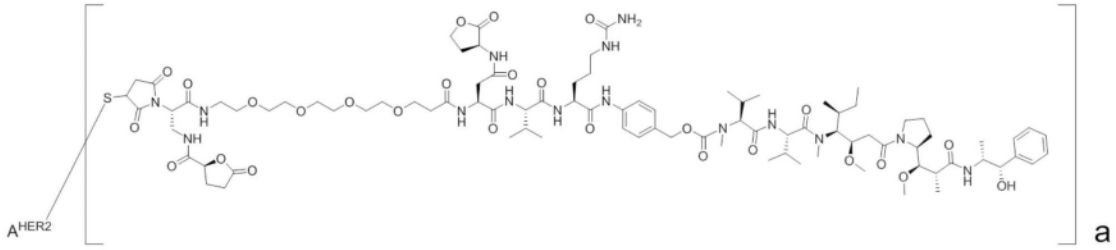

A^HER2
a

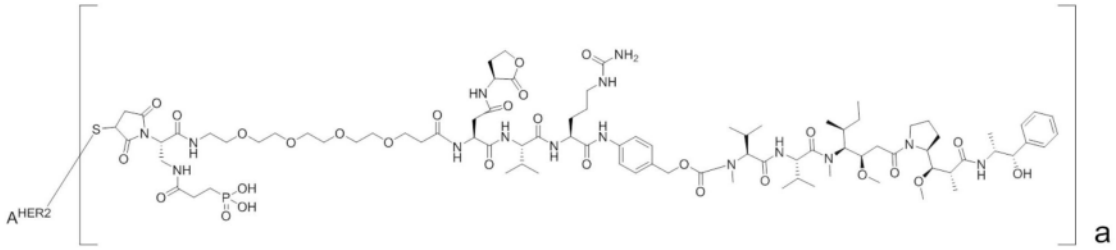

A^HER2
a

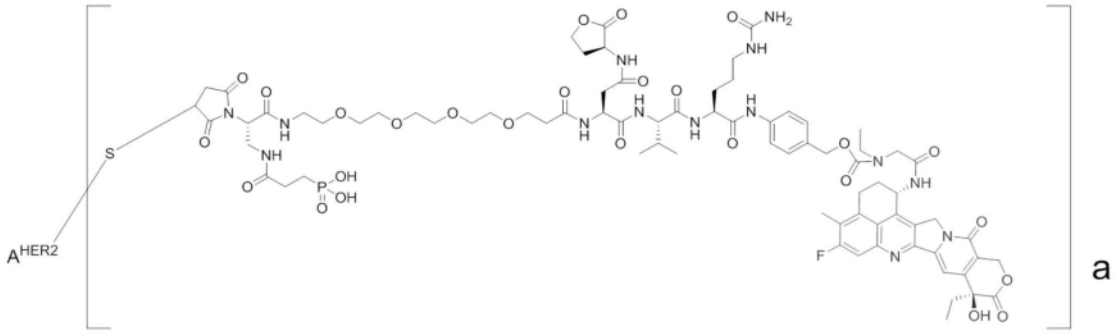

A^HER2
a

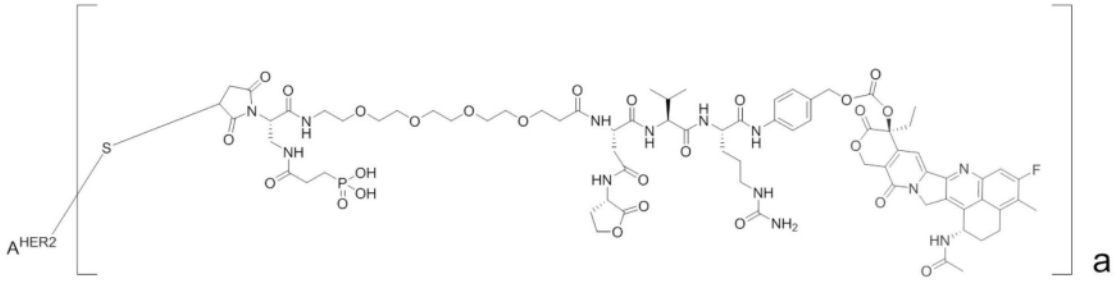

A^HER2
a

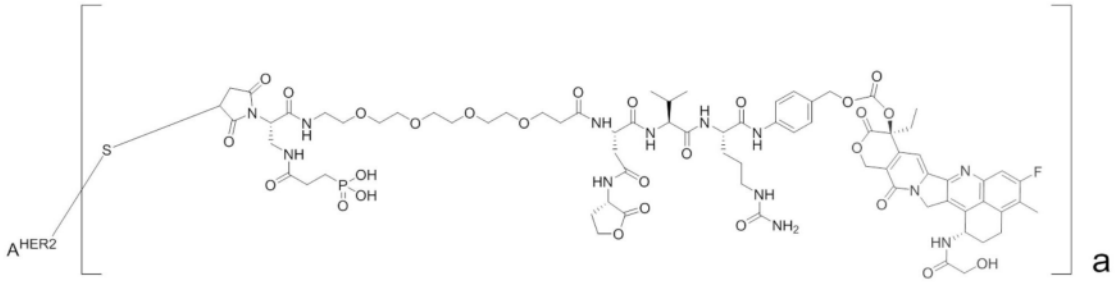

A^HER2
a

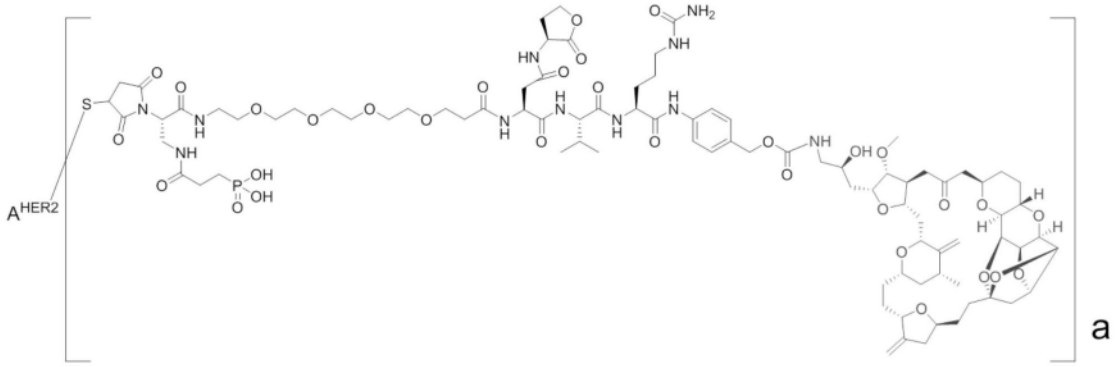

A^HER2
a

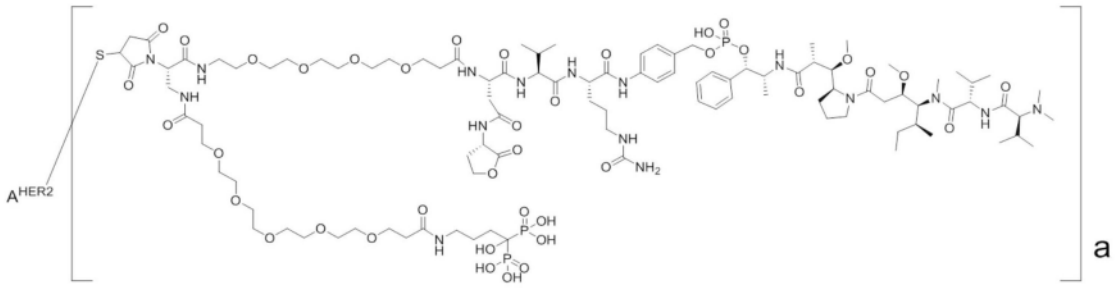


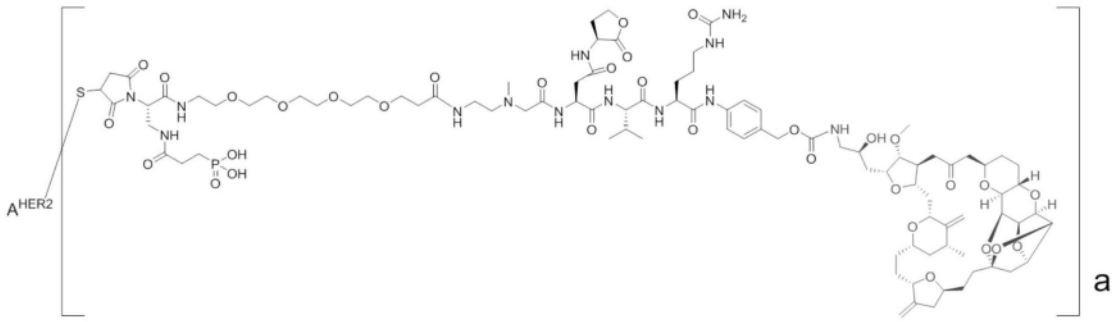


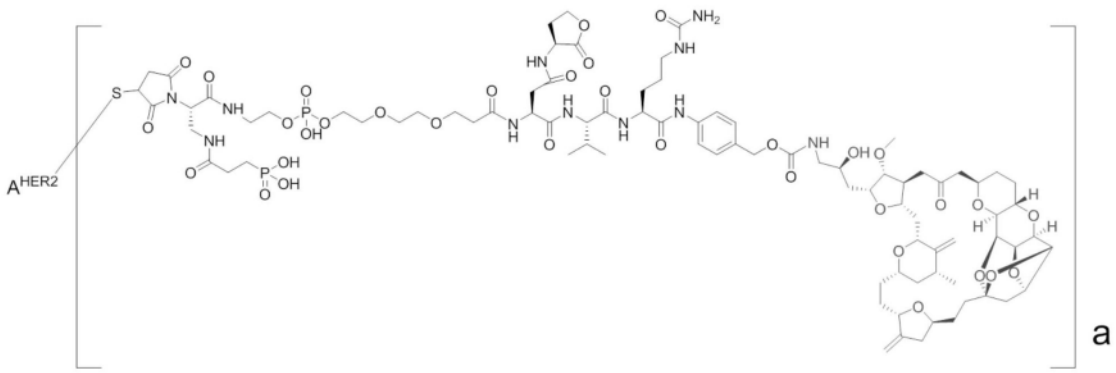


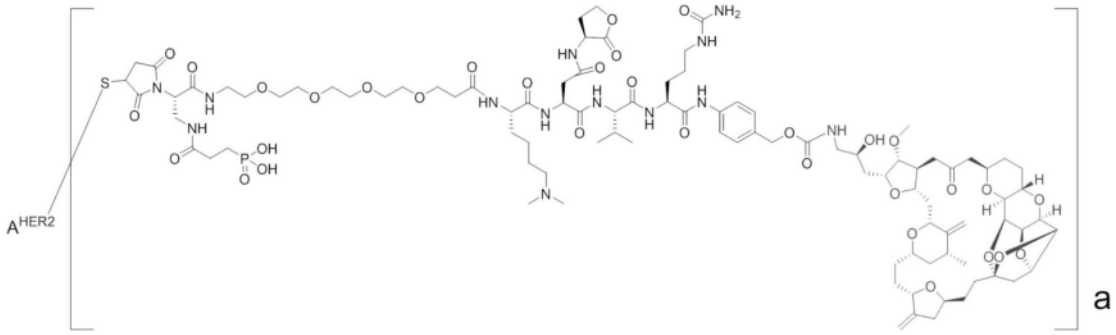


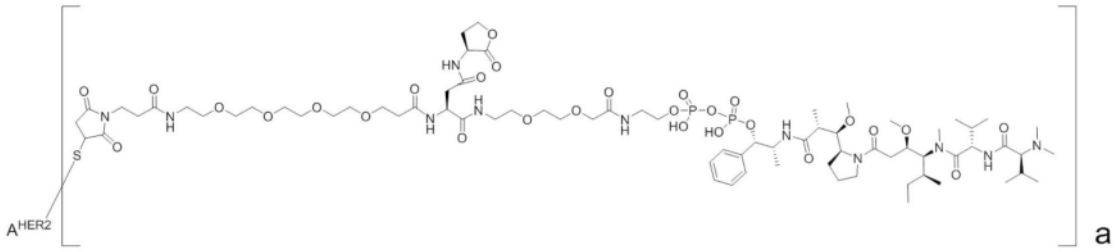

A^HER2
a

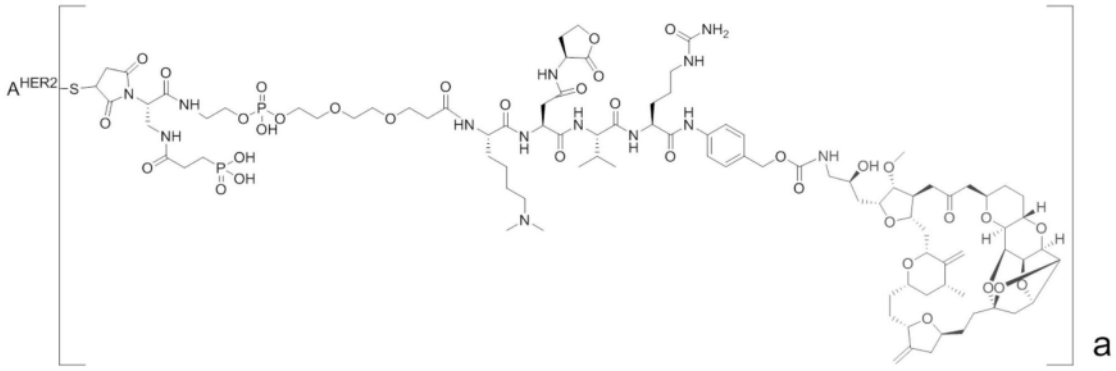

A^HER2
a


A^HER2
a

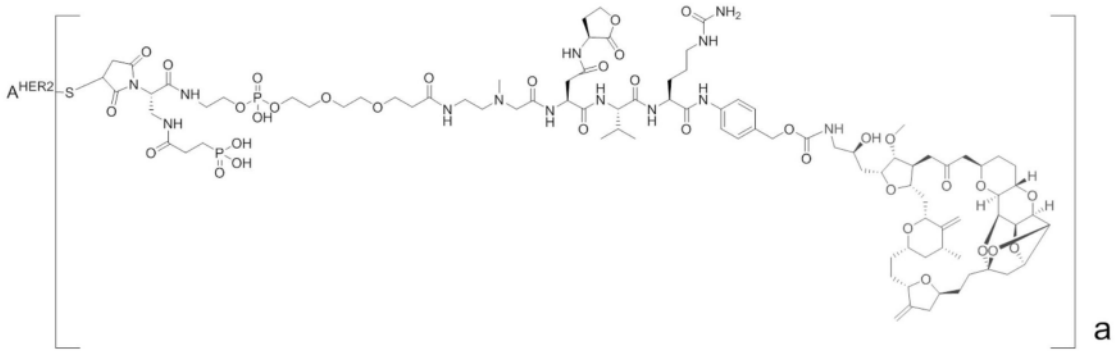

A^HER2
a







及



式中,A^{HER2}为从抗HER2抗体中除去该抗体中存在的巯基而成的抗体残基,a与上述含义相同。

23.一种药物组合物,其包含权利要求1～22中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物。

24.一种抗肿瘤药,其包含权利要求1～22中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物。

25.一种药物组合物,其包含权利要求1～22中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理

上可接受的盐、或它们的水合物作为活性成分,并在此基础上还包含药理上可接受的制剂成分。

26.一种肿瘤的治疗方法,其特征在于,给予权利要求1～22中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物。

抗体-药物偶联物

技术领域

[0001] 本发明涉及通过连接子使能够靶向肿瘤细胞的“抗体”和“抗肿瘤性药物”结合而成的、作为抗肿瘤药有用的新型的“抗体-药物偶联物”(Antibody Drug Conjugate;ADC)。

背景技术

[0002] 在与能够在肿瘤细胞表面表达且能够内化于细胞中的抗原结合的抗体上结合有具有细胞毒性的药物(有效载荷)的抗体-药物偶联物(Antibody Drug Conjugate;ADC)可以期待“将药物选择性地递送到肿瘤细胞,在肿瘤细胞内释放/蓄积药物,杀死肿瘤细胞”(非专利文献1～非专利文献2)。作为ADC,例如,在抗CD30抗体上结合了一甲基澳瑞他汀E的Adcetris(维布妥昔单抗)(专利文献1)被批准为霍奇金淋巴瘤和未分化大细胞淋巴瘤的治疗药,在抗HER2抗体上结合了美坦新(emtansine)的Kadcyla(恩美曲妥珠单抗)被批准作为HER2阳性转移性乳腺癌的治疗药,在抗HER2抗体上结合有德鲁替康的Enhertu(德曲妥珠单抗)被批准作为HER2阳性转移性乳腺癌的治疗药(专利文献2),在抗TROP-2抗体上结合了SN-38的Trodelvy(戈沙妥珠单抗)被批准作为TROP-2阳性转移性乳腺癌的治疗药,在抗CD269(BCMA)抗体上结合了MMAF的Blenrep(玛贝妥单抗)被批准作为多发性骨髓瘤的治疗药,在抗CD142抗体上结合了一甲基澳瑞他汀E的Tivdak(替索单抗)被批准作为转移性宫颈癌的治疗药,以及在抗CD19抗体上结合了吡咯并苯二氮杂卓二聚体的Zynlonta(朗妥昔单抗)被批准作为B细胞淋巴瘤的治疗药(非专利文献3～10)。此外,许多新型ADC作为抗肿瘤药正在临床开发中(非专利文献11～14)。

[0003] 为了使ADC发挥优异的抗肿瘤效果,在给药后需要在体内(血液中)稳定,但一般来说DAR(每1个抗体的药物平均结合数或药物/抗体比)变大时,由于ADC的疏水性增大而容易引起聚集等理由,体内动力学恶化,药效减弱。例如,在以MMAE(一甲基澳瑞他汀E)为有效载荷的ADC中,存在DAR值为3～4附近时最稳定而体内药效最强,DAR为其以上时不稳定化而药效减弱的报告(非专利文献15),为了解决该问题,积极地进行了用于增加ADC的亲水性的研究(专利文献3、非专利文献16～19)。

[0004] 现有技术文献

[0005] 专利文献

[0006] 专利文献1:WO2003043583

[0007] 专利文献2:日本特开2016-196484号公报

[0008] 专利文献3:WO2016001485

[0009] 非专利文献

[0010] 非专利文献1:Current Opin.Chem.Biol.,2010,14,529-537

[0011] 非专利文献2:Expert Opin.Biol.Ther.,2004,4,1445-1452

[0012] 非专利文献3:Biotechnol Lett.,2016,38,1655-1664.

[0013] 非专利文献4:Chem Pharm Bull.,2019,67,173-185.

[0014] 非专利文献5:N Engl J Med.,2012,367,1783-1791

[0015] 非专利文献6:N Engl J Med.,2018,378,331-344.
[0016] 非专利文献7:Expert Opin.Biol.Ther.,2020,8,871-875
[0017] 非专利文献8:Drugs Today,2021,57,653-663
[0018] 非专利文献9:Drugs,2021,81,2141-2147
[0019] 非专利文献10:Drugs,2021,81,1229-1233
[0020] 非专利文献11:Clin Cancer Res.,2019,25,5441-5448.
[0021] 非专利文献12:Molecules.2020,25,4764
[0022] 非专利文献13:Methods Mol Biol.,2020,2078,1-22
[0023] 非专利文献14:Nat.Rev.Drug Discov.,2017,16,315
[0024] 非专利文献15:Clin Cancer Res.,2004,10,7063-7070
[0025] 非专利文献16:Mol Cancer Ther.,2017,16,116-123
[0026] 非专利文献17:Antibodies(Basel).,2018,7,15
[0027] 非专利文献18:Nat.Biotech.,2015,33,733-735
[0028] 非专利文献19:Separations 2019,6(1),1

发明内容

[0029] 发明要解决的问题

[0030] 本发明提供一种新型的连接子、连接子有效载荷和ADC以及抗肿瘤性药物。

[0031] 用于解决问题的方案

[0032] 本发明人等设计了抗肿瘤性药物或连接子具有1个以上的内酯基作为取代基或保护基的ADC并成功合成了该ADC,本发明人等发现,ADC的基于内酯基的修饰在给药后使ADC在血液中稳定化。本发明人还确认了得到的ADC在体外和体内试验中发挥抗肿瘤作用。

[0033] 本发明提供以下[1]～[26]。

[0034] [1]

[0035] 一种抗体-药物偶联物(以下也记为抗体-药物偶联物(I)或本发明偶联物)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,所述抗体-药物偶联物由下述通式(I)表示:

[0036] $A-(B-L-D)_a$ (I)

[0037] [式中,

[0038] A为从能够靶向肿瘤细胞的抗体除去参与和连接子的结合的抗体内官能团而成的抗体残基,

[0039] B为来自所述抗体内官能团的2价基团,

[0040] a为1～10的整数,

[0041] D为从抗肿瘤性药物分子或者其类似物、或它们的衍生物的任意位置除去1个氢原子或1个羟基而成的抗肿瘤性药物残基,

[0042] L为将B和D连接的连接子,

[0043] D及L的至少任一者在任意位置具有1个以上的内酯基作为取代基或保护基]。

[0044] [2]

[0045] 根据[1]所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,A为从具有能够识别靶细胞的特性、能够结合于靶细胞的特性、能够内化于靶细胞中的

特性、及损伤靶细胞的特性中的任1种以上特性的抗体中除去参与和连接子的结合的抗体内官能团而成的抗体残基。

[0046] [3]

[0047] 根据[1]或[2]所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,

[0048] A为从能够靶向肿瘤细胞的抗体中除去为抗体内官能团的巯基、羟基、氨基、叠氮基、炔基、环炔基、或氮杂环炔基而成的抗体残基。

[0049] [4]

[0050] 根据[1]～[3]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,A为从抗HER2抗体、抗EGFR抗体、抗淋巴细胞抗原6E(Ly-6E)抗体、抗肝细胞生长因子受体(HGFR)抗体、抗CD22抗体、抗叶酸受体α(FRα)抗体、抗PSMA(FOLH1)抗体、抗CD30(TNFRSF8)抗体、抗TROP-2抗体、抗CD19抗体、抗5T4抗体、抗间皮素抗体、抗CD20抗体、抗CD33抗体、抗CDB7-H3抗体、抗CD269(BCMA)抗体、抗CD142抗体、抗CD70抗体、抗CD123抗体、抗TAG-72抗体、抗TFRC抗体、抗EPHA2抗体、抗EPHA3抗体、抗c-KIT抗体、抗PD-L1抗体、抗上皮细胞粘附分子(EPCAM)抗体、抗AXL抗体、抗白介素-1受体辅助蛋白抗体、抗粘蛋白-16(CA125)抗体、抗MUC1抗体、抗GPC3抗体、抗CLEC12A(CLL1)抗体、抗LRRC15抗体、抗ADAM9抗体、抗钠依赖性磷酸盐转运蛋白2B(SLC34A2)抗体、抗CD25抗体、抗ROR1抗体、抗TweakR抗体、抗CD74抗体、抗CEACAM5抗体、抗CD105抗体、抗CD79b抗体、抗CD147抗体、抗Sialyl-Tn抗体、抗GCC抗体、抗HER3抗体、抗整合素抗体、抗EGFR variant III抗体、抗紧密连接蛋白6抗体、抗富含亮氨酸重复序列的G蛋白偶联受体5抗体、抗PTK7抗体、抗LYPD3抗体、抗ASCT2抗体、抗ASPH抗体、抗GPC1抗体、抗CD174抗体、抗CD38抗体、抗ANGPT2抗体、抗CD44抗体、抗DDL3抗体、抗FGFR2抗体、抗KAAG1抗体、抗CD73抗体、抗CLDN18.2抗体、抗PRLR抗体、抗SEZ6抗体、抗脑啡肽酶抗体、抗神经细胞粘附分子1抗体、抗CD166(ALCAM)抗体、抗CD24抗体、抗CD27抗体、抗CDH3抗体、抗EPHA4抗体、抗FGFR3抗体、抗GFRAL抗体、抗Globo H抗体、抗IL-13Ra2抗体、抗STEAP-1抗体、抗TMCC3抗体、抗CD209抗体、抗CD37抗体、抗CD48抗体、抗CDCP1抗体、抗CD46抗体、抗CD200抗体、抗CXCR5抗体、抗FLT3抗体、抗SDC1(CD138)抗体、抗CLDN6/9抗体、抗CEACAM6抗体、抗CA9抗体、抗EDNRB抗体、抗GD3神经节苷脂抗体、抗MICA/B抗体、抗JAG1/2抗体、抗TM4SF1抗体、抗uPAR抗体、抗碳酸酐酶IX抗体、抗ALK1抗体、抗IGF-1R抗体、抗KDR抗体、抗CEACAM8抗体、抗IL5R抗体、抗CD205(Ly75)抗体、抗MSR1抗体、抗KREMEN2抗体、抗SSEA-4抗体、抗CD228抗体、抗CD5抗体、抗DLL4抗体、抗FAP抗体、抗Notch3抗体、抗AG7抗体、抗鸟苷酸环化酶抗体、抗粘连蛋白-4抗体、抗CD226(DNAM-1)抗体、抗FcRL5抗体、抗HLA-DR抗体、抗ITGB3抗体、抗DLK1抗体、抗CD157(BST1)抗体、抗CD56(NCAM1)抗体、抗MICA(MHC I类多肽相关序列A)抗体、抗SSEA-1抗体、抗TRAIL-R2(DR5)抗体、抗GPNMB抗体、抗CCR5抗体、抗LAMP1抗体、抗LGALS3BP抗体、抗ROR2抗体、抗DLL3抗体、抗ETBR抗体、抗LIV-1抗体、抗整合素αvβ6抗体、抗TIM-1抗体、抗AGS-16(ENPP3)抗体、抗SLITRK6抗体、抗GD2抗体、抗CD52抗体、抗CCR4抗体、抗VEGFR2抗体、抗PDGFR抗体、抗FGFR抗体、抗SLAMF7抗体、抗GD2神经节苷脂抗体、抗EPHA3抗体、抗整合素αvβ3抗体、抗AGS-5抗体、抗CA19-9抗体、抗PSA抗体、抗MAGE3抗体、抗转铁蛋白受体1(CD71)抗体、抗CEACAM1抗体、抗SLC3A2(CD98)抗体、抗ACVR1抗体、抗AG-7抗体、抗AMHR2抗体、抗ABCB1抗体、抗C16orf54抗体、抗组织蛋白酶D抗

体、抗CCR7抗体、抗SLC44A4抗体、抗CD300LF抗体、抗DPEP3抗体、抗FucGM1抗体、抗GPR20抗体、抗ITGB6抗体、抗类Lewis-A碳水化合物抗体、抗催乳素受体抗体、抗Sialyl Tn抗体、抗SLAMF6抗体、抗SLAMF7抗体、抗TRA-1-60抗体、抗蛋白裂解酶抗体、抗B7-H4抗体、抗Cripto抗体、抗CD99抗体、抗CanAg抗体、抗A33抗体、抗α10β1整合素抗体、抗ALPP抗体、抗CD248抗体、或抗GPRC5D抗体中除去参与和连接子的结合的抗体内官能团而成的抗体残基。

[0051] [5]

[0052] 根据[1]～[4]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,A为从抗HER2抗体、抗EGFR抗体、抗淋巴细胞抗原6E(Ly-6E)抗体、抗肝细胞生长因子受体(HGFR)抗体、抗CD22抗体、抗叶酸受体α(FRα)抗体、抗PSMA(FOLH1)抗体、抗CD30(TNFRSF8)抗体、抗TROP-2抗体、抗CD19抗体、抗5T4抗体、抗间皮素抗体、抗CD20抗体、抗CD269(BCMA)抗体、抗CD142抗体、抗CD123抗体、抗TAG-72抗体、抗TFRC抗体、抗EPHA2抗体、抗c-KIT抗体、抗上皮细胞粘附分子(EPCAM)抗体、抗AXL抗体、抗粘蛋白-16(CA125)抗体、抗CLEC12A(CLL1)抗体、抗LRRC15抗体、抗ADAM9抗体、抗钠依赖性磷酸盐转运蛋白2B(SLC34A2)抗体、抗CD25抗体、抗ROR1抗体、抗CD74抗体、抗CEACAM5抗体、抗CD105抗体、抗CD79b抗体、抗HER3抗体、抗EGFR variant III抗体、抗PTK7抗体、抗GPC1抗体、抗CD38抗体、抗DDL3抗体、抗SEZ6抗体、抗CD166(ALCAM)抗体、抗CDH3抗体、抗FGFR3抗体、抗Globo H抗体、抗CD37抗体、抗CD48抗体、抗CD46抗体、抗FLT3抗体、CD138抗体、抗TM4SF1抗体、抗IGF-1R抗体、抗CEACAM8抗体、抗CD205(Ly75)抗体、抗CD228抗体、抗FAP抗体、抗AG7抗体、抗粘连蛋白-4抗体、抗CD226(DNAM-1)抗体、抗HLA-DR抗体、抗DLK1抗体、抗CD157(BST1)抗体、抗CD56(NCAM1)抗体、抗CCR5抗体、抗ROR2抗体、抗LIV-1抗体、抗TIM-1抗体、抗CA19-9抗体、抗CEACAM1抗体、抗SLC3A2(CD98)抗体、抗ACVR1抗体、抗AG-7抗体、抗AMHR2抗体、抗ABCB1抗体、抗C16orf54抗体、抗组织蛋白酶D抗体、抗CCR7抗体、抗SLC44A4抗体、抗CD300LF抗体、抗DPEP3抗体、抗FucGM1抗体、抗GPR20抗体、抗ITGB6抗体、抗类Lewis-A碳水化合物抗体、抗催乳素受体抗体、抗Sialyl Tn抗体、抗SLAMF6抗体、抗SLAMF7抗体、抗TRA-1-60抗体、抗蛋白裂解酶抗体、抗B7-H4抗体、抗Cripto抗体、抗CD99抗体、抗CanAg抗体、抗α10β1整合素抗体、抗ALPP抗体、抗CD248抗体、或抗GPRC5D抗体中除去参与和连接子的结合的抗体内官能团而成的抗体残基。

[0053] [6]

[0054] 根据[1]～[5]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,A为从抗HER2抗体、抗EGFR抗体、抗淋巴细胞抗原6E(Ly-6E)抗体、抗CD22抗体、抗叶酸受体α(FRα)抗体、抗PSMA(FOLH1)抗体、抗CD30(TNFRSF8)抗体、抗TROP-2抗体、抗CD19抗体、抗间皮素抗体、抗CD20抗体、抗CD269(BCMA)抗体、抗CD123抗体、抗TFRC抗体、抗EPHA2抗体、抗c-KIT抗体、抗上皮细胞粘附分子(EPCAM)抗体、抗AXL抗体、抗粘蛋白-16(CA125)抗体、抗钠依赖性磷酸盐转运蛋白2B(SLC34A2)抗体、抗CD25抗体、抗CEACAM5抗体、抗CD79b抗体、抗HER3抗体、抗PTK7抗体、抗CD38抗体、抗CDH3抗体、抗CD37抗体、抗FLT3抗体、抗IGF-1R抗体、抗FAP抗体、抗粘连蛋白-4抗体、抗CD56(NCAM1)抗体、抗AG-7抗体、抗CCR7抗体、抗DPEP3抗体、抗ITGB6抗体、抗蛋白裂解酶抗体、抗Cripto抗体、抗ALPP抗体、或抗GPRC5D抗体中除去参与和连接子的结合的抗体内官能团而成的抗体残基。

[0055] [7]

[0056] 根据[1]所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,

[0057] A为从抗HER2抗体中除去参与和连接子的结合的抗体内官能团而成的抗体残基。

[0058] [8]

[0059] 根据[1]～[7]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,

[0060] B为-S-基、-O-基、-NH-基、或1,2,3-亚三唑基。

[0061] [9]

[0062] 根据[1]～[8]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,

[0063] B为-S-基或-NH-基。

[0064] [10]

[0065] 根据[1]～[9]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,

[0066] B为-S-基。

[0067] [11]

[0068] 根据[1]～[10]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,a为1～8的整数。

[0069] [12]

[0070] 根据[1]～[11]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,a为2～8的整数。

[0071] [13]

[0072] 根据[1]～[12]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,a为4～8的整数。

[0073] [14]

[0074] 根据[1]～[13]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,D为从喜树碱;澳瑞他汀E(AE)或一甲基澳瑞他汀E(MMAE);美登素;PBD(吡咯苯并二氮卓)二聚体;艾日布林;5-FU;PD-318088;AS-703026;TAK-733;LY-3023414;卡奇霉素;紫杉醇;多西他赛;丝裂霉素C;博来霉素;环胞苷;长春新碱;长春碱;道诺霉素;阿霉素;多卡霉素;尾海兔素10;superdox;环丙沙星;卡德沙星(CS-940);或者这些抗肿瘤性药物的类似物;或所述抗肿瘤性药物分子或者它们的类似物的衍生物的任意位置除去1个氢原子或1个羟基而成的残基。

[0075] [15]

[0076] 根据[1]～[14]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,D为从喜树碱;澳瑞他汀E(AE)或一甲基澳瑞他汀E(MMAE);美登素;PBD(吡咯苯并二氮卓)二聚体;艾日布林;5-FU;PD-318088;AS-703026;TAK-733;LY-3023414;卡奇霉素;紫杉醇;多西他赛;丝裂霉素C;博来霉素;环胞苷;长春新碱;长春碱;道诺霉素;阿霉素;多卡霉素;尾海兔素10;superdox;或者这些抗肿瘤性药物的类似物;或上述抗肿瘤性药物分子或者它们的类似物的衍生物的任意位置除去1个氢原子或1个羟基而成的残基。

[0077] [16]

[0078] 根据[1]～[15]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,D为从喜树碱;澳瑞他汀E(AE)或一甲基澳瑞他汀E(MMAE);美登素;PBD(吡咯苯并二氮卓)二聚体;艾日布林;或者这些抗肿瘤性药物的类似物;或所述抗肿瘤性药物分子或者它们的类似物的衍生物的任意位置除去1个氢原子或1个羟基而成的残基。

[0079] [17]

[0080] 根据[1]～[16]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,D为从分子内存在的羟基的至少一个进行了磷酸酯化的抗肿瘤性药物或者这些抗肿瘤性药物的类似物;或上述抗肿瘤性药物分子或者它们的类似物的衍生物;的任意位置除去1个氢原子或1个羟基而成的残基。

[0081] [18]

[0082] 根据[1]～[17]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,L为任选被取代的亚烷基;

[0083] 该亚烷基的链中的1个以上的亚甲基任选与独立地选自由

[0084] -C(R^1)(R^2)-;-O-;-N(R^3)-;-N(R^3)-N(R^3)-;-S-;-Se-;-Si(R^4)(R^5)-;-S-S-;-Se-Se-;-SOm-;-SeOn-;-C(=C(R^6)(R^7))-;-C(=O)-;-C(=S)-;-C(=N(R^8))-;-C(=N-OR^9)-;-C(=N-N(R^{10})(R^{11}))-;-P(=O)(R^{12})-;-P(=O)(OR^{13})-;-O-P(=O)(R^{12})-O-;-O-P(=O)(OR^{13})-O-;-O-P(=S)(OR^{13})-O-;-O-P(=O)(OR^{13})-S-;-C(R^{14})=;=C(R^{14})-;-C(R^{14})=C(R^{14})-;-N=;=N-;-C≡C-;-(O-C(R^1)(R^2)-C(R^1)(R^2))$_{1-30}$-;-(C(R^1)(R^2)-C(R^1)(R^2)-O)$_{1-30}$-;任选被取代的亚烯基;任选被取代的亚炔基;任选被取代的亚环烷基;任选被取代的亚环烯基;任选被取代的亚环炔基;任选被取代的亚氮杂环炔基;任选被取代的亚芳基;任选被取代的亚杂芳基;及任选被取代的亚杂环基组成的组中的1个以上2价基团进行替换,

[0085] R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{10}、R^{11}、R^{12}、R^{13}、及R^{14}各自独立地为选自由氢原子、任选被取代的烷基、任选被取代的烯基、任选被取代的炔基、任选被取代的环烷基、任选被取代的环烯基、任选被取代的环炔基;任选被取代的氮杂环炔基、任选被取代的芳基、任选被取代的杂芳基、及任选被取代的杂环基组成的组中的基团,R^3为烷基时,该烷基任选与邻接的亚甲基中的烷基一起形成环状结构,

[0086] m及n各自独立地为0～2的整数。

[0087] [19]

[0088] 根据[18]所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,

[0089] L为任选被取代的亚烷基;

[0090] 该亚烷基的链中的一个以上亚甲基与从下述化学式组中独立地选择的1个以上的2价基团进行了替换。

[0091] 化学式组:

[0092] -O-C(H或C_1-C_4烷基)(H或C_1-C_4烷基)-;

[0093] -S-C(H或C_1-C_4烷基)(H或C_1-C_4烷基)-;

[0094] -N(H或C_1-C_4烷基)-;

[0095] -N(H或C_1-C_4烷基)-O-C(H或C_1-C_4烷基)(C(H或C_1-C_4烷基)-;

[0096] -C(H或C_1-C_4烷基)-SO_{0-2}-C(H或C_1-C_4烷基)-；

[0097] -C(H或C_1-C_4烷基)-S-S-C(H或C_1-C_4烷基)-；

[0098] -C(H或C_1-C_4烷基)＝C(H或C_1-C_4烷基)-；

[0099] -C(H或C_1-C_4烷基)＝N-；

[0100] -C(H或C_1-C_4烷基)＝N-O-；

[0101] -C(H或C_1-C_4烷基)＝N-N(H或C_1-C_4烷基)-；

[0102] -C(＝C(H或C_1-C_4烷基)(H或C_1-C_4烷基))-；

[0103] -C(＝N-O(H或C_1-C_4烷基))-；

[0104] -C(＝N-N(H或C_1-C_4烷基)(H或C_1-C_4烷基))-；

[0105] -O-Si(C_1-C_4烷基CH_3)(C_1-C_4烷基)-O-；

[0106] -C(H或C_1-C_4烷基)-N(C_1-C_4烷基)-CH_2-；

[0107] -C(H或C_1-C_4烷基)(H或C_1-C_4烷基)-C(＝O)-C(H或C_1-C_4烷基)(H或C_1-C_4烷基)-；

[0108] -C(＝O)-O-；

[0109] -C(＝O)-S-；

[0110] -C(＝O)-N(H或C_1-C_4烷基)-；

[0111] -O-C(＝O)-O-；

[0112] -N(H或C_1-C_4烷基)-C(＝O)-N(H或C_1-C_4烷基)-；

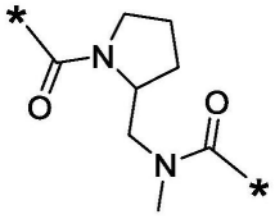
[0113] -C(＝O)-N(H或C_1-C_4烷基)-C(H或C_1-C_4烷基)(H或C_1-C_4烷基)-；

[0114] -C(＝O)-$(CH_2)_{1-10}$-$(O-CH_2CH_2)_{1-20}$-O-$(CH_2)_{1-10}$-C(＝O)-；

[0115] -C(＝O)-$(CH_2)_{1-10}$-$(O-CH_2CH_2)_{1-20}$-O-$(CH_2)_{1-10}$-CH_2-NH-；

[0116] -NH-CH_2-$(CH_2)_{1-10}$$(O-CH_2CH_2)_{1-20}$-O-$(CH_2)_{1-10}$-$CH_2$-NH-；

[0117] -C(＝O)-N(C_1-C_4烷基)-CH_2CH_2-N(C_1-C_4烷基)-C(＝O)-；

[0118] 

[0119] [式中,＊为与邻接基团的键合点]；

[0120] -P(＝O)(OH)-O-；

[0121] -O-P(＝O)(OH)-O-；

[0122] -O-P(＝S)(OH)-O-；

[0123] -O-P(＝O)(OH)-S-；

[0124] -O-P(＝O)(OH)-O-P(＝O)(OH)-O-；

[0125] -O-P(＝O)(OH)-O-P(＝O)(OH)-O-P(＝O)(OH)-O-；

[0126] -CH(CH_2-NH_2)-；

[0127] -CH(CH_2-NH(C_1-C_4烷基))-；

[0128] -CH(CH_2-N(C_1-C_4烷基)$_2$)-；

[0129] -CH(CH_2-NH-C(＝O)-$(CH_2CH_2$-O-$)_{0-20}$-C_1-C_4烷基)-；

[0130] -CH(CH_2-NH-C(＝O)-$(CH_2)_{0-20}$-内酯基)-；

[0131] -CH(CH_2-NH-C(=O)-(CH_2CH_2-O-)$_{1-20}$-(CH_2)$_{1-10}$-CH_2-内酯基)-;

[0132] -CH(CH_2-NH-C(=O)-(CH_2CH_2-O-)$_{1-20}$-(CH_2)$_{1-10}$-CH_2-NH-内酯基)-;

[0133] -CH(CH_2-NH-C(=O)-(CH_2CH_2-O-)$_{1-20}$-(CH_2)$_{1-10}$-CH_2-NH-C(=O)-内酯基)-;

[0134] -CH(CH_2-NH-C(=O)-(CH_2CH_2-O-)$_{1-20}$-(CH_2)$_{1-10}$-C(=O)-NH-内酯基)-;

[0135] -CH(CH_2-NH-(CH_2)$_{1-20}$-(O)$_{0-1}$-(P(=O)(OH)$_2$)-;

[0136] -CH(CH_2-NH-C(=O)-(CH_2)$_{1-20}$-(P(=O)(OH)$_2$)-;

[0137] -CH(CH_2-NH-C(=O)-(CH_2)$_{1-20}$-C(=O)-NH-(CH_2)$_{1-10}$-(P(=O)(OH)$_2$)-;

[0138] -CH(CH_2-NH-C(=O)-(CH_2CH_2-O-)$_{1-20}$-(CH_2)$_{1-10}$-CH_2-(P(=O)(OH)$_2$)-;

[0139] -CH(CH_2-NH-C(=O)-(CH_2CH_2-O-)$_{1-20}$-(CH_2)$_{1-10}$-C(=O)-NH-(CH_2)$_{1-10}$-(P(=O)(OH)$_2$)-;

[0140] -CH(CH_2-NH-(CH_2)$_{1-10}$-C(H、OH、Cl、NH_2、或C_1-C_4烷基)(P(=O)(OH)$_2$)$_2$)-;

[0141] -CH(CH_2-NH-C(=O)-(CH_2)$_{1-10}$-C(=O)-NH-(CH_2)$_{1-10}$-C(H、OH、Cl、NH_2、或C_1-C_4烷基)(P(=O)(OH)$_2$)$_2$)-;

[0142] -CH(CH_2-NH-C(=O)-(CH_2CH_2-O-)$_{1-20}$-(CH_2)$_{1-10}$-C(=O)-NH-(CH_2)$_{1-10}$-C(H、OH、Cl、NH_2、或C_1-C_4烷基)(P(=O)(OH)$_2$)$_2$)-;

[0143] -(cis)-CH=CH-P(=O)(O-CH_2CH_3)-NH-(亚苯基)-C(=O)-;

[0144] -C(=O)-(亚环己基)-;

[0145] -(亚琥珀酰亚胺基)-;

[0146] -Ser-;

[0147] -Cys-;

[0148] -Ama-;

[0149] -Asp-;

[0150] -Glu-;

[0151] -Orn-;

[0152] -Lys-;

[0153] -ValLys-;

[0154] -ValCit-;

[0155] -ValAla-;

[0156] -GlyGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

[0157] -PheLys-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

[0158] -ValLys-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

[0159] -ValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

[0160] -ValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

[0161] -AspValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

[0162] -LysAspValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

[0163] -GluValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

[0164] -LysValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

[0165] -SerValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

[0166] -AspValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

[0167] -GluValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

[0168] -LysValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

[0169] -SerValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

[0170] -GlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

[0171] -AspGlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

[0172] -GluGlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

[0173] -LysGlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

[0174] -SerGlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

[0175] -AspAspAspAspAsp-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

[0176] -GlyGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0177] -PheLys-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0178] -ValLys-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0179] -ValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0180] -ValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0181] -AspValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0182] -GluValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0183] -LysValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0184] -SerValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0185] -AspValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0186] -GluValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0187] -LysValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0188] -SerValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0189] -GlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0190] -AspGlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0191] -GluGlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0192] -LysGlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0193] -SerGlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0194] -AspAspAspAspAsp-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0195] -GlyGlyPheGly-C(=O)-NH-CH_2-;

[0196] -AspGlyGlyPheGly-C(=O)-NH-CH_2-;

[0197] (在上述氨基酸残基、及肽中的氨基酸残基中,

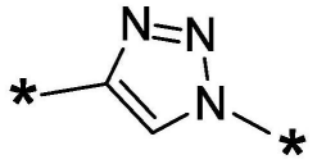
[0198] Ama、Asp、及Glu的侧链的羧基任选形成(烷基)酯、(氨基烷基)酯、((N-烷基氨基)烷基)酯、((N,N-二烷基氨基)烷基)酯、((三烷基铵)烷基)酯、(内酯基)酯、((内酯基)烷基)酯、((磷酰基)烷基)酯、或((双磷酰基)烷基)酯,另外,任选形成未取代酰胺、烷基酰胺、二烷基酰胺、((N-烷基氨基)烷基)酰胺、((N,N-二烷基氨基)烷基)酰胺、((三烷基铵)烷基)酰胺、(内酯基)酰胺、((内酯基)烷基)酰胺、(磷酰基)酰胺、((磷酰基)烷基)酰胺、或((双磷酰基)烷基)酰胺,

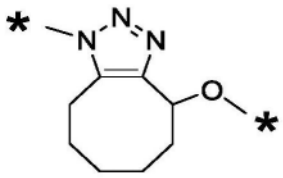
[0199] Lys及Orn的侧链的氨基任选具有1个或2个烷基、烷基羰基、(氨基烷基)羰基、((N-烷基氨基)烷基)羰基、((N,N-二烷基氨基)烷基)羰基、((三烷基铵)烷基)羰基、内酯基、(内

酯基)烷基、(内酯基)羰基、((内酯基)烷基)羰基、磷酰基、(磷酰基)烷基、((磷酰基)烷基)羰基、(双磷酰基)烷基、或((双磷酰基)烷基)羰基作为取代基,

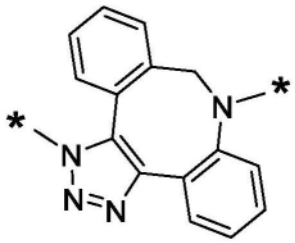
[0200] Ser的侧链的羟基和Cys的侧链的巯基任选具有烷基、烷基羰基、氨基烷基、(氨基烷基)羰基、(N-烷基氨基)烷基、((N-烷基氨基)烷基)羰基、(N,N-二烷基氨基)烷基、((N,N-二烷基氨基)烷基)羰基、(三烷基铵)烷基、((三烷基铵)烷基)羰基、内酯基、(内酯基)烷基、(内酯基)羰基、((内酯基)烷基)羰基、磷酰基、(磷酰基)烷基、((磷酰基)烷基)羰基、(双磷酰基)烷基、或((双磷酰基)烷基)羰基作为取代基。)

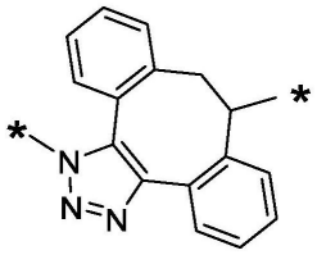
[0201] 及下述式的1,2,3-亚三唑基。



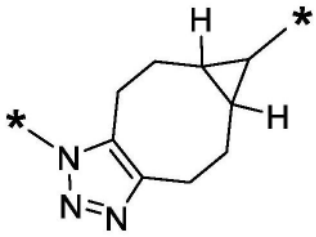


[0202]





[0203]



[0204] [式中,*为与邻接基团的键合点。]

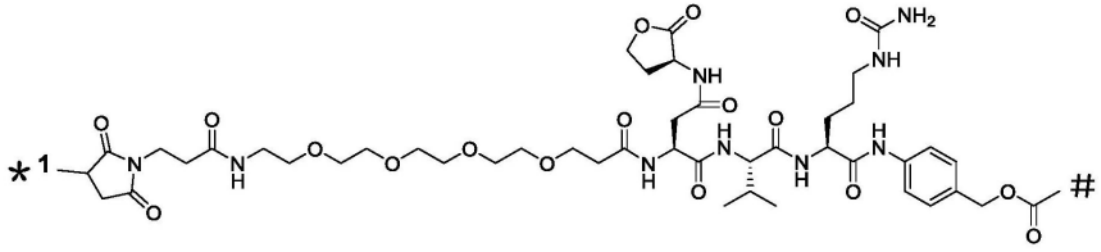
[0205] [20]

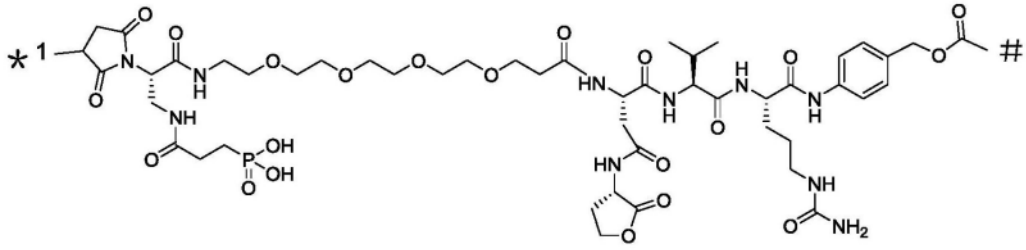
[0206] 根据[18]所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,

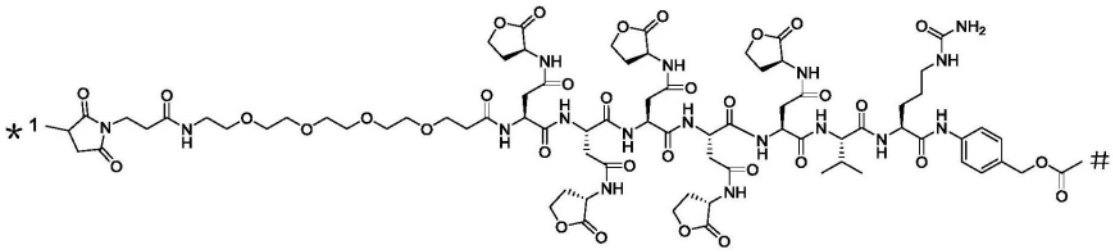
[0207] L为选自下述化学式组中的任意一个2价基团。

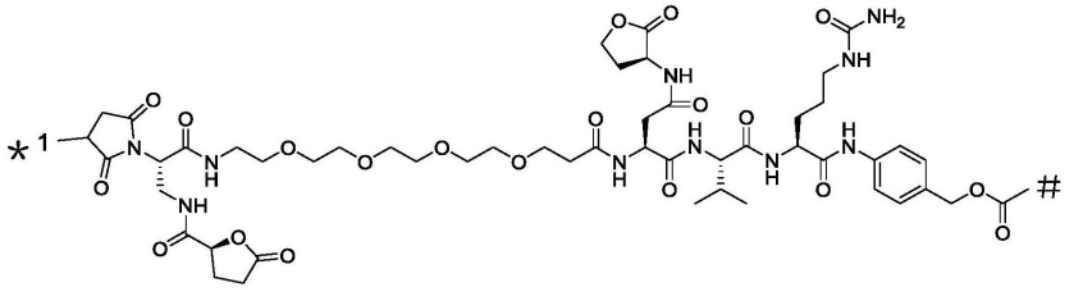
[0208] 化学式组：

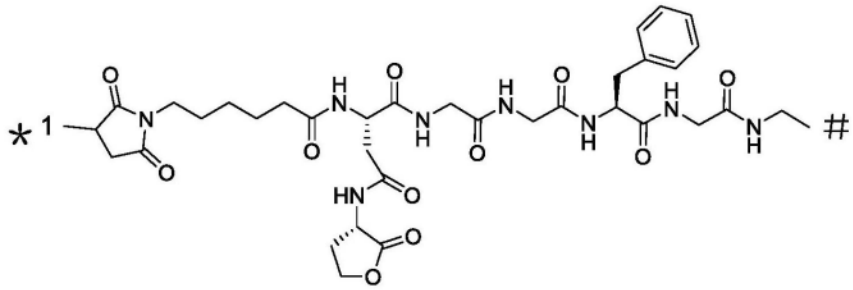
[0209]



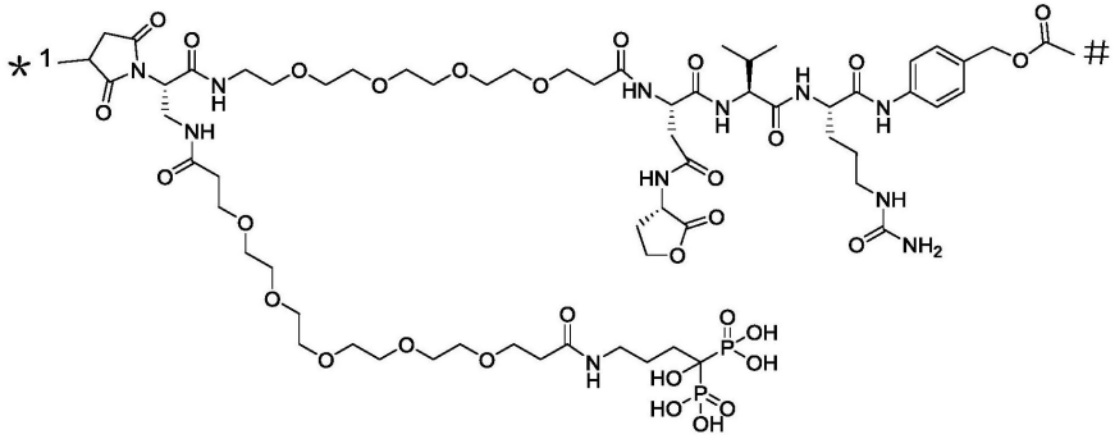


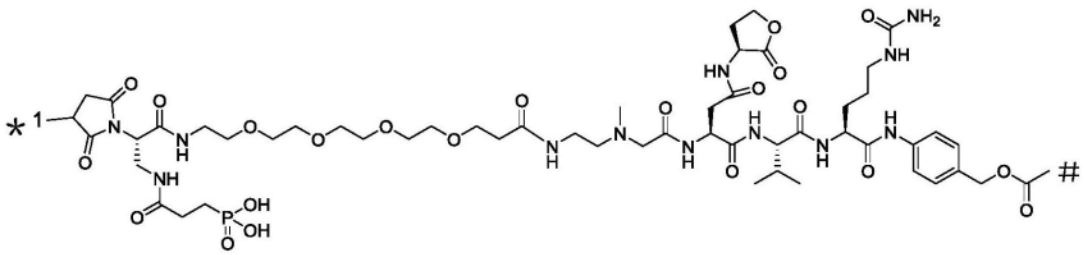


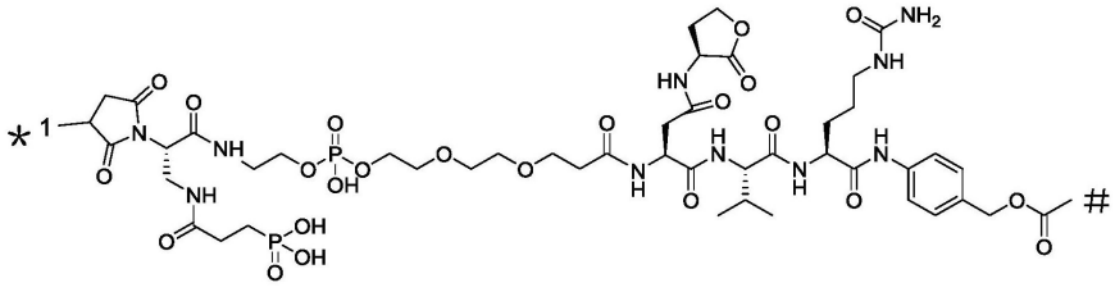


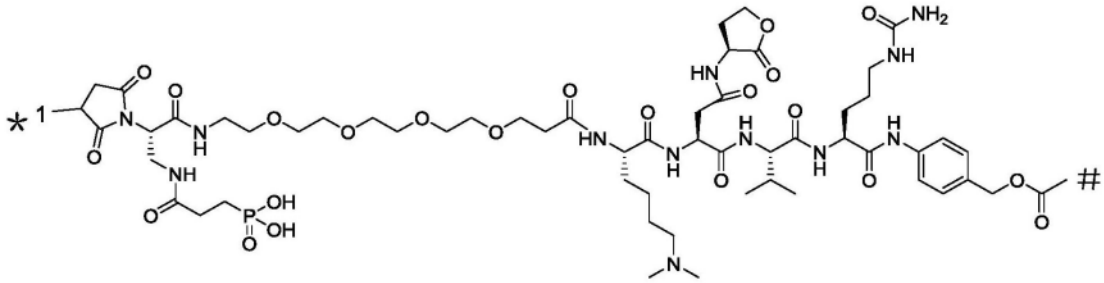


[0210]

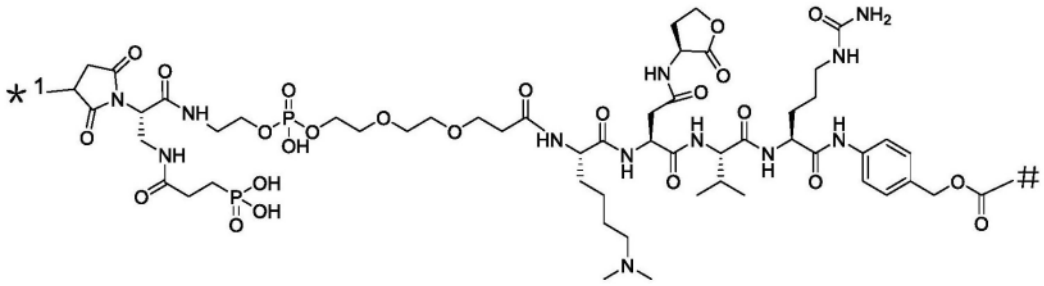


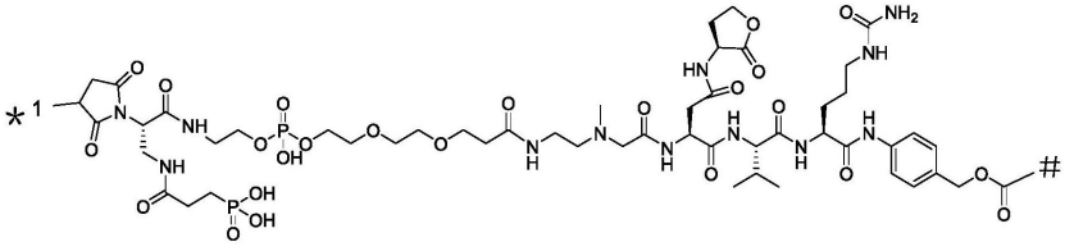


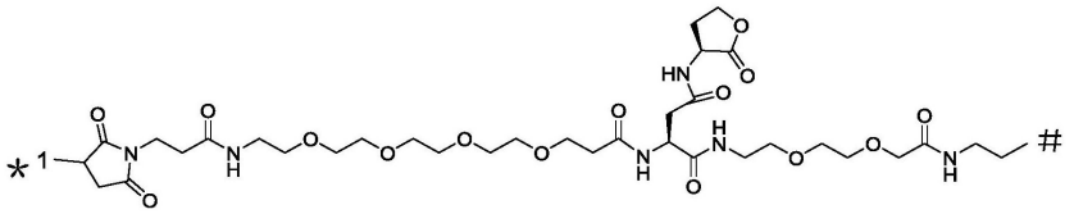


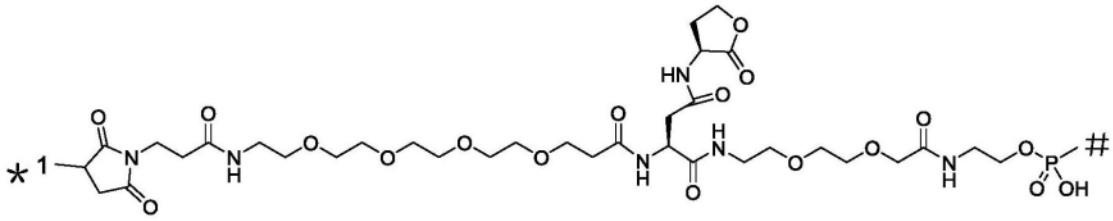


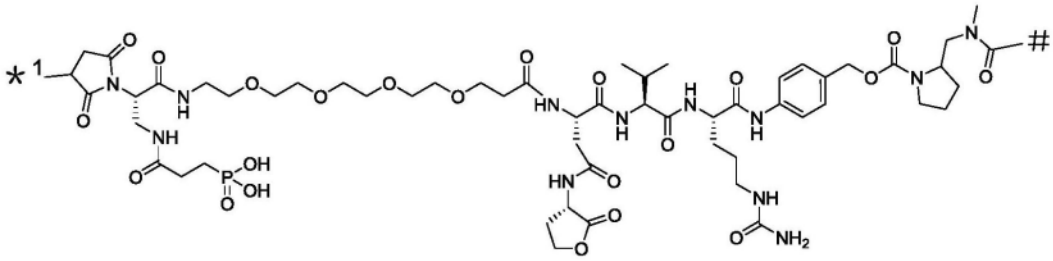
[0211]



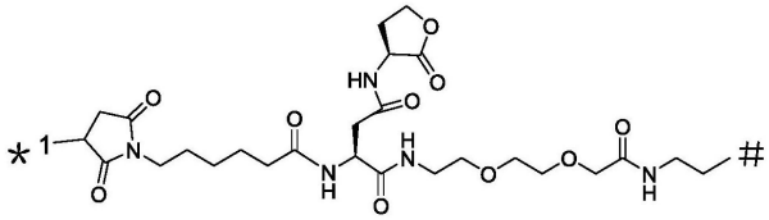


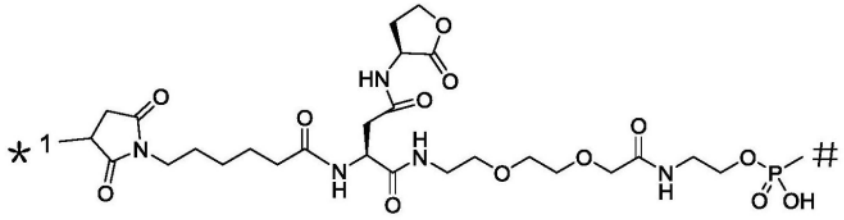


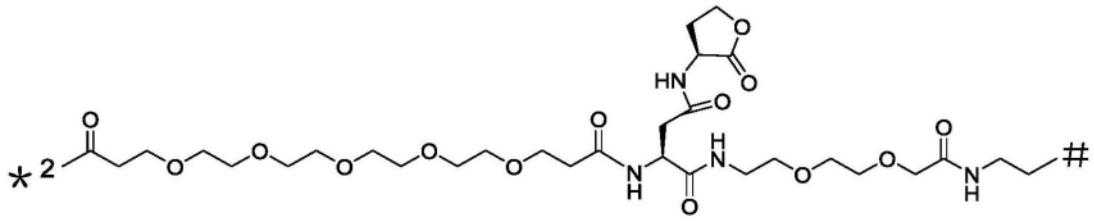


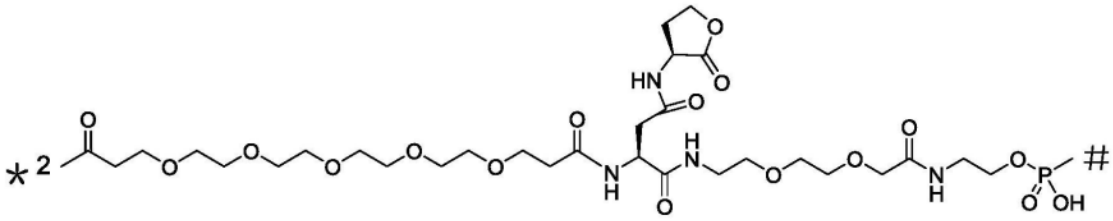


[0212]

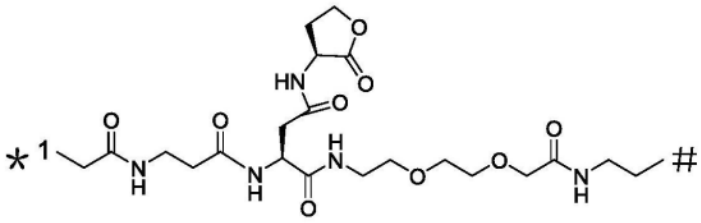


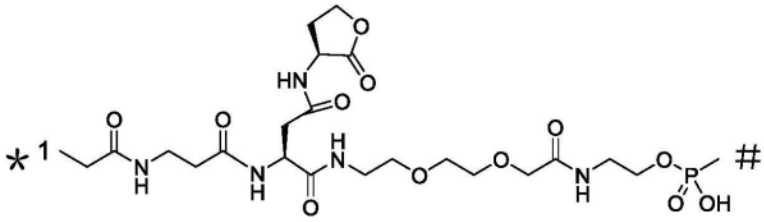






[0213]





[0214] [式中,*1为与抗体残基A-S-的键合点,*2为与抗体残基A-NH-的键合点,#为与抗肿瘤性药物残基D-的键合点]

[0215] [21]

[0216] 根据[1]~[20]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,

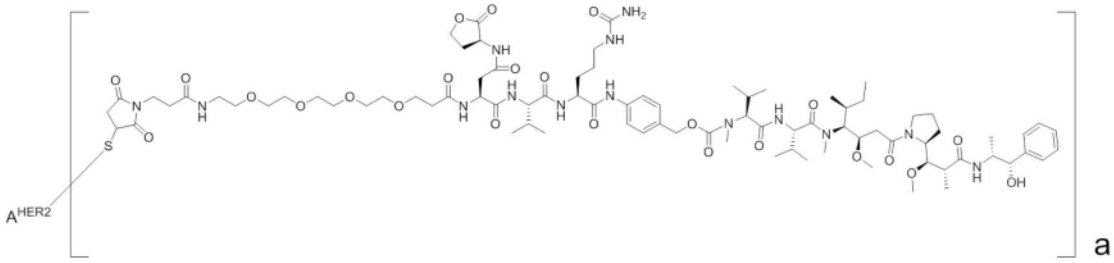
[0217] D及L的至少任一者在任意位置具有1个以上的内酯基作为取代基或保护基,并且,与此独立地,

[0218] D或L的至少任一者在任意位置具有选自磷酰基(-P(=O)(OH)$_2$);磷酰基烷基羰基(-C(=O)-亚烷基-P(=O)(OH)$_2$);双磷酰基甲基(-C(H、OH、NH$_2$、Cl、或烷基)(P(=O)(OH)$_2$)$_2$);氨基;单烷基氨基;二烷基氨基;该二烷基氨基的2个烷基与它们键合的氮原子一起形成环的环状氨基;及三烷基铵基中的1个以上基团作为取代基或保护基,该基团的总数为多个时,它们任选相同或不同。

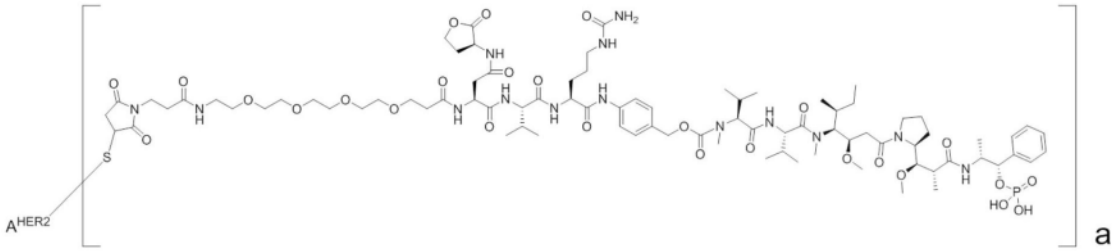
[0219] [22]

[0220] 根据[1]~[21]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其选自由下述化学式组成的组中,

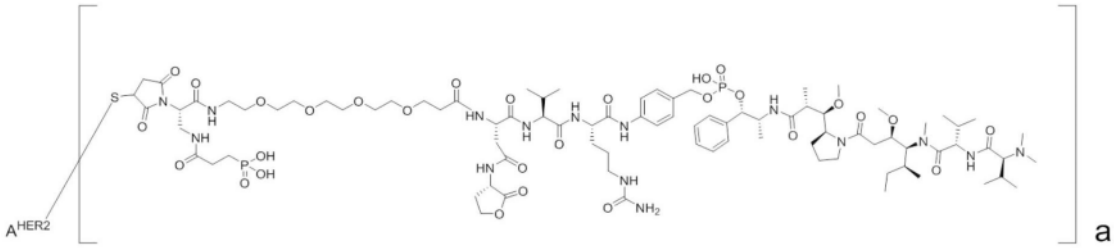
[0221] 实施例1

[0222] 

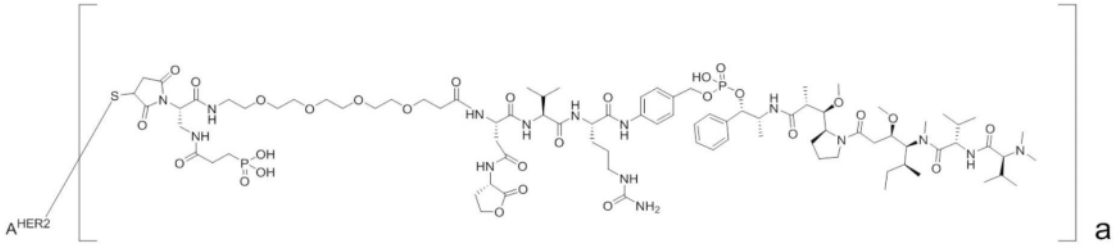
[0223] 实施例2

[0224] 

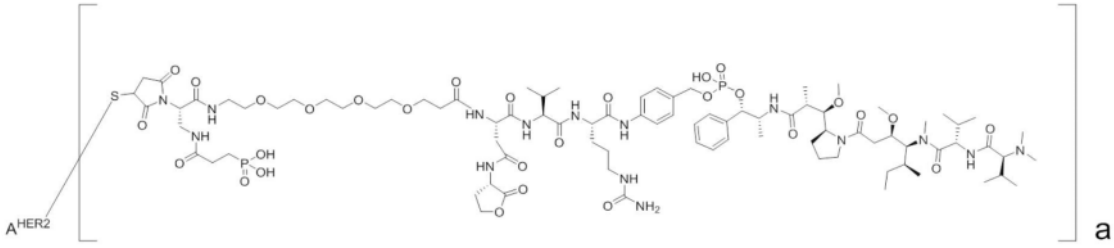
[0225] 实施例3

[0226] 

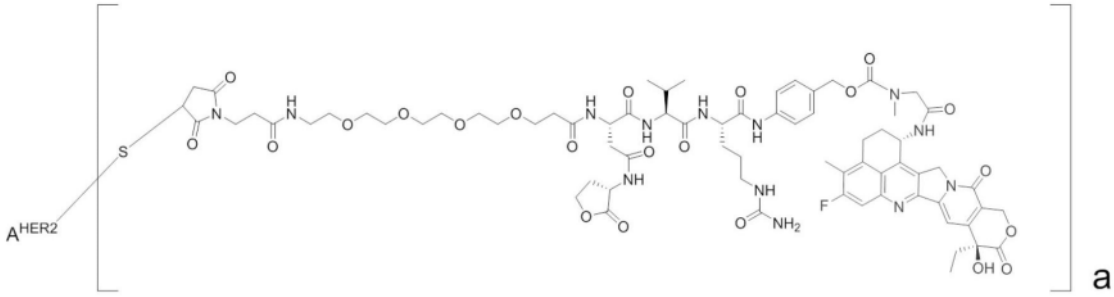
[0227] 实施例3b

[0228] 

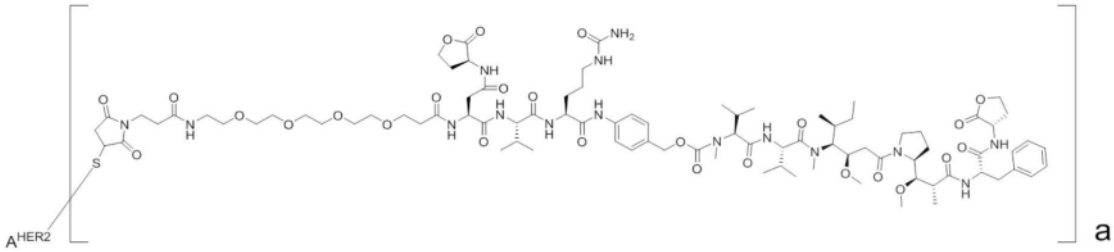
[0229] 实施例3c

[0230] 

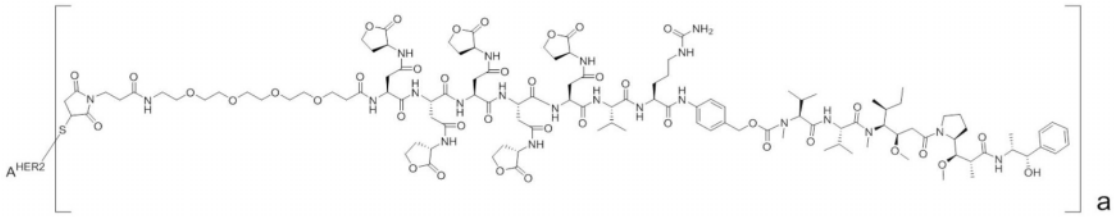
[0231] 实施例4

[0232] 

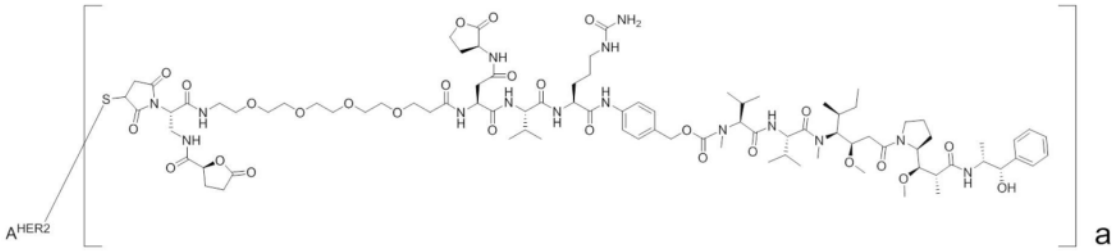
[0233] 实施例5

[0234] 

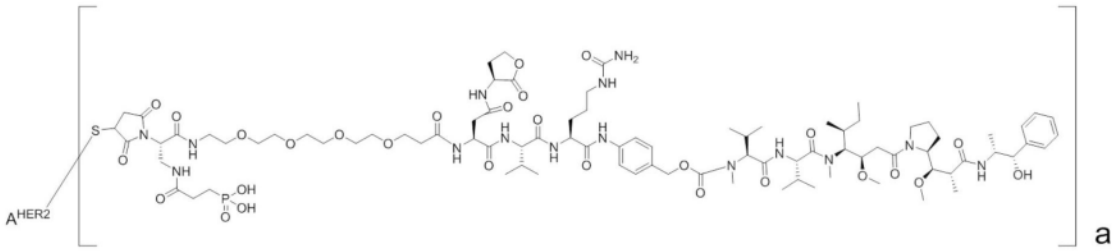
[0235] 实施例6

[0236] 

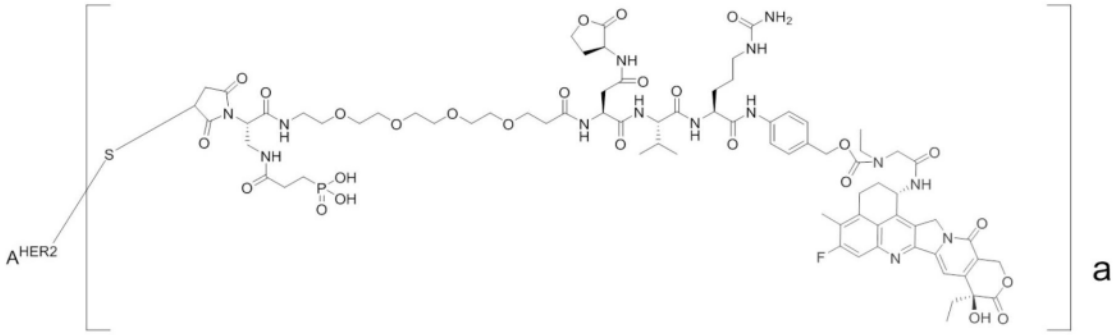
[0237] 实施例7

[0238] 

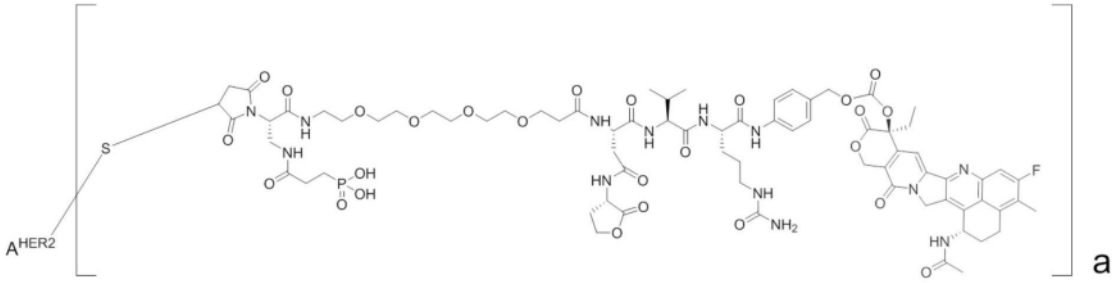
[0239] 实施例8

[0240] 

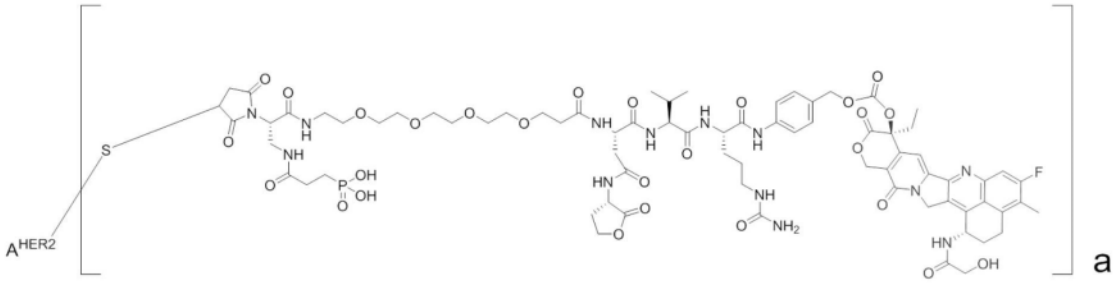
[0241] 实施例9

[0242] 

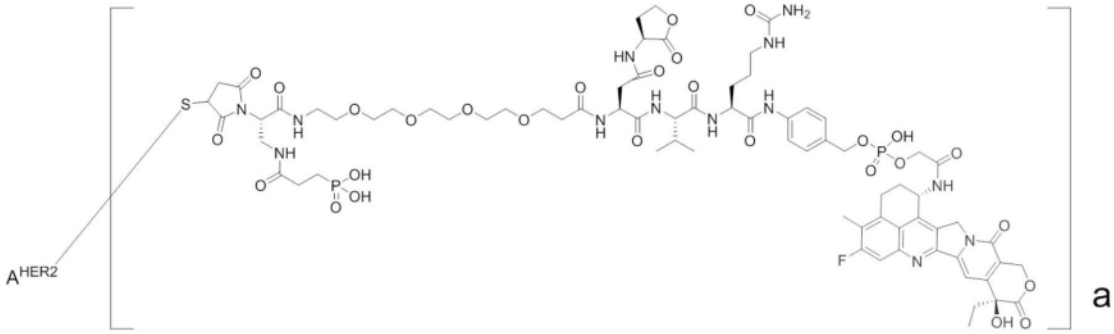
[0243] 实施例10

[0244] 

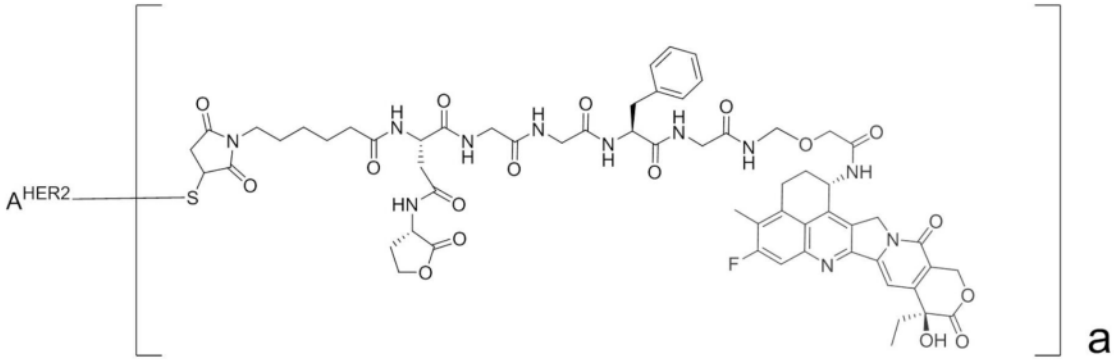
[0245] 实施例11

[0246] 

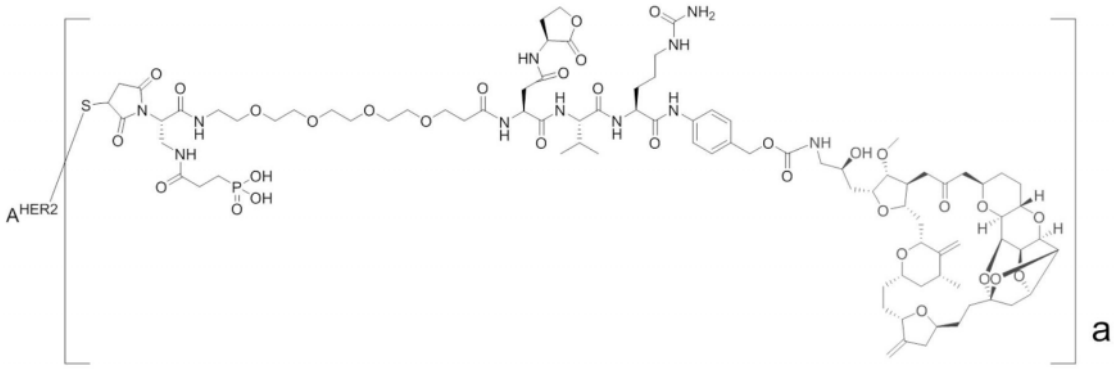
[0247] 实施例12

[0248] 

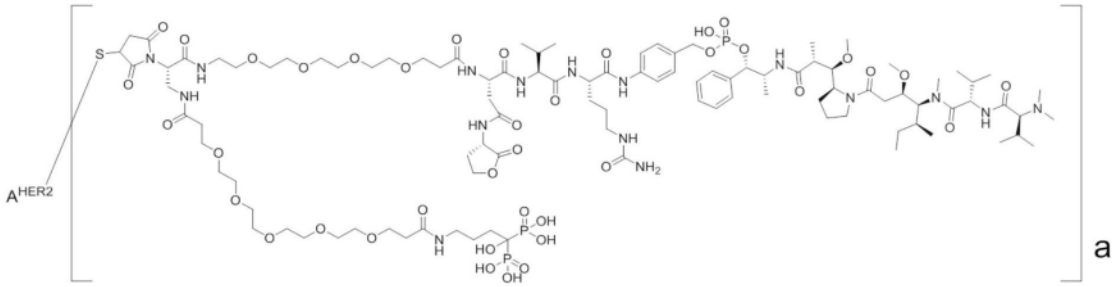
[0249] 实施例13

[0250] 

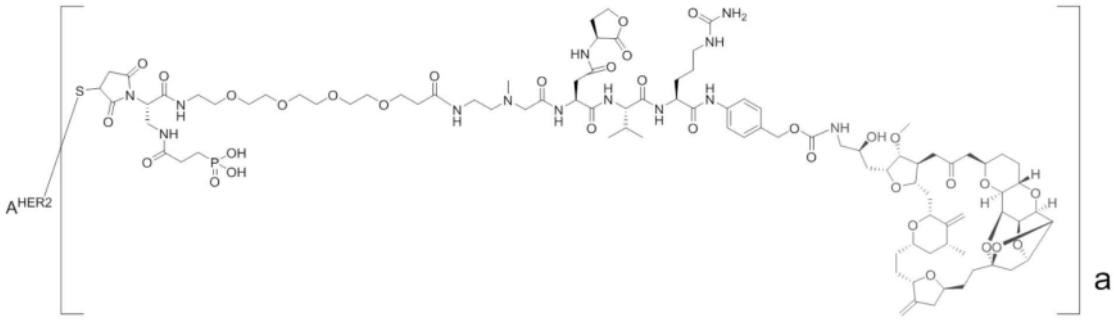
[0251] 实施例14

[0252] 

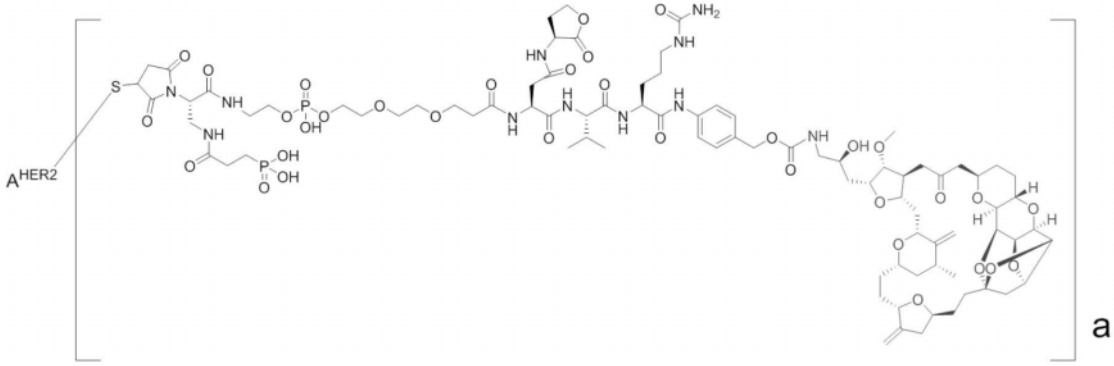
[0253] 实施例15

[0254] 

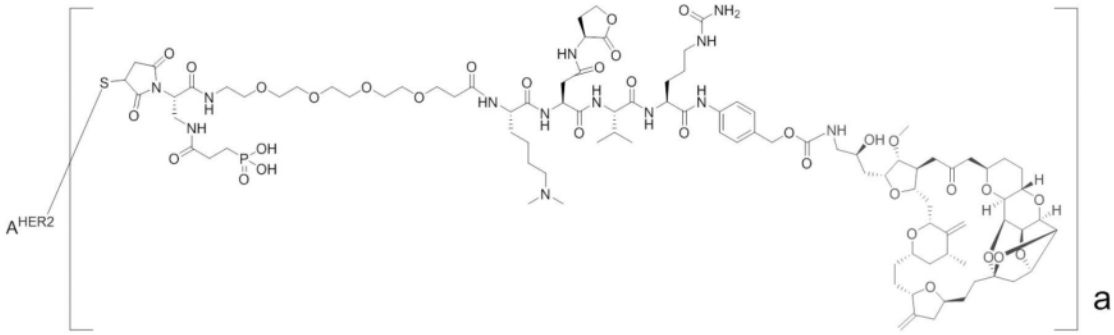
[0255] 实施例16

[0256] 

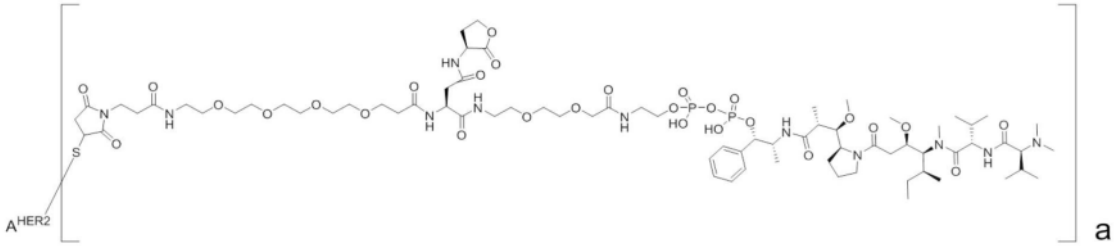
[0257] 实施例17

[0258] 

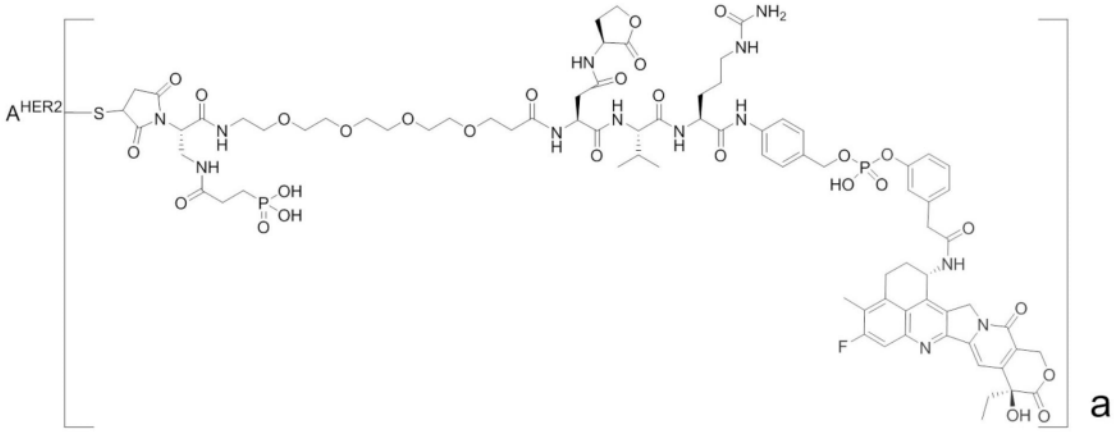
[0259] 实施例18

[0260] 

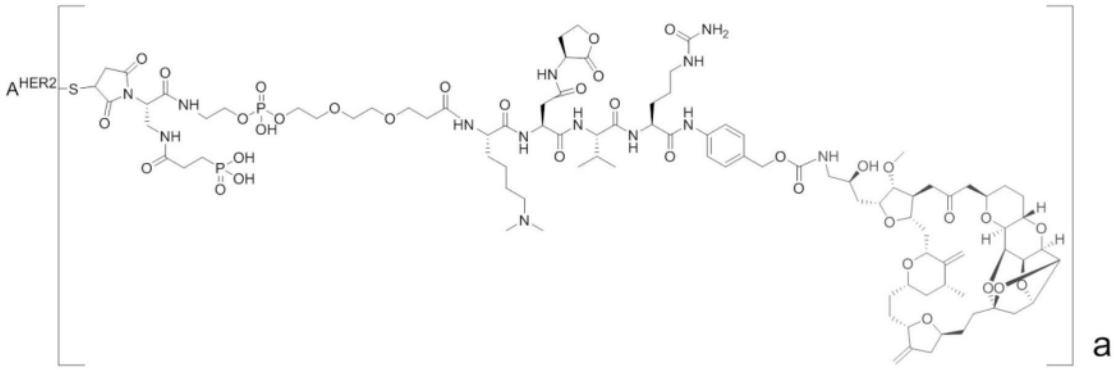
[0261] 实施例19

[0262] 

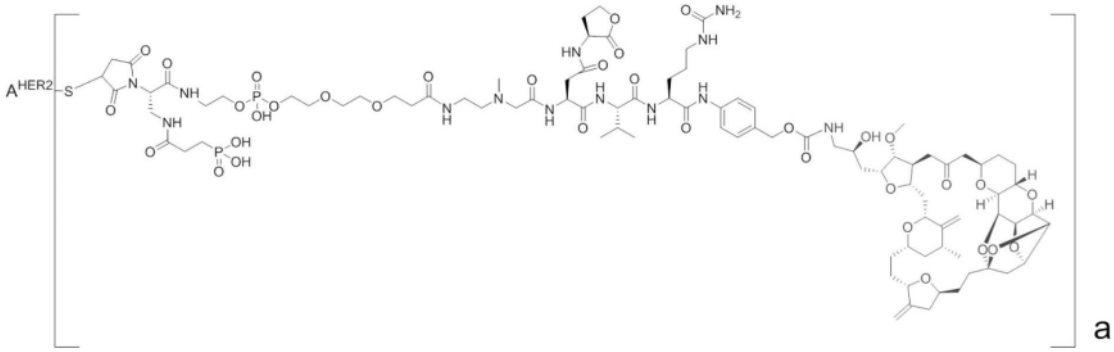
[0263] 实施例20

[0264] 

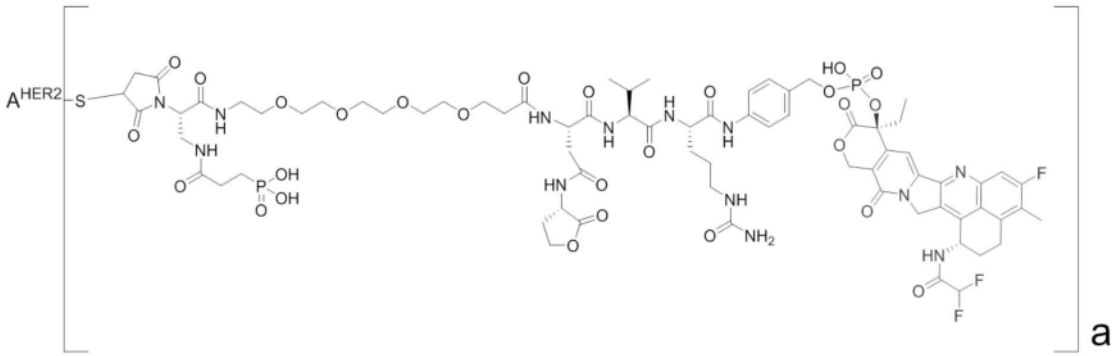
[0265] 实施例21

[0266] 

[0267] 实施例22

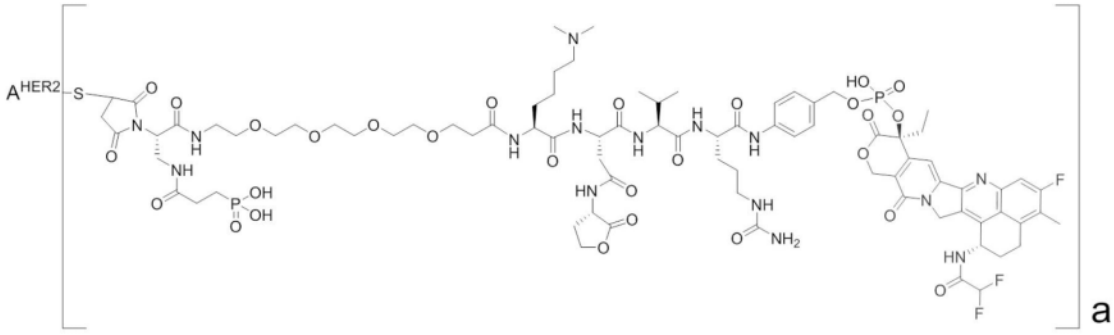
[0268] 

[0269] 实施例23

[0270] 

[0271] 及

[0272] 实施例24

[0273] 

[0274] [式中,A^{HER2}为从抗HER2抗体中除去该抗体中存在的巯基而成的抗体残基,a与上述含义相同]。

[0275] [23]

[0276] 一种药物组合物,其包含[1]~[22]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物。

[0277] [24]

[0278] 一种抗肿瘤药,其包含[1]~[22]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物。

[0279] [25]

[0280] 一种药物组合物,其包含[1]~[22]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物作为活性成分,并在此基础上还包含药理上可接受的制剂成分。

[0281] [26]

[0282] 一种肿瘤的治疗方法,其特征在于,给予[1]~[22]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物。

[0283] 以下,记载本发明的方式。需要说明的是,将任意地选择以下的各方式并组合而成的方式以及将以下的各方式和本说明书中记载的任一方式或实施方式等任意组合而成的方式也包含在本发明中。

[0284] [方式A1]

[0285] 一种抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,A为从能够靶向肿瘤细胞的抗体除去参与和连接子的结合的抗体内官能团而成的抗体残基。

[0286] [方式A2]

[0287] 根据[方式A1]所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,A为从具有能够识别靶细胞的特性、能够结合于靶细胞的特性、能够内化于靶细胞中的特性、及损伤靶细胞的特性中的任1种以上特性的抗体中除去参与和连接子的结合的抗体内官能团而成的抗体残基。

[0288] [方式A3]

[0289] 根据[方式A1]或[方式A2]所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,A为从能够靶向肿瘤细胞的抗体中除去为抗体内官能团的巯基、羟基、氨基、叠氮基、炔基、环炔基、或氮杂环炔基而成的抗体残基。

[0290] [方式A4]

[0291] 根据[方式A1]~[方式A3]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,A为从抗HER2抗体、抗EGFR抗体、抗淋巴细胞抗原6E(Ly-6E)抗体、抗肝细胞生长因子受体(HGFR)抗体、抗CD22抗体、抗叶酸受体α(FRα)抗体、抗PSMA(FOLH1)抗体、抗CD30(TNFRSF8)抗体、抗TROP-2抗体、抗CD19抗体、抗5T4抗体、抗间皮素抗体、抗CD20抗体、抗CD33抗体、抗CDB7-H3抗体、抗CD269(BCMA)抗体、抗CD142抗体、抗CD70抗体、抗CD123抗体、抗TAG-72抗体、抗TFRC抗体、抗EPHA2抗体、抗EPHA3抗体、抗c-KIT抗体、抗PD-L1抗体、抗上皮细胞粘附分子(EPCAM)抗体、抗AXL抗体、抗白介素-1受体辅助蛋白抗体、抗粘蛋白-16(CA125)抗体、抗MUC1抗体、抗GPC3抗体、抗CLEC12A(CLL1)抗体、抗LRRC15抗体、抗ADAM9抗体、抗钠依赖性磷酸盐转运蛋白2B(SLC34A2)抗体、抗CD25抗体、抗ROR1抗体、抗TweakR抗体、抗CD74抗体、抗CEACAM5抗体、抗CD105抗体、抗CD79b抗体、抗CD147抗体、抗Sialyl-Tn抗体、抗GCC抗体、抗HER3抗体、抗整合素抗体、抗EGFR variant III抗体、抗紧密连接蛋白6抗体、抗富含亮氨酸重复序列的G蛋白偶联受体5抗体、抗PTK7抗体、抗LYPD3抗体、抗ASCT2抗体、抗ASPH抗体、抗GPC1抗体、抗CD174抗体、抗CD38抗体、抗ANGPT2抗体、抗CD44抗体、抗DDL3抗体、抗FGFR2抗体、抗KAAG1抗体、抗CD73抗体、抗CLDN18.2抗体、抗PRLR抗体、抗SEZ6抗体、抗脑啡肽酶抗体、抗神经细胞粘附分子1抗体、抗CD166(ALCAM)抗体、抗CD24抗体、抗CD27抗体、抗CDH3抗体、抗EPHA4抗体、抗FGFR3抗体、抗GFRAL抗体、抗Globo H抗体、抗IL-13Ra2抗体、抗STEAP-1抗体、抗TMCC3抗体、抗CD209抗体、抗CD37抗体、抗CD48抗体、抗CDCP1抗体、抗CD46抗体、抗CD200抗体、抗CXCR5抗体、抗FLT3抗体、抗SDC1(CD138)抗体、抗CLDN6/9抗体、抗CEACAM6抗体、抗CA9抗体、抗EDNRB抗体、抗GD3神经节苷脂抗体、抗MICA/B抗体、抗JAG1/2抗体、抗TM4SF1抗体、抗uPAR抗体、抗碳酸酐酶IX抗体、抗ALK1抗体、抗IGF-1R抗体、抗KDR抗体、抗CEACAM8抗体、抗IL5R抗体、抗CD205(Ly75)抗体、抗MSR1抗体、

抗KREMEN2抗体、抗SSEA-4抗体、抗CD228抗体、抗CD5抗体、抗DLL4抗体、抗FAP抗体、抗Notch3抗体、抗AG7抗体、抗鸟苷酸环化酶抗体、抗粘连蛋白-4抗体、抗CD226(DNAM-1)抗体、抗FcRL5抗体、抗HLA-DR抗体、抗ITGB3抗体、抗DLK1抗体、抗CD157(BST1)抗体、抗CD56(NCAM1)抗体、抗MICA(MHC I类多肽相关序列A)抗体、抗SSEA-1抗体、抗TRAIL-R2(DR5)抗体、抗GPNMB抗体、抗CCR5抗体、抗LAMP1抗体、抗LGALS3BP抗体、抗ROR2抗体、抗DLL3抗体、抗ETBR抗体、抗LIV-1抗体、抗整合素αvβ6抗体、抗TIM-1抗体、抗AGS-16(ENPP3)抗体、抗SLITRK6抗体、抗GD2抗体、抗CD52抗体、抗CCR4抗体、抗VEGFR2抗体、抗PDGFR抗体、抗FGFR抗体、抗SLAMF7抗体、抗GD2神经节苷脂抗体、抗EPHA3抗体、抗整合素αvβ3抗体、抗AGS-5抗体、抗CA19-9抗体、抗PSA抗体、抗MAGE3抗体、抗转铁蛋白受体1(CD71)抗体、抗CEACAM1抗体、抗SLC3A2(CD98)抗体、抗ACVR1抗体、抗AG-7抗体、抗AMHR2抗体、抗ABCB1抗体、抗C16orf54抗体、抗组织蛋白酶D抗体、抗CCR7抗体、抗SLC44A4抗体、抗CD300LF抗体、抗DPEP3抗体、抗FucGM1抗体、抗GPR20抗体、抗ITGB6抗体、抗类Lewis-A碳水化合物抗体、抗催乳素受体抗体、抗Sialyl Tn抗体、抗SLAMF6抗体、抗SLAMF7抗体、抗TRA-1-60抗体、抗蛋白裂解酶抗体、抗B7-H4抗体、抗Cripto抗体、抗CD99抗体、抗CanAg抗体、抗A33抗体、抗α10β1整合素抗体、抗ALPP抗体、抗CD248抗体、或抗GPRC5D抗体中除去参与和连接子的结合的抗体内官能团而成的抗体残基。

[0292] [方式A5]

[0293] 根据[方式A1]～[方式A4]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,A为从抗HER2抗体、抗EGFR抗体、抗淋巴细胞抗原6E(Ly-6E)抗体、抗肝细胞生长因子受体(HGFR)抗体、抗CD22抗体、抗叶酸受体α(FRα)抗体、抗PSMA(FOLH1)抗体、抗CD30(TNFRSF8)抗体、抗TROP-2抗体、抗CD19抗体、抗5T4抗体、抗间皮素抗体、抗CD20抗体、抗CD269(BCMA)抗体、抗CD142抗体、抗CD123抗体、抗TAG-72抗体、抗TFRC抗体、抗EPHA2抗体、抗c-KIT抗体、抗上皮细胞粘附分子(EPCAM)抗体、抗AXL抗体、抗粘蛋白-16(CA125)抗体、抗CLEC12A(CLL1)抗体、抗LRRC15抗体、抗ADAM9抗体、抗钠依赖性磷酸盐转运蛋白2B(SLC34A2)抗体、抗CD25抗体、抗ROR1抗体、抗CD74抗体、抗CEACAM5抗体、抗CD105抗体、抗CD79b抗体、抗HER3抗体、抗EGFR variant III抗体、抗PTK7抗体、抗GPC1抗体、抗CD38抗体、抗DDL3抗体、抗SEZ6抗体、抗CD166(ALCAM)抗体、抗CDH3抗体、抗FGFR3抗体、抗Globo H抗体、抗CD37抗体、抗CD48抗体、抗CD46抗体、抗FLT3抗体、CD138抗体、抗TM4SF1抗体、抗IGF-1R抗体、抗CEACAM8抗体、抗CD205(Ly75)抗体、抗CD228抗体、抗FAP抗体、抗AG7抗体、抗粘连蛋白-4抗体、抗CD226(DNAM-1)抗体、抗HLA-DR抗体、抗DLK1抗体、抗CD157(BST1)抗体、抗CD56(NCAM1)抗体、抗CCR5抗体、抗ROR2抗体、抗LIV-1抗体、抗TIM-1抗体、抗CA19-9抗体、抗CEACAM1抗体、抗SLC3A2(CD98)抗体、抗ACVR1抗体、抗AG-7抗体、抗AMHR2抗体、抗ABCB1抗体、抗C16orf54抗体、抗组织蛋白酶D抗体、抗CCR7抗体、抗SLC44A4抗体、抗CD300LF抗体、抗DPEP3抗体、抗FucGM1抗体、抗GPR20抗体、抗ITGB6抗体、抗类Lewis-A碳水化合物抗体、抗催乳素受体抗体、抗Sialyl Tn抗体、抗SLAMF6抗体、抗SLAMF7抗体、抗TRA-1-60抗体、抗蛋白裂解酶抗体、抗B7-H4抗体、抗Cripto抗体、抗CD99抗体、抗CanAg抗体、抗α10β1整合素抗体、抗ALPP抗体、抗CD248抗体、或抗GPRC5D抗体中除去参与和连接子的结合的抗体内官能团而成的抗体残基。

[0294] [方式A6]

[0295] 根据[方式A1]～[方式A5]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,A为从抗HER2抗体、抗EGFR抗体、抗淋巴细胞抗原6E(Ly-6E)抗体、抗CD22抗体、抗叶酸受体α(FRα)抗体、抗PSMA(FOLH1)抗体、抗CD30(TNFRSF8)抗体、抗TROP-2抗体、抗CD19抗体、抗间皮素抗体、抗CD20抗体、抗CD269(BCMA)抗体、抗CD123抗体、抗TFRC抗体、抗EPHA2抗体、抗c-KIT抗体、抗上皮细胞粘附分子(EPCAM)抗体、抗AXL抗体、抗粘蛋白-16(CA125)抗体、抗钠依赖性磷酸盐转运蛋白2B(SLC34A2)抗体、抗CD25抗体、抗CEACAM5抗体、抗CD79b抗体、抗HER3抗体、抗PTK7抗体、抗CD38抗体、抗CDH3抗体、抗CD37抗体、抗FLT3抗体、抗IGF-1R抗体、抗FAP抗体、抗粘连蛋白-4抗体、抗CD56(NCAM1)抗体、抗AG-7抗体、抗CCR7抗体、抗DPEP3抗体、抗ITGB6抗体、抗蛋白裂解酶抗体、抗Cripto抗体、抗ALPP抗体、或抗GPRC5D抗体中除去参与和连接子的结合的抗体内官能团而成的抗体残基。

[0296] [方式A7]

[0297] 一种抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,A为从抗HER2抗体中除去参与和连接子的结合的抗体内官能团而成的抗体残基。

[0298] [方式B1]

[0299] 根据[方式A1]～[方式A7]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,B为-S-基、-NH-基、或1,2,3-亚三唑基。

[0300] [方式B2]

[0301] 根据[方式A1]～[方式A7]及[方式B1]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,B为-S-基或-NH-基。

[0302] [方式B3]

[0303] 根据[方式A1]～[方式A7]、[方式B1]及[方式B2]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,B为-S-基。

[0304] [方式C1]

[0305] 根据[方式A1]～[方式A7]及[方式B1]～[方式B3]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,a为1～10的整数。

[0306] [方式C2]

[0307] 根据[方式A1]～[方式A7]及[方式B1]～[方式B3]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,a为1～8的整数。

[0308] [方式C3]

