



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114585390 A

(43) 申请公布日 2022.06.03

(21) 申请号 202080053101.9

M·周

(22) 申请日 2020.06.12

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

专利代理师 封新琴

(30) 优先权数据

62/861,139 2019.06.13 US

62/963,884 2020.01.21 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.01.21

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2020/037477 2020.06.12

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/252294 EN 2020.12.17

(71) 申请人 博尔特生物治疗药物有限公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 S·E·阿克曼 M·N·阿隆索

R·库迪卡 A·李 B·萨菲那

权利要求书17页 说明书211页

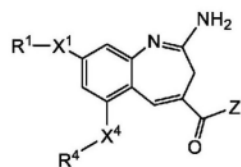
序列表210页 附图29页

(54) 发明名称

氨基苯并氮呋化合物、免疫缀合物及其用途

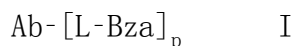
(57) 摘要

本申请涉及式(I)的免疫缀合物,所述免疫缀合物包含通过缀合至一个或多个氨基苯并氮呋衍生物而连接的抗体。本申请还提供了式(II)的氨基苯并氮呋衍生物中间体组合物,所述组合物包含反应性官能团。此类中间体组合物是适合用于经由连接子或连接部分形成所述免疫缀合物的基质。本申请进一步提供了用于治疗癌症的方法中的上述免疫缀合物。 $Ab-[L-Bza]_p$  I



II

1. 一种免疫缀合物, 所述免疫缀合物包含通过连接子共价附接至一个或多个氨基苯并氮呋部分的抗体, 并且具有式I:



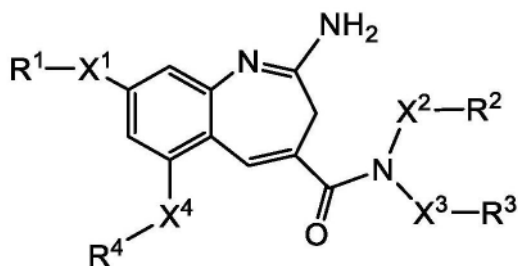
或其药学上可接受的盐,

其中:

Ab是所述抗体;

p是1至8的整数;

Bza是具有下式的氨基苯并氮呋部分:



$R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 和 $R^4$ 独立地选自H、 $C_1$ - $C_{12}$ 烷基、 $C_2$ - $C_6$ 烯基、 $C_2$ - $C_6$ 炔基、 $C_3$ - $C_{12}$ 碳环基、 $C_6$ - $C_{20}$ 芳基、 $C_2$ - $C_9$ 杂环基和 $C_1$ - $C_{20}$ 杂芳基组成的组, 其中烷基、烯基、炔基、碳环基、芳基、杂环基和杂芳基独立地并且任选地经一个或多个选自以下的基团取代:

- ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) -N( $R^5$ )-\*;
- ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) -N( $R^5$ )<sub>2</sub>;
- ( $C_3$ - $C_{12}$ 碳环基);
- ( $C_3$ - $C_{12}$ 碳环基)-\*;
- ( $C_3$ - $C_{12}$ 碳环基) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) -NR<sup>5</sup>-\*;
- ( $C_3$ - $C_{12}$ 碳环基) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) -N( $R^5$ )<sub>2</sub>;
- ( $C_3$ - $C_{12}$ 碳环基) -NR<sup>5</sup>-C(=NR<sup>5</sup>)NR<sup>5</sup>-\*;
- ( $C_6$ - $C_{20}$ 芳基);
- ( $C_6$ - $C_{20}$ 芳基)-\*;
- ( $C_6$ - $C_{20}$ 芳二基) -N( $R^5$ )-\*;
- ( $C_6$ - $C_{20}$ 芳二基) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) -N( $R^5$ )-\*;
- ( $C_6$ - $C_{20}$ 芳二基) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) -N( $R^5$ )<sub>2</sub>;
- ( $C_6$ - $C_{20}$ 芳二基) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) -NR<sup>5</sup>-C(=NR<sup>5a</sup>)N( $R^5$ )-\*;
- ( $C_2$ - $C_{20}$ 杂环基);
- ( $C_2$ - $C_{20}$ 杂环基)-\*;
- ( $C_2$ - $C_9$ 杂环基) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) -NR<sup>5</sup>-\*;
- ( $C_2$ - $C_9$ 杂环基) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) -N( $R^5$ )<sub>2</sub>;
- ( $C_2$ - $C_9$ 杂环基) -NR<sup>5</sup>-C(=NR<sup>5a</sup>)NR<sup>5</sup>-\*;
- ( $C_1$ - $C_{20}$ 杂芳基);
- ( $C_1$ - $C_{20}$ 杂芳基)-\*;
- ( $C_1$ - $C_{20}$ 杂芳基) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) -N( $R^5$ )-\*;
- ( $C_1$ - $C_{20}$ 杂芳基) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) -N( $R^5$ )<sub>2</sub>;

$-(C_1-C_{20} \text{杂芳基})-NR^5-C(=NR^{5a})N(R^5)-*$ ;  
 $-C(=O)-*$ ;  
 $-C(=O)-(C_2-C_{20} \text{杂环二基})-*$ ;  
 $-C(=O)N(R^5)_2$ ;  
 $-C(=O)N(R^5)-*$ ;  
 $-C(=O)N(R^5)-(C_1-C_{12} \text{烷二基})-N(R^5)C(=O)R^5$ ;  
 $-C(=O)N(R^5)-(C_1-C_{12} \text{烷二基})-N(R^5)C(=O)N(R^5)_2$ ;  
 $-C(=O)NR^5-(C_1-C_{12} \text{烷二基})-N(R^5)CO_2R^5$ ;  
 $-C(=O)NR^5-(C_1-C_{12} \text{烷二基})-N(R^5)C(=NR^{5a})N(R^5)_2$ ;  
 $-C(=O)NR^5-(C_1-C_{12} \text{烷二基})-NR^5C(=NR^{5a})R^5$ ;  
 $-C(=O)NR^5-(C_1-C_8 \text{烷二基})-NR^5(C_2-C_5 \text{杂芳基})$ ;  
 $-C(=O)NR^5-(C_1-C_{20} \text{杂芳二基})-N(R^5)-*$ ;  
 $-C(=O)NR^5-(C_1-C_{20} \text{杂芳二基})-*$ ;  
 $-C(=O)NR^5-(C_1-C_{20} \text{杂芳二基})-(C_1-C_{12} \text{烷二基})-N(R^5)_2$ ;  
 $-C(=O)NR^5-(C_1-C_{20} \text{杂芳二基})-(C_2-C_{20} \text{杂环二基})-C(=O)NR^5-(C_1-C_{12} \text{烷二基})-NR^5-*$ ;  
 $-N(R^5)_2$ ;  
 $-N(R^5)-*$ ;  
 $-N(R^5)C(=O)R^5$ ;  
 $-N(R^5)C(=O)-*$ ;  
 $-N(R^5)C(=O)N(R^5)_2$ ;  
 $-N(R^5)C(=O)N(R^5)-*$ ;  
 $-N(R^5)CO_2R^5$ ;  
 $-NR^5C(=NR^{5a})N(R^5)_2$ ;  
 $-NR^5C(=NR^{5a})N(R^5)-*$ ;  
 $-NR^5C(=NR^{5a})R^5$ ;  
 $-N(R^5)-(C_2-C_5 \text{杂芳基})$ ;  
 $-O-(C_1-C_{12} \text{烷基})$ ;  
 $-O-(C_1-C_{12} \text{烷二基})-N(R^5)_2$ ;  
 $-O-(C_1-C_{12} \text{烷二基})-N(R^5)-*$ ;  
 $-S(=O)_2-(C_2-C_{20} \text{杂环二基})-*$ ;  
 $-S(=O)_2-(C_2-C_{20} \text{杂环二基})-(C_1-C_{12} \text{烷二基})-N(R^5)_2$ ;  
 $-S(=O)_2-(C_2-C_{20} \text{杂环二基})-(C_1-C_{12} \text{烷二基})-NR^5-*$ ; 以及  
 $-S(=O)_2-(C_2-C_{20} \text{杂环二基})-(C_1-C_{12} \text{烷二基})-OH$ ;  
 或 $R^2$ 与 $R^3$ 一起形成5元或6元杂环基环;

$X^1$ 、 $X^2$ 、 $X^3$ 和 $X^4$ 独立地选自由一键、 $C(=O)$ 、 $C(=O)N(R^5)$ 、 $O$ 、 $N(R^5)$ 、 $S$ 、 $S(O)_2$ 和 $S(O)_2N(R^5)$ 组成的组;

$R^5$ 选自由 $H$ 、 $C_6-C_{20}$ 芳基、 $C_6-C_{20}$ 芳二基、 $C_1-C_{12}$ 烷基和 $C_1-C_{12}$ 烷二基组成的组,或两个 $R^5$ 基团一起形成5元或6元杂环基环;

$R^{5a}$ 选自由 $C_6-C_{20}$ 芳基和 $C_1-C_{20}$ 杂芳基组成的组;

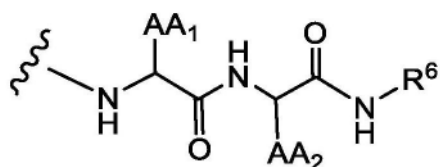
其中星号\*指示L的附接位点,并且其中 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 和 $R^4$ 中的一者附接至L;

L是选自由以下组成的组的连接子:

- C(=O) - (PEG) -;
- C(=O) - (PEG) - C(=O) -;
- C(=O) - (PEG) - O -;
- C(=O) - (PEG) - C(=O) - (PEP) -;
- C(=O) - (PEG) - C(=O) N( $R^5$ ) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) -;
- C(=O) - (PEG) - C(=O) N( $R^5$ ) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) - N( $R^5$ ) C(=O) - ( $C_2$ - $C_5$ 单杂环二基) -;
- C(=O) - (PEG) - C(=O) N( $R^5$ ) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) - (MCgluc) -;
- C(=O) - (PEG) - C(=O) - (MCgluc) -;
- C(=O) - (PEG) - C(=O) - (PEP) - N( $R^5$ ) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) -;
- C(=O) - (PEG) - C(=O) - (PEP) - N( $R^5$ ) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) - N( $R^5$ ) C(=O) - ( $C_2$ - $C_5$ 单杂环二基) -;
- C(=O) - (PEG) - N( $R^5$ ) -;
- C(=O) - (PEG) - N( $R^5$ ) - (PEG) - C(=O) - (PEP) -;
- C(=O) - (PEG) - N<sup>+</sup>( $R^5$ )<sub>2</sub> - (PEG) - C(=O) - (PEP) -;
- C(=O) - (PEG) - C(=O) - N( $R^5$ ) CH(AA<sub>1</sub>) C(=O) - (PEG) - C(=O) - (PEP) -;
- C(=O) - (PEG) - C(=O) - N( $R^5$ ) CH(AA<sub>1</sub>) C(=O) - N( $R^5$ ) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) -;
- C(=O) - (PEG) - SS - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) - OC(=O) -;
- C(=O) - (PEG) - SS - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) - C(=O) -;
- C(=O) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) - C(=O) - (PEP) -;
- C(=O) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) - C(=O) - (PEP) - N( $R^5$ ) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) -;
- C(=O) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) - C(=O) - (PEP) - N( $R^5$ ) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) - N( $R^5$ ) - C(=O) -;
- C(=O) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) - C(=O) - (PEP) - N( $R^5$ ) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) - N( $R^5$ ) C(=O) - ( $C_2$ - $C_5$ 单杂环二基) -;
- C(=O) - CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> - ( $C_1$ - $C_{20}$ 杂芳二基) - CH<sub>2</sub>O - (PEG) - C(=O) - (MCgluc) -;
- C(=O) - CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> - ( $C_1$ - $C_{20}$ 杂芳二基) - CH<sub>2</sub>O - (PEG) - C(=O) - (MCgluc) - N( $R^5$ ) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) - N( $R^5$ ) C(=O) - ( $C_2$ - $C_5$ 单杂环二基) -; 以及
- (琥珀酰亚胺基) - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - C(=O) - (PEP) - N( $R^5$ ) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) - N( $R^5$ ) C(=O) - ( $C_2$ - $C_5$ 单杂环二基) -;

PEG具有下式: - (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub> - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> -; m是1至5的整数, 并且n是2至50的整数;

PEP具有下式:

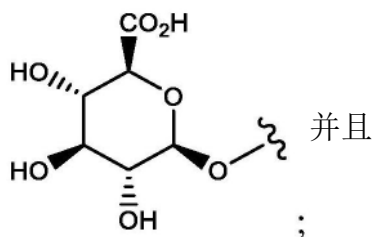


其中AA<sub>1</sub>和AA<sub>2</sub>独立地选自氨基酸侧链, 或者AA<sub>1</sub>或AA<sub>2</sub>和相邻氮原子形成5元环脯氨酸氨基酸, 并且波形线指示附接点;

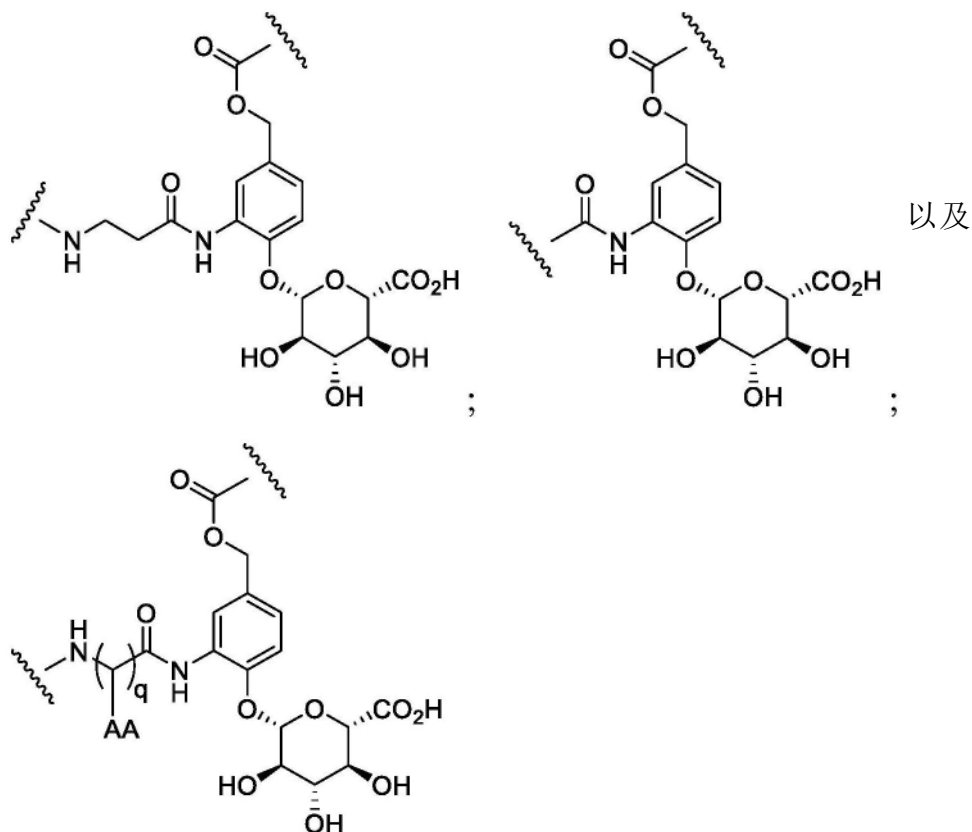
$R^6$ 选自由 $C_6$ - $C_{20}$ 芳二基和 $C_1$ - $C_{20}$ 杂芳二基组成的组, 经-CH<sub>2</sub>O-C(=O)-并且任选地经以下



基团取代：



MCgluc选自下组：



其中q是1至8,并且AA是氨基酸侧链;并且

烷基、烷二基、烯基、烯二基、炔基、炔二基、芳基、芳二基、碳环基、碳环二基、杂环基、杂环二基、杂芳基和杂芳二基独立地并且任选地经一个或多个独立地选自以下的基团取代：  
 F、Cl、Br、I、-CN、-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH=CH<sub>2</sub>、-C≡CH、-C≡CCH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>OH、-CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>OH、-CH(OH)CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>OP(O)(OH)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>F、-CHF<sub>2</sub>、-CF<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CHF<sub>2</sub>、-CH(CH<sub>3</sub>)CN、-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CN、-CH<sub>2</sub>CN、-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>NHSO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>NHCH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-CO<sub>2</sub>H、-COCH<sub>3</sub>、-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>、-COCH(OH)CH<sub>3</sub>、-CONH<sub>2</sub>、-CONHCH<sub>3</sub>、-CON(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>、-NH<sub>2</sub>、-NHCH<sub>3</sub>、-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-NHCOCH<sub>3</sub>、-N(CH<sub>3</sub>)COCH<sub>3</sub>、-NHS(O)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-N(CH<sub>3</sub>)C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>、-N(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>S(O)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-NHC(=NH)H、-NHC(=NH)CH<sub>3</sub>、-NHC(=NH)NH<sub>2</sub>、-NHC(=O)NH<sub>2</sub>、-NO<sub>2</sub>、=O、-OH、-OCH<sub>3</sub>、-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>、-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>CO<sub>2</sub>H、-O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>H、-OP(O)(OH)<sub>2</sub>、-S(O)<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-SCH<sub>3</sub>、-S(O)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>和-S(O)<sub>3</sub>H。

2. 如权利要求1所述的免疫缀合物,其中所述抗体是具有结合PD-L1的抗原结合结构域的抗体构建体。

3. 如权利要求2所述的免疫缀合物,其中所述抗体选自由阿特殊单抗、得瓦鲁单抗和阿维鲁单抗或其生物类似药或生物改良药组成的组。

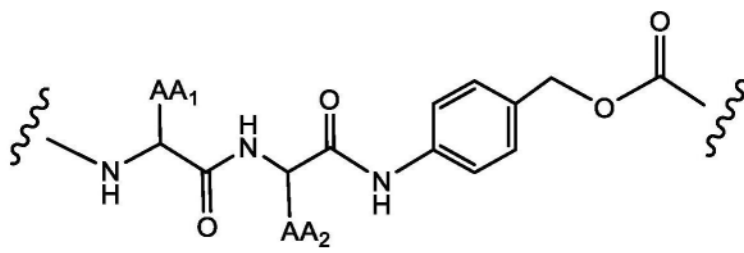
4. 如权利要求1所述的免疫缀合物,其中所述抗体是具有结合HER2的抗原结合结构域的抗体构建体。

5. 如权利要求4所述的免疫缀合物,其中所述抗体选自由曲妥珠单抗和帕妥珠单抗或其生物类似药或生物改良药组成的组。

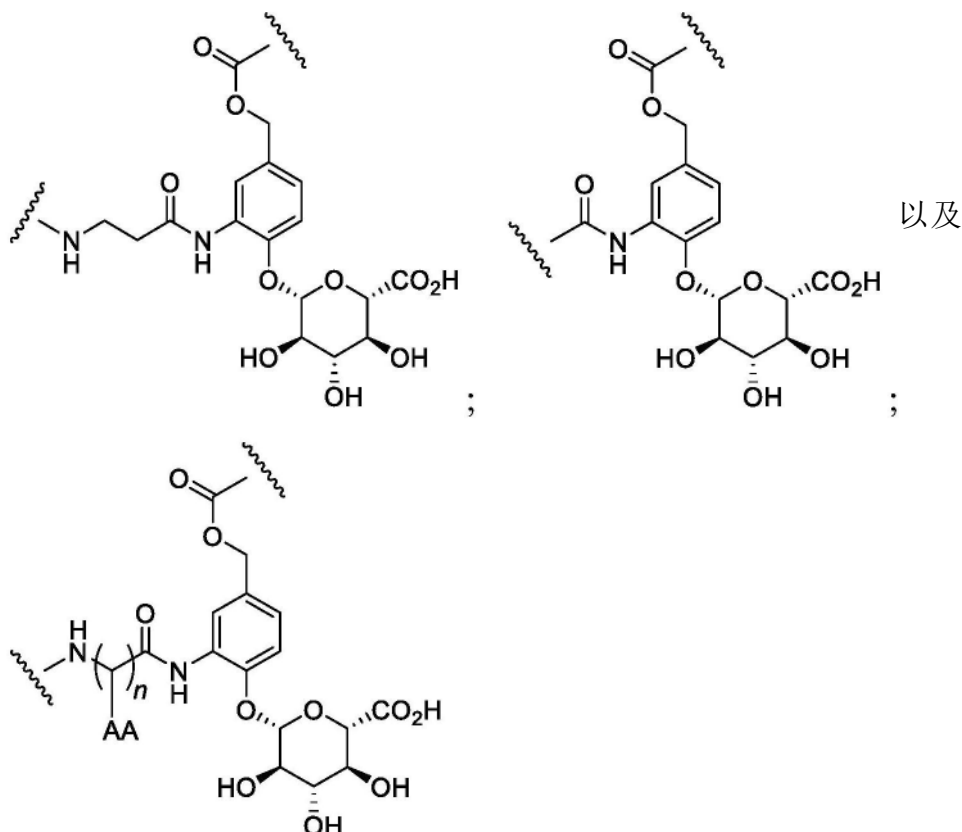
6. 如权利要求1所述的免疫缀合物,其中所述抗体是具有结合CEA的抗原结合结构域的抗体构建体。

7. 如权利要求6所述的免疫缀合物,其中所述抗体是拉贝妥珠单抗或其生物类似药或生物改良药。

8. 如权利要求1至7中任一项所述的免疫缀合物,其中PEP具有下式:



9. 如权利要求1至7中任一项所述的免疫缀合物,其中PEP选自下组:



其中n是1或大于1,并且AA是氨基酸侧链。

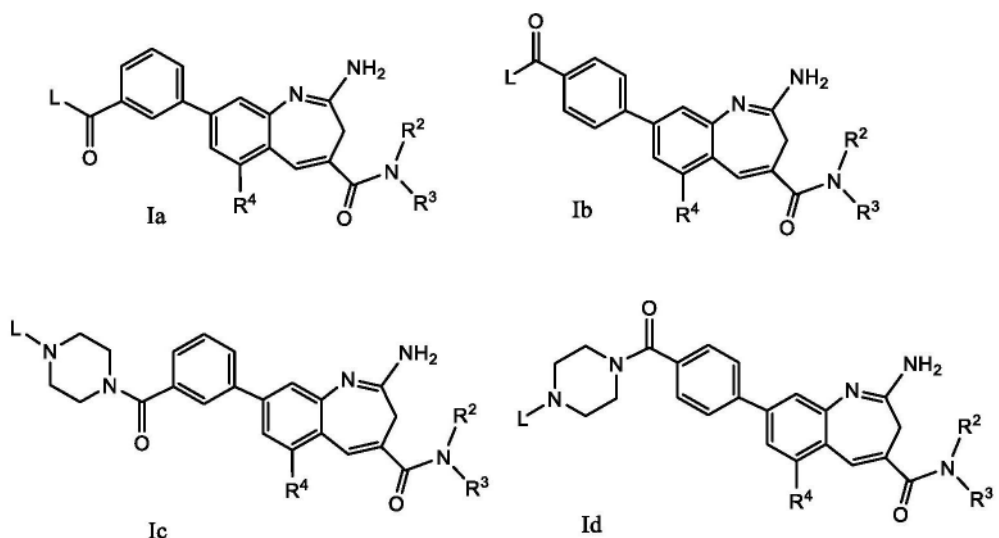
10. 如权利要求1至9中任一项所述的免疫缀合物,其中AA<sub>1</sub>和AA<sub>2</sub>独立地选自天然存在的氨基酸的侧链。

11. 如权利要求1至9中任一项所述的免疫缀合物, 其中AA<sub>1</sub>和AA<sub>2</sub>独立地选自H、-CH<sub>3</sub>、-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHC(NH)NH<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>H和-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHC(O)NH<sub>2</sub>。

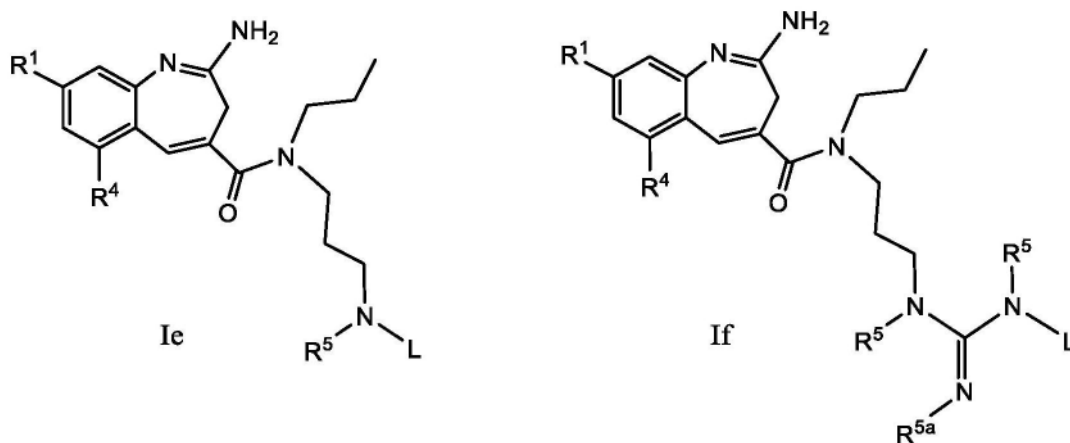
12. 如权利要求11所述的免疫缀合物, 其中AA<sub>1</sub>是-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 并且AA<sub>2</sub>是-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHC(O)NH<sub>2</sub>。

13. 如权利要求1至7中任一项所述的免疫缀合物, 其中AA<sub>1</sub>和AA<sub>2</sub>独立地选自GlcNAc天冬氨酸、-CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>H和-CH<sub>2</sub>OPo<sub>3</sub>H。

14. 如权利要求1至13中任一项所述的免疫缀合物, 其中Bza选自式Ia-d:



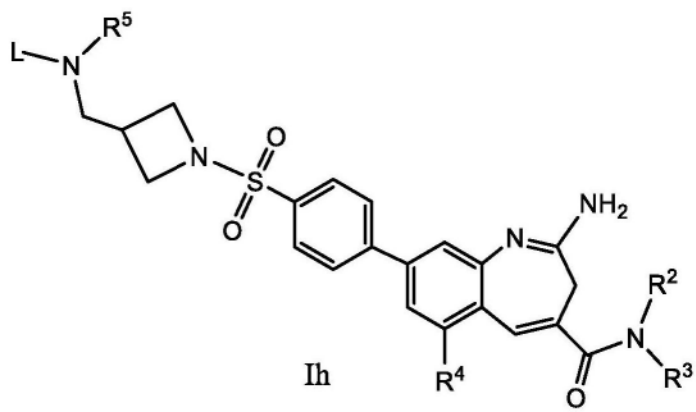
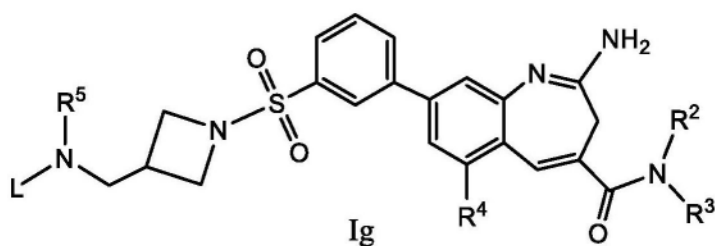
15. 如权利要求1至13中任一项所述的免疫缀合物, 其中Bza选自式Ie和If:



其中式If的R<sup>5a</sup>选自由苯基和吡啶基组成的组, 任选地经一个或多个选自F、Cl、Br、I、-CN、-NO<sub>2</sub>和-OCH<sub>3</sub>的基团取代。

16. 如权利要求15所述的免疫缀合物, 其中L是-C(=O)-(PEG)-。

17. 如权利要求1至13中任一项所述的免疫缀合物, 其中Bza选自式Ig和Ih:



18. 如权利要求17所述的免疫缀合物, 其中L是-C(=O)-(PEG)-或-C(=O)-(PEG)-C(=O)-。

19. 如权利要求18所述的免疫缀合物, 其中R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>各自是C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基。

20. 如权利要求19所述的免疫缀合物, 其中R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>各自是-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>。

21. 如权利要求1所述的免疫缀合物, 其中X<sup>2</sup>和X<sup>3</sup>各自是一键, 并且R<sup>2</sup>或R<sup>3</sup>是-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基)。

22. 如权利要求21所述的免疫缀合物, 其中R<sup>2</sup>或R<sup>3</sup>是-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>。

23. 如权利要求1至7中任一项所述的免疫缀合物, 其中R<sup>1</sup>和R<sup>4</sup>中的一者选自:

- (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) -N(R<sup>5</sup>)-\*
  - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) -N(R<sup>5</sup>)C(=NR<sup>5</sup>)N(R<sup>5</sup>)-\*
  - (C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基) -S(=O)<sub>2</sub> - (C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>杂环二基) -\*
  - (C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基) -S(=O)<sub>2</sub> - (C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>杂环二基) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) -N(R<sup>5</sup>)-\*
  - (C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基) -C(=O)-\*
  - (C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) -N(R<sup>5</sup>)-\*
  - (C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基) -C(=O) - (C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>杂环二基) -\*
  - C(=O)NR<sup>5</sup> - (C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳二基) -\*; 以及
  - C(=O)NR<sup>5</sup> - (C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳二基) - (C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>杂环二基) -C(=O)NR<sup>5</sup> - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) -NR<sup>5</sup>-\*;
- X<sup>1</sup>和X<sup>4</sup>是一键, 并且其中星号\*指示L的附接位点。

24. 如权利要求1至7中任一项所述的免疫缀合物, 其中R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>中的一者选自:

- (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) -N(R<sup>5</sup>)-\*
- (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) -O- (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) -N(R<sup>5</sup>)-\*
- (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) -N(R<sup>5</sup>)C(=NR<sup>5</sup>)N(R<sup>5</sup>)-\*
- (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - (C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) -N(R<sup>5</sup>)-\*
- (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - (C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) -N(R<sup>5</sup>)-C(=NR<sup>5</sup>)N(R<sup>5</sup>)-\*

- (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>炔二基) -N(R<sup>5</sup>) -\*; 以及

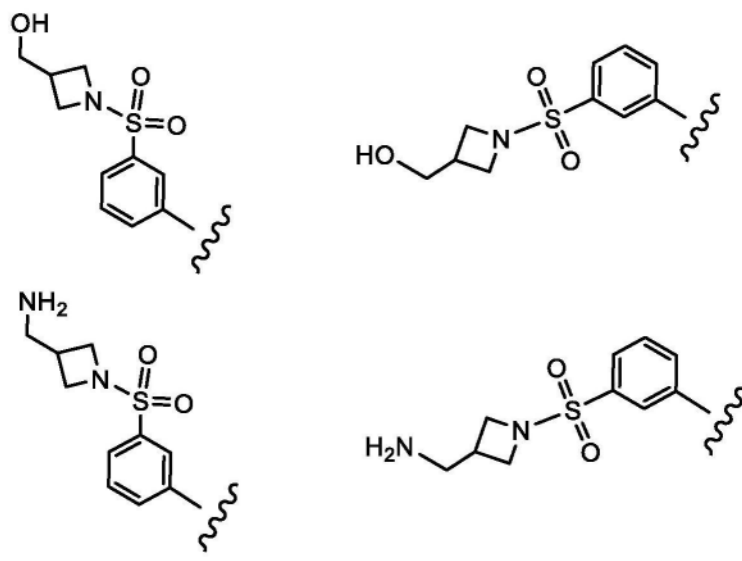
- (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>炔二基) -N(R<sup>5</sup>) C(=NR<sup>5</sup>) N(R<sup>5</sup>) -\*;

X<sup>2</sup>和X<sup>3</sup>是一键, 并且其中星号\*指示L的附接位点。

25. 如权利要求1至7中任一项所述的免疫缀合物, 其中R<sup>1</sup>和R<sup>4</sup>中的一者选自 - (C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基) -S(=O)<sub>2</sub> - (C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>杂环二基) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) -N(R<sup>5</sup>)<sub>2</sub> 和 - (C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基) -S(=O)<sub>2</sub> - (C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>杂环二基) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) -OH。

26. 如权利要求25所述的免疫缀合物, 其中C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基是苯二基并且C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>杂环二基是氮杂环丁二基。

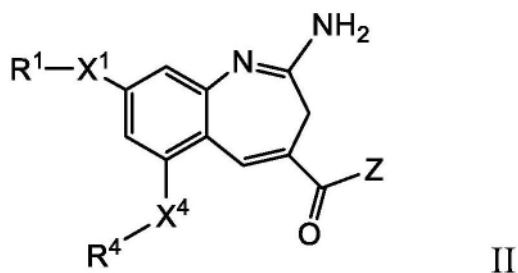
27. 如权利要求26所述的免疫缀合物, 其中R<sup>1</sup>和R<sup>4</sup>中的一者选自下式:



28. 如权利要求1至7中任一项所述的免疫缀合物, 其中R<sup>1</sup>和R<sup>4</sup>中的一者是 -C(=O)NR<sup>5</sup> - (C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳二基) - (C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>杂环二基) -C(=O)NR<sup>5</sup> - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) -NR<sup>5</sup> -L。

29. 如权利要求28所述的免疫缀合物, 其中C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳二基是吡啶二基并且C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>杂环二基是哌啶二基。

30. 一种式II的氨基苯并氮杂-连接子化合物:



其中

Z选自H、-O(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基) 和N(X<sup>2</sup>R<sup>2</sup>) (X<sup>3</sup>R<sup>3</sup>) ;

R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>和R<sup>4</sup>独立地选自H、C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>烯基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>炔基、C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>碳环基、C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳基、C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>杂环基和C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳基组成的组, 其中烷基、烯基、炔基、碳环基、芳基、杂环基和杂芳基独立地并且任选地经一个或多个选自以下的基团取代:

- (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) -N(R<sup>5</sup>) -\*;

- (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) -N(R<sup>5</sup>)<sub>2</sub>;

- (C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>碳环基) ;
- (C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>碳环基) - \* ;
- (C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>碳环基) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - NR<sup>5</sup> - \* ;
- (C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>碳环基) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - N (R<sup>5</sup>)<sub>2</sub> ;
- (C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>碳环基) - NR<sup>5</sup> - C (=NR<sup>5</sup>) NR<sup>5</sup> - \* ;
- (C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳基) ;
- (C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳基) - \* ;
- (C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基) - N (R<sup>5</sup>) - \* ;
- (C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - N (R<sup>5</sup>) - \* ;
- (C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - N (R<sup>5</sup>)<sub>2</sub> ;
- (C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - NR<sup>5</sup> - C (=NR<sup>5a</sup>) N (R<sup>5</sup>) - \* ;
- (C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>杂环基) ;
- (C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>杂环基) - \* ;
- (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>杂环基) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - NR<sup>5</sup> - \* ;
- (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>杂环基) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - N (R<sup>5</sup>)<sub>2</sub> ;
- (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>杂环基) - NR<sup>5</sup> - C (=NR<sup>5a</sup>) NR<sup>5</sup> - \* ;
- (C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳基) ;
- (C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳基) - \* ;
- (C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳基) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - N (R<sup>5</sup>) - \* ;
- (C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳基) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - N (R<sup>5</sup>)<sub>2</sub> ;
- (C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳基) - NR<sup>5</sup> - C (=NR<sup>5a</sup>) N (R<sup>5</sup>) - \* ;
- C (=O) - \* ;
- C (=O) - (C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>杂环二基) - \* ;
- C (=O) N (R<sup>5</sup>)<sub>2</sub> ;
- C (=O) N (R<sup>5</sup>) - \* ;
- C (=O) N (R<sup>5</sup>) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - N (R<sup>5</sup>) C (=O) R<sup>5</sup> ;
- C (=O) N (R<sup>5</sup>) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - N (R<sup>5</sup>) C (=O) N (R<sup>5</sup>)<sub>2</sub> ;
- C (=O) NR<sup>5</sup> - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - N (R<sup>5</sup>) CO<sub>2</sub>R<sup>5</sup> ;
- C (=O) NR<sup>5</sup> - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - N (R<sup>5</sup>) C (=NR<sup>5a</sup>) N (R<sup>5</sup>)<sub>2</sub> ;
- C (=O) NR<sup>5</sup> - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - NR<sup>5</sup> C (=NR<sup>5a</sup>) R<sup>5</sup> ;
- C (=O) NR<sup>5</sup> - (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷二基) - NR<sup>5</sup> (C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>杂芳基) ;
- C (=O) NR<sup>5</sup> - (C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳二基) - N (R<sup>5</sup>) - \* ;
- C (=O) NR<sup>5</sup> - (C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳二基) - \* ;
- C (=O) NR<sup>5</sup> - (C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳二基) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - N (R<sup>5</sup>)<sub>2</sub> ;
- C (=O) NR<sup>5</sup> - (C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳二基) - (C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>杂环二基) - C (=O) NR<sup>5</sup> - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - NR<sup>5</sup> - \* ;
- N (R<sup>5</sup>)<sub>2</sub> ;
- N (R<sup>5</sup>) - \* ;
- N (R<sup>5</sup>) C (=O) R<sup>5</sup> ;
- N (R<sup>5</sup>) C (=O) - \* ;

$-N(R^5)C(=O)N(R^5)_2$ ;  
 $-N(R^5)C(=O)N(R^5)-*$ ;  
 $-N(R^5)CO_2R^5$ ;  
 $-NR^5C(=NR^{5a})N(R^5)_2$ ;  
 $-NR^5C(=NR^{5a})N(R^5)-*$ ;  
 $-NR^5C(=NR^{5a})R^5$ ;  
 $-N(R^5)-(C_2-C_5\text{杂芳基})$ ;  
 $-O-(C_1-C_{12}\text{烷基})$ ;  
 $-O-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-N(R^5)_2$ ;  
 $-O-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-N(R^5)-*$ ;  
 $-S(=O)_2-(C_2-C_{20}\text{杂环二基})-*$ ;  
 $-S(=O)_2-(C_2-C_{20}\text{杂环二基})-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-N(R^5)_2$ ;  
 $-S(=O)_2-(C_2-C_{20}\text{杂环二基})-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-NR^5-*$ ;以及  
 $-S(=O)_2-(C_2-C_{20}\text{杂环二基})-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-OH$ ;

或 $R^2$ 与 $R^3$ 一起形成5元或6元杂环基环;

$X^1$ 、 $X^2$ 、 $X^3$ 和 $X^4$ 独立地选自由一键、 $C(=O)$ 、 $C(=O)N(R^5)$ 、 $O$ 、 $N(R^5)$ 、 $S$ 、 $S(O)_2$ 和 $S(O)_2N(R^5)$ 组成的组;

$R^5$ 选自由 $H$ 、 $C_6-C_{20}$ 芳基、 $C_6-C_{20}$ 芳二基、 $C_1-C_{12}$ 烷基和 $C_1-C_{12}$ 烷二基组成的组,或两个 $R^5$ 基团一起形成5元或6元杂环基环;

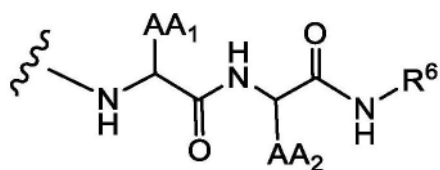
$R^{5a}$ 选自由 $C_6-C_{20}$ 芳基和 $C_1-C_{20}$ 杂芳基组成的组;

其中星号\*指示L的附接位点,并且其中 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 和 $R^4$ 中的一者附接至L;

L是选自由以下组成的组的连接子:

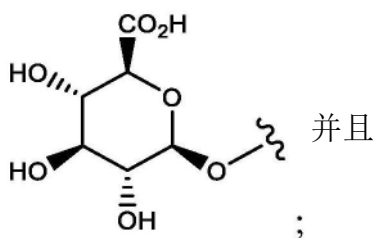
$Q-C(=O)-(PEG)-$ ;  
 $Q-C(=O)-(PEG)-C(=O)-$ ;  
 $Q-C(=O)-(PEG)-O-$ ;  
 $Q-C(=O)-(PEG)-C(=O)-(PEP)-$ ;  
 $Q-C(=O)-(PEG)-C(=O)N(R^5)-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-$ ;  
 $Q-C(=O)-(PEG)-C(=O)N(R^5)-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-N(R^5)C(=O)-(C_2-C_5\text{单杂环二基})-$ ;  
 $Q-C(=O)-(PEG)-C(=O)N(R^5)-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-(MCgluc)-$ ;  
 $Q-C(=O)-(PEG)-C(=O)-(MCgluc)-$ ;  
 $Q-C(=O)-(PEG)-C(=O)-(PEP)-N(R^5)-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-$ ;  
 $Q-C(=O)-(PEG)-C(=O)-(PEP)-N(R^5)-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-N(R^5)C(=O)-(C_2-C_5\text{单杂环二基})-$ ;  
 $Q-C(=O)-(PEG)-N(R^5)-$ ;  
 $Q-C(=O)-(PEG)-N(R^5)-(PEG)-C(=O)-(PEP)-$ ;  
 $Q-C(=O)-(PEG)-N^+(R^5)_2-(PEG)-C(=O)-(PEP)-$ ;  
 $Q-C(=O)-(PEG)-C(=O)-N(R^5)CH(AA_1)C(=O)-(PEG)-C(=O)-(PEP)-$ ;  
 $Q-C(=O)-(PEG)-C(=O)-N(R^5)CH(AA_1)C(=O)-N(R^5)-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-$ ;  
 $Q-C(=O)-(PEG)-SS-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-OC(=O)-$ ;

$Q-C(=O)-(PEG)-SS-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-C(=O)-$ ;  
 $Q-C(=O)-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-C(=O)-(PEP)-$ ;  
 $Q-C(=O)-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-C(=O)-(PEP)-N(R^5)-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-$ ;  
 $Q-C(=O)-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-C(=O)-(PEP)-N(R^5)-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-N(R^5)-C(=O)-$ ;  
 $Q-C(=O)-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-C(=O)-(PEP)-N(R^5)-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-N(R^5)-C(=O)-(C_2-C_5$   
 单杂环二基)-;  
 $Q-C(=O)-CH_2CH_2OCH_2CH_2-(C_1-C_{20}\text{杂芳二基})-CH_2O-(PEG)-C(=O)-(MCgluc)-$ ;  
 $Q-C(=O)-CH_2CH_2OCH_2CH_2-(C_1-C_{20}\text{杂芳二基})-CH_2O-(PEG)-C(=O)-(MCgluc)-N(R^5)-(C_1-$   
 $C_{12}\text{烷二基})-N(R^5)-C(=O)-(C_2-C_5\text{单杂环二基})-$ ;以及  
 $Q-(CH_2)_m-C(=O)-(PEP)-N(R^5)-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-N(R^5)-C(=O)-(C_2-C_5\text{单杂环二基})-$ ;  
 其中PEG具有下式:  $-(CH_2CH_2O)_n-(CH_2)_m-$ ; m是1至5的整数, 并且n是2至50的整数;  
 PEP具有下式:

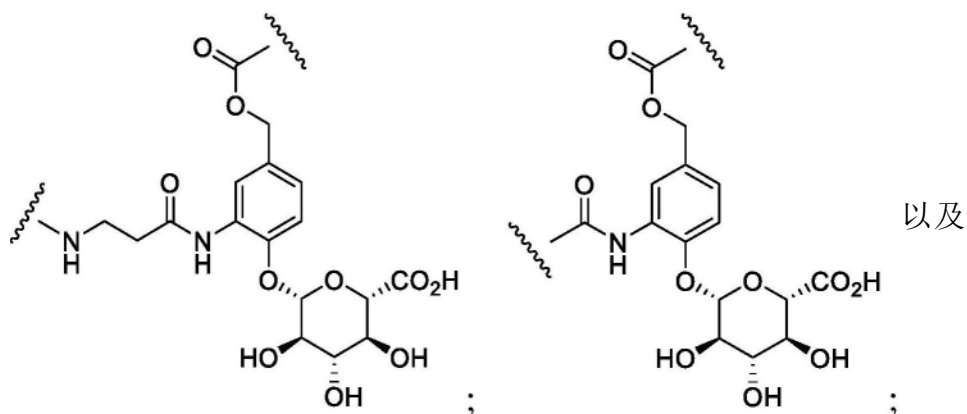


其中AA<sub>1</sub>和AA<sub>2</sub>独立地选自氨基酸侧链, 或者AA<sub>1</sub>或AA<sub>2</sub>和相邻氮原子形成5元环脯氨酸氨基酸, 并且波形线指示附接点; 并且

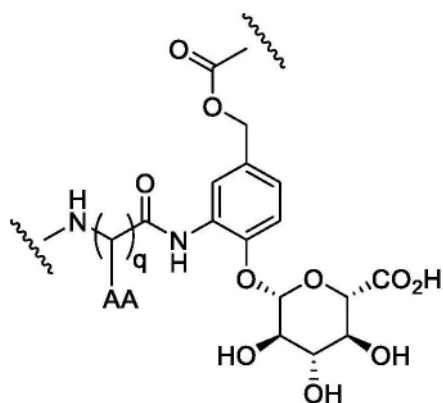
R<sup>6</sup>选自由C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基和C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳二基组成的组, 经-CH<sub>2</sub>O-C(=O)-并且任选地经以下基团取代:



MCgluc选自下组:





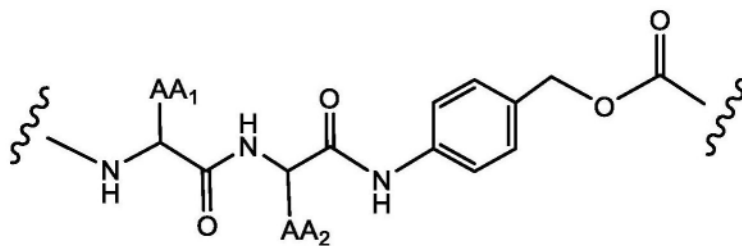


其中 $q$ 是1至8,并且AA是氨基酸侧链;并且

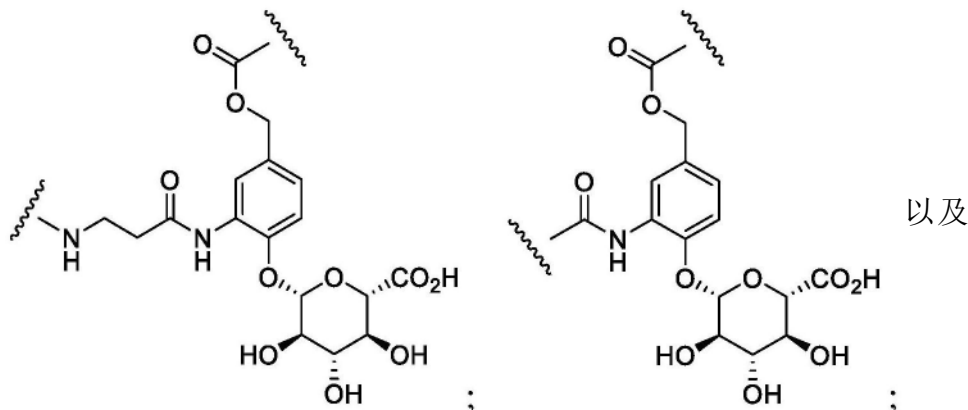
Q选自由N-羟基琥珀酰亚胺基、N-羟基磺基琥珀酰亚胺基、马来酰亚胺和苯氧基组成的组,经一个或多个独立地选自F、Cl、 $\text{NO}_2$ 和 $\text{SO}_3^-$ 的基团取代;

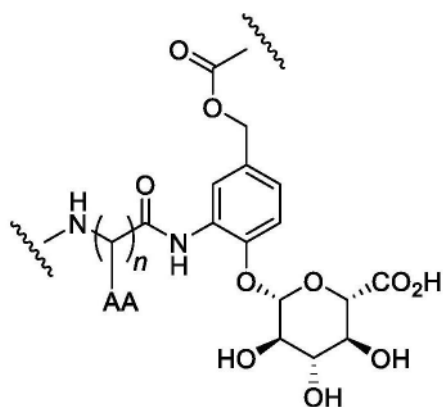
其中烷基、烷二基、烯基、烯二基、炔基、炔二基、芳基、芳二基碳环基、碳环二基、杂环基、杂环二基、杂芳基和杂芳二基任选地经一个或多个独立地选自以下的基团取代:F、Cl、Br、I、-CN、-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH=CH<sub>2</sub>、-C≡CH、-C≡CCH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>OH、-CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>OH、-CH(OH)CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>OP(O)(OH)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>F、-CHF<sub>2</sub>、-CF<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CHF<sub>2</sub>、-CH(CH<sub>3</sub>)CN、-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CN、-CH<sub>2</sub>CN、-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>NHSO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>NHCH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-CO<sub>2</sub>H、-COCH<sub>3</sub>、-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>、-COCH(OH)CH<sub>3</sub>、-CONH<sub>2</sub>、-CONHCH<sub>3</sub>、-CON(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>、-NH<sub>2</sub>、-NHCH<sub>3</sub>、-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-NHC(O)CH<sub>3</sub>、-N(CH<sub>3</sub>)COCH<sub>3</sub>、-NHS(O)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-N(CH<sub>3</sub>)C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>、-N(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>S(O)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-NHC(=NH)H、-NHC(=NH)CH<sub>3</sub>、-NHC(=NH)NH<sub>2</sub>、-NHC(=O)NH<sub>2</sub>、-NO<sub>2</sub>、=O、-OH、-OCH<sub>3</sub>、-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>、-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>CO<sub>2</sub>H、-O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>H、-OP(O)(OH)<sub>2</sub>、-S(O)<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-SCH<sub>3</sub>、-S(O)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>和-S(O)<sub>3</sub>H。

31. 如权利要求30所述的氨基苯并氮呋-连接子化合物,其中PEP具有下式:



32. 如权利要求30所述的氨基苯并氮呋-连接子化合物,其中PEP选自下组:





其中n是1或大于1,并且AA是氨基酸侧链。

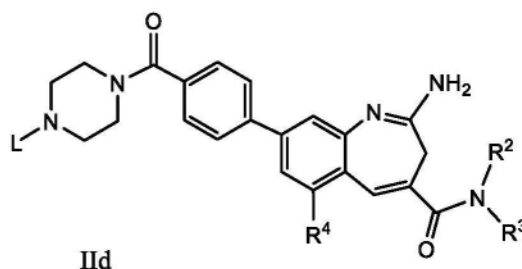
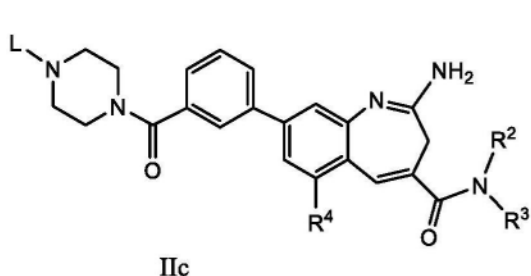
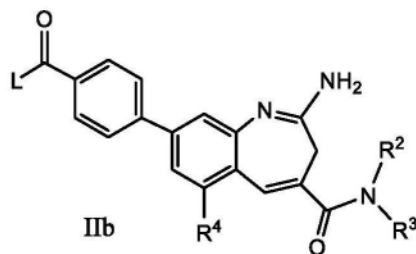
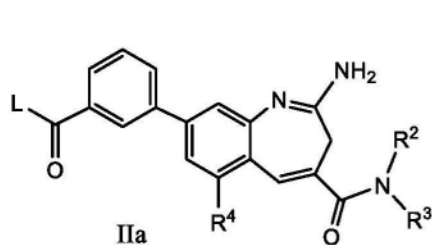
33. 如权利要求30至32中任一项所述的氨基苯并氮唑-连接子化合物,其中AA<sub>1</sub>和AA<sub>2</sub>独立地选自天然存在的氨基酸的侧链。

34. 如权利要求30至32中任一项所述的氨基苯并氮唑-连接子化合物,其中AA<sub>1</sub>和AA<sub>2</sub>独立地选自H、-CH<sub>3</sub>、-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHC(NH)NH<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>H和-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHC(O)NH<sub>2</sub>。

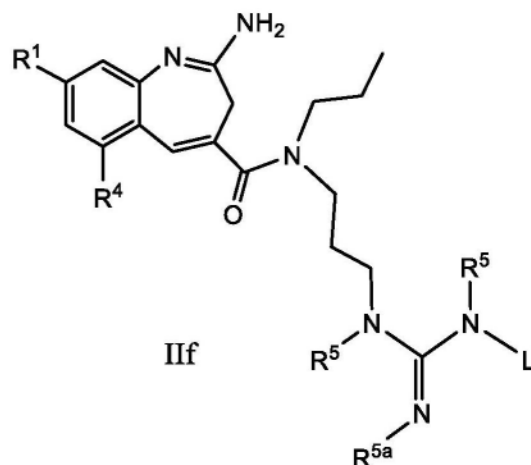
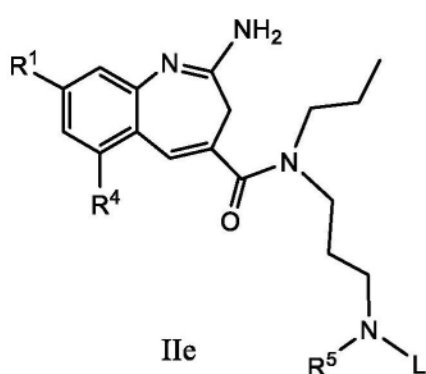
35. 如权利要求34所述的氨基苯并氮唑-连接子化合物,其中AA<sub>1</sub>是-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>,并且AA<sub>2</sub>是-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHC(O)NH<sub>2</sub>。

36. 如权利要求30至32中任一项所述的氨基苯并氮唑-连接子化合物,其中AA<sub>1</sub>和AA<sub>2</sub>独立地选自GlcNAc天冬氨酸、-CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>H和-CH<sub>2</sub>OPo<sub>3</sub>H。

37. 如权利要求30至32中任一项所述的氨基苯并氮唑-连接子化合物,所述化合物选自式IIa-d:



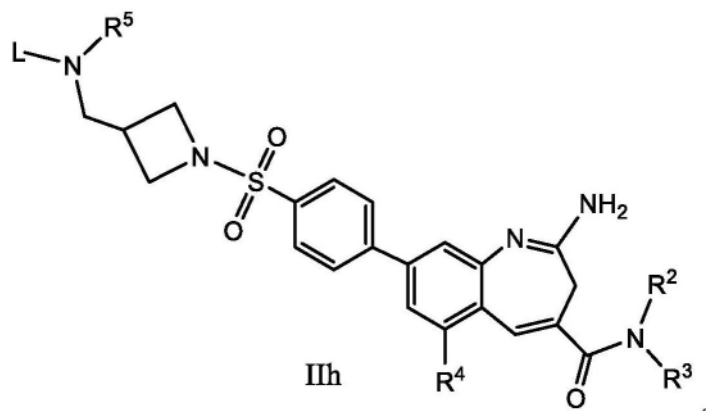
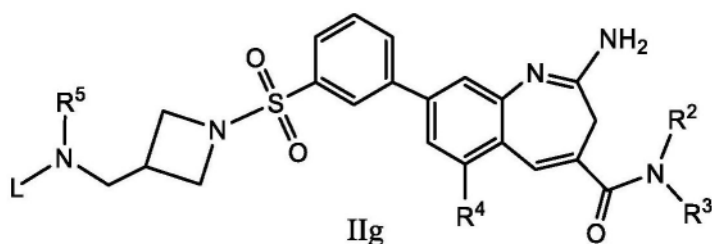
38. 如权利要求30至32中任一项所述的氨基苯并氮唑-连接子化合物,所述化合物选自式IIe和IIIf:



其中式IIh的 $R^{5a}$ 选自由苯基和吡啶基组成的组,任选地经一个或多个选自F、Cl、Br、I、-CN、-NO<sub>2</sub>和-OCH<sub>3</sub>的基团取代。

39. 如权利要求38所述的氨基苯并氮杂-连接子化合物,其中L是Q-C(=O)-(PEG)-或Q-C(=O)-(PEG)-C(=O)-。

40. 如权利要求30至32中任一项所述的氨基苯并氮杂-连接子化合物,所述化合物选自式IIg和IIh:



41. 如权利要求40所述的氨基苯并氮杂-连接子化合物,其中L是-C(=O)-(PEG)-C(=O)-(PEP)-。

42. 如权利要求30至41中任一项所述的氨基苯并氮杂-连接子化合物,其中 $R^2$ 和 $R^3$ 各自是C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基。

43. 如权利要求42所述的氨基苯并氮杂-连接子化合物,其中 $R^2$ 和 $R^3$ 各自是-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>。

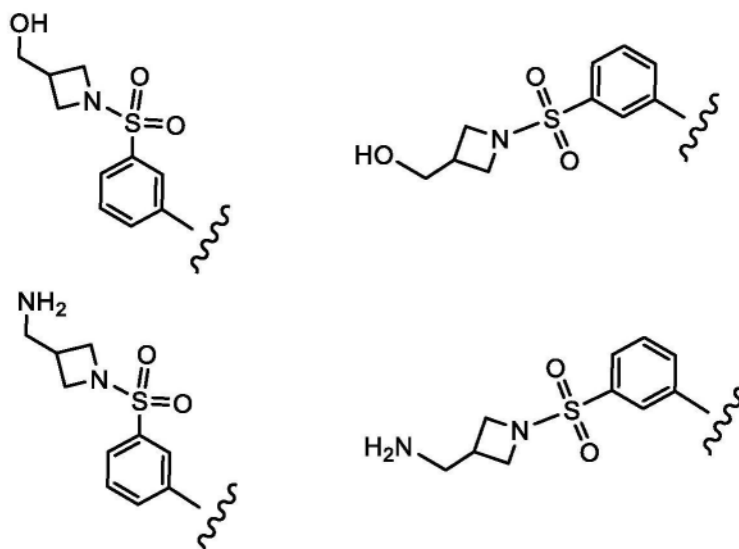
44. 如权利要求43所述的氨基苯并氮杂-连接子化合物,其中 $R^2$ 和 $R^3$ 各自是一键,并且 $R^2$ 或 $R^3$ 是-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基)。

45. 如权利要求44所述的氨基苯并氮呋-连接子化合物, 其中 $R^2$ 或 $R^3$ 是 $-OCH_2CH_3$ 。

46. 如权利要求30至32中任一项所述的氨基苯并氮呋-连接子化合物, 其中 $R^1$ 和 $R^4$ 中的一者选自 $-(C_6-C_{20} \text{芳二基})-S(=O)_2-(C_2-C_{20} \text{杂环二基})-(C_1-C_{12} \text{烷二基})-N(R^5)_2$ 和 $-(C_6-C_{20} \text{芳二基})-S(=O)_2-(C_2-C_{20} \text{杂环二基})-(C_1-C_{12} \text{烷二基})-OH$ 。

47. 如权利要求46所述的氨基苯并氮呋-连接子化合物, 其中 $C_6-C_{20}$ 芳二基是苯二基并且 $C_2-C_{20}$ 杂环二基是氮杂环丁二基。

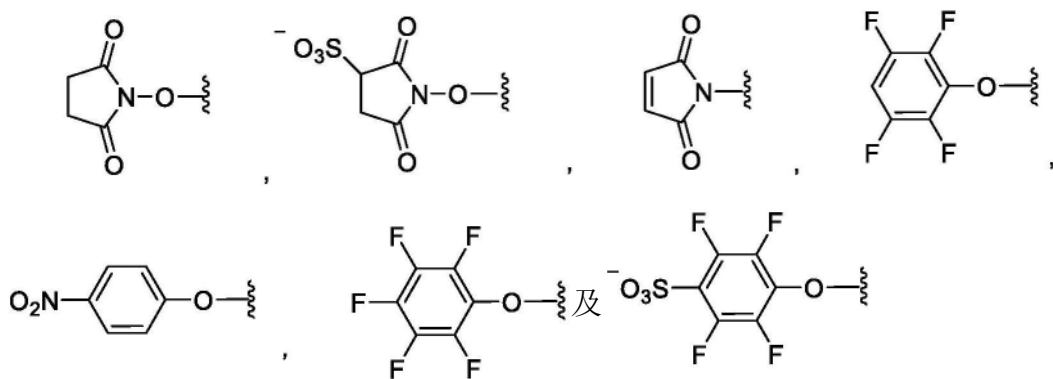
48. 如权利要求30至32中任一项所述的氨基苯并氮呋-连接子化合物, 其中 $R^1$ 和 $R^4$ 中的一者选自下式:



49. 如权利要求30至32中任一项所述的氨基苯并氮呋-连接子化合物, 其中 $R^1$ 和 $R^4$ 中的一者是 $-C(=O)NR^5-(C_1-C_{20} \text{杂芳二基})-(C_2-C_{20} \text{杂环二基})-C(=O)NR^5-(C_1-C_{12} \text{烷二基})-NR^5-L$ 。

50. 如权利要求49所述的氨基苯并氮呋-连接子化合物, 其中 $C_1-C_{20}$ 杂芳二基是吡啶二基并且 $C_2-C_{20}$ 杂环二基是哌啶二基。

51. 如权利要求30至32中任一项所述的氨基苯并氮呋-连接子化合物, 其中Q选自:



52. 如权利要求30所述的氨基苯并氮呋-连接子化合物, 所述化合物选自表2a。

53. 如权利要求30所述的氨基苯并氮呋-连接子化合物, 所述化合物选自表2b。

54. 如权利要求30所述的氨基苯并氮呋-连接子化合物, 所述化合物选自表2c。

55. 一种免疫缀合物, 所述免疫缀合物是通过使抗体与权利要求52至54中任一项所述

的氨基苯并氮呋-连接子化合物缀合来制备。

56. 一种药物组合物,所述药物组合物包含治疗有效量的根据权利要求1至29中任一项所述的免疫缀合物和一种或多种药学上可接受的稀释剂、媒剂、载体或赋形剂。

57. 一种用于治疗癌症的方法,所述方法包括向有需要的患者施用治疗有效量的根据权利要求56所述的药物组合物。

58. 如权利要求57所述的方法,其中所述癌症容易发生由TLR7和/或TLR8促效作用诱导的促炎反应。

59. 如权利要求57所述的方法,其中所述癌症是表达PD-L1的癌症。

60. 如权利要求57所述的方法,其中所述癌症是表达HER2的癌症。

61. 如权利要求57所述的方法,其中所述癌症是表达CEA的癌症。

62. 如权利要求57至61中任一项所述的方法,其中所述癌症选自膀胱癌、尿道癌、尿路上皮癌、肺癌、非小细胞肺癌、梅克尔细胞癌、结肠癌、结肠直肠癌、胃癌和乳癌。

63. 如权利要求62所述的方法,其中所述乳癌是三阴性乳癌。

64. 如权利要求62所述的方法,其中所述梅克尔细胞癌是转移性梅克尔细胞癌。

65. 如权利要求62所述的方法,其中所述胃癌是过表达HER2的胃癌。

66. 如权利要求62所述的方法,其中所述癌症是胃食管连接部腺癌。

67. 一种根据权利要求1至29中任一项所述的免疫缀合物的用途,其用于治疗癌症。

68. 一种制备权利要求1所述的式I免疫缀合物的方法,其中使权利要求30所述的式II氨基苯并氮呋-连接子化合物与抗体缀合。

69. 如权利要求2所述的免疫缀合物,其中所述抗体构建体是A型PD-L1抗体并且包含免疫球蛋白重链可变区多肽和免疫球蛋白轻链可变区多肽,其中:

所述免疫球蛋白重链可变区多肽包含:包含A型SEQ ID NO:1-23中的任一者的互补决定区1(HCDR1)、包含SEQ ID NO:24-57中的任一者的互补决定区2(HCDR2),以及包含SEQ ID NO:58-95中的任一者的互补决定区3(HCDR3);或

所述免疫球蛋白轻链可变区多肽包含:包含SEQ ID NO:96-128中的任一者的互补决定区1(LCDR1)、包含SEQ ID NO:129-151中的任一者的互补决定区2(LCDR2),以及包含SEQ ID NO:152-155中的任一者的互补决定区3(LCDR3);

其中所述序列来自图1-4。

70. 如权利要求2所述的免疫缀合物,其中所述抗体构建体是A型PD-L1抗体并且包含SEQ ID NO:223-264中的任一者的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR;以及SEQ ID NO:265-306中的任一者的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

其中所述序列来自图1-4。

71. 如权利要求2所述的免疫缀合物,其中所述抗体构建体是A型PD-L1抗体并且包含具有与SEQ ID NO:223-264中的任一者至少90%相同的氨基酸序列的免疫球蛋白重链可变区多肽,以及具有与SEQ ID NO:265-306中的任一者至少90%相同的氨基酸序列的免疫球蛋白轻链可变区多肽;

其中所述序列来自图1-4。

72. 如权利要求2所述的免疫缀合物,其中所述抗体构建体是A型PD-L1抗体并且包含图1A-D的PD-L1结合剂的重链和轻链免疫球蛋白多肽或至少其CDR。

73. 如权利要求2所述的免疫缀合物,其中所述抗体构建体是B型PD-L1抗体并且包含免疫球蛋白重链可变区多肽和免疫球蛋白轻链可变区多肽,其中:

所述免疫球蛋白重链可变区多肽包含:包含SEQ ID NO:308-321中的任一者的互补决定区1 (HCDR1)、包含SEQ ID NO:322-338中的任一者的互补决定区2 (HCDR2),以及包含SEQ ID NO:339-359中的任一者的互补决定区3 (HCDR3);或

所述免疫球蛋白轻链可变区多肽包含:包含SEQ ID NO:360-374中的任一者的互补决定区1 (LCDR1)、包含SEQ ID NO:375-386中的任一者的互补决定区2 (LCDR2),以及包含SEQ ID NO:387-398中的任一者的互补决定区3 (LCDR3);

其中所述序列来自图5-8。

74. 如权利要求2所述的免疫缀合物,其中所述抗体构建体是B型PD-L1抗体并且包含SEQ ID NO:430-450中的任一者的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR;以及SEQ ID NO:451-471中的任一者的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

其中所述序列来自图5-8。

75. 如权利要求2所述的免疫缀合物,其中所述抗体构建体是B型PD-L1抗体并且包含具有与SEQ ID NO:430-450中的任一者至少90%相同的氨基酸序列的免疫球蛋白重链可变区多肽,以及具有与SEQ ID NO:451-471中的任一者至少90%相同的氨基酸序列的免疫球蛋白轻链可变区多肽;

其中所述序列来自图5-8。

76. 如权利要求2所述的免疫缀合物,其中所述抗体构建体是B型PD-L1抗体并且包含图5A-B的PD-L1结合剂的重链和轻链免疫球蛋白多肽或至少其CDR。

## 氨基苯并氮呋化合物、免疫缀合物及其用途

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本非临时申请要求2020年1月21日提交的美国临时申请号62/963,884和2019年6月13日申请的美国临时申请号62/861,139的优先权益,所述临时申请各自以全文引用的方式并入。

[0003] 序列表

[0004] 本申请包含以ASCII格式用电子方式递交并且特此以全文引用的方式并入的序列表。2020年6月2日创建的所述ASCII拷贝命名为17019\_002W01\_SL.txt并且大小为299,523字节。

### 发明领域

[0005] 本发明总体上涉及一种免疫缀合物,所述免疫缀合物包含缀合至一个或多个氨基苯并氮呋分子的抗体。

[0006] 发明背景

[0007] 需要用于递送抗体和免疫佐剂的新组合物和方法,以达到难以接近的肿瘤和/或扩展用于癌症患者和其它受试者的治疗选项。本发明提供了此类组合物和方法。

### 发明内容

[0008] 本发明总体上关于免疫缀合物,所述免疫缀合物包含通过缀合而连接至一个或多个氨基苯并氮呋衍生物的抗体。本发明进一步关于包含反应性官能团的氨基苯并氮呋衍生物中间体组合物。此类中间体组合物是适合用于形成免疫缀合物的基质,其中抗体可以经由连接子或连接部分共价结合至一个或多个氨基苯并氮呋衍生物。本发明进一步关于此种免疫缀合物在治疗疾患,尤其癌症中的用途。

[0009] 本发明的一个方面是一种免疫缀合物,所述免疫缀合物包含共价附接至连接子的抗体,所述连接子共价附接至一个或多个氨基苯并氮呋部分。

[0010] 本发明的另一个方面是一种氨基苯并氮呋-连接子化合物。

[0011] 本发明的另一个方面是一种用于治疗癌症的方法,所述方法包括施用治疗有效量的免疫缀合物,所述免疫缀合物包含通过缀合而连接至一个或多个氨基苯并氮呋部分的抗体。

[0012] 本发明的另一个方面是一种免疫缀合物用于治疗癌症的用途,所述免疫缀合物包含通过缀合而连接至一个或多个氨基苯并氮呋部分的抗体。

[0013] 本发明的另一个方面是一种通过一个或多个氨基苯并氮呋部分与抗体缀合来制备免疫缀合物的方法。

### 附图说明

[0014] 图1A-D示出了PD-L1 A型结合剂1-42的重链和轻链CDR。

[0015] 图2A-D示出了PD-L1 A型结合剂1-42的第一(HFW1)、第二(HFW2)、第三(HFW3)和第

四 (HFW4) 重链构架区多肽。

[0016] 图3A-D示出了PD-L1 A型结合剂1-42的第一 (LFW1)、第二 (LFW2)、第三 (LFW3) 和第四 (LFW4) 轻链构架区多肽。

[0017] 图4A-D示出了PD-L1 A型结合剂1-42的重链可变区 (VH)。

[0018] 图4E-G示出了PD-L1 A型结合剂1-42的轻链可变区 (VL)。

[0019] 图5A-B示出了PD-L1 B型结合剂1-21的重链和轻链CDR。

[0020] 图6A-B示出了PD-L1 B型结合剂1-21的第一 (HFW1)、第二 (HFW2)、第三 (HFW3) 和第四 (HFW4) 重链构架区多肽。

[0021] 图7A-B示出了PD-L1 B型结合剂1-21的第一 (LFW1)、第二 (LFW2)、第三 (LFW3) 和第四 (LFW4) 轻链构架区多肽。

[0022] 图8A-B示出了PD-L1 B型结合剂1-21的重链可变区 (VH)。

[0023] 图8C-D示出了PD-L1 B型结合剂1-21的轻链可变区 (VL)。

### 具体实施方式

[0024] 现在将详细参考本发明的某些实施方案,其实例以所附结构和化学式说明。虽然将结合所列举的实施方案描述本发明,但应了解,并不意图将本发明限于那些实施方案。相反,本发明意图涵盖可以包括于如权利要求书所界定的本发明范围内的所有替代物、修改和等同物。

[0025] 本领域技术人员将识别类似或等同于本文所描述的那些的许多方法和材料,其可以用于实施本发明。本发明决不限于所描述的方法和材料。

[0026] 定义

[0027] 术语“免疫缀合物”是指经由连接子共价键结至佐剂部分的抗体构建体。术语“佐剂”是指能够在暴露于佐剂的受试者中引发免疫反应的物质。短语“佐剂部分”是指如本文所描述,例如经由连接子共价键结至抗体构建体的佐剂。佐剂部分可以在键结至抗体构建体时或在向受试者施用免疫缀合物后从抗体构建体裂解(例如酶促裂解)之后引发免疫反应。

[0028] “佐剂”是指能够在暴露于佐剂的受试者中引发免疫反应的物质。短语“佐剂部分”是指如本文所描述,例如经由连接子共价键结至抗体构建体的佐剂。佐剂部分可以在键结至抗体构建体时或在向受试者施用免疫缀合物后从抗体构建体裂解(例如,酶促裂解)之后引发免疫反应。

[0029] 术语“To11样受体”和“TLR”是指高度保守的哺乳动物蛋白家族的任何成员,所述成员识别病原体相关的分子模式并且充当先天免疫中的关键信号传导元件。TLR多肽共享特征结构,所述特征结构包括具有富亮氨酸重复的细胞外结构域、跨膜结构域和TLR信号传导中所涉及的细胞内结构域。

[0030] 术语“To11样受体7”和“TLR7”是指与公开可用的TLR7序列,例如人类TLR7多肽的GenBank寄存编号AAZ99026或鼠类TLR7多肽的GenBank寄存编号AAK62676共享至少约70%、约80%、约90%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或更高序列同一性的核酸或多肽。

[0031] 术语“To11样受体8”和“TLR8”是指与公开可用的TLR8序列,例如人类TLR8多肽的GenBank寄存编号AAZ95441或鼠类TLR8多肽的GenBank寄存编号AAK62677共享至少约70%、



约80%、约90%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或更高序列同一性的核酸或多肽。

[0032] “TLR激动剂”是直接或间接结合至TLR(例如TLR7和/或TLR8)以诱导TLR信号传导的物质。TLR信号传导中任何可检测的差异可以指示激动剂刺激或活化TLR。信号传导差异可以表现为例如以下各者的变化:靶基因的表达、信号转导组分的磷酸化、诸如核因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)的下游元件的细胞内定位、某些组分(诸如IL-1受体相关激酶(IRAK))与其它蛋白质或细胞内结构的缔合,或诸如激酶(诸如有丝分裂原活化蛋白激酶(MAPK))的组分的生物化学活性。

[0033] “抗体”是指包含来自免疫球蛋白基因的抗原结合区(包括互补决定区(CDR))的多肽或其片段。术语“抗体”特定涵盖展现所需生物活性的单克隆抗体(包括全长单克隆抗体)、多克隆抗体、多特异性抗体(例如双特异性抗体)和抗体片段。示例性免疫球蛋白(抗体)结构单元包含四聚体。每个四聚体由两对相同多肽链组成,每一对具有由二硫键连接的一条“轻”链(约25kDa)和一条“重”链(约50-70kDa)。每条链由结构域组成,所述结构域称作免疫球蛋白结构域。这些结构域按大小和功能分为不同类别,例如,轻链和重链上的可变结构域或区(分别是 $V_L$ 和 $V_H$ )以及轻链和重链上的恒定结构域或区(分别是 $C_L$ 和 $C_H$ )。每条链的N端界定约100至110个或更多个氨基酸的可变区,称作互补位(paratope),其主要负责抗原识别,即,抗原结合结构域。轻链分为 $\kappa$ 或 $\lambda$ 。重链分为 $\gamma$ 、 $\mu$ 、 $\alpha$ 、 $\delta$ 或 $\epsilon$ ,其依次分别定义免疫球蛋白种类IgG、IgM、IgA、IgD和IgE。IgG抗体是由四条肽链组成的约150kDa大分子。IgG抗体含有两条约50kDa的相同种类 $\gamma$ 重链和两条约25kDa的相同轻链,由此成为四聚四级结构。两条重链由二硫键彼此连接并且各自连接至轻链。所得四聚体具有两个相同半部分,它们一起形成类Y形状。叉形物的每个末端含有相同抗原结合结构域。人类中存在四种IgG子类(IgG1、IgG2、IgG3和IgG4),以它们在血清中的丰度顺序命名(即,IgG1最丰富)。通常,抗体的抗原结合结构域在结合至癌细胞的特异性和亲和力中将最为关键。

[0034] “抗体构建体”是指包含(i)抗原结合结构域和(ii)Fc结构域的抗体或融合蛋白。

[0035] 在一些实施方案中,结合剂是抗原结合抗体“片段”,其为至少包含抗体的抗原结合区的构建体,所述抗原结合区是单独的或与共同构成抗原结合构建体的其它组分一起。许多不同类型的抗体“片段”在本领域中是已知的,包括例如(i)Fab片段,其为由 $V_L$ 、 $V_H$ 、 $C_L$ 和 $CH_1$ 结构域组成的单价片段;(ii) $F(ab')_2$ 片段,其为包含两个在铰链区由二硫桥连接的Fab片段的二价片段;(iii)Fv片段,其由抗体的单臂的 $V_L$ 和 $V_H$ 结构域组成;(iv)Fab'片段,其通过使用温和还原条件使 $F(ab')_2$ 片段的二硫桥断裂而产生;(v)二硫键稳定的Fv片段(dsFv);以及(vi)单链Fv(scFv),其为由Fv片段的经合成连接子连接的两个结构域(即, $V_L$ 和 $V_H$ )组成的单价分子,所述合成连接子使两个结构域能够合成为单一多肽链。

[0036] 抗体或抗体片段可以是较大构建体的一部分,例如,抗体片段与额外区域的缀合物或融合构建体。举例来说,在一些实施方案中,抗体片段可以融合至如本文所描述的Fc区。在其它实施方案中,抗体片段(例如Fab或scFv)可以是嵌合抗原受体或嵌合T细胞受体的一部分,例如,通过融合至跨膜结构域(任选地具有间插连接子或“茎(stalk)”(例如铰链区))和任选的细胞间信号传导结构域。举例来说,抗体片段可以融合至t细胞受体的 $\gamma$ 和/或 $\delta$ 链,以提供结合PD-L1的T细胞受体样构建体。在又一个实施方案中,抗体片段是包含CD1或CD3结合结构域和连接子的双特异性T细胞啮合子(BiTE)的一部分。

[0037] “表位”意指与抗原结合结构域结合的抗原的任何抗原决定子或表位决定子(即,

在抗原结合结构域的互补位处)。抗原决定子通常由分子的化学活性表面基团,诸如氨基酸或糖侧链组成,并且通常具有特定三维结构特征以及特定电荷特征。

[0038] 术语“Fc受体”或“FcR”是指结合至抗体的Fc区的受体。存在三个主要种类的Fc受体:(1)结合至IgG的Fc $\gamma$ R, (2)结合至IgA的Fc $\alpha$ R,以及(3)结合至IgE的Fc $\epsilon$ R。Fc $\gamma$ R家族包括若干成员,诸如Fc $\gamma$ I (CD64)、Fc $\gamma$ RIIA (CD32A)、Fc $\gamma$ RIIB (CD32B)、Fc $\gamma$ RIIIA (CD16A)和Fc $\gamma$ RIIIB (CD16B)。Fc $\gamma$ 受体对IgG的亲合力不同,并且对IgG子类(例如IgG1、IgG2、IgG3和IgG4)的亲合力也不同。

[0039] 如本文所提及的核酸或氨基酸序列“同一性”可以通过将所关注的核酸或氨基酸序列与参考核酸或氨基酸序列进行比较来确定。百分比同一性是在最佳比对的所关注序列与参考序列之间相同(即,同一)的核苷酸或氨基酸残基数除以最长序列的长度(即,所关注序列或参考序列任一者的长度,以较长者为准)。序列的比对和百分比同一性的计算可以使用可用的软件程序进行。此类程序的实例包括CLUSTAL-W、T-Coffee和ALIGN(用于核酸和氨基酸序列的比对)、BLAST程序(例如BLAST 2.1、BL2SEQ、BLASTp、BLASTn等等)和FASTA程序(例如FASTA3x、FASTM和SSEARCH)(用于序列比对和序列相似性搜索)。序列比对算法也在以下文献中公开:例如Altschul等,J.Molecular Biol.,215(3):403-410(1990);Beigert等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,106(10):3770-3775(2009);Durbin等编,Biological Sequence Analysis:Probabilistic Models of Proteins and Nucleic Acids,Cambridge University Press,Cambridge,UK(2009);Soding,Bioinformatics,21(7):951-960(2005);Altschul等,Nucleic Acids Res.,25(17):3389-3402(1997);以及Gusfield,Algorithms on Strings,Trees and Sequences,Cambridge University Press,Cambridge UK(1997)。序列的百分比(%)同一性还可以计算为例如 $100 \times [(\text{相同位置}) / \min(TG_A, TG_B)]$ ,其中 $TG_A$ 和 $TG_B$ 是在比对中使 $TG_A$ 和 $TG_B$ 最小化的肽序列A和B中的残基数与内部空位的总和。参见例如Russell等,J.Mol Biol.,244:332-350(1994)。

[0040] 结合剂包含一起形成抗原结合位点的Ig重链和轻链可变区多肽。重链和轻链可变区中的每一者是包含由构架区连接的三个互补决定区(CDR1、CDR2和CDR3)的多肽。结合剂可以是本领域中已知的包含Ig重链和轻链的多种类型结合剂中的任一者。举例来说,结合剂可以是抗体、抗原结合抗体“片段”或T细胞受体。

[0041] “生物类似药(biosimilar)”是指具有类似于以下抗体的活性特性的经核准的抗体构建体:例如,先前经核准的PD-L1靶向抗体构建体,诸如阿特珠单抗(atezolizumab)(TECENTRIQ<sup>TM</sup>,Genentech,Inc.)、得瓦鲁单抗(durvalumab)(IMFINZI<sup>TM</sup>,AstraZeneca)和阿维鲁单抗(avelumab)(BAVENCIO<sup>TM</sup>,EMD Serono,Pfizer);先前经核准的HER2靶向抗体构建体,诸如曲妥珠单抗(trastuzumab)(HERCEPTIN<sup>TM</sup>,Genentech,Inc.)和帕妥珠单抗(pertuzumab)(PERJETA<sup>TM</sup>,Genentech,Inc.);或CEA靶向抗体,诸如拉贝妥珠单抗(labetuzumab)(CEA-CIDE<sup>TM</sup>,MN-14,hMN14,Immunomedics)CAS登记号219649-07-7)。

[0042] “生物改良药(biobetter)”是指经核准的抗体构建体,其为诸如阿特珠单抗、得瓦鲁单抗、阿维鲁单抗、曲妥珠单抗、帕妥珠单抗和拉贝妥珠单抗的先前经核准的抗体构建体的改良。生物改良药相对于先前经核准的抗体构建体可以具有一个或多个修饰(例如改变的聚糖谱,或独特表位)。

[0043] “氨基酸”是指可以并入肽、多肽或蛋白质中的任何单体单元。氨基酸包括天然存

在的 $\alpha$ -氨基酸及其立体异构体,以及非天然(非天然存在的)氨基酸及其立体异构体。给定氨基酸的“立体异构体”是指具有相同分子式和分子内键,但键和原子的三维排列不同的异构体(例如L-氨基酸和对应的D-氨基酸)。氨基酸可以经糖基化(例如N-连接的聚糖、O-连接的聚糖、磷酸聚糖、C-连接的聚糖,或糖基化阳离子(glypication))或去糖基化。氨基酸在本文中可以由通常已知的三字母符号或由IUPAC-IUB生物化学命名委员会推荐的单字母符号来提及。

[0044] 天然存在的氨基酸是由遗传密码编码的那些氨基酸,以及后来经修饰的那些氨基酸,例如羟脯氨酸、 $\gamma$ -羧基谷氨酸和O-磷酸丝氨酸。天然存在的 $\alpha$ -氨基酸包括但不限于D和L立体异构体,其中存在丙氨酸(Ala)、半胱氨酸(Cys)、天冬氨酸(Asp)、谷氨酸(Glu)、苯丙氨酸(Phe)、甘氨酸(Gly)、组氨酸(His)、异亮氨酸(Ile)、精氨酸(Arg)、赖氨酸(Lys)、亮氨酸(Leu)、甲硫氨酸(Met)、天冬酰胺(Asn)、脯氨酸(Pro)、谷氨酰胺(Gln)、丝氨酸(Ser)、苏氨酸(Thr)、缬氨酸(Val)、色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)以及它们的组合。天然存在的 $\alpha$ -氨基酸的立体异构体包括但不限于D-丙氨酸(D-Ala)、D-半胱氨酸(D-Cys)、D-天冬氨酸(D-Asp)、D-谷氨酸(D-Glu)、D-苯丙氨酸(D-Phe)、D-组氨酸(D-His)、D-异亮氨酸(D-Ile)、D-精氨酸(D-Arg)、D-赖氨酸(D-Lys)、D-亮氨酸(D-Leu)、D-甲硫氨酸(D-Met)、D-天冬酰胺(D-Asn)、D-脯氨酸(D-Pro)、D-谷氨酰胺(D-Gln)、D-丝氨酸(D-Ser)、D-苏氨酸(D-Thr)、D-缬氨酸(D-Val)、D-色氨酸(D-Trp)、D-酪氨酸(D-Tyr)以及它们的组合。

[0045] 天然存在的氨基酸包括通过转译后修饰在蛋白质中形成的那些氨基酸,诸如瓜氨酸(Cit)。

[0046] 非天然(非天然存在的)氨基酸包括但不限于氨基酸类似物、氨基酸模拟物、合成氨基酸、N-取代的甘氨酸和呈L-构型或D-构型的N-甲基氨基酸,所述非天然氨基酸以类似于天然存在的氨基酸的方式发挥功能。举例来说,“氨基酸类似物”可以是具有与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构(即,键结至氢、羧基、氨基的碳),但具有经修饰的侧链基团或经修饰的肽主链的非天然氨基酸,例如高丝氨酸、正亮氨酸、甲硫氨酸亚砷和甲硫氨酸甲基硫。“氨基酸模拟物”是指具有不同于氨基酸的一般化学结构的结构,但以类似于天然存在的氨基酸的方式发挥功能的化合物。

[0047] “连接子”是指共价键结化合物或材料中的两个或更多个部分的官能团。举例来说,连接部分可以用于将佐剂部分共价键结至免疫缀合物中的抗体构建体。

[0048] “连接部分”是指共价键结化合物或材料中的两个或更多个部分的官能团。举例来说,连接部分可以用于将佐剂部分共价键结至免疫缀合物中的抗体。可用于将连接部分连接至蛋白质和其它材料的键包括但不限于酰胺、胺、酯、氨基甲酸酯、脲、硫醚、硫代氨基甲酸酯、硫代碳酸酯和硫脲。

[0049] “二价”是指含有用于连接两个官能团的两个附接点的化学部分;多价连接部分可以具有用于连接其它官能团的额外附接点。二价基团可以用后缀“二基”表示。举例来说,二价连接部分包括二价聚合物部分,诸如二价聚(乙二醇)、二价环烷基、二价杂环烷基、二价芳基和二价杂芳基。“二价环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基”是指具有用于共价连接分子或材料中的两个部分的两个附接点的环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基。环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基可以经取代或未经取代。环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基可以经一个或多个选自卤基、羟基、氨基、烷基氨基、酰胺基、酰基、硝基、氰基和烷氧基的基团取代。

[0050] 波形线(  )或星号(\*)代表指定化学部分的附接点。如果指定化学部分存在两条波形线(  ),那么应了解,可以双向使用二价化学部分,即,从左至右或从右至左读取。在一些实施方案中,存在两条波形线(  )的指定部分视为以从左至右读取来使用。

[0051] “烷基”是指具有有所指示的碳原子数的直链或支链饱和脂肪族基团。烷基可以包括任何数目的碳。举例来说,  $C_1$ - $C_4$  烷基包括但不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、仲丁基和叔丁基。烷基还可以指具有至多30个碳原子的烷基,诸如但不限于庚基、辛基、壬基、癸基等。烷基可以经取代或未经取代。“经取代的烷基”基团可以经一个或多个选自卤基、羟基、氨基、氧代(=O)、烷基氨基、酰胺基、酰基、硝基、氰基和烷氧基的基团取代。

[0052] 术语“烷二基”是指二价烷基。

[0053] “环烷基”是指含有3至12个环原子或所指示的原子数的饱和或部分不饱和单环、稠合双环或桥联多环组合体。饱和单环碳环包括例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基和环辛基。饱和双环和多环碳环包括例如降莰烷、[2.2.2]双环辛烷、十氢萘和金刚烷。碳环基团还可以是部分不饱和的,在环中具有一个或多个双键或三键。部分不饱和的代表性碳环基团包括但不限于环丁烯、环戊烯、环己烯、环己二烯(1,3-异构体和1,4-异构体)、环庚烯、环庚二烯、环辛烯、环辛二烯(1,3-异构体、1,4-异构体和1,5-异构体)、降莰烯和降莰二烯。

[0054] 术语“环烷二基”是指二价环烷基。

[0055] “芳基”是指具有任何适合数目的环原子和任何适合数目的环的芳香族环系统。芳基可以是单环,稠合形成双环或三环基团,或由键连接形成联芳基。代表性芳基包括苯基、萘基和联苯基。其它芳基包括具有亚甲基连接基团的苯甲基。一些芳基具有6至12个环成员,诸如苯基、萘基或联苯基。其它芳基具有6至10个环成员,诸如苯基或萘基。

[0056] “杂环烷基”和“杂芳基”是指如本文所描述的“环烷基”或“芳基”基团,其中一个或多个碳原子任选地并且独立地经选自N、O和S的杂原子置换。单独或作为另一取代基的一部分的“杂芳基”是指含有5至16个环原子的单环或稠合双环或三环芳香族环组合体,其中1至5个环原子是杂原子,诸如N、O或S。额外杂原子也可用,包括但不限于B、Al、Si和P。杂原子可以经氧化以形成诸如但不限于-S(O)-和-S(O)<sub>2</sub>-的部分。杂芳基中可以包括任何适合数目的杂原子,诸如1、2、3、4或5个,或1至2个、1至3个、1至4个、1至5个、2至3个、2至4个、2至5个、3至4个或3至5个。杂芳基可以包括诸如吡咯、吡啶、咪唑、吡唑、三唑、四唑、吡嗪、嘧啶、哒嗪、三嗪(1,2,3-异构体、1,2,4-异构体和1,3,5-异构体)、噁吩、呋喃、噻唑、异噻唑、噁唑和异噁唑的基团。杂芳基还可以稠合至芳香族环系统,诸如苯基环,以形成以下成员:包括但不限于苯并吡咯,诸如吲哚和异吲哚;苯并吡啶,诸如喹啉和异喹啉;苯并吡嗪(喹噁啉);苯并嘧啶(喹唑啉);苯并哒嗪,诸如酞嗪和噌啉;苯并噻吩;以及苯并呋喃。其它杂芳基包括由键连接的杂芳基环,诸如联吡啶。杂芳基可以经取代或未经取代。“经取代的杂芳基”基团可以经一个或多个选自卤基、羟基、氨基、氧代(=O)、烷基氨基、酰胺基、酰基、硝基、氰基和烷氧基的基团取代。

[0057] 术语“杂环烷二基”是指二价杂环烷基。

[0058] 杂芳基可以经由环上的任何位置连接。举例来说,吡咯包括1-吡咯、2-吡咯和3-吡咯;吡啶包括2-吡啶、3-吡啶和4-吡啶;咪唑包括1-咪唑、2-咪唑、4-咪唑和5-咪唑;吡唑包括1-吡唑、3-吡唑、4-吡唑和5-吡唑;三唑包括1-三唑、4-三唑和5-三唑;四唑包括1-四唑和

5-四唑；嘧啶包括2-嘧啶、4-嘧啶、5-嘧啶和6-嘧啶；哒嗪包括3-哒嗪和4-哒嗪；1,2,3-三嗪包括4-三嗪和5-三嗪；1,2,4-三嗪包括3-三嗪、5-三嗪和6-三嗪；1,3,5-三嗪包括2-三嗪；噻吩包括2-噻吩和3-噻吩；呋喃包括2-呋喃和3-呋喃；噻唑包括2-噻唑、4-噻唑和5-噻唑；异噻唑包括3-异噻唑、4-异噻唑和5-异噻唑；噁唑包括2-噁唑、4-噁唑和5-噁唑；异噁唑包括3-异噁唑、4-异噁唑和5-异噁唑；吡啶包括1-吡啶、2-吡啶和3-吡啶；异吡啶包括1-异吡啶和2-异吡啶；喹啉包括2-喹啉、3-喹啉和4-喹啉；异喹啉包括1-异喹啉、3-异喹啉和4-异喹啉；喹唑啉包括2-喹唑啉和4-喹唑啉；噌啉包括3-噌啉和4-噌啉；苯并噻吩包括2-苯并噻吩和3-苯并噻吩；并且苯并呋喃包括2-苯并呋喃和3-苯并呋喃。

[0059] 术语“杂芳二基”是指二价杂芳基。

[0060] 单独或作为另一取代基的一部分的“杂环烷基”是指具有3至12个环成员以及1至4个N、O和S杂原子的饱和环系统。额外杂原子也可用，包括但不限于B、Al、Si和P。杂原子可以经氧化以形成诸如但不限于-S(O)-和-S(O)<sub>2</sub>-的部分。杂环烷基可以包括任何数目的环原子，诸如3至6个、4至6个、5至6个、3至8个、4至8个、5至8个、6至8个、3至9个、3至10个、3至11个或3至12个环成员。杂环烷基中可以包括任何适合数目的杂原子，诸如1、2、3或4个，或1至2个、1至3个、1至4个、2至3个、2至4个或3至4个。杂环烷基可以包括诸如氮杂环丙烷、氮杂环丁烷、吡咯烷、哌啶、氮杂环庚烷、氮杂环辛烷、奎宁环(quinuclidine)、吡唑烷、咪唑烷、哌嗪(1,2-异构体、1,3-异构体和1,4-异构体)、环氧乙烷、氧杂环丁烷、四氢呋喃、噁烷(四氢吡喃)、氧杂环己烷、硫杂环丙烷、硫杂环丁烷、硫杂环戊烷(四氢噻吩)、噻烷(四氢噻喃)、噁唑烷、异噁唑烷、噻唑烷、异噻唑烷、二氧杂环戊烷、二硫杂环戊烷、吗啉、硫代吗啉、二噁烷或二噻烷的基团。杂环烷基还可以稠合至芳香族或非芳香族环系统以形成包括但不限于吡啶啉的成员。杂环烷基可以未经取代或经取代。

[0061] 杂环烷基可以经由环上的任何位置连接。举例来说，氮杂环丙烷可以是1-氮杂环丙烷或2-氮杂环丙烷；氮杂环丁烷可以是1-氮杂环丁烷或2-氮杂环丙烷；吡咯烷可以是1-吡咯烷、2-吡咯烷或3-吡咯烷；哌啶可以是1-哌啶、2-哌啶、3-哌啶或4-哌啶；吡唑烷可以是1-吡唑烷、2-吡唑烷、3-吡唑烷或4-吡唑烷；咪唑烷可以是1-咪唑烷、2-咪唑烷、3-咪唑烷或4-咪唑烷；哌嗪可以是1-哌嗪、2-哌嗪、3-哌嗪或4-哌嗪；四氢呋喃可以是1-四氢呋喃或2-四氢呋喃；噁唑烷可以是2-噁唑烷、3-噁唑烷、4-噁唑烷或5-噁唑烷；异噁唑烷可以是2-异噁唑烷、3-异噁唑烷、4-异噁唑烷或5-异噁唑烷；噻唑烷可以是2-噻唑烷、3-噻唑烷、4-噻唑烷或5-噻唑烷；异噻唑烷可以是2-异噻唑烷、3-异噻唑烷、4-异噻唑烷或5-异噻唑烷；并且吗啉可以是2-吗啉、3-吗啉或4-吗啉。

[0062] 术语“杂环烷二基”是指二价杂环烷基。

[0063] 单独或作为另一取代基的一部分的术语“卤基”和“卤素”是指氟、氯、溴或碘原子。

[0064] 单独或作为另一取代基的一部分的术语“羰基”是指C(=O)或-C(=O)-，即，碳原子双键键结至氧并且结合至具有羰基的部分中的两个其它基团。

[0065] 如本文所用的短语“季铵盐”是指已用烷基取代基(例如C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基，诸如甲基、乙基、丙基或丁基)季铵化的叔胺。

[0066] 术语“治疗(treat/treatment/treating)”是指成功治疗或改善损伤、病变、疾患(例如癌症)或症状(例如认知障碍)的任何指标，包括任何客观或主观参数，诸如消除；缓解；减轻症状或使患者更能忍受症状、损伤、病变或疾患；症状进展的速率降低；减少症状或

疾患的频率或持续时间;或在一些情况下预防症状发作。症状的治疗或改善可以基于任何客观或主观参数,包括例如身体检查的结果。

[0067] 术语“癌症”、“赘瘤”和“肿瘤”在本文中用于指展现自主、不受调控的生长的细胞,使得细胞展现以对细胞增殖的控制显著损失为特征的异常生长表型。在本发明的情形中用于检测、分析和/或治疗的所关注细胞包括癌细胞(例如,来自患有癌症的个体的癌细胞)、恶性癌细胞、转移前癌细胞、转移性癌细胞和非转移性癌细胞。几乎每个组织的癌症都是已知的。短语“癌症负担”是指受试者中的癌细胞数量或癌症体积。因此,减少癌症负担是指减小受试者中的癌细胞数目或癌细胞体积。如本文所用的术语“癌细胞”是指成为癌细胞(例如,来自可治疗个体的任何癌症,例如从患有癌症的个体分离)或来源于癌细胞,例如癌细胞克隆体的任何细胞。举例来说,癌细胞可以来自自己建立的癌细胞系,可以是来自患有癌症的个体分离的初生细胞,可以是来自于从患有癌症的个体分离的初生细胞的子代细胞,等等。在一些实施方案中,这个术语还可以指癌细胞的一部分,诸如癌细胞的亚细胞部分、细胞膜部分或细胞溶解产物。本领域技术人员已知许多类型的癌症,包括实体肿瘤,诸如癌瘤、肉瘤、胶质母细胞瘤、黑色素瘤、淋巴瘤和骨髓瘤,以及循环癌,诸如白血病。

[0068] 如本文所用的术语“癌症”包括任何形式的癌症,包括但不限于实体肿瘤癌(例如皮肤癌、肺癌、前列腺癌、乳癌、胃癌、膀胱癌、结肠癌、卵巢癌、胰脏癌、肾癌、肝癌、胶质母细胞瘤、髓母细胞瘤、平滑肌肉瘤、头颈部鳞状细胞癌、黑色素瘤和神经内分泌癌)和液体癌(例如血液学癌症);癌瘤;软组织肿瘤;肉瘤;畸胎瘤;黑色素瘤;白血病;淋巴瘤;以及脑癌,包括微小残留病,并且包括原发性和转移性肿瘤。

[0069] “PD-L1表达”是指在细胞表面上具有PD-L1受体的细胞。如本文所用的“PD-L1过表达”是指与对应的非癌细胞相比具有更多PD-L1受体的细胞。

[0070] “HER2”是指蛋白质人类表皮生长因子受体2。

[0071] “HER2表达”是指在细胞表面上具有HER2受体的细胞。举例来说,细胞在细胞表面上可以具有约20,000个至约50,000个HER2受体。如本文所用的“HER2过表达”是指具有超过约50,000个HER2受体的细胞。举例来说,与对应的非癌细胞相比,细胞的HER2受体数目是2、5、10、100、1,000、10,000、100,000或1,000,000倍(例如,约1百万或2百万个HER2受体)。据估计,HER2在约25%至约30%的乳癌中过表达。

[0072] 癌症的“病变”包括所有损害患者健康的现象。这包括但不限于异常或不可控的细胞生长、转移、干扰邻近细胞正常发挥功能、以异常水平释放细胞因子或其它分泌产物、抑制或加重炎症或免疫反应、赘瘤、癌前病变、恶性病以及侵入周围或远端组织或器官(诸如淋巴结)。

[0073] 如本文所用的短语“癌症复发”和“肿瘤复发”及其语法变型是指在诊断出癌症之后赘生性细胞或癌细胞的进一步生长。特别地,当癌组织中发生癌细胞进一步生长时可能会发生复发。类似地,当肿瘤细胞播散至局部或远端组织和器官中时发生“肿瘤扩散”,因此,肿瘤扩散涵盖肿瘤转移。当肿瘤生长局部扩散开以通过压缩、破坏或阻止正常器官功能来损害所涉及组织的功能时发生“肿瘤侵入”。

[0074] 如本文所用的术语“转移”是指癌性肿瘤在器官或身体部分中的生长,所述器官或身体部分不直接连接至原始癌性肿瘤的器官。转移应理解为包括微转移,其为在不直接连接至原始癌性肿瘤的器官的器官或身体部分中存在不可检测量的癌细胞。转移还可以定义

为过程的若干步骤,诸如癌细胞从原始肿瘤部位离开以及癌细胞迁移和/或侵入身体的其它部分。

[0075] 短语“有效量”和“治疗有效量”是指对于施用来说产生治疗作用的物质,诸如免疫缀合物的剂量或量。确切剂量将取决于治疗目的,并且将由本领域技术人员使用已知技术可确定(参见例如Lieberman, *Pharmaceutical Dosage Forms* (第1-3卷,1992); Lloyd, *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding* (1999); Pickar, *Dosage Calculations* (1999); Goodman & Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 第11版 (McGraw-Hill, 2006); 以及 Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 第22版, (Pharmaceutical Press, London, 2012))。在癌症的情况下,治疗有效量的免疫缀合物可以减少癌细胞的数目;减小肿瘤大小;抑制(即,在一定程度上减缓并且优选地停止)癌细胞浸润至周边器官中;抑制(即,在一定程度上减缓并且优选地停止)肿瘤转移;在一定程度上抑制肿瘤生长;和/或在一定程度上缓解一种或多种与癌症相关的症状。在免疫缀合物可以阻止现有癌细胞生长和/或杀死现有癌细胞的程度上,其可能具有细胞生长抑制性和/或细胞毒性。对于癌症疗法,可以例如通过评估疾病进展时间 (TTP) 和/或确定反应率 (RR) 来测量功效。

[0076] “接受者”、“个体”、“受试者”、“宿主”和“患者”可互换使用并且是指需要诊断、治疗或疗法的任何哺乳动物受试者(例如人类)。用于治疗目的的“哺乳动物”是指归类为哺乳动物的任何动物,包括人类、家养和农场动物以及动物园动物、运动型动物或宠物,诸如犬、马、猫、牛、绵羊、山羊、猪、骆驼等。在某些实施方案中,哺乳动物是人类。

[0077] 在本发明的情形中,短语“协同佐剂”或“协同组合”包括两种免疫调节剂的组合,诸如受体激动剂、细胞因子和佐剂多肽,所述免疫调节剂以组合形式相对于单独施用的任一者对免疫引发协同作用。特别地,本文所公开的免疫缀合物包含所要求的佐剂与抗体构建体的协同组合。举例来说,相对于在不存在其它部分的情况下施用抗体构建体或佐剂时,这些协同组合在施用后对免疫引发更大作用。此外,与单独施用抗体构建体或佐剂时相比,可以施用减少量的免疫缀合物(如由作为免疫缀合物的一部分施用的抗体构建体的总数或佐剂的总数来测量)。

[0078] 如本文所用的术语“施用”是指向受试者肠道外、静脉内、腹膜内、肌肉内、肿瘤内、病灶内、鼻内或皮下施用、经口施用、以栓剂施用、局部接触、鞘内施用或植入缓释装置,例如微型渗透泵。

[0079] 如本文中用于修饰数值的术语“约”和“左右”指示在所述数值周围的接近范围。因此,如果“X”是所述值,那么“约X”或“X左右”指示0.9X至1.1X,例如0.95X至1.05X或0.99X至1.01X的值。提及“约X”或“X左右”特定指示至少值X、0.95X、0.96X、0.97X、0.98X、0.99X、1.01X、1.02X、1.03X、1.04X和1.05X。因此,“约X”和“X左右”意图教示并提供对例如“0.98X”的权利要求限制的书面描述支持。

[0080] 抗体

[0081] 本发明的免疫缀合物包含抗体。本发明的实施方案的范围内包括本文所描述的抗体构建体或抗原结合结构域的功能变异体。如本文所用的术语“功能变异体”是指具有与亲本抗体构建体或抗原结合结构域具有实质或显著序列同一性或相似性的抗原结合结构域的抗体构建体,所述功能变异体保留作为其变异体的抗体构建体或抗原结合结构域的生物

活性。功能变异体涵盖例如本文所描述的抗体构建体或抗原结合结构域(亲本抗体构建体或抗原结合结构域)的那些变异体,所述变异体保留以与亲本抗体构建体或抗原结合结构域相似的程度、相同的程度或更高的程度识别表达PD-L1、HER2或CEA的靶细胞的能力。

[0082] 关于抗体构建体或抗原结合结构域,功能变异体的氨基酸序列与抗体构建体或抗原结合结构域可以例如具有至少约30%、约50%、约75%、约80%、约85%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或更高同一性。

[0083] 功能变异体可以例如包含具有至少一个保守氨基酸取代的亲本抗体构建体或抗原结合结构域的氨基酸序列。替代地或另外,功能变异体可以包含具有至少一个非保守氨基酸取代的亲本抗体构建体或抗原结合结构域的氨基酸序列。在这种情况下,非保守氨基酸取代优选地不干扰或抑制功能变异体的生物活性。非保守氨基酸取代可以增强功能变异体的生物活性,使得功能变异体的生物活性与亲本抗体构建体或抗原结合结构域相比增加。

[0084] 包含本发明的免疫缀合物的抗体包括Fc工程改造的变异体。在一些实施方案中,在Fc区中调节与一种或多种Fc受体的结合的突变可以包括以下突变中的一者或多者:SD(S239D)、SDIE(S239D/I332E)、SE(S267E)、SELF(S267E/L328F)、SDIE(S239D/I332E)、SDIEAL(S239D/I332E/A330L)、GA(G236A)、ALIE(A330L/I332E)、GASDALIE(G236A/S239D/A330L/I332E)、V9(G237D/P238D/P271G/A330R)和V11(G237D/P238D/H268D/P271G/A330R);和/或以下氨基酸处的一个或多个突变:E345R、E233、G237、P238、H268、P271、L328和A330。用于调节Fc受体结合的额外Fc区修饰在例如美国专利申请公布2016/0145350以及美国专利7,416,726和5,624,821中描述,所述文献特此以全文引用的方式并入本文中。

[0085] 包含本发明的免疫缀合物的抗体包括聚糖变异体,诸如去岩藻糖基化。在一些实施方案中,结合剂的Fc区经修饰以与原生未经修饰的Fc区相比具有改变的Fc区糖基化模式。

[0086] 本发明抗体构建体或抗原结合结构域的氨基酸取代优选地是保守氨基酸取代。保守氨基酸取代在本领域中是已知的,并且包括用一个具有某些物理和/或化学特性的氨基酸交换另一个具有相同或类似化学或物理特性的氨基酸的氨基酸取代。举例来说,保守氨基酸取代可以是酸性/带负电荷极性氨基酸取代另一个酸性/带负电荷极性氨基酸(例如Asp或Glu)、具有非极性侧链的氨基酸取代另一个具有非极性侧链的氨基酸(例如Ala、Gly、Val、Ile、Leu、Met、Phe、Pro、Trp、Cys、Val等)、碱性/带正电荷极性氨基酸取代另一个碱性/带正电荷极性氨基酸(例如Lys、His、Arg等)、具有极性侧链的不带电荷氨基酸取代另一个具有极性侧链的不带电荷氨基酸(例如Asn、Gln、Ser、Thr、Tyr等)、具有β分支侧链的氨基酸取代另一个具有β分支侧链的氨基酸(例如Ile、Thr和Val)、具有芳香族侧链的氨基酸取代另一个具有芳香族侧链的氨基酸(例如His、Phe、Trp和Tyr)等。

[0087] 抗体构建体或抗原结合结构域可以基本上由本文所描述的一个或多个指定氨基酸序列组成,使得其它组分(例如其它氨基酸)不会本质上改变抗体构建体或抗原结合结构域功能变异体的生物活性。

[0088] 用于产生抗体的方法在例如Köhler和Milstein, Eur. J. Immunol., 5:511-519 (1976); Harlow和Lane(编), Antibodies: A Laboratory Manual, CSH Press (1988); 以及Janeway等(编), Immunobiology, 第9版, Garland Publishing, New York, NY (2017) 中描述。



在某些实施方案中,可以使用其中一个或多个内源性免疫球蛋白基因经一个或多个人类免疫球蛋白基因置换的转基因动物(例如小鼠)产生人类或嵌合抗体或抗体片段。其中内源性抗体基因经人类抗体基因有效置换的转基因小鼠的实例包括但不限于Medarex HUMAB-MOUSE<sup>TM</sup>、Kirin TCMOUSE<sup>TM</sup>和Kyowa Kirin KM-MOUSE<sup>TM</sup>(参见例如Lonberg, Nat.Biotechnol., 23 (9):1117-25 (2005);以及Lonberg, Handb. Exp. Pharmacol., 181:69-97 (2008))。可以使用本领域中已知的任何适合方法来产生人源化抗体(参见例如An, Z. (编), Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey (2009)), 包括例如非人类CDR移植至人类抗体支架上(参见例如Kashmiri等, Methods, 36 (1):25-34 (2005);以及Hou等, J. Biochem., 144 (1):115-120 (2008))和使用噬菌体展示(参见例如Fellouse等, Journal of Molecular Biology, 373 (4):924-940 (2007);以及Glanville等, PNAS, 106 (48):20216-20221 (2009))。

[0089] 在一个示例性实施方案中,本发明的免疫缀合物包含抗体构建体,所述抗体构建体包含特异性识别并结合PD-L1的抗原结合结构域。

[0090] 程序性死亡配体1 (PD-L1、分化簇274、CD274、B7-同源物1或B7-H1) 属于B7蛋白质超家族,并且是程序性细胞死亡蛋白1 (PD-1、PDCD1、分化簇279或CD279) 的配体。PD-L1还可以与B7.1 (CD80) 相互作用,并且据信此种相互作用可以抑制T细胞启动。PD-L1/PD-1轴在抑制适应性免疫反应中起重要作用。更具体来说,据信PD-L1与其受体PD-1的啮合递送抑制T细胞活化和增殖的信号。结合至PD-L1并且阻止配体与PD-1受体结合的剂可以防止这种免疫抑制,并且因此可以在需要时增强免疫反应,诸如用于治疗癌症或感染。PD-L1/PD-1路径还有助于防止自体免疫,并且因此针对PD-L1的激动剂或递送免疫抑制性有效负荷的剂可以帮助治疗自体免疫病症。

[0091] 已经开发了若干靶向PD-L1的抗体用于治疗癌症,包括阿特珠单抗 (TECENTRIQ<sup>TM</sup>)、得瓦鲁单抗 (IMFINZI<sup>TM</sup>) 和阿维鲁单抗 (BAVENCIO<sup>TM</sup>)。尽管如此,持续需要新的PD-L1结合剂,包括以高亲和力结合PD-L1并且有效防止PD-L1/PD-1信号传导的剂以及可以将治疗性有效负荷递送至PD-L1表达细胞的剂。另外,需要新的PD-L1结合剂以治疗自体免疫病症和感染。

[0092] 提供了一种将氨基苯并氮杂衍生物有效负荷递送至表达PD-L1的细胞的方法,所述方法包括向所述细胞或包含所述细胞的哺乳动物施用免疫缀合物,所述免疫缀合物包含共价附接至连接子的抗PD-L1抗体,所述连接子共价附接至一个或多个氨基苯并氮杂部分。

[0093] 还提供了一种用于增强或减少或抑制哺乳动物的免疫反应的方法和用于治疗对PD-L1抑制有反应的哺乳动物的疾病、病症或疾患的方法,所述方法包括向哺乳动物施用其PD-L1免疫缀合物。

[0094] 本发明提供了一种PD-L1结合剂,所述PD-L1结合剂包含免疫球蛋白重链可变区多肽和免疫球蛋白轻链可变区多肽。

[0095] PD-L1结合剂特异性结合PD-L1。所述剂的结合特异性允许靶向PD-L1表达细胞,例如,以将治疗性有效负荷递送至此类细胞。

[0096] 在一些实施方案中,PD-L1结合剂(A型或B型)结合至人类PD-L1,例如,包含SEQ ID NO:307的蛋白质。然而,还涵盖结合至任何PD-L1同源物或同种同源物的结合剂。在一些实施方案中,PD-L1蛋白质与SEQ ID NO:307包含至少约70%、约75%、约80%、约85%、约

90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或更高序列同一性。在一些实施方案中,结合剂结合人类PD-L1和食蟹猴PD-L1;或人类、食蟹猴和小鼠PD-L1。

[0097] 

```
MRIFAVFIFMTYWHLNNAFTVTVPKDLYVVEYGSNMTIECKFPVEKQLDLAALI
VYWEMEDKNIIQFVHGEEDLKVQHSSYRQARLLKDQLSLGNAALQITDVKLQD
AGVYRCMISYGGADYKRITVKVNAPYNKINQRILVVDVPTSEHELTCAEGYPK
AEVIWTSSDHQVLSGKTTTTNSKREEKLFNVTSTLRINTTTNEIFYCTFRRLDP
EENHTAELVIPLELPLAHPNERTHLVILGAILLCLGVALTFIFRLRKGRMMDVK
KCGIQDTNSKKQSDTHLEET
```

 SEQ ID NO: 307

[0098] 在一些实施方案中,PD-L1结合剂结合PD-L1,而实质上不抑制或阻止PD-L1与其受体PD-1的结合。然而,在其它实施方案中,PD-L1结合剂可以完全或部分阻断(抑制或阻止)PD-L1与其受体PD-1的结合,使得所述抗体可以用于抑制PD-L1/PD-1信号传导(例如用于治疗目的)。

[0099] 抗体或抗原结合抗体片段可以对PD-L1具有单特异性,或可以是双特异性或多特异性的。举例来说,在二价或多价抗体或抗体片段中,结合结构域可以是不同的,其靶向相同抗原的不同表位或靶向不同抗原。构建多价结合构建体的方法在本领域中是已知的。双特异性和多特异性抗体在本领域中是已知的。此外,可以提供双功能抗体、三功能抗体或四功能抗体,其为多肽链的二聚体、三聚体或四聚体,所述多肽链各自包含由肽连接子连接至 $V_L$ 的 $V_H$ ,所述肽连接子过短而不允许同一多肽链上的 $V_H$ 与 $V_L$ 之间配对,从而驱动不同 $V_H$ - $V_L$ 多肽链上的互补结构域之间配对,以产生具有两个、三个或四个功能性抗原结合位点的多聚分子。同样,可以产生双scFv片段,所述片段是具有两个不同可变结构域的小scFv片段,以产生能够结合两个不同表位的双特异性双scFv片段。可以使用遗传工程改造方法产生Fab二聚体(Fab2)和Fab三聚体(Fab3),以基于Fab片段创建多特异性构建体。

[0100] PD-L1结合剂也可以是抗体缀合物。就此来说,PD-L1结合剂可以是(1)抗体、替代性支架或其片段与(2)蛋白质或非蛋白质部分的缀合物。举例来说,PD-L1结合剂可以缀合至肽、荧光分子、化学治疗性或其它细胞毒性有效负荷、免疫活化剂或免疫抑制剂。

[0101] PD-L1结合剂可以是或可以获自人类抗体、非人类抗体、人源化抗体或嵌合抗体或对应的抗体片段。“嵌合”抗体是通常包含人类恒定区和非人类可变区的抗体或其片段。“人源化”抗体是通常包含人类抗体支架,但在至少一个CDR(例如1个、2个、3个、4个、5个或全部六个CDR)中具有非人类来源的氨基酸或序列的单克隆抗体。

[0102] PD-L1结合剂-A型

[0103] 本文提供了PD-L1结合剂,所述PD-L1结合剂包含免疫球蛋白重链可变区多肽和免疫球蛋白轻链可变区多肽。在一些实施方案中,PD-L1结合剂(A型)包含SEQ ID NO:223-264中的任一者的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR;以及SEQ ID NO:265-306中的任一者的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR。在其它实施方案中,PD-L1结合剂(A型)包含具有与SEQ ID NO:223-264中的任一者至少90%相同的氨基酸序列的免疫球蛋白重链可变区多肽,以及具有与SEQ ID NO:265-306中的任一者至少90%相同的氨基酸序列的免疫球蛋白轻链可变区多肽。在PD-L1结合剂(A型)的其它实施方案中,免疫球蛋白重链可变区多肽包含:包含SEQ ID NO:1-23中的任一者的互补决定区1(HCDR1)、包含SEQ ID NO:24-57中的任一者的互补决定区2(HCDR2),以及包含SEQ ID NO:58-95中的任一者的互补决定区3(HCDR3);

和/或免疫球蛋白轻链可变区多肽包含：包含SEQ ID NO:96-128中的任一者的互补决定区1 (LCDR1)、包含SEQ ID NO:129-151中的任一者的互补决定区2 (LCDR2)，以及包含SEQ ID NO:152-155中的任一者的互补决定区3 (LCDR3)。还提供了编码PD-L1结合剂或其个别重链和轻链的核酸；包含核酸的载体和细胞；以及包含结合剂或核酸的组合物。

[0104] 此外，在一些实施方案中，本文所提供的PD-L1结合剂(A型)在结合至细胞表面上的PD-L1后引起PD-L1或PD-L1/PD-L1结合剂复合物的细胞内化。不希望受任何特定理论或作用机制约束，据信根据这个实施方案的PD-L1结合剂在结合后引起PD-L1内化，并且在内化期间保持结合至PD-L1，从而促使结合剂连同PD-L1一起内化。PD-L1和所结合的PD-L1结合剂的细胞内化可以通过任何适合方法来确定，诸如测定在细胞表面上的持久性和/或检测内化抗体。在一些实施方案中，PD-L1结合剂足够强地内化，使得至少约25% (例如至少约35%、至少约50%、至少约75%或至少约90%)的结合细胞表面上的PD-L1的PD-L1结合剂内化(例如使用表面持久性测定，约75%或更少、约65%或更少、约50%或更少、约25%或更少或约10%或更少的在测定开始时结合至细胞表面上的PD-L1的PD-L1结合剂分子在测定结束时保持结合)。

[0105] 在一个实施方案中，PD-L1结合剂(A型)包含SEQ ID NO:223-264中的任一者的免疫球蛋白重链可变区，其序列与SEQ ID NO:223-264至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%相同，或至少其CDR；和/或SEQ ID NO:265-306中的任一者的免疫球蛋白轻链可变区，其序列与SEQ ID NO:265-306至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%相同，或至少其CDR。

[0106] 为作进一步说明，PD-L1结合剂(A型)可以包含：

[0107] (1) SEQ ID NO:223的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR，和/或SEQ ID NO:265的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR；

[0108] (2) SEQ ID NO:224的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR，和/或SEQ ID NO:266的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR；

[0109] (3) SEQ ID NO:225的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR，和/或SEQ ID NO:267的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR；

[0110] (4) SEQ ID NO:226的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR，和/或SEQ ID NO:268的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR；

[0111] (5) SEQ ID NO:227的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR，和/或SEQ ID NO:269的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR；

[0112] (6) SEQ ID NO:228的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR，和/或SEQ ID NO:270的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR；

[0113] (7) SEQ ID NO:229的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR，和/或SEQ ID NO:271的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR；

[0114] (8) SEQ ID NO:230的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR，和/或SEQ ID NO:272的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR；

[0115] (9) SEQ ID NO:231的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR，和/或SEQ ID NO:273的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR；

- [0116] (10) SEQ ID NO:232的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:274的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;
- [0117] (11) SEQ ID NO:233的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:275的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;
- [0118] (12) SEQ ID NO:234的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:276的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;
- [0119] (13) SEQ ID NO:235的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:277的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;
- [0120] (14) SEQ ID NO:236的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:278的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;
- [0121] (15) SEQ ID NO:237的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:279的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;
- [0122] (16) SEQ ID NO:238的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:280的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;
- [0123] (17) SEQ ID NO:239的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:281的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;
- [0124] (18) SEQ ID NO:240的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:282的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;
- [0125] (19) SEQ ID NO:241的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:283的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;
- [0126] (20) SEQ ID NO:242的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:284的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;
- [0127] (21) SEQ ID NO:243的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:285的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;
- [0128] (22) SEQ ID NO:244的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:286的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;
- [0129] (23) SEQ ID NO:245的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:287的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;
- [0130] (24) SEQ ID NO:246的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:288的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;
- [0131] (25) SEQ ID NO:247的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:289的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;
- [0132] (26) SEQ ID NO:248的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:290的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;
- [0133] (27) SEQ ID NO:249的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:291的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;
- [0134] (28) SEQ ID NO:250的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:292的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;
- [0135] (29) SEQ ID NO:251的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:293

的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0136] (30) SEQ ID NO:252的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:294的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0137] (31) SEQ ID NO:253的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:295的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0138] (32) SEQ ID NO:254的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:296的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0139] (33) SEQ ID NO:255的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:297的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0140] (34) SEQ ID NO:256的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:298的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0141] (35) SEQ ID NO:257的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:299的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0142] (36) SEQ ID NO:258的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:300的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0143] (37) SEQ ID NO:259的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:301的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0144] (38) SEQ ID NO:260的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:302的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0145] (39) SEQ ID NO:261的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:303的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0146] (40) SEQ ID NO:262的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:304的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0147] (41) SEQ ID NO:263的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:305的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0148] (42) SEQ ID NO:164的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:306的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;和/或

[0149] (43) 图4A-D的免疫球蛋白重链可变区和/或图4E-G的免疫球蛋白轻链可变区,或至少其CDR。

[0150] 给定重链或轻链Ig序列的CDR可以根据各种已知的Ig编号方案中的任一者(例如Kabat、Chothia、Martin(增强型Chothia)、IGMT、AbM)来确定。在某些实施方案中,PD-L1结合剂(A型)包含以下CDR中的一者或多者:

[0151] HCDR1,其包含或由SEQ ID NO:1-23中的任一者或与SEQ IDNO:1-23至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%相同的序列组成;

[0152] HCDR2,其包含或由SEQ ID NO:24-57中的任一者或与SEQ IDNO:24-57至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%相同的序列组成;以及

[0153] HCDR3,其包含或由SEQ ID NO:58-95中的任一者或与SEQ IDNO:58-95至少约

90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%相同的序列组成;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含

[0154] LCDR1,其包含或由SEQ ID NO:96-128中的任一者或与SEQID NO:96-128至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%相同的序列组成;

[0155] LCDR2,其包含或由SEQ ID NO:129-151中的任一者或与SEQID NO:129-151至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%相同的序列组成;以及

[0156] LCDR3,其包含或由SEQ ID NO:152-155中的任一者或与SEQID NO:152-155至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%相同的序列组成。

[0157] 在特定实施方案中,结合剂(A型)包含免疫球蛋白重链多肽和免疫球蛋白轻链多肽,其中:

[0158] (1)免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:1组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:24组成的HCDR2,以及包含或由SEQID NO:58组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:96组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:129组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:152组成的LCDR3;

[0159] (2)免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:2组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:25组成的HCDR2,以及包含或由SEQID NO:59组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:97组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:129组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:153组成的LCDR3;

[0160] (3)免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:3组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:26组成的HCDR2,以及包含或由SEQID NO:60组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:98组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:129组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:154组成的LCDR3;

[0161] (4)免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:4组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:27组成的HCDR2,以及包含或由SEQID NO:61组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:99组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:130组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:155组成的LCDR3;

[0162] (5)免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:5组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:28组成的HCDR2,以及包含或由SEQID NO:62组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:100组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:129组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:153组成的LCDR3;

[0163] (6)免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:6组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:29组成的HCDR2,以及包含或由SEQID NO:63组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:101组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:131组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:156组成的LCDR3;

[0164] (7)免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:7组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:30组成的HCDR2,以及包含或由SEQID NO:64组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多

肽包含:包含或由SEQ ID NO:102组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:132组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:157组成的LCDR3;

[0165] (8) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:2组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:31组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:65组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:103组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:133组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:155组成的LCDR3;

[0166] (9) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:8组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:32组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:66组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:104组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:134组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:158组成的LCDR3;

[0167] (10) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:9组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:33组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:67组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:97组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:135组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:159组成的LCDR3;

[0168] (11) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:7组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:34组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:64组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:102组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:132组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:160组成的LCDR3;

[0169] (12) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:10组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:35组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:68组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:105组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:136组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:161组成的LCDR3;

[0170] (13) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:2组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:25组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:69组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:106组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:129组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:162组成的LCDR3;

[0171] (14) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:11组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:36组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:70组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:107组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:129组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:163组成的LCDR3;

[0172] (15) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:12组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:37组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:71组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:108组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:137组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:164组成的LCDR3;

[0173] (16) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:1组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:38组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:72组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:109组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:138组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:165组成的LCDR3;

[0174] (17) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:13组成的HCDR1、包含或由



SEQ ID NO:39组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:73组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:98组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:129组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:155组成的LCDR3;

[0175] (18) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:2组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:40组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:74组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:110组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:137组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:166组成的LCDR3;

[0176] (19) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:14组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:41组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:75组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:111组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:129组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:165组成的LCDR3;

[0177] (20) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:15组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:42组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:74组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:97组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:139组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:152组成的LCDR3;

[0178] (21) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:14组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:43组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:76组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:112组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:137组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:155组成的LCDR3;

[0179] (22) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:16组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:44组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:77组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:113组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:140组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:165组成的LCDR3;

[0180] (23) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:9组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:45组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:78组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:114组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:141组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:165组成的LCDR3;

[0181] (24) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:17组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:46组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:79组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:98组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:129组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:155组成的LCDR3;

[0182] (25) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:9组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:25组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:80组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:115组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:142组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:165组成的LCDR3;

[0183] (26) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:17组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:41组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:81组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:116组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:143组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:167组成的LCDR3;



[0184] (27) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:7组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:47组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:82组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:117组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:144组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:155组成的LCDR3;

[0185] (28) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:2组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:41组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:83组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:118组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:131组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:168组成的LCDR3;

[0186] (29) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:18组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:48组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:84组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:119组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:145组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:165组成的LCDR3;

[0187] (30) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:19组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:49组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:85组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:120组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:146组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:155组成的LCDR3;

[0188] (31) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:2组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:50组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:86组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:121组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:147组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:169组成的LCDR3;

[0189] (32) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:2组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:51组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:87组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:122组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:137组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:155组成的LCDR3;

[0190] (33) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:20组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:44组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:88组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:123组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:148组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:170组成的LCDR3;

[0191] (34) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:3组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:52组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:60组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:98组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:129组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:171组成的LCDR3;

[0192] (35) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:2组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:53组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:89组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:97组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:147组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:172组成的LCDR3;

[0193] (36) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:21组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:38组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:90组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:109组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:150组成的LCDR2,

以及包含或由SEQ ID NO:165组成的LCDR3;

[0194] (37) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:22组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:41组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:91组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:124组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:151组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:173组成的LCDR3;

[0195] (38) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:2组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:54组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:92组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:126组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:129组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:165组成的LCDR3;

[0196] (39) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:2组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:55组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:93组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:97组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:149组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:174组成的LCDR3;

[0197] (40) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:23组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:56组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:94组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:125组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:142组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:175组成的LCDR3;

[0198] (41) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:14组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:43组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:76组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:127组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:137组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:176组成的LCDR3;

[0199] (42) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:3组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:57组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:95组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:128组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:137组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:155组成的LCDR3;和/或

[0200] (43) 免疫球蛋白重链多肽和轻链多肽包含图1A-D中所列的PD-L1 A型结合剂1-42的CDR的任何组合

[0201] 在特定实施方案中,结合剂包含免疫球蛋白重链多肽和免疫球蛋白轻链多肽,其中免疫球蛋白重链多肽包含第一构架区、第二构架区、第三构架区和/或第四构架区;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含第一构架区、第二构架区、第三构架区和/或第四构架区;和/或免疫球蛋白重链多肽和轻链多肽分别包含图2A-D和图3A-D中所列的构架区的任何组合。

[0202] PD-L1结合剂-B型

[0203] 本文提供了PD-L1结合剂(B型),所述PD-L1结合剂包含免疫球蛋白重链可变区多肽和免疫球蛋白轻链可变区多肽。在一些实施方案中,PD-L1结合剂(B型)包含SEQ ID NO:430-450中的任一者的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR;以及SEQ ID NO:451-471中的任一者的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR。在其它实施方案中,PD-L1结合剂包含具有与SEQ ID NO:430-450中的任一者至少90%相同的氨基酸序列的免疫球蛋白重链可变区多肽,以及具有与SEQ ID NO:451-471中的任一者至少90%相同的氨基酸序列的免疫球蛋白轻链可变区多肽。在PD-L1结合剂的其它实施方案中,免疫球蛋白重链可变区多肽包含:包含

SEQ ID NO:308-321中的任一者的互补决定区1 (HCDR1)、包含SEQ ID NO:322-338中的任一者的互补决定区2 (HCDR2), 以及包含SEQ ID NO:339-359中的任一者的互补决定区3 (HCDR3); 和/或免疫球蛋白轻链可变区多肽包含: 包含SEQ ID NO:360-374中的任一者的互补决定区1 (LCDR1)、包含SEQ ID NO:375-386中的任一者的互补决定区2 (LCDR2), 以及包含SEQ ID NO:387-398中的任一者的互补决定区3 (LCDR3)。还提供了编码PD-L1结合剂或其个别重链和轻链的核酸; 包含核酸的载体和细胞; 以及包含结合剂或核酸的组合物。

[0204] 在一个实施方案中, PD-L1结合剂 (B型) 包含SEQ ID NO:430-450中的任一者的免疫球蛋白重链可变区, 其序列与SEQ ID NO:430-450至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%相同, 或至少其CDR; 和/或SEQ ID NO:451-471中的任一者的免疫球蛋白轻链可变区, 其序列与SEQ ID NO:451-471至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%相同, 或至少其CDR。

[0205] 为进一步说明, PD-L1结合剂 (B型) 可以包含:

[0206] (1) SEQ ID NO:429的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR, 和/或SEQ ID NO:450的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0207] (2) SEQ ID NO:430的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR, 和/或SEQ ID NO:451的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0208] (3) SEQ ID NO:431的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR, 和/或SEQ ID NO:452的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0209] (4) SEQ ID NO:432的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR, 和/或SEQ ID NO:453的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0210] (5) SEQ ID NO:433的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR, 和/或SEQ ID NO:454的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0211] (6) SEQ ID NO:434的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR, 和/或SEQ ID NO:455的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0212] (7) SEQ ID NO:435的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR, 和/或SEQ ID NO:456的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0213] (8) SEQ ID NO:436的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR, 和/或SEQ ID NO:457的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0214] (9) SEQ ID NO:437的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR, 和/或SEQ ID NO:458的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0215] (10) SEQ ID NO:438的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR, 和/或SEQ ID NO:459的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0216] (11) SEQ ID NO:439的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR, 和/或SEQ ID NO:460的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0217] (12) SEQ ID NO:440的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR, 和/或SEQ ID NO:461的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0218] (13) SEQ ID NO:441的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR, 和/或SEQ ID NO:462的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0219] (14) SEQ ID NO:442的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:463的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0220] (15) SEQ ID NO:443的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:464的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0221] (16) SEQ ID NO:444的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:465的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0222] (17) SEQ ID NO:445的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:466的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0223] (18) SEQ ID NO:446的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:467的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0224] (19) SEQ ID NO:447的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:468的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;

[0225] (20) SEQ ID NO:448的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:469的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;和/或

[0226] (21) SEQ ID NO:449的免疫球蛋白重链可变区或至少其CDR,和/或SEQ ID NO:470的免疫球蛋白轻链可变区或至少其CDR;和/或

[0227] (22) 图8A-B的免疫球蛋白重链可变区和/或图8C-D的免疫球蛋白轻链可变区,或至少其CDR。

[0228] 给定重链或轻链Ig序列的CDR可以根据各种已知Ig编号方案中的任一者(例如Kabat、Chothia、Martin(增强型Chothia)、IGMT、AbM)来确定。在某些实施方案中,PD-L1结合剂包含以下CDR中的一者或多者:

[0229] HCDR1,其包含或由SEQ ID NO:308-321中的任一者或与SEQ ID NO:308-321至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%相同的序列组成;

[0230] HCDR2,其包含或由SEQ ID NO:322-338中的任一者或与SEQ ID NO:322-338至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%相同的序列组成;以及

[0231] HCDR3,其包含或由SEQ ID NO:339-359中的任一者或与SEQ ID NO:339-359至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%相同的序列组成;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含

[0232] LCDR1,其包含或由SEQ ID NO:360-374中的任一者或与SEQ ID NO:360-374至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%相同的序列组成;

[0233] LCDR2,其包含或由SEQ ID NO:375-386中的任一者或与SEQ ID NO:375-386至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%相同的序列组成;以及

[0234] LCDR3,其包含或由SEQ ID NO:387-398中的任一者或与SEQ ID NO:387-398至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%相同的序列组成。

[0235] 在特定实施方案中,结合剂包含免疫球蛋白重链多肽和免疫球蛋白轻链多肽,其中:

[0236] (1) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:308组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:322组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:339组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:360组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:375组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:387组成的LCDR3;

[0237] (2) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:309组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:323组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:340组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:361组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:376组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:388组成的LCDR3;

[0238] (3) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:310组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:324组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:341组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:360组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:375组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:387组成的LCDR3;

[0239] (4) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:311组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:325组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:342组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:362组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:377组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:389组成的LCDR3;

[0240] (5) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:312组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:326组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:343组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:360组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:378组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:387组成的LCDR3;

[0241] (6) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:313组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:327组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:344组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:363组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:379组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:390组成的LCDR3;

[0242] (7) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:314组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:327组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:345组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:364组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:380组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:391组成的LCDR3;

[0243] (8) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:312组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:328组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:346组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:365组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:375组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:387组成的LCDR3;

[0244] (9) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:314组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:329组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:347组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:366组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:375组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:389组成的LCDR3;

[0245] (10) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:309组成的HCDR1、包含或由

SEQ ID NO:330组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:348组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:360组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:381组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:392组成的LCDR3;

[0246] (11) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:309组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:327组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:349组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:367组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:382组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:389组成的LCDR3;

[0247] (12) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:309组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:322组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:350组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:360组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:383组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:387组成的LCDR3;

[0248] (13) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:315组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:323组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:351组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:368组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:375组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:393组成的LCDR3;

[0249] (14) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:316组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:331组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:352组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:365组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:375组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:389组成的LCDR3;

[0250] (15) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:317组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:332组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:353组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:369组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:384组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:394组成的LCDR3;

[0251] (16) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:318组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:333组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:354组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:370组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:379组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:395组成的LCDR3;

[0252] (17) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:310组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:334组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:355组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:371组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:375组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:387组成的LCDR3;

[0253] (18) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:310组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:335组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:356组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:360组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:385组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:396组成的LCDR3;

[0254] (19) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:319组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:336组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:357组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:372组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:386组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:397组成的LCDR3;

[0255] (20) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:320组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:337组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:358组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:373组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:379组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:398组成的LCDR3;

[0256] (21) 免疫球蛋白重链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:321组成的HCDR1、包含或由SEQ ID NO:338组成的HCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:359组成的HCDR3;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含:包含或由SEQ ID NO:374组成的LCDR1、包含或由SEQ ID NO:379组成的LCDR2,以及包含或由SEQ ID NO:389组成的LCDR3;和/或

[0257] (22) 免疫球蛋白重链多肽和轻链多肽包含图5A-B中所列的CDR的任何组合(B型)。

[0258] 在特定实施方案中,结合剂包含免疫球蛋白重链多肽和免疫球蛋白轻链多肽,其中免疫球蛋白重链多肽包含第一构架区、第二构架区、第三构架区和/或第四构架区;和/或免疫球蛋白轻链多肽包含第一构架区、第二构架区、第三构架区和/或第四构架区;和/或免疫球蛋白重链多肽和轻链多肽分别包含图6A-B和/或图7A-B中所列的构架区的任何组合(B型)。

[0259] 在一个示例性实施方案中,本发明的免疫缀合物包含抗体构建体,所述抗体构建体包含特异性识别并结合HER2的抗原结合结构域。

[0260] 在某些实施方案中,本发明的免疫缀合物包含抗HER2抗体。在本发明的一个实施方案中,本发明的免疫缀合物的抗HER2抗体包含人源化抗HER2抗体,例如huMAb4D5-1、huMAb4D5-2、huMAb4D5-3、huMAb4D5-4、huMAb4D5-5、huMAb4D5-6、huMAb4D5-7和huMAb4D5-8,如US 5821337的表3中所描述,所述文献以引用的方式特别并入本文中。那些抗体含有人类构架区与结合至HER2的鼠类抗体(4D5)的互补决定区。人源化抗体huMAb4D5-8也称作曲妥珠单抗,以商品名HERCEPTIN™(Genentech, Inc.) 商购可得。

[0261] 曲妥珠单抗(CAS 180288-69-1, **HERCEPTIN®**, huMAb4D5-8, rhuMAb HER2, Genentech) 是源自DNA的重组IgG1 $\kappa$ 单克隆抗体,其为鼠类抗HER2抗体(4D5)的人源化型式,所述人源化型式在基于细胞的测定中以高亲和力(Kd=5nM) 选择性结合至HER2的细胞外结构域(US 5677171;US 5821337;US 6054297;US 6165464;US6339142;US 6407213;US 6639055;US 6719971;US 6800738;US7074404;Coussens等(1985) Science 230:1132-9; Slamon等(1989) Science 244:707-12;Slamon等(2001) New Engl. J. Med. 344:783-792)。

[0262] 在本发明的一个实施方案中,抗体构建体或抗原结合结构域包含曲妥珠单抗的CDR区。在本发明的一个实施方案中,抗HER2抗体还包含曲妥珠单抗的构架区。在本发明的一个实施方案中,抗HER2抗体还包含曲妥珠单抗的一个或两个可变区。

[0263] 在本发明的另一个实施方案中,如US 7862817中所描述,本发明的免疫缀合物的抗HER2抗体包含人源化抗HER2抗体,例如人源化2C4。示例性人源化2C4抗体是帕妥珠单抗(CAS登记号380610-27-5)、PERJETA™(Genentech, Inc.)。帕妥珠单抗是HER二聚抑制剂(HDI) 并且发挥功能以抑制HER2与其它HER受体(诸如EGFR/HER1、HER2、HER3和HER4) 形成活性异二聚体或同二聚体的能力。参见例如Harari和Yarden, Oncogene 19:6102-14 (2000); Yarden和Sliwkowski. Nat Rev Mol Cell Biol 2:127-37 (2001); Sliwkowski Nat Struct Biol 10:158-9 (2003); Cho等 Nature 421:756-60 (2003); 以及Malik等 Pro Am Soc Cancer Res 44:176-7 (2003)。PERJETA™经核准用于治疗乳癌。



[0264] 在本发明的一个实施方案中,抗体构建体或抗原结合结构域包含帕妥珠单抗的CDR区。在本发明的一个实施方案中,抗HER2抗体还包含帕妥珠单抗的构架区。在本发明的一个实施方案中,抗HER2抗体还包含帕妥珠单抗的一个或两个可变区。

[0265] 在一个示例性实施方案中,本发明的免疫缀合物包含抗体构建体,所述抗体构建体包含特异性识别并结合Caprin-1的抗原结合结构域(Ellis JA,Luzio JP(1995) J Biol Chem.270(35):20717-23;Wang B等,(2005) J Immunol.175(7):4274-82;Solomon S等,(2007) Mol Cell Biol.27(6):2324-42)。Caprin-1也称为GPIAP1、GPIP137、GRIP137、M11S1、RNG105、p137GPI和细胞周期相关蛋白1。

[0266] 细胞质活化/增殖相关蛋白-1(caprin-1)是参与细胞周期控制相关基因的调控的RNA结合蛋白。Caprin-1选择性结合至c-Myc和周期蛋白D2 mRNA,这加速细胞经G<sub>1</sub>期进展至S期,增强细胞活力并且促进细胞生长,指示其可以在肿瘤形成中起重要作用(Wang B等,(2005) J Immunol.175:4274-4282)。Caprin-1单独或与其它RNA结合蛋白(诸如RasGAP SH3结构域结合蛋白1和脆弱X智能迟缓蛋白)组合起作用。在肿瘤形成过程中,caprin-1主要通过活化细胞增殖并且上调免疫检查点蛋白的表达来发挥功能。经由形成应激颗粒,caprin-1还涉及于肿瘤细胞适应不良条件的过程中,这有助于放射线和化学疗法耐药性。鉴于其在各种临床恶性病中的作用,caprin-1具有用作生物标志物和用于开发新颖治疗剂的标靶的潜力(Yang,Z-S等,(2019) Oncology Letters 18:15-21)。

[0267] 已描述了用于治疗 and 检测的靶向caprin-1的抗体(WO2011/096519;WO 2013/125654;WO 2013/125636;WO 2013/125640;WO 2013/125630;WO 2013/018889;WO 2013/018891;WO2013/018883;WO 2013/018892;WO 2014/014082;WO 2014/014086;WO 2015/020212;WO 2018/079740)。

[0268] 在一个示例性实施方案中,本发明的免疫缀合物包含抗体构建体,所述抗体构建体包含特异性识别并结合CEA的抗原结合结构域。

[0269] 癌胚抗原(CEA、CD66e、CEACAM5)的表达升高已牵涉于赘瘤的各种生物方面,尤其肿瘤细胞粘附、转移、阻断细胞免疫机制以及具有抗凋亡功能。CEA还用作许多癌瘤的血液标志物。拉贝妥珠单抗(CEA-CIDE<sup>TM</sup>, Immunomedics, CAS登记号219649-07-7)(也称为MN-14和hMN14)是人源化IgG1单克隆抗体并且已研究用于治疗结肠直肠癌(Blumenthal, R.等(2005) Cancer Immunology Immunotherapy 54(4):315-327)。缀合至喜树碱类似物的拉贝妥珠单抗(拉贝妥珠单抗戈维替康(labetuzumab govitecan), IMMU-130)靶向癌胚抗原相关细胞粘附分子5(CEACAM5)并且正在患有复发性或难治性转移性结肠直肠癌的患者中进行研究(Sharkey, R.等,(2018), Molecular Cancer Therapeutics 17(1):196-203; Cardillo, T.等(2018) Molecular Cancer Therapeutics 17(1):150-160)。

[0270] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含hMN-14/拉贝妥珠单抗SEQ ID NO.472(US 6676924)的可变轻链(VL<sub>K</sub>)。

[0271] **DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVGTSAVWYQQKPGKAPKLLIYWTSTRHTGVPSRFSGSGSGTD**  
**FTFTISLLQPEDIATYYCQQYSLYRSFGQGTKEIK SEQ ID NO. 472**

[0272] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含hMN-14/拉贝妥珠单抗SEQ ID NO.473-479(US6676924)的轻链CDR(互补决定区)或轻链构架(LFR)序列。



| 区域     | 序列片段                            | 残基       | 长度 | SEQ ID NO. |
|--------|---------------------------------|----------|----|------------|
| LFR1   | DIQLTQSPSSLSASVGDRVITC          | 1 - 23   | 23 | 473        |
| CDR-L1 | KASQDVGTSVA                     | 24 - 34  | 11 | 474        |
| LFR2   | WYQQKPGKAPKLLIY                 | 35 - 49  | 15 | 475        |
| CDR-L2 | WTSTRHT                         | 50 - 56  | 7  | 476        |
| LFR3   | GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDIATYYC | 57 - 88  | 32 | 477        |
| CDR-L3 | QQYSLYRS                        | 89 - 96  | 8  | 478        |
| LFR4   | FGQGTKVEIK                      | 97 - 106 | 10 | 479        |

[0274] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含hMN-14/拉贝妥珠单抗SEQ ID NO.480 (US 6676924) 的可变重链 (VH)。

[0275] EVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCSSSGFDFTTYWMSWVRQAPGKGLEWVAEIHDPDSSTINYAPSLKDRFTI  
SRDNSKNTLFLQMDSLRPEDTGVYFCASLYFGFPWFAYWGQTPVTVSS SEQ ID NO. 480

[0276] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含hMN-14/拉贝妥珠单抗SEQ ID NO.481-487 (US6676924) 的重链CDR (互补决定区) 或重链构架 (HFR) 序列。

| 区域     | 序列片段                            | 残基        | 长度 | SEQ ID NO. |
|--------|---------------------------------|-----------|----|------------|
| HFR1   | EVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCSSSGFDFT  | 1 - 30    | 30 | 481        |
| CDR-H1 | TYWMS                           | 31 - 35   | 5  | 482        |
| HFR2   | WVRQAPGKGLEWVA                  | 36 - 49   | 14 | 483        |
| CDR-H2 | EIHDPDSSTINYAPSLKD              | 50 - 66   | 17 | 484        |
| HFR3   | RFTISRDNKNTLFLQMDSLRPEDTGVYFCAS | 67 - 98   | 32 | 485        |
| CDR-H3 | LYFGFPWFAY                      | 99 - 108  | 10 | 486        |
| HFR4   | WGQTPVTVSS                      | 109 - 119 | 11 | 487        |

[0278] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含hPR1A3 SEQ ID NO.488 (US 8642742) 的可变轻链 (VL<sub>K</sub>)。

[0279] DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCKASAAVGTYVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRKRGVPSRFSGSGSGTD  
FTLTISLQPEDFATYYCHQYYTYPLFTFGQGTKLEIK SEQ ID NO. 488

[0280] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含hPR1A3 SEQ ID NO.489-495 (US 8642742) 的轻链CDR (互补决定区) 或轻链构架 (LFR) 序列。

| 区域     | 序列片段                            | 残基       | 长度 | SEQ ID NO. |
|--------|---------------------------------|----------|----|------------|
| LFR1   | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITC          | 1 - 23   | 23 | 489        |
| CDR-L1 | KASAAVGTYVA                     | 24 - 34  | 11 | 490        |
| LFR2   | WYQQKPGKAPKLLIY                 | 35 - 49  | 15 | 491        |
| CDR-L2 | SASYRKR                         | 50 - 56  | 7  | 492        |
| LFR3   | GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC | 57 - 88  | 32 | 493        |
| CDR-L3 | HQYYTYPLFT                      | 89 - 98  | 10 | 494        |
| LFR4   | FGQGTKLEIK                      | 99 - 108 | 10 | 495        |

[0282] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含hPR1A3 SEQ ID NO.496-502 (US 8642742)的重链CDR(互补决定区)或重链构架(HFR)序列。

| 区域     | 序列片段                             | 残基        | 长度 | SEQ ID NO. |
|--------|----------------------------------|-----------|----|------------|
| HFR1   | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT   | 1 - 30    | 30 | 496        |
| CDR-H1 | EFGMN                            | 31 - 35   | 5  | 497        |
| HFR2   | WVRQAPGQGLEWMG                   | 36 - 49   | 14 | 498        |
| CDR-H2 | WINTKTGEATYVEEFGK                | 50 - 66   | 17 | 499        |
| HFR3   | RVTFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR | 67 - 98   | 32 | 500        |
| CDR-H3 | WDFAYYVEAMDY                     | 99 - 110  | 12 | 501        |
| HFR4   | WGQGTTVTVSS                      | 111 - 121 | 11 | 502        |

[0284] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含hMFE-23SEQ ID NO.503 (US 723288)的可变轻链(VL $\kappa$ )。

[0285] ENVLTQSPSSMSASVGDRVNIACSASSSVSYMHWFQKPGKSPKLWIYSTSNLASGVPSRFGSGSGTDYSLTISSMQPEDAATYYCQQRSSYPLTFGGGTKLEIK SEQ ID NO. 503

[0286] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含hMFE-23SEQ ID NO.504-510 (US 723288)的轻链CDR(互补决定区)或轻链构架(LFR)序列。

| 区域     | 序列片段                            | 残基       | 长度 | SEQ ID NO. |
|--------|---------------------------------|----------|----|------------|
| LFR1   | ENVLTQSPSSMSASVGDRVNIAC         | 1 - 23   | 23 | 504        |
| CDR-L1 | SASSSVSYMH                      | 24 - 33  | 10 | 505        |
| LFR2   | WFQKPGKSPKLWIY                  | 34 - 48  | 15 | 506        |
| CDR-L2 | STSNLAS                         | 49 - 55  | 7  | 507        |
| LFR3   | GVPSRFGSGSGTDYSLTISSMQPEDAATYYC | 56 - 87  | 32 | 508        |
| CDR-L3 | QQRSSYPLT                       | 88 - 96  | 9  | 509        |
| LFR4   | FGGGTKLEIK                      | 97 - 106 | 10 | 510        |

[0288] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含hMFE-23SEQ ID NO.511 (US 723288)的可变重链(VH)。

[0289] QVKLEQSGAEVVKPGASVKLSCKASGFNIKDSYMHWLRQGPGRLEWIGWIDPENGDTYAPKFQKATFTTDT SANTAYLGLSSLRPEDTAVYYCNEGTPTPGYFDYWGQGLTVTVSS SEQ ID NO. 511

[0290] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含hMFE-23SEQ ID NO.512-518 (US 723288)的重链CDR(互补决定区)或重链构架(HFR)序列。

[0291]

| 区域     | 序列片段                              | 残基        | 长度 | SEQ ID NO. |
|--------|-----------------------------------|-----------|----|------------|
| HFR1   | QVKLEQSGAEVVKPGASVKLSCKASGFNIK    | 1 - 30    | 30 | 512        |
| CDR-H1 | DSYMH                             | 31 - 35   | 5  | 513        |
| HFR2   | WLRQGPQRLEWIG                     | 36 - 49   | 14 | 514        |
| CDR-H2 | WIDPENGDTHEYAPKFQG                | 50 - 66   | 17 | 515        |
| HFR3   | KATFTTDT SANTAYLGLSSLRPEDTAVYYCNE | 67 - 98   | 32 | 516        |
| CDR-H3 | GTPTGPYYFDY                       | 99 - 109  | 11 | 517        |
| HFR4   | WGQGT LVT VSS                     | 110 - 120 | 11 | 518        |

[0292] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含SM3E SEQ ID NO.519 (US 723288) 的可变轻链 (VL<sub>K</sub>)。

[0293]

ENVLTQSPSSMSVSVGDRVTIACSASSSVPYMHWLQQKPGKSPKLLIYLT SNLASGVPSRFSGSGSGTDY  
SLTISSVQPEDAATYYCQQRSSYPLTFGGGTKLEIK SEQ ID NO. 519

[0294] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含SM3E SEQ ID NO.520-526 (US 723288) 的轻链CDR (互补决定区) 或轻链构架 (LFR) 序列。

[0295]

| 区域     | 序列片段                                 | 残基       | 长度 | SEQ ID NO. |
|--------|--------------------------------------|----------|----|------------|
| LFR1   | ENVLTQSPSSMSVSVGDRVTIAC              | 1 - 23   | 23 | 520        |
| CDR-L1 | SASSSVPYMH                           | 24 - 33  | 10 | 521        |
| LFR2   | WLQKPGKSPKLLIY                       | 34 - 48  | 15 | 522        |
| CDR-L2 | LTSNLAS                              | 49 - 55  | 7  | 523        |
| LFR3   | GVPSRFSGSGSGTDYSLTISSVQPEDAAT<br>YYC | 56 - 87  | 32 | 524        |
| CDR-L3 | QQRSSYPLT                            | 88 - 96  | 9  | 525        |
| LFR4   | FGGGTKLEIK                           | 97 - 106 | 10 | 526        |

[0296] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含SM3E SEQ ID NO.527 (US 723288) 的可变重链 (VH)。

[0297]

QVKLEQSGAEVVKPGASVKLSCKASGFNIKDSYMHWLRQGPQRLEWIGWIDPENGDTHEYAPKFQKATF  
TTDT SANTAYLGLSSLRPEDTAVYYCNEGTPTGPYYFDYWGQGT LVT VSS SEQ ID NO. 527

[0298] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含SM3E SEQ ID NO.528-534 (US 723288) 的重链CDR (互补决定区) 或重链构架 (HFR) 序列。

[0299]

| 区域     | 序列片段                              | 残基        | 长度 | SEQ ID NO. |
|--------|-----------------------------------|-----------|----|------------|
| HFR1   | QVKLEQSGAEVVKPGASVKLSCKASGFNIK    | 1 - 30    | 30 | 528        |
| CDR-H1 | DSYMH                             | 31 - 35   | 5  | 529        |
| HFR2   | WLRQGPQRLEWIG                     | 36 - 49   | 14 | 530        |
| CDR-H2 | WIDPENGDTHEYAPKFQG                | 50 - 66   | 17 | 531        |
| HFR3   | KATFTTDT SANTAYLGLSSLRPEDTAVYYCNE | 67 - 98   | 32 | 532        |
| CDR-H3 | GTPTGPYYFDY                       | 99 - 109  | 11 | 533        |
| HFR4   | WGQGT LVT VSS                     | 110 - 120 | 11 | 534        |

[0300] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含NP-4/

阿西莫单抗(arcitumomab) SEQ ID NO.535-541的轻链CDR(互补决定区)或轻链构架(LFR)序列。

| 区域     | 序列片段                             | 残基       | 长度 | SEQ ID NO. |
|--------|----------------------------------|----------|----|------------|
| LFR1   | QTVLSQSPAILSASPGEKVTMTC          | 1 - 23   | 23 | 535        |
| CDR-L1 | RASSSVTYIH                       | 24 - 33  | 10 | 536        |
| LFR2   | WYQQKPGSSPKSWIY                  | 34 - 48  | 15 | 537        |
| CDR-L2 | ATSNLAS                          | 49 - 55  | 7  | 538        |
| LFR3   | GVPARFSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYC | 56 - 87  | 32 | 539        |
| CDR-L3 | QHWSSKPPT                        | 88 - 96  | 9  | 540        |
| LFR4   | FGGGTKLEIK                       | 97 - 106 | 10 | 541        |

[0302] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含NP-4/阿西莫单抗SEQ ID NO.542的可变重链(VH)。

[0303] EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFTFTDYIMNWRQPPGKALEWLGFIGNKANGYTTEYSASVKGRF  
TISRDKSQSILYLQMNTLRAEDSATYYCTDRGLRFYFDYWGQGTTLTVSS SEQ ID NO. 542。

[0304] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含NP-4SEQ ID NO.543-549的重链CDR(互补决定区)或重链构架(HFR)序列。

| 区域     | 序列片段                             | 残基        | 长度 | SEQ ID NO. |
|--------|----------------------------------|-----------|----|------------|
| HFR1   | EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFTFT   | 1 - 30    | 30 | 543        |
| CDR-H1 | DYYMN                            | 31 - 35   | 5  | 544        |
| HFR2   | WVRQPPGKALEWLG                   | 36 - 49   | 14 | 545        |
| CDR-H2 | FIGNKANGYTTEYSASVKG              | 50 - 68   | 19 | 546        |
| HFR3   | RFTISRDKSQSILYLQMNTLRAEDSATYYCTR | 69 - 100  | 32 | 547        |
| CDR-H3 | DRGLRFYFDY                       | 101 - 110 | 10 | 548        |
| HFR4   | WGQGTTLTVSS                      | 111 - 121 | 11 | 549        |

[0306] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含M5A/hT84.66 SEQ ID NO.550(US 7776330)的可变轻链(VL<sub>K</sub>)。

[0307] DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRAGESVDIFGVGFLHWYQQKPGKAPKLLIYRASNLSEGVPSRFSGSG  
SRTDFTLTISLQPEDFATYYCQQTNEDPYTFGQGTKVEIK SEQ ID NO. 550

[0308] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含M5A/hT84.66 SEQ ID NO.551-557(US 7776330)的轻链CDR(互补决定区)或轻链构架(LFR)序列。



| 区域     | 序列片段                            | 残基        | 长度 | SEQ ID NO. |
|--------|---------------------------------|-----------|----|------------|
| LFR1   | DIQLTQSPSSLSASVGDRVITC          | 1 - 23    | 23 | 551        |
| CDR-L1 | RAGESVDIFGVGFLH                 | 24 - 38   | 15 | 552        |
| LFR2   | WYQQKPGKAPKLLIY                 | 39 - 53   | 15 | 553        |
| CDR-L2 | RASNLES                         | 54 - 60   | 7  | 554        |
| LFR3   | GVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDFATYYC | 61 - 92   | 32 | 555        |
| CDR-L3 | QQTNEPYPY                       | 93 - 101  | 9  | 556        |
| LFR4   | FGQGTKVEIK                      | 102 - 111 | 10 | 557        |

[0310] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含M5A/hT84.66 SEQ ID NO.558 (US 7776330) 的可变重链 (VH)。

[0311] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYMHVWRQAPGKGLEWVARIDPANGNSKYADSVKGRFTI  
SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAPFGYYVSDYAMAYWGQGLTVTVSS SEQ ID NO. 558

[0312] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含M5A/hT84.66 SEQ ID NO.559-565 (US 7776330) 的重链CDR (互补决定区) 或重链构架 (HFR) 序列。

| 区域     | 序列片段                             | 残基        | 长度 | SEQ ID NO. |
|--------|----------------------------------|-----------|----|------------|
| HFR1   | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIK   | 1 - 30    | 30 | 559        |
| CDR-H1 | DTYMH                            | 31 - 35   | 5  | 560        |
| HFR2   | WVRQAPGKGLEWVA                   | 36 - 49   | 14 | 561        |
| CDR-H2 | RIDPANGNSKYADSVKG                | 50 - 66   | 17 | 562        |
| HFR3   | RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAP | 67 - 98   | 32 | 563        |
| CDR-H3 | FGYYVSDYAMAY                     | 99 - 110  | 12 | 564        |
| HFR4   | WGQGLTVTVSS                      | 111 - 121 | 11 | 565        |

[0314] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含hAb2-3 SEQ ID NO.566 (US 9617345) 的可变轻链 (VL<sub>K</sub>)。

[0315] DIQMTQSPASLSASVGDRVITCRASENIFSYLAWYQQKPGKSPKLLVYNTRTLAEGVPSRFSGSGSGTD  
FSLTISLQPEDFATYYCQHGYGTPFTFGSGTKLEIK SEQ ID NO. 566

[0316] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含hAb2-3 SEQ ID NO.567-573 (US 9617345) 的轻链CDR (互补决定区) 或轻链构架 (LFR) 序列。

| 区域     | 序列片段                            | 残基       | 长度 | SEQ ID NO. |
|--------|---------------------------------|----------|----|------------|
| LFR1   | DIQMTQSPASLSASVGDRVITC          | 1 - 23   | 23 | 567        |
| CDR-L1 | RASENIFSYLA                     | 24 - 34  | 11 | 568        |
| LFR2   | WYQQKPGKSPKLLVY                 | 35 - 49  | 15 | 569        |
| CDR-L2 | NTRTLAE                         | 50 - 56  | 7  | 570        |
| LFR3   | GVPSRFSGSGSGTDFSLTISLQPEDFATYYC | 57 - 88  | 32 | 571        |
| CDR-L3 | QHGYGTPFT                       | 89 - 97  | 9  | 572        |
| LFR4   | FGSGTKLEIK                      | 98 - 107 | 10 | 573        |

[0318] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含SEQ

ID NO.574 (US 9617345) 的可变重链 (VH)。

[0319] EVQLQESGPGLVKPGGSLSLSCAASGFVFSYDMSWVRQTPERGLEWVAYISSGGGITYAPSTVKGRFTV  
SRDNAKNTLYLQMNSLTSED TAVYYCAAHYFGSSGPFAYWGQGLTVTVSS SEQ ID NO. 574

[0320] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含hAb2-3 SEQ ID NO.575-581的重链CDR(互补决定区)或重链构架(HFR)序列。

| 区域     | 序列片段                              | 残基        | 长度 | SEQ ID NO. |
|--------|-----------------------------------|-----------|----|------------|
| HFR1   | EVQLQESGPGLVKPGGSLSLSCAASGFVFS    | 1 - 30    | 30 | 575        |
| CDR-H1 | SYDMS                             | 31 - 35   | 5  | 576        |
| HFR2   | WVRQTPERGLEWVA                    | 36 - 49   | 14 | 577        |
| CDR-H2 | YISSGGGITYAPSTVKG                 | 50 - 66   | 17 | 578        |
| HFR3   | RFTVSRDNAKNTLYLQMNSLTSED TAVYYCAA | 67 - 98   | 32 | 579        |
| CDR-H3 | HYFGSSGPFAY                       | 99 - 109  | 11 | 580        |
| HFR4   | WGQGLTVTVSS                       | 110 - 120 | 11 | 581        |

[0322] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含A240VL-B9VH/AMG-211SEQ ID NO.582 (US9982063) 的可变轻链 (VL<sub>K</sub>)。

[0323] QAVLTQPASLSASPGASASLTCTLRRGINVGAYSIIYQQKPGSPQYLLRYKSDSDKQQGSGVSSRFSA  
SKDASANAGILLISGLQSEDEADYYCMIWHSGASAVFGGGTKLTVL SEQ ID NO. 582

[0324] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含A240VL-B9VH/AMG-211SEQ ID NO.583-589 (US9982063) 的轻链CDR(互补决定区)或轻链构架(LFR)序列。

| 区域     | 序列片段                               | 残基        | 长度 | SEQ ID NO. |
|--------|------------------------------------|-----------|----|------------|
| LFR1   | QAVLTQPASLSASPGASASLTC             | 1 - 22    | 22 | 583        |
| CDR-L1 | TLRRGINVGAYSIIY                    | 23 - 36   | 14 | 584        |
| LFR2   | WYQQKPGSPQYLLR                     | 37 - 51   | 15 | 585        |
| CDR-L2 | YKSDSDKQQGS                        | 52 - 62   | 11 | 586        |
| LFR3   | GVSSRFSAKSDASANAGILLISGLQSEDEADYYC | 63 - 96   | 34 | 587        |
| CDR-L3 | MIWHSGASAV                         | 97 - 106  | 10 | 588        |
| LFR4   | FGGGTKLTVL                         | 107 - 116 | 10 | 589        |

[0326] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含B9VH SEQ ID NO.590 (US 9982063) 的可变重链 (VH)。

[0327] EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTVSSYWMHWVRQAPGKLEWVGFI RNKANGGTTEYAASVKGRF  
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRLRFYFDYWGQGTTVTVSS SEQ ID NO. 590

[0328] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含SEQ ID NO.591-598 (US 9982063) 的重链CDR(互补决定区)或重链构架(HFR)序列。所述实施方案包括CDR-H2的两个变异体SEQ ID NO.:594和SEQ ID NO.:595。

| 区域     | 序列片段                             | 残基        | 长度 | SEQ ID NO. |
|--------|----------------------------------|-----------|----|------------|
| HFR1   | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTVS   | 1 - 30    | 30 | 591        |
| CDR-H1 | SYWMH                            | 31 - 35   | 5  | 592        |
| HFR2   | WVRQAPGKGLEWVG                   | 36 - 49   | 14 | 593        |
| CDR-H2 | FIRNKANGGTTEYAASVKG              | 50 - 68   | 19 | 594        |
| CDR-H2 | FIRNKANGGTTEYAASVKG              | 50 - 68   | 19 | 595        |
| HFR3   | RFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR | 69 - 100  | 32 | 596        |
| CDR-H3 | DRGLRFYFDY                       | 101 - 110 | 10 | 597        |
| HFR4   | WGQGTTVTVSS                      | 111 - 121 | 11 | 598        |

[0330] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含E12VH SEQ ID NO.599 (US 9982063) 的可变重链 (VH)。

[0331] EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTVSSYWMHWVRQAPGKGLEWVGFI LNKANGGTTEYAASVKG RFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD RGLRFYFDYWGQGTTVTVSS SEQ ID NO. 599

[0332] 在本发明的一个实施方案中,靶向CEA的抗体构建体或抗原结合结构域包含SEQ ID NO.600-606 (US 9982063) 的重链CDR (互补决定区) 或重链构架 (HFR) 序列。

| 区域     | 序列片段                             | 残基        | 长度 | SEQ ID NO. |
|--------|----------------------------------|-----------|----|------------|
| HFR1   | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTVS   | 1 - 30    | 30 | 600        |
| CDR-H1 | SYWMH                            | 31 - 35   | 5  | 601        |
| HFR2   | WVRQAPGKGLEWVG                   | 36 - 49   | 14 | 602        |
| CDR-H2 | FILNKANGGTTEYAASVKG              | 50 - 68   | 19 | 603        |
| HFR3   | RFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR | 69 - 100  | 32 | 604        |
| CDR-H3 | DRGLRFYFDY                       | 101 - 110 | 10 | 605        |
| HFR4   | WGQGTTVTVSS                      | 111 - 121 | 11 | 606        |

[0334] 在一些实施方案中,抗体构建体还包含Fc结构域。在某些实施方案中,抗体构建体是抗体。在某些实施方案中,抗体构建体是融合蛋白。抗原结合结构域可以是单链可变区片段 (scFv)。可以使用常规重组DNA技术工艺产生单链可变区片段 (scFv), 所述片段是截短的 Fab 片段, 包括经由合成肽连接至轻抗体链的V结构域的抗体重链的可变 (V) 结构域。类似地, 可以通过重组DNA技术制备二硫键稳定的可变区片段 (dsFv)。抗体构建体或抗原结合结构域可以包含抗PD-L1抗体、抗HER2抗体或抗CEA抗体的抗原结合结构域的一个或多个可变区 (例如两个可变区), 每个可变区包含CDR1、CDR2和CDR3。

[0335] 在一些实施方案中,免疫缀合物中的抗体含有经修饰的Fc区, 其中修饰调节Fc区与一种或多种Fc受体的结合。

[0336] 在一些实施方案中,通过包含能够结合TGFβ1的转化生长因子β1 (TGFβ1) 受体或其片段来修饰Fc区。举例来说,受体可以是TGFβ受体II (TGFβRII)。在一些实施方案中,TGFβ受体是人类TGFβ受体。在一些实施方案中,IgG具有与TGFβRII细胞外结构域 (ECD) 的C端融合, 如并入本文中的US 9676863所描述。可以使用“Fc连接子”将IgG附接至TGFβRII细胞外结构域, 例如G<sub>4</sub>S<sub>4</sub>G Fc连接子 (SEQ ID NO:608)。Fc连接子可以是短柔性肽, 其允许分子的适当三维折叠, 同时维持与标靶的结合特异性。在一些实施方案中,TGFβ受体的N端融合至抗体构建体的Fc (在存在或不存在Fc连接子的情况下)。在一些实施方案中,抗体构建体重链的C端

融合至TGFβ受体(在存在或不存在Fc连接子的情况下)。在一些实施方案中,抗体构建体重链的C端赖氨酸残基突变为丙氨酸。

[0337] 在一些实施方案中,免疫缀合物中的抗体经糖基化。

[0338] 在一些实施方案中,免疫缀合物中的抗体是半胱氨酸工程改造的抗体,其经由某些位点处的半胱氨酸取代而提供佐剂、标记或药物部分与抗体的位点特异性缀合,在所述位点处工程改造的半胱氨酸可以用于缀合但不扰乱免疫球蛋白折叠和组装或改变抗原结合和效应功能(Junutula等,2008b Nature Biotech.,26(8):925-932;Dornan等(2009) Blood 114(13):2721-2729;US 7521541;US 7723485;US 2012/0121615;WO 2009/052249)。“半胱氨酸工程改造的抗体”或“半胱氨酸工程改造的抗体变异体”是其中抗体的一个或多个残基经半胱氨酸残基取代的抗体。半胱氨酸工程改造的抗体可按均匀化学计量(例如,在具有单一工程改造的半胱氨酸位点的抗体中,每个抗体至多2个氨基苯并氮唑部分)缀合至呈氨基苯并氮唑-连接子化合物的氨基苯并氮唑佐剂部分。

[0339] 在一些实施方案中,用于制备表3的免疫缀合物的半胱氨酸工程改造的抗体具有在轻链的149-赖氨酸位点处引入的半胱氨酸残基(LCK149C)。在其它实施方案中,半胱氨酸工程改造的抗体具有在重链的118-丙氨酸位点(EU编号)处引入的半胱氨酸残基(HCA118C)。或者,这个位点通过依序编号而编号为121或通过Kabat编号而编号为114。在其它实施方案中,半胱氨酸工程改造的抗体具有在轻链中根据Kabat编号的G64C或R142C处或在重链中根据Kabat编号的D101C、V184C或T205C处引入的半胱氨酸残基。

[0340] 氨基苯并氮唑佐剂化合物

[0341] 本发明的免疫缀合物包含氨基苯并氮唑佐剂部分。本文所描述的佐剂部分是引发免疫反应的化合物(即,免疫刺激剂)。一般来说,本文所描述的佐剂部分是TLR激动剂。TLR是负责脊椎动物中先天免疫反应的起始的I型跨膜蛋白。TLR识别来自细菌、病毒和真菌的多种病原体相关分子模式并且充当对抗侵入性病原体的第一道防线。归因于细胞表达和TLR起始的信号传导路径不同,TLR引发重叠但截然不同的生物反应。一旦啮合(例如通过天然刺激或合成性TLR激动剂),TLR起始信号转导级联,从而经由转接蛋白髓样分化初级反应基因88(MyD88)活化核因子-κB(NF-κB)并募集IL-1受体相关激酶(IRAK)。IRAK的磷酸化然后募集TNF受体相关因子6(TRAF6),这引起NF-κB抑制剂I-κB磷酸化。因此,NF-κB进入细胞核并且起始其启动子含有NF-κB结合位点的基因(诸如细胞因子)的转录。用于TLR信号传导的额外调控模式包括含TIR-结构域的转接子诱导干扰素-β(TRIF)依赖性TNF-受体相关因子6(TRAF6)诱导以及经由TRIF和TRAF3活化MyD88非依赖性路径,从而引起干扰素反应因子3(IRF3)的磷酸化。类似地,MyD88依赖性路径还活化若干IRF家族成员,包括IRF5和IRF7,而TRIF依赖性路径还活化NF-κB路径。

[0342] 通常,本文所描述的佐剂部分是TLR7和/或TLR8激动剂。TLR7和TLR8两者均在髓样谱系的细胞(例如单核细胞和树突状细胞)中表达。在人类中,TLR7也在浆细胞样树突状细胞(pDC)和B细胞中表达。TLR8主要在髓样来源的细胞,即,单核细胞、粒细胞和髓样树突状细胞中表达。TLR7和TLR8能够检测细胞内“外来”单股RNA的存在,以此作为对病毒侵入作出反应的手段。用TLR8激动剂处理TLR8表达细胞可以产生高水平的IL-12、IFN-γ、IL-1、TNF-α、IL-6和其它炎性细胞因子。类似地,用TLR7激动剂刺激TLR7表达细胞(诸如pDC)可以产生高水平的IFN-α和其它炎性细胞因子。TLR7/TLR8啮合以及所得细胞因子产生可以活化树突

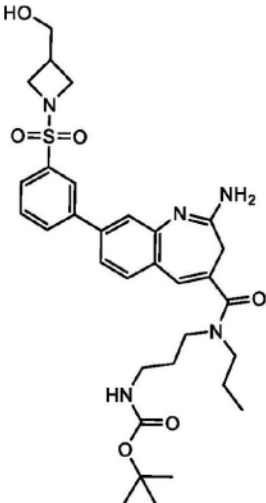
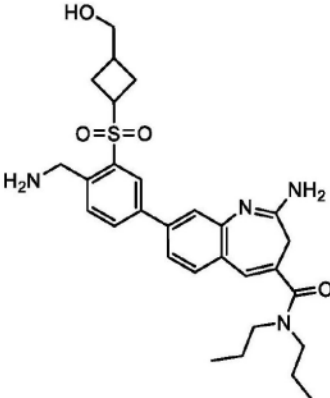


状细胞和其它抗原呈递细胞,从而驱动造成肿瘤破坏的各种先天和后天免疫反应机制。

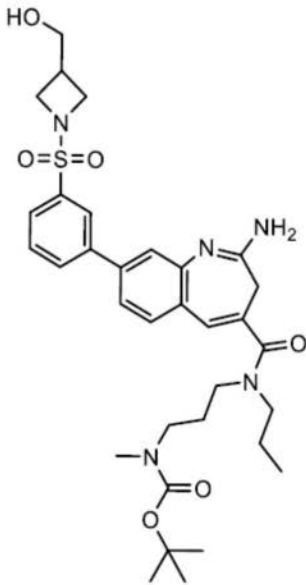
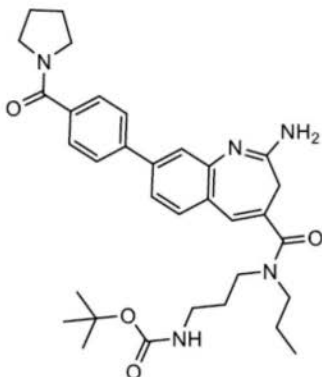
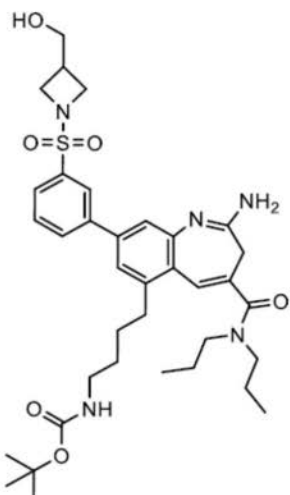
[0343] 本发明的示例性氨基苯并氮唑化合物 (Bz) 示于表1a、1b和1c中。每种化合物是通过本文所提供的实施例中的方法合成和纯化,通过质谱法表征,并且显示具有所指示的质量。根据实施例68测量针对表达人类TLR7或人类TLR8的HEK293 NFKB报告体细胞的活性。表1a、1b和1c的氨基苯并氮唑化合物证明TLR8激动剂选择性的令人惊讶并且意想不到的特性,其可以预测可用于治疗癌症和其它病症的治疗活性。

[0344] 表1a:氨基苯并氮唑化合物 (Bz)

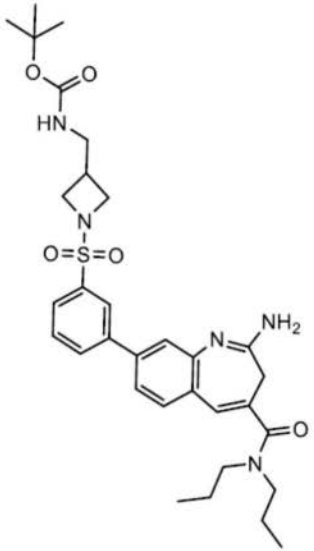
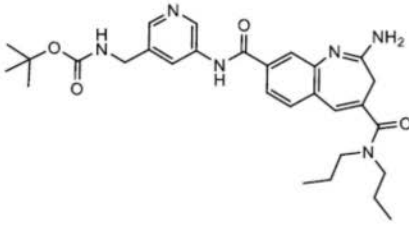
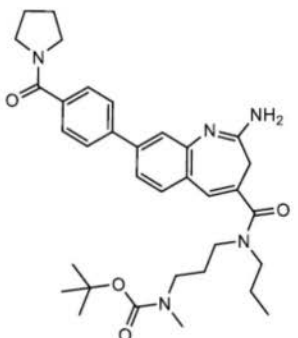
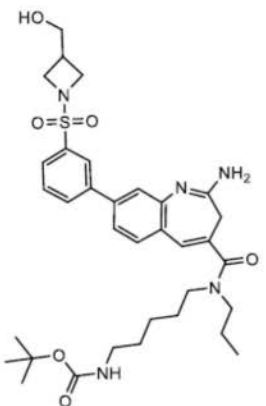
[0345]

| Bz<br>编号 | 结构                                                                                  | MW    | HEK293<br>hTLR7<br>EC50 (nM) | HEK293<br>hTLR8<br>EC50 (nM) |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------|------------------------------|------------------------------|
| Bz-1     |   | 625.8 | 571                          | 106                          |
| Bz-2     |  | 538.7 | >9000                        | 9760                         |

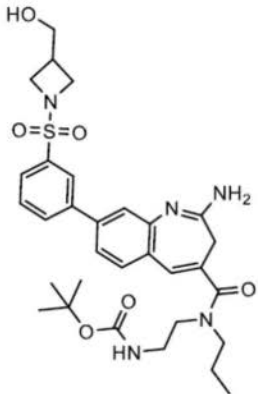
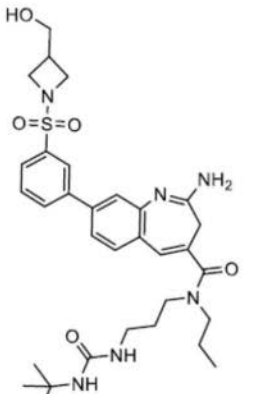
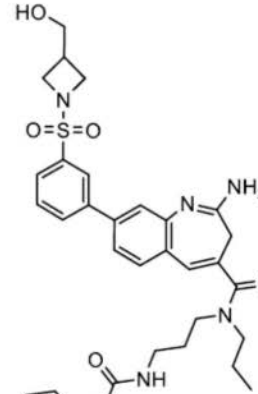
[0346]

|      |                                                                                     |       |       |       |
|------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|-------|
| Bz-3 |    | 639.8 | 545.2 | 4306  |
| Bz-4 |   | 573.7 | 1484  | 1681  |
| Bz-5 |  | 681.9 | 155.2 | 255.5 |

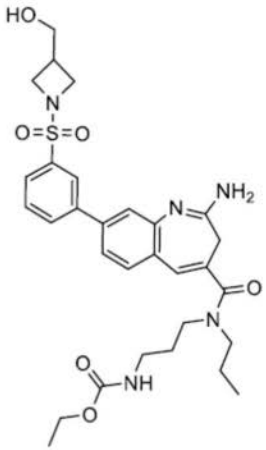
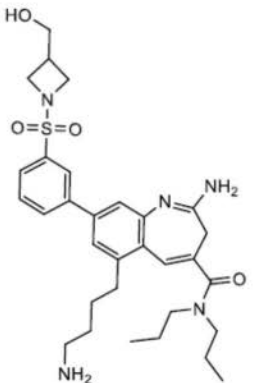
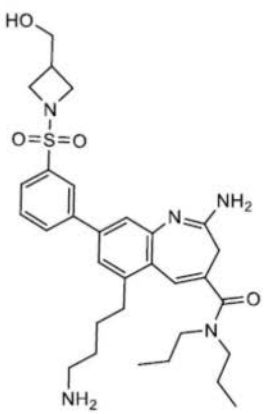
[0347]

|      |                                                                                     |       |       |       |
|------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|-------|
| Bz-6 |    | 609.8 | >9000 | 264.7 |
| Bz-7 |    | 534.7 | >9000 | 4.283 |
| Bz-8 |  | 587.8 | 3367  | >9000 |
| Bz-9 |  | 653.8 | 8647  | 629.1 |

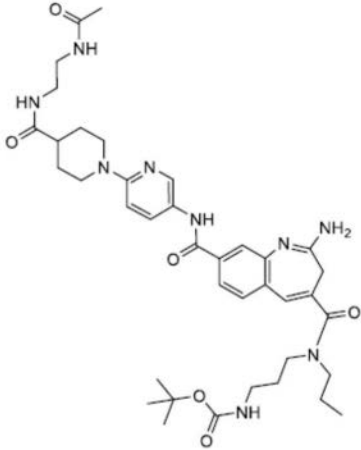
[0348]

|       |                                                                                     |       |       |       |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|-------|
| Bz-10 |    | 611.8 | >9000 | >9000 |
| Bz-11 |   | 624.8 | 7843  | 1387  |
| Bz-12 |  | 669.8 | 2487  | 2375  |

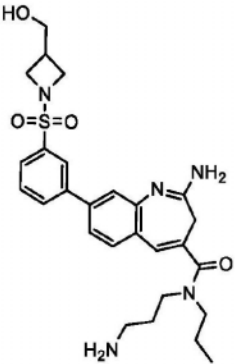
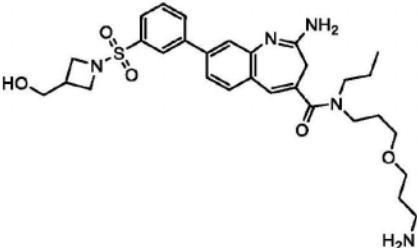
[0349]

|       |                                                                                     |       |       |      |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|------|
| Bz-13 |    | 597.7 | 1371  | 134  |
| Bz-14 |   | 581.8 | >9000 | 1700 |
| Bz-15 |  | 509.7 | >9000 | 103  |

[0350]

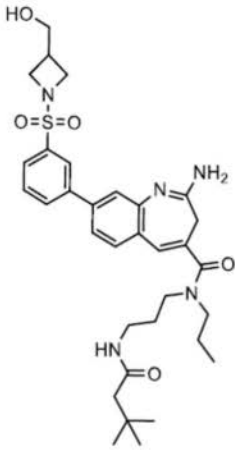
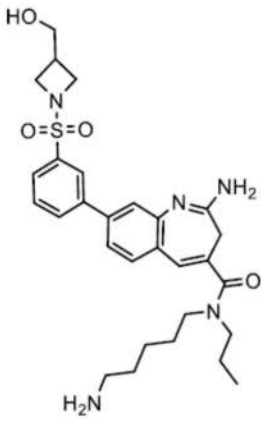
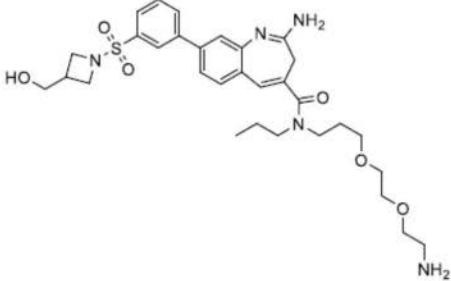
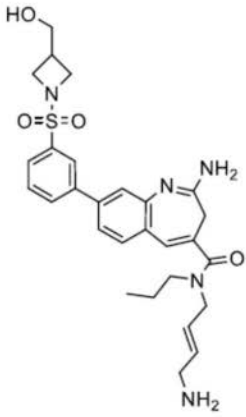
|       |                                                                                     |       |       |      |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|------|
| Bz-16 |  | 731.9 | >9000 | 1047 |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|------|

[0351] 表1b:氨基苯并氮吡化合物 (Bz)

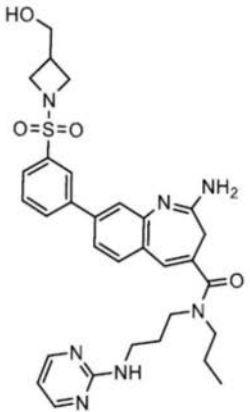
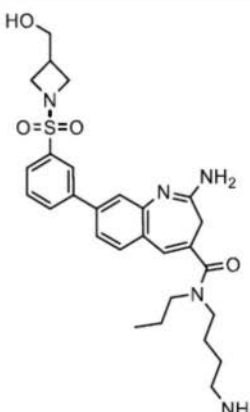
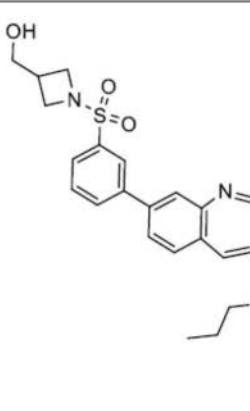
| Bz<br>编号 | 结构                                                                                 | MW    | HEK293<br>hTLR7<br>EC50 (nM) | HEK293<br>hTLR8<br>EC50 (nM) |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------|-------|------------------------------|------------------------------|
| Bz-17    |   | 525.7 | >9000                        | >9000                        |
| Bz-18    |  | 583.7 | 1994                         | 3403                         |

[0352]

[0353]

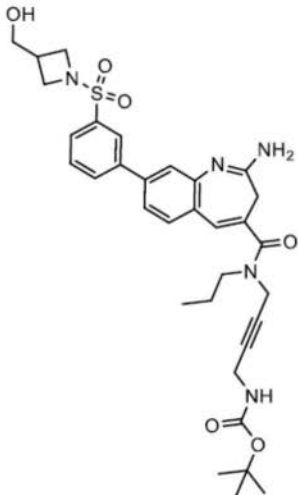
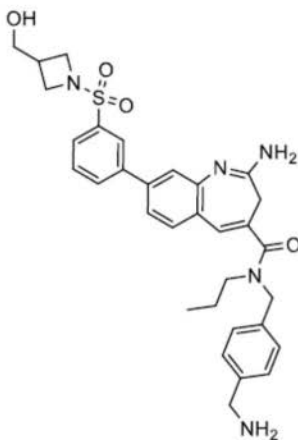
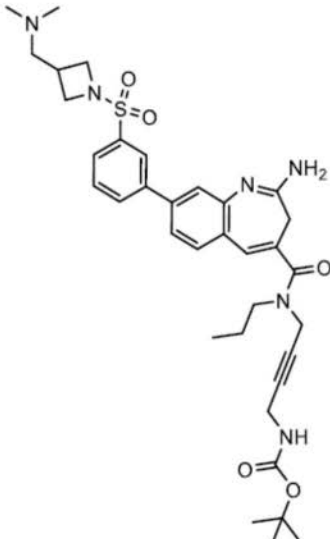
|       |                                                                                     |       |       |       |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|-------|
| Bz-19 |    | 623.8 | 1067  | 3168  |
| Bz-20 |   | 553.7 | >9000 | >9000 |
| Bz-21 |  | 613.8 | >9000 | >9000 |
| Bz-22 |  | 537.7 | >9000 | >9000 |

[0354]

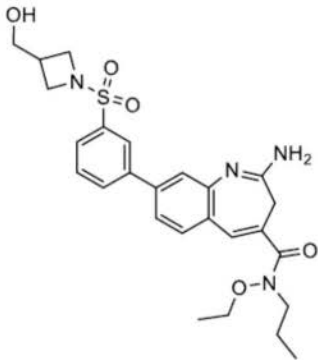
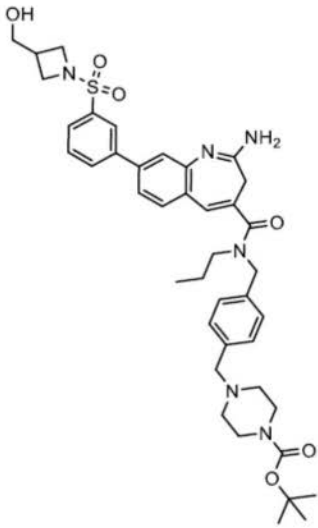
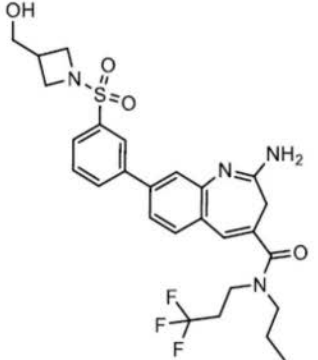
|       |                                                                                     |       |       |       |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|-------|
| Bz-23 |    | 603.7 | 2427  | 1162  |
| Bz-24 |   | 539.7 | >9000 | >9000 |
| Bz-25 |  | 602.8 | >9000 | 1403  |



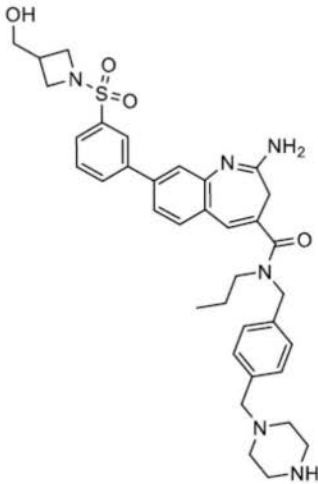
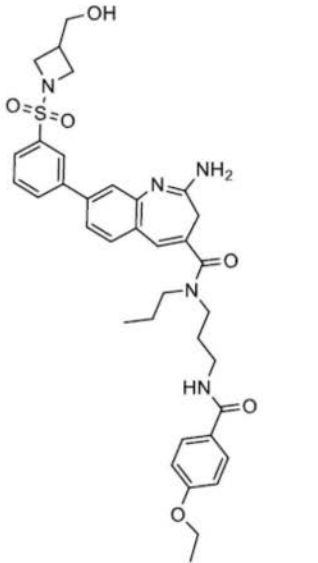
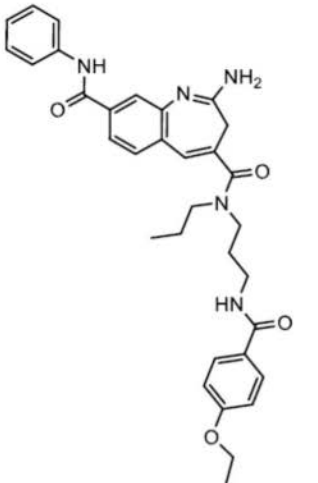
[0355]

|       |                                                                                     |       |        |      |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------|--------|------|
| Bz-26 |    | 635.8 | >9000  | 318  |
| Bz-27 |   | 587.7 | >9000  | 138  |
| Bz-28 |  | 662.9 | 4253.9 | 42.8 |

[0356]

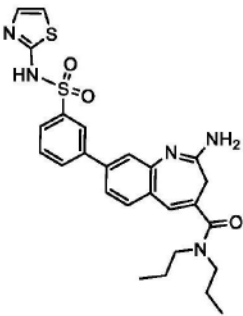
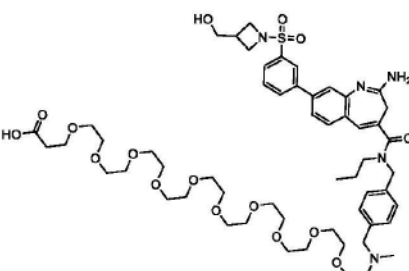
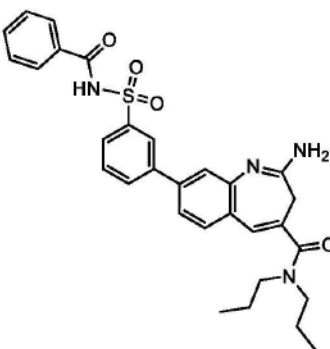
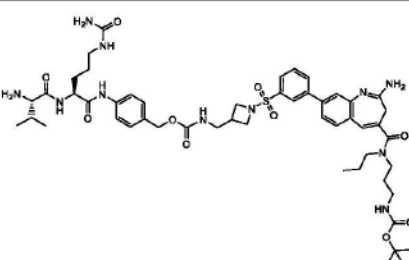
|       |                                                                                     |       |       |        |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|--------|
| Bz-29 |    | 512.6 | >9000 | 32     |
| Bz-30 |   | 757.0 | >9000 | 1022.3 |
| Bz-31 |  | 564.6 | >9000 | 341    |

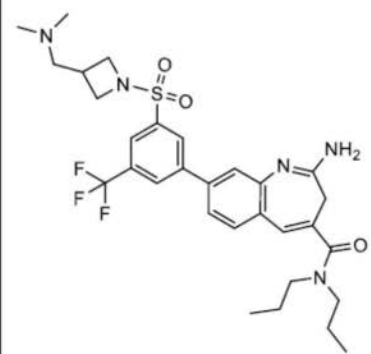
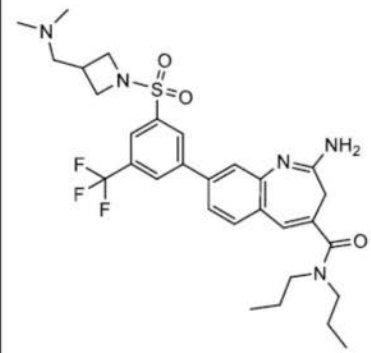
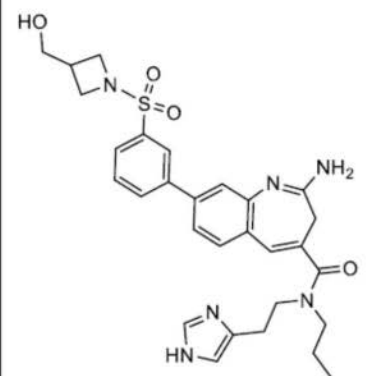
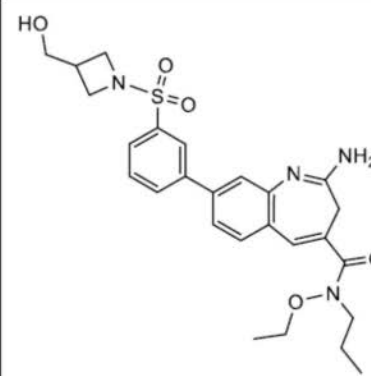
[0357]

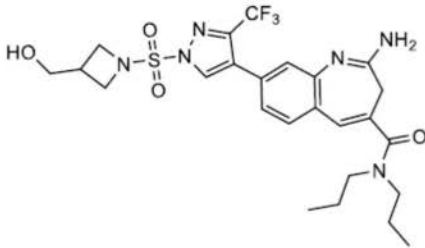
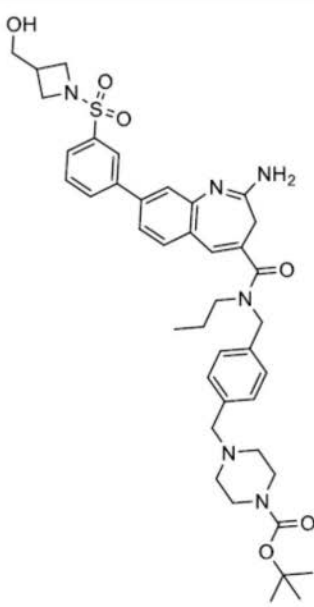
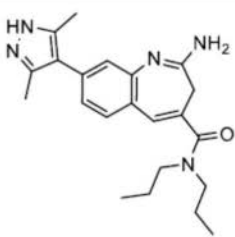
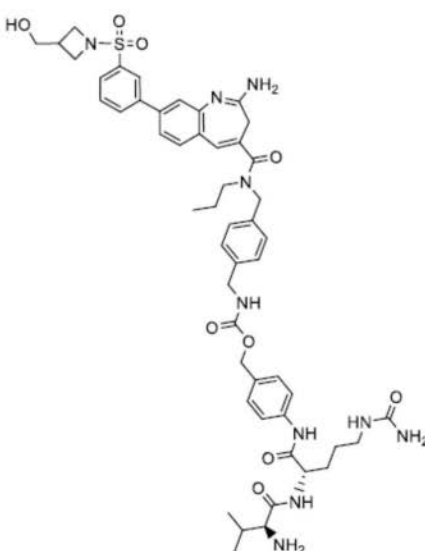
|       |                                                                                     |       |       |       |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|-------|
| Bz-32 |    | 656.8 | >9000 | >9000 |
| Bz-33 |   | 673.8 | 1428  | 1919  |
| Bz-34 |  | 567.7 | >9000 | 1040  |

[0358] 表1c:氨基苯并氮呋化合物(Bz)

[0359]

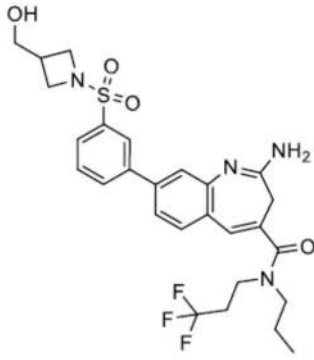
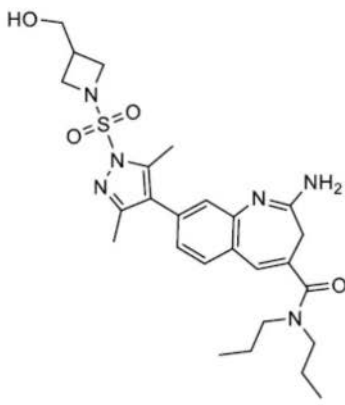
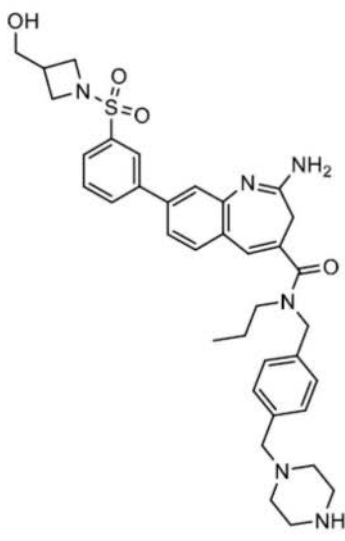
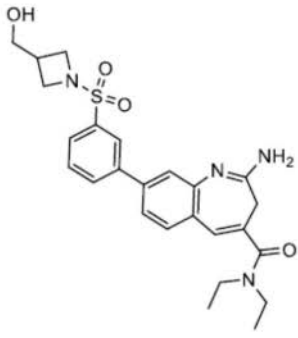
| Bz<br>编号 | 结构                                                                                  | MW     | HEK293<br>hTLR7<br>EC50 (nM) | HEK293<br>hTLR8<br>EC50 (nM) |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------|------------------------------|------------------------------|
| Bz-35    |    | 523.7  | 9000                         | 9000                         |
| Bz-36    |    | 1114.4 | ND                           | ND                           |
| Bz-37    |   | 544.7  | 9000                         | 9000                         |
| Bz-38    |  | 1030.2 | ND                           | ND                           |

|              |                                                                                     |       |      |      |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------|------|------|
| Bz-39        |    | 605.7 | 42   | 728  |
| Bz-40        |    | 509.8 | 332  | 9000 |
| [0360] Bz-41 |   | 562.7 | 9000 | 9000 |
| Bz-42        |  | 512.6 | 9000 | 49   |

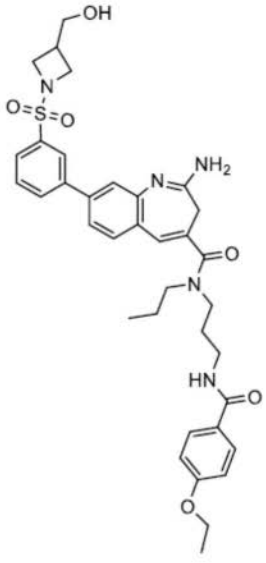
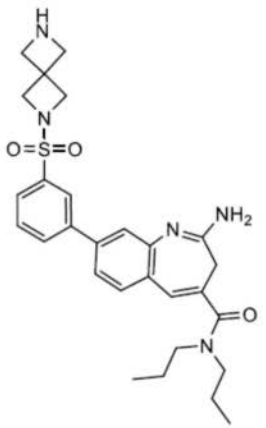
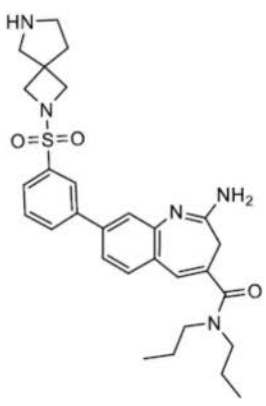
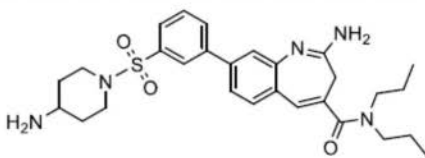
|       |                                                                                     |       |      |      |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------|------|------|
| Bz-43 |    | 568.6 | 9000 | 7005 |
| Bz-44 |   | 757.0 | 9000 | 1022 |
| Bz-45 |  | 379.5 | 9000 | 345  |
| Bz-46 |  | 993.2 | ND   | ND   |

[0361]

[0362]

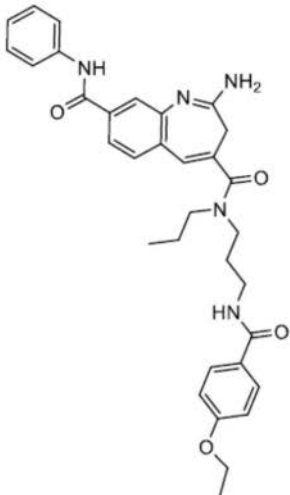
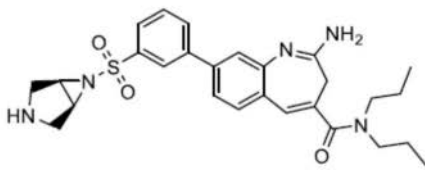
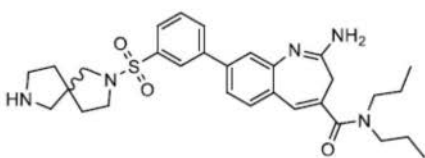
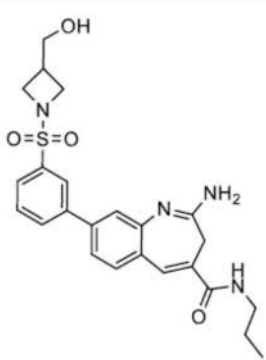
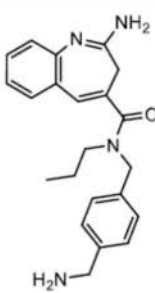
|       |                                                                                     |       |      |      |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------|------|------|
| Bz-47 |    | 564.6 | 9000 | 341  |
| Bz-48 |    | 528.7 | ND   | 499  |
| Bz-49 |   | 656.8 | 9000 | 9000 |
| Bz-50 |  | 482.6 | ND   | 9000 |

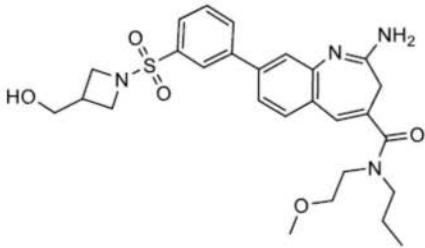
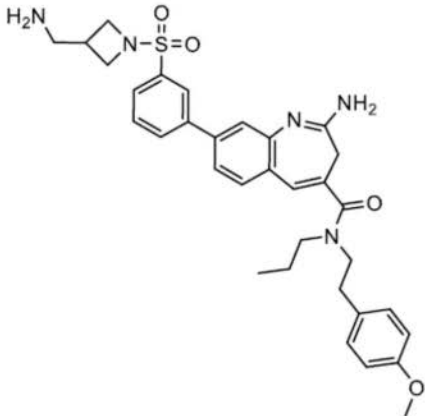
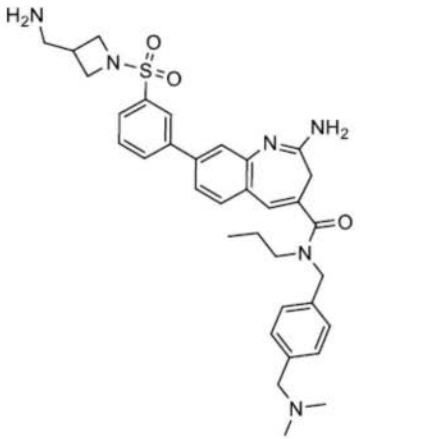
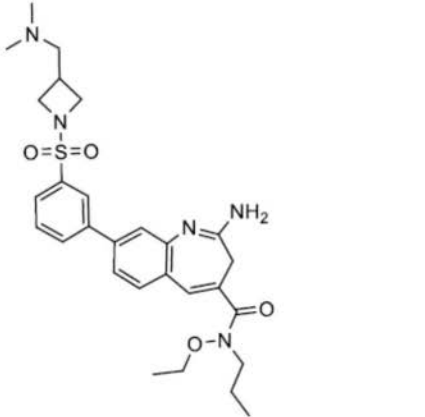
[0363]

|       |                                                                                     |       |      |      |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------|------|------|
| Bz-51 |    | 673.8 | 1428 | 1919 |
| Bz-52 |   | 521.7 | ND   | 1320 |
| Bz-53 |  | 535.7 | ND   | 249  |
| Bz-54 |  | 523.7 | ND   | 198  |



[0364]

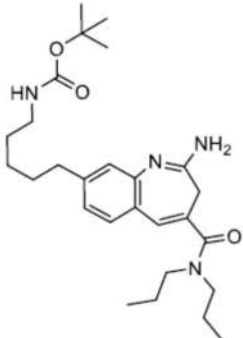
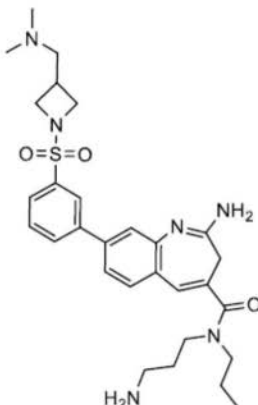
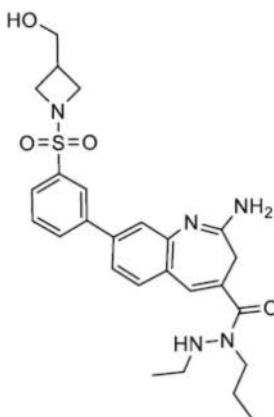
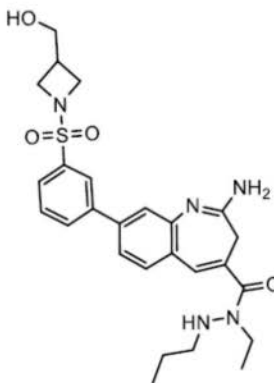
|       |                                                                                     |       |      |      |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------|------|------|
| Bz-55 |    | 567.7 | 9000 | 1040 |
| Bz-56 |    | 507.7 | ND   | 111  |
| Bz-57 |   | 549.7 | ND   | 741  |
| Bz-58 |  | 468.6 | 9000 | 9000 |
| Bz-59 |  | 362.5 | 9000 | 870  |

|       |                                                                                     |       |      |      |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------|------|------|
| Bz-60 |    | 562.7 | 9000 | 288  |
| Bz-61 |    | 601.8 | 9000 | 5846 |
| Bz-62 |   | 614.8 | 9000 | 9000 |
| Bz-63 |  | 539.7 | 1270 | 8    |

[0365]

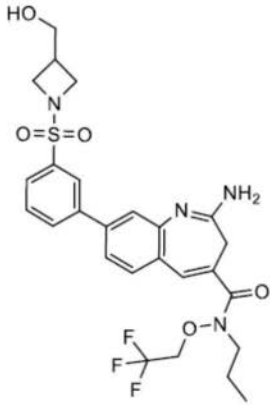
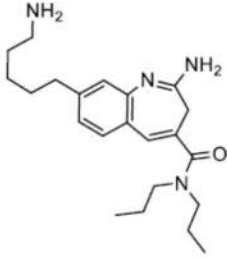
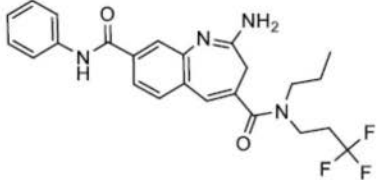
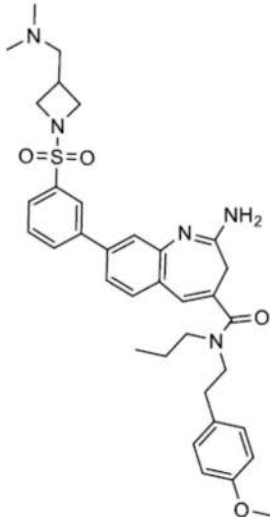
|       |  |       |      |      |
|-------|--|-------|------|------|
| Bz-64 |  | 980.2 | ND   | ND   |
| Bz-65 |  | 357.5 | 3929 | 5902 |
| Bz-66 |  | 566.6 | 4614 | 26   |
| Bz-67 |  | 466.6 | 3926 | 2053 |
| Bz-68 |  | 366.5 | 4595 | 3070 |

[0366]

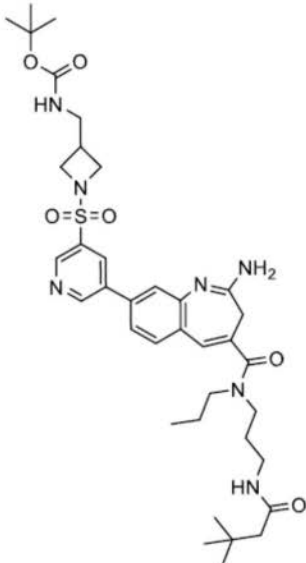
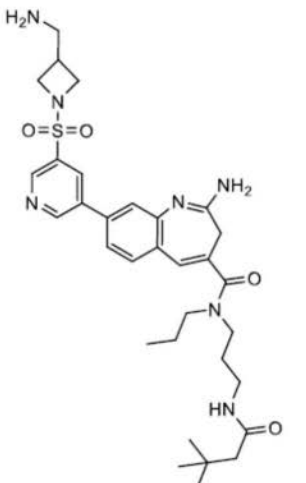
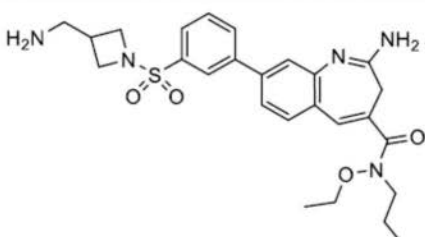
|       |                                                                                     |       |      |      |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------|------|------|
| Bz-69 |    | 470.7 | 3205 | 6670 |
| Bz-70 |    | 552.7 | ND   | ND   |
| Bz-71 |   | 511.6 | 9000 | 2752 |
| Bz-72 |  | 511.6 | ND   | 4253 |

[0367]

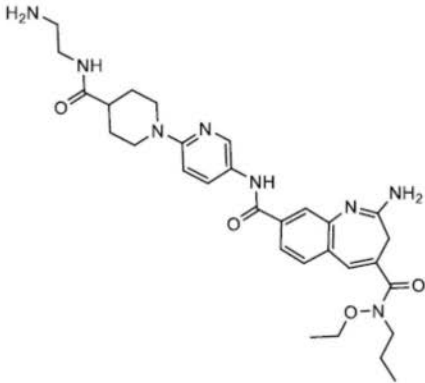
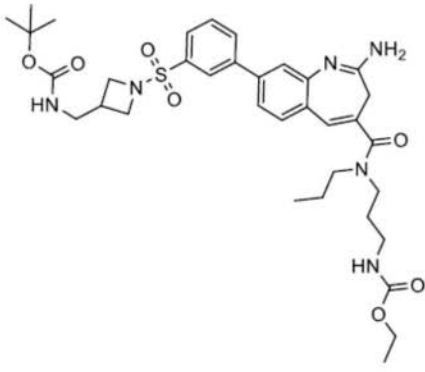
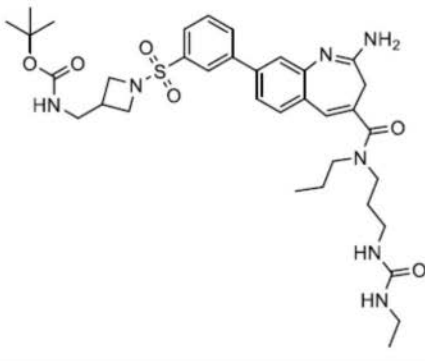
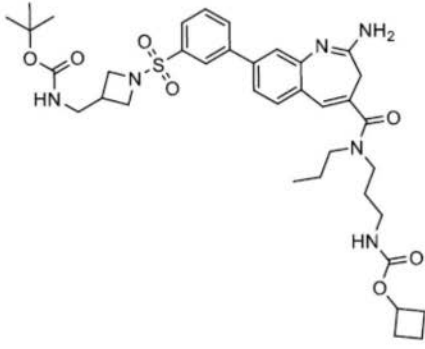
[0368]

|       |                                                                                     |       |      |      |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------|------|------|
| Bz-73 |    | 566.6 | 4478 | 120  |
| Bz-74 |    | 370.5 | 9000 | 2555 |
| Bz-75 |   | 458.5 | 9000 | 246  |
| Bz-76 |  | 629.8 | 969  | 786  |

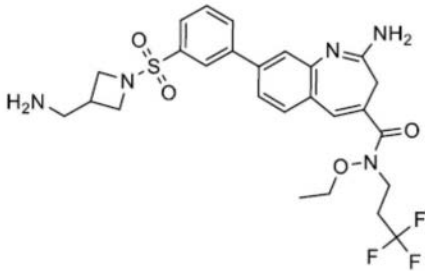
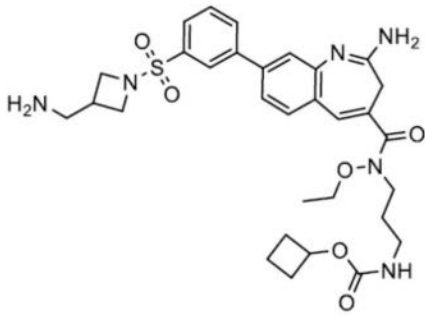
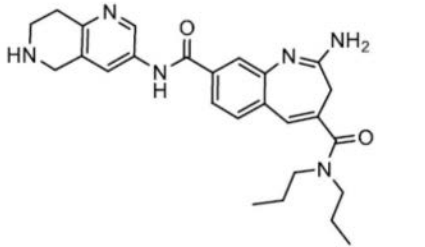
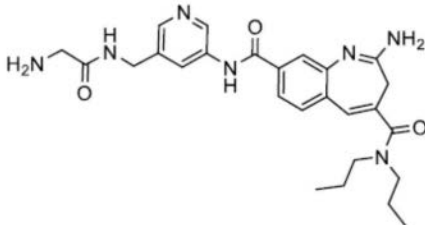
[0369]

|       |                                                                                     |       |    |    |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------|----|----|
| Bz-77 |    | 723.9 | ND | ND |
| Bz-78 |   | 623.8 | ND | ND |
| Bz-79 |  | 511.6 | ND | ND |

[0370]

|       |                                                                                     |       |    |    |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------|----|----|
| Bz-80 |    | 576.7 | ND | ND |
| Bz-81 |    | 696.9 | ND | ND |
| Bz-82 |   | 695.9 | ND | ND |
| Bz-83 |  | 722.9 | ND | ND |

[0371]

|       |                                                                                     |       |    |    |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------|----|----|
| Bz-84 |    | 565.6 | ND | ND |
| Bz-85 |    | 624.8 | ND | ND |
| Bz-86 |   | 460.6 | ND | ND |
| Bz-87 |  | 491.6 | ND | ND |

[0372] 氨基苯并氮呋-连接子化合物

[0373] 本发明的免疫缀合物是通过使抗体与氨基苯并氮呋-连接子化合物缀合来制备。氨基苯并氮呋-连接子化合物包含共价附接至连接子单元的氨基苯并氮呋部分。连接子单元包含影响免疫缀合物的稳定性、渗透性、溶解性和其它药物动力学、安全性和功效特性的官能团和亚单元。连接子单元包括反应性官能团,其与抗体的反应性官能团反应,即,缀合。举例来说,抗体的亲核基团,诸如赖氨酸侧链氨基与氨基苯并氮呋-连接子化合物的亲电反应性官能团反应以形成免疫缀合物。同样,举例来说,抗体的半胱氨酸硫醇与氨基苯并氮呋-连接子化合物的马来酰亚胺或溴乙酰胺基团反应以形成免疫缀合物。

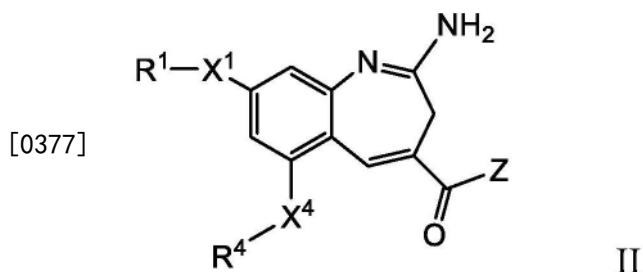
[0374] 适用于氨基苯并氮呋-连接子化合物的亲电反应性官能团包括但不限于N-羟基琥珀酰亚胺基(NHS)酯和N-羟基磺基琥珀酰亚胺基(磺基-NHS)酯(胺反应性);碳二亚胺(胺和羧基反应性);羟甲基磷(胺反应性);马来酰亚胺(硫醇反应性);卤化乙酰胺,诸如N-碘乙酰胺(硫醇反应性);芳基叠氮化物(伯胺反应性);氟化芳基叠氮化物(经由碳-氢(C-H)插入而具有反应性);五氟苯基(PFP)酯(胺反应性);四氟苯基(TFP)酯(胺反应性);亚胺基酯(胺反



反应性) ; 异氰酸酯 (羟基反应性) ; 乙烯基砜 (硫醇、胺和羟基反应性) ; 吡啶基二硫化物 (硫醇反应性) ; 以及二苯甲酮衍生物 (经由C-H键插入而具有反应性) 。其它试剂包括但不限于Hermanson, Bioconjugate Techniques第2版, Academic Press, 2008中所描述的那些试剂。

[0375] 本发明提供了针对免疫缀合物的设计、制备和使用的局限性和挑战的解决方案。一些连接子可能在血流中不稳定, 从而在靶细胞中内化之前释放不可接受量的佐剂/药物 (Khot, A. 等 (2015) Bioanalysis 7 (13) : 1633-1648) 。其它连接子可能在血流中提供稳定性, 但细胞内释放有效性可能受负面影响。提供所需细胞内释放的连接子通常在血流中具有较差稳定性。换句话说, 血流稳定性与细胞内释放通常呈逆相关。另外, 在标准缀合过程中, 负载于抗体上的佐剂/药物部分的量 (即, 药物负荷)、在缀合反应中形成的聚集体的量以及可获得的最终纯化缀合物的产量相互关联。举例来说, 聚集体形成一般与缀合至抗体的佐剂/药物部分及其衍生物的当量数呈正相关。在高药物负荷下, 必须去除所形成的聚集体以用于治疗应用。因此, 药物负荷介导的聚集体形成会降低免疫缀合物产量并且可能使工艺规模扩大变得困难。

[0376] 示例性实施方案包括式II的氨基苯并氮呋-连接子化合物:



[0378] 其中

[0379] Z选自H、-O (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基) 和N (X<sup>2</sup>R<sup>2</sup>) (X<sup>3</sup>R<sup>3</sup>) ;

[0380] R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>和R<sup>4</sup>独立地选自H、C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>烯基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>炔基、C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>碳环基、C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳基、C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>杂环基和C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳基组成的组, 其中烷基、烯基、炔基、碳环基、芳基、杂环基和杂芳基独立地并且任选地经一个或多个选自以下的基团取代:

[0381] - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) -N (R<sup>5</sup>) -\*;

[0382] - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) -N (R<sup>5</sup>)<sub>2</sub>;

[0383] - (C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>碳环基) ;

[0384] - (C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>碳环基) -\*;

[0385] - (C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>碳环基) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) -NR<sup>5</sup>-\*;

[0386] - (C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>碳环基) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) -N (R<sup>5</sup>)<sub>2</sub>;

[0387] - (C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>碳环基) -NR<sup>5</sup>-C (=NR<sup>5</sup>) NR<sup>5</sup>-\*;

[0388] - (C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳基) ;

[0389] - (C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳基) -\*;

[0390] - (C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基) -N (R<sup>5</sup>) -\*;

[0391] - (C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) -N (R<sup>5</sup>) -\*;

[0392] - (C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) -N (R<sup>5</sup>)<sub>2</sub>;

[0393] - (C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) -NR<sup>5</sup>-C (=NR<sup>5a</sup>) N (R<sup>5</sup>) -\*;

[0394] - (C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>杂环基) ;

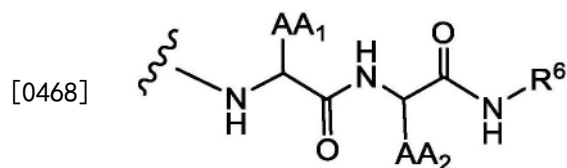
- [0395] - (C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>杂环基) - \* ;
- [0396] - (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>杂环基) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - NR<sup>5</sup> - \* ;
- [0397] - (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>杂环基) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - N(R<sup>5</sup>)<sub>2</sub> ;
- [0398] - (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>杂环基) - NR<sup>5</sup> - C(=NR<sup>5a</sup>) NR<sup>5</sup> - \* ;
- [0399] - (C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳基) ;
- [0400] - (C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳基) - \* ;
- [0401] - (C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳基) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - N(R<sup>5</sup>) - \* ;
- [0402] - (C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳基) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - N(R<sup>5</sup>)<sub>2</sub> ;
- [0403] - (C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳基) - NR<sup>5</sup> - C(=NR<sup>5a</sup>) N(R<sup>5</sup>) - \* ;
- [0404] - C(=O) - \* ;
- [0405] - C(=O) - (C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>杂环二基) - \* ;
- [0406] - C(=O) N(R<sup>5</sup>)<sub>2</sub> ;
- [0407] - C(=O) N(R<sup>5</sup>) - \* ;
- [0408] - C(=O) N(R<sup>5</sup>) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - N(R<sup>5</sup>) C(=O) R<sup>5</sup> ;
- [0409] - C(=O) N(R<sup>5</sup>) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - N(R<sup>5</sup>) C(=O) N(R<sup>5</sup>)<sub>2</sub> ;
- [0410] - C(=O) NR<sup>5</sup> - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - N(R<sup>5</sup>) CO<sub>2</sub>R<sup>5</sup> ;
- [0411] - C(=O) NR<sup>5</sup> - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - N(R<sup>5</sup>) C(=NR<sup>5a</sup>) N(R<sup>5</sup>)<sub>2</sub> ;
- [0412] - C(=O) NR<sup>5</sup> - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - NR<sup>5</sup> C(=NR<sup>5a</sup>) R<sup>5</sup> ;
- [0413] - C(=O) NR<sup>5</sup> - (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷二基) - NR<sup>5</sup> (C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>杂芳基) ;
- [0414] - C(=O) NR<sup>5</sup> - (C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳二基) - N(R<sup>5</sup>) - \* ;
- [0415] - C(=O) NR<sup>5</sup> - (C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳二基) - \* ;
- [0416] - C(=O) NR<sup>5</sup> - (C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳二基) - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - N(R<sup>5</sup>)<sub>2</sub> ;
- [0417] - C(=O) NR<sup>5</sup> - (C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳二基) - (C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>杂环二基) - C(=O) NR<sup>5</sup> - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - NR<sup>5</sup> - \* ;
- [0418] - N(R<sup>5</sup>)<sub>2</sub> ;
- [0419] - N(R<sup>5</sup>) - \* ;
- [0420] - N(R<sup>5</sup>) C(=O) R<sup>5</sup> ;
- [0421] - N(R<sup>5</sup>) C(=O) - \* ;
- [0422] - N(R<sup>5</sup>) C(=O) N(R<sup>5</sup>)<sub>2</sub> ;
- [0423] - N(R<sup>5</sup>) C(=O) N(R<sup>5</sup>) - \* ;
- [0424] - N(R<sup>5</sup>) CO<sub>2</sub>R<sup>5</sup> ;
- [0425] - NR<sup>5</sup> C(=NR<sup>5a</sup>) N(R<sup>5</sup>)<sub>2</sub> ;
- [0426] - NR<sup>5</sup> C(=NR<sup>5a</sup>) N(R<sup>5</sup>) - \* ;
- [0427] - NR<sup>5</sup> C(=NR<sup>5a</sup>) R<sup>5</sup> ;
- [0428] - N(R<sup>5</sup>) - (C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>杂芳基) ;
- [0429] - O - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基) ;
- [0430] - O - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - N(R<sup>5</sup>)<sub>2</sub> ;
- [0431] - O - (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基) - N(R<sup>5</sup>) - \* ;
- [0432] - S(=O)<sub>2</sub> - (C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>杂环二基) - \* ;

- [0433]  $-S(=O)_2-(C_2-C_{20}$  杂环二基)  $-(C_1-C_{12}$  烷二基)  $-N(R^5)_2$ ;
- [0434]  $-S(=O)_2-(C_2-C_{20}$  杂环二基)  $-(C_1-C_{12}$  烷二基)  $-NR^5-*$ ; 以及
- [0435]  $-S(=O)_2-(C_2-C_{20}$  杂环二基)  $-(C_1-C_{12}$  烷二基)  $-OH$ ;
- [0436] 或  $R^2$  与  $R^3$  一起形成 5 元或 6 元杂环基环;
- [0437]  $X^1, X^2, X^3$  和  $X^4$  独立地选自由一键、 $C(=O)$ 、 $C(=O)N(R^5)$ 、 $O$ 、 $N(R^5)$ 、 $S$ 、 $S(O)_2$  和  $S(O)_2N(R^5)$  组成的组;
- [0438]  $R^5$  选自由  $H$ 、 $C_6-C_{20}$  芳基、 $C_6-C_{20}$  芳二基、 $C_1-C_{12}$  烷基和  $C_1-C_{12}$  烷二基组成的组, 或两个  $R^5$  基团一起形成 5 元或 6 元杂环基环;
- [0439]  $R^{5a}$  选自由  $C_6-C_{20}$  芳基和  $C_1-C_{20}$  杂芳基组成的组;
- [0440] 其中星号\*指示 L 的附接位点, 并且其中  $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$  和  $R^4$  中的一者附接至 L;
- [0441] L 是选自由以下组成的组的连接子:
- [0442]  $Q-C(=O)-(PEG)-$ ;
- [0443]  $Q-C(=O)-(PEG)-C(=O)-$ ;
- [0444]  $Q-C(=O)-(PEG)-O-$ ;
- [0445]  $Q-C(=O)-(PEG)-C(=O)-(PEP)-$ ;
- [0446]  $Q-C(=O)-(PEG)-C(=O)N(R^5)-(C_1-C_{12}$  烷二基)  $-$ ;
- [0447]  $Q-C(=O)-(PEG)-C(=O)N(R^5)-(C_1-C_{12}$  烷二基)  $-N(R^5)C(=O)-(C_2-C_5$  单杂环二基)  $-$ ;
- [0448]  $Q-C(=O)-(PEG)-C(=O)N(R^5)-(C_1-C_{12}$  烷二基)  $-(MCgluc)-$ ;
- [0449]  $Q-C(=O)-(PEG)-C(=O)-(MCgluc)-$ ;
- [0450]  $Q-C(=O)-(PEG)-C(=O)-(PEP)-N(R^5)-(C_1-C_{12}$  烷二基)  $-$ ;
- [0451]  $Q-C(=O)-(PEG)-C(=O)-(PEP)-N(R^5)-(C_1-C_{12}$  烷二基)  $-N(R^5)C(=O)-(C_2-C_5$  单杂环二基)  $-$ ;
- [0452]  $Q-C(=O)-(PEG)-N(R^5)-$ ;
- [0453]  $Q-C(=O)-(PEG)-N(R^5)-(PEG)-C(=O)-(PEP)-$ ;
- [0454]  $Q-C(=O)-(PEG)-N^+(R^5)_2-(PEG)-C(=O)-(PEP)-$ ;
- [0455]  $Q-C(=O)-(PEG)-C(=O)-N(R^5)CH(AA_1)C(=O)-(PEG)-C(=O)-(PEP)-$ ;
- [0456]  $Q-C(=O)-(PEG)-C(=O)-N(R^5)CH(AA_1)C(=O)-N(R^5)-(C_1-C_{12}$  烷二基)  $-$ ;
- [0457]  $Q-C(=O)-(PEG)-SS-(C_1-C_{12}$  烷二基)  $-OC(=O)-$ ;
- [0458]  $Q-C(=O)-(PEG)-SS-(C_1-C_{12}$  烷二基)  $-C(=O)-$ ;
- [0459]  $Q-C(=O)-(C_1-C_{12}$  烷二基)  $-C(=O)-(PEP)-$ ;
- [0460]  $Q-C(=O)-(C_1-C_{12}$  烷二基)  $-C(=O)-(PEP)-N(R^5)-(C_1-C_{12}$  烷二基)  $-$ ;
- [0461]  $Q-C(=O)-(C_1-C_{12}$  烷二基)  $-C(=O)-(PEP)-N(R^5)-(C_1-C_{12}$  烷二基)  $-N(R^5)-C(=O)-$ ;
- [0462]  $Q-C(=O)-(C_1-C_{12}$  烷二基)  $-C(=O)-(PEP)-N(R^5)-(C_1-C_{12}$  烷二基)  $-N(R^5)C(=O)-(C_2-C_5$  单杂环二基)  $-$ ;
- [0463]  $Q-C(=O)-CH_2CH_2OCH_2CH_2-(C_1-C_{20}$  杂芳二基)  $-CH_2O-(PEG)-C(=O)-(MCgluc)-$ ;
- [0464]  $Q-C(=O)-CH_2CH_2OCH_2CH_2-(C_1-C_{20}$  杂芳二基)  $-CH_2O-(PEG)-C(=O)-(MCgluc)-N(R^5)-(C_1-C_{12}$  烷二基)  $-N(R^5)C(=O)-(C_2-C_5$  单杂环二基)  $-$ ; 以及
- [0465]  $Q-(CH_2)_m-C(=O)-(PEP)-N(R^5)-(C_1-C_{12}$  烷二基)  $-N(R^5)C(=O)-(C_2-C_5$  单杂环二

基)-;

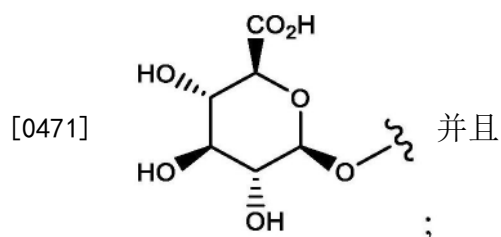
[0466] 其中PEG具有下式:  $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-(\text{CH}_2)_m-$ ; m是1至5的整数, 并且n是2至50的整数;

[0467] PEP具有下式:

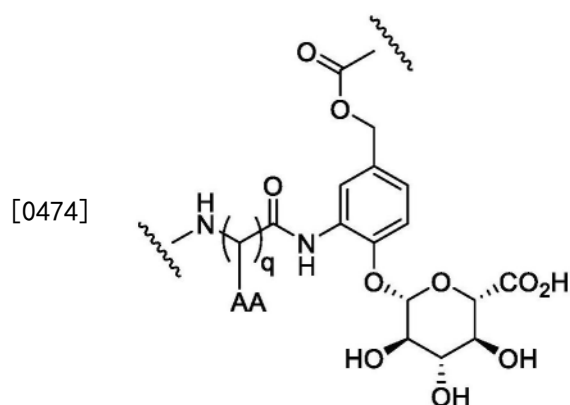
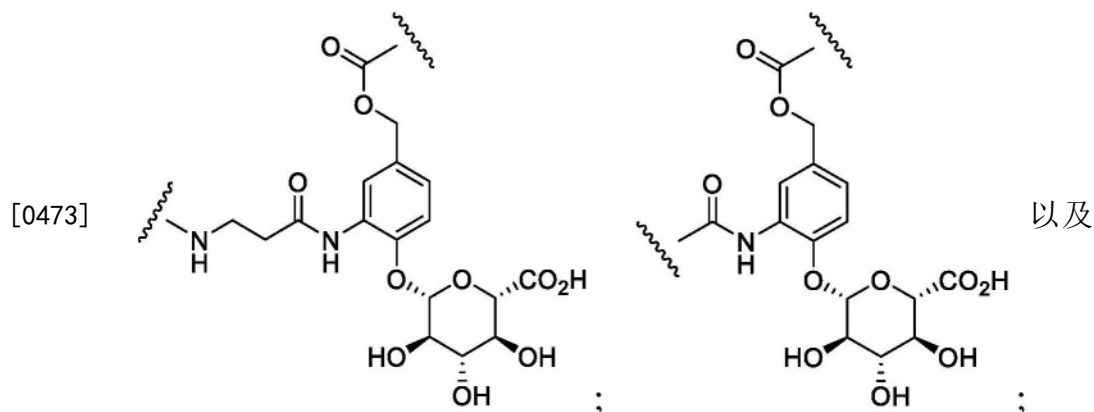


[0469] 其中AA<sub>1</sub>和AA<sub>2</sub>独立地选自氨基酸侧链, 或者AA<sub>1</sub>或AA<sub>2</sub>和相邻氮原子形成5元环脯氨酸氨基酸, 并且波形线指示附接点; 并且

[0470] R<sup>6</sup>选自由C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基和C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳二基组成的组, 经-CH<sub>2</sub>O-C(=O)-并且任选地经以下基团取代:



[0472] MCgluc选自下组:



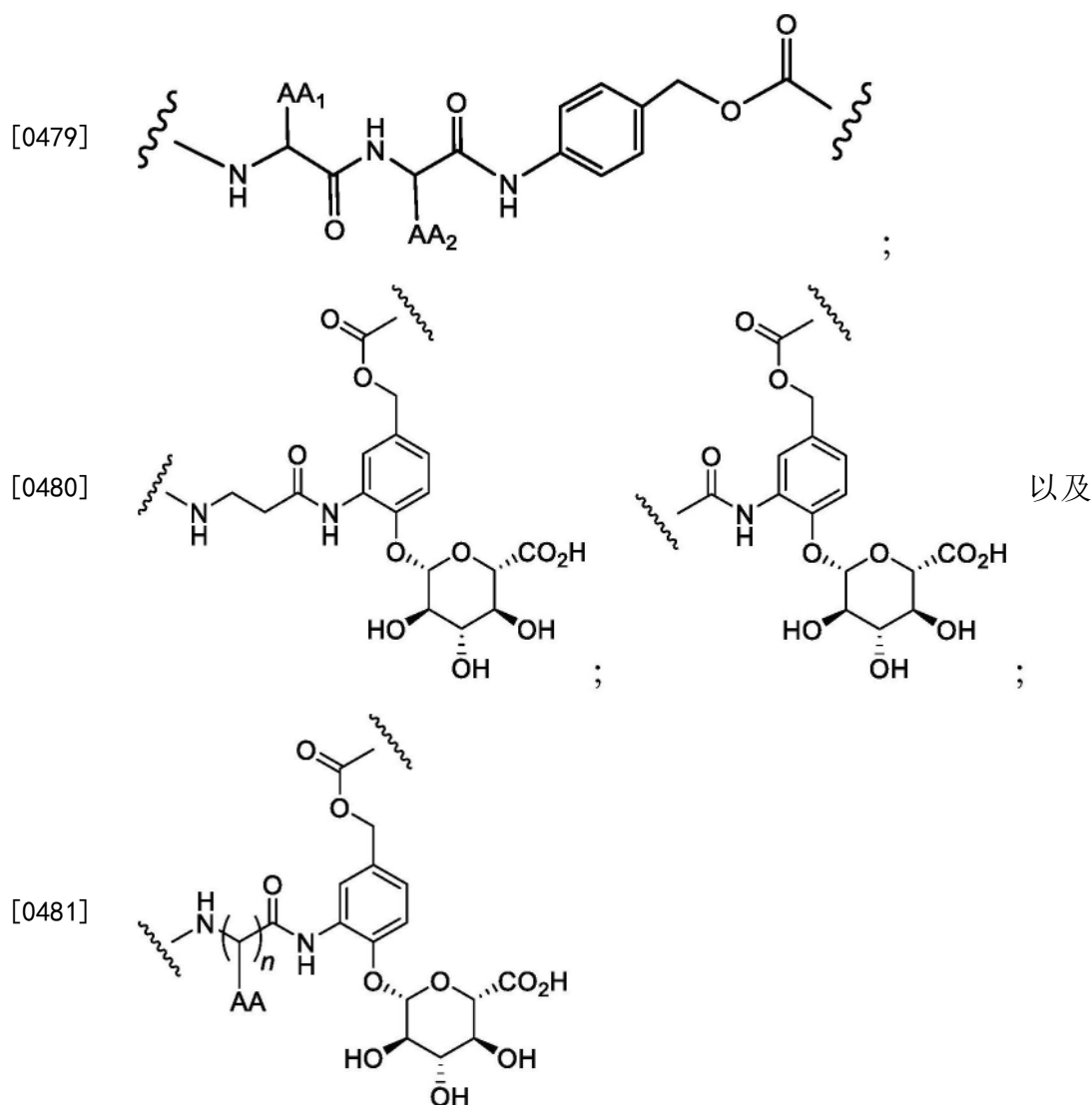
[0475] 其中q是1至8, 并且AA是氨基酸侧链; 并且

[0476] Q选自由N-羟基琥珀酰亚胺基、N-羟基磺基琥珀酰亚胺基、马来酰亚胺和苯氧基组成的组, 经一个或多个独立地选自F、Cl、NO<sub>2</sub>和SO<sub>3</sub><sup>-</sup>的基团取代;

[0477] 其中烷基、烷二基、烯基、烯二基、炔基、炔二基、芳基、芳二基碳环基、碳环二基、杂

环基、杂环二基、杂芳基和杂芳二基任选地经一个或多个独立地选自以下的基团取代：F、Cl、Br、I、-CN、-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH=CH<sub>2</sub>、-C≡CH、-C≡CCH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>OH、-CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>OH、-CH(OH)CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>OP(O)(OH)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>F、-CHF<sub>2</sub>、-CF<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CHF<sub>2</sub>、-CH(CH<sub>3</sub>)CN、-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CN、-CH<sub>2</sub>CN、-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>NHSO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>NHCH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-CO<sub>2</sub>H、-COCH<sub>3</sub>、-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>、-COCH(OH)CH<sub>3</sub>、-CONH<sub>2</sub>、-CONHCH<sub>3</sub>、-CON(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>、-NH<sub>2</sub>、-NHCH<sub>3</sub>、-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-NHCOCH<sub>3</sub>、-N(CH<sub>3</sub>)COCH<sub>3</sub>、-NHS(O)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-N(CH<sub>3</sub>)C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>、-N(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>S(O)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-NHC(=NH)H、-NHC(=NH)CH<sub>3</sub>、-NHC(=NH)NH<sub>2</sub>、-NHC(=O)NH<sub>2</sub>、-NO<sub>2</sub>、=O、-OH、-OCH<sub>3</sub>、-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>、-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>CO<sub>2</sub>H、-O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>H、-OP(O)(OH)<sub>2</sub>、-S(O)<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-SCH<sub>3</sub>、-S(O)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>和-S(O)<sub>3</sub>H。

[0478] 式II的氨基苯并氮唑-连接子化合物的示例性实施方案包括其中PEP选自下组：



[0482] 其中n是1或大于1,并且AA是氨基酸侧链。

[0483] 式II的氨基苯并氮唑-连接子化合物的示例性实施方案包括其中AA<sub>1</sub>和AA<sub>2</sub>独立地选自天然存在的氨基酸的侧链。

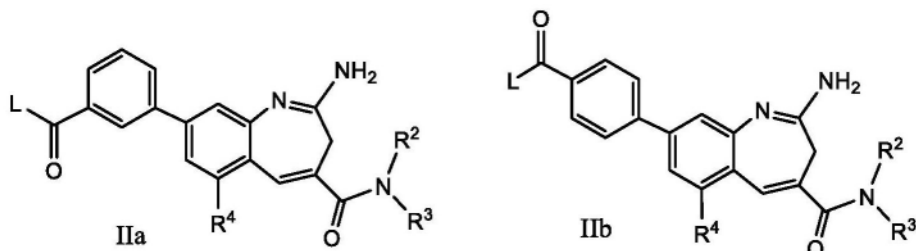
[0484] 式II的氨基苯并氮唑-连接子化合物的示例性实施方案包括其中AA<sub>1</sub>和AA<sub>2</sub>独立地

选自H、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{CH}_2(\text{C}_6\text{H}_5)$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{SO}_3\text{H}$ 和 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHC}(\text{O})\text{NH}_2$ 。

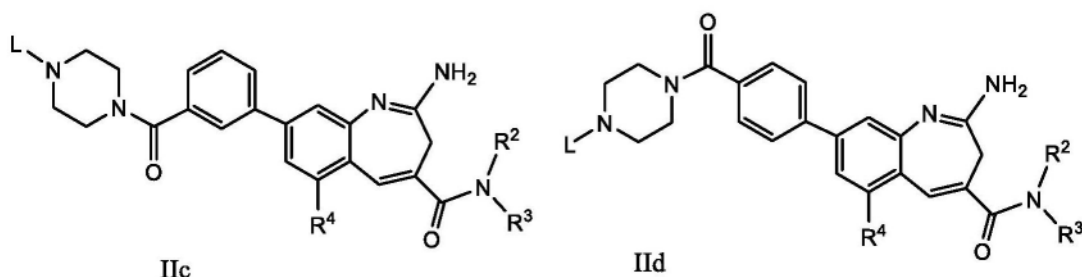
[0485] 式II的氨基苯并氮呋-连接子化合物的示例性实施方案包括其中 $\text{AA}_1$ 是 $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ，并且 $\text{AA}_2$ 是 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHC}(\text{O})\text{NH}_2$ 。

[0486] 式II的氨基苯并氮呋-连接子化合物的示例性实施方案包括其中 $\text{AA}_1$ 和 $\text{AA}_2$ 独立地选自GlcNAc天冬氨酸、 $-\text{CH}_2\text{SO}_3\text{H}$ 和 $-\text{CH}_2\text{OPo}_3\text{H}$ 。

[0487] 式II的氨基苯并氮呋-连接子化合物的示例性实施方案选自式IIa-d：

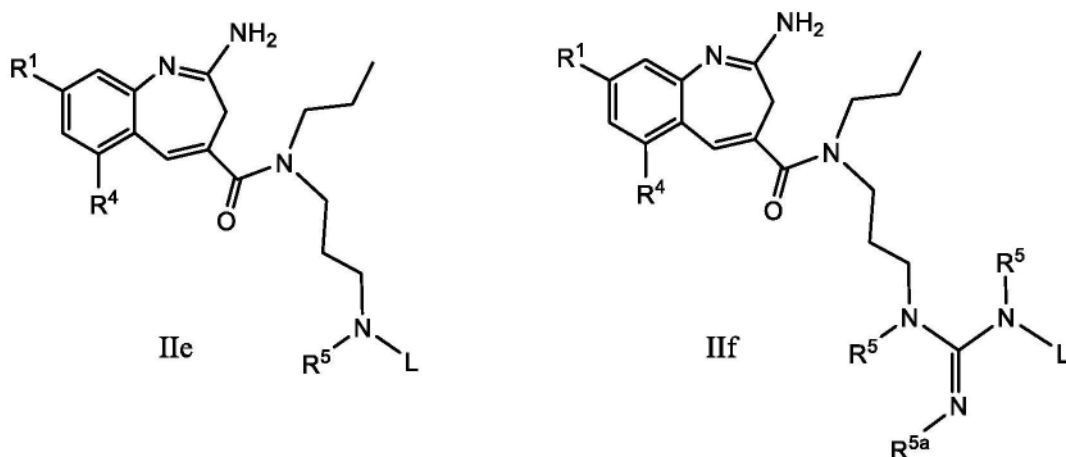


[0488]



[0489] 式II的氨基苯并氮呋-连接子化合物的示例性实施方案选自式IIe和IIf：

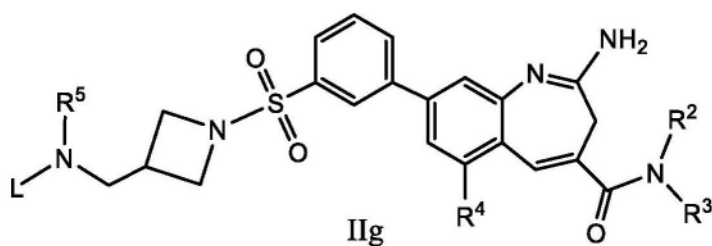
[0490]



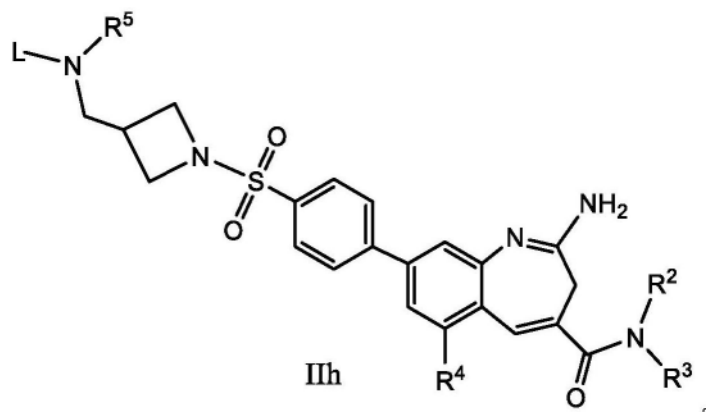
[0491] 其中式IIff的 $\text{R}^{5a}$ 是苯基，任选地经一个或多个选自F、Cl、Br、I、 $-\text{CN}$ 和 $-\text{NO}_2$ 的基团取代。

[0492] 式II的氨基苯并氮呋-连接子化合物的示例性实施方案包括其中L是 $\text{Q}-\text{C}(=\text{O})-(\text{PEG})-$ 或 $\text{Q}-\text{C}(=\text{O})-(\text{PEG})-\text{C}(=\text{O})-$ 。

[0493] 式II的氨基苯并氮呋-连接子化合物的示例性实施方案选自式IIg和IIh：



[0494]



[0495] 式II的氨基苯并氮唑-连接子化合物的示例性实施方案包括其中L是-C(=O)-(PEG)-C(=O)-(PEP)-。

[0496] 式II的氨基苯并氮唑-连接子化合物的示例性实施方案包括其中R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>各自是C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基。

[0497] 式II的氨基苯并氮唑-连接子化合物的示例性实施方案包括其中R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>各自是-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>。

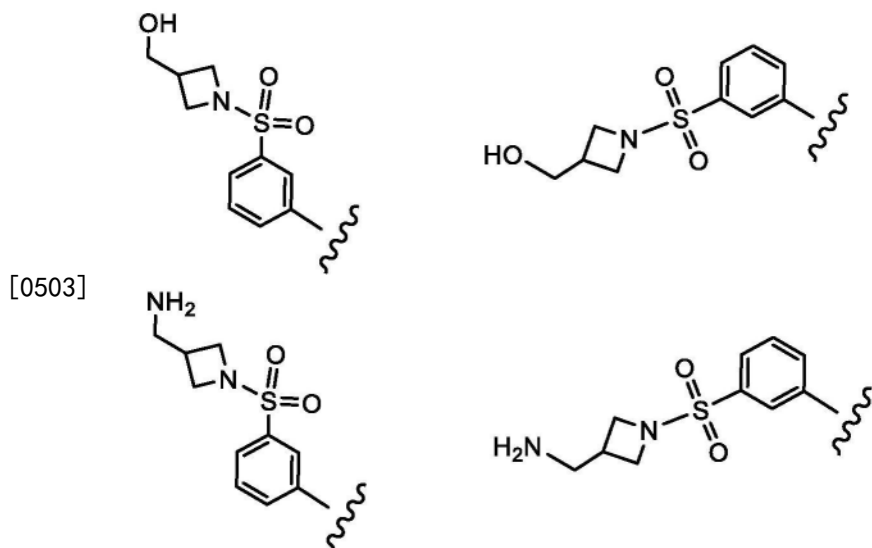
[0498] 式II的氨基苯并氮唑-连接子化合物的示例性实施方案包括其中X<sup>2</sup>和X<sup>3</sup>各自是一键,并且R<sup>2</sup>或R<sup>3</sup>是-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基)。

[0499] 式II的氨基苯并氮唑-连接子化合物的示例性实施方案包括其中X<sup>2</sup>和X<sup>3</sup>各自是一键,并且R<sup>2</sup>或R<sup>3</sup>是-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>。

[0500] 式II的氨基苯并氮唑-连接子化合物的示例性实施方案包括其中R<sup>1</sup>和R<sup>4</sup>中的一者选自-(C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基)-S(=O)<sub>2</sub>-(C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>杂环二基)-(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基)-N(R<sup>5</sup>)<sub>2</sub>和-(C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基)-S(=O)<sub>2</sub>-(C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>杂环二基)-(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基)-OH。

[0501] 式II的氨基苯并氮唑-连接子化合物的示例性实施方案包括其中C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基是苯二基并且C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>杂环二基是氮杂环丁二基。

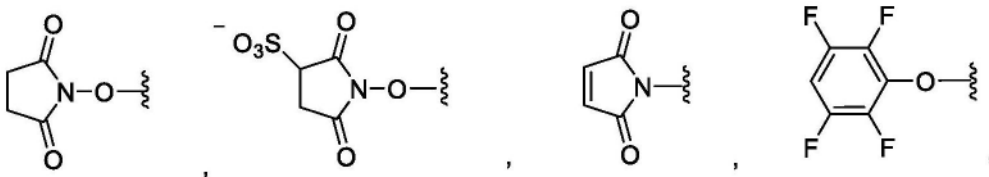
[0502] 式II的氨基苯并氮唑-连接子化合物的示例性实施方案选自下式:



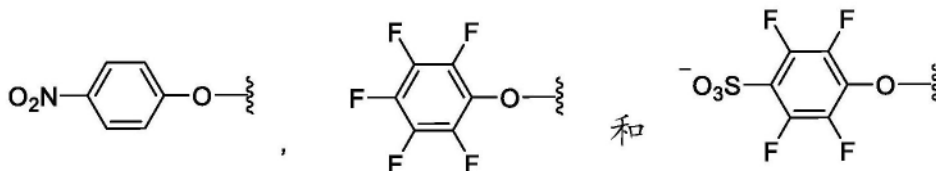
[0504] 式II的氨基苯并氮呋-连接子化合物的示例性实施方案包括其中R<sup>1</sup>和R<sup>4</sup>中的一者是-C(=O)NR<sup>5</sup>-(C<sub>1</sub>-C<sub>90</sub>杂芳二基)-(C<sub>2</sub>-C<sub>90</sub>杂环二基)-C(=O)NR<sup>5</sup>-(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基)-NR<sup>5</sup>-L。

[0505] 式II的氨基苯并氮唑-连接子化合物的示例性实施方案包括其中C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳二基是吡啶二基并且C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>杂环二基是哌啶二基。

[0506] 式II的氨基苯并氮唑-连接子化合物的示例性实施方案包括其中Q选自：



[0507]

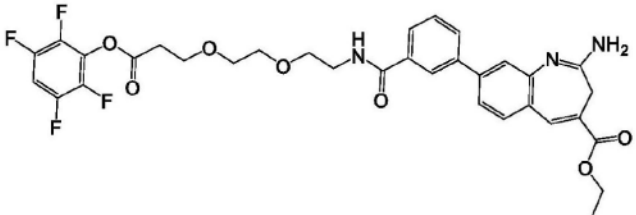
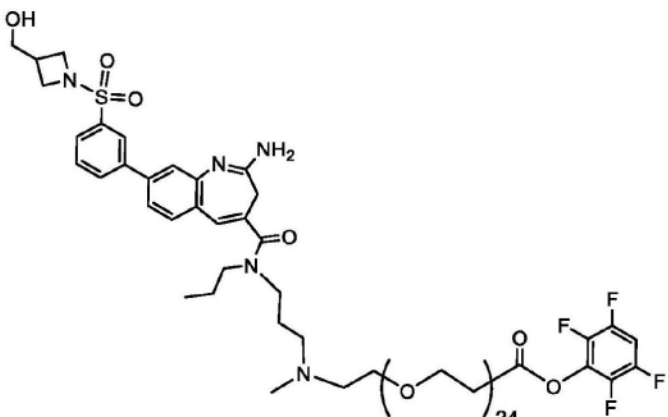
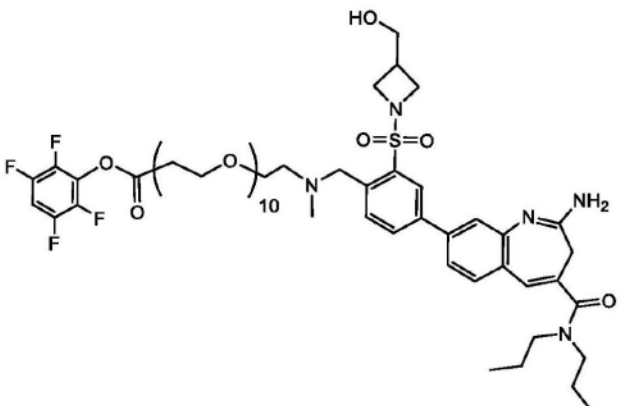
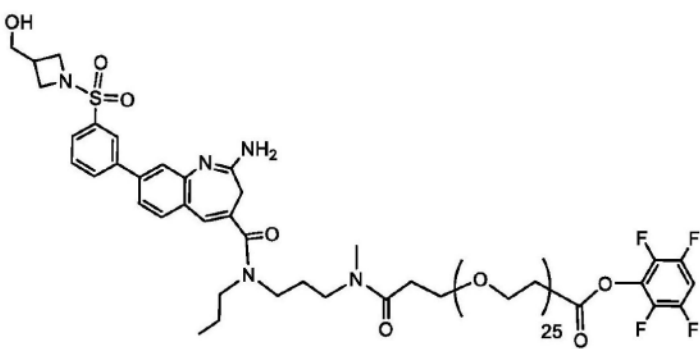


[0508] 本发明包括式II实施方案的所有合理组合和特征排列。

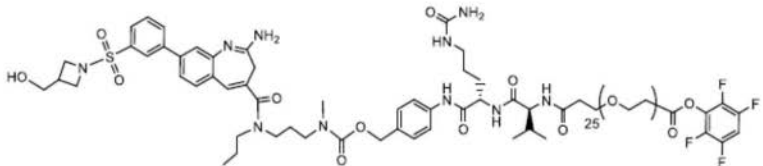
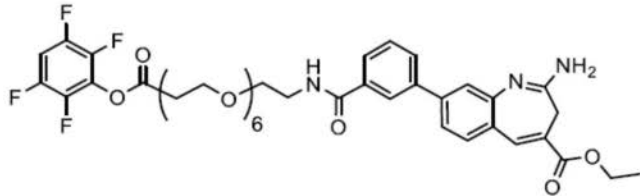
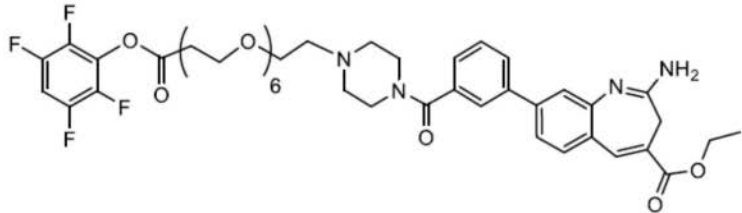
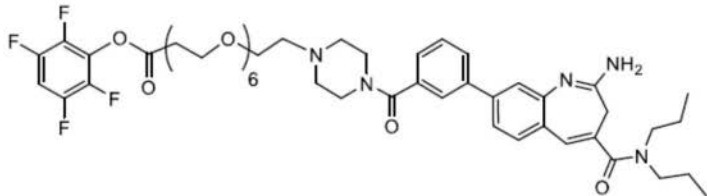
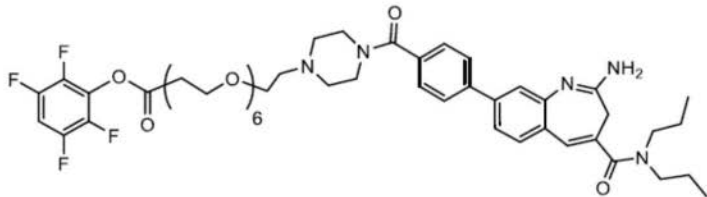
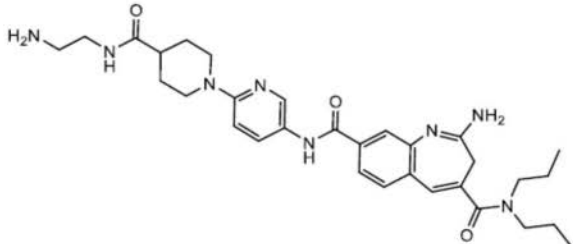
[0509] 式II的氨基苯并氮呋-连接子化合物的示例性实施方案选自表2a、2b和2c化合物。每种化合物是通过本文所提供的实施例中的方法合成和纯化,通过质谱法表征,并且显示具有所指示的质量。表2a、2b和2c的氨基苯并氮呋-连接子化合物证明TLR8激动剂选择性的令人惊讶并且意想不到的特性,其可以预测可用于治疗癌症和其它病症的治疗活性。

[0510] 表2a:氨基苯并氮唑-连接子式II化合物(BzL)和中间体



| BzL<br>编号 | 结构                                                                                   | MW     |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| BzL-1     |    | 657.6  |
| BzL-2     |    | 1817.1 |
| BzL-3     |   | 1214.4 |
| BzL-4     |  | 1889.1 |

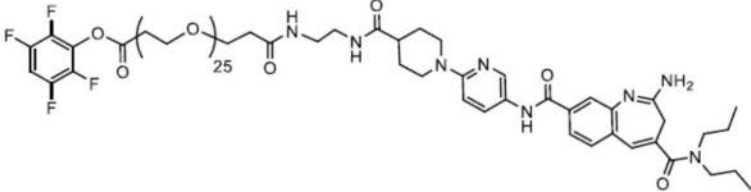
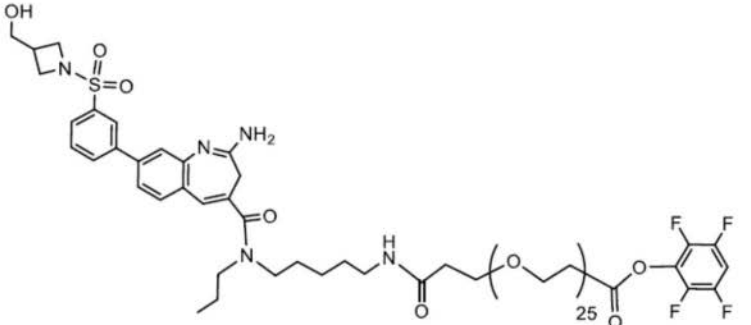
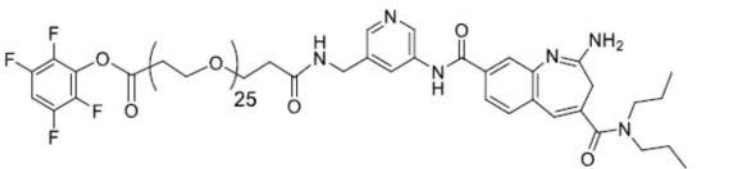
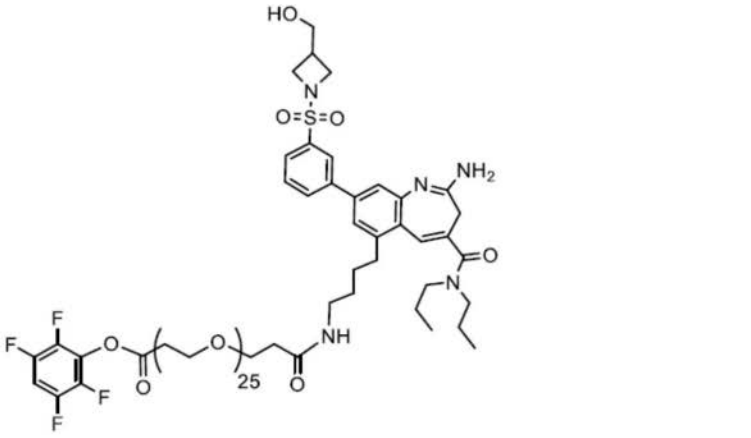
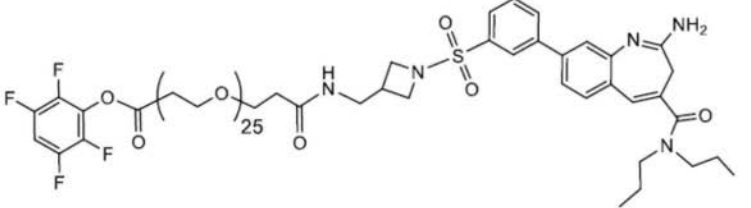
[0511]

|        |                                                                                      |        |
|--------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| BzL-5  |    | 2294.6 |
| BzL-6  |    | 833.82 |
| BzL-7  |    | 902.9  |
| BzL-8  |   | 958.1  |
| BzL-9  |  | 958.1  |
| BzL-10 |  | 574.7  |

[0512]

[illegible]

[0514]