[0309] 根据[方式A1]～[方式A7]及[方式B1]～[方式B3]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,a为2～8的整数。

[0310] [方式C4]

[0311] 根据[方式C1]～[方式C3]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,a为4～8的整数。

[0312] [方式D1]

[0313] 根据[方式A1]～[方式A7]、[方式B1]～[方式B3]、及[方式C1]～[方式C4]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,D为从抗肿瘤性药物分子或者其类似物、或它们的衍生物的任意位置中除去1个氢原子或1个羟基而成的残基。

[0314] [方式D2]

[0315] 根据[方式A1]～[方式A7]、[方式B1]～[方式B3]、及[方式C1]～[方式C4]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,D为:从喜树碱;澳瑞他汀E(AE)或一甲基澳瑞他汀E(MMAE);美登素;PBD(吡咯苯并二氮卓)二聚体;艾日布林;5-FU;PD-318088;AS-703026;TAK-733;LY-3023414;卡奇霉素;紫杉醇;多西他赛;丝裂霉素C;博来霉素;环胞苷;长春新碱;长春碱;道诺霉素;阿霉素;多卡霉素;尾海兔素10;superdox;环丙沙星;卡德沙星(CS-940);或者这些抗肿瘤性药物的类似物;或所述抗肿瘤性药物分子或者它们的类似物的衍生物的任意位置除去1个氢原子或1个羟基而成的残基。

[0316] [方式D3]

[0317] 根据[方式A1]～[方式A7]、[方式B1]～[方式B3]、及[方式C1]～[方式C4]、中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,D为从喜树碱;澳瑞他汀E(AE)或一甲基澳瑞他汀E(MMAE);美登素;PBD(吡咯苯并二氮卓)二聚体;艾日布林;5-FU;PD-318088;AS-703026;TAK-733;LY-3023414;卡奇霉素;紫杉醇;多西他赛;丝裂霉素C;博来霉素;环胞苷;长春新碱;长春碱;道诺霉素;阿霉素;多卡霉素;尾海兔素10;superdox;或者这些抗肿瘤性药物的类似物;或上述抗肿瘤性药物分子或者它们的类似物的衍生物的任意位置除去1个氢原子或1个羟基而成的残基。

[0318] [方式D4]

[0319] 根据[方式A1]～[方式A7]、[方式B1]～[方式B3]、及[方式C1]～[方式C4]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,D为从喜树碱;澳瑞他汀E(AE)或一甲基澳瑞他汀E(MMAE);美登素;PBD(吡咯苯并二氮卓)二聚体;艾日布林;或者这些抗肿瘤性药物的类似物;或所述抗肿瘤性药物分子或者它们的类似物的衍生物的任意位置除去1个氢原子或1个羟基而成的残基。

[0320] [方式D5]

[0321] 根据[方式A1]～[方式A7]、[方式B1]～[方式B3]、及[方式C1]～[方式C4]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,D为从喜树碱;澳瑞他汀E(AE)或一甲基澳瑞他汀E(MMAE);艾日布林;或者这些抗肿瘤性药物的类似物;或所述抗肿瘤性药物分子或者它们的类似物的衍生物的任意位置除去1个氢原子或1个羟基而成的残基。

[0322] [方式D6]

[0323] 根据[方式A1]～[方式A7]、[方式B1]～[方式B3]、[方式C1]～[方式C4]、及[方式D1]～[方式D5]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,D为从分子内存在的羟基的至少一个被磷酸酯化的抗肿瘤性药物或者这些抗肿瘤性药物的类似物;或上述抗肿瘤性药物分子或者它们的类似物的衍生物的任意位置除去1个氢原子或1个羟基而成的残基。

[0324] [方式E1]

[0325] 根据[方式A1]～[方式A7]、[方式B1]～[方式B3]、[方式C1]～[方式C4]、及[方式D1]～[方式D6]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,L为将B和D连接的连接子。

[0326] [方式E2]

[0327] 根据[方式A1]～[方式A7]、[方式B1]～[方式B3]、[方式C1]～[方式C4]、[方式D1]～[方式D6]、及[方式E1]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,L为任选被取代的亚烷基;

[0328] 该亚烷基的链中的1个以上的亚甲基任选与独立地选自由

[0329] -C(R^1)(R^2)-;-O-;-N(R^3)-;-N(R^3)-N(R^3)-;-S-;-Se-;-Si(R^4)(R^5)-;-S-S-;-Se-Se-;-SOm-;-SeOn-;-C(=C(R^6)(R^7))-;-C(=O)-;-C(=S)-;-C(=N(R^8))-;-C(=N-OR^9)-;-C(=N-N(R^{10})(R^{11}))-;-P(=O)(R^{12})-;-P(=O)(OR^{13})-;-O-P(=O)(R^{12})-O-;-O-P(=O)(OR^{13})-O-;-O-P(=S)(OR^{13})-O-;-O-P(=O)(OR^{13})-S-;-C(R^{14})=;=C(R^{14})-;-C(R^{14})=C(R^{14})-;-N=;=N-;-C≡C-;-(O-C(R^1)(R^2)-C(R^1)(R^2))$_{1-30}$-;-(C(R^1)(R^2)-C(R^1)(R^2)-O)$_{1-30}$-;任选被取代的亚烯基、任选被取代的亚炔基、任选被取代的亚环烷基;任选被取代的亚环烯基;任选被取代的亚环炔基;任选被取代的氮杂亚环炔基;任选被取代的亚芳基;任选被取代的亚杂芳基;及任选被取代的亚杂环基组成的组中的1个以上的2价基团进行替换,

[0330] R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{10}、R^{11}、R^{12}、R^{13}、及R^{14}各自独立地为选自由氢原子、任选被取代的烷基、任选被取代的烯基、任选被取代的炔基、任选被取代的环烷基、任选被取代的环烯基、任选被取代的环炔基、任选被取代的氮杂环炔基、任选被取代的芳基、任选被取代的杂芳基、及任选被取代的杂环基组成的组中的基团,R^3为烷基时,该烷基任选与邻接的亚甲基中的烷基一起形成环状结构,

[0331] m及n各自独立地为0～2的整数。

[0332] [方式E3]

[0333] 根据[方式A1]～[方式A7]、[方式B1]～[方式B3]、[方式C1]～[方式C4]、[方式D1]～[方式D6]、及[方式E1]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,L为任选被取代的亚烷基;

[0334] 该亚烷基的链中的一个以上亚甲基与从下述化学式组中独立地选择的1个以上的2价基团进行了替换。

[0335] 化学式组:

[0336] -O-C(H或C_1-C_4烷基)(H或C_1-C_4烷基)-;

[0337] -S-C(H或C_1-C_4烷基)(H或C_1-C_4烷基)-;

[0338] -N(H或C_1-C_4烷基)-;

[0339] -N(H或C_1-C_4烷基)-O-C(H或C_1-C_4烷基)(C(H或C_1-C_4烷基)-;

[0340] -C(H或C_1-C_4烷基)-SO_{0-2}-C(H或C_1-C_4烷基)-;

[0341] -C(H或C_1-C_4烷基)-S-S-C(H或C_1-C_4烷基)-;

[0342] -C(H或C_1-C_4烷基)=C(H或C_1-C_4烷基)-;

[0343] -C(H或C_1-C_4烷基)=N-;

[0344] -C(H或C_1-C_4烷基)=N-O-;

[0345] -C(H或C_1-C_4烷基)=N-N(H或C_1-C_4烷基)-;

[0346] -C(=C(H或C_1-C_4烷基)(H或C_1-C_4烷基))-;

[0347] -C(=N-O(H或C_1-C_4烷基))-;

[0348] -C(=N-N(H或C_1-C_4烷基)(H或C_1-C_4烷基))-;

[0349] -O-Si(C_1-C_4烷基CH_3)(C_1-C_4烷基)-O-;

[0350] -C(H或C_1-C_4烷基)-N(C_1-C_4烷基)-CH_2-;

[0351] -C(H或C_1-C_4烷基)(H或C_1-C_4烷基)-C(=O)-C(H或C_1-C_4烷基)(H或C_1-C_4烷基)-;

[0352] -C(=O)-O-;

[0353] -C(=O)-S-;

[0354] -C(=O)-N(H或C_1-C_4烷基)-;

[0355] -O-C(=O)-O-;

[0356] -N(H或C_1-C_4烷基)-C(=O)-N(H或C_1-C_4烷基)-;

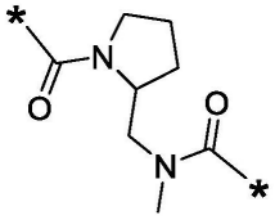
[0357] -C(=O)-N(H或C_1-C_4烷基)-C(H或C_1-C_4烷基)(H或C_1-C_4烷基)-;

[0358] -C(=O)-$(CH_2)_{1-10}$-$(O-CH_2CH_2)_{1-20}$-O-$(CH_2)_{1-10}$-C(=O)-;

[0359] -C(=O)-$(CH_2)_{1-10}$-$(O-CH_2CH_2)_{1-20}$-O-$(CH_2)_{1-10}$-CH_2-NH-;

[0360] -NH-CH_2-$(CH_2)_{1-10}$$(O-CH_2CH_2)_{1-20}$-O-$(CH_2)_{1-10}$-$CH_2$-NH-;

[0361] -C(=O)-N(C_1-C_4烷基)-CH_2CH_2-N(C_1-C_4烷基)-C(=O)-;

[0362] 

[0363] [式中,*为与邻接基团的键合点];

[0364] -P(=O)(OH)-O-;

[0365] -O-P(=O)(OH)-O-;

[0366] -O-P(=S)(OH)-O-;

[0367] -O-P(=O)(OH)-S-;

[0368] -O-P(=O)(OH)-O-P(=O)(OH)-O-;

[0369] -O-P(=O)(OH)-O-P(=O)(OH)-O-P(=O)(OH)-O-;

[0370] -CH(CH_2-NH_2)-;

[0371] -CH(CH_2-NH(C_1-C_4烷基))-;

[0372] -CH(CH_2-N(C_1-C_4烷基)$_2$)-;

[0373] -CH(CH_2-NH-C(=O)-$(CH_2CH_2$-O-$)_{0-20}$-C_1-C_4烷基)-;

[0374] -CH(CH_2-NH-C(=O)-$(CH_2)_{0-20}$-内酯基)-;

[0375] -CH(CH_2-NH-C(=O)-$(CH_2CH_2$-O-$)_{1-20}$-$(CH_2)_{1-10}$-CH_2-内酯基)-;

[0376] -CH(CH_2-NH-C(=O)-$(CH_2CH_2$-O-$)_{1-20}$-$(CH_2)_{1-10}$-CH_2-NH-内酯基)-;

[0377] -CH(CH_2-NH-C(=O)-$(CH_2CH_2$-O-$)_{1-20}$-$(CH_2)_{1-10}$-CH_2-NH-C(=O)-内酯基)-;

[0378] -CH(CH_2-NH-C(=O)-$(CH_2CH_2$-O-$)_{1-20}$-$(CH_2)_{1-10}$-C(=O)-NH-内酯基)-;

[0379] -CH(CH_2-NH-$(CH_2)_{1-20}$-$(O)_{0-1}$-(P(=O)$(OH)_2$)-;

[0380] -CH(CH_2-NH-C(=O)-$(CH_2)_{1-20}$-(P(=O)$(OH)_2$)-;

[0381] -CH(CH_2-NH-C(=O)-$(CH_2)_{1-20}$-C(=O)-NH-$(CH_2)_{1-10}$-(P(=O)$(OH)_2$)-;

[0382] -CH(CH_2-NH-C(=O)-$(CH_2CH_2$-O-$)_{1-20}$-$(CH_2)_{1-10}$-CH_2-(P(=O)$(OH)_2$)-;

[0383] -CH(CH_2-NH-C(=O)-$(CH_2CH_2$-O-$)_{1-20}$-$(CH_2)_{1-10}$-C(=O)-NH-$(CH_2)_{1-10}$-(P(=O)$(OH)_2$)-;

[0384] -CH(CH$_2$-NH-(CH$_2$)$_{1-10}$-C(H、OH、Cl、NH$_2$、或C$_1$-C$_4$烷基)(P(=O)(OH)$_2$)$_2$)-；

[0385] -CH(CH$_2$-NH-C(=O)-(CH$_2$)$_{1-10}$-C(=O)-NH-(CH$_2$)$_{1-10}$-C(H、OH、Cl、NH$_2$、或C$_1$-C$_4$烷基)(P(=O)(OH)$_2$)$_2$)-；

[0386] -CH(CH$_2$-NH-C(=O)-(CH$_2$CH$_2$-O-)$_{1-20}$-(CH$_2$)$_{1-10}$-C(=O)-NH-(CH$_2$)$_{1-10}$-C(H、OH、Cl、NH$_2$、或C$_1$-C$_4$烷基)(P(=O)(OH)$_2$)$_2$)-；

[0387] -(cis)-CH=CH-P(=O)(O-CH$_2$CH$_3$)-NH-(亚苯基)-C(=O)-；

[0388] -C(=O)-(亚环己基)-；

[0389] -(亚琥珀酰亚胺基)-；

[0390] -Ser-；

[0391] -Cys-；

[0392] -Ama-：

[0393] -Asp-；

[0394] -Glu-；

[0395] -Orn-；

[0396] -Lys-；

[0397] -ValLys-；

[0398] -ValCit-；

[0399] -ValAla-；

[0400] -GlyGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH$_2$-；

[0401] -PheLys-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH$_2$-；

[0402] -ValLys-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH$_2$-；

[0403] -ValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH$_2$-；

[0404] -ValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH$_2$-；

[0405] -AspValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH$_2$-；

[0406] -GluValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH$_2$-；

[0407] -LysValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH$_2$-；

[0408] -SerValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH$_2$-；

[0409] -AspValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH$_2$-；

[0410] -GluValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH$_2$-；

[0411] -LysValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH$_2$-；

[0412] -SerValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH$_2$-；

[0413] -GlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH$_2$-；

[0414] -AspGlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH$_2$-；

[0415] -GluGlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH$_2$-；

[0416] -LysGlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH$_2$-；

[0417] -SerGlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH$_2$-；

[0418] -AspAspAspAspAsp-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH$_2$-；

[0419] -GlyGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH$_2$-O-C(=O)-；

[0420] -PheLys-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH$_2$-O-C(=O)-；

[0421] -ValLys-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0422] -ValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0423] -ValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0424] -AspValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0425] -LysAspValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

[0426] -GluValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0427] -LysValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0428] -SerValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0429] -AspValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0430] -GluValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0431] -LysValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0432] -SerValAla-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0433] -GlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0434] -AspGlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0435] -GluGlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0436] -LysGlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0437] -SerGlyGlyPheGly-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0438] -AspAspAspAspAsp-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-O-C(=O)-;

[0439] -GlyGlyPheGly-C(=O)-NH-CH_2-;

[0440] -AspGlyGlyPheGly-C(=O)-NH-CH_2-;

[0441] (在上述氨基酸残基、及肽中的氨基酸残基中,

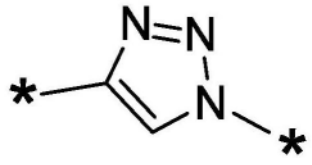
[0442] Ama、Asp、及Glu的侧链的羧基任选形成(烷基)酯、(氨基烷基)酯、((N-烷基氨基)烷基)酯、((N,N-二烷基氨基)烷基)酯、((三烷基铵)烷基)酯、(内酯基)酯、((内酯基)烷基)酯、((磷酰基)烷基)酯、或((双磷酰基)烷基)酯,另外,任选形成未取代酰胺、烷基酰胺、二烷基酰胺、((N-烷基氨基)烷基)酰胺、((N,N-二烷基氨基)烷基)酰胺、((三烷基铵)烷基)酰胺、(内酯基)酰胺、((内酯基)烷基)酰胺、(磷酰基)酰胺、((磷酰基)烷基)酰胺、或((双

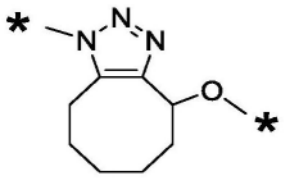
[0443] 磷酰基)烷基)酰胺,

[0444] Lys及Orn的侧链的氨基任选具有1个或2个烷基、烷基羰基、(氨基烷基)羰基、((N-烷基氨基)烷基)羰基、((N,N-二烷基氨基)烷基)羰基、((三烷基铵)烷基)羰基、内酯基、(内酯基)烷基、(内酯基)羰基、((内酯基)烷基)羰基、磷酰基、(磷酰基)烷基、((磷酰基)烷基)羰基、(双磷酰基)烷基、或((双磷酰基)烷基)羰基作为取代基,

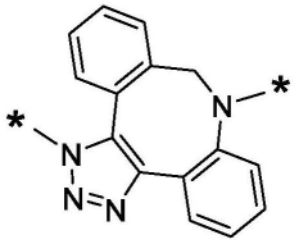
[0445] Ser的侧链的羟基和Cys的侧链的巯基任选具有烷基、烷基羰基、氨基烷基、(氨基烷基)羰基、(N-烷基氨基)烷基、((N-烷基氨基)烷基)羰基、(N,N-二烷基氨基)烷基、((N,N-二烷基氨基)烷基)羰基、(三烷基铵)烷基、((三烷基铵)烷基)羰基、内酯基、(内酯基)烷基、(内酯基)羰基、((内酯基)烷基)羰基、磷酰基、(磷酰基)烷基、((磷酰基)烷基)羰基、(双磷酰基)烷基、或((双磷酰基)烷基)羰基作为取代基。)

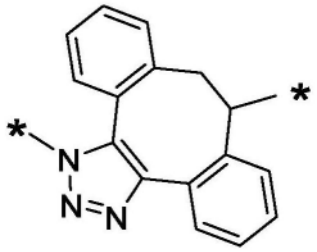
[0446] 及下述式的1,2,3-亚三唑基。



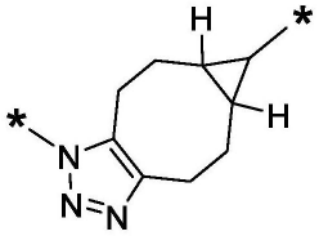


[0447]





[0448]



[0449] [式中,*为与邻接基团的键合点。]

[0450] [方式E4]

[0451] 根据[方式A1]～[方式A7]、[方式B1]～[方式B3]、[方式C1]～[方式C4]、[方式D1]～[方式D6]、及[方式E1]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,L为任选被取代的亚烷基;

[0452] 该亚烷基的链中的一个以上亚甲基与从下述化学式组中独立地选择的1个以上的2价基团进行了替换。

[0453] 化学式组:

[0454] -O-;

[0455] -C(=O)-;

[0456] -N(H或C_1-C_4烷基)-;

[0457] -O-C(H或C_1-C_4烷基)(H或C_1-C_4烷基)-;

[0458] 任选被取代的亚苯基;

[0459] -C(H或C_1-C_4烷基)-N(C_1-C_4烷基)-CH_2-;

[0460] -C(=O)-O-;

[0461] -O-C(=O)-O-;

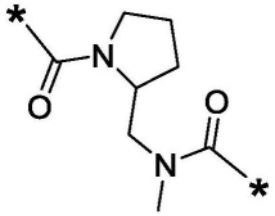
[0462] -C(=O)-N(H或C_1-C_4烷基)-C(H或C_1-C_4烷基)(H或C_1-C_4烷基)-;

[0463] -C(=O)-$(CH_2)_{1-10}$-$(O-CH_2CH_2)_{1-20}$-O-$(CH_2)_{1-10}$-C(=O)-;

[0464] -C(=O)-$(CH_2)_{1-10}$-$(O-CH_2CH_2)_{1-20}$-O-$(CH_2)_{1-10}$-CH_2-NH-;

[0465] -NH-CH_2-$(CH_2)_{1-10}$$(O-CH_2CH_2)_{1-20}$-O-$(CH_2)_{1-10}$-$CH_2$-NH-;

[0466] -C(=O)-N(C_1-C_4烷基)-CH_2CH_2-N(C_1-C_4烷基)-C(=O)-;

[0467] 

[0468] [式中,*为与邻接基团的键合点];

[0469] -O-P(=O)(OH);

[0470] -O-P(=O)(OH)-O-;

[0471] -O-P(=O)(OH)-O-P(=O)(OH)-O-;

[0472] -CH(CH_2-NH-C(=O)-$(CH_2)_{0-20}$-内酯基)-;

[0473] -CH(CH_2-NH-$(CH_2)_{1-20}$-$(O)_{0-1}$-$(P(=O)(OH)_2)$-;

[0474] -CH(CH_2-NH-C(=O)-$(CH_2)_{1-20}$-$(P(=O)(OH)_2)$-;

[0475] -CH(CH_2-NH-C(=O)-$(CH_2CH_2-O-)_{1-20}$-$(CH_2)_{1-10}$-C(=O)-NH-$(CH_2)_{1-10}$-C(H、OH、Cl、NH_2、或C_1-C_4烷基)$(P(=O)(OH)_2)_2$)-;

[0476] -(亚琥珀酰亚胺基)-;

[0477] -Asp-;

[0478] -Lys-;

[0479] -Phe-;

[0480] -Val-;

[0481] -Cit-;

[0482] -ValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

[0483] -AspValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

[0484] -LysAspValCit-C(=O)-NH-(任选被取代的亚苯基)-CH_2-;

[0485] -GlyGlyPheGly-C(=O)-NH-CH_2-;

[0486] -AspGlyGlyPheGly-C(=O)-NH-CH_2-;

[0487] (在上述氨基酸残基、及肽中的氨基酸残基中,

[0488] Asp侧链的羧基可以形成(内酯基)酰胺,

[0489] Lys侧链的氨基任选具有2个烷基作为取代基。)

[0490] [方式E5]

[0491] 根据[方式E2]~[方式E4]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受

的盐、或它们的水合物,其中,L为任选被取代的C_{10}-C_{50}亚烷基。

[0492] [方式E6]

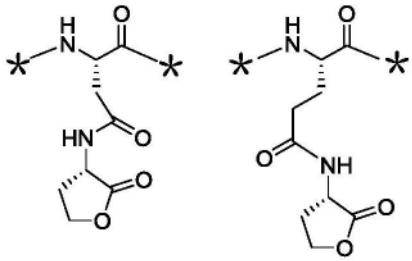
[0493] 根据[方式E2]~[方式E4]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,L为任选被取代的C_{15}-C_{40}亚烷基。

[0494] [方式E7]

[0495] 根据[方式E2]~[方式E4]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,L为任选被取代的C_{20}-C_{35}亚烷基。

[0496] [方式E8]

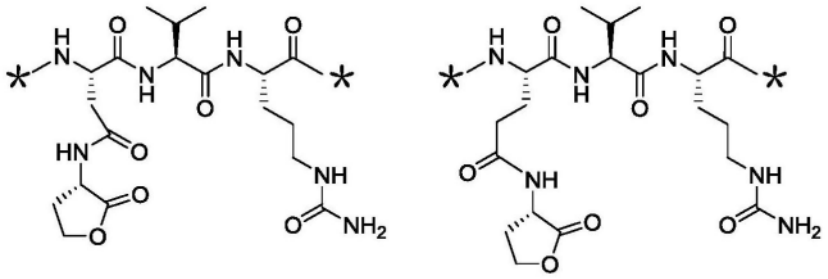
[0497] 根据[方式A1]~[方式A7]、[方式B1]~[方式B3]、[方式C1]~[方式C4]、[方式D1]~[方式D6]、及[方式E1]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,L中包含选自下述中的1个以上结构。

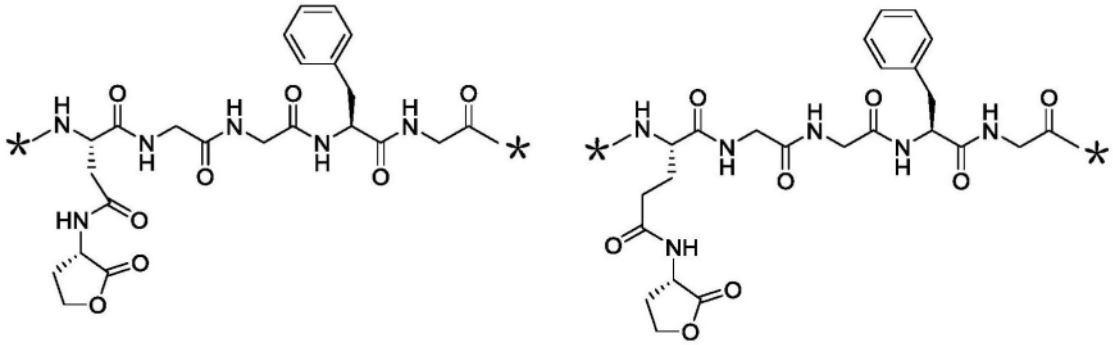
[0498] 

[0499] [式中,*为与邻接基团的键合点。]

[0500] [方式E9]

[0501] 根据[方式A1]~[方式A7]、[方式B1]~[方式B3]、[方式C1]~[方式C4]、[方式D1]~[方式D6]、及[方式E1]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,L中包含选自下述中的1个以上结构。



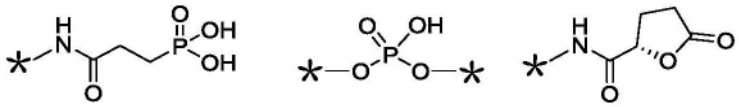
[0502] 

[0503] [式中,*为与邻接基团的键合点。]

[0504] [方式E10]

[0505] 根据[方式E8]或[方式E9]所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或

它们的水合物,其中,L中还包含选自下述中的1个以上结构。

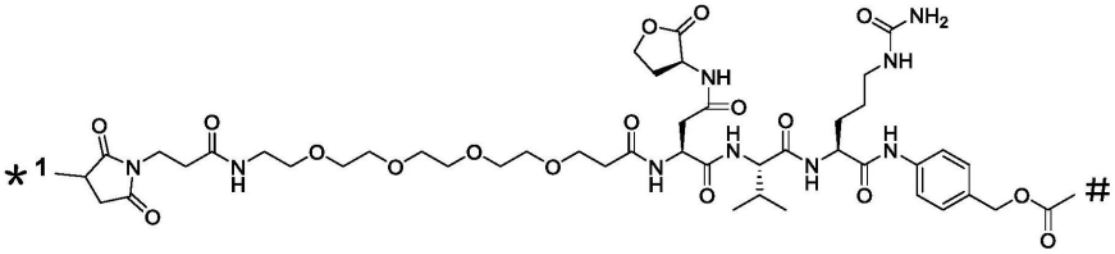
[0506] 

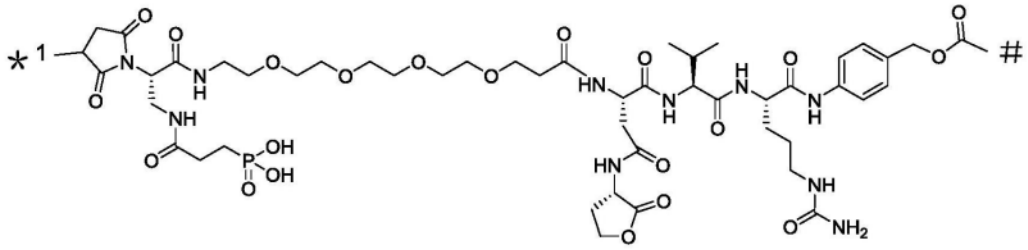
[0507] [式中,*为与邻接基团的键合点。]

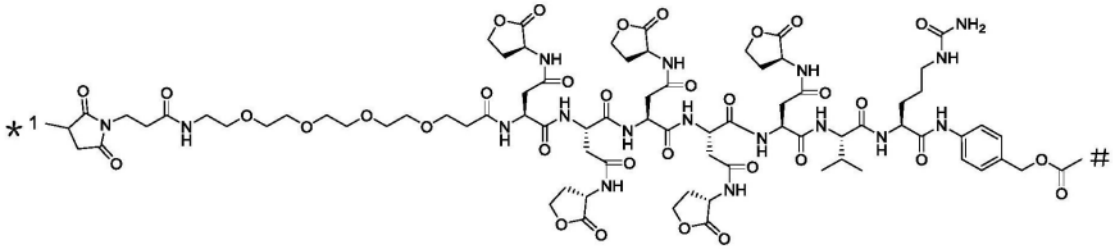
[0508] [方式E11]

[0509] 根据[方式A1]~[方式A7]、[方式B1]~[方式B3]、[方式C1]~[方式C4]、[方式D1]~[方式D6]、及[方式E1]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,L为选自下述化学式组中的任意2价基团。

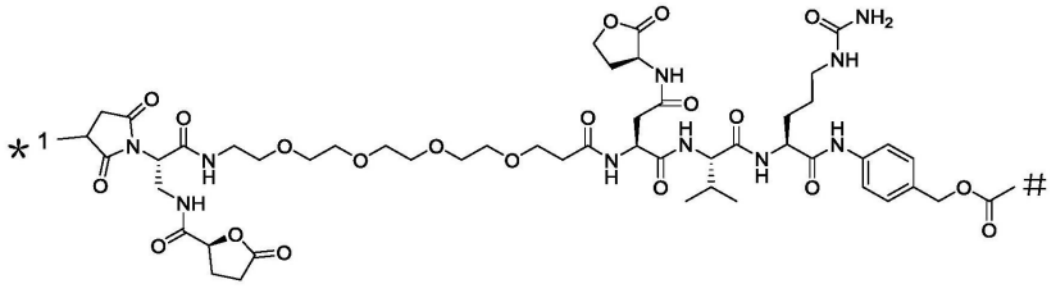
[0510] 化学式组:

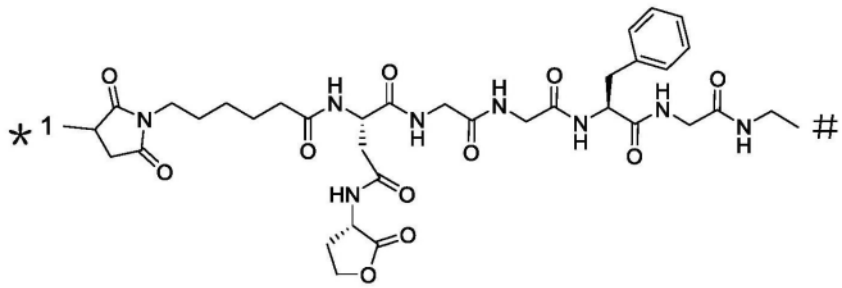
[0511] 

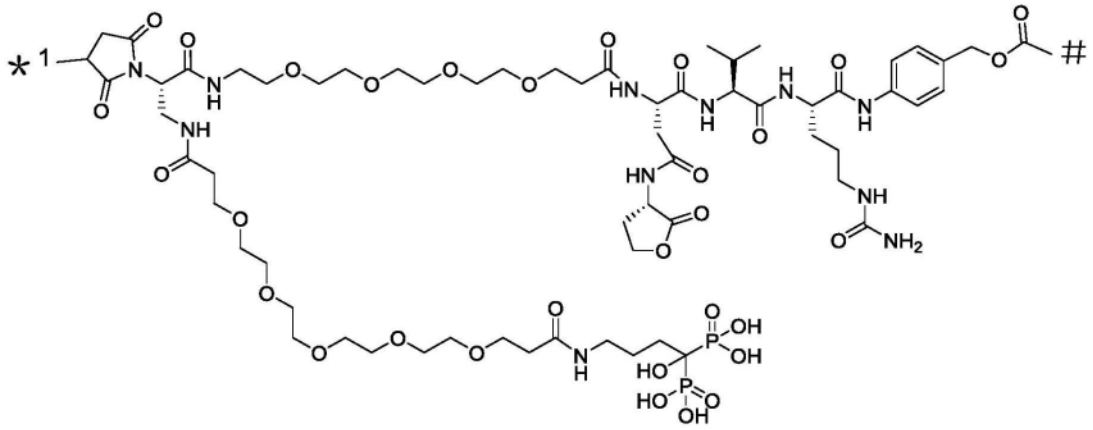


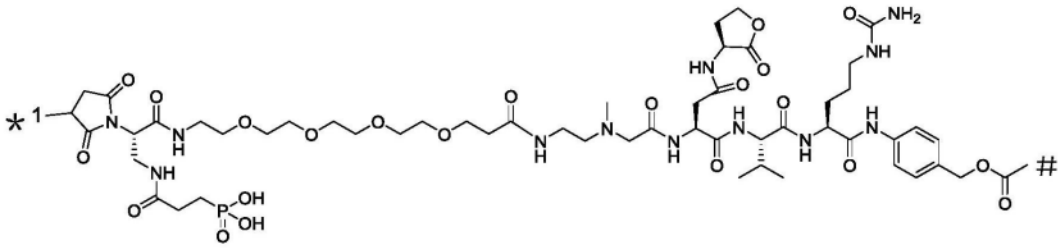


[0512]

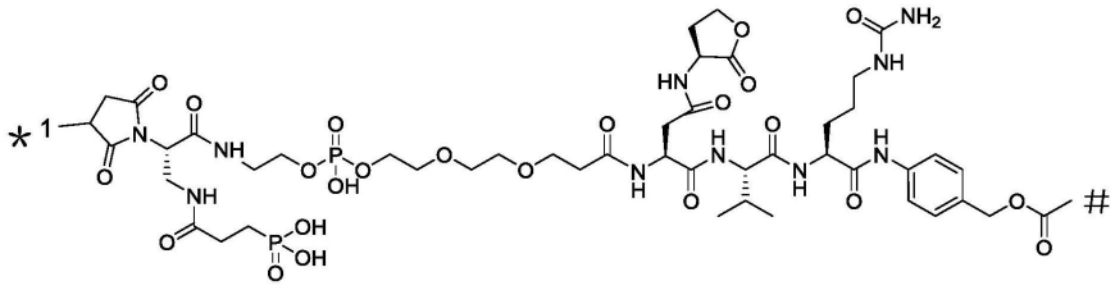


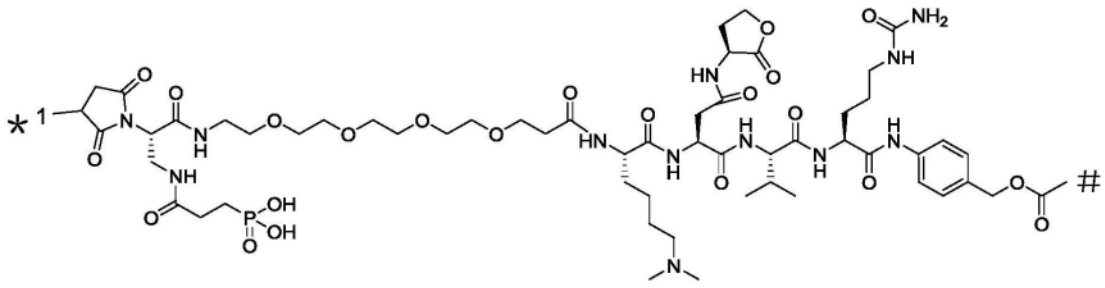


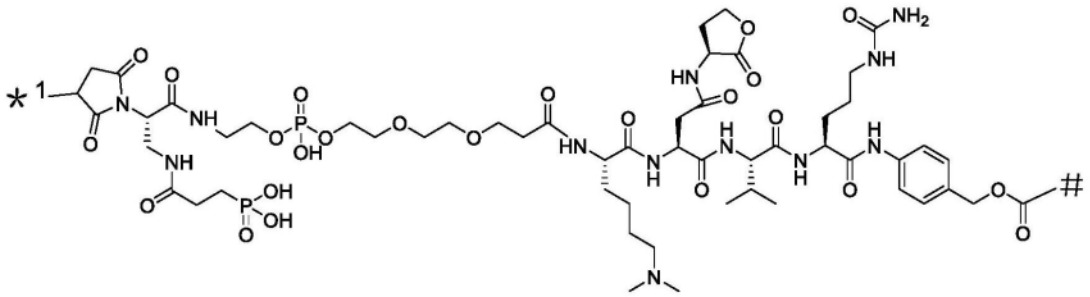


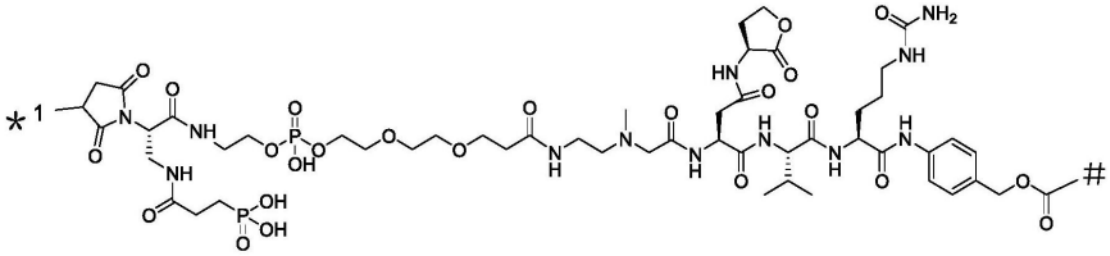


[0513]

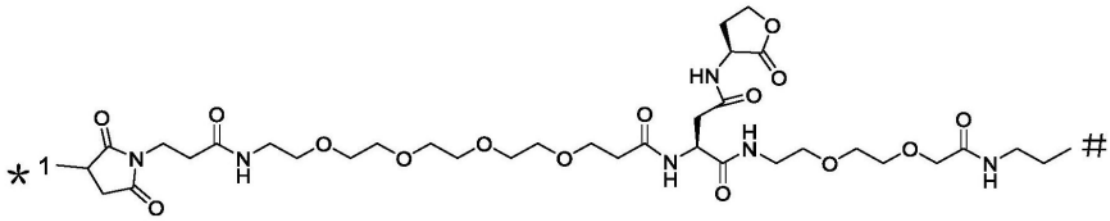


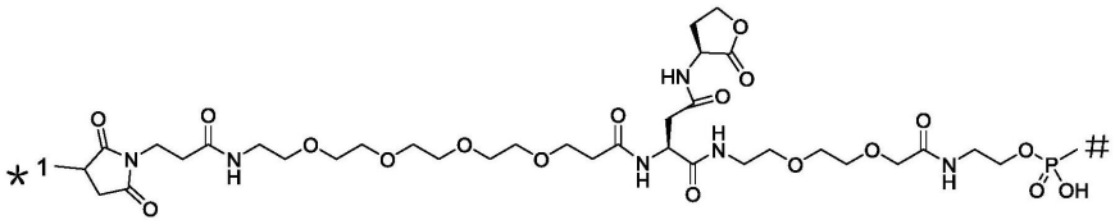


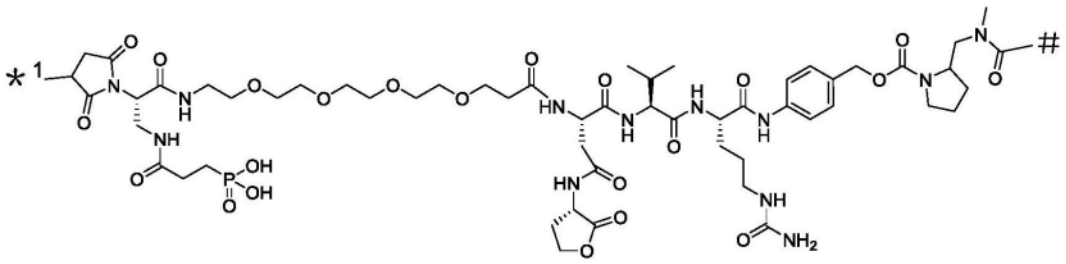


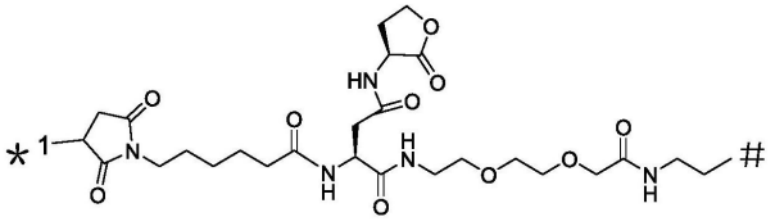


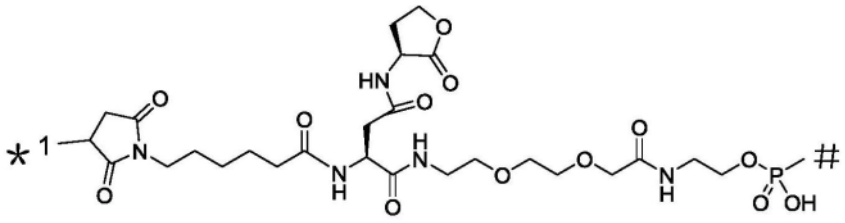
[0514]



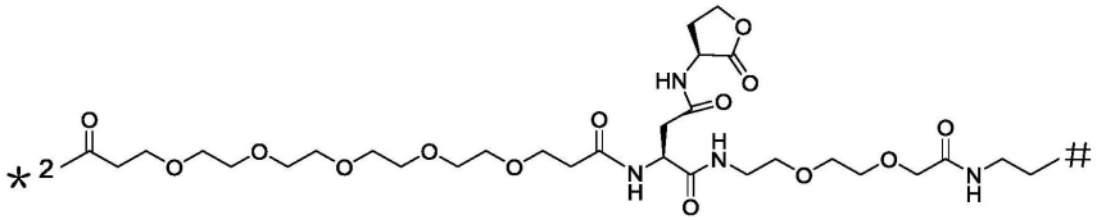


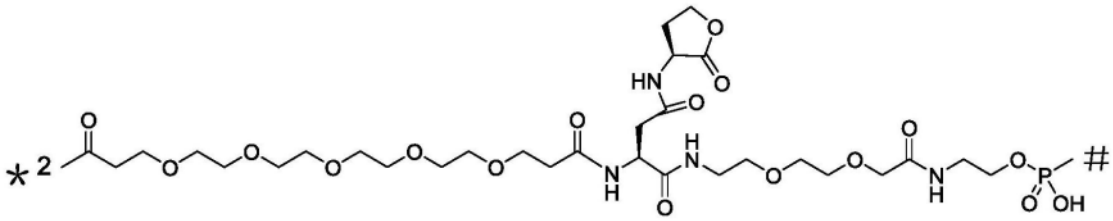


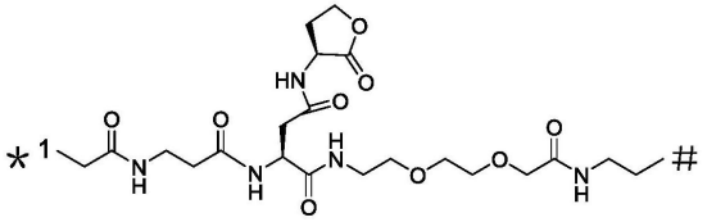




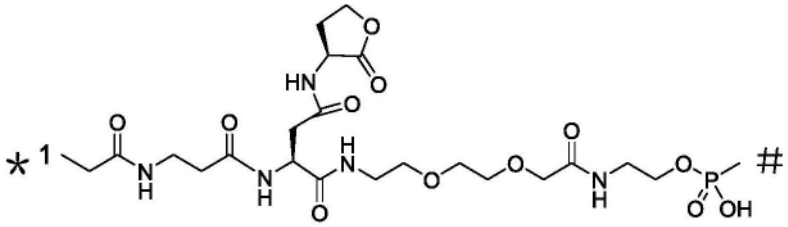
[0515]







[0516]



[0517] [式中,*1为与抗体残基A-S-的键合点,*2为与抗体残基A-NH-的键合点,#为与抗肿瘤性药物残基D-的键合点]

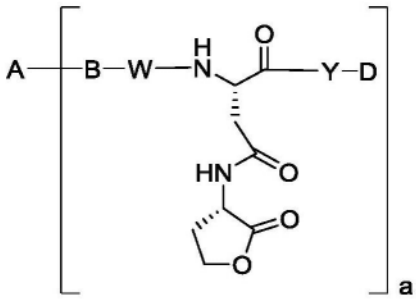
[0518] [方式E12]

[0519] 根据[方式A1]～[方式A7]、[方式B1]～[方式B3]、[方式C1]～[方式C4]、[方式D1]～[方式D6]、及[方式E1]～[方式E11]中任一项所述的抗体-药物偶联物(I)、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,D及L的至少任一者在任意位置具有1个以上的内酯基作为取代基或保护基,并且,与此独立地,

[0520] D或L的至少任一者在任意位置具有选自磷酰基(-P(=O)(OH)$_2$);磷酰基烷基羰基(-C(=O)-亚烷基-P(=O)(OH)$_2$);双磷酰基甲基(-C(H、OH、NH$_2$、Cl、或烷基)(P(=O)(OH)$_2$)$_2$);氨基;单烷基氨基;二烷基氨基;该二烷基一起形成环的环状氨基;及三烷基铵基中的1个以上基团作为取代基或保护基,该基团的总数为多个时,它们任选相同或不同。

[0521] [方式F1]

[0522] 一种抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,所述抗体-药物偶联物由下述通式(I-1)表示:

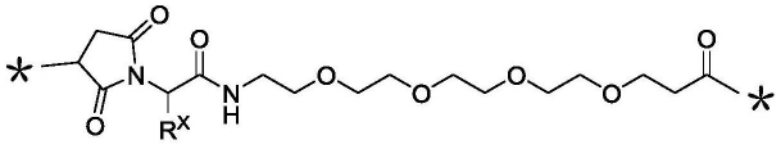
[0523] 

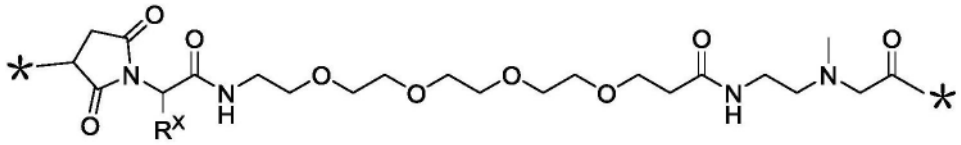
(I-1)

[0524] [式中,

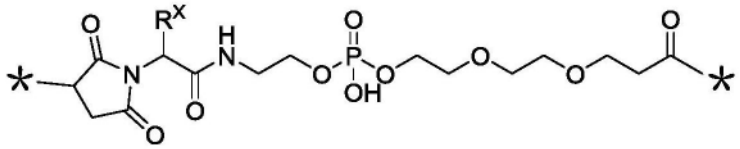
[0525] A、B、D、及a与上述含义相同,

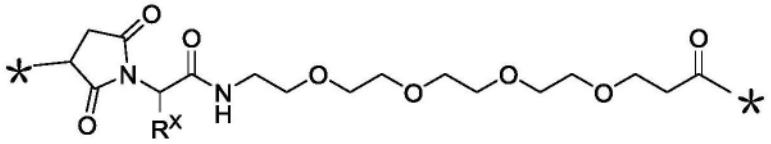
[0526] W为选自下述中的2价基团,

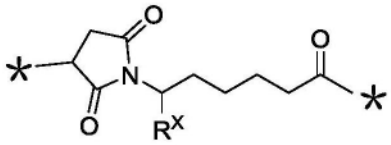




[0527]



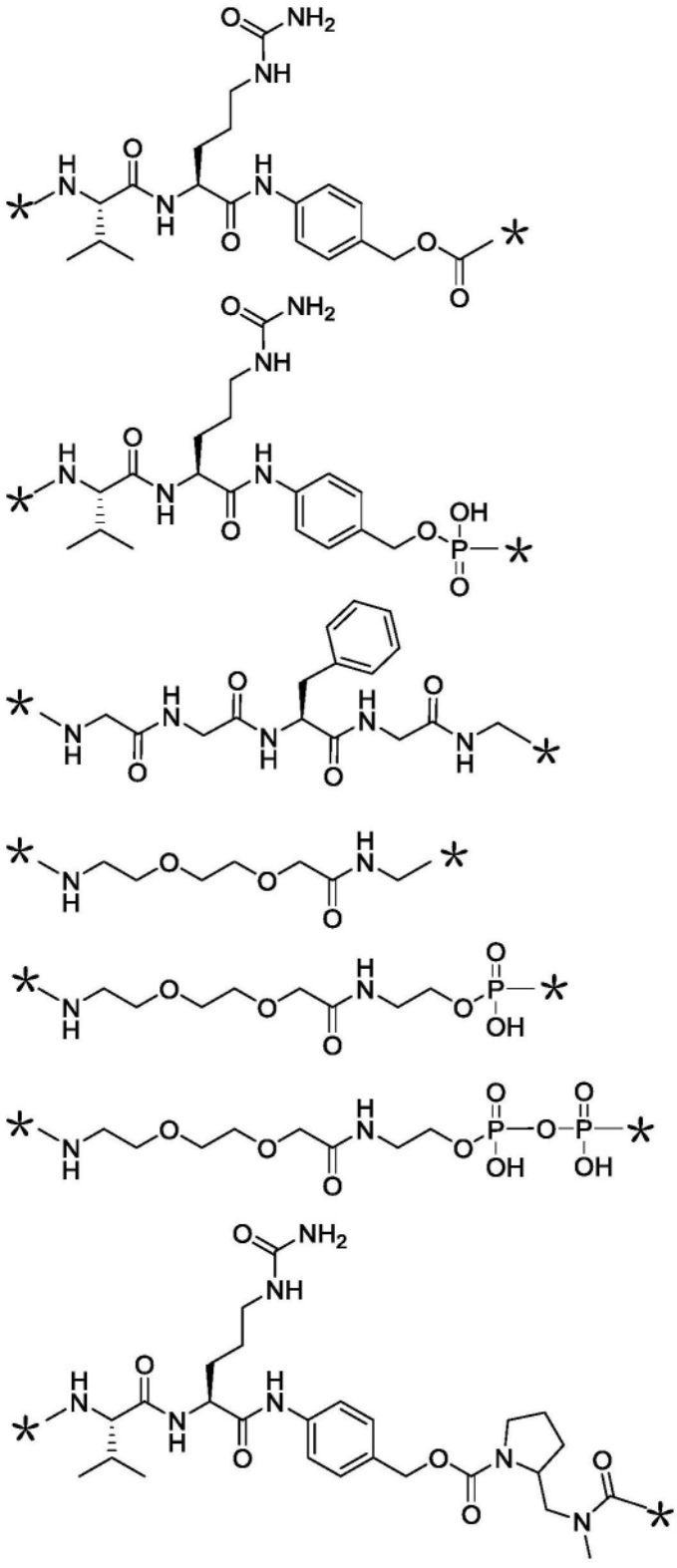




[0528] [式中,R^X为氢原子、-CH_2-NH-C(=O)-$(CH_2)_{0-4}$-内酯基、-CH_2-NH-C(=O)-$(CH_2)_{1-4}$-P(=O)$(OH)_2$、-CH_2-NH-C(=O)-$(CH_2)_{1-4}$-O-P(=O)$(OH)_2$、-CH_2-NH-C(=O)-$(CH_2CH_2$-O-$)_{1-10}$-$(CH_2)_{1-4}$-C(=O)-NH-$(CH_2)_{1-4}$-P(=O)$(OH)_2$、或-CH_2-NH-C(=O)-$(CH_2CH_2$-O-$)_{1-10}$-$(CH_2)_{1-4}$-C(=O)-NH-$(CH_2)_{1-4}$-C(H、OH、Cl、NH_2、或C_1-C_4烷基)$(P(=O)(OH)_2)_2$;

[0529] *为与邻接基团的键合点。]

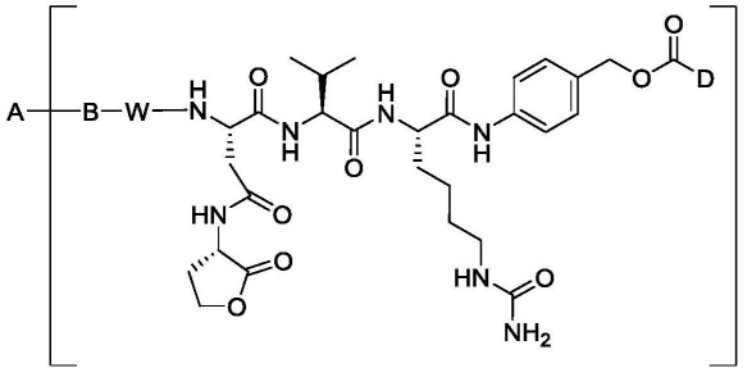
[0530] Y为选自下述中的2价基团。

[0531] 

[0532] [式中,*为与邻接基团的键合点。]]

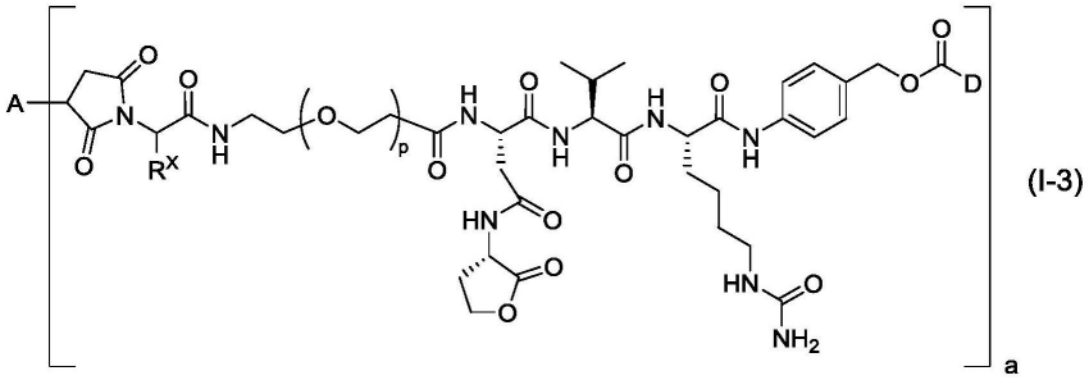
[0533] [方式F2]

[0534] 根据[方式F1]所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其由下述通式(I-2)或通式(I-3)表示:



(I-2)

[0535]



(I-3)

[0536] [式中,A、B、D、W、R^X、及a与上述含义相同,p为1～10的整数。]

[0537] [方式G1]

[0538] 一种使生物体内的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物稳定化的方法,其包含使1个以上的内酯基环替换至抗体-药物偶联物的连接子或抗肿瘤性药物残基中。

[0539] [方式G2]

[0540] 根据方式G1所述的方法,其包含使1个以上的磷酸进一步替换至抗体-药物偶联物的连接子或抗肿瘤性药物残基中。

[0541] [方式G3]

[0542] 一种使给药至生物体内后的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物的生存时间延长的方法,其包含使1个以上的内酯基环替换至抗体-药物偶联物的连接子或抗肿瘤性药物残基中。

[0543] [方式G4]

[0544] 一种使生物体内给药后的稳定化增加的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐,其包含被内酯基环替换的连接子或抗肿瘤性药物残基。

[0545] [方式H1]

[0546] 一种抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,所述抗体-药物偶联物为包含抗体和抗肿瘤性药物分子的抗体-药物偶联物,抗体和抗肿瘤性药物分子借助连接子通过共价键连接,连接子利用内酯基进行了修饰。

[0547] [方式H2]

[0548] 一种抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,所述抗体-药物偶联物为包含抗体和抗肿瘤性药物分子的抗体-药物偶联物,抗体和抗肿瘤性药物分

子借助连接子通过共价键连接,连接子利用内酯基进行修饰,由此,与不具有基于内酯基的修饰的抗体-药物偶联物相比较,显示出更高的血中稳定性。

[0549] [方式H3]

[0550] 根据上述[方式H1]或[方式H2]所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,内酯基包含选自由α-乙内酯基、β-丙内酯基、γ-丁内酯基、及δ-戊内酯基组成的组中的1个以上内酯基。

[0551] [方式H4]

[0552] 根据上述[方式H1]~[方式H3]中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,抗体为源自抗HER2抗体、抗EGFR抗体、抗淋巴细胞抗原6E(Ly-6E)抗体、抗肝细胞生长因子受体(HGFR)抗体、抗CD22抗体、抗叶酸受体α(FRα)抗体、抗PSMA(FOLH1)抗体、抗CD30(TNFRSF8)抗体、抗TROP-2抗体、抗CD19抗体、抗5T4抗体、抗间皮素抗体、抗CD20抗体、抗CD33抗体、抗CDB7-H3抗体、抗CD269(BCMA)抗体、抗CD142抗体、抗CD70抗体、抗CD123抗体、抗TAG-72抗体、抗TFRC抗体、抗EPHA2抗体、抗EPHA3抗体、抗c-KIT抗体、抗PD-L1抗体、抗上皮细胞粘附分子(EPCAM)抗体、抗AXL抗体、抗白介素-1受体辅助蛋白抗体、抗粘蛋白-16(CA125)抗体、抗MUC1抗体、抗GPC3抗体、抗CLEC12A(CLL1)抗体、抗LRRC15抗体、抗ADAM9抗体、抗钠依赖性磷酸盐转运蛋白2B(SLC34A2)抗体、抗CD25抗体、抗ROR1抗体、抗TweakR抗体、抗CD74抗体、抗CEACAM5抗体、抗CD105抗体、抗CD79b抗体、抗CD147抗体、抗Sialyl-Tn抗体、抗GCC抗体、抗HER3抗体、抗整合素抗体、抗EGFR variant III抗体、抗紧密连接蛋白6抗体、抗富含亮氨酸重复序列的G蛋白偶联受体5抗体、抗PTK7抗体、抗LYPD3抗体、抗ASCT2抗体、抗ASPH抗体、抗GPC1抗体、抗CD174抗体、抗CD38抗体、抗ANGPT2抗体、抗CD44抗体、抗DDL3抗体、抗FGFR2抗体、抗KAAG1抗体、抗CD73抗体、抗CLDN18.2抗体、抗PRLR抗体、抗SEZ6抗体、抗脑啡肽酶抗体、抗神经细胞粘附分子1抗体、抗CD166(ALCAM)抗体、抗CD24抗体、抗CD27抗体、抗CDH3抗体、抗EPHA4抗体、抗FGFR3抗体、抗GFRAL抗体、抗Globo H抗体、抗IL-13Ra2抗体、抗STEAP-1抗体、抗TMCC3抗体、抗CD209抗体、抗CD37抗体、抗CD48抗体、抗CDCP1抗体、抗CD46抗体、抗CD200抗体、抗CXCR5抗体、抗FLT3抗体、抗SDC1(CD138)抗体、抗CLDN6/9抗体、抗CEACAM6抗体、抗CA9抗体、抗EDNRB抗体、抗GD3神经节苷脂抗体、抗MICA/B抗体、抗JAG1/2抗体、抗TM4SF1抗体、抗uPAR抗体、抗碳酸酐酶IX抗体、抗ALK1抗体、抗IGF-1R抗体、抗KDR抗体、抗CEACAM8抗体、抗IL5R抗体、抗CD205(Ly75)抗体、抗MSR1抗体、抗KREMEN2抗体、抗SSEA-4抗体、抗CD228抗体、抗CD5抗体、抗DLL4抗体、抗FAP抗体、抗Notch3抗体、抗AG7抗体、抗鸟苷酸环化酶抗体、抗粘连蛋白-4抗体、抗CD226(DNAM-1)抗体、抗FcRL5抗体、抗HLA-DR抗体、抗ITGB3抗体、抗DLK1抗体、抗CD157(BST1)抗体、抗CD56(NCAM1)抗体、抗MICA(MHC I类多肽相关序列A)抗体、抗SSEA-1抗体、抗TRAIL-R2(DR5)抗体、抗GPNMB抗体、抗CCR5抗体、抗LAMP1抗体、抗LGALS3BP抗体、抗ROR2抗体、抗DLL3抗体、抗ETBR抗体、抗LIV-1抗体、抗整合素αvβ6抗体、抗TIM-1抗体、抗AGS-16(ENPP3)抗体、抗SLITRK6抗体、抗GD2抗体、抗CD52抗体、抗CCR4抗体、抗VEGFR2抗体、抗PDGFR抗体、抗FGFR抗体、抗SLAMF7抗体、抗GD2神经节苷脂抗体、抗EPHA3抗体、抗整合素αvβ3抗体、抗AGS-5抗体、抗CA19-9抗体、抗PSA抗体、抗MAGE3抗体、抗转铁蛋白受体1(CD71)抗体、抗CEACAM1抗体、抗SLC3A2(CD98)抗体、抗ACVR1抗体、抗AG-7抗体、抗AMHR2抗体、抗ABCB1抗体、抗C16orf54抗体、抗组织蛋白酶D抗体、抗CCR7抗体、抗SLC44A4抗体、抗CD300LF抗体、抗DPEP3

抗体、抗FucGM1抗体、抗GPR20抗体、抗ITGB6抗体、抗类Lewis-A碳水化合物抗体、抗催乳素受体抗体、抗Sialyl Tn抗体、抗SLAMF6抗体、抗SLAMF7抗体、抗TRA-1-60抗体、抗蛋白裂解酶抗体、抗B7-H4抗体、抗Cripto抗体、抗CD99抗体、抗CanAg抗体、抗A33抗体、抗α10β1整合素抗体、抗ALPP抗体、抗CD248抗体、或抗GPRC5D抗体的抗体残基。

[0553] [方式H5]

[0554] 根据上述[方式H1]～[方式H4]中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,抗体为具有选自能够内化于靶细胞中的特性(内化活性)、及损伤靶细胞的特性(例如抗体依赖性细胞毒活性(ADCC)或补体依赖性细胞毒活性(CDC))中的1种以上特性。

[0555] [方式H6]

[0556] 根据上述[方式H1]～[方式H5]中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,抗体与抗肿瘤性药物分子的比(药物分子/抗体比、DAR)为约1～约8。

[0557] [方式H7]

[0558] 根据上述[方式H1]～[方式H5]中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,抗体与抗肿瘤性药物分子的比(药物分子/抗体比、DAR)为约4～约8。

[0559] [方式H8]

[0560] 根据上述[方式H1]～[方式H5]中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,抗体与抗肿瘤性药物分子的比(药物分子/抗体比、DAR)为约6～约8。

[0561] [方式H9]

[0562] 根据上述[方式H1]～[方式H5]中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,抗体与抗肿瘤性药物分子的比(药物分子/抗体比、DAR)为约7～约8。

[0563] [方式H10]

[0564] 根据上述[方式H1]～[方式H5]中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,抗体与抗肿瘤性药物分子的比(药物分子/抗体比、DAR)为约8。

[0565] [方式H11]

[0566] 根据上述[方式H1]～[方式H10]中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,抗体的亚类为IgG。

[0567] [方式H12]

[0568] 根据上述[方式H1]～[方式H11]中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,连接子为裂解性(优选可以响应肿瘤组织内环境而裂解)。

[0569] [方式H13]

[0570] 根据上述[方式H1]～[方式H11]中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物,其中,连接子为非裂解性(优选不能响应肿瘤组织内环境而裂解)。

[0571] [方式H14]

[0572] 一种组合物(优选药物组合物),其包含上述[方式H1]~[方式H13]中任一项所述的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物。

[0573] [方式I1]

[0574] 一种组合物,其为用于制造包含抗体、连接子、及抗肿瘤性药物分子的抗体-药物偶联物的组合物,其包含具有抗体反应性官能团的连接子及抗肿瘤性药物分子,连接子利用内酯基进行了修饰。

[0575] [方式I2]

[0576] 根据上述[方式I1]所述的组合物,其中,抗体反应性官能团包含马来酰亚胺基。

[0577] [方式I3]

[0578] 根据上述[方式I1]或[方式I2]所述的组合物,其中,内酯基包含选自由α-乙内酯基、β-丙内酯基、γ-丁内酯基、及δ-戊内酯基组成的组中的1个以上内酯基。

[0579] [方式I4]

[0580] 根据上述[方式I1]~[方式I3]中任一项所述的组合物,其中,抗体为源自抗HER2抗体、抗EGFR抗体、抗淋巴细胞抗原6E(Ly-6E)抗体、抗肝细胞生长因子受体(HGFR)抗体、抗CD22抗体、抗叶酸受体α(FRα)抗体、抗PSMA(FOLH1)抗体、抗CD30(TNFRSF8)抗体、抗TROP-2抗体、抗CD19抗体、抗5T4抗体、抗间皮素抗体、抗CD20抗体、抗CD33抗体、抗CDB7-H3抗体、抗CD269(BCMA)抗体、抗CD142抗体、抗CD70抗体、抗CD123抗体、抗TAG-72抗体、抗TFRC抗体、抗EPHA2抗体、抗EPHA3抗体、抗c-KIT抗体、抗PD-L1抗体、抗上皮细胞粘附分子(EPCAM)抗体、抗AXL抗体、抗白介素-1受体辅助蛋白抗体、抗粘蛋白-16(CA125)抗体、抗MUC1抗体、抗GPC3抗体、抗CLEC12A(CLL1)抗体、抗LRRC15抗体、抗ADAM9抗体、抗钠依赖性磷酸盐转运蛋白2B(SLC34A2)抗体、抗CD25抗体、抗ROR1抗体、抗TweakR抗体、抗CD74抗体、抗CEACAM5抗体、抗CD105抗体、抗CD79b抗体、抗CD147抗体、抗Sialyl-Tn抗体、抗GCC抗体、抗HER3抗体、抗整合素抗体、抗EGFR variant III抗体、抗紧密连接蛋白6抗体、抗富含亮氨酸重复序列的G蛋白偶联受体5抗体、抗PTK7抗体、抗LYPD3抗体、抗ASCT2抗体、抗ASPH抗体、抗GPC1抗体、抗CD174抗体、抗CD38抗体、抗ANGPT2抗体、抗CD44抗体、抗DDL3抗体、抗FGFR2抗体、抗KAAG1抗体、抗CD73抗体、抗CLDN18.2抗体、抗PRLR抗体、抗SEZ6抗体、抗脑啡肽酶抗体、抗神经细胞粘附分子1抗体、抗CD166(ALCAM)抗体、抗CD24抗体、抗CD27抗体、抗CDH3抗体、抗EPHA4抗体、抗FGFR3抗体、抗GFRAL抗体、抗Globo H抗体、抗IL-13Ra2抗体、抗STEAP-1抗体、抗TMCC3抗体、抗CD209抗体、抗CD37抗体、抗CD48抗体、抗CDCP1抗体、抗CD46抗体、抗CD200抗体、抗CXCR5抗体、抗FLT3抗体、抗SDC1(CD138)抗体、抗CLDN6/9抗体、抗CEACAM6抗体、抗CA9抗体、抗EDNRB抗体、抗GD3神经节苷脂抗体、抗MICA/B抗体、抗JAG1/2抗体、抗TM4SF1抗体、抗uPAR抗体、抗碳酸酐酶IX抗体、抗ALK1抗体、抗IGF-1R抗体、抗KDR抗体、抗CEACAM8抗体、抗IL5R抗体、抗CD205(Ly75)抗体、抗MSR1抗体、抗KREMEN2抗体、抗SSEA-4抗体、抗CD228抗体、抗CD5抗体、抗DLL4抗体、抗FAP抗体、抗Notch3抗体、抗AG7抗体、抗鸟苷酸环化酶抗体、抗粘连蛋白-4抗体、抗CD226(DNAM-1)抗体、抗FcRL5抗体、抗HLA-DR抗体、抗ITGB3抗体、抗DLK1抗体、抗CD157(BST1)抗体、抗CD56(NCAM1)抗体、抗MICA(MHC I类多肽相关序列A)抗体、抗SSEA-1抗体、抗TRAIL-R2(DR5)抗体、抗GPNMB抗体、抗CCR5抗体、抗LAMP1抗体、抗LGALS3BP抗体、抗ROR2抗体、抗DLL3抗体、抗ETBR抗体、抗LIV-1抗体、抗整合素αvβ6抗体、抗TIM-1抗

体、抗AGS-16(ENPP3)抗体、抗SLITRK6抗体、抗GD2抗体、抗CD52抗体、抗CCR4抗体、抗VEGFR2抗体、抗PDGFR抗体、抗FGFR抗体、抗SLAMF7抗体、抗GD2神经节苷脂抗体、抗EPHA3抗体、抗整合素αvβ3抗体、抗AGS-5抗体、抗CA19-9抗体、抗PSA抗体、抗MAGE3抗体、抗转铁蛋白受体1(CD71)抗体、抗CEACAM1抗体、抗SLC3A2(CD98)抗体、抗ACVR1抗体、抗AG-7抗体、抗AMHR2抗体、抗ABCB1抗体、抗C16orf54抗体、抗组织蛋白酶D抗体、抗CCR7抗体、抗SLC44A4抗体、抗CD300LF抗体、抗DPEP3抗体、抗FucGM1抗体、抗GPR20抗体、抗ITGB6抗体、抗类Lewis-A碳水化合物抗体、抗催乳素受体抗体、抗Sialyl Tn抗体、抗SLAMF6抗体、抗SLAMF7抗体、抗TRA-1-60抗体、抗蛋白裂解酶抗体、抗B7-H4抗体、抗Cripto抗体、抗CD99抗体、抗CanAg抗体、抗A33抗体、抗α10β1整合素抗体、抗ALPP抗体、抗CD248抗体、或抗GPRC5D抗体的抗体残基。

[0581] [方式I5]

[0582] 根据上述[方式I1]～[方式I4]中任一项所述的组合物,其中,抗体为具备选自能够内化于靶细胞中的特性(内化活性)、及损伤靶细胞的特性(例如抗体依赖性细胞毒活性(ADCC)或补体依赖性细胞毒活性(CDC))中的1种以上特性的抗体。

[0583] [方式I6]

[0584] 根据上述[方式I1]～[方式I5]中任一项所述的组合物,其中,抗体与抗肿瘤性药物分子的比(药物分子/抗体比、DAR)为约1～约8。

[0585] [方式I7]

[0586] 根据上述[方式I1]～[方式I5]中任一项所述的组合物,其中,抗体与抗肿瘤性药物分子的比(药物分子/抗体比、DAR)为约4～约8。

[0587] [方式I8]

[0588] 根据上述[方式I1]～[方式I5]中任一项所述的组合物,其中,抗体与抗肿瘤性药物分子的比(药物分子/抗体比、DAR)为约6～约8。

[0589] [方式I9]

[0590] 根据上述[方式I1]～[方式I5]中任一项所述的组合物,其中,抗体与抗肿瘤性药物分子的比(药物分子/抗体比、DAR)为约7～约8。

[0591] [方式I10]

[0592] 根据上述[方式I1]～[方式I5]中任一项所述的组合物,其中,抗体与抗肿瘤性药物分子的比(药物分子/抗体比、DAR)为约8。

[0593] [方式I11]

[0594] 根据上述[方式I1]～[方式I10]中任一项所述的组合物,其中,抗体的亚类为IgG。

[0595] [方式I12]

[0596] 根据上述[方式I1]～[方式I11]中任一项所述的组合物,其中,连接子为裂解性。

[0597] [方式I13]

[0598] 根据上述[方式I1]～[方式I11]中任一项所述的组合物,其中,连接子为非裂解性。

[0599] [方式I14]

[0600] 根据上述[方式I1]～[方式I11]中任一项所述的组合物,其中,连接子包含第1间隔物(优选聚乙二醇)且包含含有缬氨酸及瓜氨酸的二肽。

[0601] [方式I15]

[0602] 根据上述[方式I1]～[方式I11]中任一项所述的组合物,其中,连接子包含第1间隔物(优选聚乙二醇)、含有缬氨酸及瓜氨酸的二肽、和第2间隔物。

[0603] [方式I16]

[0604] 根据上述[方式I15]所述的组合物,其中,第2间隔物为对氨基苄基氨基甲酸。

[0605] 在上述2价基团中,左右不对称的基团和可成为左右不对称的基团作为通式(I)的L的一部分存在的情况下,该2价基团可以朝向纸面上的左右上下的任意方向。例如,-N(R^3)-C(R^1)(R^2)-作为L^1的一部分存在的情况下,可以-N(R^3)-在B侧,-C(R^1)(R^2)-在D^1侧,或者可以-C(R^1)(R^2)-在B侧,-N(R^3)-在D^1侧。

[0606] 需要说明的是,“3个字符单位的字母”是表示下述氨基酸的记号,特别是在本说明书中,表示各个氨基酸的2价残基(-NH-CH(R^{15})-C(=O)-)。其中,R^{15}为氢原子(Gly)、甲基(Ala)、异丙基(Val)、异丁基(Leu)、(丁烷-2-基)基(Ile)、苯基甲基(Phe)、羟基甲基(Ser)、巯基甲基(Cys)、羧基(Ama)、羧基甲基(Asp)、2-羧基乙基(Glu)、3-氨基丙基(Orn)、4-氨基丁基(Lys)、3-(脲基)丙基(Cit)、3-胍基丙基(Arg)、或(1H-咪唑-4-基)甲基(His)(括号内分别表示对应的氨基酸)。此外,上述式(-NH-CH(R^{15})-C(=O)-)中,R^{15}为丙基,该丙基与式中的“-NH-”的氮原子一起形成5元环时成为环状氨基酸(Pro;脯氨酸)。

[0607] Gly;甘氨酸

[0608] Ala;丙氨酸

[0609] Val;缬氨酸

[0610] Leu;亮氨酸

[0611] Ile;异亮氨酸

[0612] Phe;苯基丙氨酸

[0613] Ser;丝氨酸

[0614] Cys;半胱氨酸

[0615] Ama;2-氨基丙二酸

[0616] Asp;天冬氨酸

[0617] Glu;谷氨酸

[0618] Orn;鸟氨酸

[0619] Lys;赖氨酸

[0620] Cit;瓜氨酸

[0621] Arg;精氨酸

[0622] His;组氨酸

[0623] Pro;脯氨酸

[0624] 需要说明的是,在本发明的通式(I)所示的抗体-药物偶联物的“-L-D”部中包含具有不对称中心的氨基酸残基而可能产生光学异构的情况下,D型和L型中的任一光学异构体均包含在本发明中。

[0625] 发明的效果

[0626] 本发明的通式(I)所表示的抗体-药物偶联物、其药理上可容许的盐、或它们的水合物在给予到生物体内后被选择性地递送至作为靶点的肿瘤细胞,在该细胞内游离的抗肿瘤性药物发挥其功能,因此作为具有优异的抗肿瘤效果及安全性的肿瘤治疗药是有用的。

附图说明

[0627] 图1是表示试验例4中的实施例2的化合物(1mg/kg)的肿瘤体积抑制率的图。

[0628] 图2是表示试验例4中的实施例3的化合物(1mg/kg)的肿瘤体积抑制率的图。

[0629] 图3是表示试验例4中的实施例15的化合物(1mg/kg)的肿瘤体积抑制率的图。

[0630] 图4是表示试验例4中的实施例19的化合物(1mg/kg)的肿瘤体积抑制率的图。

[0631] 图5是表示试验例8中的实施例2的SEC分析HPLC的图。

具体实施方式

[0632] 以下,记载在本说明书中使用的术语的定义,对其分别例示具体例,但本发明并不限定于此。另外,以下定义或例示的各种抗体、抗肿瘤性药物分子、化合物和取代基通过任意选择并将它们组合,从而可以制造本发明的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐或它们的水合物。

[0633] 除非另有说明,本说明书所述的下述术语和语句具有以下记载的含义。

[0634] 本说明书所述的“肿瘤”是指“恶性肿瘤”,包括“癌”、“血癌”、“癌症”、“肉瘤”和“脑肿瘤”等。

[0635] 本说明书所述的“抗体”指的是完整的单克隆抗体、多克隆抗体、单特异性抗体、多特异性抗体(例如双特异性抗体)、重链抗体和抗体片段。上述的“单克隆抗体”是由实质上均匀的抗体的群体得到的抗体,群体中包含的各个抗体除了可能极少存在的天然存在的突变可能性之外,是相同的。单克隆抗体是高度特异性的,以单个抗原性位点为靶点。上述的“多克隆抗体”是指来自被免疫的动物的血清的抗体分子的不均匀的群体。上述“单特异性抗体(monospecific antibody)”是指对单一抗原显示结合特异性的抗体。上述的“多重特异性抗体(multispecific antibody)”是指对不同的2个以上(双特异性抗体(bispecific antibody)的情况下为2个)抗原显示结合特异性的抗体。双特异性抗体通过Journal of Hematology&Oncology8,130(2015)、Frontiers in Immunology8,38(2017)、BioDrugs24(2),89-98(2010)、MAbs1(6),539-547(2009)、Journal of Immunology155(1),219-25(1995)等中记载的方法制作。所述重链抗体是指不具有轻链的仅由2个重链构成的抗体。

[0636] 所述“抗体片段”包括抗原结合性区域或可变区,包含完整的抗体的一部分。为了在本发明中使用,抗体片段需要具有能够通过连接子与药物部分结合的官能团(例如巯基、氨基等)、或通过还原可生成巯基的二硫键。上述的“抗原”是指抗体特异性结合的物质。

[0637] 本发明中使用的“抗体”可以通过公知的方法获得,例如可以通过将各种抗原免疫到大鼠、小鼠及兔子等动物,用各种方法对在生物体内产生的抗体进行筛选、纯化来制作。人单克隆抗体可以通过公知的方法(例如Immunology Today,Vol.4 72-79(1983)等)制作。在来自人以外的物种的情况下,优选使用公知的技术进行嵌合化或人源化。

[0638] 本发明中使用的“抗体”可以通过作为市售试剂购入、从抗体药物制剂中提取、纯化、或者通过公知的方法制作等手段来获得。抗体的制作所需的该抗体的核苷酸序列例如可从GenBank数据库等数据库或文献得到。另外,也可以通过利用公知的方法进行克隆和测序而得到。

[0639] 本发明中使用的“抗体”是免疫球蛋白,是含有与抗原免疫特异性结合的抗原结合位点的分子。作为该抗体,可以是IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY中的任意种类,优选IgG。另

外,作为亚类,可以是IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2中的任意种,优选IgG1、IgG2和IgG4。这些抗体可以是多克隆抗体,也可以是单克隆抗体,优选单克隆抗体。

[0640] 本发明中使用的抗体只要是能够靶向肿瘤细胞的抗体即可。在本发明的抗体-药物偶联物中,抗体经由连接子与抗肿瘤活性药物结合,因此作为抗体,优选具有能够识别肿瘤细胞的特性、能够特异性结合肿瘤细胞的特性、进入肿瘤细胞内而内化的特性、以及阻碍肿瘤细胞的特性中的任一个以上的特性。所谓"特异性结合",是指抗体或抗体衍生物以高度选择性的方式与对应的靶抗原结合,与大量存在的其他抗原不结合,其结合可以使用流式细胞术进行确认。"抗体内化"是指抗体与细胞膜表面的抗原结合,通过内吞作用进入细胞内,该进入可以通过下述手段确认:使用与该抗体结合的二抗(荧光标记),用荧光显微镜将进入细胞内的抗体可视化(Cell Death and Differentiation15,751-761(2008)),或测定其荧光量(Molecular Biology of the Cell15,5268-5282(2004)),或者使用与该抗体结合的免疫毒素,通过进入细胞内时毒素被释放而抑制细胞增殖的Mab-ZAP法(BioTechniques28,162-165(2000))等。

[0641] "损伤肿瘤细胞"是指抗体杀伤细胞,其细胞损伤活性可以通过在体外测定细胞增殖的抑制活性来确认。

[0642] 本说明书记载的"抗体"中也包含抗体的修饰体。抗体的修饰体是指对抗体实施了化学或生物学的修饰的物质。化学修饰包括抗体的氨基酸骨架部分的化学修饰、以及对N-结合型或O-结合型糖链的化学修饰等。生物学的修饰包括翻译后修饰(例如,向氧原子或N原子的糖链添加、N末端或C末端的加工、脱酰胺化、天冬氨酸的异构化、甲硫氨酸的氧化)、以及通过使用原核生物宿主细胞表达而向N末端添加甲硫氨酸残基等。

[0643] 上述的化学或生物学的修饰体也包括从原来的抗体中存在的官能团(羟基、巯基、氨基、羧基等)伸出辅助连接子,在该连接子的前端添加"巯基、羟基、氨基、马来酰亚胺基(后述式(ii)))、α-卤代甲基羰基、乙炔基膦酸酰胺酯基(后述式(iii))、羧基、羧基的活性酯体(例如后述式(iv))、叠氮基(-N_3基)、炔基、环炔基、氮杂环炔基等"的物质。需要说明的是,在本说明书中,有时也将上述定义的"抗体"和上述定义的"经修饰的抗体"统称为"抗体"。上述"辅助连接子"是指上述通式(I)中的连接子"-L-"的一部分。

[0644] 本说明书中所述的"抗体内官能团"是指存在于上述定义的"抗体"和"经修饰的抗体"中的基团,在制造本发明的抗体-药物偶联物时,通过这些官能团与存在于连接子末端的"反应性基团"反应而形成抗体-多个药物偶联物。作为抗体内官能团,具体而言,例如可列举:巯基、羟基、氨基、马来酰亚胺基、α-卤代甲基羰基、乙炔基膦酸酰胺酯基、羧基、羧基的活性酯体、叠氮基(-N_3基)、炔基、及环炔基等。另外,作为抗体内官能团之一的巯基也包括通过抗体内存在的二硫键(-S-S-)的还原反应而生成的巯基。

[0645] 另外,作为本说明书中记载的"反应性基团",具体而言,例如可以举出:能够与抗体内的巯基反应的马来酰亚胺基、α-卤代甲基羰基或乙炔基膦酸酰胺酯基;能够与羟基和氨基反应的羧基或羧基的活性酯体;能够与马来酰亚胺基、α-卤代甲基羰基和乙炔基膦酸酰胺酯基反应的巯基;能够与叠氮基(-N_3)反应的炔基或环炔基;能够与炔基、环炔基和氮杂环炔基反应的叠氮基(-N_3基)等。

[0646] 本说明书中记载的"细胞内切断"是指通过细胞内的代谢或反应来切断抗体-药物偶联物的药物部分(D)与连接子(L)之间的共价键,从而在细胞内由抗体-药物偶联物产生

以药物为起始的代谢-反应产物。

[0647] 以下列举本发明中使用的抗体的具体例,但本发明并不限定于这些。

[0648] A为抗HER2抗体、抗EGFR抗体、抗淋巴细胞抗原6E(Ly-6E)抗体、抗肝细胞生长因子受体(HGFR)抗体、抗CD22抗体、抗叶酸受体α(FRα)抗体、抗PSMA(FOLH1)抗体、抗CD30(TNFRSF8)抗体、抗TROP-2抗体、抗CD19抗体、抗5T4抗体、抗间皮素抗体、抗CD20抗体、抗CD33抗体、抗CDB7-H3抗体、抗CD269(BCMA)抗体、抗CD142抗体、抗CD70抗体、抗CD123抗体、抗TAG-72抗体、抗TFRC抗体、抗EPHA2抗体、抗EPHA3抗体、抗c-KIT抗体、抗PD-L1抗体、抗上皮细胞粘附分子(EPCAM)抗体、抗AXL抗体、抗白介素-1受体辅助蛋白抗体、抗粘蛋白-16(CA125)抗体、抗MUC1抗体、抗GPC3抗体、抗CLEC12A(CLL1)抗体、抗LRRC15抗体、抗ADAM9抗体、抗钠依赖性磷酸盐转运蛋白2B(SLC34A2)抗体、抗CD25抗体、抗ROR1抗体、抗TweakR抗体、抗CD74抗体、抗CEACAM5抗体、抗CD105抗体、抗CD79b抗体、抗CD147抗体、抗Sialyl-Tn抗体、抗GCC抗体、抗HER3抗体、抗整合素抗体、抗EGFR variant III抗体、抗紧密连接蛋白6抗体、抗富含亮氨酸重复序列的G蛋白偶联受体5抗体、抗PTK7抗体、抗LYPD3抗体、抗ASCT2抗体、抗ASPH抗体、抗GPC1抗体、抗CD174抗体、抗CD38抗体、抗ANGPT2抗体、抗CD44抗体、抗DDL3抗体、抗FGFR2抗体、抗KAAG1抗体、抗CD73抗体、抗CLDN18.2抗体、抗PRLR抗体、抗SEZ6抗体、抗脑啡肽酶抗体、抗神经细胞粘附分子1抗体、抗CD166(ALCAM)抗体、抗CD24抗体、抗CD27抗体、抗CDH3抗体、抗EPHA4抗体、抗FGFR3抗体、抗GFRAL抗体、抗Globo H抗体、抗IL-13Ra2抗体、抗STEAP-1抗体、抗TMCC3抗体、抗CD209抗体、抗CD37、抗CD48抗体、抗CDCP1抗体、抗CD46抗体、抗CD200抗体、抗CTLA4抗体、抗CXCR5抗体、抗FLT3抗体、抗SDC1(CD138)抗体、抗CLDN6/9抗体、抗CEACAM6抗体、抗CA9抗体、抗EDNRB抗体、抗GD3神经节苷脂抗体、抗MICA/B抗体、抗JAG1/2抗体、抗TM4SF1抗体、抗uPAR抗体、抗碳酸酐酶IX抗体、抗ALK1抗体、抗IGF-1R抗体、抗KDR抗体、抗CEACAM8抗体、抗IL5R抗体、抗CD205(Ly75)抗体、抗MSR1抗体、抗KREMEN2抗体、抗SSEA-4抗体、抗CD228抗体、抗CD5抗体、抗DLL4抗体、抗FAP抗体、抗Notch3抗体、抗AG7抗体、抗鸟苷酸环化酶抗体、抗粘连蛋白-4抗体、抗CD226(DNAM-1)抗体、抗FcRL5抗体、抗HLA-DR抗体、抗ITGB3抗体、抗DLK1抗体、抗CD157(BST1)抗体、抗CD56(NCAM1)抗体、抗MICA(MHC I类多肽相关序列A)抗体、抗SSEA-1抗体、抗TRAIL-R2(DR5)抗体、抗GPNMB抗体、抗CCR5抗体、抗LAMP1抗体、抗LGALS3BP抗体、抗ROR2抗体、抗DLL3抗体、抗ETBR抗体、抗LIV-1抗体、抗整合素αvβ6抗体、抗TIM-1抗体、抗AGS-16(ENPP3)抗体、抗SLITRK6抗体、抗GD2抗体、抗CD52抗体、抗CCR4抗体、抗VEGFR2抗体、抗PDGFR抗体、抗FGFR抗体、抗SLAMF7抗体、抗GD2神经节苷脂抗体、抗EPHA3抗体、抗整合素αvβ3抗体、抗AGS-5抗体、抗CA19-9抗体、抗PSA抗体、抗MAGE3抗体、抗转铁蛋白受体1(CD71)抗体、抗CEACAM1抗体、抗SLC3A2(CD98)抗体、抗ACVR1抗体、抗AG-7抗体、抗AMHR2抗体、抗ABCB1抗体、抗C16orf54抗体、抗组织蛋白酶D抗体、抗CCR7抗体、抗SLC44A4抗体、抗CD300LF抗体、抗DPEP3抗体、抗FucGM1抗体、抗GPR20抗体、抗ITGB6抗体、抗类Lewis-A碳水化合物抗体、抗催乳素受体抗体、抗Sialyl Tn抗体、抗SLAMF6抗体、抗SLAMF7抗体、抗TRA-1-60抗体、抗蛋白裂解酶抗体、抗B7-H4抗体、抗Cripto抗体、抗CD99抗体、抗CanAg抗体、抗A33抗体、抗α10β1整合素抗体、抗ALPP抗体、抗CD248抗体、抗GPRC5D抗体。

[0649] 本说明书中记载的“抗肿瘤性药物分子”不管其作用机制如何只要是具有抗肿瘤效果的药物分子且具有能够与连接子(上述通式(I)中的L)结合的取代基或部分结构,就没

有特别限制。抗肿瘤性药物分子在肿瘤细胞内,部分或全部连接子被切断而游离,发挥其抗肿瘤效果。

[0650] 作为抗肿瘤性药物分子,例如可列举出喜树碱(SN-38、伊立替康、勒托替康、DB67、BMP1350、ST1481、CKD602、拓扑替康、及依喜替康、以及它们的衍生物);澳瑞他汀(澳瑞他汀E(AE)、澳瑞他汀F亚苯基二胺(AFP)、一甲基澳瑞他汀E(MMAE)、一甲基澳瑞他汀F和它们的衍生物);美登素;PBD(吡咯苯并二氮卓)二聚体;艾日布林;5-FU;PD-318088;AS-703026;TAK-733;LY-3023414;卡奇霉素;紫杉醇;多西他赛;丝裂霉素C;博来霉素;环胞苷;长春碱类(长春新碱、长春碱、长春地辛、及长春瑞滨和它们的衍生物);道诺霉素;阿霉素;多卡霉素;尾海兔素10;superdox;环丙沙星;卡德沙星(CS-940);或者这些抗肿瘤性药物的类似物;或所述抗肿瘤性药物分子或者它们的类似物、或其衍生物等。

[0651] 本说明书中所述的“抗肿瘤性药物分子或其类似物、或它们的衍生物”的“类似物”是指具有与各抗肿瘤性药物分子类似的化学结构和活性的化合物,例如“喜树碱的类似物”是指具有与喜树碱类似的化学结构且具有与喜树碱相同的I型拓扑异构酶抑制作用的化合物。

[0652] 本说明书中所述的“抗肿瘤性药物分子或其类似物、或它们的衍生物”的“衍生物”表示存在于该抗肿瘤性药物的分子内的羟基、巯基(-SH)、氨基(-NH_2、-NH-(也包含酰胺基的-NH-及杂芳基或杂环基的环内的-NH-))、羧基等官能团被“保护基”保护的衍生物、或该官能团与糖类反应而生成的糖苷衍生物。这些衍生物的保护基有时在生物体内通过各种化学反应或生物化学反应或代谢反应(例如pH变动、水解反应、氧化还原反应等)被脱保护而转化为母化合物(原来的抗肿瘤性药物分子)而表现出抗肿瘤活性,但有时也不被脱保护而以原来的形式表现出抗肿瘤活性。

[0653] 该“保护基”可以从例如Greene's Protective Groups in Organic Synthesis第五版、P.G.M.Wuts著、JohnWiley&Sons Inc.(2014年)等中记载的保护基中任意选择。

[0654] 对于作为官能团的羟基的保护基,例如可以举出:甲氧基甲基、甲氧基乙氧基甲基、乙氧基-2-乙基等烷氧基烷基;苄氧基甲基等芳基烷氧基甲基;苯氧基甲基等芳氧基甲基;甲硫基甲基等烷硫基甲基;苄硫基甲基等芳基烷硫基甲基;苯硫基甲基等芳硫基甲基;N原子任选被烷基或后述的“氨基的保护基”保护的氨基甲基;苄基、4-甲氧基苄基、三苯基甲基等芳基甲基;甲基羰基、乙基羰基等烷基羰基;烯丙基羰基等烯基羰基;炔丙基羰基等炔基羰基;苯基羰基等芳基羰基;吡啶-2,3或4-基羰基等杂芳基羰基;四氢呋喃-2或3-基羰基、5-氧代四氢呋喃-2-基羰基等杂环基羰基;叔丁氧基羰基、甲氧基羰基、乙氧基羰基等烷氧基羰基;烯丙氧基羰基;苯氧基羰基、4-硝基苯氧基羰基、4-甲氧基苯氧基羰基等芳氧基羰基;9-芴基甲氧基羰基、苄氧基羰基、4-甲氧基苄氧基羰基、4(或2)-硝基苄氧基羰基、4(或2)-氨基苄氧基羰基或其N-烷基羰基体或N-芳基羰基体、4(或2)-羟基苄氧基羰基或其O-烷基羰基体或O-芳基羰基体等芳基甲氧基羰基;叔丁基氨基羰基、甲基氨基羰基、乙基氨基羰基等烷基氨基羰基;三甲基甲硅烷基、三甲基甲硅烷基乙氧基甲基、三异丙基甲硅烷基、叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基二苯基甲硅烷基等甲硅烷基;四氢吡喃基、2(或4)-甲氧基四氢吡喃基等四氢吡喃基等。另外,该羟基可以以与甲酸、硼酸、磷酸、膦酸、次膦酸、硫酸、磺酸、亚磺酸、次磺酸、氨基酸或肽的酯体的形式被保护。

[0655] 1个实施方式中,羟基的保护基为烷氧基烷基;芳基烷氧基甲基;N原子任选被烷基

或后述的“氨基的保护基”保护的氨基甲基;烷基羰基;烯基羰基;炔基羰基:芳基羰基;烷氧基羰基;烯丙氧基羰基;芳氧基羰基;芳基甲氧基羰基;烷基氨基羰基;四氢吡喃基;四氢呋喃基;甲硅烷基、内酯基;内酯基烷基;内酯基羰基;内酯基烷基羰基;磷酰基;磷酰基烷基;磷酰基烷基羰基;双磷酰基甲基(-C(H、OH、NH_2、Cl或烷基)(P(=O)$(OH)_2)_2$);氨基烷基羰基;烷基氨基烷基羰基;二烷基氨基烷基羰基;该二烷基一起形成了环的环状氨基烷基羰基;或三烷基铵烷基羰基。

[0656] 对于作为官能团的巯基的保护基,可列举出作为羟基的保护基在上面说明的保护基,除此以外,二硫键(-S-S-)也可以成为保护基。

[0657] 对于作为官能团的羧基的保护基,例如可列举出甲基、乙基、叔丁基等烷基;烯丙基;苄基等芳基甲基;内酯基;三甲基甲硅烷基、三甲基甲硅烷基乙氧基甲基、叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基二苯基甲硅烷基等甲硅烷基等。此外,羧基也有时以酰胺体(例如与氨、烷基胺、二烷基胺、内酯基胺、氨基酸酯、氨基酸酰胺等的酰胺体)的形式被保护,该酰胺部分的N原子也可以具有内酯基;内酯基烷基;内酯基羰基;内酯基烷基羰基;磷酰基烷基;磷酰基烷基羰基;双磷酰基甲基(-C(H、OH、NH_2、Cl、或烷基)(P(=O)$(OH)_2)_2$);氨基烷基;氨基烷基羰基、烷基氨基烷基;烷基氨基烷基羰基;二烷基氨基烷基;二烷基氨基烷基羰基;该二烷基一起形成了环的环状氨基烷基;该二烷基一起形成了环的环状氨基烷基羰基;三烷基铵烷基、或三烷基铵烷基羰基作为取代基。

[0658] 一个实施方式中,羧基的保护基为烷基;烯丙基;芳基甲基;内酯基;内酯基烷基;磷酰基烷基;双磷酰基甲基(-C(H、OH、NH_2、Cl、或烷基)(P(=O)$(OH)_2)_2$);氨基烷基;烷基氨基烷基;二烷基氨基烷基;该二烷基一起形成了环的环状氨基烷基、或三烷基铵烷基。

[0659] 对于作为官能团的次磺酸基、亚磺酸基、磺酸基、次膦酸基、膦酸基和硼酸基,也可以使用与上述羧基同样的保护基。

[0660] 对于作为官能团的氨基的保护基,可列举出例如叔丁氧基羰基、甲氧基羰基、乙氧基羰基等烷氧基羰基;烯丙氧基羰基;苯氧基羰基、4-硝基苯氧基羰基、4-甲氧基苯氧基羰基等芳氧基羰基、9-芴基甲氧基羰基、苄氧基羰基、4-甲氧基苄氧基羰基、4(或2)-硝基苄氧基羰基、4(或2)-氨基苄氧基羰基或其N-烷基羰基体或N-芳基羰基体、4(或2)-羟基苄氧基羰基或其O-烷基羰基体或O-芳基羰基体等芳基甲氧基羰基;苄基、三苯基甲基等芳基甲基;甲氧基甲基、甲氧基乙氧基甲基、乙氧基-2-乙基等烷氧基烷基;苄氧基甲基等芳基烷氧基甲基;苯氧基甲基等芳氧基甲基;甲硫基甲基等烷硫基甲基;苄硫基甲基等芳基烷硫基甲基;苯氧基甲基等芳硫基甲基;N原子任选被烷基或氨基的保护基保护的氨基甲基;甲基羰基、乙基羰基等烷基羰基;烯丙基羰基等烯基羰基;炔丙基羰基等炔基羰基;苯基羰基等芳基羰基;吡啶-2,3或4-基羰基等杂芳基羰基;四氢呋喃-2或3-基羰基、5-氧代四氢呋喃-2-基羰基等杂环基羰基;三甲基甲硅烷基、三甲基甲硅烷基乙氧基甲基、三异丙基甲硅烷基、叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基二苯基甲硅烷基等甲硅烷基;或2,4-二硝基苯磺酰基、4-硝基苯磺酰基等芳基磺酰基等肽合成中通常使用的氨基的保护基。另外,该氨基可以以甲酸、磷酸、膦酸、次膦酸、硫酸、磺酸、亚磺酸、次磺酸、氨基酸或肽的酰胺体的形式被保护。

[0661] 一个实施方式中,氨基的保护基为烷氧基羰基;烯丙氧基羰基;芳基甲氧基羰基;烷基羰基;烯基羰基;芳基羰基;甲硅烷基、内酯基;内酯基烷基;内酯基羰基;内酯基烷基羰基;磷酰基;磷酰基烷基;磷酰基烷基羰基;双磷酰基甲基(-C(H、OH、NH_2、Cl、或烷基)(P(=

O)(OH)$_2$)$_2$);氨基烷基羰基;烷基氨基烷基羰基;二烷基氨基烷基羰基;该二烷基一起形成了环的环状氨基烷基羰基;或三烷基铵烷基羰基。

[0662] 这些保护基的附着和脱离根据通常实施的方法进行(例如参照Greene's Protective Groups in Organic Synthesis第五版,P.G.M.Wuts著,JohnWiley&Sons Inc.(2014年))。

[0663] 上述官能团中的羟基、巯基(-SH)、氨基(-NH$_2$、-NH-(包含酰胺基的-NH-及杂芳基或杂环基的环内的-NH-))可以分别以与各种糖酸(葡萄糖酸、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸等)的酯、硫酯、酰胺或酰亚胺的形式被保护。

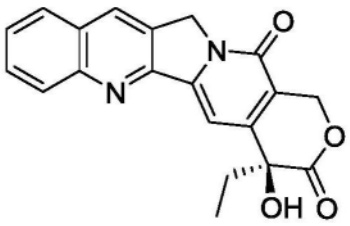
[0664] 以上,对本说明书中记载的"抗肿瘤性药物分子或其类似物、或它们的衍生物"的"衍生物"中的各种官能团的"保护基"进行了说明,但这也可以应用于本说明书中记载的"抗肿瘤性药物分子或其类似物"、连接子、保护基或取代基中的该官能团。

[0665] 本发明的"保护基"中,一个实施方式中,保护基为聚醚烷基氨基羰基、内酯基;内酯基烷基;内酯基羰基;内酯基烷基羰基;磷酰基;磷酰基烷基;磷酰基烷基羰基;双磷酰基甲基(-C(H、OH、NH$_2$、Cl、或烷基)(P(=O)(OH)$_2$)$_2$);氨基烷基;氨基烷基羰基、烷基氨基烷基;烷基氨基烷基羰基;二烷基氨基烷基;二烷基氨基烷基羰基;该二烷基一起形成了环的环状氨基烷基;该二烷基一起形成了环的环状氨基烷基羰基;三烷基铵烷基;或三烷基铵烷基羰基。

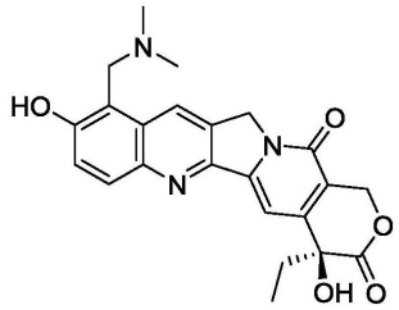
[0666] 需要说明的是,上述保护基的选择及其附着和脱离方法也适用于后述的通式(II)的化合物(偶联物前体)的制造。

[0667] 本说明书中记载的"抗肿瘤性药物分子或者其类似物、或它们的衍生物"的具体例如以下的例示1所示,通式(II):连接子-药物单元(LDU)的结构的具体例如以下的例示2所示,通式(III):抗体药物复合体的前体的具体例如以下的例示3所示,但本发明并不限定于此。

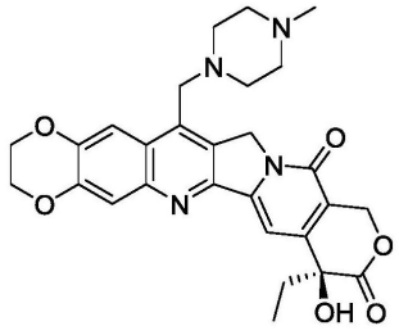
[0668] 例示1."抗肿瘤性药物分子或其类似物、或它们的衍生物"的例示



喜树碱

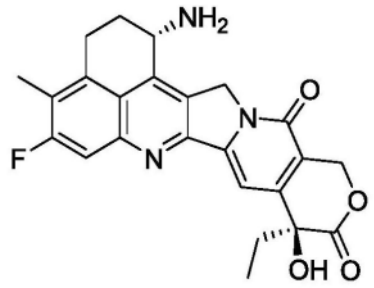


拓扑替康

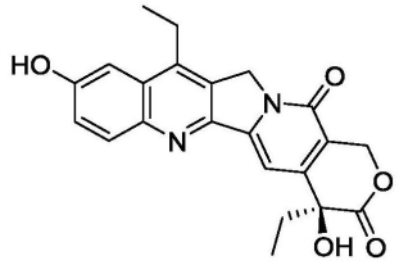


勒托替康

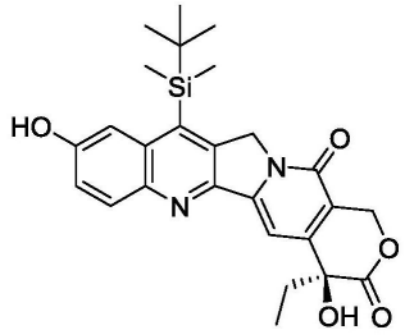
[0669]



依喜替康

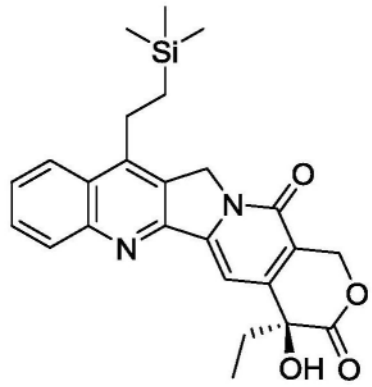


SN-38

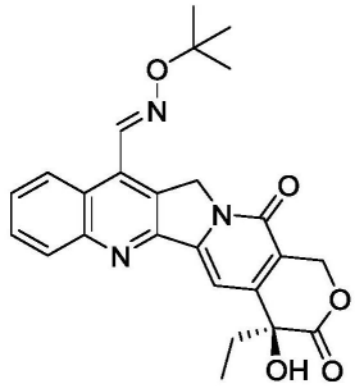


DB-67

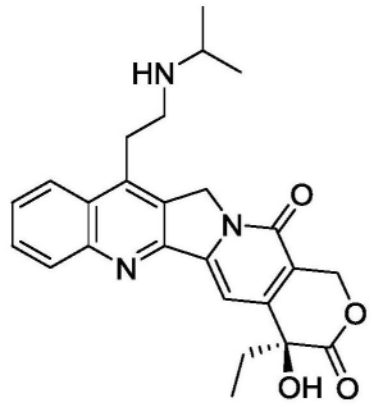
[0670]



BNP-1350

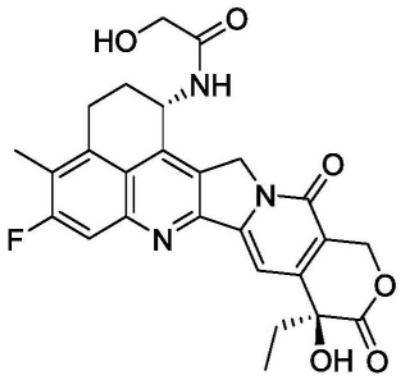


ST-1481

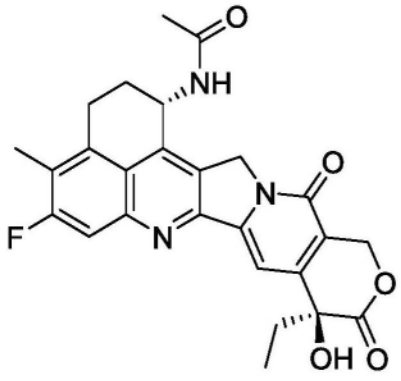


CKD-602

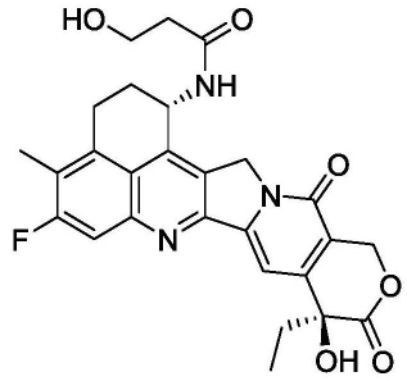
[0671]



Dxd（N-（2-羟基乙酰基）依喜替康）

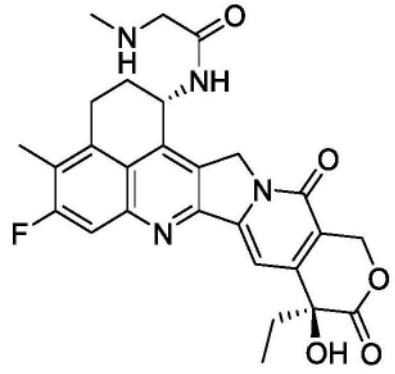


U-001

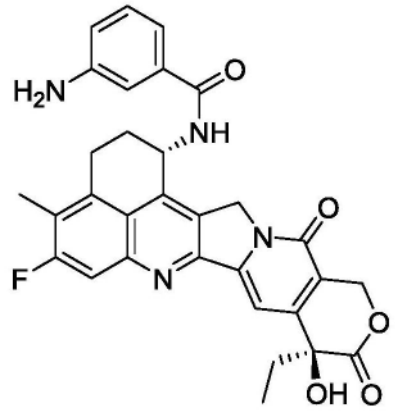


U-002

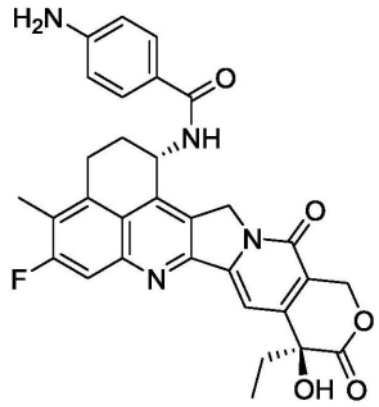
[0672]



U-003

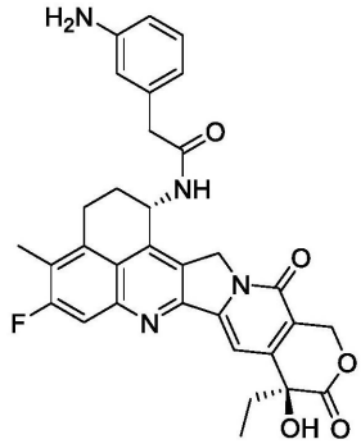


U-004

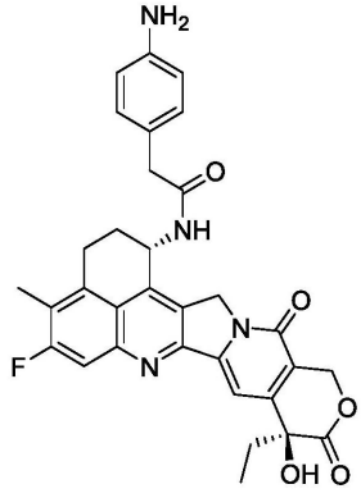


U-005

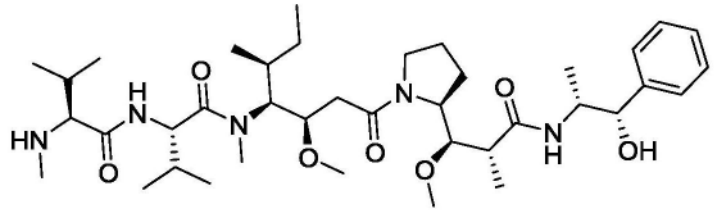
[0673]