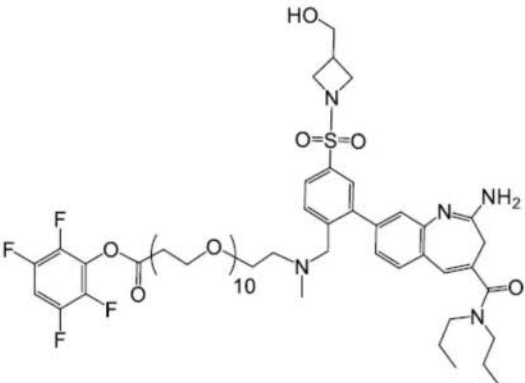
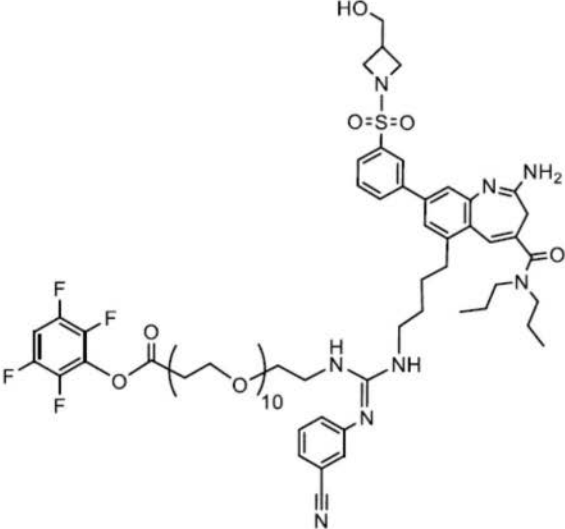
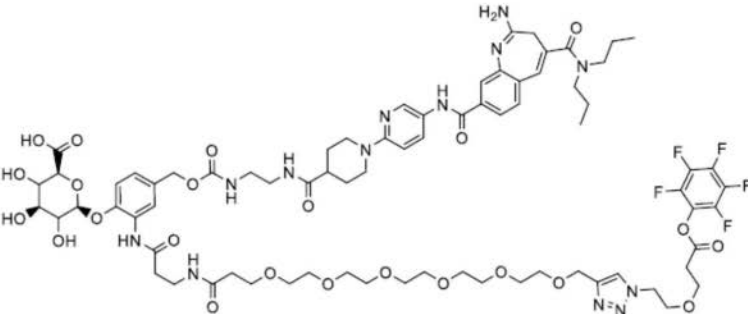
|        |                                                                                      |        |
|--------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| BzL-16 |    | 1924.2 |
| BzL-17 |    | 1903.2 |
| BzL-18 |    | 1784   |
| BzL-19 |   | 1931.2 |
| BzL-20 |  | 1859.1 |



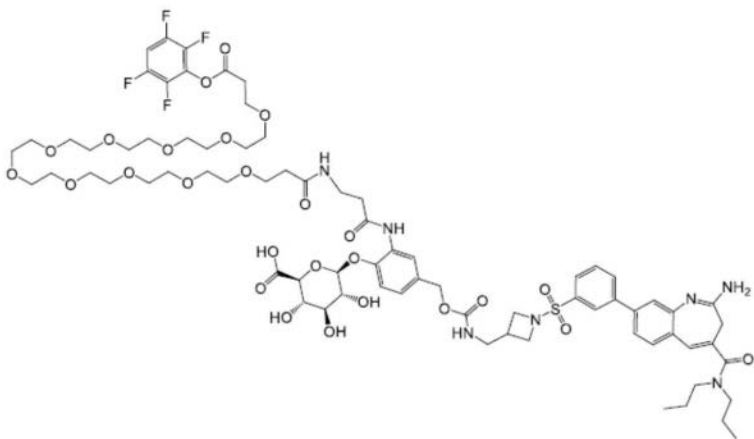
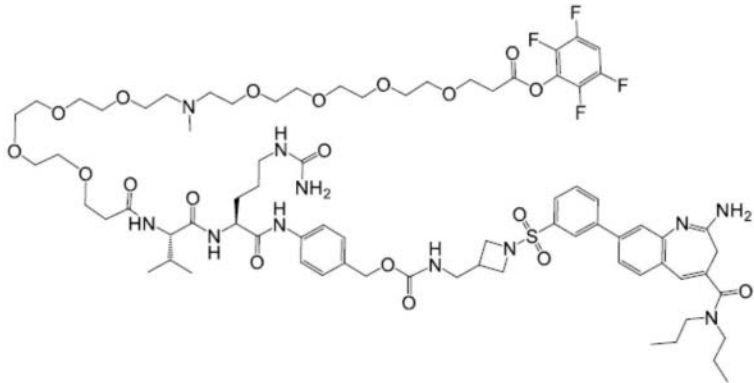
|        |  |        |
|--------|--|--------|
| BzL-24 |  | 2336.7 |
| BzL-25 |  | 888.95 |
| BzL-26 |  | 915.1  |
| BzL-27 |  | 2039.3 |

[0516]

[0517]

|        |                                                                                      |        |
|--------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| BzL-28 |     | 1214.4 |
| BzL-29 |   | 1385.6 |
| BzL-30 |  | 1642.6 |

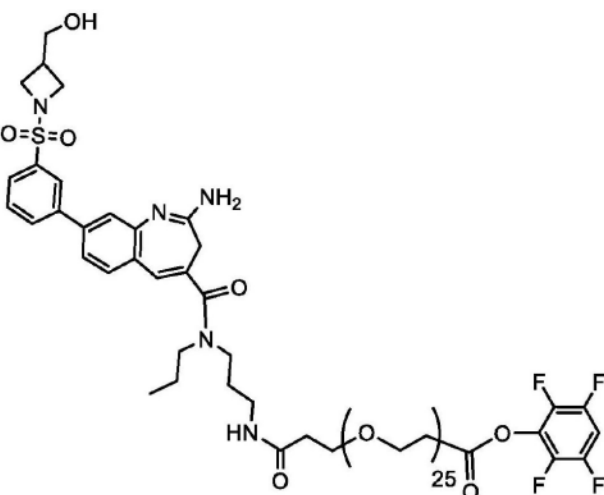
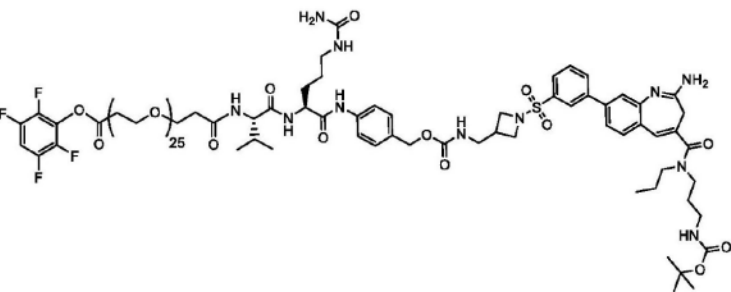
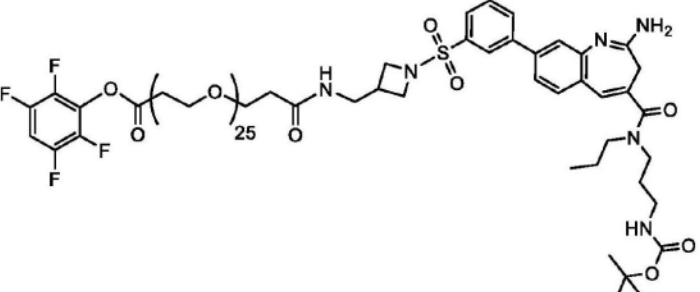
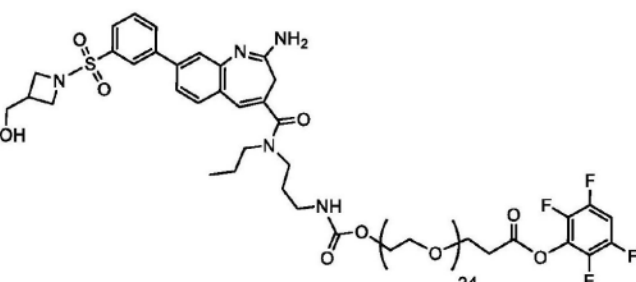
[0518]

|        |                                                                                                                                                                                                                                                  |        |
|--------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| BzL-31 |  <p>Chemical structure of BzL-31, a complex molecule featuring a fluorinated benzene ring, a polyether chain, a sugar moiety, and a quinoline derivative.</p>  | 1610.7 |
| BzL-32 |  <p>Chemical structure of BzL-32, a complex molecule featuring a fluorinated benzene ring, a polyether chain, a sugar moiety, and a quinoline derivative.</p> | 1572.8 |

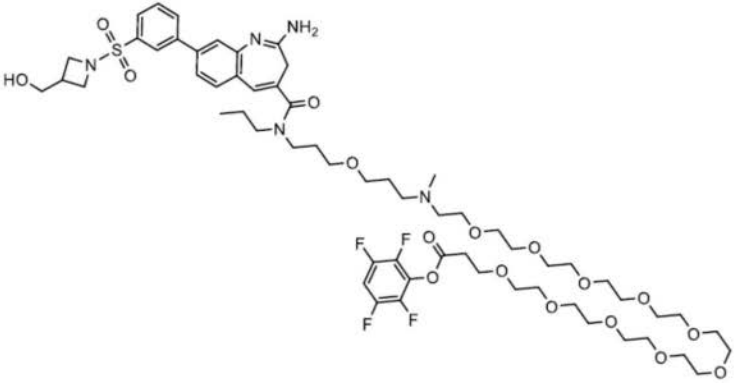
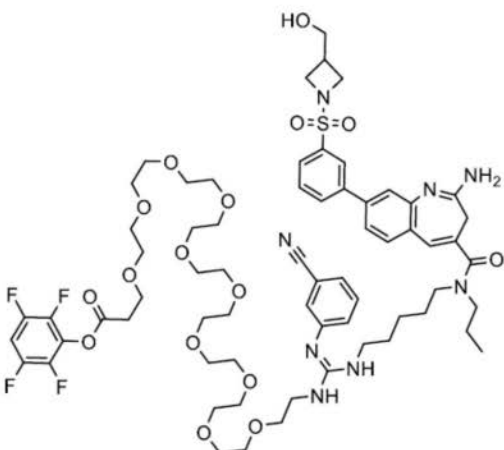
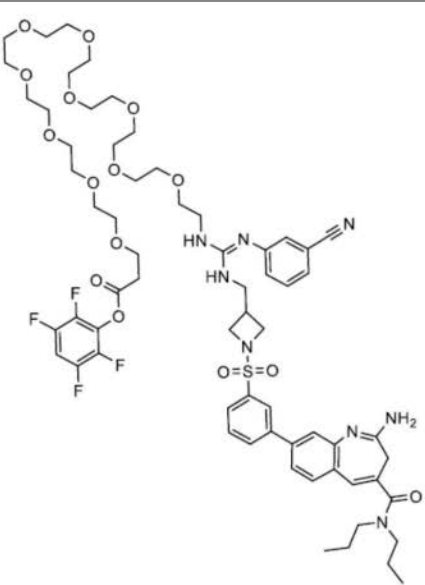
[0519] 表2b:氨基苯并氮呋-连接子式II化合物 (BzL) 和中间体



[0520]

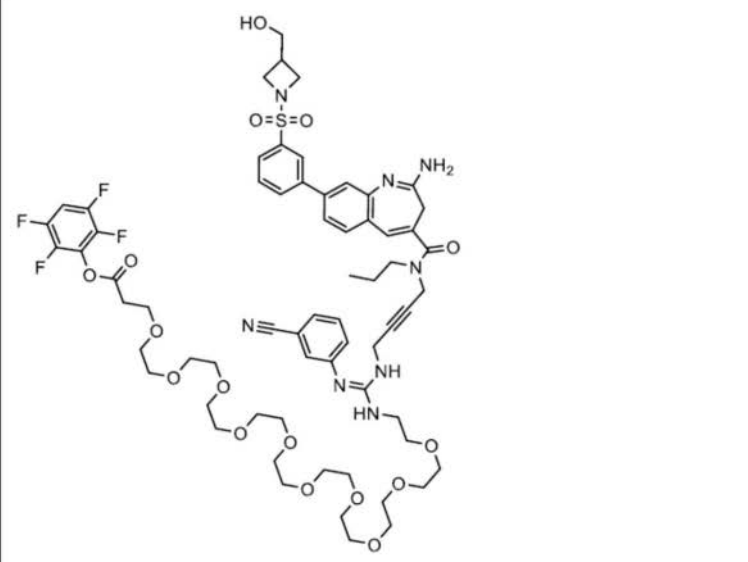
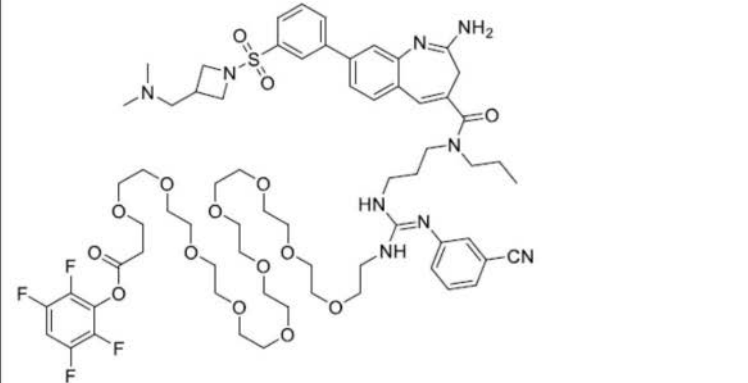
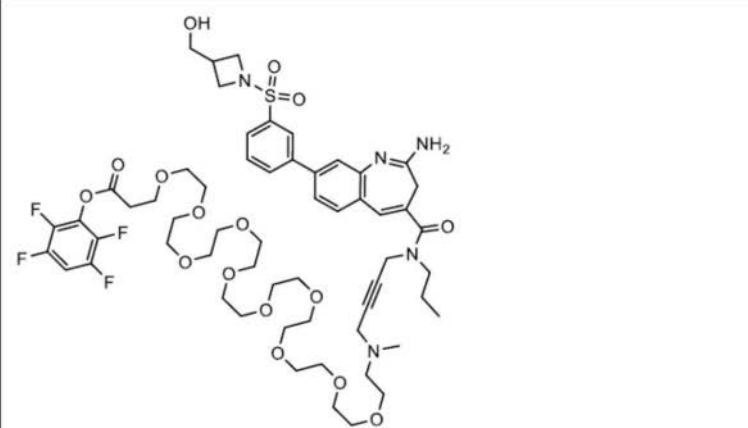
| BzL<br>编号 | 结构                                                                                   | MW     |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| BzL-33    |    | 1875.1 |
| BzL-34    |   | 2379.7 |
| BzL-35    |  | 1974.2 |
| BzL-36    |  | 1847.1 |

[0521]

|        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |        |
|--------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| BzL-37 |  <p>Chemical structure of BzL-37: A complex molecule featuring a quinoline ring system. The quinoline has an amino group (NH<sub>2</sub>) at position 2 and a carbonyl group at position 3. The carbonyl is part of a side chain that includes a tertiary amine (N-ethyl) and a long, branched polyether chain. The polyether chain is terminated by a 2,4,6-trifluorophenyl group. A sulfonamide group (SO<sub>2</sub>NH-) is attached to the quinoline ring via a phenyl linker, with a hydroxymethyl group (CH<sub>2</sub>OH) attached to the nitrogen of the sulfonamide.</p>  | 1258.4 |
| BzL-38 |  <p>Chemical structure of BzL-38: A complex molecule featuring a quinoline ring system. The quinoline has an amino group (NH<sub>2</sub>) at position 2 and a carbonyl group at position 3. The carbonyl is part of a side chain that includes a tertiary amine (N-ethyl) and a long, branched polyether chain. The polyether chain is terminated by a 2,4,6-trifluorophenyl group. A sulfonamide group (SO<sub>2</sub>NH-) is attached to the quinoline ring via a phenyl linker, with a hydroxymethyl group (CH<sub>2</sub>OH) attached to the nitrogen of the sulfonamide.</p>  | 1357.5 |
| BzL-39 |  <p>Chemical structure of BzL-39: A complex molecule featuring a quinoline ring system. The quinoline has an amino group (NH<sub>2</sub>) at position 2 and a carbonyl group at position 3. The carbonyl is part of a side chain that includes a tertiary amine (N-ethyl) and a long, branched polyether chain. The polyether chain is terminated by a 2,4,6-trifluorophenyl group. A sulfonamide group (SO<sub>2</sub>NH-) is attached to the quinoline ring via a phenyl linker, with a hydroxymethyl group (CH<sub>2</sub>OH) attached to the nitrogen of the sulfonamide.</p> | 1313.5 |

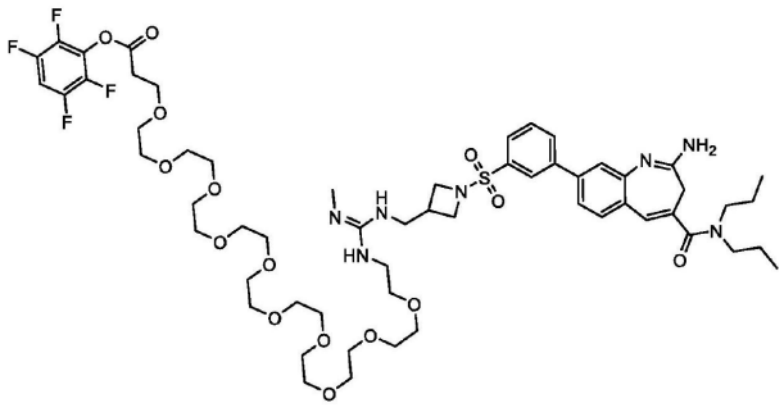
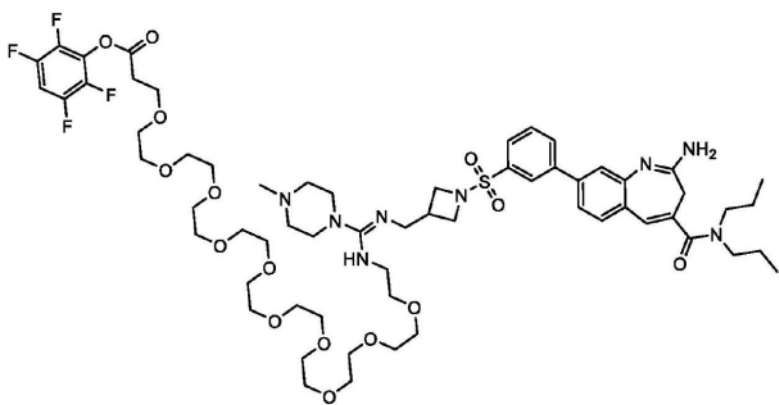
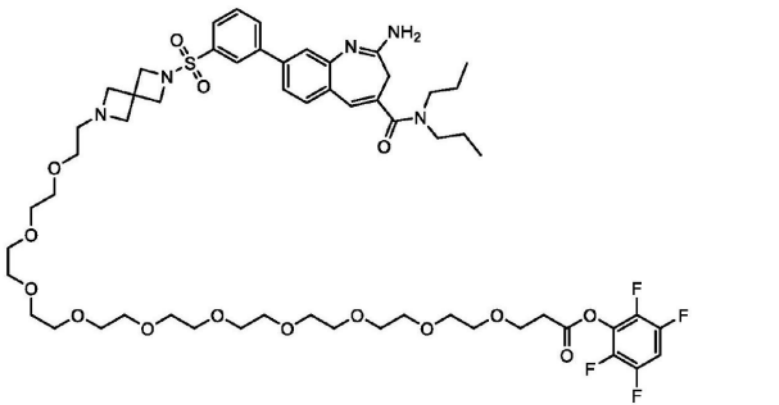
|        |  |        |
|--------|--|--------|
| BzL-40 |  | 1246.4 |
| BzL-41 |  | 1299.5 |
| BzL-42 |  | 1885.1 |

[0523]

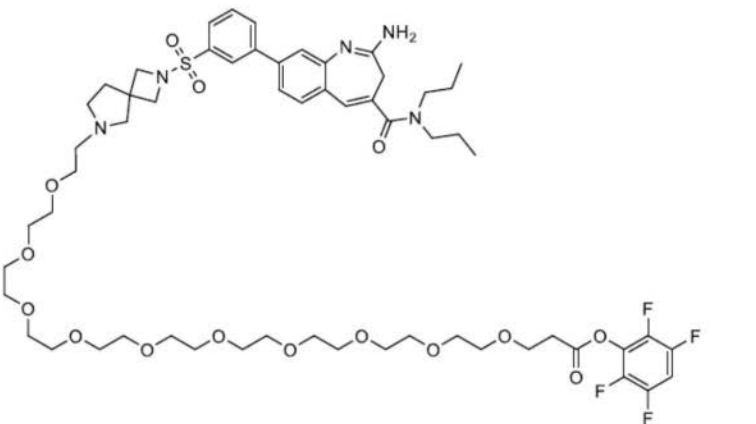
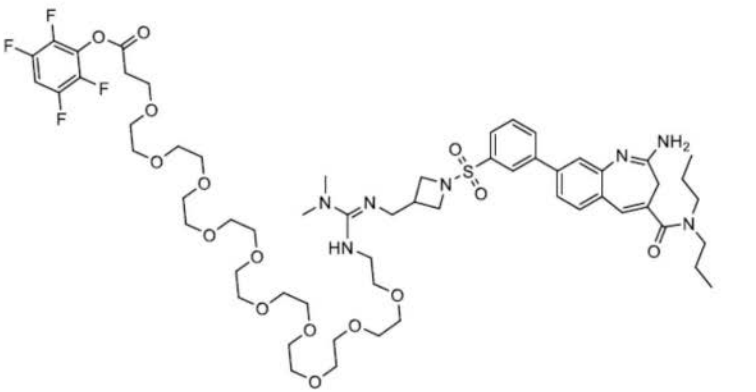
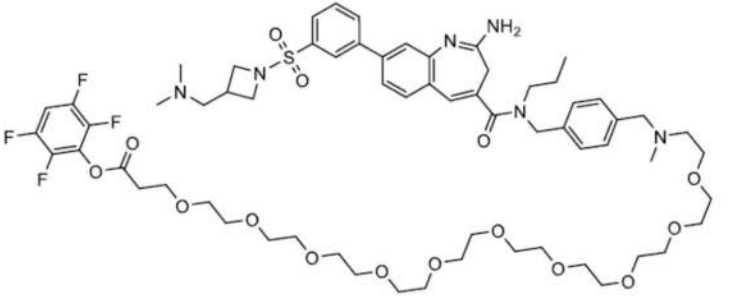
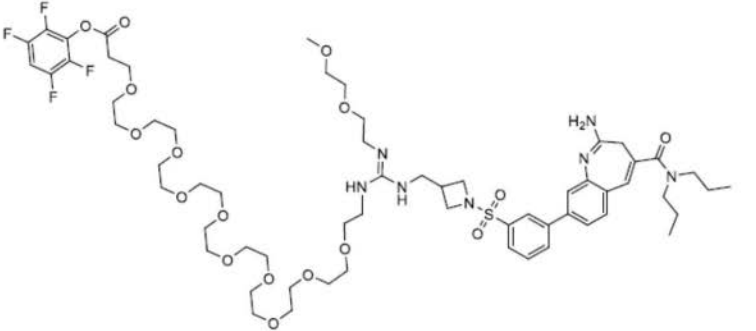
|        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |        |
|--------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| BzL-43 |  <p>Chemical structure of BzL-43: A complex molecule featuring a 4-fluorophenyl group connected via an ester linkage to a polyether chain. The chain is further substituted with a 4-cyanophenyl group, a 4-aminophenyl group, and a 4-hydroxyphenyl group. The structure also includes a 4-aminophenyl group and a 4-cyanophenyl group.</p>   | 1339.5 |
| BzL-44 |  <p>Chemical structure of BzL-44: A complex molecule featuring a 4-fluorophenyl group connected via an ester linkage to a polyether chain. The chain is further substituted with a 4-cyanophenyl group, a 4-aminophenyl group, and a 4-hydroxyphenyl group. The structure also includes a 4-aminophenyl group and a 4-cyanophenyl group.</p>  | 1356.5 |
| BzL-45 |  <p>Chemical structure of BzL-45: A complex molecule featuring a 4-fluorophenyl group connected via an ester linkage to a polyether chain. The chain is further substituted with a 4-cyanophenyl group, a 4-aminophenyl group, and a 4-hydroxyphenyl group. The structure also includes a 4-aminophenyl group and a 4-cyanophenyl group.</p> | 1210.3 |

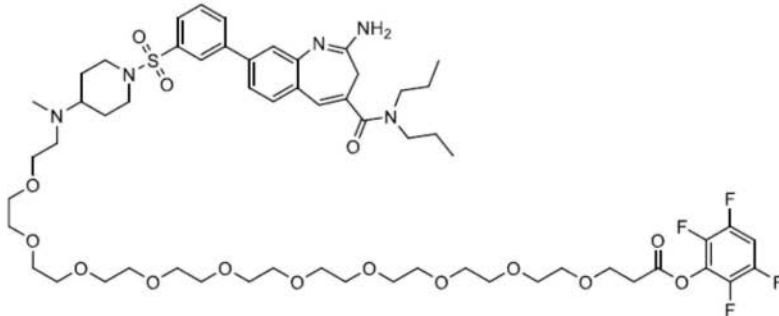
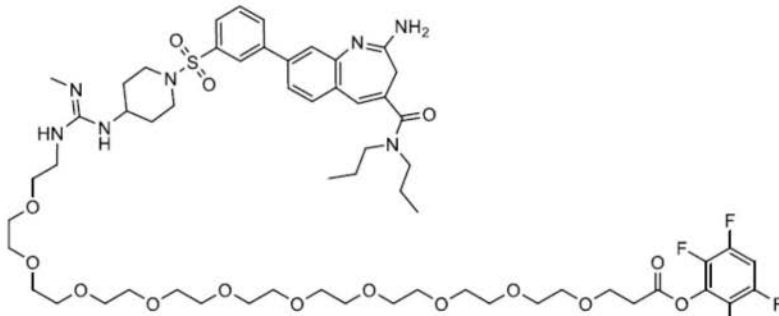
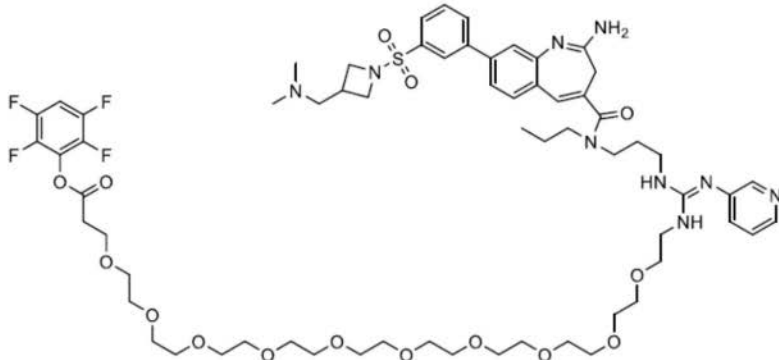
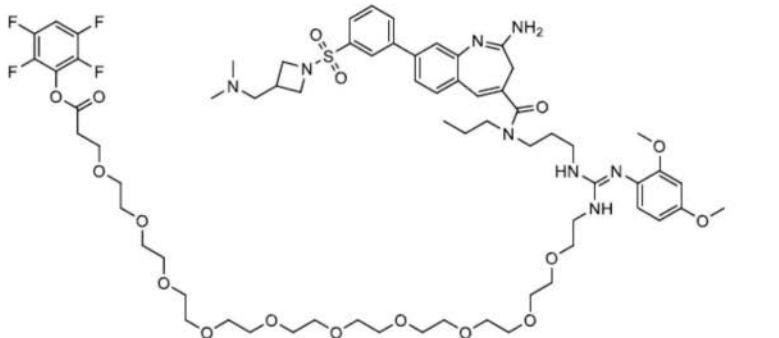
[illegible]

[0525] 表2c:氨基苯并氮唑-连接子式II化合物 (BzL) 和中间体

| BzL<br>编号 | 结构                                                                                   | MW     |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| BzL-49    |    | 1226.4 |
| BzL-50    |   | 1295.5 |
| BzL-51    |  | 1182.3 |

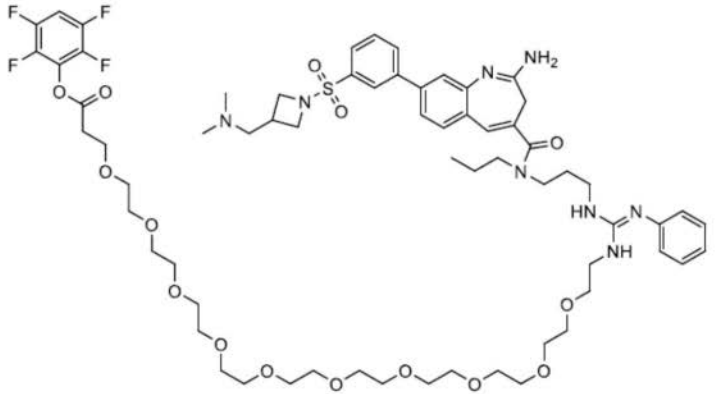
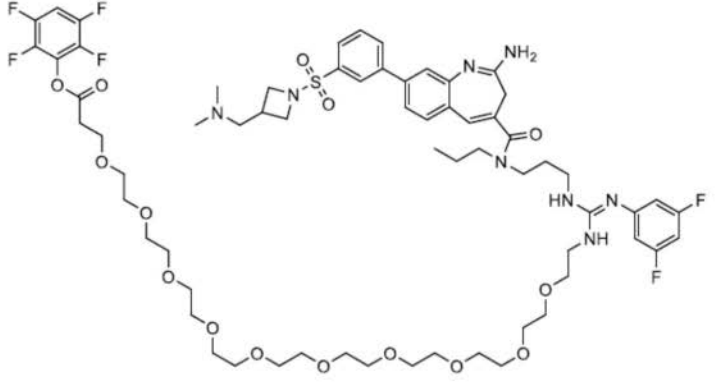
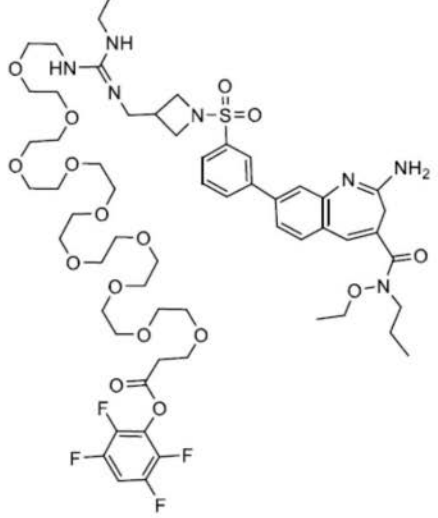
[0526]

|        |                                                                                      |        |
|--------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| BzL-52 |    | 1196.4 |
| BzL-53 |   | 1240.4 |
| BzL-54 |  | 1289.5 |
| BzL-55 |  | 1314.5 |

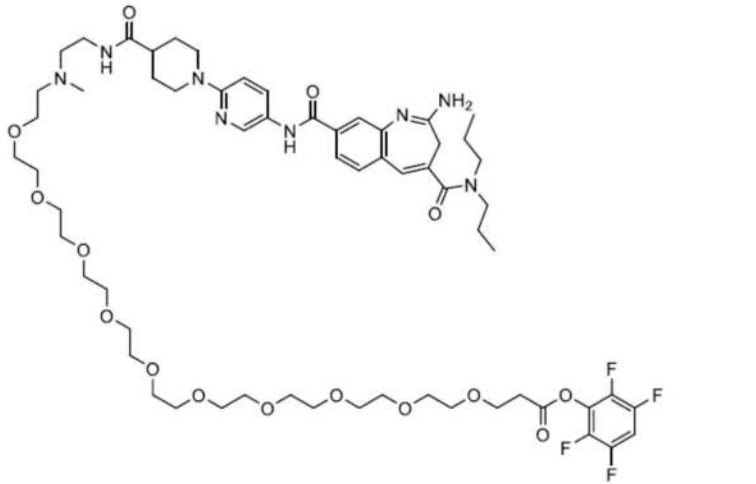
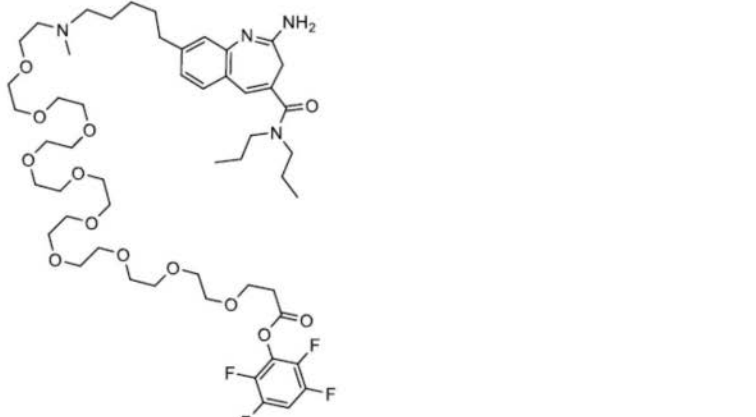
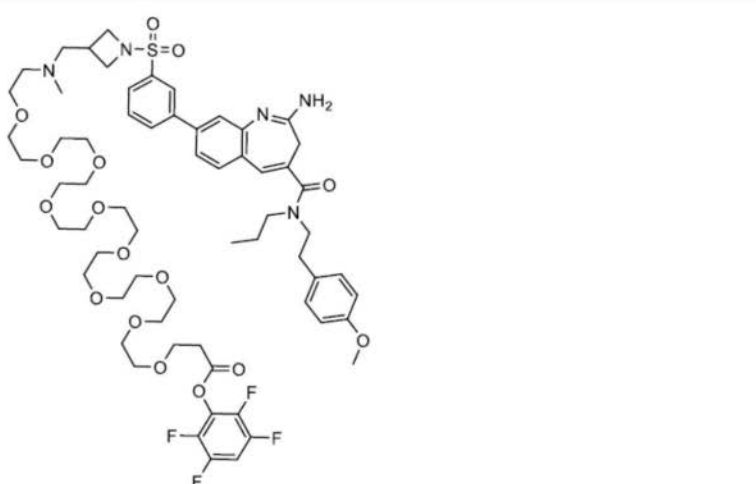
|               |                                                                                      |        |
|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| BzL-56        |    | 1198.4 |
| BzL-57        |    | 1240.4 |
| [0528] BzL-58 |   | 1332.5 |
| BzL-59        |  | 1391.6 |

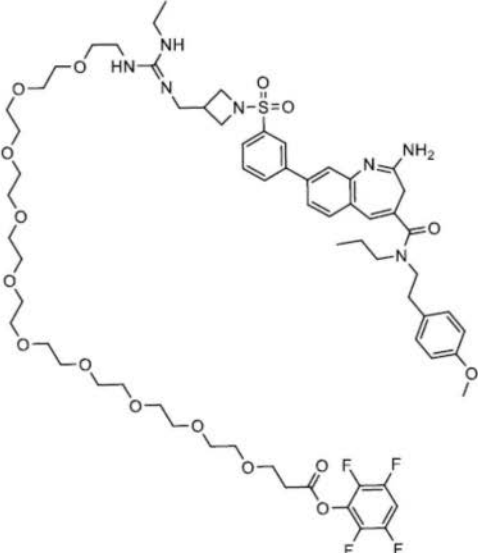
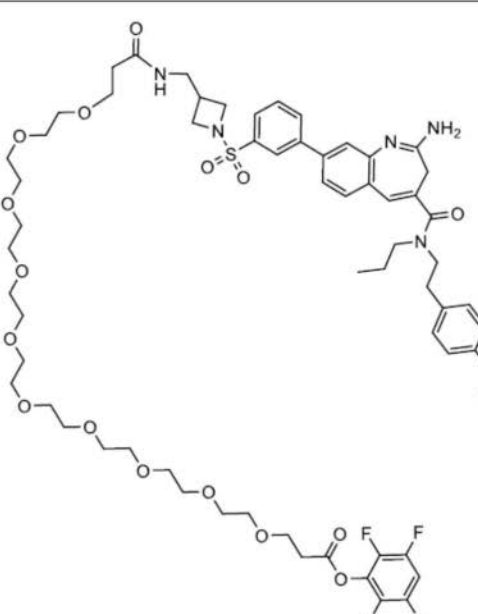


[0529]

|        |                                                                                     |        |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| BzL-60 |   | 1331.5 |
| BzL-61 |   | 1367.5 |
| BzL-62 |  | 1242.4 |

[0530]

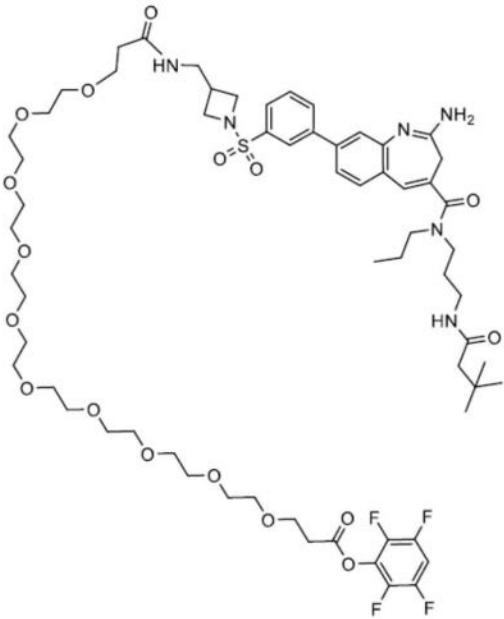
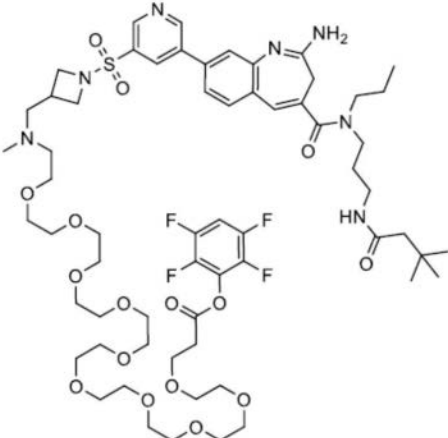
|        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |        |
|--------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| BzL-63 |  <p>Chemical structure of BzL-63: A complex molecule featuring a long polyether chain (1,3-bis(2-methoxyethyl)oxy) connected to a pyridine ring via an amide linkage. The pyridine ring is further connected to a quinoline system, which is substituted with a 2-amino-1-ethyl-3-ethyl-1H-imidazo[4,5-b]pyridine moiety. The quinoline system is also connected to a 2,4,6-trifluorophenyl group via an amide linkage.</p>   | 1249.4 |
| BzL-64 |  <p>Chemical structure of BzL-64: A complex molecule featuring a long polyether chain (1,3-bis(2-methoxyethyl)oxy) connected to a pyridine ring via an amide linkage. The pyridine ring is further connected to a quinoline system, which is substituted with a 2-amino-1-ethyl-3-ethyl-1H-imidazo[4,5-b]pyridine moiety. The quinoline system is also connected to a 2,4,6-trifluorophenyl group via an amide linkage.</p>  | 1045.2 |
| BzL-65 |  <p>Chemical structure of BzL-65: A complex molecule featuring a long polyether chain (1,3-bis(2-methoxyethyl)oxy) connected to a pyridine ring via an amide linkage. The pyridine ring is further connected to a quinoline system, which is substituted with a 2-amino-1-ethyl-3-ethyl-1H-imidazo[4,5-b]pyridine moiety. The quinoline system is also connected to a 2,4,6-trifluorophenyl group via an amide linkage.</p> | 1276.4 |

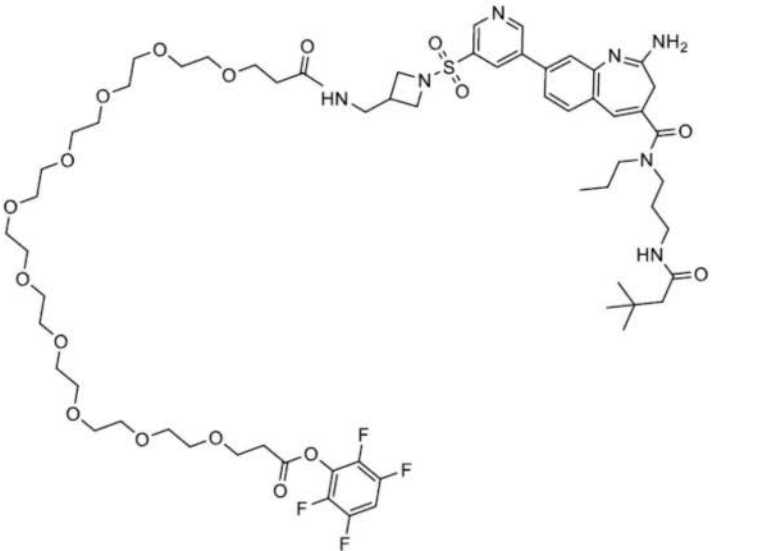
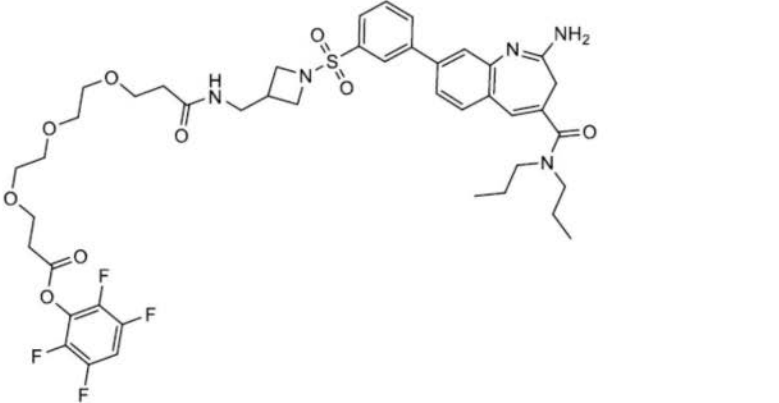
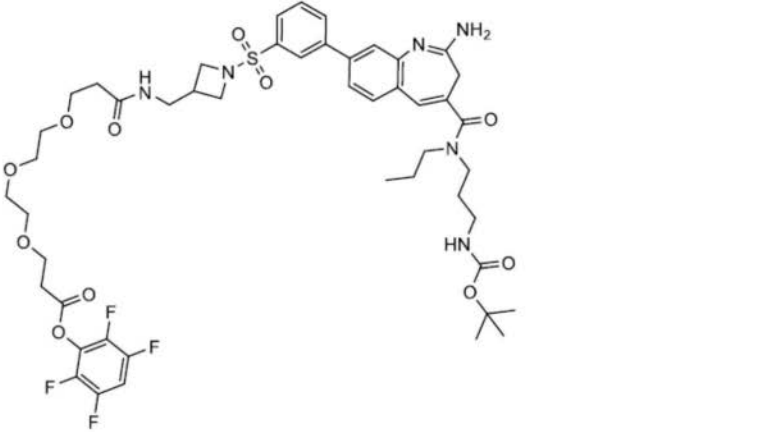
|                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |               |
|--------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| <p>BzL-66</p>            |  <p>The chemical structure of BzL-66 features a long, flexible poly(ethylene glycol) (PEG) chain. At one end of the PEG chain is a 4-(4-methoxybenzyl)ethylcarbamoyl group. The other end of the PEG chain is connected via an amide bond to a 4-(4-methoxybenzyl)ethylcarbamoyl group. This group is further linked to a 4-(4-methoxybenzyl)ethylcarbamoyl group, which is connected to a 4-(4-methoxybenzyl)ethylcarbamoyl group. The structure also includes a 4-(4-methoxybenzyl)ethylcarbamoyl group and a 4-(4-methoxybenzyl)ethylcarbamoyl group. The molecule is terminated with a 4-(4-methoxybenzyl)ethylcarbamoyl group.</p>                         | <p>1332.5</p> |
| <p>[0531]<br/>BzL-67</p> |  <p>The chemical structure of BzL-67 is similar to BzL-66, featuring a long, flexible poly(ethylene glycol) (PEG) chain. At one end of the PEG chain is a 4-(4-methoxybenzyl)ethylcarbamoyl group. The other end of the PEG chain is connected via an amide bond to a 4-(4-methoxybenzyl)ethylcarbamoyl group. This group is further linked to a 4-(4-methoxybenzyl)ethylcarbamoyl group, which is connected to a 4-(4-methoxybenzyl)ethylcarbamoyl group. The structure also includes a 4-(4-methoxybenzyl)ethylcarbamoyl group and a 4-(4-methoxybenzyl)ethylcarbamoyl group. The molecule is terminated with a 4-(4-methoxybenzyl)ethylcarbamoyl group.</p> | <p>1290.4</p> |





[0534]

|        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |        |
|--------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| BzL-72 |  <p>Chemical structure of BzL-72: A complex molecule featuring a central quinoline core. The quinoline is substituted with a sulfonamide group (-SO<sub>2</sub>NH-) linked to a long, flexible polyether chain (-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>O)<sub>10</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-). The quinoline also has an amino group (-NH<sub>2</sub>) and a carbonyl group (-C(=O)-) linked to a side chain containing a tertiary amine and a tert-butyl amide. A trifluoromethyl ester group (-COOCF<sub>3</sub>) is attached to the polyether chain.</p>                                                                                                                    | 1311.5 |
| BzL-73 |  <p>Chemical structure of BzL-73: A complex molecule featuring a central quinoline core. The quinoline is substituted with a sulfonamide group (-SO<sub>2</sub>NH-) linked to a side chain containing a tertiary amine and a tert-butyl amide. The quinoline also has an amino group (-NH<sub>2</sub>) and a carbonyl group (-C(=O)-) linked to a side chain containing a tertiary amine and a tert-butyl amide. A trifluoromethyl ester group (-COOCF<sub>3</sub>) is attached to the side chain. The molecule also features a long, flexible polyether chain (-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>O)<sub>10</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-) attached to the side chain.</p> | 1298.5 |

|        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |        |
|--------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| BzL-74 |  <p>Chemical structure of BzL-74: A complex molecule featuring a 4-aminopyridine ring connected via a sulfonamide group to a cyclobutane ring. The cyclobutane ring is linked to a long, flexible polyether chain. The polyether chain is terminated by a 2,4,6-trifluorophenyl group. The 4-aminopyridine ring is also substituted with a 2-ethyl-2-(tert-butylamino)ethyl group.</p>   | 1312.5 |
| BzL-75 |  <p>Chemical structure of BzL-75: A complex molecule featuring a 4-aminopyridine ring connected via a sulfonamide group to a cyclobutane ring. The cyclobutane ring is linked to a long, flexible polyether chain. The polyether chain is terminated by a 2,4,6-trifluorophenyl group. The 4-aminopyridine ring is also substituted with a 2-ethyl-2-(tert-butylamino)ethyl group.</p>  | 890.0  |
| BzL-76 |  <p>Chemical structure of BzL-76: A complex molecule featuring a 4-aminopyridine ring connected via a sulfonamide group to a cyclobutane ring. The cyclobutane ring is linked to a long, flexible polyether chain. The polyether chain is terminated by a 2,4,6-trifluorophenyl group. The 4-aminopyridine ring is also substituted with a 2-ethyl-2-(tert-butylamino)ethyl group.</p> | 1005.1 |

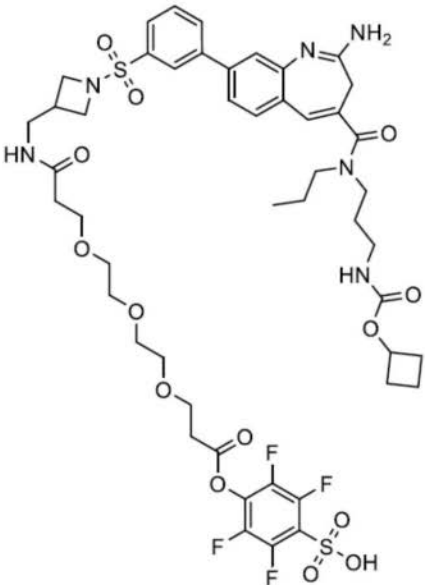
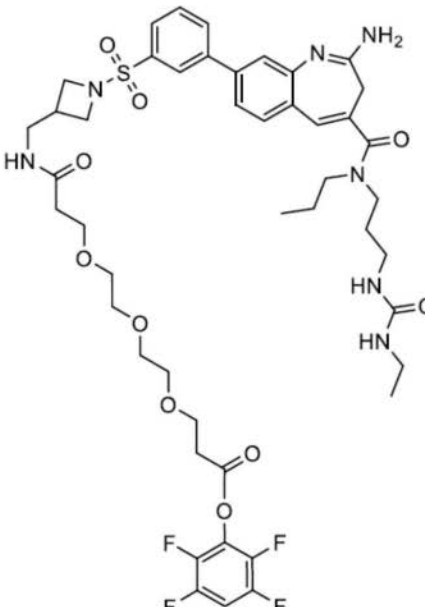
[0535]





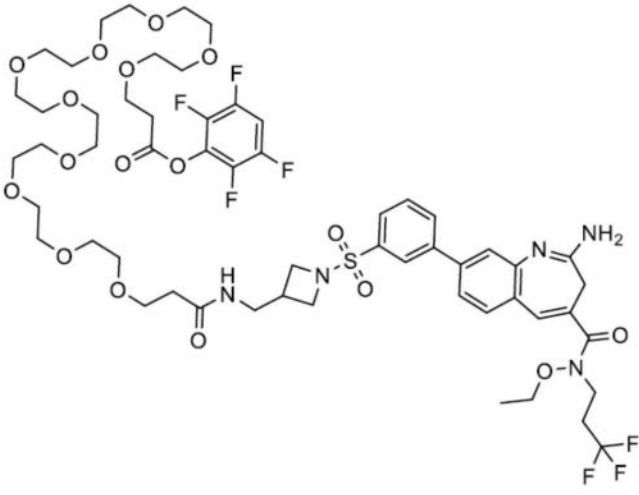
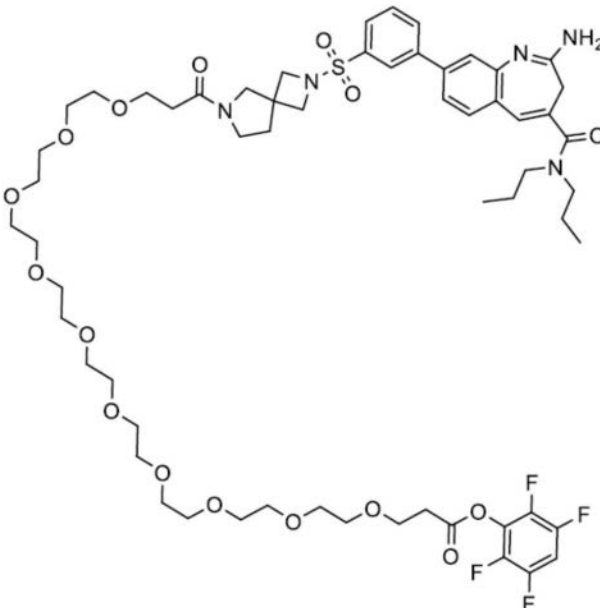


[0538]

|        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |        |
|--------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| BzL-82 |  <p>Chemical structure of BzL-82: A complex molecule featuring a quinoline core. The quinoline ring is substituted with an amino group (NH<sub>2</sub>) at position 2, a carbonyl group (C=O) at position 3, and a sulfonamide group (SO<sub>2</sub>NH-) at position 4. The sulfonamide group is linked to a cyclobutyl ring. The quinoline ring is also linked to a phenyl ring, which is further linked to a sulfonamide group (SO<sub>2</sub>NH-). The sulfonamide group is linked to a cyclobutyl ring. The quinoline ring is also linked to a phenyl ring, which is further linked to a sulfonamide group (SO<sub>2</sub>NH-). The sulfonamide group is linked to a cyclobutyl ring. The quinoline ring is also linked to a phenyl ring, which is further linked to a sulfonamide group (SO<sub>2</sub>NH-). The sulfonamide group is linked to a cyclobutyl ring.</p>  | 1083.1 |
| BzL-83 |  <p>Chemical structure of BzL-83: A complex molecule featuring a quinoline core. The quinoline ring is substituted with an amino group (NH<sub>2</sub>) at position 2, a carbonyl group (C=O) at position 3, and a sulfonamide group (SO<sub>2</sub>NH-) at position 4. The sulfonamide group is linked to a cyclobutyl ring. The quinoline ring is also linked to a phenyl ring, which is further linked to a sulfonamide group (SO<sub>2</sub>NH-). The sulfonamide group is linked to a cyclobutyl ring. The quinoline ring is also linked to a phenyl ring, which is further linked to a sulfonamide group (SO<sub>2</sub>NH-). The sulfonamide group is linked to a cyclobutyl ring. The quinoline ring is also linked to a phenyl ring, which is further linked to a sulfonamide group (SO<sub>2</sub>NH-). The sulfonamide group is linked to a cyclobutyl ring.</p> | 976.1  |

|        |  |        |
|--------|--|--------|
| BzL-84 |  | 1325.5 |
| BzL-85 |  | 977.0  |

[0540]

|        |                                                                                     |        |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| BzL-86 |   | 1254.3 |
| BzL-87 |  | 1224.4 |

[0541] 免疫缀合物

[0542] 免疫缀合物的示例性实施方案包含共价附接至二价连接子的抗体,所述二价连接子共价附接至一个或多个氨基苯并氮呋部分,并且所述免疫缀合物具有式I:

[0543]  $\text{Ab} - [\text{L-Bza}]_p \text{I}$ 

[0544] 或其药学上可接受的盐,

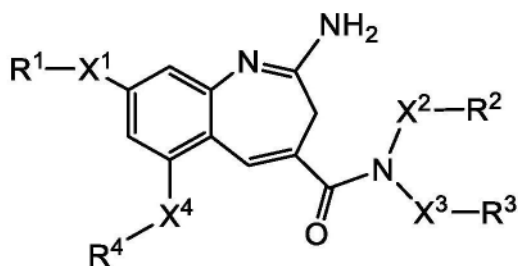
[0545] 其中:

[0546] Ab是抗体;

[0547] p是1至8的整数;

[0548] Bza是具有下式的氨基苯并氮呋部分:

[0549]



[0550]  $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 和 $R^4$ 独立地选自H、 $C_1$ - $C_{12}$ 烷基、 $C_2$ - $C_6$ 烯基、 $C_2$ - $C_6$ 炔基、 $C_3$ - $C_{12}$ 碳环基、 $C_6$ - $C_{20}$ 芳基、 $C_2$ - $C_9$ 杂环基和 $C_1$ - $C_{20}$ 杂芳基组成的组,其中烷基、烯基、炔基、碳环基、芳基、杂环基和杂芳基独立地并且任选地经一个或多个选自以下的基团取代:

[0551] - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) -  $N(R^5)$  - \*;

[0552] - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) -  $N(R^5)_2$ ;

[0553] - ( $C_3$ - $C_{12}$ 碳环基) ;

[0554] - ( $C_3$ - $C_{12}$ 碳环基) - \*;

[0555] - ( $C_3$ - $C_{12}$ 碳环基) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) -  $NR^5$  - \*;

[0556] - ( $C_3$ - $C_{12}$ 碳环基) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) -  $N(R^5)_2$ ;

[0557] - ( $C_3$ - $C_{12}$ 碳环基) -  $NR^5$  -  $C(=NR^5)NR^5$  - \*;

[0558] - ( $C_6$ - $C_{20}$ 芳基) ;

[0559] - ( $C_6$ - $C_{20}$ 芳基) - \*;

[0560] - ( $C_6$ - $C_{20}$ 芳二基) -  $N(R^5)$  - \*;

[0561] - ( $C_6$ - $C_{20}$ 芳二基) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) -  $N(R^5)$  - \*;

[0562] - ( $C_6$ - $C_{20}$ 芳二基) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) -  $N(R^5)_2$ ;

[0563] - ( $C_6$ - $C_{20}$ 芳二基) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) -  $NR^5$  -  $C(=NR^{5a})N(R^5)$  - \*;

[0564] - ( $C_2$ - $C_{20}$ 杂环基) ;

[0565] - ( $C_2$ - $C_{20}$ 杂环基) - \*;

[0566] - ( $C_2$ - $C_9$ 杂环基) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) -  $NR^5$  - \*;

[0567] - ( $C_2$ - $C_9$ 杂环基) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) -  $N(R^5)_2$ ;

[0568] - ( $C_2$ - $C_9$ 杂环基) -  $NR^5$  -  $C(=NR^{5a})NR^5$  - \*;

[0569] - ( $C_1$ - $C_{20}$ 杂芳基) ;

[0570] - ( $C_1$ - $C_{20}$ 杂芳基) - \*;

[0571] - ( $C_1$ - $C_{20}$ 杂芳基) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) -  $N(R^5)$  - \*;

[0572] - ( $C_1$ - $C_{20}$ 杂芳基) - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) -  $N(R^5)_2$ ;

[0573] - ( $C_1$ - $C_{20}$ 杂芳基) -  $NR^5$  -  $C(=NR^{5a})N(R^5)$  - \*;

[0574] -  $C(=O)$  - \*;

[0575] -  $C(=O)$  - ( $C_2$ - $C_{20}$ 杂环二基) - \*;

[0576] -  $C(=O)N(R^5)_2$ ;

[0577] -  $C(=O)N(R^5)$  - \*;

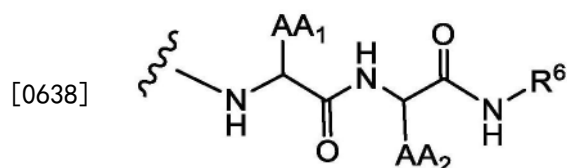
[0578] -  $C(=O)N(R^5)$  - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) -  $N(R^5)C(=O)R^5$ ;

[0579] -  $C(=O)N(R^5)$  - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) -  $N(R^5)C(=O)N(R^5)_2$ ;

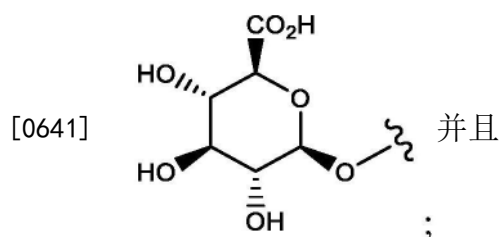
[0580] -  $C(=O)NR^5$  - ( $C_1$ - $C_{12}$ 烷二基) -  $N(R^5)CO_2R^5$ ;

- [0581]  $-C(=O)NR^5-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-N(R^5)C(=NR^{5a})N(R^5)_2$ ;
- [0582]  $-C(=O)NR^5-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-NR^5C(=NR^{5a})R^5$ ;
- [0583]  $-C(=O)NR^5-(C_1-C_8\text{烷二基})-NR^5(C_2-C_5\text{杂芳基})$ ;
- [0584]  $-C(=O)NR^5-(C_1-C_{20}\text{杂芳二基})-N(R^5)-*$ ;
- [0585]  $-C(=O)NR^5-(C_1-C_{20}\text{杂芳二基})-*$ ;
- [0586]  $-C(=O)NR^5-(C_1-C_{20}\text{杂芳二基})-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-N(R^5)_2$ ;
- [0587]  $-C(=O)NR^5-(C_1-C_{20}\text{杂芳二基})-(C_2-C_{20}\text{杂环二基})-C(=O)NR^5-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-NR^5-*$ ;
- [0588]  $-N(R^5)_2$ ;
- [0589]  $-N(R^5)-*$ ;
- [0590]  $-N(R^5)C(=O)R^5$ ;
- [0591]  $-N(R^5)C(=O)-*$ ;
- [0592]  $-N(R^5)C(=O)N(R^5)_2$ ;
- [0593]  $-N(R^5)C(=O)N(R^5)-*$ ;
- [0594]  $-N(R^5)CO_2R^5$ ;
- [0595]  $-NR^5C(=NR^{5a})N(R^5)_2$ ;
- [0596]  $-NR^5C(=NR^{5a})N(R^5)-*$ ;
- [0597]  $-NR^5C(=NR^{5a})R^5$ ;
- [0598]  $-N(R^5)-(C_2-C_5\text{杂芳基})$ ;
- [0599]  $-O-(C_1-C_{12}\text{烷基})$ ;
- [0600]  $-O-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-N(R^5)_2$ ;
- [0601]  $-O-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-N(R^5)-*$ ;
- [0602]  $-S(=O)_2-(C_2-C_{20}\text{杂环二基})-*$ ;
- [0603]  $-S(=O)_2-(C_2-C_{20}\text{杂环二基})-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-N(R^5)_2$ ;
- [0604]  $-S(=O)_2-(C_2-C_{20}\text{杂环二基})-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-NR^5-*$ ; 以及
- [0605]  $-S(=O)_2-(C_2-C_{20}\text{杂环二基})-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-OH$ ;
- [0606] 或 $R^2$ 与 $R^3$ 一起形成5元或6元杂环基环;
- [0607]  $X^1$ 、 $X^2$ 、 $X^3$ 和 $X^4$ 独立地选自由一键、 $C(=O)$ 、 $C(=O)N(R^5)$ 、 $O$ 、 $N(R^5)$ 、 $S$ 、 $S(O)_2$ 和 $S(O)_2N(R^5)$ 组成的组;
- [0608]  $R^5$ 选自由 $H$ 、 $C_6-C_{20}$ 芳基、 $C_6-C_{20}$ 芳二基、 $C_1-C_{12}$ 烷基和 $C_1-C_{12}$ 烷二基组成的组,或两个 $R^5$ 基团一起形成5元或6元杂环基环;
- [0609]  $R^{5a}$ 选自由 $C_6-C_{20}$ 芳基和 $C_1-C_{20}$ 杂芳基组成的组;
- [0610] 其中星号\*指示L的附接位点,并且其中 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 和 $R^4$ 中的一者附接至L;
- [0611] L是选自由以下组成的组的连接子:
- [0612]  $-C(=O)-(PEG)-$ ;
- [0613]  $-C(=O)-(PEG)-C(=O)-$ ;
- [0614]  $-C(=O)-(PEG)-O-$ ;
- [0615]  $-C(=O)-(PEG)-C(=O)-(PEP)-$ ;
- [0616]  $-C(=O)-(PEG)-C(=O)N(R^5)-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-$ ;

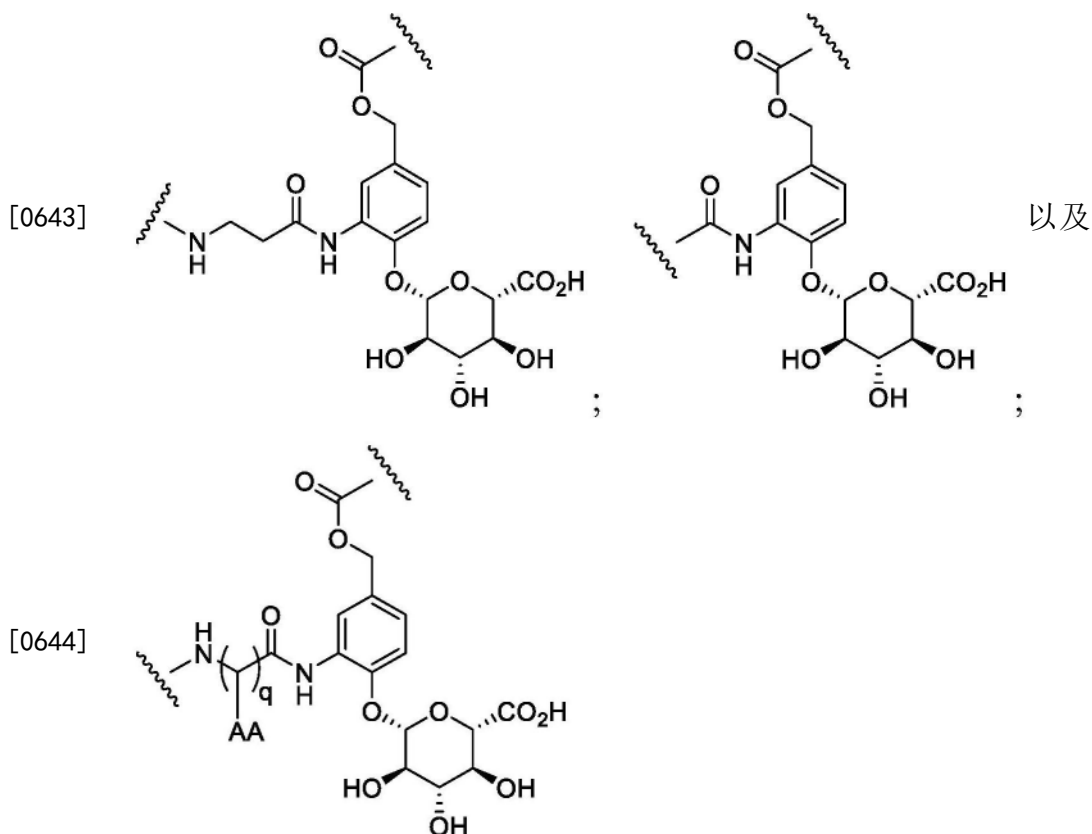
- [0617]  $-C(=O) - (PEG) - C(=O)N(R^5) - (C_1-C_{12}\text{烷二基}) - N(R^5)C(=O) - (C_2-C_5\text{单杂环二基}) -$ ;
- [0618]  $-C(=O) - (PEG) - C(=O)N(R^5) - (C_1-C_{12}\text{烷二基}) - (MCgluc) -$ ;
- [0619]  $-C(=O) - (PEG) - C(=O) - (MCgluc) -$ ;
- [0620]  $-C(=O) - (PEG) - C(=O) - (PEP) - N(R^5) - (C_1-C_{12}\text{烷二基}) -$ ;
- [0621]  $-C(=O) - (PEG) - C(=O) - (PEP) - N(R^5) - (C_1-C_{12}\text{烷二基}) - N(R^5)C(=O) - (C_2-C_5\text{单杂环二基}) -$ ;
- [0622]  $-C(=O) - (PEG) - N(R^5) -$ ;
- [0623]  $-C(=O) - (PEG) - N(R^5) - (PEG) - C(=O) - (PEP) -$ ;
- [0624]  $-C(=O) - (PEG) - N^+(R^5)_2 - (PEG) - C(=O) - (PEP) -$ ;
- [0625]  $-C(=O) - (PEG) - C(=O) - N(R^5)CH(AA_1)C(=O) - (PEG) - C(=O) - (PEP) -$ ;
- [0626]  $-C(=O) - (PEG) - C(=O) - N(R^5)CH(AA_1)C(=O) - N(R^5) - (C_1-C_{12}\text{烷二基}) -$ ;
- [0627]  $-C(=O) - (PEG) - SS - (C_1-C_{12}\text{烷二基}) - OC(=O) -$ ;
- [0628]  $-C(=O) - (PEG) - SS - (C_1-C_{12}\text{烷二基}) - C(=O) -$ ;
- [0629]  $-C(=O) - (C_1-C_{12}\text{烷二基}) - C(=O) - (PEP) -$ ;
- [0630]  $-C(=O) - (C_1-C_{12}\text{烷二基}) - C(=O) - (PEP) - N(R^5) - (C_1-C_{12}\text{烷二基}) -$ ;
- [0631]  $-C(=O) - (C_1-C_{12}\text{烷二基}) - C(=O) - (PEP) - N(R^5) - (C_1-C_{12}\text{烷二基}) - N(R^5) - C(=O) -$ ;
- [0632]  $-C(=O) - (C_1-C_{12}\text{烷二基}) - C(=O) - (PEP) - N(R^5) - (C_1-C_{12}\text{烷二基}) - N(R^5)C(=O) - (C_2-C_5\text{单杂环二基}) -$ ;
- [0633]  $-C(=O) - CH_2CH_2OCH_2CH_2 - (C_1-C_{20}\text{杂芳二基}) - CH_2O - (PEG) - C(=O) - (MCgluc) -$ ;
- [0634]  $-C(=O) - CH_2CH_2OCH_2CH_2 - (C_1-C_{20}\text{杂芳二基}) - CH_2O - (PEG) - C(=O) - (MCgluc) - N(R^5) - (C_1-C_{12}\text{烷二基}) - N(R^5)C(=O) - (C_2-C_5\text{单杂环二基}) -$ ; 以及
- [0635]  $-(\text{琥珀酰亚胺基}) - (CH_2)_m - C(=O) - (PEP) - N(R^5) - (C_1-C_{12}\text{烷二基}) - N(R^5)C(=O) - (C_2-C_5\text{单杂环二基}) -$ ;
- [0636] PEG具有下式:  $-(CH_2CH_2O)_n - (CH_2)_m -$ ; m是1至5的整数, 并且n是2至50的整数;
- [0637] PEP具有下式:



- [0639] 其中AA<sub>1</sub>和AA<sub>2</sub>独立地选自氨基酸侧链, 或者AA<sub>1</sub>或AA<sub>2</sub>和相邻氮原子形成5元环脯氨酸氨基酸, 并且波形线指示附接点;
- [0640] R<sup>6</sup>选自由C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基和C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳二基组成的组, 经-CH<sub>2</sub>O-C(=O)-并且任选地经以下基团取代:



[0642] MCgluc选自下组:



[0645] 其中q是1至8,并且AA是氨基酸侧链;并且

[0646] 烷基、烷二基、烯基、烯二基、炔基、炔二基、芳基、芳二基、碳环基、碳环二基、杂环基、杂环二基、杂芳基和杂芳二基独立地并且任选地经一个或多个独立地选自以下的基团取代: F、Cl、Br、I、-CN、-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH=CH<sub>2</sub>、-C≡CH、-C≡CCH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>OH、-CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>OH、-CH(OH)CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>OP(O)(OH)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>F、-CHF<sub>2</sub>、-CF<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CHF<sub>2</sub>、-CH(CH<sub>3</sub>)CN、-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CN、-CH<sub>2</sub>CN、-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>NHSO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>NHCH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-CO<sub>2</sub>H、-COCH<sub>3</sub>、-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>、-COCH(OH)CH<sub>3</sub>、-CONH<sub>2</sub>、-CONHCH<sub>3</sub>、-CON(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>、-NH<sub>2</sub>、-NHCH<sub>3</sub>、-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-NHC(O)CH<sub>3</sub>、-N(CH<sub>3</sub>)COCH<sub>3</sub>、-NHS(O)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-N(CH<sub>3</sub>)C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>、-N(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>S(O)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-NHC(=NH)H、-NHC(=NH)CH<sub>3</sub>、-NHC(=NH)NH<sub>2</sub>、-NHC(=O)NH<sub>2</sub>、-NO<sub>2</sub>、=O、-OH、-OCH<sub>3</sub>、-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>、-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>CO<sub>2</sub>H、-O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>H、-OP(O)(OH)<sub>2</sub>、-S(O)<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-SCH<sub>3</sub>、-S(O)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>和-S(O)<sub>3</sub>H。

[0647] 式I的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中抗体是具有结合PD-L1的抗原结合结构域的抗体构建体。

[0648] 式I的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中抗体选自由阿特珠单抗、得瓦鲁单抗和阿维鲁单抗或其生物类似药或生物改良药组成的组。

[0649] 式I的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中抗体是具有结合HER2的抗原结合结构域的抗体构建体。

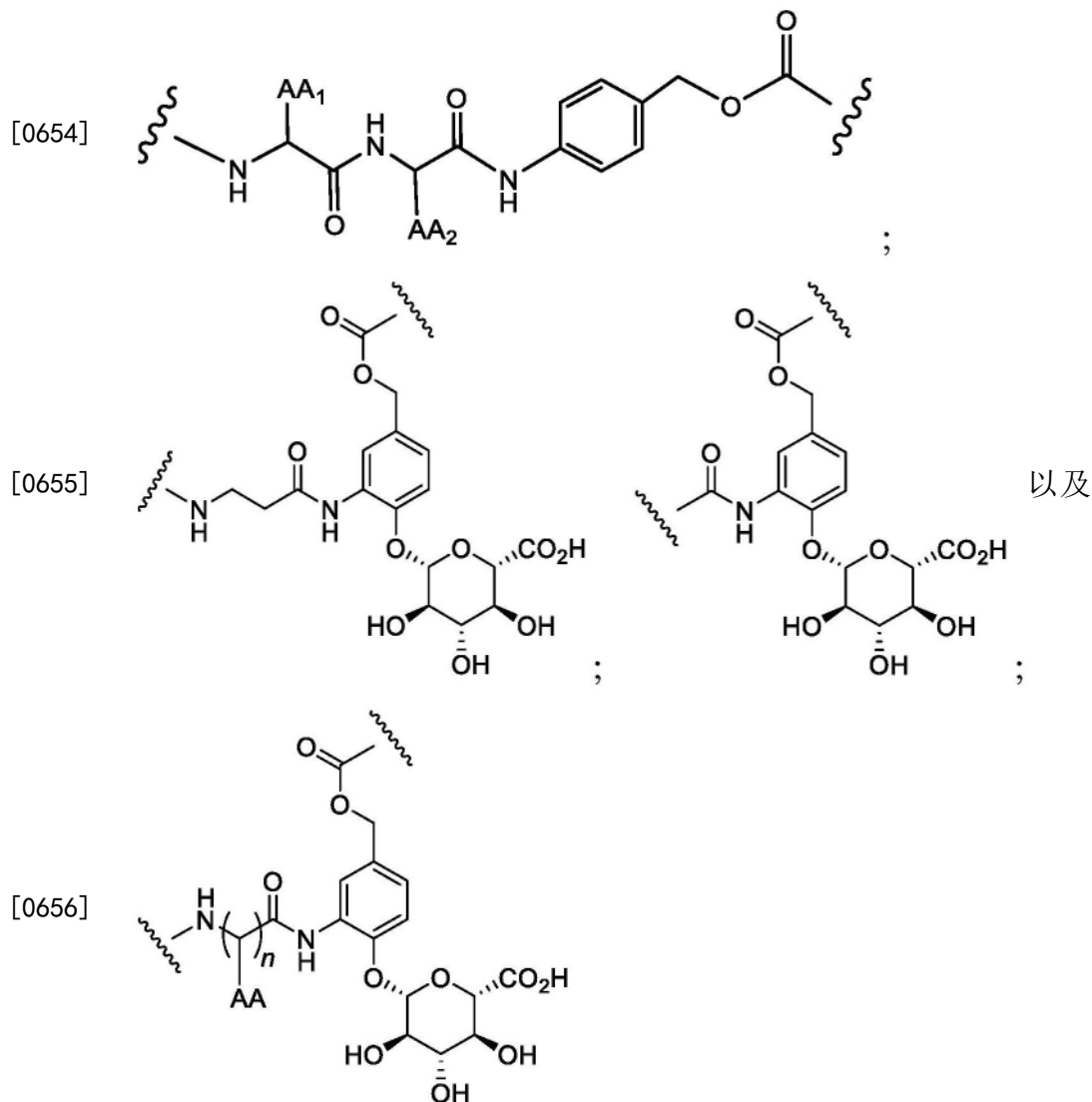
[0650] 式I的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中抗体选自由曲妥珠单抗和帕妥珠单抗或其生物类似药或生物改良药组成的组。



[0651] 式I的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中抗体是具有结合CEA的抗原结合结构域的抗体构建体。

[0652] 式I的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中抗体是拉贝妥珠单抗或其生物类似药或生物改良药。

[0653] 式I的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中PEP选自下组：



[0657] 其中n是1或大于1,并且AA是氨基酸侧链。

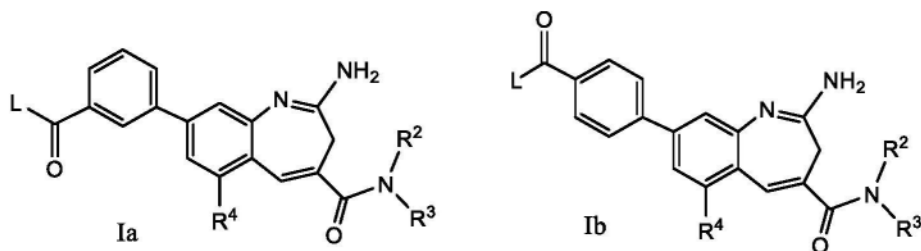
[0658] 式I的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中AA<sub>1</sub>和AA<sub>2</sub>独立地选自天然存在的氨基酸的侧链。

[0659] 式I的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中AA<sub>1</sub>和AA<sub>2</sub>独立地选自H、-CH<sub>3</sub>、-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHC(NH)NH<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>H和-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHC(O)NH<sub>2</sub>。

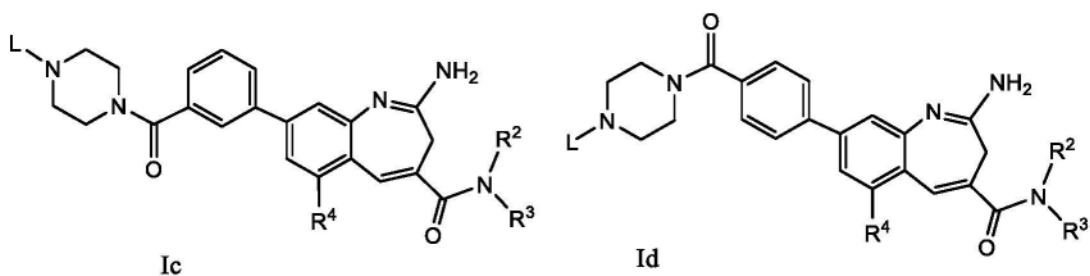
[0660] 式I的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中AA<sub>1</sub>是-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>,并且AA<sub>2</sub>是-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHC(O)NH<sub>2</sub>。

[0661] 式I的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中AA<sub>1</sub>和AA<sub>2</sub>独立地选自GlcNAc天冬氨酸、-CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>H和-CH<sub>2</sub>OP<sub>3</sub>H。

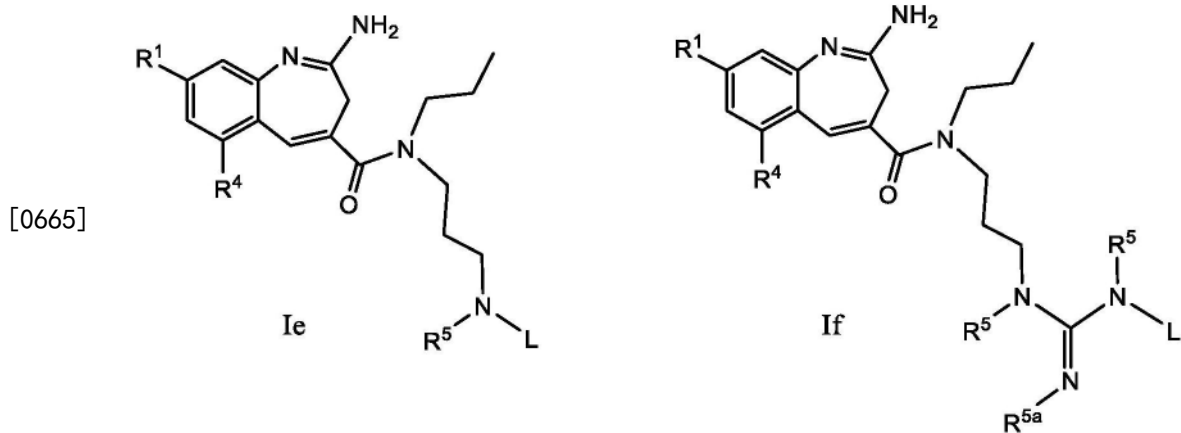
[0662] 式I的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中Bza选自式Ia-d:



[0663]



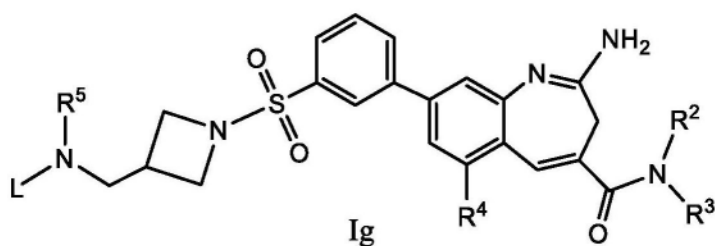
[0664] 式I的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中Bza选自式Ie和If:



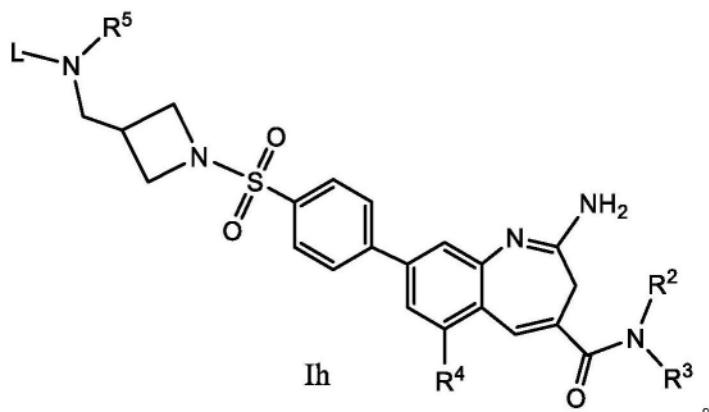
[0666] 其中式If的R<sup>5a</sup>是苯基,任选地经一个或多个选自F、Cl、Br、I、-CN和-NO<sub>2</sub>的基团取代。

[0667] 式I的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中L是-C(=O)-(PEG)-或-C(=O)-(PEG)-C(=O)-。

[0668] 式I的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中Bza选自式Ig和Ih:



[0669]



[0670] 式I的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中L是-C(=O)-(PEG)-C(=O)-(PEP)-。

[0671] 式I的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>各自是C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基。

[0672] 式I的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>各自是-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>。

[0673] 式I的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中X<sup>2</sup>和X<sup>3</sup>各自是一键,并且R<sup>2</sup>或R<sup>3</sup>是-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基)。

[0674] 式I的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中X<sup>2</sup>和X<sup>3</sup>各自是一键,并且R<sup>2</sup>或R<sup>3</sup>是-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>。

[0675] 式I的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中R<sup>1</sup>和R<sup>4</sup>中的一者选自:

[0676] -(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基)-N(R<sup>5</sup>)-\*;

[0677] -(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基)-N(R<sup>5</sup>)C(=NR<sup>5</sup>)N(R<sup>5</sup>)-\*;

[0678] -(C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基)-S(=O)<sub>2</sub>-(C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>杂环二基)-\*;

[0679] -(C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基)-S(=O)<sub>2</sub>-(C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>杂环二基)-(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基)-N(R<sup>5</sup>)-\*;

[0680] -(C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基)-C(=O)-\*;

[0681] -(C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基)-(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基)-N(R<sup>5</sup>)-\*;

[0682] -(C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基)-C(=O)-(C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>杂环二基)-\*;

[0683] -C(=O)NR<sup>5</sup>-(C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳二基)-\*;以及

[0684] -C(=O)NR<sup>5</sup>-(C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂芳二基)-(C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>杂环二基)-C(=O)NR<sup>5</sup>-(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基)-NR<sup>5</sup>-\*。

[0685] 式I的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>中的一者选自:

[0686] -(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基)-N(R<sup>5</sup>)-\*;

[0687] -(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基)-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基)-N(R<sup>5</sup>)-\*;

[0688] -(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基)-N(R<sup>5</sup>)C(=NR<sup>5</sup>)-N(R<sup>5</sup>)-\*;

[0689] -(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基)-(C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳二基)-(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷二基)-N(R<sup>5</sup>)-\*;

[0690]  $-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-(C_6-C_{20}\text{芳二基})-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-N(R^5)-C(=NR^5)N(R^5)-*$ ;

[0691]  $-(C_2-C_6\text{炔二基})-N(R^5)-*$ ; 以及

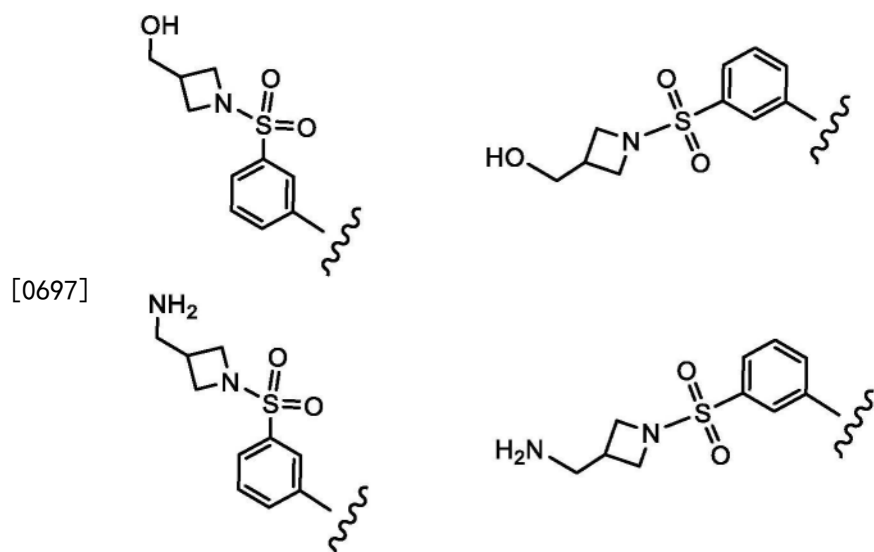
[0692]  $-(C_2-C_6\text{炔二基})-N(R^5)C(=NR^5)N(R^5)-*$ ;

[0693]  $X^2$ 和 $X^3$ 是一键,并且其中星号\*指示L的附接位点。

[0694] 式I的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中 $R^1$ 和 $R^4$ 中的一者选自 $-(C_6-C_{20}\text{芳二基})-S(=O)_2-(C_2-C_{20}\text{杂环二基})-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-N(R^5)_2$ 和 $-(C_6-C_{20}\text{芳二基})-S(=O)_2-(C_2-C_{20}\text{杂环二基})-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-OH$ 。

[0695] 式I的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中 $C_6-C_{20}\text{芳二基}$ 是苯二基并且 $C_2-C_{20}\text{杂环二基}$ 是氮杂环丁二基。

[0696] 式I的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中 $R^1$ 和 $R^4$ 中的一者选自下式:

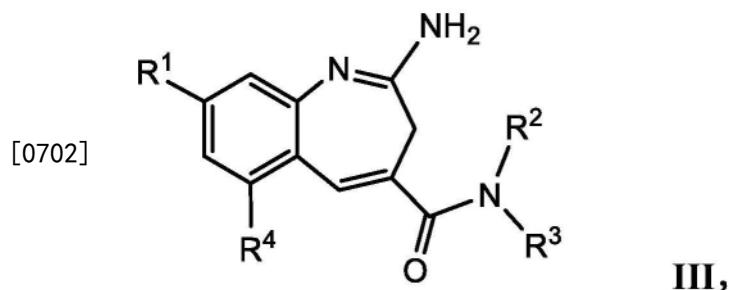


[0698] 式I的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中 $R^1$ 和 $R^4$ 中的一者是 $-C(=O)NR^5-(C_1-C_{20}\text{杂芳二基})-(C_2-C_{20}\text{杂环二基})-C(=O)NR^5-(C_1-C_{12}\text{烷二基})-NR^5-L$ 。

[0699] 式I的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中 $C_1-C_{20}\text{杂芳二基}$ 是吡啶二基并且 $C_2-C_{20}\text{杂环二基}$ 是哌啶二基。

[0700] 在一个示例性实施方案中,p是1、2、3或4。

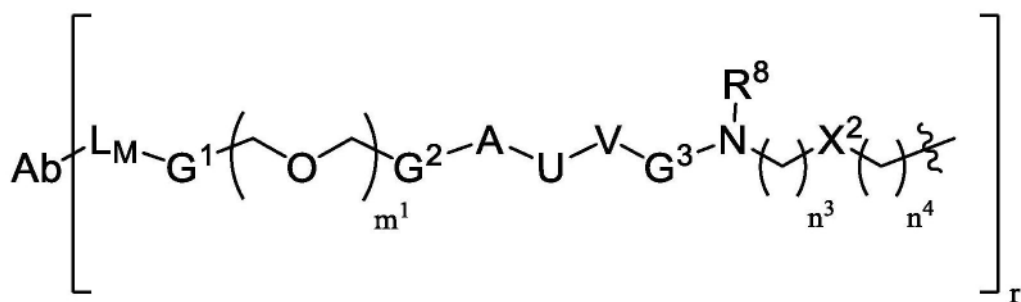
[0701] 免疫缀合物的示例性实施方案包含共价附接至连接子的抗体,所述连接子共价附接至一个或多个氨基苯并氮呋部分,并且所述免疫缀合物具有式III:



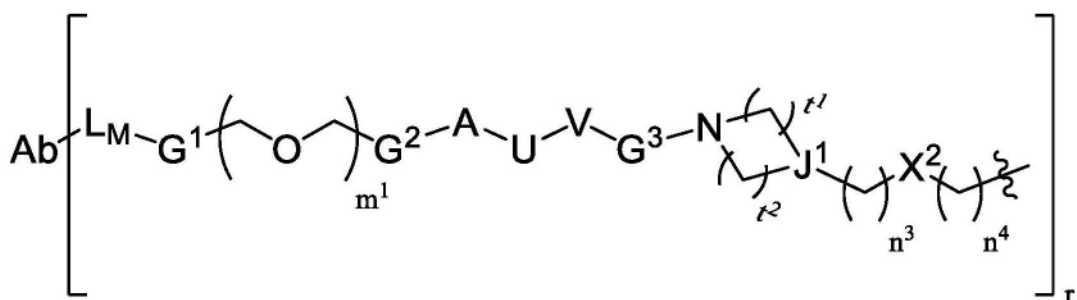
[0703] 其药学上可接受的盐或其季铵盐,

[0704] 其中

[0705]  $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 和 $R^4$ 独立地是Y或Z,其中 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 和 $R^4$ 中的一者是Y,具有下式:

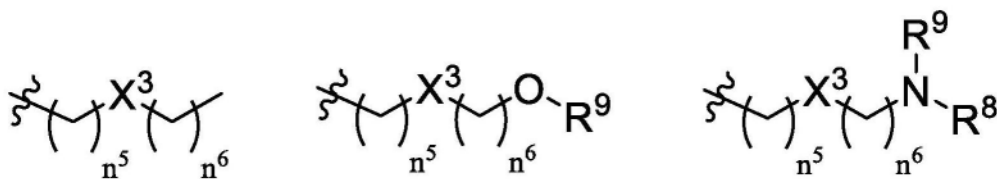


[0706] 或

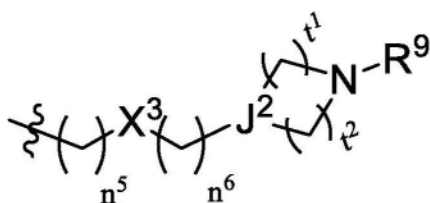


;

[0707] 每个Z独立地是氢或选自下式:



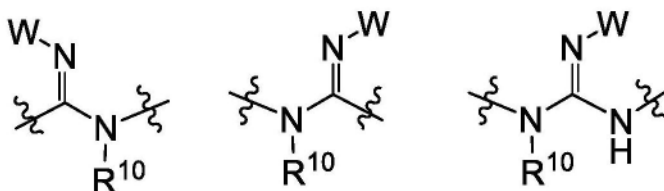
[0708]



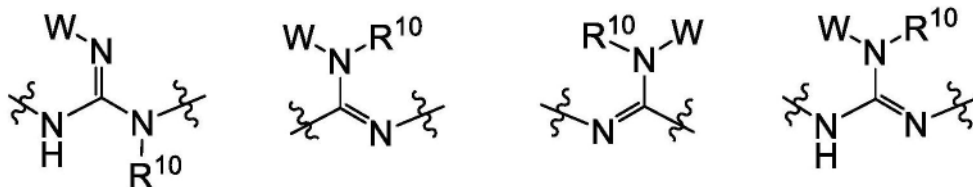
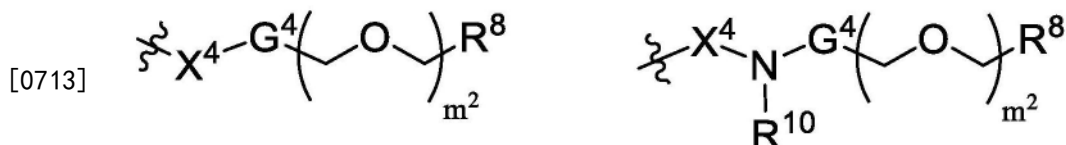
;

[0709] U任选地存在并且是 $\text{CH}_2$ 、 $\text{C}(=\text{O})$ 、 $\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})$ 或 $\text{C}(=\text{O})\text{CH}_2$ ,

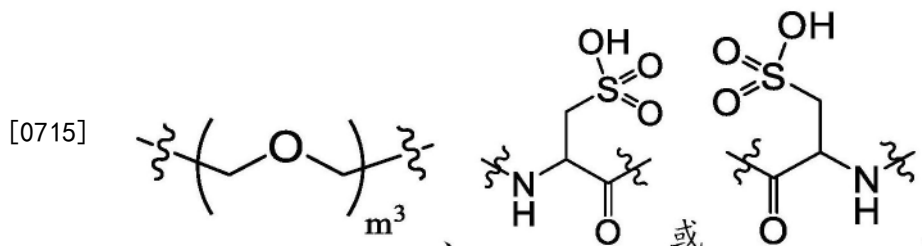
[0710] A任选地存在并且是 $\text{NR}^{10}$ 或选自下式:



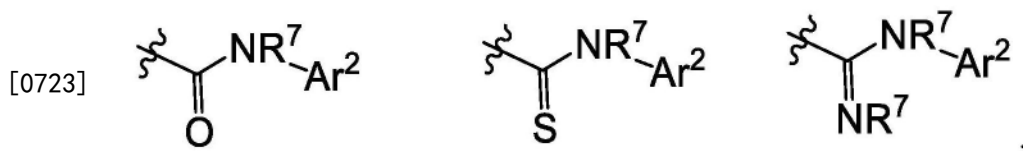
[0711]

[0712]  $R^{10}$ 和W独立地是氢、 $Ar^1$ 或具有下式:

[0714] V任选地存在并且具有下式:

[0716]  $J^1$ 和 $J^2$ 独立地是CH或N,[0717] 除 $m^1$ 、 $m^2$ 和 $m^3$ 中的至少一者是非零整数外, $m^1$ 、 $m^2$ 和 $m^3$ 独立地是0至25的整数,[0718]  $n^1$ 、 $n^2$ 、 $n^3$ 、 $n^4$ 、 $n^5$ 和 $n^6$ 独立地是0至10的整数,[0719]  $t^1$ 和 $t^2$ 独立地是1至3的整数,[0720]  $G^1$ 、 $G^2$ 、 $G^3$ 和 $G^4$ 独立地是 $CH_2$ 、 $C(=O)$ 、 $CH_2C(=O)$ 、 $C(=O)CH_2$ 或一键,

[0721]  $X^1$ 、 $X^2$ 、 $X^3$ 和 $X^4$ 各自任选地存在并且独立地是O、 $NR^7$ 、 $CHR^7$ 、 $SO_2$ 、S或一个或两个环烷二基、杂环烷二基、芳二基或杂芳二基,并且当多于一个环烷二基、杂环烷二基、芳二基或杂芳二基存在时,多于一个环烷二基、杂环烷二基、芳二基或杂芳二基经连接或稠合,其中连接的环境二基、杂环烷二基、芳二基或杂芳二基经一键或-CO-连接,

[0722]  $R^9$ 是氢、 $C_1$ - $C_4$ 烷基或选自下式:[0724]  $R^8$ 独立地是氢或 $C_1$ - $C_4$ 烷基,

[0725]  $Ar^1$ 和 $Ar^2$ 独立地是芳基或杂芳基,任选地经一个或多个卤素(例如氟、氯、溴或碘)、腈、羟基、 $C_1$ - $C_4$ 烷基或其组合取代,

[0726]  $L_M$ 是连接部分,其包含选自酰胺、胺、酯、氨基甲酸酯、脲、硫醚、硫代氨基甲酸酯、硫代碳酸酯和硫脲的官能团,

[0727] r是1至10的整数，

[0728] Ab是抗体，并且

[0729] 每个波形线()代表附接点。

[0730] 式III的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中下标r是1。

[0731] 式I或III的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中抗体是具有结合PD-L1的抗原结合结构域的抗体构建体。

[0732] 式I或III的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中抗体选自由阿特殊单抗、得瓦鲁单抗和阿维鲁单抗或其生物类似药或生物改良药组成的组。

[0733] 式I或III的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中抗体是具有结合HER2的抗原结合结构域的抗体构建体。

[0734] 式I或III的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中抗体选自由曲妥珠单抗和帕妥珠单抗或其生物类似药或生物改良药组成的组。

[0735] 式I或III的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中抗体是具有结合CEA的抗原结合结构域的抗体构建体。

[0736] 式I或III的免疫缀合物的示例性实施方案包括其中抗体选自由拉贝妥珠单抗(也称为MN-14、hMN14或CEA-CIDE<sup>TM</sup>)、PR1A3、MFE-23、SM3E或其生物类似药或生物改良药组成的组。

[0737] 本发明包括式I和III实施方案的所有合理组合和特征排列。

[0738] 在某些实施方案中，本发明的免疫缀合物化合物包括具有免疫刺激活性的那些化合物。本发明的抗体-药物缀合物选择性地有效剂量的氨基苯并氮吡药物递送至肿瘤组织，从而可以达成相对于未缀合的氨基苯并氮吡更大的选择性(即，较低有效剂量)，同时增加治疗指数(“治疗窗”)。

[0739] 药物负荷由p表示，即，式I或III的免疫缀合物中每个抗体的氨基苯并氮吡部分的数目。药物(氨基苯并氮吡)负荷可以在每个抗体1个至约8个药物部分(D)的范围内。式I和III的免疫缀合物包括与1个至约8个范围内的药物部分缀合的抗体混合物或集合。在一些实施方案中，可以缀合至抗体的药物部分的数目受反应性或可用氨基酸侧链残基，诸如赖氨酸和半胱氨酸的数目限制。在一些实施方案中，通过本文所描述的方法将游离半胱氨酸残基引入抗体氨基酸序列中。在此类方面，p可以是1、2、3、4、5、6、7或8及其范围，诸如1至8或2至5。在任何此类方面，p和n相等(即， $p=n=1、2、3、4、5、6、7$ 或8或介于之间的某个范围)。式I的示例性抗体-药物缀合物包括但不限于具有1、2、3或4个工程改造的半胱氨酸氨基酸的抗体(Lyon, R.等(2012)Methods in Enzym. 502:123-138)。在一些实施方案中，在不使用工程改造的情况下形成链内二硫键的抗体中已存在一个或多个游离半胱氨酸残基，在这种情况下可以使用现有游离半胱氨酸残基将抗体缀合至药物。在一些实施方案中，在抗体缀合之前使抗体暴露于还原条件，以产生一个或多个游离半胱氨酸残基。

[0740] 对于一些免疫缀合物，p可能受抗体上的附接位点的数目限制。举例来说，在附接半胱氨酸硫醇的情况下，如在本文所描述的某些示例性实施方案中，抗体可能仅具有一个或有限数目的半胱氨酸硫醇基团，或可能仅具有一个或有限数目的充分反应性硫醇基团，药物可以附接至所述基团。在其它实施方案中，抗体中的一个或多个赖氨酸氨基对于与式II的氨基苯并氮吡-连接子化合物缀合来说可以是可用的并且具有反应性。在某些实施方

案中,较高药物负荷,例如 $p > 5$ ,可能导致某些抗体-药物缀合物的聚集、不溶性、毒性或细胞渗透性损失。在某些实施方案中,免疫缀合物的平均药物负荷在1至约8、约2至约6或约3至约5的范围内。在某些实施方案中,使抗体经受变性条件以显露反应性亲核基团,诸如赖氨酸或半胱氨酸。

[0741] 免疫缀合物的负荷(药物/抗体比率)可以按不同方式控制,并且例如通过:(i) 限制氨基苯并氮吡-连接子中间化合物相对于抗体的摩尔过量;(ii) 限制缀合反应时间或温度;以及(iii) 用于优化的抗体反应性的部分或限制性还原变性条件。

[0742] 应了解,在抗体的多于一个亲核基团与药物反应的情况下,那么所得产物是抗体-药物缀合物化合物的混合物,其具有一个或多个药物部分附接至抗体的分布。可以通过对抗体具有特异性并且对药物具有特异性的双重ELISA抗体测定从混合物计算每个抗体的平均药物数。可以通过质谱法在混合物中鉴定个别免疫缀合物分子,并且通过HPLC,例如疏水相互作用色谱法进行分离(参见例如McDonagh等(2006) Prot. Engr. Design&Selection 19 (7):299-307;Hamblett等(2004) Clin. Cancer Res. 10:7063-7070;Hamblett, K.J. 等"Effect of drug loading on the pharmacology, pharmacokinetics, and toxicity of an anti-CD30 antibody-drug conjugate", 摘要号624, American Association for Cancer Research, 2004 Annual Meeting, 2004年3月27-31日, Proceedings of the AACR, 第45卷, 2004年3月;Alley, S.C. 等"Controlling the location of drug attachment in antibody-drug conjugates", 摘要号627, American Association for Cancer Research, 2004 Annual Meeting, 2004年3月27-31日, Proceedings of the AACR, 第45卷, 2004年3月)。在某些实施方案中,可以通过电泳或色谱法从缀合混合物中分离具有单一负荷值的均质免疫缀合物。

[0743] 式I的免疫缀合物的示例性实施方案选自表3a、3b、3c免疫缀合物。

[0744] 表3a:免疫缀合物(IC)

[0745]

| 免疫缀合物<br>编号 | BzL<br>连接子-佐剂<br>表 2a | Ab<br>抗原      | DAR  | 髓样 TNF $\alpha$ 分泌<br>EC50 nM |
|-------------|-----------------------|---------------|------|-------------------------------|
| IC-1        | BzL-2                 | 曲妥珠单抗<br>HER2 | 2.33 | >1000                         |
| IC-2        | BzL-3                 | 曲妥珠单抗<br>HER2 | 2.06 | 14.8                          |
| IC-3        | BzL-4                 | 曲妥珠单抗<br>HER2 | 2.05 | >1000                         |



[0746]

|       |        |                |      |        |
|-------|--------|----------------|------|--------|
| IC-4  | BzL-5  | 曲妥珠单抗<br>HER2  | 1.82 | >1000  |
| IC-5  | BzL-7  | 曲妥珠单抗<br>HER2  | 1.6  | nd     |
| IC-6  | BzL-8  | 曲妥珠单抗<br>HER2  | 0.5  | nd     |
| IC-7  | BzL-9  | 曲妥珠单抗<br>HER2  | 1.6  | nd     |
| IC-8  | BzL-15 | 曲妥珠单抗<br>HER2  | 1.9  | 233.7  |
| IC-9  | BzL-15 | 阿维鲁单抗<br>PD-L1 | 2.16 | 161.03 |
| IC-10 | BzL-16 | 曲妥珠单抗<br>HER2  | 2.49 | >1000  |
| IC-11 | BzL-17 | 曲妥珠单抗<br>HER2  | 1.84 | >1000  |
| IC-12 | BzL-18 | 曲妥珠单抗<br>HER2  | 2.49 | >1000  |
| IC-13 | BzL-19 | 曲妥珠单抗<br>HER2  | 2.05 | >1000  |
| IC-14 | BzL-20 | 曲妥珠单抗<br>HER2  | 1.91 | >1000  |
| IC-15 | BzL-21 | 阿维鲁单抗<br>PD-L1 | 2.85 | 199.5  |
| IC-16 | BzL-21 | 曲妥珠单抗<br>HER2  | 1.74 | >1000  |
| IC-17 | BzL-22 | 曲妥珠单抗<br>HER2  | 2.65 | >1000  |
| IC-18 | BzL-25 | 曲妥珠单抗<br>HER2  | nd   | nd     |
| IC-19 | BzL-27 | 曲妥珠单抗<br>HER2  | 1.61 | >1000  |
| IC-20 | BzL-31 | 曲妥珠单抗<br>HER2  | 2.57 | 788    |
| IC-21 | BzL-28 | 曲妥珠单抗<br>HER2  | 2.39 | >1000  |

[0747] 表3b:免疫缀合物(IC)

[0748]

| 免疫缀合物<br>编号 | BzL<br>连接子-佐剂<br>表 2b | Ab<br>抗原      | DAR  | 髓样 TNF $\alpha$ 分泌<br>EC50 nM |
|-------------|-----------------------|---------------|------|-------------------------------|
| IC-22       | BzL-33                | 曲妥珠单抗<br>HER2 | 2.37 | >1000                         |
| IC-23       | BzL-35                | 曲妥珠单抗<br>HER2 | 2.65 | 464                           |

[0749]

|       |        |               |      |       |
|-------|--------|---------------|------|-------|
| IC-24 | BzL-36 | 曲妥珠单抗<br>HER2 | 2.60 | >1000 |
| IC-25 | Bzl-37 | 曲妥珠单抗<br>HER2 | 2.28 | >1000 |
| IC-26 | Bzl-38 | 曲妥珠单抗<br>HER2 | 2.0  | 62    |
| IC-27 | BzL-34 | 曲妥珠单抗<br>HER2 | 2.06 | 97    |
| IC-28 | BzL-39 | 曲妥珠单抗<br>HER2 | 2.32 | >1000 |
| IC-29 | BzL-40 | 曲妥珠单抗<br>HER2 | 2.95 | >1000 |
| IC-30 | BzL-41 | 曲妥珠单抗<br>HER2 | 2.83 | 459   |
| IC-31 | BzL-42 | 曲妥珠单抗<br>HER2 | 2.05 | 17.2  |
| IC-32 | BzL-43 | 曲妥珠单抗<br>HER2 | 2.05 | 133   |
| IC-33 | BzL-44 | 曲妥珠单抗<br>HER2 | 2.0  | 71    |
| IC-34 | BzL-45 | 曲妥珠单抗<br>HER2 | 2.26 | 78    |
| IC-35 | BzL-46 | 曲妥珠单抗<br>HER2 | 1.54 | 68    |

[0750] 表3c:免疫缀合物(IC)

[0751]

| 免疫缀合物<br>编号 | BzL<br>连接子-佐剂<br>表 2a-c | Ab<br>抗原                 | DAR  |
|-------------|-------------------------|--------------------------|------|
| IC-36       | BzL-40                  | PDL1.24-G1f              | 2.39 |
| IC-37       | BzL-39                  | PDL1.24-G1f              | 1.6  |
| IC-38       | Bzl-49                  | 曲妥珠单抗<br>HER2            | 2.24 |
| IC-39       | BzL-35                  | 利妥昔单抗(Rituximab)<br>CD20 | 2.40 |
| IC-40       | BzL-50                  | 曲妥珠单抗<br>HER2            | 2.48 |
| IC-41       | BzL-51                  | 曲妥珠单抗<br>HER2            | 2.57 |
| IC-42       | BzL-52                  | 曲妥珠单抗<br>HER2            | 2.62 |
| IC-43       | BzL-53                  | 曲妥珠单抗<br>HER2            | 2.18 |
| IC-44       | BzL-55                  | 曲妥珠单抗<br>HER2            | 2.18 |

[0752]

|       |        |                  |              |
|-------|--------|------------------|--------------|
| IC-45 | BzL-56 | 曲妥珠单抗<br>HER2    | 1.96         |
| IC-46 | BzL-35 | 抗 mPD-L1         | 2.27         |
| IC-47 | BzL-35 | 大鼠 IgG2b<br>同型对照 | 2.4          |
| IC-48 | BzL-49 | PDL1.85-G1f      | 2.21         |
| IC-49 | BzL-49 | PDL1.85-G1f      | 2.21         |
| IC-50 | BzL-54 | 曲妥珠单抗<br>HER2    | 2.13<br>2.36 |
| IC-51 | BzL-49 | CEA.5G1fhL2      | 2.35         |
| IC-52 | BzL-57 | 曲妥珠单抗<br>HER2    | 2.58         |
| IC-53 | BzL-60 | 曲妥珠单抗<br>HER2    | 2.11         |
| IC-54 | BzL-62 | 曲妥珠单抗<br>HER2    | 2.46         |
| IC-55 | BzL-58 | 曲妥珠单抗<br>HER2    | 2.35         |
| IC-56 | BzL-65 | 曲妥珠单抗<br>HER2    | 1.80         |
| IC-57 | BzL-35 | CEA.5G1fhL2      | 2.21         |
| IC-58 | BzL-35 | Tras-G1f-N297A   | 2.34         |
| IC-59 | BzL-66 | 曲妥珠单抗<br>HER2    | 2.38         |
| IC-60 | BzL-67 | 曲妥珠单抗<br>HER2    | 2.15<br>1.93 |
| IC-61 | BzL-68 | 曲妥珠单抗<br>HER2    | 2.36         |
| IC-62 | BzL-69 | 曲妥珠单抗<br>HER2    | 2.15<br>2.99 |
| IC-63 | BzL-69 | 利妥昔单抗<br>CD20    | 2.60         |
| IC-64 | BzL-69 | Tras-G1f-N297A   | 2.41         |
| IC-65 | BzL-70 | 曲妥珠单抗<br>HER2    | 2.39         |
| IC-66 | BzL-72 | 曲妥珠单抗<br>HER2    | 2.39         |
| IC-67 | BzL-41 | CEA.9-G1fhL2     | 2.26         |
| IC-68 | BzL-35 | CEA.9-G1fhL2     | 2.37         |
| IC-69 | BzL-69 | CEA.9-G1fhL2     | 2.41         |
| IC-70 | BzL-63 | 曲妥珠单抗<br>HER2    | 2.24         |
| IC-71 | BzL-64 | 曲妥珠单抗<br>HER2    | 2.34         |
| IC-72 | BzL-35 | PDL1.24-G1f      | 2.66         |
| IC-73 | BzL-35 | PDL1.85-G1f      | 2.84         |

[0753]

|       |        |               |              |
|-------|--------|---------------|--------------|
| IC-74 | BzL-73 | 曲妥珠单抗<br>HER2 | 2.17         |
| IC-75 | BzL-74 | 曲妥珠单抗<br>HER2 | 2.74         |
| IC-76 | BzL-77 | 曲妥珠单抗<br>HER2 | 2.43         |
| IC-77 | BzL-76 | 曲妥珠单抗<br>HER2 | 1.19         |
| IC-78 | BzL-78 | 曲妥珠单抗<br>HER2 | 2.10         |
| IC-79 | BzL-75 | 曲妥珠单抗<br>HER2 | 1.45         |
| IC-80 | BzL-69 | CEACAM5       | 1.84<br>2.74 |
| IC-81 | BzL-77 | CEA.9-G1fhL2  | 2.39<br>2.45 |
| IC-82 | BzL-72 | CEA.9-G1fhL2  | 2.70         |
| IC-83 | BzL-74 | CEA.9-G1fhL2  | 2.41         |
| IC-84 | BzL-80 | CEA.9-G1fhL2  | 1.81         |
| IC-85 | BzL-69 | PDL1.85-G1f   | 2.69         |
| IC-86 | BzL-80 | 曲妥珠单抗<br>HER2 | 2.92         |
| IC-87 | BzL-82 | 曲妥珠单抗<br>HER2 | 2.56         |
| IC-88 | BzL-77 | PDL1.85-G1f   | 2.55         |
| IC-89 | BzL-74 | PDL1.85-G1f   | 2.68         |
| IC-90 | BzL-81 | 曲妥珠单抗<br>HER2 | 1.91         |
| IC-91 | BzL-85 | 曲妥珠单抗<br>HER2 | 2.18         |
| IC-92 | BzL-69 | 曲妥珠单抗<br>HER2 | 3.07         |

[0754] 免疫缀合物的组合物

[0755] 本发明提供了一种组合物,例如药学上或药理学上可接受的组合物或制剂,其包含多种如本文所描述的免疫缀合物和其任选的载体,例如药学上或药理学上可接受的载体。免疫缀合物在组成上可以相同或不同,即,组合物可以包含具有连接至抗体构建体上的相同位置的相同数目的佐剂的免疫缀合物和/或具有连接至抗体构建体上的不同位置的相同数目的佐剂,具有连接至抗体构建体上的相同位置的不同数目的佐剂,或具有连接至抗体构建体上的不同位置的不同数目的佐剂的免疫缀合物。

[0756] 在一个示例性实施方案中,包含免疫缀合物化合物的组合物包含免疫缀合物化合物的混合物,其中免疫缀合物化合物的混合物中每个抗体的平均药物负荷为约2至约5。

[0757] 本发明的免疫缀合物的组合物可以具有约0.4至约10的平均佐剂与抗体构建体比率。技术人员将认识到,在包含本发明的多种免疫缀合物的组合物中,缀合至抗体构建体的氨基苯并氮唑佐剂的数目可能随着免疫缀合物的不同而变化,并且因此,可以用平均值测量佐剂与抗体构建体(例如抗体)比率,这可以称作药物与抗体比率(DAR)。佐剂与抗体构建

体(例如抗体)比率可以通过任何适合的手段来评估,其中许多手段在本领域中是已知的。

[0758] 在从缀合反应制备免疫缀合物中每个抗体的佐剂部分的平均数目(DAR)可以通过常规手段,诸如质谱法、ELISA测定和HPLC来表征。还可以确定免疫缀合物在组合物中的定量分布,以p表示。在一些情况下,可以通过诸如反相HPLC或电泳的手段,从具有其它药物负荷的免疫缀合物中分离、纯化和表征其中p是一定值的均质免疫缀合物。

[0759] 药物组合物和施用方法

[0760] 在其它实施方案中,本发明的另一个方面涉及药物组合物或剂型,其包括治疗有效量的本发明的免疫缀合物和一种或多种药学上可接受的稀释剂、媒剂、载体或赋形剂。

[0761] 药物组合物可以是允许向患者施用的任何形式。举例来说,药物组合物可以呈固体或液体形式。典型施用途径包括但不限于肠道外、经眼和肿瘤内。肠道外施用包括皮下注射、静脉内、肌肉内或胸骨内注射或输注技术。在一个实施方案中,肠道外施用组合物。在特定实施方案中,静脉内施用组合物。

[0762] 在一些实施方案中,药物组合物还包含一种或多种药学上或药理学上可接受的赋形剂。举例来说,本发明的免疫缀合物可以经配制用于肠道外施用,诸如静脉内施用或向器官的体腔或内腔中施用。或者,可以肿瘤内注射免疫缀合物。注射用组合物通常将包含免疫缀合物溶解于药学上可接受的载体中的溶液。可以采用的可接受媒剂和溶剂是水和一种或多种盐的等张溶液,诸如氯化钠,例如林格氏溶液(Ringer's solution)。另外,无菌非挥发性油可以常规地用作溶剂或悬浮介质。出于此目的,可以采用任何温和的非挥发性油,包括合成单酸甘油酯或二酸甘油酯。另外,诸如油酸的脂肪酸同样可以用于可注射剂的制备中。这些组合物理想地是无菌的并且一般不含非所需的物质。这些组合物可以通过常规的熟知灭菌技术进行灭菌。组合物可以含有接近生理条件所需的药学上可接受的辅助物质,诸如pH调节剂和缓冲剂、毒性调节剂,例如乙酸钠、氯化钠、氯化钾、氯化钙、乳酸钠等等。

[0763] 组合物可以含有任何适合浓度的免疫缀合物。组合物中免疫缀合物的浓度可以广泛变化,并且将根据所选特定施用模式和患者需要,主要基于流体体积、粘度、体重等等来选择。在某些实施方案中,注射用溶液制剂中免疫缀合物的浓度将在约0.1% (w/w) 至约10% (w/w) 的范围内。

[0764] 用免疫缀合物治疗癌症的方法

[0765] 本发明提供了一种用于治疗癌症的方法。所述方法包括向有需要的受试者,例如患有癌症并且需要治疗癌症的受试者施用治疗有效量的如本文所描述的免疫缀合物(例如,如本文所描述的组合物)。所述方法包括施用治疗有效量的选自表3的免疫缀合物(IC)。

[0766] 预期本发明的免疫缀合物可以用于治疗各种过度增生性疾病或病症,例如以肿瘤抗原的过表达为特征。示例性过度增生性病症包括良性或恶性实体肿瘤和血液学病症,诸如白血病和淋巴样恶性病。

[0767] 在另一个方面,提供了一种用作药剂的免疫缀合物。在某些实施方案中,本发明提供了一种用于治疗受试者的方法中的免疫缀合物,所述方法包括向受试者施用有效量的免疫缀合物。在一个此类实施方案中,所述方法还包括向受试者施用有效量的至少一种额外治疗剂,例如,如本文所描述。

[0768] 在另一个方面,本发明提供了免疫缀合物在药剂制造或制备中的用途。在一个实

施方案中,药剂用于治疗癌症,所述方法包括向患有癌症的受试者施用有效量的药剂。在一个此类实施方案中,所述方法还包括向受试者施用有效量的至少一种额外治疗剂,例如,如本文所描述。

[0769] 癌瘤是起源于上皮组织的恶性病。上皮细胞覆盖身体的外表面,内衬于内腔,并且形成腺组织的衬里。癌瘤的实例包括但不限于腺癌(始于腺(分泌)细胞的癌症,诸如乳癌、胰脏癌、肺癌、前列腺癌、胃癌、胃食管连接部癌症和结肠癌);肾上腺皮质癌;肝细胞癌;肾细胞癌;卵巢癌;原位癌;导管癌;乳癌;基底细胞癌;鳞状细胞癌;移行细胞癌;结肠癌;鼻咽癌;多房囊性肾细胞癌;燕麦细胞癌;大细胞肺癌;小细胞肺癌;非小细胞肺癌;等等。在前列腺、胰脏、结肠、脑(通常是继发性转移)、肺、乳房和皮肤中可以发现癌瘤。在一些实施方案中,用于治疗非小细胞肺癌的方法包括施用含有能够结合PD-L1的抗体构建体(例如阿特殊单抗、得瓦鲁单抗、阿维鲁单抗、其生物类似药或其生物改良药)的免疫缀合物。在一些实施方案中,用于治疗乳癌的方法包括施用含有能够结合PD-L1的抗体构建体(例如阿特殊单抗、得瓦鲁单抗、阿维鲁单抗、其生物类似药或其生物改良药)的免疫缀合物。在一些实施方案中,用于治疗三阴性乳癌的方法包括施用含有能够结合PD-L1的抗体构建体(例如阿特殊单抗、得瓦鲁单抗、阿维鲁单抗、其生物类似药或其生物改良药)的免疫缀合物。

[0770] 软组织肿瘤是来源于结缔组织的罕见肿瘤的高度多样化群组。软组织肿瘤的实例包括但不限于肺泡状软组织肉瘤;血管瘤样纤维组织细胞瘤;软骨粘液样纤维瘤;骨骼软骨肉瘤;骨骼外粘液样软骨肉瘤;透明细胞肉瘤;促结缔组织增生性小圆细胞瘤;隆突性皮肤纤维肉瘤;子宫内间质瘤;尤因氏肉瘤(Ewing's sarcoma);纤维瘤病(硬纤维);婴儿纤维肉瘤;胃肠道间质瘤;骨巨细胞瘤;腱鞘巨细胞瘤;炎性肌纤维母细胞瘤;子宫平滑肌瘤;平滑肌肉瘤;脂肪母细胞瘤;典型脂肪瘤;梭形细胞或多形性脂肪瘤;非典型脂肪瘤;软骨样脂肪瘤;高分化脂肪肉瘤;粘液样/圆形细胞脂肪肉瘤;多形性脂肪肉瘤;粘液样恶性纤维组织细胞瘤;高度恶性纤维组织细胞瘤;粘液性纤维肉瘤;恶性周边神经鞘瘤;间皮瘤;神经母细胞瘤;骨软骨瘤;骨肉瘤;原始神经外胚层肿瘤;肺泡状横纹肌肉瘤;胚胎横纹肌肉瘤;良性或恶性神经鞘瘤;滑膜肉瘤;埃文氏肿瘤(Evan's tumor);结节性筋膜炎;硬纤维型纤维瘤病;孤立性纤维瘤;隆突性皮肤纤维肉瘤(DFSP);血管肉瘤;上皮样血管内皮瘤;腱鞘巨细胞瘤(TGCT);色素绒毛结节性滑膜炎(PVNS);纤维性发育不良;粘液性纤维肉瘤;纤维肉瘤;滑膜肉瘤;恶性周边神经鞘瘤;神经纤维瘤;软组织多形性腺瘤;以及来源于纤维母细胞、肌纤维母细胞、组织细胞、血管细胞/内皮细胞和神经鞘细胞的赘瘤。

[0771] 肉瘤是罕见类型的癌症,其出现于间叶来源的细胞中,例如身体的骨骼中或软组织中,所述软组织包括软骨、脂肪、肌肉、血管、纤维组织或其它结缔组织或支持组织。不同类型的肉瘤基于癌症形成的部位。举例来说,骨肉瘤在骨骼中形成,脂肪肉瘤在脂肪中形成,并且横纹肌肉瘤在肌肉中形成。肉瘤的实例包括但不限于阿斯金氏肿瘤(askin's tumor);葡萄状肉瘤;软骨肉瘤;尤因氏肉瘤;恶性血管内皮瘤;恶性神经鞘瘤;骨肉瘤;以及软组织肉瘤(例如肺泡状软组织肉瘤;血管肉瘤;叶状囊性肉瘤;隆突性皮肤纤维肉瘤(DFSP);硬纤维瘤;促结缔组织增生性小圆细胞瘤;上皮样肉瘤;骨骼外软骨肉瘤;骨骼外骨肉瘤;纤维肉瘤;胃肠道间质瘤(GIST);血管外皮细胞瘤;血管肉瘤(hemangiosarcoma)(更常称作“血管肉瘤(angiosarcoma)”;卡波西氏肉瘤(kaposi's sarcoma);平滑肌肉瘤;脂肪肉瘤;淋巴管肉瘤;恶性周边神经鞘瘤(MPNST);神经纤维肉瘤;滑膜肉瘤;以及未分化多

形性肉瘤)。

[0772] 畸胎瘤是一种类型的生殖细胞肿瘤,其可以含有若干不同类型的组织(例如可以包括来源于以下三个胚层中的任一者和/或全部的组织:内胚层、中胚层和外胚层),包括例如毛发、肌肉和骨骼。畸胎瘤最常出现于女性的卵巢、男性的睪丸和儿童的尾骨中。

[0773] 黑色素瘤是始于黑色素细胞(制造黑色素的细胞)的癌症形式。黑色素瘤可以始于黑痣(皮肤黑色素瘤),但也可以始于其它有色素组织,诸如眼中或肠中。

[0774] 默克尔细胞癌(Merkel cell carcinoma)是一种罕见类型的皮肤癌,其通常以肉色或蓝红色结节出现于面部、头部或颈部。默克尔细胞癌也称为皮肤神经内分泌癌。在一些实施方案中,用于治疗默克尔细胞癌的方法包括施用含有能够结合PD-L1的抗体构建体(例如阿特珠单抗、得瓦鲁单抗、阿维鲁单抗、其生物类似药或其生物改良药)的免疫缀合物。在一些实施方案中,当进行施用时默克尔细胞癌已转移。

[0775] 白血病是始于血液形成组织(诸如骨髓)的癌症,并且导致大量异常血细胞产生并且进入血流。举例来说,白血病可以起源于通常在血流中成熟的骨髓源性细胞。白血病以疾病发展及进展的速度(例如急性对比慢性)和受影响的白血球类型(例如髓样对比淋巴样)而命名。髓样白血病也称为骨髓性或骨髓母细胞性白血病。淋巴样白血病也称为淋巴母细胞性或淋巴细胞性白血病。淋巴样白血病细胞可聚集于淋巴结中,从而淋巴结可变得肿胀。白血病的实例包括但不限于急性髓样白血病(AML)、急性淋巴母细胞性白血病(ALL)、慢性髓样白血病(CML)和慢性淋巴细胞性白血病(CLL)。

[0776] 淋巴瘤是始于免疫系统细胞的癌症。举例来说,淋巴瘤可以起源于通常在淋巴系统中成熟的骨髓源性细胞。淋巴瘤存在两种基本类别。一种类别的淋巴瘤是霍奇金淋巴瘤(Hodgkin lymphoma,HL),其以称为里-斯二氏细胞(Reed-Sternberg cell)的细胞类型的存在为标志。当前存在6种公认的HL类型。霍奇金淋巴瘤的实例包括结节性硬化经典型霍奇金淋巴瘤(CHL)、混合细胞型CHL、淋巴细胞耗竭型CHL、富淋巴细胞型CHL和结节性淋巴细胞为主型HL。

[0777] 另一种类别的淋巴瘤是非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin lymphoma,NHL),其包括免疫系统细胞癌的大型多样化群组。非霍奇金淋巴瘤可以进一步分为具有无痛性(缓慢生长)病程的癌症和具有侵袭性(快速生长)病程的癌症。当前存在61种公认的NHL类型。非霍奇金淋巴瘤的实例包括但不限于AIDS相关淋巴瘤、退行性大细胞淋巴瘤、血管免疫母细胞性淋巴瘤、母细胞性NK细胞淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)、伯基特样淋巴瘤(Burkitt-like lymphoma)(小无裂细胞淋巴瘤)、慢性淋巴细胞性白血病/小淋巴细胞性淋巴瘤、皮肤性T细胞淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、肠病型T细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、肝脾 $\gamma$ - $\delta$ T细胞淋巴瘤、T细胞白血病、淋巴母细胞性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、鼻部T细胞淋巴瘤、小儿淋巴瘤、周边T细胞淋巴瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、转化性淋巴瘤、治疗相关T细胞淋巴瘤和瓦尔登斯特伦氏巨球蛋白血症(Waldenstrom's macroglobulinemia)。

[0778] 脑癌包括脑组织的任何癌症。脑癌的实例包括但不限于神经胶质瘤(例如胶质母细胞瘤、星形细胞瘤、寡树突神经胶质瘤、室管膜瘤和类似癌症)、脑膜瘤、垂体腺瘤和前庭神经鞘瘤、原始神经外胚层肿瘤(髓母细胞瘤)。

[0779] 本发明的免疫缀合物可以单独或与其它剂组合用于疗法中。举例来说,免疫缀合

物可以与至少一种额外治疗剂,诸如化学治疗剂共同施用。此类组合疗法涵盖组合施用(其中两种或更多种治疗剂包括于相同或独立制剂中);以及独立施用,在这种情况下,免疫缀合物的施用可以在额外治疗剂和/或佐剂施用之前、同时和/或之后进行。免疫缀合物还可以与放射线疗法组合使用。

[0780] 本发明的免疫缀合物(和任何额外治疗剂)可以通过任何适合的手段施用,包括肠道外、肺内和鼻内,并且必要时对于局部治疗,病灶内施用。肠道外输注包括肌肉内、静脉内、动脉内、腹膜内或皮下施用。给药可以通过任何适合的途径进行,例如通过注射,诸如静脉内或皮下注射,在部分程度上取决于施用是短暂的还是长期的。本文预期各种给药方案,包括但不限于单次施用或经多个时间点的多次施用、推注施用和脉冲输注。

[0781] 已知阿特殊单抗、得瓦鲁单抗、阿维鲁单抗、其生物类似药及其生物改良药可以用于治疗癌症,特别是乳癌,尤其三阴性(对雌激素受体、黄体酮受体和过量HER2蛋白质测试呈阴性)乳癌、膀胱癌和默克尔细胞癌。本文所描述的免疫缀合物与阿特殊单抗、得瓦鲁单抗、阿维鲁单抗、其生物类似药及其生物改良药可以用于治疗相同类型的癌症,特别是乳癌,尤其三阴性(对雌激素受体、黄体酮受体和过量HER2蛋白质测试呈阴性)乳癌、膀胱癌和默克尔细胞癌。

[0782] 使用任何适合的给药方案,诸如用于阿特殊单抗、得瓦鲁单抗、阿维鲁单抗、其生物类似药及其生物改良药的给药方案,以任何治疗有效量向有需要的受试者施用免疫缀合物。举例来说,所述方法可以包括施用免疫缀合物以向受试者提供约100ng/kg至约50mg/kg的剂量。免疫缀合物剂量可以在约5mg/kg至约50mg/kg、约10 $\mu$ g/kg至约5mg/kg、或约100 $\mu$ g/kg至约1mg/kg的范围内。免疫缀合物剂量可以为约100、200、300、400或500 $\mu$ g/kg。免疫缀合物剂量可以为约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10mg/kg。取决于特定缀合物以及所治疗的癌症的类型和严重性,免疫缀合物剂量也可以在这些范围外。施用频率可以在每周单次给药至多次给药的范围内,或更高频率。在一些实施方案中,每月约一次至每周约五次施用免疫缀合物。在一些实施方案中,每周一次施用免疫缀合物。

[0783] 在另一个方面,本发明提供了一种用于预防癌症的方法。所述方法包括向受试者施用治疗有效量的免疫缀合物(例如,如上文所描述的组合物)。在某些实施方案中,受试者易患某种有待预防的癌症。举例来说,所述方法可以包括施用免疫缀合物以向受试者提供约100ng/kg至约50mg/kg的剂量。免疫缀合物剂量可以在约5mg/kg至约50mg/kg、约10 $\mu$ g/kg至约5mg/kg、或约100 $\mu$ g/kg至约1mg/kg的范围内。免疫缀合物剂量可以为约100、200、300、400或500 $\mu$ g/kg。免疫缀合物剂量可以为约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10mg/kg。取决于特定缀合物以及所治疗的癌症的类型和严重性,免疫缀合物剂量也可以在这些范围外。施用频率可以在每周单次给药至多次给药的范围内,或更高频率。在一些实施方案中,每月约一次至每周约五次施用免疫缀合物。在一些实施方案中,每周一次施用免疫缀合物。

[0784] 本发明的一些实施方案提供用于治疗如上文所描述的癌症的方法,其中所述癌症是乳癌。乳癌可以起源于乳房的不同区域,并且许多不同类型的乳癌已表征。举例来说,本发明的免疫缀合物可以用于治疗原位导管癌;浸润性导管癌(例如小管癌;髓质癌;粘液癌;乳突癌;或乳房筛状癌);原位小叶癌;浸润性小叶癌;炎性乳癌;以及其它形式的乳癌,诸如三阴性(对雌激素受体、黄体酮受体和过量HER2蛋白质测试呈阴性)乳癌。在一些实施方案中,用于治疗乳癌的方法包括施用含有能够结合HER2的抗体构建体(例如曲妥珠单抗、帕妥



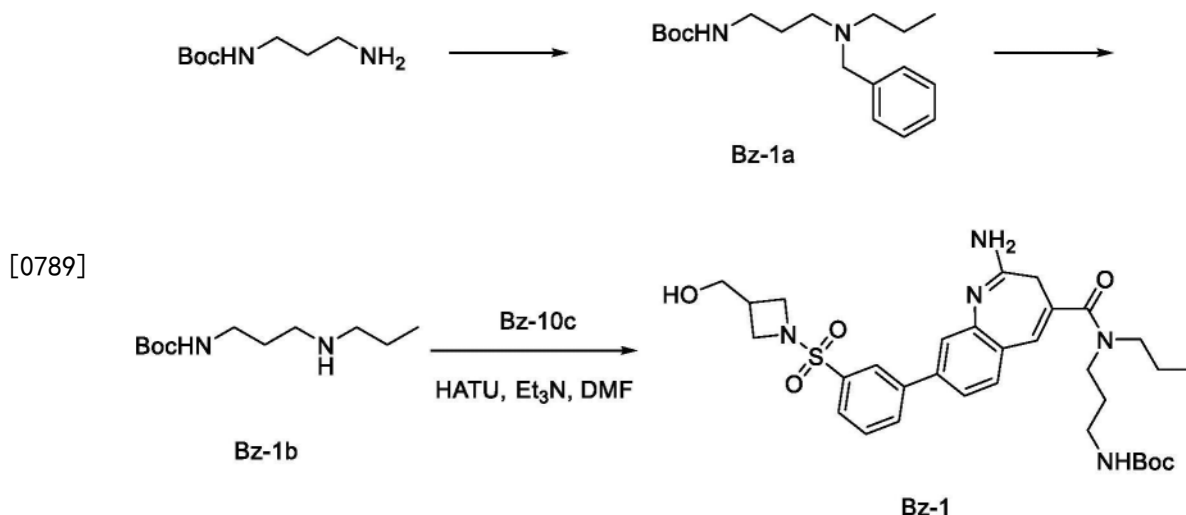
珠单抗、其生物类似药或生物改良药) 和能够结合PD-L1的抗体构建体(例如阿特殊单抗、得瓦鲁单抗、阿维鲁单抗、其生物类似药或生物改良药) 的免疫缀合物。在一些实施方案中, 用于治疗结肠癌、肺癌、肾癌、胰脏癌、胃癌和食管癌的方法包括施用含有能够结合CEA或过表达CEA的肿瘤的抗体构建体(例如拉贝妥珠单抗、其生物类似药或生物改良药) 的免疫缀合物。

[0785] 在一些实施方案中, 癌症容易发生由TLR7和/或TLR8诱导的促炎反应。

[0786] 实施例

[0787] 制备氨基苯并氮呋化合物(Bz) 和中间体

[0788] 实施例1合成Bz-1



[0790] 合成(3-(苯甲基(丙基)氨基)丙基)氨基甲酸叔丁酯Bz-1a.

[0791] 在70℃下将含N-(3-氨基丙基)氨基甲酸叔丁酯(10g, 57.39mmol, 10.02mL, 1当量)和苯甲醛(6.09g, 57.39mmol, 5.80mL, 1当量)的DCE(100mL)搅拌24小时。在0℃下将MeOH(100mL)和NaBH<sub>3</sub>CN(16.23g, 258.26mmol, 4.5当量)逐份添加至混合物中。在0℃下搅拌混合物2小时, 然后在0℃下添加丙醛(16.67g, 286.96mmol, 20.89mL, 5当量)并且搅拌2小时。LCMS显示反应完成。向混合物中添加数滴水并且在40℃下减压浓缩。将残余物倾倒至冰水(200mL)中并且搅拌5分钟。用乙酸乙酯(200mL x 3)萃取水相。用盐水(300mL)洗涤经合并的有机相, 用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且真空浓缩。通过硅胶色谱法(石油醚/乙酸乙酯=10/1、3/1)纯化残余物, 得到呈浅黄色油状的N-[3-(苯甲基(丙基)氨基)丙基]氨基甲酸叔丁酯Bz-1a(16g, 52.21mmol, 产率90.98%)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) δ7.39-7.29(m, 5H), 3.60-3.52(m, 2H), 3.20-3.08(m, 2H), 2.56-2.45(m, 2H), 2.39(s, 2H), 1.73-1.61(m, 2H), 1.58-1.48(m, 2H), 1.42(s, 1H), 1.45(s, 9H), 0.89(t, J=7.2Hz, 3H)。

[0792] 合成N-[3-(丙基氨基)丙基]氨基甲酸叔丁酯Bz-1b.

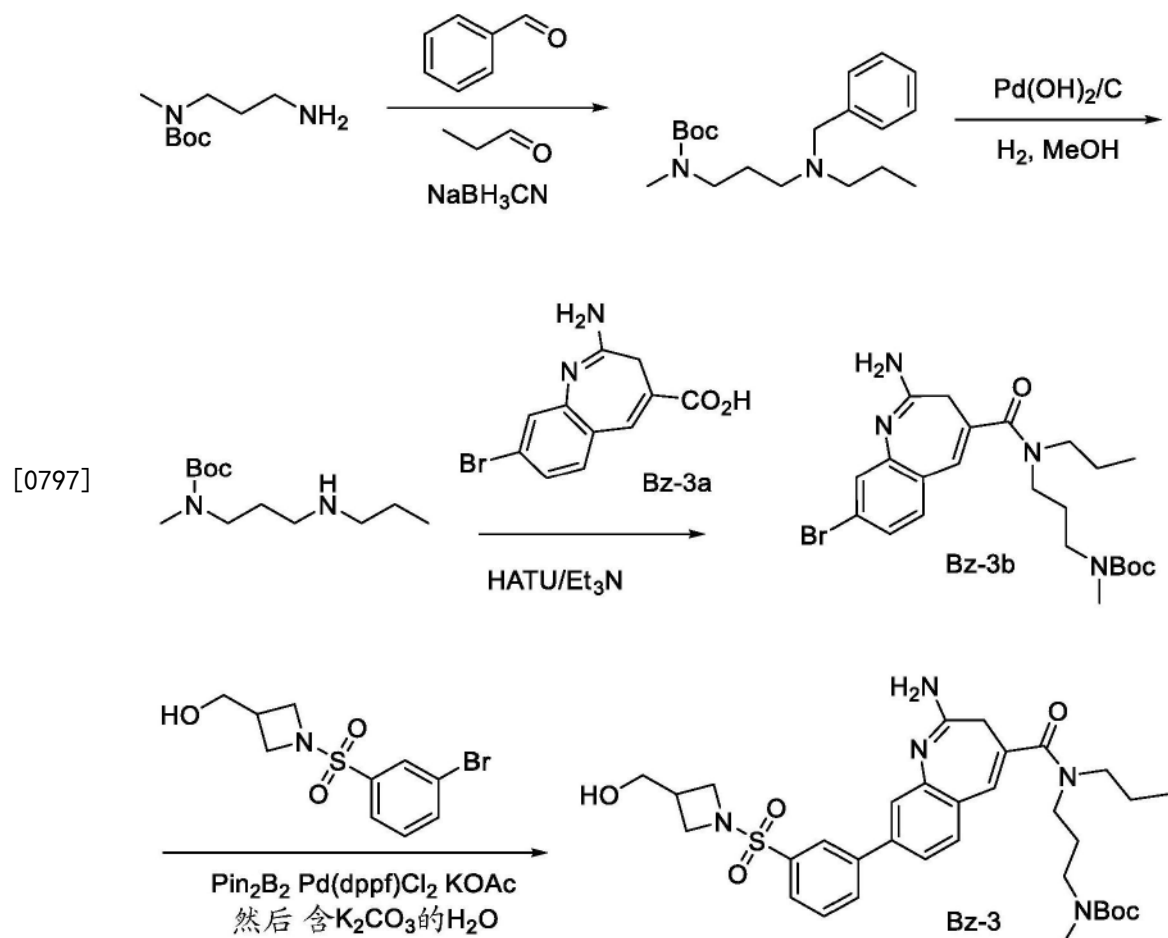
[0793] 在N<sub>2</sub>下向N-[3-(苯甲基(丙基)氨基)丙基]氨基甲酸叔丁酯Bz-1a(10g, 32.63mmol, 1当量)于MeOH(150mL)中的溶液中添加Pd(OH)<sub>2</sub>/C(10%, 3g)。将悬浮液在真空下脱气并且用H<sub>2</sub>吹扫数次。在50℃下于H<sub>2</sub>(50psi)下搅拌混合物12小时。TLC(石油醚/乙酸乙酯=3:1)显示起始物质完全消耗。过滤反应混合物并且浓缩滤液, 得到呈无色油状的N-[3-(丙基氨基)丙基]氨基甲酸叔丁酯Bz-1b(5g, 23.11mmol, 产率70.83%), 其未经进一步纯化即用于下一步骤中。<sup>1</sup>H NMR(MeOD, 400MHz) δ3.13-3.05(m, 2H), 2.60(t, J=7.2Hz, 2H),

2.56-2.50 (m, 2H), 1.66 (m, 2H), 1.58-1.48 (m, 2H), 1.44 (s, 9H), 0.94 (t, J=7.2Hz, 3H)。

[0794] 合成N-[3-[[2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-羰基]-丙基-氨基]丙基]氨基甲酸叔丁酯Bz-1。

[0795] 在15℃下向N-[3-(丙基氨基)丙基]氨基甲酸叔丁酯Bz-1b (202.42mg, 935.73μmol (微摩尔), 2当量) 和来自实施例6的2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-甲酸Bz-10c (0.2g, 467.87μmol, 1当量) 于DMF (2mL) 中的混合物中一次性添加HATU (213.48mg, 561.44μmol, 1.2当量) 和Et<sub>3</sub>N (94.69mg, 935.73μmol, 130.24μL (微升), 2当量)。在15℃下搅拌混合物30分钟。LCMS和HPLC显示反应完成。过滤混合物并且通过制备型HPLC (柱: Waters Xbridge 150x25 mm, 5微米粒度; 流动相: [水 (10mMNH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>) - ACN]; B%: 30%-50%, 20分钟) 纯化, 得到呈浅黄色固体状的N-[3-[[2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-羰基]-丙基-氨基]丙基]氨基甲酸叔丁酯Bz-1 (0.087g, 139.03μmol, 产率29.72%)。<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz) δ8.07 (s, 1H), 8.03 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.86-7.81 (m, 1H), 7.79-7.73 (m, 1H), 7.50-7.45 (m, 2H), 7.39 (m, 1H), 6.92 (s, 1H), 3.86 (t, J=8.0Hz, 2H), 3.61-3.58 (m, 2H), 3.52-3.48 (m, 2H), 3.45-3.41 (m, 4H), 3.10 (s, 4H), 2.62-2.52 (m, 1H), 1.86-1.79 (m, 2H), 1.71-1.65 (m, 2H), 1.42-1.50 (m, 9H), 0.87-0.95 (m, 3H)。LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 626.30 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 626.40 (观测值)。

[0796] 实施例2合成Bz-3



[0798] 合成(3-(苯甲基(丙基)氨基)丙基)(甲基)氨基甲酸叔丁酯

[0799] 在25℃下于N<sub>2</sub>下向苯甲醛 (310.02mg, 2.92mmol, 295.26μL, 1当量) 于DCE (10mL) 中

的混合物中添加N-(3-氨基丙基)-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯(0.55g, 2.92mmol, 1当量)。在60℃下搅拌混合物12小时, 然后冷却至0℃, 将MeOH(10mL)添加至混合物中, 将NaBH<sub>3</sub>CN(550.48mg, 8.76mmol, 3当量)添加至混合物中, 搅拌1小时。将丙醛(339.18mg, 5.84mmol, 425.04μL, 2当量)添加至混合物中并且在0℃下搅拌1小时。LCMS显示反应完成。真空浓缩混合物。通过制备型HPLC柱纯化残余物:Luna C18 100x30 5u; 流动相:[水(0.1%TFA)-ACN]; B%:10%-40%, 10分钟, 得到呈无色油状的N-[3-[苯甲基(丙基)氨基]丙基]-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯(0.4g, 1.25mmol, 产率42.75%)。<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz) δ7.18-7.37 (m, 5H), 3.57 (s, 2H), 3.20 (t, J=7.2Hz, 2H), 2.78 (s, 3H), 2.35-2.52 (m, 4H), 1.70 (五重峰, J=7.2Hz, 2H), 1.47-1.57 (m, 2H), 1.42 (s, 9H), 0.88 (t, J=7.2Hz, 3H)

[0800] 合成甲基(3-(丙基氨基)丙基)氨基甲酸叔丁酯

[0801] 在N<sub>2</sub>下向N-[3-[苯甲基(丙基)氨基]丙基]-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯(0.4g, 1.25mmol, 1当量)于MeOH(20mL)中的溶液中添加Pd(OH)<sub>2</sub>/C(0.2g, 纯度5%)。将悬浮液在真空下脱气并且用H<sub>2</sub>吹扫数次。在50℃下于H<sub>2</sub>(50psi)下搅拌混合物12小时。LCMS显示反应物已消耗, 检测到所需质量。过滤混合物并且真空浓缩。得到呈无色油状的N-甲基-N-[3-(丙基氨基)丙基]氨基甲酸叔丁酯(0.25g, 1.09mmol, 产率86.95%)。<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz) δ3.26-3.31 (m, 2H), 2.85 (s, 3H), 2.56 (q, J=8.0Hz, 4H), 1.74 (五重峰, J=7.2Hz, 2H), 1.48-1.59 (m, 2H), 1.46 (s, 9H), 0.94 (t, J=7.2Hz, 3H)

[0802] 合成(3-(2-氨基-8-溴-N-丙基-3H-苯并[b]氮呋-4-甲酰胺基)丙基)(甲基)氨基甲酸叔丁酯Bz-3b

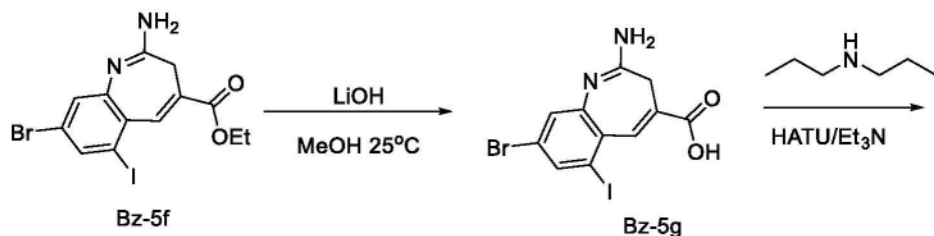
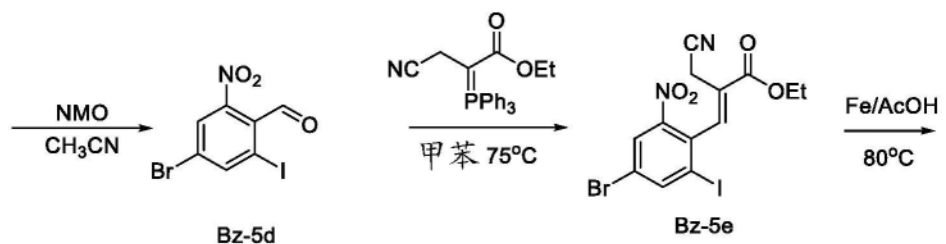
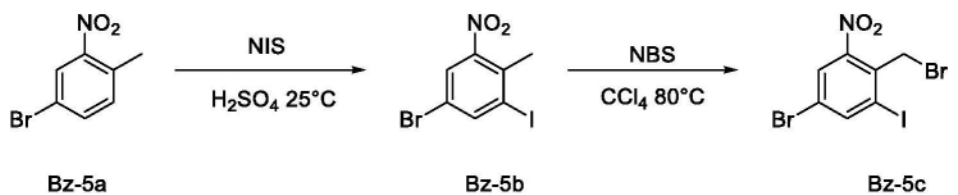
[0803] 在25℃下于N<sub>2</sub>下向2-氨基-8-溴-3H-1-苯并氮呋-4-甲酸Bz-3a(80mg, 284.59μmol, 1当量)和N-甲基-N-[3-(丙基氨基)丙基]氨基甲酸叔丁酯(78.67mg, 341.51μmol, 1.2当量)于DMF(1mL)中的混合物中添加HATU(162.32mg, 426.89μmol, 1.5当量)、Et<sub>3</sub>N(57.60mg, 569.18μmol, 79.22μL, 2当量)。在25℃下搅拌混合物1小时。LCMS显示所需主要物质。将混合物倾倒至水(20mL)中。用乙酸乙酯(20mLx3)萃取水相。用盐水(20mL)洗涤经合并的有机相, 用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且真空浓缩。通过制备型TLC(石油醚/乙酸乙酯=0/1)纯化残余物, 得到呈黄色油状的Bz-3b(60mg, 121.60μmol, 产率42.73%)。

[0804] 合成(3-(2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-N-丙基-3H-苯并[b]氮呋-4-甲酰胺基)丙基)(甲基)氨基甲酸叔丁酯Bz-3

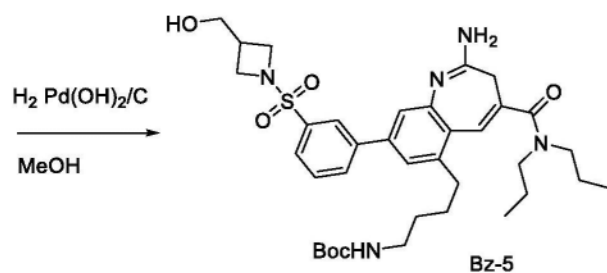
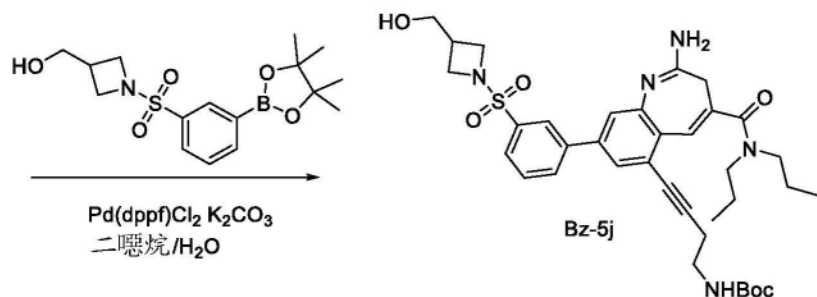
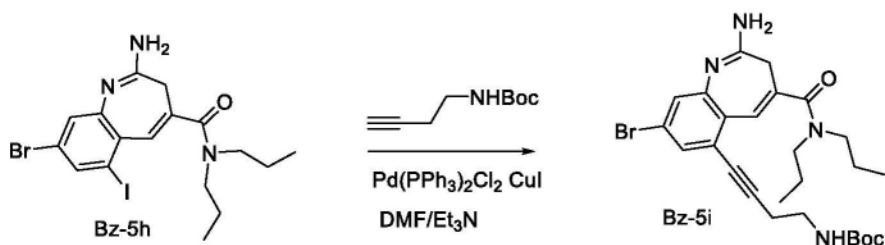
[0805] 在25℃下于N<sub>2</sub>下向[1-(3-溴苯基)磺酰基氮杂环丁-3-基]甲醇(155.12mg, 506.65μmol, 1当量)、Pin<sub>2</sub>B<sub>2</sub>(154.39mg, 607.98μmol, 1.2当量)、乙酸钾KOAc(124.31mg, 1.27mmol, 2.5当量)于二噁烷(30mL)中的混合物中添加Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>·CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(41.38mg, 50.67μmol, 0.1当量)。在90℃下搅拌混合物2小时。将含N-[3-[(2-氨基-8-溴-3H-1-苯并氮呋-4-羰基)-丙基-氨基]丙基]-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯Bz-3b(0.25g, 506.65μmol, 1当量)、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(140.04mg, 1.01mmol, 2当量)的H<sub>2</sub>O(2mL)添加至混合物中, 在90℃下于氮气N<sub>2</sub>下搅拌2小时。LCMS显示反应完成。过滤混合物并且真空浓缩。通过制备型TLC(EtOAc/MeOH=7:1)纯化残余物, 得到呈浅黄色固体状的Bz-3(112mg, 175.05μmol, 产率34.55%)。<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz) δ8.07 (s, 1H), 8.03 (d, J=7.6Hz, 1H), 7.85 (br d, J=7.6Hz, 1H), 7.73-7.79 (m, 1H), 7.41-7.54 (m, 3H), 6.95 (s, 1H), 3.86 (t, J=8.2Hz, 2H), 3.60 (dd, J=8.0, 6.0Hz, 2H), 3.39-3.52 (m, 6H), 3.17-3.29 (m, 2H), 2.82-2.90 (m, 4H), 2.53-2.67 (m, 1H), 1.89-1.92 (m,

2H), 1.66-1.72 (m, 2H), 1.42-1.46 (m, 9H), 0.80-1.05 (m, 3H)。LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 640.32 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 640.30 (观测值)。

[0806] 实施例3合成Bz-5



[0807]



[0808] 合成5-溴-1-碘-2-甲基-3-硝基苯Bz-5b

[0809] 在0℃下于N<sub>2</sub>下向4-溴-1-甲基-2-硝基-苯Bz-5a (20g, 92.58mmol, 20.00mL, 1当量) 于H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (20mL) 中的混合物中添加NIS (37.49g, 166.64mmol, 1.8当量)。在0℃下搅拌混合物1小时。TLC显示反应物已消耗并且形成两个点。将混合物缓慢倾倒入冰水 (200mL) 中。用乙酸乙酯 (150mLx2) 萃取水相。用盐水 (150mL) 洗涤经合并的有机相, 用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且真空浓缩。通过硅胶色谱法 (柱高度: 250mm, 直径: 100mm, 100-200目硅胶, 石油醚/乙酸乙酯=100/1、20/1) 纯化残余物, 得到呈白色固体状的Bz-5b (14g, 40.94mmol, 产率44.23%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) δ8.20 (d, J=2.0Hz, 1H), 7.87 (d, J=2.0Hz, 1H), 2.55 (s, 3H)。

[0810] 合成5-溴-2-(溴甲基)-1-碘-3-硝基苯Bz-5c

[0811] 在25℃下于N<sub>2</sub>下向5-溴-1-碘-2-甲基-3-硝基-苯Bz-5b (13g, 38.02mmol, 1当量) 于CCl<sub>4</sub> (100mL) 中的混合物中添加NBS (10.15g, 57.03mmol, 1.5当量)、BPO (920.94mg, 3.80mmol, 0.1当量)。在90℃下搅拌混合物12小时。TLC显示形成一个新的点, HPLC和LCMS显示所需约50%和剩余约50%反应物。真空浓缩混合物。通过硅胶色谱法 (柱高度: 250mm, 直径: 100mm, 100-200目硅胶, 石油醚/乙酸乙酯=50/1、10/1) 纯化残余物, 得到呈白色固体状的Bz-5c (7g, 16.63mmol, 产率43.75%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>-d<sub>6</sub>, 400MHz) δ8.29 (d, J=2.0Hz, 1H), 8.02 (d, J=2.0Hz, 1H), 4.82 (s, 3H)。

[0812] 合成4-溴-2-碘-6-硝基苯甲醛Bz-5d

[0813] 在25℃下于N<sub>2</sub>下向5-溴-2-(溴甲基)-1-碘-3-硝基-苯Bz-5c (7g, 16.63mmol, 1当量) 于CH<sub>3</sub>CN (10mL) 中的混合物中添加NMO (3.90g, 33.27mmol, 3.51mL, 2当量)。在25℃下搅拌混合物2小时。TLC显示反应完成。真空浓缩混合物。通过硅胶色谱法 (柱高度: 250mm, 直径: 100mm, 100-200目硅胶, 石油醚/乙酸乙酯=20/1、4/1) 纯化残余物, 得到呈白色固体状的Bz-5d (5g, 14.05mmol, 产率84.46%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) δ10.00 (s, 1H), 8.37 (d, J=1.6Hz, 1H), 8.15 (d, J=1.6Hz, 1H)。

[0814] 合成(E)-3-(4-溴-2-碘-6-硝基苯基)-2-(氰基甲基)丙烯酸乙酯Bz-5e

[0815] 在25℃下于N<sub>2</sub>下向4-溴-2-碘-6-硝基-苯甲醛Bz-5d (3.5g, 9.83mmol, 1当量) 于甲苯 (30mL) 中的混合物中添加3-氰基-2-(三苯基-亚膦基) 丙酸乙酯 (5.71g, 14.75mmol, 1.5当量)。在85℃下搅拌混合物12小时。TLC显示所需主要物质。真空浓缩混合物。通过硅胶色谱法 (柱高度: 250mm, 直径: 100mm, 100-200目硅胶, 石油醚/乙酸乙酯=10/1、1/1) 纯化残余物, 得到呈黄色油状的Bz-5e (2g, 4.30mmol, 产率43.73%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) δ8.62 (d, J=1.8Hz, 1H), 8.42 (d, J=1.8Hz, 1H), 7.74 (s, 1H), 4.32 (q, J=7.2Hz, 2H), 3.33 (s, 2H), 1.31 (t, J=7.2Hz, 3H)。

[0816] 合成2-氨基-8-溴-6-碘-3H-苯并[b]氮呋-4-甲酸乙酯Bz-5f

[0817] 在25℃下于N<sub>2</sub>下向(E)-3-(4-溴-2-碘-6-硝基-苯基)-2-(氰基甲基)丙-2-烯酸乙酯Bz-5e (2g, 4.30mmol, 1当量) 于乙酸AcOH (20mL) 中的混合物中添加Fe (1.20g, 21.50mmol, 5当量)。在80℃下搅拌混合物5小时。LCMS显示所需主要物质并且反应物已消耗。过滤反应物并且真空浓缩滤液。通过硅胶色谱法 (柱高度: 250mm, 直径: 100mm, 100-200目硅胶, 石油醚/乙酸乙酯=1/1、0/1) 纯化残余物, 得到呈灰白色固体状的Bz-5f (1.8g, 4.14mmol, 产率96.20%)。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz) δ7.71 (s, 1H), 7.69 (d, J=2.0Hz, 1H), 7.22 (br d, J=

2.0Hz, 1H), 4.26 (q, J=7.0Hz, 3H), 2.83 (s, 2H), 1.30 (t, J=7.2Hz, 3H)。

[0818] 合成2-氨基-8-溴-6-碘-3H-苯并[b]氮呋-4-甲酸Bz-5g

[0819] 在25℃下于N<sub>2</sub>下向2-氨基-8-溴-6-碘-3H-1-苯并氮呋-4-甲酸乙酯Bz-5f (1.8g, 4.14mmol, 1当量)于EtOH (40mL)中的混合物中添加含LiOH·H<sub>2</sub>O (1.04g, 24.82mmol, 6当量)的H<sub>2</sub>O (10mL)。在35℃下搅拌混合物2小时。LCMS显示反应完成。浓缩混合物以去除EtOH,然后由HCl水溶液 (4M) 将PH调节至5,过滤获得所需固体,得到呈白色固体状的Bz-5g (1.2g, 2.95mmol, 产率71.26%)。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz) δ7.77 (s, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.29 (s, 1H), 2.92 (s, 2H)

[0820] 合成2-氨基-8-溴-6-碘-N,N-二丙基-3H-苯并[b]氮呋-4-甲酰胺Bz-5h

[0821] 在25℃下向N-丙基丙-1-胺 (186.47mg, 1.84mmol, 254.04μL, 1.5当量)和2-氨基-8-溴-6-碘-3H-1-苯并氮呋-4-甲酸Bz-5g (0.5g, 1.23mmol, 1当量)于DMF (10mL)中的混合物中添加HATU (700.67mg, 1.84mmol, 1.5当量)、Et<sub>3</sub>N (186.47mg, 1.84mmol, 256.49μL, 1.5当量)。在25℃下搅拌混合物30分钟。LCMS显示反应完成。将混合物倾倒入水 (50mL)中,从混合物中分离出,并且过滤获得呈黄色固体状的Bz-5h (0.55g, 1.12mmol, 产率91.33%)。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz) δ7.74 (d, J=2.0Hz, 1H), 7.33 (d, J=2.0Hz, 1H), 6.81 (s, 1H), 3.43-3.47 (m, 4H), 1.66-1.72 (m, 4H), 0.93 (s, 6H)

[0822] 合成(4-(2-氨基-8-溴-4-(二丙基氨甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-6-基)丁-3-炔-1-基)氨基甲酸叔丁酯Bz-5i

[0823] 在25℃下于N<sub>2</sub>下向2-氨基-8-溴-6-碘-N,N-二丙基-3H-1-苯并氮呋-4-甲酰胺Bz-5h (200mg, 408.02μmol, 1当量)和N-丁-3-炔基氨基甲酸叔丁酯 (72.50mg, 428.42μmol, 1.05当量)于DMF (5mL)、Et<sub>3</sub>N (1mL)中的混合物中添加Pd (PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (14.32mg, 20.40μmol, 0.05当量)、Et<sub>3</sub>N (0.5mL)、CuI (15.54mg, 81.60μmol, 0.2当量)。在80℃下搅拌混合物1小时。LCMS显示所需主要物质。将混合物倾倒入水 (20mL)中。用乙酸乙酯 (20mL×3) 萃取水相。用盐水 (20mL) 洗涤经合并的有机相,用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且真空浓缩。通过制备型TLC (石油醚/乙酸乙酯=0/1) 纯化残余物,得到呈黄色固体状的Bz-5i (0.2g, 376.31μmol, 产率92.23%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) δ7.40 (s, 1H), 7.35 (s, 1H), 7.13 (s, 1H), 3.46-3.52 (m, 4H), 3.35-3.40 (m, 2H), 2.65 (s, 2H), 1.58-1.78 (m, 4H), 1.46 (s, 9H), 0.93 (t, J=7.2Hz, 6H)

[0824] 合成(4-(2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-3H-苯并[b]氮呋-6-基)丁-3-炔-1-基)氨基甲酸叔丁酯Bz-5j

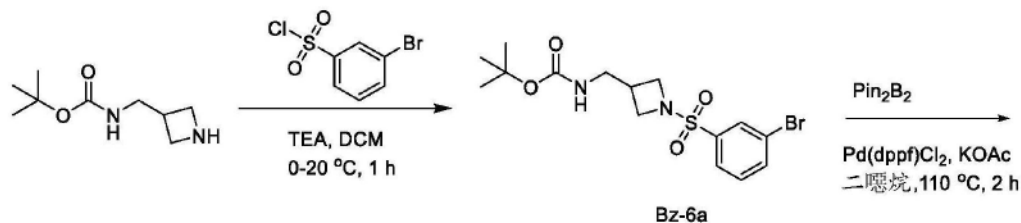
[0825] 在25℃下于N<sub>2</sub>下向N-[4-[2-氨基-8-溴-4-(二丙基氨甲酰基)-3H-1-苯并氮呋-6-基]丁-3-炔基]氨基甲酸叔丁酯Bz-5i (0.18g, 338.67μmol, 1当量)和[1-[3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)苯基]磺酰基氮杂环丁-3-基]甲醇 (179.45mg, 508.01μmol, 1.5当量)于二噁烷 (10mL)、H<sub>2</sub>O (1mL)中的混合物中添加Pd (dppf) Cl<sub>2</sub> (12.39mg, 16.93μmol, 0.05当量)、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (93.61mg, 677.35μmol, 2当量)。在90℃下搅拌混合物2小时。LCMS显示检测到所需质量。真空浓缩混合物,得到呈黄色固体状的Bz-5j (0.2g, 粗物质)。

[0826] 合成(4-(2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-3H-苯并[b]氮呋-6-基)丁基)氨基甲酸叔丁酯Bz-5

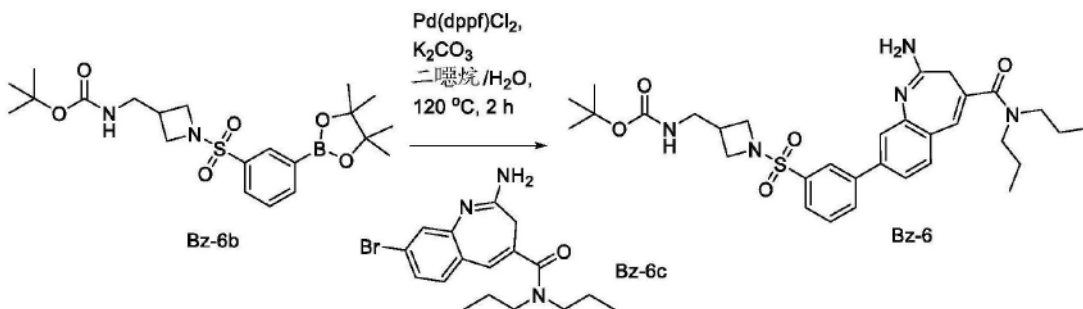
[0827] 在N<sub>2</sub>下向N-[4-[2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-6-基]丁-3-炔基]氨基甲酸叔丁酯Bz-5j (140mg, 206.53μ

mol, 1当量) 于MeOH (20mL) 中的溶液中添加Pd(OH)<sub>2</sub>/C (0.1g, 纯度5%)。将悬浮液在真空下脱气并且用H<sub>2</sub>吹扫数次。在25℃下于H<sub>2</sub> (50psi) 下搅拌混合物2小时。LCMS显示反应完成。过滤混合物并且真空浓缩。通过制备型HPLC柱纯化残余物: Xtimate C18 150x25mm, 5微米粒度; 流动相: [水 (0.04% NH<sub>3</sub>H<sub>2</sub>O+10mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>) -ACN]; B%: 50%-60%, 10.5分钟。得到呈白色固体状的Bz-5 (45mg, 65.99μmol, 产率31.95%)。<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz) δ 8.00-8.08 (m, 2H), 7.83 (d, J=7.6Hz, 1H), 7.71-7.79 (m, 1H), 7.33 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 6.99 (s, 1H), 3.86 (t, J=8.0Hz, 2H), 3.57-3.66 (m, 2H), 3.38-3.51 (m, 6H), 3.06 (t, J=6.4Hz, 2H), 2.84 (t, J=7.6Hz, 2H), 2.52-2.63 (m, 1H), 1.50-1.77 (m, 8H), 1.41 (s, 9H), 0.94 (s, 6H)。LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 682.36 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 682.40 (观测值)。

[0828] 实施例4合成Bz-6



[0829]



[0830] 合成((1-((3-溴苯基)磺酰基)氮杂环丁-3-基)甲基)氨基甲酸叔丁酯Bz-6a

[0831] 在0℃下向N-((3-溴苯基)磺酰基)氮杂环丁-3-基]甲基]氨基甲酸叔丁酯(1.6g, 8.59mmol, 1.2当量)于DCM (5mL) 中的混合物中添加TEA (1.45g, 14.32mmol, 1.99mL, 2当量) 和3-溴苯磺酰氯 (1.83g, 7.16mmol, 1.03mL, 1当量)。在20℃下搅拌混合物1小时。用水 (50mL) 稀释混合物并且用DCM (25mL x 3) 萃取。用盐水 (25mL) 洗涤有机层, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并浓缩。通过快速硅胶色谱法 (ISCO®; 4g SepaFlash® 二氧化硅快速柱, 洗脱剂0至100% 乙酸乙酯/石油醚梯度, 在35mL/min下) 纯化残余物。获得呈白色固体状的化合物N-[[1-((3-溴苯基)磺酰基)氮杂环丁-3-基]甲基]氨基甲酸叔丁酯Bz-6a (2.5g, 6.17mmol, 产率86.16%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) δ 7.99 (t, J=4.0Hz, 1H), 7.74-7.81 (m, 2H), 7.47 (t, J=8.0Hz, 1H), 4.61 (s, 1H), 3.86 (t, J=8.0Hz, 2H), 3.50-3.58 (m, 2H), 3.19 (t, J=4.0 Hz), 2.58-2.70 (m, 1H), 1.42 (s, 9H)。

[0832] 制备N-[[1-[[3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)苯基]磺酰基]氮杂环丁-3-基]甲基]氨基甲酸叔丁酯Bz-6b

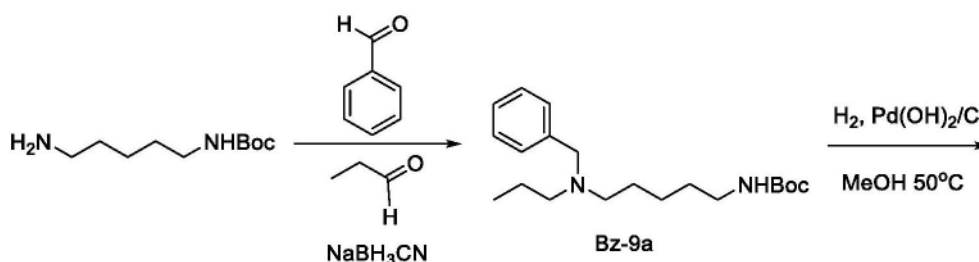
[0833] 在15℃下于N<sub>2</sub>下向N-[[1-((3-溴苯基)磺酰基)氮杂环丁-3-基]甲基]氨基甲酸叔丁酯Bz-6a (1g, 2.47mmol, 1当量) 于二噁烷 (10mL) 中的混合物中添加Pin<sub>2</sub>B<sub>2</sub> (939.80mg,

3.70mmol, 1.5当量) 和KOAc (484.29mg, 4.93mmol, 2当量)、Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (90.27mg, 123.36μmol, 0.05当量)。在110℃下搅拌混合物2小时。产物N-[1-[3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)苯基]磺酰基氮杂环丁-3-基]甲基]氨基甲酸叔丁酯Bz-6b未经分离并且用于下一步骤中。

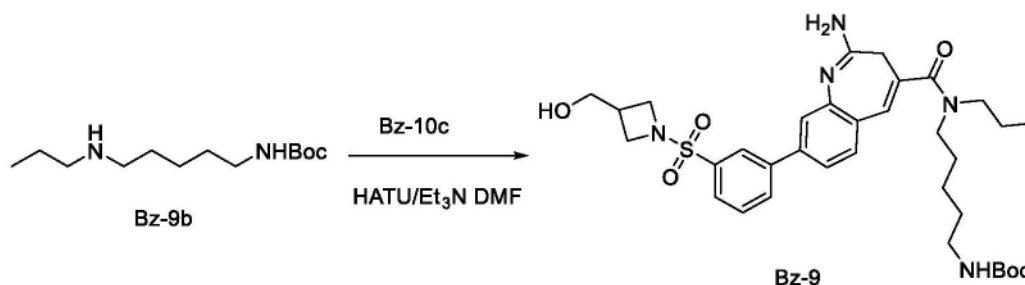
[0834] 合成((1-((3-(2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-8-基)苯基)磺酰基)氮杂环丁-3-基)甲基]氨基甲酸叔丁酯Bz-6

[0835] 在15℃下于N<sub>2</sub>下向N-[1-[3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)苯基]磺酰基氮杂环丁-3-基]甲基]氨基甲酸叔丁酯Bz-6b (1.12g, 2.48mmol, 1当量) 和2-氨基-8-溴-N,N-二丙基-3H-1-苯并氮呋-4-甲酰胺Bz-6c (901.90mg, 2.48mmol, 1当量) 于二噁烷 (3mL) 中的混合物中添加K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (684.35mg, 4.95mmol, 2当量) 和Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (90.58mg, 123.79μmol, 0.05当量)。在120℃下搅拌混合物2小时。过滤混合物并浓缩。通过快速硅胶色谱法 (ISCO®; 2g SepaFlash® 二氧化硅快速柱, 洗脱剂0至100% 乙酸乙酯/石油醚梯度, 在60mL/min下) 纯化残余物, 得到呈黄色固体状的Bz-6 (600mg, 983.97μmol, 产率39.74%, 纯度100%)。<sup>1</sup>H NMR (MeOD-d<sub>4</sub>, 400MHz) δ7.99-8.10 (m, 2H), 7.74-7.86 (m, 2H), 7.36-7.52 (m, 3H), 6.89 (s, 1H), 3.83 (t, J=8.0Hz, 2H), 3.54 (t, J=8.0Hz, 2H), 3.34-3.48 (m, 6H), 3.02 (d, J=8.0Hz, 2H), 2.48-2.64 (m, 1H), 1.59-1.76 (m, 4H), 1.37 (s, 9H), 0.96-0.89 (m, 6H)。LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 610.31 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 610.40 (观测值)。

[0836] 实施例5合成Bz-9



[0837]



[0838] 合成(5-(苯甲基(丙基)氨基)戊基)氨基甲酸叔丁酯Bz-9a

[0839] 向N-(5-氨基戊基)氨基甲酸叔丁酯 (1g, 4.94mmol, 1.03mL, 1当量) 和苯甲醛 (524.59mg, 4.94mmol, 499.61μL, 1当量) 于DCE (10mL) 中的混合物中并且在60℃下搅拌12小时。然后将混合物冷却至0℃并且将MeOH (10mL) 添加至混合物中。将NaBH<sub>3</sub>CN (931.94mg, 14.83mmol, 3当量) 添加至混合物中并且在0℃下搅拌1小时。将丙醛 (574.20mg, 9.89mmol, 719.55μL, 2当量) 添加至混合物中并且搅拌1小时。LCMS显示反应完成。浓缩混合物。通过制备型HPLC (柱: Luna C18 100x30, 5微米粒度; 流动相: [水 (0.1% TFA) - ACN]; B%: 25% - 40%, 10分钟) 进一步纯化残余物, 得到呈黄色油状的N-[5-[苯甲基(丙基)氨基]戊基]氨基



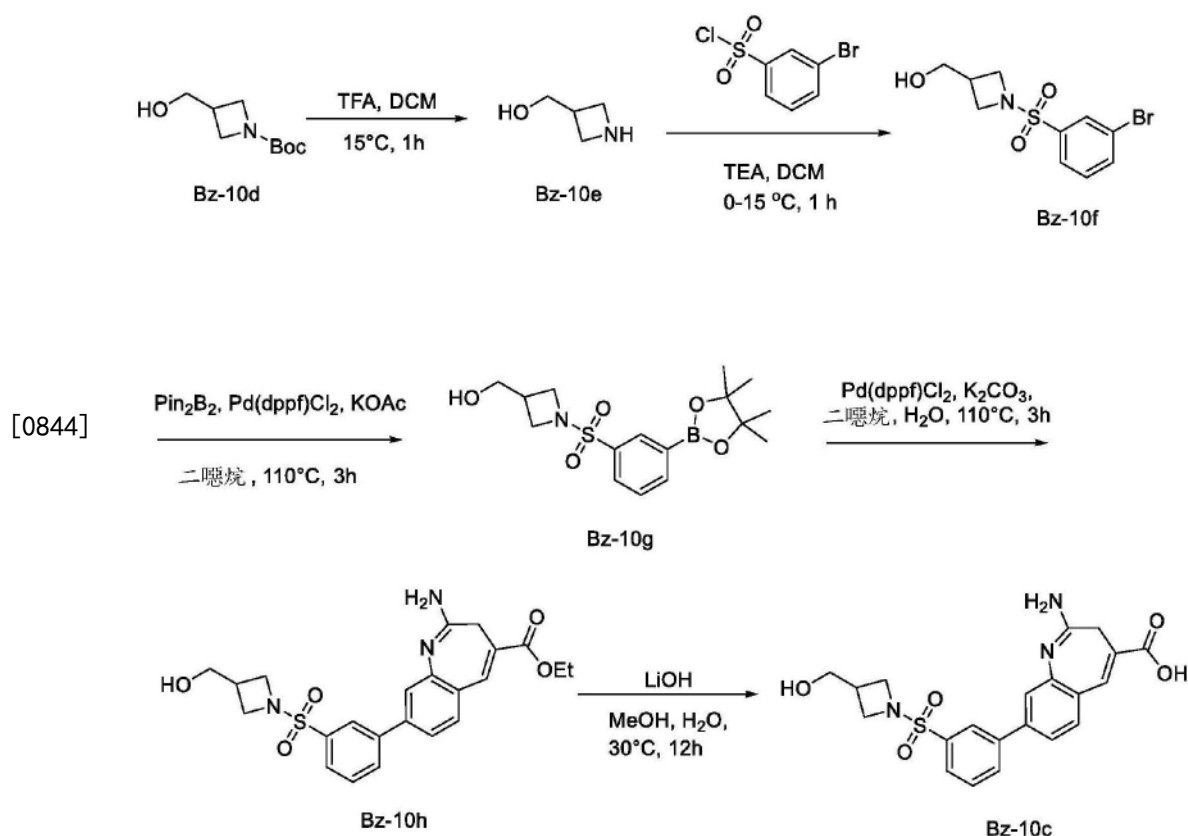
甲酸叔丁酯Bz-9a (0.5g, 1.49mmol, 产率30.24%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ=7.33-7.28 (m, 3H), 7.27-7.19 (m, 1H), 3.58 (s, 2H), 3.00 (t, J=7.2Hz, 2H), 2.47-2.37 (m, 4H), 1.58-1.46 (m, 6H), 1.47 (s, 9H) 1.37-1.20 (m, 3H), 0.87 (t, J=7.6Hz, 3H)

[0840] 合成(5-(丙基氨基)戊基)氨基甲酸叔丁酯Bz-9b

[0841] 在25℃下于N<sub>2</sub>下向N-[5-[苯甲基(丙基)氨基]戊基]氨基甲酸叔丁酯Bz-9a (0.5g, 1.49mmol, 1当量)于MeOH (20mL)中的溶液中添加Pd(OH) 2/C (0.2g, 纯度5%)。将悬浮液在真空下脱气并且用H<sub>2</sub>吹扫数次。在50℃下于H<sub>2</sub> (50psi)下搅拌混合物12小时。LCMS显示反应完成。过滤混合物并浓缩。得到呈无色油状的产物N-[5-(丙基氨基)戊基]氨基甲酸叔丁酯Bz-9b (0.3g, 粗物质)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ=3.03 (t, J=6.8Hz, 2H), 2.55 (d, J=7.6, 13.6Hz, 4H), 1.59-1.44 (m, 6H), 1.47 (s, 9H) 1.43-1.20 (m, 2H), 0.97-0.88 (m, 3H)。

[0842] 在25℃下向N-[5-(丙基氨基)戊基]氨基甲酸叔丁酯Bz-9b (57.17mg, 233.93μmol, 1当量)和2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-甲酸Bz-10c (0.1g, 233.93μmol, 1当量)于DMF (4mL)中的混合物中一次性添加HATU (133.42mg, 350.90μmol, 1.5当量)和Et<sub>3</sub>N (71.02mg, 701.80μmol, 97.68μL, 3当量)。在25℃下搅拌混合物0.5小时。LCMS显示反应完成。用水稀释混合物并且用EA (30mLx3)萃取。用盐水洗涤有机层,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩。通过制备型HPLC (柱:Xtimate C18 150x25mm, 5微米粒度;流动相:[水 (0.1%TFA) -ACN];B%:32%-62%, 10.5分钟)进一步纯化残余物,得到呈黄色固体状的N-[5-[[2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-羧基]-丙基-氨基]戊基]氨基甲酸叔丁酯Bz-9 (0.128g, 179.48μmol, 产率76.72%, 纯度91.68%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ=8.10 (s, 1H), 8.07 (d, J=7.6Hz, 1H), 7.89 (d, J=7.8Hz, 1H), 7.83-7.78 (m, 1H), 7.77-7.65 (m, 3H), 7.09 (s, 1H), 3.86 (t, J=8.2Hz, 2H), 3.61 (J=5.6, 8.0Hz, 2H), 3.56-3.35 (m, 8H), 3.31 (s, 2H), 3.10-2.99 (m, 2H), 2.64-2.53 (m, 1H), 1.80-1.59 (m, 4H), 1.57-1.47 (m, 2H), 1.40 (s, 9H), 1.03-0.86 (m, 3H)。LC/MS[M+H] 654.33 (计算值);LC/MS[M+H] 654.50 (观测值)。

[0843] 实施例6合成Bz-10



[0845] 制备Bz-10c:在15℃下向3-(羟甲基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯Bz-10d (15g, 80.11mmol)于DCM(100mL)中的混合物中添加TFA(63.94g, 560.79mmol, 41.52mL, 7当量)。在15℃下搅拌混合物1小时。浓缩混合物,得到呈黄色油状的氮杂环丁-3-基甲醇Bz-10e (36g, 粗物质, TFA)。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz) δ4.50-4.56 (m, 2H), 3.94-4.10 (m, 2H), 3.80-3.93 (m, 2H), 3.15-3.30 (m, 1H)。

[0846] 制备[1-(3-溴苯基)磺酰基氮杂环丁-3-基]甲醇Bz-10f:在0℃下向氮杂环丁-3-基甲醇(33.06g, 164.37mmol, 2当量, TFA)和3-溴苯磺酰氯(21g, 82.19mmol, 11.86mL, 1当量)于DCM(200mL)中的混合物中添加TEA(33.27g, 328.75mmol, 45.76mL, 4当量)。在15℃下搅拌混合物1小时。将残余物倾倒至饱和碳酸氢钠水溶液(200mL)中并且搅拌10分钟。用DCM(100mL x 3)萃取水相。用盐水(100mL)洗涤经合并的有机相,用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且真空浓缩。通过快速硅胶色谱法(ISCO®; 1g SepaFlash® 二氧化硅快速柱,洗脱剂0至100%乙酸乙酯/石油醚梯度,在50mL/min下)纯化残余物。获得呈白色固体状的化合物[1-(3-溴苯基)磺酰基氮杂环丁-3-基]甲醇Bz-10f (21g, 68.59mmol, 产率83.45%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) δ7.89-8.11 (m, 1H), 7.78 (dd, J=8.0, 2.0Hz, 2H), 7.39-7.54 (m, 1H), 3.78-3.97 (m, 2H), 3.49-3.74 (m, 4H), 2.41-2.77 (m, 1H)。

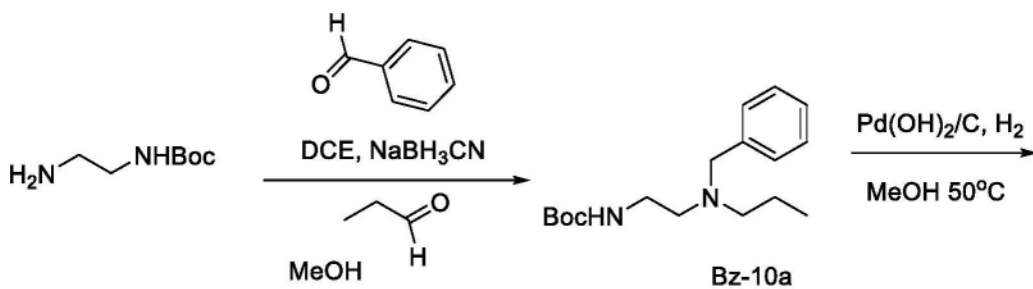
[0847] 制备[1-[3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)苯基]磺酰基氮杂环丁-3-基]甲醇Bz-10g:在15℃下向[1-(3-溴苯基)磺酰基氮杂环丁-3-基]甲醇(8g, 26.13mmol, 1当量)于二噁烷(10mL)中的混合物中添加Pin<sub>2</sub>B<sub>2</sub>(9.95g, 39.19mmol, 1.5当量)、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(5.13g, 52.26mmol, 2当量)和Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>(1.91g, 2.61mmol, 0.1当量)。在110℃下搅拌混合物3小时。LC-MS显示反应物1完全消耗并且检测到具有所需质量的一个主峰。过滤混合物,通过使用乙酸乙酯洗涤。然后真空浓缩滤液。通过硅胶色谱法(柱高度:250mm, 直径:

100mm, 100-200目硅胶, 石油醚/乙酸乙酯=1/1、0/1) 纯化残余物, 得到12g粗产物。用庚烷/甲基叔丁基醚=5/1 (50mL) 湿磨粗产物, 过滤, 真空干燥滤饼。获得呈粉红色固体状的化合物[1-[3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基) 苯基]磺酰基氮杂环丁-3-基]甲醇(8.2g, 23.21mmol, 产率88.84%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) δ8.28 (s, 1H), 8.06 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.89-7.95 (m, 1H), 7.58 (t, J=8.0Hz, 1H), 3.87 (t, J=8.0Hz, 2H), 3.62-3.68 (m, 4H), 2.55-2.65 (m, 1H), 1.37 (s, 12H)。

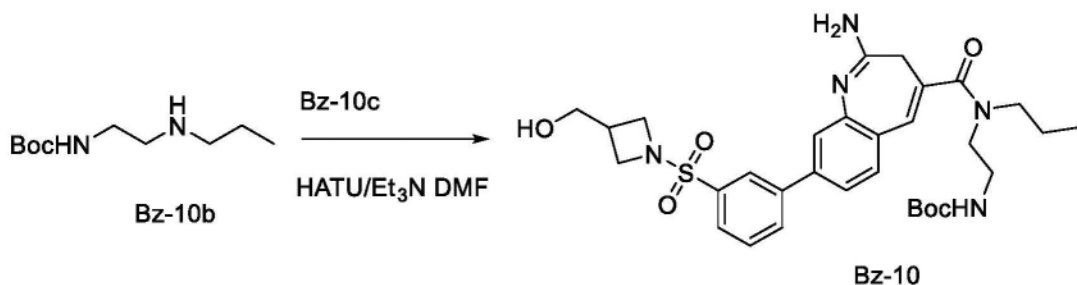
[0848] 制备2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基) 氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-甲酸乙酯Bz-10h: 在15℃下于N<sub>2</sub>下向[1-[3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基) 苯基]磺酰基氮杂环丁-3-基]甲醇Bz-10g (4.11g, 11.64mmol, 1.2当量) 和2-氨基-8-溴-3H-1-苯并氮呋-4-甲酸乙酯 (3g, 9.70mmol, 1当量) 于二噁烷 (40mL) 和H<sub>2</sub>O (3mL) 中的混合物中添加K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2.68g, 19.41mmol, 2当量) 和Pd (dppf) Cl<sub>2</sub> (355.02mg, 485.19μmol, 0.05当量)。在110℃下搅拌混合物3小时。LC-MS显示反应物1完全消耗并且检测到具有所需质量的一个主峰。浓缩混合物。在0℃下将粗产物用EtOAc/H<sub>2</sub>O=1:1 (200mL) 湿磨10分钟并过滤, 真空干燥滤饼。获得呈白色固体状的化合物2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基) 氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-甲酸乙酯Bz-10h (4g, 粗物质)。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz) δ8.06-8.15 (m, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.71-7.85 (m, 3H), 7.57 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.29-7.38 (m, 2H), 6.94 (s, 2H), 4.17-4.30 (m, 2H), 3.77 (t, J=8.0Hz, 2H), 3.49 (t, J=8.0Hz, 2H), 3.2 (d, J=8.0Hz, 2H), 2.93 (s, 2H), 2.43-2.49 (m, 1H), 1.31 (t, J=8.0Hz, 3H)。

[0849] 2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基) 氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-甲酸Bz-10c

[0850] 向2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基) 氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-甲酸乙酯Bz-10h (4g, 8.78mmol, 1当量) 于MeOH (50mL) 和H<sub>2</sub>O (10mL) 中的溶液中添加LiOH·H<sub>2</sub>O (1.84g, 43.91mmol, 5当量)。在30℃下搅拌混合物12小时。LC-MS显示反应物1完全消耗并且检测到具有所需质量的一个主峰。减压浓缩反应混合物以去除MeOH。过滤混合物。通过逐步添加HCl溶液 (1M) 将滤液的pH调节至约6, 然后过滤得到粗产物。在0℃下将粗产物用CH<sub>3</sub>CN (100mL) 湿磨10分钟。真空干燥产物。获得呈灰色固体状的化合物2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基) 氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-甲酸Bz-10c (2.51g, 5.72mmol, 产率65.11%, 纯度97.375%)。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz) δ8.11-8.16 (m, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.78-7.88 (m, 4H), 7.75 (s, 1H), 3.76 (t, J=8.0Hz, 2H), 3.45-3.54 (m, 4H), 3.20 (d, J=4.0Hz, 2H), 2.45-2.49 (m, 1H)。LC/MS [M+H] 428.13 (计算值); LC/MS [M+H] 428.20 (观测值)。



[0851]



[0852] 合成N-[2-[苯甲基(丙基)氨基]乙基]氨基甲酸叔丁酯Bz-10a

[0853] 在0℃下向苯甲醛(2g, 18.85mmol, 1.90mL, 1当量)和N-(2-氨基乙基)氨基甲酸叔丁酯(3.32g, 20.73mmol, 3.26mL, 1.1当量)于DCE(30mL)中的混合物中添加NaBH<sub>3</sub>CN(2.37g, 37.69mmol, 2当量)。在0℃下搅拌混合物30分钟,将丙醛(5.47g, 94.23mmol, 6.86mL, 5当量)添加至混合物中并且在25℃下搅拌1小时。将混合物倾倒至冰水(50mL)中并且用乙酸乙酯(50mL x 3)萃取水相。用盐水(50mL)洗涤经合并的有机相,用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且真空浓缩。通过硅胶色谱法(柱高度:250mm,直径:100mm,100-200目硅胶,石油醚/乙酸乙酯=5/1、1/1)纯化残余物,得到呈无色油状的N-[2-[苯甲基(丙基)氨基]乙基]氨基甲酸叔丁酯Bz-10a(3g, 10.26mmol, 产率54.44%)。

[0854] 合成N-[2-(丙基氨基)乙基]氨基甲酸叔丁酯Bz-10b

[0855] 在N<sub>2</sub>下向N-[2-[苯甲基(丙基)氨基]乙基]氨基甲酸叔丁酯(2g, 6.84mmol, 1当量)于MeOH(50mL)中的溶液中添加Pd(OH)<sub>2</sub>/C(10%, 1g)。将悬浮液在真空下脱气并且用H<sub>2</sub>吹扫数次。在50℃下于H<sub>2</sub>(50psi)下搅拌混合物12小时。TLC(石油醚/乙酸乙酯=3:1)显示起始物质完全消耗。过滤反应混合物并且浓缩滤液,得到呈无色油状的粗产物N-[2-(丙基氨基)乙基]氨基甲酸叔丁酯(1.3g, 6.43mmol, 产率93.96%),其未经进一步纯化即用于下一步骤中。<sup>1</sup>H NMR(MeOD, 400MHz) δ3.18(t, J=6.0Hz, 2H), 2.68(t, J=6.0Hz, 2H), 2.56(t, J=8.0Hz, 2H), 1.58-1.48(m, 2H), 1.44(s, 9H), 0.94(t, J=8.0Hz, 3H)。

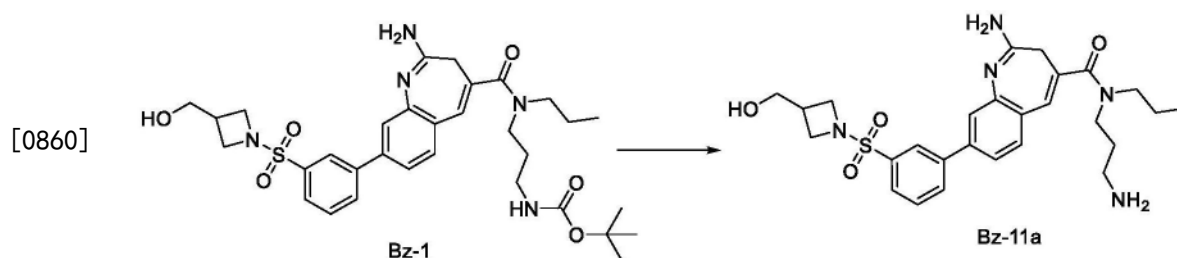
[0856] 合成(2-(2-氨基-8-[3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基]-N-丙基-3H-苯并[b]氮杂-4-甲酰胺基)乙基)氨基甲酸叔丁酯Bz-10

[0857] 在25℃下向2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮杂-4-甲酰胺Bz-10c(0.15g, 350.90μmol, 1当量)和N-[2-(丙基氨基)乙基]氨基甲酸叔丁酯(141.97mg, 701.80μmol, 2当量)于DMF(4mL)中的混合物中一次性添加HATU(160.11mg, 421.08μmol, 1.2当量)、Et<sub>3</sub>N(106.52mg, 1.05mmol, 146.52μL, 3当量)。在25℃下搅拌混合物12小时。LCMS显示反应完成。过滤混合物并且通过制备型HPLC(柱:Waters Xbridge 150x25 5μ;流动相:[水(10mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>)-ACN];B%:25%-45%, 20分钟)纯化,得到呈黄色固体状的

N-[2-[[2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-羰基]-丙基-氨基]乙基]氨基甲酸叔丁酯(0.036g, 55.05 $\mu$ mol, 产率15.69%, 纯度93.54%)。<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz)  $\delta$ 8.07 (s, 1H), 8.03 (d, J=7.6Hz, 1H), 7.86-7.81 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.78-7.73 (m, 1H), 7.47 (s, 2H), 7.41-7.36 (m, 1H), 6.95 (s, 1H), 3.86 (t, J=8.4Hz, 2H), 3.62-3.53 (m, 4H), 3.49-3.44 (m, 2H), 3.41 (d, J=6.4Hz, 2H), 3.32-3.29 (m, 3H), 2.63-2.51 (m, 1H), 1.68 (d, J=7.2Hz, 2H), 1.43 (s, 9H), 0.98-0.83 (m, 3H)。LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 612.29 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 612.40 (观测值)。

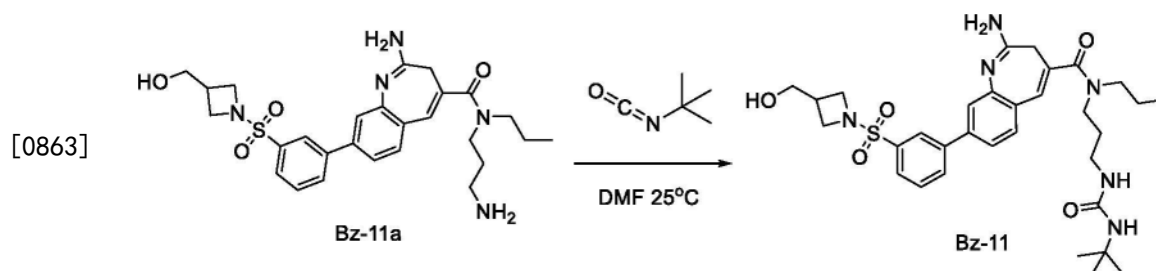
[0858] 实施例7合成Bz-11

[0859] 合成2-氨基-N-(3-氨基丙基)-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-N-丙基-3H-1-苯并氮呋-4-甲酰胺Bz-11a。



[0861] 在15℃下向N-[3-[[2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-羰基]-丙基-氨基]丙基]氨基甲酸叔丁酯Bz-1 (0.5g, 799.01 $\mu$ mol, 1当量)于DCM (20mL)中的混合物中一次性添加TFA (1.82g, 15.98mmol, 1.18mL, 20当量)。在15℃下搅拌混合物3小时。LCMS显示反应物已消耗。真空浓缩混合物,将残余物倾倒至冰水 (30mL)中并且用Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>水溶液调节至pH=11。用DCM/i-PrOH=3/1 (20mL x 3)萃取水相。用盐水 (10mL)洗涤经合并的有机相,用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且真空浓缩。呈黄色油状的粗产物2-氨基-N-(3-氨基丙基)-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-N-丙基-3H-1-苯并氮呋-4-甲酰胺Bz-11a (0.4g, 粗物质)未经进一步纯化即用于下一步骤中。

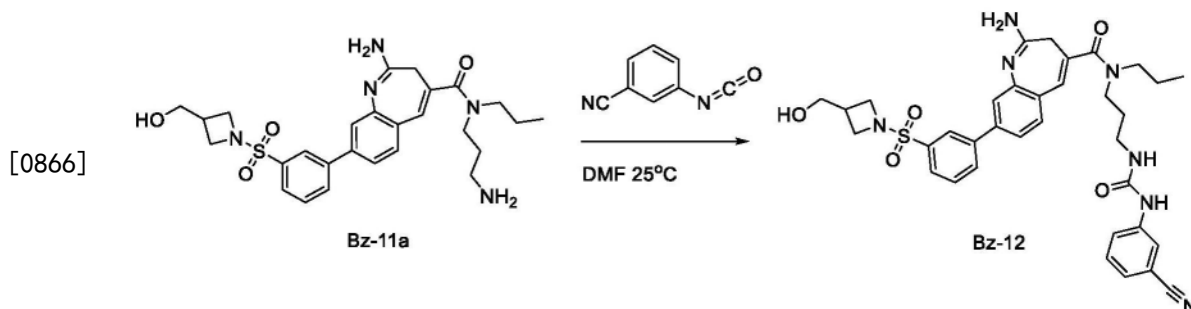
[0862] 合成2-氨基-N-[3-(叔丁基氨甲酰基氨基)丙基]-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-N-丙基-3H-1-苯并氮呋-4-甲酰胺Bz-11



[0864] 在15℃下向2-氨基-N-(3-氨基丙基)-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-N-丙基-3H-1-苯并氮呋-4-甲酰胺Bz-11a (0.1g, 190.24 $\mu$ mol, 1当量)于DMF (2mL)中的溶液中一次性添加2-异氰酸基-2-甲基-丙烷 (18.86mg, 190.24 $\mu$ mol, 22.45 $\mu$ L, 1当量)。在15℃下搅拌混合物12小时。LCMS显示反应完成。过滤混合物并且通过制备型HPLC (柱:Nano-micro Kromasil® (Nouryon) C18 100x30mm, 5微米粒度;流动相:[水 (0.1% TFA) - ACN]; B%:25% - 45%, 10分钟)纯化,得到粗产物,然后通过制备型HPLC (柱:Welch Xtimate C18 150x25mm, 5微米粒度;流动相:[水 (10mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>) - ACN]; B%:25% - 65%, 10.5分钟)纯

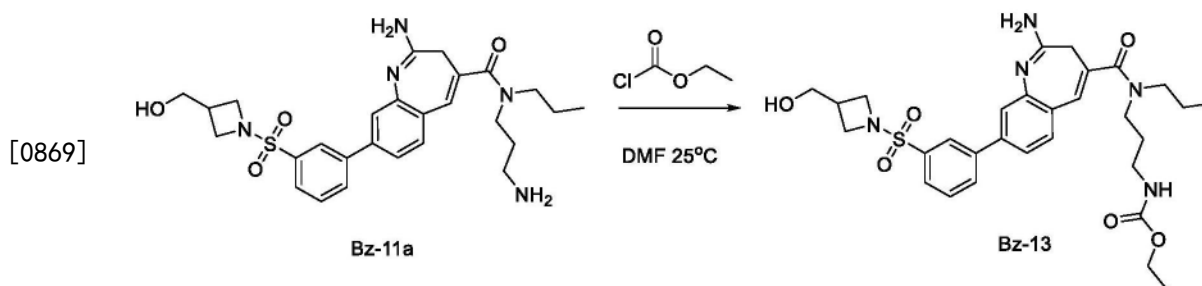
化,得到呈浅黄色固体状的Bz-11 (0.007g, 11.20 $\mu$ mol, 产率5.89%)。<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz)  $\delta$ 8.09 (s, 1H), 8.05 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.87-7.85 (m, 1H), 7.80-7.76 (m, 1H), 7.51-7.49 (m, 2H), 7.43-7.41 (m, 1H), 6.94 (s, 1H), 3.88 (t, J=8.0Hz, 2H), 3.63-3.60 (m, 2H), 3.54-3.50 (m, 2H), 3.44-3.43 (m, 4H), 3.15-2.91 (m, 4H), 2.67-2.58 (m, 1H), 1.84-1.79 (m, 2H), 1.73-1.66 (m, 2H), 1.40-1.14 (m, 9H), 1.00-0.90 (m, 3H)。

[0865] 实施例8合成Bz-12



[0867] 在15 $^{\circ}$ C下向2-氨基-N-(3-氨基丙基)-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-N-丙基-3H-1-苯并氮唑-4-甲酰胺Bz-11a (0.1g, 190.24 $\mu$ mol, 1当量)于DMF (0.3mL)中的溶液中一次性添加3-异氰酸基苯甲腈 (27.42mg, 190.24 $\mu$ mol, 1当量)。在15 $^{\circ}$ C下搅拌混合物12小时。LCMS显示反应完成。过滤混合物并且通过制备型HPLC (柱:Nano-micro Kromasil C18 100x30mm 5 $\mu$ m;流动相:[水 (0.1%TFA)-ACN];B%:25%-45%, 10分钟)纯化,得到呈黄色固体状的2-氨基-N-[3-[3-(3-氰基苯基)氨基甲酰基氨基]丙基]-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-N-丙基-3H-1-苯并氮唑-4-甲酰胺Bz-12 (10mg, 14.93 $\mu$ mol, 产率7.85%)。<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400MHz)  $\delta$ 8.21-7.88 (m, 4H), 7.86-7.80 (m, 1H), 7.68 (s, 3H), 7.59-7.24 (m, 3H), 7.15 (s, 1H), 3.89 (t, J=8.0Hz, 2H), 3.64 (m, 4H), 3.51 (s, 2H), 3.46 (d, J=6.0Hz, 2H), 3.40 (s, 2H), 3.30-3.19 (m, 2H), 2.63-2.60 (m, 1H), 1.96-1.92 (m, 2H), 1.77-1.71 (m, 2H), 1.07-0.86 (m, 3H)。

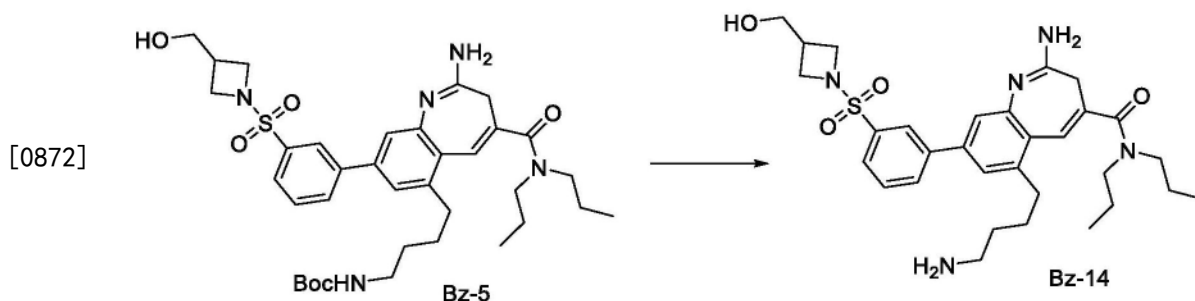
[0868] 实施例9合成Bz-13



[0870] 在15 $^{\circ}$ C下向2-氨基-N-(3-氨基丙基)-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-N-丙基-3H-1-苯并氮唑-4-甲酰胺Bz-11a (0.1g, 190.24 $\mu$ mol, 1当量)于DMF (2mL)中的混合物中一次性添加氯甲酸乙酯 (61.94mg, 570.72 $\mu$ mol, 54.33 $\mu$ L, 3当量)。在15 $^{\circ}$ C下搅拌混合物1小时。LCMS和HPLC显示检测到所需物质。过滤混合物并且通过制备型HPLC (柱:Waters Xbridge BEH C18 100x25mm, 5 $\mu$ m;流动相:[水 (0.1%TFA)-ACN];B%:25%-45%, 20分钟)纯化,得到呈浅黄色固体状的N-[3-[2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮唑-4-羰基]-丙基-氨基]丙基]氨基甲酸乙酯Bz-13 (0.018g, 30.11 $\mu$ mol, 产率15.83%)。<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400MHz)  $\delta$ 8.11 (s, 1H), 8.08 (d, J=8.0Hz, 1H),

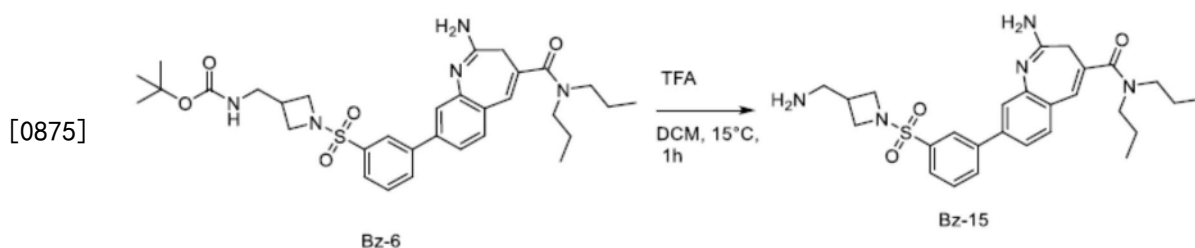
7.91 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 1H), 7.83 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 1H), 7.81-7.75 (m, 1H), 7.74-7.68 (m, 2H), 7.12 (s, 1H), 4.07 (brs, 2H), 3.87 (t,  $J=8.0\text{Hz}$ , 2H), 3.61 (m, 2H), 3.55 (m, 2H), 3.48 (m, 2H), 3.42 (d,  $J=6.4\text{Hz}$ , 2H), 3.37 (s, 2H), 3.14 (m, 2H), 2.67-2.51 (m, 1H), 1.93-1.80 (m, 2H), 1.77-1.64 (m, 2H), 1.33-1.06 (m, 3H), 0.95 (s, 3H)。

[0871] 实施例10合成Bz-14



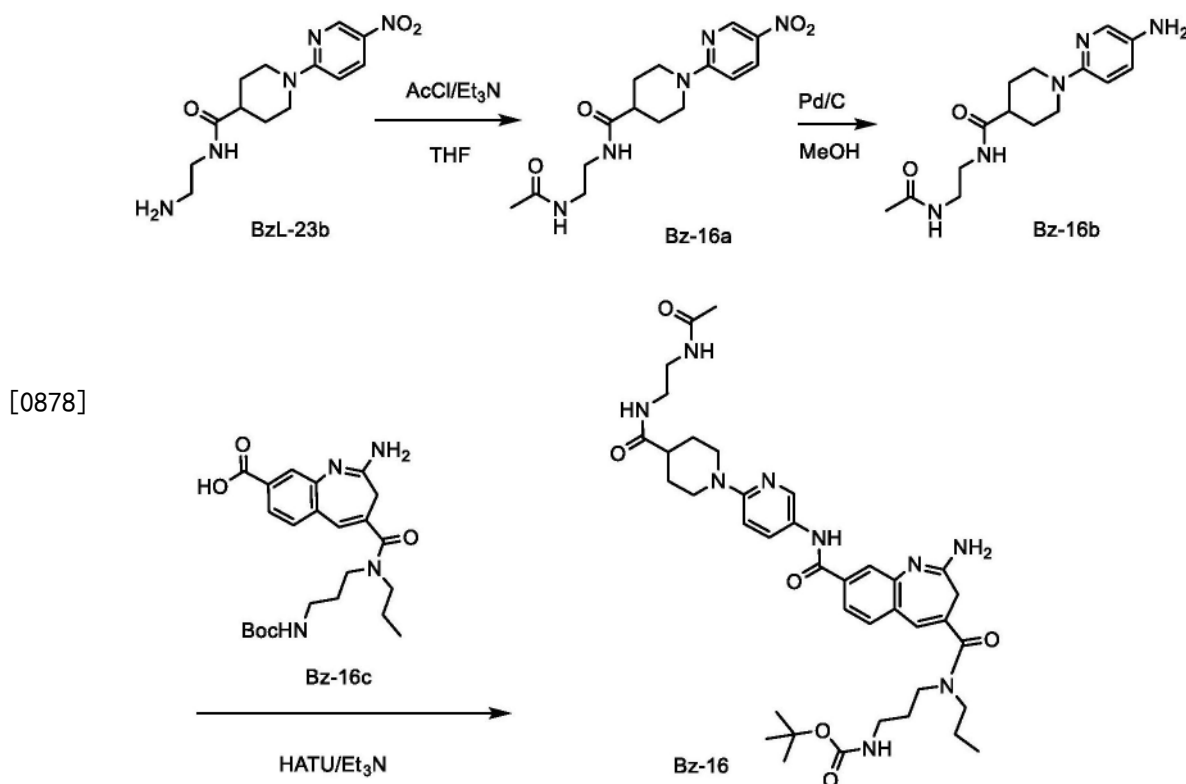
[0873] 根据针对Bz-11a所描述的程序从Bz-5合成2-氨基-6-(4-氨基丁基)-8-(3-(3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-N,N-二丙基-3H-苯并[b]氮杂-4-甲酰胺Bz-14。LC/MS[M+H] 582.31 (计算值); LC/MS[M+H] 582.57 (观测值)。

[0874] 实施例11合成Bz-15



[0876] 在25℃下向N-[[1-[3-[2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-3H-1-苯并氮杂-8-基]苯基]磺酰基氮杂环丁-3-基]甲基]氨基甲酸叔丁酯Bz-6 (0.15g, 245.99μmol, 1当量) 于DCM (20mL) 中的溶液中添加TFA (56.10mg, 491.98μmol, 36.43μL, 2当量) 并且搅拌1小时。在40℃下减压浓缩混合物。通过制备型HPLC (柱: Nano-micro Kromasil C18 100x30mm 5μm; 流动相: [水 (0.1% TFA) - ACN]; B%: 25% - 50%, 10分钟) 纯化残余物, 得到呈黄色固体状的2-氨基-8-[3-[3-(氨基甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-N,N-二丙基-3H-1-苯并氮杂-4-甲酰胺Bz-15 (0.0546g, 105.69μmol, 产率42.97%, 纯度98.66%)。<sup>1</sup>H NMR (MeOD-d<sub>4</sub>, 400MHz) δ 8.16-8.07 (m, 2H), 7.92 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 1H), 7.83 (t,  $J=7.6\text{Hz}$ , 1H), 7.79-7.72 (m, 2H), 7.68 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H), 7.09 (s, 1H), 3.96 (t,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H), 3.67-3.63 (m, 2H), 3.50-3.42 (m, 4H), 3.37 (s, 2H), 3.05 (d,  $J=7.4\text{Hz}$ , 2H), 2.78-2.65 (m, 1H), 1.75-1.66 (m, 4H), 1.08-0.82 (m, 6H)。LC/MS[M+H] 510.25 (计算值); LC/MS[M+H] 510.10 (观测值)。

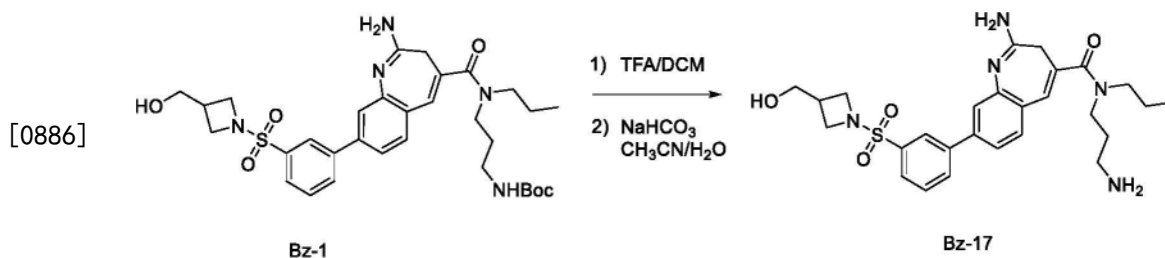
[0877] 实施例12合成Bz-16





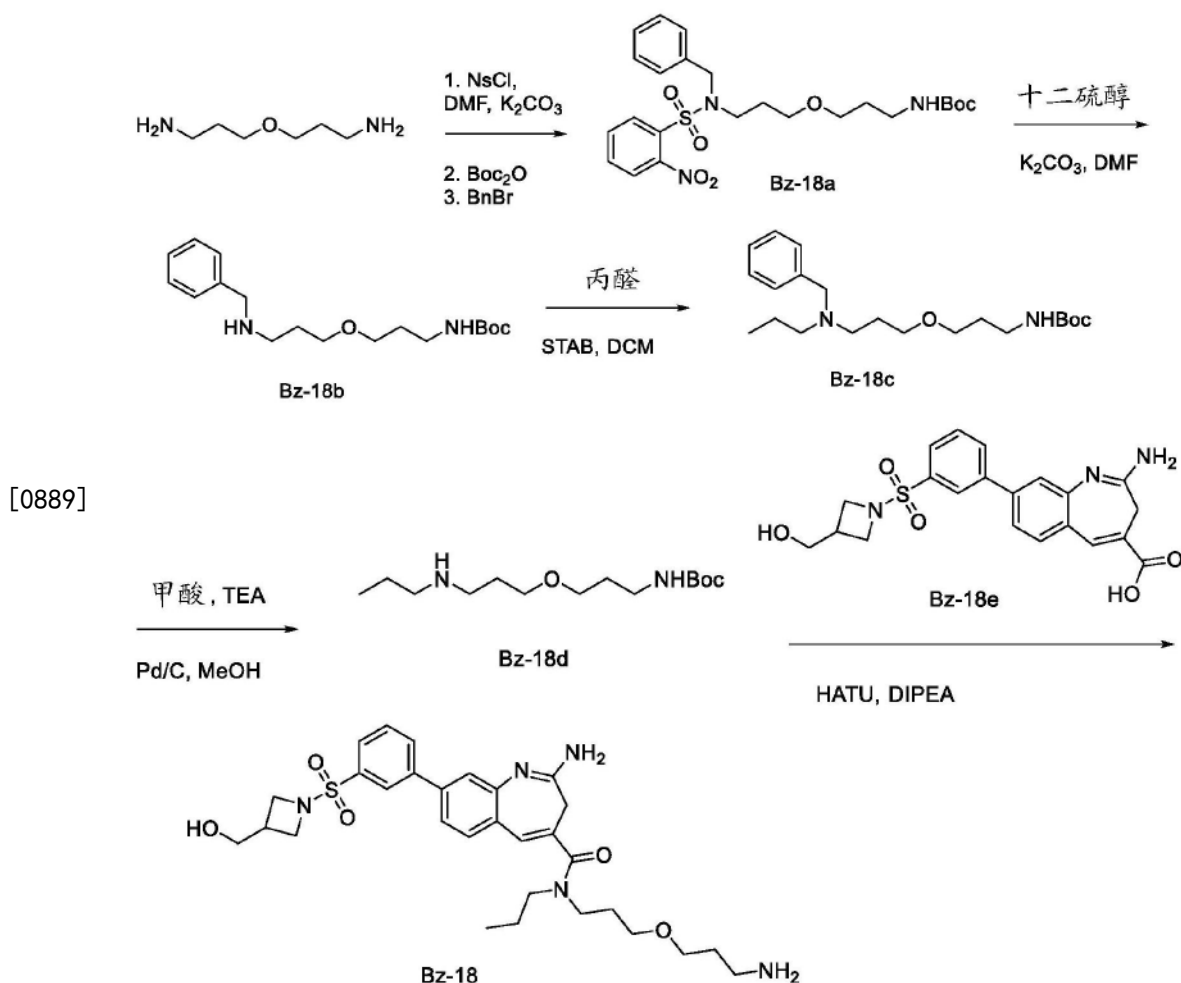
相: [水 (10mM  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ) - ACN]; B%: 30% - 50%, 10.5分钟, 得到呈灰白色固体状的Bz-16 (96mg, 131.17 $\mu\text{mol}$ , 产率26.50%)。 $^1\text{H}$  NMR (MeOD, 400MHz)  $\delta$  8.39 (d,  $J=2.6\text{Hz}$ , 1H), 7.90 (dd,  $J=9.2, 2.6\text{Hz}$ , 1H), 7.69 (d,  $J=1.2\text{Hz}$ , 1H), 7.54-7.60 (m, 1H), 7.46 (br d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 1H), 6.85-6.95 (m, 2H), 4.30 (d,  $J=13.6\text{Hz}$ , 2H), 3.39-3.53 (m, 4H), 3.28 (s, 2H), 3.08-3.12 (m, 2H), 2.83-2.93 (m, 2H), 2.37-2.47 (m, 1H), 1.94 (s, 3H), 1.60-1.90 (m, 8H), 1.24-1.50 (m, 9H)。LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 732.42 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 732.40 (观测值)。

[0885] 实施例13合成Bz-17



[0887] 在25℃下于 $\text{N}_2$ 下向N-[3-[[2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮杂-4-羰基]-丙基-氨基]丙基]氨基甲酸叔丁酯Bz-1 (1.5g, 2.40mmol, 1当量)于DCM (20mL)中的溶液中添加TFA (6.16g, 54.03mmol, 4mL, 22.54当量), 然后在此温度下搅拌1小时。减压浓缩反应混合物。在0℃下用 $\text{CH}_3\text{CN}$  (30mL) 和 $\text{H}_2\text{O}$  (10mL) 稀释残余物并且用 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液调节至pH=8-9。在25℃下搅拌混合物30分钟, 然后减压浓缩以去除 $\text{CH}_3\text{CN}$ 。用DCM/*i*-PrOH=3/1 (20mL x 3) 萃取水相, 经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥, 过滤并且减压浓缩。通过制备型HPLC (TFA条件; 柱: luna® (Phenomenex) C18 250\*80mm\*10 $\mu\text{m}$  (微米); 流动相[水 (0.1% TFA) - ACN]; B%: 10% - 40%, 20分钟) 纯化残余物, 得到呈白色固体状的2-氨基-N-(3-氨基丙基)-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-N-丙基-3H-1-苯并氮杂-4-甲酰胺Bz-17 (1.00g, 1.57mmol, 产率65.48%, 三氟乙酸盐)。 $^1\text{H}$  NMR (MeOD- $d_4$ , 400MHz)  $\delta$  8.14-8.05 (m, 2H), 7.91 (d,  $J=7.6\text{Hz}$ , 1H), 7.86-7.81 (m, 1H), 7.80-7.72 (m, 2H), 7.71-7.67 (m, 1H), 7.15 (s, 1H), 3.87 (t,  $J=8.0\text{Hz}$ , 2H), 3.65-3.57 (m, 4H), 3.55-3.52 (m, 2H), 3.45-3.36 (m, 4H), 3.04-3.01 (m, 2H), 2.63-2.53 (m, 1H), 2.04 (五重峰,  $J=7.2\text{Hz}$ , 2H), 1.77-1.70 (m, 2H), 0.94 (br t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 3H)。LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 526.2 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 526.2 (观测值)。

[0888] 实施例14合成Bz-18



[0890] 制备 (3- (3- ((N- 苄甲基-2- 硝基苯基) 磺酰胺基) 丙氧基) 丙基) 氨基甲酸叔丁酯 Bz-18a.

[0891] 将3,3'-氧基双(丙-1-胺) (0.5g, 3.8mmol, 1当量) 和碳酸钾 (1.3g, 9.5mmol, 2.5当量) 溶于10ml DMF中。添加2-硝基苯基磺酰氯 (0.84g, 3.8mmol, 1当量) 并且通过LCMS监测反应。随后添加二碳酸二叔丁酯 (0.87ml, 3.8mmol, 1当量)。再过约一小时后, 添加苄甲基溴 (0.45ml, 3.8mmol, 1当量) 并且将反应物加热至75℃。完成后, 过滤反应物, 浓缩并且通过快速色谱法纯化, 得到Bz-18a (0.47g, 0.93mmol, 25%)。LC/MS[M+H] 508.21 (计算值); LC/MS[M+H] 508.43 (观测值)。

[0892] 制备 (3- (3- (苄甲基氨基) 丙氧基) 丙基) 氨基甲酸叔丁酯Bz-18b

[0893] 将Bz-18a (0.47g, 0.93mmol, 1当量) 溶解于DMF中。添加碳酸钾 (0.19g, 1.4mmol, 1.5当量), 继而添加十二硫醇 (0.33ml, 1.4mmol, 1.5当量)。在60℃下搅拌反应物隔夜, 然后通过柱色谱法纯化, 得到Bz-18b (0.18g, 0.57mmol, 61%)。LC/MS[M+H] 323.23 (计算值); LC/MS[M+H] 323.38 (观测值)。

[0894] 制备 (3- (3- (苄甲基(丙基)氨基) 丙氧基) 丙基) 氨基甲酸叔丁酯Bz-18c

[0895] 将Bz-18b (0.183g, 0.57mmol, 1当量) 溶解于DCM中。添加丙醛 (0.1ml, 1.4mmol, 2.5当量) 和三乙酰氧基硼氢化钠 (0.3g, 1.4mmol, 2.5当量)。在室温下搅拌反应物, 然后浓缩并且通过HPLC纯化, 得到Bz-18c (0.058g, 0.159mmol, 31%)。LC/MS[M+H] 365.28 (计算值); LC/MS[M+H] 365.44 (观测值)。

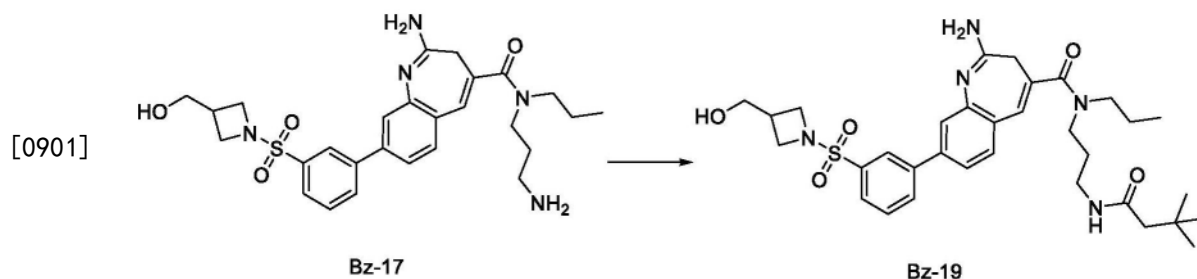
[0896] 制备(3-(3-(丙基氨基)丙氧基)丙基)氨基甲酸叔丁酯Bz-18d

[0897] 将Bz-18c (0.058g, 0.159mmol, 1当量) 溶解于4ml 甲醇中。向溶液中添加三乙胺 (0.067ml, 0.48mmol, 3当量), 继而添加甲酸 (0.015ml, 0.40mmol, 2.5当量), 然后添加Pd/C (5mg, 10wt%)。将混合物加热至60℃。起始物质消耗后, 过滤反应混合物并浓缩, 得到Bz-18d (0.007g, 0.0092mmol, 26%)。LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 275.23 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 275.27 (观测值)。

[0898] 制备Bz-18

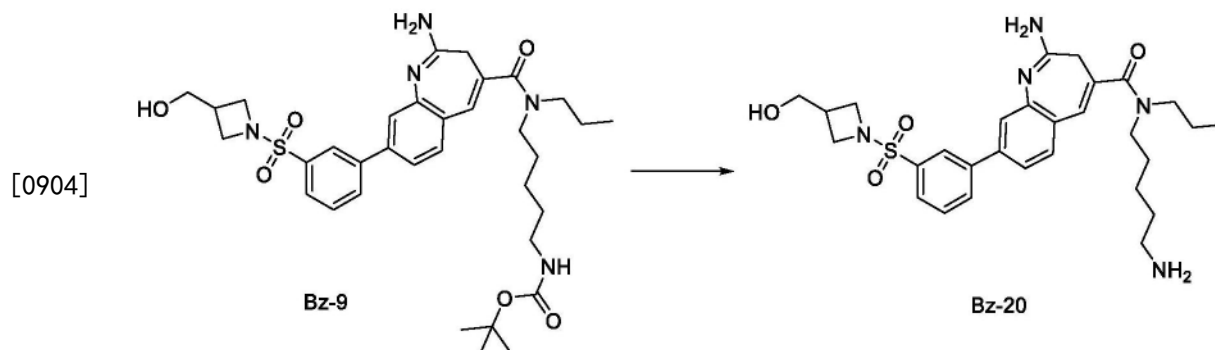
[0899] 将2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-3H-苯并[b]氮呋-4-甲酸Bz-18e (0.025g, 0.075mmol, 1当量)、Bz-18d (0.02g, 0.075mmol, 1当量) 和二异丙基乙胺 (0.065ml, 0.38mmol, 5当量) 溶解于DMF中。添加HATU (0.043g, 0.113mmol, 1.5当量) 并且在室温下搅拌混合物。完成时, 浓缩反应混合物并且通过RP-HPLC纯化。浓缩经分离的产物, 溶解于最少量的TFA中, 并且在室温下静置15分钟。然后浓缩溶液, 通过RP-HPLC纯化并冻干, 得到呈白色粉末状的2-氨基-N-(3-(3-氨基丙氧基)丙基)-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-N-丙基-3H-苯并[b]氮呋-4-甲酰胺Bz-18 (1.2mg, 0.002mmol, 3%)。LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 584.29 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 584.50 (观测值)。

[0900] 实施例15合成Bz-19



[0902] 向小瓶中装入Bz-17 (0.0275mmol)、二异丙基乙胺 (15μL, 0.0825mmol)、叔丁基乙酰胺 (0.0275mmol)、250μL DCM和250μL DMF。使反应维持三小时并且通过使用0-10% MeOH: DCM梯度进行正相色谱法来纯化, 得到6.6mg 2-氨基-N-(3-(3,3-二甲基丁酰胺基)丙基)-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-N-丙基-3H-苯并[b]氮呋-4-甲酰胺Bz-19, 产率39%。LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 624.3 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 624.3 (观测值)。

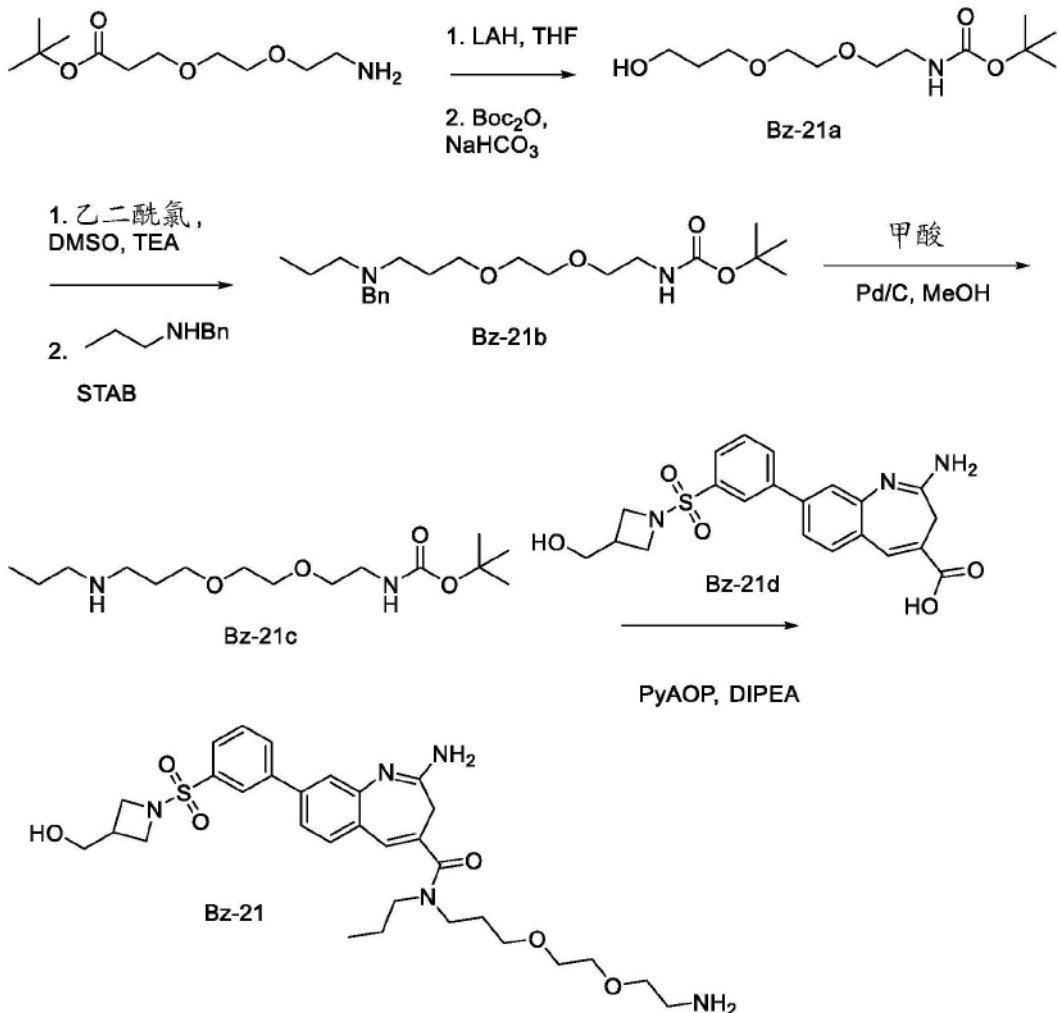
[0903] 实施例16合成Bz-20



[0905] 向小瓶中装入Bz-9 (28mg, 0.043mmol)、300μL DCM和100μL三氟乙酸。使反应维持1小时, 此后将其减压浓缩。将所得油状物与1mL 甲苯共沸三次, 此后添加1mL 甲醇和K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (38mg, 0.28mmol)。搅拌16小时后, 过滤反应物并且减压浓缩, 然后通过利用含有0.1%三氟

乙酸的乙腈:水的25-75%梯度进行反相制备型HPLC来纯化。合并经纯化的级分并冻干,得到5.8mg 2-氨基-N-(5-氨基戊基)-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-N-丙基-3H-苯并[b]氮呋-4-甲酰胺Bz-20,产率24%。LC/MS[M+H] 554.28(计算值);LC/MS[M+H] 554.47(观测值)。

[0906] 实施例17合成Bz-21



[0908] 制备 (2-(2-(3-羟基丙氧基)乙氧基)乙基)氨基甲酸叔丁酯Bz-21a

[0909] 将3-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)丙酸叔丁酯(0.5g, 2.1mmol, 1当量)溶解于THF中。添加氢化锂铝(0.244g, 6.4mmol, 3当量), 并且将反应物加热至60℃。酯完全还原后, 在冰上冷却反应物并且添加饱和碳酸氢钠水溶液。搅拌混合物10分钟, 然后添加二碳酸二叔丁酯(0.49ml, 2.1mmol, 1当量)。在室温下搅拌反应物, 然后浓缩以去除THF, 随后进行HPLC纯化, 得到Bz-21a(0.205g, 0.78mmol, 36%)。LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 264.18 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 264.27 (观测值)。

[0910] 制备 (2- (2- (3- (苯甲基 (丙基) 氨基) 丙氧基) 乙氧基) 乙基) 氨基甲酸叔丁酯Bz-21b

[0911] 在-78℃下将乙二酰氯(0.205ml, 2.4mmol, 3当量)溶解于0.5ml DCM中。逐滴添加DMSO(0.34ml, 4.8mmol, 6当量)。在-78℃下搅拌反应物15分钟, 然后逐滴添加Bz-21a(0.21g, 0.80mmol, 1当量)于0.5ml DCM中的溶液。在-78℃下搅拌反应物30分钟, 然后逐滴

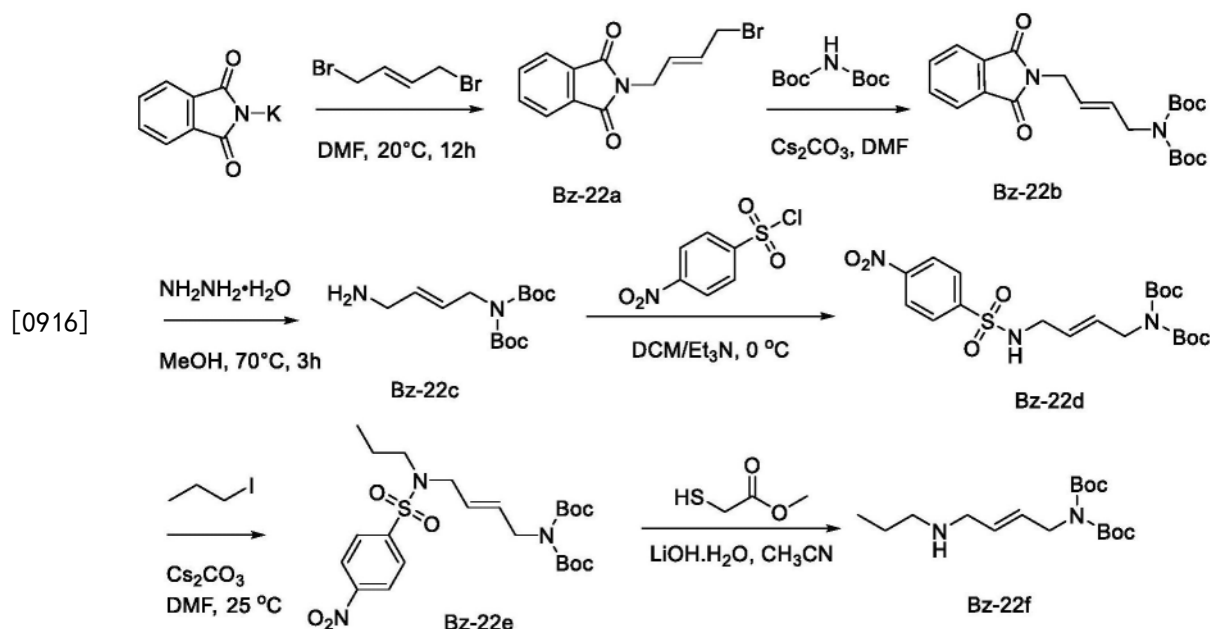
添加三乙胺(1ml, 7.2mmol, 9当量)。在-78℃下再搅拌反应物30分钟, 然后从冷却中移出并且经30分钟升温至周围温度。将N-苯甲基丙-1-胺(0.119g, 0.80mmol, 1当量)和三乙酰氧基硼氢化钠STAB(0.845g, 4.0mmol, 5当量)悬浮于2ml DCM中。将粗醛溶液添加至搅拌的胺溶液中。30分钟后, 将反应物添加至分液漏斗中并且依序用饱和NaHCO<sub>3</sub>、水和盐水洗涤。经硫酸钠干燥有机级分, 过滤, 浓缩, 然后通过RP-HPLC纯化, 得到Bz-21b(0.228g, 0.58mmol, 73%)。LC/MS[M+H] 395.29(计算值); LC/MS[M+H] 395.44(观测值)。

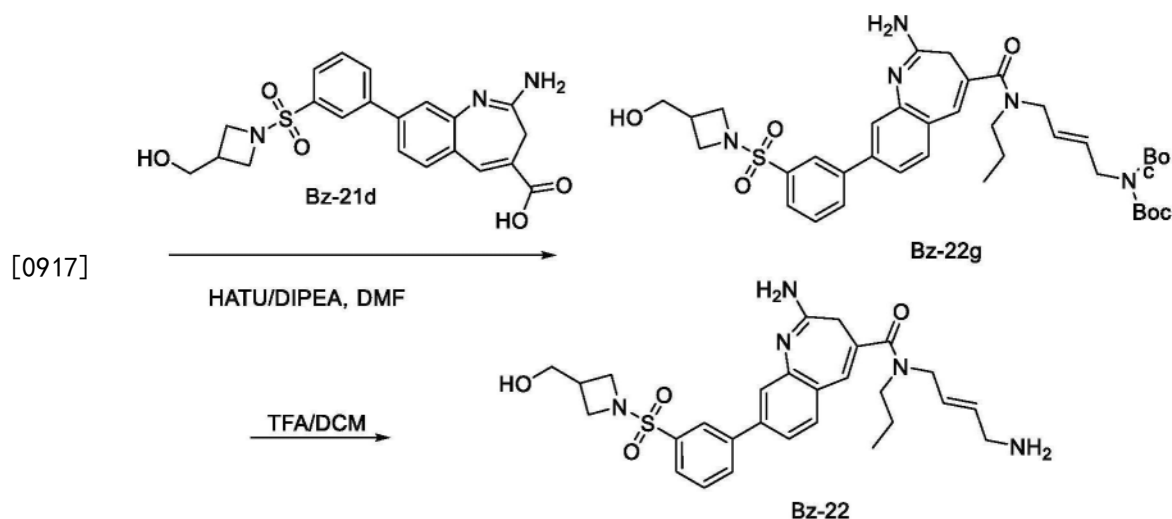
[0912] 制备(2-(2-(3-(丙基氨基)丙氧基)乙氧基)乙基)氨基甲酸叔丁酯Bz-21c

[0913] 将Bz-21b(0.228g, 0.58mmol, 1当量)溶解于甲醇中。添加甲酸(0.033mol, 0.87mmol, 1.5当量), 继而添加10wt% Pd/C(0.02g)。在60℃下搅拌反应物, 然后过滤, 浓缩, 并且通过HPLC纯化, 得到呈三氟乙酸盐形式的Bz-21c(0.193g, 0.46mmol, 80%)。LC/MS[M+H] 305.24(计算值); LC/MS[M+H] 305.38(观测值)。

[0914] 制备Bz-21: 将2-氨基-8-(3-(((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-3H-苯并[b]氮呋-4-甲酸Bz-21d(0.042g, 0.099mmol, 1当量)、Bz-21c(0.03g, 0.099mmol, 1当量)和二异丙基乙胺(0.1ml, 0.57mmol, 5.8当量)溶解于DMF中。添加六氟磷酸7-氮杂-苯并三唑-1-基氧基-三吡咯烷基-磷PyAOP CAS登记号156311-83-0(0.077g, 0.15mmol, 1.5当量)并且在室温下搅拌混合物。完成时, 浓缩反应混合物并且通过HPLC纯化。浓缩经分离的产物, 溶解于最少量的TFA中, 并且在室温下静置15分钟。然后浓缩溶液并且通过HPLC纯化, 得到油状物, 将其用乙醚湿磨, 得到呈白色固体状的2-氨基-N-(3-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)丙基)-8-(3-(((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-N-丙基-3H-苯并[b]氮呋-4-甲酰胺Bz-21(0.037g, 0.060mmol, 61%)。LC/MS[M+H] 614.30(计算值); LC/MS[M+H] 614.58(观测值)。

[0915] 实施例18合成Bz-22





[0918] 制备(E)-2-(4-溴丁-2-烯-1-基)异吲哚啉-1,3-二酮Bz-22a

[0919] 向(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)钾(7.5g,40.5mmol,1当量)于DMF(100mL)中的溶液中添加(E)-1,4-二溴丁-2-烯(17.3g,80.9mmol,2当量)。在20℃下搅拌混合物12小时,然后用水(200mL)稀释并且用EtOAc(80mL x 3)萃取。用盐水(50mL)洗涤有机层,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩。通过快速硅胶色谱法(ISCO®;12g SepaFlash®二氧化硅快速柱,洗脱剂0至60%乙酸乙酯/石油醚梯度,在60mL/min下)纯化残余物,得到呈白色固体状的Bz-22a(8.6g,30.7mmol,产率75.82%)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>,400MHz) δ7.90-7.83(m,2H),7.78-7.70(m,2H),6.01-5.90(m,1H),5.89-5.79(m,1H),4.32(d,J=5.6Hz,2H),3.92(d,J=7.2Hz,2H)。

[0920] 制备N-叔丁氧基羰基-N-[(E)-4-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)丁-2-烯基]氨基甲酸叔丁酯Bz-22b

[0921] 向Bz-22a(11g,39.3mmol,1当量)于DMF(200mL)中的溶液中添加Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(19.2g,58.9mmol,1.5当量)和N-叔丁氧基羰基氨基甲酸叔丁酯(11.1g,51.1mmol,1.3当量)。在20℃下搅拌混合物12小时,然后用水(400mL)稀释并且用EtOAc(100mL x 3)萃取。用盐水(80mL x 3)洗涤有机层,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩。通过快速硅胶色谱法(ISCO®;5g SepaFlash®二氧化硅快速柱,洗脱剂0至70%乙酸乙酯/石油醚梯度,在65mL/min下)纯化残余物,得到呈白色固体状的Bz-22b(16g,38.4mmol,产率97.83%)。<sup>1</sup>H NMR(DMSO-d<sub>6</sub>,400MHz) δ7.90-7.83(m,4H),5.63-5.53(m,2H),4.20-4.12(m,2H),4.05-3.99(m,2H),1.36(s,18H)。

[0922] 制备N-[(E)-4-氨基丁-2-烯基]-N-叔丁氧基羰基-氨基甲酸叔丁酯Bz-22c

[0923] 在20℃下向Bz-22b(18g,43.2mmol,1当量)于MeOH(200mL)中的溶液中添加水合肼(10.2g,173mmol,9.90mL,纯度85%,4当量),然后在70℃下搅拌3小时。过滤混合物并且浓缩滤液。在20℃下将粗产物用CH<sub>3</sub>CN湿磨20分钟并过滤,浓缩滤液,得到呈浅黄色油状的Bz-22c(10g,34.9mmol,产率80.80%)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>,400MHz) δ5.78-5.69(m,1H),5.64-5.54(m,1H),4.17-4.09(m,2H),3.31-3.23(m,2H),1.49(s,18H)。

[0924] 制备N-叔丁氧基羰基-N-[(E)-4-[(4-硝基苯基)磺酰基氨基]丁-2-烯基]氨基甲酸叔丁酯Bz-22d

[0925] 在0℃下于N<sub>2</sub>下向Bz-22c(1g,3.49mmol,1当量)于DCM(10mL)中的溶液中添加TEA(706.72mg,6.98mmol,972.10μL(微升),2当量)和4-硝基苯磺酰氯(851.29mg,3.84mmol,

1.1当量)。在25℃下搅拌混合物1小时,然后通过0℃下添加H<sub>2</sub>O (20mL) 淬灭,然后用EtOAc (10mL x 3) 萃取。用盐水 (5mL) 洗涤经合并的有机层,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且减压浓缩,得到残余物,将其通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=1/0至1/1) 纯化,得到呈浅黄色油状的Bz-22d (1.2g, 2.54mmol, 产率72.74%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) δ8.41-8.35 (m, 2H), 8.05 (d, J=9.2Hz, 2H), 5.71-5.61 (m, 1H), 5.57-5.47 (m, 1H), 4.61 (t, J=5.6Hz, 1H), 4.10 (d, J=5.6Hz, 2H), 3.67 (t, J=6.0Hz, 2H), 1.49 (s, 18H)。

[0926] 制备N-叔丁氧基羰基-N-[(E)-4-[(4-硝基苯基)磺酰基-丙基-氨基]丁-2-烯基]氨基甲酸叔丁酯Bz-22e

[0927] 在25℃下向Bz-22d (1g, 2.12mmol, 1当量) 于DMF (10mL) 中的溶液中添加Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.38g, 4.24mmol, 2当量) 和1-碘丙烷 (360.52mg, 2.12mmol, 207.19μL, 1当量), 然后在此温度下搅拌12小时。在0℃下通过添加H<sub>2</sub>O (50mL) 淬灭反应混合物, 然后用EtOAc (30mL x 3) 萃取。用盐水 (10mL x 3) 洗涤经合并的有机层, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且减压浓缩。通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/0至3/1) 纯化残余物, 得到呈浅黄色固体状的Bz-22e (0.89g, 1.73mmol, 产率81.71%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) δ8.36 (d, J=8.8Hz, 2H), 7.99 (d, J=8.8Hz, 2H), 5.74-5.60 (m, 1H), 5.51-5.37 (m, 1H), 4.11 (d, J=7.2Hz, 2H), 3.86 (d, J=6.4Hz, 2H), 3.16-3.07 (m, 2H), 1.55-1.46 (m, 20H), 0.86 (t, J=7.6Hz, 3H)

[0928] 制备N-叔丁氧基羰基-N-[(E)-4-(丙基氨基)丁-2-烯基]氨基甲酸叔丁酯Bz-22f

[0929] 在0℃下向Bz-22e (0.79g, 1.54mmol, 1当量) 于CH<sub>3</sub>CN (10mL) 中的溶液中添加LiOH·H<sub>2</sub>O (387.25mg, 9.23mmol, 6当量) 和2-巯烷基乙酸甲酯 (490mg, 4.61mmol, 419μL, 3当量)。在25℃下搅拌所得混合物12小时, 然后过滤并且减压浓缩。在0℃下用H<sub>2</sub>O (20mL) 稀释残余物, 然后用1M HCl调节至pH=2-3并且用MTBE (10mL x 3) 萃取。用K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>水溶液将水相的pH调节至约10并且用(10mL x 3) 萃取。经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥经合并的有机层, 过滤并且减压浓缩, 得到呈无色油状的Bz-22f (0.35g, 1.07mmol, 产率69.28%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) δ5.79-5.58 (m, 2H), 4.15 (d, J=5.2Hz, 2H), 3.23 (d, J=5.6Hz, 2H), 2.56 (t, J=6.8Hz, 2H), 1.56-1.42 (m, 20H), 0.92 (t, J=7.6Hz, 3H)。

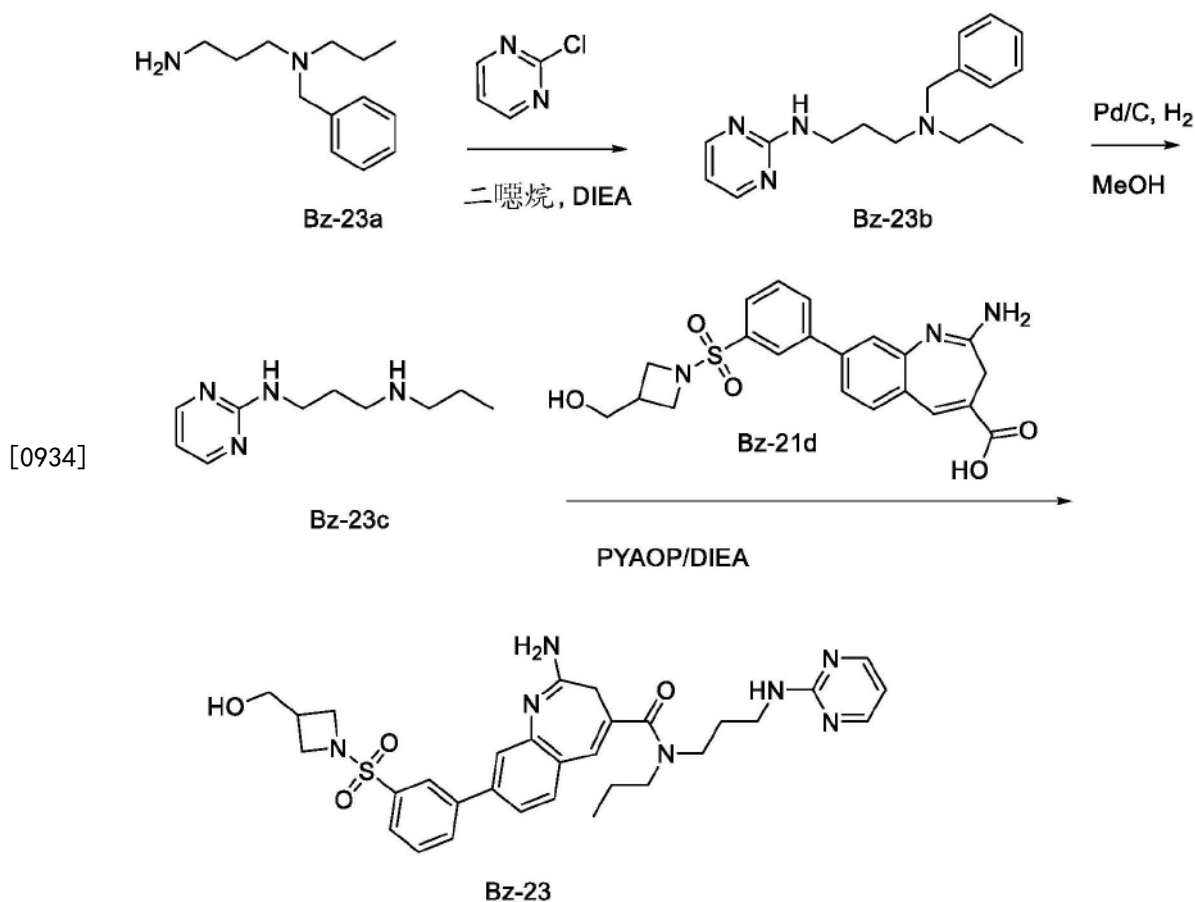
[0930] 制备N-[(E)-4-[[2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-羰基]-丙基-氨基]丁-2-烯基]-N-叔丁氧基羰基-氨基甲酸叔丁酯Bz-22g

[0931] 在25℃下向2-氨基-8-(3-(((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-3H-苯并[b]氮呋-4-甲酸Bz-21d (0.45g, 1.05mmol, 1当量) 于DMF (5mL) 中的混合物中添加HATU (440mg, 1.16mmol, 1.1当量) 和DIPEA (408mg, 3.16mmol, 550μL, 3当量)。10分钟后, 在25℃下将Bz-22f (345.75mg, 1.05mmol, 1当量) 添加至混合物中, 然后在此温度下搅拌1小时。在0℃下将反应混合物倾倒入冰水 (30mL) 中, 并且用DCM/i-PrOH=3/1 (20mL x 3) 萃取。经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥经合并的有机层, 过滤并且减压浓缩, 得到呈棕色固体状的Bz-22g (0.41g, 粗物质)。

[0932] 制备Bz-22: 在25℃下向N-[(E)-4-[[2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-羰基]-丙基-氨基]丁-2-烯基]-N-叔丁氧基羰基-氨基甲酸叔丁酯 (13mg, 17.6μmol (微摩尔), 1当量) 于DCM (1mL) 中的溶液中添加TFA (154mg, 1.35mmol, 0.1mL, 76.7当量), 然后在此温度下搅拌1小时。减压浓缩反应混合物。在0℃下用CH<sub>3</sub>CN (10mL) 和H<sub>2</sub>O (1mL) 溶解残余物并且用LiOH水溶液调节至pH=9。减压浓缩混合物。通过制备型HPLC (TFA条件; 柱: Welch Xtimate C18 100\*25mm\*3μm; 流动相: [水 (0.1% TFA) -

ACN];B%:5%-35%,12分钟)纯化残余物,得到呈白色固体状的2-氨基-N-[(E)-4-氨基丁-2-烯基]-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-N-丙基-3H-1-苯并氮唑-4-甲酰胺Bz-22(7mg,10.74 $\mu$ mol,产率60.97%,TFA)。<sup>1</sup>H NMR(MeOD-d<sub>4</sub>,400MHz)  $\delta$ 8.15-8.04(m,2H), 7.91(d,J=8.0Hz,1H), 7.86-7.72(m,3H), 7.68(d,J=8.0Hz,1H), 7.13(s,1H), 6.07-5.94(m,1H), 5.89-5.77(m,1H), 4.21(br s,2H), 3.87(t,J=8.4Hz,2H), 3.67-3.56(m,4H), 3.48(br s,2H), 3.45-3.37(m,4H), 2.68-2.50(m,1H), 1.77-1.61(m,2H), 0.95-0.93(m,3H)。LC/MS[M+H]<sup>+</sup>538.2(计算值);LC/MS[M+H]<sup>+</sup>538.3(观测值)。

[0933] 实施例19合成Bz-23



[0935] 制备N'-苯甲基-N'-丙基-N-嘧啶-2-基-丙-1,3-二胺Bz-23b

[0936] 在25℃下将N'-苯甲基-N'-丙基-丙-1,3-二胺Bz-23a(0.2g,823.77 $\mu$ mol,1当量,HCl)、DIEA(426mg,3.30mmol,574 $\mu$ L,4当量)于二噁烷(4mL)中的混合物搅拌10分钟,然后添加2-氯嘧啶(188.70mg,1.65mmol,2当量),然后在25℃下搅拌混合物16小时。用H<sub>2</sub>O(15mL)淬灭反应物并且用乙酸乙酯(15mL x 3)萃取。用盐水(10mL)洗涤经合并的有机相,用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且真空浓缩。通过制备型TLC(SiO<sub>2</sub>,DCM:MeOH=7:1)纯化残余物,得到呈黄色油状的Bz-23b(130mg,457 $\mu$ mol,产率55.49%)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>,400MHz)  $\delta$ 8.26(d,J=4.8Hz,2H), 7.38-7.32(m,2H), 7.30(t,J=7.2Hz,2H), 7.26-7.20(m,1H), 6.49(t,J=5.2Hz,1H), 5.74(br s,1H), 3.58(s,2H), 3.47-3.39(m,2H), 2.54(t,J=6.8Hz,2H), 2.44-2.38(m,2H), 1.77(五重峰,J=6.4Hz,2H), 1.57-1.50(m,2H), 0.88(t,J=7.2Hz,3H)

[0937] 制备N-丙基-N'-嘧啶-2-基-丙-1,3-二胺Bz-23c

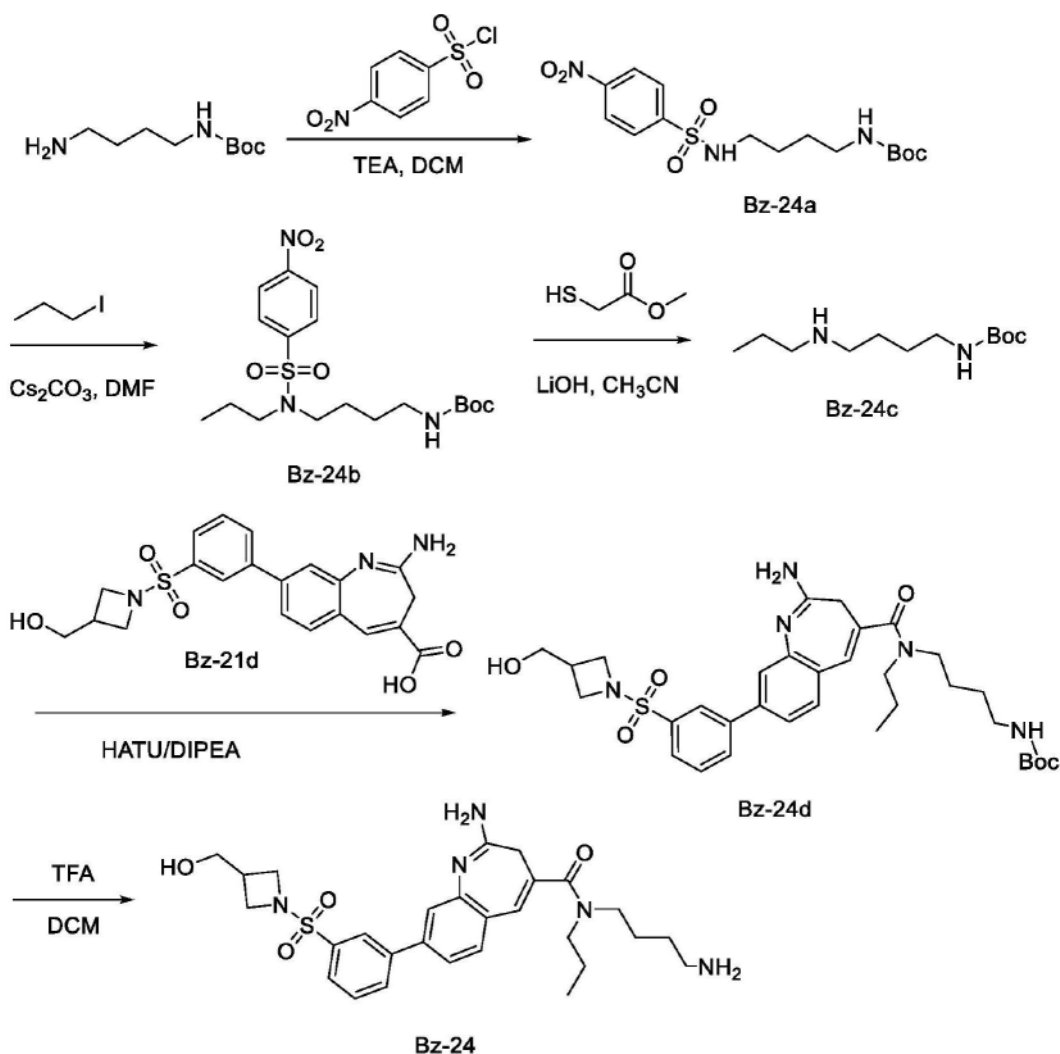
[0938] 在N<sub>2</sub>气氛下向Bz-23b(130mg,457 $\mu$ mol,1当量)于MeOH(10mL)中的溶液中添加Pd/C



(0.1g, 纯度10%)。将悬浮液脱气并且用氢气 $H_2$ 吹扫三次, 在25℃下搅拌混合物16小时, 然后过滤并且减压浓缩。通过制备型TLC ( $SiO_2$ , DCM:MeOH=5:1) 纯化残余物, 得到呈棕色油状的Bz-23c (80mg, 412 $\mu$ mol, 产率90.09%)。

[0939] 制备Bz-23: 向2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-甲酸Bz-21d (264mg, 618 $\mu$ mol, 1当量) 于DMF (2mL) 中的溶液中添加DIEA (240mg, 1.85mmol, 323 $\mu$ L, 3当量)、六氟磷酸7-氮杂-苯并三唑-1-基氧基-三吡咯烷基-磷PYAOP (483mg, 927 $\mu$ mol, 1.5当量) 和Bz-23c (120mg, 618 $\mu$ mol, 1当量)。在25℃下搅拌混合物1小时, 然后过滤并且减压浓缩。通过制备型HPLC (Welch Xtimate C18 100 x 25mm x 3 $\mu$ m; 流动相: [水 (0.1% TFA) - ACN]; B%: 15%-35%, 12分钟) 纯化残余物, 得到呈白色固体状的2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-N-丙基-N-[3-(嘧啶-2-基氨基)丙基]-3H-1-苯并氮呋-4-甲酰胺Bz-23 (16mg, 26.5 $\mu$ mol, 产率4.29%)。 $^1H$  NMR (MeOD- $d_4$ , 400MHz)  $\delta$  8.38 (br s, 1H), 8.15 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 8.08 (d,  $J=8.4$ Hz, 1H), 7.92 (d,  $J=8.4$ Hz, 1H), 7.85-7.79 (m, 1H), 7.75 (br s, 1H), 7.71 (br s, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.11 (br s, 1H), 6.74 (br s, 1H), 3.87 (t,  $J=8.0$ Hz, 2H), 3.62 (dd,  $J=6.0, 8.0$ Hz, 4H), 3.54-3.49 (m, 2H), 3.42 (d,  $J=6.8$ Hz, 2H), 3.35 (br s, 2H), 2.64-2.51 (m, 1H), 2.08-1.95 (m, 2H), 1.77-1.66 (m, 2H), 0.99-0.94 (m, 3H)。LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 604.3 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 604.3 (观测值)。

[0940] 实施例20合成Bz-24



[0942] 制备N-[4-[(4-硝基苯基)磺酰基氨基]丁基]氨基甲酸叔丁酯Bz-24a

[0943] 在0℃下向N-(4-氨基丁基)氨基甲酸叔丁酯(0.5g, 2.66mmol, 1当量)和Et<sub>3</sub>N(537mg, 5.31mmol, 739μL, 2当量)于DCM(5mL)中的溶液中添加4-硝基苯磺酰氯(647mg, 2.92mmol, 1.1当量)。添加后,在25℃下搅拌所得混合物1小时,然后通过0℃下添加H<sub>2</sub>O(20mL)淬灭,然后用DCM(10mL x 3)萃取。用盐水(5mL)洗涤经合并的有机层,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且减压浓缩。用PE/MTBE=10/1(20mL)湿磨残余物并且搅拌30分钟,过滤并且在减压下干燥滤饼,得到呈白色固体状的Bz-24a(0.99g, 2.65mmol, 产率99.82%)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) δ8.37(d, J=8.8Hz, 2H), 8.07(d, J=8.4Hz, 2H), 5.28(br s, 1H), 4.59(br s, 1H), 3.12-3.03(m, 4H), 1.58-1.48(m, 4H), 1.44(s, 9H)

[0944] 制备N-[4-[(4-硝基苯基)磺酰基-丙基-氨基]丁基]氨基甲酸叔丁酯Bz-24b

[0945] 在0℃下向Bz-24a(0.99g, 2.65mmol, 1当量)于DMF(7mL)中的溶液中添加Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(1.73g, 5.30mmol, 2当量)和1-碘丙烷(451mg, 2.65mmol, 259μL, 1当量)。在25℃下搅拌混合物12小时,然后在0℃下倾倒入冰水(30mL)中,然后用EtOAc(20mL x 3)萃取。用盐水(10mL x 3)洗涤经合并的有机层,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且减压浓缩。用PE/MTBE=10/1(20mL)湿磨残余物并且在25℃下搅拌30分钟,过滤并且在减压下干燥滤饼,得到呈浅黄色固体状的Bz-24b(0.97g, 2.33mmol, 产率88.06%)。<sup>1</sup>H NMR(DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz) δ8.39(d, J=8.8Hz, 2H), 8.07(d, J=8.8Hz, 2H), 6.79(br t, J=6.0Hz, 1H), 3.13-3.05(m, 4H), 2.88(q, J=6.4Hz, 2H), 1.54-1.40(m, 4H), 1.39-1.27(m, 11H), 0.81(t, J=7.2Hz, 3H)。