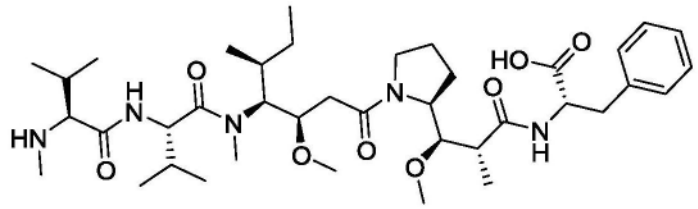
U-006



U-007

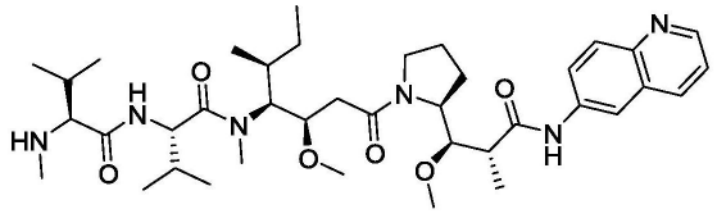


MMAE（一甲基澳瑞他汀E）

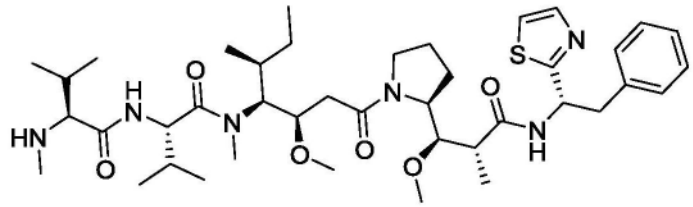


MMAF（一甲基澳瑞他汀F）

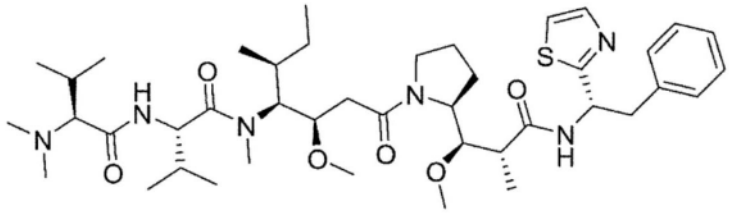
[0674]



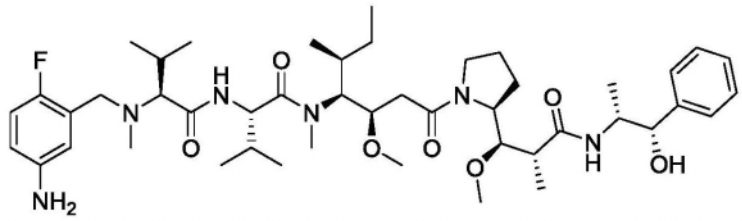
MMAQ（一甲基澳瑞他汀Q）



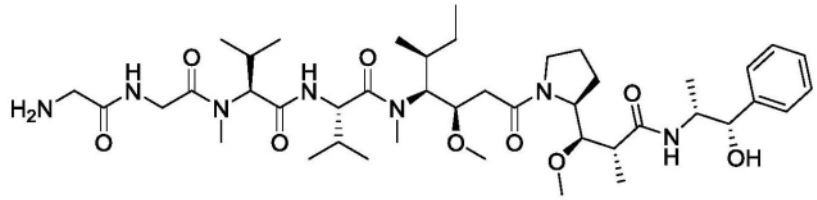
MMAD（一甲基尾海兔素10）



尾海兔素10

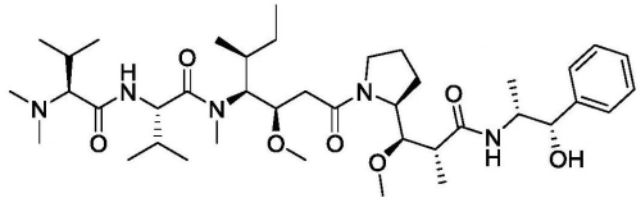


U-008

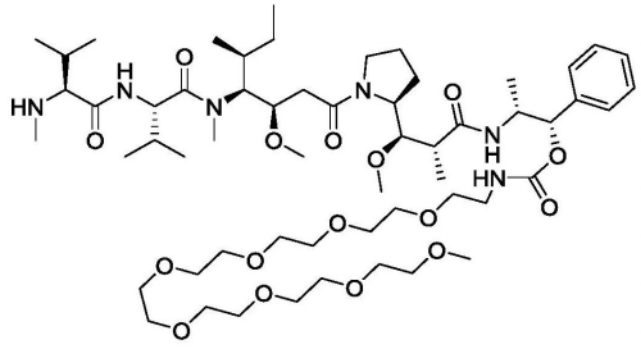


U-009

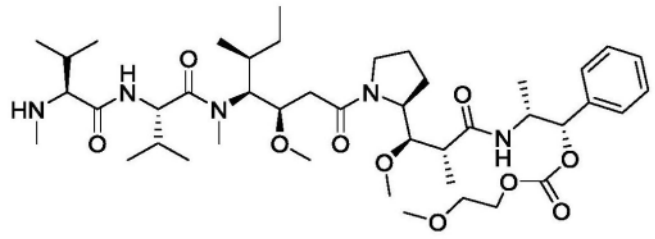
[0675]



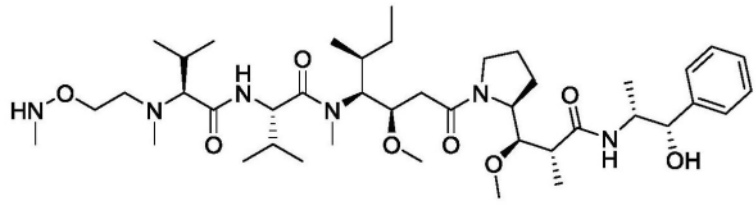
U-010



U-011

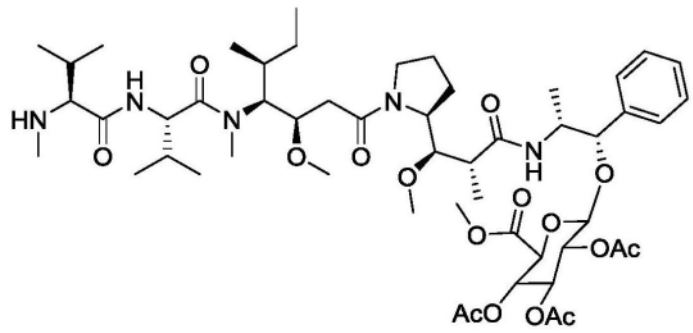


U-012

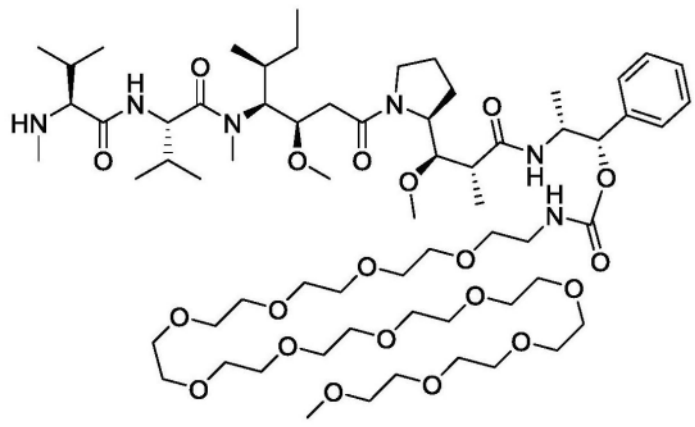


U-013

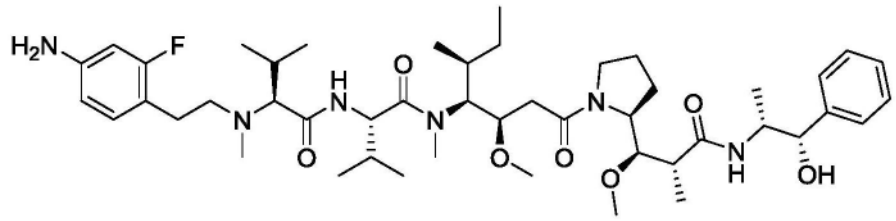
[0676]



U-014

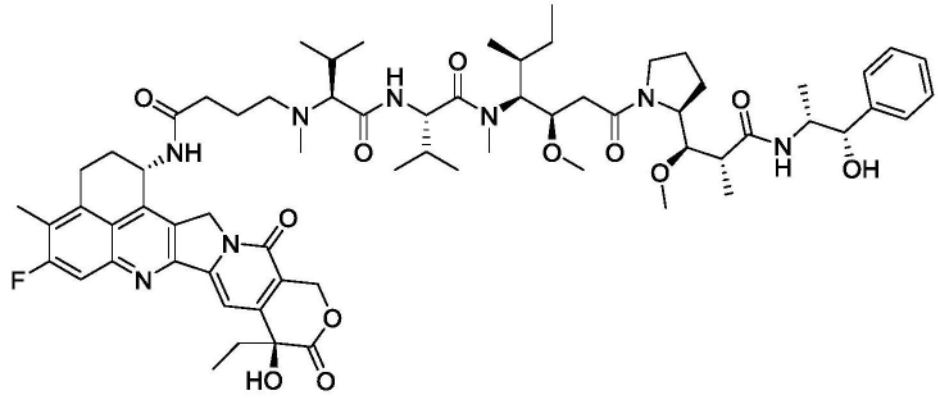


U-015

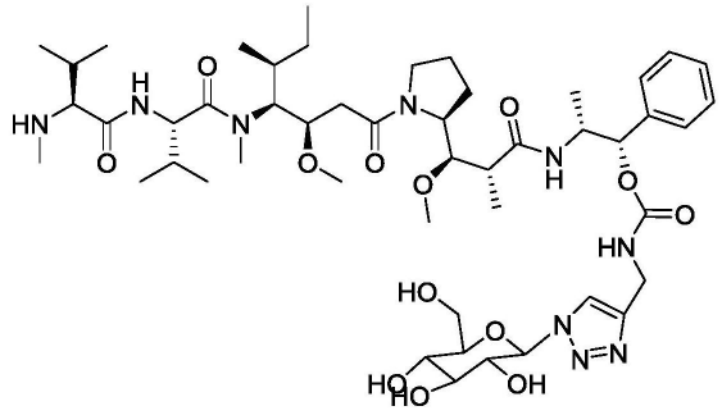


U-016

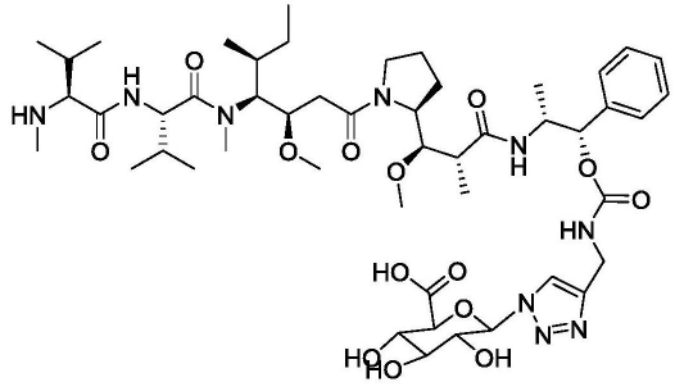
[0677]



U-017

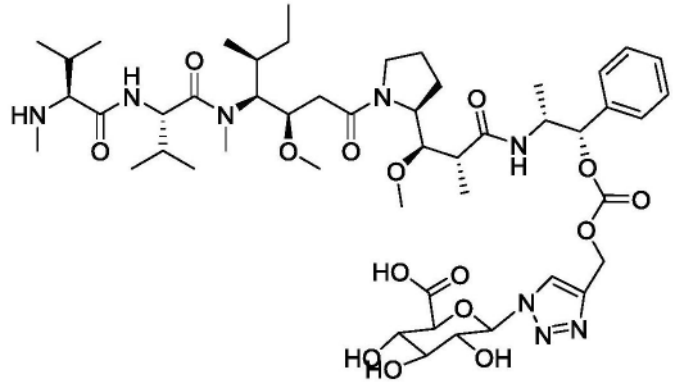


U-018

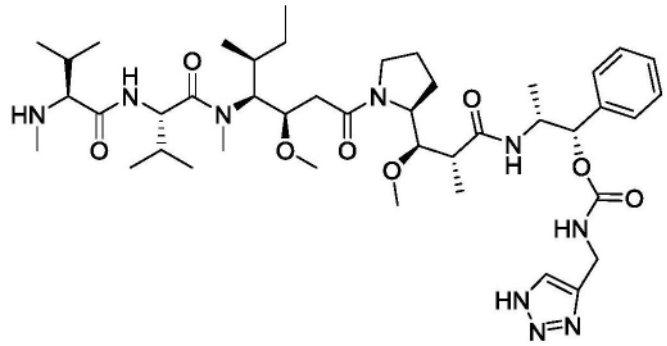


U-019

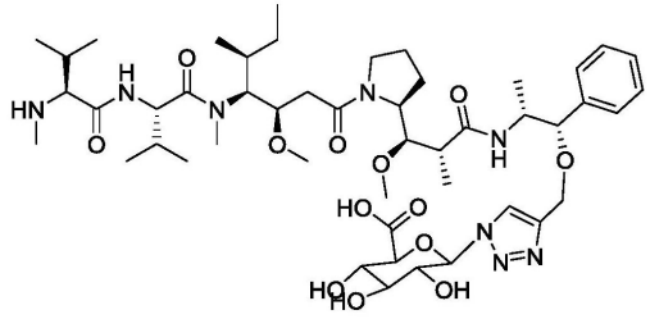
[0678]



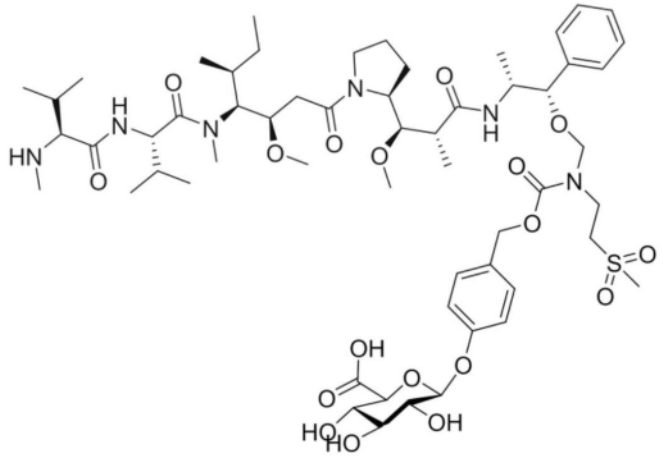
U-020



U-021

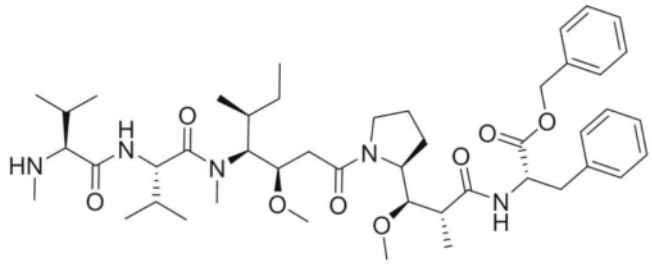


U-022

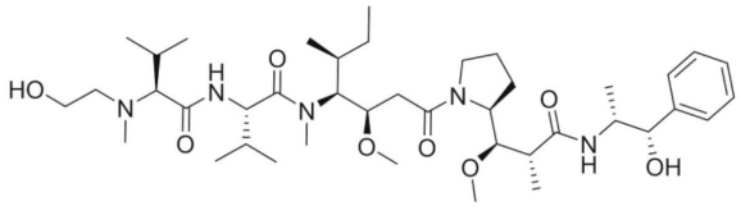


[0679]

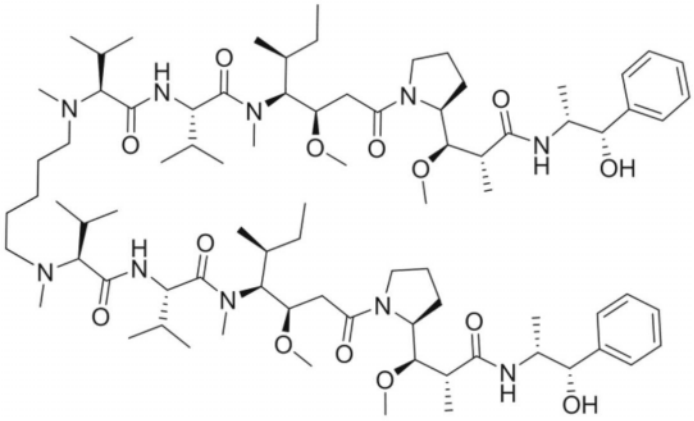
U-023



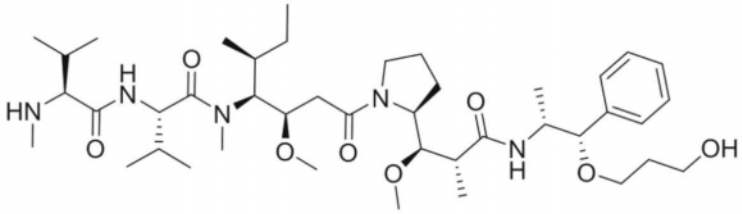
U-024



U-025

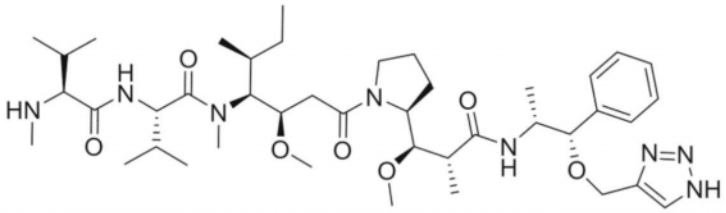


U-026

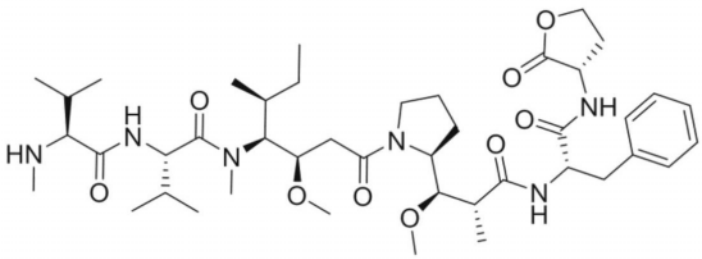


[0680]

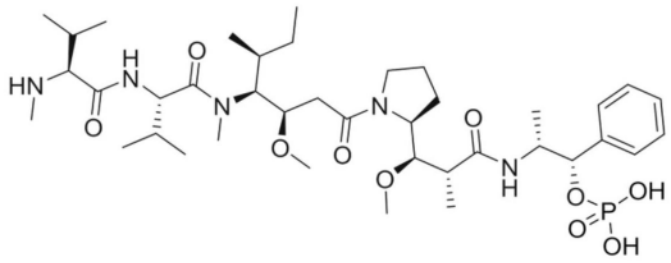
U-027



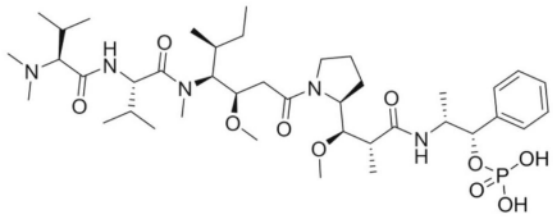
U-028



U-029

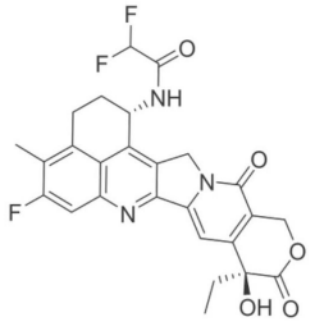


U-030

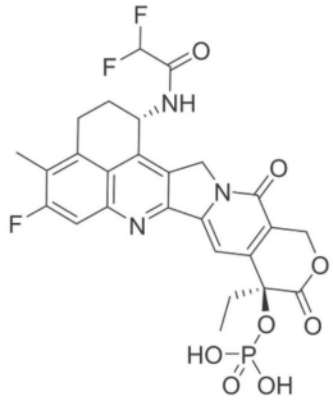


U-031

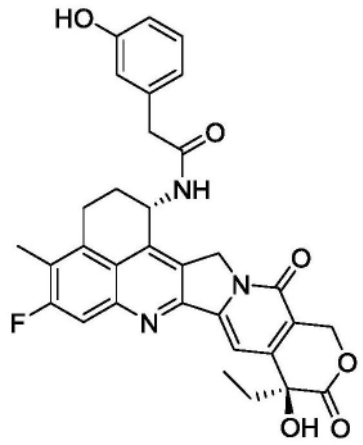
[0681]



U-032

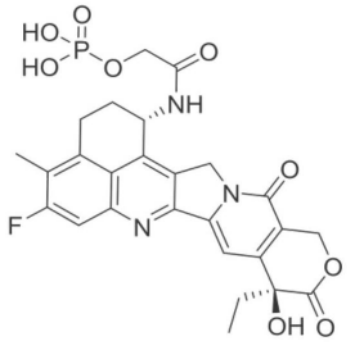


U-033

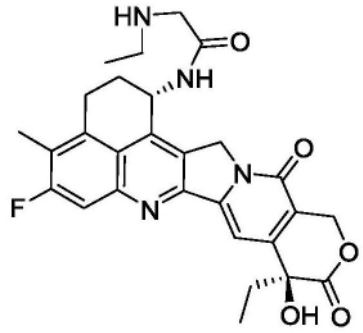


U-034

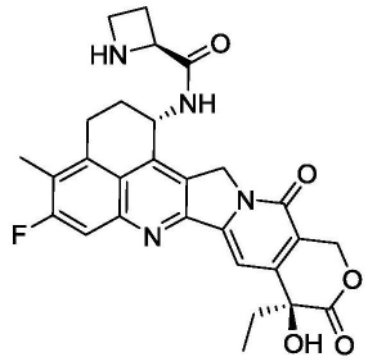
[0682]



U-035

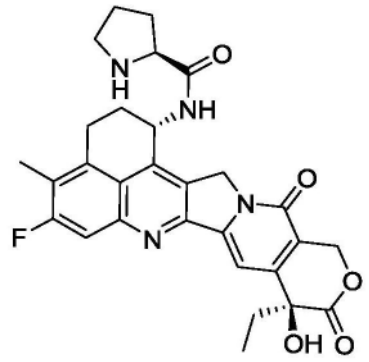


U-036

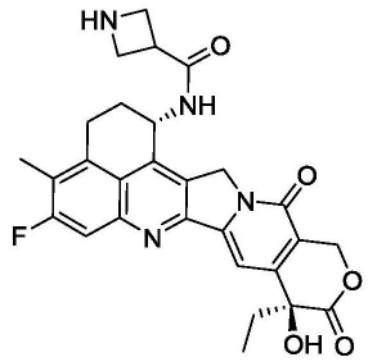


U-037

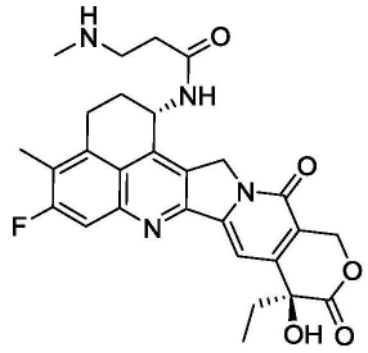
[0683]



U-038

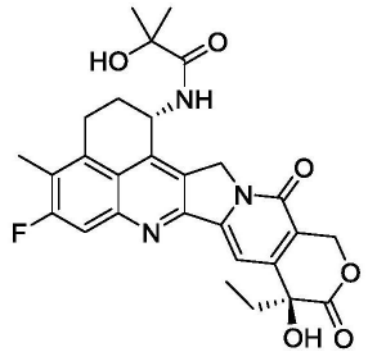


U-039

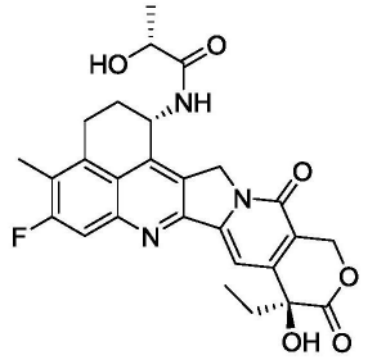


U-040

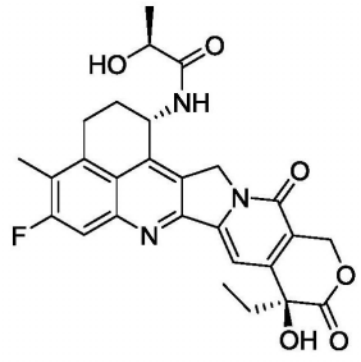
[0684]



U-041

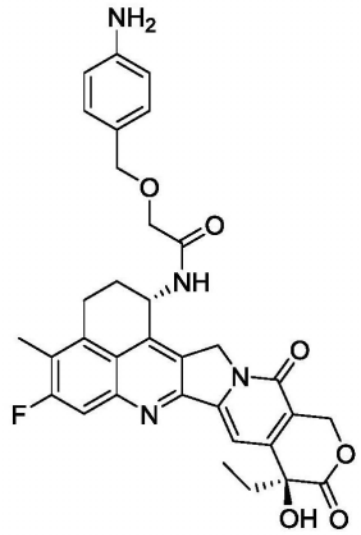


U-042

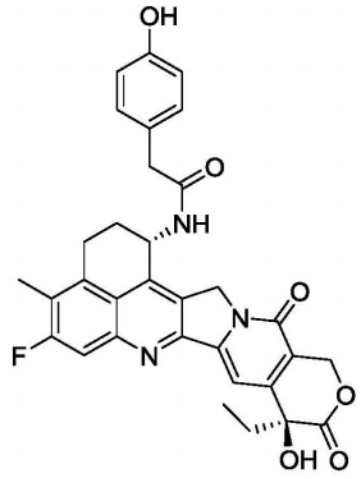


U-043

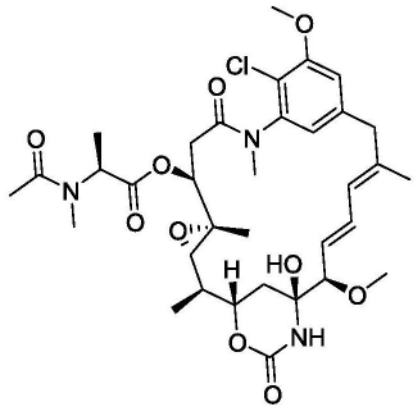
[0685]



U-044

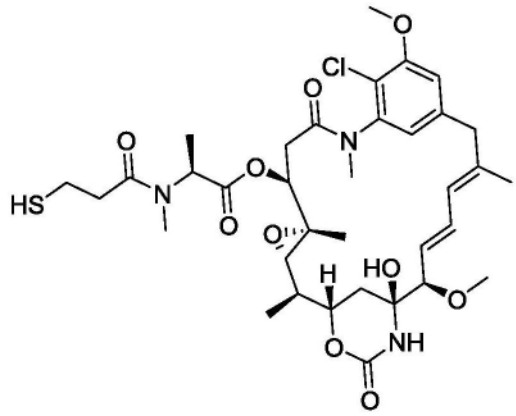


U-045

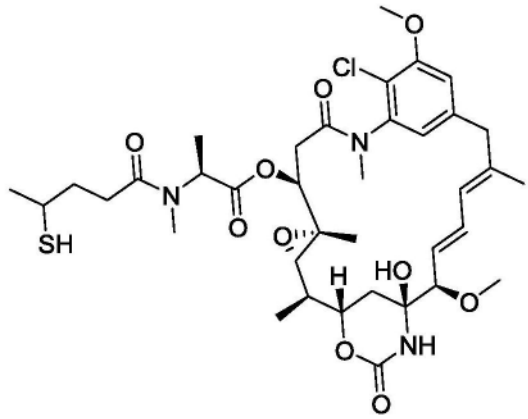


美登素

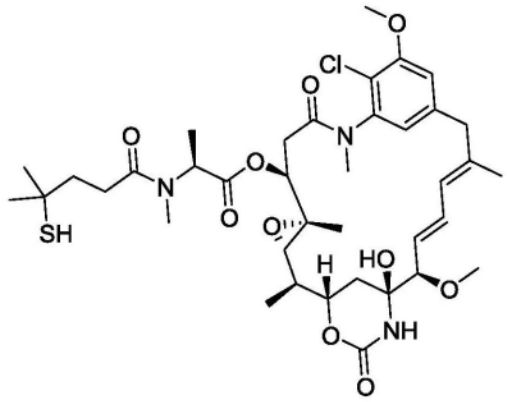
[0686]



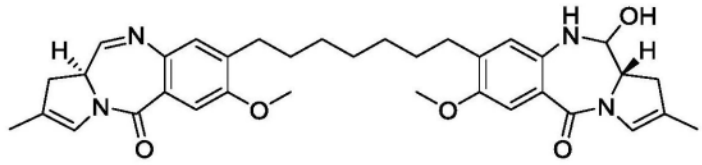
DM-1（美登木素）



DM-3

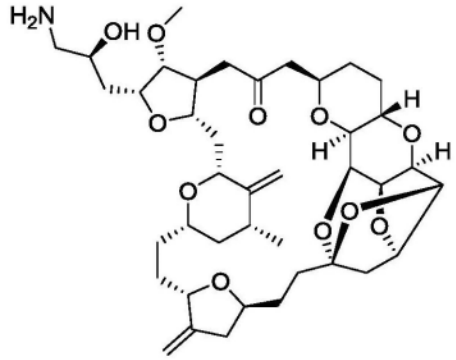


DM-4

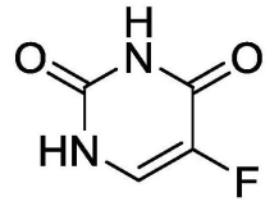


PBD二聚体

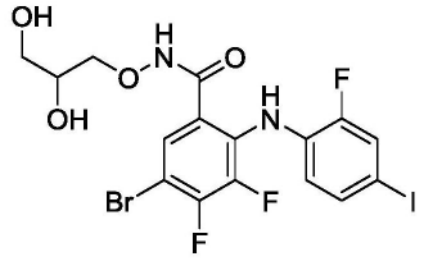
[0687]



艾日布林



5-FU

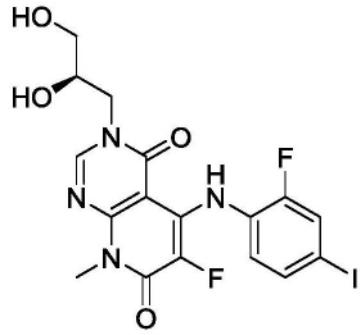


PD-318088

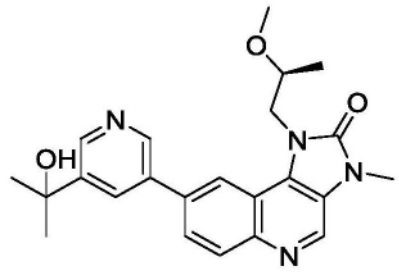


AS-703026

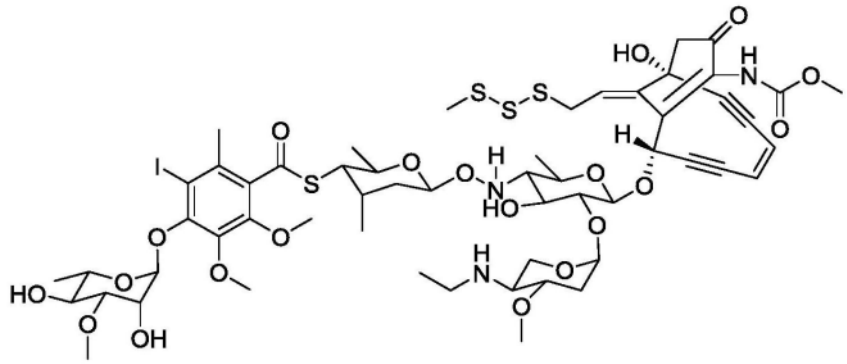
[0688]



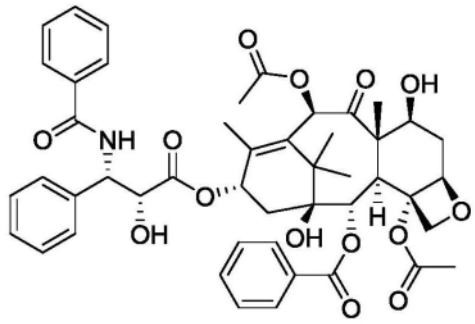
TAK-733



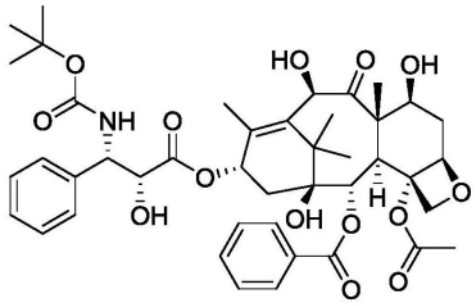
LY-3023414



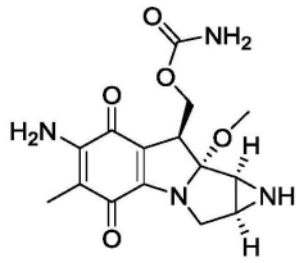
卡奇霉素 gamma1



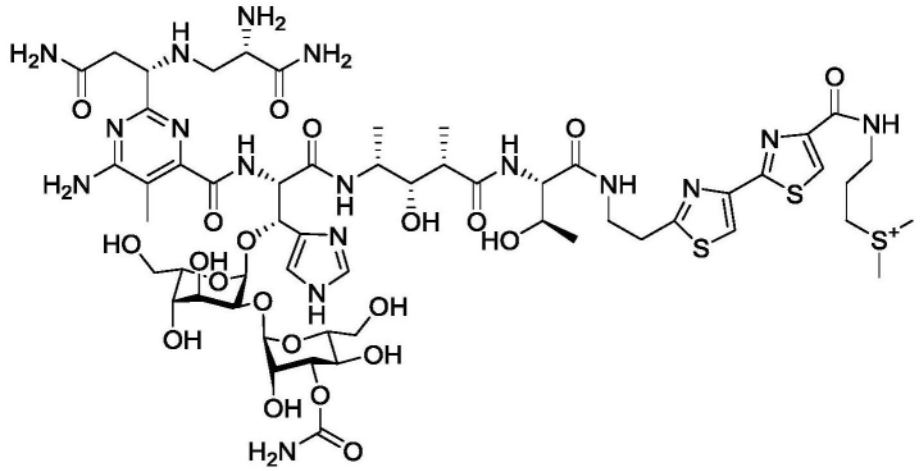
[0689] 紫杉醇



多西他赛

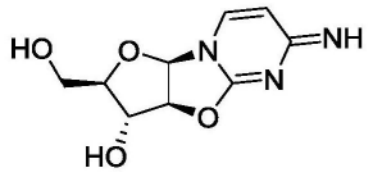


丝裂霉素C

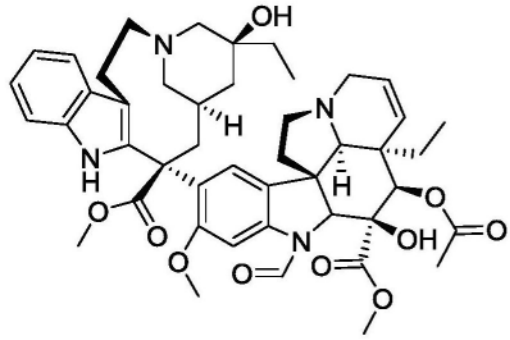


博来霉素A2

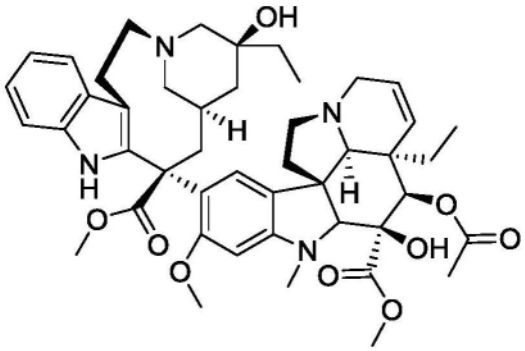
[0690]



环胞苷

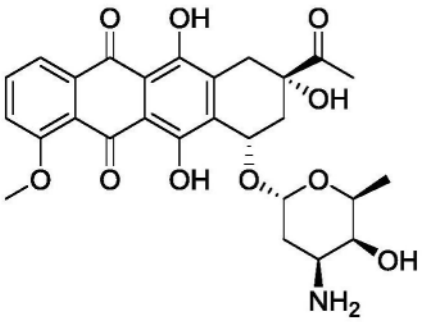


长春新碱

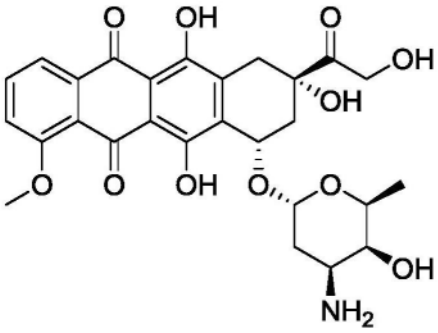


长春碱

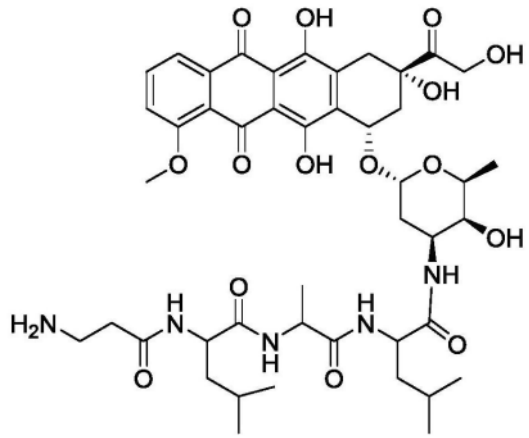
[0691]



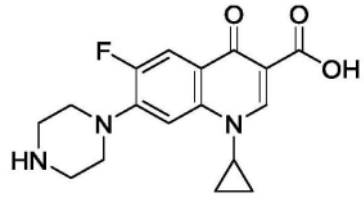
道诺霉素



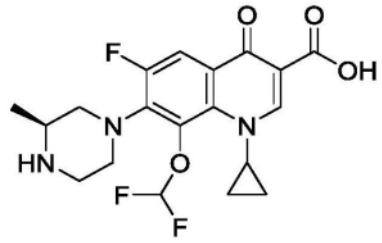
阿霉素



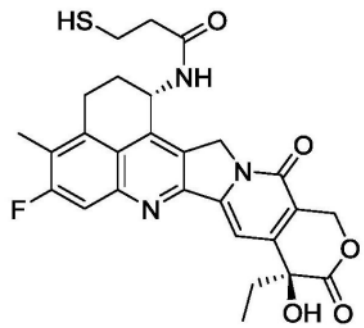
superdox



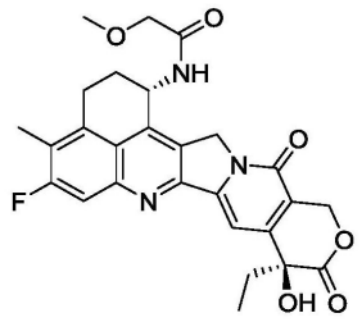
[0692] 环丙沙星



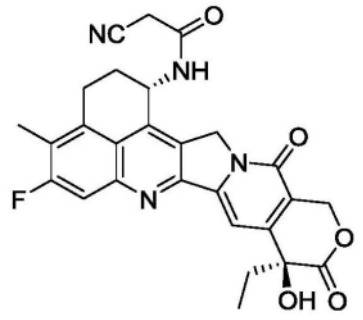
卡德沙星（CS-940）



U-046

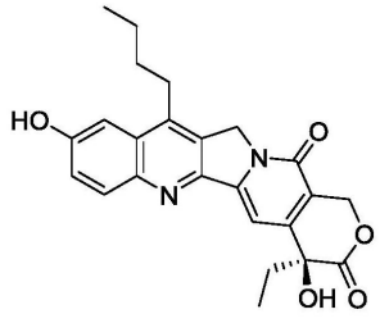


U-047

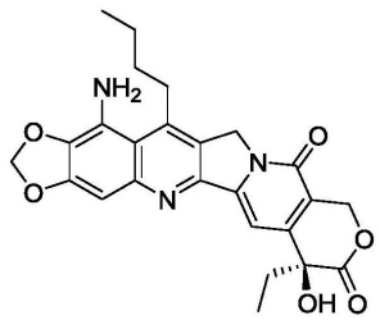


U-048

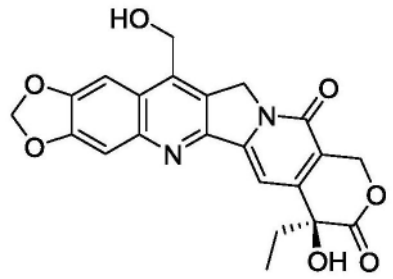
[0693]



U-049

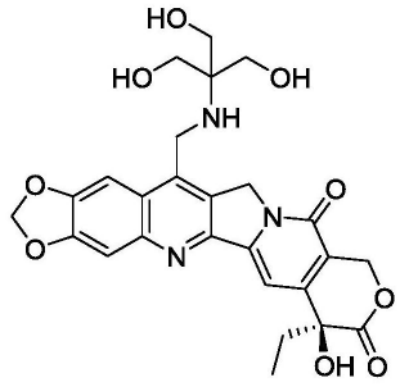


U-050

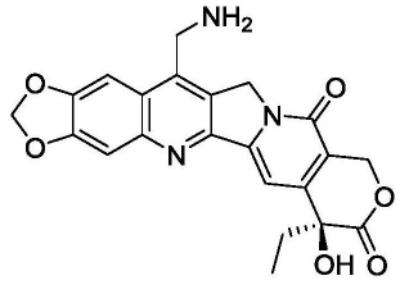


U-051

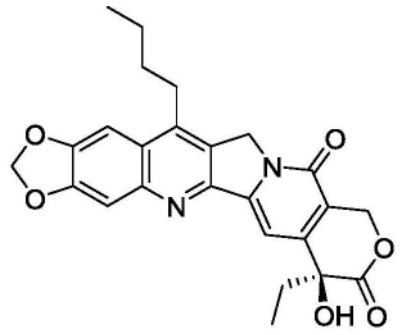
[0694]



U-052

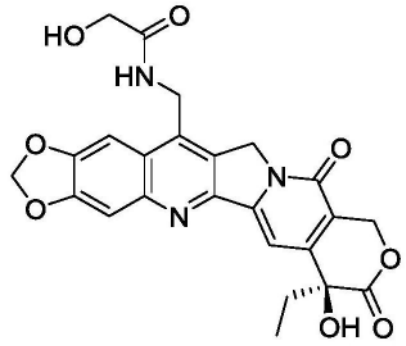


U-053

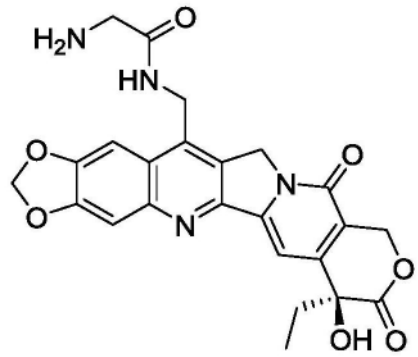


U-054

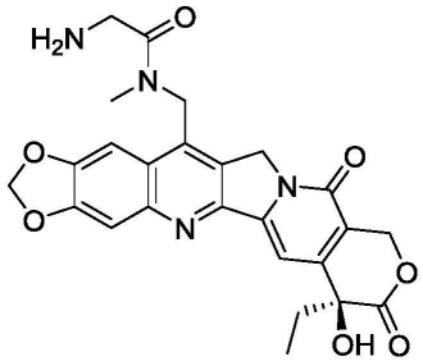
[0695]



U-055

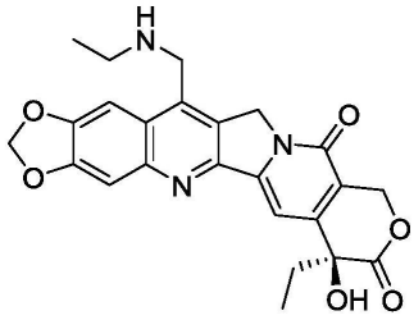


U-056

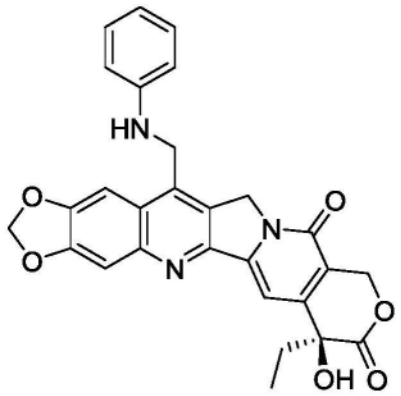


U-057

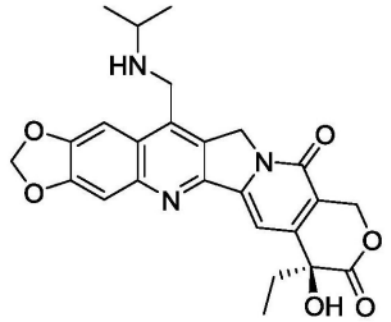
[0696]



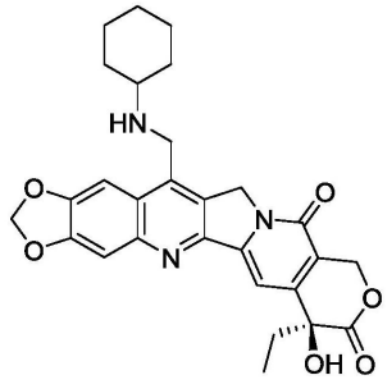
U-058



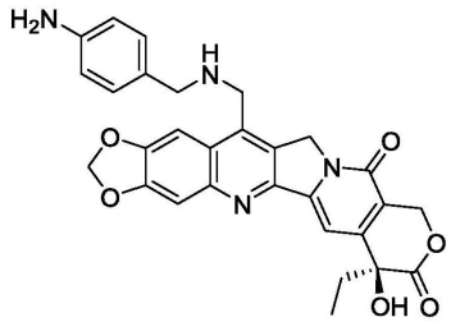
U-059



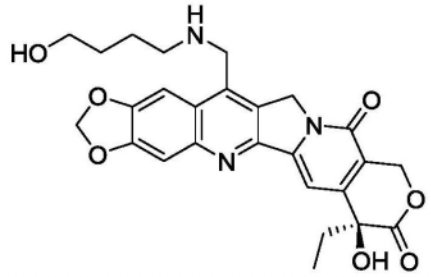
U-060



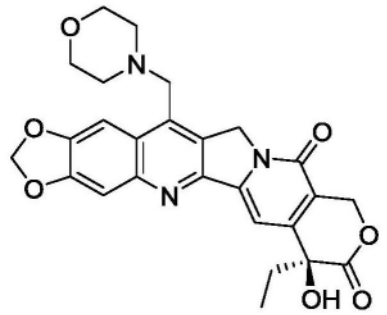
[0697] U-061



U-062

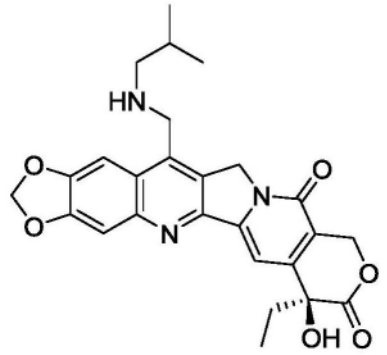


U-063

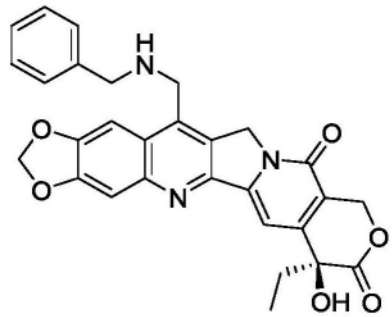


U-064

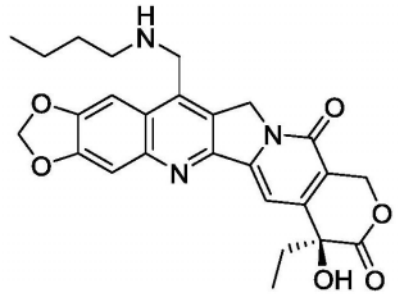
[0698]



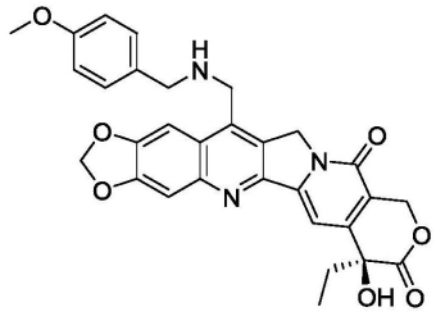
U-065



U-066

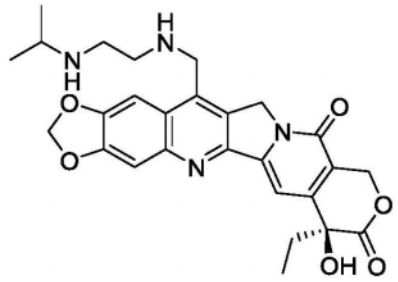


U-067

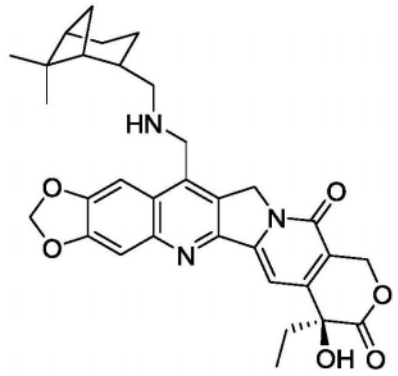


U-068

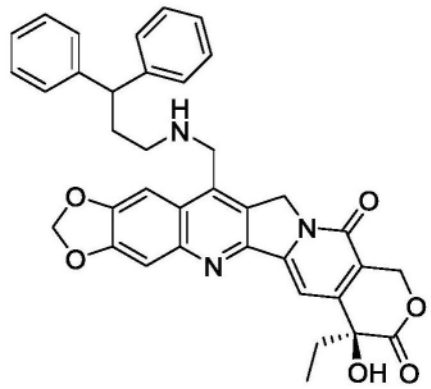
[0699]



U-069

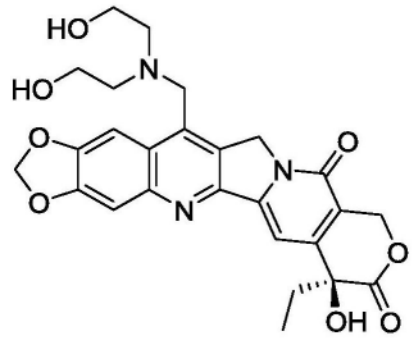


U-070

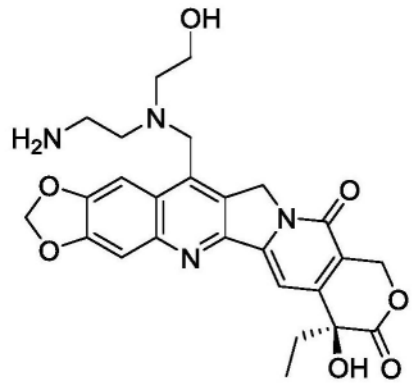


U-071

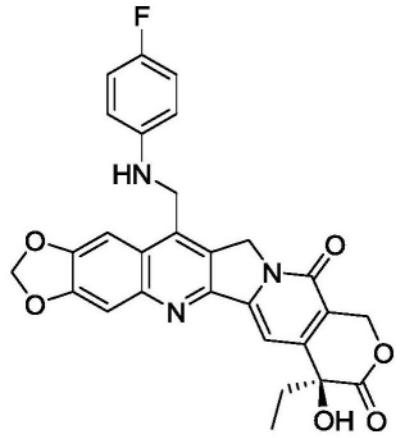
[0700]



U-072

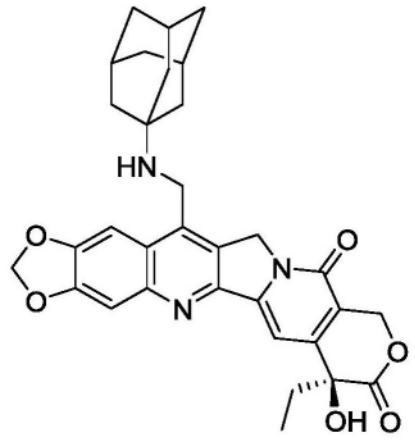


U-073

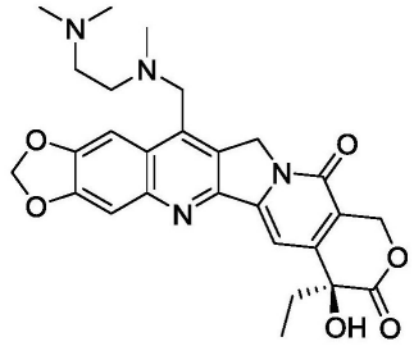


U-074

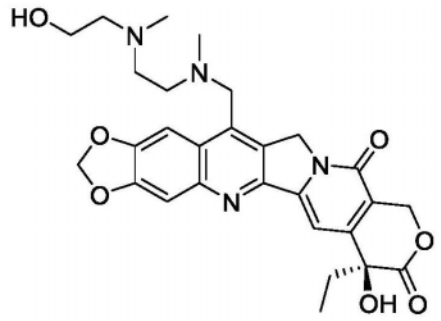
[0701]



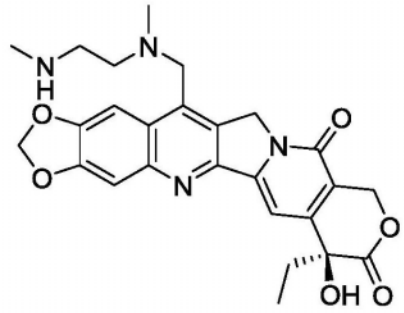
U-075



U-076

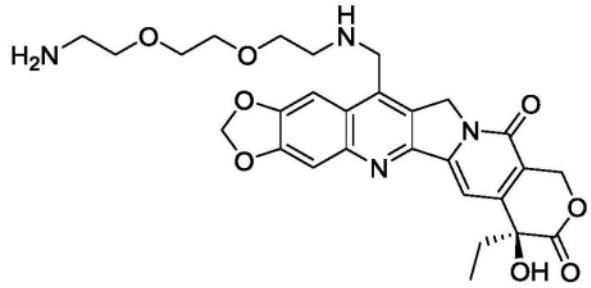


U-077

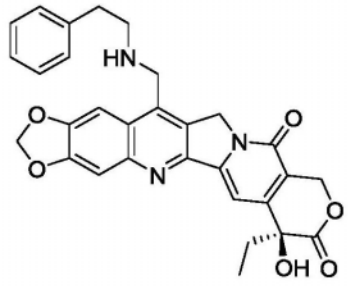


U-078

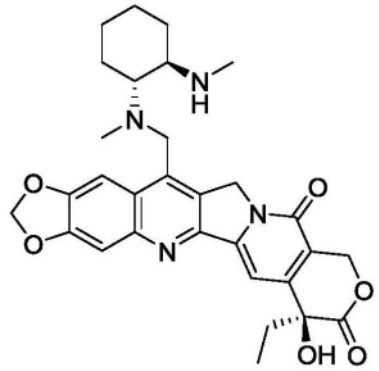
[0702]



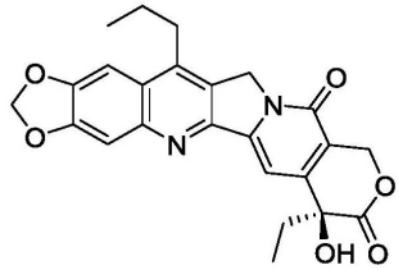
U-079



U-080

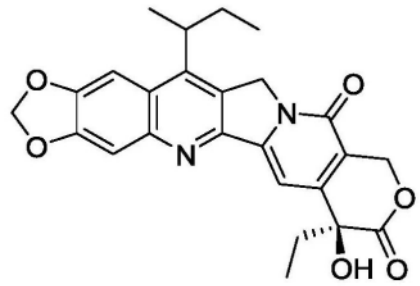


U-081

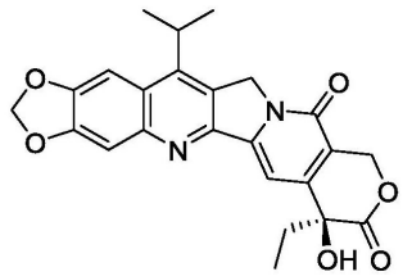


U-082

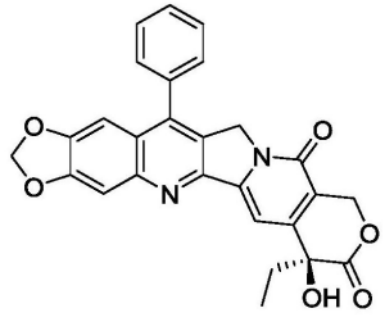
[0703]



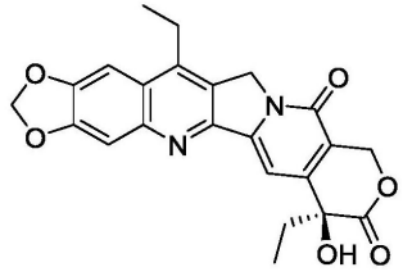
U-083



U-084

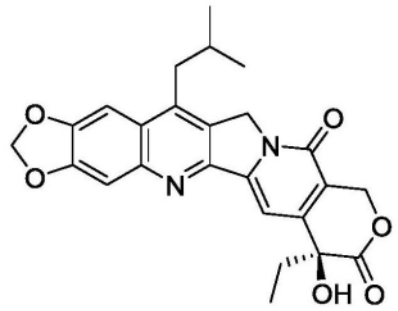


U-085

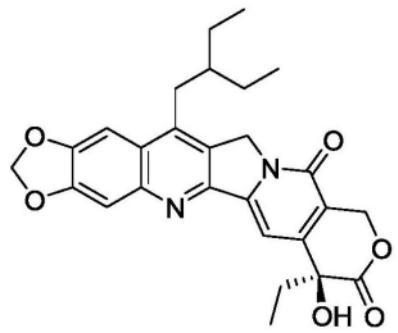


U-086

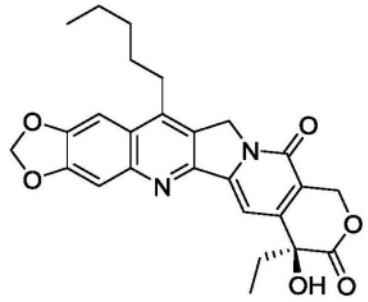
[0704]



U-087

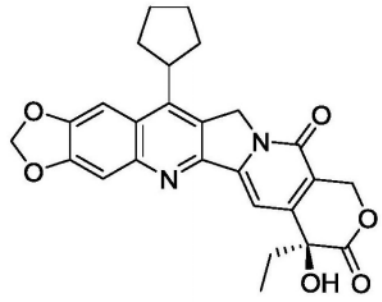


U-088

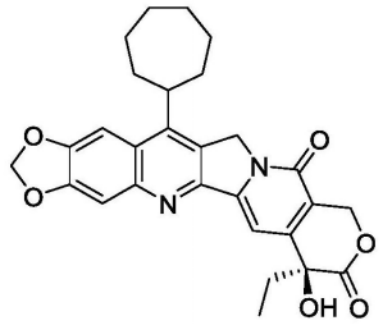


U-089

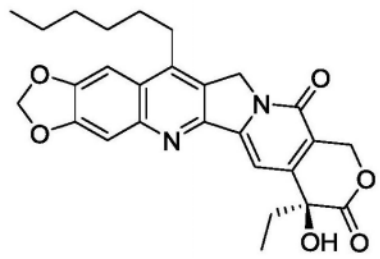
[0705]



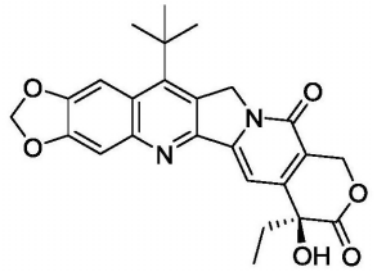
U-090



U-091

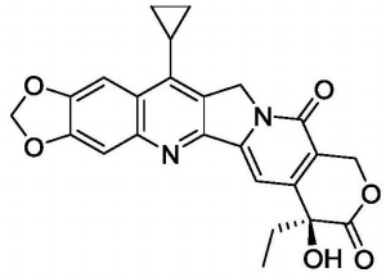


U-092

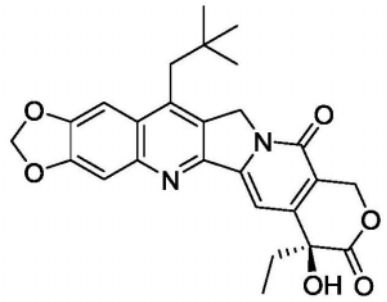


U-093

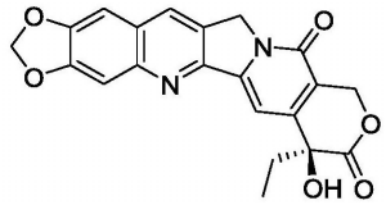
[0706]



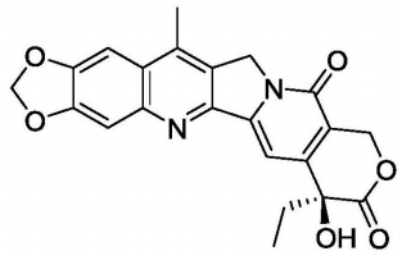
U-094



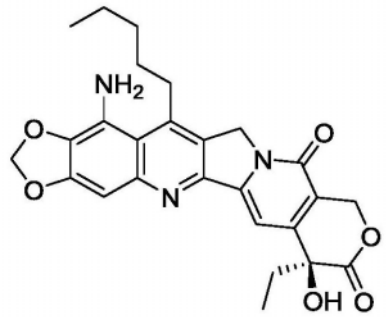
U-095



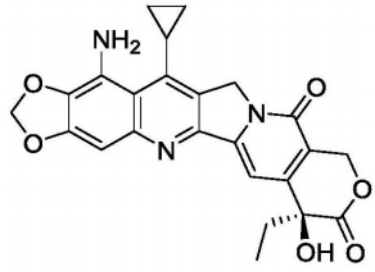
U-096



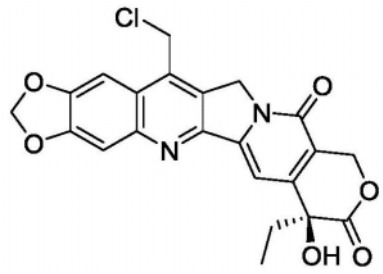
U-097



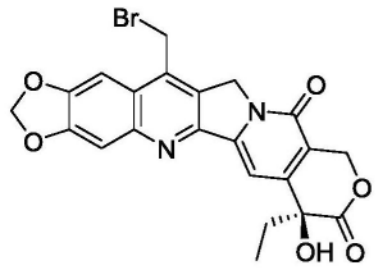
[0707] U-098



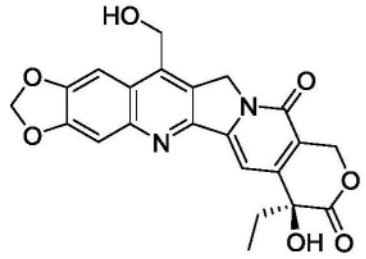
U-099



U-100

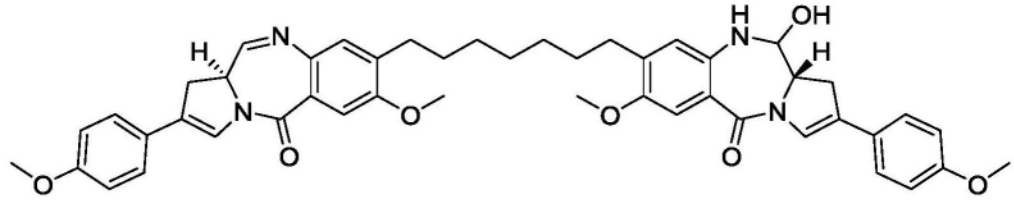


U-101

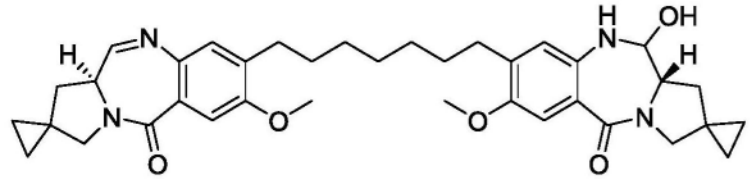


[0708]

U-102



U-103



U-104

[0709] 本说明书中记载的“抗肿瘤性药物分子的残基”是指从上述的“抗肿瘤性药物分子或其类似物或其衍生物”的任意位置除去1个氢原子或1个羟基而生成的残基。

[0710] 本说明书中记载的“烷基”是指从碳数1～10的直链状或支链状的饱和烃(即,烷烃)中除去1个氢原子而得到的基团。需要说明的是,即使没有特别说明,该烷基中也包含“任选被取代的烷基”。

[0711] 作为任选被取代的烷基的取代基,可列举出从以下的组A中独立地选择的1个以上

的取代基。

[0712] 组A:

[0713] 卤素原子(氟原子、氯原子、溴原子、或碘原子);

[0714] 烷氧基;

[0715] 羟基;

[0716] 巯基;

[0717] 氨基;

[0718] 烷基氨基;

[0719] 二烷基氨基(也可以2个烷基一起形成包含N原子的杂环基);

[0720] 三烷基铵基;

[0721] 羧基;

[0722] 氰基;

[0723] 硝基;

[0724] 烷基羰基;

[0725] 烯基羰基;

[0726] 炔基羰基;

[0727] 芳基羰基;

[0728] 杂芳基羰基;

[0729] 杂环基羰基;

[0730] 内酯基羰基;

[0731] 磷酰基烷基羰基;

[0732] 烷氧基羰基;

[0733] 芳氧基羰基;

[0734] 杂芳氧基羰基;

[0735] 氨基羰基;

[0736] 氨基部分为任意的氨基酸或肽的氨基的氨基羰基;

[0737] N-烷基氨基羰基;

[0738] N,N-二烷基氨基羰基(也可以2个烷基一起形成包含N原子的杂环基);

[0739] 氨基羰基氧基;

[0740] N-烷基氨基羰基氧基;

[0741] N,N-二烷基氨基羰基氧基(也可以2个烷基一起形成包含N原子的杂环基);

[0742] 烷氧基羰基氧基;

[0743] 芳氧基羰基氧基;

[0744] 杂芳氧基羰基氧基;

[0745] 脲基;

[0746] N-烷基脲基;

[0747] N,N-二烷基脲基(也可以2个烷基一起形成包含N原子的杂环基);

[0748] N,N,N'-三烷基脲基(也可以相同N原子上的2个烷基一起形成包含N原子的杂环基);

[0749] 胍基;

[0750] 脒基;

[0751] 肼基;

[0752] 烷基肼基;

[0753] N,N-二烷基肼基;

[0754] N,N'-二烷基肼基;

[0755] 烷基硫基;

[0756] 烷基亚磺酰基;

[0757] 烷基磺酰基;

[0758] 芳基硫基;

[0759] 芳基亚磺酰基;

[0760] 芳基磺酰基;

[0761] 杂芳基硫基;

[0762] 杂芳基亚磺酰基;

[0763] 杂芳基磺酰基;

[0764] 次磺酸基;

[0765] 亚磺酸基;

[0766] 磺酸基;

[0767] 硫酸基;

[0768] 亚磺酰胺基;

[0769] 磺酰胺基;

[0770] 氧化膦基;

[0771] 次膦酸基;

[0772] 磷酰基(膦酸基-P(=O)(OH)$_2$);

[0773] 双磷酰基甲基(-C(H、OH、NH_2、Cl、或任选被取代的烷基)(P(=O)(OH)$_2$)$_2$);

[0774] 磷酸基(磷酸酯基-O-P(=O)(OH)$_2$);

[0775] 硼酸基;

[0776] 烯基;

[0777] 炔基;

[0778] 环烷基;

[0779] 环烯基;

[0780] 芳基;

[0781] 杂芳基;

[0782] 杂环基;

[0783] 内酯基;

[0784] 及

[0785] -$(OCH_2CH_2)_x$-Y基(x为1～30的整数,

[0786] Y为由

[0787] 氢原子;

[0788] 烷基;

[0789] 卤素原子(氟原子、氯原子、溴原子、或碘原子);

[0790] 烷氧基;

[0791] 烷基硫基;

[0792] 羟基;

[0793] 巯基;

[0794] 氨基;

[0795] 烷基氨基;

[0796] 二烷基氨基(也可以2个烷基一起形成包含N原子的杂环基);三烷基铵基;

[0797] 羧基;

[0798] 氰基;

[0799] 硝基;

[0800] 烷基羰基;

[0801] 烯基羰基;

[0802] 炔基羰基;

[0803] 芳基羰基;

[0804] 杂芳基羰基;

[0805] 杂环基羰基;

[0806] 内酯基羰基;

[0807] 磷酰基烷基羰基;

[0808] 烷氧基羰基;

[0809] 芳氧基羰基;

[0810] 杂芳氧基羰基;

[0811] 氨基羰基;

[0812] 氨基部分为任意的氨基酸或肽的氨基的氨基羰基;

[0813] N-烷基氨基羰基;

[0814] N,N-二烷基氨基羰基(也可以2个烷基一起形成包含N原子的杂环基);

[0815] 氨基羰基氧基;

[0816] N-烷基氨基羰基氧基;

[0817] N,N-二烷基氨基羰基氧基(也可以2个烷基一起形成包含N原子的杂环基);

[0818] 烷氧基羰基氧基;

[0819] 芳氧基羰基氧基;

[0820] 杂芳氧基羰基氧基;

[0821] 脲基;

[0822] N-烷基脲基;

[0823] N,N-二烷基脲基(也可以2个烷基一起形成包含N原子的杂环基);

[0824] N,N,N'-三烷基脲基(也可以相同N原子上的2个烷基一起形成包含N原子的杂环基);

[0825] 胍基;

[0826] 脒基;

[0827] 胍基;

[0828] 烷基胍基;

[0829] N,N-二烷基胍基;

[0830] N,N'-二烷基胍基;

[0831] 烷基硫基;

[0832] 烷基亚磺酰基;

[0833] 烷基磺酰基;

[0834] 芳基硫基;

[0835] 芳基亚磺酰基;

[0836] 芳基磺酰基;

[0837] 杂芳基硫基;

[0838] 杂芳基亚磺酰基;

[0839] 杂芳基磺酰基;

[0840] 次磺酸基;

[0841] 亚磺酸基;

[0842] 磺酸基;

[0843] 硫酸基;

[0844] 亚磺酰胺基;

[0845] 磺酰胺基;

[0846] 氧化膦基;

[0847] 次膦酸基;

[0848] 磷酰基(膦酸基-P(=O)(OH)$_2$);

[0849] 双磷酰基甲基(-C(H、OH、NH_2、Cl、或任选被取代的烷基)(P(=O)(OH)$_2$)$_2$);

[0850] 磷酸基(磷酸酯基-O-P(=O)(OH)$_2$);

[0851] 硼酸基;

[0852] 烷基;

[0853] 烯基;

[0854] 炔基;

[0855] 环烷基;

[0856] 环烯基;

[0857] 芳基;

[0858] 杂芳基;

[0859] 杂环基;

[0860] 内酯基);组成的组。

[0861] 作为该烷基,具体而言,例如可列举出甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、正己基、正庚基、正辛基、正壬基、正癸基等。

[0862] 需要说明的是,在本说明书中使用术语“烷烃”的情况下,该烷烃是指在上述定义的“烷基”上添加1个氢原子的“碳原子数1～10的直链状或支链状的饱和烃”。

[0863] 本说明书中记载的“烯基”是指在上述定义的烷基的链中包含1个以上双键(-C=C-)的直链状或支链状的不饱和烃基。

[0864] 作为任选被取代的烯基的取代基,可列举从组A中独立地选择的1个以上的取代基。

[0865] 作为该烯基,具体而言,例如可列举出亚甲基(=CH_2基)、乙烯基、1-丙烯基、2-丙烯基、1-丁烯基、2-丁烯基、3-丁烯基、1,3-丁二烯基、1-甲基-2-丙烯基、1,1-二甲基-2-丙烯基、1-戊烯基、2-戊烯基、3-戊烯基、4-戊烯基、1-甲基-2-丁烯基、3-甲基-1-丁烯基、1-己烯基、2-己烯基、3-己烯基、4-己烯基、5-己烯基、1-甲基-2-戊烯基、3-甲基-1-戊烯基、2-庚烯基、4-辛烯基、1-壬烯基、2-癸烯基等。

[0866] 本说明书中记载的“炔基”是指在上述定义的烷基(其中碳数为2~10)的链中包含1个以上的三键(-C≡C-)的直链状、或支链状的不饱和烃基。

[0867] 作为任选被取代的炔基的取代基,可列举出从组A中独立的选择的1个以上的取代基。

[0868] 作为该炔基,具体而言,例如可举出乙炔基、1-丙炔基、2-丙炔基、1-丁炔基、2-丁炔基、3-丁炔基、1-甲基-2-丙炔基、1,1-二甲基-2-丙炔基、1-戊炔基、2-戊炔基、3-戊炔基、4-戊炔基、1-甲基-2-丁炔基、3-甲基-1-丁炔基、1-己炔基、2-己炔基、3-己炔基、4-己炔基、5-己炔基、1-甲基-2-戊炔基、3-甲基-1-戊炔基、2-庚炔基、4-辛炔基、1-壬炔基、2-癸炔基等。

[0869] 本说明书中记载的“烷氧基”是指上述定义的碳数1~10的烷基与氧基键合而成的1价基团(烷基-O-基)。作为该烷氧基,具体而言,例如可举出甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、异丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基、正戊氧基、正己氧基、正庚氧基、正辛氧基、正壬氧基、正癸氧基等。

[0870] 本说明书中记载的“烷硫基”是指上述定义的碳数1~10的烷基与硫基键合而成的1价基团(烷基-S-基)。作为该烷硫基,具体而言,例如可举出甲硫基、乙硫基、正丙硫基、异丙硫基、正丁硫基、异丁硫基、仲丁硫基、叔丁硫基、正戊硫基、正己硫基、正庚硫基、正辛硫基、正壬硫基、正癸硫基等。

[0871] 作为任选被取代的烷氧基和烷硫基的取代基,可列举出从组A中独立地选择的1个以上的取代基。

[0872] 本说明书中记载的“环烷基”是指从碳原子数为3~10的单环式的环状烃(即环烷烃)中除去1个氢原子而得到的基团、及从碳原子数为4~10的二环式的环状烃(即二环式环烷烃)中除去1个氢原子而得到的基团。

[0873] 作为任选被取代的环烷基的取代基,可列举出从氧代基(=O);硫代基(=S);亚氨基(=N(R^8));肟基(=N-OR^9);亚肼基(=N-N(R^{10})(R^{11}));烷基;和组A(以下,将氧代基;硫代基;亚氨基;肟基;亚肼基;烷基;和组A组成的组称为组B)中独立地选择的1个以上的取代基(上述中,R^8、R^9、R^{10}和R^{11}各自独立地为氢原子、烷基、烯基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基或杂环基)。

[0874] 作为该环烷基,具体而言,例如可列举:环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基、环壬基等、环癸基等碳原子数3~10的单环式环烷基;双环[1.1.0]丁基、双环[2.1.0]戊基、双环[3.1.0]己基、双环[3.2.0]庚基、双环[2.2.1]庚基、双环[3.3.0]辛基、

双环[3.2.1]辛基、双环[2.2.2]辛基、双环[6.1.0]壬基、双环[4.4.0]癸基等碳原子数4～10的二环式环烷基等。

[0875] 需要说明的是,本说明书中使用术语“环烷烃”的情况下,该环烷烃是指在上述定义的“环烷基”上添加1个氢原子的“碳原子数为3～10的单环式的环状烃、及碳原子数为4～10的二环式的环状烃”。

[0876] 本说明书中记载的“环烯基”是指在上述定义的环烷基的环内包含1个以上双键(-C=C-)的单环式和二环式的环状不饱和烃基。

[0877] 作为任选被取代的环烯基的取代基,可列举从组B中独立地选择的1个以上的取代基。

[0878] 作为该环烯基,具体而言,例如可列举1-环丙烯基、1-环丁烯基、1-环戊烯基、2-环戊烯基、1-环己烯基、2-环己烯基、3-环己烯基、1,3-环己二烯基、1,4-环己二烯基、1-环庚烯基、2-环辛烯基、3-环辛烯基、4-环辛烯基、1-环壬烯基、1-环癸烯基等碳原子数为3～10的单环式的环烯基;双环[1.1.0]丁-1-烯基、双环[2.1.0]戊-2-烯基、双环[3.1.0]己-2-二-烯基、双环[3.2.0]庚-3-烯基、双环[2.2.1]庚-2-烯基、双环[3.3.0]辛-2-烯基、双环[3.2.1]辛-2-烯基、双环[2.2.2]辛-2-烯基、双环[6.1.0]壬-4-烯基、双环[4.4.0]癸-3-烯基等碳原子数为4～10的二环式的环烯基等。

[0879] 本说明书中记载的“环炔基”是指在上述定义的环烷基(其中碳原子数为6～15)的环内包含1个以上三键(-C≡C-)的单环式、二环式和三环式的环状不饱和烃基。

[0880] 作为任选被取代的环炔基的取代基,可列举从组B中独立地选择的1个以上的取代基。

[0881] 作为该环炔基,具体而言,例如可列举出环己炔-(3或4)-基、环庚炔-(3、4或5)-基、环辛炔-(3、4或5)-基、环辛炔-(3、4、5或6)-基、环癸炔-(3、4、5或6)-基、双环[6.1.0]壬-4-炔-9-基、二苯并环辛炔-(3、4或5)-基等。

[0882] 本说明书中记载的“芳基”是指从成环碳原子数为6～11的单环式或二环式的芳香族烃(即芳烃)中除去1个氢原子而得到的基团。

[0883] 作为任选被取代的芳基的取代基,可列举出从烷基和组A(以下,将由烷基和组A组成的组称为组C)中独立地选择的1个以上的取代基。

[0884] 作为该芳基,具体而言,例如可列举出苯基等单环式的芳基;萘基、四氢萘基、茚基、及茚满基等任选部分饱和的成环碳原子数9～11(C_9～C_{11})的二环式的芳基等。

[0885] 需要说明的是,本说明书中使用术语“芳烃”的情况下,该芳烃是指在上述定义的“芳基”上添加1个氢原子的“成环碳原子数为6～11的单环式或成环碳原子数为9～11的二环式的芳香族烃”。

[0886] 本说明书中记载的“杂芳基”是指从除了碳原子以外还包含1个～4个选自氧原子、硫原子及氮原子中的杂原子的5～14元的单环式、二环式或三环式的芳香族杂环(即杂芳烃)中除去1个氢原子而得的基团。

[0887] 作为任选被取代的杂芳基的取代基,可列举从组C独立地选择的1个以上的取代基。

[0888] 作为该杂芳基,具体而言,例如可列举吡咯基、呋喃基、噻吩基、吡唑基、咪唑基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、异噻唑基、噻二唑基、三唑基、四唑基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、哒

嗪基及三嗪基等除碳原子以外还包含1个～4个选自氧原子、硫原子及氮原子中的杂原子的5～6元的单环式的杂芳基;吲哚基、异吲哚基、吲唑基、四氢吲唑基、苯并呋喃基、二氢苯并呋喃基、二氢异苯并呋喃基、苯并噻吩基、二氢苯并噻吩基、二氢异苯并噻吩基、苯并噁唑基、二氢苯并噁唑基、苯并噻唑基、二氢苯并噻唑基、喹啉基、四氢喹啉基、异喹啉基、四氢异喹啉基、萘啶基、四氢萘啶基、喹喔啉基、四氢喹喔啉基、及喹唑啉基等除了碳原子以外还包含1个～4个选自氧原子、硫原子及氮原子中的杂原子的8～11元的二环式的杂芳基;二苯并呋喃、二苯并吡咯、二苯并噻吩、二苯并吡啶等除碳原子以外还含有1个～4个选自氧原子、硫原子及氮原子中的杂原子的11～14元的三环式的杂芳基等。

[0889] 需要说明的是,本说明书中使用术语“杂芳烃”的情况下,该杂芳烃是指在上述定义的“杂芳基”上添加1个氢原子的“除碳原子以外还含有1个～4个选自氧原子、硫原子及氮原子中的杂原子的5～14元的单环式、二环式或三环式的芳香族杂环”。

[0890] 本说明书中记载的“杂环基”是指从除碳原子以外还含有1个～4个选自氧原子、硫原子及氮原子中的杂原子的3～12元的单环式非芳香族杂环(即杂环烃)中除去1个氢原子而得到的1价基团,也可以在环内包含双键或三键。

[0891] 作为任选被取代的杂环基的取代基,可列举出从氧代基(=O);硫代基(=S);亚氨基(=NR^9;R^9与上述含义相同);亚肼基(=N-N(R^{10})(R^{11});R^{10}和R^{11}与上述含义相同);烷基;和组A(以下,将由氧代基;硫代基;亚氨基;亚肼基;烷基;和组A组成的组称为组D)中独立地选择的1个以上的取代基。

[0892] 作为该杂环基,具体而言,例如可列举出氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基、硫杂环丁烷基、吡咯烷基、哌啶基、哌啶基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、四氢噻吩基、哌嗪基、吗啉基、全氢化氮杂卓基(Perhydroazepinyl)、氮杂环辛基、氮杂环辛-3-烯基、氮杂环辛-4-烯基、氮杂环壬基、氮杂环癸基、6元～12元的氮杂双环烷基(例如氮杂双环己基、氮杂双环庚基、氮杂双环辛基、氮杂双环壬基、氮杂双环癸基、氮杂双环十一烷基或氮杂双环十二烷基)、6元～12元的氮杂双环烯基(例如,氮杂双环己烯基、氮杂双环庚烯基、氮杂双环辛烯基、氮杂双环壬烯基、氮杂双环癸烯基、氮杂双环十一烯基或氮杂双环十二烯基)、6元～12元的氮杂螺烷基(例如,氮杂螺己基、氮杂螺庚基、氮杂螺辛基、氮杂螺壬基、氮杂螺癸基、氮杂螺十一烷基、或氮杂螺十二烷基)、或5-氮杂环辛炔-5-基等。

[0893] 需要说明的是,在本说明书中使用术语“杂环”的情况下,该杂环是指在上述定义的“杂环基”上添加1个氢原子的“除碳原子以外还含有1个～4个选自氧原子、硫原子和氮原子中的杂原子的4～12元的单环式非芳香族杂环”。

[0894] 上述的环式化合物环烷烃、芳烃、杂芳烃及杂环可分别与其他任意的环式化合物稠合而形成2～4环式的环状化合物,可生成从这些2～4环式化合物中除去1个或2个氢原子而得的1价基团或2价基团。

[0895] 本说明书中记载的“内酯基”是指上述杂环基的一种,是杂环基在环内具有氧原子作为杂原子且与该氧原子邻接的碳原子被氧代基取代而得到的基团,作为该内酯基,可列举α-乙内酯基、β-丙内酯基、γ-丁内酯基、δ-戊内酯基、ε-己内酯基、γ-壬内酯基、γ-癸内酯基、γ-十一内酯基、葡萄糖酸-δ-内酯基、或泛酰内酯基(泛酰内酯的1价残基)等,可以与上述杂环基同样地被取代,此外,也可以与其他任意的环式化合物稠合而形成2～4环式的环状化合物。

[0896] 需要说明的是,该内酯基在通式(I)所示的本发明的抗体-药物偶联物中,可以成为与L或D中存在的碳原子或杂原子(N、O、S、Ser、P等)键合的取代基。

[0897] 作为内酯基在L或D中存在的杂原子上进行取代的例子,并不限定于此,例如可列举α-乙内酯-3-基、β-丙内酯-3-基、β-丙内酯-4-基、γ-丁内酯-3-基、γ-丁内酯-4-基、γ-丁内酯-5-基、δ-戊内酯-3-基、δ-戊内酯-4-基、δ-戊内酯-5-基、δ-戊内酯-6-基、ε-己内酯-3-基、ε-己内酯-4-基、ε-己内酯-5-基、ε-己内酯-6-基、ε-己内酯-7-基、(3-羟基-γ-丁内酯-5-基)甲基、4-羟基-γ-丁内酯基、(3,4-二羟基-γ-丁内酯-5-基)甲基、葡糖酸基-γ-内酯-3-基、2-(3,4-二羟基-γ-丁内酯-5-基)-1-羟基乙基、4,4-二甲基-β-丙内酯-3-基、4,5-二羟基-6-羟基甲基-δ-戊内酯-3-基、4,5-二羟基-δ-戊内酯-3-基、及(3,4,5-三羟基-δ-戊内酯-3-基)甲基等。

[0898] 作为该内酯基,(S)配置和(R)配置这两者包含在本发明中。

[0899] 本说明书中记载的“亚烷基”是指从上述定义的“烷基”除去1个任意氢原子而得到的2价基团。另外,在该烷基具有取代基的情况下,是指从不是取代基的烷基链构成碳原子上进一步除去了另1个任意氢原子的2价基团。

[0900] 需要说明的是,本发明的通式(I)中,L为任选被取代的亚烷基,该亚烷基的链中的一个以上亚甲基任选与独立地选自由如下的基团组成的组中的1个以上2价基团进行替换,

[0901] $-C(R^1)(R^2)-$;$-O-$;$-N(R^3)-$;$-N(R^3)-N(R^3)-$;$-S-$;$-Se-$;$-Si(R^4)(R^5)-$;$-S-S-$;$-Se-Se-$;$-SOm-$;$-SeOn-$;$-C(=C(R^6)(R^7))-$;$-C(=O)-$;$-C(=S)-$;$-C(=N(R^8))-$;$-C(=N-OR^9)-$;$-C(=N-N(R^{10})(R^{11}))-$;$-P(=O)(R^{12})-$;$-P(=O)(OR^{13})-$;$-O-P(=O)(R^{12})-O-$;$-O-P(=O)(OR^{13})-O-$;$-O-P(=S)(OR^{13})-O-$;$-O-P(=O)(OR^{13})-S-$;$-C(R^{14})=$;$=C(R^{14})-$;$-C(R^{14})=C(R^{14})-$;$-N=$;$=N-$;$-C\equiv C-$;$-(O-C(R^1)(R^2)-C(R^1)(R^2))_{1-30}-$;$-(C(R^1)(R^2)-C(R^1)(R^2)-O)_{1-30}-$;任选被取代的亚烯基、任选被取代的亚炔基、任选被取代的亚环烷基;任选被取代的亚环烯基;任选被取代的亚环炔基;任选被取代的亚氮杂环炔基;任选被取代的亚芳基;任选被取代的亚杂芳基;及任选被取代的亚杂环基,上述R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{10}、R^{11}、R^{12}、R^{13}、及R^{14}各自独立地为选自由氢原子、任选被取代的烷基、任选被取代的烯基、任选被取代的炔基、任选被取代的环烷基、任选被取代的环烯基、任选被取代的环炔基、任选被取代的氮杂环炔基、任选被取代的芳基、任选被取代的杂芳基、及任选被取代的杂环基组成的组中的基团,R^3为烷基时,该烷基可以与邻接的亚甲基中的烷基一起形成环状结构,m及n各自独立地为0~2的整数。

[0902] 作为任选被取代的亚烷基的取代基,可列举从组A独立地选择的1个以上的取代基。

[0903] 作为该亚烷基,具体而言,例如可列举亚甲基、亚乙基、甲基亚甲基、三亚甲基、乙基亚甲基、二甲基亚甲基、亚正丙基、亚正丁基、亚正戊基、亚正己基、亚正庚基、亚正辛基、亚正壬基、亚正癸基、亚正十一烷基、亚正十二烷基、亚正十三烷基、亚正十四烷基、亚正十五烷基、亚正十六烷基、亚正十七烷基、亚正十八烷基、亚正十九烷基、亚正二十烷基、亚正三十烷基、亚正四十烷基、及亚正五十烷基等。

[0904] 本说明书中记载的“亚烯基”是指构成上述通式(I)中的L所示的连接子链的基团,是指从上述定义的“烯基”除去1个任意氢原子而得到的2价基团。另外,该烯基具有取代基时,是指从不是取代基的烯基链构成碳原子上进一步除去了另1个任意氢原子而得到的2价

基团。

[0905] 作为任选被取代的亚烯基的取代基,可列举从组A独立地选择的1个以上的取代基。

[0906] 作为该亚烯基,具体而言,例如可列举亚乙烯基、1-亚丙烯基、2-亚丙烯基、1-亚丁烯基、2-亚丁烯基、3-亚丁烯基、1,3-亚丁二烯基、1-甲基-2-亚丙烯基、1,1-二甲基-2-亚丙烯基、1-亚戊烯基、2-亚戊烯基、3-亚戊烯基、4-亚戊烯基、1-甲基-2-亚丁烯基、3-甲基-1-亚丁烯基、1-亚己烯基、2-亚己烯基、3-亚己烯基、4-亚己烯基、5-亚己烯基、1-甲基-2-亚戊烯基、3-甲基-1-亚戊烯基、2-亚庚烯基、4-亚辛烯基、1-亚壬烯基、2-亚癸烯基、1-亚十一烯基、3-亚十二烯基、2-亚十三烯基、4-亚十四烯基、1-亚十五烯基、2-亚十六烯基、3-亚十七烯基、2-亚十八烯基、1-亚十九烯基、1-亚二十烯基等。

[0907] 本说明书中记载的“亚炔基”是指构成上述通式(I)中的L所示的连接子链的基团,是指从上述定义的“炔基”除去1个任意氢原子而得到的2价基团。另外,在该炔基具有取代基的情况下,是指从不是取代基的炔基链构成碳原子上进一步除去了另1个任意氢原子而得到的2价基团。

[0908] 作为任选被取代的亚炔基的取代基,可列举从组A独立地选择的1个以上的取代基。

[0909] 作为该亚炔基,具体而言,例如可列举亚乙炔基、1-亚丙炔基、2-亚丙炔基、1-亚丁炔基、2-亚丁炔基、3-亚丁炔基、1-甲基-2-亚丙炔基、1,1-二甲基-2-亚丙炔基、1-亚戊炔基、2-亚戊炔基、3-亚戊炔基、4-亚戊炔基、1-甲基-2-亚丁炔基、3-甲基-1-亚丁炔基、1-亚己炔基、2-亚己炔基、3-亚己炔基、4-亚己炔基、5-亚己炔基、1-甲基-2-亚戊炔基、3-甲基-1-亚戊炔基、2-亚庚炔基、4-亚辛炔基、1-亚壬炔基、2-亚癸炔基、1-亚十一炔基、3-亚十二炔基、2-亚十三炔基、4-亚十四炔基、1-亚十五炔基、2-亚十六炔基、3-亚十七炔基、2-亚十八炔基、1-亚十九炔基、1-亚二十炔基等。

[0910] 本说明书中记载的“亚环烷基”是指构成上述通式(I)中的L所示的连接子链的基团,是指从上述定义的“环烷基”除去1个任意氢原子而得到的2价基团。另外,该环烷基具有取代基时,是指从不是取代基的环烷基成环碳原子上进一步除去另1个任意氢原子而得到的2价基团。

[0911] 作为任选被取代的亚环烷基的取代基,可列举从组B独立地选择的1个以上的取代基。

[0912] 作为该亚环烷基,具体而言,例如可列举亚环丙基、亚环丁基、亚环戊基、亚环己基、亚环庚基、亚环辛基、亚环壬基等、亚环癸基等碳原子数为3～10的单环式的亚环烷基;双环[1.1.0]亚丁基、双环[2.1.0]亚戊基、双环[3.1.0]亚己基、双环[3.2.0]亚庚基、双环[2.2.1]亚庚基、双环[3.3.0]亚辛基、双环[3.2.1]亚辛基、双环[2.2.2]亚辛基、双环[6.1.0]亚壬基、双环[4.4.0]亚癸基等碳原子数为4～10的二环式的亚环烷基等。

[0913] 本说明书中记载的“亚环烯基”是指构成上述通式(I)中的L所示的连接子链的基团,是指从上述定义的“环烯基”除去1个任意氢原子而得到的2价基团。另外,在该环烯基具有取代基的情况下,是指从不是取代基的环烯基成环碳原子上进一步除去了另1个任意氢原子而得到的2价基团。

[0914] 作为任选被取代的亚环烯基的取代基,可列举从组B中独立地选择的1个以上的取

代基。

[0915] 作为该亚环烯基,具体而言,例如可列举1-亚环丙烯基、1-亚环丁烯基、1-亚环戊烯基、2-亚环戊烯基、1-亚环己烯基、2-亚环己烯基、3-亚环己烯基、1、3-亚环己二烯基、1,4-亚环己二烯基、1-亚环庚烯基、2-亚环辛烯基、3-亚环辛烯基、4-亚环辛烯基、1-亚环壬烯基、1-亚环癸烯基等碳原子数为3～10的单环式的亚环烯基;双环[1.1.0]丁-1-烯基、双环[2.1.0]戊-2-烯基、双环[3.1.0]己-2-烯基、双环[3.2.0]庚-3-烯基、双环[2.2.1]庚-2-烯基、双环[3.3.0]辛-2-烯基、双环[3.2.1]辛-2-烯基、双环[2.2.2]辛-2-烯基、双环[6.1.0]壬-4-烯基、双环[4.4.0]癸-3-烯基等碳原子数为4～10的二环式的环烯基等。

[0916] 本说明书中记载的“亚环炔基”是指构成上述通式(I)中的L所示的连接子链的基团,是指从上述定义的“环炔基”除去1个任意氢原子而得到的2价基团。另外,在该环炔基具有取代基的情况下,是指从不是取代基的环炔基成环碳原子上进一步除去了另1个任意氢原子而得到的2价基团。

[0917] 作为任选被取代的亚环炔基的取代基,可列举从组B中独立地选择的1个以上的取代基。

[0918] 作为该亚环炔基,具体而言,例如可列举环己炔-(3,4)-二亚基、环庚炔-(4,5)-二亚基、环辛炔-(3,4)-二亚基、环辛炔-(3,5)-二亚基、环辛炔-(5,6)-二亚基、环辛炔-(3,8)-二亚基等。

[0919] 本说明书中记载的“亚芳基”是指构成上述通式(I)中的L所示的连接子链的基团,是指从上述定义的“芳基”除去1个任意氢原子而得到的2价基团。另外,在该芳基具有取代基的情况下,是指从不是取代基的芳基成环碳原子上进一步除去另1个任意氢原子而得到的2价基团。

[0920] 作为任选被取代的亚芳基的取代基,可列举从组C独立地选择的1个以上的取代基。

[0921] 作为该亚芳基,具体而言,例如可列举亚苯基等成环碳原子数为6～11的单环式的亚芳基;亚萘基、亚四氢萘基、亚茚基及亚茚满基等任选部分饱和的成环碳原子数为9～11的二环式的亚芳基。

[0922] 本说明书中记载的“亚杂芳基”是指构成上述通式(I)中L所示的连接子链的基团,是指从上述定义的“杂芳基”除去1个任意氢原子而得到的2价基团。另外,在该亚杂芳基具有取代基的情况下,是指从不是取代基的杂芳基成环原子上进一步除去了另1个任意氢原子而得到的2价基团。

[0923] 作为任选被取代的亚杂芳基的取代基,可列举从组C独立地选择的1个以上的取代基。

[0924] 作为该亚杂芳基,具体而言,例如可列举亚吡咯基、亚呋喃基、亚噻吩基、亚吡唑基、亚咪唑基、亚噁唑基、亚异噁唑基、亚噻唑基、亚异噻唑基、亚噻二唑基、亚三唑基、亚四唑基、亚吡啶基、亚吡嗪基、亚嘧啶基、亚哒嗪基、及亚三嗪基等除碳原子以外还含有1个～4个选自氧原子、硫原子及氮原子中的杂原子的5～6元的单环式的亚杂芳基;亚吲哚基、亚异吲哚基、亚吲唑基、亚四氢吲唑基、亚苯并呋喃基、亚二氢苯并呋喃基、亚二氢异苯并呋喃基、亚苯并噻吩基、亚二氢苯并噻吩基、亚二氢异苯并噻吩基、亚苯并噁唑基、亚二氢苯并噁唑基、亚苯并噻唑基、亚二氢苯并噻唑基、亚喹啉基、亚四氢喹啉基、亚异喹啉基、亚四氢异

喹啉基、亚萘啶基、亚四氢萘啶基、亚喹喔啉基、亚四氢喹喔啉基、及亚喹唑啉基等除碳原子以外还含有1个～4个选自氧原子、硫原子及氮原子中的杂原子的8～11元的二环式的亚杂芳基。

[0925] 需要说明的是,作为本说明书中记载的“来自抗体内官能团的2价基团”而在上面说明的1,2,3-亚三唑基是指通过作为经修饰的抗体的抗体内官能团的叠氮基(-N_3)与作为连接子末端的反应性基团的炔基、环炔基或氮杂环炔基的点击反应而生成的1,2,3-三唑的2价基团,该1,2,3-三唑环的4位和5位可以一起与环烷烃环、双环烷烃环或杂环环成环而成为2环性的2价基团,该环烷烃环、双环烷烃环或杂环环可以进一步与其他的1个或2个脂肪族或芳香族环稠合而形成3环性或4环性的2价基团。

[0926] 本说明书中记载的“亚杂环基”是指构成上述通式(I)中的L所示的连接子链的基团,是指从上述定义的“杂环基”除去1个任意氢原子而得到的2价基团。

[0927] 作为任选被取代的亚杂环基的取代基,可列举从组D中独立地选择的1个以上的取代基。

[0928] 作为该亚杂环基,具体而言,例如可列举出亚氮杂环丁烷基、亚氧杂环丁烷基、亚硫杂环丁烷基、亚吡咯烷基、亚哌啶基、亚哌啶基、亚四氢呋喃基、亚四氢吡喃基、亚四氢噻吩基、亚哌嗪基、亚吗啉基、亚全氢化氮杂卓基、亚氮杂环辛基、亚氮杂环辛-3-基、亚氮杂环辛-4-基、亚氮杂环壬基、亚氮杂环癸基、6元～12元的亚氮杂双环烷基(例如亚氮杂双环己基、亚氮杂双环庚基、亚氮杂双环辛基、亚氮杂双环壬基、亚氮杂双环癸基、亚氮杂双环十一烷基、或亚氮杂双环十二烷基)、6元～12元的亚氮杂双环烯基(例如,亚氮杂双环己烯基、亚氮杂双环庚烯基、亚氮杂双环辛烯基、亚氮杂双环壬烯基、亚氮杂双环癸烯基、亚氮杂双环十一烯基或亚氮杂双环十二烯基)、6元～12元的亚氮杂螺烷基(例如,亚氮杂螺己基、亚氮杂螺庚基、亚氮杂螺辛基、亚氮杂螺壬基、亚氮杂螺癸基、亚氮杂螺十一烷基、或亚氮杂螺十二烷基)、5-氮杂环辛炔-3,5-二亚基、5-氮杂环辛炔-4,5-二亚基等。

[0929] 该亚杂环基可以与1个以上的上述芳基环和(或)上述杂芳基环成环而形成2～4环式的亚杂环基。

[0930] 需要说明的是,上述烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、氮杂环炔基、芳基、杂芳基、杂环基、亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚环烷基、亚环烯基、亚环炔基、亚氮杂环炔基、亚芳基、亚杂芳基和亚杂环基具有羟基、巯基、氨基(-NH_2、-NH-(也包含杂芳基和杂环基的环内的-NH-))、羧基、次磺酸基、亚磺酸基、磺酸基、次膦酸基、膦酸基或硼酸基等官能团作为取代基时,这些基团可以被在“抗肿瘤性药物分子或其类似物、或它们的衍生物”中说明的保护基保护。

[0931] 作为本说明书中记载的“药理上可接受的盐”,可列举锂、钠和钾等碱金属盐;镁和钙等第二族金属盐;与铝或锌的盐;与氨、胆碱、二乙醇胺、赖氨酸、乙二胺、叔丁基胺、叔辛基胺、三(羟基甲基)氨基甲烷、N-甲基-氨基葡萄糖、三乙醇胺和脱氢松香胺等胺的盐;与氯化氢、溴化氢、碘化氢、硫酸、硝酸和磷酸等无机酸的盐;与甲酸、乙酸、三氟乙酸、丙酸、草酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、马来酸、乳酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、甲磺酸、乙磺酸和苯磺酸等有机酸的盐;或与天冬氨酸、谷氨酸等酸性氨基酸的盐。进而,“药理上可接受的盐”也包含分子内盐。

[0932] 需要说明的是,本发明的抗体-药物偶联物及其药理上可接受的盐中的任意者有

时以水合物或溶剂化物的形式获得,本发明也包括它们中的任意者。

[0933] 在本发明的抗体-药物偶联物(通式(I))中,除“A-B-”以外的部分、即连接子-药物单元(Linker-Drug Unit,以下有时在本说明书中简称为LDU)的结构以通式(II)示于以下,该连接子-药物单元(LDU)由上述定义和例示的L和D的任意组合构成。

[0934] 连接子-药物单元;LDU的结构

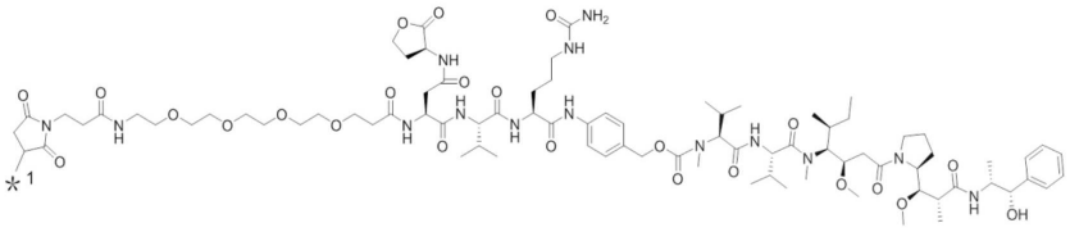
[0935] 通式(II):

[0936] -L-D (II)

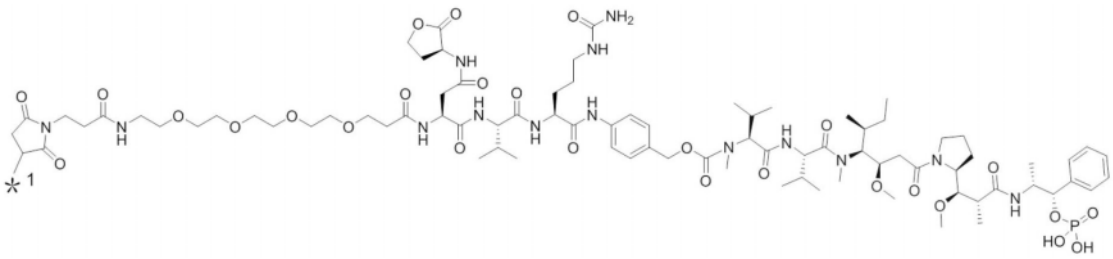
[0937] 上述通式(II)中,L及D与上述含义相同。

[0938] 以下例示上述通式(II)表示的连接子-药物单元(LDU)的具体例,本发明并不限定于此。

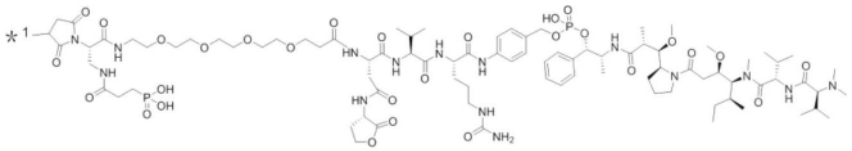
[0939] 例示2.连接子-药物单元(LDU)的例示例示2-1

[0940] 

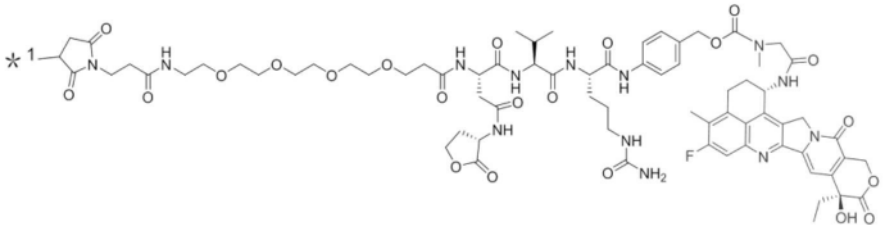
[0941] 例示2-2

[0942] 

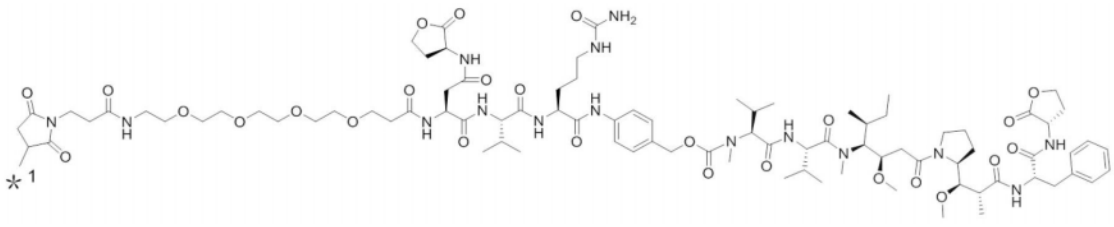
[0943] 例示2-3

[0944] 

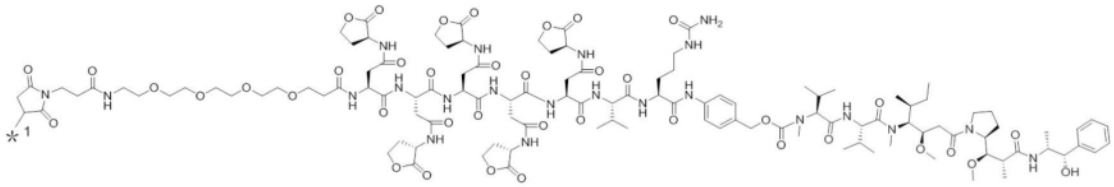
[0945] 例示2-4

[0946] 

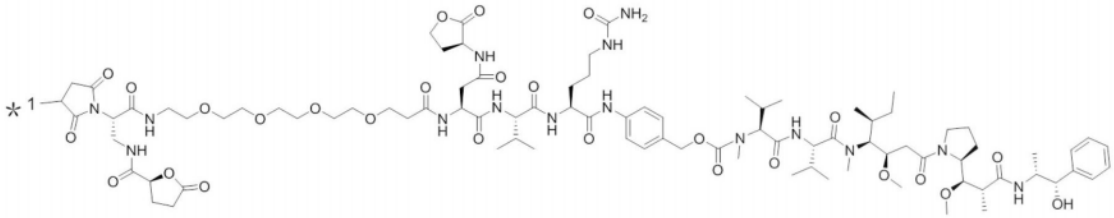
[0947] 例示2-5

[0948] 