[0946] 制备N-[4-(丙基氨基)丁基]氨基甲酸叔丁酯Bz-24c

[0947] 在0℃下向Bz-24b(0.97g, 2.33mmol, 1当量)于CH<sub>3</sub>CN(10mL)中的溶液中添加LiOH·H<sub>2</sub>O(587.74mg, 14.01mmol, 6当量)和2-巯烷基乙酸甲酯(744mg, 7.00mmol, 635μL, 3当量)。在25℃下搅拌所得混合物12小时,然后过滤并且减压浓缩。在0℃下用H<sub>2</sub>O(20mL)稀释残余物,然后用1M HCl调节至pH=2-3并且用MTBE(10mL x 3)萃取。用K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>水溶液将水相的pH调节至约10并且用EtOAc(10mL x 3)萃取。经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥经合并的有机层,过滤并且减压浓缩,得到呈棕色油状的Bz-24c(445mg, 1.93mmol, 产率82.75%)。<sup>1</sup>H NMR(DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz) δ6.81(br s, 1H), 2.89(q, J=6.4Hz, 2H), 2.47-2.39(m, 4H), 1.44-1.31(m, 15H), 0.85(t, J=7.6Hz, 3H)。

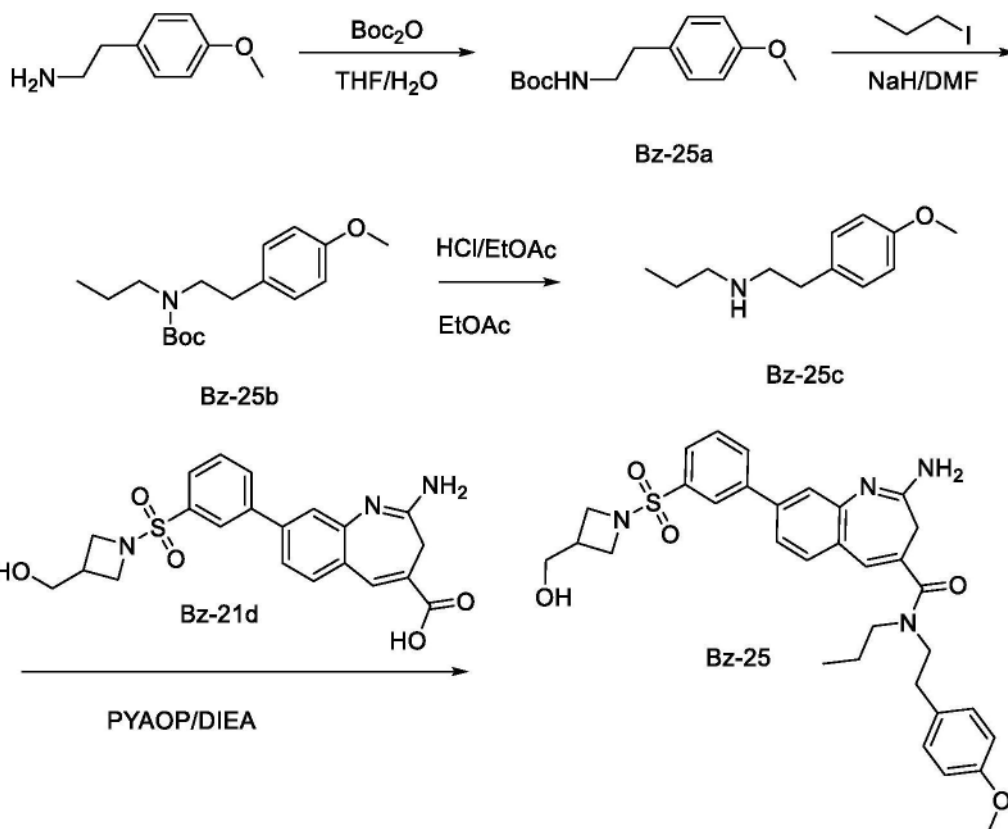
[0948] 制备N-[4-[[2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-羰基]-丙基-氨基]丁基]氨基甲酸叔丁酯Bz-24d

[0949] 在25℃下向2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-甲酸Bz-21d(100mg, 234μmol, 1当量)和DIPEA(90.7mg, 702μmol, 122.24μL, 3当量)于DMF(1mL)中的溶液中添加HATU(97.8mg, 257μmol, 1.1当量)。10分钟后,在25℃下添加Bz-24c(64.66mg, 280.72μmol, 1.2当量),然后在此温度下搅拌1小时。过滤反应混合物并且减压浓缩。通过制备型HPLC(TFA条件;柱:Welch Xtimate C18 100\*25mm\*3μm;流动相:[水(0.1%TFA)-ACN];B%:30%-45%,12分钟)纯化残余物。获得呈黄色固体状的Bz-24d(8mg, 12.50μmol, 产率5.35%)。<sup>1</sup>H NMR(MeOD-d<sub>4</sub>, 400MHz) δ8.14-8.04(m, 2H), 7.92(d, J=8.0Hz, 1H), 7.85-7.81(m, 1H), 7.81-7.76(m, 1H), 7.73-7.68(m, 2H), 7.11(s, 1H), 3.87(t, J=7.6Hz, 2H), 3.61(dd, J=6.0Hz, 7.6Hz, 2H), 3.58-3.45(m, 4H), 3.44-3.35(m, 4H), 3.12-3.04(m, 2H), 2.65-2.52(m, 1H), 1.78-1.63(m, 4H), 1.55-1.40(m, 11H), 0.95-0.93(m, 3H)。

LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 640.3 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 640.3 (观测值)。

[0950] 制备Bz-24: 在25℃下向Bz-24d (0.1g, 156μmol, 1当量) 于DCM (2mL) 中的溶液中添加TFA (308mg, 2.70mmol, 0.2mL, 17.28当量), 然后在此温度下搅拌1小时。减压浓缩反应混合物。在0℃下用CH<sub>3</sub>CN (10mL) 和H<sub>2</sub>O (1mL) 溶解残余物并且用LiOH水溶液调节至pH=9。在25℃下搅拌混合物1小时, 然后过滤并且减压浓缩。通过制备型HPLC (TFA条件; 柱: Welch Xtimate C18 100\*25mm\*3μm; 流动相: [水 (0.1% TFA) -ACN]; B%: 5%-30%, 12分钟) 纯化残余物, 得到呈白色固体状的2-氨基-N-(4-氨基丁基)-8-[3-[3-(羟甲基) 氮杂环丁-1-基] 磺酰基苯基]-N-丙基-3H-1-苯并氮杂-4-甲酰胺Bz-24 (34mg, 52.01μmol, 产率33.28%, TFA)。<sup>1</sup>H NMR (MeOD-d<sub>4</sub>, 400MHz) δ 8.13-8.05 (m, 2H), 7.90 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.85-7.78 (m, 1H), 7.77-7.72 (m, 2H), 7.71-7.65 (m, 1H), 7.10 (s, 1H), 3.86 (t, J=8.4Hz, 2H), 3.61 (dd, J=5.6Hz, 7.6Hz, 2H), 3.58-3.46 (m, 4H), 3.44-3.36 (m, 4H), 3.05-2.94 (m, 2H), 2.64-2.52 (m, 1H), 1.84-1.62 (m, 6H), 1.03-0.85 (m, 3H)。LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 540.3 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 540.3 (观测值)。

[0951] 实施例21合成Bz-25



[0953] 制备N-[2-(4-甲氧基苯基) 乙基] 氨基甲酸叔丁酯Bz-25a

[0954] 向2-(4-甲氧基苯基) 乙胺 (1g, 6.61mmol, 970.87μL, 1当量) 于THF和H<sub>2</sub>O (10mL) 中的混合物中添加Boc<sub>2</sub>O (2.17g, 9.92mmol, 2.28mL, 1.5当量), 然后在25℃下于N<sub>2</sub>气氛下搅拌30分钟。用水稀释混合物并且用EtOAc (50mL x 3) 萃取。用盐水洗涤有机层, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并浓缩。通过硅胶色谱法 (柱高度: 250mm, 直径: 100mm, 100-200目硅胶, 石油醚/乙酸乙酯=5/1-1/1) 纯化残余物, 得到呈白色固体状的Bz-25a (1.60g, 6.37mmol, 产率96.26%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) δ 7.12 (d, J=8.4Hz, 2H), 6.85 (d, J=8.4Hz, 2H), 4.53 (br s, 1H),

3.80 (s, 3H), 3.37-3.33 (m, 2H), 2.74 (br t, J=6.4Hz, 2H), 1.44 (s, 9H)

[0955] 制备4-甲氧基苯乙基(丙基)氨基甲酸叔丁酯Bz-25b

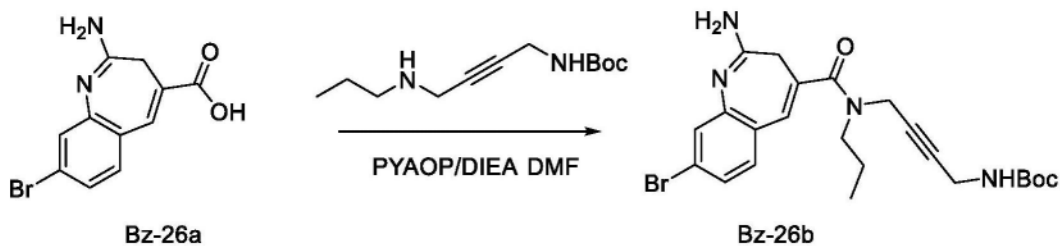
[0956] 在0℃下向Bz-25a (0.8g, 3.18mmol, 1当量) 和1-碘丙烷 (1.08g, 6.37mmol, 621uL, 2当量) 于DMF (8mL) 中的混合物中添加NaH (191mg, 4.77mmol, 纯度60%, 1.5当量), 然后在25℃下搅拌2小时。将混合物倾倒入水 (20mL) 中。用乙酸乙酯 (15mL x 3) 萃取水相。用盐水 (10mL) 洗涤经合并的有机相, 用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且减压浓缩, 得到残余物。通过硅胶色谱法 (柱高度: 250mm, 直径: 100mm, 100-200目硅胶, 石油醚/乙酸乙酯=5/1、1/1) 纯化残余物, 得到呈白色固体状的Bz-25b (365mg, 1.24mmol, 产率39.08%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) δ 7.11 (d, J=8.4Hz, 2H), 6.84 (d, J=8.4Hz, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.36-3.30 (m, 2H), 3.15-3.09 (m, 2H), 2.79-2.71 (m, 2H), 1.57-1.50 (m, 2H), 1.46 (s, 9H), 0.87 (t, J=7.6Hz, 3H)。

[0957] 制备N-[2-(4-甲氧基苯基)乙基]丙-1-胺Bz-25c

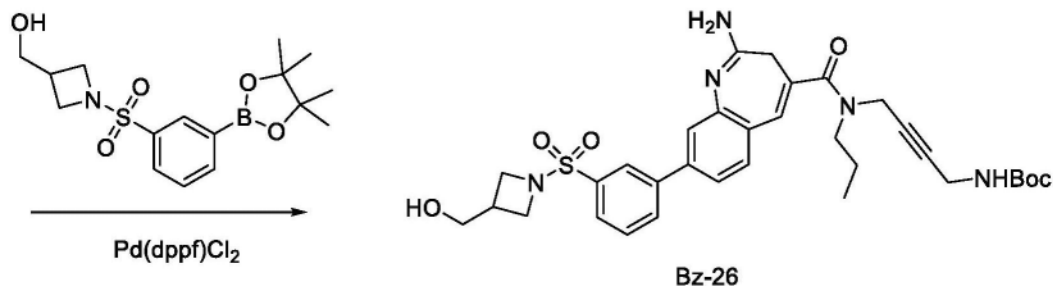
[0958] 向Bz-25b (365mg, 1.24mmol, 1当量) 于EtOAc (5mL) 中的溶液中添加HCl/EtOAc (5mL)。在25℃下搅拌混合物3小时, 然后真空浓缩, 得到Bz-25c。

[0959] 制备Bz-25: 向2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-甲酸Bz-21d (186mg, 435umol, 1当量) 于DMF (1.00mL) 中的溶液中添加PYAOP (340mg, 653umol, 1.5当量) 和DIEA (393mg, 3.05mmol, 531uL, 7当量), 然后添加Bz-25c (100mg, 435umol, 1当量, HCl)。在25℃下搅拌混合物3小时, 然后过滤并浓缩。通过制备型HPLC (柱: Nano-micro **Kromasil**® C18 100\*30mm 8um; 流动相: [水 (0.1% TFA) - ACN]; B%: 25%-55%, 10分钟) 纯化残余物, 得到呈浅黄色固体状的2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-N-[2-(4-甲氧基苯基)乙基]-N-丙基-3H-1-苯并氮呋-4-甲酰胺Bz-25 (14mg, 23.23umol, 产率5.34%)。<sup>1</sup>H NMR (MeOD-d<sub>4</sub>, 400MHz) δ 8.13-8.03 (m, 2H), 7.93-7.87 (m, 1H), 7.84-7.80 (m, 1H), 7.79-7.74 (m, 1H), 7.69 (br s, 1H), 7.60 (br d, J=8.0Hz, 1H), 7.08-6.51 (m, 5H), 3.86 (t, J=8.4Hz, 2H), 3.75 (s, 4H), 3.61 (dd, J=5.8, 8.1Hz, 2H), 3.56-3.45 (m, 1H), 3.54-3.49 (m, 1H), 3.42 (d, J=6.2Hz, 2H), 2.93-2.87 (m, 2H), 2.65-2.47 (m, 1H), 1.75-1.68 (m, 2H), 1.03-0.94 (m, 3H)。LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 603.3 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 603.3 (观测值)。

[0960] 实施例22合成Bz-26。



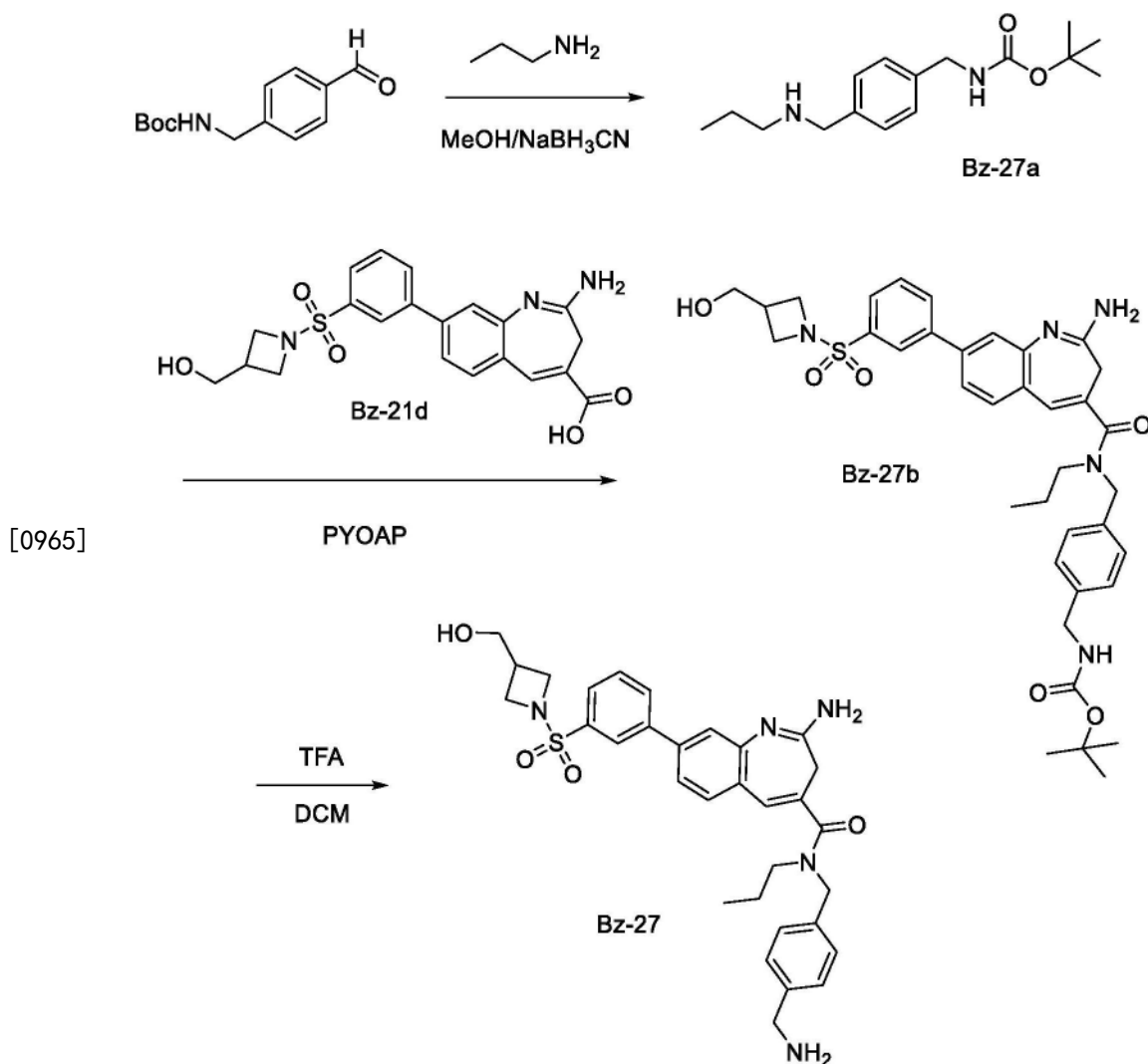
[0961]



[0962] 制备Bz-26b: 在25℃下向2-氨基-8-溴-3H-1-苯并氮唑-4-甲酸Bz-26a (0.5g, 1.78mmol, 1.0当量)、PYAOP (1.02g, 1.96mmol, 1.1当量) 和DIEA (920mg, 7.11mmol, 1.24mL, 4.0当量) 于DMF (8mL) 中的混合物中添加N-[4-(丙基氨基)丁-2-炔基]氨基甲酸叔丁酯 (400mg, 1.78mmol, 1.0当量), 然后在此温度下搅拌0.5小时。将混合物倾倒至水 (40mL) 中。用乙酸乙酯 (30mL x 3) 萃取水相。用盐水 (30mL) 洗涤经合并的有机相, 用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且真空浓缩。通过硅胶色谱法 (柱高度: 250mm, 直径: 100mm, 100-200目硅胶, 石油醚/乙酸乙酯=1/1、0/1) 纯化残余物, 得到呈浅黄色固体状的N-[4-[(2-氨基-8-溴-3H-1-苯并氮唑-4-羧基)-丙基-氨基]丁-2-炔基]氨基甲酸叔丁酯Bz-26b (0.5g, 1.02mmol, 产率57.4%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) δ 7.52 (s, 1H), 7.39 (s, 2H), 7.07 (br s, 1H), 4.37 (s, 2H), 4.06 (d, J=5.2Hz, 2H), 3.65 (s, 2H), 2.91 (s, 2H), 1.88-1.74 (m, 2H), 1.57 (s, 9H), 1.06 (t, J=7.2Hz, 3H)。

[0963] 制备Bz-26: 在25℃下于N<sub>2</sub>下向[1-[3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)苯基]磺酰基氮杂环丁-3-基]甲醇 (1.73g, 4.90mmol, 1.2当量)、Bz-26b (2.0g, 4.09mmol, 1.0当量) 和Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (150mg, 204μmol, 0.05当量) 于二噁烷 (40mL) 中的混合物中添加含K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.13g, 8.17mmol, 2当量) 的H<sub>2</sub>O (5mL), 然后在100℃下搅拌1小时。过滤混合物并且真空浓缩。通过硅胶色谱法 (柱高度: 250mm, 直径: 100mm, 100-200目硅胶, 石油醚/乙酸乙酯=1/1、0/1) 纯化残余物, 得到呈浅黄色固体状的N-[4-[[2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮唑-4-羧基]-丙基-氨基]丁-2-炔基]氨基甲酸叔丁酯Bz-26 (2.0g, 3.15mmol, 产率76.9%)。<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz) δ 8.07 (s, 1H), 8.04 (br d, J=7.6Hz, 1H), 7.88-7.82 (m, 1H), 7.79-7.73 (m, 1H), 7.53-7.46 (m, 2H), 7.43-7.37 (m, 1H), 7.12 (s, 1H), 4.29 (s, 2H), 3.93-3.82 (m, 4H), 3.62-3.50 (m, 4H), 3.42 (d, J=6.4Hz, 2H), 3.31 (s, 2H), 2.64-2.52 (m, 1H), 1.76-1.70 (m, 2H), 1.43 (s, 9H), 0.99-0.91 (m, 3H)。LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 636.3 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 636.3 (观测值)。LCMS (ESI): C<sub>33</sub>H<sub>41</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>S 计算质量 635.28, m/z 实验值 636.3 [M+H]<sup>+</sup>

[0964] 实施例23合成Bz-27:



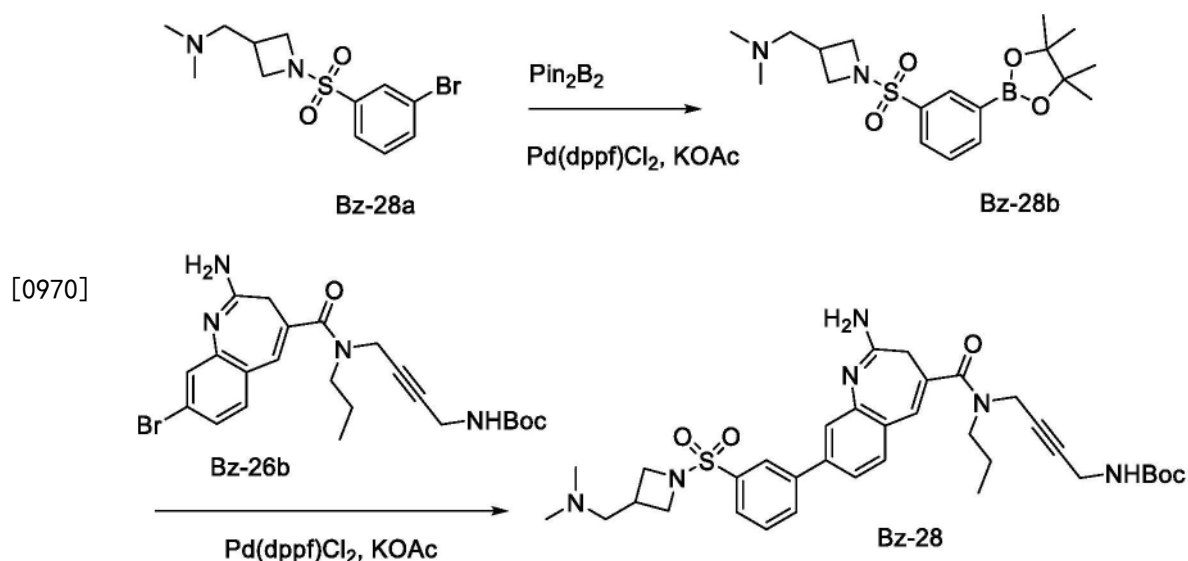
[0966] 制备Bz-27a:向N-[4-(甲酰基苯基)甲基]氨基甲酸叔丁酯(400mg,1.70mmol,1当量)、丙-1-胺(1.00g,17.0mmol,1.40mL,10当量)和AcOH(10mg,170 $\mu$ mol,9.72 $\mu$ L,0.1当量)于MeOH(1mL)中的溶液中添加NaBH<sub>3</sub>CN(213mg,3.40mmol,2当量),在25℃下搅拌混合物3小时。将反应混合物倾倒至水(10mL)中,然后用EtOAc(5mL x 3)萃取。用盐水(5mL x 1)洗涤经合并的有机层,经干燥,过滤并且减压浓缩,得到残余物。通过制备型TLC(SiO<sub>2</sub>,EtOAc:MeOH=5:1)纯化残余物,得到呈无色油状的N-[4-(丙基氨基甲基)苯基]甲基]氨基甲酸叔丁酯Bz-27a(200mg,718 $\mu$ mol,产率42.26%)。<sup>1</sup>H NMR(MeOD-d<sub>4</sub>,400MHz) $\delta$ 7.43(d,J=8.0Hz,2H),7.37(d,J=8.0Hz,2H),4.24(s,2H),4.17(s,2H),3.00-2.96(m,2H),1.77-1.67(m,2H),1.44(s,9H),1.01(t,J=7.6Hz,3H)。

[0967] 制备Bz-27b:向2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-甲酸Bz-21d(122mg,287 $\mu$ mol,1当量)于DMF(0.80mL)中的溶液中添加PYAOP(224mg,431.05 $\mu$ mol,1.5当量)和DIEA(111mg,862.10 $\mu$ mol,150.16 $\mu$ L,3当量)。然后添加N-[4-(丙基氨基甲基)苯基]甲基]氨基甲酸叔丁酯(80mg,287 $\mu$ mol,1当量)。在25℃下搅拌混合物3小时,将其过滤并浓缩。通过制备型HPLC(柱:Welch Xtimate C18100\*25mm\*3 $\mu$ m;流动相[水(0.1%TFA)-ACN];B%:30%-50%,12分钟)纯化残余物。获得呈浅黄色固体状的N-[4-[2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-羧

基]-丙基-氨基]甲基]苯基]甲基]氨基甲酸叔丁酯(27mg, 39.3 $\mu$ mol, 产率13.66%)。<sup>1</sup>H NMR (MeOD- $d_4$ , 400MHz)  $\delta$ 8.08 (t, J=9.6Hz, 2H), 7.92-7.90 (m, 1H), 7.82 (t, J=8.4Hz, 1H), 7.81-7.79 (m, 1H), 7.69-7.64 (m, 4H), 7.57 (s, 1H), 7.30-7.29 (m, 4H), 7.13 (s, 1H), 4.23 (s, 2H), 3.87 (t, J=8.4Hz, 2H), 3.61 (t, J=6.0Hz, 2H), 3.42-3.41 (m, 2H), 3.31 (t, J=1.6Hz, 2H), 2.60-2.55 (m, 1H), 1.71-1.70 (m, 2H), 1.44 (s, 9H), 0.99-0.90 (m, 3H)。LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 688.3 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 688.3 (观测值)。

[0968] 制备Bz-27: 向Bz-27b (50mg, 72.7 $\mu$ mol, 1当量) 于DCM (1mL) 中的溶液中添加TFA (165mg, 1.45mmol, 108 $\mu$ L, 20当量), 然后在25℃下搅拌2小时。过滤混合物并浓缩。通过制备型HPLC (柱: Nano-micro Kromasil C18 100\*30mm8 $\mu$ m; 流动相: [水 (0.1% TFA) -CAN]; B%: 5%-30%, 10分钟) 纯化残余物, 得到呈白色固体状的2-氨基-N-[[4-(氨基甲基)苯基]甲基]-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-N-丙基-3H-1-苯并氮杂-4-甲酰胺Bz-27 (4mg, 6.81 $\mu$ mol, 产率9.36%)。<sup>1</sup>H NMR (MeOH- $d_4$ , 400MHz)  $\delta$ 8.13-8.03 (m, 2H), 7.91 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.85-7.78 (m, 1H), 7.75-7.70 (m, 2H), 7.59-7.33 (m, 5H), 7.15 (s, 1H), 4.13 (s, 2H), 3.86 (t, J=8.4Hz, 2H), 3.61 (dd, J=6.1, 7.8Hz, 2H), 3.48 (br d, J=7.6Hz, 2H), 3.42 (d, J=6.2Hz, 4H), 3.32 (br s, 1H), 3.31-3.31 (m, 1H), 3.31-3.30 (m, 2H), 2.63-2.52 (m, 1H), 1.76-1.61 (m, 2H), 0.91 (br s, 3H)。LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 588.3 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 588.3 (观测值)。

[0969] 实施例24合成Bz-28

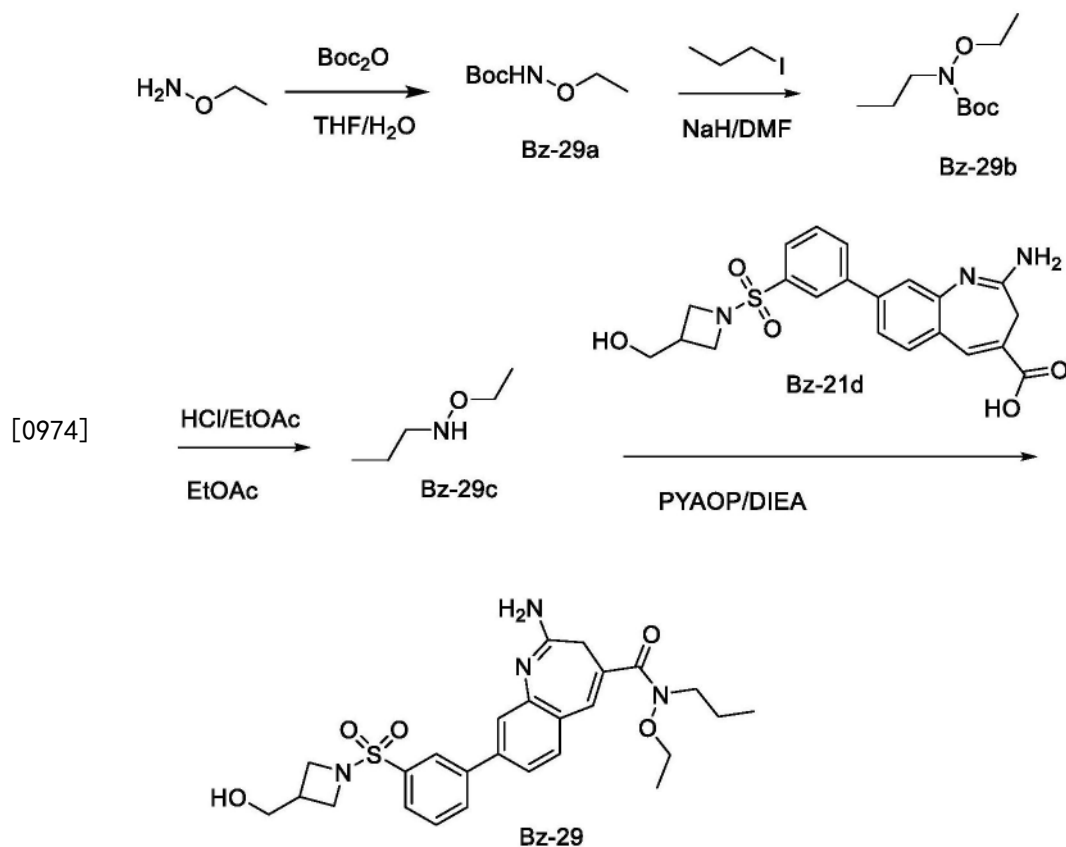


[0971] 制备Bz-28b: 将1-[1-(3-溴苯基)磺酰基氮杂环丁-3-基]-N,N-二甲基-甲胺Bz-28a (0.3g, 900.24 $\mu$ mol, 1当量)、Pin<sub>2</sub>B<sub>2</sub> (342.91mg, 1.35mmol, 1.5当量)、Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (32.94mg, 45.01 $\mu$ mol, 0.05当量) 和KOAc (176.70mg, 1.80mmol, 2当量) 于二噁烷 (6mL) 中的混合物脱气并且用N<sub>2</sub>吹扫3次, 然后在90℃下于N<sub>2</sub>气氛下搅拌2小时。将反应混合物冷却至25℃, 并且添加de-Pd硅胶 (1g), 然后在25℃下搅拌30分钟。过滤混合物并且用EtOAc (10mL x 5) 洗涤, 并且减压浓缩, 得到呈黄色油状的N,N-二甲基-1-[1-[3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)苯基]磺酰基氮杂环丁-3-基]甲胺Bz-28b (0.6g, 粗物质)。

[0972] 制备Bz-28: 将Bz-28b (699mg, 920 $\mu$ mol, 1.5当量)、N-[[4-[(2-氨基-8-溴-3H-1-苯并氮杂-4-羰基)-丙基-氨基]丁-2-炔基]氨基甲酸叔丁酯Bz-26b (300mg, 613 $\mu$ mol, 1当量)、

Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (22.4mg, 30.6μmol, 0.05当量) 和K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (169mg, 1.23mmol, 2当量) 于二噁烷 (20mL) 和H<sub>2</sub>O (2mL) 中的混合物脱气并且用N<sub>2</sub>吹扫3次, 然后在90℃下于N<sub>2</sub>气氛下搅拌2小时。通过在0℃下添加H<sub>2</sub>O (60mL) 淬灭反应混合物, 然后用EtOAc (30mL x 3) 萃取。用盐水 (10mL x 3) 洗涤经合并的有机层, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且减压浓缩。通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚: 乙酸乙酯=1:0至0:1) 继之以 (SiO<sub>2</sub>, EtOAc:MeOH=1:0至1:1) 纯化残余物, 得到呈棕色固体状的N-[4-[[2-氨基-8-[3-[3-[(二甲基氨基)甲基]氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-羰基]-丙基-氨基]丁-2-炔基]氨基甲酸叔丁酯Bz-28 (230mg粗产物, 347μmol, 产率56.61%)。<sup>1</sup>H NMR (MeOD-d<sub>4</sub>, 400MHz) δ8.16-8.06 (m, 2H), 7.97-7.90 (m, 1H), 7.89-7.65 (m, 4H), 7.34 (br s, 1H), 4.34 (s, 2H), 4.01 (t, J=8.4Hz, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.69 (dd, J=5.6, 8.4Hz, 2H), 3.56 (br s, 2H), 3.39 (s, 2H), 3.33 (s, 2H), 3.03-2.89 (m, 1H), 2.82 (s, 6H), 1.81-1.67 (m, 2H), 1.43 (s, 9H), 0.97 (br t, J=6.8Hz, 3H)。LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 663.3 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 663.3 (观测值)。

[0973] 实施例25合成Bz-29



[0975] 制备Bz-29a: 在25℃下向O-乙基羟胺 (3g, 30.8mmol, 1当量, HCl) 和Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (32.6g, 307.55mmol, 10当量) 于DCM (30mL) 和水 (30mL) 中的混合物中添加碳酸叔丁氧羰基叔丁酯 (8.05g, 36.9mmol, 8.48mL, 1.2当量), 然后搅拌3小时。分离混合物, 并且经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥有机层, 浓缩成残余物。通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1:0-5:1) 纯化粗物质, 得到呈无色油状的N-乙氧基氨基甲酸叔丁酯Bz-29a (4g, 24.81mmol, 产率80.68%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ3.87 (q, J=7.2Hz, 2H), 1.45 (s, 9H), 1.20 (t, J=7.2Hz, 3H)。

[0976] 制备Bz-29b: 在0℃下向Bz-29a (1g, 6.20mmol, 1当量) 于DMF (10mL) 中的混合物中添加NaH (298mg, 7.44mmol, 纯度60%, 1.2当量), 然后在0℃下搅拌0.5小时, 在0℃下将1-碘

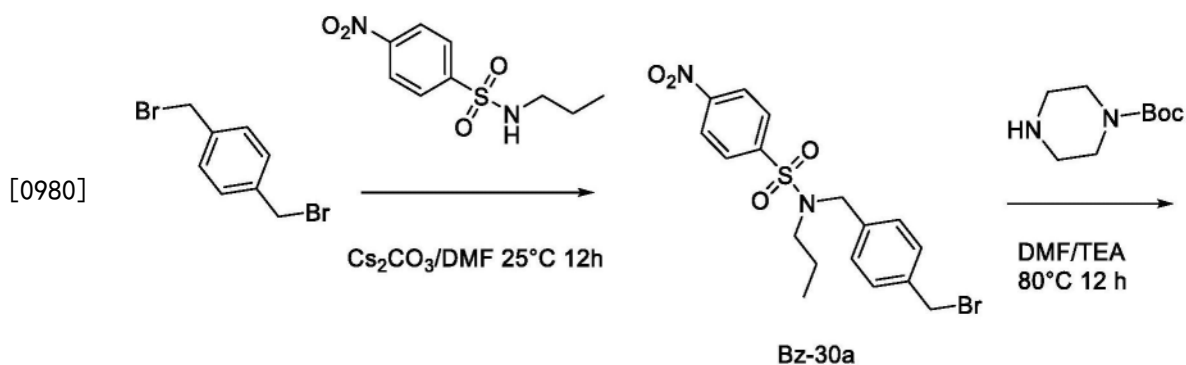


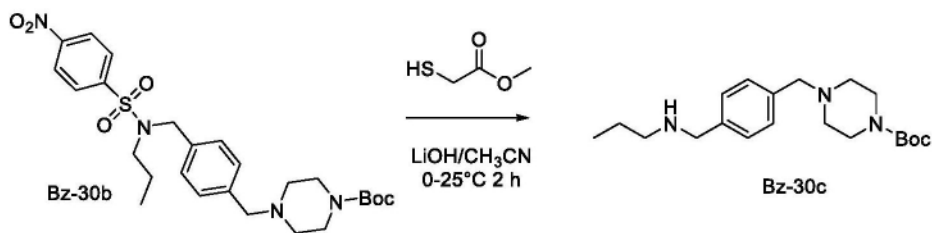
丙烷(1.16g,6.82mmol,666.67uL,1.1当量)添加至混合物中并且在25℃下搅拌10小时。用饱和NH<sub>4</sub>Cl溶液(10mL)淬灭混合物,然后用EtOAc(3\*10mL)萃取。经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥有机层,浓缩得到残余物。通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=1:0-5:1)纯化残余物,得到呈无色油状的N-乙氧基-N-丙基-氨基甲酸叔丁酯Bz-29b(0.84g,4.13mmol,产率66.61%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,氯仿-d) $\delta$ 3.89(q,J=7.2Hz,2H),3.47-3.25(m,2H),1.69-1.59(m,2H),1.49(s,9H),1.23(t,J=7.2Hz,3H),0.91(t,J=7.2Hz,3H)。

[0977] 制备Bz-29c:向Bz-29b(0.84g,4.13mmol,1当量)于EtOAc(10mL)中的混合物中添加HCl/EtOAc(4M,5mL,4.84当量)。在25℃下搅拌混合物2小时。浓缩混合物,得到呈白色固体状的N-乙氧基丙-1-胺Bz-29c(0.4g,2.86mmol,产率69.33%,HCl)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) $\delta$ 4.16(dq,J=2.0,7.2Hz,2H),3.29-3.23(m,2H),1.76(六重峰,J=7.6Hz,2H),1.32(t,J=7.2Hz,3H),1.05(t,J=7.2Hz,3H)。

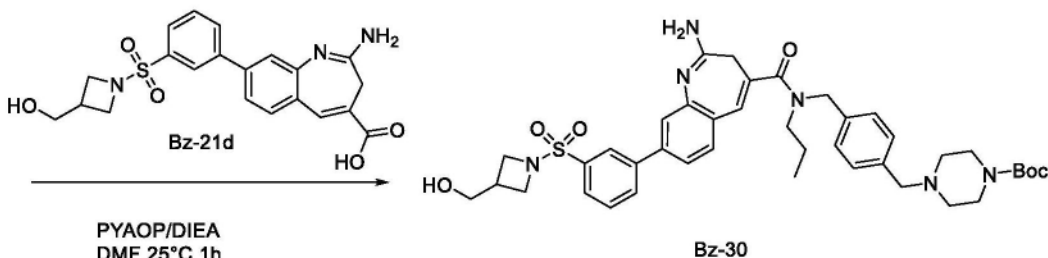
[0978] 制备Bz-29:向2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-甲酸(200mg,468umol,1当量)于DMF(2mL)中的混合物中添加PYAOP(293mg,561umol,1.2当量)和DIEA(181mg,1.40mmol,245uL,3当量),3分钟后,添加N-乙氧基丙-1-胺(71.86mg,514.65umol,1.1当量,HCl)。在25℃下搅拌混合物1小时,然后浓缩得到残余物。通过制备型HPLC(柱:Phenomenex Gemini-NX C18 75\*30mm\*3um;流动相:[水(10mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>)-ACN];B%:30%-60%,10.5分钟)纯化残余物,得到呈白色固体状的2-氨基-N-乙氧基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-N-丙基-3H-1-苯并氮呋-4-甲酰胺Bz-29(3.5mg,6.36umol,产率1.36%,纯度93.17%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) $\delta$ 8.10-8.02(m,2H),7.89-7.73(m,2H),7.53-7.48(m,2H),7.46-7.40(m,1H),7.31(s,1H),3.95(q,J=7.2Hz,2H),3.86(t,J=8.4Hz,2H),3.74(t,J=7.2Hz,2H),3.60(dd,J=6.4,8.2Hz,2H),3.41(d,J=6.4Hz,2H),3.34-3.31(m,2H),2.67-2.43(m,1H),1.77(六重峰,J=7.2Hz,2H),1.18(t,J=7.2Hz,3H),0.99(t,J=7.6Hz,3H)。LC/MS[M+H]<sup>+</sup>513.2(计算值);LC/MS[M+H]<sup>+</sup>513.4(观测值)。

[0979] 实施例26合成Bz-30





[0981]



[0982] 制备Bz-30a:在25℃下向1,4-双(溴甲基)苯(6.48g,24.6mmol,2.0当量)和4-硝基-N-丙基-苯磺酰胺(3.0g,12.3mmol,1.0当量)于DMF(40mL)中的混合物中一次性添加 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ (4.80g,14.7mmol,1.2当量),然后搅拌12小时。用水(100mL)稀释反应物并且用EtOAc(50mL x 3)萃取。用盐水洗涤有机层,经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并浓缩。通过硅胶色谱法(石油醚/乙酸乙酯=1/0、3/1)纯化残余物,得到呈白色固体状的N-[[4-(溴甲基)苯基]甲基]-4-硝基-N-丙基-苯磺酰胺Bz-30a(1.5g,3.51mmol,产率28.6%)。 $^1\text{H}$  NMR( $\text{CDCl}_3$ ,400MHz)  $\delta$ 8.35(d, $J$ =8.8Hz,2H),7.98(d, $J$ =8.8Hz,2H),7.35(d, $J$ =8.0Hz,2H),7.24(d, $J$ =8.0Hz,2H),4.48(s,2H),4.40(s,2H),3.19-3.11(m,2H),1.42(m,2H),0.76(t, $J$ =7.6Hz,3H)。

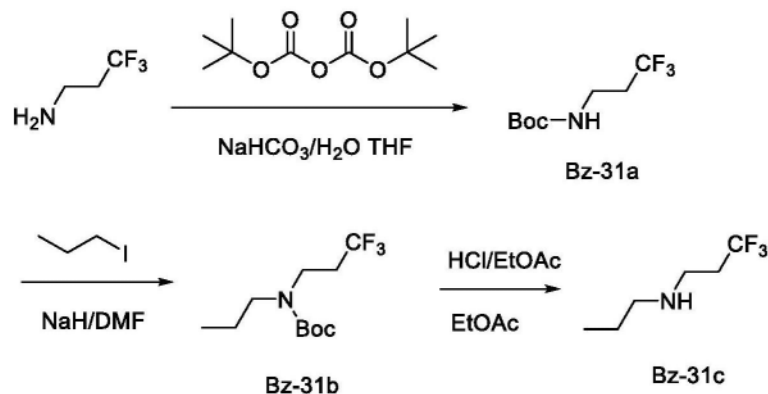
[0983] 制备Bz-30b:在25℃下向Bz-30a(1.3g,3.04mmol,1.0当量)和哌嗪-1-甲酸叔丁酯(2.27g,12.2mmol,4.0当量)于DMF(15mL)中的混合物中添加 $\text{Et}_3\text{N}$ (1.23g,12.2mmol,1.69mL,4.0当量),然后在80℃下搅拌12小时。用水(50mL)稀释混合物并且用EtOAc(50mL x 3)萃取。用盐水洗涤有机层,经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并浓缩。通过硅胶色谱法(石油醚/乙酸乙酯=1/0、3/1)纯化残余物,得到呈黄色固体状的4-[[4-[[4-(4-硝基苯基)磺酰基-丙基-氨基]甲基]苯基]甲基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯Bz-30b(1.7g,粗物质)。 $^1\text{H}$  NMR(DMSO,400MHz)  $\delta$ 8.39(d, $J$ =8.8Hz,2H),8.11(d, $J$ =8.8Hz,2H),7.21(s,4H),4.36(s,2H),3.45(s,2H),3.31-2.27(m,4H),3.12-3.05(m,2H),2.28-2.26(m,4H),1.38(s,9H),1.33-1.25(m,2H),0.65(t, $J$ =7.6Hz,3H)。

[0984] 制备Bz-30c:在0℃下向Bz-30b(1.0g,1.88mmol,1.0当量)于 $\text{CH}_3\text{CN}$ (6mL)中的溶液一次性添加 $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (473mg,11.3mmol,6.0当量)。然后添加2-巯烷基乙酸甲酯(598mg,5.63mmol,511uL,3.0当量)并且在25℃下搅拌2小时。过滤混合物并浓缩。用MTBE(5mL)稀释残余物,然后用HCl水溶液(1M)将混合物的pH调节至约2,用MTBE(20mL)萃取(弃去)。用 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液将水相调节至pH=9,然后用EtOAc(30mL x 3)萃取。用盐水洗涤有机层,经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并浓缩,获得呈黄色油状的4-[[4-(丙基氨基甲基)苯基]甲基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯Bz-30c(0.5g,粗物质)。 $^1\text{H}$  NMR(MeOD,400MHz)  $\delta$ 7.32-7.30(m,4H),3.73(s,2H),3.53(s,2H),3.43-3.40(m,4H),2.57-2.50(m,2H),2.41-2.48(m,4H),1.58-1.51(m,2H),1.45(s,9H),0.92(t, $J$ =7.6Hz,3H)。

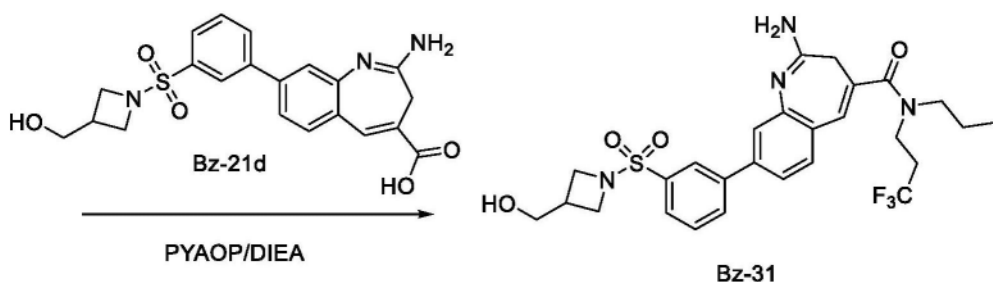
[0985] 制备Bz-30:在25℃下向2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-甲酸Bz-21d(400mg,936umol,1.0当量)于DMF(8mL)中的混合物中一次性

添加PYAOP (585mg, 1.12mmol, 1.2当量)、DIEA (363mg, 2.81mmol, 489 $\mu$ L, 3.0当量) 和Bz-30c (358mg, 1.03mmol, 1.1当量), 然后搅拌1小时。过滤混合物并浓缩。通过制备型HPLC (柱: Phenomenex Luna C18 100\*30mm\*5 $\mu$ m; 流动相: [水 (0.1% TFA) - ACN]; B%: 15% - 45%, 10分钟) 纯化残余物, 得到呈白色固体状的4-[[4-[[[2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-羰基]-丙基-氨基]甲基]苯基]甲基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯Bz-30 (0.35g, 462 $\mu$ mol, 产率49.4%)。<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz)  $\delta$  8.14-8.05 (m, 2H), 7.92 (d, J = 7.6Hz, 1H), 7.82 (t, J = 7.6Hz, 1H), 7.78-7.69 (m, 2H), 7.63-7.42 (m, 5H), 7.17 (s, 1H), 4.37 (s, 2H), 3.86 (t, J = 8.0Hz, 2H), 3.61 (dd, J = 6.0, 8.0Hz, 2H), 3.53-3.49 (m, 2H), 3.43-3.41 (m, 6H), 3.31-3.29 (m, 8H), 2.63-2.54 (m, 1H), 1.76-1.65 (m, 2H), 1.47 (s, 9H), 0.95-0.89 (m, 3H)。LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 757.4 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 757.4 (观测值)。

[0986] 实施例27合成Bz-31



[0987]



[0988] 制备Bz-31a: 向3,3,3-三氟丙-1-胺 (0.5g, 3.34mmol, 1当量, HCl) 和NaHCO<sub>3</sub> (842.64mg, 10.03mmol, 390.11 $\mu$ L, 3当量) 于THF (3mL) 和H<sub>2</sub>O (3mL) 中的混合物中添加碳酸叔丁基羰基叔丁酯 (730mg, 3.34mmol, 768 $\mu$ L, 1当量), 然后在25℃下于N<sub>2</sub>气氛下搅拌1小时。将混合物倾倒入H<sub>2</sub>O (15mL) 中, 用乙酸乙酯 (15mL x 3) 萃取。用盐水 (15mL) 洗涤经合并的有机相, 用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且真空浓缩。通过用 (石油醚: 乙酸乙酯 = 5:0至1:1) 洗脱进行硅胶色谱法来纯化粗产物, 得到呈无色油状的N-(3,3,3-三氟丙基) 氨基甲酸叔丁酯Bz-31a (500mg, 2.35mmol, 产率70.14%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz)  $\delta$  4.75 (br s, 1H), 3.40 (q, J = 6.4Hz, 2H), 2.40-2.27 (m, 2H), 1.45 (s, 9H)。

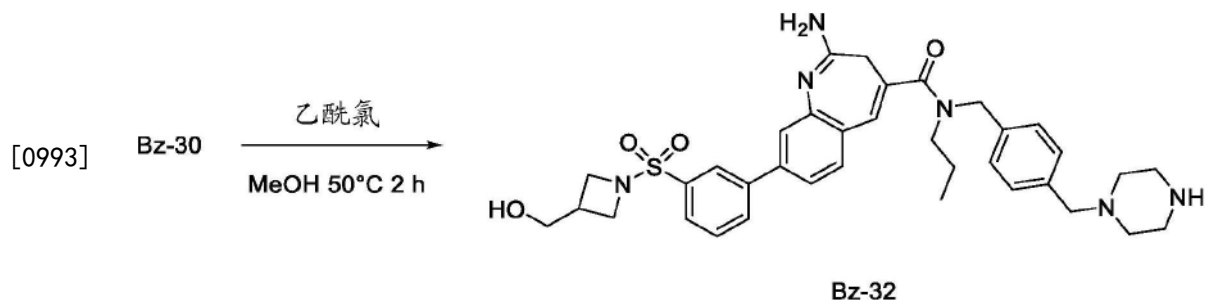
[0989] 制备Bz-31b: 在0℃下向Bz-31a (400mg, 1.88mmol, 1当量) 于DMF (5mL) 中的溶液中添加NaH (113mg, 2.81mmol, 纯度60%, 1.5当量)。30分钟后, 将1-碘丙烷 (637.88mg, 3.75mmol, 366 $\mu$ L, 2当量) 添加至混合物中, 然后在20℃下搅拌2小时。在0℃下通过添加饱和NH<sub>4</sub>Cl (10mL) 淬灭反应混合物, 然后用EtOAc (10mL x 3) 萃取。用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥有机相, 过滤并且真空浓缩。通过硅胶柱色谱法 (石油醚: 乙酸乙酯 = 5:1至1:1) 纯化反应混合物。获得

呈无色油状的化合物N-丙基-N-(3,3,3-三氟丙基)氨基甲酸叔丁酯Bz-31b(400mg, 1.57mmol, 产率83.52%)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) δ3.41(t, J=7.2Hz, 2H), 3.19-3.12(m, 1H), 2.40-2.32(m, 2H), 1.58-1.50(m, 2H), 1.47(s, 9H), 0.89(t, J=7.6Hz, 3H)。

[0990] 制备Bz-31c:向N-丙基-N-(3,3,3-三氟丙基)氨基甲酸叔丁酯(400mg, 1.57mmol, 1当量)于EtOAc(3mL)中的溶液中添加HCl/EtOAc(4M, 5.88mL, 15当量),然后在20℃下搅拌2小时。过滤混合物并且真空浓缩,得到呈白色固体状的3,3,3-三氟-N-丙基-丙-1-胺Bz-31c(240mg, 粗物质, HCl)。<sup>1</sup>H NMR(MeOD-d<sub>4</sub>, 400MHz) δ3.34-3.31(m, 2H), 3.06-3.00(m,

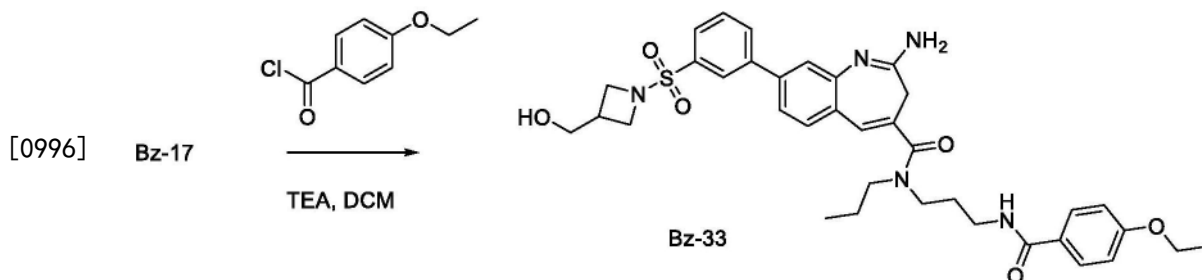
[0991] 制备Bz-31:向2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-甲酸Bz-21d(100mg, 233umol, 1当量)、DIEA(90.7mg, 702umol, 122uL, 3当量)和PYAOP(183mg, 351umol, 1.5当量)于DMF(1mL)中的溶液中添加Bz-31c(44.8mg, 234umol, 1当量, HCl),然后在20℃下搅拌1小时。过滤混合物并且真空浓缩。通过制备型HPLC(柱:Waters Xbridge BEH C18 100\*30mm\*10um;流动相:[水(10mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>)-ACN];B%:30%-60%, 8分钟)纯化残余物,得到呈白色固体状的2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-N-丙基-N-(3,3,3-三氟丙基)-3H-1-苯并氮呋-4-甲酰胺Bz-31(7mg, 12.40umol, 产率5.30%)。<sup>1</sup>H NMR(MeOD-d<sub>4</sub>, 400MHz) δ8.07(s, 1H), 8.04(br d, J=7.6Hz, 1H), 7.86-7.81(m, 1H), 7.80-7.73(m, 1H), 7.49-7.44(m, 2H), 7.42-7.37(m, 1H), 6.94(s, 1H), 3.86(t, J=8.4Hz, 2H), 3.73(br s, 2H), 3.60(dd, J=6.0, 8.0Hz, 2H), 3.52-3.45(m, 2H), 3.42(d, J=6.4Hz, 2H), 3.33-3.32(m, 2H), 2.68-2.53(m, 3H), 1.74-1.64(m, 2H), 0.91(br s, 3H)。LC/MS [M+H]<sup>+</sup>565.2(计算值);LC/MS [M+H]<sup>+</sup>565.3(观测值)。

[0992] 实施例28合成Bz-32



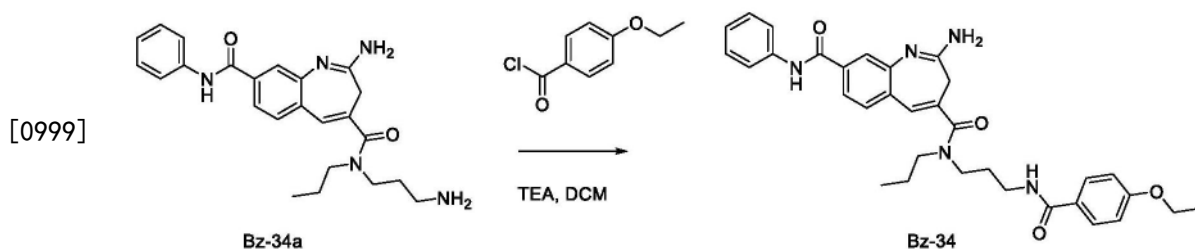
[0994] 制备Bz-32:在25℃下向4-[[4-[[[2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-羰基]-丙基-氨基]甲基]苯基]甲基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯Bz-30(0.16g, 211umol, 1.0当量)于MeOH(10mL)中的溶液中添加乙酰氯(49.8mg, 634umol, 45.3uL, 3.0当量)并且在50℃下搅拌2小时。真空浓缩混合物,并且通过制备型HPLC(柱:Waters Xbridge BEH C18 100\*25mm\*5um;流动相:[水(10mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>)-ACN];B%:25%-55%, 10分钟)纯化残余物,得到呈白色固体状的2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-N-[[4-(哌嗪-1-基甲基)苯基]甲基]-N-丙基-3H-1-苯并氮呋-4-甲酰胺Bz-32(36mg, 54.8umol, 产率25.9%)。<sup>1</sup>H NMR(MeOD, 400MHz) δ8.06(s, 1H), 8.02(d, J=7.6Hz, 1H), 7.83(d, J=8.0Hz, 1H), 7.79-7.72(m, 1H), 7.46(s, 2H), 7.40-7.22(m, 5H), 6.93(s, 1H), 4.74(s, 2H), 3.85(t, J=8.4Hz, 2H), 3.62-3.56(m, 2H), 3.52(s, 2H), 3.45-3.34(m, 4H), 2.85(t, J=4.4Hz, 4H), 2.66-2.52(m, 2H), 2.48-2.44(m, 4H), 1.72-1.60(m, 2H), 0.90-0.88(m, 3H)。LC/MS [M+H]<sup>+</sup>657.3(计算值);LC/MS [M+H]<sup>+</sup>657.5(观测值)。

## [0995] 实施例29合成Bz-33



[0997] 将2-氨基-N-(3-氨基丙基)-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-N-丙基-3H-苯并[b]氮呼-4-甲酰胺Bz-17 (0.01g, 0.019mmol, 1当量) 溶解于DCM中。添加三乙胺 (4μl, 0.029mmol, 1.5当量), 继而添加4-乙氧基苯甲酰氯 (0.004g, 0.019mmol, 1当量)。在室温下搅拌反应物, 然后浓缩并且通过HPLC纯化, 得到2-氨基-N-(3-(4-乙氧基苯甲酰胺基)丙基)-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-N-丙基-3H-苯并[b]氮呼-4-甲酰胺Bz-33 (0.0028g, 0.0042mmol, 22%)。LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 674.30 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 674.74 (观测值)。

## [0998] 实施例30合成Bz-34



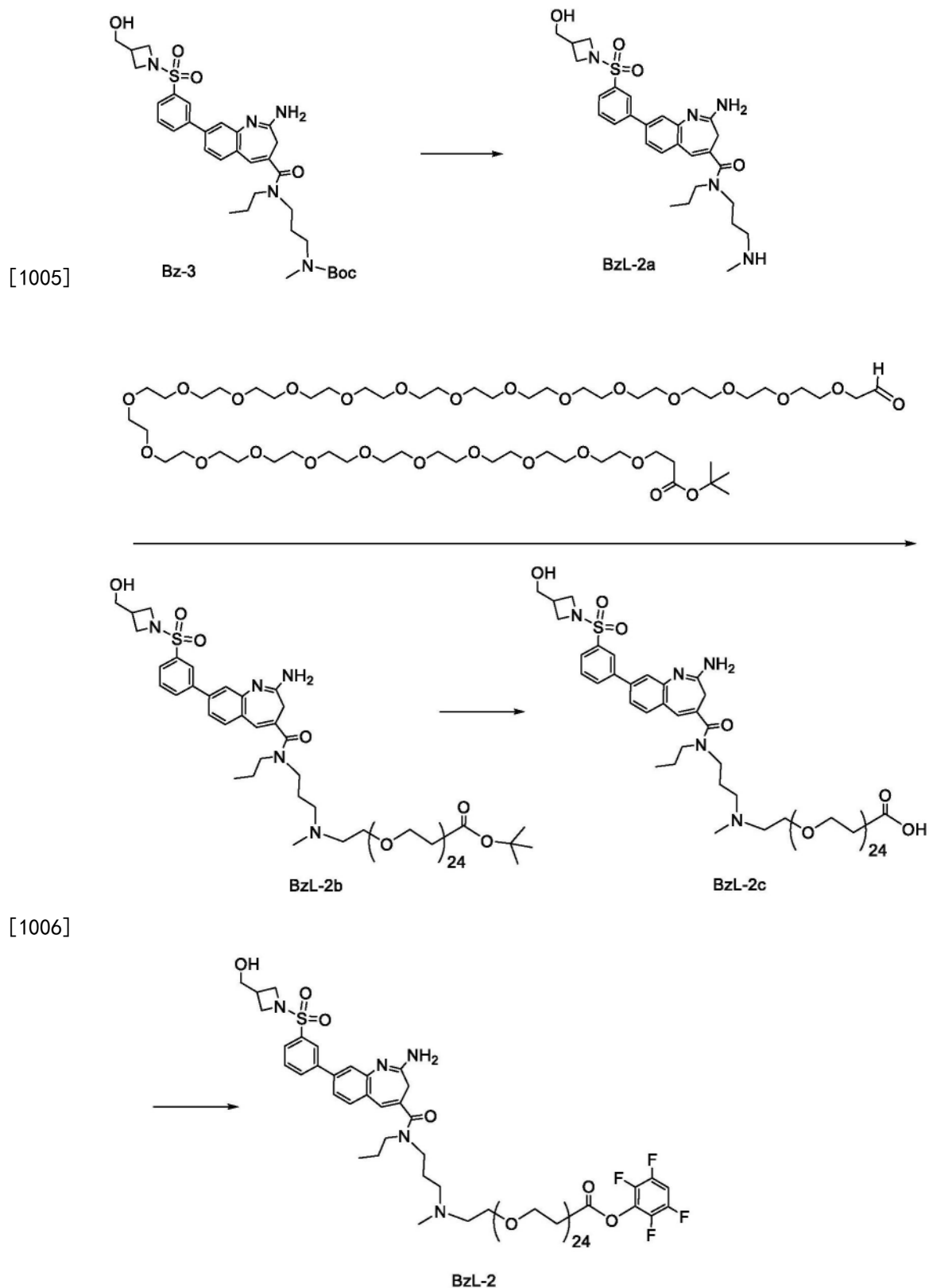
[1000] 将2-氨基-N<sup>4</sup>-(3-氨基丙基)-N<sup>8</sup>-苯基-N<sup>4</sup>-丙基-3H-苯并[b]氮呼-4,8-二甲酰胺Bz-34a (0.01g, 0.024mmol, 1当量) 溶解于DCM中。添加三乙胺 (5μl, 0.036mmol, 1.5当量), 继而添加4-乙氧基苯甲酰氯 (0.004g, 0.024mmol, 1当量)。在室温下搅拌反应物, 然后浓缩并且通过HPLC纯化, 得到2-氨基-N<sup>4</sup>-(3-(4-乙氧基苯甲酰胺基)丙基)-N<sup>8</sup>-苯基-N<sup>4</sup>-丙基-3H-苯并[b]氮呼-4,8-二甲酰胺Bz-34 (0.005g, 0.009mmol, 38%)。LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 568.29 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 568.50 (观测值)。

[1001] 制备氨基苯并氮呼-连接子式II化合物 (BzL) 和中间体

## [1002] 实施例31合成BzL-1

[1003] 按照本文所描述的程序, 制备2-氨基-8-(3-((2-(2-(3-氧代-3-(2,3,5,6-四氟苯氧基)丙氧基)乙氧基)乙基)氨基甲酰基)苯基)-3H-苯并[b]氮呼-4-甲酸乙酯BzL-1并且进行表征。

## [1004] 实施例32合成BzL-2



[1007] 合成2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂-4-甲酰胺BzL-2a

[1008] 根据针对Bz-11a所描述的程序从Bz-3合成BzL-2a。LC/MS[M+H] 540.26(计算值)；LC/MS[M+H] 540.53(观测值)。

[1009] 合成80-(2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-3H-苯并[b]

氮呋-4-羰基)-76-甲基-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73-二十四氧杂-76,80-二氮杂八十三烷酸叔丁酯BzL-2b.

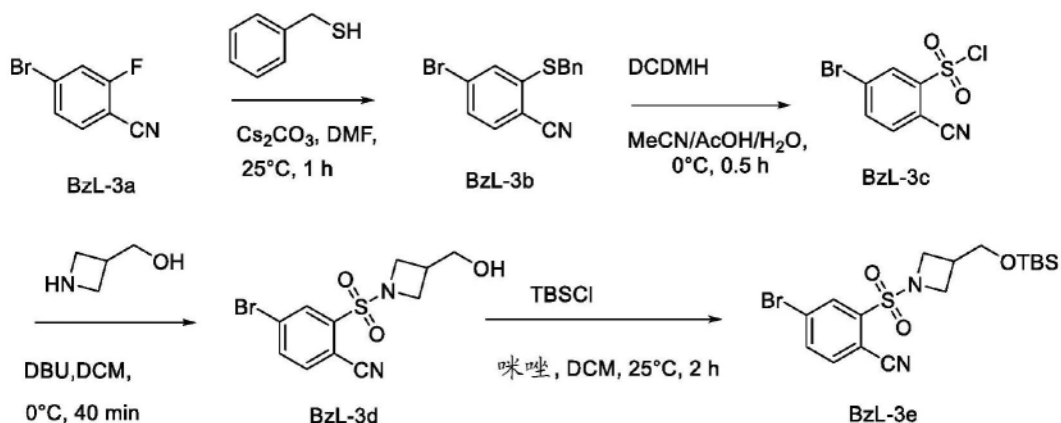
[1010] 向小瓶中装入含BzL-2a (15.1mg, 0.028mmol)、1-氧代-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72-二十四氧杂七十五烷-75-酸叔丁酯(0.042mmol)、三乙酰氧基硼氢化钠(30mg, 0.14mmol)的100 $\mu$ L DMF。搅拌反应物5小时,此后添加100 $\mu$ L 10%碳酸钠并且搅拌1小时。过滤混合物并且通过利用含有0.1%三氟乙酸的乙腈:水的25-75%梯度进行反相制备型HPLC来纯化。合并经纯化的级分并冻干,得到40.7mg BzL-2b,产率84%。LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1724.98(计算值);LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1726.52(观测值)。

[1011] 合成80-(2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-3H-苯并[b]氮呋-4-羰基)-76-甲基-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73-二十四氧杂-76,80-二氮杂八十三烷酸BzL-2c.

[1012] 向小瓶中装入BzL-2b (18mg, 0.010mmol)、300 $\mu$ L DCM和100 $\mu$ L三氟乙酸。使反应维持45分钟,在真空下浓缩,并且与1mL甲苯共沸三次。反应物未经任何进一步纯化即继续使用。

[1013] 根据针对BzL-22所描述的程序合成80-(2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-3H-苯并[b]氮呋-4-羰基)-76-甲基-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73-二十四氧杂-76,80-二氮杂八十三烷酸2,3,5,6-四氟苯酯BzL-2。LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1816.91(计算值);LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1818.51(观测值)。

[1014] 实施例33合成BzL-3



[1016] 合成2-苯甲基硫烷基-4-溴-苯甲腈BzL-3b

[1017] 在25°C下向苯甲硫醇(3.10g, 25.00mmol, 2.93mL, 1当量)和4-溴-2-氟-苯甲腈BzL-3a(5g, 25.00mmol, 1当量)于DMF(10mL)中的混合物中添加Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(12.22g, 37.50mmol, 1.5当量)。在25°C下搅拌混合物1小时。TLC和LCMS显示反应完成。将混合物倾倒入冰水(100mL)中,搅拌5分钟并过滤,得到呈白色固体状的BzL-3b(4g, 13.15mmol, 产率52.60%),其未经进一步纯化即用于下一步骤中。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, 400MHz)  $\delta$ 7.50(d, J=2.0Hz, 1H), 7.47-7.43(m, 1H), 7.41-7.38(m, 1H), 7.35-7.28(m, 5H), 4.23(s, 2H)。

[1018] 合成5-溴-2-氰基-苯磺酰氯BzL-3c

[1019] 在0°C下向2-苯甲基硫烷基-4-溴-苯甲腈(1g, 3.29mmol, 1当量)于CH<sub>3</sub>CN(20mL)、AcOH(0.7mL)和H<sub>2</sub>O(0.5mL)中的混合物中逐份添加1,3-二氯-5,5-二甲基-咪唑烷-2,4-二酮(1.30g, 6.57mmol, 2当量)。在0°C下搅拌混合物30分钟。TLC和LCMS显示反应完成。将混合

物倾倒至冰水 (50mL) 中并且搅拌2分钟。用DCM (20mL x 2) 萃取水相。用盐水 (30mL) 洗涤经合并的有机相, 用无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥, 过滤并且真空浓缩。通过硅胶色谱法 (石油醚/乙酸乙酯 = 20/1、10/1) 纯化残余物, 得到呈白色固体状的BzL-3c (0.8g, 2.85mmol, 产率86.75%)。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz)  $\delta$ 8.34 (d,  $J=2.0\text{Hz}$ , 1H), 7.99 (dd,  $J=8.4, 2.0\text{Hz}$ , 1H), 7.83 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H)。

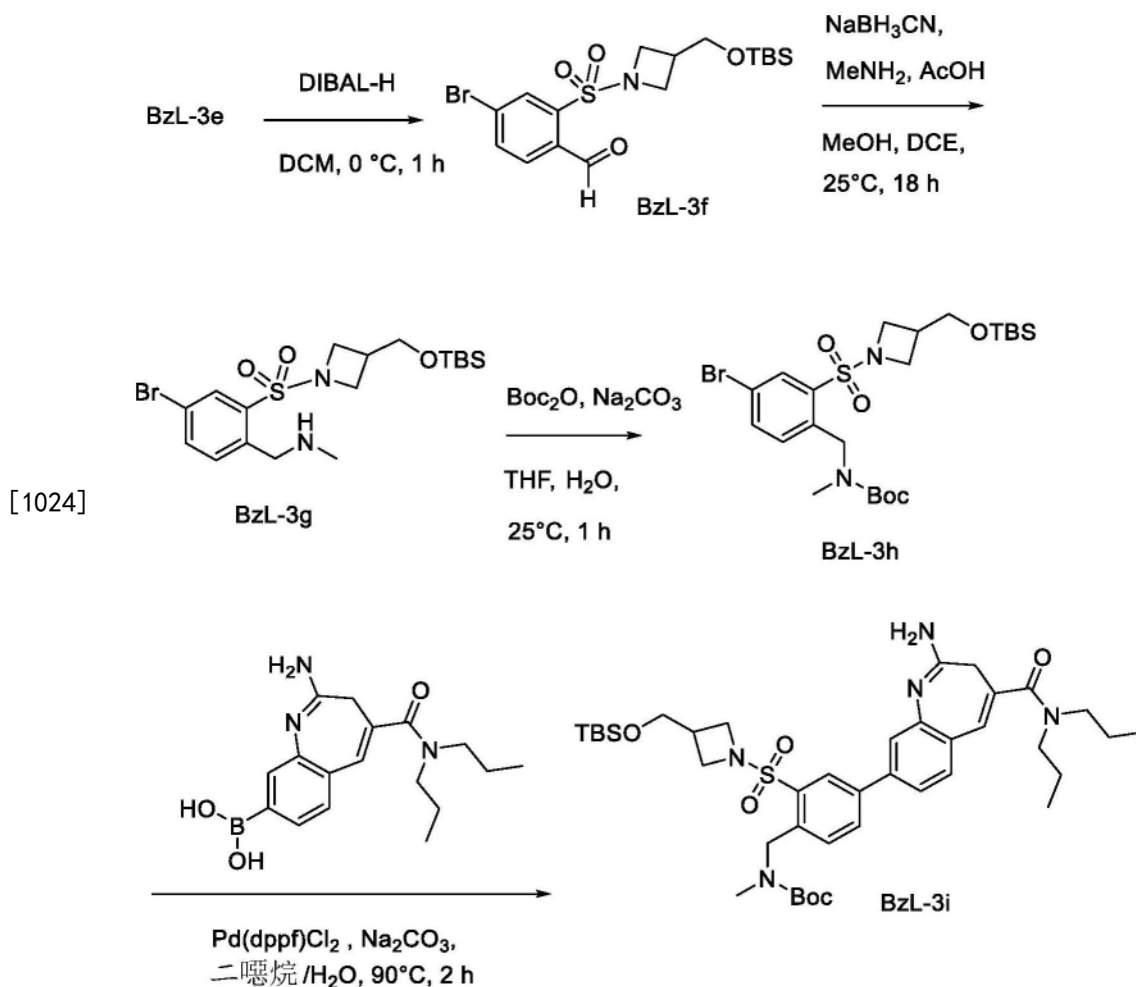
[1020] 合成4-溴-2-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基-苯甲腈BzL-3d

[1021] 在 $0^\circ\text{C}$ 下向氮杂环丁-3-基甲醇 (1.54g, 12.48mmol, 1当量, HCl) 于DCM (100mL) 中的混合物中逐滴添加DBU (3.80g, 24.95mmol, 3.76mL, 2当量) 并且搅拌10分钟。向混合物中添加5-溴-2-氰基-苯磺酰氯BzL-3c (3.5g, 12.48mmol, 1当量) 并且在 $0^\circ\text{C}$ 下搅拌30分钟。TLC显示反应完成。将混合物倾倒至冰水 (100mL) 中并且搅拌2分钟。用DCM (50mL x 3) 萃取水相。用盐水 (20mL) 洗涤经合并的有机相, 用无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥, 过滤并浓缩, 获得呈无色油状的BzL-3d (3.5g, 粗物质), 其未经进一步纯化即用于下一步骤中。

[1022] 合成4-溴-2-[3-[[叔丁基(二甲基)硅基]氧基甲基]氮杂环丁-1-基]磺酰基-苯甲腈BzL-3e

[1023] 在 $25^\circ\text{C}$ 下向4-溴-2-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基-苯甲腈BzL-3d (3.5g, 10.57mmol, 1当量) 和叔丁基二甲基硅基氯TBSCl (1.91g, 12.68mmol, 1.55mL, 1.2当量) 于DCM (30mL) 中的混合物中一次性添加咪唑 (1.08g, 15.85mmol, 1.5当量)。在 $25^\circ\text{C}$ 下搅拌混合物2小时。LCMS显示反应完成。将混合物倾倒至冰水 (200mL) 中并且搅拌2分钟。用DCM (100mL x 3) 萃取水相。用盐水 (50mL) 洗涤经合并的有机相, 用无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥, 过滤并且真空浓缩。通过硅胶色谱法 (石油醚/乙酸乙酯 = 20/1、10/1) 纯化残余物, 得到呈无色油状的BzL-3e (3.8g, 8.53mmol, 产率80.72%)。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz)  $\delta$ 8.20 (d,  $J=2.0\text{Hz}$ , 1H), 7.82 (dd,  $J=8.4, 2.0\text{Hz}$ , 1H), 7.72 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H), 4.10-4.06 (m, 2H), 3.96-3.93 (m, 2H), 3.68 (d,  $J=5.2\text{Hz}$ , 2H), 2.82-2.76 (m, 1H), 0.86 (s, 9H), 0.00 (s, 6H)。





[1025] 合成4-溴-2-[3-[[叔丁基(二甲基)硅基]氧基甲基]氮杂环丁-1-基]磺酰基-苯甲醛BzL-3f

[1026] 在0℃下于N<sub>2</sub>下向4-溴-2-[3-[[叔丁基(二甲基)硅基]氧基甲基]氮杂环丁-1-基]磺酰基-苯甲腈BzL-3e (3.8g, 8.53mmol, 1当量)于DCM(100mL)中的溶液中逐滴添加氢化二异丙基铝DIBAL-H(1M, 9.38mL, 1.1当量)。在0℃下搅拌混合物1小时。LCMS显示反应完成。向混合物中添加饱和NH<sub>4</sub>Cl水溶液(3mL),用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且真空浓缩。通过硅胶色谱法(柱高度:250mm,直径:100mm,100-200目硅胶,石油醚/乙酸乙酯=20/1、5/1)纯化残余物,得到呈浅黄色油状的BzL-3f(3.5g, 7.80mmol, 产率91.49%)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) δ 10.69(s, 1H), 8.16(d, J=1.6Hz, 1H), 7.97(d, J=8.4Hz, 1H), 7.86(dd, J=1.6, 8.4Hz, 1H), 3.95-3.88(m, 2H), 3.81-3.76(m, 2H), 3.65-3.64(m, 2H), 2.85-2.71(m, 1H), 0.85(s, 8H), 0.03(s, 6H)。

[1027] 合成1-[4-溴-2-[3-[[叔丁基(二甲基)硅基]氧基甲基]氮杂环丁-1-基]磺酰基-苯基]-N-甲基-甲胺BzL-3g

[1028] 向甲胺(4.16g, 40.14mmol, 5当量)(30%, 于MeOH中)和4-溴-2-[3-[[叔丁基(二甲基)硅基]氧基甲基]氮杂环丁-1-基]磺酰基-苯甲醛BzL-3f(3.6g, 8.03mmol, 1当量)于MeOH(15mL)和DCE(15mL)中的溶液中添加AcOH(482.08mg, 8.03mmol, 459.12μL, 1当量)和NaBH<sub>3</sub>CN(1.26g, 20.07mmol, 2.5当量)。在25℃下搅拌混合物18小时。向混合物中添加数滴水并浓缩。通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1:1)纯化残余物,获得呈无色油状的

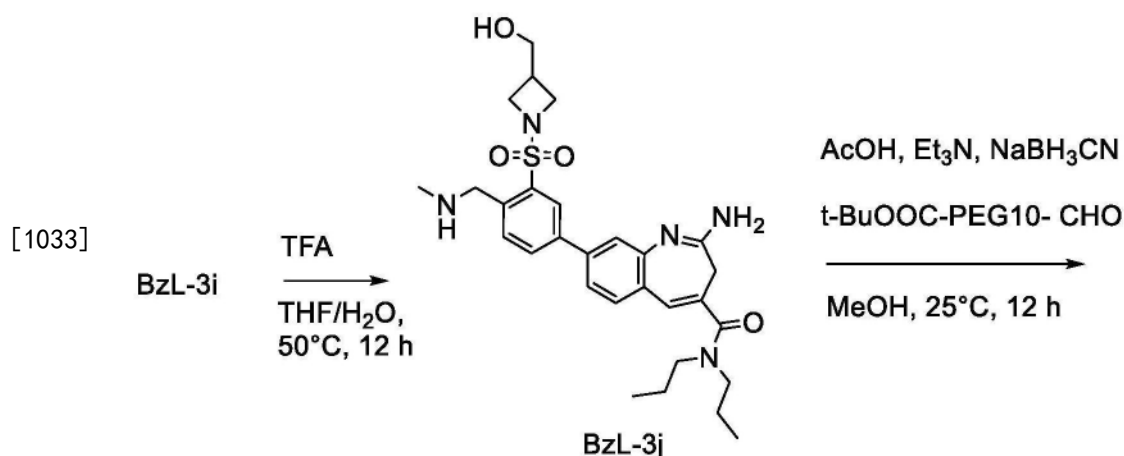
BzL-3g (2g, 4.31mmol, 产率53.75%)。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz) δ8.09-8.06 (m, 1H), 8.01-7.99 (m, 1H), 7.71 (d, J=8.4Hz, 1H), 4.27 (s, 2H), 3.85-3.80 (m, 2H), 3.62-3.58 (m, 2H), 3.55 (d, J=5.2Hz, 2H), 2.69-2.75 (m, 1H), 2.56 (s, 3H), 0.82 (s, 9H), 0.00 (s, 6H)

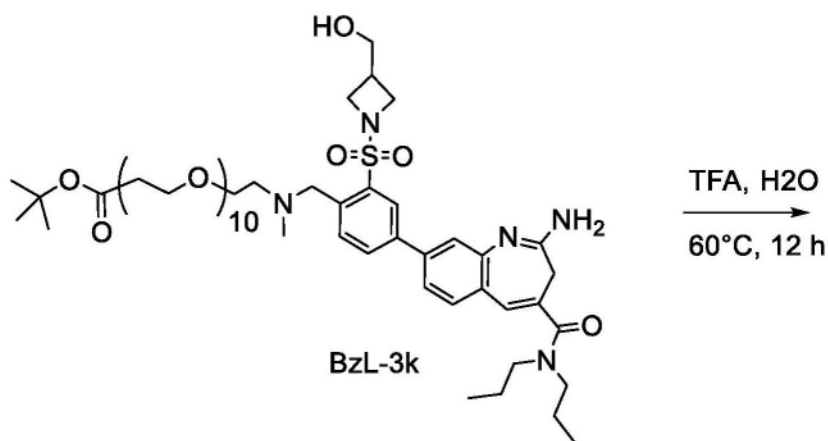
[1029] 合成N-[[4-溴-2-[3-[[叔丁基(二甲基)硅基]氧基甲基]氮杂环丁-1-基]磺酰基-苯基]甲基]-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯BzL-3h

[1030] 在25℃下向1-[4-溴-2-[3-[[叔丁基(二甲基)硅基]氧基甲基]氮杂环丁-1-基]磺酰基-苯基]-N-甲基-甲胺BzL-3g (2g, 4.31mmol, 1当量)于THF (15mL)和H<sub>2</sub>O (3mL)中的混合物中一次性添加Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (914.68mg, 8.63mmol, 2当量)和Boc<sub>2</sub>O (1.41g, 6.47mmol, 1.49mL, 1.5当量)。在25℃下搅拌混合物1小时。将混合物倾倒入冰水 (10mL)中并且搅拌1分钟。用乙酸乙酯 (10mL x 3)萃取水相。用盐水 (20mL)洗涤经合并的有机相,用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且真空浓缩。通过快速硅胶色谱法 (ISCO®; 2g SepaFlash®二氧化硅快速柱,洗脱剂0至50%乙酸乙酯/石油醚梯度,在45mL/min下)纯化残余物,获得呈无色油状的BzL-3h (1.4g, 2.48mmol, 产率57.57%)。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz) δ8.00-7.99 (m, 2H), 7.23 (d, J=8.4Hz, 1H), 4.66 (s, 2H), 3.85-3.79 (m, 2H), 3.61-3.57 (m, 4H), 2.85 (s, 3H), 2.51-2.49 (m, 1H), 1.47-1.31 (m, 9H), 0.81 (s, 9H), -0.01 (s, 6H)

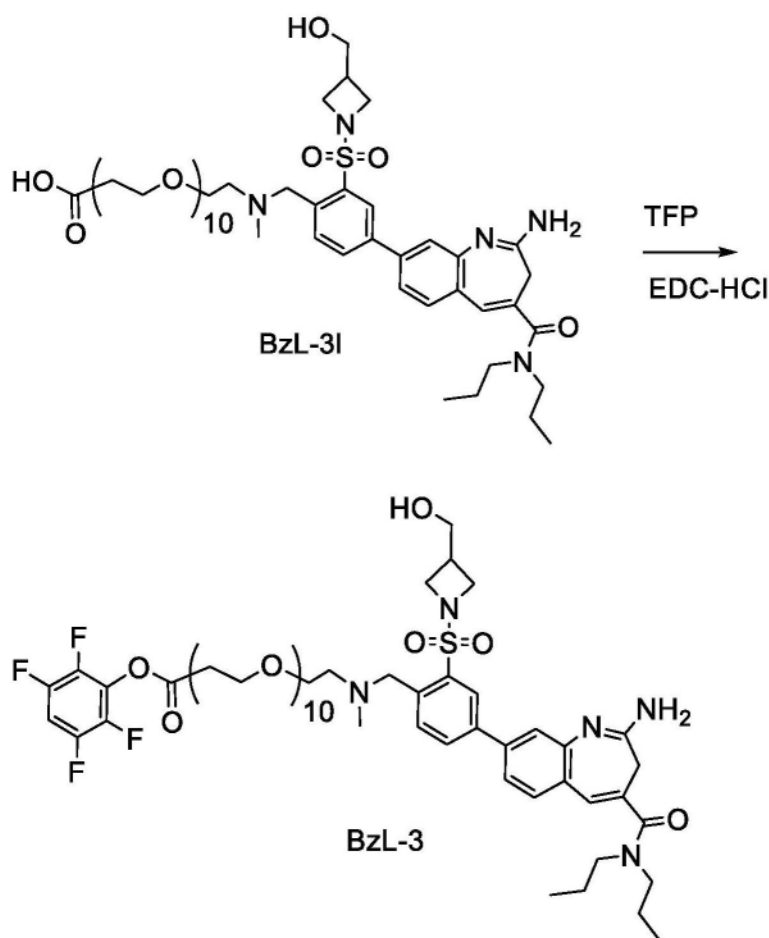
[1031] 合成N-[[4-[2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-3H-1-苯并氮呋-8-基]-2-[3-[[叔丁基(二甲基)硅基]氧基甲基]氮杂环丁-1-基]磺酰基-苯基]甲基]-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯BzL-3i

[1032] 在25℃下于N<sub>2</sub>下向[2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-3H-1-苯并氮呋-8-基]硼酸 (360mg, 1.09mmol, 1当量)和N-[[4-溴-2-[3-[[叔丁基(二甲基)硅基]氧基甲基]氮杂环丁-1-基]磺酰基-苯基]甲基]-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯BzL-3h (616.35mg, 1.09mmol, 1当量)于二噁烷 (3mL)和H<sub>2</sub>O (0.5mL)中的混合物中一次性添加Pd (dppf) Cl<sub>2</sub> (80.02mg, 109.36μmol, 0.1当量)和Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (231.81mg, 2.19mmol, 2当量)。在90℃下搅拌混合物2小时。过滤混合物并浓缩。将残余物倾倒入H<sub>2</sub>O (20mL)中并且用乙酸乙酯 (20mL x 2)萃取。用盐水 (20mL)洗涤经合并的有机相,用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且真空浓缩。通过快速硅胶色谱法 (ISCO®; 1g SepaFlash®二氧化硅快速柱,洗脱剂0至100%乙酸乙酯/石油醚梯度,在75mL/min下)纯化残余物,获得呈黄色固体状的BzL-3i (360mg, 468.69μmol, 产率42.86%)。





[1034]



[1035] 合成2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基-4-(甲基氨基甲基)苯基]-N,N-二丙基-3H-1-苯并氮杂-4-甲酰胺BzL-3j

[1036] 向N-[[4-[2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-3H-1-苯并氮杂-8-基]-2-[3-[[叔丁基(二甲基)硅基]氧基甲基]氮杂环丁-1-基]磺酰基-苯基]甲基]-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯BzL-3i (170mg, 221.33μmol, 1当量)于THF (5mL)和H<sub>2</sub>O (1mL)中的混合物中添加TFA (504.72mg, 4.43mmol, 327.74μL, 20当量),在50℃下搅拌混合物12小时。LC-MS显示反应物1完全消耗并且检测到具有所需质量的一个主峰。过滤反应混合物,并且减压浓缩滤液。通过制备型HPLC(柱:Nano-micro KromasilC18 100x30mm 5um;流动相:[水(0.1%TFA)-ACN];B%:20%-45%,10分钟)纯化残余物,得到呈黄色固体状的BzL-3j (95mg粗物质)产物。<sup>1</sup>H

NMR (DMSO- $d_6$ , 400MHz)  $\delta$ 12.49 (s, 1H), 9.88 (s, 1H), 9.50 (s, 1H), 8.87 (s, 2H), 8.24-8.22 (m, 1H), 8.17-8.16 (m, 1H), 7.92-7.90 (m, 1H), 7.74-7.71 (m, 1H), 7.67-7.70 (m, 2H), 7.06 (s, 1H), 4.79 (s, 1H), 4.46 (s, 2H), 3.85 (t,  $J=8.0$ Hz, 2H), 3.61 (t,  $J=4.0$ Hz, 2H), 3.35 (s, 4H), 2.67 (s, 3H), 2.64-2.55 (m, 2H), 1.74-1.39 (m, 4H), 0.86-0.80 (m, 6H)。LC/MS [M+H] 554.28 (计算值); LC/MS [M+H] 554.40 (观测值)。

[1037] 合成3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[4-[2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-3H-1-苯并氮呋-8-基]-2-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基-苯基]甲基-甲基-氨基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸叔丁酯BzL-3k

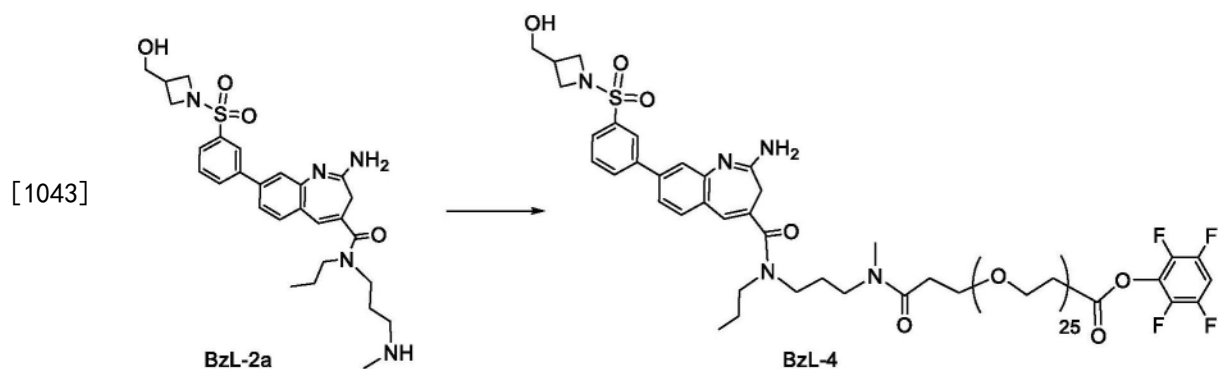
[1038] 在25℃下向2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基-4-(甲基氨基甲基)苯基]-N,N-二丙基-3H-1-苯并氮呋-4-甲酰胺BzL-3j (0.05g, 90.30 $\mu$ mol, 1当量)和3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-氧代乙氧基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸叔丁酯t-BuOOC-PEG10-CHO (52.80mg, 90.30 $\mu$ mol, 1当量)于MeOH (2mL)中的混合物中添加Et<sub>3</sub>N (27.41mg, 270.90 $\mu$ mol, 37.71 $\mu$ L, 3当量)和AcOH (5.42mg, 90.30 $\mu$ mol, 5.16 $\mu$ L, 1当量)和NaBH<sub>3</sub>CN (14.19mg, 225.75 $\mu$ mol, 2.5当量)。搅拌混合物12小时。真空浓缩混合物,得到呈黄色油状的BzL-3k (100mg粗物质)。

[1039] 合成3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[4-[2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-3H-1-苯并氮呋-8-基]-2-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基-苯基]甲基-甲基-氨基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸BzL-3l

[1040] 向BzL-3k (100mg, 89.09 $\mu$ mol, 1当量)于H<sub>2</sub>O (1mL)中的溶液中添加TFA (203.18mg, 1.78mmol, 131.93 $\mu$ L, 20当量)。在60℃下搅拌混合物12小时。过滤反应混合物,并且减压浓缩滤液,得到残余物。通过制备型HPLC (柱:Luna C18 100x30 5 $\mu$ ;液相:[A-TFA/H<sub>2</sub>O=0.075%v/v;B-ACN],B%:20%-45%,10分钟))纯化残余物,获得呈无色油状的BzL-3l (20mg, 18.38 $\mu$ mol, 产率20.63%, 纯度97.989%)。<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz)  $\delta$ 8.39-8.38 (m, 1H), 8.23-8.20 (m, 1H), 7.98-7.96 (m, 1H), 7.83-7.81 (m, 2H), 7.73-7.71 (m, 1H), 7.11 (s, 1H), 4.02-4.00 (m, 2H), 3.94-3.88 (m, 2H), 3.79-3.74 (m, 2H), 3.74-3.40 (m, 45H), 3.40-3.35 (m, 2H), 2.98-2.94 (m, 3H), 2.79-2.71 (m, 2H), 2.56-2.51 (m, 2H), 1.80-1.66 (m, 5H), 0.95 (s, 6H)。LC/MS [M+2H/2] 533.78 (计算值); LC/MS [M+2H/2] 534.20 (观测值)。

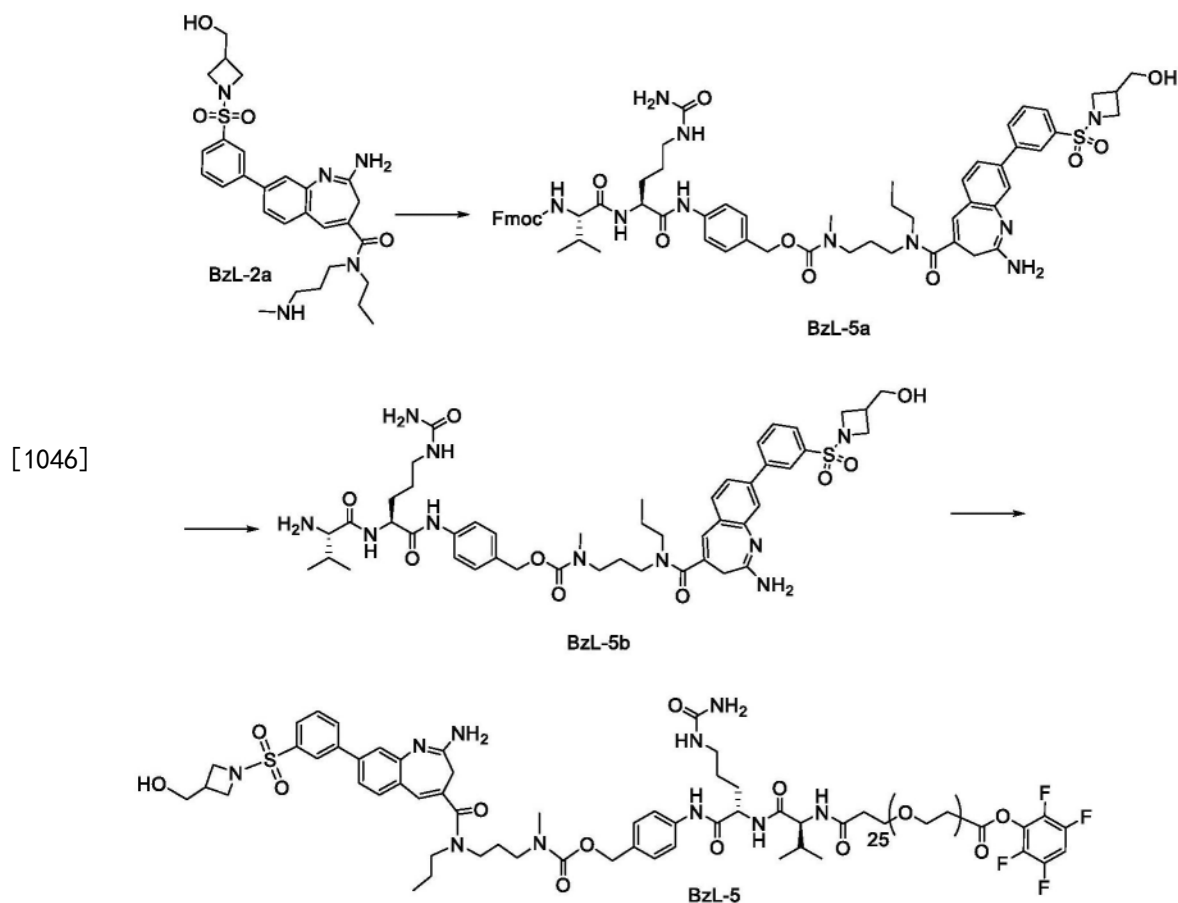
[1041] 根据针对BzL-22所描述的程序合成1-(4-(2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-8-基)-2-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-2-甲基-5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十氧杂-2-氮杂三十五烷-35-酸2,3,5,6-四氟苯酯BzL-3。LC/MS [M+H] 1214.56 (计算值); LC/MS [M+H] 1214.97 (观测值)。

[1042] 实施例34合成BzL-4



[1044] 根据针对BzL-15所描述的程序合成84-(2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-3H-苯并[b]氮呋-4-羰基)-80-甲基-79-氧代-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十五氧杂-80,84-二氮杂八十七烷酸2,3,5,6-四氟苯酯BzL-4。LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1888.93(计算值);LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1889.53(观测值)。

[1045] 实施例35合成BzL-5



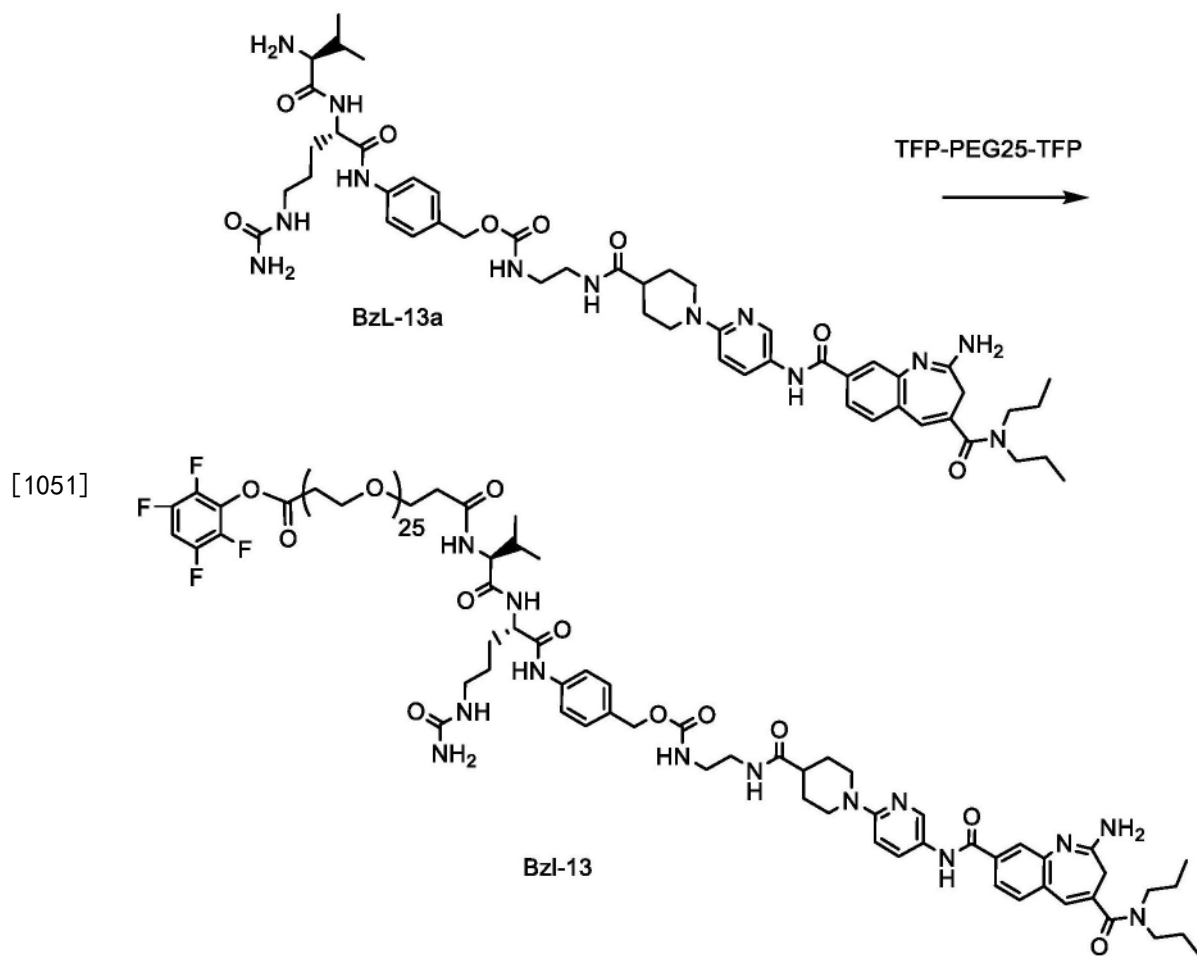
[1047] 根据针对BzL-26a所描述的程序合成(3-(2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-N-丙基-3H-苯并[b]氮呋-4-甲酰胺基)丙基)(甲基)氨基甲酸4-((S)-2-((S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苯甲酯BzL-5a。

[1048] 根据针对BzL-26所描述的程序合成(3-(2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-N-丙基-3H-苯并[b]氮呋-4-甲酰胺基)丙基)(甲基)氨基甲酸4-((S)-2-

((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苯甲酯BzL-5b。LC/MS[M+H]945.47(计算值);LC/MS[M+H]945.82(观测值)。

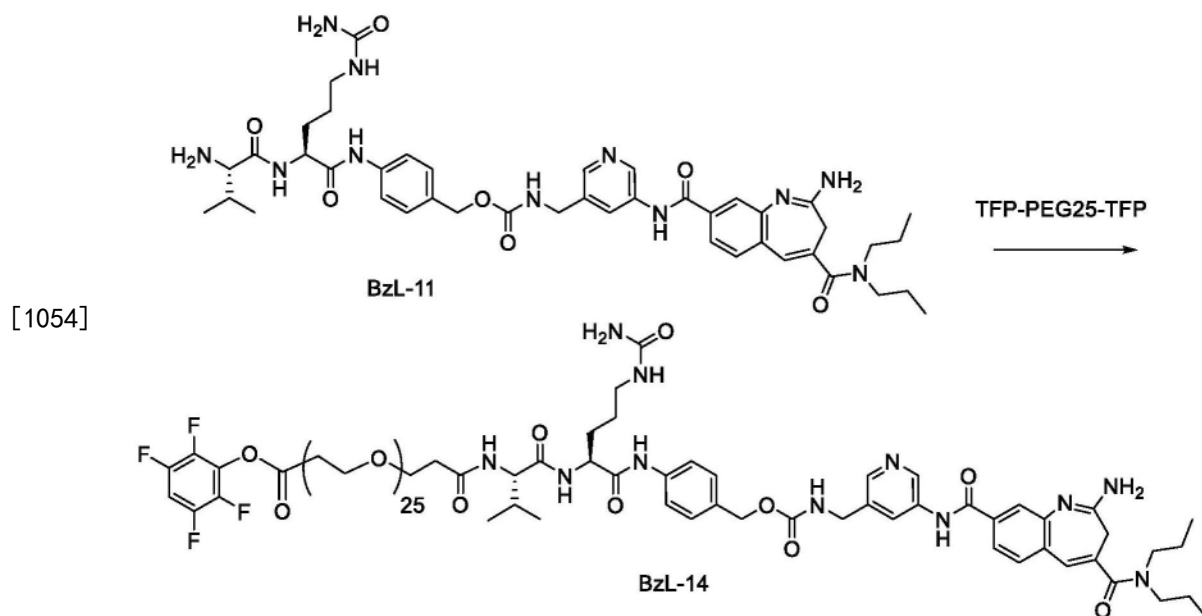
[1049] 根据针对BzL-15所描述的程序合成(6S,9S)-1-氨基-6-((4-(((3-(2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-N-丙基-3H-苯并[b]氮呋-4-甲酰胺基)丙基)(甲基)氨基甲酰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酰基)-9-异丙基-1,8,11-三氧代-14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71,74,77,80,83,86-二十五氧杂-2,7,10-三氮杂八十九烷-89-酸2,3,5,6-四氟苯酯BzL-5。LC/MS[M+2H/2]1147.57(计算值);LC/MS[M+H]1148.37(观测值)。

[1050] 实施例36合成BzL-13



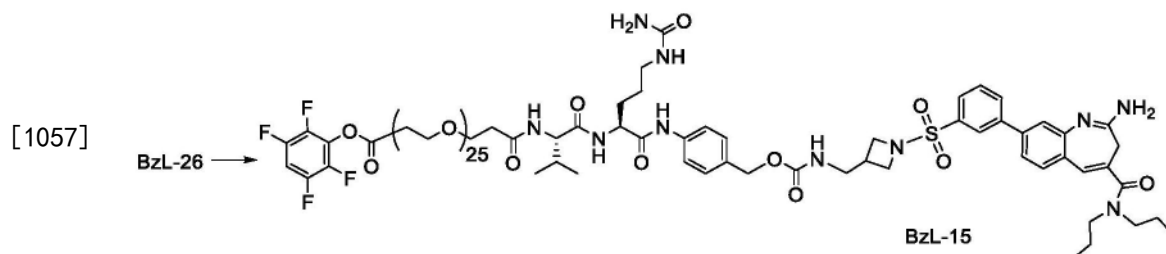
[1052] 根据针对BzL-15所描述的程序从BzL-13a和TFP-PEG25-TFP合成(6S,9S)-1-氨基-6-((4-(((2-(1-(5-(2-氨基-4-(二丙基氨基甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-8-甲酰胺基)吡啶-2-基)哌啶-4-甲酰胺基)乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酰基)-9-异丙基-1,8,11-三氧代-14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71,74,77,80,83,86-二十五氧杂-2,7,10-三氮杂八十九烷-89-酸2,3,5,6-四氟苯酯BzL-13。LC/MS[M+2H/2]1165.10(计算值);LC/MS[M+H]1165.91(观测值)。

[1053] 实施例37合成BzL-14



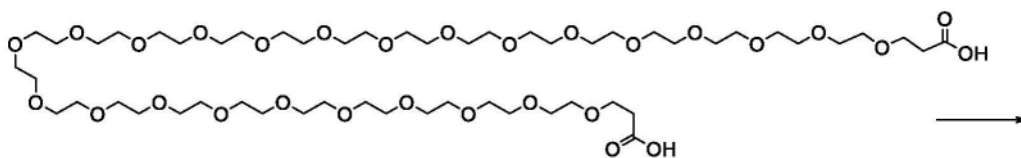
[1055] 根据针对BzL-15所描述的程序从BzL-11和TFP-PEG25-TFP合成(6S,9S)-1-氨基-6-((4-((((6-(2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-3H-苯并[b]氮杂-8-甲酰胺基)吡啶-3-基)甲基)氨甲酰基)氧基)甲基)苯基)氨甲酰基)-9-异丙基-1,8,11-三氧代-14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71,74,77,80,83,86-二十五氧杂-2,7,10-三氮杂八十九烷-89-酸2,3,5,6-四氟苯酯BzL-14。LC/MS[M+2H/2]1095.06(计算值); LC/MS[M+H]1095.87(观测值)。

[1056] 实施例38合成BzL-15

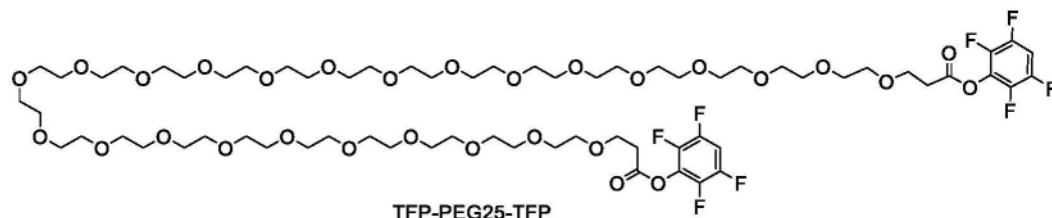


[1058] 合成(6S,9S)-1-氨基-6-((4-((((1-((3-(2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-3H-苯并[b]氮杂-8-基)苯基)磺酰基)氮杂环丁-3-基)甲基)氨甲酰基)氧基)甲基)苯基)氨甲酰基)-9-异丙基-1,8,11-三氧代-14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71,74,77,80,83,86-二十五氧杂-2,7,10-三氮杂八十九烷-89-酸2,3,5,6-四氟苯酯BzL-15)

[1059] 合成4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十五氧杂七十九烷二酸双(2,3,5,6-四氟苯基)酯TFP-PEG25-TFP



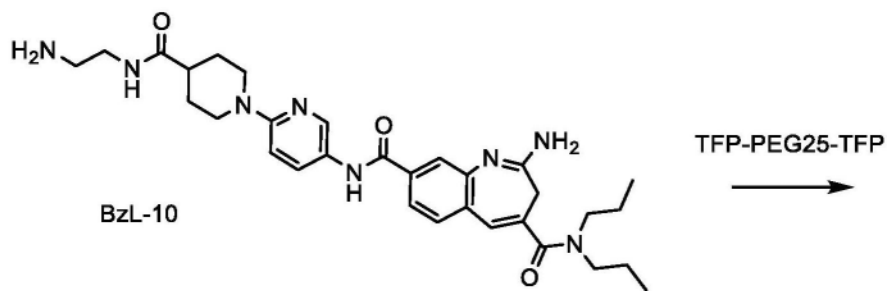
[1060]



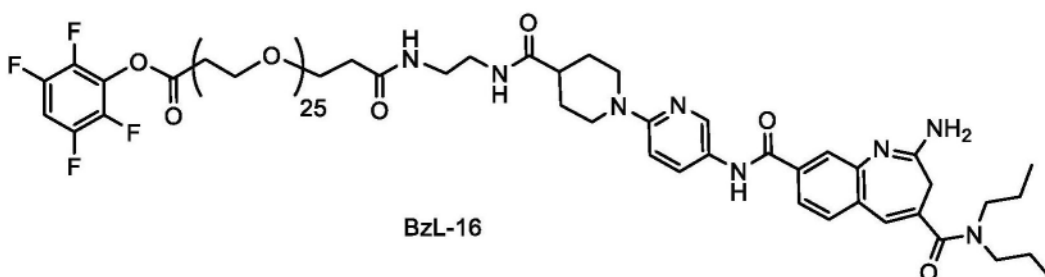
[1061] 向小瓶中装入4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十五氧杂七十九烷二酸(269mg,0.221mmol)、2,3,5,6-四氟苯酚(110mg,0.662mmol)、可力丁(collidine)(176 $\mu$ L,1.33mmol)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(127mg,0.221mmol)和3mL DMF。搅拌反应物16小时,然后通过利用含有0.1%三氟乙酸的乙腈:水的25-75%梯度进行反相制备型HPLC来纯化。合并经纯化的级分并冻干,得到266mg TFP-PEG25-TFP,产率79%。LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1515.68(计算值);LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1516.00(观测值)。

[1062] 向小瓶中装入含BzL-26(11.9mg,0.013mmol)、TFP-PEG25-TFP(19.7mg,0.013mmol)、可力丁(5.6 $\mu$ L,0.042mmol)的300 $\mu$ L DMF。使反应维持5小时,然后通过利用含有0.1%三氟乙酸的乙腈:水的25-75%梯度进行反相制备型HPLC来纯化。合并经纯化的级分并冻干,得到7.7mg BzL-15,产率26%。LC/MS[M+2H/2]<sup>+</sup>1132.56(计算值);LC/MS[M+2H/2]<sup>+</sup>1133.30(观测值)。

[1063] 实施例39合成BzL-16



[1064]

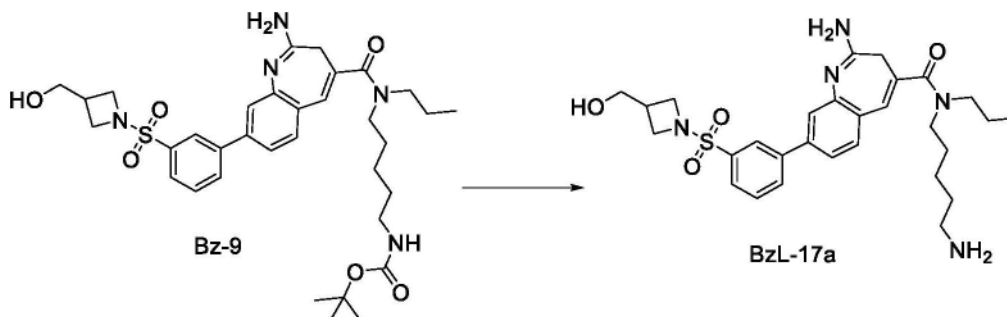


[1065] 根据针对Bz-31所描述的程序从BzL-10和TFP-PEG25-TFP合成1-(1-(5-(2-氨基-

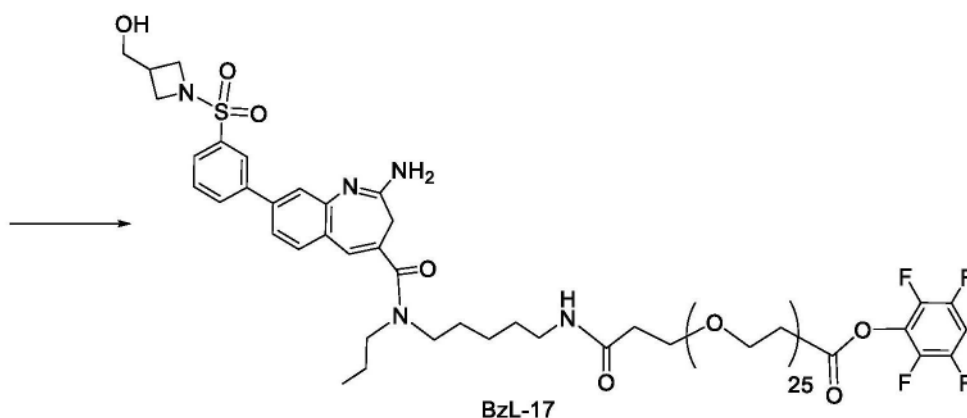


4-(二丙基氨甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-8-甲酰胺基)吡啶-2-基)哌啶-4-基)-1,6-二氧代-9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75,78,81-二十五氧杂-2,5-二氮杂八十四烷-84-酸2,3,5,6-四氟苯酯BzL-16。LC/MS[M+H] 1924.01 (计算值);LC/MS[M+H] 1925.23 (观测值)。

[1066] 实施例40合成BzL-17



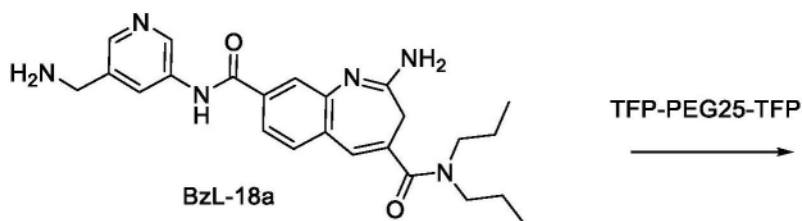
[1067]



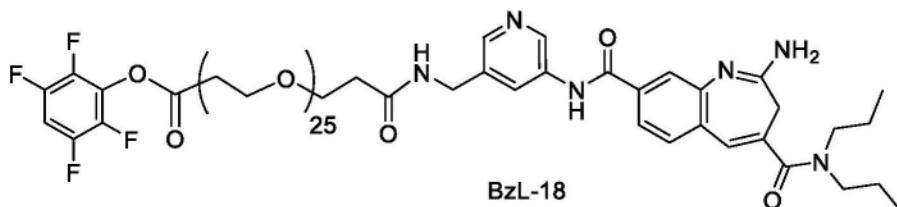
[1068] 合成2-氨基-N-(5-氨基戊基)-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-N-丙基-3H-苯并[b]氮呋-4-甲酰胺BzL-17a。向小瓶中装入Bz-9 (28mg, 0.043mmol)、300μL DCM和100μL三氟乙酸。使反应维持1小时,此后将其减压浓缩。将所得油状物与1mL甲苯共沸三次,此后添加1mL甲醇和K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (38mg, 0.28mmol)。搅拌16小时后,过滤反应物并且减压浓缩,然后通过利用含有0.1%三氟乙酸的乙腈:水的25-75%梯度进行反相制备型HPLC来纯化。合并经纯化的级分并冻干,得到5.8mg BzL-17a,产率24%。LC/MS[M+H] 554.28 (计算值);LC/MS[M+H] 554.47 (观测值)。

[1069] 合成86-(2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-3H-苯并[b]氮呋-4-羰基)-79-氧代-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十五氧杂-80,86-二氮杂八十九烷酸2,3,5,6-四氟苯酯BzL-17。向小瓶中装入含BzL-17a (5.8mg, 0.011mmol)、TFP-PEG25-TFP (23.8mg, 0.016mmol)、可力丁 (5.6μL, 0.042mmol)的300μL DMF。使反应维持5小时,然后通过利用含有0.1%三氟乙酸(TFA)的乙腈:水(ACN:H<sub>2</sub>O)的25-75%梯度进行反相制备型HPLC来纯化。合并经纯化的级分并冻干,得到5.0mg BzL-17,产率25%。LC/MS[M+H] 1902.95 (计算值);LC/MS[M+H] 1903.37 (观测值)。

[1070] 实施例41合成BzL-18

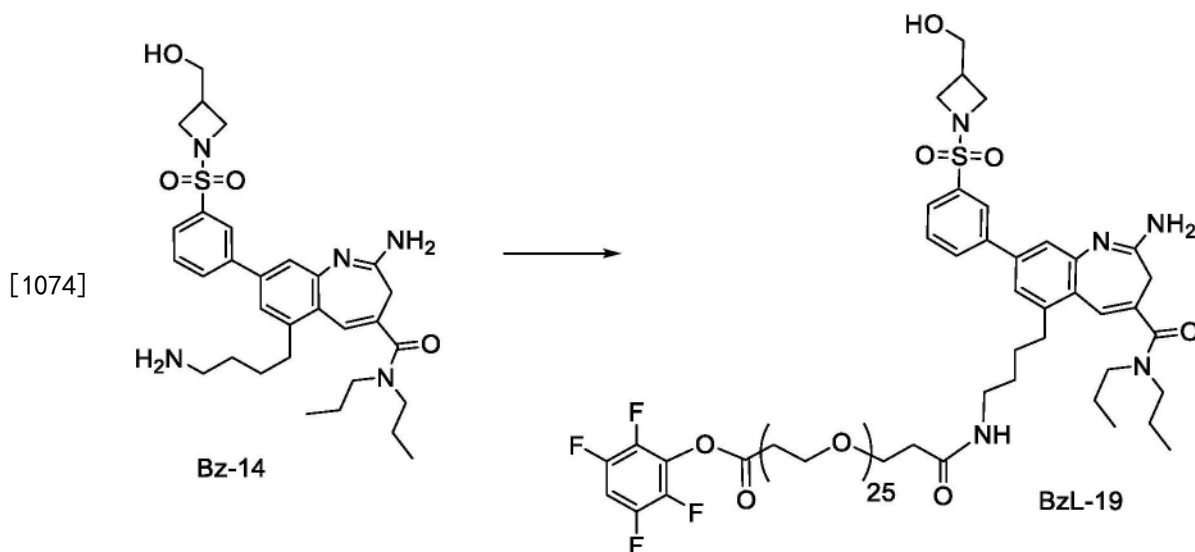


[1071]



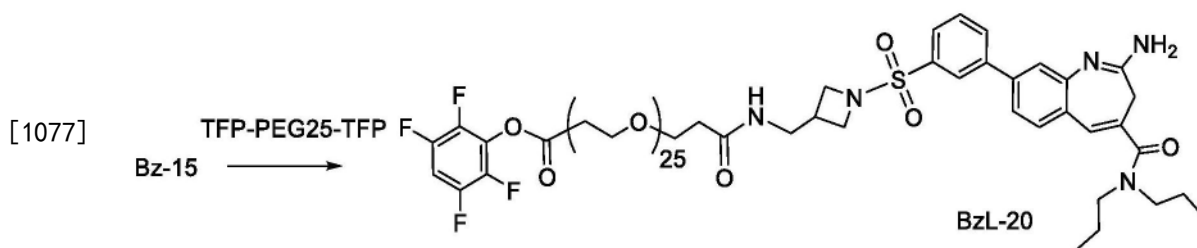
[1072] 根据针对BzL-15所描述的程序从BzL-18a和TFP-PEG25-TFP合成1-(6-(2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-8-甲酰胺基)吡啶-3-基)-3-氧代-6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75,78-二十五氧杂-2-氮杂八十一烷-81-酸2,3,5,6-四氟苯酯BzL-18。LC/MS[M+H] 1783.92(计算值);LC/MS[M+H] 1784.19(观测值)。

[1073] 实施例42合成BzL-19



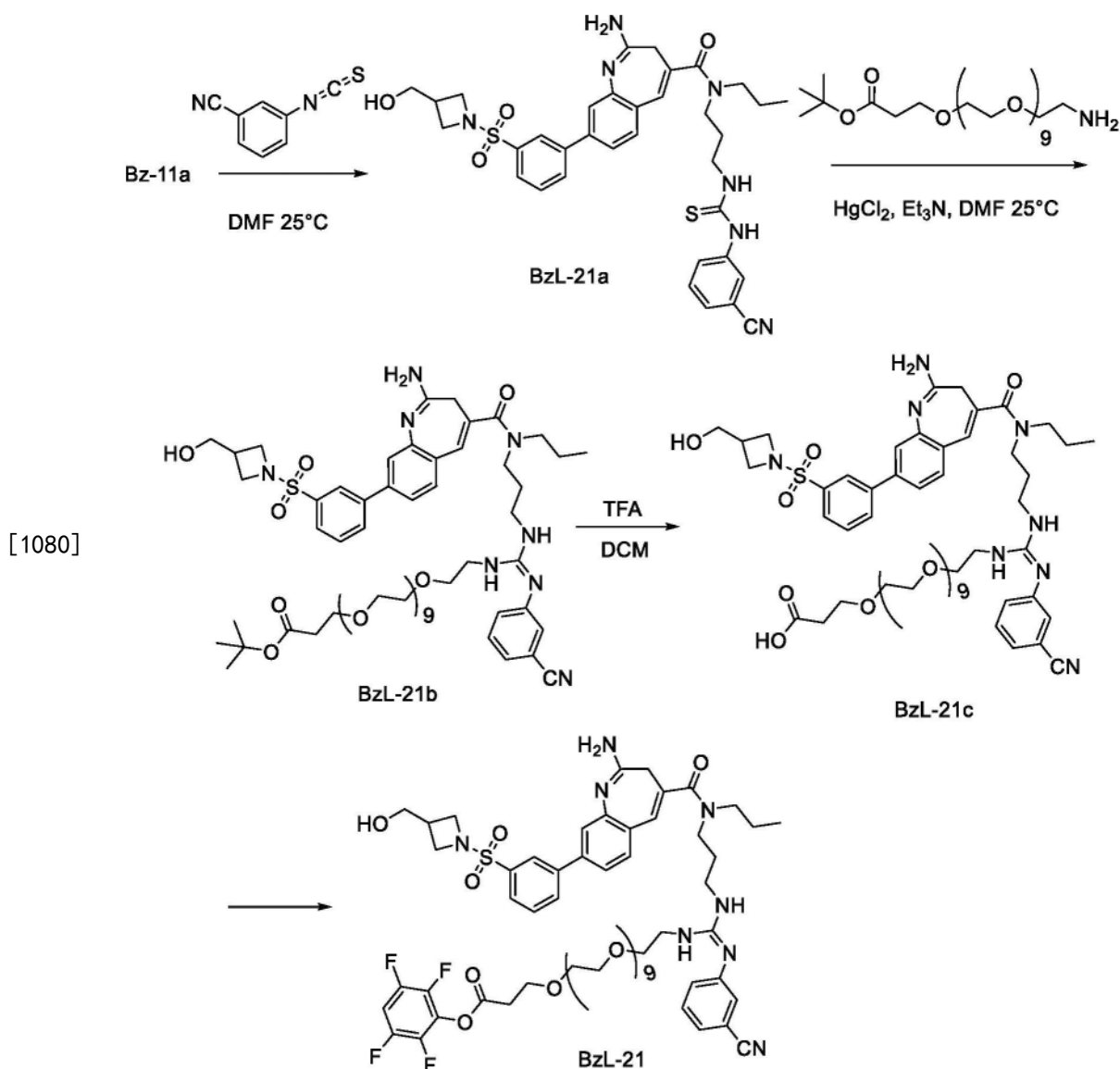
[1075] 根据针对BzL-15所描述的程序从Bz-14和TFP-PEG25-TFP合成84-(2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-3H-苯并[b]氮呋-6-基)-79-氧代-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十五氧杂-80-氮杂八十四烷酸2,3,5,6-四氟苯酯BzL-19。LC/MS[M+H] 1930.98(计算值);LC/MS[M+H] 1931.24(观测值)。

[1076] 实施例43合成BzL-20



[1078] 根据针对BzL-15所描述的程序从TFP-PEG25-TFP与Bz-15的反应合成1-(1-((3-(2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-8-基)苯基)磺酰基)氮杂环丁-3-基)-3-氧代-6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75,78-二十五氧杂-2-氮杂八十一烷-81-酸2,3,5,6-四氟苯酯BzL-20。LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1858.92(计算值);LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1859.59(观测值)。

[1079] 实施例44合成BzL-21



[1081] 合成2-氨基-N-[3-[(3-氰基苯基)硫代氨甲酰基氨基]丙基]-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-N-丙基-3H-1-苯并氮呋-4-甲酰胺BzL-21a

[1082] 在15°C下向2-氨基-N-(3-氨基丙基)-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基

苯基]-N-丙基-3H-1-苯并氮呋-4-甲酰胺Bz-11a (0.1g, 190.24 $\mu$ mol, 1当量) 于DMF (2mL) 中的混合物中一次性添加3-异硫氰基苯甲腈 (30.48mg, 190.24 $\mu$ mol, 1当量)。在15℃下搅拌混合物3小时。LCMS显示检测到所需物质。过滤混合物并且通过制备型HPLC (柱: Nano-micro Kromasil C18 100x30mm, 5 $\mu$ m; 流动相: [水 (0.1% TFA) - ACN]; B%: 20%-60%, 10分钟) 纯化, 获得呈浅黄色固体状的2-氨基-N-[3-[ (3-氰基苯基) 硫代氨基甲酰基氨基] 丙基]-8-[3-[3-(羟甲基) 氮杂环丁-1-基] 磺酰基苯基]-N-丙基-3H-1-苯并氮呋-4-甲酰胺BzL-21a (0.06g, 87.48 $\mu$ mol, 产率45.99%)。

[1083] 合成3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(Z)-[[3-[[2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-羰基]-丙基-氨基]丙基氨基]- (3-氰基苯胺基)亚甲基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸叔丁酯BzL-21b

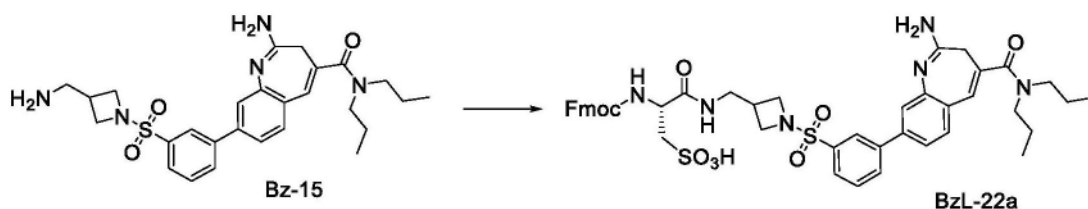
[1084] 向BzL-21a (0.06g, 87.48 $\mu$ mol, 1当量) 和3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-氨基乙氧基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸叔丁酯 (61.49mg, 104.98 $\mu$ mol, 1.2当量) 于DMF (2mL) 中的混合物中添加Et<sub>3</sub>N (17.70mg, 174.96 $\mu$ mol, 24.35 $\mu$ L, 2当量) 和HgCl<sub>2</sub> (28.50mg, 104.98 $\mu$ mol, 5.24 $\mu$ L, 1.2当量)。在15℃下搅拌混合物18小时。LCMS显示反应物已消耗。过滤混合物并且倾倒至水 (10mL) 中。用乙酸乙酯 (10mL x 3) 萃取水相。浓缩经合并的有机相, 得到呈浅黄色油状的BzL-21b (0.1g, 粗物质), 其未经进一步纯化即用于下一步骤中。

[1085] 合成3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(Z)-[[3-[[2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-羰基]-丙基-氨基]丙基氨基]- (3-氰基苯胺基)亚甲基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸BzL-21c

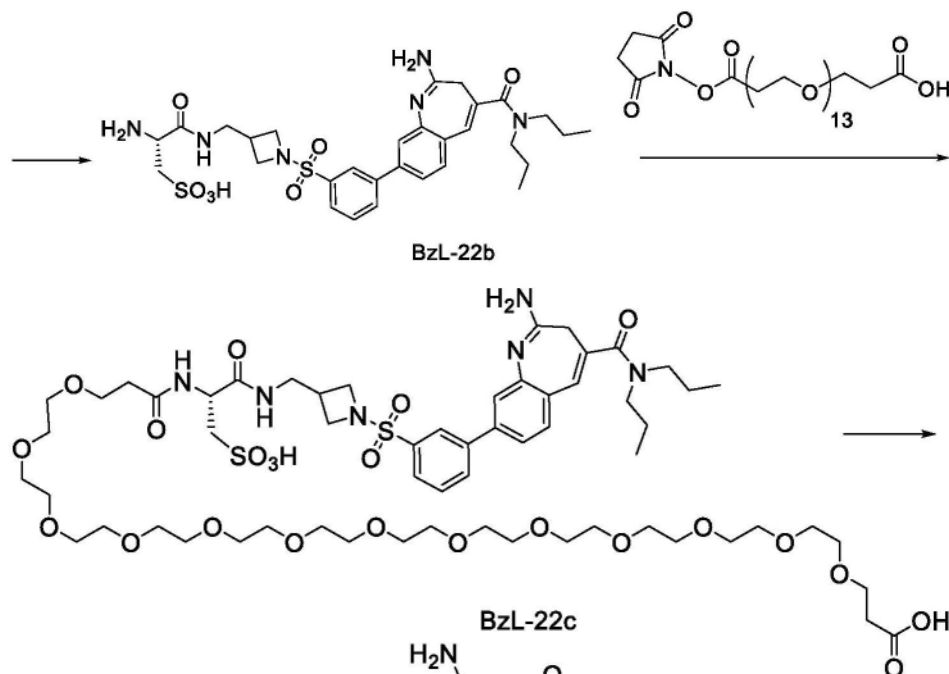
[1086] 在15℃下向BzL-21b (86.04mg, 69.52μmol, 1当量) 于H<sub>2</sub>O (10mL) 中的混合物中一次性添加TFA (396.36mg, 3.48mmol, 257.38μL, 50当量)。在85℃下搅拌混合物10分钟。LCMS显示反应物已消耗。浓缩混合物。通过制备型HPLC (柱: Nano-micro Kromasil C18 100x30mm, 5μm; 流动相: [水 (0.1% TFA) - ACN]; B%: 10% - 40%, 10分钟) 纯化残余物, 获得呈白色固体状的BzL-21c (18mg, 13.71μmol, 产率19.72%, 纯度90%)。<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz) δ 8.12-8.08 (m, 2H), 7.92 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.84-7.81 (m, 4H), 7.64 (s, 3H), 7.12 (s, 1H), 3.87 (t, J=8.4Hz, 2H), 3.72-3.70 (m, 9H), 3.63-3.58 (m, 38H), 3.43-3.41 (m, 6H), 2.62-2.57 (m, 1H), 2.52 (t, J=6.0Hz, 2H), 2.04 (s, 2H), 1.75-1.70 (m, 3H), 0.96-0.92 (m, 3H)。

[1087] 根据针对BzL-22所描述的程序合成(Z)-40-(2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-3H-苯并[b]氮呋-4-羰基)-35-((3-氰基苯基)亚胺基)-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31-十氧杂-34,36,40-三氮杂四十三烷酸2,3,5,6-四氟苯酯BzL-21。LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1329.57(计算值);LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1329.77(观测值)。

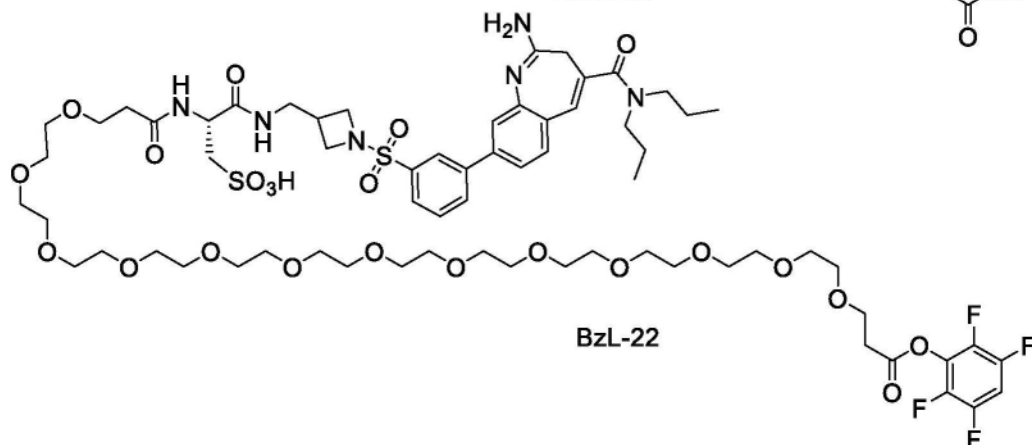
[1088] 实施例45合成BzL-22



[1089]



[1090]



[1091] 合成(R)-2-(((9H-苄-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-(((1-((3-(2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-8-基)苯基)磺酰基)氮杂环丁-3-基)甲基)氨基)-3-氧代丙烷-1-磺酸BzL-22a.

[1092] 向小瓶中装入Bz-15 (14.7mg, 0.024mmol)、Fmoc-L-半胱氨酸 (11.2mg, 0.024mmol)、可力丁 (12μL, 0.090mmol)、HATU (12mg, 0.032mmol) 和500μL DMF。搅拌反应物直至通过LCMS显示Bz-15已消耗。通过利用含有0.1%三氟乙酸的乙腈:水的25-75%梯度进行反相制备型HPLC来纯化粗混合物。合并经纯化的级分并冻干,得到8.6mg BzL-22a,产率41%。LC/MS[M+H] 883.32 (计算值);LC/MS[M+H] 883.49 (观测值)。

[1093] 合成(R)-2-氨基-3-(((1-((3-(2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-8-基)苯基)磺酰基)氮杂环丁-3-基)甲基)氨基)-3-氧代丙烷-1-磺酸BzL-22b.

[1094] 向小瓶中装入BzL-22a (8.6mg, 0.01mmol)、二乙胺 (10μL, 0.10mmol)、100μL乙腈和

50μL DMF。搅拌反应物3小时,然后减压浓缩。将粗反应物与2mL甲苯共沸三次并且继续进行后续步骤。

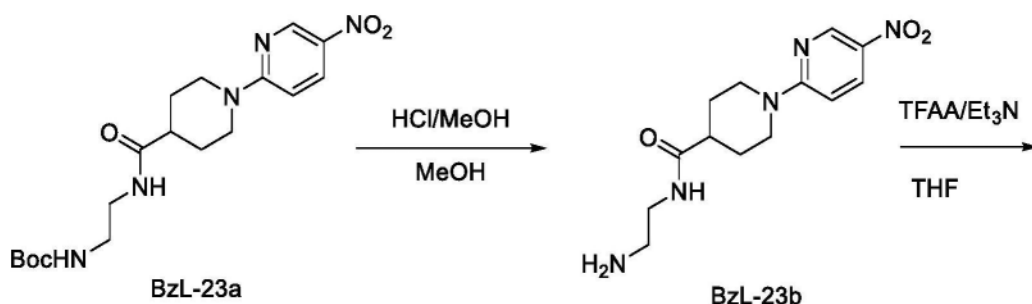
[1095] 合成(R)-1-(1-((3-(2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-8-基)苯基)磺酰基)氮杂环丁-3-基)-3,6-二氧化-4-(磺甲基)-9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45-十三氧杂-2,5-二氮杂四十八烷-48-酸BzL-22c

[1096] 向小瓶中装入粗BzL-22b (0.01mmol)、43-((2,5-二氧杂吡咯烷-1-基)氧基)-43-氧代-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40-十三氧杂四十三烷酸(7.7mg,0.01mmol)、二异丙基乙胺(5.3μL,0.03mmol)、1-羟基-7-氮杂苯并三唑HOAt CAS登记号39968-33-7(4mg,0.03mmol)和140μL DMF。搅拌反应物8小时,然后通过利用含有0.1%三氟乙酸的乙腈:水的25-75%梯度进行反相制备型HPLC来纯化。合并经纯化的级分并冻干,得到8.4mg BzL-22c,产率64%。LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1333.60(计算值);LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1333.69(观测值)。

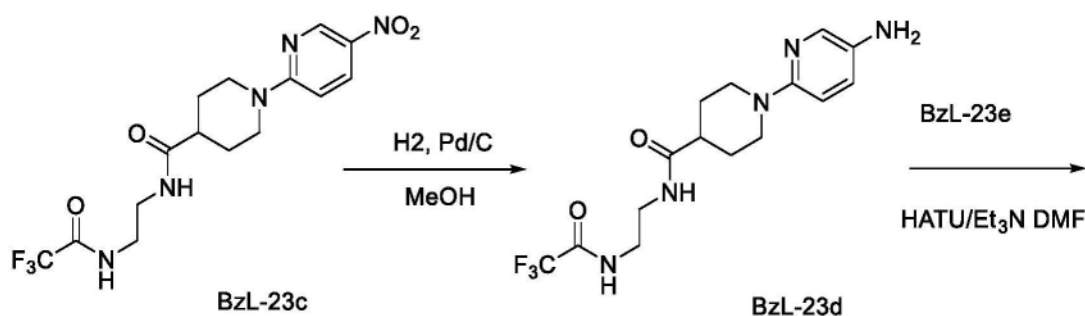
[1097] 合成(R)-2-(((1-((3-(2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-8-基)苯基)磺酰基)氮杂环丁-3-基)甲基)氨甲酰基)-4,46-二氧化-46-(2,3,5,6-四氟苯氧基)-7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43-十三氧杂-3-氮杂四十六烷-1-磺酸BzL-22。

[1098] 向小瓶中装入BzL-22c(7.2mg,0.005mmol)、2,3,5,6-四氟苯酚(1.8mg,0.011mmol)、可力丁(2.2μL,0.016mmol)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(1mg,0.005mmol)和100μL DMF。搅拌反应物16小时,然后通过利用含有0.1%三氟乙酸的乙腈:水的25-75%梯度进行反相制备型HPLC来纯化。合并经纯化的级分并冻干,得到5.3mg BzL-22,产率66%。LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1481.60(计算值);LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1481.82(观测值)。

[1099] 实施例46合成BzL-23



[1100]



[1101] 合成N-(2-氨基乙基)-1-(5-硝基吡啶-2-基)哌啶-4-甲酰胺BzL-23b

[1102] 在25℃下向N-[2-[[1-(5-硝基-2-吡啶基)哌啶-4-羰基]氨基]乙基]氨基甲酸叔丁酯BzL-23a(0.5g,1.27mmol,1当量)于EtOAc(10mL)中的混合物中添加HCl/EtOAc(4M,3.18mL,10当量)。在25℃下搅拌混合物2小时。LCMS显示反应完成。真空浓缩反应物,得到呈

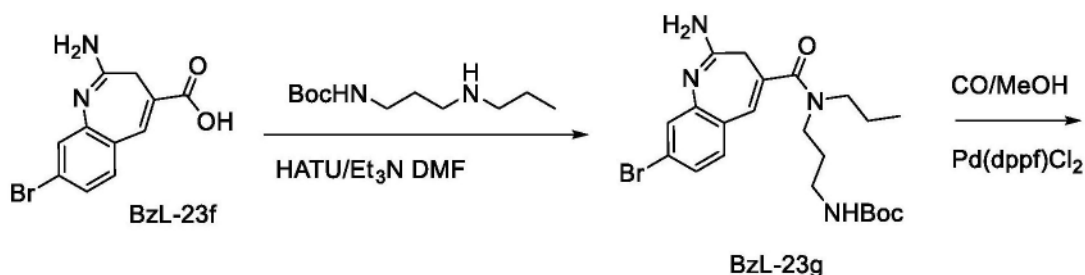
黄色固体状的BzL-23b (0.4g, 1.21mmol, 产率95.44%, HCl)。

[1103] 合成1-(5-硝基吡啶-2-基)-N-(2-(2,2,2-三氟乙酰胺基)乙基)哌啶-4-甲酰胺BzL-23c

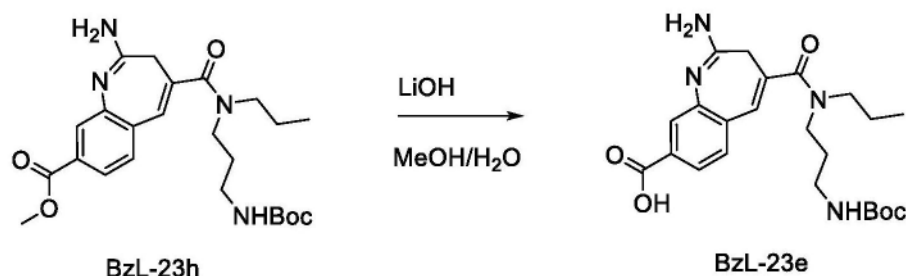
[1104] 在25℃下向N-(2-氨基乙基)-1-(5-硝基-2-吡啶基)哌啶-4-甲酰胺BzL-23b (0.4g, 1.21mmol, 1当量, HCl) 于THF (10mL) 中的混合物中添加Et<sub>3</sub>N (368.21mg, 3.64mmol, 506.47μL, 3当量) 和(2,2,2-三氟乙酰胺基) 2,2,2-三氟乙酸酯 (382.13mg, 1.82mmol, 253.06μL, 1.5当量)。在25℃下搅拌混合物1小时。LCMS显示所需主要物质。将混合物倾倒入至水 (50mL) 中。用乙酸乙酯 (30mLx3) 萃取水相。用盐水 (30mL) 洗涤经合并的有机相, 用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且真空浓缩。残余物直接用于下一步骤, 其含有呈黄色固体状的BzL-23c (0.4g, 1.03mmol, 产率84.71%)。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz) δ9.37-9.45 (m, 1H), 8.95 (d, J=2.8Hz, 1H), 8.19 (dd, J=9.6, 2.8Hz, 1H), 8.03 (brt, J=5.2Hz, 1H), 6.96 (d, J=9.6Hz, 1H), 4.47-4.53 (m, 2H), 2.99-3.25 (m, 6H), 2.38-2.47 (m, 3H), 1.73-1.80 (m, 2H), 1.41-1.58 (m, 2H)

[1105] 合成1-(5-氨基吡啶-2-基)-N-(2-(2,2,2-三氟乙酰胺基)乙基)哌啶-4-甲酰胺BzL-23d

[1106] 在N<sub>2</sub>下向1-(5-硝基-2-吡啶基)-N-[2-[(2,2,2-三氟乙酰胺基)氨基]乙基]哌啶-4-甲酰胺BzL-23c (0.4g, 1.03mmol, 1当量) 于MeOH (30mL) 中的溶液中添加Pd/C (0.5g, 纯度5%)。将悬浮液在真空下脱气并且用H<sub>2</sub>吹扫数次。在25℃下于H<sub>2</sub> (50psi) 下搅拌混合物2小时。TLC显示反应完成。过滤混合物并且真空浓缩, 得到呈灰色固体状的BzL-23d (0.3g, 834.85μmol, 产率81.26%)。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz) δ9.39-9.46 (m, 1H), 7.97 (t, J=5.2Hz, 1H), 7.59 (d, J=2.8Hz, 1H), 6.90 (dd, J=8.8, 2.8Hz, 1H), 6.64 (d, J=8.8Hz, 1H), 3.99 (d, J=12.8Hz, 2H), 3.15-3.26 (m, 6H), 2.54-2.63 (m, 2H), 2.16-2.26 (m, 1H), 1.65-1.71 (m, 2H), 1.48-1.60 (m, 2H)



[1107]



[1108] 合成(3-(2-氨基-8-溴-N-丙基-3H-苯并[b]氮呋-4-甲酰胺基)丙基)氨基甲酸叔丁酯BzL-23g

[1109] 在25℃下向2-氨基-8-溴-3H-1-苯并氮呋-4-甲酸BzL-23f (4.09g, 14.56mmol, 1当

量)和N-[3-(丙基氨基)丙基]氨基甲酸叔丁酯(3.78g,17.47mmol,1.2当量)于DMF(10mL)中的混合物中一次性添加HATU(6.64g,17.47mmol,1.2当量)和Et<sub>3</sub>N(2.95g,29.12mmol,4.05mL,2当量)。在25℃下搅拌混合物1小时。LCMS显示反应完成。用水稀释混合物并且用EtOAc(50mL x 3)萃取。用盐水洗涤有机层,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩。通过硅胶色谱法(柱高度:250mm,直径:100mm,100-200目硅胶,石油醚/乙酸乙酯=1/0.0/1)纯化残余物,得到呈黄色油状的BzL-23g(6g,12.52mmol,产率85.95%)。

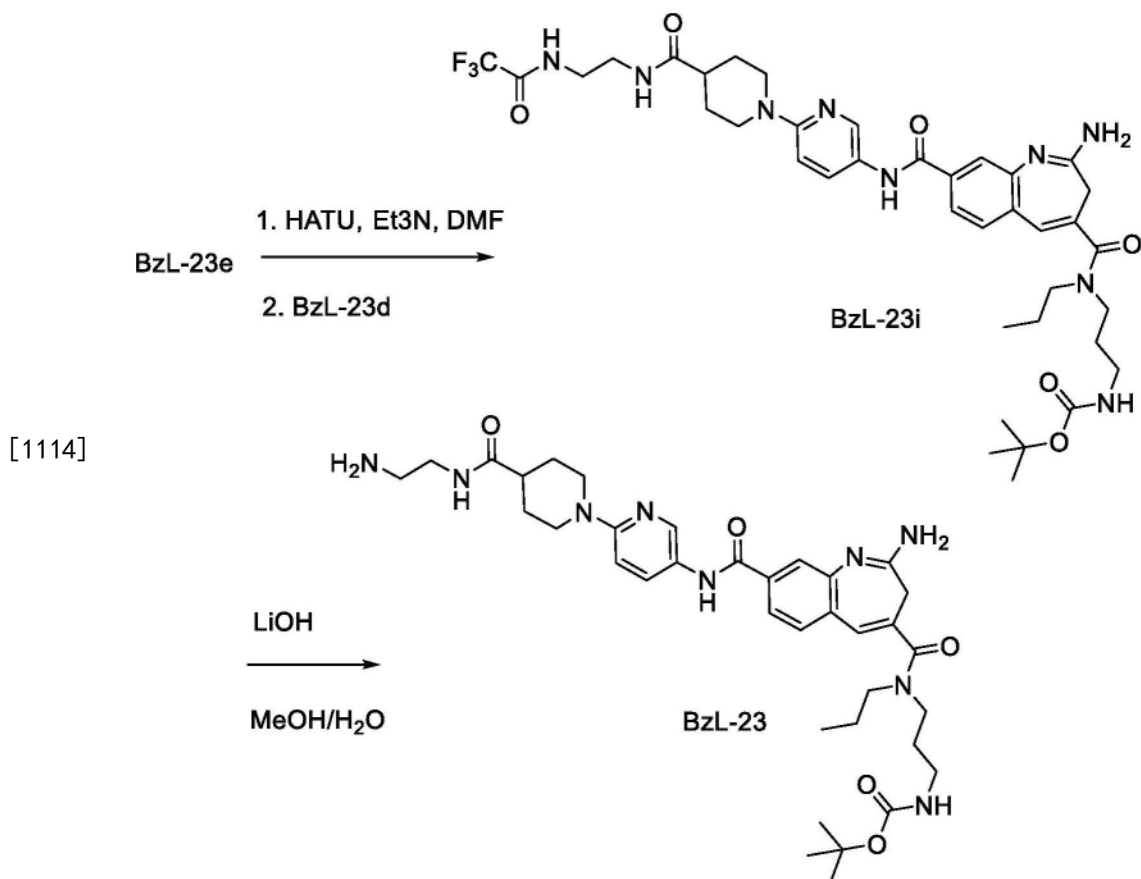
[1110] 合成2-氨基-4-[3-(叔丁氧基羰基氨基)丙基-丙基-氨甲酰基]-3H-1-苯并氮呋-8-甲酸甲酯BzL-23h

[1111] 在N<sub>2</sub>下向N-[3-[(2-氨基-8-溴-3H-1-苯并氮呋-4-羰基)-丙基-氨基]丙基]氨基甲酸叔丁酯BzL-23g(5g,10.43mmol,1当量)于MeOH(50mL)中的溶液中添加Et<sub>3</sub>N(3.17g,31.29mmol,4.35mL,3当量)和Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>(763.13mg,1.04mmol,0.1当量)。将悬浮液在真空下脱气并且用CO(10.43mmol,1当量)吹扫数次。在80℃下于CO(50psi)下搅拌混合物12小时。LCMS显示反应完成。过滤混合物并浓缩,得到呈黄色油状的BzL-23h(7g,粗物质)。

[1112] 合成2-氨基-4-((3-((叔丁氧基羰基)氨基)丙基)(丙基)氨甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-8-甲酸BzL-23e

[1113] 在30℃下向2-氨基-4-[3-(叔丁氧基羰基氨基)丙基-丙基-氨甲酰基]-3H-1-苯并氮呋-8-甲酸甲酯BzL-23h(6g,13.08mmol,1当量)于MeOH(80mL)中的溶液中一次性添加LiOH(1.25g,52.34mmol,4当量)。在30℃下搅拌混合物12小时。LCMS显示反应完成。在25℃下用HCl水溶液(1M)将混合物调节至pH 6。浓缩混合物。通过制备型HPLC(柱:Phenomenex luna C18 250x50mm,10um(微米);流动相:[水(0.1%TFA)-ACN];B%:10%-40%,20分钟)进一步纯化混合物,得到呈黄色油状的BzL-23e(1.4g,3.09mmol,产率23.64%,纯度98.23%)。<sup>1</sup>H NMR(MeOD,400MHz) δ8.06(d,J=1.2Hz,1H),8.02(dd,J=1.6,8.0Hz,1H),7.68(s,1H),7.14(s,1H),3.58-3.44(m,4H),3.37(s,2H),3.10(m,2H),1.85(m,2H),1.71(m,2H),1.51-1.33(m,9H),0.92-0.98(m,3H)。LC/MS[M+H]<sup>+</sup>445.25(计算值);LC/MS[M+H]<sup>+</sup>445.10(观测值)。





[1115] 合成(3-(2-氨基-N-丙基-8-((6-(4-((2-(2,2,2-三氟乙酰胺基)乙基)氨基甲酰基)哌啶-1-基)吡啶-3-基)氨基甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-4-甲酰胺基)丙基)氨基甲酸叔丁酯 BzL-23i

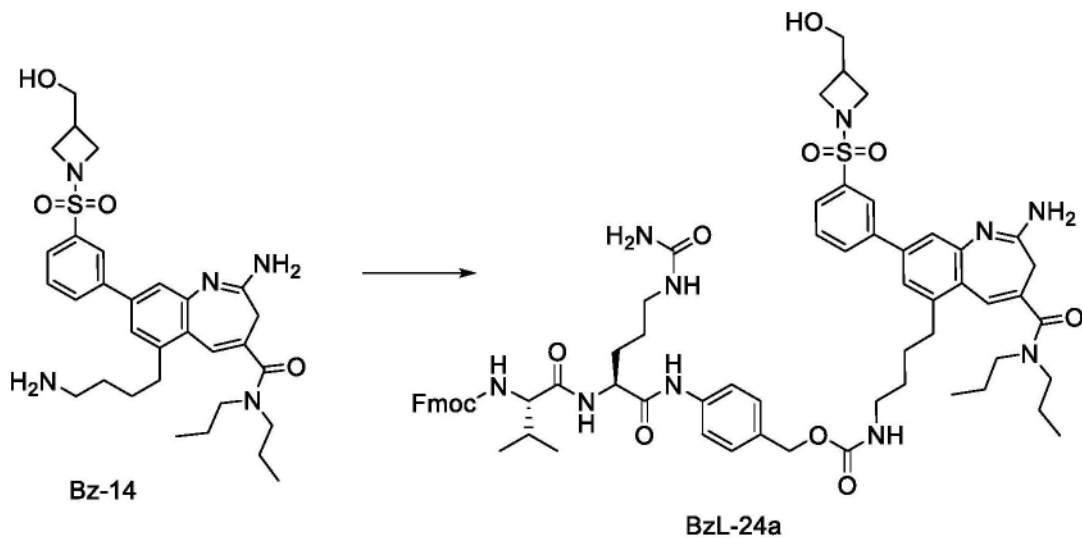
[1116] 在25℃下向2-氨基-4-[3-(叔丁氧基羰基氨基)丙基-丙基-氨基甲酰基]-3H-1-苯并氮呋-8-甲酸BzL-23e (200mg, 449.92μmol, 1当量)、HATU (205.29mg, 539.90μmol, 1.2当量)于DMF (3mL)中的混合物中添加Et<sub>3</sub>N (136.58mg, 1.35mmol, 187.87μL, 3当量)。在25℃下搅拌混合物5分钟,然后将1-(5-氨基-2-吡啶基)-N-[2-[(2,2,2-三氟乙酰胺基)氨基]乙基]哌啶-4-甲酰胺BzL-23d (161.68mg, 449.92μmol, 1当量)添加至混合物中,搅拌30分钟。LCMS显示所需主要物质。将混合物倾倒入水 (50mL)中。用乙酸乙酯 (50mL)萃取水相。用盐水 (50mL)洗涤经合并的有机相,用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且真空浓缩,得到呈黄色油状的BzL-23i (0.3g, 381.75μmol, 产率84.85%)。

[1117] 合成(3-(2-氨基-8-((6-(4-((2-氨基乙基)氨基甲酰基)哌啶-1-基)吡啶-3-基)氨基甲酰基)-N-丙基-3H-苯并[b]氮呋-4-甲酰胺基)丙基)氨基甲酸叔丁酯BzL-23

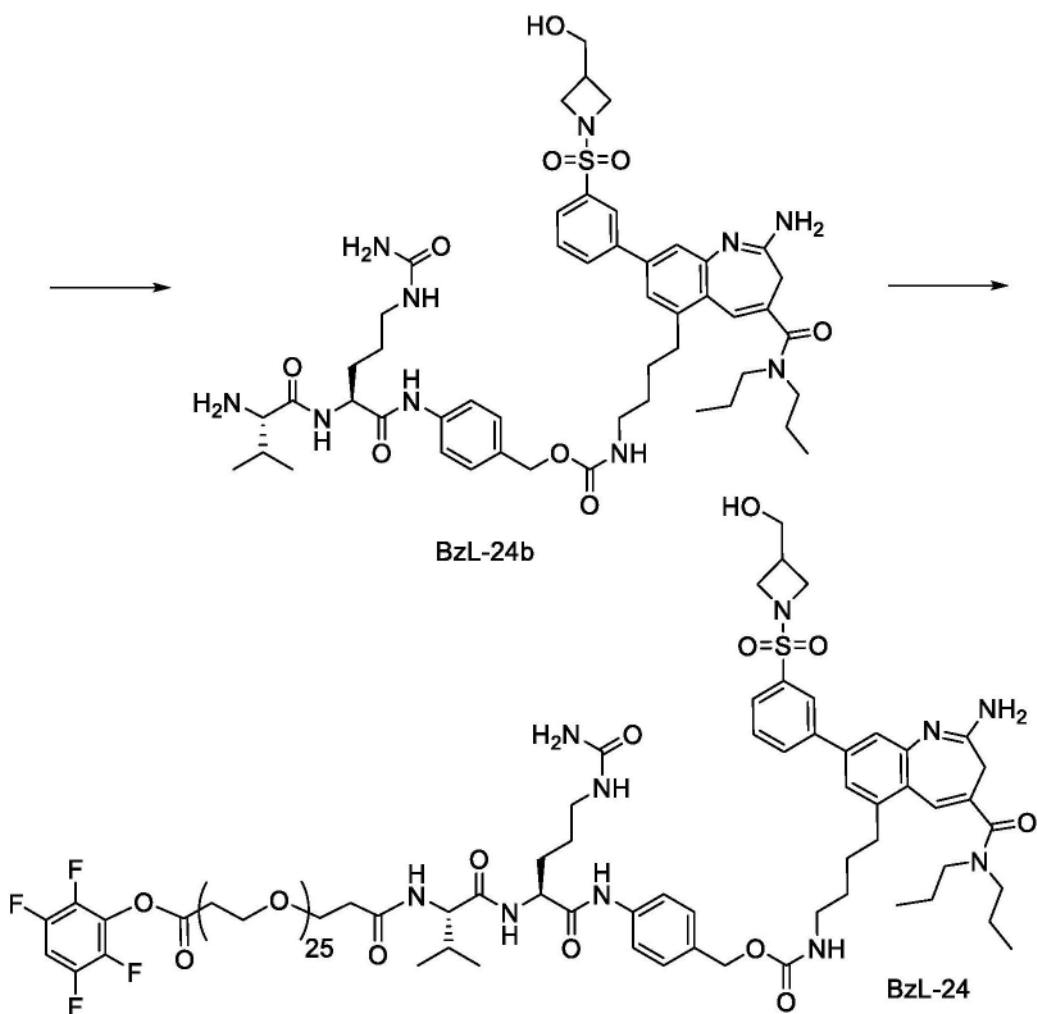
[1118] 在25℃下向N-[3-[[2-氨基-8-[[6-[4-[2-[(2,2,2-三氟乙酰胺基)氨基]乙基氨基甲酰基]-1-哌啶基]-3-吡啶基]氨基甲酰基]-3H-1-苯并氮呋-4-羰基]-丙基-氨基]丙基]氨基甲酸叔丁酯BzL-23i (0.25g, 318.13μmol, 1当量)于MeOH (10mL)中的混合物中添加含LiOH·H<sub>2</sub>O (40.05mg, 954.38μmol, 3当量)的H<sub>2</sub>O (1mL)。在40℃下搅拌混合物12小时。LCMS显示所需主要物质。真空浓缩混合物。通过制备型HPLC柱纯化残余物:Nano-micro Kromasil C18 100x30mm 5μm;流动相:[水 (0.1% TFA)-ACN];B%:15%-45%, 10分钟,得到呈白色固体状的BzL-23 (45mg, 65.23μmol, 产率20.51%)。<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz) δ8.73 (d, J=2.4Hz,

1H), 8.24 (dd,  $J=9.8, 2.4$  Hz, 1H), 7.75 (br s, 1H), 7.45 (d,  $J=9.8$  Hz, 1H), 7.15 (br s, 1H), 4.24 (br d,  $J=13.6$  Hz, 2H), 3.35-3.62 (m, 9H), 3.05-3.12 (m, 4H), 2.59-2.72 (m, 1H), 1.99-2.09 (m, 2H), 1.65-1.94 (m, 6H), 1.45 (s, 9H), 0.90-0.98 (m, 3H)。LC/MS  $[M+H]^+$  690.41 (计算值); LC/MS  $[M+H]^+$  690.40 (观测值)。

[1119] 实施例47合成BzL-24



[1120]

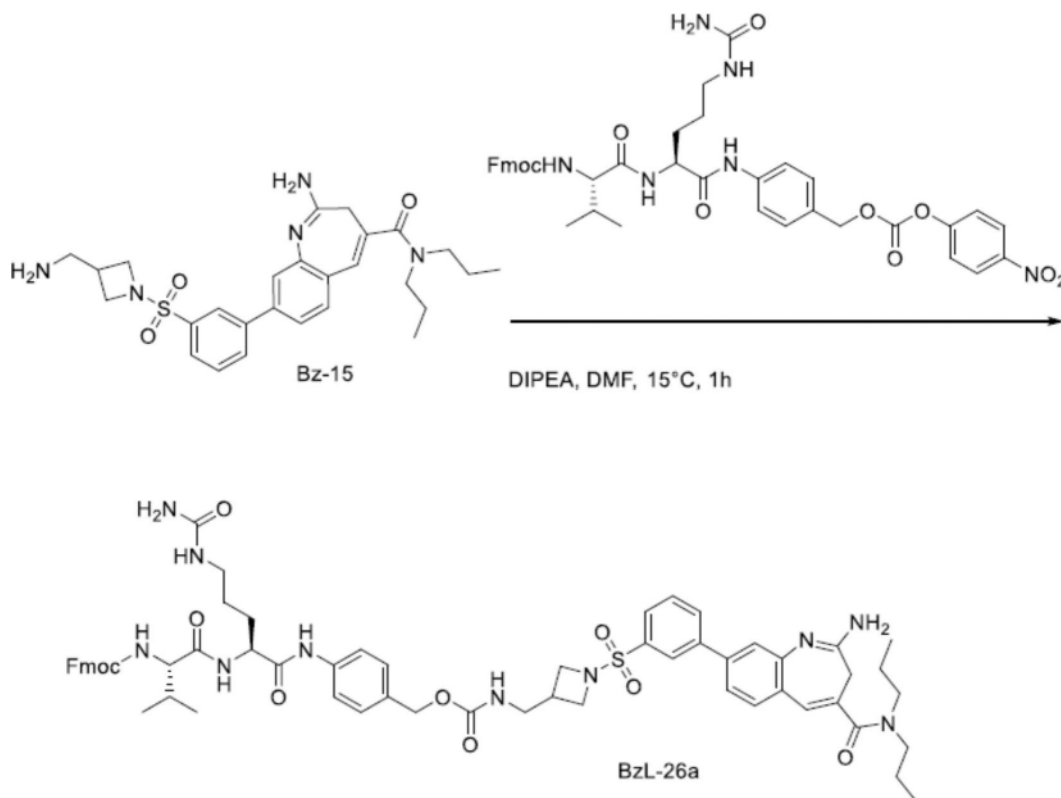


[1121] 根据针对BzL-26a所描述的程序从Bz-14合成(4-(2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-3H-苯并[b]氮呋-6-基)丁基)氨基甲酸4-((S)-2-((S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苯甲酯BzL-24a。LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1209.58(计算值);LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1209.85(观测值)。

[1122] 根据针对BzL-26所描述的程序合成(4-(2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-3H-苯并[b]氮呋-6-基)丁基)氨基甲酸4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苯甲酯BzL-24b。LC/MS[M+H]<sup>+</sup>987.51(计算值);LC/MS[M+H]<sup>+</sup>987.75(观测值)。

[1123] 根据针对BzL-15所描述的程序合成(6S,9S)-1-氨基-6-((4-(((4-(2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-3H-苯并[b]氮呋-6-基)丁基)氨基甲酰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酰基)-9-异丙基-1,8,11-三氧代-14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71,74,77,80,83,86-二十五氧杂-2,7,10-三氮杂八十九烷-89-酸2,3,5,6-四氟苯酯BzL-24。LC/MS[M+2H/2]<sup>+</sup>1168.59(计算值);LC/MS[M+2H/2]<sup>+</sup>1169.36(观测值)。

[1124] 实施例48合成BzL-26

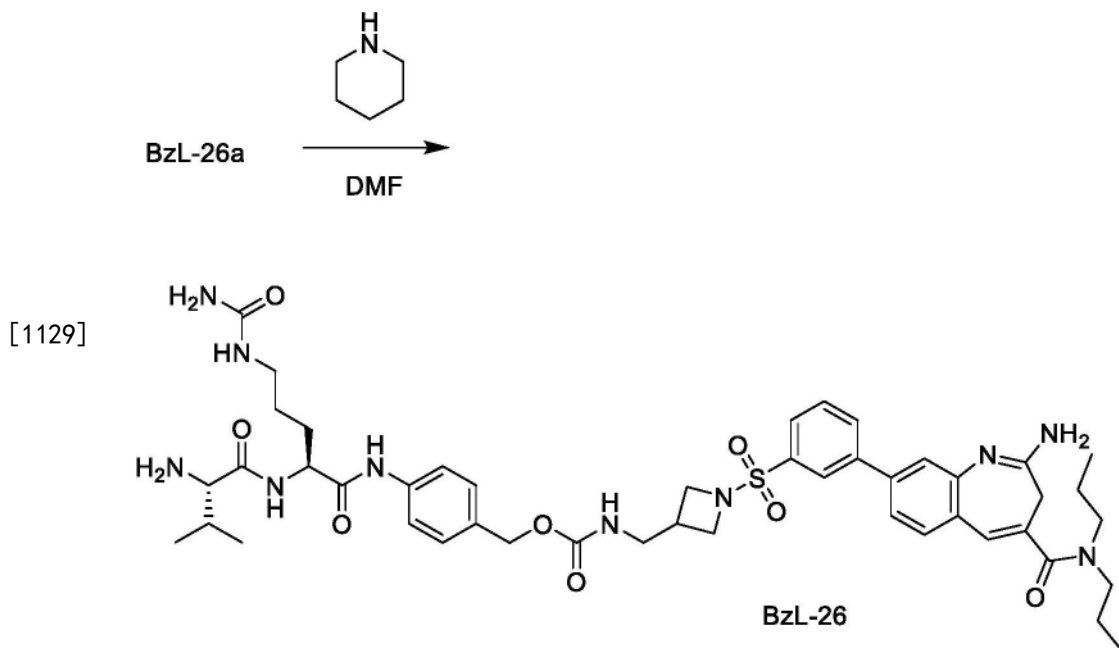


[1126] 合成((S)-1-(((S)-1-((4-(((1-((3-(2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-8-基)苯基)磺酰基)氮杂环丁-3-基)甲基)氨基甲酰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯BzL-26a

[1127] 在15°C下于N<sub>2</sub>下向碳酸[4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-(9H-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲酯(4-硝基苯基)酯(200mg, 260.83μmol, 1当量)于DMF(1mL)中的溶液中添加2-氨基-8-[3-[3-(氨基甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-N,N-二丙基-3H-1-苯并氮呋-4-甲酰胺Bz-15(325.35mg, 521.65μmol, 2当量, TFA)

和DIPEA (67.42mg, 521.65 $\mu$ mol, 90.86 $\mu$ L, 2当量) 于DMF (1mL) 中的溶液。在15℃下搅拌混合物1小时。过滤混合物。通过制备型HPLC (柱: Nano-micro Kromasil C18 100x30mm 5 $\mu$ m; 液相: [A-TFA/H<sub>2</sub>O=0.1% v/v; B-ACN] B%: 30%-60%, 12分钟) 纯化残余物, 得到呈白色固体状的N-[[1-[3-[2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-3H-1-苯并氮呋-8-基]苯基]磺酰基氮杂环丁-3-基]甲基]氨基甲酸[4-[[ (2S)-2-[[ (2S)-2-(9H-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲酯BzL-26a (73mg, 63.07 $\mu$ mol, 产率24.18%, 纯度98.259%)。<sup>1</sup>H NMR (MeOD-d<sub>4</sub>, 400MHz)  $\delta$ 8.05-8.09 (m, 1H), 7.92-7.98 (m, 1H), 7.84-7.90 (m, 1H), 7.58-7.83 (m, 8H), 7.46-7.57 (m, 2H), 7.33-7.42 (m, 2H), 7.25-7.33 (m, 2H), 7.11-7.23 (m, 2H), 7.04-7.09 (m, 1H), 4.87-4.94 (m, 2H), 4.46-4.56 (m, 1H), 4.31-4.45 (m, 2H), 4.16-4.26 (m, 1H), 3.95 (br d, J=7.0Hz, 1H), 3.85 (br t, J=8.0Hz, 2H), 3.52-3.63 (m, 2H), 3.46 (br d, J=2.0Hz, 4H), 3.35 (s, 3H), 3.15-3.23 (m, 1H), 3.01-3.13 (m, 3H), 2.58-2.71 (m, 1H), 2.00-2.16 (m, 1H), 1.84-1.96 (m, 1H), 1.64-1.77 (m, 4H), 1.49-1.62 (m, 2H), 0.75-1.09 (m, 12H) LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 1137.52 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 1137.10 (观测值)。

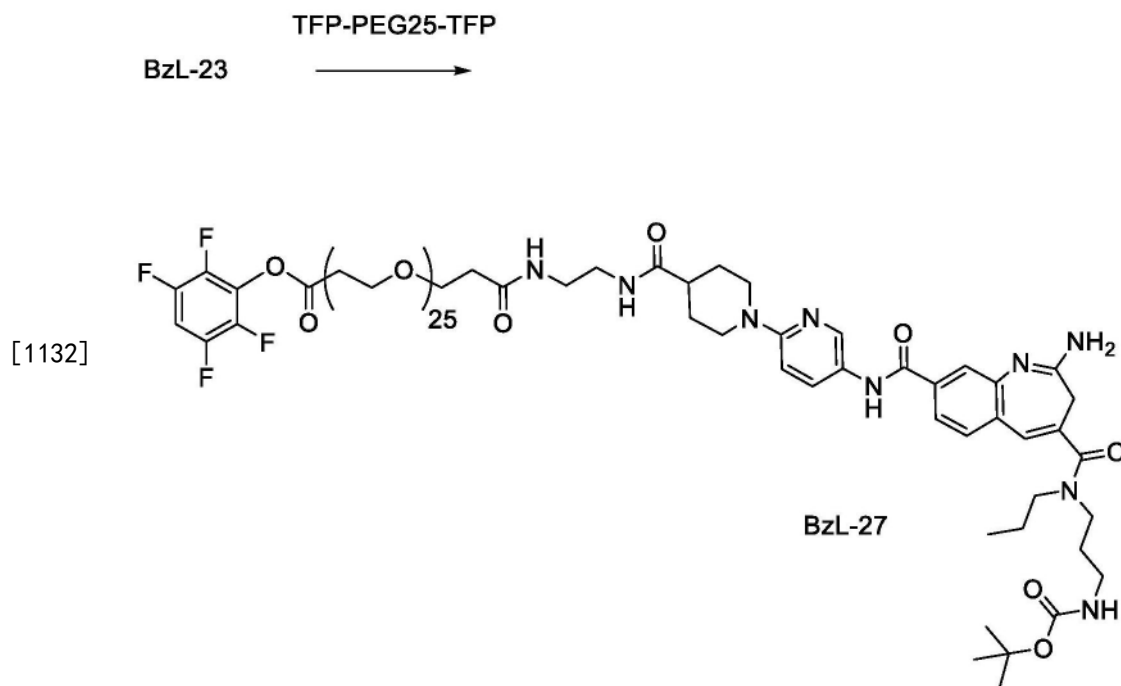
[1128] 合成((1-((3-(2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-8-基)苯基)磺酰基)氮杂环丁-3-基)甲基)氨基甲酸4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苯甲酯BzL-26



[1130] 在25℃下向N-[[1-[3-[2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-3H-1-苯并氮呋-8-基]苯基]磺酰基氮杂环丁-3-基]甲基]氨基甲酸[4-[[ (2S)-2-[[ (2S)-2-(9H-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲酯BzL-26a (0.12g, 105.51 $\mu$ mol, 1当量) 于DMF (2mL) 中的溶液中添加哌啶 (44.92mg, 527.54 $\mu$ mol, 52.10 $\mu$ L, 5当量) 并且搅拌1小时。过滤反应混合物并且浓缩滤液。通过制备型HPLC (柱: Welch Xtimate C18 100x25mm x 3 $\mu$ m; 流动相: [水 (10mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>)-ACN]; B%: 25%-65%, 12分钟) 纯化残余物。获得呈黄色固体状的化合物N-[[1-[3-[2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-3H-1-苯并氮呋-8-基]苯基]磺酰基氮杂环丁-3-基]甲基]氨基甲酸[4-[[ (2S)-2-[[ (2S)-2-氨基-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲酯BzL-26 (0.037g, 38.51 $\mu$ mol, 产率36.50%, 纯

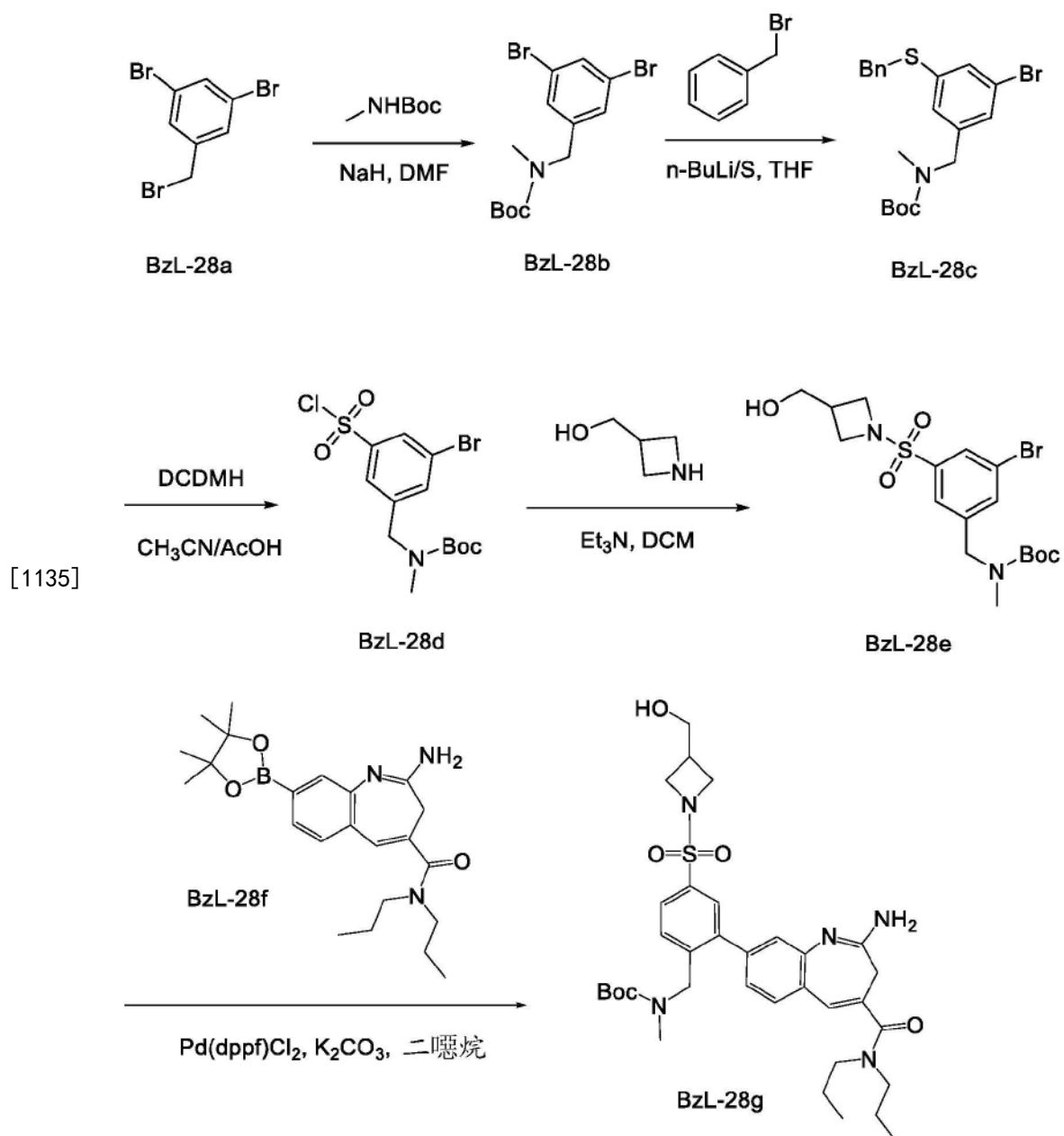
度95.25%)。<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz)  $\delta$  8.06 (s, 1H), 7.98 (d, J=7.4Hz, 1H), 7.82 (d, J=7.4Hz, 1H), 7.74 (t, J=7.4Hz, 1H), 7.54 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.50-7.43 (m, 2H), 7.38 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.23 (d, J=8.8Hz, 2H), 6.90 (s, 1H), 4.95-4.90 (m, 2H), 4.62-4.54 (m, 2H), 3.84 (t, J=8.2Hz, 2H), 3.56 (t, J=4.2Hz, 2H), 3.44 (t, J=4.0Hz, 4H), 3.23 (d, J=5.2Hz, 2H), 3.14-3.03 (m, 2H), 2.68-2.62 (m, 1H), 2.04-1.99 (m, 2H), 1.92-1.84 (m, 2H), 1.79-1.47 (m, 8H), 1.08-0.75 (m, 12H)。LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 915.46 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 915.10 (观测值)。

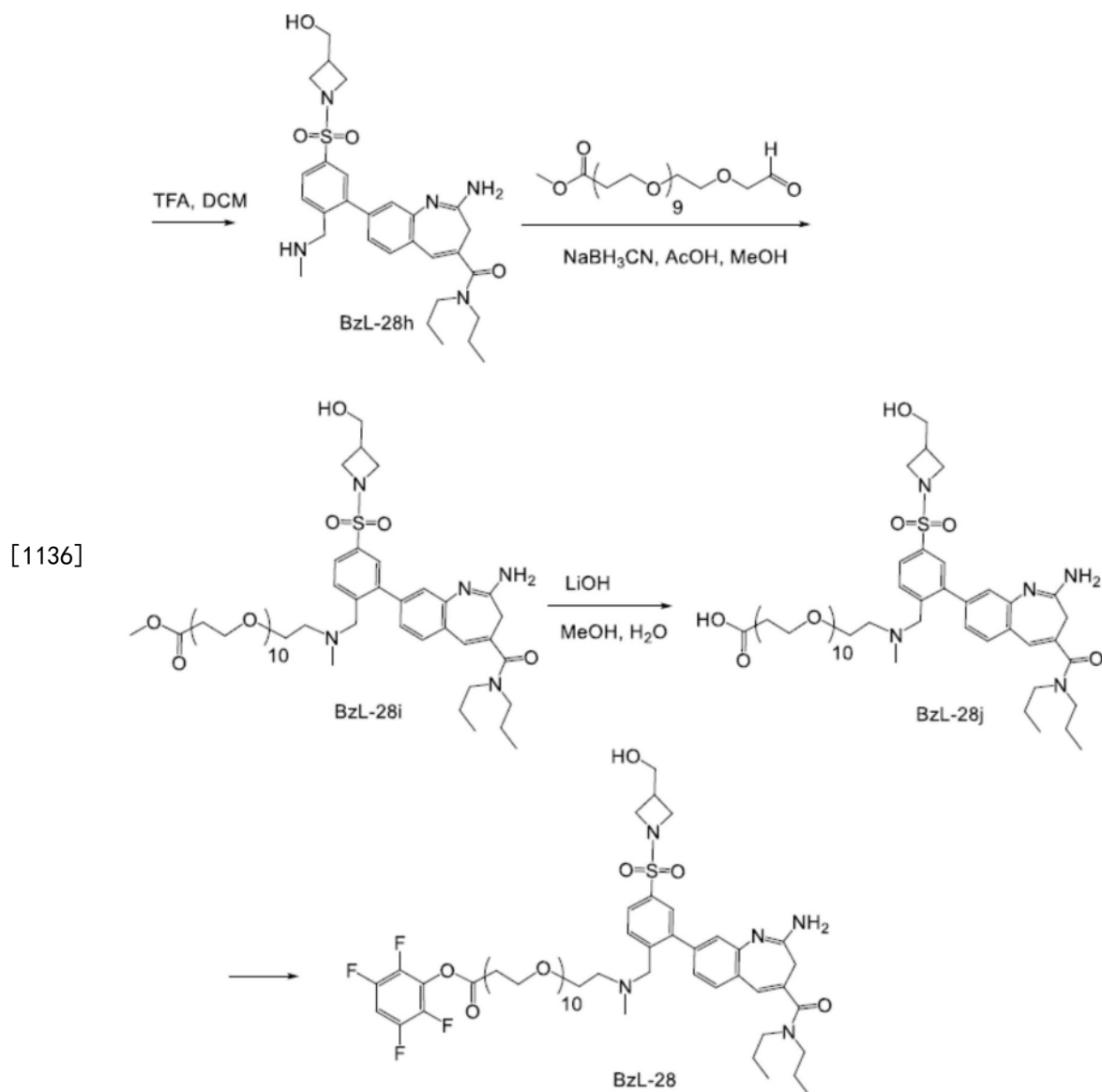
[1131] 实施例49合成BzL-27



[1133] 根据针对Bz-31所描述的程序从BzL-23和TFP-PEG25-TFP合成1-(1-(5-(2-氨基-4-((3-((叔丁氧基羰基)氨基)丙基)(丙基)氨甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-8-甲酰胺基)吡啶-2-基)哌啶-4-基)-1,6-二氧代-9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75,78,81-二十五氧杂-2,5-二氮杂八十四烷-84-酸2,3,5,6-四氟苯酯BzL-27。LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 2039.07 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 2039.40 (观测值)。

[1134] 实施例50合成BzL-28.





[1137] 合成3,5-二溴苯甲基(甲基)氨基甲酸叔丁酯BzL-28b

[1138] 在0℃下向N-甲基氨基甲酸叔丁酯(2.5g, 19.06mmol, 1当量)于DMF(80mL)中的溶液中缓慢添加NaH(914.82mg, 22.87mmol, 纯度60%, 1.2当量)。添加后, 在15℃下搅拌混合物30分钟, 然后在0℃下添加1,3-二溴-5-(溴甲基)苯BzL-28a(8.77g, 26.68mmol, 1.4当量)。在15℃下搅拌所得混合物2小时。TLC指示反应物完全消耗。通过在0℃下添加NH<sub>4</sub>Cl水溶液(250mL)淬灭反应混合物, 然后用EtOAc(100mL x 3)萃取。用盐水(30mL x 3)洗涤经合并的有机层, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且减压浓缩, 得到残余物。通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>, 石油醚: 乙酸乙酯=1:0至5:1)纯化残余物, 得到呈白色固体状的BzL-28b(6.6g, 17.41mmol, 产率91.35%)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) δ7.59-7.56(m, 1H), 7.31(s, 2H), 4.36(s, 2H), 2.87(s, 3H), 1.49(s, 9H)。

[1139] 合成3-(苯甲硫基)-5-溴苯甲基(甲基)氨基甲酸叔丁酯BzL-28c

[1140] 在-78℃下于N<sub>2</sub>下向3,5-二溴苯甲基(甲基)氨基甲酸叔丁酯BzL-28b(3.6g, 9.50mmol, 1当量)于THF(70mL)中的溶液中逐滴添加n-BuLi(2.5M, 3.80mL, 1当量)。添加后, 在-78℃下搅拌混合物15分钟, 然后在-78℃下添加硫S(304.55mg, 9.50mmol, 1当量)。添加

后,在-78℃下搅拌混合物45分钟,然后在-78℃下添加溴甲基苯(1.62g,9.50mmol,1.13mL,1当量)。将所得混合物升温至15℃并且在15℃下搅拌30分钟。TLC指示BzL-28b完全消耗。通过在0℃下添加NH<sub>4</sub>Cl水溶液(70mL)淬灭反应混合物,然后用EtOAc(50mL x 3)萃取。用盐水(20mL)洗涤经合并的有机层,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且减压浓缩,得到残余物。通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚:乙酸乙酯=1:0至5:1)纯化残余物,得到呈黄色油状的BzL-28c(0.97g,2.30mmol,产率24.18%)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>,400MHz) δ7.35-7.26(m,5H),7.26-7.21(m,1H),7.17(s,1H),7.04(s,1H),4.34(s,2H),4.12(s,2H),2.79(s,3H),1.48(s,9H)。

[1141] 合成3-溴-5-(氯磺酰基)苯甲基(甲基)氨基甲酸叔丁酯BzL-28d

[1142] 在0℃下向3-(苯甲硫基)-5-溴苯甲基(甲基)氨基甲酸叔丁酯BzL-28c(1.22g,2.89mmol,1当量)于CH<sub>3</sub>CN(25mL)和H<sub>2</sub>O(1mL)和乙酸AcOH(520.35mg,8.67mmol,495.57μL,3当量)中的溶液中添加1,3-二氯-5,5-二甲基-咪唑烷-2,4-二酮DCDMH(1.14g,5.78mmol,2当量)。在0℃下搅拌混合物1小时。TLC指示BzL-28c完全消耗。减压浓缩反应混合物,得到残余物。用H<sub>2</sub>O(20mL)稀释残余物并且用EtOAc(20mL x 3)萃取。用盐水(10mL)洗涤经合并的有机层,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且减压浓缩,得到残余物。通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚:乙酸乙酯=1:0至5:1)纯化残余物,得到呈浅黄色油状的BzL-28d(0.51g,1.28mmol,产率44.29%)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>,400MHz) δ8.08(s,1H),7.83(s,1H),7.74(s,1H),4.50(s,2H),2.91(s,3H),1.49(s,9H)。

[1143] 合成3-溴-5-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯甲基(甲基)氨基甲酸叔丁酯BzL-28e

[1144] 在0℃下向3-溴-5-(氯磺酰基)苯甲基(甲基)氨基甲酸叔丁酯BzL-28d(0.74g,1.86mmol,1当量)和氮杂环丁-3-基甲醇(746.66mg,3.71mmol,2当量,TFA)于DCM(15mL)中的溶液中添加TEA(751.25mg,7.42mmol,1.03mL,4当量)。在15℃下搅拌混合物1小时。TLC指示反应物1完全消耗。通过在0℃下添加H<sub>2</sub>O(15mL)淬灭反应混合物,然后用EtOAc(15mL x 3)萃取。用盐水(10mL)洗涤经合并的有机层,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且减压浓缩,得到残余物,通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚:乙酸乙酯=10:1至0:1)纯化,得到呈浅黄色油状的BzL-28e(640mg,1.42mmol,产率76.74%)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>,400MHz) δ7.90(s,1H),7.69-7.53(m,2H),4.48(s,2H),3.89(t,J=8.0Hz,2H),3.64(d,J=6.0Hz,3H),3.42(s,1H),2.95(s,3H),2.65(s,1H),1.49(s,9H)。

[1145] 合成3-(2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-8-基)-5-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯甲基(甲基)氨基甲酸叔丁酯BzL-28g

[1146] 将3-溴-5-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯甲基(甲基)氨基甲酸叔丁酯BzL-28e(590mg,1.31mmol,1当量)、2-氨基-N,N-二丙基-8-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)-3H-苯并[b]氮呋-4-甲酰胺BzL-28f(702.11mg,1.71mmol,1.3当量)、Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>(48.0mg,65.7μmol,0.05当量)、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(362.9mg,2.63mmol,2当量)于二噁烷(10mL)和H<sub>2</sub>O(1mL)中的混合物脱气并且用N<sub>2</sub>吹扫3次,然后在90℃下于N<sub>2</sub>气氛下搅拌混合物3小时。过滤反应混合物并且减压浓缩,得到残余物。通过制备型HPLC(TFA条件:柱:Nano-microKromasil C18 100x30mm,5μm;流动相:[水(0.1%TFA)-ACN];B%:40%-60%,10分钟)纯化残余物,得到呈黄色固体状的BzL-28g(180mg,275.30μmol,产率20.97%)。

[1147] 合成2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)-5-((甲基氨基)甲基)



苯基)-N,N-二丙基-3H-苯并[b]氮呋-4-甲酰胺BzL-28h

[1148] 在15℃下向3-(2-氨基-4-(二丙基氨基甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-8-基)-5-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯甲基(甲基)氨基甲酸叔丁酯BzL-28g (180mg, 275.30μmol, 1当量)于DCM (2mL)中的溶液中添加TFA (627.80mg, 5.51mmol, 407.66μL, 20当量)。在15℃下搅拌混合物1小时。LC-MS显示反应物1已消耗。减压浓缩反应混合物,得到残余物。在0℃下向残余物中添加THF (5mL)和NaHCO<sub>3</sub>水溶液 (5mL)以达到pH 8-9,然后在15℃下搅拌30分钟。减压浓缩反应混合物,得到残余物,并且用EtOAc (10mL x 3)萃取。用盐水 (5mL)洗涤经合并的有机层,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且减压浓缩,得到呈黄色油状的BzL-28h (110mg, 198.66μmol, 产率72.16%)。LC/MS[M+H] 554.28 (计算值);LC/MS[M+H] 554.30 (观测值)。

[1149] 合成1-(3-(2-氨基-4-(二丙基氨基甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-8-基)-5-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-2-甲基-5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十氧杂-2-氮杂三十五烷-35-酸甲酯BzL-28i

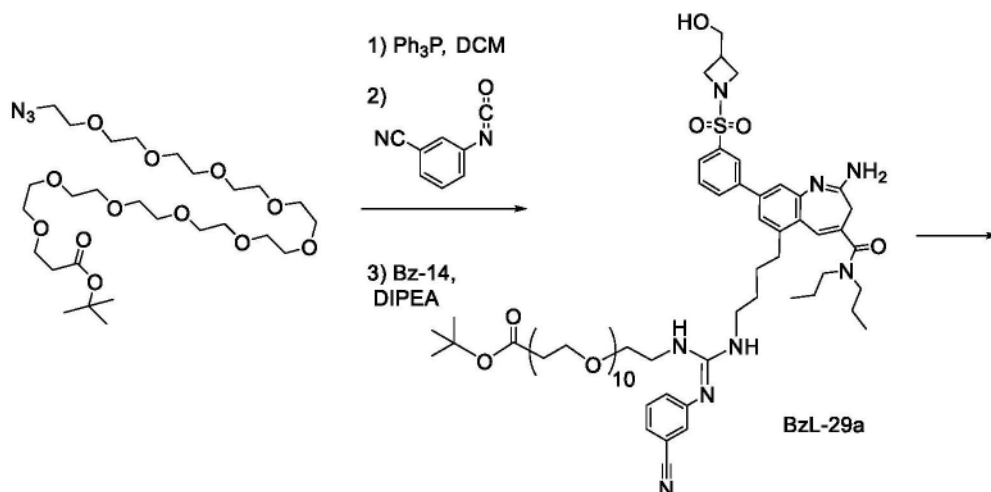
[1150] 在15℃下向2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)-5-((甲基氨基)甲基)苯基)-N,N-二丙基-3H-苯并[b]氮呋-4-甲酰胺BzL-28h (110mg, 198.66μmol, 1当量)和1-氧代-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30-十氧杂三十三烷-33-酸甲酯 (140.13mg, 258.26μmol, 1.3当量)于MeOH (2mL)中的溶液中添加AcOH (11.93mg, 198.66μmol, 11.36μL, 1当量)。添加后,在15℃下搅拌混合物15分钟,然后在15℃下添加NaBH<sub>3</sub>CN (24.97mg, 397.32μmol, 2当量)。在15℃下搅拌所得混合物12小时。反应混合物直接用于下一步骤,其含有呈浅黄色液体状的BzL-28i (0.22g, 粗物质) (于MeOH中)。LC/MS[M+2H/2] 540.79 (计算值);LC/MS[M+H] 541.1 (观测值)。

[1151] 合成1-(3-(2-氨基-4-(二丙基氨基甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-8-基)-5-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-2-甲基-5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十氧杂-2-氮杂三十五烷-35-酸BzL-28j

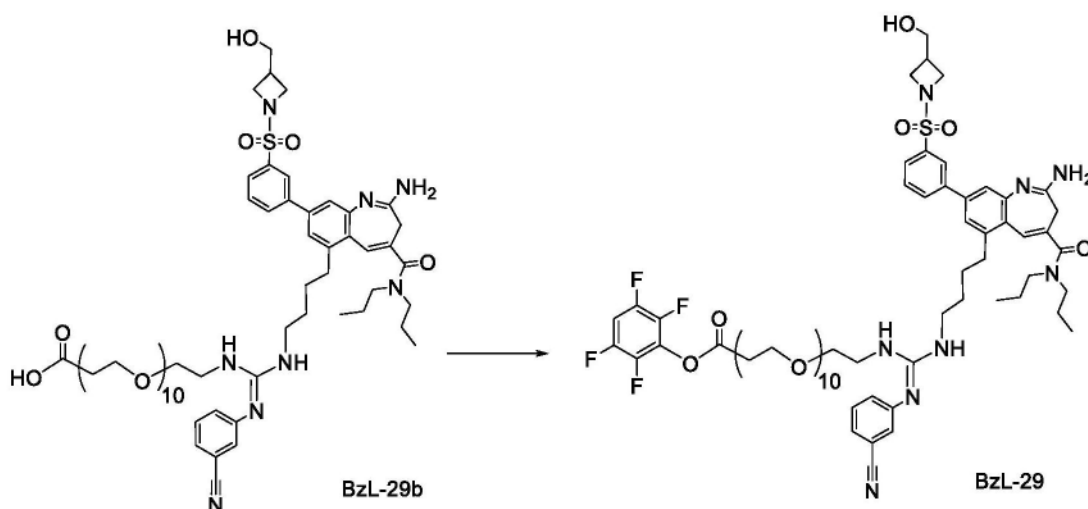
[1152] 在15℃下向1-(3-(2-氨基-4-(二丙基氨基甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-8-基)-5-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-2-甲基-5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十氧杂-2-氮杂三十五烷-35-酸甲酯BzL-28i (0.22g, 203.64μmol, 1当量)于MeOH (2mL)和H<sub>2</sub>O (1mL)中的溶液中添加LiOH·H<sub>2</sub>O (68.36mg, 1.63mmol, 8当量)。在15℃下搅拌混合物5小时。LC-MS显示BzL-28i已消耗。在0℃下用1N HCl将反应混合物调节至pH 6-7,然后减压浓缩。通过制备型HPLC (TFA条件:柱:Welch Xtimate C18 100x25mm, 3μm;流动相:[水 (0.1%TFA)-ACN]; B%:20%-40%, 12分钟)纯化残余物两次,得到呈浅黄色油状的BzL-28j (104mg, 94.31μmol, 产率46.31%, HCl)。<sup>1</sup>H NMR (MeOD-d<sub>4</sub>, 400MHz) δ 8.33 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.90-7.84 (m, 2H), 7.74 (d, J=8.8Hz, 1H), 7.12 (s, 1H), 3.96-3.88 (m, 4H), 3.76-3.67 (m, 8H), 3.66-3.52 (m, 33H), 3.51-3.37 (m, 9H), 3.02 (s, 3H), 2.71-2.59 (m, 1H), 2.53 (t, J=6.0Hz, 2H), 1.77-1.63 (m, 4H), 0.95 (br s, 6H)。LC/MS[M+H] 1066.56 (计算值);LC/MS[M+H] 1066.10 (观测值)。

[1153] 根据针对BzL-22所描述的程序通过与2,3,5,6-四氟苯酚反应来合成1-(3-(2-氨基-4-(二丙基氨基甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-8-基)-5-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-2-甲基-5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十氧杂-2-氮杂三十五烷-35-酸2,3,5,6-四氟苯酯BzL-28。LC/MS[M+H] 1214.56 (计算值);LC/MS[M+H] 1214.83 (观测值)。

[1154] 实施例51合成BzL-29.



[1155]



[1156] 合成(Z)-40-(2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-3H-苯并[b]氮呋-6-基)-35-((3-氰基苯基)亚胺基)-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31-十氧杂-34,36-二氮杂四十烷酸叔丁酯BzL-29a

[1157] 向4mL小瓶中装入1-叠氮基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30-十氧杂三十三烷-33-酸叔丁酯(0.011mmol,6.9mg)、三苯磷(0.011mmol,3mg)和200 $\mu\text{L}$ 无水二氯甲烷。在30℃下使反应维持90分钟,届时添加异氰酸3-氰基苯酯(0.011mmol,1.6mg)。45分钟后,添加含有Bz-14(0.011mmol)和二异丙基乙胺休格氏碱(Hunig base)(0.034mmol)于200 $\mu\text{L}$  DMF中的溶液。使反应维持2小时,然后减压浓缩。使用反相制备型HPLC利用含有0.1%三氟乙酸的乙腈:水的25-75%梯度纯化粗反应物。合并经纯化的级分并冻干,得到4.1mg BzL-29a,产率63%。LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1293.71(计算值);LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1294.04(观测值)。

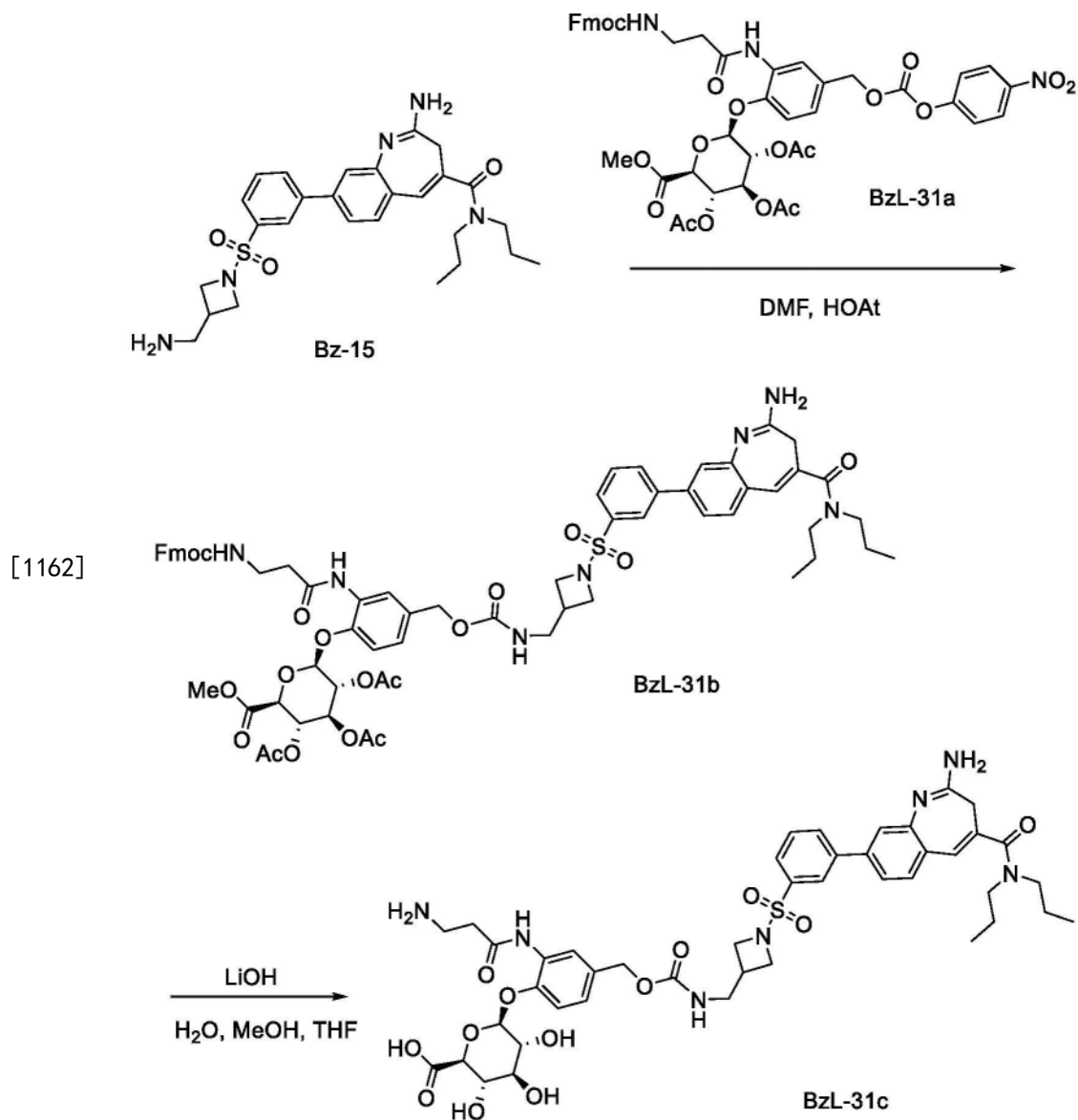
[1158] 合成(Z)-40-(2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-3H-苯并[b]氮呋-6-基)-35-((3-氰基苯基)亚胺基)-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31-十氧杂-34,36-二氮杂四十烷酸BzL-29b

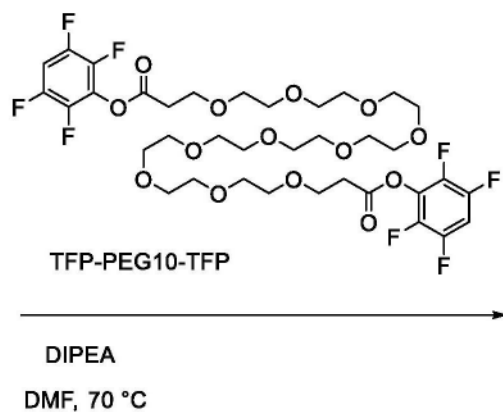
[1159] 向小瓶中装入BzL-29a(4.1mg,0.003mmol)、500 $\mu\text{L}$  DCM和100 $\mu\text{L}$ 三氟乙酸。使反应维持1小时,减压浓缩,并且与1mL甲苯共沸三次。粗产物BzL-29b继续进行后续步骤。

[1160] 根据针对Bz-22所描述的程序通过BzL-29b与2,3,5,6-四氟苯酚反应来合成(Z)-

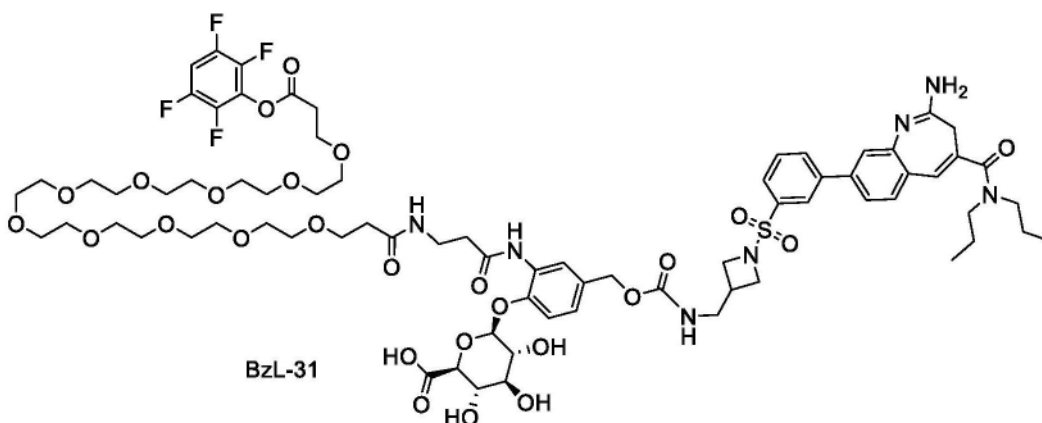
40-(2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-3H-苯并[b]氮呋-6-基)-35-((3-氰基苯基)亚胺基)-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31-十氧杂-34,36-二氮杂四十烷酸2,3,5,6-四氟苯酯BzL-29。LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1385.64(计算值);LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1385.84(观测值)。

[1161] 实施例52合成BzL-31





[1163]

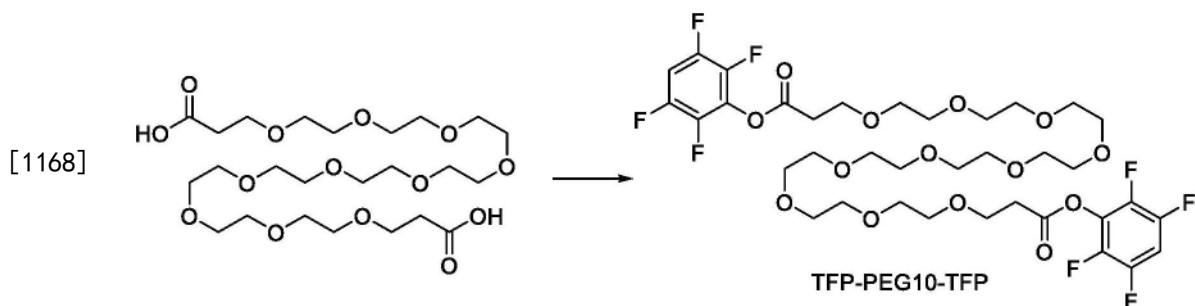


[1164] 合成三乙酸外消旋-(2R,3S,4R,5R,6R)-2-(2-(3-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-4-((((1-(3-(2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-8-基)苯基)磺酰基)氮杂环丁-3-基)甲基)氨甲酰基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基酯BzL-31b

[1165] 向Bz-15 (50mg, 0.098mmol, 1当量) 和三乙酸外消旋-(2R,3S,4R,5R,6R)-2-(2-(3-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基酯BzL-31a (90mg, 0.098mmol, 1当量) 于DMF (0.2ml) 中的溶液中添加HOAt (13.3mg, 0.098mmol, 1当量)。在周围温度下搅拌反应物并且通过LCMS监测。用1:1水:乙腈稀释反应混合物并且通过HPLC纯化, 得到BzL-31b (67mg, 0.052mmol, 53%)。LC/MS [M+H] 1284.48 (计算值); LC/MS [M+H] 1284.81 (观测值)。

[1166] 合成外消旋-(2R,3R,4R,5S,6R)-6-(4-((((1-(3-(2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-8-基)苯基)磺酰基)氮杂环丁-3-基)甲基)氨甲酰基)氧基)甲基)-2-(3-氨基丙酰胺基)苯氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-甲酸BzL-31c

[1167] 将BzL-31b (67mg, 0.052mmol, 1当量) 溶解于20mM LiOH于5:2:1 THF:MeOH:H<sub>2</sub>O (2.6ml) 中的溶液中。在周围温度下搅拌反应物1小时, 然后浓缩并且通过HPLC纯化, 得到呈白色固体状的BzL-31c (25mg, 0.027mmol, 52%)。LC/MS [M+H] 922.37 (计算值); LC/MS [M+H] 922.56 (观测值)。

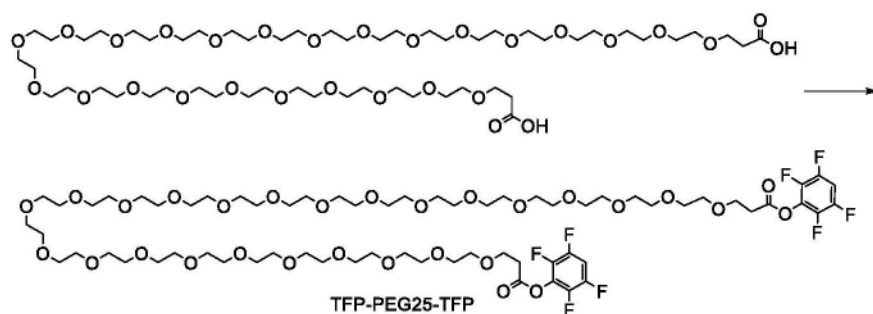


[1169] 根据针对TFP-PEG25-TFP所描述的程序从4,7,10,13,16,19,22,25,28,31-十氧杂三十四烷二酸合成4,7,10,13,16,19,22,25,28,31-十氧杂三十四烷二酸双(2,3,5,6-四氟苯基)酯。LC/MS[M+H]855.28(计算值);LC/MS[M+H]855.53(观测值)。

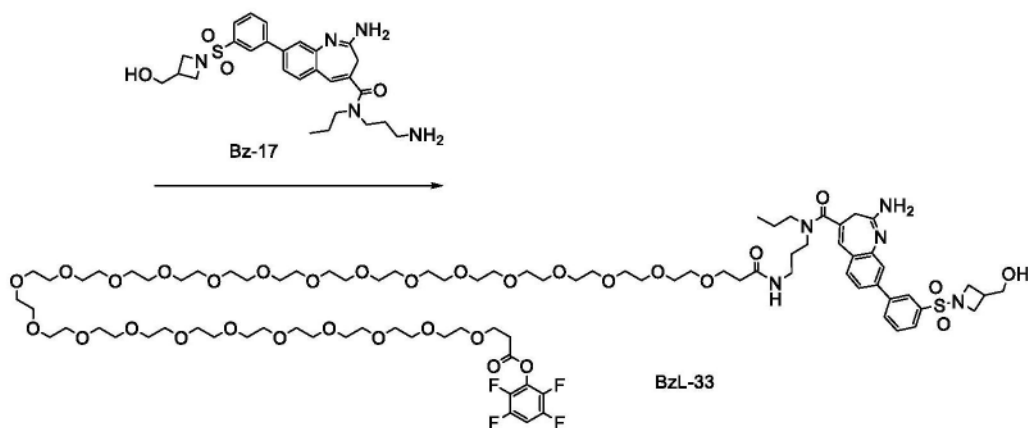
[1170] 合成外消旋-(2R,3R,4R,5S,6R)-6-(4-(((1-((3-(2-氨基-4-(二丙基氨甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-8-基)苯基)磺酰基)氮杂环丁-3-基)甲基)氨甲酰基)氧基)甲基)-2-(1,34-二氧代-1-(2,3,5,6-四氟苯氧基)-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31-十氧杂-35-氮杂三十八烷-38-酰胺基)苯氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-甲酸BzL-31

[1171] 将BzL-31c(25mg,0.027mmol,1当量)和TFP-PEG10-TFP4,7,10,13,16,19,22,25,28,31-十氧杂三十四烷二酸双(2,3,5,6-四氟苯基)酯(35mg,0.040mmol,1.5当量)溶解于DMF(5ml)中。用DIPEA将反应物中和至约pH 7并且加热至70℃。1小时后,将另一份4,7,10,13,16,19,22,25,28,31-十氧杂三十四烷二酸双(2,3,5,6-四氟苯基)酯(35mg,0.040mmol,1.5当量)添加至反应混合物中。BzL-31c消耗后,将反应物浓缩成黄色膜状物,然后用6x3ml乙醚湿磨,得到黄色固体,通过HPLC纯化,得到BzL-31(14.3mg,0.0089mmol,33%)。LC/MS[M+H]1610.64(计算值);LC/MS[M+H]1610.99(观测值)。

[1172] 实施例53合成BzL-33



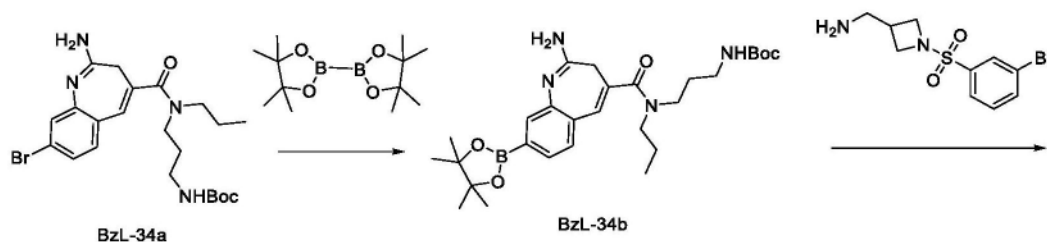
[1173]



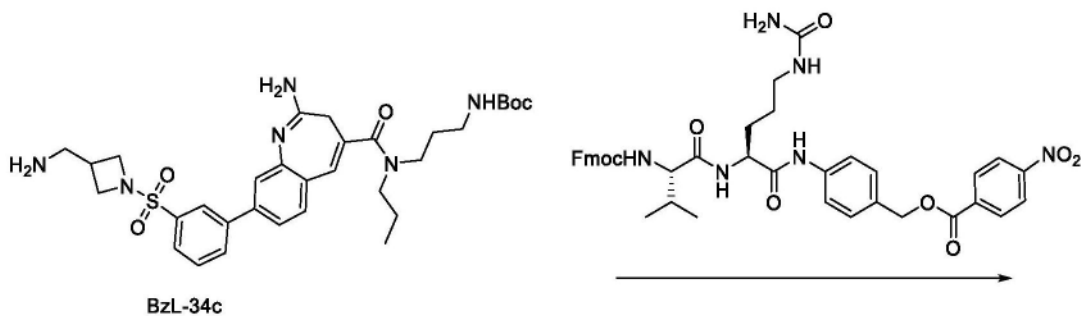
[1174] 向小瓶中装入4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十五氧杂七十九烷二酸(269mg,0.221mmol)、2,3,5,6-四氟苯酚(110mg,0.662mmol)、可力丁(176 $\mu$ L,1.33mmol)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(127mg,0.221mmol)和3mL DMF。搅拌反应物16小时,然后通过利用含有0.1%三氟乙酸的乙腈:水的25-75%梯度进行反相制备型HPLC来纯化。合并经纯化的级分并冻干,得到266mg 4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十五氧杂七十九烷二酸双(2,3,5,6-四氟苯基)酯TFP-PEG25-TFP,产率79%。LC/MS[M+H]<sup>+</sup> 1515.68(计算值);LC/MS[M+H]<sup>+</sup> 1516.00(观测值)。

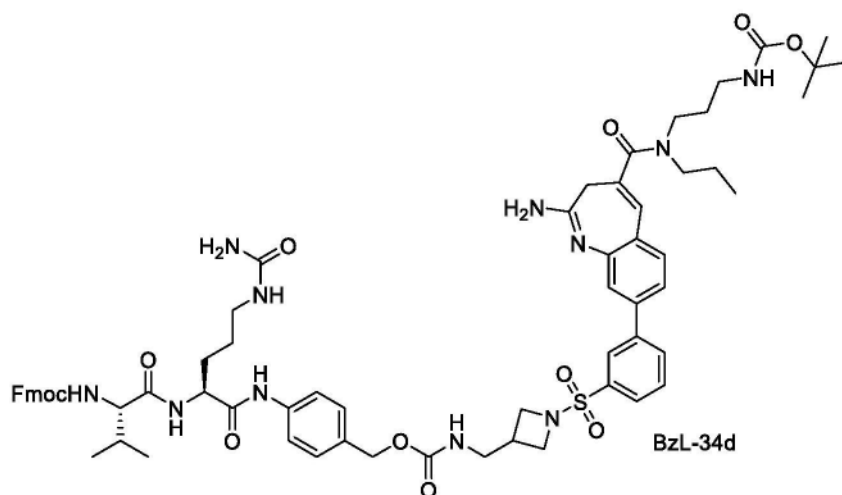
[1175] 向小瓶中装入含2-氨基-N-(3-氨基丙基)-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-N-丙基-3H-1-苯并氮杂-4-甲酰胺Bz-17(0.0275mmol)、TFP-PEG25-TFP(0.0275mmol)、可力丁(0.0825mmol)的300 $\mu$ L DMF。使反应维持5小时,然后通过利用含有0.1%三氟乙酸的乙腈:水的25-75%梯度进行反相制备型HPLC来纯化。合并经纯化的级分并冻干,得到8.2mg 84-(2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂-4-羰基)-79-氧代-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十五氧杂-80,84-二氮杂八十七烷酸2,3,5,6-四氟苯酯BzL-33,产率25%。LC/MS[M+H]<sup>+</sup> 1874.9(计算值);LC/MS[M+H]<sup>+</sup> 1874.9(观测值)。

[1176] 实施例54合成BzL-34

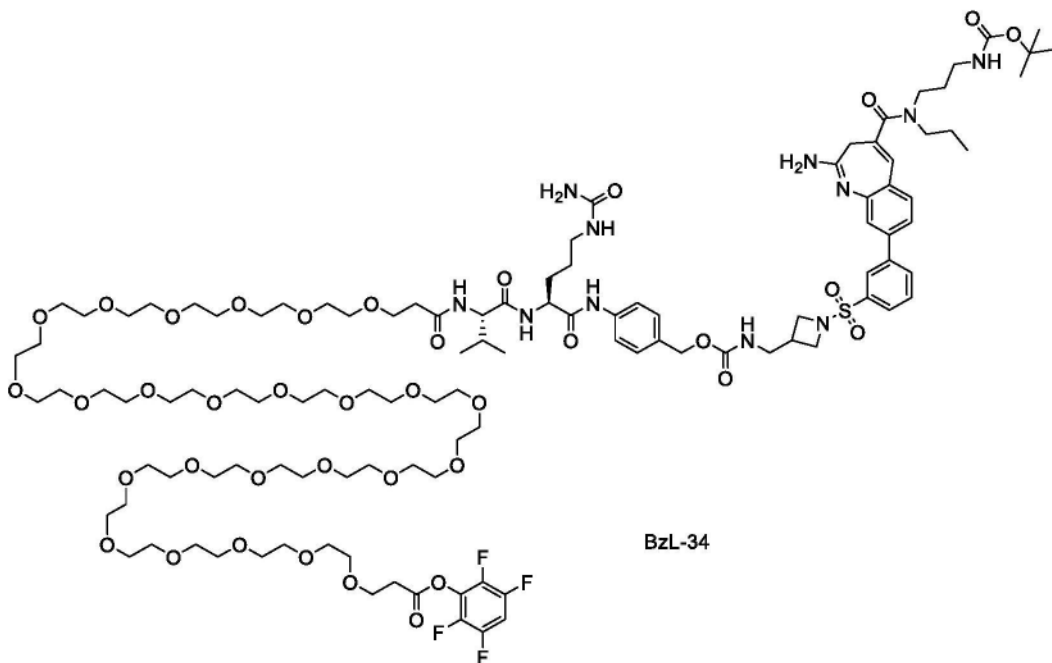
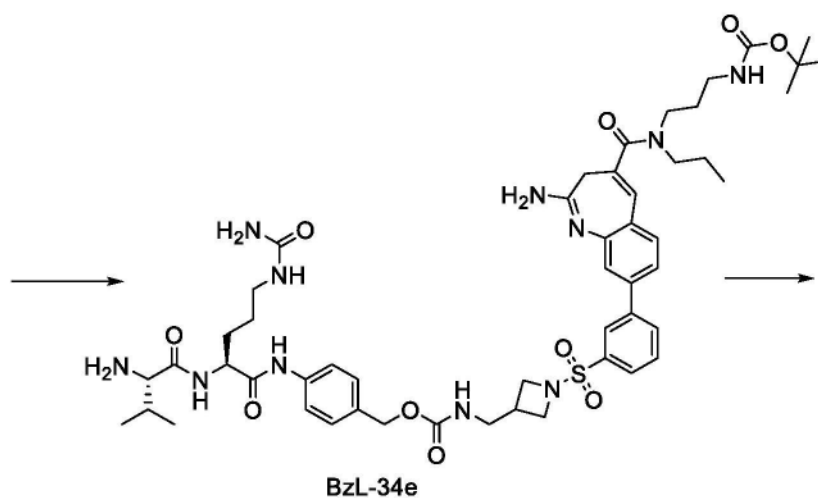


[1177]





[1178]



[1179] 制备BzL-34b:在15℃下于N<sub>2</sub>下向N-[3-[(2-氨基-8-溴-3H-1-苯并氮杂-4-羰基)-丙基-氨基]丙基]氨基甲酸叔丁酯BzL-34a (0.80g, 1.67mmol, 1.0当量) 于二噁烷 (10mL) 中

的混合物中一次性添加4,4,4',4',5,5,5',5'-八甲基-2,2'-双(1,3,2-二氧杂硼烷)、 $\text{Pin}_2\text{B}_2$  (509mg, 2.00mmol, 1.2当量)、K<sub>2</sub>OAc (246mg, 2.50mmol, 1.5当量) 和Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (122mg, 167μmol, 0.1当量), 然后在90℃下搅拌12小时。过滤混合物并浓缩, 得到呈黑色固体状的N-[3-[2-氨基-8-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)-3H-1-苯并氮杂-4-羰基]-丙基-氨基]丙基]氨基甲酸叔丁酯BzL-34b (0.90g, 粗物质)。

[1180] 制备BzL-34c: 在15℃下于N<sub>2</sub>下向[1-(3-溴苯基)磺酰基氮杂环丁-3-基]甲胺(0.40g, 1.17mmol, 1当量, HCl)和BzL-34b (493mg, 937μmol, 0.8当量)于二噁烷(4mL)中的混合物中添加K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (728mg, 5.27mmol, 4.5当量)于H<sub>2</sub>O (0.4mL)和Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (85.7mg, 117μmol, 0.1当量)中的溶液, 然后在90℃下搅拌2小时。过滤混合物并浓缩。通过制备型HPLC(柱: Welch Xtimate C18 100\*25mm\*3μm; 流动相: [水(0.1%TFA)-ACN]; B%: 20%-45%, 10.5分钟)纯化残余物, 得到呈白色固体状的N-[3-[2-氨基-8-[3-[3-(氨基甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮杂-4-羰基]-丙基-氨基]丙基]氨基甲酸叔丁酯BzL-34c (0.223g, 357μmol, 产率30.5%)。 <sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz) δ8.14-8.07 (m, 2H), 7.92 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.86-7.81 (m, 1H), 7.79-7.70 (m, 3H), 7.12 (s, 1H), 3.96 (t, J=8.4Hz, 2H), 3.65 (dd, J=5.2, 8.4Hz, 2H), 3.58-3.42 (m, 4H), 3.37 (s, 2H), 3.06 (d, J=7.2Hz, 4H), 1.90-1.78 (m, 2H), 1.74-1.64 (m, 2H), 1.44 (s, 9H), 0.96-0.90 (m, 3H)。LC/MS[M+H]<sup>+</sup>625.3 (计算值); LC/MS[M+H]<sup>+</sup>625.0 (观测值)。

[1181] 制备BzL-34d: 在15℃下向BzL-34c (0.18g, 288μmol, 1.0当量)和碳酸[4-[(2S)-2-[(2S)-2-(9H-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲酯(4-硝基苯基)酯(176.7mg, 230μmol, 0.8当量)于DMF(2mL)中的混合物中一次性添加DIEA(74.5mg, 576μmol, 100μL, 2.0当量)。在相同温度下搅拌混合物0.5小时。然后将其过滤并且通过制备型HPLC(柱: Welch Xtimate C18 150\*25mm\*5μm; 流动相: [水(10mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>)-ACN]; B%: 55%-75%, 10.5分钟)纯化, 得到呈黄色固体状的N-[1-[3-[2-氨基-4-[3-(叔丁氧基羰基氨基)丙基-丙基-氨基甲酰基]-3H-1-苯并氮杂-8-基]苯基]磺酰基氮杂环丁-3-基]甲基]氨基甲酸[4-[(2S)-2-[(2S)-2-(9H-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲酯BzL-34d (0.024g, 19.16μmol, 产率6.65%)。 <sup>1</sup>H NMR (MeOH, 400MHz) δ8.04 (s, 1H), 7.95 (d, J=6.4Hz, 1H), 7.81-7.79 (m, 3H), 7.73 (d, J=7.6Hz, 1H), 7.65 (t, J=6.8Hz, 2H), 7.54 (d, J=8.0Hz, 2H), 7.48-7.43 (m, 2H), 7.41-7.33 (m, 3H), 7.32-7.27 (m, 2H), 7.20 (d, J=8.0Hz, 2H), 6.91 (s, 1H), 4.59 (s, 2H), 4.52 (s, 1H), 4.42-4.32 (m, 2H), 4.24-4.17 (m, 1H), 3.95 (d, J=7.2Hz, 1H), 3.86-3.77 (m, 2H), 3.58-3.47 (m, 4H), 3.46-3.39 (m, 2H), 3.19-3.02 (m, 6H), 2.62 (d, J=7.6Hz, 1H), 2.13-2.01 (m, 1H), 1.97-1.80 (m, 3H), 1.66 (s, 3H), 1.57 (s, 2H), 1.49-1.28 (m, 8H), 1.00-0.95 (m, 10H)。LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1252.6 (计算值); LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1252.2 (观测值)。

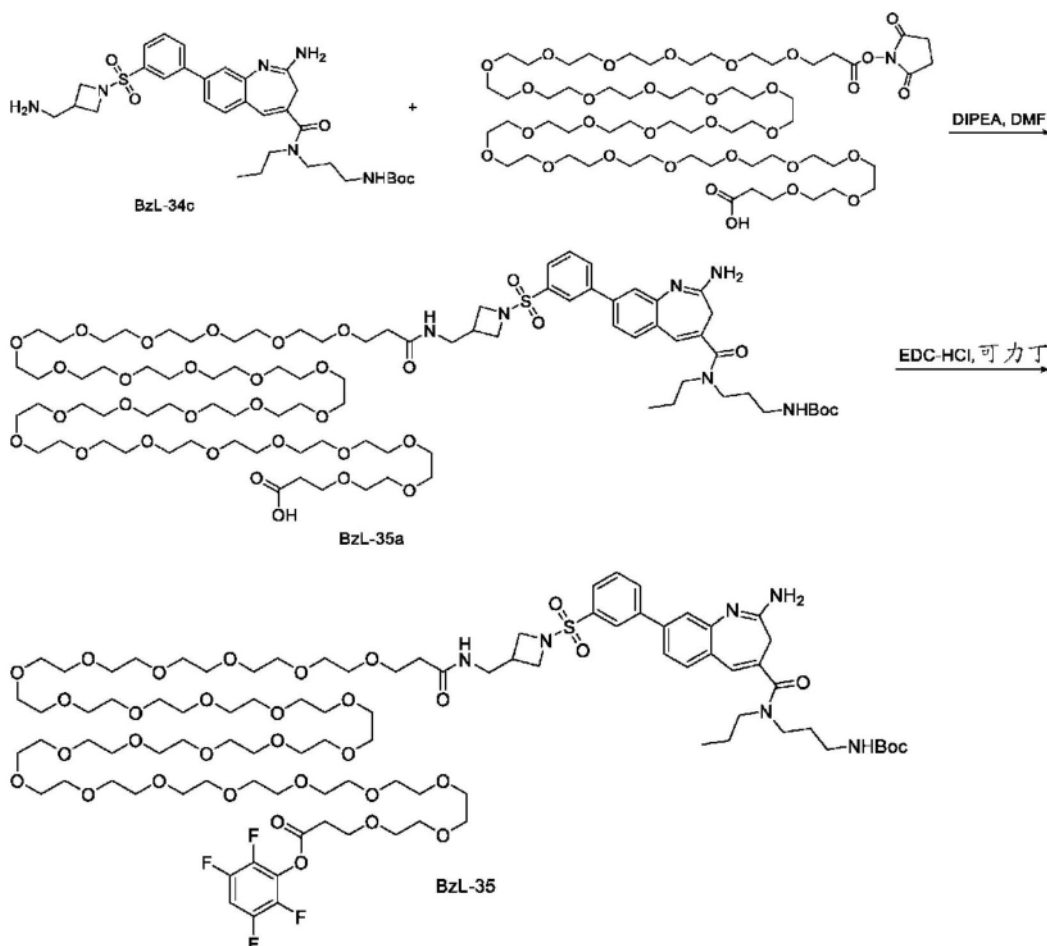
[1182] 制备BzL-34e: 向小瓶中装入Bz-34d (20mg, 0.016mmol)、二乙胺(0.08mmol)和150μL DMF。使反应维持6小时, 然后减压浓缩, 得到((1-((3-(2-氨基-4-((3-((叔丁氧基羰基)氨基)丙基)(丙基)氨基甲酰基)-3H-苯并[b]氮杂-8-基)苯基)磺酰基)氮杂环丁-3-基)甲基)氨基甲酸4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苯甲酯BzL-34e, 其未经进一步纯化即用于后续步骤中。

[1183] 制备BzL-34: 使用针对BzL-33所描述的程序, 获得(6S, 9S)-1-氨基-6-((4-



(((((1-((3-(2-氨基-4-((3-((叔丁氧基羰基)氨基)丙基)(丙基)氨基甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-8-基)苯基)磺酰基)氮杂环丁-3-基)甲基)氨基甲酰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酰基)-9-异丙基-1,8,11-三氧代-14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71,74,77,80,83,86-二十五氧杂-2,7,10-三氮杂八十九烷-89-酸2,3,5,6-四氟苯酯 BzL-34。LC/MS[M+H]2379.2(计算值);LC/MS[M+2H/2]1190.1(观测值)。

[1184] 实施例55合成BzL-35

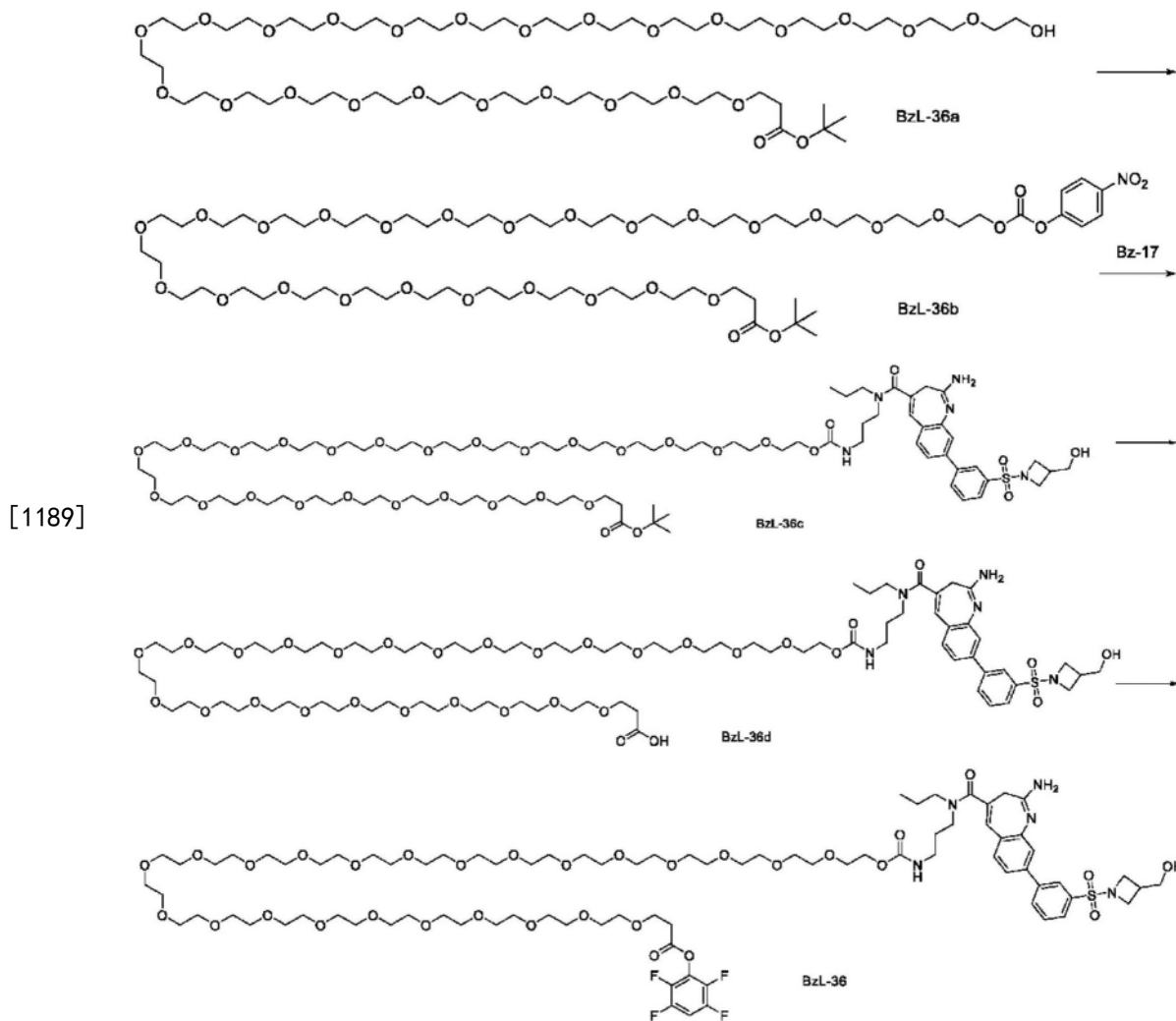


[1186] 制备BzL-35a:将(3-(2-氨基-8-(3-((3-(氨基甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-N-丙基-3H-苯并[b]氮呋-4-甲酰胺基)丙基)氨基甲酸叔丁酯BzL-34c(0.04g, 0.064mmol, 1当量)和79-((2,5-二氧化吡咯烷-1-基)氧基)-79-氧代-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十五氧杂七十九烷酸(0.084mg, 0.064mmol, 1当量)与二异丙基乙胺(0.033ml, 0.192mmol, 3当量)一起溶解于DMF中。通过LCMS监测反应并且通过HPLC纯化,得到1-(1-((3-(2-氨基-4-((3-((叔丁氧基羰基)氨基)丙基)(丙基)氨基甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-8-基)苯基)磺酰基)氮杂环丁-3-基)-3-氧代-6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75,78-二十五氧杂-2-氮杂八十一烷-81-酸BzL-35a(0.056, 0.031mmol, 48%)。LC/MS[M+H]1825.99(计算值);LC/MS[M+H]1826.24(观测值)。

[1187] 制备BzL-35:将BzL-35a(0.060g, 0.033mmol, 1当量)和2,3,5,6-四氟苯酚TFP(0.011g, 0.065mmol, 2当量)溶解于1ml DMF中。添加可力丁2,4,6-三甲基吡啶(0.022ml, 0.16mmol, 5当量),继而添加N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐EDC-HCl CAS

登记号25952-53-8 (0.019g, 0.098mmol, 3当量)。在室温下搅拌反应物并且通过LCMS监测, 然后浓缩并且通过HPLC纯化, 得到1-(1-((3-(2-氨基-4-((3-((叔丁氧基羰基)氨基)丙基)(丙基)氨甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-8-基)苯基)磺酰基)氮杂环丁-3-基)-3-氧代-6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75,78-二十五氧杂-2-氮杂八十一烷-81-酸2,3,5,6-四氟苯酯BzL-35 (0.027g, 0.014mmol, 42%)。LC/MS [M+H] 1973.98 (计算值); LC/MS [M+H] 1974.62 (观测值)。

[1188] 实施例56合成BzL-36:



[1190] 制备BzL-36b: 向小瓶中装入1-羟基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72-二十四氧杂七十五烷-75-酸叔丁酯BzL-36a (148mg, 0.123mmol)、二异丙基乙胺 (0.369mmol) 和0.6mL无水DMF。将小瓶冷却至0℃, 然后逐份添加氯甲酸4-硝基苯酯 (0.123mmol)。将反应物升温至室温并且维持3小时, 然后通过利用含有0.1%三氟乙酸的乙腈: 水的25-75%梯度进行反相制备型HPLC来纯化。合并经纯化的级分并冻干, 得到42.5mg 1-(4-硝基苯氧基)-1-氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71,74-二十五氧杂七十七烷-77-酸叔丁酯BzL-36b。LC/MS [M+H] 1368.7 (计算值); LC/MS [M+H] 1368.7 (观测值)。

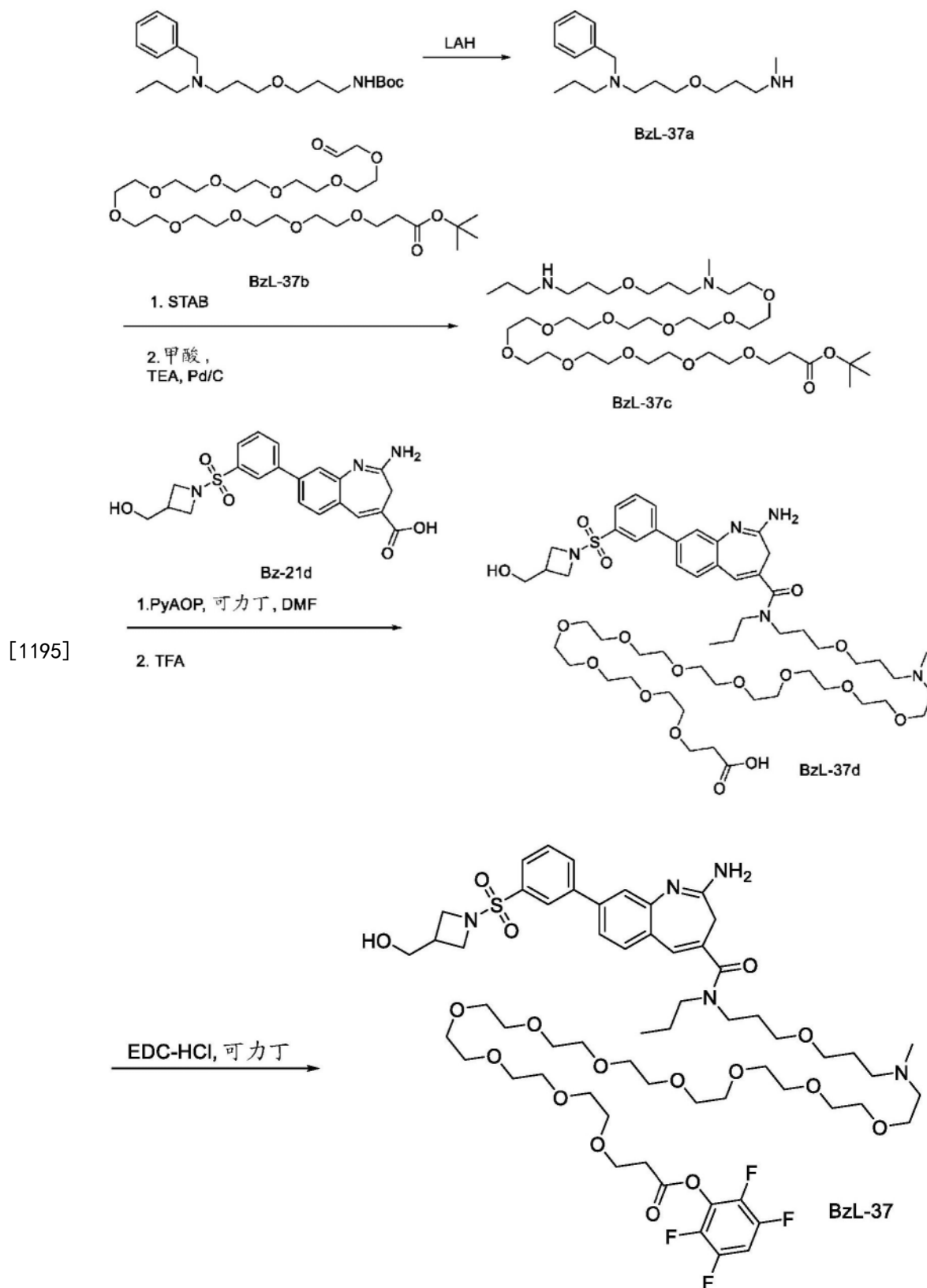
[1191] 制备BzL-36c: 向小瓶中装入Bz-17 (0.0275mmol)、BzL-36b (0.0275mmol)、HOAT (0.02mmol)、二异丙基乙胺 (0.0825mmol)、250μL DCM和250μL DMF。维持反应直至通过LCMS

显示所有起始物质都消耗。通过利用含有0.1%三氟乙酸的乙腈:水的25-75%梯度进行反相制备型HPLC来纯化粗反应物。合并经纯化的级分并冻干,得到22.5mg 82-(2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-3H-苯并[b]氮呋-4-羰基)-77-氧代-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十五氧杂-78,82-二氮杂八十五烷酸叔丁酯BzL-36c。LC/MS[M+H] 1754.9(计算值);LC/MS[M+H] 1754.9(观测值)。

[1192] 制备BzL-36d:向小瓶中装入BzL-36c(0.0128mmol)、1mL DCM和0.2mL三氟乙酸。使反应维持3小时,然后减压浓缩。将所得残余物与甲苯共沸三次,得到82-(2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-3H-苯并[b]氮呋-4-羰基)-77-氧代-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十五氧杂-78,82-二氮杂八十五烷酸BzL-36d,其立即用于后续步骤中。

[1193] 制备BzL-36:向小瓶中装入BzL-36d(8.9mg,0.005mmol)、2,3,5,6-四氟苯酚(1.8mg,0.011mmol)、可力丁(2.2μL,0.016mmol)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(1mg,0.005mmol)和100μLDMF。搅拌反应物6小时,然后通过利用含有0.1%三氟乙酸的乙腈:水的25-75%梯度进行反相制备型HPLC来纯化。合并经纯化的级分并冻干,得到6.3mg 82-(2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-3H-苯并[b]氮呋-4-羰基)-77-氧代-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十五氧杂-78,82-二氮杂八十五烷酸2,3,5,6-四氟苯酯BzL-36。LC/MS[M+H] 1846.9(计算值);LC/MS[M+H] 1846.9(观测值)。

[1194] 实施例57合成BzL-37



[1196] 制备BzL-37a: 将(3-(3-(苯甲基(丙基(氨基)丙氧基)丙基)氨基甲酸叔丁酯(0.032g, 0.088mmol, 1当量)溶解于THF中。添加氢化锂铝(0.01g, 0.26mmol, 3当量)并且将反应物加热至60℃。浓缩反应物并且通过HPLC纯化, 得到N-苯甲基-3-(3-(甲基氨基)丙氧基)-N-丙基丙-1-胺BzL-37a(0.01g, 0.036mmol, 41%)。LC/MS[M+H]<sup>+</sup> 279.24(计算值); LC/MS

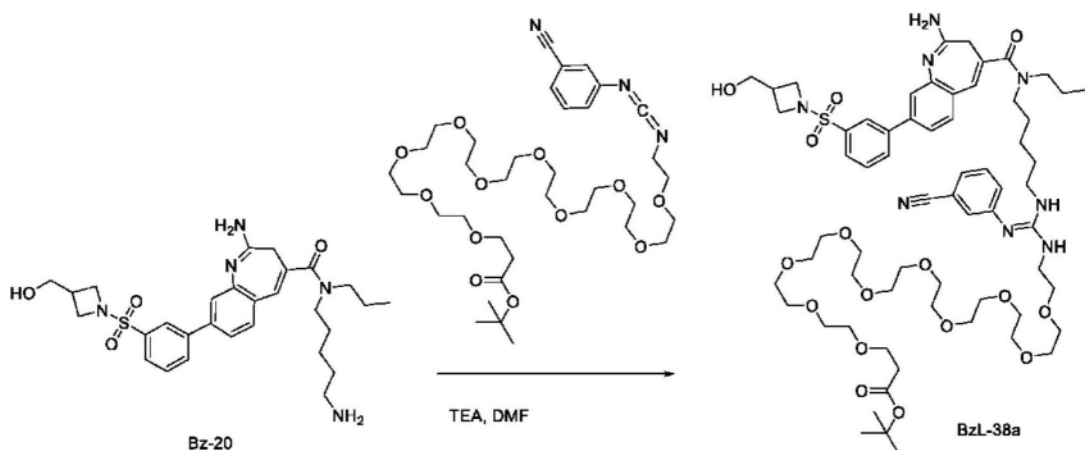
[M+H] 279.33 (观测值)。

[1197] 制备BzL-37c:将BzL-37a (0.01g, 0.036mmol, 1当量) 和1-氧代-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30-十氧杂三十三烷-33-酸酯BzL-37b (0.02g, 0.036mmol, 1当量) 溶解于DCM中。添加三乙酰氧基硼氢化钠STAB (0.022g, 0.11mmol, 3当量) 并且在室温下搅拌反应物。浓缩溶液并且通过HPLC纯化。将经纯化的产物与三乙胺一起溶于甲醇中。添加甲酸, 继而添加10wt% Pd/C, 并且将反应物加热至60℃。起始物质消耗后, 过滤反应混合物并浓缩, 得到34-甲基-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,38-十一氧杂-34,42-二氮杂四十五烷酸叔丁酯BzL-37c (0.007g, 0.0092mmol, 26%)。LC/MS [M+H] 757.74 (计算值); LC/MS [M+H] 757.85 (观测值)。

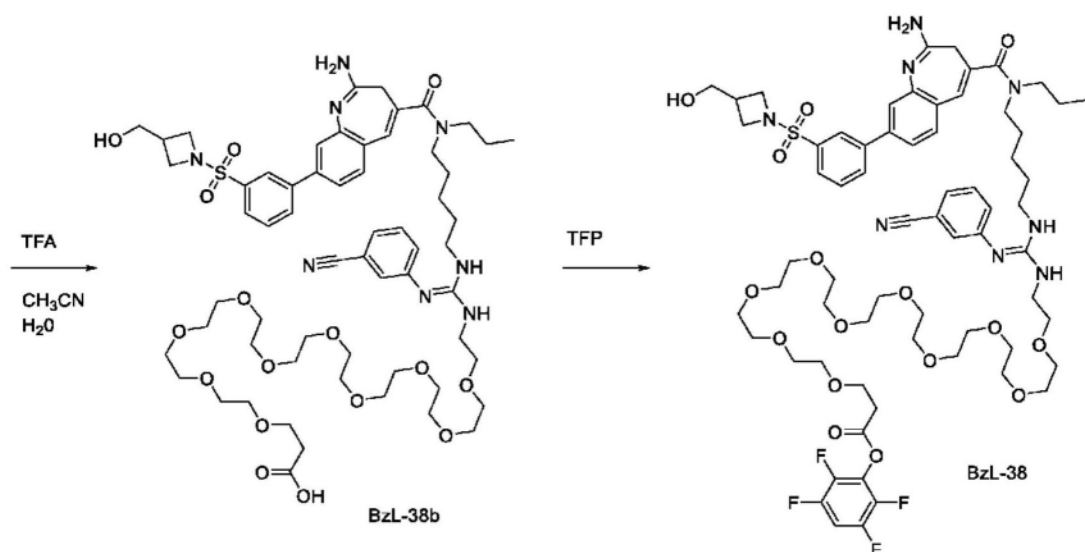
[1198] 制备BzL-37d:将2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-3H-苯并[b]氮呋-4-甲酸Bz-21d (0.0040g, 0.0092mmol, 1当量)、BzL-37c (0.007g, 0.0092mmol, 1当量) 和可力丁 (0.004ml, 0.028mmol, 3当量) 溶解于DMF中。添加PyAOP (0.0072g, 0.014mmol, 1.5当量) 并且在室温下搅拌混合物。完成时, 浓缩反应混合物并且通过RP-HPLC纯化。浓缩经分离的产物, 溶解于最少量的TFA中, 并且在室温下静置15分钟。然后浓缩溶液并且通过RP-HPLC纯化, 得到42-(2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-3H-苯并[b]氮呋-4-羧基)-34-甲基-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,38-十一氧杂-34,42-二氮杂四十五烷酸BzL-37d (0.004g, 0.0036mmol, 39%)。LC/MS [M+H] 1110.59 (计算值); LC/MS [M+H] 1110.93 (观测值)。

[1199] 制备BzL-37:将BzL-37d (0.004g, 0.0036mmol, 1当量) 和TFP (0.0033g, 0.018mmol, 5当量) 溶解于1ml DMF中。添加可力丁 (0.005ml, 0.036mmol, 10当量), 继而添加EDC-HCl (0.0035g, 0.018mmol, 5当量)。在室温下搅拌反应物并且通过LCMS监测, 然后浓缩并且通过HPLC纯化, 得到42-(2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-3H-苯并[b]氮呋-4-羧基)-34-甲基-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,38-十一氧杂-34,42-二氮杂四十五烷酸2,3,5,6-四氟苯酯BzL-37 (0.0016g, 0.0013mmol, 35%)。LC/MS [M+H] 1258.58 (计算值); LC/MS [M+H] 1258.96 (观测值)。

[1200] 实施例58合成BzL-38



[1201]

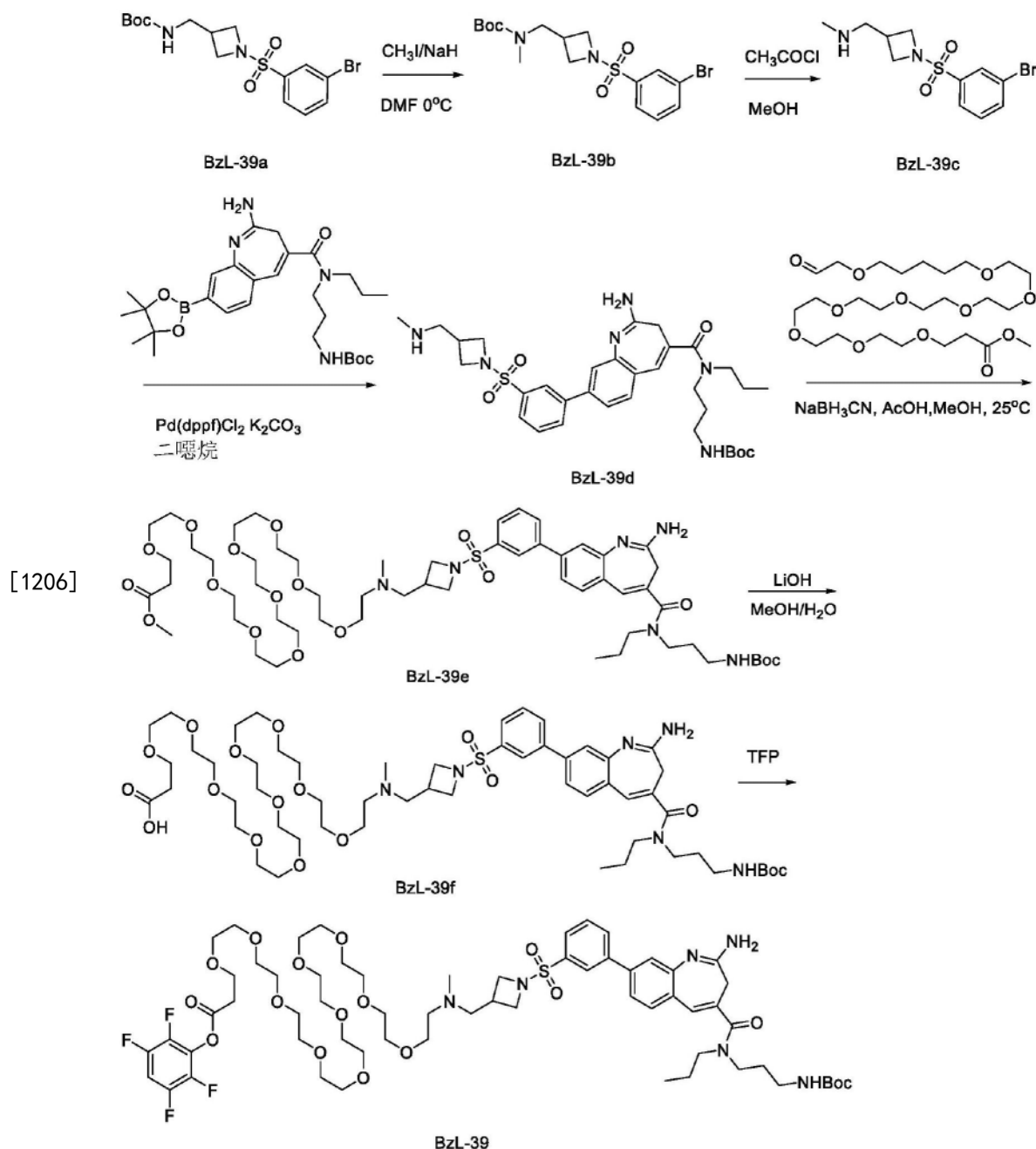


[1202] 制备BzL-38a:使用与合成BzL-42所描述相同的方法制备此物质。LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 1265.7 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 1265.7 (观测值)。

[1203] 制备BzL-38b:使用与合成BzL-42所描述相同的方法制备此物质。LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 1209.6 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 1209.6 (观测值)。

[1204] 制备BzL-38:使用与合成BzL-42所描述相同的方法制备此物质。LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 1357.6 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 1357.6 (观测值)。

[1205] 实施例59合成BzL-39



[1207] 制备BzL-39b:向N-[[1-(3-溴苯基)磺酰基氮杂环丁-3-基]甲基]氨基甲酸叔丁酯BzL-39a (1.0g, 2.47mmol, 1.0当量)于DMF (10mL) 中的溶液中逐份添加氢化钠NaH (148mg, 3.70mmol, 纯度60%, 1.5当量) 并且在0℃下搅拌0.5小时。然后添加碘甲烷CH<sub>3</sub>I (1.05g, 7.40mmol, 461uL, 3.0当量), 然后在25℃下搅拌1小时。用水淬灭反应物并且用EtOAc (30mL x 3) 萃取。用盐水洗涤有机层, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并浓缩, 得到呈黄色油状的N-[[1-(3-溴苯基)磺酰基氮杂环丁-3-基]甲基]-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯BzL-39b (1.3g, 粗物质)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) δ 7.99 (t, J=2.0Hz, 1H), 7.80-7.75 (m, 2H), 7.47 (t, J=8.0Hz, 1H), 3.85 (t, J=7.6Hz, 2H), 3.57 (t, J=7.2Hz, 2H), 3.29 (d, J=7.2Hz, 2H), 2.75 (s, 3H), 2.74-2.70 (m, 1H), 1.43 (s, 9H), 1.26 (t, J=7.2Hz, 3H)。

[1208] 制备BzL-39c:在25℃下向BzL-39b (1.3g, 3.10mmol, 1.0当量)于MeOH (20mL) 中的溶液中添加乙酰氯 (1.22g, 15.5mmol, 1.11mL, 5.0当量) 并且在50℃下搅拌1小时。然后浓缩

混合物,得到呈白色固体状的1-[1-(3-溴苯基)磺酰基氮杂环丁-3-基]-N-甲基-甲胺BzL-39c (1g,粗物质)。<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz)  $\delta$  8.00-7.98 (m, 1H), 7.93 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.84 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.64-7.59 (m, 1H), 3.94 (t, J=8.4Hz, 2H), 3.64 (dd, J=5.6, 8.4Hz, 2H), 3.14 (d, J=7.6Hz, 2H), 2.84-2.77 (m, 1H), 2.66 (s, 3H)。

[1209] 制备BzL-39d:在15℃下于N<sub>2</sub>下向N-[3-[[2-氨基-8-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)-3H-1-苯并氮呋-4-羰基]-丙基-氨基]丙基]氨基甲酸叔丁酯(0.44g, 835 $\mu$ mol, 1.0当量)和BzL-39c (357mg, 1.00mmol, 1.2当量, HCl)于二噁烷(4mL)和H<sub>2</sub>O (0.5mL)中的混合物中添加Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>(30.6mg, 41.79 $\mu$ mol, 0.05当量)和K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(231.0mg, 1.67mmol, 2.0当量)。在90℃下搅拌混合物3小时。将反应物冷却至15℃,然后过滤。将滤液倾倒入冰水(30mL)中并且搅拌5分钟。用乙酸乙酯(20mL x 3)萃取水相并且用盐水(20mL)洗涤经合并的有机相,用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且真空浓缩。通过快速硅胶色谱法(ISCO®; 40g SepaFlash®二氧化硅快速柱,洗脱剂0至100%乙酸乙酯/石油醚至EtOAc/MeOH=3/1梯度,在60mL/min下)纯化残余物,得到呈黄色固体状的N-[3-[[2-氨基-8-[3-[3-(甲基氨基甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-羰基]-丙基-氨基]丙基]氨基甲酸叔丁酯BzL-39d(0.32g, 500.92 $\mu$ mol, 产率59.94%)。

[1210] 制备BzL-39e:在25℃下向BzL-39d(0.2g, 313 $\mu$ mol, 1.0当量)和3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-氧代乙氧基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸甲酯(170mg, 313 $\mu$ mol, 1.0当量)于MeOH(20mL)中的混合物中添加乙酸AcOH(94.0mg, 1.57mmol, 5.0当量)。在此温度下搅拌混合物10分钟,然后添加氰基硼氢化钠NaBH<sub>3</sub>CN(39.3mg, 626 $\mu$ mol, 2.0当量)并且在25℃下搅拌混合物18小时。浓缩反应混合物,得到粗产物3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[1-[3-[2-氨基-4-[3-(叔丁氧基羰基氨基)丙基-丙基-氨基甲酰基]-3H-1-苯并氮呋-8-基]苯基]磺酰基氮杂环丁-3-基]甲基-甲基-氨基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸甲酯BzL-39e(0.36g,粗产物)。

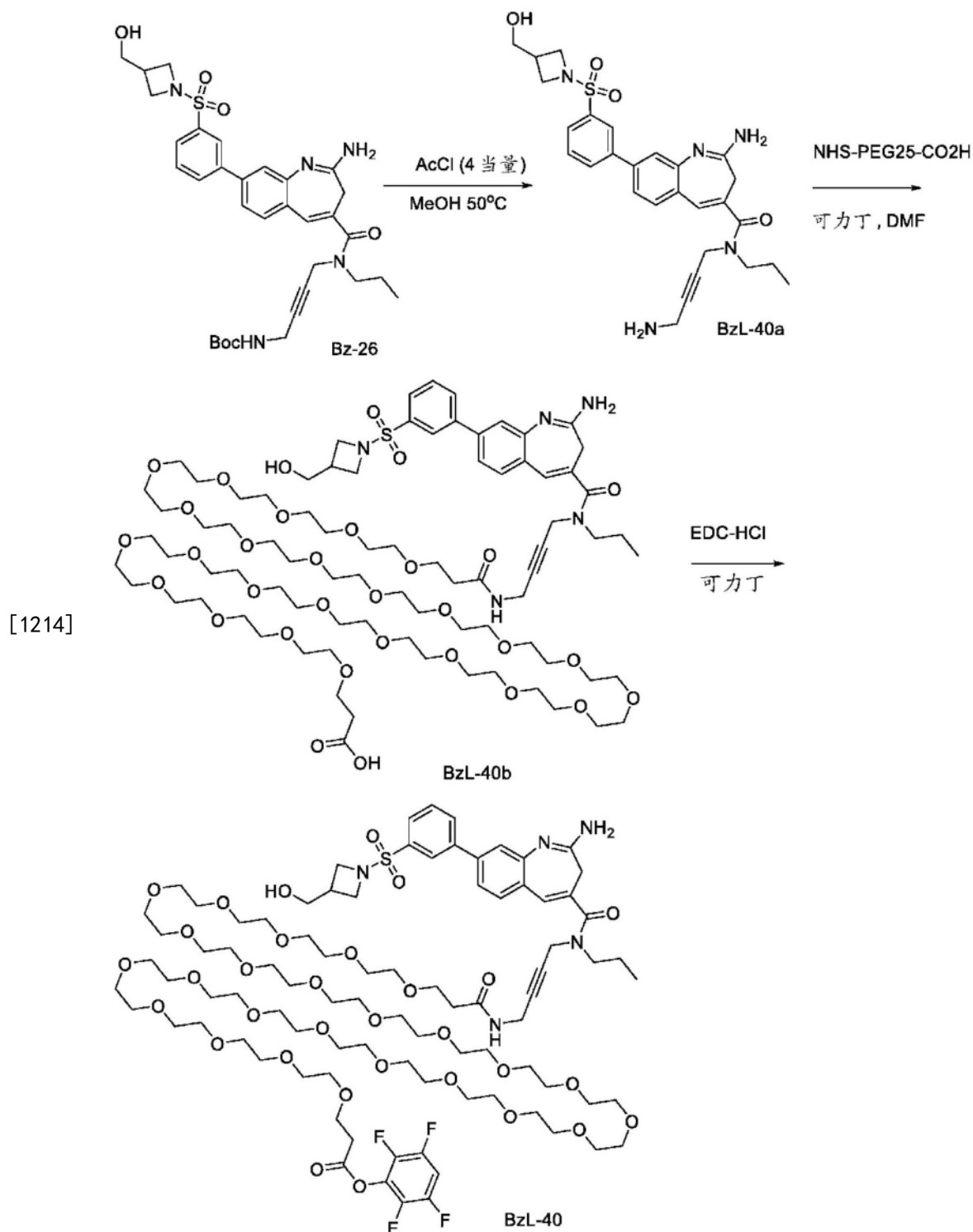
[1211] 制备BzL-39f:在25℃下向BzL-39e(0.36g, 308 $\mu$ mol, 1.0当量)于MeOH(20mL)中的混合物中添加水合氢氧化锂LiOH·H<sub>2</sub>O(130mg, 3.09mmol, 10.0当量)于H<sub>2</sub>O(2mL)中的混合物,然后在25℃下搅拌18小时。用HCl水溶液(4M)淬灭反应混合物直至pH=7并且在40℃下浓缩。通过制备型HPLC(柱:Welch Xtimate C18100\*25mm\*3 $\mu$ m;流动相:[水(0.1%TFA)-ACN];B%:20%-40%,12分钟)纯化残余物,得到呈浅黄色油状的3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[1-[3-[2-氨基-4-[3-(叔丁氧基羰基氨基)丙基-丙基-氨基甲酰基]-3H-1-苯并氮呋-8-基]苯基]磺酰基氮杂环丁-3-基]甲基-甲基-氨基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸BzL-39f(56mg, 48.64 $\mu$ mol, 产率16%)。<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz)  $\delta$  8.19-8.03 (m, 2H), 7.97-7.88 (m, 1H), 7.88-7.82 (m, 1H), 7.82-7.76 (m, 2H), 7.73-7.71 (m, 1H), 7.13 (s, 1H), 4.02 (t, J=8.0Hz, 2H), 3.79 (t, J=4.8Hz, 2H), 3.75-3.68 (m, 4H), 3.64-3.45 (m, 42H), 3.38 (s, 2H), 3.17-2.94 (m, 4H), 2.86 (s, 3H), 2.53 (t, J=6.4Hz, 2H), 1.89-1.80 (m, 2H), 1.75-1.63 (m, 2H), 1.47-1.42 (m, 9H), 1.02-0.86 (m, 3H)。LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1151.61(计算值);LC/MS[M+2H]<sup>2+</sup>576.5(观测值)。