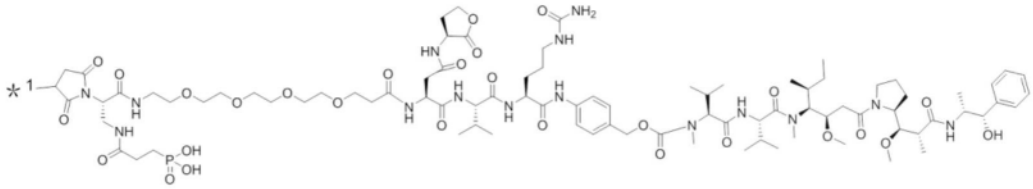
[0949] 例示2-6

[0950] 

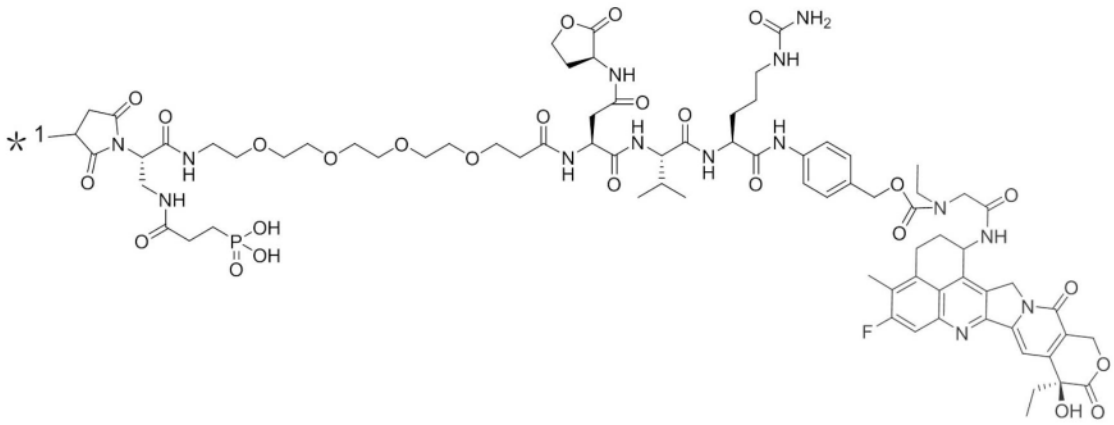
[0951] 例示2-7

[0952] 

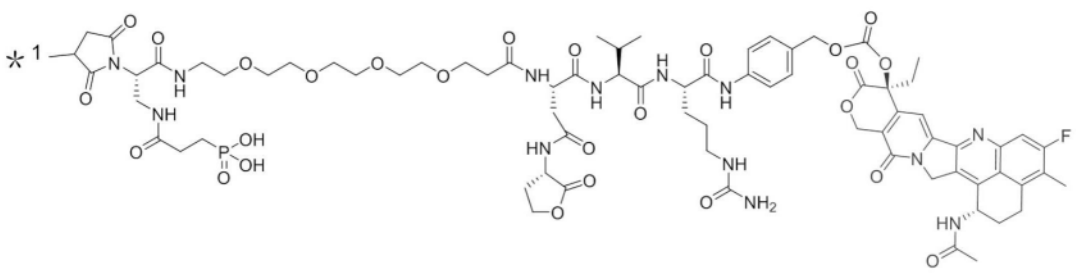
[0953] 例示2-8

[0954] 

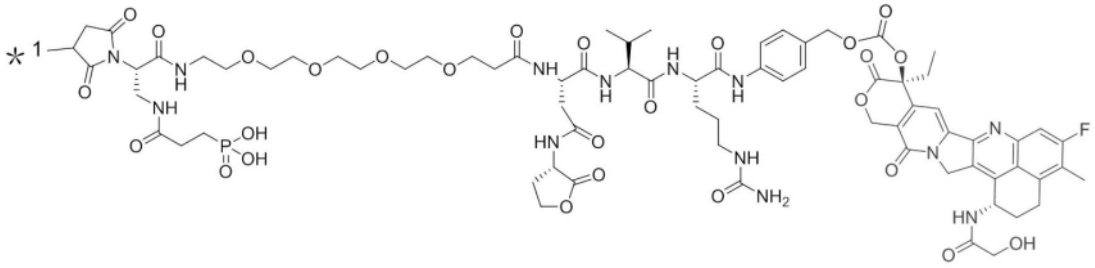
[0955] 例示2-9

[0956] 

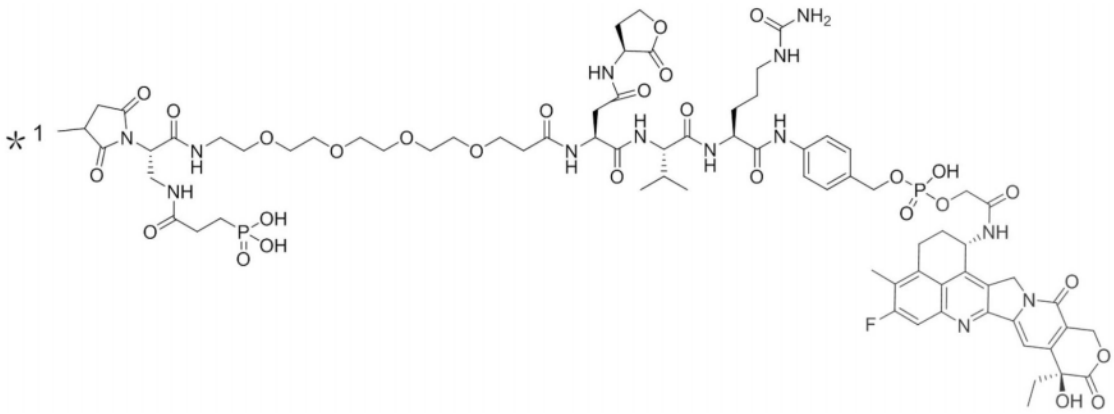
[0957] 例示2-10

[0958] 

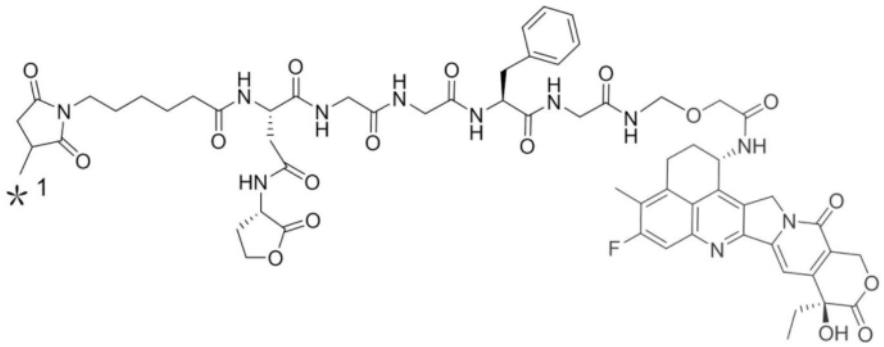
[0959] 例示2-11

[0960] 

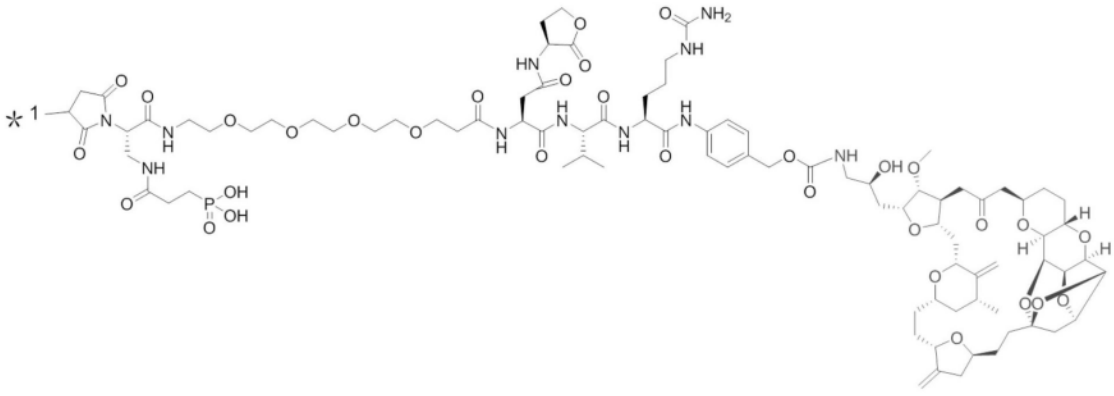
[0961] 例示2-12

[0962] 

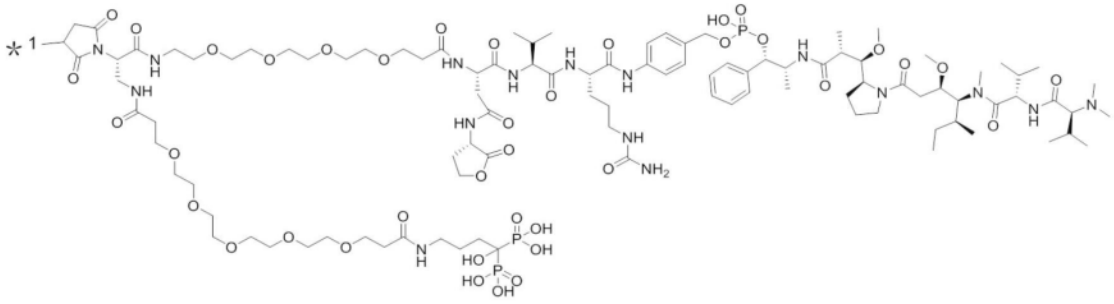
[0963] 例示2-13

[0964] 

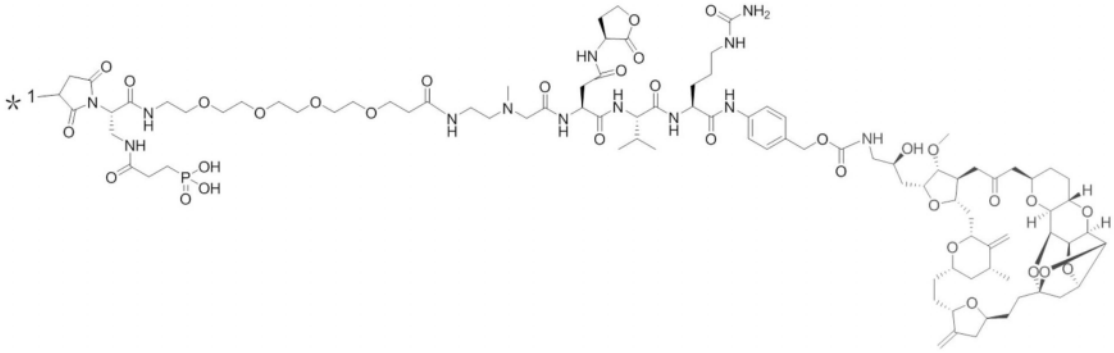
[0965] 例示2-14

[0966] 

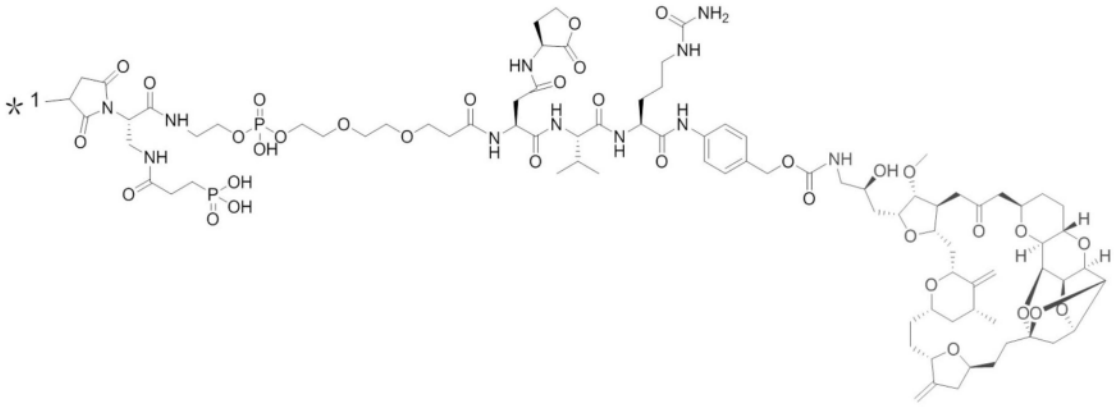
[0967] 例示2-15

[0968] 

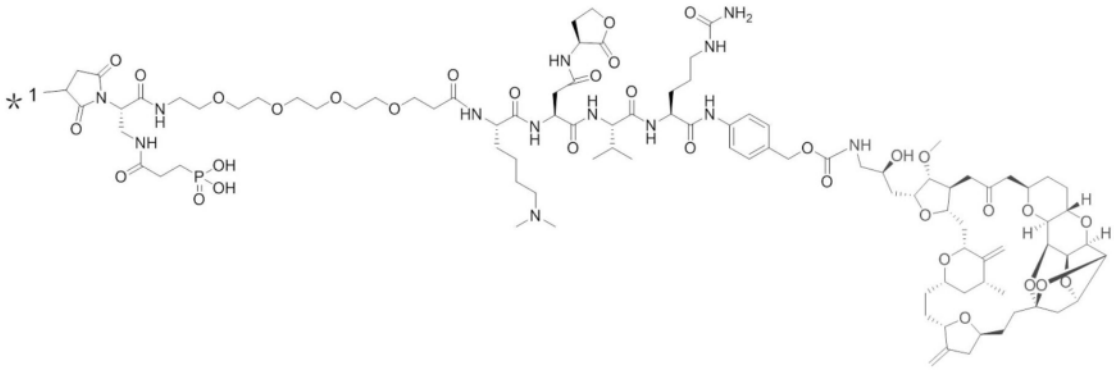
[0969] 例示2-16

[0970] 

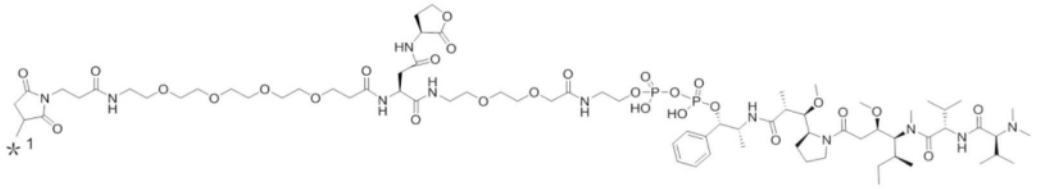
[0971] 例示2-17

[0972] 

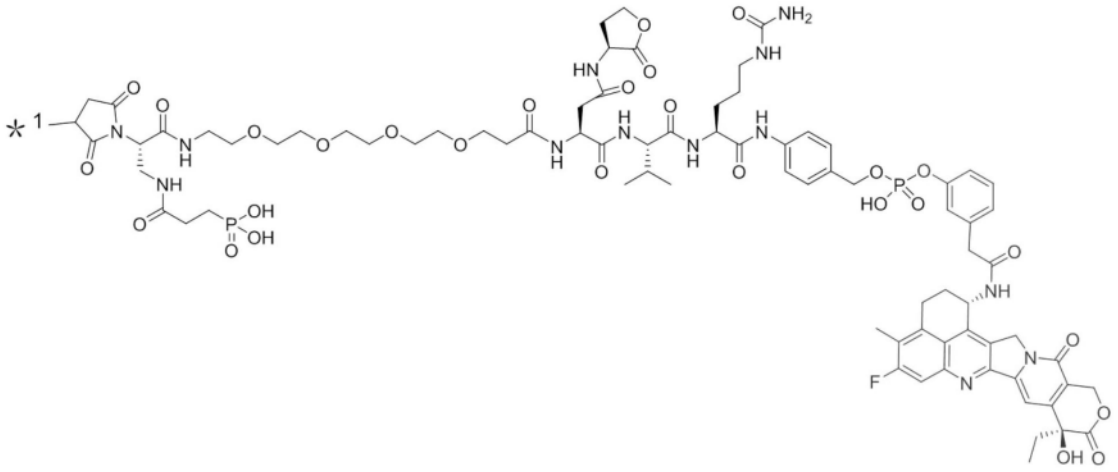
[0973] 例示2-18

[0974] 

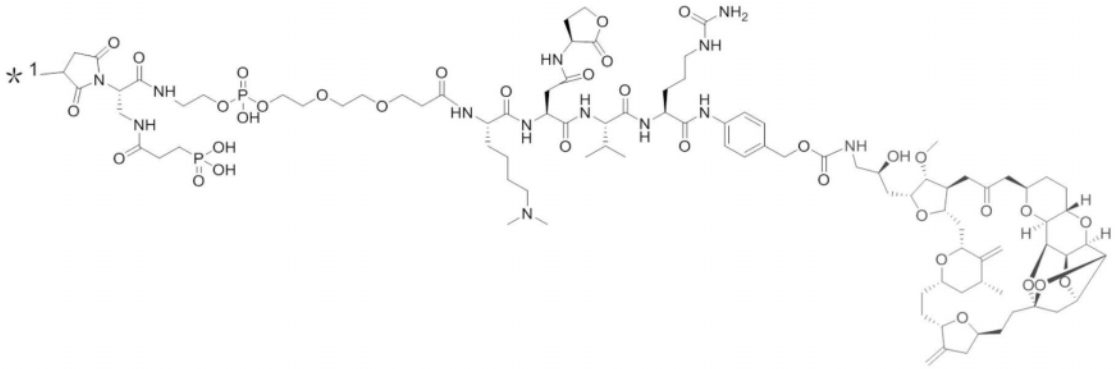
[0975] 例示2-19

[0976] 

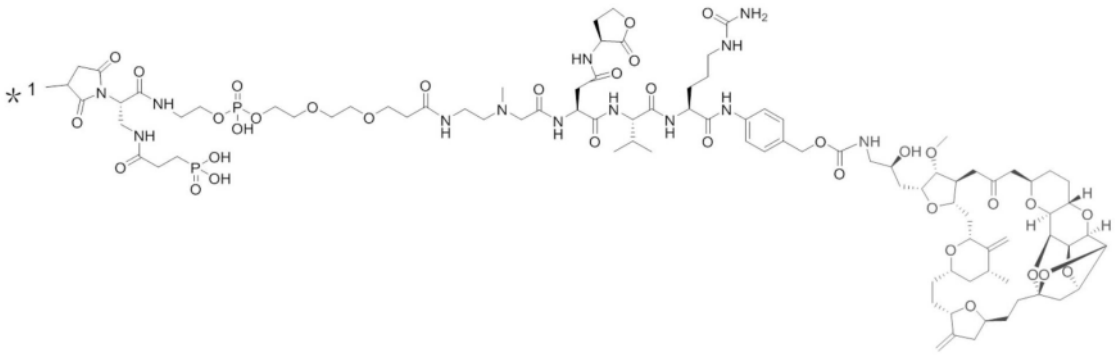
[0977] 例示2-20

[0978] 

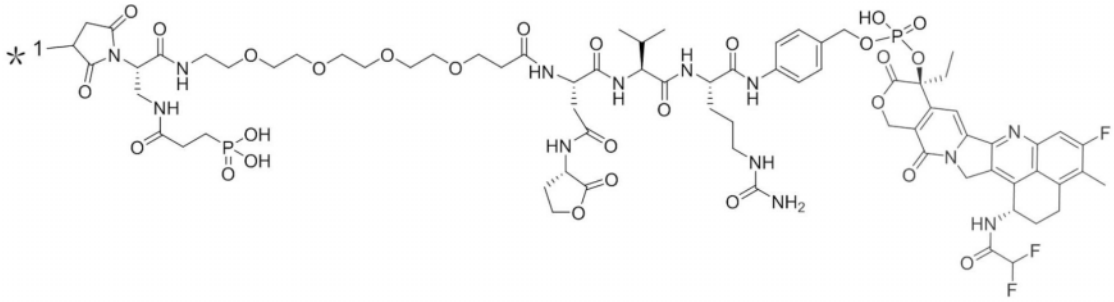
[0979] 例示2-21

[0980] 

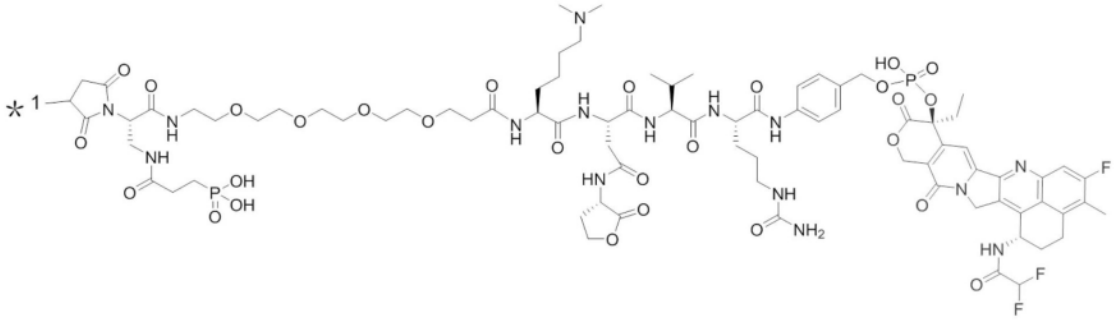
[0981] 例示2-22

[0982] 

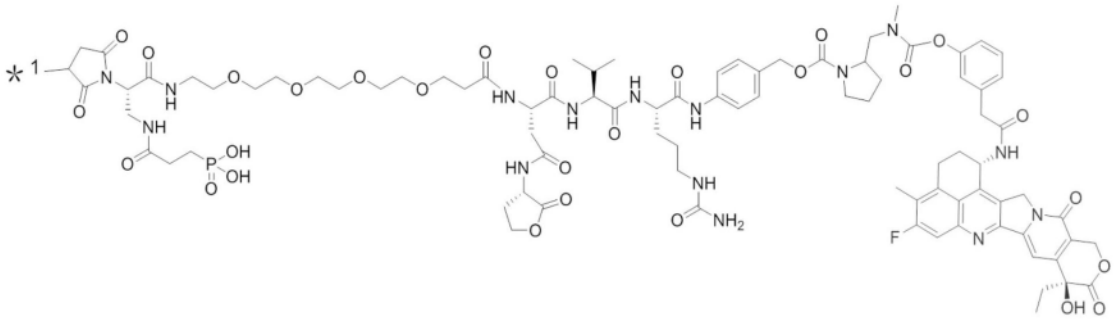
[0983] 例示2-23

[0984] 

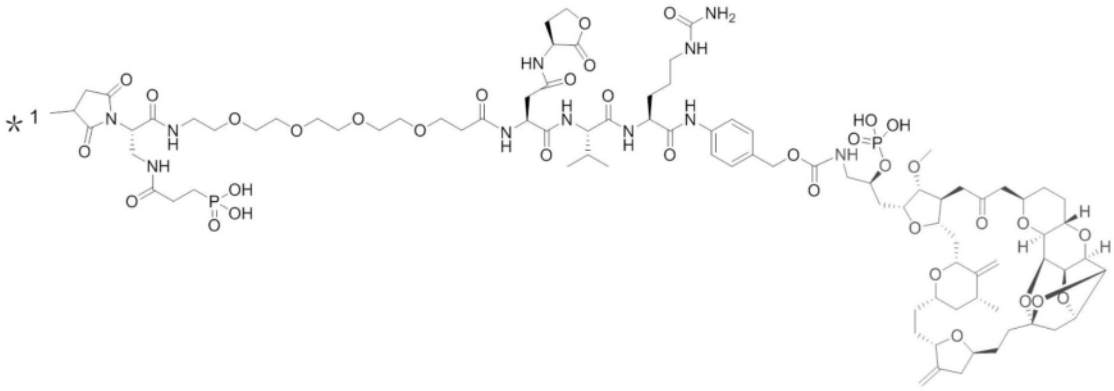
[0985] 例示2-24

[0986] 

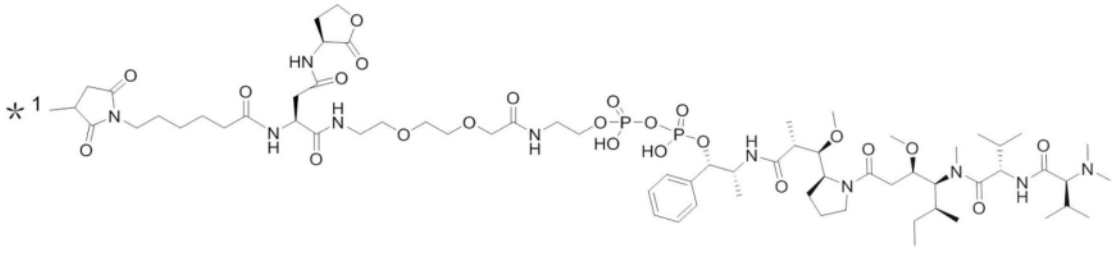
[0987] 例示2-25

[0988] 

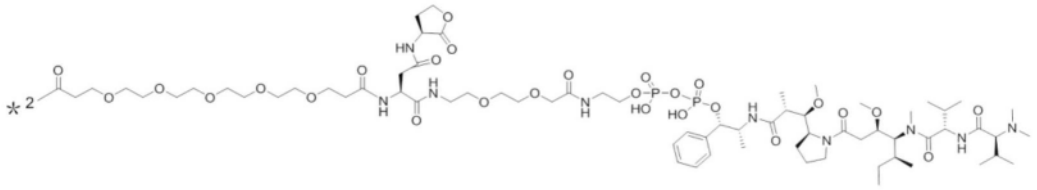
[0989] 例示2-26

[0990] 

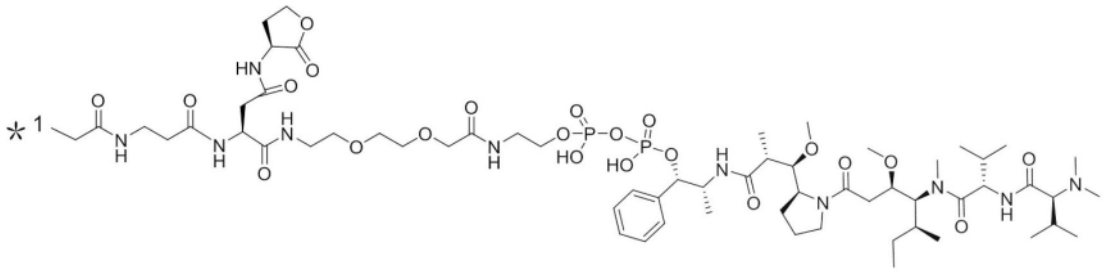
[0991] 例示2-27

[0992] 

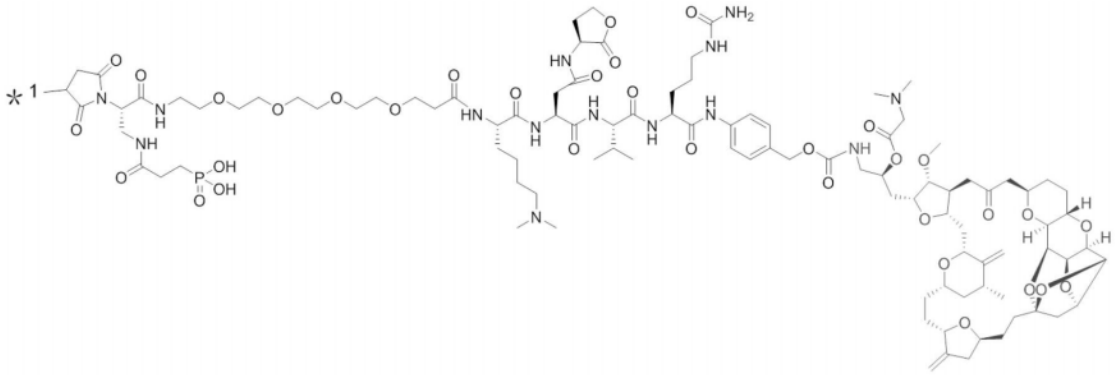
[0993] 例示2-28

[0994] 

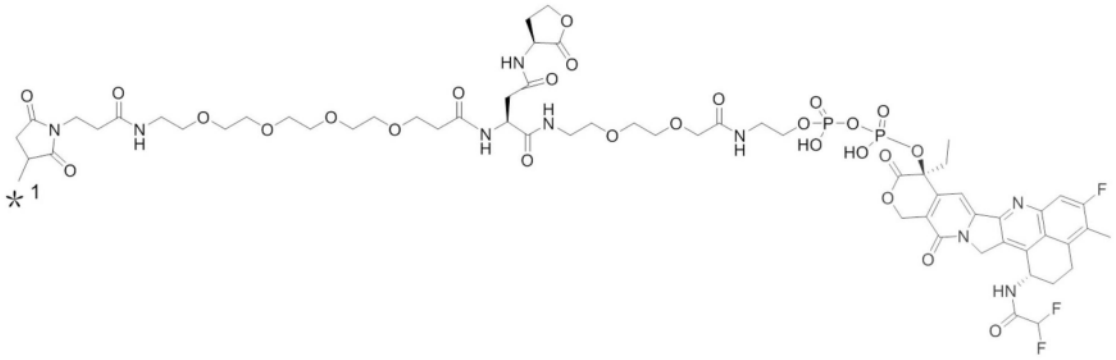
[0995] 例示2-29

[0996] 

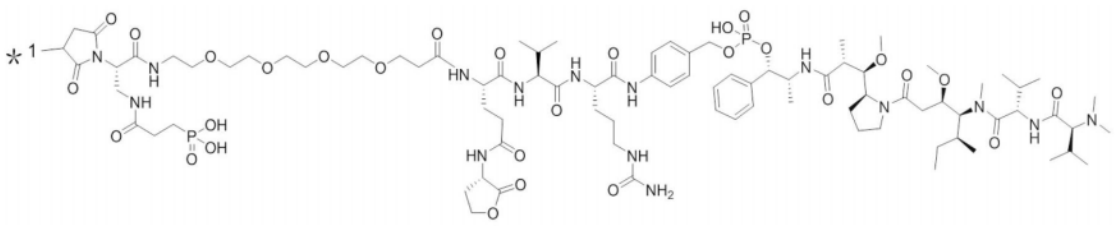
[0997] 例示2-30

[0998] 

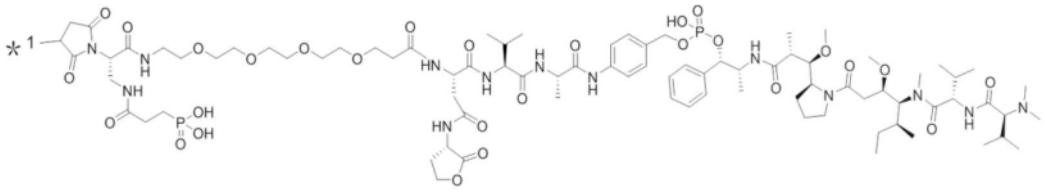
[0999] 例示2-31

[1000] 

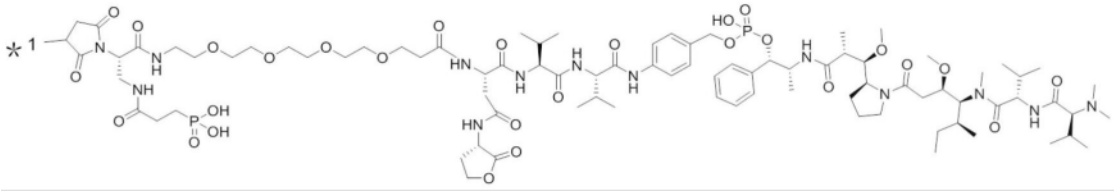
[1001] 例示2-32

[1002] 

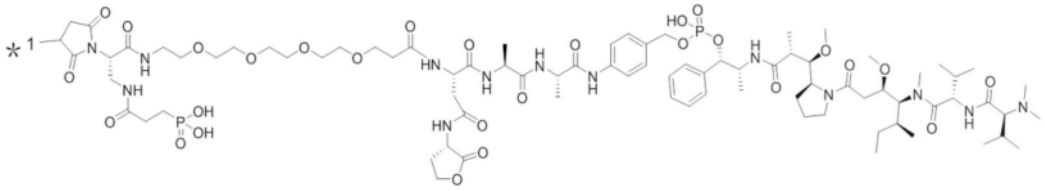
[1003] 例示2-33

[1004] 

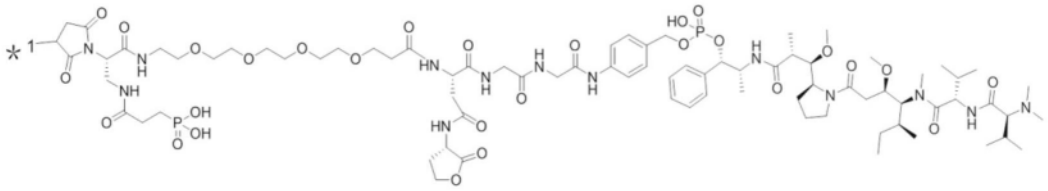
[1005] 例示2-34

[1006] 

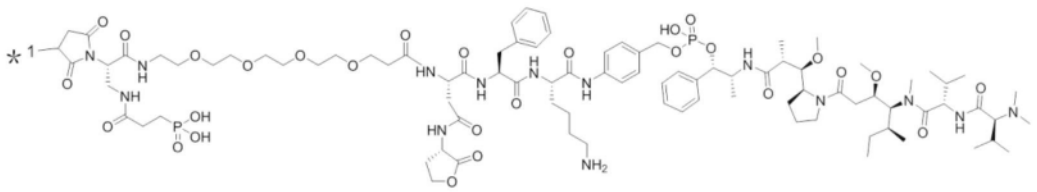
[1007] 例示2-35

[1008] 

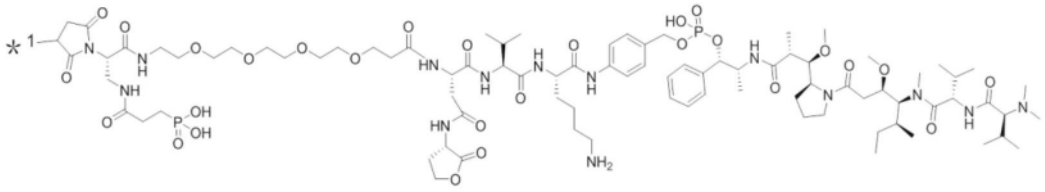
[1009] 例示2-36

[1010] 

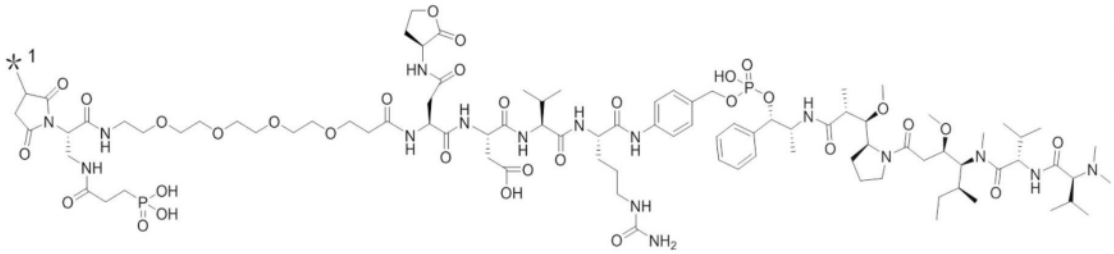
[1011] 例示2-37

[1012] 

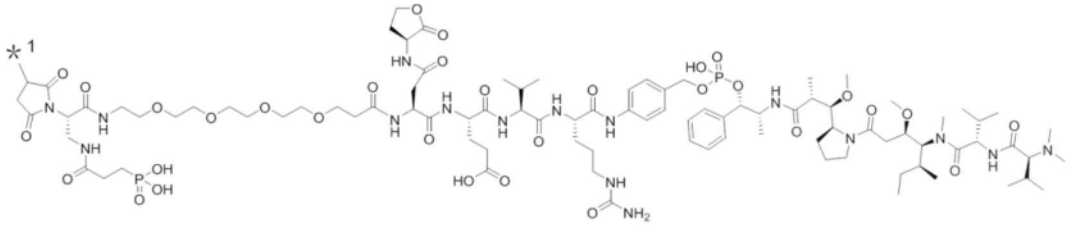
[1013] 例示2-38

[1014] 

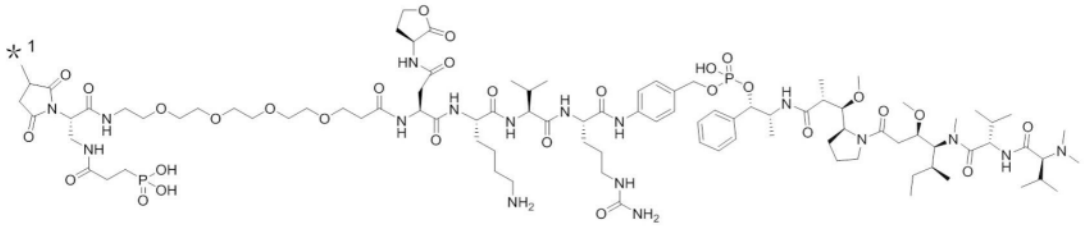
[1015] 例示2-39

[1016] 

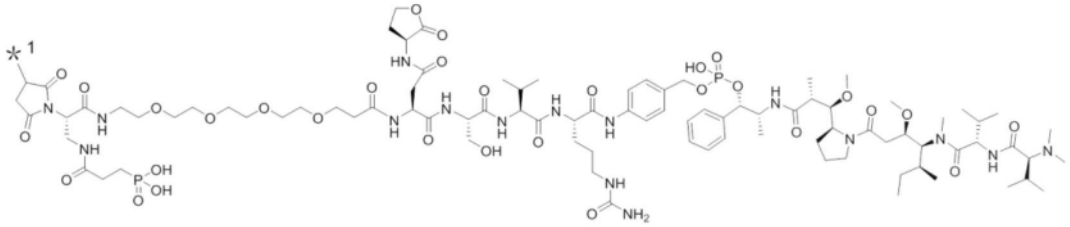
[1017] 例示2-40

[1018] 

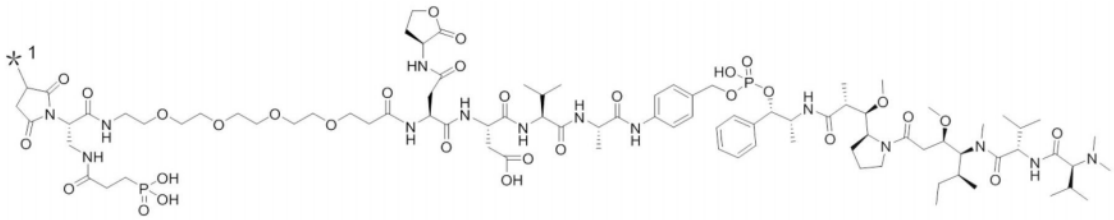
[1019] 例示2-41

[1020] 

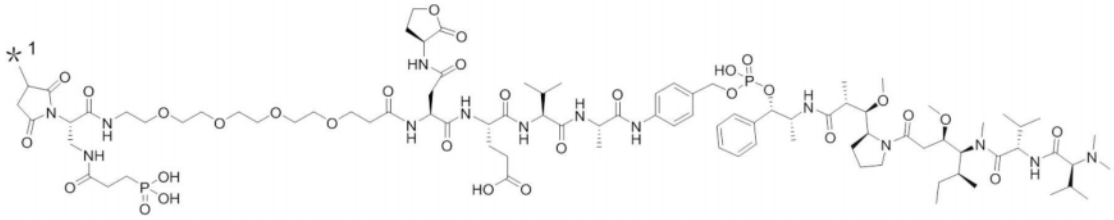
[1021] 例示2-42

[1022] 

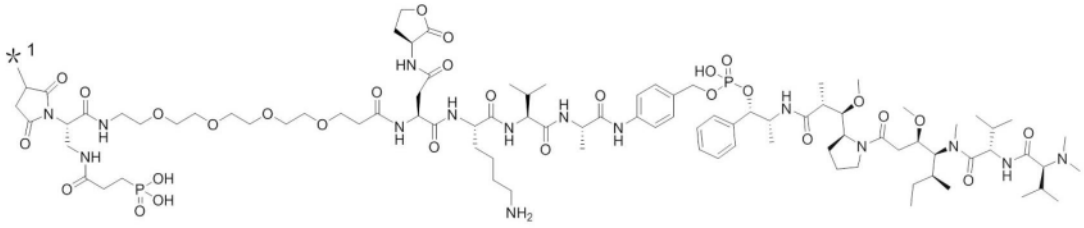
[1023] 例示2-43

[1024] 

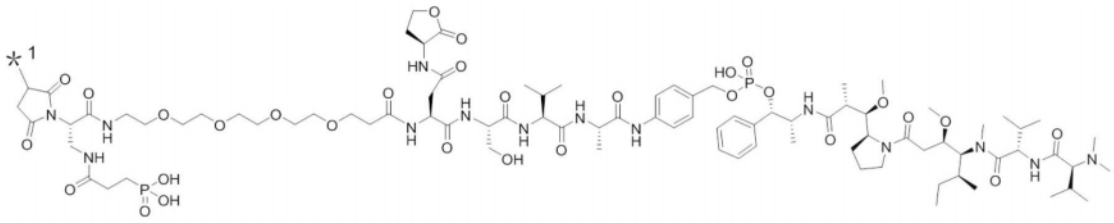
[1025] 例示2-44

[1026] 

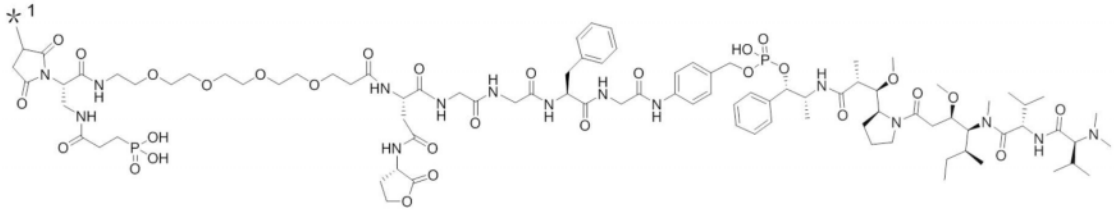
[1027] 例示2-45

[1028] 

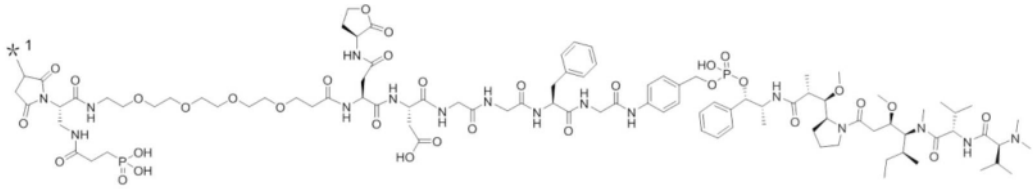
[1029] 例示2-46

[1030] 

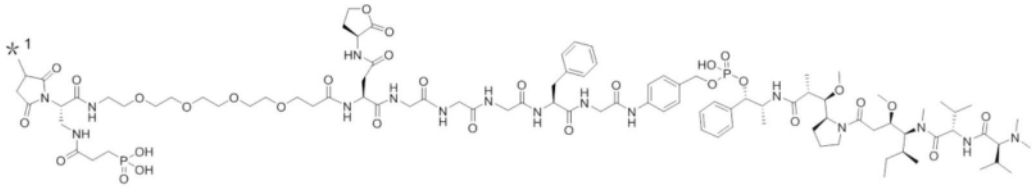
[1031] 例示2-47

[1032] 

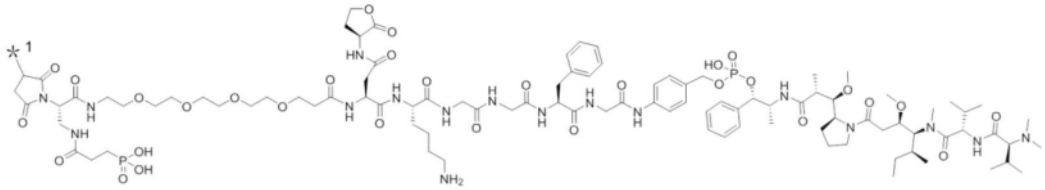
[1033] 例示2-48

[1034] 

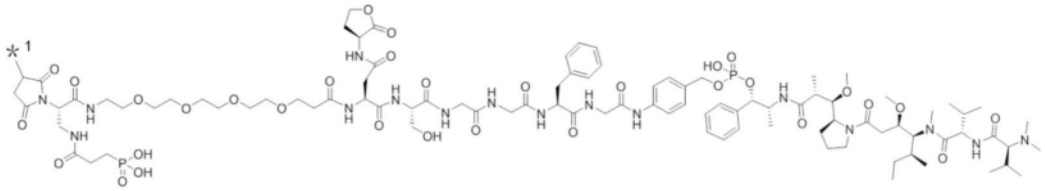
[1035] 例示2-49

[1036] 

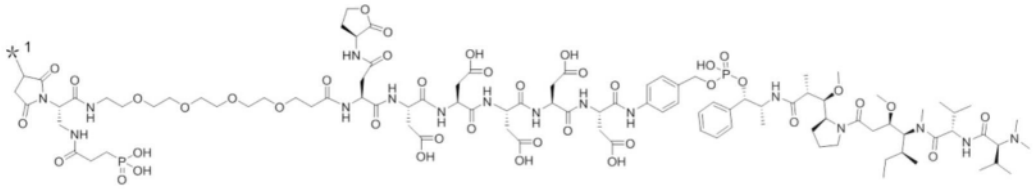
[1037] 例示2-50

[1038] 

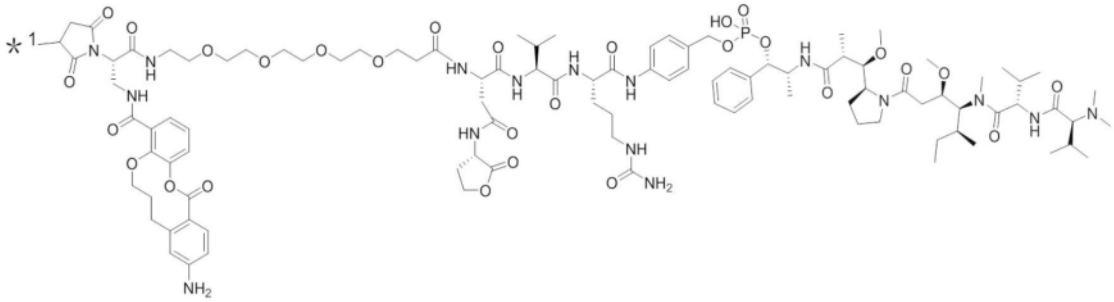
[1039] 例示2-51

[1040] 

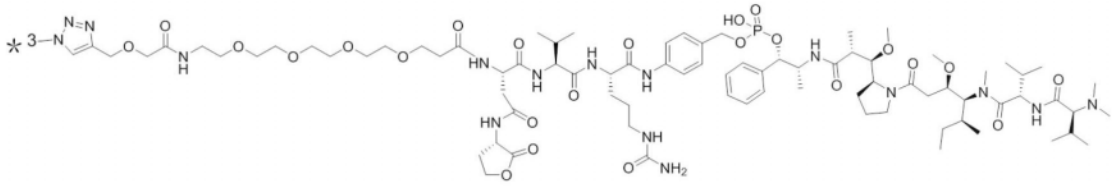
[1041] 例示2-52

[1042] 

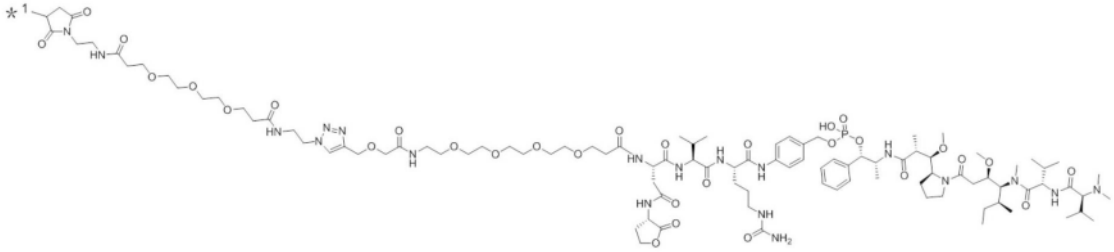
[1043] 例示2-53

[1044] 

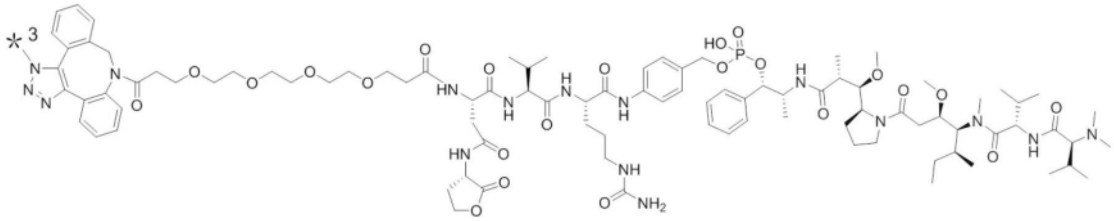
[1045] 例示2-54

[1046] 

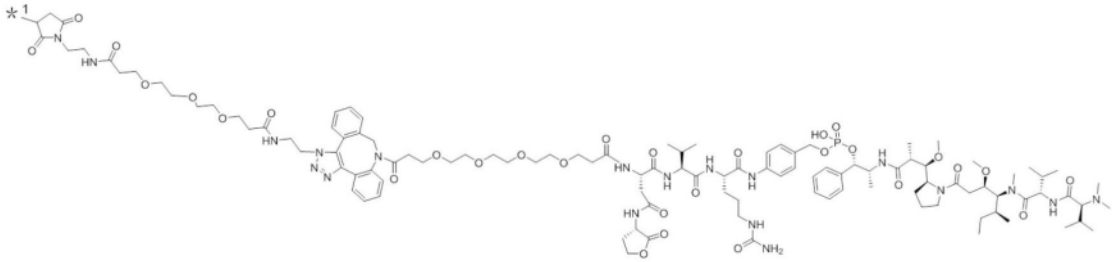
[1047] 例示2-54b

[1048] 

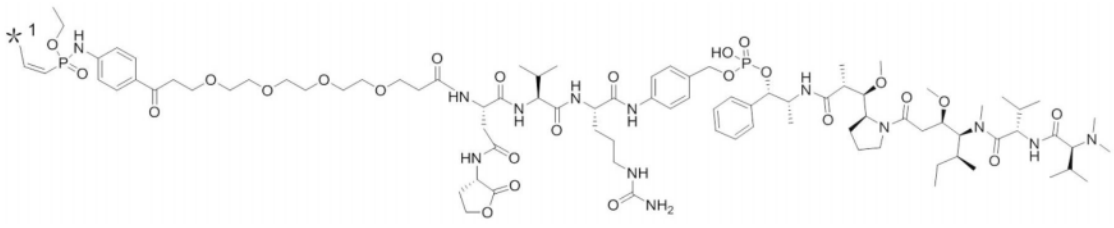
[1049] 例示2-55

[1050] 

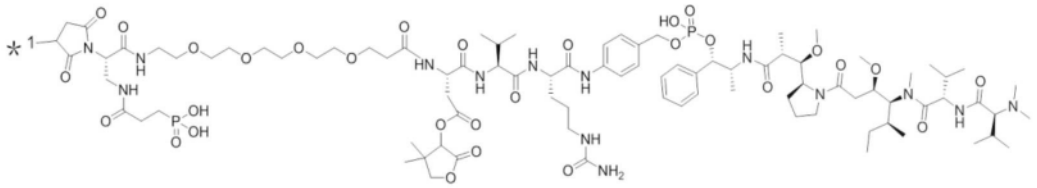
[1051] 例示2-55b

[1052] 

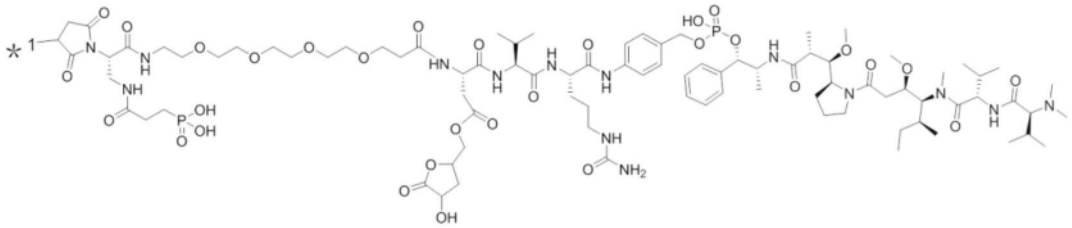
[1053] 例示2-56

[1054] 

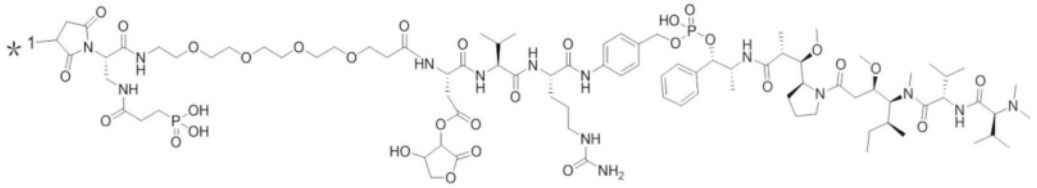
[1055] 例示2-57

[1056] 

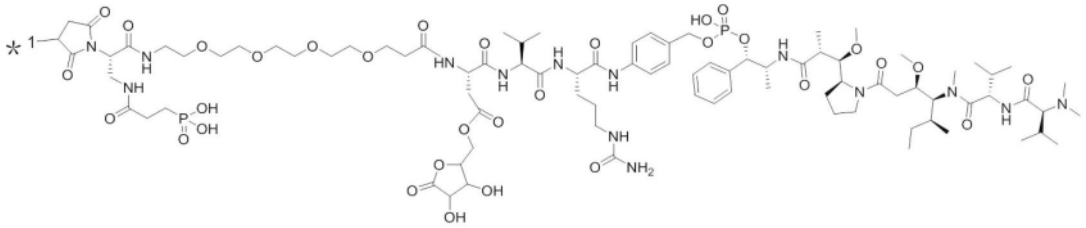
[1057] 例示2-58

[1058] 

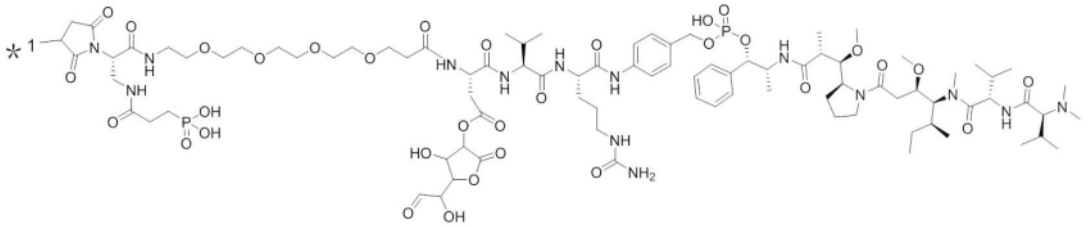
[1059] 例示2-59

[1060] 

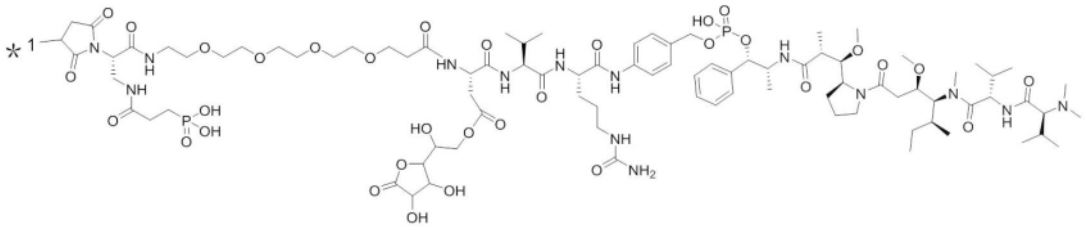
[1061] 例示2-60

[1062] 

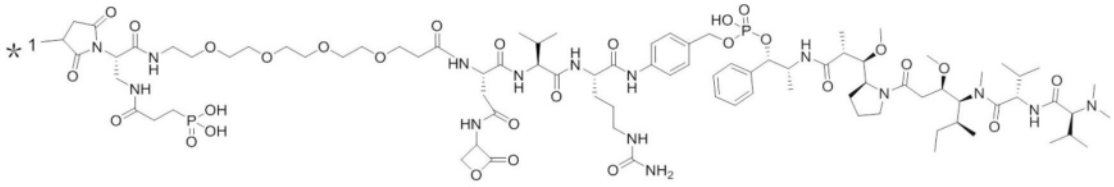
[1063] 例示2-61

[1064] 

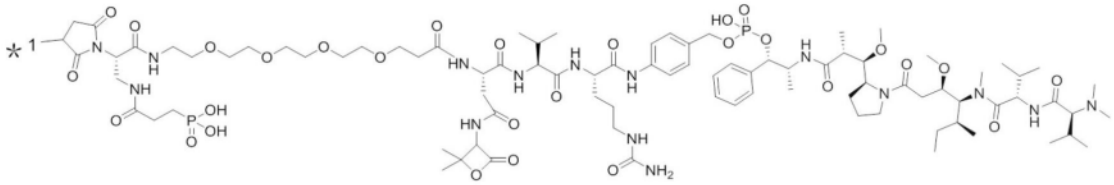
[1065] 例示2-62

[1066] 

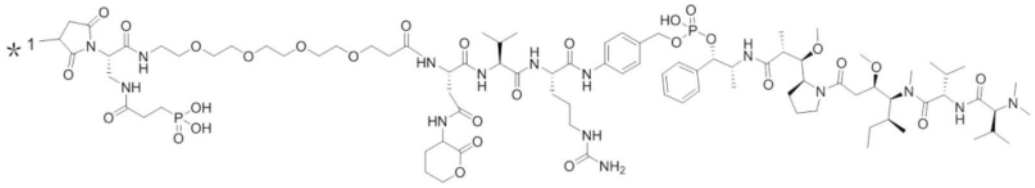
[1067] 例示2-63

[1068] 

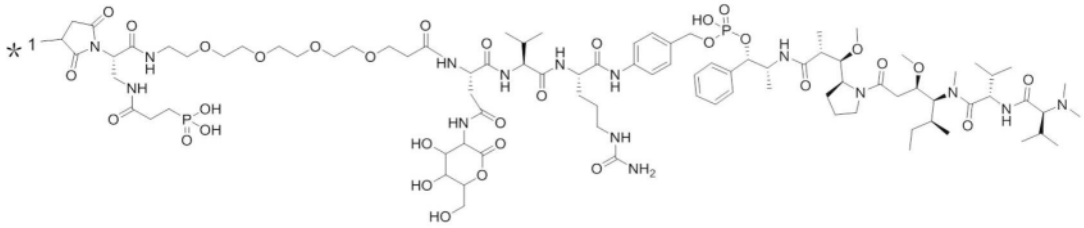
[1069] 例示2-64

[1070] 

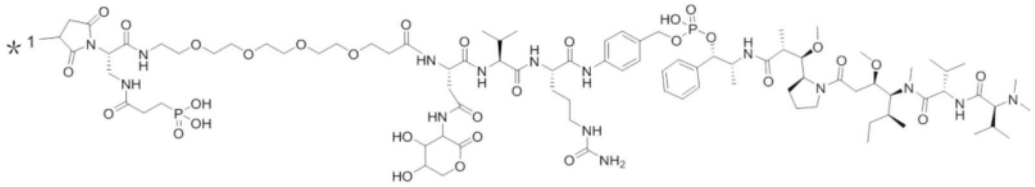
[1071] 例示2-65

[1072] 

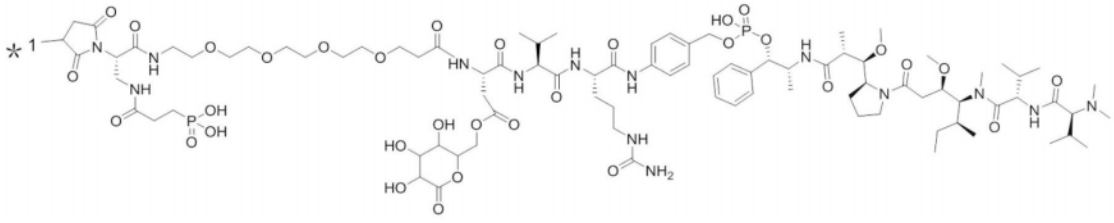
[1073] 例示2-66

[1074] 

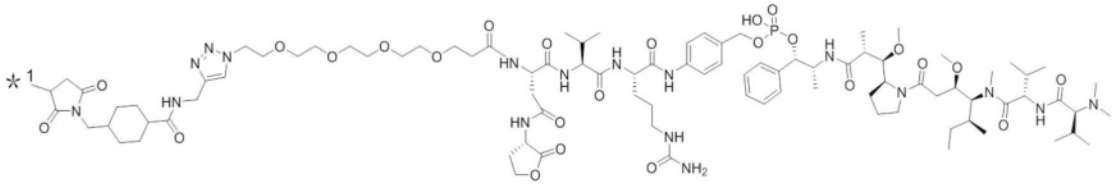
[1075] 例示2-67

[1076] 

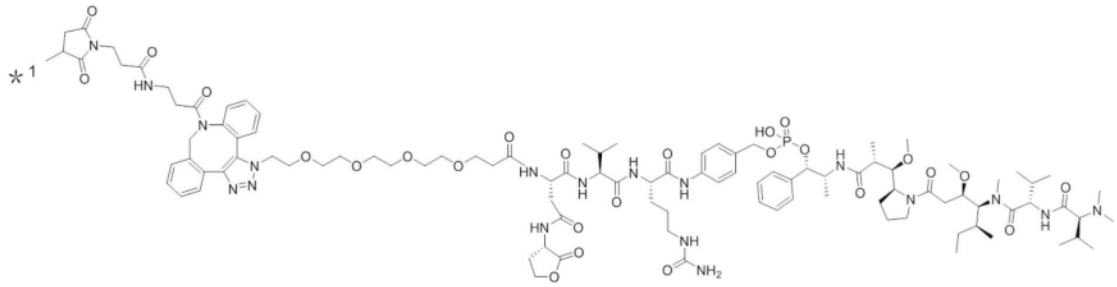
[1077] 例示2-68

[1078] 

[1079] 例示2-69

[1080] 

[1081] 例示2-69b

[1082] 

[1083] [上述式中,$*^1$为与“抗体残基A-S-”的键合点,$*^2$为与“抗体残基A-NH-”的键合点,$*^3$为与“抗体残基A-”的键合点。]

[1084] [制造方法]

[1085] 接着,对本发明的抗体-药物偶联物及其中间体,说明一般的制造方法。

[1086] 本发明的抗体-药物偶联物通过使抗体与通式(III)的化合物(以下记为反应性前体)反应来制造。

[1087] 通式(III):

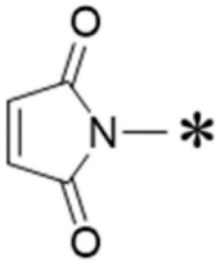
[1088] $Z\text{-}L^1\text{-}D$ (III)

[1089] [式中,

[1090] Z表示可与抗体中存在的巯基(-SH)、氨基($-NH_2$)或叠氮基($-N_3$)反应而形成共价键的反应性基团、例如Hal-CH_2-C(=O)-基(Hal为Cl、Br或I)、马来酰亚胺基、乙炔基膦酸酰胺酯基(参照Hackenberger C.P.R.et al.,Angew.Chem.Int.Ed.58,11631-11636(2019))、羧基、N-羟基琥珀酰亚胺基酯基、炔基、或环炔基等,

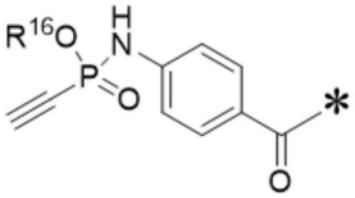
[1091] 马来酰亚胺基由下式(i)表示:

[1092] 式(i)

[1093] 

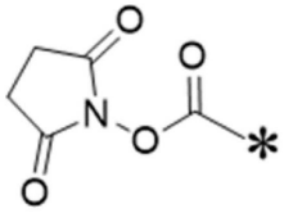
[1094] 乙炔基膦酸酰胺酯基由下式(ii)表示:

[1095] 式(ii)

[1096] 

[1097] N-羟基琥珀酰亚胺基酯基由下式(iii)表示:

[1098] 式(iii)

[1099] 

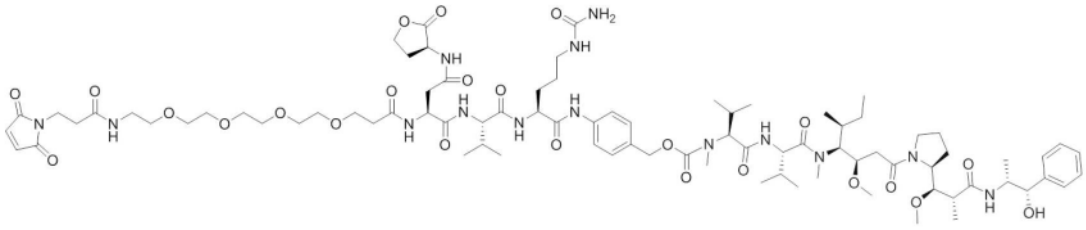
[1100] [上述式中,R^{16}为甲基、乙基、或-$CH_2CH_2OCH_2CH_2OH$基等,*为与L^1的键合点]

[1101] L^1为构成上述定义的L的结构的一部分的连接子,D与上述含义相同。]

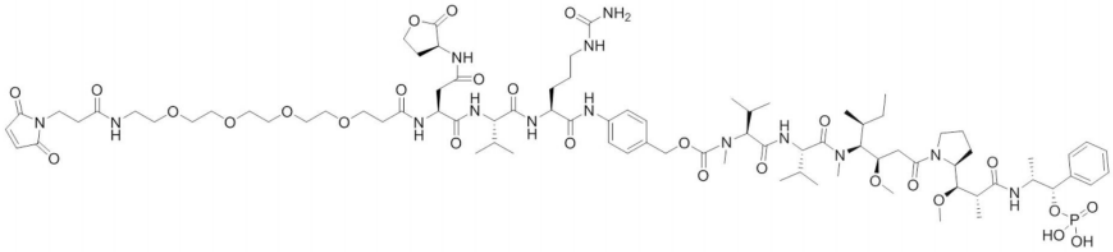
[1102] 通式(III)的例子示于以下。

[1103] 例示3.通式(III)的化合物的例示

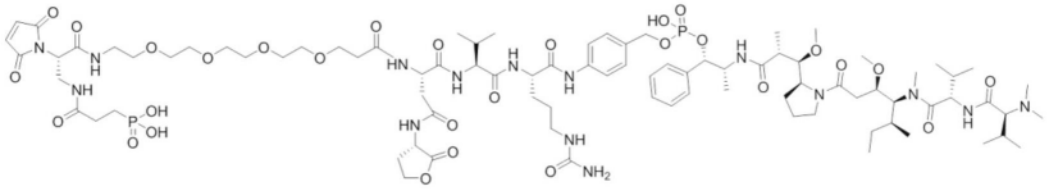
[1104] 例示3-1

[1105] 

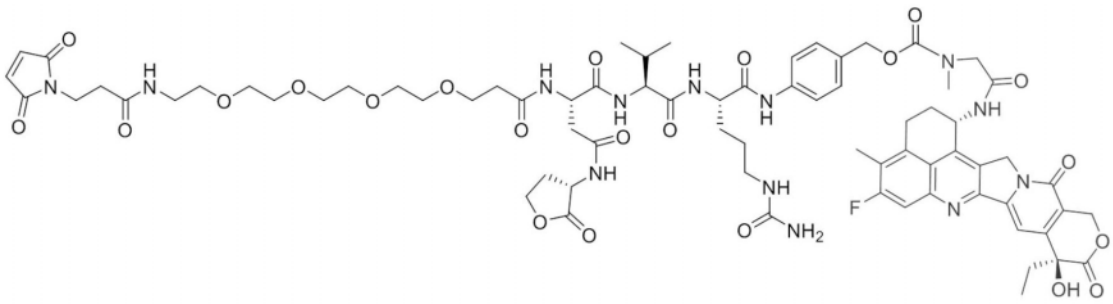
[1106] 例示3-2

[1107] 

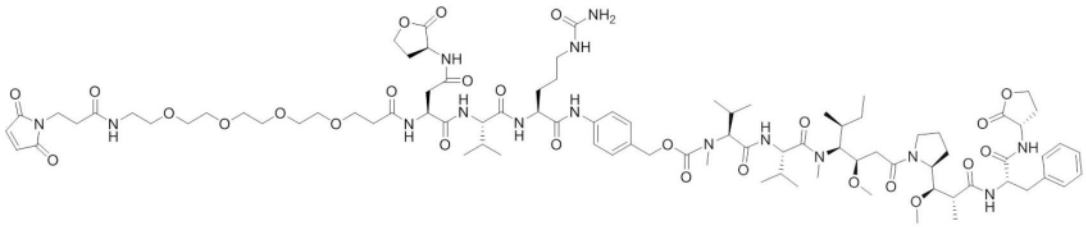
[1108] 例示3-3

[1109] 

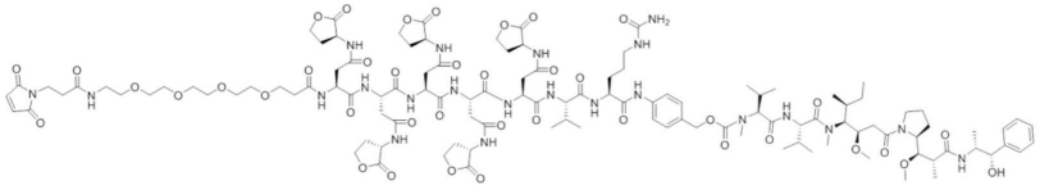
[1110] 例示3-4

[1111] 

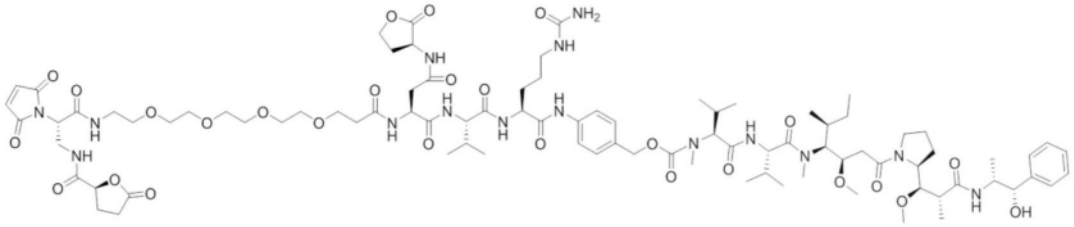
[1112] 例示3-5

[1113] 

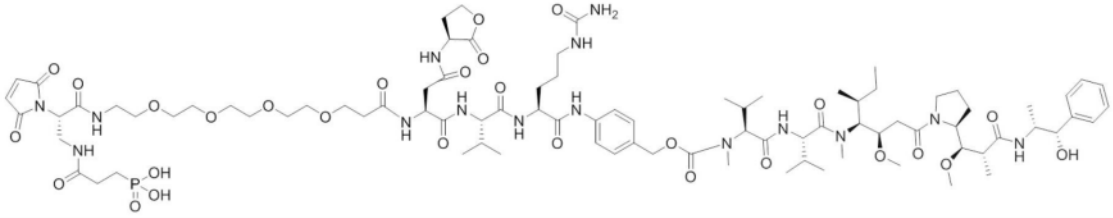
[1114] 例示3-6

[1115] 

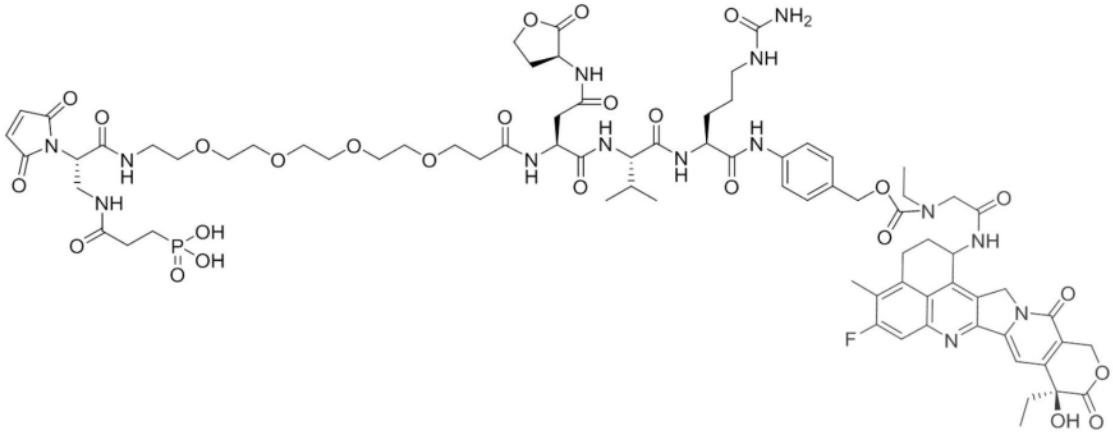
[1116] 例示3-7

[1117] 

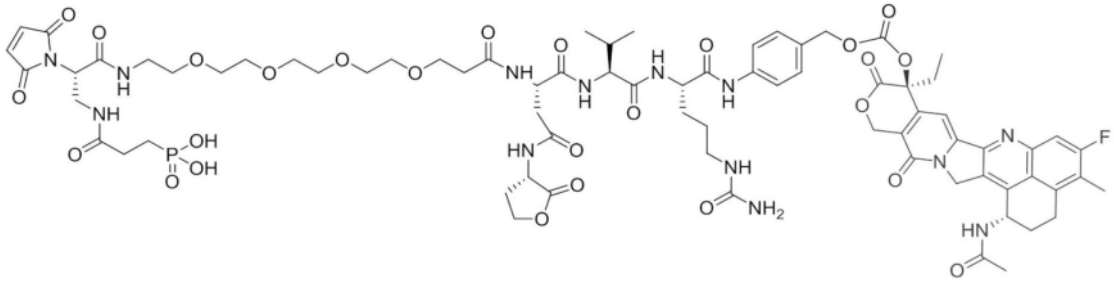
[1118] 例示3-8

[1119] 

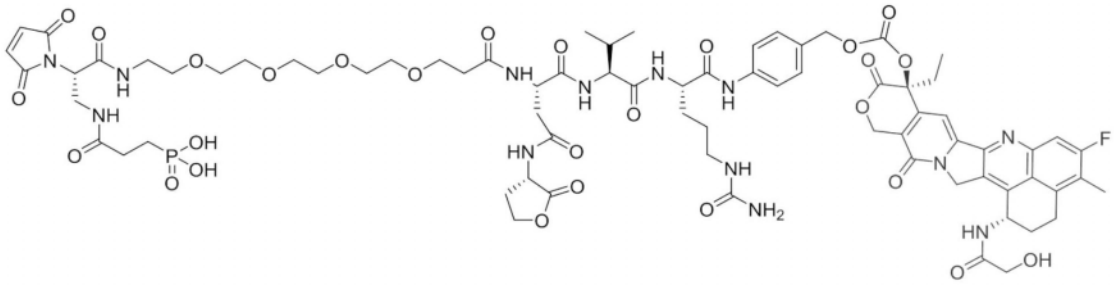
[1120] 例示3-9

[1121] 

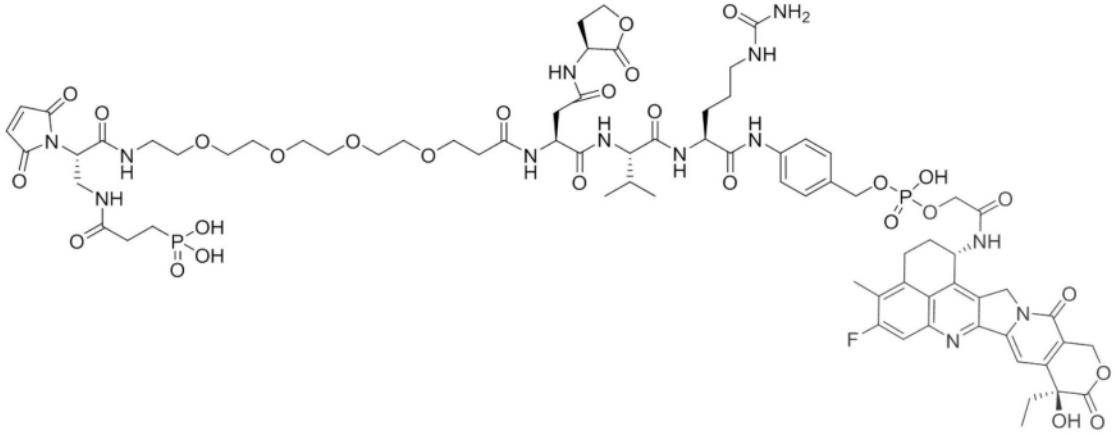
[1122] 例示3-10

[1123] 

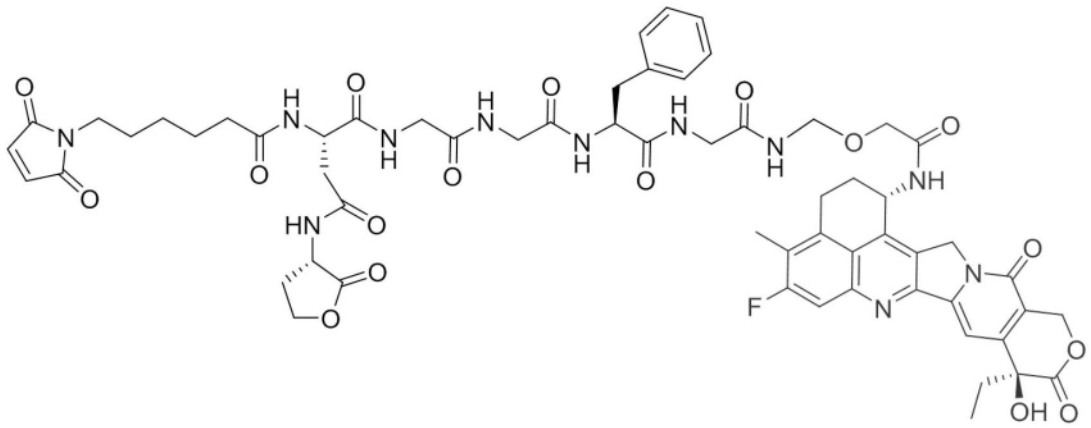
[1124] 例示3-11

[1125] 

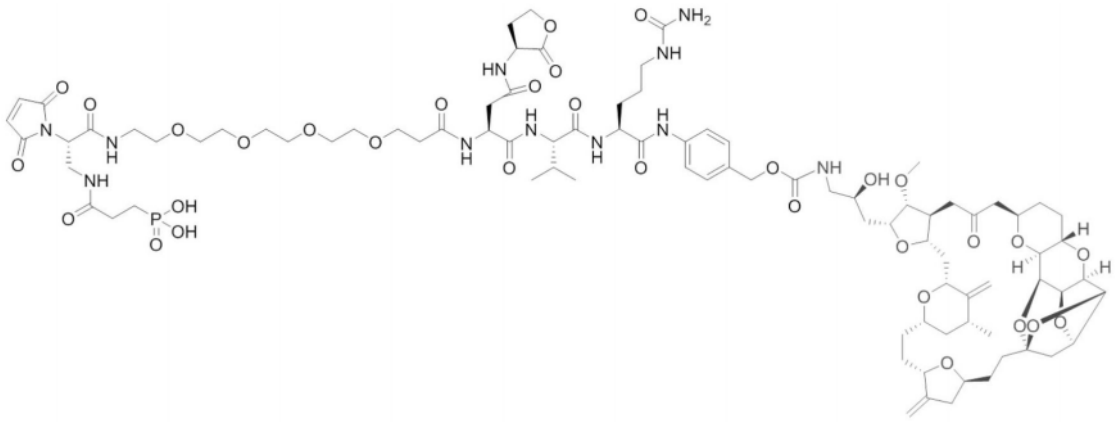
[1126] 例示3-12

[1127] 

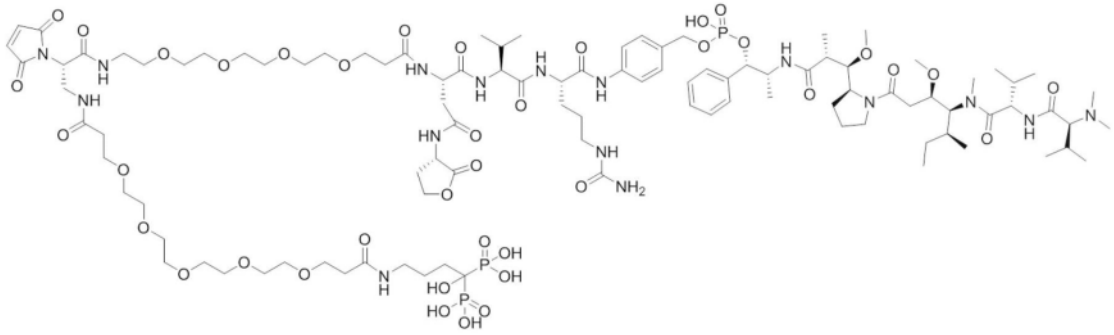
[1128] 例示3-13

[1129] 

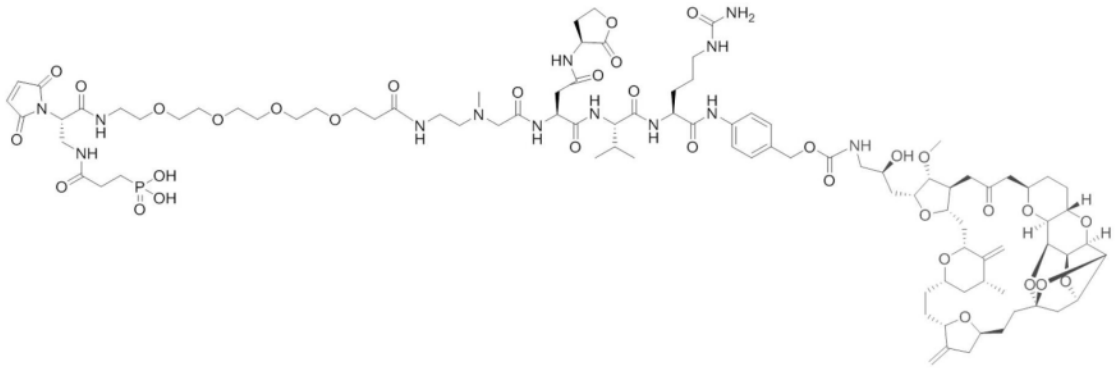
[1130] 例示3-14

[1131] 

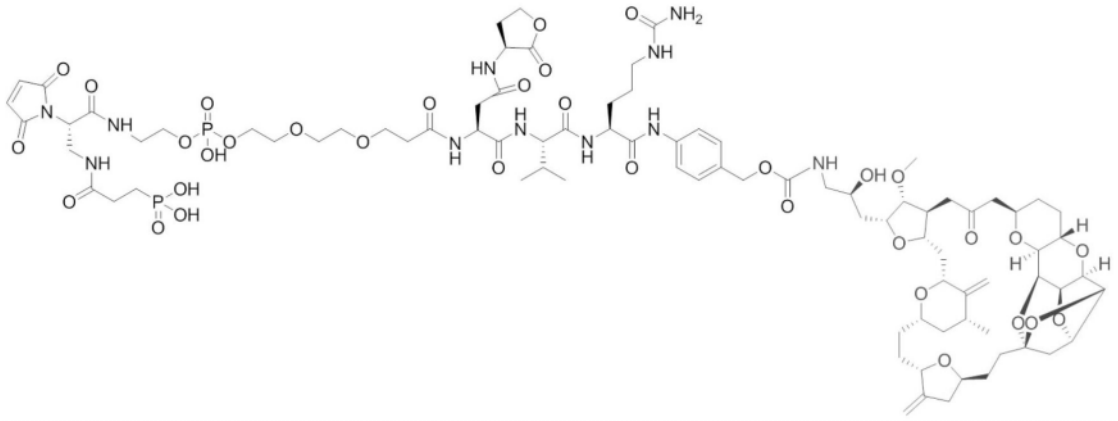
[1132] 例示3-15

[1133] 

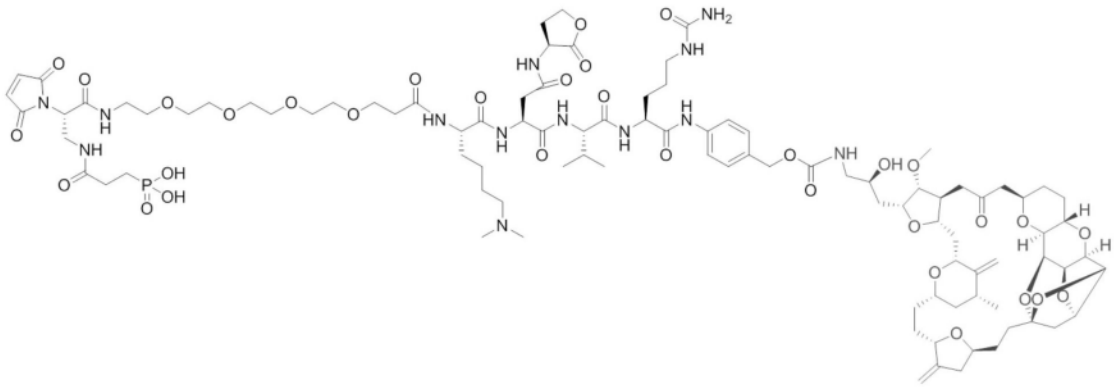
[1134] 例示3-16

[1135] 

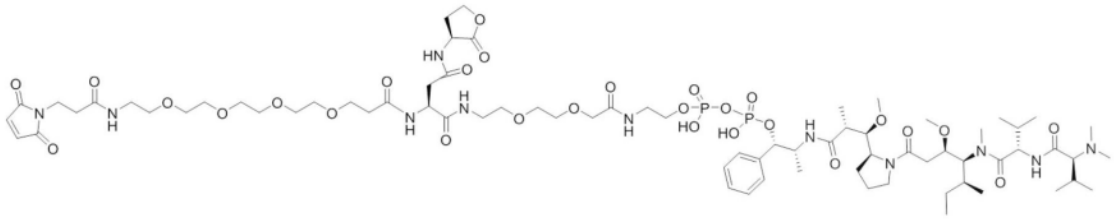
[1136] 例示3-17

[1137] 

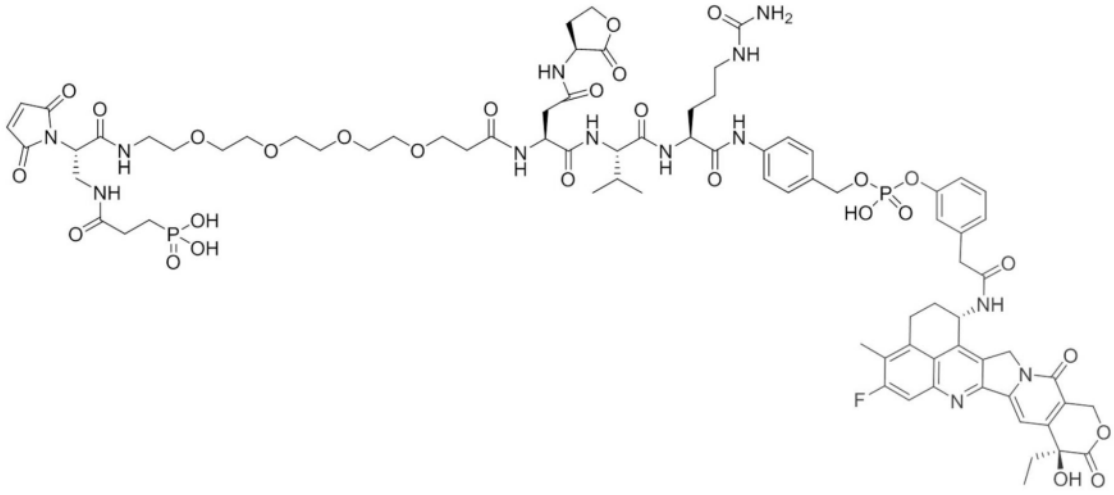
[1138] 例示3-18

[1139] 

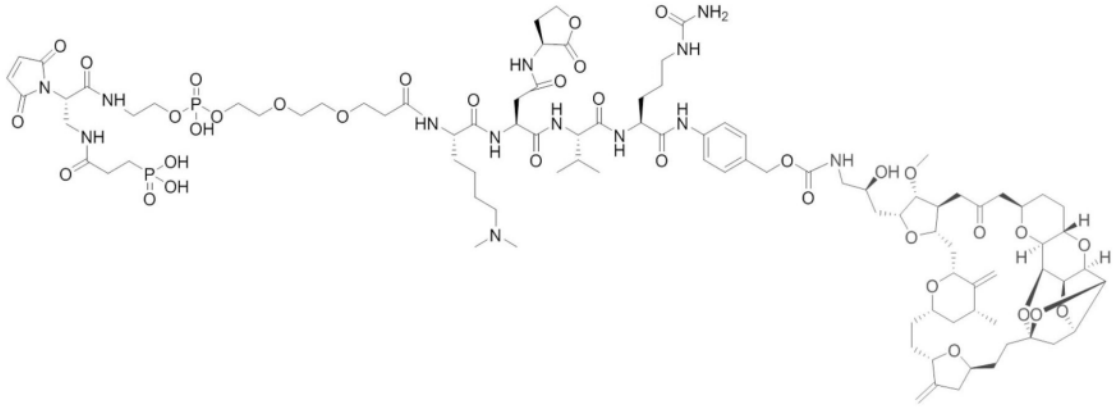
[1140] 例示3-19

[1141] 

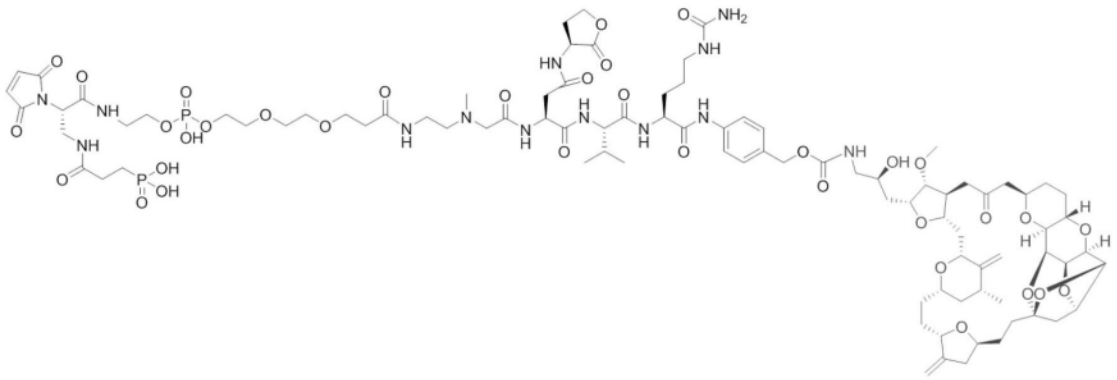
[1142] 例示3-20

[1143] 

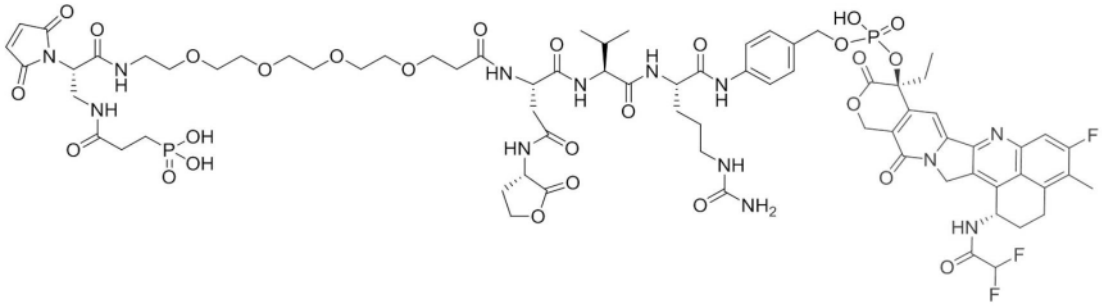
[1144] 例示3-21

[1145] 

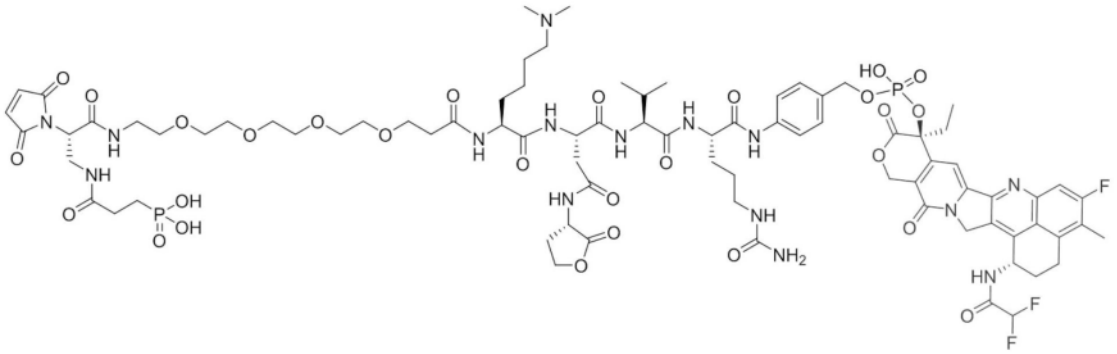
[1146] 例示3-22

[1147] 

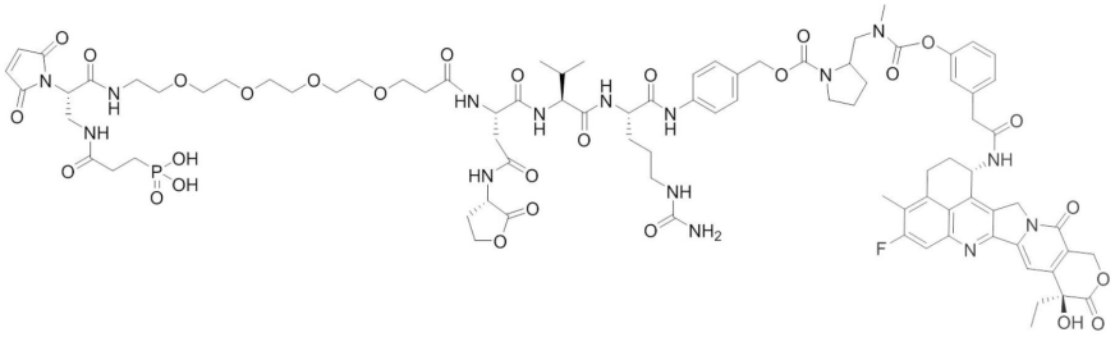
[1148] 例示3-23

[1149] 

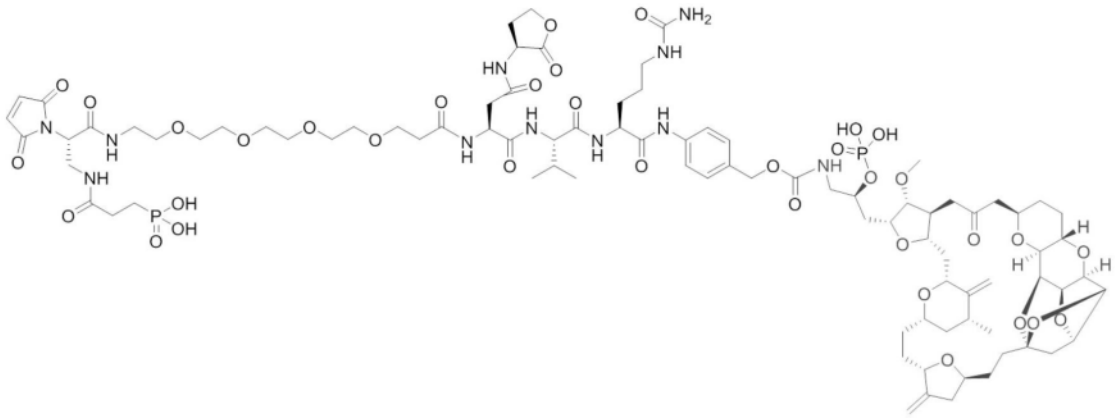
[1150] 例示3-24

[1151] 

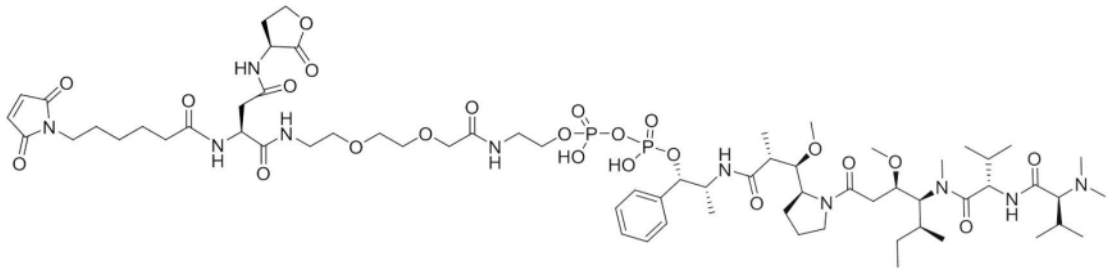
[1152] 例示3-25

[1153] 

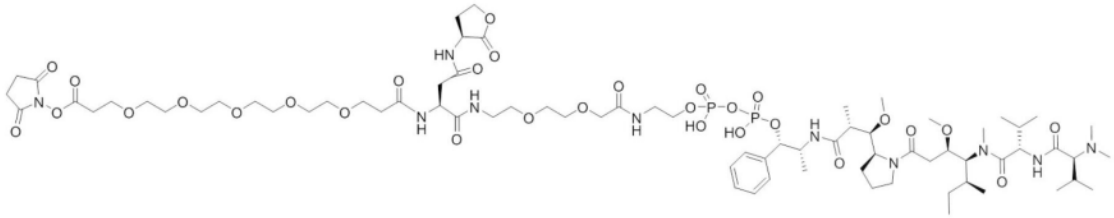
[1154] 例示3-26

[1155] 

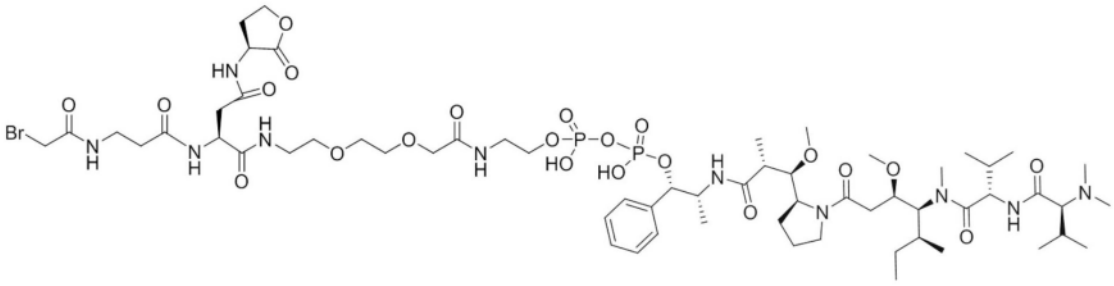
[1156] 例示3-27

[1157] 

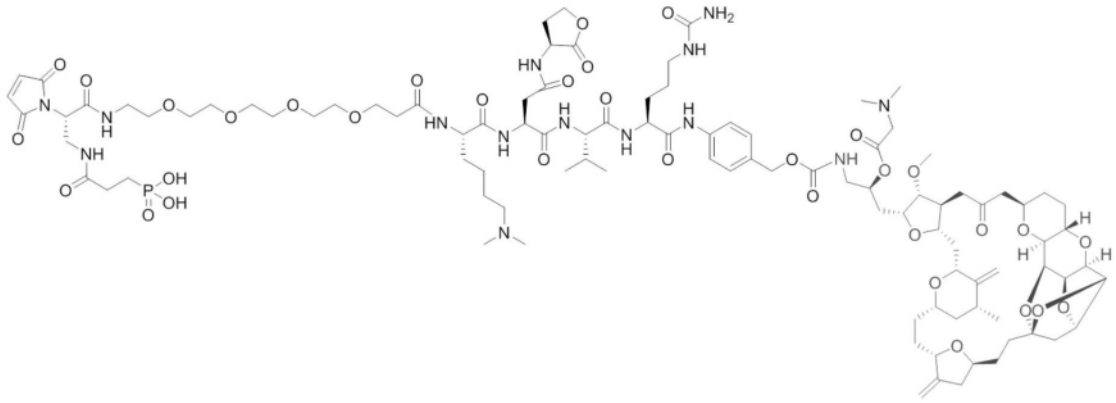
[1158] 例示3-28

[1159] 

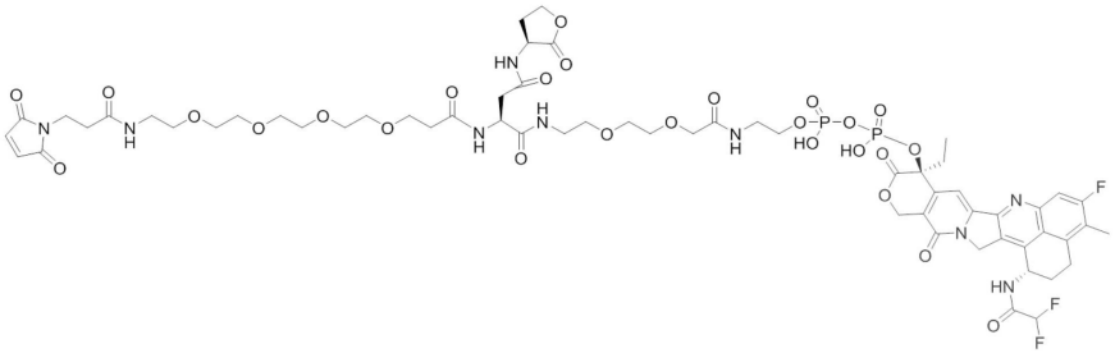
[1160] 例示3-29

[1161] 

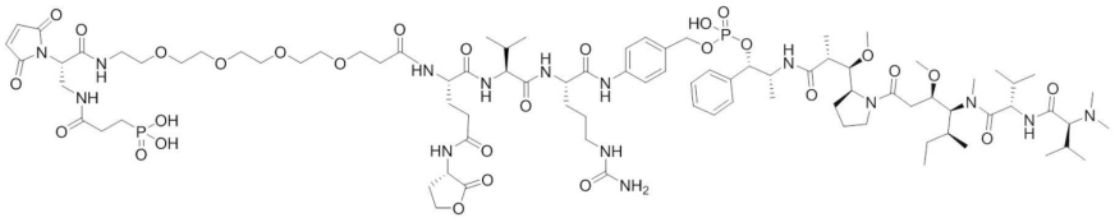
[1162] 例示3-30

[1163] 

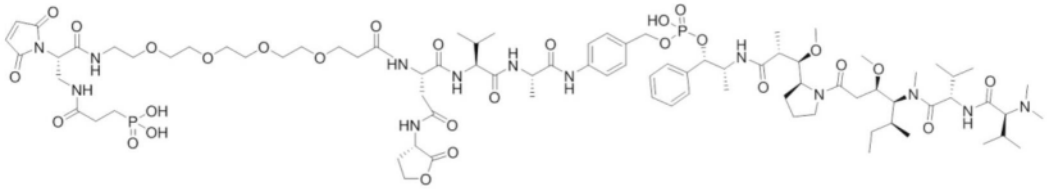
[1164] 例示3-31

[1165] 

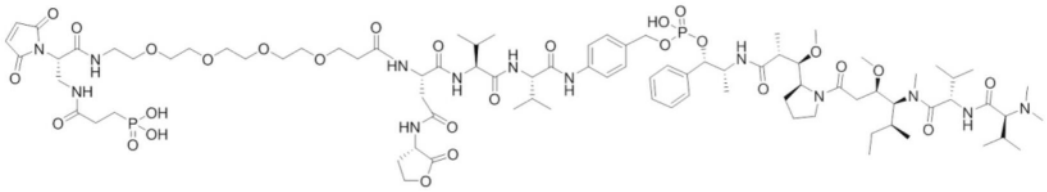
[1166] 例示3-32

[1167] 

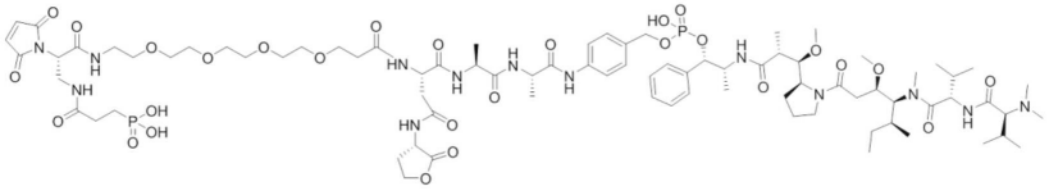
[1168] 例示3-33

[1169] 

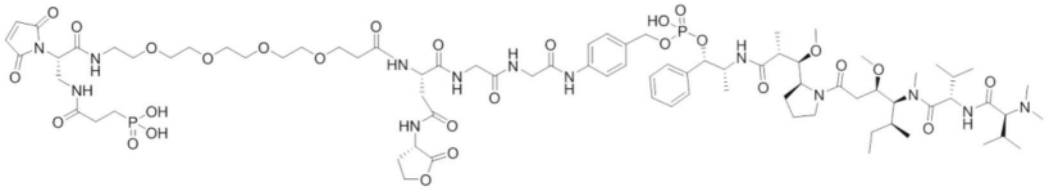
[1170] 例示3-34

[1171] 

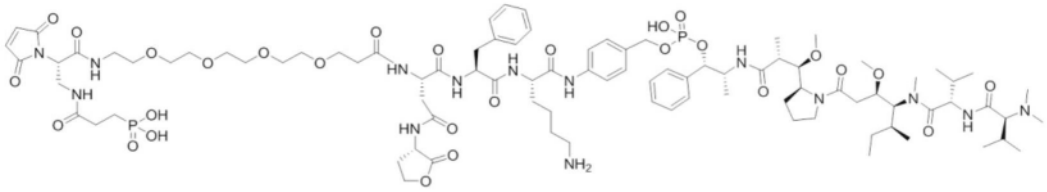
[1172] 例示3-35

[1173] 

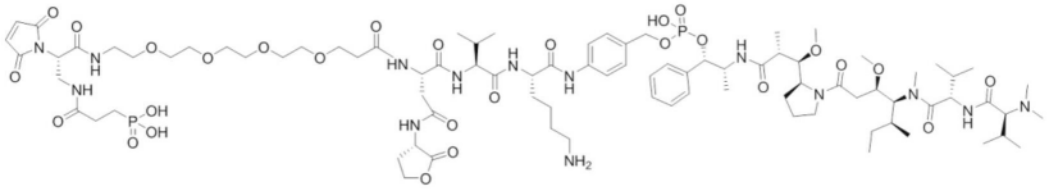
[1174] 例示3-36

[1175] 

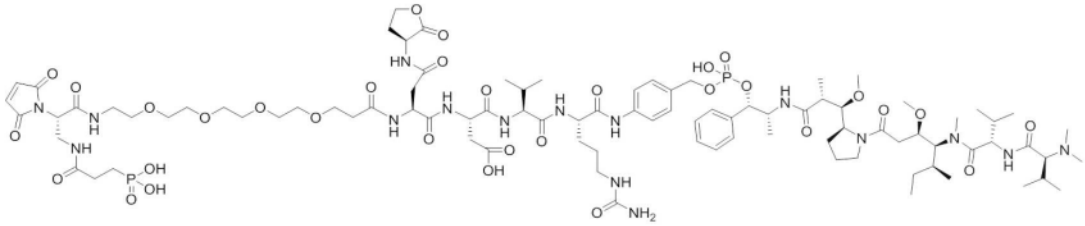
[1176] 例示3-37

[1177] 