[1212] 制备BzL-39。将BzL-39f(0.056g, 0.049mmol, 1当量)和TFP(0.040g, 0.24mmol, 5当量)溶解于2mL DMF中。添加可力丁(0.064mL, 0.49mmol, 10当量),继而添加EDC-HCl



(0.047g, 0.24mmol, 5当量)。在室温下搅拌反应物并且通过LCMS监测, 然后浓缩并且通过HPLC纯化, 得到1-(1-((3-(2-氨基-4-((3-((叔丁氧基羰基)氨基)丙基)(丙基)氨甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-8-基)苯基)磺酰基)氮杂环丁-3-基)-2-甲基-5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十氧杂-2-氮杂三十五烷-35-酸2,3,5,6-四氟苯酯BzL-39 (0.027g, 0.021mmol, 42%)。LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1299.61 (计算值); LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1300.00 (观测值)。

[1213] 实施例60合成BzL-40



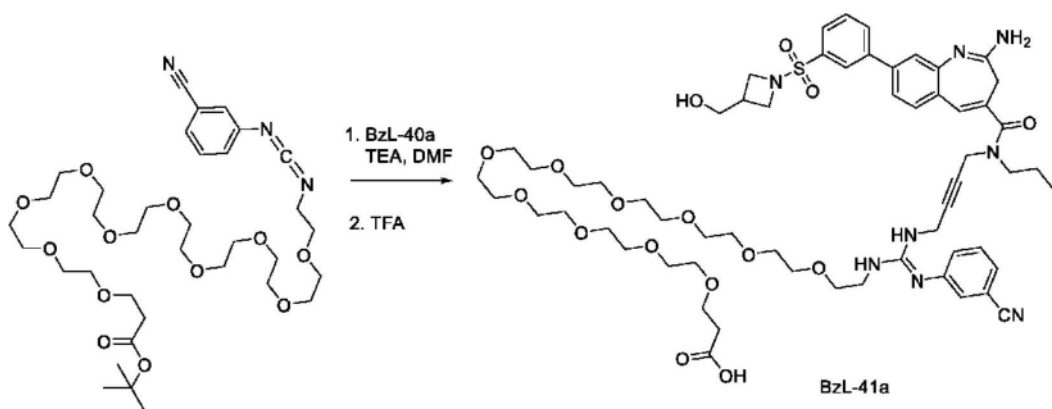
[1215] 制备BzL-40a: 在25℃下于N<sub>2</sub>下向N-[4-[[2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-

基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-羰基]-丙基-氨基]丁-2-炔基]氨基甲酸叔丁酯Bz-26 (800mg, 1.26mmol, 1.0当量) 于MeOH (20mL) 中的混合物中添加乙酰氯 (395mg, 5.03mmol, 360uL, 4.0当量), 然后在50℃下搅拌1小时。用固体NaHCO<sub>3</sub>淬灭混合物直至pH约为8, 然后过滤并且真空浓缩。通过制备型HPLC (柱: Phenomenex Luna C18 200\*40mm\*10um; 流动相: [水 (10mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>) -ACN]; B%: 10%-40%, 10分钟) 纯化残余物, 得到呈白色固体状的2-氨基-N-(4-氨基丁-2-炔基)-8-[3-[3-(羟甲基) 氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-N-丙基-3H-1-苯并氮呋-4-甲酰胺BzL-40a (220mg, 411umol, 产率32.6%)。<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz) δ 8.12-8.01 (m, 2H), 7.90-7.82 (m, 1H), 7.80-7.72 (m, 1H), 7.56-7.47 (m, 2H), 7.44-7.38 (m, 1H), 7.15 (s, 1H), 4.32 (s, 2H), 3.86 (t, J=8.0Hz, 2H), 3.69-3.47 (m, 6H), 3.41 (d, J=6.4Hz, 2H), 2.64-2.51 (m, 1H), 1.84-1.63 (m, 2H), 0.99-0.91 (m, 3H)。LC/MS [M+H] 536.2 (计算值); LC/MS [M+H] 536.3 (观测值)。

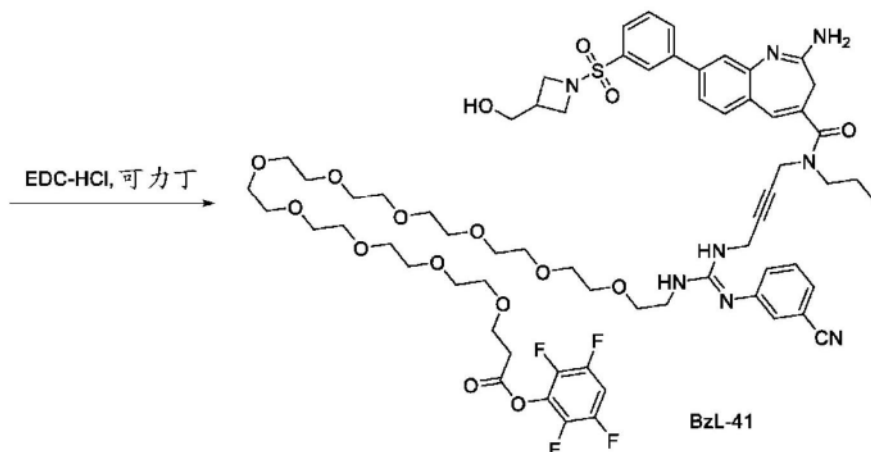
[1216] 制备BzL-40b: 将BzL-40a (0.045g, 0.084mmol, 1当量) 和79-(2,5-二氧代吡咯烷-1-基) 氧基)-79-氧代-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十五氧杂七十九烷酸NHS-PEG25-CO<sub>2</sub>H (0.11g, 0.084mmol, 1当量) 溶解于DMF中, 继而溶解可力丁 (0.054ml, 0.42mmol, 5当量)。通过HPLC纯化反应物, 得到85-(2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基) 氮杂环丁-1-基) 磺酰基) 苯基)-3H-苯并[b]氮呋-4-羰基)-79-氧代-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十五氧杂-80,85-二氮杂八十八-82-炔酸BzL-40b (0.1g, 0.0058mmol, 69%)。LC/MS [M+H] 1736.90 (计算值); LC/MS [M+H] 1737.32 (观测值)。

[1217] 制备BzL-40: 将BzL-40b (0.1g, 0.0058mmol, 1当量) 和TFP (0.014g, 0.086mmol, 1.5当量) 溶解于DMF中。添加可力丁 (0.038ml, 0.29mmol, 5当量), 继而添加EDC-HCl (0.022g, 0.115mmol, 2当量)。在室温下搅拌反应物并且通过LCMS监测, 然后浓缩并且通过HPLC纯化, 得到85-(2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基) 氮杂环丁-1-基) 磺酰基) 苯基)-3H-苯并[b]氮呋-4-羰基)-79-氧代-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十五氧杂-80,85-二氮杂八十八-82-炔酸2,3,5,6-四氟苯酯BzL-40 (0.014g, 0.0076mmol, 13%)。LC/MS [M+H] 1884.90 (计算值); LC/MS [M+H] 1885.44 (观测值)。

[1218] 实施例61合成BzL-41



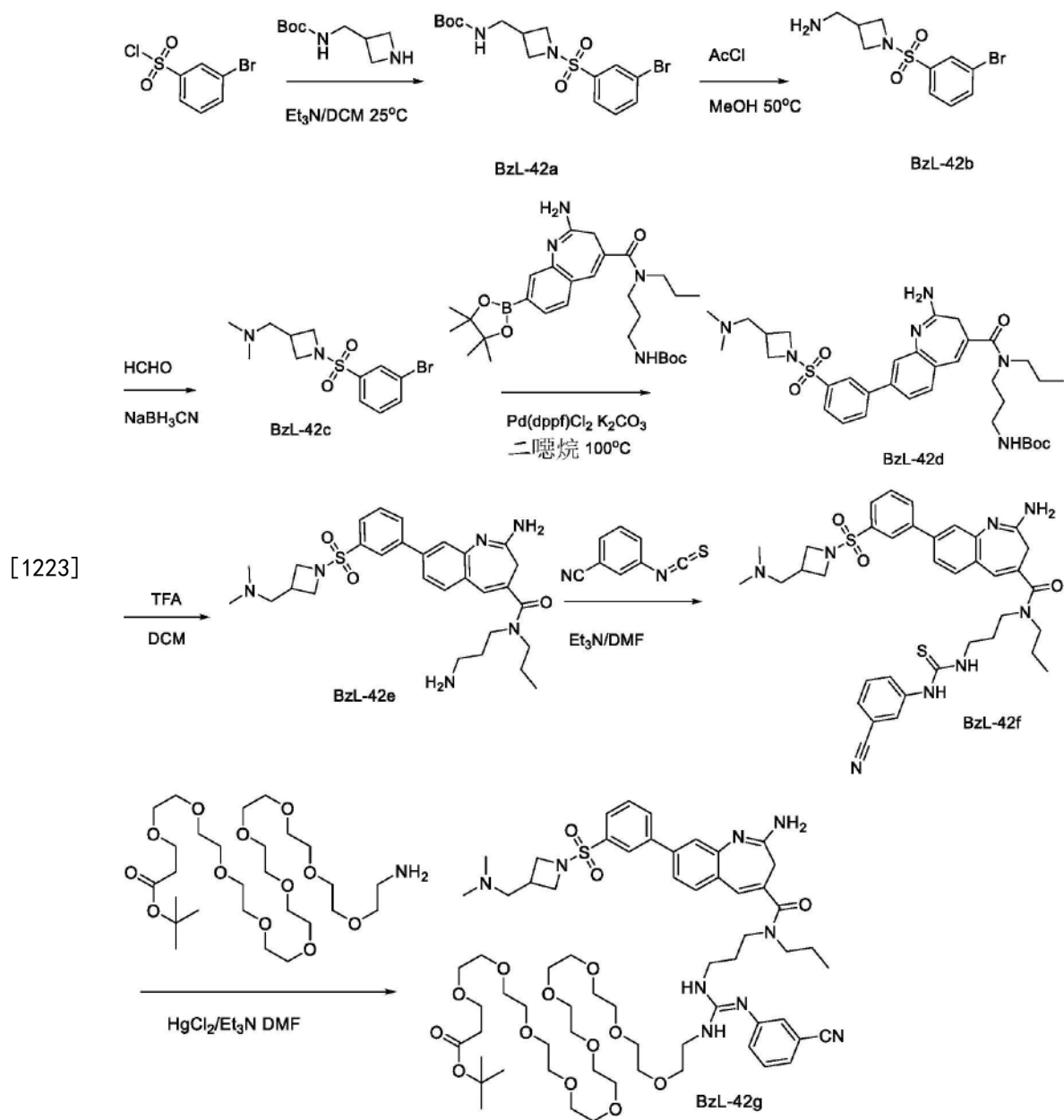
[1219]

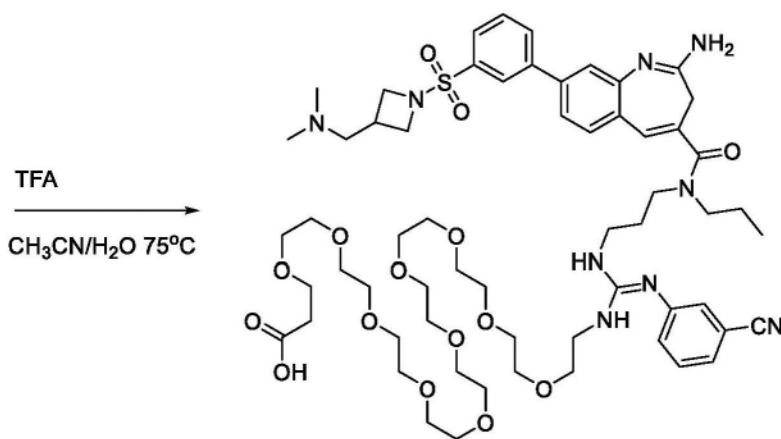


[1220] 制备BzL-41a:将2-氨基-N-(4-氨基丁-2-炔-1-基)-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-N-丙基-3H-苯并[b]氮杂-4-甲酰胺BzL-40a (0.05g, 0.093mmol, 1当量) 和1-((3-氰基苯基)亚胺基)-5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十氧杂-2-氮杂三十五-1-烯-35-酸叔丁酯 (0.066g, 0.093mmol, 1当量) 溶解于DMF中。添加三乙胺 (0.05ml, 0.36mmol, 3.8当量), 并且在周围温度下搅拌反应物。胺起始物质消耗后, 浓缩反应物并且通过HPLC纯化。将经分离的叔丁酯产物溶于最少量的TFA中持续10分钟, 然后浓缩, 得到41-(2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂-4-羰基)-35-((3-氰基苯基)亚胺基)-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31-十氧杂-34,36,41-三氮杂四十四-38-炔酸BzL-41a (0.05g, 0.042mmol, 45%)。LC/MS[M+H] 1191.56 (计算值); LC/MS[M+H] 1192.00 (观测值)。

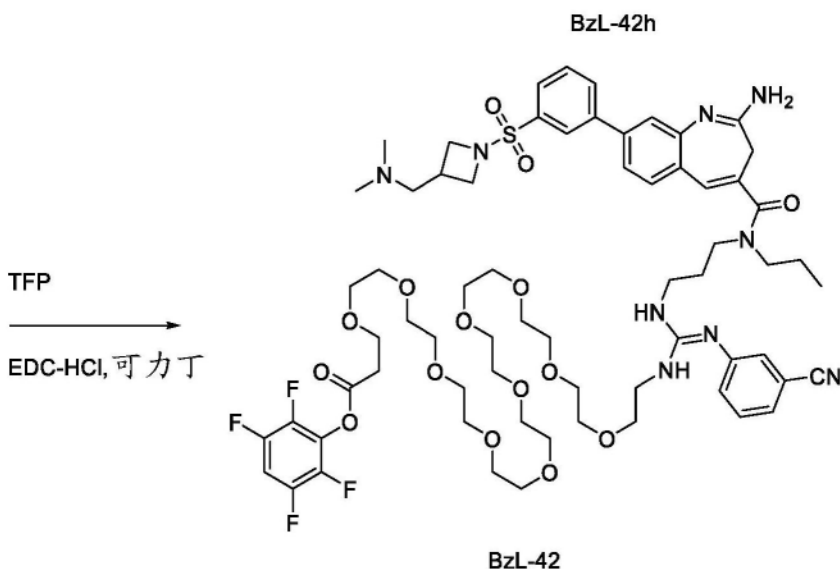
[1221] 制备BzL-41:将BzL-41a (0.05g, 0.042mmol, 1当量) 和TFP (0.01g, 0.063mmol, 1.5当量) 溶解于DMF中。添加可力丁 (0.028ml, 0.21mmol, 5当量), 继而添加EDC-HCl (0.016g, 0.084mmol, 2当量)。在室温下搅拌反应物并且通过LCMS监测, 然后浓缩并且通过HPLC纯化, 得到41-(2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂-4-羰基)-35-((3-氰基苯基)亚胺基)-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31-十氧杂-34,36,41-三氮杂四十四-38-炔酸2,3,5,6-四氟苯酯BzL-41 (0.019g, 0.014mmol, 35%)。LC/MS[M+H] 1339.56 (计算值); LC/MS[M+H] 1340.04 (观测值)。

[1222] 实施例62合成BzL-42





[1224]



[1225] 制备BzL-42a:在0℃下向3-溴苯磺酰氯(8.23g,32.2mmol,4.65mL,1.0当量)和N-(氮杂环丁-3-基甲基)氨基甲酸叔丁酯(6.0g,32.2mmol,1.0当量)于DCM(100mL)中的混合物中添加Et<sub>3</sub>N(6.52g,64.4mmol,8.97mL,2.0当量),然后在此温度下搅拌1小时。用水稀释反应物并且用EtOAc(50mL x 3)萃取。用盐水洗涤有机层,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩,得到呈白色固体状的N-[[1-(3-溴苯基)磺酰基氮杂环丁-3-基]甲基]氨基甲酸叔丁酯BzL-42a(12g,粗物质)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>,400MHz) δ7.99(t,J=1.6Hz,1H),7.78(m,2H),7.47(t,J=8.0Hz,1H),4.63(s,1H),3.85(t,J=8.0Hz,2H),3.54(dd,J=5.6,8.0Hz,2H),3.21-3.16(m,2H),2.67-2.62(m,1H),1.42(s,9H)。LC/MS[M+Na]427.0(计算值);LC/MS[M+Na]427.0(观测值)。

[1226] 制备BzL-42b:在25℃下向BzL-42a(2g,4.93mmol,1.0当量)于MeOH(30mL)中的混合物中添加乙酰氯(1.94g,24.67mmol,1.76mL,5.0当量),然后在此温度下搅拌2小时。浓缩混合物,得到呈白色固体状的[1-(3-溴苯基)磺酰基氮杂环丁-3-基]甲胺BzL-42b(1.5g,粗物质)。<sup>1</sup>H NMR(MeOD,400MHz) δ7.99(t,J=1.6Hz,1H),7.93(d,J=8.0Hz,1H),7.84(d,J=7.2Hz,1H),7.62(t,J=8.0Hz,1H),3.93(t,J=8.4Hz,2H),3.61(m,2H),3.06-3.03(m,2H),2.78-2.66(m,1H)。

[1227] 制备BzL-42c:在25℃下向BzL-42b(4.0g,13.1mmol,1.0当量)于MeOH(40mL)中的混合物中添加Et<sub>3</sub>N(1.99g,19.7mmol,2.74mL,1.5当量)、甲醛(4.25g,52.4mmol,3.90mL,纯

度37%,4.0当量)和 $\text{NaBH}_3\text{CN}$  (1.65g,26.2mmol,2.0当量)并且在25℃下搅拌2小时。用水稀释混合物并且用 $\text{EtOAc}$  (30mL x 3)萃取。用盐水洗涤有机层,经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并浓缩。通过硅胶色谱法(柱高度:250mm,直径:100mm,100-200目硅胶, $\text{EtOAc}$  (1.5% $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ): $\text{MeOH}$ =1/0、1/1)纯化残余物,得到呈黄色油状的1-[1-(3-溴苯基)磺酰基氮杂环丁-3-基]-N,N-二甲基-甲胺 $\text{BzL-42c}$  (1.6g,4.80mmol,产率36.6%)。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{MeOD}$ ,400MHz)  $\delta$ 8.01 (t,  $J$ =1.6Hz,1H),7.96-7.91 (m,1H),7.86 (d,  $J$ =8.0Hz,1H),7.66-7.60 (m,1H),3.98-3.90 (m,2H),3.47 (dd,  $J$ =6.0,8.4Hz,2H),2.74-2.60 (m,1H),2.28 (d,  $J$ =7.6Hz,2H),2.15 (s,6H)。LC/MS [ $\text{M}+\text{H}$ ] 333.0 (计算值);LC/MS [ $\text{M}+\text{H}$ ] 333.0 (观测值)。

[1228] 制备 $\text{BzL-42d}$ :在25℃下于 $\text{N}_2$ 下向 $\text{BzL-42c}$  (299mg,898 $\mu\text{mol}$ ,1.1当量)和N-[3-[[2-氨基-8-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)-3H-1-苯并氮呋-4-羰基]-丙基-氨基]丙基]氨基甲酸叔丁酯 (0.43g,817 $\mu\text{mol}$ ,1.0当量)于二噁烷 (10mL)、 $\text{H}_2\text{O}$  (1mL)中的混合物中添加 $\text{K}_2\text{CO}_3$  (395mg,2.86mmol,3.5当量)、 $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$  (29.9mg,40.8 $\mu\text{mol}$ ,0.05当量),然后在100℃下搅拌2小时。过滤混合物,用水稀释并且用 $\text{EtOAc}$  (30mL x 3)萃取。用盐水洗涤有机层,经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并浓缩。通过硅胶色谱法(柱高度:250mm,直径:100mm,100-200目硅胶,石油醚/乙酸乙酯=1/0、0/1)纯化残余物,得到呈黄色固体状的N-[3-[[2-氨基-8-[3-[3-[(二甲基氨基)甲基]氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-羰基]-丙基-氨基]丙基]氨基甲酸叔丁酯 $\text{BzL-42d}$  (0.3g,459 $\mu\text{mol}$ ,产率56.3%)。

[1229] 制备 $\text{BzL-42e}$ :在25℃下向 $\text{BzL-42d}$  (0.25g,383 $\mu\text{mol}$ ,1.0当量)于DCM (2mL)中的混合物中一次性添加TFA (1.31g,11.5mmol,851 $\mu\text{L}$ ,30.0当量),然后搅拌1小时。浓缩混合物,得到呈黄色油状的2-氨基-N-(3-氨基丙基)-8-[3-[3-[(二甲基氨基)甲基]氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-N-丙基-3H-1-苯并氮呋-4-甲酰胺 $\text{BzL-42e}$  (0.2克,粗物质)。

[1230] 制备 $\text{BzL-42f}$ :在25℃下向 $\text{BzL-42e}$  (0.2g,362 $\mu\text{mol}$ ,1.0当量)于DMF (0.5mL)中的混合物中添加 $\text{Et}_3\text{N}$  (256mg,2.53mmol,353 $\mu\text{L}$ ,7.0当量)和3-异硫氰基苯甲腈 (52.2mg,326 $\mu\text{mol}$ ,0.9当量),然后在此温度下搅拌1小时。过滤混合物并且通过制备型HPLC(柱:Welch Xtimate C18 100\*25mm\*3 $\mu\text{m}$ ;流动相:[水 (0.1%TFA)-ACN];B%:10%-40%,12分钟)纯化滤液,得到呈黄色固体状的2-氨基-N-[3-[(3-氰基苯基)硫代氨基甲酰基氨基]丙基]-8-[3-[3-[(二甲基氨基)甲基]氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-N-丙基-3H-1-苯并氮呋-4-甲酰胺 $\text{BzL-42f}$  (0.18g,252 $\mu\text{mol}$ ,产率69.8%)。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{MeOD}$ ,400MHz)  $\delta$ 8.12-8.06 (m,2H),7.92-7.02 (m,10H),4.01 (t,  $J$ =8.4Hz,2H),3.76-3.40 (m,8H),3.40-3.36 (m,2H),3.34-3.32 (m,2H),3.03-2.91 (m,1H),2.82 (s,6H),2.04 (s,2H),1.77-1.67 (m,2H),0.97 (s,3H)。

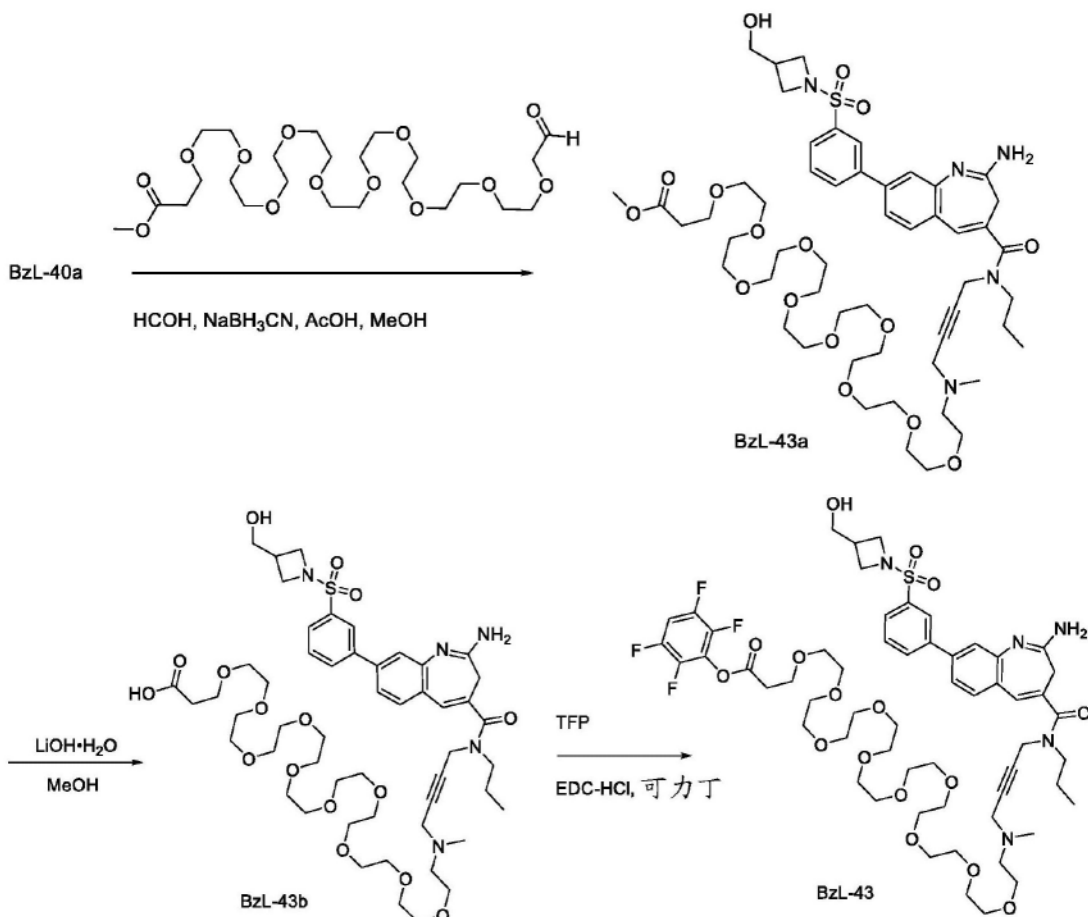
[1231] 制备 $\text{BzL-42g}$ :在25℃下向 $\text{BzL-42f}$  (0.14g,196 $\mu\text{mol}$ ,1.0当量)和3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(Z)-N-[3-[[2-氨基-8-[3-[3-[(二甲基氨基)甲基]氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-羰基]-丙基-氨基]丙基]-N'-(3-氰基

苯基)甲脒基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸叔丁酯BzL-42g (0.14g, 111 $\mu$ mol, 产率56.4%)。

[1232] 制备BzL-42h: 在25℃下向BzL-42g (0.12g, 94.9 $\mu$ mol, 1.0当量) 于H<sub>2</sub>O (2mL) 和CH<sub>3</sub>CN (0.5mL) 中的溶液中添加TFA (325mg, 2.85mmol, 211 $\mu$ L, 30.0当量), 然后在80℃下搅拌1小时。真空浓缩混合物, 得到残余物, 通过制备型HPLC (柱: Xtimate C18100\*30mm\*3 $\mu$ m; 流动相: [水 (0.1% TFA) -ACN]; B%: 5%-35%, 10分钟) 纯化残余物, 得到呈黄色油状的3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(Z)-N-[3-[2-氨基-8-[3-[3-[(二甲基氨基) 甲基] 氮杂环丁-1-基] 磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-羰基]-丙基-氨基] 丙基]-N'-(3-氰基苯基) 甲脒基] 氨基] 乙氧基] 乙氧基] 乙氧基] 乙氧基] 乙氧基] 乙氧基] 乙氧基] 乙氧基] 乙氧基] 乙氧基] 乙氧基] 丙酸BzL-42h (32mg, 26.5 $\mu$ mol, 产率27.9%)。<sup>1</sup>HNMR (MeOD, 400MHz)  $\delta$ 8.16-8.09 (m, 2H), 7.93 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.87-7.81 (m, 1H), 7.81-7.74 (m, 3H), 7.66-7.62 (m, 4H), 7.12 (s, 1H), 4.01 (t, J=8.4Hz, 2H), 3.80-3.66 (m, 10H), 3.66-3.45 (m, 40H), 3.40 (s, 3H), 2.82 (s, 6H), 2.53 (t, J=6.4Hz, 2H), 2.07-2.01 (m, 1H), 1.77-1.67 (m, 2H), 0.98-0.90 (m, 3H)。LC/MS [M+H] 1208.6 (计算值); LC/MS [M+H] 1208.6 (观测值)。

[1233] 制备BzL-42: 将BzL-42h (0.032g, 0.026mmol, 1当量) 和TFP (0.009g, 0.05mmol, 2当量) 溶解于DMF中。添加可力丁 (0.017mL, 0.13mmol, 5当量), 继而添加EDC-HCl (0.015g, 0.079mmol, 3当量)。在室温下搅拌反应物并且通过LCMS监测, 然后浓缩并且通过HPLC纯化, 得到40-(2-氨基-8-(3-((3-((二甲基氨基) 甲基) 氮杂环丁-1-基) 磺酰基) 苯基)-3H-苯并[b]氮呋-4-羰基)-35-((3-氰基苯基) 亚胺基)-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31-十氧杂-34,36,40-三氮杂四十三烷酸2,3,5,6-四氟苯酯 (0.018g, 0.013mmol, 49%)。LC/MS [M+H] 1356.62 (计算值); LC/MS [M+H] 1357.10 (观测值)。

[1234] 实施例63合成BzL-43



[1236] 制备BzL-43a:在25℃下向2-氨基-N-(4-氨基丁-2-炔基)-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-N-丙基-3H-1-苯并氮唑-4-甲酰胺BzL-40a(0.1g,187umol,1.0当量)和3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-氧代乙氧基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸甲酯(101.3mg,187umol,1.0当量)于MeOH(10mL)中的混合物中一次性添加AcOH(11.2mg,187umol,11uL,1.0当量)和NaBH<sub>3</sub>CN(35.2mg,560umol,3.0当量),然后搅拌2小时。然后添加甲醛(29.5mg,373umol,27uL,2.0当量)并且在相同温度下搅拌1小时。向混合物中添加数滴水并浓缩。通过制备型HPLC(柱:Xtimate C18 100\*30mm\*3um;流动相:[水(0.1%TFA)-ACN];B%:10%-35%,10分钟)纯化残余物,得到呈无色油状的3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[4-[[2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基]磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮唑-4-羰基]-丙基-氨基]丁-2-炔基-甲基-氨基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸甲酯BzL-43a(0.05g,46.46umol,产率24.88%)。

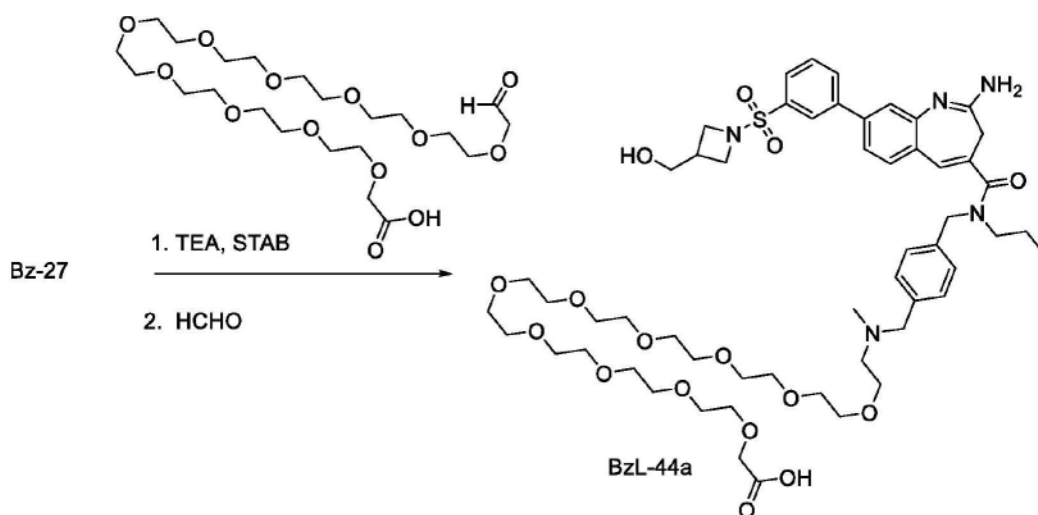
[1237] 制备BzL-43b:在25℃下向BzL-43a (50mg, 46.5umol, 1.0当量) 于MeOH (3.0mL) 和H<sub>2</sub>O (0.3mL) 中的溶液中一次性添加LiOH·H<sub>2</sub>O (19.5mg, 465umol, 10.0当量) 并且在相同温度下搅拌16小时。将混合物冷却至0℃, 用HCl水溶液 (1M) 调节至pH=7并且在40℃下减压浓缩。通过制备型HPLC (柱: Nano-micro Kromasil C18 100\*30mm 8um; 流动相: [水 (0.1% TFA) -ACN]; B%: 10%-40%, 10分钟) 纯化残余物, 得到呈浅黄色油状的3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[4-[[2-氨基-8-[3-[3-(羟甲基) 氮杂环丁-1-基] 磺酰基苯基]-3H-1-苯并氮呋-4-羰基]-丙基-氨基]丁-2-炔基-甲基-氨基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]



基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸BzL-43b (30mg, 28.24 $\mu$ mol, 产率60.79%)。 $^1\text{H}$  NMR (MeOD, 400MHz)  $\delta$ 8.15-8.07 (m, 2H), 7.93 (d,  $J$ =8.0Hz, 1H), 7.86-7.76 (m, 3H), 7.74-7.69 (m, 1H), 7.24 (s, 1H), 4.29 (s, 2H), 3.91-3.84 (m, 4H), 3.74-3.55 (m, 43H), 3.52-3.38 (m, 7H), 3.34-3.32 (m, 2H), 3.02 (s, 3H), 2.64-2.56 (m, 1H), 2.53 (t,  $J$ =6.4Hz, 2H), 1.85-1.72 (m, 2H), 0.98 (t,  $J$ =7.2Hz, 3H)。LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 1062.5 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 1062.6 (观测值)。

[1238] 制备BzL-43: 将Bz-43b (0.03g, 0.028mmol, 1当量) 和TFP (0.009g, 0.06mmol, 2当量) 溶解于DMF中。添加可力丁 (0.019ml, 0.14mmol, 5当量), 继而添加EDC-HCl (0.016g, 0.085mmol, 3当量)。在室温下搅拌反应物并且通过LCMS监测, 然后浓缩并且通过HPLC纯化, 得到38-(2-氨基-8-(3-((3-((二甲基氨基)甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂-4-羰基)-33-甲基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30-十氧杂-33,38-二氮杂四十一-35-炔酸2,3,5,6-四氟苯酯BzL-43 (0.016g, 0.013mmol, 46%)。LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 1210.53 (计算值); LC/MS [M+H]<sup>+</sup> 1210.95 (观测值)。

[1239] 实施例64合成BzL-44



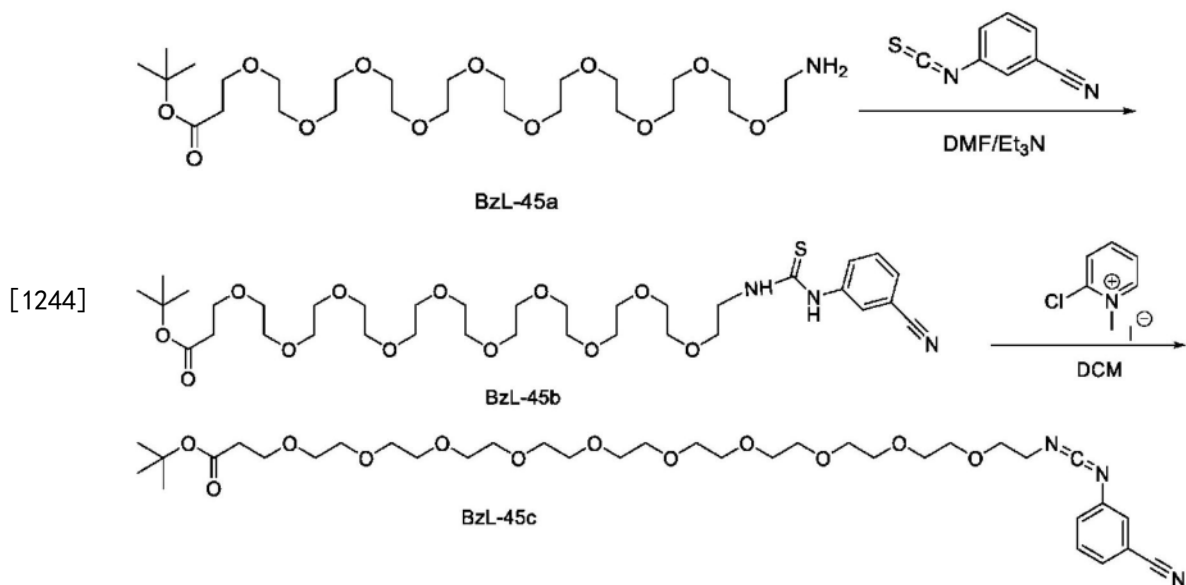
[1240]

[1241] 制备BzL44a: 将2-氨基-N-(4-(氨基甲基)苯基)-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-N-丙基-3H-苯并[b]氮杂-4-甲酰胺Bz-27 (0.119g, 0.203mmol, 1当量)

和32-氧代-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30-十氧杂三十二烷酸(0.107g,0.203mmol,1当量)溶解于1:1ACN:DCM中。添加三乙胺(0.17ml,1.2mmol,6当量),继而添加三乙酰氧基硼氢化钠(0.13g,0.61mmol,3当量)。在室温下搅拌反应物40分钟,然后添加甲醛(0.02ml,0.27mmol,1.3当量,37wt.%,于H<sub>2</sub>O中)。10分钟后,浓缩反应物并且通过HPLC纯化,得到1-(4-((2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-N-丙基-3H-苯并[b]氮呼-4-甲酰胺基)甲基)苯基)-2-甲基-5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十氧杂-2-氮杂三十四烷-34-酸BzL44a(0.067g,0.060mmol,30%)。LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1114.56(计算值);LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1114.89(观测值)。

[1242] 制备BzL-44:将BzL-44a(0.067g,0.06mmol,1当量)和TFP(0.020g,0.12mmol,2当量)溶解于DMF中。添加可力丁(0.040ml,0.30mmol,5当量),继而添加EDC-HCl(0.035g,0.18mmol,3当量)。在室温下搅拌反应物并且通过LCMS监测,然后浓缩并且通过HPLC纯化,得到1-(4-((2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-N-丙基-3H-苯并[b]氮呼-4-甲酰胺基)甲基)苯基)-2-甲基-5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十氧杂-2-氮杂三十四烷-34-酸2,3,5,6-四氟苯酯BzL-44(0.026g,0.021mmol,34%)。LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1262.56(计算值);LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1262.86(观测值)。

[1243] 实施例65合成BzL-45



[1245] 制备BzL-45b:在25℃下向3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-氨基乙氧基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸叔丁酯BzL-45a(2.7g,4.61mmol,1.0当量)于THF(20mL)中的混合物中添加Et<sub>3</sub>N(700mg,6.91mmol,960uL,1.5当量)和3-异硫氰基苯甲腈(1.48g,9.22mmol,2.0当量)并且在此温度下搅拌1小时。然后用水(30mL)稀释混合物并且用EtOAc(50mL x 3)萃取。用盐水洗涤有机层,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩。通过硅胶色谱法(MeOH/乙酸乙酯=0/1,1/10)纯化残余物,得到呈黄色油状的3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(3-氰基苯基)硫代氨基甲酰基氨基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸叔丁酯BzL-45b(0.5g,670umol,产率14.54%)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>,400MHz) δ7.99(s,1H),7.89(d,J=8.0Hz,1H),7.44-7.39(m,2H),3.76-3.58(m,42H),2.55-2.46(m,2H),1.45(s,9H)。

[1246] 制备BzL-45c:在25℃下于N<sub>2</sub>下向BzL-45b(0.4g,536umol,1.0当量)和Et<sub>3</sub>N(163mg,1.61mmol,223uL,3.0当量)于DCM(10mL)和DMF(0.4mL)中的混合物中添加碘化2-氯-1-甲基吡啶-1-鎓(164mg,643umol,1.2当量)。在25℃下搅拌混合物1小时,然后减压浓缩。通过硅胶色谱法(CH<sub>3</sub>CN/乙酸乙酯=0/1至1/1)纯化残余物,得到呈黄色油状的3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(3-氰基苯基)亚胺基亚甲基氨基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸叔丁酯BzL-45c(0.29g,407umol,产率75.9%)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>,400MHz) δ7.43-7.33(m,4H),3.70-3.62(m,42H),2.51(t,J=6.4Hz,2H),1.45(s,9H)。



224

当量)、Et<sub>3</sub>N (6.5g, 64.69mmol, 9.00mL, 2.0当量) 和Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (1.18g, 1.62mmol, 0.05当量)。将悬浮液在真空中脱气并且用CO吹扫数次, 并且在80℃下于CO (50psi) 下搅拌12小时。用水 (300mL) 稀释混合物并且用EtOAc (80mL x 3) 萃取。用盐水 (50mL) 洗涤有机层, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并浓缩, 并且通过快速硅胶色谱法 (ISCO®; 15g SepaFlash® 二氧化硅快速柱, 洗脱剂0至100% 乙酸乙酯/石油醚梯度, 在65mL/min下) 纯化残余物, 得到呈黄色固体状的2-氨基-8-甲酰基-3H-1-苯并氮呋-4-甲酸乙酯BzL-45e (3g, 11.6mmol, 产率35.9%)。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz) δ10.00 (s, 1H) 7.79 (s, 1H) 7.61 (d, J=8.4Hz, 1H) 7.55 (d, J=1.2Hz, 1H) 7.40 (dd, J=8.0, 1.2Hz, 1H) 7.07 (s, 2H) 4.25 (q, J=6.8Hz, 2H) 2.91 (s, 2H) 1.31 (t, J=6.8Hz, 3H)。

[1249] 制备BzL-45f: 在0℃下向BzL-45e (2.6g, 10.1mmol, 1.0当量) 于CH<sub>3</sub>CN (15mL) 中的溶液中添加NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (362mg, 3.02mmol, 0.3当量)、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (5.71g, 50.33mmol, 4.84mL, 纯度30%, 5.0当量) 和NaClO<sub>2</sub> (1.46g, 16.1mmol, 1.6当量) 并且在25℃下搅拌5小时。用Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (水溶液) 淬灭反应混合物并且用H<sub>2</sub>O (30mL) 和EtOAc (30mL) 稀释, 用HCl水溶液 (1M) 将混合物的pH调节至4, 然后过滤, 得到所需固体。在真空中干燥固体, 得到呈白色固体状的2-氨基-4-乙氧基羰基-3H-1-苯并氮呋-8-甲酸BzL-45f (2.1g, 7.66mmol, 产率76.1%)。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz) δ7.87 (s, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.72-7.67 (m, 2H), 4.27 (q, J=7.2Hz, 2H), 3.28 (s, 2H), 1.31 (t, J=7.2Hz, 3H)。

[1250] 制备BzL-45g: 在25℃下向BzL-45f (1.0g, 3.65mmol, 1.0当量) 于DMF (20mL) 中的混合物中添加PYAOP (2.28g, 4.38mmol, 1.2当量) 和DIEA (2.36g, 18.2mmol, 3.18mL, 5.0当量) 并且搅拌10分钟, 然后添加苯胺 (373mg, 4.01mmol, 366μL, 1.1当量) 并且在25℃下搅拌1小时。将混合物倾倒至冰水 (50mL) 中并且搅拌2分钟。用乙酸乙酯 (20mL x 3) 萃取水相。用盐水 (20mL) 洗涤经合并的有机相, 用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且真空浓缩, 通过硅胶色谱法 (EtOAc/MeOH=1:0至2:1) 纯化残余物, 得到呈黄色固体状的2-氨基-8-(苯基氨甲酰基)-3H-1-苯并氮呋-4-甲酸乙酯BzL-45g (0.5g, 1.43mmol, 产率39.25%)。<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz) δ7.89 (s, 1H), 7.76-7.65 (m, 3H), 7.62-7.56 (m, 1H), 7.37 (t, J=8.0Hz, 2H), 7.16 (t, J=8.0Hz, 1H), 4.35 (q, J=7.2Hz, 2H), 3.32 (s, 2H), 1.38 (t, J=7.2Hz, 3H)。

[1251] 制备BzL-45h: 在25℃下向BzL-45g (0.36g, 1.03mmol, 1.0当量) 于EtOH (10mL) 中的混合物中添加LiOH·H<sub>2</sub>O (216mg, 5.15mmol, 5.0当量) 于H<sub>2</sub>O (1mL) 中的溶液并且在此温度下搅拌16小时。用HCl (4M) 淬灭混合物直至pH达到5并且在40℃下减压浓缩以去除EtOH。添加水 (10mL), 然后过滤, 得到呈黄色固体状的2-氨基-8-(苯基氨甲酰基)-3H-1-苯并氮呋-4-甲酸BzL-45h (0.2g, 622μmol, 产率60.41%), 其未经进一步纯化即用于下一步骤中。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz) δ7.84-7.74 (m, 3H), 7.66 (s, 1H), 7.56-7.47 (m, 2H), 7.34 (t, J=8.0Hz, 2H), 7.09 (t, J=7.2Hz, 2H), 2.92 (s, 2H)。

[1252] 制备BzL-45i: 在25℃下向BzL-45h (0.2g, 622μmol, 1.0当量) 于DMF (5mL) 中的溶液中添加HATU (284mg, 746μmol, 1.2当量) 和DIEA (241mg, 1.87mmol, 325μL, 3.0当量) 并且在此温度下搅拌10分钟, 然后将N-[3-(丙基氨基) 丙基] 氨基甲酸叔丁酯Bz-1b (161mg, 746μmol, 1.2当量) 添加至混合物中并且在25℃下搅拌3小时。将反应物倾倒至冰水 (30mL) 中并且搅拌10分钟。用EtOAc (10mL x 3) 萃取水相并且用H<sub>2</sub>O (10mL x 2) 和盐水 (10mL) 洗涤经合并的有机相, 由Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并浓缩, 得到呈黄色油状的N-[3-[[2-氨基-8-(苯基氨甲酰基)-3H-1-

苯并氮呋-4-羰基]-丙基-氨基]丙基]氨基甲酸叔丁酯BzL-45i (0.3g, 577 $\mu$ mol, 产率92.76%)。

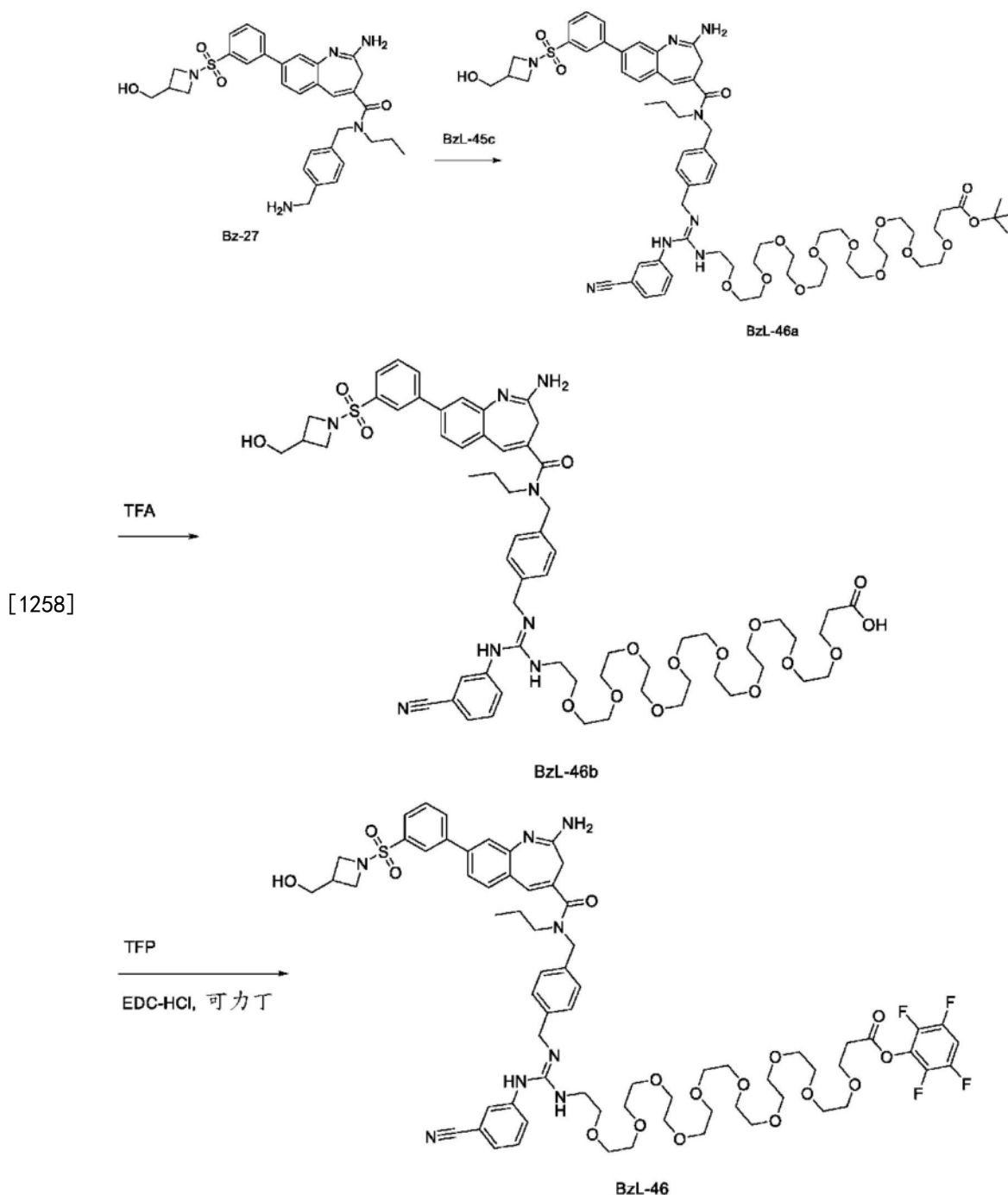
[1253] 制备BzL-45j: 在25℃下向BzL-45i (0.4g, 769 $\mu$ mol, 1.0当量) 于MeOH (10mL) 中的溶液中添加HCl/MeOH (4M, 9.62mL, 50当量)。在25℃下搅拌混合物1小时, 然后在40℃下减压浓缩。通过制备型HPLC (柱: Nano-micro Kromasil C18 100\*30mm 8 $\mu$ m; 流动相: [水 (0.1% TFA) -ACN]; B%: 5%-30%, 10分钟) 纯化残余物, 得到呈黄色固体状的2-氨基-N4-(3-氨基丙基)-N8-苯基-N4-丙基-3H-1-苯并氮呋-4,8-二甲酰胺BzL-45j (0.23g, 431 $\mu$ mol, 产率56.0%, 三氟乙酸盐)。<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz)  $\delta$ 8.01-7.94 (m, 2H), 7.76-7.70 (m, 3H), 7.41 (t, J=8.0Hz, 2H), 7.21 (t, J=7.6Hz, 2H), 3.63 (t, J=7.2Hz, 2H), 3.58-3.49 (m, 2H), 3.41 (s, 2H), 3.10-2.95 (m, 2H), 2.12-1.99 (m, 2H), 1.82-1.68 (m, 2H), 0.95 (t, J=7.2Hz, 3H)。LC/MS [M+H] 420.2 (计算值); LC/MS [M+H] 420.2 (观测值)。

[1254] 制备BzL-45k: 在25℃下向Bz-45j (0.06g, 112 $\mu$ mol, 1.0当量, 三氟乙酸盐) 于DMF (1mL) 中的混合物中添加Et<sub>3</sub>N (28mg, 281 $\mu$ mol, 2.5当量) 和BzL-45c (88mg, 123 $\mu$ mol, 1.1当量)。在25℃下搅拌混合物1小时, 然后过滤并且通过制备型HPLC (柱: Nano-microKromasil C18 100\*30mm 8 $\mu$ m; 流动相: [水 (0.1% TFA) -ACN]; B%: 20%-50%, 10分钟) 纯化, 得到呈无色油状的3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[ (Z) -N'-[3-[[2-氨基-8-(苯基氨甲酰基)-3H-1-苯并氮呋-4-羰基]-丙基-氨基]丙基]-N-(3-氰基苯基) 甲脒基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸叔丁酯BzL-45k (0.08g, 70.7 $\mu$ mol, 产率62.9%)。

[1255] 制备BzL-45l: 在25℃下向BzL-45k (0.07g, 61 $\mu$ mol, 1.0当量) 于H<sub>2</sub>O (5mL) 和CH<sub>3</sub>CN (1mL) 中的溶液中添加TFA (211mg, 1.86mmol, 30当量)。在80℃下搅拌混合物2小时, 然后减压浓缩。将残余物冷冻干燥, 得到呈浅黄色油状的3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[ (Z) -N'-[3-[[2-氨基-8-(苯基氨甲酰基)-3H-1-苯并氮呋-4-羰基]-丙基-氨基]丙基]-N-(3-氰基苯基) 甲脒基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酸BzL-45l (51mg, 42.9 $\mu$ mol, 产率69.3%, 三氟乙酸盐)。<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz)  $\delta$ 8.01-7.94 (m, 2H), 7.79-7.75 (m, 1H), 7.72 (d, J=8.0Hz, 2H), 7.66-7.64 (m, 4H), 7.39 (t, J=7.6Hz, 2H), 7.19 (t, J=7.6Hz, 1H), 7.13 (s, 1H), 3.76-3.52 (m, 46H), 3.42-3.40 (m, 4H), 2.53 (t, J=6.4Hz, 2H), 2.04 (m, 2H), 1.79-1.65 (m, 2H), 0.93 (t, J=7.2Hz, 3H)。LC/MS [M+H] 1075.6 (计算值); LC/MS [M+H] 1075.6 (观测值)。

[1256] 制备BzL-45: 将BzL-45l (0.051g, 0.047mmol, 1当量) 和TFP (0.016g, 0.095mmol, 2当量) 溶解于DMF中。添加可力丁 (0.031mL, 0.24mmol, 5当量), 继而添加EDC-HCl (0.027g, 0.14mmol, 3当量)。在室温下搅拌反应物并且通过LCMS监测, 然后浓缩并且通过HPLC纯化, 得到40-(2-氨基-8-(苯基氨甲酰基)-3H-苯并[b]氮呋-4-羰基)-35-((3-氰基苯基) 亚胺基)-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31-十氧杂-34,36,40-三氮杂四十三烷酸2,3,5,6-四氟苯酯BzL-45 (0.043g, 0.035mmol, 74%)。LC/MS [M+H] 1223.56 (计算值); LC/MS [M+H] 1223.87 (观测值)。

[1257] 实施例66合成BzL-46



[1259] 制备BzL-46a:通过针对BzL-42所描述的程序进行Bz-27与BzL-45c的反应,得到(Z)-1-(4-((2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-N-丙基-3H-苯并[b]氮杂-4-甲酰胺基)甲基)苯基)-3-((3-氰基苯基)氨基)-7,10,13,16,19,22,25,28,31,34-十氧杂-2,4-二氮杂三十七-2-烯-37-酸叔丁酯BzL-46a。LC/MS[M+H] 1299.7(计算值);LC/MS[M+H] 1299.7(观测值)。

[1260] 制备BzL-46b:通过合成BzL-42中所描述的程序,BzL-46a与三氟乙酸TFA反应得到(Z)-1-(4-((2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-N-丙基-3H-苯并[b]氮杂-4-甲酰胺基)甲基)苯基)-3-((3-氰基苯基)氨基)-7,10,13,16,19,22,25,28,31,34-十氧杂-2,4-二氮杂三十七-2-烯-37-酸BzL-46b。LC/MS[M+H] 1243.6(计算值);LC/MS[M+H] 1243.6(观测值)。

[1261] 制备BzL-46:如针对合成BzL-42的程序中所描述,BzL-46b与2,3,5,6-四氟苯酚TFP和EDC-HCl反应得到(Z)-1-(4-((2-氨基-8-(3-((3-(羟甲基)氮杂环丁-1-基)磺酰基)苯基)-N-丙基-3H-苯并[b]氮呋-4-甲酰胺基)甲基)苯基)-3-((3-氰基苯基)氨基)-7,10,13,16,19,22,25,28,31,34-十氧杂-2,4-二氮杂三十七-2-烯-37-酸2,3,5,6-四氟苯酯BzL-46.LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1391.6(计算值);LC/MS[M+H]<sup>+</sup>1391.6(观测值)。

[1262] 实施例67制备免疫缀合物(IC)

[1263] 在示例性程序中,使用G-25SEPHADEX™脱盐柱(Sigma-Aldrich,St.Louis,MO)将抗体进行缓冲液交换成含有100mM硼酸、50mM氯化钠、1mM乙二胺四乙酸的缀合缓冲液(pH 8.3)。然后使用缓冲液将洗脱液各自调节至6mg/ml,然后进行无菌过滤。将6mg/ml抗体预热至30℃并且与2-20(例如7-10)摩尔当量的式II氨基苯并氮呋-连接子化合物快速混合。使反应在30℃下进行16小时,并且通过在pH7.2磷酸盐缓冲盐水(PBS)中平衡的两个连续G-25脱盐柱上过柱而使免疫缀合物A与反应物分离,以提供表3a和3b的免疫缀合物(IC)。通过在连接至XEVO™ G2-XS TOF质谱仪(Waters Corporation)的ACQUITY™ UPLC H级(Waters Corporation,Milford,Massachusetts)上使用C4反相柱进行液相色谱质谱分析来确定佐剂-抗体比率(DAR)。

[1264] 对于缀合来说,可以将抗体溶解于本领域中已知的生理缓冲系统中,所述生理缓冲系统不会不利地影响抗体的稳定性或抗原结合特异性。可以使用磷酸盐缓冲盐水。将氨基苯并氮呋-连接子中间体化合物溶解于包含如本文别处所述的至少一种极性非质子性溶剂的溶剂系统中。在一些此类方面,将氨基苯并氮呋-连接子中间体以约5mM、10mM、约20mM、约30mM、约40mM或约50mM及其范围,诸如约50mM至约50mM或约10mM至约30mM的浓度溶解于pH 8Tris缓冲液(例如50mM Tris)中。在一些方面,将氨基苯并氮呋-连接子中间体溶解于DMSO或乙腈中或DMSO中。在缀合反应中,稀释当量过量的氨基苯并氮呋-连接子中间体溶液并且与经冷却的抗体溶液(例如约1℃至约10℃)合并。可以用至少一种极性非质子性溶剂和至少一种极性质子性溶剂(其实例包括水、甲醇、乙醇、正丙醇和乙酸)适当稀释氨基苯并氮呋-连接子中间体溶液。在一些特定方面,在与抗体溶液混合之前,将氨基苯并氮呋-连接子中间体溶解于DMSO中并且用乙腈和水稀释。氨基苯并氮呋-连接子中间体与抗体的摩尔当量可以为约1.5:1、约3:1、约5:1、约10:1、约15:1或约20:1和其范围,诸如约1.5:1至约20:1、约1.5:1至约15:1、约1.5:1至约10:1、约3:1至约15:1、约3:1至约10:1、约5:1至约15:1或约5:1至约10:1。可以通过本领域中已知的方法,诸如LC-MS适当监测反应的完成,并且反应通常在约1小时至约24小时内完成。反应完成后,可以将试剂添加至反应混合物中以淬灭反应物和/或将未反应的抗体硫醇基封端。适合封端试剂的实例是乙基马来酰亚胺。

[1265] 根据实施例5缀合后,可以通过本领域中已知的纯化方法纯化免疫缀合物并且与未缀合的反应物和/或缀合物聚集体分离,所述纯化方法诸如并且不限于尺寸排阻色谱法、疏水相互作用色谱法、离子交换色谱法、色谱聚焦、超滤、离心超滤以及它们的组合。举例来说,在纯化之前可以稀释免疫缀合物,诸如在20mM丁二酸钠(pH 5)中。将经稀释的溶液施加至阳离子交换柱,继而用例如至少10柱体积的20mM丁二酸钠(pH 5)洗涤。可以用诸如PBS的缓冲液适当洗脱缀合物。

[1266] 实施例68HEK报告体测定

[1267] 表达人类TLR7或人类TLR8的HEK293报告体细胞购自Invivogen,并且对于细胞繁



殖和实验遵循供货商方案。简单来说,在5%CO<sub>2</sub>下于补充有10%FBS、吉欧霉素(Zeocin)和杀稻瘟菌素(Blasticidin)的DMEM中使细胞生长至80-85%汇合。然后将细胞以4x10<sup>4</sup>个细胞/孔与含有HEK检测介质和免疫刺激分子的基质一起接种于96孔平板中。在620-655nm波长下使用板读取器测量活性。

[1268] 实施例69试管内免疫缀合物活性的评估

[1269] 本实施例显示本发明的免疫缀合物有效引发髓样活化,并且因此可以用于治疗癌症。

[1270] 人类抗原呈递细胞的分离:通过使用含有针对CD14、CD16、CD40、CD86、CD123和HLA-DR的单克隆抗体的ROSETTESEP™人类单核细胞富集混合液(Stem Cell Technologies, Vancouver, Canada)进行密度梯度离心,从获自健康供血者(Stanford Blood Center, Palo Alto, California)的人类周边血液中阴性选择人类髓样抗原呈递细胞(APC)。随后经由使用含有针对CD14、CD16、CD40、CD86、CD123和HLA-DR的单克隆抗体而CD16未耗竭的EASYSEP™人类单核细胞富集试剂盒(Stem Cell Technologies)进行阴性选择将未成熟APC纯化至>90%纯度。

[1271] 髓样APC活化测定:在含有伊斯科夫改良达尔伯克培养基(iscove's modified dulbecco's medium, IMDM) (Lonza)的96孔板(Corning, Corning, NY)中孵育2x10<sup>5</sup>个APC,所述培养基补充有10%FBS、100U/mL青霉素、100μg/mL(微克/毫升)链霉素、2mM L-谷氨酰胺、丙酮酸钠、非必需氨基酸以及如有指示,各种浓度的未缀合(裸)PD-L1或HER2抗体和本发明的免疫缀合物P(如根据上述实施例制备)。曲妥珠单抗和阿维鲁单抗用作抗体构建体。18小时后,通过ELISA分析无细胞上清液的TNFα分泌。

[1272] 可以使用各种筛选测定来测量髓样细胞类型的活化,其中利用不同髓样群体。这些群体可以包括以下:从健康供体血液中分离的单核细胞、M-CSF分化巨噬细胞、GM-CSF分化巨噬细胞、GM-CSF+IL-4单核细胞源性树突状细胞、从健康供体血液中分离的经典树突状细胞和极化为免疫抑制状态的髓样细胞(也称作髓样源性抑制细胞或MDSC)。MDSC极化细胞的实例包括向免疫抑制状态分化的单核细胞,诸如M2a MΦ (IL4/IL13)、M2c MΦ (IL10/TGFb)、GM-CSF/IL6MDSC和肿瘤驯化单核细胞(TEM)。可以使用肿瘤条件培养基(例如786.0、MDA-MB-231、HCC1954)进行TEM分化。初生肿瘤相关髓样细胞还可以包括在解离的肿瘤细胞悬浮液中存在的初生细胞(Discovery Life Sciences)。

[1273] 可以作为单培养物或作为与表达ISAC可经由抗体的CDR区结合的所关注抗原的细胞的共培养物进行所描述的髓样细胞群体的活化评估。孵育18-48小时后,可以通过使用流式细胞术上调细胞表面共刺激分子或通过测量分泌的促炎细胞因子来评估活化。对于细胞因子测量,收集无细胞上清液并且使用流式细胞术由细胞因子珠粒数组(例如来自Biolegend的LegendPlex)进行分析。

[1274] 本文引用的所有参考文献,包括公布、专利申请和专利,特此以引用的方式并入,其程度如同每个参考文献个别地和特定地指示以引用的方式并入并且在本文中以全文阐述一样。

## 序列表

<110> 博尔特生物治疗药物有限公司  
<120> 氨基苯并氮唑化合物、免疫缀合物及其用途  
<130> 17019.002W01  
<140>  
<141>  
<150> 62/963,884  
<151> 2020-01-21  
<150> 62/861,139  
<151> 2019-06-13  
<160> 608  
<170> PatentIn version 3.5  
<210> 1  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 1  
Ser Tyr Ala Ile Ser  
1 5  
<210> 2  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 2  
Ser Tyr Tyr Met His  
1 5  
<210> 3  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 3  
Arg His Leu Leu His  
1 5  
<210> 4  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 4  
Ser His His Met His  
1 5  
<210> 5  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 5  
Arg Phe Met His  
1  
<210> 6  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 6  
Ser Tyr Tyr Ile His  
1 5  
<210> 7  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>

<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 7  
Asn Tyr Tyr Ile His  
1 5  
<210> 8  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 8  
His Tyr Tyr Met His  
1 5  
<210> 9  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 9  
Gly Tyr Tyr Met His  
1 5  
<210> 10  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 10  
Asn Tyr Met Tyr His  
1 5  
<210> 11  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 11  
Thr Tyr Tyr Val His  
1 5  
<210> 12  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 12  
Ser Tyr Ala Leu Ser  
1 5  
<210> 13  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 13  
Arg His Tyr Val His  
1 5  
<210> 14  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 14  
Ser His Tyr Met His  
1 5  
<210> 15  
<211> 5  
<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 15  
Asp Tyr Tyr Met His  
1 5  
<210> 16  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 16  
Gly Tyr Thr Leu His  
1 5  
<210> 17  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 17  
Asn His Tyr Met His  
1 5  
<210> 18  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 18  
Asn Ser Tyr Met His  
1 5  
<210> 19  
<211> 5

<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 19  
Thr Tyr Tyr Met His  
1 5  
<210> 20  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 20  
Arg His Phe Ile His  
1 5  
<210> 21  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 21  
Thr Phe Gly Ile Ser  
1 5  
<210> 22  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 22  
Ser Tyr Gly Ile Asn  
1 5  
<210> 23

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 23

Asn His Tyr Val His

1 5

<210> 24

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 24

Val Ile Asn Pro Ser Ala Gly Ser Thr Asp Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 25

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 25

Trp Met Asn Pro Asn Ser Asp Ile Ala Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 26

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 26



Trp Ile Ser Pro Gln His Gly Val Arg Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 27

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 27

Trp Val Ser Pro Ser His Gly Leu Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 28

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 28

Trp Met Ser Leu Asn Ser Gly Leu Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 29

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 29

Trp Met Lys Pro Ser Ser Gly Thr Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 30

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 30

Trp Met Asn Pro Asn Gly Asp Val Ala Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 31

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 31

Gly Ile Asp Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 32

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 32

Trp Met Asn Pro Asp Ser Gly Ser Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 33

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 33

Trp Met Ser Leu Asn Ser Gly Leu Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

|                                                                 |   |    |    |
|-----------------------------------------------------------------|---|----|----|
| 1                                                               | 5 | 10 | 15 |
| Gly                                                             |   |    |    |
| <210> 34                                                        |   |    |    |
| <211> 17                                                        |   |    |    |
| <212> PRT                                                       |   |    |    |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)                                |   |    |    |
| <220>                                                           |   |    |    |
| <221> 来源                                                        |   |    |    |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成肽"                                         |   |    |    |
| <400> 34                                                        |   |    |    |
| Trp Met Asn Pro Asn Gly Asp Val Ala Gly Tyr Ala Asp Ser Phe Gln |   |    |    |
| 1                                                               | 5 | 10 | 15 |
| Gly                                                             |   |    |    |
| <210> 35                                                        |   |    |    |
| <211> 17                                                        |   |    |    |
| <212> PRT                                                       |   |    |    |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)                                |   |    |    |
| <220>                                                           |   |    |    |
| <221> 来源                                                        |   |    |    |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成肽"                                         |   |    |    |
| <400> 35                                                        |   |    |    |
| Trp Ile Ser Thr Tyr His Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln |   |    |    |
| 1                                                               | 5 | 10 | 15 |
| Gly                                                             |   |    |    |
| <210> 36                                                        |   |    |    |
| <211> 17                                                        |   |    |    |
| <212> PRT                                                       |   |    |    |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)                                |   |    |    |
| <220>                                                           |   |    |    |
| <221> 来源                                                        |   |    |    |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成肽"                                         |   |    |    |
| <400> 36                                                        |   |    |    |
| Trp Met Asn Pro Asn Thr Val Tyr Thr Gly Ser Ala Gln Lys Phe Gln |   |    |    |
| 1                                                               | 5 | 10 | 15 |
| Gly                                                             |   |    |    |
| <210> 37                                                        |   |    |    |
| <211> 17                                                        |   |    |    |
| <212> PRT                                                       |   |    |    |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)                                |   |    |    |

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 37

Arg Ile Ile Pro Ala Val Gly Ser Val Thr Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 38

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 38

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 39

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 39

Trp Met Ser Pro Ser Ser Gly Ile Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 40

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 40

Trp Met Thr Pro Ser Thr Gly Asn Ala Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 41

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 41

Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1

5

10

15

Gly

<210> 42

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 42

Trp Met His Pro Asn Ser Gly His Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1

5

10

15

Gly

<210> 43

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 43

Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly His Thr Gly Asn Ala Gln Lys Phe Gln

1

5

10

15

Gly

<210> 44

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 44

Trp Ile Asp Pro Asn Ser Gly Val Thr Ser Ser Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 45

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 45

Trp Ile Ser Pro Asn Ser Gly Val Thr Asp Phe Thr Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 46

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 46

Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly His Thr Gly Tyr Ala Gln Arg Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 47

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 47

Trp Met Ser Pro Asn Gly Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 48

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 48

Trp Met Asp Pro Ser Ser Gly Tyr Thr Gly Ser Ala His Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 49

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 49

Trp Met Asn Pro His Ser Ala Asp Thr Gly Tyr Ala Glu Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 50

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 50

Trp Leu Thr Pro Ser Thr Gly His Ala Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 51

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 51

Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly His Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 52

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 52

Trp Ile Ser Pro Gln His Gly Val Arg Asn Tyr Ala His Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 53

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 53

Met Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 54

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 54

Trp Ile Ser Pro Arg Ser Gly Val Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 55



<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 55

Trp Met Asp Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 56

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 56

Trp Met Asn Pro Thr Gly Gly Ile Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 57

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 57

Trp Val Ser Pro Ile His Gly Leu Thr Gly Tyr Ala Pro Arg Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 58

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 58

Asp Leu Tyr Pro Tyr Val Val Val Val Ala Ala Gly Ser Tyr Gly Met

1

5

10

15

Asp Val

<210> 59

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 59

Pro Ser Ile Val Gly Ala Tyr Asp Ala Phe Asp Ile

1

5

10

<210> 60

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 60

Glu Ser Val Glu Gly Tyr Phe Asp Leu

1

5

<210> 61

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 61

Asp Asn Trp Asn Val His Asp Ala Phe Asp Ile

1

5

10

<210> 62

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 62

Gly Thr Tyr Asn Asp Ala Phe Asp Ile

1 5

<210> 63

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 63

Glu Gln Trp Leu Val Asn Asp Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 64

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 64

Asp Ser Ser Gly Trp Met Arg Asn Asp Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 65

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 65

Ser Met Phe Pro Thr Ile Phe Gly Asp Asn Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 66

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 66

Ala Leu Phe Pro Tyr Pro Phe Tyr Tyr Tyr Tyr Met Asp Val

1 5 10

<210> 67

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 67

Asp Arg Gly Trp Phe Asp Pro

1 5

<210> 68

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 68

Asp Ala Arg Gly Tyr Ser Gly Tyr Asp Leu

1 5 10

<210> 69

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 69

Glu Gly Arg His Gly Glu Tyr Leu Tyr

1 5

<210> 70

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 70

Glu Gly Trp Gly Ser Ser Gly Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 71

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 71

His Leu Phe Pro Thr Val Phe Asp Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val

1 5 10 15

<210> 72

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 72

Gly Gly Tyr Ser Tyr Gly Ser Phe Gln His

1 5 10

<210> 73

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 73

Val Arg Trp Ser Ser Asp Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 74

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 74

Glu Glu Trp Leu Gly His Phe Gln His

1 5

<210> 75

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 75

Glu Arg Phe Leu Gly Gly Met Asp Val

1 5

<210> 76

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 76

Gly Asn Trp Val Asp Ala Phe Asp Ile

1 5

<210> 77

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 77

Glu Ser Glu Val Met Met Ala Tyr Phe Gln His

1 5 10

<210> 78

<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 78  
Glu Ser Trp Ser Gly Glu Phe Asp Tyr  
1 5  
<210> 79  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 79  
Glu Ala Val Ala Gly Pro Met Asp Val  
1 5  
<210> 80  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 80  
Asp Ala Trp Glu Leu Leu Ala Phe Asp Ile  
1 5 10  
<210> 81  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 81  
Asp Arg Trp Asp Gly Asp Tyr Tyr Ser Ala  
1 5 10

<210> 82  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 82  
Glu Ser Trp Glu Leu Thr Gly Phe Asp Tyr  
1 5 10  
<210> 83  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 83  
Glu Arg Phe Ala Gly Gly Met Asp Ala  
1 5  
<210> 84  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 84  
Asp Ser Gly Gly Ala Phe Asp Ile  
1 5  
<210> 85  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 85  
Glu Val Phe Glu Gly Gly Met Asp Val



1 5  
<210> 86  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 86  
Glu Gly Tyr Gly Gly Asn Tyr Gly Asn  
1 5  
<210> 87  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 87  
Glu Asp Phe Tyr Gly Asp Phe Asp Tyr  
1 5  
<210> 88  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 88  
Glu Leu Ser Arg Trp Gly Phe Asp Tyr  
1 5  
<210> 89  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 89

Asp Ile Phe Pro Thr Met Ile Ala Gly Gly Gly Phe Asp Leu

1 5 10

<210> 90

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 90

Gly Gly Tyr Ser Tyr Gly Ser Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 91

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 91

Gly Ser Phe Pro Leu Val Phe Thr Ile Phe Gly Val Gly Asp Val

1 5 10 15

<210> 92

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 92

Asp Leu Asp Tyr Val Arg Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 93

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 93

Glu Ser Trp Gly Gly Tyr Phe Asp Leu

1 5

<210> 94

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 94

Asp Arg Thr Thr Tyr Ala Phe Asp Ile

1 5

<210> 95

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 95

Val His Gly Ser Gly Ser Asp Gly Met Asp Val

1 5 10

<210> 96

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 96

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Asp Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 97

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 97

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 98

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 98

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 99

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 99

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 100

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 100

Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 101

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 101

Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Arg Asn Tyr Val Thr

1 5 10

<210> 102

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 102

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Gln Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 103

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 103

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 104

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 104

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly

1 5 10

<210> 105

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 105  
Arg Ala Ser Gln Ile Ile Gly Asn Tyr Leu Ala  
1                      5                      10  
<210> 106  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 106  
Arg Ala Ser Gln Ile Ile Ser Ser Tyr Leu Asn  
1                      5                      10  
<210> 107  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 107  
Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn  
1                      5                      10  
<210> 108  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 108  
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Ala  
1                      5                      10  
<210> 109  
<211> 11  
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 109

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Asn Leu Asn

1 5 10

<210> 110

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 110

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Gly Leu Ser

1 5 10

<210> 111

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 111

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Thr Gly Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 112

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 112

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Ala

1 5 10

<210> 113

<211> 11

<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 113  
Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr Leu Asn  
1 5 10  
<210> 114  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 114  
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Thr Thr Tyr Leu Asn  
1 5 10  
<210> 115  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 115  
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Trp Leu Ala  
1 5 10  
<210> 116  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 116  
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Trp Leu Ala  
1 5 10  
<210> 117



<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 117

Gln Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 118

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 118

Arg Ala Ser Gln Ser Leu Ser Ser Ser Ser Leu Ala

1 5 10

<210> 119

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 119

Arg Ala Ser Glu His Ile Ala Asn Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 120

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 120

Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ser Trp Val Ala

1 5 10

<210> 121

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 121

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Pro Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 122

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 122

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Arg Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 123

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 123

Arg Ala Ser Gln Thr Val Ser Ser Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 124

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 124

Arg Ser Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Ser

|   |   |    |
|---|---|----|
| 1 | 5 | 10 |
|---|---|----|

<210> 125  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 125  
Arg Asp Ser His Ser Ile Thr Thr Trp Leu Ala  
1 5 10  
<210> 126  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 126  
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Arg Trp Leu Ala  
1 5 10  
<210> 127  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 127  
Arg Ala Ser Gln Val Ile Arg Asn Asp Leu Ala  
1 5 10  
<210> 128  
<400> 128  
000  
<210> 129  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>

<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 129  
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser  
1 5  
<210> 130  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 130  
Gly Ala Ser Asn Leu Gln Ser  
1 5  
<210> 131  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 131  
Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr  
1 5  
<210> 132  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 132  
Gly Ala Ser Asn Leu His Ser  
1 5  
<210> 133  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 133  
Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser  
1 5  
<210> 134  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 134  
Ser Ala Ser Asn Leu Gln Ser  
1 5  
<210> 135  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 135  
Ala Ala Ser Thr Leu Glu Ser  
1 5  
<210> 136  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 136  
His Ala Ser Ile Leu Glu Thr  
1 5  
<210> 137  
<211> 7  
<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 137  
Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser  
1 5  
<210> 138  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 138  
Ala Ala Thr Thr Leu Gln Ser  
1 5  
<210> 139  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 139  
Asp Ala Thr His Leu Glu Thr  
1 5  
<210> 140  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 140  
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Thr  
1 5  
<210> 141  
<211> 7

<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 141  
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Gly  
1 5  
<210> 142  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 142  
Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser  
1 5  
<210> 143  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 143  
Asp Val Ser His Leu Glu Ser  
1 5  
<210> 144  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 144  
Asp Ala Ser Ser Leu Gln Ser  
1 5  
<210> 145

<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 145  
Gly Val Ser Ser Leu Glu Ser  
1 5  
<210> 146  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 146  
Pro Ala Ser Thr Leu Gln Ser  
1 5  
<210> 147  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 147  
Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr  
1 5  
<210> 148  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 148  
Gly Ala Ser Thr Arg Ala Ser  
1 5



<210> 149  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 149  
Asp Ser Ser Ser Leu Gln Thr  
1 5  
<210> 150  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 150  
Ala Thr Ser Thr Leu Gln Ser  
1 5  
<210> 151  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 151  
Leu Ala Ser Asn Ser His Ser  
1 5  
<210> 152  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 152  
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Ile Thr

1 5  
<210> 153  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 153  
Gln Gln Ser Tyr Thr Thr Pro Ile Thr  
1 5  
<210> 154  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 154  
Gln Gln Ile Phe Ser Thr Pro Leu Thr  
1 5  
<210> 155  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 155  
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr  
1 5  
<210> 156  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 156

Gln Gln Ser Tyr Thr Thr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 157

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 157

Gln Gln Thr Phe Thr Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 158

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 158

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Phe Thr

1 5

<210> 159

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 159

Gln Gln Ser Tyr Thr Thr Pro Tyr Ser

1 5

<210> 160

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 160

Gln Gln Thr Phe Ile Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 161

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 161

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Thr

1 5

<210> 162

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 162

Gln Gln Gly Phe Ser Thr Pro Phe Thr

1 5

<210> 163

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 163

Gln Gln Ser Phe Thr Asn Pro Val Thr

1 5

<210> 164

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 164  
Gln Gln Ser Tyr Ser Ala Pro Tyr Thr  
1 5  
<210> 165  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 165  
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr  
1 5  
<210> 166  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 166  
Gln Gln Ser His Ser Thr Pro Leu Thr  
1 5  
<210> 167  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 167  
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Phe Thr  
1 5  
<210> 168  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 168

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Phe Thr  
1 5

<210> 169

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 169

Gln Gln Thr Tyr Ser Thr Pro Ile Thr  
1 5

<210> 170

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 170

Gln Gln Tyr Tyr Thr Thr Pro Leu Thr  
1 5

<210> 171

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 171

Gln Gln Ser Phe Ser Thr Pro Leu Thr  
1 5

<210> 172

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 172  
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Thr  
1 5  
<210> 173  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 173  
Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu Thr  
1 5  
<210> 174  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 174  
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Val Thr  
1 5  
<210> 175  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 175  
Gln His Phe Tyr Asn Thr Gln Tyr Thr  
1 5  
<210> 176  
<211> 10  
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 176

Gln Gln Ser Leu Gln Tyr Pro Ser His Phe

1 5 10

<210> 177

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 177

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser

20 25 30

<210> 178

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 178

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr

20 25 30

<210> 179

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 179



Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1                      5                      10                      15  
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn  
                    20                      25                      30

<210> 180

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 180

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1                      5                      10                      15  
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asn Thr Phe Thr  
                    20                      25                      30

<210> 181

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 181

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1                      5                      10                      15  
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly His Ser Phe Thr  
                    20                      25                      30

<210> 182

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 182

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1                      5                      10                      15  
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Pro Phe Thr

|                                                                 | 20 | 25 | 30 |
|-----------------------------------------------------------------|----|----|----|
| <210> 183                                                       |    |    |    |
| <211> 30                                                        |    |    |    |
| <212> PRT                                                       |    |    |    |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)                                |    |    |    |
| <220>                                                           |    |    |    |
| <221> 来源                                                        |    |    |    |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"                                        |    |    |    |
| <400> 183                                                       |    |    |    |
| Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala |    |    |    |
| 1                  5                  10                  15    |    |    |    |
| Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Arg Phe Thr         |    |    |    |
| 20                  25                  30                      |    |    |    |
| <210> 184                                                       |    |    |    |
| <211> 30                                                        |    |    |    |
| <212> PRT                                                       |    |    |    |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)                                |    |    |    |
| <220>                                                           |    |    |    |
| <221> 来源                                                        |    |    |    |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"                                        |    |    |    |
| <400> 184                                                       |    |    |    |
| Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser |    |    |    |
| 1                  5                  10                  15    |    |    |    |
| Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser         |    |    |    |
| 20                  25                  30                      |    |    |    |
| <210> 185                                                       |    |    |    |
| <211> 30                                                        |    |    |    |
| <212> PRT                                                       |    |    |    |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)                                |    |    |    |
| <220>                                                           |    |    |    |
| <221> 来源                                                        |    |    |    |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"                                        |    |    |    |
| <400> 185                                                       |    |    |    |
| Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala |    |    |    |
| 1                  5                  10                  15    |    |    |    |
| Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Thr Phe Thr         |    |    |    |
| 20                  25                  30                      |    |    |    |
| <210> 186                                                       |    |    |    |
| <211> 30                                                        |    |    |    |

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 186

Gln Val Gln Leu Ala Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr

20 25 30

<210> 187

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 187

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser

20 25 30

<210> 188

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 188

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Pro Phe Ser

20 25 30

<210> 189

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 189

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr

20 25 30

<210> 190

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 190

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ile

20 25 30

<210> 191

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 191

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr

20 25 30

<210> 192

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 192

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly

1 5 10

<210> 193

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 193

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Leu Gly

1 5 10

<210> 194

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 194

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly

1 5 10

<210> 195

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 195

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val Gly

1 5 10

<210> 196

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 196

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Arg | Val | Thr | Met | Thr | Arg | Asp | Thr | Ser | Thr | Ser | Thr | Val | Tyr | Met | Glu |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Leu | Ser | Ser | Leu | Arg | Ser | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys | Ala | Arg |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

<210> 197

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 197

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Arg | Val | Thr | Met | Thr | Arg | Asp | Thr | Ser | Thr | Ser | Thr | Val | Tyr | Met | Glu |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Leu | Ser | Ser | Leu | Arg | Ser | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys | Ala | Ile |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

<210> 198

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 198

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Arg | Val | Thr | Met | Thr | Arg | Asp | Thr | Ser | Thr | Ser | Thr | Val | Tyr | Met | Glu |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Leu | Ser | Ser | Leu | Arg | Ser | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys | Thr | Arg |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

<210> 199

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 199

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Ala | Asp | Glu | Ser | Thr | Ser | Thr | Ala | Tyr | Met | Glu |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg  
20 25 30

<210> 200

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 200

Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Asn Met Glu  
1 5 10 15  
Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg  
20 25 30

<210> 201

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 201

Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu  
1 5 10 15  
Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Glu  
20 25 30

<210> 202

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 202

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
1 5 10

<210> 203

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 203

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 204

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 204

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 205

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 205

Trp Gly Pro Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 206

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 206

Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 207

<211> 23



<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 207

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys

20

<210> 208

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 208

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys

20

<210> 209

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 209

Asp Ile Gln Ile Thr His Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Tyr Arg Leu Thr Ile Thr Cys

20

<210> 210

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 210

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile | Tyr |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |

<210> 211

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 211

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Gln | Ala | Pro | Arg | Leu | Leu | Ile | Tyr |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |

<210> 212

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 212

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Trp | Tyr | His | Gln | Lys | Pro | Trp | Asn | Ala | Pro | Lys | Leu | Met | Ile | Tyr |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |

<210> 213

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 213

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly | Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro | Glu | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys |
|     |     |     |     | 20  |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

<210> 214

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 214

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gly | Ile | Pro | Ala | Arg | Phe | Ser | Gly | Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Glu | Phe | Thr |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |     |
| Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Ser | Glu | Asp | Phe | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys |
|     |     |     | 20  |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |     |

<210> 215

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 215

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly | Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Tyr | Phe | Thr |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |     |
| Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro | Glu | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys |
|     |     |     | 20  |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |     |

<210> 216

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 216

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly | Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |     |
| Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro | Glu | Asp | Phe | Ala | Pro | Tyr | Tyr | Cys |
|     |     |     | 20  |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |     |

<210> 217

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 217

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 218

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 218

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 219

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 219

Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 220

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 220

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 221

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成肽"

&lt;400&gt; 221

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Phe | Gly | Gln | Gly | Thr | Lys | Leu | Glu | Ile | Lys |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |

&lt;210&gt; 222

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成肽"

&lt;400&gt; 222

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Phe | Gly | Pro | Gly | Thr | Lys | Val | Asp | Ile | Lys |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |

&lt;210&gt; 223

&lt;211&gt; 127

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 223

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Val | Gln | Leu | Val | Gln | Ser | Gly | Ala | Glu | Val | Lys | Lys | Pro | Gly | Ala |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Val | Lys | Val | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Gly | Thr | Phe | Ser | Ser | Tyr |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Ala | Ile | Ser | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
|     |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Gly | Val | Ile | Asn | Pro | Ser | Ala | Gly | Ser | Thr | Asp | Tyr | Ala | Gln | Lys | Phe |
|     |     |     | 50  |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Arg | Asp | Thr | Ser | Thr | Ser | Thr | Val | Tyr |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |     |
| Met | Glu | Leu | Ser | Ser | Leu | Arg | Ser | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys |
|     |     |     |     |     | 85  |     |     |     | 90  |     |     |     | 95  |     |     |
| Ala | Arg | Asp | Leu | Tyr | Pro | Tyr | Val | Val | Val | Val | Ala | Ala | Gly | Ser | Tyr |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Gly | Met | Asp | Val | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser |     |

| 115                                                             | 120 | 125 |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|
| <210> 224                                                       |     |     |
| <211> 121                                                       |     |     |
| <212> PRT                                                       |     |     |
| <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                 |     |     |
| <220>                                                           |     |     |
| <221> 来源                                                        |     |     |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"                                        |     |     |
| <400> 224                                                       |     |     |
| Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala |     |     |
| 1                  5                  10                  15    |     |     |
| Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr |     |     |
| 20                  25                  30                      |     |     |
| Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met |     |     |
| 35                  40                  45                      |     |     |
| Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Asp Ile Ala Gly Tyr Ala Gln Lys Phe |     |     |
| 50                  55                  60                      |     |     |
| Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr |     |     |
| 65                  70                  75                  80  |     |     |
| Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys |     |     |
| 85                  90                  95                      |     |     |
| Ala Ile Pro Ser Ile Val Gly Ala Tyr Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly |     |     |
| 100                  105                  110                   |     |     |
| Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser                             |     |     |
| 115                  120                                        |     |     |
| <210> 225                                                       |     |     |
| <211> 118                                                       |     |     |
| <212> PRT                                                       |     |     |
| <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                 |     |     |
| <220>                                                           |     |     |
| <221> 来源                                                        |     |     |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"                                        |     |     |
| <400> 225                                                       |     |     |
| Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala |     |     |
| 1                  5                  10                  15    |     |     |
| Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg His |     |     |
| 20                  25                  30                      |     |     |
| Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met |     |     |
| 35                  40                  45                      |     |     |

Gly Trp Ile Ser Pro Gln His Gly Val Arg Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60  
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Glu Ser Val Glu Gly Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110  
 Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 226

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 226

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser His  
 20 25 30  
 His Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Trp Val Ser Pro Ser His Gly Leu Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60  
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Asp Asn Trp Asn Val His Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln  
 100 105 110  
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 227

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 227

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1           5           10           15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Arg Phe
           20           25           30
Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly
           35           40           45
Trp Met Ser Leu Asn Ser Gly Leu Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
           50           55           60
Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met
65           70           75           80
Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr
           85           90           95
Arg Gly Thr Tyr Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu
           100          105          110
Val Thr Val Ser Ser
           115
```

<210> 228

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 228

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1           5           10           15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
           20           25           30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
           35           40           45
Gly Trp Met Lys Pro Ser Ser Gly Thr Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
           50           55           60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65           70           75           80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
           85           90           95
```



Ala Arg Glu Gln Trp Leu Val Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln  
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 229

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 229

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

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

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45

Gly Trp Met Lys Pro Ser Ser Gly Thr Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr  
 65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Gln Trp Leu Val Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln  
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 230

<211> 123

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 230

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asn Thr Phe Thr Ser Tyr

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|--|
| 20  |     |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |     |     |  |  |  |
| Tyr | Met | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |  |  |  |
| 35  |     |     |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     |     | 45  |     |     |  |  |  |
| Gly | Gly | Ile | Asp | Pro | Asn | Ser | Gly | Gly | Thr | Asn | Tyr | Ala | Gln | Lys | Phe |  |  |  |
| 50  |     |     |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     |     | 60  |     |     |  |  |  |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Arg | Asp | Thr | Ser | Thr | Ser | Thr | Val | Tyr |  |  |  |
| 65  |     |     |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     |     | 75  |     |     |  |  |  |
| Met | Glu | Leu | Ser | Ser | Leu | Arg | Ser | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys |  |  |  |
| 85  |     |     |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     |     | 95  |     |     |  |  |  |
| Ala | Arg | Ser | Met | Phe | Pro | Thr | Ile | Phe | Gly | Asp | Asn | Ala | Phe | Asp | Ile |  |  |  |
| 100 |     |     |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     | 110 |     |     |  |  |  |
| Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser |     |     |     |     |     |  |  |  |
| 115 |     |     |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |  |

231

 $\langle 211 \rangle$  123

&lt;212&gt; PRT

### 〈213〉 人工序列 (Artificial Sequence)

 $\langle 220 \rangle$ 

## 〈221〉 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

400 231

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Val | Gln | Leu | Val | Gln | Ser | Gly | Ala | Glu | Val | Lys | Lys | Pro | Gly | Ala |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Val | Lys | Val | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | His | Ser | Phe | Thr | His | Tyr |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Tyr | Met | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Gly | Trp | Met | Asn | Pro | Asp | Ser | Gly | Ser | Thr | Gly | Tyr | Ala | Gln | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Arg | Asp | Thr | Ser | Thr | Ser | Thr | Val | Tyr |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     | 80  |     |
| Met | Glu | Leu | Ser | Ser | Leu | Arg | Ser | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Ala | Arg | Ala | Leu | Phe | Pro | Tyr | Pro | Phe | Tyr | Tyr | Tyr | Tyr | Met | Asp | Val |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser |     |     |     |     |     |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     |     |     |     |     |

232  $\langle 210 \rangle$

⟨211⟩ 116

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 232

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Val | Gln | Leu | Val | Gln | Ser | Gly | Ala | Glu | Val | Lys | Lys | Pro | Gly | Ala |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Val | Lys | Val | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Tyr | Thr | Phe | Thr | Gly | Tyr |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Tyr | Met | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Ile |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Gly | Trp | Met | Ser | Leu | Asn | Ser | Gly | Leu | Thr | Gly | Tyr | Ala | Gln | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Arg | Asp | Thr | Ser | Thr | Ser | Thr | Val | Tyr |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |     |
| Met | Glu | Leu | Ser | Ser | Leu | Arg | Ser | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     | 95  |     |     |
| Ala | Arg | Asp | Arg | Gly | Trp | Phe | Asp | Pro | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Leu | Val |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Thr | Val | Ser | Ser |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     |     |     | 115 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 233

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 233

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Val | Gln | Leu | Val | Gln | Ser | Gly | Ala | Glu | Val | Lys | Lys | Pro | Gly | Ala |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Val | Lys | Val | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Tyr | Thr | Phe | Thr | Asn | Tyr |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Tyr | Ile | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Leu |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Gly | Trp | Met | Asn | Pro | Asn | Gly | Asp | Val | Ala | Gly | Tyr | Ala | Asp | Ser | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Arg | Asp | Thr | Ser | Thr | Ser | Thr | Val | Tyr |

|                                                                 |     |     |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| 65                                                              | 70  | 75  | 80  |
| Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys |     |     |     |
|                                                                 | 85  | 90  | 95  |
| Ala Ile Asp Ser Ser Gly Trp Met Arg Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp |     |     |     |
|                                                                 | 100 | 105 | 110 |
| Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser                         |     |     |     |
|                                                                 | 115 | 120 |     |
| <210> 234                                                       |     |     |     |
| <211> 119                                                       |     |     |     |
| <212> PRT                                                       |     |     |     |
| <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                 |     |     |     |
| <220>                                                           |     |     |     |
| <221> 来源                                                        |     |     |     |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"                                        |     |     |     |
| <400> 234                                                       |     |     |     |
| Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala |     |     |     |
| 1                                                               | 5   | 10  | 15  |
| Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asn Tyr |     |     |     |
|                                                                 | 20  | 25  | 30  |
| Met Tyr His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met |     |     |     |
|                                                                 | 35  | 40  | 45  |
| Gly Trp Ile Ser Thr Tyr His Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe |     |     |     |
|                                                                 | 50  | 55  | 60  |
| Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr |     |     |     |
| 65                                                              | 70  | 75  | 80  |
| Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys |     |     |     |
|                                                                 | 85  | 90  | 95  |
| Ala Arg Asp Ala Arg Gly Tyr Ser Gly Tyr Asp Leu Trp Gly Gln Gly |     |     |     |
|                                                                 | 100 | 105 | 110 |
| Thr Leu Val Thr Val Ser Ser                                     |     |     |     |
|                                                                 | 115 |     |     |
| <210> 235                                                       |     |     |     |
| <211> 118                                                       |     |     |     |
| <212> PRT                                                       |     |     |     |
| <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                 |     |     |     |
| <220>                                                           |     |     |     |
| <221> 来源                                                        |     |     |     |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"                                        |     |     |     |
| <400> 235                                                       |     |     |     |

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
 1                      5                      10                      15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Pro Phe Thr Ser Tyr  
                     20                      25                      30  
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
                     35                      40                      45  
 Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Asp Ile Ala Gly Tyr Ala Gln Lys Phe  
                     50                      55                      60  
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr  
 65                      70                      75                      80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                     85                      90                      95  
 Ala Arg Glu Gly Arg His Gly Glu Tyr Leu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
                     100                      105                      110  
 Leu Val Thr Val Ser Ser  
                     115

<210> 236

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 236

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
 1                      5                      10                      15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Arg Phe Thr Thr Tyr  
                     20                      25                      30  
 Tyr Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
                     35                      40                      45  
 Gly Trp Met Asn Pro Asn Thr Val Tyr Thr Gly Ser Ala Gln Lys Phe  
                     50                      55                      60  
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr  
 65                      70                      75                      80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                     85                      90                      95  
 Ala Arg Glu Gly Trp Gly Ser Ser Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln  
                     100                      105                      110  
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

<210> 238  
<211> 119  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"  
<400> 238  
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser  
1                  5                  10                  15  
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr  
                  20                  25                  30  
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
                  35                  40                  45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60  
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Gly Gly Tyr Ser Tyr Gly Ser Phe Gln His Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110  
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 239

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 239

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Thr Phe Thr Arg His  
 20 25 30  
 Tyr Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Trp Met Ser Pro Ser Ser Gly Ile Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60  
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Val Arg Trp Ser Ser Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110  
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 240

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 240

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1           5           10           15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
           20           25           30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
           35           40           45
Gly Trp Met Thr Pro Ser Thr Gly Asn Ala Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
           50           55           60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65           70           75           80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
           85           90           95
Ala Arg Glu Glu Trp Leu Gly His Phe Gln His Trp Gly Gln Gly Thr
           100          105          110
Leu Val Thr Val Ser Ser
           115
```

<210> 241

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 241

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1           5           10           15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser His
           20           25           30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
           35           40           45
Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
           50           55           60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65           70           75           80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
           85           90           95
```



Ala Arg Glu Arg Phe Leu Gly Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 242

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 242

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

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

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45

Gly Trp Met His Pro Asn Ser Gly His Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Asn  
 65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Glu Trp Leu Gly His Phe Gln His Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 243

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 243

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser His

⟨211⟩ 118

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 245

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Val | Gln | Leu | Val | Gln | Ser | Gly | Ala | Glu | Val | Lys | Lys | Pro | Gly | Ala |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Val | Lys | Val | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Tyr | Thr | Phe | Thr | Gly | Tyr |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Tyr | Met | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Gly | Trp | Ile | Ser | Pro | Asn | Ser | Gly | Val | Thr | Asp | Phe | Thr | Gln | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Arg | Asp | Thr | Ser | Thr | Ser | Thr | Val | Tyr |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |     |
| Met | Glu | Leu | Ser | Ser | Leu | Arg | Ser | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     | 95  |     |     |
| Ala | Arg | Glu | Ser | Trp | Ser | Gly | Glu | Phe | Asp | Tyr | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 246

&lt;211&gt; 118

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 246

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Val | Gln | Leu | Val | Gln | Ser | Gly | Ala | Glu | Val | Lys | Lys | Pro | Gly | Ala |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Val | Lys | Val | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Asp | Thr | Phe | Thr | Asn | His |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Tyr | Met | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Gly | Trp | Met | Asn | Pro | Asn | Ser | Gly | His | Thr | Gly | Tyr | Ala | Gln | Arg | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Arg | Asp | Thr | Ser | Thr | Ser | Thr | Val | Tyr |

|                                                                 |     |     |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| 65                                                              | 70  | 75  | 80  |
| Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys |     |     |     |
|                                                                 | 85  | 90  | 95  |
| Ala Arg Glu Ala Val Ala Gly Pro Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr |     |     |     |
|                                                                 | 100 | 105 | 110 |
| Thr Val Thr Val Ser Ser                                         |     |     |     |

115

&lt;210&gt; 247

&lt;211&gt; 119

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 247

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

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

|                                                                 |
|-----------------------------------------------------------------|
| Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met |
| 35                    40                    45                  |

|                                                                 |
|-----------------------------------------------------------------|
| Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Asp Ile Ala Gly Tyr Ala Gln Lys Phe |
| 50                    55                    60                  |

|                                                                      |
|----------------------------------------------------------------------|
| Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr      |
| 65                    70                    75                    80 |

|                                                                 |
|-----------------------------------------------------------------|
| Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys |
| 85                    90                    95                  |

|                                                                 |
|-----------------------------------------------------------------|
| Ala Arg Asp Ala Trp Glu Leu Leu Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly |
| 100                    105                    110               |

|                             |
|-----------------------------|
| Thr Leu Val Thr Val Ser Ser |
| 115                         |

&lt;210&gt; 248

&lt;211&gt; 119

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 248

Gln Val Gln Leu Ala Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
 1                      5                      10                      15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn His  
                     20                      25                      30  
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
                     35                      40                      45  
 Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe  
                     50                      55                      60  
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr  
 65                      70                      75                      80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                     85                      90                      95  
 Ala Arg Asp Arg Trp Asp Gly Asp Tyr Tyr Ser Ala Trp Gly Gln Gly  
                     100                      105                      110  
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
                     115

<210> 249

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 249

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
 1                      5                      10                      15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr  
                     20                      25                      30  
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
                     35                      40                      45  
 Gly Trp Met Ser Pro Asn Gly Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe  
                     50                      55                      60  
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr  
 65                      70                      75                      80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                     85                      90                      95  
 Ala Arg Glu Ser Trp Glu Leu Thr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
                     100                      105                      110  
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

&lt;210&gt; 250

&lt;211&gt; 118

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 250

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Val | Gln | Leu | Val | Gln | Ser | Gly | Ala | Glu | Val | Lys | Lys | Pro | Gly | Ala |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Val | Lys | Val | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Tyr | Thr | Phe | Thr | Ser | Tyr |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |     |
| Tyr | Met | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
|     |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     |     | 45  |     |     |
| Gly | Trp | Met | Asn | Pro | Asn | Ser | Gly | Asn | Thr | Gly | Tyr | Ala | Gln | Lys | Phe |
|     |     | 50  |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Arg | Asp | Thr | Ser | Thr | Ser | Thr | Val | Tyr |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |     |
| Met | Glu | Leu | Ser | Ser | Leu | Arg | Ser | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Ala | Arg | Glu | Arg | Phe | Ala | Gly | Gly | Met | Asp | Ala | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Thr | Val | Thr | Val | Ser | Ser |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

115

&lt;210&gt; 251

&lt;211&gt; 117

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 251

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Val | Gln | Leu | Val | Gln | Ser | Gly | Ala | Glu | Val | Lys | Lys | Pro | Gly | Ala |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Val | Lys | Val | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Tyr | Thr | Phe | Ser | Asn | Ser |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Tyr | Met | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
|     |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     |     | 45  |     |     |

Gly Trp Met Asp Pro Ser Ser Gly Tyr Thr Gly Ser Ala His Lys Phe  
 50 55 60  
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Glu Asp Ser Gly Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met  
 100 105 110  
 Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 252

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 252

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Pro Phe Ser Thr Tyr  
 20 25 30  
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Trp Met Asn Pro His Ser Ala Asp Thr Gly Tyr Ala Glu Lys Phe  
 50 55 60  
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Glu Val Phe Glu Gly Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110  
 Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 253

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 253

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1           5           10           15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
           20           25           30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
           35           40           45
Gly Trp Leu Thr Pro Ser Thr Gly His Ala Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
           50           55           60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65           70           75           80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
           85           90           95
Ala Arg Glu Gly Tyr Gly Gly Asn Tyr Gly Asn Trp Gly Gln Gly Thr
           100          105          110
Leu Val Thr Val Ser Ser
           115
```

<210> 254

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 254

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1           5           10           15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
           20           25           30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
           35           40           45
Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly His Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
           50           55           60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65           70           75           80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
           85           90           95
```



Ala Arg Glu Asp Phe Tyr Gly Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 255

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 255

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

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

Phe Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Asn Ser Gly Val Thr Ser Ser Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr  
 65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Leu Ser Arg Trp Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Pro Gly Thr  
 100 105 110

Met Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 256

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 256

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg His

〈400〉 257

&lt;211&gt; 119

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 258

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Val | Gln | Leu | Val | Gln | Ser | Gly | Ala | Glu | Val | Lys | Lys | Pro | Gly | Ser |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Val | Lys | Val | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Gly | Thr | Phe | Ser | Thr | Phe |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Gly | Ile | Ser | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
|     |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Gly | Gly | Ile | Ile | Pro | Ile | Phe | Gly | Thr | Ala | Asn | Tyr | Ala | Gln | Lys | Phe |
|     |     | 50  |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Ala | Asp | Glu | Ser | Thr | Ser | Thr | Ala | Tyr |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |     |
| Met | Glu | Leu | Ser | Ser | Leu | Arg | Ser | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |     |
| Ala | Arg | Gly | Gly | Tyr | Ser | Tyr | Gly | Ser | Phe | Asp | Tyr | Trp | Gly | Gln | Gly |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Thr | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 259

<211> 124

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 259

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Val | Gln | Leu | Val | Gln | Ser | Gly | Ala | Glu | Val | Lys | Lys | Pro | Gly | Ala |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Val | Lys | Val | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Tyr | Thr | Phe | Thr | Ser | Tyr |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Gly | Ile | Asn | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
|     |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Gly | Trp | Met | Asn | Pro | Asn | Ser | Gly | Asn | Thr | Gly | Tyr | Ala | Gln | Lys | Phe |
|     |     | 50  |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Arg | Asp | Thr | Ser | Thr | Ser | Thr | Val | Tyr |

|                                                                 |     |     |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| 65                                                              | 70  | 75  | 80  |
| Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys |     |     |     |
|                                                                 | 85  | 90  | 95  |
| Ala Arg Gly Ser Phe Pro Leu Val Phe Thr Ile Phe Gly Val Gly Asp |     |     |     |
|                                                                 | 100 | 105 | 110 |
| Val Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser                 |     |     |     |
|                                                                 | 115 | 120 |     |

&lt;210&gt; 260

&lt;211&gt; 119

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 260

|                                                                 |     |     |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala |     |     |     |
| 1                                                               | 5   | 10  | 15  |
| Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr |     |     |     |
|                                                                 | 20  | 25  | 30  |
| Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met |     |     |     |
|                                                                 | 35  | 40  | 45  |
| Gly Trp Ile Ser Pro Arg Ser Gly Val Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe |     |     |     |
|                                                                 | 50  | 55  | 60  |
| Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr |     |     |     |
| 65                                                              | 70  | 75  | 80  |
| Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys |     |     |     |
|                                                                 | 85  | 90  | 95  |
| Ala Arg Asp Leu Asp Tyr Val Arg Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly |     |     |     |
|                                                                 | 100 | 105 | 110 |
| Thr Thr Val Thr Val Ser Ser                                     |     |     |     |
|                                                                 | 115 |     |     |

&lt;210&gt; 261

&lt;211&gt; 118

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 261

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
 1                      5                      10                      15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr  
                     20                      25                      30  
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
                     35                      40                      45  
 Gly Trp Met Asp Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe  
                     50                      55                      60  
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr  
 65                      70                      75                      80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                     85                      90                      95  
 Ala Arg Glu Ser Trp Gly Gly Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr  
                     100                      105                      110  
 Leu Val Thr Val Ser Ser  
                     115

<210> 262

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 262

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
 1                      5                      10                      15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ile Asn His  
                     20                      25                      30  
 Tyr Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
                     35                      40                      45  
 Gly Trp Met Asn Pro Thr Gly Gly Ile Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe  
                     50                      55                      60  
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr  
 65                      70                      75                      80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                     85                      90                      95  
 Ala Arg Asp Arg Thr Thr Tyr Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr  
                     100                      105                      110  
 Met Val Thr Val Ser Ser

115

&lt;210&gt; 263

&lt;211&gt; 118

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 263

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Val | Gln | Leu | Val | Gln | Ser | Gly | Ala | Glu | Val | Lys | Lys | Pro | Gly | Ala |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Val | Lys | Val | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Tyr | Thr | Phe | Thr | Ser | His |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Tyr | Met | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Gly | Trp | Met | Asn | Pro | Asn | Ser | Gly | His | Thr | Gly | Asn | Ala | Gln | Lys | Phe |
|     |     | 50  |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Arg | Asp | Thr | Ser | Thr | Ser | Thr | Val | Tyr |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |     |
| Met | Glu | Leu | Ser | Ser | Leu | Arg | Ser | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     | 95  |     |     |
| Ala | Arg | Gly | Asn | Trp | Val | Asp | Ala | Phe | Asp | Ile | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr |
|     |     |     |     | 100 |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Met | Val | Thr | Val | Ser | Ser |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

115

&lt;210&gt; 264

&lt;211&gt; 120

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 264

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Val | Gln | Leu | Val | Gln | Ser | Gly | Ala | Glu | Val | Lys | Lys | Pro | Gly | Ser |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Val | Lys | Val | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Tyr | Thr | Phe | Thr | Arg | His |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Leu | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |

Gly Trp Val Ser Pro Ile His Gly Leu Thr Gly Tyr Ala Pro Arg Phe  
 50 55 60  
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Val His Gly Ser Gly Ser Asp Gly Met Asp Val Trp Gly Gln  
 100 105 110  
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 265

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 265

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Asp Ser Tyr  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Ile  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 266

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 266

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1                      5                      10                      15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp  
                     20                      25                      30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
                     35                      40                      45  
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
                     50                      55                      60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65                      70                      75                      80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Thr Thr Pro Ile  
                     85                      90                      95  
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
                     100                      105

&lt;210&gt; 267

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 267

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1                      5                      10                      15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr  
                     20                      25                      30  
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
                     35                      40                      45  
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
                     50                      55                      60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65                      70                      75                      80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ile Phe Ser Thr Pro Leu  
                     85                      90                      95  
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
                     100                      105

&lt;210&gt; 268

&lt;211&gt; 107



&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 268

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Ile | Gln | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Val | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Ser | Gln | Gly | Ile | Ser | Ser | Tyr |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Ala | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile |
|     |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Tyr | Gly | Ala | Ser | Asn | Leu | Gln | Ser | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     | 80  |     |
| Glu | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Ser | Tyr | Ser | Thr | Pro | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Gly | Gly | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile | Lys |     |     |     |     |     |
|     |     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 269

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 269

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Ile | Gln | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Val | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Ser | Gln | Thr | Ile | Ser | Asn | Tyr |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Asn | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile |
|     |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Tyr | Ala | Ala | Ser | Ser | Leu | Gln | Ser | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     | 80  |     |
| Glu | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Ser | Tyr | Thr | Thr | Pro | Ile |

|                                                                 | 85  | 90  | 95 |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|----|
| Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys                     |     |     |    |
|                                                                 | 100 | 105 |    |
| <210> 270                                                       |     |     |    |
| <211> 108                                                       |     |     |    |
| <212> PRT                                                       |     |     |    |
| <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                 |     |     |    |
| <220>                                                           |     |     |    |
| <221> 来源                                                        |     |     |    |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"                                        |     |     |    |
| <400> 270                                                       |     |     |    |
| Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly |     |     |    |
| 1                  5                  10                  15    |     |     |    |
| Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Arg Asn |     |     |    |
| 20                  25                  30                      |     |     |    |
| Tyr Val Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu |     |     |    |
| 35                  40                  45                      |     |     |    |
| Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser |     |     |    |
| 50                  55                  60                      |     |     |    |
| Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln |     |     |    |
| 65                  70                  75                  80  |     |     |    |
| Ser Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Thr Thr Pro |     |     |    |
| 85                  90                  95                      |     |     |    |
| Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys                 |     |     |    |
| 100                  105                                        |     |     |    |
| <210> 271                                                       |     |     |    |
| <211> 107                                                       |     |     |    |
| <212> PRT                                                       |     |     |    |
| <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                 |     |     |    |
| <220>                                                           |     |     |    |
| <221> 来源                                                        |     |     |    |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"                                        |     |     |    |
| <400> 271                                                       |     |     |    |
| Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly |     |     |    |
| 1                  5                  10                  15    |     |     |    |
| Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Gln Tyr |     |     |    |
| 20                  25                  30                      |     |     |    |
| Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile |     |     |    |
| 35                  40                  45                      |     |     |    |

Tyr Gly Ala Ser Asn Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Phe Thr Thr Pro Leu  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 272

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 272

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asn Tyr  
 20 25 30  
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 273

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 273

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

|                 |                 |                 |                 |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 1               | 5               | 10              | 15              |
| Asp Arg Val Thr | Ile Thr Cys Arg | Ala Ser Gln Gly | Ile Arg Asn Asp |
| 20              | 25              | 30              |                 |
| Leu Gly Trp Tyr | Gln Gln Lys Pro | Gly Lys Ala Pro | Lys Leu Leu Ile |
| 35              | 40              | 45              |                 |
| Tyr Ser Ala Ser | Asn Leu Gln Ser | Gly Val Pro Ser | Arg Phe Ser Gly |
| 50              | 55              | 60              |                 |
| Ser Gly Ser Gly | Thr Asp Phe Thr | Leu Thr Ile Ser | Ser Leu Gln Pro |
| 65              | 70              | 75              | 80              |
| Glu Asp Phe Ala | Thr Tyr Tyr Cys | Gln Gln Ala Asn | Ser Phe Pro Phe |
| 85              | 90              | 95              |                 |
| Thr Phe Gly Gly | Gly Thr Lys Val | Glu Ile Lys     |                 |
| 100             | 105             |                 |                 |

&lt;210&gt; 274

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 274

|                 |                 |                 |                 |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Asp Ile Gln Met | Thr Gln Ser Pro | Ser Ser Leu Ser | Ala Ser Val Gly |
| 1               | 5               | 10              | 15              |
| Asp Arg Val Thr | Ile Thr Cys Arg | Ala Ser Gln Ser | Ile Ser Ser Trp |
| 20              | 25              | 30              |                 |
| Leu Ala Trp Tyr | Gln Gln Lys Pro | Gly Lys Ala Pro | Lys Leu Leu Ile |
| 35              | 40              | 45              |                 |
| Tyr Ala Ala Ser | Thr Leu Glu Ser | Gly Val Pro Ser | Arg Phe Ser Gly |
| 50              | 55              | 60              |                 |
| Ser Gly Ser Gly | Thr Asp Phe Thr | Leu Thr Ile Ser | Ser Leu Gln Pro |
| 65              | 70              | 75              | 80              |
| Glu Asp Phe Ala | Thr Tyr Tyr Cys | Gln Gln Ser Tyr | Thr Thr Pro Tyr |
| 85              | 90              | 95              |                 |
| Ser Phe Gly Gly | Gly Thr Lys Val | Glu Ile Lys     |                 |
| 100             | 105             |                 |                 |

&lt;210&gt; 275

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 275

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Ile | Gln | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Val | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |     |
| Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Ser | Gln | Gly | Ile | Ser | Gln | Tyr |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     | 30  |     |     |     |
| Leu | Ala | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Tyr | Gly | Ala | Ser | Asn | Leu | His | Ser | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |
| 65  |     |     |     | 70  |     |     |     | 75  |     |     |     |     |     | 80  |     |
| Glu | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Thr | Phe | Ile | Thr | Pro | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     | 90  |     |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Gly | Gly | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile | Lys |     |     |     |     |     |
|     |     |     |     | 100 |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 276

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 276

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Ile | Gln | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Val | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |     |
| Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Ser | Gln | Ile | Ile | Gly | Asn | Tyr |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     | 30  |     |     |     |
| Leu | Ala | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Tyr | His | Ala | Ser | Ile | Leu | Glu | Thr | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |
| 65  |     |     |     | 70  |     |     |     | 75  |     |     |     |     |     | 80  |     |
| Glu | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Ser | Tyr | Ser | Thr | Pro | Thr |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     | 90  |     |     |     |     |     | 95  |     |
| Phe | Gly | Gly | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile | Lys |     |     |     |     |     |     |

| 100                                                                                                      | 105 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <210> 277                                                                                                |     |
| <211> 107                                                                                                |     |
| <212> PRT                                                                                                |     |
| <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                                                          |     |
| <220>                                                                                                    |     |
| <221> 来源                                                                                                 |     |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"                                                                                 |     |
| <400> 277                                                                                                |     |
| Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly                                          |     |
| 1                                5                                10                                15   |     |
| Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ile Ile Ser Ser Tyr                                          |     |
| 20                                25                                30                                   |     |
| Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile                                          |     |
| 35                                40                                45                                   |     |
| Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly                                          |     |
| 50                                55                                60                                   |     |
| Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro                                          |     |
| 65                                70                                75                                80 |     |
| Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Phe Ser Thr Pro Phe                                          |     |
| 85                                90                                95                                   |     |
| Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys                                                              |     |
| 100                                105                                                                   |     |

|                                                                                                        |  |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| <210> 278                                                                                              |  |
| <211> 107                                                                                              |  |
| <212> PRT                                                                                              |  |
| <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                                                        |  |
| <220>                                                                                                  |  |
| <221> 来源                                                                                               |  |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"                                                                               |  |
| <400> 278                                                                                              |  |
| Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly                                        |  |
| 1                                5                                10                                15 |  |
| Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr                                        |  |
| 20                                25                                30                                 |  |
| Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile                                        |  |
| 35                                40                                45                                 |  |
| Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly                                        |  |
| 50                                55                                60                                 |  |



|                                                                 |     |    |
|-----------------------------------------------------------------|-----|----|
| 20                                                              | 25  | 30 |
| Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile |     |    |
| 35                                                              | 40  | 45 |
| Tyr Ala Ala Thr Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly |     |    |
| 50                                                              | 55  | 60 |
| Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro |     |    |
| 65                                                              | 70  | 75 |
| Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Tyr |     |    |
| 85                                                              | 90  | 95 |
| Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys                     |     |    |
| 100                                                             | 105 |    |

&lt;210&gt; 281

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 281

|                                                                 |     |    |
|-----------------------------------------------------------------|-----|----|
| Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly |     |    |
| 1                                                               | 5   | 10 |
| Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr |     |    |
| 20                                                              | 25  | 30 |
| Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile |     |    |
| 35                                                              | 40  | 45 |
| Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly |     |    |
| 50                                                              | 55  | 60 |
| Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro |     |    |
| 65                                                              | 70  | 75 |
| Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu |     |    |
| 85                                                              | 90  | 95 |
| Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys                     |     |    |
| 100                                                             | 105 |    |

&lt;210&gt; 282

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源



<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 282

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Ile | Gln | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Val | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Ser | Gln | Gly | Ile | Ser | Asn | Gly |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |     |
| Leu | Ser | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile |
|     |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     |     | 45  |     |     |
| Tyr | Ala | Ala | Ser | Thr | Leu | Gln | Ser | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |
|     |     |     | 50  |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Glu | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Ser | His | Ser | Thr | Pro | Leu |
|     |     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |
| Thr | Phe | Gly | Gly | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile | Lys |     |     |     |     |     |
|     |     |     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     |

<210> 283

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 283

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Ile | Gln | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Val | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Ser | Gln | Ser | Ile | Thr | Gly | Trp |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |     |
| Leu | Ala | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile |
|     |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     |     | 45  |     |     |
| Tyr | Ala | Ala | Ser | Ser | Leu | Gln | Ser | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |
|     |     |     | 50  |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Glu | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Ser | Tyr | Ser | Thr | Pro | Tyr |
|     |     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |
| Thr | Phe | Gly | Gln | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile | Lys |     |     |     |     |     |
|     |     |     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     |

<210> 284

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 284

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Ile | Gln | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Val | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Ser | Gln | Ser | Ile | Ser | Ser | Trp |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |     |
| Leu | Ala | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile |
|     |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     |     | 45  |     |     |
| Tyr | Asp | Ala | Thr | His | Leu | Glu | Thr | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |
|     |     |     | 50  |     |     | 55  |     |     |     |     |     | 60  |     |     |     |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     | 80  |     |
| Glu | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Ser | Tyr | Ser | Thr | Pro | Ile |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Gly | Gln | Gly | Thr | Arg | Leu | Glu | Ile | Lys |     |     |     |     |     |
|     |     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 285

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 285

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Ile | Gln | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Val | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Ser | Gln | Gly | Ile | Arg | Asn | Asp |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |     |
| Leu | Ala | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile |
|     |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     |     | 45  |     |     |
| Tyr | Ala | Ala | Ser | Thr | Leu | Gln | Ser | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |
|     |     |     | 50  |     |     | 55  |     |     |     |     |     | 60  |     |     |     |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     | 80  |     |

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

<210> 286

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 286

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr  
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Tyr  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
100 105

<210> 287

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 287

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Thr Thr Tyr  
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

|                                                                 |     |    |
|-----------------------------------------------------------------|-----|----|
| 35                                                              | 40  | 45 |
| Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Gly Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly |     |    |
| 50                                                              | 55  | 60 |
| Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro |     |    |
| 65                                                              | 70  | 75 |
| Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Tyr |     |    |
| 85                                                              | 90  | 95 |
| Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys                     |     |    |
| 100                                                             | 105 |    |

&lt;210&gt; 288

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 288

|                                                                            |
|----------------------------------------------------------------------------|
| Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly            |
| 1                      5                      10                      15   |
| Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr            |
| 20                      25                      30                         |
| Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile            |
| 35                      40                      45                         |
| Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly            |
| 50                      55                      60                         |
| Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro            |
| 65                      70                      75                      80 |
| Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu            |
| 85                      90                      95                         |
| Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys                                |
| 100                      105                                               |

&lt;210&gt; 289

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 289

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Ile | Gln | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Val | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Ser | Gln | Ser | Val | Ser | Thr | Trp |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Ala | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Tyr | Ala | Ala | Ser | Asn | Leu | Glu | Ser | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |
|     |     | 50  |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     | 80  |     |
| Glu | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Ser | Tyr | Ser | Thr | Pro | Tyr |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Gly | Gln | Gly | Thr | Lys | Leu | Glu | Ile | Lys |     |     |     |     |     |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 290

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 290

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Ile | Gln | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Val | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Ser | Gln | Ser | Ile | Ser | Asn | Trp |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Ala | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Tyr | Asp | Val | Ser | His | Leu | Glu | Ser | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |
|     |     | 50  |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     | 80  |     |
| Glu | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Ser | Tyr | Ser | Thr | Pro | Phe |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Gly | Pro | Gly | Thr | Lys | Val | Asp | Ile | Lys |     |     |     |     |     |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 291

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 291

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
          20           25           30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
          35           40           45
Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
          50           55           60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65           70           75           80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
          85           90           95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
          100          105

```

<210> 292

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 292

```

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1           5           10           15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Leu Ser Ser Ser
          20           25           30
Ser Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
          35           40           45
Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser
          50           55           60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
65           70           75           80
Ser Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
          85           90           95

```

Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys  
100 105

<210> 293

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 293

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15  
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu His Ile Ala Asn Trp  
20 25 30  
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45  
Tyr Gly Val Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60  
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80  
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Tyr  
85 90 95  
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
100 105

<210> 294

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 294

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15  
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ser Trp  
20 25 30  
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45  
Tyr Pro Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1                      5                      10                      15



|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Ser | Gln | Gly | Ile | Ser | Arg | Tyr |
| 20  |     |     |     | 25  |     |     |     | 30  |     |     |     |     |     |     |     |
| Leu | Ala | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile |
| 35  |     |     |     | 40  |     |     |     | 45  |     |     |     |     |     |     |     |
| Tyr | Ala | Ala | Ser | Thr | Leu | Gln | Ser | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |
| 50  |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |     |     |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |
| 65  |     |     |     | 70  |     |     |     | 75  |     |     |     | 80  |     |     |     |
| Glu | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Ser | Tyr | Ser | Thr | Pro | Leu |
| 85  |     |     |     | 90  |     |     |     | 95  |     |     |     |     |     |     |     |
| Thr | Phe | Gly | Gln | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile | Lys |     |     |     |     |     |
| 100 |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 297

&lt;211&gt; 108

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 297

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Glu | Ile | Val | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Ala | Thr | Leu | Ser | Val | Ser | Pro | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     | 15  |     |     |     |
| Glu | Arg | Ala | Thr | Leu | Ser | Cys | Arg | Ala | Ser | Gln | Thr | Val | Ser | Ser | Asn |
| 20  |     |     |     | 25  |     |     |     | 30  |     |     |     |     |     |     |     |
| Tyr | Leu | Ala | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Gln | Ala | Pro | Arg | Leu | Leu |
| 35  |     |     |     | 40  |     |     |     | 45  |     |     |     |     |     |     |     |
| Ile | Tyr | Gly | Ala | Ser | Thr | Arg | Ala | Ser | Gly | Ile | Pro | Ala | Arg | Phe | Ser |
| 50  |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |     |     |
| Gly | Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Glu | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln |
| 65  |     |     |     | 70  |     |     |     | 75  |     |     |     | 80  |     |     |     |
| Ser | Glu | Asp | Phe | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Tyr | Tyr | Thr | Thr | Pro |
| 85  |     |     |     | 90  |     |     |     | 95  |     |     |     |     |     |     |     |
| Leu | Thr | Phe | Gly | Gly | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile | Lys |     |     |     |     |
| 100 |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 298

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 298

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
           20           25           30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
           35           40           45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
           50           55           60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65           70           75           80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Phe Ser Thr Pro Leu
           85           90           95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
           100          105

```

<210> 299

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 299

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp
           20           25           30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
           35           40           45
Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
           50           55           60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65           70           75           80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
           85           90           95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
           100          105

```

&lt;210&gt; 300

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 300

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Asn
           20           25           30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
           35           40           45
Tyr Ala Thr Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
           50           55           60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65           70           75           80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Tyr
           85           90           95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
           100          105

```

&lt;210&gt; 301

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 301

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
           20           25           30
Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
           35           40           45
Tyr Leu Ala Ser Asn Ser His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
           50           55           60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

```

|                                                                 |     |    |    |
|-----------------------------------------------------------------|-----|----|----|
| 65                                                              | 70  | 75 | 80 |
| Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu |     |    |    |
|                                                                 | 85  | 90 | 95 |
| Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys                     |     |    |    |
| 100                                                             | 105 |    |    |

&lt;210&gt; 302

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 302

|                                                                 |     |    |    |
|-----------------------------------------------------------------|-----|----|----|
| Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly |     |    |    |
| 1                                                               | 5   | 10 | 15 |
| Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Arg Trp |     |    |    |
|                                                                 | 20  | 25 | 30 |
| Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile |     |    |    |
|                                                                 | 35  | 40 | 45 |
| Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly |     |    |    |
|                                                                 | 50  | 55 | 60 |
| Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro |     |    |    |
| 65                                                              | 70  | 75 | 80 |
| Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Tyr |     |    |    |
|                                                                 | 85  | 90 | 95 |
| Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys                     |     |    |    |
| 100                                                             | 105 |    |    |

&lt;210&gt; 303

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 303

|                                                                 |    |    |    |
|-----------------------------------------------------------------|----|----|----|
| Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly |    |    |    |
| 1                                                               | 5  | 10 | 15 |
| Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp |    |    |    |
|                                                                 | 20 | 25 | 30 |

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Asp Ser Ser Ser Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Val  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 304

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 304

Asp Ile Gln Ile Thr His Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 Tyr Arg Leu Thr Ile Thr Cys Arg Asp Ser His Ser Ile Thr Thr Trp  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr His Gln Lys Pro Trp Asn Ala Pro Lys Leu Met Ile  
 35 40 45  
 Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Tyr Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Tyr Asn Thr Gln Tyr  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 305

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 305

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Ile | Gln | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Val | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |     |
| Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Ser | Gln | Val | Ile | Arg | Asn | Asp |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Ala | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile |
|     |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Tyr | Ala | Ala | Ser | Thr | Leu | Gln | Ser | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |
|     |     |     | 50  |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |     |
| Glu | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Ser | Leu | Gln | Tyr | Pro | Ser |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |     |
| His | Phe | Phe | Gly | Gln | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile | Lys |     |     |     |     |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 306

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 306

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Ile | Gln | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Val | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |     |
| Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Ser | Gln | Ser | Ile | Ser | Arg | Tyr |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Asn | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile |
|     |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Tyr | Ala | Ala | Ser | Thr | Leu | Gln | Ser | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |
|     |     |     | 50  |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |     |
| Glu | Asp | Phe | Ala | Pro | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Ser | Tyr | Ser | Thr | Pro | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |     |
| Thr | Phe | Gly | Pro | Gly | Thr | Lys | Val | Asp | Ile | Lys |     |     |     |     |     |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 307

&lt;211&gt; 290

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 未知 (Unknown)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="未知的描述:PD-L1序列"

&lt;400&gt; 307