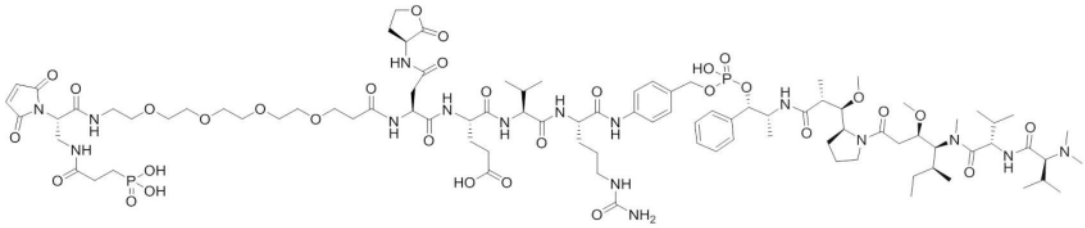
[1178] 例示3-38

[1179] 

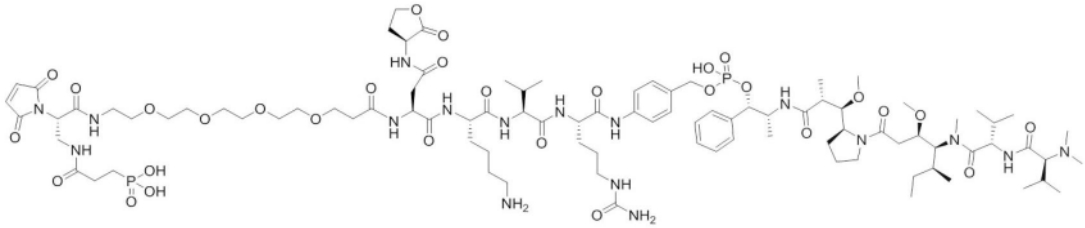
[1180] 例示3-39

[1181] 

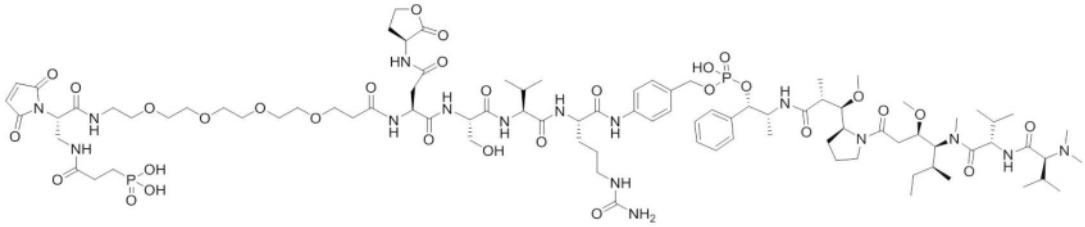
[1182] 例示3-40

[1183] 

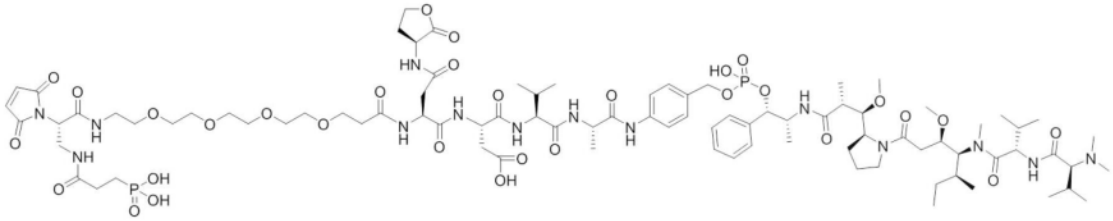
[1184] 例示3-41

[1185] 

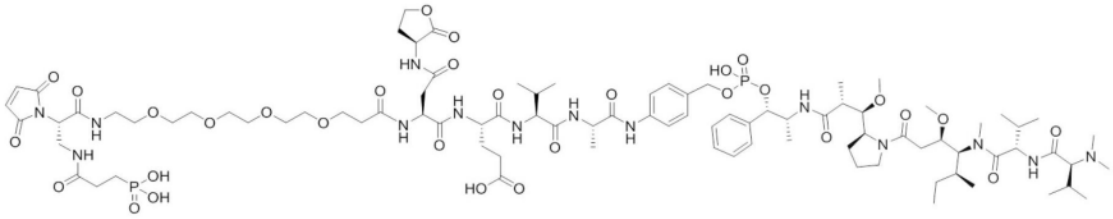
[1186] 例示3-42

[1187] 

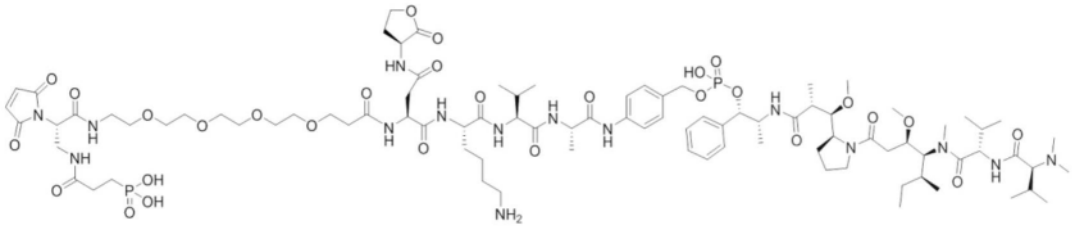
[1188] 例示3-43

[1189] 

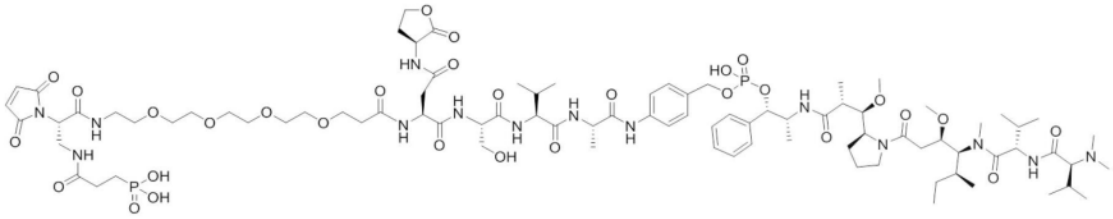
[1190] 例示3-44

[1191] 

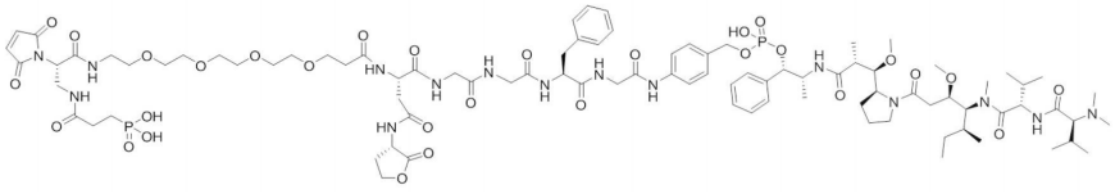
[1192] 例示3-45

[1193] 

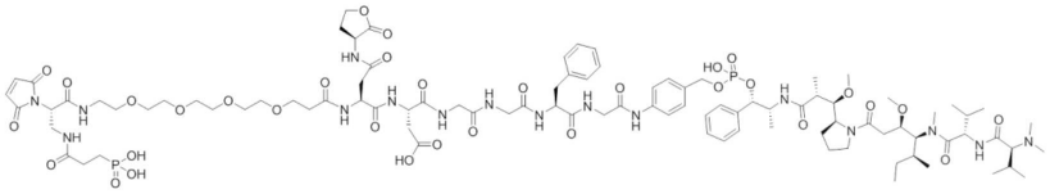
[1194] 例示3-46

[1195] 

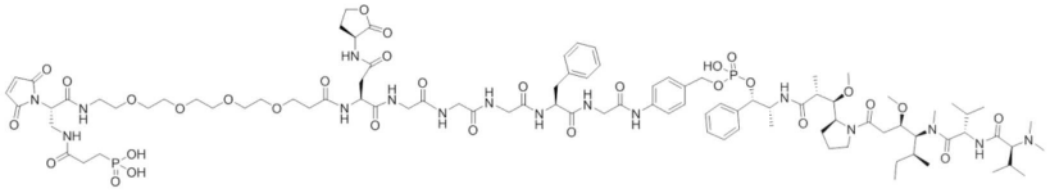
[1196] 例示3-47

[1197] 

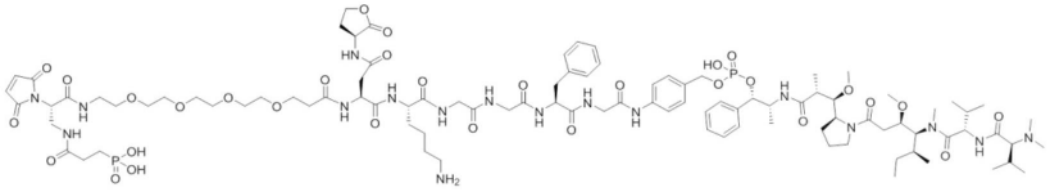
[1198] 例示3-48

[1199] 

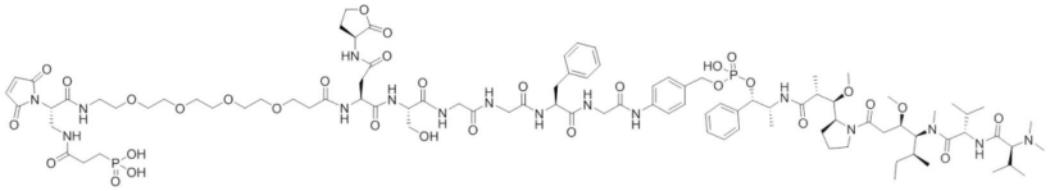
[1200] 例示3-49

[1201] 

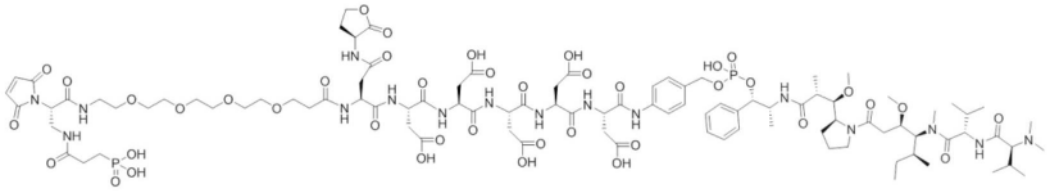
[1202] 例示3-50

[1203] 

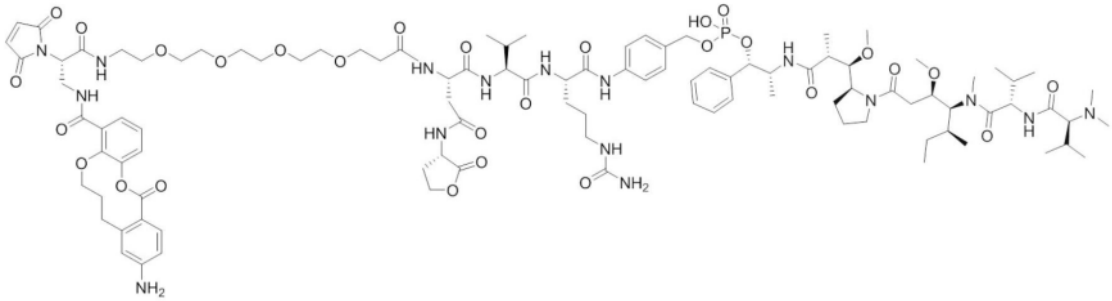
[1204] 例示3-51

[1205] 

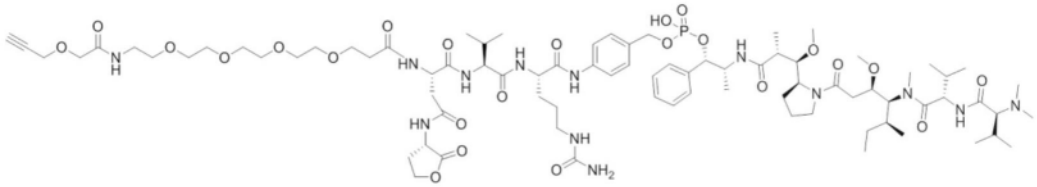
[1206] 例示3-52

[1207] 

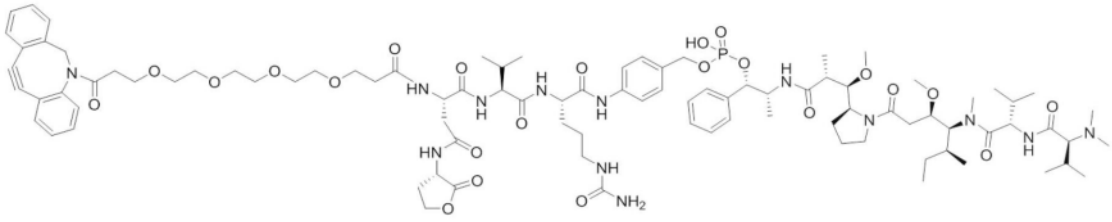
[1208] 例示3-53

[1209] 

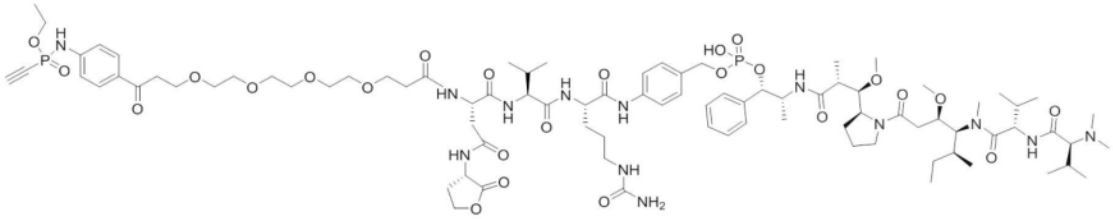
[1210] 例示3-54

[1211] 

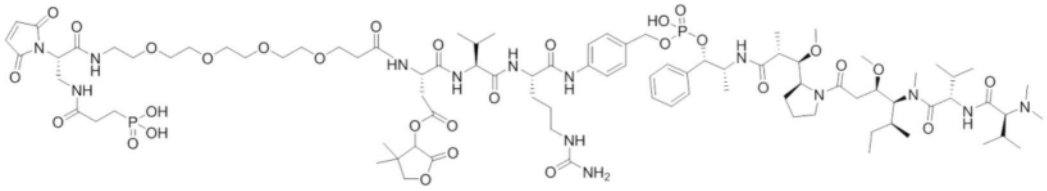
[1212] 例示3-55

[1213] 

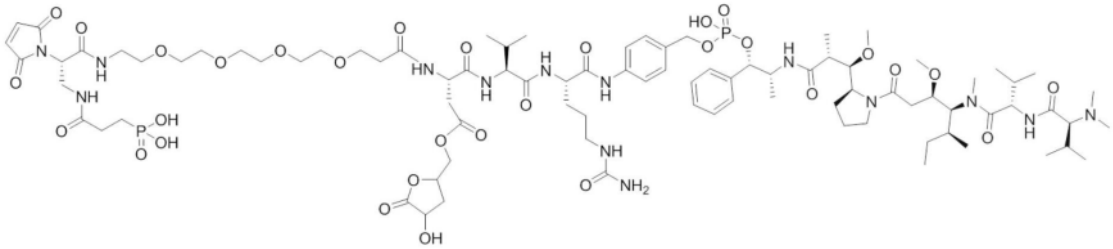
[1214] 例示3-56

[1215] 

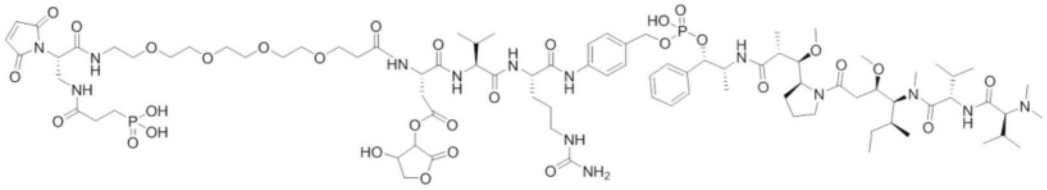
[1216] 例示3-57

[1217] 

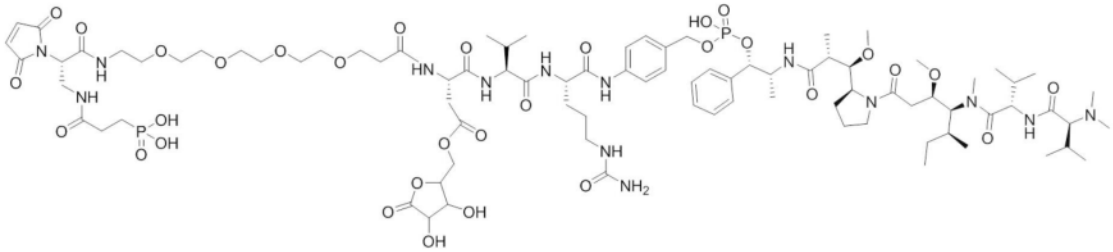
[1218] 例示3-58

[1219] 

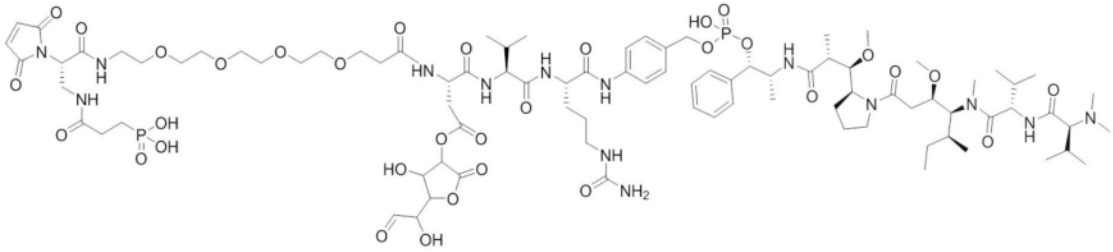
[1220] 例示3-59

[1221] 

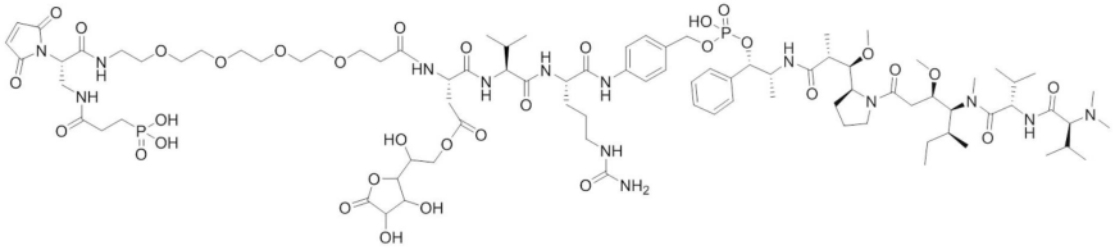
[1222] 例示3-60

[1223] 

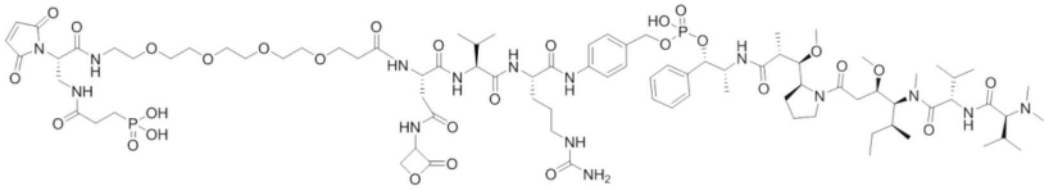
[1224] 例示3-61

[1225] 

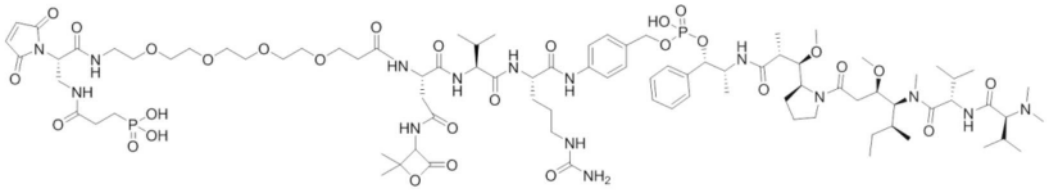
[1226] 例示3-62

[1227] 

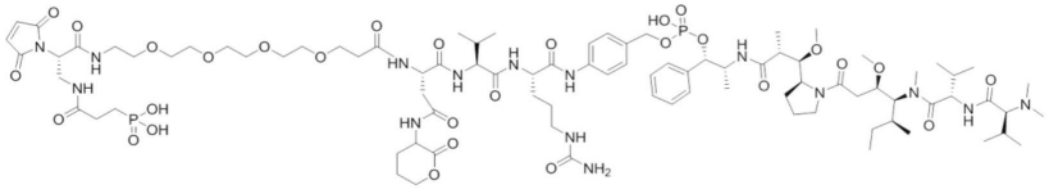
[1228] 例示3-63

[1229] 

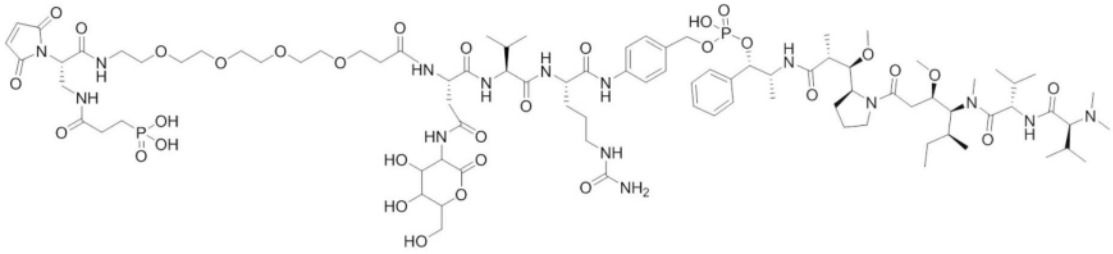
[1230] 例示3-64

[1231] 

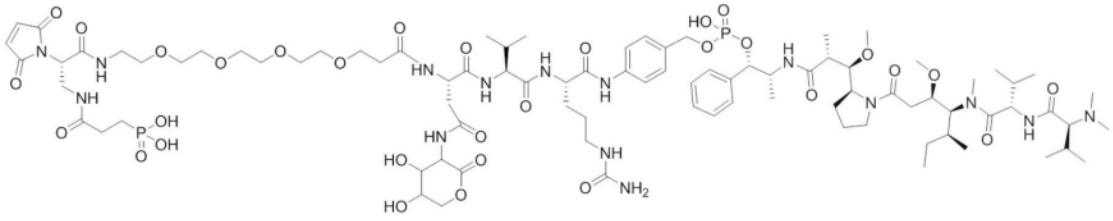
[1232] 例示3-65

[1233] 

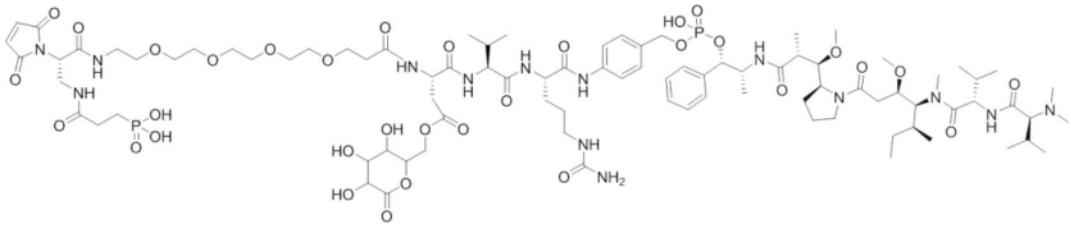
[1234] 例示3-66

[1235] 

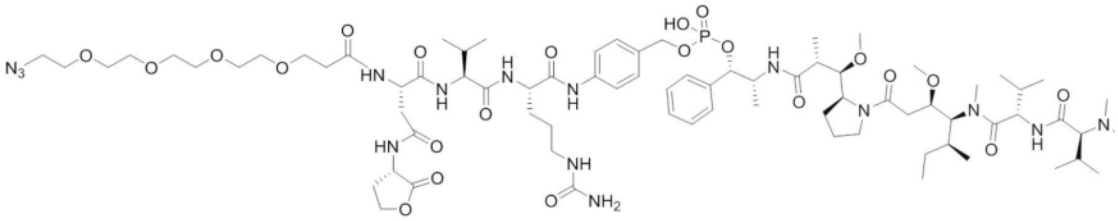
[1236] 例示3-67

[1237] 

[1238] 例示3-68

[1239] 

[1240] 例示3-69

[1241] 

[1242] 以下,具体说明制造方法的例子,基本上可以适当选择在ADC的制造或蛋白质的化学修饰中通用的公知的方法(例如下述的专利文献中记载)并应用。

[1243] • 日本特许第6186045号

[1244] • 有机合成化学第42卷第4号(1984)

[1245] • Drug Delivery System 34-1,2019

[1246] • Nat.Commun.2018,9,2512

[1247] • YAKUGAKU ZASSHI 139,No.2(2019)

[1248] • Angew.Chem.Int.Ed.2019,58,11631 -11636

[1249] • Chem.Rev.2015,115,2174-2195

[1250] • Analytical Sciences January 2018,Vol.35,5-27

[1251] 制造方法-1

[1252] 在本发明的抗体-药物偶联物(通式(I))中,B为-S-(硫醚键)的化合物(通式(I-1))例如通过下述式所示的方法制造。

[1253] 通式(I-1)表示的抗体-药物偶联物的制造方法

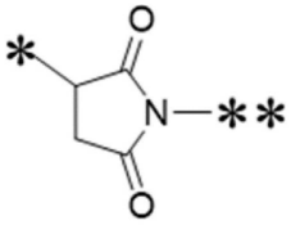
[1254] A-$(SH)_a$+化合物(III-1)→A-$(S\text{-}Z^1\text{-}L^1\text{-}D)_a$ 通式(I-1)

[1255] [式中,A-(SH)a为具有1个以上巯基(-SH)的抗体,化合物(III-1)表示在上述通式(III)中Z为马来酰亚胺基(上述式(ii))、Hal-CH_2-C(=O)-基(Hal为Cl、Br、或者I)、或乙炔基膦酸酰胺酯基(上述式(iii)、Angew.Chem.Int.Ed.2019,58,11631 -11636)的反应性前体,

[1256] Z^1表示上述定义的反应性基团Z与抗体的SH基反应而生成的2价的残基(亚琥珀酰亚胺基、-CH_2-C(=O)-基、或顺式乙烯基膦酸酰胺酯基,

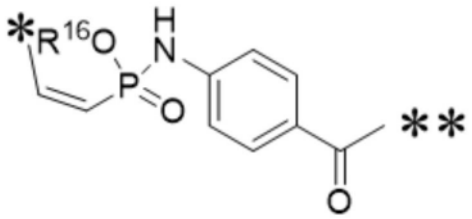
[1257] 亚琥珀酰亚胺基由下式(iv)表示,

[1258] 式(iv)

[1259] 

[1260] 顺式-乙烯基膦酸酰胺酯基由下式(v)表示：

[1261] 式(v)

[1262] 

[1263] [上述式中,R^{16}为甲基、乙基、或$-CH_2CH_2OCH_2CH_2OH$基等,*为与“抗体A-S-”的键合点,**为与“L^1”的键合点]

[1264] L^1、D、及a与上述定义的含义相同。]

[1265] 上述的制造方法具体而言可以如下所述。

[1266] [1]

[1267] A-$(SH)_a$+马来酰亚胺基-L^{1-1}-D→A-$(S$-亚琥珀酰亚胺基-L^{1-1}-$D)_a$ 通式(I-1-1)

[1268] 或

[1269] [2]

[1270] A-$(SH)_a$+Hal-CH_2-C(=O)-L^{1-2}-D→A-$(S$-CH_2-C(=O)-L^{1-2}-$D)_a$ 通式(I-1-2)

[1271] 或

[1272] [3]

[1273] A-$(SH)_a$+乙炔基膦酸酰胺酯基-L^{1-3}-D→A-$(S$-顺式-乙烯基膦酸酰胺酯基-L^{1-3}-$D)_a$ 通式(I-1-3)

[1274] [式中,

[1275] A-(SH)a为具有1个以上的巯基(-SH)的“抗体”,

[1276] L^{1-1}、L^{1-2}和L^{1-3}表示从上述定义的L中分别除去亚琥珀酰亚胺基(上述式(v))、$-CH_2$-C(=O)-基、或顺式-乙烯基膦酸酰胺酯基(上述式(vi))而成的连接子部分,它们可以相同也可以不同,

[1277] D及a与上述含义相同。]

[1278] 通过像这样使具有巯基的抗体(A-(SH)a)与可通过后述的方法获得的化合物(III-1)反应,可以制造抗体-药物偶联物(通式(I-1))。

[1279] 具有巯基的抗体(A-(SH))a可以通过本领域周知的方法得到(Hermanson,G.T、Bioconjugate Techniques、pp.56-136、pp.456-493、Academic Press(1996))。

[1280] 例如,可列举出如下方法:使Traut’s试剂作用于抗体的氨基;使N-琥珀酰亚胺基-S-乙酰硫代链烷酸酯类作用于抗体的氨基后,使羟胺发挥作用;使N-琥珀酰亚胺基-3-(吡啶基二硫基)丙酸酯进行作用后,使还原剂进行作用;使二硫苏糖醇、2-巯基乙醇、三(2-羧乙基)膦盐酸盐(TCEP)等还原剂作用于抗体,而还原抗体内铰链部的二硫键,生成巯基;等,但并不限定于这些。

[1281] 具体而言,通过相对于每一个抗体内铰链部二硫键使用0.3～3摩尔当量的TCEP作为还原剂,在含有螯合剂的缓冲液中与抗体反应,能够得到抗体内铰链部二硫键被部分或完全还原的抗体。作为螯合剂,例如可以举出乙二胺四乙酸(EDTA)、二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)等。以1mM至20mM的浓度使用它们等即可。作为缓冲液,可以使用磷酸钠、硼酸钠、醋

酸钠溶液、磷酸缓冲生理盐水等。在具体的例子中,抗体通过在4℃～37℃下与TCEP反应1～4小时,能够得到具有被部分或完全还原的巯基的抗体A-(SH)a。另外,通过每1个具有巯基的抗体(A-(SH)a)使用为2～20摩尔当量的化合物(III-1),能够制造每1个抗体结合有1个～10个连接子-药物单元(LDU)的抗体-药物偶联物(式(I-1))。

[1282] 具体而言,在含有具有巯基的抗体(A-(SH)a)的缓冲液中加入溶解有化合物(III-1)的溶液使其反应。在此,作为缓冲液,可以使用磷酸钠、硼酸钠、醋酸钠溶液、磷酸缓冲生理盐水等。反应时的pH为5～9,更优选在pH7附近反应。作为使化合物(III-1)溶解的溶剂,可以使用二甲基亚砜(DMSO)、二甲基甲酰胺(DMF)、二甲基乙酰胺(DMA)、N-甲基-2-吡啶酮(NMP)等有机溶剂。在含有具有巯基的抗体(A-(SH)a)的缓冲液中加入1～20%v/v溶解有化合物(III-1)的有机溶剂溶液使其反应。反应温度为0℃-37℃,更优选为10℃-25℃,反应时间为0.5小时-2小时。反应可以通过利用含硫醇试剂使未反应的化合物(III-1)的反应性基团失活而结束。含硫醇试剂例如为半胱氨酸或N-乙酰-L-半胱氨酸(NAC)。更具体而言,相对于所使用的化合物(III-1)添加1～2摩尔当量的NAC,在室温下孵育10～30分钟,由此能够结束反应。

[1283] 制造方法-2

[1284] 在本发明的抗体-药物偶联物(通式(I))中,B为-NH-的化合物(通式(I-2))例如通过下述式所示的方法制造。

[1285] 通式(I-2)表示的抗体-药物偶联物的制造方法

[1286] $A-(NH_2)_a$+化合物(III-2)→$A-(NH-C(=O)-L^2-D)_a$ 通式(I-2)

[1287] [式中,$A-(NH_2)a$为具有1个以上的氨基($-NH_2$)的抗体,

[1288] 化合物(III-2)表示上述通式(III)中Z为羧基(-COOH)、或其活性酯基、例如N-羟基琥珀酰亚胺基酯基(上述式(iv))的反应性前体,

[1289] L^2表示从上述定义的L中除去-C(=O)-基而成的连接子部分,

[1290] D和a与上述定义的含义相同。]

[1291] 上述的制造方法具体而言可以如下所述。

[1292] [1]

[1293] $A-(NH_2)_a$+$HOOC-L^{2-1}-D$→

[1294] $A-(NH-C(=O)-L^{2-1}-D)_a$ 通式(I-2-1)

[1295] 或

[1296] [2]

[1297] $A-(NH_2)_a$+N-羟基琥珀酰亚胺基酯-$L^{2-2}-D$→$A-(NH-C(=O)-L^{2-2}-D)_a$ 通式(1-2-2)

[1298] [式中,$A-(NH_2)a$为具有1个以上的氨基($-NH_2$)的抗体,

[1299] L^{2-1}及L^{2-2}表示从上述定义的L除去-C(=O)-基而成的连接子部分,它们可以相同也可以不同,D和a与上述含义相同。]

[1300] 通过像这样使具有氨基($-NH_2$)的抗体($A-(NH_2)a$)与可通过后述的方法获得的化合物(III-2)反应,能够制造抗体-药物偶联物(通式(I-2))。

[1301] 作为化合物(III-2)的活性酯基,除了上述例示的N-羟基琥珀酰亚胺酯(上述式(v))以外,还可以使用其他活性酯,例如磺基琥珀酰亚胺酯、N-羟基邻苯二甲酰亚胺酯、N-羟基磺基邻苯二甲酰亚胺酯、邻硝基苯基酯、对硝基苯基酯、2,4-二硝基苯基酯、3-磺酰基-

4-硝基苯基酯、3-羧基-4-硝基苯基酯、五氟苯基酯等。

[1302] 具体而言，通过每1个具有氨基的抗体(A-(NH_2)a)使用为2～20摩尔当量的化合物(III-2)，能够制造每1个抗体结合有1个～10个连接子-药物单元(LDU)的抗体-药物偶联物(通式(I-2))。

[1303] 具体而言，通过在含有抗体(A-(NH_2)a)的缓冲液中加入溶解有化合物(III-2)的溶液并使其反应，能够制造抗体-药物偶联物(通式(I-2))。在此，作为缓冲液，可以使用磷酸钠、硼酸钠、醋酸钠溶液、磷酸缓冲生理盐水等。反应时的pH为5～9即可，更优选在pH7附近反应即可。作为使化合物(III-2)溶解的溶剂，可以使用二甲基亚砜(DMSO)、二甲基甲酰胺(DMF)、二甲基乙酰胺(DMA)、N-甲基-2-吡啶酮(NMP)等有机溶剂。在含有抗体(A-(NH_2)a)的缓冲液中加入1～20％v/v溶解有化合物(III-2)的有机溶剂溶液并反应即可。反应温度为0℃～37℃，更优选为10℃～25℃，反应时间为0.5小时～20小时。

[1304] 制造方法-3

[1305] 在本发明的抗体-药物偶联物(通式(I))中，B为-(1,2,3-亚三唑基)-的化合物(通式(I-3))例如通过下述式所示的方法制造。

[1306] 通式(I-3)表示的抗体-药物偶联物的制造方法

[1307] A-$(N_3)_a$+化合物(III-3)→A-$(1,2,3\text{-亚三唑基-L-D})_a$ 通式(I-3)

[1308] [式中，A-(N_3)a为具有1个以上的叠氮基(-N_3)的抗体，

[1309] 化合物(III-3)表示在上述通式(III)中Z为炔基或环炔基的反应性前体，D、L和a与上述定义的含义相同。]

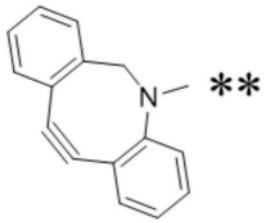
[1310] 上述的制造方法具体而言可以如下所述(在此，记载通式(Ⅲ-3)中的反应性基团为二苯并氮杂环辛炔基的例子)。

[1311] A-$(N_3)_a$+二苯并氮杂环辛块基-K-D→A-$(1,2,3\text{-亚三哇基-L-D})_a$ 通式(I-3-1)

[1312] [式中，A-(N_3)a为具有1个以上的叠氮基(-N_3)的抗体，

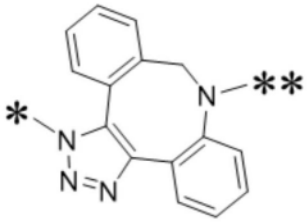
[1313] 二苯并氮杂环辛炔基由下式(vi)表示：

[1314] 式(vi)

[1315] 

[1316] 生成的1,2,3-亚三唑基由下式(vii)表示：

[1317] 式(vii)

[1318] 

[1319] [上述式中，*为与“抗体残基A-”的键合点，**为与“-L”的键合点]

[1320] D、L及a与上述含义相同。]

[1321] 上述制造方法-3作为由叠氮化合物和炔烃类在水溶液中在温和的条件下合成1,2,3-三唑类的点击反应(Click Reaction)而广为人知,按照下述文献等中记载的方法实施。

[1322] Australian Journal of Chemistry 60(6):384-395.

[1323] Angew.Chem.Int.Ed.2001,40,2004-2021

[1324] J.Am.Chem.Soc.2004,126,12809-12818

[1325] Angew.Chem.Int.Ed.2004,43,3928-3932

[1326] Proc.Natl.Acad.Sci.USA2007,104,16793-16797

[1327] 制造方法-4

[1328] 本发明的通式(I)表示的抗体-药物偶联物也可以通过下述式所示的方法制造。

[1329] [1]

[1330] $A-(B-Q^1-W1)_a+W^2-Q^2-D\rightarrow A-(B-L^1-D)_a$

[1331] 或

[1332] [2]

[1333] $A-(B-Q^3-W^2)_a+W^1-Q^4-D\rightarrow A-(B-L^1-D)_a$

[1334] [式中,

[1335] A、B、a、D及L^1与上述含义相同,

[1336] Q^1及Q^3为从抗体中存在的官能团(-OH、-SH、$-NH_2$、-COOH等)伸出的辅助连接子,

[1337] Q^2及Q^4为从D伸出的辅助连接子,

[1338] 偶联化反应时可以Q^1和Q^2一起、及Q^3和Q^4一起形成L^1的部分或全部,

[1339] W^1及W^2独立地为巯基、氨基、马来酰亚胺基(上述式(ii))、α-卤代甲基羰基(卤素为Cl、Br或I)、乙炔基膦酸酰胺酯基(上述式(iii))、羧基、羧基的活性酯体、叠氮基($-N_3$)、炔基、环炔基或氮杂环炔基等反应性基,W^1和W^2处于“相互反应的对方”的关系,

[1340] W^1为巯基时,W^2为马来酰亚胺基、α-卤代甲基羰基、或乙炔基膦酸酰胺酯基,

[1341] W^1为氨基时,W^2为羧基、或羧基的活性酯体,

[1342] W^1为马来酰亚胺基、α-卤代甲基羰基、或乙炔基膦酸酰胺酯基时,W^2为巯基,

[1343] W^1为羧基、或羧基的活性酯体时,W^2为氨基,

[1344] W^1为叠氮基时,W^2为炔基、环炔基或氮杂环炔基,

[1345] W^1为炔基、环炔基或氮杂环炔基时,W^2为叠氮基]

[1346] 本制造方法按照以下的公知专利/文献中记载的方法实施。

[1347] WO2014/057687

[1348] Nat.Commun.2018,9,2512

[1349] YAKUGAKU ZASSHI 139,No.2(2019)

[1350] 上述式中,W^1为叠氮基、W^2为炔基、环炔基或氮杂环炔基的情况下,以及W^1为炔基、环炔基或氮杂环炔基、W^2为叠氮基的情况下,W^1与W^2的反应被称为“点击反应”,该反应与上述制造方法-3中记载的反应同样地进行。

[1351] 按照上述说明的一般的制造方法制造的抗体-药物偶联物可以按照以下记载的一般的偶联物处理工序进行浓缩、缓冲液交换、纯化、抗体浓度和每1分子抗体的连接子-药物单元(LDU)的平均结合数的测定,进行抗体-药物偶联物的鉴定。

[1352] 偶联物处理工序A:抗体或抗体-药物偶联物水溶液的浓缩

[1353] 在Amicon Ultra(50,000MWCO,Millipore Corporation)的容器内加入抗体或抗体-药物偶联物溶液,通过使用了离心机(使用通用冷却离心机MODEL5922,久保田商事)的离心操作(以2000G～3800G离心5～20分钟),浓缩抗体或抗体-药物偶联物溶液。

[1354] 偶联物处理工序B:抗体的浓度测定

[1355] 使用酶标仪(Flex Station3,Molecular Devices,LLC),按照制造商规定的方法进行抗体浓度的测定。此时,对每个抗体使用不同的280nm吸光系数(1.3mLmg-1cm-～1.8mLmg-1cm-1))。

[1356] 偶联物处理工序C:抗体的缓冲液交换

[1357] 对于使用了Sephadex G-10载体的NAP-25柱(Cat.No.17-0854-02,GE Healthcare Japan Corporation),按照制造商说明书的方法,使用磷酸缓冲液(pH7.4)(本说明书中称为PBS6.0/EDTA)使其平衡化。对于一根该NAP-10柱,加载抗体水溶液1.0mL后,分离以PBS1.5mL洗脱的组分(1.5mL)。通过处理工序A浓缩该组分,使用处理工序B进行抗体浓度的测定后,使用PBS调整抗体浓度。

[1358] 偶联物处理工序D:抗体-药物偶联物的纯化

[1359] 利用包含市售的磷酸缓冲液(PBS7.4,Cat.No.10010-023,Invitrogen)、氯化钠(137mM)的磷酸钠缓冲液(10mM,pH6.0;本说明书中称为PBS6.0。)或者包含山梨糖醇(5%)的乙酸缓冲液(10mM,pH5.5;本说明书中称为ABS。)中的任意缓冲液使NAP-10柱平衡化。在该NAP-10柱上加载抗体-药物偶联反应水溶液(约1.0mL),用制造商规定的量的缓冲液洗脱,由此分离抗体组分。通过反复进行共计2～3次将该分离组分再次加载于NAP-10柱上并利用缓冲液使其洗脱的凝胶过滤纯化操作,得到除去了未结合的药物连接子、低分子化合物(三(2-羧乙基)膦盐酸盐(TCEP)、N-乙酰-L-半胱氨酸(NAC)、二甲基亚砜)的抗体-药物偶联物。

[1360] 偶联物处理工序E:通过吸光度计算抗体-药物偶联物中的抗体浓度和每1分子抗体的连接子-药物单元(LDU)的平均结合数(DAR)

[1361] 抗体-药物偶联物中的结合药物浓度可以通过在测定抗体-药物偶联物水溶液的280nm和370nm的两个波长下的UV吸光度之后进行下述计算而算出。

[1362] 由于某波长下的总吸光度与体系内存在的所有吸收化学物种的吸光度之和相等[吸光度的加合性],因此,若假定在抗体与药物的偶联化前后抗体和药物的摩尔吸光系数没有变化,则抗体-药物偶联物中的抗体浓度和药物浓度由下述关系式表示。

[1363] $A280=AD,280+AA,280=\varepsilon D,280CD+\varepsilon A,280CA$ ・・・式(1)

[1364] $A370=AD,370+AA,370=\varepsilon D,370CD+\varepsilon A,370CA$ ・・・式(2)

[1365] 其中,A280表示280nm的抗体-药物偶联物水溶液的吸光度,A370表示370nm的抗体-药物偶联物水溶液的吸光度,AA,280表示280nm的抗体的吸光度,AA,370表示370nm的抗体的吸光度,AD,280表示280nm的偶联物前体(上述通式(III)的化合物;以下同样)的吸光度,AD,370表示370nm的偶联物前体的吸光度,εA,280表示280nm的抗体的摩尔吸光系数,εA,370表示370nm的抗体的摩尔吸光系数,εD,280表示280nm的偶联物前体的摩尔吸光系数,εD,370表示370nm的偶联物前体的摩尔吸光系数,CA表示抗体-药物偶联物的抗体浓度,CD表示抗体-药物偶联物的药物浓度。

[1366] 这里,εA,280、εA,370、εD,280、εD,370使用事先准备的值(计算推定值或由化合物的UV测定得到的实测值)。例如,εA,280可以由抗体的氨基酸序列通过已知的计算方法(Protein Science,1995,vol.4,2411-2423)来推定。εA,370通常为零。εD,280及εD,370可通过测定使所使用的偶联物前体溶解成某摩尔浓度的溶液的吸光度,根据朗伯-比尔定律(吸光度=摩尔浓度×摩尔吸光系数×比色皿光路长度)而得到。测定抗体-药物偶联物水溶液的A280和A370,将这些值代入式(1)和(2),解开联立方程式,由此可以求出CA和CD。进而,通过将CD除以CA,能够求出每1抗体的连接子-药物单元(LDU)的平均结合数。

[1367] 偶联物处理工序F:通过半胱氨酸反应性评价计算抗体-药物偶联物中的DAR

[1368] 通式(I)的"-B-"为"-S-"的本发明的抗体-药物偶联物(通式:I-1)中的DAR可以通过评价反应性前体(化合物(III-1))与L-半胱氨酸的反应性来计算、推定。即,在与偶联化反应相同的条件下,使反应性前体(化合物(III-1))与L-半胱氨酸反应,如果L-半胱氨酸被完全消耗,则推定为DAR8。具体方法如下所述。

[1369] 向134μM的L-半胱氨酸PBS/EDTA溶液900μL中添加用于偶联化的1.51mM的反应性前体(化合物(III-1))二甲基亚砜溶液100μL。(在该条件下,相对于L-半胱氨酸8当量,反应性前体为10当量。)接着在冰上反应1小时。取反应后的溶液480μL置于微量管中,加入5、5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)(富士胶片和光纯药株式会社制造,047-16401)的10mM乙醇溶液20μL。在室温下反应15分钟,将反应后的溶液添加到96孔板中,使用酶标仪(Flex Station3,Molecular Device公司制)测定吸光度(412nm)。对于浓度已知的L-半胱氨酸溶液也进行同样的操作,制作标准曲线,由此求出样品中的L-半胱氨酸浓度。

[1370] 样品中的L-半胱氨酸残留率(%)通过下式求出。

[1371] 样品中的L-半胱氨酸残留率(%)=(a/121)×100

[1372] a:样品中的L-半胱氨酸浓度(μM)

[1373] 使用与供试于上述半胱氨酸反应性评价相同批次的反应性前体(化合物(III-1))获得的抗体-药物偶联物(通式:I-1)的DAR通过以下的式子算出/推定。

[1374] DAR=8×((100-b)/100)

[1375] b:样品中的L-半胱氨酸残留率(%)

[1376] 需要说明的是,为了确保偶联物的量,可以将在同样的条件下制作而得到的平均药物总数为相同程度的偶联物(例如±1左右)混合而制成新的批次。此时,平均药物总数处于混合前的平均药物总数之间。

[1377] 本发明的抗体-偶联物前体、或其盐存在因在大气中放置或重结晶而吸收水分,带有吸附水或成为水合物的情况,这样的包含水的抗体-药物偶联物或其盐也包含在本发明中。

[1378] 在本发明的通式(I)所示的抗体-药物偶联物的"-L-D"部中包含具有不对称中心的部分结构而可能产生光学异构的情况下,任一光学异构体均包含在本发明中。

[1379] 另外,本发明还包含用各种放射性或非放射性同位素标记的化合物。构成本发明的抗体-药物偶联物的原子的一个以上也可以含有原子同位素的非天然比例。作为原子同位素,例如可列举氘(^{2}H)、氚(^{3}H)、碘-125(^{125}I)或碳-14(^{14}C)等。另外,本发明的抗体-药物偶联物可以用例如氚(^{3}H)、碘-125(^{125}I)或碳-14(^{14}C)这样的放射性同位素进行放射性标记。经放射性标记的化合物作为治疗或预防剂、研究试剂、例如检测试剂及诊断剂、例如体

内图像诊断剂是有用的。无论是否为放射性,本发明的抗体-药物偶联物的所有同位素改造体都包含在本发明的范围内。

[1380] 使用方法

[1381] 肿瘤(包括癌症、血癌、癌、肉瘤和脑肿瘤)的治疗

[1382] 本发明的抗体-药物偶联物显示抗肿瘤活性,因此可以用作对肿瘤的治疗药物和/或预防药。作为应用本发明的抗体-药物偶联物的肿瘤的种类,例如可举出淋巴瘤(霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤)和白血病等造血系统的肿瘤或癌症、以及实体瘤或实体癌。作为造血系统的肿瘤或者癌症的例子,可列举滤泡性淋巴瘤、未分化大细胞淋巴瘤、套细胞淋巴瘤急性髓细胞白血病、慢性髓细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、弥漫性大细胞型B细胞淋巴瘤和多发性骨髓瘤。作为实体瘤或实体癌的例子,可列举纤维肉瘤、粘液肉瘤、脂肪肉瘤、软骨肉瘤、骨肉瘤、脊索瘤、血管肉瘤、内皮肉瘤(endotheliosarcoma)、淋巴管肉瘤、淋巴管内皮肉瘤(lymphangioendotheliosarcoma)、滑膜瘤、间皮瘤、尤因瘤、平滑肌肉瘤、横纹肌肉瘤、卡波西肉瘤、结肠癌、结直肠癌、肾癌、胰腺癌、骨癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、食道癌、胃癌、口腔癌、鼻腔癌、咽喉癌、鳞状上皮癌、基底细胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳头状癌、乳头状腺癌、囊腺癌、髓样癌、支气管源性癌、肾细胞癌、肝癌、胆管癌、绒毛膜癌、精原细胞瘤、胚胎性癌、维尔姆斯氏瘤、宫颈癌、子宫癌、睾丸肿瘤、小细胞肺癌、膀胱癌、肺癌、上皮癌、甲状腺癌、神经胶质瘤、多形性胶质母细胞瘤、星状细胞瘤、成神经管细胞瘤、颅咽管瘤、室管膜瘤、松果体瘤、成血管细胞瘤、听神经瘤、少突胶质细胞瘤、神经鞘瘤、皮肤癌、黑色素瘤、神经母细胞瘤、以及视网膜母细胞瘤等,作为成为治疗对象的肿瘤细胞,只要是表达能够被本发明的抗体-药物偶联物中的抗体识别的抗原的肿瘤细胞,就不限定于此。

[1383] 本发明的抗体-药物偶联物可以给哺乳动物给药,优选为人。

[1384] 包含本发明的抗体-药物偶联物的药物组合物中所使用的物质可从本领域常规使用的制剂添加剂及其他物质中任意选择。

[1385] 本发明的抗体-药物偶联物可以以包含一种以上药学上容许的组分的药物组合物的方式给药。例如,上述药物组合物典型而言包括一种以上药学上容许的载体。作为该载体,例如包含灭菌后的液体(例如水、矿物油、动物油、植物油(例如花生油、大豆油、芝麻油)等。水是静脉内给药上述药物组合物时的代表性的载体。食盐水溶液、葡萄糖水溶液和甘油水溶液也可以作为液体载体,特别是用于注射用溶液。作为赋形剂,可使用本领域中公知的各种药理学上容许的物质。上述药物组合物根据需要也可包含微量的润湿剂或乳化剂、或pH缓冲剂。药学上容许的载体的例子记载于E.W.Martin的“Remington's Pharmaceutical Sciences”中。

[1386] 本发明的抗体药物偶联物可以以各种途径给药。优选的给药途径为非口服给药,作为非口服给药,可举出皮下注入、静脉内注入、肌内注入或胸骨下注入(intrasternal injection)等。更优选为静脉内给药,可以进行点滴或推注。

[1387] 适合于对人的静脉内给药的药物组合物按照常规方法进行配方。用于静脉内给药的代表性的药物组合物是经灭菌的等渗性的水性缓冲液的溶液。所述药物组合物可以根据需要包含用于缓解注射部位疼痛的局部麻醉剂(例如,利多卡因)。

[1388] 上述药物组合物可以是仅包含本发明的抗体-药物偶联物的药物组合物,也可以是包含抗体-药物偶联物和除此以外的1个以上抗肿瘤药物的药物组合物。

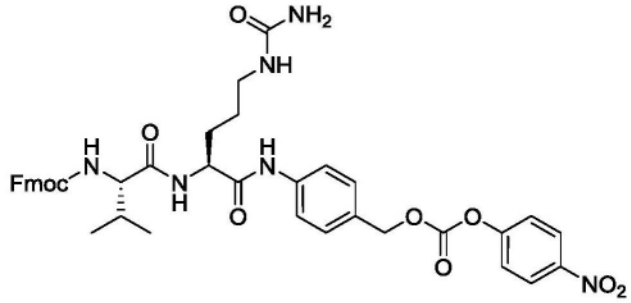
[1389] 本发明的抗体-药物偶联物还可以与其他抗肿瘤药物联合用药,从而增强抗肿瘤效果。以这样的目的使用的其他抗肿瘤药物可以与抗体-药物偶联物同时、分别或连续给药,此外,也可以改变各自的给药间隔来给药。作为这样的抗肿瘤药物,可以举出:白蛋白结合型紫杉醇(abraxane)、卡铂(carboplatin)、顺铂(cisplatin)、吉西他滨(gemcitabine)、伊立替康(irinotecan)(CPT-11)、紫杉醇(paclitaxel)、培美曲塞(pemetrexed)、索拉非尼(sorafenib)、长春碱(vinblastin)、或国际公开第WO2003/038043号小册子中记载的药物、以及LH-RH类似物(亮丙瑞林、戈舍瑞林等)、磷酸雌莫司汀、雌激素拮抗剂(他莫昔芬、雷洛昔芬等)、芳香化酶抑制剂(阿那曲唑、来曲唑、依西美坦等)等,只要是具有抗肿瘤活性的药物就没有限定。这样的药物组合物可以以冷冻干燥制剂或液态制剂的形式制剂化。以冷冻干燥制剂的形式制剂化时,可以加入本领域中使用的适当的制剂添加物进行制剂化。这同样适用于液体制剂。

[1390] 药物组合物的组成和浓度可以根据给药方式而不同,可以根据药物组合物中包含的抗体-药物偶联物对靶点抗原的亲和性以及所结合的抗肿瘤性药物的抗肿瘤活性而变化。在对人给药本发明的抗体-药物偶联物时,例如,以1次约0.001～100mg/kg或在1～180天之间1次的间隔多次给药即可。

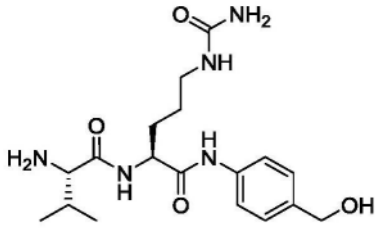
[1391] 实施例

[1392] 以下,将本发明的抗体-药物偶联物的制造方法与其原料-中间体的制造方法一起作为实施例或参考例进行具体说明,但本发明并不限定于这些。另外,本说明书中没有特别记载的试剂、溶剂和起始材料可以从市售的供给源容易地获得。

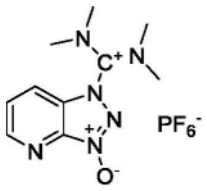
[1393] 缩写和结构的对应如下。

[1394] 

Fmoc-（L）-Val-（L）—Cit-PAB-PNP

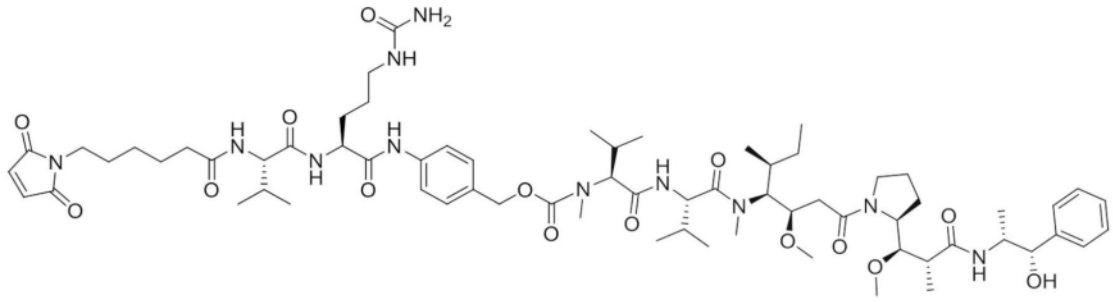
[1395] 

（L）-Val-（L）—Cit-PAB

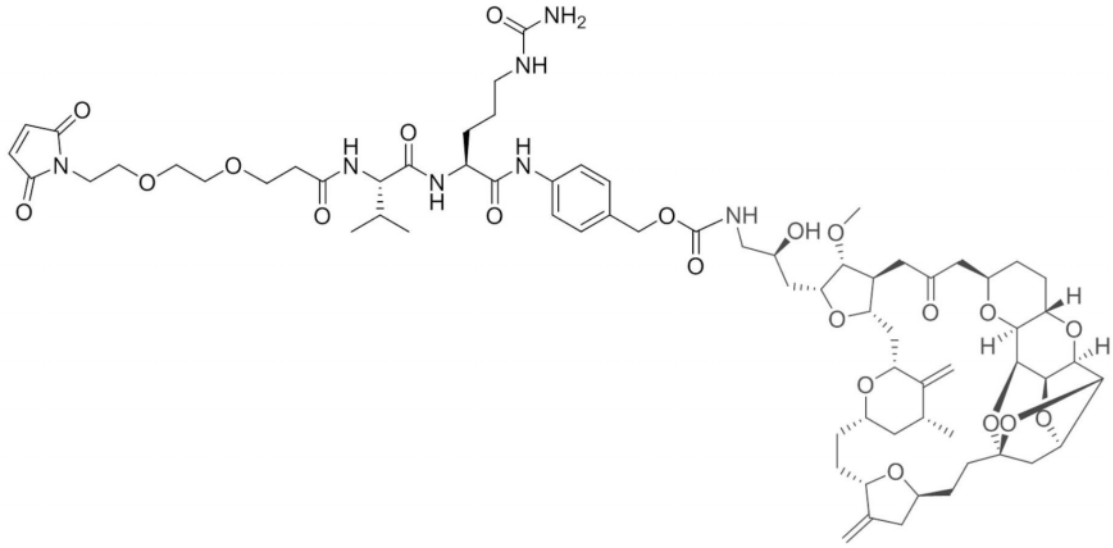
[1396] 

[1397] 1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化物六氟磷酸盐

[1398] (以下记为HATU)

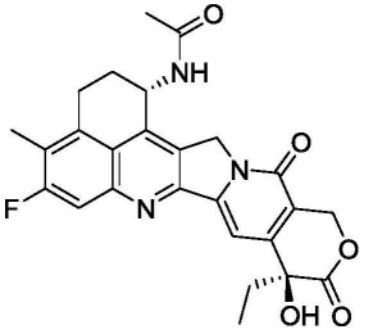
[1399] 

MC-Val-Cit-PAB-MMAE

[1400] 

Mal-PEG2-Val-Cit-PAB-艾日布林

[1401] 制造例1.U-001的合成

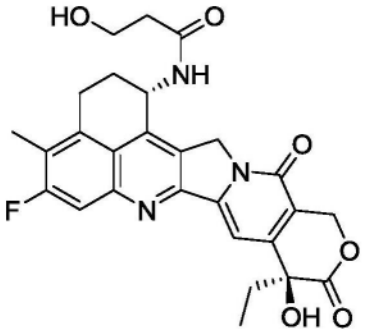
[1402] 

（U-001）

[1403] 在加入到30mL的圆筒型烧瓶中的依喜替康甲磺酸盐(284.1mg、0.534mmoL)和三乙胺0.70mL(508.2mg、5.02mmoL)的二氯甲烷5mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下加入乙酸酐0.14mL(151.2mg、1.481mmoL),在室温下搅拌2小时。反应结束后,将析出物过滤,用二氯甲烷清洗,由此得到为浅茶色固体的U-001(239.9mg、收率94.0%)。

[1404] MS(ESI)m/z 478$(M+H)^+$

[1405] 制造例2.U-002的合成

[1406] 

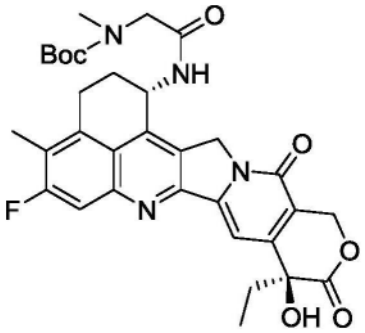
（U-002）

[1407] 在加入到10mL的圆筒型烧瓶中的依喜替康甲磺酸盐(20.4mg、0.038mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺0.6mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入3-羟基丙酸0.015mL(4.86mg、0.054mmoL)、1-羟基苯并三唑(15.6mg、0.115mmoL)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(21.6mg、0.113mmoL)、及三乙胺0.040mL(29.04mg、0.287mmoL),在室温下搅拌3小时。反应结束后,在反应溶液中加入饱和碳酸氢钠水,用乙酸乙酯萃取该混合溶液。将有机层用饱和食盐水清洗,用无水硫酸镁干燥,过滤,进行减压浓缩。对得到的残渣进行山善中压制备(二氧化硅、M(16g)、乙酸乙酯/甲醇＝97/3(V/V)→60/40(V/V)),对含有目标物(Rf值＝0.44(乙酸乙酯/甲醇＝85/15(V/V)))的组分进行减压浓缩,由此得到为淡黄色固体的U-002(9.8mg、收率50.31％)。

[1408] MS(ESI)m/z 508$(M+H)^+$

[1409] 制造例3.U-003的合成

[1410] 3-1.U-003-1的合成

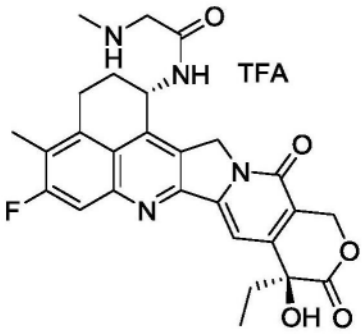
[1411] 

（U-003-1）

[1412] 在加入到10mL的圆筒型烧瓶中的依喜替康甲磺酸盐(22mg、0.041mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺0.8mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入N-(叔丁氧基羰基)-N-甲基甘氨酸(11mg、0.058mmoL)、1-羟基苯并三唑(13mg、0.096mmoL)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(13mg、0.068mmoL)、及三乙胺0.032mL(23.23mg、0.230mmoL),在室温下搅拌2小时后,静置一晚。反应结束后,在反应溶液中加入饱和碳酸氢钠水(5mL×2),用二氯甲烷15mL萃取该混合溶液。将有机层用饱和食盐水5mL进行清洗,用无水硫酸镁进行干燥,过滤,进行减压浓缩,由此,得到U-003-1(29mg、收率定量)。

[1413] MS(ESI)m/z 607$(M+H)^+$

[1414] 3-2.U-003的合成

[1415] 

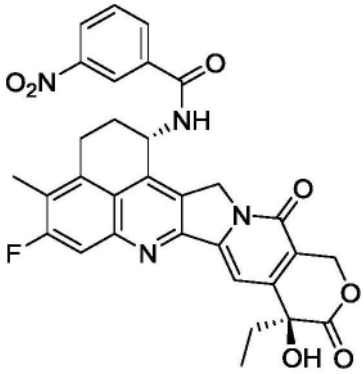
（U-003）

[1416] 在加入到20mL的圆筒型烧瓶中的U-003-1(25mg、0.041mmoL)的二氯甲烷0.6mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入三氟乙酸0.050mL(74mg、0.649mmoL),在室温下搅拌1.5小时后,进行减压浓缩。在残渣中加入甲醇,减压浓缩后,加入乙酸乙酯,滤取所生成的固体。将得到的固体减压干燥,得到为褐色固体的U-003的三氟乙酸盐(13mg,收率50.83%)。

[1417] MS(ESI)m/z 507$(M+H)^+$

[1418] 制造例4.U-004的合成

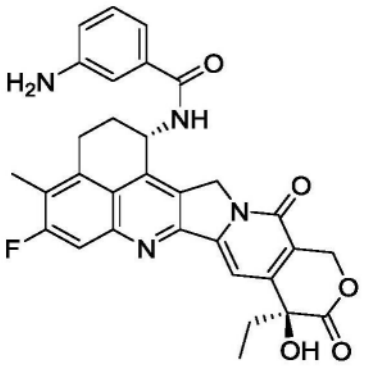
[1419] 4-1.U-004-1的合成

[1420] 

（U-004-1）

[1421] 在加入到10mL的圆筒型烧瓶中的依喜替康甲磺酸盐(20.6mg、0.039mmoL)及N,N-二异丙基乙基胺0.020mL(14.8mg、0.115mmoL)的二氯甲烷1mL溶液中,一边搅拌一边在室温下加入3-硝基苯甲酰氯(9.6mg、0.052mmoL),在室温下搅拌1小时。反应结束后,在反应溶液中加入水,用乙酸乙酯萃取该混合溶液。将有机层减压浓缩,得到U-004-1(22.6mg,收率99.76%)。

[1422] 4-2.U-004的合成

[1423] 

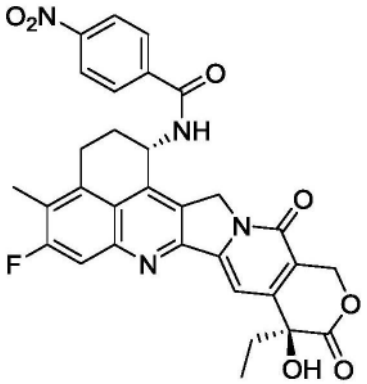
（U-004）

[1424] 将加入到30mL的茄型烧瓶中的U-004-1(22.6mg、0.039mmoL)及10％钯碳NX类型(20.6mg、0.0968mmoL)的乙醇1mL/二氯甲烷1mL混合溶液在氢气氛下在室温下搅拌2小时。反应结束后,过滤催化剂,将溶剂减压浓缩。对得到的残渣进行山善中压制备(二氧化硅、M(16g)、二氯甲烷/甲醇＝100/0(V/V)→94/6(V/V)),对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为微黄色固体的U-004(9.4mg、收率43.84％)。

[1425] MS(DUIS)m/z 555$(M+H)^+$

[1426] 制造例5.U-005的合成

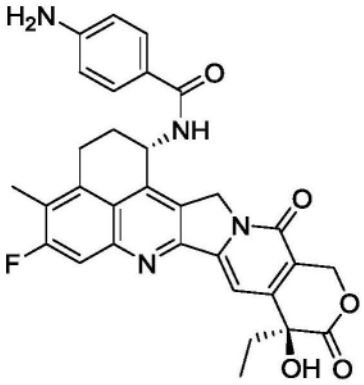
[1427] 5-1.U-005-1的合成

[1428] 

（U-005-1）

[1429] 在加入到10mL的圆筒型烧瓶中的依喜替康甲磺酸盐(21.2mg、0.040mmoL)及N,N-二异丙基乙基胺0.020mL(14.8mg、0.115mmoL)的二氯甲烷1mL溶液中,一边搅拌一边在室温下加入4-硝基苯甲酰氯(10.6mg、0.057mmoL),在室温下搅拌1小时。接着,在搅拌下在室温下加入4-硝基苯甲酰氯(10.6mg、0.057mmoL),在室温下搅拌1小时。反应结束后,在反应溶液中加入水及叔丁基甲基醚,进行搅拌,将生成的固体过滤,用水及叔丁基甲基醚依次清洗,由此得到U-005-1(22.1mg、收率94.79％)。

[1430] 5-2.U-005的合成

[1431] 

（U-005）

[1432] 将加入到30mL的茄型烧瓶中的U-005-1(22.6mg、0.039mmoL)及10％钯碳NX类型(15.4mg、0.0724mmoL)的乙醇1mL/二氯甲烷1mL混合溶液在氢气氛下在室温下搅拌2小时。反应结束后,过滤催化剂,将溶剂减压浓缩。对得到的残渣进行山善中压制备(二氧化硅、M(16g)、二氯乙烷/甲醇＝100/0(V/V)→94/6(V/V)),对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到U-005的粗制物。在以下的条件下对得到的粗制物进行制备型HPLC色谱,用饱和碳酸氢钠水中和含有目标物的组分,进行减压浓缩后,在析出的固体中加入水,过滤不溶物,进行水洗,由此得到为微黄色固体的U-005(7.1mg、收率33.11％)。

[1433] MS(ESI)m/z 555$(M+H)^+$

[1434] 柱:Waters SunFire Prep C18 5μm ODB 19*150mm

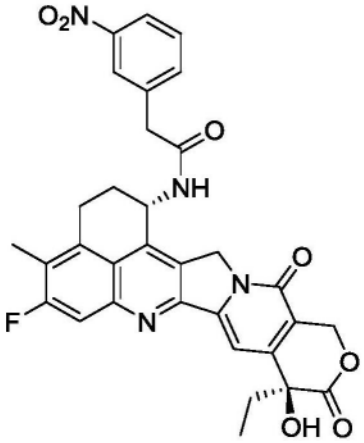
[1435] 流速:17mL/min.

[1436] 洗脱溶剂:0.1％甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[1437] 梯度(B液):30％(0.00min.)→95％(10.00min.)

[1438] 制造例6.U-006的合成

[1439] 6-1.U-006-1的合成

[1440] 

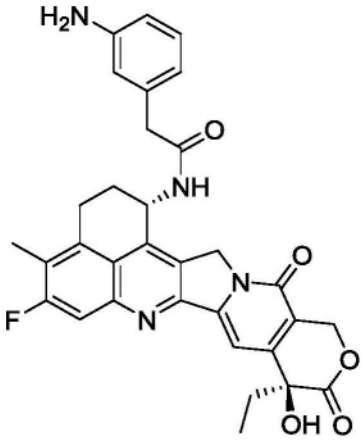
（U-006-1）

[1441] 在加入到10mL的圆筒型烧瓶中的依喜替康甲磺酸盐(23.1mg、0.043mmoL)、2-(3-硝基苯基)乙酸(15.7mg、0.087mmoL)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(16.7mg、0.087mmoL)、及1-羟基苯并三唑(13.3mg、0.087mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下加入三乙胺0.012mL(8.71mg、0.086mmoL),在室温下

搅拌1小时。反应结束后,在反应溶液中加入饱和碳酸氢钠水,用乙酸乙酯萃取该混合溶液。对有机层进行减压浓缩,由此得到U-006-1的粗制物(38.4mg)。

[1442] MS(ESI)m/z 599(M+H)$^+$

[1443] 6-2.U-006的合成

[1444] 

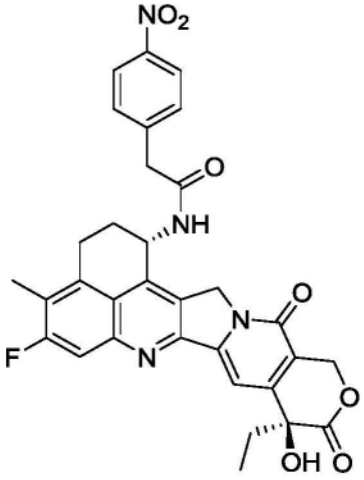
(U-006)

[1445] 将加入到30mL的茄型烧瓶中的U-006-1(38.4mg、0.044mmoL)及10%钯碳NX类型(21.3mg、0.200mmoL)的乙醇1mL/二氯甲烷1mL混合溶液在氢气氛下在室温下搅拌2小时。反应结束后,过滤催化剂,将溶剂减压浓缩。对得到的残渣进行山善中压制备(二氧化硅、M(16g)、二氯乙烷/甲醇=100/0(V/V)→94/6(V/V)),对含有目标物的组分进行减压浓缩。在残渣中加入乙醇,将析出的固体过滤,用乙醇进行清洗,由此得到为无色固体的U-006(16.6mg、6-1及6-2的总收率66.92%)。

[1446] MS(DUIS)m/z 569(M+H)$^+$

[1447] 制造例7.U-007的合成

[1448] 7-1.U-007-1的合成

[1449] 

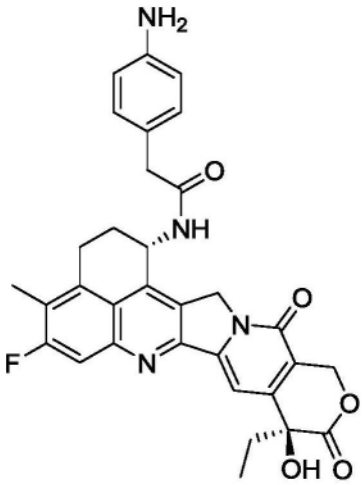
(U-007-1)

[1450] 在加入到10mL的圆筒型烧瓶中的依喜替康甲磺酸盐(32.5mg、0.061mmoL)、2-(4-硝基苯基)乙酸(22.1mg、0.122mmoL)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(23.4mg、0.122mmoL)、及1-羟基苯并三唑(16.7mg、0.109mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺0.61mL

溶液中,一边搅拌一边在室温下加入三乙胺0.017mL(12.34mg、0.122mmoL),在室温下搅拌1小时。反应结束后,在反应溶液中加入饱和碳酸氢钠水,用乙酸乙酯萃取该混合溶液。对有机层进行减压浓缩,由此得到U-007-1(26.8mg、收率73.23%)。

[1451] MS(ESI)m/z 598(M+H)$^+$

[1452] 7-2.U-007的合成

[1453] 

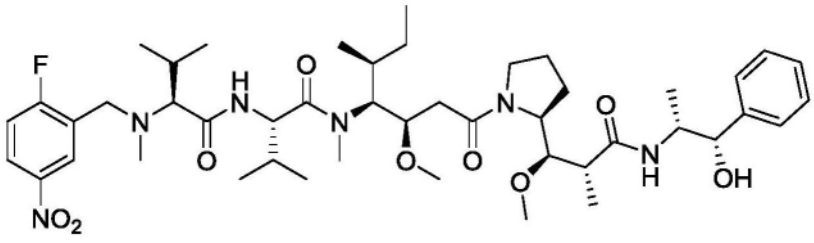
(U-007)

[1454] 将加入到30mL的茄型烧瓶中的U-007-1(26.8mg、0.045mmoL)及10%钯碳NX类型(20.3mg、0.0954mmoL)的乙醇1mL/二氯甲烷1mL混合溶液在氢气氛下在室温下搅拌2小时。反应结束后,过滤催化剂,将溶剂减压浓缩。在得到的残渣中加入乙醇,滤取析出的固体,用乙醇进行清洗,由此得到为浅茶色固体的U-007(24.2mg、收率95.06%)。

[1455] MS(DUIS)m/z 569(M+H)$^+$

[1456] 制造例8.U-008的合成

[1457] 8-1.U-008-1的合成

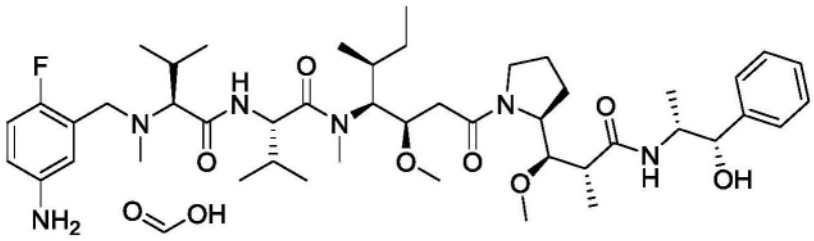
[1458] 

(U-008-1)

[1459] 在加入到30mL的圆筒型烧瓶中的MMAE(0.36g、0.501mmoL)及2-氟-5-硝基苯甲醛(0.25g、1.478mmoL)的二氯甲烷5mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下加入三乙酰氧基硼氢化钠(0.32g、1.510mmoL),在室温下搅拌1小时。追加2-氟-5-硝基苯甲醛(0.25g、1.478mmoL)及三乙酰氧基硼氢化钠(0.32g、1.510mmoL),在室温下搅拌1小时。反应结束后,在反应溶液中加入饱和碳酸氢钠水,用二氯甲烷萃取该混合溶液。将有机层用无水硫酸镁进行干燥,过滤,进行减压浓缩。对得到的残渣进行山善中压制备(二氧化硅、M(16g)、乙酸乙酯:甲醇=100/0(V/V)→90/10(V/V)),对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为淡黄色泡状物的U-008-1(406.6mg、收率93.09%)。

[1460] MS(DUIS)m/z 873(M+H)$^+$

[1461] 8-2.U-008的合成

[1462] 

（U-008）

[1463] 将加入到30mL的圆筒型烧瓶中的U-008-1(45.1mg、0.052mmoL)及锌(89.3mg、1.366mmoL)的乙酸0.2mL溶液在氩气氛下在室温下搅拌2小时。反应结束后,在反应溶液中加入饱和碳酸氢钠水,用乙酸乙酯萃取该混合溶液。将有机层用无水硫酸镁进行干燥,过滤,进行减压浓缩。对得到的残渣进行山善中压制备(二氧化硅、M(16g)、乙酸乙酯/甲醇＝100/0(V/V)→90/10(V/V)),对含有目标物的组分进行减压浓缩。在以下的条件下对得到的残渣进行制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行减压浓缩而馏去乙腈后,进行冷冻干燥,由此得到为无色泡状物的U-008的甲酸盐(13.3mg、收率28.96％)。

[1464] MS(DUIS)m/z 841(M+H)$^+$

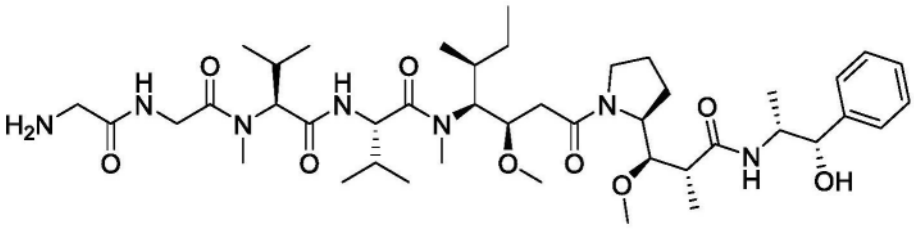
[1465] 柱:Waters SunFire Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[1466] 流速:17mL/min.

[1467] 洗脱溶剂:0.1％甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[1468] 梯度(B液):30％(0.00min.)→95％(10.00min

[1469] 制造例9.U-009的合成

[1470] 

（U-009）

[1471] 在加入到10mL的圆筒型烧瓶中的(叔丁氧基羰基)甘氨酰甘氨酸(8.4mg、0.036mmoL)、1-羟基苯并三唑(6.2mg、0.046mmoL)、及MMAE(22.3mg、0.031mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺0.1mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(8.8mg、0.046mmoL),在60℃下搅拌1小时。在以下的条件下对得到的反应液进行制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到无色油状物。

[1472] 柱:Waters SunFire Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[1473] 流速:17mL/min.

[1474] 洗脱溶剂:0.1％甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[1475] 梯度(B液):30％(0.00min.)→95％(10.00min.)

[1476] 将得到的化合物溶解于二氯甲烷1mL及三氟乙酸1mL中,在室温下搅拌1小时后,进

行减压浓缩。在以下的条件下对得到的反应液进行制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行减压浓缩。接着,进行DNH硅胶柱色谱分析,用二氯甲烷/甲醇=9/1(V/V)使其洗脱,对含有目标物的组分进行减压浓缩。接着,溶解于水/乙腈混合溶剂,进行冷冻干燥,由此得到为无色固体的制造例9(U-009)(2.2mg、收率8.51%)。

[1477] MS(ESI)m/z 833(M+H)$^+$

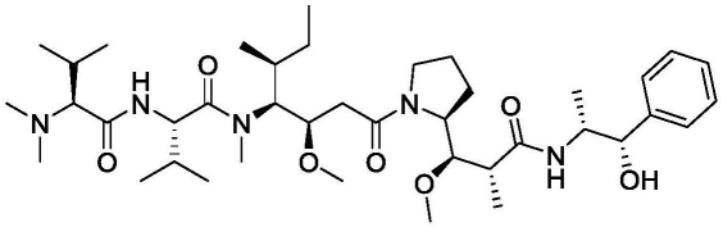
[1478] 柱:Waters SunFire Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[1479] 流速:17mL/min.

[1480] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[1481] 梯度(B液):30%(0.00min.)→95%(10.00min.)

[1482] 制造例10.U-010的合成

[1483] 

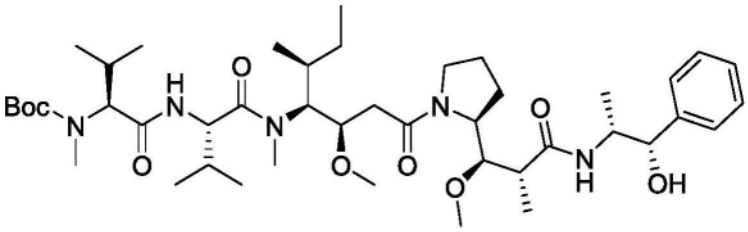
(U-010)

[1484] 在加入到30mL的圆筒型烧瓶中的MMAE(0.37g、0.515mmoL)及37%甲醛水溶液0.37mL(0.4g、4.97mmoL)的甲醇5mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下加入三乙酰氧基硼氢化钠(0.32g、1.510mmoL),在室温下搅拌1小时。反应结束后,在反应溶液中加入饱和碳酸氢钠水,用乙酸乙酯萃取该混合溶液。将有机层用无水硫酸镁进行干燥,过滤,进行减压浓缩。对得到的残渣进行山善中压制备(二氧化硅、M(16g)、二氯甲烷/甲醇=100/0(V/V)→90/10(V/V)),对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为无色泡状物的U-010(0.18g、收率47.72%)。

[1485] MS(DUIS)m/z 732(M+H)$^+$

[1486] 制造例11.U-011的合成

[1487] 11-1.U-011-1的合成

[1488] 

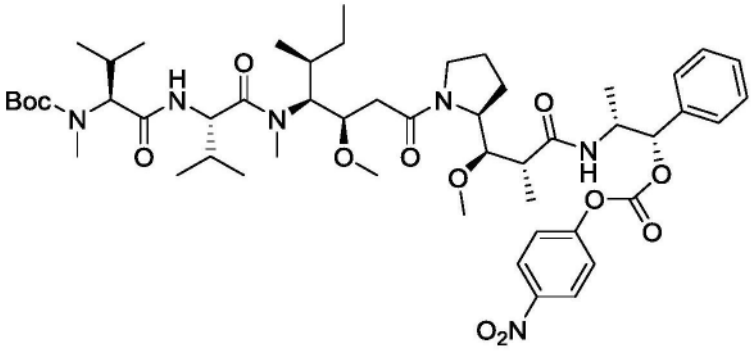
(U-011-1)

[1489] 在加入到30mL的圆筒型烧瓶中的MMAE(0.4996g、0.696mmoL)及碳酸钠(0.1503g、1.418mmoL)的四氢呋喃5mL溶液中加入水5mL,一边搅拌一边在室温下加入二碳酸二叔丁酯0.185mL(0.19g、0.848mmoL),在室温下搅拌18小时。其后,在50℃下搅拌1小时。加入二碳酸二叔丁酯0.015mL(0.02g、0.069mmoL),在50℃下搅拌1小时。进而,追加二碳酸二叔丁酯0.015mL(0.02g、0.069mmoL),在50℃下搅拌2小时。反应结束后,在反应液中加入乙酸乙酯

及饱和食盐水,在室温下搅拌一会儿。将有机层用无水硫酸镁进行干燥,过滤,进行减压浓缩,由此,得到为白色泡状物的U-011-1(570.5mg、收率定量)。

[1490] MS(ESI)m/z 818$(M+H)^+$

[1491] 11-2.U-011-2的合成

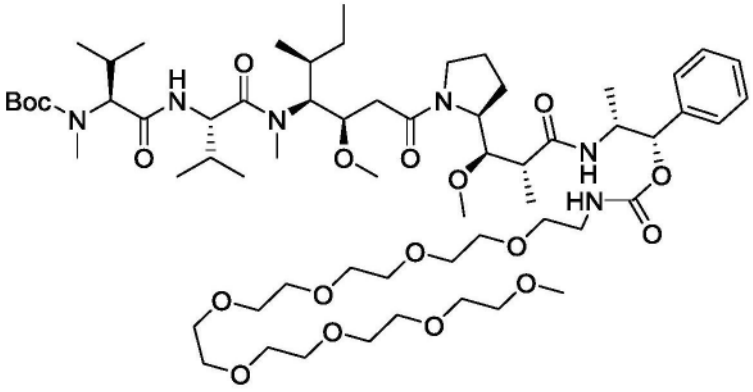
[1492] 

(U-011-2)

[1493] 在加入到0.2-0.5mL的微波反应用容器中的U-011-1(51.0mg、0.062mmoL)及双(4-硝基苯基)碳酸酯(38.8mg、0.128mmoL)的二氯甲烷1mL溶液中加入N,N-二异丙基乙基胺0.035mL(25.97mg、0.201mmoL),封入氮气,在室温下搅拌3小时。其后,供于微波反应装置(Biotage公司),在80℃下反应1小时。其后,追加双(4-硝基苯基)碳酸酯(100.0mg、0.329mmoL)及二氯甲烷0.5mL,在室温下搅拌66小时。对于反应液进行山善中压制备(通用优质硅胶、S(7g)(两个相连接),用已烷/乙酸乙酯=33/67(V/V)→12/88(V/V)洗脱,将含有目标物的组分进行减压浓缩,得到为微黄色泡状物的U-011-2(46.7mg、收率76.19%)。

[1494] MS(ESI)m/z 983$(M+H)^+$

[1495] 11-3.U-011-3的合成

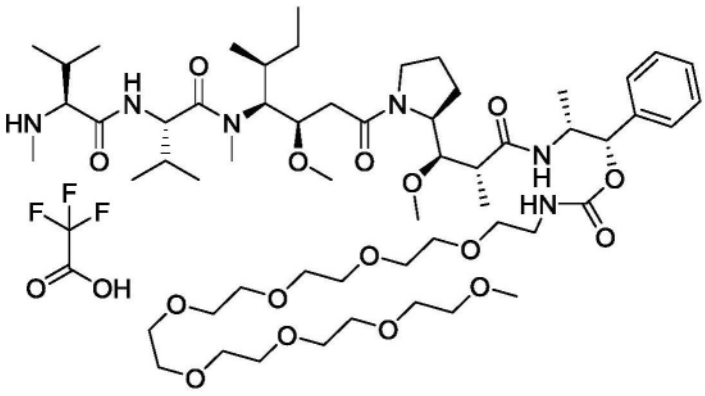
[1496] 

(U-011-3)

[1497] 在加入到20mL的茄型烧瓶中的U-011-2(46.7mg、0.047mmoL)及3,6,9,12,15,18,21,24-八氧二十五烷-1-胺(34.3mg、0.089mmoL)的二氯甲烷2mL溶液中加入N,N-二异丙基乙基胺0.030mL(22.26mg、0.172mmoL),在氩气氛下在室温下搅拌4小时,接着,在室温下放置16.75小时。将反应液用二氯甲烷稀释,填充至富士SILYSIA Chromatorex Q-Pack DIOL60Size20中,用已烷/乙酸乙酯=0→100洗脱,将含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为无色油状物的U-011-3(49.2mg、收率84.38%)。

[1498] MS(ESI)m/z 1227(M+H)$^+$

[1499] 11-4.U-011的合成

[1500] 

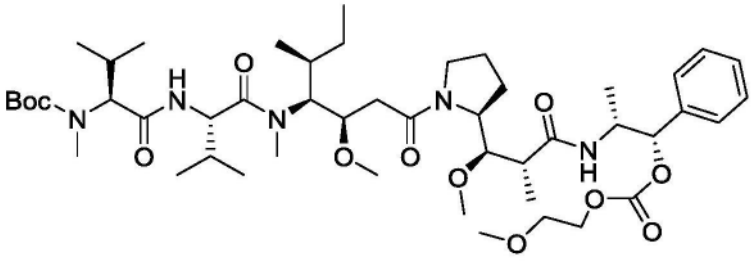
（U-011）

[1501] 在加入到30mL的茄型烧瓶中的U-011-3(47mg、0.038mmoL)的二氯甲烷2mL溶液中，在室温下加入三氟乙酸0.50mL(744.5mg、6.53mmoL)，在室温下搅拌0.67小时。其后，将反应液进行减压浓缩。在浓缩残渣中加入0.1％甲酸-乙腈/水＝1/9(V/V)，进行冷冻干燥，由此得到为白色固体的U-011的三氟乙酸盐(47.3mg、收率99.51％)。

[1502] MS(ESI)m/z 1127(M+H)$^+$

[1503] 制造例12.U-012的合成

[1504] 12-1.U-012-1的合成

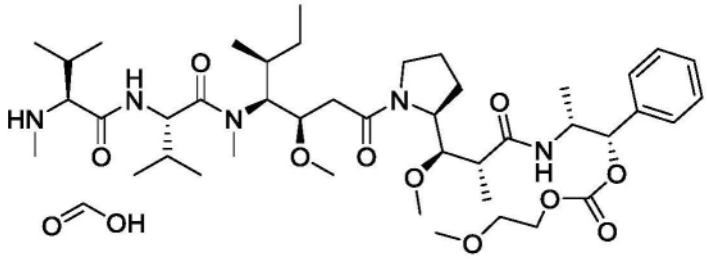
[1505] 

（U-012-1）

[1506] 在加入到0.2mL-0.5mL的微波反应用容器中的U-011-1(12.95mg、0.016mmoL)及4-二甲基氨基吡啶(1.46mg、0.012mmoL)的吡啶0.3mL溶液中，加入2,4,6-三甲基吡啶0.010mL(9.17mg、0.076mmoL)及2-氯甲酸2-甲氧基乙酯0.050mL(59.6mg、0.43mmoL)，封入氮气，供于微波反应装置(Biotage公司)，在100℃下反应3小时。用乙酸乙酯稀释反应液，用水1次、5％硫酸氢钾水溶液3次、饱和碳酸氢钠水1次、及饱和食盐水依次清洗1次，用无水硫酸镁进行干燥，过滤，将滤液进行减压浓缩。将浓缩残渣溶解于己烷/乙酸乙酯＝4/6(V/V)，填充至富士SILYSIA Chromatorex Q-Pack DIOL60 Size10，用己烷/乙酸乙酯＝39/61(V/V)→18/82(V/V)洗脱，将得到的含有目标物的组分进行减压浓缩，由此得到为无色油状物的U-012-1(9.4mg、收率64.53％)。

[1507] MS(ESI)m/z 920(M+H)$^+$

[1508] 12-2.U-012的合成

[1509] 

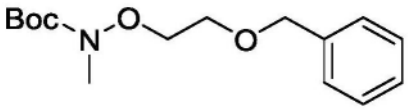
（U-012）

[1510] 在加入到20mL的茄型烧瓶中的U-012-1(9.4mg、0.01022mmoL)的二氯甲烷1mL溶液中,在室温下加入三氟乙酸0.050mL(74.45mg、0.653mmoL),在室温下搅拌1小时。其后,在室温下追加三氟乙酸0.450mL(670.05mg、5.88mmoL),在室温下搅拌0.5小时。其后,将反应液进行减压浓缩。对浓缩残渣进行HPLC分离(柱:Waters SunFire Prep C18 5μm ODB 19*150mm、0.1%甲酸-乙腈/水(V/V)=30/70→95/5),对含有目标物的组分进行减压浓缩。在浓缩残渣中加入0.1%甲酸水溶液,进行冷冻干燥,由此得到为白色固体的U-012的甲酸盐(3.8mg、收率42.95%)。

[1511] MS(ESI)m/z 820$(M+H)^+$

[1512] 制造例13.U-013的合成

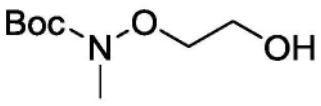
[1513] 13-1.U-013-1的合成

[1514] 

（U-013-1）

[1515] 在加入到200mL的茄型烧瓶中的羟基(甲基)氨基甲酸叔丁酯(7.40g、50.3mmoL)及碳酸钾(13.84g、100mmol)的乙腈50mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下加入((2-溴代乙氧基)甲基)苯(11.36g、52.8mmoL),在80℃下搅拌5小时。反应结束后,在室温放冷,进行减压浓缩。在残渣中加入饱和碳酸氢钠水,用二异丙基醚萃取2次。合并得到的有机层,用无水硫酸镁进行干燥,过滤,进行减压浓缩。对得到的残渣进行山善中压制备(二氧化硅、L(40g)、己烷/乙酸乙酯=95/5(V/V)→80/20(V/V)),对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为无色油状物的U-013-1(15.11g、收率定量)。

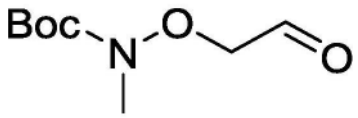
[1516] 13-2.U-013-2的合成

[1517] 

（U-013-2）

[1518] 将加入到200mL的茄型烧瓶中的U-013-1(2.8g、9.95mmoL)及10%钯碳(1.4g、0.658mmoL)的乙醇50mL溶液在氢气氛下、在室温下搅拌4小时。反应结束后,过滤催化剂,将反应溶液进行减压浓缩,由此得到为淡黄色油状物的U-013-2(1.90g、收率99.84%)。

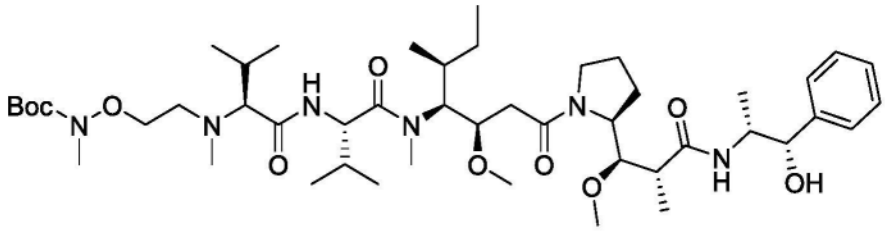
[1519] 13-3.U-013-3的合成

[1520] 

（U-013-3）

[1521] 在加入到30mL的圆筒型烧瓶中的U-013-2(0.19g、0.994mmoL)的二氯甲烷5mL溶液中,一边搅拌一边在室温下加入戴斯-马丁氧化剂(0.51g、1.202mmoL),在室温下搅拌1小时。反应结束后,在反应溶液中加入饱和碳酸氢钠水,进而加入硫代硫酸钠水溶液,在室温下搅拌20分钟后,用二氯甲烷萃取该混合溶液。将有机层用无水硫酸镁进行干燥,过滤,进行减压浓缩,由此,得到为微黄色油状物的U-013-3(162.7mg、收率86.54%)。

[1522] 13-4.U-013-4的合成

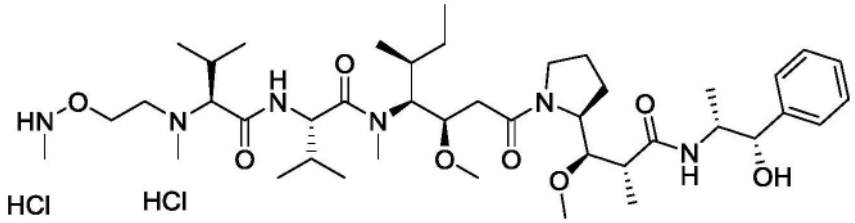
[1523] 

（U-013-4）

[1524] 在加入到30mL的圆筒型烧瓶中的MMAE(0.30g、0.418mmoL)及U-013-3(0.16g、0.846mmoL)的二氯甲烷5mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下加入三乙酰氧基硼氢化钠(0.18g、0.849mmoL),在室温下搅拌2小时。反应结束后,在反应溶液中加入饱和碳酸氢钠水,用二氯甲烷萃取该混合溶液。将有机层用无水硫酸镁进行干燥,过滤,进行减压浓缩,由此,得到为黄色固体的U-013-4的粗制物。对得到的粗制物进行山善中压制备(二氧化硅、M(16g)、乙酸乙酯/甲醇＝100/0(V/V)→95/5(V/V)),对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为无色泡状物的U-013-4(206.5mg、收率55.46%)。

[1525] MS(DUIS)m/z 893$(M+H)^+$

[1526] 13-5.U-013的合成

[1527] 

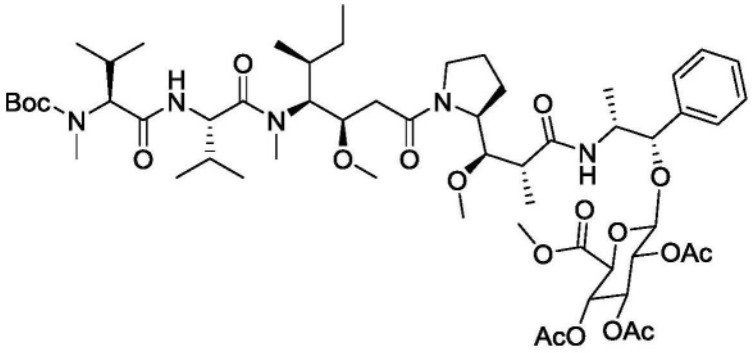
（U-013的盐酸盐）

[1528] 在加入到30mL的圆筒型烧瓶中的U-013-4(45.3mg、0.051mmoL)的二氯甲烷0.2mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下加入4M氯化氢的1,4-二噁烷溶液1mL(4mmoL),在室温下搅拌2小时。反应结束后,将反应液进行减压浓缩后,溶解于水和乙腈混合溶剂中,进行冷冻干燥,由此得到为微黄色泡状物的U-013的盐酸盐(44.3mg、收率定量)。

[1529] MS(DUIS)m/z 791$(M+H)^+$

[1530] 制造例14.U-014的合成

[1531] 14-1.U-014-1的合成

[1532] 

（U-014-1）

[1533] 在加入到10mL的圆筒型烧瓶中的U-011-1(102.1mg、0.125mmol)及(2R,3R,4S,5R,6S)-2-溴-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(463.2mg、1.17mmoL)的二氯甲烷1.8mL溶液中,在室温下加入2,4,6-三甲基吡啶0.255mL(233.8mg、1.93mmoL)。在氩气氛下添加三氟甲磺酸银(387.2mg、1.93mmoL)后,在室温下搅拌1小时。反应结束后,用乙酸乙酯稀释反应液,用Celite 545过滤,用乙酸乙酯清洗。将滤液及洗液用5％硫酸氢钾水溶液、饱和碳酸氢钠水、及饱和食盐水依次清洗,用无水硫酸镁进行干燥,过滤,将滤液进行减压浓缩,得到浓缩残渣。在下述所示的条件下纯化,由此得到为白色泡状物的U-014-1(128mg、收率90.4％)。

[1534] MS(DUIS)m/z 1134$(M+H)^+$

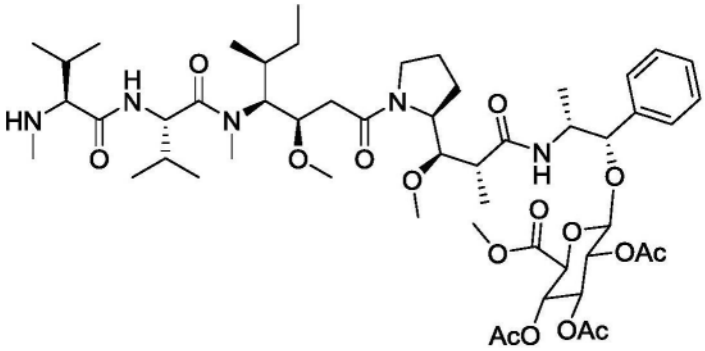
[1535] 再循环分离装置(YMC公司):LC Forte/R

[1536] 柱（YMC公司）：将T-30000（21.2mmφx600mm、50nm）和T-4000（21.2mmφx600mm、10nm)和T-2000(21.2mmφx600mm、5nm)三者连接来使用。

[1537] 洗脱液:乙酸乙酯

[1538] 温度:室温

[1539] 14-2.U-014的合成

[1540] 

（U-014）

[1541] 在加入到100mL的茄型烧瓶中的U-014-1(166mg、0.146mmoL)及2,6-二甲基吡啶0.090mL(83.27mg、0.777mmoL)的二氯甲烷5mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在冰冷下加入三氟甲磺酸三甲基甲硅烷基酯0.135mL(166.05mg、0.747mmoL),在冰冷下搅拌1小时。

反应结束后,在冰冷下在反应液中加入饱和碳酸氢钠水,进行分液。用二氯甲烷萃取水层,合并有机层,用无水硫酸钠干燥,得到浓缩残渣。在下述所示的条件下进行纯化,将含有目标物的组分进行减压浓缩,得到无色油状物。在其中加入乙腈2mL及蒸馏水5mL后,进行冷冻干燥,由此得到为白色粉末的U-014(43.3mg、收率28.61%)。

[1542] MS(DUIS)m/z 1034$(M+H)^{+}$

[1543] 再循环分离装置(YMC公司):LC Forte/R

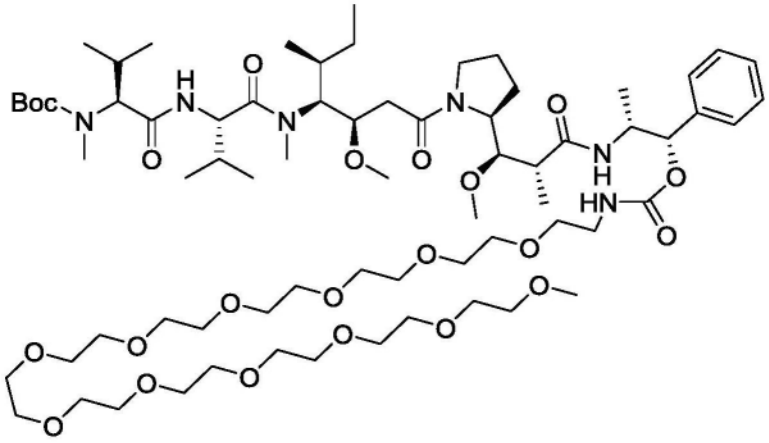
[1544] 柱(YMC公司):将T-30000(21.2mmφx600mm、50nm)和T-4000(21.2mmφx600mm、10nm)和T-2000(21.2mmφx600mm、5nm)三者连接来使用。

[1545] 洗脱液:乙酸乙酯

[1546] 温度:室温

[1547] 制造例15.U-015的合成

[1548] 15-1.U-015-1的合成

[1549] 

(U-015-1)

[1550] 在加入到30mL的圆筒型烧瓶中的U-011-2(101.3mg、0.103mmoL)及2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-胺(98.1mg、0.175mmoL)的二氯甲烷3mL溶液中,加入N,N-二异丙基乙基胺0.060mL(44.52mg、0.344mmoL),在氩气氛下在室温下搅拌7小时。反应结束后,进行减压浓缩。在下述所示的条件下进行分离纯化,将得到的乙酸乙酯溶液150mL依次用水50mL清洗2次、用饱和食盐水50mL清洗1次,用无水硫酸镁进行干燥,过滤,将滤液进行减压浓缩,由此得到为无色油状物的U-015-1(91.8mg、收率63.47%)。

[1551] MS(DUIS)m/z 702$(M+2H)^{2+}$

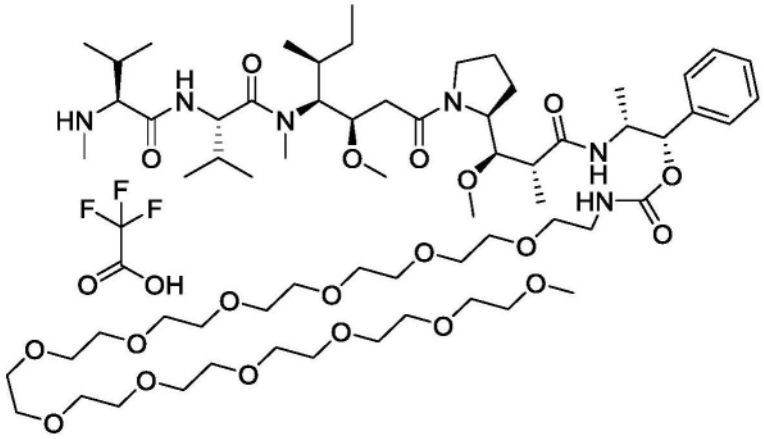
[1552] 再循环分离装置(YMC公司):LC Forte/R

[1553] 柱(YMC公司):将T-30000(21.2mmφx600mm、50nm)和T-4000(21.2mmφx600mm、10nm)和T-2000(21.2mmφx600mm、5nm)三者连接而使用。

[1554] 洗脱液:乙酸乙酯

[1555] 温度:室温

[1556] 15-2.U-015的合成

[1557] 

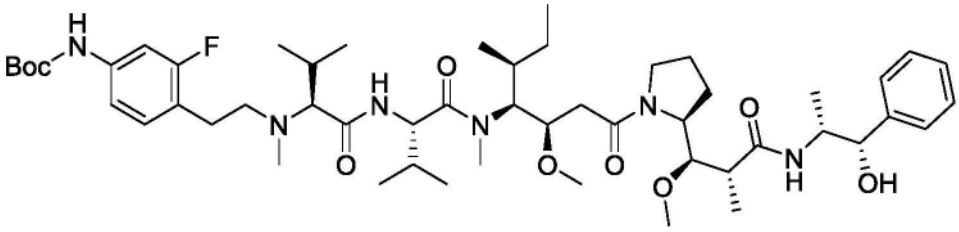
（U-015）

[1558] 在加入到50mL的茄型烧瓶中的U-015-1(88.2mg、0.063mmoL)的二氯甲烷5mL溶液中,在冰冷下加入三氟乙酸0.48mL(714.72mg、6.27mmoL),在冰冷下搅拌1.25小时。其后在室温下搅拌1.5小时。反应结束后,将反应液进行减压浓缩。在浓缩残渣中加入0.1%甲酸的乙腈溶液/水=1/9(V/V)5mL溶液及0.1%甲酸的乙腈溶液/水=5/5(V/V)5mL溶液,进行冷冻干燥,由此得到为无色油状物的U-015的三氟乙酸盐(96.1mg、收率定量)。

[1559] MS(ESI)m/z 1304$(M+H)^+$

[1560] 制造例16.U-016的合成

[1561] 16-1.U-016-1的合成

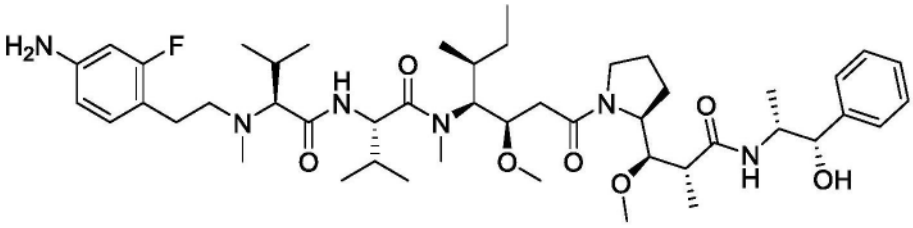
[1562] 

（U-016-1）

[1563] 在加入到50mL的茄型烧瓶中的(3-氟-4-(2-氧代乙基)苯基)氨基甲酸叔丁酯(57.0mg、0.225mmoL)及MMAE(106.3mg、0.148mmoL)的二氯甲烷2.5mL溶液中,加入乙酸0.015mL(15.83mg、0.264mmoL)后,一边在冰冷下在氩气氛下搅拌一边在室温下加入三乙酰氧基硼氢化钠(65.0mg、0.307mmoL),在室温下搅拌1.5小时。反应结束后,用乙酸乙酯5mL稀释反应液,加入饱和碳酸氢钠水3mL,在室温下搅拌一会儿后,进行分液。用饱和食盐水清洗有机层,用无水硫酸镁进行干燥,过滤,将滤液进行减压浓缩。将浓缩残渣溶解于己烷/乙酸乙酯=50/50(V/V),供于富士SILYSIA Chromatorex Q-Pack DIOL60 Size10,用己烷/乙酸乙酯=50/50(V/V)→19/81(V/V)使其洗脱,将含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为白色泡状物的U-016-1(140.2mg、收率99.13%)。

[1564] MS(ESI)m/z 955$(M+H)^+$

[1565] 16-2.U-016的合成

[1566] 

（U-016）

[1567] 在加入到50mL的茄型烧瓶中的U-016-1(136mg、0.142mmoL)的二氯甲烷3.6mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在冰冷下加入三氟乙酸0.545mL(811.51mg、7.12mmoL),在冰冷下搅拌0.5小时。其后,在室温下搅拌1小时。反应结束后,进行减压浓缩,加入二氯甲烷5mL、及饱和碳酸氢钠水5mL,进行分液,用无水硫酸钠干燥有机层,过滤,将滤液进行减压浓缩,得到浓缩残渣。在下述条件下进行分离纯化,将得到的组分进行减压浓缩,由此得到为白色泡状物的U-016(93.9mg、收率77.13%)。

[1568] MS(ESI)m/z 855(M+H)$^+$

[1569] 再循环分离装置(YMC公司):LC Forte/R

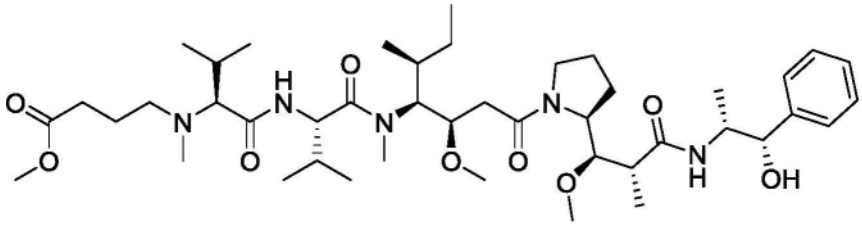
[1570] 柱（YMC公司）：将T-30000（21.2mmφx600mm、50nm）和T-4000（21.2mmφx600mm、10nm)和T-2000(21.2mmφx600mm、5nm)三者连接而使用。

[1571] 洗脱液:乙腈

[1572] 温度:室温

[1573] 制造例17.U-017的合成

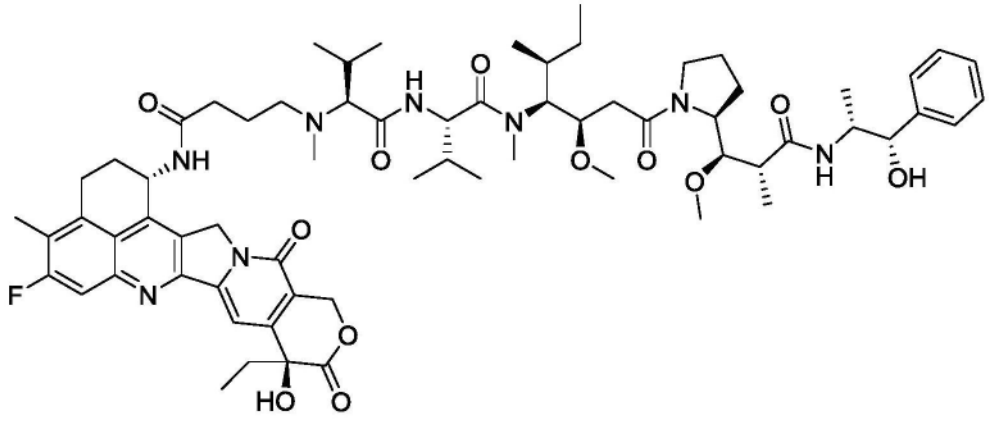
[1574] 17-1.U-017-1的合成

[1575] 

（U-017-1）

[1576] 在加入到30mL的圆筒型烧瓶中的MMAE(71.8mg、0.100mmoL)及4-氧代丁酸甲酯(34.8mg、0.300mmoL)的二氯甲烷1mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下加入三乙酰氧基硼氢化钠(63.6mg、0.300mmoL),在室温下搅拌1小时。反应结束后,在反应溶液中加入饱和碳酸氢钠水,用乙酸乙酯萃取该混合溶液。将有机层用无水硫酸镁进行干燥,过滤,进行减压浓缩,由此,得到为黄色固体的U-017-1的粗制物。对得到的固体进行山善中压制备(二氧化硅、M(16g)、二氯乙烷/甲醇＝100/0(V/V)→90/10(V/V)),对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为无色泡状物的U-017-1(20.2mg、收率24.69%)。

[1577] 17-2.U-017的合成

[1578] 

（U-017）

[1579] 在加入到10mL的圆筒型烧瓶中的U-017-1(20.2mg、0.025mmoL)的乙醇0.4mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下加入2当量的氢氧化钠水溶液0.050mL(4mg、0.100mmoL),在室温下搅拌2小时。加入2当量的盐酸0.2mL进行中和后,将溶剂减压馏去。在得到的残渣中加入N,N-二甲基甲酰胺0.4mL,进而加入1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(7.5mg、0.039mmoL)、1-羟基苯并三唑(6.5mg、0.042mmoL)、依喜替康甲磺酸盐(13.1mg、0.025mmoL)、及三乙胺0.01mL(7.26mg、0.072mmoL),在室温下搅拌14小时。反应结束后,在反应溶液中加入水,加入乙酸乙酯进行分液后,过滤不溶物,对有机层进行山善中压制备(二氧化硅、S(7g)、二氯乙烷/甲醇＝90/10(V/V)→80/20(V/V)),将含有目标物(Rf值＝0.4(二氯乙烷/甲醇＝90/10(V/V)))的组分进行减压浓缩。在以下的条件下对得到的残渣进行制备型HPLC色谱,用饱和碳酸氢钠水中和含有目标物的组分后,进行减压浓缩,在残渣中加入水后,用乙酸乙酯萃取2次。将有机层用无水硫酸镁进行干燥,将溶剂减压馏去后,溶解于水/乙腈,进行冷冻干燥,由此得到为无色固体的U-017(3.8mg、收率12.6%)。

[1580] MS(DUIS)m/z 1222$(M+H)^+$

[1581] 柱:Waters SunFire Prep C18 5μm ODB 19*150mm

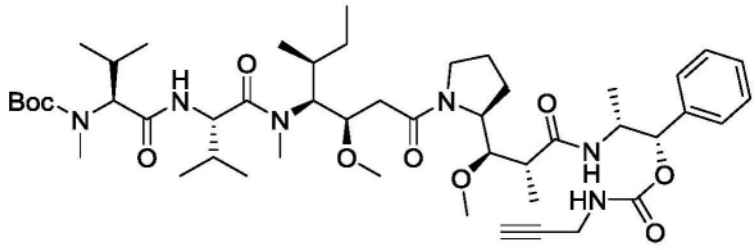
[1582] 流速:17mL/min.