```

Met Arg Ile Phe Ala Val Phe Ile Phe Met Thr Tyr Trp His Leu Leu
1           5           10           15
Asn Ala Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr
          20           25           30
Gly Ser Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu
          35           40           45
Asp Leu Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile
          50           55           60
Ile Gln Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser
65           70           75           80
Tyr Arg Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn
          85           90           95
Ala Ala Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr
          100          105          110
Arg Cys Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val
          115          120          125
Lys Val Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val
          130          135          140
Asp Pro Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr
145          150          155          160
Pro Lys Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser
          165          170          175
Gly Lys Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn
          180          185          190
Val Thr Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr
          195          200          205
Cys Thr Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu
          210          215          220
Val Ile Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr His
225          230          235          240
Leu Val Ile Leu Gly Ala Ile Leu Leu Cys Leu Gly Val Ala Leu Thr
          245          250          255
Phe Ile Phe Arg Leu Arg Lys Gly Arg Met Met Asp Val Lys Lys Cys

```

| 260                              | 265                             | 270 |
|----------------------------------|---------------------------------|-----|
| Gly Ile Gln Asp Thr Asn Ser Lys  | Lys Gln Ser Asp Thr His Leu Glu |     |
| 275                              | 280                             | 285 |
| Glu Thr                          |                                 |     |
| 290                              |                                 |     |
| <210> 308                        |                                 |     |
| <211> 5                          |                                 |     |
| <212> PRT                        |                                 |     |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence) |                                 |     |
| <220>                            |                                 |     |
| <221> 来源                         |                                 |     |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成肽"          |                                 |     |
| <400> 308                        |                                 |     |
| Ser Asp Tyr Met His              |                                 |     |
| 1                                | 5                               |     |
| <210> 309                        |                                 |     |
| <211> 5                          |                                 |     |
| <212> PRT                        |                                 |     |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence) |                                 |     |
| <220>                            |                                 |     |
| <221> 来源                         |                                 |     |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成肽"          |                                 |     |
| <400> 309                        |                                 |     |
| Gly Tyr Tyr Met His              |                                 |     |
| 1                                | 5                               |     |
| <210> 310                        |                                 |     |
| <211> 5                          |                                 |     |
| <212> PRT                        |                                 |     |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence) |                                 |     |
| <220>                            |                                 |     |
| <221> 来源                         |                                 |     |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成肽"          |                                 |     |
| <400> 310                        |                                 |     |
| Ser Tyr Tyr Met His              |                                 |     |
| 1                                | 5                               |     |
| <210> 311                        |                                 |     |
| <211> 5                          |                                 |     |
| <212> PRT                        |                                 |     |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence) |                                 |     |



<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 311  
Gly Tyr Tyr Ile His  
1 5  
<210> 312  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 312  
Thr His Tyr Met His  
1 5  
<210> 313  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 313  
Ser His Asp Ile Asn  
1 5  
<210> 314  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 314  
Asp His Tyr Leu His  
1 5  
<210> 315  
<211> 5  
<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 315  
Asn Tyr Tyr Met His  
1 5  
<210> 316  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 316  
Ala Tyr Tyr Val His  
1 5  
<210> 317  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 317  
Arg His Tyr Val His  
1 5  
<210> 318  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 318  
Asn Tyr Ile His  
1  
<210> 319  
<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 319

Asn His Tyr Val His

1 5

<210> 320

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 320

Ser His Tyr Met His

1 5

<210> 321

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 321

Arg His Leu Leu His

1 5

<210> 322

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 322

Trp Met Ser Pro Tyr Asn Gly Ile Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 323

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 323

Trp Met Ser Pro Ser Ser Gly Ile Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 324

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 324

Trp Met Thr Thr Asn Ser Gly Ile Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 325

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 325

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 326

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 326

Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly His Ala Gly Ser Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 327

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 327

Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 328

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 328

Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ser Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 329

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 329

Trp Met Asn Pro Asn Ile Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 330

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 330

Trp Met Asn Pro Asn Gly Gly Thr Thr Gly Tyr Ala Gln Asn Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 331

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 331

Trp Met Asn Pro Asn Arg Gly Ile Thr Asp Ser Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 332

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 332

Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Ser Ala Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 333

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 333

Trp Ile His Pro Arg Ser Gly Ala Thr Gly Tyr Ala Pro Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 334

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 334

Trp Ile Ser Pro Arg Ser Gly Val Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 335

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 335

Trp Met Asp Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 336

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 336

Trp Met Asn Pro Thr Gly Gly Ile Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 337

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 337

Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly His Thr Gly Asn Ala Gln Lys Phe Gln

1

5

10

15

Gly

<210> 338

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 338

Trp Val Ser Pro Ile His Gly Leu Thr Gly Tyr Ala Pro Arg Phe Gln

1

5

10

15

Gly

<210> 339

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 339

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Tyr Asp Tyr

1

5

<210> 340

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 340

Asp Arg Gly Trp Phe Asp Pro



1 5  
<210> 341  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 341  
Glu Gly Tyr Ser Ser Gly Leu Asp Tyr  
1 5  
<210> 342  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 342  
Asp Gly Arg Phe Trp Ser Gly Tyr Pro Asp Tyr  
1 5 10  
<210> 343  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 343  
Glu Ser Ile Ala Val Ala Gly Tyr Asp Tyr  
1 5 10  
<210> 344  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 344

Asp Arg Trp Tyr Met Gly Ser Ala Asp Tyr

1 5 10

<210> 345

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 345

Asp Asp Trp Gly Gly Asp Trp Phe Asp Pro

1 5 10

<210> 346

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 346

Glu Arg Leu Ser Val Ala Gly Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 347

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 347

Glu Pro Leu Gln Leu Gly Gly Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 348

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 348

Glu Gly Phe Gly Pro Asn Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 349

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 349

Asp Ser Trp Tyr Gly Asp Trp Phe Asp Pro

1 5 10

<210> 350

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 350

Glu Val Ile Glu Val Gly Met Asp Val

1 5

<210> 351

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 351

Glu Ala Trp Phe Gly Glu Leu Ser Thr

1 5

<210> 352

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 352

Glu Ala Tyr Val Ala Ala Phe Asp Ile

1 5

<210> 353

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 353

Glu Arg Gly Tyr Asn Ala Phe Asp Tyr

1 5

<210> 354

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 354

Asp Ser Val Phe Gly Leu Asp Tyr

1 5

<210> 355

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 355

Asp Leu Asp Tyr Val Arg Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 356

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 356

Glu Ser Trp Gly Gly Tyr Phe Asp Leu

1 5

<210> 357

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 357

Asp Arg Thr Thr Tyr Ala Phe Asp Ile

1 5

<210> 358

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 358

Gly Asn Trp Val Asp Ala Phe Asp Ile

1 5

<210> 359

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 359

Val His Gly Ser Gly Ser Asp Gly Met Asp Val

1 5 10

<210> 360

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 360  
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp Leu Ala  
1                      5                      10  
<210> 361  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 361  
Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Thr Trp Leu Ala  
1                      5                      10  
<210> 362  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 362  
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Ala  
1                      5                      10  
<210> 363  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 363  
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Trp Leu Ala  
1                      5                      10  
<210> 364  
<211> 11  
<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 364

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn His Leu Asn

1 5 10

<210> 365

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 365

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 366

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 366

Arg Ala Ser Glu Ser Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 367

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 367

Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 368

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 368

Arg Ala Ser Gln Asn Ile Ser Asn Phe Leu Asn

1 5 10

<210> 369

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 369

Arg Ala Ser Gln Ser Leu Ser Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 370

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 370

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 371

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 371

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Arg Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 372



<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 372  
Arg Asp Ser His Ser Ile Thr Thr Trp Leu Ala  
1 5 10  
<210> 373  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 373  
Arg Ala Ser Gln Val Ile Arg Asn Asp Leu Ala  
1 5 10  
<210> 374  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 374  
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Arg Tyr Leu Asn  
1 5 10  
<210> 375  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 375  
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser  
1 5

<210> 376  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 376  
Ala Ala Ser Thr Leu Glu Asn  
1 5  
<210> 377  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 377  
Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser  
1 5  
<210> 378  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 378  
Ala Ala Ser Thr Leu Gln Arg  
1 5  
<210> 379  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列(Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 379  
Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser

1 5  
<210> 380  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 380  
Gly Ala Ser Asn Leu Gln Arg  
1 5  
<210> 381  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 381  
Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser  
1 5  
<210> 382  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 382  
Gly Ala Ser Ser Leu Gln Ser  
1 5  
<210> 383  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 383

Ala Ala Ser His Leu Gln Ser

1 5

<210> 384

<400> 384

000

<210> 385

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 385

Asp Ser Ser Ser Leu Gln Thr

1 5

<210> 386

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 386

Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser

1 5

<210> 387

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 387

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 388

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 388

Gln Gln Ser Phe Ser Thr Pro Tyr Thr  
1 5

<210> 389

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 389

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr  
1 5

<210> 390

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 390

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Phe Thr  
1 5

<210> 391

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 391

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Ile Thr  
1 5

<210> 392

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 392  
Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr  
1 5  
<210> 393  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 393  
Gln Gln Ser Tyr Ser Leu Pro Tyr Thr  
1 5  
<210> 394  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 394  
His Gln Tyr Phe Thr Thr Pro Leu Thr  
1 5  
<210> 395  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
<220>  
<221> 来源  
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
<400> 395  
Gln Gln Ser Tyr Ser Met Pro Tyr Thr  
1 5  
<210> 396  
<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 396

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Val Thr

1 5

<210> 397

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 397

Gln His Phe Tyr Asn Thr Gln Tyr Thr

1 5

<210> 398

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 398

Gln Gln Ser Leu Gln Tyr Pro Ser His Phe

1 5 10

<210> 399

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 399

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser

|                                                                 | 20 | 25 | 30 |
|-----------------------------------------------------------------|----|----|----|
| <210> 400                                                       |    |    |    |
| <211> 30                                                        |    |    |    |
| <212> PRT                                                       |    |    |    |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)                                |    |    |    |
| <220>                                                           |    |    |    |
| <221> 来源                                                        |    |    |    |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"                                        |    |    |    |
| <400> 400                                                       |    |    |    |
| Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala |    |    |    |
| 1                  5                  10                  15    |    |    |    |
| Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr         |    |    |    |
| 20                  25                  30                      |    |    |    |
| <210> 401                                                       |    |    |    |
| <211> 30                                                        |    |    |    |
| <212> PRT                                                       |    |    |    |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)                                |    |    |    |
| <220>                                                           |    |    |    |
| <221> 来源                                                        |    |    |    |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"                                        |    |    |    |
| <400> 401                                                       |    |    |    |
| Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser |    |    |    |
| 1                  5                  10                  15    |    |    |    |
| Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr         |    |    |    |
| 20                  25                  30                      |    |    |    |
| <210> 402                                                       |    |    |    |
| <211> 30                                                        |    |    |    |
| <212> PRT                                                       |    |    |    |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)                                |    |    |    |
| <220>                                                           |    |    |    |
| <221> 来源                                                        |    |    |    |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"                                        |    |    |    |
| <400> 402                                                       |    |    |    |
| Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Glu Pro Gly Ala |    |    |    |
| 1                  5                  10                  15    |    |    |    |
| Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr         |    |    |    |
| 20                  25                  30                      |    |    |    |
| <210> 403                                                       |    |    |    |
| <211> 30                                                        |    |    |    |



<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 403

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Asn Phe Ser

20 25 30

<210> 404

<400> 404

000

<210> 405

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 405

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr

20 25 30

<210> 406

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 406

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ile

20 25 30

<210> 407

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 407

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly

1 5 10

<210> 408

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 408

Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly

1 5 10

<210> 409

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 409

Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu

1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg

20 25 30

<210> 410

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 410

Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 1   | 5   | 10  | 15  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Leu | Ser | Ser | Leu | Arg | Ser | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys | Ala | Arg |
|     | 20  |     | 25  |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 30  |     |     |

<210> 411

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 411

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |

<210> 412

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 412

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Thr | Val | Thr | Val | Ser | Ser |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |

<210> 413

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 413

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Trp | Gly | Arg | Gly | Thr | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |

<210> 414

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 414

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 415

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 415

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys

20

<210> 416

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 416

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys

20

<210> 417

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 417

Asp Ile Gln Ile Thr His Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Tyr Arg Leu Thr Ile Thr Cys

20

&lt;210&gt; 418

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成肽"

&lt;400&gt; 418

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

&lt;210&gt; 419

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成肽"

&lt;400&gt; 419

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

&lt;210&gt; 420

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成肽"

&lt;400&gt; 420

Trp Tyr His Gln Lys Pro Trp Asn Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr

1 5 10 15

&lt;210&gt; 421

&lt;211&gt; 32

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 421

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr  
1                      5                      10                      15  
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys  
                    20                      25                      30

<210> 422

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 422

Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr  
1                      5                      10                      15  
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys  
                    20                      25                      30

<210> 423

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 423

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Tyr Phe Thr  
1                      5                      10                      15  
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys  
                    20                      25                      30

<210> 424

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 424

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr  
1                      5                      10                      15  
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Pro Tyr Tyr Cys

|                                         | 20 | 25 | 30 |
|-----------------------------------------|----|----|----|
| <210> 425                               |    |    |    |
| <211> 10                                |    |    |    |
| <212> PRT                               |    |    |    |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)        |    |    |    |
| <220>                                   |    |    |    |
| <221> 来源                                |    |    |    |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成肽"                 |    |    |    |
| <400> 425                               |    |    |    |
| Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys |    |    |    |
| 1 5 10                                  |    |    |    |
| <210> 426                               |    |    |    |
| <211> 10                                |    |    |    |
| <212> PRT                               |    |    |    |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)        |    |    |    |
| <220>                                   |    |    |    |
| <221> 来源                                |    |    |    |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成肽"                 |    |    |    |
| <400> 426                               |    |    |    |
| Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys |    |    |    |
| 1 5 10                                  |    |    |    |
| <210> 427                               |    |    |    |
| <211> 10                                |    |    |    |
| <212> PRT                               |    |    |    |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)        |    |    |    |
| <220>                                   |    |    |    |
| <221> 来源                                |    |    |    |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成肽"                 |    |    |    |
| <400> 427                               |    |    |    |
| Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys |    |    |    |
| 1 5 10                                  |    |    |    |
| <210> 428                               |    |    |    |
| <211> 10                                |    |    |    |
| <212> PRT                               |    |    |    |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)        |    |    |    |
| <220>                                   |    |    |    |
| <221> 来源                                |    |    |    |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成肽"                 |    |    |    |
| <400> 428                               |    |    |    |

Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

1                      5                      10

<210> 429

 $\langle 211 \rangle$  10

⟨212⟩ PRT

### 〈213〉 人工序列 (Artificial Sequence)

 $\langle 220 \rangle$ 

## 〈221〉 来源

〈223〉 /注释="人工序列的描述:合成肽"

&lt;400&gt; 429

Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

1                      5                      10

 $\langle 210 \rangle$  430

&lt;211&gt; 118

&lt;212&gt; PRT

### 〈213〉 人工序列 (Artificial Sequence)

 $\langle 220 \rangle$ 

## 〈221〉 来源

〈223〉 /注释=“人工序列的描述:合成多肽”

$\langle 400 \rangle$  430

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1                      5                      10                      15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Asp

20                      25                      30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35                      40                      45

Gly Trp Met Ser Pro Tyr Asn Gly Ile Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe

50                      55                      60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65                      70                      75                      80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85                      90                      95

Ala Arg Asp Arg Phe Ser Gly Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100                      105                      110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

431 &lt;210&gt;

⟨211⟩ 116

&lt;212&gt; PRT



<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 431

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Val | Gln | Leu | Val | Gln | Ser | Gly | Ala | Glu | Val | Lys | Lys | Pro | Gly | Ala |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Val | Lys | Val | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Tyr | Thr | Phe | Thr | Gly | Tyr |
|     |     |     | 20  |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Tyr | Met | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
|     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Gly | Trp | Met | Ser | Pro | Ser | Ser | Gly | Ile | Thr | Gly | Tyr | Ala | Gln | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Arg | Asp | Thr | Ser | Thr | Ser | Thr | Val | Tyr |
| 65  |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |     |
| Met | Glu | Leu | Ser | Ser | Leu | Arg | Ser | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     | 95  |     |     |
| Ala | Arg | Asp | Arg | Gly | Trp | Phe | Asp | Pro | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Leu | Val |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Thr | Val | Ser | Ser |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     |     | 115 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 432

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 432

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Val | Gln | Leu | Val | Gln | Ser | Gly | Ala | Glu | Val | Lys | Lys | Pro | Gly | Ala |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Val | Lys | Val | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Tyr | Thr | Phe | Ser | Ser | Tyr |
|     |     |     | 20  |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Tyr | Met | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
|     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Gly | Trp | Met | Thr | Thr | Asn | Ser | Gly | Ile | Thr | Gly | Tyr | Ala | Gln | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Arg | Asp | Thr | Ser | Thr | Ser | Thr | Val | Tyr |
| 65  |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |     |

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                             85                            90                            95  
 Ala Arg Glu Gly Tyr Ser Ser Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
                             100                            105                            110  
 Leu Val Thr Val Ser Ser  
                             115

<210> 433

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 433

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser  
 1                            5                            10                            15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr  
                             20                            25                            30  
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
                             35                            40                            45  
 Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Ser Tyr Ala Gln Lys Phe  
                             50                            55                            60  
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
 65                            70                            75                            80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                             85                            90                            95  
 Ala Arg Asp Gly Arg Phe Trp Ser Gly Tyr Pro Asp Tyr Trp Gly Gln  
                             100                            105                            110  
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
                             115                            120

<210> 434

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 434

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

|                                                                 |     |     |    |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|----|
| 1                                                               | 5   | 10  | 15 |
| Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Thr His |     |     |    |
| 20                                                              | 25  | 30  |    |
| Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met |     |     |    |
| 35                                                              | 40  | 45  |    |
| Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly His Ala Gly Ser Ala Gln Lys Phe |     |     |    |
| 50                                                              | 55  | 60  |    |
| Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr |     |     |    |
| 65                                                              | 70  | 75  | 80 |
| Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys |     |     |    |
| 85                                                              | 90  | 95  |    |
| Ala Arg Glu Ser Ile Ala Val Ala Gly Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly |     |     |    |
| 100                                                             | 105 | 110 |    |
| Thr Leu Val Thr Val Ser Ser                                     |     |     |    |
| 115                                                             |     |     |    |

&lt;210&gt; 435

&lt;211&gt; 119

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 435

|                                                                 |     |     |    |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|----|
| Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala |     |     |    |
| 1                                                               | 5   | 10  | 15 |
| Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser His |     |     |    |
| 20                                                              | 25  | 30  |    |
| Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met |     |     |    |
| 35                                                              | 40  | 45  |    |
| Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe |     |     |    |
| 50                                                              | 55  | 60  |    |
| Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr |     |     |    |
| 65                                                              | 70  | 75  | 80 |
| Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys |     |     |    |
| 85                                                              | 90  | 95  |    |
| Ala Arg Asp Arg Trp Tyr Met Gly Ser Ala Asp Tyr Trp Gly Gln Gly |     |     |    |
| 100                                                             | 105 | 110 |    |
| Thr Leu Val Thr Val Ser Ser                                     |     |     |    |
| 115                                                             |     |     |    |

&lt;210&gt; 436

&lt;211&gt; 119

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 436

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Val | Gln | Leu | Val | Gln | Ser | Gly | Ala | Glu | Val | Lys | Lys | Pro | Gly | Ala |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Val | Lys | Val | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Tyr | Thr | Phe | Thr | Ser | Tyr |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Tyr | Met | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Gly | Trp | Met | Asn | Pro | Asn | Ser | Gly | Asn | Thr | Gly | Tyr | Ala | Gln | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Arg | Asp | Thr | Ser | Thr | Ser | Thr | Val | Tyr |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     | 80  |     |
| Met | Glu | Leu | Ser | Ser | Leu | Arg | Ser | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     | 95  |     |     |
| Ala | Arg | Asp | Asp | Trp | Gly | Gly | Asp | Trp | Phe | Asp | Pro | Trp | Gly | Gln | Gly |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Thr | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 437

&lt;211&gt; 119

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 437

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Val | Gln | Leu | Val | Gln | Ser | Gly | Ala | Glu | Val | Lys | Lys | Pro | Gly | Ala |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Val | Lys | Val | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Tyr | Thr | Phe | Ser | Thr | His |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Tyr | Met | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Gly | Trp | Met | Asn | Pro | Asn | Ser | Gly | Asn | Thr | Gly | Tyr | Ser | Gln | Lys | Phe |

|                                                                 |     |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 50                                                              | 55  | 60  |
| Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr |     |     |
| 65                                                              | 70  | 75  |
| Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys |     |     |
| 85                                                              | 90  | 95  |
| Ala Arg Glu Arg Leu Ser Val Ala Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly |     |     |
| 100                                                             | 105 | 110 |
| Thr Leu Val Thr Val Ser Ser                                     |     |     |
| 115                                                             |     |     |

&lt;210&gt; 438

&lt;211&gt; 119

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 438

|                                                                 |
|-----------------------------------------------------------------|
| Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Glu Pro Gly Ala |
| 1 5 10 15                                                       |
| Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp His |
| 20 25 30                                                        |
| Tyr Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met |
| 35 40 45                                                        |
| Gly Trp Met Asn Pro Asn Ile Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe |
| 50 55 60                                                        |
| Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr |
| 65 70 75 80                                                     |
| Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys |
| 85 90 95                                                        |
| Ala Arg Glu Pro Leu Gln Leu Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly |
| 100 105 110                                                     |
| Thr Leu Val Thr Val Ser Ser                                     |
| 115                                                             |

&lt;210&gt; 439

&lt;211&gt; 119

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 439

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Val | Gln | Leu | Val | Gln | Ser | Gly | Ala | Glu | Val | Lys | Lys | Pro | Gly | Ala |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Val | Lys | Val | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Tyr | Thr | Phe | Thr | Gly | Tyr |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |     |
| Tyr | Met | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
|     |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     |     |     | 45  |     |
| Gly | Trp | Met | Asn | Pro | Asn | Gly | Gly | Thr | Thr | Gly | Tyr | Ala | Gln | Asn | Phe |
|     |     | 50  |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Arg | Asp | Thr | Ser | Thr | Ser | Thr | Val | Tyr |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Met | Glu | Leu | Ser | Ser | Leu | Arg | Ser | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys |
|     |     |     |     |     | 85  |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Ala | Arg | Glu | Gly | Phe | Gly | Pro | Asn | Ala | Phe | Asp | Ile | Trp | Gly | Gln | Gly |
|     |     |     |     |     | 100 |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |
| Thr | Thr | Val | Thr | Val | Ser | Ser |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 440

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 440

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Val | Gln | Leu | Val | Gln | Ser | Gly | Ala | Glu | Val | Lys | Lys | Pro | Gly | Ala |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Val | Lys | Val | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Tyr | Thr | Phe | Thr | Gly | Tyr |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |     |
| Tyr | Met | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
|     |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     |     |     | 45  |     |
| Gly | Trp | Met | Asn | Pro | Asn | Ser | Gly | Asn | Thr | Gly | Tyr | Ala | Gln | Lys | Phe |
|     |     | 50  |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Arg | Asp | Thr | Ser | Thr | Ser | Thr | Val | Tyr |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Met | Glu | Leu | Ser | Ser | Leu | Arg | Ser | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys |
|     |     |     |     |     | 85  |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Ala | Arg | Asp | Ser | Trp | Tyr | Gly | Asp | Trp | Phe | Asp | Pro | Trp | Gly | Gln | Gly |

|                                                                 |     |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 100                                                             | 105 | 110 |
| Thr Leu Val Thr Val Ser Ser                                     |     |     |
| 115                                                             |     |     |
| <210> 441                                                       |     |     |
| <211> 118                                                       |     |     |
| <212> PRT                                                       |     |     |
| <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                 |     |     |
| <220>                                                           |     |     |
| <221> 来源                                                        |     |     |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"                                        |     |     |
| <400> 441                                                       |     |     |
| Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala |     |     |
| 1 5 10 15                                                       |     |     |
| Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr |     |     |
| 20 25 30                                                        |     |     |
| Tyr Met His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile |     |     |
| 35 40 45                                                        |     |     |
| Gly Trp Met Ser Pro Tyr Asn Gly Ile Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe |     |     |
| 50 55 60                                                        |     |     |
| Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr |     |     |
| 65 70 75 80                                                     |     |     |
| Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys |     |     |
| 85 90 95                                                        |     |     |
| Ala Arg Glu Val Ile Glu Val Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr |     |     |
| 100 105 110                                                     |     |     |
| Thr Val Thr Val Ser Ser                                         |     |     |
| 115                                                             |     |     |
| <210> 442                                                       |     |     |
| <211> 118                                                       |     |     |
| <212> PRT                                                       |     |     |
| <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                 |     |     |
| <220>                                                           |     |     |
| <221> 来源                                                        |     |     |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"                                        |     |     |
| <400> 442                                                       |     |     |
| Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala |     |     |
| 1 5 10 15                                                       |     |     |
| Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr |     |     |
| 20 25 30                                                        |     |     |

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Trp Met Ser Pro Ser Ser Gly Ile Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60  
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Glu Ala Trp Phe Gly Glu Leu Ser Thr Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110  
 Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 443

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 443

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Asn Phe Ser Ala Tyr  
 20 25 30  
 Tyr Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Trp Met Asn Pro Asn Arg Gly Ile Thr Asp Ser Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60  
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Glu Ala Tyr Val Ala Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110  
 Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 444

<211> 118

<212> PRT



<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 444

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1           5           10           15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg His
           20           25           30
Tyr Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
           35           40           45
Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Ser Ala Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
           50           55           60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65           70           75           80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
           85           90           95
Ala Arg Glu Arg Gly Tyr Asn Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
           100          105          110
Leu Val Thr Val Ser Ser
           115
```

<210> 445

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 445

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1           5           10           15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Leu Pro Asn Tyr
           20           25           30
Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly
           35           40           45
Trp Ile His Pro Arg Ser Gly Ala Thr Gly Tyr Ala Pro Lys Phe Gln
           50           55           60
Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met
65           70           75           80
```

Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
85 90 95  
Arg Asp Ser Val Phe Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
100 105 110  
Thr Val Ser Ser  
115

<210> 446

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 446

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15  
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr  
20 25 30  
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45  
Gly Trp Ile Ser Pro Arg Ser Gly Val Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60  
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr  
65 70 75 80  
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
Ala Arg Asp Leu Asp Tyr Val Arg Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly  
100 105 110  
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 447

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 447

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

|                                                                 |     |     |    |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|----|
| 1                                                               | 5   | 10  | 15 |
| Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr |     |     |    |
| 20                                                              | 25  | 30  |    |
| Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met |     |     |    |
| 35                                                              | 40  | 45  |    |
| Gly Trp Met Asp Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe |     |     |    |
| 50                                                              | 55  | 60  |    |
| Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr |     |     |    |
| 65                                                              | 70  | 75  | 80 |
| Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys |     |     |    |
| 85                                                              | 90  | 95  |    |
| Ala Arg Glu Ser Trp Gly Gly Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr |     |     |    |
| 100                                                             | 105 | 110 |    |
| Leu Val Thr Val Ser Ser                                         |     |     |    |
| 115                                                             |     |     |    |

&lt;210&gt; 448

&lt;211&gt; 118

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 448

|                                                                 |     |     |    |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|----|
| Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala |     |     |    |
| 1                                                               | 5   | 10  | 15 |
| Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ile Asn His |     |     |    |
| 20                                                              | 25  | 30  |    |
| Tyr Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met |     |     |    |
| 35                                                              | 40  | 45  |    |
| Gly Trp Met Asn Pro Thr Gly Gly Ile Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe |     |     |    |
| 50                                                              | 55  | 60  |    |
| Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr |     |     |    |
| 65                                                              | 70  | 75  | 80 |
| Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys |     |     |    |
| 85                                                              | 90  | 95  |    |
| Ala Arg Asp Arg Thr Thr Tyr Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr |     |     |    |
| 100                                                             | 105 | 110 |    |
| Met Val Thr Val Ser Ser                                         |     |     |    |
| 115                                                             |     |     |    |

&lt;210&gt; 449

&lt;211&gt; 118

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 449

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Val | Gln | Leu | Val | Gln | Ser | Gly | Ala | Glu | Val | Lys | Lys | Pro | Gly | Ala |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Val | Lys | Val | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Tyr | Thr | Phe | Thr | Ser | His |
|     |     |     | 20  |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Tyr | Met | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
|     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Gly | Trp | Met | Asn | Pro | Asn | Ser | Gly | His | Thr | Gly | Asn | Ala | Gln | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Arg | Asp | Thr | Ser | Thr | Ser | Thr | Val | Tyr |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |     |
| Met | Glu | Leu | Ser | Ser | Leu | Arg | Ser | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |     |
| Ala | Arg | Gly | Asn | Trp | Val | Asp | Ala | Phe | Asp | Ile | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr |
|     |     |     | 100 |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Met | Val | Thr | Val | Ser | Ser |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 450

&lt;211&gt; 120

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 450

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Val | Gln | Leu | Val | Gln | Ser | Gly | Ala | Glu | Val | Lys | Lys | Pro | Gly | Ser |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Val | Lys | Val | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Tyr | Thr | Phe | Thr | Arg | His |
|     |     |     | 20  |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Leu | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
|     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Gly | Trp | Val | Ser | Pro | Ile | His | Gly | Leu | Thr | Gly | Tyr | Ala | Pro | Arg | Phe |

<400> 452

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Ile | Gln | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Val | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Ser | Gln | Ser | Val | Gly | Thr | Trp |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Ala | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Tyr | Ala | Ala | Ser | Thr | Leu | Glu | Asn | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |
|     |     | 50  |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     | 80  |     |
| Glu | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Ser | Phe | Ser | Thr | Pro | Tyr |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     | 90  |     |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Gly | Gly | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile | Lys |     |     |     |     |     |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 453

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 453

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Ile | Gln | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Val | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Ser | Gln | Ser | Ile | Ser | Ser | Trp |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Ala | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Tyr | Ala | Ala | Ser | Ser | Leu | Gln | Ser | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |
|     |     | 50  |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     | 80  |     |
| Glu | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Ser | Tyr | Ser | Thr | Pro | Tyr |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     | 90  |     |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Gly | Gly | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile | Lys |     |     |     |     |     |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 454

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 454

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Ile | Gln | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Val | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Ser | Gln | Gly | Ile | Ser | Asn | Tyr |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |     |
| Leu | Ala | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile |
|     |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     |     | 45  |     |     |
| Tyr | Arg | Ala | Ser | Asn | Leu | Glu | Ser | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |
|     |     |     | 50  |     |     | 55  |     |     |     |     |     | 60  |     |     |     |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Glu | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Ser | Tyr | Ser | Thr | Pro | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Gly | Gly | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile | Lys |     |     |     |     |     |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     |     |

<210> 455

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 455

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Ile | Gln | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Val | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Ser | Gln | Ser | Ile | Ser | Ser | Trp |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |     |
| Leu | Ala | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile |
|     |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     |     | 45  |     |     |
| Tyr | Ala | Ala | Ser | Thr | Leu | Gln | Arg | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |
|     |     |     | 50  |     |     | 55  |     |     |     |     |     | 60  |     |     |     |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Glu | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Ser | Tyr | Ser | Thr | Pro | Tyr |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
100 105

<210> 456

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 456

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15  
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Trp  
20 25 30  
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45  
Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60  
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80  
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Phe  
85 90 95  
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

<210> 457

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 457

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15  
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn His  
20 25 30  
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45  
Tyr Gly Ala Ser Asn Leu Gln Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly



|                                                                 |     |    |
|-----------------------------------------------------------------|-----|----|
| 50                                                              | 55  | 60 |
| Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro |     |    |
| 65                                                              | 70  | 75 |
| Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Ile |     |    |
| 85                                                              | 90  | 95 |
| Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys                     |     |    |
| 100                                                             | 105 |    |

&lt;210&gt; 458

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 458

|                                                                 |
|-----------------------------------------------------------------|
| Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly |
| 1 5 10 15                                                       |
| Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp |
| 20 25 30                                                        |
| Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile |
| 35 40 45                                                        |
| Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly |
| 50 55 60                                                        |
| Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro |
| 65 70 75 80                                                     |
| Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Tyr |
| 85 90 95                                                        |
| Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys                     |
| 100 105                                                         |

&lt;210&gt; 459

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 459

|                                                                 |
|-----------------------------------------------------------------|
| Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly |
| 1 5 10 15                                                       |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Ser | Glu | Ser | Ile | Ser | Ser | Trp |  |
| 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |     |     |     |  |
| Leu | Ala | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile |  |
| 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |     |     |  |
| Tyr | Ala | Ala | Ser | Ser | Leu | Gln | Ser | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |  |
| 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |  |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |  |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |  |
| Glu | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Ser | Tyr | Ser | Thr | Pro | Leu |  |
| 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |     |     |     |     |  |
| Thr | Phe | Gly | Gln | Gly | Thr | Lys | Leu | Glu | Ile | Lys |     |     |     |     |     |  |
| 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |

&lt;210&gt; 460

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 460

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| Asp | Ile | Gln | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Val | Gly |  |
| 1   |     |     | 5   |     |     | 10  |     |     | 15  |     |     |     |     |     |     |  |
| Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Ser | Gln | Ser | Ile | Ser | Ser | Trp |  |
| 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |     |     |     |  |
| Leu | Ala | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile |  |
| 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |     |     |  |
| Tyr | Ala | Ala | Ser | Asn | Leu | Gln | Ser | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |  |
| 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |  |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |  |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |  |
| Glu | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Tyr | Tyr | Ser | Thr | Pro | Tyr |  |
| 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |     |     |     |     |  |
| Thr | Phe | Gly | Gln | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile | Lys |     |     |     |     |     |  |
| 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |

&lt;210&gt; 461

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 461

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ser Trp
           20           25           30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
           35           40           45
Tyr Gly Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
           50           55           60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65           70           75           80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
           85           90           95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
           100          105

```

<210> 462

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 462

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp
           20           25           30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
           35           40           45
Tyr Ala Ala Ser His Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
           50           55           60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65           70           75           80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Tyr
           85           90           95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
           100          105

```

<210> 463

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 463

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Ile | Gln | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Val | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |     |
| Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Ser | Gln | Asn | Ile | Ser | Asn | Phe |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Asn | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile |
|     |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     |     | 45  |     |     |
| Tyr | Ala | Ala | Ser | Ser | Leu | Gln | Ser | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |
|     |     |     | 50  |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     | 80  |     |
| Glu | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Ser | Tyr | Ser | Leu | Pro | Tyr |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     |     | 90  |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Gly | Gln | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile | Lys |     |     |     |     |     |
|     |     |     |     | 100 |     |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     |

<210> 464

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 464

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Ile | Gln | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Val | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |     |
| Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Ser | Gln | Gly | Ile | Ser | Ser | Trp |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Ala | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile |
|     |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     |     | 45  |     |     |
| Tyr | Ala | Ala | Ser | Ser | Leu | Gln | Ser | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |
|     |     |     | 50  |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |

|                                                                 |     |    |    |
|-----------------------------------------------------------------|-----|----|----|
| 65                                                              | 70  | 75 | 80 |
| Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu |     |    |    |
|                                                                 | 85  | 90 | 95 |
| Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys                     |     |    |    |
| 100                                                             | 105 |    |    |

&lt;210&gt; 465

&lt;211&gt; 108

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 465

|                                                                 |     |    |    |
|-----------------------------------------------------------------|-----|----|----|
| Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly |     |    |    |
| 1                                                               | 5   | 10 | 15 |
| Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Leu Ser Ser Ser |     |    |    |
|                                                                 | 20  | 25 | 30 |
| Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu |     |    |    |
| 35                                                              | 40  | 45 |    |
| Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser |     |    |    |
| 50                                                              | 55  | 60 |    |
| Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln |     |    |    |
| 65                                                              | 70  | 75 | 80 |
| Ser Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Phe Thr Thr Pro |     |    |    |
|                                                                 | 85  | 90 | 95 |
| Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys                 |     |    |    |
| 100                                                             | 105 |    |    |

&lt;210&gt; 466

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 466

|                                                                 |    |    |    |
|-----------------------------------------------------------------|----|----|----|
| Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly |    |    |    |
| 1                                                               | 5  | 10 | 15 |
| Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr |    |    |    |
|                                                                 | 20 | 25 | 30 |

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Met Pro Tyr  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 467

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 467

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Arg Trp  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Tyr  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 468

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 468

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Ile | Gln | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Val | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Ser | Gln | Ser | Ile | Ser | Ser | Trp |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |     |
| Leu | Ala | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile |
|     |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Tyr | Asp | Ser | Ser | Ser | Leu | Gln | Thr | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |
|     |     |     | 50  |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     | 80  |     |
| Glu | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Ser | Tyr | Ser | Thr | Pro | Val |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     | 90  |     |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Gly | Gln | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile | Lys |     |     |     |     |     |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 469

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 469

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Ile | Gln | Ile | Thr | His | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Val | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     |     | 15  |     |
| Tyr | Arg | Leu | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Asp | Ser | His | Ser | Ile | Thr | Thr | Trp |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |     |
| Leu | Ala | Trp | Tyr | His | Gln | Lys | Pro | Trp | Asn | Ala | Pro | Lys | Leu | Met | Ile |
|     |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Tyr | Ala | Ala | Ser | Asn | Leu | Glu | Ser | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |
|     |     |     | 50  |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Tyr | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     | 80  |     |
| Glu | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys | Gln | His | Phe | Tyr | Asn | Thr | Gln | Tyr |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     | 90  |     |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Gly | Gln | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile | Lys |     |     |     |     |     |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 470

&lt;211&gt; 108

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 470

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Ile | Gln | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Val | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Ser | Gln | Val | Ile | Arg | Asn | Asp |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Ala | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile |
|     |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Tyr | Ala | Ala | Ser | Thr | Leu | Gln | Ser | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |
|     |     |     | 50  |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Glu | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Ser | Leu | Gln | Tyr | Pro | Ser |
|     |     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |
| His | Phe | Phe | Gly | Gln | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile | Lys |     |     |     |     |
|     |     |     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 471

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 471

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Ile | Gln | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Val | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Ser | Gln | Ser | Ile | Ser | Arg | Tyr |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Asn | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile |
|     |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Tyr | Ala | Ala | Ser | Thr | Leu | Gln | Ser | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |
|     |     |     | 50  |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Glu | Asp | Phe | Ala | Pro | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Ser | Tyr | Ser | Thr | Pro | Leu |



|                                                                 |     |     |    |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|----|
|                                                                 | 85  | 90  | 95 |
| Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys                     |     |     |    |
|                                                                 | 100 | 105 |    |
| <210> 472                                                       |     |     |    |
| <211> 106                                                       |     |     |    |
| <212> PRT                                                       |     |     |    |
| <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                 |     |     |    |
| <220>                                                           |     |     |    |
| <221> 来源                                                        |     |     |    |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"                                        |     |     |    |
| <400> 472                                                       |     |     |    |
| Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly |     |     |    |
| 1                                                               | 5   | 10  | 15 |
| Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ser |     |     |    |
|                                                                 | 20  | 25  | 30 |
| Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile |     |     |    |
|                                                                 | 35  | 40  | 45 |
| Tyr Trp Thr Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly |     |     |    |
|                                                                 | 50  | 55  | 60 |
| Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro |     |     |    |
| 65                                                              | 70  | 75  | 80 |
| Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Leu Tyr Arg Ser |     |     |    |
|                                                                 | 85  | 90  | 95 |
| Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys                         |     |     |    |
|                                                                 | 100 | 105 |    |
| <210> 473                                                       |     |     |    |
| <211> 23                                                        |     |     |    |
| <212> PRT                                                       |     |     |    |
| <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                 |     |     |    |
| <220>                                                           |     |     |    |
| <221> 来源                                                        |     |     |    |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成肽"                                         |     |     |    |
| <400> 473                                                       |     |     |    |
| Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly |     |     |    |
| 1                                                               | 5   | 10  | 15 |
| Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys                                     |     |     |    |
|                                                                 | 20  |     |    |
| <210> 474                                                       |     |     |    |
| <211> 11                                                        |     |     |    |

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 474

Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ser Val Ala

1 5 10

<210> 475

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 475

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 476

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 476

Trp Thr Ser Thr Arg His Thr

1 5

<210> 477

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 477

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

1 5 10 15

Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys

| 20                                                              | 25 | 30 |
|-----------------------------------------------------------------|----|----|
| <210> 478                                                       |    |    |
| <211> 8                                                         |    |    |
| <212> PRT                                                       |    |    |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)                                |    |    |
| <220>                                                           |    |    |
| <221> 来源                                                        |    |    |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成肽"                                         |    |    |
| <400> 478                                                       |    |    |
| Gln Gln Tyr Ser Leu Tyr Arg Ser                                 |    |    |
| 1                                                               | 5  |    |
| <210> 479                                                       |    |    |
| <211> 10                                                        |    |    |
| <212> PRT                                                       |    |    |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)                                |    |    |
| <220>                                                           |    |    |
| <221> 来源                                                        |    |    |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成肽"                                         |    |    |
| <400> 479                                                       |    |    |
| Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys                         |    |    |
| 1                                                               | 5  | 10 |
| <210> 480                                                       |    |    |
| <211> 119                                                       |    |    |
| <212> PRT                                                       |    |    |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)                                |    |    |
| <220>                                                           |    |    |
| <221> 来源                                                        |    |    |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"                                        |    |    |
| <400> 480                                                       |    |    |
| Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg |    |    |
| 1                                                               | 5  | 10 |
| Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ser Ser Gly Phe Asp Phe Thr Thr Tyr |    |    |
|                                                                 | 20 | 30 |
| Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val |    |    |
|                                                                 | 35 | 45 |
| Ala Glu Ile His Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Ala Pro Ser Leu |    |    |
|                                                                 | 50 | 60 |
| Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe |    |    |
| 65                                                              | 70 | 80 |

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys  
85 90 95  
Ala Ser Leu Tyr Phe Gly Phe Pro Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly  
100 105 110  
Thr Pro Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 481

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 481

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ser Ser Gly Phe Asp Phe Thr  
20 25 30

<210> 482

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 482

Thr Tyr Trp Met Ser  
1 5

<210> 483

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 483

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala  
1 5 10

<210> 484

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 484

Glu Ile His Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Ala Pro Ser Leu Lys

1 5 10 15

Asp

<210> 485

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 485

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe Leu Gln

1 5 10 15

Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys Ala Ser

20 25 30

<210> 486

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 486

Leu Tyr Phe Gly Phe Pro Trp Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 487

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 487

Trp Gly Gln Gly Thr Pro Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 488

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 488

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Ala Ala Val Gly Thr Tyr

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Leu

85 90 95

Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 489

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 489

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys

20

<210> 490

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 490

Lys Ala Ser Ala Ala Val Gly Thr Tyr Val Ala

1 5 10

<210> 491

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 491

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 492

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 492

Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg

1 5

<210> 493

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 493

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys





<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 497

Glu Phe Gly Met Asn

1 5

<210> 498

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 498

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly

1 5 10

<210> 499

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 499

Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 500

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 500

Arg Val Thr Phe Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu

1 5 10 15

Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg

20 25 30

<210> 501

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 501

Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 502

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 502

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 503

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 503

Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Asn Ile Ala Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr

35 40 45

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Gln Pro Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

| 100                                                             | 105     |
|-----------------------------------------------------------------|---------|
| <210> 504                                                       |         |
| <211> 23                                                        |         |
| <212> PRT                                                       |         |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)                                |         |
| <220>                                                           |         |
| <221> 来源                                                        |         |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成肽"                                         |         |
| <400> 504                                                       |         |
| Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Ser Ala Ser Val Gly |         |
| 1                                                               | 5 10 15 |
| Asp Arg Val Asn Ile Ala Cys                                     |         |
| 20                                                              |         |
| <210> 505                                                       |         |
| <211> 10                                                        |         |
| <212> PRT                                                       |         |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)                                |         |
| <220>                                                           |         |
| <221> 来源                                                        |         |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成肽"                                         |         |
| <400> 505                                                       |         |
| Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His                         |         |
| 1                                                               | 5 10    |
| <210> 506                                                       |         |
| <211> 15                                                        |         |
| <212> PRT                                                       |         |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)                                |         |
| <220>                                                           |         |
| <221> 来源                                                        |         |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成肽"                                         |         |
| <400> 506                                                       |         |
| Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr     |         |
| 1                                                               | 5 10 15 |
| <210> 507                                                       |         |
| <211> 7                                                         |         |
| <212> PRT                                                       |         |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)                                |         |
| <220>                                                           |         |
| <221> 来源                                                        |         |

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 507

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser

1 5

<210> 508

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 508

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser

1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Met Gln Pro Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 509

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 509

Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 510

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 510

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 511

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 511

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Val | Lys | Leu | Glu | Gln | Ser | Gly | Ala | Glu | Val | Val | Lys | Pro | Gly | Ala |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Val | Lys | Leu | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Phe | Asn | Ile | Lys | Asp | Ser |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Tyr | Met | His | Trp | Leu | Arg | Gln | Gly | Pro | Gly | Gln | Arg | Leu | Glu | Trp | Ile |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Gly | Trp | Ile | Asp | Pro | Glu | Asn | Gly | Asp | Thr | Glu | Tyr | Ala | Pro | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |
| Gln | Gly | Lys | Ala | Thr | Phe | Thr | Thr | Asp | Thr | Ser | Ala | Asn | Thr | Ala | Tyr |
| 65  |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |     |
| Leu | Gly | Leu | Ser | Ser | Leu | Arg | Pro | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys |
|     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |     |
| Asn | Glu | Gly | Thr | Pro | Thr | Gly | Pro | Tyr | Tyr | Phe | Asp | Tyr | Trp | Gly | Gln |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser |     |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     | 115 |     |     |     | 120 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 512

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 512

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Val | Lys | Leu | Glu | Gln | Ser | Gly | Ala | Glu | Val | Val | Lys | Pro | Gly | Ala |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Val | Lys | Leu | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Phe | Asn | Ile | Lys |     |     |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

<210> 513

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 513

Asp Ser Tyr Met His

1 5

<210> 514

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 514

Trp Leu Arg Gln Gly Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile Gly

1 5 10

<210> 515

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 515

Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Pro Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 516

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 516

Lys Ala Thr Phe Thr Thr Asp Thr Ser Ala Asn Thr Ala Tyr Leu Gly

1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Glu

20 25 30

<210> 517

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 517

Gly Thr Pro Thr Gly Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 518

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 518

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 519

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 519

Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Ser Val Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ala Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Pro Tyr Met

20 25 30

His Trp Leu Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

35 40 45

Leu Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Pro Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

| 100                                                             | 105     |
|-----------------------------------------------------------------|---------|
| <210> 520                                                       |         |
| <211> 23                                                        |         |
| <212> PRT                                                       |         |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)                                |         |
| <220>                                                           |         |
| <221> 来源                                                        |         |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成肽"                                         |         |
| <400> 520                                                       |         |
| Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Ser Val Ser Val Gly |         |
| 1                                                               | 5 10 15 |
| Asp Arg Val Thr Ile Ala Cys                                     |         |
| 20                                                              |         |
| <210> 521                                                       |         |
| <211> 10                                                        |         |
| <212> PRT                                                       |         |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)                                |         |
| <220>                                                           |         |
| <221> 来源                                                        |         |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成肽"                                         |         |
| <400> 521                                                       |         |
| Ser Ala Ser Ser Ser Val Pro Tyr Met His                         |         |
| 1                                                               | 5 10    |
| <210> 522                                                       |         |
| <211> 15                                                        |         |
| <212> PRT                                                       |         |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)                                |         |
| <220>                                                           |         |
| <221> 来源                                                        |         |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成肽"                                         |         |
| <400> 522                                                       |         |
| Trp Leu Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr     |         |
| 1                                                               | 5 10 15 |
| <210> 523                                                       |         |
| <211> 7                                                         |         |
| <212> PRT                                                       |         |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)                                |         |
| <220>                                                           |         |
| <221> 来源                                                        |         |



<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 523

Leu Thr Ser Asn Leu Ala Ser

1 5

<210> 524

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 524

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser

1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Pro Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 525

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 525

Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 526

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 526

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 527

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 527

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Val | Lys | Leu | Glu | Gln | Ser | Gly | Ala | Glu | Val | Val | Lys | Pro | Gly | Ala |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Val | Lys | Leu | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Phe | Asn | Ile | Lys | Asp | Ser |
|     |     |     | 20  |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Tyr | Met | His | Trp | Leu | Arg | Gln | Gly | Pro | Gly | Gln | Arg | Leu | Glu | Trp | Ile |
|     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Gly | Trp | Ile | Asp | Pro | Glu | Asn | Gly | Asp | Thr | Glu | Tyr | Ala | Pro | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     |     | 60  |     |     |     |
| Gln | Gly | Lys | Ala | Thr | Phe | Thr | Thr | Asp | Thr | Ser | Ala | Asn | Thr | Ala | Tyr |
| 65  |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |     |
| Leu | Gly | Leu | Ser | Ser | Leu | Arg | Pro | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Asn | Glu | Gly | Thr | Pro | Thr | Gly | Pro | Tyr | Tyr | Phe | Asp | Tyr | Trp | Gly | Gln |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     | 110 |     |
| Gly | Thr | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser |     |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     | 115 |     |     |     | 120 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 528

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 528

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Val | Lys | Leu | Glu | Gln | Ser | Gly | Ala | Glu | Val | Val | Lys | Pro | Gly | Ala |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Val | Lys | Leu | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Phe | Asn | Ile | Lys |     |     |
|     |     |     | 20  |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |     |     |

<210> 529

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 529

Asp Ser Tyr Met His

1 5

<210> 530

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 530

Trp Leu Arg Gln Gly Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile Gly

1 5 10

<210> 531

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 531

Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Pro Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 532

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 532

Lys Ala Thr Phe Thr Thr Asp Thr Ser Ala Asn Thr Ala Tyr Leu Gly

1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Glu

20 25 30

<210> 533

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 533

Gly Thr Pro Thr Gly Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 534

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 534

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 535

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 535

Gln Thr Val Leu Ser Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Ala Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys

20

<210> 536

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 536

Arg Ala Ser Ser Ser Val Thr Tyr Ile His

|                                                                 |    |       |
|-----------------------------------------------------------------|----|-------|
| 1                                                               | 5  | 10    |
| <210> 537                                                       |    |       |
| <211> 15                                                        |    |       |
| <212> PRT                                                       |    |       |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)                                |    |       |
| <220>                                                           |    |       |
| <221> 来源                                                        |    |       |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成肽"                                         |    |       |
| <400> 537                                                       |    |       |
| Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Ser Trp Ile Tyr     |    |       |
| 1                                                               | 5  | 10 15 |
| <210> 538                                                       |    |       |
| <211> 7                                                         |    |       |
| <212> PRT                                                       |    |       |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)                                |    |       |
| <220>                                                           |    |       |
| <221> 来源                                                        |    |       |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成肽"                                         |    |       |
| <400> 538                                                       |    |       |
| Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser                                     |    |       |
| 1                                                               | 5  |       |
| <210> 539                                                       |    |       |
| <211> 32                                                        |    |       |
| <212> PRT                                                       |    |       |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)                                |    |       |
| <220>                                                           |    |       |
| <221> 来源                                                        |    |       |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"                                        |    |       |
| <400> 539                                                       |    |       |
| Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser |    |       |
| 1                                                               | 5  | 10 15 |
| Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys |    |       |
|                                                                 | 20 | 25 30 |
| <210> 540                                                       |    |       |
| <211> 9                                                         |    |       |
| <212> PRT                                                       |    |       |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)                                |    |       |
| <220>                                                           |    |       |
| <221> 来源                                                        |    |       |

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 540

Gln His Trp Ser Ser Lys Pro Pro Thr

1 5

<210> 541

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 541

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 542

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 542

Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu

35 40 45

Gly Phe Ile Gly Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Lys Ser Gln Ser Ile

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Arg Ala Glu Asp Ser Ala Thr Tyr

85 90 95

Tyr Cys Thr Arg Asp Arg Gly Leu Arg Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 543

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 543

Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Thr

20 25 30

<210> 544

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 544

Asp Tyr Tyr Met Asn

1 5

<210> 545

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 545

Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu Gly

1 5 10

<210> 546

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 546

Phe Ile Gly Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala Ser  
1                      5                      10                      15

Val Lys Gly

<210> 547

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 547

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Lys Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Leu Gln  
1                      5                      10                      15

Met Asn Thr Leu Arg Ala Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Thr Arg  
                    20                      25                      30

<210> 548

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 548

Asp Arg Gly Leu Arg Phe Tyr Phe Asp Tyr  
1                      5                      10

<210> 549

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 549

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser  
1                      5                      10

<210> 550

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)



<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 550

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Ile | Gln | Leu | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Val | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Gly | Glu | Ser | Val | Asp | Ile | Phe |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Gly | Val | Gly | Phe | Leu | His | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Lys | Leu | Leu | Ile | Tyr | Arg | Ala | Ser | Asn | Leu | Glu | Ser | Gly | Val | Pro | Ser |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Arg | Phe | Ser | Gly | Ser | Gly | Ser | Arg | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |     |
| Ser | Leu | Gln | Pro | Glu | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Thr | Asn |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     | 95  |     |     |
| Glu | Asp | Pro | Tyr | Thr | Phe | Gly | Gln | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile | Lys |     |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |

<210> 551

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 551

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Ile | Gln | Leu | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Val | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 552

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 552

Arg Ala Gly Glu Ser Val Asp Ile Phe Gly Val Gly Phe Leu His

1 5 10 15  
 <210> 553  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
 <220>  
 <221> 来源  
 <223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
 <400> 553

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 554  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
 <220>  
 <221> 来源  
 <223> /注释="人工序列的描述:合成肽"  
 <400> 554

Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser

1 5

<210> 555  
 <211> 32  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
 <220>  
 <221> 来源  
 <223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"  
 <400> 555

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr

1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 556  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)  
 <220>  
 <221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 556

Gln Gln Thr Asn Glu Asp Pro Tyr Thr

1 5

<210> 557

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 557

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 558

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 558

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Ser Lys Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Pro Phe Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Tyr Ala Met Ala Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 559

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 559

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys

20 25 30

<210> 560

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 560

Asp Thr Tyr Met His

1 5

<210> 561

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 561

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala

1 5 10

<210> 562

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 562

Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Ser Lys Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
1                      5                      10                      15

Gly

<210> 563

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 563

Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln  
1                      5                      10                      15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Pro  
                    20                      25                      30

<210> 564

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 564

Phe Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Tyr Ala Met Ala Tyr  
1                      5                      10

<210> 565

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 565

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
1                      5                      10

<210> 566

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 566

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Phe Ser Tyr
          20           25           30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Val
          35           40           45
Tyr Asn Thr Arg Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
          50           55           60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65           70           75           80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Gly Thr Pro Phe
          85           90           95
Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
          100          105
```

<210> 567

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 567

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
          20
```

<210> 568

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 568

```
Arg Ala Ser Glu Asn Ile Phe Ser Tyr Leu Ala
```

|                                                                 |    |       |
|-----------------------------------------------------------------|----|-------|
| 1                                                               | 5  | 10    |
| <210> 569                                                       |    |       |
| <211> 15                                                        |    |       |
| <212> PRT                                                       |    |       |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)                                |    |       |
| <220>                                                           |    |       |
| <221> 来源                                                        |    |       |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成肽"                                         |    |       |
| <400> 569                                                       |    |       |
| Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Val Tyr     |    |       |
| 1                                                               | 5  | 10 15 |
| <210> 570                                                       |    |       |
| <211> 7                                                         |    |       |
| <212> PRT                                                       |    |       |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)                                |    |       |
| <220>                                                           |    |       |
| <221> 来源                                                        |    |       |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成肽"                                         |    |       |
| <400> 570                                                       |    |       |
| Asn Thr Arg Thr Leu Ala Glu                                     |    |       |
| 1                                                               | 5  |       |
| <210> 571                                                       |    |       |
| <211> 32                                                        |    |       |
| <212> PRT                                                       |    |       |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)                                |    |       |
| <220>                                                           |    |       |
| <221> 来源                                                        |    |       |
| <223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"                                        |    |       |
| <400> 571                                                       |    |       |
| Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser |    |       |
| 1                                                               | 5  | 10 15 |
| Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys |    |       |
|                                                                 | 20 | 25 30 |
| <210> 572                                                       |    |       |
| <211> 9                                                         |    |       |
| <212> PRT                                                       |    |       |
| <213> 人工序列 (Artificial Sequence)                                |    |       |
| <220>                                                           |    |       |
| <221> 来源                                                        |    |       |

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 572

Gln His His Tyr Gly Thr Pro Phe Thr

1 5

<210> 573

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 573

Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 574

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 574

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Ser Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Val Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Arg Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Gly Ile Thr Tyr Ala Pro Ser Thr Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ala His Tyr Phe Gly Ser Ser Gly Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 575



<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 575

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Ser Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Val Phe Ser

20 25 30

<210> 576

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 576

Ser Tyr Asp Met Ser

1 5

<210> 577

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 577

Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Arg Gly Leu Glu Trp Val Ala

1 5 10

<210> 578

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 578

Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Gly Ile Thr Tyr Ala Pro Ser Thr Val Lys  
1                    5                    10                    15

Gly

<210> 579

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 579

Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln  
1                    5                    10                    15

Met Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala  
                  20                    25                    30

<210> 580

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 580

His Tyr Phe Gly Ser Ser Gly Pro Phe Ala Tyr  
1                    5                    10

<210> 581

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 581

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
1                    5                    10

<210> 582

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 582

Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Pro Gly Ala  
 1                      5                      10                      15  
 Ser Ala Ser Leu Thr Cys Thr Leu Arg Arg Gly Ile Asn Val Gly Ala  
                     20                      25                      30  
 Tyr Ser Ile Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Pro Pro Gln Tyr  
                     35                      40                      45  
 Leu Leu Arg Tyr Lys Ser Asp Ser Asp Lys Gln Gln Gly Ser Gly Val  
                     50                      55                      60  
 Ser Ser Arg Phe Ser Ala Ser Lys Asp Ala Ser Ala Asn Ala Gly Ile  
 65                      70                      75                      80  
 Leu Leu Ile Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys  
                     85                      90                      95  
 Met Ile Trp His Ser Gly Ala Ser Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys  
                     100                      105                      110  
 Leu Thr Val Leu  
                     115

&lt;210&gt; 583

&lt;211&gt; 22

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成肽"

&lt;400&gt; 583

Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Pro Gly Ala  
 1                      5                      10                      15  
 Ser Ala Ser Leu Thr Cys  
                     20

&lt;210&gt; 584

&lt;211&gt; 14

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 584

Thr Leu Arg Arg Gly Ile Asn Val Gly Ala Tyr Ser Ile Tyr

1 5 10

<210> 585

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 585

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Pro Pro Gln Tyr Leu Leu Arg

1 5 10 15

<210> 586

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 586

Tyr Lys Ser Asp Ser Asp Lys Gln Gln Gly Ser

1 5 10

<210> 587

<211> 34

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 587

Gly Val Ser Ser Arg Phe Ser Ala Ser Lys Asp Ala Ser Ala Asn Ala

1 5 10 15

Gly Ile Leu Leu Ile Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr

20 25 30

Tyr Cys

<210> 588

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 588

Met Ile Trp His Ser Gly Ala Ser Ala Val

1 5 10

<210> 589

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 589

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

1 5 10

<210> 590

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 590

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Ser Ser Tyr

20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Gly Thr Thr Glu Tyr Ala Ala

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Gly Leu Arg Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 591

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 591

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Ser  
20 25 30

<210> 592

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 592

Ser Tyr Trp Met His  
1 5

<210> 593

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 593

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly  
1 5 10

<210> 594

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 594

Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Gly Thr Thr Glu Tyr Ala Ala Ser  
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 595

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 595

Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Ser Gly Thr Thr Glu Tyr Ala Ala Ser  
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 596

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 596

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln  
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg  
20 25 30

<210> 597

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 597

Asp Arg Gly Leu Arg Phe Tyr Phe Asp Tyr  
1 5 10

<210> 598

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 598

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 599

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 599

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Ser Ser Tyr

20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Phe Ile Leu Asn Lys Ala Asn Gly Gly Thr Thr Glu Tyr Ala Ala

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Gly Leu Arg Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 600

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>



<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 600

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Ser

20 25 30

<210> 601

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 601

Ser Tyr Trp Met His

1 5

<210> 602

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 602

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly

1 5 10

<210> 603

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 603

Phe Ile Leu Asn Lys Ala Asn Gly Gly Thr Thr Glu Tyr Ala Ala Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 604

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 604

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln

1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg

20 25 30

<210> 605

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 605

Asp Arg Gly Leu Arg Phe Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 606

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 606

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 607

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 607

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1                      5                      10                      15  
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Leu Pro  
                    20                      25                      30

<210> 608

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 608

Gly Gly Gly Gly Ser Ser Ser Ser Gly  
1                      5

| 结合剂 | SEQ ID | HCDRI | SEQ ID | HCDR2                              | SEQ ID | HCDR3                   | SEQ ID | LCDRI        | SEQ ID | LCDR2   | SEQ ID | LCDR3     |
|-----|--------|-------|--------|------------------------------------|--------|-------------------------|--------|--------------|--------|---------|--------|-----------|
| 1   | 1      | SYAIS | 24     | VINPSAGST<br>DYAQKFQ               | 58     | DLYPYVVVVAAAGS<br>YGMDV | 96     | RASQGISYLA   | 129    | AASSLQS | 152    | QQSYSTPIT |
| 2   | 2      | SYVMH | 25     | WMNPNSDI<br>AGYAKKFQ <sub>G</sub>  | 59     | PSIVGAYDAFDI            | 97     | RASQSISSWLA  | 129    | AASSLQS | 153    | QQSYTTPIT |
| 3   | 3      | RHLLH | 26     | WISPOHGV<br>RNYAQKFQ <sub>G</sub>  | 60     | ESVEGYFDL               | 98     | RASQSISSYLN  | 129    | AASSLQS | 154    | QQIFSTPLT |
| 4   | 4      | SHMH  | 27     | WVSPSHGL<br>TGYAQKFQ <sub>G</sub>  | 61     | DNWNVHDAFDI             | 99     | RASQGISYLA   | 130    | GASNLQS | 155    | QQSYSTPLT |
| 5   | 5      | RFMH  | 28     | WMSLNSGL<br>TGYAQKFQ <sub>G</sub>  | 62     | GTYNDAFDI               | 100    | RASQTISNYLN  | 129    | AASSLQS | 153    | QQSYTTPIT |
| 6   | 6      | SYVH  | 29     | WMKPSSGT<br>TGYAQKFQ <sub>G</sub>  | 63     | EQWLVNDAFDI             | 101    | RASQSVDRNYVT | 131    | GASTRAT | 156    | QQSYTTPYT |
| 7   | 7      | NYVH  | 30     | WMNPNGD<br>VAGYAKKFQ <sub>QG</sub> | 64     | DSSGWMRNDAFDI           | 102    | RASQGISYLA   | 132    | GASNLHS | 157    | QQIFTTPLT |
| 8   | 2      | SYVMH | 31     | GIDPNSGGT<br>NYAQKFQ               | 65     | SMEPTIFGDNDAFDI         | 103    | QASQDIGNYLN  | 133    | AASSLES | 155    | QQSYSTPLT |
| 9   | 8      | HYVMH | 32     | WMNPDSGS<br>TGYAQKFQ <sub>G</sub>  | 66     | ALFPYPFYYYMD<br>V       | 104    | RASQGIKNDLG  | 134    | SASNLQS | 158    | QQANSFPFT |
| 10  | 9      | GYVMH | 33     | WMSLNSGL<br>TGYAQKFQ <sub>G</sub>  | 67     | DRGWFDP                 | 97     | RASQSISSWLA  | 135    | AASTLES | 159    | QQSYTTPYS |

图1A

|    |    |       |    |                                    |    |                 |     |             |     |         |     |           |
|----|----|-------|----|------------------------------------|----|-----------------|-----|-------------|-----|---------|-----|-----------|
| 11 | 7  | NYIH  | 34 | WMNPNGDV<br>AGYADSFQG              | 64 | DSSGWMRNDAFDI   | 102 | RASQGISQYLA | 132 | GASNLHS | 160 | QQTFITPLT |
| 12 | 10 | NYMYH | 35 | WISTYHGST<br>NYAQKFQG              | 68 | DARGYSGYDL      | 105 | RASQIIGNYLA | 136 | HASILET | 161 | QQSYSTPT  |
| 13 | 2  | SYMH  | 25 | WMNPNSDIA<br>GYAQKFQG              | 69 | EGRHGEYLY       | 106 | RASQIISYLN  | 129 | AASSLQS | 162 | QQGFSTPFT |
| 14 | 11 | TYVH  | 36 | WMNPNTVY<br>TGSQKFQG               | 70 | EGWGSSGYFDY     | 107 | QASQDISNYLN | 129 | AASSLQS | 163 | QSFSTNPVT |
| 15 | 12 | SYALS | 37 | RIPAVGSVT<br>YQKFQG                | 71 | HLFPTVFDDYYGMDV | 108 | RASQGISNYLA | 137 | AASTLQS | 164 | QQSYSAPYT |
| 16 | 1  | SYAIS | 38 | GIPIFGTAN<br>YQKFQG                | 72 | GGYSYGSFQH      | 109 | RASQGISNNLN | 138 | AATTLQS | 165 | QQSYSTPYT |
| 17 | 13 | RHYVH | 39 | WMSPSSGIT<br>GYAQKFQG              | 73 | VRWSSDAFDI      | 98  | RASQSISSYLN | 129 | AASSLQS | 155 | QQSYSTPLT |
| 18 | 2  | SYMH  | 40 | WMTPTGN<br>AGYAQKFQ <sub>G</sub>   | 74 | EEWLGHFQH       | 110 | RASQGISNGLS | 137 | AASTLQS | 166 | QQSHSTPLT |
| 19 | 14 | SHYMH | 41 | WMNPNSGN<br>TGYYAQKFQ <sub>G</sub> | 75 | ERFLGGMDV       | 111 | RASQSITGWLA | 129 | AASSLQS | 165 | QQSYSTPYT |
| 20 | 15 | DYYMH | 42 | WMHPNSGH<br>TGYYAQKFQ <sub>G</sub> | 74 | EEWLGHFQH       | 97  | RASQSISSWLA | 139 | DATHLET | 152 | QQSYSTPIT |
| 21 | 14 | SHYMH | 43 | WMNPNSGH<br>TGNAQKFQ <sub>G</sub>  | 76 | GNWVDAFDI       | 112 | RASQGIRNDLA | 137 | AASTLQS | 155 | QQSYSTPLT |
| 22 | 16 | GYTLH | 44 | WIDPNSGVT<br>SSAQKFQG              | 77 | ESEVMMAFYFQH    | 113 | QASQDISSYLN | 140 | AASSLQT | 165 | QQSYSTPYT |
| 23 | 9  | GYMH  | 45 | WISPNSGVT<br>DFTQKFQG              | 78 | ESWSGEFDY       | 114 | RASQSITTYLN | 141 | AASSLQG | 165 | QQSYSTPYT |

图1B

|    |    |       |    |                            |    |             |           |              |           |         |           |           |
|----|----|-------|----|----------------------------|----|-------------|-----------|--------------|-----------|---------|-----------|-----------|
| 24 | 17 | NHYMH | 46 | WMNPNSGH<br>TG YAQRFG      | 79 | EAVAGPMDV   | SEQ<br>ID | LCDR1        | SEQ<br>ID | LCDR2   | SEQ<br>ID | LCDR3     |
| 25 | 9  | GYMH  | 25 | WMNPNSDIA<br>GYA QKFG      | 80 | DAWELLA FDI | 98        | RASQSISSYLN  | 129       | AASSLQS | 155       | QQSYSTPLT |
| 26 | 17 | NHYMH | 41 | WMNPNSGN<br>TG YAQKFG<br>G | 81 | DRWDGDYYSA  | 115       | RASQSVSTWLA  | 142       | AASNLES | 165       | QQSYSTPYT |
| 27 | 7  | NYIYH | 47 | WMSPNGGN<br>TG YAQKFG<br>G | 82 | ESWELTGFDY  | 116       | RASQSIISNWLA | 143       | DVSHLES | 167       | QQSYSTPFT |
| 28 | 2  | SYMH  | 41 | WMNPNSGN<br>TG YAQKFG<br>G | 83 | ERFAGGMDA   | 117       | QASQGISNYLA  | 144       | DASSLQS | 155       | QQSYSTPLT |
| 29 | 18 | NSYMH | 48 | WMDPSSGY<br>TGS AHKFG      | 84 | DSGGAFDI    | 118       | RASQSLSSSLA  | 131       | GASTRAT | 168       | QQYGSSPFT |
| 30 | 19 | TYMH  | 49 | WMNPHSAD<br>TG YAEKFG      | 85 | EVFEGGMDV   | 119       | RASEHIANWLA  | 145       | GVSSLES | 165       | QQSYSTPYT |
| 31 | 2  | SYMH  | 50 | WLTPSTGHA<br>GYA QKFG      | 86 | EGYGGNYGN   | 120       | RASQSVGSWVA  | 146       | PASTLQS | 155       | QQSYSTPLT |
| 32 | 2  | SYMH  | 51 | WMNPNSGH<br>TG YAQKFG<br>G | 87 | EDFYGDYFDY  | 121       | RASQSI SPWLA | 147       | DASNLET | 169       | QQTYSTPIT |
| 33 | 20 | RHEFH | 44 | WIDPNSGVT<br>SSA QKFG      | 88 | ELSRWGFYD   | 122       | RASQGISRYLA  | 137       | AASTLQS | 155       | QQSYSTPLT |
| 34 | 3  | RHLLH | 52 | WIS PQHGV<br>R NYA HKFG    | 60 | ESVEGYFDL   | 123       | RASQTVSSNYLA | 148       | GASTRAS | 170       | QQYYTTPLT |

图1C

|    |    |       |    |                      |    |                     |     |             |     |         |     |            |
|----|----|-------|----|----------------------|----|---------------------|-----|-------------|-----|---------|-----|------------|
| 35 | 2  | SYMH  | 53 | MINPSGGSTS<br>YAQKFQ | 89 | DIFPTMIAGGFDL       | 98  | RASQSISSYLN | 129 | AASSLQS | 171 | QQSFSTPLT  |
| 36 | 21 | TFGIS | 38 | GIPIFGTANY<br>AQKFQ  | 90 | GGYSYGSFDY          | 97  | RASQSISSWLA | 147 | DASNLET | 172 | QQSYSTPPT  |
| 37 | 22 | SYGIN | 41 | WMNPNSGNT<br>GYAQKFQ | 91 | GSFPLVFTIFGVGD<br>V | 109 | RASQGISNNLN | 150 | ATSTLQS | 165 | QQSYSTPYT  |
| 38 | 2  | SYMH  | 54 | WISPRSGVTS<br>YAQKFQ | 92 | DLDYVRAFDI          | 124 | RSSQGIRNDLS | 151 | LASNHS  | 173 | LQHNSYPLT  |
| 39 | 2  | SYMH  | 55 | WMDPNSGNT<br>GYAQKFQ | 93 | ESWGGYFDL           | 126 | RASQSISSWLA | 129 | AASSLQS | 165 | QQSYSTPYT  |
| 40 | 23 | NHYVH | 56 | WMNPTGGIT<br>GYAQKFQ | 94 | DRTTYAFDI           | 97  | RASQSISSWLA | 149 | DSSSLQT | 174 | QQSYSTPVT  |
| 41 | 14 | SHYMH | 43 | WMNPNSGHT<br>GNAQKFQ | 76 | GNWVDAFDI           | 125 | RDSHSITTWLA | 142 | AASNLES | 175 | QHFYNTQYT  |
| 42 | 3  | RHLLH | 57 | WVSPHGLTG<br>YAPRFQ  | 95 | VHSGSDGMDV          | 127 | RASQVIRNDLA | 137 | AASTLQS | 176 | QQSLQYPSHF |

图1D

| 结合剂 | SEQ ID | HF1                               | SEQ ID | HF2                | SEQ ID | HF3                                | SEQ ID | HF4              |
|-----|--------|-----------------------------------|--------|--------------------|--------|------------------------------------|--------|------------------|
| 1   | 177    | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VSKASGGTFS | 192    | WVRQAPGQG<br>LEWMG | 196    | RVMTMRDTSSTVYMESSLR<br>SEDTAVYYCAR | 202    | WGQGTLLVT<br>VSS |
| 2   | 178    | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VSKASGYTFT | 192    | WVRQAPGQG<br>LEWMG | 197    | RVMTMRDTSSTVYMESSLR<br>SEDTAVYYCAI | 202    | WGQGTLLVT<br>VSS |
| 3   | 178    | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VSKASGYTFT | 192    | WVRQAPGQG<br>LEWMG | 196    | RVMTMRDTSSTVYMESSLR<br>SEDTAVYYCAR | 202    | WGQGTLLVT<br>VSS |
| 4   | 178    | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VSKASGYTFT | 192    | WVRQAPGQG<br>LEWMG | 196    | RVMTMRDTSSTVYMESSLR<br>SEDTAVYYCAR | 202    | WGQGTLLVT<br>VSS |
| 5   | 179    | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VSKASGYTFN | 192    | WVRQAPGQG<br>LEWMG | 198    | RVMTMRDTSSTVYMESSLR<br>SEDTAVYYCTR | 202    | WGQGTLLVT<br>VSS |
| 6   | 178    | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VSKASGYTFT | 192    | WVRQAPGQG<br>LEWMG | 196    | RVMTMRDTSSTVYMESSLR<br>SEDTAVYYCAR | 202    | WGQGTLLVT<br>VSS |
| 7   | 178    | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VSKASGYTFT | 193    | WVRQAPGQG<br>LEWLG | 197    | RVMTMRDTSSTVYMESSLR<br>SEDTAVYYCAI | 202    | WGQGTLLVT<br>VSS |
| 8   | 180    | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VSKASGNTFT | 192    | WVRQAPGQG<br>LEWMG | 196    | RVMTMRDTSSTVYMESSLR<br>SEDTAVYYCAR | 202    | WGQGTLLVT<br>VSS |
| 9   | 181    | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VSKASGHSFT | 192    | WVRQAPGQG<br>LEWMG | 196    | RVMTMRDTSSTVYMESSLR<br>SEDTAVYYCAR | 202    | WGQGTLLVT<br>VSS |
| 10  | 178    | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VSKASGYTFT | 194    | WVRQAPGQG<br>LEWIG | 196    | RVMTMRDTSSTVYMESSLR<br>SEDTAVYYCAR | 202    | WGQGTLLVT<br>VSS |

图2A



|    |     |                                     |     |                    |     |                                       |     |                  |
|----|-----|-------------------------------------|-----|--------------------|-----|---------------------------------------|-----|------------------|
| 11 | 178 | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VSCKASGYTFT  | 193 | WVRQAPGQG<br>LEWLG | 197 | RVTMTTRDTSTSTVVMELSSLR<br>SEDVAVYYCAI | 202 | WGQGTLLVT<br>VSS |
| 12 | 177 | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VSCKASGGTFS  | 192 | WVRQAPGQG<br>LEWVG | 196 | RVTMTTRDTSTSTVVMELSSLR<br>SEDVAVYYCAR | 202 | WGQGTLLVT<br>VSS |
| 13 | 182 | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VSCKASGYPTFT | 192 | WVRQAPGQG<br>LEWVG | 196 | RVTMTTRDTSTSTVVMELSSLR<br>SEDVAVYYCAR | 202 | WGQGTLLVT<br>VSS |
| 14 | 183 | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VSCKASGYRFT  | 192 | WVRQAPGQG<br>LEWVG | 196 | RVTMTTRDTSTSTVVMELSSLR<br>SEDVAVYYCAR | 202 | WGQGTLLVT<br>VSS |
| 15 | 184 | QVQLVQSGAEVKKPGSSVK<br>VSCKASGGTFS  | 192 | WVRQAPGQG<br>LEWVG | 199 | RVTITADESTSTAYMELSSLRS<br>EDTAVYYCAR  | 202 | WGQGTLLVT<br>VSS |
| 16 | 184 | QVQLVQSGAEVKKPGSSVK<br>VSCKASGGTFS  | 192 | WVRQAPGQG<br>LEWVG | 199 | RVTITADESTSTAYMELSSLRS<br>EDTAVYYCAR  | 202 | WGQGTLLVT<br>VSS |
| 17 | 185 | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VSCKASGDTFT  | 192 | WVRQAPGQG<br>LEWVG | 196 | RVTMTTRDTSTSTVVMELSSLR<br>SEDVAVYYCAR | 202 | WGQGTLLVT<br>VSS |
| 18 | 178 | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VSCKASGYTFT  | 195 | WVRQAPGQG<br>LEWVG | 196 | RVTMTTRDTSTSTVVMELSSLR<br>SEDVAVYYCAR | 202 | WGQGTLLVT<br>VSS |
| 19 | 178 | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VSCKASGYTFT  | 192 | WVRQAPGQG<br>LEWVG | 196 | RVTMTTRDTSTSTVVMELSSLR<br>SEDVAVYYCAR | 203 | WGQGTLLVT<br>VSS |
| 20 | 178 | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VSCKASGYTFT  | 192 | WVRQAPGQG<br>LEWVG | 200 | RVTMTTRDTSTSTVVMELSSLR<br>SEDVAVYYCAR | 202 | WGQGTLLVT<br>VSS |
| 21 | 178 | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VSCKASGYTFT  | 192 | WVRQAPGQG<br>LEWVG | 196 | RVTMTTRDTSTSTVVMELSSLR<br>SEDVAVYYCAR | 204 | WGQGTLLVT<br>VSS |
| 22 | 178 | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VSCKASGYTFT  | 192 | WVRQAPGQG<br>LEWVG | 196 | RVTMTTRDTSTSTVVMELSSLR<br>SEDVAVYYCAR | 202 | WGQGTLLVT<br>VSS |

图2B

|    |     |                                   |     |                    |     |                                      |     |                  |
|----|-----|-----------------------------------|-----|--------------------|-----|--------------------------------------|-----|------------------|
| 23 | 178 | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VCKASGYTFT | 192 | WVROAPGQG<br>LEWMG | 196 | RVTMTRDTSTSTVVMELSSLR<br>SEDTAVYYCAR | 202 | WGQGTTLVT<br>VSS |
| 24 | 185 | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VCKASGDIFT | 192 | WVROAPGQG<br>LEWMG | 196 | RVTMTRDTSTSTVVMELSSLR<br>SEDTAVYYCAR | 203 | WGQGTTLVT<br>VSS |
| 25 | 178 | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VCKASGYTFT | 192 | WVROAPGQG<br>LEWMG | 196 | RVTMTRDTSTSTVVMELSSLR<br>SEDTAVYYCAR | 202 | WGQGTTLVT<br>VSS |
| 26 | 186 | QVQLAQSGAEVKKPGASVK<br>VCKASGYTFT | 192 | WVROAPGQG<br>LEWMG | 196 | RVTMTRDTSTSTVVMELSSLR<br>SEDTAVYYCAR | 202 | WGQGTTLVT<br>VSS |
| 27 | 178 | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VCKASGYTFT | 192 | WVROAPGQG<br>LEWMG | 196 | RVTMTRDTSTSTVVMELSSLR<br>SEDTAVYYCAR | 202 | WGQGTTLVT<br>VSS |
| 28 | 178 | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VCKASGYTFT | 192 | WVROAPGQG<br>LEWMG | 196 | RVTMTRDTSTSTVVMELSSLR<br>SEDTAVYYCAR | 203 | WGQGTTLVT<br>VSS |
| 29 | 187 | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VCKASGYTFS | 192 | WVROAPGQG<br>LEWMG | 201 | RVTMTRDTSTSTVVMELSSLR<br>SEDTAVYYCAE | 204 | WGQGTMTVT<br>VSS |
| 30 | 188 | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VCKASGYTFS | 192 | WVROAPGQG<br>LEWMG | 196 | RVTMTRDTSTSTVVMELSSLR<br>SEDTAVYYCAR | 203 | WGQGTTLVT<br>VSS |
| 31 | 178 | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VCKASGYTFT | 192 | WVROAPGQG<br>LEWMG | 196 | RVTMTRDTSTSTVVMELSSLR<br>SEDTAVYYCAR | 202 | WGQGTTLVT<br>VSS |
| 32 | 178 | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VCKASGYTFT | 192 | WVROAPGQG<br>LEWMG | 196 | RVTMTRDTSTSTVVMELSSLR<br>SEDTAVYYCAR | 202 | WGQGTTLVT<br>VSS |
| 33 | 178 | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VCKASGYTFT | 192 | WVROAPGQG<br>LEWMG | 196 | RVTMTRDTSTSTVVMELSSLR<br>SEDTAVYYCAR | 205 | WPGTMTVT<br>VSS  |
| 34 | 178 | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VCKASGYTFT | 192 | WVROAPGQG<br>LEWMG | 196 | RVTMTRDTSTSTVVMELSSLR<br>SEDTAVYYCAR | 206 | WGRGTLVT<br>VSS  |

图2C

|    |     |                                   |     |                    |     |                                     |     |                 |
|----|-----|-----------------------------------|-----|--------------------|-----|-------------------------------------|-----|-----------------|
| 35 | 188 | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VSKASGYPFS | 192 | WVRQAPGQG<br>LEWMG | 196 | RVTMTRDTSTSTVYMESSLR<br>SEDVAVYYCAR | 206 | WGRGTLVT<br>VSS |
| 36 | 184 | QVQLVQSGAEVKKPGSSVK<br>VSKASGGTFS | 192 | WVRQAPGQG<br>LEWMG | 199 | RVTTITADESTSTAYMESSLR<br>EDTAVYYCAR | 202 | WQQTTLVT<br>VSS |
| 37 | 178 | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VSKASGYTFT | 192 | WVRQAPGQG<br>LEWMG | 196 | RVTMTRDTSTSTVYMESSLR<br>SEDVAVYYCAR | 204 | WQQTMTVT<br>VSS |
| 38 | 178 | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VSKASGYTFT | 192 | WVRQAPGQG<br>LEWMG | 196 | RVTMTRDTSTSTVYMESSLR<br>SEDVAVYYCAR | 203 | WQQTTLVT<br>VSS |
| 39 | 189 | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VSKASGYSFT | 192 | WVRQAPGQG<br>LEWMG | 196 | RVTMTRDTSTSTVYMESSLR<br>SEDVAVYYCAR | 206 | WGRGTLVT<br>VSS |
| 40 | 190 | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VSKASGYTFI | 192 | WVRQAPGQG<br>LEWMG | 196 | RVTMTRDTSTSTVYMESSLR<br>SEDVAVYYCAR | 204 | WQQTMTVT<br>VSS |
| 41 | 178 | QVQLVQSGAEVKKPGASVK<br>VSKASGYTFT | 192 | WVRQAPGQG<br>LEWMG | 196 | RVTMTRDTSTSTVYMESSLR<br>SEDVAVYYCAR | 204 | WQQTMTVT<br>VSS |
| 42 | 191 | QVQLVQSGAEVKKPGSSVK<br>VSKASGYTFT | 192 | WVRQAPGQG<br>LEWMG | 199 | RVTTITADESTSTAYMESSLR<br>EDTAVYYCAR | 203 | WQQTTLVT<br>VSS |

图2D

| 结合剂 | SEQ ID | LFW1                         | SEQ ID | LFW2                | SEQ ID | LFW3                                | SEQ ID | LFW4           |
|-----|--------|------------------------------|--------|---------------------|--------|-------------------------------------|--------|----------------|
| 1   | 207    | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT<br>C | 210    | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213    | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 217    | FGGGTKVEI<br>K |
| 2   | 207    | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT<br>C | 210    | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213    | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 217    | FGGGTKVEI<br>K |
| 3   | 207    | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT<br>C | 210    | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213    | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 217    | FGGGTKVEI<br>K |
| 4   | 207    | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT<br>C | 210    | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213    | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 217    | FGGGTKVEI<br>K |
| 5   | 207    | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT<br>C | 210    | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213    | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 217    | FGGGTKVEI<br>K |
| 6   | 208    | EIVMTQSPATLSVSPGERATLS<br>C  | 211    | WYQQKPGQAPRLLI<br>Y | 214    | GIPARFSGSGGTEFTLTISSLQSEDFAVYY<br>C | 218    | FGQGTKVEI<br>K |
| 7   | 207    | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT<br>C | 210    | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213    | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 217    | FGGGTKVEI<br>K |
| 8   | 207    | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT<br>C | 210    | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213    | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 217    | FGGGTKVEI<br>K |
| 9   | 207    | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT<br>C | 210    | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213    | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 217    | FGGGTKVEI<br>K |
| 10  | 207    | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT<br>C | 210    | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213    | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 217    | FGGGTKVEI<br>K |

图3A

|    |     |                               |     |                     |     |                                    |     |                |
|----|-----|-------------------------------|-----|---------------------|-----|------------------------------------|-----|----------------|
| 11 | 207 | DIQMTQSPSSL.SASVGDRV/TIT<br>C | 210 | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213 | GVPSRFSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 217 | FGGGTKVEI<br>K |
| 12 | 207 | DIQMTQSPSSL.SASVGDRV/TIT<br>C | 210 | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213 | GVPSRFSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 217 | FGGGTKVEI<br>K |
| 13 | 207 | DIQMTQSPSSL.SASVGDRV/TIT<br>C | 210 | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213 | GVPSRFSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 217 | FGGGTKVEI<br>K |
| 14 | 207 | DIQMTQSPSSL.SASVGDRV/TIT<br>C | 210 | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213 | GVPSRFSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 217 | FGGGTKVEI<br>K |
| 15 | 207 | DIQMTQSPSSL.SASVGDRV/TIT<br>C | 210 | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213 | GVPSRFSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 217 | FGGGTKVEI<br>K |
| 16 | 207 | DIQMTQSPSSL.SASVGDRV/TIT<br>C | 210 | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213 | GVPSRFSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 217 | FGGGTKVEI<br>K |
| 17 | 207 | DIQMTQSPSSL.SASVGDRV/TIT<br>C | 210 | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213 | GVPSRFSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 217 | FGGGTKVEI<br>K |
| 18 | 207 | DIQMTQSPSSL.SASVGDRV/TIT<br>C | 210 | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213 | GVPSRFSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 217 | FGGGTKVEI<br>K |
| 19 | 207 | DIQMTQSPSSL.SASVGDRV/TIT<br>C | 210 | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213 | GVPSRFSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 218 | FGGGTKVEI<br>K |
| 20 | 207 | DIQMTQSPSSL.SASVGDRV/TIT<br>C | 210 | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213 | GVPSRFSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 219 | FGQGTKLEIK     |
| 21 | 207 | DIQMTQSPSSL.SASVGDRV/TIT<br>C | 210 | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213 | GVPSRFSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 217 | FGGGTKVEI<br>K |
| 22 | 207 | DIQMTQSPSSL.SASVGDRV/TIT<br>C | 210 | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213 | GVPSRFSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 221 | FGQGTKLEIK     |

图3B

|    |     |                              |     |                     |     |                                     |     |                |
|----|-----|------------------------------|-----|---------------------|-----|-------------------------------------|-----|----------------|
| 23 | 207 | DIQMTQSPSSL.SASVGDRVTIT<br>C | 210 | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213 | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 218 | FGQGTKVEI<br>K |
| 24 | 207 | DIQMTQSPSSL.SASVGDRVTIT<br>C | 210 | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213 | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 220 | FGGGTKLEIK     |
| 25 | 207 | DIQMTQSPSSL.SASVGDRVTIT<br>C | 210 | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213 | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 221 | FGQGTKLEIK     |
| 26 | 207 | DIQMTQSPSSL.SASVGDRVTIT<br>C | 210 | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213 | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 222 | FGPGTKVDI<br>K |
| 27 | 207 | DIQMTQSPSSL.SASVGDRVTIT<br>C | 210 | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213 | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 217 | FGGGTKVEI<br>K |
| 28 | 208 | EIVMTQSPATLSVSPGERATLS<br>C  | 211 | WYQQKPGQAPRLLI<br>Y | 214 | GIPARFSGSGGTEFTLTISSLQSEDFAVYY<br>C | 222 | FGPGTKVDI<br>K |
| 29 | 207 | DIQMTQSPSSL.SASVGDRVTIT<br>C | 210 | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213 | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 221 | FGQGTKLEIK     |
| 30 | 207 | DIQMTQSPSSL.SASVGDRVTIT<br>C | 210 | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213 | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 217 | FGGGTKVEI<br>K |
| 31 | 207 | DIQMTQSPSSL.SASVGDRVTIT<br>C | 210 | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213 | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 219 | FGQGTRLEIK     |
| 32 | 207 | DIQMTQSPSSL.SASVGDRVTIT<br>C | 210 | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213 | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 218 | FGQGTKVEI<br>K |
| 33 | 208 | EIVMTQSPATLSVSPGERATLS<br>C  | 211 | WYQQKPGQAPRLLI<br>Y | 214 | GIPARFSGSGGTEFTLTISSLQSEDFAVYY<br>C | 217 | FGGGTKVEI<br>K |
| 34 | 207 | DIQMTQSPSSL.SASVGDRVTIT<br>C | 210 | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y | 213 | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 219 | FGQGTRLEIK     |

图3C

|    |     |                              |     |                      |     |                                     |     |                |
|----|-----|------------------------------|-----|----------------------|-----|-------------------------------------|-----|----------------|
| 35 | 207 | DIQMTQSPSSL SASVGDRVTIT<br>C | 210 | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y  | 213 | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 218 | FGQGTKVEI<br>K |
| 36 | 207 | DIQMTQSPSSL SASVGDRVTIT<br>C | 210 | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y  | 213 | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 218 | FGQGTKVEI<br>K |
| 37 | 207 | DIQMTQSPSSL SASVGDRVTIT<br>C | 210 | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y  | 213 | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 217 | FGGGTKVEI<br>K |
| 38 | 207 | DIQMTQSPSSL SASVGDRVTIT<br>C | 210 | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y  | 213 | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 221 | FGQGTKLEIK     |
| 39 | 207 | DIQMTQSPSSL SASVGDRVTIT<br>C | 210 | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y  | 213 | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 218 | FGQGTKVEI<br>K |
| 40 | 209 | DIQITHSPSSL SASVGYRLTITC     | 212 | WYHQKPWNAPKLM I<br>Y | 215 | GVPSRFSGSGGTYFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 218 | FGQGTKVEI<br>K |
| 41 | 207 | DIQMTQSPSSL SASVGDRVTIT<br>C | 210 | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y  | 213 | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYY<br>C | 218 | FGQGTKVEI<br>K |
| 42 | 207 | DIQMTQSPSSL SASVGDRVTIT<br>C | 210 | WYQQKPGKAPKLLI<br>Y  | 216 | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFAPYY<br>C | 222 | FGPGTKVDI<br>K |

图3D

| 结合剂 | SEQ ID | VH                                                                                                                                 |
|-----|--------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1   | 223    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGVNPSAGSTDY A QKFQGRVTMTRDTSTSTV<br>YMESSLRSEDTAVYYCARDLYPVVVVAAGSYGMDVWGQGTLVTVSS |
| 2   | 224    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGNPNPNSDIAGY A QKFQGRVTMTRDTSTST<br>TVYMELSSLRSEDTAVYYCAIPSNVAYDAFDIWGQGTLVTVSS     |
| 3   | 225    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRHLLHWVRQAPGQGLEWMGVISPQHGVRNY A QKFQGRVTMTRDTSTST<br>VYMELSSLRSEDTAVYYCARESVGEYFDLWGQGTLVTVSS       |
| 4   | 226    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSHHMHVVRQAPGQGLEWMGVSPSHGLTGY A QKFQGRVTMTRDTSTST<br>VYMELSSLRSEDTAVYYCARDNWNVHDAFDIWGQGTLVTVSS      |
| 5   | 227    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNRFMHVVRQAPGQGLEWMGMSLSGLTGY A QKFQGRVTMTRDTSTST<br>VYMELSSLRSEDTAVYYCTRGTYNDAFDIWGQGTLVTVSS          |
| 6   | 228    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYIHWVRQAPGQGLEWMGMWMPSSGTTGY A QKFQGRVTMTRDTSTST<br>VYMELSSLRSEDTAVYYCAREQWL V NDAFDIWGQGTLVTVSS    |
| 7   | 229    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYIHWVRQAPGQGLEWMGMWMPSSGTTGY A QKFQGRVTMTRDTSTST<br>VYMELSSLRSEDTAVYYCAREQWL V NDAFDIWGQGTLVTVSS    |
| 8   | 230    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGNTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGGIDPNSGGTNY A QKFQGRVTMTRDTSTST<br>VYMELSSLRSEDTAVYYCARSMFTIFGDNAFDIWGQGTLVTVSS    |
| 9   | 231    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHSFTHYIMHVVRQAPGQGLEWMGNPNPNSDSTGY A QKFQGRVTMTRDTSTST<br>TVYMELSSLRSEDTAVYYCARALFPYFYIYMDVWGQGTLVTVSS   |
| 10  | 232    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYIMHVVRQAPGQGLEWMGMSLSGLTGY A QKFQGRVTMTRDTSTST<br>VYMELSSLRSEDTAVYYCARDRGWFDPWGQGTLVTVSS           |
| 11  | 233    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYIHWVRQAPGQGLEWMGNPNPNDVAGY ADSFQGRVTMTRDTSTST<br>VYMELSSLRSEDTAVYYCAIDSSGWMRNDAFDIWGQGTLVTVSS      |

图4A



|    |     |                                                                                                                               |
|----|-----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 12 | 234 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGGTFSNYMYHWVRQAPGQGLEWMGWISTYHGSTNYAQKFQGRVTMTRDTSTST<br>VYMELSSLRSEDTAVYYCARDARGSGYDLWGQGTLVTVSS    |
| 13 | 235 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPTFSYMYHWVRQAPGQGLEWMGNPNPNSDIAGYAKKFQGRVTMTRDTSTST<br>TVYMELSSLRSEDTAVYYCAREGRHGEYLYWGQGTLVTVSS   |
| 14 | 236 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYRFTTYVHWVRQAPGQGLEWMGNPNPNTVYTGSAQKFQGRVTMTRDTSTST<br>TVYMELSSLRSEDTAVYYCAREGWGSSGYFDYWGQGTLVTVSS  |
| 15 | 237 | QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSYALSWVRQAPGQGLEWMGRIPAVGSVYTAQKFQGRVTITADESTSTAY<br>MELSSLRSEDTAVYYCARHLFPTVFDYYGMDVWGQGTLLTVSS |
| 16 | 238 | QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSYALSWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYM<br>ELSSLRSEDTAVYYCARGGYSYGSFQHWGQGTLLTVSS     |
| 17 | 239 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFIRHYVHWVRQAPGQGLEWMGWMPSSGITGYAQKFQGRVTMTRDTSTST<br>VYMELSSLRSEDTAVYYCARVRWSSDAFDIWGQGTLVTVSS    |
| 18 | 240 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMYHWVRQAPGQGLEWMGWMTPTSTGNAGYAKKFQGRVTMTRDTSTST<br>TVYMELSSLRSEDTAVYYCAREEWLGHFQHWGQGTLLTVSS  |
| 19 | 241 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSHYMYHWVRQAPGQGLEWMGNPNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRDTSTST<br>TVYMELSSLRSEDTAVYYCARERFLGGMDVWGQGTLLTVSS  |
| 20 | 242 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYMYHWVRQAPGQGLEWMGHPNSGHTGYAQKFQGRVTMTRDTSTST<br>TVNMELSSLRSEDTAVYYCAREEWLGHFQHWGQGTLLTVSS     |
| 21 | 243 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSHYMYHWVRQAPGQGLEWMGNPNPNSGHTGNAQKFQGRVTMTRDTSTST<br>TVYMELSSLRSEDTAVYYCARGNWVDAFDIWGQGTLLTVSS  |
| 22 | 244 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYTLHWVRQAPGQGLEWMGWIDPNSGVTSSAQKFQGRVTMTRDTSTSTV<br>YMELSSLRSEDTAVYYCARESEVMMAFYQHWGQGTLLTVSS  |
| 23 | 245 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMYHWVRQAPGQGLEWMGWISPNSGVTDFDTQKFQGRVTMTRDTSTST<br>VYMELSSLRSEDTAVYYCARESWSGEFDYWGQGTLVTVSS   |

图4B

|    |     |                                                                                                                                  |
|----|-----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 24 | 246 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTNHYMHVVRQAPGQGLEWMGMNPNSGHTGYAQRFGQGRVTMTRDTSTST<br>TVYMELSSLRSEDTAVYYCAREAVAGPMDVWGQGTITVTVSS     |
| 25 | 247 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMHVVRQAPGQGLEWMGMNPNSDIAGYAQKFQGRVTMTRDTSTST<br>TVYMELSSLRSEDTAVYYCARDAREWELLAFDIWGGGTLVTVSS     |
| 26 | 248 | QVQLAQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNHYMHVVRQAPGQGLEWMGMNPNSGNTGYAQRFGQGRVTMTRDTSTST<br>TVYMELSSLRSEDTAVYYCARDRWGDYYSAGWGGGTLVTVSS     |
| 27 | 249 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNHYHVVVRQAPGQGLEWMGMNPNSGNTGYAQRFGQGRVTMTRDTSTST<br>VYMELSSLRSEDTAVYYCARESWELTGFDYWGQGTITVTVSS     |
| 28 | 250 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGMNPNSGNTGYAQRFGQGRVTMTRDTSTST<br>TVYMELSSLRSEDTAVYYCARERFAGGMDAWGGGTTTVTVSS      |
| 29 | 251 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSNHYMHVVRQAPGQGLEWMGMNDPSSGYTGSAAHKFQGRVTMTRDTSTST<br>VYMELSSLRSEDTAVYYCAEDSGGAFDIWGGGTMVTVSS      |
| 30 | 252 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGMNPNSADTGYAEKFQGRVTMTRDTSTST<br>TVYMELSSLRSEDTAVYYCAREVFEFGMDVWGQGTITVTVSS       |
| 31 | 253 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGMWLTPTSTGHAGYAQRFGQGRVTMTRDTSTST<br>VYMELSSLRSEDTAVYYCAREGYGGNYGNWGGGTLVTVSS     |
| 32 | 254 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGMNPNSGHTGYAQRFGQGRVTMTRDTSTST<br>TVYMELSSLRSEDTAVYYCAREDFYGDYWGQGTITVTVSS        |
| 33 | 255 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTRHFIHVVVRQAPGQGLEWMGMNDPNSGVTSSAQRFGQGRVTMTRDTSTST<br>VYMELSSLRSEDTAVYYCARELSRWGFDYWGPGTMVTVSS    |
| 34 | 256 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTRHLLHVVVRQAPGQGLEWMGWISPHQHGVRNYAQRFGQGRVTMTRDTSTST<br>VYMELSSLRSEDTAVYYCAREVGEYFDLWGRGTLVTVSS    |
| 35 | 257 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGMNPNSGGTSTGYAQRFGQGRVTMTRDTSTST<br>VYMELSSLRSEDTAVYYCARDIFPTMIAGGGFDLWGRGTLVTVSS |

图4C

|    |     |                                                                                                                                    |
|----|-----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 36 | 258 | QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFTSGISWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYM<br>ELSSLRSEDTAVYYCARGGYSYGSFDYWGQGTLVTVSS          |
| 37 | 259 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGINWVRQAPGQGLEWMGMNPNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRDTSTST<br>VYMELSSLRSEDTAVYYCARGSEPLVFTIFGVGDVWGQGTMTVTVSS |
| 38 | 260 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHWVRQAPGQGLEWMGWISPRSGVTSY AQKFQGRVTMTRDTSTST<br>VYMELSSLRSEDTAVYYCARDLDYVRAFDIWGQGTITVTVSS       |
| 39 | 261 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTFTSYMHWVRQAPGQGLEWMGMWMDPNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRDTSTST<br>TVYMELSSLRSEDTAVYYCARESWGGYFDLWGRGTLVTVSS     |
| 40 | 262 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFINHYVHWVRQAPGQGLEWMGMNPNPNTGGITGYAQKFQGRVTMTRDTSTST<br>VYMELSSLRSEDTAVYYCARDRTTYAFDIWGQGTMTVTVSS      |
| 41 | 263 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSHYMHWVRQAPGQGLEWMGMNPNPNSGHTGTNAQKFQGRVTMTRDTSTST<br>TVYMELSSLRSEDTAVYYCARGNWVD AFDIWGQGTMTVTVSS    |
| 42 | 264 | QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTRHLLHWVRQAPGQGLEWMGMVSPHGLTGYAPRFQGRVTITADESTSTAY<br>MELSSLRSEDTAVYYCARVHGSGSDGMDVWGQGTITVTVSS       |

图4D

| 结合剂 | SEQ ID | VL                                                                                                                    |
|-----|--------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1   | 265    | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITTCRASQIGDSYLA.WYQQKPGKAPKLLIYA.ASSLQSGVPSRFSGSGGTDFTL.TISSLQPEDFATYYCQQSYSTPI<br>TFGGGKVEIK  |
| 2   | 266    | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITTCRASQISSYLA.WYQQKPGKAPKLLIYA.ASSLQSGVPSRFSGSGGTDFTL.TISSLQPEDFATYYCQQSYTTPI<br>TFGGGKVEIK   |
| 3   | 267    | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITTCRASQISSYLN.WYQQKPGKAPKLLIYA.ASSLQSGVPSRFSGSGGTDFTL.TISSLQPEDFATYYCQQIFSTPLT<br>FGGGTKVEIK  |
| 4   | 268    | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITTCRASQIGISSYLA.WYQQKPGKAPKLLIYGASNLSQSGVPSRFSGSGGTDFTL.TISSLQPEDFATYYCQQSYSTPL<br>TFGGGKVEIK |
| 5   | 269    | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITTCRASQITISNYLN.WYQQKPGKAPKLLIYA.ASSLQSGVPSRFSGSGGTDFTL.TISSLQPEDFATYYCQQSYTTPI<br>TFGGGKVEIK |
| 6   | 270    | EIVMTQSPATLSVSPGERATLS.CRASQSVDRN.VTWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGGTDFTL.TISSLQSEDEAVYYCQQSYTT<br>PYTFGGGKVEIK      |
| 7   | 271    | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITTCRASQIGISQYLA.WYQQKPGKAPKLLIYGASNLSHSGVPSRFSGSGGTDFTL.TISSLQPEDFATYYCQQTFTP<br>LTFGGGKVEIK  |
| 8   | 272    | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITTCRASQIDIGNYLN.WYQQKPGKAPKLLIYA.ASSLESQVPSRFSGSGGTDFTL.TISSLQPEDFATYYCQQSYSTP<br>LTFGGGKVEIK |
| 9   | 273    | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITTCRASQIGIRNDLG.WYQQKPGKAPKLLIYSASNLSQSGVPSRFSGSGGTDFTL.TISSLQPEDFATYYCQQANSFP<br>FTFGGGKVEIK |
| 10  | 274    | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITTCRASQISSYLA.WYQQKPGKAPKLLIYA.ASTLESQVPSRFSGSGGTDFTL.TISSLQPEDFATYYCQQSYTTPI<br>SFGGGKVEIK   |
| 11  | 275    | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITTCRASQIGISQYLA.WYQQKPGKAPKLLIYGASNLSHSGVPSRFSGSGGTDFTL.TISSLQPEDFATYYCQQTFITPL<br>TFGGGKVEIK |
| 12  | 276    | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITTCRASQIIGNYLA.WYQQKPGKAPKLLIYHASILETGVPSPRFSGSGGTDFTL.TISSLQPEDFATYYCQQSYSTPTF<br>GGGKVEIK   |
| 13  | 277    | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITTCRASQIISYLN.WYQQKPGKAPKLLIYA.ASSLQSGVPSRFSGSGGTDFTL.TISSLQPEDFATYYCQQGFSTPFT<br>FGGGKVEIK   |
| 14  | 278    | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITTCRASQDISNYLN.WYQQKPGKAPKLLIYA.ASSLQSGVPSRFSGSGGTDFTL.TISSLQPEDFATYYCQQSFTNP<br>VTFGGGKVEIK  |
| 15  | 279    | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITTCRASQGISNYLA.WYQQKPGKAPKLLIYA.ASTLQSGVPSRFSGSGGTDFTL.TISSLQPEDFATYYCQQSYSAP<br>YTFGGGKVEIK  |
| 16  | 280    | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITTCRASQGISNNLN.WYQQKPGKAPKLLIYA.AATLQSGVPSRFSGSGGTDFTL.TISSLQPEDFATYYCQQSYSTP<br>YTFGGGKVEIK  |

图4E

|    |     |                                                                                                                  |
|----|-----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 17 | 281 | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPL<br>TFGGGKVEIK  |
| 18 | 282 | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITCRASQGISNGLSWYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSHSTPL<br>TFGGGKVEIK  |
| 19 | 283 | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITCRASQITGWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP<br>YTFGGGKVEIK   |
| 20 | 284 | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYDATHLETGVPFRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPI<br>TFGGGKVEIK |
| 21 | 285 | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITCRASQIRNDLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP<br>LTFGGGKVEIK   |
| 22 | 286 | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPY<br>TFGGGKVEIK  |
| 23 | 287 | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITCRASQSIITTYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPY<br>TFGGGKVEIK |
| 24 | 288 | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPL<br>TFGGGKVEIK  |
| 25 | 289 | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITCRASQSVSTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP<br>YTFGGGKVEIK  |
| 26 | 290 | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYDVSHLESGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPF<br>TFGGGKVEIK |
| 27 | 291 | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITCRASQGISNYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPL<br>TFGGGKVEIK |
| 28 | 292 | EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSLSSSSLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGGTDFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYGSSP<br>FTFGPGTKVDIK  |
| 29 | 293 | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITCRASEHIANWLAWYQQKPGKAPKLLIYGVSSLESGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP<br>YTFGGGKVEIK |
| 30 | 294 | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITCRASQSVGSWVAWYQQKPGKAPKLLIYPASTLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP<br>LTFGGGKVEIK |
| 31 | 295 | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPFRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTYSTPI<br>TFGGGKVEIK |
| 32 | 296 | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITCRASQGISRYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPL<br>TFGGGKVEIK  |
| 33 | 297 | EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQTVSSNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGGTDFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYYTT<br>PLTFGGGKVEIK   |
| 34 | 298 | DIQMTQSPSSL.SASV.GDRV.TITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSFSTPLT<br>FGGGKVEIK  |

图4F

|    |     |                                                                                                                    |
|----|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 35 | 299 | DIQMTQSPSSLASVGDGRVTITCRASQSISSWLA WYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVP SRFSGSGGTDFLT TISSLQPEDFATYYCQQSYSTPP<br>TFGGGTKVEIK  |
| 36 | 300 | DIQMTQSPSSLASVGDGRVTITCRASQGISNNLNWYQQKPGKAPKLLIYATSTLQSGVPSRFSGSGGTDFLT TISSLQPEDFATYYCQQSYSTPY<br>TFGGGTKVEIK    |
| 37 | 301 | DIQMTQSPSSLASVGDGRVTITCRSSQIRNDLSWYQQKPGKAPKLLIYLASNHSVGVP SRFSGSGGTDFLT TISSLQPEDFATYYCLQHNSYPL<br>TFGGGTKVEIK    |
| 38 | 302 | DIQMTQSPSSLASVGDGRVTITCRASQSIISR WLA WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGGTDFLT TISSLQPEDFATYYCQQSYSTPY<br>TFGGGTKLEIK |
| 39 | 303 | DIQMTQSPSSLASVGDGRVTITCRASQSISSWLA WYQQKPGKAPKLLIYDSSSLQTGVPSRFSGSGGTDFLT TISSLQPEDFATYYCQQSYSTPV<br>TFGGGTKVEIK   |
| 40 | 304 | DIQTHSPSSLASVGYRLTITCRDSSHITTWLA WYHQKPWNAPKLMY AASNLESVPSRFSGSGGTFTLT TISSLQPEDFATYYCQHIFYNTQ<br>YTFGGGTKVEIK     |
| 41 | 305 | DIQMTQSPSSLASVGDGRVTITCRASQVIRNDLA WYQQKPGKAPKLLIYAAS TLQSGVPSRFSGSGGTDFLT TISSLQPEDFATYYCQQSLQYP<br>SHFFGGGTKVEIK |
| 42 | 306 | DIQMTQSPSSLASVGDGRVTITCRASQSIIRYLNWYQQKPGKAPKLLIYAAS TLQSGVPSRFSGSGGTDFLT TISSLQPEDFAPYYCQQSYSTPL<br>TFGGGTKVDIK   |

图4G

| 结合剂 | SEQ ID | HCDR1 | SEQ ID | HCDR2                | SEQ ID | HCDR3       | SEQ ID | LCDR1        | SEQ ID | LCDR2   | SEQ ID | LCDR3     |
|-----|--------|-------|--------|----------------------|--------|-------------|--------|--------------|--------|---------|--------|-----------|
| 1   | 308    | SDYMH | 322    | WMSPYNGIT<br>GYAQKFQ | 339    | DRFSGSYDY   | 360    | RASQSISSWLA  | 375    | AASSLQS | 387    | QQSYSTPYT |
| 2   | 309    | GYVMH | 323    | WMSPSSGITG<br>YAKKFQ | 340    | DRGWFD      | 361    | RASQSVGTWLA  | 376    | AASTLEN | 388    | QQSFSTPYT |
| 3   | 310    | SYVMH | 324    | WMTNSGIT<br>GYAQKFQ  | 341    | EGYSSGLDY   | 360    | RASQSISSWLA  | 375    | AASSLQS | 387    | QQSYSTPYT |
| 4   | 311    | GYVH  | 325    | GIPIFGTASY<br>AQKFQ  | 342    | DGRFWSGYPDY | 362    | RASQGISNYLA  | 377    | RASNLES | 389    | QQSYSTPLT |
| 5   | 312    | THVMH | 326    | WMNPNSGH<br>AGSAQKFQ | 343    | ESIAVAGDY   | 360    | RASQSISSWLA  | 378    | AASTLQR | 387    | QQSYSTPYT |
| 6   | 313    | SHDIN | 327    | WMNPNSGNT<br>GYAQKFQ | 344    | DRWYMGSDY   | 363    | RASQSISSWLA  | 379    | AASTLQS | 390    | QQSYSTPFT |
| 7   | 310    | SYVMH | 327    | WMNPNSGNT<br>GYAQKFQ | 345    | DDWGGDWFD   | 364    | QASQDISNHLN  | 380    | GASNLQR | 391    | QQSYSTPIT |
| 8   | 312    | THVMH | 328    | WMNPNSGNT<br>GYSQKFQ | 346    | ERLSVAGFDY  | 365    | RASQGISSWLA  | 375    | AASSLQS | 387    | QQSYSTPYT |
| 9   | 314    | DHYLH | 329    | WMNPNGIT<br>GYAQKFQ  | 347    | EPLQLGGFDY  | 366    | RASESISSWLA  | 375    | AASSLQS | 389    | QQSYSTPLT |
| 10  | 309    | GYVMH | 330    | WMNPNGIT<br>GYAQNFQ  | 348    | EGFGPNAFDI  | 360    | RASQSISSWLA  | 381    | AASNLOS | 392    | QOYYSTPYT |
| 11  | 309    | GYVMH | 327    | WMNPNSGNT<br>GYAQKFQ | 349    | DSWYGDWFD   | 367    | RASQSVGSWLA  | 382    | GASSLQS | 389    | QQSYSTPLT |
| 12  | 309    | GYVMH | 322    | WMSPYNGIT<br>GYAQKFQ | 350    | EVIEVGMDV   | 360    | RASQSISSWLA  | 383    | AASHLOS | 387    | QQSYSTPYT |
| 13  | 315    | NYVMH | 323    | WMSPSSGITG<br>YAKKFQ | 351    | EAWFGELST   | 368    | RASQSISSWLA  | 375    | AASSLQS | 393    | QQSYSLPYT |
| 14  | 316    | AYVH  | 331    | WMNPNGIT<br>DSAQKFQ  | 352    | EAYVAAFDI   | 365    | RASQGISSWLA  | 375    | AASSLQS | 389    | QQSYSTPLT |
| 15  | 317    | RHYVH | 332    | WMNPNSGSA<br>GYAQKFQ | 353    | ERGVNAFDY   | 369    | RASQSLSSSYLA | 131    | GASTRAT | 394    | HQYFTTPLT |
| 16  | 318    | NYIH  | 333    | WIHPRSGAT<br>GYAPKFQ | 354    | DSVFGLDY    | 370    | RASQSISSYLN  | 379    | AASTLQS | 395    | QQSYSMPT  |
| 17  | 310    | SYVMH | 334    | WISPRSGVTS<br>YAKKFQ | 355    | DLDYVRAFDI  | 371    | RASQSISSWLA  | 375    | AASSLQS | 387    | QQSYSTPYT |

图5A

|    |     |       |     |                      |     |              |     |              |     |         |     |            |
|----|-----|-------|-----|----------------------|-----|--------------|-----|--------------|-----|---------|-----|------------|
| 18 | 310 | SYMH  | 335 | WMDPNSGNT<br>GYAQKFQ | 356 | ESWGGYFDL    | 360 | RASQSISSWLA  | 385 | DSSSLQT | 396 | QQSYSTPVT  |
| 19 | 319 | NHYVH | 336 | WMNPTGGIT<br>GYAQKFQ | 357 | DRTTYAFDI    | 372 | RDSHSITTWLA  | 386 | AASNLES | 397 | QHFYNTQYT  |
| 20 | 320 | SHYMH | 337 | WMNPNSGHT<br>GNAQKFQ | 358 | GNWVD AFDI   | 373 | RASQVIRNDLA  | 379 | AASTLQS | 398 | QQSLQYPSHF |
| 21 | 321 | RHLLH | 338 | WVSPHGLTG<br>YAPRFQ  | 359 | VHGS GSDGMDV | 374 | RASQSI SRYLN | 379 | AASTLQS | 389 | QQSYSTPLT  |

图5B



| 结合剂 | SEQ ID | HFV1                               | SEQ ID | HFV2               | SEQ ID | HFV3                                | SEQ ID | HFV4            |
|-----|--------|------------------------------------|--------|--------------------|--------|-------------------------------------|--------|-----------------|
| 1   | 399    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKV<br>SCKASGYTFS | 407    | WVRQAPGQGLEW<br>MG | 409    | RVITMRDTSSTVYMEISSLRSED<br>TAVYYCAR | 411    | WQQTGLVTV<br>SS |
| 2   | 400    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKV<br>SCKASGYTFT | 407    | WVRQAPGQGLEW<br>MG | 409    | RVITMRDTSSTVYMEISSLRSED<br>TAVYYCAR | 411    | WQQTGLVTV<br>SS |
| 3   | 399    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKV<br>SCKASGYTFS | 407    | WVRQAPGQGLEW<br>MG | 409    | RVITMRDTSSTVYMEISSLRSED<br>TAVYYCAR | 411    | WQQTGLVTV<br>SS |
| 4   | 401    | QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV<br>SCKASGYTFT | 407    | WVRQAPGQGLEW<br>MG | 410    | RVITADESTSTAYMEISSLRSED<br>AVYYCAR  | 411    | WQQTGLVTV<br>SS |
| 5   | 399    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKV<br>SCKASGYTFS | 407    | WVRQAPGQGLEW<br>MG | 409    | RVITMRDTSSTVYMEISSLRSED<br>TAVYYCAR | 411    | WQQTGLVTV<br>SS |
| 6   | 400    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKV<br>SCKASGYTFT | 407    | WVRQAPGQGLEW<br>MG | 409    | RVITMRDTSSTVYMEISSLRSED<br>TAVYYCAR | 411    | WQQTGLVTV<br>SS |
| 7   | 400    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKV<br>SCKASGYTFT | 407    | WVRQAPGQGLEW<br>MG | 409    | RVITMRDTSSTVYMEISSLRSED<br>TAVYYCAR | 411    | WQQTGLVTV<br>SS |
| 8   | 399    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKV<br>SCKASGYTFS | 407    | WVRQAPGQGLEW<br>MG | 409    | RVITMRDTSSTVYMEISSLRSED<br>TAVYYCAR | 411    | WQQTGLVTV<br>SS |
| 9   | 402    | QVQLVQSGAEVKEPGASVKV<br>SCKASGYTFT | 407    | WVRQAPGQGLEW<br>MG | 409    | RVITMRDTSSTVYMEISSLRSED<br>TAVYYCAR | 411    | WQQTGLVTV<br>SS |
| 10  | 400    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKV<br>SCKASGYTFT | 407    | WVRQAPGQGLEW<br>MG | 409    | RVITMRDTSSTVYMEISSLRSED<br>TAVYYCAR | 412    | WQQTGLVTV<br>SS |
| 11  | 400    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKV<br>SCKASGYTFT | 407    | WVRQAPGQGLEW<br>MG | 409    | RVITMRDTSSTVYMEISSLRSED<br>TAVYYCAR | 411    | WQQTGLVTV<br>SS |
| 12  | 400    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKV<br>SCKASGYTFT | 408    | WMRQAPGQGLEW<br>IG | 409    | RVITMRDTSSTVYMEISSLRSED<br>TAVYYCAR | 412    | WQQTGLVTV<br>SS |
| 13  | 400    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKV<br>SCKASGYTFT | 407    | WVRQAPGQGLEW<br>MG | 409    | RVITMRDTSSTVYMEISSLRSED<br>TAVYYCAR | 411    | WQQTGLVTV<br>SS |
| 14  | 403    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKV<br>SCKASGYNFS | 407    | WVRQAPGQGLEW<br>MG | 409    | RVITMRDTSSTVYMEISSLRSED<br>TAVYYCAR | 412    | WQQTGLVTV<br>SS |
| 15  | 400    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKV<br>SCKASGYTFT | 407    | WVRQAPGQGLEW<br>MG | 409    | RVITMRDTSSTVYMEISSLRSED<br>TAVYYCAR | 411    | WQQTGLVTV<br>SS |
| 16  | 607    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKV<br>SCKASGYTLP | 407    | WVRQAPGQGLEW<br>MG | 409    | RVITMRDTSSTVYMEISSLRSED<br>TAVYYCAR | 411    | WQQTGLVTV<br>SS |
| 17  | 400    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKV<br>SCKASGYTFT | 407    | WVRQAPGQGLEW<br>MG | 409    | RVITMRDTSSTVYMEISSLRSED<br>TAVYYCAR | 412    | WQQTGLVTV<br>SS |

图6A

|    |     |                                    |     |                    |     |                                           |     |                 |
|----|-----|------------------------------------|-----|--------------------|-----|-------------------------------------------|-----|-----------------|
| 18 | 405 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKV<br>SCKASGYST  | 407 | WVRQAPGQGLEW<br>MG | 409 | RVTMTTRDTSTSTVYME<br>LSSLRSED<br>TAVYYCAR | 413 | WGRGTLVTV<br>SS |
| 19 | 406 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKV<br>SCKASGYTFI | 407 | WVRQAPGQGLEW<br>MG | 409 | RVTMTTRDTSTSTVYME<br>LSSLRSED<br>TAVYYCAR | 414 | WQQTMTVTV<br>SS |
| 20 | 400 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKV<br>SCKASGYTFT | 407 | WVRQAPGQGLEW<br>MG | 409 | RVTMTTRDTSTSTVYME<br>LSSLRSED<br>TAVYYCAR | 414 | WQQTMTVTV<br>SS |
| 21 | 401 | QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV<br>SCKASGYTFT | 407 | WVRQAPGQGLEW<br>MG | 410 | RVTITADESTSTAYME<br>LSSLRSED<br>AVYYCAR   | 412 | WQQTMTVTV<br>SS |

图6B

| 结合剂 | SEQ ID | LFW1                       | SEQ ID | LFW2            | SEQ ID | LFW3                                | SEQ ID | LFW4       |
|-----|--------|----------------------------|--------|-----------------|--------|-------------------------------------|--------|------------|
| 1   | 415    | DIQMTQSPSSLSASVGDR<br>VTTC | 418    | WYQQKPGKAPKLLIY | 421    | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE<br>DFATYYC | 425    | FGGGTKVEIK |
| 2   | 415    | DIQMTQSPSSLSASVGDR<br>VTTC | 418    | WYQQKPGKAPKLLIY | 421    | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE<br>DFATYYC | 425    | FGGGTKVEIK |
| 3   | 415    | DIQMTQSPSSLSASVGDR<br>VTTC | 418    | WYQQKPGKAPKLLIY | 421    | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE<br>DFATYYC | 425    | FGGGTKVEIK |
| 4   | 415    | DIQMTQSPSSLSASVGDR<br>VTTC | 418    | WYQQKPGKAPKLLIY | 421    | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE<br>DFATYYC | 425    | FGGGTKVEIK |
| 5   | 415    | DIQMTQSPSSLSASVGDR<br>VTTC | 418    | WYQQKPGKAPKLLIY | 421    | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE<br>DFATYYC | 426    | FGQGTKLEIK |
| 6   | 415    | DIQMTQSPSSLSASVGDR<br>VTTC | 418    | WYQQKPGKAPKLLIY | 421    | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE<br>DFATYYC | 427    | FGQGTKVEIK |
| 7   | 415    | DIQMTQSPSSLSASVGDR<br>VTTC | 418    | WYQQKPGKAPKLLIY | 421    | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE<br>DFATYYC | 428    | FGQGTRLEIK |
| 8   | 415    | DIQMTQSPSSLSASVGDR<br>VTTC | 418    | WYQQKPGKAPKLLIY | 421    | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE<br>DFATYYC | 427    | FGQGTKVEIK |
| 9   | 415    | DIQMTQSPSSLSASVGDR<br>VTTC | 418    | WYQQKPGKAPKLLIY | 421    | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE<br>DFATYYC | 426    | FGQGTKLEIK |
| 10  | 415    | DIQMTQSPSSLSASVGDR<br>VTTC | 418    | WYQQKPGKAPKLLIY | 421    | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE<br>DFATYYC | 427    | FGQGTKVEIK |
| 11  | 415    | DIQMTQSPSSLSASVGDR<br>VTTC | 418    | WYQQKPGKAPKLLIY | 421    | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE<br>DFATYYC | 425    | FGGGTKVEIK |
| 12  | 415    | DIQMTQSPSSLSASVGDR<br>VTTC | 418    | WYQQKPGKAPKLLIY | 421    | GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE<br>DFATYYC | 428    | FGQGTRLEIK |

图7A

|    |     |                             |     |                 |     |                                    |     |             |
|----|-----|-----------------------------|-----|-----------------|-----|------------------------------------|-----|-------------|
| 13 | 415 | DIQMTQSPSSLSASVGDR<br>VTITC | 418 | WYQQKPGKAPKLLIY | 421 | GVPSRFSGSGGTDFTLTISLQPE<br>DFATYYC | 427 | FGQGTKVEIK  |
| 14 | 415 | DIQMTQSPSSLSASVGDR<br>VTITC | 418 | WYQQKPGKAPKLLIY | 421 | GVPSRFSGSGGTDFTLTISLQPE<br>DFATYYC | 425 | FGGGTKVEIK  |
| 15 | 416 | EIVMTQSPATLSVSPGER<br>ATLSC | 419 | WYQQKPGQAPRLLIY | 422 | GIPARFSGSGGTEFTLTISLQSED<br>FAVYYC | 428 | FGQGRTRLEIK |
| 16 | 415 | DIQMTQSPSSLSASVGDR<br>VTITC | 418 | WYQQKPGKAPKLLIY | 421 | GVPSRFSGSGGTDFTLTISLQPE<br>DFATYYC | 426 | FGQGTKLEIK  |
| 17 | 415 | DIQMTQSPSSLSASVGDR<br>VTITC | 418 | WYQQKPGKAPKLLIY | 421 | GVPSRFSGSGGTDFTLTISLQPE<br>DFATYYC | 426 | FGQGTKLEIK  |
| 18 | 415 | DIQMTQSPSSLSASVGDR<br>VTITC | 418 | WYQQKPGKAPKLLIY | 421 | GVPSRFSGSGGTDFTLTISLQPE<br>DFATYYC | 427 | FGQGTKVEIK  |
| 19 | 417 | DIQITHSPSSLSASVGYRL<br>TITC | 420 | WYHOKPWNAPKLMY  | 423 | GVPSRFSGSGGTYFTLTISLQPE<br>DFATYYC | 427 | FGQGTKVEIK  |
| 20 | 415 | DIQMTQSPSSLSASVGDR<br>VTITC | 418 | WYQQKPGKAPKLLIY | 421 | GVPSRFSGSGGTDFTLTISLQPE<br>DFATYYC | 427 | FGQGTKVEIK  |
| 21 | 415 | DIQMTQSPSSLSASVGDR<br>VTITC | 418 | WYQQKPGKAPKLLIY | 424 | GVPSRFSGSGGTDFTLTISLQPE<br>DFAPYYC | 429 | FGPGTKVDIK  |

图7B

| 结合剂 | SEQ ID | VH                                                                                                                          |
|-----|--------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1   | 430    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSSDYMHWVRQAPGQGLEWMGWMSPPYNGITGYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA<br>VYYCARDRFSGSYDYWGQGLVTVSS |
| 2   | 431    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTGYMHWVRQAPGQGLEWMGWMSPPSSGITGYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA<br>VYYCARDRGGWFDPPWGQGLVTVSS   |
| 3   | 432    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSSYYMHWVRQAPGQGLEWMGWMTTNSGITGYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA<br>VYYCAREGYSSGLDYWGQGLVTVSS  |
| 4   | 433    | QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTGYIHWVRQAPGQGLEWMGGIPIEGTASYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYY<br>CARDGRFWSGYPDYWGQGLVTVSS    |
| 5   | 434    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSTHYMHWVRQAPGQGLEWMGNPNPNSGHAGSAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDT<br>AVYYCARESIAVAGDYWGQGLVTVSS  |
| 6   | 435    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSHDINWVRQAPGQGLEWMGNPNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA<br>VYYCARDRWYMGADYWGQGLVTVSS   |
| 7   | 436    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYMHWVRQAPGQGLEWMGNPNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDT<br>AVYYCARDGWGGDWFDPPWGQGLVTVSS  |
| 8   | 437    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSTHYMHWVRQAPGQGLEWMGNPNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDT<br>AVYYCARERLSVAGFDYWGQGLVTVSS |
| 9   | 438    | QVQLVQSGAEVKKEPGASVKVSKASGYTFTDHYLHWVRQAPGQGLEWMGNPNPNIQNTGYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA<br>VYYCAREPLQLGGFDYWGQGLVTVSS |
| 10  | 439    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTGYMHWVRQAPGQGLEWMGNPNPNSGGTTGYAQNFQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDT<br>AVYYCAREGFGPNAFDIWGQGLVTVSS  |
| 11  | 440    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTGYMHWVRQAPGQGLEWMGNPNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA<br>VYYCARDWSYGDWFDPPWGQGLVTVSS  |

图8A

|    |     |                                                                                                                              |
|----|-----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 12 | 441 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTGYMHWMRQAPGQGLEWMGWMSPYNGITGYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRS<br>EDTAVYYCAREVIEVGMDVWGQGTTVTVSS    |
| 13 | 442 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTNYMHWVRQAPGQGLEWMGWMSPSSGITGYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRS<br>EDTAVYYCAREAWFGELSTWGQGLVTVSS     |
| 14 | 443 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYNFSAYYVHWVRQAPGQGLEWMGMNPNRGITDSAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRS<br>EDTAVYYCAREAYVAFDIWGQGTITVTVSS    |
| 15 | 444 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTRHVYVHWVRQAPGQGLEWMGMNPNSSAGYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLR<br>SEDTAVYYCARERGYNAFDYWGQGLVTVSS     |
| 16 | 445 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTLPNYIHWVRQAPGQGLEWMGMWHPHPSGATGYAPKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSED<br>TAVYYCARDSEVGLDYWGQGLVTVSS     |
| 17 | 446 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYMHWVRQAPGQGLEWMGWISPRSGVTSYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSE<br>DTAVYYCARDLDYVRAFDIWGQGTITVTVSS  |
| 18 | 447 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSTSYMHWVRQAPGQGLEWMGMNPNNGNTGYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLR<br>SEDTAVYYCARESWGGYFDLWGRGTLVTVSS      |
| 19 | 448 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFINHYVHWVRQAPGQGLEWMGMNPNPTGGITGYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRS<br>EDTAVYYCARDRTTYAFDIWGQGTIMVTVSS |
| 20 | 449 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSHYMHWVRQAPGQGLEWMGMNPNNGHTGNAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLR<br>SEDTAVYYCARGNWVD AFDIWGQGTIMVTVSS  |
| 21 | 450 | QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTRHLLHWVRQAPGQGLEWMGMWVSPHGLTGYAPRFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED<br>TAVYYCARVHSGSDGMDVWGQGTITVTVSS  |

图8B

| 结合剂 | SEQ ID | VL                                                                                                          |
|-----|--------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1   | 451    | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGGGTKVEIK   |
| 2   | 452    | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVGTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTENGVPFSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSFSTPYTFGGGTKVEIK |
| 3   | 453    | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGGGTKVEIK   |
| 4   | 454    | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNYLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK  |
| 5   | 455    | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQRGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGGGTKLEIK  |
| 6   | 456    | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPFTFGGGTKVEIK  |
| 7   | 457    | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNHLNWYQQKPGKAPKLLIYGASNLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPITFGGGTRLEIK  |
| 8   | 458    | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGGGTKVEIK    |
| 9   | 459    | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESISWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGQGTKLEIK   |
| 10  | 460    | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYSTPYTFGGGTKVEIK  |
| 11  | 461    | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVGSWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK   |
| 12  | 462    | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASHLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGGGTRLEIK  |

图8C

|    |     |                                                                                                                   |
|----|-----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 13 | 463 | DIQMTQSPSSL SASVGDRVTITCRASQNISNFWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSLPYTF<br>GGGTKVEIK     |
| 14 | 464 | DIQMTQSPSSL SASVGDRVTITCRASQGISSWLA WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTF<br>GGGTKVEIK  |
| 15 | 465 | EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSLSSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGGTTEFTLTISSLQSEDAVYYCHQYFTTPTLT<br>FGQGRLEIK  |
| 16 | 466 | DIQMTQSPSSL SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSMPLYTF<br>GGGTKLEIK   |
| 17 | 467 | DIQMTQSPSSL SASVGDRVTITCRASQSISSRWLA WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTF<br>GGGTKLEIK |
| 18 | 468 | DIQMTQSPSSL SASVGDRVTITCRASQSISSWLA WYQQKPGKAPKLLIYDSSSLQTVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPVTF<br>GGGTKVEIK   |
| 19 | 469 | DIQITHSPSSL SASVGYRLTITCRDSDSHSITTWLA WYHQKPWNAPKLMIYAASNLES<br>GVPSRFSGSGGTFTLTISSLQPEDFATYYCQHFYNTQYTFGGQTKVEIK |
| 20 | 470 | DIQMTQSPSSL SASVGDRVTITCRASQVIRNDLA WYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSLQYPSHF<br>FGGQTKVEIK  |
| 21 | 471 | DIQMTQSPSSL SASVGDRVTITCRASQSISSRYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFAPYYCQQSYSTPLTF<br>GGGTKVDIK   |

图8D