[1583] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[1584] 梯度(B液):30%(0.00min.)→50%(10.00min.)

[1585] 制造例18.U-018的合成

[1586] 18-1.U-018-1的合成

[1587] 

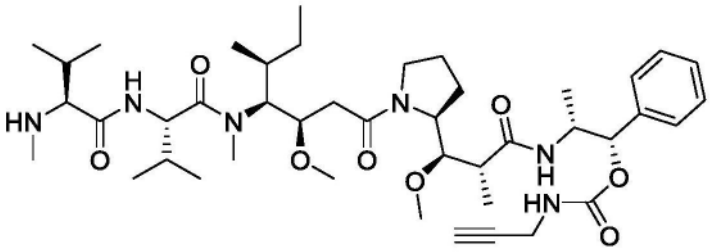
（U-018-1）

[1588] 在加入到20mL的圆筒型烧瓶中的U-011-2(61.5mg、0.063mmoL)的二氯甲烷0.4mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入丙-2-炔-1-胺0.008mL(6.88mg、

0.125mmoL),在室温下搅拌3小时。对得到的残渣进行山善中压制备(Rf值=0.25(己烷/乙酸乙酯=20/80(V/V))(二氧化硅、M(16g))),对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为白色固体的U-018-1(57.6mg、收率定量)。

[1589] MS(ESI)m/z 900(M+H)$^+$

[1590] 18-2.U-018-2的合成

[1591] 

(U-018-2)

[1592] 在加入到20mL的圆筒型烧瓶中的U-018-1(67.6mg、0.075mmoL)的二氯甲烷0.2mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入三氟乙酸0.064mL(95.36mg、0.836mmoL),在室温下搅拌3小时。反应结束后,进行减压浓缩,在以下的条件下对得到的残渣进行制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为白色固体的U-018-2(17.2mg、收率28.63%)。

[1593] MS(ESI)m/z 799(M+H)$^+$

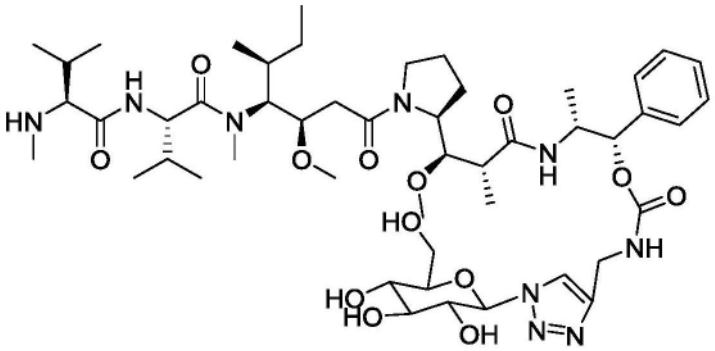
[1594] 柱:Waters SunFire Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[1595] 流速:17mL/min.

[1596] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)→0.1%甲酸乙腈溶液(B液)

[1597] 梯度(B液):20%(0.00min.)→95%(10.00min.)

[1598] 18-3.U-018的合成

[1599] 

(U-018)

[1600] 在加入到20mL的圆筒型烧瓶中的U-018-2(8.8mg、0.011mmoL)的水0.1mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入(2R,3R,4S,5S,6R)-2-叠氮-6-(羟基甲基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三醇(3.8mg、3.09μmoL)、硫酸铜(II)五水合物(3.5mg、0.022mmoL)、及抗坏血酸钠(7.1mg、0.033mmoL),在室温下搅拌5分钟。在以下的条件下对得到的残渣进行制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行冷冻干燥,由此得到为白色固体的U-018(3.1mg、收率28.03%)。

[1601] MS(DUIS)m/z 1046(M+HCOO)⁻

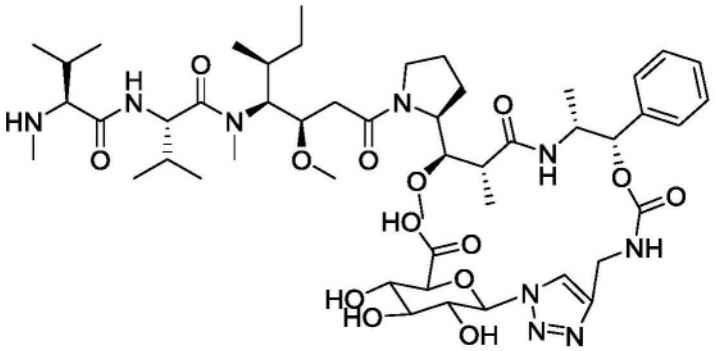
[1602] 柱:Waters SunFire Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[1603] 流速:17mL/min.

[1604] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-0.1%甲酸乙腈溶液(B液)

[1605] 梯度(B液):20%(0.00min.)→61%(6.00min.)

[1606] 制造例19.U-019的合成

[1607] 

(U-019)

[1608] 在加入到10mL的圆筒型烧瓶中的制造例18-1(U-018-1)(8.2mg、10.26μmoL)的水0.2mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入(2R,3R,4S,5S,6R)-6-叠氮-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸(2.8mg、0.013mmoL)、硫酸铜(II)五水合物(2.0mg、0.013mmoL)、及抗坏血酸钠(3.5mg、0.016mmoL),在室温下搅拌5分钟。在以下的条件下对得到的残渣进行制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行冷冻干燥,由此得到为白色固体的U-019(5.4mg、收率51.68%)。

[1609] MS(ESI)m/z 1016(M-H)⁻

[1610] 柱:Waters SunFire Prep C18 5μm ODB 19*150mm

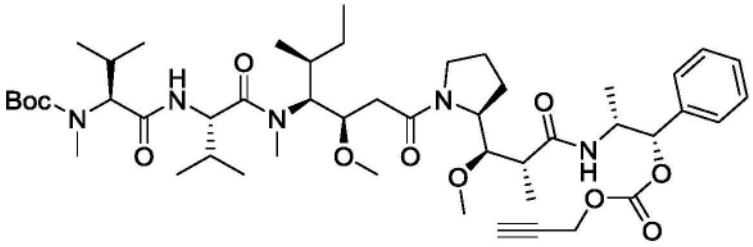
[1611] 流速:17mL/min.

[1612] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-0.1%甲酸乙腈溶液(B液)

[1613] 梯度(B液):20%(0.00min.)→61%(7.00min.)

[1614] 制造例20.U-020的合成

[1615] 20-1.U-020-1的合成

[1616] 

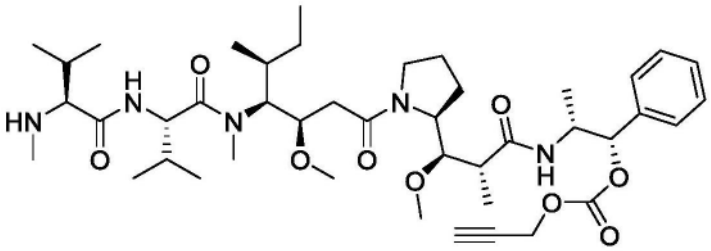
(U-020-1)

[1617] 在加入到20mL的圆筒型烧瓶中的U-011-2(50.0mg、0.051mmoL)的二氯甲烷0.2mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入丙-2-炔-1-醇0.00587mL(5.71mg、0.102mmoL),在室温下搅拌45分钟。接着,在搅拌下在室温下加入4-二甲基氨基吡啶

(0.8mg、6.55μmoL),在室温下搅拌2.5小时。接着,追加丙-2-炔-1-醇0.00587mL(5.71mg、0.102mmoL),搅拌14小时。对得到的残渣进行山善中压制备(Rf值＝0.3(己烷/乙酸乙酯＝20/80(V/V)(二氧化硅、M(16g))),对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为白色固体的U-020-1(37.8mg、收率82.57％)。

[1618] MS(ESI)m/z 900(M+H)$^+$

[1619] 20-2.U-020-2的合成

[1620] 

(U-020-2)

[1621] 在加入到20mL的圆筒型烧瓶中的U-020-1(36.8mg、0.041mmoL)的二氯甲烷0.2mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入三氟乙酸0.069mL(102.81mg、0.902mmoL),在室温下搅拌2.5小时。反应结束后,进行减压浓缩,在以下的条件下对得到的残渣进行制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行减压浓缩而馏去乙腈后,进行冷冻干燥,由此得到为白色固体的U-020-2(18.2mg、收率55.65％)。

[1622] MS(ESI)m/z 800(M+H)$^+$

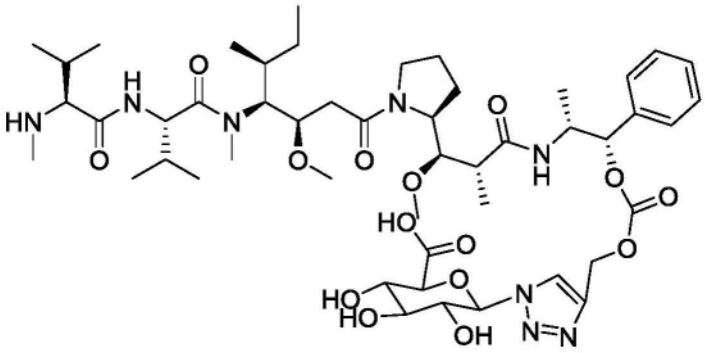
[1623] 柱:Waters SunFire Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[1624] 流速:17mL/min.

[1625] 洗脱溶剂:0.1％甲酸水溶液(A液)-0.1％甲酸乙腈溶液(B液)

[1626] 梯度(B液):20％(0.00min.)→75％(6.50min.)

[1627] 20-3.U-020的合成

[1628] 

(U-020)

[1629] 在加入到20mL的圆筒型烧瓶中的U-020-2(5.8mg、7.25μmol)的水0.3mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入(2R,3R,4S,5S,6R)-6-叠氮-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸(2.3mg、10.49μmoL)、硫酸铜(II)五水合物(0.6mg、2.403μmoL)、及抗坏血酸钠(0.8mg、3.77μmoL),在室温下搅拌一整夜。在以下的条件下对得到的残渣进行制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行冷冻干燥,由此得到为白色固体的U-020(6.3mg、收率

85.26%)。

[1630] MS(ESI)m/z 1020(M+H)$^+$

[1631] 柱:Waters SunFire Prep C18 5μm ODB 19*150mm

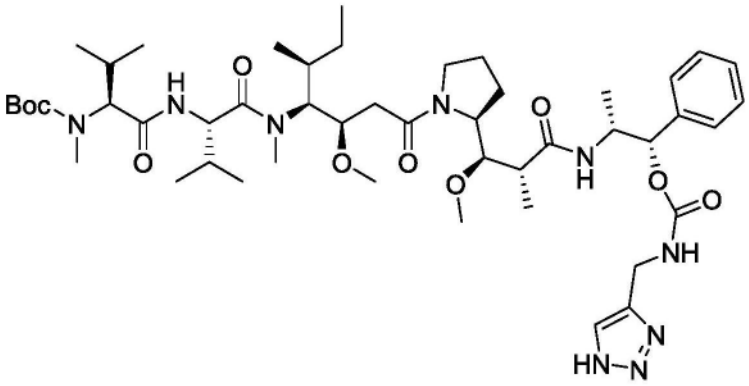
[1632] 流速:17mL/min.

[1633] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-0.1%甲酸乙腈溶液(B液)

[1634] 梯度(B液):20%(0.00min.)→61%(6.00min.)

[1635] 制造例21.U-021的合成

[1636] 21-1.U-021-1的合成

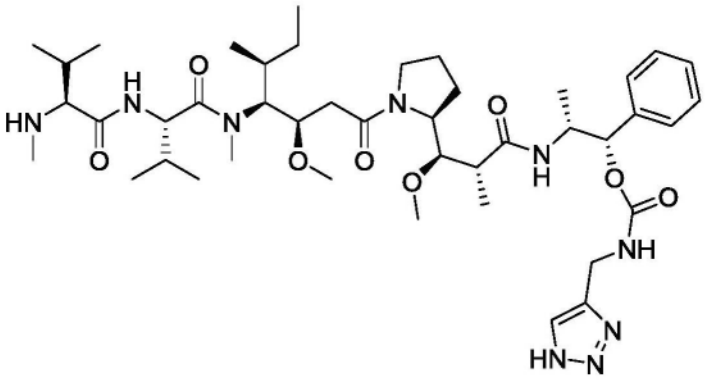
[1637] 

(U-021-1)

[1638] 在加入到20mL的圆筒型烧瓶中的U-011-2(25mg、0.025mmoL)的二氯甲烷2mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入(1H-1,2,3-三唑-4-基)甲胺盐酸盐(7.0mg、0.052mmoL)及三乙胺0.00354mL(2.57mg、0.025mmoL),在室温下搅拌1小时。其后,添加N,N-二甲基甲酰胺1mL,搅拌1小时。反应结束后,在反应溶液中加入水,用乙酸乙酯萃取该混合溶液。用饱和食盐水清洗有机层,用无水硫酸钠干燥,过滤,进行减压浓缩,由此,得到U-021-1的粗制物。不进行进一步的纯化而进入下一工序。

[1639] MS(ESI)m/z 942(M+H)$^+$

[1640] 21-2.U-021的合成

[1641] 

(U-021)

[1642] 在加入到20mL的圆筒型烧瓶中的U-021-1的粗制物(284mg(含量8.5%))的二氯甲烷0.5mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入三氟乙酸0.10mL(149mg、1.307mmoL),在室温下搅拌1.5小时。反应结束后,进行减压浓缩。在以下的条件下对得到的

残渣进行制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行减压浓缩而馏去乙腈后,进行冷冻干燥,由此得到为白色固体的U-021的三氟乙酸盐(8.8mg)。

[1643] 柱:Waters SunFire Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[1644] 流速:17mL/min.

[1645] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-0.1%甲酸乙腈溶液(B液)

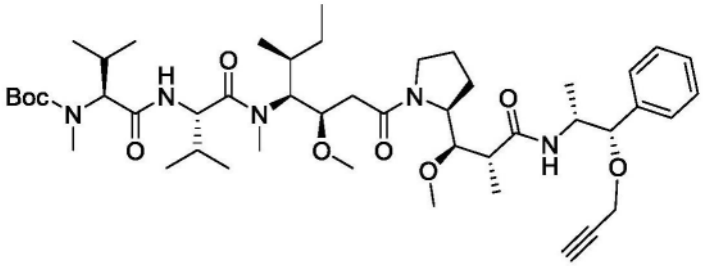
[1646] 梯度(B液):5%(0.00min.)→95%(10.50min.)

[1647] 将得到的固体溶解于二氯甲烷中,用碳酸氢钠水溶液及饱和食盐水进行清洗,用无水硫酸钠进行干燥。将得到的残渣进行减压浓缩,由此得到为白色固体的U-021(7.0mg、21-1、21-2的总收率32.63%)。

[1648] MS(ESI)m/z 840$(M-H)^-$

[1649] 制造例22.U-022的合成

[1650] 22-1.U-022-1的合成

[1651] 

(U-022-1)

[1652] 在加入到50mL的茄型烧瓶中的U-011-1(400mg、0.489mmoL)的甲苯6mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入3-溴代丙-1-炔0.11mL(173.8mg、1.461mmoL)、溴化四丁基铵(33.2mg、0.103mmoL)、及8当量的氢氧化钠0.061mL(19.52mg、0.488mmoL),在室温下搅拌6小时。反应结束后,在反应溶液中加入饱和氯化铵水溶液,用二氯甲烷萃取该混合溶液。在以下的条件下对得到的残渣进行制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到白色固体的U-022-1(142.1mg、收率33.95%)。

[1653] MS(ESI)m/z 857$(M+H)^+$

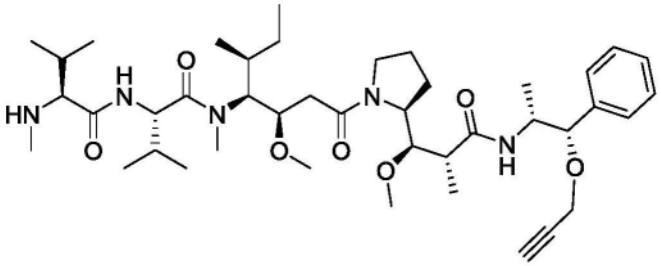
[1654] 柱:Waters SunFire Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[1655] 流速:17mL/min.

[1656] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[1657] 梯度(B液):50%(0.00min.)→100%(10.00min.)

[1658] 22-2.U-022-2的合成

[1659] 

(U-022-2)

[1660] 在加入到20mL的圆筒型烧瓶中的U-022-1(142.1mg、0.166mmoL)的二氯甲烷0.4mL

溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入三氟乙酸0.254mL(378mg、3.32mmoL),在室温下搅拌20小时。反应结束后,用三乙胺中和,进行减压浓缩。在以下的条件下对得到的残渣进行制备型HPLC色谱,将含有目标物的组分进行减压浓缩,馏去乙腈后,进行冷冻干燥,由此得到为白色固体的U-022-2(69.6mg、收率55.47%)。

[1661] MS(DUIS)m/z 757(M+H)$^+$

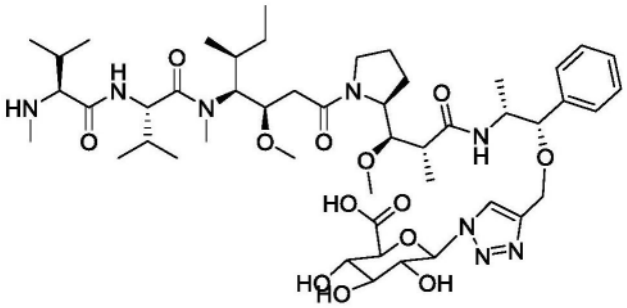
[1662] 柱:Waters SunFire Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[1663] 流速:17mL/min.

[1664] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[1665] 梯度(B液):0%(0.00min.)→50%(10.00min.)

[1666] 22-3.U-022的合成

[1667] 

(U-022)

[1668] 在加入到30mL的圆筒型烧瓶中的U-022-2(30mg、0.040mmoL)的水1mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入(2S,3S,4S,5R,6R)-6-叠氮-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸(11.2mg、0.051mmoL)、硫酸铜5水合物(3.1mg、0.012mmoL)、及抗坏血酸钠(12.7mg、0.060mmoL),在室温下搅拌15小时。将得到的残渣供于以下的条件,对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为黄色固体的U-022的粗制物。

[1669] 柱:Waters XSelect HSS C18 SB OBD 5μm ODB 19*150mm

[1670] 流速:17mL/min.

[1671] 洗脱溶剂:

[1672] 0.1%甲酸水溶液/加入了0.1%甲酸的乙腈=90/10(A液)-

[1673] 0.1%甲酸水溶液/加入了0.1%甲酸的乙腈=10/90(B液)

[1674] 梯度(B液):0%(0.00min.)→0%(5.00min.)→50%(5.10min.)→50%(20.00min.)

[1675] 将得到的U-022的粗制物在以下所示的条件下纯化,将得到的残渣冷冻干燥,得到为白色固体的U-022(18.8mg、收率37.72%)。

[1676] MS(ESI)m/z 976(M+H)$^+$

[1677] 柱:Asahipak GS-510-20G,GS-310-20G,GS-310-20G(三者连接)shodex公司)20*500mm、13μm

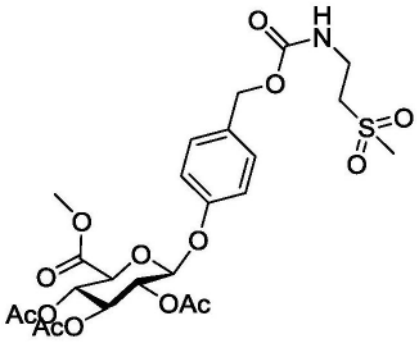
[1678] 流速:7.5mL/min.

[1679] 洗脱溶剂:0.1%甲酸/0.1%甲酸的乙腈=90/10

[1680] 检测波长:254nm

[1681] 制造例23.U-023的合成

[1682] 23-1.U-023-1的合成

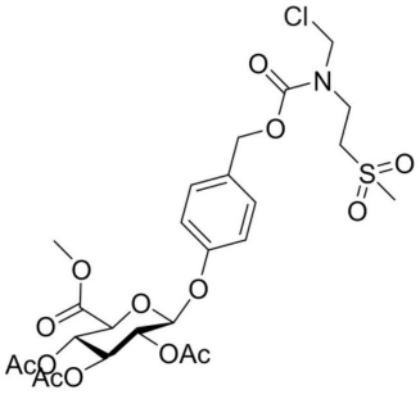
[1683] 

（U-023-1）

[1684] 在加入到50mL的茄型烧瓶中的(2S,3S,4S,5R,6S)-2-(甲氧基羰基)-6-(4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-甲苯基三乙酸酯(0.7982g、1.318mmoL)的二氯甲烷8mL溶液中,边在氩气氛下搅拌边在室温下依次加入N,N-二异丙基乙基胺1.20mL(0.86g、6.89mmoL)及2-(甲基磺酰基)乙烷-1-胺盐酸盐(0.2105g、1.319mmoL),在室温下搅拌72小时。反应结束后,将反应液进行减压浓缩,用乙酸乙酯30mL稀释残渣,用饱和碳酸氢钠水10mL清洗5次,接着用饱和食盐水20mL清洗,用无水硫酸镁进行干燥,过滤,将滤液进行减压浓缩。对得到的残渣进行山善中压制备(二氧化硅、L(40g)、己烷/乙酸乙酯＝10/90(V/V)、(Rf＝0.51(己烷/乙酸乙酯＝10/90(V/V))),对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为白色泡状物的U-023-1(677.8mg、收率87.21％)。

[1685] MS(ESI)m/z 635$(M+HCOOH)^+$

[1686] 23-2.U-023-2的合成

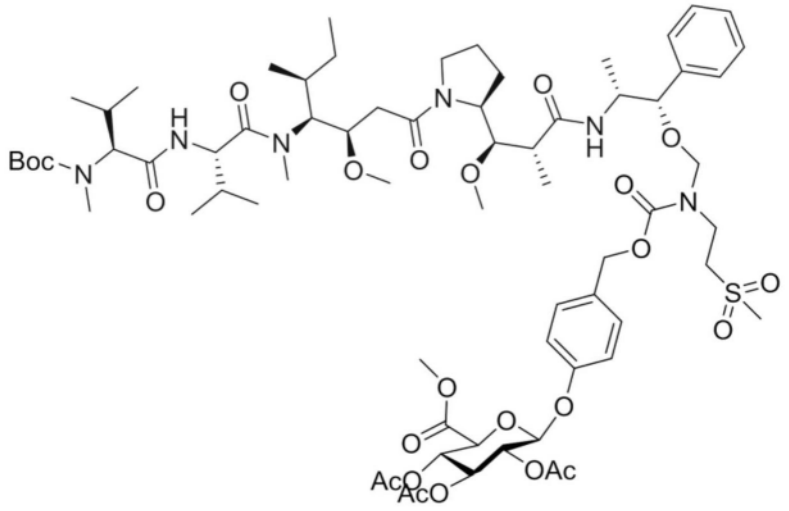
[1687] 

（U-023-2）

[1688] 在加入到20mL的圆筒型烧瓶中的U-023-1(100.3mg、0.170mmoL)的二氯甲烷1.5mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下依次加入多聚甲醛(9.30mg、0.310mmoL)及三甲基氯硅烷33μL(28.25mg、0.260mmoL),在室温下搅拌5小时。过滤反应液,用二氯甲烷清洗,在室温下将得到的滤液进行减压浓缩,由此得到为白色泡状物的U-023-2(107.1mg、收率98.67％)。

[1689] MS(ESI)m/z 651$(M+H2O)^+$

[1690] 23-3.U-023-3的合成

[1691] 

（U-023-3）

[1692] 在加入到20mL的圆筒型烧瓶中的U-011-1(100.8mg、0.123mmoL)的二氯甲烷0.5mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下依次加入N,N-二异丙基乙基胺150μL(111.3mg、0.861mmoL)及U-023-2(108.55mg、0.170mmoL)的二氯甲烷1mL溶液,在室温下搅拌22.5小时。其后,在室温下加入2,4,6-三甲基吡啶110μL(101.2mg、0.835mmoL),接着加入U-023-2(171.3mg、0.268mmoL)的二氯甲烷2mL溶液,在室温下搅拌21小时后,对反应液吹送氮气而将溶剂馏去。加入二氯甲烷0.75mL后,加入N,N-二异丙基乙基胺250μL(185.5mg、1.435mmoL),在室温下搅拌2小时。其后,进行冰冷,滴加U-023-2(446.7mg、0.700mmoL)的二氯甲烷3mL溶液,滴加结束后,恢复至室温,搅拌18小时。将反应液浓缩,用乙酸乙酯稀释,用5重量%硫酸氢钾水溶液、饱和碳酸氢钠水、及饱和食盐水依次清洗,用无水硫酸镁进行干燥,过滤,将滤液进行减压浓缩。对得到的残渣进行山善中压制备(富士SILYSIA Chromatorex Q-Pack DIOL60 Size60、己烷/乙酸乙酯＝30/70(V/V)(Rf＝0.30(己烷/乙酸乙酯＝30/70(V/V)))),对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为白色泡状物的U-023-3的粗制物。

[1693] 将得到的白色泡状物在以下所示的条件下进行纯化,得到为白色固体的U-023-3(46.0mg、收率26.3%)。

[1694] MS(ESI)m/z 1420$(M+H)^+$

[1695] 柱:YMC-GPC T-30000,T-4000,T-2000(三者连接)21.2*600mm、10μm

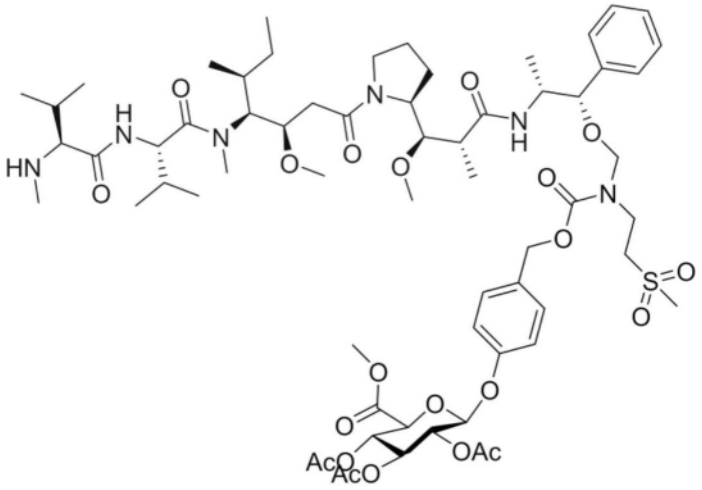
[1696] 流速:15mL/min.

[1697] 洗脱溶剂:乙酸乙酯

[1698] 温度:室温

[1699] 检测波长:254、285nm

[1700] 23-4.U-023-4的合成

[1701] 

（U-023-4）

[1702] 在加入到100mL的茄型烧瓶中的U-023-3(43.2mg、0.030mmoL)及2,6-二甲基吡啶160μL(143mg、1.381mmoL)的二氯甲烷20mL溶液中,在氩气氛下一边搅拌一边在冰冷下加入三甲基甲硅烷基三氟甲磺酸酯240μL(295.2mg、1.328mmoL),在冰冷下搅拌20小时。其后,在冰冷下在反应液中加入饱和碳酸氢钠水20mL,在室温下搅拌一会儿后,加入二氯甲烷进行萃取。用二氯甲烷萃取水层,合并有机层,用无水硫酸钠干燥,进行浓缩。在以下所示的条件下进行纯化、将含有目标物的组分进行减压浓缩,得到白色泡状物。在其中加入乙腈2mL及蒸馏水4mL后,进行冷冻干燥,由此得到为白色粉末的U-023-4(18.3mg、收率45.58%)。

[1703] MS(ESI)m/z 1320$(M+H)^+$

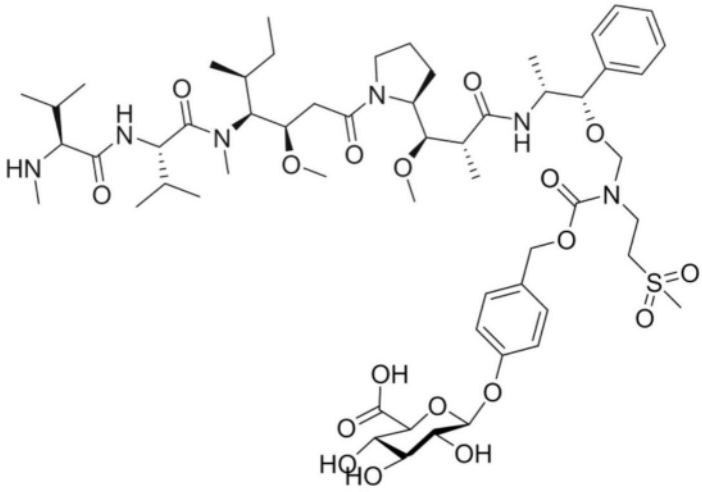
[1704] 柱:Asahipak GS-510－20G,GS-310－20G,GS-310－20G(三者连接)(shodex公司)20*500mm、13μm

[1705] 流速:17mL/min.

[1706] 洗脱溶剂:乙腈

[1707] 检测波长:220nm

[1708] 23-5.U-023的合成

[1709] 

（U-023）

[1710] 在加入到20mL的茄型烧瓶中的U-023-4(17.1mg、0.013mmoL)的甲醇4mL溶液中,在

空气气氛下,在冰冷下一边搅拌一边在室温下加入1当量的氢氧化锂52μL(1.25mg、0.052mmoL)后,恢复至室温,搅拌9.5小时。其后,加入50mM的甲酸铵水溶液4mL(12.61mg、0.200mmoL)。在以下所示的条件下进行纯化,将含有目标物的组分进行减压浓缩,在浓缩残渣中加入乙腈15mL后,进行冷冻干燥,由此得到为白色固体的U-023(13.10mg、收率85.71%)。

[1711] MS(ESI)m/z 1180$(M+H)^+$

[1712] 柱:Xselect CSH,Prep Fluoro-Phenyl(Waters公司)

[1713] 5μm 19*150mm

[1714] 流速:17mL/min.

[1715] 洗脱溶剂:10%甲醇水溶液(A液)-90%甲醇水溶液(B液)

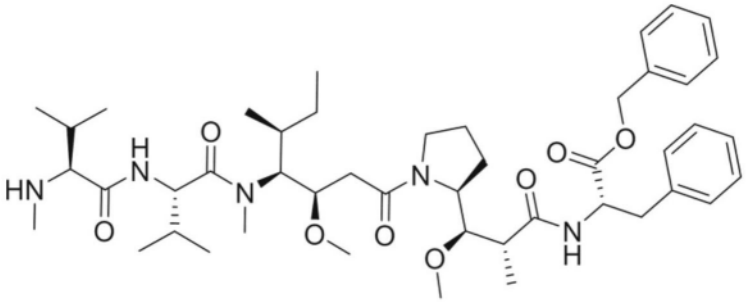
[1716] 梯度(B液):50%(0.00min.)→50%(3.00min.)

[1717] →62%(9.50min.)

[1718] 检测波长:220nm

[1719] 制造例24.U-024的合成

[1720]



(U-024)

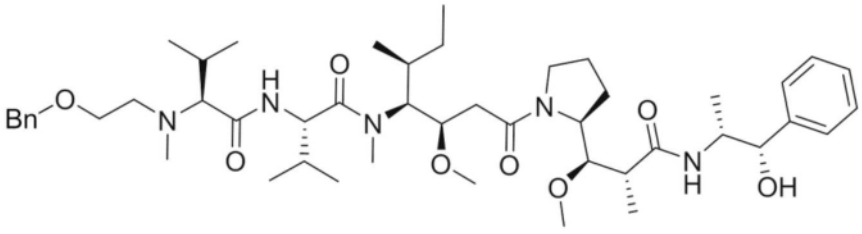
[1721] 在加入到30mL的圆筒型烧瓶中的MMAF(0.22g、0.301mmoL)的二氯甲烷1mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入甲磺酸58μL(0.09g、0.893mmoL),在60℃下搅拌4小时。反应结束后,在反应溶液中加入饱和碳酸氢钠水,用乙酸乙酯萃取该混合溶液。用水清洗有机层,用无水硫酸镁进行干燥,过滤,进行减压浓缩。对得到的残渣进行山善中压制备(二氧化硅、M(16g)、乙酸乙酯/甲醇=100/0(V/V)→60/40(V/V)),对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为无色泡状物的U-024(183.9mg、收率74.61%)。

[1722] MS(ESI)m/z 821$(M+H)^+$

[1723] 制造例25.U-025的合成

[1724] 25-1.U-025-1的合成

[1725]



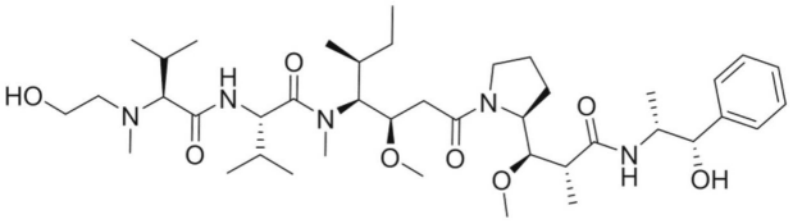
(U-025-1)

[1726] 在加入到5mL的样品瓶中的MMAE(43.5mg、0.061mmoL)的二氯甲烷1mL溶液中,在室

温下,一边搅拌一边依次加入2-(苄基氧基)乙醛10.3μL(11.01mg、0.067mmoL)、乙酸5.2μL(5.49mg、0.091mmol)、及三乙酰氧基硼氢化钠(25.1mg、0.118mmoL)后,在室温下搅拌1.5小时。反应结束后,一边在室温下搅拌一边滴加饱和碳酸氢钠水1.5mL,在室温下搅拌30分钟。将有机层分离后,用二氯甲烷萃取水层,合并有机层,用无水硫酸钠干燥,进行过滤。将滤液浓缩,进行山善中压制备(二氧化硅、S(7g)、二氯甲烷/2-丙醇=95/5(V/V))(Rf=0.47(二氯甲烷/2-丙醇=95/5(V/V))),对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为白色泡状物的U-025-1(43.8mg、收率84.84%)。

[1727] MS(ESI)m/z 853(M+H)$^+$

[1728] 25-2.U-025的合成

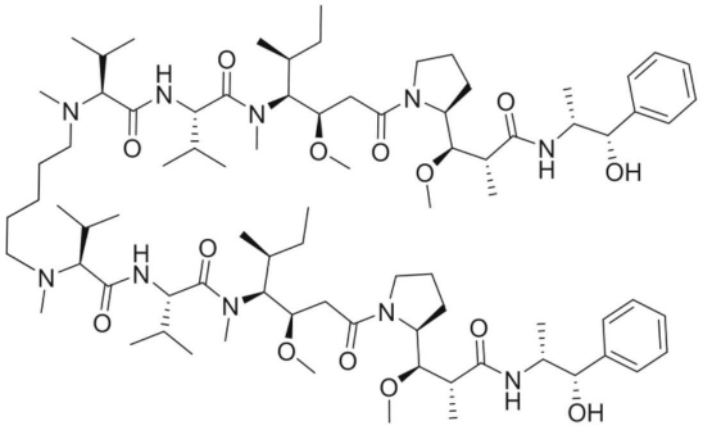
[1729] 

(U-025)

[1730] 在加入到50mL的茄型烧瓶中的U-025-1(43.8mg、0.051mmoL)的乙醇2mL溶液中,在氮气氛下,加入5%钯碳(ASCA-2类型、含水50%)10.94mg(0.273mg、2.57μmoL),进行减压脱气后,在氢气氛下,在室温下搅拌1小时。其后,加入乙酸0.2mL,在室温下搅拌1小时。其后,在浴温度60℃下加热搅拌4.5小时。反应结束后,放冷,使用Celite 545(商品名)过滤反应液,用乙醇清洗,将得到的滤液进行减压浓缩。用二氯甲烷稀释浓缩残渣,用饱和碳酸氢钠水清洗,用无水硫酸钠干燥,过滤,将滤液进行减压浓缩。在浓缩残渣中加入乙腈2mL、及蒸馏水3mL,进行冷冻干燥,由此得到为白色固体的U-025(34.6mg、收率88.34%)。

[1731] MS(ESI)m/z 763(M+H)$^+$

[1732] 制造例26.U-026的合成

[1733] 

(U-026)

[1734] 在加入到5mL的样品瓶中的MMAE(63.2mg、0.088mmoL)的二氯甲烷1.5mL溶液中,在室温下,一边搅拌一边依次加入5.6M的戊二醛水溶液8.00μL(4.49mg、0.045mmoL)、乙酸8.00μL(8.44mg、0.141mmoL)及三乙酰氧基硼氢化钠(39.6mg、0.187mmoL)后,在室温下搅拌

2.5小时。反应结束后,一边在室温下搅拌一边滴加饱和碳酸氢钠水2mL,滴加结束后,在室温下搅拌30分钟。将有机层分离后,用二氯甲烷萃取水层,合并二氯甲烷层,用无水硫酸钠干燥,过滤,将滤液进行减压浓缩。将浓缩残渣在以下所示的条件下纯化,将含有目标物的组分进行减压浓缩,溶解于二氯甲烷,加入二乙基醚,进行超声波处理,抽滤生成的固体,用二乙基醚清洗,进行减压干燥,由此,得到为白色固体的U-026(36.32mg、收率53.9%)。

[1735] MS(ESI)m/z 753(M+2H)$^{2+}$

[1736] 柱:YMC-GPC T-30000,T-4000,T-2000(三者连接)21.2*600mm、10μm

[1737] 流速:15mL/min.

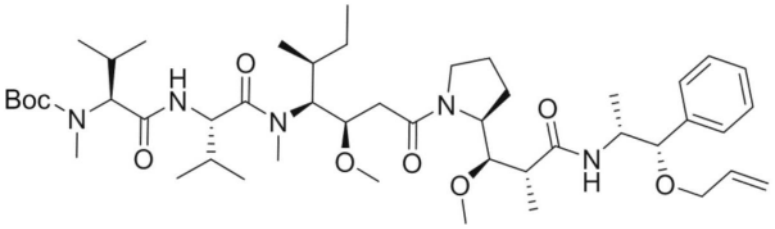
[1738] 洗脱溶剂:乙酸乙酯

[1739] 温度:室温

[1740] 检测波长:260nm

[1741] 制造例27.U-027的合成

[1742] 27-1.U-027-1的合成

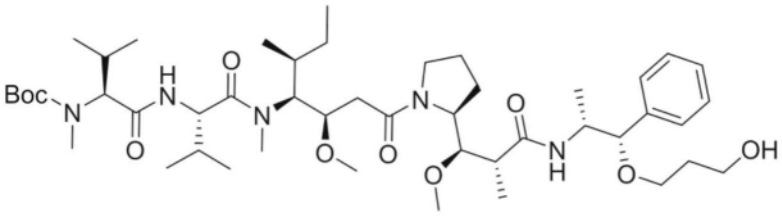
[1743] 

(U-027-1)

[1744] 在加入到30mL的茄型烧瓶中的U-011-1(102.1mg、0.125mmoL)的甲苯1.3mL溶液中,在空气气氛下一边搅拌一边在室温下加入四丁基硫酸氢铵(2.16mg、6.36μmoL)及3-溴代丙-1-烯16μL(22.37mg、0.185mmoL)。其后,在室温下加入50重量%的氢氧化钠水溶液230μL(345mg、4.31mmoL)后,在室温下搅拌5小时。反应结束后,在反应溶液中加入甲苯2mL及水3mL,进行搅拌后,进行分液。用水2mL清洗有机层。用乙酸乙酯稀释有机层,用5%硫酸氢钾水溶液、饱和碳酸氢钠水、及饱和食盐水依次清洗,用无水硫酸镁进行干燥,过滤,将滤液进行减压浓缩,由此得到白色泡状物。在残渣中加入二氯甲烷使其溶解,进行山善中压制备(Chromatorex__COOH__MB100-40/75(11.0g)、二氯甲烷/2-丙醇=100/0(V/V)→90/10(V/V)、(Rf=0.90(二氯甲烷/2-丙醇=80/20(V/V))),对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到白色泡状物。在其中加入乙腈2mL及超纯水2mL,进行冷冻干燥,由此得到为白色固体的U-027-1(58.3mg、收率54.44%)。

[1745] MS(ESI)m/z 859(M+H)$^{+}$

[1746] 27-2.U-027-2的合成

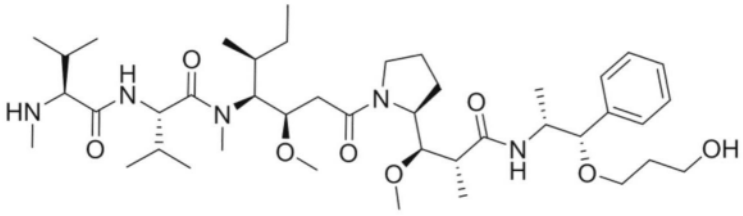
[1747] 

(U-027-2)

[1748] 在加入到20mL的茄型烧瓶中的U-027-1(54.6mg、0.064mmoL)的四氢呋喃1mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下加入0.5M的9-BBN的四氢呋喃溶液640μL(39.05mg、0.320mmoL),在室温下搅拌2.33小时。其后,在室温下追加0.5M的9-BBN的四氢呋喃溶液360μL(21.96mg、0.180mmoL),在室温下搅拌2.33小时。其后,进行冰冷,加入甲醇1mL后,恢复至室温,在室温下搅拌1小时,进行减压浓缩。在浓缩残渣中依次加入四氢呋喃1mL、四氢呋喃1mL、及1当量的氢氧化钠1.0mL(40mg、1.00mmoL)后,进行冰冷,加入30重量%的过氧化氢水溶液110μL(122.1mg、1.077mmoL),在冰冷下进行搅拌后,在室温下搅拌1小时。其后,加入水5mL及乙酸乙酯5mL进行分液。将有机层用5重量%硫酸氢钾水溶液、饱和碳酸氢钠水、及饱和食盐水依次清洗,用无水硫酸镁进行干燥,过滤,将滤液进行减压浓缩,由此得到无色油状物。在残渣中加入二氯甲烷使其溶解,进行山善中压制备(Chromatorex__COOH__MB100-40/75(11.0g)、二氯甲烷/2-丙醇=100/0(V/V)→90/10(V/V)),对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到无色油状物。在其中加入乙腈1mL及超纯水1mL,进行冷冻干燥,由此得到为白色固体的U-027-2(39.2mg、收率70.32%)。

[1749] MS(ESI)m/z 877$(M+H)^+$

[1750] 27-2.U-027的合成

[1751] 

(U-027)

[1752] 在加入到30mL的茄型烧瓶中的U-027-2(35.6mg、0.041mmoL)的二氯甲烷3mL溶液中,在氩气氛下,一边在冰冷下搅拌一边在冰冷下加入2,6-二甲基吡啶99μL(91.6mg、0.856mmoL)及三甲基甲硅烷基三氟甲磺酸酯139μL(171mg、0.771mmoL),在冰冷下搅拌6小时。在冰冷下在反应液中加入二氯甲烷4mL及饱和碳酸氢钠水8mL进行分液。用二氯甲烷萃取水层,合并二氯甲烷层,用饱和食盐水清洗,用无水硫酸钠干燥,过滤,将滤液进行减压浓缩,由此得到淡黄色油状物。在以下所示的条件下进行纯化,将含有目标物的组分进行减压浓缩,在浓缩残渣中加入乙腈及水后,进行冷冻干燥,由此得到为白色固体的U-027(21.69mg、收率68.79%)。

[1753] MS(ESI)m/z 777$(M+H)^+$

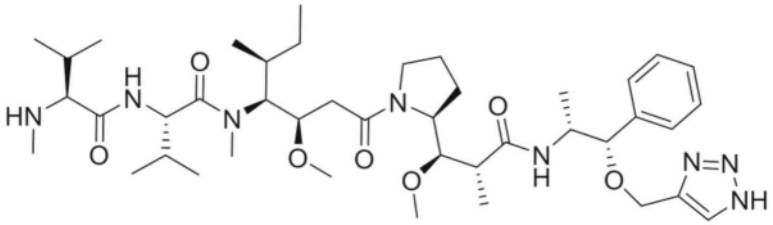
[1754] 柱:Waters SunFire Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[1755] 流速:17mL/min.

[1756] 洗脱溶剂:乙腈

[1757] 检测波长:220nm

[1758] 制造例28.U-028的合成

[1759] 

（U-028）

[1760] 在加入到20mL的圆筒型烧瓶中的U-022-2(26.4mg、0.035mmol)、4-甲基苯磺酰基叠氮的11～15％甲苯溶液0.095mL(85.5mg、0.048mmoL)、及2-氨基苯酚(4.0mg、0.037mmoL)的乙腈0.3mL溶液中，一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入乙酸铜(II)(3.2mg、0.018mmoL)，在室温下搅拌5小时后，静置15小时。反应结束后，通过氮气吹扫去除乙腈，加入甲醇1mL，进行2小时加热回流。在以下的条件下对得到的残渣进行制备型HPLC色谱，对含有目标物的组分进行减压浓缩而馏去乙腈后，进行冷冻干燥，由此得到为白色固体的U-028的粗制物。

[1761] 柱:Waters SunFire Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[1762] 流速:17mL/min.

[1763] 洗脱溶剂:0.1％甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[1764] 梯度(B液):20％(0.00min.)→100％(10.00min.)

[1765] 在以下所示的条件下进行纯化后，进行冷冻干燥，由此得到为白色固体的U-028(2.1mg、收率7.53％)。

[1766] MS(DUIS)m/z 799$(M+H)^+$

[1767] 装置:LC Forte/R(YMC公司)

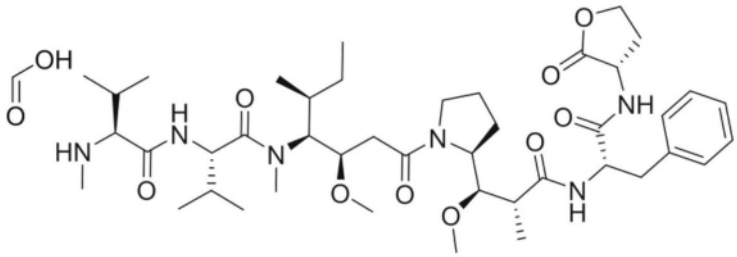
[1768] 柱:CHIRALPAK IB(20x 250mm,5um)(大赛璐株式会社)

[1769] 洗脱液:MeOH

[1770] 流速:15mL/min

[1771] 波长:220,254,285nm

[1772] 制造例29.U-029的合成

[1773] 

（U-029）

[1774] 将加入到30mL的圆筒管中的MMAF(49.7mg、0.068mmoL)及(S)-(-)-α-氨基-γ-丁内酯盐酸盐(即，L-高丝氨酸内酯盐酸盐)(14.1mg、0.102mmoL)溶解于N,N-二甲基甲酰胺1.0mL，加入三乙胺38μL(27.59mg、0.273mmoL)。接着在室温下加入HATU(28.6mg、0.075mmol)，在室温下搅拌12小时。将反应液进行减压浓缩，在以下的条件下对得到的残渣进行制备型HPLC色谱，对含有目标物的组分进行减压浓缩而馏去乙腈后，进行冷冻干燥，由

此得到为无色泡状物的U-029的甲酸盐(19.6mg、收率33.52％)。

[1775] MS(ESI)m/z 816(M+H)$^+$

[1776] 柱:Waters SunFire Prep C18 5μm ODB 19*150mm

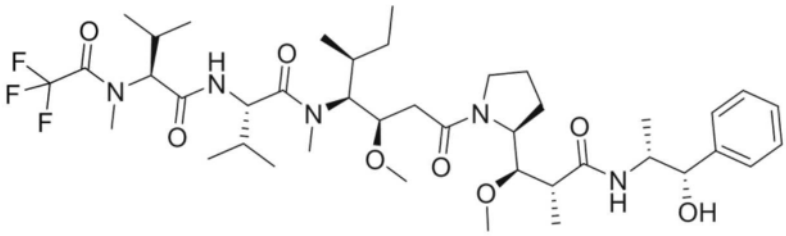
[1777] 流速:17mL/min.

[1778] 洗脱溶剂:0.1％甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[1779] 梯度(B液):25％(0.00min.)→38％(6.00min.)

[1780] 制造例30.U-030的合成

[1781] 30-1.U-030-1的合成

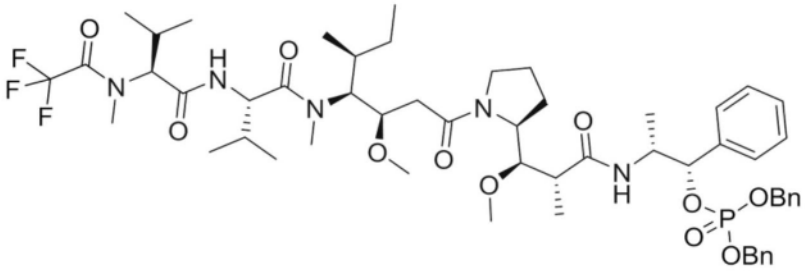
[1782] 

（U-030-1）

[1783] 在加入到50mL的茄型烧瓶中的MMAE(0.7545g、1.051mmol)的二氯甲烷15mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在冰冷下依次加入三乙胺0.73mL(0.53g、5.24mmoL)及2,2,2-三氟乙酸酐0.73mL(1.1g、5.25mmoL),在冰冷下搅拌1小时。其后,在冰冷下,依次加入甲醇3.8mL(3.01g、94mmoL)及三乙胺0.38mL(0.28g、2.73mmoL),在冰冷下搅拌1小时。其后,进行减压浓缩,加入乙酸乙酯30mL,用5重量％硫酸氢钾水溶液30mL、饱和碳酸氢钠水30mL、饱和食盐水30mL依次清洗,用无水硫酸镁进行干燥,过滤,将滤液进行减压浓缩。在残渣中加入乙腈10mL及超纯水8mL,冷冻,进行冷冻干燥,由此得到为白色固体的U-030-1(0.8320g、收率97.27％)。

[1784] MS(ESI)m/z 815(M+H)$^+$

[1785] 30-2.U-030-2的合成

[1786] 

（U-030-2）

[1787] 在加入到50mL的茄型烧瓶中的U-030-1(0.8011g、0.984mmol)及1H-四唑(0.4840g、6.91mmoL)的二氯甲烷30mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下加入二苄基二异丙基膦酸酰胺(dibenzyl diisopropyl phosphonoamidate)1.28mL(1.33g、3.85mmoL),在室温下搅拌2小时。其后,在冰冷下加入30重量％过氧化氢水0.60mL(0.67g、5.87mmoL),在冰冷下搅拌1.5小时。

[1788] 其后,在冰冷下,加入在12.75g的硫代硫酸钠中添加饱和碳酸氢钠水至100mL而形成的溶液20mL。将有机层分离后,用饱和食盐水清洗,用无水硫酸镁进行干燥,过滤,将滤液

进行减压浓缩。

[1789] 对得到的残渣进行山善中压制备(富士SILYSIA ChromatorexQ-PACK、DIOL60)、二氯甲烷/异丙醇＝99/1(V/V)→95/5(V/V),对含有目标物的组分进行减压,得到U-030-2的粗制物。

[1790] 将得到的粗制物在以下所示的条件下进行纯化,将含有目标物的组分进行减压浓缩,在残渣中加入乙腈10mL及超纯水8mL,冷冻,进行冷冻干燥,由此得到为白色固体的U-030-2(0.6915g、收率65.41％)。

[1791] MS(ESI)m/z 1075$(M+H)^+$

[1792] 装置:LC Forte/R(YMC公司)

[1793] 柱:YMC-GPC T-30000,T-4000,T-2000(三者连接)21.2*600mm、10μm

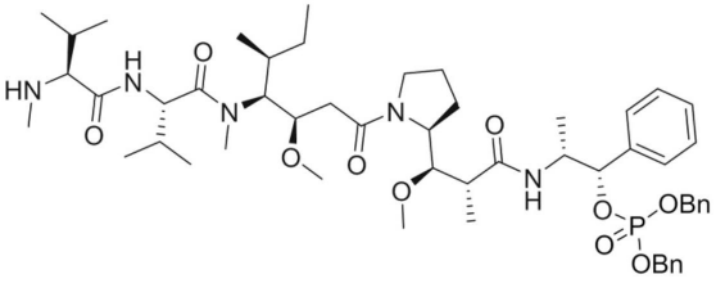
[1794] 温度:室温

[1795] 洗脱液:乙腈

[1796] 流速:25mL/min

[1797] 波长:220nm

[1798] 30-3.U-030-3的合成

[1799] 

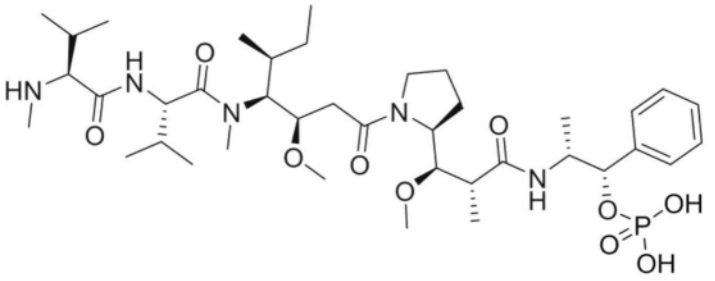
(U-030-3)

[1800] 在加入到50mL的茄型烧瓶中的U-030-2(331mg、0.308mmol)的甲醇5mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在冰冷下加入硼氢化钠(34.6mg、0.915mmol),在冰冷下搅拌1.25小时。接着在冰冷下将硼氢化钠(107.4mg、2.838mmol)分3次加入,在冰冷下搅拌3小时。

[1801] 反应结束后,在冰冷下,加入二氯甲烷20mL及饱和碳酸氢钠水20mL,分离有机层。用二氯甲烷20mL萃取得到的水层3次,合并有机层并用无水硫酸钠干燥,过滤,将滤液进行减压浓缩,由此得到为无色油状物的U-030-3(325mg、收率定量)。

[1802] MS(ESI)m/z 979$(M+H)^+$

[1803] 30-4.U-030的合成

[1804] 

(U-030)

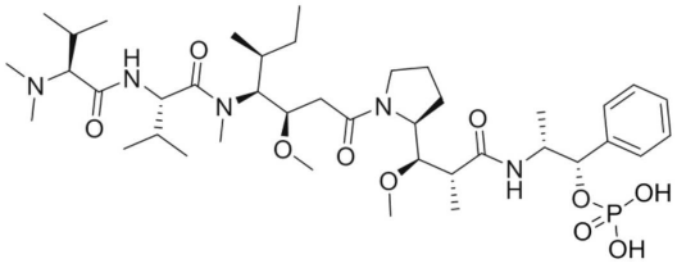
[1805] 在加入到100mL的茄型烧瓶中的U-030-3(301mg、0.308mmol)的乙醇30mL溶液中,

一边在氮气氛下搅拌一边在室温下加入5重量％钯碳STD类型(含水50重量％、82.3mg、0.019mmoL),在氢气氛下在室温下搅拌2小时。

[1806] 反应结束后,用Celite 545(商品名)过滤,用乙醇清洗,进行减压浓缩。在得到的残渣中加入乙腈,滤取生成的固体,用冰冷过的乙腈清洗,进行减压干燥,由此,得到为白色固体的U-030(220.3mg、收率89.72％)。

[1807] MS(ESI)m/z 799$(M+H)^+$

[1808] 制造例31.U-031的合成

[1809] 

(U-031)

[1810] 在加入到20mL的圆筒型烧瓶中的制造例30(100.4mg、0.126mmoL)及37％甲醛水溶液0.093mL(101.37mg、1.249mmoL)的甲醇1mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下加入三乙酰氧基硼氢化钠(77.8mg、0.367mmoL),在室温下搅拌1小时。

[1811] 反应结束后,进行减压浓缩,加入水。在以下的条件下对得到的水溶液进行制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为白色固体的U-031的粗纯化物41.0mg。

[1812] 柱:Waters XBrige Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[1813] 流速:17mL/min.

[1814] 洗脱溶剂:0.1％甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[1815] 梯度(B液):10％(0.00min.)→30％(4.00min.)→30％(9.00min.)

[1816] 在以下的条件下对得到的U-031的粗纯化物41.0mg进行制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行冷冻干燥,由此得到为白色固体的U-031(29.5mg、收率28.87％)。

[1817] MS(ESI)m/z 810$(M-H)^-$

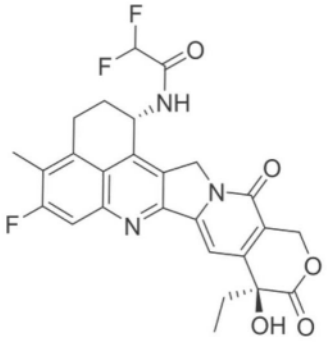
[1818] 柱:Waters XBrige Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[1819] 流速:17mL/min.

[1820] 洗脱溶剂:0.1％甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[1821] 梯度(B液):10％(0.00min.)→30％(5.00min.)→30％(10.00min.)

[1822] 制造例32.U-032

[1823] 

（U-032）

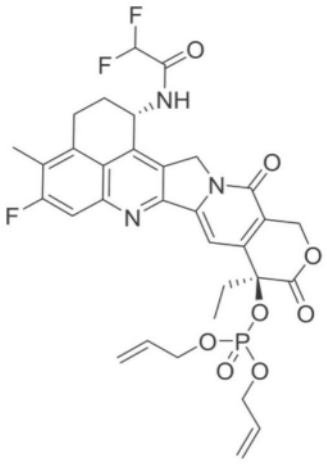
[1824] 在加入到10mL的圆筒型烧瓶中的依喜替康甲磺酸盐(13.6mg、0.026mmoL)的二氯甲烷1mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边加入三乙胺35μL(25.41mg、0.251mmoL),进行冰冷。在冰冷下,加入2,2-二氟乙酸酐10μL(16mg、0.092mmoL),在0℃下搅拌2小时。接着,在搅拌下在室温下加入三乙胺17μL(12.34mg、0.122mmoL)及2,2-二氟乙酸酐10μL(16mg、0.092mmoL),在室温下搅拌1小时。接着,在搅拌下在室温下加入甲醇100μL(79.2mg、2.472mmoL),在室温下搅拌0.5小时。接着,在搅拌下在室温下加入三乙胺60μL(43.56mg、0.430mmoL),在室温下搅拌0.5小时。

[1825] 反应结束后,加入二乙基醚2mL,搅拌5分钟,用膜滤器过滤,将得到的固体用乙酸乙酯及水清洗,进行减压干燥,由此得到为微黄色固体的U-032(7.9mg、收率60.13%)。

[1826] MS(ESI)m/z 514$(M+H)^+$

[1827] 制造例33.U-033

[1828] 33-1.U-033-1

[1829] 

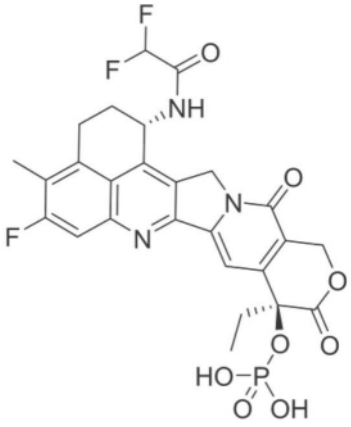
（U-033-1）

[1830] 在加入到100mL圆筒型烧瓶中的U-032(419mg、0.816mmoL)的二氯甲烷12mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下依次加入二烯丙基N,N-二异丙基亚磷酰胺820μL(760.96mg、3.10mmoL)及1H-四唑(373mg、5.32mmoL),在室温下搅拌5小时。其后,在冰冷下加入30重量%过氧化氢水480μL(532.8mg、4.70mmoL),在冰冷下搅拌1小时。其后,加入在硫代硫酸钠5水合物20.0g(80.6mmoL)及碳酸氢钠7.0g(83.3mmoL)中加入水100mL而制备的溶液6mL及二氯甲烷6mL,进行分液。用二氯甲烷6mL萃取水层,与有机层合并,用无水硫酸镁0.80g进行干燥,过滤,将滤液进行减压浓缩,得到浓缩残渣967mg。在得到的残渣中加入5%

乙腈水溶液,进行超声波处理,减压过滤,对得到的固体进行干燥,由此得到为茶色固体的U-033-1(250mg、收率45.48%)。

[1831] MS(ESI)m/z 1348(2M+H)$^+$

[1832] 33-2.U-033

[1833] 

(U-033)

[1834] 在加入到50mL茄型烧瓶中的U-033-1(243mg、0.361mmoL)的四氢呋喃5mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下依次加入N-甲基苯胺84μL(83.16mg、0.776mmoL)及四(三苯基膦)钯(43mg、0.037mmoL),在室温下搅拌1小时。

[1835] 反应结束后,加入叔丁基甲基醚15mL,进行10分钟搅拌后,过滤析出的固体,用叔丁基甲基醚清洗,减压干燥,得到U-033的粗制物256mg。

[1836] 使得到的固体溶解于包含2重量%的乙酸铵的30%乙腈水溶液15mL中,进行以下的条件的制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行冷冻干燥,由此得到为淡黄色固体的U-033(81mg、收率37.83%)。(35905AL-028-2)

[1837] 柱:Waters XBridge Prep C18 5μm ODB 19*150mm

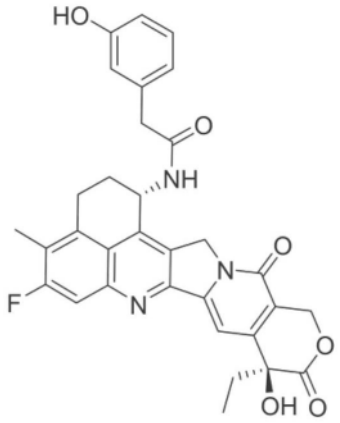
[1838] 流速:17mL/min.

[1839] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[1840] 梯度(B液):30%(0.00min.)→60%(6.00min.)→90%(6.50min.)→90%(9.00min.)

[1841] MS(ESI)m/z 592(M-H)$^-$

[1842] 制造例34.U-034

[1843] 

（U-034）

[1844] 在加入到10mL圆筒型烧瓶中的依喜替康甲磺酸盐(53.2mg、0.100mmoL)、2-(3-羟基苯基)乙酸(18.3mg、0.120mmoL)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(38.2mg、0.199mmoL)、1-羟基苯并三唑(15.3mg、0.100mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺1mL中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下加入三乙胺28μL(20.33mg、0.201mmoL),在室温下搅拌2小时。

[1845] 反应结束后,对反应液进行以下的条件的制备型HPLC色谱,将含有目标物的组分进行减压浓缩,滤取析出的固体,水洗,由此得到为无色固体的U-033(25.4mg、收率44.56%)。

[1846] MS(ESI)m/z 568$(M-H)^-$

[1847] 柱:Waters SunFire Prep C18 5μm ODB 19*150mm

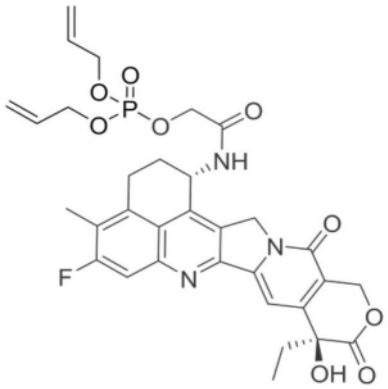
[1848] 流速:17mL/min.

[1849] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[1850] 梯度(B液):50%(0.00min.)→95%(5.00min.)

[1851] 制造例35.U-035

[1852] 35-1.U-035-1

[1853] 

（U-033-1）

[1854] 在加入到50mL茄型烧瓶中的DXd(162.6mg、0.329mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺4mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下加入三氟甲磺酸29.0μL(49.3mg、0.329mmoL),在室温下搅拌30分钟。然后,在室温下加入二烯丙基N,N-二异丙基亚磷酰胺350μL(324.8mg、

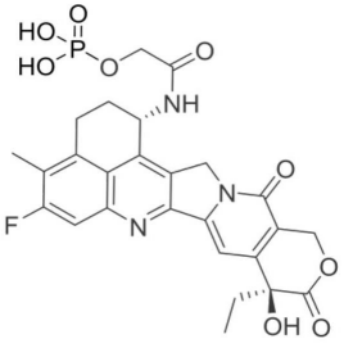
1.324mmoL)和1H-四唑(163.7mg、2.337mmoL),在室温下搅拌2小时。

[1855] 其后,在室温下加入70%过氧化叔丁基水溶液270μL(253.8mg、1.971mmoL),在室温下搅拌1.5小时。

[1856] 其后,在反应液中加入二乙基醚40mL,在冰冷下搅拌一会儿。抽滤生成的固体,用二乙基醚清洗固体后,减压干燥,得到为浅茶色的固体的U-035-1的三氟甲磺酸盐(249.6mg、收率94.26%)。

[1857] MS(ESI)m/z 654$(M+H)^+$

[1858] 35-2.U-035

[1859] 

(U-035)

[1860] 在20mL茄型烧瓶中,在U-035-1的三氟甲磺酸盐(51.4mg、0.064mmoL)的四氢呋喃5mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下依次加入N-甲基苯胺22μL(21.78mg、0.203mmoL)及四(三苯基膦)钯(10.4mg、9.00μmoL),在室温下搅拌1.25小时。其后,追加四(三苯基膦)钯(27.9mg、0.024mmoL)后,加入N,N-二甲基甲酰胺0.5mL,在室温下搅拌0.75小时。

[1861] 将反应液进行减压浓缩,在浓缩残渣中加入二乙基醚,进行超声波处理,滤取生成的固体,用二乙基醚清洗,减压干燥,得到灰褐色固体(55.2mg)。

[1862] 对得到的灰褐色固体进行以下所示的再循环分离,对含有目标物的组分进行冷冻干燥,由此得到为淡黄色固体的U-035(6.4mg、收率17.45%)。

[1863] MS(ESI)m/z 574$(M+H)^+$

[1864] 装置:LC Forte/R(YMC公司)

[1865] 柱:Xbridege C18、30x150mm,5um

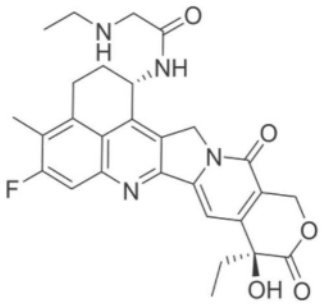
[1866] 洗脱液:0.1%甲酸水溶液(A液)-0.1%甲酸乙腈(B液)

[1867] 溶液组成(B液):30%

[1868] 流速:25mL/min、21MPa

[1869] 波长:254nm

[1870] 制造例36.U-036

[1871] 

（U-036）

[1872] 在加入到20mL圆筒型烧瓶中的N-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-N-乙基甘氨酸(15,06mg、0.046mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺0.6mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入HATU(17,60mg、0.046mmoL)、N,N-二异丙基乙基胺0.022mL(16.32mg、0.126mmoL),在室温下搅拌15分钟。

[1873] 接着,在搅拌下在室温下加入依喜替康甲磺酸盐(21,7mg、0.042mmoL),在室温下搅拌1小时。

[1874] 接着,在搅拌下在室温下加入哌啶4,16μL(3.58mg、0.042mmoL),在室温下搅拌3小时。

[1875] 对得到的残渣进行以下的条件的制备型HPLC色谱,对含有目标物(Rt7.5min.附近)的组分进行冷冻干燥,由此得到为白色固体的U-036的甲酸盐(6.9mg、收率31.5%)。

[1876] MS(ESI)m/z 521$(M+H)^+$

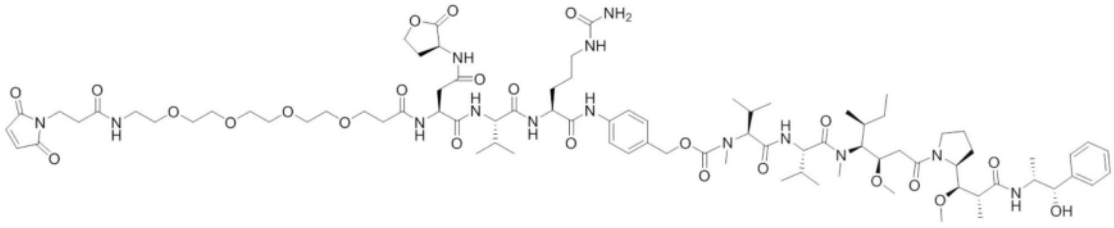
[1877] 柱:Waters XBridge Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[1878] 流速:17mL/min.

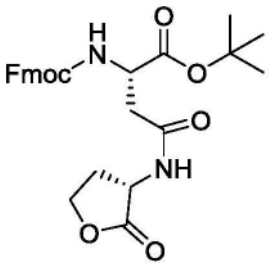
[1879] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[1880] 梯度(B液):15%(0.00min.)→55%(10.00min.)

[1881] 参考例1的合成

[1882] 

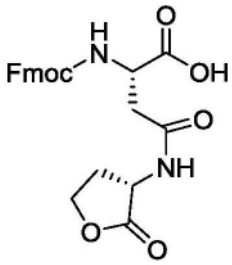
[1883] 参考例1-1

[1884] 

[1885] 使加入到200mL茄型烧瓶中的(S)-(-)-α-氨基-γ-丁内酯盐酸盐(即,L-高丝氨酸内酯盐酸盐)(1.75g、12.72mmoL)溶解于N,N-二甲基甲酰胺60mL中,接着加入Fmoc-(L)-Asp-叔丁基(5.23g、12.71mmoL),加入三乙胺3.65mL(2.65g、26.2mmoL)。接着在室温下加入

HATU(4.83g、12.70mmoL),在室温下搅拌2小时。反应结束后,在反应溶液中加入水,用乙酸乙酯萃取2次该混合溶液。对有机层进行减压浓缩,由此得到为无色油状物的标记化合物(6.16g、收率97.9%)。

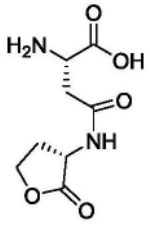
[1886] 参考例1-2

[1887] 

[1888] 使加入到500mL的茄型烧瓶中的参考例1-1(6.16g、12.46mmoL)溶解于二氯甲烷60mL中,接着加入三氟乙酸60mL(1.421g、12.46mmoL),在室温下搅拌2小时,反应结束后,将溶剂减压馏去。使得到的残渣溶解于乙腈50mL中,进而追加乙酸乙酯50mL。滤取析出的固体,用乙酸乙酯清洗,由此得到为无色固体的标记化合物(3.86g、收率70.68%)。

[1889] MS(ESI)m/z 439$(M+H)^+$

[1890] 参考例1-3

[1891] 

[1892] 在加入到30mL圆筒型烧瓶中的参考例1-2(298mg、0.680mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺4mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入哌啶0.270mL(232.2mg、2.73mmoL),在室温下搅拌1小时。

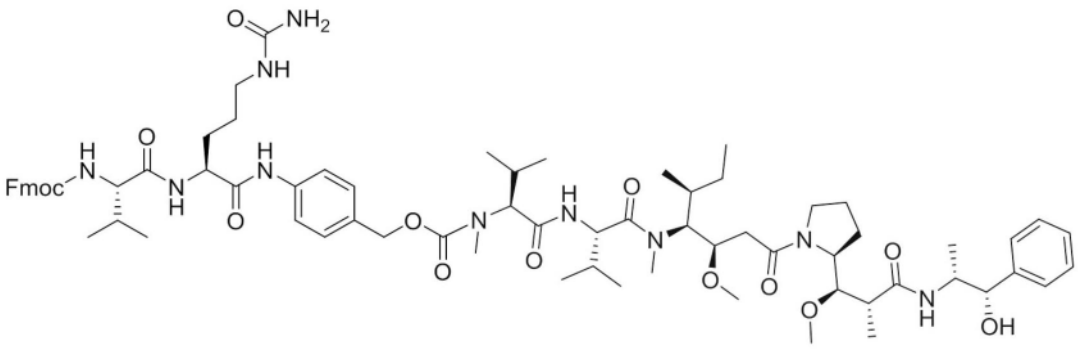
[1893] 反应结束后,加入二甲苯,在减压下除去溶剂。

[1894] 在残渣中加入二乙基醚4mL及乙酸乙酯8mL,进行超声波处理,滤取固体。在滤取的固体中加入20%乙腈水溶液,进行减压浓缩。

[1895] 在得到的残渣中加入乙酸乙酯进行过滤。在得到的固体中加入二乙基醚,过滤,进行减压干燥,由此得到为白色固体的标记化合物(143mg、收率97.32%)。

[1896] MS(ESI)m/z 215$(M-H)^-$

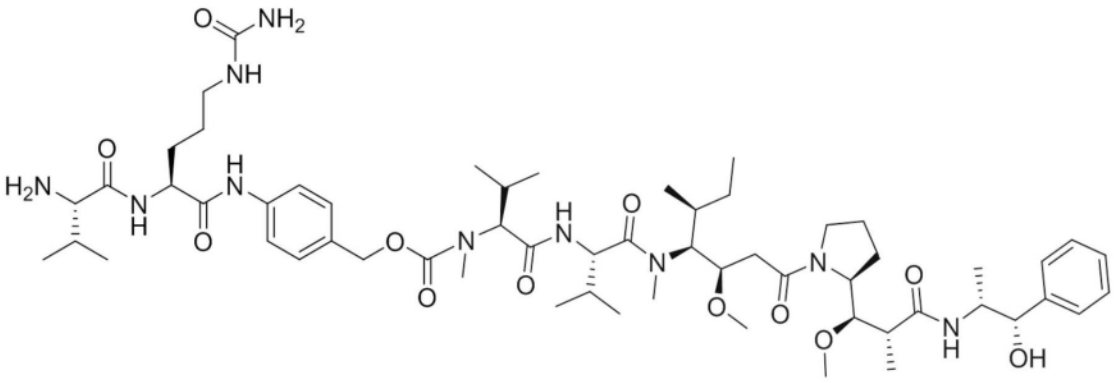
[1897] 参考例1-4

[1898] 

[1899] 在加入到30mL的圆筒型烧瓶中的Fmoc-(L)-Val-(L)－Cit-PAB-PNP(Angene公司制造)(292.7mg、0.382mmoL)、MMAE(MedChemExpress公司制造)(259.7mg、0.362mmoL)及1-羟基-7-氮杂苯并三唑(56.3mg、0.414mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺3mL溶液中,一边在氮气氛下搅拌一边加入N,N-二异丙基乙基胺70μL(51.94mg、0.402mmoL),在室温下搅拌19.5小时。反应结束后,将溶剂减压馏去。在得到的残渣中加入二乙基醚20mL,滤取析出的固体,用水清洗,接着用二乙基醚清洗,由此得到为驼色固体的标记化合物(415.8mg、收率85.43%)。

[1900] MS(DUIS)m/z 673$(M+2H)^{2+}$

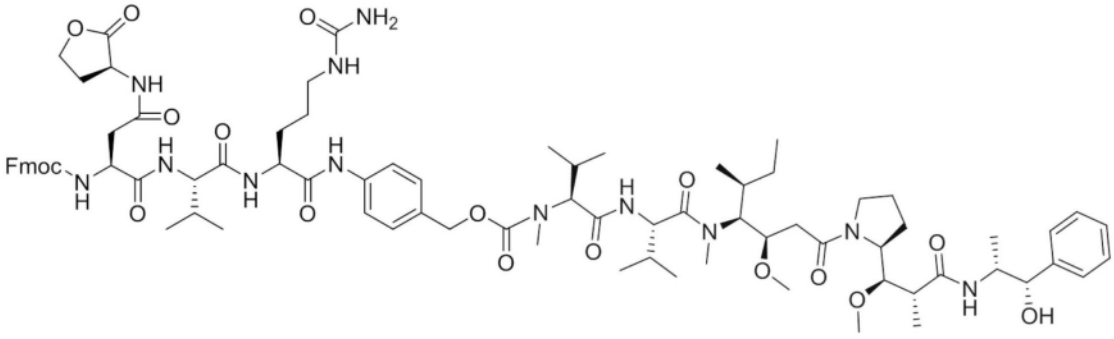
[1901] 参考例1-5

[1902] 

[1903] 在加入到30mL的茄型烧瓶中的参考例1-4(414.7mg、0.308mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺5mL溶液中,在室温下加入哌啶0.244mL(210mg、2.465mmoL)后,在室温下搅拌1小时。将反应液进行减压浓缩,在残渣中加入乙酸乙酯、乙腈、及二氯甲烷,溶解后,加入二乙基醚,进行超声波处理,滤取生成的固体,用二乙基醚清洗,进行减压干燥,由此,得到为淡黄色固体的标记化合物(280.3mg、收率80.96%)。

[1904] MS(ESI)m/z 1124$(M+H)^{+}$

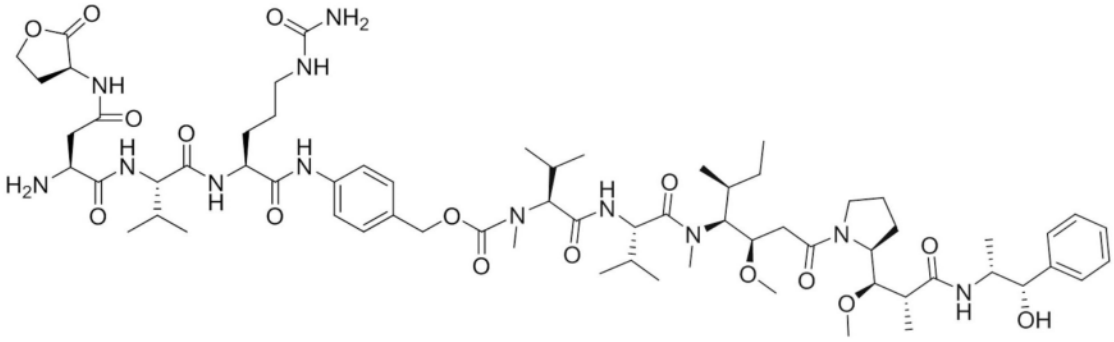
[1905] 参考例1-6

[1906] 

[1907] 在加入到30mL的圆筒型烧瓶中的参考例1-2(130.1mg、0.297mmoL)及参考例1-5(309mg、0.275mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺5mL溶液中,在室温下加入三乙胺41μL(29.77mg、0.294mmoL)后,在室温下加入HATU(112.9mg、0.297mmoL),其后,在室温下搅拌2小时。将反应液进行减压浓缩,加入二氯甲烷及2-丙醇,进行减压浓缩。在其中加入乙腈10mL及水10mL,进行超声波处理后,滤取生成的固体,用乙腈/水(1/1(V/V))10mL清洗,其后,用二乙基醚20mL清洗,对得到的固体进行减压干燥,由此,得到为白色固体的标记化合物(342.3mg、收率80.61%)。

[1908] MS(ESI)m/z 773$(M+2H)^{2+}$

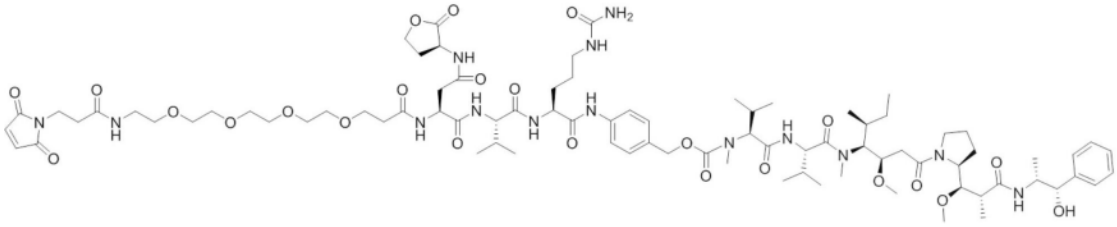
[1909] 参考例1-7

[1910] 

[1911] 在加入到10mL的茄型烧瓶中的参考例1-6(49.7mg、0.032mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺450μL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入哌啶10μL(8.62mg、0.101mmoL),在室温下搅拌50分钟后,在减压下除去溶剂,用二乙基醚10mL清洗,对得到的固体进行减压干燥,由此,得到为白色固体的标记化合物(36.4mg、收率85.56%)。

[1912] MS(ESI)m/z 1323$(M+H)^+$

[1913] 参考例1

[1914] 

[1915] 在加入到5mL的圆筒型烧瓶中的参考例1-7(10.0mg、7.57μmoL)的N,N-二甲基甲酰胺0.4mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边加入1-马来酰亚胺-3-氧代-7,10,13,16-四氧杂-4-氮杂十九烷酸N-琥珀酰亚胺基酯(8.2mg、0.027mmoL)的乙腈400μL溶液,在室温下搅拌1小时。

[1916] 在以下的条件下对得到的反应液进行制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行冷冻干燥,由此得到为白色固体的参考例1(3.2mg、收率24.59%)。

[1917] MS(ESI)m/z 861$(M+2H)^{2+}$

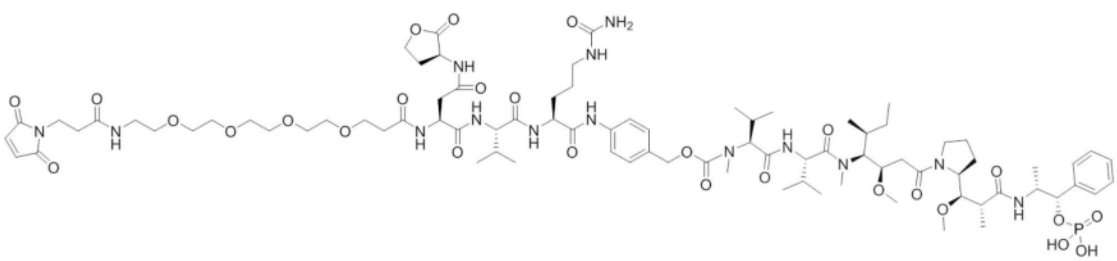
[1918] 柱:Waters SunFire Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[1919] 流速:17mL/min.

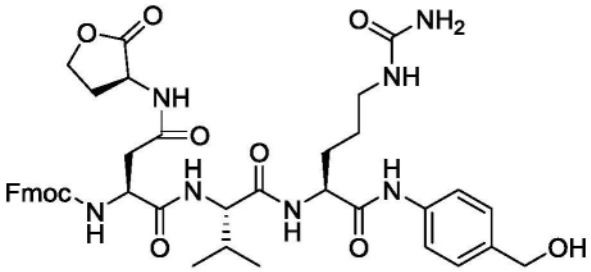
[1920] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[1921] 梯度(B液):40%(0.00min.)→90%(10.00min.)

[1922] 参考例2的合成

[1923] 

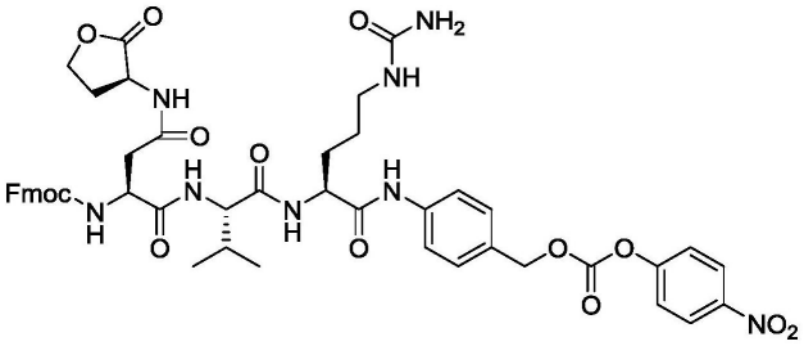
[1924] 参考例2-1

[1925] 

[1926] 使加入到200mL的茄型烧瓶中的(L)-Val-(L)-Cit-PAB(Angene公司制造)(1.90g、5.01mmoL)及参考例1-2(2.24g、5.11mmoL)悬浮于N,N-二甲基甲酰胺50mL,加入三乙胺0.71mL(0.52g、5.09mmoL),接着加入HATU(1.94g、5.10mmoL),在室温下搅拌1小时。在得到的反应液中加入水30mL及丙酮20mL,搅拌30分钟后,过滤,用水清洗,接着用丙酮清洗,得到为微黄色固体的标记化合物(3.37g、收率84.13%)。

[1927] MS(ESI)m/z 800$(M+H)^+$

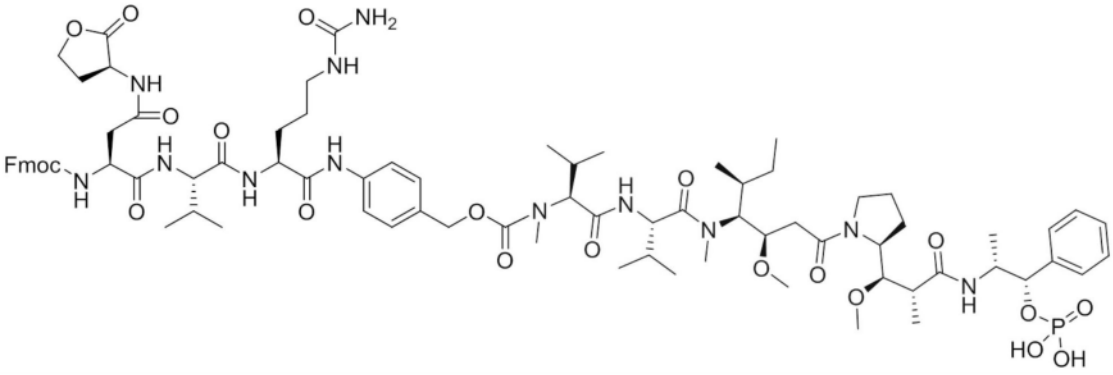
[1928] 参考例2-2

[1929] 

[1930] 在加入到100mL的茄型烧瓶中的参考例2-1(1.027g、1.284mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺12mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入双(4-硝基苯基)碳酸酯(760mg、2.498mmoL)及N,N-二异丙基乙基胺440μL(0.33g、2.52mmoL),在室温下搅拌3小时。接着,在搅拌下在室温下加入N,N-二甲基甲酰胺8mL,在室温下搅拌0.5小时后,过滤不溶物,将滤液进行减压浓缩。在残渣中加入二乙基醚及己烷,过滤生成的固体,用水清洗4次,接着用二乙基醚清洗,进行减压干燥,由此,得到为微黄色固体的标记化合物(760mg、收率61.34%)。

[1931] MS(ESI)m/z 965$(M+H)^+$

[1932] 参考例2-3

[1933] 

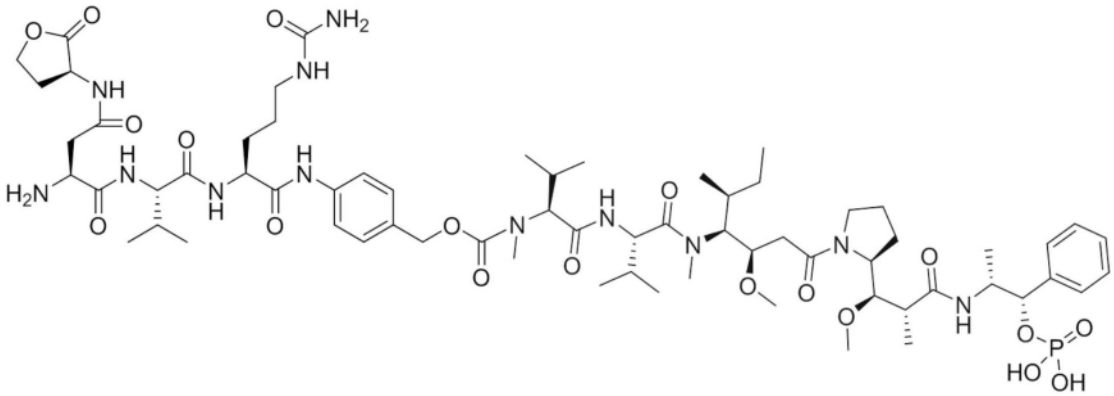
[1934] 在加入到10mL的茄型烧瓶中的参考例2-2(76.2mg、0.079mmoL)及U-030(55.1mg、0.069mmoL)、1-羟基-7-氮杂苯并三唑(13.0mg、0.096mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺1mL溶液

中,在室温下加入N,N-二异丙基乙基胺40μL(29.68mg、0.230mmoL)后,在室温下搅拌18小时。其后,加入参考例2-2(22.3mg、0.023mmoL),在室温下搅拌6.5小时。

[1935] 反应结束后进行减压浓缩,在残渣中加入二乙基醚并滤取生成的固体。在得到的固体中加入乙腈/水(1/1(V/V))10mL,通过过滤去除不溶物后,进行冷冻干燥,由此得到为白色固体的标记化合物(57.4mg、收率51.19%)。

[1936] MS(ESI)m/z 812$(M+2H)^{2+}$

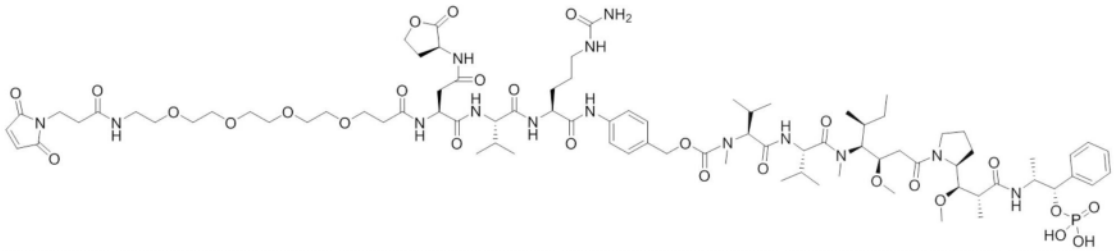
[1937] 参考例2-4

[1938] 

[1939] 在加入到100mL的茄型烧瓶中的参考例2-3(57.4mg、0.035mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺2mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入哌啶11μL(9.48mg、0.111mmoL),在室温下搅拌1小时后,在减压下除去溶剂,用二乙基醚10mL清洗,对得到的固体进行减压干燥,由此,得到为淡黄色固体的标记化合物(51.8mg、收率93.23%)。

[1940] MS(ESI)m/z 1402$(M+H)^{+}$

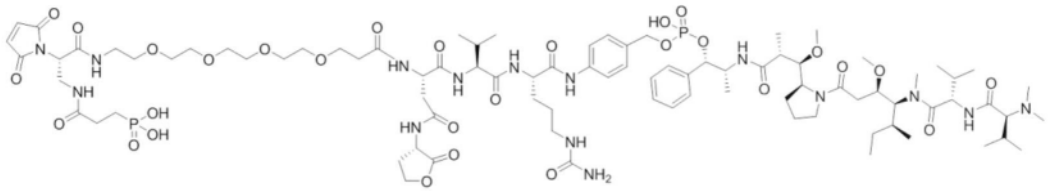
[1941] 参考例2

[1942] 

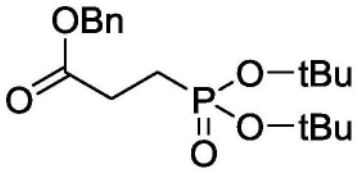
[1943] 使用参考例2-4(18mg、13μmoL),与参考例1同样地反应,得到为白色固体的标记化合物(5.2mg、收率22.49%)。

[1944] MS(ESI)m/z 901$(M+2H)^{2+}$

[1945] 参考例3的合成

[1946] 

[1947] 参考例3-1

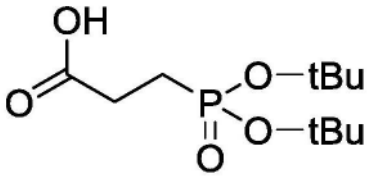
[1948] 

[1949] 在加入到100mL的茄型烧瓶中的亚磷酸二叔丁酯(1.94g、9.99mmoL)的乙腈10mL溶液中,一边在氮气流下搅拌一边在室温下加入丙烯酸苄酯1.68mL(1.78g、10.98mmoL),在80℃下搅拌6小时。

[1950] 反应结束后,进行减压浓缩,对得到的残渣进行山善中压制备(二氧化硅、L(40g)、己烷/乙酸乙酯=70/30(V/V)→50/50(V/V)),对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为无色油状物的标记化合物(2.23g、收率62.64%)。

[1951] MS(ESI)m/z 357$(M+H)^+$

[1952] 参考例3-2

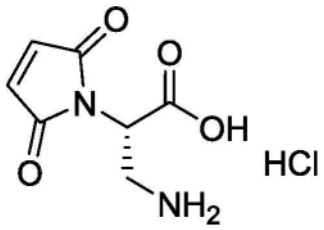
[1953] 

[1954] 在加入到200mL的茄型烧瓶中的参考例3-1(2.23g、6.26mmoL)的乙醇22mL溶液中,一边在氮气氛下搅拌一边加入10重量%钯碳NX类型(含水50重量%、1.30g、0.611mmoL),在氢气氛下在室温下搅拌2小时。

[1955] 反应结束后,用Celite 545(商品名)过滤,用乙醇清洗,进行减压浓缩,由此得到为无色油状物的标记化合物(1.68g、收率定量)。

[1956] MS(ESI)m/z 267$(M+H)^+$

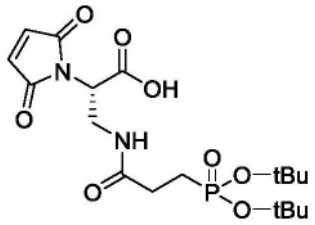
[1957] 参考例3-3

[1958] 

[1959] 在加入到100mL的茄型烧瓶中的(S)-3-((叔丁氧基羰基)氨基)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸(即,(L)-3-((叔丁氧基羰基)氨基)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸)(1.21g、4.26mmoL)(WO2019/195665中记载)的二氯甲烷4mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入4M氯化氢的1,4-二噁烷溶液21.3mL(3.11g、85mmoL),在室温下搅拌1小时。

[1960] 反应结束后,在减压下除去溶剂,在残渣中加入乙酸乙酯,对生成的固体进行过滤。使得到的固体溶解于甲醇,进行减压浓缩,由此得到为淡黄色泡状物的标记化合物(1.17g、收率定量)。

[1961] 参考例3-4

[1962] 

[1963] 在加入到30mL的圆筒型烧瓶中的参考例3-2(0.26g、0.976mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺3mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入三乙胺0.13mL(0.09g、0.933mmoL)及HATU(0.37g、0.973mmoL),在室温下搅拌1小时。将其作为A液。

[1964] 在加入到20mL的圆筒型烧瓶中的参考例3-3(0.21g、0.952mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺3mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入三乙胺0.065mL(0.045g、0.466mmoL),在室温下搅拌10分钟。

[1965] 在上述20mL的圆筒型烧瓶中,在室温下加入A液,在室温下搅拌6小时。

[1966] 反应结束后,在反应溶液中加入水,用膜滤器过滤后,在以下的条件下对得到的溶液进行制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行冷冻干燥,由此得到为无色固体的标记化合物(143.9mg、收率34.96%)。

[1967] MS(ESI)m/z 433$(M+H)^+$

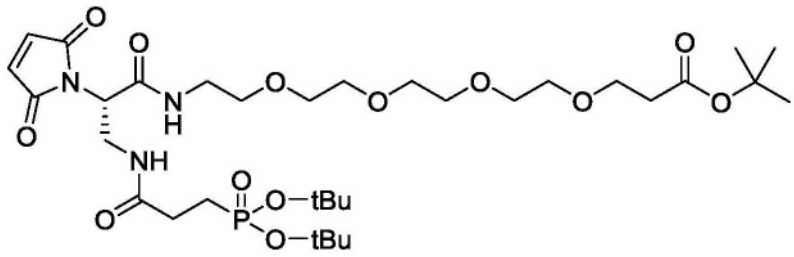
[1968] 柱:Waters XBridge Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[1969] 流速:17mL/min.

[1970] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[1971] 梯度(B液):30%(0.00min.)→36%(5.00min.)

[1972] 参考例3-5

[1973] 

[1974] 在加入到30mL的茄型烧瓶中的参考例3-4(143.8mg、0.333mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺3mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入三乙胺56μL(40.66mg、0.402mmoL)及HATU(152.5mg、0.401mmoL),在室温下搅拌2分钟。接着,在室温下加入1-氨基-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酸叔丁酯(112.5mg、0.350mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺0.5mL溶液,在室温下搅拌1小时。

[1975] 反应结束后,在以下的条件下对反应溶液进行制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行冷冻干燥,由此得到为无色固体的标记化合物(143.5mg、收率58.64%)。

[1976] MS(ESI)m/z 734$(M-H)^-$

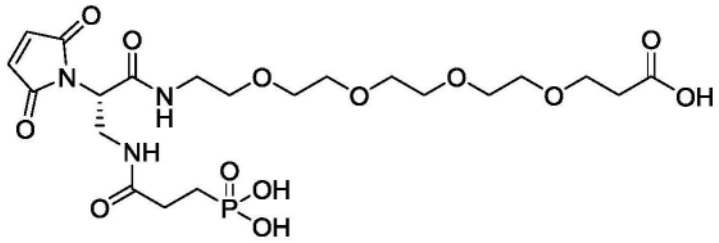
[1977] 柱:Waters SunFire Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[1978] 流速:17mL/min.

[1979] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[1980] 梯度(B液):20%(0.00min.)→60%(8.00min.)

[1981] 参考例3-6

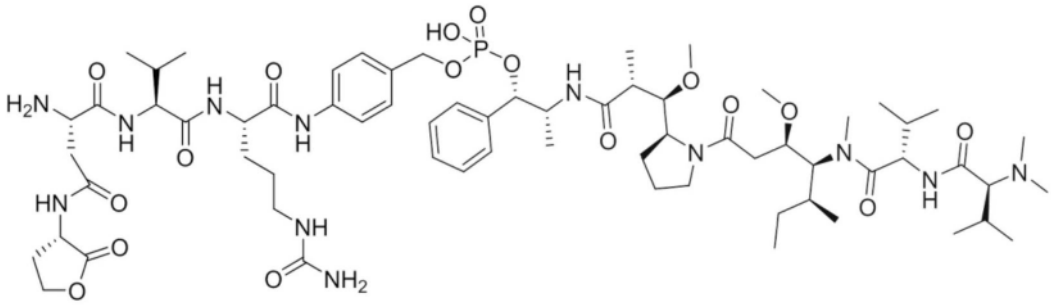
[1982] 

[1983] 在加入到30mL的茄型烧瓶中的参考例3-5(63.3mg、0.086mmoL)的二氯甲烷1.5mL溶液中,一边在氮气流下搅拌一边在室温下加入三氟乙酸150μL(223.35mg、1.959mmoL),在室温下搅拌2.5小时。接着,在室温下加入三氟乙酸0.5mL(744.5mg、6.530mmoL),在室温下搅拌2小时。

[1984] 反应结束后,对反应溶液进行减压浓缩,在残渣中加入乙腈/水(1/1(V/V))2mL,进行冷冻干燥,由此得到为白色固体的标记化合物(56.6mg、收率定量)。

[1985] MS(ESI)m/z 568$(M+H)^+$

[1986] 参考例3-7

[1987] 

[1988] 在加入到100mL的茄型烧瓶中的参考例2-1(340.9mg、0.426mmol)的N,N-二甲基甲酰胺6mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下加入3-((双(二异丙基氨基)膦基)氧基)丙腈255μL(242.25mg、0.804mmoL)及1H-四唑(56.6mg、0.808mmoL),在室温下搅拌15分钟。其后,在室温下加入三氟甲磺酸三异丙基甲硅烷基酯215μL(245.1mg、0.800mmoL),在室温下搅拌30分钟。

[1989] 其后,加入U-010(146mg、0.199mmoL)及5-(乙基硫代)-1H-四唑(109.4mg、0.840mmoL),在室温下搅拌1小时。接着,在冰冷下加入叔丁基过氧化氢330μL(310.2mg、2.409mmoL),在室温下搅拌2小时。

[1990] 其后,在冰冷下加入二氮杂双环十一碳烯600μL(612mg、4.02mmoL),在室温下搅拌1小时。

[1991] 反应结束后,加入二乙基醚50mL,去除上清液。接着加入二乙基醚25mL,去除上清液。接着加入二乙基醚25mL,去除上清液,进行减压干燥。将残渣在以下所示的再循环分离条件下纯化,对含有目标物的组分进行减压,由此得到为无色油状物的标记化合物(185.6mg、收率67.8%)。

[1992] MS(ESI)m/z 1372$(M+H)^+$

[1993] 装置:LC Forte/R(YMC公司)

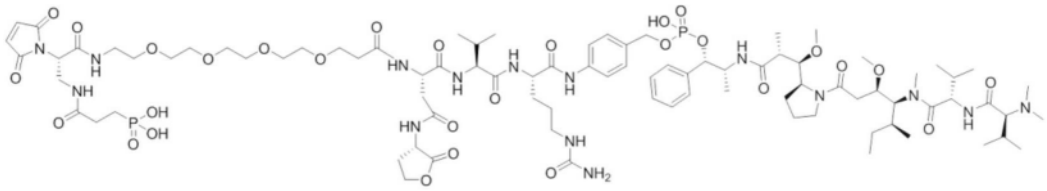
[1994] 柱:Xserect HSS C18 19*150mm、5μm

[1995] 流速:17mL/min.

[1996] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-0.1%甲酸乙腈(B液)

[1997] 溶液组成(B液):50%

[1998] 参考例3

[1999] 

[2000] 在加入到10mL的圆筒型烧瓶中的参考例3-6(11.9mg、0.021mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺600μL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边加入三乙胺9μL(6.53mg、0.065mmoL),接着加入HATU(8.7mg、0.023mmoL),在室温下搅拌5分钟。接着,在室温下加入参考例3-7(12.5mg、9.11μmoL)的N,N-二甲基甲酰胺400μL溶液,在室温下搅拌3小时。

[2001] 反应结束后,将反应液进行减压浓缩。在以下的条件下对得到的残渣进行制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行冷冻干燥,由此得到为白色固体的标记化合物(1.29mg、收率7.37%)。

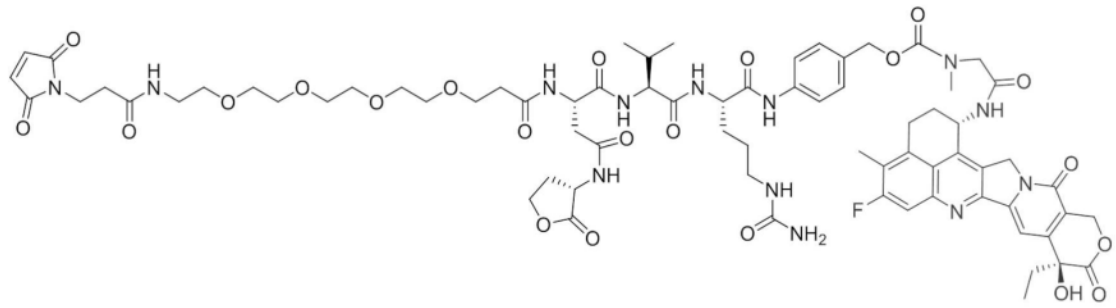
[2002] MS(ESI)m/z 961(M+2H)$^{2+}$

[2003] 柱:Waters XSELECT HSS T3 Prep 5μm ODB 19*150mm流速:17mL/min.

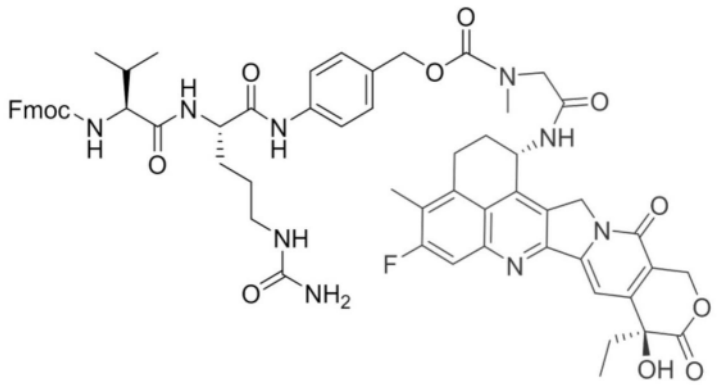
[2004] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[2005] 梯度(B液):20%(0.00min.)→35%(6.00min.)→80%(6.50min.)→80%(9.00min.)

[2006] 参考例4的合成

[2007] 

[2008] 参考例4-1

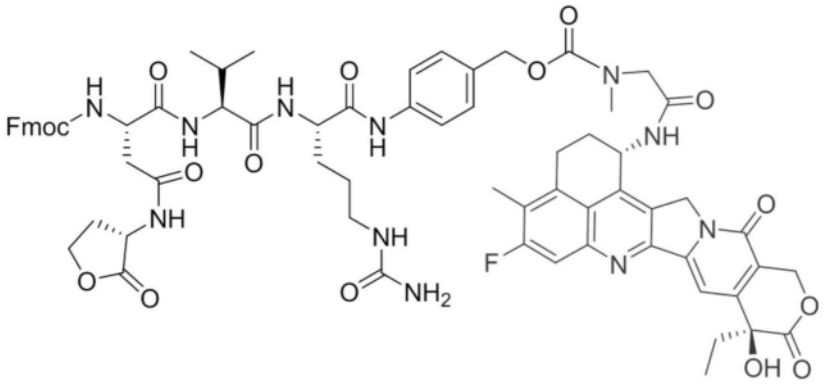
[2009] 

[2010] 代替Fmoc-(L)-Val-(L)－Cit-PAB-PNP(Angene公司制造)(263.5mg、0.344mmoL)、及MMAE,使用U－003的游离体的甲酸盐(167.8mg、0.304mmoL),与参考例1-4同样地使其反

应,由此得到为浅茶色固体的标记化合物的粗制物(390mg、收率定量)。

[2011] MS(ESI)m/z 1134(M+H)$^+$

[2012] 参考例4-2

[2013] 

[2014] 在加入到30mL的圆筒型烧瓶中的参考例4-1(103.3mg、0.091mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺2mL溶液中,一边在氮气流下搅拌一边在室温下加入哌啶87μL(74.99mg、0.881mmoL),在室温下搅拌0.5小时后,在减压下除去溶剂。

[2015] 在得到的残渣中在室温下加入参考例1-2(115.5mg、0.263mmoL)、三乙胺72μL(53.42mg、0.528mmoL)、N,N-二甲基甲酰胺2mL、及HATU(106.4mg、0.280mmoL),在室温下搅拌10分钟。接着,在室温下加入参考例1-2(115.5mg、0.263mmoL)、三乙胺72μL(53.42mg、0.528mmoL)、及HATU(106.4mg、0.280mmoL),在室温下搅拌2分钟。

[2016] 在以下的条件下对反应液进行制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行冷冻干燥,由此得到为白色固体的标记化合物(57.1mg、收率47.05%)。

[2017] MS(ESI)m/z 1333(M+H)$^+$

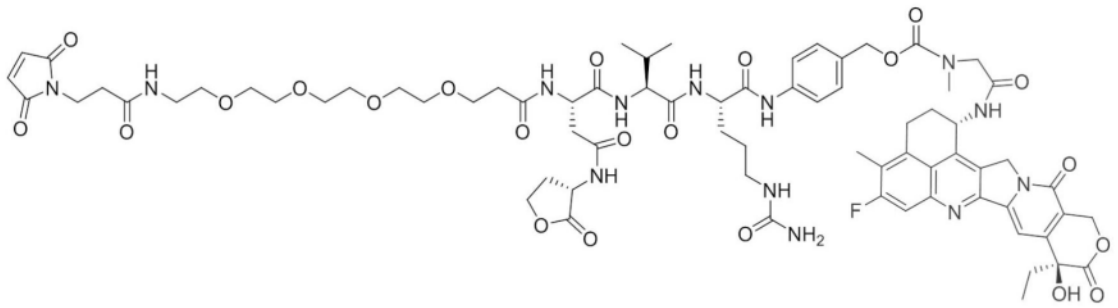
[2018] 柱:Waters SunFire Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[2019] 流速:17mL/min.

[2020] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[2021] 梯度(B液):30%(0.00min.)→80%(10.00min.)

[2022] 参考例4

[2023] 

[2024] 在加入到5mL的样品管中的参考例4-2(10.0mg、7.51μmoL)的N,N-二甲基甲酰胺0.4mL溶液中,一边在氮气流下搅拌一边在室温下加入哌啶4μL(3.44mg、0.040mmoL),在室温下搅拌1小时后,在减压下除去溶剂。

[2025] 在残渣中加入N,N-二甲基甲酰胺0.4mL,一边搅拌一边加入包含1-马来酰亚胺-3-氧代-7,10,13,16-四氧杂-4-氮杂十九烷酸N-琥珀酰亚胺基酯(15.4mg、0.030mmoL)的乙腈0.4mL溶液,搅拌1小时。接着,加入三乙胺4μL(2.9mg、0.029mmoL),搅拌1小时。

[2026] 反应结束后,在反应液中加入50％乙腈水溶液3mL,在以下的条件下进行制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行冷冻干燥,由此得到为无色固体的标记化合物(5.3mg、收率46.81％)。

[2027] MS(ESI)m/z 755(M+2H)$^{2+}$

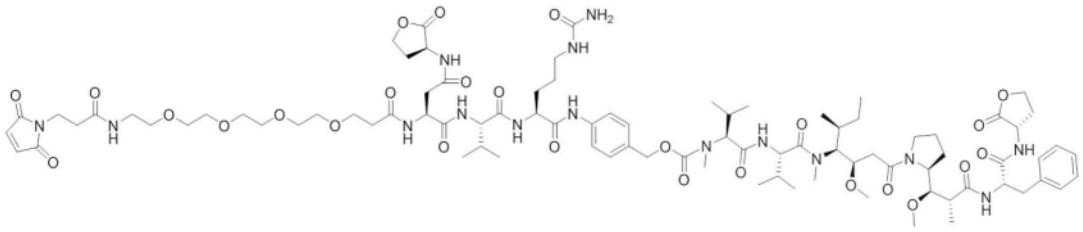
[2028] 柱:Waters SunFire Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[2029] 流速:17mL/min.

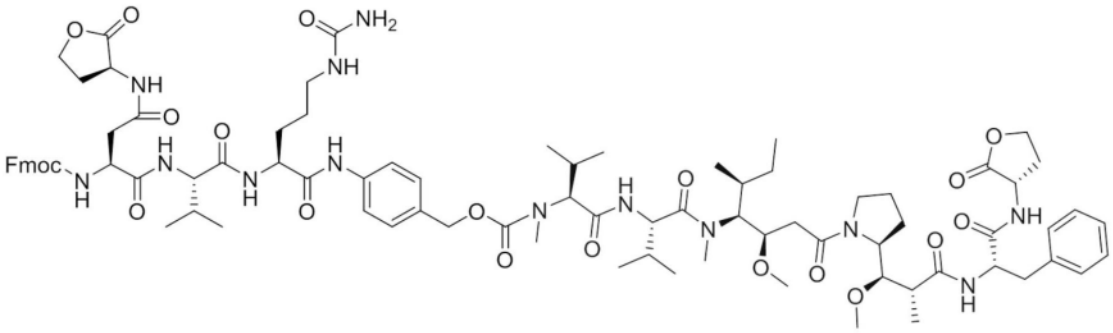
[2030] 洗脱溶剂:0.1％甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[2031] 梯度(B液):30％(0.00min.)→60％(10.00min.)

[2032] 参考例5的合成

[2033] 

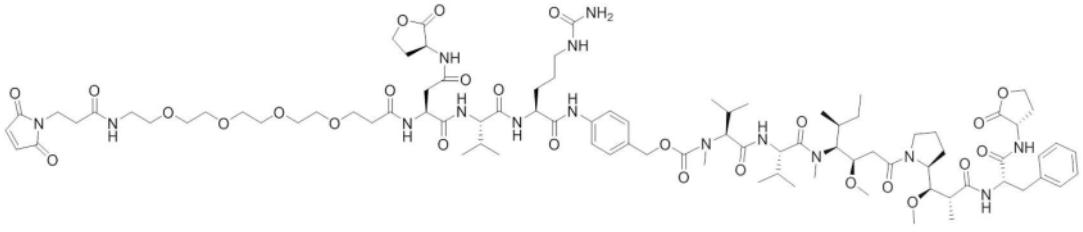
[2034] 参考例5-1

[2035] 

[2036] 代替参考例2-2(343.0mg、0.356mmoL)、及U-30,使用U-029(290mg、0.356mmoL),与参考例2-3同样地反应,得到为无色油状物的标记化合物(49.7mg、收率8.51％)。

[2037] MS(DUIS)m/z 821(M+2H)$^{2+}$

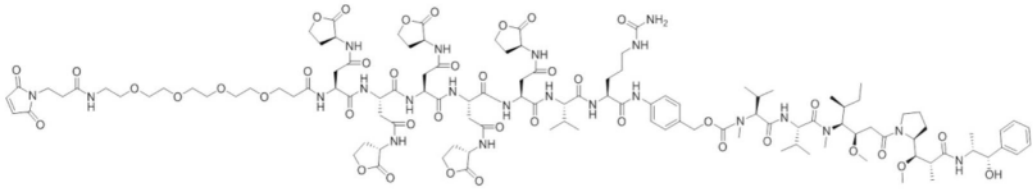
[2038] 参考例5

[2039] 

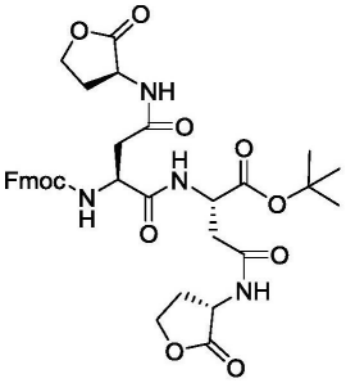
[2040] 使用1-马来酰亚胺-3-氧代-7,10,13,16-四氧杂-4-氮杂十九烷酸N-琥珀酰亚胺基酯(47mg、0.092mmoL)、及代替参考例4-2的参考例5-1(25mg、0.015mmoL),与参考例4同样地反应,得到为白色固体的标记化合物(21.0mg、收率75.86％)。

[2041] MS(DUIS)m/z 1815(M-H)$^{-}$

[2042] 参考例6的合成

[2043] 

[2044] 参考例6-1

[2045] 

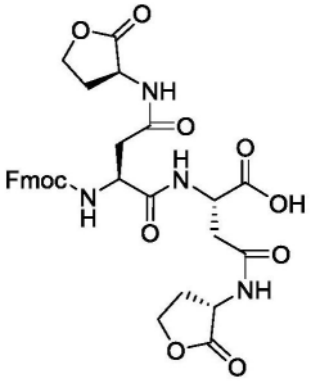
[2046] 在加入到20mL的圆筒管中的参考例1-1(0.49g、0.991mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺5mL溶液中,一边在氮气流下搅拌一边在室温下加入二氮杂双环十一碳烯75μL(0.08g、0.498mmoL),在室温下搅拌1小时。将其作为反应溶液A。

[2047] 另外在加入到20mL的圆筒型烧瓶中的参考例1-2(0.44g、1.004mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺3mL溶液中,一边在氮气流下搅拌一边在室温下加入上述反应溶液A、接着加入三乙胺0.28mL(0.2g、2.009mmoL)、HATU(0.46g、1.210mmoL),在室温下搅拌1小时。

[2048] 反应结束后,在反应溶液中加入叔丁基甲基醚8mL,加入1当量盐酸2.5mL、接着加入水8mL,在室温下搅拌10分钟。过滤析出物,水洗、利用叔丁基甲基醚清洗,由此得到为无色固体的标记化合物(0.53g、收率77.22%)。

[2049] MS(ESI)m/z 693$(M+H)^+$

[2050] 参考例6-2

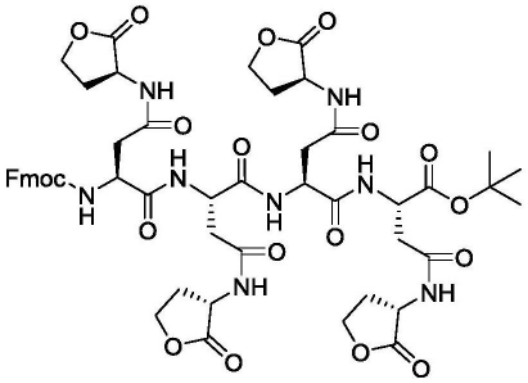
[2051] 

[2052] 使加入到30mL的圆筒管中的参考例6-1(0.21g、0.303mmoL)溶解于二氯甲烷2mL中,接着加入三氟乙酸2mL,在室温下搅拌1小时。

[2053] 反应结束后,减压馏去溶剂,在得到的残渣中加入乙腈3mL,滤取析出的固体,用乙腈清洗,由此得到为无色固体的标记化合物(0.21g、收率定量)。

[2054] MS(ESI)m/z 637$(M+H)^+$

[2055] 参考例6-3

[2056] 

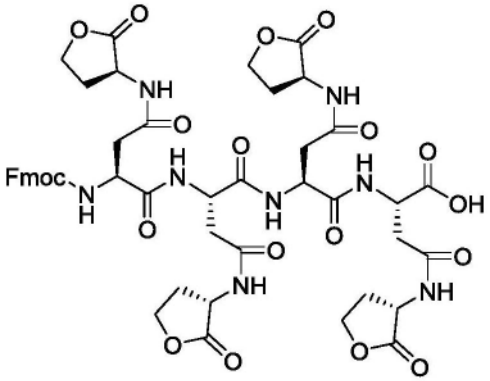
[2057] 在加入到20mL的圆筒管中的参考例6-1(0.21g、0.303mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺2mL溶液中,一边在氮气流下搅拌一边加入二氮杂双环十一碳烯23μL(0.02g、0.153mmoL),在室温下搅拌1小时。将其作为反应溶液A。

[2058] 在加入到别的20mL的圆筒管中的参考例6-2(0.22g、0.306mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺2mL溶液中,一边在氮气流下搅拌一边在室温下加入反应溶液A、三乙胺85μL(0.06g、0.610mmoL)、及HATU(0.14g、0.368mmoL),在室温下搅拌1小时。

[2059] 反应结束后,在反应溶液中加入叔丁基甲基醚10mL、1当量盐酸0.76mL、及水10mL,在室温下搅拌10分钟。过滤析出的固体,用水及叔丁基甲基醚清洗,进行干燥,由此得到为无色固体的标记化合物(0.31g、收率93.89%)。

[2060] MS(ESI)m/z 1089$(M+H)^+$

[2061] 参考例6-4

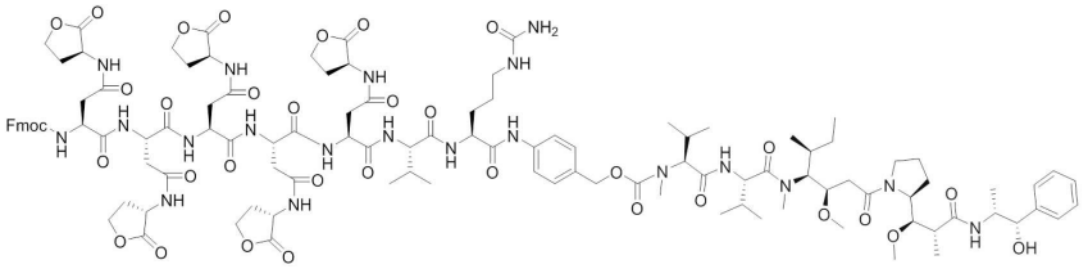
[2062] 

[2063] 在加入到30mL的圆筒管中的参考例6-3(10.0mg、9.18μmoL)中,一边在氮气流下搅拌一边在室温下加入三氟乙酸0.1mL,在室温下搅拌1小时。

[2064] 反应结束后,将溶剂进行减压浓缩,在得到的残渣中加入乙腈0.3mL,过滤析出的固体,用乙腈清洗,进行干燥,由此得到为无色固体的标记化合物(8.4mg、收率88.56%)。

[2065] MS(ESI)m/z 1033$(M+H)^+$

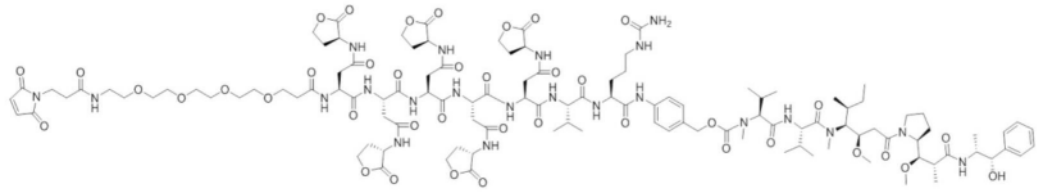
[2066] 参考例6-5

[2067] 

[2068] 代替参考例1-5,使用参考例1-7(6.9mg、5.22μmoL),及代替参考例1-2,使用参考例6-4(6.6mg、6.39μmoL),与参考例1-7同样地反应,得到为无色泡状物的标记化合物(6.76mg、收率55.41%)。

[2069] MS(ESI)m/z 1169(M+2H)$^{2+}$

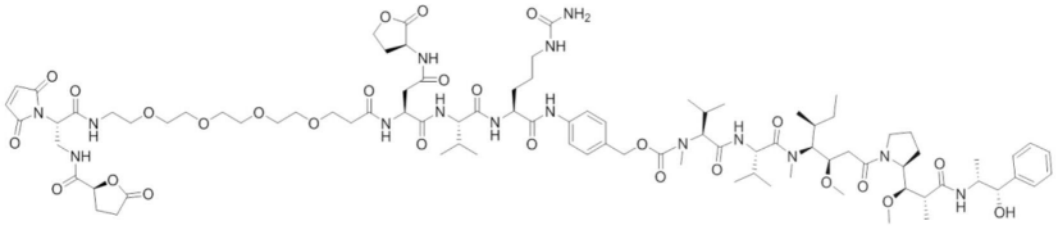
[2070] 参考例6

[2071] 

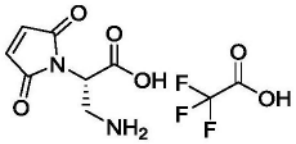
[2072] 使用1-马来酰亚胺-3-氧代-7,10,13,16-四氧杂-4-氮杂十九烷酸N-琥珀酰亚胺基酯(7.2mg、0.014mmoL)、及代替参考例4-2的参考例6-5(5.3mg、2.268μmoL),与参考例4同样地反应,得到为无色固体的标记化合物(2.62mg、收率45.97%)。

[2073] MS(ESI)m/z 1257(M+2H)$^{2+}$

[2074] 参考例7的合成

[2075] 

[2076] 参考例7-1

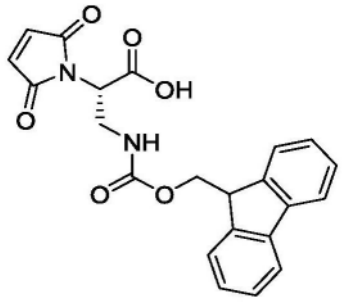
[2077] 

[2078] 在加入到100mL的茄型烧瓶中的(S)-3-((叔丁氧基羰基)氨基)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸(即,(L)-3-((叔丁氧基羰基)氨基)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸)(1.20g、4.22mmoL)(WO2019/195665中记载)的二氯甲烷50mL溶液中,一边在氮气氛下搅拌一边在室温下加入三氟乙酸3.24mL,在室温下搅拌4小时。

[2079] 反应结束后,对反应溶液进行减压浓缩,加入二乙基醚20mL,过滤析出的固体,用二乙基醚清洗,进行干燥,由此得到为驼色固体的标记化合物(0.9734g、收率77.33%)。

[2080] MS(ESI)m/z 185(M+H)$^{+}$

[2081] 参考例7-2

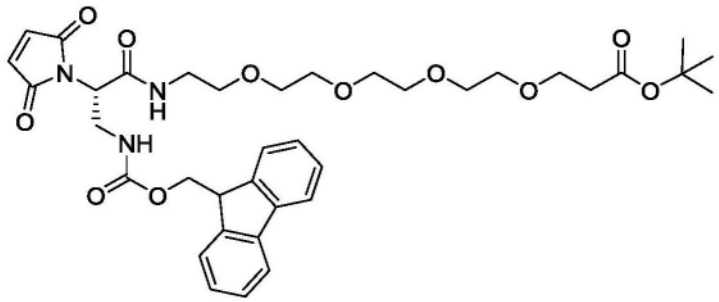
[2082] 

[2083] 在加入到100mL的茄型烧瓶中的参考例7-1(591mg、1.982mmoL)及(9H-芴-9-基)甲基氯甲酸酯(536mg、2.072mmoL)的四氢呋喃10mL溶液中,一边在空气气氛下搅拌一边在0℃下加入包含碳酸氢钠(973mg、11.58mmoL)的水溶液5mL,在室温下搅拌1小时。

[2084] 反应结束后,在反应溶液中加入10重量%的柠檬酸水溶液,用乙酸乙酯萃取。对得到的残渣进行山善中压制备(二氧化硅、L(40g)、乙酸乙酯/甲醇＝100/0(V/V)→60/40(V/V)(Rf＝0.13(乙酸乙酯/甲醇＝95/5(V/V))),对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为白色泡状物的标记化合物(761mg、收率94.48%)。

[2085] MS(ESI)m/z 407$(M+H)^+$

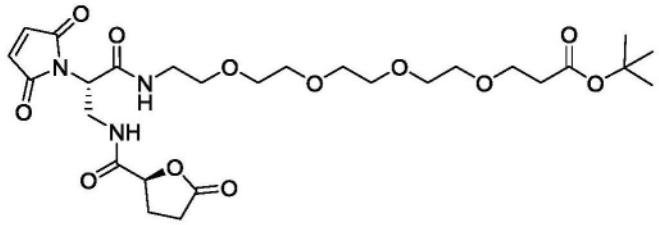
[2086] 参考例7-3

[2087] 

[2088] 使用1-氨基-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酸叔丁酯(477mg、1.484mmoL)、及代替参考例3-4的参考例7-2(692mg、1.703mmoL),与参考例3-5同样地反应,得到为橙色油状物的标记化合物(918mg、收率87.15%)。

[2089] MS(ESI)m/z 710$(M+H)^+$

[2090] 参考例7-4

[2091] 

[2092] 在加入到30mL圆筒型烧瓶中的参考例7-3(780mg、1.099mmoL)的二氯甲烷12mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入二氮杂双环十一碳烯75μL(75.75mg、0.498mmoL),在室温下搅拌40分钟。将其作为反应溶液A。

[2093] 在加入到另外的100mL茄型烧瓶中的(S)-5-氧代四氢呋喃-2-羧酸(211mg、1.622mmoL)及1-羟基苯并三唑(223mg、1.650mmoL)的二氯甲烷12mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入上述反应溶液A及1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸

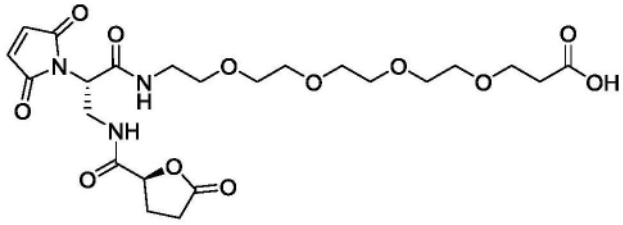
盐(320mg、1.669mmoL),在室温下搅拌1小时。

[2094] 反应结束后,在反应溶液中加入5重量%柠檬酸水溶液10mL,用二氯甲烷萃取。接着用饱和食盐水5mL清洗,用无水硫酸镁进行干燥,过滤,进行减压浓缩。

[2095] 对得到的残渣进行山善中压制备(COOH,M(16g)2连接、二氯乙烷/甲醇=100/0(V/V)→92/8(V/V)),对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为浅茶色油状物的标记化合物(187mg、收率28.38%)。

[2096] MS(ESI)m/z 598$(M-H)^-$

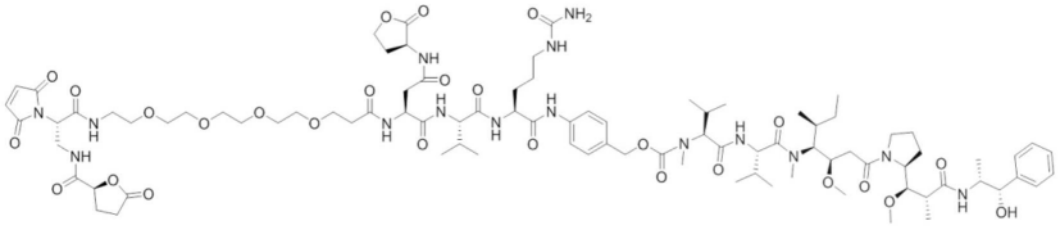
[2097] 参考例7-5

[2098] 

[2099] 代替参考例3-5,使用参考例7-4(21mg、0.035mmoL),与参考例3-6同样地反应,得到为微黄色油状物的标记化合物(20mg、收率定量)。

[2100] MS(ESI)m/z 544$(M+H)^+$

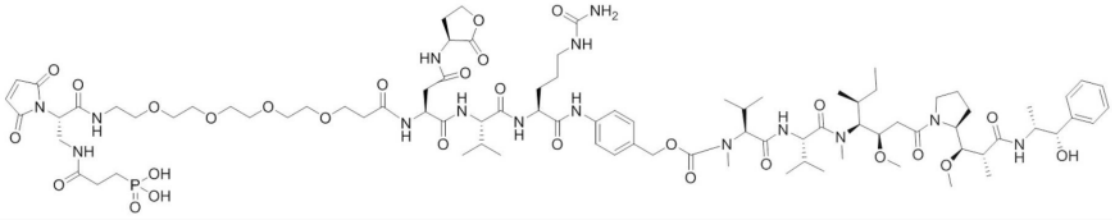
[2101] 参考例7

[2102] 

[2103] 代替参考例3-7,使用参考例1-7(18mg、0.014mmoL),及代替参考例3-6,使用参考例7-5(20mg、0.037mmoL),与参考例3同样地反应,得到为白色固体的标记化合物(14.2mg、收率56.44%)。

[2104] MS(ESI)m/z 924$(M+2H)^{2+}$

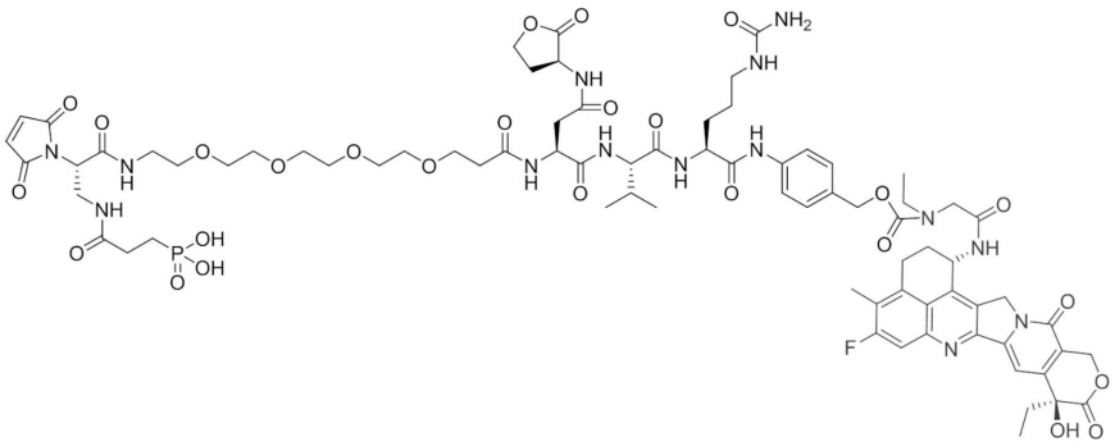
[2105] 参考例8的合成

[2106] 

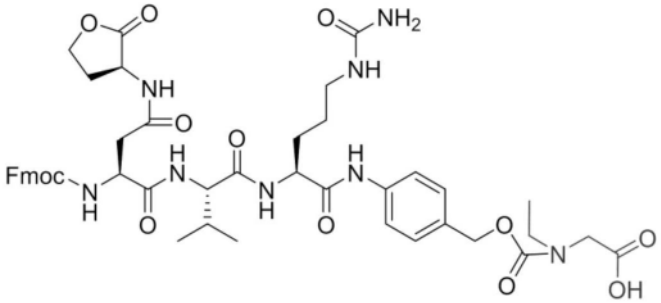
[2107] 使用参考例3-6(6.10mg、10.75μmoL)、及代替参考例3-7的参考例1-7(14.33mg、10.84μmoL),与参考例3同样地反应,得到为白色固体的标记化合物(5.91mg、收率29.38%)。

[2108] MS(ESI)m/z 936$(M+2H)^{2+}$

[2109] 参考例9的合成

[2110] 

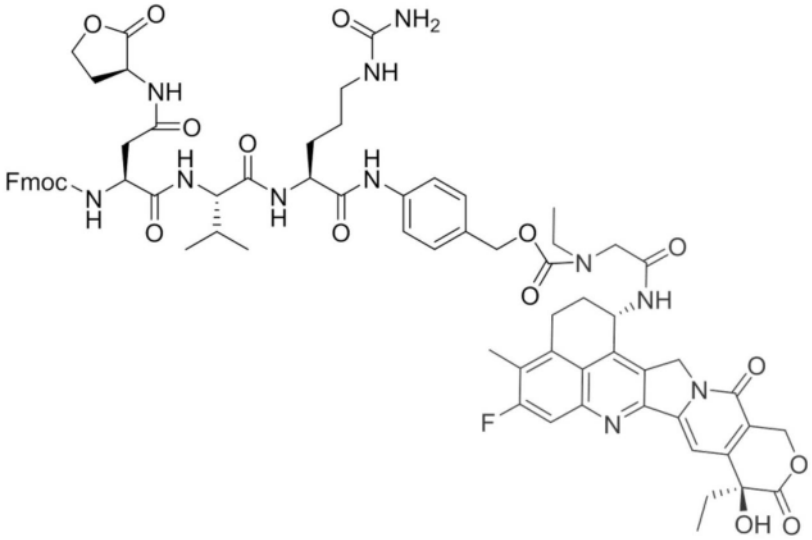
[2111] 参考例9-1

[2112] 

[2113] 使用参考例2-2(198.0mg、0.205mmoL)、及代替U-030的乙基甘氨酸(25.9mg、0.251mmoL),与参考例2-3同样地反应,得到为微黄色固体的标记化合物(80.5mg、收率42.23%)。

[2114] MS(ESI)m/z 929$(M+H)^+$

[2115] 参考例9-2

[2116] 

[2117] 在加入到10mL圆筒型烧瓶中的依喜替康甲磺酸盐(65.3mg、0.123mmoL)、参考例9-1(125mg、0.135mmoL)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(46.9mg、0.245mmoL)、及1-羟基苯并三唑(18.7mg、0.122mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺0.2mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下加入三乙胺0.034mL(24.68mg、0.244mmoL),在室温下搅拌12小时。

[2118] 对得到的反应液进行以下的条件的制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行减压浓缩而馏去乙腈后,进行冷冻干燥,由此得到为无色固体的标记化合物(80.3mg、收率48.55%)。

[2119] MS(DUIS)m/z 673(M+2H)$^{2+}$

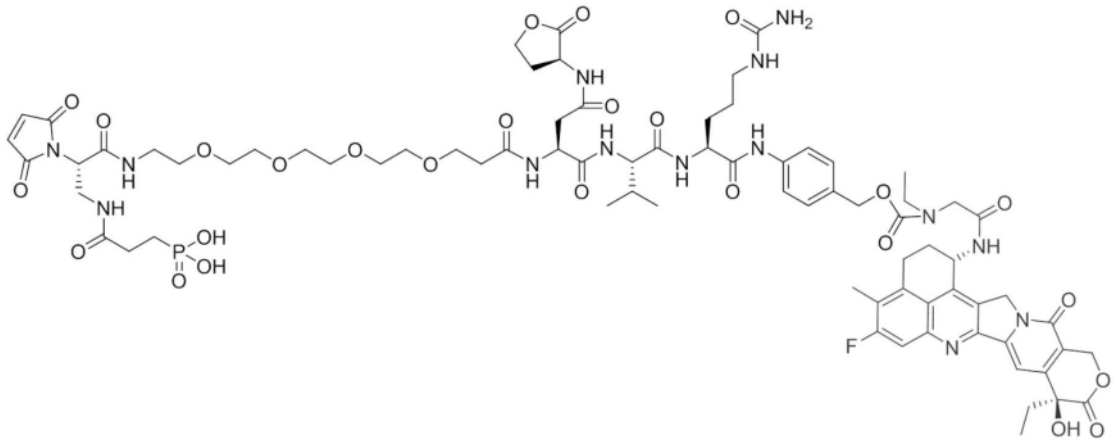
[2120] 柱:Waters SunFire Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[2121] 流速:17mL/min.

[2122] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[2123] 梯度(B液):50%(0.00min.)→62%(6.00min.)

[2124] 参考例9

[2125] 

[2126] 在加入到5mL的样品管中的参考例9-2(12.1mg、8.99μmoL)的N,N-二甲基甲酰胺0.8mL溶液中,一边在空气流下搅拌一边在室温下加入哌啶1.74μL(1.5mg、0.018mmoL),在室温下搅拌1小时后,在减压下除去溶剂。

[2127] 在残渣中加入N,N-二甲基甲酰胺0.8mL,一边搅拌一边加入参考例3-6(10.1mg、0.018mmoL)、HATU(8.2mg、0.022mmoL)及N,N-二异丙基乙基胺11μL(8.14mg、0.063mmoL),在室温下搅拌30分钟。

[2128] 反应结束后,在反应液中加入50%乙腈水溶液5mL,在以下的条件下进行制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行冷冻干燥,由此得到为白色固体的标记化合物(4.7mg、收率31.25%)。

[2129] MS(ESI)m/z 837(M+2H)$^{2+}$

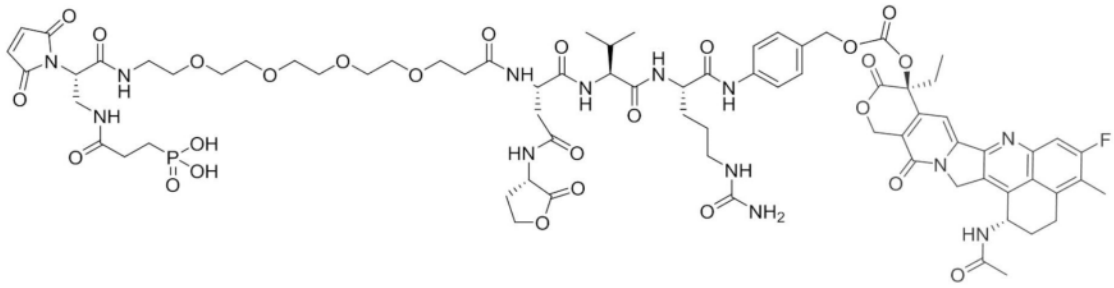
[2130] 柱:Waters XBridge Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[2131] 流速:17mL/min.

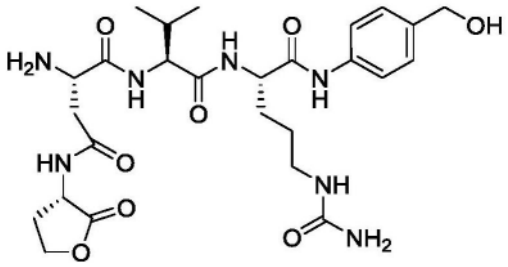
[2132] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[2133] 梯度(B液):20%(0.00min.)→20%(2.00min.)→70%(8.00min.)

[2134] 参考例10的合成

[2135] 

[2136] 参考例10-1

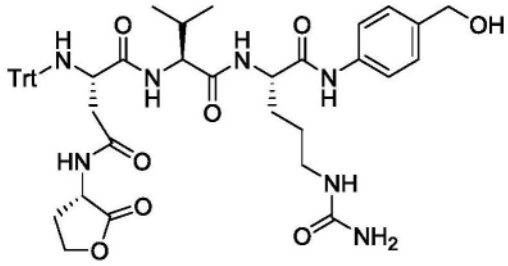
[2137] 

[2138] 在加入到200mL茄型烧瓶中的参考例2-1(4.7g、5.88mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺50mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入哌啶1.45mL(1.25g、14.64mmoL),在室温下搅拌1小时。接着,在搅拌下在室温下加入哌啶0.29mL(0.25g、2.93mmoL),在室温下搅拌2小时后,在减压下除去溶剂。

[2139] 反应结束后,在残渣中加入乙酸乙酯及二乙基醚,滤取生成的固体,在50℃下进行4小时减压干燥,由此得到为白色固体的标记化合物(4.98g、收率定量)。

[2140] MS(ESI)m/z 578$(M+H)^+$

[2141] 参考例10-2

[2142] 

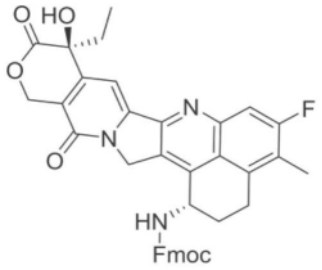
[2143] 在加入到300mL茄型烧瓶中的参考例10-1(4.24g、7.34mmoL)及无水碳酸钾(1.52g、11.00mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺60mL中加入水0.3mL。一边在空气气氛下搅拌一边在室温下加入三苯甲基氯(1.03g、3.69mmoL),在室温下搅拌0.5小时。接着,在搅拌下在室温下加入三苯甲基氯(1.03g、3.69mmoL),在室温下搅拌0.5小时。接着,在搅拌下在室温下加入三苯甲基氯(1.01g、3.62mmoL),在室温下搅拌0.5小时。接着,在搅拌下在室温下加入水0.3mL及三苯甲基氯(0.496g、1.779mmoL),在室温下搅拌15分钟。

[2144] 在反应液中加入乙酸乙酯100mL、二乙基醚50mL、四氢呋喃25mL,接着加入水75mL、及饱和食盐水25mL并搅拌,进行分液。使得到的水层浓缩后,再次用乙酸乙酯萃取。合并上述有机层,用饱和食盐水清洗,用无水硫酸镁进行干燥,过滤,进行减压浓缩。

[2145] 在得到的残渣中加入四氢呋喃、乙酸乙酯、二乙基醚、及己烷进行滤取,用叔丁基甲基醚清洗固体,由此得到为白色固体的标记化合物(2.69g、收率44.69%)。

[2146] MS(ESI)m/z 820$(M+H)^+$

[2147] 参考例10-3

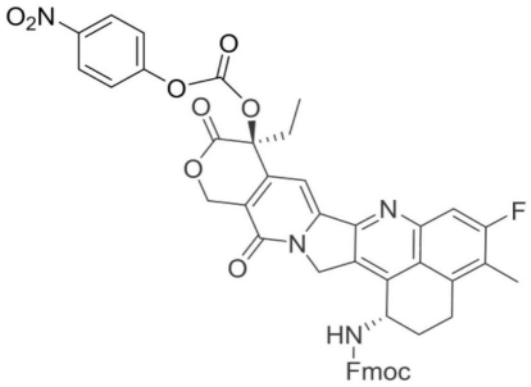
[2148] 

[2149] 在加入到300mL茄型烧瓶中的依喜替康甲磺酸盐(1.60g、3.01mmoL)的乙腈90mL和水30mL混合溶液中,一边在氮气氛下搅拌一边在室温下加入碳酸氢钠(1.26g、15.00mmoL)及(9H-芴-9-基)甲基氯甲酸酯(0.93g、3.59mmoL),在室温下搅拌2.5小时。

[2150] 反应结束后,在反应溶液中加入水150mL,在冰冷下搅拌10分钟。分离析出的固体,进行减压干燥,由此得到为微黄色固体的标记化合物(1.91g、收率96.48%)。

[2151] MS(ESI)m/z 658$(M+H)^+$

[2152] 参考例10-4

[2153] 

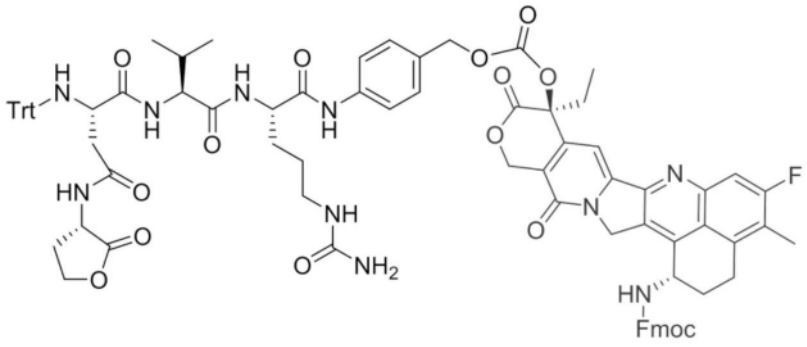
[2154] 在加入到500mL茄型烧瓶中的参考例10-3(6.44g、.79mmoL)的二氯甲烷200mL溶液中,一边在氮气氛下搅拌一边在室温下加入4-硝基苯基氯甲酸酯(5.92g、29.4mmoL)、三乙胺5.45mL(3.96g、39.1mmoL)、及4-二甲基氨基吡啶(1.79g、14.65mmoL),在室温下搅拌4小时。

[2155] 反应结束后,在反应溶液中加入0.2当量盐酸120mL、二氯甲烷150mL、及水100mL,进行Celite过滤,分离有机层。

[2156] 将有机层用无水硫酸镁进行干燥,过滤,进行减压浓缩。对得到的残渣进行山善中压制备(二氧化硅、L(40g)、己烷/乙酸乙酯=50/50(V/V)→0/100(V/V),对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为茶色固体的标记化合物(5.06g、收率62.81%)。

[2157] MS(ESI)m/z 823$(M+H)^+$

[2158] 参考例10-5

[2159] 

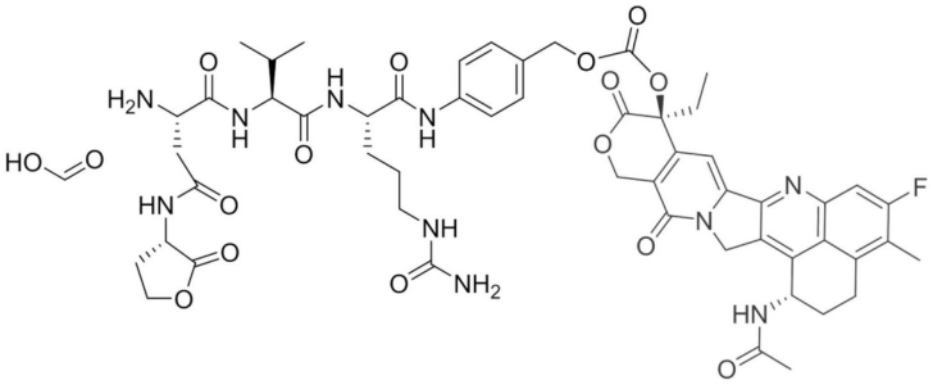
[2160] 在加入到500mL茄型烧瓶中的参考例10-4(3.56g、4.33mmoL)的二氯甲烷108mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入参考例10-2(3.25g、3.96mmoL)、三乙胺1.22mL(0.89g、8.75mmoL)、及4-二甲基氨基吡啶(1.02g、8.35mmoL),在室温下搅拌7.5小时。

[2161] 反应结束后,在反应溶液中加入饱和食盐水,用二氯甲烷萃取该混合溶液,将有机层进行减压浓缩。

[2162] 对得到的残渣进行山善中压制备(二氧化硅、3L(135g)、乙酸乙酯/甲醇=100/0(V/V)→70/30(V/V)(Rf=0.22(乙酸乙酯/甲醇=90/10(V/V)),对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为微黄色固体的标记化合物(1.86g、收率31.21%)。

[2163] MS(ESI)m/z 1262(M+H-Trt)$^+$

[2164] 参考例10-6

[2165] 

[2166] 在加入到10mL圆筒型烧瓶中的参考例10-5(15mg、9.98μmoL)的N,N-二甲基甲酰胺1mL溶液中,一边在空气气氛下搅拌一边在室温下加入哌啶10μL(8.6mg、0.101mmoL),在室温下搅拌1小时。

[2167] 对反应溶液进行减压浓缩,在残渣中加入二氯甲烷1mL,在搅拌下在室温下加入三乙胺4μL(2.9mg、0.029mmoL)、接着加入乙酸酐3.0μL(3.24mg、0.032mmoL),在室温下搅拌36小时。

[2168] 将溶剂进行减压浓缩,在残渣中加入N,N-二甲基甲酰胺1mL。接着,在搅拌下在室温下加入甲酸0.50mL(600mg、13.04mmoL),在室温下搅拌1小时。

[2169] 对得到的残渣进行以下的条件的制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行冷冻干燥,由此得到为无色固体的标记化合物(4.9mg、收率43.58%)。

[2170] MS(ESI)m/z 1081(M+H)$^+$

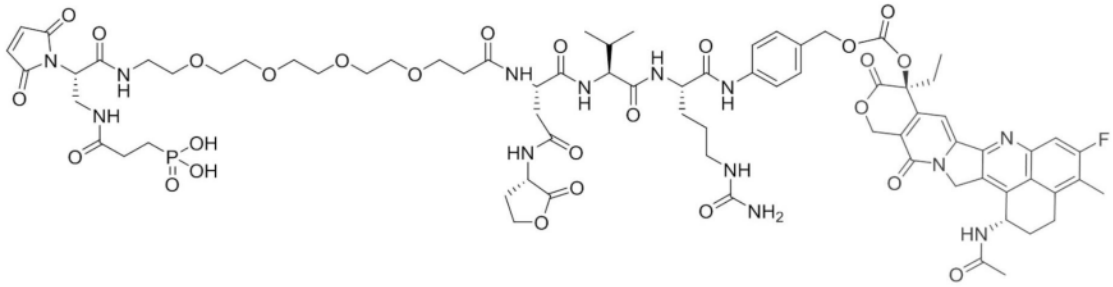
[2171] 柱:Waters XBridge Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[2172] 流速:17mL/min.

[2173] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[2174] 梯度(B液):20%(0.00min.)→60%(10.00min.)

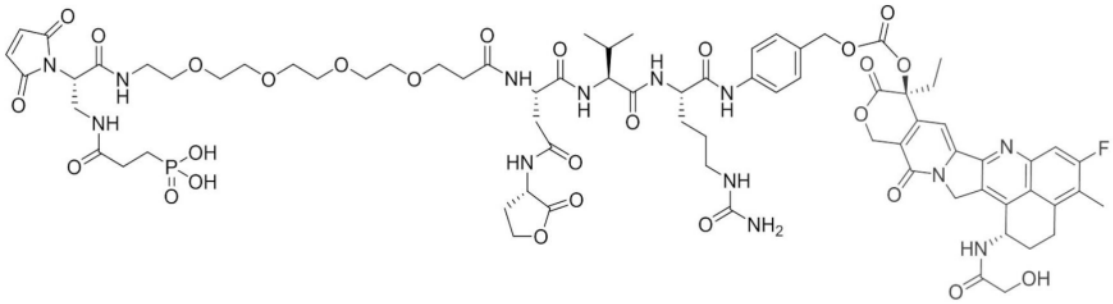
[2175] 参考例10

[2176] 

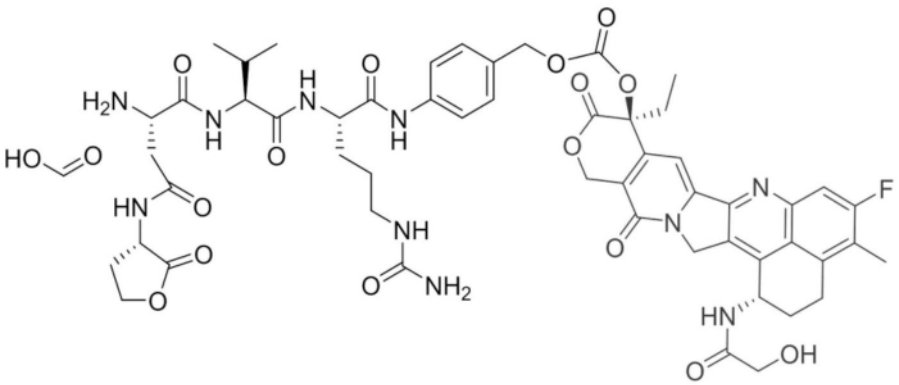
[2177] 使用参考例3-6(16.1mg、0.028mmoL)、及代替参考例3-7的参考例10-6(4.9mg、4.35μmoL),与参考例3同样地反应,得到为白色固体的标记化合物(4.1mg、收率57.84%)。

[2178] MS(ESI)m/z 816$(M+2H)^{2+}$

[2179] 参考例11的合成

[2180] 

[2181] 参考例11-1

[2182] 

[2183] 在加入到30mL茄型烧瓶中的参考例10-5(66.8mg、0.044mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺2mL溶液中,一边在空气气氛下搅拌一边在室温下加入哌啶22μL(18.92mg、0.222mmoL),在室温下搅拌1小时。

[2184] 对反应溶液进行减压浓缩,在残渣中加入N,N-二甲基甲酰胺2mL,在搅拌下在室温下加入三乙胺19μL(13.79mg、0.136mmoL)、接着加入2-羟基乙酸(10.1mg、0.133mmoL)及HATU(50.7mg、0.133mmoL),在室温下搅拌3小时。

[2185] 接着,在室温下加入甲酸1mL(1200mg、26.1mmoL),在室温下搅拌1小时。

[2186] 对得到的残渣进行以下的条件的制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行冷冻

干燥,由此得到为浅茶色固体的标记化合物(30.6mg、收率60.25%)。

[2187] MS(ESI)m/z 1097(M+H)$^{+}$

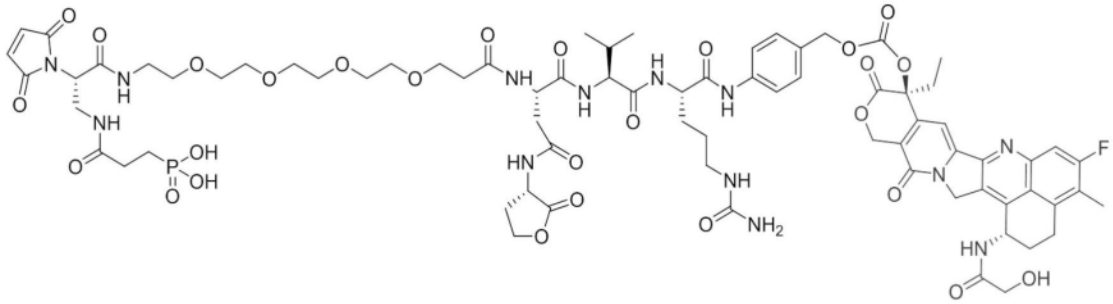
[2188] 柱:Waters XBridge Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[2189] 流速:17mL/min.

[2190] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[2191] 梯度(B液):20%(0.00min.)→60%(10.00min.)

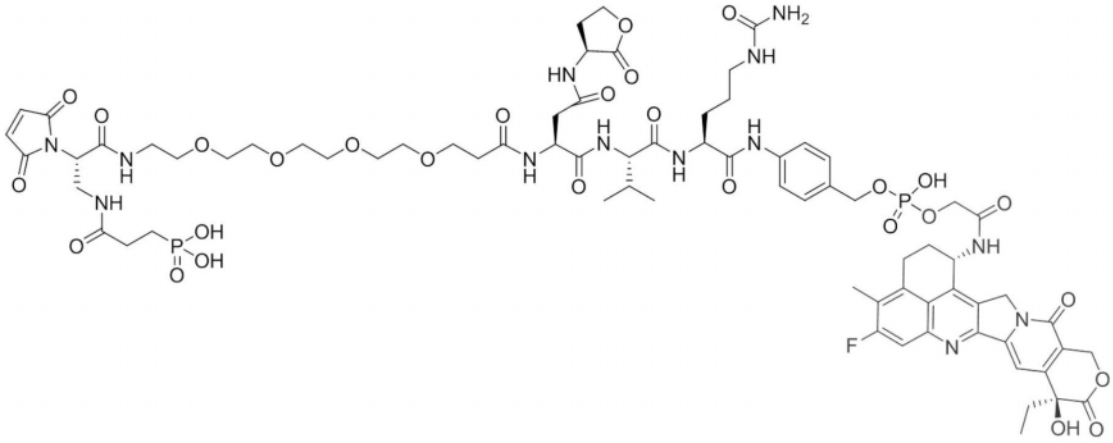
[2192] 参考例11

[2193] 

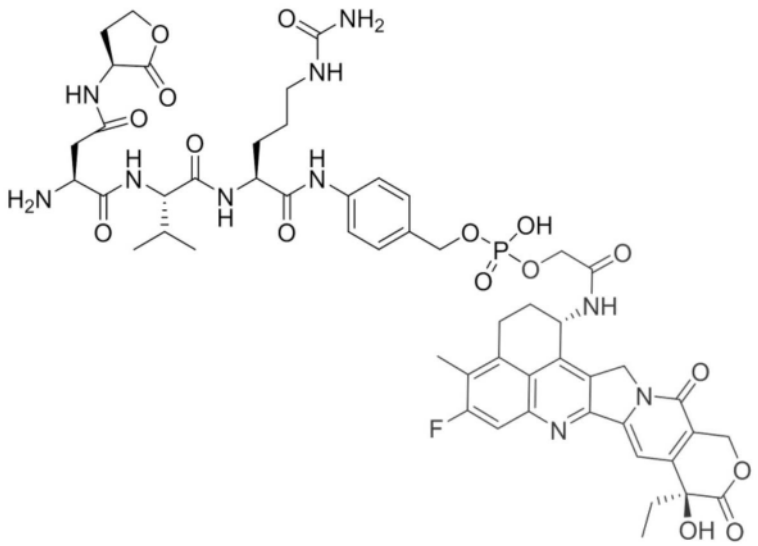
[2194] 使用参考例3-6(16.5mg、0.029mmoL)、及代替参考例3-7的参考例11-1(6.6mg、5.77μmoL),与参考例3同样地反应,得到为白色固体的标记化合物(3.6mg、收率37.87%)。

[2195] MS(ESI)m/z 824(M+2H)$^{2+}$

[2196] 参考例12的合成

[2197] 

[2198] 参考例12-1

[2199] 

[2200] 在加入到50mL的茄型烧瓶中的参考例2-1(162.2mg、0.203mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺3mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下加入2-氰基乙基N,N,N',N'-四异丙基亚磷酰二胺130μL(123.5mg、0.410mmoL)及1H-四唑(29.8mg、0.425mmoL),在室温下搅拌15分钟。其后,在室温下加入三氟甲磺酸三异丙基甲硅烷基酯110μL(125.4mg、0.409mmoL),在室温下搅拌30分钟。

[2201] 其后,加入DXd(100.7mg、0.204mmoL)及5-(乙基硫代)-1H-四唑(53.8mg、0.413mmoL),在室温下搅拌1小时。接着,在室温下加入70%叔丁基过氧化氢水溶液170μL(159.8mg、1.241mmoL),在室温下搅拌1.6小时。

[2202] 其后,在冰冷下加入二氮杂双环十一碳烯300μL(306mg、2.01mmoL),在室温下搅拌1.5小时。

[2203] 反应结束后,加入二乙基醚30mL,去除上清液。接着加入二乙基醚15mL,去除上清液。接着加入二乙基醚15mL,去除上清液。接着加入乙腈20mL,去除上清液。接着加入乙腈10mL,去除上清液。接着加入二乙基醚20mL,去除上清液,减压干燥,得到标记化合物的粗制物。将该粗制物在以下所示的再循环分离条件下纯化,对含有目标物的组分进行减压,由此得到为驼色固体的标记化合物(39.8mg、收率17.32%)。

[2204] MS(ESI)m/z 1133$(M+H)^+$

[2205] 装置:LC Forte/R(YMC公司)

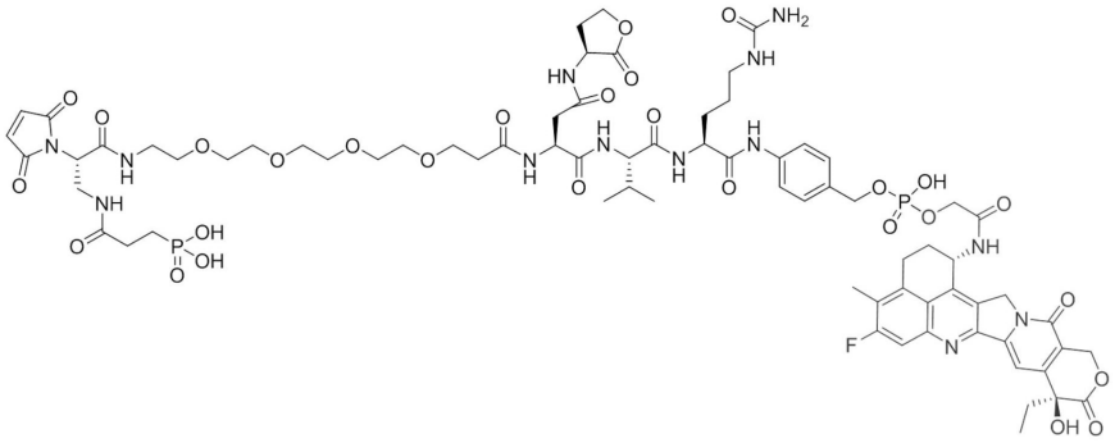
[2206] 柱:XBridge Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[2207] 流速:25mL/min.

[2208] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-0.1%甲酸乙腈(B液)

[2209] 溶液组成(B液):40%

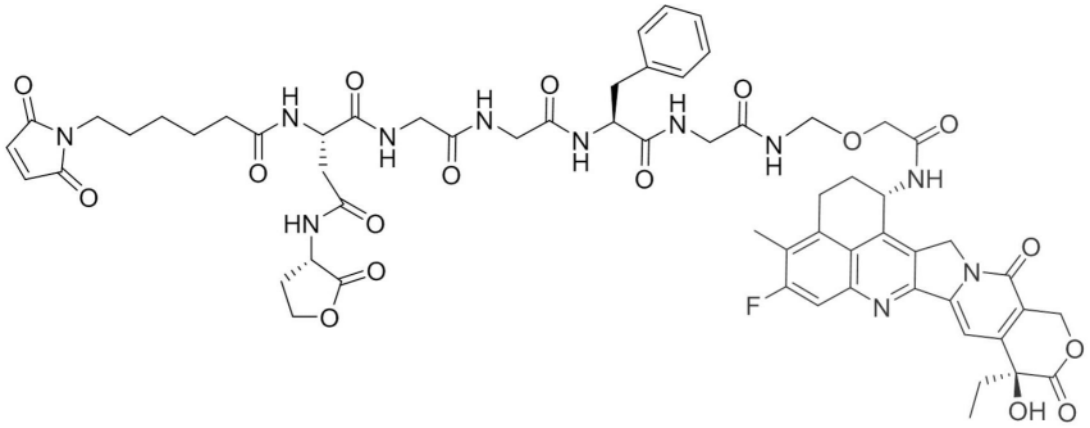
[2210] 参考例12

[2211] 

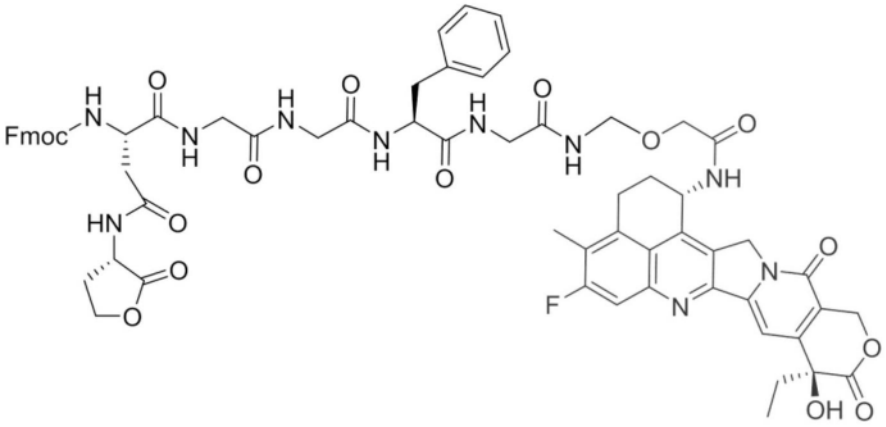
[2212] 使用参考例3-6(13.2mg、0.023mmoL)、及代替参考例3-7的参考例12-1(11.5mg、10.15μmoL),与参考例3同样地反应,得到为白色固体的标记化合物(5.78mg、收率33.85%)。

[2213] MS(ESI)m/z 842(M+2H)$^{2+}$

[2214] 参考例13的合成

[2215] 

[2216] 参考例13-1

[2217] 

[2218] 在N-[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]甘氨酰甘氨酰-L-苯基丙氨酰基-N-[(2-{[(1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚并[1,2-b]喹啉-1-基]氨基}-2-氧代乙氧基)甲基]甘氨酸酰胺(JP6186045记载的化合物)(102.8mg、0.040mmoL、含量41%)的N,N-二甲基甲酰胺0.3mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入二氮杂双环十一碳烯9μL(9.09mg、

0.06mmoL),在室温下搅拌12小时。加入2当量盐酸30μL。将其作为反应溶液A。

[2219] 与上述分开地,在加入到10mL圆筒型烧瓶中的参考例1-2(26.1mg、0.060mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺0.2mL溶液中,一边搅拌一边在室温下加入三乙胺8.5μL(6.17mg、0.061mmoL)、及HATU(22.8mg、0.060mmoL),在室温下搅拌30分钟,加入到上述反应溶液A中,在室温下搅拌1小时。

[2220] 对得到的反应液进行以下的条件的制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行减压浓缩而馏去乙腈后,进行冷冻干燥,由此得到为无色无定形的标记化合物(17.9mg、收率35.8%)。

[2221] MS(ESI)m/z 1262$(M+H)^+$

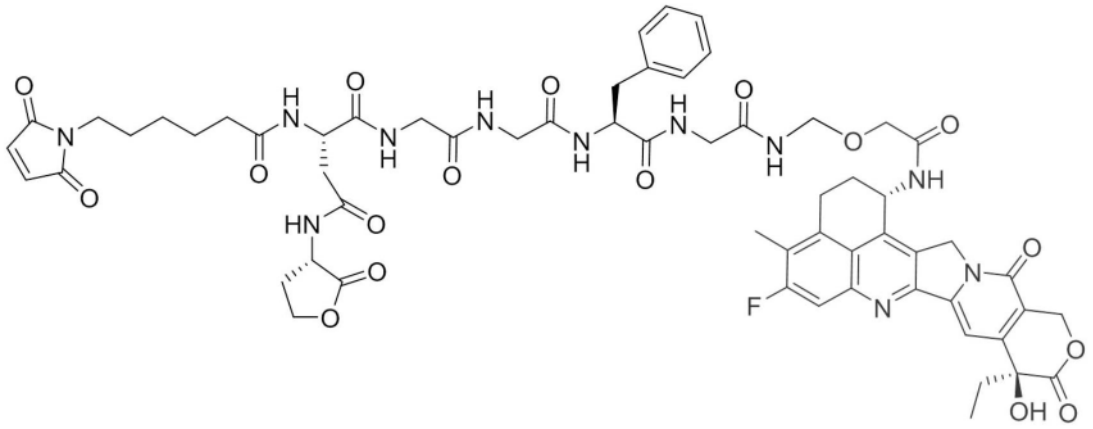
[2222] 柱:Waters XBridge Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[2223] 流速:17mL/min.

[2224] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[2225] 梯度(B液):40%(0.00min.)→60%(8.00min.)

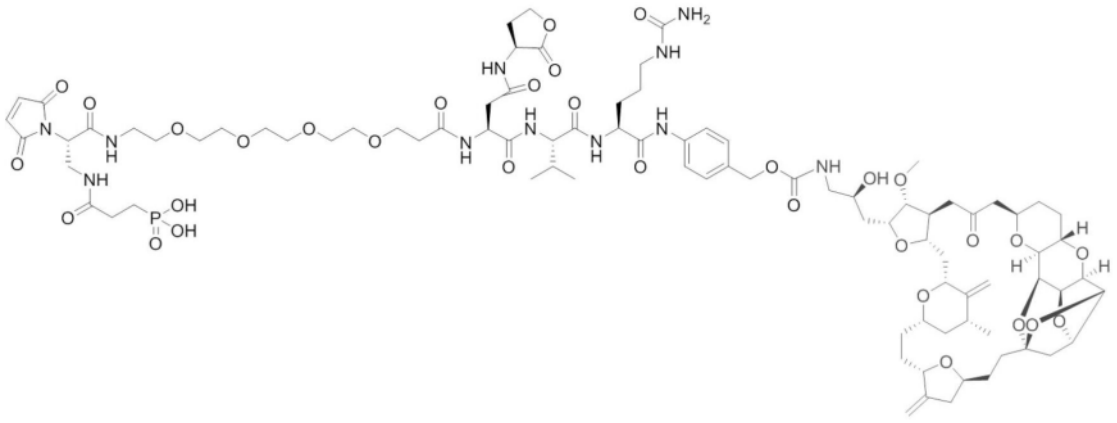
[2226] 参考例13

[2227] 

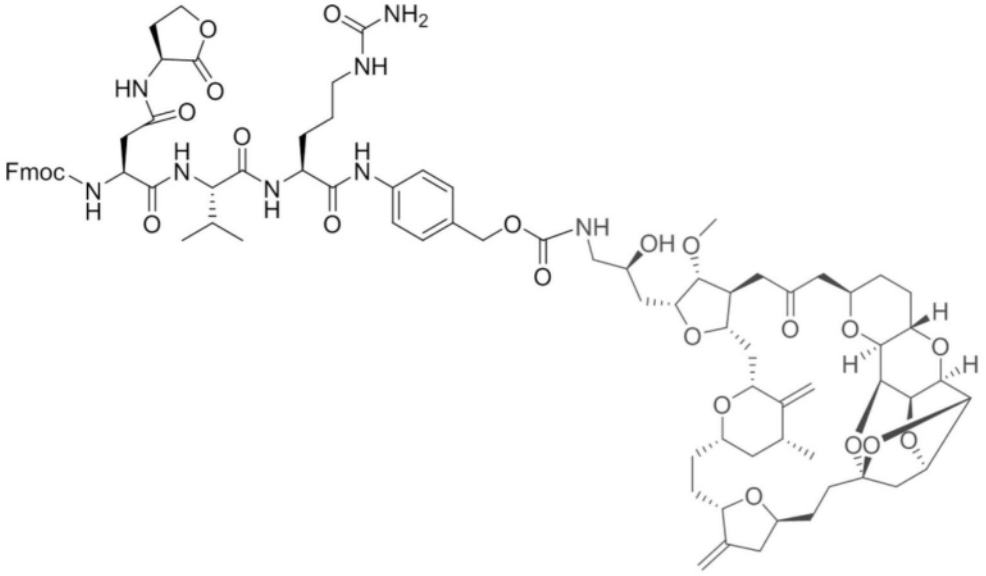
[2228] 代替1-马来酰亚胺-3-氧代-7,10,13,16-四氧杂-4-氮杂十九烷酸N-琥珀酰亚胺基酯,使用6-马来酰亚胺已酸N-琥珀酰亚胺基酯(8.75mg、0.028mmoL),及代替参考例4-2,使用参考例13-1(17.9mg、0.014mmoL),与参考例4同样地反应,得到为无色固体的标记化合物(3.6mg、收率20.59%)。

[2229] MS(ESI)m/z 1233$(M+H)^+$

[2230] 参考例14的合成

[2231] 

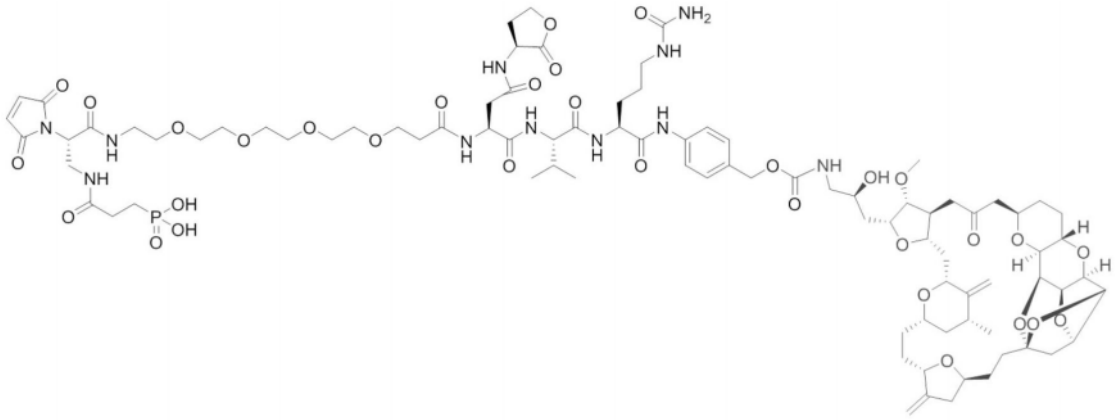
[2232] 参考例14-1

[2233] 

[2234] 使用参考例2-2(23.1mg、0.024mmoL)、及代替U－030的甲磺酸艾日布林(16.4mg、0.020mmoL),与参考例2-3同样地反应,得到为无色无定形的标记化合物(21.0mg、收率67.98%)。

[2235] MS(DUIS)m/z 1555$(M+H)^{+}$

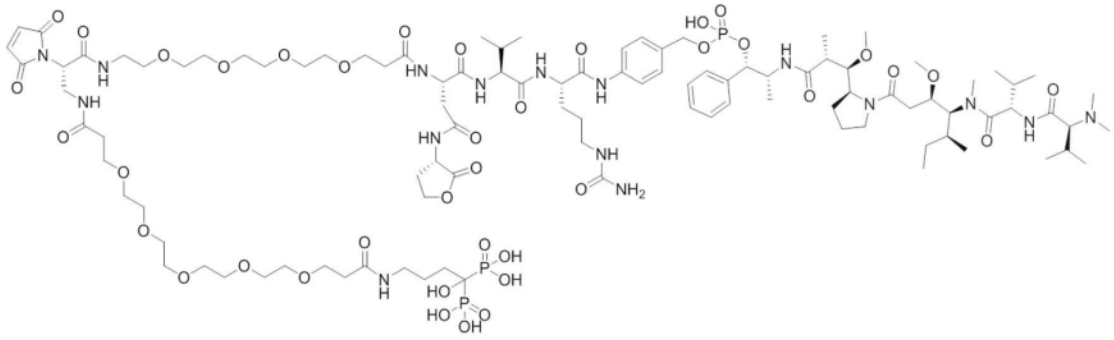
[2236] 参考例14

[2237] 

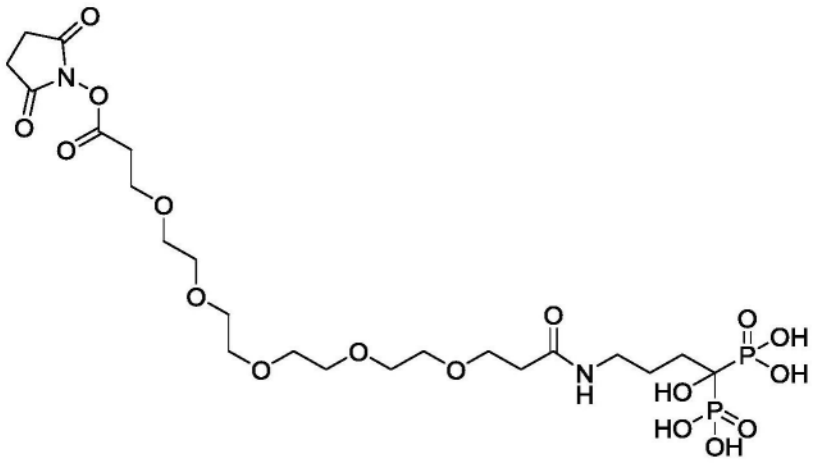
[2238] 使用参考例3-6(11.7mg、0.021mmoL)、及代替参考例9-2的参考例14-1(8.3mg、5.33μmoL),与参考例9同样地反应,得到为淡黄色固体的标记化合物(6.9mg、收率68.69%)。

[2239] MS(ESI)m/z 942$(M+2H)^{2+}$

[2240] 参考例15的合成

[2241] 

[2242] 参考例15-1

[2243] 

[2244] 在加入到100mL的圆筒型烧瓶中的双(2,5-二氧代吡咯烷-1-基)4,7,10,13,16-五氧杂十九烷二酸酯(1.08g、2.028mmoL)及1-羟基吡咯烷-2,5-二酮(46.6mg、0.405mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺16mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下滴加1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(77.3mg、0.403mmoL)及三乙胺0.84mL(0.61g、6.03mmoL),在室温下搅拌20分钟。接着加入水4mL后,在搅拌下在室温下滴加阿仑膦酸(0.50g、2.007mmoL)及三乙胺0.84mL(0.61g、6.03mmoL)的水4mL/N,N-二甲基甲酰胺2mL混合溶液,在室温下搅拌20分钟,其后,加入2当量盐酸3mL。

[2245] 对得到的残渣进行以下的条件的制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行冷冻干燥,由此得到为无色油状物的标记化合物(0.31g、收率23.17%)。

[2246] MS(ESI)m/z 667$(M+H)^+$

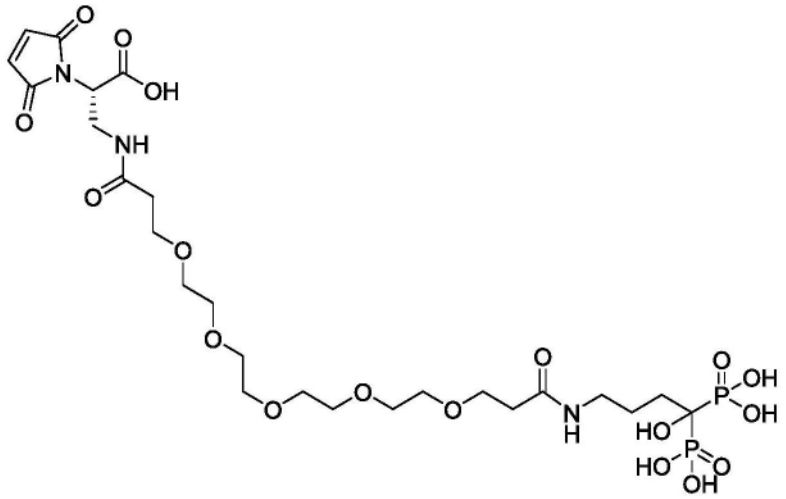
[2247] 柱:Waters XSelect HSS T3 OBD 5um(19*150mm)

[2248] 流速:17mL/min.

[2249] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[2250] 梯度(B液):5%(0.00min.)→30%(10.00min.)

[2251] 参考例15-2

[2252] 

[2253] 在加入到20mL的圆筒型烧瓶中的参考例15-1(0.31g、0.465mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺9mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入参考例3-3(0.21g、0.952mmoL)及三乙胺0.65mL(0.47g、4.66mmoL),在室温下搅拌1小时,其后,加入2当量盐酸2.3mL。

[2254] 对得到的残渣进行以下的条件的制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行减压浓缩而馏去乙腈后,进行冷冻干燥,由此得到为无色油状物的标记化合物(272.7mg、收率79.71%)。

[2255] MS(ESI)m/z 736$(M+H)^+$

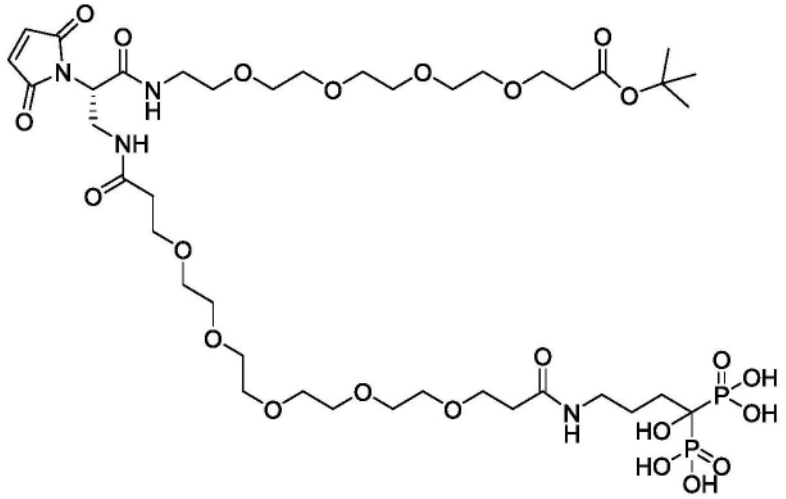
[2256] 柱:Waters XSelect HSS T3 OBD 5um(19*150mm)

[2257] 流速:17mL/min.

[2258] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[2259] 梯度(B液):5%(0.00min.)→20%(6.00min.)

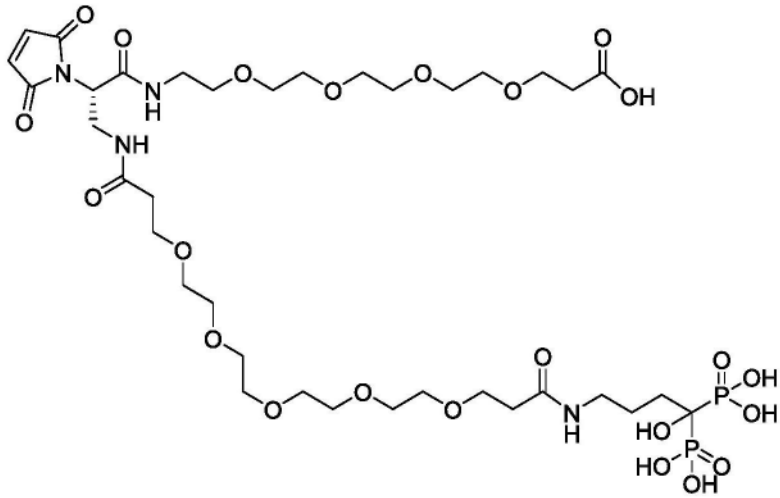
[2260] 参考例15-3

[2261] 

[2262] 使用1-氨基-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酸叔丁酯(17.5mg、0.054mmoL)、及代替参考例3-4的参考例15-2(40.0mg、0.054mmoL),与参考例3-5同样地反应,得到为无色油状物的标记化合物(20.4mg、收率36.11%)。

[2263] MS(ESI)m/z 1040$(M+H)^+$

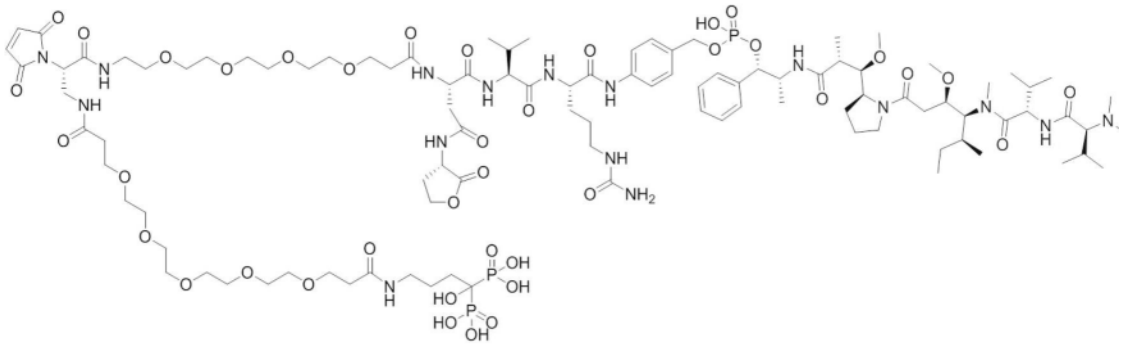
[2264] 参考例15-4

[2265] 

[2266] 代替参考例3-5,使用参考例15-3(20.3mg、0.020mmoL),与参考例3-6同样地反应,得到为无色油状物的标记化合物(9.0mg、收率46.87%)。

[2267] MS(ESI)m/z 983$(M+H)^+$

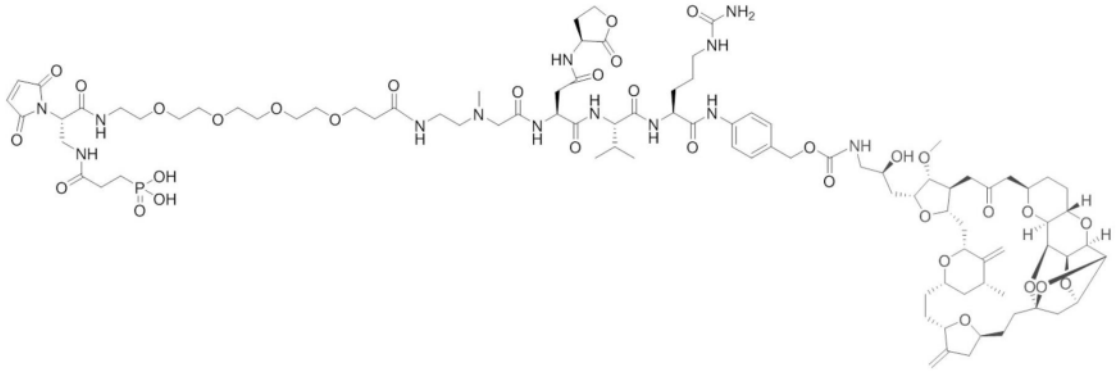
[2268] 参考例15

[2269] 

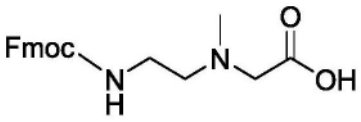
[2270] 使用参考例3-7(8.4mg、6.12μmoL)、及代替参考例3-6的参考例15-4(9.0mg、9.16μmoL),与参考例3同样地反应,得到为无色固体的标记化合物(9.97mg、收率69.68%)。

[2271] MS(ESI)m/z 1169$(M+2H)^{2+}$

[2272] 参考例16的合成

[2273] 

[2274] 参考例16-1

[2275] 

[2276] 在加入到30mL的圆筒型烧瓶中的(2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙基)甘氨酸(0.28g、0.823mmoL)的甲醇5mL/二氯甲烷5mL混合溶液中,一边搅拌一边在室温下加入37%甲醛水溶液0.28mL(0.31g、3.76mmoL)、甲酸0.26mL(0.31g、6.78mmoL)、及三乙酰氧基硼氢化钠(0.26g、1.227mmoL),在室温下搅拌1小时。接着加入三乙酰氧基硼氢化钠(0.26g、1.227mmoL)。

[2277] 反应结束后,将溶剂减压浓缩后,加入乙腈及水,用膜滤器过滤。

[2278] 对得到的溶液进行以下的条件的制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行减压浓缩而馏去乙腈后,进行冷冻干燥,由此得到为无色固体的标记化合物(0.15g、收率51.45%)。

[2279] MS(ESI)m/z 355$(M+H)^{+}$

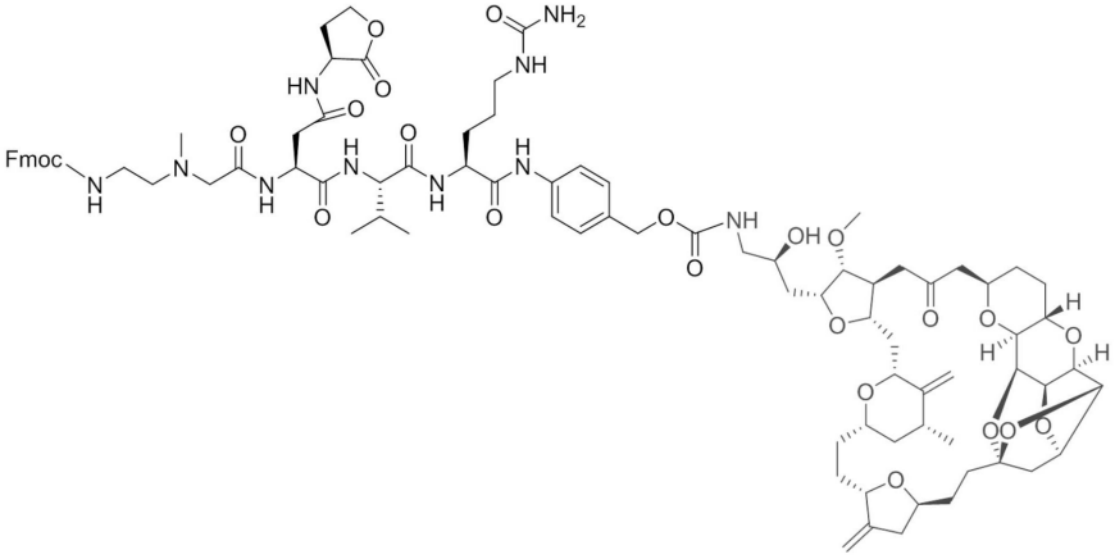
[2280] 柱:Waters XBridge Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[2281] 流速:17mL/min.

[2282] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[2283] 梯度(B液):30%(0.00min.)→45%(6.00min.)

[2284] 参考例16-2

[2285] 

[2286] 在加入到5mL的样品管中的参考例14-1(7.1mg、4.56μmoL)的N,N-二甲基甲酰胺0.5mL溶液中,一边在空气气氛下搅拌一边在室温下加入哌啶5μL(4.3mg、0.050mmoL),在室温下搅拌1小时后进行减压浓缩。将其作为残渣A。

[2287] 在加入到另外的5mL的样品管中的参考例16-1(3.4mg、9.59μmoL)的N,N-二甲基甲酰胺0.5mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下加入二甲基苄基胺1.5μL(1.35mg、9.98μmoL),接着加入HATU(3.4mg、8.94μmoL),在室温下搅拌1小时。

[2288] 将上述反应液加入到残渣A中,在室温下搅拌1小时。接着,加入HATU(1mg、2.63μmoL)。

[2289] 对得到的反应液进行以下的条件的制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行冷冻干燥,由此得到为无色固体的标记化合物(4.5mg、收率59.05%)。

[2290] MS(ESI)m/z 836$(M+2H)^{2+}$

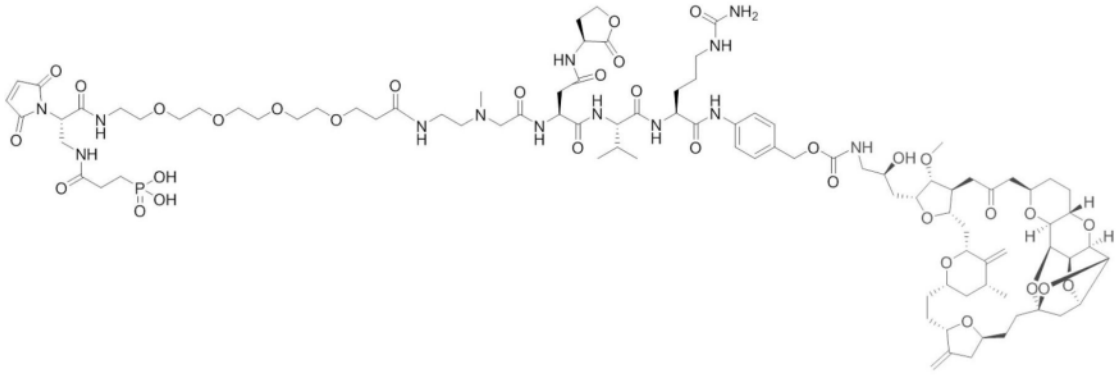
[2291] 柱:Waters XBridge Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[2292] 流速:17mL/min.

[2293] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[2294] 梯度(B液):30%(0.00min.)→80%(8.00min)

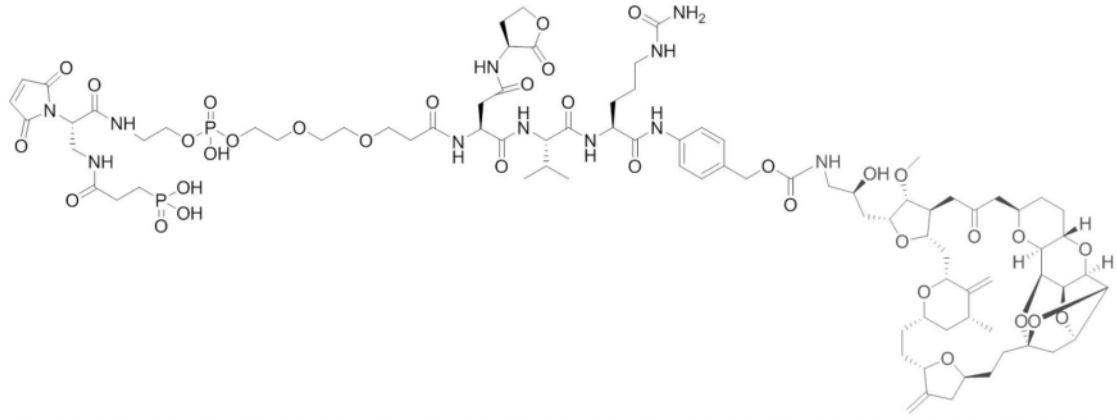
[2295] 参考例16

[2296] 

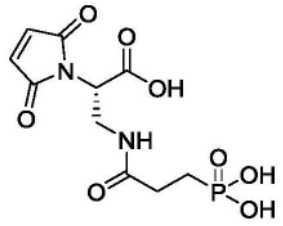
[2297] 使用参考例3-6(6.0mg、10.57μmoL)、及代替参考例9-2的参考例16-2(4.5mg、2.69μmoL),与参考例9同样地反应,得到为无色固体的标记化合物(2.40mg、收率44.59%)。

[2298] MS(ESI)m/z 1000$(M+2H)^{2+}$

[2299] 参考例17的合成

[2300] 

[2301] 参考例17-1

[2302] 

[2303] 在加入到30mL的圆筒型烧瓶中的参考例3-2(0.54g、1.470mmoL)及三乙胺0.41mL(0.3g、2.94mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺5mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入HATU(0.59g、1.552mmoL),在室温下搅拌0.5小时。将其作为A液。

[2304] 在加入到20mL的圆筒型烧瓶中的参考例3-3(0.32g、1.451mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺5mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入A液,在室温下搅拌6小时。

[2305] 反应结束后,在反应溶液中加入水,用膜滤器过滤后,在以下的条件下对得到的溶液进行制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行冷冻干燥,由此得到为无色油状物的参考例3-4(62.5mg)。

[2306] MS(ESI)m/z 433(M+H)$^+$

[2307] 柱:Waters XBridge Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[2308] 流速:17mL/min.

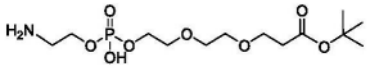
[2309] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[2310] 梯度(B液):30%(0.00min.)→36%(5.00min.)

[2311] 将得到的参考例3-4置于室温一个月,由此得到为无色固体的标记化合物。

[2312] MS(ESI)m/z 321(M+H)$^+$

[2313] 参考例17-2

[2314] 

[2315] 在加入到10mL的茄型烧瓶中的3-(2-(2-羟基乙氧基)乙氧基)丙酸叔丁酯(0.21g、0.896mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺5mL溶液中,依次加入2-氰基乙基N,N,N',N',-四异丙基亚磷酰二胺0.32mL(0.3g、1.009mmoL)及1H-四唑(70.0mg、0.999mmoL),在室温下搅拌15分钟。

[2316] 其后,加入(9H-芴-9-基)甲基(2-羟基乙基)氨基甲酸酯(0.31g、1.094mmoL),接着,加入5-(乙基硫代)-1H-四唑(0.18g、1.383mmoL),在室温下搅拌20分钟。

[2317] 其后,在室温下加入70%叔丁基过氧化氢水溶液0.75mL(0.71g、5.48mmoL)后,在室温下搅拌0.5小时。接着,加入二氮杂双环十一碳烯1.09mL(1.11g、7.30mmoL)并搅拌10分钟。接着,加入50%乙腈水溶液2mL后,加入6当量盐酸1.2mL。

[2318] 对得到的残渣进行以下的条件的制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为无色固体的标记化合物(0.12g、收率37.47%)。

[2319] MS(ESI)m/z 358(M+H)$^+$

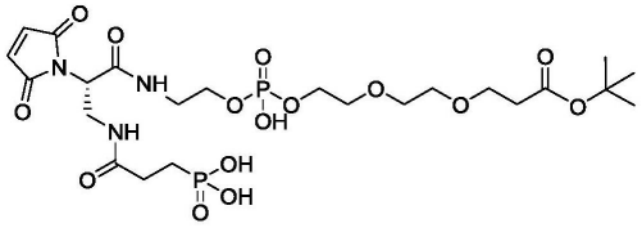
[2320] 柱:Waters XSelect HSS T3 OBD 5um(19*150mm)

[2321] 流速:17mL/min.

[2322] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[2323] 梯度(B液):10%(0.00min.)→50%(8.00min.)

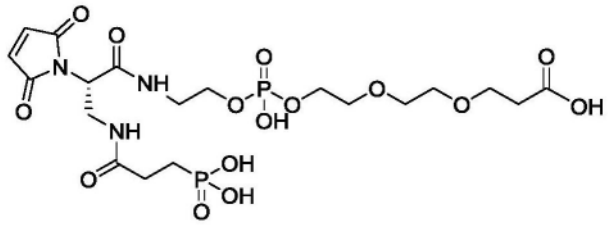
[2324] 参考例17-3

[2325] 

[2326] 代替参考例3-4,使用参考例17-1(10.4mg、0.032mmoL),及代替1-氨基-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酸叔丁酯,使用参考例17-2(15.6mg、0.044mmoL),与参考例3-5同样地反应,得到为无色油状物的标记化合物(10.3mg、收率48.08%)。

[2327] MS(ESI)m/z 660(M+H)$^+$

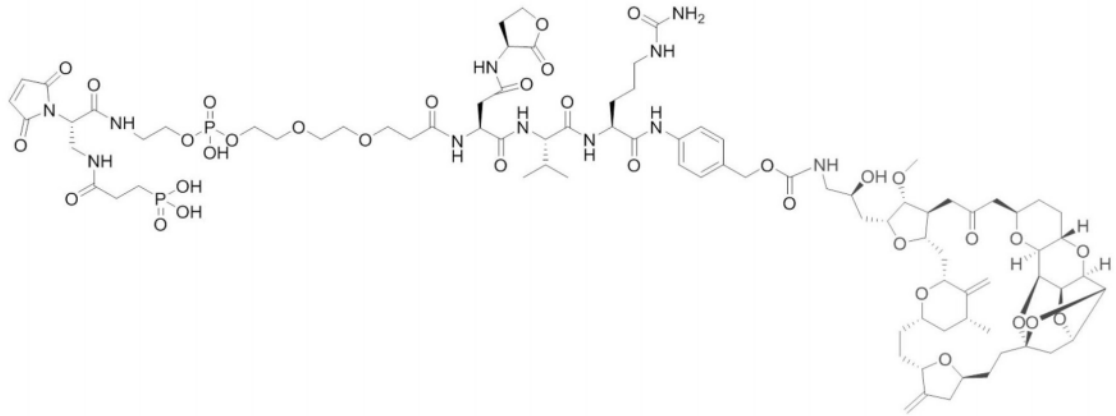
[2328] 参考例17-4

[2329] 

[2330] 代替参考例3-5,使用参考例17-3(10.3mg、0.016mmoL),与参考例3-6同样地反应,得到为无色油状物的标记化合物(8.0mg、收率84.89%)。

[2331] MS(ESI)m/z 604$(M+H)^+$

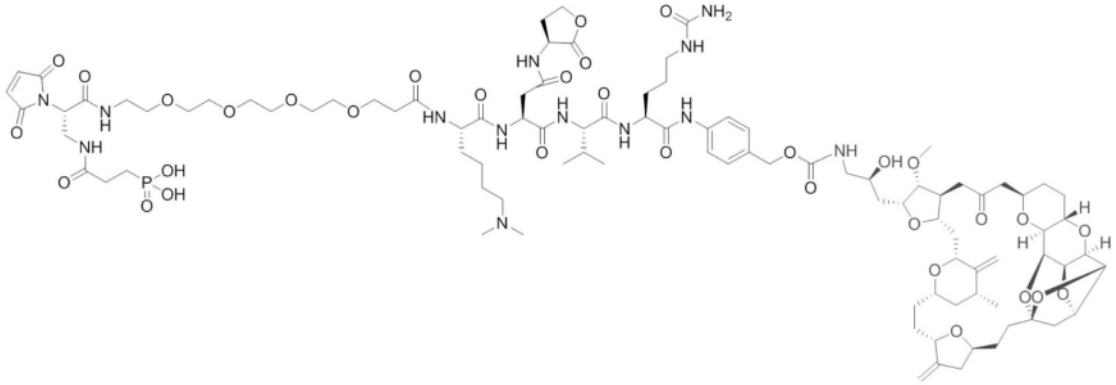
[2332] 参考例17

[2333] 

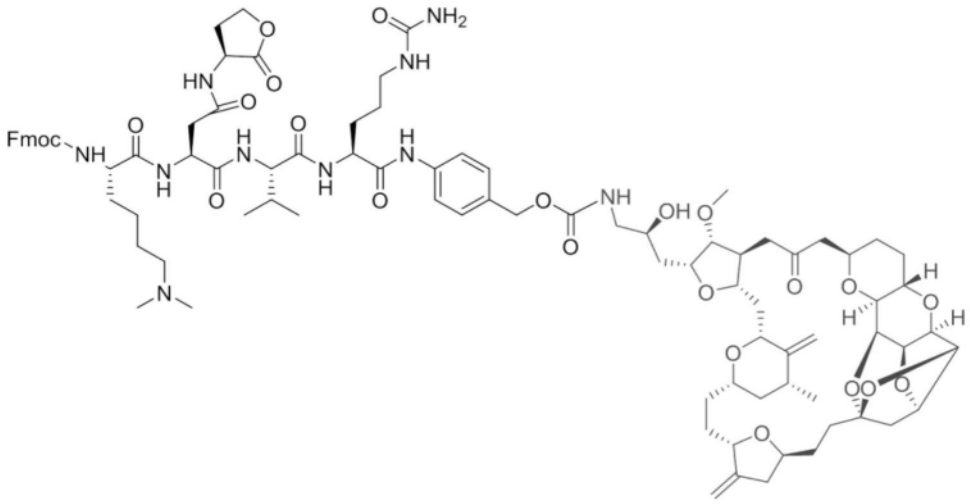
[2334] 代替参考例9-2,使用参考例14-1(4.4mg、2.83μmoL),及代替参考例3-6,使用参考例17-4(8.5mg、0.014mmoL),与参考例9同样地反应,得到为无色固体的标记化合物(4.05mg、收率74.63%)。

[2335] MS(ESI)m/z 960$(M+2H)^{2+}$

[2336] 参考例18的合成

[2337] 

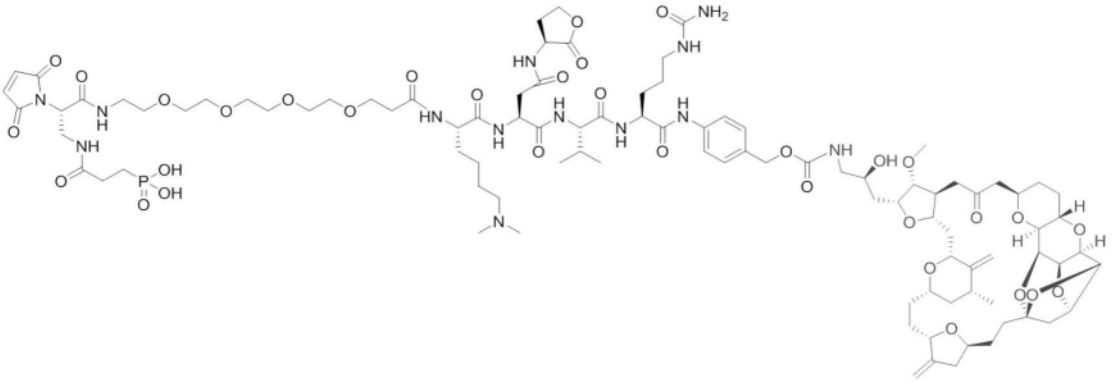
[2338] 参考例18-1

[2339] 

[2340] 使用参考例14-1(9.5mg、6.11μmoL)、及代替参考例16-1的N2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-N6,N6-二甲基-L-赖氨酸盐酸盐(5.3mg、0.012mmoL),与参考例16-2同样地反应,得到为无色固体的标记化合物(7.5mg、收率71.74%)。

[2341] MS(ESI)m/z 857(M+2H)$^{2+}$

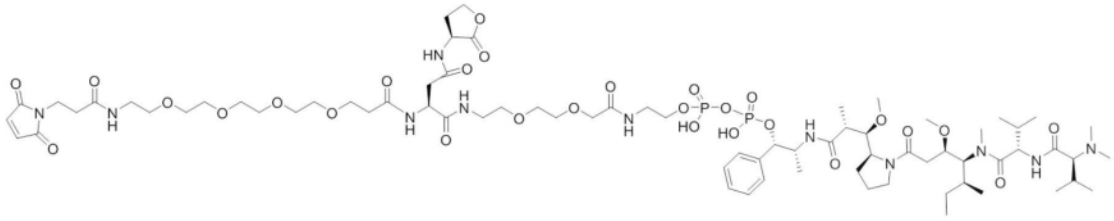
[2342] 参考例18

[2343] 

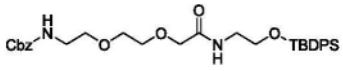
[2344] 使用参考例3-6(5.0mg、8.81μmoL)、及代替参考例9-2的参考例18-1(7.5mg、4.38μmoL),与参考例9同样地反应,得到为无色固体的标记化合物(3.8mg、收率42.54%)。

[2345] MS(ESI)m/z 1021(M+2H)$^{2+}$

[2346] 参考例19的合成

[2347] 

[2348] 参考例19-1

[2349] 

[2350] 在加入到500mL茄型烧瓶中的2-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)乙烷-1-胺(10.78g、36.0mmoL)中,在水冷下一边在氩气氛下搅拌一边加入3-氧代-1-苯基-2,7,10-三氧杂-4-氮杂十二烷-12-酸(11.28g、37.9mmoL)的二氯甲烷100mL溶液后,在室温下依次加

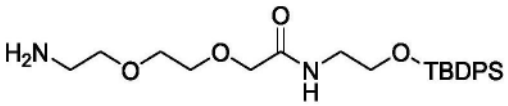
入1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(7.28g、38.0mmoL)及1-羟基苯并三唑(1.11g、7.25mmoL),在室温下搅拌2小时。

[2351] 在反应液中加入水75mL及饱和食盐水75mL,进行分液,用二氯甲烷30mL萃取水层2次,合并有机层,用无水硫酸镁10g进行干燥,过滤,将滤液进行减压浓缩,得到橙色浆料状物的残渣23.19g。

[2352] 在残渣中加入己烷/乙酸乙酯(57/43(V/V))组成100mL,均一溶解,进行山善中压制备(二氧化硅、5L(3000g)、己烷/乙酸乙酯=40/60(V/V)(Rf=0.40(己烷/乙酸乙酯=40/60(V/V))),对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为无色油状物的标记化合物(20.04g、收率96.19%)。

[2353] MS(ESI)m/z 579$(M+H)^+$

[2354] 参考例19-2

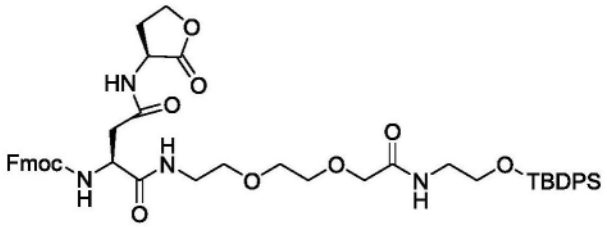
[2355] 

[2356] 在加入到500mL的茄型烧瓶中的参考例19-1(21.18g、36.6mmoL)的乙醇150mL溶液中,在氮气氛下,加入Pearlman催化剂(20%Pd、含水50%、东京化成工业株式会社制造)(1.28g、0.911mmoL)后,在氢气氛下,在室温下搅拌5小时。

[2357] 使反应液为氮气氛下后,使用Celite 545(商品名)进行过滤,用乙醇清洗,将滤液·洗液进行减压浓缩,由此得到为无色油状物的标记化合物(16.15g、收率99.25%)。

[2358] MS(ESI)m/z 445$(M+H)^+$

[2359] 参考例19-3

[2360] 

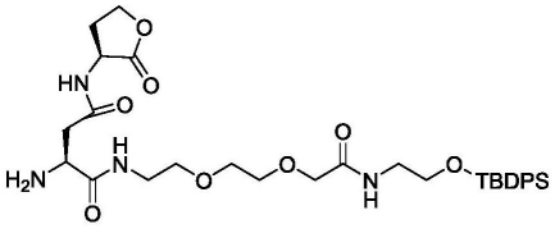
[2361] 在加入到100mL的茄型烧瓶中的参考例1-2(2.27g、5.11mmoL)的二氯甲烷20mL溶液中,在氩气氛下加入参考例19-2(2.31g、5.27mmoL),接着在室温下依次加入1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(1.08g、5.63mmoL)及1-羟基苯并三唑(0.1595g、1.042mmoL),在室温下搅拌2小时。

[2362] 在反应液中加入水10mL及饱和食盐水10mL,分液,用二氯甲烷10mL萃取2次水层,合并有机层,用无水硫酸镁进行干燥,过滤,将滤液进行减压浓缩,得到无色固体的残渣6.09g。

[2363] 在残渣中加入二乙基醚50mL,进行超声波处理,在生成的固体中加入二乙基醚50mL,进行超声波处理后,滤取,使用二乙基醚清洗固体,进行减压干燥,由此,得到为白色固体的标记化合物(4.26g、收率96.46%)。

[2364] MS(ESI)m/z 865$(M+H)^+$

[2365] 参考例19-4

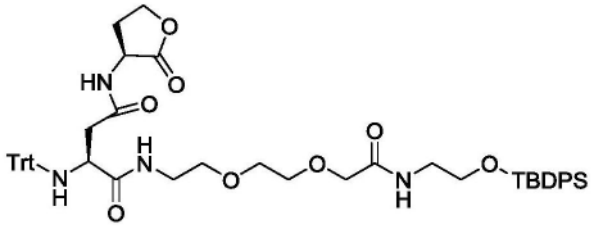
[2366] 

[2367] 向加入到100mL茄型烧瓶中的参考例19-3(4.26g、4.92mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺20mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下加入哌啶1.46mL(1.26g、14.78mmoL),在室温下搅拌0.5小时。

[2368] 将反应液进行减压浓缩,得到白色固体的残渣7.72g。在残渣中加入二乙基醚50mL,进行超声波处理后,在-20℃下静置12小时,去除上清液。接着在残渣中加入二乙基醚25mL,进行超声波处理后,在-20℃下放置,去除上清液。再次重复该操作后,进行减压干固,由此得到为微黄色油状物的标记化合物(3.05g、收率96.35%)。

[2369] MS(ESI)m/z 643$(M+H)^+$

[2370] 参考例19-5

[2371] 

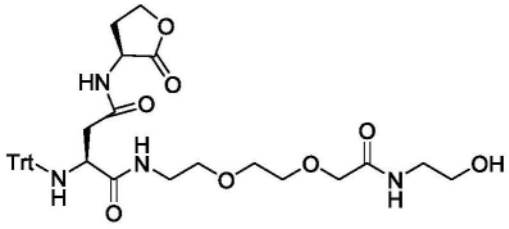
[2372] 在加入到100mL的茄型烧瓶中的参考例19-4(3.05g、4.74mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺20mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边依次在室温下加入碳酸钾(1.0075g、7.29mmoL)及三苯甲基氯(1.70g、6.10mmoL),其后,在室温下搅拌2小时。

[2373] 反应结束后,将反应液浓缩,在浓缩残渣中加入四氢呋喃,进行超声波处理,过滤不溶物,用四氢呋喃清洗过滤物。将得到的滤液与洗液合并,进行减压浓缩,得到微黄色油状物的浓缩残渣5.61g。

[2374] 在得到的残渣中加入二氯甲烷进行溶解,加入27.0g富士SILYSIA Chromatrex Q-Pack Diol 60Size 60,进行减压干固。进行山善中压制备(富士SILYSIA Chromatrex Q-Pack Diol60(85.0g)、己烷/乙酸乙酯=7/93(V/V)→0/100(V/V)、(Rf=0.50(乙酸乙酯)),对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为无色油状物的标记化合物(2.82g、收率67.15%)。

[2375] MS(ESI)m/z 885$(M+H)^+$

[2376] 参考例19-6

[2377] 

[2378] 在加入到300mL茄型烧瓶中的参考例19-5(2.82g、3.19mmoL)的四氢呋喃50mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下加入1M的四丁基氟化铵的四氢呋喃溶液3.5mL

(0.96g、3.50mmoL),在室温下搅拌2小时。

[2379] 将反应液进行减压浓缩,在残渣4.42g中加入二氯甲烷50mL进行溶解后,用饱和氯化铵水溶液50mL清洗。用二氯甲烷25mL萃取2次水层,合并有机层,用无水硫酸钠10g进行干燥,过滤,将滤液进行减压浓缩,得到无色油状物的残渣4.28g。

[2380] 在残渣中加入乙腈45mL进行溶解,进行山善中压制备(二氧化硅、L(40g)、A/B=100/0(V/V)→50/50(V/V)、接着乙酸乙酯/甲醇=100/0(V/V)→40/60(V/V)(Rf=0.47(乙酸乙酯))A液;乙腈/水/三乙胺=950/50/1(V/V/V)B液;乙腈/水/三乙胺=850/150/5(V/V/V),将含有目标物的组分进行减压浓缩,得到为白色泡状物的标记化合物的粗制物1.76g。

[2381] 接着在下述所示的条件下进行再循环分离,将含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为白色泡状物的标记化合物(1.58g、收率71.62%)。

[2382] MS(ESI)m/z 647$(M+H)^+$

[2383] • 装置:LC Forte/R

[2384] • 柱:GPC系统

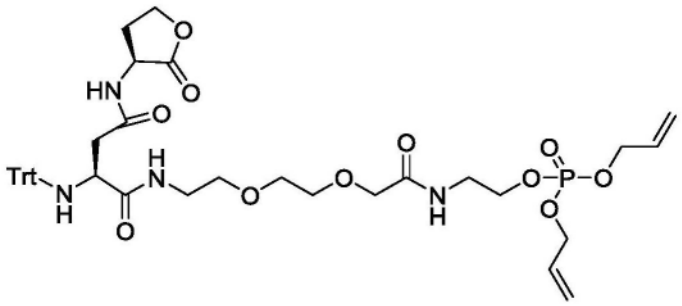
[2385] • 洗脱液:二氯甲烷→乙腈

[2386] • 流速:15mL/min。

[2387] • 压力:12MPa(二氯甲烷)、8.4MPa(乙腈)

[2388] • 波长:220nm

[2389] 参考例19-7

[2390] 

[2391] 在加入到200mL的茄型烧瓶中的参考例19-6(1.58g、2.282mmoL)的二氯甲烷30m溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下依次加入二烯丙基N,N-二异丙基亚磷酰胺2.58mL(2.39g、9.76mmoL)及1H-四唑(1.20g、17.13mmoL),在室温下搅拌2小时。

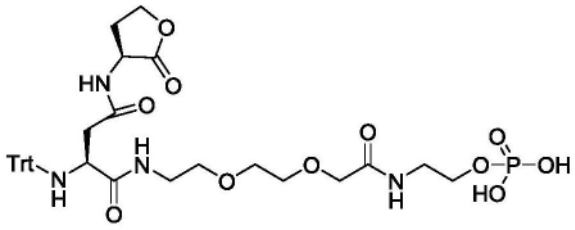
[2392] 其后,进行冰冷,加入30%重量过氧化氢水0.650mL(0.72g、6.36mmoL),在冰冷下搅拌1小时。

[2393] 其后,加入在硫代硫酸钠5水合物20.0g(80.6mmoL)碳酸氢钠7.0g(83.3mmoL)中加入水100mL而制备的溶液30mL,进行分液。用二氯甲烷15mL萃取2次水层,与有机层合并,用无水硫酸钠10.0g进行干燥,过滤,将滤液进行减压浓缩,得到微黄色油状物的浓缩残渣3.49g。

[2394] 在其中加入二氯甲烷30mL进行溶解,加入22.0g富士SILYSIA Chromatrex Q-Pack Diol60 size60,进行减压干固。进行山善中压制备(富士SILYSIA Chromatrex Q-Pack Diol60(88.0g)、己烷/乙酸乙酯=0/100(V/V)、(Rf=0.33(乙酸乙酯)),将含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为白色泡状物的标记化合物(1.55g、收率84.19%)。

[2395] MS(ESI)m/z 807$(M+H)^+$

[2396] 参考例19-8

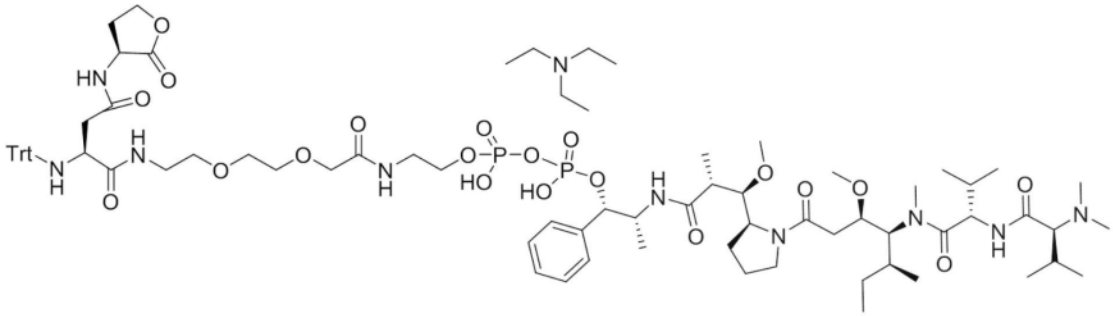
[2397] 

[2398] 在加入到300mL茄型烧瓶中的参考例19-7(1.55g、1.921mmoL)的四氢呋喃33mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下依次加入N-甲基苯胺0.440mL(0.44g、4.07mmoL)及四(三苯基膦)钯(0.2263g、0.196mmoL),在室温下搅拌1小时。

[2399] 将反应液进行减压浓缩后,在淡黄色泡状物的浓缩残渣2.38g中加入二乙基醚50mL,进行超声波处理,滤取生成的固体,用二乙基醚清洗,进行减压干燥,由此,得到为淡黄色固体的标记化合物的N-烯丙基-N-甲基苯胺盐(1.89g、收率96.34%)。

[2400] MS(ESI)m/z 727$(M+H)^{+}$

[2401] 参考例19-9

[2402] 

[2403] 在加入到50mL茄型烧瓶中的参考例19-8(0.3958g、0.388mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺2.5mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下加入羰基二咪唑(0.1575g、0.971mmoL),在室温下搅拌0.75小时。

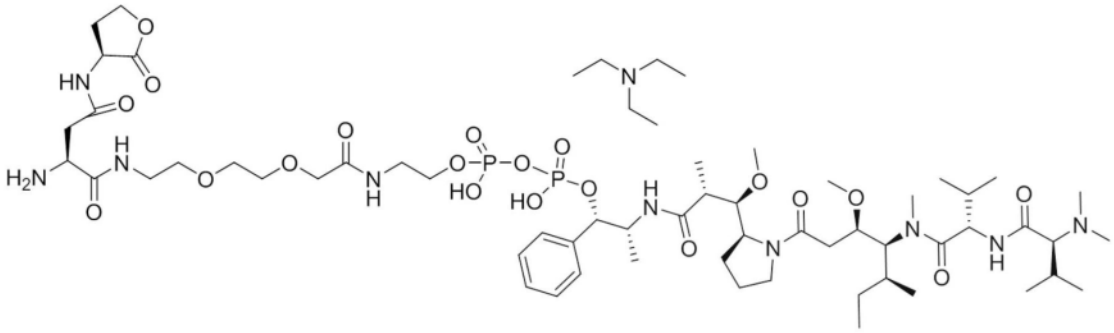
[2404] 其后,加入U-031(0.3096g、0.381mmoL)后,进行冰冷,加入氯化锌(0.4098g、3.01mmoL)后,恢复至室温,在室温下搅拌6小时。

[2405] 在反应液中加入二乙基醚25mL,进行超声波处理后,去除上清液。在残渣中加入二乙基醚10mL,去除上清液。再次重复该操作,对得到的残渣进行减压干燥,得到淡黄色浆料状物1.64g。

[2406] 在其中加入乙腈/水/三乙胺=850/150/5(V/V/V)20mL使其溶解,填充到山善进样柱(硅胶)尺寸L中,进行山善中压制备(二氧化硅、L(40g)、乙腈/水/三乙胺=850/150/5(V/V/V)),将含有目标物的组分进行减压浓缩,在残渣中加入乙腈/水(1/1(V/V))30mL使其溶解后,进行冷冻干燥,由此得到为白色固体的标记化合物(517mg、收率83.6%)。

[2407] MS(ESI)m/z 761$(M+2H)^{2+}$

[2408] 参考例19-10

[2409] 

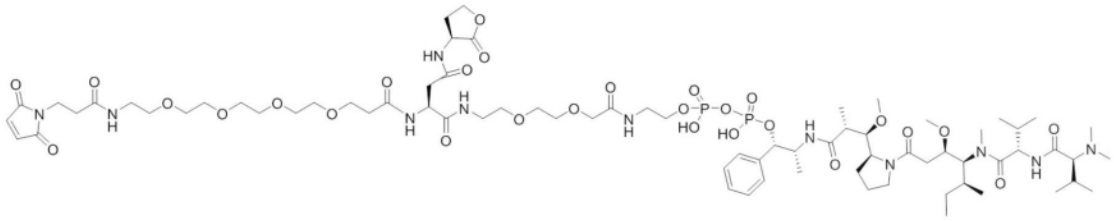
[2410] 在加入到50mL茄型烧瓶中的参考例19-9(512.8mg、0.316mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺3mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在冰冷下加入甲酸3mL(3660mg、80mmoL)后,在室温下搅拌45分钟。

[2411] 其后,加入二乙基醚30mL,进行超声波处理,在-20℃下放置3小时。去除上清液后,在残渣中加入二乙基醚15mL并搅拌5分钟后,去除上清液。再次在残渣中加入二乙基醚15mL并搅拌5分钟后,去除上清液。对得到的残渣进行减压干燥,由此,得到无色浆料状物0.7368g。

[2412] 在其中加入乙腈/水/三乙胺=850/150/5(V/V/V)(15mL)使其溶解后,填充到山善进样柱(硅胶)尺寸M中,进行山善中压制备(二氧化硅、M(16g)、乙腈/水/三乙胺=850/150/5(V/V/V)),将含有目标物的组分进行减压浓缩,在残渣中加入乙腈/水(1/1(V/V))20mL使其溶解,进行冷冻干燥,由此得到为白色固体的标记化合物(328.1mg、收率75.22%)。

[2413] MS(ESI)m/z 640$(M+2H)^{2+}$

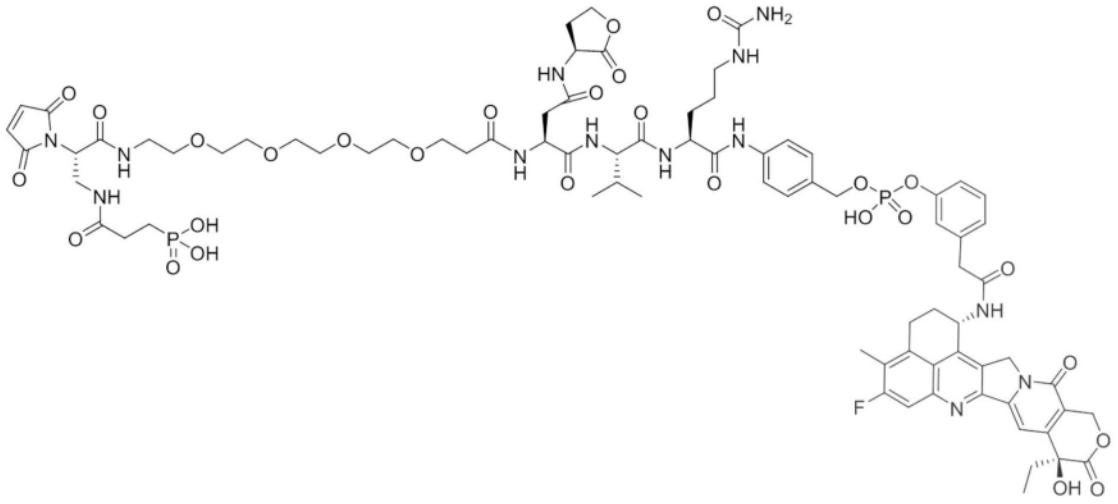
[2414] 参考例19

[2415] 

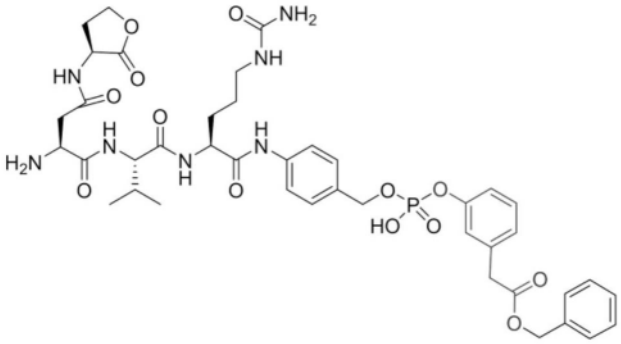
[2416] 使用1-马来酰亚胺-3-氧代-7,10,13,16-四氧杂-4-氮杂十九烷酸N-琥珀酰亚胺基酯(10.0mg、0.019mmoL)、及代替参考例1-7的参考例19-10(9.5mg、6.89μmoL),与参考例1同样地反应,得到为白色固体的标记化合物(2.5mg、收率21.65%)。

[2417] MS(ESI)m/z 839$(M+2H)^{2+}$

[2418] 参考例20的合成

[2419] 

[2420] 参考例20-1

[2421] 

[2422] 在加入到10mL茄型烧瓶中的2-(3-羟基苯基)乙酸苄酯(72.2mg、0.298mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺2mL溶液中,依次加入2-氰基乙基N,N,N',N'-四异丙基亚磷酰二胺95μL(90.25mg、0.299mmoL)及1H-四唑(21.7mg、0.310mmoL),在室温下搅拌1小时。加入参考例2-1(80.0mg、0.100mmoL),接着,加入5-(乙基硫代)-1H-四唑(26.7mg、0.205mmoL),在室温下搅拌0.5小时。

[2423] 其后,在室温下加入70%叔丁基过氧化氢水溶液41μL(38.54mg、0.299mmoL)后,在室温下搅拌0.5小时。接着加入二氮杂双环十一碳烯149μL(151.98mg、0.998mmoL),在室温下搅拌20分钟。加入甲酸38μL(45.6mg、0.991mmoL),放置一晚。

[2424] 在得到的反应液中加入50%乙腈水溶液后,过滤,对得到的滤液进行以下的条件的制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行减压浓缩而馏去乙腈后,进行冷冻干燥,由此得到为无色泡状物的标记化合物(16.9mg、收率19.16%)。

[2425] MS(ESI)m/z 882$(M+H)^+$

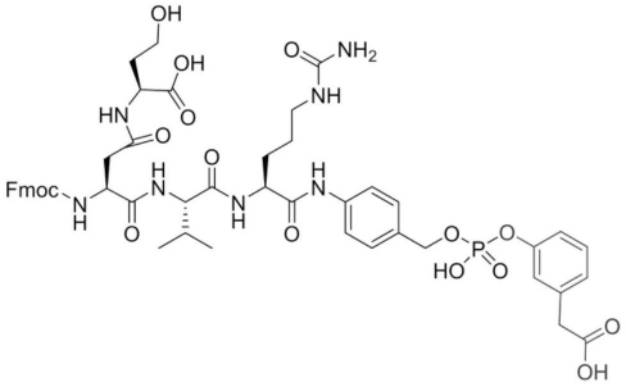
[2426] 柱:Waters XBridge Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[2427] 流速:17mL/min.

[2428] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[2429] 梯度(B液):25%(0.00min.)→46%(6.00min.)

[2430] 参考例20-2

[2431] 

[2432] 在加入到10mL茄型烧瓶中的参考例20-1(11.7mg、0.013mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺200μL溶液中,加入2当量氢氧化钠水溶液33μL(2.64mg、0.066mmoL),在室温下搅拌2小时。其后,加入2当量盐酸33μL。

[2433] 接着,加入N,N-二甲基苄基胺4μL(3.64mg、0.027mmoL)、9-芴基甲基琥珀酰亚胺基碳酸酯(9.0mg、0.027mmoL),在室温下搅拌1小时。接着加入N,N-二甲基苄基胺4μL(3.64mg、0.027mmoL),搅拌16小时。

[2434] 在得到的反应液中加入N,N-二甲基甲酰胺及50%乙腈水溶液后过滤,对得到的滤液进行以下的条件的制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分减压浓缩后,进行冷冻干燥,由此得到为无色泡状物的标记化合物(9.4mg、收率68.65%)。

[2435] MS(ESI)m/z 1033$(M+H)^+$

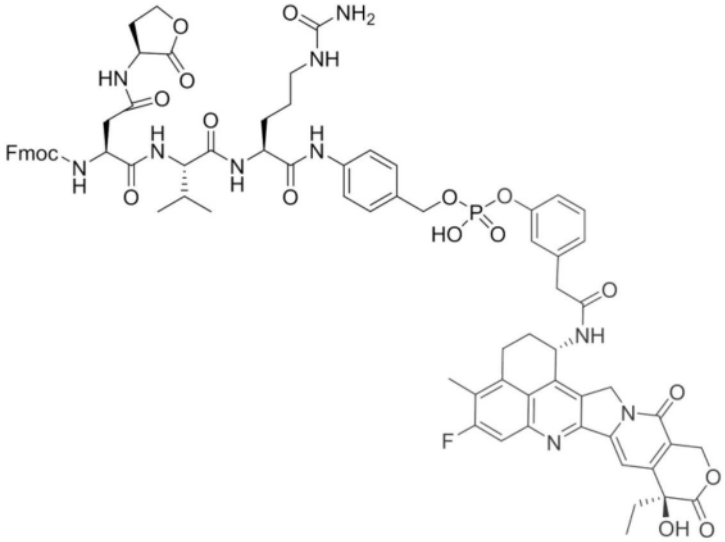
[2436] 柱:Waters XBridge Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[2437] 流速:17mL/min.

[2438] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[2439] 梯度(B液):25%(0.00min.)→60%(8.00min.)

[2440] 参考例20-3

[2441] 

[2442] 在加入到10mL圆筒型烧瓶中的依喜替康甲磺酸盐(5.5mg、10.35μmoL)、参考例20-2(9.4mg、9.11μmoL)、N,N-二甲基苄基胺5.71μL(5.2mg、0.038mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺500μL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下加入HATU(19.0mg、0.050μmoL),在室温下搅拌2小时。

[2443] 反应结束后,对反应液进行以下的条件的制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行冷冻干燥,由此得到为无色固体的标记化合物(6.8mg、收率52.15%)。

[2444] MS(ESI)m/z 1432(M+H)

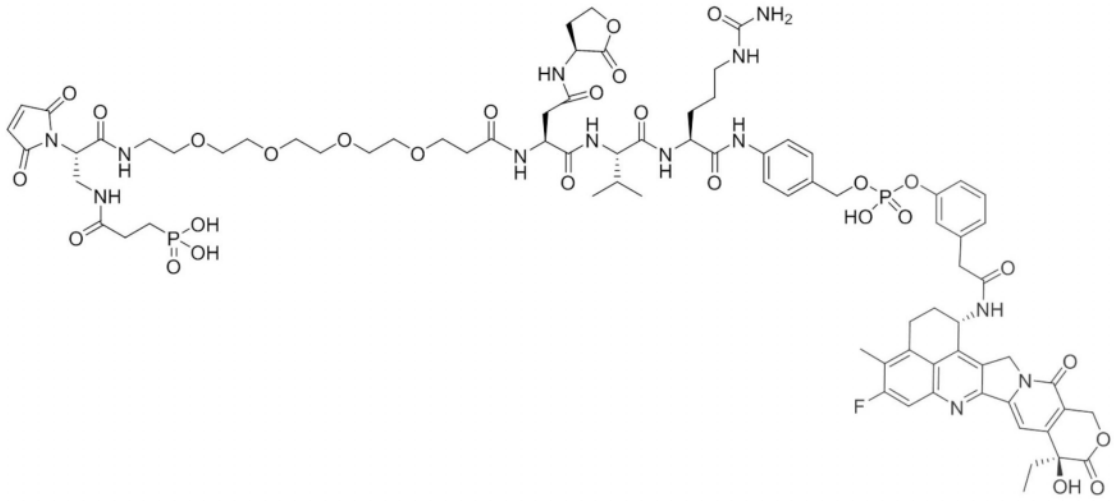
[2445] 柱:Waters SunFire Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[2446] 流速:17mL/min.

[2447] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[2448] 梯度(B液):25%(0.00min.)→65%(8.00min.)

[2449] 参考例20

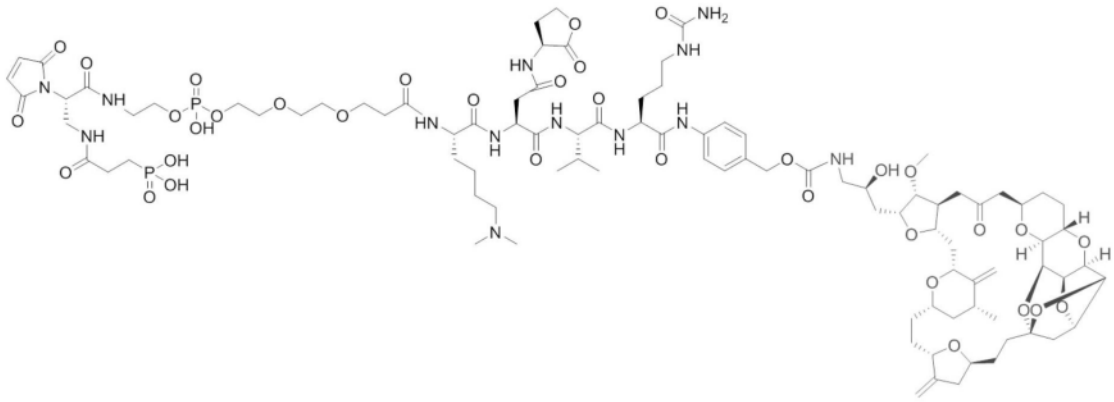
[2450] 

[2451] 使用参考例3-6(10.8mg、0.019mmoL)、及代替参考例9-2的参考例20-3(6.8mg、4.75μmoL),与参考例9同样地反应,得到为无色固体的标记化合物(5.16mg、收率61.76%)。

[2452] MS(ESI)m/z 880$(M+2H)^{2+}$

[2453] 参考例21的合成

[2454] 参考例21

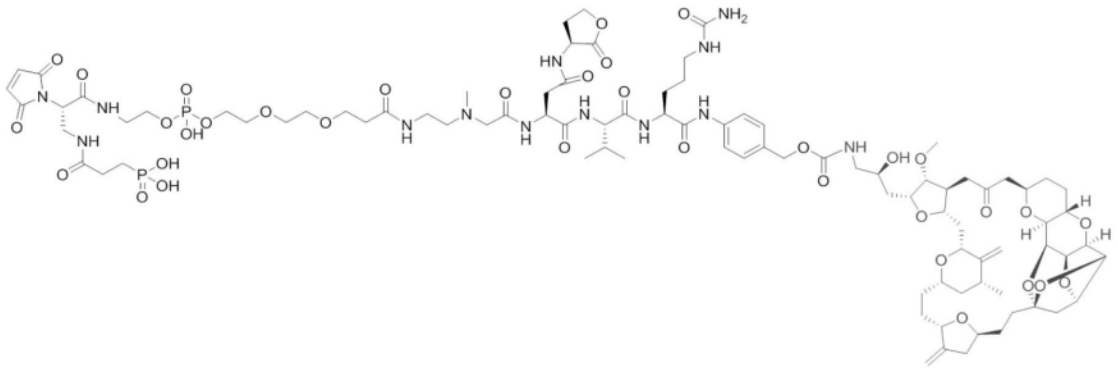
[2455] 

[2456] 代替参考例9-2,使用参考例18-1(8.0mg、4.67μmoL),及代替参考例3-6,使用参考例17-4(15.2mg、0.025mmoL),与参考例9同样地反应,得到为无色无定形的标记化合物(4.3mg、收率44.34%)。

[2457] MS(ESI)m/z 1036$(M-2H)^{2-}$

[2458] 参考例22的合成

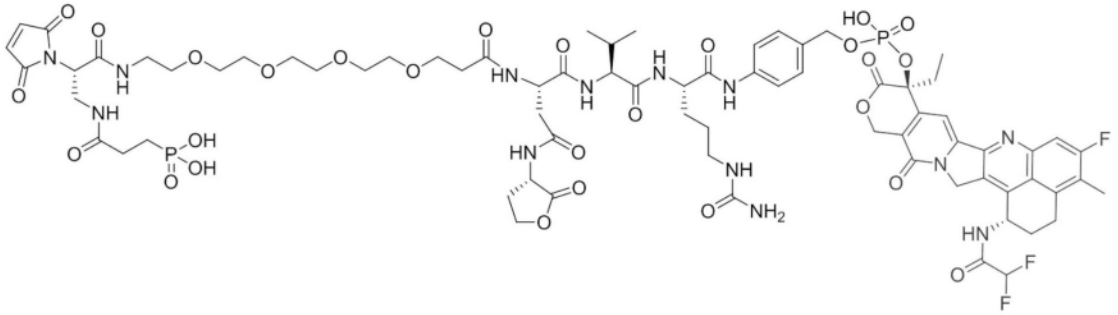
[2459] 参考例22

[2460] 

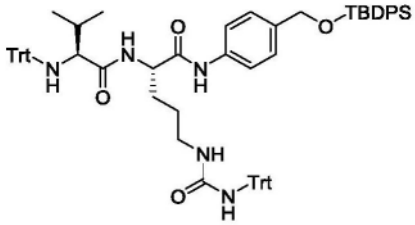
[2461] 代替参考例9-2,使用参考例16-2(6.8mg、4.07μmoL),及代替参考例3-6,使用参考例17-4(6.2mg、10.27μmoL),与参考例9同样地反应,得到为无色固体的标记化合物(2.1mg、收率25.37%)。

[2462] MS(ESI)m/z 1016$(M+2H)^{2+}$

[2463] 参考例23的合成

[2464] 

[2465] 参考例23-1

[2466] 

[2467] 在加入到500mL茄型烧瓶中的(L)-Val-(L)－Cit-PAB(10.0g、26.4mmoL)的四氢呋喃100mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边加入1H-咪唑(3.59g、52.7mmoL)后,进行冰冷,加入叔丁基二苯基氯硅烷7.45mL(7.97g、29.0mmoL),在室温下搅拌1.5小时。

[2468] 接着,在搅拌下在冰冷下加入叔丁基二苯基氯硅烷0.5mL(0.54g、1.946mmoL),在室温下搅拌1小时。

[2469] 反应结束后,在反应液中加入乙酸乙酯300mL,过滤不溶物,用乙酸乙酯15mL清洗。在得到的滤液中加入饱和碳酸氢钠水溶液100mL及饱和食盐水100mL,在室温下搅拌15分钟后分液,用乙酸乙酯20mL萃取2次水层。合并有机层,用无水硫酸钠5g进行干燥,过滤,将滤液进行减压浓缩。

[2470] 将得到的固体加入到四氢呋喃150mL中,加入饱和氯化铵水溶液150mL及水20mL进行分液。水层用乙酸乙酯20mL萃取2次,用饱和食盐水50mL清洗,合并有机层,用硫酸钠5g干燥后,进行减压浓缩。

[2471] 在得到的残渣的二氯甲烷200mL溶液中,在冰冷下加入三乙胺36.7mL(26.64g、

263mmoL)、三苯甲基氯(36.7g、132mmoL)后,在室温下搅拌1小时。接着在搅拌下在室温下加入三苯甲基氯(36.7g、132mmoL),在室温下搅拌1小时。

[2472] 接着,在搅拌下在室温下加入三乙胺36.7mL(26.64g、263mmoL)、三苯甲基氯(36.7g、132mmoL),在室温下搅拌1小时。

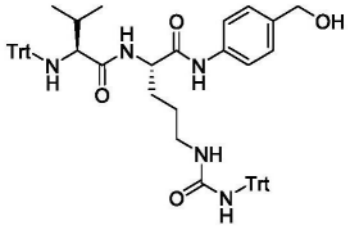
[2473] 接着在搅拌下在室温下加入三苯甲基氯(15.0g、53.8mmoL),在室温下搅拌30分钟。

[2474] 反应结束后,加入水40mL进行分液,用二氯甲烷20mL萃取2次水层。合并有机层,用饱和食盐水清洗,用无水硫酸钠干燥,过滤,对滤液进行减压浓缩,过滤析出的固体,得到含有目标物的溶液。

[2475] 将上述溶液进行减压浓缩,在白色固体析出的时刻停止浓缩,在冰冷下搅拌30分钟。将固体过滤,用已烷/乙酸乙酯=70/30(V/V)的混合溶剂50mL清洗,进行减压干燥,由此得到为白色固体的标记化合物(30.2459g、收率定量)。

[2476] MS(ESI)m/z 1103$(M+H)^+$

[2477] 参考例23-2

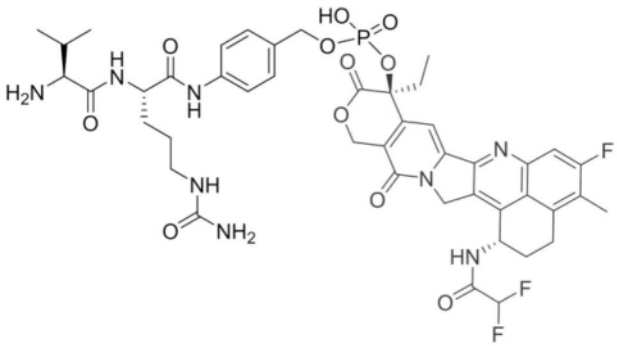
[2478] 

[2479] 在加入到500mL的茄型烧瓶中的参考例23-1(30.0g、27.2mmoL)的四氢呋喃270mL溶液中,在室温下加入1当量的四正丁基氟化铵77mL后,在室温下搅拌5小时。

[2480] 反应结束后,对反应溶液进行减压浓缩,使得到的残渣溶解于二氯甲烷30mL,进行山善中压制备(二氧化硅、3L(135g)、二氯甲烷/乙酸乙酯=92/8(V/V)→44/56(V/V),收集含有目标物(Rf=0.45(二氯甲烷/乙酸乙酯=50/50(V/V))的组分,过滤析出的固体,用二氯甲烷清洗,进行减压干燥,由此,得到为白色固体的标记化合物(16.2604g、收率69.16%)。

[2481] MS(ESI)m/z 864$(M+H)^+$

[2482] 参考例23-3

[2483] 

[2484] 在加入到50mL茄型烧瓶中的参考例23-2(434mg、0.502mmoL)的二氯甲烷15mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边依次在室温下加入1-烯丙基氧基N,N,N',N'-四异丙基亚磷酰二胺190μL(171.57mg、0.595mmoL)及1H-四唑(44mg、0.628mmoL),在室温下搅拌1小时。

[2485] 接着,加入U-032(99mg、0.193mmoL)及5-(乙基硫代)-1H-四唑(80mg、0.615mmoL),在43℃下加热搅拌3小时。

[2486] 接着,进行冰冷,在冰冷下加入70％叔丁基过氧化氢水溶液145μL(136.3mg、1.059mmoL),在冰冷下搅拌1小时。

[2487] 反应结束后,在反应溶液中加入水10mL,用二氯甲烷15mL对该混合溶液进行萃取,有机层用水清洗后,用无水硫酸镁进行干燥,过滤,进行减压浓缩,得到淡黄色油状物。

[2488] 向加入到100mL茄型烧瓶中的上述淡黄色油状物的四氢呋喃15mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下依次加入N-甲基苯胺57μL(56.43mg、0.527mmoL)及四(三苯基膦)钯(47mg、0.041mmoL),在室温下搅拌2小时后,在减压下除去溶剂。

[2489] 在残渣中加入叔丁基甲基醚,进行超声波处理,去除上清液。接着,在残渣中加入水,进行超声波处理,去除上清液,减压干燥,得到770mg的残渣。

[2490] 在100mL茄型烧瓶的上述残渣的二氯甲烷10mL溶液中,在室温下加入三氟乙酸166μL(245.68mg、2.155mmoL),在室温下搅拌3小时。接着,在室温下加入三氟乙酸83μL(122.84mg、1.077mmoL),在室温下搅拌1小时。

[2491] 反应结束后,加入叔丁基甲基醚20mL,去除上清液,使残渣溶解于30％乙腈水溶液,进行以下的条件的制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行冷冻干燥,由此得到为微黄色固体的标记化合物(65.1mg、收率35.35％)。

[2492] MS(ESI)m/z 955$(M+H)^+$

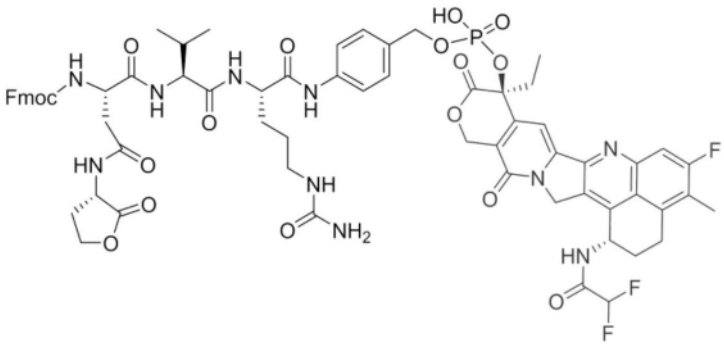
[2493] 柱:Waters XBridge Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[2494] 流速:17mL/min.

[2495] 洗脱溶剂:0.1％甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[2496] 梯度(B液):30％(0.00min.)→60％(6.00min.)-90％(6.50min.)→90％(9.00min.)

[2497] 参考例23-4

[2498] 

[2499] 在加入到20mL圆筒型烧瓶中的参考例1-2(39mg、0.089mmoL)的乙腈1.2mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入三乙胺14μL(10.16mg、0.100mmoL)及HATU(33mg、0.087mmoL),在室温下搅拌15分钟。

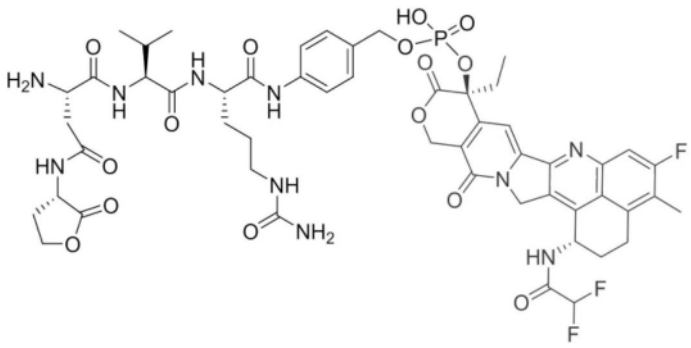
[2500] 接着,在搅拌下在室温下加入参考例23-3(65mg、0.068mmoL)及三乙胺10μL(7.26mg、0.072mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺1.8mL溶液,在室温下搅拌0.5小时。

[2501] 接着,在搅拌下在室温下加入参考例1-2(12mg、0.027mmoL)及HATU(5.0mg、0.013mmoL)及三乙胺8μL(5.81mg、0.057mmoL),在室温下搅拌0.5小时。

[2502] 反应结束后,将反应液进行减压浓缩,在残渣中加入水4mL、乙腈3mL,过滤析出的固体,用乙酸乙酯清洗,进行减压干燥,由此,得到为淡黄色固体的标记化合物(60mg、收率64.09%)。

[2503] MS(ESI)m/z 1376$(M+H)^+$

[2504] 参考例23-5

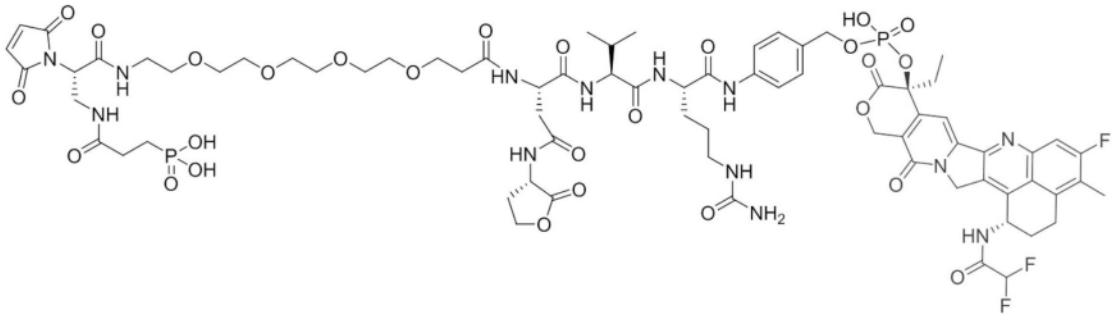
[2505] 

[2506] 在加入到10mL圆筒型烧瓶中的参考例23-4(60mg、0.044mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺1mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入哌啶0.013mL(11.14mg、0.131mmoL),在室温下搅拌1小时后,在减压下除去溶剂。

[2507] 将得到的残渣用乙酸乙酯、接着用二乙基醚清洗,进行减压干燥,由此,得到为茶褐色固体的标记化合物(45mg、收率89.46%)。

[2508] MS(ESI)m/z 1154$(M+H)^+$

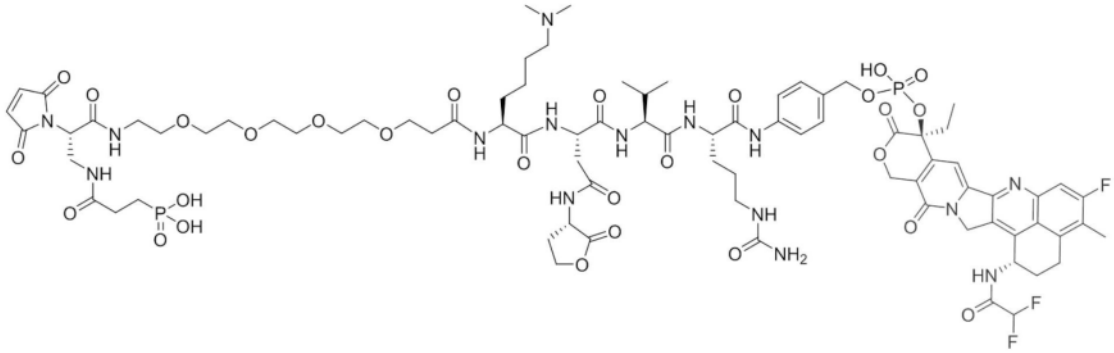
[2509] 参考例23

[2510] 

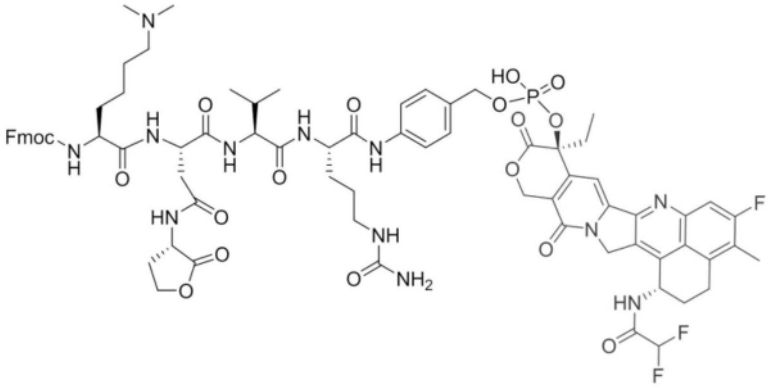
[2511] 使用参考例3-6(12.5mg、0.022mmoL)、代替参考例3-7的参考例23-5(12mg、10.41μmoL),与参考例3同样地反应,得到为白色固体的标记化合物(2.8mg、收率15.8%)。

[2512] MS(ESI)m/z 852$(M+2H)^{2+}$

[2513] 参考例24的合成

[2514] 

[2515] 参考例24-1

[2516] 

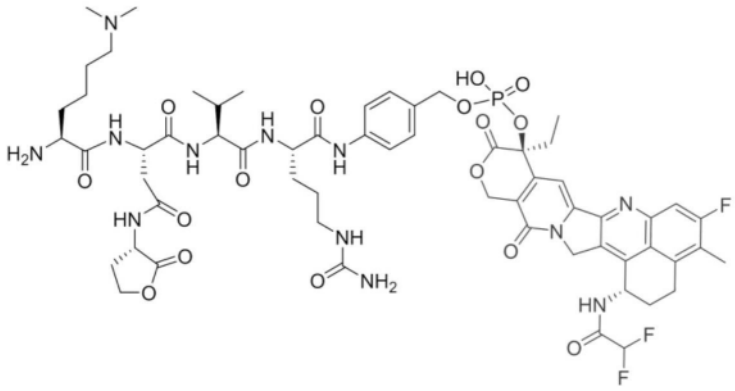
[2517] 在加入到10mL圆筒型烧瓶中的参考例23-4(49mg、0.036mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺1mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入哌啶10μL(8.6mg、0.101mmoL),在室温下搅拌1小时后,在减压下除去溶剂,将得到的残渣用乙酸乙酯、接着用二乙基醚清洗,对固体进行减压干燥。

[2518] 在加入到10mL圆筒型烧瓶中的N2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-N6,N6-二甲基-L-赖氨酸盐酸盐(27mg、0.068mmoL)的乙腈1.2mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入三乙胺10μL(7.2mg、0.072mmoL)及HATU(18mg、0.047mmoL),在室温下搅拌15分钟。

[2519] 接着,在搅拌下在室温下加入上述得到的固体及三乙胺5μL(3.63mg、0.036mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺1mL溶液,在室温下搅拌1小时后,在减压下除去溶剂。在残渣中加入二乙基醚,进行超声波处理后,去除上清液,对固体进行减压干燥,由此得到为茶褐色固体的标记化合物(68mg、收率定量)。

[2520] MS(ESI)m/z 767$(M+2H)^{2+}$

[2521] 参考例24-2

[2522] 

[2523] 在加入到20mL圆筒型烧瓶中的参考例24-1(68mg、0.044mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺1mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入哌啶10μL(8.6mg、0.101mmoL),在室温下搅拌1小时后,在减压下除去溶剂。对得到的残渣进行以下的条件的制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行冷冻干燥,由此得到为白色固体的标记化合物(12mg、收率20.64%)。

[2524] MS(ESI)m/z 655$(M+2H)^{2+}$

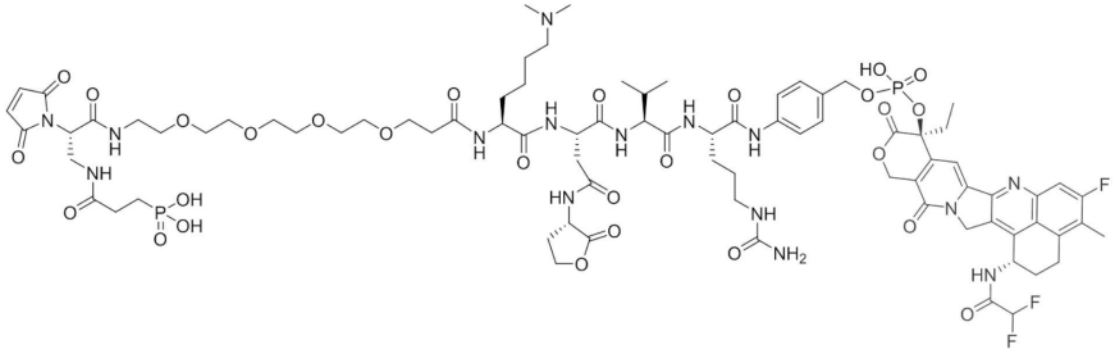
[2525] 柱:Waters XBridge Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[2526] 流速:17mL/min.

[2527] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[2528] 梯度(B液):20％(0.00min.)→50％(6.00min.)-90％(6.50min.)→90％(9.00min.)

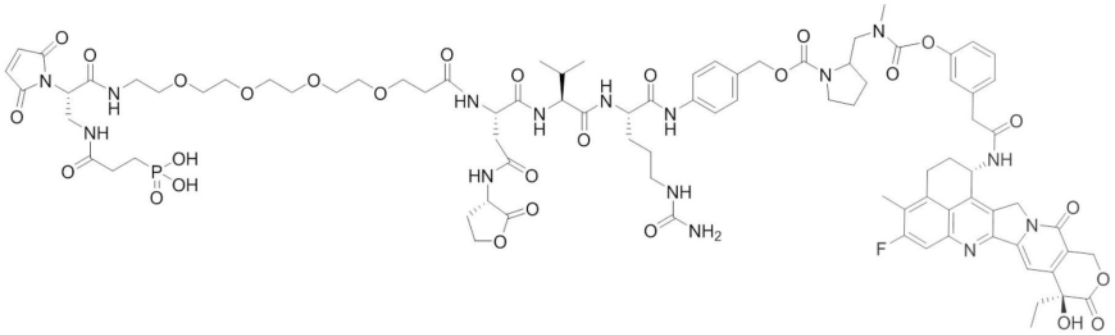
[2529] 参考例24

[2530] 

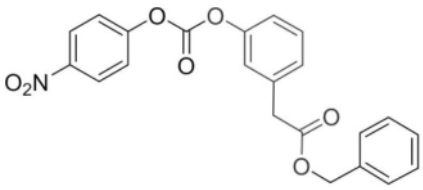
[2531] 使用参考例3-6(13mg、0.023mmoL)、代替参考例3-7的参考例24-2(12mg、9.17μmoL),与参考例3同样地反应,得到为白色固体的标记化合物(8.6mg、收率50.48％)。

[2532] MS(ESI)m/z 930$(M+2H)^{2+}$

[2533] 参考例25的合成

[2534] 

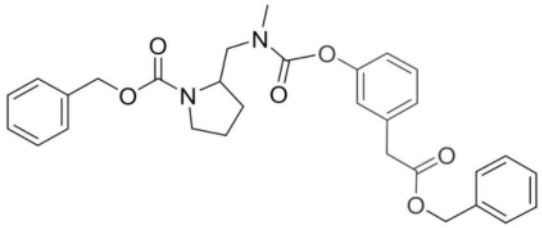
[2535] 参考例25-1

[2536] 

[2537] 在加入到100mL茄型烧瓶中的2-(3-羟基苯基)乙酸苄酯(3.40g、14.03mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺45mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入双(4-硝基苯基)碳酸酯(4.70g、15.45mmoL)及N,N-二异丙基乙基胺4.90mL(3.63g、28.1mmoL),在室温下搅拌3小时。

[2538] 反应结束后,将溶剂进行减压浓缩,在残渣中加入水,用乙酸乙酯萃取该混合溶液。将有机层用饱和碳酸氢钠水、接着用水清洗3次,进行减压浓缩。在得到的残渣中加入乙酸乙酯及己烷,滤取析出的固体,用己烷/乙酸乙酯＝4/1(V/V)的混合溶剂进行清洗,由此得到为微黄色固体的标记化合物(5.88g、收率定量)。

[2539] 参考例25-2

[2540] 

[2541] 在加入到30mL茄型烧瓶中的参考例25-1(149.8mg、0.368mmoL)、(S)-2-((甲基氨基)甲基)吡咯烷-1-羧酸苄酯三氟乙酸盐(Angew Chem Int Ed Engl.2020Mar 2;59(10):4176-41)(112.3mg、0.294mmoL)的二氯甲烷2mL溶液中,一边在氩气流下搅拌一边在室温下加入N,N-二异丙基乙基胺0.22mL(162.8mg、1.260mmoL),在室温下搅拌2小时。

[2542] 反应结束后,进行减压浓缩,溶解于N,N-二甲基甲酰胺5mL,进行以下的条件的制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为无色油状物的标记化合物(45.5mg、收率29.91%)。

[2543] MS(ESI)m/z 517(M+H)$^+$

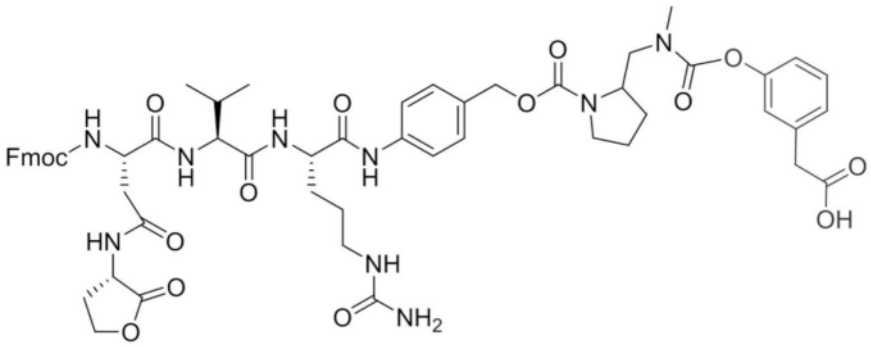
[2544] 柱:Waters XBridge Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[2545] 流速:17mL/min.

[2546] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[2547] 梯度(B液):50%(0.00min.)→95%(10.00min.)

[2548] 参考例25-3

[2549] 

[2550] 在氢气氛下对加入到30mL茄型烧瓶中的参考例25-2(45.6mg、0.088mmoL)、甲磺酸6.0μL(8.88mg、0.092mmol)、10%钯碳NX类型(含水50%)(19.9mg、9.35μmoL)的N,N-二甲基甲酰胺2mL溶液进行搅拌。

[2551] 接着加入参考例2-2(101.1mg、0.105mmoL)及N,N-二甲基甲酰胺2mL,一边搅拌一边在室温下加入N,N-二异丙基乙基胺61μL(45.14mg、0.349mmoL),在室温下搅拌2小时。

[2552] 对反应液进行以下的条件的制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为无色油状物的标记化合物(24.6mg、收率24.92%)。

[2553] MS(ESI)m/z 1119(M+H)$^+$

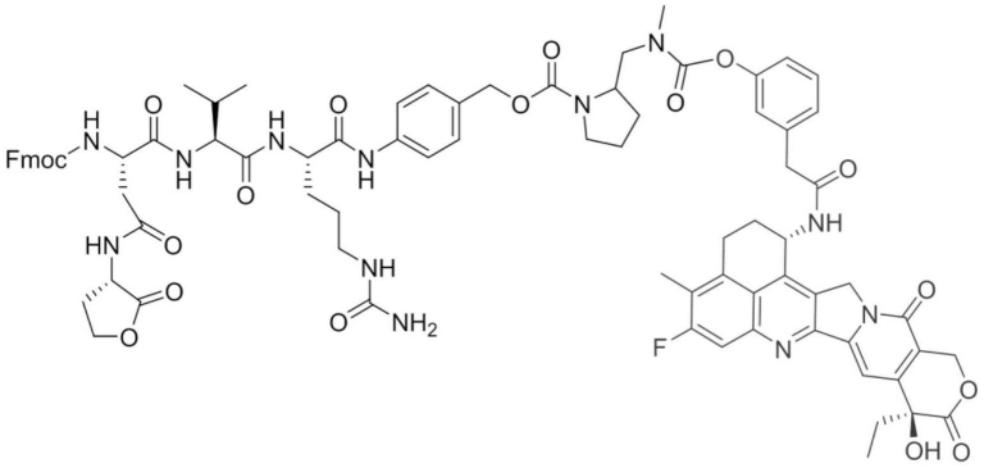
[2554] 柱:Waters XBridge Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[2555] 流速:17mL/min.

[2556] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-0.1%甲酸乙腈(B液)

[2557] 梯度(B液):30%(0.00min.)→80%(10.00min.)

[2558] 参考例25-4

[2559] 

[2560] 在加入到30mL茄型烧瓶中的参考例25-3(23.6mg、0.021mmoL)及依喜替康甲磺酸盐(10.5mg、0.020mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺2mL溶液中,一边加入三乙胺8μL(5.81mg、0.057mmoL)及HATU(8.6mg、0.023mmoL)并搅拌,一边在室温下搅拌2小时。

[2561] 对反应液进行以下的条件的制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行减压浓缩,由此得到为无色油状物的标记化合物(26.2mg、收率86.37%)。

[2562] MS(ESI)m/z 769$(M+2H)^{2+}$

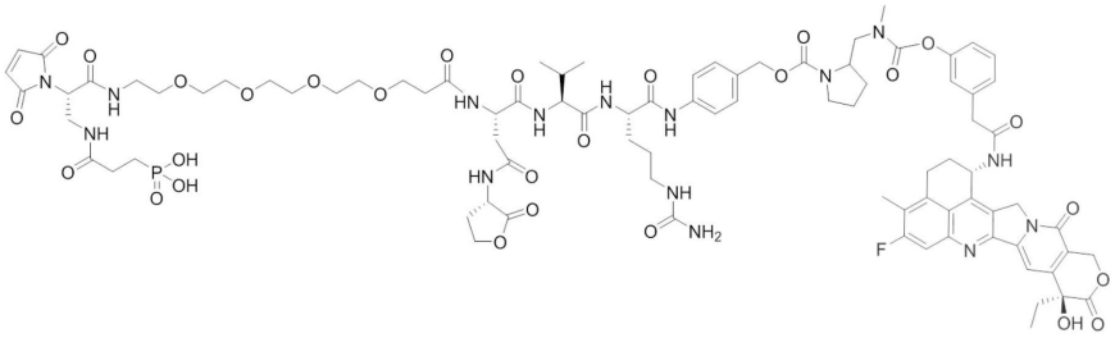
[2563] 柱:Waters XBridge Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[2564] 流速:17mL/min.

[2565] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[2566] 梯度(B液):40%(0.00min.)→80%(8.00min.)

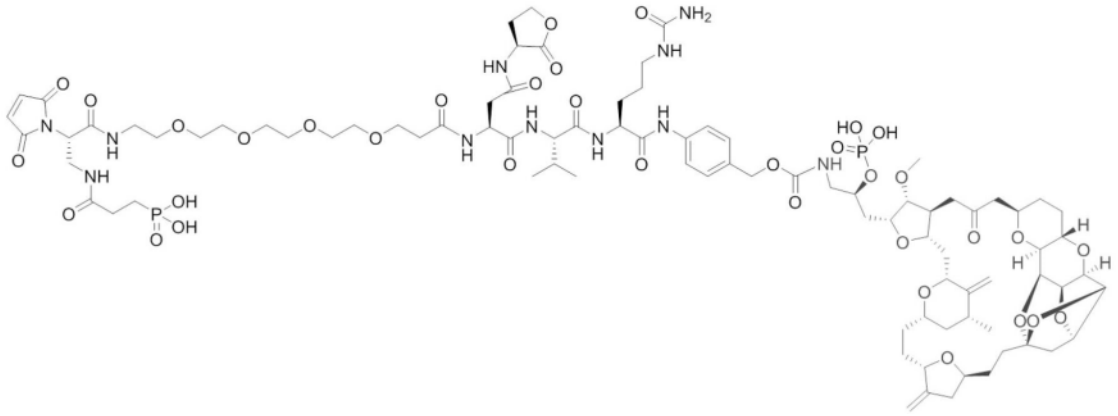
[2567] 参考例25

[2568] 

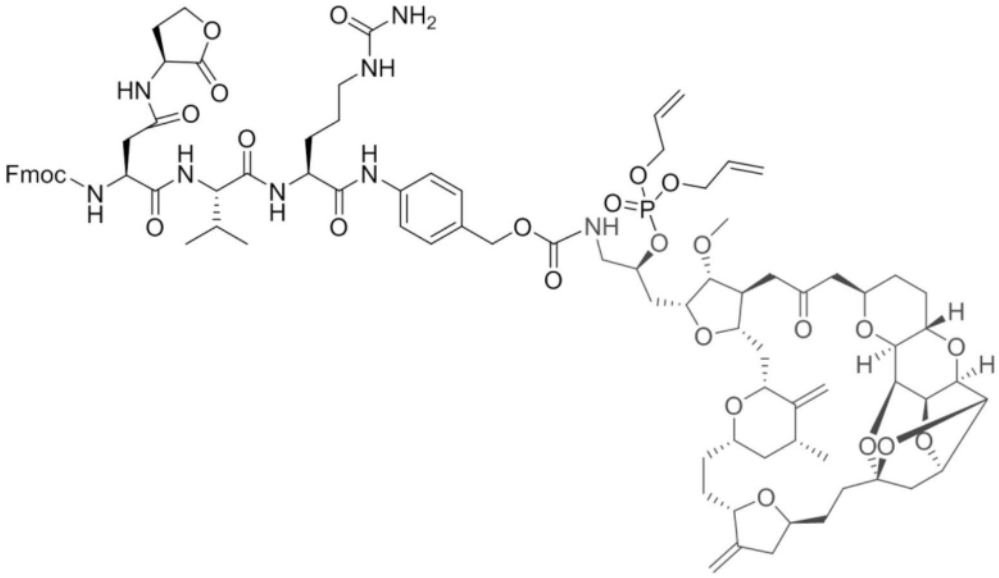
[2569] 使用参考例3-6(11.9mg、0.021mmoL)、及代替参考例9-2的参考例25-4(10.0mg、6.51μmoL),与参考例9同样地反应,得到为无色固体的标记化合物(3.8mg、收率30.91%)。

[2570] MS(ESI)m/z 932$(M+2H)^{2}$

[2571] 参考例26的合成

[2572] 

[2573] 参考例26-1

[2574] 

[2575] 在加入到5mL样品管中的参考例14-1(19.2mg、0.012mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺0.8mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边加入二烯丙基N,N-二异丙基亚磷酰胺49μL(45.47mg、0.185mmoL),接着在室温下加入1H-四唑(13.0mg、0.186mmoL)的N,N-二甲基甲酰胺0.2mL溶液,在室温下搅拌1小时。

[2576] 其后,加入30重量%过氧化氢水19μL(21.09mg、0.186mmoL),在室温下搅拌1小时。

[2577] 对得到的反应液进行以下的条件的制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行冷冻干燥,由此得到为无色泡状物的标记化合物(10.2mg、收率48.17%)。

[2578] MS(ESI)m/z 859(M+2H)^{2}

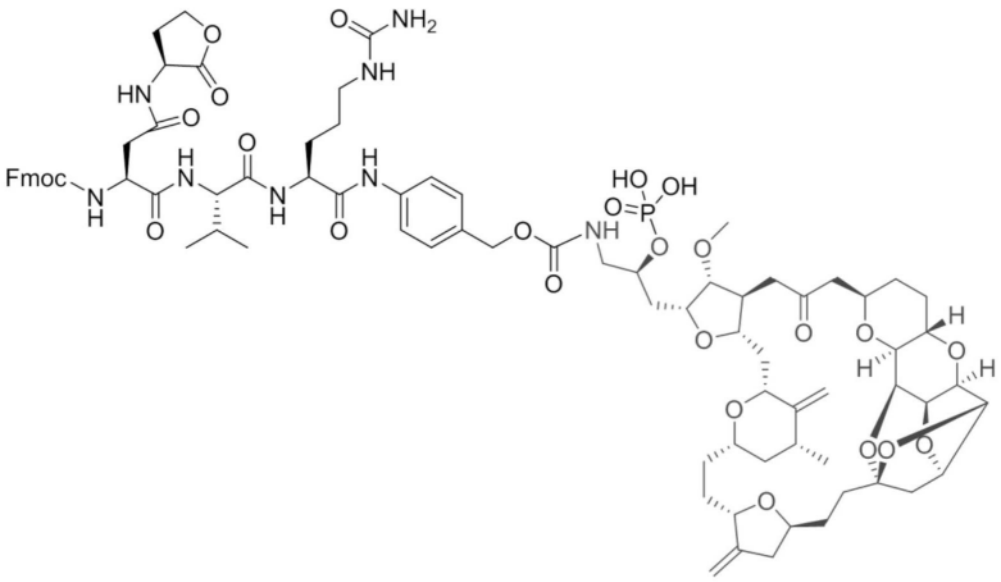
[2579] 柱:Waters XBridge Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[2580] 流速:17mL/min.

[2581] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[2582] 梯度(B液):50%(0.00min.)→95%(10.00min.)

[2583] 参考例26-2

[2584] 

[2585] 在加入到5mL的样品管中的参考例26-1(15.1mg、8.80μmoL、包含通过与参考例26-1同样的方法得到的物质)的N,N-二甲基甲酰胺0.5mL溶液中,一边在氩气氛下搅拌一边在室温下依次加入N-甲基苯胺3.5μL(3.47mg、0.032mmoL)及四(三苯基膦)钯(2.0mg、1.731μmoL),在室温下搅拌2小时。

[2586] 对得到的反应液进行以下的条件的制备型HPLC色谱,对含有目标物的组分进行冷冻干燥,由此得到为无色固体的标记化合物(9.3mg、收率64.61%)。

[2587] MS(ESI)m/z 819(M+2H)^{2}

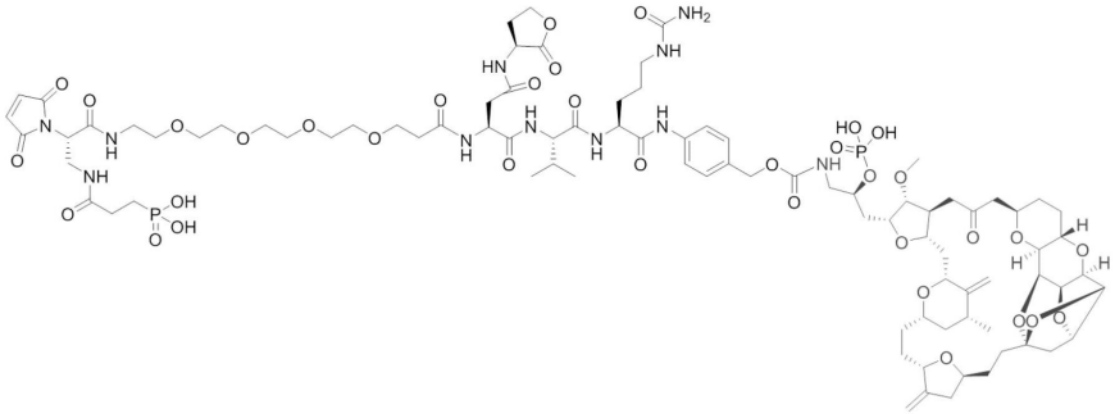
[2588] 柱:Waters XBridge Prep C18 5μm ODB 19*150mm

[2589] 流速:17mL/min.

[2590] 洗脱溶剂:0.1%甲酸水溶液(A液)-乙腈(B液)

[2591] 梯度(B液):30%(0.00min.)→70%(8.00min)

[2592] 参考例26

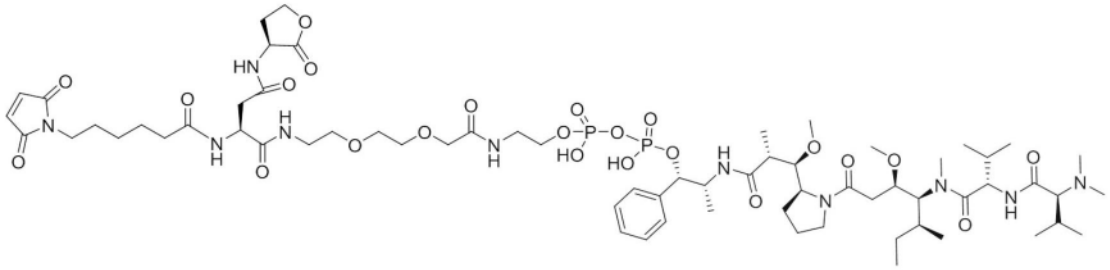
[2593] 

[2594] 使用参考例3-6(11.9mg、0.021mmoL)、及代替参考例9-2的参考例26-2(9.3mg、5.69μmoL),与参考例9同样地反应,得到为无色固体的标记化合物(5.4mg、收率48.39%)。

[2595] MS(ESI)m/z 982(M+2H)^{2}

[2596] 参考例27的合成

[2597] 参考例27

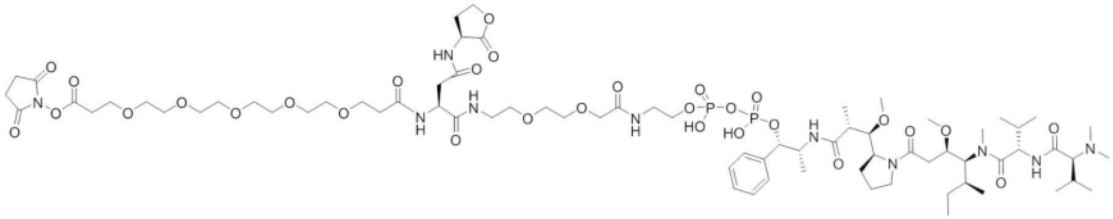
[2598] 

[2599] 代替1-马来酰亚胺-3-氧代-7,10,13,16-四氧杂-4-氮杂十九烷酸N-琥珀酰亚胺基酯,使用6-马来酰亚胺己酸N-琥珀酰亚胺基酯(9.7mg、0.031mmoL),及代替参考例1-7,使用参考例19-10(20mg、0.016mmoL),与参考例1同样地反应,得到为无色固体的标记化合物(11.1mg、收率48.21%)。

[2600] MS(DUIS)m/z 1469(M-H)$^-$

[2601] 参考例28的合成

[2602] 参考例28

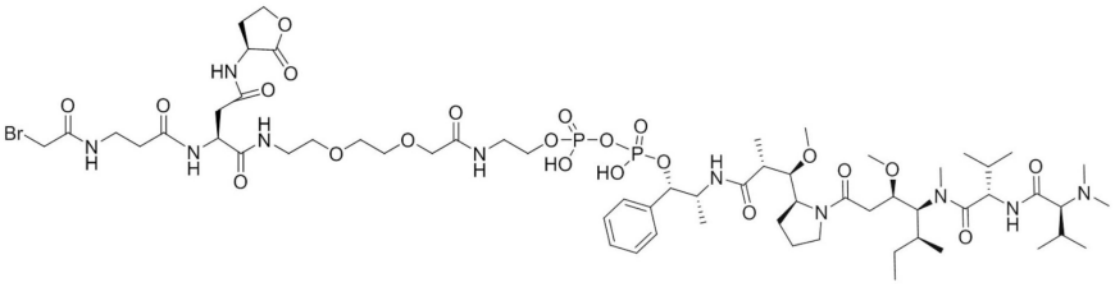
[2603] 

[2604] 代替1-马来酰亚胺-3-氧代-7,10,13,16-四氧杂-4-氮杂十九烷酸N-琥珀酰亚胺基酯,使用双(2,5-二氧代吡咯烷-1-基)4,7,10,13,16-五氧杂十九烷二酸酯(16.6mg、0.031mmoL),及代替参考例1-7,使用参考例19-10(20mg、0.016mmoL),与参考例1同样地反应,得到为无色固体的标记化合物(3.9mg、收率14.85%)。

[2605] MS(ESI)m/z 847(M-2H)$^{2-}$

[2606] 参考例29的合成

[2607] 参考例29

[2608] 

[2609] 代替1-马来酰亚胺-3-氧代-7,10,13,16-四氧杂-4-氮杂十九烷酸N-琥珀酰亚胺基酯,使用3-(溴代乙酰胺)丙酸N-琥珀酰亚胺基酯(9.61mg、0.031mmoL),及代替参考例1-7,使用参考例19-10(20mg、0.016mmoL),与参考例1同样地反应,得到为白色固体的标记化合物(3.9mg、收率16.95%)。

[2610] MS(DUIS)m/z 736(M+2H)$^{2+}$

[2611] [实施例]抗体-药物偶联物的合成

[2612] 通过以下的方法,合成本发明的抗体-药物偶联物。需要说明的是,以下的各实施例中获得的抗体-药物偶联物表示为通式(I')。

[2613] 通式(I')：

[2614] $A——(B\text{-}L\text{-}D)_{a'}$ (I')

[2615] (式中,A、B、L和D与上述含义相同,a'是实施例中获得的抗体-药物偶联物中的每1分子抗体的连接子-药物(L-D)的平均结合数(DAR),是可以包含小数的1～10的数,在本说明书中显示到小数点后1位。)

[2616] 实施例1.通式(I')中A为抗HER2抗体的残基、B为-S-、L-D为"例示编号2-1的结构"的抗体-药物偶联物的合成

[2617] 1-1.通过赫赛汀的纯化来制备抗HER2抗体(曲妥单抗)

[2618] 曲妥单抗是将赫赛汀(中外制药株式会社制)纯化而制备的。在磷酸缓冲食盐水(以下称为PBS)(pH7.2、Thermo Fisher Scientific公司制、20012-043)中添加EDTA(Thermo Fisher Scientific公司制、AM9260G),使其成为10mM(以下,称为PBS/EDTA)。按照制造商规定的方法,用PBS/EDTA使NAP-10柱(GE Health care公司制、17085402)平衡化。对每1根NAP-10柱加载赫赛汀的PBS/EDTA溶液1mL后,分离用1.5mL的PBS/EDTA使其洗脱的组分(1.5mL)。使用酶标仪(Flex Station3,Molecular Device公司制)测定该组分的280nm吸光度,由此测定抗体浓度(作为280nm吸光系数,使用1.47mL$mg^{-1}cm^{-1}$)。

[2619] 1-2.曲妥单抗的还原：

[2620] 使用PBS/EDTA将上述1-1中得到的曲妥单抗溶液的浓度调整为1～10mg/mL。

[2621] 将该溶液0.99mL放入1.5mL微量管中,向其中加入TCEP盐酸盐(富士胶片和光纯药株式会社制、209-19861)的PBS/EDTA溶液10μL(相对于一分子抗体为6.9当量)。在37℃下孵育2小时,还原抗体内铰链部的二硫键。

[2622] 1-3.经还原的曲妥单抗与反应性前体(化合物(III))的偶联物形成：

[2623] 向经还原的曲妥单抗溶液900μL中加入包含参考例1中得到的化合物(例示编号3-1)的二甲基亚砜(富士胶片和光纯药株式会社制、043-07216)溶液100μL(相对于一分子抗体为10当量或20当量),在冰上反应1小时。接着,加入L-半胱氨酸(富士胶片和光纯药株式会社制、039-20652)的PBS/EDTA溶液(相对于一分子抗体为10当量)10μL,进一步反应15分钟,使偶联物形成的反应停止。

[2624] 1-4.抗体-药物偶联物的纯化：

[2625] 按照制造商规定的方法,用PBS(pH7.4、Thermo Fisher Scientific公司制、10010-023)使NAP-10柱平衡化。在该NAP-10柱上加载上述1-3中得到的抗体-药物偶联物反应水溶液(1mL),分离以1.5mL的PBS(pH7.4)使其洗脱的组分(1.5mL)。将该分离组分再次加载于NAP-10柱上,同样地分离洗脱的组分。

[2626] 1-5.抗体-药物偶联物中的抗体浓度和每1分子抗体的连接子-药物单元(L-D)的平均结合数的计算：

[2627] 按照关于制造方法而说明的上述一般的偶联物处理工序中的"偶联物处理工序E"测定上述1-4中得到的抗体-药物偶联物的DAR,或者按照"偶联物处理工序F"进行推定。其结果,本实施例1的抗体-药物偶联物的DAR为8.0。

[2628] 对于实施例3b和3c,代替实施例1的制法1-1中使用的抗HER2抗体,使用由利妥昔单抗BS(协和麒麟)纯化的抗CD20抗体、或由爱必妥(Merck BioPharma株式会社)纯化的抗EGFR抗体,除此以外,通过相同的方法得到抗体-药物偶联物。

[2629] 本实施例以及比较对照化合物通过使用各自的反应性前体(化合物(III))、MC-Val-Cit-PAB-MMAE(MedChemExpress公司、CAS号646502-53-6)及Mal-PEG2-Val-Cit-PAB-艾日布林(Chem Scene公司、CAS号2130869-18_8)进行与实施例1同样的反应及处理操作而得到(关于实施例11,对于抗体,使用20当量为反应性前体的参考例11)。将本实施例以及比较对照化合物的DAR的结果与实施例1一起汇总记载在以下的表1中。

[2630] 比较对照化合物-1为使用MC-Val-Cit-PAB-MMAE作为反应性前体而获得的抗体-药物偶联物,

[2631] 比较对照化合物-2为使用Mal-PEG2-VAl-Cit-PAB-艾日布林作为反应性前体而获得的抗体-药物偶联物。

[2632] 【表1】

[2633] 表1

[2634]

实施例编号	使用的化合物（III）	获得的偶联物（I'）				
		A	B	L－D的结构	DAR	
					处理工序	a'
1	参考例1（例示编号3－1）	抗HER2抗体残基	－S－	例示编号2－1	F	8．0
2	参考例2（例示编号3－2）	抗HER2抗体残基	－S－	例示编号2－2	F	7．9
3	参考例3（例示编号3－3）	抗HER2抗体残基	－S－	例示编号2－3	F	8．0
3b	参考例3（例示编号3－3）	抗CD20抗体残基	－S－	例示编号2－3	F	8．0
3c	参考例3（例示编号3－3）	抗EGFR抗体残基	－S－	例示编号2－3	F	8．0
4	参考例4（例示编号3－4）	抗HER2抗体残基	－S－	例示编号2－4	E	7．0
5	参考例5（例示编号3－5）	抗HER2抗体残基	－S－	例示编号2－5	F	8．0
6	参考例6（例示编号3－6）	抗HER2抗体残基	－S－	例示编号2－6	F	8．0
7	参考例7（例示编号3－7）	抗HER2抗体残基	－S－	例示编号2－7	F	8．0
8	参考例8（例示编号3－8）	抗HER2抗体残基	－S－	例示编号2－8	F	7．1
9	参考例9（例示编号3－9）	抗HER2抗体残基	－S－	例示编号2－9	E	6．7
10	参考例10（例示编号3－10）	抗HER2抗体残基	－S－	例示编号2－9	E	7．1
11	参考例11（例示编号3－11）	抗HER2抗体残基	－S－	例示编号2－11	E	8．0
12	参考例12（例示编号3－12）	抗HER2抗体残基	－S－	例示编号2－12	E	7．0
13	参考例13（例示编号3－13）	抗HER2抗体残基	－S－	例示编号2－13	E	6．8
14	参考例14（例示编号3－14）	抗HER2抗体残基	－S－	例示编号2－14	F	7．9
15	参考例15（例示编号3－15）	抗HER2抗体残基	－S－	例示编号2－15	F	7．3
16	参考例16（例示编号3－16）	抗HER2抗体残基	－S－	例示编号2－16	F	7．3
17	参考例17（例示编号3－17）	抗HER2抗体残基	－S－	例示编号2－17	F	8．0
18	参考例18（例示编号3－18）	抗HER2抗体残基	－S－	例示编号2－18	F	6．6
19	参考例19	抗HER2	－S－	例示编号2－19	F	6．7

[2635]

	（例示编号３－１９）	抗体残基				
２０	参考例２０（例示编号３－２０）	抗ＨＥＲ２抗体残基	－Ｓ－	例示编号２－２０	Ｅ	４．８
２１	参考例２１（例示编号３－２１）	抗ＨＥＲ２抗体残基	－Ｓ－	例示编号２－２１	Ｆ	７．９
２２	参考例２２（例示编号３－２２）	抗ＨＥＲ２抗体残基	－Ｓ－	例示编号２－２２	Ｆ	８．０
２３	参考例２３（例示编号３－２３）	抗ＨＥＲ２抗体残基	－Ｓ－	例示编号２－２３	Ｅ	８．８
２４	参考例２４（例示编号３－２４）	抗ＨＥＲ２抗体残基	－Ｓ－	例示编号２－２４	Ｅ	９．３
比较对照化合物－１	ＭＣ－Ｖａｌ－Ｃｉｔ－ＰＡＢ－ＭＭＡＥ	抗ＨＥＲ２抗体残基	－Ｓ－		Ｆ	８．１
比较对照化合物－２	Ｍａｌ－ＰＥＧ２－Ｖａｌ－Ｃｉｔ－ＰＡＢ－艾日布林	抗ＨＥＲ２抗体残基	－Ｓ－		Ｆ	８．０

[2636] [试验例]

[2637] [试验例1:微管蛋白聚合抑制试验]

[2638] 微管蛋白聚合抑制作用的测定使用微管蛋白聚合检测试剂盒(Cytoskeleton公司制、BK011P)。在冰冷却下,制备含有猪微管蛋白、GTP、$MgCl_2$、EGTA、甘油和荧光报告物质的PIPES缓冲液,作为反应溶液。反应溶液冰冷却至使用。在96孔板(Corning公司制,3686)中添加5μL/孔的由含有1.5％DMSO的水溶液制备的受试化合物溶液。添加50μL/孔的反应溶液,设置于预先将内部温度设定为37℃的酶标仪(Flex Station3,Molecular Device公司制),开始各孔的荧光强度(激发波长:360nm、检测波长:420nm)测定。荧光强度每1分钟测定1次,持续测定60分钟。

[2639] 微管蛋白聚合抑制率(％)由下式算出。

[2640] 微管蛋白聚合抑制率(％)＝((a-b)/a)×100

[2641] a:介质处置孔中的荧光强度增加量的平均值(n＝2)

[2642] b:受试化合物处置孔中的荧光强度增加量的平均值(n＝2)

[2643] 荧光强度增加量:(从测定开始起51～60分钟后的荧光强度平均值)-(从测定开始起1～6分钟后的荧光强度平均值)

[2644] 使用EXSUS(CACクロア社制)求出微管蛋白聚合抑制率与受试化合物浓度的关系(S型曲线回归),算出微管蛋白聚合抑制率为50％的受试化合物浓度(IC_{50}值)。

[2645] 在本试验中,本说明书中记载的“抗肿瘤性药物分子或其类似物、或它们的衍生物(本说明书中作为U-化合物例示)”显示出优异的微管蛋白聚合抑制活性,例如U-008(制造例8)、U-009(制造例9)、U-010(制造例10)、U-011(制造例11)、U-012(制造例12)、U-013(制造例13)、U-014(制造例14)、U-015(制造例15)、U-016(制造例16)、U-017(制造例17)、U-018(制造例18)、U-019(制造例19)、U-020(制造例20)、U-021(制造例21)、U-030(制造例30)、及U-031(制造例31)的IC_{50}值为3μM以下,与在相同条件下试验的MMAE大致相同。

[2646] [试验例2:拓扑异构酶I活性抑制试验]

[2647] 在拓扑异构酶I活性抑制作用的测定中,使用了人DNA拓扑异构酶I检测试剂盒(ProFoldin公司制、HRA100K)。将人拓扑异构酶I(Sigma公司制,T9069)添加到包含KCl、

DTT、$MgCl_2$、EDTA以及BSA的Tris-HCl缓冲液中,制成反应溶液。在1.5mL微量管内混合反应溶液35.2μL和由含有10%DMSO的水溶液制备的受试化合物溶液4.4μL,在37℃下反应10分钟。接着,添加4.4μL的过冷质粒(supercolled plasmid)DNA,在37℃下反应60分钟。向96孔板(Corning公司制,3904)中添加40μL/孔的反应后的溶液,并添加通过试剂盒附带的缓冲液稀释了10倍的Dye H19溶液250μL。使用酶标仪(Infinite F500,TECAN公司制)测定各孔的荧光强度(激发波长:485nm、检测波长:535nm)。

[2648] 拓扑异构酶I活性抑制率(%)由下式算出。

[2649] 拓扑异构酶I活性抑制率(%)=((a-b)/(c-b))×100

[2650] a:试验化合物处置孔中的荧光强度

[2651] b:介质处置孔中的荧光强度

[2652] c:未添加拓扑异构酶I的孔中的荧光强度

[2653] 使用EXSUS(CACクロア社制)求出拓扑异构酶I活性抑制率与受试化合物浓度的关系(S型曲线回归),算出拓扑异构酶I活性抑制率为50%的受试化合物浓度(IC_{50}值)。

[2654] 在本试验中,本说明书中记载的"抗肿瘤性药物分子或其类似物、或它们的衍生物(在本说明书中作为U-化合物例示)"显示出优异的拓扑异构酶I抑制活性,例如U-001(制造例1)、U-002(制造例2)、U-003(制造例3)、U-004(制造例4)、U-005(制造例5)、U-006(制造例6)、及U-007(制造例7)的IC_{50}值为15μM以下,与在相同条件下试验的依喜替康大致相同。

[2655] [试验例3:细胞增殖抑制试验]

[2656] 3-1.HER2阳性人胃癌细胞株(NCI-N87)增殖抑制试验

[2657] NCI-N87通常用作HER2的过量表达细胞株(Clin Cancer Res;22(20)October15,2016)。NCI-N87(ATCC,CRL-5822)用含有10%胎牛血清(Corning公司制,35-011-CV)和1%青霉素/链霉素(Thermo Fisher Scientific公司制,15140-122)的RPMI1640 Medium(ATCC Modification)(Thermo Fisher Scientific公司制,A10491-01)进行培养。将细胞以1.0×10^3细胞/100μL/孔接种于96孔板(Corning公司制,353377)。在5%CO_2、37℃下培养一夜后,更换为新的培养基95μL/孔,以5μL/孔使用利用PBS(Thermo Fisher Scientific公司制、10010-023)制备成2μg/mL的受试化合物或抗HER2抗体(曲妥单抗)进行处置(处置浓度100ng/mL)。在5%CO_2、37℃下培养6天后,添加CellTiter-Glo(Promega公司制,G9241)100μL/孔,使用酶标仪(Flex Station3,Molecular Device公司制)测定各孔的发光量。

[2658] 增殖抑制率(%)由下式算出。

[2659] 增殖抑制率(%)=((a-b)/(a-c))×100

[2660] a:介质处置孔的发光量的平均值(n=3)

[2661] b:受试化合物处置孔的发光量的平均值(n=3)

[2662] c:受试化合物处置前的发光量的平均值(n=3)

[2663] 本试验中,实施例化合物显示出细胞增殖抑制活性,其中,实施例1、2、3、5、6、7、8、14、15、16、17、18、19、21、及22的化合物与抗HER2抗体相比,显示出非常优异的细胞增殖抑制活性。本实验中,抗HER2抗体的细胞增殖抑制活性为14~35%。

[2664] 3-2.HER2阴性人乳腺癌细胞株(MDA-MB-231)增殖抑制试验

[2665] MDA-MB-231通常作为三阴乳腺癌细胞株使用,已知HER2的表达为无或弱表达(Breast Cancer(Auckl).2010May20;4:35-41)。MDA-MB-231(ECACC,92020424)用含有10%

胎牛血清(Corning公司制,35-011-CV)和1％青霉素/链霉素(Thermo Fisher Scientific公司制,15140-122)的Leibovitz's L-15Medium(ATCC Modification)(Thermo Fisher Scientific公司制,11415-064)进行培养。将细胞以1.0×10^3细胞/100μL/孔接种于96孔板(Corning公司制,353377)。在37℃下培养一夜后,更换为新的培养基95μL/孔,以5μL/孔使用利用PBS(Thermo Fisher Scientific公司制、10010-023)制备成2μg/mL的受试化合物进行处置(处置浓度100ng/mL)。在37℃下培养6天后,添加CellTiter-Glo(Promega公司制,G9241)100μL/孔,使用酶标仪(Flex Station3,Molecular Device公司制)测定各孔的发光量。

[2666] 增殖抑制率(％)与试验例3-1同样地算出。

[2667] 在本试验中,实施例化合物的细胞增殖抑制率为10％以下,几乎不显示细胞增殖抑制活性。

[2668] 由以上的试验例3(3-1和3-2)的结果可看出,各实施例中获得的抗体-药物偶联物与HER2阳性细胞特异性结合后进入细胞内,与该偶联物结合的抗肿瘤性药物在细胞内游离,它们有助于细胞增殖抑制作用。

[2669] [试验例4:HER2过表达人胃癌细胞株(NCI-N87)皮下移植裸鼠中的肿瘤生长抑制试验]

[2670] 将人胃癌细胞株(NCI-N87)(ATCC公司制Code.No.CRL-5822)用含有10％FBS(CORNING公司制,35-011-CV)和1％青霉素/链霉素(Thermo Fisher Scientific公司制,15140-122)的RPMI1640培养基(Thermo Fisher Scientific公司制,A10491-01)进行培养。用PBS(Thermo Fisher Scientific公司制,10010-023)和Matrigel(CORNING公司制356231)最终成为1:1的溶剂制备5.0×10^7细胞/mL的细胞悬浮液。将所制备的细胞悬浮液在BALB/c-nu/nu小鼠(雌性,日本Chels-Reserber公司供给)的右侧腹部皮下每只注入0.1mL。饲养一定期间后,用电子游标卡尺(Mitutoyo公司制)测定肿瘤的长径(mm)及短径(mm),通过下式算出肿瘤体积。

[2671] 肿瘤体积(mm^3)＝(长径)×(短径)×(短径)×0.5

[2672] 选拔肿瘤体积为50～500mm^3范围内的个体,以肿瘤体积大致相等的方式进行分组后,静脉内给予受试化合物或仅溶剂。将给药开始当天设为第0天,在第21天测定肿瘤体积。将溶剂给药对照组的相对于第0天的肿瘤体积增加设为100％,计算受试化合物各给药量下的肿瘤体积抑制率(％)。

[2673] 在本试验中,实施例5、10、11、14、16和17的化合物以3mg/kg的给药量表现出50％以上的肿瘤体积抑制率,实施例1、2、3、4、6、7、8和18的化合物以3mg/kg的给药量显示100％以上的肿瘤体积抑制率,实施例2、3、15和19的化合物如图1、2、3和4所示以1mg/kg的给药量显示100％以上的肿瘤体积抑制率。由这些结果确认了本发明的抗体-药物偶联物的明确的肿瘤抑制或肿瘤退缩效果。

[2674] [试验例5:使用人肝脏溶酶体组分的代谢试验]

[2675] 向悬浮有相当于人肝脏溶酶体(SEKISUI-Xenotech公司制CatNo.H610.L2.5mg/mL)0.125mg蛋白的反应组成液(X10 Catabolic Buffer(SEKISUI-Xenotech公司制K5200))60μL和蒸馏水(富士胶片和光纯药工业株式会社制HPLC用)10μL中加入溶解于PBS中的1.2μM受试化合物(实施例中制造的抗体-药物偶联物)25μL来制备反应液,在37℃下培养24小时

后,在以下的条件下通过LC-MS/MS(高效液相色谱/质谱联用系统)对从抗体-药物偶联物游离到反应液中的“抗肿瘤性药物分子或其类似物、或它们的衍生物”进行定量。

[2676] LC-MS/MS分析条件

[2677] LC:岛津制作所制造的LC20或LC30HPLC系统

[2678] 柱:Phenomenex Kinetex C18(50x2.1mm、2.6μm)

[2679] 柱温度:40℃

[2680] 流速:0.4mL/min

[2681] 流动相A:0.1%甲酸水溶液、流动相B:0.1%甲酸、50%乙腈/甲醇混液

[2682] 梯度:0~1分;A/B=90/10→10/90、1~3分;A/B=10/90、3~3.01分;A/B=10/90→90/10

[2683] MS:SCIEX制Q-Trap3200

[2684] 电离:ESI

[2685] 模式:正或负

[2686] 药物的游离率(%)通过以下的计算式算出。

[2687] $$游离率(\%)=\frac{抗肿瘤性药物分子的定量值\ (nM)}{受试化合物的反应液中浓度(nM)\times DAR}\times 100$$

[2688] 如以下的表2所示,确认了从实施例中获得的各抗体-药物偶联物游离分别结合的“抗肿瘤性药物分子或其类似物、或它们的衍生物”。

[2689] 【表2】

[2690] 表2

[2691]

实施例编号	药物	游离率(%)
1	MMAE	68
2	U-030	96
3	U-031	81
4	U-003	76
5	U-029	7.3
6	MMAE	78
7	MMAE	86
8	MMAE	60
9	U-036	98
10	U-001	61
11	DXd	64
12	U-035	3.5
13	DXd	76
14	艾日布林	61
15	U-031	84
16	艾日布林	72
17	艾日布林	56

18	艾日布林	75
19	U-031	1.1
20	U-034	54

[2692] [试验例6:使用人肝脏组织蛋白酶B的代谢试验]

[2693] 在相当于人肝脏组织蛋白酶B(Sigma-Aldrich公司制CatNo.C857125μg/vial)400Unit/mL的5μL、X10 Catabolic Buffer(SEKISUI-Xenotech公司制K5200)10μL、2.5mM牛血清白蛋白(富士胶片和光纯药工业株式会社制CatNo.012-15093)5μL、及蒸馏水(富士胶片和光纯药工业株式会社制HPLC用)55μL中加入溶解于PBS的1.2μM受试化合物(实施例中合成的抗体-药物偶联物)25μL来制备反应液,在37℃下培养24小时后,在以下的条件下通过LC-MS/MS(高效液相色谱/质谱联用系统)对从抗体-药物偶联物游离到反应液中的"抗肿瘤性药物分子或其类似物、或它们的衍生物"进行定量。

[2694] LC-MS/MS分析条件

[2695] LC:岛津制作所制造的LC20或LC30HPLC系统

[2696] 柱:Phenomenex Kinetex C18(50x2.1mm、2.6μm)

[2697] 柱温度:40℃

[2698] 流速:0.4mL/min

[2699] 流动相A:0.1%甲酸水溶液、流动相B:0.1%甲酸、50%乙腈/甲醇混液

[2700] 梯度:0~1分;A/B=90/10→10/90、1~3分;A/B=10/90、3~3.01分;A/B=10/90→90/10

[2701] MS:SCIEX制Q-Trap3200

[2702] 电离化:ESI

[2703] 模式:正或负

[2704] 药物的游离率(%)通过以下的计算式算出。

[2705] $$游离率(\%)=\frac{抗肿瘤性药物分子的定量值\ (nM)}{受试化合物的反应液中浓度(nM)\times DAR}\times 100$$

[2706] 如以下的表3所示,确认了从各实施例中获得的抗体-药物复合体偶联物中游离出结合的"抗肿瘤性药物分子或其类似物、或它们的衍生物"。

[2707] 【表3】

[2708] 表3

[2709]

实施例编号	药物	游离率(%)
1	MMAE	71
2	U-030	96
3	U-031	97
4	U-003	97
5	U-029	8.3
6	MMAE	67
7	MMAE	65
8	MMAE	41

9	U-036	40
10	U-001	28
11	DXd	30
12	U-035	106
13	DXd	24
14	艾日布林	50
15	U-031	102
16	艾日布林	62
17	艾日布林	58
18	艾日布林	64
19	U-031	0.87
20	U-034	11

[2710] [试验例7:动力学试验]

[2711] 将曲妥单抗或受试化合物给药雌性小鼠(BALBc/c・日本Charles River)的静脉内。一定时间后,从颈静脉或腹大静脉采血,离心血液后,得到血清。得到的血清冷冻保存至测定。

[2712] 血清中曲妥单抗浓度使用SHIKARIQ-TRAS(MATRIKS BIOTEK公司制),按照制造商规定的方法进行测定。

[2713] 给药3天后的血清中曲妥单抗残留率(%)通过下式计算。

[2714] 3天后的血清中曲妥单抗残留率(%)＝(a/b)×100

[2715] a:给药3天后的血清中曲妥单抗浓度(ng/mL)

[2716] b:给药5分钟后的血清中曲妥单抗浓度(ng/mL)

[2717] 实施例中获得的抗体-药物偶联物的残留率示于表4中,均与曲妥单抗为同等以上。另一方面,由MC-Val-Cit-PAB-MMAE(Med Chem Express公司,CAS号646502-53-6)获得的抗体-药物偶联物(比较对照化合物-1)的残留率为5.4～13%。

[2718] 【表4】

[2719] 表4

[2720]

实施例编号	给药3天后的血清中曲妥单抗残留率（%）
1	35
2	27
3	32
4	31
5	37
6	57
7	34
8	24
9	20
10	23
11	28
12	18
13	25
14	59
15	28
16	64
17	69
18	73
19	28
20	25
21	46
22	47
23	21
24	31
曲妥单抗	21～33
比较对照化合物－1	5．4～13

[2721] [试验例8:尺寸排阻色谱分析]

[2722] 作为实施例化合物的稳定性的指标,进行了尺寸排阻色谱分析(以下记作SEC分析)。

[2723] SEC分析条件:

[2724] 装置:日立LC-2000

[2725] 柱:Agilent AdvanceBio SEC300Å、7.8x300mm、2.7μm

[2726] 洗脱液:磷酸缓冲生理盐水(PBS__WAKO制造)

[2727] 温度:室温

[2728] 流量:0.8mL/min

[2729] 检测波长:220nm

[2730] 注入量:5μL

[2731] 分析时间:25min

[2732] 图5表示实施例2的SEC分析HPLC图。

[2733] 对于实施例2的抗体-药物偶联物体,观测到尖锐的主峰,并且被认为是聚集体的峰也为微量,因此认为是稳定的。例如实施例3、8、12和15也相同。另一方面,比较对象化合物-1呈现宽的峰。

[2734] [试验例9:反应性前体(化合物(III))的HPLC中的保留时间的测定](参考文献:

Nat.Biotech.,33,733-735(2015))

[2735] 作为反应性前体(化合物(III))的亲水性的指标,测定HPLC分析中的保留时间(RT),进行比较。

[2736] HPLC条件:

[2737] 装置:LCMS2020系统_岛津制作所

[2738] 柱:Acquity UPLC(注册商标)BEH C18(2.1x50mm,1.7um)_Waters

[2739] 洗脱液:A液:0.1%甲酸水溶液、B液:0.1%甲酸乙腈溶液

[2740] 梯度(B%):25(0min)→95(1.5min)→95(3.0min)

[2741] 温度:40℃

[2742] 流速:0.6mL/min

[2743] 将结果示于表5和6。

[2744] 【表5】

[2745] 表5

[2746]

参考例编号	基于ＨＰＬＣ测定得到的保留时间(ｍｉｎ)
1	１．１２
2	０．９６
3	０．７０
6	１．０９
8	１．０３
ＭＣ－Ｖａｌ－Ｃｉｔ－ＰＡＢ－ＭＭＡＥ	１．２４

[2747] 【表6】

[2748] 表6

[2749]

参考例编号	基于ＨＰＬＣ测定得到的保留时间(ｍｉｎ)
１４	１．０４
１６	０．９７
１７	１．０４
１８	０．９６
２１	１．００
２２	０．９９
２６	０．９１
Ｍａｌ－ＰＥＧ２－Ｖａｌ－Ｃｉｔ－ＰＡＢ－艾日布林	１．１９

[2750] 确认了用于制作本发明的抗体-药物偶联物的反应性前体(化合物(III))在表5和6中均与比较对照化合物相比RT短。这表明,本发明的抗体-药物偶联物的“连接子-药物”部分的亲水性高于对照化合物,由此暗示了作为本发明的特征的“向连接子导入内酯基”和“向连接子导入内酯基与其他亲水性基团”所带来的亲水性增大效果。另外,反应性前体间的比较(参考例1与参考例6)中,连接子中的内酯基的数量越多则RT越短,由此也暗示了内

酯基的亲水性增大效果。

[2751] 产业上的可利用性

[2752] 本发明的通式(I)所表示的抗体-药物偶联物、其药理上可接受的盐、或它们的水合物在给予到生物体内后被选择性地递送至作为靶点的肿瘤细胞,在该细胞内游离的抗肿瘤性药物发挥各自的抗肿瘤活性,因此作为具有优异的抗肿瘤效果及安全性的肿瘤和/或癌症的治疗药是有用的。

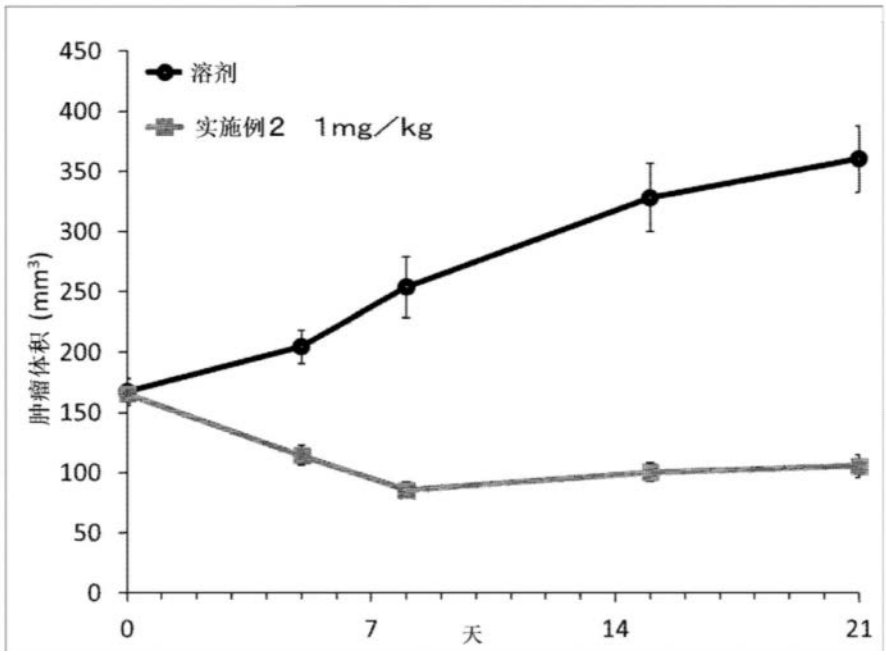

溶剂
实施例2 1mg／kg
肿瘤体积 (mm³)
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
0
7
14
21
天

图1

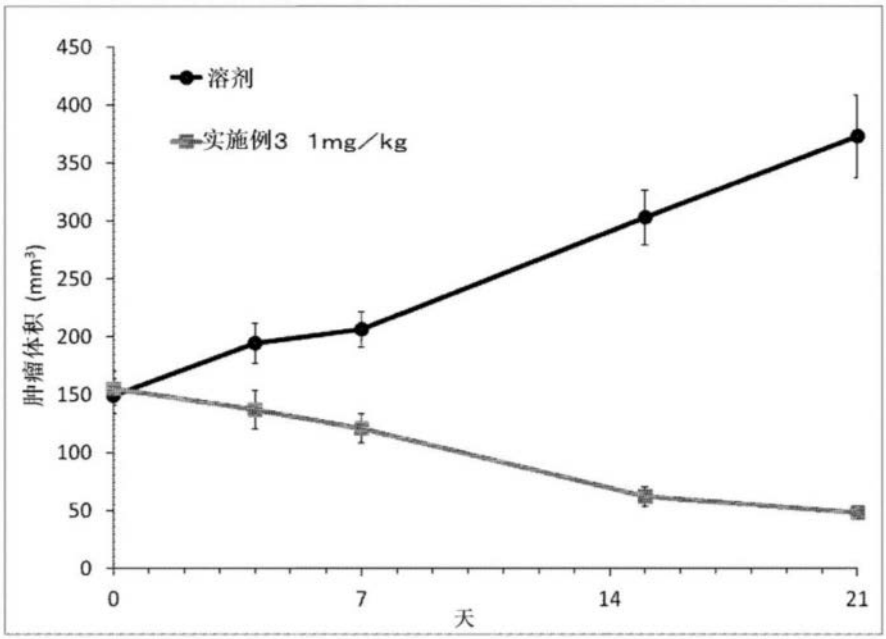

溶剂
实施例3 1mg／kg
肿瘤体积 (mm³)
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
0
7
14
21
天

图2

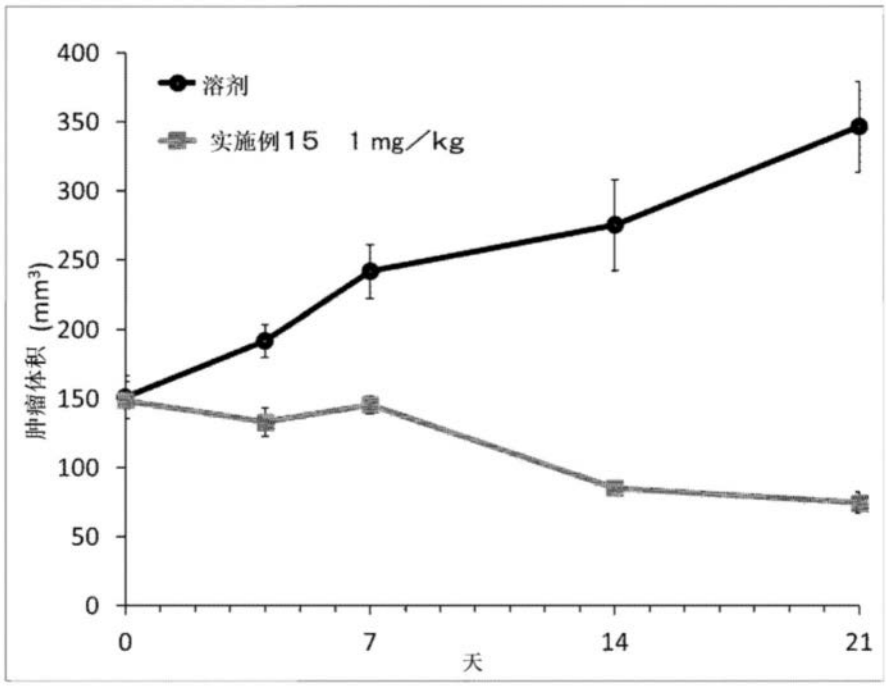

400
350
300
250
200
150
100
50
0
溶剂
实施例15 1 mg／kg
肿瘤体积 (mm³)
0
7
14
21
天

图3

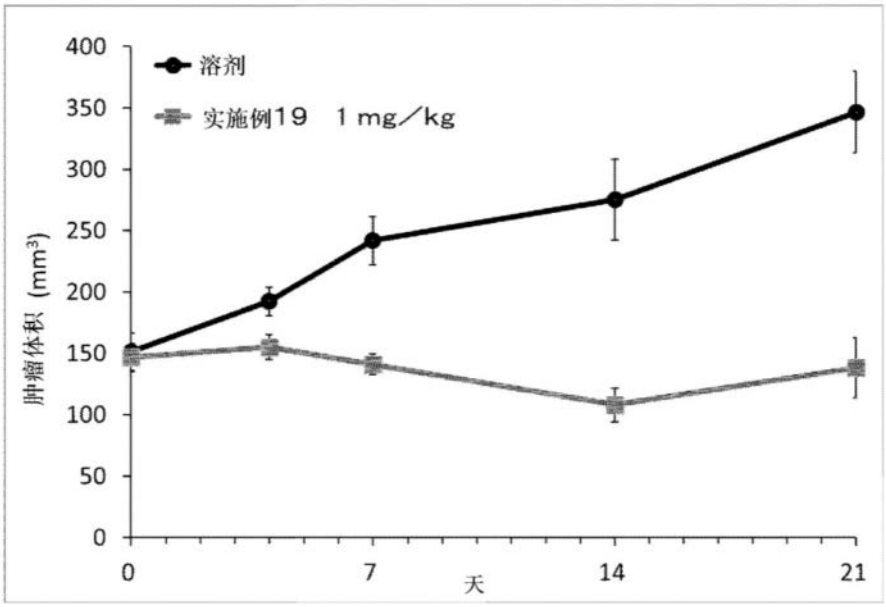
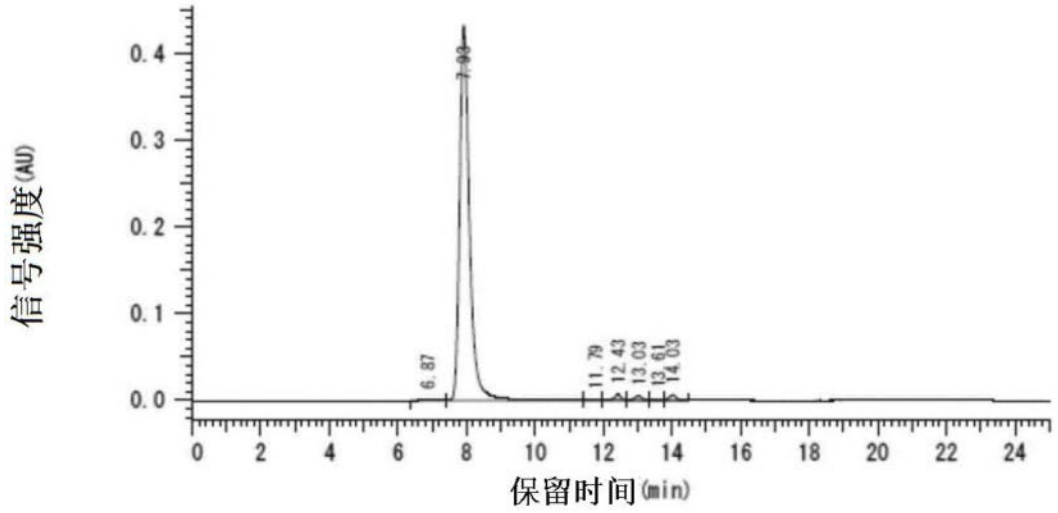

400
350
300
250
200
150
100
50
0
溶剂
实施例19 1 mg／kg
肿瘤体积 (mm³)
0
7
14
21
天

图4



NO	RT	面积	浓度1	BC
1	6.87	14820	0.328	BV
2	7.93	4347514	96.182	VV
3	11.79	6234	0.138	TBV
4	12.43	48865	1.081	TVV
5	13.03	41182	0.911	TVV
6	13.61	14658	0.324	TVV
7	14.03	46807	1.036	TVB
		4520080	100.000	

图5